

เภสัชจลนศาสตร์ของเคอร์คูมินในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี  
เมื่อรับประทานยาเม็ดสารสกัดขมิ้นชันหลายครั้งติดต่อกัน

นางสาวสินีนาง ศรีพานิชกิจ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชเคมี ภาควิชาเภสัชเคมี

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ISBN 974-14-2978-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PHARMACOKINETICS OF CURCUMIN IN THAI HEALTHY VOLUNTEERS  
FOLLOWING MULTIPLE ADMINISTRATION OF CURCUMINOIDS TABLETS

Miss Sineenart Sriphanichakit

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Pharmaceutical Chemistry  
Department of Pharmaceutical Chemistry  
Faculty of Pharmaceutical Sciences Chulalongkorn University  
Academic year 2006  
ISBN 974-14-2978-9  
Copyright of Chulalongkorn University

490140

Thesis Title PHARMACOKINETICS OF CURCUMIN IN THAI HEALTHY VOLUNTEERS  
FOLLOWING MULTIPLE ADMINISTRATION OF CURCUMINOIDS TABLETS  
By Miss Sineenart Sriphanichakit  
Field study Pharmaceutical Chemistry  
Thesis Advisor Associate Professor Phensri Thongnopnua, Ph.D.

---

Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University in  
Partial Fulfillment of the Requirements for the Master ' s Degree

*Pornpen Pramyoiti* .....Dean of the Faculty of  
Pharmaceutical Sciences  
(Associate Professor Pornpen Pramyoiti, Ph.D.)

Thesis committee

*Usa Glagasigij* .....Chairman  
(Assistant Professors Usa Glagasigij, Ph.D.)

*Phensri Thongnopnua* .....Thesis Advisor  
(Associate Professor Phensri Thongnopnua, Ph.D.)

*Somkiat Rujirawat* .....Member  
(Assistant Professor Somkiat Rujirawat)

*Pol. Lt. Col. Somsong Lawanprasert* .....Member  
(Associate Professor Pol.Lt.Col. Somsong Lawanprasert, Ph.D.)

สินีนางู ศรีพานิชกิจ :เภสัชจลนศาสตร์ของเคอร์คูมินในอาสาสมัครไทยสุขภาพดี เมื่อรับประทานยาเม็ดสารสกัดขมิ้นชันหลายครั้งติดต่อกัน.. (PHARMACOKINETICS OF CURCUMIN IN THAI HEALTHY VOLUNTEERS FOLLOWING MULTIPLE ADMINISTRATION OF CURCUMINOIDS TABLETS)

อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร. เพ็ญศรี ทองนพเนื้อ, 79 หน้า. ISBN 974-14-2978-9.

การบริโภคเคอร์คูมินโดยปราศจากค่าเภสัชจลนศาสตร์ในคนไทย ทำให้เกิดการศึกษานี้ขึ้นเพื่อหาค่าเภสัชจลนศาสตร์ในคนไทย อาสาสมัครชายไทย 12 คน รับประทานยาเม็ดสารสกัดขมิ้นชัน 6 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 8 วัน เก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครในวันที่ 1, 7 และ 8 และทำการปั่นแยกทันที นำพลาสมาที่แยกได้เก็บในตู้แช่แข็ง เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟีที่ได้ยืนยันความถูกต้องแล้ว ใช้เอทิลอะซิเตตเป็นสารสกัด โมบายเฟส ประกอบด้วยอะซิโตนไนโตรสและเมทานอลในกรดอะซิติก มีอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที วัดปริมาณที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร และมีกรดเมฟีนามิกเป็นสารมาตรฐานภายในที่ความยาวคลื่น 282 นาโนเมตร วิธีนี้สามารถวิเคราะห์เคอร์คูมินในช่วง 0.01-1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ทั้งภายในวันเดียวกันและต่างวันกันในค่าของ %bias และ %RSD มีค่าน้อยกว่า 5% และ 11% ตามลำดับ วิธีวิเคราะห์มีความจำเพาะเจาะจงไม่ถูกรบกวนด้วยสารอื่นในร่างกาย จากการติดตามการให้ยาเม็ดสารสกัดขมิ้นชันครบ 8 วัน ไม่พบผลข้างเคียงแต่อย่างใดกับอาสาสมัคร เส้นกราฟของความเข้มข้นของเคอร์คูมินจากอาสาสมัครที่เวลาต่างๆ ทั้ง 3 วัน คล้ายกัน ไม่เกิดการสะสมของเคอร์คูมินในร่างกาย ค่าเวลาที่ความเข้มข้นสูงสุดของเคอร์คูมิน ค่าความเข้มข้นของเคอร์คูมินสูงสุด พื้นที่ใต้กราฟ ค่าครึ่งชีวิต ค่าปริมาตรของการกระจายที่สถานะคงตัว และค่าการชำระยา ระหว่างวันที่ 1, 7 และ 8 ของการศึกษาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ค่าความเข้มข้นเฉลี่ยที่สถานะคงตัวเท่ากับ 13 นาโนโมลาร์ ค่าเภสัชจลนศาสตร์ของเคอร์คูมินในคนไทยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% มีดังนี้ เวลาที่ความเข้มข้นของยาสูงสุด 2.46 – 5.51 ชั่วโมง ค่าความเข้มข้นของยาสูงสุด 48.37 – 62.40 นาโนโมลาร์ พื้นที่ใต้กราฟ 287.0 – 318.1 นาโนโมลาร์ชั่วโมง ค่าปริมาตรของการกระจายที่สถานะคงตัว 347 – 392 ลิตร และค่าการชำระยา 51.80 – 58.00 ลิตรต่อชั่วโมง ในการศึกษาที่พบพีคของเมตาบอลิต์ซึ่งน่าสนใจทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ต่อไปในอนาคต

ภาควิชา เภสัชเคมี  
สาขาวิชา เภสัชเคมี  
ปีการศึกษา 2549

ลายมือชื่อนิสิต.....สินีนางู ศรีพานิชกิจ  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....เพ็ญศรี ทองนพเนื้อ  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาพร้อม.....

# #4776610133 : MAJOR PHARMACEUTICAL CHEMISTRY

KEY WORD: METHOD DEVELOPMENT / PHARMACOKINETIC PARAMETERS / CURCUMIN / HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

SINEENART SRIPHANICHAKIT: PHARMACOKINETICS OF CURCUMIN IN THAI HEALTHY VOLUNTEERS FOLLOWING MULTIPLE ADMINISTRATION OF CURCUMINOIDS TABLETS.

THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. PHENSRI THONGNOPNUA, Ph.D., 79 pp. ISBN 974-14-2978-9.

Curcumin is daily consumed without any pharmacokinetic evidence in Thais. This study was set up for determining the pharmacokinetic of curcumin in Thai following multiple dosing. Twelve Thai healthy male volunteers were administered curcuminoids tablets 6 grams/day for 8 days. Blood samples were collected on the first, seventh and eighth days, immediately centrifuged and plasma separated was kept frozen for subsequent curcumin analysis, utilized the validated HPLC method. Ethyl acetate was used as an extracting solvent. The extracted curcumin was detected through the C-18 column passing with acetonitrile and methanol in acetic acid as mobile phase. Curcumin was quantitated at 420 nm and having mefenamic acid as an internal standard (IS) detected at 282 nm. The concentrations of curcumin were linear related to response in the range of 0.01-1.0  $\mu\text{g/ml}$ . The intra-day and inter-day accuracy and precision in term of %bias and %RSD were less than 5% and 11% , respectively. No endogenous interference was detected, indicating the specificity of the method. Following curcuminoids administration up to eight day, no any adverse reaction was observed in any subject. The pattern of concentration-time profiles of each subject in three different days were quite similar, implying no accumulation. There were no significant difference of the  $T_{\text{max}}$ ,  $C_{\text{max}}$ , AUC,  $t_{1/2}$ ,  $V_{\text{ss}}$  and CL values between the first, seventh and eighth day with p-value > 0.05. The mean steady state concentration of curcumin was determined to be 13 nM. At 95% confidence interval, the pharmacokinetic parameters of curcumin in Thais were determined such that the  $C_{\text{max}}$  and  $T_{\text{max}}$  values were 48.37 – 62.40 nM and 2.46 – 5.51 h, respectively; the AUC,  $V_{\text{ss}}$  and CL values were 287.0 – 318.1 nM.hr, 347 – 392 L and 51.80 – 58.00 L/h, respectively. Due to the observation of metabolite peak, the pharmacokinetics of metabolites would then be suggested for further study.

Department Pharmaceutical chemistry

Field of Study Pharmaceutical chemistry

Academic Year 2006

Student's Signature.....

Advisor's Signature.....

Co-advisor's Signature.....

*Sineenart Sriphanichakit*

*Phensri Thongnopnu*

## ACKNOWLEDGEMENTS

My sincere gratitude is expressed to my Thesis advisor, Associate Professor Dr. Phensri Thongnopnua, for, particularly, to lighten me how the sequence of study and thought are, and for her attentive, generosity, continual guidance, understanding and encouragement throughout the course of my graduate study.

I would like to explicit my appreciation to the Plasma Division, Thai Red Cross Soceity, Thailand for generously supporting human plasma.

A special thanks are given to the Government of Pharmaceutical Organization and the Graduate School of Chulalongkorn University for partial financial support.

I would like to explicit my appreciation to the members of thesis committee for their valuable suggestion and discussion.

Thankful expression is also extended to all staffs of the Department of Pharmaceutical Chemistry for their cooperation and helpfulness.

I would also appreciate my colleague, for their helpfulness throughout my graduate study.

Thankful expression is extended to all friends and colleagues at the Government Pharmaceutical Organization for their understanding and supporting.

Finally, I would like to express my deeply gratitude to my beloved parents, my grandparents and my brother for their endless love, understanding, supporting, encouragement and so on throughout my whole life.

# CONTENTS

	Page
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	x
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xi
CHAPTER	
I    INTRODUCTION.....	1
- Objectives of the study.....	7
- The significance of this study.....	7
II   MATERIALS AND METHODS.....	8
- Chemical reagents and apparatus.....	8
- Methods.....	11
- To set up the analytical method for determining curcumin in human plasma by HPLC.....	11
- To perform the bioanalytical method validation.....	15
- To determine the content of curcumin in curcuminoids tablets.....	20
- Pharmacokinetic study of curcumin in Thai healthy volunteers.....	22
III  RESULT AND DISCUSSION.....	25
IV  CONCLUSION.....	57
REFERENCES.....	58
APPENDICES.....	65
VITA.....	79

## LIST OF TABLES

Table No.	Page
1. Physicochemical properties of screening compounds as internal standard .....	14
2. The stability study for curcumin in plasma sample.....	19
3. The stability study for in-processed analyte in the auto sampler.....	19
4. Extraction efficiency of curcuminoids at different extraction time.....	27
5. The retention time of studied compounds under curcumin HPLC condition.....	27
6. Reproducibility of curcumin calibration curve.....	30
7. The intra-day accuracy of analysis of curcumin in spiked plasma.....	32
8. The intra-day precision of analysis of curcuminoids in spiked plasma.....	32
9. The inter-day accuracy of analysis of curcumin in spiked plasma.....	33
10. The inter-day precision of analysis of curcumin in spiked plasma.....	33
11. The limit of quantitation (LOQ) for curcumin in spiked plasma.....	35
12. Stability of curcumin 0.04 µg/ml in plasma at room temperature (23±2 °C).....	38
13. Stability of curcumin 0.08 µg/ml in plasma at room temperature (23±2 °C).....	38
14. Stability of curcumin 0.04 µg/ml in plasma stored at -47±1 °C.....	39
15. Stability of curcumin 0.08 µg/ml in plasma stored at -47±1 °C.....	39
16. Stability of curcumin 0.04 µg/ml in plasma under the freeze-thaw cycle.....	40
17. Stability of curcumin 0.08 µg/ml in plasma under the freeze-thaw cycle.....	40
18. Stability of curcumin 0.04 µg/ml in-processed analyte in the autosampler (4 °C).....	42
19. Stability of curcumin 0.08 µg/ml in-processed analyte in the autosampler (4 °C).....	42
20. Stability of stock standard methanolic curcumin or IS solution stored at -18±2 °C.....	43
21. Weight of curcuminoids tablets.....	45
22. Content of curcumin in tablets.....	45



## LIST OF TABLES (CON.)

Table No.	Page
23. Physical characters of 12 volunteers.....	47
24. The $T_{max}$ and $C_{max}$ values of plasma curcumin among three days.....	52
25 The $AUC_{0 \rightarrow \alpha}$ , $MRT_{0 \rightarrow \alpha}$ and $t_{1/2}$ values of curcumin in among three days.....	53
26. The $V_{ss}$ , $Cl / F$ and $C_{ss,av}$ values of curcumin in among three days.....	54
27. Pharmacokinetic parameters of curcumin in Thai subjects at 95% confidence interval.....	55

## LIST OF FIGURES

Figure No.	Page
1. Curcuminoids chemical structure .....	2
2. Tautomerism of curcumin under physiological conditions.....	3
3. UV spectrum of methanolic curcuminoids solution.....	25
4. Chromatograms of curcuminoids and mefenamic acid.....	29
5. Chromatograms of curcuminoids from standard plasma spiked with curcuminoids 0.80 µg/ml at different extraction time.....	30
6. The represent calibration curve of curcumin.....	31
7. Chromatograms of curcuminoids and IS.....	36
8. Chromatograms of curcuminoids tablets and tumeric extracted powder.....	47
9. Mean concentration – time profiles of subject following the first, seventh and eighth day of oral administration of curcuminoids tablets.....	50

## LIST OF ABBREVIATIONS

%	percent
$\mu\text{g}$	microgram
$\mu\text{l}$	microlitter
$^{\circ}\text{C}$	degree Celsius
conc	concentration
g	gram
hrs	hour
IS	internal standard
LOQ	limit of quantification
mg	milligram
min	minute
ml	milliliter
nm	nanometer
nM	nanomolar
PA	peak area
PAR	peak area ratio
$R^2$	coefficient of determination
RSD	relative standard deviation
SD	standard deviation
SE	standard error
UV	ultraviolet
$T_{\text{max}}$	time to reach maximum observed concentration
$C_{\text{max}}$	maximum observed concentration
AUC	area under the concentration-time curve
$t_{1/2}$	eliminating half-life
R	Accumulation index
$C_{\text{ss,av}}$	average steady state concentration
$V_{\text{ss}}$	volume distribution at steady state
Cl	clearance

## LIST OF ABBREVIATIONS (CON.)

$AUC_{0-\infty}$	AUC extrapolated to infinity
AUMC	Area under the moment curve
$AUMC_{0-\infty}$	AUMC extrapolated to infinity
MRT	Mean residence time