The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences

Manuscript 1551

การดูดซึมทางผิวหนัง

กาญจน์พิมล จงเสถียร

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/tjps

Part of the Pharmacology Commons

b 3017135

ปริทัศน์ 91

REVIEW ARTICLE

การดูดซึมทางผิวหนัง

*กาญจน์พิมล จงเสถียร**

การดูดซึมทางผิวหนัง คือ การที่สารหรือโมเลกุลแทรกซึมผ่านชั้นต่าง ๆ ของผิวหนัง ได้แก่ ชั้น stratum corneum และชั้น Viable epidermis หรือที่เรียกว่า stratum Malpighii อันประกอบด้วย stratum granulosum, stratum spinosum และ stratum germinativum โดยมี stratum lucidum อยู่ระหว่างชั้น stratum corneum กับ stratum granulosum แล้วผ่านชั้น papillary dermis ไปยังผนังเส้นโลหิตฝอยเข้าสู่กระแสโลหิตหรือระบบน้ำเหลือง

1. การขัดขวางการดูดซึมของผิวหนังชั้น epidermis

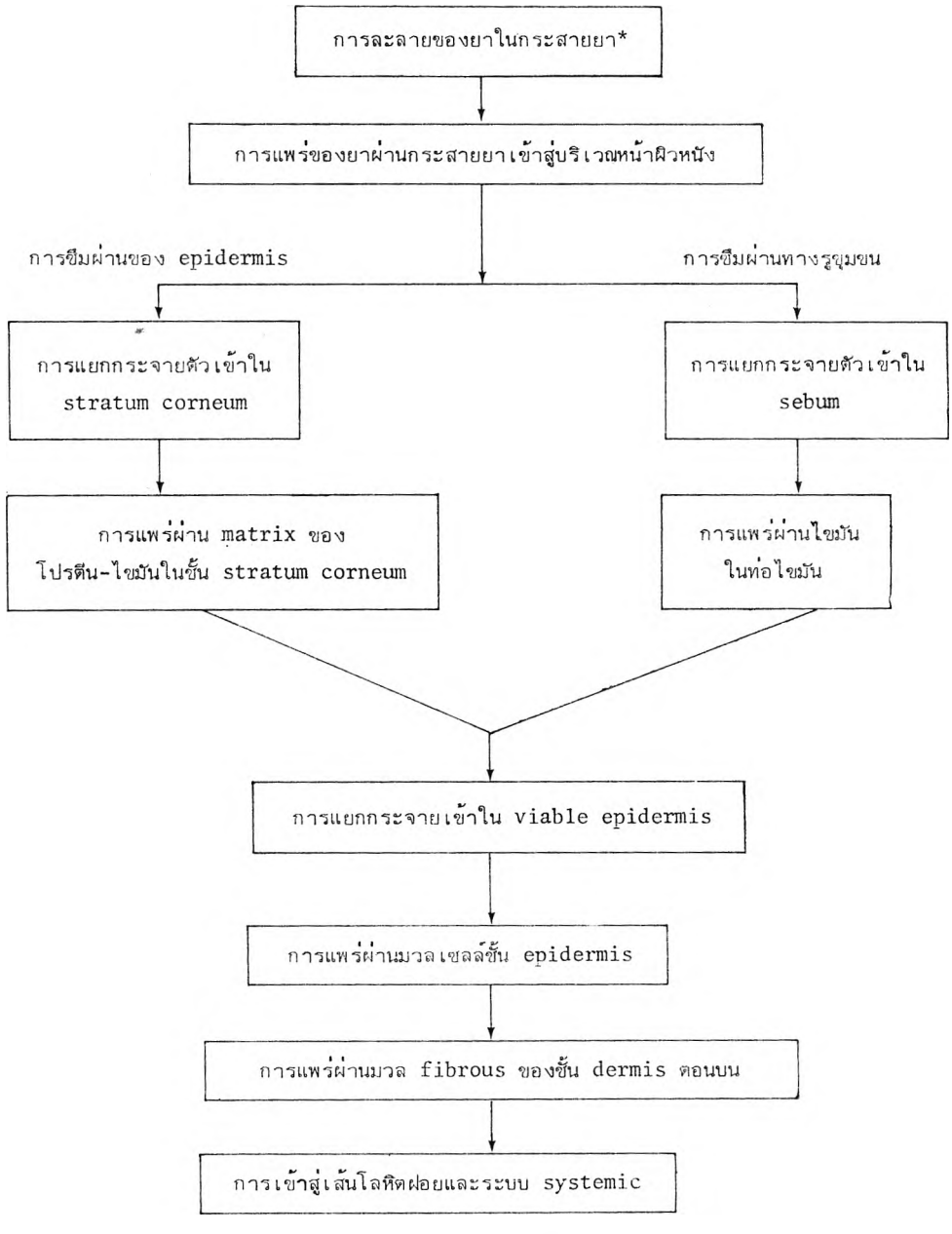
สิ่งสำคัญที่ขัดขวางการดูดซึมสารทางผิวหนังก็คือ เซลล์ที่ตายแล้วของชั้น stratum corneum ซึ่งจะขัดขวางการผ่านเข้าออกของสารเคมี Stoughton (1) รายงานว่าต้องใช้ความเข้มข้นของ naphazoline ถึง 10% กับผิวหนังปกติ จึงจะทำให้เกิดการตีบของเส้นโลหิต แต่ถ้าให้กับผิวหนังที่ใช้ cellophane tape ลอกเอาชั้น stratum corneum ออก จะใช้ความเข้มข้นเพียง 0.001 % เท่านั้น Malkinson (2) พบว่า ผิวหนังที่มีแผลเปิด จะยอมให้ hydrocortisone ผ่านไปถึงชั้น dermis 80% ในขณะที่ผิวหนังปกติจะมีการซึมผ่านของ steroid เพียง 1% เท่านั้น

Stratum corneum เป็นสารประกอบชนิด keratin–phospholipid ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และน้ำ ผิวหนังชั้นนี้เซลล์จะอัดกันแน่นและมีความหนาประมาณ 10–15 ไมโครมิเตอร์ ไขมันในชั้นนี้จะมีผลต่อการซึมผ่านของน้ำ โดยพบว่าการสกัดเอาไขมันออกจากชั้นบนของผิวหนัง

* อาจารย์ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยใช้ตัวทำละลาย จะเพิ่มการดูดซึมของน้ำ (3,4) สำหรับชนิดของไขมัน Elias et al. (5) พบว่ากรด linoleic ซึ่งเป็นสารเริ่มแรกของ prostaglandins มีส่วนสำคัญในการขัดขวางการดูดซึมทางผิวหนัง

รูปที่ 1 แผนผังแสดงขั้นตอนการดูดซึมทางผิวหนัง (20)



*ในกรณีที่ให้ยาในรูปที่ละลายในกระสายยาอยู่แล้ว ขั้นตอนนี้จะข้ามไป

สำหรับปัญหาที่ว่าสารจะผ่านตัวเซลล์หรือผ่านระหว่างเซลล์ สรุปกันว่า หากสารผ่านระหว่างเซลล์ ซึ่งมีปริมาตรระหว่าง 0.01–0.1% ของปริมาตรทั้งหมดของผิวหนังชั้น stratum corneum การซึมผ่านจะต้องเป็นไปอย่างรวดเร็วมาก ซึ่งไม่น่าจะเป็นไปได้ (6) Elias et al. (7,8) รายงานว่า สารพวก lipophilic จะซึมผ่านระหว่างเซลล์ เนื่องจากไขมันในชั้น stratum corneum จะอยู่ระหว่างเซลล์ อย่างไรก็ตาม Kligman (9) สรุปเหตุผลทางทฤษฎีว่า การซึมผ่านของสารจะผ่านตัวเซลล์มากกว่าผ่านระหว่างเซลล์

นอกจากนี้ยังพบว่า มีการสะสมของสารที่บริเวณผิวหนังชั้นใน ๆ ของ stratum corneum Vickers (10) ทา fluocinolone บนผิวหนังแล้วหุ้มด้วยแผ่นพลาสติกเป็นเวลา 16 ชั่วโมง พบว่า เกิดการตีบของเส้นโลหิต เมื่อล้างผิวหนังบริเวณนั้นและปล่อยให้ผิวหนังเป็นไปตามปกติ การตีบของเส้นโลหิตจะหายไปภายในเวลา 10–16 ชั่วโมง ถ้าหุ้มผิวหนังบริเวณนั้นด้วยพลาสติกอีกภายใน 12–14 วัน หลังจากการให้ steroid ครั้งแรกเพียงครั้งเดียว จะเกิดการตีบของเส้นโลหิตอีก betamethasone benzoate (11) และสารต่อต้านเชื้อรา เช่น griseofulvin (12) ก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน นอกจากนี้ปัจจัยที่เพิ่มการดูดซึมทางผิวหนังจะเพิ่มจำนวนสารที่สะสมด้วย และการเพิ่มอุณหภูมิหรือเพิ่มความชื้น จะช่วยเพิ่มการสะสม (10) ตัวทำละลาย dimethyl sulfoxide (13) หรือ dimethylacetalamide และ dimethylformamide (12) จะเพิ่มการสะสมของสารด้วย

2. การซึมผ่านผิวหนังชั้น epidermis

เนื่องจาก stratum corneum มีลักษณะทางเคมีคล้ายคลึงกับผนังเซลล์ การซึมผ่าน stratum corneum จึงเหมือนกับการซึมผ่านผนังของเซลล์หนึ่ง ๆ ซึ่งการซึมผ่านผนังเซลล์นี้ถือว่าเป็นปฏิกิริยาระหว่างไขมันชั้น epidermis กับสารที่จะซึมผ่าน (14)

กลไกการซึมผ่านชั้น stratum corneum ถือว่าเป็นการแพร่ชนิด passive โดยมีเหตุผลดังนี้

1. การดูดซึมทางผิวหนังเป็นไปตามกฎการแพร่ของ Fick ที่กล่าวว่าอัตราการเคลื่อนของสารจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความแตกต่างของความเข้มข้นโดยจะเคลื่อนจากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงไปสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ

2. ขั้นตอนนี้เกิดที่ชั้น stratum corneum ซึ่งเป็นชั้นที่ประกอบด้วยเซลล์ที่ไม่มีปฏิกิริยาการสันดาป หรือเซลล์ที่ตายแล้วนั่นเอง

3. แม้ลอกชั้นผิวหนังนี้ออก ความสามารถที่จะยอมให้หรือไม่ให้สารผ่านผิวหนังชั้นนี้จะยังคงอยู่

3. วิถีทางการดูดซึมทางผิวหนัง

วิถีทางการดูดซึมทางผิวหนังที่สำคัญ ได้แก่

3.1 Transepidermal – การซึมผ่านทาง stratum corneum

3.2 Transfollicular – การซึมผ่านทางรูขุมขน

สำหรับที่ต่อมเหงื่อ การดูดซึมมีน้อยมาก (15) Shelley และ Melton (16) และ Herrmann (17) รายงานว่า การดูดซึมของสารที่ทำให้เกิดการแพ้ และ histamine ที่ฝ่ามือและฝ่าเท้ามีน้อยมากหรือไม่มีเลย ผิวหนังบริเวณนี้จะมี keratin ในชั้น epidermis น้อยมากและไม่มีรูขุมขนเลย นอกจากนี้พื้นที่ของต่อมเหงื่อจะมีเพียงหนึ่งในหมื่นของพื้นที่ของชั้น epidermis ทั้งหมดด้วย จึงสรุปกันว่าการดูดซึมทางต่อมเหงื่อมีความสำคัญน้อยมาก

กรณีที่สารซึมผ่านทางรูขุมขน สารจะผ่าน sebum ซึ่งอยู่ในช่องว่างแคบ ๆ ระหว่างเส้นขนกับผนังของรูขุมขน แล้วจึงผ่านเข้าใน viable epidermis ส่วนการดูดซึมทาง stratum corneum จะเห็นว่าน่าจะมีความสำคัญมากกว่าการดูดซึมทางรูขุมขน เนื่องจากมีพื้นที่ผิวมากกว่าประมาณ 1,000 เท่า Scheuplein et al (18) พบว่า corticosteroid มีการดูดซึมทาง stratum corneum น้อยมากเมื่อทำการทดลองทางอิน–วิโทร และใช้เวลาเป็นวันจึงจะถึงสภาวะการดูดซึมคงที่ ส่วนการทดลองทางอิน–วิโว พบว่าใช้เวลาเป็นชั่วโมงเท่านั้น จึงคิดว่า น่าจะมีการดูดซึมทางรูขุมขนมาเกี่ยวข้องด้วย Vickers (19) กล่าวว่า การดูดซึมผ่านชั้น stratum corneum และทางรูขุมขน มีความสำคัญแล้วแต่ชนิดของสารและสภาพของผิวหนัง เนื่องจากการดูดซึมนี้เป็นการดูดซึมที่สารจะไปในทางที่มีการต้านทานน้อยที่สุด

การซึมผ่านสู่ทิศทางที่มีความต้านทานน้อยที่สุด จะสามารถอธิบายโดยใช้ทฤษฎีการแพร่เป็นภาษาคณิตศาสตร์ ดังนี้

$$J \propto \triangle C$$

$$J = P.\triangle C \qquad (i)$$

$$J = \text{จำนวนสารที่ผ่าน} / \text{พื้นที่–เวลา}$$

P = ค่าสัมประสิทธิ์ความสามารถที่จะให้สารผ่านไปได้

$\triangle C$ = ความแตกต่างของความเข้มข้นของสารระหว่างบนผิวหนังกับเส้นโลหิตใต้ผิวหนัง

สำหรับชั้นผิวหนัง ซึ่งเป็นตัวขัดขวางการซึมผ่านของสาร พบว่า ความต้านทานการซึมผ่าน (r) จะเป็นสัดส่วนตรงกับความหนาของผิวหนัง (h) ; เป็นสัดส่วนผกผันกับค่าสัมประสิทธิ์การซึมผ่านของสาร (D) ; เป็นสัดส่วนผกผันกับอัตราส่วนของพื้นที่ที่สารผ่านในกรณีที่มีการซึมผ่านหลายทาง (F) ; และเป็นสัดส่วนผกผันกับค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารในสองวัฏภาค (K)

$$r = X . \frac{h}{D.F.K.} \quad ; \quad X = \text{ค่าคงที่}$$

$$\therefore \frac{r}{X} = \frac{h}{D.F.K.} = R$$

R = ค่าสัมประสิทธิ์ความต้านทานไม่ให้สารผ่านไปได้ $= \frac{1}{P}$

$$P = \frac{D.F.K}{h} \qquad \text{(ii)}$$

แทนค่าสมการ (ii) ในสมการ (i)

$$J = \frac{D.F.K}{h} \triangle C \qquad \text{(iii)}$$

Flynn (20) ได้ดัดแปลงสมการ (iii) เพื่อใช้คำนวณจำนวนของสารที่ซึมผ่านผิวหนังโดยใช้กระสายยาชนิดละลายน้ำได้ ดังนี้

$$J = F_{sc} \frac{D_{sc} . D_{vt} K_{sc/w}}{h_{sc} D_{vt} + h_{vt} \cdot D_{sc} \cdot K_{sc/w}} + F_f \frac{D_f . D_{vt} \cdot K_{f/w}}{h_f \cdot D_{vt} + h_{vt} \cdot D_f \cdot K_{f/w}} C \qquad \text{(iv)}$$

ซึ่ง sc = stratum corneum

vt = viable tissue

f = รูขุมขน

$K_{sc/w}$ = ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารใน stratum corneum และน้ำ

$K_{f/w}$ = ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารใน sebum และน้ำ

$K_{vt/w}$ = ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวของสารใน viable tissue และน้ำ ซึ่งมีค่าประมาณ 1

จากการแทนค่าต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลอง (21, 22, 23) ในสมการ (iv) Flynn ยังได้แสดงให้เห็นว่า ในกรณีของสารที่มีขนาดเล็ก เช่น salicylic acid ตัวยาจะซึมผ่านชั้น stratum corneum มากกว่าทางรูขุมขน ถึง 40 เท่า แต่ถ้าเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก เช่น steroids, griseofulvin การดูดซึมทางรูขุมขนจะมีความสำคัญเพิ่มขึ้น โดยจะมีตัวยาซึมผ่านเป็น 5 เท่าของทาง stratum corneum ซึ่งตรงกับการทดลองที่ว่า การซึมผ่านของ steroid ทาง อิน–วิโทร ซึ่งมีเฉพาะ stratum corneum จะใช้เวลาเป็นวัน ๆ แต่ในทาง อิน–วิโว ซึ่งมีการดูดซึมทางรูขุมขน เกี่ยวข้องด้วย จะใช้เวลาเป็นชั่วโมงเท่านั้น นอกจากนี้ในการคำนวณหา lag–time หรือเวลาก่อนที่ตัวยาจะถึงสภาวะการดูดซึมคงที่ก็ได้ผลในทำนองเดียวกัน

4. ปัจจัยในการดูดซึมทางผิวหนัง

4.1 สภาพของผิวหนัง ผิวหนังปกติที่ไม่มีบาดแผลใด ๆ จะเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่จะไม่ให้มีการดูดซึม ดังนั้น สารที่ทำลายสภาพของผิวหนังปกติ เช่น mustard gas, กรด และด่าง หรือการที่ผิวหนังชั้น stratum corneum หลุดลอกออก จะเพิ่มการดูดซึมของสารได้ ตัวอย่างเช่น 80–90 % ของ hydrocortisone สามารถซึมเข้าสู่ผิวหนังที่ลอกเอา stratum corneum แต่ในผิวหนังปกติ จะมีการซึมผ่านเพียง 1–2 % เท่านั้น (24, 25, 26) นอกจากนี้ โรคที่ทำให้ผิวหนังชั้นนี้เปลี่ยนไปหรือหลุดออกไป จะทำให้เพิ่มการดูดซึมทางผิวหนังด้วย (27,28) แต่ในผิวหนังของผู้ป่วยโรคเรื้อนกวางซึ่งผิวหนังจะมีลักษณะเป็นเกล็ด พบว่ามีการดูดซึมของ hydrocortisone เท่ากับในผิวหนังคนปกติ (29)

4.2 อายุของผิวหนัง พบว่า ผิวหนังของทารกและเด็กในครรภ์จะยอมให้สารผ่านง่ายกว่าผิวหนังของผู้ใหญ่ (30) พวก steroids จะผ่านเข้าในผิวหนังของเด็กมากกว่าผู้ใหญ่ (31) ในคนสูงอายุจะพบการเปลี่ยนแปลงของผิวหนังซึ่งจะมีผลต่อการดูดซึมตัวยา (19) Fairly และ Rasmussen (32) รายงานว่า ผิวหนังของเด็กจะดูดซึมได้ดีกว่า เนื่องจากสัดส่วนของพื้นที่ผิวหน้าต่อปริมาตรจะมากกว่าในผู้ใหญ่และ/หรือมีความแตกต่างของขบวนการสันดาป

4.3 การเพิ่มการไหลเวียนของโลหิต การเพิ่มการไหลเวียนของโลหิตภายใต้ชั้นของผิวหนัง จะเพิ่มการขับสารออกจากบริเวณนั้น ทำให้ความเข้มข้นในเส้นโลหิตลดลง ฉะนั้น ความเข้มข้นของสารในเส้นโลหิตและบนผิวหนังจะต่างกันมากขึ้นซึ่งจะทำให้จำนวนของสารถูกดูด

ซึมเพิ่มขึ้น แต่การลดการไหลเวียนของโลหิต จะให้ผลตรงกันข้าม เมื่อให้ 6–methylprednisolone เพื่อทำให้เส้นโลหิตตีบลงแล้วจึงทา ^{14}C–testosterone พบว่าการดูดซึมของ ^{14}C–testosterone ลดลง (24)

4.4 บริเวณของผิวหนัง ในบริเวณที่ต่างกันจะพบการดูดซึมที่แตกต่างกันเนื่องจากความหนาของชั้น stratum corneum (33) Marzulli (34) ได้ทดลองกับผิวหนังที่ลอกจากส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย พบว่า จำนวนสารที่ถูกดูดซึมจะเป็นสัดส่วนผกผันกับความหนาของ stratum corneum ซึ่งทั้งนี้จะขึ้นกับลักษณะของเซลล์ที่ stratum corneum ด้วย (9) ในคน การให้สารที่ผิวหนังในบริเวณที่ต่างกัน จะมีการดูดซึมตัวยาไม่เท่ากัน (35) ในลิง rhesus ก็เช่นกัน (36) ในคนที่ฝ่ามือ แม้จะมีความหนาของชั้น stratum corneum มากกว่าส่วนอื่น ๆ แต่มีการสูญเสียน้ำผ่านผิวหนังมากกว่าบริเวณอื่น ๆ (21) แต่ Maibach et al. (35) ไม่พบความแตกต่างในการดูดซึมทางอิน–วิโวของยาฆ่าแมลงชนิด organo–phosphorus ที่บริเวณฝ่ามือและต้นแขน และ Elias et al. (8) ได้สรุปว่า การดูดซึมที่ต่างกันในบริเวณที่ต่างกัน ไม่เป็นผลจากจำนวนชั้นหรือความหนาของ stratum corneum แต่น่าจะเกิดจากจำนวนไขมันที่ต่างกันมากกว่า นอกจากนี้ยาบางชนิดจะถูกดูดซึมในบริเวณที่มีรูขุมขนมากมากกว่าบริเวณที่มีรูขุมขนน้อย (37)

4.5 ความแตกต่างของวงศ์ ในสัตว์แต่ละวงศ์ จะมีความแตกต่างของ stratum corneum และจำนวนรูเปิดของผิวหนังต่อหน่วยพื้นที่ไม่เท่ากัน ค่าเฉลี่ยของการดูดซึมทางผิวหนังของกระต่ายมีมากกว่าหนู หนูขาว และในคน ตามลำดับ (38) Bartek et al. (39) ทำการทดลองยาหลายชนิด พบว่าการดูดซึมตัวยาในกระต่ายหรือหนูจะดีกว่าในคน 5–10 เท่า แต่การดูดซึมของตัวยาในหนูจะใกล้เคียงกับในคน Wester และ Maibach (40) สรุปให้ใช้ลิง Rhesus ในการศึกษาการดูดซึมของผิวหนังแทนคนได้และยังพบว่าความแตกต่างทางชีวเคมีของสัตว์ต่าง ๆ กัน จะมีผลต่อการดูดซึมด้วย

4.6 ความชุ่มชื้น ความชุ่มชื้นที่ stratum corneum เป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการซึมผ่านทางผิวหนัง โดยจะไปเพิ่มอัตราการดูดซึมของสารทุกชนิด ความชุ่มชื้นจะเกิดจากการที่น้ำซึมจากชั้นใต้ epidermis หรือจากเหงื่อที่สะสมหลังจากที่ให้ยาบนผิวหนัง ซึ่งในกรณีหลังจะมีน้ำเพิ่มถึง 50% โดยปกติจะมีน้ำเพียง 5–15% เท่านั้น Malkinson (15) พบว่า ความชุ่มชื้นจะเพิ่มการดูดซึมของ nicotinic acid Cronin และ Stoughton (41) รายงานว่า ความชุ่มชื้นจะเพิ่มการดูดซึมของ salicylic acid

การให้ยา steroids แล้วปิดผิวหนังบริเวณนั้นจะเพิ่มการดูดซึมได้มาก (42, 43) และยังช่วยเพิ่มการสะสมตัวยาด้วย (44) สาเหตุที่เพิ่มการดูดซึมก็เนื่องจากความชุ่มชื้นไปเพิ่มขนาดของรูขุมขน (45) และไปเปลี่ยนแปลงสัมประสิทธิ์การดูดซึม และสัมประสิทธิ์ความว่องไว (activity coefficient) ของสารที่จะซึมผ่านนั้นๆ ด้วย (46) นอกจากนี้อัตราการดูดซึมของยาที่ละลายในน้ำเข้าสู่ผิวหนังที่มีความชุ่มชื้นจะเร็วมากกว่าเข้าในผิวหนังปกติ (47)

4.7 อุณหภูมิ โดยปกติแล้ว อุณหภูมิในร่างกายจะเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แต่ในกรณีที่ห่อหุ้มผิวหนังไว้ อุณหภูมิในบริเวณนั้นๆ จะเพิ่มขึ้น พบว่า การดูดซึมทางผิวหนังของแอสไพรินกับ corticosteroids จะเพิ่มตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น (48) จากการเขียนกราฟ Arrhenius plot ระหว่าง log permeability constant กับส่วนกลับของอุณหภูมิสมบูรณ์ T จะสามารถหาพลังงาน activation ได้และจำนวนสารที่ถูกดูดซึมต่อหน่วยพื้นที่และเวลา จะมีค่า = e^{T} (47)

4.8 ความเข้มข้นของตัวยา จำนวนสารที่แทรกซึมต่อหน่วยพื้นที่–เวลา จะเพิ่มตามความเข้มข้นของยาในกระสายยา เช่น steroids, caffeine, salicylic acid และ benzeic acid (49) แต่ในบางกรณีจำนวนสารที่แทรกซึมจะลดลงถ้าความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ในกรณีเช่นนี้จะเกิดกับสารที่ทำให้ผิวหนังเกิดสะเก็ดหรือหนาขึ้น เช่น phenol, H_2S (50, 51) นอกจากนี้ช่วงเวลาในการสัมผัสก็มีความสำคัญ ถ้าเวลาในการสัมผัสระหว่างตัวยากับผิวหนังนาน จำนวนสารที่ถูกดูดซึมจะมาก (38)

4.9 การละลายของตัวยา การละลายของตัวยาในน้ำ – ไขมัน มีความสำคัญต่อการดูดซึมมาก จากทฤษฎีของ Meyer–Overton ที่ว่า ผนังเซลล์ชั้น epidermis ประกอบด้วย ไขมัน โปรตีน และน้ำ สารที่ละลายในไขมันจะผ่านผนังเซลล์ส่วนที่ประกอบด้วยไขมัน สารที่ละลายในน้ำจะผ่านไปที่ผนังเซลล์ส่วนที่มีความชื้นของอนุภาคโปรตีนอยู่ (52,53) เช่น ethyl nicotinate กับ nicotinic acid จะซึมผ่านผิวหนังแตกต่างกันมาก เนื่องจากมีค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวในสองวัฏภาคต่างกัน (54) triamcinolone ให้ผลการรักษาเป็น 5 เท่าของ hydrocortisone เมื่อให้ทางเส้นโลหิต แต่เมื่อให้ทางผิวหนังจะให้ผลเพียง 1/10 เท่า ถ้าใช้ triamcinolone acetonide จะให้ผลเพิ่มขึ้นเป็น 1,000 เท่า เมื่อให้ทางผิวหนัง ยา betamethasone ก็เช่นกัน จะให้ผลการรักษาเป็น 30 เท่า ของ hydrocortisone เมื่อให้ทางเส้นเลือด แต่จะให้ผลเพียง 10 เท่าเมื่อให้ทางผิวหนัง ในการทำ ester ของ betamethasone ทั้งหมด 17–valerate ester จะให้ผลการรักษาทางผิวหนังสูงสุด และมีค่าสัมประสิทธิ์การกระจายในน้ำ–ไขมันที่เหมาะสมที่สุด (55)

สำหรับกรณีของ alcohol ในอนุกรมเดียวกัน การเพิ่มการละลายของสารในไขมันโดยเพิ่มน้ำหนักโมเลกุล จะเพิ่มอัตราการแทรกซึมผ่านผิวหนัง (47) เมื่อเพิ่มการละลายของตัวยาในไขมัน ก็จะเพิ่มการดูดซึมทางผิวหนังเช่นกัน (56–58) อย่างไรก็ตามการเพิ่มการละลายในไขมันมากเกินไป จะทำให้ตัวยาไม่สามารถผ่านชั้น viable tissue ได้ และถ้าบริเวณนี้เป็นบริเวณที่ต้องการให้ยาเข้าไปถึง ยานี้จะไม่มีประสิทธิภาพได้ (59–60) ค่าการละลายในน้ำ–ไขมันนี้ควรเป็นค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัวระหว่าง stratum corneum กับกระสายยามากกว่าระหว่างน้ำ–ไขมันหรือระหว่าง ether – น้ำ ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์นี้ควรจะเป็นค่าที่เหมาะสมที่สุด มิฉะนั้นสารจะไม่เข้าสู่ผิวหนังชั้นใน

4.10 ลักษณะทางโมเลกุลของสาร สำหรับขนาดของสารที่จะแทรกซึม สารที่มีขนาดของโมเลกุลเล็กจะแทรกซึมได้เร็วกว่าสารที่มีขนาดใหญ่ ในกรณีที่สารมีขนาดใกล้เคียงกันจะไม่มีความสัมพันธ์กันเลย เช่น สารชนิดต่าง ๆ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 200 จะพบความแตกต่างในการแทรกซึมมาก (30) สำหรับสารที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน แป้ง จะมีการดูดซึมทางผิวหนังน้อยมากหรือไม่มีเลย (61)

ส่วนรูปร่างของโมเลกุลไม่มีรายงานในเรื่องนี้ ทั้ง ๆ ที่ขนาดและรูปร่างของโมเลกุลน่าจะเป็นส่วนสำคัญส่วนหนึ่งในการซึมผ่านทางผิวหนัง

4.11 กระสายยา โดยปกติแล้ว การเลือกกระสายยาสำหรับยาทางโรคผิวหนัง มักจะดูกันที่ความสามารถที่กระสายยาจะผสมเข้ากับตัวยาได้ ความคงตัว และรูปลักษณ์ที่ได้ ส่วนมากมักไม่ค่อยพิจารณาถึงผลของกระสายยาต่อการเพิ่มอัตราการดูดซึมทางผิวหนัง

ในการผลิตยาเป็นจำนวนมาก การเลือกกระสายยาที่เหมาะสม จะมีความสำคัญมาก เพราะถ้าเพิ่มอัตราการดูดซึมได้ เราก็สามารถที่จะลดปริมาณของตัวยาสำคัญซึ่งมักมีราคาแพงกว่ากระสายยาได้ ฉะนั้นเราจึงจำเป็นต้องพิจารณาถึงการละลายในน้ำ – น้ำมันของตัวยานั้น ๆ ต่อกระสายยาด้วย คือ ตัวยาจะต้องละลายในกระสายยาได้ดีพอควร จึงจะแทรกซึมผ่าน stratum corneum ได้ เช่น corticosteroid ที่ใช้ในรูปแบบของยาต่าง ๆ กัน พบว่า ถ้าใช้ ointment base เป็นกระสายยาจะทำให้เส้นโลหิตตีบตัวมากกว่าในครีมหรือโลชั่น (62) fluocinolone acetonide ใน petrolatum ointment จะให้การซึมผ่านดีที่สุด คือ ดีกว่าในโลชั่น ใน cream base และ

ใน propylene glycol ตามลำดับ (63) betamethasone –17– valerate ใน petrolatum–propylene glycol base หรือใน petrolatum isopropyl myristate base จะทำให้เส้นโลหิตตีบตัวมากกว่าใน PEG ointment หรือ propylene glycol (64)

อย่างไรก็ตาม ตัวยาจะต้องไม่ละลายในกระสายยามากเกินไป จนไม่ยอมผ่านไปที่ผิวหนังชั้น stratum corneumpolar alcohol เช่น ethanol ซึ่งละลายได้ดีในน้ำ จะมีการซึมผ่านผิวหนังจากกระสายยาชนิดไขมันได้ดีกว่าจากกระสายยาชนิดน้ำ ส่วน nonpolar alcohol เช่น heptanol ก็จะให้ผลกลับกันคือจะเข้าสู่ผิวหนังจากกระสายยาชนิดน้ำดีกว่าจากกระสายยาชนิดไขมัน (65) ฉะนั้นการเลือกกระสายยาจะต้องพิจารณาถึงการละลายของตัวยาและสัมประสิทธิ์การกระจายตัวยาระหว่างกระสายยากับ stratum corneum ด้วย

นอกจากนี้ความสามารถในการระเหยก็มีความสำคัญด้วย โลชั่นหรือยาน้ำที่มีน้ำมากกว่า 50% น้ำจะระเหยจนเหลือเป็นฟิล์มบาง ๆ ซึ่งมีตัวยาเข้มข้นอยู่การที่กระสายยาระเหยเร็วจึงเป็นการช่วยเพิ่มการดูดซึมให้เร็วขึ้น ดังนั้นการที่ทายาหนาไม่ได้ช่วยเพิ่มการดูดซึมแม้จะมีตัวยามาก เนื่องจากมีการระเหยของกระสายยาช้ามากนั่นเอง (66,67) แต่ถ้ากระสายยาระเหยมากและเร็วเกินไป ก็จะทำให้เกิดเป็นผลึกของตัวยา ซึ่งไม่สามารถซึมผ่านผิวหนังได้ จึงมักใส่ propylene glycol ซึ่งเป็นสารช่วยการละลายและไม่ระเหยได้ง่าย เพื่อช่วยให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มที่สมดุลได้

4.12 สารช่วยเพิ่มการดูดซึม เป็นสารชนิดอื่น ๆ ที่เติมเข้าในตำรับยาเพื่อเพิ่มการดูดซึมของตัวยาสู่ผิวหนัง

ก. ตัวทำละลาย semipolar เช่น dimethylsulfoxide, propylene glycol ในระดับโครงสร้าง พบว่า dimethylsulfoxide จะเข้าไปแทนที่โมเลกุลของน้ำ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนใน stratum corneum (68) นอกจากนี้ยังพบว่า dimethylsulfoxide ทำให้เกิดการบวม (69) และยังสามารถสกัดสารออกจาก stratum corneum ได้ ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ช่วยเพิ่มการดูดซึมสาร ตัวทำละลายตัวนี้ยังสามารถทำให้เกิดการสะสมของสารที่ละลายในน้ำได้น้อยใน stratum corneum ได้ สารที่มีลักษณะโครงสร้างใกล้เคียงกัน เช่น dimethylacetamide, dimethylformamide สามารถเพิ่มการดูดซึมทางผิวหนัง (12) และเพิ่มการสะสมด้วย (13) แต่น้อยกว่า dimethylsulfoxide (12)

การใช้ dimethylsulfoxide ต้องใช้ในความเข้มข้นสูงมากกว่า 50% ขึ้นไป จึงจะสามารถช่วยเพิ่มการดูดซึมของยาต่าง ๆ เช่น salicylic acid, fluocinolone acetate, hydrocortisone, triamcinolone acetonide (1,70,71) และสารละลายนี้ยังสามารถแทรกซึมเข้าสู่ผิวหนังด้วย (72) สารนี้อาจทำให้เกิดอาการข้างเคียงโดยจะไปทำลายตับ (20) ดังนั้นความนิยมในการใช้สารนี้เพื่อเพิ่มการดูดซึมจึงลดลง

ข. สารลดความตึงผิว สารเหล่านี้จะไปเปลี่ยนสถานะทางกายภาพของน้ำในผิวหนัง ทำให้การดูดซึมของสารที่มีประจุหรือละลายในน้ำได้เพิ่มขึ้น (73) สารลดความตึงผิวสามารถซึมผ่านผิวหนังได้ โดยชนิดที่มีประจุลบซึมผ่านได้ดีที่สุด ตามด้วยชนิดที่มีประจุบวกและชนิดที่ไม่มีประจุ (74) สารลดความตึงผิวชนิดที่มีประจุลบ เช่น ประจุ laurate ของ Sodium lauryl sulfate จะมีการดูดซึมมากที่สุดและเพิ่มการดูดซึมของสารอื่นมากที่สุดด้วย (75) และยังพบว่า สารประจุลบนี้จะจับกับโปรตีนของผิวหนัง ทำให้เกิดการแปลงสภาพโดย filament จะคลายตัวทำให้เกิดการขยายตัวของเนื้อเยื่อ (76) ปฏิกิริยาของสารลดความตึงผิวต่อการดูดซึมสรุปกันว่าเป็นปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับสารลดความตึงผิวมากกว่าเป็นปฏิกิริยาระหว่างไขมันใน stratum corneum กับสารลดความตึงผิว (77)

ค. 1-dodecylazacyeloheptan-2-one เป็นสารช่วยเพิ่มการดูดซึมทางผิวหนังชนิดใหม่ สารนี้จะช่วยเพิ่มการดูดซึมของสารต่าง ๆ ทั้งชนิดที่ละลายในน้ำและชนิดที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น clindamycin, erythromycin, triamcinolone acetonide (78-80)

5. วิธีศึกษาการดูดซึมทางผิวหนัง

5.1 วิธีทางอิน-วิโทร

5.1.1 ชั้นผิวหนัง โดยใช้ชิ้นของผิวหนังขึงกับปากของกรวยทดลองหรือขึงกั้นระหว่างภาชนะ ให้สารอยู่ทางด้าน stratum corneum แล้ววัดจำนวนที่ถูกดูดซึมผ่านไปอีกด้านหนึ่งของผิวหนัง สารที่ใช้อาจใช้สารกัมมันตรังสีก็ได้ วิธีนี้สามารถวัดเป็นจำนวนสารที่ถูกดูดซึม/หน่วยพื้นที่ - เวลา (55, 81)

5.1.2 การดูดซึมเข้าในแบบจำลอง ใช้แบบจำลองที่คล้ายสภาพของผิวหนัง เช่น ตัวทำละลายที่ไม่เข้ากับ alcohol และน้ำ ได้แก่ chloroform, isopropyl myristate ตัวทำละลายเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็น receptor skin phase

กระสายยาที่ใช้ศึกษาต้องไม่ละลายใน receptor skin phase และตัวยาสำคัญจะต้องละลายใน receptor skin phase ได้พอสมควร วิธีนี้ใช้ในการพัฒนากระสายยาที่เหมาะสม และพบว่าได้ผลใกล้เคียงกับการทดลองโดยใช้ผิวหนัง (10,66,67)

5.2 วิธีทาง อิน-วิโว

5.2.1 การศึกษาทางสรีรวิทยา โดยศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเมื่อให้ยาทางผิวหนัง เช่น การเปลี่ยนแปลงของ sulhydryl group ของผิวหนัง วิธีนี้มีข้อจำกัดให้ใช้กับพวกสี และสารที่ให้ปฏิกิริยาเคมีบางจำพวกเท่านั้น เช่น methotrexate จะทำให้เกิดการผ่อของชั้น epidermis โดยไปห้ามการสังเคราะห์ DNA ที่ผิวหนังชั้นนี้ (82)

5.2.2 tracers เช่น พวกสี fluorescences สารกัมมันตรังสี เพื่อศึกษาถึงการซึมผ่านของสารเหล่านี้ วิธีนี้นิยมใช้กันมาก ถ้าสารซึมผ่านได้มากจะมี tracers บนผิวหนังลดลง เช่น ^{14}C–testosterone (24, 83) ^{14}C–hydrocortisone (38)

5.2.3 การวิเคราะห์ของเหลวในร่างกายหรือเนื้อเยื่อ ปกติมักใช้ปัสสาวะ โลหิต วิธีนี้จะใช้เวลามาก เนื่องจากอาจมีการสันดาปหรือการสะสมของตัวยา (30, 37, 49) วิธีนี้มักใช้กับตัวยาที่ไม่ให้อาการข้างเคียงมาก เนื่องจากตัวยาจะผ่านเข้าระบบโลหิต

5.2.4 ศึกษาถึงผลตอบสนองทางชีววิทยา เช่น การหลั่งของเหงื่อ การตีบตัวของเส้นโลหิต การขยายของเส้นโลหิต การเกิดเม็ดสี การเปลี่ยนแปลงการแทรกซึมเข้าเส้นโลหิต ผลตอบสนองเหล่านี้สามารถสังเกตได้ด้วยตา โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวก steroids มักใช้วิธีดูการตีบตัวของเส้นโลหิต และการลดอาการอักเสบที่เกิดจากแสง UV (84–85) ส่วนสาร anti-cholinergic จะดูการทำงานของต่อมเหงื่อ (86) และ nicotinic acid จะดูการขยายตัวของเส้นโลหิต (87)

6. ผลทาง systemic

การใช้ยาทางผิวหนังเพื่อให้ได้ผลทาง systemic ไม่เป็นที่นิยมกัน เนื่องจากตัวยาถูกดูดซึมอย่างช้า ๆ และที่สำคัญ คือ มักพบการดูดซึมที่ไม่สมบูรณ์อยู่เสมอ Feldman และ Maibach (59) พบว่า 98 % ของ steroids ที่ให้ทางผิวหนังจะไม่เข้าสู่กระแสโลหิต โดยศึกษาจากปัสสาวะที่เก็บเป็นเวลานานติดต่อกัน 5 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการให้ยาฉีดหรือให้ยารับประทาน ซึ่ง

ให้ผล 100 % นอกจากนี้ยังพบความแปรปรวนของการดูดซึมในแต่ละบุคคล ความแตกต่างของอายุ สุขภาพ และการดูดซึมในบุคคลเดียวกันก็อาจแตกต่างกันได้ ซึ่งขึ้นกับสภาพแวดล้อมหรือสภาพของผิวหนังซึ่งเกิดจากโรค

อย่างไรก็ตาม การดูดซึมของยาทางผิวหนังสามารถใช้รักษาโรคทาง systemic ได้เช่น ในการรักษา angina pectoris การทา nitroglycerin ointment จะให้การขยายตัวของเส้นโลหิตมากกว่ายาอมใต้ลิ้น (88) นอกจากนี้ยังมียาออกฤทธิ์เนิ่นช้าหลายชนิดที่ให้ทางผิวหนัง เช่น scopolamine, nitroglycerin, steroids (89–92)

โดยปกติแล้ว ผลทาง systemic มักเป็นอาการข้างเคียงของการรักษาโรคผิวหนัง หรือการที่ผิวหนังไปถูกกับสารพิษโดยไม่ตั้งใจ (93) เช่น การใช้ corticosteroid ทั่วร่างกาย คนงานในโรงงานผลิตฮอร์โมน สงครามที่ใช้ mustard gas หรือสาร anticholinesterases ชนิดร้ายแรง เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. Stoughton, R.B. (1965) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 7, 1.
2. Malkinson, F.D. (1969) *J. Invest. Dermatol.*, 53, 270.
3. Sweeney, T.M., and Downing, D.T. (1970) *Ibid.*, 55, 135.
4. Poulsen, B. (1970) *Brit. J. Dermatol.*, (Suppl. 6), 82, 49.
5. Smith, W.P., Christensen, M.S., Nacht, S., and Gans, E.H. (1982) *J. Invest. Dermatol.*, 78, 7.
6. Elias, P.M., Brown, B.E., and Ziboh V.A. (1980) *J. Invest. Dermatol.*, 74, 230.
7. Elias, P.M., Mcnult, N.J., and Friend, D.S. (1977) *Anat. Rec.*, 189, 577.
8. Elias, P.M., Cooper, E.G., Korc, A., and Brown, B.E. (1981) *J Invest Dermatol.*, 76, 297.
9. Kligman, A.M. (1983) *Drug Devel. Ind. Pharm.*, 9, 521.
10. Vickers, C.F.H. (1963) *Arch. Dermatol.*, 88, 20.
11. Woodford, R., and Barry, B.W. (1974) *Curr. Ther. Res.*, 16, 338.
12. Munro, D.D., and Stoughton, R.B. (1965) *Arch. Dermotol.*, 92, 588.
13. Stoughton, R.B. (1965) *ibid.*, 91, 657.
14. Onken, H.D., and Moyer, C.A. (1963) *Ibid*, 87, 584.

15. Malkinson, F.D., in Montana, W., and Lobitz, W.C. Jr., eds. (1964) *The Epidermis*, Academic Press, New York, Chap. 21.
16. Shelly, W.B., and Melton, F.M. (1949) *J. Invest. Dermatol.*, 13, 61.
17. Herrman, F. (1945) *Ann. Allergy*, 3, 431.
18. Scheuplein, R.J., Blank, I.H., and MacFarlane, (1969) *J. Invest. Dermatol.*, 52, 63.
19. Vickers, C.F., in McKinna, R.M.B., ed (1966) *Modern Trends in Dermatology* 3, Butterworths, London, Chapter 4.
20. Flynn, G.L. in Banker, G.S., and Rhodes, C.T. (1979) *Modern Pharmaceutics*, New York, Chapter 8.
21. Scheuplein, R.J., and Blank, I.H. (1971) *Physiol. Rev.*, 51, 762.
22. Scheuplein, R.J. (1965) *J. Invest. Dermatol.*, 46, 334.
23. Woodburne, R.T. (1965) *Essentials of Human Anatomy*, Oxford University Press, New York., p .6.
24. Malkinson, F.D. (1958) *J. Invest. Dermatol.*, 31, 19.
25. Malkinson, F.D., and Ferguson, E.H. (1955) *Ibid.*, 25, 281.
26. Liddle, M. (1969) *Brit J. Dermatol.*, (Suppl.4), 81, 113.
27. Blank, I.H. (1967) *J. Invest Dermatol.*, 48, 79.
28. Scolt, A. (1959) *Brit. J. Dermatol.*, 71, 8.
29. Wester, R.C., Daniel, A.W., Bucks, B.A., and Maibach, H.I. (1983) *J. Am. Acad. Dermatol.*, 8, 645.
30. Feldman, R.J., and Maibach, H.I. (1970) *J. Invest Dermatol.*, 54, 339.
31. Feiwell, M. (1969) *Brit. J. Dermatol.*, (Suppl.4) 81, 113.
32. Fairly, J.A., and Rasmussen, J.E. (1983) *J. Ans. Acad. Dermatol.*, 8, 652.
33. Frosch, P.J., and Kligman, A.M. (1977) *Brit. J. Dermatol.*, 18, 461.
34. Marzulli, F.N. (1962) *J. Invest. Dermatol.*, 39, 387.
35. Maibach, H.I., Feldman, R.J., Milby, T.H., and Serat, W.F. (1971) *Arch. Environ. Health.*, 23, 208.
36. Wester, R.C., Noonan, P.K., and Maibach, HI. (1979) *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 30, 297.
37. Feldman, R.J., and Maibach, H.I. (1967) *J. Invest Dermatol.*, 48, 181.
38. Winkelman, R.K. (1969) *Ibid.*, (Suppl.4), 81, 11.
39. Bartek, M.J., LaBudde, J.A., and Maibach, H.I. (1972) *J. Invest. Dermatol.*, 58, 114.
40. Wester, R.C., and Maibach, H.I. (1976) *Ibid*, 67, 518.
41. Cronin, E., and Stoughton, R.B. (1962) *Brit. J. Dermatol.*, 74, 265.
42. McKenzie, A.W., and Stoughton, R.B. (1962) *Arch. Dermatol.*, 86, 608.
43. Scheuplein, R.J., and Ross, L.W. (1974) *J. Invest. Dermatol.*, 13, 61.
44. Vickers, C.F.H. (1963) *Arch. Dermatol.*, 88, 20.
45. Schelmire, J.B. (1960) *Ibid*, 82, 24.

46. Higuchi, T. (1960) *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 11, 85.
47. Blank, I.H., and Scheuplein, R.J., in Rook A, and Champion, R.H., eds (1964) *Progress in the Biological Sciences in Relation to Dermatology 2*, University Press, London p. 245.
48. Stoughton, R.B., and Fritsch, W, (1964) *Arch Dermatol.*, 90, 512.
49. Maibach, H.I., and Feldman, R.J. (1969) *J. Invest. Dermatol.*, 52, 382.
50. Macht, D.I. (1938) *J. Am. Med. Assoc.*, 110, 409.
51. Schmid, G. (1937) *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 55, 318.
52. Meyer, H. (1899) *Arch. Exp. Pathol. Pharmakol.*, 42, 109.
53. Overton, E. (1897) *Phys. Chem.*, 22, 189.
54. Cronin, E., and Stoughton, R.B. (1963) *Arch. Dermatol.*, 87, 445.
55. McKenzie, A.W., and Aitkinson, R.M. (1963) *Ibid*, 89, 741.
56. Scheuplein, R.J., Blank, I.H., Brauner, G.J., and MacFarlane D.J. (1969) *J. Invest. Dermatol.*, 52, 63.
57. Feldman, R.J., and Maibach, H.I. (1969) *Ibid*, 52, 89.
58. Schlagel, L.A. (1972) *Advan. Biol. Skin.*, 12, 339.
59. McKenzie, A.W. (1962) *Arch. Dermatol.*, 86, 611.
60. Trcherne, J.E. (1956) *J. Physiol.*, 133, 171.
61. Tregen, R.T. (1966) *J. Invest. Dermatol.*, 46, 24.
62. Stoughton, R.B. (1972) *Arch. Dermatol.*, 106, 825.
63. Munro, D.D. (1969) *Brit. J. Dermatol.*, (Suppl 4) 81, 92.
64. Peppler, A.F., Woodford, R., and Morrison, J.C. (1971) *Brit J. Dermatol.*, 85, 171.
65. Scheuplein, R.J. (1963) *J. Invest. Dermatol.*, 45, 335.
66. Poulsen, B.J., Young, E., Coquilla, V., and Katz, M. (1968) *J. Pharm. Sci.*, 57, 928.
67. Coldman, M.F., Poulsen, B.J., and Higuchi, T. (1969) *Ibid*, 58, 1098.
68. Rammler, D.H., and Zaffaroni, A. (1967) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 141, 13.
69. Elfbaum, S.G., and Laden, K. (1968) *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 19, 119.
70. Kligman, A.M. (1965) *J. Am. Med. Assoc.*, 193, 140.
71. Coldman, M.F., Kalinousky, I., and Poulsen, B.J. (1971) *Brit. J. Dermatol.*, 85, 457.
72. Allenby, A.C., Fletcher, J., Schock, C., and Tees, T.F.S. (1969) *Brit. J. Dermatol.*, Suppl. 4, 81, 31.
73. Sprolt, R.J. (1965) *Trans. St. John's Hosp. Dermatol. Soc.*, London, 51, 185.
74. Bettley, F.R. (1965) *Brit. J. Dermatol.*, 77, 98.
75. *Ibid*, (1963) 75, 113.
76. Scheuplein, R., and Ross, L. (1970) *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 21, 853.
77. Dugard, P.H., and Scheuplein, R.J. (1973) *J. Invest. Dermatol.*, 60, 263.

78. Stoughton, R.B. in Farber, E.M., ed. (1982) *Psoriasis*, p 397.
79. Stoughton, R.B. (1982) *Arch. Dermatol.*, 118, 474.
80. Stoughton, R.B., and McClur, W.O. (1983) *Drug Devel. Ind. Pharm.*, 9, 725.
81. Fritsch, W.F., and Stoughton, B.B. (1963) *J. Invest. Dermatol.*, 41, 307.
82. Sobel, A.E., Parnell, J.P., Sherman, B.S., and Bradley, D.K. (1958) *Ibid*, 30, 315.
83. Place, V.A., Velaquez, J.G., and Burdick, K.H. (1970) *Arch Dermatol.*, 101, 531.
84. Poulsen, B.J., Burdick, K., and Bessler, S. (1974) *ibid*, 109, 367.
85. Burdick, K.H. (1972) *Acta Dermato-Venerol., Suppl.*, 67, 19.
86. Stoughton, R.B., Chiu, F., Fritsch, W.C., and Nurse, D (1964) *Ibid*, 42, 151.
87 Stoughton, R.B., Clendenning, W.E., and Kruse, D. (1960) *Ibid*, 35, 337.
88. Karsh, D.L., Umbach, R.E., Cohen, L.S., and Langon, R.A. (1978) *Am. Heart. J.*, 96, 587.
89. Chien, Y.W. (1983) *Drug Devel. & Ind. Pharm.*, 9, 497.
90. Chandrasekaran, S.K. (1983) *Ibid*, 9, 627.
91. Good, W.R. (1983) *Ibid*, 9, 647.
92. Karim, A. (1983) *Ibid*, 9, 671.
93. Keipert, J.A. (1971) *Med. J. Aust.*, 1, 1921.