

Executive Summary

การศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์ capsule จีว และผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปากจากน้ำมันมะกรูด และน้ำมันใบมะกรูด สำหรับใช้ยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุ (*Streptococcus mutans* และอื่นๆ) และที่ทำให้เกิดการไอและเจ็บคอ (Gr. A streptococci และอื่นๆ)

น้ำมันหอมระเหย การวิเคราะห์โดย GC-MS พบว่า สารสำคัญหลักในน้ำมันมะกรูด คือ 1-Limonene (40.65%) รองลงมา คือ Terpinene-4-ol (13.71%) และ Alpha-Terpineol (13.20%) สำหรับสารสำคัญหลักในน้ำมันใบมะกรูด คือ Citronellal (80.04%) น้ำมันหอมระเหยทั้งสองชนิดแสดงฤทธิ์ยับยั้งที่ดีต่อเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของฟันผุและแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการเจ็บคอ/ไอ

การศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์ capsule จีวจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูด ได้สูตรตำรับน้ำมันเป็น oil-based 6 สูตรตำรับ ซึ่งประกอบด้วย น้ำมันมะกรูด (5, 5, 10 %w/w) หรือ น้ำมันใบมะกรูด (5 %w/w ในทั้ง 3 สูตร), Spearmint oil, Peppermint oil, Menthol, Sunflower oil แสดงฤทธิ์ยับยั้งที่ดีต่อเชื้อแบคทีเรียมาตรฐานที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุ สามารถนำสูตรมาบรรจุเป็นผลิตภัณฑ์ capsule จีว ในรูป soft gelatin capsule ในขนาด 80 มิลลิกรัม แต่เปลือก capsule ไม่อ่อนนุ่มเท่าผลิตภัณฑ์ capsule จีวที่มีจำหน่ายทางการค้า (Jintan) และละลายยากกว่า การศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิ 4, 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะ 75% Relative Humidity พบว่าปริมาณสารสำคัญลดลงมากที่สุดที่ 0, 1, 2 เดือน และลดลงไปอีกที่ 6 และ 14 เดือน การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุ มีปัญหาเกิดการแยกชั้นส่วนน้ำมันและส่วนน้ำ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการเจ็บคอ/ไอ แสดงฤทธิ์ที่ไม่แรงในการทดสอบใน Gr. A streptococci, *S. pneumoniae* ATCC 49619, และ *S. aureus* ATCC 29213 แต่แสดงฤทธิ์การต้านเชื้อที่ดีกว่าต่อ *H. influenzae* ATCC 49247 ส่วนที่ 1, 2 เดือน พบว่า ฤทธิ์ลดลงไม่มาก ส่วนที่ระยะเวลานานกว่านั้นฤทธิ์จะลดลงอีก เมื่อทำการทดลองบรรจุ capsule จีว ครั้งที่ 2 โดยการเพิ่มปริมาณน้ำมันหอมระเหยเป็น 5 เท่า เปรียบเทียบกับขนาดความเข้มข้นเดิม และมีการทดลองทำ enteric coating โดยคาดหวังว่าจะชะเชยหรือลดการสูญเสียปริมาณสารสำคัญได้ พบว่า ไม่สามารถแก้ปัญหาได้ ผลิตภัณฑ์ capsule จีวในรูป soft gelatin capsule แม้จะมีความสะดวกในการพกพา แต่คุณลักษณะของเปลือกที่ไม่อ่อนนุ่ม ไม่ละลายเร็ว รวมทั้งการสูญเสียของสารสำคัญและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ทำให้มีแนวโน้มที่ไม่ดีสำหรับการพัฒนาต่อไป

การศึกษาพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปากจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูด ได้สูตรตำรับทั้งหมด 6 สูตรตำรับ โดยผลิตภัณฑ์จากน้ำมันมะกรูด 3 สูตรตำรับ (KLO) มีปริมาณน้ำมันมะกรูดเท่ากับ 6, 10, 16 %v/v (ต่อมาได้ปรับความเข้มข้นสูงสุดลดลงเหลือ 13%v/v) ส่วนสูตรตำรับจากน้ำมันใบมะกรูด 3 สูตรตำรับ (KLLO) มีปริมาณน้ำมันใบมะกรูด 4, 8, 12 %v/v ส่วนประกอบอื่นๆ ประกอบด้วย Polyoxyethylene 40 hydrogenated castor oil, Acesulfame-K, menthol, สารแต่งสี และสารแต่งกลิ่น ผลิตภัณฑ์แสดงฤทธิ์ยับยั้งที่ดีต่อเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของฟันผุ และแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการเจ็บคอ/ไอ ที่แยกได้จากผู้ป่วย และดีกว่าผลิตภัณฑ์ capsule จีว ในการศึกษาความคงตัว ที่ 4,

30 และ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะ 75% Relative Humidity ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 เดือน สารสำคัญของผลิตภัณฑ์จะมีความคงตัวดีที่สุดที่อุณหภูมิตู้เย็น และจะมีปริมาณสารสำคัญลดลงเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ไม่ยาวถึง 2 ปี ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคฟันผุ ผลิตภัณฑ์แสดงฤทธิ์ที่ดีต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน *S. mutans* ATCC 25175 และ *S. sobrinus* ATCC 33402 ส่วนฤทธิ์ต่อ *L. casei* ATCC 36978 ต่ำกว่า ฤทธิ์ลดต่ำลงบ้างแต่ฤทธิ์ยังค่อนข้างดี สำหรับการทดสอบในเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการเจ็บคอ/ไอ พบว่าผลิตภัณฑ์มีความคงตัวค่อนข้างดีตลอดระยะเวลา 4 เดือน ที่ทุกอุณหภูมิ โดยให้ผลดีที่สุด ต่อ *H. influenzae* ATCC 49247 โดยภาพรวม ผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปากมีความคงตัวดีกว่าผลิตภัณฑ์ capsule จีว ในกระบวนการผลิตไม่มีความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้อง ทำให้ปัจจัยที่จะมีผลต่อการสลายตัวของสารสำคัญ มีน้อยกว่า กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ capsule จีว สูตรที่น่าจะนำไปพัฒนาต่อไป คือ 10%KLO และ 12%KLLO

การประเมินผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส การประเมินทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์ capsule จีว และผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปาก ไม่ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยมหิดล โดยไม่ให้มีการดำเนินการจนกว่าจะมีผลการศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันมะกรูด และน้ำมันใบมะกรูดก่อน ซึ่งการศึกษาความเป็นพิษนี้จะเป็นต้องใช้ระยะเวลาอย่างน้อย 1 ปี และใช้งบประมาณสูงมากในการดำเนินการ จึงได้ขออนุมัติขอยกเลิกการดำเนินการเฉพาะในส่วนนี้

การทดสอบสูตรต้านน้ำมันที่จะบรรจุใน capsule จีว และผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปาก ต่อการเจริญและการสร้าง biofilms ของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของฟันผุ ในการศึกษาผลของสูตรน้ำมันสำหรับบรรจุแคปซูลที่เตรียมจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูด ต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *S. mutans* ATCC 25175 พบว่าสูตรน้ำมันสำหรับบรรจุแคปซูลจากน้ำมันมะกรูด มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญและยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญได้ดีกว่า สูตรจากน้ำมันใบมะกรูด ที่ความหนาแน่นของเซลล์ที่ 10^9 - 10^5 CFU/ml ส่วนผลต่อเชื้อที่แยกได้จากอาสาสมัครค่อนข้างแปรปรวน ทั้ง 2 สูตรไม่แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อ แต่ M18 แสดงผลการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มที่ดีกว่า N113 สำหรับการศึกษาค้นคว้าของผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปากต่อการเจริญและการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อมาตรฐานละเชื้อแบคทีเรียจากอาสาสมัครนั้น ผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปากจากน้ำมันมะกรูดให้ผลดีกว่า ผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปากจากน้ำมันใบมะกรูด

งานที่ทำเพิ่มเติมนอกเหนือจากที่เสนอไว้ในแบบเสนอโครงการ คือ การทดสอบสารมาตรฐาน 4 ชนิด คือ D-limonene, Terpinene-4-ol, α -terpineol ที่พบเป็นสารสำคัญในน้ำมันมะกรูด และ Citronellal ที่พบเป็นสารสำคัญในน้ำมันใบมะกรูด ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งในเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการเจ็บคอและไอ ที่แยกได้จากผู้ป่วย จำนวน 359 ตัวอย่าง ได้แก่ Group A, B, C, F, G streptococci, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* (MRSA และ MSSA) สรุปได้ว่า ในน้ำมันมะกรูด Limonene ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่มนี้ ทั้งนี้พบว่า Terpinene-4-ol และ α -terpineol เป็นสารสำคัญออกฤทธิ์ดังกล่าว สำหรับในน้ำมันใบมะกรูด มี Citronellal เป็นสารสำคัญออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้ ส่วนการทดสอบ

ผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปากเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นที่มีจำหน่ายทางการค้า (Kamillosan®) ถึงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของฟันผุ พบว่า ผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปากจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูด 6 สูตร สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S.mutans* ATCC 25175 และที่เป็น clinical isolates อีก 14 สายพันธุ์ ด้วยความเข้มข้นที่ต่ำกว่าหรือใกล้เคียงกับ ผลิตภัณฑ์ฉีดพ่นในปากที่มีจำหน่ายทางการค้า และเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการเจ็บคอและไอ ใน clinical isolate ของ Gr. A streptococci, standard strains 3 strains ได้แก่ *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Haemophilus influenzae* ATCC 49247) ซึ่งจะมีค่าที่ดีกว่าหรือใกล้เคียงกับ Kamillosan®

เนื่องจาก Kamillosan® เป็นผลิตภัณฑ์ฉีดพ่นในช่องปาก ที่แพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านหู คอ จมูก นิยมสั่งจ่ายให้แก่ผู้ป่วยที่มีอาการเจ็บคอเบื้องต้น ซึ่งผู้ป่วยยังไม่แสดงอาการติดเชื้ออย่างชัดเจน โดยคาดหวังฤทธิ์ในการบรรเทาอาการอักเสบในคอ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วย ในปัจจุบันยังไม่มีผลิตภัณฑ์ใดที่ใช้งานได้ดีและเป็นที่นิยมเท่า Kamillosan® ดังนั้น ผลิตภัณฑ์ชนิดฉีดพ่นในปากจากน้ำมันมะกรูดและน้ำมันใบมะกรูด น่าจะมีศักยภาพที่ดีในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้บรรเทาอาการเจ็บคอและไอในเบื้องต้นได้ ซึ่งจะเป็นการช่วยประหยัดเงินตราที่ต้องเสียไปในการสั่งซื้อผลิตภัณฑ์ Kamillosan® จากต่างประเทศ จะเป็นการช่วยลดดุลการค้าและส่งเสริมการปลูก การใช้ และการเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรไทยได้อีกทางหนึ่ง