

ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของตำรับยาอาโปธาตุตำรับที่ 21 ในตำรับโอสถพระนารายณ์เพื่อใช้รักษาโรคติดเชื้อ ทางเดินอาหาร

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อทางเดินอาหารหรือโรคอุจจาระร่วงเกิดจากสาเหตุหลักคือเชื้อจุลินทรีย์เช่น เชื้อแบคทีเรีย หรือ เชื้อไวรัส การรักษาโรคอุจจาระร่วงในทางการแพทย์แผนปัจจุบัน ผู้ป่วยจะได้รับเกลือแร่เพื่อรับประทานสำหรับช่วยลดอาการสูญเสียน้ำ หรือในบางรายที่มีอาการรุนแรงผู้ป่วยจะได้รับยาปฏิชีวนะ การได้รับยาปฏิชีวนะนี้หากใช้ไม่ถูกวิธีจะส่งผลให้เกิดเชื้อดื้อยาในเวลาต่อมา ในปัจจุบันนักวิจัยจึงมีการศึกษาค้นคว้าหาสารชนิดใหม่ที่ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อเพื่อใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ โดยเฉพาะการใช้ยาจากสมุนไพรหรือการใช้องค์ความรู้ของแพทย์ทางเลือกเพื่อช่วยในการรักษา ตำรับยาอาโปธาตุตำรับที่ 21 เป็นตำรับยาในตำราโอสถพระนารายณ์ที่ช่วยรักษาอาการตกมูก ตกหนัก โดยตำรับยาดังกล่าวประกอบด้วยสมุนไพร 2 ชนิดคือแก่นฝางและเปลือกมะขามป้อมนำมาต้มน้ำให้ผู้ป่วยรับประทาน แต่อย่างไรก็ตามตำรับยาดังกล่าวยังไม่เคยมีรายงานทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับสรรพคุณของตำรับมาก่อน ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้คือเพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคท้องเสีย องค์ประกอบทางเคมี การศึกษาความคงตัวและการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารสกัดตำรับยาอาโปธาตุเพื่อใช้รักษาโรคติดเชื้อทางเดินอาหาร สมุนไพรในตำรับได้แก่เปลือกมะขามป้อมและแก่นฝางจะถูกนำมาตากแห้ง บดผงและชั่งน้ำหนักตามที่ระบุในตำราโอสถพระนารายณ์คืออัตราส่วน 1:1 และนำมาสกัดด้วยการต้มน้ำ นอกจากนั้นตำรับยาดังกล่าวจะถูกนำมาสกัดด้วยการแช่ในเอทานอล 95% เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารที่มีขั้วต่ำถึงขั้วปานกลางที่เป็นองค์ประกอบหลักของสารสกัดชั้นเอทานอล เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงจำนวน 8 ชนิดคือ *Staphylococcus aureus*, methicillin resistance *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella Typhi*, *Salmonella Typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Candida albicans* ผลที่ได้พบว่าสารสกัดชั้นน้ำของตำรับยาอาโปธาตุมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อดีกว่าสารสกัดชั้นเอทานอล โดยสารสกัดชั้นน้ำสามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 8 ชนิดได้โดยมีค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.313-1.25 mg/mL กลไกการฆ่าเชื้อของสารสกัดชั้นน้ำของตำรับยาอาโปธาตุมีการออกฤทธิ์เป็นแบบ bactericidal สารสกัดดังกล่าวประกอบด้วยสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ brazilin โดยมีปริมาณเท่ากับ 5.19% w/w นอกเหนือจากนั้นยังพบสาร gallic acid เป็นองค์ประกอบโดยมีปริมาณเท่ากับ 0.73% w/w ในส่วนของการศึกษาความคงตัวของสารสกัดพบว่าสารสกัดดังกล่าวมีความคงตัวเมื่อทดสอบภายใต้สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 5\%$ เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 6 เดือนพบว่าสารสกัดชั้นน้ำของตำรับยาอาโปธาตุมีความคงตัวโดยมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อและสารสำคัญคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง สารสกัดชั้นน้ำของตำรับยาอาโปธาตุถูกนำมาทดสอบก่อนการตั้งตำรับโดยทำการทดสอบความ

ตัวที่สภาวะกรด ต่าง ออกซิเดชัน และอนุมูลสูง ผลที่ได้พบว่าสารสกัดดังกล่าวไม่คงตัวที่สภาวะกรดและต่าง
ดังนั้นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ควรหลีกเลี่ยงไม่ให้สารสกัดสัมผัสกับสารที่เป็นกรดหรือด่างสูงเพื่อป้องกันการ
สลายตัวของสารสำคัญที่มีในสารสกัด ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สารสกัดเข้มข้นของตำรับอาโปธาตุถูกพัฒนาให้อยู่ใน
รูปของยาเม็ดเพื่อสะดวกในการกำหนดขนาดและการรับประทาน ยาเม็ดดังกล่าวจะถูกพัฒนาเป็นยาเม็ดที่มี
น้ำหนัก 500 mgต่อเม็ดและมีสารสกัดบรรจุอยู่ในปริมาณ 125 mg ต่อยา 1 เม็ด จากการศึกษาความคงตัวของ
ยาเม็ดพบว่ายาเม็ดดังกล่าวมีความตัวของฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแต่ปริมาณสารสำคัญในยาเม็ดพบว่าการ
เปลี่ยนแปลงไปซึ่งอาจเกิดจากการสลายตัวหรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ brazilin และ gallic acid ไปเป็น
สารชนิดอื่นที่ยังคงออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อจึงส่งผลให้ยายังมีฤทธิ์คงเดิม แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาประสิทธิผลของยาและ
การศึกษาความเป็นพิษในสัตว์ทดลองควรดำเนินการเพื่อศึกษาผลข้างเคียงของยาเม็ดจากสารสกัดตำรับอาโปธาตุ
ต่อไปในอนาคต



Antibacterial activity of the 21st formula of the A-Po-That remedy in the Osod--Phranarai scripture for gastrointestinal infection treatment

Abstract

The main cause of infection diarrhea is pathogen such as bacteria or virus. Infection diarrhea can be treated by oral dehydration salts solution or antibiotic for severe case. The overuse and misuse of antibiotics contribute to promote of antibiotic resistance. Currently, many researchers focus to replace antibiotic with new antimicrobial drugs, especially herbal medicines or alternative medicine. The 21st Apo-taat is in the Osod-Phra-Narai scripture to use for treatment of diarrhea. It consists of two ingredients, included heartwood of *Caesalpinia sappan* and bark of *Phyllanthus emblica*, and boiling with water for oral use in patients. However, there has no scientific reports of efficacy and antimicrobial effect of Apo-taat remedy. Thus, the objectives of this study were to investigated antimicrobial activity, chemical constituents, stability testing and product development of Apo-taat extract to treat infectious diarrhea. Plant ingredients of Apo-taat remedy, including heartwoods of *C. sappan* and barks of *P. emblica*, were dried, ground into powder, mixed in 1:1 ratio and boiled with water. Moreover, the powder drug of Apo-taat remedy was extracted by maceration in 95% ethanol to confirmed the antimicrobial effect of low and medium polarity of chemical constituents in the ethanolic extract. Eight testing microorganisms were *Staphylococcus aureus*, methicillin resistance *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella Typhi*, *Salmonella Typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* that were associated with diarrhea. The results showed that the water extract of Apo-taat remedy had higher antimicrobial effect that the ethanolic extract with MIC ranges of 0.313-1.25 mg/mL. The water extract of Apo-taat remedy exhibited bactericidal effect. Its main chemical constituent was brazilin with the brazilin content of 5.19% w/w. Moreover, gallic acid was detected with 0.73% w/w in the water extract. For stability testing, the water extract of Apo-taat remedy was stable under accelerated condition with $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ and $75 \pm 5\%$ humidity for 6 months and no change of the antimicrobial effect and chemical content. The water extract of Apo-taat was performed pre-formulation study into four conditions such as acid hydrolysis, alkaline hydrolysis, oxidative degradation and thermal degradation. These results showed that the water extract of Apo-taat

was unstable under acid and alkaline hydrolysis, so the acid and alkaline condition should be avoided for product development of Apo-taat extract. In this study, the water extract of Apo-taat was developed to tablet for an accurately measured dosage of the active ingredient and convenience to use. A 500 mg of Apo-taat tablet contained 125 mg of Apo-taat extract. The stability of Apo-taat tablet showed that the antibacterial of Apo-taat table was stable, but chemical constituents of Apo-taat tablet has changed. It may cause of the degradation and changes in structural conformation of brazilin and gallic acid to other chemical compounds that still show antibacterial activity. However, the efficacy study and toxicity in animal should be performed to evaluate side effect of Apo-taat tablet in the future.

