



รายงานการวิจัยฉบับผู้บริหาร

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอางที่มีมาตรฐาน
จากสมุนไพรบัวบกสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรม

**Research and Development of Standardized Pharmaceutical and
Cosmetic Products from Medicinal Plant *Centella asiatica*
for Industrial Production Scale**

โดย

รศ.ดร. เอกรินทร์ สายฟ้า และคณะ

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน

ปีงบประมาณ 2546-2548

ชุดโครงการ: การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอางที่มีมาตรฐานจากสมุนไพร
บัวบกสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรม

Research and Development of Standardized Pharmaceutical and
Cosmetic Products from Medicinal Plant *Centella asiatica* for Industrial
Production Scale

ชื่อผู้วิจัย

1. ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย รศ.ดร. เอกรินทร์ สายฟ้า
2. ที่ปรึกษางานวิจัย รศ.ดร. บุญยงค์ ตันตีสิริระ
ศ.ดร. กาญจน์พิมล ฤทธิเดช
3. ผู้ประสานงานวิจัย ผศ.ดร. ชำนาญ ภัทรพานิช
ผู้วางแผนวิจัย รศ.ดร. มยุรี ตันตีสิริระ
เลขานุการแผนงานวิจัย รศ.ดร. สุชาดา ชูติมาวรินทร์
ประกอบด้วย 9 โครงการวิจัย ดังนี้

ชื่อโครงการ	หัวหน้าโครงการ
1. การสกัด การแยก และการตรวจสอบ เอกลักษณ์ของสารออกฤทธิ์จากสมุนไพร บัวบก	รศ.ดร. รุทธ์ สุทธิศรี ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. การศึกษาเพื่อกำหนดมาตรฐานของ สมุนไพรบัวบก และสิ่งสารสกัดที่มีฤทธิ์ทางยา	ผศ.ดร. ชำนาญ ภัทรพานิช ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญในการออก ฤทธิ์ของสมุนไพรบัวบกในเภสัชผลิตภัณฑ์และ เครื่องสำอาง	รศ. สุวรรณา เหลืองชลธาร ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4. การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้น ของสารสกัดบัวบกโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง	ผศ.ดร. สุรัชย์ อัญเชิญ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
5. การศึกษาฤทธิ์ในการสมานแผล และผลต่อ การเรียนรู้และความจำของสารสกัดมาตรฐาน บัวบกในโมเดลของสัตว์ทดลอง	รศ.ดร. มยุรี ตันตีสิริระ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
6. การทดสอบพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของ สารสกัดมาตรฐานบัวบก	รศ.ดร. มยุรี ตันตีสิริระ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7. การพัฒนาสูตรตำรับ การประเมินทางอินวิโทร และการผลิตขั้นอุตสาหกรรมของยาเม็ดเคลือบฟิล์มสารสกัดบัวบก	ศ.ดร. กาญจน์พิมล ฤทธิเดช ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
8. การพัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันของสารสกัดบัวบกเพื่อใช้สำหรับทาภายนอกเพื่อใช้ในการรักษาแผล	รศ.ดร. สุชาดา ชุติมาวรินทร์ ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
9. การพัฒนาสูตรตำรับยาเหน็บทวารหนักผสมสารสกัดบัวบกเพื่อใช้รักษาริดสีดวงทวารหนัก	รศ.ดร. สุชาดา ชุติมาวรินทร์ ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัย ประจำปี 2546-2548 จำนวนเงิน 16,566,850 บาท (สิบหกล้านบาท แสนหกหมื่นหกพันแปดร้อยห้าสิบบาทถ้วน)

ระยะเวลาทำการวิจัย 3 ปี เริ่มทำการวิจัยเมื่อ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2545

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในภาวะที่ประเทศกำลังประสบปัญหาด้านเศรษฐกิจ การนำสมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติอยู่ในภูมิภาคต่างๆ มาพัฒนาสู่อุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอาง ให้สามารถพัฒนาขยายผลไปสู่เชิงพาณิชย์ได้ ย่อมสามารถประหยัดเงินตราต่างประเทศที่ต้องสูญเสียไป และทั้งสามารถพัฒนาเพื่อเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรไทยในรูปของผลิตภัณฑ์ยา และเครื่องสำอาง สู่การส่งออกได้ เนื่องจากในขณะนี้ทั่วโลกมีการตื่นตัวในการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ และเครื่องสำอางเพื่อให้เกิดสุขภาพที่ดี ทำให้เกิดความนิยมใช้สมุนไพรในทางสาธารณสุขมากขึ้น

มีการใช้ยาสมุนไพรในการรักษาโรคมานับพันปีในประเทศต่างๆ ทางแถบเอเชีย อาทิ จีน เกาหลี ญี่ปุ่น อินเดีย รวมทั้งไทย เป็นต้น ในรูปยาแผนโบราณซึ่งไม่เคยมีการรับรองคุณภาพมาตรฐานและฤทธิ์ยาที่เป็นรายงานทางวิทยาศาสตร์อย่างมีระบบ ไม่มีการตรวจสอบและพิสูจน์ประสิทธิภาพ ในขณะที่ประเทศทางสหรัฐอเมริกาและแถบยุโรปมีการพัฒนาสมุนไพรอย่างมีระบบ มีการควบคุมคุณภาพมาตรฐานของสารสำคัญในสมุนไพร จนสามารถส่งไปจำหน่ายต่างประเทศได้ และผู้ใช้ก็มีความเชื่อมั่น ในการใช้สมุนไพรอย่างเต็มที่

ในประเทศไทยแม้ว่าจะมีสมุนไพรอยู่มากมาย แต่การศึกษาวิจัยสมุนไพรมักทำด้วยความยากลำบาก เนื่องจากต้องใช้ศาสตร์ชั้นลึกหลายแขนงร่วมกัน และสมุนไพรมีองค์ประกอบที่ซับซ้อนมากมายหลายชนิด มีทั้งสารสำคัญในการออกฤทธิ์ (bioactive constituents) และสารก่อให้เกิดพิษ (toxic substances) ปะปนกันอยู่ในสมุนไพร นอกจากนี้ สภาพภูมิอากาศ ภูมิประเทศในการเพาะปลูกที่แตกต่างกัน อายุของพืช ฯลฯ ก็ยังมีผลต่อปริมาณขององค์ประกอบต่างๆ ด้วย ปัญหาการวิจัยสมุนไพรมักเกิดจากความแปรปรวนขององค์ประกอบของสมุนไพร

ทำให้ผลการศึกษามีความไม่แน่นอน ดังนั้น การศึกษาฤทธิ์และพิษของสมุนไพร จึงควรมีควบคู่กับการควบคุมคุณภาพมาตรฐานสมุนไพรเสมอ

บัวบก (*Centella asiatica* Urban) หรือ Gotu Kola, Asiatic Pennywort, Indian Pennywort เป็นพืชในตระกูล Apiaceae (Umbelliferae) ซึ่งนับเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านของไทย สามารถเพาะปลูกและเจริญได้ง่าย ในสมัยโบราณ เคยมีการใช้ใบของต้นบัวบกในการรักษาโรคเรื้อน มะเร็ง ความผิดปกติของผิวหนัง อาการช้ำใน ไชข้ออักเสบ ริดสีดวงทวาร บำรุงระบบประสาทและเพิ่มความจำ เป็นต้น สารประกอบทางเคมีที่พบในบัวบกมีหลายกลุ่ม ได้แก่ สารกลุ่ม terpenoid ซึ่งอยู่ในน้ำมันหอมระเหยที่ทำให้เกิดกลิ่นเฉพาะตัวของพืชนี้ สารธรรมชาติ vellarin, สารฝาด tannin, สารกลุ่มอัลคาลอยด์ เช่น hydrocotyline สารในกลุ่ม sterol, flavonoid และ glycoside ในกลุ่ม triterpenoid saponin หลายชนิด ได้แก่ asiaticoside และ madecassoside

ในปี 1993 มีการประชุม Standard of Asian Herbal Medicine ของประเทศสมาชิกเอเซีย เพื่อการกำหนดมาตรฐานของบัวบก ได้กำหนดองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิดของบัวบก ได้แก่ asiaticoside, thankuniside, isothankuniside, madecassoside, brashmoside, brasminoside, centelloside, oxyasiaticoside, asiatic acid, madecassic acid, madasiatic acid, brahmie acid, centellic acid, centoic acid, indocetoic acid, thankunic acid, isobrahmic acid, centic acid, madecassol, centellose และ alkaloid เป็นต้น แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าสารใดเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ และมีอยู่ปริมาณเท่าใดจึงจะมีฤทธิ์ได้ ทั้งนี้เพราะยังไม่เคยมีการศึกษาวิจัยเพื่อกำหนดคุณภาพมาตรฐานของสมุนไพรบัวบกอย่างแท้จริง ดังนั้น งานวิจัยครั้งนี้ จะได้มีการศึกษาเพื่อกำหนดมาตรฐานและ specification ให้สอดคล้องกับการออกฤทธิ์

มีงานวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดหรือสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากบัวบก ที่เด่นๆ ได้แก่ ความสามารถของสมุนไพรนี้ในการรักษาแผล โดยเพิ่มการสร้างเนื้อเยื่อคอลลาเจน และการเกิดใหม่ของหลอดเลือด (angiogenesis) รักษาความผิดปกติที่เกิดเนื่องจากการไหลเวียนของเลือด และแผลในกระเพาะ นอกจากนี้ยังพบว่า บัวบกมีฤทธิ์ต้านไวรัสโรครีเม ต้านมะเร็ง รักษาโรคเรื้อนกวาง โรคตับ และมีฤทธิ์คลายเครียดได้อีกด้วย บัวบกจัดเป็นหนึ่งในสมุนไพรซึ่งทางกระทรวงสาธารณสุขได้คัดเลือกไว้ใช้ในงานสาธารณสุขมูลฐานตามแผนพัฒนาการสาธารณสุข-สุข ฉบับที่ 6 โดยส่งเสริมให้ใช้บัวบกสำหรับรักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก

จึงเห็นได้ว่า บัวบกเป็นพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพในการรักษามากมาย เหมาะที่จะได้รับการพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์ ทั้งในรูปของยาและเครื่องสำอาง เพื่อเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรอย่างเป็นระบบและครบวงจร ขั้นตอนแรกสุดของการศึกษาสมุนไพรโดยทั่วไปคือ การศึกษากระบวนการสกัดเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ที่ต้องการอย่างมีประสิทธิภาพ โดยดำเนินการควบคู่ไปกับการตรวจประเมินฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา อันจะทำให้ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นสาร

ออกฤทธิ์ที่แท้จริง รวมทั้งสามารถนำสารที่สกัดแยกได้ไปพัฒนาวิธีการตรวจสอบมาตรฐานของสารสกัดบัวบก หรือผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรชนิดนี้ได้ต่อไป

การศึกษาวิจัยสมุนไพรบัวบกอย่างมีระบบสากลในลักษณะทางวิทยาศาสตร์ที่พิสูจน์ทดลองได้จริงอย่างในชุดโครงการวิจัยนี้ จึงได้มีการกำหนด specification ของผงยาแห้งของสมุนไพรบัวบก และสารสกัดสมุนไพรบัวบกที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา อันจะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการเตรียมเป็น เภสัชผลิตภัณฑ์ยาสำเร็จรูป และเครื่องสำอางที่เตรียมจากสารสกัดสมุนไพร เพราะมักมีคำถามค้างคาใจของนักวิชาการและผู้รู้ทั้งหลายว่า ยาหรือเครื่องสำอางนั้นใช้ได้ผลจริงตามสรรพคุณที่กล่าวอ้างถึงหรือไม่ (efficacy) ยาหรือเครื่องสำอางนั้นมีตัวยาและปริมาณตัวยาที่ออกฤทธิ์สม่ำเสมอเท่ากันทุกเม็ดยาหรือไม่ (consistency) ใช้ได้อย่างปลอดภัยหรือไม่ (safety) มีขนาดยาเท่าไร (dose) เป็นต้น กระบวนการวิเคราะห์เพื่อการควบคุม และประกันคุณภาพของเภสัชผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอางสำเร็จรูปเหล่านี้ ทำให้สามารถตอบคำถามถึงคุณภาพ ประสิทธิภาพ และมาตรฐานดังกล่าวข้างต้นได้

ในอดีตที่ผ่านมา ประเทศไทยมีการส่งออกพืชสมุนไพรบางชนิดสู่ต่างประเทศซึ่งนำรายได้เข้าประเทศได้ในระดับหนึ่ง โครงการวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยพัฒนาซึ่งมีความมุ่งหมายเพื่อนำสมุนไพรบัวบกที่มีคุณค่ามากมาย ปลูกได้ง่าย ราคาถูก มาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ทางยาและเครื่องสำอางเพื่อเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรอย่างเป็นระบบและครบวงจร เพื่อพัฒนาสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรม ตั้งแต่ศึกษากระบวนการสกัดที่ให้สารสกัดที่มีสารออกฤทธิ์ที่ต้องการอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อพัฒนาไปสู่การสกัดระดับอุตสาหกรรม โดยการสกัดแยกส่วนจะดำเนินควบคู่ไปกับการตรวจสอบประเมินฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา การตรวจสอบมาตรฐานของสารสกัดสมุนไพรเพื่อการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรให้อยู่ในมาตรฐานเป็นที่ยอมรับ และมีคุณภาพแน่นอน การออกแบบวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่น่าคุณค่าของสมุนไพรในรูปแบบต่างๆ เพื่อความสะดวกและให้ประโยชน์ในการบริโภคสูงสุด มีทั้งคุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัยในการใช้ด้วยความเชื่อมั่นในผลผลิตของประเทศไทย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษากระบวนการสกัดบัวบกให้ได้สารสกัดบัวบกอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อพัฒนาไปสู่การเตรียมระดับอุตสาหกรรม
2. สามารถแยกส่วนและตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารสกัดบัวบก
3. กำหนดมาตรฐานของสารสกัดบัวบก และควบคุมคุณภาพของสารสกัดบัวบกให้มีมาตรฐานที่แน่นอน
4. ทดสอบเบื้องต้นถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดแยกส่วนในหลอดทดลอง
5. ประเมินฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดบัวบกแยกส่วนในโมเดลสัตว์ทดลอง
6. พัฒนาสูตรตำรับยาในรูปแบบรับประทานของสารสกัดบัวบก ได้แก่ ยาเม็ด

7. พัฒนาสูตรตำรับยาเฉพาะที่และเครื่องสำอางของสารสกัดบัวบก ได้แก่ เจล ครีม และ ยาเหน็บทวารหนัก

8. ศึกษาปัจจัยทางเคมีฟิสิกส์ที่มีผลต่อการละลายและความคงตัวของสารสกัดบัวบก

9. ศึกษาประสิทธิผลทางคลินิกในการรักษาแผล การป้องกันอาการท้องลายของหญิงมีครรภ์ของเจลและครีมบัวบก และการรักษาอาการริดสีดวงทวารหนักของยาเหน็บทวารหนักสารสกัดบัวบก

วิธีดำเนินการวิจัย

โครงการย่อยที่ 1 การสกัด การแยก และการตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารออกฤทธิ์จาก สมุนไพรบัวบก

1. เก็บตัวอย่างสมุนไพรบัวบก
2. เตรียมสารสกัดหยาบบัวบกเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา
3. สกัดแยกสารสำคัญที่บริสุทธิ์ โดยเปรียบเทียบระหว่างวิธี column chromatography กับวิธี partition
4. พิสูจน์สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญในบัวบก เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์บัวบกต่อไป

โครงการย่อยที่ 2 การศึกษาเพื่อกำหนดมาตรฐานของสมุนไพรบัวบก และสิ่งสารสกัดที่มีฤทธิ์ทางยา

1. ศึกษาคุณลักษณะของสมุนไพรบัวบกที่มีการใช้จริงในแหล่งปลูกเชิงพาณิชย์ ดังนี้
 - 1.1 หาแหล่งและจัดเก็บตัวอย่างพืชบัวบก
 - 1.2 ตรวจสอบเอกลักษณ์ทั้งทางมหัพรรคน์และจุลพรรคน์ของพืชสดและผงพืชแห้ง
 - 1.3 ตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมี
 - 1.4 ตรวจสอบเอกลักษณ์ทางกายภาพ
 - 1.5 เสนอแนะเกณฑ์มาตรฐานที่จำเป็น
2. ศึกษาข้อมูลพื้นฐานที่มีผลต่อการผลิตสารสกัด และ/หรือผลิตภัณฑ์
 - 2.1 หาแหล่งและจัดเก็บตัวอย่างพืชบัวบกที่กระจายพื้นที่กว้างขึ้น
 - 2.2 จัดเตรียมสารมาตรฐานใช้งานของสารสำคัญออกฤทธิ์
 - 2.3 พัฒนาวิธีวิเคราะห์คุณภาพของสารสำคัญที่ดี แม่นยำ และถูกต้อง
 - 2.4 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาได้
 - 2.5 ตรวจสอบวิเคราะห์สารสำคัญที่มีในพืชบัวบกที่ปลูกกระจายทั่วประเทศโดยเน้นประเด็น
 - 2.5.1 คัดสายพันธุ์พืชที่ให้ผลผลิตสารสำคัญสูง โดยเก็บตัวอย่างพืชที่ปลูกกระจายทั่วประเทศ

- 2.5.2 ศึกษาฤดูเก็บเกี่ยวที่ให้ผลผลิตสารสำคัญสูง โดยเก็บจากแหล่งปลูกเชิงพานิชย์ 3 แหล่ง
- 2.5.3 ศึกษาส่วนของพืชที่ให้สารสำคัญสูง โดยเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญในใบและก้านใบ
- 2.5.4 ศึกษาผลของอายุของใบที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ
- 2.5.5 ศึกษาผลของแสงแดดที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ
- 2.6 เสนอแนะวิธีพิสูจน์เอกลักษณ์และคุณลักษณะสารสกัด โดยงานวิจัยนี้กำหนดสารสกัดเป็นสารกลุ่ม triterpene glycoside และดำเนินการวิจัยควบคู่กับการประเมินฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างๆ การผลิตเภสัชภัณฑ์ หรือเวชสำอาง และขบวนการผลิตสารสกัดให้มีคุณลักษณะที่ดีเทียบผลิตภัณฑ์ในต่างประเทศ
- 2.7 ตรวจสอบวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดที่ผลิตได้
- 2.8 ตรวจสอบความคงตัวของสารสกัดในสภาวะเร่ง เพื่อประเมินอายุความคงตัว
3. เสนอแนะเกณฑ์ที่ควรกำหนดสำหรับให้หน่วยงานที่รับผิดชอบในการกำหนดมาตรฐานของสมุนไพร และสิ่งสกัดสารสำคัญ

โครงการย่อยที่ 3 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญในการออกฤทธิ์ของสมุนไพรบวบกในเภสัชผลิตภัณฑ์และเครื่องสำอาง

1. เตรียมสารมาตรฐานใช้งาน (working standard) Madecassoside ผสมกับ Asiaticoside
2. ศึกษาพัฒนาวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ในการแยกและวิเคราะห์หาปริมาณ Madecassoside, Asiaticoside ในสารสกัดบวบก
3. ศึกษาและตรวจสอบความใช้ได้จริงของวิธีวิเคราะห์ TLC (method validation) ของสารสกัดบวบกที่ใช้เป็นตัวยารัตถุดิบ, ยาเม็ดบวบก และเจลบวบกตามมาตรฐาน ICH
4. วิเคราะห์หาปริมาณ Madecassoside และ Asiaticoside ในวิเคราะห์ยาเม็ดสำเร็จรูปบวบก และเจลบวบก

โครงการย่อยที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นของสารสกัดบวบกโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง

1. เตรียม fibroblast culture จากผิวหนังของตัวอ่อนหนู และ primary granule cell culture จากสมองหนูส่วน cerebellum หรือ neuroblastoma cell line (N1E-115)
2. ทดสอบผลของสารสกัดบวบกต่อเซลล์เพาะเลี้ยง
3. วิเคราะห์การรอดของเซลล์ด้วย neutral red และ MTT reduction
4. วิเคราะห์การบาดเจ็บหรือตายของเซลล์โดย LDH release
5. วิเคราะห์ lipid peroxidation โดยวิธีวัด TBARS
6. วิเคราะห์ปริมาณ glutathione
7. ประเมินผลและวิเคราะห์ข้อมูล

โครงการย่อยที่ 5 การศึกษาฤทธิ์ในการสมานแผล และผลต่อการเรียนรู้และความจำของสารสกัดมาตรฐานบัวบกในโมเดลของสัตว์ทดลอง

1. เตรียมสารทดสอบและให้สารทดสอบแก่สัตว์ทดลอง
2. ทดสอบผลของสารสกัดบัวบกต่อการเรียนรู้และความจำ ด้วยวิธี
 - 2.1 Cerebral ischemia-induced learning and memory impairment
 - 2.2 Memory impairment induced by scopolamine
3. ทดสอบพฤติกรรมสัตว์ทดลองด้วยวิธี
 - 3.1 Morris water maze (MWM)
 - 3.2 Step-down test
 - 3.3 Locomotor activity
 - 3.4 Lipid peroxidation assay
4. ศึกษาผลของสมุนไพรบัวบกต่อการหายของบาดแผลใหม่ และแผลที่เกิดจากการกรีด (Incision wound)
5. รวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล

โครงการย่อยที่ 6 การทดสอบพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของสารสกัดมาตรฐานบัวบก

1. เตรียมสารละลายของสารสกัดบัวบกสำหรับสัตว์ทดลอง
2. ศึกษาพิษเฉียบพลัน และพิษกึ่งเรื้อรังในสัตว์ทดลอง
3. วิเคราะห์ข้อมูล

โครงการย่อยที่ 7 การพัฒนาสูตรตำรับ การประเมินทางอินวิโทร และการผลิตชั้นอุตสาหกรรมของยาเม็ดเคลือบฟิล์มสารสกัดบัวบก

1. ศึกษาการประเมินคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของสารสกัดบัวบก
2. ศึกษาการพัฒนาและประเมินสูตรตำรับยาเม็ดเคลือบฟิล์มสารสกัดบัวบกโดยใช้สารก่อฟิล์ม chitosan, HPMC และ polymethacrylate
3. ศึกษาความคงตัวของยาเม็ดเคลือบฟิล์มสารสกัดบัวบกภายใต้สภาวะเร่ง ($45 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $75 \pm 5\% \text{ RH}$) เปรียบเทียบกับสภาวะปกติที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 4 เดือน
4. ศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตยาเม็ดเคลือบฟิล์มสารสกัดบัวบกในระดับอุตสาหกรรม

โครงการย่อยที่ 8 การพัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันของสารสกัดบัวบกเพื่อใช้สำหรับทาภายนอกเพื่อใช้ในการรักษาแผล

1. พัฒนาวิธีและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์สารสำคัญของสารสกัดบัวบกโดยไฮเพอร์ฟอแมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี
2. พัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชัน (Microemulsion formulation) โดยการสร้าง ternary/pseudo-ternary phase diagram ที่ประกอบด้วย oil, surfactant / cosurfactant และ water

3. ศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพ (Physical Characterization)
 - 3.1 การตรวจสอบด้วยสายตา (Visual inspection) สังเกตลักษณะของผสมที่เตรียมได้ด้วยสายตาเพื่อตรวจสอบว่าส่วนผสมที่เกิดขึ้นเป็น microemulsions หรือ coarse emulsions
 - 3.2 การศึกษาโดย Polarized light microscopy
 - 3.3 ศึกษาความคงตัวทางกายภาพ (Physical Stability) หลังการผ่าน ผ่าน Heating-cooling cycle
4. เตรียมไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดบัวบก (Centella Extract Microemulsion)
 - 4.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพ (Physical Appearance) ไมโครอิมัลชันที่ผสมสารสกัดบัวบก ได้แก่ สี (color) ความใส (clarity) การแยกวัฏภาค (phase separation)
 - 4.2 pH
 - 4.3 ความหนืด (Viscosity) โดยใช้ Brookfield digital viscometer
 - 4.4 ขนาดอนุภาคหรือหยดของเหลว (Droplet Size) โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscopy, TEM) เทคนิค negative staining ด้วย alkaline phosphotunstic acid
 - 4.5 คุณสมบัติการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity) โดยใช้ conductivity electrode
5. ศึกษาการซึมผ่านผิวหนัง (Permeation Study) ของไมโครอิมัลชันผสมสารสกัดบัวบก โดยใช้ modified Franz diffusion cell
6. ศึกษาความคงตัวของสูตรตำรับ Centella Extract Microemulsion โดยผ่าน heating-cooling cycles จำนวน 6 รอบ วิเคราะห์ปริมาณของ asiaticoside, madecassic acid และ asiatic acid ก่อนการทดสอบความคงตัวและปริมาณที่เหลืออยู่หลังผ่านการทดสอบ โดยวิธี HPLC

โครงการย่อยที่ 9 การพัฒนาสูตรตำรับยาเหน็บทวารหนักผสมสารสกัดบัวบกเพื่อใช้รักษาโรคไส้ตรงทวารหนัก

1. พัฒนาวิธีและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์สารสำคัญของสารสกัดบัวบก โดย HPLC โดยวิเคราะห์ asiaticoside และ madecassoside
2. เตรียมไมโครสเฟียร์ของ chitosan โดยการพ่นแห้ง และศึกษาคุณสมบัติของไมโครสเฟียร์ที่เตรียมได้
 - 2.1 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมไมโครสเฟียร์ของ chitosan โดยการพ่นแห้ง อันได้แก่ processing parameters 2 ปัจจัย คือ inlet air temperature กับ feed rate และ formulation parameters 2 ปัจจัย คือ polymer concentration, polymer / centella extract ratio, additive concentration โดยออกแบบการทดลองแบบ Fractional factorial design experiments 2^{5-1} จากนั้น

ทำการศึกษาต่อโดยใช้ Optimization design: central composite design (CCD) และหาค่า optimal operating condition โดยใช้วิธี response surface methodology

ในการทดลองขั้นนี้ได้สภาวะปัจจัยการพ่นแห้งที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมไมโครสเฟียร์จากการพ่นแห้ง ที่มี % yield สูงที่สุดและ % moisture content ต่ำที่สุด

2.2 ประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของไมโครสเฟียร์จากการพ่นแห้ง

- ค่าเปอร์เซ็นต์ผลได้ (Percentage yield) โดยวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดบวบกโดยวิธี HPLC

- ค่าปริมาณความชื้น (Moisture content) โดยเครื่องชั่ง Moisture analyzer

3. เตรียมไมโครสเฟียร์ของ chitosan โดยการพ่นแห้งที่ผสมสารสกัดบวบก และศึกษาคุณสมบัติต่างๆของไมโครสเฟียร์ที่เตรียมได้ ดังนี้

3.1 ศึกษาลักษณะอนุภาคโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบกราด (scanning electron microscope)

3.2 ศึกษาขนาดและการกระจายขนาดอนุภาค โดยใช้เครื่อง Laser diffraction spectrometer

3.3 ศึกษาค่า Zeta potential โดยวิธี Electrophoresis

3.4 ประเมินคุณสมบัติการยึดติดของไมโครสเฟียร์แบบนอกกาย (in vitro) โดยทดสอบกับเนื้อเยื่อส่วนทวารหนักที่ได้มาใหม่ๆ ของสุกร (fresh pig rectum) วัดจากระยะเวลาที่ไมโครสเฟียร์ถูกชะล้างหลุดออกจาก rectal mucosa จนหมด

3.5 ศึกษาโดย Differential scanning calorimetry (DSC) เพื่อศึกษาลักษณะความเป็นผลึกของ centella extract ในไมโครสเฟียร์จากการพ่นแห้ง คุณสมบัติของสารที่เปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับความร้อน

3.6 ศึกษาโดย Powder x-ray diffraction เพื่อศึกษาลักษณะความเป็นผลึกของ centella extract ในไมโครสเฟียร์จากการพ่นแห้ง

3.7 ศึกษาค่าเปอร์เซ็นต์ปริมาณสารสำคัญ คำนวณปริมาณของสาร asiaticoside และ madecassoside ใน centella extract ที่ผสมอยู่ในไมโครสเฟียร์ที่วิเคราะห์ได้

3.8 ศึกษาการละลายของไมโครสเฟียร์ ด้วยเครื่อง Dissolution apparatus ตาม USP apparatus II (paddle) method วิเคราะห์ด้วย HPLC เพื่อหาปริมาณ asiaticoside และ madecassoside ที่ละลายออกมา

4. เตรียมยาเหน็บทวารหนัก

4.1 เตรียมยาเหน็บทวารหนักแบบเหลวซึ่งเปลี่ยนเป็นเจลได้ โดยผสมกันระหว่าง Poloxamer 407 และ/หรือ Poloxamer 188 ในสัดส่วนและความเข้มข้นต่างๆกัน จากนั้นนำสารละลายที่ได้ซึ่งเป็นยาพื้นยาเหน็บทวารหนักแบบเหลว

- มาศึกษาลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิในการกลายเป็นเจล ความแข็งของเจล เวลาในการเปลี่ยนเป็นเจล
- 4.2 เตรียมยาเหน็บทวารหนักแบบเหลวซึ่งเปลี่ยนเป็นเจลได้ โดยผสมไมโครสเฟียร์ที่ผสมสารสกัดบัวบก
 - 4.3 เตรียมยาเหน็บทวารหนักแบบตั้งเดิมชนิดชอบน้ำซึ่งผสมสารสกัดบัวบก
 - 4.4 เตรียมยาเหน็บทวารหนักแบบตั้งเดิมชนิดชอบน้ำมันซึ่งผสมสารสกัดบัวบก
5. ศึกษาการปลดปล่อยของสารสกัดบัวบกแบบนอกร่าง จากยาเหน็บแบบเหลวซึ่งเปลี่ยนเป็นเจลได้ และยาเหน็บแบบตั้งเดิมชนิดชอบน้ำและชนิดชอบน้ำมัน ศึกษาการปลดปล่อยแบบนอกร่างของยาเหน็บแบบเหลวซึ่งเปลี่ยนเป็นเจลได้เองเปรียบเทียบกับยาเหน็บแบบตั้งเดิมทั้งชนิดชอบน้ำและชนิดชอบน้ำมัน ยาเหน็บทุกชนิดจะผสมด้วยไมโครสเฟียร์ของสารสกัดบัวบกหรือสารสกัดบัวบกที่ไม่ได้บรรจุในไมโครสเฟียร์ และศึกษาการปลดปล่อยของ centella extract จากยาเหน็บ โดยใช้เครื่อง Dissolution apparatus ตาม USP apparatus II (paddle) method วิเคราะห์สารละลายตัวอย่างด้วย HPLC เพื่อหาปริมาณ asiaticoside และ madecassoside ที่ถูกปลดปล่อยออกมา
 6. ศึกษาความคงตัวของโคโตซานไมโครสเฟียร์ที่ผสมสารสกัดบัวบกที่อุณหภูมิ $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $75 \pm 5\% \text{RH}$ เป็นเวลานาน 3 เดือน ทำการสุ่มตัวอย่างที่เวลาต่างๆ และวิเคราะห์ปริมาณ asiaticoside และ madecassoside ที่เหลืออยู่โดยวิธี HPLC และศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพโดยวิธี differential scanning calorimetry (DSC) powder x-ray diffraction (XRD)

ผลการวิจัย/ข้อค้นพบ

โครงการย่อยที่ 1 การสกัด การแยก และการตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรบัวบก

1. สารสกัดหยาบ methanol ที่ได้จากการสกัดสมุนไพรบัวบกด้วยวิธี sequential maceration แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ และมีองค์ประกอบหลักเป็นสารในกลุ่ม triterpenoid saponin 2 ชนิดคือ สาร madecassoside กับ asiaticoside
2. กระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์จากบัวบกด้วยวิธี column chromatography ได้สารที่บริสุทธิ์กว่า แต่ในปริมาณน้อยกว่ากระบวนการ partition ซึ่งสามารถสกัดได้สารผสมระหว่าง madecassoside กับ asiaticoside ในปริมาณ 1% ของน้ำหนักพืชแห้ง

โครงการย่อยที่ 2 การศึกษาเพื่อกำหนดมาตรฐานของสมุนไพรบัวบก และสิ่งสารสกัดที่มีฤทธิ์ทางยา

1. ได้คุณลักษณะของสมุนไพรที่ใช้กำหนดมาตรฐานพืชบัวบก โดยได้พิสูจน์ว่าเกณฑ์มาตรฐานสมุนไพรของกลุ่มประเทศอาเซียนเป็นเกณฑ์ที่เหมาะสม ได้แก่หัวข้อดังนี้

- 1.1 การตรวจเอกลักษณ์โดยวิธีมหรรศน์และจุลหรรศน์
- 1.2 การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี
 - 1.2.1 saponin test
 - 1.2.2 Liebermann-Burchard test
 - 1.2.3 tannin test
 - 1.2.4 TLC เทียบสารมาตรฐาน
- 1.3 การตรวจคุณลักษณะทางกายภาพ
 - 1.3.1 ปริมาณ foreign matter
 - 1.3.2 ปริมาณ loss on drying
 - 1.3.3 ปริมาณ total ash
 - 1.3.4 ปริมาณ acid insoluble content
 - 1.3.5 ปริมาณ moisture content
 - 1.3.6 ปริมาณ water soluble content
 - 1.3.7 ปริมาณ ethanol soluble content
 - 1.3.8 ปริมาณ lead content
 - 1.3.9 ปริมาณ iron content
2. ได้ข้อมูลพื้นฐานที่มีผลต่อการผลิตสารสกัด และ/หรือผลิตภัณฑ์
 - 2.1 ได้สารมาตรฐานใช้งานและวิธีเตรียมสารมาตรฐานใช้งาน 4 ชนิด ได้แก่ madecassoside, asiaticoside, madecassic acid และ asiatic acid ที่ทราบความบริสุทธิ์
 - 2.2 ได้วิธีวิเคราะห์สารสำคัญออกฤทธิ์ 2 วิธี ได้แก่วิธี HPLC และ TLC ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ สามารถใช้งานได้กับการวิเคราะห์สารสำคัญในพืชบัวบก หรือสารสกัด
 - 2.3 ได้วิธีเตรียมตัวอย่างสารสกัดบัวบกที่สะอาดเหมาะสมสำหรับฉีดเข้าระบบ HPLC ที่ลดการรบกวนจากสารอื่นๆ โดยใช้หลักการของ SPE technique
 - 2.4 ได้ข้อมูลพื้นฐานของพืชบัวบกที่จำเป็นสำหรับการผลิตสารสกัดดังนี้
 - 2.4.1 ทราบสายพันธุ์บัวบกที่ให้ผลผลิตสารสำคัญออกฤทธิ์สูง กล่าวคือ ตัวอย่างที่เก็บจากจังหวัดปราจีนบุรี ตราด ระยอง ชลบุรี พืชณุโลก และ เชียงใหม่ โดยสายพันธุ์เหล่านี้ให้ผลผลิตสารสำคัญน้อยที่สุดเพียง 3.46%
 - 2.4.2 ทราบว่าในธรรมชาติ พืชสร้างสารสำคัญออกฤทธิ์ในสัดส่วน madecassoside : asiaticoside ระหว่าง 1.30-2.15 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.65 ± 0.30

- 2.4.3 ทราบเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยพบว่าในรอบปี พืช บัวบกจะให้สารสำคัญออกฤทธิ์สูงในช่วงเดือนมีนาคม-กันยายน และจะให้ผลผลิตต่ำในเดือนกุมภาพันธ์
- 2.4.4 ทราบว่าในบัวบกมีสารสำคัญออกฤทธิ์มากกว่าในก้านใบถึง 10 เท่า
- 2.4.5 ทราบว่าอายุใบที่มากกว่า 20 วันจะให้สารสำคัญออกฤทธิ์มากพอสำหรับการสกัดสาร
- 2.4.6 ทราบว่าปริมาณความเข้มของแสงแดดที่ลดลงทำให้ปริมาณสารสำคัญออกฤทธิ์ลดลง
- 2.4.7 ทราบว่าสารสกัดที่ได้จากการพัฒนาวิธีสกัดมีสารสำคัญออกฤทธิ์ไม่น้อยกว่า 80% และมีสัดส่วน madecassoside ต่อ asiaticoside อยู่ในช่วงใกล้เคียงกับสารในธรรมชาติ
- 2.4.8 จากการทดสอบความคงตัวของสารสกัดในสภาวะเร่งพบว่าสารสำคัญออกฤทธิ์มีอายุความคงตัวมากกว่า 2 ปี
- 2.5 ข้อมูลพื้นฐานที่ได้ดังกล่าวสามารถใช้เป็นเกณฑ์พิจารณาเพื่อกำหนดคุณภาพของพืช และสารสกัดบัวบกได้

โครงการย่อยที่ 3 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญในการออกฤทธิ์ของสมุนไพรบัวบกในเภสัชผลิตภัณฑ์และเครื่องสำอาง

1. การเตรียมสารมาตรฐานใช้งาน (working standard) พบว่าได้สาร madecassoside (CA-01) ผสมกับ asiaticoside (CA-02) ในอัตราส่วน 42.9% และ 38.8% ตามลำดับ
2. ศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ TLC เพื่อแยก CA-01 และ CA-02 จากสารสกัดพืช บัวบก, ยาเม็ดบัวบก และเจลบัวบกพบว่าได้ผลดี โดยใช้แผ่น TLC เป็น silica Gel GF 254 ขนาด 10 x 5 ซม., developing solvent เป็น CHCl_3 -MeOH-water (15:7:1), spray reagent เป็น 0.2% anthrone (in sulfuric acid-ethanol = 1:10), sample size 10 μL , distance 10 ซม., densitometer scanner ที่ 525 นม. พบว่าค่า Rf ของ CA-01 และ CA-02 มีค่า 0.24 และ 0.29 ตามลำดับ และค่า absorption peak ของ CA-01 และ CA-02 อยู่ที่ 131 และ 141 mm. ตามลำดับ โดยไม่มีสารอื่นรบกวน
3. ศึกษาและตรวจสอบความใช้ได้จริงของวิธีวิเคราะห์ TLC (method validation) ของสารสกัดบัวบกที่ใช้เป็นตัวยาวัตถุดิบ, ยาเม็ดบัวบก และเจลบัวบกตามมาตรฐาน ICH พบว่าเข้าเกณฑ์ข้อกำหนดทุกหัวข้อ โดยมี
 - 3.1 มี specificity ดี ไม่มีสารใดรบกวน spot ของ CA-01 และ CA-02
 - 3.2 มี % Recovery ของ CA-01 = 99.81 ± 1.5 , 97.43 ± 0.645 และ 99.07 ± 0.42 และของ CA-02 = 99.18 ± 1.99 , 97.75 ± 1.19 และ 100.34 ± 1.29 ตามลำดับ

- 3.3 มี repeatability ดี โดยมีค่า %RSD ของ CA-01 = 1.07, 0.75 และ 1.82 และของ CA-02 = 1.18, 0.84 และ 1.84 ตามลำดับ
- 3.4 มีค่า Linearity $R^2 > 0.99$
- 3.5 มี Range (mcg) ของ CA-01 อยู่ในช่วง 1.08-21.60, 0.86-4.29 และ 0.172-2.060 และของ CA-02 อยู่ในช่วง 0.78-15.60, 0.78-3.88 และ 0.156-1.862 ตามลำดับ
- 3.6 มี Lower Limit of Detection (LLOD) (ในหน่วย mcg) ของ CA-01 = 0.434, 0.136 และ 0.085 และของ CA-02 = 0.301, 0.093 และ 0.051 ตามลำดับ
- 3.7 มีค่า Lower Limit of Quantitation (LLOQ)(ในหน่วย mcg) ของ CA-01 = 1.314, 0.411 และ 0.172 และของ CA-02 = 0.913, 0.282 และ 0.156 ตามลำดับ
4. จากผลการวิเคราะห์ยาเม็ดสำเร็จรูปบับวก และเจลบับวกพบว่ามี CA-01 เฉลี่ย 97.48 ± 4.31 %LA และ 94.82 ± 4.39 %LA ตามลำดับ และ CA-02 เฉลี่ย 97.43 ± 3.25 %LA และ 96.91 ± 4.79 %LA ตามลำดับ

โครงการย่อยที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นของสารสกัดบับวกโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง

1. สารสกัด butanol และ hexane ของบับวกทุกความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษา (25-100 $\mu\text{g/ml}$) ไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันพิษของอนุมูลอิสระที่เกิดจาก hydrogen peroxide ซึ่งมีต่อเซลล์ fibroblast จากผิวหนัง
2. สารสกัด butanol ของบับวกที่ความเข้มข้นสูง (100 $\mu\text{g/ml}$) อาจมีผลกระตุ้น mitochondrial metabolic activity หรือการเจริญของเซลล์ fibroblast ในขณะที่สารสกัด hexane ของบับวกที่ความเข้มข้นสูง (100 $\mu\text{g/ml}$) อาจมีพิษต่อเซลล์ โดยมีผลกด mitochondrial metabolic activity
3. สารสกัดบับวกที่ค่อนข้างบริสุทธิ์สามารถแสดงผลปกป้องเซลล์ประสาทได้ระดับหนึ่ง ทั้งในสภาวะปกติและสภาวะได้รับอันตราย ทำให้เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงอยู่รอดมากขึ้นหรือบาดเจ็บ/ตายน้อยลง นอกจากนี้ในสภาวะที่เซลล์ได้รับอันตรายจากอนุมูลอิสระ สารสกัดบับวกยังลดระดับ lipid peroxidation และอาจเสริมสร้างปริมาณ glutathione ที่ลดลงได้บ้าง โดยผลดังกล่าวขึ้นกับความเข้มข้นที่ใช้ แต่ที่ความเข้มข้นสูงๆ สารสกัดบับวกกลับแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ ทำให้เซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงอยู่รอดน้อยลง หรือบาดเจ็บ/ตายมากขึ้น
4. สารสกัดบับวกมีทั้งผลดี และผลเสียต่อเซลล์เพาะเลี้ยง ขึ้นกับปัจจัยประกอบหลายอย่าง ได้แก่ ความบริสุทธิ์ ความเข้มข้นสารสกัดที่ใช้ ระยะเวลาที่เซลล์สัมผัสกับสารสกัด และลักษณะของสภาวะก่ออันตราย

โครงการย่อยที่ 5 การศึกษาฤทธิ์ในการสมานแผล และผลต่อการเรียนรู้และความจำของสารสกัดมาตรฐานบัวบกในโมเดลของสัตว์ทดลอง

1. สามารถใช้การปิดกั้นหลอดเลือดคาโรติดชั่วคราว (2VO) สำหรับเป็นโมเดลในการทดสอบผลของสารสกัดบัวบกต่อการเรียนรู้และความจำ
2. สารสกัดรวมของบัวบก เมื่อให้ทางปากแก่หนูทดลอง สามารถแก้ไขสภาวะบกพร่องของการเรียนรู้และความจำได้เฉพาะในโมเดลของการปิดกั้นหลอดเลือดคาโรติดชั่วคราว (2VO) แต่ไม่มีผลในการแก้ฤทธิ์ของสารสโคโพลามีน
3. สารสกัดบัวบกที่ได้จากตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ hexane, ethyl acetate, methanol และน้ำ ต่างก็สามารถทำให้แผลที่เกิดจากการใช้ความร้อน และจากการกรีดหายเร็วขึ้นได้ใกล้เคียงกัน
4. สามารถใช้สาร asiaticoside และ madecassoside เป็น bioactive marker ในการทดสอบฤทธิ์ในการสมานแผล และผลต่อการเรียนรู้และความจำ
5. สามารถพัฒนาสารสกัดมาตรฐานบัวบกที่ปราศจากสี ชื่อ ECa 223 มีคุณสมบัติเหมาะต่อการนำไปพัฒนาเป็นยาสมานแผล หรือช่วยด้านการลืม สารสกัดนี้มีปริมาณสาร asiaticoside กับ madecassoside รวมกันแล้วไม่ต่ำกว่า 80%

โครงการย่อยที่ 6 การทดสอบพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของสารสกัดมาตรฐานบัวบก

1. สารสกัดมาตรฐานบัวบก ECa 233 ในขนาดสูงถึง 10.0 ก./กก. เมื่อให้โดยการป้อนทางปากแก่หนูทดลอง ไม่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลันใดๆ เมื่อสังเกตผลเป็นเวลา 14 วัน
2. สารสกัดมาตรฐานบัวบก ECa 233 ในขนาด 10-1000 มก./กก./วัน ป้อนให้แก่หนูทดลองเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าไม่ทำให้เกิดพิษกึ่งเรื้อรังที่มีนัยสำคัญ

โครงการย่อยที่ 7 การพัฒนาสูตรตำรับ การประเมินทางอินวิโทร และการผลิตชั้นอุตสาหกรรมของยาเม็ดเคลือบฟิล์มสารสกัดบัวบก

1. ขนาดอนุภาคของสารสกัดบัวบกมีหลายรูปทรง และมีการกระจายขนาดอนุภาคที่กว้าง จึงเป็นเหตุให้สารสกัดบัวบกมีการไหลที่ไม่ดี
2. สามารถผลิตยาเม็ดแกนสารสกัดบัวบกได้ด้วยวิธีการตอกโดยตรง (direct compression) ซึ่งมีการควบคุมความชื้นในระหว่างการตอกอัด และพบว่ายาเม็ดที่ทำการผลิตได้มีลักษณะสวยงามและมีคุณสมบัติตามมาตรฐานเภสัชตำรับ
3. ปัญหาการติดกันของยาเม็ดแกน (tackiness) ในระหว่างกระบวนการเคลือบฟิล์ม พบในสูตรตำรับน้ำยาเคลือบฟิล์ม chitosan และ polymethacrylate แก้ไขได้โดยปรับอัตราการฉีดพ่นน้ำยาเคลือบให้ลดลง หรือเปลี่ยนรูปแบบการพ่นน้ำยาเคลือบเว้นระยะเป็นช่วงๆ แต่ทำให้ต้องใช้ระยะเวลาในการเคลือบเพิ่มขึ้น นอกจากนี้เมื่อใช้น้ำยาเคลือบความเข้มข้นสูงๆ มักทำให้เม็ดยามีการรวมตัวติดกันระหว่างเคลือบ แต่ในสูตรตำรับน้ำยาเคลือบฟิล์ม HPMC จะไม่เกิดปัญหาดังกล่าว

4. ยาเม็ดแกนสารสกัดบัวบกที่เคลือบฟิล์ม chitosan citrate เมื่อผลิตเสร็จใหม่ๆ มีสีเหลืองมันวาว โดยระดับความเข้มของสีเม็ดยามีมากขึ้นตามระยะเวลาการเก็บและความเข้มข้นของน้ำยาเคลือบ แต่ยาเม็ดที่เคลือบฟิล์ม HPMC และ polymethacrylate ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพในทุกสภาวะการเก็บ
5. จากการประเมินข้อมูลการทดสอบยาเม็ดแกนและยาเม็ดเคลือบฟิล์มสารสกัดบัวบกพบว่า
 - 5.1 ยาเม็ดเคลือบฟิล์มมีค่าความกร่อนดีกว่ายาเม็ดแกน
 - 5.2 ยาเม็ดเคลือบฟิล์ม chitosan และ HPMC มีความแข็งมากกว่ายาเม็ดแกน แต่ยาเม็ดเคลือบฟิล์ม polymethacrylate มีความแข็งไม่แตกต่างจากยาเม็ดแกนมากนัก
 - 5.3 ตัวยาสำคัญในยาเม็ดมีค่าความแปรปรวนของน้ำหนักและความสม่ำเสมออยู่ในมาตรฐานที่กำหนด
 - 5.4 ปริมาณสารสำคัญในยาเม็ดสารสกัด พบว่าอยู่ในช่วง 86.13-95.03 %LA
 - 5.5 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำยาเคลือบและเก็บเม็ดยานานขึ้น พบว่ายาเม็ดมีแนวโน้มที่จะต้องใช้เวลาในการแตกตัวนานขึ้นด้วย
 - 5.6 การทดสอบการละลายตัวของเม็ดยา ในตัวกลางที่เป็นน้ำผสมกับแอลกอฮอล์ (0.1N hydrochloric acid: isopropyl alcohol, 70: 30) เป็นระยะเวลา 30 นาที พบว่าการปลดปล่อยตัวยาจากยาเม็ดเคลือบฟิล์ม chitosan และ HPMC ความเข้มข้นสูงที่ผ่านการเก็บในสภาวะแรง มีการปลดปล่อยตัวยาลดลงอย่างมีนัยสำคัญ
6. สูตรตำรับยาเม็ดเคลือบฟิล์มที่พัฒนาขึ้น มีความคงตัว ทั้งในการเก็บที่สภาวะปกติ และในสภาวะแรง (ระยะเวลา 4 เดือน)

โครงการย่อยที่ 8 การพัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันของสารสกัดบัวบกเพื่อใช้สำหรับทาภายนอกเพื่อใช้ในการรักษาแผล

ได้ศึกษาผลของชนิดของ oil, surfactant และ cosurfactant ต่อการเกิด micro-emulsion region ซึ่งแสดงจาก isotropic area บน ternary phase diagram หรือ pseudo-ternary phase diagram และต่อการซึมผ่านผิวหนัง รวมทั้งประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของระบบไมโครอิมัลชันที่ได้และความคงตัวทางเคมีของสารสำคัญใน centella extract ที่ผสมในไมโครอิมัลชัน ได้ผลสรุปได้ดังนี้

1. ผลของชนิดของ oil ต่อการเกิด isotropic areas บน ternary phase diagram และ pseudo-ternary phase diagram พบว่า isopropyl myristate (IPM) ให้ % isotropic areas สูงกว่า caprylic/capric triglyceride

2. สามารถเตรียมไมโครอิมัลชันได้จากสาร surfactants ทุกชนิดที่ศึกษาคือ Brij 30 , Brij 97, Arlatone T, Tween 80/Span 80 (1:1) และ Tween 80/Span 80 (2:1) โดยพบว่า Brij 30 ให้ isotropic zone ได้สูงทั้งในระบบที่ไม่มีหรือมี cosurfactant

3. การเติม cosurfactant ทำให้ isotropic area บน phase diagram เพิ่มขึ้น การเพิ่มขึ้นจะขึ้นกับอัตราส่วนระหว่าง surfactant: cosurfactant ที่เหมาะสม การใช้ isopropanol ให้ผลดีกว่าการใช้ propylene glycol

4. จากการศึกษาการซึมผ่านโดย Franz diffusion cell และใช้ 40% ethanol in phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4 เป็น receptor fluid และใช้ shed snake skin เป็นเมมเบรนในการศึกษา ได้ permeation profiles ซึ่งพบว่าการใช้ IPM ในไมโครอิมัลชันให้ permeability ของ asiaticoside, madecassic acid และ asiatic acid สูงกว่าระบบที่ใช้ caprylic/capric triglyceride อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5. ผลของชนิด surfactant ต่อการซึมผ่านผิวหนัง พบว่าในกรณีไม่สาร cosurfactant พบว่า Arlatone มีผลทำให้ permeability ของ asiaticoside สูงที่สุด ในขณะที่ permeability ของ madecassic acid และ asiatic acid เมื่อใช้ Tween 80 : Span 80 (2:1) และ Brij 97 สูงกว่าเมื่อใช้ surfactants อื่น

6. การใช้ isopropanol ที่อัตราส่วน surfactant : cosurfactant เท่ากับ 1:1 ทำให้ permeability ของ asiaticoside, madecassic acid และ asiatic acid สูงกว่าอัตราส่วน 2:1 และ 4:1

7. สูตรตำรับไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วย IPM, Brij 97, isopropanol และ water ทุกสูตรตำรับมีความคงตัวของ asiaticoside, madecassic acid และ asiatic acid หลังจากผ่าน heating-cooling cycle 6 รอบ โดยมีปริมาณสารสำคัญทั้งสามลดลงจากเดิมประมาณ 1 % แสดงถึงความคงตัวทางเคมีที่ดี

โครงการย่อยที่ 9 การพัฒนาสูตรตำรับยาเหน็บทวารหนักผสมสารสกัดบัวบกเพื่อใช้รักษาริดสีดวงทวารหนัก

การวิจัยนี้ได้ออกแบบการวิจัยเชิงทดลองโดยใช้ fractional factorial design ในช่วงต้นเพื่อศึกษาผลของปัจจัย 5 ชนิดต่อผลผลิต (production yield) และปริมาณความชื้น (moisture content) ของผงแห้งที่ได้ ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ปัจจัยเกี่ยวกับสูตรตำรับ (formulation factor) ของสารละลายที่ใช้พ่นแห้ง 3 ปัจจัยได้แก่ %solid content (% chitosan solution), %additive (%Aerosil[®]) และ polymer/extract ratio (chitosan/centella extract ratio) และปัจจัยเกี่ยวกับกระบวนการพ่นแห้ง 2 ปัจจัย ได้แก่ inlet temperature และ feed rate จากนั้นใช้ขั้นตอนมาได้ใช้ response surface methodology ในการ optimization เพื่อหา optimal formulation สำหรับการเตรียมไมโครสเฟียร์จากการพ่นแห้ง และใช้ central rotational composite design เพื่อคำนวณหา optimal experimental range ที่จะให้ production yield สูงสุดและ moisture content ต่ำสุด

1. ในการทดลองขั้นต้นซึ่งใช้ of fractional factorial designs แสดงว่าปัจจัยที่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อ %yield และ %moisture content คือ inlet temperature และ %solid content ($P < 0.01$) จากนั้นในการ optimization ได้ใช้ response surface quadratic model สำหรับการคาดการณ์ %yield และใช้ linear model สำหรับ %moisture content ($P < 0.05$)

2. จากการทำ overlay plot สามารถคาดการณ์หา optimum region ทำให้ได้ optimal formulation เมื่อกำหนด flow rate 5 ml/min, polymer/extract ratio 1:1 และ additive 0.5% ดังนี้

inlet temperature 160°C

solid content 3.4.%

การเตรียมผงพ่นแห้งตามสภาวะของ optimal formulation ดังกล่าวพบว่าได้ค่า %yield และ %moisture content อยู่ในช่วงที่ทำนายไว้ (prediction intervals) ที่ระดับความเชื่อมั่น (confidence level) 95% จากผลที่ได้นี้แสดงชัดเจนว่า model ที่ใช้สอดคล้องกับข้อมูลการทดลองได้ดี

3. ทุกสูตรตำรับของโคโตซานไมโครสเฟียร์ที่เตรียมขึ้นตามทีออกแบบการทดลองเป็น fractional factorial design สามารถบรรจุ (load) centella extract ได้สูงกว่า 80% การศึกษาคุณลักษณะของไมโครสเฟียร์แสดงให้เห็นว่า centella extract ผสมกระจายหรือละลายอยู่ในไมโครสเฟียร์หรือ chitosan matrix ในระดับโมเลกุล (molecularly dispersed) หรืออยู่ในสภาวะ amorphous state ใน solid dispersion

รูปแบบการปลดปล่อย (release profiles) ของ asiaticoside และ madecassoside จากไมโครสเฟียร์มีลักษณะการปลดปล่อยแบบเร็ว (fast release)

4. ไมโครสเฟียร์จาก (optimal formulation) มีขนาดอนุภาคเล็กเท่ากับ $5.19 \pm 0.02 \mu\text{m}$ และแสดงค่า zeta potential เป็นบวกเท่ากับ $+32.87 \pm 1.39 \text{ mV}$ จากการทดสอบคุณสมบัติการยึดติดบนเยื่อเมือกของ pig rectum สามารถอยู่ได้นาน 240 นาที

5. สูตรตำรับยาเหน็บแบบเหลวซึ่งเป็นเจลได้เตรียมจาก combined poloxamer solution ที่ประกอบด้วย poloxamer407 (P407)/poloxamer188 (P188) เท่ากับ 18/4% w/w สามารถให้ gelation temperature เหมาะสมเท่ากับ $33.6 \pm 0.15^{\circ}\text{C}$ ค่า gel strength เท่ากับ 46.8 ± 1.30 วินาที และ setting time เท่ากับ 30 วินาที ซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับการเตรียมยาเหน็บแบบเหลว

6. สูตรตำรับยาเหน็บแบบดั้งเดิมชนิดเป็นมัน (conventional oleaginous suppository) หรือ Suppocire[®] AM ที่ผสม pure centella extract แสดงการปลดปล่อยช้าที่สุด ในขณะที่สูตรตำรับนี้เมื่อผสมกับ centella microspheres จะให้การปลดปล่อยที่เร็วที่สุด อาจจะอธิบายได้ว่า Suppocire[®] AM มีคุณสมบัติชอบไขมัน (lipophilic) ในขณะที่ centella microspheres ที่เตรียมโดยการพ่นแห้งกับ chitosan มีการละลายน้ำดีขึ้นกว่า pure centella extract ดังนั้นจึงเกิดการปลดปล่อยเร็ว (rapid release) ออกจาก fatty base

7. สูตรตำรับยาเหน็บแบบดั้งเดิมชนิดละลายน้ำ (conventional water-soluble suppository) หรือ PEGs base มีการปลดปล่อย centella extract สูงกว่าจากยาเหน็บชนิด poloxamer base ทั้งนี้เนื่องจาก PEG สามารถละลายในตัวยากลางการละลาย ในขณะที่ poloxamer ไม่ละลายแต่จะเกิดเป็นเจล เจลมีโครงสร้างที่จัดเรียงชิดกันจนขัดขวางการปลดปล่อยยา

8. อัตราการปลดปล่อยจาก Suppocire[®] AM base ซึ่งผสม pure centella extract และ centella microspheres มีความสอดคล้องตามสมการ first order model ($R^2 = 0.9890-0.9980$) เช่นเดียวกับการปลดปล่อยจาก PEG base สอดคล้องตามสมการของ first order model ($R^2 = 0.9473-0.9859$) ส่วนการปลดปล่อยจาก poloxamer base ซึ่งผสม pure centella extract และ centella microspheres สอดคล้องตาม Higuchi model ($R^2 = 0.9977-0.9990$)

9. ผลการวิจัยนี้ ได้ผลตามวัตถุประสงค์ในการเตรียมยาเหน็บทวารหนักแบบเหลวซึ่งเปลี่ยนเป็นเจลได้ ผสมกับ centella extract ซึ่งเตรียมเป็นไมโครสเฟียร์ร่วมกับ chitosan โดยการพ่นแห้งและคุณลักษณะของไมโครสเฟียร์และยาเหน็บที่เหมาะสม

ข้อเสนอแนะ/ การนำไปใช้ประโยชน์

โครงการย่อยที่ 1 การสกัด การแยก และการตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรบัวบก

วิธี partition สารสกัดหยาบด้วย methanol ของสมุนไพรบัวบก เป็นวิธีที่ทำให้ได้ของผสมของสารสำคัญในพืชสมุนไพรนี้ โดยมี % yield สูงถึง 1% ของน้ำหนักพืชแห้ง เป็นวิธีที่สะดวกและประหยัดต้นทุนการผลิต สารสกัดที่ได้มีสภาพทางกายภาพเหมาะสมต่อการนำไปตั้งตำรับยาทั้งภายนอกและภายใน วิธีการนี้จึงเหมาะที่จะนำไปปรับใช้ในระดับอุตสาหกรรม ทั้งโดยหน่วยงานของรัฐ หรือภาคเอกชน

โครงการย่อยที่ 2 การศึกษาเพื่อกำหนดมาตรฐานของสมุนไพรบัวบก และสิ่งสารสกัดที่มีฤทธิ์ทางยา

หากมีความประสงค์ในการผลิตสารสกัดบัวบกเพื่อการพาณิชย์ ข้อมูลที่มีเกี่ยวกับพืชบัวบกมีเพียงพอที่จะเริ่มต้นแปลงปลูก รวมทั้งกระบวนการสกัด เป็นแนวทางสำหรับการทำ process validation ได้อย่างดีและรวดเร็วยิ่งขึ้น

การนำไปใช้ประโยชน์ ข้อมูลเหล่านี้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการพัฒนาชั้นอุตสาหกรรม

โครงการย่อยที่ 3 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญในการออกฤทธิ์ของสมุนไพรบัวบกในเภสัชผลิตภัณฑ์และเครื่องสำอาง

วิธี TLC-Densitometer ที่ได้พัฒนาขึ้น เหมาะที่จะนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพพืชสมุนไพรบัวบก, สารสกัดบัวบกที่เป็นตัวยารัตนุติบ ยาเม็ดสำเร็จรูป และเครื่องสำอางได้ เพราะเป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด ราคาไม่แพง และทำได้รวดเร็ว และไม่จำเป็นต้องใช้บุคลากรผู้เชี่ยวชาญพิเศษ **การนำไปใช้ประโยชน์** วิธี TLC-Densitometer ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ทำให้ได้

1. ได้ Fingerprint จาก TLC ที่รู้ bioactive marker peak ของสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา คือ madecassoside และ asiaticoside
2. ได้วิธีวิเคราะห์สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา madecassoside และ asiaticoside ที่อยู่ในสารสกัดสมุนไพรบัวบก
3. ได้วิธีตรวจสอบความใช้ได้จริงของวิธีวิเคราะห์ madecassoside และ asiaticoside ที่อยู่ในพืชสมุนไพรบัวบก, ในสารสกัดบัวบกที่เป็นตัวอย่างวัตถุดิบ ในยาเม็ดสำเร็จรูปบัวบก และในเจลบัวบกได้ ตามหลักสากลทางยา ที่กำหนดในตำรายา (USP หรือ ICH)
4. สามารถนำวิธีนี้ไปใช้ในการควบคุมคุณภาพมาตรฐานของ madecassoside และ asiaticoside ที่อยู่ในพืชสมุนไพรบัวบก, ในสารสกัดบัวบกที่เป็นตัวอย่างวัตถุดิบ ในยาเม็ดสำเร็จรูปบัวบก และในเจลบัวบกได้
5. ได้ผลการวิเคราะห์สารสำคัญ madecassoside และ asiaticoside ที่มีอยู่ในสารสกัดสมุนไพรบัวบก ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยา และเครื่องสำอาง จนสามารถนำไปใช้ควบคุมคุณภาพ และประกันคุณภาพเภสัชผลิตภัณฑ์ยาสำเร็จรูป และเครื่องสำอางสมุนไพรบัวบกได้ ทำให้ผู้บริโภคมีความมั่นใจในประสิทธิภาพ ประสิทธิผล และความปลอดภัยของใช้
6. ผลที่ได้จากการวิจัยนี้ สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเภสัชภัณฑ์ และเครื่องสำอางสมุนไพรบัวบก โดยใช้ทั้งการศึกษาการพัฒนาสูตรตำรับ โดยควบคุมให้มีคุณภาพ มาตรฐาน และความปลอดภัย เพื่อการใช้ภายในประเทศเอง และเพื่อการส่งออก และลดการนำเข้า อันเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับยาสมุนไพรบัวบก
7. ผลที่ได้จากการวิจัยนี้ สามารถนำไปใช้ในการผลิตเภสัชภัณฑ์ยาสำเร็จรูป และเครื่องสำอางสมุนไพรบัวบกในโรงพยาบาล โดยควบคุมให้มีคุณภาพ มาตรฐาน และความปลอดภัย เป็นการประกันสุขภาพให้กับผู้บริโภคโดยตรง
8. ผลที่ได้จากการวิจัยนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลให้กับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข เพื่อใช้ในการตรวจสอบการขึ้นทะเบียน ตำรับยาเภสัชภัณฑ์ยาสำเร็จรูป และเครื่องสำอางสมุนไพรบัวบก

โครงการย่อยที่ 4 การทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นของสารสกัดบัวบกโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง

1. สารสกัดบัวบกส่วนที่ค่อนข้างบริสุทธิ์ (มีสารสำคัญหลายตัว) และสาร asiaticoside อาจเป็นตัวเลือกที่สมควรทำการศึกษาวิจัยในขั้นละเอียดต่อไป
2. การทดสอบสารสกัดบัวบกโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงต้องการสารสกัดที่มีความบริสุทธิ์สูงจากการวิจัยเบื้องต้นพบว่าส่วนประกอบอื่นๆ ที่ปนอยู่ในสารสกัดบัวบกขั้นต้น เช่น สี ยางเหนียว ตัวทำละลายตกค้าง เป็นต้น มีผลกระทบเชิงลบอย่างมากต่อการเจริญ

และการอยู่รอดพื้นฐานของเซลล์ ทำให้การทดสอบกับสารสกัดบวบกชั้นต้นมีความแปรปรวนสูง

3. ในทางปฏิบัติ การใช้เซลล์เพาะเลี้ยงทดสอบฤทธิ์สารสกัดสมุนไพรอาจไม่ใช่ทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในกรณีที่สารสกัดนั้นยังไม่บริสุทธิ์เพียงพอ เนื่องจากความแปรปรวนขององค์ประกอบทางเคมีและสิ่งปนเปื้อนจะทำให้ผลการทดสอบไม่เที่ยงตรงแม่นยำ

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ความรู้ความเข้าใจที่ได้จากการศึกษาในเซลล์สัตว์เพาะเลี้ยง มีความสอดคล้องใกล้เคียงกับที่ได้จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง สามารถใช้เป็นแนวทางช่วยการตัดสินใจนำสารสกัดบวบกไปศึกษาถึงฤทธิ์ด้านพิษอนุมูลอิสระขั้นต่อไปในสัตว์ทดลองและมนุษย์ นอกจากนี้วิธีการศึกษานี้ยังลดการทำลายชีวิตสัตว์ทดลองลงได้มากซึ่งช่วยแก้ไขปัญหาจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลองในการวิจัย
2. ความรู้ความเข้าใจเทคนิคการทดสอบที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปประยุกต์เป็นการทดสอบเบื้องต้น (screening test) สำหรับศึกษาฤทธิ์ด้านพิษอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติอื่น ๆ แทนวิธีทางเคมีที่ใช้อยู่ ซึ่งทำให้สามารถค้นหาตัวยาที่มีศักยภาพเป็นยาป้องกันโรคที่เกิดจากความเสื่อมของเนื้อในร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพและถูกต้องแม่นยำมากขึ้น
3. ความรู้ความเข้าใจผลป้องกันพิษอนุมูลอิสระของสารสกัดบวบก เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำสมุนไพรไทยไปพัฒนาเป็นยาป้องกันโรคซึ่งเกิดจากความเสื่อมของเนื้อเยื่อในร่างกาย เพื่อใช้ในระบบสาธารณสุขของประเทศไทย อันจะเป็นการนำศักยภาพของภูมิปัญญาชาวบ้านไปสู่การใช้ที่รองรับด้วยการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ เพื่อแก้ปัญหาสุขภาพและการแพทย์ของประชาชนในระดับมหภาค
4. หน่วยงานที่สามารถนำผลการวิจัยนี้ไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ หน่วยงานต่างๆ ที่ทำหน้าที่วิจัยและพัฒนายาใหม่ทั้งภาครัฐ เช่น ทบวงมหาวิทยาลัย องค์การเภสัชกรรม กระทรวงสาธารณสุข กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และเอกชน เช่น บริษัทผลิตยาจากสมุนไพรของเอกชน

โครงการย่อยที่ 5 การศึกษาฤทธิ์ในการสมานแผล และผลต่อการเรียนรู้และความจำของสารสกัดมาตรฐานบวบกในโมเดลของสัตว์ทดลอง

ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้สนับสนุนการผลิตสารสกัดบวบกมาตรฐาน ECa 233 ในเชิงพาณิชย์ เพื่อนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับผู้สูงอายุ หรือผลิตภัณฑ์สำหรับการสมานแผล อย่างไรก็ตาม ควรจะมีการทดสอบผลของสารสกัดมาตรฐานดังกล่าวอีกครั้งหนึ่งในคน หลังจากที่ได้ข้อมูลทางด้านพิษวิทยาที่สมบูรณ์แล้ว

โครงการย่อยที่ 6 การทดสอบพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของสารสกัดมาตรฐานบวบก

ถึงแม้ข้อมูลในสัตว์ทดลองจะชี้ให้เห็นว่า สารสกัดมาตรฐานบวบกไม่มีพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรัง แต่สำหรับการใช้ในคน หากต้องรับประทานสารสกัดบวบกเป็นเวลาต่อเนื่องกันนานๆ

ควรมีการตรวจทางโลหิตวิทยา และเคมีคลินิกเป็นระยะ เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงที่อาจเกิดขึ้นได้

โครงการย่อยที่ 7 การพัฒนาสูตรตำรับ การประเมินทางอินวิโทร และการผลิตขั้นอุตสาหกรรมของยาเม็ดเคลือบฟิล์มสารสกัดบัวบก

สามารถทำการผลิตยาเม็ดสารสกัดบัวบกในระดับอุตสาหกรรมได้ ด้วยกระบวนการผลิตโดยการตอกตรงและการเคลือบฟิล์ม การปรับรอบการหมุนของหม้อเคลือบในกระบวนการเคลือบเม็ดยาให้ช้าลง จะช่วยให้ได้ยาเม็ดเคลือบฟิล์มที่มีลักษณะดีตามต้องการ

การนำไปใช้ประโยชน์ โรงงานอุตสาหกรรมยา ทั้งภาครัฐและเอกชน สามารถนำข้อมูลที่ได้นี้ไปปรับใช้ในการผลิตยาเม็ดสมุนไพรบัวบกได้

โครงการย่อยที่ 8 การพัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันของสารสกัดบัวบกเพื่อใช้สำหรับทาภายนอกเพื่อใช้ในการรักษาแผล

การนำไปใช้ประโยชน์ จากโครงการวิจัยนี้ สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับใช้ทาภายนอกสำหรับผิวหนังในรูปแบบไมโครอิมัลชัน ซึ่งมีคุณสมบัติที่ดีคือ เป็นระบบนำส่งยาที่มีความคงตัวสูง สามารถเตรียมได้ง่าย นำส่งยาสู่ผิวหนังได้ดี สามารถต่อยอดไปใช้เชิงพาณิชย์ได้

โครงการย่อยที่ 9 การพัฒนาสูตรตำรับยาเหน็บทวารหนักผสมสารสกัดบัวบกเพื่อใช้รักษาริดสีดวงทวารหนัก

การนำไปใช้ประโยชน์ จากโครงการวิจัยนี้ สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาเหน็บทวารหนักที่ผสมสารสกัดบัวบก ทั้งสูตรแบบเหลวที่เปลี่ยนเป็นเจลได้ในร่างกาย และสูตรตำรับแบบดั้งเดิมชนิดขบหน้าและชนิดขบน้ำมัน โดยพัฒนาให้สารสกัดบัวบกอยู่ในรูปไมโครสเฟียร์ร่วมกับ chitosan ในรูปพ่นแห้ง สูตรตำรับดังกล่าวนี้ น่าจะมีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ได้ต่อไป