

การศึกษาฤทธิ์ยาฆ่าเชื้อมาลาเรียฟัลซิพารัมของยาชิงเฮาซูร่วมกับยาพัยริเมธามีน ในหลอดทดลองและในผู้ป่วย

บทคัดย่อ

งานวิจัยชิ้นนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อจะศึกษาถึงความเป็นไปได้ที่จะให้ยาอาร์ทิมีเธอร์ร่วมกับยาพัยริเมธามีนในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อมาลาเรียฟัลซิพารัมชนิดที่ดื้อยาและไม่ดื้อยา โดยเน้นที่ประสิทธิภาพของยาร่วมและการรักษาหายขาด เนื่องจากยาอาร์ทิมีเธอร์เป็นยาที่ดีที่สุดในปัจจุบัน โดยออกฤทธิ์เร็วต่อระยะวงแหวน แต่มีค่าครึ่งชีวิตสั้นซึ่งอาจเกิดการดื้ออย่างง่าย ส่วนยาพัยริเมธามีนเป็นยาที่มีค่าครึ่งชีวิตยาวและออกฤทธิ์ต่อระยะไซซอนต์

ผลการศึกษาในหลอดทดลอง พบว่า 1. MIC (minimal inhibitory concentration) ของยาอาร์ทิมีเธอร์ต่อระยะไซซอนต์มีค่าสูงกว่า MIC ของระยะวงแหวนประมาณ 8 เท่า 2. ยาพัยริเมธามีนมีผลต่อเชื้อมาลาเรียต่อเมื่อเชื้อเจริญเข้าสู่ระยะไซซอนต์เท่านั้น 3. เมื่อให้ยาอาร์ทิมีเธอร์ร่วมกับยาพัยริเมธามีน ยาอาร์ทิมีเธอร์จะออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อระยะวงแหวนและไซซอนต์ ก่อนยาพัยริเมธามีน 4. เชื้อที่รอดตายจากยาตัวใดตัวหนึ่งจะถูกฆ่าด้วยยาอีกตัวหนึ่งที่ MIC และลักษณะการตายของเชื้อจะเป็นผลเนื่องจากยาตัวที่สองเท่านั้น

ผลการศึกษาปฏิกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic) ของยาอาร์ทิมีเธอร์และยาพัยริเมธามีนเมื่อให้ร่วมกันในอาสาสมัคร พบว่าภายหลังที่อาสาสมัครกินยาพัยริเมธามีนขนาด 100 มก. เพียงอย่างเดียวเปรียบเทียบกับเมื่อกินพร้อมกับยาอาร์ทิมีเธอร์ 300 มก. พบว่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของทั้งสองขนานดังกล่าว ส่วนใหญ่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ยกเว้นเมื่อให้ร่วมกัน ค่า Cmax ของยาพัยริเมธามีนจะสูงขึ้นและ Vd/f เล็กลง อย่างมีนัยสำคัญ และจากการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาอาร์ทิมีเธอร์เมื่อให้ร่วมกับยาพัยริเมธามีน พบว่ายาพัยริเมธามีนขนาด 100 มิลลิกรัมไม่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาอาร์ทิมีเธอร์ขนาด 300 มิลลิกรัมแต่อย่างใด เนื่องจากไม่พบความแตกต่างของค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของอาร์ทิมีเธอร์และเมตะโบไลต์ (ไดฮัยโดรอาร์ทิมิซินิน หรือ DHA) จากการให้ยาอาร์ทิมีเธอร์เพียงชนิดเดียว หรือเมื่อให้ร่วมกับพัยริเมธามีน

ผลการศึกษาเภสัชฤทธิ์วิทยา (pharmacodynamic) ของยาทั้งสองตัวนี้ต่อเชื้อ K1 strain P. falciparum ซึ่งเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาพัยริเมธามีน โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI-1640 พบว่าฤทธิ์การฆ่าเชื้อมาลาเรีย (antimalarial activity) ในหลอดทดลองของพลาสมาที่เก็บหลังจากได้รับยาอาร์ทิมีเธอร์และของพลาสมาที่เก็บหลังจากได้รับยาอาร์ทิมีเธอร์ร่วมกับยาพัยริเมธามีน จะมีรูปแบบของ MIDs

(maximum inhibitory dilution) และ peak ของ MID คล้ายกัน แต่พลาสมาที่เก็บหลังจากได้รับยาพัยริเมตามีนจะไม่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อเลย แต่เมื่อนำพลาสมาดังกล่าวข้างต้นไปทำการทดลองกับเชื้อ T9/94 clone P. falciparum ซึ่งเป็นเชื้อที่ไวต่อยาพัยริเมตามีน พบว่าพลาสมาที่เก็บหลังจากได้รับยาพัยริเมตามีนจะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ และพบว่าฤทธิ์การฆ่าเชื้อของพลาสมาที่เก็บหลังจากได้รับยาผสมจะเป็นผลรวมของการออกฤทธิ์ของยาแต่ละตัว

เมื่อทำการศึกษาเภสัชฤทธิ์วิทยาของยาในพลาสมาต่อเชื้อ K1 strain P. falciparum และ T9/94 clone โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ LPLF RPMI หรือ RPS (มี PABA และ folic acid = 0.5 μ g/L และ 10 μ g/L ตามลำดับ) ซึ่งไม่ขัดขวางกับการทำงานของพัยริเมตามีน พบว่าพัยริเมตามีนไม่มีส่วนช่วยเสริมฤทธิ์ของยาอาร์ทิมีเธอร์แต่อย่างใดในการนี้ของ K1 strain P. falciparum แต่สำหรับเชื้อ T9/94 clone นั้น ผลการทดลองพบว่าพลาสมาที่เก็บจากอาสาสมัครบางรายที่ได้รับยาอาร์ทิมีเธอร์ร่วมกับยาพัยริเมตามีนนั้นให้ค่า MID สูงกว่าเมื่อให้ยาอาร์ทิมีเธอร์หรือพัยริเมตามีนเพียงชนิดเดียว เมื่อแปลงค่า MID เป็นค่าของ equivalent conc. ของ DHA แล้ว พบว่าฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรียสูงสุด (Amax) และพื้นที่ให้เส้นกราฟ (AUC) ในพลาสมาของยาผสมจึงมีค่าสูงกว่ายาเดี่ยวอย่างชัดเจน โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อทดสอบกับ T9/94 clone P. falciparum ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPS และ RPMI แต่สำหรับ K1 strain P. falciparum แม้ว่าจะพบว่ามีความแตกต่าง แต่เมื่อทดสอบทางสถิติแล้วไม่พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญผลการวิจัยครั้งนี้พบว่ายาอาร์ทิมีเธอร์และยาพัยริเมตามีนไม่น่าจะออกฤทธิ์ขัดขวางกันอย่างที่มียาจำนวนมากก่อนหน้านี้ แต่กลับพบว่ายาสองตัวนี้น่าจะออกฤทธิ์เสริมกันในการฆ่าเชื้อ P. falciparum ที่ไวต่อยาพัยริเมตามีนหรือดื้อยานี้ในระดับไม่สูงนัก เนื่องจากยาพัยริเมตามีนมีข้อดีหลายประการคือเป็นยาที่ราคาถูก ผลข้างเคียงน้อย และออกฤทธิ์ได้นานในร่างกาย ดังนั้น การที่จะนำยานี้มาใช้ร่วมกับยาอาร์ทิมีเธอร์ในการรักษาผู้ป่วย จึงน่าจะมีการศึกษาต่อเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่แน่ชัดว่าจะมีทางเป็นไปได้หรือไม่

Studies on Antimalaria Activity of Quinghaosu and Pyrimethamine in Vitro and in Vivo

Abstract

The pharmacokinetics and pharmacodynamics of a single oral dose of 300 mg of artemether (ART) and 100 mg of pyrimethamine (PYR) given as a single or a combined drug (300 mg of ART plus 100 mg of PYR), were investigated in 8 healthy Thai male volunteers. Their plasma samples collected at specific intervals were used for analysis the drug content and the ex vivo blood-schizonticidal activity. Results from pharmacokinetic study showed that both ART and PYR were rapidly absorbed after oral administration. Elimination of PYR was however, relatively slow as compared to that with ART, resulting in a long elimination half-life (50-106 h). Pharmacokinetics of ART and its active metabolite, dihydroartemisinin, following a single oral dose of ART and PYR (ART+PYR) resulted in significantly increased C_{max} (medians of 818 vs 1180 ng/ml) and contracted apparent volume of distribution (medians of 3 vs 2.56 l/kg) of PYR. Ex vivo blood-schizonticidal activities of plasma samples were investigated with K1 strain (PYR resistant) and T9/94 clone (PYR sensitive) of *Plasmodium falciparum*. An obvious synergistic effect against T9/94 clone was observed with the plasma collected after receiving ART+PYR when the test was carried out in media containing low concentrations of p-aminobenzoic acid and folic acid. The maximum activity (A_{max}) of plasma samples collected after ART+PYR regimen was expressed as equivalent of dihydroartemisinin concentration [6935 (1330-13400) nmole/l] and it was found to be significantly higher than those of ART [935 (397-2000) nmole/l] or PYR [9.9 (5.6-15.6) nmole/l] regimen alone. In addition, the area under activity (AUA) observed with the combined regimen [128397 (39274-197901) nmole.h/l] was also significantly higher than those of the other two regimens [(3618(1406-5597) and 334 (82.3-733.3) nmole.h/l]. Microscopic observation of the cultured plasmodium revealed that the combined-regimen plasma samples showed inhibitory effect of ART against all erythrocytic stages before the inhibitory effect of PYR was observed. Prolongation of the inhibitory effected in the plasma

samples of ART+ PYR regimen comparing with that of the ART regimen alone was shown to be due to the PYR activity. The results clearly demonstrated that there was no activity of PYR in plasma samples collected after the PYR regimen alone or the combined ART+ PYR regimen against the K1 strain. Confirmation of the above findings was done with microscopic examination showing the inhibitory effect on growth of the parasites was caused by ART activity only.

Our result of the ex vivo assay revealed that the combination of ART and PYR did not result in antagonistic effect as previously reported by some investigators. On the other hand, this combination seemed to provide a synergistic effect against a PYR sensitive clone of *P. falciparum* (T9/94). Although no synergistic effect was observed with the high PYR resistant strain (K1 strain), neither was the antagonistic effect.

Due to limitation in number of the drug regimen employed, the results of this study is still encouraging because they suggests an alternative way of drug treatment for treatment of *P. falciparum* infection in Thailand or in other endemic areas where *P. falciparum* is still sensitive to PYR, e.g. Africa. Appropriate doses of each drug and ratios of their combinations should be worked out by using pharmacokinetic modeling before giving to the patients.