

## หน้าสรุปรายงานวิจัย (Executive Summary)

|                   |   |
|-------------------|---|
| สัญญาเลขที่       | R2553B035   |
| โครงการ           | การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากไบโอบีโอดีเรียมโดยเทคนิคที่แตกต่างกันต่อการหลังไซโตไคน์ |
| หัวหน้าโครงการ    | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรสร สารพัน โขติวิทยา  |
| หน่วยงาน          | ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร                                |
| ระยะเวลาดำเนินงาน | 1 ปี 6 เดือน  |
| งบประมาณ          | 300,000.00 บาท (สามแสนบาทถ้วน)  |

### 1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

เนื่องจากผลพวงของการแพร่ระบาดของเอชไอวีและโรคต่างๆ ที่ยากแก่การเยียวยาในปัจจุบัน ผู้คนทั่วโลกจึงตื่นตัวด้านการดูแลสุขภาพและเสริมสร้างความแข็งแรงให้กับร่างกาย และให้ความสำคัญกับการรักษาสุขภาพเชิงป้องกันซึ่งช่วยลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจและทรัพยากรได้มากกว่าการรักษา ดังนั้นตลาดยาและอาหารเสริมสุขภาพ จึงมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างมาก และขยายตัวอย่างต่อเนื่อง ดังจะเห็นได้ว่า ในปี 2551 ตลาดผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ คาดว่าจะมีมูลค่าสูงถึงประมาณ 18,000 ล้านบาท หรือเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 7.0 เมื่อเทียบกับปี 2550 และมีแนวโน้มการเติบโตอยู่ในเกณฑ์สูง มีการแข่งขันรุนแรง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อาหารเสริมสุขภาพที่มีคุณสมบัติเป็นยา (Nutraceutical) ซึ่งนับว่าเป็นตลาดที่มีขนาดใหญ่และเป็นเรื่องท้าทายให้ประเทศต่างๆ ที่มีศักยภาพมีการแข่งขันด้านการผลิต รวมทั้งการวิจัยและพัฒนาอาหารเสริมสุขภาพประเภทนี้ (บริษัท ศูนย์วิจัยกสิกรไทย จำกัด, 2550)

ทั้งนี้เหตุที่ตลาดอาหารเสริมประเภทสมุนไพรเป็นที่สนใจสำหรับผู้บริโภคอย่างมากนั้น เนื่องจากปัจจัยหลักด้านความเป็นวัตถุดิบจากธรรมชาติ ไม่ใช่เคมีสังเคราะห์ กอปรกับกระแสอนุรักษ์ธรรมชาติ (Green Movement) จึงยิ่งส่งเสริมให้สมุนไพรได้รับความสนใจมากขึ้นเป็นลำดับ ประเทศไทยมีการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรเพื่อสุขภาพมาแต่อดีต ทั้งการบำรุงสุขภาพ และการบรรเทาหรือรักษาอาการหรือโรคต่างๆ ดังที่ได้มีการบันทึกไว้ในตำรายาไทยต่างๆ มากมาย ทั้งนี้เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์สูงสุดในการใช้สมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพประเภทสมุนไพรที่มีมาตรฐาน ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อรับรองสรรพคุณหรือฤทธิ์ของสมุนไพร

และความปลอดภัยในการใช้จึงนับว่ามีความจำเป็นอย่างยิ่งในสนับสนุนการใช้หรือพัฒนาสมุนไพรชนิดนั้น

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรนับเป็นการสร้างรากฐานความรู้ด้านวิทยาศาสตร์เพื่อสร้างงานวิจัยที่มีมาตรฐาน และใช้เป็นแหล่งข้อมูลในการอ้างอิงประโยชน์จากการใช้สมุนไพรเพื่อต่อยอดภูมิปัญญาไทยอันทรงค่าในอดีต สู่การยกระดับมาตรฐานการสร้างผลิตภัณฑ์เพื่อเจาะขยายตลาดทั้งในและประเทศ ซึ่งในครั้งแรกของปี 2551 ประเทศไทยนำเข้ายารักษาหรือป้องกันโรค มูลค่า 15,989.7 ล้านบาท ขยายตัวเพิ่มขึ้นจากช่วงเดียวกันของปีก่อนร้อยละ 21 แต่ส่งออกยารักษาหรือป้องกันโรคด้วยมูลค่าการส่งออกเพียง 2,607.4 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม, 2551) ตลาดยาและอาหารเสริมประเภทสมุนไพรจึงเป็นส่วนหนึ่งในการช่วยลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์ยาจากต่างประเทศ และเพิ่มยอดการส่งออกเพื่อสร้างรายได้ให้แก่ประเทศได้ในอนาคต

นอกจากนี้การใช้ประโยชน์จากสมุนไพรยังเป็นการเพิ่มขีดความสามารถของประเทศไทยในการบริหารจัดการ อนุรักษ์และฟื้นฟูสิ่งแวดล้อม เป็นการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติอย่างคุ้มค่า รวมทั้งเป็นการสร้างโอกาสและการมีส่วนร่วมของประชาชนและชุมชนท้องถิ่น ในระยะยาวนับว่าเป็นการสร้างความเข้มแข็งให้กับชุมชน ในการแก้ไขปัญหา บริหารจัดการพัฒนาองค์ความรู้ในการ เพิ่มมูลค่าสมุนไพรและใช้ทรัพยากรให้คุ้มค่าอย่างแท้จริง

ประเทศไทยมีสมุนไพรอยู่มากมาย หลายชนิดเป็นพืชผักสวนครัว และเป็นส่วนประกอบในการทำอาหารไทยมาแต่อดีต ในงานวิจัยนี้ให้ความสนใจกับ “ใบยอ” เนื่องจากคนไทยใช้เป็นผักแกงส้ม และใช้ประกอบอาหาร เช่น ห่อหมก แกงอ่อม และแกงกะทิหลายประเภท ใบยอมีสรรพคุณทางยามากมาย รวมทั้งสรรพคุณด้านการบำรุงธาตุ แก้ปวดข้อ และม้ามโต ซึ่งมีแนวโน้มว่ามีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ด้านภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ใบยอยังเป็นแหล่งวัตถุดิบที่หาได้ง่าย เนื่องจากค้นพบได้ทั่วไปในประเทศไทย ดังนั้นในการพัฒนาการใช้ใบยอเพื่อประโยชน์ในการดูแลสุขภาพ หรือการรักษาจึงทำได้ไม่ยุ่งยากนัก

จึงอาจกล่าวได้ว่าการวิจัยเพื่อทดสอบสรรพคุณของใบยอต่อระบบภูมิคุ้มกันเป็นงานวิจัยที่ทั้งสร้างประโยชน์โดยตรงต่อการรับรองสรรพคุณสมุนไพรเบื้องต้น และเป็นข้อมูลพื้นฐานอันจำเป็นยิ่งสำหรับการวิจัยในเชิงประยุกต์อื่นๆ เพื่อการพัฒนาใหม่หรือผลิตภัณฑ์เสริมการรักษาสำหรับอาการหรือโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันตามแนวทฤษฎีเศรษฐกิจพอเพียง อันจะนำไปสู่การพึ่งพาตนเองของประเทศไทย และมีการต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่นอันจะนำไปสู่การผลิตผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อการส่งออก ปรับระบบการวิจัยให้สร้างองค์ความรู้ที่ต้องการจากงานวิจัยผู้ชุมชน สืบสานภูมิปัญญาและเป็นรากฐานการพัฒนาศักยภาพการแข่งขันของประเทศในด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในอนาคต

## 2. วัตถุประสงค์

- 2.1 เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากใบยอดต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยใช้การทดสอบการหลั่งไซโตไคน์
- 2.2 เพื่อศึกษาผลของวิธีการเตรียมที่แตกต่างกันต่อปริมาณสารองค์ประกอบในใบยอด และการหลั่งไซโตไคน์

## 3. ผลการวิจัย

เมื่อสกัดใบยอดสดและแห้งด้วยเทคนิคการสกัด (ไม่ใช้, ใช้ความร้อน) และน้ำยาสกัด (น้ำ, ethanol) ที่แตกต่างกัน 5 เทคนิค ได้สารสกัดหยาบ (crude extracts) ซึ่งมีลักษณะทางกายภาพและร้อยละผลผลิต (% yield) ต่อน้ำหนักใบสดแตกต่างกัน โดยสารสกัดจากใบยอดสดปั่นคั้นน้ำและทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (FMC\_CF) มีผลผลิตสูงสุด 7.14% และสารสกัดใบยอดที่ผ่านการอบแห้งก่อนหมักใน ethanol มีผลผลิตต่ำสุด 5.16% ซึ่งจากการวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดใบยอดด้วยเทคนิค HPLC พบ rutin, quercetin และ kaempferol ในปริมาณที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังสารองค์ประกอบอื่นๆ อีกหลายชนิดที่ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ โดยสารสกัดใบยอดฯ ทุกชนิดมีปริมาณ rutin มากที่สุด และรองลงมาคือ kaempferol และ quercetin ยกเว้นสารสกัดใบยอดสดคั้นน้ำ (FMC\_HW) พบว่ามี unidentified peak หนึ่งที่มีปริมาณมากกว่า rutin

ลำดับประสิทธิภาพของวิธีการสกัดซึ่งประเมินโดยคร่าวๆ จาก flavonoids เฉพาะ rutin quercetin และ kaempferol พบว่าประสิทธิภาพในการสกัด flavonoids ในงานวิจัยนี้คือ  $FMC\_CE = 3.46$ ,  $DMC\_CE = 0.49$ ,  $FMC\_CF = 11.72$ ,  $DMC\_CF = 9.26$ ,  $FMC\_HW = 0.62$  mg/hr ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่าวิธีการปั่นใบยอดคั้นน้ำ นอกจากจะให้ %yield สูงสุดแล้วการปั่นคั้นน้ำยังให้ค่าประสิทธิภาพการสกัดฯ มากที่สุดด้วย จึงนับว่าเป็นวิธีการสกัดที่น่าสนใจ และหากมีการพัฒนาใช้ใบยอดเพื่อสุขภาพในอนาคต ก็สามารถเตรียมใช้ได้ง่ายและประหยัดเวลา ลดการใช้ organic solvent และมีต้นทุนการผลิตไม่มาก

เมื่อนำสารสกัดไปทดสอบผลต่อการหลั่ง IFN- $\gamma$  และ IL-10 จาก T lymphocyte พบว่าเทคนิคการสกัดที่แตกต่างกัน มีผลให้ได้สารสกัดที่มีผลต่อการหลั่ง IFN- $\gamma$  และ IL-10 แตกต่างกัน สารสกัดใบยอดส่วนใหญ่มีฤทธิ์ด้านอักเสบ การปั่นใบยอดคั้นน้ำ ให้สารสกัด (FMC\_CF) ที่มีผลลดการหลั่ง IFN- $\gamma$  และเพิ่มการหลั่ง IL-10 (เฉพาะเมื่อเติม con A) จึงมีฤทธิ์ด้านอักเสบมากที่สุด หรือมีผลต่อการตอบสนองของ Th2 มากกว่า Th1 โดยมีค่า IFN- $\gamma$  /IL-10 ratio = 0.74, 0.36 (100  $\mu$ g/mL) เมื่อไม่เติมและเติม con A ตามลำดับ ในขณะที่การต้มใบสดในน้ำ (FMC\_HW) ให้สารสกัดที่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงปริมาณ IFN- $\gamma$  แต่ลดการหลั่ง IL-10 จึงมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันมากที่สุด

หรือมีผลต่อยับยั้งการตอบสนองของ Th2 โดยไม่มีผลต่อ Th1 โดยมีค่า IFN- $\gamma$ /IL-10 ratio สูงสุด เท่ากับ 5.69 และ 13.3 (100  $\mu$ g/mL) ในระบบที่ไม่เติมและเติม con A ตามลำดับ

เมื่อเทียบกับผลการทดสอบของ rutin, quercetin และ kaempferol ซึ่งส่วนใหญ่มีฤทธิ์ด้าน อักเสบหรือมีผลต่อการตอบสนองของ Th2 มากกว่า Th1 มีเฉพาะบางช่วงความเข้มข้นเท่านั้นที่ แสดงฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน อาจอนุมานได้ว่า FMC\_CF ซึ่งมีฤทธิ์ด้านอักเสบ น่าจะเกิดจากผลของ rutin เป็นหลัก ส่วนสารสกัด FMC\_HW ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน น่าจะเป็นผลจากการเพิ่มขึ้น ของ quercetin และ kaempferol ซึ่งพบในสารสกัด FMC\_HW มากกว่าสารสกัดใบยออื่นๆ อย่างไรก็ตามไม่สามารถชี้ชัดได้ว่าผลของสารสกัดใบยอๆ เป็นผลจาก flavonoids ชนิดใด เนื่องจากยังมี unidentified peak ที่ยังไม่ได้ทำการศึกษาโครงสร้าง ซึ่งอาจมีส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์ของสาร สกัดเช่นกัน

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบยอไทยมีฤทธิ์ต่อภูมิคุ้มกันทั้งด้านอักเสบ และ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ขึ้นกับเทคนิคการสกัดที่แตกต่างกันซึ่งมีผลให้ได้สารองค์ประกอบในปริมาณและ รูปที่แตกต่างกัน จึงมีผลต่อการตอบสนองของ T lymphocyte ต่างกันด้วย ใบยอใช้เป็นอาหารของ มนุษย์มานานแล้ว และหลายประเทศได้ทำการพัฒนาใบยอในรูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเพื่อ การค้าแล้ว แต่จากการทบทวนวรรณกรรมพบทั้งรายงานที่แสดงถึงความปลอดภัยและรายงานความ เป็นพิษที่เกิดจากสารองค์ประกอบ ในการพัฒนาใบยอไทยเพื่อสุขภาพและเชิงพาณิชย์ นอกจากการ ควบคุมปริมาณสารสำคัญเพื่อให้มีฤทธิ์ตามต้องการ โดยใช้วิธีการสกัดที่เหมาะสม ตลอดจนการ ทดสอบเทียบเคียงประสิทธิภาพกับสมุนไพรเพื่อสุขภาพที่ได้มาตรฐานแล้ว ยังควรทำการศึกษา พิษวิทยาของสารสกัดใบยอไทยด้วย

#### 4. Output จากงานวิจัย

- 4.1 ข้อมูลผลของสารสกัดจากใบยอต่อระบบภูมิคุ้มกันในหลอดทดลอง
- 4.2 ฐานองค์ความรู้ในการขยายผลเพื่อพัฒนาการนำใบยอไปใช้ในประโยชน์ในเชิง สุขภาพและเชิงพาณิชย์
- 4.3 ผลงานวิจัยเพื่อเสนอผลงานหรือตีพิมพ์ในวารสารระดับประเทศหรือระดับนานาชาติ
- 4.4 การสร้างนักวิจัยให้เป็นทุนปัญญาของชาติในระยะยาว