

ชื่อโครงการ “การพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรแผนปัจจุบันอายุวัฒนะและเสริมภูมิคุ้มกัน
จากฐานข้อมูลตำรายาสมุนไพรของประเทศไทย มโนสร้อย 3”

ศ. ดร. ภก. จีระเดช มโนสร้อยและคณะ

9 ตุลาคม 2561

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้ได้นำองค์ความรู้ตามภูมิปัญญาพื้นบ้านจากฐานข้อมูล “มโนสร้อย 3” ที่เกี่ยวข้องกับอายุวัฒนะและเสริมภูมิคุ้มกันมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรแผนปัจจุบัน โดยใช้คำสำคัญในการสืบค้นหาคำรับคือ “อายุวัฒนะ” “อ่อนเพลีย” “บำรุงร่างกาย” และ “บำรุงกำลัง” และพิจารณาคำเสริมอื่นๆที่เกี่ยวข้อง เช่น “ร่างกายแข็งแรง” “ทำให้มีแรง” และ “รักษาโรคภัยไข้เจ็บ” เป็นต้น พบจำนวนทั้งสิ้น 309 คำรับและคัดเลือกมาเตรียมสารสกัด 36 ตัวอย่าง ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการชะลอวัยของสารสกัดตำรับยาสมุนไพรที่คัดเลือกมา ซึ่งได้แก่ ฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ telomerase ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่า สารสกัด IM2-03N สามารถกระตุ้นเอนไซม์ telomerase สูงสุดได้ 114.96% ของกลุ่มควบคุม สารสกัด LG-03C มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันสูงสุดโดยมีฤทธิ์ใกล้เคียงกับ lipopolysaccharide (LPS; positive control) คิดเป็น 1.01 เท่าของ LPS และสามารถกระตุ้นการสร้างไนตริกออกไซด์ในเซลล์เพาะเลี้ยง macrophage ได้สูงสุด $32.46 \pm 3.28\%$ คิดเป็น 1.37 เท่าของ LPS สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุดคือ สารสกัด LGIM-05C ซึ่งมีค่า SC_{50} เท่ากับ 0.05 ± 0.00 mg/ml คิดเป็น 2.8 เท่าของวิตามินซี สารสกัด LG-04N และ LG-05C ซึ่งมีค่า IPC_{50} เท่ากันคือ 0.02 ± 0.00 mg/ml คิดเป็น 3.5 เท่าของวิตามินซีและสารสกัด IM2-03N ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.004 ± 0.000 mg/ml คิดเป็น 5 เท่าของกรดโคจิก ตามลำดับ จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพได้คัดเลือกสารสกัดจากตำรับสมุนไพรทั้งหมด 8 ตำรับไปเตรียมเป็นสารสกัดแบบผสม (cocktails) แบบจับคู่ได้ทั้งหมด 28 ตัวอย่างแล้วทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอีกครั้ง พบว่าสารสกัดแบบผสม LGCT17 มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ telomerase สูงสุดเท่ากับ 108.23% ของกลุ่มควบคุม สารสกัดแบบผสมที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวสูงสุด คือ สารสกัด LGCT11 ซึ่งมีค่า SC_{50} เท่ากับ 0.44 ± 0.02 mg/ml และ LGCT27 ซึ่งมีค่า IPC_{50} เท่ากับ 0.01 ± 0.00 mg/ml คิดเป็น 0.14 และ 5 เท่าของวิตามินซี ตามลำดับ สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุดคือ สารสกัด LGCT15 ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.02 ± 0.00 mg/ml คิดเป็น 0.5 เท่าของกรดโคจิก เมื่อทดสอบฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน พบว่าสารสกัด LGCT04 สามารถกระตุ้นการเกิด phagocytosis สูงสุดเท่ากับ $62.80 \pm 2.88\%$ เมื่อทดสอบด้วยวิธี NBT (0.81 เท่าของ LPS) และสารสกัด LGCT13 สามารถกระตุ้นการสร้างไนตริกออกไซด์ได้สูงสุดเท่ากับ $207.99 \pm 12.60\%$ เมื่อทดสอบในเซลล์เพาะเลี้ยง macrophage (7.31 เท่าของ LPS) สามารถคัดเลือกตำรับเดี่ยวที่มีฤทธิ์ชะลอวัยสูงสุด 1 ตำรับ (พิจารณาจากฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ telomerase ฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส) คือ LG-10C ตำรับเดี่ยวที่มีฤทธิ์เสริมภูมิคุ้มกันสูงสุด 1 ตำรับ (พิจารณาจากฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันและฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน) คือ IM1-02NE และตำรับแบบผสมที่มีฤทธิ์ทั้งสองสูงสุดอีก 1 ตำรับ คือ LGCT17 ทั้ง 3 ตำรับมีความปลอดภัยในระดับสูง โดยขนาดที่ทำให้หนูตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) มีค่ามากกว่า 5,000 mg/kg body weight ทั้งนี้ ได้คัดเลือกสารสกัด LG-10C ซึ่งเป็นสารสกัดที่มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์เทโลเมอเรสสูงสุดและประกอบด้วยสมุนไพรจำนวน 5 ตัวและมีความปลอดภัยเมื่อทดสอบความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรัง ไปเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรแผนปัจจุบันในรูปแบบแคปซูล แคปซูลที่พัฒนาได้มีความผันแปรของน้ำหนักและระยะเวลาการแตกตัวผ่านเกณฑ์ที่กำหนด มีความคงตัวทางกายภาพและเคมีเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ (4 ± 2 , 25 ± 2 และ 45 ± 2 °C) นาน 12 สัปดาห์ โดยที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °C มี

*** ลิขสิทธิ์ของกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย

ปริมาณ flavone เหลืออยู่สูงสุดเท่ากับ $90.69 \pm 0.20\%$ ของเวลาเริ่มต้น และมีค่า half life (T_{50}) และ shelf life (T_{90}) เท่ากับ 125 และ 13.75 สัปดาห์ ตามลำดับ สำหรับสารสกัด LG-10C ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (*S. aureus*, *Clostridium* spp., *Salmonella* spp. และ *E. coli*) และผลิตภัณฑ์แกรนูลที่มีส่วนผสมของสารสกัด LG-10C ไม่มีการปนเปื้อนของสารหนู พบการปนเปื้อนของตะกั่วเล็กน้อยแต่มีค่าไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด (< 1 mg/อาหาร 1 kg) สารสกัด LG-10C มีต้นทุนการผลิตราคากิโลกรัมละ 7,109.58 บาท ส่วนต้นทุนการเตรียมผลิตภัณฑ์แคปซูลบรรจุแกรนูลที่มีส่วนผสมของสารสกัดตำรับยาสมุนไพรอายุวัฒนะและเสริมภูมิคุ้มกัน (LG-10C) มีต้นทุนการผลิตเท่ากับแคปซูลละ 2.52 บาท ผลงานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในเชิงพาณิชย์ของตำรับยาสมุนไพรไทยที่คัดเลือกมาในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรแผนปัจจุบันอายุวัฒนะและเสริมภูมิคุ้มกัน



Abstract

This project is the development of longevity and immunomodulatory medicinal plant products from Thai medicinal plant recipe Database “MANOSROI 3”. The 309 recipes were found from the Database by using Thai keywords “Ayu Wattana” “On Plia” “Bamroong Runggai” and “Bamroong Kamlang” and the related words such as “Runggai Kaeng-raeng” “Thamaimree raeng” and “Ruksa Rokphai Khaijep”. The selected recipes were prepared as 36 extracts and investigated for anti-aging biological activities including telomerase stimulation, immunostimulation, antioxidant and tyrosinase inhibition. The IM2-03N gave the highest telomerase stimulation at 114.96% of control. The LG-03C showed the highest immunostimulation [similar to lipopolysaccharide (LPS; positive control) at 1.01 times of LPS] and stimulated of nitric oxide production in macrophage at $32.46 \pm 3.28\%$ (1.37 times of LPS). The extracts which exhibited the highest free radical scavenging, lipid peroxidation inhibition and tyrosinase inhibition were LGIM-05C ($SC_{50} = 0.05 \pm 0.00$ mg/ml), LG-04N and LG-05C ($IPC_{50} = 0.02 \pm 0.00$ mg/ml) and IM2-03N ($IC_{50} = 0.004 \pm 0.000$ mg/ml) which were 2.8 times of ascorbic acid, 3.5 times of ascorbic acid and 5 times of kojic acid, respectively. The 8 medicinal plant recipes were selected to prepare 28 cocktail extract and tested for biological activities. The LGCT17 gave the highest telomerase stimulation at 108.23% of control. The cocktail extracts which exhibited the highest free radical scavenging, lipid peroxidation inhibition and tyrosinase inhibition were LGCT11 ($SC_{50} = 0.44 \pm 0.02$ mg/ml), LGCT27 ($IPC_{50} = 0.01 \pm 0.00$ mg/ml) and LGCT15 ($IC_{50} = 0.02 \pm 0.00$ mg/ml) which were 0.14 time of ascorbic acid, 5 times of ascorbic acid and 0.5 time of kojic acid, respectively. For immunostimulation test, LGCT04 showed the highest phagocytosis at $62.80 \pm 2.88\%$ (0.81 time of LPS) by the NBT assay and the LGCT13 gave the highest stimulation of nitric oxide production in macrophage at $207.99 \pm 12.60\%$ (7.31 times of LPS). The selected recipes including LG-10C from the high potential anti-aging single recipe (based on the telomerase stimulation activity), IM1-02NE from the high potential immunomodulatory single recipe (based on the immunostimulation and antioxidant activities) and LGCT17 from the high potential anti-aging and immunomodulatory cocktail recipe showed no toxicity with the LD_{50} of higher than 5,000 mg/kg BW. The LG-10C which exhibited the highest telomerase stimulation activity, composed of only 5 medicinal plants and showed no sub-chronic toxicity was selected to develop as a capsule product. The developed capsule product of the recipe extract passed the weight variation and disintegration time analysis. The product demonstrated high physico-chemical stability when kept at 4 ± 2 , 25 ± 2 and 45 ± 2 °C for 12 weeks. At 4 ± 2 °C, the remaining amount of flavone containing in product was $90.69 \pm 0.20\%$ of the initial, with the half life (T_{50}) and shelf life (T_{90}) of 125 and 13.75 weeks, respectively. The LG-10C extract was not contaminated with the microorganisms (*S.aureus*, *Clostridium* spp., *Salmonella* spp. and *E.coli*). The granules in the capsule product containing the LG-10C extract was not contaminated with arsenic, with some trace of the lead content ($Pb < 1$ mg/kg) but was still in the Thai FDA acceptable range. The estimated cost of the LG-10C extract was 7,109.58

Baht per kilogram and the capsule containing LG-10C was 2.52 Baht per capsule. The results from this research project indicated the safety and efficacy with high commercial potential of the selected Thai medicinal plant recipes to be developed as a longevity and immunomodulatory medicinal plant product.

