

1. ข้อมูลทั่วไป

1.1 ชื่อโครงการ การศึกษาค่าเภสัชจลนศาสตร์ของยา Deferiprone (L1) ในอาสาสมัครปกติและผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าฮีโมโกลบินอี ที่มีภาวะการสะสมของเหล็กต่างกัน

A pharmacokinetic study of deferiprone and its metabolite in healthy volunteers and β -thalassemia/hemoglobin E with different iron overload status

1.2 สถาบันที่ทำการศึกษา

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ 0-2201-5508 โทรสาร 0-2354-7157

1.3 ผู้ดำเนินการศึกษา

ผู้ดำเนินการศึกษาหลัก

ผศ.ดร. นพวรรณ ภู่มาลา มอราเลส
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ 0-2201-5496 โทรสาร 0-2354-7157
e-mail: scnpm@mahidol.ac.th

แพทย์ผู้ร่วมดำเนินการศึกษา

รศ.นพ. สุกร จันทจักรู
หน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ 0-2201-1392

ศ.นพ. สุทัศน์ ฟูเจริญ

โครงการวิจัยรหัสจีเอ็มเอ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยมหิดล 25/25 ถนนพหลโยธินสาย 4

ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

โทรศัพท์ 0-2889-2557-8

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

ดร.อุดม จันทารักษ์ศรี (ด้านเภสัชจลนศาสตร์)

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

โทรศัพท์ 0-2201-5647 โทรสาร 0-2354-7157

รศ.ดร.ประพนธ์ วิไลรัตน์ (ด้านการวิเคราะห์ และคำนวณ)

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

โทร. 0-2201-5165

1.4 สถานที่ศึกษาทดลอง

สถานที่ตรวจวินิจฉัย

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์

โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

โทรศัพท์ 0-2201-1436

สถานที่ศึกษาทดลองในอาสาสมัคร

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

โทรศัพท์ 0-2201-1392

สถานที่วิเคราะห์ตัวอย่างและวิเคราะห์ข้อมูล

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ 0-2201-5647 โทรสาร 0-2354-7157

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรม

คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนพระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ 0-2354-7275

G
P
O

2. บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคเลือดทางพันธุกรรม ที่เกิดจากความผิดปกติของยีนที่สังเคราะห์ฮีโมโกลบิน ปัญหาที่สำคัญของผู้ป่วยในกลุ่มนี้คือภาวะเหล็กเกิน เป็นผลมาจากผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับเลือดเพื่อแก้ไขภาวะเลือดจาง และอีกสาเหตุคือการเพิ่มขึ้นของการดูดซึมเหล็กจากทางเดินอาหาร อันเป็นผลสืบเนื่องจากร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์เม็ดเลือดแดงได้อย่างมีประสิทธิภาพ เหล็กส่วนเกินจะสะสมในอวัยวะต่างๆของร่างกายเช่น ตับ หัวใจ ม้าม ไต รวมทั้งต่อมไร้ท่อต่างๆ เหล็กเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระในอวัยวะนั้นๆ ทำให้มีการทำลายเซลล์ การทำงานของเซลล์และระบบอวัยวะผิดปกติ ผู้ป่วยธาลัสซีเมียและโรคที่เกี่ยวข้องกับภาวะเหล็กเกินอื่นๆ ถ้าไม่ได้รับการขับเหล็กอย่างเพียงพอและเหมาะสมจะมีภาวะแทรกซ้อนต่างๆเช่น hepatic fibrosis and cirrhosis, multiple endocrinopathies (diabetes mellitus, hypogonadism, hypoparathyroidism, hypothyroidism), immunological dysfunction, growth and bone abnormalities, cardiac disease (congestive heart failure, arrhythmias), pulmonary dysfunction ผู้ป่วยจะเสียชีวิตจากโรคแทรกซ้อนต่างๆดังกล่าวก่อนวัยอันสมควร

Deferoxamine เป็นยาขับเหล็กเพียงชนิดเดียวที่ใช้ในประเทศไทย แต่มีข้อเสียคือ ราคาแพง ไม่สามารถให้ได้โดยการกิน แต่ต้องให้โดย subcutaneous infusion และมีความเป็นพิษเมื่อใช้ในระยะเวลาหนึ่ง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องพัฒนายาขับเหล็กตัวอื่นๆที่มีราคาถูก ให้ได้โดยการกินและมีความเป็นพิษน้อย

Deferiprone (1,2-Dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one, $C_7H_9O_2N$, MW 139) หรือ L1 เป็นยาขับเหล็กชนิด bidentate สามารถให้ได้โดยการกิน อยู่ในกลุ่ม α -ketohydroxypyridine มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว มีรสขม มีความคงตัวในอุณหภูมิห้องอย่างน้อยห้าปี ละลายน้ำได้ดีที่ pH 7.4 (ประมาณ 20 mg/mL ที่อุณหภูมิ 37°C) และมีความคงตัวในภาวะเป็นกรด Deferiprone สามารถจับเหล็กอยู่ในรูป $L1:Fe^{3+} 3:1$ ($pFe^{3+} = 20$) ซึ่งต่างจาก desferoxamine ซึ่งเป็น hexadentate สามารถจับเหล็กอยู่ในรูปสารประกอบเหล็กเป็นสัดส่วน 1:1 ($pFe^{3+} = 26$) ซึ่งหมายความว่า deferiprone นั้นมีความแรงในการจับเหล็กได้มากกว่า desferoxamine และสารประกอบเหล็กของ deferiprone สามารถแตกตัวในรูปอื่นๆได้แก่สารประกอบเหล็กในสัดส่วน 2:1 และ 1:1 ในภาวะที่ความเข้มข้น deferiprone ต่ำ (เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของเหล็ก) (1-2)

Deferiprone และยาขับเหล็กอื่นๆสามารถจับเหล็กอย่างรวดเร็วประมาณ 2-3 นาที เมื่อเหล็กอยู่ในรูป low molecular weight เช่น aqueous iron, non transferrin bound iron (NTBI), intracellular molecular weight iron เป็นต้น ถ้าเหล็กอยู่ในรูป transferrin หรือ lactoferrin จะใช้เวลาในการจับเหล็กประมาณ 2-3 ชั่วโมง และการจับเหล็กในรูปของ ferritin และ hemosiderin จะช้ามาก การศึกษาโดยการฉีดเหล็กติดฉลากรังสีเข้าไปในหนูขาวพบว่า deferiprone สามารถดึงเหล็กออกจากทั้ง reticuloendothelial และ hepatocellular pools โดยมีการขับเหล็กทางปัสสาวะและน้ำดีตามลำดับ(3) และการศึกษาในผู้ป่วยไม่พบการขับเหล็กและ deferiprone ทางอุจจาระ (4) ในผู้ป่วยภาวะเหล็กเกินปริมาณการขับเหล็กทางปัสสาวะขึ้นกับขนาดของยาที่รับประทาน การขับเหล็กอยู่

ในช่วงตั้งแต่ 6.2 มิลลิกรัมต่อวันสำหรับขนาดยา 25 มิลลิกรัมต่อวัน และการขับเฉลี่ย 42.3 มิลลิกรัมต่อวันสำหรับขนาดยา 100 มิลลิกรัมต่อวัน(5) แต่ไม่พบการขับเฉลี่ยในคนปกติ

เภสัชจลนศาสตร์ของยา

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ deferiprone สามารถสรุปได้ในตาราง(6-10) ความเข้มข้นสูงสุดของยาในเลือด (C_{max}) จะพบได้ภายใน 1 ชั่วโมง อาหารจะลดอัตราแต่ไม่ลดปริมาณการดูดซึมของยา การกระจายตัวของยา (V_d) ที่ steady state หลังได้รับยาในขนาด 75 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน มีค่า 1.55 หรือ 1.73 ลิตรต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม การศึกษาในหลอดทดลองพบว่ายาจะสะสมอยู่ในเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียแต่ไม่สะสมในเม็ดเลือดแดงของคนปกติ

ประมาณ 85% ของ deferiprone จะถูกเปลี่ยนแปลงให้อยู่ในรูป glucuronide ซึ่งไม่มีคุณสมบัติในการจับเหล็ก ยาที่อยู่ในรูป glucuronide และสารประกอบเหล็กจะถูกขับออกอย่างรวดเร็วทางไต และพบว่า deferiprone ที่อยู่ในสารประกอบเหล็กนั้นมีอัตราการขับช้ากว่า deferiprone ในรูป glucuronide และ non-glucuronide ค่าครึ่งชีวิตของการขับออกของยา (t_{1/2}) ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียอยู่ระหว่าง 1-2.5 ชั่วโมง (10)

ตารางที่ 2.1 ค่าเฉลี่ยทางเภสัชจลนศาสตร์ของ deferiprone ในผู้ป่วยภาวะเหล็กเกินและคนปกติ

n	Dose (mg)	t _{max} (h)	C _{max} (mg/L)	AUC (mg/L h)	Vd (L)	CL (L/h)	t _{1/2} (h)	Ref
Single dose studies								
ผู้ป่วย 24 ราย	50/kg	1.0	158.8 (μmol/L)				1.5	7
ปกติ 1 ราย	3000						1.2	8
ผู้ป่วย 24 ราย								
ผู้ป่วย 14 ราย	NR						2.7	9
ปกติ 5 ราย	900			22.93	72.82	39.6	1.3	10
ผู้ป่วย 14 ราย	25/kg			29.41	115.09	34.8	2.3	10
Multiple dose study								
ผู้ป่วย 14 ราย (co)	75/kg/day q6h x 3 days	1.0	10.6	112.7	1.73/kg		1.8	11
	75/kg/day q12h x 3 days	0.5	34.6	137.5	1.55/kg		1.9	

ผู้ป่วยภาวะเหล็กเกินได้แก่ ผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้า และผู้ป่วยได้รับเลือดอื่นๆได้แก่ myelodysplasia, sickle-cell disease, pyruvate kinase deficiency) co = crossover study, NR = not report

ประสิทธิภาพในการขับเหล็ก ความเป็นพิษ อาการไม่พึงประสงค์ และความปลอดภัย (2)

การขับเหล็กออกทางปัสสาวะ ขึ้นอยู่กับขนาดของยา ความถี่ในการให้ยา และภาวะเหล็กเกินในผู้ป่วย ขนาดของยาที่แนะนำให้ใช้ คือ 50-120 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน แบ่งการให้ยาเป็น 2-3 ครั้งต่อวัน ในผู้ป่วยที่มีภาวะเหล็กเกินปานกลางการให้ยาเพียง 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมก็เพียงพอต่อการขับเหล็ก deferiprone ในขนาด >75 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม สามารถทำให้เกิด negative iron balance ในเวลา 0.5-1 ปี และภายใน 3 ปีของการรักษา deferiprone สามารถลดเหล็กที่สะสมในหัวใจได้และช่วยเพิ่ม ventricular function ได้ในผู้ป่วยโรคหัวใจ

ค่า letal dose (LD_{50}) ของ deferiprone อยู่ระหว่าง 1-2 กรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมของหนู rat ยังไม่พบรายงาน overdose toxicity ของยานี้ในผู้ป่วยที่ได้รับยามากถึง 250 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมใน 24 ชั่วโมงโดยแบ่งให้ 6 ครั้ง

จากการติดตามผู้ป่วยมากกว่า 7500 ราย ที่ได้รับยาในขนาด 50-150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน และผู้ป่วยที่ได้รับยาในระยะเวลายาวที่สุดคือ 14 ปี อาการไม่พึงประสงค์ของยา deferiprone ได้แก่ (i) transient agranulocytosis 0.6% (ii) neutropenia 6% (iii) transient musculoskeletal, joint pains 15% (iv) gastric intolerance 6% (v) zinc deficiency 1% อาการไม่พึงประสงค์เหล่านี้เป็นอาการที่ผันกลับได้ และควบคุมได้ การให้ยาในขนาดที่ต่ำลงเช่นจาก 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน เป็น 75 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน สามารถลดอุบัติการณ์ของอาการไม่พึงประสงค์ได้ นอกจากนี้เป็นที่น่าสนใจที่ว่าการอุบัติการณ์ของการเกิดอาการไม่พึงประสงค์นี้น่าจะขึ้นอยู่กับเชื้อชาติด้วย

การศึกษาในคนไทยโดย Pootrakul et al. (12) เมื่อให้ยา deferiprone ในผู้ป่วยโรคโลหิตจางเรื้อรัง/ฮีโมโกลบิน อี ขนาด 25-50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวัน แบ่งเป็นวันละสองครั้ง เป็นระยะเวลา 17-86 สัปดาห์พบว่า deferiprone สามารถลดเหล็กในรูปของ ferritin, non-transferrin bound iron และ hepatic iron สำหรับอาการไม่พึงประสงค์ที่พบคือ mild gastrointestinal symptoms ในผู้ป่วย 6 ใน 9 ราย ซึ่ง 5 ใน 6 ราย อาการหายไปภายใน 2 อาทิตย์ อาการ arthralgia พบในผู้ป่วย 1 ใน 9 แต่ผู้ป่วยไม่จำเป็นต้องหยุดยา ไม่พบผู้ป่วย leucopenia และ agranulocytosis

3. วัตถุประสงค์

ศึกษาค่าเภสัชจลนศาสตร์แบบการให้ยาครั้งเดียว (Single-dose) ของยา deferiprone และยังติดตามการเปลี่ยนแปลงยาในร่างกาย โดยการตรวจวัดการเกิดอนุพันธ์ glucuronidation รวมทั้งค่าเภสัชพลศาสตร์คือ ปริมาณการขับเหล็กออกในปัสสาวะ และการเปลี่ยนแปลงระดับ non transferrin bound iron (NTBI) ในซีรัม ของอาสาสมัครปกติและผู้ป่วยธาลัสซีเมียเฮโมโกลบินอี ที่มีความแตกต่างของภาวะเหล็กสะสมในระดับต่างๆ ข้อมูลที่ได้นำมาใช้เพื่อกำหนดขนาด (dosage) และการให้ยา (regimen) ที่เหมาะสม มีประสิทธิภาพสูงสุด และก่อให้เกิดพิษน้อยที่สุดในผู้ป่วย

G
P
O

4. วิธีดำเนินการศึกษาวิจัย

4.1 ผลิตภัณฑ์ยา

Deferiprone (L1, GPO-L-ONE®) ขนาด 500 มิลลิกรัม Lot. S490312 ปริมาณตัวยาลำคัญ 102.21%

4.2 การดำเนินการศึกษาในอาสาสมัคร

4.2.1 รูปแบบการศึกษา

A single dose, Orally.

4.2.2 จำนวนอาสาสมัคร

อาสาสมัครกลุ่มคนปกติจำนวน 20 คน และผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบต้าฮีโมโกลบินอี 25 คน

4.2.3 การคัดเลือกอาสาสมัคร

4.2.3.1 อาสาสมัครกลุ่มคนปกติ: อาสาสมัครในกลุ่มนี้ต้องมีสุขภาพทั่วไปแข็งแรง ไม่มีประวัติเป็นโรคตับ ไตและหัวใจ ไม่สูบบุหรี่ และไม่ใช่ผู้ติดยา มีค่า hematological profile ปกติ

4.2.3.1.1 เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครกลุ่มคนปกติเข้าร่วมการศึกษา

อาสาสมัครเพศชาย/หญิง อายุระหว่าง 18-45 ปี

อาสาสมัครกลุ่มคนปกติมีค่า BMI 18-25 kg/m²

อาสาสมัครกลุ่มคนปกติต้องมีสุขภาพดี โดยผ่านการตรวจสอบประวัติการใช้ยา

การตรวจร่างกาย และมีผลวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการปกติ

อาสาสมัครเพศหญิงผลการทดสอบตั้งครรภ์เป็นลบ

ยินยอมเข้าร่วมการศึกษาด้วยความเต็มใจและลงนามในหนังสือ

แสดงความยินยอมแล้ว

4.2.3.1.2 เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากการศึกษา

มีประวัติแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษาหรือยาอื่นในกลุ่มที่ใช้ในการศึกษา

มีประวัติป่วยเป็นโรคระบบทางเดินอาหาร โรคตับโรคไต โรคภูมิแพ้ หรือโรคอื่นๆที่

มีผลต่อ bioavailability ของยา

มีประวัติดื่มสุราเป็นประจำ และมีการใช้สารเสพติด

มีประวัติสูบบุหรี่เป็นประจำ (มากกว่า 10 มวนต่อวัน) หรือหากมีการสูบบุหรี่

ปานกลาง (น้อยกว่า 10 มวนต่อวัน) และไม่สามารถอดการสูบบุหรี่
ได้ก่อนเริ่มการศึกษา

ได้รับการรักษาโรคด้วยยาอื่นภายใน 14 วันก่อนเริ่มการศึกษา

โดยเฉพาะยาที่มีผลต่อ enzyme ในร่างกาย

เคยเข้าร่วมการทดลองการศึกษาทางคลินิกอื่นๆภายใน 1 เดือนก่อนเริ่มการศึกษา

4.2.3.1.3 เกณฑ์การถอนตัวอาสาสมัครออกจากการศึกษา

อาสาสมัครเกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่แพทย์เห็นควรให้ออกจากการศึกษา

อาสาสมัครไม่ปฏิบัติตามข้อกำหนดของการศึกษา

อาสาสมัครต้องการถอนตัวออกจากการศึกษา

4.2.3.2 อาสาสมัครผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียฮีโมโกลบิน อี: อาสาสมัครในกลุ่มนี้ไม่ควรได้รับเลือดหรือยา
โดยเฉพาะยาขับเหล็กใดๆอย่างน้อย 2 อาทิตย์ก่อนทำการศึกษายกเว้น folic acid เกณฑ์อื่นๆเหมือนกับ
อาสาสมัครกลุ่มคนปกติ ผู้ป่วยธาลัสซีเมียจะแบ่งกลุ่มตามความรุนแรงของโรคโดยใช้ระดับ hemoglobin อายุ
เมื่อเริ่มป่วย ความถี่ที่ได้รับเลือด ขนาดและการตัดม้าม (13)

ก่อนการศึกษาผู้ป่วยอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม จะได้รับการตรวจร่างกายทั่วไป และเจาะเลือดเพื่อศึกษาค่า
ทางคลินิกต่างๆ ได้แก่ complete blood count, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, alanine
aminotransferase, gamma-glutamyl transpeptidase, albumin, creatinine, cholesterol, glucose, total bilirubin,
directbilirubin, blood urea nitrogen และ pregnancy test (สำหรับอาสาสมัครเพศหญิง)นอกจากนี้ยังตรวจค่า
เหล็กในเลือดได้แก่ total serum iron, transferrin saturation, serum ferritin และ non-transferrin bound iron
(NTBI)

4.2.4 การบริหารยา

ขนาดยาที่ใช้ศึกษาคือ 25 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม และให้ยาแบบครั้งเดียว (single dose)
อาสาสมัครจะอดอาหารเป็นเวลา 8 ชั่วโมงก่อนได้รับยา อาสาสมัครต้องถ่ายปัสสาวะให้หมดก่อนได้รับยา และ
จะได้รับยาโดยการกิน ตามด้วยน้ำ 240 มิลลิลิตร อาสาสมัครจะได้รับอาหารเมื่อเข้าภายหลังได้รับยา 2 ชั่วโมง
และควรรับประทานอาหารให้หมดภายใน 20 นาที

4.2.5 การเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะ

อาสาสมัครจะถูกเจาะเลือดทั้งหมด 11 ครั้ง ครั้งละ 5 มิลลิตร ก่อนการให้ยา และหลังการให้ยา 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300 และ 360 นาที ตัวอย่างเลือดจะนำมาปั่นแยกซีรัมและเก็บไว้ในหลอดพลาสติกที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ (ภายในเวลาไม่เกิน 1 สัปดาห์) ตัวอย่างปัสสาวะจะเก็บที่เวลา 0, 0-2, 2-4, 4-8, 8-12 ชั่วโมง ตัวอย่างปัสสาวะแต่ละช่วงเวลานำมาวัดปริมาตร และเก็บไว้ในหลอดทดลองพลาสติก 3 หลอดๆละ 10 มิลลิตร ที่ -20 °C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ (ภายในเวลาไม่เกิน 1 สัปดาห์)

ตัวอย่างเลือดและปัสสาวะจะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณ deferiprone ทั้งหมด, deferiprone ในรูปของ non-glucuronide (L1) และ จำนวน glucuronide deferiprone (L1-G) วิเคราะห์หาปริมาณหลัก และจำนวน deferiprone ในรูปสารประกอบหลัก รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงระดับ NTBI ในพลาสมา

4.3.6 การเฝ้าระวังอาสาสมัคร

เนื่องจาก deferiprone อาจจะก่อให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน หลังจากได้รับยาในขณะท้องว่าง แต่ไม่มีอาการไม่พึงประสงค์อื่นๆเมื่อได้รับยาในขนาดที่ศึกษา การเฝ้าระวังอาสาสมัครใช้วิธีซักถามอาการและบันทึกอาการความไม่สบายต่างๆ 30 นาทีและ ทุกๆ 1 ชั่วโมงหลังได้รับยา ถ้าอาสาสมัครมีอาการคลื่นไส้ อาเจียนและอาการไม่พึงประสงค์อื่นๆจะบันทึกและรายงานให้ผู้เกี่ยวข้องทราบและถ้ามีอาการไม่พึงประสงค์อาสาสมัครสามารถขอถอนตัวออกจากการศึกษาโดยความสมัครใจหรือเมื่อแพทย์เห็นสมควร และจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสม

4.3. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

4.3.1 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ Deferiprone โดยใช้ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (14)

วิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ deferiprone ในรูปของ non-glucuronide ด้วย HPLC ทำได้โดยการนำตัวอย่างซีรัมหรือปัสสาวะผสมกับ HEPES buffer pH 7.0 แล้วนำมาผ่านตัวกรองโดยใช้ Micro-filter (MW 30,000 cut off) สารกรองผ่านที่ได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตรนำมาฉีดผ่าน HPLC โดยใช้ stationary phase ได้แก่ column Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm I.D.) และ mobile phase ได้แก่ 10:90 (v/v) methanol : 10 mM NaH₂PO₄ (containing 2 mM EDTA, pH 3), flow rate 1.0 mL/min และตรวจวัดการดูดกลืนแสงด้วย UV-VIS detector ที่ 280 นาโนเมตร

การวิเคราะห์หาปริมาณ deferiprone ทั้งหมด ทำได้โดยใช้ตัวอย่างซีรัมหรือปัสสาวะเติมด้วยเอนไซม์ β -glucuronidase ที่ 37°C เป็นเวลา 16 ชั่วโมงก่อนนำไปผ่านตัวกรองและวิเคราะห์ด้วย HPLC หลังจากนั้นจึงสามารถคำนวณหาปริมาณ glucuronide-deferiprone (L1-G) โดย:

ปริมาณ glucuronide-deferiprone (L1-G) = ปริมาณ deferiprone ทั้งหมด – ปริมาณ non-glucuronide deferiprone (L1)

4.3.2 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์

4.3.2.1 Pre-study phase validation

A. ตรวจสอบค่า Specificity/Selectivity

การทดสอบความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ทำการทดลองใน serum blank samples (ซีรัมอาสาสมัครปกติ) เทียบกับซีรัมที่เติมสารมาตรฐาน deferiprone ที่ความเข้มข้น 2.5 (LLOQ), 7.5 (QCL), 20 (QCM) และ 40 (QCH) $\mu\text{g/mL}$ จำนวน 6 ตัวอย่าง และ urine blank samples (ปัสสาวะอาสาสมัครปกติ) เทียบกับปัสสาวะที่เติมสารมาตรฐาน deferiprone ที่ความเข้มข้น 5 (LLOQ), 15 (QCL), 80 (QCM) และ 160 (QCH) $\mu\text{g/mL}$ จำนวน 6 ตัวอย่าง สกัดและวิเคราะห์โดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

B. ตรวจสอบค่า Lower limit of quantification (LLOQ)

โดยทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาที่เติมไปในซีรัมหรือปัสสาวะโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้นที่ LLOQ (2.5 และ 5 $\mu\text{g/mL}$ สำหรับซีรัมและปัสสาวะตามลำดับ) 5 ตัวอย่าง ตรวจสอบ response ของตัวอย่างที่วิเคราะห์คำนวณ %accuracy และ % CV (precision)

C. ตรวจสอบค่า Linearity/ Standard calibration curve

วิเคราะห์โดยใช้สารมาตรฐาน และในตัวอย่างซีรัมที่เติมด้วยสารมาตรฐาน ความเข้มข้นที่ใช้ 7 ความเข้มข้นโดยความเข้มข้นต่ำที่สุดคือที่ 2.5 $\mu\text{g/mL}$ (LLOQ) และ 5, 7.5, 10, 20, 40, 50 $\mu\text{g/mL}$ สำหรับปัสสาวะวิเคราะห์โดยใช้สารมาตรฐาน และในตัวอย่างปัสสาวะที่เติมด้วยสารมาตรฐาน ความเข้มข้นที่ใช้ 7 ความเข้มข้นโดยความเข้มข้นต่ำที่สุดคือที่ 5 $\mu\text{g/mL}$ (LLOQ) และ 15, 20, 40, 80, 160, 200 $\mu\text{g/mL}$ สร้าง Standard calibration curve และคำนวณค่า r^2 โดยใช้ regression equation

D. ตรวจสอบค่า Accuracy

โดยทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาที่เติมไปในซีรัมที่ความเข้มข้น 4 ระดับได้แก่ 2.5 $\mu\text{g/mL}$ (LLOQ), 7.5 $\mu\text{g/mL}$ (QCL) 20 $\mu\text{g/mL}$ (QCM) และ 40 $\mu\text{g/mL}$ (QCH) ซึ่งอยู่ในช่วงในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละ 6 ตัวอย่าง สำหรับปัสสาวะโดยทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาที่เติมไปในปัสสาวะที่ความเข้มข้น 4 ระดับได้แก่ 5 $\mu\text{g/mL}$ (LLOQ), 15 $\mu\text{g/mL}$ (QCL) 80 $\mu\text{g/mL}$ (QCM) และ 160 $\mu\text{g/mL}$ (QCH) ซึ่งอยู่ในช่วงในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละ 6 ตัวอย่าง การคำนวณค่า %accuracy โดยการเปรียบเทียบความเข้มข้นของยาที่วัดได้กับความเข้มข้นที่เติมเข้าไปคูณ 100

E. ตรวจสอบค่า Precision (within run and between run)

โดยทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาที่เติมไปในซีรัมที่ความเข้มข้น 4 ระดับได้แก่ 2.5 µg/mL (LLOQ), 7.5 µg/mL (QCL) 20 µg/mL (QCM) และ 40 µg/mL (QCH) ในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละ 6 ตัวอย่าง สำหรับปัสสาวะโดยทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาที่เติมไปในปัสสาวะที่ความเข้มข้น 4 ระดับได้แก่ 5 µg/mL (LLOQ), 15 µg/mL (QCL) 80 µg/mL (QCM) และ 160 µg/mL (QCH) ในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละ 6 ตัวอย่าง และทำการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน (within-day validation) และระหว่างวัน (between-day validation) คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation; %CV)

F. ตรวจสอบค่า Recovery of extraction

โดยทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาที่เติมไปในซีรัมที่ความเข้มข้น 4 ระดับได้แก่ 2.5 µg/mL (LLOQ), 7.5 µg/mL (QCL) 20 µg/mL (QCM) และ 40 µg/mL (QCH) ในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละ 6 ตัวอย่าง สำหรับปัสสาวะโดยทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาที่เติมไปในปัสสาวะที่ความเข้มข้น 4 ระดับได้แก่ 5 µg/mL (LLOQ), 15 µg/mL (QCL) 80 µg/mL (QCM) และ 160 µg/mL (QCH) ในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละ 6 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานในสารละลายโดยไม่ผ่านกระบวนการสกัด

G. ตรวจสอบค่า stability

-Freeze-thaw stability ทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาในซีรัมและปัสสาวะโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้น 2 ระดับได้แก่ 7.5 µg/mL (QCL) และ 40 µg/mL (QCH) สำหรับซีรัม และ 15 µg/mL (QCL) และ 160 µg/mL (QCH) สำหรับปัสสาวะ ในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละอย่างน้อย 3 ตัวอย่าง

- Long term stability ทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาในซีรัมและปัสสาวะโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้น 2 ระดับได้แก่ 7.5 µg/mL (QCL) และ 40 µg/mL (QCH) สำหรับซีรัม 15 µg/mL (QCL) และ 160 µg/mL (QCH) สำหรับปัสสาวะ ในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละอย่างน้อย 3 ตัวอย่าง หลังจากเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 C ระยะเวลา 7, 14, 30 และ 60 วัน

- Short term stability ทำการสกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างยาในซีรัมและปัสสาวะโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้น 2 ระดับได้แก่ 7.5 µg/mL (QCL) และ 40 µg/mL (QCH) สำหรับซีรัม 15 µg/mL (QCL) และ 160 µg/mL (QCH) สำหรับปัสสาวะ ในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละอย่างน้อย 3 ตัวอย่าง หลังจากการนำตัวอย่างยาที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิที่ต้องการเก็บรักษามาละลายที่อุณหภูมิห้อง 6 ชั่วโมง

- Post preparative stability ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างยาในซีรัมและปัสสาวะโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ระดับความเข้มข้น 2 ระดับได้แก่ 7.5 µg/mL (QCL) และ 40 µg/mL (QCH) สำหรับซีรัม 15 µg/mL (QCL) และ 160 µg/mL (QCH) สำหรับปัสสาวะ ในช่วงความเข้มข้นของ standard calibration curve ความเข้มข้นละอย่างน้อย 3 ตัวอย่าง หลังจากนำตัวอย่างยาที่ผ่านกระบวนการสกัดตั้งไว้ใน auto-sampler เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

- Stock-solution stability ทำการวิเคราะห์หาปริมาณยาของ Stock-solution ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอย่างน้อย 6 ชั่วโมง และอุณหภูมิและระยะเวลาที่เก็บ Stock-solution นั้น ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ Stock-solution ที่เก็บไว้ตามระยะเวลาที่กำหนดเปรียบเทียบกับ Stock-solution ที่เตรียมขึ้นใหม่ ผลการเปรียบเทียบต้องไม่พบการสลายตัวของตัวยาใน Stock-solution ภายในระยะเวลาที่คาดว่าจะเก็บ Stock-solution นั้นไว้

4.3.2.2 Study phase validation ในการวิเคราะห์แต่ละครั้งต้องสร้าง calibration curve และใช้ calibration curve นี้ในการคำนวณหาความเข้มข้นในการวิเคราะห์ครั้งนั้นๆ ในแต่ละครั้งทำการวิเคราะห์ Quality control samples (QC samples) สำหรับซีรัมที่ระดับความเข้มข้น 7.5 µg/mL (QCL) 20 µg/mL (QCM) และ 40 µg/mL (QCH) ความเข้มข้นละสองชุด และสำหรับปัสสาวะที่ระดับความเข้มข้น 15 µg/mL (QCL) 80 µg/mL (QCM) และ 160 µg/mL (QCH) เกณฑ์การยอมรับผลการวิเคราะห์ในแต่ละครั้ง กำหนดให้อย่างน้อย 4 ใน 6 ของ QC samples มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง $\pm 15\%$ เมื่อเทียบกับ nominal value และ 2 ใน 6 ของ QC samples อาจเกินช่วง $\pm 15\%$ แต่ต้องไม่ใช่ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

4.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

4.4.1 ค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ที่วิเคราะห์ได้แก่

ค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ที่วิเคราะห์ได้แก่ AUC_{0-t} (area under the plasma concentration curve from administration to last observed concentration at time), AUC_{0-inf} (area under the plasma concentration curve from administration to infinity), C_{max} (maximal plasma concentration), T_{max} (maximal plasma concentration), $t_{1/2}$ (plasma concentration half life), K_e (elimination rate constant), CL_{app} (apparent total clearance) และ Vd_{app} (apparent volume of distribution) โดยใช้ standard non-compartment model โดยโปรแกรมสำเร็จรูป PK solution (Summit Research Services, US, version 2) ดังนี้

C_{max} และ T_{max} ได้จาก log serum concentration-time curve

AUC_{0-t} ได้จาก Trapezoid calculation

$$AUC_{0-t} = \sum_{i=0}^{n-1} [(t_{i+1} - t_i) / 2] [C_i + C_{i+1}] \text{ where } n \text{ is the number of data points}$$

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา deferiprone

AUC_{0-inf} ได้จาก AUC_{0-t} รวมกับ extrapolated value

$$AUC_{0-inf} = AUC_{0-t} + C_n / K_e$$

where C_n is the last concentration, K_e is the elimination rate constant

$K_e = -2.303s$ where s is slope of log serum concentration-time curve

$$t_{1/2} = 0.693/K_e$$

$CL_{app} = \text{Dose}/AUC_{0-t}/BW$; when BW is body weight

$$Vd_{app} = CL/K_e$$

4.4.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ

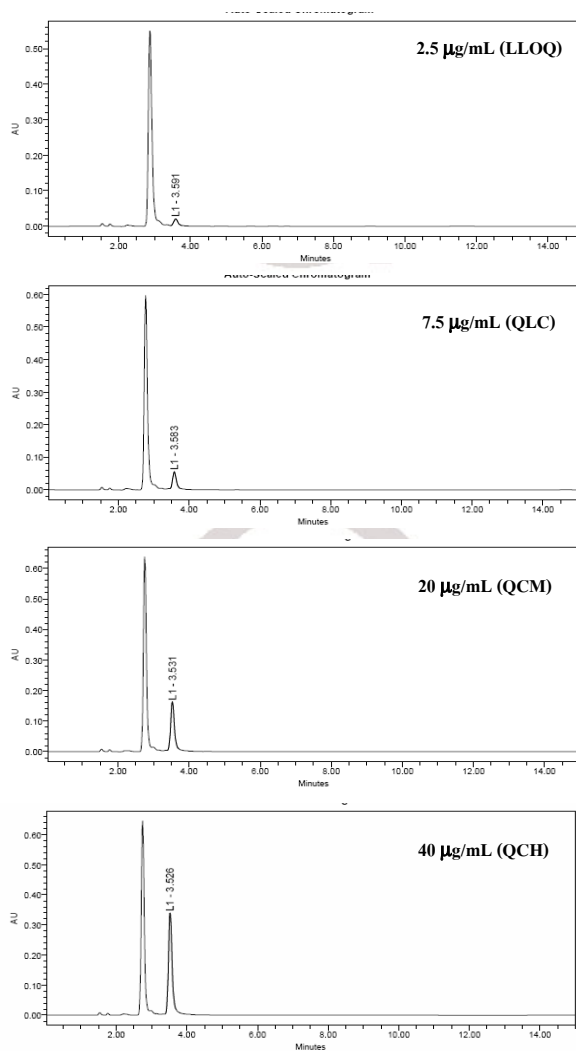
การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 11.0 ข้อมูลเสนอเป็น mean±SD หรือตามที่ได้กำกับไว้ ใช้ one way ANOVA ตามด้วย Turkey test เพื่อกำหนดค่าความแตกต่างทางสถิติ ถ้า p value <0.05 ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาความสัมพันธ์ใช้การทดสอบ Spearman's test

5. ผลการศึกษาและวิจารณ์

5.1 ผลการตรวจสอบความถูกต้องในการวิเคราะห์

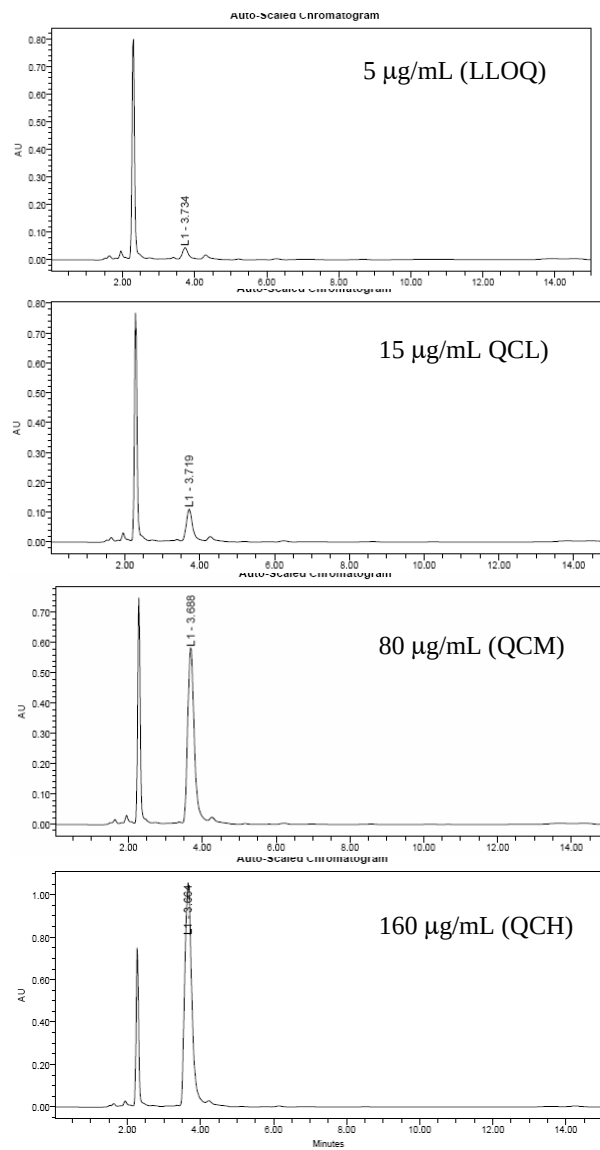
5.1.1 โครมาโตแกรมของ deferiprone

โครมาโตแกรมของ deferiprone ใน ซีรัมและปัสสาวะที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงในรูป 5.1.1 และ 5.1.2 ตามลำดับ ในซีรัม peak ของ deferiprone จะปรากฏที่เวลา 3.4 นาที ส่วนในปัสสาวะจะพบที่ 3.7 นาที โดยไม่มี peak interference ที่ตำแหน่งอื่นๆ



รูปที่ 5.1.1 โครมาโตแกรมของ deferiprone ที่ความเข้มข้นต่างๆในซีรัม

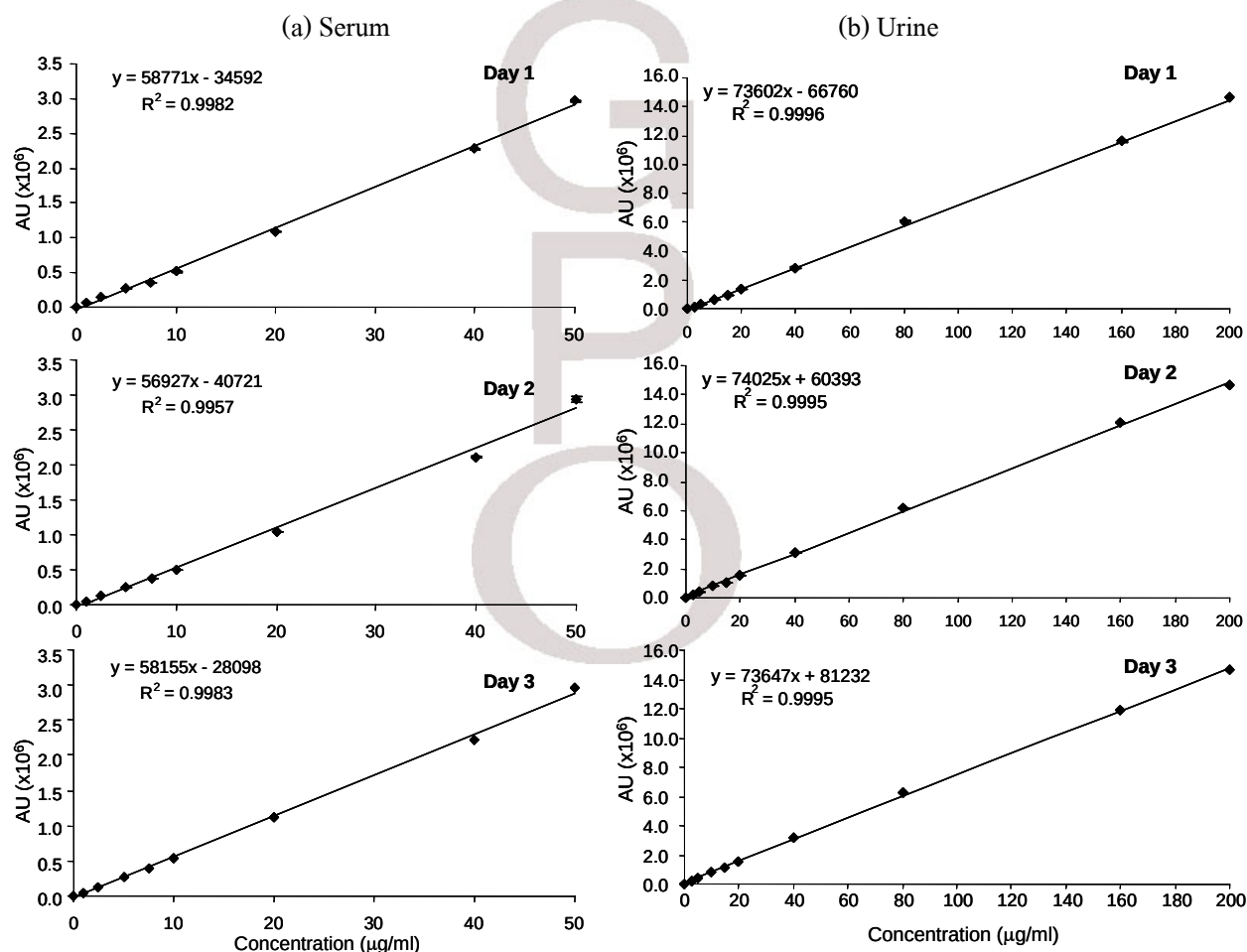
การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา deferiprone



รูปที่ 5.1.2 โครมาโตแกรมของ deferiprone ที่ความเข้มข้นต่างๆในปัสสาวะ

5.1.2 ตรวจสอบค่า Linearity/ Standard calibration curve

เมื่อเติมสารมาตรฐานลงในซีรัมและปัสสาวะที่ความเข้มข้นต่างๆจะได้ calibration curve ของ deferiprone ในซีรัมและปัสสาวะแสดงในรูป 5.1.3 (a) และ (b) ตามลำดับ และค่า regression parameter ของ deferiprone ในซีรัมและปัสสาวะแสดงในตารางที่ 5.1.1 และ 5.1.2 ตามลำดับ พบว่า slope ของ calibration curve ทั้งในซีรัมทั้งสามวันมีค่า %CV 1.62 และสำหรับในปัสสาวะมีค่า %CV 0.31 และเมื่อคำนวณความเข้มข้นต่างๆโดย calibration curve ทั้งจากซีรัมและปัสสาวะพบว่าค่าความเข้มข้นที่ได้มีความถูกต้องแม่นยำโดย มีค่า %accuracy อยู่ระหว่าง 85-115% และที่ LLOQ ที่ได้อยู่ระหว่าง 80-120% ค่า % CV ไม่เกิน 15% และที่ LLOQ ไม่เกิน 20% ดังแสดงในตาราง 5.1.3 และ 5.1.4



รูปที่ 5.1.3 Calibration curve ของ deferiprone ในซีรัม (a) และ ปัสสาวะ (b)

ตารางที่ 5.1.1 Regression parameters of three calibration curves of serum

Calibration curve	Regression parameters			
	Slope	Intercept	Correlation Coefficient (r)	Coefficient of determination (r^2)
Day 1	58771	-34592	0.9991	0.9982
Day 2	56927	-40721	0.9978	0.9957
Day 3	58155	-28098	0.9991	0.9983
Mean	57951	-34470	0.9987	0.9974
CV (%)	1.62	N/A	0.07	0.15

ตารางที่ 5.1.2 Regression parameters of three calibration curves of urine

Calibration curve	Regression parameters			
	Slope	Intercept	Correlation Coefficient (r)	Coefficient of determination (r^2)
Day 1	73602	-66760	0.9998	0.9996
Day 2	74025	60393	0.9998	0.9995
Day 3	73647	81232	0.9998	0.9995
Mean	73758	24955	2.8E-5	5.7E-5
CV (%)	0.31	N/A	0.00	0.01

ตารางที่ 5.1.3 Accuracy and precision of three calibration curve of serum

Calibration curve		Concentration (µg/mL)						
		2.5	5	7.5	10	20	40	50
Day1	Cal conce.	2.80	5.33	6.65	9.37	19.09	39.31	51.10
	%Accuracy	112.0	106.5	88.6	93.7	95.5	98.3	102.2
Day2	Cal conce.	2.79	5.11	7.40	9.39	19.10	37.85	52.18
	%Accuracy	111.4	102.2	98.6	93.9	95.5	94.6	104.4
Day3	Cal conce.	2.57	5.08	7.28	9.85	19.66	38.56	51.35
	%Accuracy	102.7	101.6	97.0	98.5	98.1	96.4	102.7
Mean	Cal conce.	2.72	5.17	7.11	9.54	19.27	38.58	1.54
	%Accuracy	108.7	103.4	94.8	95.4	96.3	96.4	103.1
	CV (%)	4.7	3.4	5.2	4.6	3.6	3.7	3.1

ตารางที่ 5.1.4. Accuracy and precision of three calibration curve of urine

Calibration curve		Concentration (µg/mL)						
		5	15	20	40	80	160	200
Day1	Cal conce.	5.01	13.07	19.60	39.67	83.34	158.53	200.11
	%Accuracy	100.3	87.1	97.9	99.2	104.2	99.1	100.1
Day2	Cal conce.	4.61	13.47	20.79	40.79	82.42	162.10	197.25
	%Accuracy	92.3	89.8	103.9	102.0	103.3	101.3	98.6
Day3	Cal conce.	4.43	13.95	20.10	42.45	83.33	160.40	197.98
	%Accuracy	88.7	94.5	100.5	106.1	104.2	100.3	98.9
Mean	Cal conce.	4.69	13.50	20.16	40.97	83.03	160.34	198.45
	%Accuracy	93.7	90.0	100.8	102.4	103.8	100.2	99.2
	CV (%)	6.34	3.25	2.97	3.42	0.64	1.11	0.75

5.1.3 ผลการตรวจสอบค่า Accuracy และ ค่า Precision (within run and between run)

ค่า % accuracy และ % CV ของการวิเคราะห์ในวันเดียวกันและระหว่างวันในตัวอย่างซีรัมและปัสสาวะแสดงในตารางที่ 5.1.5 และ 5.1.6 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า ค่า % accuracy ที่ได้อยู่ระหว่าง 85-115% และที่ LLOQ ที่ได้อยู่ระหว่าง 80-120% และ ค่า % CV ไม่เกิน 15% และที่ LLOQ ไม่เกิน 20%

ตารางที่ 5.1.5 (a) Intra-day precision and accuracy data of serum

Concentration (µg/mL)	Calculated concentration (µg/mL)		
	Day 1	Day 2	Day 3
2.5 (LLOQ)			
Mean	2.93	2.86	2.75
SD	0.09	0.07	0.07
CV (%)	2.93	2.37	2.59
Accuracy (%)	117.35	114.26	110.01
7.5 (QCL)			
Mean	7.44	7.08	7.48
SD	0.68	0.15	0.60
CV (%)	9.07	2.05	7.98
Accuracy (%)	99.26	94.46	99.77
20 (QCM)			
Mean	19.56	18.89	19.61
SD	0.89	0.30	0.24
CV (%)	4.53	1.60	1.23
Accuracy (%)	97.80	94.45	98.07
40 (QCH)			
Mean	40.33	38.75	39.01
SD	1.52	1.64	1.62
CV (%)	3.76	4.23	4.14
Accuracy (%)	100.81	96.86	97.52

ตารางที่ 5.1.5 (b) Inter-day precision and accuracy data of serum

	Calculated concentration (µg/mL)			
	2.5 (LLOQ)	7.5	20	40
Mean	2.85	7.34	19.36	39.36
SD	0.10	0.53	0.62	1.65
CV (%)	3.68	7.20	3.23	4.20
Accuracy (%)	113.87	97.83	96.78	98.40

ตารางที่ 5.1.6 (a) Intra-day precision and accuracy data of urine

Concentration (µg/mL)	Calculated concentration (µg/mL)		
	Day 1	Day 2	Day 3
5 (LLOQ)			
Mean	5.52	4.13	4.51
SD	0.95	0.44	0.66
CV (%)	17.22	10.78	14.64
Accuracy (%)	110.37	82.50	90.30
15 (QCL)			
Mean	15.00	16.17	15.75
SD	1.44	1.58	1.57
CV (%)	9.63	9.78	9.98
Accuracy (%)	100.01	107.77	104.97
80 (QCM)			
Mean	80.08	81.98	80.29
SD	5.97	2.35	4.18
CV (%)	7.46	2.87	5.21
Accuracy (%)	100.10	102.48	100.36
160 (QCH)			
Mean	153.67	161.72	158.33
SD	8.94	6.17	5.79
CV (%)	5.81	3.81	3.66
Accuracy (%)	96.04	101.08	98.95

ตารางที่ 5.1.6 (b) Inter-day precision and accuracy data of urine

	Calculated concentration (µg/mL)			
	5 (LLOQ)	15	80	160
Mean	4.72	15.64	80.78	157.91
SD	0.90	1.52	4.25	7.49
CV (%)	19.15	9.74	5.26	4.74
Accuracy (%)	94.39	104.25	100.98	98.69

5.1.4 ผลการตรวจสอบค่า Recovery of extraction

ค่า % recovery ของการวิเคราะห์ในตัวอย่างซีรัมและปัสสาวะแสดงในตารางที่ 5.1.7 และ 5.1.8 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าค่า % recovery ที่ได้มากกว่า 80 ทั้งในซีรัมและปัสสาวะ

ตารางที่ 5.1.7 Recovery of extraction from serum

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	% Recovery			
	Day 1	Day 2	Day 3	Mean (n=18)
2.5	115.19 $\pm$ 0.04	114.26 $\pm$ 2.71	110.01 $\pm$ 2.85	112.90 $\pm$ 3.26
7.5	96.41 $\pm$ 6.38	94.46 $\pm$ 1.91	96.71 $\pm$ 2.99	95.78 $\pm$ 3.95
20	97.80 $\pm$ 4.43	94.45 $\pm$ 1.51	98.07 $\pm$ 1.21	96.78 $\pm$ 3.12
40	100.81 $\pm$ 3.79	96.86 $\pm$ 4.09	97.52 $\pm$ 4.04	98.40 $\pm$ 4.14
Mean $\pm$ SD (n=6)				

ตารางที่ 5.1.8 Recovery of extraction from urine

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	% Recovery			
	Day 1	Day 2	Day 3	Mean (n=18)
5	110.3 $\pm$ 19.0	85.5 $\pm$ 8.9	90.3 $\pm$ 13.2	94.4 $\pm$ 18.1
15	100.0 $\pm$ 9.6	107.7 $\pm$ 10.5	104.9 $\pm$ 10.4	104.2 $\pm$ 10.6
80	100.1 $\pm$ 7.4	102.5 $\pm$ 2.9	100.4 $\pm$ 5.2	100.9 $\pm$ 5.3
160	96.0 $\pm$ 5.6	101.1 $\pm$ 3.8	98.9 $\pm$ 3.6	98.7 $\pm$ 4.7
Mean $\pm$ SD (n=6)				

5.1.5 ผลการตรวจสอบค่า stability ในซีรัม

ค่า stability ในซีรัมและปัสสาวะ แสดงในตารางที่ 5.1.9 และ 5.1.10 ตามลำดับ และไม่พบการสลายของ stock solution ในเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง (99.06%) และ ที่ 0 °C (96.98%) เป็นเวลา 1 เดือน

ตารางที่ 5.1.9 Stability of deferiprone in human serum during storage and handling

Stability	Stability (%)	
	7.5 (µg/mL)	40 (µg/mL)
Short term (6 hr)	98.6±1.08	96.0±0.90
Freeze and thaw (after 3 rd cycle)	96.8±2.70	99.4±0.95
Long term (30 days)	89.9±1.20	96.6±0.70
Auto-sampler (24 hr)	99.8±1.83	99.1±2.34
Mean±SD (n=3)		

ตารางที่ 5.1.10 Stability of deferiprone in human urine during storage and handling

Stability	Stability (%)	
	15 (µg/mL)	160 (µg/mL)
Short term (6 hr)	103.5±5.53	103.3±2.95
Freeze and thaw (after 3 rd cycle)	101.8±5.60	101.3±2.99
Long term (30 days)	100.1±1.74	101.0±1.40
Auto-sampler (24 hr)	100.4±6.36	103.1±1.31
Mean±SD (n=3)		

5.2 ผลการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์

5.2.1 ข้อมูลอาสาสมัคร

ข้อมูลกลุ่มอาสาสมัครทั้งคนปกติและผู้ป่วยโรคโลหิตจางแบ่งเป็นกลุ่มอาการไม่รุนแรงถึงปานกลางและกลุ่มอาการรุนแรงแสดงในตารางที่ 5.2.1

ตารางที่ 5.2.1. ข้อมูลกลุ่มอาสาสมัครและค่าทางคลินิก

Parameter [†]	Subjects		
	Normal	Mild-moderate	Severe
N	20	11	14
Sex ,M/F	11/9	4/7	6/8
Age, years	25.6±3.2	33.0±9.7	28.9±10.0
Weight, kg	55.6±8.1	51.3±6.6	42.9±6.8* [#]
Hb, g/dL (12-16)	13.8±1.1	7.4±0.9**	6.8±0.9**
ALP, U/L (50-136)	19.1±4.4	75.1±26.5**	146.3±63.8** ^{##}
AST, U/L (15-37)	36.1±13.2	51.7±22.2**	49.5±22.2**
ALT, U/L (30-65)	30.3±14.3	58.6±26.2*	52.9±24.5*
GGT, U/L (5-55)	77.2±5.9	39.5±27.1*	53.8±32.6*
Total protein, g/L (64-82)	47.5±4.2	81.5±5.5*	53.9±4.6*
Albumin, g/L (34-50)	47.5±4.2	44.6±3.0	41.9±2.8**
BUN, mmol/L (2.5-6.4)	4.2±1.2	4.0±1.4	3.7±1.2
Creatinine, µmol/L (53-88)	72.2±20.1	37.3±11.3*	34.1±12.9*
Triglycerides, mmol/L (0.34-1.70)	0.80±0.36	1.26±0.28*	1.37±0.35*
Cholesterol, mmol/L (3.8-5.2)	5.11±0.84	2.52±0.95*	2.39±0.55*
Total bilirubin, µmol/L (0-17.1)	14.7±3.6	66.0±26.1*	64.3±27.2*
Direct bilirubin, µmol/L (0-5.0)	4.1±0.8	7.3±2.5*	8.8±4.0*

Data are presented as mean±SD.

**p<0.001 *p<0.05 comparing with normal, ^{##}p<0.001 [#]p<0.05 comparing with mild-moderate

[†]Data in () are reference rang. ALP=alkaline phosphatase, AST=aspartate aminotransferase, ALT=alanine aminotransferase, GGT=gamma-glutamyl transpeptidase, BUN= blood urea nitrogen

ค่าระดับเหล็กในรูปต่างๆในซีรัมของอาสาสมัครปกติและผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มแสดงในตารางที่ 5.2.2 จะเห็นว่าผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงจะมีแนวโน้มค่าระดับเหล็กสูงขึ้นเมื่อเทียบกับผู้ป่วยอาการไม่รุนแรงถึงปานกลาง

ตารางที่ 5.2.2 ระดับเหล็กในรูปต่างๆในซีรัม

Parameter	Subjects		
	Normal	β -Thal/HbE	
		Mild-moderate	Severe
Serum iron, $\mu\text{mol/L}$	22.1 $\pm$ 4.1	25.8 $\pm$ 6.9	30.9 $\pm$ 4.9** [#]
Transferrin saturation, %	33.5 $\pm$ 6.3	45.4 $\pm$ 12.0*	59.3 $\pm$ 13.2** [#]
NTBI, $\mu\text{mol/L}$	0.53 $\pm$ 0.28	0.50 $\pm$ 0.74	1.56 $\pm$ 1.12* [#]
Serum ferritin, $\mu\text{g/L}$	85.8 $\pm$ 92.5	2576.9 $\pm$ 1528.4**	2519.6 $\pm$ 1296.2**

Data are presented as mean $\pm$ SD.

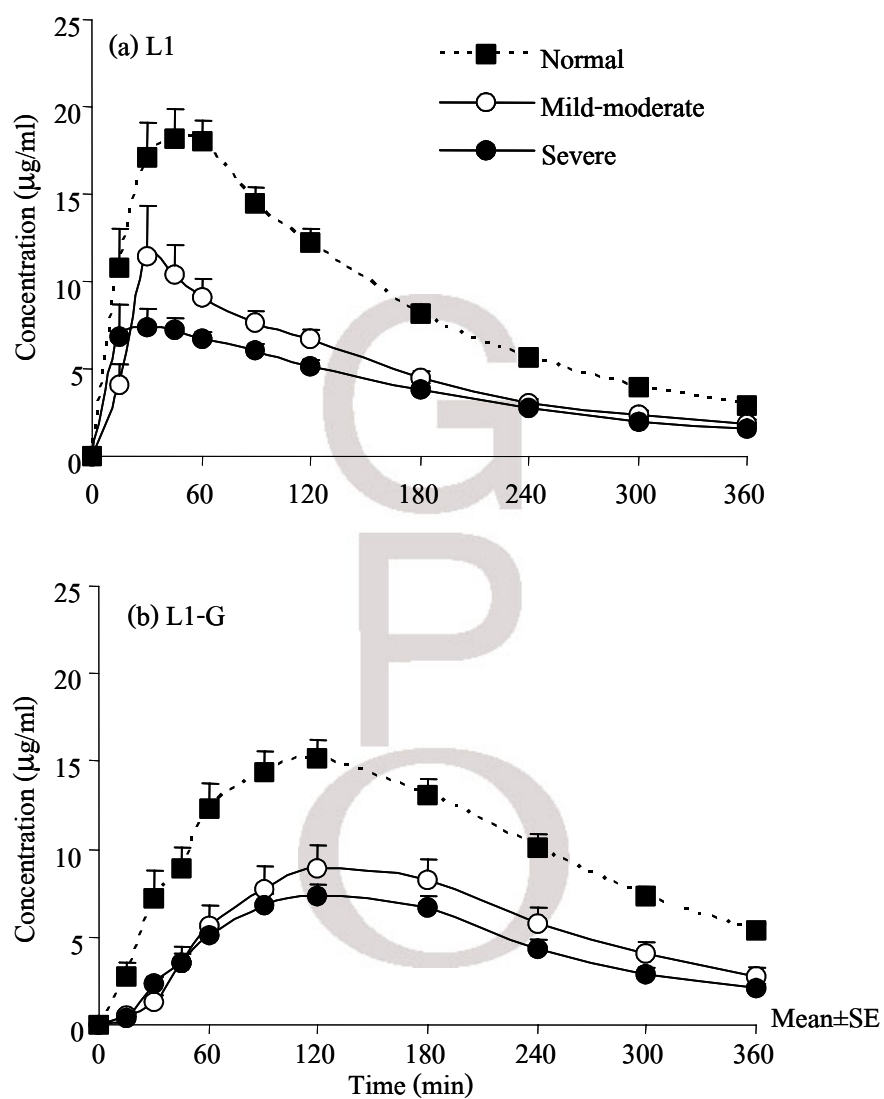
**p<0.001 *p<0.05 comparing with normal, ^{##}p<0.001 [#]p<0.05 comparing with mild-moderate

nd = not detectable, NTBI = non transferrin bound iron

5.2.2 ค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ non-glucuronide deferiprone (L1) และ glucuronide deferiprone (L1-G) ในซีรัม

Serum concentration time curve ของ L1 และ L1-G ในคนปกติ และ ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มแสดงในรูปที่ 5.2.1 ส่วนค่าเภสัชจลนศาสตร์แสดงในตารางที่ 5.2.3 และตารางที่ 5.2.4 ตามลำดับ จากการศึกษาจะเห็นว่าค่า C_{max} และ AUC_{inf} สำหรับ non-glucuronide L1 ในผู้ป่วยจะต่ำลง แต่ V_{dapp} จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับค่าในอาสาสมัครปกติ สำหรับค่า terminal elimination t_{1/2} ยาวขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วย และค่า CL_{app} จะเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน และพบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ต่างๆเหล่านี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรคด้วย แต่อย่างไรก็ตามค่า T_{max} ของ non-glucuronide L1 ไม่มีความแตกต่างกันในอาสาสมัครทั้งสามกลุ่มนี้

เมื่อพิจารณาค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ L1G พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงค่า C_{max} และ AUC_{inf} ในผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญแต่ค่า T_{max} และ elimination t_{1/2} ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งหมายถึงอัตราการเปลี่ยนแปลงและการขับออกของยาในรูปของ L1-G ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย



รูปที่ 5.2.1 Serum concentration time curve ของ non-glucuronide deferiprone (L1, a) และ glucuronide deferiprone (L1-G, b) ในคนปกติ และ ผู้ป่วย β -thalassemia/Hb E (Note: Concentrations of L1-G were calculated as L1 equivalence)

ตารางที่ 5.2.3. ค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ non-glucuronide deferiprone

Parameter	Subjects		
	Normal	β -Thal/Hb E	
		Mild-moderate	Severe
Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	23.1 $\pm$ 7.8	13.8 $\pm$ 8.3*	10.3 $\pm$ 4.8**
Tmax (min)	48.0 $\pm$ 26.9	49.1 $\pm$ 30.8	39.6 $\pm$ 26.7
Terminal Ke (min^{-1})	0.0056 $\pm$ 0.00077	0.0044 $\pm$ 0.00197	0.0117 $\pm$ 0.286
Terminal elimination $t_{1/2}$ (min)	127.1 $\pm$ 17.7	173.9 $\pm$ 62.8	196.5 $\pm$ 105.4*
AUC _{inf} (min. $\mu\text{g/mL}$)	3804.9 $\pm$ 974.9	2399.9 $\pm$ 763.6**	1999.7 $\pm$ 517.9**
Vdapp (mL/kg)	1307.7 $\pm$ 275.5	3422.6 $\pm$ 2291.5	3450.3 $\pm$ 1313.2
CLapp (mL/min)	401.7 $\pm$ 106.3	589.7 $\pm$ 146.3*	570.9 $\pm$ 181.0*

Data are presented as mean $\pm$ SD.

**p<0.001 *p<0.05 comparing with normal, ^{##}p<0.001 [#]p<0.05 comparing with mild-moderate

ตารางที่ 5.2.4. ค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ glucuronide deferiprone (L1-G)

Parameter	Subjects		
	Normal	β -Thal/Hb E	
		Mild-moderate	Severe
Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	15.4 $\pm$ 3.8	9.1 $\pm$ 4.4**	7.7 $\pm$ 2.3**
Tmax (min)	121.5 $\pm$ 34.4	125.4 $\pm$ 29.4	122.1 $\pm$ 36.2
Elimination $t_{1/2}$ (min)	126.2 $\pm$ 25.5	105.5 $\pm$ 5.6	101.1 $\pm$ 27.3
AUC _{inf} (min. $\mu\text{g/mL}$)	4405.8 $\pm$ 1259.5	2471.5 $\pm$ 1282.5**	1990.1 $\pm$ 662.5**

Data are presented as mean $\pm$ SD.

**p<0.001 *p<0.05 comparing with normal, ^{##}p<0.001 [#]p<0.05 comparing with mild-moderate

Note: Concentrations of L1-G were calculated as L1 equivalence

5.2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ non-glucuronide deferiprone (L1) และ glucuronide deferiprone (L1-G) กับค่าระดับเหล็กในซีรัม

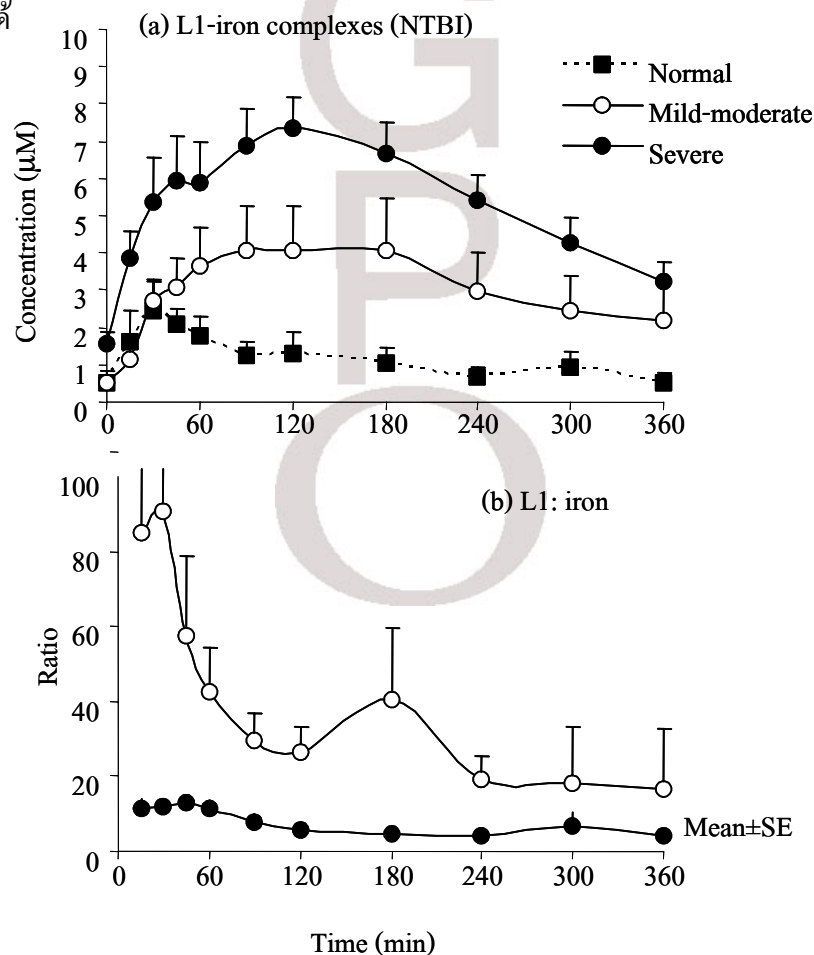
เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ L1 และ L1-G กับค่าระดับเหล็กในซีรัม พบว่าค่าเภสัชจลนศาสตร์มีความสัมพันธ์กับภาวะเหล็กเกินดังแสดงในตารางที่ 5.2.5 โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่า ferritin ที่มีความสัมพันธ์ในระดับสูงอย่างมีนัยสำคัญต่อค่า C_{max} และ AUC_{inf} ทั้งของ non-glucuronide L1 และ L1-G และต่อค่า V_{dapp} ของ non-glucuronide L1 อีกด้วย ($r=0.816$, $p<0.001$)

ตารางที่ 5.2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเภสัชจลนศาสตร์ของ non-glucuronide deferiprone (L1) และ glucuronide deferiprone (L1-G) กับค่าระดับเหล็ก

	Correlations (r ; p-value)					
	Non-glucuronide deferiprone			Glucuronide deferiprone		
	NTBI	SI	Ferritin	NTBI	SI	Ferritin
C_{max}	-0.384 (0.006)	-0.601 (<0.001)	-0.771 (<0.001)	-0.389 (0.001)	-0.491 (<0.001)	-0.630 (<0.001)
K_e	-	-0.499 (<0.001)	-0.497 (<0.001)	-	-	-
$t_{1/2}$	-	0.483 (0.001)	-0.479 (0.001)	-	-	-
AUC_{inf}	-	-0.411 (0.003)	-0.675 (<0.001)	-	-0.487 (<0.001)	-0.661 (<0.001)
V_{dapp}	0.461 (0.001)	0.605 (<0.001)	0.816 (<0.001)	-	-	-
CL_{app}	-	-	0.509 (<0.001)	-	-	-

5.2.4 ระดับ non-glucuronide deferiprone และการจับเหล็ก

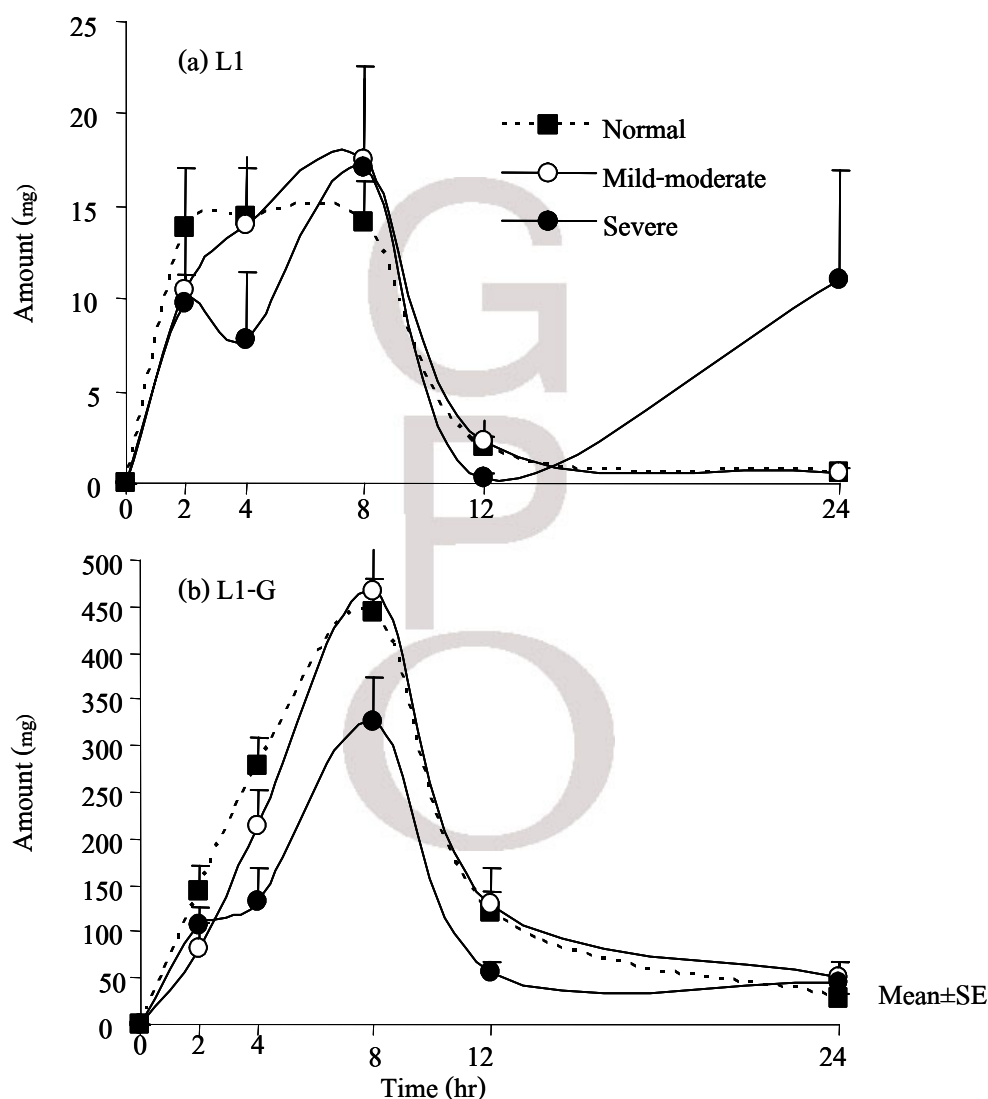
หลังจากยาเข้าไปในกระแสเลือดแล้วยาสามารถจับเหล็กจากส่วนต่างๆทั้งในซีรัมและในเซลล์ได้ เมื่อยาได้ดึงเหล็กออกจากส่วนต่างๆแล้วจะพบปริมาณเหล็กเพิ่มขึ้นในซีรัม (รูปที่ 5.2.2 (a)) ซึ่งก็คือ L1-iron complex นั้นเอง และ L1-iron complexes จะมี serum profile ไปตามกับระดับยาในซีรัมดังแสดงไว้ในรูปที่ 5.2.1 จะเห็นได้ว่าปริมาณ L1-iron complexes นี้จะขึ้นภาวะเหล็กเกินของผู้ป่วย ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงจะมีเหล็กที่สามารถถูกจับ (chelatable iron) ได้มากกว่าผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรง เมื่อคำนวณอัตราส่วนระหว่างยาและเหล็ก (L1:iron) (รูปที่ 5.2.2 (b)) จะพบว่าผู้ป่วยอาการไม่รุนแรงถึงปานกลางมีค่าเฉลี่ยอัตราส่วนอยู่ระหว่าง 15-85 ซึ่งแสดงว่าปริมาณยาเกินความต้องการมากกว่าเหล็ก แต่ในกรณีของผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง ค่าเฉลี่ยอัตราส่วนอยู่ระหว่าง 4-11 ซึ่งพบว่าผู้ป่วยอาการรุนแรงบางรายอาจมีค่าอัตราส่วนที่น้อยกว่า 3 แสดงว่าในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงหรือมีเหล็กสูงมีโอกาสดึง incomplete iron complexes ซึ่งเป็น iron complexes ที่กระตุ้นให้เกิด free radical reaction ได้



รูปที่ 5.2.3 Serum concentration time curve ของ L1-iron complexes โดยวัดในรูปของ NTBI (a) และ L1: iron ratio (b) ในคนปกติ และ ผู้ป่วย β -thalassemia/Hb E

5.2.5 การขับยาในรูปของ non-glucuronide, glucuronide และการขับเหล็กในปัสสาวะ

ปริมาณ non-glucuronide L1 และ L1-G ที่ขับออกทางปัสสาวะแสดงในรูปที่ 5.2.4 (a) และ (b) ตามลำดับ จะเห็นว่า ปริมาณ non-glucuronide L1 และ L1-G ขับออกมามากที่สุดในช่วง 4-8 ชั่วโมง เป็นที่น่าสนใจว่าในผู้ป่วยอาการรุนแรง หลังจาก 12 ชั่วโมงแล้วยังมี non-glucuronide L1 ขับออกในปริมาณสูง ซึ่งน่าจะเป็น non-glucuronide L1 ที่อยู่ในรูป iron complexes มากกว่าจะเป็น free L1



รูปที่ 5.2.4 ปริมาณ non-glucuronide deferiprone (L1, a) และ glucuronide deferiprone (L1-G,b) ในปัสสาวะของคนปกติ และ ผู้ป่วย β -thalassemia/Hb E (Note: Concentrations L1-G were calculated as L1 equivalence)

สำหรับปริมาณ non-glucuronide L1 และ L1-G ทั้งหมด และการขับเหล็กทั้งหมดใน 24 ชั่วโมงแสดงในตารางที่ 5.2.6 เมื่อพิจารณาปริมาณของ L1 ทั้งหมดที่ขับออกทางปัสสาวะจะพบว่า L1 จะขับออกในรูปของ glucuronide ประมาณ 95% ในคนปกติ และประมาณ 93-95% ในผู้ป่วย การลดลงของ L1-G ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิด iron complexes ของ L1 ซึ่ง L1 ในรูปของ iron complexes จะไม่สามารถเปลี่ยนอยู่ในรูป glucuronide ได้

ปริมาณเหล็กที่ขับทางปัสสาวะ (urinary iron excretion; UIE) ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค และระดับเหล็กในผู้ป่วยด้วยจะพบว่า UIE มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับ NTBI ($r=0.513$; $p=0.004$), serum iron ($r=0.585$; $p=0.001$) และ ferritin ($r=0.667$; $p<0.001$)

เมื่อพิจารณา อัตราส่วนระหว่าง non-glucuronide L1 และ UIE พบว่าค่าเฉลี่ยอัตราส่วนนี้ในผู้ป่วยอาการไม่รุนแรงถึงปานกลาง เท่ากับ 11.7 ในขณะที่ ผู้ป่วยอาการรุนแรงมีค่า 5.2 และพบว่าผู้ป่วยอาการรุนแรงมีอัตราส่วน L1:UIE น้อยกว่า 3 ใน 6 รายจากผู้ป่วย 14 ราย ส่วนในผู้ป่วยอาการไม่รุนแรงถึงปานกลางที่มีอัตราส่วน L1:UIE น้อยกว่า 3 อยู่เพียง 2 รายจากผู้ป่วย 11 ราย คาดการณ์ได้ว่าผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงและมีภาวะเหล็กเกินสูงมีโอกาที่จะมี incomplete iron complexes เกิดขึ้นในผู้ป่วยได้

ตารางที่ 5.2.6 ปริมาณ non-glucuronide deferiprone (L1) และ glucuronide deferiprone (L1-G) ในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง

Parameter	Subjects		
	Normal	β -Thal/Hb E	
		Mild-moderate	Severe
non-glucuronide L1 (μmol)	304.3 $\pm$ 191.3	323.0 $\pm$ 203.7	331.3 $\pm$ 213.9
L1-G (μmol)	7079.3 $\pm$ 1908.5	6792.5 $\pm$ 1942.0	4733.1 $\pm$ 1927.5* [#]
UIE (μmol)	nd	76.1 $\pm$ 85.1	86.7 $\pm$ 68.2
L1-G:L1	30.3 $\pm$ 21.5	29.1 $\pm$ 18.9	21.8 $\pm$ 17.6
L1:UIE	nd	11.7 $\pm$ 12.3	5.2 $\pm$ 4.9

Data are presented as mean $\pm$ SD.

** $p<0.001$ * $p<0.05$ comparing with normal, ^{##} $p<0.001$ [#] $p<0.05$ comparing with mild-moderate

6. สรุปผลการศึกษา

1. ค่าเภสัชจลนศาสตร์ของยา deferiprone (L1) มีความแตกต่างกันระหว่างผู้ป่วยและอาสาสมัครปกติ ค่าที่เปลี่ยนแปลงที่สำคัญได้แก่ ค่า Cmax, AUC, terminal $t_{1/2}$ และค่า Vd ของ non-glucuronide L1 และค่า Cmax และ AUC ของ glucuronide deferiprone (L1-G) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค และภาวะเหล็กเกินในผู้ป่วย

2. การเปลี่ยนแปลงค่าเภสัชจลนศาสตร์เหล่านี้อาจสืบเนื่องมาจาก โมเลกุลของยา L1 นั้นสามารถเข้าในเซลล์ได้ ถ้าเซลล์มีเหล็กอยู่มาก L1 จะสร้าง complexes กับเหล็ก และเนื่องจากโมเลกุลของ L1-iron complexes นั้นมีขนาดใหญ่กว่า L1 การออกจากเซลล์ของ L1-iron complexes จึงช้ากว่าซึ่งจะสะท้อนให้เห็นจากค่า Cmax และ AUC นั้นลดลง ส่วน terminal $t_{1/2}$ และค่า Vd ของ non-glucuronide L1 นั้นเพิ่มขึ้น

3. เนื่องจาก L1-iron complexes ไม่สามารถถูกเปลี่ยนเป็นรูป glucuronide ได้ อัตราส่วนของการขับออกของยาทางปัสสาวะในรูป glucuronide จะลดลงในผู้ป่วย แต่อย่างไรก็ตามการขับออกของยาทางปัสสาวะส่วนใหญ่ (>80%) ยังต้องผ่าน glucuronidation pathway เป็นหลัก

4. จากการศึกษาพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่า Tmax ทั้งของ non-glucuronide และ glucuronide แสดงให้เห็นว่าไม่มีผลจาก GI absorption ในผู้ป่วย และในผู้ป่วยไม่มีการเปลี่ยนแปลงอัตราของกระบวนการ glucuronidation และนอกจากนี้เมื่อยาอยู่ในรูปของ glucuronide แล้ว การขับออกของยาที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงจากคนปกติโดยเห็นว่า ค่า elimination $t_{1/2}$ ของ L1-G นั้นไม่เปลี่ยนแปลง

5. ปริมาณการจับและขับเหล็กออกทางปัสสาวะนั้นขึ้นอยู่กับภาวะเหล็กเกินในผู้ป่วย ไม่มีการจับและขับเหล็กออกในคนปกติ ปริมาณเหล็กที่ขับออกมีความสัมพันธ์โดยตรงกับค่าเหล็กต่างๆ ได้แก่ NTBI, serum iron และ ferritin อย่างมีนัยสำคัญ

6. ในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงและมีภาวะเหล็กเกินสูง อาจมีโอกาสดังเกิด incomplete L1-iron complexes ได้ทั้งในซีรัมและในปัสสาวะ ซึ่งถ้า L1 จับกับเหล็กในอัตราส่วนที่น้อยกว่า 3:1 แล้ว complexes นี้สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระและอาจนำมาสู่ความเป็นพิษของยาได้

7. การใช้ยาได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยความจำเป็นถึงภาวะเหล็กเกินในผู้ป่วย และการใช้ยาควรปรับขนาดของยาตามภาวะเหล็กที่เปลี่ยนแปลงไปในผู้ป่วย นอกจากนี้การให้ยาร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระอาจช่วยป้องกันความเป็นพิษของยาที่เกิดจาก incomplete L1-iron complexes ได้

7. เอกสารอ้างอิง

1. Motekitis RJ, Martell AE. Stabilization of the iron (III) chelates of 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-ones and related ligands. *Inorg Chim Acta* 1991; 183: 71-80.
2. Kontoghiorghes GJ, Neocleous K, Kolnagou A. Benefits and risks of deferiprone in iron overload in thalassemia and other conditions: comparison of epidemiological and therapeutic aspects with deferoxamine. *Drug Saf* 2003; 26: 553-84.
3. Zevin S, Link G, Grady RW, et al. Origin and fate of iron mobilized by the 3-hydroxypyridin-4-one oral chelators. *Blood* 1992; 79: 248-53.
4. Nielsen P, Furtjes M, Dresow B, et al. The iron-decorporating effect of L1 in normal and TMH-ferrocene iron-loaded rats and patient with post-transfusional siderosis as judged by ⁵⁹Fe-labelling technique. *Drug Today* 1992; 28 Suppl A:45-53.
5. Agarwal MB, Gupte SS, Viswanathan C, et al. Long-term assessment of efficacy and safety of L1, an oral iron chelator, in transfusion dependent thalassemia. *Indian J Haematol* 1992; 82:460-6.
6. Balfour JAB and Foster R. Deferiprone. *Drugs* 1999; 58: 553-78.
7. Al-Refaie FN, Sheppard LN, Nortey P, et al. Pharmacokinetics of the oral iron chelator deferiprone (L1) in patients with iron overload. *Br J Haematol* 1995; 89: 403-8.
8. Kontoghiorghes GJ, Goddard JG, Barlett AN, et al. Pharmacokinetic studies in humans with the oral iron chelator 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one. *Clin Pharmacol Ther* 1990; 48: 255-61.
9. Matsui D, Klein J, Hermann C, et al. Relationship between the pharmacokinetics and iron excretion pharmacodynamics of the new oral iron chelator 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one in patients with thalassemia. *Clin Pharmacol Ther* 1991; 50: 294-8.
10. Stobie S, Tyberg J, Matsui D, et al. Comparison of the pharmacokinetics of 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one (L1) in healthy volunteers, with and without co-administration of ferrous sulfate, to thalassemia patients. *In J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1993; 31: 602-5.
11. Fassos FF, Klein J, Fernandes D, et al. The pharmacokinetic and pharmacodynamics of the oral iron chelator deferiprone (L1) in relation to hemoglobin levels. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1994; 55: 70-5.
12. Pootrakul P, Sirankapracha P, Sankote J, et al. Clinical trial of deferiprone iron chelation therapy in β -thalassemia/haemoglobin E patients in Thailand. *Br J Haematol* 2003; 122: 305-310.

13. Winichagoon P, Fucharoen S, Chen P, Wasi P. Genetic factors affecting clinical severity in β -thalassemia syndromes. *J Pediatr Haematol/Oncol* 2000; 22: 573-580.

14. Jittangprasert, P. Development of analytical methods for the determination of non-transferrin bound iron and iron chelators 3-hydroxypyridine-4-one (deferiprone) for clinical application, Ph.D. Thesis. Mahidol University, 2005.

G
P
O

ภาคผนวก (Appendix) I

1.1 Intra-day precision and accuracy data of serum

Concentration (µg/mL)	Calculated concentration (µg/mL)		
	Day 1	Day 2	Day 3
2.5 (LLOQ)	3.07	2.82	2.65
	2.89	2.96	2.76
	2.87	2.90	2.74
	2.88	2.85	2.87
	2.87	2.77	2.74
	3.01	2.83	2.73
Mean	2.93	2.86	2.75
SD	0.09	0.07	0.07
CV (%)	2.93	2.37	2.59
Accuracy (%)	117.35	114.26	110.01
7.5 (QCL)	7.14	7.08	6.93
	7.03	7.21	7.14
	6.84	7.24	7.30
	8.06	6.84	7.50
	8.51	7.03	8.63
	7.09	7.11	7.39
Mean	7.44	7.08	7.48
SD	0.68	0.15	0.60
CV (%)	9.07	2.05	7.98
Accuracy (%)	99.26	94.46	99.77
20 (QCM)	19.43	18.61	19.38
	21.12	19.34	19.89
	19.70	18.95	19.27
	19.57	19.07	19.73
	19.10	18.85	19.76
	18.45	18.52	19.66
Mean	19.56	18.89	19.61
SD	0.89	0.30	0.24
CV (%)	4.53	1.60	1.23
Accuracy (%)	97.80	94.45	98.07
40 (QCH)	38.63	38.64	39.00
	39.84	41.94	35.82
	41.25	38.41	39.98
	42.78	37.72	39.58
	40.35	38.39	40.17
	39.11	37.37	39.51
Mean	40.33	38.75	39.01
SD	1.52	1.64	1.62
CV (%)	3.76	4.23	4.14
Accuracy (%)	100.81	96.86	97.52

1. 2 Intra-day precision and accuracy data of urine

Concentration (µg/ml)	Calculated concentration (µg/ml)		
	Day 1	Day 2	Day 3
5 (LLOQ)	5.00	4.40	4.62
	4.00	4.73	3.89
	6.34	3.62	5.42
	5.95	4.12	4.16
	6.54	3.61	3.85
	5.28	4.28	5.14
Mean	5.52	4.13	4.51
SD	0.95	0.44	0.66
CV (%)	17.22	10.78	14.64
Accuracy (%)	110.37	82.50	90.30
15 (QCL)	16.59	14.59	14.44
	15.83	17.63	16.07
	14.04	17.05	17.09
	15.68	14.14	13.23
	15.27	15.75	16.62
	12.60	17.84	17.03
Mean	15.00	16.17	15.75
SD	1.44	1.58	1.57
CV (%)	9.63	9.78	9.98
Accuracy (%)	100.01	107.77	104.97
80 (QCM)	85.62	83.00	81.54
	79.08	84.88	77.93
	71.41	81.42	80.64
	82.88	83.33	84.97
	86.34	81.22	83.37
	75.15	78.04	73.30
Mean	80.08	81.98	80.29
SD	5.97	2.35	4.18
CV (%)	7.46	2.87	5.21
Accuracy (%)	100.10	102.48	100.36
160 (QCH)	160.22	166.54	166.88
	156.59	163.74	153.74
	141.69	157.63	154.91
	165.39	168.81	164.31
	152.54	161.67	156.62
	145.57	151.93	153.49
Mean	153.67	161.72	158.33
SD	8.94	6.17	5.79
CV (%)	5.81	3.81	3.66
Accuracy (%)	96.04	101.08	98.95

1.3 Inter-day precision and accuracy data of serum

Day	Calculated concentration (µg/mL)			
	2.5 (LLOQ)	7.5	20	40
1	3.07	7.14	19.43	38.63
	2.89	7.03	21.12	39.84
	2.87	6.84	19.70	41.25
	2.88	8.06	19.57	42.78
	2.87	8.51	19.10	40.35
	3.01	7.09	18.45	39.11
2	2.82	7.08	18.61	38.64
	2.96	7.21	19.34	41.94
	2.90	7.24	18.95	38.41
	2.85	6.84	19.07	37.72
	2.77	7.03	18.85	38.39
	2.83	7.11	18.52	37.37
3	2.65	6.93	19.38	39.00
	2.76	7.14	19.89	35.82
	2.74	7.30	19.27	39.98
	2.87	7.50	19.73	39.58
	2.74	8.63	19.76	40.17
	2.73	7.39	19.66	39.51
Mean	2.85	7.34	19.36	39.36
SD	0.10	0.53	0.62	1.65
CV (%)	3.68	7.20	3.23	4.20
Accuracy (%)	113.87	97.83	96.78	98.40

1.4 Inter-day precision and accuracy data of urine

Day	Calculated concentration (µg/ml)			
	5 (LLOQ)	15	80	160
1	5.00	16.59	85.62	160.22
	4.00	15.83	79.08	156.59
	6.34	14.04	71.41	141.69
	5.95	15.68	82.88	165.39
	6.54	15.27	86.34	152.54
	5.28	12.60	75.15	145.57
2	4.40	14.59	83.00	166.54
	4.73	17.63	84.88	163.74
	3.62	17.05	81.42	157.63
	4.12	14.14	83.33	168.81
	3.61	15.75	81.22	161.67
	4.28	17.84	78.04	151.93
3	4.62	14.44	81.54	166.88
	3.89	16.07	77.93	153.74
	5.42	17.09	80.64	154.91
	4.16	13.23	84.97	164.31
	3.85	16.62	83.37	156.62
	5.14	17.03	73.30	153.49
Mean	4.72	15.64	80.78	157.91
SD	0.90	1.52	4.25	7.49
CV (%)	19.15	9.74	5.26	4.74
Accuracy (%)	94.39	104.25	100.98	98.69

1.5 Recovery of extraction from urine

	Recovery (%)			
Day	5 (LLOQ)	15	80	160
1	100.0	110.6	107.0	100.1
	80.1	105.6	98.8	97.9
	126.9	93.6	89.3	88.6
	118.9	104.5	103.6	103.4
	130.7	101.8	107.9	95.3
	105.6	83.9	93.9	90.9
2	88.0	97.3	103.8	104.1
	94.6	117.5	106.1	102.3
	72.4	113.7	101.8	98.5
	82.3	94.2	104.2	105.5
	72.1	104.9	101.5	101.0
	85.6	118.9	97.5	94.9
3	92.4	96.3	101.9	104.3
	77.8	107.1	97.4	96.1
	108.4	113.9	100.8	96.8
	83.2	88.2	106.2	102.7
	77.1	110.8	104.2	97.9
	102.9	113.52	91.6	95.9
Mean	94.4	104.2	100.9	98.7
SD	18.1	10.2	5.3	4.7

1.6 Stability of deferiprone in urine during storage and handling

	Stability (%)	
Stability	15 (µg/mL)	160 (µg/mL)
Short term	103.0	103.8
	98.3	106.0
	109.3	100.2
Mean	103.5	103.3
SD	5.53	2.95
Freeze and thaw	96.2	100.1
	107.4	99.1
	101.8	104.7
Mean	101.80	101.30
SD	5.60	2.99
Long term (30 day)	98.3	102.6
	101.8	99.8
	100.2	100.6
Mean	100.1	101.0
SD	1.74	1.40
Auto-Sampler (24 hr)	102.5	102.3
	106.4	104.4
	95.9	103.4
	107.7	103.2
	98.8	101.1
	91.2	104.5
Mean	100.4	103.1
SD	6.36	1.31

ภาคผนวก (Appendix) II

2.1 Characteristics of normal subjects

Subject. No	Sex	Age (years)	Weight (kg)	Hb (g/L)	Serum iron ($\mu\text{mol/L}$)	%Tf	Ferritin (ng/mL)
N1	F	23	46	13.3	18.14	38.47	39.50
N2	F	25	45	12.8	17.24	35.23	<5.0
N3	M	24	53	15.0	18.11	25.40	125.81
N4	F	25	56.5	13.1	15.53	24.74	<5.0
N5	M	24	57	14.2	24.18	33.35	170.66
N6	M	25	58	14.8	21.44	31.09	<5.00
N7	M	23	65	15.8	25.84	38.44	227.82
N8	F	24	54	12.3	23.44	35.60	<5.00
N9	F	24	48	11.6	25.64	34.92	62.18
N10	M	24	75	15.8	28.96	39.76	158.46
N11	M	30	58	13.3	24.52	35.35	<5.00
N12	M	37	62	14.3	25.25	38.54	273.84
N13	F	27	47	13.1	23.12	35.13	28.62
N14	F	25	56	13.2	14.97	19.72	58.48
N15	M	26	60	13.7	19.18	25.65	198.76
N16	F	26	48	13.2	23.01	39.95	<5.00
N17	F	25	56	13.4	27.22	42.58	23.58
N18	M	24	69.5	14.2	22.60	28.97	177.37
N19	M	25	53	15.3	-	-	-
N20	M	25	45	14.6	-	-	-

2.2 Characteristics of thalassemic patients

Subject. No	Sex	Age (years)	Weight (kg)	Hb (g/L)	severity	Serum iron ($\mu\text{mol/L}$)	%Tf	Ferritin (ng/mL)
P1	F	21	34	7.5	severe	29.91	60.2	4570.95
P2	M	19	40	9	severe	32.56	61.57	3967.23
P3	F	22	59	6.3	severe	25.79	56.89	1100.43
P4	F	39	54	6.7	moderate	33.90	45.1	4043.38
P5	M	27	44	6.8	severe	27.30	55.34	2809.57
P6	M	21	46	6.6	severe	35.97	67.02	2921.80
P7	M	25	52	7.4	moderate	23.26	43.91	3099.62
P8	M	33	56	6.2	moderate	39.54	65.92	2978.47
P9	F	42	37	6.9	severe	27.01	70.58	2615.89
P10	F	41	42	7.6	severe	28.30	53.15	1129.04
P11	F	17	37.5	6.0	severe	31.91	67.1	3289.91
P12	M	22	34.5	6	severe	25.60	44.83	1777.07
P13	F	38	57	7.2	mild	25.96	49.43	3961.66
P14	F	25	55	8.2	mild	17.84	29.87	258.59
P15	F	31	46	7.2	moderate	28.55	45.57	3898.24
P16	F	33	42	6.9	severe	34.31	48.16	900.16
P17	F	36	49	8.7	mild	15.44	31.2	167.09
P18	F	43	41	5.3	severe	24.47	45.81	278.28
P19	M	18	52.5	8.3	mild	22.10	34.68	3255.98
P20	M	20	47.5	6.1	severe	32.02	50.44	3352.52
P21	F	43	45	7.0	severe	38.99	53.55	3868.82
P22	F	46	60	8.4	mild	28.75	61.73	1952.05
P23	F	49	36	6.4	moderate	26.31	55.39	3944.98
P24	M	34	52	7.1	severe	39.82	95.81	2693.54
P25	M	23	47	6.3	moderate	22.07	36.5	785.77

2.3 Biochemical profile of normal subjects

No.	ALP (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	GLU (mmol/L)	UREA (mmol/L)	CRE (μmol/L)	TRIG (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	TBIL (μmol/L)	DBIL (μmol/L)
N1	50	19	21	22	78.3	52.0	5.1	3.4	63	0.59	5.99	14.2	4.1
N2	57	18	25	13	72.5	44.2	4.9	2.3	35	0.33	5.91	19.5	4.0
N3	92	16	38	31	80.8	52.2	5.3	4.1	77	1.03	3.68	18.9	4.4
N4	67	13	24	17	70.1	41.3	4.2	4.6	58	0.41	5.45	7.4	2.6
N5	91	30	81	72	89.0	51.9	4.3	3.4	92	1.29	5.09	18.2	4.3
N6	96	13	28	16	79.8	48.2	4.8	3.4	86	0.44	4.21	12.6	2.8
N7	66	23	56	58	81.6	52.3	4.8	5.8	107	1.42	6.11	11.1	3.2
N8	49	24	39	20	72.2	43.4	4.3	4.1	61	1.09	3.98	13.6	5.6
N9	59	17	29	33	72.1	46.0	4.7	2.0	51	0.72	5.67	18.3	4.9
N10	87	16	35	34	77.9	50.7	4.9	4.3	97	0.57	4.21	14.0	4.6
N11	60	15	26	15	70.6	41.7	4.8	5.2	98	1.49	5.40	12.9	3.8
N12	57	21	38	33	72.5	43.6	4.9	6.8	63	1.07	4.92	16.9	4.6
N13	45	20	38	33	68.9	41.2	4.2	4.5	59	0.44	4.26	14.7	4.3
N14	61	15	37	27	83.8	45.3	3.4	4.1	46	0.42	6.85	12.8	4.3
N15	65	19	44	37	75.5	44.9	3.5	6.2	101	0.55	4.21	14.7	4.0
N16	76	17	28	25	69.9	47.0	4.9	4.5	58	0.75	5.31	7.2	1.9
N17	54	25	37	24	84.5	48.4	4.5	4.0	65	0.77	5.11	13.7	4.1
N18	80	23	32	40	84.7	53.7	4.6	2.7	85	1.13	6.03	20.3	5.1
N19	96	16	32	27	77.4	50.9	4.5	4.1	79	0.98	4.64	18.2	4.7
N20	57	21	33	28	82.7	51.3	4.4	5.1	63	0.67	5.17	14.4	3.8

2.4 Biochemical profile of thalassemic patients

No.	ALP (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	GLU (mmol/L)	UREA (mmol/L)	CRE (μmol/L)	TRIG (mmol/L)	CHOL (mmol/L)	TBIL (μmol/L)	DBIL (μmol/L)
P1	211	113	112	136	92.6	37.4	6.1	3.2	14	1.76	3.35	31.9	8.8
P2	209	55	75	104	78.6	43.7	4.5	3.9	20	1.28	2.28	56.3	7.3
P3	86	35	46	50	85.4	46.1	4.6	3.5	28	1.90	2.08	45.6	8.0
P4	93	51	77	83	91.1	46.3	5.0	4.4	34	0.92	1.97	63.8	7.9
P5	103	30	25	25	87.2	42.9	3.8	7.1	39	0.85	1.33	74.5	8.0
P6	143	42	23	68	83.4	45.3	3.8	3.0	29	1.16	2.48	92.0	13.1
P7	61	50	47	34	78.5	42.9	4.2	2.9	44	1.29	1.32	98.4	6.7
P8	59	48	55	29	84.6	40.7	4.2	6.7	38	1.37	3.22	56.8	6.2
P9	136	38	44	56	85.7	40.5	8.9	2.5	36	1.21	2.39	64.0	7.6
P10	75	26	29	27	78.4	42.4	6.3	3.3	38	0.99	3.33	46.6	7.3
P11	235	39	50	19	83.5	41.6	6.4	3.1	32	1.84	2.39	63.0	8.4
P12	175	48	50	40	78.2	39.1	4.9	3.1	21	1.13	1.56	135.2	20.2
P13	50	57	75	33	75.2	39.8	4.3	5.9	35	1.38	2.68	62.5	11.0
P14	45	21	25	16	83.0	45.0	4.3	3.4	28	0.84	2.04	67.7	6.9
P15	109	104	106	83	79.0	44.1	5.2	2.5	30	1.60	2.62	57.3	12.4
P16	209	66	60	61	87.1	39.3	7.7	4.6	56	0.96	2.26	47.6	12.3
P17	59	54	43	25	86.4	51.1	4.4	2.1	40	1.64	3.27	61.5	6.5
P18	96	35	28	19	90.4	45.9	6.3	4.5	59	1.32	2.38	38.8	7.3
P19	64	69	63	27	76.7	45.2	4.0	4.3	44	1.50	1.88	94.3	8.4
P20	156	43	57	49	85.5	44.2	4.5	2.6	45	1.51	2.39	60.1	5.5
P21	82	55	64	44	78.1	39.2	4.9	4.0	35	1.80	2.86	93.2	4.5
P22	59	33	37	15	82.1	45.5	4.6	4.6	34	0.96	3.65	27.5	4.3
P23	111	54	90	75	87.0	46.4	4.6	4.3	64	1.05	4.03	28.0	4.7
P24	132	68	78	55	80.7	40.0	3.1	3.2	26	1.58	2.48	51.2	5.9
P25	116	28	27	15	73.3	44.4	3.7	3.6	20	1.39	1.10	108.6	5.3

2.5 Serum concentration of non-glucuronide deferiprone in normal subjects

	Non-glucuronide deferiprone (µg/mL)										
Time (min)	0	15	30	45	60	90	120	180	240	300	360
N1	0.00	0.98	2.80	3.38	12.46	12.66	10.79	6.55	4.49	2.84	2.00
N2	0.00	38.62	24.14	20.08	19.10	14.72	10.89	7.25	5.18	3.28	2.44
N3	0.00	11.56	15.31	12.32	12.31	11.25	7.93	5.34	4.23	2.47	1.86
N4	0.00	2.30	22.22	28.45	26.54	20.98	18.51	12.63	7.33	5.58	4.45
N5	0.00	2.91	9.97	14.79	16.23	10.04	11.04	7.80	4.75	4.73	2.66
N6	0.00	12.91	20.63	15.39	12.93	10.40	5.43	4.36	2.77	1.99	1.71
N7	0.00	7.13	15.56	20.50	20.00	15.97	10.73	7.03	3.82	3.04	2.10
N8	0.00	5.23	6.72	29.19	27.36	19.89	14.70	9.88	6.75	4.75	3.36
N9	0.00	7.97	15.11	17.12	15.81	13.69	10.50	5.97	4.29	2.90	2.09
N10	0.00	3.05	11.13	14.06	16.57	18.49	13.73	8.68	6.70	4.68	3.98
N11	0.00	34.13	17.29	18.07	14.75	11.91	10.67	7.40	5.96	2.84	2.76
N12	0.00	9.04	14.86	13.44	9.33	9.10	7.31	5.24	3.71	2.16	2.10
N13	0.00	6.51	7.71	11.16	19.00	16.05	12.57	8.61	6.02	4.52	3.35
N14	0.00	21.02	37.96	35.33	27.72	19.28	16.04	9.81	6.51	4.15	3.27
N15	0.00	5.10	31.06	19.75	18.40	13.34	10.80	6.94	5.38	3.63	2.82
N16	0.00	18.17	21.35	19.86	20.33	17.62	14.89	9.48	6.75	5.14	3.63
N17	0.00	12.70	26.40	24.91	22.65	19.67	15.74	12.72	7.56	5.49	3.77
N18	0.00	10.56	21.68	22.58	22.68	16.32	14.10	9.34	7.70	5.38	3.72
N19	0.00	0.70	4.12	6.91	6.44	6.45	17.61	12.17	8.77	6.54	4.88
N20	0.00	6.32	16.74	15.91	19.33	12.51	10.35	5.37	3.76	3.01	1.99

2.6 Serum concentration of glucuronide deferiprone in normal subjects

	Glucuronide deferiprone ($\mu\text{g/mL}$)										
Time (min)	0	15	30	45	60	90	120	180	240	300	360
N1	0.00	0.12	0.58	1.01	2.69	7.15	8.36	10.21	7.34	4.25	2.74
N2	0.00	9.49	6.92	8.58	11.16	12.18	11.58	9.21	6.61	4.04	2.69
N3	0.00	1.45	3.88	4.46	7.02	10.71	12.13	9.61	5.65	4.20	2.49
N4	0.00	0.34	2.65	6.92	10.58	11.93	12.30	12.66	10.65	7.51	5.99
N5	0.00	1.33	1.74	7.02	12.23	15.32	10.89	9.90	9.89	6.11	4.71
N6	0.00	4.31	12.53	17.23	14.67	14.34	19.26	16.59	13.77	9.93	7.38
N7	0.00	1.02	4.81	7.33	9.62	11.97	13.52	11.22	9.30	7.71	5.67
N8	0.00	0.13	1.63	7.14	11.11	13.01	15.32	12.28	9.32	7.23	5.01
N9	0.00	1.61	5.33	13.26	12.35	13.28	12.40	8.49	4.80	3.26	1.90
N10	0.00	0.87	3.31	8.14	10.53	13.79	16.69	14.90	10.11	8.26	5.84
N11	0.00	12.33	14.18	12.28	19.00	18.03	20.23	19.50	15.41	11.11	8.29
N12	0.00	4.70	16.61	17.47	23.80	21.55	21.11	15.23	11.32	8.55	5.85
N13	0.00	2.68	3.92	6.21	10.82	13.18	16.60	14.03	9.89	7.23	5.17
N14	0.00	7.05	21.74	20.49	24.76	29.82	26.70	20.72	15.19	11.35	7.38
N15	0.00	1.87	24.32	14.74	22.23	26.20	24.98	21.85	16.68	10.80	8.53
N16	0.00	2.46	3.45	3.26	5.17	8.65	8.40	8.75	8.11	5.98	5.81
N17	0.00	1.94	5.32	7.94	10.57	11.00	11.45	9.48	7.60	5.92	3.93
N18	0.00	0.34	8.37	5.81	13.90	10.90	16.20	11.66	8.98	6.12	4.80
N19	0.00	0.07	0.60	1.76	2.31	10.69	9.07	16.27	13.82	11.43	9.48
N20	0.00	1.71	3.46	7.07	12.86	13.30	15.36	9.61	7.22	4.73	3.15

2.7 Serum concentration of non-transferrin bound iron in normal subjects

	Glucuronide deferiprone ($\mu\text{mol/mL}$)										
Time (min)	0	15	30	45	60	90	120	180	240	300	360
N1	0.866	0.898	0.898	0.936	1.736	1.736	1.263	1.125	0.828	0.891	0.740
N2	0.000	13.866	12.501	4.706	1.101	1.076	0.808	4.597	4.738	0.240	0.000
N3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N5	0.333	0.175	0.431	0.693	0.992	0.577	0.724	0.968	0.663	0.474	0.175
N6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N7	5.974	9.037	10.391	12.872	26.448	15.359	13.927	6.551	22.479	4.148	0.696
N8	0.000	0.000	0.238	3.864	3.315	1.909	0.818	0.414	0.000	0.000	0.067
N9	0.000	0.000	2.917	4.111	1.891	0.555	0.000	0.000	1.329	0.000	0.000
N10	3.858	0.000	0.081	3.804	1.516	6.139	9.861	5.212	0.000	7.357	0.054
N11	0.000	3.660	0.555	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N12	0.000	0.923	1.755	1.471	1.884	1.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N13	3.304	0.144	6.670	4.798	9.341	2.084	4.017	2.553	1.462	2.657	3.590
N14	0.000	1.135	4.284	2.338	2.594	2.220	1.871	1.690	1.322	1.690	0.985
N15	0.000	0.232	3.550	2.255	1.484	1.015	0.775	0.602	0.466	0.127	0.109
N16	0.000	0.992	2.329	1.491	0.891	0.841	0.450	0.000	0.000	0.000	0.000
N17	0.000	0.000	1.856	1.175	0.999	0.809	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N18	0.006	5.105	1.723	3.478	1.271	0.613	0.071	0.394	0.000	0.000	2.588
N19	0.700	0.633	1.863	0.000	0.432	0.539	1.061	0.406	0.473	1.302	0.954
N20	0.000	0.000	0.412	0.225	1.108	0.205	0.085	0.000	0.000	0.981	0.000

2.8 Serum concentration of non-glucuronide deferiprone in thalassemic patients

	Non-glucuronide deferiprone (µg/mL)										
Time (min)	0	15	30	45	60	90	120	180	240	300	360
P1	0.00	4.39	11.80	10.44	9.95	8.11	5.75	3.80	2.20	1.71	1.31
P2	0.00	5.39	8.68	6.48	6.08	5.65	4.25	3.23	1.96	1.47	1.17
P3	0.00	24.20	13.50	8.60	6.66	5.04	4.15	2.73	2.72	1.69	1.60
P4	0.00	1.46	8.27	12.59	10.73	8.23	6.15	4.08	1.76	1.77	1.62
P5	0.00	1.84	3.07	5.14	5.97	4.56	3.81	2.77	2.22	1.86	1.67
P6	0.00	8.38	6.79	4.67	4.05	3.79	2.95	2.09	1.87	1.63	1.54
P7	0.00	14.04	11.69	9.87	7.90	6.62	5.60	4.35	3.65	2.79	2.29
P8	0.00	2.52	12.31	9.23	7.67	7.24	7.01	6.21	4.41	3.93	3.02
P9	0.00	4.51	10.14	9.19	7.31	6.25	6.70	5.51	4.08	3.03	3.12
P10	0.00	12.66	10.90	9.93	7.63	6.03	5.26	3.73	2.58	2.10	1.98
P11	0.00	0.32	3.95	6.15	5.12	6.11	5.53	4.26	2.54	2.39	1.29
P12	0.00	0.31	5.59	9.36	8.27	7.94	7.92	7.39	4.40	3.72	2.23
P13	0.00	2.77	5.83	7.16	7.20	8.77	6.68	4.46	3.55	3.39	2.61
P14	0.00	0.19	1.50	4.75	4.47	5.76	11.44	6.39	4.26	2.65	1.79
P15	0.00	2.08	6.74	7.54	7.30	6.58	5.69	4.05	3.56	2.35	2.37
P16	0.00	12.23	11.09	10.35	9.36	7.51	6.49	4.47	3.74	2.60	1.94
P17	0.00	8.63	36.15	24.30	18.31	12.94	9.36	6.26	3.75	2.62	1.62
P18	0.00	14.35	8.59	7.89	6.49	4.73	3.64	2.12	1.27	1.28	0.66
P19	0.00	4.14	10.80	8.28	8.85	7.11	5.37	3.78	2.26	1.49	1.06
P20	0.00	1.31	1.97	3.70	6.79	5.60	5.22	4.28	4.19	1.96	1.10
P21	0.00	5.54	6.22	6.71	6.38	7.23	5.26	2.58	1.66	1.30	1.20
P22	0.00	3.97	21.37	15.11	11.21	7.88	5.87	3.38	2.07	1.68	1.33
P23	0.00	3.70	6.69	8.73	8.32	6.90	5.38	3.43	2.53	1.94	1.53
P24	0.00	0.87	1.45	3.15	3.66	6.66	5.43	4.29	3.04	1.79	1.43
P25	0.00	1.03	4.14	7.09	8.21	6.17	4.92	3.13	2.03	1.44	1.10

2.9 Serum concentration of glucuronide deferiprone in thalassemic patients

	Glucuronide deferiprone ($\mu\text{g/mL}$)										
Time (min)	0	15	30	45	60	90	120	180	240	300	360
P1	0.00	1.07	3.00	5.93	7.66	7.44	6.86	4.96	3.04	2.01	1.34
P2	0.00	0.86	4.30	6.20	6.47	6.84	6.17	4.03	2.74	1.70	1.29
P3	0.00	0.00	0.55	3.76	4.48	4.90	5.22	4.23	2.36	1.03	0.73
P4	0.00	0.00	0.00	0.00	1.25	3.15	4.12	4.15	2.82	2.00	1.23
P5	0.00	0.16	0.96	3.26	5.63	8.54	9.24	7.91	4.21	2.65	1.65
P6	0.00	0.00	3.36	5.83	5.41	6.11	5.92	5.05	2.39	1.40	1.03
P7	0.00	0.64	0.13	1.77	3.45	3.89	4.36	3.72	2.55	2.09	1.65
P8	0.00	0.00	0.00	2.40	5.28	7.12	7.53	6.48	4.26	2.56	1.93
P9	0.00	0.00	0.00	0.90	3.76	5.20	5.60	5.77	4.02	2.95	1.22
P10	0.00	0.00	2.89	3.89	6.36	6.79	8.61	6.48	3.88	1.65	1.42
P11	0.00	0.94	0.00	0.22	2.66	3.66	4.38	8.13	5.19	3.56	2.74
P12	0.00	0.00	0.33	1.75	2.73	5.96	6.90	7.30	5.45	4.00	3.25
P13	0.00	0.00	2.51	4.23	6.78	7.80	10.72	10.13	6.18	3.40	1.76
P14	0.00	1.63	0.83	1.24	1.99	4.27	7.63	9.21	7.92	6.02	4.35
P15	0.00	0.22	0.46	0.93	0.00	2.26	2.80	2.79	1.85	1.40	0.48
P16	0.00	0.18	3.70	5.66	9.62	12.61	13.81	12.74	8.39	5.75	3.65
P17	0.00	0.00	2.72	7.16	12.52	14.61	14.49	11.65	7.39	4.74	2.99
P18	0.00	1.56	5.65	6.09	8.07	9.99	9.67	8.34	6.20	4.20	3.12
P19	0.00	0.82	3.22	7.20	8.14	11.61	12.75	11.32	7.66	5.14	3.61
P20	0.00	0.00	0.51	0.47	2.20	4.66	5.10	4.29	1.08	1.34	1.61
P21	0.00	0.00	2.86	4.41	5.78	7.44	8.56	7.75	5.96	4.50	3.64
P22	0.00	0.86	2.14	6.02	8.54	11.07	10.26	8.87	6.22	4.20	2.99
P23	0.00	0.96	2.87	7.32	10.48	13.31	16.25	15.20	11.83	9.06	6.55
P24	0.00	0.00	4.15	0.27	1.42	5.28	6.17	6.13	5.57	3.92	2.57
P25	0.00	0.00	0.00	1.18	2.84	5.38	6.86	6.81	4.83	3.47	2.20

2.10 Serum concentration of non-transferrin bound iron in thalassemic patients

	Glucuronide deferiprone ($\mu\text{mol/mL}$)										
Time (min)	0	15	30	45	60	90	120	180	240	300	360
P1	4.0149	5.3958	15.2140	17.6983	17.3283	15.6303	12.7694	8.5144	6.7239	5.3496	3.2485
P2	3.5931	6.1821	7.9396	10.6815	10.5491	10.8599	11.3290	8.7919	6.0301	5.4751	4.6492
P3	1.2994	7.8132	3.8654	5.0211	3.0688	4.6359	3.6369	3.6108	5.8634	3.0884	2.0959
P4	1.6258	1.0774	4.5184	8.4686	10.1010	11.2567	11.3416	8.5601	3.0035	3.4802	3.4867
P5	0.0000	0.0000	0.0000	1.0130	1.5170	2.2698	2.2442	2.6079	1.2810	0.2730	0.0000
P6	0.3496	2.6461	2.4548	2.6908	4.3111	3.6753	6.9330	5.1022	3.4244	3.0736	0.9867
P7	0.0000	3.1246	1.8296	1.8104	1.1279	0.8599	0.8854	0.1391	0.4772	0.4325	0.3049
P8	2.0592	2.4548	7.0479	7.2073	9.9058	11.2582	10.2120	14.7222	11.1179	10.4799	11.2901
P9	1.7084	7.9473	6.3717	10.4957	8.5087	9.1148	10.3523	10.4098	7.9027	5.2425	3.4180
P10	2.0918	7.0426	5.7371	7.4147	4.7911	5.2767	6.9354	6.8219	5.2704	5.4659	3.0315
P11	1.0007	0.7799	1.8332	2.5206	2.9243	3.5171	4.7469	6.8786	6.2984	6.8471	6.5948
P12	1.7007	1.6061	2.8927	4.4757	6.0461	9.6726	11.3628	13.4882	11.2493	10.0951	7.3832
P13	1.0511	2.3125	3.3405	5.0244	5.7686	6.9039	7.6607	8.4806	7.0526	5.6930	4.5703
P14	0.0249	0.0000	0.0499	0.4116	0.2494	0.5238	1.0975	0.8419	0.9603	0.9229	0.4178
P15	0.4677	2.3198	2.5942	2.1202	3.0494	4.2654	4.6583	4.4400	5.2444	2.9496	1.7710
P16	1.5777	4.9701	4.5148	5.2257	6.0551	7.7139	6.2983	6.3856	5.7246	4.2841	4.0035
P17	0.1996	0.4240	3.9785	2.7376	2.1078	2.1888	1.6650	1.0851	0.5862	0.7358	0.6049
P18	0.4688	3.6348	14.7159	2.4681	1.9761	2.5501	4.4989	2.9852	3.2438	1.2130	2.1843
P19	0.0841	0.4120	2.2284	2.3293	2.8780	2.5690	2.6888	2.6762	1.5220	0.8472	0.7652
P20	0.8788	1.2509	2.1653	2.3609	2.8654	4.1772	5.2305	4.7764	3.2690	2.0644	1.5347
P21	1.7617	2.8843	4.5178	5.9684	7.8352	9.2416	8.3839	5.3566	3.0420	3.1744	2.5564
P22	0.0473	0.1274	2.4954	1.2313	0.8551	1.2929	0.9291	1.0648	0.0000	0.1521	0.0000
P23	0.0000	0.1028	1.5149	2.2919	2.5818	2.5756	2.5078	2.3844	2.1686	1.3484	0.7811
P24	1.4316	2.0119	2.9201	5.0581	4.3265	7.7259	8.0664	7.9277	6.6663	4.4715	3.6390
P25	0.0000	0.0000	0.0617	0.2035	1.3135	1.1840	1.1963	0.3700	0.5858	0.0062	0.3885

2.11 Total 24 hr urinary excretion of deferiprone and iron

Normal Subject No.	Deferiprone (μmol)	Glucuronide Deferiprone (μmol)	Patients No.	Deferiprone (μmol)	Glucuronide Deferiprone (μmol)	Iron (μmol)
N1	104.40	7011.83	P1	524.806	2567.30	179.85
N2	453.38	4383.78	P2	168.076	1498.02	63.78
N3	444.46	6387.46	P3	173.376	5905.88	31.31
N4	360.91	9750.99	P4	752.051	7431.19	234.22
N5	263.91	5470.48	P5	167.399	4944.09	52.55
N6	122.39	5434.29	P6	374.866	6357.03	81.27
N7	0.00	9453.43	P7	251.572	7997.39	49.72
N8	82.06	7710.54	P8	641.687	5903.99	236.81
N9	836.32	5178.37	P9	370.673	2324.51	56.32
N10	508.58	9775.62	P10	635.109	4193.32	29.63
N11	236.77	5262.21	P11	228.742	3431.16	105.15
N12	395.99	8507.51	P12	684.666	6292.74	265.00
N13	156.20	4166.55	P13	296.571	4999.36	114.27
N14	173.86	6708.27	P14	125.568	6220.44	13.35
N15	305.54	7133.84	P15	279.684	3001.08	58.63
N16	440.76	5135.18	P16	134.605	3646.73	33.44
N17	400.17	7077.54	P17	215.513	6742.63	8.05
N18	258.66	10240.53	P18	75.951	4878.93	9.93
N19	383.11	9065.97	P19	398.610	10185.58	44.86
N20	158.84	7731.81	P20	372.949	7958.77	114.42
			P21	98.024	4840.01	71.51
			P22	269.896	9139.80	7.57
			P23	89.673	6508.59	61.31
			P24	628.285	7425.09	120.07
			P25	232.725	6587.99	8.10

2.12 Pharmacokinetic parameters of non-glucuronide (L1) and glucuronide (L1-G) in normal subjects

Subject No.	Dose (μg)	Pharmacokinetic parameter of L1							Pharmacokinetic parameter of L1-G			
		Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	Tmax (min)	Ke (min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)	AUC _{inf} (min. $\mu\text{g/mL}$)	Vdapp (mL/kg)	CLapp (mL/min)	Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	Tmax (min)	$t_{1/2}$ (min)	AUC _{inf} (min. $\mu\text{g/mL}$)
N1	1250000	12.66	90	0.00702	98.79	2430.79	1559.68	514.24	10.21	180	84.24	2399.92
N2	1250000	38.62	15	0.00630	109.95	4007.15	1099.78	311.94	12.20	90	99.33	3171.04
N3	1250000	15.31	30	0.00612	113.33	2642.80	1459.38	472.98	12.13	120	95.67	2758.08
N4	1500000	28.45	45	0.00620	111.81	5238.28	817.70	286.35	12.70	180	144.54	4575.60
N5	1500000	16.20	60	0.00557	124.33	3173.03	1487.97	472.73	15.30	90	112.19	3834.61
N6	1500000	20.60	30	0.00516	134.24	2510.34	1995.69	597.53	19.30	120	133.27	6196.36
N7	1750000	20.50	45	0.00684	101.28	3262.56	1206.00	536.39	13.50	120	168.07	4619.69
N8	1500000	29.19	45	0.00614	112.95	4422.51	1023.76	339.17	15.30	120	141.42	4366.64
N9	1250000	17.12	45	0.00591	117.21	3046.86	1445.60	410.26	13.30	90	85.28	2821.65
N10	2000000	18.49	90	0.00450	154.04	4176.64	1419.23	478.85	16.70	120	137.99	4920.95
N11	1500000	34.13	15	0.00590	117.39	3735.38	1172.81	401.57	20.20	120	134.01	7072.84
N12	1500000	14.86	30	0.00580	119.58	2463.75	1694.42	608.83	23.80	60	132.30	6112.54
N13	1250000	19.00	60	0.00520	133.23	3747.38	1364.40	333.57	16.60	120	125.72	4541.16
N14	1500000	37.96	30	0.00488	141.95	5373.97	1020.94	279.12	20.80	90	98.60	4958.48
N15	1500000	31.06	30	0.00426	162.62	3935.41	1490.67	381.15	17.80	90	131.55	5139.88
N16	1250000	21.35	30	0.00497	139.33	4711.58	1066.78	265.30	8.70	180	134.46	3365.17
N17	1500000	26.40	30	0.00458	151.39	5356.22	1092.47	280.05	11.45	120	133.81	3614.41
N18	1750000	22.68	60	0.00481	143.96	4848.11	1078.91	357.23	16.20	120	136.62	4293.24
N19	1500000	17.61	120	0.00537	129.04	4000.47	1317.29	374.96	16.27	180	183.05	5846.44
N20	1000000	19.33	60	0.00549	126.14	3016.59	1340.87	331.50	15.36	120	112.25	3508.11

2.13 Pharmacokinetic parameters of non-glucuronide (L1) and glucuronide (L1-G) in thalassemic patients

Subject No.	Dose (µg)	Pharmacokinetic parameter of L1							Pharmacokinetic parameter of L1-G			
		C _{max} (µg/mL)	T _{max} (min)	K _e (min ⁻¹)	t _{1/2} (min)	AUC _{inf} (min. µg/mL)	V _{dapp} (mL/kg)	CL _{app} (mL/min)	C _{max} (µg/mL)	T _{max} (min)	t _{1/2} (min)	AUC _{inf} (min. µg/mL)
P1	1000000	11.80	30	0.00400	161.0	2015.1	3391.8	496.3	7.70	60	93.4	1676.8
P2	1000000	8.70	30	0.00430	161.1	1583.0	3670.6	631.7	6.80	90	108.0	1548.5
P3	1500000	24.20	15	0.00440	156.5	2178.9	2634.6	688.4	5.20	120	78.8	1123.2
P4	1500000	12.60	45	0.00072	966.0	3906.7	9911.1	384.0	4.10	180	95.8	1051.8
P5	1000000	6.00	60	0.00230	291.4	1910.5	5002.3	523.4	9.20	120	90.0	2024.9
P6	1000000	8.40	15	0.00160	430.8	2155.3	6269.6	464.0	6.10	90	74.8	1379.0
P7	1500000	14.00	15	0.00380	179.4	2638.2	2831.2	568.6	4.40	120	138.1	1280.7
P8	1500000	12.30	30	0.00360	219.4	3018.1	2809.8	497.0	7.50	120	77.7	1751.9
P9	1000000	10.10	30	0.00220	309.7	3074.8	3927.9	325.2	5.80	180	83.4	1613.5
P10	1000000	12.70	15	0.00220	313.9	2719.8	3965.4	367.7	8.60	120	78.2	1760.4
P11	1000000	6.20	45	0.00560	122.4	1423.4	3308.2	702.6	8.10	180	142.6	2134.9
P12	1000000	9.40	45	0.00570	121.9	2340.7	2178.6	427.2	7.30	180	129.3	2229.4
P13	1500000	8.80	90	0.00260	268.9	2350.9	4343.1	638.0	10.70	120	71.1	2555.6
P14	1500000	11.40	120	0.00720	95.6	2031.9	1852.3	738.2	9.20	180	173.1	3255.5
P15	1000000	7.50	45	0.00340	203.6	1755.4	2959.8	463.5	2.80	120	75.2	722.7
P16	1000000	12.20	15	0.00540	127.0	2444.9	1784.5	409.0	13.80	120	75.1	3431.0

2.13 (cont) Pharmacokinetic parameters of non-glucuronide (L1) and glucuronide (L1-G) in thalassemic patients

Subject No.	Dose (µg)	Pharmacokinetic parameter of L1							Pharmacokinetic parameter of L1-G			
		C _{max} (µg/mL)	T _{max} (min)	K _e (min ⁻¹)	t _{1/2} (min)	AUC _{inf} (min. µg/mL)	V _{dapp} (mL/kg)	CL _{app} (mL/min)	C _{max} (µg/mL)	T _{max} (min)	t _{1/2} (min)	AUC _{inf} (min. µg/mL)
P17	1500000	36.20	30	0.00690	99.4	3367.8	1303.4	445.4	14.60	90	103.9	3552.3
P18	1000000	14.40	15	0.00540	128.4	1416.0	3192.4	706.2	10.00	90	112.7	2815.8
P19	1500000	10.80	30	0.00630	109.0	1704.8	2636.5	879.8	12.70	120	86.0	3225.5
P20	1000000	6.80	60	0.11100	62.1	1485.5	1270.6	673.1	5.10	120	71.4	1237.2
P21	1000000	7.20	90	0.00270	256.5	1765.7	4658.7	566.3	8.60	120	152.5	2816.2
P22	1500000	21.40	30	0.00370	186.3	2267.9	2964.0	661.4	11.10	90	113.1	2863.6
P23	1000000	8.70	45	0.00410	166.4	1892.0	3524.8	528.5	16.20	120	118.3	5038.1
P24	1500000	6.70	90	0.00630	108.5	1482.2	3048.9	1012.0	6.20	120	126.2	2070.9
P25	1000000	8.20	60	0.00570	119.9	1465.2	2512.6	682.5	6.90	120	109.0	1889.4

ภาคผนวก (Appendix) III

3.1 เอกสารรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

3.2 โครงร่างการศึกษา

3.3 เอกสารชี้แจงข้อมูล/คำแนะนำแก่ผู้เข้าร่วมวิจัย (Patient/Participate Information Sheet)

3.4 หนังสือยินยอมโดยได้รับการบอกกล่าวและเต็มใจ (Informed Consent Form)

3.5 แบบบันทึกข้อมูลอาสาสมัคร (Case Report Form)

3.6 Certificate of analysis