



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

รหัสโครงการ กภท. 8/2565

เรื่อง

“การควบคุมคุณภาพตำรับยาชาและการศึกษาฤทธิ์
ต้านจุลชีพและต้านการอักเสบในหลอดทดลอง
(QUALITY CONTROL OF YA-KAEW FORMULA AND STUDIES OF
ANTIMICROBIAL AND ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS IN VITRO)”

โดย

รองศาสตราจารย์ เกสัชกรหญิง ดร.สรกนก วิมลมังคั่ง และคณะวิจัย
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภายใต้

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก กองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย
กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข

ปี พ.ศ. 2566

บทคัดย่อ

ตำรับยาชาวนเป็นตำรับยาแผนไทยที่ถูกใช้มาอย่างยาวนาน และเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์เพื่อบรรเทาไข้และรักษาอาการแทรกซ้อนที่เกิดจากการติดเชื้อโควิด19 ท่ามกลางความยากลำบากในการพัฒนาวัคซีนที่มีประสิทธิภาพและยังต้องต่อสู้กับการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสอย่างต่อเนื่อง ตำรับยาชาวนมีสมุนไพรเป็นองค์ประกอบมากถึง 14 ชนิด จึงมีความจำเป็นต้องควบคุมคุณภาพการผลิตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรที่มีคุณภาพ และด้วยการที่ตำรับได้ถูกใช้กับผู้ป่วยที่ติดเชื้อโควิด19 และพบว่าสามารถช่วยให้ผู้ป่วยอาการดีขึ้นได้นั้น จึงมีเป็นไปได้ว่าตำรับยานี้อาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในทางเดินหายใจที่เป็นเชื้อฉวยโอกาสในยามที่ร่างกายติดเชื้อไวรัส และอาจมีฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วย ในโครงการนี้จึงได้พัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพของสมุนไพรในตำรับยาชาวนและศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดยาชาวนด้วยเมทานอล, น้ำ, น้ำชาข้าว และน้ำมะนาวในระดับหลอดทดลอง ผลการทดลองพบว่าสารสกัดตำรับยาชาวนด้วยน้ำมะนาวได้ % yield มากที่สุดถึง 44-46 % และสามารถวิเคราะห์ chemical profile ของตำรับยาชาวนที่ประกอบไปด้วยสมุนไพรจำนวนมากด้วยเทคนิค HPTLC 2 ระบบ ได้แก่ ระบบ A (toluene, ethyl acetate, formic acid 70:30:1 v/v) และระบบ G (Hexane, ethyl acetate 2:1 v/v) ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในกระบวนการผลิตได้ สำหรับผลการศึกษการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี TLC-bioautography และ agar disk diffusion พบว่าสารสกัดตำรับยาชาวนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจอย่าง *Klebsiella pneumoniae* และ *Streptococcus pyogenes* ได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกตัวอื่นได้มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมะนาวที่ใช้ในการเตรียมตำรับยา พบว่าสารสกัดตำรับยาชาวนด้วยน้ำมะนาวมีฤทธิ์มากกว่าน้ำมะนาวเพียงลำพัง แสดงให้เห็นถึงการเสริมฤทธิ์กันเมื่อมีการใช้มะนาวเป็นตัวช่วยแขวนลอยตำรับ นอกจากนี้ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบในเซลล์ macrophage ชนิด RAW264.7 cells พบว่าสารสกัดเมทานอล, น้ำ และน้ำมะนาว สามารถยับยั้งการอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงความเข้มข้น 50 – 250 $\mu\text{g/mL}$ ขณะที่สารสกัดน้ำชาข้าวตรวจพบการยับยั้งการสร้าง NO ที่ความเข้มข้น 250 $\mu\text{g/mL}$ เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอักเสบของสมุนไพรส่วนประกอบในตำรับจะพบว่ามีสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์ซึ่งสนับสนุนภาพรวมฤทธิ์ของตำรับด้วย จากข้อมูลด้านฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเหล่านี้ช่วยสนับสนุนการใช้ประโยชน์ของตำรับและอาจนำไปสู่การขยายข้อบ่งใช้ของตำรับได้ในอนาคต

Abstract

Ya-Kaew formula is a Thai traditional medicine formula that has been used for a long time and it is an alternative that has been used to relieve fever and treat complications caused by COVID-19 infection. Amid the difficulties of developing effective vaccines and the ongoing battle against viral mutations. There are as many as 14 types of herbs in the Ya-Kaew formula. Therefore, it is necessary to control the product quality in order to obtain quality herbal medicine products. Moreover, the formula was used with patients infected with COVID-19, and found that it can help patients get better. It is therefore possible that this formulation may inhibit opportunistic respiratory tract bacteria when the body is infected with the virus and may also have anti-inflammatory effects. In this project, a method was developed to determine the quality of medicinal herbs in medicinal herbs and to study the in vitro pharmacological effects of Ya-Kaew formula extracts by methanol, water, rice water, and lemon juice. The results showed that the extraction of the Ya-Kaew formula with lime juice gave the highest yield of 44-46 %. The chemical profile of the formula containing many herbs can be achieved by HPTLC techniques using 2 systems: system A (toluene, ethyl acetate, formic acid 70:30:1 v/v/v) and G systems (Hexane, ethyl acetate 2:1 v/v). They can be used to control product quality in the production process. The results of the study on antibacterial by TLC-bioautography and agar disk diffusion showed that Ya-Kaew formula extracts inhibited respiratory pathogenic bacteria *Klebsiella pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*. However, it was found that it inhibited other gram-positive bacteria better. When compared with the lemon juice used in the preparation of the medicinal formula it was found that the Ya-Kaew formula extract with lemon juice was more effective than lemon juice alone. A synergistic effect was demonstrated when lemon was used as a suspending agent. In addition, the anti-inflammatory activity in RAW264.7 cells showed that the methanol, water, and lemon extract significantly inhibited inflammation in the concentration range of 50 – 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ while the rice water extract was found to inhibit NO production at a concentration of 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. When testing the anti-inflammatory activity of the herbal constituents in the formula, several active herbs were found to support the overall effect of the formula. These pharmacological data support the utilization of the formula and may lead to the expansion of the formula's indications in the future.

หลักการและเหตุผล

ด้วยสถานการณ์ปัจจุบันที่มีการระบาดของโรคโควิด 19 ที่เกิดจากเชื้อไวรัสโคโรนา ซึ่งเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก การค้นหาวิธีการรักษาและป้องกันการติดเชื้อเป็นเรื่องเร่งด่วน ซึ่งแม้ว่าการป้องกันการติดเชื้อด้วยการฉีดวัคซีนจะเป็นความหวังที่ทุกคนรอคอย อย่างไรก็ตามการพัฒนาวัคซีนที่มีประสิทธิภาพใช้เวลานาน อีกทั้งอาจไม่ประสบความสำเร็จ หรือต้องต่อสู้กับการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสอย่างต่อเนื่อง จึงเป็นการยากที่จะป้องกันหรือกำจัดโรคให้หมดไปได้โดยง่าย ทั้งนี้หากมีการติดเชื้อแล้วก็จำเป็นต้องหาทางรักษาในปัจจุบันแนวทางการรักษาด้วยยามีไม่มากนัก เช่น การใช้ยา ฟาวิพิราเวีย ซึ่งมีราคาแพง และยังมีความพยายามค้นหาใหม่อย่างต่อเนื่อง ยาแผนไทยหรือยาสมุนไพร เป็นทางเลือกในการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อบรรเทาใช้และรักษาอาการแทรกซ้อนที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสโคโรนา สายพันธุ์ 19 (COVID-19) ได้รับความสนใจและมีการวิจัยเพื่อนำมาใช้ในการรักษาโรค โดยเฉพาะมีการทดลองใช้ยาจากฟ้าทะลายโจร ซึ่งมีข้อบ่งใช้สำหรับการลดไข้แล้วมาทดสอบกับเชื้อก่อโรคโควิด 19 นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยสารต้านไวรัสจากสมุนไพรกระชายขาวที่ได้รับความสนใจอย่างมาก หากพิจารณาถึงยาตำรับแผนไทยเพื่อรักษาอาการไข้ นั้น ยังมีอีกหลายตำรับด้วยกัน หนึ่งในตำรับที่ได้รับการกล่าวถึงในขณะนี้ คือ ตำรับยาขาว

ยาขาวเป็นตำรับยาที่ถูกบันทึกไว้ในศิลาจารึกในวัดพระเชตุพลวิมลคลาราม (วัดโพธิ์) ประกอบด้วยสมุนไพรจำนวน 14 ชนิด ประกอบด้วย กระเช้าฝีมด หัวคล้า รากทองพันชั่ง รากชา รากง้วนหมู รากส้มเส็ด รากจิงจำ รากสวาด รากสะแก รากมะนาว รากหญ้านาง รากผักข้าว รากผักสาบ รากผักหวานบ้าน ด้วยอัตราส่วนเท่ากันโดยใช้ในรูปแบบผง รับประทานกับน้ำกระสายยา น้ำขาวข้าว มีสรรพคุณบรรเทาไข้ (โรงเรียนแพทย์แผนโบราณ วัดพระเชตุพนฯ (วัดโพธิ์), 2375) รสยา สรรพคุณและข้อบ่งใช้ของสมุนไพรเครื่องยาของตำรับยาขาว พบว่ารากหญ้านางและรากมะนาว เป็นสมุนไพรหลักของยาที่มีข้อบ่งใช้ในการบรรเทาไข้ (ยาสามัญประจำบ้านและยาสมุนไพรจากบัญชียาหลักแห่งชาติ) และยังมีพบสมุนไพรที่มีรสเย็น เม่า เปื่อ และจืด ได้แก่ กระเช้าฝีมด หัวคล้า รากทองพันชั่ง รากสวาด รากผักข้าว รากผักหวานบ้าน รากสะแก บ่งบอกถึงสรรพคุณในการขับปัสสาวะ ดับพิษไข้ แก้กะหายน้ำ ซึ่งให้เห็นว่าตำรับยานี้มีคุณสมบัติในการบรรเทาไข้ กระหายน้ำ

ปัจจุบันมีการศึกษาทางคลินิกเพื่อสนับสนุนประสิทธิผลของตำรับยาขาวในการลดไข้ แต่เนื่องจากสมุนไพรในตำรับยาขาวมีจำนวนมาก การใช้สมุนไพรให้ถูกต้อง ถูกส่วน มีความจำเป็นอย่างยิ่ง ดังนั้นยาขาวและเครื่องยาในตำรับควรมีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพการผลิต อีกทั้งหากสามารถตรวจได้ว่ามีสารออกฤทธิ์ของสมุนไพรแต่ละชนิดที่สนับสนุนประสิทธิผลทางคลินิกของตำรับ จะทำให้สร้างความน่าเชื่อถือในผลิตภัณฑ์มากขึ้นด้วย ในโครงการนี้ผู้วิจัยจึงเสนอโครงการวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพของสมุนไพรในตำรับและศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของตำรับยาในระดับหลอดทดลอง เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนในการนำไปประยุกต์ใช้บรรเทาอาการไข้และลดอาการข้างเคียงจากการติดเชื้อ

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

สมมติฐาน

1. ระบบการวิเคราะห์ตำรับยาชาด้วย HPTLC ที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้ในการควบคุมคุณภาพตำรับได้
2. ตำรับยาชาที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบและต้านเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลอง

