



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การศึกษาอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างน้ำทับทิมและยา
ไซโคลสเปอรินในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดี”

Pharmacokinetic interaction study between pomegranate juice
and cyclosporine in Thai healthy volunteers

โดย ดร.ภญ. ภัควดี เสริมสรรพสุข และคณะ

15 พฤศจิกายน 2555

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “การศึกษาอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างน้ำทับทิมและยา
ไซโคลสเปอรินในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดี”

Pharmacokinetic interaction study between pomegranate juice
and cyclosporine in Thai healthy volunteers

คณะผู้วิจัย	สังกัด
ดร.ภญ. ภัควดี เสริมสรรพสุข	ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์
นพ. จีระยุทธ หยกอุบล	ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
ดร. ภญ. ศิรดา มาผันดี	ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์
ภญ. วรินทร์ อันล้ำเลิศ	ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์

มหาวิทยาลัยนเรศวร

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

บทคัดย่อ	4
Abstract	5
เนื้อหางานวิจัย	
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	6
การทบทวนวรรณกรรมแนวคิด และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
วัตถุประสงค์โครงการวิจัย	8
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และขอบเขตโครงการวิจัย	8
วิธีการดำเนินการวิจัย	9
ผลการศึกษา	12
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	41
ภาคผนวกที่ 1 เอกสารรับรองจริยธรรมในมนุษย์	44
ภาคผนวกที่ 2 ผลตรวจร่างกายเพื่อคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษา	46
ภาคผนวกที่ 3 ผลตรวจประเมินความปลอดภัยของอาสาสมัครในการศึกษา	55
ภาคผนวกที่ 4 ผลตรวจร่างกายอาสาสมัครภายหลังสิ้นสุดการศึกษา	65
ภาคผนวกที่ 5 การวัดปริมาณสาร total phenolic และ flavonoids	67
ภาคผนวกที่ 6 ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ และกิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับ	71
ภาคผนวกที่ 7 รายงานการเงิน	73
ภาคผนวกที่ 8 เอกสารอ้างอิง	76

บทคัดย่อ

หลักฐานจากการศึกษาก่อนหน้านี้ในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลองล้วนบ่งชี้ว่าน้ำทับทิมมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ CYP3A อย่างเป็นนัยสำคัญ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือเพื่อประเมินผลของน้ำทับทิมต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา ไซโคลสปอริน ในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดี

รูปแบบของการศึกษาคือ open-label, สุ่ม, ให้น้ำแบบครั้งเดียว, ข้ามสลับ โดยมี washout period 2 สัปดาห์ โดยอาสาสมัครที่ผ่านการอดอาหารจะได้รับยาไซโคลสปอริน 200 มิลลิกรัม ในรูปแบบ microemulsion พร้อมกับน้ำทับทิม(ทดสอบ) หรือน้ำ(ควบคุม) ในปริมาตร 500 มิลลิลิตร ตัวอย่างเลือดของอาสาสมัครถูกเก็บเพื่อวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของยาไซโคลสปอริน ในช่วงระยะเวลา 24 ชั่วโมงภายหลังให้น้ำ ค่า 90% confidence interval ของสัดส่วนค่าเฉลี่ยของ natural log transformed AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ และ C_{max} ของยาไซโคลสปอริน ระหว่างกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม (C) มีค่า 91.6-105.6, 92.0-105.2 และ 82.3-102.5 ตามลำดับ ซึ่งผลนี้อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ของชีวสมมูลซึ่งนิยามไว้ใน European Medicines Agency guidelines สำหรับยาที่มีดัชนีในการรักษาแคบ (90-111% สำหรับ AUC และ 80-125% สำหรับ C_{max}) นอกจากนี้ไม่พบความแตกต่างของเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ระหว่างกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม

โดยสรุปการรับประทานน้ำทับทิมร่วมกับยาไซโคลสปอริน ไม่ส่งผลกระทบต่อชีวประสิทธิผลของยา ดังนั้นน้ำทับทิมจึงอาจจะปลอดภัยที่จะรับประทานร่วมกับยา

Abstract

Evidence from *in-vitro* and animal studies previously showed that pomegranate juice is a significant CYP3A inhibitor. The aim of this study was to investigate effect of pomegranate juice on the pharmacokinetics of cyclosporine in Thai healthy volunteers.

A study design was an open-label, randomized, single dose, crossover study with 2 week washout period. Each fasting subject received 200 mg of microemulsion cyclosporine with 500 ml of pomegranate juice (test) or 500 ml of water (control). Blood samples were collected for assay of cyclosporine during a 24-h period. The 90% confidence intervals for the test/control ratio using logarithmic transformed data of AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ and C_{max} were 91.6-105.6, 92.0-105.2 and 82.3-102.5, respectively. These results were within the accepted bioequivalence range as defined in the European Medicines Agency guidelines for narrow therapeutic index drugs (90-111% for AUC and 80-125% for C_{max}). There were no differences in safety profiles of the test and control groups.

In conclusion, co-administration of pomegranate juice with cyclosporine did not significantly affect bioavailability of cyclosporine. Therefore, pomegranate may be safely co-administered with cyclosporine.

เนื้อหางานวิจัย

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ยากดภูมิคุ้มกัน cyclosporine มีการใช้อย่างแพร่หลายเพื่อการปลูกถ่ายอวัยวะ แต่ยามักจะถูกจำกัดการใช้ เนื่องจากการที่มี therapeutic range ที่แคบ และมักจะมีรายงานการเกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ ที่สืบเนื่องมาจากระดับความเข้มข้นของยาในเลือดที่สูงจนเป็นพิษ (renal dysfunction, cholestasis, paresthesias) ยาถูก metabolism โดยเอนไซม์ Cytochrome (CYP) 3A ที่พบในตับและผนังลำไส้เล็ก ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวโดยยา verapamil (1, 2) และ amiodarone (3) จะมีผลเพิ่มระดับความเข้มข้นของยาในเลือดและส่งผลให้เกิดพิษต่อผู้ป่วยขึ้นได้ แต่นอกจากอันตรกิริยาระหว่างยาต่อยา ปัจจุบันพบว่าอาหารก็มีผลกระทบต่อกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาด้วยเช่นกัน ที่รู้จักกันดีคือการรับประทาน cyclosporine ร่วมกับ grapefruit เนื่องจาก grapefruit มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ใน CYP 3A ที่ผนังลำไส้เล็กและตับ ส่งผลให้ระดับยา cyclosporine สูงจนอาจเกิดพิษขึ้นได้ (4-7) สารในกลุ่ม flavonoids (naringenin, naringin) ซึ่งพบในปริมาณมากใน grapefruit และผลการทดลองในหลอดทดลองแสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง CYP 3A (8) จึงถูกคาดว่ามีส่วนสำคัญในการยับยั้ง CYP 3A

เนื่องจาก grapefruit ไม่ใช่ผลไม้ท้องถิ่นในประเทศไทย จึงมักไม่ค่อยมีผู้บริโภค จึงมักจะไม่เกิดปัญหาอันตรกิริยาดังกล่าวขึ้นในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามในประเทศไทยมีการบริโภคน้ำทับทิมกันอย่างกว้างขวาง และมีการศึกษาพบว่าน้ำทับทิมเพิ่มปริมาณการดูดซึมของสารตั้งต้นของ CYP3A ใน rat มากกว่า 50% (9) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่าน้ำทับทิมจะมีผลในการทำให้เกิดอันตรกิริยาต่อยา Cyclosporine เช่นเดียวกับ grapefruit ในมนุษย์หรือไม่

การทบทวนวรรณกรรม แนวคิด และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันทับทิม (pomegranates) หรือในชื่อวิทยาศาสตร์ *Punica granatum* ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากในการบริโภคในรูปแบบน้ำทับทิม สังเกตได้จากการมีขายในรูปผลิตภัณฑ์น้ำทับทิมสำเร็จรูปในห้างสรรพสินค้าทั่วประเทศไทย อีกทั้งตามตลาดก็มีแม่ค้าและพ่อค้าทำการคั้นน้ำทับทิมสดขาย การเพิ่มขึ้นของความนิยมเกิดเนื่องจากการโฆษณาสรรพคุณของน้ำทับทิมอย่างแพร่หลายว่ามีฤทธิ์ antioxidant และมีคุณสมบัติในการป้องกันการเป็นโรคมะเร็งหรือการกำเริบของโรคมะเร็ง และมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนคุณสมบัติของน้ำทับทิมที่สามารถลดความเสี่ยงต่อโรคหัวใจและหลอดเลือด และบรรเทาโรคมะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งเต้านม (10)

น้ำทับทิมอุดมไปด้วย polyphenolic compound 2 ชนิดคือ anthocyanins ซึ่งทำให้มีสีแดง และ hydrolysable tannins เช่น ellagic acid, punicalagin และ gallic acid โดยสารเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็น antioxidants (10, 11)

จากการเพิ่มขึ้นของความนิยมในการบริโภคน้ำทับทิม ทำให้ควรระมัดระวังในการเกิดอันตรกริยาเมื่อได้รับร่วมกับยา โดยเฉพาะยาที่มีช่วงในการรักษาแคบเช่นยา cyclosporine จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าน้ำทับทิมมีฤทธิ์ยับยั้งการ metabolism ของ CYP3A ในการศึกษาในหลอดทดลองโดยใช้ human liver microsomes และในการศึกษาใน rat พบว่าน้ำทับทิมเพิ่มชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของยาที่เป็นสารตั้งต้นของ CYP3A เช่น carbamazepine ประมาณ 50% ซึ่งเทียบเท่ากับผลของ grapefruit juice ต่อยาดังกล่าว(8)

ถึงแม้จะมีการศึกษาแสดงว่าน้ำทับทิมมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP3A แต่ยังคงไม่มีการศึกษาใดรายงานว่าสารใดในน้ำทับทิมมีฤทธิ์ดังกล่าว ในน้ำทับทิมประกอบด้วยสารประกอบมากกว่า 100 ชนิด แต่ไม่พบว่ามี furanocoumarins ซึ่งถูกกล่าวอ้างว่าเป็นสารสำคัญใน grapefruit juice ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง CYP3A และ P-glycoprotein(10)

การศึกษาอันตรกิริยาของทับทิมกับยาชนิดต่างๆ นั้นยังคงมีค่อนข้างน้อย ในการศึกษาฤทธิ์ของน้ำทับทิมใน human liver microsomes โดยพบว่าน้ำทับทิมมีความแรงเท่ากับ grapefruit juice ในการยับยั้ง carbamazepine 10,11-epoxidase activity ใน human CYP3A (8) และน้ำทับทิมมีความแรงใกล้เคียงกับ grapefruit juice ในการยับยั้ง triazolam α -hydroxylation ใน human CYP3A และพบว่าน้ำทับทิมไม่ได้มีกลไกการยับยั้งแบบ mechanism-based inhibition (11) นอกจากนี้ Hidaka และคณะ ได้ทำการศึกษาอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างน้ำทับทิมและยา carbamazepine ใน rat โดยการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคือการบริหารยากับน้ำ พบว่าน้ำทับทิมมีผลเพิ่มพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นของยากับเวลา (AUC) ของยา carbamazepine ประมาณ 1.5 เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และการศึกษาวิจัยพบว่าน้ำทับทิมมีกลไกยับยั้งการ metabolism ของ CYP3A เฉพาะในลำไส้เล็กแต่ไม่มีผลยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวในตับเนื่องจากน้ำทับทิมไม่เปลี่ยนแปลงค่าครึ่งชีวิตของยา carbamazepine (8)

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ามีเพียงหนึ่งการศึกษาที่เป็นการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างน้ำทับทิมและยาในมนุษย์ ซึ่งคือการศึกษาของ Farkas และคณะ ซึ่งทำการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างยา midazolam และ น้ำทับทิม แบบ randomized, single-dose, 5-way crossover study ในอาสาสมัครชายสุขภาพดีจำนวน 15 คน โดยมีการได้รับยาพร้อมน้ำเป็นกลุ่มควบคุม และมี positive control คือกลุ่มที่ได้รับยาพร้อม grapefruit juice จากผลการศึกษาพบว่าน้ำทับทิมไม่มีผลเพิ่ม AUC ของยา midazolam อย่างเป็นทางการสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ grapefruit juice มีผลเพิ่ม AUC ของยา midazolam อย่างเป็นทางการสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (11) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มี จำนวนอาสาสมัครที่น้อยอาจส่งผลให้การศึกษามี power ไม่เพียงพอในการวิเคราะห์ความแตกต่าง และในการศึกษาไม่ได้ระบุแหล่งที่มาของน้ำทับทิม น้ำทับทิมที่ปลูกจากคนละพื้นที่บนโลกอาจมีปริมาณสารประกอบไม่เท่ากัน และอาจส่งผลทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์มีไม่เท่าเทียมกัน นอกจากนี้ยังไม่พบว่ามี

การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างน้ำทับทิมและยา cyclosporine ในมนุษย์มาก่อน ดังนั้นในขณะนี้จึงยังคงไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนในการให้คำแนะนำแก่ผู้ป่วยที่ได้รับยา cyclosporine ว่าควรระมัดระวังในการบริโภคน้ำทับทิม หรือไม่ ดังนั้นการศึกษานี้จึงจะเป็นการศึกษาแรกที่ทำการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างยา cyclosporine กับน้ำทับทิมในมนุษย์

วัตถุประสงค์โครงการวิจัย

เพื่อประเมินผลของน้ำคั้นจากทับทิมต่ออัตราการดูดซึมของยา cyclosporine และปริมาณยา cyclosporine ที่ถูกดูดซึมในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดีที่บริโภคน้ำทับทิมคั้นร่วมกับยา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลจากงานวิจัยนี้สามารถนำไปสู่การลดโอกาสการเกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ และการเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษานี้เนื่องจากยากดภูมิคุ้มกันคัมกัน cyclosporine ใช้ในการปลูกถ่ายอวัยวะ ซึ่งส่งผลเพิ่มคุณภาพชีวิตให้แก่ผู้ป่วยที่ไ้ยาดังกล่าว และนำผลสรุปที่ได้ มาพัฒนาในการดำเนินงานวิจัยในอนาคต เกี่ยวกับอันตรกิริยาของ cyclosporine กับพืชตระกูล Citrus

ขอบเขตโครงการวิจัย

เป็นการศึกษาเชิงเภสัชจลนศาสตร์ในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดี เพื่อประเมินการเกิดอันตรกิริยา (drug interaction) ระหว่างน้ำคั้นจากทับทิม กับยา cyclosporine ในรูปแบบ microemulsion โดยใช้น้ำทับทิมชนิดที่มีการบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย

วิธีการดำเนินการวิจัย

รูปแบบการศึกษา

รูปแบบการศึกษาเป็นแบบ single-dose, open-label, randomized, 2-way crossover โดยมี washout period 2 สัปดาห์ โดยโครงร่างวิจัย และแบบฟอร์มของเอกสารแสดงความยินยอมจะถูกยื่นเพื่อพิจารณาจริยธรรมโดยคณะกรรมการจริยธรรม มหาวิทยาลัยนเรศวร ซึ่งได้รับการอนุมัติแล้ว ดังแสดงในภาคผนวกที่ 1

ผู้เข้าร่วมการศึกษา

อาสาสมัครชายไทยสุขภาพดีจำนวน 18 คน (สำหรับศึกษาอันตรกิริยา) ได้รับคัดเลือกเข้าร่วมโครงการโดยใช้เกณฑ์ดังนี้

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษา (Subject Inclusion Criteria)

- 1) เพศชาย เชื้อชาติไทย อายุระหว่าง 20-45 ปี
- 2) มีค่า Body Mass Index (BMI) 18-25 kg/m²
- 3) มีสุขภาพดี โดยผ่านการตรวจสอบประวัติการใช้ยา การตรวจร่างกาย สัญญาณชีพ และผลการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการคลินิกเป็นปกติ ได้แก่ blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine, AST/ALT, total bilirubin, alkaline phosphatase, blood glucose, complete blood count, และ urine analysis
- 4) ยินยอมเข้าร่วมการศึกษาด้วยความเต็มใจและลงนามในหนังสือแสดงความยินยอมแล้ว
- 5) ในกรณีที่ผู้ที่สูบบุหรี่ต้องมีการหยุดสูบบุหรี่อย่างน้อย 6 เดือน

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากการศึกษา (Subject Exclusion Criteria)

- 1) มีประวัติแพ้ยา cyclosporine รวมทั้งมีประวัติแพ้ส่วนประกอบอื่นๆ ในเม็ดยา
- 2) มีประวัติป่วยเป็นโรคระบบทางเดินอาหาร โรคตับ โรคไต โรคภูมิแพ้ หรือโรคอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อ bioavailability ของยา cyclosporine
- 3) มีประวัติดื่มสุราเป็นประจำ และมีการใช้สารเสพติด
- 4) มีประวัติสูบบุหรี่เป็นประจำ (มากกว่า 10 มวนต่อวัน) หรือหากมีการสูบบุหรี่ปานกลาง (น้อยกว่า 10 มวนต่อวัน) และไม่สามารถอดการสูบบุหรี่ได้ก่อนเริ่มการศึกษาได้อย่างน้อย 6 เดือนและระหว่างการศึกษา
- 5) ได้รับยาหรืออาหารที่มีผลต่อ enzyme CYP 3A4 หรือ P-glycoprotein ในร่างกาย ภายใน 14 วันก่อนเริ่มการศึกษา
- 6) เคยเข้าร่วมการทดลองการศึกษาทางคลินิกอื่นๆ ภายใน 1 เดือนก่อนเริ่มการศึกษา

เกณฑ์การถอนตัวอาสาสมัครออกจากการศึกษา (Subject Withdrawal Criteria)

- 1) ในระหว่างดำเนินการศึกษาแพทย์ผู้รับผิดชอบโครงการวิจัยพิจารณาว่าอาสาสมัครเกิดอาการแพ้ต่อยาหรือเกิดอาการอื่นไม่พึงประสงค์ที่รุนแรงเนื่องจากยา Cyclosporine หรือวิธีการวิจัย
- 2) อาสาสมัครไม่ปฏิบัติตามข้อกำหนดของการศึกษา
- 3) อาสาสมัครต้องการถอนตัวออกจากการศึกษา

ผลิตภัณฑ์: Cyclosporin และน้ำทับทิม

Cyclosporine ใช้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบ Neoral[®] capsule ขนาด 100 mg

ทับทิม น้ำคั้นเตรียมสดจากผลทับทิม (*Punica granatum*) วิธีการเตรียมน้ำทับทิม (โดยเตรียม 1 วันก่อนทำการศึกษา)

- 1) จัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์ให้ปราศจากเชื้อ เช่น นำมิด หม้อ หรือเครื่องคั้นมาทำความสะอาด แล้วต้ม หรืออบเพื่อฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้ และจัดเตรียมสถานที่ ให้สะอาดถูกหลักอนามัย เช่น ทำความสะอาดพื้นผิวโต๊ะให้สะอาด และเช็ดด้วย alcohol 70% ทันทีก่อนการเตรียม
- 2) ผู้เตรียมใส่ถุงมือปราศจากเชื้อ ใส่ผ้าปิดปาก และหมวก สำหรับเตรียมน้ำทับทิม
- 3) ทำความสะอาดผลทับทิม และนำมาแกะและคั้นโดยใช้เครื่องคั้นที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว
- 4) นำน้ำทับทิมที่ได้ มาบรรจุลงในขวด ขวดละ 500 มิลลิลิตร และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เพื่อรอกการนำไปใช้

สถานที่ทำการทดลอง

โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

การบริหารยา (Drug administration)

ในคืนก่อนวันที่จะทำการบริหารยาในแต่ละช่วง อาสาสมัครทุกคนมารายงานตัว ณ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร และงดอาหารตั้งแต่เวลา 22.00 น. หรือเป็นเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมงก่อนการบริหารยา

ในวันที่ทำการบริหารยา อาสาสมัครจะได้รับประทานผลิตภัณฑ์ยาเม็ด cyclosporine ในตำรับ microemulsion ในขนาด 200 mg (2×100mg) แบบ ครั้งเดียว ตามด้วยน้ำหรือน้ำทับทิม ในปริมาณ 500 มิลลิลิตรและอยู่ในท่านั่งอย่างน้อย 30 นาที และภายหลังได้รับยาจะต้องงดอาหารต่ออีก 4 ชั่วโมงจึงให้รับประทานอาหารที่คณะผู้วิจัยจัดเตรียมให้ อาสาสมัครทุกคนรับประทานอาหารชนิดเดียวกัน และรับประทานแล้วเสร็จภายใน 15 นาทีอาสาสมัครทุกคนจะต้องงดสูบบุหรี่ งด

เครื่องตีที่มีแอลกอฮอล์ งดชา กาแฟหรือเครื่องดื่มที่มีคาเฟอีน ก่อนการศึกษาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ และในระหว่างการศึกษาทั้ง 2 ช่วง และไม่ควรรอกำล้างกายในระหว่างการศึกษาและปฏิบัติกิจกรรม เฉพาะที่จำเป็นเท่านั้น

การเก็บตัวอย่างเลือด (Blood Sample collection) การเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่แขนของอาสาสมัครกระทำโดยพยาบาลวิชาชีพ โดยใช้วิธีสอด IV catheter และ heparin plug คาไว้ที่แขน ในแต่ละช่วงของการศึกษา มีการเก็บตัวอย่างเลือด ณ เวลาก่อนได้รับยาและหลังจากได้รับยาที่เวลา 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, และ 24 ชั่วโมง ครั้งละ 3 mL ลงในหลอดทดลองที่มี ethylenediaminetetraacetic acid และแช่ในกล่องบรรจุน้ำแข็ง ตัวอย่างเลือดถูกนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80°C เพื่อรอการวิเคราะห์ระดับยาต่อไป

การเฝ้าระวังอาสาสมัคร (Subject monitoring)

ระหว่างการศึกษทางคลินิก มีการเฝ้าระวังอาสาสมัครหลังจากได้รับยา ดังนี้

1) การตรวจวัดสัญญาณชีพ (vital signs) ได้แก่ อุณหภูมิร่างกาย ความดันเลือดในท่อน้ำ และชีพจร เมื่ออาสาสมัครรายงานตัวเข้าสู่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยนเรศวร ในคืนก่อนทำการบริหารยาแต่ละช่วง (ประมาณ 18.00 น.) ภายใน 1 ชั่วโมงก่อนได้รับยา และภายใน 30 นาที หลังจากเก็บตัวอย่างเลือดที่ทุกจุดเวลาหลังการบริหารยา

2) การประเมินทางกายภาพของอาสาสมัคร ณ เวลาที่อาสาสมัครเข้าสู่สถานที่ดำเนินการศึกษา ก่อนอาสาสมัครรับยา และเมื่อออกจากสถานที่ดำเนินการศึกษา

3) การตรวจร่างกายของอาสาสมัครโดยแพทย์ และ serum creatinine เมื่อสิ้นสุดการศึกษทางคลินิก

การติดตามอาการอันไม่พึงประสงค์

อาสาสมัครทุกคนได้รับแจ้งจากผู้วิจัยให้ทราบถึงอาการอันไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้นก่อนได้รับยา มีการสอบถามถึงอาการอันไม่พึงประสงค์ที่ทุกจุดเวลาที่มีการเจาะเลือด อาสาสมัครสามารถแจ้งเจ้าหน้าที่ได้ตลอดเวลาหากมีอาการอันไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น และมีการบันทึกอาการผิดปกติที่เกิดขึ้น รวมทั้งวิธีการแก้ไขอาการลงในแบบบันทึกอาการอันไม่พึงประสงค์

การวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของยาในเลือด

ระดับความเข้มข้นของยา cyclosporine ใน whole blood วิเคราะห์โดย chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) (ARCHITECH / system, Abbott)

ผลการศึกษา

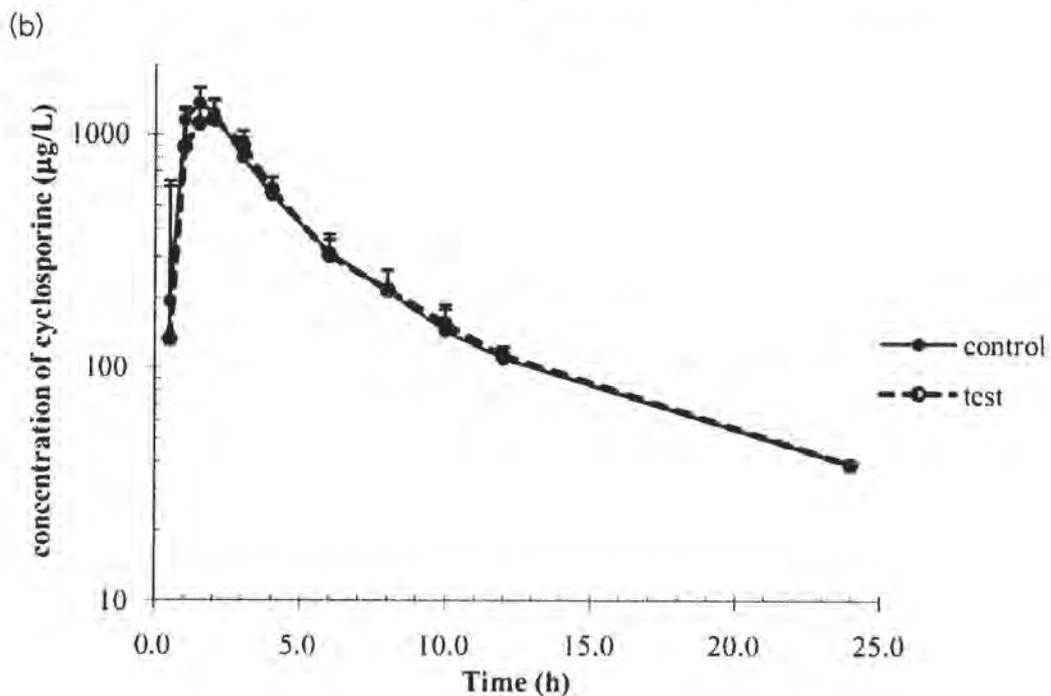
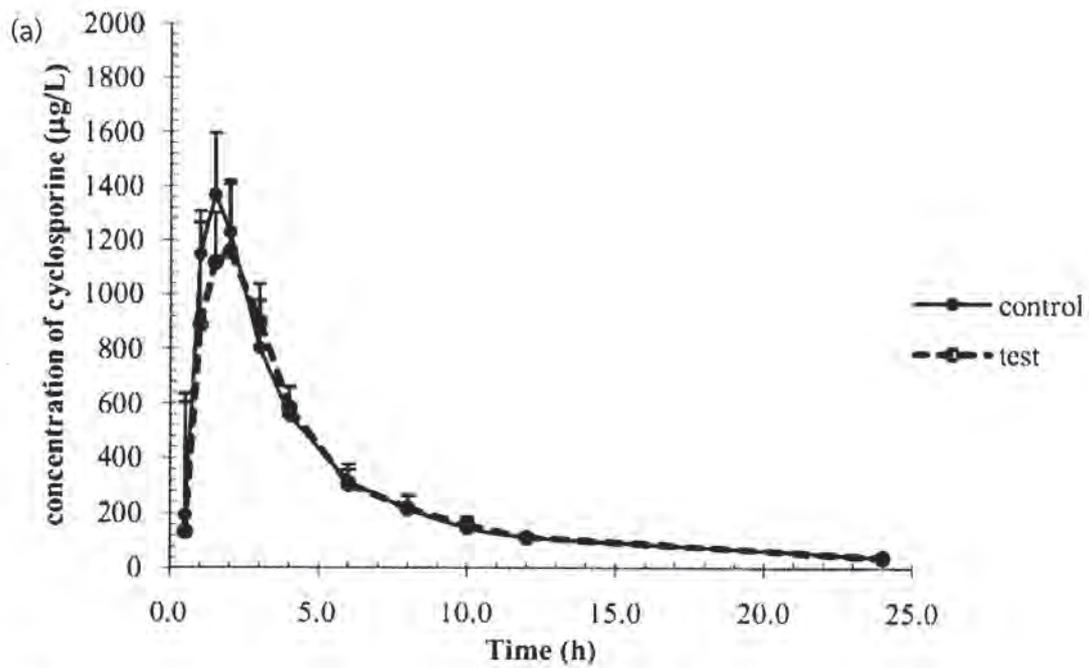
อาสาสมัครและการศึกษาทางคลินิก

อาสาสมัครจำนวน 18 คน ได้รับการตรวจร่างกาย และสัมภาษณ์เพื่อเข้าร่วมการศึกษา และทั้งหมดผ่านเกณฑ์ใน inclusion และ exclusion criteria แต่ 2 วันก่อนเริ่มการศึกษาในระยะที่ 1 มีอาสาสมัคร 1 คน เปลี่ยนใจถอนตัว และในตอนเย็นของวันก่อนเริ่มการศึกษา ในการสัมภาษณ์ถึงประวัติการใช้ยาอีกครั้งก่อนเริ่มการศึกษานั้น มีอาสาสมัคร 3 คน ที่ยอมรับว่าได้สูบบุหรี่ในช่วงเวลา ก่อนการศึกษา 2 สัปดาห์ จึงจำเป็นต้องคัดออก ดังนั้นจึงมีอาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 14 คน ผลการตรวจร่างกายเพื่อเข้าร่วมการศึกษา แสดงในภาคผนวกที่ 2 ผลการตรวจประเมินความปลอดภัยของอาสาสมัครระหว่างการศึกษา แสดงในภาคผนวกที่ 3 และผลการตรวจร่างกายภายหลังสิ้นสุดการศึกษาแสดงในภาคผนวกที่ 4

วิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของยาในเลือดที่เวลาต่างๆ และสถิติพรรณนา

ระดับความเข้มข้นในเลือดของยา cyclosporine ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน รวมทั้งค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) ค่าสูงสุด (maximum) ค่าต่ำสุด (minimum) และพิสัย (range) หลังจากอาสาสมัครได้รับยาเม็ดซึ่งประกอบด้วยตัวยาสำคัญ cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด จากการศึกษาในอาสาสมัครจำนวน 14 คน แสดงในตารางที่ 1 สำหรับกลุ่มที่รับประทานยาพร้อมน้ำ และตารางที่ 2 สำหรับกลุ่มที่รับประทานยาพร้อมน้ำทับทิมคั้น โดยรูปที่ 1 แสดงกราฟของความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย (และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือดกับเวลา หลังจากอาสาสมัครได้รับยา cyclosporine พร้อมน้ำ(control) และน้ำทับทิมคั้น(test)

รูปที่ 2-15 แสดงระดับความเข้มข้นในเลือดของ cyclosporine ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน หลังจากได้รับ cyclosporine พร้อมน้ำ(control) และน้ำทับทิมคั้น(test)



รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด(และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) กับเวลาของอาสาสมัคร (N = 14) หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับ น้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale

ตารางที่ 1 ระดับความเข้มข้นของยา cyclosporine ในพลาสมา ($\mu\text{g/L}$) ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำ (control)

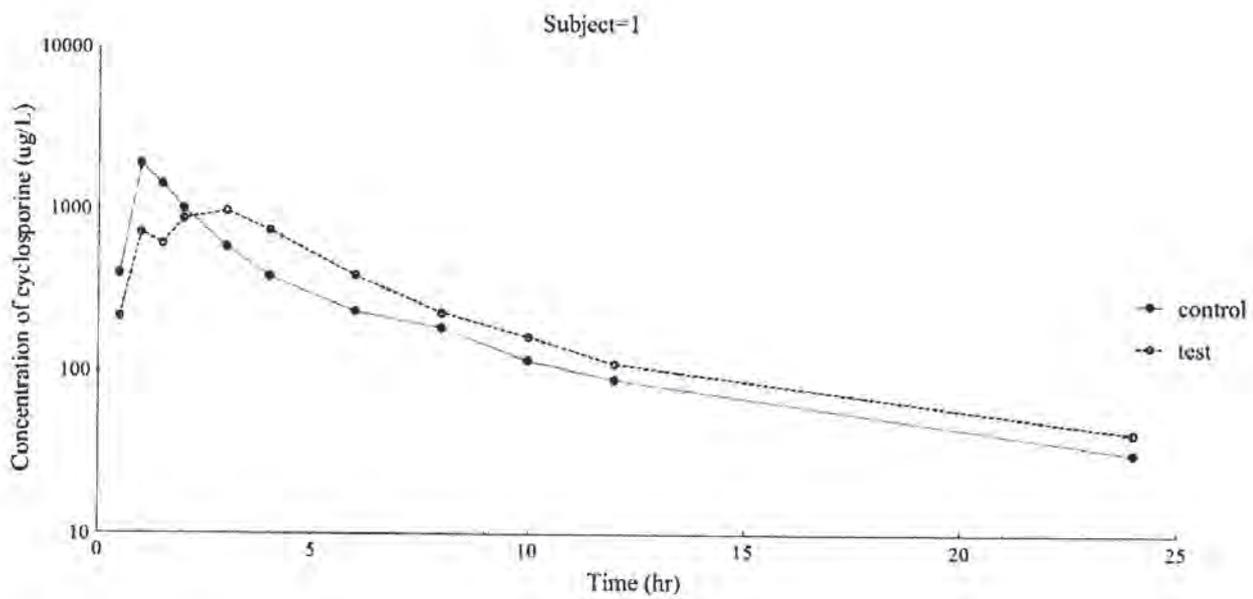
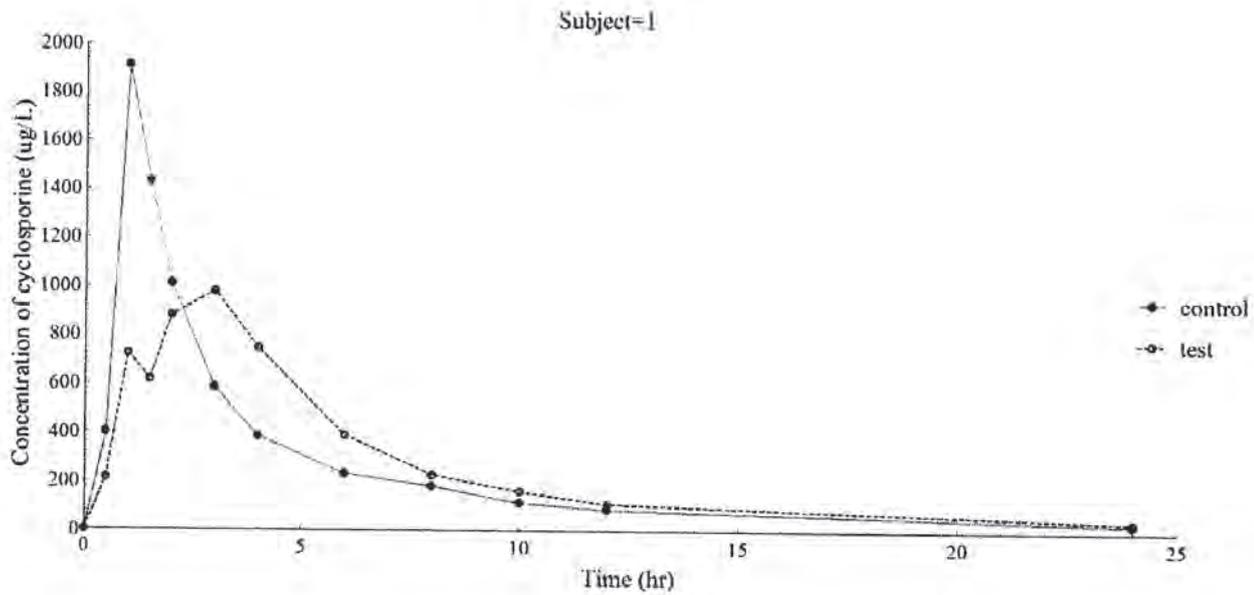
Subject	Period	Time (h)											
		0	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0	24.0
1	2	<LLOQ	401.3	1914.0	1435.2	1012.9	585.4	384.7	233.0	184.5	117.4	89.6	32.0
2	2	<LLOQ	298.5	1158.4	1334.1	1294.4	863.4	766.6	370.2	244.2	174.7	149.8	43.3
3	1	<LLOQ	<LLOQ	180.4	1134.4	1297.8	843.4	479.3	258.5	193.6	135.0	87.1	35.8
4	1	<LLOQ	187.2	1115.5	1263.7	1192.3	598.6	415.7	221.9	146.4	94.7	75.0	23.6
5	2	<LLOQ	63.8	921.8	1394.9	1222.8	1120.1	638.1	391.7	235.3	130.6	115.4	38.2
6	1	<LLOQ	549.3	1462.3	1196.5	1072.4	640.8	425.5	257.3	194.7	144.2	110.4	42.1
7	2	<LLOQ	208.6	912.2	1077.5	928.2	601.3	333.4	163.0	103.0	59.1	60.2	<LLOQ
8	1	<LLOQ	153.5	1428.5	1385.2	1159.6	830.3	609.4	365.4	277.6	222.4	174.8	66.2
9	2	<LLOQ	31.7	1177.6	1556.2	1443.7	824.6	439.1	257.6	163.6	85.7	73.5	21.9
10	1	<LLOQ	134.0	846.4	1468.4	1779.8	1103.3	745.7	441.8	301.8	214.3	155.2	51.5
11	2	<LLOQ	111.4	1037.7	1364.2	1176.3	701.4	541.7	292.3	254.5	165.6	117.1	35.7
12	1	<LLOQ	198.9	1639.2	1534.8	1350.8	989.2	820.2	521.1	301.4	190.1	142.8	45.9
13	1	<LLOQ	53.2	1015.9	1620.6	1374.8	961.6	812.3	408.3	270.5	193.7	119.3	52.1
14	2	<LLOQ	136.5	1270.1	1368.1	896.8	565.3	366.7	208.2	130.8	99.7	75.9	22.6
Mean	-	-	194.5	1148.6	1366.7	1228.8	802.1	555.6	313.6	214.4	144.8	110.4	39.3
SD	-	-	146.9	410.1	157.6	228.0	192.2	174.7	103.4	64.2	50.4	35.3	12.9
%CV	-	-	75.5	35.7	11.5	18.6	24.0	31.4	33.0	29.9	34.8	32.0	32.9
Max	-	-	549.3	1914.0	1620.6	1779.8	1120.1	820.2	521.1	301.8	222.4	174.8	66.2
Min	-	-	31.7	180.4	1077.5	896.8	565.3	333.4	163.0	103.0	59.1	60.2	21.9
N	-	-	13.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	13.0

หมายเหตุ LLOQ = ระดับความเข้มข้น 20.0 $\mu\text{g/L}$

ตารางที่ 2 ระดับความเข้มข้นของยา cyclosporine ในพลาสมา ($\mu\text{g/L}$) ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำทับทิมคั้น (test)

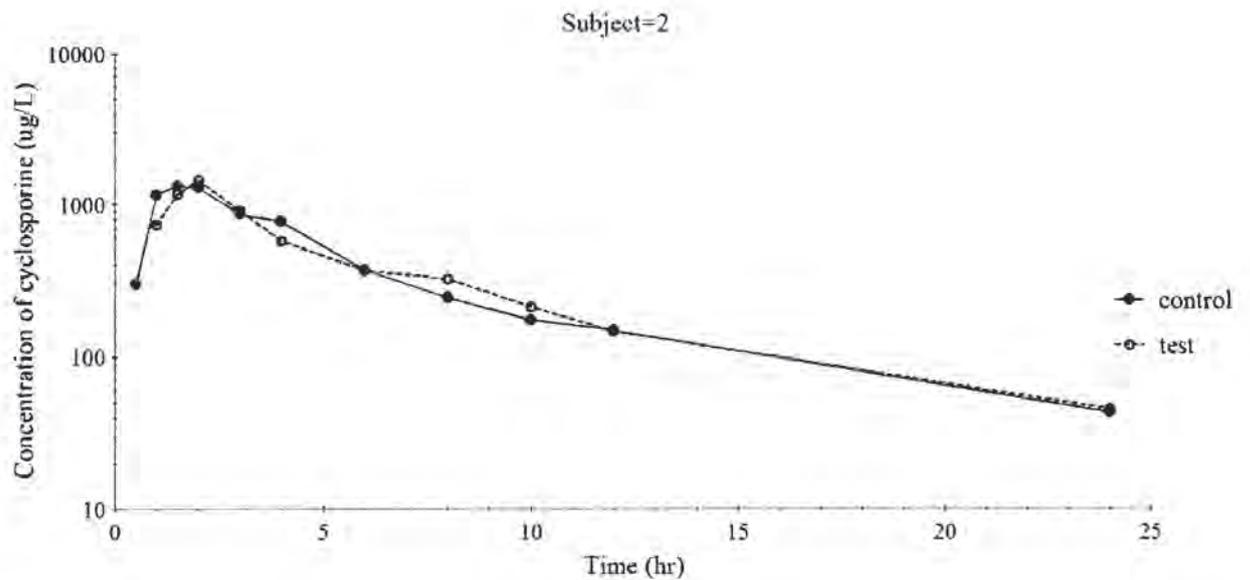
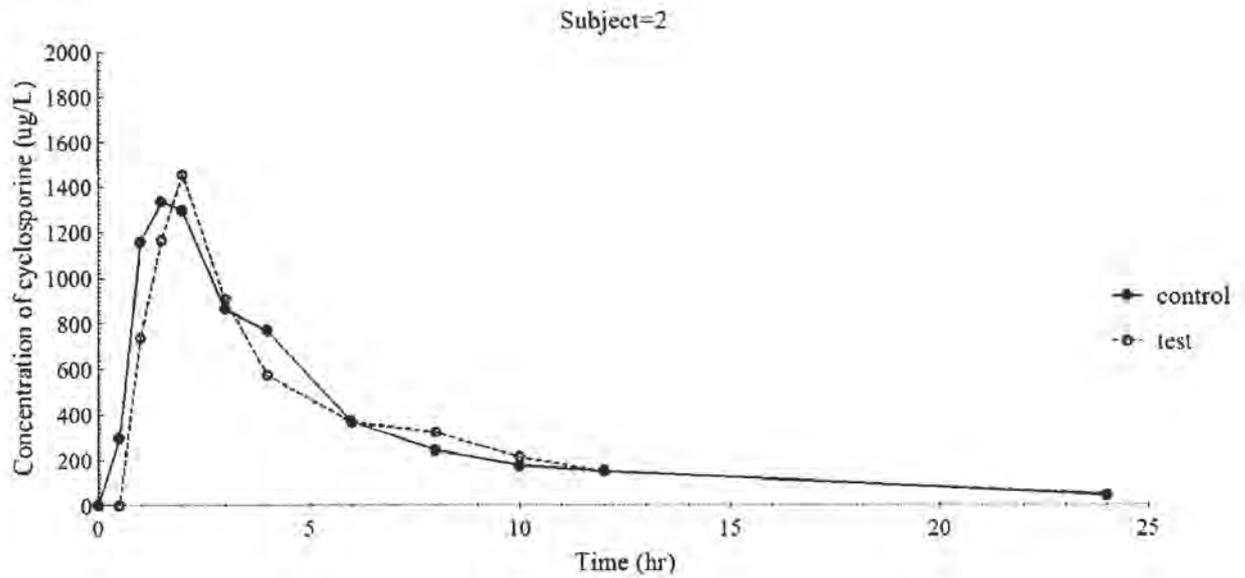
Subject	Period	Time (h)											
		0	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0	24.0
1	1	<LLOQ	216.9	725.3	617.5	882.2	982.9	749.0	390.2	230.5	164.2	112.7	42.5
2	1	<LLOQ	<LLOQ	734.0	1168.2	1455.8	906.1	575.8	367.9	322.2	213.5	147.1	45.9
3	2	<LLOQ	<LLOQ	124.3	311.5	1151.6	1295.4	737.2	360.2	239.3	167.7	127.1	34.4
4	2	<LLOQ	38.8	1309.0	1388.3	901.3	592.9	422.6	202.5	161.1	87.6	81.9	<LLOQ
5	1	<LLOQ	<LLOQ	401.4	1016.2	1081.2	991.3	694.7	282.9	218.5	156.1	93.8	35.6
6	2	<LLOQ	<LLOQ	576.3	1402.9	1199.9	723.5	561.9	275.6	207.1	147.9	97.2	31.6
7	1	<LLOQ	83.5	792.8	1207.7	1075.2	561.6	306.0	174.4	134.2	87.1	71.5	30.4
8	2	<LLOQ	130.8	823.6	1198.1	1369.5	1036.6	671.4	412.1	288.5	220.5	166.9	68.8
9	1	<LLOQ	<LLOQ	1128.3	1310.9	1225.3	661.3	459.5	230.9	153.7	95.6	64.4	<LLOQ
10	2	<LLOQ	164.2	1036.9	1051.8	1457.2	1325.9	772.2	394.2	231.8	204.3	152.0	38.0
11	1	<LLOQ	<LLOQ	98.4	657.8	1084.1	missing	531.9	221.2	182.0	123.7	100.3	26.4
12	2	<LLOQ	70.9	1794.4	1820.0	1260.4	847.3	541.4	340.8	247.0	166.5	136.6	38.0
13	2	<LLOQ	68.2	1404.1	1194.9	979.7	1069.9	664.4	366.9	258.6	219.0	147.9	47.1
14	1	<LLOQ	292.3	1471.0	1300.0	1083.0	694.5	473.2	254.2	174.7	118.1	87.6	32.6
Mean	-	-	133.2	887.1	1117.6	1157.6	899.2	582.9	305.3	217.8	155.1	113.4	39.3
SD	-	-	86.8	503.0	379.0	183.4	248.7	138.3	79.8	53.2	47.8	32.9	11.2
%CV	-	-	65.2	56.7	33.9	15.8	27.7	23.7	26.1	24.4	30.8	29.0	28.5
Max	-	-	292.3	1794.4	1820.0	1457.2	1325.9	772.2	412.1	322.2	220.5	166.9	68.8
Min	-	-	38.8	98.4	311.5	882.2	561.6	306.0	174.4	134.2	87.1	64.4	26.4
N	-	-	8.0	14.0	14.0	14.0	13.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	12.0

หมายเหตุ LLOQ = ระดับความเข้มข้น 20.0 $\mu\text{g/L}$



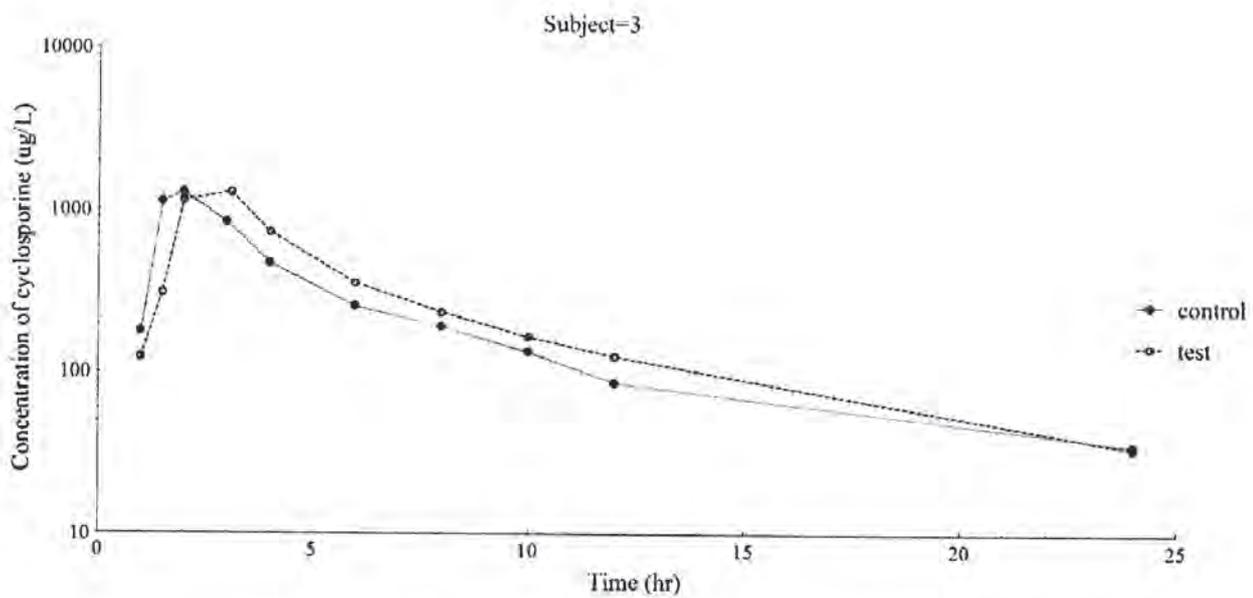
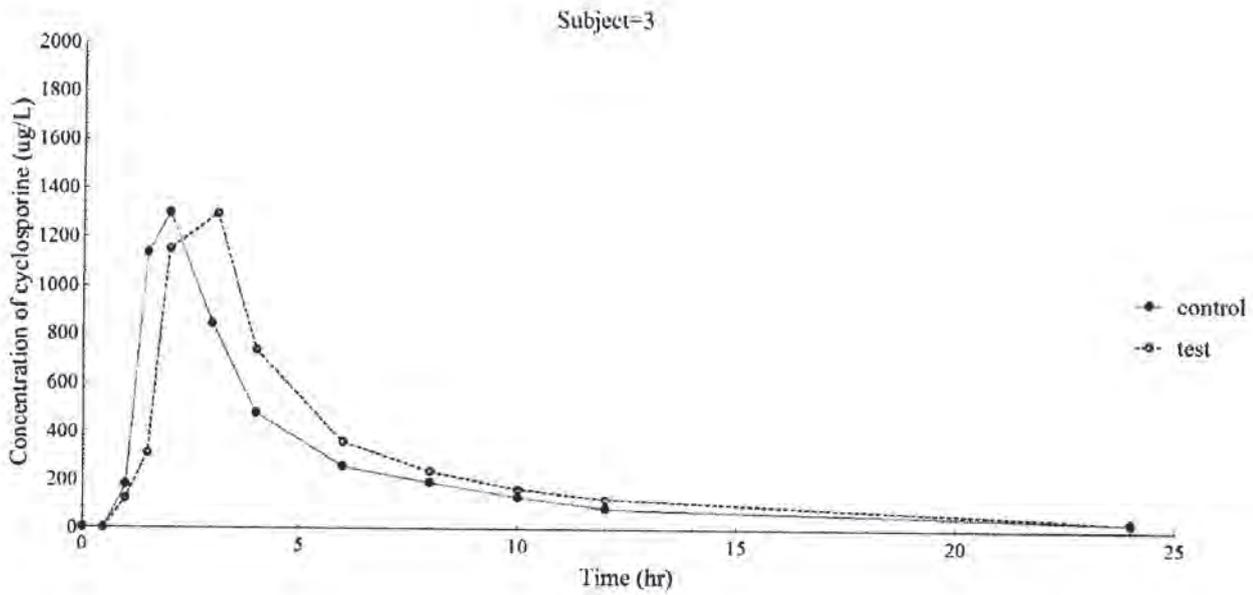
รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับ เวลาของอาสาสมัครหมายเลข 1 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



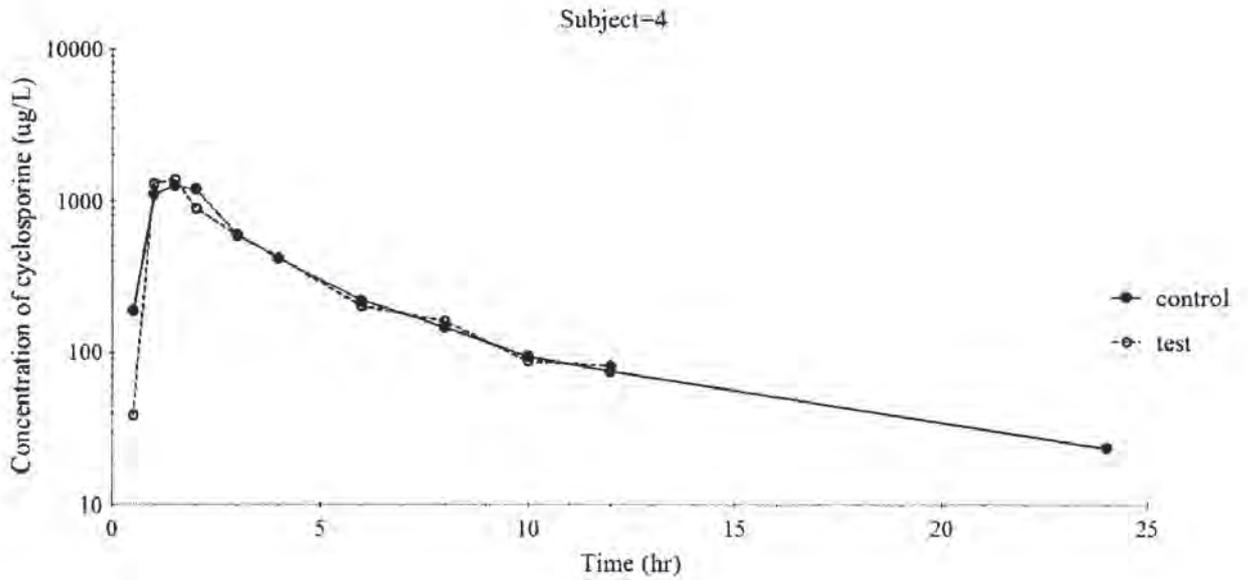
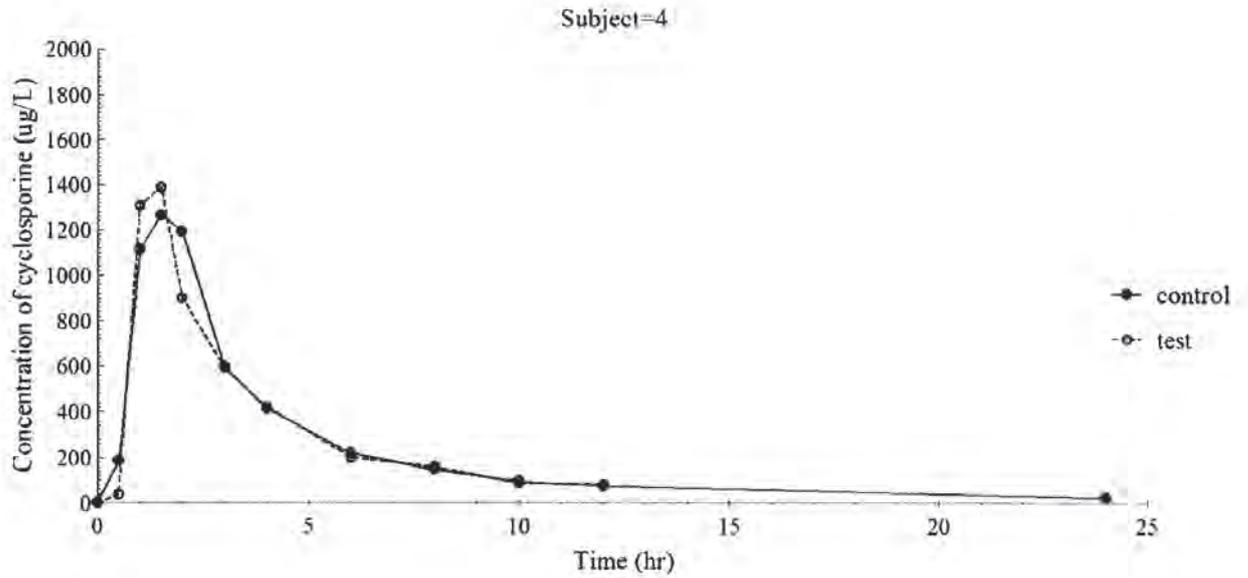
รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือดกับเวลาของอาสาสมัครหมายเลข 2 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



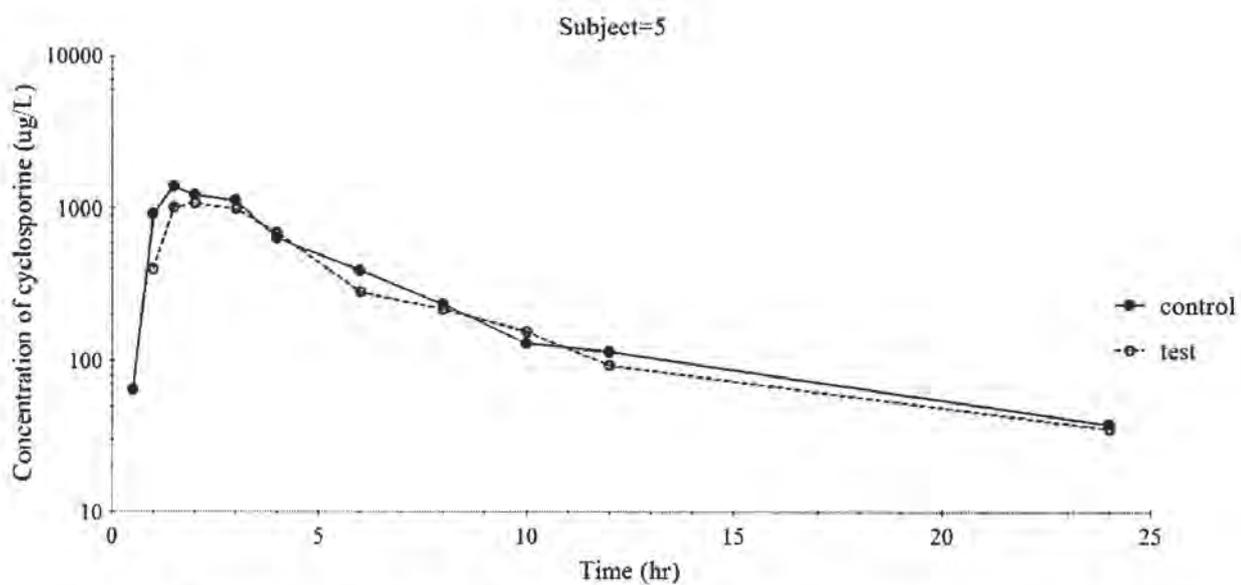
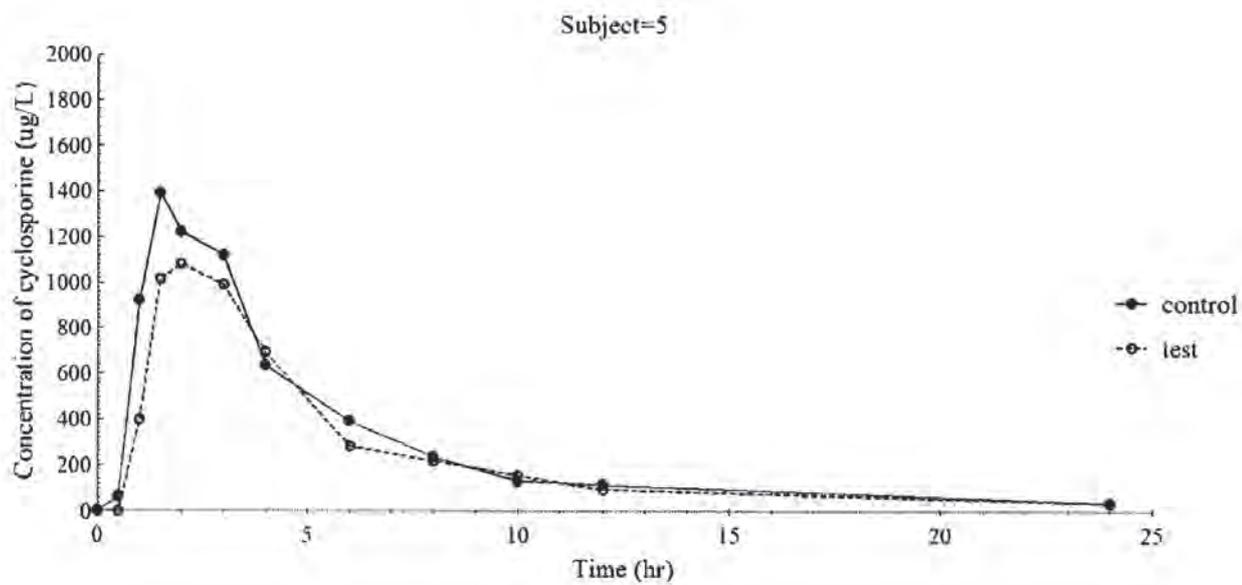
รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลาของอาสาสมัครหมายเลข 3 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



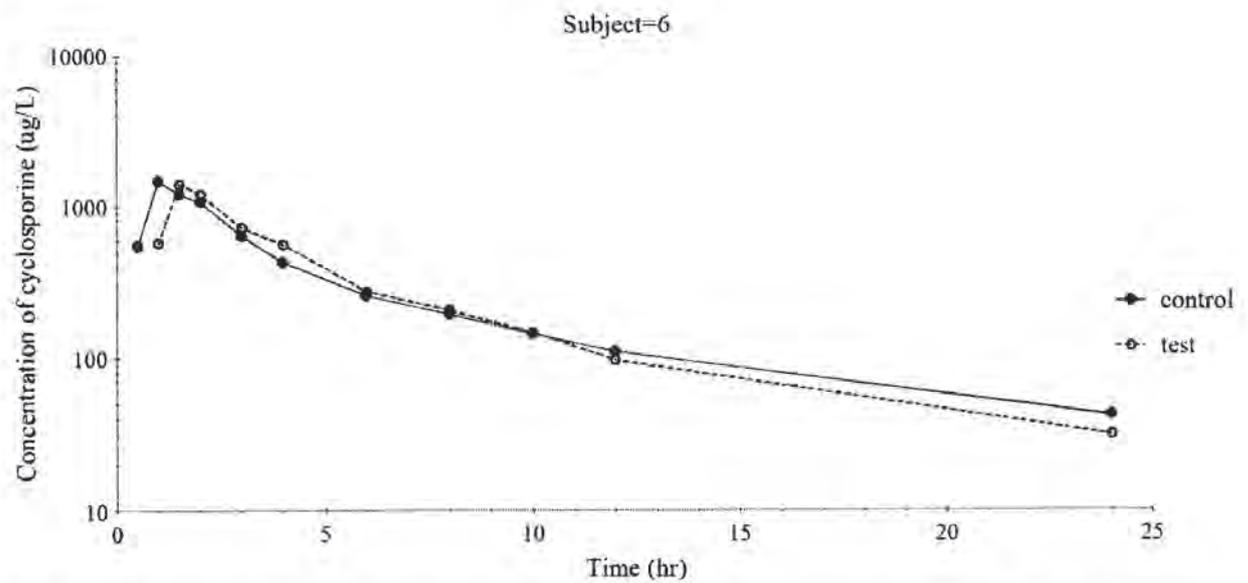
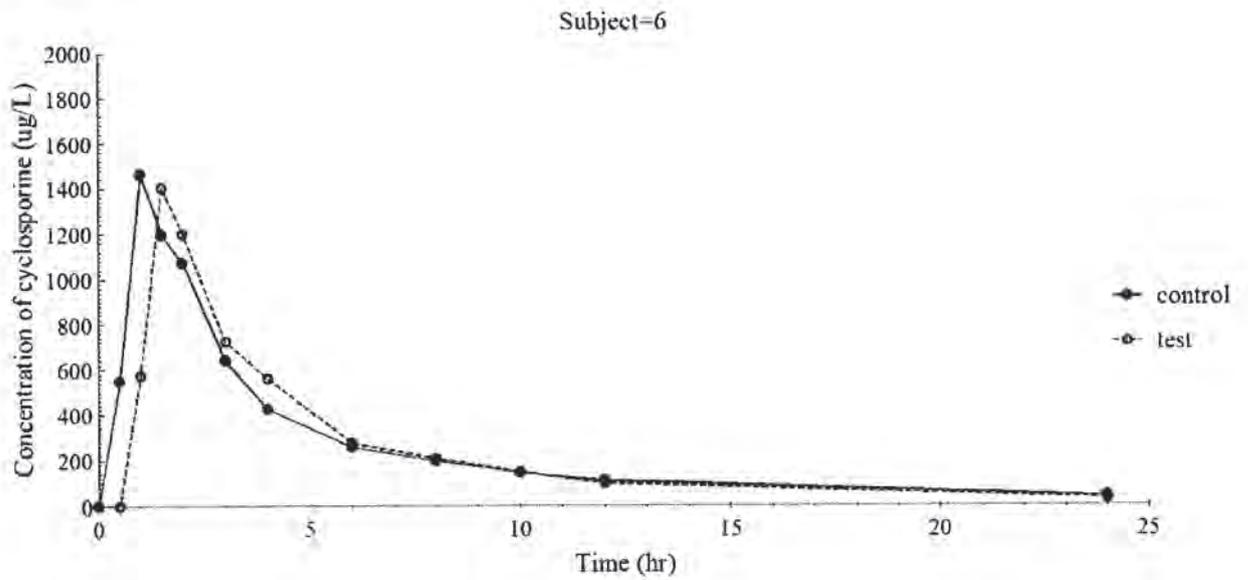
รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลาของอาสาสมัครหมายเลข 4 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



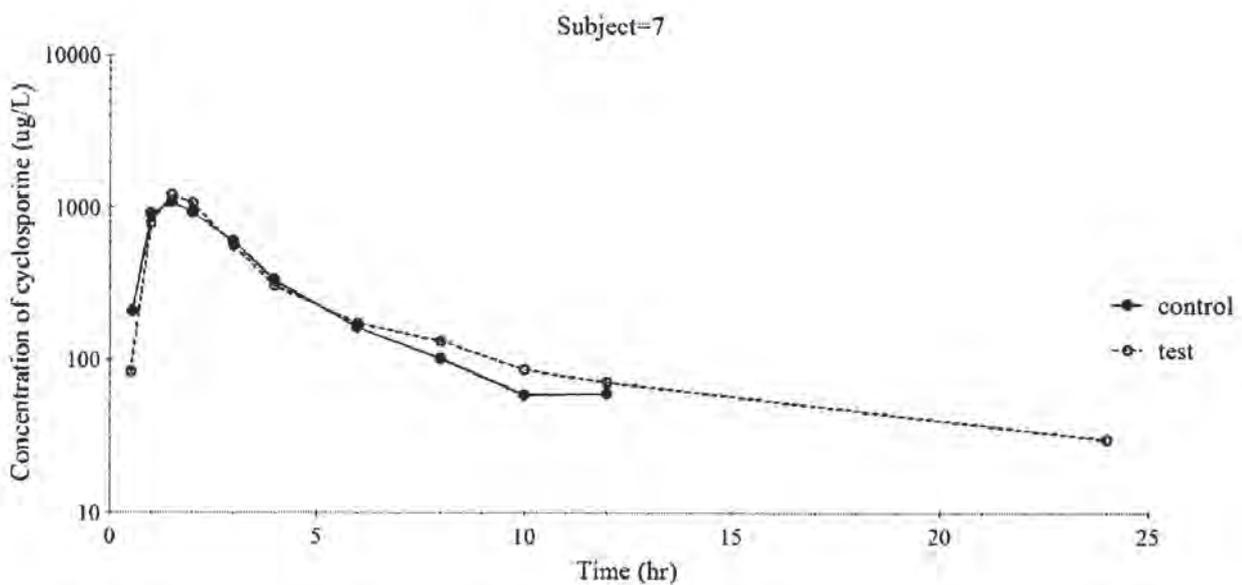
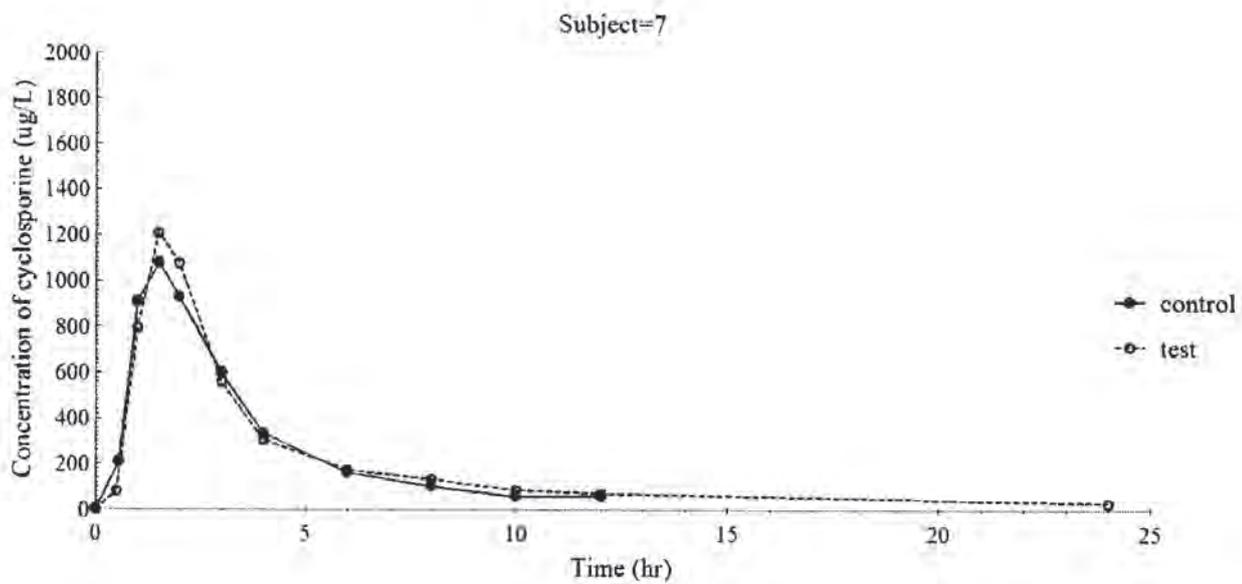
รูปที่ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลาของอาสาสมัครหมายเลข 5 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



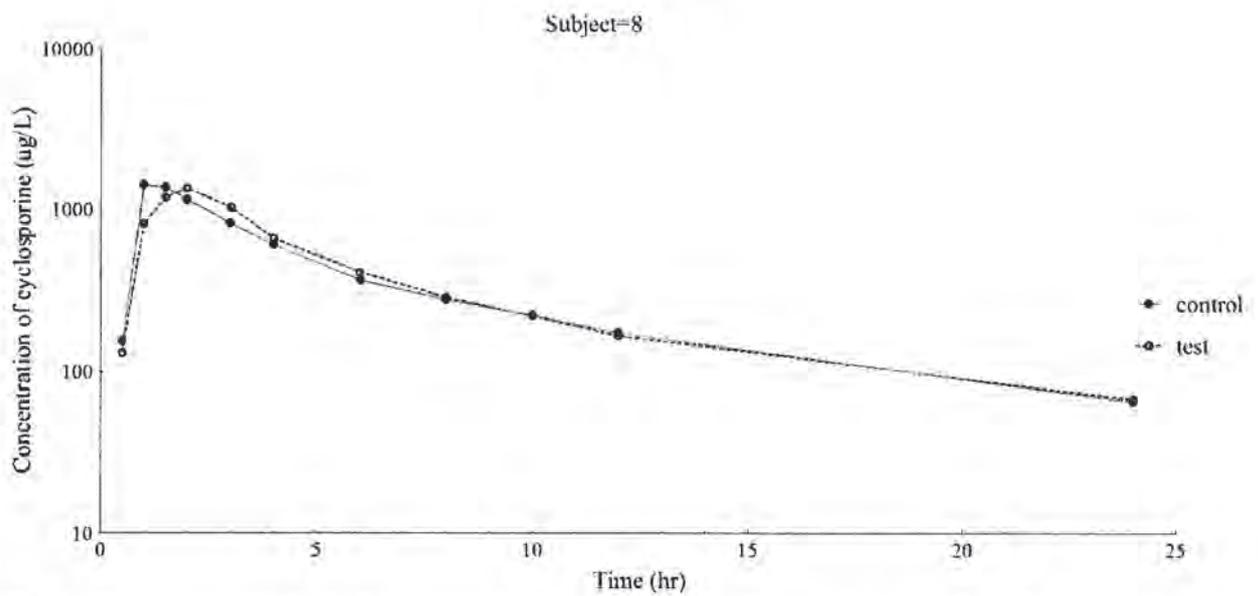
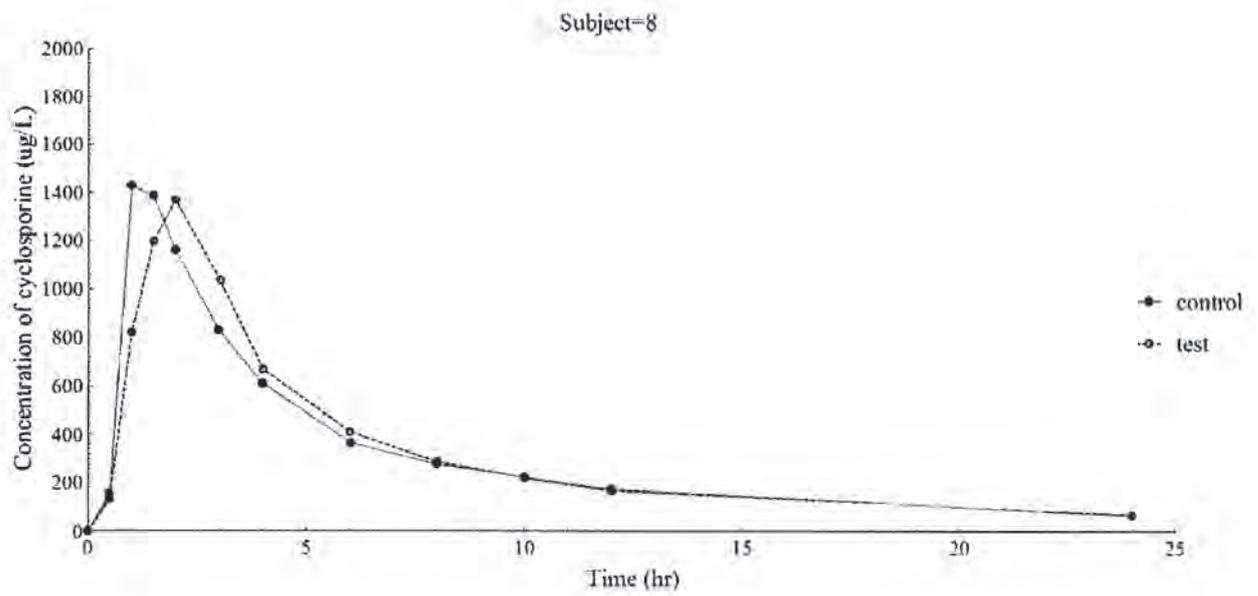
รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลาของอาสาสมัครหมายเลข 6 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



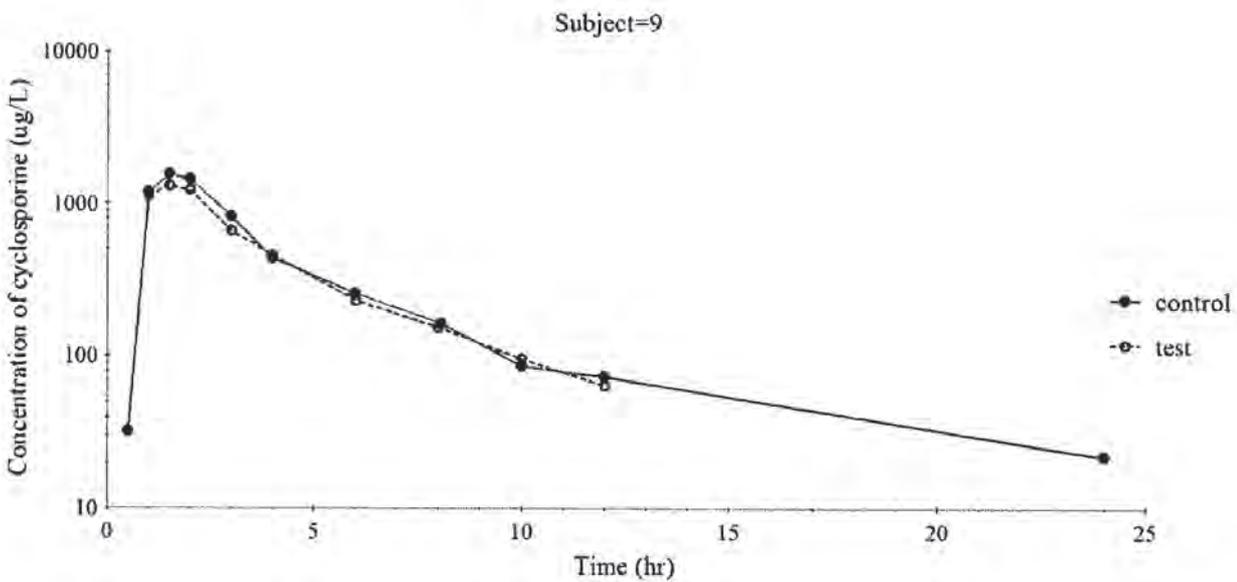
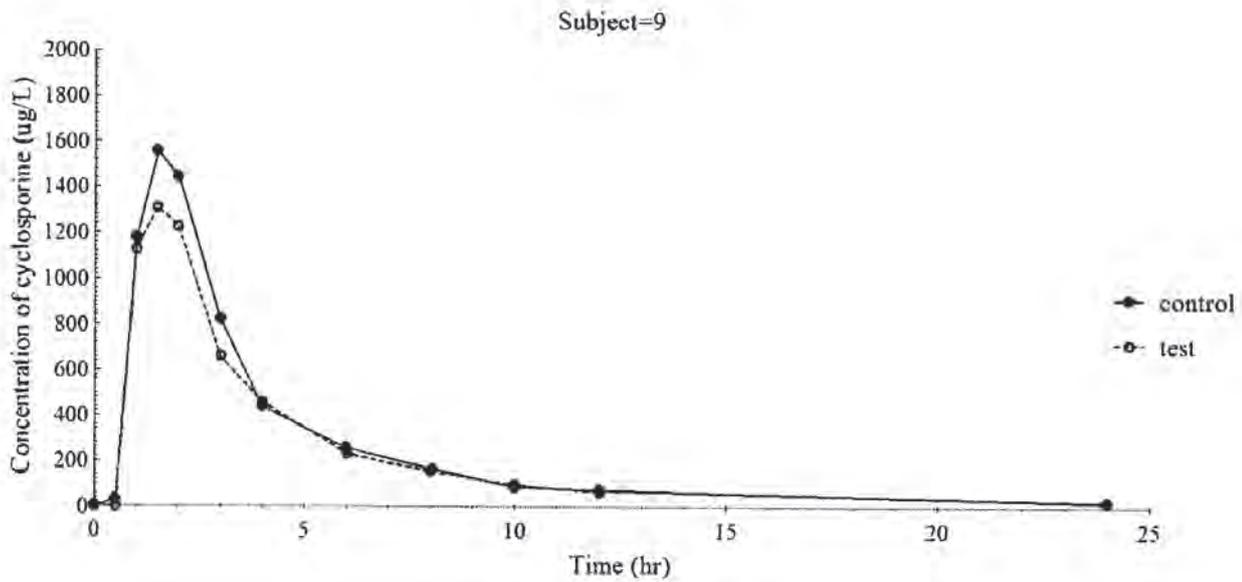
รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลาของอาสาสมัครหมายเลข 7 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



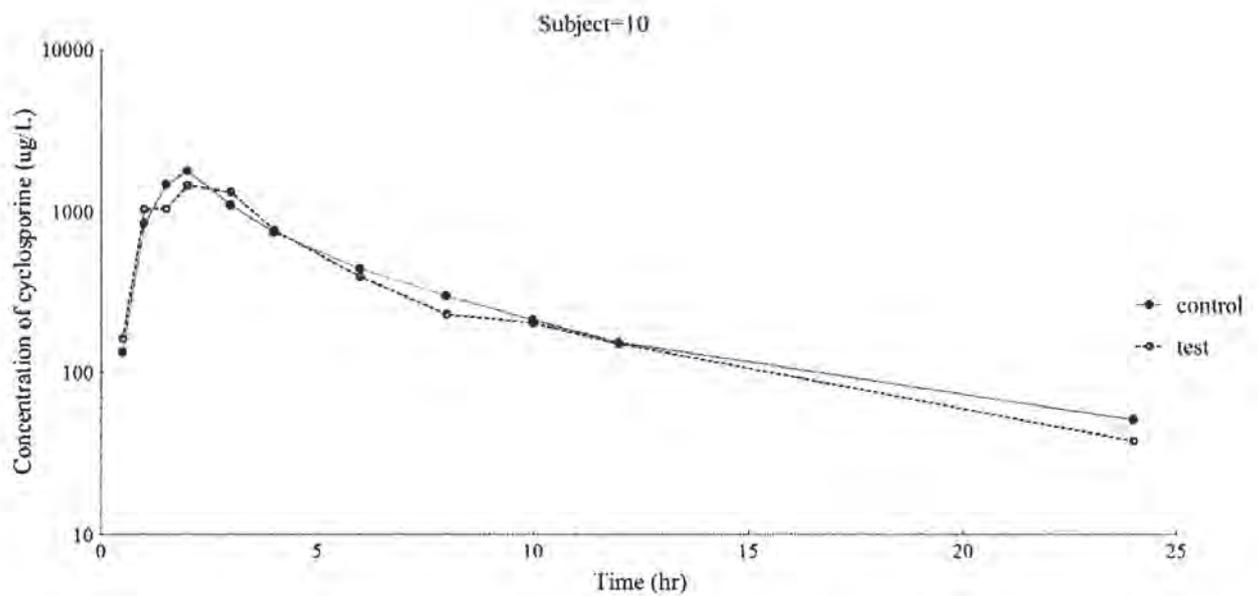
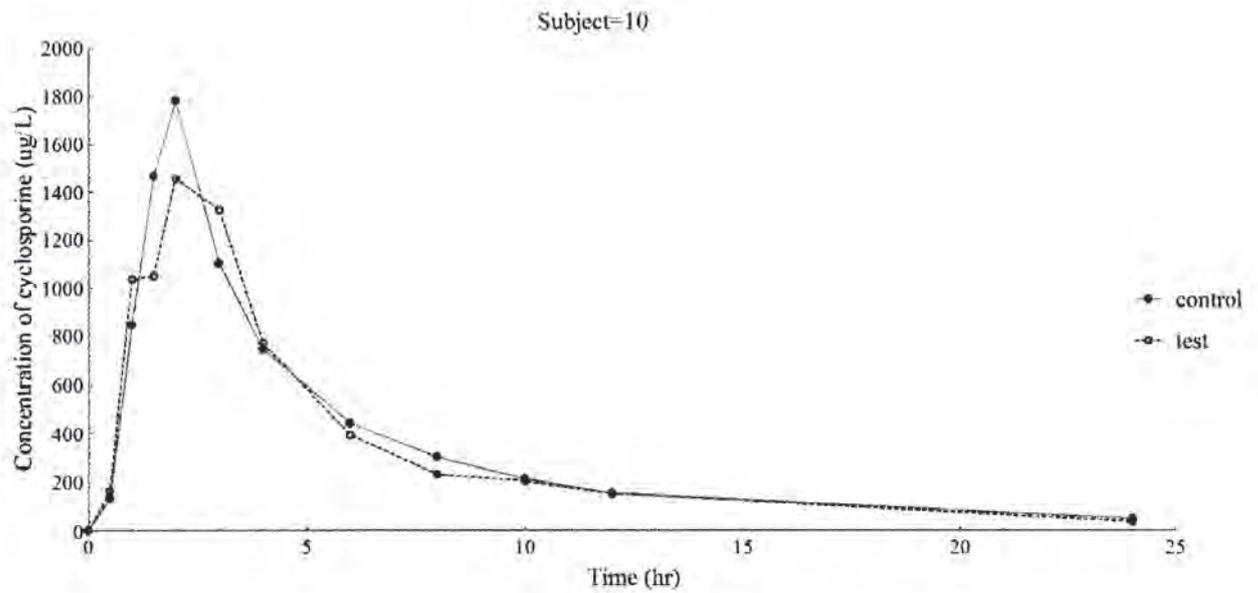
รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลาของอาสาสมัครหมายเลข 8 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



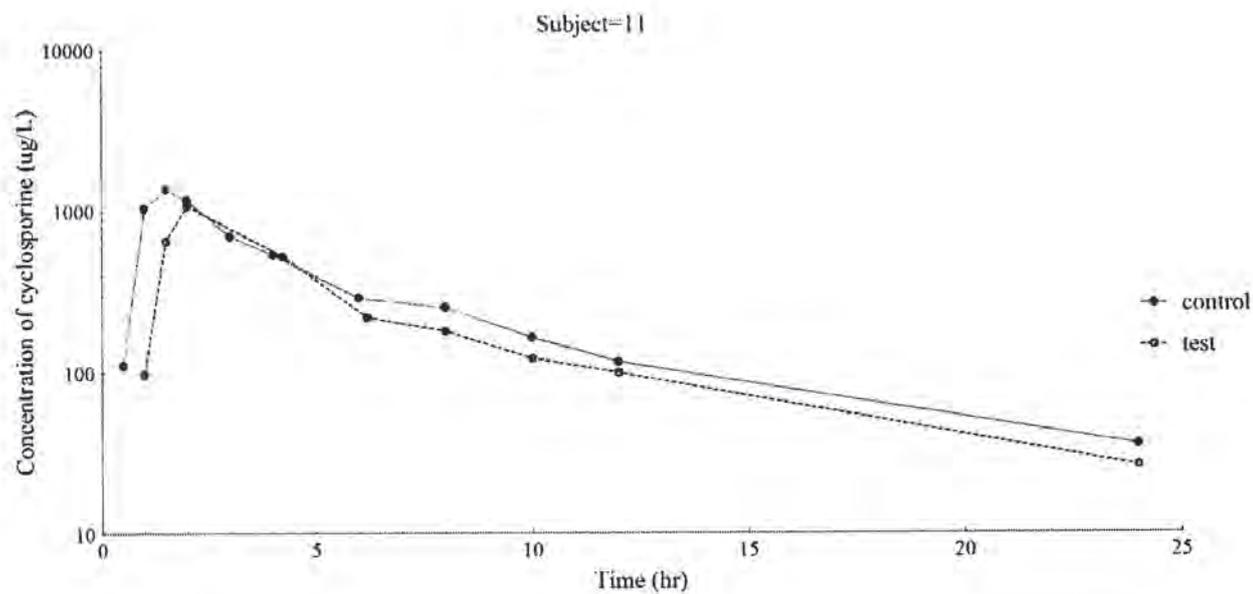
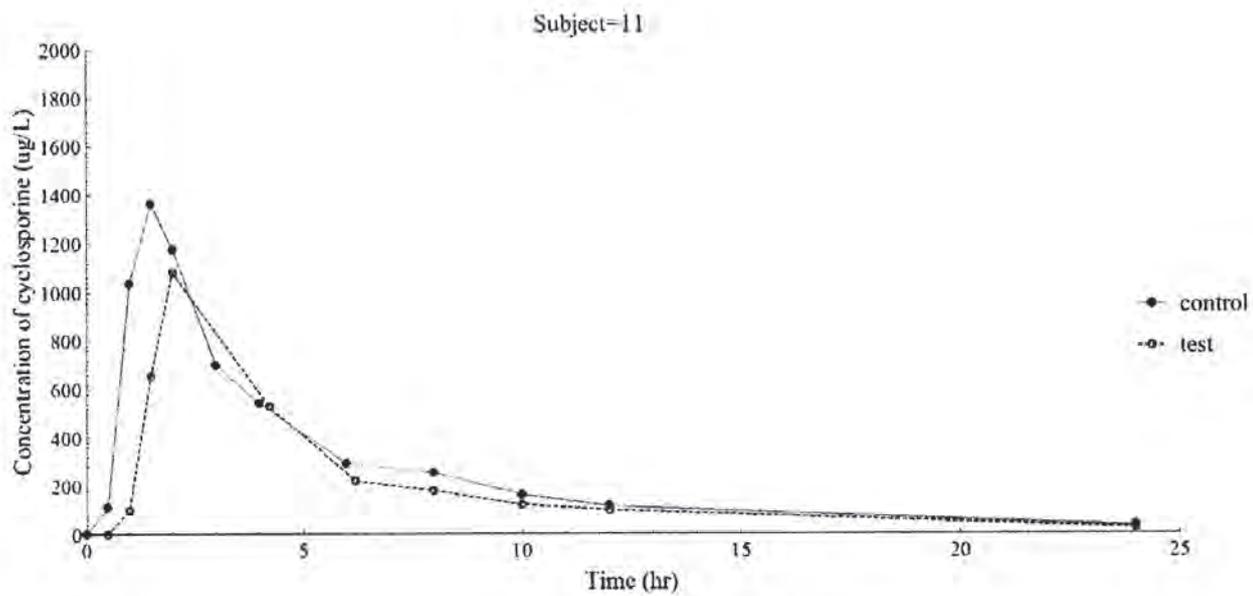
รูปที่ 10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลา ของอาสาสมัครหมายเลข 9 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบ ครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



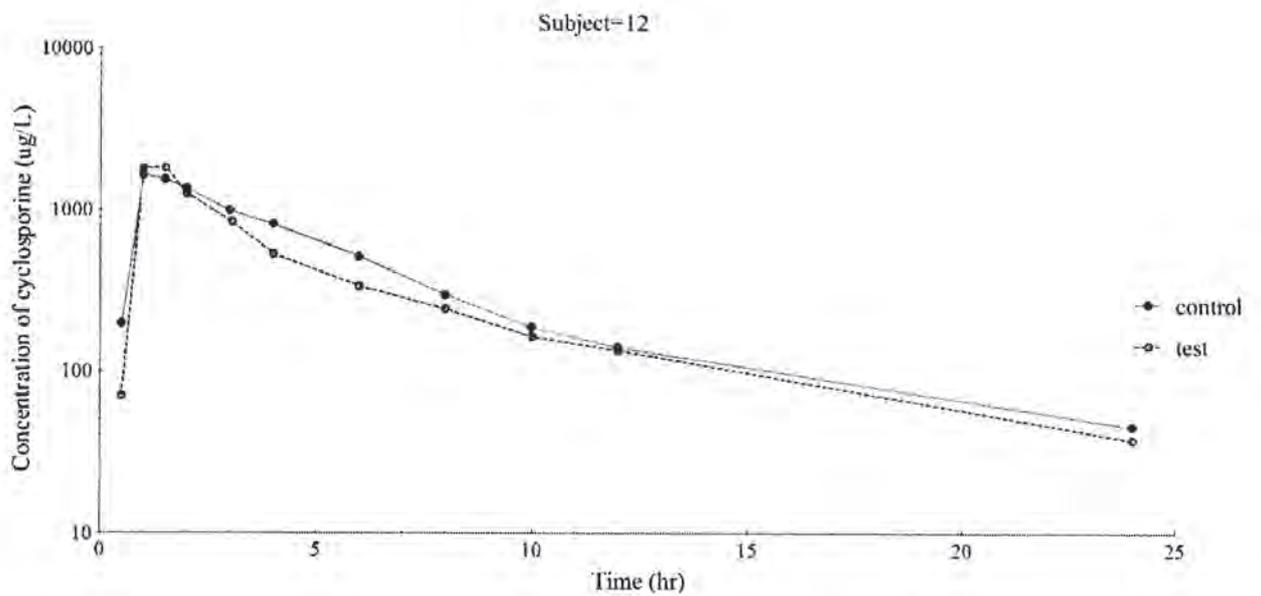
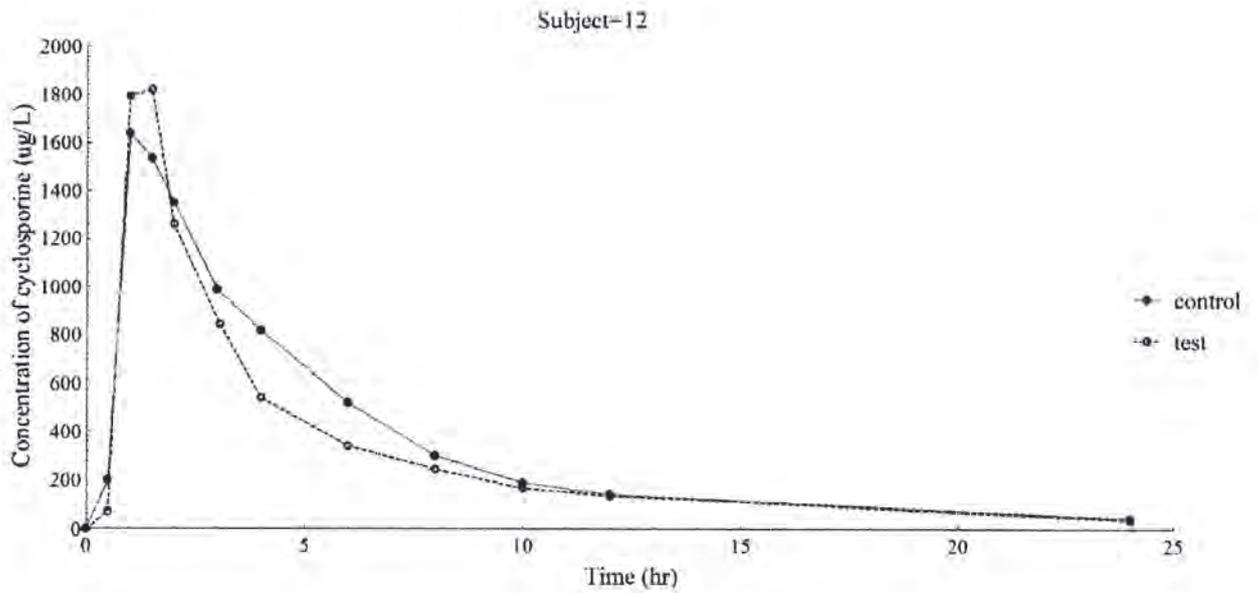
รูปที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลา ของอาสาสมัครหมายเลข 10 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบ ครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



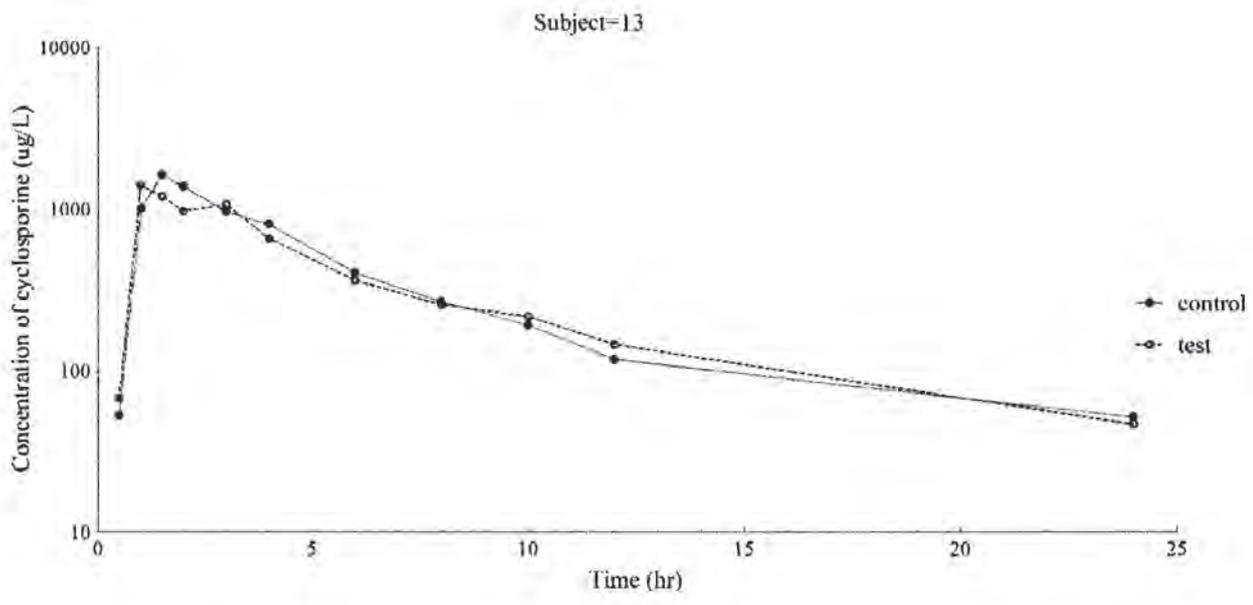
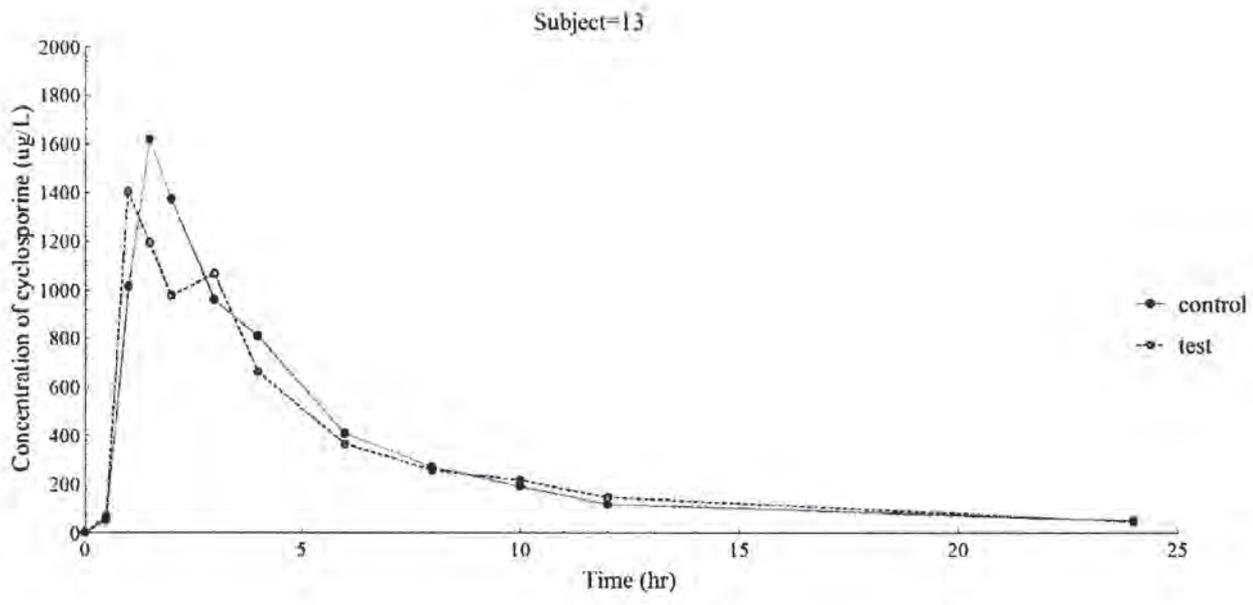
รูปที่ 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลา ของอาสาสมัครหมายเลข 11 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบ ครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



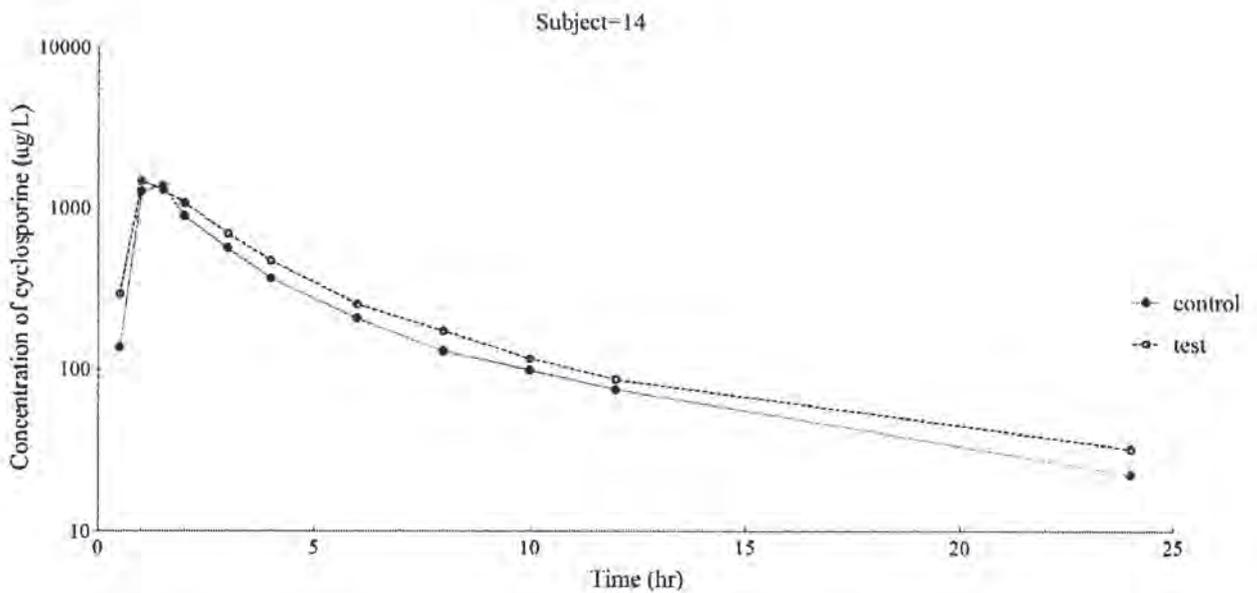
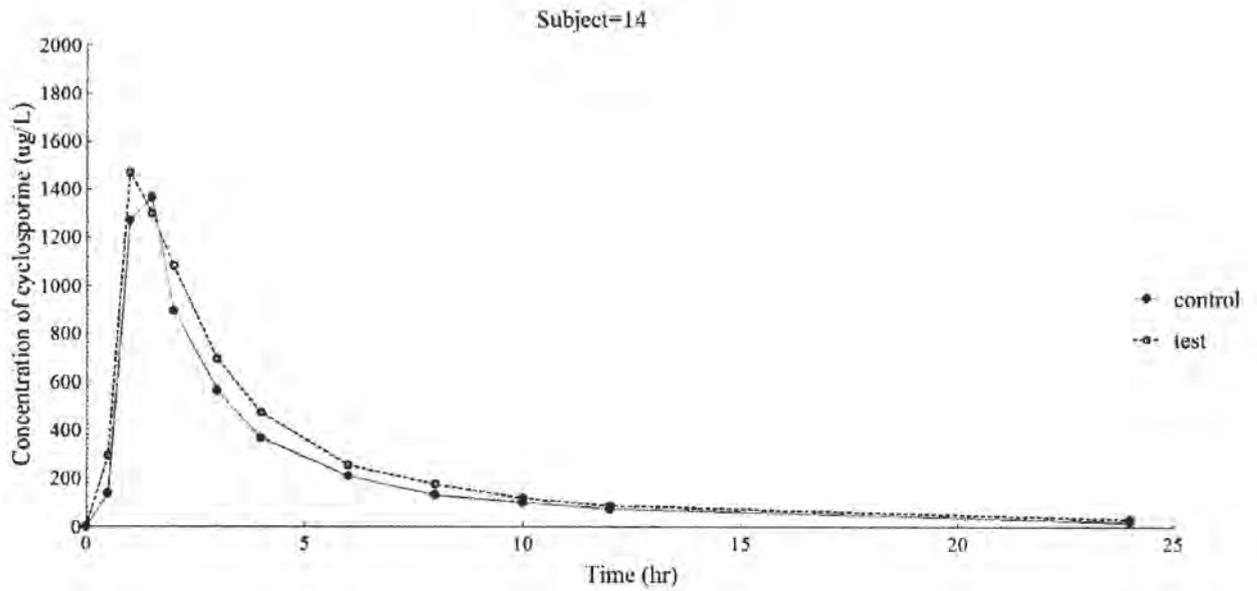
รูปที่ 13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลาของอาสาสมัครหมายเลข 12 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



รูปที่ 14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ในเลือด กับเวลา ของอาสาสมัครหมายเลข 13 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบ ครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale



รูปที่ 15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของ cyclosporine ใน กับเวลาของอาสาสมัครหมายเลข 14 หลังจากได้รับยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบครั้งเดียว เมื่อรับประทานร่วมกับน้ำ (control) และน้ำทับทิมคั้น (test)

(a) linear scale และ (b) semi-log scale

ผลการวิเคราะห์เภสัชจลนศาสตร์ของอาสาสมัครแต่ละคน และสถิติเชิงบรรยาย

ค่า pharmacokinetic parameters ของยา cyclosporine ในอาสาสมัครสุขภาพดีแต่ละคน ซึ่งได้รับยาขนาด 100 mg 2 เม็ด แบบครั้งเดียว ภายหลังจากได้รับยาร่วมกับน้ำทับทิม (กลุ่มทดสอบ, T) และได้รับยาร่วมกับน้ำ (กลุ่มควบคุม, C) แสดงในตารางที่ 3 และ 4 ตามลำดับ ซึ่งแสดงค่า t_{max} , C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, %extrapolation of AUC, $t_{1/2}$ และ k_e พร้อมทั้งแสดงค่าสถิติเชิงบรรยาย โดยค่า %extrapolation of AUC ของอาสาสมัครทุกคนมีค่า $< 20\%$

ค่า t_{max} , C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, $t_{1/2}$ และ k_e (mean \pm SD) ของยา cyclosporine ในอาสาสมัครที่ได้รับยา ร่วมกับน้ำทับทิมเท่ากับ 1.83 ± 0.62 ชั่วโมง, 1337.9 ± 208.7 $\mu\text{g/L}$, 5978.4 ± 1191.6 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$, 6374.4 ± 1260.9 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$, 6.42 ± 1.45 ชั่วโมง และ 0.115 ± 0.036 ชั่วโมง⁻¹ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ค่า t_{max} , C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, $t_{1/2}$ และ k_e (mean \pm SD) ของยา cyclosporine ในอาสาสมัครที่ได้รับยา ร่วมกับน้ำเท่ากับ 1.43 ± 0.33 ชั่วโมง, 1464.4 ± 219.3 $\mu\text{g/L}$, 6215.0 ± 1369.7 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$, 6628.5 ± 1460.6 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$, 7.04 ± 0.74 ชั่วโมง และ 0.100 ± 0.012 ชั่วโมง⁻¹ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%CV) ของพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ซึ่งแสดงถึงอัตราและปริมาณยาที่ถูกดูดซึม (t_{max} , C_{max} , AUC_{0-t} , และ $AUC_{0-\infty}$) มีค่าอยู่ในช่วง 15.60-34.08% และ 14.98-23.21 % สำหรับกลุ่มทดสอบ และกลุ่มควบคุมตามลำดับ

ตารางที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบอัตราส่วนของ C_{max} และ $AUC_{0-\infty}$ ของยา cyclosporine ระหว่างกลุ่มทดสอบ(T) และกลุ่มควบคุม (C) โดยอัตราส่วนของ C_{max} ระหว่างกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม (mean \pm SD) มีค่าเท่ากับ $93.0\pm 17.3\%$ และ อัตราส่วนของ $AUC_{0-\infty}$ ระหว่างกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม (mean \pm SD) มีค่าเท่ากับ $97.6\pm 13.8\%$

ตารางที่ 3 ค่า pharmacokinetic parameters ของยา cyclosporine เมื่อรับประทานพร้อมน้ำทับทิม ในอาสาสมัครแต่ละคน

Subject No.	Pharmacokinetic parameters of cyclosporine						
	t_{max} (hr)	C_{max} ($\mu\text{g/L}$)	AUC_{0-t} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$)	%AUC extrapolation	$t_{1/2}$ (hr)	k_e (hr^{-1})
1	3.00	982.9	6161.6	6627.5	7.0	7.60	0.091
2	2.00	1455.8	6925.1	7360.7	5.9	6.58	0.105
3	3.10	1295.4	6141.8	6449.9	4.8	6.21	0.112
4	1.50	1388.3	4255.1	4747.8	10.4	4.17	0.166
5	2.00	1081.2	5742.3	6056.5	5.2	6.12	0.113
6	1.50	1402.9	5587.1	5868.1	4.8	6.16	0.112
7	1.50	1207.7	4343.3	4702.1	7.6	8.18	0.085
8	2.00	1369.5	7576.2	8436.9	10.2	8.67	0.080
9	1.50	1310.9	4516.5	4814.9	6.2	3.21	0.216
10	2.00	1457.2	7656.2	7976.7	4.0	5.85	0.119
11	2.00	1084.1	4841.2	5079.8	4.7	6.26	0.111
12	1.50	1820.0	7158.1	7516.9	4.8	6.54	0.106
13	1.00	1404.1	7141.8	7585.3	5.8	6.53	0.106
14	1.00	1471.0	5651.0	6018.9	6.1	7.82	0.089
Mean	1.83	1337.9	5978.4	6374.4	6.3	6.42	0.115
SD	0.62	208.7	1191.6	1260.9	2.0	1.45	0.036
% CV	34.08	15.60	19.93	19.78	31.5	22.64	30.97
Maximum	3.10	1820.0	7656.2	8436.9	10.4	8.67	0.216
Minimum	1.00	982.9	4255.1	4702.1	4.0	3.21	0.080

ตารางที่ 4 ค่า pharmacokinetic parameters ของยา cyclosporine เมื่อรับประทานพร้อมน้ำ ในอาสาสมัครแต่ละคน

Subject No.	Pharmacokinetic parameters of cyclosporine						
	t_{max} (hr)	C_{max} ($\mu\text{g/L}$)	AUC_{0-t} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$)	%AUC extrap olation	$t_{1/2}$ (hr)	k_e (hr^{-1})
1	1.00	1914	5686.4	6040.4	5.9	7.67	0.090
2	1.50	1334.1	7266.2	7695.1	5.6	6.87	0.101
3	2.00	1297.8	5191.8	5528.5	6.1	6.52	0.106
4	1.50	1263.7	4992.2	5232.4	4.6	7.06	0.098
5	1.50	1394.9	6736.8	7164.5	6.0	7.76	0.089
6	1.00	1462.3	5905.2	6398.8	7.7	8.13	0.085
7	1.51	1077.5	3584.2	4032.6	11.1	5.16	0.134
8	1.00	1428.5	7454.3	8209.8	9.2	7.91	0.088
9	1.50	1556.2	5614.2	5836.2	3.8	7.03	0.099
10	2.00	1779.8	8092.3	8615.8	6.1	7.05	0.098
11	1.50	1364.2	6111.5	6448.6	5.2	6.55	0.106
12	1.00	1639.2	8219.3	8682.5	5.3	7.00	0.099
13	1.50	1620.6	7435.4	7977.4	6.8	7.21	0.096
14	1.50	1368.1	4719.6	4936.4	4.4	6.65	0.104
Mean	1.43	1464.4	6215.0	6628.5	6.3	7.04	0.100
SD	0.33	219.3	1369.7	1460.6	2.0	0.74	0.012
% CV	23.21	14.98	22.04	22.03	31.2	10.51	12.03
Maximum	2.00	1914.0	8219.3	8682.5	11.1	8.13	0.134
Minimum	1.00	1077.5	3584.2	4032.6	3.8	5.16	0.085

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบอัตราส่วนของ C_{max} และ $AUC_{0-\infty}$ ของยา cyclosporine ที่ได้จากอาสาสมัครแต่ละคน เมื่อได้รับยาขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ด แบบครั้งเดียว พร้อมน้ำทับทิม (T) และพร้อมน้ำ (C)

Subject No.	C_{max} ($\mu\text{g/L}$)		%T/C of C_{max} (T/C*100)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$)		%F _{relative} (T/C*100)
	T	C		T	C	
1	982.9	1914	51.4	6627.5	6040.4	109.7
2	1455.8	1334.1	109.1	7360.7	7695.1	95.7
3	1295.4	1297.8	99.8	6449.9	5528.5	116.7
4	1388.3	1263.7	109.9	4747.8	5232.4	90.7
5	1081.2	1394.9	77.5	6056.5	7164.5	84.5
6	1402.9	1462.3	95.9	5868.1	6398.8	91.7
7	1207.7	1077.5	112.1	4702.1	4032.6	116.6
8	1369.5	1428.5	95.9	8436.9	8209.8	102.8
9	1310.9	1556.2	84.2	4814.9	5836.2	82.5
10	1457.2	1779.8	81.9	7976.7	8615.8	92.6
11	1084.1	1364.2	79.5	5079.8	6448.6	78.8
12	1820.0	1639.2	111.0	7516.9	8682.5	86.6
13	1404.1	1620.6	86.6	7585.3	7977.4	95.1
14	1471.0	1368.1	107.5	6018.9	4936.4	121.9
Mean	1337.9	1464.4	93.0	6374.4	6628.5	97.6
SD	208.7	219.3	17.3	1260.9	1460.6	13.8
% CV	15.60	14.98	18.63	19.78	22.03	14.16
Maximum	1820.0	1914.0	112.1	8436.9	8682.5	121.9
Minimum	982.9	1077.5	51.4	4702.1	4032.6	78.8

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

จากการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ ANOVA พบว่าค่า 90% confidence interval ของสัดส่วนค่าเฉลี่ยของ natural log transformed C_{max} ของยา cyclosporine ระหว่างกลุ่มทดสอบซึ่งได้รับน้ำทับทิม (T) และกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับน้ำ (C) มีค่าอยู่ในช่วง 80-125% และ 90% confidence interval ของสัดส่วนค่าเฉลี่ยของ natural log transformed AUC_{0-t} และ $AUC_{0-\infty}$ ของยา cyclosporine ระหว่างกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม มีค่าอยู่ในช่วง 90-110% ดังแสดงในตารางที่ 6-7 โดยตารางที่ 6 วิเคราะห์จากข้อมูลอาสาสมัครทั้งหมด 14 คน ส่วนตารางที่ 7 วิเคราะห์จากข้อมูลอาสาสมัครทั้งหมด 13 คน ซึ่งคัดข้อมูลของอาสาสมัครซึ่งขาดข้อมูลตัวอย่างเลือดในช่วงเวลาที่ 3 ออก เนื่องจากอาสาสมัครอาเจียน ณ เวลา 3 h หลังได้รับยา สำหรับการสรุปผลทางสถิติ นั้นจะใช้ข้อมูลอาสาสมัครทั้งหมด 13 คน เนื่องจากตาม guideline ของ US FDA(12) แนะนำให้ลบข้อมูลของอาสาสมัครที่อาเจียนออกจากการศึกษาถ้าการอาเจียนเกิดขึ้น ณ เวลา t_{max} หรือก่อนเวลา 2 เท่าของ median ของ t_{max} (ซึ่งเท่ากับเวลา $2 \times 1.5 \text{ h} = 3 \text{ h}$) อาสาสมัครคนที่ 11 อาเจียน ณ เวลา 3 h หลังได้รับยา ซึ่งจัดเป็นเวลา 2 เท่าของ t_{max} พอดี ดังนั้นผู้วิจัยจึงตัดสินใจตัดข้อมูลของอาสาสมัครคนที่ 11 ออกจากการวิเคราะห์ทางสถิติ จึงมีข้อมูลทั้งหมด 13 คน แต่อย่างไรก็ตาม ดังแสดงในตารางที่ 6 และ 7 พบว่าผลการวิเคราะห์ทางสถิติเมื่อ $n = 13$ มีค่าสอดคล้องกับการวิเคราะห์เมื่อ $n = 14$

นอกจากนี้พบว่า power ของการศึกษาเมื่อเปรียบเทียบ C_{max} , AUC_{0-t} และ $AUC_{0-\infty}$ มีค่ามากกว่า 97% ดังแสดงในตารางที่ 6 และ 7

ตารางที่ 8 แสดงตาราง ANOVA เพื่อประเมินผลของ sequence, period และ treatment effect พบว่า sequence effect, period effect และ treatment effect ไม่มีผลต่อค่า C_{max} , AUC_{0-t} และ $AUC_{0-\infty}$ อย่างเป็นนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} > 0.05$)

แต่จากการเปรียบเทียบค่า t_{max} ของยา cyclosporine ระหว่างกลุ่มทดสอบ และกลุ่มควบคุม โดยวิธี Wilcoxon signed ranks test พบว่ามีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทาง ($p\text{-value} < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 6 สรุปข้อมูลพารามิเตอร์ทางสถิติจากการศึกษาเปรียบเทียบชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครสุขภาพดี (N = 14) ระหว่างกลุ่มทดสอบซึ่งได้รับยาพร้อมน้ำทับทิม (T) และกลุ่มอ้างอิงซึ่งได้รับยาพร้อมน้ำ (C)

Parameters	Least Squares Means		Ratio of means	90% CI (T/C)	Power (%)
	T	C			
C_{max} ($\mu\text{g/L}$)	7.19	7.28	91.3	82.5 – 100.9	97.45
AUC_{0-t} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$)	8.68	8.71	96.7	90.0 – 103.9	99.87
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$)	8.74	8.78	96.7	90.3 – 103.6	99.91
T_{max} (hr)	1.83 ± 0.62	1.43 ± 0.33			
$T_{1/2}$ (hr)	6.42 ± 1.45	7.04 ± 0.74			

หมายเหตุ: T_{max} และ $T_{1/2}$ ที่แสดงในตารางเป็น arithmetic mean \pm SD

ตารางที่ 7 สรุปข้อมูลพารามิเตอร์ทางสถิติจากการศึกษาเปรียบเทียบชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของยาเม็ด cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม ในอาสาสมัครสุขภาพดี (N = 13) ระหว่างกลุ่มทดสอบซึ่งได้รับยาพร้อมน้ำทับทิม (T) และกลุ่มอ้างอิงซึ่งได้รับยาพร้อมน้ำ (C) โดยคัดข้อมูลของอาสาสมัครซึ่งขาดข้อมูลระดับความเข้มข้นที่เวลา 3 ชั่วโมงหลังให้ยาออก (อาสาสมัคร เบอร์ 11)

Parameters	Least Squares Means		Ratio of means	90% CI (T/C)	Power (%)
	T	C			
C_{max} ($\mu\text{g/L}$)	7.20	7.28	91.9	82.3 – 102.5	95.53
AUC_{0-t} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$)	8.68	8.70	98.4	91.6 – 105.6	99.87
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$)	8.75	8.77	98.4	92.0 – 105.2	99.91
T_{max} (hr)	1.82 ± 0.65	1.43 ± 0.33			
$T_{1/2}$ (hr)	6.43 ± 1.51	7.08 ± 0.76			

หมายเหตุ: T_{max} และ $T_{1/2}$ ที่แสดงในตารางเป็น arithmetic mean \pm SD

ตารางที่ 8 ตาราง ANOVA เปรียบเทียบ C_{max} , AUC_{0-t} และ $AUC_{0-\infty}$ (natural log transformed) ของยา cyclosporine ในอาสาสมัครสุขภาพดี (N = 14) หลังจากได้รับยา พร้อมน้ำทับทิม และยาพร้อมน้ำ

C_{max}	Source	DF	SS	MS	Computed F	P-values
	Total	27	0.665			
	Sequence	1	0.088	0.088	4.639	0.052
	Subject	12	0.227	0.019	0.845	0.613
	Period	1	0.024	0.024	1.070	0.321
	Formulation	1	0.058	0.058	2.614	0.132
	Error	12	0.268			
	AUC_{0-t}	Source	DF	SS	MS	Computed F
Total		27	1.273			
Sequence		1	0.213	0.213	2.787	0.121
Subject		12	0.917	0.076	6.793	0.001
Period		1	0.0001	0.0001	0.011	0.918
Formulation		1	0.008	0.008	0.703	0.418
Error		12	0.135			
$AUC_{0-\infty}$		Source	DF	SS	MS	Computed F
	Total	27	1.225			
	Sequence	1	0.224	0.224	3.099	0.104
	Subject	12	0.868	0.072	6.947	0.001
	Period	1	0.0002	0.0002	0.019	0.892
	Formulation	1	0.008	0.008	0.766	0.399
	Error	12	0.125			

ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบ t_{max} ของยา cyclosporine ระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาพร้อมน้ำทับทิม (T) และกลุ่มที่ได้รับยาพร้อมน้ำ (C) โดยใช้ Wilcoxon signed ranks test (N = 14)

Product		Median t_{max} (Range) (hrs)	P
Cyclosporine	น้ำทับทิม (T)	1.75 (1.00-3.10)	0.044
	น้ำ (C)	1.50 (1.00-2.00)	

ตารางที่ 10 ตาราง ANOVA เปรียบเทียบ C_{max} , AUC_{0-t} และ $AUC_{0-\infty}$ (natural log transformed) ของยา cyclosporine ในอาสาสมัครสุขภาพดี (N = 13) หลังจากได้รับยา พร้อมน้ำทับทิม และยาพร้อมน้ำ

C_{max}	Source	DF	SS	MS	Computed F	P-values
	Total	25	0.605			
	Sequence	1	0.064	0.064	3.294	0.097
	Subject	11	0.214	0.019	0.808	0.635
	Period	1	0.017	0.017	0.721	0.414
	Formulation	1	0.046	0.046	1.927	0.193
	Error	11	0.264			

AUC_{0-t}	Source	DF	SS	MS	Computed F	P-values
	Total	25	1.117			
	Sequence	1	0.195	0.195	2.336	0.155
	Subject	11	0.917	0.083	8.275	0.001
	Period	1	0.003	0.003	0.287	0.603
	Formulation	1	0.002	0.002	0.178	0.681
	Error	11	0.111			

$AUC_{0-\infty}$	Source	DF	SS	MS	Computed F	P-values
	Total	25	1.074			
	Sequence	1	0.201	0.201	2.544	0.139
	Subject	11	0.868	0.079	8.746	0.001
	Period	1	0.003	0.003	0.375	0.553
	Formulation	1	0.002	0.002	0.189	0.672
	Error	11	0.099			

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบ t_{max} ของยา cyclosporine ระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาพร้อมน้ำทับทิม (T) และกลุ่มที่ได้รับยาพร้อมน้ำ (C) โดยใช้ Wilcoxon signed ranks test (N = 13)

Product	Median t_{max} (Range) (hrs)	P
Cyclosporine	น้ำทับทิม (T)	0.068
	น้ำ (C)	

รายงานผลการศึกษาทางคลินิกในอาสาสมัคร (Clinical Study Results)

ลักษณะกลุ่มประชากรของอาสาสมัคร (Demographic characteristics of the subjects)

ในการศึกษานี้ อาสาสมัครชายไทยจำนวน 14 คนที่เข้ารับการตรวจร่างกายโดยแพทย์ และตรวจค่าต่างๆ ทางห้องปฏิบัติการ พบว่าทุกคนมีสุขภาพดีและผ่านเกณฑ์การคัดเลือกเพื่อเข้าร่วมการศึกษา (แสดงรายละเอียดไว้ในภาคผนวกที่ 2) ลักษณะพื้นฐาน (demographic characteristics) ของกลุ่มประชากรของอาสาสมัครที่เข้าร่วมการศึกษา แสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ลักษณะพื้นฐาน (demographic characteristics) ของกลุ่มอาสาสมัครที่เข้าร่วมการศึกษา

Demographic characteristics	Mean \pm SD (N = 14)
อายุ (ปี)	24 \pm 1.82
น้ำหนัก (kg)	64.3 \pm 8.4
ส่วนสูง (cm)	172.8 \pm 6.9
Body mass index (kg/m ²)	21.5 \pm 2.15

ผลการตรวจประเมินความปลอดภัยของอาสาสมัครในการศึกษา

รายละเอียดของผลการตรวจวัดสัญญาณชีพของอาสาสมัครแต่ละคน ได้แก่ ผลการตรวจวัดความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ และอุณหภูมิของร่างกาย และอาการอื่นไม่พึงประสงค์ในการศึกษาทั้งสองช่วง ณ จุดเวลาที่ 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง หลังบริหารยา ได้แสดงไว้ในตารางที่ 11 และภาคผนวกที่ 3

หลังจากได้รับยาในการศึกษาทั้งสองช่วง พบว่า อาสาสมัครทุกคนมีอัตราการเต้นของหัวใจอุณหภูมิของร่างกาย และความดันโลหิตปกติ กล่าวคือในการศึกษาช่วงที่ 1 มีอาสาสมัครที่มีความดันโลหิตเพิ่มขึ้นในระดับที่ต้องติดตาม คือสูงกว่าหรือเท่ากับ 90/140 mmHg จำนวน 4 คน ในจำนวนนี้เป็นอาสาสมัครที่ได้รับยาพร้อมน้ำทับทิมจำนวน 2 คน ซึ่งพบความดันโลหิตต่ำหลังบริหารยาที่เวลา 0.5 ชั่วโมงจำนวน 1 คน และที่เวลา 3 ชั่วโมงจำนวน 1 คน ส่วนอาสาสมัครที่ได้รับยาพร้อมน้ำพบความดันโลหิตเพิ่มขึ้นหลังบริหารยาจำนวน 2 คน โดยอาสาสมัคร 1 คน มีความดันโลหิตเพิ่มขึ้นที่ 1 และ 12 ชั่วโมง หลังได้รับยา และอาสาสมัครอีก 1 คนมีความดันโลหิตสูงตั้งแต่วิธีการก่อนให้ยา และหลังให้ยา ณ เวลา ที่ 0.5, 2 และ 12 ชั่วโมง จำนวน 1 คน ในการศึกษาในช่วงที่ 2 พบอาสาสมัครที่มีความดันโลหิตสูงกว่าหรือเท่ากับ 90/140 mmHg จำนวน 2 คน โดยอาสาสมัคร 1 คนได้รับยาพร้อมน้ำทับทิม โดยพบความดันโลหิตเพิ่มสูง ณ เวลาที่ 0.5, 1.5, 2, 6, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง หลังบริหารยา และอาสาสมัครอีก 1 คน ได้รับยาพร้อมน้ำ โดยพบความดันโลหิตเพิ่มสูง ณ เวลาที่ 1 และ 12 ชั่วโมง หลังบริหารยา (ตารางภาคผนวกที่ 3.8)

ทั้งนี้ ระหว่างการศึกษา คณะผู้วิจัยได้ติดตามสังเกตและสอบถามอาการผิดปกติที่อาจเกิดขึ้นในอาสาสมัครทุกคนที่มีความดันโลหิตสูงอย่างใกล้ชิด แต่ไม่พบอาการแสดงที่ผิดปกติใดๆ ในอาสาสมัครดังกล่าว และหลังจากเสร็จสิ้นการศึกษาในช่วงที่ 2 อาสาสมัครทุกคนได้รับการตรวจร่างกายโดยแพทย์และตรวจวัดสัญญาณชีพอีกครั้งก่อนออกจากการศึกษา ซึ่งไม่พบความผิดปกติใดๆ (ตารางที่ 4.1 ในภาคผนวกที่ 4) ยกเว้นในอาสาสมัคร 1 ราย ที่ความดันโลหิตเท่ากับ 145/71 จึงได้รับคำแนะนำจากแพทย์ในการปรับเปลี่ยนพฤติกรรม

นอกจากนี้จากการติดตามสังเกตและสอบถามอาการผิดปกติในระหว่างการศึกษาทางคลินิกในช่วง 24 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับยา พบว่าอาสาสมัครมีอาการร้อนวูบวาบ คลื่นไส้ อาเจียน หน้ามืด มึนศีรษะ ปวดศีรษะ และเป็นลม ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 12 โดยอาการอันไม่พึงประสงค์ดังกล่าว ไม่รุนแรง และหายได้เองโดยไม่ต้องการรักษาเพิ่มเติม และไม่พบอาการอันไม่พึงประสงค์ที่รุนแรง

โดยสรุป ในการศึกษาอาการอันไม่พึงประสงค์ที่พบมากที่สุดคืออาการร้อนวูบวาบ (42-50%) และความดันโลหิตสูง ณ บางช่วงเวลา (14-28%) ซึ่งอาการดังกล่าวเกิดขึ้นระหว่างเวลา 0.5 ถึง 24 ชั่วโมงหลังบริหารยา ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างกันของอาการอันไม่พึงประสงค์ระหว่างผลิตภัณฑ์ยาทดสอบและผลิตภัณฑ์ยาอ้างอิง และไม่พบอาการอันไม่พึงประสงค์ชนิดรุนแรง

ตารางที่ 12 สรุปผลการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นระหว่างการศึกษา (n=14)

	Period 1		Period 2	
	จำนวนอาสาสมัคร (ร้อยละ)		จำนวนอาสาสมัคร (ร้อยละ)	
	ทับทิม	น้ำ	ทับทิม	น้ำ
ความดันโลหิต $\geq 90/140$ mmHg	2(14)	2(14)	1(7)	1(7)
ร้อนวูบวาบ	4(29)	2(14)	2(14)	5(36)
คลื่นไส้	1(7)	1(7)	0(0)	1(7)
อาเจียน	1(7)	0(0)	0(0)	1(7)
หน้ามืด	1(7)	0(0)	0(0)	0(0)
มึนศีรษะ	1(7)	1(7)	1(7)	0(0)
ปวดศีรษะ	1(7)	1(7)	0(0)	0(0)
เป็นลม	1(7)	1(7)	0(0)	0(0)
อาการอันไม่พึงประสงค์ที่รุนแรง	-	-	-	-

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษานี้จัดเป็นการศึกษาแรกที่ทำการศึกษาผลของน้ำทับทิมคั้นสดต่อยา cyclosporine ในมนุษย์ เพื่อเปรียบเทียบ bioavailability ของยา cyclosporine ซึ่งรับประทานพร้อมน้ำทับทิมเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งรับประทานยาพร้อมน้ำ โดยศึกษาในรูปแบบ cross-over ในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดี ผลการศึกษาพบว่าค่า 90% confidence interval (90% CI) ของสัดส่วนค่าเฉลี่ยของ AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ และ C_{max} ของยา cyclosporine ระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาพร้อมน้ำทับทิม และกลุ่มที่ได้รับยาพร้อมน้ำ (n=13) มีค่า 91.6-105.6, 92.0-105.2 และ 82.3-102.5 % ตามลำดับ ซึ่งค่าดังกล่าวแสดงว่าการรับประทานยา cyclosporine พร้อมน้ำทับทิมมี bioavailability เท่าเทียมกับการรับประทานยาพร้อมน้ำ โดยพิจารณาจากเกณฑ์ bioequivalence (ชีวสมมูล) ซึ่งระบุว่ายาที่มี narrow therapeutic index ควรมีส่วนของ AUC ระหว่างกลุ่มทดสอบ และกลุ่มอ้างอิงอยู่ในช่วง 90-111% และมีสัดส่วนของ C_{max} ระหว่างกลุ่มทดสอบและกลุ่มอ้างอิงอยู่ในช่วง 80-125 % (13) จึงบ่งชี้ว่าฤทธิ์ของน้ำทับทิมคั้นสดไม่มีผลอย่างเป็นนัยสำคัญทางคลินิกในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP3A ในลำไส้เล็กและที่ตับของมนุษย์ และจากการทดสอบทางสถิติพบว่าค่า power ของการศึกษามีค่ามากกว่า 95 % ซึ่งแสดงว่าขนาดตัวอย่างของการศึกษาเพียงพอสำหรับสรุปผลชีวสมมูลได้อย่างถูกต้อง นอกจากนี้การเปรียบเทียบค่า t_{max} (n=13) พบว่ากลุ่มที่ได้รับยาพร้อมน้ำทับทิมมีค่าไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับยาพร้อมน้ำ (p-value > 0.05)

การศึกษาทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองจำนวนมากบ่งชี้ว่าน้ำทับทิมมีฤทธิ์เป็น CYP3A inhibitor เช่น การศึกษาใน human liver microsome พบว่าน้ำทับทิมมีความแรงเท่ากับ grapefruit juice ในการยับยั้งเอนไซม์ CYP3A และพบว่าน้ำทับทิมมีผลเพิ่ม AUC ของยา carbamazepine ประมาณ 1.5 เท่า ใน rat (9) ซึ่งสนับสนุนโดยผลการศึกษาของ Kumar และคณะที่พบว่าน้ำทับทิมมีผลเพิ่ม bioavailability ของยา buspirone ในกระต่าย (14) การศึกษาของ Voruganti และคณะซึ่งทำการทดลองใน rat พบว่าน้ำทับทิมมีผลเพิ่ม AUC ของ nitrendipine (15) โดยการศึกษาของทั้ง Hidaka และคณะ และของ Voruganti และคณะพบว่าน้ำทับทิมมีฤทธิ์ยับยั้ง metabolism ที่ลำไส้เล็กของเอนไซม์ CYP3A ใน rat อย่างเป็นนัยสำคัญแต่ไม่มีผลในการยับยั้ง metabolism ที่ตับ ซึ่งสังเกตได้จากค่าครึ่งชีวิตที่ไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งผลการศึกษาในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองเหล่านี้ขัดแย้งกับผลการศึกษาในมนุษย์

การศึกษาในมนุษย์ 3 การศึกษา(11, 16, 17)รวมทั้งการศึกษานี้ ไม่พบอันตรกิริยาของน้ำทับทิมต่อยาที่เป็น substrate ของ CYP3A เช่น midazolam และ simvastatin Yeo และคณะ ดำเนินการศึกษาในอาสาสมัครชาวเกาหลี โดยการให้อาสาสมัครบริโภคน้ำทับทิม 900 ml ต่อวันติดต่อกัน 3 วัน ก็ไม่พบอันตรกิริยาระหว่างน้ำทับทิมและยา simvastatin (17) Farkas และคณะทำการศึกษาในอาสาสมัคร 15 คน แบบ randomized, single-dose, crossover study ที่มี 1-week washout period โดยอาสาสมัครได้รับน้ำทับทิม 8 oz (237 ml) ในวันก่อนเริ่มการศึกษา และได้รับอีกครั้งในตอนเช้าก่อนได้รับยา 1 ชั่วโมง และพบว่าน้ำทับทิมไม่มีผลต่อ bioavailability ค่าครึ่งชีวิต ปริมาตรการกระจายตัวของยา และ clearance ของยา midazolam(11) ต่อมาการศึกษาของ Misaka และคณะ ซึ่งตีพิมพ์ในปี 2554 ซึ่งทำการศึกษาในอาสาสมัคร

ชาวญี่ปุ่นจำนวน 13 คน ซึ่งได้รับน้ำทับทิม 200 ml วันละ 2 ครั้งติดต่อกันนาน 2 สัปดาห์ ก็ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่า Cmax และ AUC ของยา midazolam ระหว่างกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับน้ำ และกลุ่มทดสอบที่ได้รับน้ำทับทิม

การที่ผลการศึกษาในมนุษย์แตกต่างจากผลการศึกษาในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองนั้นอาจเกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัย เช่น พันธุ์ของทับทิม บริเวณที่ปลูก(18) กรรมวิธีการผลิต(19) ความแตกต่างของสภาวะในหลอดทดลองและในมนุษย์ รวมทั้งความแตกต่างของเอนไซม์ระหว่างสปีชีส์ hepatic microsomal activity ของ CYP3A ในการศึกษาในหลอดทดลองมี variability สูงถึง 40 เท่า ในขณะที่การศึกษาในมนุษย์มี variability น้อยกว่า (5 เท่า)(20) การศึกษาของ Victoria และคณะ แสดงให้เห็นว่า CYP inhibitor ชนิดเดียวกันแต่มี selectivity ที่แตกต่างกันระหว่าง human และ rat liver chromosome(21) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ผลซึ่งสังเกตเห็นจากการศึกษาในหลอดทดลองจะไม่สามารถสังเกตเห็นได้จากการศึกษาในมนุษย์ ในมนุษย์ยา cyclosporine ถูก metabolized ที่ลำไส้ ตับ และไต โดยเอนไซม์ CYP3A4 และ CYP3A5 เป็นหลัก (22) แต่ใน rats ถูก metabolized โดยเอนไซม์ CYP3A2 เป็นหลัก สังเกตได้ว่าในมนุษย์และใน rat มี isoenzyme ที่แตกต่างกันจึงเป็นไปได้ที่จะให้ผลต่อ selectivity และ potency ที่แตกต่างกัน จึงยากที่จะ extrapolate ผลจากในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองมาทำนายผลในมนุษย์(9)

การศึกษาของ Voruganti และคณะ พบว่าระยะเวลาในการบริโภคน้ำทับทิมมีผลต่อฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ใน rat ที่ได้รับน้ำทับทิมต่อเนื่องเป็นเวลา 8 วัน โดยพบว่ามีผลเพิ่ม AUC ของยา nitrendipine ถึง 5 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิมครั้งเดียวก่อนให้ยา nitrendipine 1 ชั่วโมง(15) อย่างไรก็ตาม การศึกษาในมนุษย์ซึ่งทำการทดลองโดยให้น้ำทับทิมวันละสองครั้งติดต่อกัน 2 สัปดาห์ และติดต่อกัน 3 วัน (17) ก็ไม่พบฤทธิ์ของน้ำทับทิมในการเพิ่ม bioavailability ของยาที่เป็น substrate ของ CYP3A4 อย่างเป็นนัยสำคัญทางสถิติ(16) onset ของการเกิดอันตรกิริยาของ CYP3A inhibitor จะเร็วหรือช้าขึ้นกับสัดส่วนของ clearance ของ victim drug ระหว่างที่ลำไส้เล็กและตับ ถ้ายาถูก metabolized ที่ลำไส้เล็กในสัดส่วนที่มาก (high gut wall extraction) onset ของอันตรกิริยาจะสังเกตเห็นตั้งแต่ได้รับยาที่เกิดอันตรกิริยาร่วมกันตั้งแต่ครั้งแรก แต่ถ้า victim drug ถูก metabolized ที่ตับเป็นหลัก onset ของอันตรกิริยาอาจเกิดขึ้นช้า และต้องให้ยาคู่ที่ทำให้เกิดอันตรกิริยาแบบ multiple dose (23) ยา cyclosporine จัดเป็นยาที่เป็น high gut wall extraction โดยยาจะถูก metabolized ที่ลำไส้เล็กเป็นสองเท่าของที่ตับในมนุษย์ (24) ดังนั้น onset ของอันตรกิริยาระหว่างยา cyclosporine และ CYP3A inhibitor ในมนุษย์จึงน่าจะสังเกตเห็นได้ตั้งแต่การได้รับยาร่วมกันเป็นครั้งแรก นอกจากนี้การศึกษาของ Hidaka พบว่าผลของน้ำทับทิมต่อการยับยั้ง CYP3A เกิดขึ้นที่ลำไส้เล็กเป็นหลัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสำคัญของน้ำทับทิมอาจมีไม่เพียงพอที่จะยับยั้งเอนไซม์ที่ตับ เนื่องจากส่วนหนึ่งถูกทำลายโดยเอนไซม์ที่ลำไส้เล็กมาก่อนแล้ว(9)

จากการประเมินด้านความปลอดภัยโดยการเฝ้าติดตามอาการอันไม่พึงประสงค์ พบว่าอาการอันไม่พึงประสงค์ที่พบได้มากที่สุดคือ อาการร้อนวูบวาบ และการเพิ่มขึ้นของความดันโลหิต โดยอาการดังกล่าวเกิดขึ้น

เพียงชั่วคราว และหายได้เองโดยไม่ต้องการการรักษาเพิ่มเติม และไม่พบความแตกต่างของสัดส่วนการเกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ระหว่างกลุ่มที่ได้รับยาพร้อมน้ำทับทิม และในกลุ่มควบคุมที่ได้รับยาพร้อมน้ำ

ปัจจุบันน้ำทับทิมได้รับความนิยมในการบริโภคเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากมีสารสำคัญซึ่งมีฤทธิ์ antioxidant จำนวนมากจึงมีประโยชน์ในการรักษาสุขภาพ แต่มีความกังวลเกี่ยวกับอันตรกิริยาของน้ำทับทิมร่วมกับยา โดยเฉพาะยาที่เป็น substrate ของ CYP3A และมี narrow therapeutic index เช่น cyclosporine แต่จากผลการศึกษาไม่พบหลักฐานว่าน้ำทับทิมมีอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์กับยา cyclosporine ในมนุษย์ ดังนั้นน้ำทับทิมจึงสามารถรับประทานร่วมกับยา cyclosporine ได้โดยไม่เพิ่มโอกาสการเกิดอาการอันไม่พึงประสงค์ของยา

ภาคผนวกที่ 1

เอกสารรับรองโครงการวิจัยในมนุษย์



เอกสารรับรองโครงการวิจัยในมนุษย์
คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ชื่อโครงการ	การศึกษาอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างน้ำทับทิมและยาไซโคลสปอริน ในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดี Pharmacokinetic interaction study between pomegranate juice and cyclosporine in Thai healthy volunteers.
ชื่อหัวหน้าโครงการ	ดร. ภักวดี เสริมสรรพสุข
เลขที่โครงการ/รหัส	54 03 01 0002
สังกัดหน่วยงาน/คณะ	เภสัชศาสตร์
การรับรอง	ขอรับรองโครงการวิจัยดังกล่าวข้างบนนี้ได้ผ่านการพิจารณาและรับรอง จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ครั้งที่ 8/2554 เมื่อวันที่ 20 กรกฎาคม 2554
วันสิ้นสุดการรับรอง	วันที่ 20 กรกฎาคม 2555
ประเภทการรับรอง	รับรองแบบเต็มรูปแบบ

ลงนาม

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุกกัง ยะโสธรศรีกุล)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์
มหาวิทยาลัยนเรศวร

ภาคผนวกที่ 2

ผลการตรวจร่างกายเพื่อคัดเลือกอาสาสมัครเพื่อเข้าร่วมการศึกษา

ตารางภาคผนวกที่ 2.1 ลักษณะพื้นฐาน (Demographic Data) ของอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

Subject	Age (Year)	Body Mass Index (kg/m ²)	Weight(kg)	Height (cm)	Smoking History (Yes/No)	Alcohol History (Yes/No)
S01	23	20.66	64	176	No	No
S02	23	20.76	60	170	No	No
S03	23	21.77	60	166	No	Yes ¹
S04	23	25.35	75	172	No	No
S05	23	23.31	65	167	No	No
S06	23	19.20	65	184	No	No
S07	24	23.46	76	180	No	No
S08	23	18.21	52	169	No	No
S09	29	25.06	75	173	No	No
S10	23	19.71	59	173	No	No
S11	23	20.90	64	175	No	No
S12	26	21.91	75	185	No	No
S13	25	19.53	50	160	No	No
S14	26	21.01	60	169	No	No

Mean	24.07	21.49	64.29	172.79
Minimum	23	18.21	50	160
Maximum	29	25.35	76	185
StdDev	1.82	2.15	8.42	6.92

¹ Subject has alcohol history but not regular consumption and can be abstained from alcohol as required in the criteria.

ตารางภาคผนวกที่ 2.2 ผลตรวจ Serum Chemistry ของอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

Subject	Blood Glucose (mg%,55-115)	BUN (mg%,5-23)	Serum Creatinine (mg%,0.8-1.4)
S01	79	10.1	0.8
S02	82	13.8	1.1
S03	76	16.1	1
S04	77	12.1	1.1
S05	80	12	0.9
S06	86	9.7	1.2
S07	81	9.3	1.1
S08	84	9.3	1
S09	97	8.7	1.2
S10	98	9	0.8
S11	87	9.5	1
S12	86	12.8	0.8
S13	78	10.4	1
S14	85	10.5	1.2
Mean	84.00	10.95	1.01
Minimum	76	8.7	0.8
Maximum	98	16.1	1.2
StdDev	6.71	2.14	0.15

ตารางภาคผนวกที่ 2.3 ผลตรวจการทำงานของตับ (Liver Function Tests) ของอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

Subject	Total Bilirubin (mg%,0-1.1)	Direct Bilirubin (mg%,0-0.3)	ALT (units/L,0-41)	AST (units/L,0-37)	Alkaline Phosphatase (units/L,0-110)
S01	1.02	0.28	8	13	56
S02	0.55	0.19	25	18	87
S03	1.03	0.28	25	17	68
S04	0.43	0.15	56	35	85
S05	0.97	0.3	34	29	62
S06	1.23	0.31	12	15	89
S07	0.77	0.25	19	29	59
S08	0.76	0.24	82	61	54
S09	0.25	0.11	21	19	64
S10	0.9	0.23	16	17	100
S11	0.9	0.24	15	22	58
S12	0.71	0.23	19	16	67
S13	0.79	0.29	23	15	61
S14	0.73	0.22	13	24	35
Mean	0.79	0.24	26.29	23.57	67.50
Minimum	0.25	0.11	8	13	35
Maximum	1.23	0.31	82	61	100
StdDev	0.26	0.06	19.89	12.55	17.15

ตารางภาคผนวกที่ 2.4 ผลตรวจทางโลหิตวิทยา (Hematologic Data) ของอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

Subject	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$,4-12)	Hemoglobin (g%,14-18)	Hematocrit (%)	Platelets ($\times 1000/\text{mm}^3$,140-400)
S01	6.67	13.8	43.4	278
S02	7.04	13.5	40.6	331
S03	9.24	15.1	44.6	244
S04	7.84	6.1	51.8	248
S05	4.45	14.2	42.9	210
S06	8.03	16	47.7	197
S07	5.67	15.9	46.9	227
S08	8.74	14.2	43.8	282
S09	6.48	13.8	41.4	224
S10	5.75	15.8	46.3	259
S11	6.6	16.2	46.4	142
S12	5.88	13.8	43.1	324
S13	6.94	14.7	46.3	217
S14	6.14	13.6	41	215
Mean	6.82	14.05	44.73	242.71
Minimum	4.45	6.1	40.6	142
Maximum	9.24	16.2	51.8	331
StdDev	1.29	2.49	3.06	50.24

ตารางภาคผนวกที่ 2.5 ผลการตรวจปัสสาวะ (Urine Analysis) ของอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

Subject	Urine Specific Gravity	Urine pH	Urine Color	Urine Appearance	Urine Leukocyte	Urine Proteins
S01	1.015	6	yellow	clear	Negative	Negative
S02	1.025	5.5	yellow	clear	Negative	Negative
S03	1.025	5	yellow	clear	Negative	Negative
S04	1.015	5	yellow	clear	Negative	Negative
S05	1.025	5.5	yellow	clear	Negative	Negative
S06	1.02	6	yellow	clear	Negative	Negative
S07	1.025	5	yellow	clear	Negative	Negative
S08	1.02	5	yellow	clear	Negative	Negative
S09	1.025	5.5	yellow	clear	Negative	Negative
S10	1.015	7	yellow	clear	Negative	Negative
S11	1.025	5	yellow	clear	Negative	Negative
S12	1.005	6.5	yellow	clear	Negative	Negative
S13	1.025	5.5	yellow	clear	Negative	Negative
S14	1.020	5.5	yellow	clear	Negative	Negative

Mean

1.020 5.57

Minimum

1.005 5

Maximum

1.025 7

StdDev

0.006 0.62

ตารางภาคผนวกที่ 2.5 (ต่อ) ผลการตรวจปัสสาวะ (Urine Analysis) ของอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

Subject	Urine Ketones	Urine Bilirubin	Urine Nitrite	Urine Glucose	Urobilinogen	Urine Erythrocyte
S01	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S02	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S03	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S04	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S05	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S06	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S07	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S08	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S09	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S10	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S11	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S12	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S13	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
S14	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative

ตารางภาคผนวกที่ 2.6 ผลการวัดสัญญาณชีพของอาสาสมัครขณะตรวจร่างกายเพื่อเข้าร่วมโครงการ

Subject	SBP Screening (mmHg)	DBP Screening (mmHg)	Heart Rate Screening (BPM)
S01	127	78	68
S02	121	82	52
S03	123	79	66
S04	140	74	84
S05	117	72	62
S06	112	63	71
S07	125	83	80
S08	110	69	83
S09	116	79	86
S10	131	73	103
S11	124	75	73
S12	112	67	82
S13	128	80	76
S14	102	70	88
Mean	120.57	74.57	76.71
Minimum	102	63	52
Maximum	140	83	103
StdDev	9.83	5.94	12.71

ตารางภาคผนวกที่ 2.7 ผลการตรวจร่างกาย (Physical Examination) ของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ

Subject	General Appearance	EENT	Heart	Lung	Abdomen	Skin
S01	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S02	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S03	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S04	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S05	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S06	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S07	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S08	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S09	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S10	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S11	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S12	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S13	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
S14	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal

ภาคผนวกที่ 3

ผลการตรวจประเมินความปลอดภัยของอาสาสมัครในการศึกษา

ตารางภาคผนวกที่ 3.1 อุณหภูมิ ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำ ทับทิม (test)

Subject	Period	Time (h)											
		0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	24
1	1	36	34.6	35.9	36	36.2	36.4	36.2	36.4	35.8	36.2	35.9	35.8
2	1	36	34.4	36	35.9	35.8	35.8	35.7	35.3	34.4	35.6	35.8	35.5
3	2	34.8	34.9	35.5	35.2	35.1	35.3	35.4	34	35.7	35	34.6	34.5
4	2	36.9	36	36.1	36.3	36.2	36.1	36.2	35.9	36.4	36.5	36.3	36.2
5	1	35.9	35.5	35.9	35.9	36	35.7		35.2		35.6	35.9	
6	2	36	35.6	35.5	35.9	36	35.7	35.9	35.7	35.7	36	35.9	35.8
7	1	36	36	36.3	36.4	36.3	36.3	36.3	36	36.4	36.1	36.4	35.8
8	2	36.1	35.4	36.2	36.2	36.2	39.8	36.1	36.1	36.3	36.3	36.1	35.4
9	1	35.9	36.1	35.8	35.6	35.5	36	35.6	35.9	36.4	35.9	36.2	35.6
10	2	36.3	35.9	36.5	36.3	36	35.9	35.6	36	35.9	36.1	36.1	35.8
11	1	34	36	34.3	35.8	35.9		34.5	35.6	36.2	36.4	36.5	36.1
12	2	35.8	35.7	35.9	35.4	35.6	35.5	35.1	35.9	35.5	35.8	36.2	34.4
13	2	36.6	36.2	36.5	36	35.9	35.7	35.8	36.1	36.3	36.6	36.7	35.7
14	1	35.6	34.9	35.6	35.2	35.5	35.3	35.1	35.4	35.6	35.9	36.1	35.7
Mean		35.9	35.5	35.9	35.9	35.9	36.1	35.7	35.7	35.9	36.0	36.1	35.6
SD		0.7	0.6	0.6	0.4	0.3	1.2	0.5	0.6	0.6	0.4	0.5	0.5
%CV		2.0	1.7	1.5	1.1	0.9	3.2	1.5	1.6	1.6	1.2	1.4	1.5
Max		36.9	36.2	36.5	36.4	36.3	39.8	36.3	36.4	36.4	36.6	36.7	36.2
Min		34	34.4	34.3	35.2	35.1	35.3	34.5	34	34.4	35	34.6	34.4
N		14	14	14	14	14	13	13	14	13	14	14	13

ตารางภาคผนวกที่ 3.2 อุณหภูมิ ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำ (control)

Subject	Period	Time (h)											
		0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	24
1	2	36	35.8	35.5	35.9	35.8	35.9	35.9	36.2	36.6	36.5	36.2	35.6
2	2	35.2	35.6	35.5	35.7	35.6	35.9	35.8	35.8	36	36.2	36	35.3
3	1	35.9	36	35.9	36	36.2	35.9	35.9	36.1	35.4	36	36	35.9
4	1	36.7	36.8	36.8	36.8	36.7	36.8	36.8	36.5	37	36.6	36.7	36.5
5	2	36.4	35.9	35.8	36.2	36.2	35.8	36	35.7	36.1	36.3	36.3	35.6
6	1	36.2	36	36.3	36.1	36.2	36.2	36	35.5	36	36.2	36.7	36.2
7	2	35.8	36	35.9	35.9	36	35.7	36.1	36	36.2	36.5	36.4	38.9
8	1	36.3	35.9	36.7	36.5	36.4	36.2	36.3	36.3	36.4	36.7	36.1	36.2
9	2	35.2	34.5	35.5	35.3	35	34.2	35.1	33.5	35.9	36.1	36.4	35.4
10	1	36.4	36.4	36.8	36.4	36.2	35.9	36.2	35.1	36.3	36	36.4	36.1
11	2	35.1	35.2	36.4	36	36	36	35.8	36	36.5	36.6	36.1	34.2
12	1	36.6	36.1	35.8	36.2	35.7	35.6	35.7	35.2	35	39.2	36.4	36.1
13	1	36.3	36.4	36.6	36.5	36.1	35.9	35.9	36.2	36.4	36.6	36.5	36
14	2	35.5	35.1	35.3	35.1	35	34.9	35.4	34.6	35.2	35.9	35.2	35.1
Mean		36.0	35.8	36.1	36.0	35.9	35.8	35.9	35.6	36.1	36.5	36.2	35.9
SD		0.5	0.6	0.5	0.5	0.5	0.6	0.4	0.8	0.6	0.8	0.4	1.0
%CV		1.5	1.6	1.5	1.3	1.3	1.7	1.1	2.3	1.5	2.2	1.0	2.9
Max		36.7	36.8	36.8	36.8	36.7	36.8	36.8	36.5	37	39.2	36.7	38.9
Min		35.1	34.5	35.3	35.1	35	34.2	35.1	33.5	35	35.9	35.2	34.2
N		14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14

ตารางภาคผนวกที่ 3.3 อัตราการหายใจ ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับ ยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำทับทิม (test)

Subject	Period	Time (h)											
		0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	24
1	1	20	18	20	19	24	22	20	20	20	20	22	20
2	1	18	18	20	24	20	18	18	22	18	18	20	20
3	2	22	22	20	20	18	20	18	18	20	18	18	20
4	2	16	16	18	16	16	16	16	18	18	18	16	16
5	1	19	22	22	18	22	18	18	20	22	20	18	20
6	2	20	20	18	22	18	22	20	22	18	22	20	22
7	1	20	18	22	20	20	18	18	16	16	18	20	20
8	2	16	18	20	24	16	16	22	18	16	16	20	20
9	1	22	18	16	18	16	20	18	16	18	18	12	18
10	2	16	18	14	20	14	16	16	16	14	16	14	16
11	1	18	28	32	24	30		30	28	26	24	26	24
12	2	14	18	16	14	18	14	16	22	16	16	18	18
13	2	20	20	16	18	20	20	16	22	20	20	20	20
14	1	20	19	20	19	20	20	21	20	21	20	20	20
Mean		18.6	19.5	19.6	19.7	19.4	18.5	19.1	19.9	18.8	18.9	18.9	19.6
SD		2.4	3.0	4.3	3.0	4.0	2.5	3.7	3.3	3.0	2.3	3.4	2.1
%CV		12.9	15.2	22.0	15.2	20.8	13.4	19.3	16.5	16.2	12.3	18.0	10.7
Max		22	28	32	24	30	22	30	28	26	24	26	24
Min		14	16	14	14	14	14	16	16	14	16	12	16
N		14	14	14	14	14	13	14	14	14	14	14	14

ตารางภาคผนวกที่ 3.4 อัตราการหายใจ ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำ (control)

Subject	Period	Time (h)											
		0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	24
1	2	20	20	18	18	18	18	18	20	20	22	20	22
2	2	20	18	20	18	16	18	20	20	22	20	18	18
3	1	22	17	20	22	18	20	20	20	18	18	18	20
4	1	15	16	14	14	16	14	14	16	18	18	16	18
5	2	20	18	18	18	18	18	20	18	18	18	20	18
6	1	22	22	24	18	20	18	18	18	20	18	20	18
7	2	20	20	14	12	14	14	16	16	16	16	16	16
8	1	18	20	22	16	16	24	18	16	18	16	18	16
9	2	12	14	16	16	14	14	12	12	16	16	16	16
10	1	20	16	22	20	20	16	18	18	18	20	16	20
11	2	24	18	24	22	24	26	24	20	20	22	26	22
12	1	20	27	30	24	28	28	30	30	20	22	22	20
13	1	20	21	20	19	20	21	22	19	22	20	20	20
14	2	22	20	22	12	16	14	14	16	16	18	18	18
Mean		19.6	19.1	20.3	17.8	18.4	18.8	18.9	18.5	18.7	18.9	18.9	18.7
SD		3.0	3.2	4.3	3.6	3.9	4.6	4.6	4.0	2.0	2.2	2.8	2.0
%CV		15.4	16.6	21.1	20.2	20.9	24.4	24.2	21.7	10.8	11.6	14.8	10.8
Max		24	27	30	24	28	28	30	30	22	22	26	22
Min		12	14	14	12	14	14	12	12	16	16	16	16
N		14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14

ตารางภาคผนวกที่ 3.5 ซีพจร ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำทับทิม (test)

Subject	Period	Time (h)											
		0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	24
1	1	62	67	66	66	60	65	59	66	62	63	61	59
2	1	45	43	54	62	53	60	47	52	46	50	56	43
3	2	63	75	71	70	77	70	68	77	75	77	74	65
4	2	73	59	79	81		81		75	63		76	72
5	1	54	55	64	67	70	81	80	67	59	74	62	70
6	2	64	66	68	74	71	68	83	73	65	69	69	71
7	1	67	65	68	76	73	70	70	70	66	69	72	81
8	2	73	76	86	87	84	74	71	92	91	84	82	73
9	1	68	65	70	74	75	77	82	77	64	74	73	79
10	2	76	86	100	96	94	88	81	82	77	75	78	73
11	1	62	66	63	63	74		69	63	85	69	65	73
12	2	72	69	80	87	79	78	74	74	68	79	73	74
13	2	66	68	69	74	81	73	65	77	95	79	81	70
14	1	57	61	70	81	79	62	67	70	66	68	80	66
Mean		64.4	65.8	72.0	75.6	74.6	72.8	70.5	72.5	70.1	71.5	71.6	69.2
SD		8.4	10.1	11.3	9.9	10.3	8.1	10.2	9.3	13.2	8.6	8.0	9.3
%CV		13.0	15.3	15.6	13.1	13.8	11.2	14.4	12.9	18.8	12.0	11.2	13.5
Max		76	86	100	96	94	88	83	92	95	84	82	81
Min		45	43	54	62	53	60	47	52	46	50	56	43
N		14	14	14	14	13	13	13	14	14	13	14	14

ตารางภาคผนวกที่ 3.6 ซีพอร์ ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำ (control)

Subject	Period	Time (h)											
		0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	24
1	2	62	61	71	79	79	76	74	87	78	74	79	61
2	2	47	48	46	53	52	48	53	56	59	56	50	46
3	1	62	64	67	64	65	62	71	60	59	61	63	58
4	1	71	76	79	81	75	82	79	86	81	67	68	69
5	2	65	78	60	71	81	81	71	74	67	70	63	66
6	1	72	64	69	74	73	74	72	71	62	67	69	68
7	2	68	60	69	69	78	85	72	81	73	79	73	68
8	1	63	65	79	87	80	81	74	91	72	83	87	70
9	2	66	68	63	69	86	69	82	67	74	70	79	70
10	1	82	81	95	98	104	99	94	90	92	88	82	94
11	2	58	56	63	76	67	66	55	88	63	73	66	63
12	1	69	69	77	86	79	72	78	72	68	75	80	76
13	1	52	66	40	68	71	75	73	76	75	67	63	62
14	2	50	56	59	66	62	73	74	71	62	68	62	55
Mean		63.4	65.1	66.9	74.4	75.1	74.5	73.0	76.4	70.4	71.3	70.3	66.1
SD		9.4	9.1	13.9	11.3	12.2	11.8	10.1	11.1	9.4	8.4	10.1	11.0
%CV		14.9	13.9	20.8	15.2	16.3	15.9	13.8	14.6	13.4	11.7	14.4	16.6
Max		82	81	95	98	104	99	94	91	92	88	87	94
Min		47	48	40	53	52	48	53	56	59	56	50	46
N		14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14

ตารางภาคผนวกที่ 3.7 ความดันโลหิต ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำทับทิม (test)

Subj ect	Peri od	Time (h)											
		0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	24
1	1	111 /68	125 /80	126 /82	136 /82	119 /79	143 /91	120 /80	121 /76	125 /88	130 /85	128 /82	120 /86
		132 /83	138 /74	135 /80	133 /83	123 /72	128 /78	128 /76	106 /63	128 /79	124 /76	134 /70	127 /75
2	1	120 /74	123 /82	129 /77	125 /78	128 /80	124 /79	119 /81	115 /66	119 /69	132 /68	123 /75	125 /79
		138 /83	142 /84	130 /75	153 /88	140 /89	117 /96	135 /73	140 /82	134 /82	150 /80	149 /72	141 /91
3	2	118 /68	141 /83	138 /91	124 /74	118 /65	119 /79	113 /78	114 /75	120 /81	118 /77	132 /77	126 /80
		107 /64	126 /70	123 /75	128 /69	133 /77	122 /73	123 /75	121 /74	133 /67	120 /71	127 /77	130 /75
4	2	122 /83	120 /75	127 /79	118 /76	117 /77	109 /74	112 /75	104 /75	113 /73	114 /73	119 /82	124 /87
		115 /78	123 /79	104 /70	100 /68	102 /70	106 /72	109 /69	93/ 60	86/ 61	102 /67	104 /71	101 /67
5	1	128 /86	131 /83	116 /79	123 /81	121 /80	120 /86	124 /87	128 /80	119 /85	125 /85	137 /83	136 /82
		134 /73	138 /78	133 /78	123 /75	135 /68	119 /78	121 /73	119 /70	119 /80	124 /77	133 /78	132 /75
6	2	108 /72	112 /67	115 /68	108 /71	105 /64		107 /63	107 /65	114 /72	113 /67	115 /78	117 /67
		118 /69	129 /70	122 /73	110 /70	116 /72	109 /70	116 /73	106 /67	117 /67	114 /69	119 /70	117 /73
7	1	133 /72	119 /84	120 /80	120 /79	119 /82	116 /79	116 /79	103 /71	100 /70	107 /73	117 /73	124 /85
		105 /66	112 /68	115 /67	121 /75	119 /77	111 /69	105 /71	100 /69	103 /64	107 /69	121 /74	111 /68
8	2	105 /66	112 /68	115 /67	121 /75	119 /77	111 /69	105 /71	100 /69	103 /64	107 /69	121 /74	111 /68
		128 /86	131 /83	116 /79	123 /81	121 /80	120 /86	124 /87	128 /80	119 /85	125 /85	137 /83	136 /82
9	1	134 /73	138 /78	133 /78	123 /75	135 /68	119 /78	121 /73	119 /70	119 /80	124 /77	133 /78	132 /75
		108 /72	112 /67	115 /68	108 /71	105 /64		107 /63	107 /65	114 /72	113 /67	115 /78	117 /67
10	2	118 /69	129 /70	122 /73	110 /70	116 /72	109 /70	116 /73	106 /67	117 /67	114 /69	119 /70	117 /73
		133 /72	119 /84	120 /80	120 /79	119 /82	116 /79	116 /79	103 /71	100 /70	107 /73	117 /73	124 /85
11	1	105 /66	112 /68	115 /67	121 /75	119 /77	111 /69	105 /71	100 /69	103 /64	107 /69	121 /74	111 /68
		128 /86	131 /83	116 /79	123 /81	121 /80	120 /86	124 /87	128 /80	119 /85	125 /85	137 /83	136 /82
12	2	134 /73	138 /78	133 /78	123 /75	135 /68	119 /78	121 /73	119 /70	119 /80	124 /77	133 /78	132 /75
		108 /72	112 /67	115 /68	108 /71	105 /64		107 /63	107 /65	114 /72	113 /67	115 /78	117 /67
13	1	118 /69	129 /70	122 /73	110 /70	116 /72	109 /70	116 /73	106 /67	117 /67	114 /69	119 /70	117 /73
		133 /72	119 /84	120 /80	120 /79	119 /82	116 /79	116 /79	103 /71	100 /70	107 /73	117 /73	124 /85
14	2	105 /66	112 /68	115 /67	121 /75	119 /77	111 /69	105 /71	100 /69	103 /64	107 /69	121 /74	111 /68
		128 /86	131 /83	116 /79	123 /81	121 /80	120 /86	124 /87	128 /80	119 /85	125 /85	137 /83	136 /82

ตารางภาคผนวกที่ 3.8 ความดันโลหิต ณ เวลาต่างๆ ของอาสาสมัครแต่ละคน (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำ (control)

Subj ect	Peri od	Time (h)											
		0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	24
1	2	109	110	119	119	125	109	111	105	106	124	108	119
		/74	/73	/76	/74	/80	/84	/92	/70	/68	/73	/83	/86
2	2	116	134	125	128	129	121	115	116	127	118	132	135
		/69	/79	/76	/83	/80	/72	/77	/69	/75	/73	/77	/84
3	1	118	126	124	126	127	121	132	117	114	127	124	120
		/82	/80	/82	/79	/81	/75	/78	/69	/66	/73	/82	/72
4	1	144	145	137	136	146	136	137	125	137	134	140	125
		/79	/89	/86	/82	/83	/82	/72	/74	/72	/79	/80	/71
5	2	128	132	137	146	136	123	131	108	137	131	142	138
		/84	/98	/92	/89	/91	/86	/83	/70	/78	/78	/81	/83
6	1	113	124	120	117	110	116	109	119	111	118	132	123
		/68	/68	/69	/70	/64	/68	/62	/62	/68	/66	/72	/77
7	2	113	118	116	119	123	106	116	109	117	127	141	122
		/76	/81	/77	/78	/78	/74	/77	/79	/77	/78	/78	/79
8	1	107	107	106	107	109	108	108	96/	103	98/	118	117
		/73	/71	/73	/75	/71	/72	/63	66	/63	63	/74	/74
9	2	123	118	139	126	117	145	125	134	119	123	117	139
		/83	/84	/86	/82	/86	/86	/89	/93	/84	/79	/77	/86
10	1	140	142	140	128	148	119	126	123	138	139	144	127
		/84	/84	/79	/81	/74	/79	/76	/65	/78	/87	/85	/76
11	2	116	110	112	112	112	116	115	89/	109	103	114	115
		/77	/73	/76	/69	/74	/79	/74	63	/68	/71	/67	/77
12	1	107	121	114	114	109	94/	99/	109	112	109	119	118
		/70	/69	/69	/71	/67	62	62	/66	/70	/66	/70	/72
13	1	120	129	118	129	121	120	111	112	100	100	114	125
		/72	/85	/81	/85	/81	/86	/75	/82	/73	/68	/69	/83
14	2	106	104	109	107	107	100	105	100	107	98/	116	120
		/63	/67	/69	/69	/68	/63	/74	/67	/65	56	/62	/76

ตารางภาคผนวกที่ 3.9 แสดงอาการไม่พึงประสงค์ในอาสาสมัครแต่ละราย (N = 14) หลังจากได้รับยา cyclosporine ขนาด 100 มิลลิกรัม จำนวน 2 เม็ดแบบครั้งเดียว ร่วมกับการรับประทานน้ำทับทิม(test, T) หรือร่วมกับการรับประทานน้ำ (control, C)

	Period 1							Period 2						
	ร้อนวูบวาบ	หน้ามืด	มีเสียงชะ	คลื่นไส้	อาเจียน	ปวดศีรษะ	เป็นลม	ร้อนวูบวาบ	หน้ามืด	มีเสียงชะ	คลื่นไส้	อาเจียน	ปวดศีรษะ	เป็นลม
S01 (T, C)	/							/						
S02 (T, C)	/	/						/						
S03 (C, T)	/							ผื่นขึ้นและคันบริเวณที่ติดพลาสติก และปวดบริเวณเขมที่เจาะเลือด						
S04 (C, T)														
S05 (T, C)	/							/						
S06 (C, T)														
S07 (T, C)														
S08 (C, T)			/							/				
S09 (T, C)								/			/	/		
S10 (C, T)														
S11 (T, C)			/	/	/	/	/							
S12 (C, T)	/							/						
S13 (C, T)				/		/	/	/						
S14 (T, C)	/							/						

*T คือ Test, C คือ Reference

ภาคผนวกที่ 4

ผลการร่างกายอาสาสมัครภายหลังสิ้นสุดการศึกษา

ตารางภาคผนวกที่ 4.1 ผลการตรวจสัญญาณชีพ การตรวจร่างกาย และค่า Serum Creatinine ของอาสาสมัครก่อนออกจากการศึกษา

Subject	SBP Final (mmHg)	DBP Final (mmHg)	HR Final (BPM)	General Appearance	EENT	Heart	Lung	Abdomen	Skin	Serum Creatinine (mg%,0.8-1.4)
S01	105	66	75	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	0.9
S02	102	70	60	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	1.1
S03	121	68	81	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	0.9
S04	145	71	103	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	1.1
S05	131	84	77	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	0.9
S06	123	80	96	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	1.1
S07	120	82	78	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	1.0
S08	119	100	67	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Abnormal*	0.9
S09	127	80	92	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	1.1
S10	112	76	77	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	1
S11	126	75	62	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	0.9
S12	114	68	78	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	0.7
S13	103	67	92	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	1
S14	109	67	66	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	1.4
Mean	118.36	75.29	78.86							1
Minimum		66	60							0.7
Maximum	145	100	103							1.4
StdDev	11.97	9.42	13.00							0.16

* ฝ่ามือฝ่าเท้า มีผื่นเป็นวงๆ ขนาด 2-12 มิลลิเมตร

ภาคผนวกที่ 5

การวัดปริมาณสาร total phenolic และ flavonoid

วิธีการวัดปริมาณของสารฟีนอลิก (Total phenolic content)

ปริมาณของสารฟีนอลิกในน้ำทับทิมใช้วิธี Folin–Ciocalteu ซึ่งถูกปรับมาจาก Jin-Yuarn Lin และ Ching-Yin Tang (2007) ดังนี้ นำน้ำทับทิมไปปั่นตกตะกอนด้วยความเร็ว 4000 rpm นาน 20 นาที แล้วนำเฉพาะส่วนใสมาวัดปริมาณของสารฟีนอลิก โดยเติมน้ำทับทิม 20 μ l, folin-cicalteu's phenol reagent (folin-cicalteu's phenol reagent: water=1:10) 100 μ l, และ 15g/L sodium carbonate (Na_2CO_3) 80 μ l ใน 96-well plate บ่มในมืดไว้ที่ 50°C นาน 5 นาที และที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที ปริมาณของสารฟีนอลิกถูกวัดโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 nm โดยใช้น้ำเป็น blank และ Gallic acid (GA) ถูกใช้เป็น Standard ซึ่งข้อมูลที่ได้จะถูกนำมาคำนวณเปรียบเทียบกับ Gallic acid (GA) หน่วยที่ได้จะแสดงเป็น mg/L Gallic acid

วิธีการวัดปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ (Total flavonoid content)

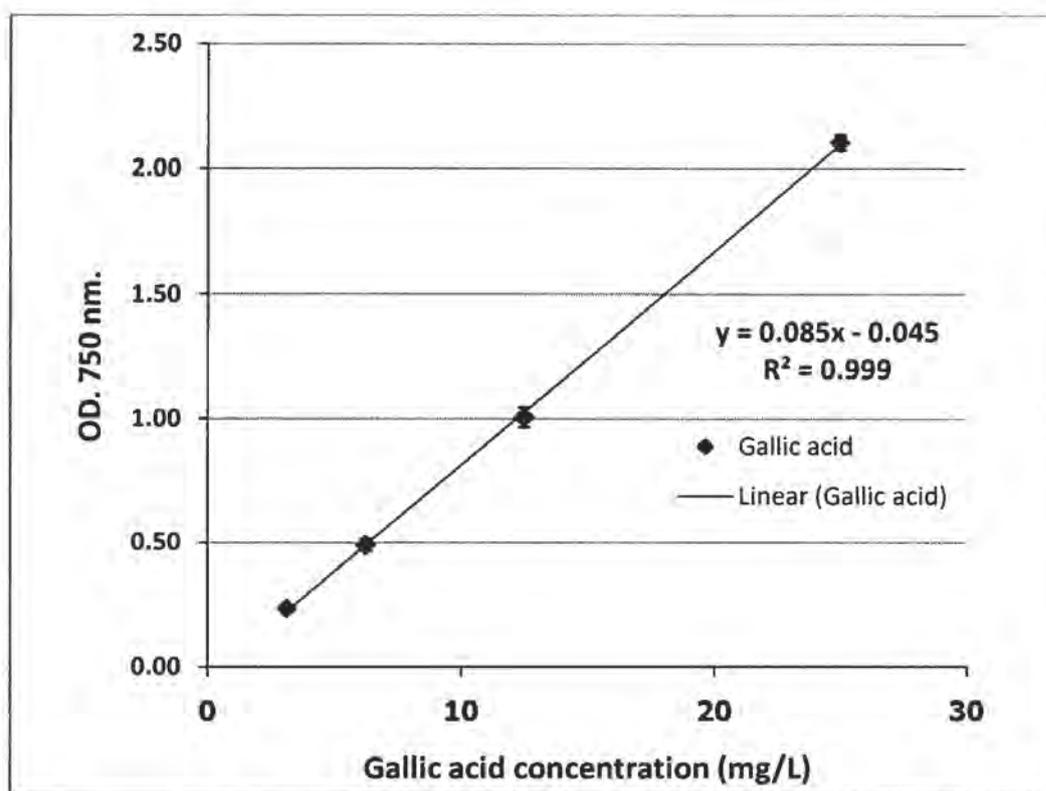
ปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ในน้ำทับทิมใช้วิธี aluminum chloride colorimetric ซึ่งถูกปรับมาจาก Jin-Yuarn Lin และ Ching-Yin Tang (2007) ดังนี้ นำน้ำทับทิมไปปั่นตกตะกอนด้วยความเร็ว 4000 rpm นาน 20 นาที แล้วนำเฉพาะส่วนใสมาวัดปริมาณของสารฟลาโวนอยด์โดยเติมน้ำทับทิม 20 μ l, 95% alcohol 60 μ l, 4% aluminum chloride hexahydrate (AlCl_3) 10 μ l, 0.4M potassium acetate (CH_3COOK) 10 μ l ใน 96-well plate บ่มไว้ที่ อุณหภูมิห้อง นาน 40 นาที ปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ถูกวัดโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 415 nm โดยใช้น้ำเป็น blank และ Quercetin ถูกใช้เป็น Standard ซึ่งข้อมูลที่ได้จะถูกนำมาคำนวณเปรียบเทียบกับ Quercetin หน่วยที่ได้จะแสดงเป็น mg/L Quercetin

ผลการศึกษา

จากการศึกษาพบว่าในน้ำทับทิมคั้น 20 μ l มี total phenolic เทียบเท่ากับ gallic acid 16.38 \pm 1.28 mg/L (ตารางที่ 4.2) และมี total flavonoid เทียบเท่า quercetin 21.6 \pm 0.38 mg/L (ตารางที่ 5.4)

ตารางภาคผนวกที่ 5.1 calibration curve ระหว่าง gallic acid และ OD

Gallic acid concentration (mg/L)	OD. 750 nm				SD
	1	2	3	mean	
3.13	0.2293	0.2413	0.2333	0.2346	0.0061
6.25	0.4633	0.5103	0.4923	0.4886	0.0237
12.50	0.9953	0.9703	1.0503	1.0053	0.0409
25.00	2.1413	2.0873	2.0893	2.1060	0.0306

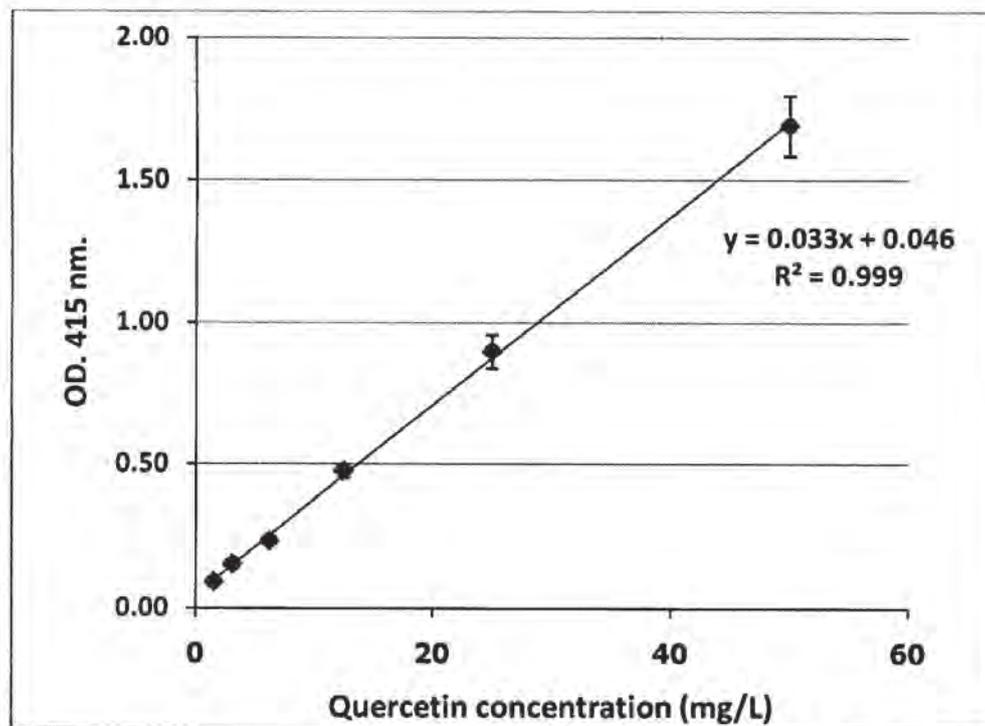


รูปภาคผนวกที่ 5.1 แสดง calibration curve ระหว่าง gallic acid concentration และ OD ตารางภาคผนวกที่ 5.2 แสดงความเข้มข้นของ total phenolic ซึ่งเทียบเท่า gallic cid ในน้ำทับทิมคั้น

Sample	Total Phenolic Content (mg/L of Gallic acid)			SD
	1	2	mean	
น้ำทับทิมคั้น	17.93	14.84	16.38	2.18

ตารางภาคผนวกที่ 5.3 แสดง calibration curve ระหว่าง total flavonoids และ OD

Quercetin concentration (mg/L)	OD. 415 nm			SD
	1	2	mean	
1.56	0.0830	0.0980	0.0905	0.0106
3.13	0.1430	0.1630	0.1530	0.0141
6.25	0.2330	0.2350	0.2340	0.0014
12.50	0.4590	0.4920	0.4755	0.0233
25.00	0.8550	0.9390	0.8970	0.0594
50.00	1.6170	1.7660	1.6915	0.1054



รูปภาคผนวกที่ 5.2 แสดง calibration curve ระหว่าง quercetin concentration และ OD

ตารางภาคผนวกที่ 5.3 แสดงความเข้มข้นของ total flavonoids ซึ่งเทียบเท่า quercetin ในน้ำทับทิมคั้น

Sample	Total Flavonoid Content (mg/L of Quercetin)			SD
	1	2	mean	
น้ำทับทิมคั้น	1.90	2.43	2.16	0.38

ภาคผนวกที่ 6

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้
และกิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

ตารางภาคผนวกที่ 6.1 ตารางแผนงานแสดงกิจกรรมที่ดำเนินงานตามข้อเสนอในโครงการ และกิจกรรมที่มีการปรับแผนจากข้อเสนอในโครงการ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนตามข้อเสนอในโครงการ	กิจกรรมที่ดำเนินการ	ผลที่ได้รับ
ได้รับเอกสารรับรองโครงการวิจัย จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร	ขอเอกสารรับรองโครงการวิจัย จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร	ขอเอกสารรับรองโครงการวิจัย จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร	ได้รับเอกสารรับรองการวิจัยในมนุษย์ ดังแสดงในภาคผนวกที่ 1
พัฒนาวิธีวิเคราะห์ระดับยา cyclosporine	ทดลองพัฒนาวิธีวิเคราะห์ระดับยา cyclosporine ในเลือด โดยใช้วิธี HPLC	เปลี่ยนเป็นการจ้างเหมาจ่ายสำหรับวิเคราะห์ระดับยา cyclosporine โดยเครื่อง ARCHITECH ซึ่งใช้หลักการ chemiluminescent microparticle immunoassay	ผลระดับความเข้มข้นของยาในเลือดของยา cyclosporine สำหรับการแปลผลทางเภสัชจลนศาสตร์
เพื่อศึกษาผลของน้ำทับทิมต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา cyclosporine ในอาสาสมัครสุขภาพดี	การศึกษาวิจัยทางคลินิก	การศึกษาวิจัยทางคลินิก	น้ำทับทิมไม่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา cyclosporine
เพื่อวัดปริมาณสาร total phenolic และ flavonoid ในน้ำทับทิม	ไม่มีในข้อเสนอโครงการ	วัดปริมาณสาร total phenolic และ flavonoid ในน้ำทับทิม	แสดงผลในภาคผนวกที่ 5
เพื่อเผยแพร่ผลจากโครงการ	ตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ	กำลังดำเนินการเขียน manuscript เพื่อขอตีพิมพ์	

ภาคผนวกที่ 7

รายงานการเงิน

สัญญาเลขที่ RDG5420055

โครงการ "การศึกษาอันตรกิริยาทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างน้ำทับทิมและยาไซโคลสเปอร์รินในอาสาสมัครชายไทยสุขภาพดี"

รายงานสรุปการเงิน

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน นางสาวภัทวดี เสริมสรรพสุข

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 กรกฎาคม 2554 ถึง 6 ธันวาคม 2555

รายจ่าย

หมวด (ตามสัญญา)	รายจ่ายสะสมจากรายงานครั้งก่อน		ค่าใช้จ่ายงวดปัจจุบัน	รวมรายจ่ายสะสมจนถึงงวดปัจจุบัน	งบประมาณทั้งหมดที่ตั้งไว้ตามสัญญา	คงเหลือ (หรือเกิน)
	(1)		(2)	(3)= (1)+(2)	(4)	(5)=(4)-(3)
ก. ส่วนที่โครงการบริหาร		บาท				บาท
1. ค่าตอบแทน	90,000.00	บาท	45,000.00	135,000.00	180,000.00	45,000.00 บาท
2. ค่าจ้าง	98,750.00	บาท	45,630.00	144,380.00	172,800.00	28,420.00 บาท
3. ค่าใช้สอย	26,185.00	บาท	247,716.69	273,901.69	79,200.00	- 194,701.69 บาท
4. ค่าวัสดุ	138,347.70	บาท	40,370.61	178,718.31	345,000.00	166,281.69 บาท
5. ค่าครุภัณฑ์	-	บาท		-	-	- บาท
รวม	353,282.70	บาท	378,717.30	732,000.00	777,000.00	45,000.00 บาท
ข. ส่วนที่บริหารโดยสกว.		บาท				บาท
6. ค่าครุภัณฑ์	-	บาท	-	-	-	- บาท
7. ค่าใช้จ่ายอื่นๆ	-	บาท	-	-	92,700.00	92,700.00 บาท
รวม	-	บาท			92,700.00	92,700.00 บาท
รวมทั้งสิ้น	353,282.70	บาท	378,717.30	732,000.00	869,700.00	137,700.00 บาท

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินคงเหลือ

จำนวนเงินที่ได้รับ	จำนวน	วันที่ได้รับ	ค่าใช้จ่าย	จำนวน
งวดที่ 1	522,000.00 บาท	30/5/2555	งวดที่ 1	353,282.70 บาท
งวดที่ 2 (ครั้งที่ 1)	104,131.52 บาท	10/2/2555	งวดที่ 2	378,717.30 บาท
งวดที่ 2 (ครั้งที่ 2)	104,131.52 บาท	3/8/2555	งวดที่ 3	บาท
งวดที่ 3	บาท		งวดพิเศษ	บาท
งวดพิเศษ	บาท			
ดอกเบี้ย ครั้งที่ 1	1,736.96 บาท			
ดอกเบี้ย ครั้งที่ 2	241.28 บาท			
ดอกเบี้ย ครั้งที่ 3	36.91 บาท			
รวมเงินที่ได้รับ ^(A)	732,278.19 บาท		รวมรายจ่าย ^(B)	732,000.00 บาท
คงเหลือเงินในบัญชีโครงการ (รวม ^(A) -รวม ^(B))	บาท			278.19 บาท

สรุปค่าใช้จ่ายโครงการน้ำทับทิมอย่างละเอียด

1. หมวดค่าตอบแทน	135,000.00
รวม	<u>135,000.00</u>
2. ค่าจ้าง	
2.1 ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย ป.ตรี	25,000.00
2.2 ค่าจ้างวิเคราะห์	17,130.00
2.3 ค่าจ้างพยาบาล	18,200.00
2.4 ค่าจ้างเจ้าหน้าที่	39,800.00
2.5 ค่าอาสาสมัครร่วมวิจัย	44,250.00
รวม	<u>144,380.00</u>
3. หมวดค่าใช้จ่าย	
3.1 ค่าอาหาร	16,000.00
3.2 ค่าพาหนะรับ-ส่ง อาสาสมัคร	6,400.00
3.3 ค่าที่พักอาสาสมัคร	5,650.00
3.4 ค่าตรวจวิเคราะห์	243,810.00
3.5 ค่าใช้สอยอื่น (ค่าโทรศัพท์ ค่าถ่ายเอกสาร)	2,041.69
รวม	<u>273,901.69</u>
4. หมวดค่าวัสดุ	178,718.31
รวม	<u>178,718.31</u>
รวมค่าใช้จ่ายทั้งสิ้น	<u>732,000.00</u>

ภาคผนวกที่ 8

เอกสารอ้างอิง

1. Lindholm A, Henricsson S. Verapamil inhibits cyclosporin metabolism (letter). *Lancet*. 1987;1:1962.
2. Maggio TG, Bartels DW. Increased cyclosporine blood concentrations due to verapamil administration. *Drug Intell Clin Pharm*. 1988;22:705-7.
3. Mamprin F, Mullins P, Graham T, Kendall S, Biocine B, Large S, et al. Amiodarone-cyclosporine interaction in cardiac transplantation. *Am Heart J*. 1992;123:1725-6.
4. Ducharme MP, Warbasse LH, Edwards DJ. Disposition of intravenous and oral cyclosporine after administration with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther*. 1995;57(5):485-91.
5. Yee GC, Stanley DL, Pessa LJ, Costa TD, Beltz SE, Ruiz J, et al. Effect of grapefruit juice on blood cyclosporin concentration. *The Lancet*. 1995;345(8955):955-6.
6. Edwards DJ, Fitzsimmons ME, Schuetz EG, Yasuda K, Ducharme MP, Warbasse LH, et al. 6',7'-dihydroxybergamottin in grapefruit juice and seville orange juice: effects on cyclosporine disposition, enterocyte CYP3A4, and p-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther*. 1999;65:237-44.
7. Bistrup C, Nielsen FT, Jeppesen UE, Dieperink H. Effect of grapefruit juice on Sandimmun Neoral(R) absorption among stable renal allograft recipients. *Nephrol Dial Transplant*. 2001 February 1, 2001;16(2):373-7.
8. Miniscalco A, Lundahl J, Regårdh CG, Edgar B, Eriksson UG. Inhibition of dihydropyridine metabolism in rat and human liver microsomes by flavonoids found in grapefruit juice. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992;261(3):1195-9.
9. Hidaka M, Okumura M, Fujita K, Ogikubo T, Yamasaki K, Iwakiri T, et al. Effects of pomegranate juice on human cytochrome p450 3A (CYP3A) and carbamazepine pharmacokinetics in rats. *Drug Metab Dispos*. 2005 May;33(5):644-8.
10. Paine MF, Oberlies NH. Clinical relevance of the small intestine as an organ of drug elimination: drug-fruit juice interactions. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2007;3(1):67-80.
11. Farkas D, Oleson LE, Zhao Y, Harmatz JS, Zinny MA, Court MH, et al. Pomegranate Juice Does Not Impair Clearance of Oral or Intravenous Midazolam, a Probe for Cytochrome P450-3A Activity: Comparison With Grapefruit Juice. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2007 March 1, 2007;47(3):286-94.
12. FDA. Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products—general considerations, Guidance for Industry. Rockville, MD: Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER); March, 2003.
13. European_Medicines_Agency. CHMP guideline on the investigation of bioequivalence2011: Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002963.pdf
14. Shravan Kumar Y, Adukondalu D, Bhargavi Latha A, Vamshi Vishnu Y, Ramesh G, Shiva Kumar R, et al. Effect of pomegranate pretreatment on the oral bioavailability of buspirone in male albino rabbits. *Daru*. 2011;19(4):266-9.
15. Voruganti S, Yamsani SK, Ravula SK, Gannu R, Yamsani MR. Effect of Pomegranate Juice on Intestinal Transport and Pharmacokinetics of Nitrendipine in Rats. *Phytotherapy Research*. 2012;26(8):1240-5.

Phytotherapy Research

16. Misaka S, Nakamura R, Uchida S, Takeuchi K, Takahashi N, Inui N, et al. Effect of 2 Weeks' Consumption of Pomegranate Juice on the Pharmacokinetics of a Single Dose of Midazolam: An Open-Label, Randomized, Single-Center, 2-Period Crossover Study in Healthy Japanese Volunteers. *Clinical Therapeutics*. 2011;33(2):246-52.

17. Yeo C, Shon J, Liu K, Lee D, Yoon Y, Shin J. PI-63. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;79(2):P23-P.

18. Borochoy-Neori H, Judeinstein S, Harari M, Bar-Ya'akov I, Patil BS, Lurie S, et al. Climate effects on anthocyanin accumulation and composition in the pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit arils. *J Agric Food Chem*. 2011 May 25;59(10):5325-34.

19. Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem*. 2000 Oct;48(10):4581-9.

20. Thummel KE, Wilkinson GR. In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1998;38:389-430.

21. Eagling VA, Tjia JF, Back DJ. Differential selectivity of cytochrome P450 inhibitors against probe substrates in human and rat liver microsomes. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1998;45(2):107-14.

22. Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 Single Nucleotide Polymorphisms on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Calcineurin Inhibitors: Part I.

22.9 *Clinical Pharmacokinetics*. 2010;49(3):141-75 10.2165/11317350-000000000-00000.

23.9 Quinney S, Malireddy S, Vuppalanchi R, Hamman M, Chalasani N, Gorski J, et al. Rate of onset of inhibition of gut-wall and hepatic CYP3A by clarithromycin. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2012:1-10.

24. Wu C-Y, Benet LZ, Hebert MF, Gupta SK, Rowland M, Gomez DY, et al. Differentiation of absorption and first-pass gut and hepatic metabolism in humans: Studies with cyclosporine[ast]. *Clin Pharmacol Ther*. 1995;58(5):492-7.