

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RSA5580033

ชื่อโครงการ อิทธิพลของความหลากหลายทางพันธุกรรมของ UGT1A1 and ABCB1 ต่อเภสัชจลนศาสตร์และพิษของยาไอริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่

ชื่อนักวิจัย ผศ.ดร.พินเอกหญิง จีรานูช ตันคณิตเลิศ
ภาควิชาเภสัชวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า
โทรศัพท์ e: 02-354-7752, 086-460-1773

E-mail address :Jeeranuts@yahoo.com, iranut@pmk.ac.th

ระยะเวลาโครงการ 3 ปี

ยาไอริโนทีแคน (7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidinocarbonyloxycamptothecin; CPT-11) เป็นยารักษามะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีค่าความปลอดภัยต่ำและมีความผันแปรในประสิทธิภาพการรักษาและผลข้างเคียงของยาค่อนข้างมาก ยาจะถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับเป็นหลักได้ 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin; SN-38 ซึ่งเป็นเมตาโบไลต์ที่มีฤทธิ์แรงกว่ายาแม่ SN-38 จะถูกกำจัดด้วยกระบวนการ glucuronidation ได้เป็น SN-38G ซึ่งกระบวนการนี้ต้องอาศัยเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญคือ UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A1) และยังถูกขจัดได้โดยอาศัยโปรตีนที่เป็นตัวพาเฉพาะเช่น ABCB1 ความหลากหลายทางพันธุกรรมแบบ UGT1A1*6 และ ABCB1*2 พบมากในคนไทย และเกือบไม่พบ genotype นี้เลยในชนผิวขาว และความผิดปกตินี้มีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงยาโดยทำให้ระดับ SN-38 สูงขึ้นและมีผลข้างเคียงมาก เช่นเม็ดเลือดขาวต่ำ ท้องเสีย ชีตเป็นต้น แม้จะพบความถี่ของ UGT1A1*6 และ ABCB1*2 ในคนไทยมากกว่าคนผิวขาวแต่ การศึกษาเกี่ยวกับผลการเกิดร่วมกันของ UGT1A1*6 และ ABCB1*2 ต่อยาไอริโนทีแคน ยังมีน้อยมากและข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบันก็เป็นการศึกษาในรูปแบบและขนาดของยาที่แตกต่างกัน ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของ UGT1A1*6 และ ABCB1*2 ต่อเภสัชจลนศาสตร์ และการเกิดพิษหรือผลข้างเคียงของยาไอริโนทีแคนในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ ซึ่งต้องใช้เครื่องมือและการพัฒนาเทคนิควิธีการวัดให้เหมาะสม ถูกต้อง แม่นยำและครอบคลุมระดับยาและเมตาโบไลต์ของยา โดยใช้เครื่อง UHPLC-MS/MS คอลัมน์ที่ใช้เป็น Hypersil Gold column(1.9 μ m, 100 mm x 2.1 mm) สารละลายที่ใช้เป็นตัวพาและเมตาโบไลต์เป็นกรดฟอร์มิก 0.1 % ในน้ำและเมทานอล 100% เลือกใช้ positive ion mode และ selected reaction monitoring พบว่า CPT-11 ถูกชะล้างออกมาที่เวลา 1.88 นาที ระดับต่ำสุดที่สามารถวัดได้เป็น 1 ng/mL, SN-38 ถูกชะล้างออกมาที่เวลา 2.7 นาที ระดับต่ำสุดที่สามารถวัดได้เป็น 0.1 ng/mL และ SN-38G ถูกชะล้างออกมาที่เวลา 1.5 นาที ระดับต่ำสุดที่สามารถวัดได้เป็น 1 ng/mL และ CPT ซึ่งใช้เป็น internal standard ถูกชะล้างออกมาที่เวลา 2.6 นาที ระดับต่ำสุดที่สามารถวัดได้เป็น 1 ng/mL โดย standard ทุกตัวค่าความถูกต้องอยู่ในช่วง 81.97-110 % และค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ในช่วง 0.01-13.3 % กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่าที่เครื่องวัดได้ พบความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรง ($R^2 > 0.994$) โดยใช้ความเข้มข้นของ CPT-11 อยู่ในช่วง

10-1000 ng/mL ความเข้มข้นของ SN-38 อยู่ในช่วง 1-300 ng/mL และความเข้มข้นของ CPT อยู่ในช่วง 10-300 ng/mL วิธีการนี้ได้นำมาใช้วัดยาและเมตาโบไลต์ในตัวอย่างเลือดที่ได้จากคนไข้มะเร็งลำไส้ใหญ่ ที่มี UGT1A1*6 และ ABCB1*2 ที่แตกต่างกัน ที่ได้รับยาไอริโนทีแคน ขนาด 180 mg/m² จำนวน 3 ราย โดยเก็บตัวอย่างเลือด ก่อนและหลังได้รับยาที่เวลา 0.5, 2, 4, 8, 12, และ 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการวัดระดับยาและเมตาโบไลต์ ผลแสดงให้เห็นว่า UGT1A1*6 homozygote มีแนวโน้มทำให้ระดับ SN-38 สูงขึ้น ในขณะที่ผู้ป่วยที่มี ABCB1*2 heterozygote มีระดับของ CPT-11 และ SN-38 สูงขึ้นด้วย ไม่พบผลข้างเคียงที่รุนแรงระดับ 3 หรือ 4 ในผู้ป่วยทุกราย

กล่าวโดยสรุปคือการพัฒนาการตรวจวัดระดับยาและเมตาโบไลต์ด้วย UHPLC-MS/MS ในการศึกษาวิจัยนี้ สามารถวัดระดับ CPT-11, SN-38 และ SN-38G ได้ครอบคลุมระดับยาในพลาสมา และมีความถูกต้องและเที่ยงตรง อีกทั้งการเตรียมตัวอย่างที่ไม่ซับซ้อนและกระบวนการวิเคราะห์ที่ใช้เวลาน้อย สามารถนำไปใช้ในการตรวจวัด CPT-11, SN-38 และ SN-38G ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่มี UGT1A1*6 and ABCB1*2 แตกต่างกันเป็นครั้งแรก

Abstract

Project Code : RSA5580033

Project Title : Influence of UGT1A1 and ABCB1 genetic variances on pharmacokinetics and toxicity of irinotecan in patients with colorectal cancer

Investigator : Assist. Prof. Dr. Col. Jeeranut Tankanitlert

Department of Pharmacology

Phramongkutklao College of Medicine

Telephone: 02-354-7752, 086-460-1773

E-mail address :Jeeranuts@yahoo.com, jeeranut@pmk.ac.th

Project Period : 3 years

Irinotecan (7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidinocarbonyloxy]camptothecin (CPT-11) is a widely used for advanced colorectal cancer. It is converted to 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38) mediated by UGT1A1 to produce SN-38 glucuronide (SN-38G). Many studies had described a wide range of the drug efficacy and toxicity focusing on genetic variances especially UGT1A1*28, UGT1A1*6 and ABCB1*2 which closely related to irinotecan-induced toxicity. Even though the frequencies of UGT1A1*6 and ABCB1*2 were higher in Asian than Caucasian, but only few studies had revealed the effect of concurrence of UGT1A1*6 and ABCB1*2 on irinotecan in patient with advanced colorectal cancer. To understand the influence of these genetic variances on the drug and its major metabolites, an analytical method should be sensitive and effective. The purpose of this study were to validate method by using UHPLC-MS/MS to obtain sensitivity for the low level of CPT-11 and its metabolites and study the effect of UGT1A1*6 and ABCB1*2 on pharmacokinetics and toxicity of irinotecan in patients with advanced colorectal cancer. The Hypersil Gold column (1.9 μ m, 100 mm x 2.1 mm) was selected and 0.1 % formic acid in water and 100% methanol was used as mobile phase. A positive ion mode and a selected reaction monitoring were used. The retention time were 1.88, 2.7, 1.5 and 2.6 min for CPT-11, SN-38, SN-38G, and CPT as internal standard, respectively. The limit of quantification (LOQ) were 0.1 ng/mL for SN-38 and 1 ng/mL for CPT-11 and CPT. The accuracy and coefficient of variation of all standards ranged from 81.97-110 % and 0.01-13.3 %, respectively. The calibration curves of all standards were linear ($R^2 > 0.994$) over the concentration ranges from 1-1000 ng/mL for CPT-11 and 1-300 ng/mL for SN-38 and CPT. This method was applied to three advanced colorectal cancer patients with different UGT1A1*6 and ABCB1*2 genotypes. After, 180 mg/m² of irinotecan (FOFLIRI) was administered by intravenous infusion within 1.5 hr, blood samples were collected

for 24 hours. Plasma levels of CPT-11 and its metabolites were measured by UHPLC-MS/MS. Our results showed that the UGT1A1*6 homozygote seem to associate with the increase of SN-38 plasma level and ABCB1*2 heterozygote may associate with the increase of CPT-11 plasma level. This analytical method is a rapid and sensitive method for CPT-11 and its metabolites because of its uncomplicated sample preparation and high sensitivity. This method was first applied to determine CPT-11 and its metabolites in advanced colorectal cancer patients with different UGT1A1*6 and ABCB1*2 genotypes.