

ความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยาโคลพิโดเกรล  
ในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี



นางสาวมาลินี ชื่นแสงจันทร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CORRELATION BETWEEN PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS  
OF CLOPIDOGREL IN THAI HEALTHY VOLUNTEERS

Miss Malinee Chunsangchan



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Pharmacology

(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยาโคลพิโดเกรลในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี
โดย	นางสาวมาลินี ชื่นแสงจันทร์
สาขาวิชา	เภสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ภญ. สุพีชา วิทยเลิศปัญญา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ แพทย์หญิง ดร. ปาจริย์ จรรย์วิลาศกุล

---

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุเนตร ชุตินธรานนท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รท.ญ. สพ.ญ. เนาวรัตน์ สุธัฒนาภพงษ์)  
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ ภญ. สุพีชา วิทยเลิศปัญญา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(อาจารย์ แพทย์หญิง ดร. ปาจริย์ จรรย์วิลาศกุล)

.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ภญ. สุรีย์ เจียรณมงคล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปัทมา ลีวนิช)

มาลินี ชื่นแสงจันทร์ : ความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยาโคลพิโดเกรลในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี (CORRELATION BETWEEN PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS OF CLOPIDOGREL IN THAI HEALTHY VOLUNTEERS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ภญ. สุพิชา วิทยาลัยปัญญา, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ. พญ. ดร. ปาจารย์ จรรย์วิลาศกุล, 111 หน้า.

โคลพิโดเกรล (Clopidogrel) เป็นยากลุ่มต้านการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด โดยยาต้องผ่านเมตาบอไลต์ที่ตับได้รูปที่ออกฤทธิ์ (clopidogrel active metabolite) มีความจำเพาะต่อตัวรับของ ADP แต่การตอบสนองต่อยานี้มีความแปรปรวนในแต่ละบุคคล งานวิจัยนี้จึงศึกษาความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล (clopidogrel active metabolite) กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครไทยสุขภาพดีหลังได้รับประทานยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมครั้งเดียวจำนวน 20 ราย โดยใช้วิธี LC-MS/MS ในการตรวจวัดระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลของยาเม็ดโคลพิโดเกรลแบบอ่าอิงและแบบทดสอบ พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุดในพลาสมา ( $C_{max}$ ) ของยาอ่าอิงและยาทดสอบ เท่ากับ  $32.72 \pm 24.83$  และ  $35.68 \pm 25.86$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร พื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-t}$  เท่ากับ  $31.05 \pm 22.73$  และ  $34.12 \pm 33.47$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-inf}$  ในพลาสมา เท่ากับ  $34.49 \pm 34.76$  และ  $35.07 \pm 33.56$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 90% และพบว่าค่า  $C_{max}$  ค่า  $AUC_{0-t}$  และค่า  $AUC_{0-inf}$  มีความสัมพันธ์กับค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น 5 และ 20 ไมโครโมลาร์ ( $P < 0.05$ ) และค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมีแนวโน้มต่ำลงตามเวลาหลังได้รับยาทั้งสองชนิด จึงสรุปได้ว่าระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลมีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี

สาขาวิชา เภสัชวิทยา

ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่อนิสิต .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

# # 5587158820 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEYWORDS: PHARMACOKINETICS, PHARMACODYNAMICS, CLOPIDOGREL, PLATELET AGGREGATION

MALINEE CHUNSANGCHAN: CORRELATION BETWEEN PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS OF CLOPIDOGREL IN THAI HEALTHY VOLUNTEERS.  
ADVISOR: ASSOC. PROF. SUPEECHA WITTAYALERTPANYA, CO-ADVISOR: PAJAREE CHARIVAVILASKUL, Ph.D., 111 pp.

Clopidogrel is an antiplatelet drug, metabolized in the liver by CYP enzyme. Its metabolisms are leading to active metabolite formation and selectively binding of adenosine diphosphate (ADP) for antiplatelet activity, but it has inter-individual variability of drug response. This study aim to investigate the correlation between active metabolite level and platelet aggregation after single 75 mg oral dose of clopidogrel in twenty Thai healthy volunteers. The determination of clopidogrel active metabolite by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) of clopidogrel reference and clopidogrel test drug was monitored. The values of average of maximum concentration ( $C_{max}$ ) in plasma were  $32.72 \pm 24.83$  ng/ml and  $35.68 \pm 25.86$  ng/ml, the  $AUC_{0-t}$  were  $31.05 \pm 22.73$  ng.h/ml and  $34.12 \pm 33.47$  ng.h/ml, and the  $AUC_{0-inf}$  were  $34.49 \pm 34.76$  ng.h/ml and  $35.07 \pm 33.56$  ng.h/ml for clopidogrel reference and clopidogrel test drug, respectively. There was no statistically significant difference in those pharmacokinetic parameters between reference and test drugs, at 90% confidence interval (CI). The  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  and  $AUC_{0-inf}$  in plasma were significantly correlation to the maximum of platelet aggregation after induced by 5 and 20  $\mu$ M ADP ( $P < 0.05$ ). There was a trend decreasing of percent maximum of platelet aggregation following by time after oral dosing of clopidogrel both preparations. In conclusion, the results have shown a significant correlation between the level of clopidogrel active metabolite and platelet aggregation in Thai healthy volunteers.

Field of Study: Pharmacology

Academic Year: 2015

Student's Signature .....

Advisor's Signature .....

Co-Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ สุพีชา วิทย์เลิศปัญญา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และอาจารย์แพทย์หญิง ดร.ปาจรีย์ จรรย์วิลาศกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือ ตลอดจนช่วยชี้แนวทางในการแก้ไขปัญหาในวิทยานิพนธ์เล่มนี้เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ คุณนันทพร พรหมพิลา และเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ PK chula research ทุกคน ที่ช่วยเหลือให้คำปรึกษา ตลอดจนแนะแนวทางในการปฏิบัติงานในงานวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ คุณเบญจพร อัครวัฒน์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรคเลือด ที่ช่วยเหลือให้คำปรึกษา และอำนวยความสะดวกในการเก็บรวบรวมข้อมูลการวิจัย

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเภสัชวิทยา สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้ในการนำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ เพื่อนิสิตทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือแก่ผู้วิจัยตลอดมา

ขอขอบพระคุณ คุณวิภาวรรณ บัวสรวง หัวหน้าหอผู้ป่วย ซีซียู โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย และคุณศันสนีย์ อาภาสกุล ผู้ตรวจการพยาบาล โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ที่ช่วยเหลือในเวลาเรียน และเวลาที่ทำการศึกษาวิจัย

ขอขอบพระคุณทุนวิจัย “ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย” รุ่นที่ 25 ครั้งที่ 3 ภาคการศึกษาต้น ปีการศึกษา 2557 แหล่งเงินทุนการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ท้ายที่สุด ผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัว ที่ได้ให้กำลังใจ และการสนับสนุนแก่ผู้วิจัยมาตลอด จนทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ .....	ฉ
คำอธิบายตัวย่อและสัญลักษณ์ .....	ท
บทที่ 1 บทนำ .....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา .....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives) .....	3
สมมติฐานการวิจัย (Hypothesis).....	3
คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย (Operational definition) .....	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
รูปแบบการวิจัย (Research design) .....	21
การวางแผนการวิจัย .....	21
กรอบแนวคิดงานวิจัย (Conceptual framework) .....	24
สารเคมี วัสดุ และวิธีการทดลอง.....	24
วิธีดำเนินการวิจัย .....	25
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	32
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผลการทดลอง .....	70
รายการอ้างอิง.....	76

ภาคผนวก ก คำอธิบายที่มาของตัวอย่างพลาสมา .....	83
ภาคผนวก ข เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย.....	85
ภาคผนวก ค เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย .....	92
ภาคผนวก ง เอกสารรับรองโครงการวิจัย .....	95
ภาคผนวก จ คำอธิบายเพิ่มเติมเรื่องการเตรียมสารละลาย working standard clopidogrel active metabolite.....	99
ภาคผนวก ฉ เอกสารรับรองคุณลักษณะของสารมาตรฐาน.....	102
ภาคผนวก ช การประเมินความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์ .....	107
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ .....	111





## สารบัญตาราง

ตารางที่ 1: สรุปค่าเภสัชจลนศาสตร์พารามิเตอร์ของโคลพิโดเกรล .....	13
ตารางที่ 2: ค่าเภสัชจลนศาสตร์พารามิเตอร์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล .....	15
ตารางที่ 3: ข้อมูลพื้นฐานและผลการตรวจร่างกายของอาสาสมัครสุขภาพดีชาวไทยทั้งเพศชาย และหญิงจำนวน 20 ราย .....	32
ตารางที่ 4: ข้อมูลพื้นฐานและผลการตรวจร่างกายของอาสาสมัครสุขภาพดีชาวไทยทั้งเพศชาย และหญิง จำนวน 20 ราย.....	33
ตารางที่ 5: ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 20 คน หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแบบอั้งอิง 75 มิลลิกรัม .....	35
ตารางที่ 6: ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 20 คน หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแบบทดสอบ 75 มิลลิกรัมแบบทดสอบ.....	36
ตารางที่ 7: ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลแบบอั้งอิง และแบบทดสอบในพลาสมา (n= 20) .....	41
ตารางที่ 8: ค่าความเชื่อมั่นที่ 90% ของความแตกต่างของพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ สารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลแบบทดสอบเทียบกับแบบอั้งอิงในอาสาสมัครสุขภาพดี (n= 20).....	42
ตารางที่ 9: เปรียบเทียบความแตกต่างของค่า $T_{max}$ และค่า $t_{1/2}$ ของยาโคลพิโดเกรลแบบ ทดสอบและอั้งอิงในอาสาสมัครสุขภาพดี (n= 20).....	42
ตารางที่ 10: เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดสูงสุดหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล ทั้งแบบอั้งอิงและแบบทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน.....	43
ตารางที่ 11: เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดสูงสุดหลังได้รับยาโคลพิ โดเกรลทั้งแบบอั้งอิงและแบบทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน .....	45
ตารางที่ 12: แสดงค่าความสัมพันธ์ของระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล กับค่าการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด .....	74
ตารางที่ 13: แสดงค่าการวัดพื้นที่ของโครมาโทแกรมของ clopidogrel active metabolite ความเข้มข้นต่ำ, กลาง และสูงในสารละลายวันเดียวกัน (n= 5).....	100

**ตารางที่ 14:** ความถูกต้องและเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ clopidogrel active metabolite ใน  
 พลาสมาในวันเดียวกัน (n= 3)..... 109

**ตารางที่ 15:** ความถูกต้องและเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ clopidogrel active metabolite ใน  
 พลาสมาในระหว่างวัน ..... 110



## สารบัญภาพ

ภาพที่ 1: พยาธิสภาพของโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน.....	2
ภาพที่ 2: สูตรโครงสร้างของยาโคลพิโดเกรล .....	4
ภาพที่ 3: กระบวนการเมตาบอลิซึมของยาโคลพิโดเกรล .....	6
ภาพที่ 4: การเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและการออกฤทธิ์ของยาโคลพิโดเกรล .....	9
ภาพที่ 5: พลาสมาที่เติม clopidogrel active metabolite และ internal standard.....	27
ภาพที่ 6: กราฟมาตรฐานของ clopidogrel active metabolite.....	28
ภาพที่ 7: ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมาที่เวลาก่อนเริ่มบริหารยาและที่เวลา 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงหลังได้รับยาโคลพิโดเกร ลแบบอ้างอิงขนาด 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 20 คน.....	37
ภาพที่ 8: ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลแบบทดสอบในพลาสมาที่เวลาก่อนเริ่มบริหารยาและ ที่เวลา 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง หลังได้รับยา โคลพิโดเกรลแบบทดสอบขนาด 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 20 คน .....	38
ภาพที่ 9: ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบในอาสาสมัคร สุขภาพดีชาวไทยจำนวน 20 คน.....	39
ภาพที่ 10: ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย log ความเข้มข้นของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล ใน พลาสมาที่เวลาในอาสาสมัครสุขภาพดีที่ได้รับยาทั้ง 2 แบบ (n= 20).....	40
ภาพที่ 11: ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับการกระตุ้นการเกาะกลุ่ม ของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5 $\mu$ M (n=20).....	44
ภาพที่ 12: ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับการกระตุ้นการเกาะกลุ่ม ของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20 $\mu$ M (n=20).....	44
ภาพที่ 13: ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับการกระตุ้นการ เกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5 $\mu$ M (n=20) .....	46
ภาพที่ 14: ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับการกระตุ้นการ เกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20 $\mu$ M (n=20) .....	46

**ภาพที่ 15 A-E:** ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมา กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  ( $n=40$ )..... 50

**ภาพที่ 16 A-E:** ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมา กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu\text{M}$  ( $n=40$ ) ..... 53

**ภาพที่ 17 A-E:** ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-t}$  กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  ( $n=40$ )..... 56

**ภาพที่ 18 A-E:** ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-t}$  กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu\text{M}$  ( $n=40$ )..... 59

**ภาพที่ 19 A-E:** ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-inf}$  กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  ( $n=40$ )..... 62

**ภาพที่ 20 A-E:** ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-inf}$  กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu\text{M}$  ( $n=40$ )..... 65

**ภาพที่ 21:** ความสัมพันธ์ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน ..... 66

**ภาพที่ 22:** ความสัมพันธ์ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu\text{M}$  ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน ..... 67

**ภาพที่ 23:** ความสัมพันธ์ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน ..... 68

**ภาพที่ 24:** ความสัมพันธ์ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu$ M ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน..... 69

**ภาพที่ 25:** แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน clopidogrel active metabolite ในพลาสมาของอาสาสมัคร ..... 101

**ภาพที่ 26:** แสดงโครมาโทแกรมของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมาของอาสาสมัคร..... 101

**ภาพที่ 27:** (ก) พลาสมาที่เติม clopidogrel active metabolite และ internal standard ..... 107

**ภาพที่ 28:** (ข) พลาสมาที่ไม่มีสารตัวอย่าง (blank plasma)..... 107

**ภาพที่ 29:** กราฟมาตรฐานของ clopidogrel active metabolite..... 108



## คำอธิบายตัวย่อและสัญลักษณ์

ACS	acute coronary syndrome
STEMI	ST elevation myocardial infarction
NSTEMI	non ST elevation myocardial infarction
UA	unstable angina
PCI	percutaneous coronary intervention
CYP	cytochrome P450
ADP	adenosine diphosphate
TTP	thrombotic thrombocytopenic purpura
vWF	von Willebrand factor
GP	glycoprotein
TxA <sub>2</sub>	thromboxane A <sub>2</sub>
PLC	phospholipase C
PIP <sub>2</sub>	phosphatidylinositol biphosphate
PKC	protein kinase C
MLCK-p	myosin light chain kinase- phosphate
AC	adenylyl cyclase
cAMP	cyclic adenosine monophosphated
VASP	vasodilator stimulated phosphoprotein
PI3K	phosphatidylinositol 3 kinase

LC-MS/MS	liquid chromatography/tandem mass spectrometry
$C_{\max}$	maximum concentration
$T_{\max}$	time at maximum concentration
$T_{1/2}$	half life
AUC	Area under the curve
HPLC	High performance liquid chromatometry
LTA	light transmission aggregometry
IPA	inhibition of platelet aggregation
MPA	maximum of platelet aggregation
PRU	P2Y <sub>12</sub> reaction unit
$\mu\text{l}$	microliter
ng	nanogram
ml	milliliter
$^{\circ}\text{C}$	degree celsius
$\mu\text{M}$	micromolar

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

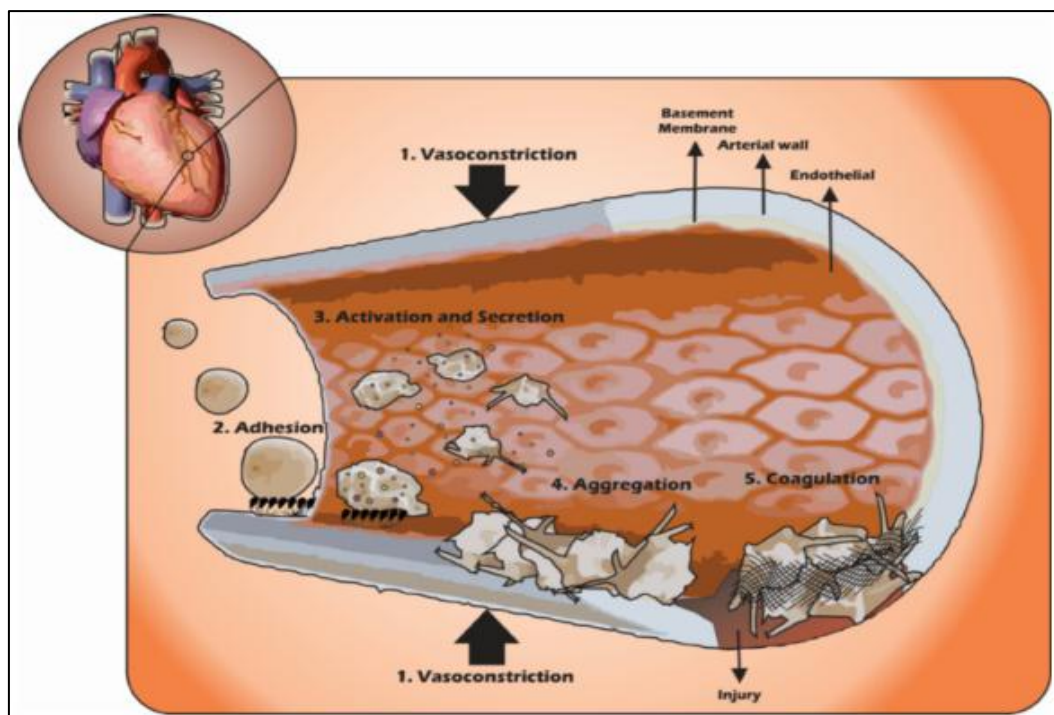
โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน (Acute coronary syndrome; ACS) เป็นโรคที่เป็นปัญหาสำคัญของประเทศ เป็นสาเหตุทำให้ผู้ป่วยถึงแก่ชีวิตในอันดับต้นๆ รายงานจากแผนพัฒนาสถิติสาธารณสุขภาพ ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2556–2558 (1)

Smith และคณะ กล่าวในรายงานของสมาพันธ์หัวใจโลก (World Heart Federation) ปี ค.ศ 2012 ว่าคนเป็นโรคนี้ได้เร็วขึ้นก่อนวัยอันควร ผู้หญิงและผู้ชายมีโอกาสเป็นโรคนี้ได้เท่ากัน และเป็นสาเหตุทำให้ประชากรทั่วโลกเสียชีวิตสูงถึง 17.3 ล้านคนต่อปี และมีแนวโน้มเพิ่มสูงมากขึ้น คาดว่าในปี 2573 จะมีการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือดเพิ่มขึ้นเป็น 23 ล้านคนทั่วโลก (2)

โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน เป็นกลุ่มอาการที่เกิดจากการตีบหรืออุดตันของหลอดเลือดหัวใจ จำแนกตามลักษณะการแสดงของคลื่นไฟฟ้าหัวใจ (electrocardiography) ที่ตรวจพบเป็น ST elevation myocardial infarction (STEMI), non ST elevation myocardial infarction (NSTEMI) และ unstable angina (UA) สาเหตุมักเกิดจากการที่ลิ้มเลือดอุดตันหลอดเลือดหัวใจ (3) ซึ่งเกล็ดเลือดนับว่ามีบทบาทสำคัญของการเกิดลิ้มเลือด (thrombosis) และการแข็งตัวของเลือด โดยเกล็ดเลือดทำให้เกิดการเกาะกลุ่มกัน (platelet aggregation) และหลั่ง pro coagulant เพื่อการรักษาสมดุลระหว่างการเกิดลิ้มเลือด (thrombosis) และกลไกการแข็งตัวของเลือด

สาเหตุของโรคหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular disease) เกิดการฉีกขาดหรือแตกของหลอดเลือดที่มีการสะสมของคราบไขมันและคราบแคลเซียม (plaque ruptures) หลอดเลือดหดตัว (vasoconstriction) กระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดบริเวณ subendothelial ของหลอดเลือด เรียกว่า platelet adhesion กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเกล็ดเลือด (platelet activation) หลั่ง ADP, thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) และ thrombin เพื่อกระตุ้นให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) (4) เกิดเป็นลิ้มเลือดอุดตันหลอดเลือดหัวใจหรือหลอดเลือดสมองได้ ดังภาพที่ 1





ภาพที่ 1: พยาธิสภาพของโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน (5)

การรักษาผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน โดยการทำการหัตถการผ่านสายสวน หลอดเลือดโคโรนารี (Percutaneous coronary intervention; PCI) ใส่ขดลวด (stent) เพื่อถ่าง ขยายหลอดเลือดหัวใจ และใช้ยาต้านเกล็ดเลือดร่วม (6) American college of cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA) กำหนดแนวทางปฏิบัติ (guideline) การรักษาผู้ป่วย โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลันที่ผ่านการทำ PCI ว่าต้องได้รับยาต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ด เล็ดเลือดร่วมกันระหว่างโคลพิโดเกรล และแอสไพริน (aspirin) ส่วน European Society of Cardiology (ESC) guideline ปี ค.ศ 2011 มีแนวทางการรักษาผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจโดยให้ยา โคลพิโดเกรลขนาด 300-600 มิลลิกรัมแบบ loading dose หลังจากนั้นให้โคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวันเป็น maintenance dose ร่วมกับยาแอสไพรินเป็นเวลา 9-12 เดือน เพื่อลด อุบัติการณ์การเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือด (7)

ปัญหาสำคัญที่เกิดจากการใช้ยาโคลพิโดเกรล คือ ฤทธิ์ในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ด เล็ดเลือดในผู้ป่วยแต่ละรายมีความไม่แน่นอน (response variability) เนื่องจากโคลพิโดเกรลเป็น prodrug ต้องผ่านการเมตาบอลิซึมที่ตับด้วย cytochrome P450 (CYP) enzyme ซึ่ง CYP2C19 เป็นเอนไซม์ (enzyme) ที่มีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนยาโคลพิโดเกรลเป็นรูปที่ออกฤทธิ์ (active form) ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด การวัดระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในเลือดโดยตรง น่าจะเป็นค่าที่อ้างอิงได้ดีที่สุดที่จะแสดงถึงความสัมพันธ์ของระดับยากับฤทธิ์ของยาในการต้านการ

เกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับผลของยาไม่มากนัก โดยเฉพาะการศึกษาในกลุ่มอาสาสมัครไทย การวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาหาระดับสารออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรลและประเมินการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครไทยสุขภาพดีหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลและทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของตัวชี้วัดทั้งสองนี้

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

ศึกษาความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรลกับการออกฤทธิ์ด้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครชาวไทยสุขภาพดีที่ได้รับยาโคลพิโดเกรล

### สมมติฐานการวิจัย (Hypothesis)

ระดับสารออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรลของยาโคลพิโดเกรลมีความสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ด้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด

### คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย (Operational definition)

- Clopidogrel active metabolite คือ สารออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรล
- Platelet aggregation คือ การทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดในการเกาะกลุ่มหรือเกาะกลุ่มทั้งก่อนและหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

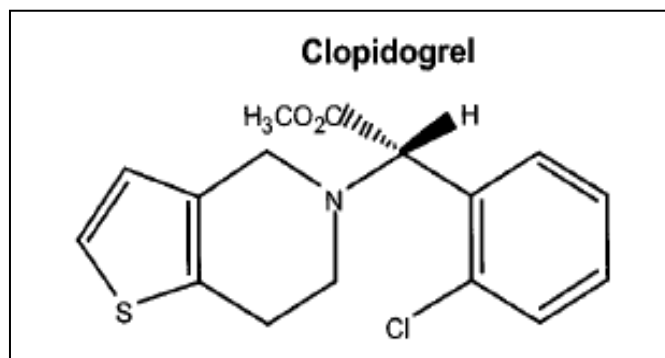
ทราบความสัมพันธ์ระหว่างระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับผลของยาต่อการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครชาวไทยที่ได้รับยาโคลพิโดเกรล ซึ่งสามารถนำข้อมูลและวิธีการวัดระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลมาใช้ติดตามผลในผู้ป่วยที่ได้รับยาโคลพิโดเกรล

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรม

โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน เป็นโรคที่เกิดจากการตีบหรืออุดตันของหลอดเลือดหัวใจวิธีรักษาที่นิยมใช้ คือ การทำหัตถการรักษาโรคหลอดเลือดโคโรนารีผ่านทางสายสวน (Percutaneous coronary intervention; PCI) ใส่ขดลวดเพื่อถ่างขยายหลอดเลือดหัวใจ (stent) และใช้ยาต้านเกล็ดเลือดร่วมด้วย โคลพิโดเกรลเป็นยาต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดชนิดหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายโดยมักใช้ร่วมกับแอสไพริน (aspirin) ในการรักษาผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคหลอดเลือดสมอง (8) American college of cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA) ปี ค.ศ 2014 แนะนำแนวทางปฏิบัติในการใช้ยาโคลพิโดเกรลขนาด 600 มิลลิกรัมแบบ loading dose ร่วมกับยาแอสไพรินขนาด 81 มิลลิกรัม หรือ 325 มิลลิกรัม ก่อนทำหัตถการรักษาโรคหลอดเลือดโคโรนารีผ่านทางสายสวนใส่ขดลวดเพื่อถ่างขยายหลอดเลือดหัวใจ (stent) และหลังทำหัตถการรักษาโรคหลอดเลือดโคโรนารีผ่านทางสายสวน (PCI) จะได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวัน ร่วมกับยาแอสไพรินขนาด 81 มิลลิกรัม หรือ 325 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 12 เดือน (9) ในผู้ป่วยที่เป็นโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน

Farid และคณะ ปี ค.ศ 2010 รายงานว่าโคลพิโดเกรลนำมาใช้ครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกาเมื่อปี 1998 และต่อมามีปี 1999 เริ่มนำมาใช้ในประเศยุโรปสำหรับผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับโรคหลอดเลือดสมอง โรคหลอดเลือดหัวใจ รวมทั้งโรคหลอดเลือดส่วนปลาย (peripheral arterial disease) โดยให้ยาขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวัน เพื่อป้องกันการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด ในการใช้รักษาผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจอาจให้ยาขนาด 300 มิลลิกรัมครั้งเดียวและให้ยาต่อเนื่องในขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวัน จะสามารถลดอุบัติการณ์การเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดซ้ำได้ ปกติมักให้ยานี้ร่วมกับยาแอสไพริน (10)



ภาพที่ 2: สูตรโครงสร้างของยาโคลพิโดเกรล (11)

### คุณลักษณะของยาโคลพิโดเกรล

ชื่อสามัญ	: Clopidogrel
ชื่อทางการค้า	: Plavix, Apolets
ชื่อทางเคมี	: methyl (2S)-2-(2-chlorophenyl)-2-(6,7-dihydro-4H-thieno [3, 2-c] pyridin-5-yl) acetate
สูตรโมเลกุล	: C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> ClNO <sub>2</sub> S
มวลโมเลกุล	: 321.822

โคลพิโดเกรล เป็นสารในกลุ่ม thienopyridine มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับ ticlopidine ยับยั้งการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยจับกับ P2Y<sub>12</sub> receptor แบบถาวรปิดกั้นการทำงานของ Adenosine diphosphate (ADP) pathway

โคลพิโดเกรลเป็น prodrug ประมาณร้อยละ 15 ของโคลพิโดเกรลที่ถูกเปลี่ยนแปลงผ่านการออกซิเดชันด้วย hepatic cytochrome P450 ได้รูปที่ออกฤทธิ์ (clopidogrel active metabolite) ส่วนที่เหลือร้อยละ 85 ถูก hydrolyze ด้วย human carboxyl esterases เป็น carboxylic acid derivative เป็น inactive form

### เภสัชจลนศาสตร์

มีการศึกษาเกี่ยวกับเภสัชจลนศาสตร์ของยาหลังจากที่ให้โดยการรับประทานในผู้ที่มีสุขภาพดี ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ และผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายที่มีการใส่ขดลวดถ่างขยายหลอดเลือดหัวใจ ดังนี้

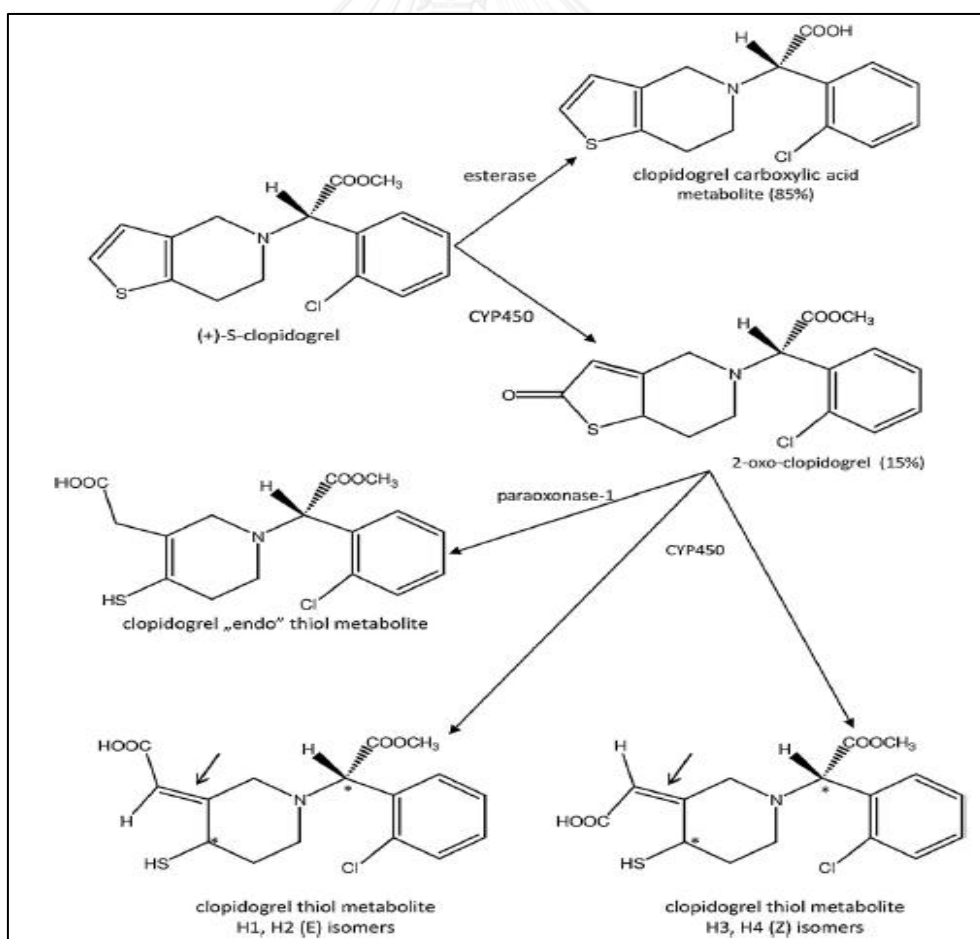
#### การดูดซึม (Absorption) และการกระจายของยา (Distribution)

โคลพิโดเกรลถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้นเข้ากระแสเลือดได้อย่างน้อยร้อยละ 50 อาหารไม่มีผลรบกวนการดูดซึม (12) ส่วนที่ถูกดูดซึมเข้าร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับด้วยเอนไซม์ cytochrome P450 (CYP P450 enzyme) ได้แก่ CYP2C19, CYP3A4, CYP1A2 และ CYP3A5 ได้สารที่ออกฤทธิ์ในรูปอนุพันธ์ของไธออล (thiol group) พบได้ประมาณ 15% ของเมตาบอไลต์ทั้งหมด และมีส่วนที่ถูกเปลี่ยนแปลงเป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์ (inactive metabolite) ด้วยเอนไซม์ esterase ซึ่งพบได้มากที่สุดถึงประมาณ 85 % ยาเริ่มออกฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลา 2 ชั่วโมง

หลังได้รับยา (13) การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดสูงสุดใช้เวลาประมาณ 3-7 วัน หลังได้รับยา โคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวันแบบต่อเนื่อง และเมื่อได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 300-400 มิลลิกรัม จะออกฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดสูงสุดภายในเวลา 3-5 ชั่วโมง (14) และภายหลังจากการหยุดรับประทานยาแล้ว ฤทธิ์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดยังคงปรากฏอยู่ 8-11 วัน

### การเปลี่ยนแปลงยา (Metabolism)

โคลพิโดเกรลประมาณร้อยละ 85 ผ่านการเมตาบอลิซึมที่ตับอย่างรวดเร็วโดย carboxyl esterase ได้ inactive acid metabolite อีกประมาณร้อยละ 15 ผ่านเอนไซม์ Cytochrome P450 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกโดย CYP2C19, CYP1A2 หรือ CYP2B6 เปลี่ยนเป็น 2-oxo clopidogrel และเปลี่ยนต่อเป็น clopidogrel thiol metabolite โดย CYP2B6, CYP2C9 หรือ CYP2C19 ซึ่ง clopidogrel thiol metabolite เป็นตัวออกฤทธิ์โดยจับกับ ADP บน P2Y12 อย่างจำเพาะเจาะจงแบบถาวร (irreversible) ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3: กระบวนการเมตาบอลิซึมของยาโคลพิโดเกรล (15)

โคลพิโดเกรลเมื่อถูกเมตาบอลิซึมจะได้ H1-H4 isomer เฉพาะ H3 และ H4 isomer ที่ตรวจพบได้ทางคลินิก และจากการศึกษา in vitro พบว่า H4 isomer เท่านั้นที่เป็นตัวออกฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (16)

### การขับถ่ายยา (Excretion)

โคลพิโดเกรลถูกขับออกทางปัสสาวะประมาณร้อยละ 50 และสามารถขับออกทางอุจจาระร้อยละ 46 โดยค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา (elimination half life) ของ active metabolite ประมาณ 30 นาที ค่าครึ่งชีวิต (half life) ของโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม คือ 6 ชั่วโมง ส่วนค่าครึ่งชีวิต ของ inactive acid metabolite คือ 8 ชั่วโมง หลังได้รับยาเพียงครั้งเดียวหรือเมื่อได้รับยาซ้ำ (4)

### ขนาดยาที่ใช้

ขนาดปกติใช้ 75 มิลลิกรัมต่อวัน ขนาดยาที่ใช้เป็น loading dose คือ 300 มิลลิกรัมหรือ 600 มิลลิกรัม

### การเกิดปฏิกิริยาระหว่างยา (Drug interaction)

1. การบริหารยาร่วมกันระหว่างโคลพิโดเกรลกับแอสไพริน (aspirin) เสี่ยงต่อการเกิดเลือดออกในทางเดินอาหาร
2. ยาต้านอาศัยเอนไซม์ CYP2C19 ในการเปลี่ยนเป็นรูปที่ออกฤทธิ์จึงต้องหลีกเลี่ยงการให้ยาโคลพิโดเกรลร่วมกับยาในกลุ่ม proton pump inhibitor (PPI) เช่น omeprazole (6) เนื่องจากยาในกลุ่ม proton pump inhibitor (PPI) จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2C19 ทำให้ประสิทธิภาพของยาโคลพิโดเกรลในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดลดลง (4)
3. ควรหลีกเลี่ยงการให้ยาโคลพิโดเกรลร่วมกับยาในกลุ่ม H<sub>2</sub> receptor antagonist เช่น cimetidine, ranitidine เป็นต้น ทำให้ประสิทธิภาพของยาโคลพิโดเกรลลดลง (4) โดยลดการกระตุ้น adenynyl cyclase ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเพิ่มมากขึ้น (17)

### อาการไม่พึงประสงค์

ยาอาจทำให้เกิดผลข้างเคียง ได้แก่ ผื่นคันแดง มีไข้ มีนงง ปวดศีรษะ ปวดตามข้อ และกล้ามเนื้อ เม็ดเลือดขาวต่ำกว่าปกติ ภาวะเกล็ดเลือดต่ำชนิด TTP (thrombotic

thrombocytopenic purpura) แต่โอกาสเกิดน้อย อาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดจากโคลพิโดเกรลพบได้น้อยกว่า ticlopidine อาการที่พบได้บ่อยมักทำให้เกิดการระคายเคืองทางเดินอาหาร (gastrointestinal effect) เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย ไม่สบายท้อง คล้ายกับแอสไพริน (13)

### ประโยชน์ทางการรักษา

1. ใช้ร่วมกับแอสไพรินในผู้ป่วยโรคหัวใจที่ได้รับการทำ percutaneous coronary intervention
2. ใช้เป็น secondary prevention สำหรับผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อหัวใจตาย และโรคหลอดเลือดสมอง

### การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (Platelet aggregation)

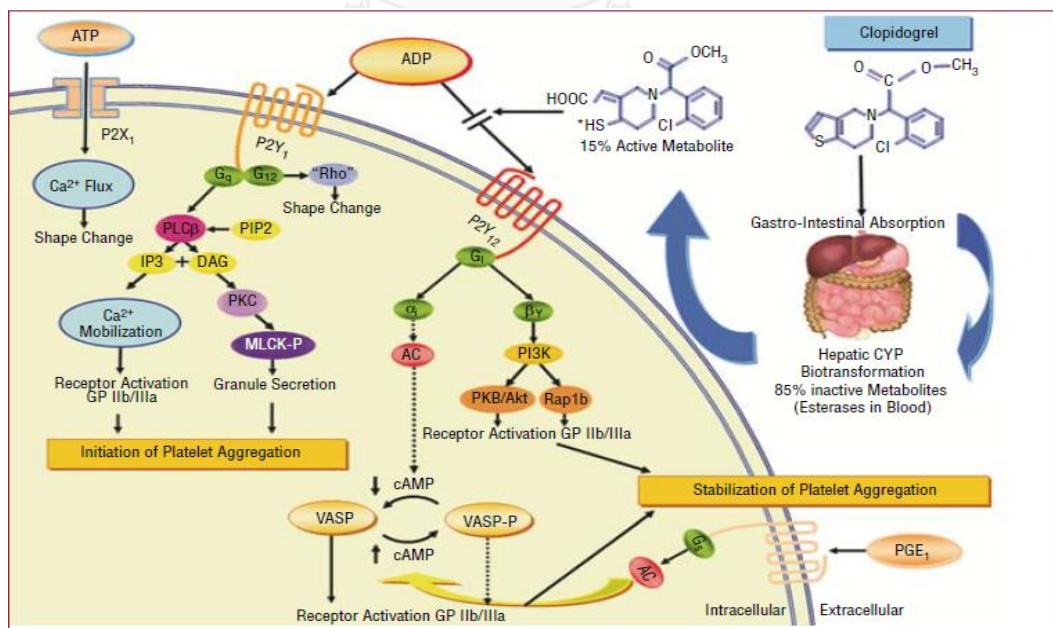
เกล็ดเลือดจะมีอายุขัยในเลือดประมาณ 10 วัน และในคนปกติจะมีเกล็ดเลือดประมาณ 100,000-400,000 เซลล์ต่อเลือด 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร มีหน้าที่ห้ามเลือด (hemostasis) บริเวณที่มีการฉีกขาดของหลอดเลือด

เมื่อเกิดบาดแผลหรือเกิดการฉีกขาดของหลอดเลือด เกล็ดเลือดจะทำหน้าที่ยึดเกาะกับชั้น subendothelial ของหลอดเลือด เกิดการกระตุ้นและเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เพื่ออุดกั้นบริเวณที่มีการฉีกขาดของหลอดเลือด เรียกว่า platelet plug การเกิด platelet plug สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอน คือ

1. Platelet adhesion เป็นขั้นตอนแรกของการห้ามเลือด โดยเกล็ดเลือดจะเข้ามายึดเกาะกับชั้น subendothelial ของหลอดเลือดที่มีการฉีกขาด อาศัย von Willebrand factor (vWF) เป็น multimeric proteins ที่สร้างจาก endothelium และ platelet ทำหน้าที่เป็น cell adhesion molecule เมื่อมีการฉีกขาดของหลอดเลือด vWF จะคล้ายตัวจับกับ collagen ซึ่งเป็น exposed extracellular matrix และช่วยยึดจับเกล็ดเลือด (platelet) เกิดการเชื่อมต่อกัน (bridging) ของเกล็ดเลือดผ่านทาง Glycoprotein (GP)Ia/IIa หรือ Ib/IX receptor ของเกล็ดเลือด ทำให้เกล็ดเลือดเคลื่อนที่มายังบริเวณบาดแผล (18)
2. Platelet activation เกิดขึ้นหลังจากที่มีการจับกันระหว่างเกล็ดเลือดกับ collagen หรือ vWF ผ่านทาง Glycoprotein (GP)Ia/IIa หรือ Ib/IX หลังเกิด platelet adhesion จะมีการส่งสัญญาณภายในเกล็ดเลือด (intracellular signaling cascades) ผ่านทางเอนไซม์ phospholipase C (PLC) ทำหน้าที่เปลี่ยน phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate

เป็น Inositol 1, 4, 5-trisphosphate และ 1, 2-diacylglycerol โดย Inositol 1, 4, 5-trisphosphate ทำให้มีการปล่อยแคลเซียมจาก dense tubular system ระดับแคลเซียมในเกล็ดเลือดเพิ่มสูงขึ้น ส่วน 1, 2-diacylglycerol จะกระตุ้น protein kinase C ทำให้เกิดการ phosphorylation ของ myosin light chain kinase เกิดการหลั่งสารที่สะสมใน granule ของเกล็ดเลือด เช่น fibrinogen, fibronectin เป็นต้น vWF ถูกหลั่งมาจาก  $\alpha$ -granule ส่วน calcium, serotonin และ ADP ถูกหลั่งมาจาก dense granule ทำหน้าที่กระตุ้นการส่งสัญญาณให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดบริเวณรอบเกล็ดเลือด เกล็ดเลือดเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างมีส่วนที่ยื่นออกมาจากผิวของเกล็ดเลือด เรียกว่า pseudopod ทำให้พื้นที่ผิวของเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้น ความสามารถในการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดดีขึ้น จากนั้นเกิดการสังเคราะห์ thromboxaneA<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) จาก phospholipid membrane ของเกล็ดเลือด มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (19) โดยกระตุ้น Glycoprotein (GP) IIb/IIIa receptor จับกับ fibrinogen เกิดการสร้างสะพานเชื่อม (bridges) ทำให้เกล็ดเลือดเกาะกัน (platelet aggregation) (20)

3. Platelet aggregation การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดจากการจับกันของ fibrinogen กับ Glycoprotein (GP) IIb/IIIa receptor และ vWF บนเกล็ดเลือด ทำให้เกิดการเชื่อมโยงเกล็ดเลือดเข้าด้วยกันเกิดเป็น platelet plug มายึดเกาะบริเวณที่มีการฉีกขาดของหลอดเลือด ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4: การเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและการออกฤทธิ์ของยาโคลพิโดเกรล (21)



### กลไกการยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดของยาโคลพิโดเกรล

จากรูปที่ 4 โคลพิโดเกรลที่บริหารยาทางปากถูกเมตาบอไลซ์ด้วย esterases enzyme ได้เป็น inactive carboxylic acid derivative ประมาณร้อยละ 85 และผ่าน cytochrome P450 (CYP) enzyme เปลี่ยนเป็น active metabolite ประมาณร้อยละ 15 โดย active metabolite ของยาโคลพิโดเกรล จะยับยั้ง ADP บน P2Y<sub>12</sub> receptor ส่วน P2X<sub>1</sub> และ P2Y<sub>1</sub> receptor เมื่อถูกกระตุ้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของเกล็ดเลือดและเริ่มต้นเกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดย P2X<sub>1</sub> จะนำแคลเซียมจากภายนอกเซลล์เข้าสู่หลอดเลือดอาศัย ATP (adenosine triphosphate) และเมื่อ ADP จับกับ P2Y<sub>1</sub> receptor เกิดการกระตุ้น phospholipase C (PLC) สร้าง diacylglycerol (DAG) และ inositol triphosphate (IP<sub>3</sub>) จาก phosphatidylinositol bisphosphate (PIP<sub>2</sub>) โดย diacylglycerol จะกระตุ้น protein kinase C (PKC) เกิดการ phosphorylation ของ myosin light chain kinase (MLCK-p) ส่วน IP<sub>3</sub> จะนำแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ P2Y<sub>1</sub> receptor ที่จับกับ G protein กระตุ้น “Rho protein” ทำให้เกล็ดเลือดเปลี่ยนแปลงรูปร่าง

สำหรับ ADP ที่จับกับ P2Y<sub>12</sub> receptor เกิด Gi protein ประกอบด้วย 2 subunit คือ  $\alpha_i$  และ  $\beta\gamma$  มีผลทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดย  $\alpha_i$  subunit จะยับยั้ง adenylyl cyclase (AC) ทำให้ cAMP ลดลง เกิดการ phosphorylation กับ vasodilator stimulated phosphoprotein (VASP) เปลี่ยนเป็น VASP-P ทำหน้าที่กระตุ้น glycoprotein (GP) IIb/IIIa receptor ส่วน  $\beta\gamma$  subunit กระตุ้น phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K) ผ่านทาง serine-threonine protein kinase B (PKB/Akt) และ Rap1b มีผลทำให้กระตุ้น glycoprotein (GP) IIb/IIIa receptor ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (22) โดยสารออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรลเป็นอนุพันธ์ของไธออล (Thiol group) จะออกฤทธิ์ยับยั้ง adenosine diphosphate (ADP) ตรง P2Y<sub>12</sub> receptor บนผิวเซลล์ของเกล็ดเลือดอย่างจำเพาะเจาะจง ทำให้ ADP ไม่สามารถจับกับ P2Y<sub>12</sub> receptor บนเกล็ดเลือดได้มีผลให้ cyclic adenosine monophosphate (cAMP) ในเกล็ดเลือดเพิ่มมากขึ้น กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของ glycoprotein GP IIb/IIIa complex ลดการกระตุ้นเกล็ดเลือดทำให้เกล็ดเลือดไม่สามารถเกาะกลุ่มกันได้

### บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

เนื่องจาก European Society of Cardiology (ESC) guideline ปี ค.ศ 2011 ได้มีแนวทางทางปฏิบัติสำหรับผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายต้องได้รับการรักษาด้วยยาโคลพิโดเกรลขนาด 300-600 มิลลิกรัมเพียงครั้งเดียวแบบ loading dose หลังจากนั้นให้โคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวันเป็น maintenance dose (7) การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาด้วยการวัดระดับยา ซึ่งเกี่ยวข้อง

กับการตอบสนองต่อการรักษาในการได้ฤทธิ์ด้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เพื่อการปรับขนาดยาให้เหมาะสมในการรักษาผู้ป่วยแต่ละรายจึงมีความสำคัญ

### การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเภสัชจลนศาสตร์ของโคลพิโดเกรล

ปี ค.ศ 2007 Shin และคณะ ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาโคลพิโดเกรลขนาด 150 มิลลิกรัม โดยการรับประทานเพียงครั้งเดียวในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีเพศชายชาวเกาหลีจำนวน 8 คน พบว่า ระดับโคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมา เท่ากับ  $2.10 \pm 1.39$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เวลาที่ระดับยามีค่าสูงสุด ( $T_{max}$ ) คือ  $0.8 \pm 0.4$  ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยาออก ( $t_{1/2}$ ) เท่ากับ  $4.0 \pm 1.6$  ชั่วโมง และค่า (Area under the curve; AUC) ของโคลพิโดเกรล เท่ากับ  $4.19 \pm 2.15$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร (23)

ปี ค.ศ 2009 Filipe และคณะ ได้ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของโคลพิโดเกรลในรูปแบบของการศึกษาชีวสมมูล (Bioequivalence) ของยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวโปรตุเกสจำนวน 64 คน สุ่มแบ่งกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม ได้รับยาโคลพิโดเกรลแบบอ้างอิง (clopidogrel hydrogen sulphate) และยาโคลพิโดเกรลแบบทดสอบขนาด 75 มิลลิกรัม วิเคราะห์ระดับยาโดยวิธี High performance liquid chromatometry (HPLC) พบว่า ระดับความเข้มข้นของโคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมาของโคลพิโดเกรลแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ เท่ากับ  $1.28 \pm 1.72$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ  $1.34 \pm 1.89$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เวลาที่ระดับยามีค่าสูงสุด ( $T_{max}$ ) คือ  $0.888 \pm 0.823$  ชั่วโมง และ  $0.755 \pm 0.405$  ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยาออก ( $t_{1/2}$ ) เท่ากับ  $5.71 \pm 4.21$  ชั่วโมง และ  $5.11 \pm 4.27$  ชั่วโมง และค่า  $AUC_{inf}$  เท่ากับ  $1.92 \pm 2.40$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และ  $1.86 \pm 2.39$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (24)

ปี ค.ศ 2010 Di Girolamo และคณะ ศึกษาชีวสมมูลของยาโคลพิโดเกรล 2 ชนิด คือยาเม็ดโคลพิโดเกรลรูปแบบใหม่เป็นยาทดสอบ (new generic formulation) และยาโคลพิโดเกรลแบบอ้างอิง (clopidogrel hydrogen sulphate) ขนาด 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครสุขภาพดีทั้งเพศชายและหญิงชาวอาร์เจนตินาจำนวน 24 คน พบว่า ระดับความเข้มข้นของโคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมาของยาโคลพิโดเกรลแบบทดสอบและแบบอ้างอิง เท่ากับ  $0.91$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ  $0.98$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า  $T_{max}$  คือ  $1.25$  ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยาออก ( $t_{1/2}$ ) เท่ากับ  $3.05$  ชั่วโมง และ  $3.59$  ชั่วโมง และค่า  $AUC_{inf}$  ของโคลพิโดเกรลเท่ากับ  $2.02$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และ  $2.19$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (8)

ปี ค.ศ 2012 Jian-Jun Zou และคณะ ศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรลแบบทดสอบ (clopidogrel test) และยาโคลพิโดเกรลแบบอ้างอิง (clopidogrel reference) ขนาด 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครเพศชายชาวจีนสุขภาพดีจำนวน 20 คน วิเคราะห์ระดับยาโคลพิโดเกรลได้ ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ ดังนี้ ระดับความเข้มข้นของยาโคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมาของยาแบบทดสอบและแบบอ้างอิง เท่ากับ 1.86 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1.97 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า  $T_{max}$  เท่ากับ 0.6 ชั่วโมง และ 0.7 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ( $t_{1/2}$ ) คือ 6.9 ชั่วโมง และ 6.5 ชั่วโมง ค่า  $AUC_{0-t}$  เท่ากับ 2.37 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และ 2.36 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ค่า  $AUC_{0-inf}$  เท่ากับ 2.48 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และ 2.43 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ส่วนระดับความเข้มข้นของคาร์บอกซิริกแอซิดในพลาสมาของยาเม็ดโคลพิโดเกรลแบบทดสอบและยาโคลพิโดเกรลแบบอ้างอิง มีค่า  $C_{max}$  เท่ากับ 2,993 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 3,328 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เวลาที่ระดับยาสูงสุด ( $T_{max}$ ) เท่ากับ 0.68 ชั่วโมง และ 0.60 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิต ( $t_{1/2}$ ) คือ 8.3 ชั่วโมง และ 7.7 ชั่วโมง ค่า  $AUC_{0-t}$  เท่ากับ 8,108 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และ 8,475 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และมีค่า  $AUC_{0-inf}$  เท่ากับ 8,269 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และ 8,624 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (25)

ปี ค.ศ 2012 Kim และคณะ ศึกษาเปรียบเทียบเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยา clopidogrel besylate และยา clopidogrel bisulfate ในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีเพศชายชาวเกาหลีจำนวน 40 คน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน แต่ละกลุ่มจะได้รับโคลพิโดเกรลต่างชนิดกันในขนาด 300 มิลลิกรัม เพียงครั้งเดียว (loading dose) และให้ยาต่อเนื่องขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลานาน 22 วัน ทำการวัดระดับยาโคลพิโดเกรลในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงแรก และประเมินการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดในวันที่ 2 และ 3 รวมทั้งประเมินการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดในวันที่ 7, 9 และ 12 หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแบบต่อเนื่อง พบว่าระดับโคลพิโดเกรลในกลุ่มที่ได้รับ clopidogrel besylate และ clopidogrel bisulfate ไม่แตกต่างกัน และการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับยาทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างกัน (26)

**ตารางที่ 1:** สรุปค่าเภสัชจลนศาสตร์พารามิเตอร์ของโคลพิโดเกรล

จำนวน ประชากร (คน)	ขนาดยา (มิลลิกรัม)	ค่าเภสัชจลนศาสตร์					รายการอ้างอิง
		$C_{max}$ (ng/ml)	$T_{max}$ (h)	$t_{1/2}$ (h)	$AUC_{0-t}$ (ng.h/ml)	$AUC_{0-inf}$ (ng.h/ml)	
Korea (8)	150	2.10± 1.39	0.80± 0.40	4.00± 1.60	4.19± 2.15	-	(23)
Portugal (64)	75	1.28± 1.72	0.89± 0.82	5.71± 4.21	-	1.92± 2.40	(24)
Argentina (24)	75	0.98	1.25	3.59	-	2.19	(8)
China (20)	75	1.97	0.70	6.50	2.36	2.43	(25)
Korea (40)	300 mg loading then 75 mg (22 วัน)	5.79± 6.34	0.75	5.69± 5.10	-	10.33± 11.13	(26)

**การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเภสัชจลนศาสตร์ของสารออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรล**

ปี ค.ศ 2008 Takahashi และคณะ ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของโคลพิโดเกรลขนาด 300 มิลลิกรัม แบบ loading dose ในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวญี่ปุ่นจำนวน 66 คน พบว่า ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมา เท่ากับ 35.90 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า  $T_{max}$  คือ 1 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิต ( $t_{1/2}$ ) เท่ากับ 0.52 ชั่วโมง และค่า  $AUC_{0-inf}$  เท่ากับ 43.80 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร (27)

ปี ค.ศ 2011 Tuffal และคณะ ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของระดับยาออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลขนาด 300 มิลลิกรัม แบบครั้งเดียว (loading dose) ในวันแรก และได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม แบบต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน ในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวฝรั่งเศส อายุ 18-65 ปี จำนวน 72 คน พบว่าระดับสูงสุดของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมาเท่ากับ 38.50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 16.40 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า  $T_{max}$  เท่ากับ 1 ชั่วโมง และ 0.5 ชั่วโมง และค่า  $AUC_{0-24}$  เท่ากับ 49.40 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และ 15.40 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อ

มิลลิลิตร หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 300 มิลลิกรัม แบบครั้งเดียว (loading dose) ในวันแรก และหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม แบบต่อเนื่อง (maintenance dose) ตามลำดับ (28)

ปี ค.ศ 2012 Karazniewicz-Lada และคณะ ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ในอาสาสมัครสุขภาพดี ชาวโปแลนด์จำนวน 3 คน ได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวัน พบว่ามีค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ ดังนี้ ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลประกอบด้วย H3, H4 isomer มีค่า  $C_{max}$  ของ H3 isomer ในพลาสมาเท่ากับ  $14.80 \pm 11.30$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ  $C_{max}$  ของ H4 isomer เท่ากับ  $13.30 \pm 9.80$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เวลาที่ระดับ H3, H4 isomer สูงสุด ( $T_{max}$ ) เท่ากับ  $1.33 \pm 0.58$  ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ( $t_{1/2}$ ) ของ H3 คือ  $0.58 \pm 0.29$  ชั่วโมง และ  $0.57 \pm 0.25$  ชั่วโมง ของ H4 isomer และมีค่า  $AUC_{0-t}$  ของ H3 isomer เท่ากับ  $18.60 \pm 13.30$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ของ H4 isomer เท่ากับ  $16.60 \pm 10.60$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ค่า  $AUC_{0-inf}$  ของ H3 isomer เท่ากับ  $18.90 \pm 13.20$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ของ H4 isomer เท่ากับ  $16.90 \pm 10.50$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร (15)

ปี ค.ศ 2013 Park และคณะ ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลของยาโคลพิโดเกรลขนาด 150 มิลลิกรัมในอาสาสมัครสุขภาพดีเพศชายชาวเกาหลีจำนวน 6 คน พบว่า ค่าระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมาเท่ากับ  $54.10 \pm 39.30$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า  $T_{max}$  เท่ากับ 0.5 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ( $t_{1/2}$ ) เท่ากับ  $21.90 \pm 6.38$  ชั่วโมง และมีค่า  $AUC_{0-t}$  เท่ากับ  $103 \pm 55.80$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร (29)

ปี ค.ศ 2013 Furlong และคณะ ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวอเมริกันจำนวน 65 คน ซึ่งได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 300 มิลลิกรัมเป็น loading dose และให้ยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมวันละครั้งแบบต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน พบค่า  $C_{max}$  ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล H4 isomer ในพลาสมาเท่ากับ 11.00 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า  $T_{max}$  คือ 0.75 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ( $t_{1/2}$ ) เท่ากับ 0.97 ชั่วโมง และค่า AUC เท่ากับ 11.50 นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร (30)

**ตารางที่ 2:** ค่าเภสัชจลนศาสตร์พารามิเตอร์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล

จำนวนประชากร (คน)	ขนาดยา (มิลลิกรัม)	ค่าเภสัชจลนศาสตร์					รายการอ้างอิง
		C <sub>max</sub> (ng/ml)	T <sub>max</sub> (h)	t <sub>1/2</sub> (h)	AUC <sub>0-t</sub> (ng.h/ml)	AUC <sub>0-inf</sub> (ng.h/ml)	
Japan (66)	300	35.90	1.00	0.52		43.80	(27)
France (72)	300 mg loading then 75 mg/day	38.50 ng/ml after 300 mg	1.00	-	49.40	-	(28)
		16.40 ng/ml after 75 mg	0.50	-	15.40	-	
Poland (3)	75	13.30±9.80	1.33±0.58	0.57±0.25	16.60±10.60	16.90±10.50	(15)
Korea (6)	150	54.1±39.30	0.50	21.90±6.38	103±55.80	-	(29)
American (65)	300 mg loading then 75 mg/day	11.00	0.75	0.97	11.5		(30)

### การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของยาโคลพิโดเกรล (Pharmacodynamics)

จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อความแปรปรวนในการออกฤทธิ์ของยา มีตั้งแต่กระบวนการดูดซึมในลำไส้ของยาโคลพิโดเกรล ซึ่งต้องอาศัย P-glycoprotein (ABCB1 gene) เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (polymorphism) ทำให้การดูดซึมมีความแปรปรวนระหว่างบุคคลหรือคนเดียวกันแต่ต่างเวลา (31) กระบวนการเมตาบอลิซึมที่ตับที่ต้องอาศัย cytochrome P450 enzyme ซึ่ง CYP2C19 เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญที่สุดต่อการทำหน้าทีนี้ และพบว่ามี ความหลากหลายของ CYP2C19 gene นี้มากมาย ดังเช่น CYP2C19\*1, CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17 เป็นต้น (32) ทำให้การทำหน้าที่และการแสดงออกแตกต่างกัน CYP2C19\*1 allele

เป็น wild type ที่มีความสามารถในการเมตาบอไลซ์ยา (metabolic capacity) ส่วน allele ที่สูญเสียการทำงานที่ได้แก่ CYP2C19\*2, \*3, \*4 และ \*5 เป็นต้น (33) ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP2C19 ที่พบบ่อย คือ CYP2C19\*2 สัมพันธ์กับความสามารถที่ลดลงในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด แบ่งออกเป็น Homozygous (\*2/\*2 เป็น poor metabolizers) ลดการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเมื่อเปรียบเทียบกับ wild type (\*1/\*1 เป็น extensive metabolizers) และ Heterozygous (\*1/\*2 เป็น intermediate metabolizer) (6) และ CYP2C19\*3/\*3 เป็น homozygous ชนิด poor metabolizer ทำให้การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดลดลงเช่นกัน ส่วน CYP2C19\*1/\*17 และ CYP2C19\*17/\*17 เป็น ultra rapid metabolism ทำให้การทำงานที่ของเอนไซม์เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP3A4/5 และ paraoxonase1 มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงยาโคลพิโดเกรล เป็น active metabolite (34) ด้วย ปัจจัยที่กล่าวทั้งหมดนี้มีผลต่อระดับ thiol metabolite ในเลือด บทความที่เกี่ยวข้องกับการผลของยาโคลพิโดเกรลต่อการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด มีดังนี้

ปี ค.ศ 2007 Von Beckerath และคณะ ศึกษาการทำงานที่ของเกล็ดเลือดเมื่อได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม และ 150 มิลลิกรัม ร่วมกับแอสไพริน 100 มิลลิกรัมวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 30 วัน ในกลุ่มผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อหัวใจตาย และใช้ ADP ความเข้มข้น 5  $\mu$ M เป็นตัวกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด และวัดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย Aggregometry พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 150 มิลลิกรัมต่อวัน มีค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเท่ากับ  $45.10 \pm 20.90\%$  ส่วนกลุ่มที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวันได้ค่า  $65.30 \pm 12.10\%$  และยังพบการยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ P2Y12 receptor โดยใช้เครื่องวัด Verify Now P2Y12 assay รายงานผลเป็นค่า P2Y12 reaction units (PRU) ถ้า  $PRU > 230$  แสดงถึงการตอบสนองต่อยาโคลพิโดเกรลน้อย (hypo-responsiveness) ผู้ป่วยที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 150 มิลลิกรัมต่อวัน ได้ค่า PRU เท่ากับ  $60.00 \pm 72.00$  PRU ผลการยับยั้งมากกว่ากลุ่มที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวัน ซึ่งได้ค่าเท่ากับ  $117.00 \pm 64.30$  PRU แสดงว่าเมื่อบริหารยาโคลพิโดเกรลขนาด 150 มิลลิกรัมต่อวันแบบ maintenance dose มีผลยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมากกว่ากลุ่มที่ได้รับโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวัน (35)

ปี ค.ศ 2011 Park และคณะ ศึกษาความสัมพันธ์ของเภสัชจลนศาสตร์ เภสัชพลศาสตร์ และเภสัชพันธุศาสตร์ ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจชาวเกาหลีจำนวน 114 คน ซึ่งผ่านการทำหัตถการสวนหัวใจ และได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม (105 คน) หรือ 150 มิลลิกรัม (9 คน) พบว่าการตอบสนองของยาโคลพิโดเกรลต่อเกล็ดเลือดมีความแปรปรวนที่สัมพันธ์กับ CYP2C19 polymorphism ส่วนระดับความเข้มข้นของยาไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่มีความผิดปกติของ

เอนไซม์ CYP2C19 กับกลุ่มปกติ ทั้งนี้มีข้อจำกัดในความแปรปรวนของโรคที่ผู้ป่วยเป็น ได้แก่ โรคเบาหวาน ภาวะอ้วน โรคหลอดเลือดหัวใจ (36)

ปี ค.ศ 2012 Srimahachota และคณะ ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพและความปลอดภัย ในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดของยาโคลพิโดเกรลต้นแบบและสามัญในขนาดเริ่มต้น 600 มิลลิกรัมในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจที่ได้รับการสวนหัวใจ แผนกโรคหัวใจและหลอดเลือด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 49 คน โดยสุ่มผู้ป่วยให้ได้รับยาโคลพิโดเกรลต้นแบบ (Plavix) หรือสามัญ (Apolets) ขนาดเริ่มต้น 600 มิลลิกรัมทำการวัดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย adenosine diphosphate (ADP) ที่ 5 และ 20  $\mu\text{M}$  และทำการวัดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดโดยใช้ light transmission aggregometry (LTA) ก่อนและหลังรับประทานยาโคลพิโดเกรลครบ 6 ชั่วโมง พบว่า เมื่อกระตุ้นด้วย ADP ที่ 5  $\mu\text{M}$  การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดลดลงจาก  $41.08 \pm 3.04\%$  เป็น  $19.50 \pm 1.68\%$  ในกลุ่มยาต้นแบบ ส่วนกลุ่มยาสามัญการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดลดลงจาก  $36.76 \pm 2.66\%$  เป็น  $21.32 \pm 2.60\%$  และเมื่อกระตุ้นด้วย ADP ที่ 20  $\mu\text{M}$  การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดลดลงจาก  $58.50 \pm 2.60\%$  เป็น  $32.25 \pm 2.30\%$  ในกลุ่มยาต้นแบบ และกลุ่มยาสามัญการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดลดลงจาก  $61.12 \pm 2.54\%$  เป็น  $30.04 \pm 3.14\%$  ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลต้นแบบและสามัญในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (37)

#### การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics) และเภสัชพลศาสตร์ (Pharmacodynamics) ของยาโคลพิโดเกรล

ปี ค.ศ 2004 Taubert และคณะ ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์และความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดของยาโคลพิโดเกรลขนาด 600 มิลลิกรัมเพียงครั้งเดียว ในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวเยอรมันจำนวน 10 คน พบว่า  $C_{\text{max}}$  เท่ากับ  $14.50 \pm 6.00$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า  $T_{\text{max}}$  เท่ากับ  $0.90 \pm 0.50$  ชั่วโมง และค่า  $\text{AUC}_{0-24}$  เท่ากับ  $32.90 \pm 13.40$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่าระดับของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{\text{max}}$ ) ในพลาสมากับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $r = 0.73$ ,  $P = 0.02$ ) (38)

ปี ค.ศ 2007 Heestermans และคณะ ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ของยาโคลพิโดเกรลขนาด 600 มิลลิกรัม ในกลุ่มผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันจำนวน 11 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 10 คน ชาวเนเธอร์แลนด์ พบว่าสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{\text{max}}$ ) เท่ากับ  $1.49 \pm 1.28$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ  $8.37 \pm 3.62$  นาโนกรัมต่อ



มิลลิลิตร เวลาที่ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $T_{max}$ ) คือ  $137 \pm 100$  นาที และ  $55 \pm 32$  นาที ส่วนค่า  $AUC_{0-24}$  เท่ากับ  $387.70 \pm 249.97$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และ  $1139.72 \pm 464.76$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ในกลุ่มผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันและกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดี ตามลำดับ เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น  $5 \mu M$  และ  $20 \mu M$  ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเท่ากับ  $7 \pm 8\%$  และ  $6 \pm 7\%$  ตามลำดับ ในกลุ่มผู้ป่วยหลังจากได้รับยาเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และเท่ากับ  $25 \pm 6\%$  และ  $23 \pm 9\%$  ตามลำดับ หลังได้รับยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 600 มิลลิกรัมเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น  $5 \mu M$  และ  $20 \mu M$  ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เท่ากับ  $56 \pm 13\%$  และ  $45 \pm 25\%$  ตามลำดับ การศึกษานี้ยังรายงานว่ ในกลุ่มผู้ป่วยหลังได้รับยาเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น  $5 \mu M$  ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลมีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด  $R = 0.823$ ,  $P = 0.006$  และเมื่อกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น  $20 \mu M$  ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลมีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด  $R = 0.791$ ,  $P = 0.011$  ในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีหลังได้รับยาเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมามีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $R = 0.73$ ,  $P = 0.02$ ) (39)

ปี ค.ศ 2010 Delavenne และคณะ ศึกษาความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครสุขภาพดีเพศชายชาวคอเคเซียน (Caucasian) จำนวน 8 คน ให้ยาโคลพิโดเกรลขนาด 600 มิลลิกรัมครั้งเดียว วัดระดับสารออกฤทธิ์ทั้งก่อนและหลังได้รับยาที่เวลา 1, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง และวัดการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด พบว่า สารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลมีความสัมพันธ์กับการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด (40)

ปี ค.ศ. 2012 Liang และคณะ ศึกษาาระดับของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลร่วมกับการวัดค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary artery disease) ชาวจีน จำนวน 82 คน ที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 600 มิลลิกรัม หรือขนาด 300 มิลลิกรัมเพียงครั้งเดียว เป็น loading dose และให้ต่อเนื่องขนาด 150 มิลลิกรัม หรือขนาด 75 มิลลิกรัมวันละครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วัดระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) เท่ากับ 8.31 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร, 4.37 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 3.59 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันแรก วันที่ 7 และวันที่ 14 ตามลำดับ และการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมีค่าเท่ากับ 21.43%, 27.02% และ 29.87% ตามลำดับของเวลาที่วัดระดับยา พบว่า ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลมีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดใน

วันแรกและวันที่ 7 หลังได้รับยา ( $r = -0.4656$  และ  $r = -0.4584$ ,  $P < 0.0001$ ) ส่วนในวันที่ 14 ความสัมพันธ์น้อยกว่าวันแรกและวันที่ 7 ( $r = -0.3046$ ,  $P = 0.0054$ ) (41)

ปี ค.ศ 2014 Karazniewicz-Lada และคณะ ศึกษาความสัมพันธ์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม แบบ maintenance dose เป็นเวลา 7 วัน ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจชาวโปแลนด์จำนวน 30 คน พบว่า ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) เท่ากับ  $7.13 \pm 6.32$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า  $T_{max}$  เท่ากับ  $1.04 \pm 0.53$  ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิต ( $t_{1/2}$ ) เท่ากับ  $0.9 \pm 0.86$  ชั่วโมง และค่า  $AUC_{0-t}$  เท่ากับ  $11.30 \pm 9.58$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และ  $AUC_{0-inf}$  เท่ากับ  $11.97 \pm 9.75$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เท่ากับ  $166 \pm 146$  AU.min จากการศึกษาพบว่ามีระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล (H4 active metabolite) ในพลาสมามีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อยาจากการประเมินค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (16)

จากการศึกษาพบความแปรปรวนทั้งเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์ของยาโคลพิโดเกรล ซึ่งเกิดได้จากหลายปัจจัย การศึกษาถึงความสัมพันธ์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการตอบสนองของยาเป็นการพิสูจน์ให้เห็นว่าฤทธิ์การตอบสนองของยาโคลพิโดเกรลที่แปรปรวนนั้นสัมพันธ์ตามความแปรปรวนของระดับสารออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรลหรือไม่ งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาหาข้อมูลเหล่านี้โดยศึกษาในอาสาสมัครไทยสุขภาพดีที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม ครั้งเดียวจากโครงการ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” โดยติดตามวัดการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดกับระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลที่เวลาเดียวกันในอาสาสมัครแต่ละราย ประเมินหาความสัมพันธ์ของพารามิเตอร์ทั้งสองนี้ และศึกษาในยาเม็ดโคลพิโดเกรลทั้งยาอ้างอิงและยาทดสอบ

### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

#### กลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดีที่ได้จากโครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี คำอธิบายที่มาของตัวอย่างพลาสมาเกณฑ์การคัดเลือกเข้าคัดออก ดูในภาคผนวก ก

#### การคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่าง (Sample size determination)

กำหนดความน่าจะเป็นที่จะเกิดความคลาดเคลื่อนแบบที่ 1 (Type I error;  $\alpha$ ) ที่ 0.05 และความน่าจะเป็นที่จะเกิดความคลาดเคลื่อนแบบที่ 2 (Type II error;  $\beta$ ) ที่ 0.20 หรือมี Power 80% โดยมีค่าความสัมพันธ์ (correlations) ระหว่างระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการยับยั้งการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด (platelet function inhibition) เท่ากับ  $r=0.76$  (40)

$$\text{สูตร } N = \left[ \frac{Z\alpha + Z\beta}{Zr} \right]^2 + 3$$

กำหนดให้ ระดับความเชื่อมั่น 95% หรือ  $\alpha$  เท่ากับ 0.05 ค่า  $Z\alpha$  จะเท่ากับ 1.96

กำหนด  $\beta$  ที่ 0.20 ค่า  $Z\beta$  จะเท่ากับ 0.84

เมื่อกำหนด  $r = 0.76$ ;  $Zr = 1/2 \ln \left[ \frac{1+r}{1-r} \right]$

แทนค่า  $r$  ในสมการ,  $Zr = 1/2 \ln \left[ \frac{1+0.76}{1-0.76} \right] = 0.996$

$$N = \left[ \frac{1.96 + 0.84}{0.996} \right]^2 + 3$$

$$N = 10.9$$

$$N = 11 \text{ คน}$$

จากการคำนวณ พบว่าต้องศึกษาในกลุ่มตัวอย่างอย่างน้อย 11 คน เพื่อในกรณีอาสาสมัครถอนตัว หรือ drop-out งานวิจัยนี้จึงศึกษากลุ่มตัวอย่างเท่ากับ 20 คน เป็นจำนวนที่เท่ากับโครงการ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี”

## การยินยอมเข้าร่วมโครงการ

อาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะต้องได้รับข้อมูลคำอธิบายของการศึกษาวิจัยจากผู้วิจัย (รายละเอียดข้อมูลคำอธิบายสำหรับอาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ดูในภาคผนวก ข) เพื่อทราบถึงวัตถุประสงค์ วิธีการทำวิจัยความเสี่ยงและประโยชน์ที่อาจได้รับ อาสาสมัครลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษา (รายละเอียดดูในภาคผนวก ค) ก่อนทำการศึกษาวิจัย การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปด้วยความสมัครใจของอาสาสมัครระหว่างการวิจัยหากผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยไม่สมัครใจเข้าร่วมการศึกษา สามารถถอนตัวออกได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยไม่มีผลต่อการดูแลทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมโครงการแต่อย่างใด

## ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม (Ethical consideration)

โครงการวิจัยนี้ได้รับการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ครั้งที่ 22/2557 เมื่อวันที่ 8 กรกฎาคม 2557 (รายละเอียดดูในภาคผนวก ง) การศึกษานี้จะปฏิบัติตามเกณฑ์การปฏิบัติการวิจัยทางคลินิกที่ดี (Good Clinical Practice; GCP) จะคำนึงถึงสิทธิ ความเป็นส่วนตัว และความเป็นอยู่ที่ดีของอาสาสมัคร อาสาสมัครจะได้รับการคุ้มครองตามหลักการแห่งคำประกาศเฮลซิงกิ (Declaration of Helsinki)

ผู้วิจัยจะเก็บข้อมูลการวิจัยต่างๆ เกี่ยวกับอาสาสมัครไว้เป็นความลับ ในกรณีที่มีการรายงานผลการวิจัย ข้อมูลของอาสาสมัครจะแสดงเป็นรหัสตัวเลขที่ของอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัย โดยไม่สามารถระบุชื่อบุคคลได้

## รูปแบบการวิจัย (Research design)

Observational clinical research study

## การวางแผนการวิจัย

กลุ่มตัวอย่างจากโครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี โดยศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาเม็ดโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครจำนวน 20 ราย ซึ่งจะได้รับยาทั้งแบบอ้างอิง (Reference drug, Plavix<sup>®</sup> batch No. 4A918 exp. 31 October 2016, lot No. -) และแบบทดสอบ (Test drug, Apolets<sup>®</sup> batch No. -, lot No. MG8021 exp. 20 February 2018) โดยให้ห่างกันอย่างน้อย 1 สัปดาห์

## ขั้นตอนการวิจัย

1. ขอความยินยอมจากอาสาสมัครโดยอาสาสมัครจะต้องได้รับคำชี้แจงถึงประโยชน์และความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการศึกษาวิจัยอย่างครบถ้วนจนพอใจและเข้าใจดีในการตัดสินใจเข้าร่วมโครงการวิจัย รวมทั้งยินยอมในการให้ข้อมูลพื้นฐาน และให้ตัวอย่างเลือดเพิ่มจากโครงการชื่อว่า “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” เพื่อการศึกษาวิจัยด้วยความเต็มใจโดยลงนามในหนังสือแสดงความยินยอมไว้เป็นหลักฐาน

2. ขอเก็บข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัครสุขภาพดีที่จะเข้าร่วมวิจัย ได้แก่ อายุ เพศ น้ำหนัก ส่วนสูง และรายงานผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ complete blood count, platelet aggregation assay, fasting blood sugar, blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine, alkaline phosphatase, AST, ALT, total bilirubin, albumin, electrolytes, HBs-antigen and anti-HIV ก่อนเก็บตัวอย่างเลือด

### 3. ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเลือด

3.1 ตัวอย่างเลือดสำหรับวัดระดับสารออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรลในพลาสมาใช้ตัวอย่างเดียวกับโครงการ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” ซึ่งมีการเก็บเลือดที่เวลา 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง หลังได้รับยาโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมครั้งเดียว อาสาสมัครจะได้รับยาเม็ดโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม เป็นยาอ้างอิงและยาทดสอบ แบ่งเป็น 2 ระยะ ห่างกันอย่างน้อย 1 สัปดาห์ โดยให้แบบสุ่มและข้ามสลับ (randomized crossover study)

3.2 ตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครในโครงการ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” สำหรับประเมินค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเก็บเลือดที่บรรจุด้วย 3.2% sodium citrate ที่เวลา 0, 0.5, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเลือดมาปั่นเหวี่ยง ความเร็วรอบ 200 g เป็นเวลา 10 นาที จะได้ platelet rich plasma (PRP) sample และเตรียม platelet poor plasma (PPP) sample โดยนำเลือดไปปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 1500 g นาน 15 นาที ทั้ง PRP และ PPP จะเก็บที่อุณหภูมิห้องและใช้ภายใน 2 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ทั้งสองระยะ (period)

### เกณฑ์การถอนตัวออกจากการศึกษา

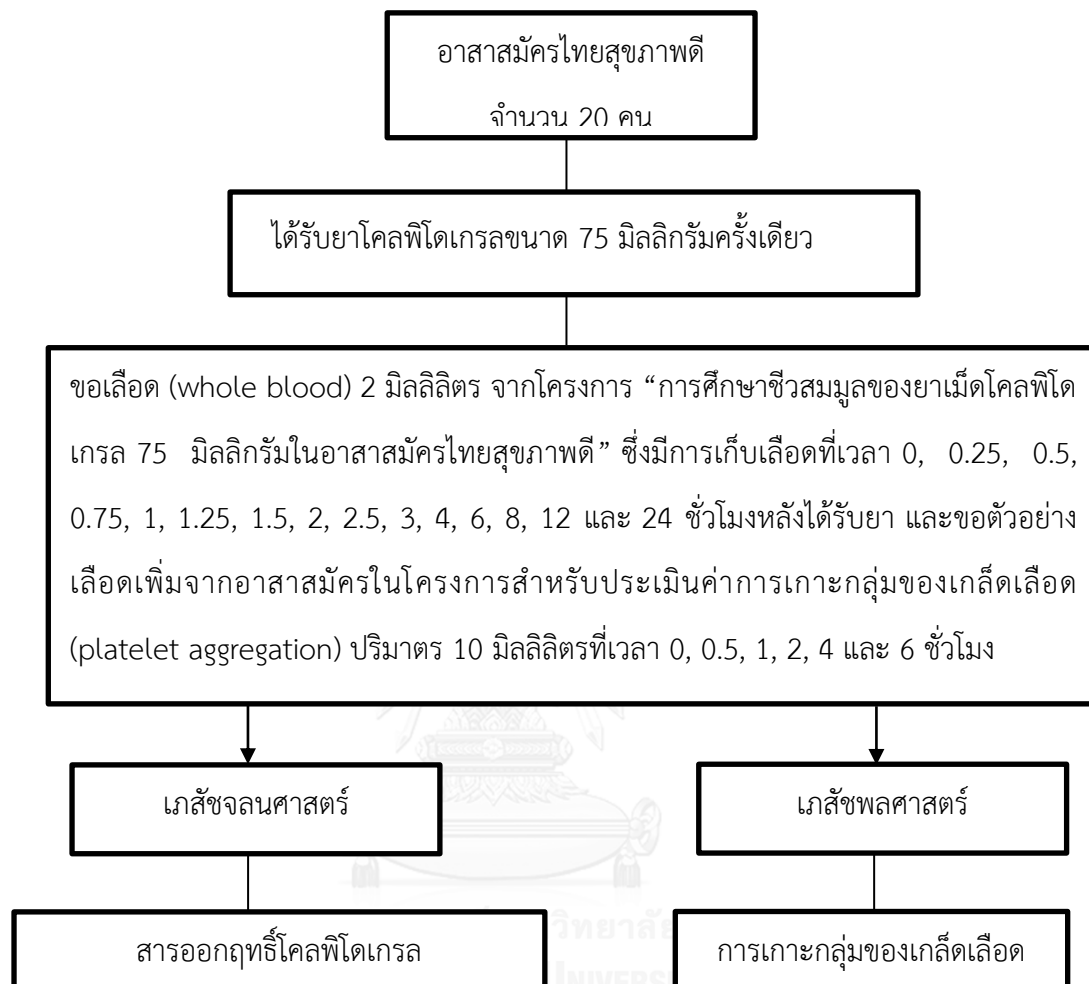
1. อาสาสมัครเกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่แพทย์เห็นควรให้ออกจากการศึกษา
2. อาสาสมัครต้องการถอนตัวออกจากการศึกษา

### การเก็บตัวอย่างเลือด

- ตัวอย่างเลือดเพื่อศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลใช้ตัวอย่างเดียวกับโครงการ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” ซึ่งมีการเก็บเลือดที่เวลา 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมครั้งเดียว โดยดูจากสายสวนคาหลอดเลือดดำครั้งละ 2 มิลลิลิตร นำตัวอย่างเลือดที่ได้ใส่ลงใน EDTA tube ที่เติม 500 mM MPB ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อหยุดยั้งการสลายตัวของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล ทำการปั่นแยกส่วนประกอบที่เป็นพลาสมา (plasma) และเก็บพลาสมาโดยการแช่ในอุณหภูมิที่ -70 °C จนถึงวันที่ทำการวิเคราะห์เพื่อนำไปวัดความเข้มข้นของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลทั้งสองรูปแบบของยา

- ตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครในโครงการ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” สำหรับประเมินค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเก็บเลือดที่บรรจุด้วย 3.2% sodium citrate ที่เวลา 0, 0.5, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเลือดปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 200 g เป็นเวลา 10 นาที จะได้ PRP และเตรียม PPP โดยนำเลือดไปปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 1500 g นาน 15 นาที ทั้ง PRP และ PPP เก็บได้ที่อุณหภูมิห้องและนำมาตรวจวัดภายใน 2 ชม. โดยวิเคราะห์ทั้งสองรูปแบบของยา

### กรอบแนวคิดงานวิจัย (Conceptual framework)



### สารเคมี วัสดุ และวิธีการทดลอง

#### การตรวจวิเคราะห์ระดับสารออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรล

ใช้เทคนิค liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) โดยดัดแปลงวิธีการตรวจวัดของ Cody J. และคณะ (42)

#### สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์

##### สารเคมี

- 1) (E)-MPB derivatised clopidogrel active metabolite hydrochloride (CAMD) [Alsachimllkirch, France]
- 2) Ticlopidine hydrochloride (Internal standard) [Aldrich-Sigma, USA]

- 3) 2-bromo-3-methoxyacetophenone (MPB) [Alfa Aesar, United kingdom]
- 4) Tert-butyl ethyl ether [Aldrich-Sigma, USA]
- 5) Acetonitrile HPLC grade [Merck Darmstadt, Germany]
- 6) formic acid [Aldrich-Sigma, USA]
- 7) Ammonium acetate [Sigma Aldrich (St. Louis, MO)]
- 8) Methanol [Aldrich-Sigma, USA]

### วัสดุอุปกรณ์

- 1) Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)  
[Shimadzu LC-MS-8040]
- 2) Genevac (personal evaporator)
- 3) Centrifuge (mikro 220 R Hettich (Zen trifugen))
- 4) nylon filters (pore size 0.22  $\mu\text{m}$ )
- 5) Syringe ขนาด 1 ml
- 6) pH meter
- 7) pipette
- 8) vortex mixer
- 9) ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask)
- 10) ethylenediamine tetra acetic acid (ETDA) tube

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (Standard solution)

สารละลายมาตรฐานที่เตรียมแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเข้มข้นของ clopidogrel active metabolite  
เตรียม stock solution ความเข้มข้น 1.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่ง clopidogrel active metabolite หนัก 0.0125 มิลลิกรัม ละลายใน acetonitrile จนครบ 5 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร
2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ticlopidine hydrochloride (internal standard)  
เตรียม stock solution ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่ง ticlopidine hydrochloride 10 มิลลิกรัม ละลายใน acetonitrile 10 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร



เตรียม ticlopidine hydrochloride (Internal standard) ความเข้มข้น 60 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ stock solution ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ละลายใน acetonitrile จนครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

### 3. การเตรียมสารละลาย clopidogrel active metabolite เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve)

เตรียมสารละลายมาตรฐานของ clopidogrel active metabolite ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 30 และ 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรใน mobile phase โดยการทำ serial dilution จาก stock solution ความเข้มข้น 1.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

**การเตรียมตัวอย่าง** โดยใช้หลักการสกัดแยกด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานของ clopidogrel active metabolite ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และ ticlopidine hydrochloride (Internal standard) ความเข้มข้น 60 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เติมลงในพลาสมา 250 ไมโครลิตร
2. เติม ammonium acetate ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer
3. สกัดพลาสมาด้วย tert-Butyl ethyl ether ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex mixer เป็นเวลา 3 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
4. เก็บส่วนใสในหลอดแก้วใหม่ นำไประเหยแห้ง (evaporate) ที่อุณหภูมิ 25 °C
5. นำมาละลายกลับโดยใช้ mobile phase จำนวน 250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน
6. หมุนเหวี่ยงความเร็ว 13,000 g นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 15°C
7. นำสารละลายที่ได้กรองด้วย nylon filters และนำไปวิเคราะห์โดยฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS ปริมาตร 10 ไมโครลิตร

**การเตรียมสถานะเครื่อง** liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

เฟสเคลื่อนที่ A	: 0.1% formic acid in water
เฟสเคลื่อนที่ B	: 0.1% formic acid in acetonitrile
อัตราการไหล	: Gradient flow
เวลาในการวิเคราะห์	: 12 นาที
เครื่องตรวจวัด	: Mass spectrometry
ปริมาตรฉีด	: 10 $\mu$ l

อุณหภูมิคอลัมน์ : 40 °C  
 อุณหภูมิ Auto-sampler : 15 °C

### สภาวะของ Mass Spectrometry

Ionization : triple quadrupole tandem mass spectrometry  
 Data acquisition mode : scan mode (100-600 m/z)  
 อุณหภูมิของ quadrupole : 90 °C  
 อุณหภูมิของ drying gas : 250 °C  
 อัตราการไหลของ drying gas : 15 ลิตรต่อนาที  
 แรงดัน nebulizer : 3 ลิตรต่อนาที

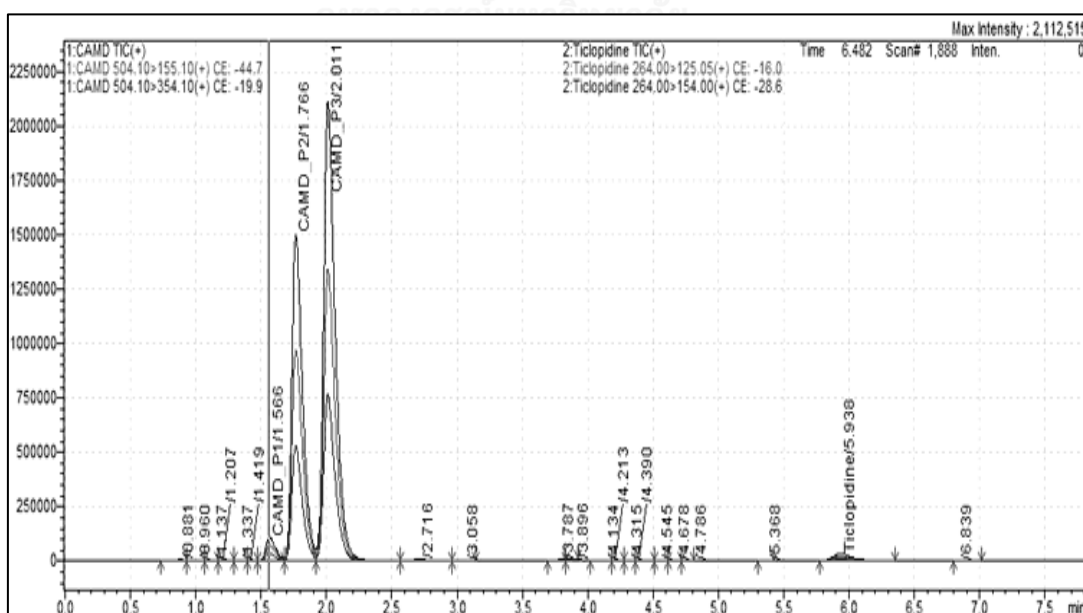
### ประเมินความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์

เพื่อเป็นการยืนยันผลของข้อมูลที่ได้ว่ามีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ วิธีการประเมินความน่าเชื่อถือ ปฏิบัติตาม US FDA Guideline (43) รายละเอียดดูในภาคผนวก ข.

#### 1. การศึกษาความน่าเชื่อถือของการวิเคราะห์ระดับ Clopidogrel active metabolite

##### 1.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของการวิเคราะห์ (specificity/selectivity)

จากภาพที่ 5 พบว่า retention time ของ clopidogrel active metabolite เท่ากับ  $1.5 \pm 0.5$  นาที ส่วน ticlopidine hydrochloride (internal standard) retention time เท่ากับ  $5.8 \pm 0.5$  นาที



ภาพที่ 5: พลาสมาที่เติม clopidogrel active metabolite และ internal standard

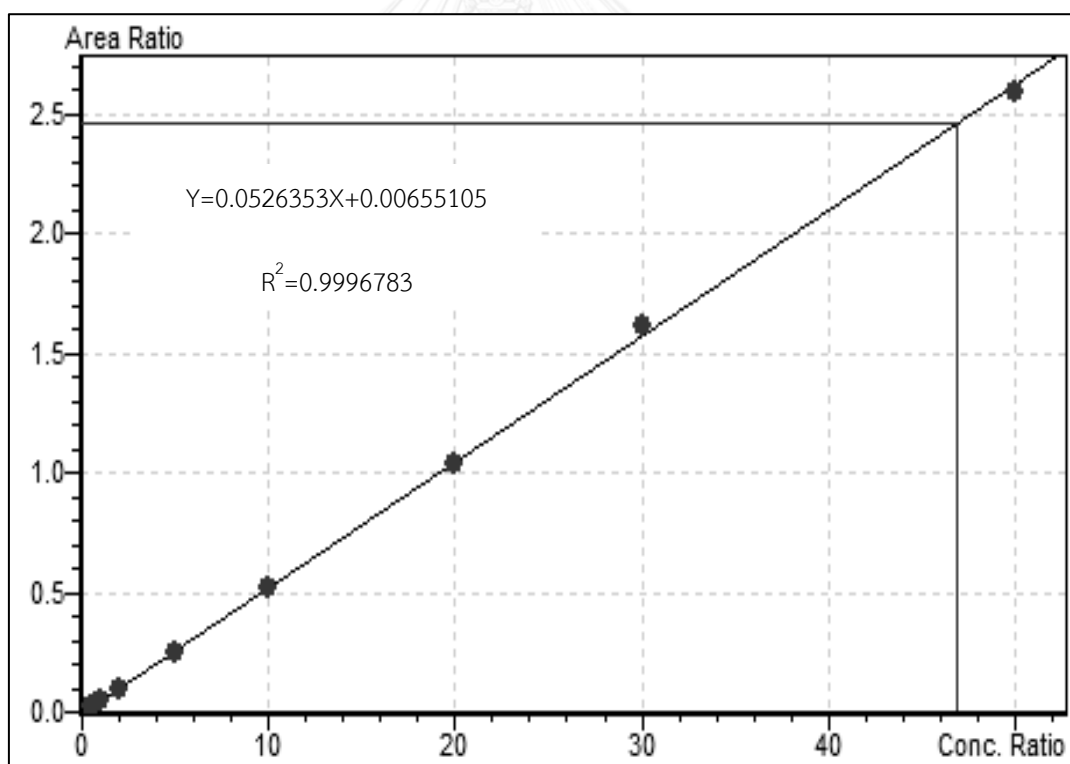
จากการใช้ blank plasma จำนวน 6 ตัวอย่างที่แตกต่างกัน เพื่อทดสอบความจำเพาะของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ไม่มีพีครบกวนโครมาโทแกรมของ clopidogrel active metabolite และ ticlopidine hydrochloride (internal standard)

### 1.2 การวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีสามารถวิเคราะห์ได้ (Lower limit of quantification, LLOQ) ของ clopidogrel active metabolite

ความเข้มข้นต่ำสุดของระดับ clopidogrel active metabolite ที่สามารถวิเคราะห์ได้เท่ากับ 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าความถูกต้อง (accuracy) และค่าความแม่นยำ (precision) ในวันเดียวกันและระหว่างวันของค่าต่ำสุดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 80-120%

### 1.3 Linearity/Standard calibration curve

กราฟมาตรฐานของระดับ clopidogrel active metabolite ในพลาสมา ค่า coefficient of determination ( $R^2$ ) ของ clopidogrel active metabolite เท่ากับ 0.9996 (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6: กราฟมาตรฐานของ clopidogrel active metabolite

#### 1.4 ความถูกต้องของการวิเคราะห์ (accuracy) และความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ (precision)

การตรวจวัดความเข้มข้นของสาร clopidogrel active metabolite ในพลาสมา พบว่ามีค่าความถูกต้อง (accuracy) ของการตรวจวัดที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง และค่าความแม่นยำ (precision) ในวันเดียวกันและระหว่างวันที่สามารถวิเคราะห์ได้ แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% coefficient of variation, %CV) และ % accuracy อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 85-115%

#### 1.5 การหาประสิทธิภาพในการสกัด (Recovery of extraction)

ค่า % Recovery เมื่อทำการสกัดและวิเคราะห์ระดับ clopidogrel active metabolite ในพลาสมาด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย เอทิล อีเทอร์ ชนิด tert-Butyl ethyl ether ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ความเข้มข้นต่ำ (low) กลาง (medium) และสูง (high) ของ clopidogrel active metabolite อยู่ในเกณฑ์ที่สามารถยอมรับได้ คือ อยู่ระหว่าง 85-115%

## 2. การตรวจวิเคราะห์การเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด (Platelet aggregation)

วิเคราะห์ด้วยวิธี Light Transmission Aggregometry (LTA) PACK 4 (Platelet Aggregation chromogenic kinetic system)

### สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์

#### สารเคมี

1. Adenosine diphosphate (ADP) sodium
2. 3.2% sodium citrate
3. plain tyrode buffer pH 7.35
4. Sigmacote SL.2 สำหรับเคลือบหลอดทดลอง

#### วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องตรวจวัดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและเครื่องบันทึก (Light Transmission Aggregometer (LTA) ใช้เครื่อง Platelet Aggregation chromogenic kinetic system
2. หลอดทดลองสำหรับใส่สาร 3.2% sodium citrate
3. ปิเปต ขนาด 10-1000 ไมโครลิตร
4. Vortex mixer

## วิธีดำเนินการวิจัย

### การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียม stock สารละลาย Adenosine diphosphate (ADP) sodium ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยชั่ง ADP 0.0427 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร
  - 1.1 การเตรียมสารละลาย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  และ 20  $\mu\text{M}$  การเตรียมสารละลาย ADP ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ จาก stock solution ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ จำนวน 50 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วย plain tyrode buffer 450 ไมโครลิตร
  - 1.2 การเตรียมสารละลาย ADP ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ จาก stock solution ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ จำนวน 100 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วย plain tyrode buffer 300 ไมโครลิตร สารละลายที่เตรียมแล้วเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

### การเตรียมตัวอย่าง

การศึกษาการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดโดยใช้ Light Transmission Aggregometry (LTA) มีวิธีการเตรียมตัวอย่างดังนี้

1. นำตัวอย่างเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 200 g เป็นเวลา 10 นาที จะได้ platelet rich plasma (PRP)
2. เก็บแยกส่วนของเกล็ดเลือดพักไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
3. เตรียม platelet poor plasma (PPP) โดยนำเลือดที่แยกจากข้อ 1. ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500 g เป็นเวลา 15 นาที
4. ปิเปิด PPP ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงใน non-siliconized cuvette พักไว้ในช่อง ambient ของเครื่อง Light Transmission Aggregometer (LTA) ที่มีอุณหภูมิ 25 °C เพื่อเตรียมการวัด base line ของการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด
5. ปิเปิด PRP ปริมาตร 490 ไมโครลิตร ใส่ลงใน siliconized cuvette พักไว้ในช่อง Equilibration ของเครื่อง LTA ที่มีอุณหภูมิ 37 °C และนำแม่เหล็กค้อยๆ ใส่ลงใน PRP เพื่อเตรียมวัดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ขนาดความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  และ 20  $\mu\text{M}$

### การวัดการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด

1. วัดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดของ PPP เพื่อทำเป็น base line
2. เติม ADP 5  $\mu$ M และ ADP 20  $\mu$ M ลงใน PRP เพื่อทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยใช้ light transmission aggregometry วัดการเปลี่ยนแปลงการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดซึ่งใช้เวลา 8 นาที สังเกตการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดสูงสุด (maximal platelet aggregation: MPA)
3. บันทึกผลการทดลองและนำไปคำนวณการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด
4. การคำนวณการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด IPA (Inhibition of platelet aggregation) โดยใช้สูตร

$$\% \text{ IPA} = 100 \times (\text{MPA}_{\text{baseline}} - \text{MPA}_{\text{postdose}}) / \text{MPA}_{\text{baseline}}$$

(Inhibition of platelet aggregation (IPA), % inhibition) = 100 × [maximal platelet aggregation (MPA) baseline (baseline value) or predose value – maximal platelet aggregation (MPA) post dose (post dose value)] / maximal platelet aggregation (MPA) baseline

### การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูล (Data collection and data analysis)

การเก็บบันทึกข้อมูลของอาสาสมัครแต่ละรายใช้โปรแกรม Microsoft office excel แสดงผลข้อมูลที่ได้เป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD) ของอาสาสมัครแต่ละกลุ่ม วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistical Packages for the Social Science (SPSS) โดยวิเคราะห์ความแตกต่างของการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดของยาทั้งสองชนิด และวิเคราะห์ความแตกต่างของเวลาที่ระดับสารออกฤทธิ์โคคลิโดเกรลสูงสุด ( $T_{\text{max}}$ ) และค่าครึ่งชีวิต (half life) ใช้ Wilcoxon signed ranks test คำนวณค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาทั้งสองชนิด โดยการวิเคราะห์หาความแปรปรวนของ AUC และ  $C_{\text{max}}$  ใช้ (analysis of variance, ANOVA) และคำนวณ 90% confidence interval (CI) ของค่าเฉลี่ยของ LnAUC และ Ln $C_{\text{max}}$  ของยาทดสอบ/ยาอ้างอิง ค่าการยอมรับเท่ากับ 80-125% โดยใช้โปรแกรม stata ส่วนการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ใช้ Pearson correlation แสดงด้วยค่า correlation coefficient (R) และ P-value <0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS

## บทที่ 4 ผลการศึกษา

### กลุ่มตัวอย่าง

#### 1. ลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

อาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัยมีจำนวน 20 คน เป็นเพศชายจำนวน 10 คน และเพศหญิงจำนวน 10 คน ได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอั้งอิงและยาทดสอบ โดยให้ห่างกันอย่างน้อย 1 สัปดาห์ ลักษณะข้อมูลพื้นฐานและผลการตรวจร่างกายของอาสาสมัครแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3: ข้อมูลพื้นฐานและผลการตรวจร่างกายของอาสาสมัครสุขภาพดีชาวไทยทั้งเพศชายและหญิงจำนวน 20 ราย

	Thai normal volunteers (n= 20)	ค่าปกติ
Age (yr)	32.6±5.99	18-45
Weight (kg)	60.98±9.13	50-80
Height (cm)	164.30±8.20	150-180
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.46±1.63	18-25
BUN (mg/dL)	10.90±2.45	7-20
Cr (mg/dL)	0.81±0.16	0.5-1.0
Total bilirubin (mg/dL)	0.78±0.32	0.2-1.2
SGPT (ALT) (U/L)	20.55±8.29	0-40
Alkaline phosphatase (U/L)	23.15±14.50	<120
Hb (g/dL)	13.84±1.95	12-15
Hct (%)	41.73±5.25	36-45
WBC (*10 <sup>3</sup> cell/ml)	6.65±1.40	4.5-11.0
Platelet (*10 <sup>3</sup> cell/ml)	293.2±48.16	150-450
BS (mg/dL)	85.45±7.61	70-100

ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์แสดงด้วยค่า mean ± SD

ตารางที่ 4: ข้อมูลพื้นฐานและผลการตรวจร่างกายของอาสาสมัครสุขภาพดีชาวไทยทั้งเพศชายและหญิง จำนวน 20 ราย

Subject No.	Age (yr)	Weight (kg)	Height (cm)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	BUN (mg/dL)	Cr (mg/dL)	Total Bilirubin (mg/dL)	SGOT (AST) (U/L)	SGPT (ALT) (U/L)	Alkaline phosphatase (U/L)	Hb (g/dL)	Hct (%)	WBC (*10 <sup>3</sup> cell/m <sup>3</sup> )	Platelet (*10 <sup>3</sup> cell/m <sup>3</sup> )	FBS (mg/dL)
1	21	77.0	177	24.58	12	1.04	1.2	26	40	62	16.2	47.0	9.76	516	84
2	36	58.8	165	21.60	8	0.74	0.8	16	12	41	12.9	38.8	6.16	371	89
3	35	54.2	157	21.99	9	0.68	0.3	14	11	50	11.3	35.8	7.91	354	82
4	37	50.3	152	21.77	8	0.63	0.5	15	17	59	10.3	33.5	7.79	328	83
5	35	50.6	153	21.62	9	0.72	0.4	15	11	52	12.6	38.1	5.41	286	83
6	26	70.0	169	24.51	17	1.14	0.8	44	36	75	15.3	47.4	6.33	267	101
7	39	66.0	170	22.84	13	0.82	0.9	15	16	59	17.1	48.9	5.43	214	90
8	31	72.0	172	24.34	11	0.78	0.5	21	34	57	14.8	44.4	5.83	227	77
9	38	56.5	157	22.92	8	0.66	0.9	12	11	51	11.9	36.5	8.46	322	95
10	35	57.0	161	21.99	11	0.74	0.6	19	16	75	12.9	38.7	9.12	308	83
11	28	78.4	178	24.74	11	0.96	0.8	15	16	78	15.3	45.9	5.36	212	94
12	21	66.0	170	22.84	12	0.87	1.3	23	27	67	16.5	47.9	6.94	264	81
13	33	63.0	173	21.05	15	0.89	1.1	18	14	49	14.5	42.6	4.77	291	79
14	28	65.0	165	23.88	10	0.87	0.4	29	51	69	16.0	49.5	5.40	317	86
15	25	51.0	165	18.73	13	0.61	1.4	20	17	58	13.1	39.5	5.74	282	77
16	41	62.3	165	22.88	12	0.84	0.6	38	62	63	14.1	43.2	6.79	308	86
17	35	43.3	150	19.24	8	0.6	0.5	20	17	51	13.0	39.3	5.91	304	70
18	38	60.0	160	23.44	12	0.86	0.7	14	13	60	10.7	32.0	8.05	335	99
19	39	56.0	157	22.72	9	0.88	1.1	15	14	46	13.2	39.8	6.00	348	86
20	31	62.2	170	21.52	10	1.1	0.8	22	28	79	15.0	45.7	5.89	210	84
Mean	32.60	60.98	164.30	22.46	10.90	0.81	0.78	20.55	23.15	60.05	13.84	41.73	6.65	293.20	85.45
SD	5.99	9.13	8.20	1.63	2.45	0.16	0.32	8.29	14.50	11.00	1.95	5.25	1.40	48.16	7.61
96CV	18.39	14.97	4.99	7.27	22.45	19.53	40.46	40.36	62.63	18.31	14.12	12.58	21.03	16.43	8.91
Minimum	41.00	78.40	178.00	24.74	17.00	1.14	1.40	44.00	62.00	79.00	17.10	49.50	9.76	371.00	101.00
Maximum	21.00	43.30	150.00	18.73	8.00	0.60	0.30	12.00	11.00	41.00	10.30	32.00	4.77	210.00	70.00



## 1. เกสัชจลนศาสตร์ของอาสาสมัครสุขภาพดีที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งยาอ้างอิงและยา

### ทดสอบ

ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลที่เวลาก่อนเริ่มบริหารยาและที่เวลา 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ โดยให้แบบสุ่มและข้ามสลับห่างกันอย่างน้อย 1 สัปดาห์ พบค่าระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลที่เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละรายที่ได้รับยาอ้างอิงและยาทดสอบตามตารางที่ 5 และตารางที่ 6 และกราฟเกสัชจลนศาสตร์ของความสัมพันธ์ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับเวลา ดังภาพที่ 7 และภาพที่ 8

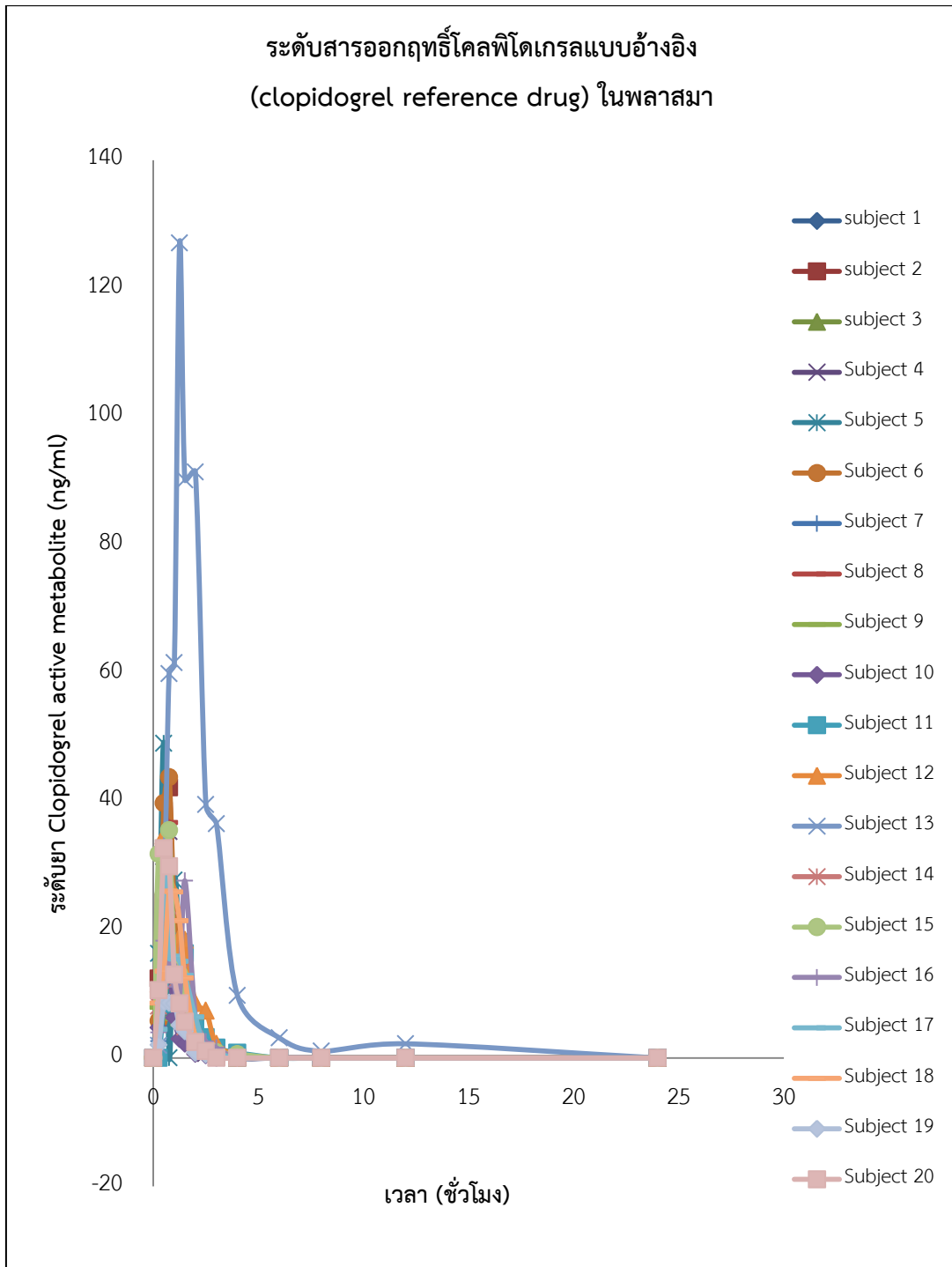


ตารางที่ 5: ระดับสารออกฤทธิ์เคโรลิตเดกริลในพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 20 คน หลังได้รับยาเคโรลิตเดกริลแบบอ้างอิง 75 มิลลิกรัม

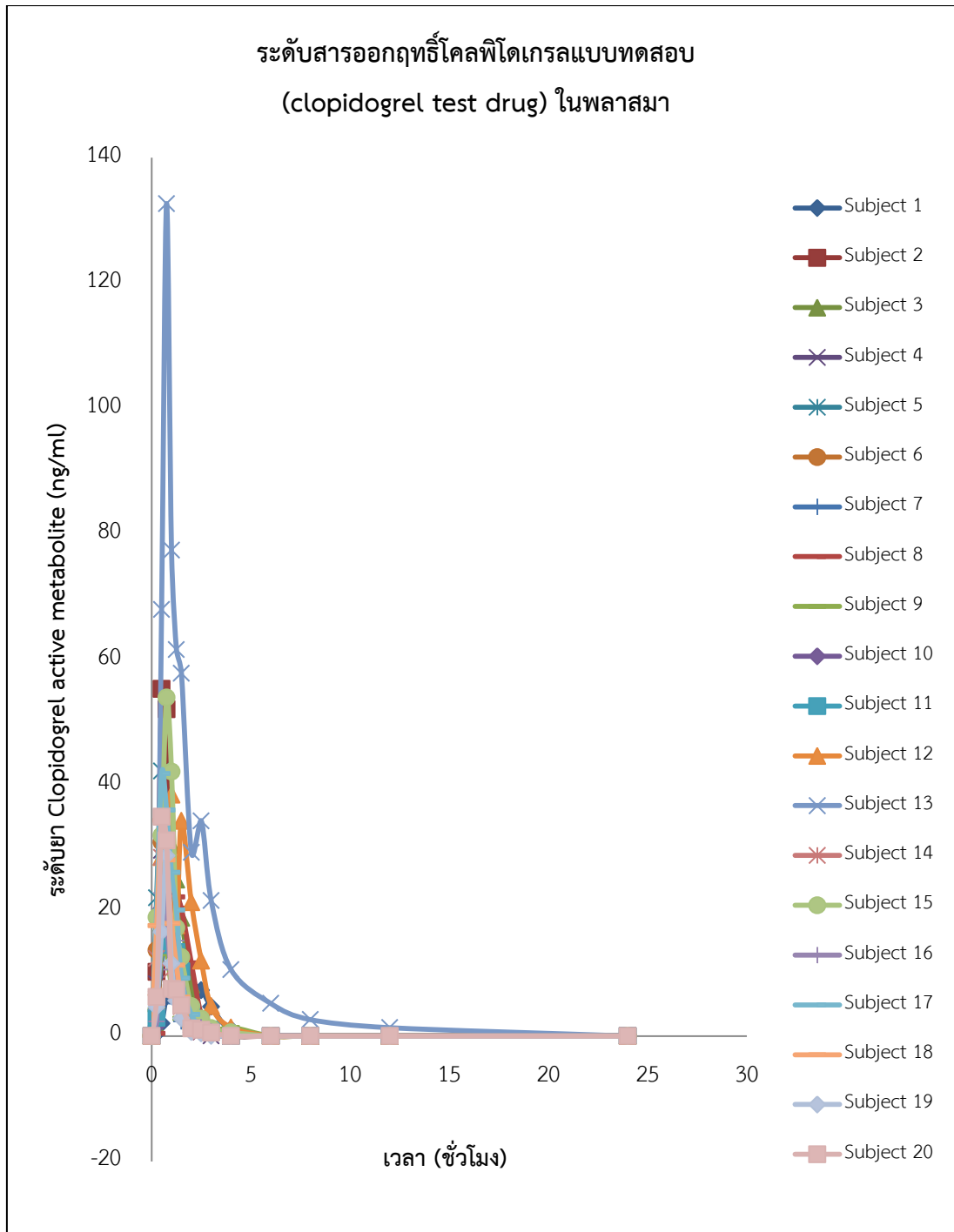
ลำดับที่	Plasma concentration (ng/mL) for reference product (Plavix) at time (h)																			
	0 min	0.25 h	0.5 h	0.75 h	1 h	1.25 h	1.5 h	2 h	2.5 h	3 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h					
1	0	0.719	12.661	23.631	17.002	13.836	7.599	2.594	1.278	0.744	0.315	0	0	0	0					
2	0	12.963	24.295	42.208	16.917	12.150	8.767	2.838	1.225	0.639	0.218	0	0	0	0					
3	0	0.920	14.142	15.556	16.156	15.321	8.999	5.637	1.867	0.806	0.380	0	0	0	0					
4	0	9.818	31.397	35.399	16.659	8.370	7.771	1.708	0.684	0.309	0.240	0	0	0	0					
5	0	16.280	49.070	missing	27.725	18.121	14.122	3.289	1.942	0.951	0.340	0.293	0	0	0					
6	0	5.778	39.721	43.804	22.562	16.128	5.738	2.735	1.555	0.836	0.329	0	0	0.198	0					
7	0	2.620	13.780	19.387	13.161	12.033	12.787	6.112	2.208	1.271	0	0	0	0	0					
8	0	8.037	35.023	36.705	13.436	8.338	10.185	2.874	1.519	0.816	0.393	0	0	0.403	0					
9	0	7.875	9.022	13.195	6.141	5.260	3.895	1.529	0.731	0.328	0	0	0	0	0					
10	0	4.739	13.859	13.803	6.245	2.952	2.216	0.629	0.396	0	0	0	0	0	0					
11	0	0	8.470	14.482	14.088	12.523	16.293	5.265	3.250	1.598	0.830	0	0	0	0					
12	0	11.560	34.624	27.387	14.032	18.859	18.387	8.561	7.363	2.191	0.604	0.254	0.250	0.268	0					
13	0	1.966	22.083	39.938	61.642	127.110	90.158	91.402	39.512	36.536	9.734	3.122	1.064	2.214	0.346					
14	0	8.065	20.549	23.614	11.834	13.220	4.814	1.861	1.262	0.549	0.401	0	0	0.323	0.218					
15	0	31.831	25.562	35.504	14.895	13.038	9.003	3.391	1.334	0.882	0.592	0.185	0	0	0					
16	0	3.994	18.265	14.569	11.104	9.444	27.628	6.484	2.588	1.599	0.394	0	0	0	0					
17	0	4.449	29.031	15.533	15.839	15.056	12.869	6.394	1.191	0.828	0.304	0	0	0.198	0					
18	0	8.550	13.534	25.997	25.862	21.405	12.456	3.205	0.865	0.457	0.256	0	0	0.202	0					
19	0	2.030	8.546	8.615	8.471	5.099	4.132	0.789	0.555	0	0	0	0	0	0					
20	0	10.594	32.714	29.907	13.002	8.514	5.640	2.476	1.039	0.288	0	0	0	0	0					
Mean	0	7.609	22.817	26.271	17.339	17.838	14.173	7.989	3.620	2.581	0.767	0.193	0.066	0.190	0.028					
SD	0	7.211	11.553	13.313	11.810	26.163	18.245	19.748	8.550	8.011	2.123	0.695	0.242	0.494	0.089					
96CV	0	94.759	50.632	50.675	68.116	146.671	132.958	247.206	237.007	310.326	276.925	367.604	367.604	259.551	316.478					
Minimum	0	0	8.470	8.615	6.141	2.952	2.216	0.629	0.396	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
Maximum	0	31.831	49.070	59.938	61.642	127.110	90.158	91.402	39.512	36.536	9.734	3.122	1.064	2.214	0.346					

ตารางที่ 6: ระดับสารออกฤทธิ์โคเลฟิโดเกรลในพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 20 คน หลังได้รับยาโคเลฟิโดเกรลแบบทดสอบ 75 มิลลิกรัม

ลำดับที่	Plasma concentration (ng/ml) for test product (Aplilets) at time (h)																			
	0 min	0.25 h	0.5 h	0.75 h	1 h	1.25 h	1.5 h	2 h	2.5 h	3 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h					
1	0	0.377	2.002	6.257	6.608	6.576	8.139	6.755	7.293	4.662	1.048	0	0	0	0					
2	0	10.226	55.306	52.098	21.411	12.554	7.275	2.693	1.193	0.850	0.433	0	0	0	0					
3	0	1.510	17.950	22.895	30.426	24.906	18.818	8.164	3.061	0.978	0.511	0.222	0	0	0					
4	0	8.289	29.558	27.077	14.866	8.375	6.214	1.772	0.631	0.406	0	0	0	0	0					
5	0	22.015	42.240	32.253	17.506	8.861	8.695	2.722	1.300	0.726	0.381	0.214	0	0	0					
6	0	13.660	30.905	28.114	18.073	11.451	7.299	3.256	1.590	0.763	0.455	0	0	0	0					
7	0	4.392	11.529	15.905	8.254	5.162	2.289	1.987	0.445	0.532	0.313	0	0	0	0					
8	0	0.382	16.765	22.678	19.570	22.157	20.322	11.614	3.338	1.658	0.424	0	0	0	0					
9	0	4.138	13.104	13.339	7.949	6.830	2.807	1.500	0.518	0.406	1.348	0	0	0.195	0					
10	0	1.576	20.283	30.067	16.932	11.704	6.181	3.954	1.169	0.559	0.251	0	0	0	0					
11	0	2.893	18.900	16.709	14.463	13.378	10.324	3.751	1.580	1.042	0.316	0	0	0	0					
12	0	7.777	28.518	24.237	38.462	17.609	34.285	21.294	12.000	4.762	1.353	0	0.287	0	0					
13	0	5.439	67.992	132.675	77.452	61.572	57.802	29.265	34.288	21.599	10.585	5.194	2.606	1.322	0.268					
14	0	12.348	28.469	23.120	10.580	9.697	4.666	1.412	0.668	0.585	0.276	0	0	0	0					
15	0	18.899	31.985	53.935	42.122	17.209	12.579	4.735	2.774	1.244	0.594	0.326	0.288	0	0					
16	0	2.303	22.781	17.830	10.565	15.167	9.255	2.484	1.371	0.694	0.306	0	0	0	0					
17	0	19.788	41.809	36.010	26.051	20.081	9.202	3.428	1.385	0.760	0.391	0.239	0	0	0					
18	0	17.604	34.354	28.052	17.950	11.261	6.152	1.206	0.740	0.638	0.250	0.191	0	0	0					
19	0	4.603	16.613	28.709	11.528	5.634	2.812	0.603	0.404	0.348	0	0	0	0	0					
20	0	6.228	34.934	31.152	7.501	7.386	4.896	1.181	0.960	0.532	0	0	0	0	0					
Mean	0	8.222	28.300	32.156	20.913	14.879	12.001	5.689	3.835	2.187	0.962	0.319	0.159	0.076	0.013					
SD	0	6.916	15.471	26.278	16.560	12.936	13.115	7.326	7.688	4.738	2.297	1.152	0.583	0.297	0.060					
96CV	0	84.107	54.669	81.721	79.185	82.913	109.285	128.774	200.457	216.633	238.860	360.922	366.345	390.940	447.214					
Minimum	0	0.377	2.002	6.257	6.608	5.162	2.289	0.603	0.404	0.348	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000					
Maximum	0	22.015	67.992	132.675	77.452	61.572	57.802	29.265	34.288	21.599	10.585	5.194	2.606	1.322	0.268					

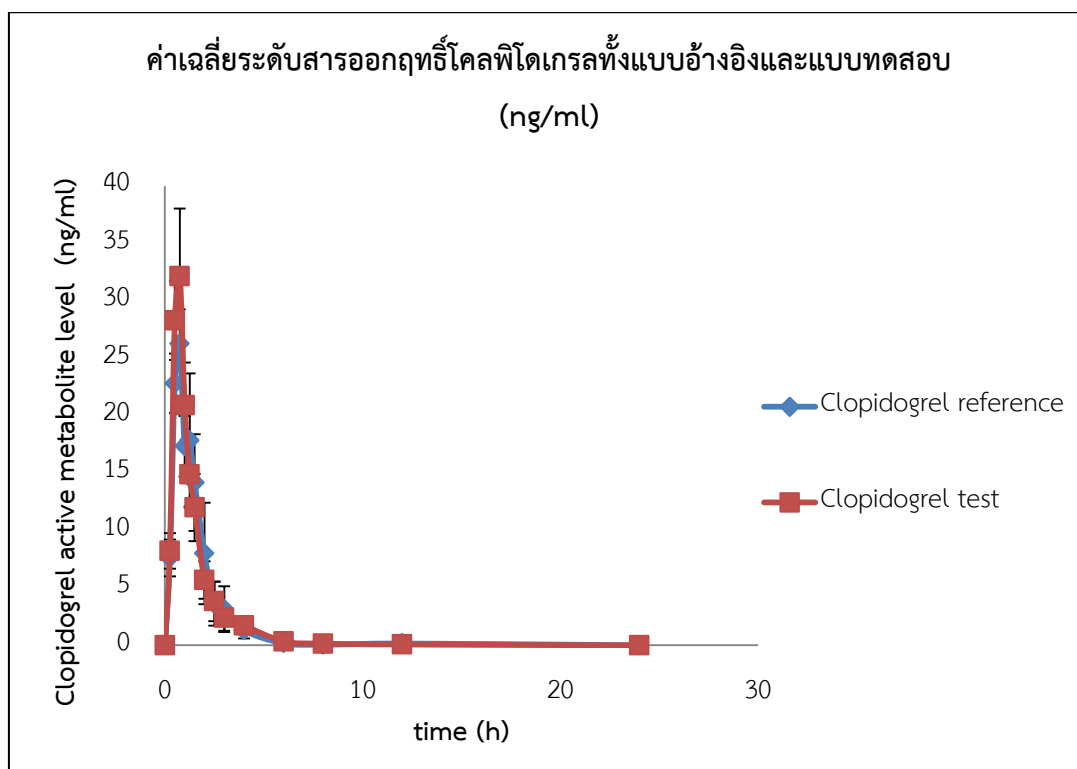


**ภาพที่ 7:** ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมา กับเวลาที่ก่อนเริ่มบริหารยาและที่เวลา 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแบบอ้างอิง ขนาด 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 20 คน



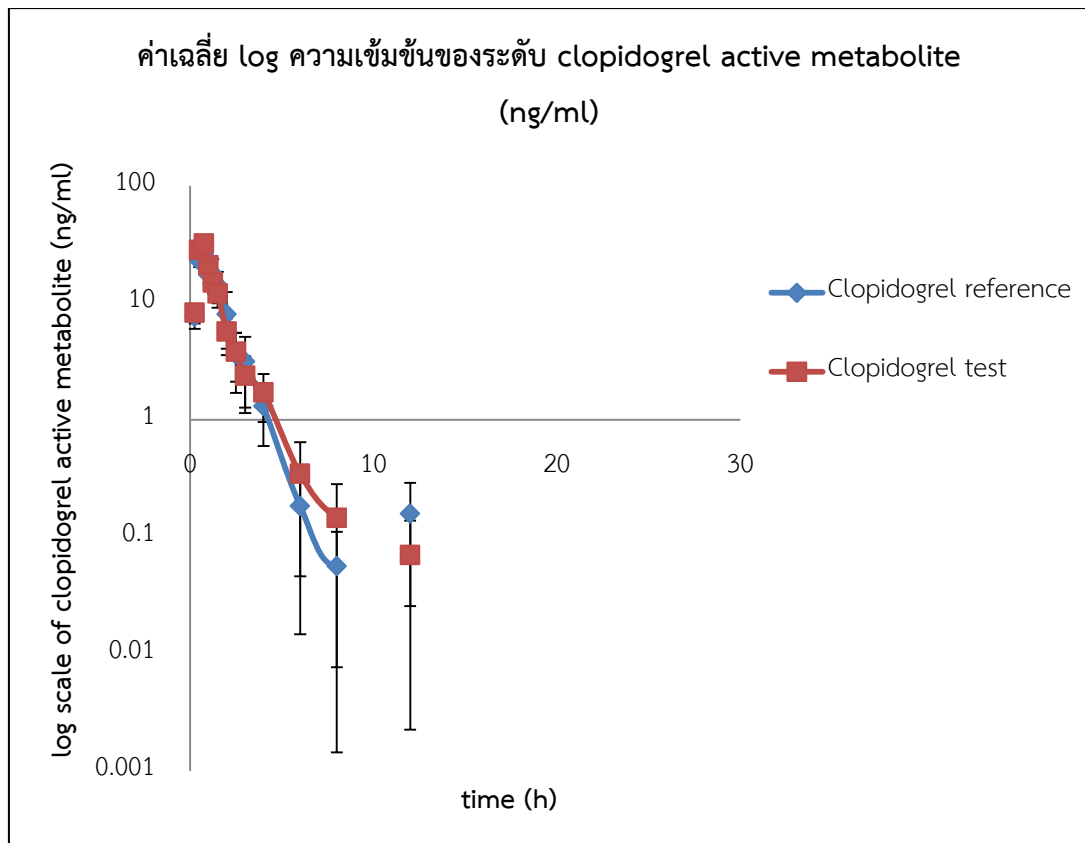
**ภาพที่ 8:** ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลแบบทดสอบในพลาสมา กับเวลา ก่อนเริ่มบริหารยา และที่ เวลา 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแบบทดสอบขนาด 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 20 คน

พบว่าหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแบบอ้างอิงและแบบทดสอบขนาด 75 มิลลิกรัม ห่างกันอย่างน้อย 1 สัปดาห์ โดยให้ยาแบบสุ่มข้ามสลับกับอาสาสมัครสุขภาพดีชาวไทยที่ได้รับยาทั้งสองชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



**ภาพที่ 9:** ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวไทยจำนวน 20 คน

จากภาพที่ 9 ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบของอาสาสมัครสุขภาพดี พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับยาออกฤทธิ์ของโคลพิโดเกรลไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 10: ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย log ความเข้มข้นของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมากับเวลาในอาสาสมัครสุขภาพดีที่ได้รับยาทั้ง 2 แบบ (n= 20)

ตารางที่ 7: ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลิตรีเคโรลแบบอ้างอิงและแบบทดสอบในพลาสมา (n= 20)

ลำดับที่	T <sub>max</sub> (h)		C <sub>max</sub> (ng/ml)		AU <sub>0-∞</sub> (ng·h/ml)		AU <sub>0-t</sub> (ng·h/ml)		Half-life (h)		k <sub>el</sub> (1/h)	
	reference	test	reference	test	reference	test	reference	test	reference	test	reference	test
1	0.750	1.500	23.631	8.139	20.915	14.167	21.511	16.993	0.555	1.869	1.249	0.971
2	0.750	0.500	42.208	55.906	32.017	39.182	32.445	39.919	0.465	0.601	1.491	1.153
3	1.000	1.000	16.156	30.426	21.962	29.747	22.391	29.988	0.369	0.327	1.880	2.122
4	0.750	0.500	35.299	29.558	29.047	25.211	29.329	25.487	0.285	0.303	2.430	2.287
5	0.500	0.500	49.070	42.240	47.292	37.049	48.059	37.599	0.559	0.524	1.241	1.922
6	0.750	0.500	43.804	30.905	35.085	24.118	35.790	24.644	0.585	0.478	1.185	1.451
7	0.750	0.750	19.387	15.905	23.701	13.012	24.511	13.416	0.441	0.526	1.570	1.918
8	0.750	0.750	36.705	22.678	27.363	27.124	28.011	27.975	0.551	0.356	1.259	1.947
9	0.750	0.750	13.195	13.339	12.508	12.359	12.945	13.147	0.414	0.405	1.673	1.712
10	0.500	0.750	13.859	30.067	11.186	11.615	11.481	12.022	0.326	0.505	2.127	1.971
11	1.500	0.500	16.293	18.900	23.728	21.436	24.424	22.509	0.581	0.714	1.192	0.971
12	0.500	1.000	34.624	38.462	41.975	61.900	42.359	62.848	0.441	0.486	1.572	1.427
13	1.250	0.750	127.110	132.675	118.582	165.193	176.271	171.190	18.061	3.144	0.038	0.220
14	0.750	0.500	23.614	28.469	17.818	20.789	18.268	21.453	0.568	0.787	1.221	0.581
15	0.750	0.750	35.504	53.935	36.647	50.273	37.783	50.875	1.330	0.703	0.521	0.986
16	1.500	0.500	27.628	22.781	29.176	19.182	30.318	19.726	0.495	0.544	1.400	1.275
17	0.500	0.500	29.031	41.809	28.207	38.287	28.613	38.792	0.339	0.460	2.044	1.506
18	0.750	0.500	25.997	34.354	29.677	30.293	30.002	30.595	0.260	0.327	2.668	2.118
19	0.750	0.750	8.615	28.709	10.135	17.772	10.411	18.097	0.345	0.374	2.008	1.855
20	0.500	0.500	32.714	34.934	23.951	23.720	24.788	24.047	0.547	0.425	1.266	1.629
Mean	0.800	0.688	32.722	35.680	31.049	34.121	34.486	35.066	1.376	0.693	1.502	1.396
SD	0.299	0.255	24.830	25.857	22.733	33.472	34.756	34.555	3.934	0.667	0.606	0.546
96CV	37.390	37.074	75.881	72.469	73.217	98.097	100.785	98.541	285.897	96.288	40.358	39.088
Minimum	0.500	0.500	8.615	8.139	10.135	11.615	10.411	12.022	0.260	0.303	0.038	0.220
Maximum	1.500	1.500	127.110	132.675	118.582	165.193	176.271	171.190	18.061	3.144	2.668	2.287



**ตารางที่ 8:** ค่าความเชื่อมั่นที่ 90% ของความแตกต่างของพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลแบบทดสอบเทียบกับแบบอ้างอิงในอาสาสมัครสุขภาพดี (n= 20)

Parameter	clopidogrel test	clopidogrel reference	90% CI (clopidogrel test/reference)	
			Lower limit (80%)	Upper limit (125%)
LnC <sub>max</sub> (ng/ml)	3.31±0.58	3.40±0.58	97.85%	107.86%
LnAUC <sub>0-t</sub> (ng.h/ml)	3.28±0.54	3.29±0.63	96.94%	102.91%
LnAUC <sub>0-inf</sub> (ng.h/ml)	3.32±0.60	3.326±0.62	97.44%	103.49%

**ตารางที่ 9:** เปรียบเทียบความแตกต่างของค่า T<sub>max</sub> และค่า t<sub>1/2</sub> ของยาโคลพิโดเกรลแบบทดสอบและอ้างอิงในอาสาสมัครสุขภาพดี (n= 20)

Parameter	clopidogrel test	clopidogrel reference	P-value
T <sub>max</sub> (h)	0.69±0.26	0.80±0.30	0.24
t <sub>1/2</sub> (h)	0.69±0.68	1.38±3.93	0.48

จากตารางที่ 8 พบว่า ยาทั้งสองมีความเท่าเทียมกันทางเภสัชจลนศาสตร์ ได้แก่ ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด (C<sub>max</sub>), พื้นที่ใต้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมากับเวลาที่เก็บตัวอย่างครั้งสุดท้ายที่สามารถวิเคราะห์ระดับยาได้ (AUC<sub>0-t</sub>) หรือถึงเวลาอนันต์ในรูปลอกการิทึม AUC<sub>0-inf</sub> โดยค่าความเท่าเทียมกันอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับในระดับความเชื่อมั่น 90% คือช่วง 80-125% และจากตารางที่ 9 ค่าครึ่งชีวิต (t<sub>1/2</sub>) ของการขจัดยาออก และเวลาที่ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด (T<sub>max</sub>) ของยาทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

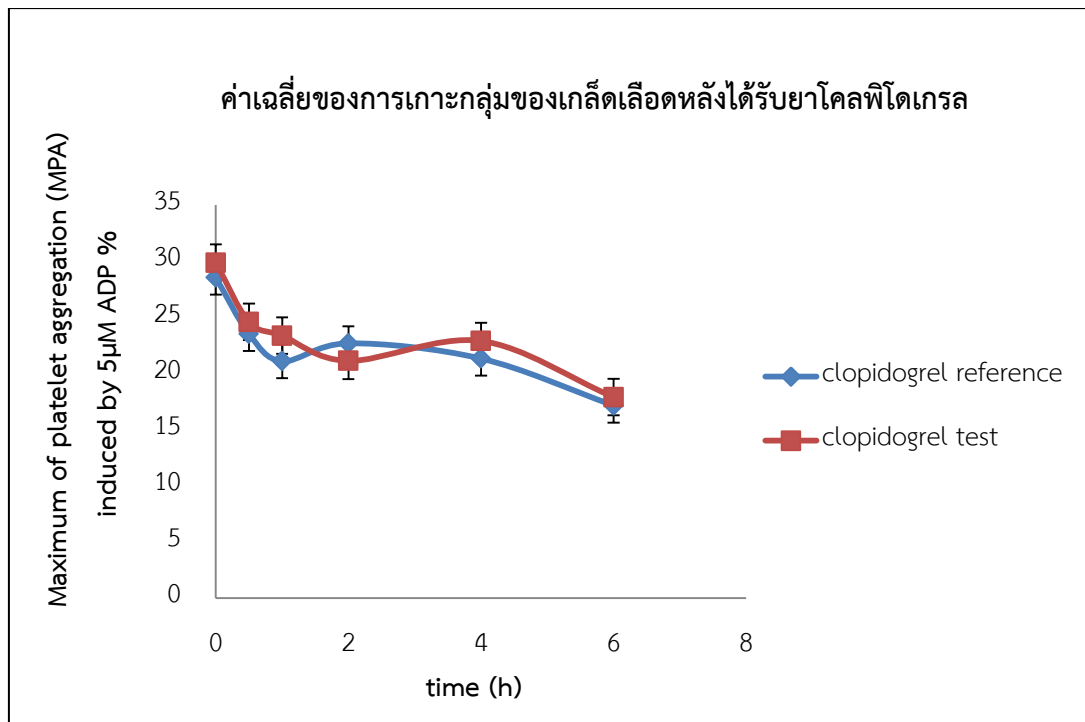
## 2. การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครสุขภาพดีที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ

จากตารางที่ 10 พบว่าค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดของอาสาสมัครสุขภาพดีที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบที่เวลาก่อนเริ่มบริหารยาและหลังบริหารยาที่เวลา 0.5, 1, 2, 4, และ 6 ชั่วโมง โดยวัดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วยเครื่อง Light Transmission Aggregometry (LTA) กระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5 และ 20 μM

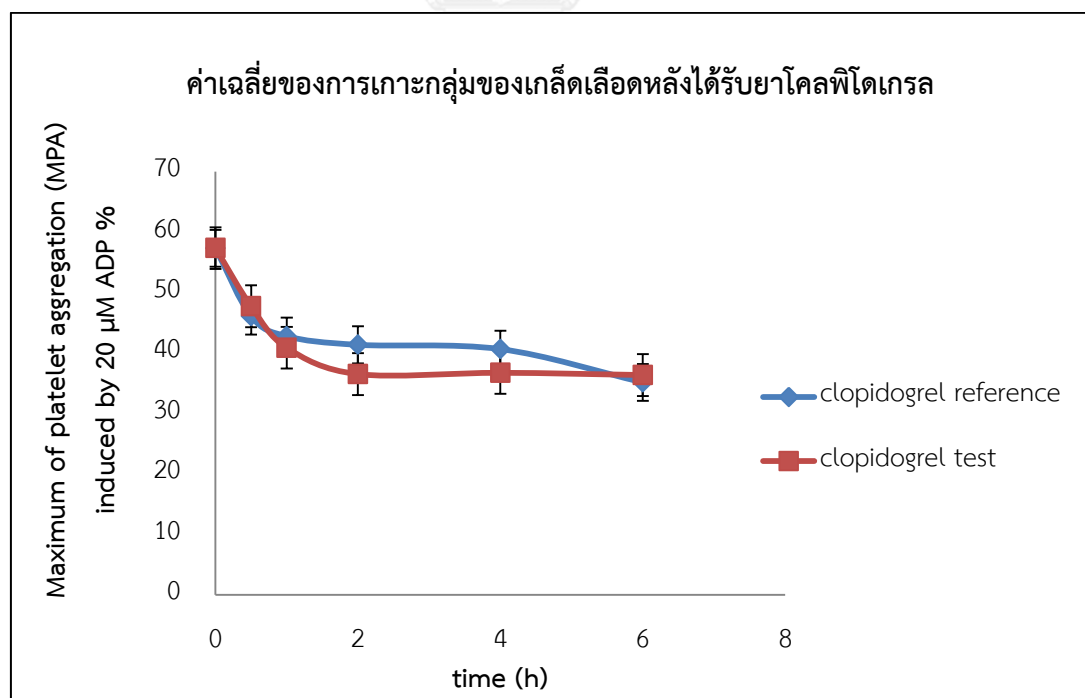
พบว่ายาทั้งสองให้ค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ณ จุดเวลาต่างๆไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดตามเวลาแสดงไว้ในภาพที่ 11-12

**ตารางที่ 10:** เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดสูงสุดหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้าอิงและแบบทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน

ADP agonist	time (h)	% Maximum of platelet aggregation		P-value
		Clopidogrel reference	Clopidogrel test	
5 $\mu$ M				
	Predose	28.53 $\pm$ 10.65	29.86 $\pm$ 15.58	0.79
	0.5	23.52 $\pm$ 9.45	24.59 $\pm$ 10.23	0.97
	1	21.09 $\pm$ 9.73	23.36 $\pm$ 10.29	0.64
	2	22.68 $\pm$ 8.70	21.12 $\pm$ 10.34	0.51
	4	21.32 $\pm$ 7.55	22.89 $\pm$ 13.69	0.95
	6	17.15 $\pm$ 8.33	17.89 $\pm$ 7.62	0.31
20 $\mu$ M				
	Predose	57.33 $\pm$ 19.60	57.36 $\pm$ 18.08	0.74
	0.5	46.10 $\pm$ 18.32	47.74 $\pm$ 19.25	0.90
	1	42.78 $\pm$ 18.34	40.88 $\pm$ 16.62	0.74
	2	41.36 $\pm$ 16.38	36.51 $\pm$ 18.03	0.13
	4	40.65 $\pm$ 15.52	36.73 $\pm$ 16.12	0.52
	6	35.15 $\pm$ 14.34	36.36 $\pm$ 15.97	0.22



ภาพที่ 11: ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  (n=20)

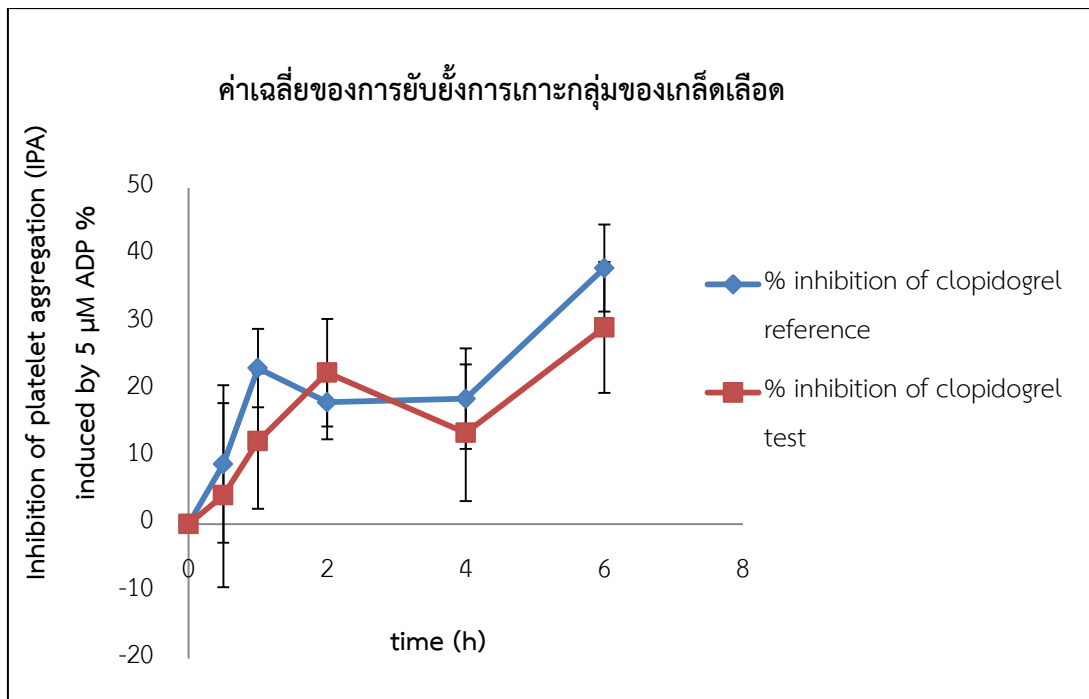


ภาพที่ 12: ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu\text{M}$  (n=20)

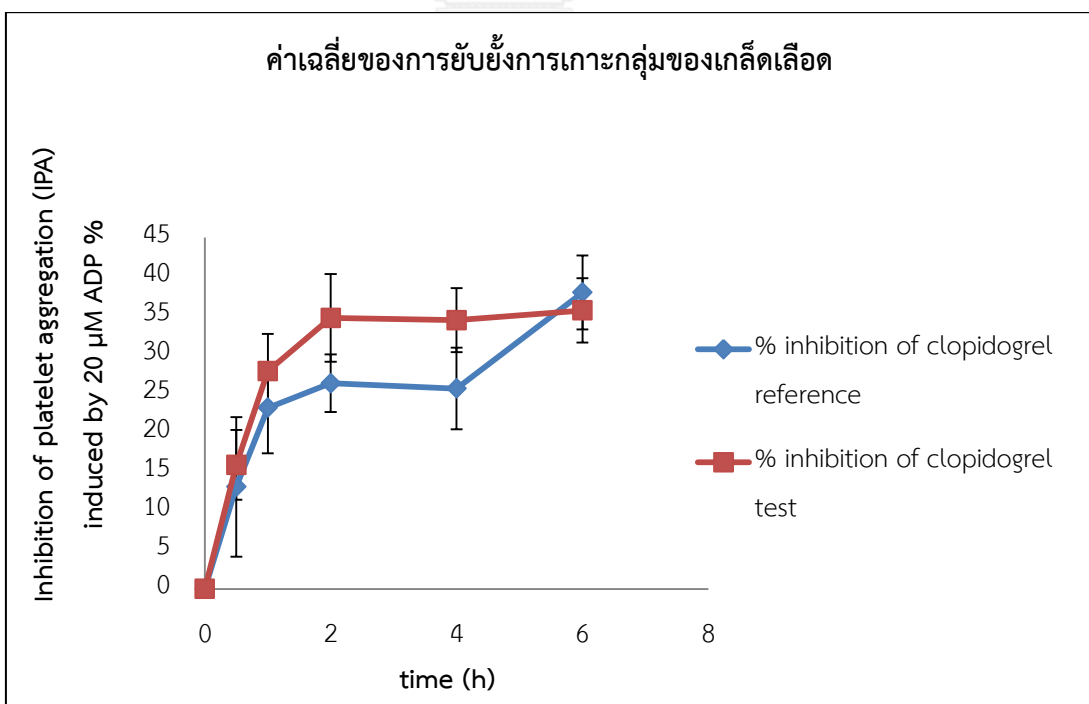
ส่วนค่าการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่ได้จากการคำนวณตามสูตรที่ได้กล่าวข้างต้น ในบทที่ 3 ที่เวลาก่อนเริ่มบริหารยาและหลังบริหารยาที่เวลา 0.5, 1, 2, 4, และ 6 ชั่วโมง ไม่แตกต่างกันระหว่างยาทั้งสองชนิดดังตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดตามเวลาแสดงไว้ในภาพที่ 13-14

**ตารางที่ 11:** เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดสูงสุดหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน

ADP agonist	time (h)	% Inhibition of platelet aggregation		P-value
		Clopidogrel reference	Clopidogrel test	
5 $\mu$ M				
	Predose	0	0	1.00
	0.5	8.92 $\pm$ 52.37	4.29 $\pm$ 61.20	0.57
	1	23.20 $\pm$ 26.06	12.34 $\pm$ 45.07	0.52
	2	18.11 $\pm$ 24.66	22.53 $\pm$ 35.79	0.81
	4	18.65 $\pm$ 33.36	13.57 $\pm$ 45.48	0.84
	6	38.07 $\pm$ 29.00	29.25 $\pm$ 43.56	0.53
20 $\mu$ M				
	Predose	0	0	1.00
	0.5	13.07 $\pm$ 39.95	15.88 $\pm$ 19.97	0.94
	1	23.19 $\pm$ 26.02	27.88 $\pm$ 21.38	0.60
	2	26.34 $\pm$ 16.46	34.7 $\pm$ 25.18	0.47
	4	25.66 $\pm$ 23.43	34.41 $\pm$ 18.38	0.94
	6	37.96 $\pm$ 21.10	35.66 $\pm$ 18.37	0.35



**ภาพที่ 13:** ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu$ M (n=20)



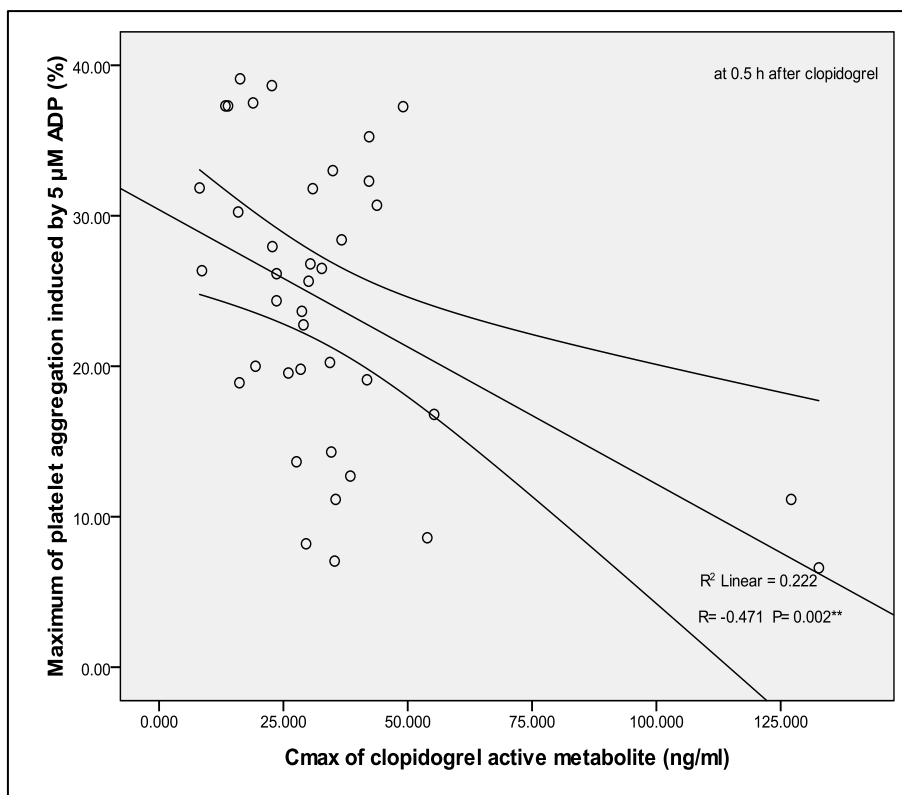
**ภาพที่ 14:** ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu$ M (n=20)

3. ความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครชาวไทยสุขภาพดีที่ได้รับยาโคลพิโดเกรล (n=40)

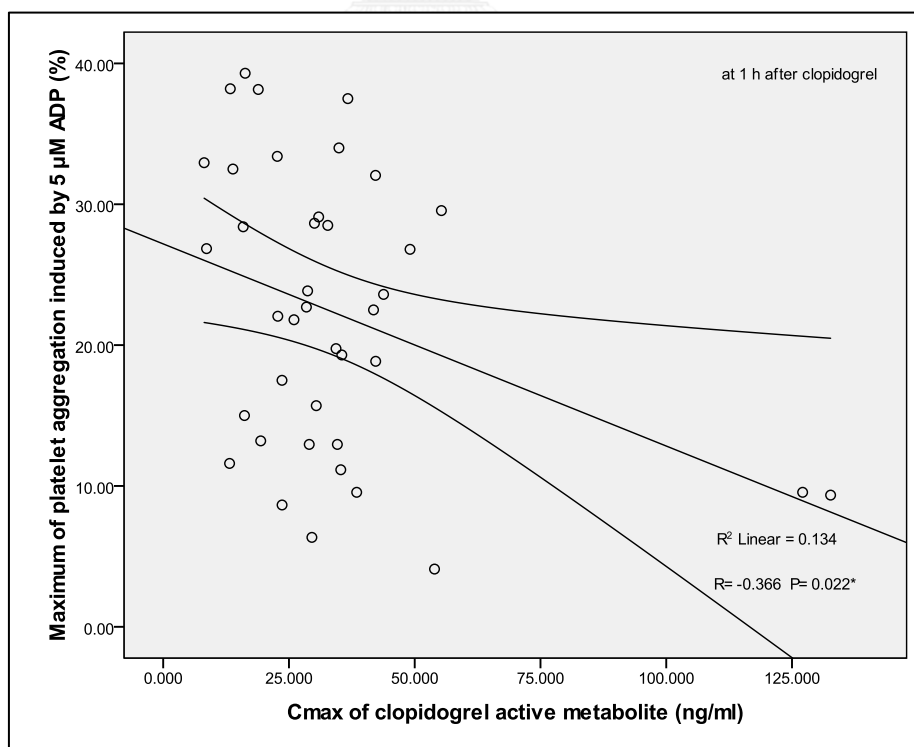
ระดับความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล ( $C_{max}$ ) ในพลาสมา มีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดแบบผกผัน เมื่อกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น 5 และ 20  $\mu\text{M}$  หลังบริหารยาที่เวลา 0.5, 1, 2, 4, และ 6 ชั่วโมง แสดงด้วยค่า correlation coefficient (R) และ P-value <0.05 ดังภาพที่ 15, 16

จากภาพที่ 15 A-E ความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมากับค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  หลังได้รับยาโคลพิโดเกรล ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง R= -0.471, P= 0.002 (A), 1 ชั่วโมง R= -0.366, P= 0.022 (B), 2 ชั่วโมง R= -0.406, P= 0.010 (C), 4 ชั่วโมง R= -0.370, P= 0.014 (D) และที่ 6 ชั่วโมง R= -0.395, P= 0.014 (E) พบว่าที่ทุกจุดเวลาค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $P < 0.05$

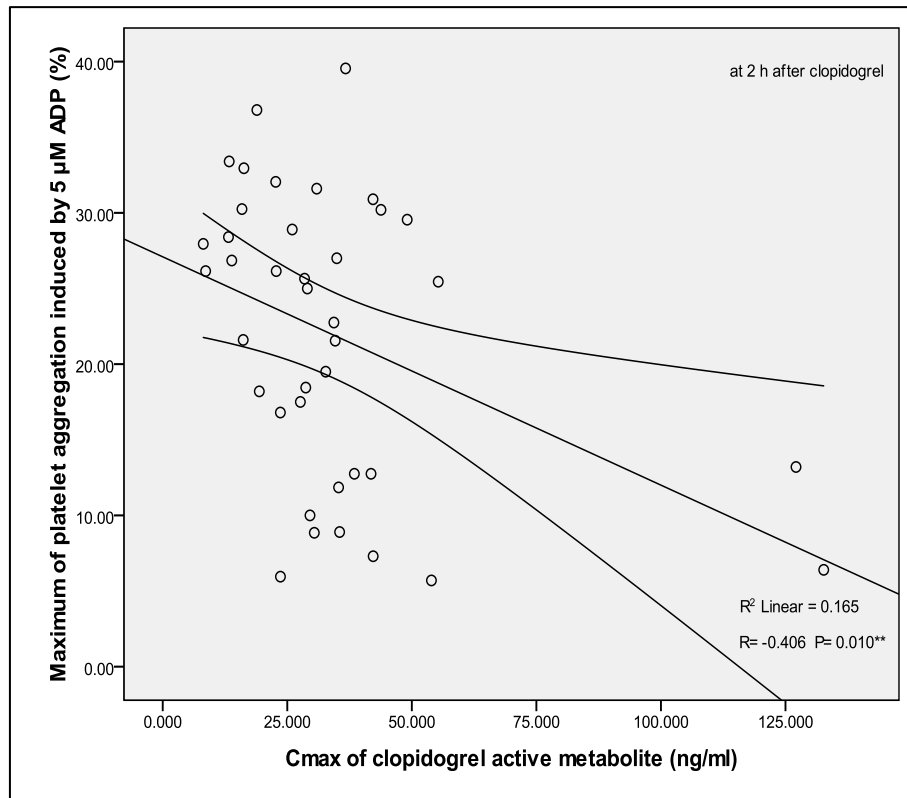




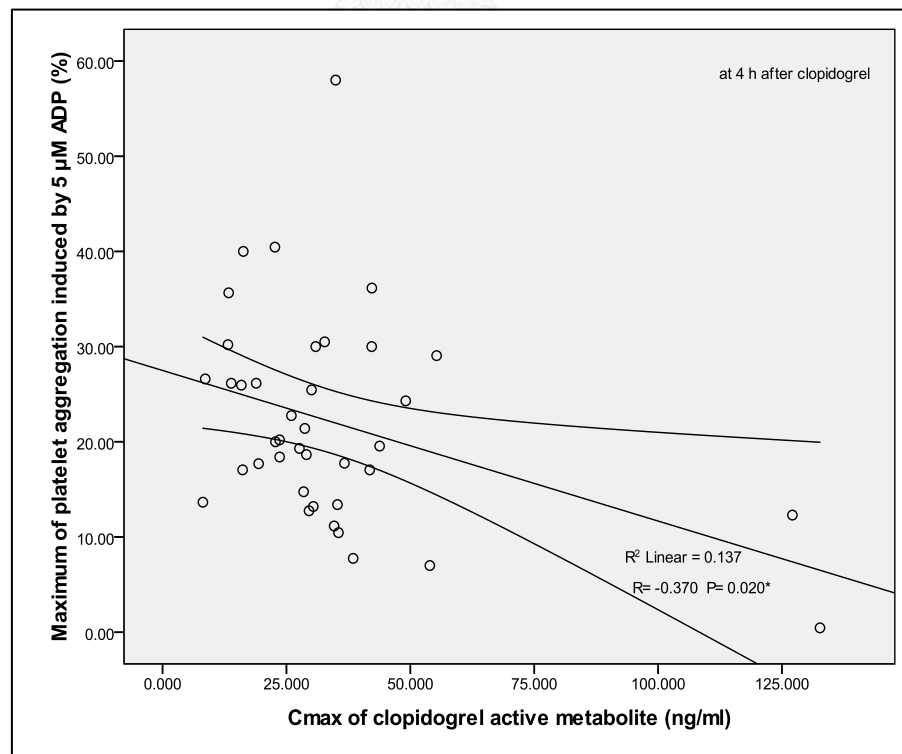
15 A: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 0.5 ชั่วโมง R = -0.471, P = 0.002



15 B: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 1 ชั่วโมง R = -0.366, P = 0.022

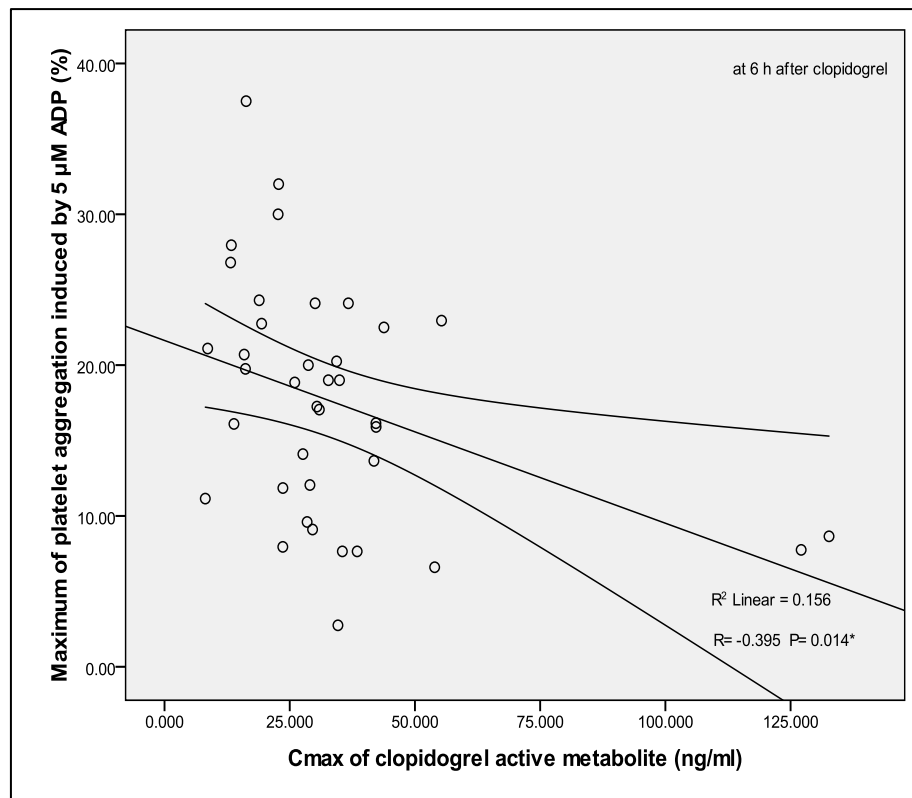


15 C: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 2 ชั่วโมง R = -0.406, P = 0.010



15 D: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 4 ชั่วโมง R = -0.370, P = 0.014



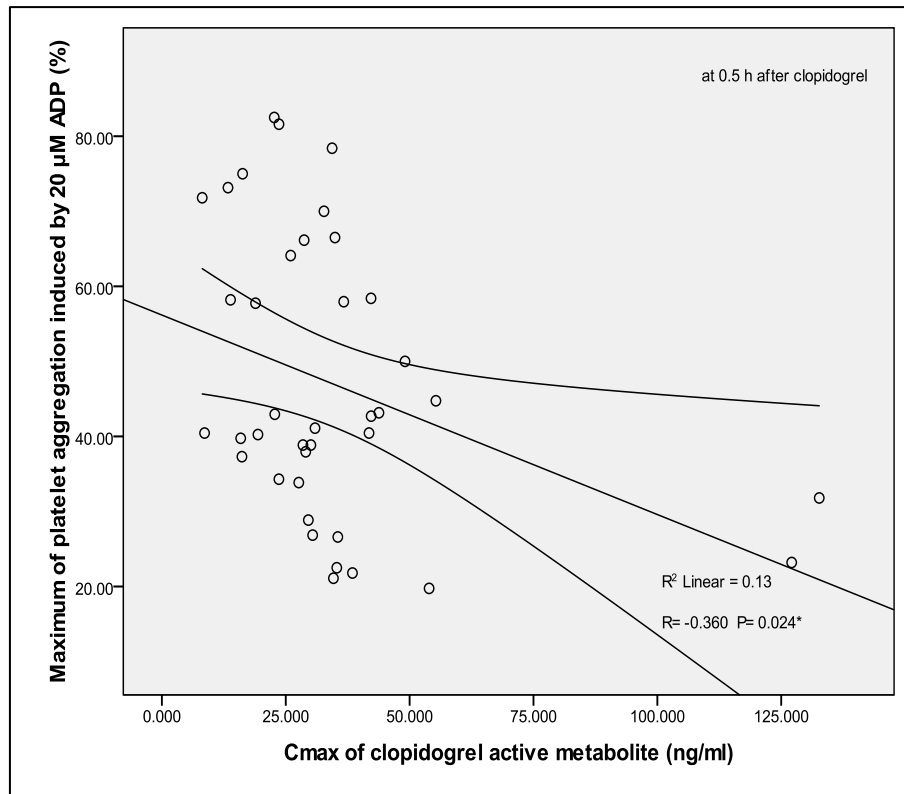


15 E: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 6 ชั่วโมง  $R = -0.395$ ,  $P = 0.014$

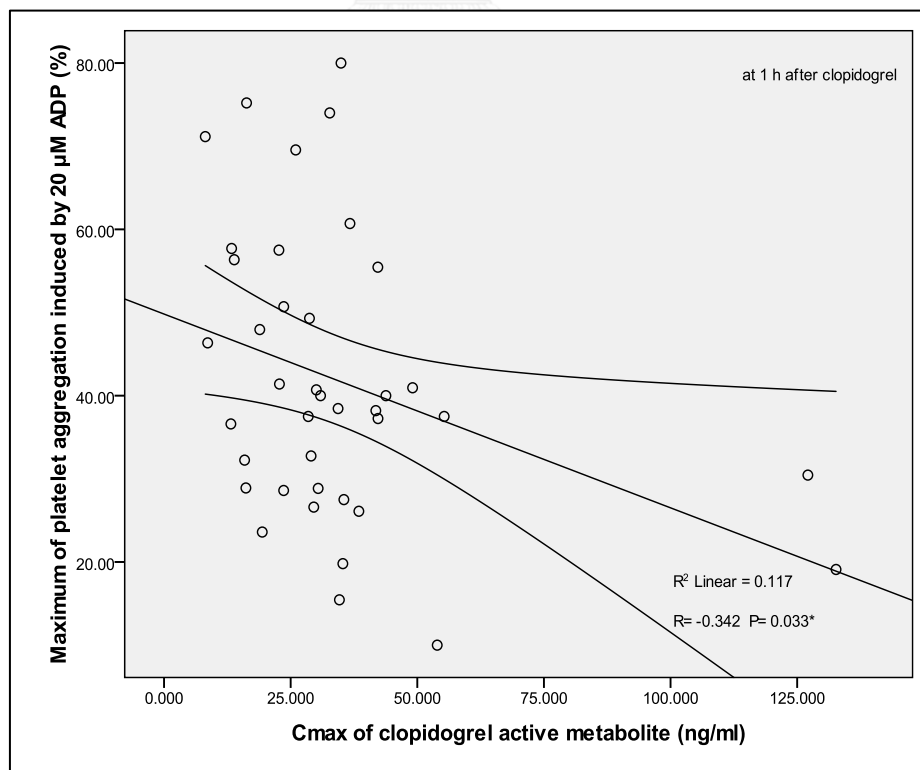
ภาพที่ 15 A-E: ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมากับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu$ M ( $n=40$ )

CHULALONGKORN UNIVERSITY

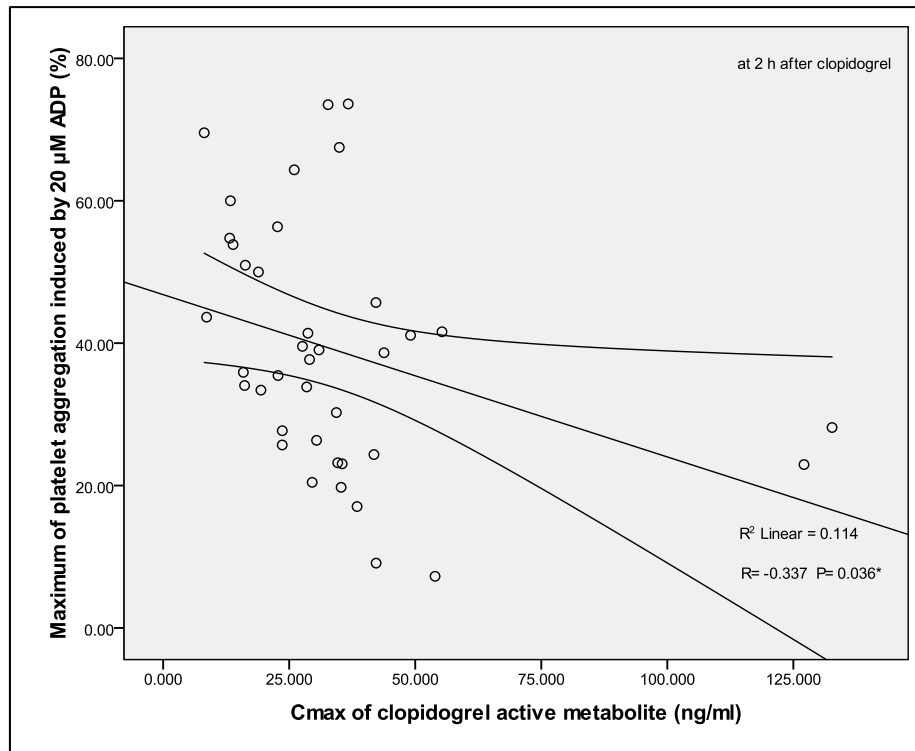
และจากภาพที่ 16 A-E ความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมากับค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu$ M หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแล้วที่เวลา 0.5 ชั่วโมง  $R = -0.360$ ,  $P = 0.024$  (A), 1 ชั่วโมง  $R = -0.342$ ,  $P = 0.033$  (B), 2 ชั่วโมง  $R = -0.337$ ,  $P = 0.036$  (C), 4 ชั่วโมง  $R = -0.371$ ,  $P = 0.020$  (D) และ ที่ 6 ชั่วโมง  $R = -0.381$ ,  $P = 0.016$  (E) พบว่าที่ทุกจุดเวลาค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $P < 0.05$



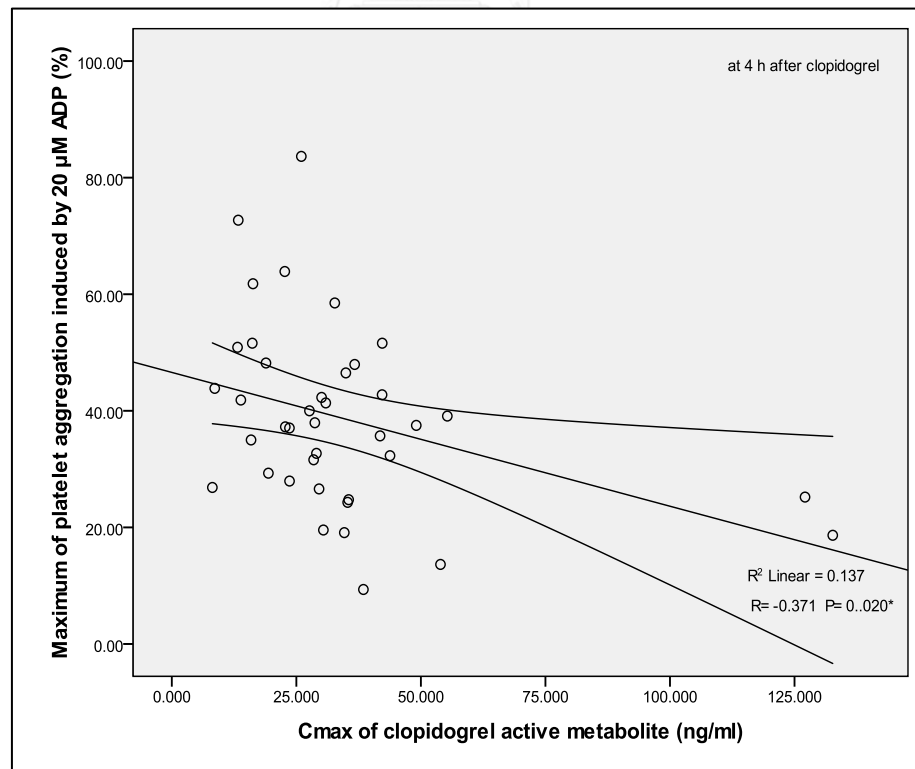
16 A: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 0.5 ชั่วโมง R = -0.360, P = 0.024



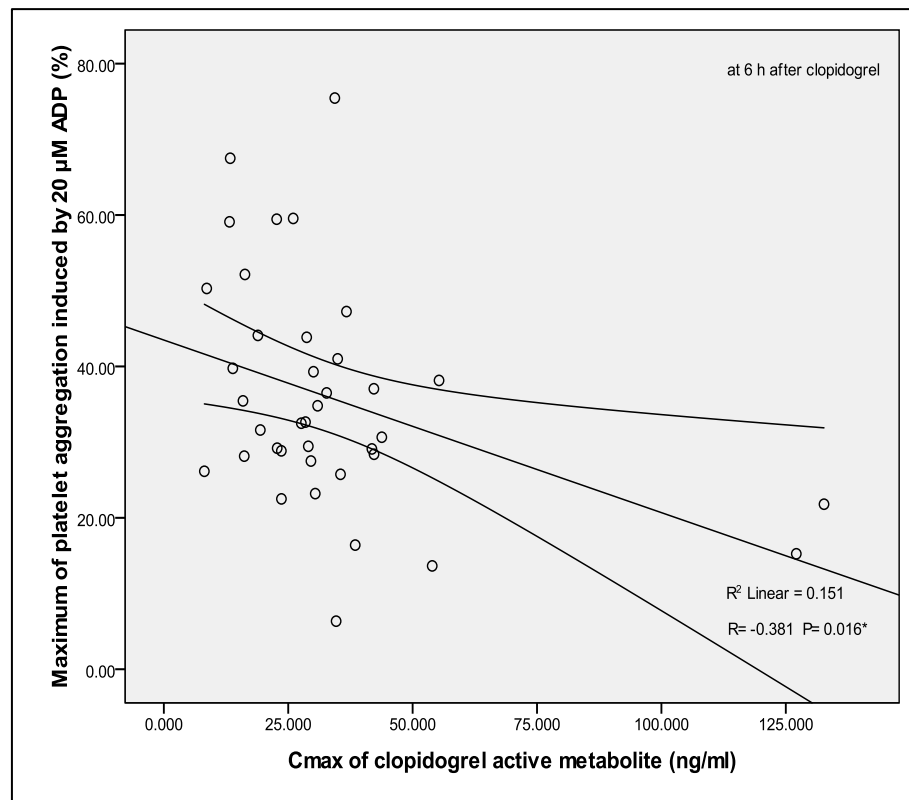
16 B: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 1 ชั่วโมง R = -0.342, P = 0.033



16 C: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 2 ชั่วโมง R = -0.337, P = 0.036



16 D: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 4 ชั่วโมง R = -0.371, P = 0.020

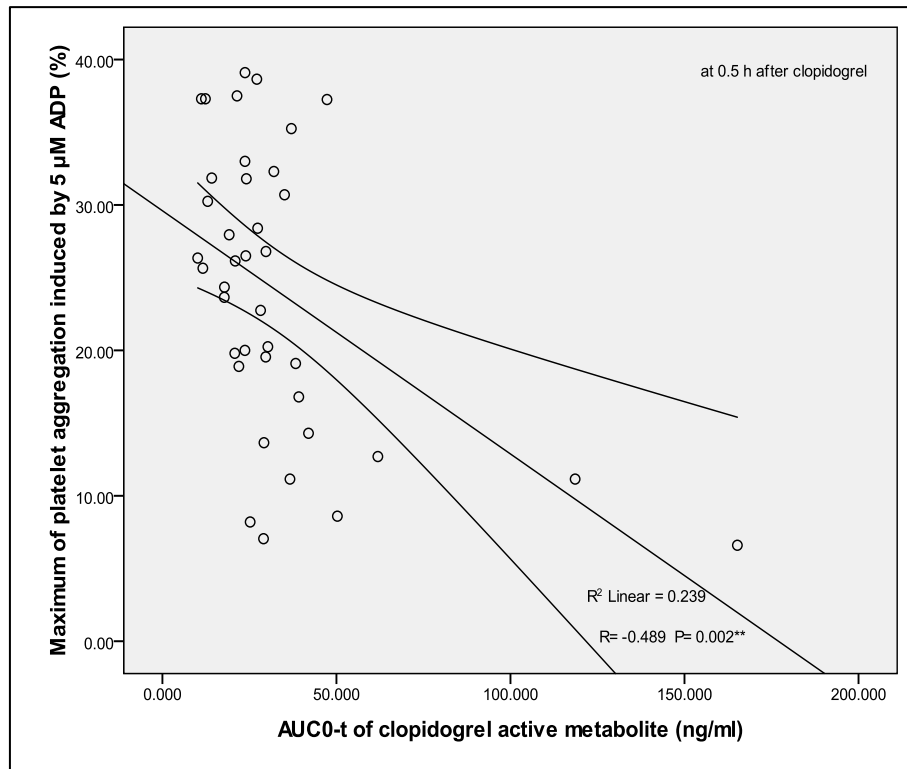


16 E: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 6 ชั่วโมง R = -0.381, P = 0.016

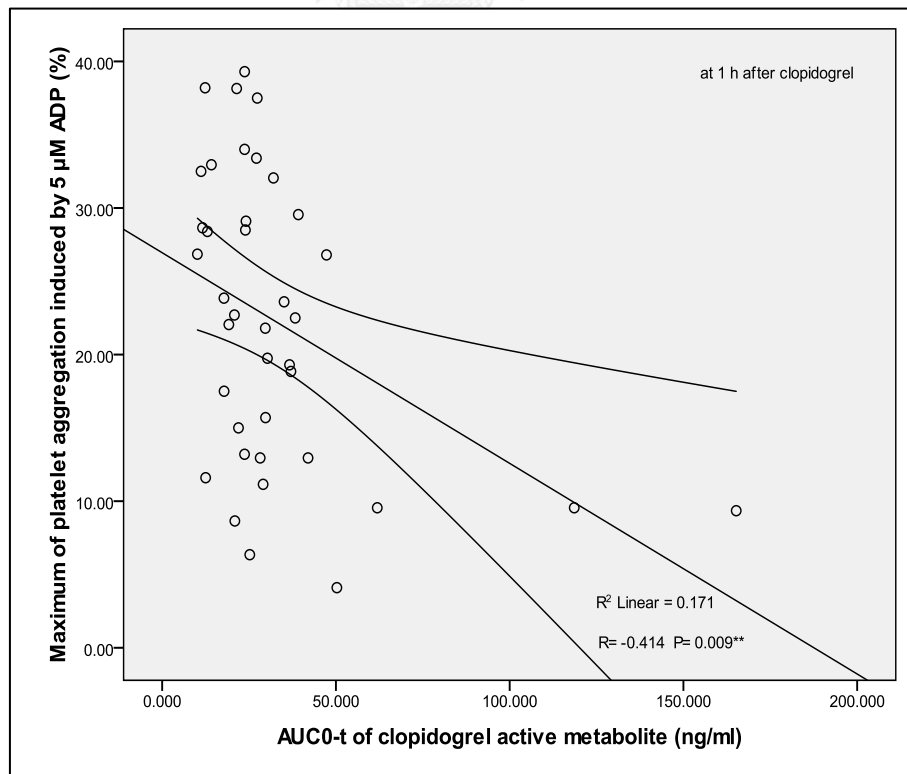
ภาพที่ 16 A-E: ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมากับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu$ M (n=40)

พื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-t}$  ตั้งแต่เวลา 0 ถึงเวลาสุดท้ายที่สามารถวิเคราะห์ได้ในพลาสมามีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดแบบผกผัน เมื่อกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น 5 และ 20  $\mu$ M หลังบริหารยาที่เวลา 0.5, 1, 2, 4, และ 6 ชั่วโมง แสดงด้วยค่า correlation coefficient (R) และ P-value <0.05 ดังภาพที่ 17 และ 18

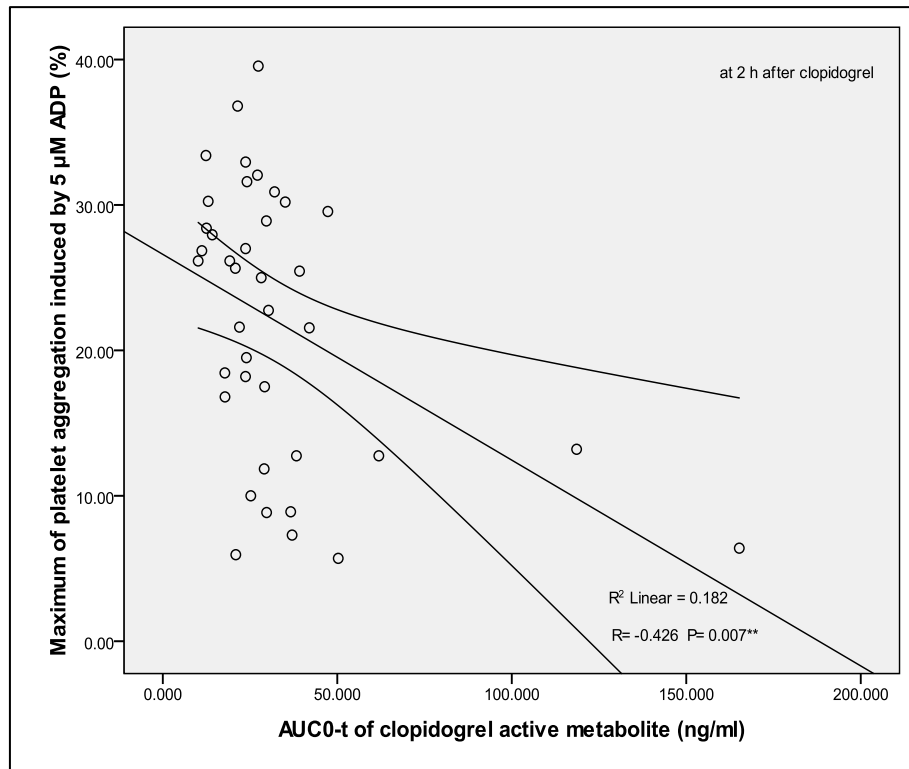
จากภาพที่ 17 A-E ความสัมพันธ์ของพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-t}$  กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu$ M หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแล้วที่เวลา 0.5 ชั่วโมง R = -0.489, P = 0.002 (A), 1 ชั่วโมง R = -0.414, P = 0.009 (B), 2 ชั่วโมง R = -0.426, P = 0.007 (C), 4 ชั่วโมง R = -0.454, P = 0.004 (D) และ 6 ชั่วโมง R = -0.413, P = 0.010 (E) พบว่าที่ทุกจุดเวลาค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P < 0.05



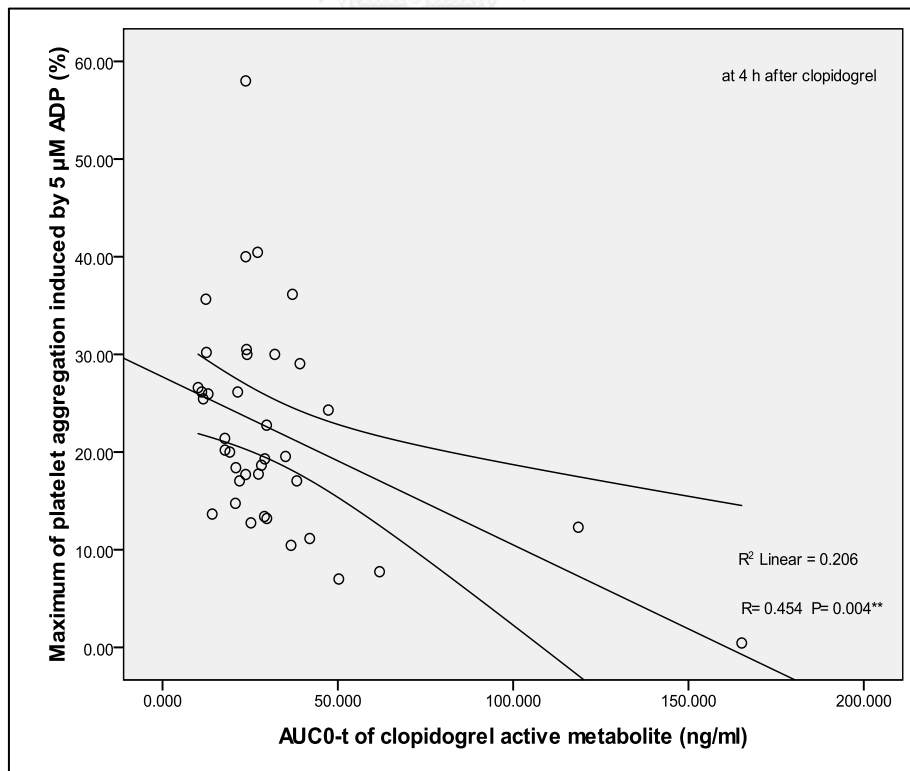
17 A: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 0.5 ชั่วโมง R = -0.489, P = 0.002



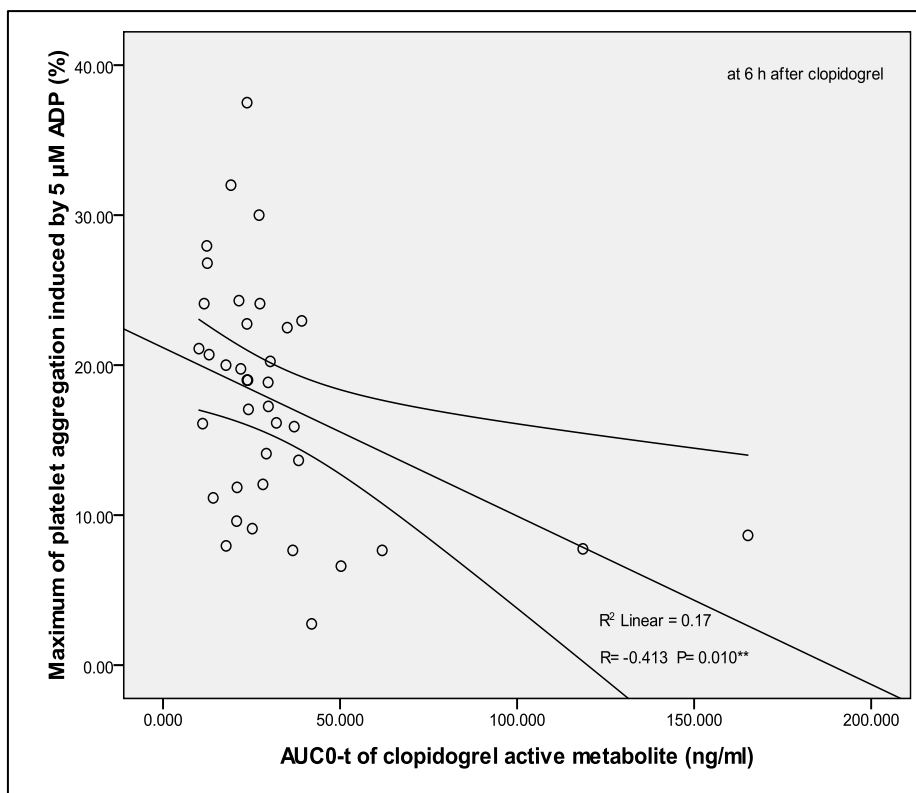
17 B: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 1 ชั่วโมง R = -0.414, P = 0.009



17 C: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 2 ชั่วโมง R = -0.426, P = 0.007



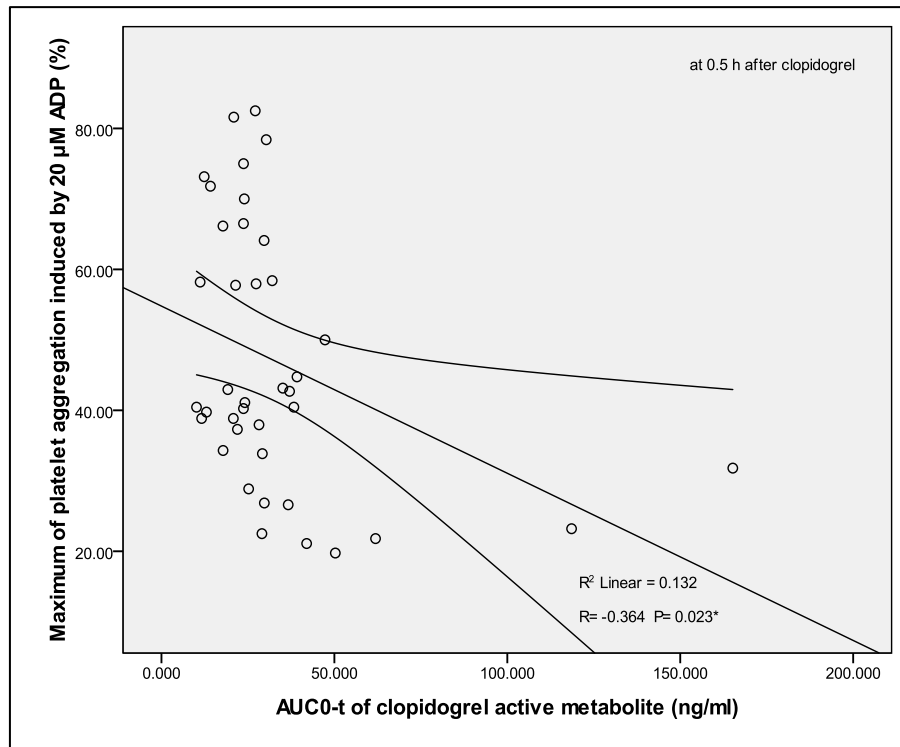
17 D: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 4 ชั่วโมง R = -0.454, P = 0.004



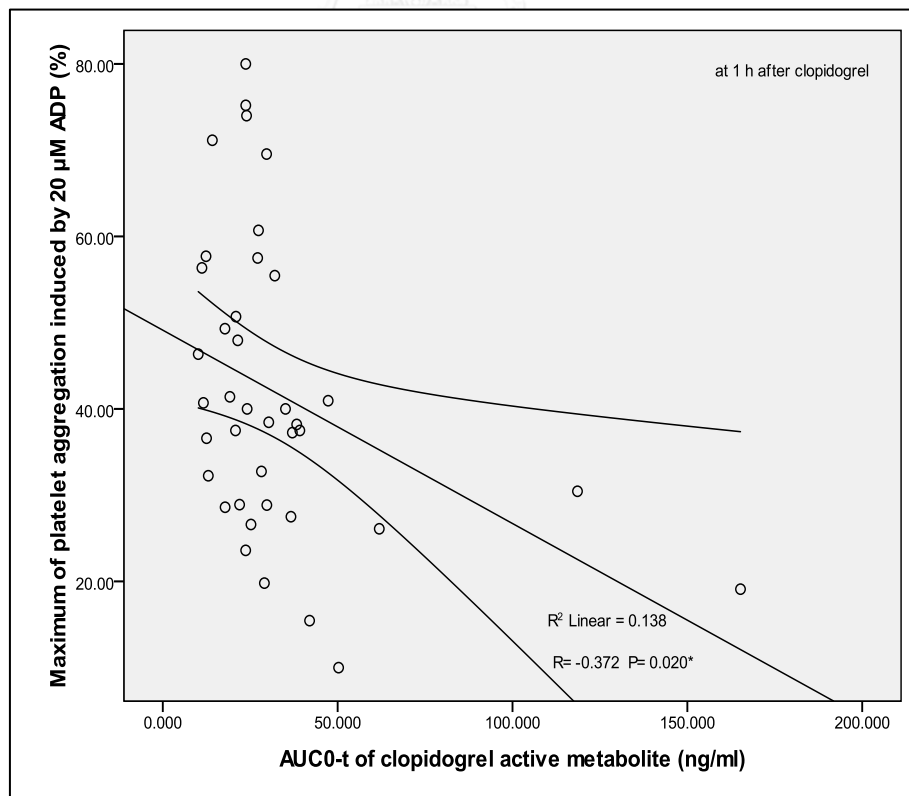
17 E: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 6 ชั่วโมง  $R = -0.413$ ,  $P = 0.010$

ภาพที่ 17 A-E: ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-t}$  กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu$ M (n=40)

และจากภาพที่ 18 A-E ความสัมพันธ์ของพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-t}$  ตั้งแต่เวลา 0 ถึงเวลาสุดท้ายที่สามารถวิเคราะห์ระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลได้ในพลาสมา กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu$ M หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแล้ว ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง  $R = -0.364$ ,  $P = 0.023$  (A), 1 ชั่วโมง  $R = -0.372$ ,  $P = 0.020$  (B), 2 ชั่วโมง  $R = -0.347$ ,  $P = 0.030$  (C), 4 ชั่วโมง  $R = -0.392$ ,  $P = 0.013$  (D) และ 6 ชั่วโมง  $R = -0.403$ ,  $P = 0.012$  (E) พบว่าที่ทุกจุดเวลาค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $P < 0.05$

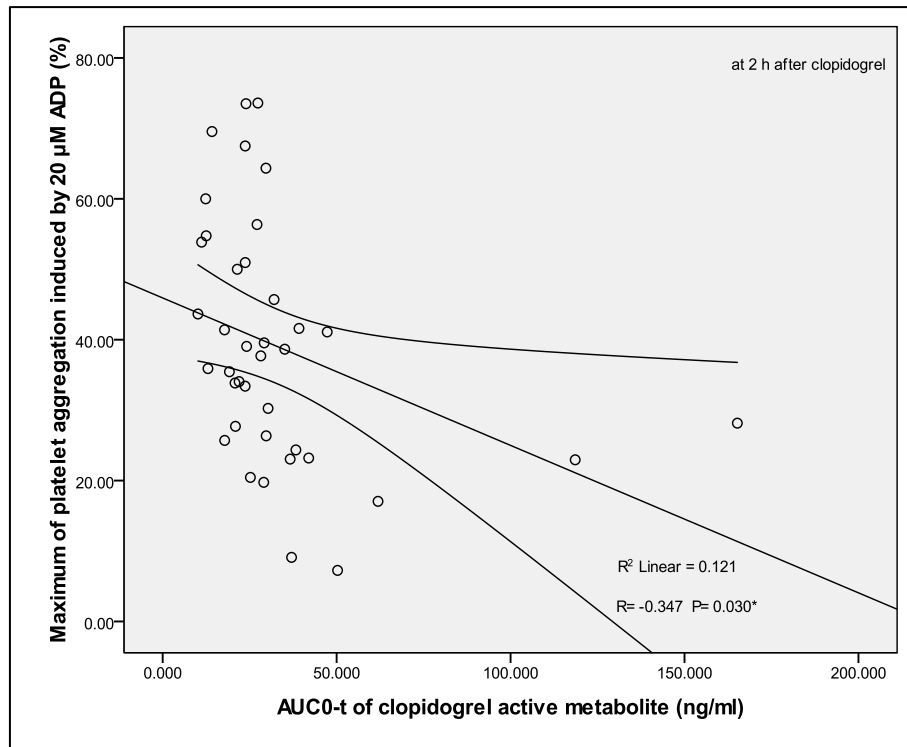


18 A: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 0.5 ชั่วโมง  $R = -0.364$ ,  $P = 0.023$

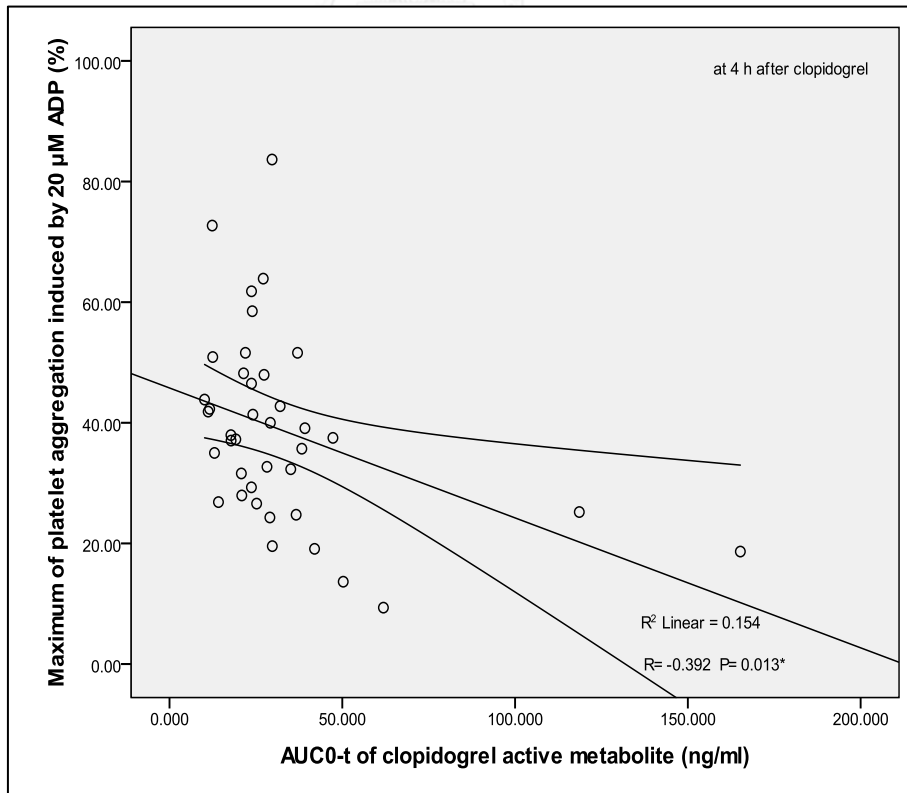


18 B: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 1 ชั่วโมง  $R = -0.372$ ,  $P = 0.020$

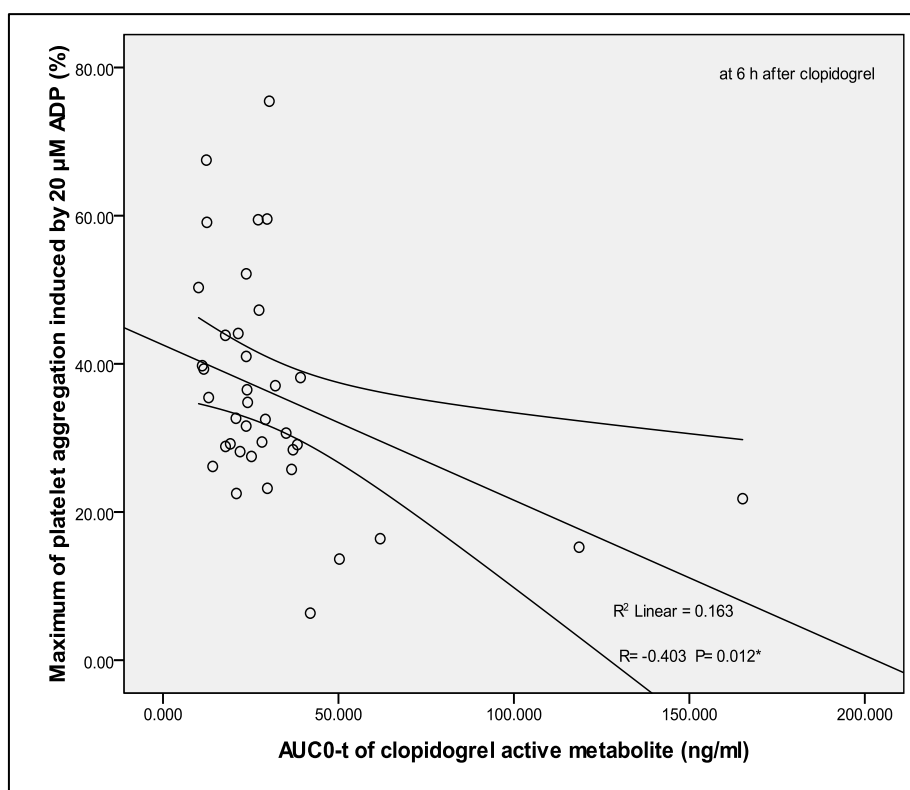




18 C: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 2 ชั่วโมง  $R = -0.347$ ,  $P = 0.030$



18 D: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 4 ชั่วโมง  $R = -0.392$ ,  $P = 0.013$

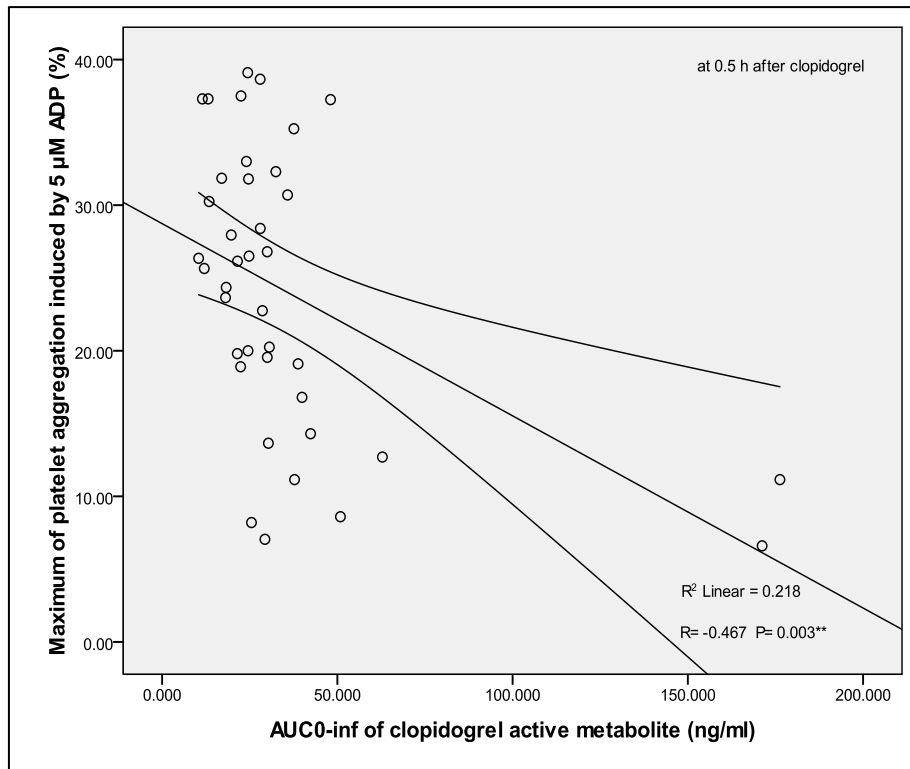


18 E: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 6 ชั่วโมง  $R = -0.403$ ,  $P = 0.012$

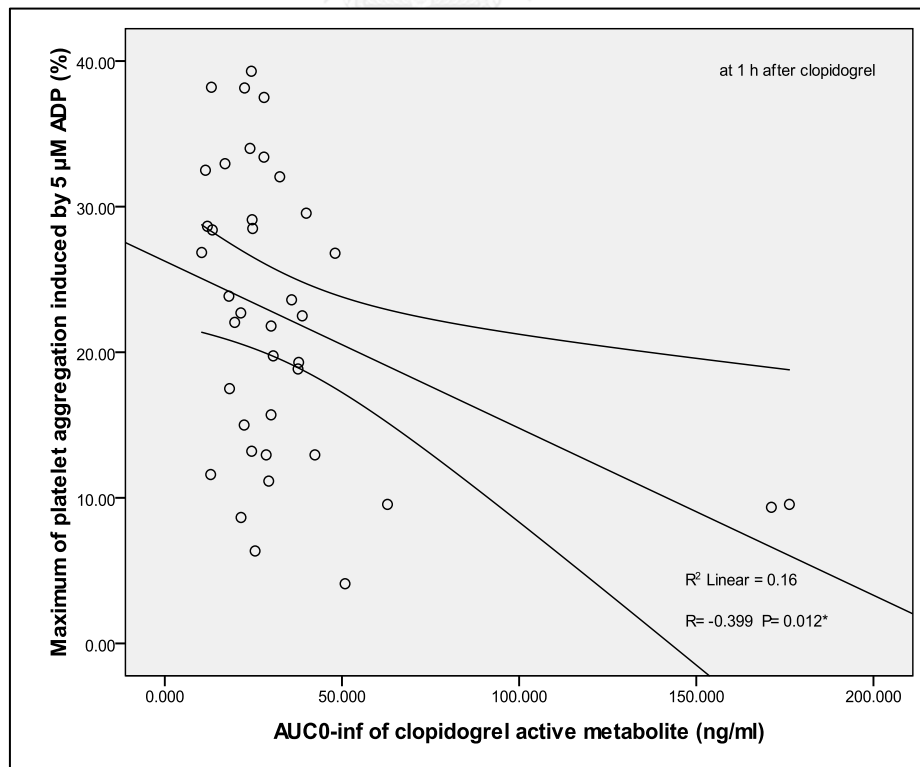
ภาพที่ 18 A-E: ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-t}$  กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu$ M ( $n=40$ )

ความสัมพันธ์ของพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-inf}$  แสดงถึงระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมา ตั้งแต่เวลา 0 ถึงเวลาระยะอนันต์ (infinity) มีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดแบบผกผัน เมื่อกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น 5 และ 20  $\mu$ M หลังบริหารยาที่เวลา 0.5, 1, 2, 4, และ 6 ชั่วโมง แสดงด้วยค่า correlation coefficient (R) และ P-value  $<0.05$  ดังภาพที่ 19 และ 20

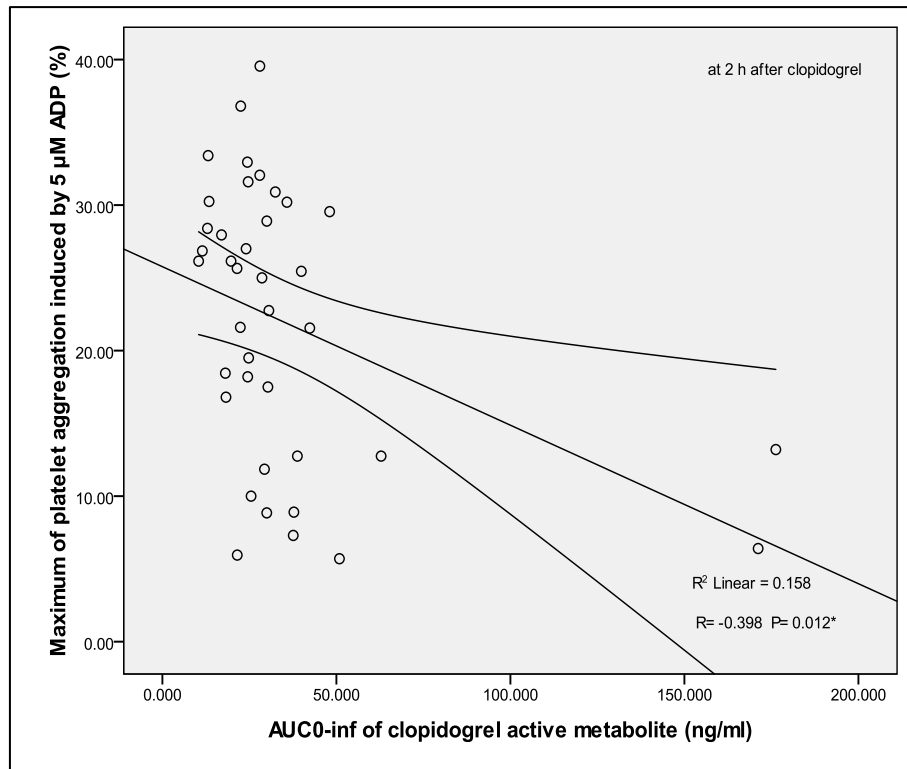
จากภาพที่ 19 A-E ความสัมพันธ์ของพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-inf}$  กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu$ M หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแล้ว ที่เวลา 0.5 ชั่วโมง  $R = -0.467$ ,  $P = 0.003$  (A), 1 ชั่วโมง  $R = -0.399$ ,  $P = 0.012$  (B), 2 ชั่วโมง  $R = -0.398$ ,  $P = 0.012$  (C), 4 ชั่วโมง  $R = -0.424$ ,  $P = 0.007$  (D) และ 6 ชั่วโมง  $R = -0.401$ ,  $P = 0.012$  (E) พบว่าที่ทุกจุดเวลาค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $P < 0.05$



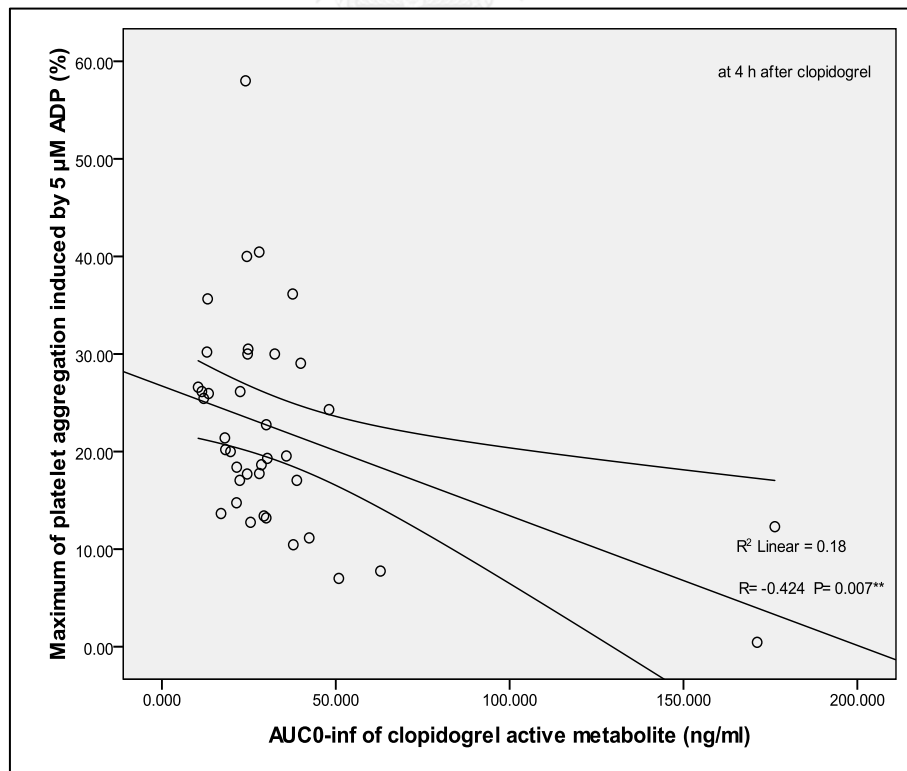
19 A: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 0.5 ชั่วโมง  $R = -0.467$ ,  $P = 0.003$



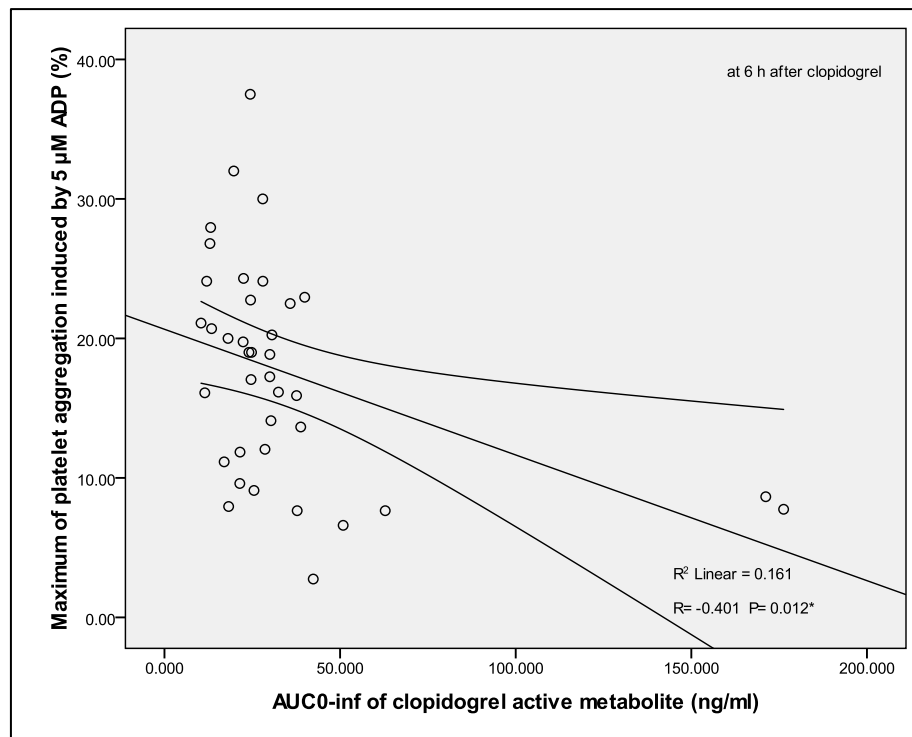
19 B: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 1 ชั่วโมง  $R = -0.399$ ,  $P = 0.012$



19 C: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 2 ชั่วโมง  $R = -0.398$ ,  $P = 0.012$



19 D: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 4 ชั่วโมง  $R = -0.424$ ,  $P = 0.007$

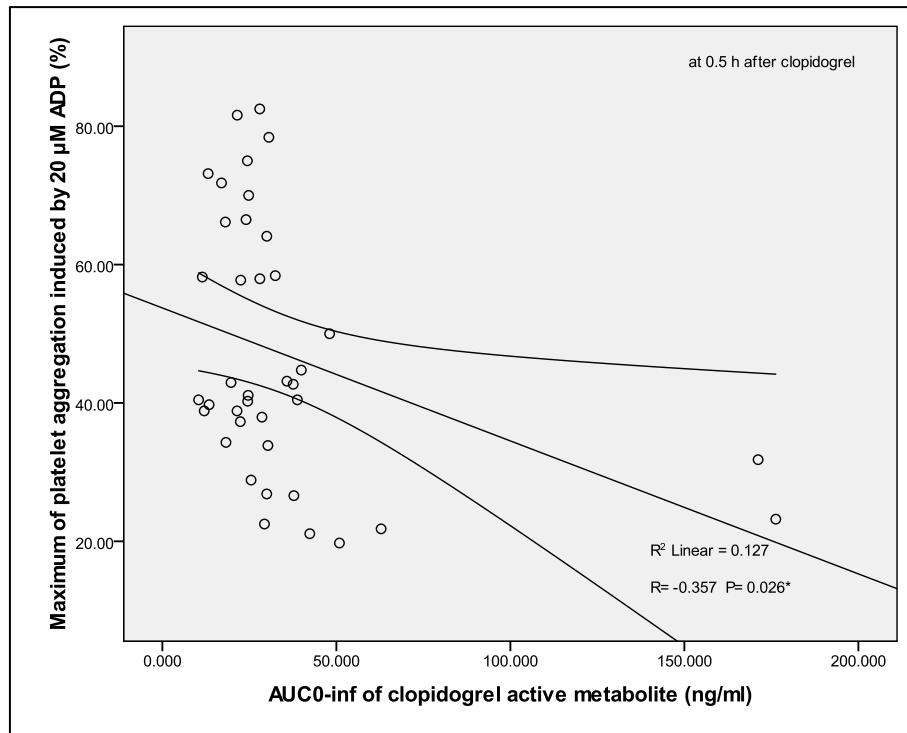


19 E: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 6 ชั่วโมง R= -0.401, P= 0.012

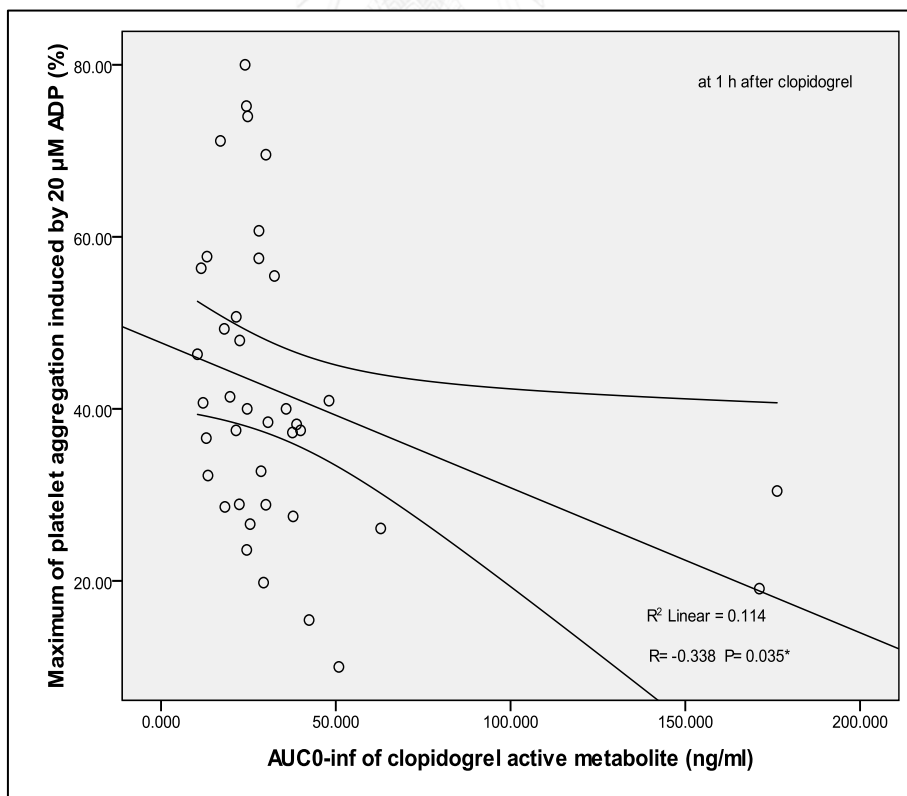
ภาพที่ 19 A-E: ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ AUC<sub>0-inf</sub> กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu$ M (n=40)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

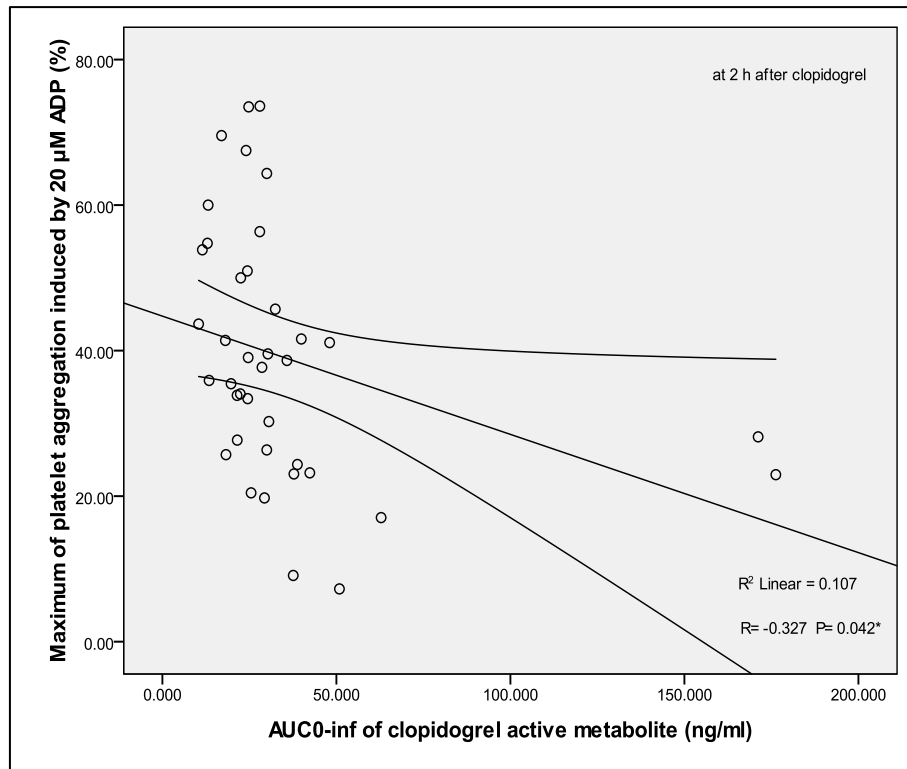
และจากภาพที่ 20 A-E ความสัมพันธ์ของ AUC<sub>0-inf</sub> กับค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu$ M หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลแล้วที่เวลา 0.5 ชั่วโมง R= -0.357, P= 0.026 (A), 1 ชั่วโมง R= -0.338, P= 0.035 (B), 2 ชั่วโมง R= -0.327, P= 0.042 (C), 4 ชั่วโมง R= -0.368, P= 0.021 (D) และ 6 ชั่วโมง R= -0.399, P= 0.013 (E) พบว่าที่ทุกจุดเวลาค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P < 0.05



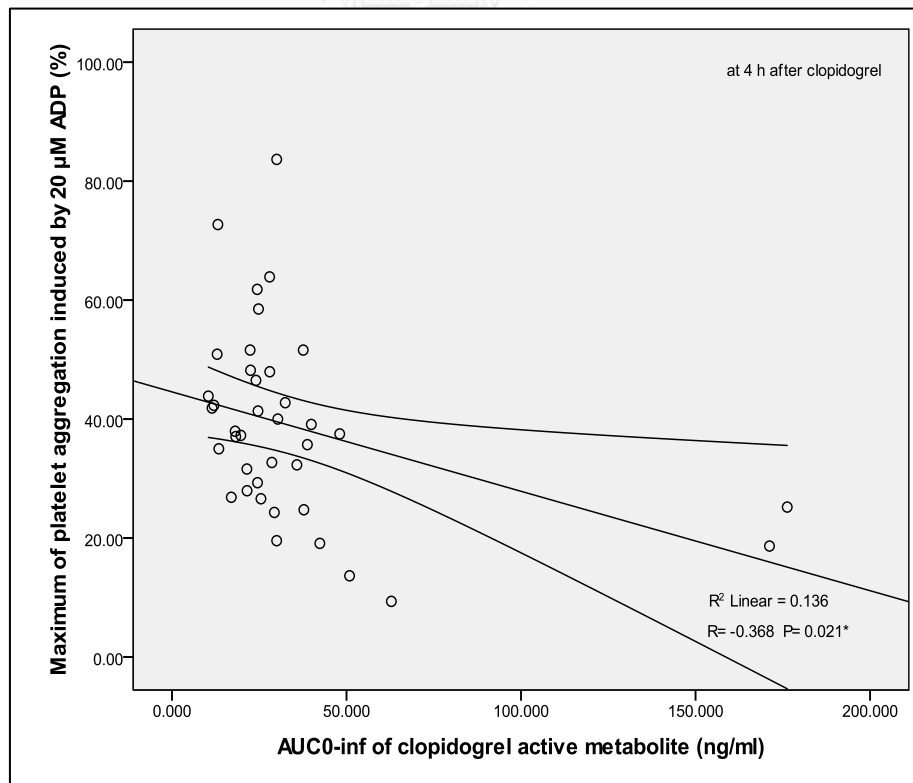
20 A: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 0.5 ชั่วโมง R = -0.357, P = 0.026



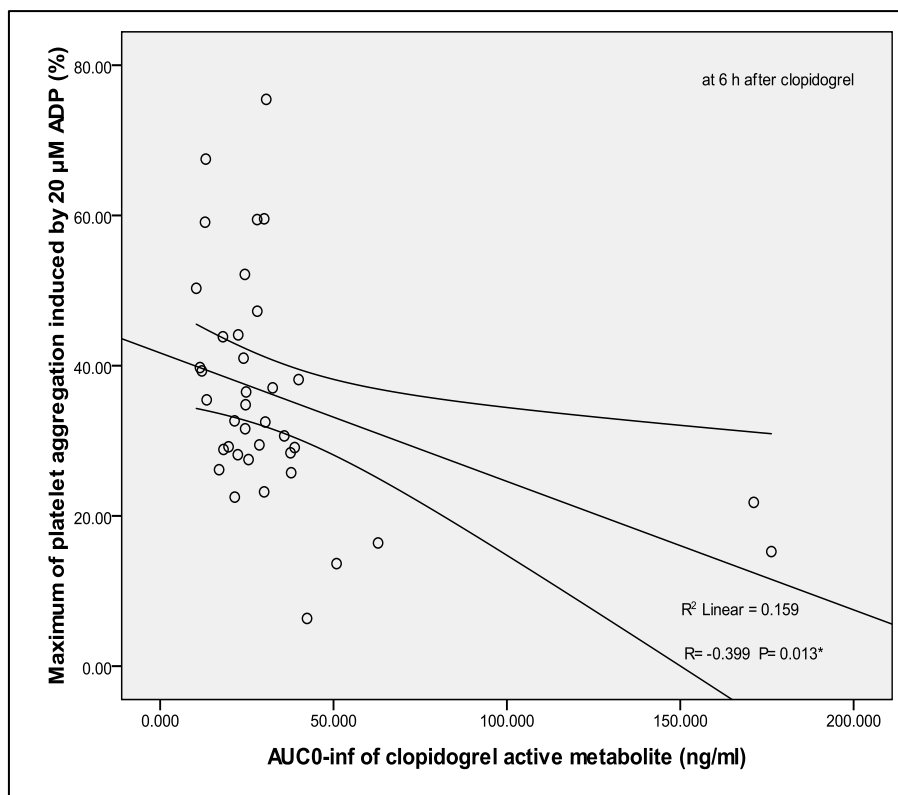
20 B: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 1 ชั่วโมง R = -0.338, P = 0.035



20 C: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 2 ชั่วโมง R = -0.327, P = 0.042



20 D: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 4 ชั่วโมง R = -0.368, P = 0.021



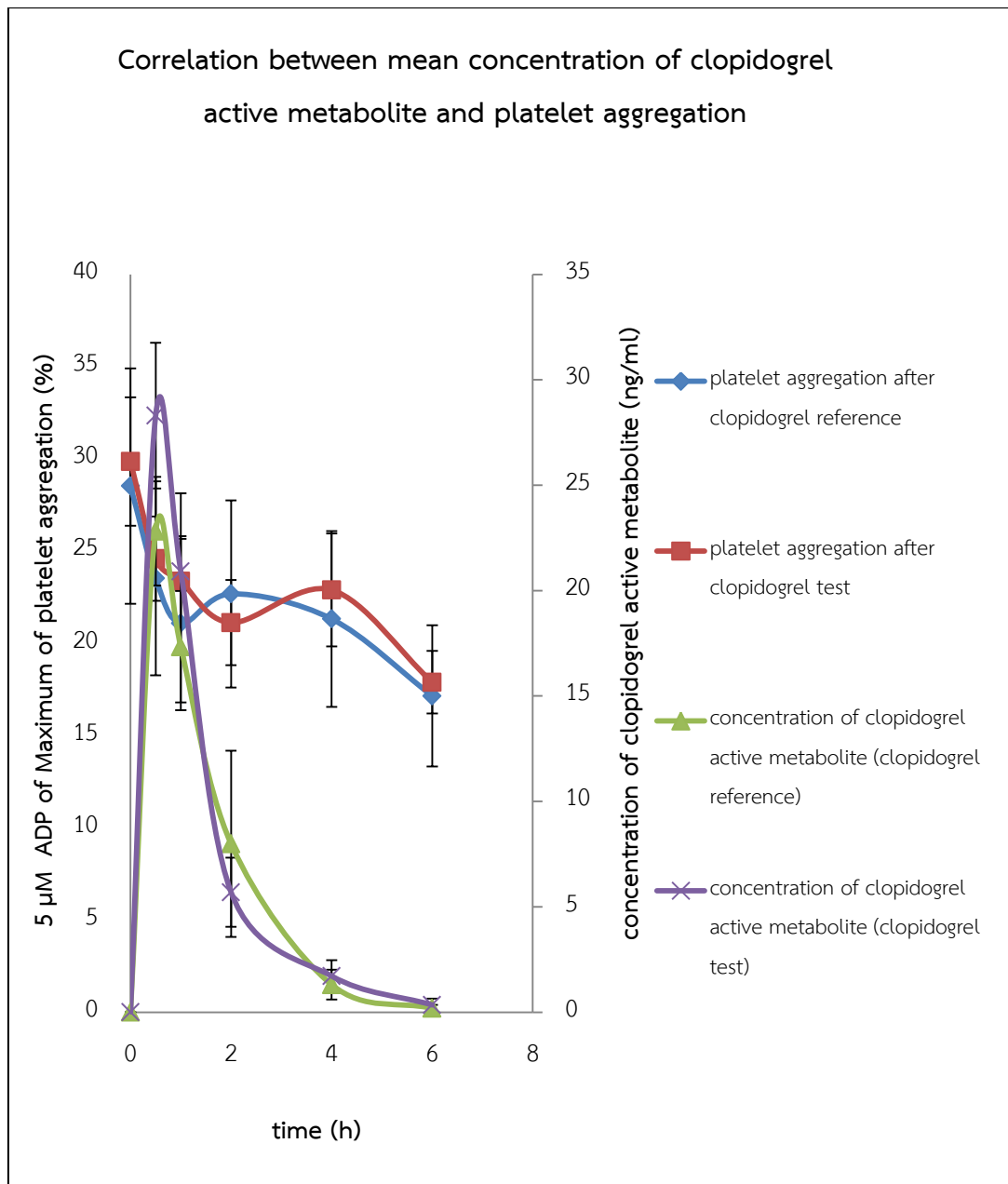
20 E: หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลที่เวลา 6 ชั่วโมง  $R = -0.399$ ,  $P = 0.013$

ภาพที่ 20 A-E: ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟ AUC<sub>0-inf</sub> กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆหลังได้รับยาโคลพิโดเกรล เมื่อทดสอบการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu$ M (n=40)

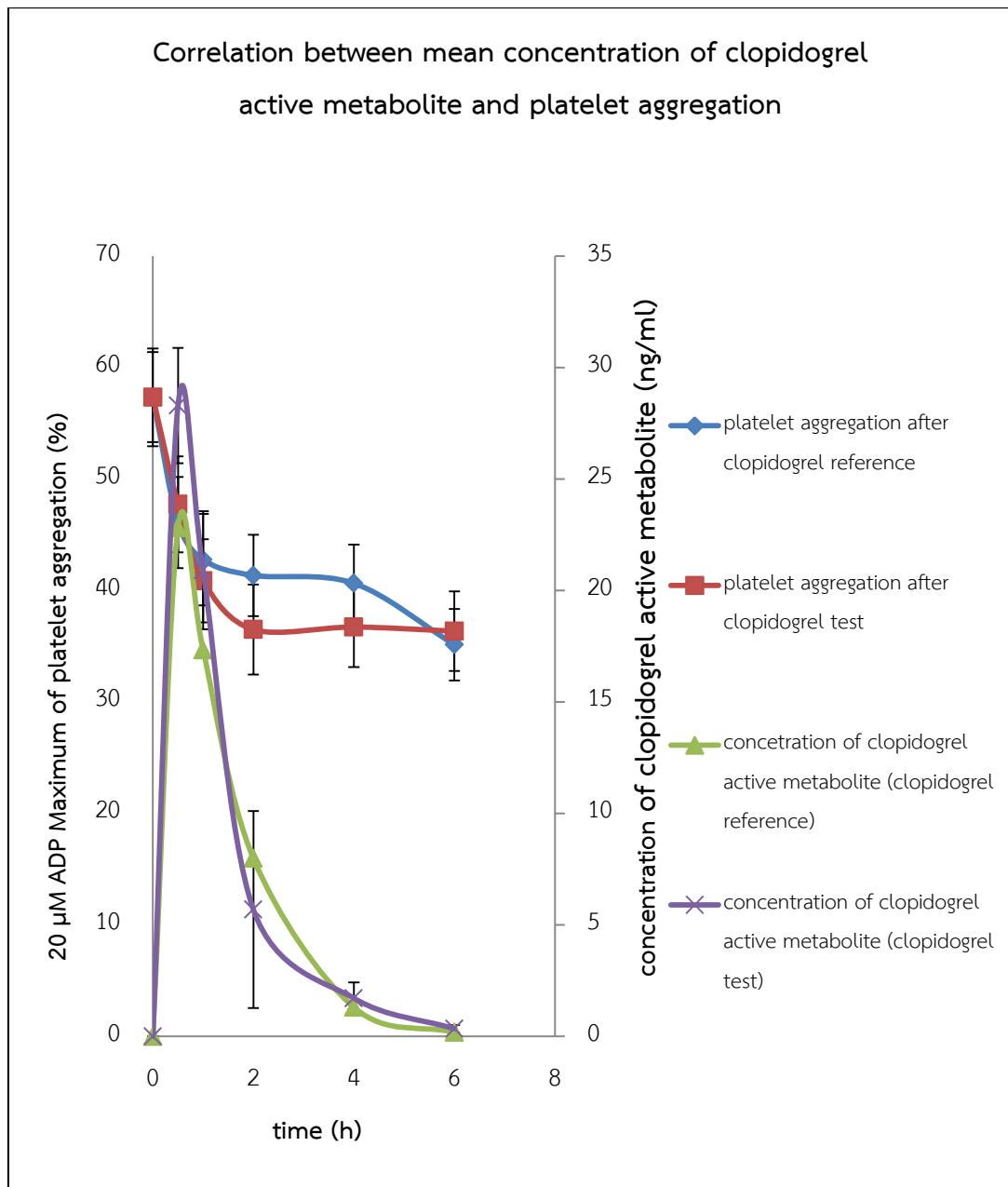
#### 4. ความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดตามเวลาหลังได้รับยา

จากภาพที่ 21 และ 22 แสดงความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดกับเวลาหลังได้รับยา เห็นได้ว่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมีแนวโน้มต่ำลงตามเวลาหลังได้รับยาทั้งสองชนิด ในทำนองเดียวกันจากภาพที่ 23 และ 24 แสดงความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดกับเวลาหลังได้รับยา จะเห็นว่าค่าการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาหลังได้รับยา

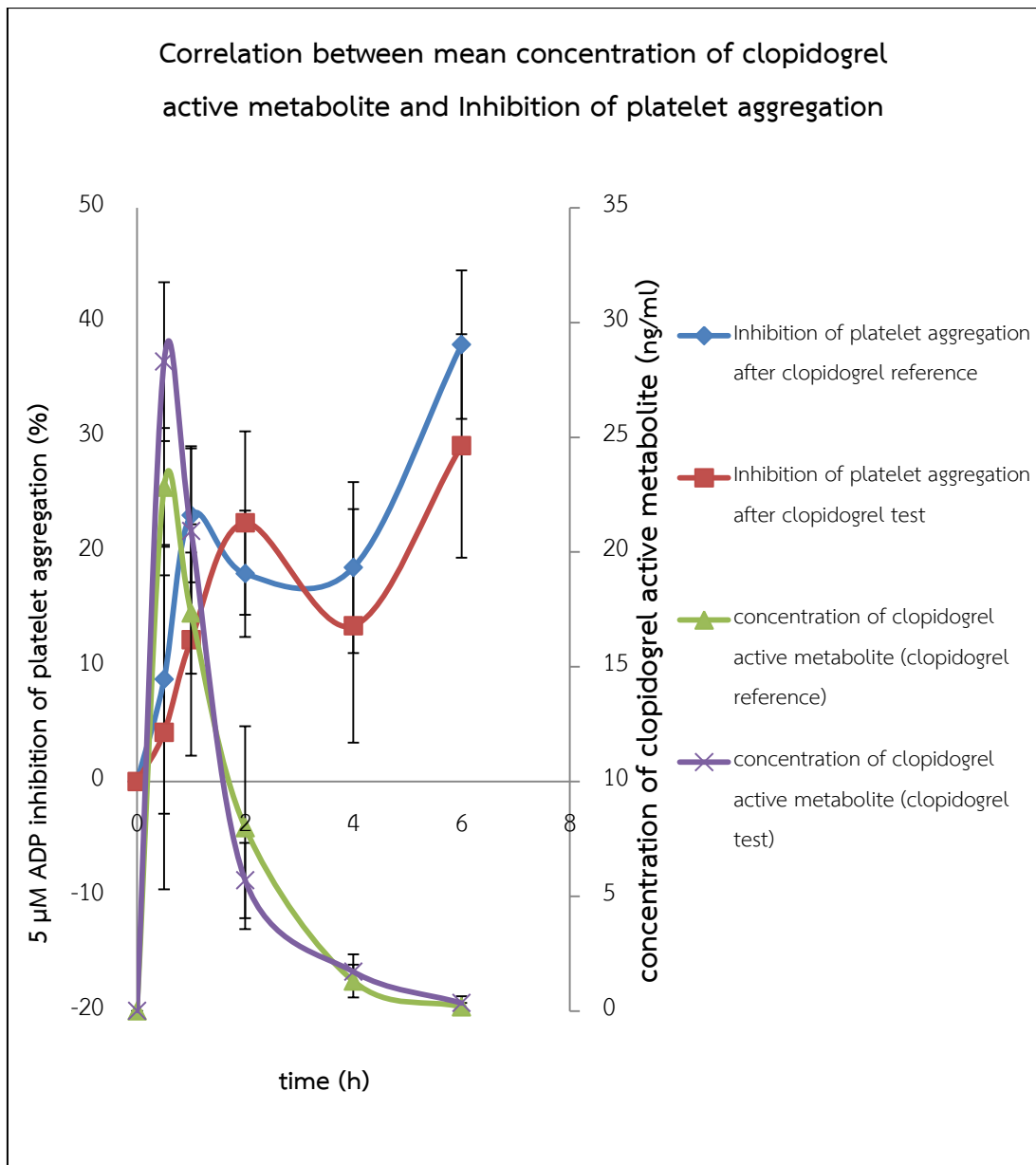




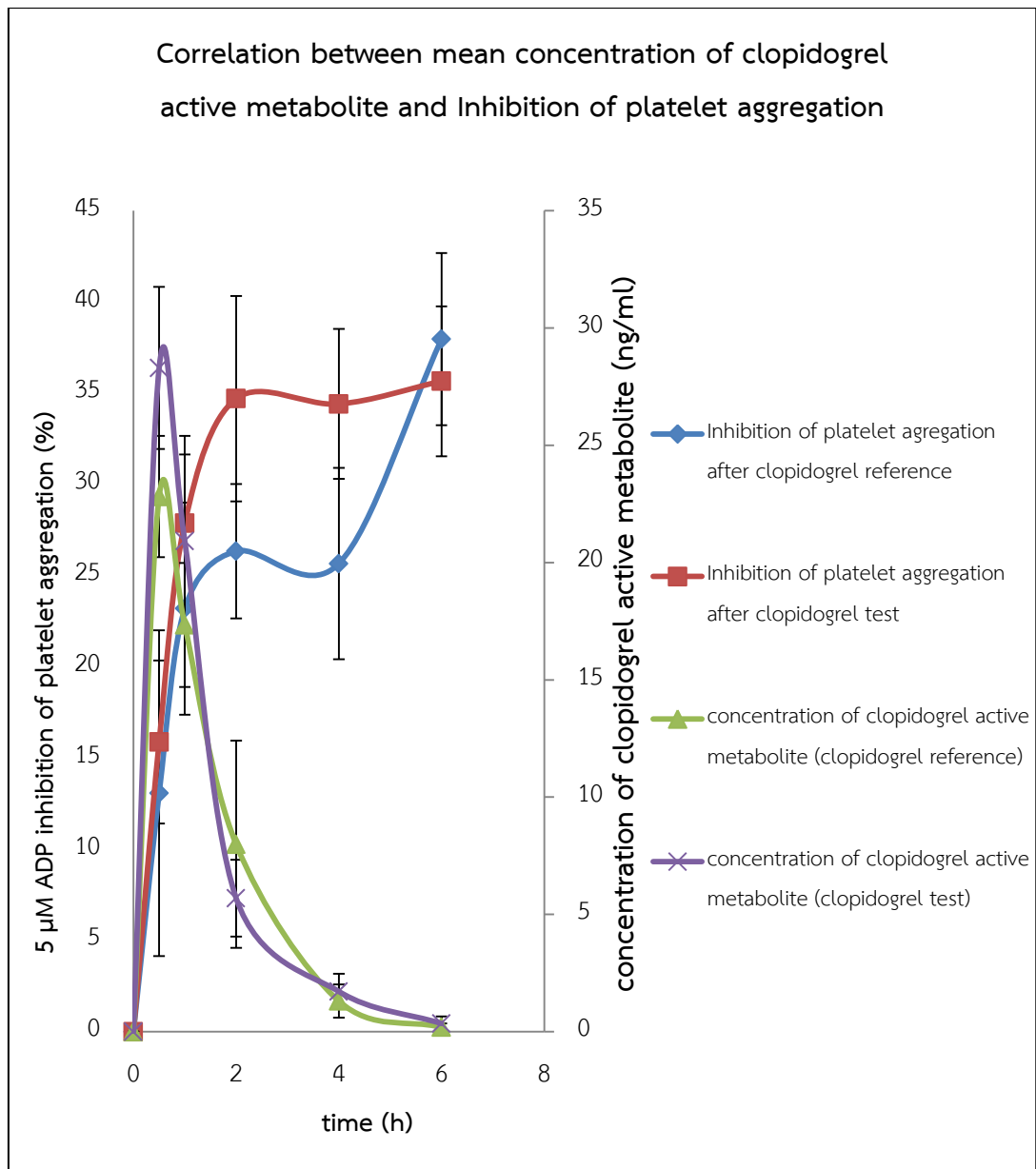
**ภาพที่ 21:** ความสัมพันธ์ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu$ M ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน



**ภาพที่ 22:** ความสัมพันธ์ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu\text{M}$  ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน



**ภาพที่ 23:** ความสัมพันธ์ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 5  $\mu$ M ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน



**ภาพที่ 24:** ความสัมพันธ์ค่าเฉลี่ยระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ เมื่อกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น 20  $\mu$ M ในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 20 คน

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผลการทดลอง

จากผลการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อให้ยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวไทยจำนวน 20 คนจากโครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี พบว่าอาสาสมัครเพศชายจำนวน 10 คน และเพศหญิงจำนวน 10 คน อายุเฉลี่ยเท่ากับ  $32.60 \pm 5.99$  ปี น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ  $60.98 \pm 9.13$  กิโลกรัม ค่า BMI เท่ากับ  $22.46 \pm 1.63$  kg/m<sup>2</sup> ผลการตรวจสุขภาพ จากการตรวจร่างกาย และการตรวจทางห้องปฏิบัติการอยู่ในเกณฑ์ปกติ ได้แก่ การทำหน้าที่ของตับปกติ การทำงานของไตปกติ ค่าระดับน้ำตาลในเลือดปกติ ระดับเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดปกติ ผ่านตามเกณฑ์การคัดเข้าของโครงการวิจัย

#### 1. เกณฑ์จลนศาสตร์ของอาสาสมัครสุขภาพดีชาวไทยที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ

จากการศึกษาระดับของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับเวลาหลังจากอาสาสมัครได้รับยาเม็ดโคลพิโดเกรลแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ พบว่าค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ ได้แก่ ค่า C<sub>max</sub>, ค่า AUC<sub>0-t</sub> และค่า AUC<sub>0-inf</sub> ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างยาแบบอ้างอิงและยาทดสอบ แสดงว่ายาทั้งสองชนิดนี้มีความเท่าเทียมกันทางคุณภาพ ด้วยการศึกษาจากระดับของสารออกฤทธิ์โดยตรง นับเป็นงานวิจัยที่ได้ทดสอบความเท่าเทียมกันของระดับสารออกฤทธิ์ในอาสาสมัครไทย การวัดระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลเป็นการทดสอบที่เห็นได้ชัดเจนมากกว่าการวัดระดับยาโคลพิโดเกรลซึ่งไม่ได้เป็นตัวออกฤทธิ์ วิธีการวัดระดับสารออกฤทธิ์นี้ใช้วิธี LC-MS/MS โดยดัดแปลงจาก Cody J. และคณะ (42) สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาค่าความน่าเชื่อถืออยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ทั้งค่าความเฉพาะเจาะจง ความถูกต้อง ความแม่นยำ และความเป็นเส้นตรง

พบว่า ค่าเฉลี่ยของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลมีความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ  $32.72 \pm 24.83$  และ  $35.68 \pm 25.86$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เวลาที่ความเข้มข้นสูงสุด (T<sub>max</sub>) เท่ากับ  $0.80 \pm 0.30$  และ  $0.69 \pm 0.26$  ชั่วโมง ค่า AUC<sub>0-t</sub> เท่ากับ  $31.05 \pm 22.73$  และ  $34.12 \pm 33.47$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงและต่อมิลลิลิตร และมีค่า AUC<sub>0-inf</sub> เท่ากับ  $34.49 \pm 34.76$  และ  $35.07 \pm 34.56$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงและต่อมิลลิลิตร ค่าครึ่งชีวิต (t<sub>1/2</sub>) เท่ากับ  $1.38 \pm 3.93$  และ  $0.69 \pm 0.67$  ชั่วโมง ของยาอ้างอิงและยาทดสอบตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาของ Karazniewicz-Lada และคณะ ปี ค.ศ 2014 ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาโคลพิโดเกรลในผู้ป่วยโรคหัวใจชาวโปแลนด์ที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75

มิลลิกรัม เป็นเวลาอย่างน้อย 7 วัน จำนวน 30 คน พบระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุดเท่ากับ  $7.13 \pm 6.32$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เวลาที่ความเข้มข้นสูงสุด ( $T_{max}$ ) เท่ากับ  $1.04 \pm 0.53$  ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิต ( $t_{1/2}$ ) เท่ากับ  $0.90 \pm 0.86$  ชั่วโมง ค่า  $AUC_{0-t}$  เท่ากับ  $11.30 \pm 9.58$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงและต่อมิลลิลิตร และค่า  $AUC_{0-inf}$  เท่ากับ  $11.97 \pm 9.75$  นาโนกรัมต่อชั่วโมงและต่อมิลลิลิตร (16) จะเห็นว่าค่าระดับสารออกฤทธิ์  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  และ  $AUC_{0-inf}$  มีค่าที่แตกต่างกับวิจัยนี้เป็นอย่างมาก ซึ่งเป็นไปได้ว่าอาจเกิดจากเชื้อชาติที่แตกต่างกัน แต่ค่า half life และ  $T_{max}$  ได้ค่าใกล้เคียงกัน การศึกษาวิจัยพบว่ามีความสัมพันธ์ 1 ราย มีระดับยาสูงกว่ากลุ่มอย่างมาก โดยพบค่าระดับความเข้มข้นสูงสุดในพลาสมาเท่ากับ 127.11 และ 132.68 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สูงจากค่าเฉลี่ย  $32.72 \pm 24.83$  และ  $35.68 \pm 25.86$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จากการให้ยาแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนที่เกิดขึ้นได้อย่างมากในแต่ละบุคคล เนื่องจากยาโคลพิโดเกรลเป็น prodrug ต้องผ่านการเมตาบอลิซึมที่ตับโดยอาศัย cytochrome P450 enzyme ประกอบด้วย CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9 และ CYP2C19 เพื่อให้ได้สารรูปออกฤทธิ์ (44) โดย CYP2C19 เป็น enzyme ที่มีความสำคัญมากต่อการทำหน้าที่นี้ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP2C19 ที่พบบ่อย คือ CYP2C19\*2 เป็นชนิด poor metabolizer ทำให้สารออกฤทธิ์เกิดได้น้อย ผลการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดน้อยลง แบ่งออกเป็น Homozygous (\*2/\*2 เป็น poor metabolizers) และ Heterozygous (\*1/\*2 เป็น intermediate metabolizer) ส่วน wild type \*1/\*1 เป็น extensive metabolizers (6) CYP2C19 3\*/3\* เป็น homozygous ชนิด poor metabolizer และ CYP2C19\*17 เป็น homozygous ชนิด ultra-rapid metabolizer มีแบบ CYP2C19\*1/\*17 และ CYP2C19\*17/\*17 เอนไซม์ทำงานเพิ่มมากกว่าปกติ ระดับความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์จะสูงมากกว่าปกติ ซึ่งน่าจะเป็นเหตุผลที่พบในการศึกษาวิจัยในอาสาสมัคร 1 ราย จากการศึกษาของ Sukasem และคณะ ปี ค.ศ 2013 พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP2C19 ในผู้ป่วยชาวไทยจำนวน 1,051 คน พบกลุ่ม wild type เท่ากับ 40.72%, CPY2C19\*1/\*2 เท่ากับ 35.1%, CPY2C19\*1/\*3 เท่ากับ 6.85%, CYP2C19\*2/\*2 เท่ากับ 7.32%, CYP2C19\*2/\*3 เท่ากับ 5.61% และ CYP2C19\*1/\*17 เท่ากับ 4.3% (45)

## 2. การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครสุขภาพดีที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ

ค่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดของอาสาสมัครสุขภาพดีที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบที่เวลาก่อน และหลังบริหารยาที่เวลา 0.5, 1, 2, 4, และ 6 ชั่วโมง โดยวัดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น 5 และ 20  $\mu$ M พบว่า ค่าการเกาะกลุ่ม

ของเกล็ดเลือดและค่าการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่เวลาต่างๆไม่มีความแตกต่างกันระหว่างยาสองชนิด ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้ตามข้อ 1 ที่ทดสอบความเท่าเทียมกันด้วยระดับสารออกฤทธิ์ในพลาสมา แสดงให้เห็นว่าระดับสารออกฤทธิ์และผลต่อการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดซึ่งเป็นฤทธิ์ของยาเป็นไปในทำนองเดียวกัน

จากกราฟการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดกับเวลา ภาพที่ 11 และ 12 จะเห็นได้ว่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมีแนวโน้มต่ำลงตามเวลาจนถึง 6 ชั่วโมง โดยมีค่าตั้งแต่ 30%-17% เมื่อใช้ ADP 5  $\mu$ M และมีค่าตั้งแต่ 57%-35% เมื่อใช้ ADP 20  $\mu$ M ส่วนค่าการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดกับเวลา ภาพที่ 13 และ 14 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาหลังได้รับยาทั้งสองชนิด โดยค่าการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมีค่าตั้งแต่ 8%-38% เมื่อใช้ ADP 5  $\mu$ M และมีค่าตั้งแต่ 13%-37% เมื่อใช้ ADP 20  $\mu$ M เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการให้ยาในขนาด 75 มิลลิกรัม เพียงครั้งเดียว และพบค่าการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดสูงสุดอยู่ที่เวลา 6 ชั่วโมง หลังได้รับยาได้ค่าการยับยั้งประมาณ 38% จากการศึกษา Ashraf และคณะ ปี ค.ศ 2005 พบว่าเมื่อได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมวันละครั้งอย่างต่อเนื่อง ระดับยาจะคงที่ (steady state) ประมาณ 3-7 วัน และพบว่าการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดเป็นแบบ dose dependent (46) รายงานของ Becker และคณะ ปี ค.ศ 2010 พบว่า เมื่อได้รับยาโคลพิโดเกรล แบบต่อเนื่อง (maintenance dose) เป็นเวลา 5 วัน จะยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้ 30-50% (20) และรายงานของ Payne และคณะ ปี ค.ศ 2007 พบว่าเมื่อได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมวันละครั้งแบบต่อเนื่อง จะมีผลยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่คงที่เท่ากับ 56% (47) มีรายงานของ Mullangi & Srinivas ปี ค.ศ 2009 พบว่ายาคอลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวันเป็นขนาดเริ่มต้นที่ใช้เพื่อยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ซึ่งจะออกฤทธิ์ภายใน 2 ชั่วโมงหลังได้รับยาครั้งแรก การตอบสนองต่อการรักษาสูงสุดประมาณ 3-7 วันหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัมต่อวันแบบต่อเนื่อง (14) นอกจากนี้รายงานของ Farid และคณะ ปี ค.ศ 2010 พบว่าเมื่อได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 300 มิลลิกรัมเพียงครั้งเดียว จะมีผลยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในเวลา 6 ชั่วโมงหลังได้รับยา และเมื่อได้รับยาขนาด 75 มิลลิกรัม จะต้องใช้ระยะเวลายับยั้งเกล็ดเลือด (10) ส่วน Hochholzer W. และคณะ ปี ค.ศ 2005 รายงานว่าเมื่อได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 300 มิลลิกรัมเพียงครั้งเดียว (loading dose) ยาถูกดูดซึมได้อย่างน้อย 50% จะมีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้ 80% ภายในเวลา 5 ชั่วโมงหลังได้รับยา และเมื่อได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 600 มิลลิกรัมเพียงครั้งเดียว (loading dose) จะมีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดภายในเวลา 2 ชั่วโมง (48) จากการเปรียบเทียบผลการศึกษานี้กับรายงานอื่นพบว่าค่าการยับยั้งการเกาะกลุ่มเกล็ดเลือดจากการให้ยาในขนาด 75 มิลลิกรัม มีค่าใกล้เคียงกันกับรายงานของ Becker และคณะ ปี ค.ศ 2010 ซึ่งพบว่า เมื่อได้รับยาโคลพิโดเกรลแบบต่อเนื่อง

(maintenance dose) จะยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้ 30-50% (20) และจากการศึกษานี้ พบผลการยับยั้งสูงสุดที่เวลา 6 ชั่วโมงซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Srimahachota และคณะ ปี ค.ศ 2012

### 3. ความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด

พบว่าระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมามีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบทุกจุดเวลา ตั้งแต่ 0.5-6 ชั่วโมง กระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดด้วย ADP ความเข้มข้น  $5 \mu M$  พบค่า R อยู่ในช่วง -0.366 – -0.471 มีระดับความสัมพันธ์ที่ P value <0.05 และเมื่อทดสอบด้วย ADP ความเข้มข้น  $20 \mu M$  พบค่า R อยู่ในช่วง -0.360 – -0.381 มีระดับความสัมพันธ์ที่ P value <0.05 มีรายงานการศึกษาอื่นที่มีการให้ยาในขนาดต่างๆ ทั้งการให้แบบต่อเนื่องและการให้แบบขนาดเดียว พบค่าความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุดกับการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดตามตารางที่ 12 ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาที่แสดงความสัมพันธ์ของการให้ยาในขนาด 75 มิลลิกรัมขนาดเดียว

จากการศึกษานี้พบว่า  $AUC_{0-t}$  มีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบทุกจุดเวลา ตั้งแต่ 0.5-6 ชั่วโมง เมื่อกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น  $5 \mu M$  พบว่า R อยู่ในช่วง -0.482 – -0.413 มีระดับความสัมพันธ์ที่ P value <0.05 และทดสอบการกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น  $20 \mu M$  พบว่า R อยู่ในช่วง -0.361 – -0.483 มีระดับความสัมพันธ์ที่ P value <0.05 ส่วน  $AUC_{0-inf}$  มีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น  $5 \mu M$  พบว่า R อยู่ในช่วง -0.398 – -0.467 มีระดับความสัมพันธ์ที่ P value <0.05 และทดสอบการกระตุ้นด้วย ADP ความเข้มข้น  $20 \mu M$  พบว่า R อยู่ในช่วง -0.327 – -0.399 มีระดับความสัมพันธ์ที่ P value <0.05 จากกรรายงานของ Delavenne และคณะ ปี ค.ศ 2010 พบว่า  $AUC_{0-inf}$  มีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด  $R= 0.78$  หลังได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 600 มิลลิกรัมครั้งเดียว (40) จากความสัมพันธ์ที่พบในการศึกษานี้ พบว่าฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมากขึ้นตามค่า  $C_{max}$  และ AUC ซึ่งแสดงถึงปริมาณสารออกฤทธิ์ในร่างกาย



**ตารางที่ 12:** แสดงค่าความสัมพันธ์ของระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับค่าการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด

ประชากร (คน)	ขนาดยา (มิลลิกรัม)	R value	P value	Reference
healthy German (10)	600 mg single dose	0.73	0.02	Taubert และคณะ ปี ค.ศ 2004 (38)
Patient (11) healthy (10) Netherlands	600 mg single dose	0.823 (5 $\mu$ M) 0.791 (20 $\mu$ M) 0.73	0.006 (5 $\mu$ M) 0.011 (20 $\mu$ M) 0.02	Heestermans และคณะ ปี ค.ศ 2008 (39)
Patient Chinese (82)	300 or 600 mg loading then 150 or 75 mg/day (14 day)	-0.4656 (5 $\mu$ M) for loading -0.4584 (5 $\mu$ M) on 7 day -0.3046 (5 $\mu$ M) on 14 day	P< 0.0001 P< 0.0001 P= 0.0054	Liang และคณะ ปี ค.ศ. 2012 (41)
Patient Americans (28)	300 mg	0.49	P< 0.05	Ganesan, Williams และคณะ ปี ค.ศ 2013 (49)
Healthy Caucasian (10)	600 mg	R= 0.76 (5 $\mu$ M) R= 0.77 (10 $\mu$ M)	P< 0.05 P< 0.05	Delavenne และคณะ ปี ค.ศ 2010 (40)

#### 5. ภาพความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดตามเวลาหลังได้รับยา

จากภาพที่ 21 และ 22 ความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดตามเวลาหลังได้รับยา แสดงให้เห็นว่าระดับยาสูงสุดเกิดขึ้นที่เวลา 0.6-0.8 ชั่วโมง ผลการตอบสนองจากยาในการต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดสูงสุดเกิดขึ้นที่เวลา 6 ชั่วโมง จาก

รายงานอื่นของ Karazniewicz-Lada และคณะ ปี ค.ศ 2012 เวลาาระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล สูงสุด ( $T_{max}$ ) เท่ากับ  $1.33 \pm 0.58$  (15) มีรายงานของ Farid และคณะ ปี ค.ศ 2010 พบว่าหลังได้รับ ยาโคลพิโดเกรลขนาด 300 มิลลิกรัมเพียงครั้งเดียว จะมีผลยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในเวลา 6 ชั่วโมง (10)

### สรุปผลการวิจัย

การศึกษาวินิจฉัยครั้งนี้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวไทยที่ได้รับยาโคลพิโดเกรลทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ พบว่าระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลสูงสุด ( $C_{max}$ ) ในพลาสมา ค่าพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-t}$  และค่าพื้นที่ใต้กราฟ  $AUC_{0-inf}$  มีความสัมพันธ์กับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดหลังได้รับยาโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม ทั้งแบบอ้างอิงและแบบทดสอบ มีแนวโน้มต่ำลงตามระยะเวลาหลังได้รับยา ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาหลังได้รับยาทั้งสองชนิด และพบว่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของโคลพิโดเกรล ได้แก่  $C_{max}$ , AUC ไม่แตกต่างกันระหว่างยาทั้งสองชนิด

### ข้อจำกัดในการวิจัย

ยาโคลพิโดเกรลต้องผ่านการเมตาบอไลซ์ที่ตับโดยอาศัย cytochrome P450 enzyme เปลี่ยนเป็นสารออกฤทธิ์ ซึ่ง CYP มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ส่งผลให้เกิดความแปรปรวนของข้อมูลที่มากขึ้น

## รายการอ้างอิง

1. คณะอนุกรรมการสถิติสาขาสุขภาพและคณะทำงานสถิติสาขาสุขภาพ. แผนพัฒนาสถิติสาขาสุขภาพฉบับที่ 1 พ.ศ 2557-2558 2556. Available from: [http://osthailand.nic.go.th/files/social\\_sector/SDP\\_health291057-new6.pdf](http://osthailand.nic.go.th/files/social_sector/SDP_health291057-new6.pdf).
2. Smith S, Ralston, J. and Taubert, K. Urbanization and cardiovascular disease. The World Heart Federation [Internet]. 2012 [cited 2012 4 December 2013]. Available from: <http://www.world-heart-federation.org/press/fact-sheets/urbanization-and-cardiovascular-disease/>.
3. Yao-Zu Xiang YX, Xiu-Mei Gao, Hong-Cai Shang, Li-Yuan Kang and, Zhang B-L. Platelet Activation, and Antiplatelet Targets and Agents Current and Novel Strategies. Drugs. 2008;68(12):1647-64.
4. Achar S. Pharmacokinetics, drug metabolism, and safety of prasugrel and clopidogrel. Postgrad Med. 2011;123(1):73-9.
5. Geraldo RB, Sathler PC, Lourenco AL, Saito MS, Cabral LM, Rampelotto PH, et al. Platelets: still a therapeutical target for haemostatic disorders. Int J Mol Sci. 2014;15(10):17901-19.
6. Momary KM, Dorsch MP. Factors associated with clopidogrel nonresponsiveness. Future Cardiol. 2010;6(2):195-210.
7. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2011;32(23):2999-3054.
8. Di Girolamo G, Czerniuk P, Bertuola R, Keller GA. Bioequivalence of two tablet formulations of clopidogrel in healthy Argentinian volunteers: a single-dose, randomized-sequence, open-label crossover study. Clin Ther. 2010;32(1):161-70.
9. Ezra A. Amsterdam NKW, Ralph G. Brindis, Donald E. Casey Jr, Theodore G. Ganiats, and Susan J. Zieman. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of

Patients With Non–ST-Elevation Acute Coronary Syndromes A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014;130:344–426.

10. Farid NA, Kurihara A, Wrighton SA. Metabolism and disposition of the thienopyridine antiplatelet drugs ticlopidine, clopidogrel, and prasugrel in humans. *J Clin Pharmacol*. 2010;50(2):126-42.

11. Fitzgerald MJQaDJ. Ticlopidine and Clopidogrel. *Journal of the American heart association*. 1999(100):1667-72.

12. Giorgi MA, Cohen Arazi H, Gonzalez CD, Di Girolamo G. Beyond efficacy: pharmacokinetic differences between clopidogrel, prasugrel and ticagrelor. *Expert Opin Pharmacother*. 2011;12(8):1285-95.

13. Bertran G. Katzung SBMaAJT. *Basic & Clinical pharmacology*: Mc Graw Hill Medical; 2012.

14. Mullangi R, Srinivas NR. Clopidogrel: review of bioanalytical methods, pharmacokinetics/pharmacodynamics, and update on recent trends in drug-drug interaction studies. *Biomed Chromatogr*. 2009;23(1):26-41.

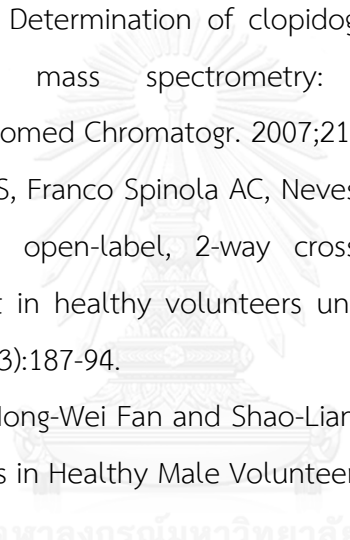
15. Karazniewicz-Lada M, Danielak D, Tezyk A, Zaba C, Tuffal G, Glowka F. HPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of clopidogrel, its carboxylic acid metabolite and derivatized isomers of thiol metabolite in clinical samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2012;911:105-12.

16. Karazniewicz-Lada M, Danielak D, Burchardt P, Kruszyna L, Komosa A, Lesiak M, et al. Clinical pharmacokinetics of clopidogrel and its metabolites in patients with cardiovascular diseases. *Clin Pharmacokinet*. 2014;53(2):155-64.

17. Schafer A, Flierl U, Pfortsch S, Seydelmann N, Micka J, Bauersachs J. The H(2)-receptor antagonist ranitidine interferes with clopidogrel-mediated P2Y(12) inhibition in platelets. *Pharmacol Res*. 2010;62(4):352-6.

18. Angiolillo DJ. The evolution of antiplatelet therapy in the treatment of acute coronary syndromes: from aspirin to the present day. *Drugs*. 2012;72(16):2087-116.

19. Nguyen TA, Diodati JG, Pharand C. Resistance to clopidogrel: A review of the evidence. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;45(8):1157-64.

20. Becker RC, Gurbel PA. Platelet P2Y<sub>12</sub> receptor antagonist pharmacokinetics and pharmacodynamics: A foundation for distinguishing mechanisms of bleeding and anticipated risk for platelet-directed therapies. *Thromb Haemost.* 2010;103(3):535-44.
21. Angiolillo DJ, Ferreiro JL. Platelet adenosine diphosphate P2Y<sub>12</sub> receptor antagonism: benefits and limitations of current treatment strategies and future directions. *Rev Esp Cardiol.* 2010;63(1):60-76.
22. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Macaya C, Bass TA, et al. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49(14):1505-16.
23. Shin BS, Yoo SD. Determination of clopidogrel in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry: application to a clinical pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr.* 2007;21(9):883-9.
24. Filipe A, Almeida S, Franco Spinola AC, Neves R, Tanguay M, Jimenez C, et al. Single-dose randomized, open-label, 2-way crossover bioequivalence study of clopidogrel 75 mg tablet in healthy volunteers under fasting conditions. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2009;47(3):187-94.
25. Jian-Jun Zou JT, Hong-Wei Fan and Shao-Liang Chen. Bioequivalence Study of Clopidogrel 75 Mg Tablets in Healthy Male Volunteers. *Journal of bioequivalence and bioavailability.* 2012;4:1-4. 
26. Kim BH, Kim JR, Lim KS, Shin HS, Yoon SH, Cho JY, et al. Comparative pharmacokinetics/pharmacodynamics of clopidogrel besylate and clopidogrel bisulfate in healthy Korean subjects. *Clin Drug Investig.* 2012;32(12):817-26.
27. Takahashi M, Pang H, Kawabata K, Farid NA, Kurihara A. Quantitative determination of clopidogrel active metabolite in human plasma by LC-MS/MS. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;48(4):1219-24.
28. Tuffal G, Roy S, Lavisse M, Brasseur D, Schofield J, Delesque Touchard N, et al. An improved method for specific and quantitative determination of the clopidogrel active metabolite isomers in human plasma. *Thromb Haemost.* 2011;105(4):696-705.
29. Park JB, Bae SH, Jang SM, Noh WJ, Hong JH, Yoon KD, et al. Direct measurement of active thiol metabolite levels of clopidogrel in human plasma using

tris(2-carboxyethyl)phosphine as a reducing agent by LC-MS/MS. *J Sep Sci.* 2013;36(14):2306-14.

30. Furlong MT, Savant I, Yuan M, Scott L, Mylott W, Mariannino T, et al. A validated HPLC-MS/MS assay for quantifying unstable pharmacologically active metabolites of clopidogrel in human plasma: Application to a clinical pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B.* 2013;926(0):36-41.

31. Trenk D, Hochholzer W. Genetics of platelet inhibitor treatment. *British Journal of Clinical Pharmacology.* 2014;77(4):642-53.

32. Ellis KJ, Stouffer GA, McLeod HL, Lee CR. Clopidogrel pharmacogenomics and risk of inadequate platelet inhibition: US FDA recommendations. *Pharmacogenomics.* 2009;10(11):1799-817.

33. Roden PWaDM. Pharmacogenomics and Cardiovascular Disease. *Curr Cardiol Rep* Current Cardiology Reports. 2013;15:1-11.

34. Sanja Stankovi MA, Nada Majki Singh. THE PHARMACOGENETICS OF CARDIOVASCULAR DRUGS. *J Med Biochem* 2014;33:71-81.

35. von Beckerath N, Kastrati A, Wiecek A, Pogatsa-Murray G, Sibbing D, Graf I, et al. A double-blind, randomized study on platelet aggregation in patients treated with a daily dose of 150 or 75 mg of clopidogrel for 30 days. *Eur Heart J.* 2007;28(15):1814-9.

36. Park KJ, Chung HS, Kim SR, Kim HJ, Han JY, Lee SY. Clinical, pharmacokinetic, and pharmacogenetic determinants of clopidogrel resistance in Korean patients with acute coronary syndrome. *Korean J Lab Med.* 2011;31(2):91-4.

37. Srimahachota S, Rojnuckarin P, Udayachalerm W, Buddhari W, Chaipromprasit J, Lertsuwunseri V, et al. Comparison of original and generic clopidogrel 600 mg loading dose in the patients who planned undergoing coronary angiography. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmai het thangphaet.* 2012;95(12):1495-500.

38. Taubert D, Kastrati A, Harlfinger S, Gorchakova O, Lazar A, von Beckerath N, et al. Pharmacokinetics of clopidogrel after administration of a high loading dose. *Thromb Haemost.* 2004;92(2):311-6.

39. Heestermans AA, van Werkum JW, Taubert D, Seesing TH, von Beckerath N, Hackeng CM, et al. Impaired bioavailability of clopidogrel in patients with a ST-segment elevation myocardial infarction. *Thromb Res.* 2008;122(6):776-81.
40. Delavenne X, Mallouk N, Piot M, Mismetti P, Laporte S. Is there really a relationship between the plasma concentration of the active metabolite of clopidogrel and the results of platelet function tests? *J Thromb Haemost.* 2010;8(10):2334-8.
41. Liang Y, Johnston M, Hirsh J, Pare G, Li C, Mehta S, et al. Relation between clopidogrel active metabolite levels and different platelet aggregation methods in patients receiving clopidogrel and aspirin. *J Thromb Thrombolysis.* 2012;34(4):429-36.
42. Peer CJ, Spencer SD, VanDenBerg DAH, Pacanowski MA, Horenstein RB, Figg WD. A sensitive and rapid ultra HPLC–MS/MS method for the simultaneous detection of clopidogrel and its derivatized active thiol metabolite in human plasma. *Journal of Chromatography B.* 2012;880(0):132-9.
43. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), (CVM) CfVM. Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation. 2001.
44. Kazui M, Nishiya Y, Ishizuka T, Hagihara K, Farid NA, Okazaki O, et al. Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite. *Drug Metab Dispos.* 2010;38(1):92-9.
45. Sukasem C, Tunthong R, Chamnanphon M, Santon S, Jantararoungtong T, Koomdee N, et al. CYP2C19 polymorphisms in the Thai population and the clinical response to clopidogrel in patients with atherothrombotic-risk factors. *Pharmacogenomics and personalized medicine.* 2013;6:85-91.
46. Ashraf T, Ahmed M, Talpur MS, Kundi A, Faruqui AM, Jaffery AH, et al. Competency profile of locally manufactured clopidogrel Lowplat and foreign manufactured clopidogrel Plavix in patients of suspected ischemic heart disease (CLAP-IHD). *J Pak Med Assoc.* 2005;55(10):443-8.
47. Payne CD, Li YG, Small DS, Ernest CS, 2nd, Farid NA, Jakubowski JA, et al. Increased active metabolite formation explains the greater platelet inhibition with

prasugrel compared to high-dose clopidogrel. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2007;50(5):555-62.

48. Hochholzer W, Trenk D, Frundi D, Blanke P, Fischer B, Andris K, et al. Time dependence of platelet inhibition after a 600-mg loading dose of clopidogrel in a large, unselected cohort of candidates for percutaneous coronary intervention. *Circulation.* 2005;111(20):2560-4.

49. Ganesan S, Williams C, Maslen CL, Cherala G. Clopidogrel variability: role of plasma protein binding alterations. *Br J Clin Pharmacol.* 2013;75(6):1468-77.







ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## ภาคผนวก ก

### คำอธิบายที่มาของตัวอย่างพลาสมา

#### ตัวอย่าง

กลุ่มประชากรที่ศึกษาเป็นอาสาสมัครชาวไทยสุขภาพดี จากโครงการ”การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” โดยจะขอความยินยอมในการใช้เลือดจากอาสาสมัครเพื่อใช้ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรล และขอเลือดเพิ่มเพื่อศึกษาเภสัชพลศาสตร์ (Pharmacodynamics) โดยวัดการยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดด้วยเครื่อง Light transmission aggregometer (LTA) โดยโครงการ”การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” มีเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างดังนี้

#### เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion Criteria)

- 1) อาสาสมัครเพศชายหรือหญิงอายุ 18-45 ปี
- 2) ค่าดัชนีมวลกาย (BMI) อยู่ระหว่าง 18-25 kg/m<sup>2</sup>
- 3) มีสุขภาพดี โดยผ่านการตรวจสอบประวัติการใช้ยา การตรวจร่างกาย และมีสัญญาณชีพ (vital sign) เป็นปกติ
- 4) ผลการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการคลินิกเป็นปกติ ได้แก่ complete blood count, fasting blood sugar, blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine, alkaline phosphatase, AST, ALT, total bilirubin, albumin, electrolytes, HBs-antigen and anti-HIV
- 5) อาสาสมัครเพศหญิงที่ไม่มีโอกาสตั้งครรภ์ มีผล serum  $\beta$ -HCG negative และได้รับการคุมกำเนิดที่ไม่ใช้ยาหรืองดเว้นการร่วมเพศในช่วงของการวิจัย อาสาสมัครยินยอมที่จะไม่ตั้งครรภ์ และผลการตรวจการตั้งครรภ์ก่อนเข้าสู่โครงการ negative อาสาสมัครเพศหญิงที่ไม่มีโอกาสตั้งครรภ์ ได้แก่ เป็นหมัน ได้รับการผ่าตัดมดลูกหรือหมดประจำเดือน
- 1) ยินยอมเข้าร่วมการศึกษาด้วยความเต็มใจและลงนามในหนังสือแสดงความยินยอมแล้ว

#### เกณฑ์ในการคัดออกจากโครงการวิจัย (Exclusion Criteria)

- 1) มีประวัติการแพ้ยาที่ศึกษาหรือยาอื่นในกลุ่มยาที่ศึกษา
- 2) มีประวัติป่วยเป็นโรคระบบทางเดินอาหาร โรคตับ โรคไต โรคโรคทางสมองหรือ


ทางจิตทำให้มีผลต่อการบริหารยา โรคภูมิแพ้จากยาหรือยาในกลุ่ม หรือโรค  
อื่นๆ ที่อาจมีผลต่อ bioavailability ของยา ทั้งนี้แพทย์ผู้วิจัยเป็นผู้ตัดสิน

- 3) มีประวัติการดื่มสุราเป็นประจำมากกว่า 2 ปี หรือดื่มสุรามากกว่า 3 แก้วต่อวัน  
หรือมีประวัติการใช้สารเสพติด
- 4) มีประวัติสูบบุหรี่จัดเป็นประจำ (มากกว่า 10 มวนต่อวัน) หรือหากมีการสูบบุหรี่  
ปานกลาง (น้อยกว่า 10 มวนต่อวัน) และไม่สามารถอดบุหรี่ได้ก่อนเริ่มการศึกษา  
อย่างน้อย 2 สัปดาห์จนกระทั่งสิ้นสุดการศึกษา
- 5) อาสาสมัครเพศหญิงที่ตั้งครรภ์หรือกำลังให้นมบุตร
- 6) ได้รับการรักษาโรคด้วยยาอื่นภายใน 2 สัปดาห์ก่อนเริ่มการศึกษาโดยเฉพาะยา  
ที่มีผลต่อเอนไซม์ในร่างกาย
- 7) เคยเข้าร่วมการทดลองการศึกษาทางคลินิกและได้รับยาภายใน 3 เดือนก่อนเริ่ม  
การศึกษา



## ภาคผนวก ข

## เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

 <p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>AF 10-04/4.0</p> <p>เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)</p>
--	---

ชื่อโครงการวิจัย ความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ ของยาโคลพิโดเกรลในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี

ผู้ทำวิจัย

ชื่อ น.ส. มาลินี ชื่นแสงจันทร์

ที่อยู่ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 085-236-7557

ผู้ร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อ รศ.สุพิชา วิทย์เลิศปัญญา

ที่อยู่ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-251-1965, 081-421-9164

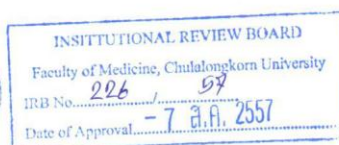
ชื่อ อ.ดร.พญ.ปาจริย์ จรรย์วิลาศกุล


ที่อยู่ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-251-1965, 081-613-4664

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากคาดว่าท่านเป็นอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้



 <p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>AF 10-04/4.0 เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)</p>
--	--

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่า จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

#### เหตุผลความเป็นมา

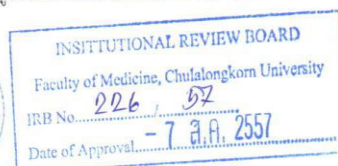
โคลพิโดเกรล (Clopidogrel) เป็นยาในกลุ่มไทโอไพรีดีน (Thienopyridine) มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับ ทิโคลปีดีน (Ticlopidine) มีลักษณะเป็นยาเม็ดเคลือบฟิล์มขนาดความแรง 75 มิลลิกรัม ใช้ในการป้องกันการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยออกฤทธิ์ที่ตัวรับบนผิวเซลล์ของเกล็ดเลือด ยาถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารได้ดี เมื่อยาคูดซึมเข้าร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับโดยเอนไซม์ทำให้ได้สารทั้งที่มีฤทธิ์และไม่มีฤทธิ์อย่างรวดเร็ว พบเมตาบอไลต์ชนิดคาร์บอกซิลิก เอซิด (carboxylic acid) มากที่สุดประมาณ 85 % ของเมตาบอไลต์ทั้งหมด และชนิดออกฤทธิ์ (active metabolite) อีกประมาณ 15% มักใช้โคลพิโดเกรล (Clopidogrel) ร่วมกับแอสไพรินในการป้องกันการอุดตันของหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบเฉียบพลันที่ได้รับการสวนหลอดเลือด และใช้ป้องกันการกลับเป็นซ้ำของการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในผู้ป่วยหลอดเลือดสมองอุดตัน หรือหลอดเลือดที่อวัยวะอื่น


เนื่องจากโคลพิโดเกรล (Clopidogrel) เป็นยาที่ไม่มีผลในการออกฤทธิ์แต่ต้องผ่านการเมตาบอไลซ์ที่ตับจึงจะออกฤทธิ์ ปัญหาที่สำคัญของโคลพิโดเกรล (Clopidogrel) คือ ฤทธิ์ในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในแต่ละคนมีความไม่แน่นอน กกับการเปลี่ยนแปลงของยาโคลพิโดเกรล (Clopidogrel) ไปเป็นสารที่ออกฤทธิ์ (active metabolite)

การศึกษานี้จึงมุ่งไปที่การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับสารที่มีฤทธิ์ (active metabolite) กับการประเมินการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือด ในอาสาสมัครไทยสุขภาพดีที่ได้รับยาโคลพิโดเกรล (Clopidogrel)

#### วัตถุประสงค์ของการศึกษา

ศึกษาความสัมพันธ์ของระดับสารมีฤทธิ์ (active metabolite) ของโคลพิโดเกรล (Clopidogrel) กับการออกฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครชาวไทยสุขภาพดีที่ได้รับยา clopidogrel จากโครงการ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” จำนวน 20 ราย



 <p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>AF 10-04/4.0</p> <p>เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)</p>
--	---

### วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

เมื่อท่านลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย ผู้วิจัยจะขอแบ่งตัวอย่างเลือดจากโครงการที่ท่านเข้าร่วมอยู่แล้วชื่อว่า “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” ที่มีกรเก็บเลือดที่เวลา 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมงหลังได้รับยา มาตรฐานวัดระดับสารที่ออกฤทธิ์ (active metabolite) และขอตัวอย่างเลือดเพิ่มปริมาตร 10 มิลลิลิตร (2 ซ้อนชา) ที่เวลา 0.05, 1, 2, 4 และ 6 ชั่วโมงสำหรับการศึกษการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เก็บตัวอย่างทั้งสองครั้งนี้ตามโครงการ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” ซึ่งแต่ละครั้งห่างกัน 1 สัปดาห์ รวมปริมาณเลือดที่ขอเพิ่มครั้งละ 60 มิลลิลิตร (4 ซ้อนโต๊ะ) 2 ครั้ง รวมทั้งหมด 120 มิลลิลิตร (8 ซ้อนโต๊ะ) ระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการเป็นระยะเดียวกับโครงการ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” คือสองสัปดาห์

ตัวอย่างเลือดที่ได้มาจะใช้วิเคราะห์ระดับสารออกฤทธิ์ และตรวจวัดค่าการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ของระดับสารออกฤทธิ์ (active metabolite) ของโคลพิโดเกรล กับการออกฤทธิ์ด้านการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด เมื่อเสร็จสิ้นการวิจัยแล้วจะทำลายเลือดของท่านทันที

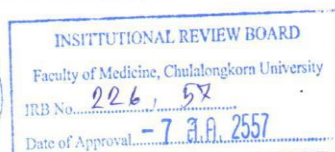
### ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้วิจัยได้รับทราบ


เพื่อความปลอดภัย ท่านไม่ควรใช้วิเศษ หรือรับประทานยาอื่น จากการจ่ายยาโดยแพทย์อื่นหรือซื้อยาจากร้านขายยา

### ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

ความเสี่ยงจากการขอปริมาณเลือดเพิ่มทั้งหมด 120 มิลลิลิตร (8 ซ้อนโต๊ะ) อาจไม่พบ ท่านมีโอกาสที่จะเกิดรอยขีดบริเวณที่คาสายดูดเลือด (catheter) ได้ ซึ่งอาจหายได้เองภายใน 7 วัน และความเสี่ยงจากการรับประทานยาทุกชนิด อาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ได้ไม่มากนักน้อย เช่น ผื่นคันแดง มีนิงง มีไข้ ปวดศีรษะ





 <p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>AF 10-04/4.0</p> <p>เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)</p>
--	---

และปวดกล้ามเนื้อ ซึ่งพบได้น้อย เมื่อท่านเกิดการไม่พึงประสงค์หรือความไม่สบายต่างๆ เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้วิจัยทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆเกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใด ๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับการเข้าร่วมในโครงการวิจัยท่านสามารถสอบถามจากผู้วิจัยได้ตลอดเวลา หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้วิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัย

#### ประโยชน์ที่ได้รับ

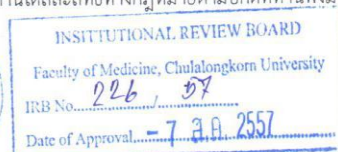
ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆ จากการเข้าร่วมในการวิจัยนี้ แต่ผลของการวิจัยในครั้งนี้จะทำให้ทราบความสัมพันธ์ระหว่างระดับสารมีฤทธิ์ (active metabolite) ของ Clopidogrel กับผลของยาในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ในอาสาสมัครชาวไทยซึ่งสามารถนำข้อมูลและวิธีการไปประยุกต์ใช้ในผู้ป่วยต่อไป


#### ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีตและปัจจุบันแก่ผู้วิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้วิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้อื่น รวมถึงการรักษาอื่นๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้วิจัยทราบทันทีหากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ทุกชนิดก่อนร่วมโครงการ 2 สัปดาห์ จนกระทั่งโครงการสิ้นสุด และงดสูบบุหรี่โดยเด็ดขาด
- ขอให้ท่านงดเข้าร่วมการศึกษาวิจัยโครงการอื่นๆ หลังจากนั้นเป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือน

#### อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย และความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัยท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที ผู้วิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลและค่าชดเชยการสูญเสียรายได้ และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอมไม่ได้หมายความว่าท่านได้ละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี



 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	AF 10-04/4.0 เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)
---	---

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัย คือ น.ส. มาลินี ชื่นแสงจันทร์ เบอร์โทรศัพท์ 085-2367557 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

#### คำตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย

ท่านจะไม่ได้รับเงินค่าตอบแทนจากการเข้าร่วมในการวิจัยนี้ เพราะเป็นเพียงการขอเลือดเพิ่มจากโครงการวิจัย “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” แต่สำหรับค่าใช้จ่ายในการเดินทางมาพบผู้วิจัย ท่านจะได้รับเงินชดเชยค่าเดินทางจากโครงการวิจัยหลัก คือ “การศึกษาชีวสมมูลของยาเม็ดโคลพิโดเกรล 75 มิลลิกรัมในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี” เป็นผู้รับผิดชอบ

#### การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัยเพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา

#### การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร


ข้อมูลที่ท่านนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่านจะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอโดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่าน ผู้ทำวิจัยและผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้งหรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอมโดยส่งไปที่ น.ส. มาลินี ชื่นแสงจันทร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



INSITUTIONAL REVIEW BOARD	
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University	
IRB No. 226 / 57	
Date of Approval. - 7 ส.ค. 2557	



 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	AF 10-04/4.0 เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)
---	---

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

#### สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย


ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
6. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
7. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่ จำนวน 1 ชุด และได้รับสำเนาเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยจำนวน 1 ชุด
8. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับ ช่มชู้ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอำนวยการ 3 ชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ



INSITTUTIONAL REVIEW BOARD	
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University	
IRB No.	226 ๑๗
Date of Approval	- 7 ส.ค. 2557
Version 2.0 Dated 9 July 2014	

 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	AF 10-04/4.0 เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)
---	---


ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

.....



INSITTUTIONAL REVIEW BOARD	
Faculty of Medicine, Chalalongkorn University	
IRB No.	226 / 27
Date of Approval	- 7 ส.ค. 2557

**ภาคผนวก ค**  
**เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย**

 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	AF 10-05/4.0 เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย
---	--

การวิจัยเรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ ของยาโคลพิโดเกรสในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี

วันให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....  
 ที่อยู่.....ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับ  
 ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย  
 โดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และวันที่  
 พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้  
 ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย  
 หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาส  
 เพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่  
 ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ


ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการ  
 รักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย และจะได้รับค่าชดเชยรายได้ที่สูญเสียไปในระหว่างการรักษาพยาบาลตาม  
 มาตรฐานค่าแรงขั้นต่ำตามกฎหมาย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการ  
 บอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการ  
 ยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจ  
 และประมวลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล  
 เท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทาง  
 การแพทย์ของข้าพเจ้าได้



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD Faculty of Medicine, Chulalongkorn University IRB No. 226 / 57 Date of Approval: -7 ต.ค. 2557
---

 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	AF 10-05/4.0 เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย
---	--

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใดๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อจะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม  
 (.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง  
 วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพ

- ไม่มีตัวอย่างชีวภาพ  
 มีแต่ไม่มีการขอเก็บ  
 มีและขอเก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต


ข้าพเจ้า  ยินยอม  
 ไม่ยินยอม

ให้เก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม  
 (.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง  
 วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....



INSITTUTIONAL REVIEW BOARD	
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University	
IRB No. 226	57
Date of Approval	- 7 ส.ค. 2557

	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	AF 10-05/4.0 เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย
---	--	--

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือ ความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมใน โครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอม ด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย  
 (.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง  
 วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน  
 (.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง  
 วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....



<b>INSITTUTIONAL REVIEW BOARD</b> Faculty of Medicine, Chulalongkorn University	
IRB No.	226 - 57
Date of Approval	7 ส.ค. 2557

**ภาคผนวก ง**  
**เอกสารรับรองโครงการวิจัย**



COA No. 512/2014

IRB No. 226/57

**คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน**  
**คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**  
1873 ถ.พระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2256-4493 ต่อ 14, 15

**เอกสารรับรองโครงการวิจัย**

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากลได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline และ International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

**ชื่อโครงการ** : ความสัมพันธ์ระหว่างเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ของยาโคลพิโดเกรส ในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี

**เลขที่โครงการวิจัย** : -

**ผู้วิจัยหลัก** : นางสาวมาลินี ชื่นแสงจันทร์

**สังกัดหน่วยงาน** : ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**วิธีทบทวน** : คณะกรรมการเต็มชุด

**รายงานความก้าวหน้า** : ส่งรายงานความก้าวหน้าอย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หากดำเนินโครงการเสร็จสิ้นก่อน 1 ปี

**เอกสารรับรอง** :

1. โครงร่างการวิจัย Version 2.0 date 21 July 2014
2. โครงการวิจัยฉบับย่อ Version 2.0 date 9 July 2014
3. เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 2.0 Dated 9 July 2014
4. เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 1.0 Dated 17 April 2014
5. Case Report Form Version 2.0 Dated 10 July 2014
6. Curriculum vitae Version 1.0 Dated 17 April 2014





7. งบประมาณโครงการ Version 1.0 Dated 10 April 2014

ลงนาม .....  
 (รองศาสตราจารย์นายแพทย์อรรณพ ใจสำราญ)  
 รองประธานปฏิบัติหน้าที่แทนประธาน  
 คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

ลงนาม .....  
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พญ.ประภาพรณ รัชตะปิติ)  
 กรรมการและเลขานุการ  
 คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

วันที่รับรอง : 7 สิงหาคม 2557

วันหมดอายุ : 6 สิงหาคม 2558

ทั้งนี้ การรับรองนี้มีเงื่อนไขดังที่ระบุไว้ด้านหลังทุกข้อ (ดูด้านหลังของเอกสารรับรองโครงการวิจัย)



COA No. 512/2014

IRB No. 226/57

**INSTITUTIONAL REVIEW BOARD****Faculty of Medicine, Chulalongkorn University**

1873 Rama 4 Road, Patumwan, Bangkok 10330, Thailand, Tel 662-256-4493 ext 14, 15

**Certificate of Approval**

The Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, has approved the following study which is to be carried out in compliance with the International guidelines for human research protection as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline and International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

**Study Title** : Correlation between pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel in Thai healthy volunteers.

**Study Code** : -

**Principal Investigator** : Miss Malinee chunsangchan

**Affiliation of PI** : Department of Pharmacology,  
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

**Review Method** : Full board

**Continuing Report** : At least once annually or submit the final report if finished.

**Document Reviewed** :

1. Protocol Version 2.0 date 21 July 2014
2. Protocol Synopsis Version 2.0 date 9 July 2014
3. Information sheet for research participant Version 2.0 Dated 9 July 2014
4. Informed Consent Form Version 1.0 Dated 17 April 2014
5. Case Report Form Version 2.0 Dated 10 July 2014
6. Curriculum vitae Version 1.0 Dated 17 April 2014





7. Budget Version 1.0 Dated 10 April 2014

Signature:.....

(Associate Professor Unnop Jaisamrarn MD, MHS)

Vice-Chairman, Acting Chairman

The Institutional Review Board

Signature:.....

(Assistant Professor Prapapan Rajatapiti MD, PhD)

Member and Secretary

The Institutional Review Board

Date of Approval : August 7, 2014

Approval Expire Date : August 6, 2015

Approval granted is subject to the following conditions: (see back of this Certificate)

## ภาคผนวก จ

### คำอธิบายเพิ่มเติมเรื่องการเตรียมสารละลาย working standard clopidogrel active metabolite

Standard clopidogrel active metabolite สั่งนำเข้าจากบริษัท Alsachim ประเทศฝรั่งเศส ตามใบ COA ซึ่งสารนี้เป็น mixture of diastereoisomers สามารถแยกได้ด้วย retention time ที่ต่างกันด้วยวิธี LC-MS/MS จากการตรวจวัดด้วยวิธี LC-MS/MS ตามการศึกษานี้ พบพีคโครมาโทแกรม 3 พีค ที่มี retention time  $1.5 \pm 0.5$  นาที มวลโมเลกุลเดียวกันทั้ง 3 พีค เมื่อคำนวณสัดส่วนของแต่ละพีคที่วิเคราะห์ได้ตามพื้นที่ของโครมาโทแกรม (area) ได้ ดังตารางที่ 13

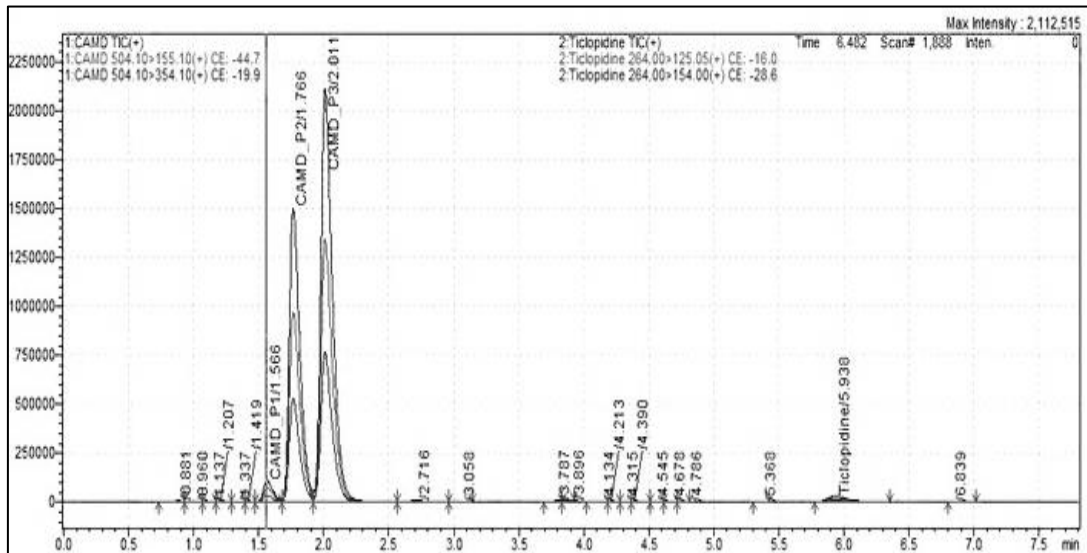


**ตารางที่ 13:** แสดงค่าการวัดพื้นที่ของโครมาโทแกรมของ clopidogrel active metabolite ความเข้มข้นต่ำ, กลาง และสูงในสารละลายวันเดียวกัน (n= 5)

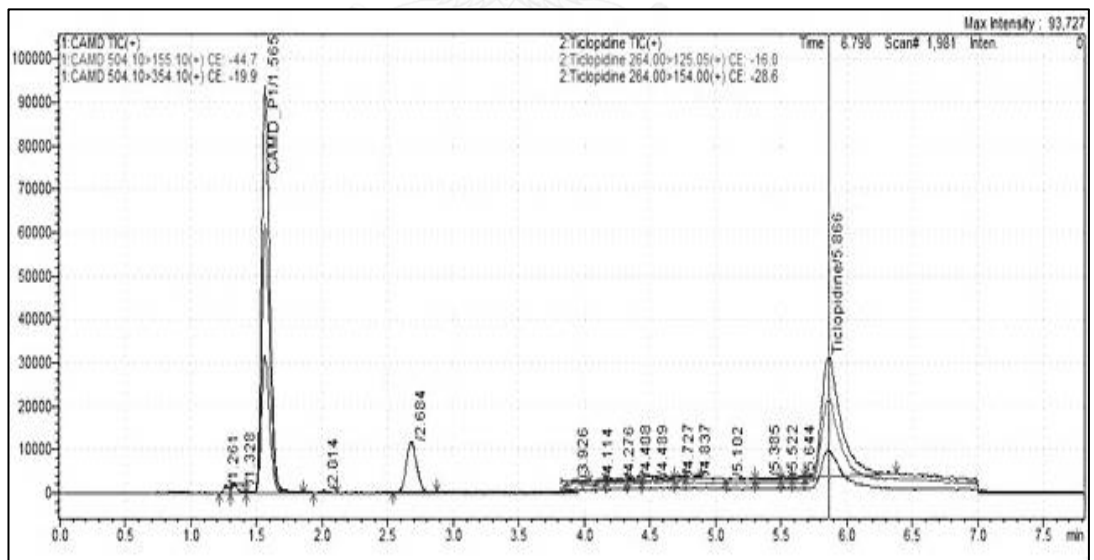
Concentration	No.	Area			total
		1 <sup>st</sup> peak	2 <sup>nd</sup> peak	3 <sup>rd</sup> peak	
Low	1	86	6,605	9,273	15,964
	2	110	7,210	9,786	17,106
	3	265	7,192	10,397	17,854
	5	158	7,194	10,494	17,846
	mean		154.75	7,050.25	9,987.50
Ratio (%)		0.90	41.01	58.09	100.00
Medium	1	2,883	86,756	123,745	213,384
	2	3,168	86,900	134,832	224,900
	3	3,007	89,764	129,239	222,010
	4	3,235	82,799	118,422	204,456
	5	2,447	91,000	129,931	223,378
mean		2,948.00	87,443.80	127,233.80	217,625.60
Ratio (%)		1.35	40.18	58.46	100.00
High	1	6,544	185,194	282,558	474,296
	2	6,979	189,968	291,192	488,139
	3	6,822	194,707	296,643	498,172
	4	7,094	199,864	305,812	512,770
	5	7,625	193,538	293,595	494,758
mean		7,012.80	192,654.20	293,960.00	493,627.00
Ratio (%)		1.42	39.03	59.55	100.00
Total ratio (%)		1.23	40.07	58.70	100

เมื่อหาค่าเฉลี่ยของโครมาโทแกรมทั้ง 3 พีค พบว่าสัดส่วนของพีคแรก : พีคสอง: พีคสาม คือ 1.23: 40.07: 58.70 จึงนำสัดส่วนของพีคที่ได้มาคำนวณเพื่อชั่งปริมาณของสารมาตรฐาน โดยพบว่าสารออกฤทธิ์ในในพลาสมาของอาสาสมัครออกที่ retention time เดียวกับพีคแรก แสดงภาพโครมา

โปรแกรมเปรียบเทียบในภาพที่ 26 วิธีการคำนวณและเตรียมสารละลายสรุปไว้ในบทที่ 3  
วิธีดำเนินการวิจัย

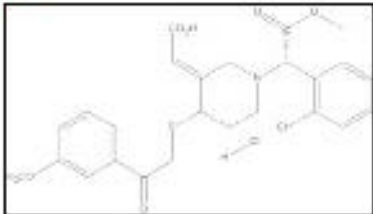




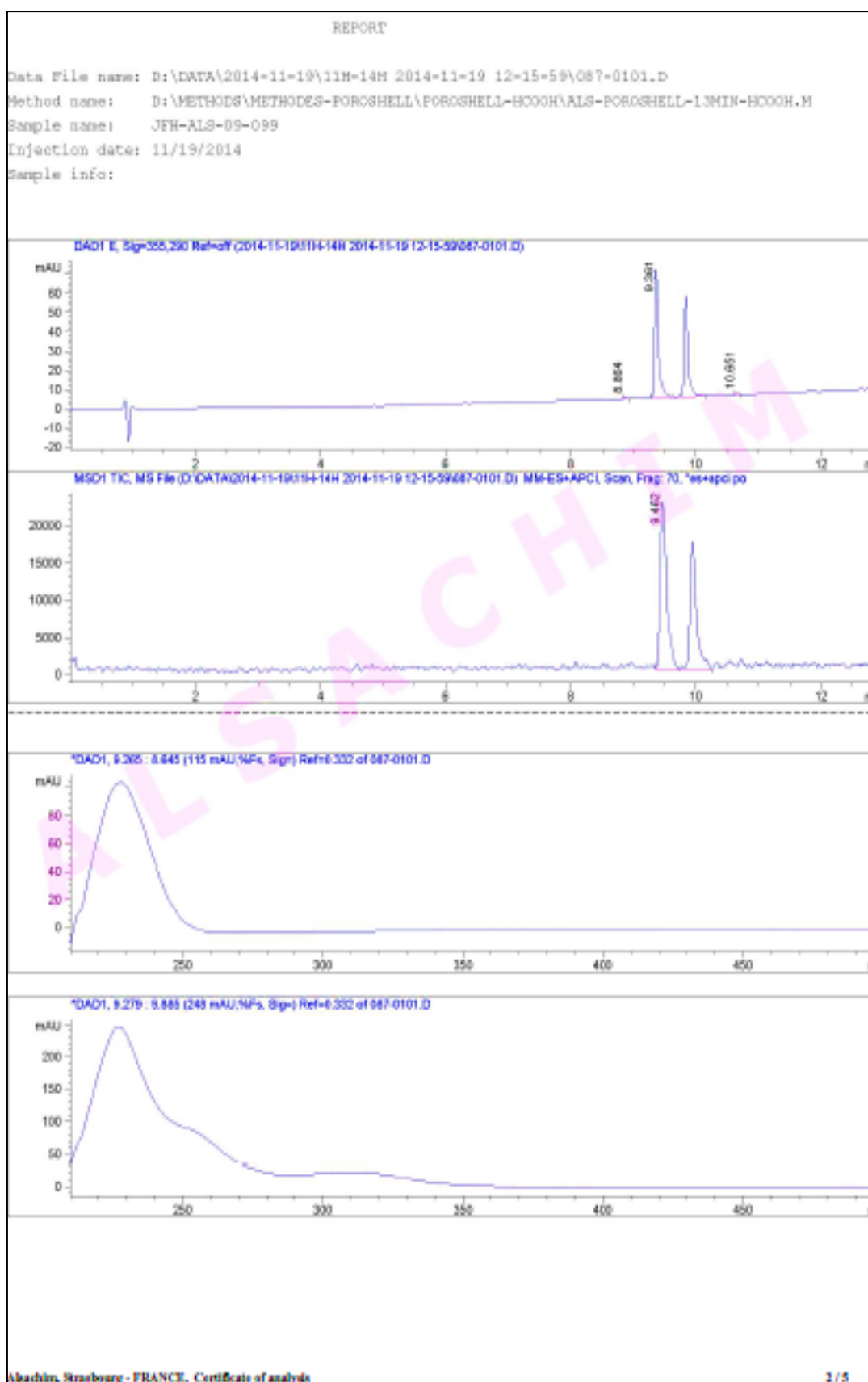
ภาพที่ 25: แสดงโครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน clopidogrel active metabolite ในพลาสมาของอาสาสมัคร



ภาพที่ 26: แสดงโครมาโทแกรมของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมาของอาสาสมัคร

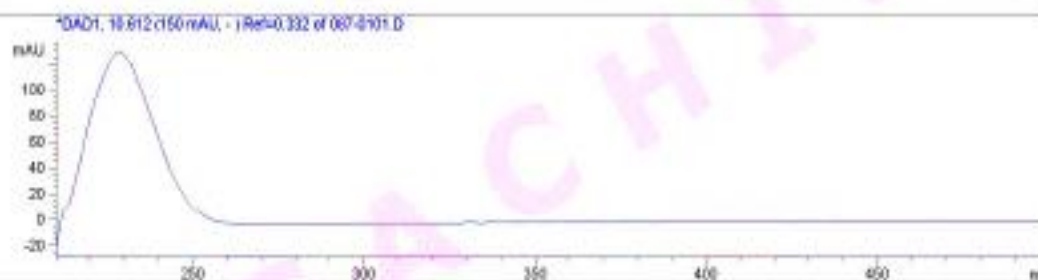
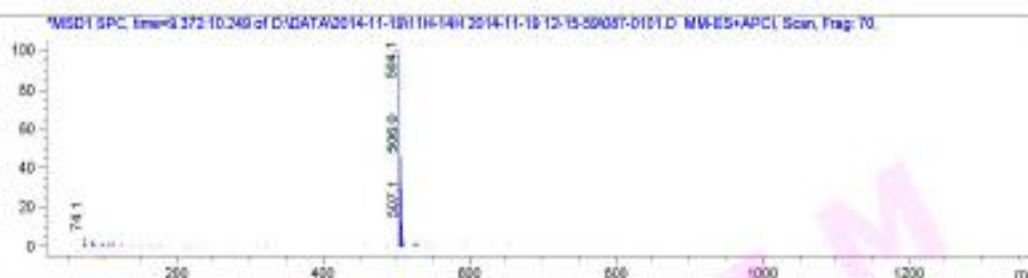
ภาคผนวก จ  
เอกสารรับรองคุณลักษณะของสารมาตรฐาน

<b>ALSACHIM</b>	<b>CERTIFICATE OF ANALYSIS</b>	
<b>Product Name:</b>	(E)-MPB derivatised Clopidogrel AM metabolite hydrochloride (mixture of diastereoisomers)	
<b>Unlabeled Molecular Formula:</b>	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> ClNO <sub>2</sub> S · HCl	
<b>Molecular Weight:</b>	540.46 g/mol	
<b>Structure:</b>		
<b>Batch Number:</b>	JFH-ALS-09-099	
<b>Product Number:</b>	C1416	
<b>CAS Number:</b>	1122043-98-6 free base	
<b>Storage:</b>	For a prolonged period, keep at +5°C (±4°C) in a closed container, away from light and moisture	
<b>Stability:</b>	Stable (36 months) (*)	
<b>Extended Expiring date:</b>	Sunday November 19, 2017	
<b>Solvent solubility:</b>	Soluble in Acetonitrile or Chloroform	
<b>Appearance:</b>	<b>Specification:</b>	<b>Result:</b>
<b>Chemical Purity (HPLC-MS):</b>	Pale yellow solid	Pale yellow solid
<b>NMR 1H:</b>	≥ 98,0%	99,0%
<b>NMR 13C:</b>	NMR 1H obtained correspond to structure	Conforms
<b>Mass Spectrometry:</b>	NMR 13C obtained correspond to structure	Conforms
<b>Manufacturing date:</b>	Mass obtained correspond to structure	Conforms
<b>Reanalysis date:</b>	Tuesday November 3, 2009	
	Wednesday November 19, 2014	
<b>Analytical Review &amp; Approval</b>		<b>Quality Review &amp; Approval</b>
Toufik FELLAGUE, PhD		Jean-François HOFFLER, PhD
Date: Wednesday November 19, 2014		Date: Wednesday November 19, 2014
		
(*) This Certificate of Analysis is valid provided that the advised storage conditions were respected.		
Alsachim, Strasbourg - FRANCE, Certificate of analysis		
		1 / 5



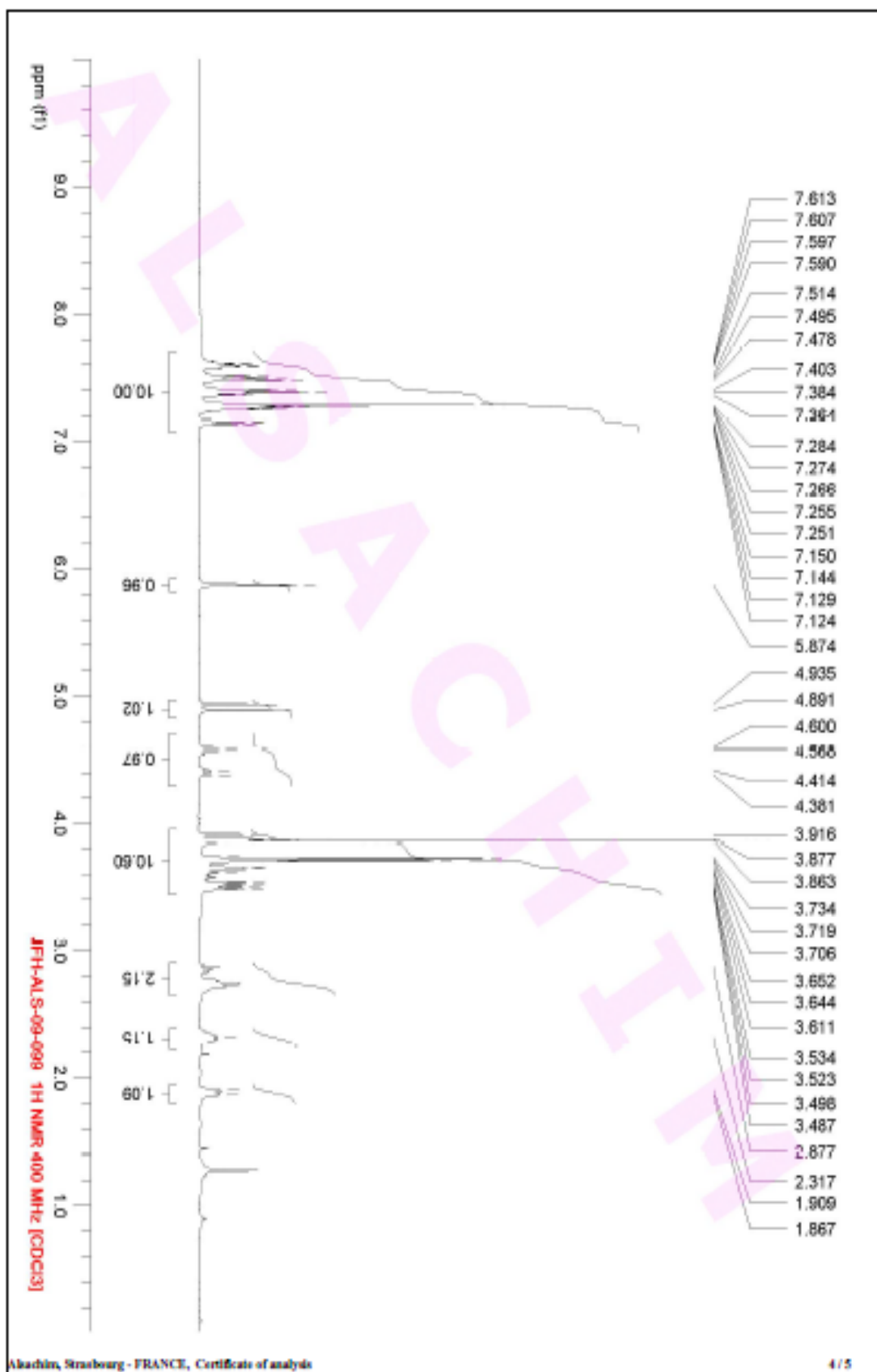
## REPORT

Data File name: D:\DATA\2014-11-19\11H-14M 2014-11-19 12-15-59\087-0101.D  
 Method name: D:\METHODS\METHODS-POROSHHELL\POROSHHELL-HCOOH\ALS-POROSHHELL-13MIN-HCOOH.M  
 Sample name: JFH-ALS-09-099  
 Injection date: 11/19/2014  
 Sample info:

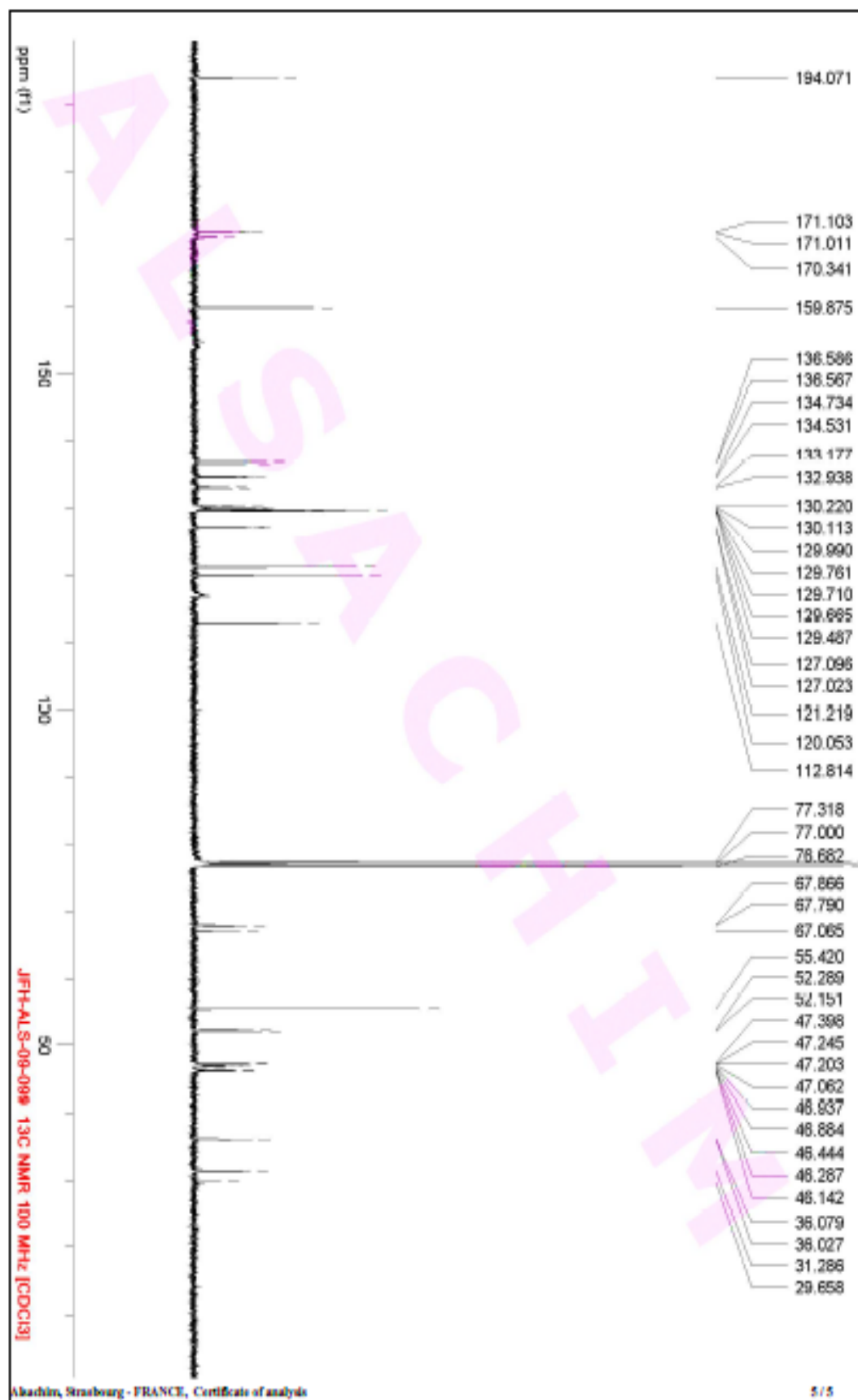


Column: Agilent Poroshell 120 EC-C18 (4.6x75mm, 2.7µm)  
 Mobile Phase: - solvent A (water + 0.1% formic acid)  
 - solvent B (ACN + 0.1% formic acid)  
 Linear gradient: from 5% B to 90% B in 13 min  
 Flow Rate: 1 mL/min  
 UV Detector: DAD1 (210-500 nm)  
 MS Detector: MSD1 (ESI+ & APCI+)

Peak #	Ret. Time [min]	Signal	Peak Typ	Area [mAU*s] or []	Area %
1	0.864	DAD1 E	IM	2.114	0.419
2	9.361	DAD1 E	IM	499.852	99.077
3	9.462	MSD1 T	IM	298276.094	100.000
4	10.601	DAD1 E	IM	2.539	0.503







## ภาคผนวก ข

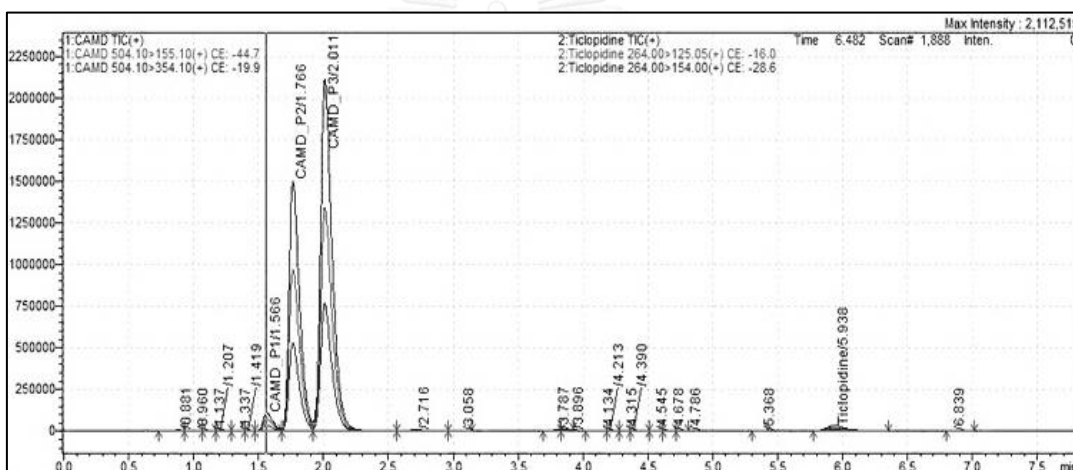
### การประเมินความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์

วิธีการประเมินความน่าเชื่อถือของวิธี เพื่อเป็นการยืนยันผลของข้อมูลที่ได้ว่ามีความถูกต้อง เชื่อถือได้ เกณฑ์การประเมินปฏิบัติตาม US FDA Guideline (43)

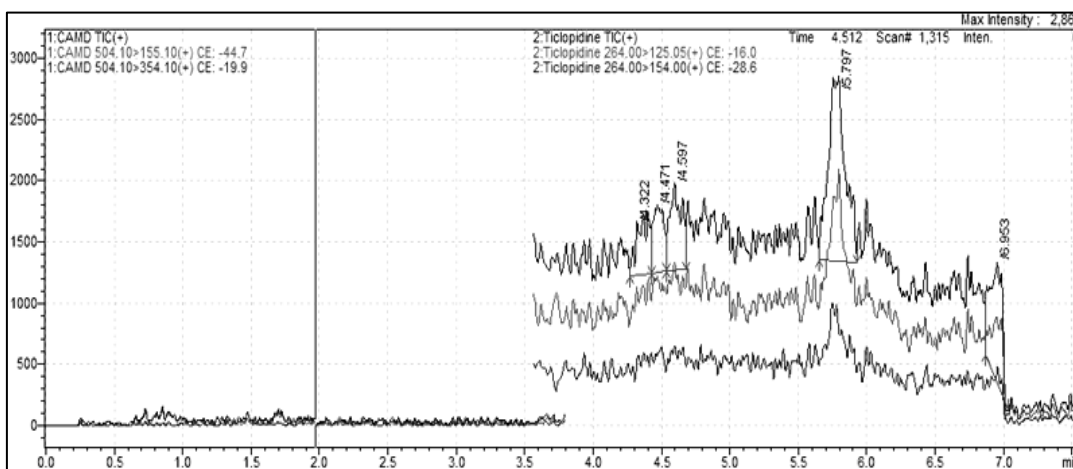
#### 1. การศึกษาความน่าเชื่อถือของการวิเคราะห์ระดับ Clopidogrel active metabolite

##### 1.1 การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของการวิเคราะห์ (specificity/selectivity)

โครมาโทแกรมแสดงความจำเพาะเจาะจงของการวิเคราะห์ พบว่า retention time ของระดับสาร clopidogrel active metabolite อยู่ระหว่าง  $1.50 \pm 0.50$  นาที ส่วน ticlopidine hydrochloride(internal standard) มี retention time อยู่ระหว่าง  $5.80 \pm 0.50$  นาที ดังภาพที่ 27



ภาพที่ 27: (ก) พลาสมาที่เติม clopidogrel active metabolite และ internal standard



ภาพที่ 28: (ข) พลาสมาที่ไม่มีสารตัวอย่าง (blank plasma)

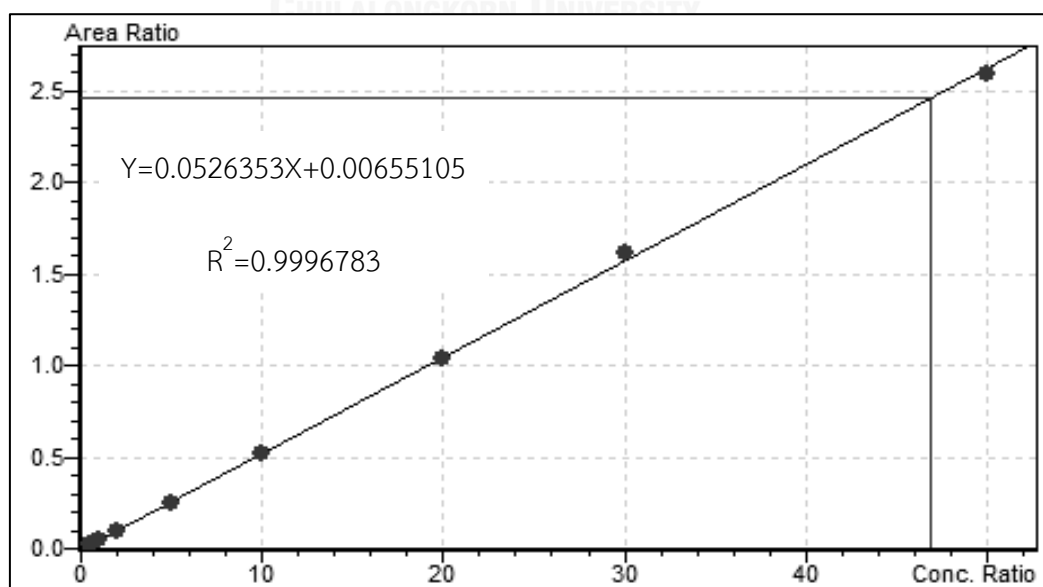
การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของการวิเคราะห์ (specificity/selectivity) จะทำการวิเคราะห์โดยใช้ blank plasma sample จำนวน 6 ตัวอย่างที่แตกต่างกัน ซึ่งวิธีที่พัฒนาขึ้นพบว่า ไม่มีพีคโครมาโทแกรมอื่นมารบกวนโครมาโทแกรมของ clopidogrel active metabolite และ ticlopidine (internal standard)

### 1.2 การวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่วิธีสามารถวิเคราะห์ได้ (Lower limit of quantification; LLOQ) ของ clopidogrel active metabolite

ความเข้มข้นต่ำสุดของระดับสาร clopidogrel active metabolite ที่สามารถวิเคราะห์ได้เท่ากับ 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าความถูกต้อง (accuracy) ในวันเดียวกันและระหว่างวันของค่าต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 105.27% (n=3) และ 110.42% (n=3) ตามลำดับ และมีค่าความแม่นยำในวันเดียวกันและระหว่างวันของค่าต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจวัดได้ เท่ากับ 11.74% (n=3) และ 4.14% (n=3) ตามลำดับ ซึ่งค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ clopidogrel active metabolite ที่สามารถวิเคราะห์ได้มีค่าความแม่นยำ (precision) แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% coefficient of variation, %CV) และ % accuracy อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ อยู่ระหว่าง 80-120%

### 1.3 Linearity/Standard calibration curve

กราฟมาตรฐานของสาร clopidogrel active metabolite ได้ค่า  $Y = ax + b$  เมื่อ Y เป็น area ratio และ x เป็นค่าความเข้มข้นของ clopidogrel active metabolite ในพลาสมา ค่า coefficient of determination ( $R^2$ ) ของ clopidogrel active metabolite เท่ากับ 0.9996 ดังภาพที่ 29



ภาพที่ 29: กราฟมาตรฐานของ clopidogrel active metabolite

#### 1.4 ความถูกต้องของการวิเคราะห์ (accuracy) และความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ (precision)

การตรวจวัดระดับสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมา พบว่ามีค่าความถูกต้องของการตรวจวัดที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง ในวันเดียวกัน และระหว่างวัน เท่ากับ 87.62%, 92.61%, 95.96% และ 95.27%, 103.96% และ 102.88% ตามลำดับ และค่าความแม่นยำของการตรวจวัดที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูงในวันเดียวกัน และระหว่างวัน เท่ากับ 3.03%, 3.44%, 5.37% และ 7.28%, 9.60%, 7.41% ตามลำดับ พบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำ (low) กลาง (medium) และสูง (high) ของ clopidogrel active metabolite ที่สามารถวิเคราะห์ได้มีค่า precision แสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% coefficient of variation, %CV) และ % accuracy อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ อยู่ระหว่าง 85-115%

**ตารางที่ 14:** ความถูกต้องและเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ clopidogrel active metabolite ในพลาสมาในวันเดียวกัน (n= 3)

Accuracy and precision of clopidogrel active metabolite			
Level	Low	Medium	High
concentration	(1.5 ng/ml)	(15 ng/ml)	(40 ng/ml)
No.1	1.29	13.98	36.85
No.2	1.30	13.37	40.73
No.3	1.36	14.32	37.57
Average	1.31	13.89	38.38
%Accuracy	87.62±2.65	92.61±3.18	95.96±5.15
%CV	3.03	3.44	5.37

**ตารางที่ 15:** ความถูกต้องและเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ clopidogrel active metabolite ในพลาสมาในระหว่างวัน

Accuracy and precision of clopidogrel active metabolite			
Level	Low	Medium	High
concentration	(1.5 ng/ml)	(15 ng/ml)	(40 ng/ml)
Day 1	1.52	16.19	44.42
Day 2	1.31	13.89	38.38
Day 3	1.46	16.70	40.66
Average	1.43	15.59	41.15
%Accuracy	95.27±6.94	103.96±9.98	102.88±7.62
%CV	7.28	9.60	7.41

### 1.5 การหาประสิทธิภาพในการสกัด (Recovery of extraction)

เมื่อทำการสกัดและวิเคราะห์สารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมาด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย เอทิล อีเทอร์ ชนิด tert-Butyl ethyl ether ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ความเข้มข้นต่ำ (low) กลาง (medium) และสูง (high) ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในช่วงความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน คำนวณค่า % Recovery มีค่าเท่ากับ 90.31%, 95.72% และ 98.17% ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถยอมรับได้ คือ อยู่ระหว่าง 85-115% ส่วนความเข้มข้นของ ticlopidine hydrochloride (internal standard) ที่ความเข้มข้น เท่ากับ 60 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณค่า % Recovery มีค่าเท่ากับ 72.63-76.75%

### Study phase validation

เมื่อทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทดสอบและทำการวิเคราะห์ Quality control sample (QC sample) ร่วมด้วยระหว่างที่ทำการวิเคราะห์ ความเข้มข้นต่ำ (low) กลาง (medium) และสูง (high) ความเข้มข้นละ 2 ชุด พบว่า ค่าของ QC sample มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง ±15%

จากการทดสอบความน่าเชื่อถือของการวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในพลาสมา พบว่าวิธีนี้มีความเจาะเพาะเจาะจง ถูกต้องแม่นยำ เที่ยงตรง และมีประสิทธิภาพของการสกัดที่ดี อยู่ในเกณฑ์ที่สามารถยอมรับได้ (43) ดังนั้นวิธีการตรวจนี้สามารถนำไปใช้ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสารออกฤทธิ์โคลพิโดเกรลในคนที่ได้รับยาเม็ดโคลพิโดเกรลขนาด 75 มิลลิกรัม

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-นามสกุล นางสาวมาลินี ชื่นแสงจันทร์  
วันเกิด 6 พฤศจิกายน  
สถานที่เกิด จ. สมุทรสาคร  
การศึกษา สำเร็จการศึกษาพยาบาลศาสตรบัณฑิต วิทยาลัยพยาบาล  
สภากาชาดไทย (เกียรตินิยมอันดับสอง) ปี พ.ศ. 2551

