

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลการศึกษานี้จะทำให้ทราบข้อมูลด้านเภสัชจลนศาสตร์ของยาเจฟิทินิบ ชิสฟลาติน และไฟว์เอฟยู เมื่อให้ร่วมกันในผู้ป่วยมะเร็งหลอดอาหาร และทำให้สามารถอธิบายปัจจัยด้านเภสัชจลนศาสตร์ของยาดังกล่าวที่มีต่อผลการตอบสนองต่อการรักษาและผลข้างเคียงจากการรักษา

1. วิธีดำเนินการวิจัย

1.1 รูปแบบการวิจัย

1.1.1 ประชากรที่เข้ารับการรักษ

ศึกษาในผู้ป่วยโรคมะเร็งหลอดอาหารระยะ 2-4 จำนวน 8 ราย โดยผู้ป่วยแต่ละรายมีจำนวนตัวอย่างเลือดที่นำไปวิเคราะห์ทั้งหมด 68 ตัวอย่าง

1.1.2 การบริหารยา

ผู้ป่วยจะได้รับยาเจฟิทินิบต่อเนื่องทุกวัน วันละ 250 มก. ในแต่ละรอบการให้ยาเป็นเวลา 21 วัน โดยผู้ป่วยรับประทานยาเจฟิทินิบ 250 มก. พร้อมกับให้ยาชิสฟลาติน 65 มก./ตรม. โดยการฉีดเข้าเส้นเลือดดำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในวันที่ 1 ของรอบการให้ยา เมื่อให้ยาชิสฟลาตินเสร็จแล้วจะให้ยาไฟว์เอฟยู 800 มก./ตรม. โดยการฉีดเข้าเส้นเลือดดำเป็นเวลา 24 ชั่วโมงต่อเนื่องนาน 5 วันในแต่ละรอบการให้ยา

1.1.3 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย

เก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำที่แขน ดังนี้

- สำหรับยาเจฟิทินิบเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย ในวันที่ 21 ของรอบการให้ยาที่ 1 และวันที่ 1 และ 5 ของรอบการให้ยาที่ 2 ครั้งละ 5 มล. ที่เวลา 0 (ก่อนให้ยา) และที่เวลา 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24 ชั่วโมงหลังการให้ยา
- สำหรับยาชิสฟลาตินเริ่มเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย ในวันที่ 1 ของรอบการให้ยาที่ 1 และ 2 ครั้งละ 10 มล. ที่เวลา 0 (ก่อนให้ยา) และที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 72, 144, 216, 240, 264, 288 ชั่วโมงหลังได้รับยาเคมีบำบัด
- สำหรับยาไฟว์เอฟยูเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย ในวันที่ 1, 3, 4, 6 ของรอบการให้ยาที่ 1 และ 2 ครั้งละ 5 มล. ที่เวลา 0 (ก่อนให้ยา) และที่เวลา 2, 48, 72, 120 ชั่วโมงหลังได้รับยา

1.2 การวิเคราะห์ระดับยาเจฟิทิโนบ ซิสพลาติน และไฟร์เอฟยู ในพลาสมา

1.2.1 การเตรียมตัวอย่างพลาสมาสำหรับวิเคราะห์ยาเจฟิทิโนบ

ตัวอย่างเลือดที่ได้จะนำมาปั่นแยกพลาสมาที่ 1,000 g 10 นาที ภายใน 30-60 นาที หลังจากการเก็บเลือด และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 °C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของยาต่อไป⁹

นำพลาสมาของผู้ป่วยปริมาณตัวอย่างละ 0.5 ml ผสมกับ Sodium hydroxide (1M aqueous solution จำนวน 0.5 ml) และ methyl-t-butyl ether (MTBE: 13 ml) แล้ว vortex mix ให้เข้ากันนาน 2 นาที จากนั้นนำไปปั่นนาน 30 วินาที แล้วแยกส่วน organic layer ไประเหยให้แห้งที่อุณหภูมิ 20 °C จากนั้นนำส่วนประกอบที่แห้งแล้วรวมกับ HPLC eluant จำนวน 500 µl vortex mix แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปใช้ในกระบวนการ HPLC-MS/MS (High performance liquid chromatography with mass spectrometer mass spectrometer) ต่อไป¹⁰

1.2.2 การเตรียมตัวอย่างพลาสมาสำหรับวิเคราะห์ยาซิสพลาติน

ตัวอย่างเลือดที่ได้จะนำมาปั่นแยกพลาสมาทันทีที่ 1,000 g 10 นาที 4 °C แล้วนำพลาสมาที่ได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 °C สำหรับวิเคราะห์ total platinum

1.2.3 การเตรียมตัวอย่างพลาสมาสำหรับวิเคราะห์ยาไฟร์เอฟยู

ตัวอย่างเลือดที่ได้จะนำมาปั่นแยกพลาสมาทันทีที่ 2,000 g 4 °C 10 นาที แล้วนำพลาสมาไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 °C เพื่อรอการวิเคราะห์ความเข้มข้นของยาต่อไป

นำ plasma 0.5 ml จากนั้นเติม 100 µl internal standard (5-BrU ; 5-Bromouracil, 5µg/ml) , เติม 40 µl orthophosphoric acid (5%) นำมา Vigorously mixed เป็นเวลา 5 วินาที , เติม 12 ml n-propanol:ether (16:84,V/V), นำมา vortex อีกครั้ง เป็นเวลา 5 นาที และนำมา centrifuge ที่ 2,500 g เป็นเวลา 20 นาที จากนั้น นำส่วนของ organic layer มา dried ด้วยก๊าซไนโตรเจน และ reconstituted ด้วย 200 µl ของ mobile phase (KH₂PO₄ salt solution 0.05 M + 0.1% TEA) นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง HPLC (High performance liquid chromatography)¹¹⁻¹²

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของยาแต่ละชนิดจะทำการทดสอบด้วยเครื่องมือดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์ยาเจฟีทินิบ

ด้วยเครื่อง LC-MS/MS

สภาวะของเครื่อง HPLC สำหรับการวิเคราะห์

HPLC : Model water 2695

Column : Zorbax Eclipse XDB-C18 2.1x150 mm 5-micron

Flow rate : 0.20 ml/min

Runtime : 12.5 min

Colum temperature : 35 °C

Mobile phase : A : 10 mM ammonium acetate

B : acetonitrile

ตารางที่ 1 แสดง Gradient elution condition ในการวิเคราะห์ยาเจฟีทินิบ

Time (min)	A (%)	B (%)
0	30	70
3.5	30	70
3.6	0	100
6	0	100
6.1	30	70
12.5	30	70

สภาวะของเครื่อง MS/MS สำหรับการวิเคราะห์ยาเจฟีทินิบ

MS/MS : model Quattro Ultima FS

Mode : ES+

Source temp : 120 °C

Desolvation temp : 350 °C

Cone(L/H) : 50

Desolvation (L/H) : 600

Collision cell : 3.0×10^{-3}

การวิเคราะห์ยาซิสฟลาติน

ด้วยเครื่อง ICP-OES (Inductively coupled plasma optical emission spectrometer)

นำตัวอย่างพลาสมาที่ได้ปริมาณครั้งละ 3-5 ml ฉีดเข้าเครื่องโดยตรง ที่ความยาวคลื่น

Pt = 265.945 nm และทำการวิเคราะห์ผล

การวิเคราะห์ยาไฟรเอฟยู

ด้วยเครื่อง HPLC

สภาวะของเครื่อง HPLC สำหรับการวิเคราะห์

HPLC : Agilent 1100 series HPLC

Column : Lichrospher RP-18 4.0*250 mm, 5 μ m

Flow rate : 0.40 ml/min

Run time : 45 min

Colum temperature : room temperature

Mobile phase : A : 0.05 M KH_2PO_4 + 0.1 % TEA

Detector : Variable Wavelength Detector at 254 nm.

1.3 การหาค่าตัวแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมากับเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือดโดยใช้โปรแกรม WinNonlin (version 1.1) ซึ่งโปรแกรมจะทำการคำนวณหาค่า:

พื้นที่ใต้กราฟตั้งแต่เวลาที่ 0 จนถึงเวลาที่สามารวัดปริมาณความเข้มข้นได้ (AUC_{0-t})

ค่าพื้นที่ใต้กราฟตั้งแต่เวลาที่ 0- ∞ ($\text{AUC}_{0-\infty}$)

ระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในพลาสมา ($C_{\max}$)

เวลาที่ระดับความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุด ($t_{\max}$)

ค่าอายุครึ่งชีวิตของ ($t_{1/2}$)

ค่า clearance ของยา (Cl)

1.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำหรับตัวแปรทางเภสัชจลนศาสตร์

หาค่าเฉลี่ยทางเลขคณิต (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของตัวแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ เช่น $C_{\max}$, AUC_{0-t} และ $\text{AUC}_{0-\infty}$ แล้วนำผลการวิเคราะห์ยาซิสฟลาตินจาก Paired Sample Test และยาเจฟีทีนิบ จาก One-Way ANOVA มาอธิบายเภสัชจลนศาสตร์ของยาดังกล่าวที่มีต่อผลการตอบสนองต่อการรักษาและผลข้างเคียงจากการรักษา