

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพเพื่อรักษาโรคติดเชื้อและเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย โครงการวิจัยแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ

โครงการส่วนที่1: เป็นส่วนที่ศึกษาถึงความเป็นไปได้ที่จะปลูกพืชสมุนไพรเอ็คโคนาเซียในเขตภาคเหนือของประเทศไทย การตรวจสอบความแปรปรวนขององค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดส่วนที่สกัดได้จากตัวทำละลายไม่มีขั้ว (lipophilic constituents) โดยวิธี Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) และส่วนที่สกัดได้จากตัวทำละลายมีขั้ว (hydrophilic constituents) โดยวิธี High- Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยเก็บรวบรวม finger print และ marker ของโครมาโตแกรมที่ได้จากผงสมุนไพรเอ็คโคนาเซียที่ปลูกได้ในระยะเวลาต่างๆในช่วงเวลา 1 ปี (2548-2549) รวมไปถึงการทดสอบความคงสภาพขององค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดที่ได้ซึ่งควบคุมสภาวะแวดล้อมไว้เป็นอย่างดีเหมือนกันตามระยะเวลาการเก็บที่แตกต่างกันไป

โครงการส่วนที่2: เป็นส่วนที่ศึกษาถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากพืชสมุนไพรเอ็คโคนาเซียที่ปลูกในประเทศไทยอันได้แก่ การทดสอบฤทธิ์ทางระบบภูมิคุ้มกัน, การทดสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน, ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ฤทธิ์ต้านเชื้อรา และนำสารสกัดที่ได้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาเตรียมรูปสมุนไพรเอ็คโคนาเซียแบบต่างๆ โดยเน้นการศึกษาหาสารเพิ่มปริมาณ (Diluent), สารยึดเกาะ (Binder), สารช่วยแตกตัว (Disintegrant) ที่เหมาะสม ในการพัฒนาเป็นยาเม็ด และการศึกษาหาหาพื้นที่ที่เหมาะสมในการพัฒนาเป็นยาครีม

การศึกษาพบว่าพืชสมุนไพรเอ็คโคนาเซียสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในการเพาะปลูกในเขตจังหวัดเชียงใหม่ได้ดี ต้นโตเต็มที่มีความสูงประมาณ 1.0 - 1.5 เมตร สามารถเก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุประมาณ 100-120 วันหลังการปลูก จากการศึกษาพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดในส่วนไม่มีขั้วประกอบด้วยสาร unsaturated hydrocarbon and terpenoids compounds (~62%), fatty acid (~27%) เป็นองค์ประกอบหลัก และมีปริมาณของสารประกอบ alkamide (~1%) เพียงเล็กน้อย และพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดในส่วนมีขั้วประกอบด้วยสาร caftaric acid และ cichoric acid เป็นองค์ประกอบหลักมีปริมาณ ~5% เมื่อสกัดด้วย 70% MeOH ผลการตรวจสอบความคงสภาพพบว่าโดยส่วนใหญ่ปริมาณของ

สารประกอบ alkamide มีปริมาณลดลง เมื่อเก็บสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 6 เดือน การทดสอบฤทธิ์ทาง immunology stimulant พบว่าสารสกัดเอ็คโคโคนาเซียไม่สามารถแสดงให้เห็นว่าเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันที่ประกอบด้วย monocyte และ lymphocytes ถูกกระตุ้นให้มีการหลั่ง cytokines ทั้ง IL-2 and IFN- γ ในทุก fractions ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดในส่วนไม่มีขั้วให้ฤทธิ์ไม่เป็นที่น่าสนใจในขณะที่สารสกัดในส่วนมีขั้วให้ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ตรงกันข้ามเมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายคือ 70% MeOH และ 50% MeOH ตามลำดับ สารสกัดจากสมุนไพรอ็คโคโคนาเซียมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีสำหรับเชื้อในกลุ่ม aerobic gram positive cocci โดยตัวทำละลายที่เหมาะสมได้แก่ 70% methanol และ methanol สารสกัดจากสมุนไพรอ็คโคโคนาเซียมีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้ดีสำหรับเชื้อ *T. mentagrophytes* และ *T. rubrum* โดยตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดได้แก่ methanol

พบว่า starch paste เป็นสารยึดเกาะที่ดีที่สุดในการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรอ็คโคโคนาเซียในรูปยาเม็ด ในขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนของระยะเวลาในการแตกตัวระหว่างตำรับที่เติมสารช่วยแตกตัวใดๆกับตำรับที่ไม่มีการเติมสารช่วยแตกตัว ในการศึกษาการพัฒนาศรีมนำไปศึกษาสมบัติเคมีกายภาพ พบว่าลักษณะภายนอกของครีมสารสกัดส่วนใหญ่จะมีลักษณะสีน้ำตาล และเนื้อครีมไม่มันวาว ให้ค่าความเป็นกรดและต่างอยู่ในช่วง 5-8 ส่วนลักษณะของเจลสารสกัดนั้นพบว่าลักษณะภายนอกที่ได้ส่วนใหญ่จะมีสีน้ำตาลเข้ม ไม่มีฟองอากาศ ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วงระหว่าง 5-6 การศึกษาความคงสภาพของตำรับสารสกัดในแต่ละตำรับ พบว่าแต่ละตำรับมีความคงสภาพแตกต่างกัน มีการแสดงให้เห็นถึงการไม่เข้ากันของตำรับ มีการเปลี่ยนแปลงทางลักษณะภายนอกโดยการแยกชั้น หรือเกิดการตกตะกอน สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงได้อย่างชัดเจนทั้งพฤติกรรมมวลไหลในบางตำรับ จากการศึกษาได้ตำรับที่เหมาะสมที่สุดคือตำรับยาที่ 5CE และ 7BE เนื่องจากมีความคงสภาพในทุกสภาวะ เมื่อนำทั้งสองตำรับไปทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร ผลการทดลองพบว่าไม่มีตำรับใดเลยที่ก่อให้เกิดอาการระคายเคืองผิวของอาสาสมัคร

The objective of this project was to research and develop the effectively herbal products for treating infectious disease together with enhancing the immune system to the body. This project was divided into 2 parts as follows:

The first part of the project: was the section which studied the possibility to cultivate Echinacea herbs in the North of Thailand. The investigations of chemical component variations in lipophilic extract were operated by Gas Chromatography-Mass Spectrometry method (GC-MS), similarly hydrophilic extracts were done by High Performance Liquid Chromatography method with the collection of the finger print as well as the marker of the chromatogram obtained from the crude Echinacea powder grown within the interval of 1 year (2005-2006) including with the testing of the chemical composition stability of the extract at the same monitored condition with the various time.

The second part of the project: was the section which studied the pharmacological activities of the Echinacea extract cultivated in the North of Thailand i.e. immunology test, antioxidant test, antibacterial test, antifungal test, and employed the extract to develop the various kind of prepared Echinacea herbal products by emphasizing on the study of suitable diluents, the binder, disintegrant selection for the development of the tablet products as well as the study of suitable cream base for the development of the cream products.

From the study it was found that the Echinacea herbs could easily adapt themselves for the cultivation in Chiangmai province environment. The mature plant had approximately 1.0-1.5 meter height and could be gathered at 100-120 days after grown. It was also found that the chemical composition of the lipophilic herb extract contained the unsaturated hydrocarbon and terpenoids compounds (~62%), fatty acid (~27%) as the major constituents while remained the little composition of one alkamides (~1%) and found that that the chemical composition of the lipophilic herb extract contained caftaric acid and cichoric acid as the major constituents at 5 % when using 70% MeOH as the solvent extract. The stability test indicated that the amount of alkamide was decreased when stored the extract at the temperature -20° C for 6

months. The result of immunology test showed that the Echinacea extract could not stimulate the monocyte and lymphocyte to create and release the cytokines both of IL-2 and IFN- γ in any fractions. The antioxidant test showed that the lipophilic Echinacea extract had no interestingly antioxidant activities conversely to the hydrophilic fractions which possessed the strong antioxidant activities when using 70% MeOH and 50% MeOH, respectively as the solvent extract. The extract could strongly show the antibacterial activities to aerobic gram positive cocci when employing the both 70% methanol and MeOH as extract solvent. Also, the extract could strongly show the antifungal activities to *T. mentagrophytes* and *T. rubrum* aerobic when employing MeOH as extract solvent.

It was found that the starch paste was the best binder for preparation of Echinacea herbal tablets while there was no significant alternation of the disintegration time between the applied disintegrant formula and no applied disintegrant formula. From the study of herbal cream preparation, the external physical appearance had brown color and was no oily looking with pH values at 5-8. The external physical appearance of gel preparation had dark brown color, no bubbles, with pH values at 5-6. The stability test of the preparation in each formula indicated that the stability of each product was difference, it showed the incompatibility result with the changing of external appearance by appearing the separation of the phase and the precipitation combined with the modifying of rheology behavior in certain product. From the consideration, the best properties belonged to products no. 5CE and 7BE because of the best stability in each controlled condition. When selected both of the product to test the irritation of the skin in the volunteer, there was no irritation results in the volunteer to both of the products.