บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของ levonorgestrel ในซีรั่ม โดยวิธี Radioimmuno assay เป็นวิธีขององค์การอนามัยโลก ซึ่งคิดค้นโดย Ahsan R และคณะ (Ahsan R et al, 1993) เป็นวิธีที่ใช้ปริมาณตัวอย่างในการวิเคราะห์น้อยเพียง 100 ไมโครลิตร สำหรับความน่าเชื่อถือของวิธีนี้ มีการประเมินค่าความเที่ยงตรง (precision) โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์แห่งการกระจาย (% RSD) มีค่าความเที่ยงตรงในวันเดียวกัน (Intraday precision) เท่ากับ 12% และความเที่ยงตรงระหว่างวัน (Interday precision) เท่ากับ 12% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ค่าความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้เช่นกัน โดยมีค่าวิเคราะห์กลับคืน (% recovery) อยู่ระหว่าง 82 – 100% ระดับของยาต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้คือ 0.36 เฟมโตกรัม / มิลลิลิตร ซึ่งระดับยาต่ำสุดที่ให้ผลในการรักษา คือ 3 นาโนกรัม / มิลลิลิตร (Coukell A.J and Balfout J.A , 1998) และมีความสัมพันธ์ระหว่าง logit กับความเข้มข้นของยาเป็นเส้นตรง ในระดับ r^2 เท่ากับ 0.9991

การเปรียบเทียบชีวสมมูลของยาต่างๆ พิจารณาจากอัตราเร็วและปริมาณยาที่ถูกดูดซึม โดยอัตราเร็วของการดูดซึม พิจารณาจากความเข้มข้นสูงสุดของยาในซีรั่ม (C_{max}) และเวลาที่ความเข้มข้นของยาสูงสุดในซีรั่ม (t_{max}) ส่วนปริมาณยาทั้งหมดที่ถูกดูดซึม พิจารณาจากค่าพื้นที่ใต้กราฟของความเข้มข้นของยาในซีรั่มกับเวลา ($AUC_{0-\infty}$) จากการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาการมีชีวสมมูลของยาเม็ดคุมกำเนิดหลังร่วมเพศ levonorgestrel 1 บริษัท เปรียบเทียบกับยาต้นตำรับ โดยพิจารณาจากค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ทั้ง 3 ค่า คือ ความเข้มข้นสูงสุดของยา levonorgestrel ในซีรั่ม (C_{max}) เวลาที่ความเข้มข้นของยา levonorgestrel สูงสุดในซีรั่ม (t_{max}) และค่าพื้นที่ใต้กราฟของความเข้มข้นของยา levonorgestrel ในซีรั่มกับเวลา ($AUC_{0-\infty}$) และนอกจากนี้ได้ศึกษาพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา levonorgestrel ในคนไทยเพิ่มเติม คือ ค่าคงที่อัตราเร็วการกำจัดยา (Ke) ค่าครึ่งชีวิตการกำจัดยา ($t_{1/2}$) และปริมาตรการกระจายตัว (Vd) โดยทำการศึกษาในอาสาสมัครเพศหญิง ซึ่งจะแตกต่างจากการศึกษาชีวสมมูลโดยทั่วๆ ไปที่จะเลือกศึกษาในอาสาสมัครเพศชาย เนื่องจากยาที่ศึกษาเป็นยาคุมกำเนิดหลังร่วมเพศที่ใช้เฉพาะในเพศหญิงเท่านั้น และมีการศึกษาเช่นเดียวกันนี้ที่ประเทศจีน และเยอรมัน (Chang-hai H et al, 1990 ; Nassr N et al, 1997)

ผลของการศึกษา อัตราเร็วของการดูดซึมพิจารณาจาก ค่าความเข้มข้นสูงสุดของยา levonorgestrel ในซีรั่ม (C_{max}) และเวลาที่ความเข้มข้นของยา levonorgestrel สูงสุดในซีรั่ม (t_{max}) ซึ่งผลที่ได้จะเกิดเนื่องมาจากความแตกต่างหรือความเหมือนในด้านของการแตกตัว

(disintegration) และการละลายของยา (dissolution) สารประกอบอื่นๆที่เติมลงไปในกระบวนการผลิต และการเปลี่ยนแปลงหลังจากที่มีการดูดซึมยา (Shah V.P. et al, 1996)

พิจารณาค่า C_{max} จากอาสาสมัคร 12 คน ของยาทั้ง 2 บริษัท (ตารางที่ 13) พบว่าค่าที่ได้จากบริษัท A แตกต่างจากบริษัท B มาก และในอาสาสมัครแต่ละคนจะมีค่าที่แตกต่างกัน โดยยา levonorgestrel จากบริษัท A มีค่า C_{max} อยู่ในช่วง 7.66-22.50 นาโนกรัม / มิลลิลิตร สำหรับยา levonorgestrel จากบริษัท B มีค่า C_{max} อยู่ในช่วง 1.66-4.75 นาโนกรัม / มิลลิลิตร ซึ่งเป็นไปได้ที่แต่ละคนจะมีความแตกต่างกัน เนื่องจากปัจจัยที่มีผลต่อระดับยาในเลือด ได้แก่ อายุ น้ำหนักตัว เป็นต้น ซึ่งอาสาสมัครมีอายุระหว่าง 24-40 ปี และมีน้ำหนักตัวอยู่ระหว่าง 46.5-60 กิโลกรัม และจากค่า C_{max} ที่แตกต่างกันมากของทั้ง 2 บริษัท เมื่อทดสอบทางสถิติค่า C_{max} ของยา levonorgestrel ระหว่างบริษัท A และ B ยังคงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ค่านี้ อาจจะเป็นส่วนประกอบอื่นๆ ที่อยู่ในยาเม็ด ซึ่งช่วยในกระบวนการผลิต และช่วยทำให้ยามีคุณสมบัติดีตามต้องการ ได้แก่ สารเพิ่มปริมาณใช้เติมลงในสูตรผสมของยา เพื่อให้เพียงพอที่จะออกเป็นเม็ดยาได้ สารยึดเกาะใช้เพื่อทำให้ส่วนผสมของยาเกาะกันเป็น granule ก่อนแตกเม็ด สารที่ทำให้เม็ดยาแตกเป็นชิ้นเล็กๆ หลังจากรับประทานยา สารหล่อลื่น และสารอื่นๆ ซึ่งใช้ในการแต่งรส กลิ่น และสีของเม็ดยา จึงส่งผลต่อค่าความเข้มข้นสูงสุดของยา levonorgestrel ในซีรั่ม ที่ร่างกายสามารถดูดซึมได้ และอีกปัจจัยหนึ่งที่น่าจะเกี่ยวข้องกับค่าความเข้มข้นสูงสุดของยา levonorgestrel ในซีรั่ม คือความไม่สัมพันธ์กันระหว่างการละลายและการแตกตัวของยาใน *in vitro* และ *in vivo* แม้ว่าการทดสอบการละลายและการแตกตัว *in vitro* ได้ผลที่ดี แต่เมื่อนำมาศึกษา *in vivo* การดูดซึมของยาอาจเกิดขึ้นไม่ดี ทั้งนี้เกิดขึ้นได้เนื่องจากการออกแบบทดสอบการละลายและการแตกตัวของยา *in vitro* ไม่เหมาะสม หรือเอนไซม์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Shargel L, 1999) จากการศึกษาถึงเภสัชจลนศาสตร์ของยา levonorgestrel ในต่างประเทศ โดยให้อาสาสมัครรับประทานยา levonorgestrel ขนาด 0.75 มิลลิกรัมครั้งเดียว เช่นเดียวกัน พบว่า C_{max} มีค่าอยู่ในช่วง 8.1-18.4 นาโนกรัม/มิลลิลิตร (Chang-hai H et al, 1990) ค่า C_{max} ของยา levonorgestrel เท่ากับยาบริษัท A ซึ่งไม่แตกต่างกับประเทศไทย

ค่า t_{max} จากตารางที่ 11 พบว่าค่า t_{max} หลังจากอาสาสมัครได้รับยา levonorgestrel 0.75 มิลลิกรัมครั้งเดียวจากบริษัท A อยู่ในช่วง 1.46 ± 0.58 ชั่วโมง และจากบริษัท B อยู่ในช่วง 3.25 ± 0.50 ชั่วโมง ซึ่งมีค่าแตกต่างกันมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ผลที่ได้อาจจะเนื่องมาจากความแตกต่างของสารประกอบอื่นๆ ในเม็ดยา ซึ่งสารที่ทำให้เม็ดยาแตกเป็นชิ้นเล็ก ๆ หลังจากรับประทานยา (Disintegrants) จะทำให้ t_{max} ลดลง สารหล่อลื่น (Lubricants) จะช่วยเพิ่มค่า t_{max} ให้สูงขึ้น แต่สำหรับสารที่ใช้เคลือบเม็ดยา (Coating agent) ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง

ของค่า t_{max} (Shargel L, 1999) เนื่องจากค่า t_{max} เป็นพารามิเตอร์ของเภสัชจลนศาสตร์ที่ใช้ประเมิน อัตราเร็วของการดูดซึมยาค่าหนึ่ง เช่นเดียวกับค่า C_{max} ค่า t_{max} ในแต่ละคน อาจจะแตกต่างกันบ้างเล็กน้อย จากผลทางสรีรวิทยาที่แตกต่างกัน เช่น การเคลื่อนไหวของทางเดินอาหาร การไหลเวียนของกระแสโลหิต และของเหลวที่หลั่งในทางเดินอาหาร เป็นต้น ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีผลต่ออัตราเร็วการดูดซึมยา จากการศึกษาในต่างประเทศ พบว่าระดับยาสูงสุด เมื่อเวลาผ่านไป 1-4 ชั่วโมง (Fotherby, 1994) ซึ่งสอดคล้องกับค่า t_{max} ที่ได้จากบริษัท A ที่เป็นยาต้นตำรับ และบริษัท B ที่เป็นยาที่ผลิตภายในประเทศไทย

พิจารณาค่าพื้นที่ใต้กราฟของความเข้มข้นของยา levonorgestrel ในซีรั่มกับเวลา ซึ่งจะบอกถึงปริมาณยาที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย จากตารางที่ 16 เมื่อนำค่าเฉลี่ย $AUC_{0-\infty}$ ที่ได้จากบริษัท A และ B คือ 153.02 ± 52.66 และ 85.22 ± 43.87 นาโนกรัม.ชั่วโมง / มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำมาเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงถึง ความแตกต่างของการดูดซึมของยาบริษัท A และ B มีความแตกต่างกันมาก ปัจจัยที่ส่งผลต่อการดูดซึมยาเข้าสู่ร่างกายมี 2 ปัจจัยใหญ่ๆ ด้วยกัน คือปัจจัยที่เกี่ยวกับยาและปัจจัยของร่างกาย ซึ่งได้แก่ลักษณะทางสรีรวิทยา พยาธิสภาพของร่างกายสำหรับการวิจัยครั้งนี้ปัจจัยที่เกี่ยวกับยาเป็นปัจจัยสำคัญ เพราะกลุ่มอาสาสมัครที่รับยาทั้งสองบริษัทเป็นกลุ่มเดียวกัน ปัจจัยเกี่ยวกับยา ได้แก่ ปัจจัยที่เกี่ยวกับขบวนการในการผลิตยา ขนาดโมเลกุลของยาหลังจากที่มีการแตกตัว การละลายของยา และการแตกตัวเป็นอิออน ค่า pKa และค่าการแตกตัวเป็นอิออนไม่มีผลต่อการดูดซึมของยา levonorgestrel เนื่องจากเป็นยาที่ละลายได้ดีในไขมัน ใช้ขบวนการ passive diffusion เป็นกลไกหลักในการดูดซึมผ่านเข้าเซลล์ ปัจจัยที่มีผลโดยตรงคือปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับขบวนการในการผลิตยา ได้แก่ การเติมสารประกอบอื่นๆ ที่ช่วยในกระบวนการผลิตลงไปในยาเม็ด ซึ่งสารที่ทำให้เม็ดยาแตกเป็นชิ้นเล็กๆ หลังจากรับประทานยา (Disintegrants) จะทำให้ค่า AUC เพิ่มมากขึ้น ในขณะเดียวกันที่สารหล่อลื่น (Lubricants) จะทำให้ค่า AUC ลดลง Cellulose acetate phthalate, Methylcellulose, Ethylcellulose. Castorwax, Carbowax มีผลทำให้ค่า AUC ลดลง สารที่ใช้เคลือบเม็ดยา (Coating agents) จะไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า AUC (Shargel L, 1999)และอีกปัจจัยหนึ่งที่อาจจะเกี่ยวข้องกับการวิจัยครั้งนี้ คือ ความไม่สัมพันธ์กันระหว่างการละลายและการแตกตัวของยาใน *in vitro* และ *in vivo* ซึ่งเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุด้วยกัน ดังที่กล่าวไปแล้วในการพิจารณาค่า C_{max}

ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ยาเม็ดคุมกำเนิดหลังร่วมเพศ levonorgestrel จากบริษัท A และ B มีความแตกต่างกันทั้งด้านอัตราเร็วและปริมาณยาที่ถูกดูดซึม โดยมีค่า C_{max}, t_{max} และ$AUC_{0-\infty}$ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) แสดงให้เห็นว่ายาจากบริษัท A และ B ไม่มี

ชีวสมมูลกัน ซึ่งมีประสิทธิภาพไม่เท่าเทียมกันในการให้ผลการรักษา จึงไม่สามารถนำมาใช้แทนกันได้

นอกจากค่าพารามิเตอร์ที่ใช้เปรียบเทียบความเท่าเทียมกันของค่าชีวอนุเคราะห์ (Bioavailability) แล้วยังมีค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ในหญิงไทย ที่ได้จากการวิจัยค้นคว้านี้ด้วย ซึ่งจะไม่นำค่าเหล่านี้มาเปรียบเทียบกันทางสถิติ ซึ่งได้แก่ ค่าคงที่อัตราเร็วการกำจัดยา (Ke), ค่าครึ่งชีวิตการกำจัดยา ($t_{1/2}$) ปริมาตรการกระจายตัวของยา (Vd) และอัตราการกำจัดยา (Cl)

จากการศึกษาความเท่าเทียมกันของค่าชีวอนุเคราะห์ (Bioavailability) พบว่า ยาจากบริษัท A และ B มีความไม่เท่าเทียมกัน เพราะฉะนั้นค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ที่จะนำมาใช้เป็นค่าปกติในหญิงไทยจะพิจารณาจากบริษัท A เท่านั้น จากตารางที่ 18 แสดงค่า Ke ของยา levonorgestrel เท่ากับ 0.07 ± 0.01 ชั่วโมง$^{-1}$ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ประเทศจีน พบว่าค่า Ke เท่ากับ 0.20 ± 0.09 ชั่วโมง$^{-1}$ (Chang-hai H et al, 1990) เมื่อพิจารณาค่า $t_{½}$ ของยาจากบริษัท A มีค่าเท่ากับ 9.32 ± 1.19 ชั่วโมง สำหรับการศึกษาที่ประเทศจีน ค่า $t_{1/2}$ เท่ากับ 13.3 ± 3.7 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาต่างประเทศในชาวสวีเดน ค่า $t_{1/2}$ เท่ากับ 8 - 24 ชั่วโมง (Weiner E, 1976) และในชาวยุโรปพบว่า $t_{1/2}$ เท่ากับ 4 - 23 ชั่วโมง (Fotherby, 1994 ; Taubert and Kuhl, 1994) เมื่อนำค่าปริมาตรการกระจายตัวของยา (Vd) จากตารางที่ 20 พบค่า Vd ของยา levonorgestrel จากบริษัท A คือ 60 ± 17 ลิตร เมื่อพิจารณา ค่า Vd ที่ได้ อยู่ในค่าที่มากกว่า 40 แสดงให้เห็นว่ายานี้มีการกระจายตัว และมีการสะสมของยาในเนื้อเยื่อหรือส่วนอื่น ๆ ของร่างกาย จึงทำให้ค่า Vd ที่ได้มีค่าสูง (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, คณะเภสัชศาสตร์, 2541) สำหรับการศึกษาที่ประเทศจีน พบว่า Vd เท่ากับ 115 ± 41ลิตร (Changhai H et al, 1990) และเมื่อนำค่าอัตราการกำจัดยา (Cl) จากตารางที่ 21 มาพิจารณา พบว่า Cl ของยา Levonorgestrel จากบริษัท A เท่ากับ 4.17 ± 1.29 ลิตร/ชั่วโมง สำหรับการศึกษาในประเทศจีน ค่า Cl เท่ากับ 6.1 ± 1.9 ลิตร/ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบการศึกษาในคนยุโรป ค่า Cl ที่ได้จากการศึกษาในชาวสวีเดน คือ 9.6 ลิตร/ชั่วโมง (Humpel H et al, 1978)

เมื่อพิจารณาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของ Levonorgestrel เปรียบเทียบระหว่างการศึกษาวิจัยครั้งนี้กับการศึกษาวิจัยในต่างประเทศ พบว่าค่า Cl, Vd, Ke และ $t_{1/2}$ มีความแตกต่างกัน Levonorgestrel มีการเมตาบอลิซึมส่วนใหญ่ที่ตับ เอนไซม์ที่ใช้ในการเมตาบอลิซึมยา Levonorgestrel คือ เอมไซม์ Cytochrome P450 (CYP) (Kuhnz W. et al, 1995 ; McWhorter L.S., 1998) การเมตาบอลิซึมขั้นตอนที่ 1 (phase I) ใช้ปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction) ที่ตำแหน่งวงแหวน เอ (A ring) และมีปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (Hydroxylation) สำหรับขั้นตอนที่ 2 ใช้ปฏิกิริยาจับควบ (Conjugation) ได้เมตาโบไลท์ในรูป sulphate และ glucuronide (Dolley C,

1991) ความแตกต่างที่เกิดขึ้น เกิดจากปัจจัยในการเมตาบอลิซึมยา ซึ่งมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการเมตาบอลิซึมยา ได้แก่ (1) พันธุกรรม ซึ่งเป็นตัวกำหนด polymorphism (2) อิทธิพลของสิ่งแวดล้อมที่รวมถึงการใช้ยา หรือการได้รับสารเคมีหลายชนิดเมื่อได้รับซ้ำ ๆ กัน ซึ่งอาจมีผลเหนี่ยวนำหรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (3)โรคของตับและสภาวะทุโภชนาการขั้นรุนแรง (มหิดล, มหาวิทยาลัย, คณะวิทยาศาสตร์, 2539) ปัจจัยที่สำคัญที่สุด คือ พันธุกรรมที่กำหนด polymorphism (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, คณะแพทย์ศาสตร์, 2540) โดยเฉพาะเอนไซม์ Cytochrome P450 พบว่ามี polymorphism ค่อนข้างสูง ทำให้มีความแตกต่างกันได้ระหว่างเชื้อชาติ ทั้งปัจจัยอื่นๆ เช่น อายุ โรคที่เป็นอยู่ การรับประทานอาหาร เป็นต้น ก็มีผลต่อเอนไซม์ Cytochrome P450 (Loew G.H., 1996) จะเห็นได้จากเมื่อเปรียบเทียบค่า Cl ของคนไทยกับคนจีน ซึ่งมีเชื้อสายใกล้เคียงกันพบว่าค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับคนยุโรป พบว่าค่า Cl แตกต่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความแตกต่างกันระหว่างเชื้อชาติ มีผลต่อค่า Cl ของยา Levonorgestrel ส่วนค่า Vd ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระจายตัวของยา พบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการกระจายตัวของยาในร่างกาย ได้แก่ การจับตัวของยากับโปรตีนในพลาสมา อัตราการไหลเวียนเลือดไปยังอวัยวะต่างๆ และคุณสมบัติของยาเองที่จะสะสมตามเนื้อเยื่อได้ดีหรือไม่ (มหิดล, มหาวิทยาลัย, คณะวิทยาศาสตร์, 2539) ความแตกต่างของ ค่า Vd ในการศึกษาครั้งนี้ แตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างคนไทยกับคนยุโรป ซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อค่า Vd คือการจับตัวของยากับโปรตีนในพลาสมา และอัตราการไหลเวียนเลือดไปยังอวัยวะต่างๆ แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างทางด้านสรีรวิทยาของร่างกายที่ส่งผลต่อค่า Vd เชื้อชาติที่ต่างกันส่งผลให้ค่า Cl และ Vd แตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงทำให้ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับค่า Cl และ Vd คือ ค่า Ke และ $t_{1/2}$ แตกต่างกันไปด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย