

รายการอ้างอิง



ภาษาไทย

มหิดล, มหาวิทยาลัย. คณะวิทยาศาสตร์. ภาควิชาเภสัชวิทยา. เภสัชวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 3.

กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาเภสัชวิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2539.

วราภณ วงศ์ถาวรวาวัฒน์, วิทยา ศรีดามา, สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร และ ธิติ สนับบุญ. แนวทางการรักษาโรคเบาหวาน . Clinical practice guideline . กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2542.

วิทยา ศรีดามา. การดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวาน. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ยูนิตี้ พับลิเคชั่น, 2541

ศิริมาศ นันทสมบูรณ์. การศึกษาการเอื้อประโยชน์ในร่างกายของยาเม็ดโพพรานอลอลในคนไทยปกติ.วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2535.

สมพงษ์ จินายน. หลักการประเมินผลคุณสมบัติเทคนิควิเคราะห์สำหรับห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก.กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2529

สุพงษ์ เอกศิริพงษ์. เภสัชจลนศาสตร์. ปัตตานี : ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2531.

อรวรรณ เนตรถนอมศักดิ์. ศึกษาเปรียบเทียบการเอื้อประโยชน์ของยาเม็ดอะไซโคลเวียในคนไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2537

อุทัย สุวรรณภูฏ. Bioequivalence study : practical approach. Thai Journal of pharmacology 22 (2000) : s18-s20.

ภาษาอังกฤษ

- Andre S. J. Clinical Pharmacokinetics of Metformin. Clin Pharmacokinet. 30 (1996) : 359-371.
- Arafat T. Kaddoumi A. and Shami M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of two oral formulations of metformin hydrochloride. Adv Ther. 11(1994):21-33.
- Bailey CJ., Biguanides and NIDDM. Diabetic Care. 15 (1992): 755-772
- Bailey CJ. Biguanides and NIDDM. Diabetes Care. 15 (1992) : 755-772.
- Bailey CJ, and Wilcock C. Dual effect of metformin on the small intestine. Diabetic Med. (Suppl 12) (1990); A 12.
- Beckmann R. Verteilung im Organismus und Ausscheidung von metformin Diabetologia. 24 (1969) : 318-324.
- Benzi L. et al. Determination of metformin and phenformin in human plasma and urine by reverse-phase high-performance liquid chromatography. J Chromatoqr B Biomed Appl. 375(1986):184-189.
- Bonfigli AR, Manfrini S, Gregorio F, Testa R, Testa I, De Sio G. and Coppa G. Determination Of plasma metformin by a new cation- exchange HPLC technique. Ther Drug Monit. 21(1999) : 330-334.
- Brassler R, and John DG. Oral antidiabetic drug use in the elderly. Drugs. 9(1996) : 418-437.
- Brohon J. and Noel M. Determination of metformin in plasma at therapeutic levels by gas-liquid chromatography using nitrogen detector. J. Chromatoqr. 14 (1978):148-151.
- Brooks LG. et al. Effect of dosage form, dose and food on the pharmacokinetics of metformin . Pharm Res. 8 (1991): 320.
- Caille G, et al. Bioavailability of metformin in tablets from using a new high pressure liquid chromatography assay method. Biopharm Drug Dispos. 14 (1993):257-263

- Campbell IW, Menzies DG, Chalmers J, Mcbain AM, and Brown JR. One year Comparative trial of metformin and glipizide in type 2 diabetes mellitus. Diabetes Metab. 20 (1994) : 394-400.
- Charles M. and Clark Jr. Oral therapy in type 2 diabetes: pharmacological properties and clinical use of currently available agents. Diabetes Spectrum. 11(1998): 211-221.
- Charles BG, Jacobsen NW. and Ravenscroft PJ. Rapid liquid-chromatographic determination of metformin in plasma and urine. Clin Chem. 27 (1981): 434-436.
- Davison MB. and Peter Al. An overview of metformin in treatment type 2 diabetes mellitus. Am J Med. 201 (1997): 99-110.
- DeFronzo RA, Bonadonna RC. and Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. A balanced Overview . Diabetes Care. 15 (1992) : 318-368.
- DeFronzo R. The triumvirate : β -cell, muscle, liver : a collusion responsible for NIDDM. Diabetes. 34 (1988) : 667-687.
- DeFronzo RA. and Ferrannini E. Insulin resistance : a multifaceted syndrome responsible for NIDDM , obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. Diabetes Care. 14 (1991) : 173-194.
- DeFronzo RA, Barzilai NIR. and Simonson DC. Mechanism of metformin action in Obese and lean non-insulin-dependent diabetic subjects. J Clin Endocrinol Metab. 73 (1991): 1294-1301.
- DeFronzo RA. and Goodman AM. The Metformin Investigator Group: Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 333(1995) :541-549.
- Dunn CJ. and Peters DH. Metformin: a review of its pharmacological properties and therapeutic use in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Drugs. 49 (1995) :721-749.
- Galuska D. et al. Metformin increase insulin-stimulated glucose transport in insulin-resistance human skeletal muscle. Diabetes Metab. 17(1991) : 159-163.

- Gerich JE. Oral hypoglycemic agents. N. Engl J. Med. 321 (1989) : 1231-1245.
- Glucophage Prescribing Information, Princeton, New Jersey : Bristol – Meyers Squibb. 14 (1997)
- Herman LS, and Melander A. Biguanides: basic aspects and clinical uses In: Alberti KGMM, De Fronzo RA, Keen H, et al. editors, Internarional texbook of diabetes mellitus. Chichester : Wiley.(1992): 773-795.
- Hermann LS, Schersten B, Bitzen PO, Kjellstrom T, Lindgarde F. and Melander A. Therapeutic comparison of metformin and sulfonylurea, alone and in various combinations. Diabetes Care. 17 (1994) : 1100-1109.
- Hermann LS and Melander A. Biguanides basic aspect and clinical use. International Textbook of diabetes mellitus. New York , John Wiley and sons. (1992) : 77-95.
- Hermann LS, Karlsson J-E. and Sjostrand A. Prospective comparative study in NIDDM petients of metformin and glibenclamide with special reference to Lipid profiles. Eur J Clin Pharmacol. 41 (1991) : 263-265.
- non-insulin-dependent diabetes mellitus Diabete Metab 17 (1991) : 174-179.
- Hoether-Nielsen O, Schmitz O, Andersen PH, Beck- Nielsen H. and Pedersen O. Metformin improves peripheral but not hepatic insulin action in obese patients with type 2 diabetes. Acta Endocrinologica.120 (1989) : 257-265.
- Huupponen R. Ojala-Karlsson P. Rouru J. and Koulu M. Determination of metformin in plasma by high performance liquid chromatography. J Chromatoqr. 583(1992) : 270-273.
- leal Lis., and Somogyi A. Rapid and sensitive high performance liquid chromatographic assay for metformin in plasma and urine using ion – pair extraction techniques. J. chromatogr. 378 (1986) : 503-508.
- Jackson AJ. The bioequivalence interval . Generics and bioequivalence. USA : CRC Press, Inc . 1994.
- Jackson RA, Hawa MI, Jaspan JB, Sim BM, Disilvio L, Featherbe D and Kurtz AB. Mechanismof metformin action in non-insulin-dependent diabetes. Diabetes . 36 (1987) : 632-640

- Jean D.L. et al. Role of metformin accumulation in metformin-associated lactic acidosis. Diabetes Care. 18 (1995) : 779-784.
- Johnson AB, Argyraki M, Heseltine L, Sum CF, and Taylor R. The impact of metformin therapy on hepatic glucose production and skeletal muscle glycogen synthase activity in overweight NIDDM patients. Metabolism. 42 (1993) : 1217-1222.
- Josephkutty S. and Potter J. M. Comparison of tolbutamide and metformin in elderly diabetic patient. Diabetic Med. 7(1990) : 510-514.
- Kenneth C, Agostino C, and Ralph A. Metabolic effect of metformin on glucose and lactate metabolism in noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 81 (1996) : 4059-4067.
- Kenneth C and Ralph A. Metformin : a review of its metabolic effects. Diabetes Reviews. 6 (1998) : 89-131.
- Kilo C. metformin: a safe and effective treatment in management of NIDDM. Missouri Med 94 (1997): 114-123.
- Klip A. and Leiter LA. Cellular mechanism of action of metformin. Diabetes Care. 13 (1990) :696-704.
- Krentz AJ, Ferner RE. and Bailey CJ. Comparative tolerability profiles of oral antibiotic agents. Drug Safety. 11(1994): 223-241.
- Lord J.M. White S.I. Bailey C.J. Atkins T.W. Fletcher R.F. and Taylor K.G. Effect of metformin on insulin receptor binding and glycemic control in type 2 diabetes. Br. Med.J. 286(1983) :830-831.
- Marena S, Tagliaferro V, Montegrosso G, Pagano A, Scaglione L. and Pagano G. Metabolic effects of metformin addition to chronic glibenclamide treatment in type 2 diabetes. Diabete Metab. 20 (1994) : 15-19.
- Marfella R, et al. Metformin improves hemodynamic and rheological responses to L-arginine in NIDDM patients. Diabetes Care. 19 (1996) : 934-939.
- McIntyre HD. et al. Metformin increase insulin sensitivity and basal glucose Clearance in type 2 diabetes mellitus. Aus NZ J Med. 21 (1991) : 714-719.

- Morlry JE. and Perry HM III. The management of diabetes mellitus in order individuals. Drugs. 41 (1991) : 548-565.
- Noel M. Kinetic study of normal and sustained release dosage forms of metformin in normal subjects. Res Clin For. 1 (1979) 35-45.
- Nosadini R. et al. Effect of metformin on insulin stimulated glucose turnover and insulin binding to receptor in type 2 diabetes. Diabetes Care. 10 (1987) : 62-67.
- Pearson D. and Stowers JM. Oral Hypoglycemic Agents. Clinical diabetes. pp. 17.1-17.11 Chicago : Bodansky . 1988.
- Pentikainen PJ., Neuvonen PJ. and Penttila A. Pharmacokinetics of metformin after intravenous and oral administration to man. Eur J Clin Pharmacol. 16(1979) : 195-202.
- Perrillo G. et al. Acute antihyperglycemic mechanism of metformin in NIDDM. Diabetes. 43 (1994) : 920-928.
- Pickup J, and Williams G. Diabetic mellitus. Text Book of Diabetes 2nd ed .pp.38.10. New york:Backwell Scinence. 1998.
- Pignard P. Dosage spectrophotometerique du N-N dimetylbiguanide dans le sang et l'urine. Ann Biol Clin .20(1962) : 325-333.
- Prager R, Schernthaner G. and Graf H. Effect of metformin on peripheral insulin Sensitivity in non insulin dependent diabetes mellitus. Diabetes Metab. 12 (1986) : 346-350.
- Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes. 37 (1988) : 1595-1607.
- Ross MS. Determination of metformin in biological fluids by derivatization follow by high- performance liquid chromatography. J chromatogr. 133 (1977):408-411.
- Sambol NC. et al. Kidney function and age are both predictors of pharmacokinetics of metformin. J Clin Pharmacol. 35 (1995) : 1094-1102.
- Schafer G. Biguanides: a review of history, pharmacodynamics and therpy. Diabete Metab. 9(1983): 148-163.

- Scheen AJ. and Lefebvre PJ. Antihyperglycemic agents drug interactions of clinical importance. Drug Safety. 12 (1995) : 32-45.
- Shamoon H. Pathophysiology of diabetes: a review of selected recent development and their impact on treatment. Drugs . 44(Suppl 3) (1992) : 1-12.
- Sirtori CR. and Pasik C. Re-evaluation of biguanide, metformin: mechanism of action and tolerability. Pharmacol Res. 30 (1994):187-228.
- Sirtori CR, et al. Disposition of metformin (N,N- dimethylbiguanide) in man. Clin Pharmacol Ther. 24(1978) :683-693.
- Sirtori CR. et al. Metformin improves peripheral vascular flow in nonhyperlipidemic patients with arterial disease. J Cardiovasc Pharmacol. 6 (1984) : 914-923.
- Stang MR, et al. Metformin and lactic acidosis. CanadianPharmacoepidemiol Forum.(1997).
- Stumvoll M, Nurjhan N, Perrillo G, Dailey G. and Gerich JE. Metabolic effects of metformin in non insulin dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 333 (1995) : 550-554.
- Tucker GT. et al. Metformin kinetics in healthy subjects and in patients with diabetes mellitus. Br J Clin Pharmacol . 12 (1981):235-246.
- Tucker Gt. et al. Metformin kinetic in healthy subject and in patients with diabetes mellitus. Br J Clin Pharmacol. 12 (1981) : 235-246.
- Vesterqvist O. Nabbie F. and Swanson B. Determination of metformin in plasma by high performance liquid chromatography after ultrafiltration. J Chromatoqr B Biomed Sci Appl. 716(1998) : 299-304.
- Vidon N. et al. Metformin in the digestive tract. Diabetes ResClin Pract. 4 (1988) : 223-229.
- Widen EIM, Eriksson JG. and Groop LC. Metformin normalizes nonoxidative glucose metabolism in insulin-resistance normoglycemic first degree relatives of patients with NIDDM. Diabetes. 41 (1992) : 354-358.
- Yuen KH, and Peh KK. Simple high- performance liquid chromatographic method for metformin in human plasma. J Chromatography B. 710 (1998): 243-246.

Yuen KH, Wong JW, Billa N, Julianto T. and Toh WT. Bioequivalence of a generic Metformin tablet preparation. Int J Clin Pharmacol Ther. 37 (1999)319-322.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การศึกษา pharmaceutical equivalent ของยาเม็ด Metformin

เพื่อเป็นการประเมินคุณภาพที่พึงประสงค์ของยาตามข้อกำหนดในเภสัชตำรับ และเป็นข้อมูลในการเลือกยามาศึกษาซึ่งสมมูลของยาเม็ด metformin โดยเปรียบเทียบ ยาเม็ด metformin มาตรฐาน จากบริษัทต้นแบบ หนึ่งชนิด และยาเม็ด metformin จากบริษัทอื่นที่ผลิตภายในประเทศอีกหนึ่งชนิด

ศึกษามาตรฐาน United State Pharmacopoeia XXII และ BP. 1993 ดังนี้

1. ศึกษาการละลาย (Dissolution studies)
2. ปริมาณตัวยาสำคัญในแต่ละเม็ด (% label amount)

วิธีดำเนินการทดลอง การศึกษา pharmaceutical equivalent ของยาเม็ด metformin

ศึกษาการละลายของยาเม็ด metformin ทั้ง 2 บริษัท โดยใช้เครื่องมือ Apparatus II ทดสอบในการละลาย 1% HCl ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

เครื่องมือ Apparatus II ประกอบด้วย basket ขนาดเล็ก 6 อัน ซึ่งยึดติดกับแกนกลางที่หมุนได้ ในอัตรา 1,000 รอบต่อนาที ให้ทั้งหมดอยู่ในสารละลาย 1% HCl 1,000 มิลลิลิตร

จากนั้นนำสารละลายไปทดสอบหาปริมาณที่เวลา 30 นาที โดยใช้ UV spectrophotometer อ่านค่า absorbance ที่ wave length 236 nm แล้วคำนวณหาปริมาณ metformin โดยใช้เส้นโค้งมาตรฐาน (standard curve)

วิธีหาปริมาณตัวยา metformin

วิธีหาปริมาณตัวยาสำคัญด้วยวิธี non-aqueous titration โดยใช้ยา metformin 0.25 กรัม เติม mercury acetate solution จำนวน 20 มิลลิลิตร และวัดจุดสุดท้ายของการเกิดปฏิกิริยา โดยวัดด้วย 1/1 M perchloric acid 1/1 มิลลิลิตร จะมีตัวยาสำคัญคือ $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ อยู่ 8.281 มิลลิกรัม

ผลการทดลอง การศึกษา pharmaceutical equivalent ของยาเม็ด metformin ที่ผลิตในประเทศไทย

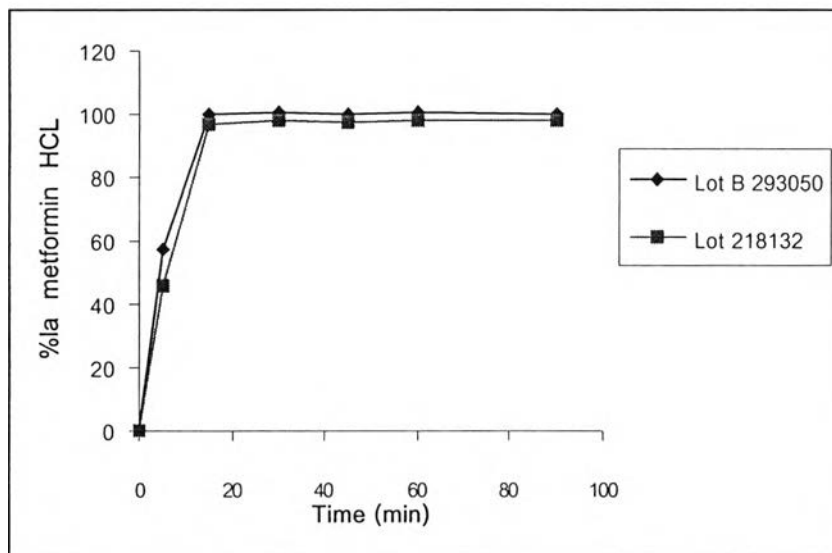
ค่าการทดลอง pharmaceutical equivalent ของยาเม็ด metformin ที่ผลิตในประเทศไทย Lot 218132 (A) เปรียบเทียบกับยาเม็ด metformin ต้นแบบ Lot B293050 (B)

ค่าการละลายของยาเม็ด metformin ที่ผลิตภายในประเทศเปรียบเทียบกับยาเม็ด metformin ต้นแบบได้ตารางที่ 21

ปริมาณสารสำคัญในแต่ละเม็ด พบว่ายาเม็ด metformin ผลิตภัณฑ์ต้นแบบมีค่าปริมาณตัวยาสำคัญเท่ากับเท่ากับ 99.3 % และผลิตภัณฑ์เลียนแบบมีปริมาณตัวยาสำคัญเท่ากับ 99.99 % ซึ่งยาทั้ง 2 ตำรับมีปริมาณตัวยาสำคัญตรงตามมาตรฐาน USP XXII และ BP 1993.

Time (min)	0	5	15	30	45	60	90
Lot B293050	0.00	57.31	99.68	100.68	99.73	100.95	99.82
Lot 218132	0.00	45.73	96.64	98.22	97.24	97.94	98.22

ตารางที่ 16 แสดงค่าการละลายเปรียบเทียบระหว่างยา metformin ต้นแบบเปรียบกับยาที่ผลิตภายในประเทศ



รูปที่ 23 กราฟแสดงค่าการละลายเปรียบเทียบระหว่างยา metformin ต้นแบบเปรียบกับยาที่ผลิตภายในประเทศ

ภาคผนวก ข

ลักษณะทางกายภาพของอาสาสมัคร

อาสาสมัคร	เพศ	อายุ (ปี)	ส่วนสูง(ซม.)	น้ำหนัก (กก.)	BMI
1	ชาย	22	171	60	20.54
2	ชาย	20	170	62	21.45
3	ชาย	19	179	71	22.18
4	ชาย	19	170	60.5	20.93
5	ชาย	18	188	78.5	22.23
6	ชาย	20	185	75	21.92
7	ชาย	20	172	70	23.72
8	ชาย	24	168	65	23.04
9	ชาย	19	183	82	24.92
10	ชาย	20	164	55	20.52
11	ชาย	20	176	60	19.41
12	ชาย	19	169	54.8	19.22
X		20	174.58	66.15	21.67
SE		0.460	2.182	2.610	0.489
SD		1.595	7.561	9.043	1.694

ตารางที่ 17 แสดงส่วนสูง น้ำหนัก และBMI ของอาสาสมัคร 12 คน

$$BMI = \frac{\text{น้ำหนัก (กก.)}}{\text{ส่วนสูง (เมตร)}^2}$$

การตรวจ ทาง ชีวเคมี	ค่า ปกติ	อาสาสมัครคนที่											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Glucose	65- 110 mg/ml	95	85	88	75	86	89	90	90	89	81	80	84
BUN	10-20 mg/dl	17	13	13	9	13	18	13	13	16	12	12	14
Serum Cr	0.5- 0.2 mg/dl	1.0	0.9	1.1	0.8	1.0	1.1	1.1	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0
SGOT	0-38 u/dl	25	22	16	18	14	14	22	17	18	20	17	26
SGPT	0-38 u/dl	30	29	11	15	15	19	17	19	16	19	10	14

ตารางที่ 18 แสดงผลการตรวจเลือดทางชีวเคมีของอาสาสมัคร 12 คน

หมายเหตุ : mg/dL = มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

u/dL = ยูนิตต่อเดซิลิตร

ผลการตรวจเลือด (CBC)	ค่าปกติ	อาสาสมัคร											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Hemoglobin	14-18 %	15	15.8	11.6	16.2	14.7	12.4	14.1	13.8	14.9	15.8	15	15.9
Hematocrit	40-54 %	44.8	44.9	38.1	46.9	44.4	39.8	42	42.5	42.9	45.9	45.5	48.3
W.B.C	4.5-11x10 ³	6.8	6.2	4.9	5.2	7.1	6.4	5.7	5.4	3.8	7.4	6.3	8.3
Neutrophils	40-60%	40.3	51.8	55.2	47.9	58.4	57.8	53.9	50	45.6	57.9	44.7	59
Eosinophil	1-3%	2.1	1.8	2.6	2.7	5.5	2.2	5.2	0.9	1.5	2.6	3	4
Basophil	0-1%	1.1	0.3	0.2	0.3	0.2	0.5	0.6	0.7	0.1	0.3	0.5	0.2
Lymphocytes	20-40%	47.5	38.6	32.5	39.2	27.9	32.5	30.2	39.5	42.2	30.9	42.1	29.8
Monocytes	4-8%	9	5.3	6.1	7.0	5.8	7.0	10.1	7	6.9	5.6	6.1	5.1
Plt count	150-440x10 ³	187	293	318	197	272	240	222	259	181	304	336	259

ตารางที่ 19 แสดงผลการตรวจคอมพลีทบลัดเคาท์ (complete blood counts) ของอาสาสมัคร 12 คน

ภาคผนวก ค.

การสร้างฟมาตรฐาน ความแม่นยำ ความเที่ยงตรง ของการวิเคราะห์ปริมาณยา metformin ในพลาสมา

ความเข้มข้นที่เตรียม (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) (y)	Area ratio			
	1	2	3	$\bar{X} \pm SE$
0.187	0.06555	0.06279	0.05849	0.062277 \pm 0.002
.375	0.13535	0.14482	0.15204	0.14407 \pm 0.004
.75	0.28641	0.27527	0.30163	0.28777 \pm 0.007
1.5	0.66125	0.60746	0.67258	0.64709 \pm 0.020
3.0	1.3612	1.3195	1.4231	1.3679 \pm 0.030

ตารางที่ 20 แสดงค่า area ratio ระหว่าง metformin กับ internal standard ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (n=3)

การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. แต่ละค่าเป็นค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ตัวอย่าง

2. จากสมการเส้นตรง $y = a + bx$

$y =$ ความเข้มข้นที่วัดได้ (ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร)

$a =$ คือค่าคงที่ คำนวณจากข้อมูลที่ได้ เป็นระยะทางระหว่างแกน x กับจุดที่เส้นถดถอยตัดกับแกน y เรียกว่า intercept

$b =$ คือค่าคงที่ คำนวณจากข้อมูลที่ได้ เป็นความลาด (slope) หรือค่าที่ y จะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อ x เปลี่ยนแปลงไป 1 หน่วย

$x =$ ratio ของ peak area ratio ระหว่าง metformin กับ internal standard (phenformin)

3. นำความเข้มข้นของ metformin ที่เตรียม และค่าเฉลี่ยของ ratio ระหว่าง metformin กับ internal standard มาหาค่า a และ b ของสมการถดถอยเชิงเส้นตรง ($y = a + bx$) ได้

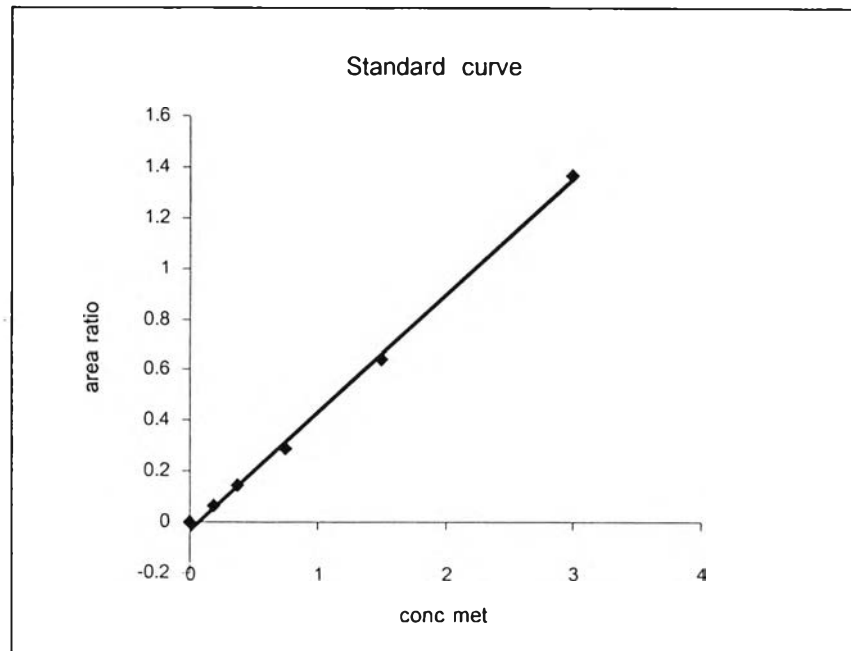
$$a = - 0.0295$$

$$b = .4791$$

แทนค่า a และ b ลงในสมการ

$$y = 0.4791x - 0.0295, \quad r^2 = 0.998$$

4. ความเข้มข้นย้อนกลับคำนวณได้จากสมการถดถอยเชิงเส้นตรง



รูปที่ 24 กราฟมาตรฐานของความเข้มข้น metformin ในพลาสมาในช่วงความเข้มข้น 0-3 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร

5. การหาค่าความถูกต้อง (% recovery)

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่วัดได้}}{\text{ความเข้มข้นที่ทราบ}} \times 100$$

จากผลการวิเคราะห์ % recovery อยู่ในช่วง 93.5-105 %

ความเข้มข้นที่เตรียม (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นที่ได้ (ไมโครกรัม / มิลลิลิตร)			$\bar{X} \pm SE$	% recovery
	1	2	3		
0.25	0.26	0.26	0.27	0.26 ± 0.003	105
2	2.09	2.06	1.97	2.04 ± 0.036	102
4	3.87	3.63	3.72	3.74 ± 0.070	93.5
				\bar{x}	100.17

ตารางที่ 21 แสดงค่าความเข้มข้นย้อนกลับ และ % recovery ของยา metformin จากพลาสมา (n=3)

6. การหาค่าความเที่ยงตรง (precision)

เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณ metformin ในพลาสมา แต่ละความเข้มข้นทำ 3 ตัวอย่างแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย ค่าที่ใช้แสดงค่าความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ คือ ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน

(coefficient of variation, CV) คำนวณได้ดังนี้

$$\% CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

% CV ที่ยอมรับได้ไม่ควรเกิน 7 %

ความเข้มข้นที่เตรียม ($\mu\text{/ml}$)	Ratio ของ peak area ระหว่าง metformin กับ internal standard		% CV
	\bar{X}	SD	
0.187	.07617	.00175	2.29
0.375	.15491	.00755	4.90
0.75	.29688	.01079	3.63
1.5	.61731	.00699	1.13
3.0	1.2956	.05984	4.61
		\bar{X}	3.312

ตารางที่ 22 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายความเข้มข้นของยา metformin ที่ได้จากการวิเคราะห์ในวันเดียวกัน (Intra-day precision , n = 3)

ความเข้มข้นที่เตรียม ($\mu\text{/ml}$)	Ratio ของ peak area ระหว่าง metformin กับ internal standard		% CV
	X	SD	
0.187	.0689	.00695	10
0.375	.1509	.0083	5.5
0.75	.3037	.02089	6.88
1.5	.6331	.02518	3.977
3.0	1.3193	.05390	4.085
		\bar{X}	6.088

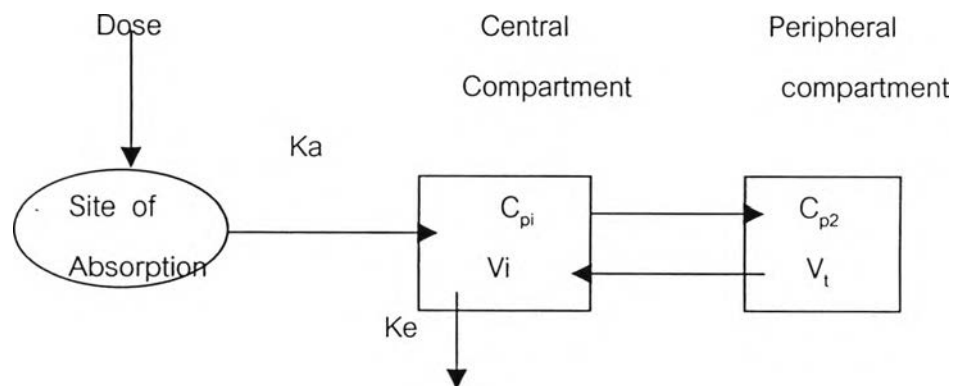
ตารางที่ 23 แสดงค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายความเข้มข้นของยา metformin ที่ได้จากการวิเคราะห์ระหว่างวัน 3 วัน (Inter-day precision , n = 9)

ภาคผนวก

หาค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ทางเภสัชจลนศาสตร์โดยใช้โปรแกรม MK model

ยา metformin มีเภสัชจลนศาสตร์แบบสองห้อง (Two compartment open model)

ดังรูปที่ 25 ซึ่งมีการดูดซึมและการขับถ่ายดังต่อไปนี้



รูปที่ 25 แสดงเภสัชจลนศาสตร์แบบสองห้อง (two compartment open model)

1. การกระจายตัวของยาใน 2 compartment มีค่าปริมาตรของการกระจายตัว (Volume of distribution, V_d) 2 ค่าคือ V_i , V_t โดยระยะแรกยากระจายตัวใน central compartment อย่างรวดเร็วและจะช้าลงใน peripheral compartment เมื่อเทียบกับการดูดซึมและการกำจัดยา

2. ความเข้มข้นของตัวยาในพลาสมา และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ไม่เท่ากัน
3. ขบวนการดูดซึม และขบวนการกำจัดมีจลนศาสตร์เป็นแบบลำดับที่หนึ่ง (First order kinetics) โดยเข้าสู่ร่างกายทางเดียว และออกจากร่างกายทางเดียว มี

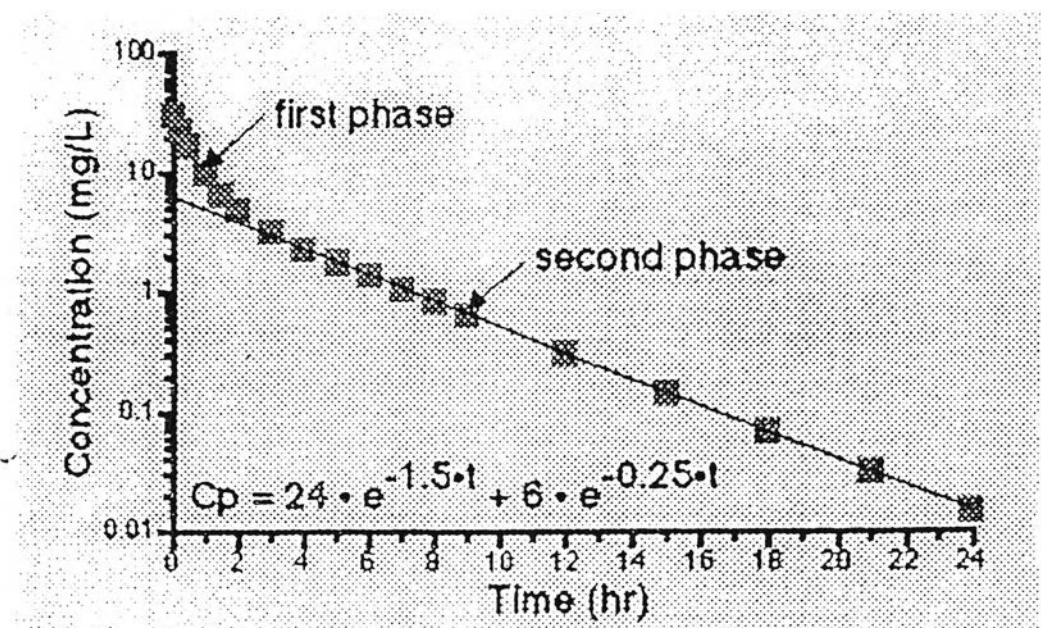
K_a = ค่าคงที่อัตราเร็วการดูดซึม

K_{el} = ค่าคงที่อัตราเร็วการกำจัดยา

D = ขนาดของยา

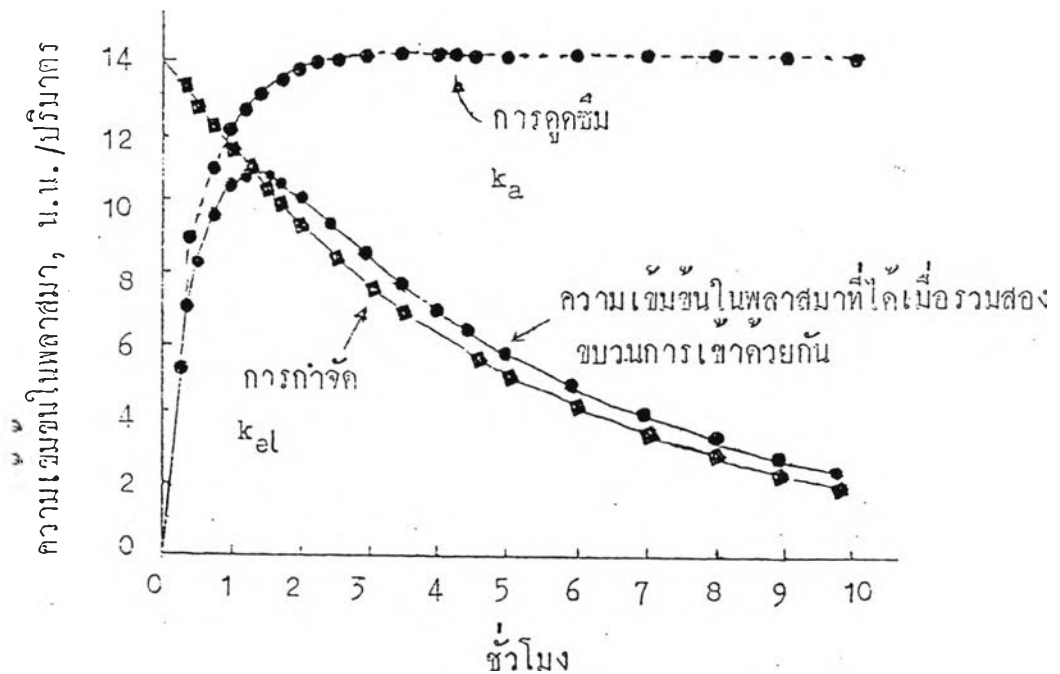
4. ขบวนการเปลี่ยนแปลงยาในร่างกาย มีการลำเลียงแบบใช้พลังงาน (active transport) และการจับรวมตัวของยากับโมเลกุลขนาดใหญ่ เป็นขบวนการที่ไม่มีจุดอิ่มตัว

จากข้อมูลที่ได้จากการวิจัย นำระดับความเข้มข้นในพลาสมาที่เวลาต่าง ๆ มา plot ลงในกระดาษ semi-log เป็นกราฟระหว่างความเข้มข้นกับเวลาโดยใช้แกน log เป็นความเข้มข้น จะได้กราฟดังรูป



รูปที่ 26 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log ความเข้มข้นของยาในพลาสมากับเวลา ที่เกิดหลังจากให้อาสาสมัครรับประทานยาหนึ่งขนาด ยานี้มีเภสัชจลนศาสตร์แบบสองห้อง

จากข้อมูลความเข้มข้นของยาในพลาสมา ที่เวลาต่าง ๆ ที่ได้จากการวิจัย นำมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นกับเวลาต่าง ๆ จะได้เป็นเส้นโค้งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมาที่เวลาต่าง ๆ เข้าได้กับแบบจำลองสองห้อง



รูปที่ 27 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมา กับเวลาของกระบวนการดูดซึม (●---●) การกำจัด(◆-----◆) และเมื่อรวมสองขบวนการนี้เข้าด้วยกัน (●-----●) ที่เกิดขึ้นเมื่อให้ยาโดยการรับประทาน

เมื่อให้ยาโดยการรับประทาน อัตราเร็วการดูดซึมจะมีผลต่อปริมาณยาทั้งหมดที่เหลือเมื่อเวลาผ่านไป = t

ถ้า X_0 คือปริมาณยาทั้งหมดที่ถูกดูดซึมจากการให้ยาทางปาก เมื่อ $t=0$

$$X_0 = F \cdot D$$

F คือ bioavailability

D คือ ขนาดของยาที่ให้

ถ้า X_a คือปริมาณที่ได้จากการดูดซึม อัตราเร็วการดูดซึมของยาจาก dosage form คือ $-dX_a/dt$ ถ้าอัตราการดูดซึมเป็นจลนศาสตร์ลำดับหนึ่งด้วยค่าคงที่อัตราการดูดซึมยา = K_a

$$dX_a/dt = -F \cdot D \cdot K_a \cdot X_a$$

เครื่องหมาย - แสดงให้เห็นถึงระดับยาในพลาสมาลดลงเมื่อเวลาผ่านไป t

ถ้า $X_a = X_0$ ที่เวลา $t = 0$

$$X_a = X_0 e^{-F \cdot D \cdot K_a \cdot t}$$

ถ้าอัตราเร็วของการดูดซึมยาเข้าสู่พลาสมา $(dX/dt)_a = -dX_a/dt$ ดังนั้น

$$(dX/dt)_a = -dX_a/dt = F \cdot D \cdot K_a \cdot X_a$$

อัตราเร็วการเพิ่มความเข้มข้นของยาในพลาสมาเนื่องจากการดูดซึมนี้เมื่อเวลาผ่านไป (dC/dt) เท่ากับ อัตราเร็วของการดูดซึมยาเข้าสู่พลาสมาคือ $(dX/dt)_a$ หารด้วย ปริมาตรการกระจาย, V_d

$$(dC/dt)_a = (dX/dt)_a / V_d = F \cdot D \cdot K_a \cdot X_a / V_d$$

สำหรับ first order elimination อัตราการเปลี่ยนแปลงของ C เนื่องจากการกำจัดยา คือ

$$(dC/dt)_e = -K_{el} \cdot C$$

เมื่อรวมอัตราเร็วการดูดซึมและอัตราการกำจัดยาเข้าด้วยกันจะได้

$$dC/dt = (dC/dt)_a + (dC/dt)_e = F \cdot D \cdot K_a \cdot X_a / V_d - K_{el} \cdot C$$

ดังนั้น

$$C = \frac{K_a \cdot F \cdot D}{V_d(K_a - K_{el})} \cdot (e^{-K_{el}t} - e^{-K_a t})$$

เมื่อสามารถหาค่า K_{el} นำมาหาค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของยาได้จาก

$$t_{1/2} = 0.693 / K_{el}$$

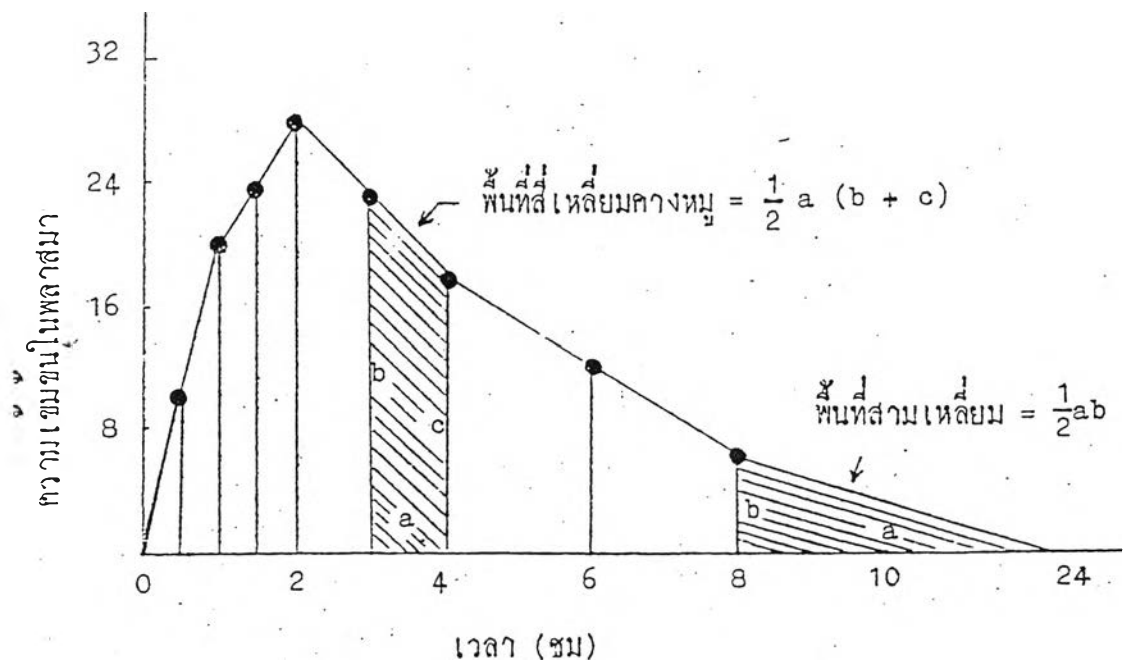
วิธีหาค่า AUC

1. จาก trapezoidal rule ได้ AUC $0-n$ และ
2. จากโปรแกรม MK model ได้ AUC $0-\infty$

การคำนวณหา AUC จาก trapezoidal rule โดยใช้สูตรพื้นที่สี่เหลี่ยมคางหมูและพื้นที่สามเหลี่ยม โดยแบ่งพื้นที่ภายใต้โค้งความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมา กับเวลา ออกเป็นส่วน ๆ ที่พอเหมาะดังรูป วิธีสุดทั้งสองด้านจะเป็นพื้นที่สามเหลี่ยม นำพื้นที่ทั้งหมดที่คำนวณได้ตั้งแต่เวลา $t=0$ และ $t=n$ มารวมกันเป็นพื้นที่ใต้โค้งทั้งหมด มีหน่วยความเข้มข้น \times เวลา

เมื่อให้ $C(0)$, $C(t_1)$, $C(t_{n-1})$ และ $C(t_n)$ เป็นความเข้มข้นที่เวลา $0, t_1, t_{n-1}, t_n$ ตามลำดับ

$$\begin{aligned} \text{พื้นที่ทั้งหมด} = & \Delta t \left[\frac{C(0) + C(t_1)}{2} \right] + \Delta t \left[\frac{C(t_1) + C(t_2)}{2} \right] + \dots \\ & + \Delta t \left[\frac{C(t_{n-2}) + C(t_{n-1})}{2} \right] + \Delta t \left[\frac{C(t_{n-1}) + C(t_n)}{2} \right] \end{aligned}$$



รูปที่ 28 การหาพื้นที่ใต้กราฟความเข้มข้นของยาในพลาสมา กับเวลา โดยใช้กฎพื้นที่สี่เหลี่ยมคางหมู

TWO COMPARTMENT FIRST ORDER

	TYPE	VALUE	SD	LOWER	UPPER	TIME	CONC
DOSE	C	1000				0	0
V	?	464.68				.5	.8865
CL	?	93.310				1	1.9132
L1	?	-.2089				1.5	1.4162
LZ	?	.26256				2	1.735
KA	?	.8				2.5	2.152
TLAG	C	0				3	1.648
PWR	?	2				5	1.3651
VO	C	0				8	.4635
	5 <-----POINTS FOR LZ					10	.2993
LZ	.26256					24	0
IMAX	2.5		CMAX	2.152			
CL	93.310		AUC	10.717			
VSS	250.31		AUMC	42.146			
V1	464.68						
L1	-.2089						

```

=====
ENTER DOSE @ C1 & ENTER OR LOAD(/L)
F VS C DATA @ G1. ENTER POINTS FOR
^LZ @ A10 THEN RECALC (/#) @ A10

```

รูปที่ 29 แสดงผลที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม MK model จากข้อมูล ความเข้มข้นของยา metformin ที่เวลาต่าง ๆ ของอาสาสมัครคนที่ 1 หลังจากรับประทานยาเม็ด metformin บริษัท A ขนาด 500 มิลลิกรัม 2 เม็ด

สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล

1. ANOVA แบบ two way cross over design

ครั้งที่	ระดับยาในเลือดสูงสุด				รวม
	คนที่ 1	คนที่ 2	คนที่ 3	คนที่ 4	
1	A=X ₁₁	B=X ₂₁	B=X ₃₁	A=X ₄₁	P ₁
2	B=X ₁₂	A=X ₂₂	A=X ₃₂	B=X ₄₂	P ₂
รวม	I ₁	I ₂	I ₃	I ₄	G

ตารางที่ 24 ตัวอย่างระดับยาสูงสุดในการทดลองแบบ cross over design ในอาสาสมัคร 4 คน

โดย X = ระดับยาในเลือดสูงสุดของอาสาสมัครแต่ละคน ในแต่ละครั้งของการทดลอง

$$G = \text{ผลรวมของ } X \text{ ทั้งหมด}$$

$$= (X_{11}+X_{12}+X_{21}+\dots\dots\dots X_{42})$$

$$P = \text{ผลรวมของระดับยาในเลือดสูงสุด ในแต่ละครั้งของการทดลอง}$$

เช่น

$$P_1 = (X_{11}+X_{21}+X_{31}+X_{41})$$

I = ผลรวมของระดับยาในเลือดสูงสุด ในอาสาสมัครแต่ละคน เช่น

$$I_1 = (X_{11}+X_{12})$$

T = ผลรวมของระดับยาในเลือดสูงสุด ในยาแต่ละชนิด เช่น

$$T_1 = (X_{11}+X_{22}+X_{32}+X_{41})$$

การวิเคราะห์หา sum of squares

$$1. \text{ total ss หรือ SST} = (X^2_{11} + X^2_{22} \dots\dots\dots X^2_{42}) - C.T.$$

C.T. = correction term

$$= (X_{11} + X_{22} \dots\dots\dots X_{42})^2 / 2n$$

$$2. \text{ treatment ss หรือ SSF} = (T^2_1 + T^2_2) / n - C.T$$

$$3. \text{ period ss หรือ SSP} = (P^2_1 + P^2_2) / n - C.T$$

4. Individual ss หรือ $SSS = (I_1^2 + I_2^2 + I_3^2 + I_4^2) / 2 - C.T$

5. Error = ESS = 1 - (2+3+4+5)

Source of variation	df	Sum of squares	Mean square	Fc	Ft
Total	23	SST	-	-	-
Sequences	1	SSQ	MSQ=SSQ/1	MSQ/MSS	4.96
Subject (sequences)	10	SSS	MSS=SSS/10	MSS/MSE	2.98
Periods	1	SSP	MSP=SSP/1	MSP/MSE	4.96
Formulations	1	SSF	MSF=SSF/1	MSF/MSE	4.69
Error	10	SSE	MSE/SSE	-	-

ตารางที่ 25 แสดงการคำนวณ ANOVA แบบ two way cross over design $\alpha = 0.05$ $n_1 = n_2 = n = 12$

2. ตัวอย่างสูตรคำนวณ 90 % Confidence interval

$$90\% \text{ CI} = \left(\left(\frac{\bar{X}_T - \bar{X}_R}{\bar{X}_R} \pm t_{0.1, \nu} S \right) + 1 \right) \times 100$$

เมื่อ \bar{X}_T = ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการสังเกต โดย R เป็นค่าเฉลี่ยต้นตำรับ และ T เป็นค่าเฉลี่ยของยาที่นำมาทดสอบ

S = ค่าคาดประมาณของความแตกต่างแต่ละตำรับ หาได้จากค่าความเบี่ยงเบนของ MSE

ν = degree of freedom for error

ตัวอย่างคำนวณสูตร % difference ที่ใช้คำนวณ Tmax

$T_{max} (\text{Test-Reference}) = \pm 20 \% T_{max} \text{ ของ Reference}$

เกณฑ์การตัดสินชีวสมมูล

90 % CI ของผลต่างค่าเฉลี่ย C_{max} & AUC = 80-120 % สำหรับข้อมูลปกติ

90 % CI ของผลต่างค่าเฉลี่ย C_{max} & AUC = 80-125 % สำหรับข้อมูล

Log-transformed

ภาคผนวก จ

หนังสือแสดงการยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย.....

สถานที่ทำการวิจัย.....

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

ข้าพเจ้า (นาย/ นาง/ นางสาว).....นามสกุล.....

อยู่บ้านเลขที่.....ซอย.....ถนน.....แขวง/ตำบล.....

เขต/อำเภอ.....จังหวัด.....รหัสไปรษณีย์.....

ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย ข้าพเจ้าได้รับคำอธิบายจากผู้วิจัย ถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีวิจัย อันตรายหรืออาการที่เกิดขึ้นจากการวิจัยหรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด และมีความเข้าใจดีแล้ว

ผู้วิจัยรับรองว่าจะตอบคำถามต่าง ๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจไม่ปิดบัง ซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้าร่วมโครงการนี้ด้วยความเต็มใจ และมีสิทธิที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้ โดยการบอกเลิกจะไม่มีผลต่อการรักษาที่ข้าพเจ้าจะได้รับต่อไป

ข้าพเจ้านุญาตให้ผู้วิจัยเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าในหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้ตามที่ผู้วิจัยเห็นสมควร ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยเฉพาะในรูปที่เป็นการสรุปผลการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นแล้ว และมีความเข้าใจดีทุกประการจึงได้ลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

ลงนาม.....ผู้ยินยอม

ลงนาม.....ผู้รับผิดชอบการวิจัย

ลงนาม.....พยาน

ลงนาม.....พยาน

Study Protocol Approval

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand has approved the following study to be carried out according to the protocol dated and/or amended as follows:

Study Title : Comparative Studies of the Bioavailability of Metformin tablets in Healthy volunteers.

Study Code :-

Centre : Chulalongkorn University

Principal Investigator : Miss Sompong Chanchurol

Protocol Date : April 5, 1999

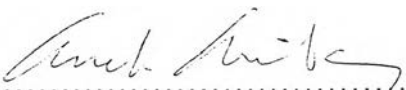
Amendment (s) Included :-

Amendment (s) Date (s) :-

A list of the Ethics Committee members (names and positions) present at the Ethics Committee meeting on the date of approval of this study has been attached.

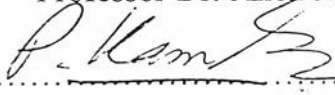
This Study Protocol Approval Form will be forwarded to the Principal Investigator.

Chairman of Ethics Committee


.....
(Signature)

Professor Dr. Anek Aribarg

Associate Dean for Research Affairs


.....
(Signature)

Professor Dr. Pirom Kamol-Ratanakul

Date of Approval

: June 10, 1999



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสมพงษ์ จันชูผล เกิดวันที่ 15 กุมภาพันธ์ 2512 ที่จังหวัดฉะเชิงเทรา สำเร็จการศึกษาชั้นปริญญาตรี พยาบาลศาสตรบัณฑิต จากวิทยาลัยพยาบาลสภากาชาดไทยในปีการศึกษา 2535 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาเภสัชวิทยา) ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2540