

การศึกษาความปลอดภัยและเภสัชจลนศาสตร์ของสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลในอาสาสมัครสุขภาพดี: การศึกษาทางคลินิกระยะที่ 1

มณฑกา อีร์ชัยสกุล^{*†}, กมลวรรณ บานชื่น[‡], ธันวา บัวมหะกุล[§], วิวรรณ วรกุลพาณิชย์^{*}, สมหมาย จุกกุล[§], รสสุคนธ์ กลิ่นหอม[‡], กัญญิกา ลำพูล[‡], อิติ แสงธรรม[¶], พิสิฐ เขมาวุฒ[#]

^{*} กองสมุนไพรเพื่อเศรษฐกิจ กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข ตำบลตลาดขวัญ

อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

[‡] สำนักงานวิจัยการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข ตำบลตลาดขวัญ

อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

[§] โรงพยาบาลการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ผสมผสาน กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข

ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

[¶] กรมสุขภาพจิต กระทรวงสาธารณสุข ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

[#] สถาบันการแพทย์จักรีนฤพดินทร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ตำบลบางปลา อำเภอบางพลี

จังหวัดสมุทรปราการ 10540

[†] ผู้รับผิดชอบบทความ: monthaka.t@gmail.com

บทคัดย่อ

บทนำและวัตถุประสงค์: ปัจจุบันมีรายงานการวิจัยระดับพรีคลินิกจำนวนมากระบุสรรพคุณของกระชาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ด้านการอักเสบและฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส SARS CoV-2 จึงกล่าวได้ว่า กระชาย เป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาได้ ทว่ายังขาดการศึกษาวิจัยทางคลินิกทุกระยะ การศึกษาครั้งนี้จึงมี วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสารสำคัญในกระชาย 2 ชนิด คือ pinostrobin และ panduratin A รวมถึง ศึกษาความปลอดภัยของแคปซูลสารสกัดกระชายที่มี pinostrobin ไม่น้อยกว่า 30 มิลลิกรัมต่อแคปซูลและ panduratin A ไม่น้อยกว่า 9 มิลลิกรัมต่อแคปซูล

วิธีการศึกษา: อาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 11 ราย รับประทานแคปซูลสารสกัดกระชายครั้งละ 3 แคปซูล วันละ 3 ครั้ง หลังอาหารต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 7 วัน

ผลการศึกษา: หลังจากรับประทานแคปซูลสารสกัดกระชายเป็นเวลา 7 วันต่อเนื่อง พบว่า ระดับความเข้มข้นสูงสุดของยา (C_{max}) ของ pinostrobin และ panduratin A เท่ากับ 15.07 ± 6.65 และ 63.26 ± 21.73 ng/ml ตามลำดับ ระยะเวลาถึงระดับความเข้มข้นสูงสุดในกระแสเลือด (T_{max}) เท่ากับ 2.67 ± 0.89 h และ 3.00 ± 0.95 h ตามลำดับ ค่าครึ่งชีวิต ($T_{1/2}$) เท่ากับ 8.07 ± 2.93 h และ 5.51 ± 2.62 h ตามลำดับ ด้านความปลอดภัย ไม่พบรายงานอาการไม่พึงประสงค์ ลักษณะทางคลินิก ได้แก่ ความดันโลหิตและอุณหภูมิของร่างกายไม่เปลี่ยนแปลง ทั้งนี้ พบค่าดัชนีบ่งชี้ในเลือด (Hematological Blood Profile) ได้แก่ Hemoglobin (Hb), Hematocrit (Hct), Red blood cell (RBC) และ Blood Urea Nitrogen (BUN) มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ p -value < 0.05 และ Total Carbon dioxide (Total

CO₂) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.01) ทั้งนี้ เมื่อหยุดรับประทานแคปซูลสารสกัดกระชาย เป็นระยะ 3 วัน (วันที่ 10) พบว่า BUN และ Total CO₂ กลับสู่สภาวะปกติ แต่ Hb, Hct และ RBC ยังคงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < 0.05) ทว่ายังคงอยู่ในช่วงค่าปกติ ยิ่งไปกว่านั้นจากการศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่าเมื่อรับประทานแคปซูลสารสกัดกระชายเป็นเวลา 7 วันต่อเนื่อง ค่า C-reactive Protein มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.04)

อภิปรายผล: การรับประทานแคปซูลสารสกัดกระชาย ในขนาด 1,350 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 7 วัน (Multiple dose) พบว่า ระดับความเข้มข้นของสาร pinostrobin และ panduratin A ในกระแสเลือด มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามลำดับจนกระทั่งถึงจุดสูงสุดและลดต่ำลงตามระยะเวลา ทั้งนี้การรับประทานสารสกัดกระชายในขนาดดังกล่าวต่อเนื่องกัน ไม่มีผลต่อการทำงานของตับ ไตและอิเล็กโทรไลต์

ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ: การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การรับประทานสารสกัดกระชายที่มีปริมาณสารสำคัญแน่นอนคือ มี pinostrobin ไม่น้อยกว่า 270 มิลลิกรัมต่อวันและ panduratin A ไม่น้อยกว่า 81 มิลลิกรัมต่อวัน มีความปลอดภัยต่อผู้เข้าร่วมวิจัยและสารสกัดกระชายมีแนวโน้มลดการอักเสบได้

คำสำคัญ: ความปลอดภัย, เกษษจลนศาสตร์, กระชาย, แพนดูราทินเอ, พินอสโตรบิน

Safety and Pharmacokinetics Study of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. Capsules in Healthy Volunteers: A Phase 1 Clinical Study

Monthaka Teerachaisakul^{*,†}, Kamonwan Banchuen[‡], Thanwa Buamahakul[§],
Wiwan Worakunphanich^{*}, Sommai Jugul[§], Rossukon Klinhom[‡], Kanthika Lumpool[‡],
Thiti Sawangtham[¶], Phisit Khemawoot[#]

^{*} Division of Herb for Economy, Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of Public Health, Talat Khwan Subdistrict, Mueang District, Nonthaburi 11000, Thailand.

[‡] Thai Traditional Medicine Research Institute, Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of Public Health, Talat Khwan Subdistrict, Mueang District, Nonthaburi 11000, Thailand.

[§] Thai Traditional and Integrated Medicine Hospital, Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of Public Health, Talat Khwan Subdistrict, Mueang District, Nonthaburi 11000, Thailand.

[¶] Department of Mental Health, Ministry of Public Health, Talat Khwan Subdistrict, Mueang District, Nonthaburi 11000, Thailand.

[#] Chakri Naruebodindra Medical Institute, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bang Pla, Bang Phli, Samut Prakan 10540, Thailand.

[†] Corresponding author: monthaka.t@gmail.com

Abstract

Introduction and Objective: At present, there are a number of preclinical studies of “*Krachai*” or “finger-root”, *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf., showing its efficacy as anti-inflammatory and anti-viral against SARS CoV-2. However, there are no reports on its efficacy in clinical trials. This study therefore aimed to explore pharmacokinetics of *B. rotunda* extract with two active pharmaceutical substances which are pinostrobin and panduratin A, as well as to examine the safety of *Krachai* extract containing pinostrobin and panduratin A not less than 30 mg and 9 mg, respectively.

Methods: Eleven healthy volunteers took part in the study. Each of them was assigned to take 3 capsules of *Krachai* extract after meal, 3 times a day for 7 consecutive days.

Results: After taking *Krachai* extract for 7 consecutive days, the maximum concentration levels of pinostrobin and panduratin A were 15.07 ± 6.66 and 63.26 ± 21.73 ng/mL, respectively. The maximum concentration times (T_{max}) were 2.67 ± 0.89 h and 3.00 ± 0.95 h, respectively. The half-life values ($T_{1/2}$) of pinostrobin and panduratin A were 8.07 ± 2.93 h and 5.51 ± 2.62 h, respectively. No adverse events were reported. Additionally, the characteristics of blood pressure and body temperature were normal. However, the hematological profile revealed significantly declining trends in hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), red blood cell (RBC), and blood urea nitrogen (BUN) (p -value < 0.05), but a significantly increasing level was found for total CO_2 (p -value = 0.010). However, when stopping the *Krachai* extract medication for 3 days (day 10), the levels of BUN and total CO_2 returned to the normal level, while the levels of hemoglobin, hematocrit and RBC remained low within a normal range (p -value < 0.05). Moreover, a significantly decreasing level of C-reactive protein was observed (p -value = 0.04).

Discussion: When taking *Krachai* extract at a dose of 1,350 mg/day for 7 consecutive days (multiple doses), the levels of pinostrobin and panduratin A in the blood increased sequentially until reaching their peak levels and then gradually decreased over time. Additionally, the continuous intake of *Krachai* extract at the specified dosage had no effect on the liver, kidneys, and electrolytes.

Conclusion and Recommendation: The intake of *Krachai* extract containing pinostrobin and panduratin A not less than 270 mg/day and 81 mg/day, respectively, for 7 consecutive days is safe for the participants. And the *Krachai* extract tends to exert its anti-inflammatory properties.

Key words: safety, pharmacokinetics, *Krachai* (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.), panduratin A, pinostrobin

บทนำและวัตถุประสงค์

กระชาย (finger root) หรือมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf., BR อยู่ในวงศ์ขิงข่า (Zingiberaceae)^[1-2] มีรสเผ็ดร้อน ขม^[3] จัดเป็นพืชท้องถิ่นของประเทศในเขตร้อนโดยเฉพาะอย่างยิ่งแถบทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นพืชที่ใช้ส่วนเหง้าใต้ดินนำมาปรุงเป็นอาหาร รับประทานในชีวิตประจำวันมาอย่างยาวนาน ทั้งนี้ เหง้ากระชาย มีชื่อกำหนดให้เป็นรายการของพืชที่ใช้เป็นอาหารตามหลักมาตรฐานสากลของ CODEX (เลขที่ HS 3368) และจัดเป็นพืชที่กินได้ตามฐานข้อมูลพืชของ USDA (รหัส

BORO4)^[4] ในประเทศไทยนอกจากเหง้ากระชายจะถูกนำมาใช้รับประทานในชีวิตประจำวันอย่างยาวนานแล้ว ยังมีการนำเหง้ากระชายมาใช้เป็นเครื่องยาในตำรับยาแผนไทยหลายตำรับ อาทิเช่น ยาเลือดงาม ยาพิกัตตรีกาลพิษ เป็นต้น^[3,5] ปัจจุบันมีรายงานการวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาและระบุสรรพคุณของกระชายในด้านต่างๆ อาทิเช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ช่วยต้านการเสื่อมของกระดูกอ่อน ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพก่อโรคทั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส เชื้อราและต้านมะเร็ง เป็นต้น^[2-12] ทั้งนี้งานวิจัยส่วนใหญ่เป็นเพียงงานวิจัยในระดับหลอดทดลอง (*in vitro*)

งานวิจัยด้านเภสัชวิทยาการออกฤทธิ์ ข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์ และการวิจัยในมนุษย์ของสารสกัดจากกระชายยังคงมีน้อยมาก ที่ผ่านมามีการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ และขนาดที่เหมาะสมในมนุษย์สำหรับลดการอักเสบของสารสกัดจากกระชายในหนูขนาดเล็ก (mice), หนูแรท (rat) และสุนัข โดยเป็นการศึกษาความแตกต่างด้านเภสัชจลนศาสตร์ของสาร panduratin A (12% หรือ 24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) จากสารสกัดเอทานอลของกระชายขนาด 200 mg/kg ขนาดเดียว ในสัตว์ที่มีขนาดแตกต่างกัน กล่าวคือ ทำการทดลองในหนูขนาดเล็ก (ICR-Mice) เพศผู้จำนวน 30 ตัว หนูแรท (Sprague-Dawley rats) เพศผู้จำนวน 5 ตัว และสุนัข (Beagle dogs) เพศผู้จำนวน 5 ตัว ด้วยวิธี Allometric scaling พบว่าขนาด 1,500 mg per day ใช้สำหรับโรคปริทันต์อักเสบ (periodontitis) สำหรับมนุษย์ที่มีน้ำหนักตัว 60 กก.^[9] นอกจากนี้ยังพบการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสาร panduratin A จากสารสกัดกระชายดำ โดยศึกษาด้วยการให้ทางปากในหนูแรท จำนวน 5 ตัว ในขนาด 5 mg/kg (มี panduratin A = 5, 30, 300 และ 800 ng/ml) จำนวน 1 ครั้ง พบว่า Panduratin A มีปริมาณสูงสุดในเลือดที่ $C_{max} = 410 \pm 72$ ng/ml ที่เวลา 2 h^[13] และอีกการศึกษาที่ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสาร pinostrobin ที่ได้จากสารสกัด *Lindera reflexa* Hemsl. พืชในวงศ์ Lauraceae Juss. ในหนูแรทจำนวน 5 ตัว โดยการให้ทางปาก ในขนาด 48.51 mg/kg พบว่า pinostrobin ปริมาณสูงสุดในเลือดที่ $C_{max} = 53.034 \pm 15.407$ ng/ml ที่เวลา 0.133 h เป็นต้น^[14]

ปัจจุบันการศึกษาด้านความปลอดภัยของเหง้ากระชายแม้จะเป็นที่เข้าใจตรงกันในระดับนานาชาติว่ากระชายจัดเป็นพืชอาหาร มีความปลอดภัยสูง^[2]

อย่างไรก็ตามมีการศึกษาความเป็นพิษของกระชาย ทั้งในรูปแบบน้ำคั้นและแบบสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ให้ผลสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันทั้งการศึกษาพิษเฉียบพลันและการศึกษาพิษแบบกึ่งเรื้อรัง ระบุว่า น้ำกระชายคั้นขนาด 60, 120 และ 600 mg/kg bw wistar rat ทุกวันเป็นระยะเวลา 30 วัน ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ^[15-16] และจากการศึกษาความเป็นพิษและฤทธิ์การทำลายสารพันธุกรรมในหนูแรทของ pinocembrin และ pinostrobin ซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอน (flavanones) ในเหง้ากระชาย พบว่า สารทั้งสองที่ความเข้มข้น 500 mg/bw ไม่ก่อให้เกิดการตายในหนูแรทและไม่พบความผิดปกติต่ออวัยวะสำคัญและค่าทางชีวเคมีของเลือดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม^[17] นอกจากนี้การให้สาร pinocembrin และ pinostrobin ความเข้มข้น 1-100 mg/bw male rat เป็นเวลา 7 วัน ไม่เหนี่ยวนำให้เกิดการแตกหักของแท่งโครโมโซมและไม่มีผลต่อดัชนีการแบ่งตัวของเซลล์ตับ ดังนั้น สาร pinocembrin และ pinostrobin จึงไม่มีความเป็นพิษในหนูแรท และไม่มีความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมในเซลล์ตับหนูในช่วงความเข้มข้น 1-100 mg/bw นอกจากนี้รายงานการศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของหนูแรทเพศผู้จำนวน 27 ตัว ด้วยการให้สารสกัดกระชายขนาด 60, 120 และ 240 mg/bw/day เป็นระยะเวลาต่อเนื่อง 60 วัน ผลไม่พบความเป็นพิษของสารสกัดกระชายทั้งในเลือดและในเนื้อเยื่อ^[18]

อย่างไรก็ตามจากรายละเอียดงานวิจัยพอสังเขป ดังข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า กระชาย เป็นสมุนไพรพื้นบ้านและเป็นอาหารที่อยู่กับคนไทยและคนไทยมาอย่างยาวนาน อีกทั้งเป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพและโอกาสที่จะพัฒนาไปสู่การเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพหลากหลายรูปแบบ เพิ่มทางเลือกและโอกาสทางเศรษฐกิจ

ให้แก่ประเทศไทยได้ ทว่าจนถึงปัจจุบันยังไม่เคยมีการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1 และการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ซึ่งจัดเป็นข้อมูลสำคัญพื้นฐานอันจะนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพให้ปลอดภัย และได้ผลจริง ดังนั้นกรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกในฐานะหน่วยงานหลักของประเทศด้านการส่งเสริมและพัฒนาสมุนไพรแบบครบห่วงโซ่เพื่อต่อยอดทางสังคมและเศรษฐกิจ จึงเล็งเห็นความสำคัญต่อการดำเนินการศึกษาความปลอดภัย และเภสัชจลนศาสตร์ของสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลในอาสาสมัครสุขภาพดี: การศึกษาทางคลินิกระยะที่ 1 อันจะเป็นการสร้างข้อมูลทางวิทยาศาสตร์พื้นฐานที่สำคัญเพื่อพัฒนางานวิชาการ อุตสาหกรรม ตลอดจนงานสาธารณสุขของประเทศต่อไป

ระเบียบวิธีศึกษา

งานวิจัยครั้งนี้ เป็นการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1 เพื่อศึกษาความปลอดภัย และเภสัชจลนศาสตร์ของสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลในอาสาสมัครสุขภาพดี โดยเป็นการศึกษาสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลขนาด 450 mg โดยรับประทานหลังอาหารวันละ 3 ครั้ง (รวม 1,350 mg/day) เป็นการบริหารยาหลายครั้ง (Multiple dose) ระยะเวลา 7 วัน ดำเนินการศึกษารายวัน ณ สำนักงานวิจัยการแพทย์แผนไทย ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2564-พฤษภาคม 2565 โดยการศึกษาครั้งนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาการศึกษาวิจัยในคนด้านการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 02-2564 และมีการควบคุมคุณภาพงานวิจัยให้เป็นไปตามมาตรฐานการวิจัยทางคลินิก (ICH-GCP) จากองค์การบริหารงานวิจัยทางคลินิก บริษัทเมดิกา อินโนวา จำกัด

1. วัสดุ

1.1 ยาที่ใช้ในงานวิจัย

ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการศึกษานี้คือ ส่วนแห้ง่ากระชาย (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.) จากแหล่งปลูกที่ผ่านการรับรองมาตรฐานการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีและเหมาะสม (Good Agricultural Practices: GAP) ผลิตภัณฑ์กระชายรูปแบบแคปซูล สกัดโดย 95% Ethyl alcohol ด้วยเทคนิค spray dry เติร์มโดยบริษัท แก้วมังกรเภสัช จำกัด ซึ่งสถานที่ผลิต (ได้รับการรับรองมาตรฐาน GMP-PICs) ผลิตภัณฑ์กระชายผ่านการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนโลหะหนักตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก และมีการควบคุมคุณภาพมาตรฐานสารสกัดด้วยวิธี gas chromatography กำหนดให้มี pinostrobin ไม่น้อยกว่า 30 mg ต่อแคปซูลและ panduratin A ไม่น้อยกว่า 9 mg ต่อแคปซูล โดยผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการศึกษานี้มี pinostrobin 30.9 mg ต่อแคปซูลและ panduratin A 9 mg ต่อแคปซูล มีน้ำหนักผงสารสกัด 150 mg ต่อแคปซูล โดยผลิตภัณฑ์ สารกระชายรูปแบบแคปซูลนี้ได้รับใบอนุญาต พย.8 จากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

1.2 การคำนวณผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในงานวิจัย

จากผลการศึกษา *In vitro* และ *In vivo* ของสารสกัดกระชายใน Golden Syrian Hamsters ที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ของสารสกัดกระชายต่อเชื้อ SARS-CoV-2 พบว่า ขนาด panduratin A และ pinostrobin ที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อในหลอดทดลอง คือ 1.0 μM ซึ่งมีค่าประมาณ 300 สอดคล้องกับปริมาณ panduratin A และ pinostrobin ประมาณ 600 $\mu\text{g/l}$ ทั้งในเลือดและปอดที่สามารถรักษาสภาพปอดของสัตว์ทดลองผ่านขนาดยา 300 mg/kg ในหนูแฮมสเตอร์^[19-20] ดังนั้น เมื่อทำการ

ปรับขนาดสารสกัดกระชายเข้าสู่มนุษย์ตามหลักการ Interspecies scaling^[21-22] ขนาดสารสกัดกระชายที่เหมาะสม คือ Human Equivalent Doses (Hamster dose x Conversion Factor) เท่ากับ 19.5 mg/kg/day ในกรณีคนปกติหนัก 60 kg จะต้องใช้ขนาดยาประมาณ 1,200 mg/day ผลิตภัณฑ์เตรียมสารสกัดกระชายในรูปแคปซูล 330 mg มีปริมาณสารสกัดกระชายเท่ากับ 150 mg ดังนั้น ขนาดยาที่เหมาะสมคือ กินครั้งละ 3 แคปซูล จะได้สารสกัดกระชายปริมาณ 450 mg ถ้ารับประทานจำนวน 3 แคปซูล วันละ 3 ครั้ง จะได้ปริมาณสารสกัดกระชายต่อวันเท่ากับ 1,350 mg/day ดังนั้นขนาดผลิตภัณฑ์ที่ควรใช้สำหรับการวิจัยทางคลินิก คือ การรับประทานวันละ 9 แคปซูล เพื่อให้ได้สารสกัดมาตรฐานกระชาย 1,350 mg ต่อวัน โดยให้รับประทานหลังอาหาร วันละ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 แคปซูล เพื่อให้ได้ระดับ panduratin A และ pinostrobin อย่างน้อย 300 µg/l อันจะมีผลทำให้เกิดการกำจัดเชื้อและลดการต้านอาการอักเสบจากการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ได้

1.3 กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 11 คน ตามแนวปฏิบัติของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเกี่ยวกับ Guideline on the Investigation of Bioequivalence^[22]

เกณฑ์คัดเข้าผู้เข้าร่วมวิจัยในการศึกษา มีดังนี้ (1) ผู้เข้าร่วมวิจัยเพศชายและเพศหญิง สัญชาติไทย อายุ 18-60 ปี (2) มีค่าดัชนีมวลกาย อยู่ระหว่าง 18.5-24.9 kg/m² (3) ผลตรวจร่างกายทั้งหมดนี้อยู่ในเกณฑ์ปกติ ได้แก่ ออณหภูมิร่างกาย อัตราการหายใจ ชีพจร ความดันโลหิต (4) มีผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการทั้งหมดนี้อยู่ในเกณฑ์ปกติ ประกอบด้วย 4.1) ระดับน้ำตาล 4.2) Renal Function Test ได้แก่

Blood urea nitrogen (BUN), eGFR, Creatinine (Cr), Uric acid, 4.3) Liver Function Test ได้แก่ Alkaline Phosphatase (ALP), Bilirubin, Total protein, Aspartate Transaminase (AST), Alanine Transaminase (ALT), Globulin, Albumin, Lipid profiles, Cholesterol, HDL- Cholesterol (HDL), LDL- Cholesterol (LDL), Triglyceride 4.4) Serum Electrolyte ได้แก่ Sodium (Na), Potassium (K), Chloride (Cl), Total CO₂ (CO₂) 4.5) Hematology ได้แก่ Hemoglobin (Hb), Hematocrit (Hct), White blood cell (WBC), Red blood cell (RBC), Platelet count (PLT), Neutrophils, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil และ Basophil ทั้งนี้ ผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีผลการตรวจร่างกายและผลตรวจทางห้องปฏิบัติการผิดปกติ สามารถเข้าร่วมโครงการวิจัยได้ ขึ้นกับดุลยพินิจของแพทย์ประจำโครงการ เมื่อแพทย์ประจำโครงการพิจารณาแล้วว่าความผิดปกติดังกล่าวไม่มีนัยสำคัญทางคลินิก (clinically insignificant) (5) หญิงวัยเจริญพันธุ์ที่เข้าร่วมโครงการทุกรายต้องได้รับการตรวจครรภ์ Urine Pregnancy Test เป็น negative และใช้วิธีการคุมกำเนิดด้วยวิธีที่ปลอดภัย (6) ผู้เข้าร่วมวิจัยต้องไม่ได้รับประทานยา ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร วิตามิน หรือสมุนไพรใด ๆ อย่างน้อย 2 สัปดาห์ ก่อนเข้าร่วมการวิจัยและสามารถงดรับประทานยา ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร วิตามินหรือสมุนไพรใด ๆ ตลอดเวลาจนถึงสิ้นสุดการวิจัย (7) ผู้เข้าร่วมวิจัยต้องไม่สูบบุหรี่ (8) ผู้เข้าร่วมวิจัยต้องไม่มีประวัติการเป็นโรคตับหรือโรคไต และโรคเรื้อรัง เช่น ความดันโลหิตสูง เบาหวาน หรือไขมันในเลือดสูง (9) ผู้เข้าร่วมวิจัยต้องงดดื่มแอลกอฮอล์ อย่างน้อย 7 วันก่อนเข้าร่วมการวิจัยและสามารถงดดื่มแอลกอฮอล์ ตลอดระยะเวลาจนถึงสิ้นสุดการวิจัย (10) ลงนาม

ในใบแสดงความยินยอมเข้าร่วมเป็นผู้เข้าร่วมวิจัยในโครงการวิจัย

1.4 เครื่องมือที่ใช้ในการรวบรวมข้อมูล

ส่วนที่ 1 แบบเก็บข้อมูลทั่วไปของผู้เข้าร่วมวิจัย ประกอบด้วย ข้อมูลพื้นฐาน ประวัติการรักษา การตรวจร่างกาย ยาที่ใช้ร่วมในการรักษา ความร่วมมือในการใช้ยา

ส่วนที่ 2 การประเมินความปลอดภัย (safety) ประกอบด้วย การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจค่าการทำงานของระบบเลือด (hemoglobin, hematocrit และ platelet count) การทำงานของตับไต และหากเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ (adverse events; AE) จะใช้แบบประเมินเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์โดยใช้เกณฑ์ Thai Algorithm

ส่วนที่ 3 แบบบันทึกการรับประทานยาในโครงการวิจัย

ส่วนที่ 4 การรับประทานอาหารของผู้เข้าร่วมวิจัยในโครงการวิจัย โดยใช้แบบบันทึกข้อมูลการบริโภคอาหาร 24-h recall (3 วัน/สัปดาห์)

2. วิธีการศึกษา

นักวิจัยชี้แจง แนะนำ โครงการแก่ผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเลือกเข้าโครงการ หากยินดีเข้าร่วมการศึกษา ผู้เข้าร่วมวิจัยลงนามให้ความยินยอมที่เข้าร่วมในโครงการศึกษานี้ โดยในวันแรกของการศึกษาระยะนี้ หลังจากผู้เข้าร่วมวิจัยงดอาหาร ครบ 10 ชั่วโมง ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการเจาะเลือด จำนวน 17 ml เพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ (laboratory examination) ตรวจเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) หลังจากนั้นผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับประทานอาหารเช้า หลังจากรับประทานอาหารเช้า 15 นาที ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับสารสกัดกระชาย

รูปแบบแคปซูลจำนวน 3 แคปซูล (มีน้ำหนักสารสกัด 450 mg) และรับประทานน้ำ 180 ml เกือบตัวอย่างเลือด (3 ml) สำหรับการศึกษาดังกล่าวทางเภสัชจลนศาสตร์ ที่ก่อนการให้ยาและ 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 และ 12 h ในวันที่ 1 และ 24 h ในวันที่ 7 ระหว่างที่อยู่ในกระบวนการวิจัย วันที่ 1 และ วันที่ 7 จะได้รับอาหารเหมือนกัน คือ มีพลังงาน 1,750 - 2,150 Kcal โดยมีการกระจายพลังงานของคาร์โบไฮเดรต: ไขมัน: โปรตีน 45-65%: 20-35%: 10-15% นอกจากนี้ผู้เข้าร่วมวิจัยจะต้องงดบันทึกการบริโภคอาหารในรอบ 24 h จำนวน 2 วัน (วันธรรมดา 1 วัน และวันหยุด 1 วัน) เพื่อนำข้อมูลพลังงานและสารอาหารที่ได้รับจากการบริโภคอาหารมาวิเคราะห์ข้อมูล ร่วมกับบันทึกการรับประทานสารสกัดกระชาย สำหรับการรับประทานยาครั้งที่ 2 ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลจำนวน 3 แคปซูล (มีน้ำหนักสารสกัด 45 mg) พร้อมดื่มน้ำ 180 ml. หลังรับประทานยาครั้งแรก 4 ชั่วโมงและการรับประทานยาครั้งที่ 3 ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลจำนวน 3 แคปซูล (มีน้ำหนักสารสกัด 450 มก.) พร้อมดื่มน้ำ 180 ml. หลังรับประทานยาครั้งแรก 8 ชั่วโมง รับประทานเช่นนี้เป็นเวลา 7 วันติดต่อกัน จากนั้นผู้เข้าร่วมวิจัยหยุดรับประทานสารสกัดกระชาย 3 วัน และมาพบผู้วิจัยในวันที่ 10 โดยผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการเจาะเลือดจำนวน 10 ml. เพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ผู้เข้าร่วมวิจัยที่เข้าร่วมโครงการ ได้รับการประเมินความปลอดภัย (safety) จากข้อมูลผลทางห้องปฏิบัติการและเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ (adverse event; AE) ที่พบในช่วง 7 วัน และวันที่ 10 วัน หลังหยุดการรับประทานผลิตภัณฑ์ในโครงการวิจัย หากมี AE เกิดขึ้น แพทย์หรือเภสัชกรประจำโครงการเป็นผู้ประเมินว่าเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาของยาในโครงการ

หรือไม่ เกณฑ์การประเมิน เช่น ไม่เกี่ยวข้อง (not related) น่าจะเกี่ยวข้อง (probably related) เกี่ยวข้องอย่างแน่นอน (definitely related) หรือข้อมูลที่มีอยู่ไม่พอที่จะประเมิน (unknown) และระดับความรุนแรง แบ่งเป็น 5 ระดับ เช่น เล็กน้อย ปานกลาง

รุนแรง อันตรายถึงชีวิตและตาย ตลอดการวิจัยมีการควบคุมตัวแปรที่อาจมีผลต่อการวิจัย คือ (1) การรับประทานอาหาร (2) ความร่วมมือการรับประทานยาโครงการวิจัย แผนภาพขั้นตอนการวิจัยแสดงใน Figure 1

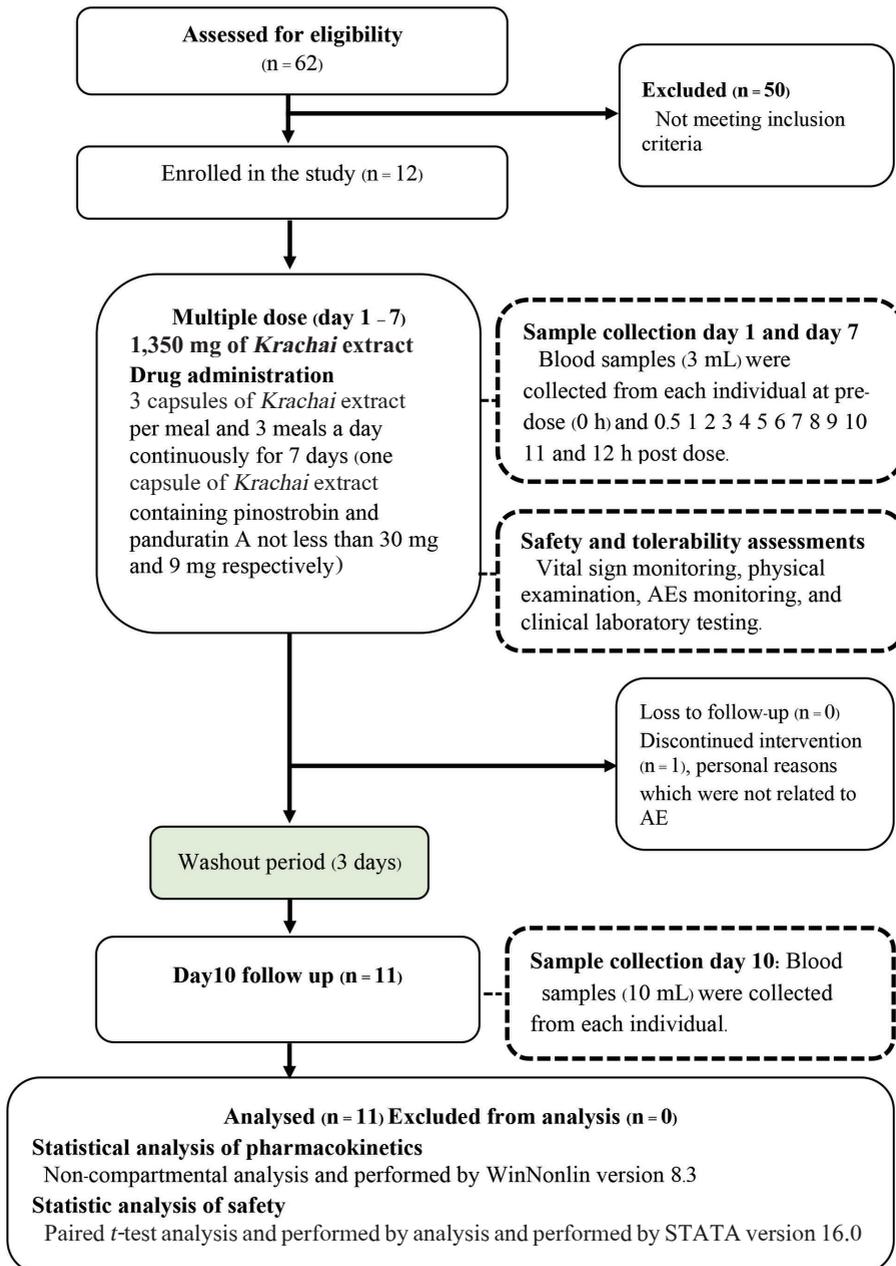


Figure 1 Flow diagram illustrates study design of the clinical trial

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ตรวจสอบการกระจายของข้อมูลโดย Shapiro-wilk test และ Histogram graph

2. การวิเคราะห์ลักษณะพื้นฐาน และข้อมูล baseline ของผู้เข้าร่วมวิจัย สำหรับข้อมูลเชิงกลุ่ม (เช่น เพศ) นำเสนอด้วย ความถี่ และร้อยละ ส่วนข้อมูลเชิงปริมาณ (เช่น อายุ ความดันโลหิต อุณหภูมิร่างกายและดัชนีมวลกาย) ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ (normal distribution) นำเสนอด้วย Mean \pm S.D. และหากข้อมูลไม่มีการแจกแจงแบบปกติ (non-normal distribution) นำเสนอด้วย Median (IQR)

3. การวิเคราะห์ความปลอดภัย เปรียบเทียบระดับการทำงานของตับ ไต ระดับโลหิตวิทยา ก่อนและหลังการรับประทานสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูล ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ วิเคราะห์ด้วยสถิติ paired *t*-test และหากข้อมูลไม่มีการแจกแจงแบบปกติ วิเคราะห์ด้วยสถิติ Wilcoxon signed-rank test สำหรับค่าบ่งชี้การอักเสบ (C-Reactive protein) เปรียบเทียบวันที่ 1, 3 และ 7 ใช้สถิติ Generalized estimating equations (GEE) กำหนดช่วงความเชื่อมั่นที่ 95% โดยกำหนดระดับนัยสำคัญที่ p -value $<$ 0.05 วิเคราะห์ข้อมูลแบบ intention to treat การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดใช้โปรแกรม STATA version 18.0

4. การวิเคราะห์ปริมาณ pinostrobin และ panduratin A ในพลาสมาของการศึกษานี้ เป็นการพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method development and method validation) ดำเนินการโดยห้องปฏิบัติการ Chula Pharmacokinetic Research Center คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิเคราะห์สารในตัวอย่างพลาสมาด้วยเครื่อง

LC-MS/MS ตรวจวัดหาความเข้มข้นของสารด้วย MS/MS โดยใช้ Tadalafil (internal standard) ใช้ตัวอย่างพลาสมา 500 μ l ในการสกัดจากพลาสมา โดยวิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วย 0.5 M perchloric acid ปริมาตร 250 μ l และฉีดสารสกัดปริมาตร 15 μ l เข้าสู่เครื่องมือวิเคราะห์ จากนั้นทำการแยกสารด้วยคอลัมน์ Phenomenex Luna C18, (100 \times 2 มิลลิเมตร, 3 μ M), guard column Phenomenex C18 (4.0 \times 2.0 mm, 5 μ M) ใช้ mobile phase เป็น 1% formic และ 0.1% formic acid ปรับ pH ด้วย ACN-MeOH อัตราส่วน 80:20 %v/v เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ 17 min

การวิเคราะห์ข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์ จากข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสำคัญในพลาสมาและเวลา (plasma concentration-time profiles) จะใช้วิธีการวิเคราะห์แบบไม่ใช้โมเดล non-compartmental analysis (PK solutions, USA) โดยใช้โปรแกรม WinNonlin version 8.3 ณ ห้องปฏิบัติการ Chula Pharmacokinetic Research Center คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ที่จะวิเคราะห์ดังนี้

AUC_{0-t} พื้นที่ใต้เส้นกราฟความเข้มข้นยาในพลาสมาและเวลา จากเวลา 0 ถึง เวลาสุดท้ายที่สามารถวัดระดับยาได้ คำนวณโดยใช้ trapezoidal rule มีหน่วยเป็นชั่วโมงนาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ($h \cdot ng/ml$)

AUC_{inf} พื้นที่ใต้เส้นกราฟความเข้มข้นยาในพลาสมาและเวลา จากเวลา 0 ถึง เวลา infinity คำนวณโดยบวกพื้นที่ใต้กราฟ AUC_{inf} ด้วยอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นสุดท้ายที่วัดได้และอัตราการกำจัดยา (λ_z) มีหน่วยเป็นชั่วโมงนาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ($h \cdot ng/mL$)

C_{max} ความเข้มข้นยาสูงสุดในพลาสมาภายหลังการบริหารยา มีหน่วยเป็นนาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ng/ml)

C_{min} ความเข้มข้นยาน้อยที่สุดในพลาสมาภายหลังการบริหารยา มีหน่วยเป็นนาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ng/ml)

T_{max} เวลาที่ใช้ในการได้ระดับความเข้มข้นยาสูงสุดในพลาสมาภายหลังการบริหารยา มีหน่วยเป็นชั่วโมง (h)

Kel ค่าคงตัวของอัตราการกำจัดยาออกจากร่างกาย มีหน่วยเป็นหนึ่งต่อชั่วโมง (1/h)

$T_{1/2}$ ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา มีหน่วยเป็นชั่วโมง (h)

ผลการศึกษา

ข้อมูลพื้นฐาน

ผู้เข้าร่วมวิจัยผ่านเกณฑ์การคัดเลือกจำนวน 12 ราย พบว่า ผู้เข้าร่วมวิจัย 1 ราย ขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยในวันที่ 1 เนื่องจากวิงเวียนเพราะกลัวเข็ม ดังนั้น จึงมีผู้เข้าร่วมวิจัยคงเหลือ 11 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 3 ราย และเพศหญิง 8 ราย มีอายุระหว่าง 28.33 ± 0.97 ปี และค่าดัชนีมวลกายอยู่ระหว่าง 21.38 ± 1.57 kg/m² สัญญาณชีพ ผลทางห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด การทำงานของตับ ไต ไขมันและอิเล็กโทรไลต์ พบว่า ผู้เข้าร่วมวิจัยทุกรายมีระดับผลทางห้องปฏิบัติการอยู่ในระดับปกติ (Table 1)

Table 1 Baseline demographic and clinical characteristic data of participants

Demographic data	Total (n = 11)	Reference range
Age at enrollment (year)		
Median (IQR)	26 (26–30)	18–60
Gender, n (%)		
Male	3 (27.27)	
Female	8 (72.73)	
Body mass index (kg/m ²), Mean \pm S.D.	21.38 ± 1.57	18.5–22.9
Body temperature (°C), Mean \pm S.D.	36.32 ± 0.15	36.5–37.3
Systolic blood pressure (mmHg), Mean \pm S.D.	114.17 ± 6.53	80–120
Diastolic blood pressure (mmHg), Mean \pm S.D.	68.25 ± 7.53	60–90
Clinical laboratory screening, Mean \pm S.D.		
Hemoglobin (g/dl)	13.68 ± 1.37	13.0–18.0
Hematocrit (%)	40.75 ± 3.76	40.0–54.0
White blood cell (10^3 cell/ul)	5.83 ± 10.7	4.50–11.00
Red blood cell (10^6 cells/ul)	4.89 ± 0.64	4.60–6.20
Platelet count (10^3 cell/ul)	260.17 ± 47.99	150–450

Table 1 (cont.) Baseline demographic and clinical characteristic data of participants

Demographic data	Total (n = 11)	Reference range
Neutrophils (%)	53.75 ± 8.08	40.0–75.0
Lymphocyte (%)	35.50 ± 6.92	20.0–50.0
Monocyte (%), Median (IQR)	5.0 (5.0–6.0)	2.0 –10.0
Eosinophil (%)	4.42 ± 2.78	1.0–6.0
Basophil (%)	0.75 ± 0.45	0.00–1.00
C-Reactive Protein (mg/dl), Median(IQR)	0.9 (0.3–5.8)	< 1.0
Glucose (mg/dl)	87.5 ± 6.80	74–100
BUN (mg/dl)	12.63 ± 3.75	8.9–25.7
Creatinine (mg/dl)	0.79 ± 0.19	0.73–1.18
Uric acid (mg/dl)	5.07 ± 0.99	Male 4–8.5 Female 2.7–7.3
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	109.00 ± 14.17	> 90
ALP (U/L)	54.72 ± 7.43	40–150
Direct bilirubin (mg/dl), Median (IQR)	0.16 (0.12–0.27)	0.2–0.6
Total bilirubin (mg/dl)	0.51 ± 0.29	0.20–1.20
Total protein (g/dl)	7.55 ± 0.53	6.4–8.3
AST (U/L)	17.91 ± 2.77	11–34
ALT (U/L), Median (IQR)	11 (11 – 16)	0–55
Globulin (g/dl)	3.33 ± 0.42	2.0–3.3
Albumin (g/dl)	4.24 ± 0.21	3.5–5.0
Cholesterol (mg/dl)	187.33 ± 32.83	< 200
HDL- Cholesterol (mg/dl)	63.50 ± 13.95	40–60
LDL- Cholesterol (mg/dl)	110.92 ± 20.65	100–159
Triglyceride (mg/dl), Median (IQR)	56 (57–65)	< 150
Sodium (mmol/L)	138.25 ± 1.66	136–145
Potassium (mmol/L)	3.91 ± 0.31	3.5–5.1
Chloride (mmol/L)	101.25 ± 2.09	98–107
Total CO ₂ (mmol/L)	23.42 ± 1.44	22.0–26.0

* BMI was defined as the body mass divided by the square of the body height.

Data represent Mean ± S.D. (normally distributed data). Data represent Median (IQR) (not normally distributed data). Decimal numbers were reported according to laboratory standard of Chula Clinical Research Laboratory, Chula Clinical Research Center, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

**ผลการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ของสารสกัด
กระชายรูปแบบแคปซูล หลังรับประทานแบบบริหาร
ยาหลายครั้ง (Multiple dose)**

จากการให้สารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลขนาด 1,350 mg เป็นเวลา 7 วัน โดยสารสกัดกระชายมีปริมาณสารสำคัญคือ pinostrobin 30.9 mg ต่อแคปซูลและ panduratin A 9 mg ต่อแคปซูล แล้วเก็บเลือดที่เวลาต่าง ๆ นำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของยาในพลาสมาด้วยเทคนิค HPLC พบว่า ตัวอย่างพลาสมาของผู้เข้าร่วมวิจัยในวันที่ 1 ก่อนรับประทานสารสกัดกระชาย ไม่พบทั้งปริมาณ Pinostrobin และ Panduratin A หลังจากผู้เข้าร่วมวิจัยรับประทานสารสกัดกระชาย พบว่าระดับความเข้มข้นสูงสุดของยา (C_{max}) ของ pinostrobin และ panduratin A ของผู้เข้าร่วมวิจัย 11 คน เท่ากับ 8.07 ± 5.71 และ 29.58 ± 12.54 ng/ml ตามลำดับ ที่เวลา (T_{max}) 2.67 ± 0.89 และ 3.00 ± 0.95 h ตามลำดับ หลังจากผู้เข้าร่วมวิจัยได้รับสารสกัด ร่างกายมีระดับยาสะสม (AUC_{0-4}) เท่ากับ 20.03 ± 20.13 และ 62.40 ± 33.79 h*ng/ml ตามลำดับ ดัง Table 2 ตัวอย่างพลาสมาของผู้เข้าร่วมวิจัยในวันที่ 7 ก่อนรับประทานสารสกัดกระชาย (C_{min})

มีปริมาณของ pinostrobin และ panduratin เท่ากับ 3.77 ± 1.38 และ 12.98 ± 4.90 ng/ml ตามลำดับ หลังจากผู้เข้าร่วมวิจัยรับประทานสารสกัดกระชาย พบว่าระดับความเข้มข้นสูงสุดของยา (C_{max}) ของ pinostrobin และ panduratin A ของผู้เข้าร่วมวิจัย 11 คน เท่ากับ 15.07 ± 6.65 และ 63.26 ± 21.73 ng/ml ตามลำดับ หลังจากผู้เข้าร่วมวิจัยได้รับสารสกัด ร่างกายมีระดับยาสะสม (AUC_{0-4}) เท่ากับ 23.39 ± 9.26 และ 90.52 ± 30.92 h*ng/ml ตามลำดับ พื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นกับเวลา (AUC_{inf}) เท่ากับ 183.33 ± 62.48 และ 700.13 ± 185.77 h*ng/ml ตามลำดับ อัตราการกำจัดยาออกจากร่างกาย (Kel) เท่ากับ 0.09 ± 0.03 และ 0.14 ± 0.03 1/h ตามลำดับ ค่าครึ่งชีวิต (Half life) เท่ากับ 8.07 ± 2.93 และ 5.51 ± 2.62 h ตามลำดับ (Table 2) และเมื่อนำข้อมูลทั้งหมดมาทำการเขียนกราฟ (Figure 2 and Figure 3) พบว่า ปริมาณของ panduratin A ในตัวอย่างพลาสมาเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในวันที่ 1 ถึงวันที่ 7 ทำให้พบแนวโน้มว่า ร่างกายมีการสะสม panduratin A ในเลือดเพิ่มขึ้น โดยปริมาณของ panduratin A ในตัวอย่างพลาสมา นั้นมีปริมาณมากกว่า pinostrobin

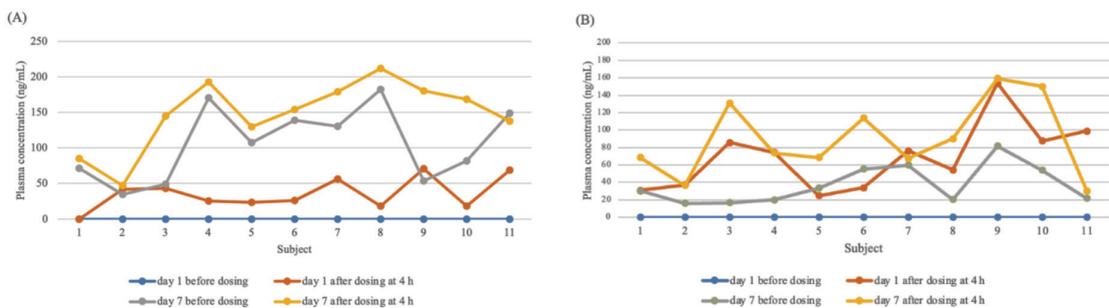


Figure 2 Individual plasma concentration of pinostrobin (A) and panduratin A (B) before and after multiple dose oral administration of 1,350 mg *Krachai* capsules at day 1 and day 7

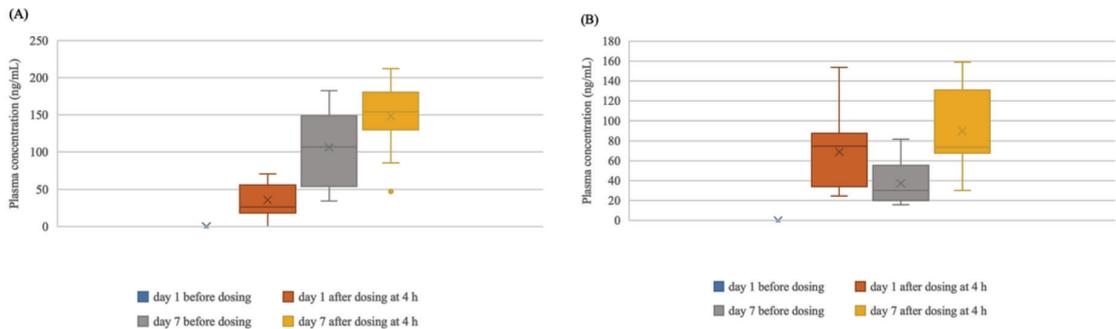


Figure 3 Mean of plasma concentration of pinostrobin (A) and panduratin A (B) before and after multiple dose oral administration of 1,350 mg *Krachai* capsules at day 1 and day 7

Table 2 Pharmacokinetic parameters of pinostrobin and panduratin A after oral administration of *Krachai* extract at day 1 and day 7

Pharmacokinetic parameters	Multiple dose (1,350 mg)			
	Pinostrobin		Panduratin A	
	Day 1	Day 7	Day 1	Day 7
C_{max} (ng/ml)	8.07 ± 5.71	15.07 ± 6.65	29.58 ± 12.54	63.26 ± 21.73
C_{min} (ng/ml)	NA	3.77 ± 1.38	NA	12.98 ± 4.90
T_{max} (h)	2.67 ± 0.89	NA	3.00 ± 0.95	NA
AUC_{0-4} (h*ng/ml)	20.03 ± 20.13	23.39 ± 9.26	62.40 ± 33.79	90.52 ± 30.92
AUC_{inf} (h*ng/ml)	NA	183.33 ± 62.48	NA	700.13 ± 185.77
Kel (1/h)	NA	0.09 ± 0.03	NA	0.14 ± 0.03
$T_{1/2}$ (h)	NA	8.07 ± 2.93	NA	5.51 ± 2.62

NA: Not analysis

ความปลอดภัย

การรับประทานสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลที่ควบคุมคุณภาพให้โดยการกินวันละ 3 ครั้ง (1,350 mg/day) ต่อเนื่องกันเป็นเวลา 7 วัน ไม่พบรายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ร้ายแรง แต่มีผู้เข้าร่วมวิจัย จำนวน 1 ราย ที่มีอาการเวียนศีรษะ ในวันที่ 1 เนื่องจากกลัวเข็มเจาะเลือด เมื่อเปรียบเทียบผลทางห้องปฏิบัติการวันที่ 1 และวันที่ 7 พบว่า ระดับของค่า WBC, PLT, Neutrophils, eGFR, Total bilirubin, AST, Cholesterol, LDL, Triglyceride, Na, K และ CO_2 เพิ่มขึ้น โดย CO_2 มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ (p -value = 0.01) และระดับของค่า Hb, Hct, RBC, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil, C-Reactive Protein (CRP), Glucose, BUN, Cr, Uric acid, ALP, Direct bilirubin, Total protein, ALT, Globulin, Albumin, HDL และ Chloride ลดลง โดย Hgb, Hct, RBC, CRP และ BUN มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < 0.05) ซึ่งถึงแม้ผลทางห้องปฏิบัติการดังกล่าวจะมีการเปลี่ยนแปลง แต่อย่างไรก็ตามผลดังกล่าวยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ และเมื่อหยุดรับประทานสารสกัดกระชาย 3 วัน ผลการเปรียบเทียบระหว่าง วันที่ 1 และ หลัง

หยุดรับประทานสารสกัด (วันที่ 10) พบว่าผลทางห้องปฏิบัติการของผู้เข้าร่วมวิจัยที่เปลี่ยนไป คือ ระดับของค่า WBC, PLT, Neutrophils, eGFR, Total bilirubin, AST, Cholesterol, LDL, Triglyceride, Na, K และ CO₂ ที่เพิ่มขึ้น และระดับของค่า Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil, CRP, Glucose, BUN, Cr, Uric acid, ALP, Direct bilirubin, Total

protein, ALT, Globulin, Albumin, HDL และ Cl ที่ลดลง กลับคืนมาได้เมื่อหยุดยา 3 วัน ซึ่งผลดังกล่าวยังอยู่ในเกณฑ์ปกติและไม่มีมีความแตกต่างกัน ยกเว้นค่า Hb, Hct, RBC และ Eosinophil มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < 0.05) โดยมีค่าลดลงแต่อย่างไรก็ตามยังคงอยู่ในเกณฑ์ปกติ (Table 3)

Table 3 Safety after multiple dose oral administration of *Krachai* extract capsules in different day (n = 11)

Safety Assessments	Difference	p -values	Difference	p -values
	D1 vs D7		D1 vs D10	
Hemoglobin (g/dl)	0.70 ± 0.67	< 0.01*	1.21 ± 0.69	< 0.01*
Hematocrit (%)	1.81 ± 2.22	0.02*	3.45 ± 2.33	< 0.01*
Red blood cell (Mcells/mm ³)	0.26 ± 0.22	< 0.01*	0.42 ± 0.24	< 0.01*
White blood cell (10 ³ cell/uL)	-132.27 ± 1304.95	0.74	347.27 ± 1187.80	0.36
Platelet count (10 ³ cell/ul)	-23.63 ± 43.56	0.10	-1.00 ± 48.36	0.95
Neutrophils; N (10 ³ cell/ul)	-4.72 ± 8.54	0.09	0.90 ± 16.54	0.86
Lymphocyte; L (10 ³ cell/ul)	3.45 ± 7.86	0.17	1.90 ± 7.96	0.44
Monocyte; M (10 ³ cell/ul)	0.63 ± 1.74	0.26	0.63 ± 2.38	0.39
Eosinophil (%)	0.63 ± 1.02	0.07	0.72 ± 0.78	0.02†
Basophil (%)	0.00 ± 0.45	1.00	-0.09 ± 0.30	0.34
C-Reactive Protein (mg/L)	2.25 ± 3.66	0.04†	2.35 ± 3.82	0.04†
Glucose (mg/dL)	0.90 ± 4.21	0.49	-0.72 ± 6.54	0.72
BUN (mg/dL)	2.85 ± 3.28	0.02†	1.47 ± 3.89	0.24
Creatinine (mg/dL)	0.02 ± 0.90	0.36	0.02 ± 0.06	0.35
Uric acid (mg/dL)	0.60 ± 0.65	0.59	0.07 ± 0.13	0.81
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	-2.36 ± 11.59	0.51	-1.54 ± 8.08	0.54
Alkaline Phosphatase (U/L)	2.18 ± 6.09	0.26	3.36 ± 5.54	0.07
Direct bilirubin (mg/dL)	0.03 ± 0.10	0.35	0.02 ± 0.09	0.45
Total bilirubin (mg/dL)	-2.20 ± 7.44	0.35	0.04 ± 0.31	0.66
Total protein (g/dL)	0.12 ± 0.32	0.25	0.24 ± 0.54	0.16
Aspartate Transaminase (U/L)	-0.63 ± 2.46	0.41	-1.18 ± 4.71	0.42
Alanine Transaminase (U/L)	0.72 ± 3.32	0.48	-0.18 ± 3.42	0.86
Globulin (g/dL)	0.10 ± 0.16	0.05	0.14 ± 0.33	0.18
Albumin (g/dL)	0.00 ± 0.21	1.00	0.09 ± 0.25	0.26
Cholesterol (mg/dL)	-9.45 ± 17.36	0.10	-6.81 ± 19.23	0.27
HDL- Cholesterol (mg/dL)	0.45 ± 6.86	0.83	1.09 ± 4.92	0.10
LDL- Cholesterol (mg/dL)	-7.36 ± 16.51	0.17	-9.36 ± 17.26	0.11
Triglyceride (mg/dL)	-27.18 ± 45.62	0.08	-5.90 ± 27.52	0.49
Sodium (mmol/L)	-1.18 ± 2.04	0.08	-0.63 ± 2.42	0.40
Potassium (mmol/L)	-0.13 ± 0.25	0.10	0.10 ± 1.05	0.75
Chloride (mmol/L)	0.54 ± 1.36	0.21	-0.09 ± 1.58	0.85
Total CO ₂ (mmol/L)	-1.36 ± 1.43	0.01*	-0.18 ± 2.48	0.81

*Paired t -test; † Wilcoxon signed-rank test; Decimal numbers were reported according to laboratory standard of Chula Clinical Research Laboratory, Chula Clinical Research Center, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

ค่าบ่งชี้การอักเสบในร่างกาย

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล ระดับ C-Reactive Protein ก่อนและหลังรับประทานสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลในผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีสุขภาพดี เปรียบ

เทียบระหว่างวันที่ 1 วันที่ 3 และวันที่ 7 เท่ากับ 3.96 ± 6.89 , 1.23 ± 1.35 และ $0.54 \pm 0.42 \mu\text{g/l}$ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} = 0.04$) (Table 4)

Table 4 C-Reactive Protein Before (day1) and after (day 3 and 7) multiple dose oral administration of *Krachai* extract capsules

Clinical laboratory	Day 1 (n = 11)	Day 3 (n = 11)	Day 7 (n = 11)	p-values
C-Reactive Protein (mg/L)	3.96 ± 6.89	1.23 ± 1.35	0.54 ± 0.42	0.04*

* Generalized estimating equations

อภิปรายผล

ที่ผ่านมายังไม่เคยมีการรายงานถึงเภสัชจลนศาสตร์ของ pinostrobin และ panduratin A ในมนุษย์มีเพียงการศึกษาาระดับก่อนคลินิก โดยสาร pinostrobin มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 270.28 g/mol มีค่า Partition coefficient (XlogP) 3.1^[23] ส่วนของ panduratin A มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 406.5 g/mol มีค่า Partition coefficient (XlogP) 7.08 (PubChem 2004) คุณสมบัติทางเคมีของ panduratin A มีค่า logP สูง ซึ่งหมายถึงความสามารถในการละลายน้ำต่ำและนำไปสู่การดูดซึมทางปากต่ำ^[24] ค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ของ pinostrobin ในหนูแรทที่ได้รับสารทดสอบทางปากขนาด 0.50 mg/kg และวิเคราะห์ด้วยวิธี LC-MS/MS สามารถตรวจพบระดับสารอยู่ในช่วง 0.01-1 mg/ml พบว่าสารนี้มีค่า Time to maximum concentration (T_{max}) ที่ประมาณ 4 h และค่า Half-life ($T_{1/2}$) ที่ประมาณ 4 h เช่นกัน โดยมีระดับสารสูงสุด (C_{max}) คือ 0.60 mg/ml สำหรับค่าทางเภสัช

จลนศาสตร์ของ panduratin A ในสุนัขพันธุ์บีเกิ้ลที่ได้รับสารสกัดกระชายทางปาก ขนาด 5 และ 10 mg/kg พบว่า C_{max} คือ $12,416 \pm 2,326$ และ $26,319 \pm 8,221 \mu\text{g/l}$ ตามลำดับ การเพิ่มขนาดยาทางปากของสารสกัดกระชาย ซึ่งเทียบเท่ากับ 5-10 mg/kg แสดงให้เห็นสัดส่วนของขนาดยา โดยมี C_{max} และ AUC เพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า การดูดซึม ประมาณ 7-9%^[25] การศึกษาครั้งนี้พบว่าพื้นที่ใต้กราฟ (AUC_{inf}) ระหว่างความเข้มข้นของ pinostrobin และ panduratin A ในพลาสมา กับเวลาของผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีสุขภาพดี มีค่า 183.33 ± 62.48 และ $700.13 \pm 185.77 \text{ ng} \cdot \text{h/ml}$ ตามลำดับ ซึ่งโดยทั่วไป AUC จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยาที่ให้ เวลาการให้ยา ความสามารถในการดูดซึมและการกระจาย การกำจัดยาและช่องทางการให้ยา สาร pinostrobin ส่วนใหญ่จะกระจายตัวออกจากหลอดเลือดที่เป็น hydrophilic portion เข้าสู่อวัยวะต่าง ๆ อันเป็นผลทำให้การเปลี่ยนแปลงสภาพและการขับออกเกิดได้ช้า โดยการเปลี่ยนแปลงสภาพจะเกิด

ผ่านกระบวนการ Phase II glucuronidation เป็นหลักในสัตว์ฟันแทะและถูกขับออกในรูป Metabolites มากกว่า Unchanged form^[26-27] สอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ ที่พบว่าสาร panduratin A มีแนวโน้มสะสมในกระแสเลือดมนุษย์ได้สูงกว่าสาร pinostrobin โดยโมเลกุลของสาร panduratin A มักจะอยู่ในช่องเนื้อเยื่อมากกว่าที่จะไหลเวียนในกระแสเลือด สอดคล้องกับ Won และคณะ^[28] รายงานว่าหนูแรทที่ได้รับสารสกัดเอทานอล 95% ของเหง้ากระชายทางปาก แสดงให้เห็นถึงการกระจายของ panduratin A ไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยผิวหนังมากที่สุดและรองลงมาคือ ปอด หัวใจ เหงือก ตับ ม้าม ไต และสมอง ตามลำดับ ทำให้เกิดการสะสมในร่างกายได้มากกว่า โดยจะมีระดับ panduratin A สูงสุดที่ (C_{max}) $1.12 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$ หลังจาก (T_{max}) 3 h จากนั้นสลายตัวแบบ biexponentially ค่าครึ่งชีวิต ($T_{1/2}$) อยู่ที่ประมาณ 9 h ค่า clearance (Cl/F) คือ $2.33 \pm 0.68 \text{ L} \cdot \text{h/kg}$ ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าปริมาณของ pinostrobin และ panduratin A ในตัวอย่างพลาสมาที่มีการลดลงอย่างรวดเร็ว จากความเข้มข้นสูงสุด (C_{max}) ที่เวลา 1-3 และ 2-3 h ตามลำดับ ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($T_{1/2}$) ของ Pinostrobin และ Panduratin A อยู่ที่ 6-10 และ 3-7 h ตามลำดับ โดยค่าครึ่งชีวิตเป็นดัชนีบ่งชี้อัตราการกำจัดยาซึ่งจะสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ pinostrobin และ panduratin A ในร่างกายของผู้เข้าร่วมวิจัยที่เวลาต่าง ๆ หลังจากได้รับสารสกัด การศึกษาครั้งนี้เป็นการบริหารยาหลายครั้ง ซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นของ pinostrobin และ panduratin A แต่ละเวลาสะสมเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ อย่างไรก็ดีตามปริมาณของ pinostrobin และ panduratin A เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในวันที่ 1 ถึงวันที่ 7 ทำให้พบแนวโน้มว่าร่างกายมีการสะสม (AUC_{inf}) pinostrobin และ

panduratin A ในเลือดเพิ่มขึ้น โดยปริมาณของ panduratin A ในตัวอย่างพลาสมานั้นมีปริมาณมากกว่า pinostrobin

ด้านความปลอดภัย พบว่า การรับประทานสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลที่ควบคุมคุณภาพให้โดยการกินวันละ 3 ครั้ง (1,350 mg/day) ต่อเนื่องกันเป็นเวลา 7 วัน มีความปลอดภัย สอดคล้องกับการศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะย่อยอาหารผิดปกติ (functional dyspepsia) จำนวน 160 ราย ที่รับประทานสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลขนาด 350 mg ต่อครั้ง วันละ 3 ครั้ง ต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ผลห้อยปฏิบัติการณ์การปกติและไม่พบอาการไม่ประสงค์^[29]

ค่าการอักเสบในร่างกาย (C-Reactive protein) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่สูงขึ้นจากตับเพื่อตอบสนองต่อการอักเสบในร่างกาย โดยสารเคมีชนิดนี้จะจับเข้ากับเซลล์ที่ตายแล้วหรือเซลล์ที่เสียหายรุนแรงและกำลังจะตาย ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเพื่อเสริมสร้างแมคโครฟาจ (macrophage) เซลล์เม็ดเลือดขาวที่ช่วยกำจัดเซลล์ผิดปกติหรือสิ่งแปลกปลอม ทำให้การตรวจหาค่า CRP ถูกนำมาใช้ตรวจวินิจฉัยภาวะอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสหรือการติดเชื้ออื่น ๆ ซึ่งการศึกษาครั้งนี้พบว่า ระดับ CRP ก่อนและหลังรับประทานสารสกัดกระชายรูปแบบแคปซูลในผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีสุขภาพดี วันที่ 1 และวันที่ 7 มีแนวโน้มลดลงระหว่างที่รับประทานสารสกัดกระชาย โดยมีค่าเท่ากับ 3.96 ± 6.89 และ $0.54 \pm 0.42 \text{ mg/l}$ ตามลำดับ ($p\text{-value} = 0.04$) สอดคล้องกับ Taned และคณะ^[4] ที่ให้สารสกัดกระชายในรูปแบบแคปซูลขนาด 350 mg ต่อครั้ง วันละ 3 ครั้ง ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะย่อยอาหารผิดปกติ (functional dyspepsia) จำนวน 160 ราย และรับประทานต่อเนื่อง

เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยเป็นการทดลองแบบสุ่ม double-blinded placebo-controlled trial ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่รับสารสกัดกระชายมีอาการโดยรวมดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ มากกว่ากลุ่มที่รับยาหลอก การศึกษาทางคลินิก พบว่า การรับประทานสารสกัดกระชายต่อเนื่อง 4 สัปดาห์ ทำให้ระดับ procalcitonin, erythrocyte sedimentation rate (ESR), CRP และเม็ดเลือดขาวลดลง ซึ่งแสดงถึงฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดกระชาย^[29] นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ eGFR ในช่วงรับประทานสารสกัดกระชายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเมื่อเปรียบเทียบกับวันที่ 1 และ 7 มีค่าเท่ากับ $-2.36 \pm 11.59 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ ($p\text{-value} = 0.51$) และเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงวันหลังหยุดรับประทาน คือ วันที่ 1 และวันที่ 10 มีค่าเท่ากับ $-1.54 \pm 8.08 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ ($p\text{-value} = 0.54$) การศึกษาปัจจุบันพบความสัมพันธ์เชิงผกผันระหว่าง CRP กับ eGFR โดยที่ CRP ลดลงเมื่อค่า eGFR เพิ่มขึ้น ดังนั้นเมื่อระดับ CRP ลดลง อาจสามารถสะท้อนการทำงานของไตที่ทำงานดีขึ้นได้^[30-33]

ข้อสรุป

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การรับประทานสารสกัดกระชายที่มีปริมาณสารสำคัญแน่นอนคือ มี pinostrobin ไม่น้อยกว่า 270 mg/day และ panduratin A ไม่น้อยกว่า 81 mg/day ติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน มีความปลอดภัยต่อผู้เข้าร่วมวิจัยและสารสกัดกระชายมีแนวโน้มลดการอักเสบได้ และข้อมูลปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์นี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในการกำหนดแนวปฏิบัติการใช้สารสกัดกระชายที่มีประสิทธิผลเพื่อการดูแลสุขภาพควบคุมโรคและเป็นแนวทางการศึกษาทางคลินิกระยะต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ทางคณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้บริหารกรรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกที่ให้การสนับสนุนคณะผู้วิจัยตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาและขอขอบคุณสำนักงานบริหารกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย กรรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกสำหรับทุนสนับสนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2564 รวมถึงบริษัท แก้วมังกรเภสัช จำกัด ในการสนับสนุนผลิตภัณฑ์สารสกัดกระชาย ทีมคณาจารย์จากสถาบันการแพทย์จักรีนฤพดินทร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการค้นหาตัวยา (Excellent Center for Drug Discovery) มหาวิทยาลัยมหิดลและห้องปฏิบัติการ Chula Pharmacokinetic Research Center ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ด้านการสนับสนุนการดำเนินงานตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา

References

1. The plant list version 1.1. *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf [Internet]. 2013 [cited 2021 Aug 12]. Available from: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-221874>
2. Tewtrakul S, Subhadhirasakul S, Karalai C, Ponglimanont C, Cheenpracha S. Anti-inflammatory effects of compounds from *Kaempferia parviflora* and *Boesenbergia pandurata*. Food chemistry. 2009;115(2):534-8.
3. Pramai J. Thai pharmacy textbook. Bangkok: Ayurveda school (Chiwaka komaraphat); 2016 (in Thai)
4. Chitapanarux T, Lertprasertsuke N, Toworakul C. Efficacy and safety of fingerroot (*Boesenbergia rotunda*) extract in patients with functional dyspepsia: a randomized, placebo-controlled trial. Digestion. 1964;102(4):599-606.
5. The national drug system development committee. Announcement of the national drug system development committee on the national main drug account (no. 2)

- [Internet]. 2013 [cited 2021 Aug 12]. Available from: https://ttm.skto.moph.go.th/document_file/pr008.pdf
- Bhamarapavati S, Juthapruth S, Mahachai W, Mahady G. Antibacterial activity of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. and *Myristica fragrans* Houtt. against *Helicobacter pylori*. *Songklanakarin journal of science and technology*. 2006;28(1):157-63.
 - Morakinyo A, Adeniyi O, Arikawe A. Effects of *Zingiber officinale* on reproductive functions in the male rat. *African Journal of biomedical research*. 2008;11(3):329-34.
 - Sudwan P, Saenphet K, Aritajat S, Sitasuwan N. Effects of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. on sexual behaviour of male rats. *Asian journal of andrology*. 2007;9(6):849-55.
 - Choi S, Kim C, Son H, Hwang JK, Kang W. Estimation of an appropriate human dose of *Boesenbergia pandurata* extracts based on allometric scaling data of panduratin A in mice, rats, and dogs. *Journal of medicinal food*. 2020;23(4):453-8.
 - Kiat TS, Phippen R, Yusof R, Ibrahim H, Khalid N, Abd Rahman N. Inhibitory activity of cyclohexenyl chalcone derivatives and flavonoids of fingerroot, *Boesenbergia rotunda* (L.), towards dengue-2 virus NS3 protease. *Bio-organic & medicinal chemistry letters*. 2006;16(12):3337-40.
 - Kirana C, Record IR, McIntosh GH, Jones GP. Screening for antitumor activity of 11 species of Indonesian zingiberaceae using human mcf-7 and ht-29 cancer cells. *Pharmaceutical biology*. 2003;41(4):271-6.
 - San HT, Khine HEE, Sritularak B, Prompetchara E, Chaatham C, Che C-T, Likhitwitayawuid K. Pinostrobin: an adipogenic suppressor from fingerroot (*Boesenbergia rotunda*) and its possible mechanisms. *Foods*. 2022;11(19):3024.
 - Kim M, Choi S, Noh K, Kim C, Kim E, Hwang J-K, Kang W. Determination of panduratin A in rat plasma by hplc-ms/ms and its application to a pharmacokinetic study. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2017;137:151-4.
 - Sun X, Liu X, Chen S. The pharmacokinetics, tissue distribution, metabolism, and excretion of pinostrobin in rats: ultra-high-performance liquid chromatography coupled with linear trap quadrupole orbitrap mass spectrometry studies. *Frontiers in pharmacology*. 2020;11:574638.
 - Charoensin S, Punvittayagul C, Pompimon W, Mevatee U, Wongpoomchai R. Toxicological and clastogenic evaluation of pinocembrin and pinostrobin isolated from *Boesenbergia pandurata* in Wistar rats. *Thai journal of toxicology*. 2010;25(1):29.
 - Kanjanasirirat P, Suksatu A, Manopwisedjaroen S, Munyoo B, Tuchinda P, Jearawuttanakul K, Seemakhan S, Charoensutthivarakul S, Wongtrakoongate P, Rangkasenee N, Pitiporn S, Waranuch N, Chabang N, Khemawoot P, Sangiamsuntorn K, Pewkliang Y, Thongsri P, Chutipongtanate S, Hongeng S, Borwornpinyo S, Thitithanyanont A. High-content screening of Thai medicinal plants reveals *Boesenbergia rotunda* extract and its component panduratin A as anti-SARS-CoV-2 agents. *Scientific reports*. 2020;10(1):1996.
 - Isa NM, Abdelwahab SI, Mohan S, Abdul AB, Sukari MA, Taha MME, Syam S, Narrima P, Cheah SCh, Ahmad S, Mustafa MR. *In vitro* anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of boesenbergin A, a chalcone isolated from *Boesenbergia rotunda* (L.)(fingerroot). *Brazilian journal of medical and biological research*. 2012;45:524-30.
 - Sarathong P, Saenphet S, Saenphet K. Safety evaluation of ethanol extracts from *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. in male rats. *Trends research in science and technology*. 2010;2(1):19-22.
 - Pattamadilok D, Sakpetch A, Thiemthieprat P, Thanariyaroj S, Chuennangchee V, Marsud S, Ontong S. Physico-chemical properties of fingerroot (*Boesenbergia rotunda*) crude drug. *Journal of thai traditional and alternative medicine* 2022;20(1):131-41.
 - Kongratanasert T, Kongsomros S, Arya N, Sutummaporn K, Wiriyarat W, Akkhawattanangkul Y, Boonyaratanasoonthorn T, Asavapanumas N, Kanjanasirirat P, Suksatu A, Sangiamsuntorn K, Borwornpinyo S, Vivithanaporn P, Chutipongtanate S, Hongeng S, Ongphiphadhanakul B, Thitithanyanont A, Khemawoot P, Sritara P. Pharmacological activities of fingerroot extract and its phytoconstituents against SARS-CoV-2 infection in golden syrian hamsters. *Journal of experimental pharmacology*. 2023;13:26.
 - Food and drug administration. Guidance for industry: estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. Center for drug evaluation and research. 2005.
 - Committee for medicinal products for human use. Guideline on the investigation of bioequivalence. European medicines agency. 2010. [Internet]. 2017 [cited 2024 Apr

- 8]. Available from: <https://drug.fda.moph.go.th/media.php?id=526215465320718336&name=105%20ASEAN-Guideline-Conduct-Bioequivalence.PDF>
23. National center for biotechnology information. Pubchem compound summary for cid 6950539: Pinostrobin. Bethesda (MD). [Internet]. 2004 [cited 2020 Oct 11]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pinostrobin>
24. National center for biotechnology information. Pubchem compound summary for cid 6483648: Panduratin. Bethesda (MD) [Internet]. 2004 [cited 2020 Oct 11]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Panduratin-A>
25. Boonyarattanasoonthorn T, Kongratanapasert T, Jiso A, Techapichetvanich P, Nuengchamnonng N, Supannapan K, Kijitawornrat A, Khemawoot P. Absolute oral bioavailability and possible metabolic pathway of panduratin A from *Boesenbergia rotunda* extract in beagle dogs. *Pharmaceutical biology*. 2023;61(1):590-97.
26. Hua X, Fu Y-J, Zu Y-G, Zhang L, Wang W, Luo M. Determination of pinostrobin in rat plasma by lc-ms/ms: application to pharmacokinetics. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2011;56(4):841-5.
27. Sayre CL, Alrushaid S, Martinez SE, Anderson HD, Davies NM. Pre-clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic characterization of selected chiral flavonoids: pinocembrin and pinostrobin. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*. 2015;18(4):368-95.
28. Won J, Noh K, Hwang J-K, Shin BS, Kang W. Pharmacokinetics of panduratin a following oral administration of a *Boesenbergia pandurata* extract to rats. *Journal of food and drug analysis*. 2021;29(4):676.
29. Kim DU, Chung HC, Kim C, Hwang JK. Oral intake of *Boesenbergia pandurata* extract improves skin hydration, gloss, and wrinkling: a randomized, double-blind, and placebo-controlled study. *Journal of cosmetic dermatology*. 2017;16(4):512-9.
30. Fox ER, Benjamin EJ, Sarpong DF, Nagarajao H, Taylor JK, Steffes MW, Salahudeen AK, Flessner MF, Akyzbekova EL, Fox CS, Garrison RJ, Taylor HA. The relation of C-reactive protein to chronic kidney disease in African Americans: the jackson heart study. *BMC nephrology*. 2010;11(1):1-7.
31. Menon V, Wang X, Greene T, Beck GJ, Kusek JW, Marcovina SM, Levey AS, Sarnak MJ. Relationship between C-reactive protein, albumin, and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *American journal of kidney diseases*. 2003;42(1):44-52.
32. Dittrich A, Ashton NJ, Zetterberg H, Blennow K, Zettergren A, Simrèn J, Skillbäck T, Shams S, Machado A, Westman E, Schöll M, Skoog I, Kern S. Association of chronic kidney disease with plasma nfl and other biomarkers of neurodegeneration. *Neurology*. 2023;101(3):277-88.
33. Navarro-González JF, Mora-Fernández C, Muros M, Herrera H, García J. Mineral metabolism and inflammation in chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Clinical journal of the american society of nephrology*. 2009;4(10):1646-54.