Thai Journal of Pharmacology

www.phartherst.or.th

Official Publication of
Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand

Proceedings of 27th Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Meeting

17-18 March 2005

Jan-Apr 2005, Vol.27, No.1 ISSN 0125-3832

Thai Journal of Pharmacology

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

Board of Editors

Editor Supatra Srichairat

Associate Editors Pravit Akarasereenont, Laddawal Phivthong-ngam, Somjai Nakornchai

Editorial Board

Adisak Wongkajornsilp
Amnuay Thithapandha
Borpit Klangkalya
Bunkerd Kongyingyoes
Chaichan Sangdee
Chandhanee Itthipanichpong
Chongkol Thiengda
Karnjana Ketsa-ard
Krongtong Yoovathaworn
Monthira Tankeyoon
Nongluk Sookvanichsilp
Nisamanee Satyapan
Pornpen Pramyothin
Prasan Dhumma-Upakorn
Prasert Songkittiguna
Sopit Thamaree
Sumana Chompootaweep
Supeecha Wittayalertpanya
Srichan Phornchirasilp
Wacharee Limpanasitthikul
Wittaya Tonsuwonnont
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 here in are those of the authors and do not necessarily reflect the views of the editors or the publisher.

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

วารสารเภสัชวิทยา *(Thai Journal of Pharmacology)* นี้เป็นลิขสิทธิ์ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ไม่อนุญาตให้นำส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารฉบับนี้ไปถ่ายเอกสาร ผลิตหรือพิมพ์ซ้ำ หรือนำไปใช้เพื่อประโยชน์ทางการค้าโดยปราศจากการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากบรรณาธิการ

Thai Journal of Pharmacology

Vol. 27, No. 1, Jan-Apr 2005

Contents

6 Preface

12 **Chiravat memorial lecture**:
Enhancing the resolution of inflammation: a therapeutic target?

13 PL1 Molecular targets of drug responses

14 SY1 เภสัชพันธุศาสตร์ (Pharmacogenomics)

22 SY2 Biological Response Modifier (BMR)

27 SY3 Biological Response Modifier:
Cytokines and anticytokines

38 O1 Antioxidative and cytoprotective effects of
Phyllanthus urinaria L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity

39 O2 Antihyperglycemic effects of cinnamic acid and derivatives :
involement of insulin secretagogue activity

40 O3 Antihyperglycemic effects and mechanisms of action of *Coscinum fenestratum* extract in normal rats

42 O4 The glutamate sensitive non-mitochondrial carboxylase (GSNMC) in glutamate-treated rats

43 O5 Sulforaphane-induced heme oxygenase-1 expression in PC12 cells is independent of nuclear factor E2 – related factor 2- mediated antioxidant response element activation

44 P1 A randomized study to compare the efficacy of two preparations (a combined contraceptive pill versus conjugated estrogen cream) intravaginally to treat urogenital symptoms in postmenopausal Thai women.

45 P2 The bioequivalence study of oral Gabapentin 300 mg capsule

46 P3 The cytotoxic effect of the extract from *Morinda citrifolia* fruits

in cell cultures

47 P4 Psychological stress alters the effects of ethanol in the rat social interaction test

48 P5 An *in vitro* testing of ethanol extract of *Piper betle* leave against *Campylobacter jejuni*

49 P6 Efficacy and safety of gentamicin adjusted dose base on gestational age in Thai neonatal patients

50 P7 The comparative loading-dose pharmacokinetic study of immediate- and modified –release phenytoin capsules

51 P8 Bioequivalence study of cefoperazone and sulbactam intramuscular injection

52 P9 Altered mRNA expression in ischemic rat brain

53 P10 Antioxidative effects of *Elaeocarpus grandiflorus*

54 P11 Effects of quercetin and naringenin on contractility of isolated rats thoracic aorta

55 P12 Cytotoxicity of *Stephania venosa* tuber extracts on human PBMCs

56 P13 Effects of *Hibiscus sabdariffa* extract on clinical blood chemistry in rats

57 P14 Effects of *Orthosiphon glandiflorus* water extract on clinical blood chemistry in rats

58 P15 Effects of *Curcuma comosa* extract on clinical blood chemistry in rats

59 P16 Analgesic effects of the ethanolic extract *Cissus quadrangularis* dried stem

60 P17 UDP-glucuronosyl-transferase 1A1polymorphisms (UGT1A1*28) in Thai β-thalassemia/Hb E and healthy volunteers: Relationships to jaundice and gallstone formation

61 P18 Continuous Tracking Task (CTT): The relationship of time on task to the effects of sedative drugs

62 P19 Modification of paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase activities in hemin-induced lipoprotein oxidation

63 P20 *In vivo* phenotyping of CYP2A6 in Thais: coumarin vs nicotine

64 P21 Antiemetic effect of Yahom extracts in dogs

คณะกรรมการจัดการประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 27
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
17-18 มีนาคม 2548 โรงแรมกรุงศรีริเวอร์ พระนครศรีอยุธยา

คณะกรรมการที่ปรึกษา

1. คณบดีคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
2. ภก.รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี
3. ภก.พลตรีสุนันท์ โรจนวิภาต
4. ศ.ดร.อำนวย ถิฐาพันธ์
5. ดร.อุดม จันทรารักษ์ศรี
6. รศ.พลตรี ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์
7. รศ.พญ.สุมนา ชมพูวีป
8. ภญ.รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์
9. รศ.น.สพ.พีระพล อยู่สวัสดิ์
10. ภญ.ผศ.ดร.ชวนี ทองโรจน์
11. ผศ.ดร.นพ.วิทยา ตันสุวรรณนนท์
12. หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยาทุกสถาบัน

คณะกรรมการจัดการประชุม

1.	ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม	ประธานกรรมการ
2.	ผศ.ดร.ปัทมา ลิ้วนิช	รองประธานกรรมการ
3.	ผศ.ดร.อรพิณ วงศ์สวัสดิกุล	กรรมการ
4.	รศ.ดร.วิไล รัตนตยารมณ์	กรรมการ
5.	ผศ.ดร.อนัญญา นาวินประเสริฐ	กรรมการ
6.	ผศ.ดร.สุวรา วัฒนพิทยกุล	กรรมการ
7.	พ.ต.หญิง ดร.ดวงพร พลเสน	กรรมการและเลขานุการ

อนุกรรมการฝ่ายวิชาการ

1.	ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม	ประธานอนุกรรมการ
2.	ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์	อนุกรรมการ
3.	ภญ.รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์	อนุกรรมการ
4.	ภญ.รศ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา	อนุกรรมการ
5.	ภญ.รศ.สมใจ นครชัย	อนุกรรมการ
6.	ภญ.ผศ.ดร.วัชรี ลิมปนสิทธิกุล	อนุกรรมการ
7.	ผศ.ดร.นพ.วิทยา ตันสุวรรณนนท์	อนุกรรมการ
8.	รศ.ดร.นพ.ประวิทย์ อัครเสรีนนท์	อนุกรรมการ
9.	รศ.พ.อ.ดร.บพิตร กลางกัลยา	อนุกรรมการ
10.	ผศ.นพ.วีรวัฒน์ มหัทธนตระกูล	อนุกรรมการ
11.	ภญ.รศ.ดร.วิจิตรา ทัศนียกุล	อนุกรรมการ

12. ผศ.ดร.สุวรา วัฒนพิทยกุล อนุกรรมการ
13. ผศ.ดร.ปัทมา ลิ้วนิช อนุกรรมการและเลขานุการ

อนุกรรมการฝ่ายเอกสาร

1. ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ ประธานอนุกรรมการ
2. ภญ.รศ.สมใจ นครชัย อนุกรรมการ
3. ผศ.ดร.อนัญญา นาวินประเสริฐ อนุกรรมการและเลขานุการ

อนุกรรมการฝ่ายลงทะเบียน

1. พ.ต.หญิง ดร.ดวงพร พลเสน ประธานอนุกรรมการ
2. ผศ.ดร.ปัทมา ลิ้วนิช อนุกรรมการ
3. นางสาวศรีอัมพร หนูกลับ อนุกรรมการ
4. นางสาวลักษณวดี เผ่าจินดามุข อนุกรรมการและเลขานุการ

อนุกรรมการฝ่ายเหรัญญิก

1. รศ.ดร.วิไล รัตนตยารมณ์ ประธานอนุกรรมการ
2. รศ.ดร.จงกล เที่ยงดาห์ อนุกรรมการ

อนุกรรมการฝ่ายหารายได้

1. รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี ประธานอนุกรรมการ
2. รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ อนุกรรมการ
3. รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์ อนุกรรมการ

อนุกรรมการฝ่ายพิธีการ สถานที่และจัดเลี้ยง

1. ผศ.ดร.อรพิณ วงศ์สวัสดิกุล ประธานอนุกรรมการ
2. รศ.ดร.วิไล รัตนตยารมณ์ อนุกรรมการ
3. รศ.พ.อ.ดร.บพิตร กลางกัลยา อนุกรรมการ
4. ผศ.ดร.อนัญญา นาวินประเสริฐ อนุกรรมการ
5. นางสาวลักษณวดี เผ่าจินดามุข อนุกรรมการ
6. นางสาวศรีอัมพร หนูกลับ อนุกรรมการและเลขานุการ

อนุกรรมการฝ่ายประชาสัมพันธ์

1. ผศ.ดร.ปัทมา ลิ้วนิช ประธานอนุกรรมการ
2. ผศ.ดร.อรพิณ วงศ์สวัสดิกุล อนุกรรมการ
3. ภญ.รศ.สมใจ นครชัย อนุกรรมการ
4. ภญ.ผศ.ประภาวดี พัวไพโรจน์ อนุกรรมการ
5. ภญ.ผศ.ดร.มยุรี ตันติสิระ อนุกรรมการ
6. ผศ.ทพญ.วรางคณา ชิดช่วงชัย อนุกรรมการ
7. รศ.ดร.วิไล รัตนตยารมณ์ อนุกรรมการและเลขานุการ

สารจากนายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

เรียนสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยและผู้เข้าร่วมประชุมทุกท่าน

ข้าพเจ้าขอต้อนรับและรู้สึกเป็นเกียรติอย่างยิ่งที่ท่านให้ความสนใจเข้าร่วมประชุมวิชาการประจำปี 2548 ของสมาคมฯ ซึ่งเป็นการประชุมครั้งที่ 27 การประชุมวิชาการของสมาคมฯ เป็นการมารับความรู้จากวิทยากรทั้งจากต่างประเทศและภายในประเทศ เป็นที่แลกเปลี่ยนความรู้และแสวงหาความร่วมมือทางวิชาการระหว่างสมาชิก และเนื่องจากสมาชิกของสมาคมฯอยู่กระจัดกระจายทั่วประเทศและมีสมาชิกรุ่นใหม่เพิ่มขึ้นทุกปี การประชุมวิชาการของสมาคมฯจึงเป็นที่สมาชิกและผู้เข้าร่วมประชุมมาทำความรู้จักและทำความคุ้นเคยกัน การประชุมวิชาการของสมาคมฯครั้งนี้ได้รับเกียรติจาก ผศ. ดร. ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เป็นประธานจัดการประชุม ในนามของคณะกรรมการบริหารสมาคมฯ ข้าพเจ้าขอขอบคุณ ผศ. ดร. ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม และคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และคณะกรรมการจัดการประชุมทุกท่านที่สละแรงกาย แรงใจ และเวลาเพื่อให้การประชุมสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ในโอกาสนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณภาคเอกชนต่าง ๆที่ให้การสนับสนุนการจัดประชุมครั้งนี้ และท้ายสุด ข้าพเจ้าขอขอบคุณสมาชิกและผู้สนใจทุกท่านที่ให้เกียรติเข้าร่วมการประชุม หวังเป็นอย่างยิ่งว่าท่านจะได้ความรู้ ความบันเทิงจากรายการอาหารค่ำและชมกรุงเก่าที่คณะผู้จัดการประชุมได้จัดเตรียมมอบให้ในค่ำคืนที่ 17 มี.ค. นี้

รศ. ดร. ชัยชาญ แสงดี
นายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

สารจากประธานจัดงานประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 27

เรียนท่านนายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย สมาชิกสมาคมฯ และผู้เข้าร่วมประชุมทุกท่าน

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้รับเกียรติจากสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยให้เป็นเจ้าภาพจัดการประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 27 ของสมาคมฯ ระหว่างวันที่ 17-18 มีนาคม 2548 ณ โรงแรมกรุงศรีริเวอร์ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ทั้งนี้คณะกรรมการจัดการประชุม ทั้งจากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และจากสถาบันอื่น ได้พยายามอย่างเต็มกำลังความสามารถเพื่อให้การประชุมครั้งนี้ เป็นการประชุมที่จะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดแก่ผู้เข้าร่วมประชุมทุกท่าน เพื่อให้สมาชิกได้รับและแลกเปลี่ยนความรู้ รวมทั้งแนวคิดใหม่ ๆ และแนวทางที่จะก่อให้เกิดความร่วมมือทางวิชาการ นอกจากนี้การเปลี่ยนบรรยากาศมายังเมืองประวัติศาสตร์ริมแม่น้ำเจ้าพระยาคงจะช่วยเอื้อให้เกิดความผูกพันระหว่างสมาชิกชาวเภสัชวิทยามากยิ่งขึ้น

ขอแสดงความขอบคุณแด่คณะกรรมการจัดการประชุมทุกท่านที่ได้อุทิศแรงกายแรงใจในการจัดประชุมครั้งนี้ ขอขอบคุณกรรมการบริหารสมาคมฯ หน่วยงานเอกชนที่ให้การสนับสนุนวิทยากร รวมทั้งผู้เข้าร่วมประชุมทุกท่านที่ทำให้งานประชุมครั้งนี้ดำเนินไปด้วยดีหากมีข้อบกพร่องหรือความไม่สะดวกประการใด ดิฉันต้องขออภัยและขอน้อมรับคำแนะนำด้วยความยินดี

ผศ.ดร. ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม
ประธานกรรมการจัดการประชุมฯ

บรรณาธิการแถลง

เรียนท่านผู้เข้าร่วมประชุมและสมาชิกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

วารสารฉบับแรกของปีนี้เป็นเอกสารประกอบการประชุมวิชาการประจำปี 2548 ที่ได้รวบรวมเอกสารประกอบคำบรรยาย อภิปราย ตลอดจน บทคัดย่อผลงานวิชาการที่สมาชิกนำเสนอไม่ว่าจะเป็นการบรรยายแบบปากเปล่าหรือในรูปแบบโปสเตอร์

ด้วยความร่วมมืออย่างแข็งขันของสมาชิกที่เป็นคนรุ่นใหม่ไฟแรงจากภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่มีความกล้าหาญอาสามาช่วยรับเป็นเจ้าภาพในการจัดประชุมวิชาการของปีนี้ ถึงแม้ว่าจะมีคณาจารย์และเจ้าหน้าที่เพียงไม่กี่คนในภาคฯ แต่ก็มีความร่วมมือกันเป็นอย่างดี จนเอกสารประกอบการประชุมวิชาการนี้ออกมาเป็นรูปเล่มดังที่ท่านได้รับและกำลังเปิดอ่านกันในวันนี้ เจ้าภาพที่เสียสละแรงกายแรงใจ ช่วยกันจัดการให้งานประชุมออกมาได้อย่างน่าตื่นตาตื่นใจ เพราะชาวเภสัชวิทยาจากทุกสารทิศได้มาชุมนุมกันที่จังหวัดอยุธยา เมืองหลวงเก่าที่ได้รับการยอมรับจากยูเนสโกว่า เป็นมรดกโลก เมืองที่เป็นแหล่งศึกษาความรู้ด้านโบราณสถาน ศาสนา ศิลปวัฒนธรรม และประวัติศาสตร์ของชาติไทย

ทางกองบรรณาธิการขอขอบพระคุณเจ้าภาพที่แข็งขันเป็นอย่างสูงอีกครั้งที่ช่วยจัดเตรียมต้นฉบับ วารสารฉบับนี้ไม่เพียงแต่เป็นเอกสารประกอบการประชุมวิชาการประจำปีในครั้งนี้เท่านั้น วารสารฉบับพิเศษนี้ยังเป็นสื่อนำพาความรู้และวิทยาการต่าง ๆที่เผยแพร่ในการประชุมวิชาการครั้งนี้ไปยังสมาชิกและท่านผู้อ่านที่ไม่มีโอกาสเข้าร่วมการประชุมวิชาการในครั้งนี้

รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์
บรรณาธิการ

รายนามวิทยากร

Dr.Adriano Giorgio Rossi	College of Medicine and Veterinary Medicine, School of Clinical Sciences and Community Health, Respiratory Medicine Unit, Centre for Inflammation Research, University of Edinburgh Medical School, Teviot Place, Edinburgh, EH8 9AG, Scotland, UK
ผศ.ดร.ปัทมา ลิ้วนิช	ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ภญ.รศ.ดร.วิจิตรา ทัศนียกุล	ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ.ดร.วสันต์ จันทราทิตย์	หน่วยไวรัสวิทยาและจุลชีววิทยาโมเลกุล ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี
รศ.นพ.เกียรติ รักษ์รุ่งธรรม	ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ภญ.รศ.ดร.วัชรี ลิมปนสิทธิกุล	ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ภญ.รศ.สมใจ นครชัย	ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ผศ.ดร.นพ.วิทยา ตันสุวรรณนนท์	สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ
อ.ดร.อุดม จันทรารักษ์ศรี	ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

กำหนดการการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 27
สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
ณ โรงแรมกรุงศรีริเวอร์ พระนครศรีอยุธยา

"New Era in Pharmacotherapy"

วันพฤหัสบดีที่ 17 มีนาคม 2548

08.00 – 08.50 น.	ลงทะเบียน
08.50 – 09.00 น.	พิธีเปิด โดย นายกสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
09.00 – 10.30 น.	Chiravat Memorial Lecture "Enhancing the Resolution of Inflammation: A Therapeutic Target?" Dr. Adriano Rossi
10.30 – 10.45 น.	พัก - น้ำชา กาแฟ
10.45 – 12.00 น.	Molecular Targets of Drug Responses ผศ.ดร.ปัทมา ลิ้วนิช
12.00 – 13.00 น.	อาหารกลางวัน
13.00 – 15.00 น.	Pharmacogenomics: From Bench to Bedside Pharmacogenomics / Pharmacogenetics Database ภญ.รศ.ดร.วิจิตรา ทัศนียกุล รศ.ดร.วสันต์ จันทราทิตย์
15.00 – 15.15 น.	พัก - น้ำชา กาแฟ
15.15 – 16.00 น.	ประชุมธุรการสมาคม
16.00 – 17.00 น.	Poster presentation
18.30 – 20.30 น.	Welcome dinner (ล่องเรือชมเมืองอยุธยา)

วันศุกร์ที่ 18 มีนาคม 2548

08.30 – 9.45 น.	Update on Anti HIV Drugs รศ.นพ.เกียรติ รักษ์รุ่งธรรม
09.45 – 10.00 น.	พัก - น้ำชา กาแฟ
10.00 – 12.00 น.	Biological Response Modifiers in Immunopharmacology ภญ.รศ.สมใจ นครชัย ภญ.ผศ.ดร.วัชรี ลิมปนสิทธิกุล
12.00 – 13.00 น.	อาหารกลางวัน
13.00 – 14.30 น.	Oral presentation
14.30 – 14.45 น.	พัก - น้ำชา กาแฟ
14.45 – 16.00 น.	Panel Discussion: Strategies in Pharmacological Research Co-operation ดร.อุดม จันทรารักษ์ศรี ผศ.ดร.นพ. วิทยา ตันสุวรรณนนท์
16.00 – 16.30 น.	พิธีมอบรางวัลผลงานวิจัย / พิธีปิด

Chiravat Memorial Lecture

ENHANCING THE RESOLUTION OF INFLAMMATION: A THERAPEUTIC TARGET?

Adriano Giorgio Rossi

Respiratory Medicine Unit, MRC Centre for Inflammation Research, University of Edinburgh Medical School, Teviot Place, Edinburgh, EH8 9AG, UK

ABSTRACT

Over-recruitment, uncontrolled activation and defective removal of inflammatory cells (especially neutrophil and eosinophil granulocytes) from inflammatory loci likely play a prominent role in the development of chronic inflammatory conditions such as rheumatoid arthritis and asthma. During resolution of inflammation granulocytes undergo apoptosis thereby allowing their recognition and clearance by phagocytes using mechanisms that down-modulate the inflammatory response. Although there is little doubt that apoptosis plays a critical role in embryological morphogenesis and tissue remodelling, it's precise role in inflammatory diseases is still unclear. Evidence will be presented showing that inflammatory mediators and pharmacological agents can differentially modulate neutrophil and eosinophil apoptosis and alter macrophage phagocytosis of apoptotic cells. For example, we believe that the powerful anti-inflammatory glucocorticoids may be using the above processes to selectively induce eosinophil (as well as lymphocyte) apoptosis and importantly enhance the clearance of the apoptotic cells. Thus the hypothesis that selective induction of neutrophil or eosinophil apoptosis and augmented non-phlogistic removal of apoptotic granulocytes by phagocytes as a potential therapeutic target will be discussed.

PL1: MOLECULAR TARGETS OF DRUG RESPONSES

ผศ.ดร.ปัทมา ลิ้วนิช

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ยาออกฤทธิ์โดยการเกิดปฏิกิริยากับเป้าหมายที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์หรือเนื้อเยื่อของร่างกาย สามารถแบ่งเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาเป็นกลุ่ม ๆ ได้แก่ receptor ซึ่งเป็นเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาส่วนใหญ่ มีกลไกที่ซับซ้อนกว่าเป้าหมายชนิดอื่น ion channel ทำหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของ ion ระหว่างเซลล์ เป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาอื่น ๆ ที่มีกลไกไม่ยุ่งยาก คือ เอนไซม์ ตัวขนส่งสาร (carriers) สารเหลวในกระเพาะอาหาร และ nucleic acids เป็นต้น การพัฒนายาใหม่ที่ออกฤทธิ์ต่อเป้าหมายเดิมโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดการเกิดอาการข้างเคียงบางอย่างมักเป็นไปได้ด้วยความล่าช้าและไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร ความเจริญก้าวหน้าทางเทคโนโลยีในเรื่องของ genomic, proteomic และ bioinformatics ทำให้มีการค้นพบยีนและเข้าใจการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคต่าง ๆ มากขึ้น การศึกษาถึงโครงสร้างและหน้าที่ของโปรทีนที่ถอดรหัสมาจากยีนนั้นทำให้เข้าใจระบบการทำงานของสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะทำให้เข้าใจถึงกลไกการเกิดโรคในระดับโมเลกุล และเป็นความหวังในการค้นพบเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาชนิดใหม่ ซึ่งจะนำไปสู่การรักษาที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยเป็นการรักษาที่สาเหตุของโรคไม่ใช่การรักษาตามอาการแบบเดิม ความก้าวหน้าในการศึกษารหัสที่อยู่ในยีนโดยใช้เทคนิคต่าง ๆ เช่น การตัดหรือใส่ยีนที่สนใจเข้าไปในสิ่งมีชีวิต แล้วติดตามการแสดงออกของยีนนั้น ทำให้รู้ว่าความแตกต่างของรหัสทางพันธุกรรมของโปรทีนที่เป็นเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาเพียงเล็กน้อยสามารถทำให้คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของเป้าหมายนั้นเปลี่ยนแปลงไปได้อย่างมาก เช่น คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของ calcium channel subtype ต่าง ๆ นอกจากนี้ การค้นพบยีนใหม่ ๆ ที่มีรายงานออกมาตลอดเวลานั้น ในจำนวนนี้มีโปรทีนที่ได้จากยีนหลายชนิดมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค และสามารถใช้เป็นเป้าหมายใหม่ในการออกฤทธิ์ของยา หรือเป็น biomarker ในการติดตามการออกฤทธิ์ของยาได้ เช่น การพบความสัมพันธ์ระหว่างโปรทีนหรือเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ signal transduction ของ growth hormone receptors กับการเกิดโรคมะเร็งบางชนิด ทำให้มีการพัฒนายาใหม่ที่ออกฤทธิ์เจาะจงต่อโปรทีนหรือเอนไซม์ในกระบวนการ signal transduction นั้น ความรู้ความเข้าใจในเรื่องของ genomic, proteomic และ bioinformatics จะทำให้การออกฤทธิ์ของยาต่อเป้าหมายมีความจำเพาะเจาะจงและหลากหลายมากยิ่งขึ้น และการพัฒนายาใหม่ประสบความสำเร็จได้อย่างรวดเร็ว

เอนไซม์หรือโปรตีนอื่น ๆ ที่มีผลการตอบสนองของยา เช่น glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency, steroid hyroxylase deficiency, warfarin resistance เป็นต้น

เภสัชพันธุศาสตร์ที่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา

ความผิดแผกทางพันธุกรรมที่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาส่วนใหญ่จะเป็นผลเนื่องมาจากความผิดแผกทางพันธุกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยา (genetic polymorphism of drug metabolism) ทั้งนี้ความผิดแผกทางพันธุกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาจะมีผลต่อการใช้ยาทางคลินิกหรือไม่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของยาเหล่านั้น ซึ่งได้แก่

1. วิถีการเปลี่ยนแปลงยาในร่างกาย: ถ้ายาถูกเปลี่ยนแปลงในร่างกายโดยอาศัยเอนไซม์ที่มีความผิดแผกทางพันธุกรรมเป็นหลัก จะมีผลทำให้วิถีการเปลี่ยนแปลงยานั้น ๆ มีบทบาทสำคัญต่อการกำจัดยาออกจากร่างกาย ตัวอย่างเช่น perhexilline จะถูกเปลี่ยนแปลงโดย cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) เป็นหลัก ดังนั้นผู้ป่วยที่มีความผิดแผกของจีน *CYP2D6* เอนไซม์ CYP2D6 ที่สังเคราะห์ขึ้นมาในผู้ป่สยกลุ่มนี้จะมีความสามารถในการทำงานต่ำ ดังนั้นผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงมีโอกาสที่จะระดับยา perhexilline ในร่างกายสูงกว่าปกติและมีโอกาสเกิดพิษจากยาเพิ่มขึ้น สำหรับ propranolol จะถูกเปลี่ยนแปลงในร่างกายโดยอาศัยเอนไซม์หลายชนิด เช่น CYP3A4, CYP2C19 และ CYP2D6 แต่อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของยานี้โดยเอนไซม์ CYP2D6 จะป็นเพียงวิถีรองเท่านั้น ดังนั้นถึงแม้ผู้ป่วยจะมีความผิดแผกทางพันธุกรรมของจีน *CYP2D6* แต่ก็จะไม่มีผลกระทบต่อการกำจัดยา propranolol ออกจากร่างกายมากเท่าใดนัก ทั้งนี้เนื่องจากร่างกายสามารถกำจัดยาออกได้โดยอาศัย CYP ชนิดอื่นได้

2. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเมแทบอไลต์ : จะต้องพิจารณาว่าเอนไซม์ที่มีความผิดแผกทางพันธุกรรมมีบทบาทในการสังเคราะห์หรือกำจัดเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหรือไม่ นอกจากนี้ยังต้องคำนึงด้วยว่าเมแทบอไลต์เหล่านั้นมีความแรง (potency) มากหรือน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับยาเดิม (parent drug) ตัวอย่างเช่น ประมาณ 10% ของ codeine ที่ให้เข้าไปในร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็น morphine ซึ่งมีฤทธิ์แก้ปวดได้โดยอาศัยปฏิกิริยา O-demethylation ดังนั้นผู้ที่การทำงานของ CYP2D6 บกพร่องจะไม่สามารถเปลี่ยน codeine ให้อยู่ในรูป morphine ได้ ดังนั้นผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงไม่ได้รับฤทธิ์แก้ปวดของ codeine

3. Therapeutic range : ถ้าช่วงความเข้มข้นของยาในกระแสเลือดที่ให้ผลในการรักษา (therapeutic range) กว้างมาก การแตกต่างของระดับยาที่เกิดขึ้นอาจจะไม่ส่งผลกระทบต่อการรักษาเท่าใดนัก ในทางตรงกันข้ามถ้ายามี therapeutic range ที่แคบ ความแตกต่างของระดับยาในกระแสเลือดอาจจะมีผลอย่างมากต่อการรักษาหรือการเกิดพิษของยาเหล่านั้น ดังนั้นการตรวจวัดระดับยาในกระแสเลือด (therapeutic monitoring) จะมีความจำเป็นอย่างยิ่งเมื่อใช้ยาเหล่านั้นในผู้ป่วยที่มีความผิดแผกทางพันธุกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาในร่างกาย

เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาที่มีความผิดแผกพันธุกรรมที่มีความสำคัญทางคลินิกมีอยู่หลายชนิดดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความผิดแผกทางพันธุกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาที่มีความสำคัญทางคลินิก

Designation	Prevalence of poor metabolizer	Drug substrates
CYP2D6 polymorphism	Caucasians 5-10 % Asians ~1%	Debrisoquine Sparteine Bufuralol Dextromethorphan β-Adreneoceptor antagonists Antiarhythmics Antidepressants Neuroleptics, etc
CYP2C9 polymorphism	Caucasians < 1%	Tolbutamide (S)-warfarin Phenytoin Non-steroidal antiinflammatory drugs
CYP2C19 polymorphism	Caucasians 2-5% Asians 8-23%	Mephenytoin Mephobarbital Hexobarbital Diazepam Omeprazole Proguanil
N-acetyltransferase 2 polymorphism	Caucasians 40-70% Asians 10-20%	Isoniazid Hydralazine Procainamide Sulfamethzine Sulfapyridine Amonafide
Thiopurine S-methyltransferase polymorphism	Caucasians and Asians 0.3%	6-Mercaptopurine 6-Thioguanine Azathioprine

ตัวอย่างของความผิดแผกทางพันธุกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาที่ความสำคัญทางคลินิก

CYP2D6 เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาหลาย ๆชนิด (ดังแสดงในตารางที่ 1) ผู้ป่วยที่มีบกพร่องในการทำงานของ CYP2D6 (Poor metabolzer, PM) จะมีระดับของยาเหล่านี้ในกระแสเลือดสูงกว่าปกติ และมีผลทำให้การตอบสนองต่อยาเหล่านี้เพิ่มขึ้นซึ่งบางครั้งอาจถึงขั้นทำให้เกิดพิษได้ ตัวอย่างเช่นในกรณีของยาระงับอาการซึมเศร้ากลุ่ม tricyclic (tricyclic antidepressants) เช่น imipramine, desipramine และ nortriptylline ที่มีดรรชนีความปลอดภัยค่อนข้างแคบ ถ้าใช้ในขนาดปกติในผู้ป่วยที่เป็น PM ของ CYP2D6 อาจจะเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากยา เช่น ง่วงนอนได้ ซึ่งอาการเหล่านี้อาจทำให้แพทย์เข้าใจผิดคิดว่าเป็นอาการของโรคซึมเศร้าที่ยังคงอยู่ และอาจเพิ่มขนาดยาที่ใช้ในผู้ป่วยขึ้นอีก ในทางตรงกันข้าม ยาบางชนิด เช่น codeine หรือ encainide ถ้าใช้กับผู้ป่วยที่เป็น PM ของ CYP2D6 อาจจะไม่ได้ผลในการรักษา ทั้งนี้เนื่องจากก่อนที่ codeine จะออกฤทธิ์ระงับอาการปวดได้จะต้องถูกเอนไซม์ CYP2D6 เปลี่ยนให้อยู่ในรูป morphine ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ระงับปวดก่อน สำหรับ encainide จะต้องถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ CYP2D6 ให้กลายเป็น O-desmethylencainide ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ที่มีความแรงมากกว่าตัวยาเดิมถึง 10 เท่า

จากการวิจัยเมื่อเร็ว ๆ นี้พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ต้องใช้ยา warfarin เพื่อช่วยยับยั้งการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) ในขนาดต่ำจะมีความถี่ของแอลลีล CYP2C9 แบบ *CYP2C9*2* และ *CYP2C9*3* สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่จำเป็นต้องใช้ยา warfarin ในขนาดสูง นอกจากนี้แล้วยังพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีลักษณะทางพันธุกรรมของ CYP2C9 เป็นแบบ homozygous ของ *CYP2C9*2* หรือ *CYP2C9*3* ที่ใช้ยา warfarin จะมีความเสี่ยงต่อภาวะตกเลือด (bleeding episodes) ที่รุนแรงรวมทั้งมีโอกาสเกิดภาวะ hypoglycaemia จากยาลดน้ำตาลในเลือด เช่น tolbutamide และ glipizide สูงกว่าปกติ

ผู้ป่วยที่เป็น PM ของ CYP2C19 จะมีโอกาสเกิดอาการข้างเคียงจากยา mephenytoin, mephobarbital และ hexobarbital มากกว่าผู้ที่เป็น EM และจากรายงานการวิจัยพบเมื่อเร็ว ๆ นี้พบว่า omeprazole สามารถลดกรดในกระเพาะอาหาร รวมทั้งเพิ่มปริมาณ gastrin ในพลาสมาของอาสาสมัครที่เป็น PM ได้ดีกว่าผู้ที่เป็น EM อัตราการกำจัดเชื้อ *H. pylori* โดยการใช้ omeprazole ร่วมกับ amoxicillin ในผู้ป่วยกลุ่มที่เป็น PM จะสูงกว่าเมื่อเทียบกับผู้ป่วยกลุ่ม EM

6-MP และ 6-thioquanine เป็นยาหลักที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว เช่น acute lymphoblastic leukemia (ALL) ส่วน azathioprine จะนิยมใช้เป็นยากดภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะและผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน (autoimmune disorders) เช่น lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, chronic active hepatitis, utecrative colitis และ Crohn's disease ยาในกลุ่ม thiopurine เหล่านี้เมื่อให้เข้าไปในร่างกาย

จะถูกเปลี่ยนแปลงโดยอาศัยเอนไซม์หลัก ได้แก่ hypoxanthine guanine phosphorybosyl-transferase (HGPRT) , thiopurine S-methyltransferase (TPMT) และ xanthine oxidase (XO) โดยเอนไซม์ HGPRT จะทำหน้าที่เปลี่ยน thiopurine ให้อยู่ในรูป thioguanine nucleotide (TGN) ซึ่งเป็นเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาโดยจะออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง DNA ของเซลล์ ในทางตรงกันข้ามเอนไซม์ TPMT และเอนไซม์ XO จะทำหน้าที่เปลี่ยน thiopurine ให้อยู่ในรูปเมแทบอไลต์ที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ถึงแม้ยากลุ่มนี้จะมีประสิทธิภาพในการรักษาดี แต่จะต้องใช้ด้วยความระมัดระวังเพราะเป็นยาที่มีดรรชนีความปลอดภัย (therapeutic index) ต่ำ ซึ่งอาการไม่พึงประสงค์หรืออาการพิษที่สำคัญ คือฤทธิ์กดการทำงานของไขกระดูกที่อาจรุนแรงถึงขั้นถึงแก่ชีวิตได้โดยเฉพาะเมื่อใช้ยานี้ในผู้ป่วยที่มีการทำงานของเอนไซม์ TPMT ต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดเลือด (hematopoietic tissues) จะไม่มีเอนไซม์ XO ดังนั้น TPMT จึงเป็นเอนไซม์หลักเพียงเอนไซม์เดียวที่ทำหน้าที่กำจัดยาเหล่านี้ออกจากร่างกาย จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่มีเอนไซม์ TPMT ที่มีความสามารถในการทำงานที่ต่ำ ถ้าได้รับยาในกลุ่ม thiopurine ในขนาดปกติจะมีโอกาสเกิดพิษของยากลุ่มนี้ที่ค่อนข้างรุนแรง โดยเฉพาะผลกดการทำงานของไขกระดูกซึ่งอาจทำให้ผู้ป่วยถึงแก่ชีวิตได้ ส่วนผู้ป่วยที่มีการทำงานของเอนไซม์ TPMT ที่สูง ถ้าได้รับยาในกลุ่ม thiopurine ในขนาดปกติจะทำให้ผลในการรักษาไม่ดีเท่าที่ควรทั้งนี้เนื่องจากมีระดับยาในร่างกายที่ต่ำเกินไป ดังนั้นเพื่อให้ผู้ป่วยใช้ยาในกลุ่ม thiopurine อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยสูงสุด แพทย์ควรจะต้องทำการตรวจความสามารถในการทำงานของเอนไซม์นี้ก่อนที่จะสั่งจ่ายยาให้ผู้ป่วย โดยอาจทำได้โดยการตรวจความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ในเม็ดเลือดแดง (phenotype) หรือตรวจลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) ของจีน *TPMT* ของผู้ป่วย จากรายงานการวิจัยในผู้ป่วยเด็ก ALL พบว่าผู้ป่วยมีเอนไซม์ TPMT ที่ความสามารถในการทำงานที่ต่ำมากหรือมีลักษณะทางพันธุกรรมของจีน *TPMT* เป็นแบบ homozygous mutant allele ควรลดขนาดของยา 6-MP ให้เหลือเพียง 6-10% ของขนาดยาปกติ สำหรับผู้ป่วยที่มีเอนไซม์ TPMT ที่ความสามารถในการทำงานปานกลางหรือมีลักษณะทางพันธุกรรมเป็นแบบ heterozygous mutant allele ควรลดขนาดยาเหลือเพียง 50% ของขนาดยาปกติ

ความผิดแผกทางพันธุกรรมของโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งยา (Genetic polymorphism of drug transporters)

การดูดซึมยาจากทางเดินอาหาร การขนส่งยาเข้าสู่สมองและเนื้อเยื่อต่าง ๆ รวมทั้งการขนส่งยาไปยังตำแหน่งที่ยาออกฤทธิ์ เช่น synaptic cleft จะอาศัยโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งยาหลาย ๆ ชนิดที่อยู่บนเซลล์เมมเบรน ปัจจุบันความรู้เกี่ยวกับความผิดแผกทางพันธุกรรมของโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งยากับผลในการรักษาของยายังมีจำกัด และที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางได้แก่ความผิดแผกทางพันธุกรรมของจีน *MDR-1* ซึ่งเป็นจีนที่ควบคุมการสร้าง ATP-dependent transmembrane efflux pump (P-glycoproteine หรือ P-gp) โดยโปรตีนชนิดนี้จะทำหน้าที่

ขนส่งสารรวมทั้งยาบางชนิดออกจากเซลล์ ทั้งนี้เพื่อป้องกันไม่ให้มีการสะสมของสารพิษหรือเมแทบอไลต์ภายในเซลล์จีน *MDR-1* ยังมีการแสดงออกในเนื้อเยื่อต่าง ๆหลายชนิด เช่น jejunum, duodenum รวมทั้ง capillary endothelial cell ในสมองด้วย จากการศึกษาพบว่าการกลายพันธุ์ของนิวคลีโอไทด์ตำแหน่งที่ 3435 จาก C เป็น T ของจีน *MDR-1* จะมีผลต่อปริมาณและการทำงานของ P-gp ที่มีอยู่ในลำไส้ โดยผู้ที่เป็น homozygous mutant allele ชนิดนี้จะมีการแสดงออกของ P-gp ที่ต่ำกว่าปกติ และเมื่อได้รับยา digoxin โดยการรับประทานเพียงครั้งเดียวจะมีระดับของ digoxin ในพลาสมาเพิ่มสูงถึง 4 เท่าของคนปกติ ยาที่เป็น substrates ของ P-gp มีอยู่หลายชนิด ตัวอย่างเช่น cyclosporin, digoxin, vincristine, vinblastine, verapamil, terfenadine, fenoxifenadine รวมทั้ง protease inhibitors ทุกตัวที่ใช้รักษาโรคเอดส์ ดังนั้นความผิดแผกทางพันธุกรรมของ P-gp จึงน่าจะมีความสำคัญต่อการใช้ยาเหล่านี้

ความผิดแผกทางพันธุกรรมของโปรตีนที่เป็นเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา (Genetic polymorphism of drug targets)

ยาส่วนใหญ่จะก่อผลต่อร่างกายได้จะต้องมีการทำปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของยากับโปรตีนที่เป็นเป้าหมายต่าง ๆ เช่น ตัวรับที่อยู่บนเซลล์เมมเบรน (membrane receptor) ตัวรับที่เป็นช่องทางผ่านของไอออน (ion channel receptor) หรือเอนไซม์ ปัจจุบันพบว่าจีนหลาย ๆ ชนิดที่ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนเหล่านั้นจะมีความผิดแผกทางพันธุกรรมที่อาจส่งผลต่อการออกฤทธิ์ของยาได้ ตัวอย่างความผิดแผกทางพันธุกรรมชนิดนี้ที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางได้แก่ ความผิดแผกทางพันธุกรรมของ β_2-adrenergic receptor ที่เกี่ยวข้องกับผลการขยายหลอดลมของยาขยายหลอดลมในกลุ่ม β_2-adrenergic agonists, ความผิดแผกทางพันธุกรรมของ angiotensin converting enzyme (ACE) ที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องกับความแตกต่างของผู้ป่วยในการตอบสนองต่อยาในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ ACE จากรายงานการวิจัยเมื่อเร็ว ๆ นี้พบว่าความผิดแผกทางพันธุกรรมของ sulfonylurea receptor จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการกระตุ้นหลั่ง insulin ของยาลดน้ำตาลในเลือดในกลุ่ม sulfonyl urea ลดลง ความผิดแผกทางพันธุกรรมของจีน *HTR2A* ควบคุมการสังเคราะห์ 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor อาจจะเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของผู้ป่วยโรคจิตเภทต่อยา clozapine นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการกลายพันธุ์ของจีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการสังเคราะห์ structural subunit ของ potassium และ sodium ion channel ในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจอาจเป็นสาเหตุสำคัญที่มีผลเพิ่มความเสี่ยงในการเกิด long QT syndrome (LQT) เมื่อใช้ยาบางชนิด

นอกจากเภสัชพันธุศาสตร์จะมีส่วนช่วยในการทำนายการตอบสนองต่อยาและการเกิดพิษของยาบางชนิดในผู้ป่วยตามที่ได้ยกตัวอย่างข้างต้นแล้ว ความรู้ทางด้านเภสัชพันธุศาสตร์ยังมีบทบาทสำคัญในการค้นคว้าและพัฒนายาใหม่ ปัจจุบันมียาหลายชนิดที่ถูกพัฒนาขึ้นมาโดยการนำความรู้ทางเภสัชพันธุศาสตร์มาช่วย ยกตัวอย่างเช่น ยา Herceptin ที่ใช้ในการรักษามะเร็งเต้านม โดยยานี้จะใช้ร่วมกับยารักษามะเร็งตัวอื่น เช่น 5-FU, doxorubicin หรือ

cyclophosphamide โดยที่ Herceptin จะมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลมะเร็งโดยการยับยั้ง HER-2 protein ซึ่ง Herceptin จะใช้ได้ผลดีเฉพาะผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของจีน HER-2 เพิ่มขึ้นเท่านั้น ดังนั้นแพทย์จำเป็นต้องทราบข้อมูลการแสดงออกของจีน HER-2 ก่อนสั่งจ่ายยานี้ให้ผู้ป่วย นอกจากนี้แล้วความรู้ทางด้านเภสัชพันธุศาสตร์ เช่นข้อมูล SNP ยังสามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกผู้ป่วยที่จะเข้าร่วมการวิจัยทางคลินิกระยะที่ 3 (Phase 3 Clinical Trial) ซึ่งจะช่วยให้การวิจัยทางคลินิกมีประสิทธิภาพมากขึ้น ช่วยย่นระยะเวลา และลดค่าใช้จ่ายในการพัฒนายา เมื่อเร็ว ๆนี้คณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาได้ประกาศ "Guidance for Industrial: Pharmacogenomic data submissions" เพื่อให้บริษัทผลิตยาต่าง ๆได้ทราบถึงแนวคิดของคณะกรรมการอาหารและยา และสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการยื่นขอขึ้นทะเบียนยาที่พัฒนามาจากกระบวนการทางเภสัชพันธุศาสตร์ คาดว่าในอนาคตความรู้ทางด้านเภสัชพันธุศาสตร์จะมีบทบาทต่อการค้นพบยาใหม่ ๆอีกมากมายหลายชนิด โดยคาดว่ายาเหล่านั้นจะมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคได้ดีกว่ายาเดิมที่มีอยู่ ทั้งนี้เนื่องจากจะสามารถมีผลโดยตรงต่อกระบวนการที่สำคัญที่เป็นสาเหตุของโรคนั้น ๆโดยตรงไม่ใช่เพียงแค่การบรรเทาอาการเท่านั้น

เอกสารอ้างอิง

Meyer U. Pharmacogenetics – five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nature Review* 2004;5:669-675.

Weinshilboum R, W*ang L*. Pharmacogenomics : Bench to Bedside. *Nature Review* 2004;5:739-747.

Roses AD. Pharmacogenetics and drug development: The path to safer and more effective drugs. *Nature Review* 2004;5:647-655.

Evans WE, McLeod M. Pharmacogenomics-Drug disposition, drug target, and side effects. *New Engl J Med* 2003;348:538-549.

Roses AD. Pharmacogenetics. *Hum Med Genet*. 2001;20:2261-2267.

Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: Translating Functional Genomics into Rational Therapeutics. *Science* 1999;286:487-491.

SY2: BIOLOGICAL RESPONSE MODIFIER (BMR)

ภญ.ผศ.ดร.วัชรี ลิมปนสิทธิกุล

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

Immunopharmacology เป็นแขนงวิชาทางเภสัชวิทยาที่ศึกษาเกี่ยวกับ immuno-modulating agents ที่ออกฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย ยากลุ่มนี้มีการพัฒนาอยู่อย่างต่อเนื่องและมีความก้าวหน้าอย่างรวดเร็วในรอบทศวรรษที่ผ่านมา ทั้งนี้เนื่องมาจากความก้าวหน้าของเทคนิคต่างที่เกี่ยวข้องกับ genetics และ molecular biology ทำให้เกิดความรู้พื้นฐานทางภูมิคุ้มกันวิทยาที่นำมาใช้เป็นแนวทางในการหา target ใหม่ ๆของยาในกลุ่มนี้ที่ทำให้การใช้ยามีประสิทธิภาพดีขึ้น มีความปลอดภัยมากขึ้น นอกจากนี้เทคนิคทาง DNA recombination ยังทำให้สามารถผลิต recombinant proteins ที่เป็นองค์ประกอบของระบบภูมิคุ้มกันร่างกายของคนอย่าง human cytokine และ antibody มาใช้เป็นยาได้อีกด้วย

Immunomodulating agents เป็นยาที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1. Immunosuppressive agents เป็นยาที่ยับยั้งการเกิดภูมิคุ้มกันอันไม่พึงประสงค์ ที่เกิดขึ้นจากการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อหรืออวัยวะ และเป็นยาที่ใช้ในการรักษา auto-immune diseases บางชนิด
2. Biological Response Modifiers (BMRs) เป็นยาที่ทำให้เกิดภูมิคุ้มกันร่างกายอันพึงประสงค์ มีที่ใช้เพื่อแก้ไขภาวะภูมิคุ้มกันร่างกายบกพร่องจากสาเหตุต่าง ๆ และใช้ในการรักษามะเร็ง ยาที่สำคัญในกลุ่มนี้ คือ cytokine และ antibody ที่จะกล่าวโดยละเอียดต่อไป

Cytokines and Anti-cytokines

รายละเอียดอยู่ในตอนต่อไป

Therapeutic Antibodies

Antibody (Ab) เป็น mediator สำคัญของภูมิคุ้มกันร่างกายแบบ humoral immune response ที่สร้างมาจาก plasma cell (B lymphocyte) Ab สามารถรับรู้สิ่งแปลกปลอม (foreign antigen) ได้อย่างเฉพาะเจาะจงโดยใช้ส่วนที่เป็น variable region ของ heavy และ light chain ของโมเลกุล จับกับบริเวณ epitope บน antigen โมเลกุลของ Ab ส่วนที่เรียกว่า Fc region (constant region ของ heavy chain) จะทำให้เกิด effector function แบบต่าง ๆที่ทำให้เกิดการทำลาย antigen ได้แก่ complement activation, opsonization & phagocytosis, antibody-dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) หรืออาจทำให้ antigen ไม่

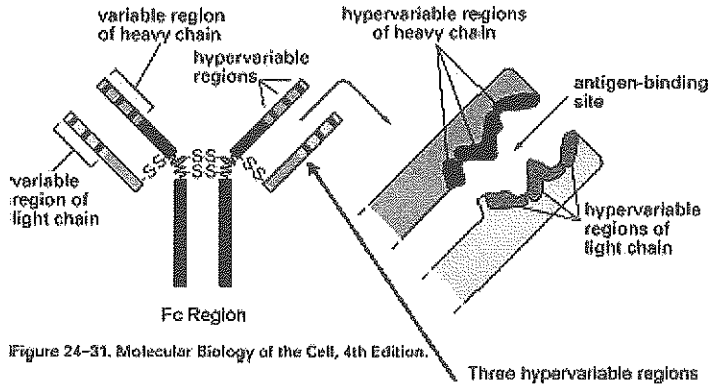


Figure 24-31. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

สามารถออกฤทธิ์ได้โดย neutralization จากคุณสมบัติข้างต้น Ab จึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็น therapeutic agent ในการรักษาโรคและภาวะผิดปกติบางอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคมะเร็งหลายชนิดที่มีแยกแยะได้ว่ามี tumor antigen บนผิวเซลล์มะเร็ง

การนำ antibody มาใช้ทางการแพทย์ในระยะแรกอยู่ในรูป polyclonal antibody ที่ได้จาก pooled plasma ของคนหรือสัตว์ที่มีปริมาณของ immunoglobulin ต่อ antigen ที่ต้องการใน plasma สูง ซึ่งมีข้อจำกัดในการผลิตและการนำมาใช้ ทำให้มีที่ใช้ส่วนใหญ่เป็น passive immunotherapy ในโรคติดเชื้อ หลังจากที่ George Kohler และ Ceasar Milstein ได้คิดค้นการผลิต monoclonal antibody (mAb) นอกร่างกายโดยวิธี hybridoma technology ในปี ค.ศ. 1975 ซึ่งช่วยให้สามารถผลิต homogenous antibodies ที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อ antigen เพียงชนิดเดียวได้อย่างไม่มีขีดจำกัด และทำให้สามารถผลิต mAb ต่อ antigen ได้แทบทุกชนิด จนทำให้เกิดแนวคิดว่า antibody จะเป็น magic bullet ในการรักษาโรคที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อเป้าหมายที่ต้องการได้ทุกโรครวมทั้งโรคมะเร็งที่มีปัญหาในการรักษามากมาย

mouse anti-CD3 monoclonal antibody (Muromonab-CD3) เป็น therapeutic mAb ตัวแรกที่นำมาใช้ทางคลินิกในปี ค.ศ. 1986 โดยมีคุณสมบัติเป็น immunosuppressive agent แต่เนื่องจากเป็นโมเลกุลจากหนู เมื่อนำมาใช้ในคนทำให้กลายเป็น foreign antigen และถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันร่างกายของคน จนกระทั่งมีการนำเทคนิค genetic engineering หรือ DNA recombination มาใช้ร่วมกับ hybridoma technology ทำให้สามารถพัฒนาให้เป็น mAb ที่มีส่วนประกอบโมเลกุลเป็นของ human Ab จากความสำเร็จนี้ทำให้มี therapeutic monoclonal antibodies ที่นำมาใช้ในทางการแพทย์เพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อย ๆ ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 1 ว่ามี therapeutic antibodies ที่ได้รับอนุมัติจาก US FDA ให้ใช้ในสหรัฐอเมริกา

จำนวน 17 ชนิด และอยู่ใน clinical trial เป็นจำนวนกว่า 100 ชนิด นอกจากนั้นเทคนิค genetic engineering ยังทำให้เกิดการพัฒนา mAb เป็นโมเลกุลยาใหม่ ๆที่ไม่มีในร่างกาย เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคมากขึ้น

การนำ monoclonal antibodies มาใช้ในทางการแพทย์ในปัจจุบัน มีที่ใช้ดังนี้

- ยับยั้ง alloimmune reactivity เพื่อป้องกันและรักษาการเกิด graft rejection ในการปลูกถ่ายอวัยวะ
- ยับยั้ง autoimmune reactivity ยับยั้งการทำงานของ pro-inflammatory cytokine (TNFα)
- รักษามะเร็ง โดยจับกับ tumor antigen บนผิวเซลล์มะเร็งและทำให้เซลล์ถูกทำลายโดยกลไกต่าง ๆของ antibody effector function หรือใช้ mAb เป็นตัวพา radioisotope หรือ cytotoxic agent ไปยังเซลล์มะเร็งอย่างเฉพาะเจาะจง
- ยับยั้ง platelet aggregration
- รักษาโรคติดเชื้อ

วิวัฒนาการการนำ mAb มาใช้เป็น therapeutic antibodies

First generation monoclonal antibody

Murine monoclonal antibody เป็น therapeutic antibody ที่ผลิตนอกร่างกายโดยวิธี hybridoma technology แม้จะก่อให้เกิดแนวคิดว่าจะทำให้พัฒนายาได้ออกฤทธิ์ต่อเป้าหมายที่ต้องการได้ง่ายขึ้น แต่ยังมีข้อจำกัดในการผลิต คือ ต้องผลิตเป็น mouse mAbไม่สามารถผลิตให้เป็น human mAb จึงทำให้กระตุ้นการสร้าง human anti-mouse antibodies (HAMAs) มาทำลายยาในร่างกาย ทำให้การใช้ยาในครั้งถัดมาจะไม่ได้ผลในการรักษา mAb ที่มีการผลิตและนำมาใช้ในทางการแพทย์ คือ muromonab-CD3 ที่จับกับโมเลกุล human CD3 บน T lymphocyte ทำให้เกิดการยับยั้ง T cell activation เพื่อป้องกันและรักษา graft rejection ในการปลูกถ่ายอวัยวะ

Second generation monoclonal antibodies

Chimeric and Humanized antibodies

พัฒนามาจาก mouse mAb โดยอาศัยเทคนิค DNA recombination ในการตัดต่อเอาโมเลกุลของ human Ab มารวมกับของ mouse Ab ในระดับยีน เพื่อลดปัญหาการเกิด HAMA และทำให้ได้ therapeutic antibodies ที่มีประสิทธิภาพดีขึ้น และมี half life ยาวนานขึ้น

Chimeric monoclonal antibodies (-ximab): เป็นการตัดต่อ human Fc region เข้ากับ mouse Fab region ทำให้ได้ chimeric molecule ที่มีองค์ประกอบของ human Ab มากกว่าร้อยละ 60

Humanized monoclonal antibody (-zumab): เป็นการตัดต่อส่วนที่เรียกว่า complementarity determining regions (CDRs) หรือ hypervariable regions บน heavy

และ light chain ของโมเลกุล mouse mAb ที่จับกับ epitope บน antigen เข้าไปใส่ในโมเลกุลของ human Ab ทำให้ได้ humanized mAb ที่มีองค์ประกอบของ human Ab มากกว่าร้อยละ 90

ทั้ง chimeric และ humanized monoclonal antibodies มีการพัฒนาขึ้นมาใช้เป็น therapeutic mAb มากที่สุดในปัจจุบัน โดยส่วนใหญ่พัฒนาขึ้นมาเพื่อรักษาโรคมะเร็ง

Conjugated monoclonal antibodies

เป็นการ conjugate โมเลกุลของ mAb เข้ากับ สารพิษชนิดต่าง ๆอย่าง toxin, cytotoxic agent หรือ radioisotope ยากลุ่มนี้พัฒนาเพื่อใช้ในการรักษามะเร็งเป็นหลัก โดย mAb ทำหน้าที่เป็นตัวพาสารพิษให้ไปยังเซลล์มะเร็งที่มี tumor antigen ที่เป็นเป้าหมาย ทำให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ปกติน้อยกว่าการให้สารพิษอย่างเดียว conjugated mAb ที่มีใช้ในคลินิก คือ ^{90}Y-ibritumomab (Zevalin®), ^{131}I-tositumomab (Bexxar®) และ Gemtuzumab (Mylotarg®) ในตารางที่1

ตารางที่ 1

FDA approved	Product	Target	Type	Indication
1986	Muromonab (Orthoclone OKT3®)	CD3	Murine IgG2a	Transplant rejection
1994	Abciximab (ReoPro®)	GP Iib/Iia	Chimeric Fab	Prevent restenosis
1997	Daclizumab (Zenapax®)	CD25	Humanized IgG1	Transplant rejection
1997	Rituximab (Rituxan®)	CD20	Chimeric IgG1	B cell lymphoma
1998	Basiliximab (Simulect®)	CD25	Chimeric IgG1	Transplant rejection
1998	Palivizumab (Synagis®)	RSV	Humanized IgG1	RSV bronchiolitis
1998	Infliximab (Remicade®)	TNF	Chimeric IgG1	Crohn' disease, RA
1998	Trastuzumab (Herceptin®)	Her2/neu	Humanized IgG1	Breast cancer
2000	Gemtuzumab (Mylotarg®)	CD33	humanized IgG4-toxin	Acute myeloid leukemia
2001	Alemtuzumab (MabCampath®)	CD52	Humanized IgG1	Chronic lymphatic leukemia
2002	90Y-ibritumomab (Zevalin®)	CD20	Murine IgG1-isotope	B cell lymphoma
2002	Adalimumab (Humira®)	TNF	Human IgG1	RA
2003	Omalizumab (Xolair®)	IgE	Humanized IgG1	Asthma
2003	131I-tositumomab (Bexxar®)	CD20	Murine IgG1-isotope	B cell lymphoma
2003	Efalizumab (Raptiva®)	CD11a	Humanized IgG1	Psoriasis
2004	Bevacizumab (Avastin®)	VEGFR	Humanized IgG1	Colorectal cancer
2004	Cetuximab (Erbitux®)	EGFR	Humanized IgG1	Colorectal cancer

M. Stern, R. Herrmann / Critical Reviews in Oncology/Hematology (2005)

Third generation monoclonal antibodies

Fully human antibodies เป็น mAb ที่องค์ประกอบทั้งหมดเป็น human Ab มีคุณสมบัติและองค์ประกอบเหมือนกับ endogenous human Ab สามารถผลิตได้โดยอาศัย transgenic mouse, transgenic plant หรือ phage display technology fully human mAb ตัวแรกที่มีใช้ คือ adalimumab ซึ่งเป็น anti-TNF antibody ที่ผลิตโดยอาศัย phage display technique

Next generation of therapeutic antibodies

เป็น therapeutic antibodies ที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลให้แตกต่างไปจาก Ab ที่อยู่ในร่างกาย เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการนำมาใช้ในการรักษาโรคดียิ่งขึ้น ได้แก่

bispecific antibodies: เป็นการใช้ genetic engineering technique ในการผลิต therapeutic Ab ให้โมเลกุลของ Ab ประกอบด้วย heterodimer ของ heavy กับ light chain ที่แตกต่างกัน ทำให้จับกับ antigen ที่แตกต่างกันได้ 2 ชนิด เป็น therapeutic Ab ที่พัฒนาเพื่อให้ได้ Ab ที่จับกับ tumor antigen บนผิวเซลล์มะเร็งและจับกับ effector cell เพื่อให้มีการทำลายเซลล์มะเร็งได้ดีขึ้น

antibody fragments : ได้แก่ single chain variable fragment (scFv), Fabs หรือ Fab'2s ที่ไม่มีส่วนของ Fc เป็นองค์ประกอบ ทำให้ได้ therapeutic Ab ที่มีขนาดเล็กลงและยังมี specificity ในการจับกับ epitope บน antigen ได้ แม้จะมีข้อเสีย คือ half life สั้น แต่จะทำให้ได้ยาที่กระจายตัวไปในก้อนมะเร็งบริเวณที่มีเส้นเลือดไปหล่อเลี้ยงน้อยได้ดีกว่า Ab ปกติ และอาจได้ Ab fragment ที่ไปออกฤทธิ์ภายในเซลล์โดยตรง หรือพาสารออกฤทธิ์เข้าไปยัง target ที่ต้องการภายในเซลล์ โดย Ab ชนิดนี้จะปราศจาก effector function ซึ่งอาจไม่จำเป็นหรืออาจทำให้ประสิทธิภาพของยาลดลงได้ในบางกรณี antibody fragments อาจอยู่ในรูป monomer, dimer หรือ multimer

fusion proteins: immunocytokines เป็น fusion molecules อีกกลุ่มกนึ่งที่กำลังมีการศึกษาอยู่ จากการที่ cytokine หลายตัวมีบทบาทสำคัญในการรักษามะเร็ง การใช้ Ab เป็นตัวพา cytokine ไปออกฤทธิ์ที่เซลล์มะเร็งหรือเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย จะช่วยให้การออกฤทธิ์ของ cytokine มีความเฉพาะเจาะจงมากขึ้น อาจช่วยลดปัญหาจากการใช้ cytokine

สรุป

ในปัจจุบันมีการนำ cytokines และ therapeutic antibodies มาใช้ในคลินิกเพิ่มมากขึ้น ยาทั้งสองกลุ่มนี้เป็นผลิตภัณฑ์ยาที่มีการลงทุนในการผลิตและพัฒนาเกินร้อยละ 50 ของยาในกลุ่ม

recombinant proteins เทคนิคทางชีวโมเลกุลมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนายา อนาคตของการพัฒนายาเหล่านี้ คือ ทำให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษามากขึ้นซึ่งอาจต้องมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุล หรือนำไป conjugate กับสารอื่น ในกรณีของ therapeutic antibodies เทคนิคในการผลิต hybridoma ร่วมกับ genetic engineering ก่อให้เกิดการพัฒนายาที่อาจออกฤทธิ์ต่อเป้าหมายที่ต้องการได้หลากหลาย ยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของยาได้โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุล อย่างที่มีการพัฒนาในการรักษามะเร็ง สามารถทำได้หลายแนวทาง มีทั้งที่ทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นในรูป immunotoxins เพิ่มความสามารถในการทำให้เกิด effector function ในรูป bispecific antibodies หรือทำให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลงเพื่อให้ผ่านเข้าไปออกฤทธิ์ในก้อนมะเร็งหรือในเซลล์มะเร็งในรูป antibody fragments

เอกสารอ้างอิง

Andersen DC, Reilly DE. Production technologies for monoclonal antibodies and their fragments. *Curr Opin Biotech* 2004;15:456–462.

Alkan SS. Monoclonal antibodies: the story of a discovery that revolutionized science and medicine. *Nature Rev Immunol* 2004;4:153-156.

Brekke OH, Loset GA. New technologies in therapeutic antibody development. *Curr Opin Pharmacol* 2003;3:544–550.

Coiffier B. Monoclonal antibodies in the treatment of indolent lymphomas. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;18:69–80.

Connors JM. Radioimmunotherapy — Hot New Treatment for Lymphoma. *N Eng J Med* 2005;352: 496-498.

Dermimea S, Gilham DE, Shaw DM, *et al.* Vaccine and antibody-directed T cell tumour immunotherapy. *Biochimi Biophys Acta* 2004;1704:11 –35.

FitzGerald DJ, Kreitman R, Wilson W, Squires D, Pastan I. Recombinant immunotoxins for treating cancer. *Int J Med Microbiol* 2004;293:577:582.

Jostock T, Vanhove M, Brepoels E, *et al.* Rapid generation of functional human IgG antibodies derived from Fab-on-phage display libraries. *J Immunol Meth* 2004; 289:65– 80.

Karnofsky LR. Lecture: Immunotherapy of Lymphoma. *J Clin Oncol* 1999;17 (suppl):7-13

Kufer P, Lutterbuse R, Baeuerle PA. A revival of bispecific antibodies. *Trends Biotechnol* 2004;22:238-244.

Lazar GA, Marshall SA, Plecs JJ, Mayo SL, Desjarlais JR. Designing proteins for therapeutic applications. *Curr Opin Struct Biol* 2003;13:513–518.

Nissim A, Gofur Y, Vessillier S, Adams G, Chernajovsky Y. Methods for targeting biologicals to specific disease sites. *Trends Mol Med* 2004;10:269-274.

Osbourn J, Jermutus L, Duncan A. Current methods for the generation of human antibodies for the treatment of autoimmune diseases. *Drug Discov Today* 2003; 8:845-851.

Pavlou AK, Belsey MJ. The therapeutic antibodies market to 2008. *Eur J Pharm Biopharm* 2005; in press.

Presta L. Antibody engineering for therapeutics. *Curr Opin Struc Biol* 2003;13:519–525.

Reff ME, Heard C. A review of modifications to recombinant antibodies: attempt to increase efficacy in oncology applications. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001;40: 25–35.

Stern M, Herrman R. Overview of monoclonal antibodies in cancer therapy: present and promise. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005: in press

Todorovska A, Roovers RC, Dolezal O, Kortt AA, Hoogenboom HR, Hudson PJ. Design and application of diabodies, triabodies and tetrabodies for cancer targeting. *J Immunol Meth* 2001;248:47–66.

van Dijk MA, van de Winkel JGJ. Human antibodies as next generation therapeutics. *Curr Opin Chem Biol* 2001;5:368–374.

Waldmann TA. Immunotherapy: past, present and future. *Nature Med* 2003:9:269-277.

Schmidt KV, Wood BA. Trends in Cancer Therapy: Role of monoclonal antibodies. *Semin Oncol Nurs* 2003:19:169-179.

Walsh G. Pharmaceutical biotechnology products approved within the European Union. *Eur J Pharm Biopharm* 2003;55:3–10.

Walsh G. Second-generation biopharmaceuticals. *Eur J Pharm Biopharm* 2004;58:185–196.

Yau KYF, Lee H, Hall JC. Emerging trends in the synthesis and improvement of hapten-specific recombinant antibodies. *Biotechnol Adv* 2003;21:599–637.

Biological Response Modifiers: Cytokines & Anti-cytokines

รศ. สมใจ นครชัย
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล

Cytokines

- Polypeptides produced in response to microbes and other antigens that mediate and regulate immune and inflammatory reactions

General properties of cytokines

- Cytokine secretion is brief, self limited
- Autocrine, paracrine
- Pleiotropy, redundancy
- Synergism, antagonism
- Initiate actions by binding to specific membrane receptors on target cells
- Cellular responses: changes in gene expression -> new function, proliferation

Functional categories of cytokines

- Proinflammatory cytokines: TNF-α, IL-1
- Antiviral cytokines: IFN-α, IFN-β, IFN-γ
- Anti-inflammatory cytokines: IL-10, TGF-β
- Chemokines
- Hematopoietic growth factors
- Lymphocyte regulatory cytokines
  Th1 cytokines: IL-2, IFN-γ, TNF-β
  Th2 cytokines: IL-4, IL-5, IL-10, IL-13

Cytokine receptors classification

- Based on structural homologies among the extracellular cytokine-binding domains
  - Type I cytokine receptors
  - Type II cytokine receptors
  - TNF receptors
  - Immunoglobulin superfamily receptors
  - Seven transmembrane α–helical receptors

US FDA approved cytokines (1)

- Immunomodulators
  - 1983 interferon alfa – hairy cell leukemia
  - 1993 interferon beta – multiple sclerosis
  - 1999 interferon gamma – chronic granulomatous disease
  - 1992 aldesleukin (interleukin–2) – metastatic renal cell carcinoma, metastatic melanoma
  - 2001 peginterferon alfa – chronic HCV infection

US FDA approved cytokines (2)

- Hematopoietic growth factors
  - 1989 – Epogen® - erythropoietin
    severe anemia in chronic renal failure
  - 1991 Neupogen® -filgrastim (G-CSF)
    Leukine ® - sargramostim (GM-CSF)
    myelosupression from cancer chemotherapy
  - 1997 Neumega® - oprelvekin (interleukin–11)
    thrombocytopenia
  - 2002 Neulasta® - pegfilgrastim

Interferons

- Antiviral, antiproliferative, immunomodulatory activities.
- Type I: IFN-α, IFN-β
- Type II: IFN-γ
- Binding to specific receptors on cell surface, initiate complex cascade of intracellular events that leads to the expression of numerous gene products

Interferon alfa: indications

- Neoplasms of lymphatic or hematopoietic system:
  - hairy cell leukemia, multiple myeloma, cutaneous T-cell lymphoma, chronic myelogenous leukemia, thrombocytosis associated with myeloproliferative disease, low-grade non-Hodgkin's lymphoma
- Solid neoplasms:
  - AIDS-related Kaposi's sarcoma, recurrent or metastatic renal cell carcinoma, metastatic-malignant melanoma
- Viral disease:
  - chronic active hepatitis B, chronic hepatitis C, condyloma acuminata

Interferon alfa

- Oct 4, 1983 Intron® A – IFN alfa-2b
  - 165 amino acids, MW 19,270
- Oct 24,1984 Roferon® A – IFN alfa-2a
  - 165 amino acids, MW 19,000
- Jan 19, 2001 PEG-Intron®
  - covalent conjugate of IFN alfa-2b with monomethoxy polyethylene glycol (PEG), MW 31,000
- Oct 16, 2002 Pegasys®
  - covalent conjugate of IFN alfa-2a with a single branched bis-monomethoxy PEG chain, MW 40,000

Pegylation

- Modification of molecules through the attachment of polyethylene glycol (PEG)
- Reduces renal clearance, more sustained absorption after SC injection, restricted distribution
- Results in a more constant and sustained plasma concentrations
- Decrease adverse effects caused by
  - the large variations in peak-to-trough plasma concentrations associated with frequent drug administration
  - the immunogenicity of unmodified proteins

Linear PEG-OH $H—(OCH_2CH_2)_n—OH$

Linear mPEG-OH $CH_3—(OCH_2CH_2)_n—OH$

Branched $mPEG_2$

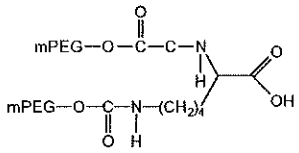
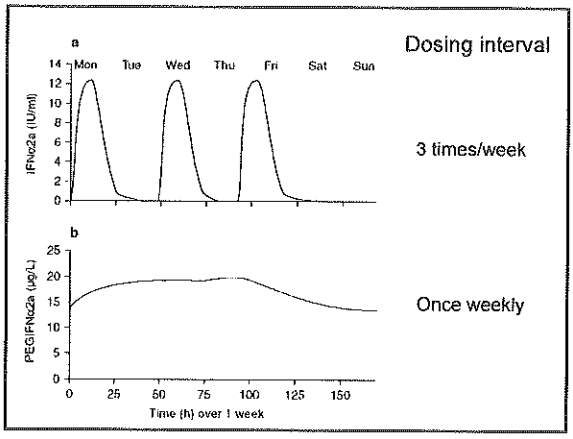


Fig. 1. Structural formulae of poly(ethylene glycol) [PEG] molecules.[11] **mPEG** = monomethoxypoly(ethylene glycol).



Interferon beta (1)

- 1993 Betaseron® - Interferon beta -1b
  - produced by *Escherichia coli*, 165 amino acids, MW 18,500, no carbohydrate side chains, specific activity 32 million IU/mg
- 1996 Avonex® - Interferon beta -1a
  - produced by Chinese hamster ovary cells, 166 amino acid glycoprotein, MW 22,500, amino acid sequence identical to natural human interferon beta, specific activity 200 million IU/mg
- 2002 Rebif® - Interferon beta -1a

Interferon beta (2)

- Treatment of relapsing forms of multiple sclerosis to reduce the frequency of clinical exacerbations.
- Betaseron®: 250 mcg SC every other day, Avonex®: 30 mcg IM once a week, Rebif®: 44 mcg SC 3 times weekly.
- Common side effects: flu-like symptoms.
- Potential serious side effects: depression, allergic reaction, injection site necrosis.

Interferon beta (3)

- Mechanism of action in multiple sclerosis is unknown.
- Induce a number of proteins (neopterin, beta2-microglobulin, MxA protein, IL-10).
- Enhancement of suppressor T cell activity, reduction of pro-inflammatory cytokine production, down regulation of antigen presentation, inhibition of lymphocyte trafficking into CNS.

Interferon beta (4)

- Clin Neurol Neurosurg 2004 Jun;106(3):255-8
- IFN-beta1a and IFN-beta1b have different patterns of influence on cytokines
- After 1 year of treatment, IFN-gamma (proinflammatory cytokine) concentration was significantly lower in the Betaseron (IFN-beta1b) group
- Concentration of IL-4 and IL-10 (anti-inflammatory cytokines) were significantly higher in the Avonex (IFN-beta1a) group

Interferon gamma (1)

- Interferon gamma-1b (Actimmune®)
- Single-chain polypeptide,140 amino acids, produce from *Escherichia coli*
- Non-covalent dimer of 2 identical 16,465 dalton monomers
- Indication: chronic granulomatous disease, severe malignant osteopetrosis.

Interferon gamma (2)

- Chronic granulomatous disease (CGD): an inherited disorder of leukocyte function caused by defects in the enzyme complex responsible for phagocyte superoxide generation.
- IFN-γ, 50 mcg/m^2 SC, 3 times weekly reduce the frequency and severity of serious infections

Interferon gamma (3)

- Severe malignant osteopetrosis: an inherited disorder characterized by an osteoclast defect, leading to bone overgrowth, and by deficient phagocyte oxidative metabolism
- IFN-γ, 50 mcg/m^2 Sc, 3 times weekly enhance osteoclast function, delay time to disease progression

Interferon gamma (4)

- In both disorders, the exact mechanism(s) by which IFN-γ has a treatment effect has not been established. Changes in superoxide levels during therapy do not predict efficacy.
- Most common adverse reaction: "flu-like" (fever, headache, chills, myalgia, fatigue), which may decrease in severity as treatment continues.

Hematopoietic growth factors (1)

- Erythropoietin
  - glycoprotein produced in the kidney, stimulates red blood cell production
- Epogen® (epoetin alfa)
  - 165 amino acid glycoprotein produced by mammalian cells, MW 30,400
  - Indications: anemia of chronic renal failure, zidovudine-treated HIV-infected, cancer-chemotherapy patients. Reduction of allogeneic blood transfusion in surgery patients.

Hematopoietic growth factors (2)

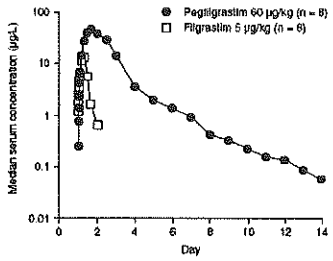
- Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)
  - Produced by monocytes, fibroblasts, endothelial cells
  - Stimulates neutrophil production
- Neupogen® (Filgrastim)
  - Recombinant methionyl human G-CSF
  - 175 amino acid protein produced by *E coli*, nonglycosylated,MW 18,800
  - Indications: cancer patients receiving myelosuppressive chemotherapy, bone marrow transplant. Severe chronic neutropenia, patients undergoing peripheral blood progenitor cell collection

Hematopoietic growth factors (3)

- IL-11
  - Thrombopoietic growth factor, 178 amino acids
  - Produced by bone marrow stromal cells
- Neumega® (Oprelvekin)
  - Recombinant methionyl human G-CSF
  - 177 amino acids (lacking amino-terminal proline), produced by *E coli*, nonglycosylated, MW 19,000
  - Indications: prevention of severe thrombocytopenia following myelosuppressive chemotherapy

Pegfilgrastim

- Pegfilgrastim
  6 mg once per cycle chemotherapy
- Filgrastim
  5 mcg/kg daily



Drugs 2002; 62 suppl. 1:89-98

Pegfilgrastim serum concentrations after administration to healthy volunteers.

US FDA approved anti-cytokines

- TNF blockers
  - 1998 Enbrel® - etanercept
    Remicade® - infliximab
  - 2002 Humira® - adalimumab
- IL-1 antagonist
  - 2001 Kineret® - anakinra

IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra)

- Anakinra (Kineret®)
  - Nonglycosylated form of human IL-1Ra, produced by *E. coli*
  - Addition of a methionine at amino terminus
  - 153 amino acids, MW 17.3 kD
  - Indication: rheumatoid arthritis
  - 100 mg/d Sc

Tumor Necrosis Factor (TNF)

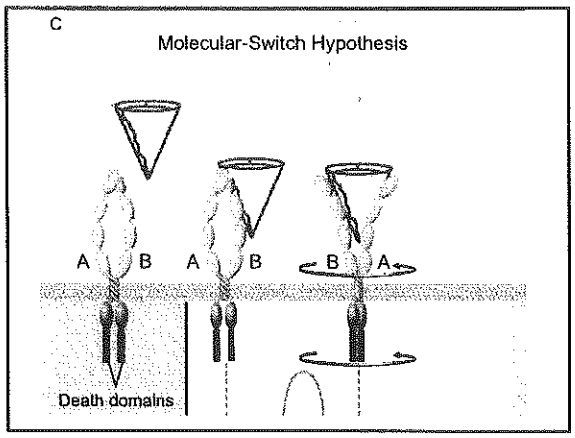
- Principal mediator of the acute inflammatory response to gram-negative bacteria and other infectious microbes
- Major cellular source: activated macrophage
- Originally identified as a substance present in the serum of animals treated with bacterial LPS that caused the necrosis of tumors in vivo
- Also called TNF-α
  TNF-β = lymphotoxin

TNF

- Synthesized as homotrimer membrane protein
- Membrane TNF is cleaved by a membrane-bound metalloproteinase, producing the secreted form
- Homotrimer of 51 kD (3x17 kD subunits)
- Triangular pyramidal shape

TNF Receptors

- Type I TNF receptor (TNF-RI), 55kD, p55
  activates caspases -> apoptosis,
  but also activate transcription factors
- Type II TNF receptor (TNF-RII), 75kD, p75
  activates NF-κB, AP-1 -> gene transcription
- Both TNF receptors are present on almost all cell types



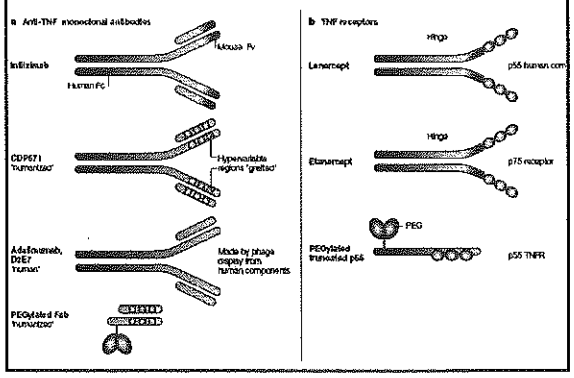
Biological actions of TNF

- Stimulate the recruitment of neutrophils and macrophages and activate them
  - Endothelial cells express adhesion molecule
  - Endothelial cells & macrophages secrete chemokines
  - Macrophages secrete IL-1 (functions like TNF)
- Pathologic abnormalities in severe infections
  - Fever, increase synthesis of serum amyloid A protein and fibrinogen from hepatocyte
  - Appetite suppression, reduced lipoprotein lipase -> cachexia

Septic Shock

- Vascular collapse, disseminated intravascular coagulation, metabolic disturbances
- Is due to LPS-induced productionof TNF and other cytokines (IL-12, IFN-γ, IL-1)
- Serum TNF concentration may predict outcome
- Can be reproduced in experimental animals by adminiatration of LPS or TNF
- TNF antagonists can prevent mortality in experimental models

Anti-TNF

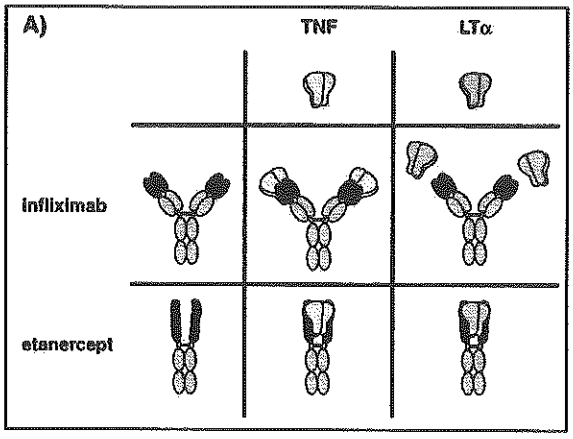


Etanercept

- Dimeric fusion protein:
  - extracellular ligand binding portion of p75 TNFR
  - Fc portion of human IgG1 (C_{H2}, C_{H3}, hinge region, not C_{H1} domain)
  - 934 amino acids, MW 150 kD, produced by CHO cell
- Indication:
  - Rheumatoid arthritis
  - Polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis
  - Ankylosing spondylitis
  - Psoriatic arthritis, plaque psoriasis

Anti-TNF antibodies

- Infliximab
  - Chimeric IgG1κ, MW 149 kD
  - Indication: Crohn's disease, rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis
- Adalimumab
  - human IgG1κ, MW 148 kD, 1330 amino acids
  - Indication: rheumatoid arthritis



Development of anti-TNF therapy for chronic inflammatory diseases (1)

- 1975 TNF characterized, named by Carswell *et al.*
- 1982-1988 Analysis of synovial tissue in RA shows high levels of inflammatory cytokines (TNF, IL-1, IL-6)
- 1984 TNF cloned
- 1989 Anti-TNF antibody abrogates IL-1 production in synovial-cell culture
- 1989-1992 humanized mouse anti-TNF antibody developed initially intended for treatment of sepsis
- 1990–1992 Anti-TNF antibody efficacy shown in mouse models of RA

Development of anti-TNF therapy for chronic inflammatory diseases (2)

- 1991 First TNFR–Ig fusion protein developed
- 1992 Small Phase I/II clinical trial of anti-TNF antibody in RA - proof of principle and safety
- 1993 Phase II clinical trial of anti-TNF antibody in RA - a formal proof of clinical efficacy
- 1993–1998 Clinical trials of etanercept in RA result in approval in USA (November 1998)
- 1993–1996 Retreatment and long-term Phase II clinical trials show that chronic treatment is feasible and that methotrexate improves efficacy of anti-TNF antibody

Development of anti-TNF therapy for chronic inflammatory diseases (3)

- 1993–1996 Phase I and II clinical trials of anti-TNF antibody in Crohn's disease
- 1997–1999 Phase III clinical trial of anti-TNF antibody plus methotrexate combination therapy
- Anti-TNF antibody approved in USA(1998) and Europe (1999) for the treatment of severe Crohn's disease
- 1999–2000 Anti-TNF antibody (infliximab) approved for use in USA (1999) and Europe (2000)

Development of anti-TNF therapy for chronic inflammatory diseases (4)

- 2002 Anti-TNF therapeutics (infliximab and etanercept) recommended as effective treatment for severe arthritis by the UK's National Institute of Clinical Excellence (NICE)
- More than 250,000 RA patients treated with anti-TNF antibody (infliximab) or TNFR–Ig (etanercept)
- 2004–2005 Approval of other anti-TNF biologicals
- (2005–2010) Orally available anti-TNF antibody drugs?

TNFα and Congestive Heart Failure

- TNFα over-expressed in myocardial tissue in heart failure
- Increasing serum TNFα level is correlated with a worse New York Heart Association (NYHA) functional class for congestive heart failure (CHF), an increase in hospitalisations due to CHF, and an increase in mortality
- Initial data from preclinical and pilot studies were encouraging, showing some efficacy of TNFα antagonist therapy in the treatment of CHF

Etanercept - phase III trial in CHF

- RENAISSANCE
  (Randomized Etanercept North American Strategy to Study Antagonism of Cytokines)
- RECOVER
  (Research into Etanercept Cytokine Ant- agonism in Ventricular Dysfunction)
  Europe, Israel and Australasia
- The two studies were of a similar design, combined and presented as the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL)

Etanercept Label

Precaution: Patients with Heart Failure

Two large clinical trials evaluating the use of ENBREL in the treatment of heart failure were terminated early due to lack of efficacy. Although the studies did not demonstrate harm, there was a suggestion of worse heart failure outcomes with ENBREL treatment in one of the two trials. There have been post-marketing reports of worsening of congestive heart failure (CHF), with and without identifiable precipitating factors, in patients taking ENBREL. Physicians should exercise caution when using ENBREL in patients who also have heart failure.

Infliximab – pilot study in CHF

- ATTACH (Anti-TNF alpha Therapy Against Chronic Heart Failure)
- 150 patients were recruited.
- Strong trends towards an increase in the percentage of patients with worsening clinical status with increasing infliximab dose
- Mortality rate for the high doses of infliximab (10 mg/kg) was statistically greater than that observed in the placebo arm.

Adverse events – Anti-TNF drugs

- As a class, anti-TNF alpha drugs have demonstrated both efficacy and a number of serious adverse events including infections, congestive heart failure, neurologic events including demyelination, lymphomas and autoimmunity including lupus like syndromes
- Decision to use should consider both their efficacy and potential side effects

Clinical trials of other anti-cytokines

- TNFR55-IgG1 fusion protein (lenercept)
- TNF binding protein pegylated dimer
- Anti-TNF antibody F(ab')2 fragment (afelimomab)
- Anti-IL-6 receptor antibody
- Anti-IL-12 Antibody

Lenercept

- TNFR55-IgG1 fusion protein
- Critical Care Medicine 2001 Mar;29(3):503-10
  - Phase III study, 1342 severe sepsis and early septic shock patients
  - Lenercept had no significant effect on mortality
- J Rheumatol 2003 Apr;30(4):680-90
  - RA patients improved after one day of first IV infusion
  - Treatment benefit maximized by 2 weeks but diminished thereafter
  - The third dose clearance rate was more than double compared with the first due to development of antibody

Afelimomab

- Anti-TNF antibody F(ab')2 fragment
- Murine antibody fragment against human TNF
- Reduce immunogenicity, improve tissue penetration, minimized interaction with Fc receptors
- Crit Care Med 2004 Nov;32(11):2173-82
  - Phase III trial
  - Afelimomab reduces mortality, attenuates the severity of organ dysfunction in patients with elevated IL-6 levels

TNFbp pegylated dimer

- TNF binding protein pegylated dimer
- J Rheumatol 2000 Mar;27(3):601-9
  - IV TNFbp pegylated dimer in RA patients
  - Significant anti-TNFbp antibody response affected the half-life and clearance of drug

Anti-interleukin-6 (1)

- Atlizumab (Actemra, MRA) - humanized anti-Interleukin-6 receptor monoclonal antibody
- Chugai Pharmaceutical + Roche
- Blood 2000 Jan;95(1):56-61
  - Improvement in Castleman's disease by 50-100 mg atlizumab once or twice weekly
- April 2003, regulatory filling submitted in Japan for use in giant lymph node hyperplasia (Castleman's disease)

Anti-interleukin-6 (2)

- Atlizumab in rheumatoid arthritis
  - Asthritis Rheum 2002 Dec;46(12):3143-50
    - Phase I/II randomized, double-blind, placebo-controlled trial, suggests that IL-6 blockade may be beneficial
    - Levels of the acute-phase reactants ESR and CRP normalized after a single dose of 5 or 10 mg/kg and the effects lasted for 4 weeks
  - Asthritis Rheum 2004 Jun;50(6):1761-9
    - multicenter, double-blind, placebo-controlled trial
    - Atlizumab was generally well tolerated and significantly reduced disease activity

Anti-interleukin-6 (3)

- Atlizumab in Crohn's disease
  - Gastroenterology 2004 Apr;126(4):989-96
    - A pilot randomized, placebo-controlled trial,
    - A biweekly 8 mg/kg infusion was well tolerated, normalized the acute phase responses and suggested a clinical effect in active Crohn's disease

Anti-interleukin-12

- Anti-IL-12 antibody for active Crohn's disease
- N Engl J Med 351;20:2069-79. Nov 11, 2004
  - Multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind, phase 2 clinical trial
  - One injection/wk (3 mg/kg anti-IL-12) for 7 weeks resulted in higher response than placebo
  - Decrease in secretion of IL-12, IFN-, TNF by mononuclear cells of colonic lamina propia

O1 ANTIOXIDATIVE AND CYTOPROTECTIVE EFFECTS OF *PHYLLANTHUS URINARIA L.* ON DOXORUBICIN-INDUCED CARDIOTOXICITY

Linda Chularojmontri[1], Suvara K. Wattanapitayakul[2], Angkana Herunsalee[3], Suphan Charuchongkolwongse[3], Somchit Niumsakul[3], Supatra Srichairat[4]

[1] *Interdepartment of Pharmacology, Graduate School, Chulalongkorn University,*
[2] *Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok,*
[3] *Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Nonthaburi,*
[4] *Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary, Chulalongkorn University, Bangkok.*

Cardiac toxicity is a major adverse effect caused by doxorubicin (DOX) therapy. DOX toxicity involves generation of reactive oxygen species (ROS). In this study, we investigated the antioxidative and cytoprotective effect of *Phyllanthus urinaria* (PU) against DOX toxicity using H9c2 cardiac myoblasts. Total antioxidant capacity of PU (1 mg/mL) was 5,306.75±461.62 μM FRAP value. DOX IC50s were used to evaluate cytoprotective effect of PU ethanolic extract (1 or 10 μg/mL) in comparison with ascorbic acid (VIT C, 100 μM) and N-acetylcysteine (NAC, 100 μM). PU treatments (1 or 10 μg/mL) dose dependently caused rightward-shifted of DOX IC50 to 2.8- and 8.5-fold, respectively, while treatments with VIT C and NAC increased DOX IC50 by 3.3- and 4.2-fold, respectively. Further evaluation of cytoprotective effect showed that PU and the pure antioxidants completely inhibited cellular lipid peroxidation and caspase-3 activation induced by DOX (1 μM). Endogenous antioxidant defense such as total glutathione (tGSH), catalase and SOD activity was also modulated by the antioxidants. PU treatment alone dose-dependently increased tGSH and this effect was retained in the presence of DOX. Similar effect was observed in catalase and SOD enzyme activity. The NFκB transcription factor assay demonstrated that all antioxidants significantly inhibited DOX-induced NFκB activation. Our results suggest that PU protected against DOX cardiotoxicity was mediated through multiple pathways and this plant may serve as alternative source of antioxidants for prevention of DOX cardiotoxicity.

O2 ANTIHYPERGLYCEMIC EFFECTS OF CINNAMIC ACID AND DERIVATIVES : INVOLEMENT OF INSULIN SECRETAGOGUE ACTIVITY

Preecha Moonsan, Siritorn Yibchok- anun

Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Science, ChulalongkornUniversity, Bangkok, Thailand

Diabetes Mellitus and its complications constitute a major health problem in modern societies. It is mainly classified in two types. Type 1 (Insulin Dependent Diabetes Mellitus, IDDM) and Type 2 (Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus, NIDDM). Among the classes of chemical compounds isolated from plants with documented anti-diabetic activity are alkaloids, glycosides, terpenoids, polysaccharide and amino acids. Recent interest in plant phenolic compounds, cinnamic acid and it's derivatives, have shown their potentially anti-hyperglycemic activities such as increasing the glucose utilization in peripheral tissues, inhibiting hepatic gluconeogenesis and stimulatory effect of insulin secretion. Therefore, the purposes of this study were to investigate the effects of cinnamic acid and 6 different kinds of cinnamic acid derivatives, ortho-, meta-, para-hydroxycinnamic acid, and ortho-, meta-, para-methoxycinnamic acid, on antihyperglycemic activity, as well as, the effects of these compounds on insulin secretion from perfused rat pancreas. Male Sprague-Dawley rat weighting 250-380 g were divided into 8 groups. Each group contained 8 rats. Group 1 received an intravenous administration of vehicle. Group 2-8 received cinnamic acid and six different cinnamic acid derivatives (5 mg/kg), respectively. The intravenous glucose tolerance test (IVGT; 0.25 mg/kg) was performed 30 min after intravenous administration of the treatments. Blood plasma samples were collected from femoral vein to determine glucose concentration using Glucose Oxidase Test at 0, 5, 10, 30, 60, 90 and 120 min. In addition, we investigated the effects of cinnamic acid and derivatives, which showed *In vivo* antihyperglymic activity, on insulin secretion from perfused rat pancreas in the presence of both normal and high glucose conditions.

The cinnamic acid, *p*-methoxycinnamic acid (*p*-MCA) and *o*-hydroxycinnamic acid (*o*-HCA) significantly reduced plasma glucose concentration at 5,10,90 and 120 min. In the presence of normal glucose condition, both cinnamic acid and *p*-MCA stimulated insulin secretion by 1.5- and 2-fold of the baseline level, respectively. In addition, they caused a greater potentiation of insulin secretion in 10 mM glucose than in 5 mM glucose, which were 4-fold and 12-fold of the baseline level, respectively. However, the *o*-HCA failed to increase insulin secretion from perfused rat pancreas in either condition. Taken together, our findings suggest that 1) the cinnamic acid, *p*-MCA and *o*-HCA exerted antihyperglycemic activity in vivo 2) the first two agents have insulin secretagouge activity and the higher the glucose concentration, the greater the potentiation in cinnamic acid- and *p*-MCA-induced insulin secretion, which could help explain their activities in vivo and 3) the mechanism underlying *o*-HCA-induced antihyperglycemic activity need to be further investigation.

O3 ANTIHYPERGLYCEMIC EFFECTS AND MECHANISMS OF ACTION OF *COSCINIUM FENESTRATUM* EXTRACT IN NORMAL RATS

Wanlaya Jittaprasatsin, Sirintorn Yibchok-anun

Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Diabetes mellitus is one of the most serious health problems among people in the world. The prevalence of diabetes worldwide at least 171 million people in 2000 and reach to 366 million people in 2030. In Thailand, the total number of people with diabetes rise from 1.536 million in 2000 to 2.739 million in 2030. Several drugs have been used for treating diabetes, however, they also have limited efficacy and are associated with side effects, including weight gain, hypoglycemia, gastrointestinal disturbances, lactic acidosis and edema.

Recently, the natural products are the one of available sources for finding novel molecules to drug development. "Hamm"or *Coscinium fenestratum (Gaertn.) Colebr.* has been widely used in the North-Eastern part of Thailand. It has been known as a Laos traditional medicine and used for antihypertensive, antihyperglycemic, antihypercholesteremic and detoxifying agents. Since, the request to use this plant is increasing, therefore, the study of pharmacological effects of Hamm become necessary. The objective of this study was to investigate 1) the effects of *Coscinium fenestratum* extract (CFE) on blood glucose level in normal rats 2) the stimulatory effects on insulin secretion from perfused rat pancreas and 3) the inhibitory effect of α-glucosidase (AGH) from rat intestinal acetone powder.

We performed oral glucose tolerance test (OGTT) in normal rats to investigate the effects of CFE on blood glucose concentration. Three different kinds of sugar, including glucose, maltose, and sucrose were used as substrates. The rats in each group of sugar were divided into 3 subgroups contained 8 animals each. Group 1 was fed with sterile water at 0.5 ml/rats. Group 2 was received oral administration of CFE at 500 mg/kg, and group 3 was received glibenclamide at 5 mg/kg (for glucose group) or acarbose at 3 mg/kg (for maltose and sucrose groups), respectively as positive control. After 5 min of administration, each group was treated with 3 g/kg of glucose, maltose or sucrose solutions, respectively. Blood samples were collected from tail vein for glucose concentration determination using Glucose Oxidase Test at 0, 15, 30, 60 and 120 min. In order to clarify the mechanisms underlying CFE-induced hypoglycemic effect, we investigated the direct effect of CFE (10 μg/ml) on insulin secretion using *In Situ* pancreatic perfusion and inhibition of postprandial blood glucose rise through α-glucosidase enzyme from rat intestine.

The CFE significantly decreased plasma glucose concentrations at 30 and 60 min after the oral administration of all three kinds of sugar, suggesting that the antihyperglycemic effect of CFE was achieved by inhibition of maltase, sucrase and glucose transport inhibition. It also stimulated insulin secretion from perfused rat pancreas by 2.72 folds compared with basal control group. This effect was apparent within 5 min of administration and was persistent during 30 min of administration. In addition, from AGH inhibitory assay, CFE inhibited maltase and sucrase from rat intestine with IC_{50} = 5.92 ± 0.48 mg/ml and 7.71 ± 1.23 mg/ml, respectively. Taken

together, we concluded that *Coscinium fenestratum* extract exerted antihyperglycemic activity via two possible pathways, which were stimulation of insulin secretion and inhibition of α-glucosidase, the brush border enzyme in proximal small intestine, thus, leading to increase glucose uptake into the cells and delay carbohydrate absorption from intestinal mucosa into blood stream.

O4 THE GLUTAMATE SENSITIVE NON-MITOCHONDRIAL CARBOXYLASE (GSNMC) IN GLUTAMATE-TREATED RATS

Jintana Sattayasai[1]*, Tarinee Arkaravichien[1], Nison Sattayasai[2]

[1]Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, and [2]Department of Biochemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand.

We have previously reported that chick intravitrealy injected with glutamate (Glu) resulted in the loss of certain retinal proteins, especially the 42 kDa protein (1). Using the antibody against the 42 kDa, it appeared that the 42 kDa protein was located in the outer part of inner nuclear layer and outer part of photoreceptor. Immunocytochemistry of retinal cell culture suggested that the protein was mostly located on the surface of retinal cell. As it was a biotin-coupled protein, it was suggested to be a glutamate sensitive non-mitochondrial carboxylase (GSNMC). The GSNMC was seen in chick embryo a few days before hatching suggesting the relationship of the protein with the eye functions. As rodent is the animal mostly used in many experiments, the distribution patterns of the GSNMC in chick and rat brain and retina were studied. The antiserum against the GSNMC from chick retina was used to localize the GSNMC in various parts of the brain and retina of chick and rat. Crude proteins were separated on 12% SDS-PAGE and transferred to a nitrocellulose membrane. Western immunoblotting shown the presence of GSNMC in all areas of the brain observed (the olfactory bulb, cerebral cortex, hippocampus and cerebellum) and the retina of both chick and rat in a comparable pattern suggesting rat could be used as a studying model for GSNMC. Rat treated with Glu at either 500 or 1000 mg/kg/day for 2 weeks showed no change in the GSNMC expression in all tissues observed. The functional roles of GSNMC in the brain, in association with Glu, should be further studies.

References

Sattayasai N, Sattayasai J, Daduang S, Chahomchuen T, Ketkaew S, Puchongkavarin, H. The nonmitochondrial carboxylase, which shows a relation to glutamate action, is last synthesized in retina of chick embryo. *J Neuroimmunol* 2003, 141:104–11.

*Corresponding author: sjinta@kku.ac.th

O5 SULFORAPHANE-INDUCED HEME OXYGENASE-1 EXPRESSION IN PC12 CELLS IS INDEPENDENT OF NUCLEAR FACTOR E2-RELATED FACTOR 2-MEDIATED ANTIOXIDANT RESPONSE ELEMENT ACTIVATION

Prawan A[1], Jung-Hee Jang, Mei-Hua Li, Young-Joon Surh

National Research Laboratory of Molecular Carcinogenesis and Chemoprevention, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea.
[1]On leave from Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.

Sulforaphane, an isothiocyanate ingredient of cruciferous vegetables including broccoli, has been shown to possess strong phase I enzyme-inhibitory and phase II enzyme-inducing properties. The purpose of this investigation was to examine the ability of sulforaphane to up-regulate heme oxygenase-1 (HO-1) gene expression and the involvement of transcription factor nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) in induction of HO-1 in PC12 cells. Exposure of PC12 cells to sulforaphane led to the induction of HO-1 in a concentration- and time-dependent manner with maximum increase at 7.5 mM and 8 hours. To better understand the signaling events involved in the up-regulation of HO-1 by sulforaphane, ARE activity was assessed by the electrophoretic mobility shift assay (EMSA), and Nrf2 and HO-1 protein levels were detected after transient transfection of PC12 cells with a mutant form of Nrf2. Sulforaphane failed to increase ARE activity but could still induce HO-1 expression in both dominant-negative Nrf2- and control pEF vector-transfected cells. Taken together, our results indicate that up-regulation of HO-1 expression by sulforaphane treatment in PC12 cells is mediated by Nrf2/ARE independent mechanism and suggest the involvement of other transcription factors.

P1 A RANDOMIZED STUDY TO COMPARE THE EFFICACY OF TWO PREPARATIONS (A COMBINED CONTRACEPTIVE PILL VERSUS CONJUGATED ESTROGEN CREAM) INTRAVAGINALLY TO TREAT UROGENITAL SYMPTOMS IN POSTMENOPAUSAL THAI WOMEN.

Chompootaweep S[1], Nunthapisud P[2], Trivijitsilp P[3], Dusitsin N[4].

[1]Department of Pharmacology, [2]Department of Microbiology, [3]Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, [4]Institute of Health Research, Chulalongkorn University, Bangkok Thailand.
(e-mail address: sumanach48@hotmail.com)

To determine whether the combined contraceptive pill used intravaginally was as effective as the standard conjugated estrogen cream for the treatment of urogenital symptoms in postmenopausal Thai women.

In a randomized clinical trial, 40 postmenopausal women with urogenital symptoms were randomly allocated to two treatment groups for 8 weeks. The first group (n = 20) received a combined contraceptive pill by the vaginal route, one tablet per week at bedtime for 8 weeks. Each tablet contained 250 μg levonorgestrel plus 30 μg ethinyl estradiol. The second group (n = 20) was given 1 gm of an intravaginal conjugated estrogen cream at bedtime, three times in the first week, twice in the second week, and then once a week for the next 6 weeks (1 gm of conjugated estrogen cream contained 0.625 mg conjugated equine estrogen). Subjects were questioned about their urogenital symptoms, and vaginal cytologic smeares, vaginal bacteria cultures, and urine cultures were performed before treatment and after 2, 4 and 8 weeks of therapy.

The vaginal pH and the proportion of the fecal type bacteria decreased in both groups, with no statistically significant difference between the groups. The karyopyknotic index and the maturation index were improved during treatment in both groups. An increase in the proportion of lactobacilli were recorded in both groups after therapy, with no significant difference between the two groups. No significant changes were observed in urinary bacteria. The therapy (combined contraceptive pill and estrogen cream) had a marked effect on urogenital symptoms (vaginal dryness, dyspareunia, urinary frequency, and urinary urgency), with impressive improvement comparably in both groups.

A combined contraceptive tablet administered vaginally once a week can alleviate urogenital symptoms in Thai postmenopausal women as effectively as the vaginal estrogen cream. However, the pills are much less expensive and are easily obtained in developing countries.

P2 THE BIOEQUIVALENCE STUDY OF ORAL GABAPENTIN 300 MG CAPSULE

Wittayalertpanya S[1], Chompootaweep S[1], Hinsui Y[2], Lilitkarntakul P[1]

[1]Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. [2] Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand.

Gabapentin is an antiepileptic drug with the structure similarity to GABA. Gabapentin provides notable benefit, reducing seizure frequency in patients with partial seizures. A new product of gabapentin 300 mg has been developed. The bioequivalent data compared with the innovator's product is required in order to assure the quality and performance of the new generic product.

To compare the bioavailability of new generic product of oral gabapentin capsule manufactured by Unison Laboratories Co.,Ltd. with the innovator's product. The pharmacokinetic parameters of gabapentin in Thai subjects have been studied. Randomized, two-treatment, two-period, two-sequence, single dose crossover design. The study was performed in 14 Thai healthy male volunteers. Each received a single oral dose of 300 mg gabapentin. Double blind randomized two way crossover design was used with two weeks washout period between treatments. After drug administration, serial blood sample was collected over a period of 32 hours. Gabapentin plasma level was determined by the automated High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with fluorescence detection after deproteinized with acetonitrile and derivatization with o-phthaldehyde (OPA) reagent containing 2-mercaptoethanol. The difference of phamacokinetic parameters, C_{max} and $AUC_{(0\text{-}inf)}$, were analyzed by Two Way Analysis of Variance (ANOVA) and 90% confidence interval. The maximum concentration (C_{max}, μg/ml) of gabapentin was 3.04±0.55 (range 2.16-4.04) and 3.26±0.62 (range 2.48-4.52) μg/ml for generic and innovator' s product, respectively. The time to peak plasma gabapentin concentration (T_{max}, hr) of generic and innovator's product was 3.00±0.68 (2.00-4.00) and 3.18±0.80 (2.00-5.00), respectively. The area under the plasma concentration-time curve ($AUC_{(0\text{-}inf)}$, μg.hr/ml) was 28.48±7.14 (15.03-42.98) and 29.81±6.33 (20.88-44.15), respectively. The 90 % confidence interval of mean difference of C_{max} and $AUC_{(0\text{-}inf)}$ in term of log transformed data of generic to innovator's product were 82.80-104.61% and 85.57-104.36%, respectively. They were within the range of the acceptance criteria 80-125%.

Conclusions : Gabapentin from the two formulations were bioequivalent.

Keywords: gabapentin, bioequivalence, HPLC

P3 THE CYTOTOXIC EFFECT OF THE EXTRACT FROM *MORINDA CITRIFOLIA* FRUITS IN CELL CULTURES

Punjanon T[1], Arpornsuwan T[2], Devakula W[1], Heangnoi S[2], Puangsavai J[2]

[1]*Pharmacology and Toxicology Unit, Department of Medical Sciences, Faculty of Science, Rangsit University, Pathum thani 12000, Thailand*
[2]*Faculty of Allied Health Science, Tammasat University, Pathum thani 12120, Thailand*

Morinda citrifolia fruits (Yao in Thai) has been used for thousands of years as a source of traditional medicine and has been recently commercially processed and internationally distributed. It has been subjected to considerable its toxic effects. OBJECTIVE: To determine cytotoxic effect of the methanolic extract from *Morinda citrifolia* fruits in baby hamster kidney (BHK) cell line, African green monkey kidney (Vero) cell line and Human hepatoma (Hep) cell line. METHOD: Cultured cells were exposed to various concentrations of the extracts for periods of 24 hours. Mitomycin C, a cytotoxic drug, was used as positive control. Cell viabilities were assessed by MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay. This method is a simple assay to determine the viability/number of cells in culture, through the formation of a colored product (in a mitochondria-dependent reaction) to which the cell membrane is impermeable. The median lethal concentrations (LC_{50}) of cytotoxic effect was calculated by linear regression analysis. RESULTS: Cytotoxic changes exhibited after exposure to the extract were dose dependent. The extract showed cytotoxicity to tested cells only at concentrations above 100 μg/mL LC_{50} of the extract in BHK cell, Vero cell and Hep cell were found to be 2,500, 3,000 and 5,000 μg/mL, respectively. As compared to those of mitomycin C at concentration 0.5 μg/mL showed above 77 percent of cell death. CONCLUSIONS: These results suggest that the methanolic extract of *M. citrifolia* fruits has a cytotoxic activity at very high concentration in these tested cell lines as compared with those of mitomycin C.

P4 PSYCHOLOGICAL STRESS ALTERS THE EFFECTS OF ETHANOL IN THE RAT SOCIAL INTERACTION TEST

Wongwitdecha N[1,4], Ngamnawakul B[1,2], Thaidee H[1,3], Soo-ampon S[1]

[1]Department of Pharmacology, [2]Department of Biology, [3]Toxicology Program, Faculty of Science, [4]Institute of Science and Technology for Research and Development, Mahidol University, THAILAND

Psychological stress from the early stage of life such as social isolation rearing from weaning has been shown to change the behaviors of the adult animals and modify the responsibility to many addictive agents (1-4). However, there is no report concerning the effect of psychological stress on the behavioral effect of ethanol in the social interaction test.

Objective: The purpose of the present experiments was to investigate the effect psychological stress on the behavioral effect of ethanol in the rat social interaction test.

Methods: Male Wistar rats were reared from weaning either singly (isolation rearing) or in groups of five-six rats/cage (social rearing). Four weeks later, these rats were tested for their sensitivity to ethanol using the social interaction test (3).

Results: In the rat social interaction test, the active social interaction behavior of the saline-treated isolation reared rats was not significantly difference from the socially reared controls. However, the latencies of active social interaction of the saline-treated isolation reared rats were significantly longer than the social reared rats ($P<0.05$). The isolation reared rats were significantly more aggressive than the socially reared rats ($P<0.05$). Systemic administration of ethanol (300 and 600 mg/kg i.p.) to both isolation and socially reared rats, did not significantly alter the latencies of active social interaction in the social reared rats ($P>0.05$), but it produced a dose-related decrease the latencies of active social interaction in the isolation reared rats, Ethanol (300 and 600 mg/kg i.p.) significantly decreased the active social interaction behavior in both isolation and socially reared rats compared with the saline treated controls $P<0.05$). However, this effect was more pronounced in the socially reared rats. Moreover, ethanol produced a dose-related antiaggressive effect in socially reared rats as indicated by decrease the aggressive interaction time. This effect of ethanol was not observed in the isolation reared rats.

Conclusion: The present results indicate that psychological stress alters the behavior of the adult rats and the responsibility to ethanol, and decreases the antiaggressive effect of ethanol. Future experiments will need to investigate the mechanism of action of ethanol in isolation reared rats.

Keywords: Psychological stress, social interaction test, ethanol, rats

Reference

1. Thaidee H, Wongwitdecha N. *Intern J Neuropsychopharmacol* 2004;7 (Suppl 1): S315.
2. Wongwitdecha N, Soo-ampon S, Yoopan N. *Intern J Neuropsychopharmacol* 2004;7(Suppl 1): S460.
3. Wongwitdecha N, Marsden CA. *Behav Brain Res* 1996;75:27-32.
4. Wongwitdecha N, Marsden CA. *Eur J Pharmacol* 1995;279:99-103.

P5 AN IN VITRO TESTING OF ETHANOL EXTRACT OF *PIPER BETLE* LEAVE AGAINST *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

Pimsiri K[1], Punsri Y[1], Pusri J[1], Kumpanawarawan V[1], Noppon B[1], Chatchawanchonteera A[1], Trakranrungsie N[2]

[1]*Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, THAILAND*
[2]*Faculty of Veterinary Science, Mahidol University, Salaya, Phuttamonthon, Nakhonpathom 73170, THAILAND*

The antibacterial effect of ethanol extract of *Piper betle* (Piperaceae) was tested against *Campylobacter jejuni* isolated from chicken fecal samples. *E. coli* ATCC 25922 and gentamicin were used as standard strain and antibiotic, respectively. Using the disk diffusion method, the results revealed the inhibitory effect of the plant extract was concentration dependent and a prolonged storage of the extract significantly increased the antibacterial activity. At the concentrations of 25-400 mg/ml of the extract and 50-800 □g/ml of gentamicin, the clear zones indicating growth inhibition of *C. jejuni* were 10-30 and 23-33 mm, respectively. *E. coli* exhibited less susceptibility with inhibition zones of 0-17 mm for the plant extract and 19-25 mm for gentamicin. Based on the current findings, it can be concluded that the crude extract of *P. betle* leaves is effective against *C. jejuni*, with less potency than the standard antimicrobial drug gentamicin.

P6 EFFICACY AND SAFETY OF GENTAMICIN ADJUSTED DOSE BASE ON GESTATIONAL AGE IN THAI NEONATAL PATIENTS

Juntarakana S[1], Tantiprabha W[2], Chotinaruemol S[2], Rojanasthien N[1]

[1]Department of Pharmacology, [2]Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

Background/Objective: There is no uniformity in the current recommendations of gentamicin dosing regimen in neonates. The regimen from Neofax 2002 guideline suggests a higher dose but extended dosing interval base on gestational age. This study aimed to determine the efficacy, safety of a new dosage regimen of gentamicin adjusted dose based on Neofax guideline.

Patients and methods: Neonates with normal renal function and diagnosed of suspected bacterial infection were enrolled. Gentamicin were administered; 5 mg/kg every 48 hr, 4.5 mg/kg every 48 hr, 4 mg/kg every 36 hr and 4 mg/kg every 24 hr for neonates with GA $\leq$ 29 weeks, 30-33 weeks, 34-37 weeks and $\geq$ 38 weeks, respectively (slow IV infusion via syringe pump over 30 minutes). The peak and trough levels were used to evaluate the efficacy and the safety. The peak were drawn within 30 minutes after the end of IV infusion of the 1st, 3rd and 6th dose, while the trough were drawn 30 minutes before the 3rd and 6th dose.

Results: Initial peak levels of 47 of 48 patients achieved therapeutic range of 4-12 ug/ml while 1 patient (GA $\leq$ 29 weeks) had slightly higher peak of 12.21 ug/ml. Similarly, the maintenance peak levels of 38/40 neonates who received the 3rd dose, were within the satisfactory therapeutic range, however, 2 patients with GA of $\leq$ 29 weeks and 30-33 weeks had slightly higher peak of 13.00 and 12.20 ug/ml, respectively. Maintenance peak levels after the 6th dose obtained from 15 neonates with GA of 34-37 weeks and $\geq$ 38 weeks were within the therapeutic range. Trough levels before the 3rd and 6th doses were within safety range of < 2ug/ml. Serum creatinine values of neonates with GA of $\leq$ 29 weeks and 30-33 weeks were higher than normal range and were declined after the first 5 days of therapy. Creatinine values of neonates with GA of 34-37 weeks and $\geq$ 38 weeks were higher than the normal range and were declined to the normal range within 3 days. Increase in GA resulted in an increase in gentamicin clearance, corresponded to a decrease in its half-life. Apparent volume of distribution (Vd) of neonates with GA of $\leq$ 29 weeks were not significant difference from neonates with GA of 30-33 weeks and 34-37 weeks. Neonates with GA of $\geq$ 38 weeks had significantly higher Vd than other groups. Gestational age, birth weight and body surface area had positive correlations with the elimination rate constant, clearance and Vd but a negative correlation with half-life. Since the peak and trough levels of neonates receiving the dose of gentamicin in this study were within the therapeutic and safety range, we concluded that the dosage regimen of Neofax guideline was appropriated for Thai neonates.

Acknowledgement: This study was supported by the Faculty of Medicine Endowment Fund for Research, Chiang Mai University and was submitted to the Graduate School in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in pharmacology.

P7 THE COMPARATIVE LOADING-DOSE PHARMACOKINETIC STUDY OF IMMEDIATE- AND MODIFIED-RELEASE PHENYTOIN CAPSULES

Chaichana N[1], Rojanasthien N[1], Sangdee C[1], Apisariyakul A[1], Chankrachang S[2]

[1]*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand.*
[2] *Department of Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand.*

The objective of this study was to compare the pharmacokinetics and bioavailability of immediate-release (Ditoin®) with modified-release phenytoin capsules (Dilantin Kapseals®) after loading-dose in healthy Thai male volunteers. Sixteen volunteers were given a loading dose of approximately 15 mg/kg Ditoin® and Dilantin Kapseals®. After dose administration, serial blood samples were collected over a period of 36 hr. Plasma phenytoin concentrations were determined by HPLC. It was found that Ditoin® could reach plasma therapeutic levels of 10 μg/ml in 9 volunteers (64.29%), while Dilantin Kapseals® raised plasma phenytoin levels to therapeutic level in only 5 volunteers (35.71%). In addition, the mean time to reach the therapeutic level for Ditoin® was significantly faster than those of Dilantin Kapseals®. Moreover, the duration of sustained plasma therapeutic level for Ditoin® was longer than those of Dilantin Kapseals®. It was concluded that Ditoin® was a preferred preparation for loading dose administration.

Key words: phenytoin, bioavailability, pharmacokinetics, immediate-release, modified-release

P8 BIOEQUIVALENCE STUDY OF CEFOPERAZONE AND SULBACTAM INTRAMUSCULAR INJECTION

Taesotikul W[1], Kaewvichit S[1], Niwatananun W[1], Thongsawat S[2], Daungrat C[1]

[1]Faculty of Pharmacy, [2]Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

The objective of this study is to perform a bioequivalence study of cefoperazone and sulbactam between Sulcef® injection (Siam Pharmaceutical Co. Ltd., Thailand) and Sulperazone® injection (Pfizer), the innocator product. The study was performed in 24 Thai healthy male volunteers who intramuscularly received a single dose of 1.0 g cefoperazone and sulbactam injection (0.5 g of cefoperazone and 0.5 g of sulbactam). Double blind randomized cross-over design was used. Blood samples were collected before and after intramuscular injection for 12 hours and determined for cefoperazone and sulbactam plasma concentration by validated HPLC methods. (Accuracy, Precision, Specificity, %Recovery, Linearity, Stability)

When statistics were tested as stated in USP 28 guideline for bioequivalence study, US- FDA guideline 2004 and validated HPLC methods: 90% confidence interval of the log of ratio of either C_{max} or AUC_{last} or AUC_{inf} of both cefoperazone and sulbactam between Sulcef® and Sulperazone® injection were within the range of 0.80-1.25. Therefore, it can be indicated that the 1.0 g cefoperazone and sulbactam injection of Sulcef® and Sulperazone® used in this study are bioequivalent.

P9 ALTERED mRNA EXPRESSION IN ISCHEMIC RAT BRAIN

Suwanakitch P[1], Jeenapongsa R[1], Saelim N[1], Tohda M[2], Watanabe H[2]

[1]*Department of Pharmacy practice, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Muang, Phitsanulok 65000, THAILAND*
[2]*Division of Pharmacology, Institute of Natural Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University, Toyama, JAPAN*

Introduction: Permanent occlusion of bilateral common carotid arteries in rats (2VO) is a useful model for studying of ischemic-induced dementia. Alzheimer's disease (AD) is one of the most common types of dementia. AD and demented patients exhibit common pathophysiology and symptoms. Since a number of proteins have been found to be involved in the AD therefore similar alteration may be observed in ischemic-induced dementia.

Objective: This study aimed to investigate the expression of AD-related mRNAs in ischemic rat. The mRNAs studied were acetylcholinesterase (AChE), beta-amyloid precursor protein (APP), cyclooxygenase-2 (COX-2), alpha7 nicotinic acetylcholine receptor (alpha7 nAChR) and gamma-secretase mRNAs.

Methods: Common carotid arteries of male Wistar rats (14 wk) were occluded under pentobarbital anesthesia (2VO rats). The animals were sacrificed at the day 2, 4, 7, 14, 35 and 112. Whole brain was removed and used for RNA isolation. Reverse transcription – Polymerase chain reaction (RT-PCR) was employed to synthesize cDNA. Several primers had been designed to specifically detect AChE, APP, COX-2, alpha7 nAChR and gamma-secretase mRNA expressions. The PCR products were resolved by polyacrylamide gel electrophoresis and stained with ethidium bromide.

Result and discussion: At day 2 after the operation, the 2VO and SHAM rats similarly expressed AChE, APP, COX-2, alpha7 nAChR and gamma-secretase mRNAs. 2VO rats, at day 4, significantly expressed greater amount of APP, alpha7 nAChR and secretase mRNAs than the sham ($P < 0.05$). The AChE mRNA level tended to be decreased after 35 days and lasted until 112 days in 2VO rats. However, the expression of COX-2 mRNA was not altered at all periods. This indicates that the expression of AD-related genes can be detected in ischemic-induced dementia rats. It also suggests that the 2VO model may be partly used as a model to screen for new compounds that have potentials in the treatment of AD.

P10 ANTIOXIDATIVE EFFECTS OF *ELAEOCARPUS GRANDIFLORUS*

Bualee C[1], Jeenapongsa R[2], Ounarun A[1]

[1]*Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy,* [2]*Department of Pharmacy Practice, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand*

Background: *Elaeocarpus grandiflorus* is a tree in the *Elaeocarpaceae* family. It possesses a number of pharmacological activities such as antibacterial, anti-diuretic and antiviral. Tannin and geraniin have been reported as the major components of this plant. People who are living in the Poi Waterfall area in Phitsanulok have been traditionally using decoction of *E. grandiflorus* twig, fruit and leave to treat diabetes. Very few studies on pharmacological activity of *E. grandiflorus* have been performed.

Objective: To determine antioxidative effect, active compounds and fingerprint of *E. grandiflorus.*

Methods: Leave, twig and fruit of *E. grandiflorus* were extracted with distilled water and then freeze-dried to fine powder. The powders were analyzed for active compounds and fingerprint by TLC and HPLC methods, respectively. Bornträger' test and modified Bornträger's test were used to determine anthraquinones. A reaction of sample with proteins was used to detect tannins. The extracts were spotted onto layers of silica gel. The TLC plate was eluted with butan-1-ol:acetic acid:water (4:1:5). The plate was sprayed with anisaldehyde and then heated at 105°C for 5 min. HPLC was performed using a column (C18, 150x4.60 mm, Luna) with a mobile phase consisting of 0.1 KH_2PO_4-H_3PO_4 pH3.5:MeOH (98:2) at a flow rate of 1.0 ml/min. The photo diode array detector wavelength was 215 nm. The antioxidative effect was examined by DPPH assay.

Results and Discussion: The TLC and HPLC assay revealed that these three different parts possess similar active compounds. The chromatograms of TLC developed with the anisaldehyde reagents exhibited blue or purple spots indicating the existence of phenol compounds. Hydrolysable tannin and anthraquinone were also detected. The results from DPPH assay reveal antioxidative activities of the extracts in dose-dependent manners (10, 20 and 30 ppm). The extracts from the leave and the fruit exhibited the highest and the lowest antioxidative activity, respectively. It can be concluded that *E. grandiflorus* possesses antioxidative activity of which may be responsible by the tannin component.

P11 EFFECTS OF QUERCETIN AND NARINGENIN ON CONTRACTILITY OF ISOLATED RATS THORACIC AORTA

Yatmark P[1], Dhumma-upakorn P[2], Jianmongkol S[2]

[1]*Inter-Departmental Program in Pharmacology, Graduate School, Chulalongkorn University,*
[2]*Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical sciences, Chulalongkorn University.*

Quercetin and naringenin are the flavonoids found in various types of plants and plant products. Recently, quercetin present in dietary supplements. Flavonoids are known to associated with decreased risk of cardiovascular heart disease (CHD). In this study, the effects of quercetin and naringenin on contractility of isolated rats thoracic aorta in the absence of endothelium were investigated. The thoracic aortic strips were isolated from male Wistar rats (250-300 g) , denuded the endothelium layer and the contractility responses were measured isometrically. Our results showed that quercetin (50 μM-1 mM) and naringenin (50 μM-3 mM) significantly inhibited the contraction induced by phenylephrine (PE 10^{-5} M) and KCl 40 mM. In addition, both quercetin and naringenin (500 μM) significantly inhibited the contraction induced by phenylephrine (PE 10^{-5} M) in Ca^{2+} free Krebs-Henseleit solution. Quercetin (500 μM), but not naringenin (500 μM), significantly inhibited the contraction induced by caffeine 10^{-2} M. Furthermore, quercetin and naringenin (500 μM) suppressed an increase in the resting tone in aorta (IRT) as well as suppressed $CaCl_2$ –induced contraction in high K^+,Ca^{2+} free solution.

In conclusion , quercetin and naringenin may affect vascular contractility involving several mechanisms. Ones of the mechanisms may involve the interference on Ca^{2+} entry into smooth muscle cells and intracellular Ca^{2+} mobilization.

Key Words: Quercetin, naringenin, calcium, vascular smooth muscle

P12 CYTOTOXICITY OF *STEPHANIA VENOSA* TUBER EXTRACTS ON HUMAN PBMCs

Kheiawsawang M[1], Sueblinvong T[2], Leewanich P[3], Cheepsunthorn P[4], Prachayasithikul S[5], Limpanasittikul W[1]

[1]*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.*
[2]*Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.*
[3]*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand.*
[4]*Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.*
[5]*Department of Chemistry, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand.*

This study aimed to compare cytotoxic activities of the water and the ethanol extracts of *Stephania venosa* tuber, which has been used for many medicinal purposes as well as cancer by boiling in water or soaking in alcohol. Both extracts significantly exhibited cytotoxic effects on human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in a dose-dependent manner. The concentration at 50% inhibition (IC_{50}) of the water and the ethanol extracts were 200 and 40 □g/ml, respectively, as determined by AlamarBlue reduction assay. This result was further confirmed by trypan blue dye exclusion assay. Thus, the ethanol extract was more potent than the water extract. The antiproliferative activities on mitogen-stimulated PBMCs were also compared between both extracts using MTT assay. The ethanol extract was more potent than the water extract in inhibiting phytohemagglutinin-, pokeweed mitogen-, and Staphylococcus protein A-stimulated PBMCs proliferation. The mitogen-activated cell proliferation was decreased more than 50% after being treated with both extracts at their IC_{50}'s. The extract-induced apoptosis was also investigated by fluorescence activated cell sorting (FACS) using annexin V and propidium iodide staining. Both extracts significantly induced apoptosis cell death in PBMCs. The ethanol extract had higher potency than the water extract. These results suggested that *S. venosa* tuber may possess anticancer action through its cytotoxicity, antiproliferation, and apoptosis induction. Furthermore, the ethanolic soaking solution of *S. venosa* appears to be more potent than the boiling water preperation when it was used as antitumor remedy. The caution should be addressed when it was prescribed in traditional medicine.

Keyword: *Stephania venosa*, PBMC, cytotoxicity, proliferation, apoptosis

P13 EFFECTS OF *HIBISCUS SABDARIFFA* EXTRACT ON CLINICAL BLOOD CHEMISTRY IN RATS

Prommetta P[1], Phivthong-ngam L[2], Chaichantipyuth C[1], Niwattisaiwong N[1], Lawanprasert S[1]

[1]*Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University,* [2]*Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand.*

Hibiscus sabdariffa Linn. has been reported to have a broad range of therapeutic effects. This study examined effects of *H. sabdariffa* aqueous extract on clinical blood chemistry and hematology. Thirty male Wistar rats were randomly divided into 3 treatment groups. Each group comprised 10 rats. Rats in the first group were given distilled water 1 ml/kg/day orally for 30 days, serving as a control groups. The other two groups of rats were given *H. sabdariffa* aqueous extract orally at dosage of 250 and 1000 mg/kg/day for 30 days. During the treatment period, body weight was recorded every week, food and water consumptions were recorded at every five days. At the end of the treatment period rats were anesthesized. Blood was collected by heart puncture and serum was prepared for measuring hematology and clinical blood chemistry (hematocrit (Hct), hemoglobin (Hb), RBC count, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), RBC morphology, platelet count, white blood cell (WBC) count and % differential WBCs; aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin, direct bilirubin, total protein, albumin, globulin, blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (SCr), glucose, uric acid, total cholesterol, triglyceride (TG), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), sodium, potassium, calcium and chloride), respectively. The results showed that, rats received both dosage regimens demonstrated no changes of clinical blood chemistry and hematology. These results suggested that *H. sabdariffa* extract no effect on several important organs/systems such as liver, kidney, blood system, electrolytes as well as lipid and carbohydrate metabolism.

P14 EFFECTS OF *ORTHOSIPHON GLANDIFLORUS* WATER EXTRACT ON CLINICAL BLOOD CHEMISTRY IN RATS

Chaiyo T[1], Niwattisaiwong N[1], Phivthong-ngam L[2], Chaichantipyuth C[1], Lawanprasert S[1]

[1]*Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University,* [2]*Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand.*

Orthosiphon glandiflorus Bold. is commonly called in Thai as "Yaa nuat maeo". *O. grandiflorus* has been used traditionally as a remedy used of diuretic and treatment of urinary stone disease. This study examined subacute effects of *O. grandiflorus* water extract on clinical blood chemistry and hematology were investigated in male Wistar rats. Thirty rats were randomly divided into three treatment groups, ten in each group. Rats in the first group were given distilled water 1 ml/kg/day serving as a control group. The other two groups of rats were given *O. grandiflorus* water extract at dosages of 0.96 and 4.80 g/kg/day. Each group were administered orally for 30 consecutive days. During the treatment period, body weight was recorded every week. At the end of the treatment, rats were anesthesized. Blood samples were collected by heart puncture and serum samples were prepared for measuring hematology and clinical blood chemistry, respectively. The results showed that body weight gain of rats given *O. grandiflorus* water extract at dose of 4.80 g/kg/day was significantly lower than those in the control group. There was no significant difference of clinical blood chemistry and hematology such as hematocrit, hemoglobin, platelet count, white blood cell count, red blood cell count, red blood cell indices (mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration), red blood cell morphology, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, total bilirubin, direct bilirubin, serum creatinine, total cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein-cholesterol, high density lipoprotein-cholesterol, glucose, uric acid and electrolytes (such as sodium, chloride and calcium).
O. grandiflorus water extract at the dose of 4.80 g/kg/day caused a significant increase of blood urea nitrogen and potassium. In addition, a significant increase of polymorphonuclear but decrease of lymphocyte were found in rats given *O. grandiflorus* water extract at
4.80 g/kg/day as compared to the control rats. This results illustrated that *O. glandiflorus* water extract did not effect on liver as well as lipid and carbohydrate metabolism while
O. glandiflorus water extract at high dose may be effect on kidney. Thus, histopathological examination of *O. grandiflorus* water extract on kidney were suggested.

Key word: *Orthosiphon glandiflorus* and clinical blood chemistry

P15 EFFECTS OF *CURCUMA COMOSA* EXTRACT ON CLINICAL BLOOD CHEMISTRY IN RATS

Suknoy W[1], Srichairat S[2], Phivthong-ngam L[3], Chaichantipyuth C[4], Niwattisaiwong N[4], Lawanprasert S[4]

[1]Inter-Department of Pharmacology, Chulalongkorn University, [2]Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University, [3]Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, [4]Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok Thailand

Curcuma comosa Roxb. (Waan chak mod look) rhizome has been used traditionally for abnormal symptoms of uterus. In this study, rhizome of *C. comosa* was extracted with 95% ethanol and effects of the extract on clinical blood chemistry (aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin, direct bilirubin, total protein, albumin, globulin, blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (SCr), glucose, total cholesterol, triglyceride (TG), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), sodium, potassium, calcium, chloride, estrogen, follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH)) and hematology (hematocrit (Hct), hemoglobin (Hb), RBC count, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), RBC morphology, platelet count, white blood cell (WBC) count and % differential WBCs) were also determined. Forty Wistar rats were randomly divided into 4 groups of10 rats each. The experimental groups were received the extract orally at dosages of 100, 250 and 500 mg/kg/day respectively whereas rats in the control group were given corn oil at 1 ml/kg/day for 30 consecutive days. The results showed that extract did not affect body weight, food and water consumption of the rats. Serum alkaline phosphatase and potassium levels were significantly increased in rats receiving the 500 mg/kg/day of the extract. Estradiol concentrations of rats receiving the extract at the doses of 250 and 500 mg/kg/day were significantly higher than those of the control. Likewise, no effects of *C. comosa* extract were observed on several hematological parameters.

P16 ANALGESIC EFFECTS OF THE ETHANOLIC EXTRACT FROM *CISSUS QUADRANGULARIS* DRIED STEM

Vudhironarit S[1], Ruangrungsi N[2], Chaiyakul P[1]

[1]*Department of Pharmacology,* [2] *Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*

Cissus quadrangularis Linn., known locally as "Phet-Cha-Sung-Khat", is a plant in family Vitaceae. It has been considered to be a folk medicine for bone healing and antihemorrhoid. In these studies, we initially examined the analgesic property of a range of the ethanolic extract of *C. quadrangularis* dried stem (CQ) doses in the mouse hot-plate test. Hot-plate latencies (cut-off 45 sec) were determined in male ICR mice prior to the i.p. administration of 0.9% normal saline solution (NSS), morphine (MO: 10 mg/kg), acetylsalicylic acid (ASA: 150 mg/kg) or various doses of CQ (43.75-700 mg/kg). Hot-plate latencies were subsequently determined at 15, 30, 45, 60, 90, 120 and 240 min. The mean percent maximum possible effect (%MPE) was calculated and used in the determination of the area of analgesia (%MPE-min). Study then was performed in mouse tail-flick test. Tail-flick latencies (cut-off 4 sec) were determined in male ICR mice prior to the i.p. administration of NSS, MO (10 mg/kg), ASA (150 mg/kg) or various doses of CQ (43.75- 700 mg/kg). Tail-flick latencies were subsequencely determined at 7 time intervals. CQ in doses of 87.5 mg/kg and higher produced a significant dose-related analgesic response in both hot-plate and tail-flick analgesia assays. CQ (175-700 mg/kg) produced analgesic response that was naltrexone-sensitive suggesting opioid-mediated mechanism. The results demonstrate that the ethanolic extract of *C. quadrangularis* dried stem produced analgesic effect that was dose-dependent in hot-plate and tail-flick analgesic testing models and mechanism of action seems to be related to opioid receptor.

Key words: ethanolic extract, *Cissus quadrangularis*, analgesic

P17 UDP-GLUCURONOSYL-TRANSFERASE 1A1POLYMORPHISMS (UGT1A1*28) IN THAI β-THALASSEMIA/HB E AND HEALTHY VOLUNTEERS: RELATIONSHIPS TO JAUNDICE AND GALLSTONE FORMATION

Tankanitlert J [1,2], Howard T[4], Phumala Morales N[1], Sanvarinda Y[1], Fucharoen P[3], Ware RE[4] , Fucharoen S[3], Chantharaksri U[1]

[1]*Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Thailand,*
[2]*Department of Pharmacology, Phramongkutklao college of medicine , Thailand,*
[3]*Thalassemia Research Center, Institute of Science and Technology for Research and Development, Mahidol University, Thailand,*
[4]*Department of Pediatrics /Hematology/Oncology, Duke University, USA*

The UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) are important Phase II metabolizing enzymes. These enzymes play a critical role in hepatic metabolism of a variety of endogenous and exogenous compounds, including bilirubin steriods and drugs. Genetic polymorphisms or variants of different isoforms may be associated with disease states or even abnormal drug metabolism. A promoter polymorphism of UGT1A1 (UGT1A1*28) is associated with Gilbert's Syndrome, a deficiency in bilirubin glucuronidation leading to mild hyperbilirubinemia. Chronic hyperbilirubinemia and gallstone are unusually common in people with thalassemia/Hb E. To determine whether this has a genetic basis in this population we compared the bilirubin levels and frequency of gallstones in both thalassemic and normal subjects with different alleles of the UGT1A1 promoter gene. This communication describes data on genetic UGT1A polymorphisms in 330 Thai β-thalassemia/HbE and 42 normal subjects. Genomic DNA was obtained by standard methods from peripheral blood leukocytes. The (TA)n promoter polymorphism of UGT1A1 was analyzed by size using an ABI 310® genetic analyzer. The frequencies of the 6/6, 6/7, and 7/7 UGT1A1 promoter genotypes in thalassemic subjects were 0.72, 0.25, and 0.02, while the frequencies in normal subjects were 0.69, 0.31, and 0.0, respectively. Each of the polymorphism of UGT1A1 were separately tested for agreement with assumption of Hardy-Weinberg equilibrium. There was a significantly higher total bilirubin level in those with the 7/7 and 6/7 genotype compared with 6/6 genotype ($p= 0.02$ and $p= 0.03$). But no significant difference was found between total bilirubin level of patients with 6/7 and 7/7 genotype ($p=0.07$). The decrease of the ratio of direct bilirubin to total bilirubin affected by genetic of UGT1A1 were higher in normal subjects than in thalassemia. The patients with 7/7 genotype appeared more prone to gallstone formation (100%) than those with 6/7 (47%) and 6/6 (41%) genotype. These results suggested that genetic polymorphisms in the key UGT1A enzyme family influence on serum bilirubin level in both groups of subjects. However the high incidence of gallstones in patients with 6/7 and 6/6 genotypes could be caused by other factor such as other site of mutation, food, environmental factors or pathophysiology in the patients.

P18 CONTINUOUS TRACKING TASK (CTT): THE RELATIONSHIP OF TIME ON TASK TO THE EFFECTS OF SEDATIVE DRUGS

Soo-ampon S[1], Boyle J[2], Johnsen S[2], Wongwitdecha N[1], Plasen S[1], Hindmarch I[2]

[1]*Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand,*
[2]*HPRU Medical Research Centre, University of Surrey, Guildford, UK*

The continuous tracking task (CTT) is a psychomotor task assessing sensorimotor coordination and divided attention. CTT tasks have been shown to be sensitive to the impairing effects of psychoactive drugs and are often used in studies assessing behaviour following drug administration. The aim of this retrospective study was to investigate the relationship between test duration (7.5 or 10 min) and CTT performance following administration of alprazolam, lorazepam, promethazine and placebo. The results showed that alprazolam, lorazepam, and promethazine impaired performance on the CTT at 7.5 min and that a plateau was reached by 10 min for promethazine. In contrast, following placebo, performance on the CTT was stable at 7.5 min but had deteriorated by 10 min. These data suggest that performance on CTT tasks should take account of "time-on-task" as this appears to separate out drug induced impairment from task fatigue.

P19 MODIFICATION OF PARAOXONASE AND PLATELET-ACTIVATING FACTOR ACETYLHYDROLASE ACTIVITIES IN HEMIN-INDUCED LIPOPROTEIN OXIDATION

Wongroganawong D, Chalermchoung C, Unchern S, Chantharaksri U, Phumala Morales N.

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400.

Paraoxonase (PON) and platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) are antioxidant enzymes associated with the HDL particle. Their functions are known to protect lipoproteins from oxidative modification. PON activity has been showed to be modified in oxidized HDL and in oxidative related diseases such as atherosclerosis. Although PAF-AH activity has been also reported to be modified in several diseases, there was no evidence related to the oxidative stress conditions. Hemin, a degradative product of hemoglobin, has been reported as a potent oxidative inducer of lipoproteins in vitro. It has become a prime suspect to be responsible for lipoprotein oxidation in thalassemic patients because of its high concentration in the serum of patients. This study was, therefore, aimed to study kinetic of hemin induced oxidation of lipoproteins on the modification of PON (in HDL) and PAF-AH (in LDL and HDL) activities. The results clearly demonstrated that PON was more susceptible to hemin-induced oxidative stress than PAF-AH. In HDL, PON activity was rapidly decreased within 1 hr after incubation with hemin. The activity of PON was continuously decreased. Its activity was remained only 30 % after 10 hr of the incubation. On the other hand, PAF-AH activity was unchanged in HDL but only slightly reduced in LDL, about 20% after 10 hr of the incubation. Our results suggested that the loss of PON activity in hemin induced HDL oxidation may be relevant in vivo and could have an impact in thalassemia.

P20 *IN VIVO* PHENOTYPING OF CYP2A6 IN THAIS: COUMARIN VS NICOTINE

Peamkrasatam S[1,4], Sriwatanakul K[1], Wananukul V[2], Sura T[2], Chavalittumrong P[3], Chivapat S[3], Kamataki T[4], Yoovathaworn K[1]

[1]*Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand,*
[2]*Department of Medicine, Faculty of Medicine at Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand,*
[3]*Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Bangkok, Thailand,*
[4]*Laboratory of Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan.*

The association between the distribution characteristics of CYP2A6 catalytic activities towards coumarin and nicotine was analyzed in 120 apparently healthy Thai volunteers. The probe drugs were given sequentially in the same subject with an approximate interval of one week. Urinary 7-hydroxycoumarin, plasma cotinine, and plasma nicotine were measured using HPLC assay. Genotyping for *CYP2A6* gene of the subjects was also performed. The distribution of 7-OHC excreted in the subsequent 8-hr urine (0.03 – 15 mg) after a single oral administration of 15 mg coumarin (Venalot®) and cotinine/nicotine ratio of the plasma concentrations (0.00 – 13.48) 2 hr after chewing a piece of nicotine chewing gum containing 2 mg nicotine (Nicorette®) showed clearly bimodality. However, the probit plot of cotinine/nicotine ratio in the plasma showed the higher number of apparent poor metabolizers (PM), in comparison to that of 7-OHC excreted in the urine. Despite the discordance in the number of PM subjects, a correlation between the *in vivo* dispositions of coumarin and nicotine was extremely closed (R = 0.92). No statistically significant difference in the CYP2A6 activities between male and female subjects was found. The results confirm that phenotyping of CYP2A6 using coumarin and that using nicotine are not metabolically equivalent. Ten subjects with known *CYP2A6* genotypes were given a tablet of 15 mg coumarin again. Liver function test was investigated just before and 24 hr after the coumarin administration. The results showed that coumarin at the challenging dose did not disturb the liver function even in the three subjects genotyped as *CYP2A6*4/*4*. Since the approximate half life of coumarin in human is only 2 hr, the probe drugs, therefore, could be theoretically given within two days consecutively. Even though both coumarin and nicotine can be clinically used as probe drugs in routine testing for CYP2A6 phenotype, our results indicate that giving coumarin and nicotine sequentially to the same subject is a better protocol for a precise CYP2A6 phenotyping.

P21 ANTIEMETIC EFFECT OF YAHOM EXTRACTS IN DOGS

Sopit Thamaree[1], Veera Thepsumethanont [2]

[1]*Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,* [2]*Queen Saobvapa Memorial Institute, Thai Red Cross Soceity*

Effects of three Yahom extracts were investigated for antiemetic activity against emesis induced by orally given of 150 mg tartar emetic or subcutaneously injected of 0.083 mg/kg apomorphine in healthy mongrel dogs. The extract of Intarajuk at the doses of 112.3, 224.6 and 449.2 mg p.o. exhibited significant protection while the extracts of Nawakote and Prasaatthong at the equivalent doses were not significant effective against tartar emetic-induced emesis. The antiemetic effect of Intarajuk at the doses of 112.3 and 224.6 mg were comparable to the effect of 10-20 mg metoclopramide, a D_2-receptor antagonist, whereas Intarajuk extract at the dose of 449.2 mg showed 100% inhibition of emesis. All Yahom extracts were ineffective against apomorphine-induced emesis. However the extracts of Intarajuk and Nawakote attenuated the severity of apomorphine-induced emesis. Metoclopramide but not ondansitron, an 5-HT_3-receptor antagonist, exhibited significant inhibition of apomorphine-induced emesis. The results suggested that the extracts of Yahom, particularly Intarajuk could be the effective antiemetic.The mechanism of antiemetic effect possibly involved D_2-receptor, 5-HT_3-receptor, H_1-receptor, or M-receptor, further study is needed. Preclinical study of toxicity was suggested to confirm the safety of Yahom extracts before clinical investigation will be conducted.

Key words: Yahom extract, antiemetic, metoclopramide

รายนามคณะกรรมการที่ปรึกษาและบริหารสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย
วาระประจำปี พ.ศ. 2547-2549

คณะกรรมการที่ปรึกษา	ภก.พลตรี สุนันท์ โรจนวิภาต
	ศ.ดร.อำนวย ถิฐาพันธ์
	รศ. พลตรี ดร.ทัศนัย สุริยจันทร์
	รศ.พญ.สุมนา ชมพูทวีป
	รศ.น.สพ.พีระพล อยู่สวัสดิ์
	ผศ. นพ.ดร.วิทยา ตันสุวรรณนนท์

คณะกรรมการบริหาร

นายกสมาคม	ภก.รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี
อุปนายก	ภญ.รศ.ดร.ไขแสง โรจนสถาพร
ผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคม	ดร.อุดม จันทรารักษ์ศรี
เลขาธิการ	ภญ.รศ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา
ฝ่ายวิชาการ	ภญ.รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์
เหรัญญิก	ภญ.รศ.ดร.จงกล เที่ยงดาห์
ปฏิคม	รศ.พ.อ.ดร.บพิตร กลางกัลยา
นายทะเบียน	ภญ.รศ.สมใจ นครชัย
บรรณาธิการวารสาร	ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์
กรรมการกลาง	รศ.นพ.ประวิทย์ อัครเสรีนนท์
	ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม
	ภญ.ผศ.ดร.ชวนี ทองโรจน์
	ภญ.ผศ.ประภาวดี พัวไพโรจน์
	ภญ.รศ.ดร.มยุรี ตันติสิระ
	ผศ.นพ. วีรวัฒน์ มหัทธนะตระกูล

กิตติกรรมประกาศ

สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

ขอขอบพระคุณผู้ให้การสนับสนุนการประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 27

วันที่ 17-18 มีนาคม 2548

ดังต่อไปนี้

บริษัทโอสถสภาจำกัด

บริษัทเครื่องดื่มกระทิงแดง จำกัด

บริษัทโคคา-โคล่า (ประเทศไทย) จำกัด

บริษัทเนสเล่ (ประเทศไทย)จำกัด

บริษัทไทยนครพัฒนาจำกัด

บริษัทโนวาร์ติส (ประเทศไทย)จำกัด

บริษัท เชอริ่ง-พลาว จำกัด

บริษัท เซอร์เวียร์ (ประเทศไทย) จำกัด

บริษัท เอ็มแอนเอช จำกัด

บริษัทสยามเภสัช จำกัด

บริษัทเวลเคม จำกัด

บริษัทแอตแลนติกจำกัด