

บทคัดย่อ

| | |
|------------|--|
| ชื่อเรื่อง | : การพัฒนาตำรับอาหารเสริมสุขภาพ เวชภัณฑ์และเครื่องสำอาง จากพืชพื้นบ้านและสมุนไพรบางชนิดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ |
| โดย | : อ.จิตรดี ฤประสงค์ ผศ.ดร.ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปรีชา ผศ.ดร.วันดี รังสีวิจิตรประภา และ ดร.วิรัชญา ศิลาอ่อน |
| ศัพท์สำคัญ | : สารสกัดตัว เม็ก กระโดน ยาเม็ด สารฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน, ผักพื้นบ้าน, ตำรับเม็ดยาสมุนไพร, แผ่นฟิล์ม, สมุนไพร, ช่องปาก, วิธีการวัดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟซัยท์, |

การพัฒนาตำรับอาหารเสริมสุขภาพ เวชภัณฑ์และเครื่องสำอาง จากพืชพื้นบ้านสมุนไพรบางชนิดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ประกอบไปด้วย ยาเม็ดที่มีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เม็ดยาสมุนไพรกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และ แผ่นฟิล์มสมุนไพรเพื่ออนามัยในช่องปาก ดังนี้

การเตรียมตำรับยาเม็ดที่มีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากผักกระโดน โดยทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay และทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu methods จากการศึกษาฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากผักพื้นบ้าน 3 ชนิด ได้แก่ ผักต้ว เม็ก และกระโดน พบว่าผักกระโดนมีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดีที่สุด ($EC_{50} = 4.32$) รองลงมาคือผักต้ว ($EC_{50} = 12.04$) และผักเม็ก ($EC_{50} = 16.45$) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากผักกระโดน ต้ว และเม็ก คิดเป็น 32.08 19.01 และ 9.72 มก. จาก 1 กรัมของผักสดตามลำดับ จากข้อมูลเบื้องต้นจึงเลือกเฉพาะผักกระโดนมาเตรียมตำรับยาเม็ดในขั้นตอนต่อไป โดยทำการเตรียมยา 2 ตำรับ คือ ยาเม็ดที่มีสารสกัดหยาบ 40 มก. (ตำรับที่ 1) และ 80 มก. (ตำรับที่ 2) จากการทดสอบหาร้อยละการคืนกลับ (% recoveries) ของสารประกอบฟีนอลิกในยาเม็ดพบว่า ร้อยละการคืนกลับของตำรับที่ 1 และ 2 คิดเป็น 84.85 และ 92.42 ตามลำดับ ผลการควบคุมคุณภาพของตำรับยาเม็ด พบว่า ค่าความแปรปรวนของน้ำหนัก ค่าการแตกตัว และค่าร้อยละของความกรอบของยาเม็ดทั้ง 2 ตำรับ ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตาม USP 27/NF 22 โดย 2 ค่าแรกมีค่าไม่แตกต่างกัน ส่วนค่าร้อยละของความกรอบ พบว่ายาเม็ดในตำรับที่ 1 จะมีค่าร้อยละของความกรอบสูง (0.85) ซึ่งสูงกว่าตำรับที่ 2 (0.06) ผลการทดสอบความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบและในตำรับยาเม็ด หลังเก็บไว้ 2 เดือน พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง คิดเป็นร้อยละ 13.15 และ 80.71

(ตำรับที่ 1) 82.95 (ตำรับที่ 2) ตามลำดับ ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลอาจเกิดจากอุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจนในอากาศ จากผลการศึกษา สรุปได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกในผักกระโดนมีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดี โดยมีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันใกล้เคียงกับวิตามินซีและ trolox และสารสกัดผักกระโดนสามารถนำไปเตรียมตำรับยาเม็ดที่ได้คุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐาน

ผลการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของสารสกัดเอธิลแอลกอฮอล์ของผักพื้นบ้าน 3 ชนิด คือ ตำรับ (*Cratoxylum formosum* Jack), กระโดน (*Barringtonia acutangula* L.Gaertn.) และแม็ก (*Syzygium gratum* Wight S.N.Mitra var. *gratum*) และเตรียมเป็นตำรับเม็ดอมสมุนไพร โดยทดสอบการเพิ่มจำนวนของเซลล์ลิมโฟไซต์ที่ได้จาก้ามของหนูพันธุ์ Balb/c ของสารสกัดสมุนไพร ที่ความเข้มข้น 12.5 -800 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ด้วยวิธี MTT assay ในสภาวะที่มีและไม่มีตัวกระตุ้น โดยใช้สาร phytohemagglutinin (PHA) และ Pokeweed mitogen (PWM) เป็นตัวกระตุ้นเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดที และบีตามลำดับ ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดของกระโดนและตำรับที่ความเข้มข้น 12.5 - 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม มีฤทธิ์กระตุ้นลิมโฟไซต์ทั้งชนิดทีและบี โดยเฉพาะสารสกัดของกระโดนมีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนลิมโฟไซต์ชนิดบีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนสารสกัดของแม็กที่ความเข้มข้น 12.5 - 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม มีฤทธิ์กระตุ้นลิมโฟไซต์ทั้งชนิดทีและบี ทั้งนี้สารสกัดของผักพื้นบ้านทั้ง 3 ชนิดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นจึงคัดเลือกสารสกัดเอธิลแอลกอฮอล์ของกระโดนมาพัฒนาเป็นตำรับเม็ดอมสมุนไพร 3 รูปแบบ คือ ลูกอมแบบแข็ง เจลลี่ และช็อคโกแลต เมื่อพิจารณาจากลักษณะภายนอก ความเข้ากันได้ของตำรับ ความคงตัว และรสชาติ พบว่า ตำรับที่เหมาะสมที่สุดสำหรับพัฒนาเป็นเม็ดอมสมุนไพรจากกระโดน คือ ตำรับช็อคโกแลต

ผลการพัฒนาตำรับแผ่นฟิล์มให้มีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสมสามารถละลายได้ง่าย และเพื่อประเมินประสิทธิภาพแผ่นฟิล์มสมุนไพรแม็กในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก โดยทำการเปลี่ยนแปลงชนิดและความเข้มข้นของพอลิเมอร์ในส่วนต่างๆ และทำการคัดเลือกเลือกสูตร base film ที่มีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสม คือ มีความหนา ความร้อน ความกรอบ ความแข็ง ความใส และความสามารถในการละลายที่ดี และทำการประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งด้วยวิธี Disc-diffusion assay จากผลการทดลองพบว่า base film ที่มีทางกายภาพที่เหมาะสม คือ 5% tacca : 5% pectin : 1.5% HPMC : 0.25% glycerin ในอัตราส่วน 1:1:1:0.25 และเมื่อบรรจุสารสกัดแม็ก 5 mg/ml (2 เท่าของ MIC) ลงใน base film พบว่า แผ่นฟิล์มสมุนไพรแม็กมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ 3 ชนิดคือ *S. aureus*, *S. fecalis* และ *B. subtilis* โดยเกิด Inhibition zone เฉลี่ยเท่ากับ 9, 12 และ 10.67 mm ตามลำดับ ในขณะที่แผ่นฟิล์ม Listerine® ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis*

ได้เพียงชนิดเดียว และแผ่นฟิล์มสแกนไฟรเม็กสามารถยับยั้งเชื้อได้ไม่แตกต่างจากสารสกัดสแกนไฟรเม็ก จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าแผ่นฟิล์มสแกนไฟรเม็ก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อในช่องปากดี มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ราคาไม่แพงและช่วยเพิ่มมูลค่าของผักพื้นบ้าน

ABSTRACT

TITLE : FORMULATION DEVELOPMENT OF SOME BIOACTIVE THAI
INDIGENOUS AND MEDICINAL PLANTS TO HEALTH
SUPPLEMENTS, DRUGS AND COSMATICS

BY : CHITRADEE LUPRASONG, ASSIST.PROF.CHUTINUN
PRASITPURIPRECHA, Ph.D., ASSIST.PROF.WANDEE
RUNGSEEVIJITPRAPA, Dr.rer.nat AND WARISADA SILA-ON

KEYWORDS : EXTRACTED PRODUCTS, *Cratoxylum formosum*, *Limnophila*
aromatica, *Barringtonia acutangula*, TABLETS, PHENOLIC
COMPOUND, ANTIOXIDANT, IMMUNOMODULATING ACTIVITY,
INDIGENOUS VEGETABLE, , LYMPHOCYTE PROLIFERATION
ASSAY, HERBAL CANDY, FILM STRIP, HERB, ORAL CAVITY

Formulation Development of Some Bioactive Thai Indigenous and Medicinal Plants to Health Supplements, Drugs and Cosmetics are antioxidant activity tablet, immunomodulating activity candy and film strip for oral hygiene.

For antioxidant activity tablet, the purpose of this study was to formulate antioxidant tablets from the indigenous vegetable; Kradone (*Barringtonia acutangul*). The antioxidant activity was performed by DPPH Radical Scavenging Assay and the content of total phenolic compounds was evaluated by Folin-Ciocalteu methods. From the antioxidant activity data of three different Thai indigenous vegetables, Kradone have shown the best antioxidant activity ($EC_{50} = 4.32$), followed by Tiw ($EC_{50} = 12.04$) and Mek ($EC_{50} = 16.45$), respectively. The content of total phenolic compounds from Kradone, Tiw, and Mek from 1 gram of wet vegetable weight was 32.08, 19.01 and 9.72 mg, respectively. Based on the previous preliminary data, two different formulations of the antioxidant tablets from Kradone were purposed: 40 mg crude extract (first formulation) and 80 mg crude extract (second formulation). The percent recovery of the phenolic content from both formulations showed quite high percent recoveries; 84.85 and 92.42, respectively. The quality controlled study of both formulations found that the

results of weight variation, disintegration and friability was acceptable based on the standard criteria of USP 27/NF 22, and the first two parameters showed no significant differences on both formulations. However, the percent friability of first formulation (0.85) showed the significantly higher than the other (0.06). The stability test of phenolic compound in Kradone crude extract and in tablets, after 2 month period, showed lower percent content of phenolic compound with the percent recoveries of 13.15% and 80.71% (first formulation), 82.95% (second formulation), respectively. The factors might be influenced were temperature and concentration of oxygen in the air. In conclusion, the phenolic compounds found in Kradone showed great antioxidant activity relatively to the antioxidant activity of vitamin C and trolox. The crude extraction from Kradone was able to formulate antioxidant tablets that passed all quality control requirements.

About formulation of herbal candy, the objectives of this study were to investigate immunostimulating activities of 3 indigenous vegetables ethyl alcohol extracts such as *Cratoxylum formosum* Jack, *Barringtonia acutangula* L. Gaertn. and *Syzygium gratum* Wight S.N.Mitra var. *gratum* and formulated into herbal candy. These extracts were studied for *in vitro* mouse splenic lymphocyte proliferation in the absence and presence of mitogens by colorimetric MTT assay at concentration of 12.5 - 800 µg/ml. The phytohemagglutinin (PHA) and Pokeweed mitogen (PWM) stimulated T-lymphocytes and B-lymphocytes, respectively. The results showed that *Barringtonia acutangula* L. Gaertn. and *Cratoxylum formosum* Jack extracts at concentration of 12.5 - 400 µg/ml could stimulate both T and B lymphocytes. Especially, *Barringtonia acutangula* L. Gaertn. significantly enhanced B lymphocytes response. *Syzygium gratum* Wight S.N.Mitra var. *gratum* extract also increased both T and B lymphocytes proliferative responses at concentration of 12.5 - 200 µg/ml. All of these extracts had no cytotoxic effects. *Barringtonia acutangula* L. Gaertn. was selected for prepared herbal candy 3 formulations, hard candy, jelly and chocolate. The formulations were considered about appearance, compatibility, stability and taste. Chocolate based formulation was the best formulation for herbal candy from *Barringtonia acutangula* L. Gaertn..

About formulation of film strip for oral hygiene, the purposes of this study were to develop film strips with good physical characteristics and can be easily dissolved and to investigate the ability of the film strip containing *Eugenia grata* to inhibit pathogenic bacterias in oral cavity. Different types and concentrations of polymers were investigated. Base film was selected according to its optimal thickness, easily peel from teflon plate and optimal fragility, strength, clarity and dissolution rate. Antibacterial activity was investigated using Disc-diffusion assay.

The selected oral film strip consisted of 5% tacca : 5% pectin : 1.5% HPMC : 0.25% glycerin in the proportion of 1:1:1:0.25. The 5 mg/ml (double concentration of MIC) *Eugenia grata* extracts film strip inhibited *S. aureus*, *S. faecalis* and *B. subtilis* with Inhibition zone of 9, 12 and 10.67 mm, respectively while the Listerine[®] film strip inhibited only *B. subtilis*. The microbial inhibition of the film strip containing *Eugenia grata* extracts was the same as the extract alone. In conclusion, the film strip with *Eugenia grata* extracts could effectively inhibit microbial growth in oral cavity, was safe, in expensive and gave value added to local vegetable.