



THE CLINICAL SAFETY AND PHARMACOKINETICS OF SAHASTARA
REMEDY ETHANOLIC EXTRACT CAPSULES IN HEALTHY
VOLUNTEERS (CLINICAL TRIAL PHASE 1)

BY

MR. PURITAT KANOKKANGSADAL

A DISSERTATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY IN
APPLIED THAI TRADITIONAL MEDICINE
FACULTY OF MEDICINE
THAMMASAT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2017
COPYRIGHT OF THAMMASAT UNIVERSITY

THE CLINICAL SAFETY AND PHARMACOKINETICS OF SAHASTARA
REMEDY ETHANOLIC EXTRACT CAPSULES IN HEALTHY
VOLUNTEERS (CLINICAL TRIAL PHASE 1)

BY

MR. PURITAT KANOKKANGSADAL



A DISSERTATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY IN
APPLIED THAI TRADITIONAL MEDICINE
FACULTY OF MEDICINE
THAMMASAT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2017
COPYRIGHT OF THAMMASAT UNIVERSITY

THAMMASAT UNIVERSITY
FACULTY OF MEDICINE

DISSERTATION

BY

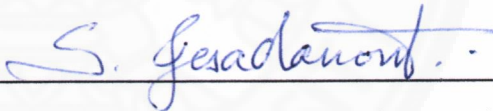
MR. PURITAT KANOKKANGSADAL

ENTITLED

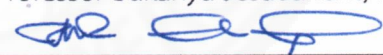
THE CLINICAL SAFETY AND PHARMACOKINETICS OF SAHASTARA REMEDY ETHANOLIC
EXTRACT CAPSULES IN HEALTHY VOLUNTEERS (CLINICAL TRIAL PHASE 1)

was approved as partial fulfillment of the requirements for
the degree of doctor of philosophy in applied Thai traditional medicine
on July 11, 2018

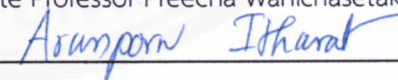
Chairman


(Associate Professor Sukanya Jesadanont, Ph.D.)

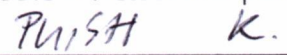
Member and Advisor


(Associate Professor Preecha Wanichasetakul, M.D.)

Member and Co-advisor


(Associate Professor Arunporn Itharat, Ph.D.)

Member and Co-advisor


(Assistant Professor Phisit Khemawoot, Ph.D.)

Member


(Associate Professor Piya Pinsornsak, M.D.)

Dean


(Associate Professor Dilok Piyayotai, M.D.)

Dissertation Title	THE CLINICAL SAFETY AND PHARMACOKINETICS OF SAHASTARA REMEDY ETHANOLIC EXTRACT CAPSULES IN HEALTHY VOLUNTEERS (CLINICAL TRIAL PHASE 1)
Author	MR. Puritat Kanokkangsadal
Degree	Doctor of Philosophy in Applied Thai Traditional Medicine
Faculty/University	Faculty of Medicine Thammasat University
Dissertation Advisor	Associate Professor Preecha Wanichsetakul, M.D.
Dissertation Co-Advisor	Associate Professor Arunporn Itharat, Ph.D.
Dissertation Co-Advisor	Assistant Professor Phisit Khemawoot, Ph.D.
Academic Years	2017

ABSTRACT

The Sahastara (SHT) remedy is a Thai traditional medicine that has long been used to treat muscle and joint pain. The SHT remedy was published in Thailand National List of Essential Medicine (NLEM). It contains 21 medicinal plants. The main ingredients are pepper (*Piper nigrum* Linn.) and long pepper (*Piper retrofractum* Vahl.) which have piperine as a major compound. The SHT remedy extract has high anti-inflammatory activity by inhibition of NO and PGE₂ (IC₅₀ = 2.81 µg/ml and 16.97±1.16 µg/ml, respectively). The SHT remedy extract did not show acute and chronic toxicity in the rat model. Moreover, the SHT remedy powder drug has good efficacy and safety to treat patients of knee osteoarthritis. This information indicated that SHT remedy has potential to be developed as a modern drug in extracted form. Thus, this study was the first investigation on clinical safety and pharmacokinetics of SHT remedy extract capsules in healthy volunteers.

The study was investigated to be in 2 parts including preclinical part and clinical part. The preclinical part was a study on quality standards of the SHT remedy

extract and capsules. The SHT remedy was extracted by 95% ethanol maceration. The anti-inflammatory activity with NO production inhibition by Griess reagent assay was performed as biological activity assessment while total phenolic content by Folin-Ciocalteu's reagent assay and the values of piperine content which was measured by HPLC were performed as chemical content assessment. The SHT remedy extract capsules were also quality-tested according to Thai herbal pharmacopeia including the moisture test (loss on drying), contamination test, weight variations and disintegration time. The SHT remedy extract capsules were kept in accelerated conditions (40 °C and 75%RH) for 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days according to stability test method of ICH harmonized tripartite guideline. Then, anti-inflammatory activity by NO inhibition and piperine content measurement by HPLC were performed with SHT remedy extract capsules at each time interval, compared with Day 0 which confirmed that anti-inflammatory activity and chemical content were not changed.

The preclinical results demonstrated that SHT remedy ethanolic extract has percentage of yield as 9.80%. The SHT remedy ethanolic extract had good quality which passed all standard criteria including anti-inflammatory activity by NO inhibition ($IC_{50}=6.274 \mu\text{g/ml}$), total phenolic compound ($42.69\pm3.18 \text{ mg.GAE/g.extract}$) and piperine content ($224.94 \text{ mg/g.extract}$). The SHT remedy ethanolic extract and its capsules also passed the standard criteria including moisture test, contaminant test, weight variations and disintegration time. The stability test of SHT remedy ethanolic extract capsules not only show no significant difference from day 0 but also they passed the acceptable criteria of SHT remedy extracts including anti-inflammatory activity and chemical content. These data meant that SHT remedy ethanolic extract capsules could be kept at room temperature for 2 years which covered the period of this study.

In clinical part, forty-eight healthy volunteers of both sexes and between 20-45 years of age were screened by history taking, complete physical examination and laboratory tests including complete blood count (CBC), lipid profile, renal function test, liver functions test, blood electrolyte and urine analysis. The healthy

volunteers were included in the study. Volunteers who had severe peptic ulcer, high blood pressure (systolic >140 mm.Hg. and diastolic > 90 mm.Hg.), impaired renal and liver functions were excluded from the study.

Twenty-four eligible volunteers were recruited into the clinical safety trial of SHT remedy ethanolic extract capsules in healthy volunteers. They were divided into 2 dose groups (6 males and 6 females each group) and were assigned to take 1 or 2 capsules of 100 mg of SHT extract orally 3 times a day before meals for 28 days. The follow-up including history taking, complete physical examination, liver function test and renal function test were performed every 14 days for 28 days and extended for 14 days after the volunteers finished taking SHT ethanolic extract capsules.

The SHT remedy ethanolic extract capsules in clinical trial phase 1 in healthy volunteers were quite safe for continuously use in humans for 28 days. The results show that the most common adverse events of 300 mg/day and 600 mg/day dose groups were abdominal discomfort (66.67% and 58.33% respectively). The severity effect was mild to moderate grade. Laboratory results show no significant difference between dose groups for AST, ALT, ALP, BUN and creatinine inclusively. ($P>0.05$) In addition, all values on 28 days have no significant different when compared with values at day 0 for both dose groups.

For pharmacokinetics study, twenty-four eligible volunteers were recruited into this study. The piperine content in SHT extract capsule with single oral dose in healthy volunteers were determined by HPLC. They were also divided into 2 dose groups (6 males and 6 females each group). They were assigned to take 100 or 200 mg of SHT remedy ethanolic extract capsules. Then, they were appointed for admission to hospital. The volunteers were required to have had nothing via a mouth at least 8 hours (fasting) before receiving SHT remedy ethanolic extract capsules. The volunteers received a single oral dose depending on which dose that they were assigned, 1 capsule for 100 mg dose or 2 capsules for 200 mg dose. Blood was collected in heparin tube before taking medicine (time 0) and after taking medicine as follows by: 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24 and 48 hours. All urine was collected over 24 hours after taking SHT capsules. Then, 100 ml sample was taken

for piperine measurement. The safety characteristic and symptoms were monitored over the whole study. The piperine concentration in blood and urine were determined by LC/MS/MS.

The pharmacokinetics of piperine following SHT administration showed rapid absorption and slowly excretion. The peak of piperine concentration was 3,766 ng/mL at 4.46 hours and 6,586 ng/mL at 1.88 hours in SHT 100 mg and 200 mg respectively. The SHT ethanolic extract capsules 200 mg had double the volume of distribution of piperine compared to 100 mg group (0.14 and 0.07 L/kg respectively). The piperine concentration in plasma was slightly decreased to baseline within 48 hours. The elimination half-life of piperine in 200 mg group showed approximately a 2-fold longer half-life than group of 100 mg (19.48 and 8.74 hours respectively). However, the piperine was not detectable in urine. A secondary maximum concentration was observed in this study. This phenomenon is common in enterohepatic recirculation.

From the present study it can be concluded that SHT remedy ethanolic extract capsules passed the acceptable standard criteria. It has a shelf-life of 2 years at room temperature which covered the period of the study. The SHT remedy was very safe to continue use in humans for 28 days. The SHT remedy did not show serious side effects and did not affect liver and renal functions in healthy volunteers. The piperine in SHT remedy ethanolic extract showed dose dependent manner the double dose of SHT can increase absorption, maximum concentration and residual time of piperine in human. However, this study suggested 100 mg of SHT dose 3 times a day was an appropriated dose to use in humans because it has less side effect than 200 mg dose which was also acceptable efficacy. Moreover, SHT dose was taken for 3 times a day can cover the half-life of piperine in SHT remedy ethanolic extract capsules.

Keywords: Sahastara remedy, Clinical safety, Anti-inflammation, Pharmacokinetics, Piperine,

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest appreciation to everyone who made it possible to complete this dissertation. My deepest gratitude is to my advisor Associate Professor Dr. Preecha Wanichsetakul. His support and advice were essential to achieve this dissertation. I appreciate his kindness and generosity.

I am especially grateful to my co-advisor Associate Professor Dr. Arunporn Itharat. Her advice and support have not only impacted this dissertation but also my life. Although, it has been quite a long journey to complete, she is still patient and kind to me. She has caring like a mother who caring for her son. Without her mercy and intelligence guidance this dissertation might not have been completed.

My sincere appreciation goes to another co-advisor Assistant Professor Dr. Phisit Khemawoot of the Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University. His useful advice and generous provision at Chulalongkorn University was an enormous help to me in analyzing the pharmacokinetics. This was an excellent opportunity to explore new experiences in education. My grateful thanks also extend to the staff at his lab.

I am most thankful to my committee chairman, Associate Professor Dr. Sukanya Jesdanont, and my committee member Associate Professor Dr. Piya Pinsornsak who pointed out my mistakes and gave the insightful and fatherly comments to solve problems.

I would like to thank the Thailand National Research Funding and Center of Excellence in Applied Thai Traditional Medicine Research for financial support in this research. Additionally, may I acknowledge the Ph.D. scholarship from Thammasat University to meet my tuition costs.

I am most thankful to all volunteers in this study. Without their great co-operation this study would have been more difficult than it has been. Thanks must also to Mr. Norman Mangnall for refining the English edition of my dissertation.

I also offer very big thanks to my colleagues and friends. Without them this journey would have been so long and less enjoyable. A special mention goes to

Dr. Thitinan Chaichumporn who always stood by my side whenever I needed help and she often push me forward to success.

Lastly and most importantly, I would like to thank you my dear family from the bottom of my heart because of you always encourage me. You are a fantastic energy charger when I am despondent. I am ever grateful for your unconditional love and understanding.

Mr. Puritat Kanokkangsadal



TABLE OF CONTENTS

	Page
ABSTRACTS	(1)
ACKNOWLEDGEMENT	(5)
LIST OF TABLES	(12)
LIST OF FIGURES	(14)
LIST OF ABBREVIATIONS	(15)
CHAPTER 1 INTRODUCTION	1
1.1 Research rationale	1
1.2 Objectives	2
1.3 Advantages expected	3
CHAPTER 2 REVIEW OF LITERATURE	4
2.1 Sahastara remedy	4
2.1.1 History	4
2.1.2 The Sahastara remedy in National List of Essential Medicines	4
2.1.3 The biological activities related with Sahastara remedy	6
2.1.3.1 Anti-inflammation activity	6
2.1.3.2 Anti-oxidant activity	10
2.1.4 The chemical marker of Sahastara remedy	12
2.1.4.1 Piperine	13
2.1.5 The toxicity of Sahastara remedy	14

2.1.6 The clinical study of Sahastara remedy	14
2.2 The pharmacokinetics	15
2.2.1 Absorption	16
2.2.2 Distribution	17
2.2.3 Metabolism	18
2.2.4 Elimination	19
2.3 The pharmacokinetics study of piperine	21
CHAPTER 3 RESEARCH METHODOLOGY	25
3.1 Preclinical part	25
3.1.1 Plants preparation	25
3.1.2 Extraction	25
3.1.3 Quality control of Sahastara remedy extract	27
3.1.3.1 Biological activity control	27
1) Nitric oxide production inhibition activity	27
3.1.3.2 Chemical control	29
1) Total phenolic compound by Folin-Ciocalteu's reagent	29
2) Piperine content by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	30
3.1.4 Encapsulating of Sahastara remedy ethanolic extract	32
3.1.4.1 Stability test	32
3.2 Clinical part	33
3.2.1 Research design	33
3.2.2 Subject	33
3.2.2.1 Inclusion criteria	33
3.2.2.2 Exclusion criteria	33
3.2.2.3 Discontinuation criteria	34
3.2.2.4 Stopping rule	34
3.2.3 Sample size	34

3.2.4 The clinical safety of Sahastara remedy ethanolic extract capsule	34
in healthy volunteers	
3.2.4.1 Drug and chemistry	34
3.2.4.2 Procedure	34
3.2.4.3 Data analysis	35
3.2.4.4 Ethical issue	35
3.2.5 The clinical pharmacokinetics of Sahastara remedy ethanolic	35
extract capsule in healthy volunteers	
3.2.5.1 Drug and chemistry	35
3.2.5.2 Procedure	35
3.2.5.3 Data analysis	36
3.2.5.4 Ethical issue	36
CHAPTER 4 RESULTS AND DISCUSSIONS	37
4.1 Preclinical part	37
4.1.1 Extraction	37
4.1.2 Quality control of Sahastara remedy ethanolic extract	37
4.1.2.1 Biological activity control	37
1) Nitric oxide production inhibition activity	37
4.1.2.2 Chemical control	38
1) Total phenolic compound by Folin-Ciocalteu's reagent	38
2) Piperine content by High Performance	39
Liquid Chromatography (HPLC)	
4.1.3 Encapsulating Sahastara remedy ethanolic extract	40
4.1.4 Stability test	41
4.1.4.1 Nitric oxide production inhibition test	42
4.1.4.2 Piperine Content by HPLC	42
4.2 Clinical part	44
4.2.1 The clinical safety of Sahastara remedy ethanolic extract	44
capsules in healthy volunteers	

4.2.1.1 Baseline Characteristics	44
4.2.1.2 Adverse Events (AEs)	45
4.2.1.3 Blood Pressure; BP	47
4.2.1.4 Renal functions	51
4.2.1.5 Liver functions	55
4.2.1.6 Blood chemistry (FBS, Lipid profile, Blood electrolyte)	59
4.2.1.7 Hematology (completed blood count: CBC)	62
4.2.2 The clinical pharmacokinetics of SHT remedy ethanolic extract capsules in healthy volunteers	64
4.2.2.1 Baseline Characteristics	64
4.2.2.2 LC-MS/MS analysis	65
4.2.2.3 Safety issue: tolerability	66
4.2.2.4 Pharmacokinetics parameters	68
CHAPTER 5 CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	74
5.1 Preclinical; the standard and quality control of SHT remedy ethanolic extract and capsules	74
5.2 The safety of SHT remedy ethanolic extract capsule in healthy volunteers	74
5.3 The pharmacokinetics of piperine of SHT remedy ethanolic extract in healthy volunteers	75
5.4 Recommendations	75
REFERENCES	77
APPENDICES	84
APPENDIX A	85
APPENDIX B	87
APPENDIX C	92
APPENDIX D	95

APPENDIX E	103
APPENDIX F	110
APPENDIX G	112
APPENDIX H	121
APPENDIX I	124
APPENDIX J	132
 BIOGRAPHY	 140



LIST OF TABLES

Tables	Page
2.1 Anti-inflammatory activity of medicinal plants in Sahastara remedy	6
2.2 Anti-oxidant activity of medicinal plants in Sahastara remedy	11
2.3 Routes of administration, bioavailability, and general characteristics	16
2.4 volumes (in L/kg body weight) of some body compartment into which drug may be distributed	18
2.5 Pharmacokinetic parameters of piperine after oral administration of alkaloids from <i>Piper longum</i> Linn. to rats	22
2.6 Tissue distribution of orally administered piperine in rat	22
2.7 Pharmacokinetics parameters of piperine compared between studying in rat and human	24
3.1 The medicinal plants in Sahastara remedy formulation (for 1,000 mg of powdered drug)	26
3.2 The gradient elution for piperine content analysis	31
3.3 The formula of Sahastara remedy ethanolic extract capsules	32
4.1 Anti-inflammation activity of SHT remedy ethanolic extract by NO inhibition	38
4.2 Total phenolic content of SHT remedy ethanolic extract	39
4.3 The quality standards of SHT remedy ethanolic extract capsules	41
4.4 The NO inhibition test in stability test study by accelerated condition	42
4.5 Piperine content in stability test	43
4.6 Baseline Characteristics of volunteers in clinical safety study	44
4.7 Adverse events in clinical safety study	45
4.8 Blood pressure monitoring of SHT ethanolic extracts capsules 300 mg/day	48
4.9 Blood pressure monitoring of SHT ethanolic extracts capsules 600 mg/day	49
4.10 Blood pressure compared between 2 dose groups	50
4.11 BUN monitoring of SHT ethanolic extracts capsules 300 mg/day	51
4.12 Creatinine monitoring of SHT ethanolic extract capsules 300 mg/day	52
4.13 BUN monitoring of SHT remedy ethanolic extract capsule 600 mg/day	53

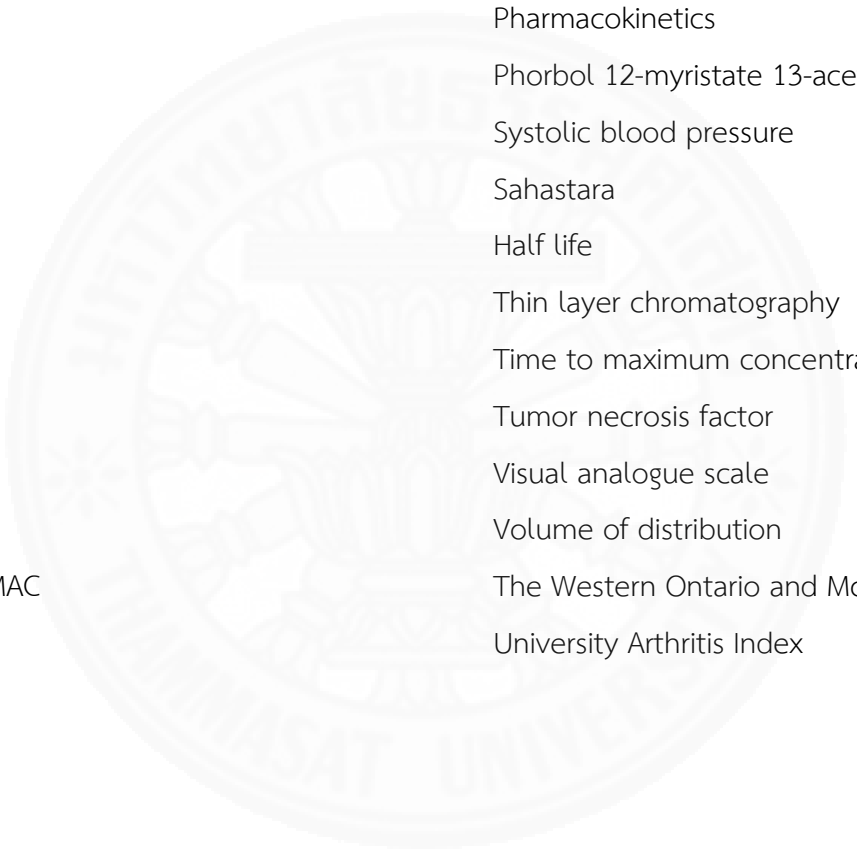
Tables	Page
4.14 Creatinine monitoring of SHT remedy ethanolic extract capsule 600 mg/day	53
4.15 Renal functions comparison between 2 dose groups	54
4.16 The AST of SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day	55
4.17 The ALT of SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day	55
4.18 The ALP of SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day	56
4.19 The AST of SHT remedy ethanolic extract capsules 600 mg/day	57
4.20 The ALT of SHT remedy ethanolic extract capsules 600 mg/day	58
4.21 The ALP of SHT remedy ethanolic extract capsules 600 mg/day	58
4.22 The comparison of liver functions between 2 dose groups	59
4.23 The comparison of blood chemistry between 2 dose groups	60
4.24 The comparison of complete blood count between 2 dose groups	62
4.25 Baseline characteristic of volunteers in pharmacokinetics study	65
4.26 Safety monitoring of healthy volunteers in pharmacokinetics study	66
4.27 The pharmacokinetics parameter of piperine following SHT remedy ethanolic extract administrations	70
4.28 The observation secondary maximum concentration of piperine in SHT remedy ethanolic extract	73

LIST OF FIGURES

Figures	Page
2.1 The proportion in Sahastara remedy	13
2.2 The structure of piperine and chavicine	13
2.3 Time to peak concentration	17
2.4 Mean plasma concentration-time profile of piperine determined by LC-MS/MS method after oral administration of 100 mg/kg (piperine=54mg/kg) alkaloids from <i>P. longum</i> L. to rat.	21
2.5 Median and individual serum concentration-time profile of piperine following oral administration of a single dose of 100 mg and 200 mg Benjakul remedy in healthy volunteers	23
3.1 Extraction method	25
4.1 The Sahastara remedy ethanolic extract	37
4.2 Piperine content in SHT remedy ethanolic extract	40
4.3 Percentage of piperine when comparison with Day 0	43
4.4 Flow chart of study on clinical safety in healthy volunteers	46
4.5 Flow chart of study on clinical pharmacokinetics in healthy volunteers	67
4.6 Plasma concentration time profile	69

LIST OF ABBREVIATIONS

Symbols/Abbreviations	Terms
ALP	Alkaline phosphatase
ALT	Alanine transaminase
AST	Aspartate transaminase
AUC	Area under curve
BHT	Butylated hydroxytoluene
BUN	Blood urea nitrogen
CBC	Completed blood count
$C_{\max}$	Maximum concentration
COX	Cyclooxygenase
C_p	Plasma concentration
Cr	Creatinine
DBP	Diastolic blood pressure
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EC ₅₀	The half maximal efficacy concentration
FBS	Fasting blood sugar
HPLC	High performance liquid chromatography
IC ₅₀	The half maximal inhibitory concentration
IL	Interleukin
iNOS	Inducible nitric oxide synthase
LC-MS/MS	Liquid chromatography-Mass spectrometry/ Mass spectrometry
LOX	Lipoxygenase
LPS	Lipopolysaccharide
MRT	Mean residence time



MMP	Matrix metalloproteinase
NLEM	National List of Essential Medicine
NO	Nitric oxide
OA	Osteoarthritis
OD	Optical density
p.o.	Per oral
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PK	Pharmacokinetics
PMA	Phorbol 12-myristate 13-acetate
SBP	Systolic blood pressure
SHT	Sahastara
t _{1/2}	Half life
TLC	Thin layer chromatography
t _{max}	Time to maximum concentration
TNF	Tumor necrosis factor
VAS	Visual analogue scale
V _d	Volume of distribution
WOMAC	The Western Ontario and McMaster University Arthritis Index

CHAPTER 1

INTRODUCTION

1. 1 Introduction (Research rationale)

As a result of lower fertility rates and longer life expectancy, the world is an aging society. The 2014 world population data sheet from Populations Reference Bureau (PRB) show that age structure has changed. The share of global population under age 20 decreased to 35 percent from 48 percent in 1970 while the population aged 65 and older increased to 7 percent.(PRB, 2014) This data was confirmed by the World Health Organization (WHO) that estimated the population aged 60 and older were projected to be 1.5 billion in 2050 from 524 million in 2010.(WHO, 2011) Not only economic problems but also public health problems are becoming important global issues especially non-communicable diseases (NCDs) such as heart disease, diabetes and musculoskeletal diseases from degenerative change.

The most common degenerative disease of the musculoskeletal system is osteoarthritis (OA). The increase in number of OA patients is correlated with the number of elderly. OA leads patients to disability of joint functions and poor quality of life. Inflammation is the main cause of joint pain, so anti-inflammatory drugs especially non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are commonly prescribed to treat OA. However, the NSAIDs still have many side effects such as peptic ulcer, liver and renal toxicity. In Thailand, the increase of musculoskeletal disease may be estimated from the increase in imported and domestic expenses of this drug group which has increased every year. The data from Bureau of Drug Control shows imported expenses and domestic expenses are up to 7,424.41 and 3,907.26 million baht, respectively in 2010.

Musculoskeletal diseases are the most common problem that lead patients to visit the Thai Traditional Medicine Department, including degenerative joint disease as OA. There are several ways to treat this problem including massage, hot

herbal ball compression, topical medicine and oral medicine. The Sahastara (SHT) remedy is the most commonly oral medicine used for this purpose. The SHT remedy is a Thai traditional medicine that has long been used to treat problems of the musculoskeletal system. The SHT remedy has been listed in National List of Essential Medicine (NLEM) since 2011 which assumes it was quite safe for use in humans. It consists of 21 medicinal plants. The main ingredients are pepper (*Piper nigrum* Linn.), long pepper (*Piper retrofractum* Vahl.) and *Plumbago indica* Linn. Previous studies demonstrated that SHT remedy ethanolic extract showed high anti-inflammatory activity by inhibition of nitric oxide production (NO) and prostaglandin E₂ (PGE₂) with IC₅₀ 2.81 µg/ml and 16.97±1.16 µg/ml, respectively (Kakatum, Jaiarree, Makchucit, & Itharat, 2012) which are similar in potency to NSAIDs. The SHT remedy extract showed no toxicity either acute or chronic in rats. (Itharat & Sireeratawong, 2014)

A clinical study on efficacy and safety of SHT powdered drug in treating patients with osteoarthritis of the knee (OA knee) was supported by previous result that SHT remedy can reduce pain in OA knee patients and improved quality of life with equal efficacy as diclofenac. (Pinsornsak, Kanokkangsadal, & Itharat, 2015) However, the SHT powder is associate with poor patient compliance because they have to take 6 capsules per day. The SHT remedy ethanolic extract capsule could be solved this problem by reducing the number of capsules. Thus, the ethanolic extract of SHT remedy has potential to be developed as a modern anti-inflammatory drug. The safety and pharmacokinetics of SHT remedy ethanolic extract in healthy volunteers needs to be studied.

1.2 Objectives

1.2.1 Investigation on clinical safety of Sahastara remedy ethanolic extract capsule in healthy volunteers

1.2.2 Study of pharmacokinetics of piperine, a major bioactive compound of Sahastara remedy ethanolic extract in healthy volunteers

1.3 Advantages expected

1.3.1 Increased knowledge on safety of Sahastara remedy ethanolic extract capsules in healthy volunteers

1.3.2 Increased knowledge on pharmacokinetics of piperine, a major bioactive compound of Sahastara remedy ethanolic extract capsule in healthy volunteers

1.3.3 The data indicating the next phase of clinical trial



CHAPTER 2

REVIEW OF LITERATURE

2.1 Sahastara Remedy

2.1.1 History

The Sahastara (SHT) remedy is a Thai traditional medicine. It appears in the ancient Thai traditional medicine textbook call “Kum-Phee-Pad-Thai-Pan-Bo-Ran”, written by Khun-So-Pit-Bun-Na-Luk (Umpan Kittikajorn). It is categorized into the medicinal group regarding the wind element which refers to blood circulation.(Khunsopitbunnalak, 1970) The SHT remedy has long been used and is well-known in Thai traditional medicine practice as the drug for treatment of muscle and joint pain especially complicated with numbness. However, there is no evidence indicating who originated SHT remedy.

2.1.2 The Sahastara remedy in National List of Essential Medicines

The SHT remedy was published in National List of Essential Medicine (NLEM) for the first time in 28 June 2011 and has remained in NLEM until now. In NLEM the SHT remedy is categorized under musculoskeletal system drugs. According to the recruiting criteria of medicines in NLEM, the SHT remedy is quite safe to use in humans. The SHT remedy is considered to be type A (tradition medicine or ancient medicine) group. The description of SHT remedy in NLEM is follow:

Formulation	1,000 grams consist of
	1. Prik-Thai 240 gram
	Jet-Ta-Mul-Plerng-Dang (root) 224 gram
	Dee-Plee (fruit) 96 gram
	Hus-Sa-Khun-Tade 48 gram
	2. Sa-Mhor-Thai (fruit) 104 gram
	Tong-Tank (root) 80 gram

3. Wan-Nam (rhizome) 88 gram
4. Ka-Ra-Boon 14 gram
 - Dok-Chan 13 grams Tien-Dang 11 gram
 - Luk-Chan 12 gram
 - Tien-Ta-Tuk-Ka-Tan, Ma-Ha-Hing 10 gram each
 - Tien-Sut-Ta-But 9 grams
 - Tien-Khao, Jing-Jor (root) 8 gram each
 - Tien-Dum 7 gram
 - Kote-Kag-Kra 6 grams
 - Kote-Ka-Mao 5 grams
 - Kote-Kan-Prao 4 grams
 - Kote-Pung-Pla 3 grams

(The scientific names are shown in Table 3.1)

Dose and Usage

1-1.5 grams orally three times a day before meal

Indication

Release wind (ขับลมในเส้น),

Rough wind treatment (แก้โรคลมกองหยาบ)

Warning

Do not use in pregnant women and patients with fever

Precaution

- Use Carefully in patients with hypertension, congestive heart disease, peptic ulcer and gastric esophageal reflux disease (GERD) because SHT remedy is a hot formulation

- Use carefully in patients on phenytoin, propranolol, theophylline and rifampicin because pepper is a main ingredient in the formulation

Side effect

Abdominal hot sensation, abdominal pain, nausea, dry throat, itchy and rash

2.1.3 The Biological activities related with Sahastara remedy

2.1.3.1 Anti-inflammation activity

Anti-inflammatory activity by inhibition of Nitric Oxide (NO) production and Prostaglandins E_2 (PGE_2) have been reported for Sahastara remedy and its ingredients. According to the report, the study in murine macrophage cells (RAW264.7) demonstrated SHT remedy ethanolic extract has high anti-inflammatory activity by inhibition of NO (IC_{50} =2.81 μ g/ml). It was about 10-fold more potent than the modern anti-inflammatory drug, indomethacin as a positive control (IC_{50} =20.32 μ g/ml). In the same report, SHT remedy ethanolic extract also showed inhibition of PGE_2 even though less than indomethacin (IC_{50} = 16.97 and 1.02 μ g/ml, respectively). It could explain the reason that SHT remedy ethanolic extract has high anti-inflammatory activity and its plant ingredients have anti-inflammatory effect via a different mechanism.(Kakatum et al., 2012)

The ingredients in SHT remedy ethanolic extract have also shown anti-inflammatory activity such as *Piper nigrum* Linn., *Terminalia chebula* Retz. (Table 2.1) Previous studies showed that the plant ingredients in SHT remedy have several mechanisms for anti-inflammation. These results support the anti-inflammatory activity of SHT remedy ethanolic extract.

Table 2.1 Anti-inflammatory activity of medicinal plants in Sahastara Remedy

Activity	Medicinal plant	Results
Anti-inflammatory	<i>Piper nigrum</i> Linn.	Piperine inhibited PMA-induced COX-2 expression in murine macrophage cells (RAW264.7) at concentrations of 10-100 μ M. It also showed inhibition of PGE_2 release.(Kim et al., 2012)

Table 2.1 (Cont.)

Activity	Medicinal plants	Results
Anti-inflammatory	<i>Piper nigrum</i> Linn.	<i>In vitro</i> study on interleukin(IL) 1 β (IL1 β) stimulated fibroblast- like synoviocytes derived from rheumatoid arthritis patients demonstrated that piperine inhibited the expression of IL6 and MMP13 in a dose- dependent manner at concentrations of 10 to 100 μ g/ml. It also reduced the production of PGE2 significantly at 10 μ g/ml. (Bang et al., 2009)
	<i>Plumbago indica</i> Linn.	Plumbagin that was found in Plumbaginaceae showed significant reduction of paw edema of rats induced by carrageenan and various pro-inflammatory mediators in range of dose from 5 to 20 mg/kg. (Luo et al., 2010) Plumbagin showed inhibition of TNF- α , IL- 1 β and IL- 6 of murine macrophage cells induced by LPS at concentration 2. 5- 7. 5 μ M. It also showed reduction of NO production, expression iNOS activity at the same concentration.(Wang et al., 2014)

Table 2.1 (Cont.)

Activity	Medicinal plants	Results
Anti-inflammatory	<i>Acorus calamus</i> Linn.	The ethanolic extract demonstrated 15.16% and 54.51% of writhing protection at dose 250 and 500 mg/kg, respectively. (Khan & Islam, 2012)
	<i>Cuminum cyminum</i> Linn.	0.01% Cumin essential oil extract (CuEO) from seeds showed anti-inflammatory effect by inhibition of iNOS, COX-2, mRNA expression, IL-1 β , IL-6 and also reduced the nuclear NF-kappa B p65 level in LPS-stimulated RAW264.7 cells. (Wei et al., 2015)
	<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	The crude alkaloid extract from seed showed analgesic effect in acetic acid induced writhing models. It has significantly reduced number of writhing response in female mice at dose 1 g/kg. (Hayfaa, Sahar, & Awatif, 2013) The compound belonging to neolignan derived from <i>Myristica fragrans</i> demonstrated inhibition of the production of NO in RAW264.7. The most potent inhibitors of NO production were myrislignan and machilin D (IC₅₀= 21.2 and 18.5 μg/ml, respectively). (Cao, Xu, Yang, Gonzalez, & Li, 2015)

Table 2.1 (Cont.)

Activity	Medicinal plants	Results
Anti-inflammatory	<i>Terminalia chebula</i> Retz.	Chebulagic acid derived from <i>Terminalia chebula</i> (fruits) showed inhibition of COX-1, COX-2 and LOX-5 with IC_{50} 15 ± 0.288, 0.92 ± 0.011 and 2.1 ± 0.057 $\mu\text{g/ml}$, respectively. (Reddy et al., 2009) <i>In Vivo</i> study of fruit extract at 250 mg/kg p.o. showed 69.96% reduction in carrageenin-induced rat paw edema. (Bag, Bhattacharyya, Pal, & Chattopadhyay, 2013) Chebulanin showed significantly decreased severity of arthritis in a dose-dependent manner at 80 and 160 mg/kg in mice model. However, at dose of 40 mg/kg it showed improvement of the severity of arthritis but not statistically significant. (Zhao et al., 2015) The leaf gall ethanolic extract of <i>T.chebula</i> show maximal LOX inhibition (52.67%) at 800 $\mu\text{g/ml}$. (Eshwarappa et al., 2016)
	<i>Anethum graveolens</i> Linn.	Dill oil, (contain dill extract 100mg) showed significantly reduced paw edema of rat induced by formalin in 8th day. It also showed more decreased paw volume when compared with diclofenac gel. (Naseri et al., 2012)

Table 2.1 (Cont.)

Activity	Medicinal plants	Results
	<i>Picrorhiza kurroa</i> Benth.	Rhizome powder at dose 100 mg/kg b.w. exhibited decreased volume of Wistar albino rat paw induced by 2% carrageenan. (Kantibiswas, Marjit, & Maity, 1996)
		Hydroalcoholic extract of rhizome at dose 50,100 and 200 mg/kg showed reduced joint swelling induced by formaldehyde in rat. It also showed anti-arthritis activity with inhibition effect of adjuvant and decreased joint inflammation dose-dependently. In addition, the extract showed decreased expression of IL-1 β , IL-6, TNF-R1 and vascular endothelial growth factor. (Kumar, Gupta, Singh, & Arunraja, 2016)

2.1.3.2 Anti-oxidant activity

Not only anti-inflammatory activity could alleviate symptoms of muscle and joint problems, but also anti-oxidation could assist in terms of prevention. Sahastara remedy has been studied for anti-oxidant activity by DPPH assay. The report shows that SHT remedy has higher anti-oxidant activity than BHT that was used as positive control (EC_{50} = 9.42 and 12.88 μ g/ml respectively). Moreover, the total phenolic content, which are chemical compounds related with anti-oxidant activity, was also detected in SHT remedy.(Kakatum et al., 2012)

The study on correlation of extraction with biological activities showed the SHT remedy ethanolic extract has anti-oxidant scavenging effect

(DPPH assay) when macerated for 3 day (EC_{50} = 18.00 μ g/ml). (Kanokkangsadal, Pinsornsak, Makchuchit, & Itharat, 2013)

The ingredients in SHT remedy namely *Piper nigrum* Linn., *Terminalia chebula* Retz., *Cinamomum camphora* Linn have also shown anti-oxidant activity such as. (Table 2.2). These reports could be explained the anti-oxidant properties of SHT remedy.

Table 2.2 Anti-oxidant activity of medicinal plants in Sahastara Remedy

Activity	Medicinal plant	Results
Anti-Oxidant	<i>Piper nigrum</i> Linn.	Piperine was found to act as hydroxyl radical scavenger at low concentration. It also showed as a powerful superoxide scavenger with IC_{50} value 1.82 mM and 52% inhibition of lipid peroxidation was observed at a dose of 1400 μ M with an IC_{50} of 1.23 mM. (Mittal & Gupta, 2000)
	<i>Terminalia chebula</i> Retz.	The MeOH extract showed anti-lipid peroxidation, anti-superoxide radical formation and free radical scavenging with IC_{50} = 4.44, 0.48, 0.005 mg/ml, respectively. (Cheng, Lin, Yu, Yang, & Lin, 2003)
	<i>Cinamomum camphora</i> Linn.	The EtOAc and BuOH extract exhibited anti-oxidative activity with IC_{50} values 14 and 15 μ M respectively when tested with DPPH and XO assays. (Lee et al., 2006)

Table 2.2 (Cont.)

Activity	Medicinal plants	Results
	<i>Kleinhovia hospita</i> Linn.	The methanol leaf extract showed anti- oxidant activity similar to Vitamin C with 96 and 98% respectively when tested with DPPH assays. (Arung et al., 2009)
	<i>Acorus calamus</i> Linn.	The hydroalcoholic extract of at dose 100 and 200 mg/kg p.o. in CCI tested show tissue biomarker changing including superoxide anion (inhibition value of 77.39 and 86.46%), total calcium in sciatica nerve (inhibition value of 75.16 and 84.21%) and myeloperoxidase activity in surround sciatic nerve tissue (inhibition value of 76.62 and 82.28%). (Muthuraman, Singh, & Jaggi, 2011)

2.1.4 The chemical marker of Sahastara remedy

The SHT remedy was subjected to chemical composition study. The main herbal ingredients of SHT remedy are *Piper* species (*Piper Nigrum* and *Piper retrofractum*) with 34% (Figure 2.1) Several previous reports showed *Piper spp.* have piperine which is a major component of pepper. (Meghwal & Goswami, 2013) However, the SHT remedy is a mixture of medicinal plants. There is report on the chemical composition of SHT remedy by Thin Layer Chromatography technique (TLC) and High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). According to the results, the report was unsurprising in that SHT remedy has piperine as a marker of the remedy. The report also found other components such as plumbagin from *Plumbago indica*. (Itharat, 2014)

Proportion in Sahastara remedy (g)

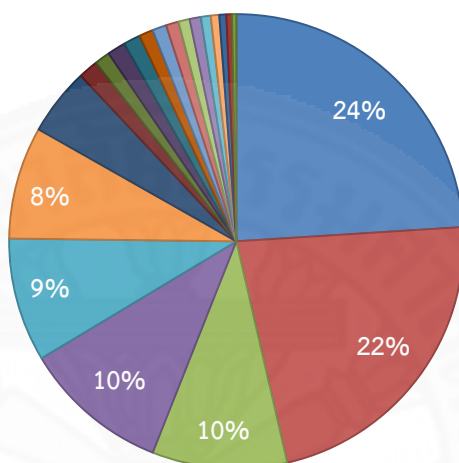
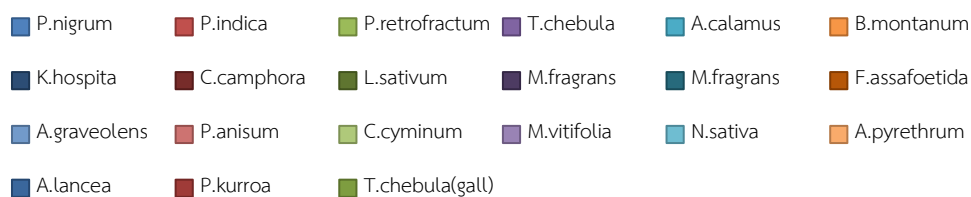


Figure 2.1 The proportion in Sahastara remedy

2.1.4.1 Piperine

Piperine [1- [5- [1,3- benzodioxol- 5- yl] - 1- oxo- 2,4, pentadienyl] piperidine] is the major pungent alkaloid of *Piper* species such as pepper and long pepper. (Meghwal & Goswami, 2013) In the fruits of *P. nigrum* L. , piperine presented with chavicine (Figure 2.2), its stereoisomer slowly transformed to piperine on storage, leading to a loss in pungency. (Kozukue et al., 2007)

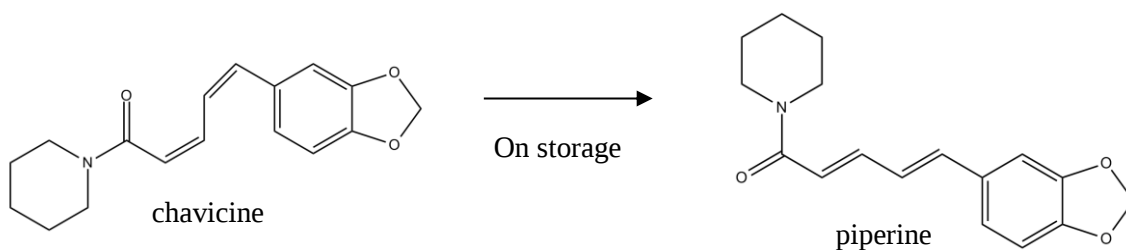


Figure 2.2 The structure of piperine and chavicine

2.1.5 The toxicity study of Sahastara remedy

Toxicity of SHT remedy has been reported in Sprague Dawley rats. In acute toxicity, the rats were given SHT extract in a single oral dose of 5,000 mg/kg body weight. The toxic signs and behaviors were observed within 14 days. There was no significant abnormalities or difference compared to the control group that was fed with distilled water. The results showed the body and organ weights were not significantly different from control groups. The internal gross anatomical characteristics also showed the same results. The results indicated that the SHT remedy at dose 5,000 mg/kg body weight did not significantly cause acute toxicity.

In the chronic toxicity study, the rats were given the SHT extract at the dose orally of 10,100 and 1,000 mg/kg body weight daily for 270 days. The hematology, blood chemistry, microanatomy, and the information of signs, behavior and health monitoring results indicated the SHT remedy extract as an oral administration at dose 10,100 and 1,000 mg/kg body weight for 270 days did not changed on clinical values and it did not destroy organ so it is safe and does not produce chronic toxicity.(Itharat & Sireeratawong, 2014)

2.1.6 Clinical study of Sahastara remedy

The SHT remedy was used as powdered drug according to traditional usage for treating muscle and joint pain. Although SHT remedy has long been widely use in Thai traditional medicine, there are only two reports on clinical trial of SHT remedy powdered drug.

First report, in a double blind randomized study on efficacy of SHT remedy powdered drug in muscle pain was compared with diclofenac. Patients with muscle pain of shoulder and neck were recruited in this study. They received 400 mg SHT powdered capsule orally 3 times a day or 25 mg diclofenac capsule orally 3 times a day for 7 days. The study showed SHT remedy capsule can reduce pain significantly between day 0 and day 7. However, the SHT remedy was not significantly different when compared with diclofenac. The study concluded that SHT remedy at the dose of 1200 mg/day was equally efficacy when comparable to diclofenac at the dose of

75 mg/day for muscle pain treatment(Nootim, Bunchuailua, & Kapol, 2013) but this study did not regard on safety issues.

Second report, a double blind randomized control trial on efficacy and safety of SHT remedy powdered drugs in osteoarthritis of the knee patients. Patients who were diagnosed as osteoarthritis of knee were recruited into this study. The study was conducted based on NLEM usage with minimum dose of SHT remedy powdered drugs (3,000 mg/day). The patients received SHT remedy 1,000 mg orally 3 times a day or 25 mg diclofenac 3 times a day for 28 days. The efficacy was assessed as pain level with visual analogue scale (VAS), 100 meters walk times and quality of life by WOMAC index score. The safety issue was evaluated by history taking, complete physical examination and renal and liver function tests. The results showed SHT remedy can reduce pain level significantly in day 14. It also showed reduced 100 meters walk time and improved quality of life. The SHT remedy powdered drug did not show significant difference from diclofenac in every efficacy outcome except stiff index, which in WOMAC index score, showed diclofenac has more improvement than SHT remedy. However, the SHT remedy was safer than diclofenac especially on liver functions. The study concluded that SHT remedy has equal clinical efficacy to relieve symptoms of OA knee and has less systemic side effects when compared with diclofenac. (Pinsornsak et al., 2015)

2.2 Pharmacokinetics (Katzune & Trevor, 2015)

In medication treatment, rational use of drug is an important factor to consider. The goal is to achieve therapeutic effect with minimal adverse effects. The clinicians have to understand the patient, the diseases and the dose of medicine to achieve the goal. The dose-effect relationship can be separated into pharmacokinetic and pharmacodynamics.

Pharmacokinetics may have a short definition as “What the body does to the drug”. The principle is to deliver the active pharmaceutical ingredient (API) from site of administration to site of action. Thus, pharmacokinetics is kinetics of absorption, distribution, metabolism and elimination (ADME). By contrast, pharmacodynamics

describes maximum response and sensitivity to determine the maximum effect at a particular concentration.

In drug development and production, standard dose is based on healthy volunteers and patients with average ability to absorb, distribute and eliminate drug. These measurements are not appropriate for every patient. The pharmacokinetics parameters that are used to control dosage adjustment in individual patients are clearance and volume distribution.

2.2.1 Absorption

Absorption is the transfer process of drug from administration to systemic circulation. Absorption requires drug movement across a barrier by diffusing through the lipid or attaching to membrane transport molecules that carry them across. (Bennett, Brown, & Sharma, 2012)

Bioavailability

Bioavailability is the fraction of unchanged drug reaching the systemic circulation following administration by any route. The bioavailability depends on many factors including solubility, dosage form, route of administration, first pass effect and salt form. For example, in the intravenous route, bioavailability is assumed to be equal to unity whereas the oral route is less than 100% because of incomplete absorption and 1st pass elimination by liver. (Katzune & Trevor, 2015)

Table 2.3 Routes of administration, bioavailability, and general characteristics

Route	Bioavailability (%)	Characteristics
Intravenous (IV)	100 (by definition)	Most rapid onset
Intramuscular (IM)	75 to $\leq$ 100	Large volumes often feasible; may be painful
Subcutaneous (SC)	75 to $\leq$ 100	Smaller volumes than IM; may be painful
Oral (PO)	5 to $<$ 100	Most convenient; first-pass effect may be important
Rectal (PR)	30 to $<$ 100	Less first-pass effect than oral
Inhalation	5 to $<$ 100	Often very rapid onset
Transdermal	80 to $\leq$ 100	Usually very slow absorption; used for lack of first-pass effect; prolonged duration of action

Plasma concentration (C_p)

The drug is absorbed at site of administration into system of circulation and then to the site of action. The parameter that clinician considers for efficacy and safety is plasma drug concentration. The plasma concentration is assumed to be equal to drug concentration at site of action.

Maximum serum concentration (C_{max})

The peak concentration of the drug that has been administered.
(Segen, 2006)

Time peak concentration (T_{max})

The amount of time that a drug is present at the maximum concentration in serum. (Segen, 2006)

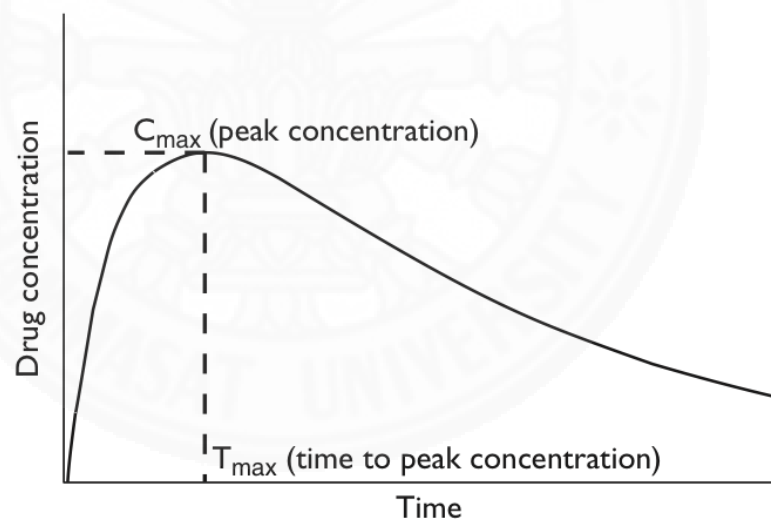


Figure 2.3 Time to peak concentration

2.2.2 Distribution

Distribution concerns the rate and extent of parent drug movement from blood into the tissue after administration and its return from tissue into blood during elimination. (Bennett et al., 2012)

Volume of distribution (V_d)

Volume of distribution (V_d) is the measure of apparent space in the body available to contain the drug that relates the amount of drug in the body to the concentration of drug in blood or plasma as in the equation below.

$$V_d = \frac{\text{Amount of drug in the body}}{\text{Concentration of drug}}$$

Drugs with high volume of distribution have higher concentrations in extravascular tissue than intravascular part. Drugs that are restricted to plasma have volume of distribution 0.04 L/kg body weight or 2.8 L/70kg. (Katzune & Trevor, 2015)

Table 2.4 Physical volumes (in L/kg body weight) of some body compartments into which drugs may be distributed

Compartment and Volume	Examples of Drugs
Water	
Total body water (0.6 L/kg^a)	Small water-soluble molecules: eg, ethanol
Extracellular water (0.2 L/kg)	Larger water-soluble molecules: eg, gentamicin
Plasma (0.04 L/kg)	Large protein molecules: eg, antibodies
Fat (0.2-0.35 L/kg)	Highly lipid-soluble molecules: eg, diazepam
Bone (0.07 L/kg)	Certain ions: eg, lead, fluoride

^aAn average figure. Total body water in a young lean person might be 0.7 L/kg; in an obese person, 0.5 L/kg.

2.2.3 Metabolism (Tomlin, 2010)

Drug metabolism takes place mostly in liver. Metabolism can be divided into two phases. Phase 1 is catabolic in nature and involves oxidation, reduction, and hydrolysis. Phase 2 is anabolic reaction such as glucoronidation and sulfation that converts to more water soluble compounds.

Phase1 Metabolism

The cytochrome p450 (CYP450) is a superfamily of membrane bound haemoprotein enzymes that are responsible for most drug metabolism. Phase1 reactions include oxidation and reduction. The CYP450 enzyme-mediated oxidation reaction requires sufficient enzyme, drug and oxygen.

Phase2 Metabolism

Phase2 is a synthetic step that adds a large and polar moiety. The resulting compound is inactive, less lipid soluble and better able to pass into urine. The addition groups are sulfate, methyl, acetyl, glutathione and glucuronic acid. Most conjugation reactions occur in the liver.

First pass metabolism

First pass metabolism refers to the metabolism of drug received by liver from portal circulation after absorption from GI tract. Parenterally administered drug will avoid first pass metabolism.

2.2.4 Elimination

Elimination is the removal of drug from the body and may involve metabolism, which transforms it into a different molecule and excretion. (Bennett et al., 2012)

Clearance (CL)

Clearance is the ability of the body to eliminate the drug that relates the rate of elimination to the drug concentration as shown in the equation below. (Katzune & Trevor, 2015)

$$CL = \frac{\text{Rate of elimination}}{\text{concentration of drug}}$$

Drug elimination from the body involves many organs such as liver, kidney, lung, so systemic clearance is the sum of all organ drug clearance

$$CL_{\text{kidney}} = \frac{\text{Rate of elimination on kidney}}{\text{concentration of drug}}$$

$$CL_{\text{liver}} = \frac{\text{Rate of elimination on liver}}{\text{concentration of drug}}$$

$$CL_{\text{systemic}} = CL_{\text{kidney}} + CL_{\text{liver}} + CL_{\text{other}}$$

Major organs of drug elimination are liver and kidneys. For most drugs, clearance is constant over the concentration.

Half life ($t_{1/2}$)

Half-life is the time taken to eliminate half of drug in the body, which depends on volume of distribution and clearance. (Katzune & Trevor, 2015)

$$t_{1/2} = \frac{0.7 \times V_d}{CL}$$

Half-life indicates the time required to attain 50% of steady state.

Disease states affect both pharmacokinetics parameters. A change in half-life will not necessarily reflect a change in drug elimination.

Drug accumulation

With repeat drug doses, drug will accumulate in the body until dosing is stopped because elimination time is infinity. In practice, accumulation can be detected if the dosing interval is shorter than four half-lives. (Katzune & Trevor, 2015)

$$\begin{aligned} \text{Accumulation index} &= \frac{1}{\text{Fraction lost in one dosing}} \\ &= \frac{1}{1 - \text{Fraction remaining}} \end{aligned}$$

For a drug given once every half-life, the accumulation factor is 2.

2.3 The Pharmacokinetics study of Piperine (main compound in SHT remedy)

The pharmacokinetics of piperine has only been studied in rats. In a study to investigate pharmacokinetics of piperine, 54.1 mg/kg orally in five male sprague-dawley shown that piperine was rapidly absorbed after administration and cleared slowly. Mean plasma concentration-time profile for piperine after oral gavage (Figure 2.3). The main pharmacokinetics parameters for piperine are shown in Table 2.5 (J. Liu, Bi, Luo, & Wu, 2011)

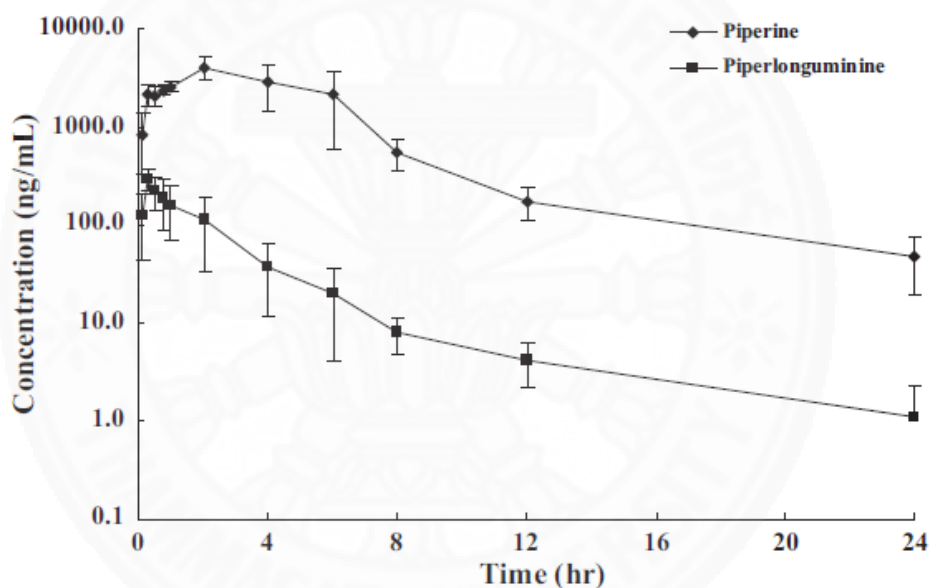


Figure 2.4 Mean plasma concentration-time profile of piperine determined by LC-MS/MS method after oral administration of 100 mg/kg (piperine= 54mg/kg) alkaloids from *Piper longum* Linn. to rats. Each point represents mean $\pm$ SD (n=5)(J. Liu et al., 2011)

Table 2.5 Pharmacokinetics parameters of piperine after oral administration of alkaloids from *Piper longum* Linn. to rats. (n=5)

PK parameters	Unit	Value (mean $\pm$ SD)
$t_{1/2}$	h	4.10 $\pm$ 2.05
t_{max}	h	2.45 $\pm$ 2.12
C_{max}	ng/ml	4292 $\pm$ 967
AUC_{last}	ng.h/ml	22,803 $\pm$ 7062
AUC_{inf}	ng.h/ml	23,107 $\pm$ 7189
MRT	h	4.63 $\pm$ 0.71

The study on tissue distribution and elimination of piperine at a dose of 170mg/kg to rat, shows that piperine was distributed to various tissues including blood, liver, kidney and intestine (Table 2.6). The piperine cannot be detected in any of the tissue samples beyond 24 h.(Suresh & Srinivasan, 2010) A previous study showed increased excretion of conjugated glucuronate, sulfates and phenols in the urine for up to 8 days following oral administration of piperine in rats(Bhat & Chandrasekhara, 1986) that indicated the major pathway of metabolism of piperine are glucoronidation and sulfication pathway. The major excretion route of piperine metabolite in rats is urine as no metabolite could be detected in feces.(Suresh & Srinivasan, 2010)

Table 2.6 Tissue distribution of orally administered piperine in rat(Suresh & Srinivasan, 2010)

Time (h)	Serum (μ g/ml)	Blood (μ g/total blood)	Liver (μ g/whole tissue)	Kidney (μ g/whole tissue)	Intestine (μ g/whole tissue)
1	6.07 $\pm$ 0.82	35.53 $\pm$ 4.82	56.12 $\pm$ 1.01	12.51 $\pm$ 1.95	1450.0 $\pm$ 137.2
3	9.75 $\pm$ 1.07	57.03 $\pm$ 6.28	73.75 $\pm$ 2.05	22.0 $\pm$ 3.53	1725.2 $\pm$ 150.2
6	11.06 $\pm$ 0.80	64.71 $\pm$ 4.68	96.62 $\pm$ 5.71	91.75 $\pm$ 6.51	2450.3 $\pm$ 162.0
24	0.93 $\pm$ 0.16	5.48 $\pm$ 0.73	37.87 $\pm$ 3.81	28.75 $\pm$ 3.35	700.1 $\pm$ 112.5
48	0.37 $\pm$ 0.05	2.19 $\pm$ 0.36	4.77 $\pm$ 0.88	4.62 $\pm$ 0.47	62.3 $\pm$ 1.08
96	0.078 $\pm$ 0.005	0.46 $\pm$ 0.03	0.33 $\pm$ 0.04	0.66 $\pm$ 0.13	4.47 $\pm$ 0.88
192	0	0	0	0.63 $\pm$ 0.11	0

Data represent; mean $\pm$ SEM of 6 rats, Piperine was orally administered to rats at dose 170 mg/kg

Even though there is no study on pharmacokinetics of piperine directly in humans, there has been an investigation of the pharmacokinetics of piperine following administration of Benjakul (BJK) remedy in humans. In this study, a single oral dose at 100 mg and 200 mg of BJK remedy that contained 6 and 12 mg of piperine respectively was given to healthy volunteers. The results showed piperine was rapidly absorbed from the gastrointestinal tract after oral administration as piperine was detected in plasma within 0.5 h. of dosing in most cases. The median of maximum concentration (C_{max}) of piperine following dose 100 and 200 mg of BJK remedy administered was 467 and 1078 ng/ml respectively, with median t_{max} of 1 h. Piperine could be not detected after 48 h. The median plots of serum concentration-time profiles of piperine are shown in Figure 2. 4(Jumpa- ngern, Kietinun, Sakpakdeejaroen, Cheomung, & Na-Bangchang, 2013)

According to a previous study, piperine was rapidly absorbed not only in rats but also in humans. Although piperine was absorbed more rapidly in humans when compare with rats (median of 1 versus mean of 2.45 h.), the maximum concentration of piperine in humans was approximately one-fourth of that reported in rats following an equivalent dose, 12 mg piperine. (Table 2.7)

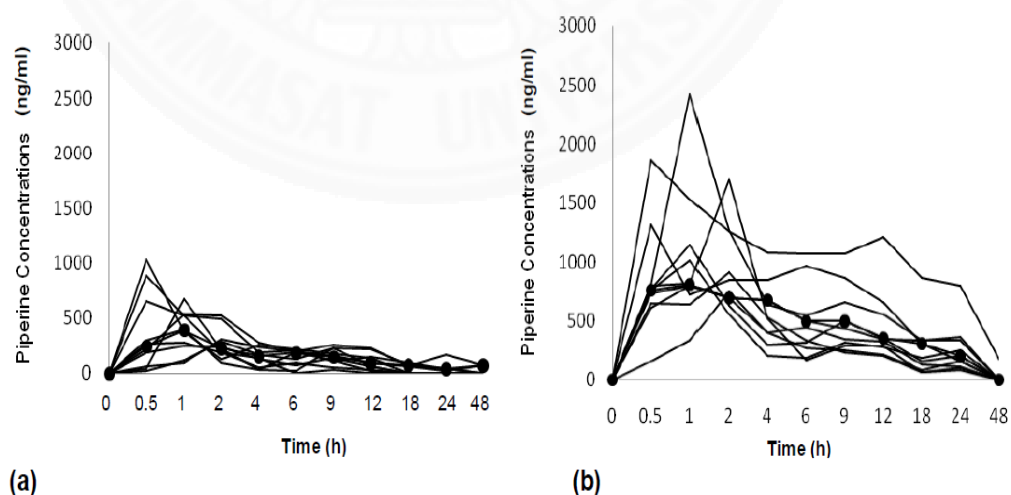
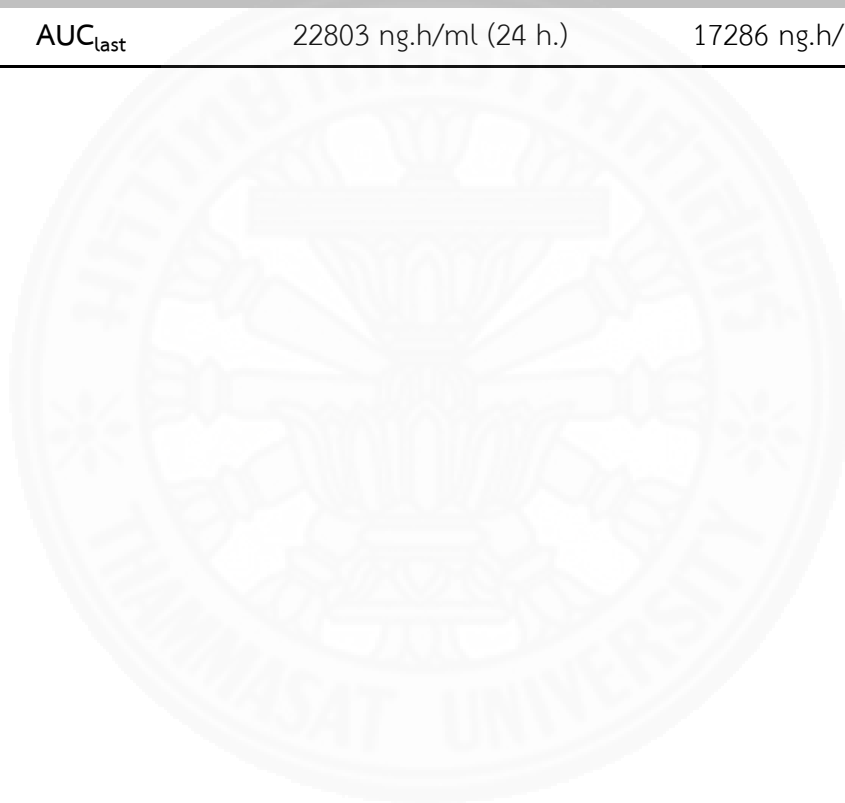


Figure 2.5 Median (filled circle) and individual serum concentration-time profiles (line) of piperine following oral administration of a single dose of (a) 100 mg (n=10) and (b) 200 mg (n=10) Benjakul remedy in healthy volunteers(Jumpa-ngern et al., 2013)

Table 2.7 Pharmacokinetics parameters of piperine compared between rat and human

Parameter	In rat (n=5, mean)(J. Liu et al., 2011)	In human (n=10, mean)(Jumpa-ngern et al., 2013)
$t_{1/2}$	4.10 h.	-
$t_{\max}$	2.45 h.	1.35 h.
$C_{\max}$	4292 ng/ml	1139 ng/ml
AUC_{last}	22803 ng.h/ml (24 h.)	17286 ng.h/ml (48 h.)



CHAPTER 3

RESEARCH METHODOLOGY

3.1 Preclinical part

3.1.1 Plants preparation

The Sahastara (SHT) remedy was prepared according to National List of Essential Medicines (NLEM) 2011. Plant Ingredients of SHT remedy were collected from several parts of Thailand or purchased from drug stores. The medicinal plants were identified and given specimen voucher numbers (Table 3.1). These herbs were thin sliced, washed and dried by hot air oven. After that, all medicinal plants were coarse ground to prepare for extraction.

3.1.2 Extraction

The coarse ground plants of SHT remedy were mixed according to the proportions in NLEM. These were macerated with 95% ethanol for 3 days, then the solvent was filtered and the filtrate was evaporated by rotary evaporator. The residue of SHT remedy was repeatedly macerated 2 more times (Figure 3.1). All extracts were combined and percentage of yield was calculated using the equation below.

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{Weighth of extract}}{\text{Weighth of dried plants}} \times 100$$

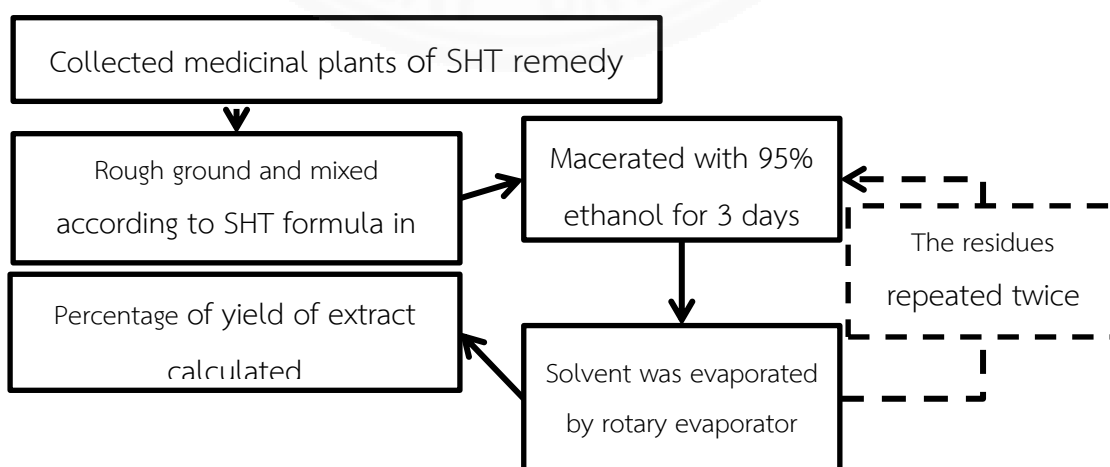


Figure 3.1 Extraction method

Table 3.1 The medicinal plants in Sahastara remedy formulation (for 1,000 g of powdered drug)

Thai name	Scientific name	Voucher specimen	Part-used	Weight (g)	Collected from
Prik-Thai	<i>Piper nigrum</i> Linn.	SKP146161401	Fruit	240	Chanthaburi, Thailand
Jet-Ta-Mul-Plerng-Dang	<i>Plumbago indica</i> Linn.	SKP148160901	Root	224	Laos
Sa-mhor-thai	<i>Terminalia chebula</i> Retz.	SKP049200301	Fruit	104	Sakaeo, Thailand
Dee-Plee	<i>Piper retrofractum</i> Vahl.	SKP146160301	Fruit	96	Chanthaburi, Thailand
Tong-Tank	<i>Baliospermum montanum</i> Muell.A.	SKP121021301	Root	80	Kanchanaburi, Thailand
Wan-Nam	<i>Acorus calamus</i> Linn.	SKP015010301	Rhizome	88	Nonthaburi, Thailand
Has-sa-khun-tade	<i>Kleinhovia hospita</i> Linn.	SKP183110801	Root	48	Kanchanaburi, Thailand
Ka-ra-boon	<i>Cinnamomum camphora</i> Linn.	SKP096030301	-	14	China
Dok-Chan	<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	SKP121130601	Aril of seed	13	China
Luk-Chan	<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	SKP121130601	Seed	12	China
Tien-Dang	<i>Lepidium ativum</i> Linn.	SKP057121901	Seed	11	India
Tien-Ta-Tuk-Ka-Tan	<i>Anethum graveolens</i> Linn.	SKP199010701	Fruit	10	India
Ma-Ha-Hing	<i>Ferula assafoetida</i> Linn.	SKP199060101	Resin	10	India
Tien-Sut-Ta-But	<i>Pimpinella anisum</i> Linn.	SKP199160101	Fruit	9	China
Tien-Khao	<i>Cuminum cyminum</i> Linn.	SKP199030301	Fruit	8	India

Table 3.1 (Cont.)

Thai name	Scientific name	Voucher specimen	Part-used	Weight (g)	Collected from
Jing-Jor	<i>Merremia vitifolia</i> (Burm.f.) Hallier f.	SKP054132201	Root	8	Kanchanaburi, Thailand
Tien-Dum	<i>Nigella sativa</i> Linn.	SKP160141901	Seed	7	China
Kote-Kag-Kra	<i>Anacyclus pyrethrum</i> (L.) DC.	SKP051011601	Root	6	China
Kote-Ka-Mao	<i>Atractylodes lancea</i> (Thunb) DC.	SKP051011201	Rhizome	5	China
Kote-Kan-Prao	<i>Picrorhiza kurroa</i> Benth.	SKP177161101	Root	4	India
Kote-Pung-Pla	<i>Terminalia chebula</i> Retz.	SKP019200301	Gall	3	India

3.1.3 Quality standardization of Sahastara remedy extract

3.1.3.1 Biological activity control

1) Nitric oxide production inhibition activity (Griess' reagent assay) (Tewtrakul & Itharat, 2007)

Principle

Nitric Oxide (NO) is an essential mediator in mammalian life. NO has been shown to be involved in inflammation. NO production increases when the body detects inflammation. However, NO measurement in biological studies needs careful consideration. NO has a short half-life and is oxidized to nitrite and/or nitrate rapidly by oxygen. (Sun, Zhang, Broderick, & Fein, 2003) Thus, the Griess' s reagent assay measures nitrite (NO_2^-) which is stable and as a nonvolatile compound was breakdown of NO production.

The Griess' reagent assay is a colorimetric assay based on chemical reaction. The nitrite forms a transient diazonium salt by reaction with a diazotizing reagent e.g. sulfanilamine (SA) in acidic (phosphoric acid) condition. Then, this intermediate reacts to form a stable azo compound with N- naphthyl-ethylenediamine (NED) which is a coupling reagent. The azo compound has intense purple color resulting from NO_2^- reaction, so it can be used to measure nitrite

concentration. If the sample can inhibit NO production, the purple color will be decreased. The color was assessed with absorbance at 570 nm.

MTT assay

The MTT assay is a colorimetric assay that measures the amount of cell viability. The assay determines mitochondrial activity. The succinate dehydrogenase which is an enzyme in mitochondria of viable cell reacts with yellow 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5diphenyl tetrazolium bromide (MTT) to form formazan crystals (dark purple). The organic solvent (e.g. isopropanol) is used to dissolve formazan, the formazan solution is measured optical density (OD) at 570 nm

Procedure (Tewtrakul & Itharat, 2007)

The RAW264.7 cell line was cultured in RPMI medium supplemented with 0.1 % sodium bicarbonate and 2mM glutamine, penicillin G (100 units/ml), streptomycin (100 µg/ml) and 10% fetal bovine serum (FBS). The cells were cultured in 250 ml flask in CO₂ incubator at 37 °C. After cell growth filled the flask, the cells were washed with phosphate buffer saline (PBS) free of magnesium and calcium. The PBS was poured off and cells harvested with 0.25% trypsin-EDTA and was diluted to a suspension in a fresh medium. The viable cells were counted by trypan blue exclusion in hemacytometer. 100 µl of suspended cell medium was seeded into 96 well-plate (10⁵cell/well or 10⁶cell/ml) and incubated at 37 °C with 5% CO₂ for 24 hours. Then, the medium was replaced with LPS 100 µl/well (except control). The sample extract was dissolved with DMSO and diluted to different concentrations (10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 µg/ml) with medium and 100 µl/well were added to 96 well-plate. After being incubated 24 hours at 37 °C with CO₂, 100 µl/well of supernatant was removed to another 96 wells-plate and 100 µl/well Griess reagent added and OD detected at 570 nm. 10 µl/well of MTT was added to another 96-well plate and incubated at 37 °C with CO₂ for 2 hours. After that, supernatant was removed and 0.04M in HCl added at 100 µl/well. Then, OD was detected at 570 nm. The OD values were used to produce % inhibition (Griess reagent) and % survival (MTT)

Data analysis

The IC_{50} was calculated from the dose response curve of % inhibition. The study was triplicated. The data of IC_{50} represent mean $\pm$ standard error of mean (SEM)

3.1.3.2 Chemical control

1) Total phenolic compounds by Folin-Ciocalteu's reagent assay

Principle

Phenolic compounds are commonly substance in plants. Phenolic compound contains one or more acidic hydroxyl groups attached to an aromatic arene (phenyl) ring that is easily to reduced. There are many available methods to measure total phenolic compounds. The Folin-Ciocalteu (F-C) assay is a colorimetric method for this purpose. The F-C reagent is a yellow colored reagent that is a complex with the heteropoly acid, phosphomolybdic and phosphotungstic acid. The phenolic compounds transfer electrons in alkaline medium to F-C reagent to form a blue complex that is defined spectroscopically at approximately 760 nm. However, this method is not specific and detects all phenolic compounds. The interpretation needs careful consideration because other oxidation substrates in the sample extract such as ascorbic acid, sulfur and sulfate dioxide can interfere in an inhibitory, additive or enhancing way. (Ainsworth & Gillespie, 2007; Abgbor, Vinson & Donnelly, 2014)

Gallic acid is commonly used as standard for calculating total phenolic compounds. A standard curve was produced from concentrations of gallic acid and OD at 765 nm. The total phenolic content was calculated as gallic acid equivalents using a regression equation between gallic acid standard and OD at 765 nm.

Procedure

The stock solution of gallic acid was prepared, with 10.0 mg of gallic acid dissolved in 10 ml absolute ethanol. The stock solution was diluted to five different concentrations (100, 80, 40, 20 and 10 μ g/ml).

The sample stock of SHT remedy extract was prepared, with 10 mg of SHT remedy extract dissolved in 10 ml absolute ethanol.

The Folin solution was 10-fold diluted with MQ water and sodium carbonate anhydrous (Na_2CO_3) was dissolved with MQ water. (7.5g /100 ml)

This procedure was applied to a 96 well-plate. Gallic acid of every concentration and 20 μl of sample extract was added to a 96 well- plate. Then, 100 μl Folin's solution was added, followed by 80 μl Na_2CO_3 . The 96 well-plate was kept for 30 minutes at room temperature and measured OD at 765 nm.

Data analysis

A regression equation and co-efficient of correlation (r^2) of gallic acid standard was performed. The total phenolic content was calculated as gallic acid equivalents using regression equation between gallic acid and OD value. The study was triplicated. The data represent mean $\pm$ SEM.

2) Piperine content by High Performance Liquid

Chromatography (HPLC)

Chemicals and reagents

The piperine was purchased from Merck, Germany. The other HPLC grade reagents, including Methanol (MeOH), Acetonitrile(ACN) and Water were purchased from RCI Labscan, Thailand.

Analytic condition

The analytic condition was performed according to the analytic of piperine in Benjakul remedy. (Itharat & Sakpakdeejaroen, 2010) Injection volume is 10 μl at room temperature and the flow rate is 1 ml/min. Detection was performed at 340 nm with 70 min runtime. The mobile phase (Water and Acetonitrile) is gradient elution (Table 3.2) that was filtered through 0.45 μm Millipore filter.

Table 3.2 The gradient solvent elution and time setting for piperine content analysis

Time	Water	Acetonitrile
0	60	40
30	50	50
50	5	95
60	0	100
65	60	40
70	60	40

Instruments

The study was performed on HPLC (Agilent®, LC1200) with Photodiode array detector (DAD) and autosampler. Analytic column was Luna C18(2) (Phenomenex®), 250x4.6 mm, 5 µm. 3. Guard cartridge (C18), 4x3.0 mm (Phenomenex®) with guard holder.

Procedure

A stock solution of piperine standard was prepared, 1.0 mg of piperine standard was weighted accurately and dissolved in 1 ml ACN. The stock solution of piperine standard was diluted to five different concentrations (400, 200, 100, 50 and 25 µg/ml) with ACN, and 1 ml of each concentration prepared. The five concentrations of piperine standard were injected to produce the standard curve. The regression equation and co-efficient of correlation (r^2) of piperine standard was performed.

10 mg the sample SHT extract was weight accurately and dissolved in 1 ml ACN. The sample was injected under the same conditions as piperine.

The piperine content in sample extract was calculated from the regression equation of piperine standard.

3.1.4 Encapsulating Sahastara remedy ethanolic extract

The minimum dose of SHT remedy extract for this study is 100 mg. The SHT remedy extract is sticky and half-fluid, so it is necessary to use capsule No.0 (500 mg) to encapsulate the SHT remedy extract. The best formulation was Rx3 which was showed low moisture and easiest to encapsulation. The formulation for SHT remedy extract capsule includes drug excipients as shown in Table 3.3. These were mixed together. The SHT remedy extract capsules passed standard quality parameters including contaminant testing, weight variation and disintegration time.

Table 3.3 The formula of Sahastara remedy capsules

Ingredients	Weight (mg)				
	Rx1	Rx2	Rx3	Rx 4	Rx5
SHT remedy extract	100	100	100	100	100
Avicel® 101	100	150	175	195	195
Avicel® 102	200	100	195	195	175
Aerosil	-	-	4	4	4
Magnesium stearate	4	4	4	4	4
Lactose	50	50	-	-	-
Total	454	404	478	498	478

3.1.4.1 Stability test

The stability test will take place under accelerated conditions (40 °c and 75% RH). The SHT remedy extract capsules were stored for 8 different duration times, namely 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days. Then, the NO production inhibition assay and determination of piperine by HPLC was performed on SHT remedy extract capsules for each time interval, and compared with Day0.

3.2 Clinical Part

3.2.1 Research design

This study is an open label, clinical trial phase 1 on healthy volunteers.

3.2.2 Subject

The volunteers were recruited followed the criteria below

3.2.2.1 Inclusion criteria

- 1) Both sexes aged between 20-45 years
- 2) No pregnancy, the female who were reproductive age or married must have contraception. (Pregnancy test performed to confirm in uncertain cases)
- 3) No serious medical condition that considered from history taking, complete physical examination and laboratory results (CBC, FBS, Cholesterol, Triglyceride, HDL-c, LDL-c, BUN, Cr, Liver function test) within 1 month of study beginning
- 4) No addictive substances
- 5) Not while during taking supplementary food or vitamins (stop using at least 7 days before recruited in the study)
- 6) Co-operated with recommendations during the study
- 7) Not be participant in another study

3.2.2.2 Exclusion criteria

- 1) Hypertensive disorder (Blood pressure more than 140/90 mm.Hg.)
- 2) BMI > 30 kg/m²
- 3) Has serious underlying disease including peptic ulcer, GERD, liver or renal dysfunction
- 4) Currently using medicine including phenytoin, propranolol, theophylline and rifampicin
- 5) Hypersensitivity with medicinal plants in SHT remedy

3.2.2.3 Discontinuation criteria

- 1) Serious adverse drug reaction related with SHT remedy such as edema, severe nausea and vomiting, chest discomfort and/or liver enzymes (AST, ALT) and blood urea nitrogen (BUN) increased more than 2.5 times upper normal limit (UNL) and/or creatinine increased more than 1.5 times UNL
- 2) The doctor decides to discontinue medication from serious GI symptoms
- 3) The female volunteers want to be pregnant.
- 4) Non- cooperation with recommendations during the study

3.2.2.4 Stopping rule

If the volunteers develop a life-threatening condition related with SHT remedy, or related to any causes, the whole study will stop.

3.2.3 Sample size

This study is a clinical trial phase 1 that was performed on at least 10 healthy volunteers. The study was performed with 2 different doses of SHT remedy extract capsules. Thus, 12 males and 12 females volunteers were needed for the clinical safety study and also the same number of volunteers in the pharmacokinetics study. There are 48 healthy volunteers in total were recruited into the study; 24 males and 24 females were recruited into the study

3.2.4 The clinical safety of Sahastara ethanolic extract capsules in healthy volunteers

3.2.4.1 Drug and chemistry

The capsules used in the study contain 100 mg of SHT ethanolic extract. The SHT ethanolic extract capsules passed quality control standards.

3.2.4.2 Procedure

The volunteers received information about the study and were advised to report to the investigator and sign in the consent form. The screening included history taking, complete physical examination, blood and urine collection for laboratory testing (complete blood count, fasting blood sugar, lipid profile, liver function, renal function and urine analysis). The eligible volunteers were recruited into

the study. They were divided into 2 groups by doses, 6 males and 6 females each group, for 300 mg/day and 600 mg/day of SHT remedy extract capsules. In dose 300 mg/day, the volunteers each received 100 mg SHT remedy extract 1 capsule before meals 3 times per day while dose 600 mg/day received 100 mg SHT remedy extract 2 capsules before meal 3 times per day. They received SHT capsules for 28 days. The follow up was performed every 14 days (day 14, day 28) and also performed for 14 days after the last capsules had been taken (Day42).

The study began with 300 mg/day. If there is no problem in the trial of 300 mg/day, the study on 600 mg/day dose was begun.

3.2.4.3 Data analysis

The history taking, complete physical examination and daily note was used to evaluate side effects in the safety aspects. The laboratory test data including liver function test and renal function test were represented as mean $\pm$ SD. The repeated measure ANOVA was used to compare value change from baseline, P-value <0.05 indicating a significant difference.

3.2.4.4 Ethical issue

The study on clinical safety was approved by the Medical Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Thammasat University (registry number MTU-EC-TM-1-179/57).

3.2.5 The clinical pharmacokinetics of SHT remedy ethanolic extract capsules in healthy volunteers

3.2.5.1 Drug and chemistry

The capsules containing 100 mg of SHT ethanolic extract were used in the study. The SHT ethanolic extract capsules passed quality standards.

3.2.5.2 Procedure

The healthy volunteers received information about the study and were advised to report to the investigator and sign the consent form. Screening was performed including history taking, complete physical examination, blood and urine collection for laboratory tests (complete blood count, fasting blood sugar, lipid profile, liver function, renal function and urine analysis). The eligible volunteers were

recruited into the study. They were divided into 2 groups by dose, 6 males and 6 females each group, for 100 mg and 200 mg. The volunteers were appointed for admission at the Thammasat University hospital. The volunteers must have had nothing through the mouth at least 8 hours (fasting) before admission to hospital. At the hospital, history taking, complete physical examination and laboratory test data were recorded as baseline data (time 0). Then, the volunteers received a single oral dose of SHT remedy capsules according to which dose they were assigned, 1 capsule for 100 mg dose and 2 capsules for 200 mg dose. Not more than 240 ml drinking water was permitted for taking medicine. 10 ml of blood was collected in heparin tubes at the following times: 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24 and 48 hours. All urine was collected over 24 hours after taking SHT capsules. Then, 100 ml of urine sample was taken for piperine measurement.

The whole blood at each time point was centrifuged at 3000 rpm for 10 min, at 4 °C to separate serum and red blood cells (RBC). 4 ml of serum and 4 ml of red blood cells were kept in 4 tubes (1 ml/tube), 1 tube for PK study 1 tube for blood chemistry analysis and 2 tubes for reserve. These samples were stored at -20 or -80 °C until analysis with LC-MS/MS.

3.2.5.3 Data analysis

The pharmacokinetic parameters were calculated by non-compartmental analysis using PK solution 2.0™ (Summit Research Service, USA). Maximum concentration of piperine (C_{max}) and time to maximum concentration of piperine (T_{max}) were obtained directly from plasma concentration-time profile of each individual. The area under curve (AUC) was obtained by trapezoidal method from concentration-time profile of piperine from time zero to observed time (0-t). The data represents mean±SD. Comparison of pharmacokinetics parameters between the two dosages of SHT remedy was performed by Mann-Whitney U test, with P-value<0.05 indicating a significance difference.

3.2.5.4 Ethical issue

The study on clinical pharmacokinetics was approved by the Medical Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Thammasat University (registry number MTU-EC-TM-6-121/58)

CHAPTER 4

RESULTS AND DISCUSSIONS

4.1 Preclinical part

4.1.1 Extraction

The SHT remedy extract was a brown color and sticky. The percentage of yield is 9.80% (Figure 4.1)



Figure 4.1 The Sahastara remedy ethanolic extract

4.1.2 Quality control of Sahastara remedy ethanolic extract

4.1.2.1 Biological activity control

1) Nitric oxide production inhibition activity (Griess's reagent assay)

The SHT remedy ethanolic extract was tested anti-inflammatory activity to establish potency standard level of potency for quality control. The results show SHT remedy extract has anti-inflammation activity by NO production inhibition as $IC_{50} = 6.274 \pm 0.796 \mu\text{g/ml}$ which was accepted by quality control criteria and related with previous study which IC_{50} value have to less than 30 $\mu\text{g/ml}$. (Kanokkangsadal et al., 2013; Pinsornsak et al., 2015) (Table 4.1)

Table 4.1 Anti-inflammation activity of SHT remedy ethanolic extract by NO inhibition

Extract	N	Concentration (µg/ml)	%inhibition	%survival	IC ₅₀ (µg/ml)	Mean of IC ₅₀ ±SEM (µg/ml)
SHT remedy (95%ethanol)	1	10	92.23	108.19	6.010	6.274±0.796
		1	24.52	107.36		
		0.1	5.32	103.98		
		0.01	-0.96	106.36		
	2	10	88.30	81.57	7.766	
		1	19.32	131.03		
		0.1	2.86	104.07		
		0.01	-5.20	126.12		
	3	10	75.59	98.56	5.047	
		1	26.26	85.06		
		0.1	12.58	89.49		
		0.01	9.46	91.96		

In addition, the same criterion was used in the study of SHT remedy powder drug in OA knee patients. The previous study demonstrated good efficacy to reduce pain in OA knee patients. This current study can support that the anti-inflammatory value of SHT remedy related the potency level of the previous study. Thus, the anti-inflammatory value by NO inhibition which exhibit good efficacy should be used for standardized SHT ethanolic extract in the future

4.1.2.2 Chemical control

1) Total phenolic content by Folin-Ciocalteu's reagent assay

The Total phenolic content was performed for chemical quality control. The SHT remedy extract showed 42.69 ± 3.18 mg.GAE/g.extract which passed chemical control criterion (not less than 30 mg.GAE/g.extract).(Kanokkangsadal et al., 2013) (Table 4.2)

Table 4.2 Total phenolic content of SHT remedy ethanolic extract

Extract	n	Total phenolic content (mg.GAE/g.extract)	Mean $\pm$ SEM (mg.GAE/g.extract)
SHT remedy (95% ethanol)	1	38.00	42.69 $\pm$ 3.18
	2	48.75	
	3	41.33	

Total Phenolic contents was a quality measurement that a previous study also proposed. It was an easy method to establish chemical content in SHT remedy without complicated method. Although the phenolic content is not directly related to the biological activity, it confirmed the good chemical quality of SHT remedy ethanolic extract. The previous study was proposed a phenolic content was not less than 30 mg.GAE/g.extract. In this current study SHT remedy extract showed a higher the phenolic content than that.

2) Piperine content by High Performance Liquid

Chromatography (HPLC)

Piperine from SHT remedy ethanolic extract was analyzed by HPLC. The retention time of piperine was 18-20 minutes (Figure 4.2). There is 224.94 mg/g of piperine in SHT remedy ethanolic extract. It passed the acceptable standard of 190 mg/g extract. These results refer to the efficacious dose of SHT remedy powder drug in OA knee patients.(Pinsornsak et al., 2015)

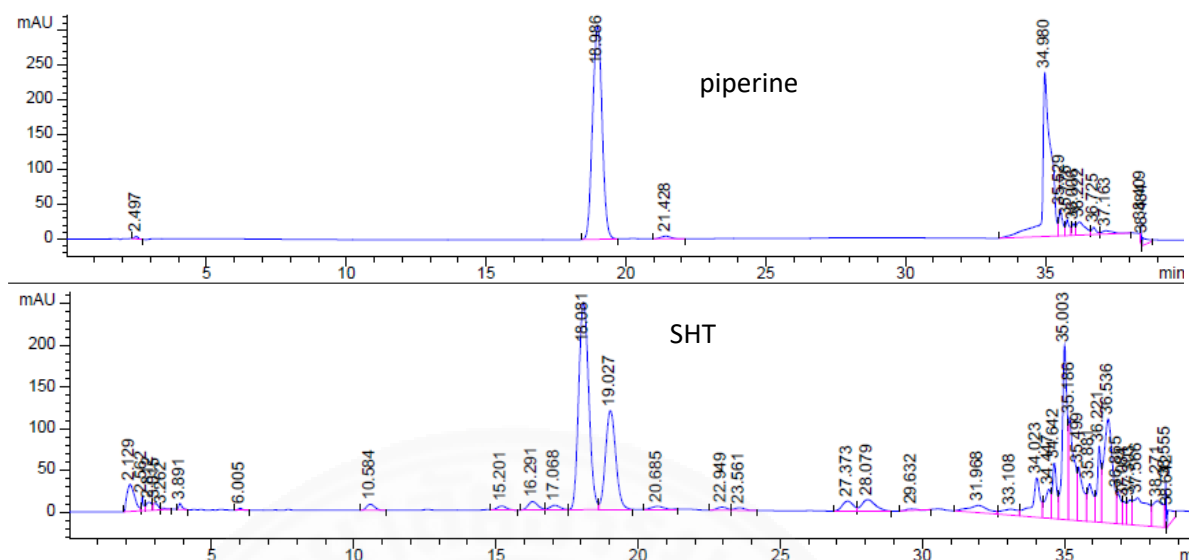


Figure 4.2 Piperine content in SHT remedy ethanolic extract

There are many studies showing that piperine was related to anti-inflammatory activity and it is the main compound to reduce pain. (Meghwal & Goswami, 2013) The clinical study of SHT remedy powdered drug in OA knee patients showed that piperine approximately 190 mg/g extract has good efficacy to reduce pain and inflammation. It may be assumed that piperine content in SHT ethanolic extract at least 190 mg/g extract will be an efficacious dose to use for clinical trials in the future, so this study used the same criteria to determine the chemical content of SHT ethanolic extract for quality control of drug.

4.1.3 Encapsulating Sahastara remedy ethanolic extract

The standardization of SHT remedy ethanolic extract capsules was performed including moisture test (loss on drying), weight variation, disintegration time and contamination test. The SHT remedy extract capsules were passed the standard requirements. (Table 4.3)

Table 4.3 The quality standards of SHT remedy ethanolic extract capsules (Ministry of Pulic Health, 1998)

Quality control testing	Result	Standard value	Summary
Moisture test (Loss on drying)	8.12%	< 10 %	Pass
Bacterial contamination	<10 CFU/g	<5x10 ⁵ CFU/g	Pass
Yeast & Mold contamination	10 CFU/g	<5x10 ³ CFU/g	Pass
Disintegration time	14.01minutes	< 30 minutes	Pass
Weight variation: average weight*	534 mg	>462.5 mg	Pass

* No more 2 capsules had weight difference $\geq 5\%$ of average weight.

Not only SHT remedy extract pass quality standards, but also the capsule of SHT remedy extract has to pass quality standards as dosage form. The quality control was performed according to Thai herbal pharmacopeia. The results confirm that the capsules of SHT extract were safe because they were no contaminate from microbes and all capsules had the same quality.

4.1.4 Stability test

The stability test was performed to confirm that SHT remedy extract capsule has long enough shelf life for the whole study. The stability of SHT ethanolic extract capsule by using accelerated condition was indicated by biological activity (NO inhibition) and chemical content (Piperine content).

4.1.4.1 Nitric oxide production inhibition test

The SHT extract capsules were kept in accelerated conditions for 180 days. The capsules were sampling at different time interval, namely at day 15, 30, 60, 90 120, 150 and 180. The samples were extracted and tested for anti-inflammatory activity by NO inhibitions compared with baseline (Day 0). The results showed IC_{50} of SHT extract capsules was not significantly different from baseline data ($P>0.05$). Moreover, the mean of IC_{50} in NO inhibition passed the acceptable value of anti-inflammatory activity ($IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$) in every time points (Table 4.4). It assumed that SHT remedy extract has potent NO inhibition activity when stored at room temperature for 2 years. (ICH, 2003)

Table 4.4 The NO inhibition testing in stability study by accelerated condition

Sample (n=3)	Mean of IC_{50} in NO inhibition ($\mu\text{g/ml}$)	$\pm\text{SEM}$	P-value*
Day 0	2.56	0.81	N/A
Day 15	1.88	1.01	0.525
Day 30	4.86	1.69	0.213
Day 60	6.13	2.11	0.141
Day 90	5.79	1.75	0.77
Day 120	4.43	1.71	0.289
Day 150	2.03	0.74	0.406
Day 180	1.11	0.59	0.398

* Statistical analysis ; Paired t-test which compared with Day0, N/A ; not analysis, singnificant diferent ($p<0.05$)

4.1.4.2 Piperine Content by HPLC

The capsules of SHT remedy extract were stored in accelerated conditions ($40^\circ\text{C} \pm 75\%\text{HR}$) for 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days. The result show piperine content of SHT ethanolic extract capsule was not less content than 19 mg/capsule so, it also passed the acceptable requirement of SHT remedy extract. (Table 4.5)

Table 4.5 Piperine content in stability test (n=3)

Sample	Piperine content (mg/capsule)	%piperine
Day 0	24.35±0.21	100±0.00
Day 15	22.20±0.21	91.19±0.01
Day 30	22.50±0.14	92.41±0.32
Day 60	33.30±0.23	136.79±0.63
Day 90	22.83±0.27	93.77±0.33
Day 120	23.18±3.83	95.17±14.77
Day 150	25.84±0.08	106.14±1.56
Day 180	23.93±3.91	98.27±16.93

Data represented by mean±SD

Piperine content at each time was not less than 90% when compared with day 0. There is no significant different when compare between day 0 and at each time points. (Figure 4.3) From this result assumed that the SHT remedy ethanolic extract capsule could be stored in room temperature for 2 years without losing of piperine content following by acceleration stability ICH harmonised tripartite guided line method.

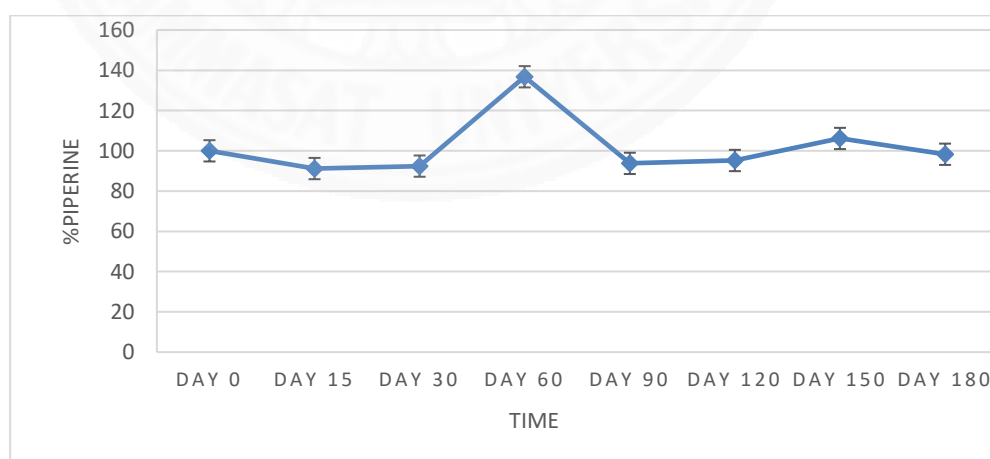


Figure 4.3 Percentage of piperine at each time, the significant difference at each time was compared with Day 0 ($P > 0.05$)

4.2 Clinical Part

4.2.1 The clinical safety of Sahastara remedy ethanolic extract capsules in healthy volunteers

4.2.1.1 Baseline Characteristics

A total of twenty-four eligible volunteers were recruited into the study. No volunteer was excluded from the study, so all volunteers completed the study. (Figure 4.4) There was no significant difference between the two dose groups in baseline characteristics including sex, age, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP). All volunteers showed good compliance with average of more than 90% that was assessed from daily notes and count of remaining capsules. (Table 4.6)

Table 4.6 Baseline Characteristics of volunteers in clinical safety study

Baseline characteristics	Results *		P-value**
	SHT 300 mg/day	SHT 600 mg/day	
Sex (n, %)	12 (100%)	12(100%)	
Male	6 (50%)	6(50.0%)	1.000 ^c
Female	6 (50%)	6(50.0%)	
Age (years)	29.17 (5.33)	29.17(5.32)	0.954 ^m
Body mass index : BMI (kg/m ²)	22.72 (3.05)	21.48(3.48)	0.143 ^m
Systolic blood pressure :SBP (mm.Hg)	105.83 (11.65)	110.83(10.84)	0.378 ^m
Dyastolic blood pressure : DBP (mm.Hg)	73.75(7.11)	75.83(9.00)	0.630 ^m
Blood urea nitrogen : BUN (mg/dL)	11.96(3.60)	10.24(2.45)	0.370 ^m
Creatinine (mg/dL)	0.82(0.18)	0.80(0.19)	0.751 ^m
AST (U/L)	20.75(5.28)	18.58(3.15)	0.309 ^m
ALT (U/L)	34.50 (16.21)	24.83(7.58)	0.271 ^m
ALP (U/L)	67.75(14.01)	71.92(26.63)	0.514 ^m

* Data represent ; mean(SD) **Statistical analysis; ^c chi-square-test, ^m Mann-whitney U test

4.2.1.2 Adverse Events (AEs)

Abdominal discomfort was the most common AE that was found in both dose groups. It was found in 600 mg/day group more than 300 mg/day (as 66.67% and 58.33% respectively). The severity of abdominal discomfort was mild to moderate grade. However, the abdominal discomfort, in most volunteers (approximately 50%), was relieved after taking the capsule for 2 weeks. The second AE was belching in the 300 mg/day dose groups while hot bodily sensation was second AE, occurring in the 600 mg/day dose groups. It was similar to the abdominal discomfort in that it was relived about 14 days after take medicine. It may indicate that the higher dose causes more side effects. Either way, the hot bodily sensations is a more serious side effects than belching. (Table 4.7)

Table 4.7 Adverse events in clinical safety study

Adverse events	SHT 300 mg/day (n=12)				SHT 600 mg/day (n=12)			
	n (%)	Day 1-14	Day 15-28	Day 29-42	n (%)	Day 1-14	Day 15-28	Day 29-42
Body hot sensation	3(25)	3 ^{e,g,h}	2 ^{g,h}	0	7(58.33)	7 ^{m,o,p,r,t,u,x}	3 ^{t,u,x}	0
Abdominal discomfort	7(58.33)	6 ^{a,c-d,e,g,i-j}	3 ^{c,g,j}	2 ^{g,j}	8(66.67)	8 ^{m-o,t-v,w,x}	3 ^{m,u,x}	0
Dry lip and throat	4(33.33)	4 ^{d,g,i}	3 ^{c,g,i}	0	1(8.33)	1 ^q	1 ^q	1 ^q
Dizziness	2(16.67)	1 ^g	2 ^{e,g}	0	1(8.33)	1 ^o	0	0
Nausea	1(8.33)	0	1 ^e	0	0(0)	0	0	0
Sleepy	4(33.33)	3 ^{g,h,j}	3 ^{e,g,j}	2 ^{e,j}	4(33.33)	4 ^{n,t,v,w}	0	0
Diarrhea	1 (8.33)	1 ^g	1 ^g	0	3(25)	3 ^{n,v,x}	2 ^{n,x}	0
Belch	6(50)	6 ^{a,c-e,g,i}	3 ^{a,c,g}	0	6(50)	6 ^{m,o,p,s,t,s}	3 ^{p,s,x}	0

Data represented as amount of person, a-x = volunteers number 1-24

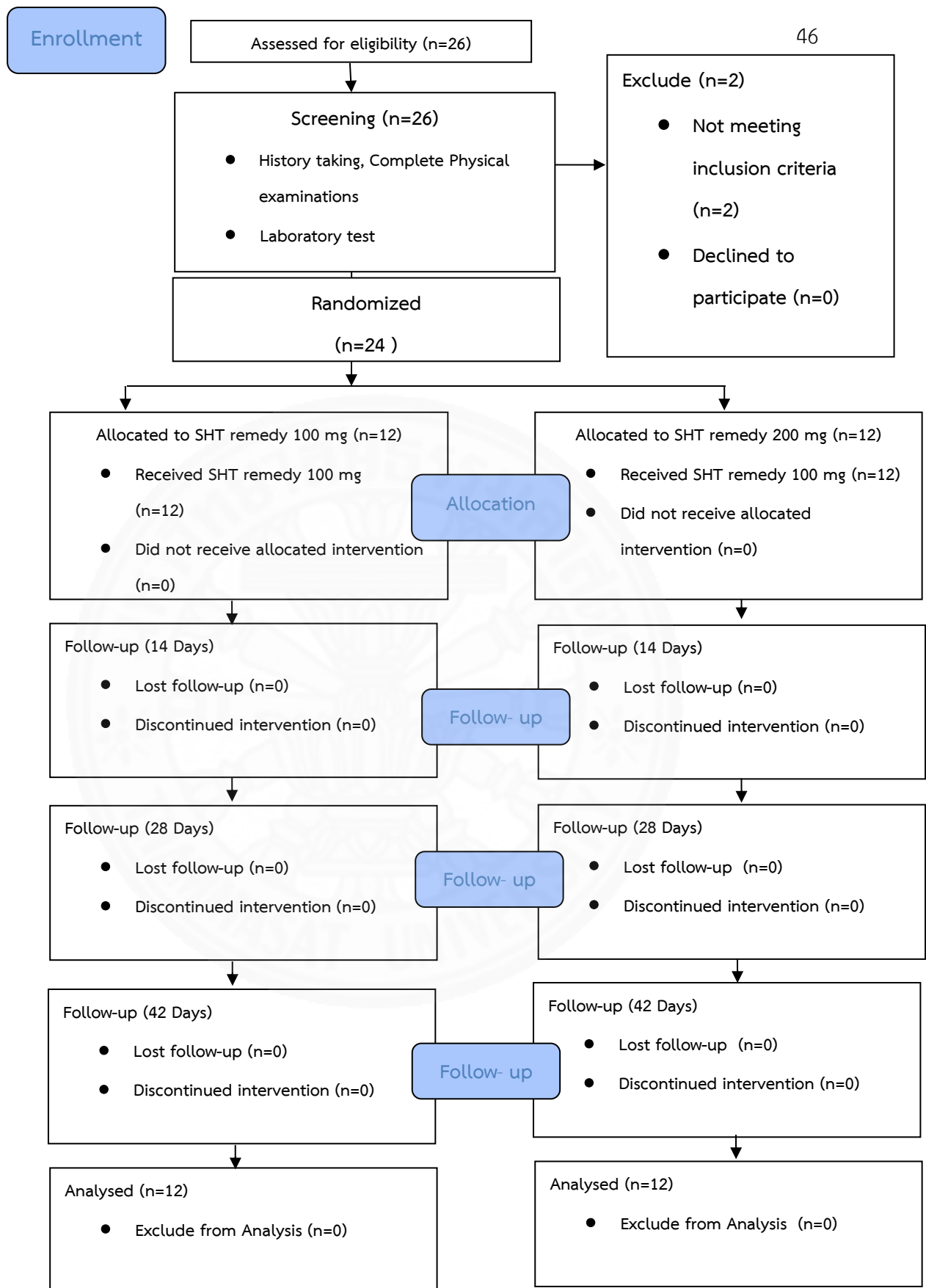


Figure 4.4 Flow chart of study on clinical safety in healthy volunteers

There are few reports on SHT remedy extract especially in human applications. Powdered SHT drug has been studied on OA knee patients. This current study is the first SHT remedy extract study on humans. The doses of 300 and 600 mg/ day are close to efficacious dose in OA knee patients which was calculated from percentage of yield of SHT remedy extract (approximately 10%). (Pinsornsak et al., 2015) The results related with the previous study on safety of SHT powder drug where abdominal discomfort was found as the most common AEs. The AEs may be explained as arising from spicy medicinal plants in SHT remedy such as *Piper* species (pepper, long pepper) with piperine as a major constituent. (Pinsornsak et al., 2015) Piperine is a pungent alkaloid and might be the reason for AEs in this current study. This study is supported by A study of piperine which is an agonist of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV-1). (McNamara, Randall, & Gunthrope, 2005) The receptor is believed to transduce the sensation of noxious heat and pain. (Caterina, 2003) TRPV1 expressing sensory nerve is found in the stomach and duodenum. (Holzer, 2002) In addition, TRPV1 activation also stimulates the thickening of a protective layer in the stomach and duodenum. (Akiba et al., 2001) It may explain the reduction of side effects after taking SHT remedy for 2 weeks. The SHT remedy extract shows similarity to a study on Benjakul (BJK) remedy extract which contains piperine as a main compound. The most common side effect of BJK in healthy volunteers was abdominal discomfort. The side effect was also relieved after taking the medicine for 2 weeks. (Amorndoljai, Kietinun, & Somparn, 2011)

4.2.1.3 Blood Pressure; BP

Blood pressure is an important issue with SHT remedy because SHT remedy is to be used with caution in hypertensive patients. Blood pressure was monitored in this study.

Blood Pressure of SHT remedy ethanolic extract 300 mg/day

Systolic Blood Pressure (SBP) and Diastolic Blood pressure (DBP) had reduced from Day0. Only DBP in Day 28 showed significant decrease from Day0 ($P < 0.05$). However, blood pressure was not changed outside the normal ranges.

It may be assumed that SHT remedy 300 mg/day did not affect blood pressure in healthy volunteers. (Table 4.8)

Table 4.8 Blood pressure monitoring of SHT ethanolic extracts capsules 300 mg/day

SBP (mm.Hg.) (ref. range≤140)	Day0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	105.83(11.65)	106.67(8.88)	100.00(7.11)	103.33(6.51)
P-value*		0.773	0.149	0.490
Day 14			100.00(7.11)	103.33(6.51)
P-value*			0.054	0.305
Day 28				103.33(6.51)
P-value*				0.206
DBP (mm.Hg.) (ref. range ≤90)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	73.75(7.11)	73.33(6.51)	70.00(4.26)	69.17(2.88)
P-value*		0.949	0.034	0.058
Day 14			70.00(4.26)	69.17(2.88)
P-value*			0.102	0.096
Day 28				69.17(2.88)
P-value*				0.564

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

Blood Pressure of SHT remedy ethanolic extract capsule 600 mg/day

In the same manner as 300 mg/day, DBP and SBP of SHT extract capsules 600 mg/day reduced from Day0. SBP on Day14 and Day32 were significant decrease from Day0. DBP on Day32 was significantly decreased from Day0 and Day28. However, these changes did not exceed the reference ranges. These results show SHT

remedy extracts capsule 600 mg/ day did not affect blood pressure in healthy volunteers when used for 28 days. (Table 4.9)

Table 4.9 Blood pressure monitoring of SHT extracts capsules 600 mg/day

SBP (mm.Hg.) (ref. Range < 140)	Day0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	110.83(10.83)	104.17(9.96)	106.67(8.88)	101.67(8.35)
P-value*		0.023	0.206	0.005
Day 14			106.67(8.88)	101.67(8.35)
P-value*			0.317	0.366
Day 28				101.67(8.35)
P-value*				0.124
DBP (mm.Hg.) (ref. Range < 90)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	75.83(9.00)	72.92(6.89)	73.33(6.51)	70.00(4.26)
P-value*		0.149	0.257	0.020
Day 14			73.33(6.51)	70.00(4.26)
P-value*			0.888	0.066
Day 28				70.00(4.26)
P-value*				0.046

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

Blood pressure comparison between SHT remedy 300 mg/day and 600 mg/day

The comparison of BP between 2 dose groups show a statistically significant difference in SBP and DBP but these changes did not exceed the reference range. These results could be indicated that dose of SHT remedy might be

related with changing of blood pressure. It showed trend of reducing blood pressure. However, this effect need more study to establish a link. (Table 4.10)

Table 4.10 Blood pressure compared between 2 dose groups

Physical examination	Follow up	Results*		P-value**
		SHT 300	SHT 600	
		mg/day (n=12)	mg/day (n=12)	
SBP (ref. <140 mm.Hg.)	Day 0	105.83(11.65)	110.83(10.83)	0.048
	Day 14	106.67(8.88)	104.17(9.96)	
	Day 28	100.00(7.11)	106.67(8.88)	
	Day 42	103.33(6.51)	101.67(8.35)	
DBP (ref. < 90 mm.Hg.)	Day 0	73.75(7.11)	75.83(9.00)	0.005
	Day 14	73.33(6.51)	72.92(6.89)	
	Day 28	70.00(4.26)	73.33(6.51)	
	Day 42	69.17(2.88)	70.00(4.26)	

* = data represented by mean(SD), ** = statistical analysis : Friedman's test

Although SBP and DBP had significantly reduced from baseline in both dose groups and was significantly different between the 2 groups, it was not outside the reference range. It can be assumed that SHT remedy ethanolic extract does not affect blood pressure. This current study is related with the study of piperine

and SHT remedy in hypertensive rats that demonstrated piperine and SHT remedy did not affect blood pressure in hypertensive and normal wistar rats. In addition, SHT remedy showed vasorelaxation effect by increased acetylcholine and vasculoprotective effect in nitric oxide impaired rats.(Booranasubkajorn et al., 2017) This study also confirms the previous work with OA knee patients that showed no significant change in blood pressure from baseline when powdered SHT remedy was taken for 28 days. For the above reasons, SHT remedy extract is not only appropriate to use in OA knee patients, but also might be considered for use in hypertensive patients that often present in elderly people as well as OA knee. Moreover, the precaution of SHT remedy in hypertensive patients should be reconsidered and discussed.

4.2.1.4 Renal functions

Renal function of SHT remedy ethanolic extract 300 mg/day

The renal function (BUN and creatinine) was performed to monitor safety. The SHT remedy 300 mg/day showed statistically significant increase only in BUN of Day14 when compared with Day 0. However, the increased was not outside the reference range. It assumed that SHT remedy extract capsule did not affect BUN. (Table 4.11)

Table 4.11 BUN monitoring of SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day

BUN (mg/dL) (ref. range = 7.0-18.0)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	11.96(3.60)	13.36(4.05)	11.51(1.96)	11.65(2.54)
P-value*		0.041	0.530	0.666
Day 14			11.51(1.96)	11.65(2.54)
P-value*			0.158	0.060
Day 28				11.65(2.54)
P-value*				0.814

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

In the same way, creatinine of 300 mg/day group did not show significant difference within groups. The results show SHT remedy extract capsules did not affect creatinine. (Table 4.12)

Table 4.12 Creatinine monitoring of SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day

Creatinine (mg/dL) (ref. range = 0.7-1.3)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	0.82(0.18)	0.84(0.18)	0.83(0.19)	0.83(0.16)
P-value*		0.167	0.875	0.474
Day 14			0.83(0.19)	0.83(0.16)
P-value*			0.349	0.858
Day 28				0.83(0.16)
P-value*				0.894

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

Renal function of SHT remedy ethanolic extract capsules

600 mg/day

The renal function (BUN and creatinine) was performed to monitor safety. The BUN of SHT remedy 600 mg/day showed statistically significant decrease when Day 14 is compared with Day 0 while Day 42 show significant increase after stopping taking medicine. However, BUN was not changed more than the reference range. It may be assumed that SHT remedy 600mg/day did not affect BUN. (Table 4.13)

Table 4.13 BUN monitoring of SHT remedy ethanolic extract capsules 600 mg/day

BUN (mg/dL) (ref. range = 7.0-18.0)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	10.24(2.45)	9.09(2.85)	9.45(2.81)	12.26(3.08)
P-value*		0.036	0.136	0.045
Day 14			9.45(2.81)	12.26(3.08)
P-value*			0.432	0.019
Day 28				12.26(3.08)
P-value*				0.041

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

Similarly, for creatinine, the results show no statistically significant difference within group. Even though creatinine was slightly increased from baseline, it still is in normal range. It may be assumed that the SHT extract capsules 600 mg/day did not affect to creatinine. (Table 4.14)

Table 4.14 Creatinine monitoring of SHT remedy ethanolic extract capsules 600 mg/day

Creatinine (mg/dL) (ref .range = 0.7-1.3)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	0.79(0.20)	0.83(0.18)	0.84(0.21)	0.78(0.19)
P-value		0.230	0.091	0.723
Day 14			0.84(0.21)	0.78(0.19)
P-value			0.323	0.075
Day 28				0.78(0.19)
P-value				0.050

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

Renal function comparison between SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day and 600 mg/day

The results of renal functions compared between SHT remedy 300 mg/day and 600 mg/day show no significant difference between dose groups either BUN or creatinine. (Table 4.15)

Table 4.15 Renal functions comparison between 2 dose groups

Laboratory	Follow up	Results*		P-value**
		SHT 300 mg/day	SHT 600 mg/day	
BUN (mg/dL) (ref. range = 7.0-18.0)	Day 0	11.96(3.60)	10.24(2.45)	0.684
	Day 14	13.36(4.05)	9.09(2.85)	
	Day 28	11.51(1.96)	9.45(2.81)	
	Day 42	11.65(2.54)	12.26(3.08)	
Creatinine (mg/dL) (ref .range 0.7-1.3)	Day 0	0.82(0.18)	0.79(0.20)	0.129
	Day 14	0.84(0.18)	0.83(0.18)	
	Day 28	0.83(0.19)	0.84(0.21)	
	Day 42	0.83(0.16)	0.78(0.19)	

*Data represent = mean(SD) , ** Statistical analysis = Friedman's test

The SHT extracts either 300 or 600 mg/day dose did not show toxicity on renal functions which is similar to the report on toxicity in rats that demonstrated SHT extract single oral dose 5,000 mg/kg body weight in rats and the SHT extract at the dose 10, 100 and 1,000 mg/kg body weight oral feeding daily for 270 days did not show significant acute or chronic toxicity in rats. (Itharat & Sireeratawong, 2014) It also agrees with the SHT remedy powder drug in OA knee patients that did not show toxicity on renal functions. BUN and creatinine values in both doses did not change, before, during or after finishing the medicine. This confirms that SHT remedy is safe to use in human without renal toxicity.

4.2.1.5 Liver functions

Liver function of SHT remedy 300 mg/day

The liver functions including AST, ALT and ALP were also performed to monitor safety especially for long term continuous use. The AST of 300 mg/day showed slightly increase after start SHT extract capsules and turn to baseline after stop the SHT extract capsules. However, the results showed no statistically significant difference within groups and changed values were within normal range. In the other words, there is no impact on clinical practice. (Table 4.16)

Table 4.16 The AST of SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day

AST (U/L) (ref. range 15-37)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	20.75(5.28)	21.33(8.51)	22.58(9.81)	18.83(4.41)
P-value*		0.969	0.637	0.197
Day 14			22.58(9.81)	18.83(4.41)
P-value*			0.878	0.271
Day 28				18.83(4.41)
P-value*				0.285

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

The ALT of 300 mg/day in day 42 (after finishing SHT) shows significant decreased when compared with day0 ($P=0.012$) and day 28 ($P=0.009$). However, the ALT change was still within the normal range. (Table 4.17)

Table 4.17 The ALT of SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day

ALT (U/L) (ref. range 30-65)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	34.50(16.21)	32.92(16.10)	34.32(16.91)	29.00(12.76)
P-value*		0.582	0.918	0.012
Day 14			34.32(16.91)	29.00(12.76)
P-value*			0.366	0.074
Day 28				29.00(12.76)
P-value*				0.009

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

The ALP of SHT extract capsules 300 mg/ day show no significant difference within the group. There is no changing outside the reference range. (Table 4.18)

Table 4.18 The ALP of SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day

ALP (U/L) (ref.range 50-136)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	67.75(14.01)	66.25(13.89)	66.17(14.20)	66.00(12.68)
P-value*		0.260	0.443	0.476
Day 14			66.17(14.20)	66.00(12.68)
P-value*			0.812	0.656
Day 28				66.00(12.68)
P-value*				0.812

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

Liver function of SHT remedy ethanolic extract capsule 600 mg/day

The AST of 600 mg/day was not significantly different from baseline data and still within reference range. In the other words, the SHT extract capsules did not affect AST. (Table 4.19)

Table 4.19 The AST of SHT remedy ethanolic extract capsules 600 mg/day

AST (U/L) (ref. range 15-37)	Day 0	Day 14	Day 28	Day 42
Day0	18.58(3.15)	19.58(3.80)	18.92(3.85)	18.58(5.90)
P-value*		0.287	0.682	0.694
Day 14			18.92(3.85)	18.58(5.90)
P-value*			0.474	0.199
Day 28				18.58(5.90)
P-value*				0.752

Data represent = mean(SD) *Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

The ALT of SHT extracts 600 mg/day showed slight increase from baseline even after finishing SHT extract capsules. However, on day 28, it is significantly different from baseline data ($P=0.020$). The changing of ALT was not outside the reference range. In other words, the effect of 600 mg/day of SHT extract capsules was not significant in clinical terms of ALT. (Table 4.20)

Table 4.20 The ALT of SHT remedy ethanolic extract capsules 600 mg/day

ALT (U/L) (ref. range 30-65)	Day 0	Day 14	Day 28	Day32
Day0	24.83(7.58)	26.67(9.34)	28.75(9.44)	30.25(10.15)
P-value*		0.372	0.020	0.062
Day 14			28.75(9.44)	30.25(10.15)
P-value*			0.193	0.146
Day 28				30.25(10.15)
P-value*				0.609

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

In similar fashion to AST, ALP did not show significant changing from baseline data over 32 days. The results show that SHT extract capsules at 600 mg/day did not affect ALP. (Table 4.21)

Table 4.21 The ALP of SHT remedy ethanolic extract capsules 600 mg/day

ALP (U/L) (ref. range 50-136)	Day 0	Day 14	Day 28	Day32
Day0	71.92(26.63)	71.08(22.82)	68.58(24.26)	70.75(24.70)
P-value*		0.688	0.119	0.814
Day 14			68.58(24.26)	70.75(24.70)
P-value*			0.184	0.969
Day 28				70.75(24.70)
P-value*				0.271

*Statistical analysis = Wilcoxon sign rank test

Liver function comparison between SHT remedy ethanolic extract capsules 300 mg/day and 600 mg/day

Even though liver functions of 300 mg/day and 600 mg/day show some statistically significant variation within groups, it is not significant in clinical practice. The results of all liver functions also show no significant difference when compared between 300 mg/day and 600 mg/day. (Table 4.22)

Table 4.22 The comparison of liver functions between 2 dose groups

Laboratory	Follow up	Results *		P-value**
		SHT 300 mg/day	SHT 600 mg/day	
AST (U/L) (ref. range 15-37)	Day 0	20.75(5.28)	18.58(3.15)	0.354
	Day 14	21.33(8.51)	19.58(3.80)	
	Day 28	22.58(9.81)	18.92(3.85)	
	Day 42	18.83(4.41)	18.58(5.90)	
ALT (U/L) (ref. range 30-65)	Day 0	34.50(16.21)	24.83(7.58)	0.224
	Day 14	32.92(16.10)	26.67(9.34)	
	Day 28	34.32(16.91)	28.75(9.44)	
	Day 42	29.00(12.76)	30.25(10.15)	
ALP (U/L) (ref. range 50-136)	Day 0	67.75(14.01)	71.92(26.63)	0.697
	Day 14	66.25(13.89)	71.08(22.82)	
	Day 28	66.17(14.20)	68.58(24.26)	
	Day 42	66.00(12.68)	70.75(24.70)	

*Data represent = mean(SD) , ** Statistical analysis = Friedman's test

4.2.1.6 Blood chemistry (GBS, Lipid profile, Blood electrolyte)

Other blood chemistry tests were also performed to assess health status of volunteers, including glucose blood sugar (GBS), lipid profile (i.e. total cholesterol, HDL, LDL and triglyceride) and blood electrolyte. There was no statistically significant difference between the 2 dose groups in blood chemistries except HDL and LDL. The HDL of 600 mg/day group was higher than 300 mg/day group while LDL of

300 mg/day group was higher than 600 mg/day. (Table 4.23) However, the changing of HDL and LDL might not be related with SHT remedy because the diet control was not applied in this study. Moreover, this study did not exclude volunteers who had high cholesterol so the baseline of cholesterol might have been higher than normal range.

Table 4.23 The comparison of blood chemistry between 2 dose groups

Laboratory	Follow-up	Results ^a		P-value
		SHT 300 mg/day (n=12)	SHT 600 mg/day (n=12)	
Blood Sugar				
Glucose (ref. 74-106 mg/dL)	Day 0	87.00(7.77)	83.67(5.61)	0.579
	Day 14	87.67(8.48)	84.25(5.48)	
	Day 28	85.67(7.68)	86.08(6.56) [†]	
	Day 42	85.08(7.42)	85.50(5.27)	
Lipid profile				
HDL-Cholesterol (ref. 40-60 mg/dL)	Day 0	53.50(12.89)	59.67(12.06)	<0.001
	Day 14	56.50(14.27) [†]	64.67(15.02) [†]	
	Day 28	58.25(15.36) ^{††}	66.50(15.31) ^{††}	
	Day 42	53.00(13.07)	61.25(14.98)	
Total Cholesterol (ref. 0-200 mg/dL)	Day 0	233.83(52.60)	204.67(41.37)	0.086
	Day 14	222.92(49.60) [†]	194.75(27.36)	
	Day 28	223.83(50.82)	199.33(27.41)	
	Day 42	220.50(42.71)	202 (20.27)	
LDL-Cholesterol (ref. 0-100 mg/dL)	Day 0	147.08(45.41)	119.5(33.85)	0.023
	Day 14	139.75(42.48) [†]	114.25(24.17)	
	Day 28	130.83(33.58) [†]	113.67(25.83)	
	Day 42	138.42(33.58)	126.33(23.75)	

Table 4.23 (Cont.)

Laboratory	Follow-up	Results ^a		P-value
		SHT 300 mg/day (n=12)	SHT 600 mg/day (n=12)	
Lipid profile				
Triglycerides (ref. 0-150 mg/dL)	Day 0	108.25(67.30)	82.83(54.45)	0.458
	Day 14	78.25(41.00)	89.17(56.93)	
	Day 28	96.67(57.24)	81.75(51.97)	
	Day 42	105.00(75.92)	85.92(52.94)	
Liver functions				
Total protein (ref. 6.4-8.2 g/dL)	Day 0	7.96(0.43)	7.83(0.48)	0.471
	Day 14	7.88(0.33)	7.91(0.35)	
	Day 28	7.80(0.39)	7.84(0.44)	
	Day 42	7.73(0.33)	7.83(0.28)	
Alubumin (ref. 3.4-5.0 g/dL)	Day 0	4.18(0.21)	4.24(0.27)	0.100
	Day 14	4.27(0.23)	4.32(0.24)	
	Day 28	4.28(0.24)	4.29(0.22)	
	Day 42	4.27(0.21)	4.33(0.24)	
Globurin (ref. 1.5-3.5 g/dL)	Day 0	3.78(0.36)	3.58(0.45)	0.005
	Day 14	3.63(0.27) [†]	3.60(0.30)	
	Day 28	3.61(0.26) ^{††}	3.52(0.35)	
	Day 42	3.46(0.28) ^{††}	3.54(0.30)	
Total bilirubin (ref. 0.2-1.0 mg/dL)	Day 0	0.67(0.26)	0.62(0.19)	0.170
	Day 14	0.61(0.27)	0.53(0.28)	
	Day 28	0.79(0.20)	0.50(0.26)	
	Day 42	0.71(0.23)	0.43(0.20) ^{††}	
Direct bilirubin (ref. 0.0-0.2 mg/dL)	Day 0	0.18(0.06)	0.12(0.04)	N/A
	Day 14	0.13(0.05)	0.11(0.03)	
	Day 28	0.13(0.05) [†]	0.14(0.05)	
	Day 42	0.13(0.05)	0.12(0.04)	

*Data represent = mean(SD) , ** Statistical analysis = Friedman's test

†= significantly difference from day 0 within group (P<0.05), ††= significantly difference from day 0 within group (P<0.01).

The biochemistry results demonstrate that SHT did not affect biochemistry. However, the HDL and LDL might be considered for further study because in the previous study of SHT powder drug, was also show HDL was increased after using SHT remedy for 28 days. Meanwhile, LDL did not clearly show significant changing in SHT powder drug use. (Kanokkangsadal, 2013) The next study on cholesterol should also include diet control into the design to eliminate other confounders in the study.

4.2.1.7 Hematology (completed blood count: CBC)

The complete blood count (CBC) was performed to monitor health status of volunteers. There is no statistically significant difference when compared between 2 dose groups. In addition, all of the results fell within reference range. It may be assumed that SHT extract at both dose rates did not affect CBC in healthy volunteers. (Table 4.24)

Table 4.24 The comparison of complete blood count between 2 dose groups

Laboratory	Follow up	Results*		P-value**
		SHT 300 mg/day (n=12)	SHT 600 mg/day (n=12)	
CBC				
WBC (ref. 4.0-11.0 K/cumm.)	Day 0	6.11(1.96)	6.34(2.09)	0.096
	Day 14	6.04(1.51)	6.12(2.01)	
	Day 28	6.27(1.46)	6.07(2.06)	
	Day 42	6.31(1.53)	6.74(1.50)	
Neutrophil (ref. 45-75%)	Day 0	58.16(9.73)	57.73(9.64)	0.789
	Day 14	59.08(9.07)	58.27(8.99)	
	Day 28	56.04(7.94)	60.11(13.66)	
	Day 42	58.53(8.62)	55.97(9.91)	

Table 4.24 (Cont.)

Laboratory	Follow up	Results*		P-value**
		SHT 300 mg/day (n=12)	SHT 600 mg/day (n=12)	
CBC				
Lymphocyte (ref. 20-45%)	Day 0	34.15(8.27)	34.33(9.69)	0.604
	Day 14	32.72(6.55)	33.97(8.93)	
	Day 28	35.15(6.27)	32.34(12.83)	
	Day 42	32.95(7.50)	35.82(8.98)	
Monocyte (ref. 2-10%)	Day 0	4.05(1.70)	4.87(1.67)	0.161
	Day 14	4.49(1.62)	4.09(1.73)	
	Day 28	5.18(1.38)	5.03(1.74)	
	Day 42	4.98(1.78)	4.07(2.09)	
Eosinophil (ref. 4-6%)	Day 0	2.95(1.76)	2.71(1.44)	0.129
	Day 14	3.36(2.85)	3.06(1.89)	
	Day 28	3.13(1.59)	2.05(1.14)	
	Day 42	3.04(1.38)	3.38(1.98)	
Basophil (ref. 0-1%)	Day 0	0.70(0.65)	0.37(0.17)	0.092
	Day 14	0.43(0.19)	0.62(0.20)	
	Day 28	0.53(0.23)	0.47(0.17)	
	Day 42	0.51(0.17)	0.80(0.36)	
RBC count (ref. 4.50-6.00 x10 ⁶ /cumm.)	Day 0	4.91(0.50)	4.89(0.59)	0.773
	Day 14	4.90(0.57)	5.01(0.62)	
	Day 28	4.94(0.55)	4.92(0.65)	
	Day 42	4.86(0.54)	5.00(0.64)	
Hb (ref. 14.0-18.0 gm/dL)	Day 0	12.97(1.58)	13.54(2.01)	0.951
	Day 14	12.93(1.52)	13.67(1.83)	
	Day 28	12.98(1.60)	13.44(1.98)	
	Day 42	12.79(1.39)	13.62(1.75)	

Table 4.24 (Cont.)

Laboratory	Follow up	Results*		P-value**
		SHT 300 mg/day (n=12)	SHT 600 mg/day (n=12)	
CBC				
Hct (ref. 41.0-51.0 %)	Day 0	38.88(3.96)	39.99(5.40)	0.873
	Day 14	38.63(3.92)	40.83(5.27)	
	Day 28	38.98(4.25)	40.31((5.70)	
	Day 42	38.23(3.48)	40.90(4.89)	
Platelets (ref. 150-400 K/cumm.)	Day 0	300.25(63.56)	252.42(65.11)	0.962
	Day 14	298.58(55.70)	255.58(71.78)	
	Day 28	312.25(76.15)	247.00(67.62)	
	Day 42	298.25(59.62)	255.25(66.09)	

*Data represent = mean(SD) , ** Statistical analysis = Friedman's test

4.2.2 The clinical pharmacokinetics of SHT ethanolic extract capsules in healthy volunteers

4.2.2.1 Baseline Characteristics

From a total of twenty-four eligible volunteers recruited into the study, no volunteers were excluded from the study. They all completed the study. (Figure 4.5) There was no significant difference between the two dose groups in baseline characteristics including sex, age, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase and alkaline phosphatase (ALP) over all volunteers (Table 4.25). These laboratory data indicate that all volunteers were healthy.

Table 4.25 Baseline characteristics of volunteers in pharmacokinetics study

Characteristics	Results*		p-value**
	SHT 100 mg	SHT 200 mg	
Sex, n (%)	12 (100)	12 (100)	
Male	6 (50)	6 (50)	1.000 ^c
Female	6 (50)	6 (50)	
Age (years)	26.78 (3.69)	27.33 (5.45)	1.000 ^m
BMI (kg/m²)	22.95 (3.91)	22.39 (3.83)	0.729 ^m
SBP (mm.Hg)	107.50 (10.55)	112.5 (10.55)	0.271 ^m
DBP (mm.Hg)	75.0 (5.22)	73.33 (9.85)	0.449 ^m
BUN (mg/dL)	12.38 (2.47)	11.58 (2.30)	0.340 ^m
Creatinine (mg/dL)	0.84 (0.17)	0.79 (0.18)	0.488 ^m
AST (U/L)	19.08 (7.35)	22.92 (15.25)	0.602 ^m
ALT (U/L)	37.17 (23.47)	28.08 (8.66)	0.309 ^m
ALP (U/L)	62.00(12.48)	63.17(19.97)	0.931 ^m

*data represent; mean(SD) **Statistic analysis ^c chi-square-test, ^m Mann-Whitney U test

4.2.2.2 LC-MS/MS analysis

The concentration of piperine was analysed by Eksigent ekspertTM UHPLC 100 liquid chromatograph equipped with a QTRAP® 6500 mass spectrometer, controlled by Analyst® software version 1.6 (AB Sciex, USA). The UHPLC system was equipped with SynergiTM Fusion- RP C18 column as stationary phase (Phenomenex Inc., USA). 100% methanol and 0.2% formic acid in water (pH 2.5) was applied in mobile phase. The gradient elution was started at 10% methanol for 0.5 min then increased to 90% at 1.5 min until 3.0 min, after that it decreased to 10% methanol at 4.0 until 4.5 min. The retention times of piperine was 1.9 min. MS analysis was conducted by positive mode ionization. Parent ion and daughter ion of piperine were 286.3 and 201.0 dalton respectively. Optimised MS conditions including decluttering potential, entrance potential, collision energy and collision exit potential were 80, 5, 25 and 13 volts respectively. The calibration curves of piperine showed

good correlation coefficients ($R>0.99$) over the concentration range from 0.5 to 1000 $\mu\text{g/L}$ (1000, 500, 250, 125, 62.50, 31.25, 15.64, 7.81, 3.90, 1.95, 0.97, and 0.48 $\mu\text{g/L}$).

4.2.2.3 Safety issue: tolerability

The safety was monitored including adverse events, renal functions and liver functions. The adverse events were recorded before, during and after study for 24 hours. The results show no serious adverse event occurred in the study. There is only 1 volunteer who had mild abdominal pain after taking SHT extract capsules 200 mg. In addition, there is no significant change of renal and liver functions within groups and between groups of doses before and 24 hours after taking SHT extract capsules. (Table 4.26)

Table 4.26 Safety monitoring of healthy volunteers in pharmacokinetics study

Data *	Time (h)	SHT		p-value **
		100 mg (n=12)	200 mg (n=12)	
Renal functions				
BUN (mg/dL)	0	12.38(2.47)	11.58(2.30)	0.340
(ref. range = 7.0-18.0)	24	12.00(1.94)	11.57(1.68)	0.885
Creatinine (mg/dL)	0	0.84(0.17)	0.79(1.78)	0.488
(ref .range 0.7-1.3)	24	0.80(0.17)	0.75(0.17)	0.487
Liver functions				
AST (U/L)	0	19.08(7.35)	22.92(15.25)	0.602
(ref. range 15-37)	24	18.25(7.26)	19.67(9.16)	0.908
ALT (U/L)	0	37.17(23.47)	28.08(8.66)	0.309
(ref. range 30-65)	24	35.50(24.85)	32.33(19.78)	0.707
ALP (U/L)	0	62.00(12.48)	63.17(19.97)	0.931
(ref.range 50-136)	24	58.53(10.48)	57.41(16.25)	0.862

* The data were represented by mean(SD) , ** statistical analysis ; Mann-whitney U test

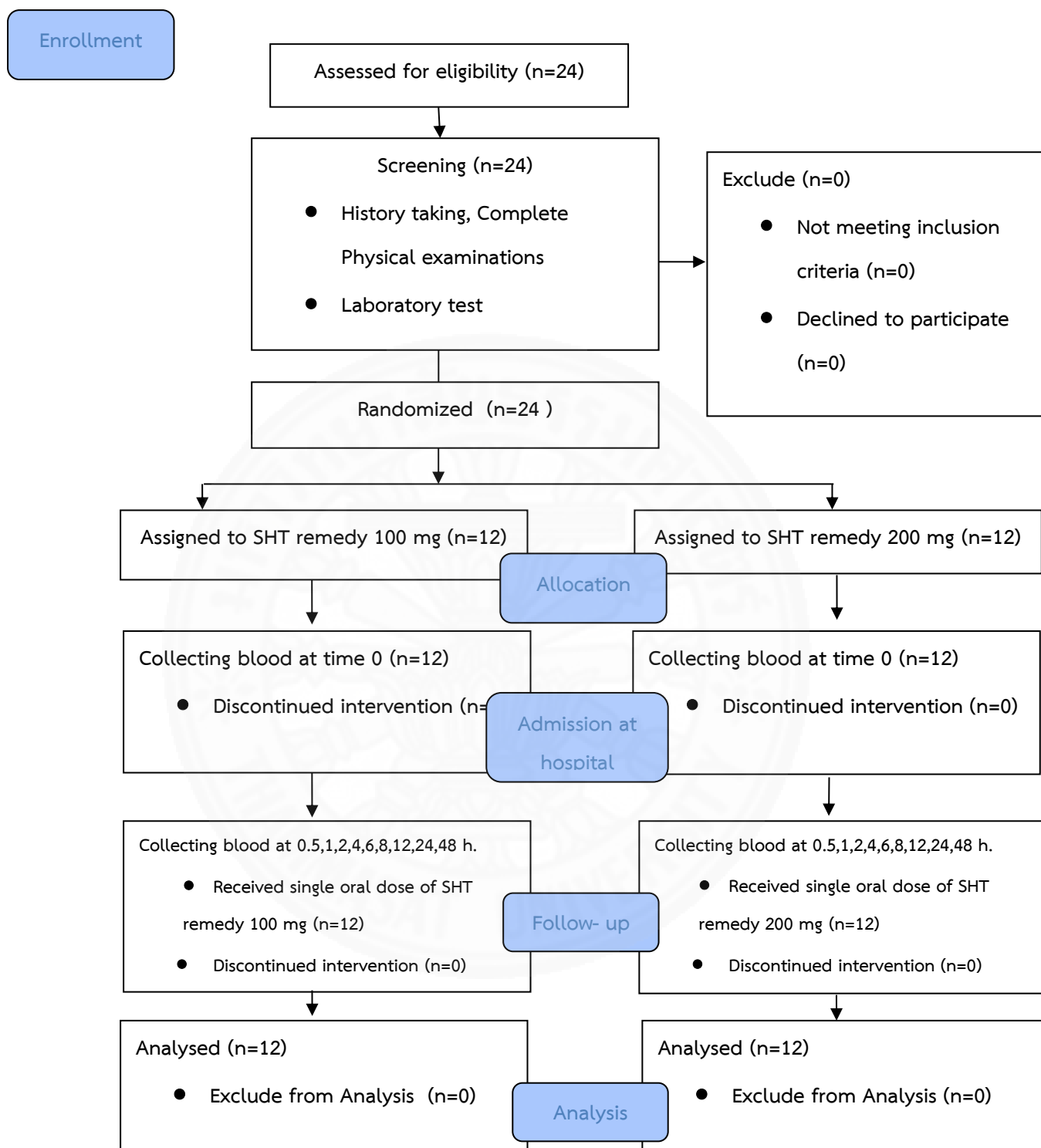


Figure 4.5 Flow chart of study on clinical pharmacokinetics in healthy volunteers

This is the first investigation on pharmacokinetics of piperine following the administration of SHT remedy. The administration dose 100 and 200 mg. is based on a safe dose in healthy volunteers and close to efficacious dose in OA knee patients which was calculated from percentage of yield of SHT remedy extraction (approximately 10%).(Pinsornsak et al., 2015) No volunteer was excluded from study. There are no severe adverse events except only one volunteer had mild abdominal pain which was relieved after volunteers had meal in 2 hours after administration of SHT. This adverse event was related with the study of SHT remedy extract in healthy volunteers and SHT powder drug in OA knee patients in which the abdominal pain was found to be the most common event. Moreover, all the laboratory results including renal and liver functions did not show significant movement before and 24 hours after medicine through oral passage. These results indicate the tolerability of volunteers to SHT remedy extract.

4.2.2.4 Pharmacokinetics parameters

The volunteers received 100 and 200 mg of SHT extract single oral dose containing with piperine equivalent 20 or 40 mg respectively. The plasma concentration of piperine in 100 mg SHT extract slightly increased from time zero and reached a maximum level of 3,766 ng/mL at 4.46 hours. Meanwhile, the plasma concentration of piperine in 200 mg SHT extract increased more rapidly and reached a maximum level of 6,586 ng/mL at 1.88 hours. (figure 4.6) The SHT extract capsules 200 mg had double the volume of distribution of piperine as double of 100 mg group (0.14 and 0.07 L/kg respectively). The plasma concentration of piperine slightly decreased to baseline within 48 hours. The elimination half-life of piperine in the 200 mg group was approximately twice the half-life of the piperine in the 100 mg group (19.48 and 8.74 hours respectively). The other pharmacokinetics parameters was shown in Table 4.27

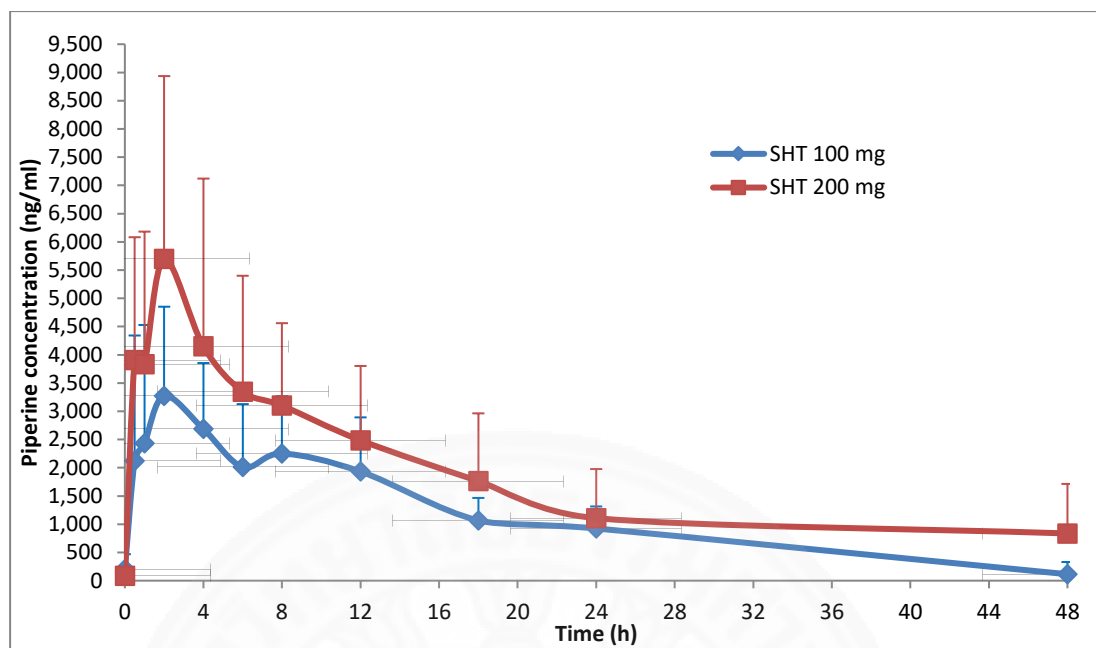


Figure 4.6 Plasma concentration time profile

Piperine following SHT administration exhibited rapid absorption. It was found at 0.5 hour (the first time point of blood collecting after administration) and the peak concentration was found approximately 4 hours and 2 hours in 100 mg (20 mg piperine) and 200 mg (40 mg piperine) of SHT extract capsules respectively. This absorption was similar to the previous study in rats that also showed rapid absorption. Piperine was found at 0.5 hour and at maximum concentration about 6 hours after oral administration of piperine at a dose of 170 mg/kg. (Bhat & Chandrasekhara 1986; Suresh & Srinivasan, 2010) The absorption of piperine was more rapid in humans when compared to the rat. In additional, the pharmacokinetics study of SHT remedy powder drug (1,000 mg/kg) and piperine (50 mg/kg) in normal wistar rats showed similar T_{max} (1.67 and 3.83 hours respectively) to SHT extract capsules in humans in current study.(Booranasubkajorn et al., 2017) This confirms that piperine in SHT extract was absorbed better than piperine standard. This result may be due to SHT extract containing other constituents which assisted the piperine absorption.

Table 4. 27 The pharmacokinetics parameters of piperine following SHT remedy ethanolic extract administrations

Parameters*	SHT 100 mg (n=12)	SHT 200 mg (n=12)	P-value**
C_{max} (ng/mL)	3,766(±1,630)	6,586(±2,855)	0.008
T_{max} (h)	4.46(±5.21)	1.88(±1.19)	0.160
AUC_{0-48h} (ng.h/mL)	54,584(±20,996)	77,725(±45,401)	0.178
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	58,408(±23,502)	106,639(±87,065)	0.178
V_d/F (L/kg)	0.07(±0.09)	0.14(±0.15)	0.242
MRT (h)	16.76(±8.24)	28.27(±34.38)	0.590
Half-life (h)	8.74(±8.95)	19.48(±29.53)	0.977
Clearance (ng/h/mL)	0.01(±0.002)	0.01(±0.01)	0.198

*Datapresented as mean(SD) , **Statistic analysis; Mann-whitney U test

However, a Previous study on PK of piperine in humans following the BJK remedy was found the maximum concentration about 1 hour which was faster than piperine in SHT remedy ethanolic extract.(Jumpa-ngern et al., 2013) The different results may be due to the different of ingredients of both remedies. The SHT remedy contains 21 medicinal plants which has more constituents than BJK remedy, thus interfering with absorption rate. It also should be noted that the previous studied used the different detection method by HPLC that might show the different results.

The previous studies found piperine was absorbed about 96% and distributed through various tissues including kidney, liver, spleen, stomach and small intestine.(Bhat & Chandrasekhara, 1986; Suresh & Srinivasan, 2010) The previous study on PK of piperine in BJK was observed on secondary C_{max} . This phenomenon shows that piperine undergoes the enterohepatic recirculation.(Jumpa-ngern et al., 2013) The present study also show the same phenomenon in some volunteers (6 of 12 in 100 mg and 9 of 12 in 200 mg). This might assume that piperine in SHT remedy is similar to piperine in BJK which also underwent enterohepatic recirculation. (Table 4.28) However, the pharmacokinetics study of piperine standard in normal wistar rats did not show the secondary C_{max} but it showed only in SHT remedy.(Booranasubkajorn et al., 2017) A possible explanation is that not only piperine in SHT remedy underwent enterohepatic recirculation but also SHT remedy has other components with structure similar to piperine such as piperanine (H. L. Liu et al., 2015) and piperidine(Li et al., 2011) which was metabolized to piperine and reabsorbed via enterohepatic recirculation.

The piperine in SHT remedy was slowly excreted. The piperine following SHT remedy was not detectable in urine (data was not present) which was similar to previous study in the rat. This present study has perhaps confirmed that piperine was not excreted as unchanged form through urine but that piperine might be found piperine in the feces (Suresh & Srinivasan, 2010) . Unfortunately, the feces were not collected in this study because of the limitation volunteer's inconvenience. However, there is report of piperine metabolite form excreted in urine (Bhat & Chandrasekhara, 1986; Suresh & Srinivasan, 2010) with major metabolic pathway including reduction, hydroxylation, glucuronidation and sulfation.(Gao, Xue, Lu, Zhang, & Han, 2017) These data suggest that glucuronidation reaction in urine of SHT remedy should be analyzed in the next study.

In addition, the PK parameter of piperine following the SHT administration was a dose-dependent mechanism. The increasing of double dose exhibited 2-fold changed in C_{max} , AUC_{0-48h} , and AUC_{0-inf} . There is only C_{max} showed significant different between 100 mg and 200 mg. ($P=0.008$). This may indicate that piperine following SHT extract administration was dose proportional because C_{max} and

AUC_{0- ∞} increased 2-fold with increase of the double dose. However, the dose proportionality study should be conducted in three or more doses to confirm the linear pharmacokinetics.

Furthermore, there is report on piperine being a drug enhancer by inhibition of hepatic enzyme CYP3A4 and p-glycoprotein.(Bhardwaj et al., 2002) The inhibition effect of piperine on CYP3A4 decreased hepatic metabolism that lead to increase of unchanged piperine for absorption. It was similar to inhibition effect of piperine on p-glycoprotein which was efflux of many drugs in intestine, so piperine could be absorbed after p-glycoprotein was inhibited. These might be the reasons that T_{max} in 200 mg dose group was shorter than 100 mg dose group. It also affected V_d which was higher in the 200 mg dose when compared with 100 mg dose approximately 2 fold. It indicates that SHT extract could be more widely distributed and retained through various tissues at the higher dose. It follows that t_{1/2} was also expanded with increasing dose. The result means that mean residence time (MRT) of piperine in SHT extract in 200 mg dose group is longer than 100 mg dose group (28.27 and 16.76 hours respectively). Piperine in SHT extract has more sustained presence in tissues at high dose when compared between 200 mg and 100 mg doses. These confirm clinical application of SHT remedy in NLEM was appropriated to take 3 time a day with 100 mg extract (or 1,000 mg powder drug) and might add to double dose when need more rapid and sustain in body. However, this study suggested the minimum dose 100 mg of extract was appropriated for clinical application because of less systemic side effect.

Although, there are studies on pharmacokinetics of piperine, which study on pure piperine. This current study was focus on piperine follow SHT administration which was contain not only piperine but also other constituents. Even piperine is a main compound, the other constituents should be studied in the future work.

Table 4.28 The observation of secondary maximum concentration of piperine in SHT remedy

Subject No.	Sex	SHT 100 mg						SHT 200 mg					
		C _{max-1st} (ng/ml)	T _{max-1st} (h)	AUC ₀₋₄₈ (ng.h/ml)	AUC _{0-inf} (ng.h/ml)	C _{max-2nd} (ng/ml)	T _{max-2nd} (h)	C _{max-1st} (ng/ml)	T _{max-1st} (h)	AUC ₀₋₄₈ (ng.h/ml)	AUC _{0-inf} (ng.h/ml)	C _{max-2nd} (ng/ml)	T _{max-2nd} (h)
1	Male	2,422.10	2	36,347.80	37,139.40	1,684.43	8	3,049.10	4	29,247.20	29,283.40	1,672.55	12
2	Male	3,398.00	2	74,698.70	98,494.10	2,460.38	12	2,711.60	2	26,100.80	26,949.10	1,759.71	8
3	Male	4,278.40	4	62,433.00	62,819.30	3,317.45	8	7,613.90	4	86,801.30	99,014.30	2,367.39	48
4	Male	2,812.90	1	44,788.80	59,715.10	2,563.60	8	5,271.90	0.5	46,273.40	49,021.10	-	-
5	Male	7,821.80	18	93,897.70	93,948.80	-	-	8,714.50	2	78,541.30	81,231.00	4,065.40	6
6	Male	1,222.10	0.5	25,073.00	25,985.00	-	-	7,821.80	1	93,897.70	93,948.80	2,356.50	24
7	Female	4,162.10	2	61,815.30	62,004.30	3,395.94	4	4,908.90	2	82,507.00	82,604.20	3,532.38	12
8	Female	3,681.70	4	29,683.80	29,886.50	1,171.44	12	7,562.00	2	92,934.80	23,7139.60	-	-
9	Female	2,482.40	2	36,115.30	36,278.90	-	-	8,102.20	0.5	160,707.90	303,711.50	-	-
10	Female	4,864.80	2	55,441.40	55,492.20	-	-	12,922.10	2	152,902.30	160,275.60	2,623.91	24
11	Female	3,868.70	12	57,416.30	57,506.80	-	-	6,431.20	2	62,536.50	96,049.90	2,356.50	8
12	Female	4,180.80	2	77,299.60	77,307.50	-	-	3,927.30	0.5	20,260.50	20,440.60	763.70	6
Mean	-	3,766.32	4.46	54,584.23	58,048.16	2,432.20	8.67	6,586.38	1.88	77,725.89	106,639.09	2,388.67	16.44

CHAPTER 5

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

5.1 Preclinical study; the standardization and quality control of SHT remedy ethanolic extract and capsules

The SHT remedy extract has good quality for clinical trial study. The biological activity which was anti-inflammatory with NO inhibition and chemical content which was piperine passed the acceptable criteria. This is may be used as a standard for quality control of SHT remedy extract for the future study on SHT remedy extract. Moreover, the quality control of capsules also passed the criteria according to Thai herbal pharmacopeia. The SHT remedy extract capsule had stable anti-inflammatory activity and piperine content at room temperature for 2 years. This study was finished within 2 years, so the SHT remedy extract capsules had same quality through whole period of study.

5.2 The safety of SHT remedy ethanolic extract capsule in healthy volunteers

The SHT remedy extract capsule has good safety to use in humans for 28 days with few systemic side effects. The most common side effect was mild to moderate abdominal pain. The higher dose has more side effects. This study suggested 100 mg of SHT remedy 3 times a day was an appropriate dose to use in humans. However, the side effects were relieved within 14 days and could be prevented by immediately taking medicine after the meal or by drinking more water. The results of this study support usage and precautions in NLEM. The data of the study are useful to the clinical trial phase 2 in patients.

5.3 The pharmacokinetics of piperine of SHT remedy ethanolic extract in healthy volunteers

The piperine that was a major constituent in SHT remedy extract capsule had rapid absorption in humans. The piperine could be found in blood at 0.5 hours until 48 hours. The peak concentration was found about 2-4 hours. The half-life of piperine was approximately 7 hours in 100 mg of SHT. Piperine was not detectable as unchanged form through urine. The results suggested the SHT should be taken 3 times a day in clinical applications. The piperine following SHT remedy administrations was dose-dependent. A double dose of SHT remedy showed 2-fold proportion change in C_{max} and AUC. The SHT remedy could be used at increased dose with the purpose of more rapid absorption and retention in body. The pharmacodynamics should be conducted to determine the appropriate dose in human.

5.4 Recommendations

According to this study, there are recommendations for clinical application and further study as follows;

5.4.1 NO production inhibition activity and piperine content can be used to test quality of SHT remedy in future clinical trials. These tests may also be used as a standard of SHT remedy to confirm that the result in clinical application was not different from this study.

5.4.2 With the exception of piperine, the other constituents should be measured to clarify all constituents which are contained in SHT extract. The LC-MS/MS (QTOF) may be used to perform the measurement.

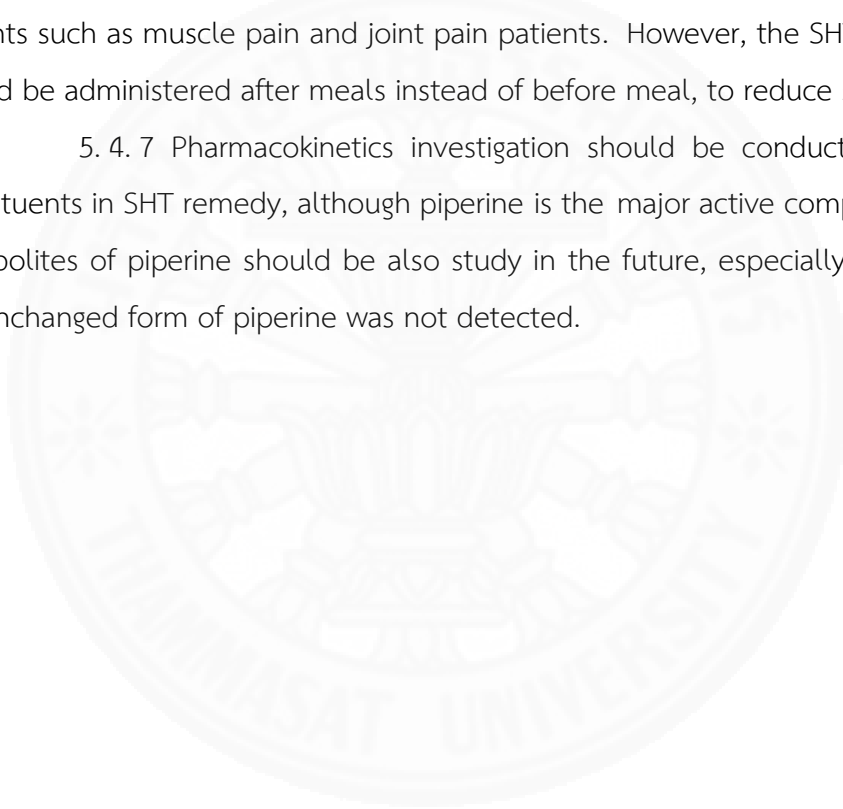
5.4.3 The suggested dose of SHT remedy extract capsules is 100 mg 3 times a day which has few side effects and is appropriated for elimination time of piperine. However, 200 mg 3 times a day is still more safe to use in human.

5.4.4 The precautions in using SHT remedy on hypertensive patients in NLEM should be reconsidered and discussed because SHT remedy might not affect blood pressure. This issue might change the usage of SHT remedy in elderly patients who often have complication with hypertension.

5.4.5 Side effects of SHT remedy may be prevented by immediately taking medicine after meals or drinking more water after taking medicine. The side effects are often relieved after taking medicine for 14 days.

5.4.6 The data of this study support further study on clinical trial phase 2 in patients such as muscle pain and joint pain patients. However, the SHT extract capsules should be administered after meals instead of before meal, to reduce side effects.

5.4.7 Pharmacokinetics investigation should be conducted on the other constituents in SHT remedy, although piperine is the major active compound. Moreover, metabolites of piperine should be also study in the future, especially in urine in which the unchanged form of piperine was not detected.



REFERENCES

Books

- Katzune, B.G. & Trevor, A. J. (2015). *Basic & Clincial Pharmacology*. USA: McGraw-Hill Education Holding, LLC.
- Khunsopitbunnalak. (1970). *Khum-Pee-Pad-Thai-Pan-Bo-Lan* (Vol. 2). Bangkok, Thailand: ministry publishing.
- Ministry of Public Health. (1998). *Thai herbal pharmacopoeia* (2 ed. Vol. I). Bangkok,Thailand: Prachachon Co.,Ltd.
- Segen, J. C. (2006). *Concise Dictionary of Modern Medicine*. USA: McGraw-hill.
- Tomlin, M. E. (2010). *pharmacology and pharmacokinetics* (M. E. Tomlin Ed.). london,UK: springer.

Articles

- Abgbor G.A., Vinson J.A. & Donnelly, P. E. (2014). Folin-Ciocalteau reagent for polyphenolic assay. *Int j Food Sci Nutr Diet*, 3, 10.
doi:<http://dx.doi.org/10.19070/2326-3350-1400028>
- Ainsworth, E.A. & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, 2, 3. doi:10.1038/nprot.2007.102
- Akiba, Y., Furukawa, O., Guth, P. H., Engel, E., Nastaskin, I., & Kaunitz, J. D. (2001). Sensory pathways and cyclooxygenase regulate mucus gel thickness in rat duodenum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 280(3), G470-474.
- Amorndoljai, P., Kietinun, S., & Somparn, N. (2011). Study on safety of benjakul recipies extract tablets in normal volunteers. *Thammasat Medical Journal*, 11, 8.
- Arung, E. T., Kusuma, I. W., Purwatiningsih, S., Roh, S. S., Yang, C. H., Jeon, S., Kim Y.U., Sukaton, E., Susilo, J., Astuti, Y., Wicaksono, B.D., Sandra, F., Shimizu, K., Kondo, R.

- (2009). Antioxidant activity and cytotoxicity of the traditional Indonesian medicine Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) extract. *J Acupunct Meridian Stud*, 2(4), 306-308. doi:10.1016/S2005-2901(09)60073-X
- Bag, A., Bhattacharyya, S.K., Pal, N.K., & Chattopadhyay, R.R. (2013). Anti-inflammatory, anti-lipid peroxidative, antioxidant and membrane stabilizing activities of hydroalcoholic extract of *Terminalia chebula* fruits. *Pharm Biol*, 51(12), 1515-1520. doi:10.3109/13880209.2013.799709
- Bang, J. S., Oh da, H., Choi, H. M., Sur, B. J., Lim, S. J., Kim, J. Y., . . . Kim, K. S. (2009). Anti-inflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1beta-stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis models. *Arthritis Res Ther*, 11(2), R49. doi:10.1186/ar2662
- Bennett, P.N., Brown, M.J. & Sharma, P. (2012). clinical pharmacology (P. N. Bennett Ed. 11th ed.). china: Elsevier Ltd.
- Bhardwaj, R. K., Glaeser, H., Becquemont, L., Klotz, U., Gupta, S. K., & Fromm, M. F. (2002). Piperine, a major constituent of black pepper, inhibits human P-glycoprotein and CYP3A4. *J Pharmacol Exp Ther*, 302(2), 645-650. doi:10.1124/jpet.102.034728
- Bhat, B.G. & Chandrasekhara, N. (1986). Studies on the metabolism of piperine: Absorption, Tissue distribution and excretion of urinary conjugates in rat. *Toxicology*, 40(1), 10.
- Booranasubkajorn, S., Huabprasert, S., Wattanarangsang, J., Chotitham, P., Jutasompakorn, P., Laohapand, T., Akaraseereenont, P., & Tripatara, P. (2017). Vasculoprotective and vasodilatation effects of herbal formula (Sahatsatara) and piperine in spontaneously hypertensive rats. *Phytomedicine*, 24, 148-156. doi:10.1016/j.phymed.2016.11.013
- Cao, G. Y., Xu, W., Yang, X. W., Gonzalez, F. J., & Li, F. (2015). New neolignans from the seeds of *Myristica fragrans* that inhibit nitric oxide production. *Food Chem*, 173, 231-237. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.170

- Caterina, M. J. (2003). Vanilloid receptors take a TRP beyond the sensory afferent. *Pain*, 105(1-2), 5-9.
- Cheng, H. Y., Lin, T. C., Yu, K. H., Yang, C. M., & Lin, C. C. (2003). Antioxidant and free radical scavenging activities of *Terminalia chebula*. *Biol Pharm Bull*, 26(9), 1331-1335.
- Eshwarappa, R. S., Ramachandra, Y. L., Subaramaihha, S. R., Subbaiah, S. G., Austin, R. S., & Dhananjaya, B. L. (2016). Anti-Lipoxygenase Activity of Leaf Gall Extracts of *Terminalia chebula* (Gaertn.) Retz. (Combretaceae). *Pharmacognosy Res*, 8(1), 78-82. doi:10.4103/0974-8490.171103
- McNamara, F.N., Randall, A. & Gunthrope, M. J. (2005). Effects of piperine, the pungent component of black pepper, at the human vanilloid receptor (TRPV1). *British Journal of Pharmacology*, 144, 10.
- Gao, T., Xue, H., Lu, L., Zhang, T., & Han, H. (2017). Characterization of piperine metabolites in rats by ultra-high-performance liquid chromatography with electrospray ionization quadruple time-of-flight tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 31(11), 901-910. doi:10.1002/rcm.7864
- Hayfaa, A. A., Sahar, A. M., & Awatif, M. A. (2013). Evaluation of analgesic activity and toxicity of alkaloids in *Myristica fragrans* seeds in mice. *J Pain Res*, 6, 611-615. doi:10.2147/JPR.S45591
- Holzer, P. (2002). Sensory neurone responses to mucosal noxae in the upper gut: relevance to mucosal integrity and gastrointestinal pain. *Neurogastroenterol Motil*, 14(5), 459-475.
- ICH. (2003). Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A(R2) Retrieved from https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1A_R2/Step4/Q1A_R2__Guideline.pdf
- Itharat, A. (2014). *Study on anti-inflammatory activity of Thai traditional remedy extract for muscle pain treatment called Sahastara and its plant ingredients*. Faculty of Medicien, Thammasat University.

- Itharat, A., & Sakpakdeejaroen, I. (2010). Determination of cytotoxic compounds of Thai traditional medicine called Benjakul using HPLC. *J Med Assoc Thai*, 93 Suppl 7, S198-203.
- Itharat, A., & Sireeratawong, S. (2014). *Acute and chronic toxicity of Sa-hat-ta-ra recipe extract*. Faculty of Medicine, Thammasat university
- Jumpa-ngern, P., Kietinun, S., Sakpakdeejaroen, I., Cheomung, A., & Na-Bangchang, K. (2013). Pharmacokinetics of piperine following single oral dose administration of benjakul formulation in healthy Thai subjects. *african journal of pharmacy and pharmacology*, 7, 7. doi:10.5897/AJPP2013
- Kakatum, N., Jaiaree, N., Makchucit, S., & Itharat, A. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of Thai medicinal plants in Sahasthara remedy for muscle pain treatment. *J Med Assoc Thai*, 95 Suppl 1, S120-126.
- Kanokkangsadal, P. (2013). *Clinical efficacy and safety of Sahastara recipe in treating primary osteoarthritis of the knee comparison with diclofenac (clinical trial phase 2)*. (Master of Science), Thammasat university, Pathumtani, Thailand.
- Kanokkangsadal, P., Pinsornsak, P., Makchuchit, S., & Itharat, A. (2013). Correlation of extraction time with biological activities and stability test of crude Sahastara remedy. *Thammasat Medical Journal*, 13, 8.
- Kantibiswas, T., Marjit, B., & Maity, L. N. (1996). Effect of picrorhiza kurroa benth. In acute inflammation. *Anc Sci Life*, 16(1), 11-14.
- Khan, M. A., & Islam, M. T. (2012). Analgesic and cytotoxic activity of Acorus calamus L., Kigelia pinnata L., Mangifera indica L. and Tabernaemontana divaricata L. *J Pharm Bioallied Sci*, 4(2), 149-154. doi:10.4103/0975-7406.94820
- Kim, H. G., Han, E. H., Jang, W. S., Choi, J. H., Khanal, T., Park, B. H., . . . Jeong, H. G. (2012). Piperine inhibits PMA-induced cyclooxygenase-2 expression through downregulating NF-kappaB, C/EBP and AP-1 signaling pathways in murine macrophages. *Food Chem Toxicol*, 50(7), 2342-2348. doi:10.1016/j.fct.2012.04.024

- Kozukue, N., Park, M. S., Choi, S. H., Lee, S. U., Ohnishi-Kameyama, M., Levin, C. E., & Friedman, M. (2007). Kinetics of light-induced cis-trans isomerization of four piperines and their levels in ground black peppers as determined by HPLC and LC/MS. *J Agric Food Chem*, 55(17), 7131-7139. doi:10.1021/jf070831p
- Kumar, R., Gupta, Y. K., Singh, S., & Arunraja, S. (2016). Picrorhiza kurroa Inhibits Experimental Arthritis Through Inhibition of Pro-inflammatory Cytokines, Angiogenesis and MMPs. *Phytother Res*, 30(1), 112-119. doi:10.1002/ptr.5509
- Lee, H. J., Hyun, E. A., Yoon, W. J., Kim, B. H., Rhee, M. H., Kang, H. K., . . . Yoo, E. S. (2006). In vitro anti-inflammatory and anti-oxidative effects of Cinnamomum camphora extracts. *J Ethnopharmacol*, 103(2), 208-216. doi:10.1016/j.jep.2005.08.009
- Li, S., Lei, Y., Jia, Y., Li, N., Wink, M., & Ma, Y. (2011). Piperine, a piperidine alkaloid from Piper nigrum re-sensitizes P-gp, MRP1 and BCRP dependent multidrug resistant cancer cells. *Phytomedicine*, 19(1), 83-87. doi:10.1016/j.phymed.2011.06.031
- Liu, H. L., Luo, R., Chen, X. Q., Ba, Y. Y., Zheng, L., Guo, W. W., & Wu, X. (2015). Identification and simultaneous quantification of five alkaloids in Piper longum L. by HPLC-ESI-MS(n) and UFLC-ESI-MS/MS and their application to Piper nigrum L. *Food Chem*, 177, 191-196. doi:10.1016/j.foodchem.2015.01.033
- Liu, J., Bi, Y., Luo, R., & Wu, X. (2011). Simultaneous UFLC-ESI-MS/MS determination of piperine and piperlonguminine in rat plasma after oral administration of alkaloids from Piper longum L.: application to pharmacokinetic studies in rats. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 879(27), 2885-2890. doi:10.1016/j.jchromb.2011.08.018
- Luo, P., Wong, Y. F., Ge, L., Zhang, Z. F., Liu, Y., Liu, L., & Zhou, H. (2010). Anti-inflammatory and analgesic effect of plumbagin through inhibition of nuclear factor-kappaB activation. *J Pharmacol Exp Ther*, 335(3), 735-742. doi:10.1124/jpet.110.170852

- Meghwal, M., & Goswami, T. K. (2013). Piper nigrum and piperine: an update. *Phytother Res*, 27(8), 1121-1130. doi:10.1002/ptr.4972
- Mittal, R., & Gupta, R. L. (2000). In vitro antioxidant activity of piperine. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 22(5), 271-274.
- Muthuraman, A., Singh, N., & Jaggi, A. S. (2011). Protective effect of Acorus calamus L. in rat model of vincristine induced painful neuropathy: an evidence of anti-inflammatory and anti-oxidative activity. *Food Chem Toxicol*, 49(10), 2557-2563. doi:10.1016/j.fct.2011.06.069
- Naseri, M., Mojab, F., Khodadoost, M., Kamalinejad, M., Davati, A., Choopani, R., Hasheminejad, A., Bararpoor, Z., Shariatpanahi, S., & Emtiazy, M. (2012). The Study of Anti-Inflammatory Activity of Oil-Based Dill (*Anethum graveolens* L.) Extract Used Topically in Formalin-Induced Inflammation Male Rat Paw. *Iran J Pharm Res*, 11(4), 1169-1174.
- Nootim, P., Bunchuailua, W., & Kapol, N. (2013). Comparative efficacy of Sahastara capsule VS diclofenac tablet for the relief of muscle pain. *Journal of Thai traditional and alternative medicine*, 11, 12.
- Pinsornsak, P., Kanokkangsadal, P., & Itharat, A. (2015). The Clinical Efficacy and Safety of the Sahastara Remedy versus Diclofenac in the Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Double-Blind, Randomized, and Controlled Trial. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 103046. doi:10.1155/2015/103046
- PRB. (2014). 2014 world population data sheet. www.prb.org
- Reddy, D. B., Reddy, T. C., Jyotsna, G., Sharan, S., Priya, N., Lakshmipathi, V., & Reddanna, P. (2009). Chebulagic acid, a COX-LOX dual inhibitor isolated from the fruits of *Terminalia chebula* Retz., induces apoptosis in COLO-205 cell line. *J Ethnopharmacol*, 124(3), 506-512. doi:10.1016/j.jep.2009.05.022
- Sun, J., Zhang, X., Broderick, M., & Fein, H. (2003). Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay. *sensors*, 9.

- Suresh, D., & Srinivasan, K. (2010). Tissue distribution & elimination of capsaicin, piperine & curcumin following oral intake in rats. *Indian J Med Res*, 131, 682-691.
- Tewtrakul, S., & Itharat, A. (2007). Nitric oxide inhibitory substances from the rhizomes of *Dioscorea membranacea*. *J Ethnopharmacol*, 109(3), 412-416.
doi:10.1016/j.jep.2006.08.009
- Wang, T., Wu, F., Jin, Z., Zhai, Z., Wang, Y., Tu, B., Yan, W., & Tang, T. (2014). Plumbagin inhibits LPS-induced inflammation through the inactivation of the nuclear factor-kappa B and mitogen activated protein kinase signaling pathways in RAW 264.7 cells. *Food Chem Toxicol*, 64, 177-183. doi:10.1016/j.fct.2013.11.027
- Wei, J., Zhang, X., Bi, Y., Miao, R., Zhang, Z., & Su, H. (2015). Anti-Inflammatory Effects of Cumin Essential Oil by Blocking JNK, ERK, and NF-kappaB Signaling Pathways in LPS-Stimulated RAW 264.7 Cells. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 474509. doi:10.1155/2015/474509
- WHO. (2011). Global health and aging *Global health and aging*. USA: NIH publication.
- Zhao, Y., Liu, F., Liu, Y., Zhou, D., Dai, Q., & Liu, S. (2015). Anti-Arthritic Effect of Chebulanin on Collagen-Induced Arthritis in Mice. *PLoS One*, 10(9), e0139052. doi:10.1371/journal.pone.0139052



APPENDICES

APPENDIX A

ETHIC APPROVAL DOCUMENT OF CLINICAL SAFETY STUDY



Certificate of Approval

Human Research Ethics Committee of Thammasat University No.1 (Faculty of Medicine)

95 Moo 8, Paholyotin Road, Auphur Klongluang, Pathumthani. Thailand 12120,

Tel 662-9269704 and Fax 662-5644444 ext 7535

.....

Number of COA	166/2558
Title of Project	The Clinical Pharmacokinetics of Sahastara Remedy Alcoholic Extract Capsule in Healthy Volunteers (Clinical trial Phase I)
Project No	MTU-EC-TM-6-121/58
Principal Investigator	Puritat Kanokkangsadal Associate Professor Preecha Wanichsetakul (M.D.) Assistant Professor Phisit Khemawoot Associate Prof. Dr.Arunporn Itharat
Study Center	Thammasat University Hospital
Responsible Department	Thai Traditional Medicine Office , Faculty of Medicine. Thammasat University, Prathumthani, Thailand 12120 Tel. 081-732-3241

Document Reviewed

1. Protocol Revised No 1 : dated September 30, 2015.
2. Information Sheet Revised No 1 : dated September 30, 2015.
3. Consent Form Revised No 1 : dated September 30, 2015.
4. Case record form Revised No 1 : dated September 30, 2015.

The Human Ethics Committee of Thammasat University No.1 (Faculty of Medicine) is in full compliance with international such as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guidelines and the International Practice (ICH-GCP)

This document is a record of review and approval / acceptance of a clinical study protocol. The Human Research Ethics Committee of Thammasat University No.1 (Faculty of Medicine) has approved the above study and the following documents for use in the study at the Ethics Committee meeting on September 14, 2015. (16/2015)

Approval period 1 year.

Progress report deadline : June 30 , 2016

Signed: 

(Assistant Prof. Sumalee Kondo)

Assistant Secretary of the Human Research Ethics Committee of Thammasat University No.I (Faculty of Medicine)

Signed: 

(Associate Professor Waipoj Chanvimalueng (M.D.))

Chairman of the Human Research Ethics Committee of Thammasat University No.I (Faculty of Medicine)

Date of Approval: December 1, 2015

Date of Expire : November 30, 2016

APPENDIX B

INFORMATION SHEET OF CLINICAL SAFETY STUDY

แบบฟอร์มการให้ข้อมูลเพื่อการตัดสินใจ
เพื่อการศึกษาความปลอดภัยของแคปซูลสารสกัดแอลกอฮอล์ยาตำรับสหัชธรรมา
ในอาสาสมัครสุขภาพดี (งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1)

1. ชื่อโครงการ

การศึกษาความปลอดภัยของแคปซูลสารสกัดแอลกอฮอล์ยาตำรับสหัชธรรมาในอาสาสมัครสุขภาพดี (งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1)

2. ชื่อผู้รับผิดชอบโครงการ

อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.นพ.ปรีชา วาณิชยเศรษฐกุล
 (ผู้ร่วมวิจัย) ภาควิชาสูติ-นรีเวชกรรม
 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
 โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-926-9672-3
 โทรศัพท์ 081-869-9404, E-mail : pchawa@truemail.co.th

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. อรุณพร อธิรัตน์
 สถาบันวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์
 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
 โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-9269749/02-9269705
 โทรศัพท์ 086-9645964, E-mail : iarunporn@yahoo.com

นักศึกษา(ผู้วิจัย) : นายภูริทัต กนกกังสดาล
 นักศึกษาปริญญาตรีบัณฑิต (แพทย์แผนไทยประยุกต์คลินิก)
 สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์
 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
 โทรศัพท์ 081-7323241, E-mail : fire_pyro99@yahoo.com

สถานที่ติดต่อ : สถาบันวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์
 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง

จังหวัดปทุมธานี 12120 โทรศัพท์ 0-2926-9749

โทรสาร 0-2926-9705

3. เหตุที่ต้องทำวิจัยและเหตุผลที่ต้องการศึกษาในคน รวมทั้งเหตุผลที่อาสาสมัครที่ได้รับเชิญเข้าร่วมโครงการ

ในทางการแพทย์แผนไทย พบว่า ผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่เข้ารับการรักษานั้นเป็นผู้ป่วยที่มาด้วยกลุ่มอาการกล้ามเนื้อและกระดูก ซึ่งนอกจากการรักษาด้วยการ หัตถบำบัด และประคบสมุนไพรแล้ว ยังมีการใช้ยาที่เกี่ยวข้องกับระบบกล้ามเนื้อและกระดูกหลายตำรับ หนึ่งในนั้น คือ ยาตำรับ “สหัสธารา” เป็นยาอีกตำรับหนึ่งที่ใช้ในการรักษาโรคกลุ่มกล้ามเนื้อและกระดูกมาเป็นระยะเวลานาน โดยผลการรักษาของยาตำรับสหัสธาราอยู่ในเกณฑ์ที่น่าพึงพอใจสำหรับผู้ป่วย

ยาสหัสธารา เป็นยาในบัญชียาหลักแห่งชาติ ซึ่งมีส่วนประกอบของตำรับไว้ทั้งสิ้น 21 ชนิด ได้แก่ พริกไทย, รากเจตมูลเพลิงแดง, ดอกคัสปี้, หัสศุณเทศ, เนื้อมะขาม, รากทองแดง, เหง้าว่านน้ำ, การบูร, ดอกจันทน์เทียนแดง, ลูกจันทน์, เทียนตาตุ่มแดง, มหาหิงค์, เทียนสัตตบุษย์, เทียนขาว, รากจิงจ้อ, เทียนดำ, โกฐกั๊กกรร, โกฐกำนพร้าว, โกฐเขมา และโกฐพุงปลา ซึ่งการประกาศให้ยาสหัสธาราเป็นยาตำรับในบัญชียาหลักชาตินั้น แสดงให้เห็นว่ายาตำรับมีความปลอดภัยในการใช้กับมนุษย์ นอกจากนี้งานวิจัยในห้องปฏิบัติการยังสนับสนุนว่ายาสหัสธารามีความสามารถด้านการอักเสบได้ ซึ่งลักษณะกลไกการออกฤทธิ์ของยาสหัสธารานี้มีความคล้ายคลึงกับยาแก้ปวดที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) ซึ่งเป็นยาแก้ปวดในการรักษาแบบแผนปัจจุบัน

ในขณะที่การศึกษาความเป็นพิษ พบว่า สารสกัดยาตำรับสหัสธาราไม่มีพิษทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังในหนู อีกทั้งการศึกษาในระดับคลินิกของผงยาตำรับสหัสธาราในผู้ป่วยข้อเข่าเสื่อม ไม่พบความเป็นพิษต่อดับและไต เมื่อรับประทานติดต่อกันนาน 28 วัน

จากข้อมูลข้างต้น แสดงให้เห็นว่ายาตำรับสหัสธารามีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ทดแทนยาในกลุ่มกล้ามเนื้อกระดูกและข้อ ซึ่งการพัฒนาในรูปแบบสารสกัดจะช่วยลดข้อจำกัดของการรับประทานแบบผงยาได้ แต่ยังไม่มีการศึกษาสารสกัดสหัสธาราในระดับคลินิก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาความปลอดภัยยาสารสกัดแอลกอฮอล์ยาตำรับสหัสธาราในอาสาสมัครสุขภาพดี เพื่อเป็นข้อมูลในการวิจัยขั้นต่อไปจนนำไปสู่การใช้จริงในอนาคต

4. วัตถุประสงค์ของโครงการ

4.1 เพื่อศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดแอลกอฮอล์ยาดำรับสหัสธาราในอาสาสมัคร สุขภาพดี

5. ขั้นตอนและกระบวนการทำวิจัย

ก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัยอาสาสมัครจะได้รับคำอธิบายเกี่ยวกับโครงการจนเข้าใจดี พร้อมเซ็นใบยินยอมเข้าร่วมโครงการ จากนั้นอาสาสมัครจะได้รับการคัดกรอง โดยการซักประวัติ ตรวจร่างกาย เก็บตัวอย่างเลือด 20 ซีซี (4 ซ้อนชา) และปัสสาวะประมาณ 15 มิลลิลิตร เมื่อผ่านการคัดกรอง อาสาสมัครจะถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่ม โดยวิธีการสุ่มอย่างง่ายด้วยคอมพิวเตอร์ ซึ่งกลุ่มที่ 1 จะได้รับยาแคปซูลสารสกัดสหัสธาราขนาด 100 มิลลิกรัม รับประทานวันละ 3 ครั้ง ๆ 1 แคปซูล ก่อนอาหาร เข้า กลางวัน เย็น ในขณะที่กลุ่มที่ 2 จะได้รับยาแคปซูลขนาด 100 มิลลิกรัม รับประทานวันละ 3 ครั้ง ๆ ละ 2 แคปซูล ก่อนอาหารเช้า กลางวัน เย็น ซึ่งอาสาสมัคร มีโอกาสที่จะได้อยู่กลุ่มใดกลุ่มหนึ่งโดยเท่ากัน

อาสาสมัครจะต้องรายงานผลต่อผู้วิจัยด้วยการทำแบบบันทึกอาการไม่พึงประสงค์ ประจำวัน และต้องมาติดตามอาการเมื่อรับประทานยาครบ 14 และ 28 วัน หลังจากนั้นจะหยุด รับประทานยาเป็นเวลา 14 วัน จึงมาติดตามอาการหลังหยุดรับประทานยาอีกครั้ง โดยทุกครั้ง ที่มาจะได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย เก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะ

การศึกษาจะเริ่มทำการศึกษาจากอาสาสมัครกลุ่มที่ 1 ที่ได้รับยาขนาด 100 มิลลิกรัม ก่อน หากไม่พบปัญหาในการศึกษาจะทำการศึกษาอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 ที่ได้รับยาขนาด 200 มิลลิกรัม

6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะเกิดขึ้นจากการทำวิจัย

6.1 ทำให้ทราบความปลอดภัยในการใช้แคปซูลสารสกัดยาดำรับสหัสธาราในคนสุขภาพดี

6.2 เพื่อให้เป็นข้อมูลทางการวิจัยในการศึกษาแคปซูลสารสกัดในระดับคลินิกต่อไป นำไปสู่ การใช้จริง และพัฒนาไปเป็นยาในการรักษาโรคทางกล้ามเนื้อและกระดูกต่อไป

7. สิ่งที่อาสาสมัครจะต้องปฏิบัติและไม่ปฏิบัติระหว่างการศึกษ และระยะเวลาของการวิจัย

ระหว่างการศึกษอาสาสมัครจะต้องปฏิบัติตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัด ได้แก่ การงดรับประทาน วิตามินหรืออาหารเสริม การรายงานอาการไม่พึงประสงค์ในบันทึก อาสาสมัครหญิงจะต้องใช้วิธีการคุมกำเนิดที่ปลอดภัยและเชื่อถือได้ ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัยคือ 42 วัน

8. ความเสี่ยงหรืออันตรายที่จะเกิดขึ้นและหรือความไม่สะดวกสบายของอาสาสมัครที่อาจได้รับ และมาตรการที่ผู้วิจัยเตรียมไว้ป้องกัน

ถ้าหากมีอาการไม่พึงประสงค์ เช่น คลื่นไส้ อาเจียน เวียนศีรษะ แน่นหน้าอก ท้องเดิน มีผื่นขึ้น และอื่นๆ ให้ท่านรีบโทรศัพท์แจ้งผู้รับผิดชอบโครงการ (นายภูริทัต กนกกังสดาล) ได้ทันที และรีบมาโรงพยาบาลทันที โดยท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆทั้งสิ้น

9.กรณีเกิดภาวะแทรกซ้อนที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยผู้วิจัยจะให้การรักษาพยาบาลหรือชดเชยอาสาสมัครอย่างไร

ถ้าหากมีอาการไม่พึงประสงค์ที่เป็นผลจากการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัย ผู้ให้ทุนวิจัย และผู้รับผิดชอบโครงการวิจัย จะให้การรักษายาพยาบาลและดูแลท่านจนกว่าจะเป็นปกติ โดยท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆทั้งสิ้น

10. การให้ค่าตอบแทนเป็นเงิน ควรระบุจำนวนและจำนวนครั้งที่ให้อาสาสมัคร

- ค่าพาหนะในการเดินทางเพื่อคัดกรองเป็นอาสาสมัคร 300 บาท
- ค่าพาหนะในการเดินทางสำหรับการนัดติดตามอาการทั้งสิ้น 3 ครั้ง ครั้งละ 300 บาท รวม 900 บาท
- ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆทั้งสิ้น

11. การรักษาความลับเกี่ยวกับอาสาสมัคร

ผู้วิจัยจะเก็บประวัติของท่านไว้เป็นความลับ โดยจัดเก็บในตู้ที่มีกุญแจปิดมิดชิด และมีเพียงผู้วิจัยเท่านั้นที่สามารถเข้าถึงข้อมูลได้ และการรายงานผลจะนำเสนอในภาพรวมและไม่เปิดเผยชื่อของท่าน

12. วัตถุทางชีวภาพที่รวบรวมไว้ เช่น ตัวอย่างเลือดที่เหลือหลังจบโครงการจะจัดการอย่างไร

ตัวอย่างเลือด ปัสสาวะ ที่ได้จากอาสาสมัครภายหลังจากเสร็จสิ้นโครงการจะทำลายทิ้งทันที

13. สิทธิของอาสาสมัครในการถอนตัวออกจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยไม่กระทบต่อการรักษาพยาบาลของอาสาสมัครที่เป็นผู้ป่วย

ท่านมีสิทธิที่จะถอนตัวออกจากโครงการวิจัยได้ทุกเมื่อโดยไม่ต้องแสดงเหตุผล และท่านจะไม่เสียผลประโยชน์ใดๆทั้งสิ้น

14. แหล่งทุนวิจัย

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ภายใต้ศูนย์ความเป็นเลิศ แพทย์แผนไทย สมุนไพรและอาหาร คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

15. โครงการวิจัยได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ โทรศัพท์ 0-2926-9704-6, โทรสาร 02-564-4444 ต่อ 7539

ขอบคุณทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ



APPENDIX C

CONSENT FORM OF CLINICAL SAFETY STUDY

หนังสือแสดงเจตนาการเข้าร่วมการวิจัย (Consent form)

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาความปลอดภัยของแคลซูลสารสกัดแอลกอฮอล์ยาตำรับสหัสธาราใน
อาสาสมัครสุขภาพดี

(งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1)

วันที่ให้คำยินยอม วันที่เดือนพ.ศ.....

ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึง
วัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตรายหรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัยหรือจากยาที่ใช้
รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด และมีความเข้าใจดีแล้ว ซึ่งผู้วิจัยได้ตอบคำถาม
ต่างๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจ ไม่ปิดบัง ซ่อนเร้น จนข้าพเจ้าพอใจ และเข้าร่วมโครงการนี้โดย
สมัครใจ

ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้ ถ้าข้าพเจ้าปรารถนาโดยไม่เสีย
สิทธิในการรักษาพยาบาลที่จะเกิดขึ้นตามมาในโอกาสต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูล เฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับและจะเปิดเผยได้เฉพาะ
ในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย

การเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกระทำได้เฉพาะกรณี
จำเป็นด้วยเหตุผลทางวิชาการเท่านั้นและจะต้องได้รับคำยินยอมจากข้าพเจ้าเป็นลายลักษณ์อักษร

ในการวิจัยครั้งนี้ จะมีการเจาะเลือดเป็นจำนวน 4 ซ้อนชา (20 ซีซี) ทุก 14 วัน (2 สัปดาห์)
และตัวอย่างปัสสาวะ 15 มิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้ง ซึ่งอาจเกิดรอยฟกช้ำบริเวณที่เจาะเลือดได้

ผู้วิจัยรับรองว่าหากเกิดภาวะแทรกซ้อนใดๆ ที่มีสาเหตุจากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะ
ได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่คิดค่าใช้จ่าย และหรือจะมีการชดเชยค่าตอบแทน ตลอดจนเงินทดแทน
ความพิการที่อาจเกิดขึ้นตามความเหมาะสม

ข้าพเจ้ายินยอมให้ผู้กำกับดูแลการวิจัย ผู้ตรวจสอบ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
และคณะกรรมการที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมยา สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์

ของข้าพเจ้า เพื่อเป็นการยืนยันถึงขั้นตอนโครงการวิจัยทางคลินิก โดยไม่ล่วงละเมิดเอกสิทธิ์ ในการปิดบัง ข้อมูลของการสมัครตามกรอบที่กฎหมายและกฎระเบียบได้อนุญาตไว้

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นแล้ว และมีความเข้าใจดีทุกประการ และได้ลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

ในกรณีที่ข้าพเจ้าไม่สามารถอ่านหนังสือได้ ผู้วิจัยได้อ่านข้อความในใบยินยอมนี้ให้ข้าพเจ้า ฟังจนเข้าใจดีแล้ว ข้าพเจ้าจึงลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ให้หนังสือแสดงความยินยอม ที่มีข้อความอย่างเดียวกันและลงลายมือชื่อ และ วันที่เรียบร้อยแล้วให้แก่ข้าพเจ้า 1 ฉบับ และผู้วิจัยเก็บรักษาไว้ 1 ฉบับ ตลอดการดำเนินการวิจัย และ หลังสิ้นสุดการวิจัยแล้ว

ข้าพเจ้าสามารถติดต่อผู้วิจัยได้ที่ สาขาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง

จังหวัดปทุมธานี 12120

โทรศัพท์ 0-2926-9749 โทรสาร 0-2926-9705

โดยบุคคลที่รับผิดชอบเรื่องนี้ คือ

นักศึกษา (ผู้วิจัย) : นายภูริทัต กนกกังสดาล

นักศึกษาปริญญาตรีบัณฑิต (แพทย์แผนไทยประยุกต์คลินิก)

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โทรศัพท์ 081-7323241, E-mail : fire_pyro99@yahoo.com

อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.นพ. ปรีชา วาณิชยเศรษฐกุล

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-926-9672-3

E-mail : pchawa@truemail.co.th

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: รศ.ดร.อรุณพร อัฐรัตน์

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-9269749/02-9269705

โทรศัพท์ 086-9645964, E-mail : jarunporn@yahoo.com

ข้าพเจ้า รับทราบว่า ข้าพเจ้าสามารถขอรับคำปรึกษา/แจ้งเรื่อง/ร้องเรียน ได้ที่สำนักงานอนุกรรมการ
จริยธรรมการวิจัยในคน มธ.ชุดที่ 1 (คณะแพทยศาสตร์) โทรศัพท์ 02-926-9704

ลงนาม.....ผู้ยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

APPENDIX D

SCREENING FORM OF CLINICAL SAFETY STUDY

แบบคัดกรองอาสาสมัคร (Screening Form)

โครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาความปลอดภัยของแคลซูลสารสกัดแอลกอฮอล์ยาตำรับ สหัชชาราโน
อาสาสมัครสุขภาพดี (งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1)

วัน/เดือน/ปี ที่บันทึก ____/____/____

เวลา ____:____

ข้อมูลส่วนตัวอาสาสมัคร		
เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง	วัน/เดือน/ปี เกิด ____/____/____ _____	อายุ _____ ปี

ข้อมูลทั่วไปสำหรับการคัดกรองอาสาสมัคร		
น้ำหนัก ____ . ____ กิโลกรัม	ส่วนสูง ____ : ____ เซนติเมตร	BMI ____ kg/m ²
สัญญาณชีพ (vital signs)		
อุณหภูมิ: BT ____ °C	ความดันโลหิต : BP ____ / ____ mm.Hg	
ชีพจร: PR ____ bpm	อัตราการหายใจ : RR ____ bpm	
ตรวจรีเฟล็กซ์ (Reflex)		
	Rt	Lt
Biceps	_____	_____
Triceps	_____	_____
Knees	_____	_____
Ankles	_____	_____
ธาตุเจ้าเรือน		
☐ ดิน	☐ น้ำ	☐ ลม ☐ ไฟ

ข้อมูลการคัดกรองอาสาสมัคร		
เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (Inclusion criteria)	ใช่	ไม่ใช่
1. เพศชายและหญิง อายุ 20-45 ปี	☐	☐
2. อาสาสมัครหญิงไม่ตั้งครรภ์ ไม่อยู่ระหว่างให้นมบุตร มีการคุมกำเนิดที่ปลอดภัยเชื่อถือได้	☐	☐
3. ไม่มีอาการหรือโรคอื่นที่รุนแรง (จากการซักประวัติ ตรวจร่างกาย และผลทางห้องปฏิบัติการ)	☐	☐
4. ไม่เสพสารเสพติด ไม่ดื่มสุรา	☐	☐
5. ไม่รับประทานอาหารเสริมหรือวิตามินใด ๆ	☐	☐
6. ยินดีปฏิบัติตามคำแนะนำระหว่างที่ทำการศึกษา	☐	☐
7. ไม่อยู่ในระหว่างโครงการวิจัยอื่น	☐	☐
เกณฑ์การไม่รับอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (Exclusion criteria)		
1. มีภาวะความดันโลหิตสูง (มากกว่า 140/90 mm.Hg)	☐	☐
2. มีค่า BMI > 30 kg/m ²	☐	☐
3. มีโรคประจำตัว หรือมีประวัติเป็นโรคแผลเปื่อยเพปติก กรดไหลย้อน มีประวัติโรคหัวใจ โรคตับ โรคไต อยู่ระหว่างการรับประทานยา ดังนี้ phynytoin, propranolol, theophylline และ rifampicin	☐	☐
4. มีประวัติแพ้ยาสมุนไพรในยาตำรับสหัชธรรมา	☐	☐

ข้อมูลการซักประวัติอาสาศมัคร						
ประวัติการเจ็บป่วย(อาการ)	ไม่มี	มี*	ระดับความรุนแรง			หมายเหตุ
1. เจ็บหน้าอก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
2. หายใจลำบาก เหนื่อยง่าย	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
3. ใจสั่น	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
4. คลื่นไส้	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
5. อาเจียน	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
6. อ่อนเพลีย	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
7. เวียนศีรษะ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
8. หูอื้อ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
9. ตามัว	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
10. นอนไม่หลับ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
11. ปากแห้ง คอแห้ง	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
12. เบื่ออาหาร	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
13. ท้องอืดท้องเฟ้อ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
14. ท้องเดิน ถ่ายเหลว	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
15. ท้องผูก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
16. ถ่ายเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
17. ปัสสาวะบ่อยผิดปกติ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
18. ปัสสาวะลำบาก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
19. กลั้นปัสสาวะไม่ได้	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
20. ปัสสาวะเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	

21. มีผื่นคัน	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
21 อื่น ๆ.....	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
ข้อมูลการซักประวัติอาสาศมัคร (ต่อ)						
ประวัติอดีต	โรคประจำตัว ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ _____ _____ การแพ้ยา ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ _____ _____					
ประวัติครอบครัว						
ประวัติส่วนตัว						
การรับประทานอาหาร	☐ ครบ 3 มื้อ ☐ ไม่ครบ 3 มื้อ _____ ☐ ตรงเวลา ☐ ไม่ตรงเวลา _____					
การดื่มน้ำ	☐ น้อยกว่า 8 แก้ว/วัน ☐ 8 แก้ว/วัน ☐ มากกว่า 8 แก้ว/วัน _____ แก้ว/วัน					
การพักผ่อน	_____ ชั่วโมง/วัน ☐ มีปัญหาการนอนหลับ ☐ ไม่มีปัญหาการนอนหลับ					
การขับถ่าย	☐ ขับถ่ายทุกวัน ☐ ขับถ่าย _____ วัน/ครั้ง _____ —					
อิริยาบถการทำงาน						
อารมณ์						
ประวัติสังคม	สุขบุหรื ☐ ไม่สูบ ☐ สูบ _____/วัน นาน _____ ปี ☐ เคยสูบ _____/วัน เลิกมา _____ ปี					

	สุรา ☐ ไม่ดื่ม ☐ ดื่ม _____/วัน นาน _____ ปี ☐ เคยดื่ม _____/วัน เลิกมา _____ ปี		
ประวัติประจำเดือน	☐ N/A ☐ ปกติ ☐ ไม่ปกติ LMP _____ ประจำเดือนมา _____ วัน/ครั้ง ครั้งละ _____ วัน ใช้ผ้าอนามัยวันละ _____ ผืน _____		
ประวัติอื่น ๆ			
ข้อมูลการตรวจร่างกายสำหรับการคัดกรองอาสาศมัคร			
รายละเอียดการตรวจร่างกาย	ปกติ	ไม่ปกติ*	ผลการตรวจร่างกาย
1. ลักษณะทั่วไป	☐	☐	*ระบุ.....
2. ศีรษะ	☐	☐	*ระบุ.....
3. ตา	☐	☐	*ระบุ.....
4. หู	☐	☐	*ระบุ.....
5. จมูก	☐	☐	*ระบุ.....
6. ปากและคอ	☐	☐	*ระบุ.....
7. หัวใจ - จังหวะการเต้นของหัวใจ - เสียงหัวใจ	☐ ☐	☐ ☐	*ระบุ..... *ระบุ.....
8. ปอด	☐	☐	*ระบุ.....
9. ท้อง	☐	☐	*ระบุ.....

10. แขนขา	☐	☐	*ระบุ.....
11. ระบบประสาท	☐	☐	*ระบุ.....
12. อื่น ๆ	☐	☐	*ระบุ.....
สรุปผลการตรวจ ร่างกาย	☐ ปกติ ☐ Exclusion แนะนำ.....		

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัคร			
รายการ	ผลการตรวจ (result)		หมายเหตุ
	ปกติ	ไม่ปกติ	
Hematology Test (CBC)			
WBC	☐	☐	☐ H ☐ L
Neutrophil	☐	☐	☐ H ☐ L
Lymphocyte	☐	☐	☐ H ☐ L
Monocyte	☐	☐	☐ H ☐ L
Eosinophil	☐	☐	☐ H ☐ L
Basophil	☐	☐	☐ H ☐ L
RBC	☐	☐	☐ H ☐ L
Hb	☐	☐	☐ H ☐ L
Hct	☐	☐	☐ H ☐ L
Blood chemistry test			
FBS Glucose	☐	☐	☐ H ☐ L
Lipid profile			
Total Cholesterol	☐	☐	☐ H ☐ L
Triglycerides	☐	☐	☐ H ☐ L

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัคร			
รายการ	ผลการตรวจ (result)		หมายเหตุ
	ปกติ	ไม่ปกติ	
HDL-cholesterol	☐	☐	☐ H ☐ L
LDL-cholesterol	☐	☐	☐ H ☐ L
Liver function test			
Total Protien	☐	☐	☐ H ☐ L
Albumin	☐	☐	☐ H ☐ L
Globulin	☐	☐	☐ H ☐ L
Total Bilirubin	☐	☐	☐ H ☐ L
Direct bilirubin	☐	☐	☐ H ☐ L
Aspartate aminotranferase : AST	☐	☐	☐ H ☐ L
Alanine aminotranferase : ALT	☐	☐	☐ H ☐ L
Alkaline Phosphatase : ALP	☐	☐	☐ H ☐ L
Renal function test			
Blood urea nitrogen (BUN)	☐	☐	☐ H ☐ L
Creatinine	☐	☐	☐ H ☐ L
Creatinine clearance	☐	☐	☐ H ☐ L
Electrolyte			
Sodium (Na)	☐	☐	☐ H ☐ L
Potassium (K)	☐	☐	☐ H ☐ L
Chloride (Cl)	☐	☐	☐ H ☐ L
Bicarbonate (HCO ₃)	☐	☐	☐ H ☐ L
MDA	☐	☐	☐ H ☐ L
Urinary analysis (U/A)			
Color	☐	☐	☐ H ☐ L
Clarity (Appearance)	☐	☐	☐ H ☐ L

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัคร			
รายการ	ผลการตรวจ (result)		หมายเหตุ
	ปกติ	ไม่ปกติ	
Sp.gr.	☐	☐	☐ H ☐ L
pH	☐	☐	☐ H ☐ L
Leukocyte	☐	☐	☐ H ☐ L
WBC	☐	☐	☐ H ☐ L
RBC	☐	☐	☐ H ☐ L
สรุปผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ	☐	☐	แนะนำ _____ —

สรุปข้อมูลรายการตรวจคัดกรองอาสาสมัคร

รายการตรวจคัดกรองอาสาสมัคร	ผ่าน	ไม่ผ่าน
1. ข้อมูลการคัดกรองอาสาสมัคร (Inclusion criteria/ Exclusion criteria)	☐	☐
2. ข้อมูลการซักประวัติอาสาสมัคร	☐	☐
3. ข้อมูลการตรวจร่างกายอาสาสมัคร	☐	☐
4. ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการอาสาสมัคร	☐	☐

ลงชื่อ.....ผู้วิจัย
วันที่ ____ / ____ / ____

APPENDIX E

CASE RECORD FORM OF CLINICAL SAFETY STUDY

แบบติดตามอาการอาสาสมัคร (Case Record Form)

โครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาความปลอดภัยของแคลซูลสารสกัดแอลกอฮอล์ยาตำรับ สหัชชาใน
อาสาสมัครสุขภาพดี (งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1)

ครั้งที่ _____

วัน/เดือน/ปี ที่บันทึก _____/_____/_____

เวลา _____:_____

ข้อมูลทั่วไป		
น้ำหนัก _____ กิโลกรัม	ส่วนสูง _____ เซนติเมตร	BMI _____ kg/m ²
สัญญาณชีพ (vital signs)		
อุณหภูมิ: BT _____ °C	ความดันโลหิต : BP- _____/_____ mm.Hg	
ชีพจร: PR _____ bpm	อัตราการหายใจ : RR - _____ bpm	

ข้อมูลการซักประวัติอาสาสมัคร				
ประวัติการเจ็บป่วย (อาการ)	ไม่มี	มี*	ระดับความรุนแรง	หมายเหตุ
1. เจ็บหน้าอก	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
2. หายใจลำบาก เหนื่อยง่าย	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
3. ใจสั่น	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
4. คลื่นไส้	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	

ข้อมูลการซักประวัติอาสาสมัคร					
5. อาเจียน	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
6. อ่อนเพลีย	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
7. เวียนศีรษะ	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
8. หูอื้อ	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
9. ตามัว	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
10. นอนไม่หลับ	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
11. ปากแห้ง คอแห้ง	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
12. เบื่ออาหาร	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
13. ท้องอืดท้องเฟ้อ	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
14. ท้องเดิน ถ่ายเหลว	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
15. ท้องผูก	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
16. ถ่ายเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
17. ปัสสาวะบ่อยผิดปกติ	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐

ข้อมูลการซักประวัติอาสาศัมคร					
18. ปัสสาวะลำบาก	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
19. กลั้นปัสสาวะไม่ได้	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
20. ปัสสาวะเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
21. มีผื่นคัน	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐
21 อื่น ๆ.....	☐	☐	☐ น้อย มาก	☐ ปานกลาง	☐

ข้อมูลการตรวจร่างกายอาสาศัมคร			
รายละเอียดการตรวจร่างกาย	ปกติ	ไม่ปกติ*	ผลการตรวจร่างกาย
1. ลักษณะทั่วไป	☐	☐	* ระบุ.....
2. ศีรษะ	☐	☐	* ระบุ.....
3. ตา	☐	☐	* ระบุ.....
4. หู	☐	☐	* ระบุ.....

ข้อมูลการตรวจร่างกายอาสาสมัคร			
5. จมูก	☐	☐	* ระบุ.....
6. ปากและคอ	☐	☐	* ระบุ.....
7. หัวใจ - จังหวะการเต้นของหัวใจ - เสียงหัวใจ	☐ ☐	☐ ☐	* ระบุ..... * ระบุ.....
8. ปอด	☐	☐	* ระบุ.....
9. ท้อง	☐	☐	* ระบุ.....
10. แขนขา	☐	☐	* ระบุ.....

ข้อมูลการตรวจร่างกายอาสาสมัคร			
11. ระบบประสาท	☐	☐	* ระบุ.....
12. อื่น ๆ	☐	☐	* ระบุ.....
สรุปผลการตรวจร่างกาย	☐ ปกติ ☐ Exclusion แนะนำ.....		

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัคร			
รายการ	ผลการตรวจ (result)		หมายเหตุ
	ปกติ	ไม่ปกติ	
Hematology Test (CBC)			
WBC	☐	☐	☐ H ☐ L
Neutrophil	☐	☐	☐ H ☐ L
Lymphocyte	☐	☐	☐ H ☐ L
Monocyte	☐	☐	☐ H ☐ L
Eosinophil	☐	☐	☐ H ☐ L
Basophil	☐	☐	☐ H ☐ L
RBC	☐	☐	☐ H ☐ L
Hb	☐	☐	☐ H ☐ L
Hct	☐	☐	☐ H ☐ L
Blood chemistry test			
FBS Glucose	☐	☐	☐ H ☐ L
Lipid profile			

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัคร				
รายการ	ผลการตรวจ (result)		หมายเหตุ	
	ปกติ	ไม่ปกติ		
Total Cholesterol	☐	☐	☐ H ☐ L	
Triglycerides	☐	☐	☐ H ☐ L	
HDL-cholesterol	☐	☐	☐ H ☐ L	
LDL-cholesterol	☐	☐	☐ H ☐ L	
Liver function test				
Total Protien	☐	☐	☐ H ☐ L	
Albumin	☐	☐	☐ H ☐ L	
Globulin	☐	☐	☐ H ☐ L	
Total Bilirubin	☐	☐	☐ H ☐ L	
Direct bilirubin	☐	☐	☐ H ☐ L	
Aspartate aminotranferase : AST	☐	☐	☐ H ☐ L	
Alanine aminotranferase : ALT	☐	☐	☐ H ☐ L	
Alkaline Phosphatase : ALP	☐	☐	☐ H ☐ L	
Renal function test				
Blood urea nitrogen (BUN)	☐	☐	☐ H ☐ L	
Creatinine	☐	☐	☐ H ☐ L	
Creatinine clearance	☐	☐	☐ H ☐ L	
Electrolyte				
Sodium (Na)	☐	☐	☐ H ☐ L	
Potassium (K)	☐	☐	☐ H ☐ L	
Chloride (Cl)	☐	☐	☐ H ☐ L	
Carbondioxide(CO ₂)	☐	☐	☐ H ☐ L	
MDA	☐	☐	☐ H ☐ L	
Urinary analysis (U/A)				

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัคร			
รายการ	ผลการตรวจ (result)		หมายเหตุ
	ปกติ	ไม่ปกติ	
Color	☐	☐	☐ H ☐ L
Clarity (Appearance)	☐	☐	☐ H ☐ L
Sp.gr.	☐	☐	☐ H ☐ L
pH	☐	☐	☐ H ☐ L
Leukocyte	☐	☐	☐ H ☐ L
WBC	☐	☐	☐ H ☐ L
RBC	☐	☐	☐ H ☐ L
สรุปผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ	☐	☐	แนะนำ _____ _____

ลงชื่อ.....ผู้วิจัย

APPENDIX F

ETHIC APPROVAL DOCUMENT OF PHARMACOKINETICS STUDY



Certificate of Approval

Human Research Ethics Committee of Thammasat University No.1 (Faculty of Medicine)

95 Moo 8, Paholyotin Road, Auphur Klongluang, Pathumthani. Thailand 12120,

Tel 662-9269704 and Fax 662-5644444 ext 7535

.....

Number of COA 069/2558

Title of Project The Clinical Safety of Alcoholic extract Sahastara remedy of extract capsule in healthy volunteers (Clinical trial Phase I)

Project No MTU-EC-TM-1-179/57

Principal Investigator Puritat Kanokkangsadal
Associate Professor Preecha Wanichsetakul (M.D.)
Associate Prof. Dr.Arunporn Itharat

Study Center Thammasat University Hospital

Responsible Department Thai Traditional Medicine Office , Faculty of Medicine.
Thammasat University,Prathumthani, Thailand 12121
Tel. 081-732-3241

Document Reviewed

1. Protocol Revised No 3 : dated April 9 , 2015.
2. Information Sheet Revised No 3 : dated April 9 , 2015.
3. Consent Form Revised No 3 : dated April 9 , 2015.
4. Case record form Revised No 3 : dated April 9 , 2015.
5. Advertising boards Revised No 3 : dated April 21, 2015.

The Human Ethics Committee of Thammasat University No.1 (Faculty of Medicine) is in full compliance with international such as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guidelines and the International Practice (ICH-GCP)

This document is a record of review and approval / acceptance of a clinical study protocol. The Human Research Ethics Committee of Thammasat University No.1 (Faculty of Medicine) has approved the above study and the following documents for use in the study at the Ethics Committee meeting on December 23, 2014. (20/2014)

Approval period 1 years.

Progress report deadline : October 30, 2015

Signed:

(Assistant Prof. Sumalee Kondo, (Ph.D.))

Assistant Secretary and Committee of the Human Research Ethics Committee of Thammasat University
(No.1: Faculty of Medicine)

Signed:.....

(Associate Professor Waipoj Chanvimalueng (M.D.))

Chairman of the Human Research Ethics Committee of Thammasat University No.1 (Faculty of Medicine)

Date of Approval: **May 1, 2015**

Date of Expire : **April 30, 2016**

APPENDIX G

INFORMATION SHEET OF PHARMACOKINETICS STUDY

เอกสารชี้แจงข้อมูลแก่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย
(Information Sheet)

ชื่อโครงการ การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาแคปซูลสารสกัดแอลกอฮอล์ตำรับสหัสธาราในอาสาสมัคร
 สุขภาพดี (งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1)

ชื่อผู้รับผิดชอบโครงการ

นักศึกษา(ผู้วิจัย) : นายภูริทัต กนกกังสดาล
 นักศึกษาปริญญาตรีบัณฑิต (แพทย์แผนไทยประยุกต์คลินิก)
 สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์
 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
 โทรศัพท์ 081-7323241, E-mail : fire_pyro99@yahoo.com

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก : รศ.นพ.ปรีชา วาณิชยเศรษฐกุล
และผู้ร่วมวิจัย ภาควิชาสูติ-นรีเวชกรรม
 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
 โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-926-9672-3
 โทรศัพท์ 081-8699404 E-mail : pchawa@truemail.co.th

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร.ภก. พิสิฐ เขมามุขมณี
 ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีระวิทยา
 คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-2188343
 โทรศัพท์ 081-945-9108 E-mail: phisit.k@chula.ac.th

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. อรุณพร อิฐรัตน์
 สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์
 คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
 โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-9269749/02-9269705
 โทรศัพท์ 086-9645964, E-mail : iarunporn@yahoo.com

สถานที่ติดต่อ : สถานการณ์แพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง
จังหวัดปทุมธานี 12120 โทรศัพท์ 0-2926-9749
โทรสาร 0-2926-9705

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านมีสุขภาพแข็งแรงเป็นไปตามคุณสมบัติของอาสาสมัครที่สามารถเข้าร่วมโครงการวิจัยได้ ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

เหตุที่ต้องทำวิจัยและเหตุผลที่ต้องการศึกษาในคน

ในทางการแพทย์แผนไทย พบว่า ผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่เข้ารับการรักษาเป็นผู้ป่วยที่มาด้วยกลุ่มอาการกล้ามเนื้อและกระดูก ซึ่งนอกจากการรักษาด้วยการ ทุเลาบำบัด และประคบสมุนไพรแล้ว ยังมีการใช้ยาที่เกี่ยวข้องกับระบบกล้ามเนื้อและกระดูกหลายตำรับ หนึ่งในนั้น คือ ยาตำรับ “สหัสธารา” เป็นยาอีกตำรับหนึ่งที่ใช้ในการรักษาโรคกล้ามเนื้อและกระดูกมาเป็นระยะเวลานาน โดยผลการรักษาของยาตำรับสหัสธาราอยู่ในเกณฑ์ที่น่าพึงพอใจสำหรับผู้ป่วย ได้มีการประกาศจากคณะกรรมการระบบยาแห่งชาติ โดยให้ ยาสหัสธารา เป็นยาในบัญชียาหลักแห่งชาติ ซึ่งได้ระบุส่วนประกอบของตำรับไว้ทั้งสิ้น 21 ชนิด ได้แก่ พริกไทย, รากเจตมูลเพลิงแดง, ดอกดีปลี, หัสศุณเทศ, เนื้อลูกสมอไทย, รากทองแดง, เหง้าว่านน้ำ, การบูร, ดอกจันทน์เทียนแดง, ลูกจันทน์, เทียนตาตุ๊กแตน, มหาหิงคุ์, เทียนสัตตบุษย์, เทียนขาว, รากจิงจ้อ, เทียนดำ, โกฐกั๊กกรา, โกฐก้านพร้าว, โกฐเขมา และ โกฐพุงปลา ซึ่งการประกาศให้ยาสหัสธาราเป็นยาตำรับในบัญชียาหลักแห่งชาตินั้น แสดงให้เห็นว่า ยาตำรับมีความปลอดภัยในการใช้กับมนุษย์ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่สนับสนุนว่า ยาสหัสธารามีความสามารถด้านการอักเสบได้ โดยสารสกัดสหัสธารา สามารถต้านการอักเสบได้ ซึ่งลักษณะกลไกการ

ออกฤทธิ์ของยาสัทธิสารานี้มีความคล้ายคลึงกับยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในทางแผนปัจจุบัน

ในขณะที่การศึกษาความเป็นพิษ พบว่า สารสกัดยาดำรับสัทธิสารานี้ไม่มีพิษทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังในหนู อีกทั้งการศึกษาในระดับคลินิกของผงยาดำรับสัทธิสารานี้ในผู้ป่วยข้อเข่าเสื่อม ไม่พบความเป็นพิษต่อดับและไต เมื่อรับประทานติดต่อกันนาน 28 วัน

จากข้อมูลข้างต้น แสดงให้เห็นว่ายาดำรับสัทธิสารานี้มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ทดแทนยาในกลุ่มกล้ามเนื้อกระดูกและข้อ ซึ่งการพัฒนาในรูปแบบสารสกัดจะช่วยลดข้อจำกัดของการรับประทานแบบผงยาได้ แต่ยังไม่มีการศึกษาสารสกัดสัทธิสารานี้ในระดับคลินิกที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ เพื่อเป็นข้อมูลในการวิจัยจนนำไปสู่การใช้จริง จึงควรมีการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ในอาสาสมัครสุขภาพดี เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาขนาดยาและรูปแบบการบริหารยาที่เหมาะสมกับการใช้จริงทางคลินิก อันเป็นกระบวนการสำคัญของการพัฒนายาจากสมุนไพรทั้งในระดับชาติและนานาชาติต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือ เพื่อศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาแคปซูลจากสารสกัดแอลกอฮอล์ยาดำรับสัทธิสารานี้ในอาสาสมัครสุขภาพดี โดยมีจำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ 24 คน

หมายเหตุ: ยาที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีชื่อว่า ยาแคปซูลจากสารสกัดแอลกอฮอล์ยาดำรับสัทธิสารานี้ ซึ่งเป็นยาที่อยู่ในกระบวนการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ ความปลอดภัย/ประสิทธิภาพการรักษา สำหรับผู้ป่วยในกลุ่มอาการอักเสบของกล้ามเนื้อกระดูกและข้อ

ขั้นตอนและกระบวนการทำวิจัย

1. ท่านจะได้รับการให้ข้อมูลเกี่ยวกับการวิจัยและเซ็นชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย
2. ท่านจะได้รับคัดกรองว่าท่านมีคุณสมบัติที่จะเข้าร่วมโครงการวิจัย ด้วยการซักประวัติ ตรวจร่างกาย และเก็บตัวอย่างเลือด 20 ซีซี (4 ซ่อนชา) และปัสสาวะประมาณ 15 มิลลิลิตร
3. เมื่อท่านมีคุณสมบัติเข้าร่วมโครงการวิจัย ท่านจะได้รับเชิญมาพบแพทย์ตามวันเวลาที่ผู้วิจัยนัดหมาย

4. ท่านจะถูกสุ่มให้ได้รับยาขนาด 100 หรือ 200 มิลลิกรัม อย่างใดอย่างหนึ่ง
5. ท่านจะต้องดื่มน้ำดื่มน้ำอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมงในวันที่มาพบแพทย์ เพื่อเก็บตัวอย่างเลือด 20 ซีซี (4 ซ้อนชา) และปัสสาวะประมาณ 15 มิลลิลิตรโดยเจาะเลือดแบบคาเข็ม และเข้าพักในโรงพยาบาล
6. ท่านจะได้รับยาขนาด 100 หรือ 200 มิลลิกรัม ตามการสุ่ม ดื่มน้ำ 100-200 ซีซี และงดอาหารต่ออีก 2 ชั่วโมง
7. เมื่องดอาหารครบ 2 ชั่วโมง ท่านจะได้รับประทานอาหารที่จัดเตรียมไว้ให้ โดยใช้เวลาในการรับประทานอาหารไม่เกิน 30 นาที
8. ท่านจะได้รับการเก็บตัวอย่างเลือดตามเวลา 0,0.5,1,2,3,4,6,9,12,18, 24 ชั่วโมง ครั้งละ 10 ซีซี (2 ซ้อนชา) รวมทั้งสิ้น 11 ครั้ง
9. ท่านจะสามารถกลับบ้านได้และนัดเก็บตัวอย่างครั้งสุดท้ายในเช้าวันถัดไปเป็นชั่วโมงที่ 48
10. ตัวอย่างเลือดทั้งหมดจะถูกนำไปวิเคราะห์ค่าทางเภสัชจลนศาสตร์

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์โดยตรงจากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้ แต่ผลการศึกษาที่ได้จะนำมาใช้คำนวณหาขนาดยาและรูปแบบการบริหารยาที่เหมาะสมกับการใช้จริงทางคลินิกของยาสารสกัดตำรับสหัสธาราในการใช้รักษาผู้ป่วยโรคกล้ามเนื้อกระดูกและข้อ อันเป็นกระบวนการสำคัญของการพัฒนายาจากสมุนไพรทั้งในระดับชาติและนานาชาติต่อไป

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยตามความจริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้ยาอื่นนอกเหนือจากที่ระบุไว้ในโครงร่างการวิจัย รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยาเนื่องจากอาจมีผลกระทบต่อการศึกษา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย

- ขอให้ท่านนำยาที่ใช้ในการศึกษาของท่านทั้งหมดที่เหลือจากการรับประทานมาให้ผู้ทำวิจัย ทุกครั้งที่นัดหมาย
- เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับยาต้านสหัสธารา ในหญิงตั้งครรภ์ ผู้ทำวิจัยจึงขอให้ท่าน ใช้วิธีการคุมกำเนิดที่มีประสิทธิภาพและไม่รบกวนผลการวิจัยซึ่งผู้ทำวิจัยจะเป็นผู้ให้ คำแนะนำกับท่านในช่วงเวลาที่เข้าร่วมโครงการเป็น ระยะเวลา 4 วัน

ความเสี่ยงหรือความไม่สะดวกสบายของอาสาสมัครที่อาจได้รับ

ความเสี่ยงจากการรับประทานยาทุกชนิดอาจทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ได้ทั้งสิ้นไม่มากนัก น้อย แพทย์ผู้ทำการวิจัยขอชี้แจงถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่อาจสัมพันธ์กับยาที่ศึกษาทั้งหมดดังนี้

มีข้อมูลที่แสดงว่ายาด้านสหัสธารา อาจมีผลกระทบต่อระบบทางเดินอาหารในกรณีที่ได้รับประทาน โดยมีอาการแสบร้อนท้อง เรอ ท้องอืดท้องเฟ้อ รวมถึงอาการข้างเคียงและความไม่สบายที่ยังไม่มีการรายงานด้วย ดังนั้นระหว่างที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัยจะมีการติดตามดูแลสุขภาพของท่านอย่างใกล้ชิด

กรุณาแจ้งผู้ทำวิจัยในกรณีที่พบอาการดังกล่าวข้างต้น หรืออาการอื่น ๆ ที่พบร่วมด้วย ระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ขอให้ท่านรายงานให้ผู้ทำวิจัยทราบโดยเร็ว

ความเสี่ยงที่รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ข้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดซึ่งพบได้น้อยมาก

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ ขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัย

การป้องกันและการรักษาอาการข้างเคียง

จากความเสี่ยงที่กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยมีมาตรการในการป้องกัน คือ ในการศึกษาท่านจะต้องเข้าพักที่โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติฯ ซึ่งจะได้รับการดูแลอย่างใกล้ชิดจากผู้วิจัย และท่านสามารถติดต่อผู้วิจัยได้ตลอด 24 ชั่วโมง ในกรณีที่เกิดอาการไม่พึงประสงค์ในระหว่างเข้าร่วมโครงการวิจัย

ความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยเมื่อเกิดภาวะแทรกซ้อน

หากพบภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากการวิจัยเมื่อใดก็ตาม ขอให้ท่านแจ้งผู้วิจัยทราบทันทีเพื่อท่านจะได้รับคำแนะนำและการรักษาอย่างเหมาะสม สำหรับท่านที่ปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่านหรือให้ค่าชดเชยตามความเหมาะสม การลงนามในเอกสารให้ความยินยอมไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือนายภุริทัต กนกกังสดาล ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ท่านจะได้รับยาแคปซูลสารสกัดตำรับสหัสธารา ในโครงการวิจัยจากผู้สนับสนุนการวิจัยโดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่าย

(ค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการและค่าห้องพักในโรงพยาบาล ผู้วิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมดรวมทั้งค่าเดินทางตามความถี่ที่ท่านได้มาพบแพทย์)

ค่าเดินทางและเงินชดเชยสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย (ถ้ามี)

ท่านจะไม่ได้รับเงินค่าตอบแทนจากการเข้าร่วมในการวิจัย แต่ท่านจะได้รับค่าเดินทางหรือเงินชดเชยความไม่สะดวกสบาย ในการมาตามนัดของโครงการวิจัย ครั้งละ 300 บาท จำนวน 2 ครั้ง เป็น

เงิน 600 บาท และในวันที่เข้าพักโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เพื่อเก็บตัวอย่างเลือด 11 ครั้ง ครั้งละ 200 บาท เป็นเงิน 2,200 บาท รวมทั้งสิ้น 2,800 บาท

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการวิจัยแล้วท่านจะได้รับการดูแลรักษาตามปกติ หากท่านสมัครใจเข้าร่วมการศึกษา ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา ซึ่งจะไม่ส่งผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัยเพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครรภ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย
- ท่านเกิดอาการข้างเคียงร้ายแรงที่เกิดจากการวิจัย
- มีความผิดปกติของผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการวิจัย
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาชนิดอื่นที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้
- เมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย

หลังจากถอนตัวออกจากโครงการวิจัยท่านจะได้รับคำแนะนำในการดูแลสุขภาพเบื้องต้นหากมีอาการข้างเคียงร้ายแรงและให้มาพบแพทย์ตามวันและเวลาดนัดเพื่อติดตามอาการ

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่สามารถนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน อย่างไรก็ตามก็จะมีบุคคลบางกลุ่มเช่น ผู้กำกับดูแลการวิจัย ผู้ตรวจสอบคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน และ คณะกรรมการที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมยา จะได้รับอนุญาตให้เข้าถึงข้อมูลโดยตรงจากเวชระเบียนหรือเอกสารอื่นๆที่เกี่ยวข้องเพื่อการตรวจสอบขั้นตอนการวิจัยทางคลินิกและ/หรือข้อมูลในการวิจัยโดยไม่ละเมิดการรักษาความลับของท่าน ภายใต้ขอบเขตที่กฎหมาย

บัญญัติและกฎระเบียบ ตามที่ท่านหรือตัวแทน (ที่ได้รับการยอมรับตามกฎหมาย) ได้ลงนามในใบยินยอม ที่เป็นลายลักษณ์อักษร หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอ ยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ นายสุริทัต กนกกิงสตาล สถานวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ 99 หมู่ 18 ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัด ปทุมธานี 12120

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการ เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ

ตัวอย่างชีวภาพที่ได้จากอาสาสมัคร เช่น เลือดที่เหลือจากการวิจัย ผู้วิจัยจะจัดการ ดังต่อไปนี้

1. ตัวอย่างเลือดจากการวิจัยทางผู้วิจัยจะเก็บไว้ในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ปี นับจากวันที่ได้รับตัวอย่าง เพื่อใช้ในการตรวจสอบซ้ำ และจะทำลายทิ้งตามวิธีการมาตรฐานเมื่อครบระยะเวลา

สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่าน รวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใดๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณวิจัยจาก งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2558 ภายใต้โครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ

โครงการวิจัยนี้ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ชุดที่ 1 (คณะแพทยศาสตร์) หากท่านไม่ได้รับการรักษาพยาบาลหรือการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะอนุกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ชุดที่ 1 อาคารราชสุดา ชั้น 4 โทรศัพท์ 02-9269704 โทรสาร 02-5644444 ต่อ 7535 ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail) ec.medtu@tu.ac.th

APPENDIX H

CONSENT FORM OF PHARMACOKINETICS STUDY

หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Consent Form)

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของแคปซูลสารสกัดแอลกอฮอล์ยาตำรับสหัสธาราใน
อาสาสมัครสุขภาพดี (งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1)

วันที่ให้คำยินยอม วันที่เดือนพ.ศ.....

ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึง
วัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตรายหรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัยหรือจากยาที่ใช้
รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด และมีความเข้าใจดีแล้ว ซึ่งผู้วิจัยได้ตอบคำถาม
ต่างๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจ ไม่ปิดบัง ซ่อนเร้น จนข้าพเจ้าพอใจ และเข้าร่วมโครงการนี้โดย
สมัครใจ

ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้ ถ้า(ข้าพเจ้า/บุตรของข้าพเจ้า)
ปรารถนาโดยไม่เสียสิทธิในการรักษาพยาบาลที่จะเกิดขึ้นตามมาในโอกาสต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูล เฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับและจะเปิดเผยได้เฉพาะ
ในรูปแบบที่เป็นสรุปผลการวิจัย

การเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกระทำได้เฉพาะกรณี
จำเป็นด้วยเหตุผลทางวิชาการเท่านั้นและจะต้องได้รับคำยินยอมจาก(ข้าพเจ้า/บุตรของข้าพเจ้า) เป็นลาย
ลักษณ์อักษร

ในการวิจัยครั้งนี้ จะมีการเจาะเลือดเป็นจำนวน 4 ซ้อนชา (20 ซีซี) ตัวอย่างปัสสาวะ 15
มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง (ก่อนและหลังเข้าโครงการ) ซึ่งอาจเกิดรอยฟกช้ำบริเวณที่เจาะเลือดได้ และ
เจาะเลือดครั้งละ 2 ซ้อนชา (10 ซีซี) จำนวน 11 ครั้ง เมื่อเข้าพักที่โรงพยาบาล โดยใช้วิธีการคาเข็มเพื่อ
ความสะดวกในการเก็บตัวอย่างเลือดซ้ำบ่อยครั้ง

ผู้วิจัยรับรองว่าหากเกิดภาวะแทรกซ้อนใดๆ ที่มีสาเหตุจากการวิจัยดังกล่าว (ข้าพเจ้า/บุตร
ของข้าพเจ้า) จะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่คิดค่าใช้จ่าย และหรือจะมีการชดเชยค่าตอบแทน
ตลอดจนเงินทดแทนความพิการที่อาจเกิดขึ้นตามความเหมาะสม

ข้าพเจ้ายินยอมให้ผู้กำกับดูแลการวิจัย ผู้ตรวจสอบ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน และ คณะกรรมการที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมยา สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของ ข้าพเจ้า เพื่อเป็นการยืนยันถึงขั้นตอนโครงการวิจัยทางคลินิก โดยไม่ล่วงละเมิดเอกสิทธิ์ ในการปิดบัง ข้อมูลของการสมัครตามกรอบที่กฎหมายและกฎระเบียบได้อนุญาตไว้

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นแล้ว และมีความเข้าใจดีทุกประการ และได้ลงนามในใบ ยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

ในกรณีที่ข้าพเจ้าไม่สามารถอ่านหนังสือได้ ผู้วิจัยได้อ่านข้อความในใบยินยอมนี้ให้ข้าพเจ้า ฟังจนเข้าใจดีแล้ว ข้าพเจ้าจึงลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

(ข้าพเจ้า/บุตรของข้าพเจ้า) สามารถติดต่อผู้วิจัยได้ที่

สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ตึกบอลลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

โทรศัพท์ 0-2926-9749 โทรสาร 0-2926-9705

โดยบุคคลที่รับผิดชอบเรื่องนี้ คือ

นักศึกษา (ผู้วิจัย) : นายภูริทัต กนกกังสดาล

นักศึกษาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (แพทย์แผนไทยประยุกต์คลินิก)

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โทรศัพท์ 081-7323241, E-mail : fire_pyro99@yahoo.com

อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.นพ. ปรีชา วาณิชยเศรษฐกุล

และผู้ร่วมวิจัย ภาควิชาสูติ-นรีเวชกรรม

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-926-9672-3

E-mail : pchawa@truemail.co.th

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: ผศ.ดร.ภก. พิสิฐ เขมาวุฒม์

ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-2188343

E-mail: phisit.k@chula.ac.th

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: รศ.ดร.อรุณพร อีฐรัตน์

สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โทรศัพท์/โทรสารสำนักงาน 02-9269749/02-9269705

โทรศัพท์ 086-9645964, E-mail : iarunporn@yahoo.com

ข้าพเจ้ารับทราบว่า ข้าพเจ้าสามารถขอรับคำปรึกษา/แจ้งเรื่อง/ร้องเรียน ได้ที่สำนักงาน
 อนุกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มร.ชุดที่ 1 (คณะแพทยศาสตร์) โทรศัพท์ 02-926-9704

ลงนาม.....ผู้ยินยอม วันที่.....

(.....)

ลงนาม.....พยาน วันที่.....

(.....)

ลงนาม.....พยาน วันที่.....

(.....)

APPENDIX I

SCREENING FORM OF PHARMACOKINETICS STUDY

แบบคัดกรองอาสาสมัคร (Screening Form)

โครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของแคปซูลสารสกัดแอลกอฮอล์ยาตำรับ สหัตถารใน
อาสาสมัครสุขภาพดี (งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1)

วัน/เดือน/ปี ที่บันทึก ____/____/____

เวลา ____:____

ข้อมูลส่วนตัวอาสาสมัคร		
เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง	วัน/เดือน/ปี เกิด ____/____/____ _____	อายุ _____ ปี

ข้อมูลทั่วไปสำหรับการคัดกรองอาสาสมัคร		
น้ำหนัก ____ . ____ กิโลกรัม	ส่วนสูง ____ . ____ เซนติเมตร	BMI ____ kg/m ²
สัญญาณชีพ (vital signs)		
อุณหภูมิ: BT ____ °C	ความดันโลหิต : BP ____ / ____ mm.Hg	
ชีพจร: PR ____ bpm	อัตราการหายใจ : RR ____ bpm	
ตรวจรีเฟล็กซ์ (Reflex)		
	Rt	Lt
Biceps	_____	_____
Triceps	_____	_____
Knees	_____	_____
Ankles	_____	_____
ธาตุเจ้าเรือน		
☐ ดิน	☐ น้ำ	☐ ลม ☐ ไฟ

ข้อมูลการคัดกรองอาสาสมัคร		
เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (Inclusion criteria)	ใช่	ไม่ใช่
8. เพศชายและหญิง อายุ 20-45 ปี	☐	☐
9. อาสาสมัครหญิงไม่ตั้งครรภ์ ไม่อยู่ระหว่างให้นมบุตร มีการคุมกำเนิดที่ปลอดภัยเชื่อถือได้	☐	☐
10. ไม่มีอาการหรือโรคอื่นที่รุนแรง (จากการซักประวัติ ตรวจร่างกาย และผลทางห้องปฏิบัติการ)	☐	☐
11. ไม่เสพสารเสพติด ไม่ดื่มสุรา	☐	☐
12. ไม่รับประทานอาหารเสริมหรือวิตามินใด ๆ	☐	☐
13. ยินดีปฏิบัติตามคำแนะนำระหว่างที่ทำการศึกษา	☐	☐
14. ไม่อยู่ในระหว่างโครงการวิจัยอื่น	☐	☐
เกณฑ์การไม่รับอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการ (Exclusion criteria)		
5. มีภาวะความดันโลหิตสูง (มากกว่า 140/90 mm.Hg)	☐	☐
6. มีค่า BMI > 30 kg/m ²	☐	☐
7. มีโรคประจำตัว หรือมีประวัติเป็นโรคแผลเปื่อยเพปติก กรดไหลย้อน มีประวัติโรคหัวใจ โรคตับ โรคไต อยู่ระหว่างการรับประทานยา ดังนี้ phenytoin, propranolol, theophylline และ rifampicin	☐	☐
8. มีประวัติแพ้ยาสมุนไพรในยาตำรับสหศาสตร์	☐	☐

ข้อมูลการซักประวัติอาสาศัมคร						
ประวัติการเจ็บป่วย(อาการ)	ไม่มี	มี*	ระดับความรุนแรง			หมายเหตุ
1. เจ็บหน้าอก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
2. หายใจลำบาก เหนื่อยง่าย	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
3. ใจสั่น	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
4. คลื่นไส้	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
5. อาเจียน	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
6. อ่อนเพลีย	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
7. เวียนศีรษะ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
8. หูอื้อ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
9. ตามัว	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
10. นอนไม่หลับ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
11. ปากแห้ง คอแห้ง	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
12. เบื่ออาหาร	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
13. ท้องอืดท้องเฟ้อ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
14. ท้องเดิน ถ่ายเหลว	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
15. ท้องผูก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
16. ถ่ายเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
17. ปัสสาวะบ่อยผิดปกติ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
18. ปัสสาวะลำบาก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
19. กลั้นปัสสาวะไม่ได้	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
20. ปัสสาวะเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	

21. มีผื่นคัน	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
21 อื่น ๆ.....	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
ข้อมูลการซักประวัติอาสาศมัคร (ต่อ)						
ประวัติอดีต	โรคประจำตัว ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ _____ _____ การแพ้ยา ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ _____ _____					
ประวัติครอบครัว						
ประวัติส่วนตัว						
การรับประทานอาหาร	☐ ครบ 3 มื้อ ☐ ไม่ครบ 3 มื้อ _____ ☐ ตรงเวลา ☐ ไม่ตรงเวลา _____					
การดื่มน้ำ	☐ น้อยกว่า 8 แก้ว/วัน ☐ 8 แก้ว/วัน ☐ มากกว่า 8 แก้ว/วัน _____ แก้ว/วัน					
การพักผ่อน	_____ ชั่วโมง/วัน ☐ มีปัญหาการนอนหลับ ☐ ไม่มีปัญหาการนอนหลับ					
การขับถ่าย	☐ ขับถ่ายทุกวัน ☐ ขับถ่าย _____ วัน/ครั้ง _____ —					
อิริยาบถการทำงาน						
อารมณ์						
ประวัติสังคม	สุขบุหรื ☐ ไม่สูบ ☐ สูบ _____/วัน นาน _____ ปี ☐ เคยสูบ _____/วัน เลิกมา _____ ปี					

	สุรา ☐ ไม่ดื่ม ☐ ดื่ม _____/วัน นาน _____ ปี ☐ เคยดื่ม _____/วัน เลิกมา _____ ปี		
ประวัติประจำเดือน	☐ N/A ☐ ปกติ ☐ ไม่ปกติ LMP _____ ประจำเดือนมา _____ วัน/ครั้ง ครั้งละ _____ วัน ใช้ผ้าอนามัยวันละ _____ ผืน _____		
ประวัติอื่น ๆ			
ข้อมูลการตรวจร่างกายสำหรับการคัดกรองอาสาศัมคร			
รายละเอียดการตรวจร่างกาย	ปกติ	ไม่ปกติ*	ผลการตรวจร่างกาย
1. ลักษณะทั่วไป	☐	☐	*ระบุ.....
2. ศีรษะ	☐	☐	*ระบุ.....
3. ตา	☐	☐	*ระบุ.....
4. หู	☐	☐	*ระบุ.....
5. จมูก	☐	☐	*ระบุ.....
6. ปากและคอ	☐	☐	*ระบุ.....
7. หัวใจ - จังหวะการเต้นของหัวใจ - เสียงหัวใจ	☐ ☐	☐ ☐	*ระบุ..... *ระบุ.....
8. ปอด	☐	☐	*ระบุ.....
9. ท้อง	☐	☐	*ระบุ.....

10. แขนขา	☐	☐	*ระบุ.....
11. ระบบประสาท	☐	☐	*ระบุ.....
12. อื่น ๆ	☐	☐	*ระบุ.....
สรุปผลการตรวจร่างกาย	☐ ปกติ ☐ Exclusion แนะนำ.....		

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัคร			
รายการ	ผลการตรวจ (result)		หมายเหตุ
	ปกติ	ไม่ปกติ	
Hematology Test (CBC)			
WBC	☐	☐	☐ H ☐ L
Neutrophil	☐	☐	☐ H ☐ L
Lymphocyte	☐	☐	☐ H ☐ L
Monocyte	☐	☐	☐ H ☐ L
Eosinophil	☐	☐	☐ H ☐ L
Basophil	☐	☐	☐ H ☐ L
RBC	☐	☐	☐ H ☐ L
Hb	☐	☐	☐ H ☐ L
Hct	☐	☐	☐ H ☐ L
Blood chemistry test			
FBS Glucose	☐	☐	☐ H ☐ L
Lipid profile			
Total Cholesterol	☐	☐	☐ H ☐ L
Triglycerides	☐	☐	☐ H ☐ L

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัคร			
รายการ	ผลการตรวจ (result)		หมายเหตุ
	ปกติ	ไม่ปกติ	
HDL-cholesterol	☐	☐	☐ H ☐ L
LDL-cholesterol	☐	☐	☐ H ☐ L
Liver function test			
Total Protien	☐	☐	☐ H ☐ L
Albumin	☐	☐	☐ H ☐ L
Globulin	☐	☐	☐ H ☐ L
Total Bilirubin	☐	☐	☐ H ☐ L
Direct bilirubin	☐	☐	☐ H ☐ L
Aspartate aminotranferase : AST	☐	☐	☐ H ☐ L
Alanine aminotranferase : ALT	☐	☐	☐ H ☐ L
Alkaline Phosphatase : ALP	☐	☐	☐ H ☐ L
Renal function test			
Blood urea nitrogen (BUN)	☐	☐	☐ H ☐ L
Creatinine	☐	☐	☐ H ☐ L
Creatinine clearance	☐	☐	☐ H ☐ L
Electrolyte			
Sodium (Na)	☐	☐	☐ H ☐ L
Potassium (K)	☐	☐	☐ H ☐ L
Chloride (Cl)	☐	☐	☐ H ☐ L
Bicarbonate (HCO ₃)	☐	☐	☐ H ☐ L
MDA	☐	☐	☐ H ☐ L
Urinary analysis (U/A)			
Color	☐	☐	☐ H ☐ L
Clarity (Appearance)	☐	☐	☐ H ☐ L

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการของอาสาสมัคร			
รายการ	ผลการตรวจ (result)		หมายเหตุ
	ปกติ	ไม่ปกติ	
Sp.gr.	☐	☐	☐ H ☐ L
pH	☐	☐	☐ H ☐ L
Leukocyte	☐	☐	☐ H ☐ L
WBC	☐	☐	☐ H ☐ L
RBC	☐	☐	☐ H ☐ L
สรุปผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ	☐	☐	แนะนำ _____ —

สรุปข้อมูลรายการตรวจคัดกรองอาสาสมัคร

รายการตรวจคัดกรองอาสาสมัคร	ผ่าน	ไม่ผ่าน
1. ข้อมูลการคัดกรองอาสาสมัคร (Inclusion criteria/ Exclusion criteria)	☐	☐
2. ข้อมูลการซักประวัติอาสาสมัคร	☐	☐
3. ข้อมูลการตรวจร่างกายอาสาสมัคร	☐	☐
4. ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการอาสาสมัคร	☐	☐

ลงชื่อ.....ผู้วิจัย

วันที่ _____ / _____ / _____

APPENDIX J

CASE RECORD FORM OF PHARMACOKINETICS STUDY

แบบติดตามอาการอาสาสมัคร (Case Record Form)

โครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาแคปซูลสารสกัดตำรับสหัสธาราในอาสาสมัคร

สุภาพดี (งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1)

วัน/เดือน/ปี ที่บันทึก____/____/____

____/____/____

เวลา____:____

ข้อมูลทั่วไป		
น้ำหนัก _____ กิโลกรัม	ส่วนสูง _____ เซนติเมตร	BMI _____ kg/m ²
สัญญาณชีพ (vital signs)		
อุณหภูมิ: BT _____ °C	ความดันโลหิต : BP- _____/____ mm.Hg	
ชีพจร: PR _____ bpm	อัตราการหายใจ : RR - ____ bpm	

ข้อมูลการซักประวัติอาสาสมัคร						
ประวัติการเจ็บป่วย(อาการ)	ไม่มี	มี*	ระดับความรุนแรง			หมายเหตุ
1. เจ็บหน้าอก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
2. หายใจลำบาก เหนื่อยง่าย	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
3. ใจสั่น	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
4. คลื่นไส้	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
5. อาเจียน	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
6. อ่อนเพลีย	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	

ข้อมูลการซักประวัติอาสาศัมคร						
7. เวียนศีรษะ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
8. หูอื้อ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
9. ตามัว	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
10. นอนไม่หลับ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
11. ปากแห้ง คอแห้ง	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
12. เบื่ออาหาร	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
13. ท้องอืดท้องเฟ้อ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
14. ท้องเดิน ถ่ายเหลว	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
15. ท้องผูก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
16. ถ่ายเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
17. ปัสสาวะบ่อยผิดปกติ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
18. ปัสสาวะลำบาก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
19. กลั้นปัสสาวะไม่ได้	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
20. ปัสสาวะเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
21. มีผื่นคัน	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
21 อื่น ๆ.....	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	

ข้อมูลการตรวจร่างกายอาสาศัมคร			
รายละเอียดการตรวจร่างกาย	ปกติ	ไม่ปกติ*	ผลการตรวจร่างกาย
1. ลักษณะทั่วไป	☐	☐	*ระบุ.....
2. ศีรษะ	☐	☐	*ระบุ.....
3. ตา	☐	☐	*ระบุ.....

ข้อมูลการตรวจร่างกายอาสาสมัคร			
4. หู	☐	☐	*ระบุ.....
5. จมูก	☐	☐	*ระบุ.....
6. ปากและคอ	☐	☐	*ระบุ.....
7. หัวใจ			
- จังหวะการเต้นของหัวใจ	☐	☐	*ระบุ.....
- เสียงหัวใจ	☐	☐	*ระบุ.....
8. ปอด	☐	☐	*ระบุ.....
9. ท้อง	☐	☐	*ระบุ.....
10. แขนขา	☐	☐	*ระบุ.....
11. ระบบประสาท	☐	☐	*ระบุ.....
12. อื่น ๆ	☐	☐	*ระบุ.....
สรุปผลการตรวจร่างกาย	☐ ปกติ ☐ Exclusion แนะนำ.....		

การติดตามอาการระหว่างอยู่โรงพยาบาล

ข้อมูลติดตามอาการระหว่างอยู่โรงพยาบาล					
เวลา	BT (°C)	BP (mm.Hg)	PR (bpm)	RR (bpm)	อาการอื่น ๆ

ข้อมูลติดตามอาการระหว่างอยู่โรงพยาบาล					
เวลา	BT (°C)	BP (mm.Hg)	PR (bpm)	RR (bpm)	อาการอื่น ๆ

การติดตามอาการหลังจากออกจากโรงพยาบาล (ชั่วโมงที่ 48)

ข้อมูลทั่วไป		
น้ำหนัก _____ กิโลกรัม	ส่วนสูง _____ เซนติเมตร	BMI _____ kg/m ²
สัญญาณชีพ (vital signs)		
อุณหภูมิ: BT _____ °C	ความดันโลหิต : BP- _____/____ mm.Hg	
ชีพจร: PR _____ bpm	อัตราการหายใจ : RR - _____ bpm	

ข้อมูลการซักประวัติอาสาศมัคร				
ประวัติการเจ็บป่วย(อาการ)	ไม่มี	มี*	ระดับความรุนแรง	หมายเหตุ
1. เจ็บหน้าอก	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
2. หายใจลำบาก เหนื่อยง่าย	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
3. ใจสั่น	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
4. คลื่นไส้	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
5. อาเจียน	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
6. อ่อนเพลีย	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
7. เวียนศีรษะ	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
8. หูอื้อ	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
9. ตามัว	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
10. นอนไม่หลับ	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
11. ปากแห้ง คอแห้ง	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
12. เบื่ออาหาร	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
13. ท้องอืดท้องเฟ้อ	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
14. ท้องเดิน ถ่ายเหลว	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	
15. ท้องผูก	☐	☐	☐ น้อย ☐ ปานกลาง ☐ มาก	

ข้อมูลการซักประวัติอาสาศัมคร						
16. ถ่ายเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
17. ปัสสาวะบ่อยผิดปกติ	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
18. ปัสสาวะลำบาก	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
19. กลั้นปัสสาวะไม่ได้	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
20. ปัสสาวะเป็นเลือด	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
21. มีผื่นคัน	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	
21 อื่น ๆ.....	☐	☐	☐ น้อย	☐ ปานกลาง	☐ มาก	

ข้อมูลการตรวจร่างกายอาสาศัมคร			
รายละเอียดการตรวจร่างกาย	ปกติ	ไม่ปกติ*	ผลการตรวจร่างกาย
1. ลักษณะทั่วไป	☐	☐	*ระบุ.....
2. ศีรษะ	☐	☐	*ระบุ.....
3. ตา	☐	☐	*ระบุ.....
4. หู	☐	☐	*ระบุ.....
5. จมูก	☐	☐	*ระบุ.....
6. ปากและคอ	☐	☐	*ระบุ.....
7. หัวใจ			
- จังหวะการเต้นของหัวใจ	☐	☐	*ระบุ.....
- เสียงหัวใจ	☐	☐	*ระบุ.....
8. ปอด	☐	☐	*ระบุ.....
9. ท้อง	☐	☐	*ระบุ.....

ข้อมูลการตรวจร่างกายอาสาสมัคร			
10. แขนขา	☐	☐	*ระบุ.....
11. ระบบประสาท	☐	☐	*ระบุ.....
12. อื่น ๆ	☐	☐	*ระบุ.....
สรุปผลการตรวจร่างกาย	☐ ปกติ ☐ Exclusion แนะนำ.....		

ลงชื่อ..... แพทย์ผู้ตรวจ

ลงชื่อผู้วิจัย

วันที่____/____/____

BIOGRAPHY

Name	Mr. Puritat Kanokkangsadal
Date of Birth	April 19, 1989
Educational Attainment	2010: Bachelor of Applied Thai Traditional Medicine, Thammasat University, Thailand 2013: Master of Science in Applied Thai Traditional Medicine, Thammasat University, Thailand
Scholarship	2015-2017: Ph.D. scholarship of Thammasat University, Thailand

Publications

Rachawat P, Pinsornsak P, **Kanokkangsadal P**, Itharat A. Clinical Efficacy and Safety of Benjakul Remedy Extract for Treating Primary Osteoarthritis of Knee Compared with Diclofenac: Double Blind, Randomized Controlled Trial. Evidence-based complementary and alternative medicine ; eCAM. 2017;2017:9593580.

Triyasut V, Itharat A, Chakkavittumrong P, **Kanokkangsadal P**. Irritant reaction on skin of long pepper extract in healthy volunteers (clinical trial phase I). TMJ. 2016;16:4.

Pinsornsak P, **Kanokkangsadal P**, Itharat A. The Clinical Efficacy and Safety of the Sahastara Remedy versus Diclofenac in the Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Double-Blind, Randomized, and Controlled Trial. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2015;2015:103046.
Alternative medicine. 2010;8(2): p.71.

Kanokkangsadal P, Pinsornsak P, Makchuchit S, Itharat A. Correlation of extraction time with biological activities and stability test of crude Sahastara remedy. TMJ. 2013;13:8.

Kanokkangsadal P, Phuaklee P, Makchuchit S, Itharat A. "A study on PC3 Cytotoxic Activity and Anti-inflammatory Activity of Thai Medicinal Plants in Fermented Liquor Formula for Sexual Performance".Journal of Thai Traditional and

Presentations

- Puritat Kanokkangsadal**, Preecha Wanichasetakul, Arunporn Itharat. (2017) “The Clinical Safety of Sahastara Remedy Extract Capsules (600 mg/day) in Healthy Volunteers (Clinical Trial P.I)”. The annual conference of faculty of medicine and health science Thammasat university 2017; Diversity in Multidisciplinary Approach to Patient Self Care. Piya chart 2 building, Thammasat University, Thailand. June 7-9, 2017. (oral presentation)
- Puritat Kanokkangsadal**, Preecha Wanichasetakul, Arunporn Itharat. (2016). “The Clinical Safety of Oral Sahastara Remedy Extract, 300 milligram per day, in Thai Healthy Volunteers (Clinical Trial Phase 1)”. 20th World Congress on Clinical Nutrition. Rama garden hotel, Bangkok, Thailand. December 14-16, 2016. (Poster presentation)
- Puritat Kanokkangsadal**, Piya Pinsornsak, Arunporn Itharat. (2015.) “The clinical efficacy and safety of the Sahastara remedy VS Diclofenac in the treatment of osteoarthritis of the knee: a double blind, randomized, controlled trial”. The international conference on traditional and indigenous medicine. Challenger hall, Mueng Thong Thani, Nonthaburi, Thailand. September 1-5 2015. (Oral presentation)
- Puritat Kanokkangsadal**, Piya Pinsornsak, Arunporn Itharat. (2014). “Clinical Efficacy and Safety of Sahastara Recipe in Treating Primary Osteoarthritis of The Knee Comparison with Diclofenac. The annual conference of faculty of medicine Thammasat University 2014; Knowledge on the run for smart physician. Faculty of Medicine, Thammasat University, Thailand. July 16-18, 2014. (oral presentation)
- Puritat Kanokkangsadal**, Piya Pinsornsak, Arunporn Itharat. (2014). “Sahastara Remedy effect on blood chemistry in primary OA knee patients”. 18th World Congress on Clinical Nutrition. Sunee grand hotel & convention center, Ubonrachatani, Thailand. December 1-3, 2014. (Oral presentation)

Awards

2017: winner of oral presenter in the annual conference of faculty of medicine and health science Thammasat University 2017

2014: winner of oral presenter in the annual conference of faculty of medicine Thammasat University 2014.

2013: 2nd runner-up “Sahastara tabrem” in Thailand National Innovation to Product contest. August 16, 2013

2013: winner prize “Sahastara tabrem” in Innovation to Product contest (central, west and east zone of Thailand). July 10, 2013 organized by Thammasat University Intellectual Property Institute

2012: consolation prize of Innovative contest “Creative for Quality of Life”. November 15, 2012 organized by Thammasat University Intellectual Property Institute

Work Experiences

2011-2012: Applied Thai traditional medical doctor at Bangkwang central prison hospital