



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

Gastroprotective effect of Thai propolis

Cytochrome B-5 reductase activity and methemoglobinemia in human red blood cells of Thai patients receiving nitroglycerin

Reviews

Caffeine: an adulterant in illicit methamphetamine

Retinoids and cancer prevention

New drugs

Moxifloxacin: a new fluoroquinolone for respiratory tract infections

Tolterodine : a new bladder selective muscarinic receptor antagonist

Case report

Ritual herb pill induced myopathy in a hypercholesterolemic patient treated with simvastatin

Pharmacological digest

Jan-Apr 2001, Vol. 23, No. 1

ISSN 0125-3832

Thai Journal of Pharmacology

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

Board of Editors

Editor Supatra Srichairat

Associate Editors Laddawal Phivthong-ngam Suwat Wimolwattanapun
Pravit Akarasereenont Supeecha Wittayalertpanya

Website correspondent Nisamanee Satyapan

Editorial Board

Adisak Wongkajornsilp	Panya Khunawat
Amnuay Thithapandha	Pornpen Pramyothin
Borpit Klangkalya	Prasan Dhumma-Upakorn
Chaicharn Sangdee	Prasert Songkittiguna
Chandhane Itthipanichpong	Sopit Thamaree
Dhasanai Suriyachan	Srichan Phornchirasilp
Kittima Sriwatanakul	Sumana Chompootawee
Krongtong Yoovathaworn	Supeecha Wittayalertpanya
Monthira Tankeyoon	Watcharee Limpanasitikul
Nisamanee Satyapan	Wittaya Tonsuwonnon
Nongluck Sookvanichsilp	Yupin Sanvarinda

Manager Supeecha 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 herein 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, Thailand.

3 EDITORIAL

5 LETTER TO EDITORS

RESEARCH ARTICLES

- 9 Gastroprotective effect of Thai propolis**
C Rujjanawate, D Amornlerdpison, D Kanjanapothi

- 17 Cytochrome B-5 reductase activity and methemoglobinemia in human red blood cells of Thai patients receiving nitroglycerin**
S Srichairat, V Rujirasereechai, V Taweesup

REVIEWS

- 23 Caffeine : an adulterant in illicit methamphetamine**
V Lekskulchai

- 31 Retinoids and Cancer prevention**
S Charoenhirunyingyos

NEW DRUGS

- 49 Moxifloxacin : a new fluoroquinolone for respiratory tract infections**
S Wimolwattanapun

- 61 Tolterodine : a new bladder selective muscarinic receptor antagonist**
M H. Tantisira

CASE REPORT

- 71 Ritual herb pill induced myopathy in a hypercholesterolemic patient treated with simvastatin**

V Wiwanitkit

75 PHARMACOLOGICAL DIGEST

Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Executive Committee 2000 - 2002
--

Advisory Executive Committee	Amnuay Thithapandha Chavane Tongroach Dhasanai Suriyachan Kanchana Ketsa-ard Methi Sanpanich Orapan Matungkasombat Pakdee Pothisiri Peerapol Euswas Prasan Dhumma-Upakorn Sumana Chompoothaweep Sunan Rojanavipat Udom Chantrarak Sri Wanee Taweesap
President	Borpit Klangkalya
Pre-president	Srichan Phornchirasilp
Vice president	Surachai Unchern
Secretary General	Chainarong Cherdchu
Academy	Kittima Sriwattanakul
Treasurer	Nisamanee Sayapan
Hospitality	Pornthip Supavilai
Editors	Supatra Srichairat
Register	Supeecha Wittayalerpanya
Committee	Chaicharn Sangdee Laddawal Phivthong-ngam Mathirut Munghthin Prapawadee Puapairoj Pravit Akarasereenont Warungkana Chidchuangchai

EDITORIAL

Dear members and our readers,

One more time, the Thai Journal of Pharmacology could not be published in time. Our editorial staffs have been very busy, especially the editor in chief, so that we can not work as fast as usual. All of us have to spend our precious time in our responsibility in pharmacological classes and researches. It's all my fault. However, we have tried to push our effort as you can see right now. It's very appreciated that more research articles and reviews were sent to us by our members. As the process of review could not be so fast and I forgot to tell you officially how long it should be. I'm very sorry about that and try to improve these boring processes. I'm very pleased to tell you that Associated Professor Supeecha Wittayalertpanya will help me to do this part of management. Until recently, we have a lot of problems in management according to our limited time. Only 24 hours per day that we have and it runs amazingly so fast that I never catch it up. It may be true that what we all equally get is our time. We all have 24 hours per day. No more, no less. Nobody can buy more time per day. Time is very precious. The best way to manage your time is spending your time for good things, not only for you but also to your society. The next step that we plan to do as communication media for our members is providing you more detail of graduate programs of pharmacology in Thailand. It's my great honor to serve as an information source of your graduate program. We start in this issue with the graduate courses of the Interdepartment of Pharmacology, the Graduated School, Chulalongkorn University as I'm in part of. Moreover, you can find out the matter from the society website. According to the intoxicated economic crises in our country, all of us should take part of some responsibility to save our money. Not spend so much in foreign countries. We should support the graduate programs in our own country. Many of us had opportunities in graduating from abroad and knew quite well that we spent a lot of money for one Ph.D. No more export of money and brain. The budget for studying abroad for one person per year is enough to produce many pharmacologists in our country. Moreover, their dissertations can be some parts of drug development in our country. Come and join working together. We will build up an academic alliance.

Supatra Srichairat
Editor

บทบรรณาธิการ

เรียนท่านสมาชิกและท่านผู้อ่าน

อีกครั้งที่วารสารเภสัชวิทยาออกต่ำกว่ากำหนดไปหลายเดือน กลุ่มผู้จัดทำโดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวบรรณาธิการเองต่างติดภารกิจประจำจนไม่สามารถรวบรวมงานได้รวดเร็วอย่างที่เคย เนื่องจากการกิจด้านการเรียนการสอนและงานวิจัยที่อยู่ในความรับผิดชอบ ขอยอมรับผิดชอบแต่เพียงผู้เดียว อย่างไรก็ตามได้พยายามให้วารสารเล่มนี้ออกมาจนได้ดังที่ท่านเห็น เป็นที่น่ายินดีอย่างยิ่งที่มีสมาชิกส่งผลงานมาขอรับการตีพิมพ์มากขึ้น ขั้นตอนการอ่านทบทวนโดยผู้ทรงคุณวุฒิอาจจะช้าไปบ้างเล็กน้อย และดิฉันก็ลืมที่จะแจ้งให้ท่านทราบอย่างเป็นทางการ ต้องขออภัยมา ณ ที่นี้ เราพยายามปรับปรุงแก้ไขปัญหาด้านการบริหารจัดการที่แสนน่าเบื่อ เป็นที่น่ายินดีอย่างยิ่งที่ รศ.สุพิชา วิทยเลิศปัญญา เข้ามาช่วยดิฉันด้านการบริหารจัดการอีกคน ระยะเวลาที่เรามีปัญหาด้านนี้มากขึ้นเนื่องจากไม่ค่อยมีเวลากัน วันหนึ่งมีเพียง 24 ชั่วโมง แถมยังวิ่งไปเร็วจนน่าประหลาดใจว่าไม่เคยตามทันสักที จริงที่ว่าสิ่งที่เราทุกคนได้มาทำเทียมกันคือเวลา 24 ชั่วโมงต่อวัน ไม่มีใครสามารถซื้อเวลาต่อวันให้ยาวนานขึ้นได้ ความรู้สึกที่เวลาเป็นสิ่งมีค่าก็คงตรงนี้แหละ ใช้เวลาที่มีอยู่สร้างสิ่งดี ๆ ให้กับตัวเองและสังคม น่าจะดีที่สุด ขั้นตอนต่อไปที่ทางวารสารฯ ได้ทำหน้าที่เป็นสื่อกลางแก่มวลสมาชิกคือเปิดโอกาสให้ท่านสมาชิกหรือผู้สนใจจะศึกษาต่อในระดับปริญญาโทและเอก สาขาเภสัชวิทยา สามารถศึกษาต่อภายในประเทศได้สะดวกยิ่งขึ้น เรายินดีประชาสัมพันธ์ให้ทุกหลักสูตรที่ติดต่อมาโดยไม่คิดมูลค่า ดังตัวอย่างการประชาสัมพันธ์ภายในเล่มนี้ ที่เริ่มด้วยหลักสูตรสหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ดิฉันมีส่วนร่วมรับผิดชอบ ใครสนใจหลักสูตรไหน สะดวกหรือใกล้มหาวิทยาลัยที่มีหลักสูตรนี้ จะพิจารณาเลือกดูได้จากวารสารฉบับนี้และฉบับต่อไป หรือดูจากเว็บไซต์ของวารสารฯ ขอให้สถาบันที่สนใจจะประชาสัมพันธ์ส่งรายละเอียดของหลักสูตรมาที่กองบรรณาธิการได้โดยตรง เรายินดีประชาสัมพันธ์ให้ จากพิษเศรษฐกิจที่เกิดขึ้นในประเทศของเรา พวกเราน่าจะมีส่วนร่วม ช่วยกันประหยัดเงินตราไม่ให้รั่วไหลออกไปต่างประเทศให้มากนัก น่าจะทบทวนให้มีการสนับสนุนการศึกษาต่อภายในประเทศให้มากขึ้น พวกเราหลายท่านได้มีโอกาสไปศึกษาต่อในต่างประเทศด้วยทุนของรัฐบาล จะรู้ดีว่าเราสูญเสียเงินไปจำนวนไม่น้อยในการผลิตดุขภูมิติตในแต่ละคน สมควรจะหยุดส่งเงิน ส่งมันสมองชั้นดีออกไปได้แล้ว ยกเว้นแต่ว่าเราจะได้รับทุนจากต่างประเทศมาสนับสนุน งบประมาณค่าใช้จ่ายของการศึกษาต่อในต่างประเทศต่อคนต่อปี สามารถนำมาพัฒนาหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิตและดุขภูมิติตในประเทศ ที่ผลิตนักเภสัชวิทยารุ่นใหม่ออกมาได้มากกว่าหลายเท่าตัว นอกจากนี้ งานวิจัยที่ได้ยังมีส่วนร่วมในการพัฒนาประเทศ เรามาช่วยกันและเสาะแสวงหาความร่วมมือกัน ดีกว่ามีความคิดแบ่งแยกสถาบัน มาร่วมกันสร้างพันธมิตรทางวิชาการกันเถิด

สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

บรรณาธิการ

LETTER TO EDITORS

เรื่อง จรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง

เรียน บรรณาธิการวารสารเภสัชวิทยา

ด้วยขณะนี้ทุก ๆ องค์การของประเทศกำลังตื่นตัวเรื่องการประกันคุณภาพเป็นอย่างมาก ทั้งหน่วยงานใหญ่และเล็กกำลังปรับตัวเพื่อพัฒนาคุณภาพของหน่วยงานให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล กระแสของการพัฒนาคุณภาพงานวิจัยให้ก้าวสู่ระดับ GCP และ GLP กำลังแทรกซึมเข้าสู่ผู้ที่เกี่ยวข้อง รวมถึงงานวิจัยทางด้านเภสัชวิทยาด้วย พวกเราคงต้องพัฒนาคุณภาพงานวิจัยของเราให้ได้รับมาตรฐานสากลเช่นเดียวกัน งานวิจัยทางเภสัชวิทยาสวนใหญ่ยังต้องเกี่ยวข้องกับสัตว์ทดลองเกือบทั้งนั้น การนำสัตว์มาใช้ในงานทดลองวิจัย จำเป็นต้องทำให้ถูกต้องตามหลักวิชาการ ตั้งแต่การเลือกใช้สัตว์ การดูแลสัตว์ การจัดการกับสัตว์ โดยยึดหลักคุณธรรม จริยธรรม คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ จึงได้ประกาศให้มี “จรรยาบรรณการใช้สัตว์” ขึ้น เพื่อใช้เป็นหลักเกณฑ์และแนวทางปฏิบัติสำหรับผู้ใช้สัตว์ ผู้เลี้ยงสัตว์เพื่องานวิจัย งานทดสอบ งานสอน และงานผลิตชีววัตถุ ในเชิงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทุกสาขา ให้ยึดถือปฏิบัติ เพื่อให้การดำเนินงานตั้งอยู่บนพื้นฐานของจริยธรรม คุณธรรม มนุษยธรรม และหลักวิชาการที่เหมาะสม ตลอดจนเป็นมาตรฐานการดำเนินงานที่เป็นที่ยอมรับโดยทั่วกัน ทั้งหมดนี้จะทำให้ผลงานวิจัยได้ มาตรฐาน และ

ขณะนี้สำนักพิมพ์วิชาการทางการแพทย์ระดับสากลได้ระบุให้ผู้วิจัยเขียนวิธีการดูแลสัตว์ เทคนิคการปฏิบัติต่อสัตว์ และงานวิจัยต้องผ่านการยอมรับจากคณะกรรมการที่เกี่ยวข้องกับการพิจารณาจรรยาบรรณการใช้สัตว์ จึงจะได้รับการตีพิมพ์

แนวทางปฏิบัติที่กำหนดไว้ใน “จรรยาบรรณการใช้สัตว์” ล้วนเป็นสิ่งจำเป็นที่ผู้ใช้สัตว์ควรพิจารณาและถือปฏิบัติได้แก่¹

1. การจัดทำโครงการที่มีเอกสารอ้างอิงชัดเจนว่าเป็นโครงการที่มีความจำเป็นต้องใช้สัตว์จริงๆ ไม่มีวิธีการอื่นที่อาจนำมาทดแทนได้ดีเท่า

2. การเลือกใช้เฉพาะสัตว์ที่มีคุณภาพทางพันธุกรรมและคุณภาพสุขภาพ

3. การเลี้ยงสัตว์ให้มีสุขภาพดีด้วยระบบป้องกันการติดเชื้อ ภายใต้สิ่งแวดล้อมที่ไม่สร้างความกดดันหรือความเครียดแก่สัตว์

4. การปฏิบัติต่อสัตว์ที่ช่วยลดความเครียดและความเจ็บปวด และการปฏิบัติต่อสัตว์เมื่อสิ้นสุดการใช้งาน

5. การบันทึกข้อมูลการปฏิบัติต่อสัตว์ให้ครบถ้วน

กระบวนการในการปฏิบัติทั้ง 5 หัวข้อต้องอยู่บนพื้นฐานของจริยธรรม คุณธรรม มนุษยธรรม และหลักวิชาการ

การใช้สัตว์แต่ละครั้งต้องหวังผลความแม่นยำและประโยชน์สูงสุดจากสัตว์ โดยให้สิ้นเปลืองสัตว์จำนวนน้อยที่สุด สัตว์

ต้องได้รับการเลี้ยงดูให้มีสุขภาพดีภายใต้สิ่งแวดล้อมที่ไม่สร้างความเครียดหรือความกดดันใดๆ แก่สัตว์ และวิธีการปฏิบัติต่อสัตว์ในทุกกรณีต้องหลีกเลี่ยงการกระทำที่สัตว์เจ็บปวดหรือเครียดให้มากที่สุดเท่าที่ทำได้ ทุกกรณีที่กล่าวเป็นสิ่งที่ยากมากในเชิงปฏิบัติถ้าไม่มีสิ่งเกื้อกูลอื่นๆ ต่อไปนี้

1. แหล่งผลิตสัตว์ที่สามารถบริหารสัตว์ที่มีมาตรฐานคุณภาพสุขภาพ ได้หลายรูปแบบของชนิด สายพันธุ์ เพศ อายุ และจำนวน ตามความต้องการของผู้ใช้อย่างต่อเนื่อง

2. สถานที่และวัสดุอุปกรณ์ที่เอื้อต่อการป้องกันการติดเชื้อและการควบคุมสิ่งแวดล้อม

3. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงสัตว์

4. การจัดการที่เข้มงวดกวดขัน สอดคล้องกับระบบการป้องกันการติดเชื้อ

5. พื้นฐานความรู้ในการปฏิบัติต่อสัตว์ของผู้ใช้สัตว์และพนักงานเลี้ยงสัตว์

Good Laboratory Practice (GLP) ในการใช้สัตว์ในประเทศไทย จะเกิดขึ้นได้สมบูรณ์แบบก็ต่อเมื่อสิ่งเกื้อกูลดังกล่าวได้รับการแก้ไขปรับปรุง ผู้บริหารจำเป็นต้องจัดสรรงบประมาณที่จะสามารถให้สิ่งเกื้อกูลเหล่านี้เกิดขึ้น นโยบาย แผนงาน หรือจรรยาบรรณที่กำหนดขึ้นโดยงานวิจัย งานทดสอบ งานผลิตชีววัตถุ และงานสอนที่ใช้สัตว์ มีการพัฒนาและมีผลงานเป็นที่ยอมรับแข่งขันได้กับนานาชาติ จะดำเนินการได้ก็ต่อเมื่อสิ่งเกื้อกูลเหล่านี้ได้รับการเอาใจใส่ดูแลให้ดีแล้วเท่านั้น

การให้ข้อมูลที่นำไปสู่ GLP ในการใช้สัตว์ จะยึดจรรยาบรรณการใช้สัตว์ของ

สภาวิจัยแห่งชาติเป็นหลัก โดยจะเริ่มจากการเสนอโครงการ ตามด้วยการเลือกใช้สัตว์ การเลี้ยงสัตว์ การปฏิบัติต่อสัตว์ และการบันทึกข้อมูล เพื่อเป็นแนวทางสำหรับทั้งผู้ใช้และผู้บริหารได้พิจารณาให้เกิดความพร้อมหรือความเป็นไปได้ตามที่จรรยาบรรณและแนวทางปฏิบัติได้กำหนดไว้

รายละเอียดเนื้อหาของ จรรยาบรรณการใช้สัตว์ โดยสภาวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ตีพิมพ์เผยแพร่แก่ผู้ที่เกี่ยวข้องและผู้สนใจสามารถขอได้ที่สำนักงานฯ ในเนื้อหาจะระบุถึงการกำกับและดูแลให้ผู้ใช้สัตว์ปฏิบัติตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์ คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติจึงได้แต่งตั้ง “คณะทำงานกำกับดูแล ส่งเสริมและสนับสนุนการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ให้เป็นไปตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์” ขึ้น เพื่อทำหน้าที่²

1. ส่งเสริมและสนับสนุนให้ผู้ใช้สัตว์ และองค์กรที่ใช้สัตว์ปฏิบัติตาม “จรรยาบรรณการใช้สัตว์” อย่างเคร่งครัด

2. ดำเนินการตรวจสอบข้อเท็จจริงภายในองค์กร กรณีที่มีการร้องเรียน

3. สนับสนุนและเสนอแนะแก่องค์กรที่ใช้สัตว์ ในการกำหนดรายละเอียด และแนวทางปฏิบัติให้สอดคล้องกับ “จรรยาบรรณการใช้สัตว์”

4. ส่งเสริมและสนับสนุนให้หน่วยงานต่างๆ ที่ใช้สัตว์จัดการสัมมนา อบรมวิธีการเลี้ยงและวิธีการใช้สัตว์ ตาม “จรรยาบรรณการใช้สัตว์”

5.ประสานงานกับสำนักงานประมาณหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการจัดสรรงบประมาณให้ทราบถึงความสำคัญของการดำเนินงานตาม “จรรยาบรรณการใช้สัตว์” เพื่อการสนับสนุนงบประมาณให้เพียงพอต่อการดำเนินงานอย่างมีประสิทธิภาพ

6.แก้ไขปรับปรุง “จรรยาบรรณการใช้สัตว์” ให้เหมาะสมกับความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และความเปลี่ยนแปลงของสังคมและขนบธรรมเนียมประเพณี

7. ดำเนินการอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

เอกสารอ้างอิง

1. เอกสารประกอบการบรรยาย เรื่อง การใช้สัตว์เพื่องานวิจัย งานทดสอบ งานผลิตชีววัตถุ และงานสอน. โดย ประพนธ์ จาติกวณิช. ในการประชุมการฝึกอบรมเรื่องหลักสูตร พื้นฐานและเทคนิคปฏิบัติการในสัตว์ทดลอง. วันที่ 16-18 กรกฎาคม พ.ศ. 2544. สถาบันวิจัย

โดยคณะทำงานกำกับดูแลฯ ได้จัดทำจุลสารจรรยาบรรณการใช้สัตว์ แจกแก่สมาชิกผู้เลี้ยงสัตว์ทดลอง เป็นประจำทุกเดือน สมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาสามารถติดต่อกับคณะทำงานได้ทาง website <http://web.nrct.go.th/~animal>

รศ. สุพีชา วิทยเลิศปัญญา
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10330

วิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

2. จรรยาบรรณการใช้สัตว์. สภาวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม. จัดพิมพ์เผยแพร่ปี พ.ศ. 2544.

XIVth World Congress of Pharmacology

San Francisco, California

7-12 July 2002

The program, hotel information, registration information and abstract forms will be available in September 2001 from:

Congress Secretariat
C/o FASEB OSMC
9650 Rockville Pike
Bethesda, MD 20814, USA
Tel: +1 301 530 7010 Fax: +1 301 530 7014
E-mail: wcp@faseb.org

Or online at:
<http://www.iuphar2002.org>

The deadline for paper submission of abstracts is 31 January 2002.

Abstracts will be accepted on-line until 7 February 2002.

The preliminary program is available on the world wide web at:

<http://www.iuphar2002.org>

Plan to attend now.

Plenary lectures, symposia and workshops on these and other topics are planned.

- Receptor structure and function (Amara, Chongeux, Colquhoun, Felder, Gustafson, Hamm, Wess, others)
- Receptor characterisation and classification (Ruffolo, Spedding, others)
- Gene disruption techniques, and the analysis of gene expression (Smithies, Wess others)
- Signal transduction systems (Anderson, Bokoch, Parton, Narumiya, Wittinghofer, others)
- Regulation and functions of ion channels (Ashcroft, Gurney, Jan, Kurachi, Moss, Peers, others)
- Ion channels as oxygen sensors (Gurney, Peers, Conforti, Lopez-Barneo, Weir, others)
- Glutamate receptors in brain (Nakanishi and others)
- Purinergic signalling (Burnstock)
- Neuronal plasticity and neuroprotective therapies in stroke (Soderling, Moroni, others)
- Craving and relapse in drug addiction (Koob, O'Brien, Zwartau, van Ree, others)
- Cardiovascular functional genomics (Chlstein, Schwartz, Douglas, Cambien, Liew, Spanagel, others)
- Regulation of vascular contractility (Adler-Groschinsky, Cocks, Edwards, Segal, Triggle, Weston)
- Pharmacological regulation of cyclooxygenases (Patrono, others)
- Angiotensin receptors (Sassard)
- Receptor regulation of cardiac remodeling and fibrosis (Lechat, others)
- Asthma (O'Donnell, others)
- New developments in antiviral therapy (De Clercq, Bridger, Hazuda, Schinazi, others)
- Drug resistance (Konings, Liscovitch, Nikaido, Bibi, others)
- *In vitro* models of human drug metabolism (Birkett, Jones, Miners, Sugiyama, Tucker)
- Transporters in drug metabolism (Benet, Cole, Oude Elferink, Kim)
- Cytochrome P450s: structure and function metabolism (Halpert, Hawksworth, Meyer, Wrighton, Ortiz de Montellono, others)
- Cytochrome P450s in cell signalling and apoptosis (Kapitulnik, Pelkonen, Zeldin, Nebert, van der Saag, others)
- Pharmacogenetics: individual susceptibility to drugs (Ingelman-Sundberg, others)
- Apoptosis (Orrenius, others)

RESEARCH ARTICLES

GASTROPROTECTIVE EFFECT OF THAI PROPOLIS

Chaiyong Rujjanawate¹, Duangporn Amornlerdpison², Duangta Kanjanapothi³

¹Laboratory of Natural Products, ²Chulabhorn Research Institute, ³Research Center at Chiangmai University, Faculty of Medicine, Chiangmai University, Chiangmai 50200, Thailand.

ABSTRACT

Propolis is a resinous substance collected by honeybees from plant exudates. The present study was undertaken to evaluate Thai propolis for its anti-gastric ulcer activity by experimental models. Oral administration of the propolis at 100 and 200 mg/kg significantly inhibited gastric ulcer formation induced by indomethacin, HCl/EtOH, and water immersion restraint-stress in rats. In pylorus ligated rats, pretreatment with propolis had no effect on gastric volume and pH thus indicating the lack of antisecretory effect of propolis. In ethanol-induced ulcerated rats, gastric wall mucus and hexosamine content were markedly preserved by the propolis pretreatment. The findings indicated that Thai propolis possessed gastroprotective potential related to preservation of gastric mucus synthesis and secretion.

Key words : bee, propolis, gastric ulcer, gastroprotective

ฤทธิ์ปกป้องกระเพาะอาหารของพรอพลิสไทย

ไชยบง รุจจนเวท¹, ดวงพร อมรเลิศพิศาล², ดวงตา กาญจนโพธิ์³

¹ห้องปฏิบัติการผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, ²สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์, ³ศูนย์วิจัย ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

บทคัดย่อ

พรอพลิสเป็นสารเหนียวที่ผึ้งสร้างจากสารคัดหลั่งของพืชที่ผึ้งเก็บสะสมมา ได้ทำการศึกษาเพื่อประเมินฤทธิ์ของพรอพลิสไทยในการต้านการเกิดแผลกระเพาะอาหารโดยใช้รูปแบบการทดลองต่างๆ พบว่าเมื่อให้พรอพลิสทางปากในขนาด 100 และ 200 มก./กก. สามารถป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหารที่เกิดจากอินโดเมทาซิน กรดเกลือ/เอทานอล และความเครียดจากการแช่น้ำได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อให้พรอพลิสแก่หนูที่ถูกผูกกระเพาะส่วนไพโลรัส พบว่าพรอพลิสไม่มีผลลดปริมาณของเหลวในกระเพาะอาหารและความเป็นกรด ซึ่งชี้ให้เห็นว่าพรอพลิสไม่ได้ออกฤทธิ์ต้านการหลั่งกรด พรอพลิสสามารถรักษาปริมาณมิวคัสและเฮกโซซามีนในกระเพาะอาหารของหนูที่ได้รับกรด/เอทานอลได้ ทั้งหมดนี้ชี้ให้เห็นว่าพรอพลิสของไทยมีฤทธิ์ปกป้องกระเพาะอาหารได้โดยผ่านทางการสังเคราะห์และการหลั่งมิวคัสของกระเพาะอาหาร

คำสำคัญ : ผึ้ง, พรอพลิส, แผลกระเพาะอาหาร, การปกป้องกระเพาะอาหาร

INTRODUCTION

Traditional bee keeping in Thailand was started about 100 years ago with *Apis cerana* in coconut plantations on Samui Island. Modern bee keeping with *Apis mellifera* was started in the early 1940's but did not increase markedly until the early 1970's¹. It has been estimated by the Northern Beekeeper Association of Thailand that by 1998 the number of bee colonies in Thailand had increased to about 250,000. Bee products are honey, wax, royal jelly, pollen and propolis.

Honey, the principal bee product, has been reported to have an antibacterial effect on *Helicobacter pylori*², a pathogenic bacteria causing peptic ulcer, and a protective effect on acute gastric mucosal lesions induced by 50% ethanol³. It was demonstrated that a natural mixture of higher aliphatic primary alcohols isolated from beeswax possessed anti-gastric ulcer effect when tested in different experimental models⁴. The anti-ulcerogenic property of the mixture was suggested to be related to a cytoprotective mechanism via enhancement of the quantity and quality of the gastric mucus^{5,6}. The mixture was also reported to have a protective effect on the pre-ulcerative phase of carrageenan-induced colonic ulceration in the guinea-pig⁷.

Propolis is a resinous substance collected by honeybees from plant exudates. Bees use propolis to seal holes in their honeycombs and protect the entrance against intruders but more importantly it appears to act as an antiseptic to prevent microbial infection of larvae, honey stores and the combs⁸. Propolis is reputed to have antiseptic, antimycotic, bacteriostatic, astringent, choleric, spasmolytic, anti-inflammatory, anaesthetic and anti-oxidant properties⁹⁻¹⁰. Propolis is also used by herbalists to treat duodenal ulcers and in homeopathic medicine⁸. Propolis from South America was found to have antibacterial activity against Gram positive bacteria¹¹. It was reported that phenolic compounds isolated from Brazilian propolis showed activity against *Trypanosoma cruzi* and bacteria, and a relaxant effect in guinea-pig isolated trachea¹².

The present study was aimed to investigate the anti-gastric ulcer effect of Thai propolis in experimental models.

MATERIALS AND METHODS

Propolis

Propolis in tablet form (25 mg/tab)

was kindly provided by the Bee Products Industry Co., Ltd., Thailand. It was ground and suspended in 0.5% carboxymethylcellulose (CMC) to desired concentrations.

Animals

Male Sprague-Dawley rats weighing 150-200 g were purchased from the National Laboratory Animal Center, Salaya Mahidol University, Thailand. They were acclimatized for at least 7 days in an animal room where the temperature was maintained at $22 \pm 3^\circ\text{C}$ and there was a 12 hours light-dark cycle. The food was supplied by Pokphan Animal Feed Co., Ltd., Bangkok. The bedding was autoclaved. The rats had free access to food and water unless stated otherwise. All animals received humane care in compliance with the ethics in the use of animals issued by the National Research Council of Thailand 1999.

Indomethacin-induced gastric ulcers

Propolis was administered orally to 48 hr. fasted rats 60 min prior to induction of gastric ulcers by indomethacin suspended in 0.5% carboxymethylcellulose at a single i.p. dose of 30 mg/kg¹³. After 5 hr the rats were sacrificed and examined for gastric ulcers.

HCl/EtOH-induced gastric ulcers

Propolis was administered orally to 48 hr fasted rats 60 min prior to induction of gastric ulcers by 1.0 ml HCl-EtOH (60 ml ethanol + 1.7 ml HCl + 38.3 ml water) p.o.¹⁴. The animals were sacrificed and examined for gastric ulcers 60 min later.

Restraint water immersion stress-induced gastric ulcers

Propolis was administered orally to 48 hr fasted rats. Sixty minutes later, rats were restrained individually in stainless steel cages and immersed up to their xiphoid in a water bath maintained at $22 \pm 2^\circ\text{C}$, according to the method of Takagi et al¹⁵. After 5 hr of this exposure, the rats were sacrificed and examined for gastric ulcers.

Evaluation of the gastric ulcers

After each rat had been sacrificed, the stomach was removed, opened along the greater curvature and the glandular portion of the stomach was examined. The length in mm

of each lesion was measured under a dissecting microscope and the sum of the length of all lesions was designated as the ulcer index.

Pylorus ligation

Propolis was administered orally to 48 hr fasted rats. One hour later, pylorus ligation as described by Shay et al¹⁶ was performed. Briefly, rats were lightly anesthetized by ether. The abdomen was opened and the pylorus was ligated. The abdomen was closed by suturing. The animals were killed 5 hr later by an over dose of ether. The stomach was removed and its content was subjected to measurement of volume and pH and assayed for titratable acidity.

Determination of gastric wall mucus content

Gastric wall mucus was determined by the Alcian blue method¹⁷. Briefly, propolis was administered orally to 48 hr fasted rats 60 min prior to induction of gastric ulcers by 1.0 ml HCl/EtOH (60 ml ethanol + 1.7 ml HCl + 38.3 ml water) p.o.¹⁴. Sixty minutes later, the animals were sacrificed and the stomach was excised and opened along the lesser curvature, weighed and immersed in 0.1% w/v Alcian blue solution for 2 hours. The excessive dye was then removed by two successive rinses in 0.25 M sucrose solution. Dye complexed with gastric wall mucus was extracted with 0.5 M MgCl₂ for 2 hours. The blue extract was then shaken vigorously with an equal volume of diethyl ether and the resulting emulsion was

centrifuged. The optical density of Alcian blue in the aqueous layer was read against a buffer blank at 580 nm using a spectrophotometer. The quantity of Alcian blue extracted per gram wet stomach was then calculated from a standard curve.

Measurement of gastric hexosamine content

Hexosamine content in gastric tissue was assayed by the method of Glick¹⁸. Briefly, propolis was administered orally to 48 hr fasted rats 60 min prior to induction of gastric ulcers by 1.0 ml HCl/EtOH (60 ml ethanol + 1.7 ml HCl + 38.3 ml water) p.o.¹⁴. Sixty minutes later, the animals were sacrificed and the antral part of the stomach was hydrolyzed with 6 N HCl overnight. The tissue was neutralized with 6 N NaOH and incubated with acetylacetone at 100 °C for 15 min. The mixture was then coupled with Ehrlich's reagent and allowed to stand at room temperature for 40 min. The optical density of the sample was measured spectrophotometrically at 530 nm using glucosamine as a standard.

Statistical analysis

Data were subjected to statistical analysis using ANOVA and statistical comparison was done using Duncan Multiple Range Test. The value exceeding 99% confidence limits was considered to be significant.

Table 1. Effects of propolis on gastric ulcers in rats

Group	GASTRIC ULCER INDUCER					
	Indomethacin		HCl/EtOH		Stress	
	Ulcer index (mm)	I (%)	Ulcer index (mm)	I (%)	Ulcer index (mm)	I (%)
Control	7.5 ± 1.3		101.0 ± 11.9		9.9 ± 0.9	
Propolis 100 mg/kg	2.2 ± 0.6*	71	9.4 ± 4.5*	91	2.7 ± 0.6*	73
Propolis 200 mg/kg	0.5 ± 0.2*	93	1.4 ± 0.9*	99	0.1 ± 0.0*	99

Note : data expressed as mean ± S.E.M. (n = 8)

* significantly different from the control group ($p < 0.01$)

I (%) = inhibition of ulcer formation expressed as percentage

RESULTS

Propolis at doses of 100 and 200 mg/kg significantly ($p < 0.01$) inhibited ulcer formation induced by indomethacin, ethanol and water immersion stress as shown in Table 1. The inhibition was dose related. In the pylorus ligated rats, the mean gastric volume and pH were not affected by propolis

pretreatment. Only the acidity output in the propolis 200 mg/kg treated group was significantly ($p < 0.01$) decreased from that of the control group (Table 2). Table 3 shows that the mean value of the gastric mucus content in HCl/EtOH induced ulcerated rats was significantly lower than that of the control group. Propolis at doses of 100 and 200 mg/kg significantly ($p < 0.01$) restored the mucus

content back to the level comparable to that of the non-ulcerated rats. The mean gastric hexosamine content in control ulcerated rats was significantly less than that in the normal non-ulcerated group as shown in Table 4.

Pretreatment with propolis at 100 and 200 mg/kg significantly increased the hexosamine content. The effect of propolis on gastric wall mucus content and gastric hexosamine content was not dose related.

Table 2. Effects of propolis on gastric secretion in rats

Group	Gastric vol. (ml)	Gastric pH	Acidity mEq/L
Control	9.5 ± 0.8	1.62 ± 0.08	126 ± 5
Propolis 100 mg/kg	8.4 ± 1.0	1.87 ± 0.42	100 ± 9
Propolis 200 mg/kg	8.6 ± 0.8	1.64 ± 0.07	51 ± 4*

Note : data expressed as mean ± S.E.M. (n = 8)

* significantly different from the control group ($p < 0.01$)

Table 3. Effects of propolis on gastric wall mucus content in rats

Group	Gastric wall mucus (µg Alcian blue/g wet stomach)
Control HCl/EtOH ulcerated rats	804 ± 29
Propolis 100 mg/kg	1597 ± 72*
Propolis 200 mg/kg	1072 ± 70*
Non-ulcerated rats	1167 ± 16*

Note : Data expressed as mean ± S.E.M. (n = 10)

* significantly different from control ulcerated rats ($p < 0.01$)

Table 4. Effects of propolis on gastric hexosamine content in rats

Group	Hexosamine content (µg /100 mg wet stomach)
Control HCl/EtOH ulcerated rats	21.7 ± 1.6
Propolis 100 mg/kg	30.3 ± 1.2*
Propolis 200 mg/kg	47 ± 1.6*
Non-ulcerated rats	37.0 ± 2.2*

Note : Data expressed as mean ± S.E.M. (n = 8)

* significantly different from control ulcerated rats ($p < 0.01$)

DISCUSSION

It is known that poplar trees (*Populus spp.*) are the major source of propolis in temperate countries and that the chemical constituents of this material fall into four major groups, namely beeswax constituents (fatty acids, esters, long chain alcohols), flavonoids, other phenolic compounds, and volatile compounds (mainly terpenes)⁹. In tropical regions propolis can be expected to have different compositions because of different tree species involved, as has been shown for Brazilian propolis^{12,19,20} and for propolis from the Canary Islands²¹. Therefore no comment can be made at present about the constituents of Thai propolis which might be responsible for the observed pharmacological effects.

Results obtained in this study show the anti-gastric ulcer activity of Thai propolis

when evaluated in the most commonly utilized experimental models which include indomethacin, HCl/EtOH and restraint water immersion stress - induced gastric lesions in rats^{22,23}.

The pathogenesis of gastric ulcers is often depicted as an imbalance between mucosal integrity and aggressive factors. Factors that impair mucosal defense are HCl, gastrin, histamine, *Helicobacter pylori*, aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), ethanol, caffeine and stress while factors that promote mucosal integrity are gastric mucus and bicarbonate, gastric mucosal barrier, prostaglandins (PGs) and mucosal blood flow^{24,25}.

According to the experimental models used in this study, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) like indomethacin induce ulcer formation by depleting cytoprotective prostaglandins, e.g. PGE₂ and

PGI₂ in the cyclooxygenase pathway of arachidonic acid metabolism²⁶. PGE₂ and PGI₂ of gastric and duodenal mucosa are responsible for mucus production and maintaining cellular integrity of the gastric mucosa²⁷. In the HCl/EtOH induced gastric ulceration model, HCl causes severe damage to gastric mucosa²⁸ whereas ethanol produces necrotic lesions by direct necrotizing action which in turn reduces defensive factors, the secretion of bicarbonate and production of mucus²⁹. The water immersion stress-induced ulcers are mediated by increases in gastric acid secretion³⁰ and decreases in mucosal microcirculation³¹ and mucus content³². Since propolis could prevent ulceration in all three models and its anti-ulcer effect was much more pronounced in the ethanol model, it was not likely that inhibition of gastric secretion was the action of propolis. This was in accordance with the finding that in pylorus ligated rats propolis had no effect on gastric volume and pH though the acidity output was significantly decreased.

The gastric wall mucus, obligatory components of which are hexosamines, is

thought to play an important role as a defensive factor against gastrointestinal damages³³. The determined gastric wall mucus was used as an indicator for gastric mucus secretion while the mucosal hexosa-mine content was used as an indicator for gastric wall mucus synthesis³⁴. In the present study, the gastric wall mucus and hexosamine contents in HCl/EtOH ulcerated rats were markedly lowered when compared with those of the non-ulcerated group. It was found that pretreatment with propolis significantly increased both gastric mucus and hexosamine contents in HCl/EtOH ulcerated rats. This finding indicated that propolis preserved both gastric mucus synthesis and secretion in the experimental rats.

In conclusion this study provides evidence that propolis obtained from bee farming in Thailand possesses an anti-gastric ulcer effect which is related to a cytoprotective mechanism via preservation of gastric mucus synthesis and secretion.

REFERENCES

1. Wongsiri S, Tangkanasing P, Sylvester HA. Mites, pests and bee keeping with *Apis cerana* and *Apis mellifera* in Thailand. *Am Bee J* 1987; 127(7): 500-503.
2. Osato MS, Reddy SG, Graham DY. Osmotic effect of honey on growth and viability of *Helicobacter pylori*. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 462.
3. Al-Swayeh OA, Ali ATMM. Effect of ablation of capsaicin-sensitive neurons on gastric protection by honey and sucralfate. *Hepatogastroenterology* 1998;45: 297.
4. Carbajal D, Molina V, Valdes S, et al. Anti-ulcer activity of higher primary alcohols of beeswax. *J Pharm Pharmacol* 1997; 47(9): 731-733.
5. Carbajal D, Molina V, Valdes S, et al. Possible cytoprotective mechanism in rats of D-002, an anti-ulcerogenic product isolated from beeswax. *J Pharm Pharmacol* 1997; 48(8): 858-860.
6. Carbajal D, Molina V, Noa M, et al. Effect of D-002 on gastric mucus composition in ethanol-induced ulcer. *Pharmacol Res* 2000; 42(4): 329-332.
7. Noa M, Mas R. Effect of D-002 on the pre-ulcerative phase of carrageenan-induced colonic ulceration in the guinea-pig. *J Pharm Pharmacol* 1998; 50(5): 549-553.
8. Houghton P. Propolis as a medicine, are there scientific reasons for its reputation? In: Munn P, editor. *Beewax & propolis for pleasure and profit*. Cardiff: International Bee Research Association, 1998: 10-15.
9. Ghisalberti EL. Propolis: a review. *Bee World* 1979; 60: 59-84.
10. Maria I, Nieva Moreno, Maria I, et al. Comparison of free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 2000; 71: 109-114.
11. Nieva Moreno MI, Isla MI, Cudmani NG, et al. Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucuman, Argentina) propolis. *J Ethnopharmacol* 1999; 68: 97-102.
12. Mercucci MC, Ferreres F, Garcia-Viguera C, et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol* 2001; 74: 105-112.
13. Djahanguiri B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. *Scand J Gastroenterol* 1966; 265-267.

14. Mizui T, Doteuchi M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *Jpn J Pharmacol* 1988; 33: 939-945.
15. Takagi T, Kasuya Y, Watanabe K. Studies on the drug for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1963; 12: 465-472.
16. Shay H, Komarov SA, Fels SE, et al. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology* 1945; 5: 43-61.
17. Corne SJ, Morrissey SM, Woods RJ, A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. *J Physiol* 1974; 242: 116-117.
18. Glick D. *Methods of biochemical analysis*. Volume 2. USA: Interscience Publication, 1967: 279-335.
19. Tazawa S, Warashina T, Noro T, et al. Studies on the constituents of Brazilian propolis. *Chem Pharm Bull* 1998; 46(9): 1477-1479.
20. Tazawa S, Warashina T, Noro T, Studies on the constituents of Brazilian propolis II. *Chem Pharm Bull* 1999; 47(10): 1388-1392.
21. Vassya SB, Roumen SC, Anastasio DT. Lignans and other constituents of propolis from the Canary Islands. *Phytochemistry* 1998; 49(5): 1411-1415.
22. Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, et al. Cytoprotection by prostaglandins in the rats, prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology* 1979; 77: 433-443.
23. Murakami M, Lam SK, Inada M, et al. Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermic restraint stress in rats. *Gastroenterology* 1985; 88: 660-665.
24. Brunton LL. Agents for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcer. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, et al, editors. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed. New York : Macmillan Puublishing 1996: 901-915.
25. Friedman LS, Peterson WL. Peptic ulcer and related disorders. In: Fanci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, et al, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th ed. New York: McGraw-Hill Companies, 1998: 1597-1610.
26. Sato H, Inada I, Hirata T. et al. Indomethacin produces gastric ulcers in the refed rat. *Gastroenterology* 1981; 81: 719-725.
27. Konturek. SJ, Obtulowiez W, Kwiecieu N, et al. Generation of prostaglandin in gastric mucosa of patients with peptic ulcer disease, effect of non-steroidal anti-inflammatory compounds. *Scand J Gastroenterol* 1948; 19 Suppl 101: 75-77.
28. Yamahara J, Mochizuki M, Fujimura F, et al. The anti-ulcer effect in rats of ginger constituents. *J Ethnopharmacol* 1988; 23: 299-304.
29. Marhuenda E, Martin MJ, Alarcon de la Lastra C. Antiulcerogenic activity of aescine in different experimental models. *Phytother Res* 1993; 7: 13-16.
30. Kitagawa H, Fujiwara M, Osumi Y. Effect of water immersion stress on gastric secretion and mucosal blood flow in rats. *Gastroenterology* 1979; 77: 98-302.
31. Guth PH. Gastric blood flow in restraint stress. *Dig Dis Sci* 1972; 17: 807-813.
32. Koo MWL, Ogle CW, Cho CH. Effect of verapamil, carbenoxolone and N-acetylcysteine on gastric wall mucus and ulceration in stressed rats. *Pharmacology* 1986; 32 : 326-334.
33. Davenport HW. Destruction of the gastric mucosal barrier by detergents and urea. *Gastroenterology* 1968; 54 : 175-180.
34. Lukie BE, Forstner GG. Synthesis of intestinal glycoproteins. Incorporation of [¹⁴C] glucosamine. *Biochim Biophys Acta* 1972; 261 : 353-364.

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสหสาขาวิชาเภสัชวิทยา
(Master of Science Program in Pharmacology)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน่วยงานที่รับผิดชอบ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
 คณะเภสัชศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ และคณะสัตวแพทยศาสตร์

คุณสมบัติของผู้มีสิทธิสมัครเข้าศึกษา

1. สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี ในสาขาวิทยาศาสตร์ทางด้านสุขภาพ ชีวภาพ และเคมี
2. คุณสมบัติอื่นๆ เป็นไปตามประกาศซึ่งบัณฑิตวิทยาลัยจะประกาศให้ทราบเป็นปีๆ ไป หรือคณะกรรมการบริหารหลักสูตรพิจารณาแล้วเห็นสมควรให้มีสิทธิสมัครเข้าศึกษาได้

การรับสมัคร เริ่มขายใบสมัครตั้งแต่ เดือน ตุลาคม-พฤศจิกายน

การสอบคัดเลือก ข้อเขียน ภาษาอังกฤษ และความถนัดในเชิงวิเคราะห์
 สอบสัมภาษณ์

สนใจติดต่อสอบถามที่ รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ ภาควิชาเภสัชวิทยา
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ ☎ 02-2189732 รศ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา
 ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ☎ 02-2564481 และ บัณฑิตวิทยาลัย
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ☎ 02-2183501-3506

CYTOCHROME B-5 REDUCTASE ACTIVITY AND METHEMOGLOBINEMIA IN HUMAN RED BLOOD CELLS OF THAI PATIENTS RECEIVING NITROGLYCERIN

Supatra Srichairat¹, Vanida Rujirasereechai², Vanee Taweessup³

¹ Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Science, ² Inter-Department of Pharmacology, Graduate School, ³ Department of Pharmacology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

ABSTRACT

Nitroglycerin and other organic nitrates have been used routinely in the treatment of angina pectoris and congestive heart failure. Clinical significant methemoglobinemia during administration of organic nitrates, including intravenous nitroglycerin, has been occasionally reported as a serious complication. In normal individuals, methemoglobin in red blood cell is maintained at a very low level (<1%). It is immediately reduced by cytochrome b₅ reductase to the normal hemoglobin moiety. Since acquired methemoglobinemia is not only resulted from exposure to a variety of oxidizing agents but also related to cytochrome b₅ reductase deficiency, the present study was aimed to investigate the relationship of cytochrome b₅ reductase activity and methemoglobinemia. 114 normal blood samples from male and female healthy volunteers of 20–65 years old were used as control group and 40 blood samples of patients receiving 24,000–104,000 µg (0.5–3.0 µg/kg/min) intravenous nitroglycerin were collected. The concentrations of methemoglobin in 57 men and 57 women healthy volunteers were 0.05 ± 0.02 and 0.08 ± 0.02 % of total hemoglobin (mean $\pm$ SE) respectively. The cytochrome b₅ reductase activity in male was lower ($p < 0.05$) than female. No severe methemoglobinemia was found in these patients. However, the methemoglobin concentration and cytochrome b₅ activity in the treatment group were significantly higher ($P < 0.05$) than the normal group. Our results showed that methemoglobin content of erythrocyte was independent on the activity of cytochrome b₅ reductase. It was found that intravenous nitroglycerin administration in the total doses of 24,000–104,000 µg produced not only slight increase of methemoglobin content but also the significant increase of their cytochrome b₅ reductase activity. However, the increased methemoglobin levels of these patients were found to be within an acceptable level of normal condition. In conclusion, clinically significant methemoglobinemia was uncommon with low doses of intravenous nitroglycerin administration. In addition, the correlation between cytochrome b₅ reductase activity and nitroglycerin administration should be further investigated.

Key words : methemoglobin, nitroglycerin, cytochrome b₅ reductase

สมรรถนะของเอนไซม์ไซโตโครมบี 5 รีดักเตสและภาวะเมทฮีโมโกลบินสูงในเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยไทยที่ได้รับไนโตรกลีเซอริน

สุพัตรา ศรีไชยรัตน์¹, วณิดา รุจิรเสรีไชย², วณิ หวีทรัพย์³

¹ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์, ²สหสาขาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, ³ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังค์ กทม. 10330

บทคัดย่อ

ไนโตรกลีเซอรินและสารประกอบอินทรีย์ในเตรทเป็นยาที่ใช้รักษาอาการปวดเค้นหน้าอกและสภาวะหัวใจล้มเหลว สภาวะเมทฮีโมโกลบินในเลือดสูงเป็นฤทธิ์ไม่พึงประสงค์อย่างรุนแรงที่เกิดขึ้นจากยาในกลุ่มนี้รวมทั้งการให้ไนโตรกลีเซอรินทางหลอดเลือดดำ ในคนปกติระดับเมทฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงมีอยู่ในระดับที่ต่ำมากคือน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเอนไซม์ไซโตโครมบี 5 รีดักเตสทำหน้าที่รีดิวส์เมทฮีโมโกลบินในเลือดให้กลับไปเป็นฮีโมโกลบิน เนื่องจากสภาวะเมทฮีโมโกลบินในเลือดที่สูงขึ้นไม่ได้เกิดจากการสัมผัสกับสารที่เกิดออกซิเดชันได้ง่ายเท่านั้น แต่ยังสัมพันธ์กับการขาดเอนไซม์ไซโตโครมบี 5 รีดักเตสอีกด้วย การศึกษาครั้งนี้จึงต้องการตรวจหาความสัมพันธ์ของสมรรถนะเอนไซม์ไซโตโครมบี 5 รีดักเตสและสภาวะเมทฮีโมโกลบินสูงในเลือด กลุ่มควบคุมเป็นตัวอย่างเลือดจำนวน 114 ตัวอย่าง ที่ได้จากผู้บริจาคเลือดที่มีสุขภาพดีทั้งหญิงและชาย อายุ 20-65 ปี และตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยไนโตรกลีเซอรินทางหลอดเลือดดำในขนาด 24,000-104,000 ไมโครกรัม (0.5-3.0 ไมโครกรัม/กก./นาที) ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของความเข้มข้นของเมทฮีโมโกลบินในชายและหญิงสุขภาพดีเป็น 0.05 ± 0.02 และ 0.08 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณฮีโมโกลบินทั้งหมดตามลำดับ สมรรถนะของไซโตโครมบี 5 รีดักเตสในเพศชายมีค่าต่ำกว่าเพศหญิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ไม่พบการเกิดภาวะเมทฮีโมโกลบินในเลือดสูงอย่างรุนแรงในผู้ป่วย อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของเมทฮีโมโกลบินและสมรรถนะของไซโตโครมบี 5 รีดักเตสในกลุ่มที่ได้รับยาสูงกว่ากลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ปริมาณเมทฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงไม่ได้ขึ้นกับสมรรถนะของเอนไซม์ไซโตโครมบี 5 รีดักเตส พบว่าการให้ยาไนโตรกลีเซอรินทางหลอดเลือดดำในขนาดรวม 24,000-104,000 ไมโครกรัม ทำให้เมทฮีโมโกลบินเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่มีผลทำให้สมรรถนะของเอนไซม์บี 5 รีดักเตสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และค่าเมทฮีโมโกลบินที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยเหล่านี้ยังอยู่ในระดับที่เป็นปกติ โดยสรุปภาวะเมทฮีโมโกลบินในเลือดที่มีความสำคัญทางคลินิกไม่ค่อยเกิดขึ้นเมื่อได้รับไนโตรกลีเซอรินในขนาดต่ำๆ อย่างไรก็ตามก็ควรศึกษาต่อไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มขึ้นของสมรรถนะของเอนไซม์ไซโตโครมบี 5 รีดักเตสกับการได้รับไนโตรกลีเซอริน

คำสำคัญ : เมทฮีโมโกลบิน, ไนโตรกลีเซอริน, ไซโตโครมบี 5 รีดักเตส

INTRODUCTION

Methemoglobinemia is a clinical condition characterized by cyanosis resulting from decreased oxygen transport. Methemoglobinemia may be inherited (e.g., abnormal hemoglobin or deficiency in methemoglobin reductase activity) or acquired. Acquired methemoglobinemia can result from exposure to certain drugs and chemicals such as nitrates and other direct oxidants, local anesthetics, aniline dyes and sulfonamides¹. Organic nitrates such as nitroglycerin are often given intravenously at the onset of acute myocardial infarction. It is also very effective in the management of pain in patients with unstable angina. Nitrates caused venodilation and relief coronary vasoconstriction to ameliorate anginal attacks². Besides common adverse effects of nitroglycerin, including headache and hypotension, clinical significant methemoglobinemia caused by denitration of nitroglycerin has been occasionally reported as a serious complication of intravenous nitroglycerin (NTG)³⁻⁵. In human erythrocytes, methemoglobin is reduced to oxyhemoglobin both by enzymatic and non-enzymatic systems. Under physiological conditions, methemoglobin reduction is accomplished mainly by red cell NADH-cytochrome b5 reductase. In hereditary cytochrome b5 deficiency and exposure to large amounts of oxidants, methemoglobinemia is postulated to be a potential adverse clinical consequence. This study was aimed to examine a possible correlation between the cytochrome b5 reductase in red blood cell activity and methemoglobin level in blood.

MATERIALS AND METHODS

Apparatus

UV-visible recording spectrophotometer (UV-1600A, Shimadzu) and high speed centrifuge (IE CB-22M) were used.

Reagents

NADH was purchased from Sigma Chemical Company. Dry diethyl-aminoethyl-cellulose (DEAE, DE-52) was purchased from Whatman. Drabkin's solution was obtained from Life Science Dynamics Division of Arnaparn Co., Ltd. Other chemicals were analytical grade and obtained commercially.

Specimens

Control group: Blood samples of 100 healthy blood donors, 50 males and 50

females obtained from the Thai Red Cross Society, Bangkok, were used as normal control subjects. The age range was 20 to 65 years.

Sample group: Blood was withdrawn from 30 patients admitted to the Coronary Critical Care Unit of Chulalongkorn Hospital who were treated with i.v. NTG. Inform consent was obtained from each patient. The age range was 50 to 65 years. 15 were males and 15 were females. NTG in concentration of either 100 or 400 µg/ml was infused continuously. The infusion rate was started at 5-10 µg/min and increased as tolerated to 25-50 µg/min. The total doses of NTG were between 24,000-104,000 µg.

Approximately 3 ml whole blood was freshly collected in a plastic tube with EDTA as anticoagulant and placed on ice for immediate transport to the laboratory, where it was analyzed at once for methemoglobin content and within 12 hours for cytochrome b5 reductase activity.

Assay of methemoglobin in blood

Methemoglobin content was measured by micromethod described by Hegesh et al.⁶.

Assay of NADH-cytochrome b5 reductase activity

NADH-cytochrome b5 reductase activity of erythrocytes was determined according to the method of Hegesh et al.⁷. The enzyme activity was measured in a reaction mixture which contained 20 µl of 0.25 M EDTA (pH 7), 100 µl of 0.05 M citrate buffer (pH 4.7), 3 ml of 0.5 mM potassium ferricyanide, 2 ml of 0.18 mM hemoglobin substrate (free from cytochrome b5 reductase), 3.48 ml distilled water and 10 µl of blood sample. Mixed and centrifuged the solution at 1500 x g for 5 minutes. 950 µl of hemolysate was pipetted in a cuvette having 1 cm light path and 50 µl of NADH was added and mixed. The reference cuvette contained the same constituents except NADH. The mixture was measured for increasing rate of absorbance at 575 nm.

Statistical analysis

Results are expressed as mean ± standard error of the mean. Unpaired Student t-test was used to compare groups. Correlation between methemoglobin content and cytochrome b5 reductase activity in normal and treated groups were determined. P value < 0.05 was considered significant.

RESULTS

There were age and sex variations of methemoglobin levels in normal erythrocytes. As shown in Table 1, there were significant difference between age groups and sexes. The average values $\pm$ one standard error of mean of methemoglobin contents of male and female were found to be $0.09 \pm 0.02\%$ and $0.08 \pm 0.02\%$ respectively. Methemoglobin levels in both sexes ranged from 0 to 0.40%. The highest contents of methemoglobin in both sexes were in the age group of 41-50 years.

Results of cytochrome b_5 reductase activities in male and female are shown in Table 2. The mean values $\pm$ standard error of mean of cytochrome b_5 reductase of male and

female were found to be 3.12 ± 0.05 and 3.32 ± 0.05 respectively.

Table 3 shows the levels of methemoglobin and cytochrome b_5 reductase activity of normal subjects and treated patients. Significant increases of methemoglobin level and cytochrome b_5 reductase activity in treated group were observed. When compared with the normal group with the same age of patients (> 50 years old), nitroglycerin produced significant increase in the amount of methemoglobin content and cytochrome b_5 reductase activity.

No correlation between methemoglobin level and cytochrome b_5 reductase activity was found in both normal group ($r = 0.5$) and treated group ($r = 0.25$).

Table 1. Methemoglobin content in normal volunteers.

Group	Sex Age (years)	N	Methemoglobin content (%)		Comparison	P value
			Range	Mean $\pm$ SE		
A	Male : 20-30	15	0	0	A vs B A vs C A vs D	<0.05 <0.05 <0.05
B	31-40	15	0-0.31	0.04 ± 0.03	B vs C B vs D	<0.05 <0.05
C	41-50	15	0-0.33	0.09 ± 0.04	-	-
D	50 ⁺	12	0-0.38	0.09 ± 0.05	-	-
E	TOTAL	57	0-0.38	0.09 ± 0.02	E vs J	<0.05
F	Female : 20-30	15	0	0	F vs G F vs H F vs I	<0.05 <0.05 <0.05
G	31-40	15	0-0.39	0.09 ± 0.04	G vs I	<0.05
H	41-50	15	0-0.39	0.11 ± 0.04	H vs I	<0.05
I	50 ⁺	12	0-0.40	0.06 ± 0.04	-	-
J	TOTAL	57	0-0.40	0.08 ± 0.02	E vs J	<0.05

Table 2. Cytochrome b_5 reductase activities in normal volunteers.

Group	Sex Age (years)	N	Cytochrome b_5 reductase activity		Comparison	P value
			Range	Mean $\pm$ SE		
A	Male : 20-30	15	2.79-3.46	3.05 ± 0.06	A vs B A vs C A vs D	<0.05 <0.05 <0.05
B	31-40	15	2.76-3.94	3.11 ± 0.09	B vs S	<0.05
C	41-50	15	2.76-4.20	3.09 ± 0.11	C vs D	<0.05
D	50 ⁺	12	2.76-2.73	3.26 ± 0.18	-	-
E	TOTAL	57	2.73-4.20	3.12 ± 0.05	E vs J	<0.05
F	Female : 20-30	15	2.82-3.83	3.35 ± 0.09	F vs G F vs H F vs I	<0.05 <0.05 <0.05
G	31-40	15	2.78-4.26	3.29 ± 0.09	G vs H G vs I	<0.05 <0.05
H	41-50	15	2.89-3.87	3.51 ± 0.11	H vs I	<0.05
I	50 ⁺	12	2.78-3.64	3.11 ± 0.07	-	-
J	TOTAL	57	2.78-4.26	3.32 ± 0.05	E vs J	<0.05

Table 3. Comparison of methemoglobin level and cytochrome b₅ reductase in erythrocytes between normal subjects and patients receiving nitroglycerin.

Group	N	Methemoglobin content (%)	Cytochrome b ₅ reductase activity (unit/min/g of hemoglobin)
		Mean ± SE	Mean ± SE
Normal	114	0.09 ± 0.01	3.22 ± 0.04
Normal (50-60)	25	0.09 ± 0.03	3.17 ± 0.06
Patients	40	0.10 ± 0.03*	3.34 ± 0.06

* P<0.05

DISCUSSION

Methemoglobinemia is a clinical condition in which more than 1% of hemoglobin is oxidized to methemoglobin¹. Methemoglobinemia may be inherited or acquired. The autosomal recessive condition results from an absence of cytochrome b₅ reductase that normally converts methemoglobin back to normal hemoglobin thereby leading to an increase in methemoglobin. Acquired methemoglobinemia is the most common form of methemoglobinemia and follows exposure to drugs or toxins. It is usually mild and poses no major clinical problems. Occasionally, however, it may be severe or even fatal¹. The lethal level of methemoglobin in human is above 70%⁸.

Clinical significant elevation of methemoglobin level has been reported with the administration of nitroglycerin^{3,5,9-13}. The results from our study showed that the usual dose of i.v. NTG caused no clinical significant methemoglobinemia. None of the patients had methemoglobin level more than 1%. Thus,

intravenous NTG administration in the total doses of 24,000-104,000 µg produced no clinical significant methemoglobinemia.

It has been previously reported that variation of cytochrome b₅ reductase activity is an age and sex dependent¹⁴⁻¹⁶. Our results was correlated well with the study of Moore et al.¹⁶ which found a significant difference in erythrocyte enzyme activity between 270 Jewish males and 285 Jewish females ranging in age from 12 to 77 years. However, these methemoglobin levels were weakly correlated positively with the activity of cytochrome b₅ reductase in the treated group. In contrast to the study in patients with hereditary methemoglobinemia of Matsuki et al. (1981)¹⁷, cytochrome b₅ reductase activities in NTG-treated patients were significantly increased. The same incidence of increasing cytochrome b₅ reductase activity has also been reported recently in population exposed to high nitrate concentration in drinking water¹⁸. In view of these considerations, a possibility of adaptation of cytochrome b₅ reductase activity is suggested to be a regulatory mechanism.

REFERENCES

1. Mansouri A, Lurie AA. Concise review: methemoglobinemia. *Am J Hematol* 1993; 42:7-12.
2. Thadani U, Opie LH. Nitrates. In: Opie LH, editor. *Drug for the Heart*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995:40-42.
3. Saxon SA, Silverman ME. Effects of continuous infusion of intravenous nitroglycerin on Methemoglobin levels. *Am J Cardiol* 1985;56:461-464.
4. Kaplan KJ, Taber M, Russell J, et al. Association of methemoglobinemia and intravenous nitroglycerin administration. *Am J Cardiol* 1985;55:181-183.
5. Robicsek F. Brief communication: acute methemoglobinemia during cardiopulmonary bypass caused by intravenous nitroglycerin infusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985;90(6):931-934.
6. Hegesh E, Gruener N, Cohen S, et al. A sensitive micromethod for the determination of methemoglobin in blood. *Clin Chim Acta* 1970; 30:679-82.
7. Hegesh E, Calmanovici N, Avron M. New method for determining ferrihemoglobin

- reductase (NADH-methemoglobin reductase) in erythrocytes. *J Lab Clin Med* 1968;72:339-344.
8. Curry S. Methemoglobinemia. *Ann Emerg Med* 1982; 11:214-221.
 9. Needleman P. Organic nitrate metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1976; 16:81-93.
 10. Stetson JB. Intravenous nitroglycerin: a review. *Int Anesthesiol Clin* 1978; 16:261-298.
 11. Gibson GR, Hunter JB, Raabe DS Jr, et al. Methemoglobinemia produced by high-dose intravenous nitroglycerin. *Ann Intern Med* 1982;96:615-616.
 12. Marshall JB, Ecklund RE. Methemoglobinemia from overdose of nitroglycerin. *JAMA* 1980;244-246.
 13. Fibuch EE, Cecil WT, Reed WA. Methemoglobinemia associated with organic nitrate therapy. *Anesth Analg* 1979; 58:521-523.
 14. Vetrella M, Astedt B, Barthelmai W, Neuvian D. Activity of NADH- and NADPH-dependent methemoglobin reductase in erythrocytes from fetal to adult age. *Klin Wschr* 1971;49:972-977.
 15. Panin G, Pernechele M, Giurioli R, et al. Cytochrome b5 reductase activity in erythrocytes and leukocytes as related to sex and age. *Clin Chem* 1984; 30(5): 701-703.
 16. Moore MR, Conrad ME, Bradley EL Jr, Prchal JT. Studies of nicotinamide adenine dinucleotide methemoglobin reductase activity in a Jewish population. *Am J Hematol* 1982; 12:13-18.
 17. Matsuki T, Tamura M, Takeshita M, Yoneyama Y. Age-dependent decay of cytochrome b₅ and cytochrome b₅ reductase in human erythrocytes. *Biochem J* 1981;194:327-330.
 18. Gupta SK, Gupta RC, Seth AK, et al. Epidemiological evaluation of recurrent stomatitis, nitrates in drinking water, and cytochrome b₅ reductase activity. *Am J Gastroenterol* 1999; 94 (7): 1808-1812.

REVIEWS

CAFFEINE : AN ADULTERANT IN ILLICIT METHAMPHETAMINE

Veeravan Lekskulchai

*Department of Pathology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University,
Bangkok 10110, Thailand.*

ABSTRACT

Caffeine has some central nervous system (CNS) stimulating effects similar to methamphetamine. It is often found in methamphetamine as a main adulterant. Caffeine deprivation can cause withdrawal syndromes in habitual caffeine consumers, which contributes to maintenance of caffeine consumption. However, tolerance to its effects has not been reported. Caffeine could not be classified as a substance of abuse under the standard DSM criteria. However, it is listed as a doping substance because of its misusing in athletes for improving endurance. Ephedrine is the other main adulterant often found in street amphetamine and methamphetamine. It could be the left over precursor during methamphetamine synthesis. Unlike ephedrine, caffeine is not a precursor for methamphetamine synthesis. Caffeine found in methamphetamine, thus, comes from intentionally adding during the process of synthesis or packing in order to cut the cost.

Key words : caffeine, stimulating effects, adulterant

แอฟเฟอีน : สารปนปลอมในยาบ้า

วีรวรรณ เล็กสกุลไชย

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กทม. 10110

บทคัดย่อ

แอฟเฟอีนมีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางบางอย่างคล้ายยาบ้า และถูกพบเป็นสารปนปลอมหลักในยาบ้าบอย ผู้ที่ติ้มแอฟเฟอีนเป็นประจำอาจแสดงอาการอยากแอฟเฟอีนเมื่อไม่ได้ติ้ม แต่ภาวะทนต่อฤทธิ์แอฟเฟอีน (ความต้องการปริมาณแอฟเฟอีนเพิ่มขึ้นเพื่อให้ได้รับผลเท่าเดิม) ยังไม่เคยมีรายงานถึง คาเฟอีนไม่สามารถถูกจัดเป็นสารเสพติดภายใต้เกณฑ์มาตรฐานของ DSM อย่างไรก็ดี ผลจากการใช้อย่างไม่เหมาะสมในกลุ่มนักกีฬาเพื่อเพิ่มความอดทนของร่างกาย ทำให้แอฟเฟอีนถูกกำหนดเป็นสารต้องห้ามในกลุ่มนักกีฬา Ephedrine เป็นอีกสารหนึ่งที่พบปนปลอมอยู่ในยาบ้า ซึ่งอาจมาจากการแปลง ephedrine เป็นยาบ้าในกระบวนการผลิตที่เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ ทำให้มี ephedrine ตกค้างอยู่ในยาบ้า แอฟเฟอีนไม่ใช่สารตั้งต้นในการผลิตยาบ้า ดังนั้น แอฟเฟอีนที่พบในยาบ้ามาจากการจงใจเติมเข้าไปในระหว่างที่ผลิตหรือระหว่างอัดเม็ดยา เพื่อลดต้นทุนการผลิต

คำสำคัญ : แอฟเฟอีน, สารกระตุ้นประสาทส่วนกลาง, สารปนปลอม

INTRODUCTION

Caffeine or 1,3,7-trimethylxanthine (figure 1) is a purine alkaloid occurring naturally in coffee and cocoa beans, kola nuts and tea leaves. It is the most widely used psychoactive substance in the world. In western society, at least 80 percent of the adult population daily consume large amounts of caffeine¹. It is widely consumed as stimulants and snacks in coffee and cocoa based foods and most often as part of ingredients in drugs. Caffeine content in these products varies according to the species of the plant. For example, an average cup of coffee or tea contains 40-100 mg of caffeine. Cola drink (12 oz.) contains 35-55 mg of caffeine. A bar of chocolate contains up to 25 mg of caffeine per 30 g, and 32-200 mg of caffeine can be found in analgesic mixtures^{2,3}.

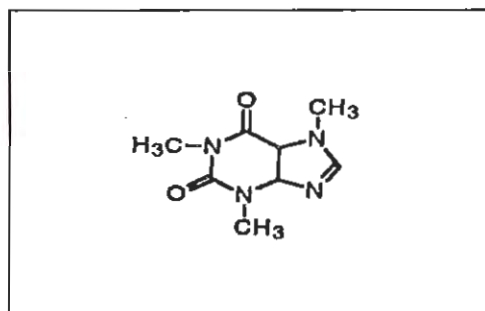


Figure 1. Structure of caffeine²

EFFECTS OF CAFFEINE

Consumption of tea and caffeinated beverages is associated with transient improvement in performance, rapid increase in information processing capacity and significant prevention of the steady decline in alertness and cognitive capacity⁴ as well as increased rating of energetic and lively⁵. In addition, caffeine can effectively reduce early morning driver sleepiness⁶ and can improve long-term memory⁷. For the psychological effect, caffeine increases arousal, but does not affect any emotion dimensions related to feeling of pleasure, or the other word, it does not induce euphoria⁸. It relaxes smooth muscle, stimulates cardiac muscle, and acts on the kidney as a diuretic. In the gastrointestinal tract, caffeine reduces mid-esophageal pressure and increases intestinal glucose absorption⁹. Caffeine increases oxygen uptake and energy expenditure rate but does not change

respiratory exchange ratio. Systolic, diastolic, and mean arterial blood pressures are mildly elevated following caffeine intake¹⁰. The mechanism of the improvement of endurance performance by caffeine is still unknown. Caffeine ingestion is associated with an increased plasma epinephrine and cortisol levels, which might contribute to its benefit on exercise endurance¹¹.

TOXICITY OF CAFFEINE

There are many children suffered from headache as a result of serious lack of sleep due to the use of coffee and cola drinks¹². In one report, caffeine intake is significantly related to self-reported parasomnias (abnormal sleeping pattern) in children¹³. Ingestion of a single oral dose of caffeine at the typical consumptive level (3 mg caffeine/kg body weight) significantly increases whole-arm physiological tremor in young adult¹⁴. High doses (> 3mg/kg) of caffeine in person who previously consumed little caffeine produce negative subjective effects such as nervousness, jitteriness, stomachache, and nausea¹⁵. Toxic manifestations in an overdose case include sweating, tachycardia, cardiac failure, pulmonary oedema, gastric dilatation, metabolic disturbances (metabolic acidosis, hyperglycaemia and creatine kinase elevation), hypertonia, and convulsion¹⁶. Caffeine increases gastric acid secretion, thus, patients with active peptic ulcer should restrict their intake¹⁷. The pressor effect (increasing blood pressure) of caffeine should be aware in patients with hypertension especially in elderly since increasing age is associated with increasing sensitivity to the pressor effects of caffeine^{18,19}. Fatal caffeine poisoning is a relatively rare event but several instances have been recorded, usually after accidental or intentional ingestion of very large amounts (>3 g)². Caffeine is now known to cross the placenta thus potentially could induce fetal malformation by affecting the expression of genes vital in development.

CAFFEINE TOLERANCE AND DEPENDENCY

Caffeine deprivation is associated with impaired vigilance performance, increased response time, decreased vigor, increased fatigue and headache, and reduced ability to work. This physical dependence occurs even under modest conditions, i.e., fewer doses per day, lower daily dose, shorter

duration of exposure. In habitual caffeine consumers, short periods of caffeine deprivation, equivalent in length to skipping regular morning coffee, produce deficits in sustained attention and noticeable unpleasant caffeine-withdrawal symptoms. Chronic caffeine user shows significant increases in typical withdrawal symptoms (e.g. sleepiness, fatigue, and mood disturbance) after stop receiving caffeine. Cessation of daily caffeine consumption significantly increases cerebral blood flow velocity leading to withdrawal symptoms of headache, drowsiness, and decreased alertness²⁰⁻²³. Chronic caffeine consumers will seek for caffeine twice as often than subjects who do not daily consume caffeine²⁴. One of the significant factors motivating caffeine consumption appears to be "withdrawal relief"²⁵.

Not everyone who consumes caffeine-containing products shows signs of caffeine dependence and tolerance. In one survey, only 11% of the caffeine consumers reported symptoms upon stopping caffeine. Among the regular caffeine users, only 0.9% of males and 5.5% of females reported symptoms significant enough to interfere with normal activities when they abruptly stopped caffeine. When participants were unaware of the caffeine-withdrawal, both the frequency and severity of caffeine-withdrawal symptoms were very low. Therefore, clinically significant symptoms of caffeine dependence seem to be uncommon events among the general population²⁶. It appears that the effects of tea and coffee are not entirely due to caffeine *per se*; other factors either intrinsic to the beverage (e.g. sensory attributes or the presence of other biologically active substances) or of a psychological nature (e.g. expectancy) are likely to play a significant role in tea and/or caffeine preferences⁴.

After sudden caffeine cessation, withdrawal symptoms develop only in a small portion of the population but are moderate and transient. Tolerance to some subjective effects of caffeine might occur, but most of the time complete tolerance to many effects of caffeine on the central nervous system does not occur. The reinforcing stimuli functions of caffeine are limited to low or rather moderate doses while high doses are usually avoided. The classical drugs of abuse lead to quite specific increase in cerebral functional activity and dopamine release in the shell of the nucleus accumbens, the key structure for reward, motivation and addiction. However, the caffeine doses that reflect daily human

consumption do not induce a release of dopamine in the shell of the nucleus accumbens but lead to a release of dopamine in the prefrontal cortex, which is consistent with caffeine reinforcing properties. Moreover, caffeine increases glucose utilization in the shell of the nucleus accumbens only at rather high doses that stimulate most brain structures, non-specifically, and likely reflect the side effects linked to high caffeine ingestion. That dose is also 5-10 folds higher than the one necessary to stimulate the caudate nucleus, which mediates motor activity, and the structures regulating sleep-wake cycle, the two functions most sensitive to caffeine²⁷. When criteria for drug/substance abuse "DSM-criteria" are applied for caffeine, which include strong desire or unsuccessful attempt to stop use, spending a great deal of time with the drug, using more than intended, occurring of withdrawal symptoms, using despite knowledge of harm, occurring of tolerance and foregoing activities to use; only 7% of users meet these criteria for caffeine intoxication, and among those who have tried to stop caffeine permanently, 24% meet these research criteria for caffeine withdrawal²⁸.

Caffeine has weak reinforcing properties, but with little or no evidence for upward dose adjustment (tolerance), possibly because of the adverse effects of higher doses. Caffeine taken in excess, dependent on the doses, can cause flushing or chills, irritability, loss of appetite, weakness, tremor, tachycardia, vomiting, fever, convulsions, cardiac arrhythmias, coma, and death². The caffeine withdrawal symptoms and its positive reinforcement effect are not pronounced as those associated with cocaine and amphetamine, nor does caffeine use appear to pose any threat to the individual or to society. There is thus no need to add diagnosis "caffeine dependence" to the psychiatric manuals¹.

COMBINATION OF CAFFEINE WITH OTHER DRUGS

Caffeine is found to be an effective analgesic adjuvant because it increases the anti-nociceptive (pain relief) effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) while reducing the probability of side effects²⁹. The co-formulation of caffeine with acetylsalicylic acid (aspirin) and acetaminophen (paracetamol) has a significant adjuvant effect and increases analgesic efficacy 1.4-1.6 folds without increasing the

nephrotoxic risk. In addition, there is no evidence to suggest that adding caffeine to analgesic mixtures could enhance the potential for promoting analgesic misuse in the general population³⁰.

Combination of caffeine and l-ephedrine currently is misused in athletes since it has an ergogenic effect (increasing wakefulness and endurance) on high intensity aerobic exercise performance³¹. Ephedrine, a structural analog of methamphetamine, has stimulating effects generalized to other central stimulants. The stimulus effects of l-ephedrine share some amphetaminergic commonality, but not identical³². Using rats trained to discriminate 1 mg/kg of d-amphetamine (ED₅₀ = 0.4 mg/kg) from saline vehicle in a two-lever drug discrimination procedure, it is shown that l-ephedrine (ED₅₀ = 4.5 mg/kg) could substitute for the amphetamine stimulus. In this study, caffeine (ED₅₀ = 12.9 mg/kg) also shows to be able to substitute for d-amphetamine in a dose-related fashion. Doses of l-ephedrine and caffeine, which produced <1% drug-appropriate responding when administered alone, are able to enhance each other's stimulus effects when administered in combination such that there is a two folds leftward shift in their respective dose-response curves. It appears that low doses of l-ephedrine and caffeine mutually potentiate one another's stimulus effects in amphetamine-trained rats³³. A case of cardiotoxicity, i.e., severe hypertension and ventricular dysrhythmias of this combination; however, has been reported, which can lead to serious morbidity and mortality if not adequately treated³⁴. Ephedrine and caffeine are thus on the list of doping substances of International Olympic Committee (IOC), in order to protect the health

of athletes, prevent unfair advantage (cheating) and encourage ethical behavior. Positive athletic caffeine testing is defined at the concentration in urine exceeding 12 µg/ml³⁵.

METHAMPHETAMINE SYNTHESIS

In the past decades, methamphetamine was synthesized in the clandestine laboratories via the reactive amination of phenyl-2-propanone (P-2-P)³⁶ (figure 2). After 1980's, when P-2-P became a controlled substance, synthesis of methamphetamine has changed to the conversion of ephedrine by reductive cleavage of the hydroxyl group using either thionyl chloride (SOCl₂) or hydriodic acid (HI) and red phosphorus³⁷ (figure 3). Before 1994, ephedrine was primarily used as decongestant and was found in over-the-counter cold and allergy medications in combination with antihistamines and analgesics. Now it is listed as a controlled substance and no longer found in over-the-counter drugs. The tightening of ephedrine controls is predicted to soon shift the pendulum back to the older method of synthesis, using P-2-P as a precursor, since the chemical operations required are less sophisticated³⁶⁻³⁸. Ephedrine is found naturally in various plants of the *Ephedra* genus, known in Chinese name "Ma Huang". It is used in a traditional Chinese medicine. The active ingredient in this plant, l-ephedrine, is also a precursor for methamphetamine synthesis. Because of the difficulty in obtaining ephedrine, Ephedra plant is currently found in clandestine laboratory for methamphetamine synthesis and seems to be a new precursor for methamphetamine synthesis³⁹.

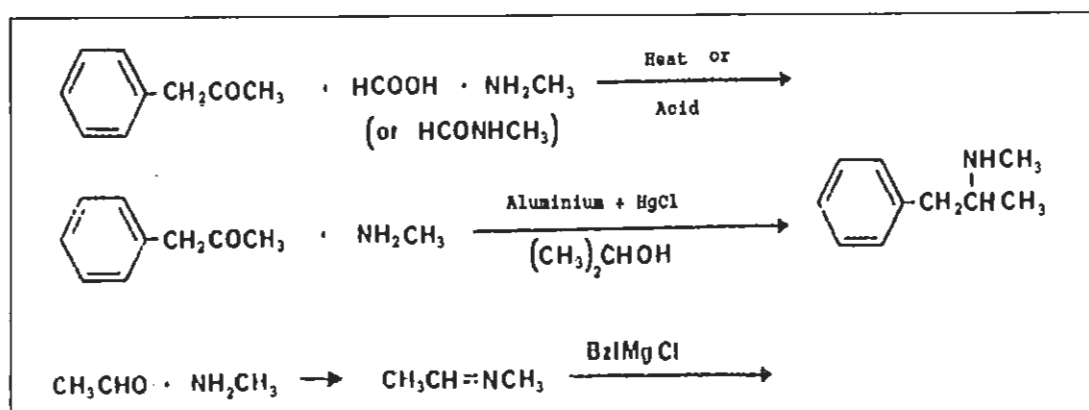


Figure 2. Synthesis of methamphetamine via reductive amination of P-2-P

The illegal synthesis of methamphetamine in clandestine laboratory is usually done by "basement-chemists" with poor quality management. There are possible various kinds of adulterants either unintentionally or intentionally added^{40,41}. Caffeine is found in street methamphetamine as a cost cutting agent^{42,43}. One survey found that street amphetamine and methamphetamine contained neither amphetamine nor methamphetamine. These samples contained weaker stimulants such as ephedrine and/or caffeine. Most of the samples were found to contain amphetamine or methamphetamine and other drugs, particularly ephedrine and caffeine⁴⁴. In Thailand, Palanuvej and colleagues⁴⁵ reported that 74% of street methamphetamine contained

methamphetamine and caffeine; about 13% contained methamphetamine, caffeine, and ephedrine; and 4% contained ephedrine and caffeine without methamphetamine. By structural point of view, caffeine found in the street methamphetamine is the result of adding during the process, in order to cut the cost and to avoid using controlled substance while maintaining stimulating effects although weaker than those of amphetamine. For ephedrine, it might be added into methamphetamine for the same results as that caffeine is added. In addition, it might be the left over precursor since ephedrine is a precursor for current method of methamphetamine synthesis in street market, with non-standardized, poor quality and management.

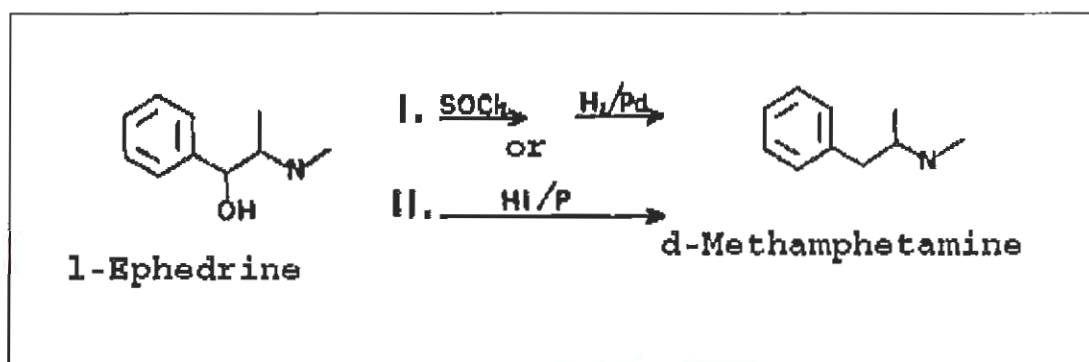


Figure 3. Synthesis of d-methamphetamine via the conversion of l-ephedrine

REFERENCES

1. Daly JW, Fredholm BB. Caffeine-an atypical drug of dependence. *Drug Alcohol Depend* 1998; 51: 199-206.
2. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 4th ed. California. Chemical Toxicology Institute, 1995; 108-110.
3. Eteng MU, Eyong EU, Akpanyung EO, et al. Recent advances in caffeine and theobromine toxicities: a review. *Plant Foods Hum Nutr* 1997; 51: 231-243.
4. Hindmarch I, Quinlan PT, Moore KL, et al. The effects of black tea and other beverages on aspects of cognition and psychomotor performance. *Psychopharmacology* 1998; 139: 230-238.
5. Yeomans MR, Spetch H, Rogers PJ. Conditioned flavour preference negatively reinforced by caffeine in human volunteers. *Psychopharmacology* 1998; 137: 401-409.
6. Reyner LA, Horne JA. Early morning driver sleepiness: effectiveness of 200 mg caffeine. *Psychophysiology* 2000; 37: 251-256.
7. Hogervorst E, Riedel WJ, Kovacs E, et al. Caffeine improves cognitive performance after strenuous physical exercise. *Int J Sports Med* 1999; 20: 354-361.
8. Herz RS. Caffeine effects on mood and memory. *Behav Res Ther* 1999; 37: 869-879.
9. Van Nieuwenhoven MA, Brummer RM, Brouns F. Gastrointestinal function during exercise: comparison of water, sports drink, and sports drink with caffeine. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1079-1085.
10. Engels HJ, Wirth JC, Celik S, et al. Influence of caffeine on metabolic and cardiovascular functions during sustained

- light intensity cycling and at rest. *Int J Sport Nutr* 1999; 9: 361-370.
11. Laurent D, Schneider KE, Prusaczyk WK, et al. Effects of caffeine on muscle glycogen utilization and the neuroendocrine axis during exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2170-2175.
12. Feikema WJ. Headache and chronic sleep deprivation: an often missed relationship in children and also in adults. *Ned Tijdschr Geneesk* 1999; 143: 1897-1900.
13. Lee KA, McEnany G, Weekes D. Gender differences in sleep patterns for early adolescents. *J Adolesc Health* 1999; 24: 16-20.
14. Miller LS, Lombardo TW, Fowler SC. Caffeine, but not time of day, increases whole-arm physiological tremor in non-smoking moderate users. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1998; 25: 131-133.
15. Hughes JR, Hale KL. Behavioral effects of caffeine and other methylxanthines on children. *Exp Clin Psychopharmacol* 1998; 6: 87-95.
16. Anderson BJ, Gunn TR, Holford NH, Johnson R. Caffeine overdose in a premature infant: clinical course and pharmacokinetics. *Anaesth Intensive Care* 1999; 27: 307-311.
17. Serafin WE. Drugs used in the treatment of asthma. In: Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. Edited by Molinoff PB, Ruddon RW. New York: McGraw-Hill, 1996; 659-682.
18. Hartley TR, Sung BH, Pincomb GA, et al. Hypertension risk status and effect of caffeine on blood pressure. *Hypertension* 2000; 36: 137-141.
19. Massey LK. Caffeine and the elderly. *Drugs Aging* 1998; 13: 43-50.
20. Lane JD, Phillips-Bute BG. Caffeine deprivation affects vigilance performance and mood. *Physiol Behav* 1998; 65: 171-175.
21. Jones HE, Herning RI, Cadet JL, Griffiths RR. Caffeine withdrawal increases cerebral blood flow velocity and alters quantitative electroencephalography (EEG) activity. *Psychopharmacology* 2000; 147: 371-377.
22. Evans SM, Griffiths RR. Caffeine withdrawal: a parametric analysis of caffeine dosing conditions. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289: 285-294.
23. Bernstein GA, Carroll ME, Dean NW, et al. Caffeine withdrawal in normal school-age children. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1998; 37: 858-865.
24. Garrett BE, Griffiths RR. Physical dependence increases the relative reinforcing effects of caffeine versus placebo. *Psychopharmacology* 1998; 139: 195-202.
25. Rogers PJ, Dernoncourt C. Regular caffeine consumption: a balance of adverse and beneficial effects for mood and psychomotor performance. *Pharmacol Biochem Behav* 1998; 59: 1039-1045.
26. Dews PB, Curtis GL, Hanford KJ, et al. Frequency of caffeine withdrawal in a population-based survey and in a controlled, blinded pilot experiment. *J Clin Pharmacol* 1999; 39: 1221-1232.
27. Nehlig A. Are we dependent upon coffee and caffeine? A review on human and animal data. *Neurosci Biobehav Rev* 1999; 23: 563-576.
28. Hughes JR, Oliveto AH, Liguori A, et al. Endorsement of DSM-IV dependence criteria among caffeine users. *Drug Alcohol Depend* 1998; 52: 99-107.
29. Granados-Soto V, Castaneda-Hernandez G. A review of the pharmacokinetic and pharmacodynamic factors in potentiation of the anti-nociceptive effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs by caffeine. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1999; 42: 67-72.
30. Bach PH, Berndt WO, Delzell E, et al. A safety assessment of fixed combinations of acetaminophen and acetylsalicylic acid, coformulated with caffeine. *Ren Fail* 1998; 20: 749-762.
31. Bell DG, Jacobs I, McLellan TM, et al. Reducing the dose of combined caffeine and ephedrine preserves the ergogenic effect. *Aviat Space Environ Med* 2000; 71: 415-419.
32. Young R, Glennon RA. Discriminative stimulus properties of (-)ephedrine. *Pharmacol Biochem Behav* 1998; 60: 771-775.
33. Young R, Gabryszak M, Glennon RA. (-) Ephedrine and caffeine mutually potentiate one another's amphetamine-like stimulus effects. *Pharmacol Biochem Behav* 1998; 61: 169-173.
34. Zahn KA, Li RL, Pursell RA. Cardiovascular toxicity after ingestion of "herbal ecstasy". *J Emerg Med* 1999; 17: 289-291.
35. Ros JJ, Pelders MG, De Smet PA. A case of positive doping associated with a botanical food supplement. *Pharm World Sci* 1999; 21: 44-46.
36. Soine WH. Clandestine drug synthesis. *Med Res Rev* 1986; 6: 41-74.

37. Skinner HF. Methamphetamine synthesis via hydriodic acid/red phosphorus reduction of ephedrine. *Forensic Sci Int* 1990; 48: 123-134.
38. Moore K. Amphetamine/sympathomimetic amines. In: Principles of forensic toxicology. Edited by Levine B. Washington DC: AACC, Inc., 1999: 265-285.
39. Andrews KM. Ephedra's role as a precursor in the clandestine manufacture of methamphetamine. *J Forensic Sci* 1995; 40: 551-560.
40. Gunn JW, Johnson DW, Butler WP. Clandestine drug laboratories. *J Forensic Sci* 1970; 15: 51-64.
41. Morgan JP, Kagan D. The impact on street amphetamine quality of the 1970 controlled substances act. *J Psychedelic Drugs* 1978; 10: 303-317.
42. Linden CH. Amphetamines. *Topics Emerg Med* 1985; 7: 18-32.
43. Pentel P. Toxicity of over-the-counter stimulants. *J Am Med Assoc* 1984; 252: 1898-1903.
44. Puder KS, Kagan DV, Morgan JP. Illicit methamphetamine: analysis, synthesis, and availability. *Am J Drug Alcohol Abuse* 1988; 14: 463-473.
45. Palanuvej C, Issaravanich S, Rungphitackchai B, et al. Chemical analysis of illicit amphetamine. *Thai J Hlth Res* 1987; 11: 73-87.

RETINOIDS AND CANCER PREVENTION

Sumittra Charoenhirunyingsos

*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University,
Bangkok 10700, Thailand.*

ABSTRACT

Retinoids, active metabolites of vitamin A (retinol), play critical roles in vision, embryonic development, cell differentiation and homeostasis. Their receptors can be divided into two classes: the retinoic acid receptors (RARs) and the retinoid X receptors (RXRs). Both types of receptor are members of the nuclear hormone receptor superfamily. The receptors are subdivided into six distinct regions denoted the A-F domains. RARs and RXRs are required for RA-induced activation of a retinoic acid response element (RARE). The RAREs are found in many promoters and consist of direct repeats of the same sequence. The expression of target genes can be modulated by interacting with both receptors through RARE in promoter regions of target genes. As either homodimers or heterodimers with RAREs located in the promoter regions of target genes, RA-target gene activation is receptor specific and cell type specific. Either excessive or lacking of vitamin A may result in abnormal development that leads to tumorigenesis process. Some retinoids are being evaluated as chemopreventive and chemotherapeutic agents for a variety of human cancers. Therefore, the current opinion concerning retinoids and cancers are reviewed.

Key words : vitamin A, retinoids, retinoid receptors, cancer

INTRODUCTION

วิตามินเอจัดเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิตของมนุษย์ สารสำคัญในการออกฤทธิ์เรียกว่า “retinoids” ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการมองเห็น การเจริญเติบโต และควบคุมสมดุลต่างๆ ของร่างกาย กลไกในการออกฤทธิ์ของ retinoids จะผ่านทาง retinoid receptors ซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ retinoic acid receptors (RARs) และ retinoid X receptors (RXRs) โดยเซลล์แต่ละชนิดจะมี receptor กลุ่มใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์นั้นๆ ด้วย Retinoid receptor แต่ละชนิดจะออกฤทธิ์ได้ต้องอาศัย retinoic acid ในการเหนี่ยวนำให้ตัว receptor เคลื่อนที่ไปจับกับ retinoic acid response element (RAREs) ในนิวเคลียสบริเวณ promoter เพื่อกระตุ้นให้มีการสร้าง mRNA และโปรตีนต่อไป ปัจจุบันเราพบว่าสารอนุพันธ์ของวิตามินเอหลายตัวมีบทบาทในการรักษามะเร็งของมนุษย์ เช่น all-trans retinoic acid (ATRA) สามารถนำมาใช้ร่วมกับ tamoxifen ในการรักษามะเร็งเต้านม ต่อมาได้มีการนำ ATRA (tretinoin) มาทดลองใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว (acute promyelocytic leukemia) ซึ่งสามารถทำให้เกิด remission ในผู้ป่วยได้เช่นกัน พร้อมๆ กันนี้ได้มีการศึกษาบทบาทของ retinoids ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งชนิดต่างๆ ของมนุษย์ทั้งใน in vitro และ in vivo เช่น มะเร็งบริเวณศีรษะและลำคอ มะเร็งรังไข่ มะเร็งปากมดลูก มะเร็งปอด และมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น โดยศึกษาในแง่ชนิดของ receptor ที่สัมพันธ์กับมะเร็งแต่ละชนิด

และกลไกที่ retinoids ใช้ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์หรือการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์มะเร็ง ปัจจุบันนักวิจัยได้มุ่งศึกษาทั้งในเรื่องของ cell-cycle regulation, โปรตีน cyclin dependent kinase (เช่น cdk4, cdk6) ซึ่งสามารถทำให้เซลล์เกิด G₁ arrest และนำเซลล์เข้าสู่ terminal differentiation ในที่สุด นอกจากนี้ยังได้ศึกษาในกลุ่มของ transcriptional factors: c-jun, c-fos, c-myc, AP-1 ซึ่งกระตุ้นให้มีการสร้าง mRNA และทำให้เกิด malignant transformation cells ตามมาได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า retinoids น่าจะมีบทบาทสำคัญในการร่วมรักษามะเร็งของมนุษย์ต่อไปในอนาคต

HISTORY OF RETINOIDS

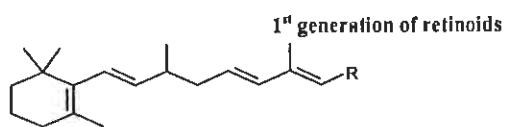
ในสมัยโบราณแพทย์ชาวอียิปต์สังเกตพบว่าสารสกัดจากตับสามารถรักษาโรคตาบางชนิดให้หายได้ ต่อมา George Wald ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมในปี ค.ศ. 1932-1934 พบว่าตับจัดเป็นอวัยวะที่อุดมไปด้วยวิตามินเอ ดังนั้นสารสกัดจากตับจึงสามารถนำมาใช้รักษาโรคตาดังกล่าวข้างต้น วิตามินเอจัดเป็นสารที่ละลายในไขมัน และเป็นสารจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิตของมนุษย์ (McCollum and Davis, 1913) สารบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากวิตามินเอเรียกว่า “retinol” ซึ่งเป็นสารที่ถูกนำมาใช้ในการรักษาและการทดลองทางคลินิกต่างๆ มากมาย ส่วนสาร active metabolites ของวิตามินเอนั้นเรียกว่า “retinoids” ซึ่งมีความสำคัญในการมองเห็น

การพัฒนาของตัวอ่อนในครรภ์ การแบ่งตัว และเพิ่มจำนวนเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ รวมทั้งควบคุมสมดุลของร่างกายด้วย ดังนั้นการได้รับวิตามินเอมากเกินไปหรือการขาดวิตามินเอ ย่อมมีผลต่อพัฒนาการของร่างกายที่ผิดปกติได้

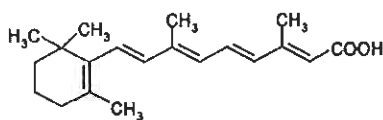
STRUCTURE OF RETINOIDS AND THEIR CLASSIFICATION

Retinoids จัดเป็นสารอนุพันธ์ที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับวิตามินเอ ในธรรมชาติเราสามารถพบสารดังกล่าวได้มากกว่า 2,500 ชนิด¹ และสามารถจัดแบ่งหมวดหมู่ตามสูตรโครงสร้างได้เป็น 3 generations (รูปที่ 1) ได้แก่

1. 1st generation ได้แก่ all-trans retinoic acid (tretinoin) และ 13-cis-retinoic acid (isotretinoin)

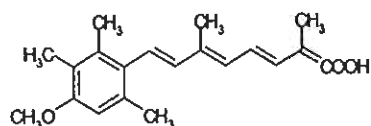


Retinol (vitamin A)



All-trans retinoic acid (tretinoin)

2nd generation of retinoids

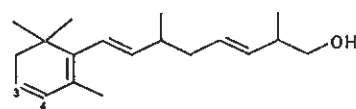


Acitretin

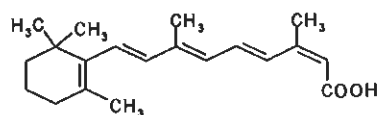
รูปที่ 1 Classification of retinoids

2. 2nd generation ได้แก่ aromatic retinoids เช่น etretinate และ acitretin การเพิ่มกลุ่ม aromatic ring เข้าไปจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ (potency) ของยาในการรักษาให้ดีขึ้นด้วย

3. 3rd generation ได้แก่ poly-aromatic retinoids with or without polar group ซึ่งมีประสิทธิภาพในการรักษาดีกว่ากลุ่มที่ 2 สามารถบริหารในปริมาณที่น้อยลง จำนวนครั้งน้อยลง รวมทั้งเกิดผลข้างเคียงจากยาน้อยลงด้วย เช่น flavonoids (flavanols, flavanones, flavones, isoflavones) ซึ่งจัดเป็นสารที่พบในพืชหลายชนิด เชื่อว่ามีฤทธิ์ในการรักษาโรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคภูมิแพ้ และโรคติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งกำลังได้รับความสนใจและมีการศึกษาวิจัยกันอย่างแพร่หลายอยู่ในขณะนี้²

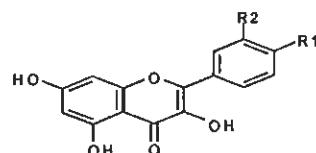


3,4-Didehydroretinol (vitamin A₂)



13-cis retinoic acid (isotretinoin)

3rd generation of retinoids



Flavanol

RETINOID RECEPTORS

Retinoid receptors แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ retinoic acid receptors (RARs) และ retinoid X receptors (RXRs) ซึ่งแต่ละ class มีสมาชิก 3 ตัว คือ α , β และ γ ⁵ receptors โดยสมาชิกแต่ละตัวยังมีหลาย isotypes เช่น β receptors แบ่งเป็น β_1 , β_2 และ β_4 ⁶ แต่ละ receptor ของ retinoids จะมีส่วนของ DNA binding domain (C-region) เหมือนกัน ส่วน isoforms ที่แตกต่างกันของแต่ละ receptor ขึ้นอยู่กับส่วนของ N-terminal region (AB-region) ที่แตกต่างกัน และแต่ละ isotype ที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่ง splicing และตำแหน่งของ promoter⁶ กลไกการออกฤทธิ์ของ retinoids ขึ้นอยู่กับชนิดของ retinoid receptors ที่จะไปจับกับ retinoic acid response element (RARE) ในบริเวณ promoter region เพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้าง mRNA ต่อไป

STRUCTURE AND FUNCTION OF RAR AND RXR

Retinoid receptor จัดเป็นสมาชิก nuclear hormone receptor superfamily ซึ่งสมาชิกใน family นี้ยังประกอบไปด้วย receptor ของ glucocorticoids (cortisone), estrogens, mineralocorticoids (andosterone), androgens

(testosterone), progesterone, fatty acids, thyroid hormone, vitamin D₃ รวมทั้ง receptors อีกจำนวนมากที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดของส่วน ligand-binding ได้ (orphan receptors)^{7,8} Nuclear hormone receptor superfamily นี้ มีจำนวนสมาชิกมากกว่า 150 ชนิด เรานิยมใช้ steroid hormone receptor เป็นแม่แบบของการศึกษา receptor ใน superfamily นี้ การแยกชนิดของ steroid hormone receptor โดยอาศัยลำดับเบสที่เหมือนกัน (homology sequencing) สามารถแบ่งได้เป็น 6 ส่วน โดยใช้อักษร A-F เป็นสัญลักษณ์แทนแต่ละ domain^{9,10} (รูปที่ 2)

●AB-region ได้แก่ ส่วนของ N-terminal ซึ่งมี ligand independent transactivation function บรรจอยู่

●C-region ได้แก่ ส่วนของ DNA-binding domain

●D-region ได้แก่ ส่วนของ flexible protein domain จัดเป็นส่วน conserved region

●E-region ได้แก่ ส่วนของ ligand-binding domain

●F- region ได้แก่ ส่วนของ non-specific function จัดเป็นส่วน non-conserved region บาง receptor จะไม่มีส่วนนี้¹¹⁻¹⁵

1	53	90	147	193	413	448
A	B	C	D	E	F	

รูปที่ 2 ภาพแสดงการแยกชนิดของ steroid hormone receptor โดยอาศัยลำดับเบสของกรดอะมิโน สามารถแบ่งได้ 6 ส่วน โดยใช้อักษร A-F เป็นสัญลักษณ์แทนแต่ละ domain (van der Leede et al. Hubrecht Laboratory, Netherland Institute for Developmental Biology, Utrecht, Netherlands, 1996)

ดังนั้น RAR และ RXR ซึ่งเป็นสมาชิกของ nuclear hormone receptor จึงมีองค์ประกอบคล้ายคลึงกับ steroid hormone receptor คือ

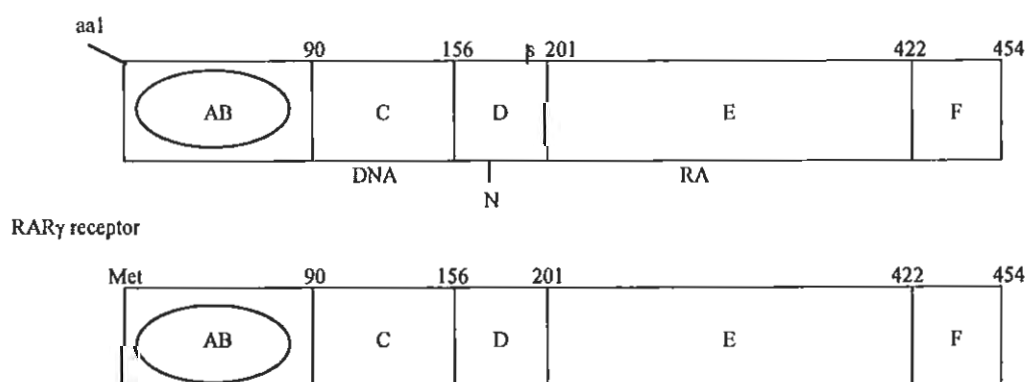
1) C-terminal part เป็นบริเวณที่มี ligand binding domain (E-region) บรรจุอยู่ ซึ่งภายในบริเวณ E-region นี้จะบรรจุส่วนของ dimerization domain และ transactivation domain ไว้ คือ activating factor 2 (AF-2) ซึ่งเรียกว่า transactivating factor 2 (TAF-2)¹⁶⁻²¹

2) บริเวณ N-terminal part เป็น RAR wild-type receptor บริเวณ AB-

region อยู่ ซึ่งภายในบริเวณนี้จะบรรจุส่วนของ ligand independent transactivation function คือ activating factor1(AF-1) ไว้ด้วย

3) DNA-binding domain (C-region) เป็นบริเวณที่อยู่ระหว่างบริเวณที่ conserved มากที่สุด(D-region) กับบริเวณที่แสดงความแตกต่างกันของสมาชิกแต่ละตัว (AB-region)

4) D-region เป็นบริเวณที่ conserved มากที่สุดและเป็นที่อยู่ของ nuclear localization signal²² (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ภาพแสดง RAR receptor และ RAR γ โดยตัวเลขข้างบนแสดงถึงตำแหน่งของกรดอะมิโน เช่น RAR γ ตำแหน่งเริ่มต้นคือกรดเมไทโอนีน ตำแหน่ง domain AB ประกอบด้วย ligand independent transactivation function (activating factor 1: AF-1), ตำแหน่ง domain C ประกอบด้วย DNA binding domain, ตำแหน่ง domain D ประกอบด้วย nuclear localization signal (N) และ conserved SacI site (S), ตำแหน่ง domain E ประกอบด้วย retinoic acid binding site และ major site for heterodimerization with RXRs นอกจากนี้ยังประกอบด้วย transactivation domain (activating factor 2: AF-2), ส่วนตำแหน่ง domain F จัดเป็นส่วน non-conserved อาจมีหรือไม่มีก็ได้. (Aneskievich and Fuchs, 1995. และ Folkers, et al. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular biology 1996; 56: 119.)

RETINOIC ACID RESPONSE

ELEMENTS (RAREs)

RARE คือ ส่วนของลำดับ nucleotide ตรงตำแหน่ง promoter ซึ่งสามารถจับกับ retinoid receptor บริเวณ DNA-binding domain (C-region) ลักษณะของ RARE จะคล้ายคลึงกับ element ของ vitamin D₃ และ thyroid hormone receptor คือลำดับเบสที่เหมือนกัน ซ้ำกันเป็นชุดๆ (directly repeats of the

same sequence)²³ (รูปที่ 4) Retinoid receptor จึงสามารถสร้างเป็น heterodimers กับตัวเอง เช่น RAR-RXR หรือจับกับ nuclear receptor อื่นๆ เช่น RXR-VDR เป็นต้น โดยทั้ง RAR และ RXR สามารถจับกับ response element อื่นๆ ได้ด้วย แต่ retinoid receptors จะสามารถจับกับ RARE ที่บริเวณ promoter ได้ต้องอาศัย retinoic acid เป็นตัวเหนี่ยวนำ และกระตุ้นให้เกิดการสร้าง mRNA ต่อไป

(a) GRE	5' AGAACA(N) ₃	TGTTCT 3'
	3' TCTTGT(N) ₃	ACAAGA 5'
(b) ERE	5' AGGTCA(N) ₃	TGACCT 3'
	3' TCCAGT(N) ₃	ACTGGA 5'
(c) VDRE	5' AGGTCA(N) ₃	AGGTCA 3'
	3' TCCAGT(N) ₃	TCCAGT 5'
(d) TRE	5' AGGTCA(N) ₄	AGGTCA 3'
	3' TCCAGT(N) ₄	TCCAGT 5'
(e) RARE	5' AGGTCA(N) ₅	AGGTCA 3'
	3' TCCAGT(N) ₅	TCCAGT 5'

รูปที่ 4 ภาพแสดงลำดับของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง DNA sites, cell response elements ซึ่งจับอยู่กับ glucocorticoids (GRE), estrogen (ERE), vitamin D₃ receptor (VDRE), thyroid hormone receptor (TRE) และ retinoic acid receptor (RARE). (Adapted from Chapter10: Regulation of Transcription Initiation. In: Molecular Cell Biology, 2000:394)

CELL-TYPE SPECIFIC TRANSCRIPTIONAL ACTIVATION BY RETINOIC ACID

การให้สาร retinoic acid (RA) สามารถกระตุ้นกระบวนการ transcription ได้ โดยขึ้นอยู่กับชนิดของ retinoid receptor และ response element โดยทั้งคู่จะมาจับกัน อยู่ในรูป heterodimeric receptor complex ที่บริเวณ promoter นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ (cell-type specific) ด้วย ดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมการทำงานของส่วน promoter และการตอบสนองต่อ retinoic acid³ ของเซลล์แต่ละชนิดคือ

- Ligand availability
- Receptor expression
- Receptor binding to DNA
- Receptor activity
- Promoter architecture
- Posttranscriptional modification

BIOLOGY OF CELL-SPECIFIC TRANSCRIPTION REGULATION IN RETINOID SIGNALING

การเจริญของอวัยวะต่างๆ ขึ้นอยู่กับการสังเคราะห์และเมตาบอลิซึมของ retinoids ซึ่งถูกควบคุมโดยเอนไซม์หลายชนิดและหลายขั้นตอน ดังนั้นการได้รับวิตามินเอมากเกินไปหรือการขาดวิตามินเอย่อมมีผลต่อการพัฒนาของอวัยวะต่างๆ โดยปกติในอาหารจะมีปริมาณของ retinoids ไม่แน่นอน การวัดระดับของ retinoids จึงนิยมวัดในรูปของ serum retinol (ค่าปกติ 20-80 $\mu\text{g/dL}$)²⁴ เนื่องจากในกระบวนการ

สังเคราะห์ retinoids (active metabolite) เริ่มจาก retinol เมื่อผ่าน plasma membrane เข้าสู่เซลล์ จะจับกับ retinol binding protein (RBP) (ค่าเฉลี่ยปกติ RBP ของผู้ใหญ่ ในเพศชาย 47 $\mu\text{g/mL}$ ในเพศหญิง 42 $\mu\text{g/mL}$ และในเด็กอายุมากกว่า 10 ขวบ 20-30 $\mu\text{g/mL}$)²⁰ กลายเป็น retinoid-binding protein complex เราสามารถแบ่งกลุ่มของ retinoid-binding protein complex ออกเป็น 2 กลุ่มคือ cellular retinol-binding protein (CRBP) และ cellular retinoic acid-binding protein (CRABP) ซึ่งแต่ละกลุ่มมี 2 ชนิดคือ CRBP I,II และ CRABP I,II ซึ่งจะจับกับ retinol และ retinoic acid ตามลำดับ

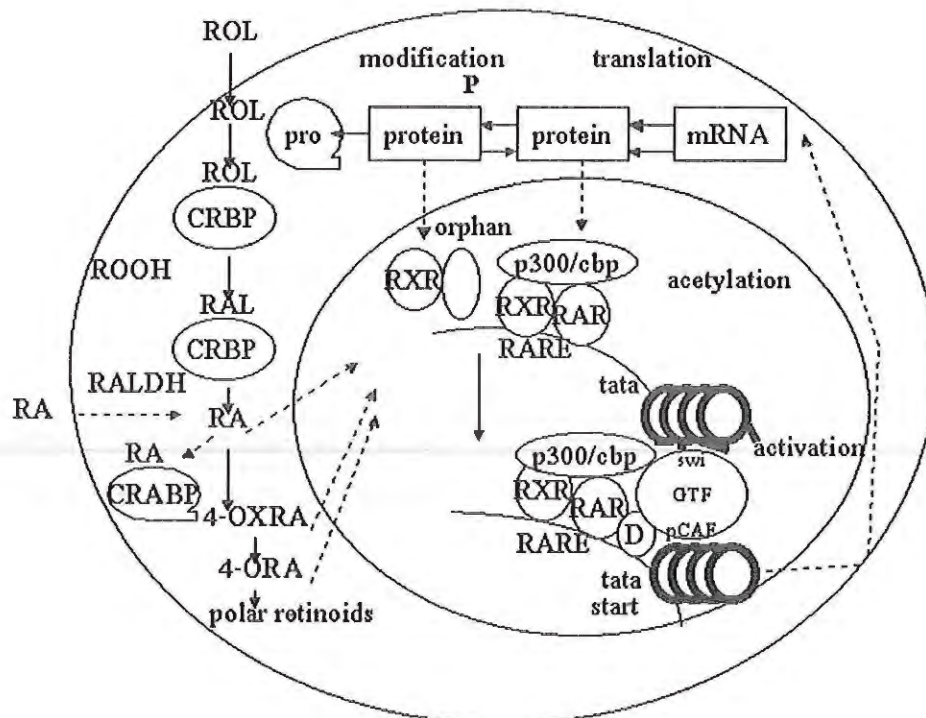
Retinol สามารถเปลี่ยนเป็น retinal โดยอาศัยเอนไซม์ retinol dehydrogenase และเปลี่ยนจาก retinal ไปเป็น retinoic acid โดยอาศัยเอนไซม์ retinal dehydrogenase (รูปที่ 5) ในขั้นตอนการเปลี่ยน retinol เป็น retinal นั้นถือว่าเป็น rate limiting step ของกระบวนการสังเคราะห์สาร active retinoids เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนนี้ได้แก่ alcohol dehydrogenases (ADH), ADH I และ ADH IV ซึ่งสามารถเกิดได้ทั้งใน cytoplasm และ microsomes

หลังจากนั้น retinoic acid (4-oxaretinoic acid, ATRA, 9-cis RA, 3,4-didehydro RA, 14 HRR) จะผ่านเข้าสู่นิวเคลียสเพื่อไปจับกับ retinoic receptors (RARs, RXRs) และเคลื่อนตัวไปจับกับ RARE ที่บริเวณ promoter region แล้วชักนำให้เกิดการสร้าง mRNA และโปรตีนต่อไป Retinoic acid ทั้งที่สร้างขึ้นได้จากภายใน

ในร่างกาย (endogenous retinoic acid) หรือได้รับจากภายนอก (exogenous retinoic acid) นั้นมีความจำเพาะต่อชนิดของเซลล์และชนิดของ receptors ด้วย เช่น ATRA มีความจำเพาะต่อ RARs ส่วน 9-cis RA มีความจำเพาะต่อทั้ง RARs และ RXRs

นอกจากนี้สาร β -carotene และ provitamin carotinoids อื่นๆ ยังสามารถเปลี่ยนเป็น retinal ได้ที่บริเวณเยื่อชั้นใน

ผนังของลำไส้เล็ก และสามารถเปลี่ยนกลับมาเป็น retinol ได้เช่นกัน หลังจากนั้นร่างกายจะมีกระบวนการ esterification เพื่อเก็บสะสมวิตามินเอไว้ในรูปของ retinyl palmitate ที่ตับ และจะถูกปล่อยกลับเข้าสู่กระแสเลือดอีกครั้งในรูปของ Retinol โดยมักจะจับกับ Retinol binding protein (RBP) หรือจับกับ prealbumin transthyretin²⁴ retinol ดังกล่าวก็จะผ่านกระบวนการข้างต้นเพื่อออกฤทธิ์ต่อไป



รูปที่ 5 ภาพแสดงขั้นตอนการสังเคราะห์และเมตาบอลิซึมของ retinoids ภายในเซลล์มนุษย์ โดยอักษรต่างๆ มีความหมายดังนี้ : ROL= retinol, RAL= retinal, ROOH = carboxylic acid, CRBP = cellular retinol binding protein, RALDH = retinal dehydrogenase, RA = retinoic acid, CRABP = cellular retinoic acid binding protein, RXR = retinoids X receptor, RAR = retinoic acid receptor, RARE = retinoic acid response element, P = phosphorylation, swi = a protein required for transcriptional activation, p300/cbp = a cofactor for RAR, pCAF = a protein for p300/cbp-associated factor, GTF = general transcription factor, D = D-box. (Adapted from van de Leede et al. Hubrecht Laboratory, Netherlands Institute for Developmental Biology, Utrecht, Netherlands, 1996)

VITAMIN A DEFICIENCY

เนื่องจากวิตามินเอจัดเป็นสารสำคัญสำหรับการทำงานของเซลล์ต่างๆ ของร่างกาย การมองเห็น และมีส่วนต่อพัฒนาการและการสร้างอวัยวะส่วนต่างๆ ของร่างกาย สาเหตุของการขาดวิตามินเอ ได้แก่²⁵⁻²⁷

1. Primary vitamin A deficiency ส่วนใหญ่มักเกิดจากการขาดอาหารมาเป็นเวลานาน ซึ่งพบบ่อย (endemic areas) ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เกิดจากการสีข้าวทำให้สาร carotenes ที่เปลือกหลุดไป

2. Secondary vitamin A deficiency เกิดจากการที่สาร carotene ไม่สามารถเปลี่ยนกลับเป็นวิตามินเอได้ หรือมีการรบกวนการดูดซึม การขนส่งของวิตามินเอ เช่น celiac disease, sprue, cystic fibrosis, pancreatic disease, duodenal bypass, congenital partial obstruction of jejunum, obstruction of bile ducts, giardiasis และ cirrhosis.

อาการแสดงที่อาจตรวจพบทางคลินิก ได้แก่*

• ผิวหนังเปลี่ยนไป เช่น ผิวหยาบแห้งและมีขุยหนาขึ้น ลักษณะคล้ายหนังห่าน เรียกว่า goose flesh หรือ xeroderma นอกจากนี้อาจมีผลต่อเยื่อผิวของระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร และระบบทางเดินปัสสาวะด้วย

• ตาบอดในที่มืด (night blindness) เป็นแผลที่กระจกตา (corneal ulcer) นอกจากนี้การขาดวิตามินเอยังเป็นสาเหตุของ xerophthalmia หรือ xerosis conjunctivae ซึ่งสามารถทำให้เกิดตาบอดในที่สุด

• นอกจากนี้อาจทำให้มีอาการเบื่ออาหาร เจริญเติบโตช้า ระบบภูมิคุ้มกันต่ำลง และโครงกระดูกของร่างกายผิดปกติได้อีกด้วย

(*America's Vitamin and Herbal Pharmacy 2000)

VITAMIN A TOXICITY

วิตามินเอสามารถทำให้เกิดพิษที่อวัยวะต่างๆ ได้ โดยผ่านทาง multiple signaling pathway¹ ซึ่งระดับที่เป็นพิษสามารถทำให้เกิดผลต่อ

• ผิวหนังและเยื่อ (ผิวแห้ง ลอก อักเสบ คัน ไวต่อการตอบสนองต่อแสง)

• ตับ ทำให้มี reversible elevation ของเอนไซม์ตับ

• โครงกระดูกสันหลัง เช่น มีหินปูนเกาะที่เอ็น, skeletal hyperostosis

• ระบบประสาทส่วนกลาง เช่น ปวดศีรษะ

• Reversible abnormalities ของไขมันในซีรัม

Russell RM ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยหญิง ที่ได้รับวิตามินเอ 400,000 IU/วัน (120 มก./วัน) มานาน 8 ปี พบความผิดปกติของการทำงานของตับ คิวบาง ผมหยาบ ลื่นลื่น และตาโปน ผลชิ้นเนื้อตับพบว่า มี hepatic congestion และ fibrosis โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณรอบๆ central vein^{26,27}

Ellis et al. ได้รายงานไว้ว่า vitamin A intoxication สามารถเกิดได้กับผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของเมตาบอลิซึมของวิตามินเอ

โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยที่มีไขมันในเลือดสูงชนิด type I²⁸

Carpenter et al. ได้รายงานครอบครัวหนึ่งที่มีสมาชิกในครอบครัวหลายคนเกิด vitamin A intoxication หลังกินวิตามิน โดยสันนิษฐานว่าน่าจะเกิดจาก genetic predisposition²⁹

Krasinski et al. เป็นบุคคลแรกที่พบว่าอายุเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิด vitamin A intoxication ซึ่งในคนสูงอายุจะมีโอกาสเกิดมากกว่าคนหนุ่มสาวทั่วไป นอกจากนี้ยังได้ศึกษาในอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรง โดยให้กินอาหารที่มีไขมันและวิตามินเอสูง หลังจากนั้นได้ทำ plasma-pheresis หลายชั่วโมง พบว่าที่ 24 ชั่วโมง ใน chylomicrons และ chylomicron remnants สามารถวัดระดับของ vitamin A ester เพิ่มขึ้นได้อีก และการขนส่ง vitamin A ester จาก chylomicrons เข้าสู่ lipoprotein เช่น LDLs จะทำให้ระดับความเป็นพิษของวิตามินเอในอยู่กระแสเลือดได้นานถึง 1 สัปดาห์ และในผู้ป่วยที่กินวิตามินเอมากเกินไปที่กำหนดมีโอกาสที่ fasting blood retinyl ester จะสูงกว่าปริมาณวิตามินเอที่กินเข้าไปได้มาก (ค่าปกติของ fasting blood retinyl ester 20-80 µg/dL, ใน vitamin A toxicity จะมากกว่า 100 µg/dL และอาจสูงได้ถึง 2,000 µg/dL)²⁴ นอกจากนี้ผู้ป่วยที่กินวิตามินเอมาเป็นเวลานานมากกว่า 5 ปี จะมีโอกาสเกิดพิษจากรetinyl ester ได้มากกว่าผู้ป่วยที่กินมาน้อยกว่า 5 ปี³⁰

VITAMIN A AND TERATOLOGY

ในปี ค.ศ. 1953 Cohlan ได้ทำการศึกษาทดลองในหนูตั้งครรภ์ และเลี้ยงด้วยอาหารที่มีสารประกอบวิตามินเอ 35,000 IU/วัน ระหว่างอายุครรภ์ 2-16 วัน พบว่าลูกหนูที่คลอดออกมาไม่มีศีรษะ ปากแหว่ง เพดานโหว่ และมีความผิดปกติทางสายตา^{31,32} ต่อมา ในปี ค.ศ. 1979 Geelen ได้ทำการทดลองซ้ำในหนูสายพันธุ์อื่น ๆ และกระต่าย ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกัน³³

สำหรับในมนุษย์ The National Research Council's Recommended Dietary แนะนำให้หญิงมีครรภ์ได้รับวิตามินเอ 5,000 IU หรือ retinol 3,300 IU ต่อวัน ส่วนในหญิงตั้งครรภ์ที่ขาดวิตามินเอนั้น World Health Organization และ IVACG stage แนะนำให้ได้รับวิตามินเอวันละ 7,000-8,000 IU^{34,35} จากรายงานพบว่ามารดาที่ได้รับวิตามินเอ 25,000 IU ต่อวันระหว่างการตั้งครรภ์ ให้กำเนิดทารกพิการผิดปกติในระบบต่างๆ เช่น ระบบประสาท ศีรษะและใบหน้า หัวใจ และต่อมไทมัส มารดาที่ได้รับ isotretinoin ระหว่างตั้งครรภ์ทารกมีโอกาสเสี่ยงต่อสมอง หัวใจ และหูพิการผิดปกติ เพิ่มขึ้นเป็น 26 เท่า เมื่อเทียบกับมารดาที่ไม่ได้รับ isotretinoin ระหว่างตั้งครรภ์¹⁹

THE ROLES OF RETINOIDS IN CANCER

เนื่องจากผลการศึกษาดังกล่าวมากมายพบว่า retinoic acid ซึ่งจัดเป็น

สมาชิกตัวหนึ่งของกลุ่ม transcriptional factor มีผลต่อการเจริญเติบโต การแบ่งตัว เพิ่มจำนวนเซลล์ทั้งในภาวะปกติและในมะเร็ง และเนื่องจาก RARs และ RXRs เป็น receptors ที่ถูกควบคุมโดยยีนเพื่อให้เกิดการถอดรหัสและเพื่อให้เกิดการสร้างโปรตีนต่อไป ปัจจุบันนักวิจัยบางกลุ่มจึงมุ่งศึกษาบทบาทของ retinoic acid (RA) เนื่องจากสารดังกล่าวสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งได้ (antiproliferative effect) โดย RA จะไปจับกับ RAR แล้วมีปฏิสัมพันธ์กับ activator protein 1 (AP-1) complex ซึ่งโดยทั่วไปนั้น AP-1 สามารถมีปฏิสัมพันธ์กับ c-fos, c-jun ได้ด้วย ทั้ง AP-1, c-fos และ c-jun ก็จัดอยู่ในกลุ่ม transcriptional factor เช่นกัน transcriptional factor เหล่านี้จะไปมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์ mRNA ที่บริเวณ promoter region การกระตุ้น AP-1 complex จะทำให้มีการสร้างสาร growth factors, inflammatory peptides, oncogenes และ tumor promoters ผลคือเกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ตามมา เมื่อเราให้สาร retinoic acid เข้าสู่ร่างกายไม่ว่าจะเป็น exogenous RA หรือสารที่สังเคราะห์ในเนื้อเยื่อของร่างกาย (endogenous RA) ก็ตาม RA จะไปจับกับ RAR หรือ RXR และจะไปรวมกับ AP-1 complex ที่บริเวณ promoter region มีผลยับยั้งการกระตุ้น AP-1 complex จึงสามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ตามมา กรณีที่ระดับของ all-trans RA ในเนื้อเยื่อลดลง จึงย่อมมีผลต่อ normal signal transduction ด้วย และการลดลงของ RA นี้ย่อมส่งผลให้ AP-1

สามารถจับกับ c-fos, c-jun หรือกับ DNA sequence motifs ได้ ผลคือเกิด trans-activation ของ target genes และเกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ ทำให้เกิด malignant transformation ตามมาได้²⁵

RAR β AND SQUAMOUS CELL CARCINOMA (SCC) OF HEAD AND NECK

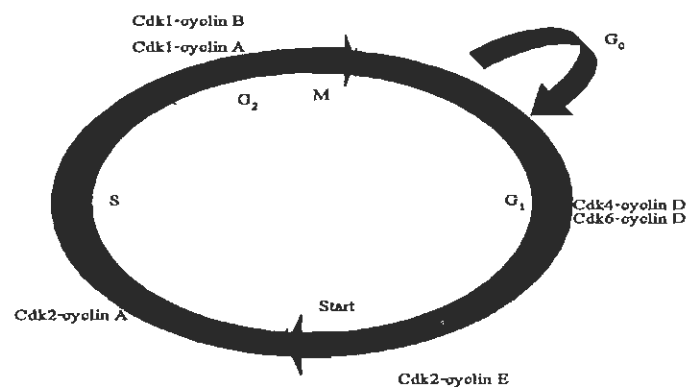
Retinoic acid (RA) จัดเป็นสารที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งได้หลายชนิด มีการศึกษาเกี่ยวกับ RAR β ซึ่งเชื่อว่าสัมพันธ์กับมะเร็งหลายชนิด รวมทั้งมะเร็งที่บริเวณศีรษะและลำคอด้วย จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยมะเร็งชนิดนี้เกิดจากการไม่สามารถแสดงออกของ RAR β บน target gene หรือเกิดจากร่างกายไม่ตอบสนองต่อการกระตุ้นของวิตามินเอในการยับยั้งการโตของมะเร็ง^{5,27} เมื่อทำการ transfection เพื่อให้มีการแสดง RAR β ใน SCC cell lines อีกครั้ง และให้ RA treatment พบว่าสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ด้วยลักษณะของเซลล์ในเนื้อเยื่อทดลองพบว่าตัวเซลล์ลีบลง แต่มีปริมาณของ cytoplasm มากและหลุดลอกออกจาก culture dish ในที่สุด นั่นคือ RA สามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงของ RAR β เพิ่มขึ้น และชักนำให้เกิด terminal differentiation ใน SCC lines

กลไกการเกิด terminal differentiation นั้นสัมพันธ์กับ cell-cycle regulation (รูปที่ 6) เนื่องจากในช่วง G₁ phase เป็นช่วงสำคัญ ที่ทำหน้าที่ควบคุมการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ โปรตีนที่มีบทบาท

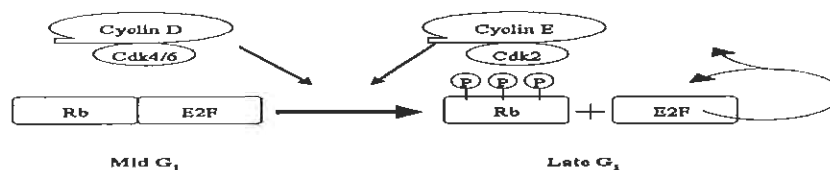
สำคัญ คือ กลุ่ม cyclin D family ได้แก่ cdk4 และ cdk6 โดย cdk complex นี้จะไปกระตุ้นให้เกิด hyperphosphorylation ของ retinoblastoma protein (Rb) และ Rb นี้จะกระตุ้น transcriptional factor กลุ่ม elongation factor 2(E2F) family^{23,36} ทำให้เกิดการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนเซลล์ตามมา (รูปที่ 7)

การให้ retinoic acid ในเซลล์ เนื้อเยื่อทดลองจะสามารถลด cyclin D₁ ซึ่ง

เป็นสมาชิกตัวหนึ่งของ cyclin D family นี้ได้ ผลคือทำให้เกิด dephosphorylation ของ Rb จึงทำให้เซลล์หยุดการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนตามมา (G₁ arrest) นอกจากนี้ cyclin D₁ ยังสัมพันธ์กับกระบวนการ transcription และ posttranslational modification การลดลงของ cyclin D จะทำให้ AP-1 activity ลดลงด้วย ผลคือ มีการแบ่งตัวหรือการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลดลงด้วย



รูปที่ 6 ภาพแสดงการทำงานของ cdk-cyclin complexes ในวงจรของเซลล์ (cell cycle) สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดย cyclin D จะรวมถึง D-type cyclins ทั้งสามชนิด (Adapted from Chapter13: Regulation of the Eukaryotic Cell Cycle. In: Molecular Cell Biology, 2000:526)



รูปที่ 7 ภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง regulation of Rb protein และ E2F activities ใน late G₁ กับ cyclin D (Adapted from Chapter13: Regulation of the Eukaryotic Cell Cycle. In: Molecular Cell Biology, 2000:527)

RAR β AND LUNG CANCERS

เนื่องจากมะเร็งปอดยังเป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตในลำดับต้นๆ จึงมีผู้ศึกษาและให้ความสนใจกับมะเร็งชนิดนี้มาก รวมทั้งการสูบบุหรี่ซึ่งเป็นปัจจัยที่ก่อให้เกิดมะเร็งชนิดนี้ด้วย²⁹ จากการศึกษาพบว่าสารนิโคตินในบุหรี่มีผลทำให้การทำหน้าที่ของ retinoic acid (RA) ในการยับยั้งมะเร็งเสียไป³⁷ โดย RA สัมพันธ์กับการแสดงออกของยีน p21^{WAF1} ซึ่งจัดเป็นสมาชิกของโปรตีนในกลุ่ม cyclin dependent kinase inhibitors (CKI) ผลของ RA ทำให้การแสดงออกของยีน p21^{WAF} เพิ่มขึ้น³⁸ จึงทำให้โปรตีนในกลุ่ม CKI เพิ่มขึ้นและทำหน้าที่ขัดขวางไม่ให้เซลล์เข้าสู่ S-phase ของ cell-cycle³⁶ โดยไปยับยั้งการทำงานของ cdk2-cyclin A ส่งผลให้ phosphorylation ของ Rb protein เกิดขึ้นได้น้อยลง ผลคือลดการกระตุ้น transcriptional factor กลุ่ม E2F จึงทำให้เกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์น้อยลงตามมา (รูปที่ 6,7) ส่วนความสัมพันธ์ของ retinoid receptors กับมะเร็งชนิดนี้ ขึ้นอยู่กับลักษณะของเซลล์มะเร็ง กล่าวคือมีผู้ศึกษาใน epidermoid lung cancer พบว่ามีความจำเพาะต่อ RAR β 2 เท่านั้น^{39,40} โดยสามารถพบ RAR α 2 รวมทั้ง retinoid receptors อื่นๆ ในเซลล์เนื้อเยื่อทดลอง แต่พบว่าไม่มีบทบาทในการยับยั้งการโตของมะเร็งจากการกระตุ้นด้วย RA เหมือน RAR β 2 นอกจากนี้พบว่าเซลล์เนื้อเยื่อ non small cell lung cancer (NSCLC) สัมพันธ์กับ RXR α ⁴¹ หรือ bron-

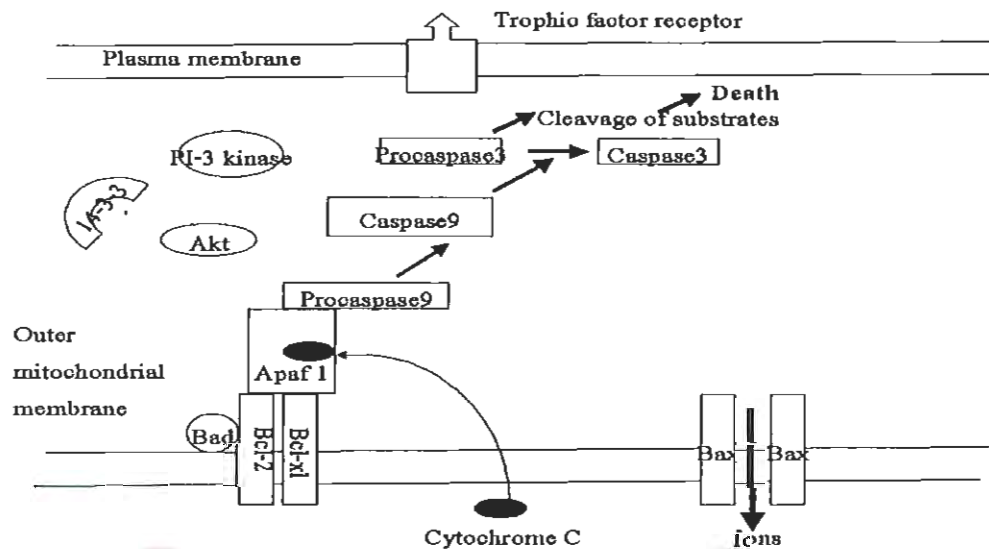
choalveolar carcinoma สัมพันธ์กับ RAR β เป็นต้น

RAR α AND BREAST CANCER

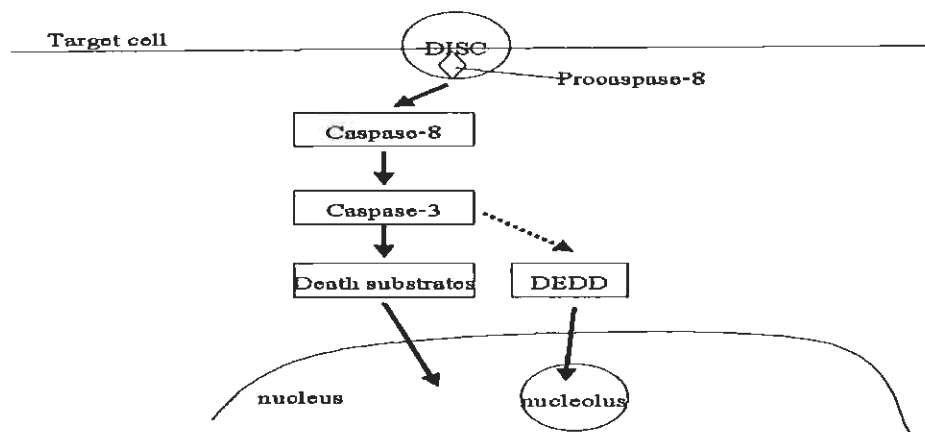
มะเร็งเต้านมจัดเป็นมะเร็งที่เนื้องอกสาเหตุของการเสียชีวิตในหญิงเอเชียเป็นอันดับ 2 รองจากมะเร็งปากมดลูก ในขั้นแรกมีการนำ tamoxifen มาใช้ในการรักษาพบว่าสามารถลดอัตราการตายของผู้ป่วยลงได้อย่างมีนัยสำคัญ ต่อมาได้มีการทดลองนำวิตามินเอและสารอนุพันธ์มาใช้ร่วมในการรักษา (adjuvant therapy) พบว่าช่วยให้ประสิทธิภาพในการรักษามะเร็งชนิดนี้ดีขึ้น จากการศึกษาพบว่า ATRA สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งเต้านมที่ขึ้นอยู่กับฮอร์โมน estrogen (hormone-dependent human breast cancer) ในเซลล์เนื้อเยื่อทดลองได้ (in vitro) ซึ่งพบว่าสัมพันธ์กับ RAR α ^{42,43} แต่ไม่สามารถยับยั้งการโตของเซลล์ที่ไม่พึ่งฮอร์โมน (hormone-independent human breast cancer)⁴⁴ เนื่องจากในเซลล์เหล่านี้มีระดับ RAR α ต่ำ นอกจาก RAR α แล้วยังพบว่ามะเร็งเต้านมสัมพันธ์กับ RAR β ด้วย⁴⁵ ซึ่งพบได้ทั้งเซลล์ที่พึ่งฮอร์โมนและไม่พึ่งฮอร์โมน เมื่อให้ ATRA ในเซลล์เนื้อเยื่อสามารถกระตุ้นให้เกิดการยับยั้งการโตของมะเร็งและชักนำเข้าสู่กระบวนการ apoptosis (programmed cell death) ได้⁴⁶ ส่วนการให้ RA treatment ที่ผ่านทาง RXRs เช่น 9-cis RA จะไปเพิ่มประสิทธิภาพของ RXRs ในการเหนี่ยวนำให้ RAR α ทำงานได้ดีขึ้นและจำนวนเซลล์ตายมากขึ้น⁴³

ในกลไกการทำให้เกิด apoptosis นั้น มีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับยีน bcl-2⁴⁷ ซึ่งใช้สร้างโปรตีนในกลุ่มของ bcl-2 family โดยโปรตีนในกลุ่มนี้แบ่งเป็นกลุ่ม pro-apoptosis และ anti-apoptosis ซึ่งหากให้ RA treatment เซลล์เนื้อเยื่อที่ได้รับ RA จะไปยับยั้งการทำงานของ Bcl-2 และ Bcl-xl

ซึ่งเป็นโปรตีนในกลุ่ม anti-apoptosis ทำให้ Bax ซึ่งเป็น pro-apoptotic protein ทำงานได้ เกิดการหลั่งสาร cytochrome c จากชั้นในของ mitochondria ออกสู่ cytoplasm ไปจับกับ Apaf 1 protein และเกิดการกระตุ้น caspase cascade ทำให้เกิด apoptosis ในที่สุด^{23, 47} (รูปที่ 8)



รูปที่ 8 ภาพแสดงกลไกการเกิด apoptosis ในสัตว์เลื้อยคลานด้วยนม โดยมีขั้นตอนดังนี้ เมื่อเซลล์ได้รับ retinoic acid จะมีการกระตุ้นให้มีการเคลื่อนที่ของ ion เข้าสู่เซลล์ผ่านทางช่อง Bax (homo-oligomeric channels บริเวณผนังของ mitochondria) ซึ่งเป็นผลให้มีการหลั่งสาร cytochrome c จากภายใน mitochondria ออกสู่ภายนอก เพื่อไปจับกับ Apaf-1 (adapter protein) ใน cytoplasm แล้วมีการกระตุ้นลำดับต่างๆ ของ caspase cascade นำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด นอกจากนี้การที่ Bad ซึ่งเป็น pro-apoptotic protein ไปจับกับ Bcl-2 และ Bcl-xl (anti-apoptotic proteins) จะสามารถป้องกัน Bcl-2 นำ Bcl-xl (anti-apoptotic protein) ไปมีปฏิสัมพันธ์กับ Bax channel ซึ่งทำให้ Bax channel ปิดลง ดังนั้น ion จะไม่สามารถผ่านทางนี้และไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ (Adapted from Cell Chapter 23: Death and Its Regulation. In: Molecular Cell Biology, 2000:1049)



รูปที่ 9 ภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง procaspase-8 กับกระบวนการเกิด apoptosis. DISC (death-inducing signaling complex) ประกอบด้วย procaspase-8, FADD (Fas associated death-domain-containing protein), CD95 และ CAP3 เมื่อมีการกระตุ้น procaspase-8 จะทำให้ DISC กระตุ้น caspase-8 และ caspase-3 ตามลำดับ แล้วมีการกระตุ้น DEDD (death-effector-domain-containing DNA-binding protein) ในที่สุด ทำให้มีการยับยั้งการถอดรหัสโปรตีนในนิวเคลียส นำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด (Adapted from Carsten Scaffidi, *Current Opinion in Immunology* 1999; 11: 28)

RAR α AND ACUTE PROMYELOCYTIC LEUKEMIA

Acute promyelocytic leukemia (APL) เกิดจาก reciprocal translocation ระหว่างแขนยาวของโครโมโซมคู่ที่ 15 และ 17 โดยบนโครโมโซมคู่ที่ 17 มี RAR α บรรจุอยู่⁴⁹ หากมี translocation ของ RAR α กับ promyelocytic leukemia (PML) gene ไปยังโครโมโซมคู่ที่ 15 จะทำให้เกิดการแสดงออกของ fusion protein ที่เรียกว่า PML/RAR α ⁴⁹ ซึ่งทำหน้าที่เป็น transcriptional factor ตัวหนึ่งเช่นกัน PML/RAR α นี้จะตอบสนองต่อ ATRA จึงมีการนำ ATRA มาใช้ใน protocol ของการรักษา มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด APL⁴⁹⁻⁵¹ ซึ่งจาก

การศึกษาพบว่าสามารถทำให้เกิด remission ในผู้ป่วยได้ นอกจากใช้ในช่วงของ induction phase แล้ว ยังสามารถใช้ในช่วงของ maintenance phase ได้ด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้ RA treatment ที่กระตุ้น RXR จะทำให้ RAR α ไปรวมกับ RXR เป็น RAR-RXR heterodimer ซึ่งจะเสริมฤทธิ์ของ RAR α ในการกระตุ้น RARE ได้ดีกว่าการให้เพียงตัวใดตัวหนึ่ง โดยจะไปมีผลต่อ phosphorylation ของ Rb protein และทำให้เกิด G₁ arrest ตามมา⁵² นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษากลไกการเกิด apoptosis (programmed cell death) ใน APL อีกด้วย โดยเชื่อว่าสัมพันธ์กับ procaspase 1,7,8 และ 9 RA treatment จะชักนำให้มีการเพิ่ม

ขึ้นของโปรตีน procaspase 1 และ 7 ซึ่งจะสัมพันธ์กับการกระตุ้น procaspase 6, 7 และ 8^{23,50,51} โดย procaspase-8 จะสัมพันธ์อยู่กับ death-inducing signaling complex (DISC) เมื่อให้ RA treatment จะทำให้เกิด autoproteolytic activation เป็น caspase 8 ซึ่งจะหลั่งเข้าสู่ cytoplasm และชักนำเข้าสู่ apoptosis signaling pathway ในที่สุด^{23,50,51,53} (รูปที่ 9)

สรุป

จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าวิตามินเอเป็นสารที่มีประโยชน์ต่างๆ มากมายสำหรับมนุษย์ ในแง่การเจริญเติบโตของเซลล์ การพัฒนาของตัวอ่อน การมองเห็น และปัจจุบันได้มีการนำมาใช้รักษาโรคทางผิวหนังต่างๆ มากมาย เช่น ใช้รักษาสิว โรคสะเก็ดเงิน และ photo-aging แต่เรื่องหนึ่งที่น่าสนใจ

และมีการศึกษาทดลองมากมายในขณะนี้ทั้ง in vitro และ in vivo คือ เชื่อว่าวิตามินเอสามารถยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ โดยผ่านทางกลไกต่างๆ จึงมีการทดลองในเซลล์เนื้อเยื่อของมะเร็งชนิดต่างๆ เช่น มะเร็งบริเวณศีรษะและลำคอ มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม มะเร็งเม็ดเลือดขาว ดังกล่าวไว้ข้างต้น นอกจากนี้ยังมีผู้สนใจศึกษาในมะเร็งชนิดอื่นๆ อีก เช่น มะเร็งรังไข่ มะเร็งปากมดลูก มะเร็งต่อมลูกหมาก รวมถึงมะเร็งของผิวหนังด้วย ซึ่งอาจจะนำวิตามินเอมาใช้ในรูปของ chemotherapeutic agents หรือ chemopreventive หรือใช้เป็น adjuvant therapy ก็สุดแล้วแต่มะเร็งแต่ละชนิด อย่างไรก็ตามก็พึงระลึกเสมอว่า วิตามินเอมีทั้งคุณและโทษ เมื่อนำมาใช้รักษามะเร็งในมนุษย์ ก็ควรระลึกถึงโทษที่อาจเกิดขึ้นกับผู้ป่วยไว้ด้วย

REFERENCE

1. Singh DK, Lippman SM. Cancer chemoprevention part1: retinoids and carotenoids and other classic antioxidants. anderson cancer center, Houston, Texas, 1998; 12(11): 1643-60.
2. Alan L, Miller ND. Antioxidant flavonoids: structure, function and clinical usage. *Alt Med Rev* 1996;1(2): 103-11.
3. Kastner P, Mark M, Chambon P. Nonsteroid nuclear receptors: what are genetic studies telling us about their role in real life? *Cell* 1995; 83:859-69.
4. Leid.M, Kastner P, Chambon P. Multiphenty generates diversity in the retinoic acid signaling pathways. *Trends Biochem Sci* 1992; 17:427-33.
5. Crowe DL. Retinoic acid receptor β induces terminal differentiation of squamous cell carcinoma lines in the absence of cyclin-dependent kinase inhibitor expression. center for cramo-facial molecular biology. *Cancer Res* 1998; 58:142-48.
6. Sun S, Yue HP, et al. Evidence that retinoic acid receptor β induction by retinoids is important for tumor cell growth inhibition. *J Biol Chem* 2000; 275 (22): 17149-53.
7. Beato M, Herrlich P, Schütz G. Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot. *Cell* 1995; 83:851-57.
8. Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, et al. Nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 1995; 83:835-39.
9. Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988; 240:889-95.
10. Green S, Chambon P. Nuclear receptors enhance our understanding of transcription regulation. *TIG* 1988; 4:309-14.
11. Lefebvre B, Rachez C, Formstecher P, et al. Structural determinants of the ligand-

- binding site of the human retinoic acid receptor. *Biochem J* 1995; 34:5477-85.
12. Tate BF, Allenby G, Janocha R, et al. Distinct binding determinants for 9-cis-retinoic acid are located within AF-2 of retinoic acid receptor. *Mol Cell Biol* 1994; 14:2323-30.
13. Perlmann T, Umesono K, Rangarajan PN, et al. Two distinct dimerization interfaces differentially modulate target gene specificity of nuclear hormone receptors. *Mol Endocrinol* 1996; 10:858-966.
14. Felsenfeld G. Chromatin as an essential part of the transcriptional mechanism. *Nature* 1992; 55:219-24.
15. Baniahmad A, Ha I, Reinberg D, et al. Interaction of human thyroid hormone receptor with transcription factor TFIIIB may mediate target gene derepression and activation by thyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:8832-36.
16. Baretino D, Vivanco Ruiz MM, Stunnenberg HG. Characterization of the ligand-dependent transactivation domain of the thyroid hormone receptor. *EMBO J* 1994; 13:3039-49.
17. Danielian PS, White R, Lees JA, et al. Identification of a conserved region required for hormone dependent transcriptional activation by steroid hormone receptors. *EMBO J* 1992; 11:1025-33.
18. Durand B, Saunders M, Gaudon C, et al. Activation function 2 (AF-2) of retinoic acid receptor and 9-cis-retinoic acid receptor: presence of a conserved autonomous constitutive activating domain and influence of the nature of the response element on AF-2 activity. *EMBO J* 1994; 13:5370-82.
19. Liao J, Ozono K, Sone T, et al. Vitamin D receptor interaction with specific DNA requires a nuclear protein and 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:9751-55.
20. Saatcioglu F, Bartunek P, Deng T, et al. A conserved C-terminal sequence that is deleted in v-ErbA (the thyroid hormone receptor). *Mol Cell Biol* 1993; 13:3675-3685.
21. Folkers GE, Van der Burg B, Van der Saag PT. A role for cofactors in synergistic and cell-specific activation by retinoic acid receptors and retinoid X receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 56: 119-129.
22. Lee Y, Mahdavi V. The D domain of the thyroid hormone receptor 1 specifies positive and negative transcriptional regulation functions. *J Biol Chem* 1993; 268:2021-28.
23. Lodish H, Berk A, Zipursky L, et al. Darnell. The textbook of Molecular Cell Biology 4thed. W.H. Freeman and company, 2000.
24. Beers MH, Berkow R. Vitamin deficiency, dependency, and toxicity In: the textbook of the Merck Manual of Diagnosis and Therapy 17thed. Beers. 1999; 33-35.
25. Russell RM. The vitamin A spectrum: from deficiency to toxicity. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(4): 878-84.
26. Russell RM, Boy JL, Bangheri S, et al. Hepatic toxicity from chronic hypervitaminosis. A unique morphologic lesion resulting in portal hypertension and ascities. *N Engl J Med* 1974; 291: 435-440.
27. Hu L, Crowe DL, Rheinwald JG, et al. Abnormal expression of retinoic acid receptor and keratin19 in human oral and epidermal Squamous cell carcinoma lines. *Cancer Res* 1991; 51:3971-81.
28. Ellis JK, Russell RM, Markrauer FL, et al. Increased risk of vitamin A toxicity in severe hypertriglyceridemia. *Ann Intern Med* 1986; 105: 877-79.
29. Carpenter TO, Pettifor JM, Russell RM, et al. Severe hypervitaminosis A in siblings: evidence of variable tolerance to retinol intake. *J Pediatr* 1987; 111: 507-12.
30. Krasinski SD, Cohn JS, Schaefer EJ, et al. Postprandial plasma retinylester response is greater in older subjects compared with younger subjects. *J Clin Invest* 1990; 85: 883-92.
31. Cohlman SQ. Excessive intake of vitamin A as a cause of congenital anomalies in the rat. *Science* 1953; 117:535-36.
32. Cohlman SQ. Congenital abnormalities in the rat produced by excessive intake of vitamin A during pregnancy. *Pediatrics* 1954; 13:556-67.
33. Geelen JAG. Hypervitaminosis A induced teratogenesis. *CRC Crit Rev Toxicol.* 1979; 6:351-75.
34. Briefel R, Caggiula AW, Kuller LH. A comparison of three dietary methods for estimating vitamin A intake. *Am J Epidemiol* 1985; 122: 628-36.
35. Liss AR. INC. Teratology Society Position Paper. Recommendations for vitamin A use during pregnancy. *Teratology* 1987; 35:269-75.
36. Spinella MJ, Freemantle SJ, David Sekula, et al. Retinoic acid promotes ubiquitination and proteolysis of cyclinD1

- during induced tumor cell differentiation. *J Biol Chem* 1999; 274(31): 22013-18.
37. Dawson M, Hobbs P, Jong L, et al. Tobacco-related cancer prevention by vitamin A derivatives in: TRDRD 1999 Annual reports cancer abstract. Molecular Medicine Research Institute, 1997.
 38. Zhang, Xiao-Kun. Does nicotine inhibit anticancer activities of vitamin A? *Newsletter of Burnham Institute*, 2000.
 39. Toulouse A, Morin J, Dion PA, et al. RARbeta2 specificity in mediating RA inhibition of growth of lung cancer-derived cells. *Lung Cancer* 2000; 28: 127-37.
 40. Stern P. A mechanism responsible for turning off a tumor-suppressing gene in many lung cancers. *J Natl Cancer* 2000; 92:1303-1307.
 41. Rizvi NA, Eisenberg PD, Reich SD, A retinoid X receptor (RXR) agonist, as maintenance therapy for patients treated with chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). ASCO online, *Am Clin Oncol*, 2000.
 42. Mills N. Retinoids and their receptors in inhibition of breast cancer. Bulletin of New York University, 1999.
 43. Zhang X. Breast Cancer Chemo-prevention by Retinoids. Bulletin of Burnham Institute, 2000.
 44. Van der Leede BM, Van den Brink CE, Pijnappel W, et al. Autoinduction of retinoic acid-sensitive, but not in retinoic acid-resistant human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1997; 272(29): 17921-28.
 45. Lm Y, Lee MO, Wang HG, et al. Retinoic acid receptor β mediated the growth inhibitory effect of retinoic acid by promoting apoptosis in human breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 1996; 10:1138-1149.
 46. Danforth, David N. Hormonal regulation of normal mammary and breast cancer cell growth, metabolism, and apoptosis. Newsletter of Anderson Cancer Center, Houston, Texas, 2000.
 47. Frankel SR, Eardley A, Heller G, et al. All-trans retinoic acid for acute promyelocytic leukemia. *Ann Intern Med* 1994; 120:278-286.
 48. Slack JL. The biology and treatment of acute promyelocytic leukemia. *Curr Opin Oncol* 1999; 11: 9-13.
 49. Gharamzadeh A, Jahani M, Iravani M, et al. All-trans retinoic acid and intensive chemotherapy in acute promyelocytic leukemia. Bulletin of Hematology, Oncology, and Bone Marrow Transplantation Research Center, 2000.
 50. Gianni M, Ponzanelli I, Mologni L, et al. Retinoid-dependent growth inhibition, differentiation and apoptosis in acute promyelocytic leukemia cells, Expression and activation of caspases. *Cell Death Differ* 2000; 7(5): 447-460.
 51. Tenna T, Botling J, Obers F, et al. The role of RAR and RXR activation in retinoid-induced tissue factor suppression. *Leukemia* 2000; 14:1105-11.
 52. Scaffidi C, Kirchhoff S, Krammer PH, et al. Apoptosis signaling in lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 1999; 11:277-285.
 53. Liss AR. Recommendations for Vitamin A use during pregnancy. *Teratology* 1987; 35:269-75.

NEW DRUGS

MOXIFLOXACIN : A NEW FLUOROQUINOLONE FOR RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Suwat Wimolwattanapun

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand.

ABSTRACT

Moxifloxacin, an 8-methoxyquinolone, is a new forth generation fluoroquinolone launched recently. Its activity against Gram-positive bacteria is obviously better than most of the older fluoroquinolones, while its activities against Gram-negative bacteria and atypical organisms such as mycoplasma, chlamydia and listeria remain high as other fluoroquinolones (MIC₉₀ for most respiratory pathogens 0.06-0.25 mg/L). The increased coverage of Gram-positive pathogens especially *S. pneumoniae* and *S. pyogenes*, together with its excellent pharmacokinetic property (C_{max} 2.5-5.0 mg/L, T_{max} 1-4 h., T_{1/2} 11.4-15.6 h. after 400 mg single oral dose) lending it to be used orally as single daily dose, make the drug valuable for ambulatory treatment of both upper and lower respiratory tract infections. Clinical studies of the drug on community-acquired pneumonia, acute exacerbation of chronic bronchitis and acute sinusitis have been convincing for its efficacy and safety. Furthermore, a recent study on acute exacerbation of chronic bronchitis demonstrated a more rapid resolution of fever and some respiratory symptoms achieved from moxifloxacin treatment compared to those achieved from macrolides. The recommended dose of the drug is 400 mg per oral once daily 5, 7 and 10 days for acute exacerbation of chronic bronchitis, acute sinusitis and community-acquired pneumonia respectively.

Key words : moxifloxacin, fluoroquinolone, respiratory tract infection.

บทนำ

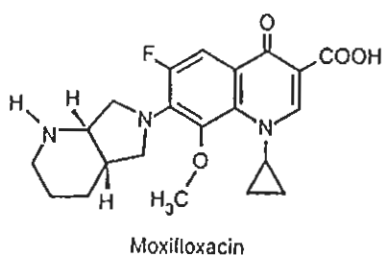
Fluoroquinolones เป็นกลุ่มยาต้านจุลชีพที่ได้มาจากการปรับเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีของ nalidixic acid ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา มียาในกลุ่ม fluoroquinolones ถูกผลิตออกมามากมาย เริ่มตั้งแต่ norfloxacin ซึ่งถูกจัดอยู่ใน fluoroquinolones รุ่นแรก และยังคงมีที่ใช้สำหรับรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะและทางเดินอาหารมาจนปัจจุบัน ในเวลาต่อมารุ่นที่ 2 รุ่นที่ 3 และรุ่นที่ 4 ซึ่งมีคุณสมบัติทั้งด้านเภสัช-จลนศาสตร์และฤทธิ์ต้านจุลชีพดีขึ้น ก็ถูกผลิตตามออกมาเป็นระยะๆ ตัวอย่างเช่น ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, fleroxacin, temafloxacin, sparfloxacin, lomefloxacin, grepafloxacin, gatifloxacin, trovafloxacin เป็นต้น ยาเหล่านี้บางขนานก็ยังคงมีการใช้อยู่ แต่บางขนานถูกนำออกมาใช้ระยะหนึ่งก็ถูกถอนออกจากตลาดไปเนื่องจากฤทธิ์ข้างเคียงที่พบหลังยาออกสู่ท้องตลาด เช่น temafloxacin ถูกถอนออกจากตลาดไปเนื่องจากมีรายงานว่าทำให้เกิด temafloxacin syndrome¹ ซึ่งประกอบด้วยภาวะ hemolysis ที่รุนแรง ร่วมกับการล้มเหลวของอวัยวะต่างๆ โดยเฉพาะไต และทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้โดยกลไกที่ไม่ทราบแน่ชัด Trovafloxacin ซึ่งเป็นยาที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ดีมากก็ต้องถูกถอนออกจากตลาดไปเนื่องจากมีรายงานว่าทำให้เกิด hepatotoxicity และ eosinophilic hepatitis² ในผู้ป่วยหลายราย ยาในกลุ่ม fluoroquinolones ต่างๆ เหล่านี้ ส่วนใหญ่ยังมีจุดอ่อนในเรื่องฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ค่อยได้ผลดีนัก โดย

เฉพาะแบคทีเรียในกลุ่ม streptococci ทำให้ข้อบ่งใช้ของยาส่วนใหญ่จำกัดอยู่ในเรื่องของการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะและทางเดินอาหารซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากแบคทีเรียแกรมลบที่ไวต่อยา สำหรับการติดเชื้อในทางเดินหายใจ ส่วนใหญ่จะจำกัดอยู่เฉพาะในกรณีที่เกิดจากแบคทีเรียแกรมลบ เช่นใน acute exacerbation ของ chronic bronchitis หรือคาดว่าจะเกิดจากเชื้อพวก atypical organisms เช่น mycoplasma หรือ chlamydia เท่านั้น

Moxifloxacin เป็นยาขนานใหม่ในกลุ่ม fluoroquinolones รุ่นที่ 4 ที่มีแนวโน้มได้ผลดีสำหรับรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจที่เกิดจากเชื้อแทบทุกชนิด ยานี้ถูกพัฒนาผลิตขึ้นโดยบริษัท Bayer AG ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน ได้มาจากการปรับเปลี่ยนโครงสร้างพื้นฐานของ fluoroquinolone โดยการเติม cyclopropyl group เข้าไปในตำแหน่งที่ 1 เติม diazabicyclo group เข้าไปในตำแหน่งที่ 7 และเติม methoxy group เข้าไปในตำแหน่งที่ 8 ซึ่งทำให้มีผู้เรียกยาคานี้ว่าเป็น 8-methoxy-quinolone เช่นเดียวกับยา gatifloxacin ที่ได้รับการพัฒนาผลิตขึ้นมาก่อนหน้านี้ การปรับเปลี่ยนโครงสร้างดังกล่าวทำให้ยานี้มีคุณสมบัติต่างๆ ดีขึ้นกว่ายาเก่าในกลุ่ม fluoroquinolones³ เช่น มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก และ anaerobes ต่างๆ ดีขึ้น มี half-life ที่นานขึ้น และมีฤทธิ์แทรกแซงโดยเฉพาะฤทธิ์ที่ทำให้เกิด photosensitivity และ drug interaction ต่างๆ น้อยลง เป็นต้น

Moxifloxacin มีชื่อทางเคมีว่า 1-cyclopropyl-7-[2,8-diazabicyclo

(4.3.0) nonane]-6-fluoro-8-methoxy-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolene carboxylic acid ในรูปของเกลือ hydrochloride มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ moxifloxacin

ฤทธิ์ต้านจุลชีพ

กลไกการออกฤทธิ์⁴

Moxifloxacin มีกลไกการออกฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียเหมือน fluoroquinolones ชนิดอื่นๆ คือเข้าไปจับกับเอนไซม์ DNA gyrase (topoisomerase II) และ topoisomerase IV ของแบคทีเรีย ทำให้เกิด drug-topoisomerase-DNA complex มีผลยับยั้งการสร้างสาย DNA ขึ้นใหม่ (DNA replication) และยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียขึ้นก่อน จากนั้นจึงเกิดการแตกสลายของสาย DNA (DNA breaks) ซึ่งมีผลทำให้แบคทีเรียถูกทำลายตามมา

In Vitro Activity⁵

จากการประมวลผลการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของ moxifloxacin ใน in vitro model จากแหล่งต่างๆ พบว่า moxifloxacin มีฤทธิ์ต้านจุลชีพดีต่อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ anaerobes รวมถึงเชื้อ atypical

pathogenic organisms ต่างๆ ที่เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในทางเดินหายใจทั้งส่วนบนและส่วนล่าง โดยมีค่า MICs (minimal inhibitory concentrations) ที่ต่ำกว่าระดับยาในซีรัมและในเนื้อเยื่อต่างๆ ของทางเดินหายใจ ดังนี้

Gram-positive Bacteria

ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก เชื้อ *S. pneumoniae* ไวต่อ moxifloxacin โดยมีค่า MIC₉₀ อยู่ในช่วงระหว่าง 0.06-0.25 mg/L โดยเชื้อที่ไวต่อ penicillins หรือ macrolides จะไวต่อ moxifloxacin ที่ MIC₉₀ ต่ำกว่าเชื้อที่ดื้อต่อ penicillins หรือ macrolides. เชื้อ *S. pyogenes* ไวต่อยาโดยมีค่า MIC₉₀ เท่ากับ 0.25 mg/L ส่วนเชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC₉₀ อยู่ในช่วงระหว่าง 0.12-2 mg/L

เมื่อเปรียบเทียบกับยาอื่นบางขนานในกลุ่ม fluoroquinolones พบว่า moxifloxacin มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. pneumoniae* ใกล้เคียงกับ trovafloxacin และดีกว่า ciprofloxacin, levofloxacin และ gatifloxacin เมื่อเทียบกับยากลุ่มอื่นที่นิยมใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อของทางเดินหายใจสำหรับเชื้อ *S. pneumoniae* พบว่ากลุ่มที่เป็น penicillin-susceptible (PSSP) ไวต่อ amoxicillin, cefuroxime, clarithromycin และ azithromycin ดีกว่า moxifloxacin แต่เชื้อ *S. pneumoniae* ที่ดื้อต่อ penicillins (PISP และ PRSP) ความไวของเชื้อต่อยาจะกลับตรงกันข้าม คือไวต่อ moxifloxacin มากกว่ายาอื่นๆ ทั้งในกลุ่ม penicillins, cephalosprins และ macrolides (ตารางที่ 1)

นอกจากเชื้อ streptococci และ

staphylococci ที่ไวต่อยาแล้ว เชื้อกรัณบวกรอื่น ๆ บางชนิด เช่น *C. diphtheriae*, *Gardnerella vaginalis*, *Listeria monocytogenes* ก็ไวต่อยานี้ที่ MIC₉₀ ต่ำกว่า 0.5 mg/L เช่นกัน⁶

Gram-negative Bacteria

เชื้อแบคทีเรียกรัณลบที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในทางเดินหายใจที่พบบ่อยและไวต่อ moxifloxacin ที่สำคัญได้แก่ *H. influenzae* ทั้งชนิดที่ผลิตและไม่ผลิตเอนไซม์ betalactamases (MIC₉₀ 0.03–0.06 mg/L), *M. catarrhalis* (MIC₉₀ 0.012–0.06 mg/L), *K. pneumoniae* (MIC₉₀ 0.12–0.25 mg/L), *Bordetella* spp. (MIC₉₀ 0.016–0.06 mg/L) และ *H. parainfluenzae* (MIC₉₀ 0.03–0.25

mg/L)⁶ เชื้อแบคทีเรียกรัณลบอื่น ๆ ที่ไวต่อยา ได้แก่ *E. coli*, *Neisseria*, *Proteus*, *Enterobacter* และ *Citrobacter* spp. นอกจากนี้เชื้อ *Salmonella*, *Shigella*, *V. cholera* และ *V. parahemolyticus* ก็ไวต่อยา moxifloxacin เช่นกัน⁷

เมื่อเปรียบเทียบกับยาอื่นในกลุ่ม fluoroquinolones พบว่า moxifloxacin มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียกรัณลบดีกว่า ofloxacin ประมาณ 2 เท่า⁶ แต่ใกล้เคียงกับ ciprofloxacin, levofloxacin และ gatifloxacin หรืออ่อนกว่ายาเหล่านี้เล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับ amoxicillin, co-amoxiclav, cefuroxime, clarithromycin และ azithromycin ยา moxifloxacin มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียกรัณลบส่วนใหญ่ดีกว่ายาเหล่านี้ทั้งหมด (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่า MIC₉₀ ของ moxifloxacin กับยาอื่นบางขนานต่อเชื้อแบคทีเรียกรัณลบที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในทางเดินหายใจ (ดัดแปลงจาก Ref. 5)

แบคทีเรีย	MIC ₉₀ (mg/L)								
	Moxi.	Cip.	Levo.	Gati.	Azi.	Clari.	Amoxi.	Co-amox.	Cefu.
<i>S. pneumoniae</i>									
Pen S	0.06-0.25	1-2	1-2	0.5	0.06-0.12	0.03-0.25	0.03-0.06	0.03	0.06-0.25
Pen I	0.12-0.25	1-2	1-2	0.5	4-8	4-64	1-2	1	2-4
Pen R	0.12-0.25	1-2	1-2	0.5	> 64	32- >28	8	4	8-16
<i>S. pyogenes</i>	0.25	1-2	1	0.5	0.12-0.25	0.03	< 0.12	0.015	< 0.12
<i>S. aureus</i>									
MSSA	0.12	0.5-1	0.25	0.12	1- > 8	0.25- >8	4	0.05-1	1-4
MRSA	2	32-128	16	4	> 128	> 64	> 64	> 128	> 128

Moxi. = moxifloxacin, Cip. = ciprofloxacin, Levo. = levofloxacin, Gati. = gatifloxacin, Azi. = azithromycin, Clari. = clarithromycin, Amoxi. = amoxicillin, Co-amox. = co-amoxiclav, Cefu. = cefuroxime, Pen S = penicillin sensitive, Pen I = penicillin intermediate, Pen R = penicillin resistant, MSSA = methicillin-sensitive *S. aureus*, MRSA = methicillin-resistant *S. aureus*.

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบค่า MIC₉₀ ของ moxifloxacin กับยาอื่นบางขนานต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (ดัดแปลงจาก Ref. 5)

แบคทีเรีย	MIC ₉₀ (mg/L)								
	Moxi.	Cip.	Levo.	Clari.	Azi.	Clari.	Amoxi.	Co-amox.	Cefu.
<i>H. influenzae</i>									
Betalactamase +ve	0.03-0.06	0.015-0.03	0.03-0.47	< 0.03	1-2	8-16	8-128	1-2	2-4
Betalactamase -ve	0.03-0.06	0.015-0.03	0.03-0.32	< 0.03	1-2	18-24	1	1-2	2-8
<i>K. pneumoniae</i>	0.12-0.25	0.25	0.12-0.25	0.06-0.25	64	-	32-1024	8	8-16
<i>M. catarrhalis</i>									
Betalactamase +ve	0.012-0.06	0.015-0.06	0.06-0.094	< 0.03	< 0.06	< 0.06-0.38	> 16	0.38	3
Betalactamase -ve	0.012-0.06	0.015-0.06	0.06	< 0.03	< 0.06	0.06-4	0.25	0.38	2
<i>E. coli</i>	0.06-1	0.125-0.5	0.06-0.5	0.06	4-16	-	16-1024	4-16	4-16
<i>Neisseria</i> spp.	0.015	0.004	0.008	0.008	0.12-0.5	0.5-1	0.12- > 32	0.12-1	< 0.06-0.25
<i>P. aeruginosa</i>	8	0.15-4	0.5- > 4	> 4	-	-	2048	> 128	> 128
<i>Proteus</i> spp.	0.025	< 0.015-0.03	0.03- < 0.5	1	> 64	-	1-1024	< 0.5-8	1- > 32
<i>Enterobacter</i> spp.	0.06	0.03	0.06- < 0.5	1	32	-	> 128	8	> 16
<i>Serratia</i> spp.	4	1	2	4	64	-	32-2048	32-256	128- > 256
<i>Citrobacter</i> spp.	0.12	< 0.015	< 0.015	0.016-0.5	-	-	32-1024	16	2- > 32

Atypical Organisms

Moxifloxacin ได้ผลดีต่อเชื้อ *Chlamydia pneumoniae*, *C. trachomatis*, *Legionella pneumophila* และ *Mycoplasma pneumoniae* โดยมีค่า MIC₉₀ ใกล้เคียงกับหรือต่ำกว่า fluoroquinolones อื่นๆ และต่ำกว่า clarithromycin และ azithromycin สำหรับเชื้อ *L. pneumophila* แต่สูงกว่ายาทั้งสองสำหรับเชื้อ *M. pneumoniae* (ตารางที่ 3) นอกจากนี้เชื้อ *M. hominis* และ *Ureaplasma urealyticum* ก็ไวต่อ moxifloxacin โดยมีค่า MIC₉₀ เท่ากับ 0.06 mg/L⁶ และ 0.25 mg/L⁸ ตามลำดับ

Anaerobes

เนื่องจากเชื้อ anaerobes อาจเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโพรงไซนัส (sinusitis) และใน aspirated pneumonia ในผู้ป่วยบางรายได้ จึงมีการศึกษาฤทธิ์ของ moxifloxacin ต่อแบคทีเรียในกลุ่มนี้ด้วยการศึกษาพบว่า moxifloxacin มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในกลุ่ม anaerobes ใกล้เคียงกับฤทธิ์ของ clindamycin, metronidazole และ imipenem ฤทธิ์ต้านเชื้อมีค่าต่ำกว่า ciprofloxacin, ofloxacin, cefoxitin และ cefotetan ประมาณ 16 เท่า⁹ เชื้อที่ไวต่อยาได้แก่พวก peptostreptococci, propionibacterium, *Clostridium perfringens*, *C. difficile* รวมทั้ง *B. fragilis* โดยมีค่า MIC₉₀ อยู่ในช่วงระหว่าง 0.125–4 mg/L⁶ สำหรับเชื้อ fusobacterium spp. มีทั้งรายงานที่ไวและดื้อต่อยา moxifloxacin⁹

Mycobacterium Species

ฤทธิ์ของ moxifloxacin ต่อเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ดีกว่า ofloxacin และใกล้เคียงกับ sparfloxacin¹⁰ คือมีค่า MIC₉₀ ต่อเชื้อดังกล่าวประมาณ 0.25 mg/L เชื้อ mycobacteria อื่นที่ไวต่อยาได้แก่ *M. avium-intracellulare* (MIC₉₀ 1.0–4.0 mg/L) และ *M. kansasii* (MIC₉₀ 0.06–0.125 mg/L) Moxifloxacin จึงเป็นยาที่มีแนวโน้มที่จะมีบทบาทในการรักษาวัณโรคที่ดื้อต่อยาอื่น และที่เกิดจาก atypical mycobacteria ต่อไปในอนาคตอีกขนานหนึ่ง

เภสัชจลนศาสตร์¹¹

การดูดซึม

Moxifloxacin ที่บริหารโดยการกินแบบ single dose มีเภสัชจลนศาสตร์เป็นแบบ linear ในช่วงขนาดยาระหว่าง 50 ถึง 800 mg ในคน absolute bioavailability มีค่าเท่ากับ 91.8%¹² เมื่อกินในขนาด 100 mg และเท่ากับ 86% เมื่อกินในขนาด 400 mg¹³ ซึ่งสูงกว่า ciprofloxacin (ประมาณ 70%) แต่ต่ำกว่า levofloxacin (ประมาณ 99%) ระดับในพลาสมาขึ้นสูงสุด (Tmax) ภายใน 1–4 ชั่วโมง และมีค่า (Cmax) อยู่ระหว่าง 2.5–5.0 mg/L เมื่อกินในขนาด 400 mg

เมื่อบริหารยาแบบ multiple dose ค่า Tmax จะสั้นลงเป็น 0.79–1.63 ชั่วโมง โดยมีค่า AUC เมื่อกินในขนาด 400 mg วันละครั้ง อยู่ระหว่าง 33.9–47.9 mg/L.h.

การกระจาย

เฉลี่ยประมาณ 48% ของยาในพลาสมาจับกับโปรตีน ยามีการกระจายตัวดี เมื่อกินในขนาด 400 mg Volume of distribution มีค่าระหว่าง 2.50-3.65 L/kg ให้ระดับสูงสุดในน้ำลาย 3.63 mg/L ภายใน 1-4 ชั่วโมง เช่นเดียวกับในเลือด ระดับสูงสุดที่ได้สูงกว่าในเลือดเล็กน้อย (เฉลี่ยในเลือด 3.19 mg/L) ขณะที่ยามีระดับสูงสุดใน subcutaneous fluid 1.02 mg/L และใน skeletal muscle fluid 1.00 mg/L

จากการศึกษาระดับยาใน maxillary sinus พบว่าเมื่อให้กินยาในขนาด 400 mg วันละครั้งติดต่อกัน 5 วัน จะได้ระดับยาสูงสุดใน maxillary sinus เป็น 7.47 mg/kg

ขณะที่ระดับในเลือดเป็น 3.80 mg/L

จากการศึกษาระดับของยาในเนื้อเยื่อของปอด พบว่าระดับใน bronchial mucosa และใน epithelial lining cell สูงกว่าในพลาสมาประมาณ 2 และ 6.6-7.4 เท่าตามลำดับ ในช่วง 3-24 ชั่วโมงหลังได้รับยา ซึ่งเป็นสัดส่วนที่ใกล้เคียงกับยา fluoroquinolones ชนิดอื่น ๆ ส่วนระดับยา moxifloxacin ใน alveolar macrophage พบว่าสูงกว่าในพลาสมา 18.8 เท่าที่ 3 ชั่วโมง หลังกินยา และสูงถึง 89.4 เท่าที่ 12 ชั่วโมง หลังกินยา ระดับของยาในเนื้อเยื่อของปอดดังกล่าวสูงกว่าค่า MIC₉₀ ของยาต่อเชื้อส่วนใหญ่ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในทางเดินหายใจมาก (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่า MIC₉₀ ของ moxifloxacin กับยาอื่นบางชนิดต่อเชื้อ atypical pathogens (ดัดแปลงจาก Ref. 5)

Organism	MIC ₉₀ (mg/L)								
	Moxi.	Cip.	Levo.	Gati.	Azi.	Clari.	Amoxi.	Co-amox.	Cefu.
<i>C. pneumoniae</i>	0.03-1	1-2	0.25-0.5	0.06-0.25	0.25	0.03	-	-	-
<i>C. trachomatis</i>	0.03-0.125	2	0.25-0.5	0.06-0.25	0.12	-	-	-	-
<i>M. pneumoniae</i>	0.06-0.12	0.78-8	-	0.05-0.13	0.002	0.008-0.03	-	-	-
<i>L. pneumophila</i>	0.015	0.12	0.03	0.016-0.03	0.25	0.03-0.06	-	-	-

ตารางที่ 4 ระดับในเลือดและในเนื้อเยื่อปอดของ moxifloxacin เมื่อกินยาในขนาด 400 mg กับค่า MIC₉₀ ของเชื้อก่อโรคติดเชื้อทางเดินหายใจที่พบบ่อย (ดัดแปลงจาก Ref. 14)

ระดับในพลาสมา (mg/L)		ระดับในเนื้อเยื่อปอด			MIC ₉₀ (mg/L)		
Peak	Trough	Bronchial Mucosa (mg/kg)	Alveolar Macrophage (mg/L)	Epithelial Lining Cell (mg/L)	<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>M. catarrhalis</i>
2.5-5.0	0.5	5.5	113.6	24.4	0.125-0.5	0.031-0.063	0.125

การเปลี่ยนแปลงในร่างกาย

ยาบางส่วนถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับ metabolites หลักที่ได้มี 2 ชนิด คือ N-sulfate (sulfo compound, M1) และ acyl-glucuronide (M2) ซึ่งไม่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ สัดส่วนของ M2 : M1 มีค่าประมาณ 2.5-6 เท่า M1 จับกับโปรตีนในเลือดประมาณ 90% ขณะที่ M2 จับกับโปรตีนในเลือดประมาณ 10%

การขับถ่าย

สัดส่วนของยาที่ถูกขับออกทางปัสสาวะเมื่อให้กินแบบ single dose มีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 19.5-25.7% ขึ้นกับขนาดยาที่ใช้ Half-life ของ moxifloxacin มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 11.4-15.6 ชั่วโมง เมื่อให้กินยาแบบ single dose และมีค่าใกล้เคียงกันนี้เมื่อให้แบบ multiple dose (12.0-16.9 ชั่วโมง)

เมื่อให้กินยาแบบ multiple dose ประมาณ 22% ของยาในรูปเดิม 18% ของยาในรูป glucuronide (M2) และ 3.5% ในรูป sulfo compound (M1) ถูกขับออกทางไต และประมาณ 12% ของยาในรูปเดิม และ 27% ของ sulfo compound (M1) ถูกขับออกทางน้ำดี

CLINICAL STUDY

การศึกษาทางคลินิกของยา moxifloxacin ยังมีไม่มากนัก และมุ่งเน้นศึกษาประโยชน์ของยาในการรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจเป็นสำคัญ ได้แก่ ใน community-acquired pneumonia, acute exacerbation ของ chronic bronchitis และ

acute sinusitis ตัวอย่างการศึกษาทางคลินิกมีดังนี้

1. Community-acquired Pneumonia

Springsklee M¹⁴ ได้รวบรวมผลการศึกษาการใช้ moxifloxacin ในการรักษา community-acquired pneumonia ที่ผ่านมา 4 รายงานซึ่งทำในประเทศต่างๆ มากกว่า 30 ประเทศ เปรียบเทียบกับ clarithromycin กินขนาด 500 mg วันละ 2 ครั้ง และ amoxicillin กิน 1 g วันละ 3 ครั้ง นาน 10 วัน พบว่า moxifloxacin ขนาด 400 mg กินวันละครั้ง ติดต่อกัน 10 วัน ให้อัตราการหายของโรคในผู้ป่วย (clinical success rate) 94.4% เปรียบเทียบกับ 92.9% ในกลุ่มที่ได้รับ clarithromycin หรือ amoxicillin และมีอัตราการกำจัดเชื้อ (bacteriological response rate) เฉลี่ย 93% สำหรับเชื้อ *S. pneumoniae* และ 98% สำหรับเชื้อ *H. influenzae* ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ clarithromycin และ amoxicillin (88% และ 82% ตามลำดับ)

Fogarty C และคณะ¹⁵ ได้ศึกษาในผู้ป่วย community-acquired pneumonia จำนวน 382 คน แบบผู้ป่วยนอก จากสถานพยาบาล 51 แห่ง เปรียบเทียบระหว่าง moxifloxacin 400 mg ต่อวัน กับ clarithromycin 500 mg วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 10 วัน พบว่าอัตราการหายของโรคทั้ง 2 กลุ่มเท่ากัน คือ 95% ในขณะที่อัตราการกำจัดเชื้อเมื่อสิ้นสุดการรักษา ซึ่งรวมทั้งการตรวจโดยวิธีทาง serology และโดยการเพาะเชื้อ เป็น 97% สำหรับกลุ่มที่ได้ moxifloxacin และ 96% สำหรับกลุ่มที่ได้ clarithromycin

2. Acute Exacerbation of Chronic Bronchitis (AECB)

Church D¹⁶ ได้รวบรวมผลการศึกษาทางคลินิกใน phase 2 และ 3 ในกลุ่มผู้ป่วยรวมมากกว่า 2,000 ราย เปรียบเทียบระหว่าง moxifloxacin 400 mg กินวันละครั้ง 5 วัน, moxifloxacin 400 mg วันละครั้ง 10 วัน, cefuroxime 250 mg กินวันละ 2 ครั้ง 10 วัน และ clarithromycin 500 mg กินวันละ 2 ครั้ง 7-10 วัน พบว่าอัตราการหายของโรคเป็น 89, 92, 87 และ 89% ตามลำดับ ส่วนอัตราการกำจัดเชื้อเป็น 87, 91, 85 และ 77% ตามลำดับ

Chodosh S และคณะ¹⁷ ศึกษาในเวลาต่อมาในผู้ป่วย AECB 491 คน จากสถานพยาบาล 56 แห่งในสหรัฐอเมริกา เปรียบเทียบระหว่าง moxifloxacin 400 mg วันละครั้ง 5 วัน, moxifloxacin 400 mg วันละครั้ง 10 วัน และ clarithromycin 500 mg วันละ 2 ครั้ง 10 วัน พบว่าอัตราการหายของโรคเป็น 89, 91 และ 91% ตามลำดับ ในขณะที่อัตราการกำจัดเชื้อเป็น 94, 95 และ 91% ตามลำดับ

Lorenz J และคณะ¹⁸ ศึกษาในผู้ป่วย AECB 332 รายในเยอรมัน เปรียบเทียบ moxifloxacin วันละครั้ง กับ roxithromycin วันละ 2 ครั้ง, clarithromycin วันละ 2 ครั้ง และ azithromycin วันละครั้ง ระยะเวลาเฉลี่ยของการให้ยาในผู้ป่วยแต่ละกลุ่มเป็น 7.1, 8.9, 8.8 และ 3.3 วันตามลำดับ พบว่าการตอบสนองทางคลินิกในผู้ป่วยทั้ง 4 กลุ่มซึ่งประเมินโดยแพทย์ มีอัตราใกล้เคียงกัน (เฉลี่ย 96%) แต่อาการบางอย่างของผู้ป่วยซึ่งประเมินโดยผู้ป่วยเอง ได้แก่ อาการ

ไข้ อาการเจ็บหน้าอก อาการไอเจ็บ (painful cough) และลักษณะสีเสมหะ ในกลุ่มที่ได้รับ moxifloxacin ดีขึ้นเร็วกว่ากลุ่มที่ได้รับ macrolides ทั้ง 3 ชนิด

3. Acute Sinusitis

Hampel B¹⁹ รวมผลการศึกษาทางคลินิกในทวีปอเมริกาเหนือและยุโรป ใน phase 3 ซึ่งศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง moxifloxacin 400 mg วันละครั้ง 7 หรือ 10 วัน กับ cefuroxime 250 mg วันละ 2 ครั้ง 10 วัน ในผู้ป่วย rhinosinusitis พบว่าอัตราการหายของโรคในผู้ป่วยเป็น 92.6 และ 92.8% ตามลำดับ ขณะที่อัตราการกำจัดเชื้อเป็น 95.6% ในกลุ่มที่ได้รับ moxifloxacin นาน 7 วัน, 98% ในกลุ่มที่ได้รับ moxifloxacin นาน 10 วัน และ 87.7% ในกลุ่มที่ได้รับ cefuroxime 10 วัน

Siegert R และคณะ²⁰ ศึกษาในระยะต่อมา การศึกษาเป็นแบบ prospective, randomized, double-blinded ในสถานพยาบาล 60 แห่งในอิสราเอล และประเทศในยุโรปอีก 6 ประเทศ ในผู้ป่วย acute sinusitis 493 คน เปรียบเทียบระหว่าง moxifloxacin 400 mg วันละครั้ง 7 วัน กับ cefuroxime 250 mg วันละ 2 ครั้ง 10 วัน พบว่าอัตราการหายของโรคในผู้ป่วยเป็น 96.7 และ 90.7% และอัตราการกำจัดเชื้อเป็น 94.5 และ 83.5% ตามลำดับ โดยอัตราดังกล่าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ฤทธิ์แทรกแซงของยา^{1,21}

ยาในกลุ่ม fluoroquinolones จัดเป็นยาที่ค่อนข้างปลอดภัย ใกล้เคียงกับยา

ในกลุ่ม betalactams และ macrolides ฤทธิ์ข้างเคียงของยาในกลุ่มนี้ที่พบบ่อย ได้แก่ ฤทธิ์ข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหาร เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน ฤทธิ์ต่อระบบประสาทกลาง เช่น มึนงง ปวดศีรษะ ชัก และฤทธิ์ข้างเคียงทางผิวหนัง เช่น photosensitivity เป็นต้น จากการรวบรวมข้อมูลการใช้ยาในกลุ่ม fluoroquinolones ที่ผ่านมามีรายงานว่ายาแต่ละขนานมีแนวโน้มทำให้เกิดฤทธิ์ข้างเคียงชนิดที่รุนแรงต่างๆ มากน้อยแตกต่างกัน ซึ่งส่วนหนึ่งอธิบายได้จากโครงสร้างทางเคมีที่ต่างกัน เช่น phototoxicity พบได้บ่อยจากยา fleroxacin, sparfloxacin และยาที่มี chlorine เกาะอยู่ที่ตำแหน่งที่ 8 ในโครงสร้าง เช่น cinafloxacin, sitafloxacin ฤทธิ์ข้างเคียงต่อระบบประสาทกลางที่รุนแรง เช่น ประสาทหลอน ชัก และอาการผิดปกติทางจิต และพิษต่อดับ พบจากยา trovafloxacin ได้บ่อยกว่ายาอื่น Photocarcinogenicity มีรายงานว่าเกิดได้จากยา lomefloxacin และความผิดปกติของหัวใจ เช่น prolongation of QTc interval และ torsade de pointes พบจากยา grepafloxacin²² และ sparfloxacin ได้บ่อยกว่ายาอื่นๆ เป็นต้น

สำหรับยา moxifloxacin ฤทธิ์ข้างเคียงที่พบบ่อยซึ่งรวบรวมได้จากรายงานการศึกษาทางคลินิกที่ผ่านมา ได้แก่ คลื่นไส้ (7-8%), ท้องเดิน (5.7%), มึนงง (2.9%), ปวดศีรษะ (2%) และระดับเอนไซม์ตับในเลือดสูงขึ้น (1-2%) ซึ่งอุบัติการณ์ของการเกิดฤทธิ์ข้างเคียงต่างๆ เหล่านี้ ไม่ได้แตกต่างจากยาอื่นทั่วไป ยกเว้นอาการคลื่นไส้ที่พบได้บ่อยกว่ายาอื่นอย่างชัดเจน สำหรับ

ฤทธิ์ข้างเคียงอื่นๆ ข้อมูลที่รวบรวมได้จนถึงปัจจุบัน มีดังนี้

Phototoxicity: จากการศึกษาโดยการทดลองกระตุ้นผิวหนังด้วยแสง UVA ในอาสาสมัครที่ได้รับยา moxifloxacin พบว่าผลไม่ได้แตกต่างจากอาสาสมัครที่ได้รับยาหลอก และจากการศึกษาในผู้ป่วย 4,300 รายที่ได้รับยา พบอุบัติการณ์ของการเกิด phototoxicity ซึ่งเป็นเพียง mild sunburn เพียง 2 ราย (<0.05%)¹

Cardiovascular effects: จากการใช้ยาในผู้ป่วยมากกว่า 1 ล้านคนที่ผ่านมา มีรายงานการเกิด torsade de pointes เพียง 1 ราย ซึ่งยังไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่าเกิดจากยาจริง เนื่องจากผู้ป่วยมีปัจจัยเสี่ยงอื่นๆ ของการเกิดภาวะนี้ร่วมด้วยหลายอย่าง²²

สำหรับฤทธิ์ข้างเคียงอื่นที่รุนแรง เช่น อาการชัก อาการผิดปกติทางจิต การเปลี่ยนแปลงของอารมณ์และของสมอง ตับวาย หรือ tendon rupture ยังไม่เคยมีรายงานการเกิดจากยา moxifloxacin

ปฏิกิริยาต่อกันระหว่างยา¹

อาหาร

พบว่าอาหารมีผลทำให้การดูดซึมของยา moxifloxacin ช้าลงบ้าง ยาขึ้นถึงระดับสูงสุดในเลือด (Tmax) ช้าลงจากเฉลี่ย 1.5 ชั่วโมง เป็น 3.5 ชั่วโมง แต่ปริมาณการดูดซึมยาลดลงเพียงเล็กน้อย ค่า Cmax ลดลงจากเฉลี่ย 1.24 mg/L เป็น 1.04 mg/L ซึ่งไม่มีความสำคัญทางคลินิก

Cation-containing Antacids

ยาลดกรดที่มี Al³⁺, Ca²⁺ หรือ Mg²⁺

เป็นองค์ประกอบอยู่มีผลขัดขวางการดูดซึมยา moxifloxacin ได้ เช่นเดียวกับที่เกิดกับ fluoroquinolones ขนานอื่นๆ มีผลลด oral bioavailability ของยา ทำให้ค่า Cmax และ AUC ของยาลดลงได้ประมาณ 40% และ 45% ตามลำดับ หากจำเป็นต้องให้ยาลดกรดดังกล่าวร่วมด้วย จึงควรให้กิน moxifloxacin ก่อนอย่างน้อย 2 ชั่วโมง หรือหลังอย่างน้อย 4 ชั่วโมง

Iron-containing Drug

มีรายงานว่า ferrous sulfate ลด Cmax ของ moxifloxacin จาก 2.9 mg/L ลงเหลือ 1.2 mg/L และ AUC ลดจาก 34.0 mg/L.h. เหลือ 20.7 mg/L.h. เมื่อให้ยาทั้งสองร่วมกัน

สำหรับการศึกษาการให้ยา moxifloxacin ร่วมกับยาในกลุ่ม H₂-receptor antagonists โดยเฉพาะ ranitidine หรือร่วมกับ theophylline และ warfarin ไม่พบว่ามีปฏิกิริยาต่อกันระหว่างยาเหล่านี้กับยา moxifloxacin

ข้อบ่งใช้และขนาดยา

ยานี้มีข้อบ่งใช้สำหรับรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจทั้งส่วนบนและส่วนล่างในผู้ใหญ่ ขนาดยาที่ใช้คือ 400 mg กินวันละครั้งนาน 5 วัน สำหรับ acute exacerbation ของ chronic bronchitis, นาน 7 วัน สำหรับ acute sinusitis และนาน 10 วัน สำหรับ community-acquired pneumonia

ในผู้ป่วยสูงอายุ ผู้ป่วยที่ไตทำหน้าที่ได้ไม่ดี หรือผู้ป่วยที่ตับเสียหายที่ไม่มากนัก ให้ยาได้ในขนาดปกติ คือ 400 mg วันละครั้ง

ไม่แนะนำให้ใช้ยานี้ในเด็กและวัยรุ่น เนื่องจากมีรายงานว่ายาในกลุ่ม fluoroquinolones มีฤทธิ์ข้างเคียงที่ทำให้เกิดความผิดปกติของกระดูกอ่อน (chondropathy) ในสัตว์ทดลองได้

ห้ามใช้ยานี้ในผู้ป่วยที่มีประวัติแพ้ยานี้หรือยาอื่นในกลุ่ม fluoroquinolones ในหญิงตั้งครรภ์และหญิงให้นมบุตร

REFERENCES

1. Ball P, Mandell L, Niki Y, Tillotson G. Comparative tolerability of the newer fluoroquinolone antibacterials. *Drug Safety* 1999; 21 : 407-21.
2. Ball P. Fluoroquinolone safety and tolerability. In : Mandell L, ed. *First international moxifloxacin symposium*. Berlin : Springer, 1999: 138-43.
3. Tillotson GS, Blondeau JM. Structure-activity-function evaluation of the fluoroquinolones. In: Adam D, Finch R, eds. *Moxifloxacin in practice*, vol. 2. Oxford : Maxim Medical, 1999 : 91-101.
4. Drlica K. Mechanism of fluoroquinolone action and resistance. In : Mandell L, ed. *First international moxifloxacin symposium*. Berlin : Springer, 1999 : 75-83.
5. Blondeau JM. A review of the comparative in-vitro activities of 12 antimicrobial agents, with a focus on 5 new respiratory quinolones. *JAC* 1999; 43 (Suppl B) : 1-11.
6. Blondeau JM, Felmingham D. In vitro and in vivo activities of moxifloxacin against community respiratory tract pathogens. *Clin Drug Invest* 1999; 18 : 57-78.
7. Flemingham D, et al. In vitro activity of moxifloxacin (BAY 12-8039), a novel 8-methoxyquinolone, compared with ofloxacin and other antibiotics. In : Adam D, Finch R, eds. *Moxifloxacin in practice*, vol. 1. Oxford: Maxim Medical, 1999 : 27-38.

8. Bebear CM. Preclinical microbiology-atypical organisms. In : Mandell L, ed. *First international moxifloxacin symposium*. Berlin : Springer, 1999 : 31-35.
9. Goldstein E. In vitro activity of moxifloxacin (Bay 12-8039), an 8-methoxyquinolone, compared to other fluoroquinolones against anaerobic bacteria. In : Mandell L, ed. *First international moxifloxacin symposium*. Berlin : Springer, 1999 : 43-48.
10. Gillespie SH. Preclinical microbiology-mycobacteria. In : Mandell L, ed. *First international moxifloxacin symposium*. Berlin : Springer, 1999 : 37-42.
11. Wise R. A review of the clinical pharmacology of moxifloxacin, a new 8-methoxyquinolone, and its potential relation to therapeutic efficacy. *Clin Drug Invest* 1999; 17 : 365-87.
12. Ballou C, Lettieri J, Agarwal V, Lin P, Stass H, Sullivan JT. Absolute bioavailability of moxifloxacin. *Clin Ther* 1999, 21 : 513-22.
13. Stass H, Kubitz D. Pharmacokinetics and elimination of moxifloxacin after oral and intravenous administration in man. *JAC* 1999, 43 (Suppl B) : 83-90.
14. Springsklee M. Clinical needs in the millennium-pneumonia-the role of moxifloxacin. In : Mandell L, ed. *First international moxifloxacin symposium*. Berlin : Springer, 1999 : 154-58.
15. Fogarty C, Grossman C, Williams J, Haverstock D, Church D. Efficacy and safety of moxifloxacin vs clarithromycin for community-acquired pneumonia. *Infect Med* 1999, 16 : 748-63.
16. Church D. Clinical needs in the millennium-acute exacerbation of chronic bronchitis-the role of moxifloxacin. In : Mandell L, ed. *First international moxifloxacin symposium*. Berlin: Springer, 1999 : 165-68.
17. Chodosh S, De Abate A, Haverstock D, Aneiro L, Church D. Short-course moxifloxacin therapy for treatment of acute bacterial exacerbation of chronic bronchitis. *Resp Med* 2000, 94 : 18-27.
18. Lorenz J, Thate-Waschke I-M, Mast O, Kubin R, et al. Treatment outcomes in acute exacerbation of chronic bronchitis : comparison of macrolides and moxifloxacin from the patient perspective. *J Inter Med Res* 2001. 29 : 74-86.
19. Hampel B. Clinical needs in the millennium-rhinosinusitis-the role of moxifloxacin. In : Mandell L, ed. *First international moxifloxacin symposium*. Berlin : Springer, 1999 : 174-77.
20. Siegert R, et al. A comparison of the safety and efficacy of moxifloxacin (Bay 12-8039) and cefuroxime axetil in the treatment of acute bacterial sinusitis in adults. *Resp Med* 2000, 94 : 337-44.
21. Ball P. Fluoroquinolone safety and tolerability. In : Mandell L, ed. *First international moxifloxacin symposium*. Berlin : Springer, 1999 : 138-43.
22. Ball P. Quinolone-induced QT interval prolongation : a not so-unexpected class effect. *JAC* 2000, 45 : 557-59.

TOLTERODINE : A NEW BLADDER SELECTIVE MUSCARINIC RECEPTOR ANTAGONIST

Mayuree H. Tantisira

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

ABSTRACT

Tolterodine is a new competitive muscarinic receptor antagonist recently approved for the treatment of overactive bladder with symptoms of urinary frequency, urgency or urge incontinence. Though tolterodine is a nonsubtype selective antimuscarinic agent, it exhibits favorable selectivity for the urinary bladder over salivary glands both *in vitro* and *in vivo* studies. It is well absorbed after oral administration and exhibits high first-pass metabolism. Two hepatic metabolic pathways, oxidation and N-dealkylation, are mediated by the cytochrome P450(CYP) isoforms 2D6 and 3A4, respectively. Urinary excretion of metabolites accounts for approximately 80% of the administered dose. Pharmacokinetic profile of tolterodine is linear over the dose 1-4 mg and does not appear to be affected by age or gender. The active 5-hydroxymethyl metabolite formed by CYP 2D6 shows rather similar pharmacodynamic and pharmacokinetic profiles, except for binding ability to plasma protein, to its parent compound. In patients with overactive bladder, tolterodine significantly reduces clinically relevant end points such as number of micturition and number of incontinence episode/day while increasing the average volume voided. Therapeutic efficacy of tolterodine is maintained during long term treatment. As might be expected from its pharmacological profile, the principal adverse effect of tolterodine is dry mouth. An optimal efficacy/side effect profile is obtained with tolterodine at a dosage of 1-2 mg twice daily. Comparatively, tolterodine and oxybutynin (5 mg tid.) are equivalent in terms of efficacy. However, tolterodine is better tolerated than oxybutynin with respect to the incidence and severity of dry mouth. No clinically relevant ECG changes or significant adverse effect on the central nervous system have been noted with tolterodine.

Key words : tolterodine, muscarinic receptor antagonist, overactive bladder

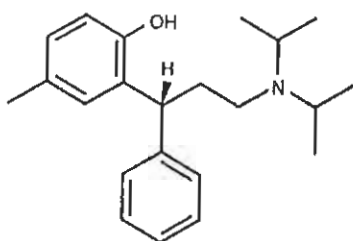
บทนำ

Tolterodine เป็นยาใหม่ในกลุ่ม muscarinic receptor antagonists ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมี เป็น tertiary amine เช่นเดียวกับ oxybutynin ซึ่งเป็น muscarinic receptor antagonist ที่ถูกนำมาใช้เพื่อบำบัด overactive bladder ซึ่งเป็นอาการที่เกิดจากกล้ามเนื้อ detrusor ของกระเพาะปัสสาวะบีบตัวในลักษณะที่อยู่นอกเหนือการควบคุมของจิตใจ (involuntary contraction) ในขณะที่กระเพาะปัสสาวะยังอยู่ในช่วงเวลาของการรองรับปัสสาวะ (bladder filling) ซึ่งมาจากไต ทำให้ผู้ป่วยต้องถ่ายปัสสาวะบ่อย (frequency) ร่วมกับรู้สึกปวดปัสสาวะอย่างรุนแรงและเฉียบพลัน (urgency) และบางครั้งไม่สามารถกลั้นปัสสาวะได้ (urge incontinence) ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาทางอารมณ์และการทำกิจกรรมในชีวิตประจำวันหลาย ๆ อย่าง^{1, 2}

Overactive bladder เกิดได้กับผู้ป่วยทุกเพศทุกวัย มีผู้ประมาณการว่าอุบัติการณ์ของอาการดังกล่าวในกลุ่มประชากรอายุ 20-60 ปี คือร้อยละ 10 พบในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย และผู้สูงอายุมีโอกาสเกิดปัญหาดังกล่าวมากกว่าประชากรกลุ่มอื่น ถึงแม้ว่าจะมีทางเลือกของการบำบัดที่ไม่ใช้ยาอยู่หลายวิธี เช่น การผ่าตัด การใช้ผ้าอ้อมหรือการถ่ายปัสสาวะตามเวลาที่กำหนด แต่การใช้ยาก็ยังเป็นวิธีการรักษาที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับ overactive bladder^{3, 4}

โดยทั่วไป muscarinic receptor antagonists เป็นกลุ่มยาที่ใช้กันมากที่สุดในการบำบัดอาการ overactive bladder ด้วย

เหตุผลที่ว่าระบบประสาทที่มีบทบาทสำคัญต่อการบีบตัวของกล้ามเนื้อ detrusor ของกระเพาะปัสสาวะคือระบบประสาทพาราซิมพาเธติก ซึ่งใช้ acetylcholine เป็นสารสื่อประสาทในการออกฤทธิ์ผ่านตัวรับมัสคารินิกชนิด M_3 ซึ่งพบอยู่ร่วมกับตัวรับมัสคารินิกชนิด M_1 และ M_2 บนกล้ามเนื้อ detrusor โดยตัวรับที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นกล้ามเนื้อ detrusor คือตัวรับชนิด M_3 ถึงแม้ว่าการใช้ยาในกลุ่มนี้จะสามารถควบคุมอาการของ overactive bladder ได้ดี แต่ก็มีปัญหาบางประการจากการใช้ยา เช่น muscarinic receptor antagonists ที่มีสูตรโครงสร้างเป็น quaternary ammonium เช่น propantheline, emepronium และ trospium ถูกดูดซึมได้ไม่ดีจากทางเดินอาหาร ดังนั้นจึงมีชีวปริมาณออกฤทธิ์ (bioavailability) ต่ำ ในขณะที่ยาในกลุ่ม tertiary ammonium เช่น oxybutynin ซึ่งเป็น M_3 -selective muscarinic receptor antagonist ที่แม้จะถูกดูดซึมได้ดี แต่ก่อให้เกิดฤทธิ์ไม่พึงประสงค์อันเป็นผลสืบเนื่องจากการปิดกั้นตัวรับมัสคารินิกอื่น ๆ เช่น อาการปากแห้งหรือท้องผูกในผู้ที่ใช้ยานี้สูงถึงร้อยละ 50 ดังนั้น tolterodine หรือ PNU-200583 หรือชื่อทางเคมี คือ (R)-N,N-diisopropyl-3-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-3-phenylpropanamine (รูปที่ 1) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 475.58 เมื่ออยู่ในรูปของเกลือ tartrate และมีคุณสมบัติเป็น bladder-selective muscarinic receptor antagonist จึงถูกพัฒนาขึ้นมาโดย Pharmacia & Corporation แห่งประเทศสหรัฐอเมริกา เพื่อใช้ในการรักษา overactive bladder^{5, 6}



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ tolterodine

การศึกษาในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง

การศึกษาทางเภสัชวิทยา⁷⁻¹⁰

จากการศึกษาการเข้าจับของ tolterodine ต่อตัวรับมัสคารินิกของคนที่แสดงออกใน Chinese hamster ovary cells พบว่า tolterodine เป็น muscarinic receptor antagonist ที่เข้าจับกับตัวรับมัสคารินิกในเชิงแข่งขัน โดยไม่มีความจำเพาะในการเข้าจับกับ subtypes ของตัวรับมัสคารินิกชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นพิเศษ ในขณะที่ oxybutynin มีความจำเพาะต่อตัวรับมัสคารินิกชนิด M_1 และ M_3 มากกว่าตัวรับมัสคารินิกชนิดอื่น

ใน *In vitro* เมื่อเปรียบเทียบกับ oxybutynin พบว่า tolterodine สามารถต้านฤทธิ์ของ carbachol ซึ่งเป็น cholinergic agonist ที่ใช้เหนี่ยวนำให้เกิดการบีบตัวของกล้ามเนื้อกระเพาะปัสสาวะใน bladder strip ของคนและหนูตะเภาได้ดีเท่ากับ oxybutynin ในขณะที่ผลการศึกษาจาก radioligand binding กับตัวรับมัสคารินิกของเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ ได้แก่ เปลือกสมองใหญ่ หัวใจ กระเพาะปัสสาวะ และต่อมน้ำลายของหนูตะเภา พบว่านอกจาก tolterodine จะแสดง affinity ต่อตัวรับมัสคารินิกที่ต่อมน้ำลายน้อยกว่าเนื้อเยื่ออื่นๆแล้ว เมื่อ

เปรียบเทียบกับ oxybutynin พบว่า tolterodine มี affinity ต่อตัวรับมัสคารินิกที่ต่อมน้ำลายน้อยกว่า oxybutynin ถึง 8 เท่า ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาใน *In vivo* ซึ่งคณะผู้วิจัยได้ใช้ acetylcholine เหนี่ยวนำให้กระเพาะปัสสาวะบีบตัวและกระตุ้นการหลั่งน้ำลายโดยการกระตุ้น chordalingual nerve ของแมวที่อยู่ใต้ฤทธิ์ของยาสลบ พบว่า tolterodine ที่ให้โดยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำสามารถต้านฤทธิ์การตอบสนองที่ผ่านตัวรับมัสคารินิกดังกล่าวได้ในลักษณะเดียวกันกับการทดสอบใน *In vitro* นั่นคือ tolterodine สามารถต้านฤทธิ์การบีบตัวของกระเพาะปัสสาวะได้ดีกว่าการหลั่งน้ำลาย ในขณะที่ oxybutynin จะออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งน้ำลายได้ดีกว่าการบีบตัวของกระเพาะปัสสาวะ

นอกจากนั้นยังพบว่า 5-hydroxy-methyl metabolite (PNU-200577, DD 01 หรือ 5- HM) ซึ่งเป็น metabolite หลักของ tolterodine (ดูในหัวข้อเภสัชจลนศาสตร์) ก็แสดงคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาเช่นเดียวกับ tolterodine นั่นคือมีความแรงในการปิดกั้นตัวรับมัสคารินิกที่กระเพาะปัสสาวะได้ใกล้เคียงกับ oxybutynin แต่มีฤทธิ์อ่อนกว่า oxybutynin ในการยับยั้งการหลั่งน้ำลาย

ถึงแม้ว่า subtype ของตัวรับมัสคารินิกที่มีบทบาทสำคัญต่อการบีบตัวของกระเพาะปัสสาวะและการหลั่งน้ำลาย คือ ตัวรับมัสคารินิกชนิด M_3 เช่นเดียวกัน แต่ในขณะนี้ยังไม่สามารถอธิบายได้ถึงความแตกต่างของการออกฤทธิ์ของ tolterodine หรือ 5-HM ที่มีต่อกระเพาะปัสสาวะและต่อมน้ำ

ลาย ดังปรากฏในการทดลองทั้งใน *in vitro* และ *in vivo* ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

การศึกษาทางพิษวิทยา^๑

ในสุนัขและหนูถีบจักรไม่พบว่า tolterodine ออกฤทธิ์อย่างเด่นชัดต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบทางเดินอาหาร หรือไต ฤทธิ์อันไม่พึงประสงค์จากการได้รับ tolterodine ในขนาดสูงเป็นผลอันสืบเนื่องมาจากการปิดกั้นตัวรับมัสคารินิก อาทิ หัวใจเต้นเร็ว รูม่านตาขยาย หรือลดการเคลื่อนไหวของระบบทางเดินอาหาร จากการศึกษาความเป็นพิษในระยะเวลา 1 ปี ไม่ปรากฏว่า tolterodine มีพิษต่อระบบอวัยวะ รวมทั้งไม่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งหรือก่อการกลายพันธุ์ Tolterodine ในขนาด 20 มก./วัน ไม่มีผลต่อภาวะการเจริญพันธุ์หรือเป็นพิษต่อตัวอ่อน แต่ในขนาดที่สูงขึ้น (30-40 มก./วัน) จะมีพิษต่อตัวอ่อนของหนูถีบจักรที่แม่ได้รับ tolterodine ในขนาดดังกล่าว

การศึกษาทางคลินิก

เภสัชจลนศาสตร์^{๑,8,11-13}

เนื่องจาก tolterodine ส่วนใหญ่จะถูก metabolized โดยเอนไซม์ cytochrome P450 (CYP) 2D6 เป็น 5-HM ซึ่งเป็น active metabolite ที่มีคุณสมบัติเกือบทั้งหมด ยกเว้นการจับกับโปรตีน คล้ายคลึงกับ tolterodine ดังนั้นคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของ tolterodine ใน poor metabolizer ซึ่งก็คือผู้ที่ขาดเอนไซม์ CYP

2D6 (พบประมาณร้อยละ 7 ในประชากร caucasian) จึงต่างไปจาก extensive metabolizer อย่างไรก็ดีตาม เนื่องจาก 5-HM มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาเช่นเดียวกับ tolterodine ความแตกต่างดังกล่าวจึงไม่มีผลต่อการใช้ยาทางคลินิก นั่นคือในขณะที่ผลการรักษาใน poor metabolizer เป็นผลจาก tolterodine ใน extensive metabolizer ผลจากการรักษาส่วนใหญ่จะเป็นผลจาก 5-HM

Tolterodine ถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์จากทางเดินอาหาร โดยมีระดับยาสูงสุดในเลือดภายในเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง (ตารางที่ 1) อาหารไม่มีผลต่อการดูดซึมของยา ชีวปริมาณออกฤทธิ์ของ tolterodine ในอาสาสมัครสุขภาพดีอยู่ระหว่างร้อยละ 10-70 ขึ้นอยู่กับความแตกต่างในกระบวนการ metabolism ดังได้กล่าวมาแล้ว Tolterodine จับกับโปรตีนในเลือด ซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ α_1 -acid glycoprotein ได้มากกว่า 5-HM ซึ่งจะอยู่ในรูปอิสระ (free drug) ถึงร้อยละ 36 ในขณะที่ Tolterodine อยู่ในรูปอิสระเพียงร้อยละ 3.7 เท่านั้น Tolterodine ละลายในไขมันได้ดีกว่า 5-HM จึงสามารถผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อต่างๆ ได้ดี และมี volume of distribution เท่ากับ 0.9-1.61 L/kg หลังจากการให้เพียงครั้งเดียวทางหลอดเลือดดำในขนาด 1.28 มก.

เภสัชจลนศาสตร์ของ tolterodine ในขนาด 1-4 มก. จะอยู่ในรูปของ linear และไม่มี ความแตกต่างระหว่างเพศและอายุแต่อย่างใด

Tolterodine มี first-pass metabolism ค่อนข้างสูง ใน extensive metabolizer กระบวนการเปลี่ยนแปลงยาที่

สำคัญที่ตับคือกระบวนการ oxidation โดยเอนไซม์ CYP 2D6 ได้เป็น 5-HM ซึ่งเป็น active metabolite ซึ่งจะถูกทำให้หมดฤทธิ์โดยการเปลี่ยนเป็น 5-carboxylic acid metabolite ส่วนกระบวนการ N-dealkylation โดยเอนไซม์ CYP 3A4 เกิดขึ้นเป็นส่วนใหญ่และไม่มีผลต่อการรักษา (รูปที่ 2) แต่สำหรับ poor metabolizer ที่ขาดเอนไซม์ CYP 2D6 นั้นกระบวนการ N-dealkylation โดยเอนไซม์ CYP 3A4 จะเป็นกระบวนการสำคัญในการเปลี่ยนแปลง tolterodine ที่ตับ

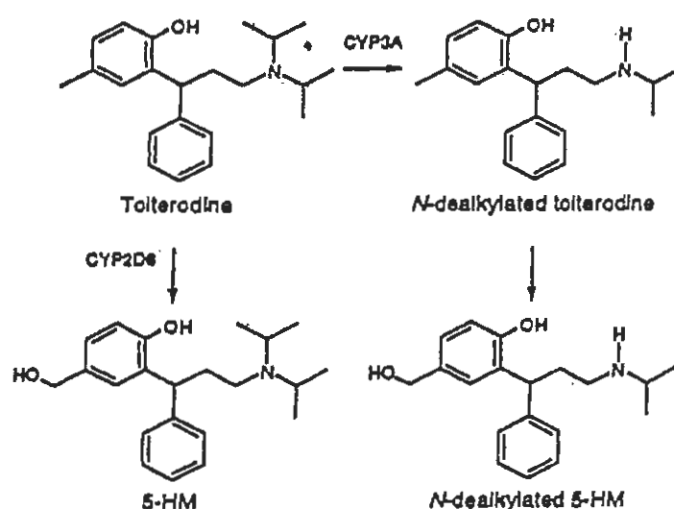
ประมาณร้อยละ 77 ของ [^{14}C] tolterodine ที่รับประทานเข้าไปจะถูกขับออก

ทางปัสสาวะ (ส่วนใหญ่ในรูปของ 5-carboxylic acid metabolite) และร้อยละ 17 จะถูกขับออกทางอุจจาระภายใน 1 สัปดาห์ โดยที่สารกัมมันตรังสีส่วนใหญ่จะถูกขับออกภายใน 24 ชั่วโมง systemic clearance rate ของ tolterodine ใน extensive metabolizer คือ 44 L/hour ในขณะที่มีค่าเท่ากับ 9 L/hour ใน poor metabolizer ทำให้มี elimination half-life เท่ากับ 2-3 ชั่วโมงใน extensive metabolizer และ 10 ชั่วโมงใน poor metabolizer

ตารางที่ 1 ค่าตัวแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ของ tolterodine และ 5-HM ในอาสาสมัครสุขภาพดี (11 คน) ที่ได้รับ tolterodine (2 มก. วันละ 2 เวลา) เป็นเวลา 7 วัน

Parameter	Tolterodine	5-HM
AUC _{0-12 h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$)	11.8 $\pm$ 14.2	12.1 $\pm$ 3.3
C _{max} ($\mu\text{g/L}$)	2.5 $\pm$ 2.3	2.2 $\pm$ 0.7
T _{max} (h)	2.5 $\pm$ 1.1	2.5 $\pm$ 1.0
t _{1/2} (h)	2.4 $\pm$ 0.9	3.4 $\pm$ 1.7

AUC_{0-12 h} = area under the serum concentration-time curve; C_{max} = peak serum concentration; T_{max} = time to reach C_{max}; t_{1/2} = half-life



รูปที่ 2 Metabolic pathway ของ tolterodine ในคน

เภสัชพลศาสตร์

จากการศึกษาผลของ tolterodine (0.2-12.8 มก.) ที่ให้เพียงครั้งเดียวในอาสาสมัครสุขภาพดี (phase 1) พบว่า tolterodine เริ่มออกฤทธิ์หลังรับประทานยาประมาณหนึ่งชั่วโมง อาสาสมัครทนต่อยาได้ดี Tolterodine ทำให้หัวใจเต้นเร็วขึ้น ยับยั้งการหลั่งน้ำลายและการทำงานของกระเพาะปัสสาวะ โดยความถี่ของการถ่ายปัสสาวะลดลงอย่างเป็นปฏิกิริยากับขนาดของยาที่รับประทาน และฤทธิ์ดังกล่าวสามารถคงอยู่ได้แม้ในขณะที่ไม่พบการออกฤทธิ์ยับยั้งต่อต่อมน้ำลายแล้ว อย่างไรก็ตามเนื่องจากพบว่า tolterodine ในขนาดตั้งแต่ 6.4 มก. ขึ้นไปทำให้ urinary residual volume เพิ่มขึ้น คณะผู้วิจัยจึงสรุปว่าในคน tolterodine สามารถออกฤทธิ์ต่อกระเพาะปัสสาวะได้มากกว่าต่อมน้ำลายเช่นเดียวกับผลการศึกษาในหลอดทดลอง และขนาด 6.4 มก. เป็นขนาดที่สูงเกินไปสำหรับการใช้ในคน^{8,14}

ผลจากการศึกษาในผู้ป่วยใน phase 2 จำนวน 319 คน (ชาย 116 คน หญิง 203 คน) ที่มีความถี่ในการถ่ายปัสสาวะอย่างน้อย 8 ครั้ง/วัน หรือมีอาการกลั้นปัสสาวะไม่อยู่อย่างน้อย 1 ครั้ง/วัน โดยให้ tolterodine ในขนาด 0.5, 1, 2 และ 4 มก. วันละ 2 เวลา เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า tolterodine ในขนาด 2 และ 4 มก./วัน สามารถลดความถี่ของการถ่ายปัสสาวะและอาการกลั้นปัสสาวะไม่อยู่ได้ร้อยละ 15 และ 38-46 ตามลำดับ โดยไม่มีผลต่อความดันเลือด ค่าผลการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการ หรือลักษณะของคลื่นไฟฟ้าของ

หัวใจแต่อย่างใด ฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ที่พบได้แก่ ปากแห้งซึ่งมีอุบัติการณ์สูงขึ้นตามขนาดยาอย่างชัดเจน โดยพบได้ร้อยละ 7, 13, 26 และ 36 ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับ tolterodine ในขนาด 0.5, 1, 2 และ 4 มก. วันละ 2 เวลาตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบว่ามีปัญหาของ residual urinary volume และอาการหัวใจเต้นเร็วขึ้นในผู้ป่วยที่ได้รับยาในขนาดสูงสุดอีกด้วย ดังนั้นขนาดของยาที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วย overactive bladder จึงควรเป็น 1-2 มก. วันละ 2 เวลา ซึ่งข้อสรุปนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาต่อมาในภายหลังอีกหลายการศึกษา^{8,15-17}

จากการศึกษาใน phase 3 ซึ่งศึกษาผลของ tolterodine ในขนาด 1-2 มก. วันละ 2 เวลา เป็นเวลา 4 หรือ 12 สัปดาห์ โดยวิธี double-blinded, randomized, parallel group และเปรียบเทียบกับยาหลอก (placebo) หรือ oxybutynin ในผู้ป่วย overactive bladder จำนวนกว่า 2,000 คน ในประเทศต่างๆ 15 ประเทศ พบว่า tolterodine ในขนาดและวิธีใช้ดังกล่าวมาแล้วสามารถลดความถี่ของการถ่ายปัสสาวะหรือการกลั้นปัสสาวะไม่อยู่ และเพิ่มปริมาณปัสสาวะที่ถ่ายออกมาในแต่ละครั้ง ในกลุ่มผู้ป่วยดังกล่าว ต่างจากยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การออกฤทธิ์ของยาจะเข้าสู่ระดับสูงสุดหลังจากได้รับยาไปแล้ว 5-8 สัปดาห์ และเมื่อเปรียบเทียบกับ oxybutynin พบว่า tolterodine ในขนาด 2 มก. วันละ 2 เวลา มีประสิทธิภาพในการรักษา overactive bladder ได้ดีเท่ากัน ในขณะที่มีฤทธิ์ไม่พึงประสงค์โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาการปากแห้งต่ำกว่ามาก ในขนาด

5 มก. วันละ 3 เวลา^{6,13,18-19}

จากการติดตามผู้ป่วยบางส่วนในการศึกษาใน phase 2 และ 3 ต่อไปอีกเป็นเวลา 6 เดือน (700 คน) และ 12 เดือน (223 คน) พบว่า tolterodine ให้ผลการรักษาในระยะเวลาดังกล่าวได้ดี ไม่แตกต่างจากผลของการรักษาในเดือนแรก^{1,6}

อาการอันไม่พึงประสงค์^{6,14,18,20}

จากการศึกษาการกระจายตัวของ tolterodine ที่ติดจลากด้วยสารกัมมันต-ภาพรังสีในหนูถีบจักร และการติดตามการใช้ยาในคนด้วยวิธี topographic electro-

encephalometry แสดงให้เห็นว่า tolterodine ผ่านเข้าสู่สมองและออกฤทธิ์ต่อสมองได้น้อย ฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ที่เด่นชัดของ tolterodine (ตารางที่ 2) คืออาการปากแห้งซึ่งอาจพบได้สูงถึงร้อยละ 39 ในผู้ที่ใช้ยาในขนาด 2 มก. วันละ 2 เวลา นอกเหนือจากอาการปากแห้งแล้ว อาการอื่นๆ ที่พบในกลุ่มผู้ใช้ tolterodine สูงกว่ากลุ่มผู้ที่ได้รับยาหลอก และมีอุบัติการณ์สูงขึ้นตามขนาดยาที่ใช้ และที่น่าจะเกิดจากการใช้ยา คือ อาการปวดหัว ท้องผูก และ dyspepsia ไม่มีรายงานว่า tolterodine มีผลที่เด่นชัดต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด

ตารางที่ 2 อุตติการณ์ของอาการอันไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้น ($\geq$ ร้อยละ 5) ในผู้ป่วยที่ได้รับยาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

อาการอันไม่พึงประสงค์	ยาหลอก (n = 176)	Tolterodine วันละ 2 เวลา		Oxybutynin 5 มก. วันละ 3 เวลา (n = 349)
		1 มก. (n = 121)	2 มก. (n = 474)	
ระบบประสาทอัตโนมัติ				
ปากแห้ง	28 (16%)	29 (24%)	187 (39%)	273 (78%)
ใจสั่น	5 (3%)	8 (7%)	2 (0.4%)	8 (2%)
ระบบประสาทส่วนกลาง				
เวียนศีรษะ	16 (9%)	11 (9%)	42 (9%)	30 (9%)
ระบบทางเดินอาหาร				
ปวดท้อง	11 (6%)	7 (6%)	36 (8%)	22 (6%)
ท้องผูก	8 (5%)	7 (6%)	31 (7%)	33 (9%)
ธาตุพิการ (dyspepsia)	3 (2%)	2 (2%)	28 (6%)	39 (11%)
ท้องเสีย	11 (6%)	7 (6%)	19 (4%)	18 (5%)
ระบบทางเดินหายใจ				
การติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนต้น	16 (9%)	3 (2%)	28 (6%)	11 (3%)
ไซนัสอักเสบ	10 (6%)	7 (6%)	5 (1%)	8 (2%)
ระบบปัสสาวะ	13 (7%)	6 (5%)	26 (5%)	27 (8%)
การติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ				
อื่น ๆ				
ปวดศีรษะ	13 (7%)	8 (7%)	52 (11%)	24 (7%)
เมื่อยล้า	13 (7%)	9 (7%)	32 (7%)	16 (5%)
จำนวนผู้ป่วยที่รายงานอาการอันไม่พึงประสงค์	137 (78%)	77 (64%)	371 (78%)	325 (93%)

ข้อห้ามใช้และข้อควรระวัง^{6,20}

ไม่ควรใช้ tolterodine ในหญิงตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร ผู้ป่วยดื้อหินชนิดมูมปิดที่ยังควบคุมอาการไม่ได้ และผู้ป่วยที่มีอาการปัสสาวะคั่ง ควรใช้ tolterodine ด้วยความระมัดระวังเป็นพิเศษในผู้ป่วยที่ไตเสื่อมอย่างรุนแรง ผู้ที่มีการอุดตันของลำไส้หรือทางเดินปัสสาวะ และดื้อหินที่ควบคุมอาการได้แล้ว

ข้อบ่งใช้และขนาดการใช้

ในสหรัฐอเมริกา tolterodine ได้รับการขึ้นทะเบียนโดยมีข้อบ่งใช้สำหรับ over-active bladder และสำหรับ unstable bladder ในทวีปยุโรป¹⁸ สำหรับในประเทศไทย tolterodine ซึ่งอยู่ในรูปของ film-coated tablet ชนิด immediate release มีขนาดมีดละ 1 และ 2 มก. และมีชื่อทางการค้าว่า DetrusitolTM ได้รับการขึ้นทะเบียนยาเมื่อปลายปีพ.ศ. 2541 โดยมีข้อบ่งใช้สำหรับรักษาภาวะกระเพาะปัสสาวะทำงานมากกว่าปกติ ซึ่งมีอาการถ่ายปัสสาวะบ่อยครั้ง (มากกว่า 8 ครั้งต่อวัน) อาการปวดปัสสาวะอย่างรุนแรงจนกระทั่งต้องรีบไปปัสสาวะ หรืออาการปัสสาวะเล็ดราดเนื่องจากไม่สามารถกลั้นปัสสาวะได้

ขนาดที่แนะนำให้ใช้ คือ 2 มก. วันละ 2 เวลา ทั้งใน extensive และ poor metabolizers หรือผู้สูงอายุ และควรลดขนาดลงเป็น 1 มก. วันละ 2 เวลา ในผู้ที่มีการทำงานของตับบกพร่อง

มีรายงานเบื้องต้นว่า ค่าเภสัชจลน-

ศาสตร์ของ extended release capsule ของ tolterodine ในขนาด 4 มก. วันละหนึ่งเวลา ในอาสาสมัครสุขภาพดี (19 คน) ไม่แตกต่างกับการได้รับ tolterodine ในขนาด 2 มก. วันละ 2 เวลา และอาสาสมัครสามารถทนต่อยาได้ดี²¹

ยังไม่ทราบแน่ชัดถึงผลการรักษาของ tolterodine ในเด็ก แต่มีผู้ทดลองใช้ tolterodine รักษา overactive bladder ในเด็กอายุ 5-10 ปี (33 คน) ซึ่งรายงานขนาดยาที่เหมาะสมในผู้ป่วยกลุ่มนี้คือ 1 มก. วันละ 2 เวลา²²

ปฏิกิริยากับยาชนิดอื่นที่ได้รับร่วมกัน

ไม่พบว่าการให้ fluoxetine ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ CYP 2D6 ทำให้ผลการรักษาของ tolterodine ทั้งใน extensive และ poor metabolizers เปลี่ยนแปลงไปแต่อย่างใด แม้จะมีการเปลี่ยนแปลงของค่าทางเภสัชจลนศาสตร์²² และการให้ ketoconazole ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ CYP 3A4 ในผู้ที่เป็ poor metabolizer ทำให้ AUC ของ tolterodine เพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า²³ ดังนั้นจึงต้องใช้ tolterodine ด้วยความระมัดระวังในผู้ป่วยที่ได้รับยายับยั้งเอนไซม์ CYP 2D6 และ 3A4

สรุป

Tolterodine เป็นยาใหม่ในกลุ่ม muscarinic receptor antagonists ที่ไม่มี affinity อย่างจำเพาะต่อ subtype ของตัวรับมัสคารินิกชนิดใด ๆ แต่สามารถออกฤทธิ์

ยับยั้งการบีบตัวของกล้ามเนื้อ detrusor ของกระเพาะปัสสาวะได้ดีกว่ายับยั้งการหลั่งน้ำลาย ดังนั้นในขนาดที่ให้ผลในการรักษา overactive bladder (1-2 มก. วันละ 2 เวลา) จึงสามารถลดความถี่ของการถ่ายปัสสาวะต่อวัน อาการปวดปัสสาวะอย่างรุนแรง รวมทั้งการกลั้นปัสสาวะไม่อยู่ หรือเพิ่ม

ปริมาณปัสสาวะที่ถ่ายออกมาในแต่ละครั้งได้ โดยมีฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ คือ อาการปากคอแห้งเล็กน้อยจนถึงปานกลาง อันเป็นผลจากการปิดกั้นตัวรับมัสคารินิกที่ต่อมน้ำลาย อย่างไรก็ตาม ผลข้างเคียงดังกล่าวพบน้อยกว่า oxybutynin ในขนาดที่ให้ผลการรักษาใกล้เคียงกัน (5 มก. วันละ 3 เวลา)

เอกสารอ้างอิง

1. Hills CJ, Winter SA, Balfour JA. Tolterodine. *Drugs* 1998; 55(6): 813-820.
2. Jackson S. The patient with an overactive bladder-symptom and quality-of-life issues. *Urology* 1997; 50 (Suppl 6A): 18-22.
3. Turner-Warwick R. Observation on the function and dysfunction of the sphincter and detrusor mechanism. *Urol Clin North Am* 1979; 6: 23-29.
4. Andersson K-E. The overactive bladder: pharmacologic basis of drug treatment. *Urology* 1997; 50 (Suppl 6A): 74-84.
5. Yarker YE, Goa KL, Fitton A. Oxybutynin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic use in detrusor instability. *Drugs Aging* 1995; 6: 243-262.
6. Detrusitol, tolterodine L-tartrate tablet, International monograph. Chester, England: Adis International limited, 1998.
7. Nilvebrant L, Andersson K-E, Gillberg P-G, et al. Tolterodine: a new bladder-selective antimuscarinic agent. *Eur J Pharmacol* 1997; 327: 195-207.
8. Nilvebrant L, Hallen B, Larsson G. Tolterodine: a new bladder-selective muscarinic receptor antagonist: preclinical pharmacological and clinical data. *Life Sci* 1997; 60(13/14): 1129-1136.
9. Nilvebrant L, Gillberg PG, Sparf B. Antimuscarinic potency and bladder selectivity of PNU-200577, a major metabolite of tolterodine. *Pharmacol Toxicol* 1997; 81: 169-172.
10. Gillberg P-G, Sundquis S, Nilvebrant L. Comparison of the in vitro and in vivo profiles of tolterodine with those of subtype-selective muscarinic receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 1998; 349: 285-292.
11. Brynne N, Dalen P, Alvan G, et al. Influence of CYP 2D6 polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tolterodine. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 63: 529-539.
12. Postlind H, Danielson A, Lindgren A, et al. Tolterodine: a new muscarinic receptor antagonist is metabolized by cytochrome P450 2D6 and 3A in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 1998; 26: 289-293.
13. Nilvebrant L. The mechanism of action of tolterodine. *Rev Contemp Pharmacother* 2000; 11: 13-27.
14. Stahl MMS, Ekstrom B, Sparf B, et al. Urodynamic and other effects of tolterodine: a novel antimuscarinic drug for the treatment of detrusor overactivity. *Neurourol Urodyn* 1995; 14: 647-655.
15. Jonas U, Hofner K, Madersbacher H, et al. Efficacy and safety of two doses of tolterodine versus placebo in patients with detrusor overactivity and symptoms of frequency, urge incontinence, and urgency: urodynamic evaluation. *World J Urol* 1997; 15: 144-151.
16. Appell RA. Clinical efficacy and safety of tolterodine in the treatment of overactive bladder: a pooled analysis. *Urology* 1997; 50 (Suppl 6A): 90-96.
17. Rentzhog L, Stanton SL, Cardoso L, et al. Efficacy and safety of tolterodine in patients with detrusor instability: a dose-ranging study. *BJU Int* 1998; 81(1): 42-48.
18. Malone-Lee JG. The efficacy, tolerability and safety profile of tolterodine in the

- treatment of overactive/unstable bladder. *Rev Contemp Pharmacother* 2000; 11: 29-42.
19. Lawrence M, Guay DRP, Benson SR, et al. Immediate-release oxybutynin versus tolterodine in detrusor overactivity: a population analysis. *Pharmacotherapy* 2000; 20(4): 470-475.
 20. Guay DRP. Tolterodine, a new antimuscarinic drug for treatment of bladder overactivity. *Pharmacotherapy* 1999; 19(3): 267-280.
 21. Olsson B, Szamosi J. Multiple dose pharmacokinetics of a new once daily extended release tolterodine formulation versus immediate release tolterodine. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40(3): 227-235.
 22. Hjalmas K, Hellstrom AI, Mogren K, et al. The overactive bladder in children : a potential future indication for tolterodine. *BJU Int* 2001; 87(6): 569-574.
 23. Brynne N, Svanstrom C, Aberg-Wistedt A, et al. Fluoxetine inhibits the metabolism of tolterodine-pharmacokinetic, implication and proposed clinical relevance. *Br J Pharmacol* 1999; 48(4): 553-563.

CASE REPORT

RITUAL HERB PILL INDUCED MYOPATHY IN A HYPERCHOLESTEROLEMIC PATIENT TREATED WITH SIMVASTATIN

Viroj Wiwanitkit, M.D.

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

SUMMARY

A case of female patient with myopathy associated with simvastatin administration is reported. She revealed no history of drug use but only ritual herb ball pill. The patient also did not do any severe exercise. Elevation of serum CK exceeding three times the upper limit, was observed in this patient and returned to normal limits within 2 weeks after simvastatin administration was canceled. This is the first probable case report of myopathy side effect from concomitant use of ritual herb pill to simvastatin administration in Thai patient.

Key words : simvastatin, myopathy

Simvastatin is a hypocholesterolemic agent which acts as a potent inhibitor of hydroxymethylglutaryl coenzyme A (HMG - CoA) reductase. It is a widely used drug in the present day. The common adverse effects of using this drug are headache and gastrointestinal irritation. Myopathy is an extremely rare complication of simvastatin (0.08 %)¹. In this article, a case report of ritual ball pill induced myopathy associated with simvastatin administration is presented.

CASE REPORT

A 42-year-old woman presented to the physician to follow up her hypercholesterolemia complained about diffuse myalgia and fatigue. This patient had been diagnosed to have hypercholesterolemia and was prescribed simvastatin 10 milligram/day for 3 years. At first diagnosis the patient showed no sign of another illness and abnormal laboratory results (complete blood count, fasting blood glucose, liver function test, blood urea nitrogen, serum creatinine, serum electrolyte and serum creatine kinase).

In this visit, she revealed no history of drug and narcotic use. The patient also did not do any severe exercise. The patient had no clinical evidence of myopathic illness before. From physical examination, no abnormality was found. The level of serum CK (CK-NAC method, Boehringer Mannheim, normal 0 - 190 U/l) at this follow-up was 1,961 U/l and after retest the serum CK level was 2,078 U/l. The composition of CK analysis revealed CK-MB to be equal to 38 U/l. The chest X-ray and EKG were within normal limits. Urinalysis result was normal. Erythrocyte sedimentation rate was 130 mm/hr. Tests for antinuclear antibody and rheumatoid factor were negative. Complement levels and results of thyroid function tests were all within normal limits.

From further history taking, this patient revealed the herbal medicine usage. She revealed that she had been taking the ritual herb ball pill for three months to relieve her cough symptom, concomitant to simvastatin administration. The diagnosis of myopathy was made, and simvastatin administration was canceled. The patient was followed for the symptoms and serum CK level. The patient returned to normal within 2 weeks, the course of CK level during follow up was presented as 640 U/l at 1 week and 54 U/l at 2 week after canceling of simvastatin administration.

DISCUSSION

Simvastatin is an effective hypo-lipidemic agent and usually prescribed in the present day. Its major effect is reduction of total cholesterol and LDL levels². The long term clinical study revealed its safety, effectiveness and that it was well tolerated^{1,2}. Adverse effect as elevation of serum CK within three times of normal limit can be observed in less than 1 % of the patients with simvastatin administration². Severe complication as myopathy with elevation of serum CK exceeding three times the upper limit, was observed in 0.08 % of the total cases². Many reports mentioned this side effect of simvastatin in the context of other illnesses and drug administration such as warfarin and gemfibrozil³⁻⁶. Immunosuppressive agents is another group of medicine mentioned to induce myopathy associated with simvastatin administration⁴⁻⁶.

Although the risk of simvastatin hypersensitivity syndrome presented as polymyalgia rheumatica is known to be increased by concomitant steroid therapy but the actual mechanism of pathological muscle effect is still unknown. In this case the patient had the history of concomitant usage of ritual herb pill to simvastatin and believed to be the cause of the myopathy. The ritual herb pill is one of the oriental traditional cultures. People believe that the ritual ball pill is such a magic drug that can cure many diseases. Possibly immunosuppressive steroid ingredient in the ritual pill is commonly not known by the patient and can often lead the adverse steroid-induced side effect or adverse effect due to drug interaction. In case of concomitant usage of ritual pill with simvastatin, the myopathy associated with immunosuppressive steroid ingredient can be expected. However, in this case no ritual ball pill was collected from the patient, therefore, no certain composition of the pill could be known. The diagnosis was based on follow-up after cessation of the steroid pill.

Although simvastatin was introduced into Thailand several years ago, there has been no report of myopathy as side effect in Thai patients from literature reviewed. This article reports the probable case of myopathy in a middle-aged Thai hypercholesterolemic patient without other illnesses or concomitant drug usage except for ritual herb pill. The patient presented with myalgia symptom and

diagnosed by laboratory profile and treatment follow-up. Recommendation for awareness and monitoring of this side effect in drug

administration is set. Patient education of the possible adverse effect due to concomitant drug usage should also be performed.

REFERENCES

1. Boccuzzi SJ, Bocanegra TS, Walker JE, Shapiro DR, Keegan ME. Long-term safety and efficacy profile of simvastatin. *Am J Cardiol* 1991; 68: 1127-31.
2. Walker JF. Simvastatin : the clinical profile. *Am J Med* 1989; 87: 44-6.
3. Mogyrosi A, Bradley B, Showalter A, Schubert ML. Rhabdomyolysis and acute renal failure due to the combination therapy with simvastatin and warfarin. *J Intern Med* 1999; 246: 599-602.
4. Tal A, Rajeshawari M, Isley W. Rhabdomyolysis associated with simvastatin-gemfibrozil therapy. *South Med J* 1997; 90: 546-7.
5. Deslypere JP, Vermeulen A. Rhabdomyolysis with simvastatin. *Ann Intern Med* 1991; 114: 342.
6. Berland Y, Vacher Coponat H, Cooper C, Durand C, et al. Rhabdomyolysis with simvastatin use. *Nephron* 1991; 57: 365-6.

หลักสูตรวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา
(Doctor of Philosophy Program in Pharmacology)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน่วยงานที่รับผิดชอบ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ ภาควิชา เภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์
 คณะเภสัชศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ และคณะสัตวแพทยศาสตร์

คุณสมบัติของผู้มีสิทธิสมัครเข้าศึกษา

สำหรับผู้สำเร็จปริญญาตรี

1. สำเร็จปริญญาบัณฑิตในสาขาวิทยาศาสตร์ด้านสุขภาพ ชีวภาพ และเคมี จากสถาบันอุดมศึกษาที่ทบวงมหาวิทยาลัยรับรอง และได้รับเกียรตินิยม
2. คุณสมบัติอื่นๆ เป็นไปตามประกาศซึ่งบัณฑิตวิทยาลัยจะประกาศให้ทราบเป็นปี ๆ ไป หรือคณะกรรมการบริหารหลักสูตรพิจารณาแล้ว เห็นสมควรให้มีสิทธิ์เข้าสมัครศึกษาได้

สำหรับผู้สำเร็จปริญญาโท

1. สำเร็จปริญญาโทสาขาวิชาเภสัชวิทยา และสาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพอื่นๆ
2. คุณสมบัติอื่นๆ เป็นไปตามประกาศซึ่งบัณฑิตวิทยาลัยจะประกาศให้ทราบเป็นปี ๆ ไป หรือคณะกรรมการบริหารหลักสูตรพิจารณาแล้ว เห็นสมควรให้มีสิทธิ์เข้าสมัครศึกษาได้

การรับสมัคร เริ่มขายใบสมัครตั้งแต่ เดือน ตุลาคม-พฤศจิกายน

การสอบคัดเลือก ข้อเขียน ภาษาอังกฤษ และความถนัดในเชิงวิเคราะห์
 สอบสัมภาษณ์

สนใจติดต่อสอบถามได้ที่ รศ.ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ ภาควิชาเภสัชวิทยา
 คณะสัตวแพทยศาสตร์ ☎ 02-2189732 หรือ รศ.สุพัสชา วิทยเลิศปัญญา
 ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ☎ 02-2564481 และ บัณฑิตวิทยาลัย
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ☎ 02-2183501-06

PHARMACOLOGICAL DIGEST

Nisamanee Satyapan

Department of Pharmacology, Pramongkutklao College of Medicine, Bangkok 10400, Thailand.

Oral Misoprostol Less Effective When Given on The Same Day As Mifepristone

Administration of mifepristone and oral misoprostol on the same day is not as effective in causing abortion within 24 hours as when the medications are given 48 hours apart, University of Pittsburgh researchers report. After giving 600 mg of mifepristone to 86 women seeking termination of pregnancy, Dr. Mitchell D. Creinin and colleagues randomized the patients to receive oral misoprostol 400 µg 6 to 8 hours later (group 1) or 48 hours later (group 2). Women in group 1 who did not abort were provided with an additional dose of misoprostol to take 48 hours after mifepristone, according to the research team's report in the May issue of the *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. Twenty-four hours after receiving misoprostol, 50% of the women in group 1 had complete abortions compared with 91% of the women in group 2, the researchers report. Two weeks after mifepristone administration, 95% of the women in group 1 had had a complete abortion, as had 98% of the women in group 2. In group 2, 68% of the women reported nausea, 36% reported vomiting and 20% diarrhea, Dr. Creinin's team notes. Studies of mifepristone and vaginal misoprostol have resulted in higher rates of complete abortion and "more rapid expulsion compared with oral misoprostol," Dr. Creinin and colleagues note. "It is possible," they say, "that a regimen with vaginal misoprostol may hold promise for same-day treatment."

Br J Obstet Gynaecol 2001;108:469-473.
(<http://diabetes.medscape.com/reuters/prof/2001/06/06.06/20010605elin003.html>)

Sulfonylurea Receptor Polymorphism Increases Risk of Type 2 Diabetes

In the French population, a common genetic variation in sulfonylurea receptor 1 (SUR1), a protein of the ATP-sensitive potassium channel that plays a central role in glucose-induced insulin secretion, is associated with an increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM). Dr. Philippe Amouyel, of Institut Pasteur in Lille, France,

and a multicenter team report the finding in the June 1st issue of the *American Journal of Medical Genetics*. Their study included 122 subjects with NIDDM, 70 of whom were treated with sulfonylureas, and 1,250 nondiabetic controls. The subjects were genotyped for the SUR1 intron 16-3t/c polymorphism. Only 21% of controls were homozygous for the c allele (ie., cc genotype), compared with 30% of NIDDM patients. Subjects with the cc genotype had a 70% increased risk NIDDM compared with tt genotypes, Dr. Amouyel told Reuters Health.

A link between SUR1 polymorphism and response to sulfonylurea therapy also emerged in the study. "NIDDM patients bearing at least one c allele and treated with sulfonylurea agents had fasting plasma triglyceride concentrations 35% lower than non-c-allele bearers," according to the researcher. These findings may allow physicians to treat NIDDM according to a patient's genetic makeup. Such pharmacogenetic approaches "offer the best short-term applications of genetics to human health management," Dr. Amouyel said. "Indeed, in such situations, genotyping will have a clear interest for the patient: to increase the chances to receive the most efficient drug and to avoid deleterious side effects."

Am J Med Genet 2001;101:4-8.

(<http://diabetes.medscape.com/reuters/prof/2001/06/06.07/20010606epid001.html>)

Antiviral Activity of Lovastatin against Respiratory Syncytial Virus In Vivo and In Vitro

Respiratory syncytial virus (RSV) is an important human pathogen that can cause severe and life-threatening respiratory infections in infants and immunocompromised adults. We have recently shown that the RSV F glycoprotein, which mediates viral fusion, binds to RhoA. One of the steps in RhoA activation involves isoprenylation at the carboxy terminus of the protein by geranylgeranyltransferase. This modification allows RhoA to be attached to Phosphatidyl serine on the inner leaflet of the plasma membrane. Treatment of mice with lovastatin, a drug that inhibits prenylation pathways in the cell by

directly inhibiting hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase, diminishes RSV but not vaccinia virus replication when administered up to 24 h after RSV infection and decreases virus-induced weight loss and illness in mice. The inhibition of replication is not likely due to the inhibition of cholesterol biosynthesis, since gemfibrozil, another cholesterol-lowering agent, did not affect virus replication and serum cholesterol levels were not significantly lowered by lovastatin within the time frame of the experiment. Lovastatin also reduces cell-to-cell fusion in cell culture and eliminates RSV replication in HEP-2 cells. These data indicate that lovastatin, more specific isoprenylation inhibitors, or other pharmacological approaches for preventing RhoA membrane localization should be considered for evaluation as a preventive antiviral therapy for selected groups of patients at high risk for severe RSV disease, such as the institutionalized elderly and bone marrow or lung transplant recipients.

Antimicrob Agents Chemother 2001 Apr;45 (4):1231-7.

Efficacy of Zanamivir Against Avian Influenza A Viruses That Possess Genes Encoding H5N1 Internal Proteins and Are Pathogenic in Mammals

In 1997, an avian H5N1 influenza virus, A/Hong Kong/156/97 (A/HK/156/97), caused six deaths in Hong Kong; and in 1999, an avian H9N2 influenza virus infected two children in Hong Kong. These viruses and a third avian virus [A/Teal/HK/W312/97 (H6N1)] have six highly related genes encoding internal proteins. Additionally, A/chicken/HK/G9/97 (H9N2) virus has PB1 and PB2 genes that are highly related to those of A/HK/156/97 (H5N1), A/Teal/HK/W312/97 (H6N1), and A/Quail/HK/G1/97 (H9N2) viruses. Because of their similarities with the H5N1 virus, these H6N1 and H9N2 viruses may have the potential for interspecies transmission. We demonstrated that these H6N1 and H9N2 viruses are pathogenic in mice but that their pathogenicities were less than that of A/HK/156/97 (H5N1). Unadapted virus replicated in lungs, but only A/HK/156/97 (H5N1) was found in the brain. After three passages (P3) in mouse lungs, the pathogenicity of the viruses increased, with both A/Teal/HK/W312/97 (H6N1) (P3) and A/Quail/HK/G1/97 (H9N2) (P3) viruses being found in the brain. The neuraminidase inhibitor zanamivir inhibited viral replication

in Madin-Darby canine kidney cells in virus yield assays (50% effective concentration, 8.5 to 14.0 μ M) and inhibited viral neuraminidase activity (50% inhibitory concentration, 5 to 10 nM). Twice daily intranasal administration of zanamivir (50 and 100 mg/kg of body weight) completely protected infected mice from death. At a dose of 10 mg/kg, zanamivir completely protected mice from infection with H9N2 viruses and increased the mean survival day and the number of survivors infected with H6N1 and H5N1 viruses. Zanamivir, at all doses tested, significantly reduced the virus titers in the lungs and completely blocked the spread of virus to the brain. Thus, zanamivir is efficacious in treating avian influenza viruses that can be transmitted to mammals.

Antimicrob Agents Chemother 2001 Apr;45 (4):1216-24.

Impact of Prophylaxis for Mycobacterium avium Complex on Bacterial Infections in Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Disease

The epidemiology and natural history of bacterial infections among ambulatory patients with advanced human immunodeficiency virus (HIV) disease has not been well described. In this prospective study, 394 subjects were enrolled and followed at 8-week intervals for a median of 21 months. During follow-up, 164 (42%) of 394 patients developed at least 1 bacterial infection. The most common infections were sinusitis, bacterial pneumonia, skin and soft tissue infection, and bronchitis. Serious bacterial infections (defined as bacterial pneumonia, bacteremia, or deep visceral abscess) were reported in 56 subjects (14%). Female sex, age of <40 years, and Karnofsky score of ≤ 80 were independent risk factors for bacterial infections. Prophylaxis with clarithromycin, trimethoprim and sulfamethoxazole, or both, had significant protective effect. The occurrence of any confirmed bacterial infection was associated with a significantly increased risk of mortality. This study documents that bacterial infections are common among patients with advanced HIV disease, especially among women.

Clin Infect Dis 2001 Jun 1;32(11):1615-22.

Resistance to Trimethoprim - Sulfamethoxazole

Sulfonamides have a glorious history. In 1935, they were the first class of true antimicrobial agents with life-saving potency. Today, 66

agents with life-saving potency. Today, 66 years later, increased bacterial resistance to sulfonamides and to trimethoprim (TMP), a synthetic antimicrobial agent that is 30 years younger than sulfonamides, has limited their use to only a few indications. In the treatment and prophylaxis of patients with urinary tract infections, trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMZ) or TMP alone is still considered the first-line drug of choice, although increased bacterial resistance to these agents has been linked with treatment failure. TMP-SMZ has a possible role as a second- or third-line treatment for patients who have respiratory tract infections. In the developing world, where this inexpensive drug is widely used as first-line treatment, bacterial resistance has caused problems, especially with regard to the treatment of patients with severe respiratory tract infections. Use of TMP-SMZ as prophylaxis for *Pneumocystis carinii* infection has rapidly increased the multidrug resistance of bacterial pathogens found in human immunodeficiency virus-infected patients. Today, detailed and reliable knowledge on the resistance of bacterial pathogens to both TMP-SMZ and TMP is an essential requirement for the safe and effective use of these drugs in all clinical settings.

Clin Infect Dis 2001 Jun 1;32(11):1608-14.

***Pseudomonas aeruginosa* Reveals High Intrinsic Resistance to Penem Antibiotics: Penem Resistance Mechanisms and Their Interplay**

Pseudomonas aeruginosa exhibits high intrinsic resistance to penem antibiotics such as faropenem, ritipenem, AMA3176, sulopenem, Sch29482, and Sch34343. To

investigate the mechanisms contributing to penem resistance, we used the laboratory strain PAO1 to construct a series of isogenic mutants with an impaired multidrug efflux system MexAB-OprM and/or impaired chromosomal AmpC beta-lactamase. The outer membrane barrier of PAO1 was partially eliminated by inducing the expression of the plasmid-encoded *Escherichia coli* major porin OmpF. Susceptibility tests using the mutants and the OmpF expression plasmid showed that MexAB-OprM and the outer membrane barrier, but not AmpC beta-lactamase, were the main mechanisms involved in the high intrinsic penem resistance of PAO1. However, reducing the high intrinsic penem resistance of PAO1 to the same level as that of penem-susceptible gram-negative bacteria such as *E. coli* required the loss of either both MexAB-OprM and AmpC beta-lactamase or both MexAB-OprM and the outer membrane barrier. Competition experiments for penicillin-binding proteins (PBPs) revealed that the affinity of PBP 1b and PBP 2 for faropenem were about 1.8- and 1.5-fold lower, than the respective affinity for imipenem. Loss of the outer membrane barrier, MexAB, and AmpC beta-lactamase increased the susceptibility of PAO1 to almost all penems tested compared to the susceptibility of the AmpC-deficient PAO1 mutants to imipenem. Thus, it is suggested that the high intrinsic penem resistance of *P. aeruginosa* is generated from the interplay among the outer membrane barrier, the active efflux system, and AmpC beta-lactamase, but not from the lower affinity of PBPs for penems.

Antimicrob Agents Chemother 2001 Jul;45(7):1964-71.

- สนใจสอบถามได้ที่ รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ โทร 02-2189732
หรือ รศ.สุพืชา วิทยเลิศปัญญา โทร 02-2511965, 2564481
ช่วงรับสมัคร ประมาณ เดือนตุลาคม

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 footnote 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, and 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.

Keywords: 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 tables or illustrations.

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

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

References: Place the numbered 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 vomiting. *Gastroenterology* 1980; 79:311-314.

(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;2:742-744.

(3) No author given

Coffee drinking and cancer of the pancreas (editorial). *BMJ* 1981;283-286.

(4) Volume with supplement

Magni F, Borghi S, Berti F. BN-52021 protects guinea-pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 suppl 5:75-78.

(5) Books and other monographs

5.1 Personal author(s)

Colson JH, Armour WJ. *Sports injuries and their treatment*. 2nd rev ed. London: St. 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 Basis 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 papers will be critically reviewed by 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.

ใบบอกรับวารสารเภสัชวิทยา

วันที่.....

เรียน ผู้จัดการวารสารเภสัชวิทยา

ข้าพเจ้า

ที่อยู่

โทรศัพท์

e-mail:

มีความประสงค์จะรับ วารสารเภสัชวิทยา ปีที่ ฉบับที่เป็นต้นไป เป็นเวลา ปี

พร้อมกันนี้ได้แนบเช็คไปรษณีย์หรือธนาคาณัดในนาม “ผู้จัดการวารสารเภสัชวิทยา”

ส่งจ่าย ป.ณ. จุฬาฯ เป็นจำนวนเงิน บาท มาเป็นค่าสนับสนุนการจัดทำวารสารด้วยแล้ว

ลงชื่อ.....

()

หมายเหตุ อัตราค่าบอกรับวารสารเภสัชวิทยา

1. สมาชิกสมาคมเภสัชวิทยา

ไม่ต้องชำระค่าวารสาร

2. สมาชิกวารสารเภสัชวิทยา

อัตราบอกรับปีละ 200 บาท (3 ฉบับ)

3. นิสิต/นักศึกษา (แสดงสำเนาบัตรประจำตัวนักศึกษา)

อัตราบอกรับปีละ 100 บาท (3 ฉบับ)

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ใบสมัครเข้าเป็นสมาชิก

เขียนที่

วันที่ เดือน พ.ศ.

นาย

ข้าพเจ้า นาง ชื่อสกุล

นางสาว

อาชีพ ขอสมัครเข้าเป็นสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยและขอรับรอง
ว่าจะปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับของสมาคมทุกประการ

ข้าพเจ้ายินดีที่จะชำระค่าบำรุงสมาคมโดย

☐ เป็นรายปี ปีละ 200 บาทถ้วน สำหรับสมาชิกรายปี☐ ครั้งเดียว 1,000 บาทถ้วน สำหรับสมาชิกตลอดชีพ

มีความประสงค์จะรับ วารสารเภสัชวิทยา ปีที่ ฉบับที่ เป็นต้นไป เป็นเวลาปี

พร้อมกันนี้ได้แนบเช็คไปรษณีย์หรือธนาคาติในนาม “ผู้จัดการวารสารเภสัชวิทยา”

ส่งจ่าย ป.ณ. จุฬาฯ เป็นจำนวนเงิน บาท มาเป็นค่าสนับสนุนการจัดทำวารสารด้วยแล้ว

ลงชื่อ

()

เรียน

รศ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา

ภาควิชาเภสัชวิทยา

คณะแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

ทะเบียนประวัติ

- นาย
1. ชื่อ ชื่อสกุล
- นางสาว
- ชื่อภาษาอังกฤษ (ตัวพิมพ์ใหญ่)
2. เกิดวันที่ เดือน พ.ศ.
3. ตำแหน่งหน้าที่หรือตำแหน่งทางวิชาการในปัจจุบัน
-
4. สถานที่ทำงาน
- โทรศัพท์/แฟกซ์
- e-mail:
5. ที่อยู่ปัจจุบัน
- โทรศัพท์/แฟกซ์
6. ประวัติการศึกษาชั้นอุดมศึกษา (เรียงลำดับจากวุฒิสูงสุด)
- | ปี พ.ศ. | ชื่อสถานศึกษา | วุฒิที่ได้รับ |
|---------|---------------|---------------|
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
7. สาขาหรือแขนงวิชาที่สนใจหรือเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ
-
-
-
-

รายนามคณะกรรมการที่ปรึกษาและบริหารสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
วาระประจำปี พ.ศ. 2543-2545

คณะกรรมการที่ปรึกษา

พล.ต.สุนันท์ โรจนวิภาต
รศ.พญ.กาญจนา เกษสอาด
ศ.ดร.อำนวย ธิธาพันธ์
รศ.ดร.อรพรรณ มาตังคสมบัติ
รศ.ดร.ประสาน ธรรมอุปกรณ
รศ.พ.อ.ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์
รศ.พญ.สุนา ชมพูทวีป
รศ.นสพ.พีระพล อยู่สวัสดิ์
รศ.ดร.เมธี สรรพานิช
รศ.วณิ ทวีทรัพย์
รศ.ดร.ชวณี ทองโรจน์
ดร.อุดม จันทราภิรักษ์ศรี

คณะกรรมการบริหาร

นายกสมาคม

รศ.พ.อ.ดร.บพิตร กลางกัลยา

อุปนายก

ผศ.ดร.สุรัชย์ อัญเชิญ

ผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคม

รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

เลขาธิการ

รศ.พ.อ.ดร.ชัยณรงค์ เขิดชู

ฝ่ายวิชาการ

รศ.ดร.กิตติมา ศรีวัฒนกุล

เหรียญก

ผศ.พ.อ.หญิงนิสามณี สัตยาบัน

ปฏิคม

รศ.ดร.พรทิพย์ ศุภวิไล

บรรณาธิการวารสาร

รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

นายทะเบียน

รศ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา

กรรมการกลาง

รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี

ผศ.ประภาวดี พัวไพโรจน์

ผศ.ดร.นพ.ประวิทย์ อัครเสรินนท์

ผศ.ทญ.วรางคณา ชิตช่วงชัย

ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม

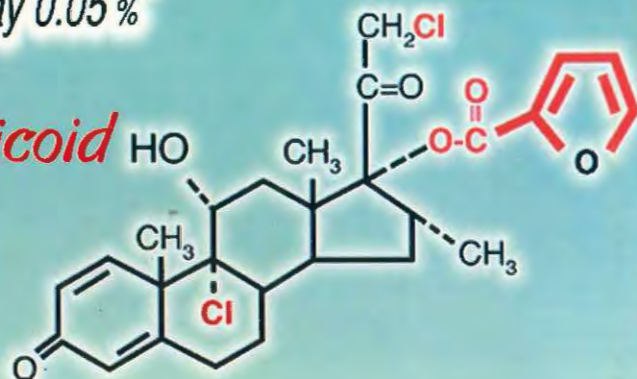
ผศ.พ.ท.ดร.มทิรุทธ มุ่งถิ่น

ONCE A DAY
Nasonex[®]

mometasone furoate monohydrate

Aqueous Nasal Spray 0.05 %

*A structurally unique glucocorticoid
designed to optimize
local anti-inflammatory
potency*



Rx

Nasonex
Nasal Spray, 50 mcg
Sig : 2 sprays per nostril
q.d.

Further information available on request



Schering-Plough Ltd.

10 fl. Maneeeya Centre Building, 518/5 Ploenchit Road, Patumwan, Bangkok 10330 Tel. 254-4484-5, 254-8367, 254-8670-1 Fax 254-8367

ใบอนุญาตโฆษณาเลขที่ รพ. 681/2543