

รายงานผลทางคลินิกของยาสมุนไพรเคอรา ในผู้ป่วยติดเชื้อโควิด 19 และ ผลข้างเคียง

รังสรรค์ บุตรชา¹, อัญชัชชา สุยะ²

¹ โรงพยาบาลพระธาตูปัตย์ จังหวัดปทุมธานี

² ร้านตำรับไทย พิษณุเจอรปาร์ครังสิต

บทคัดย่อ

จากสถานการณ์การระบาดของโรคโควิด 19 ซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ (SARS-CoV-2) ที่เกิดขึ้นทั่วโลก ทำให้ประเทศไทยได้รับผลกระทบมากมายจากเหตุการณ์ดังกล่าว โดยนับตั้งแต่การระบาดภายในประเทศครั้งแรกในปี พ.ศ.2563 จนถึงการระบาดระลอกล่าสุดในเดือนเมษายน พ.ศ. 2564 เป็นต้นมา ยอดผู้ติดเชื้อสะสมในประเทศไทยจนถึงวันที่ 14 สิงหาคม 2564 มีจำนวนทั้งสิ้น 854,108 คน จำนวนผู้ติดเชื้อที่สูงขึ้นทำให้หน่วยงานด้านสาธารณสุขเร่งวิจัยค้นคว้าเพื่อผลิตวัคซีนและยาสำหรับป้องกันและบรรเทาอาการของโรคโควิด 19 ในประเทศไทยเองก็ได้มีการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิด อาทิ ฟ้าทะลายโจร และยาสมุนไพรชนิดแคปซูล เคอรา ซึ่งในกรณีของยาแคปซูล เคอรา นั้น ยังไม่มีผลสรุปการศึกษาทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับโรคโควิด 19 ที่ชัดเจน ทำให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยายังไม่รับรองการใช้ยาแคปซูล เคอรา ในการป้องกันและรักษาโรคโควิด 19 งานวิจัยในครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อนำเสนอผลการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของตำรับยาสมุนไพร เคอรา ในด้านต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางนำไปใช้รักษาผู้ป่วยโรคโควิด 19 ต่อไป

บทนำ

ในเดือนธันวาคม ปี 2019 ได้พบอุบัติการณ์ของโรคปอดบวมชนิดใหม่ในตลาดค้าส่งอาหารทะเลเซาท์ไชน่าในเมืองหวู่ฮั่น มณฑลหูเป่ย์ ประเทศจีน โดยยังไม่พบแหล่งที่มาแน่ชัด จากการวิเคราะห์ลำดับจีโนมของเชื้อจากกลุ่มตัวอย่างซึ่งเป็นผู้ป่วยโรคดังกล่าว พบสารพันธุกรรมของเบต้า-โคโรนาไวรัสชนิดใหม่ ซึ่งต่างจาก SARS-CoV และ MERS-CoV ที่มีประวัติก่อโรคในมนุษย์มาก่อน (1) ไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ที่มีความสามารถแพร่ระบาดสูงนี้ เดิมมีชื่อว่า 2019-nCoV และเมื่อวันที่ 11 กุมภาพันธ์ 2020 คณะกรรมการระหว่างประเทศว่าด้วยอนุกรมวิธานของไวรัสได้เสนอชื่อ “โรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง coronavirus 2 (SARS-CoV-2)” เพื่ออ้างถึงไวรัสดังกล่าว ต่อมาองค์การอนามัยโลก (WHO) จึงได้ออมนัดชื่อโรคนี้ว่า “โรคปอดบวมที่เกี่ยวข้องกับโคโรนาไวรัส-19 (COVID-19)” (2)

หน่วยงานด้านการแพทย์ทั่วโลกได้พยายามค้นหาแนวทางเพื่อรับมือกับโรคโควิด 19 ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา ซึ่งในประเทศไทยก็ได้มีการศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรไทยหลายชนิด ที่น่าจะมีฤทธิ์ยับยั้งโรคโควิด 19 ได้ เช่น กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ได้ศึกษานำร่องเพื่อกำหนดขนาดของยาสมุนไพรฟ้าทะลายโจร โดยกำหนดสารสำคัญ API ที่มีฤทธิ์ครอบคลุมทั้งการต้านการอักเสบ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และต่อต้านไวรัส SARS-CoV-2 แล้วคำนวณกลับจากค่า IC50 ที่ได้จากการศึกษาทางพรีคลินิก เพื่อให้ได้ขนาดยาที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย จากผลการวิจัยทำให้สรุปได้ว่า ยาสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่ถูกรับรองให้ใช้เพื่อยับยั้งโรคโควิด 19 จะต้องเป็นยาที่ระบุปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์เท่านั้น โดยขนาดที่แนะนำสำหรับผู้ใหญ่ที่มีน้ำหนักตัวตั้งแต่ 50 กก.ขึ้นไป คือแอนโดรกราโฟไลด์ปริมาณ 180 มิลลิกรัมต่อวัน โดยแบ่งรับประทานวันละ 3 ครั้งก่อนอาหาร และใช้ต่อเนื่องไม่เกิน 5 วัน (3) ซึ่งสามารถใช้ได้ทั้งในรูปแบบยาสารสกัดฟ้าทะลายโจรและยาผงจากฟ้าทะลายโจรบด ที่มีปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ตามที่กำหนด นอกจากนี้ ยังพบสมุนไพรอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือบรรเทาอาการของโรคโควิด 19 ได้ เช่น กระชายขาว กระเทียม และขิง (4)

ในส่วนของยาสมุนไพรชนิดแคปซูล เคอร์่า ถูกพัฒนาขึ้นจากตำรับยาโบราณในคัมภีร์ตักศิลา ที่ใช้สมุนไพร 9 ชนิด เป็นส่วนประกอบหลัก โดยคัมภีร์ตักศิลาเป็นตำราแพทยศาสตร์ฉบับหลวง ซึ่งเขียนขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2440 ในสมัยรัชกาลที่ 5 (5) ทาง เวชกรโอสถ ซึ่งเป็นผู้ผลิตและพัฒนายาแคปซูล เคอร์่า ได้ปรับปรุงตำรับยาครอบไว้ตักศิลาจากตำราดังกล่าว โดยปรับเปลี่ยนองค์ประกอบยาให้เหมาะสมตาม

หลักการแพทย์แผนปัจจุบัน รวมทั้งพัฒนากรรมวิธีการผลิต โดยใช้ความร้อนและความเย็นในการสกัด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของตัวยา ทำให้ยาแคปซูล เคอรา สามารถดูดซึมและออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัสได้ดียิ่งขึ้น

ยาแคปซูล เคอรา (KERRA) เป็นยาสมุนไพรชนิดแคปซูลที่ผลิตโดย เวชกร โอสถ โรงงานผลิตยาที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน GMP และ HALAL โดยยาเคอราได้ผ่านการขึ้นทะเบียนคำรับยาแผนโบราณเมื่อวันที่ 12 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2557 ตามเลขทะเบียนที่ G40/57 โดยใช้ชื่อว่า “ยาแคปซูล เคอรา” ยาเคอรามีลักษณะเป็นผงบรรจุแคปซูลซึ่งตัวยาประกอบด้วยสมุนไพรหลายชนิด ได้แก่ แก่นจันทร์แดง แก่นจันทร์ขาว หัวคล้า รากผักขำ รากมะนาว รากสะแกนา รากกระทิงหมาบ้า เถาย่านาง และ บอระเพ็ด สรรพคุณของยาเคอรา จะเน้นไปที่การลดพิษไข้คลายพิษร้อน เช่นเดียวกับยาครอบไข้ดังกล่าวตามตำราแพทย์โบราณ รวมถึงยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสในร่างกาย เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และยับยั้งการอักเสบ ซึ่งมีส่วนช่วยป้องกันและบรรเทาอาการที่เกิดจากโรคติดเชื้อไวรัสต่างๆ เช่น อาการไข้ตัวร้อน ไอ มีน้ำมูก อ่อนเพลีย ปวดเมื่อยตามตัวและผิวหนังอักเสบได้

ก่อนหน้านี้มีประวัติการใช้ยาเคอราในการรักษาโรคไข้หวัดใหญ่ โดยพบว่ายาสามารถบรรเทาอาการของโรค ได้แก่ อาการไข้ ไอ ปวดศีรษะ เจ็บคอ มีน้ำมูก ปวดเมื่อยและอ่อนเพลีย โดยคนไข้ส่วนใหญ่จะมีอาการดีขึ้นภายใน 24 ชั่วโมงหลังได้รับยา นอกจากนี้ ยังมีการนำยาเคอราไปใช้รักษาโรคเรื้อรังและงูสวัด ซึ่งพบว่า สามารถรักษาแผลให้หายได้ภายใน 3 วัน จึงมีการสันนิษฐานว่ายาเคอราน่าจะมีสรรพคุณในการบรรเทาอาการของโรคโควิด 19 ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสโคโรนาไวรัส (SARS-CoV-2) และมีอาการคล้ายคลึงกับโรคไข้หวัดใหญ่

อย่างไรก็ดี สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ยังไม่รับรองสรรพคุณของยาเคอราในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อโควิด 19 การศึกษานี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อรายงานผลการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของยาแคปซูล เคอรา ในด้านต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งโรคโควิด 19 ตลอดจนผลการใช้ยาเคอราในผู้ป่วยโรคโควิด 19 จำนวน 3091 คน

วัตถุประสงค์

บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อรายงานผลการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของตำรับยาสมุนไพร เคอร์รา (KERRA) ในด้านต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งโรคโควิด 19 รวมไปถึงผลการใช้ยาเคอร์ราในการรักษาผู้ป่วยโรคโควิด 19

วิธีการศึกษา

ในการศึกษานี้ ได้รวบรวมรายงานการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด Kerra ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Covid-19 Main Protease และ RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) ในรับรองการทดสอบการต้านการอักเสบ ในรับรองการทดสอบการต้านไวรัส FIPV ในเซลล์ CRPR และการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งและเซลล์ไตลิง ซึ่งดำเนินการโดยภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในรับรองผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน ซึ่งดำเนินการโดยห้องปฏิบัติการพิษวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร ประเทศไทย ในรับรองการทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (ORAC) ซึ่งดำเนินการโดยห้องปฏิบัติการสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล และรายงานการศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วยที่ติดเชื้อโควิด 19 จำนวน 3091 คน ซึ่งเป็นผู้ป่วยระดับสีเขียวและสีเหลืองที่มาตรวจคัดกรองที่โรงพยาบาลพระชาธิปัตย์ จังหวัดปทุมธานี และที่องค์การบริหารส่วนจังหวัดปทุมธานี โดยทำการเก็บรวบรวมข้อมูลดังนี้

1. จำนวนวันที่ป่วย หรือหายจากอาการ หลังจากกินยา
2. จำนวนรายที่ปอดอักเสบและมีอาการลุกลามหลังจากกินยา
3. ผลข้างเคียงไม่พึงประสงค์หลังกินยา
4. ความรู้สึก ความพึงพอใจและคุณภาพชีวิตหลังการกินยา

ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Covid-19 Main Protease

จากการศึกษากลไกของยาเคอราในการยับยั้งเชื้อไวรัสโควิด 19 เราพบว่ากลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญก็คือการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COVID-19 main protease โดยไวรัสหลายชนิด รวมทั้ง SARS-CoV-2 ที่ก่อโรคโควิด 19 จะอาศัยเอนไซม์ดังกล่าวในการจำลองตัวเองและเพิ่มจำนวนภายในเซลล์มนุษย์ เนื่องจากเอนไซม์ main protease หรือที่เรียกว่าเอนไซม์ 3CL มีบทบาทในการย่อยและแปรสภาพโปรตีนตั้งต้นที่ถอดรหัสออกมาจากสารพันธุกรรมของไวรัส ให้กลายเป็นโปรตีนที่สมบูรณ์และพร้อมทำหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับการจำลองตัวเองของเชื้อต่อไป (9) และเนื่องด้วยเอนไซม์ main protease นั้นมีความสำคัญต่อการอยู่รอดของเชื้อในร่างกาย ทั้งยังมีความจำเพาะกับโปรตีนของไวรัสสูงมาก ทำให้การวิจัยในปัจจุบันมุ่งเน้นไปที่การพัฒนาเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว โดยมีเป้าหมายเพื่อหยุดการเพิ่มจำนวนไวรัสภายในเซลล์ และช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันสามารถกำจัดเชื้อไวรัสที่มีจำนวนน้อยนั้นได้ง่ายขึ้น

ยาที่ใช้รักษาอาการของโรคโควิด 19 ในปัจจุบันมีอยู่หลายชนิด เช่น ยาด้านมาลาเรีย (chloroquine และ hydroxychloroquine) ยาด้านไวรัสไข้หวัดใหญ่ (favipiravir) และยาด้านไวรัส HIV (lopinavir, ritonavir และ darunavir) ซึ่งมีกลไกยับยั้งเอนไซม์ protease ของเชื้อไวรัสได้เช่นเดียวกัน (10) อย่างไรก็ตาม การใช้ยาเหล่านี้กับผู้ป่วยโรคโควิด 19 จำนวนมากยังคงมีข้อจำกัด เนื่องจากยามักมีผลข้างเคียง เช่น ทำให้ตับอักเสบ รวมถึงการให้ยามากเกินไปโดยไม่จำเป็น ก็อาจทำให้เชื้อไวรัสคือต่อยา ซึ่งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขในระยะยาวได้ ด้วยเหตุนี้ จึงต้องมีการกำหนดแนวทางการให้ยาด้านไวรัสตามอาการของผู้ป่วยโรคโควิด 19 โดยหากผู้ป่วยไม่มีอาการ ก็ไม่จำเป็นต้องรักษาด้วยยา หากผู้ป่วยมีอาการเล็กน้อย และ/หรือมีปัจจัยเสี่ยงร่วมด้วย เช่น มีอายุ 60 ปีขึ้นไป เป็นโรคปอดเรื้อรัง หรือมีโรคประจำตัวอื่นๆ ก็อาจพิจารณาให้ยากุ่มด้านมาลาเรีย ร่วมกับยาด้านไวรัส HIV แต่หากผู้ป่วยมีอาการรุนแรง หรือมีออกซิเจนต่ำกว่า 95% หรือมีภาวะปอดอักเสบร่วมด้วย แพทย์ก็จะพิจารณาให้ยา favipiravir ร่วมกับยาด้านมาลาเรียและยาด้านไวรัส HIV อย่าง lopinavir และ ritonavir ซึ่งมีความจำเป็นในกรณีพบเชื้อไวรัสจำนวนมากในร่างกาย อย่างไรก็ตาม โรคโควิด 19 นั้นเป็นโรคอุบัติใหม่ แนวทางการรักษาจึงยังมีการวิจัยทางคลินิกรองรับค่อนข้างน้อย และอาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลาตามสถานการณ์การระบาด

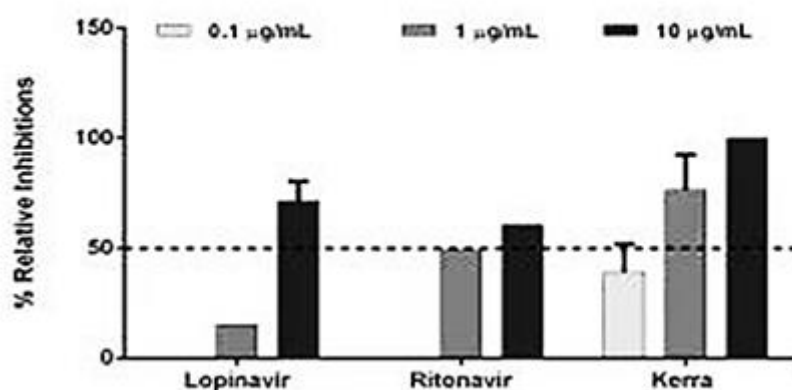
ทางผู้วิจัยและพัฒนายาเคอรา ได้พิจารณาว่า ยาแคปซูล เคอรา ซึ่งมีประวัติการใช้ยับยั้งโรคติดเชื้อไวรัสต่างๆ เช่น โรคไข้หวัดใหญ่มาก่อน และยังให้ผลดีในการป้องกันและบรรเทาอาการของโรคโควิด 19 น่าจะมีกลไกในการยับยั้งเอนไซม์ main protease ของเชื้อได้เช่นเดียวกับยาด้านไวรัสหลายชนิดที่ใช้รักษา

ผู้ป่วยโควิด 19 ในปัจจุบัน ดังนั้น จึงได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเคอรา (Kerra) ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COVID-19 main protease โดยเปรียบเทียบกับยา lopinavir และ ritonavir

สำหรับขั้นตอนการทดสอบ ทีมผู้วิจัย นำโดย รศ.ดร.เกียรติทิวิ ชูวงศ์โกมล ภาควิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และทีมงาน ได้เตรียมสารสกัด Kerra กับสารยับยั้งอีก 2 ตัว คือ lopinavir และ ritonavir ที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ COVID-19 main protease กับสารตั้งต้นเรืองแสง คือ Dabcyl-KTSAVLQSGFRKME-Edans แล้วทำการคำนวณร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) โดยเปรียบเทียบสภาวะที่ไม่มีสารยับยั้ง กับมีสารยับยั้ง ซึ่งในที่นี้คือสารสกัด Kerra, lopinavir และ ritonavir ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ผลการทดสอบพบว่า สารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น จะมีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ COVID-19 main protease เพิ่มขึ้นตามลำดับ และสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ก็มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) มากถึงร้อยละ 76.46 ในขณะที่สารยับยั้งจากยา lopinavir และ ritonavir ที่ความเข้มข้นเดียวกัน มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ที่ 15.25% และ 49% ตามลำดับ ซึ่งสารสกัด Kerra จึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าอย่างเห็นได้ชัด

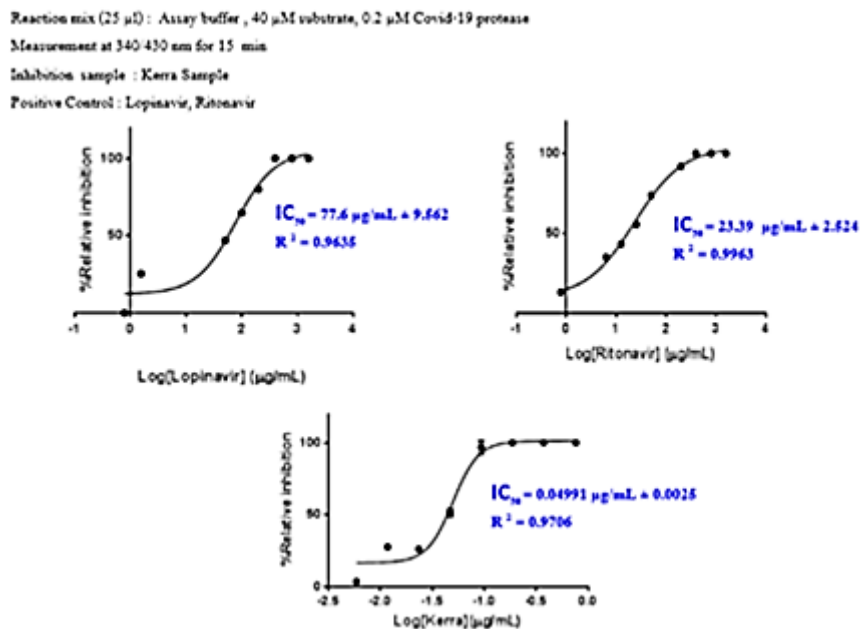
Covid -19 main protease inhibition assay



รูปที่ 1 แผนภูมิแสดงร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ COVID-19 main protease (% Relative inhibition) ของ lopinavir, ritonavir และสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

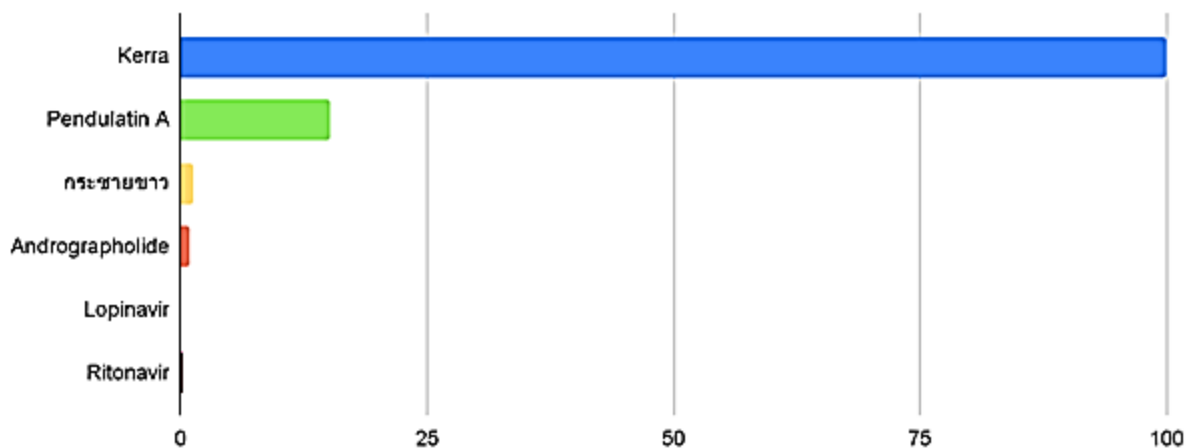
นอกจากนี้ รศ.ดร.เกียรติทิพย์ ชูวงศ์โกมล ยังได้ทำการทดสอบเพื่อหาความเข้มข้นที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COVID-19 main protease ได้ 50% หรือ half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) ของสารสกัด Kerra เปรียบเทียบกับยา lopinavir และ ritonavir ด้วย โดยการทดสอบดังกล่าวได้เตรียมสารสกัด Kerra ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0.006 - 3.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายของยา lopinavir และ ritonavir ที่ความเข้มข้น 0.39 - 400.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ COVID-19 main protease แล้วหาค่าความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวได้ 50%

ผลการทดสอบและวิเคราะห์ข้อมูล พบว่าสารสกัด Kerra มีค่า half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) เท่ากับ 0.04991 ± 0.0025 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ในขณะที่ยา lopinavir และ ritonavir มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 77.6 ± 9.562 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร และ 23.39 ± 2.524 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัด Kerra มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COVID-19 main protease ได้ดีกว่ายา lopinavir และ ritonavir



รูปที่ 2 กราฟแสดง % Relative inhibition ของสารยับยั้ง Lopinavir, Ritonavir และสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้นต่างๆ และค่า IC₅₀ ของสารทดสอบดังกล่าว

ผู้วิจัยยังได้ค้นคว้าการฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ COVID-19 main protease ของสารสกัดสมุนไพรอื่นๆ ซึ่งได้แก่ ฟัทะลายโจร และกระชายขาว เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของยาเคอรา โดยจากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า Andrographolide ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ในสมุนไพรฟัทะลายโจร มีค่า IC_{50} ในการยับยั้งเอนไซม์ COVID-19 main protease เท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดกระชายขาวในเอทานอล และ Panduratin A ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ในกระชายขาว มีค่า IC_{50} สำหรับปฏิกิริยาดังกล่าว เท่ากับ 3.62 และ 0.33 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (11, 12) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัด Kerra ซึ่งมีค่า IC_{50} ประมาณ 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะพบว่า Kerra มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ COVID-19 main protease ของเชื้อไวรัสได้มีประสิทธิภาพมากกว่าสาร Andrographolide ในฟัทะลายโจรราว 100 เท่า และมากกว่าสารสกัดกระชายขาวในเอทานอลกว่า 70 เท่า



รูปที่ 3 แผนภูมิแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COVID-19 main protease ของยาและสารสกัดต่างๆ เปรียบเทียบกับสารสกัด Kerra โดยวัดจากค่า IC_{50} ของสารเหล่านี้

ประสิทธิภาพของ Kerra ในการยับยั้งเอนไซม์ RNA-dependent RNA polymerase ของเชื้อไวรัส SARS-CoV-2

เอนไซม์ RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) เป็นเอนไซม์สำคัญที่ไวรัสชนิด RNA ใช้ในการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมและขยายตัวในร่างกาย ซึ่งรวมไปถึงไวรัส SARS-CoV-2 ที่ก่อโรคโควิด 19 ด้วย ดังนั้น การยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวจึงเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยลดการแพร่กระจายของเชื้อและบรรเทาความรุนแรงของโรคได้ (13)

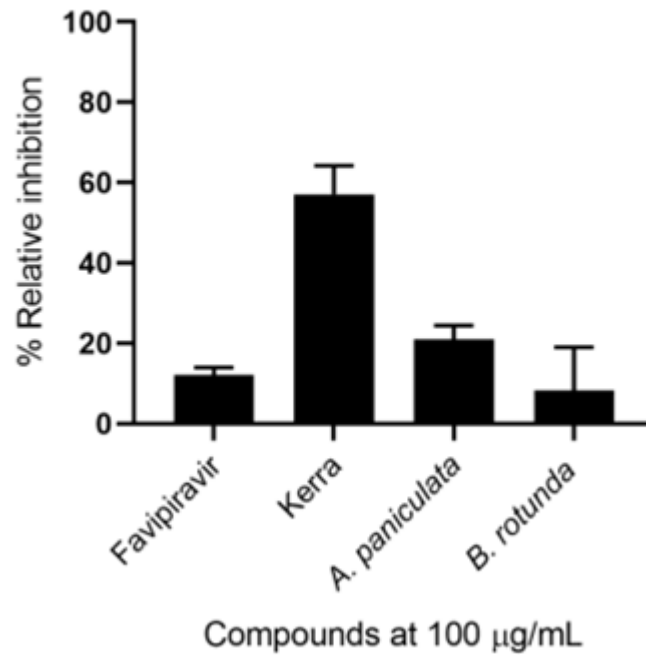
มีяд้านไวรัสหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์ RdRp และกำลังอยู่ระหว่างการวิจัยทางคลินิกเพื่อนำมาใช้รักษาโรคโควิด 19 เช่น Nacortocin, Cistinexine, Cisatracurium และ Favipiravir ซึ่งสามารถเข้าจับกับโครงสร้างของโปรตีนดังกล่าวได้ค่อนข้างดี ในการศึกษาครั้งนี้ เราจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด Kerra ในการยับยั้งเอนไซม์ RdRp โดยเปรียบเทียบกับสารที่มีฤทธิ์ต้านไวรัส SARS-CoV-2 ตัวอื่นๆ ได้แก่ ยา Favipiravir สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall ex Nees.) และสารสกัดจากกระชายขาว (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.)

การวิเคราะห์ดำเนินการโดยคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย โดยใช้ชุดทดสอบ RdRp (SARS-CoV-2) Homogeneous assay kit (BPS Bioscience) และวิเคราะห์โดยใช้สารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิตร มาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ RdRp (RdRp/NSP7/NSP8 (SARS-CoV-2) Complex) ที่ความเข้มข้น 24 นาโนกรัม/ไมโครลิตร หลังจากเติมน้ำยาเริ่มปฏิกิริยา (RdRp reaction mixture) และบ่มในเครื่องเขย่าที่ 37°C เป็นเวลา 60 นาทีแล้ว จึงทำการเติม AlphaLISA Anti-Digoxigenin acceptor beads (PerkinElmer) ตามด้วย Streptavidin-conjugated donor beads (PerkinElmer) ก่อนนำไปวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ด้วยเทคนิค AlphaLISA ที่ความยาวคลื่น 680/615 นาโนเมตร และแปลผลโดยคำนวณเป็นค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RdRp ของสารตัวอย่างต่างๆ โดยใช้สมการ

$$\% \frac{[(\text{ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง} - \text{ค่าเฉลี่ยของสารควบคุม}) - (\text{ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง} - \text{ค่าเฉลี่ยของสารควบคุม})]}{[(\text{ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง} - \text{ค่าเฉลี่ยของสารควบคุม})]} \times 100$$

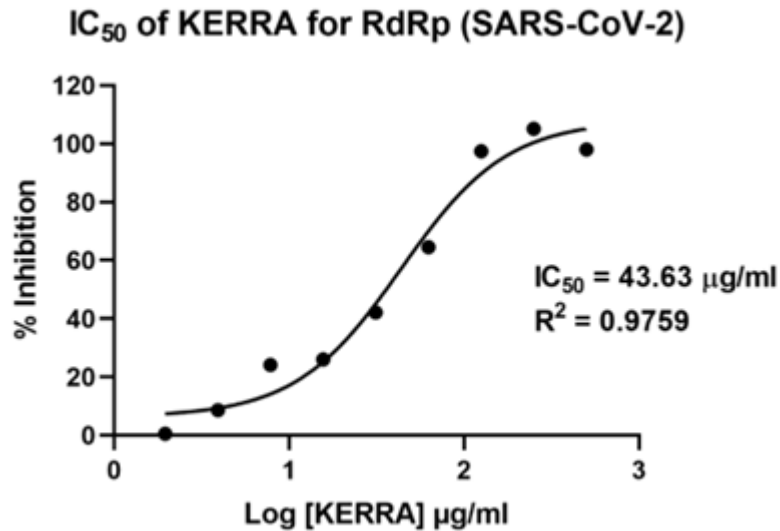
ผลการทดสอบพบว่า ค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ หรือ %Relative inhibition ของเอนไซม์ RdRp ของสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิตร เท่ากับ 57.16% ซึ่งสูงกว่า ยา Favipiravir (12.13%) สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร (21.08%) และสารสกัดจากกระชายขาว (8.38%) ที่ความเข้มข้นเท่ากัน เหตุที่ Favipiravir ซึ่งเป็นยาด้านไวรัสที่มีประสิทธิภาพนั้นมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ RdRp ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากยาดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็น prodrug ซึ่งจะออกฤทธิ์ได้ดีเมื่อเข้าสู่ร่างกายและผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมเพื่อเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีให้อยู่ในรูป Favipiravir-ribofuranosyl-5'-triphosphate (Favipiravir-RTP) แล้วเท่านั้น

RdRp (SARS-CoV2) inhibition assay



รูปที่ 4 แผนภูมิแสดงค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ RdRp (RdRp Relative inhibition; %) ของสารสกัด Kerra เปรียบเทียบกับยา Favipiravir สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร (*A.paniculata*) และสารสกัดจากกระชายขาว (*B.roturnda*)

จากการทดสอบเพิ่มเติม พบว่าสารสกัด Kerra นั้นมีค่า IC_{50} ในการยับยั้งเอนไซม์ RdRp ของเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 เท่ากับ 43.63 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และผลวิเคราะห์นี้อาจสรุปได้ว่า สารสกัด Kerra มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ RNA-dependent RNA polymerase หรือ RdRp มากกว่ายา Favipiravir สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร และสารสกัดจากกระชายขาว ที่ความเข้มข้นเท่ากัน ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวอาจมีส่วนช่วยลดการแพร่กระจายของไวรัส SARS-CoV-2 ในร่างกายผู้ป่วยโควิด 19 ได้



รูปที่ 5 กราฟแสดงค่า IC₅₀ ในการยับยั้งเอนไซม์ RdRp ของสารสกัด Kerra

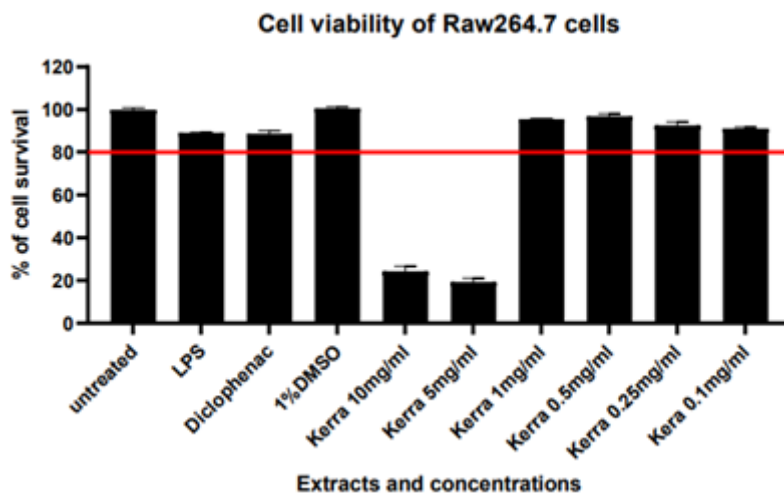
ประสิทธิภาพการต้านการอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) ของสารสกัด Kerra

การต่อต้านการอักเสบเป็นอีกสรรพคุณที่โดดเด่นของสมุนไพรหลายชนิดที่เป็นส่วนประกอบของยาเคอรา ไม่ว่าจะเป็นบอระเพ็ด รากมะนาว เถาย่านาง และอื่นๆ (14) ในการศึกษาครั้งนี้ เราจึงได้ทดสอบประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบของสารสกัดจากยาเคอรา ในเซลล์แมคโครฟาจที่เพาะเลี้ยงในจานเลี้ยงเซลล์ โดยจะทำการคำนวณออกมาเป็นค่า Anti-inflammation activity (%)

สารตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบนี้ เป็นสารสกัดจากยา Kerra ด้วย 95% ethanol ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 10, 5, 1, 0.5, 0.25 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยได้นำมาบ่มกับเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7) ที่เพาะเลี้ยงใน 96-well plate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมาเติม Griess reagent และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร เพื่อคำนวณเป็นร้อยละของกิจกรรมต้านการอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ หรือ Anti-inflammation activity (%) โดยใช้สูตร นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังได้ทำการวัดอัตราการรอดชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจ โดยการเติมสารละลาย Presto blue ในอัตราส่วน 1:10 ลงไปแทนที่สารตัวอย่างแล้วบ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจึงดูดสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร

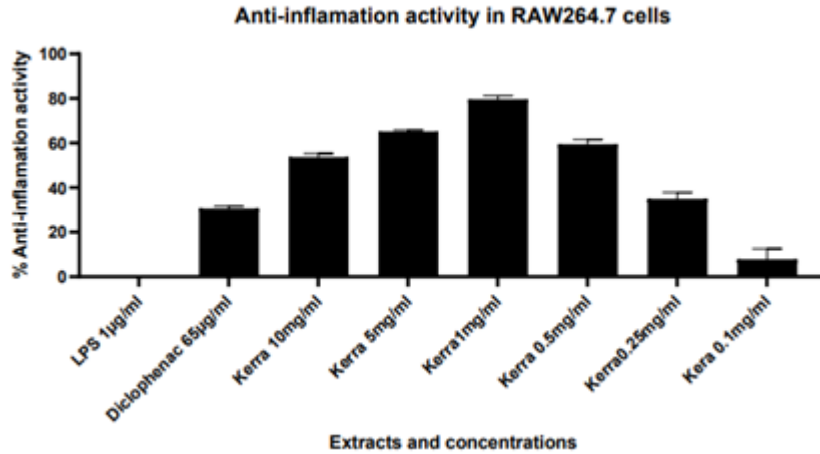
ผลการทดสอบที่ได้พบว่า เซลล์แมคโครฟาจที่บ่มด้วยสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.25 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราการรอดชีวิตค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสารควบคุม (Untreated) โดยมี

อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่ร้อยละ 95.51, 96.94, 92.65 และ 91.16 ตามลำดับ ส่วนเซลล์ที่บ่มในสารสกัด Kerra ที่มีความเข้มข้น 10 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีอัตราการรอดชีวิตค่อนข้างต่ำ คือร้อยละ 24.35 และ 19.39 ตามลำดับ



รูปที่ 6 แผนภูมิแสดงอัตราการรอดชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจ RAW264.7 (%) หลังทำการทดสอบกับสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ในการทดสอบกิจกรรมการต้านอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ เราใช้สารละลาย LPS ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นตัวควบคุมเชิงลบ และใช้สารละลาย Diclophenac ที่ความเข้มข้น 65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นตัวควบคุมเชิงบวก ผลการทดสอบที่ได้ พบว่าสารสกัด Kerra ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบสูงสุด อยู่ที่ร้อยละ 79.66 ส่วนสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้น 5, 0.5, 10, 0.25 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก็จะมีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบลดลงมา อยู่ที่ร้อยละ 65.21, 59.46, 53.71, 34.99 และ 7.87 ตามลำดับ ซึ่งการที่สารสกัด Kerra ความเข้มข้นที่สูงขึ้นคือ 5, 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบลดลงนั้น เป็นเพราะสารที่ใช้ในสกัดตัวอย่าง Kerra เพื่อทดสอบครั้งนี้คือ DMSO (Dimethyl Sulfoxide) นั้นเป็นพิษต่อเซลล์ และการสกัดสารสำคัญ Kerra ที่ความเข้มข้นสูงก็จะต้องใช้ความเข้มข้นของ DMSO สูงขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากสารตัวอย่างถูกทำลายด้วย 100% DMSO จึงก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นเมื่อเซลล์ลดจำนวนลง กิจกรรมต้านการอักเสบของเซลล์ก็ลดลงด้วย จึงควรต้องมีการศึกษาต่อไปเพื่อแยกฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัด Kerra ให้ชัดเจนขึ้นในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้นกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 7 แผนภูมิแสดงกิจกรรมด้านการอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ RAW264.7 (%) ของสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้นต่างๆ เทียบกับตัวควบคุมเชิงลบ (LPS) และตัวควบคุมเชิงบวก (Diclophenac)

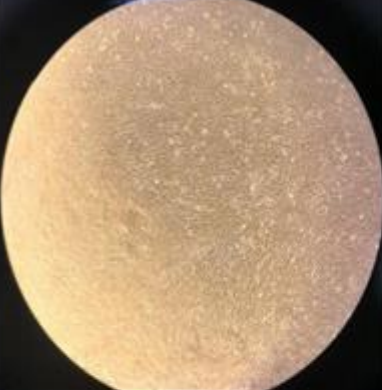

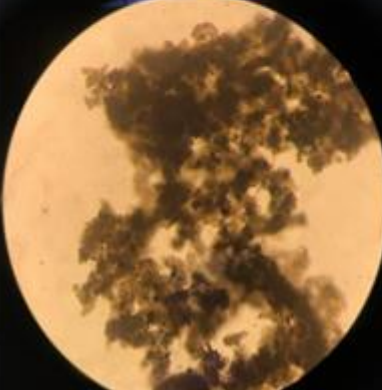
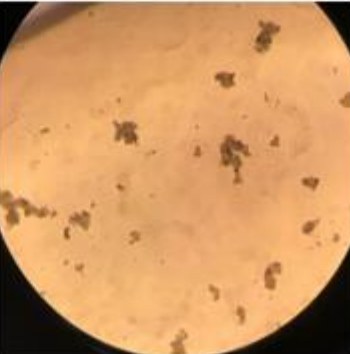
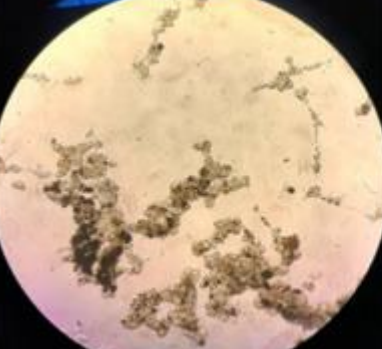
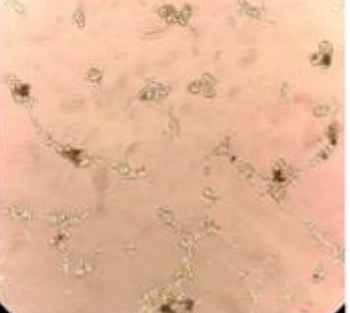
จากการทดสอบประสิทธิภาพการต้านการอักเสบของยาเคอรา จะเห็นได้ว่าสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นมีค่ากิจกรรมด้านการอักเสบมากที่สุดถึงร้อยละ 79.66 เมื่อเทียบกับสารสกัดที่ความเข้มข้นอื่นๆ อีกทั้งเซลล์แมคโครฟาจที่บ่มด้วยสารสกัด Kerra ความเข้มข้น 1 มก./มล. ก็ยังมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 95.51 ด้วย ดังนั้น ตัวยาเคอราที่มีความเข้มข้นดังกล่าว ซึ่งเป็นระดับกลางๆ ไม่สูงหรือต่ำเกินไป จึงน่าจะเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบสูงสุด และสูงกว่า Diclophenac ที่ความเข้มข้น 65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงบวกของการทดลองในครั้งนี้ ซึ่งมีค่ากิจกรรมด้านการอักเสบที่ร้อยละ 32

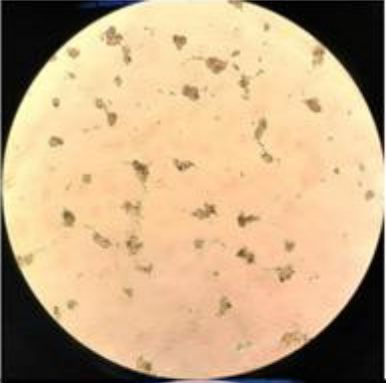
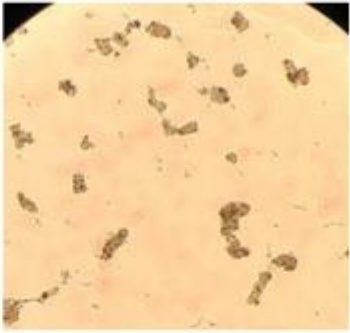
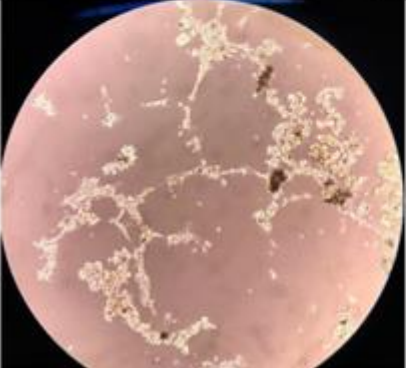
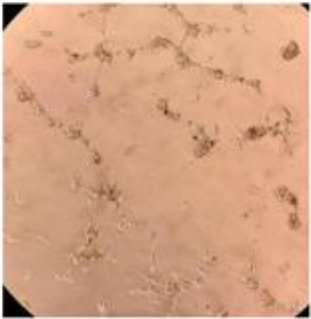
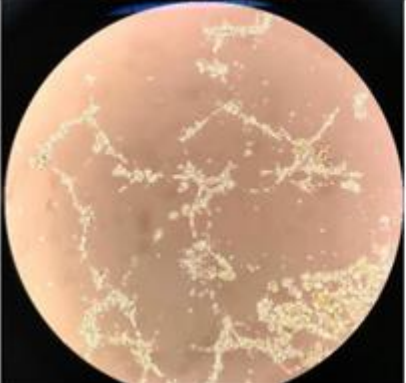
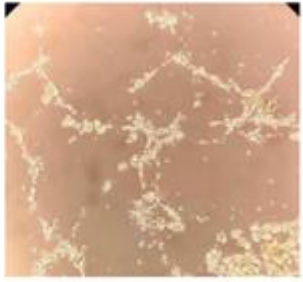
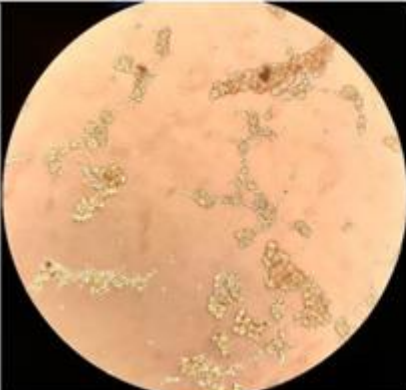
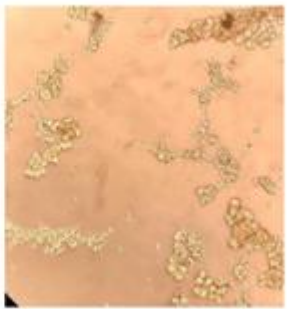
ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อไวรัสภายในเซลล์ของสารสกัด Kerra

ตามปกติแล้ว เชื้อไวรัส SARS-CoV-2 จะต้องอาศัยการเข้าสู่เซลล์มนุษย์เพื่อจำลองตัวเองและเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมต่อไป ดังนั้น สารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสภายในเซลล์ได้ จึงน่าจะช่วยป้องกันไม่ให้ไวรัสเพิ่มจำนวน และช่วยให้ภูมิคุ้มกันสามารถกำจัดไวรัสที่เหลื่ออยู่ออกจากร่างกายได้ง่ายขึ้น

ผู้วิจัยได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อไวรัสภายในเซลล์ของสารสกัด Kerra โดยใช้เซลล์ Crandell Rees Feline Kidney Cell (CRFK) ที่เพาะเลี้ยงไว้ มาทดสอบกับเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ที่บ่มกับสารทดสอบชนิดต่างๆ ซึ่งได้แก่ สารสกัด Kerra จากแคปซูล ความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

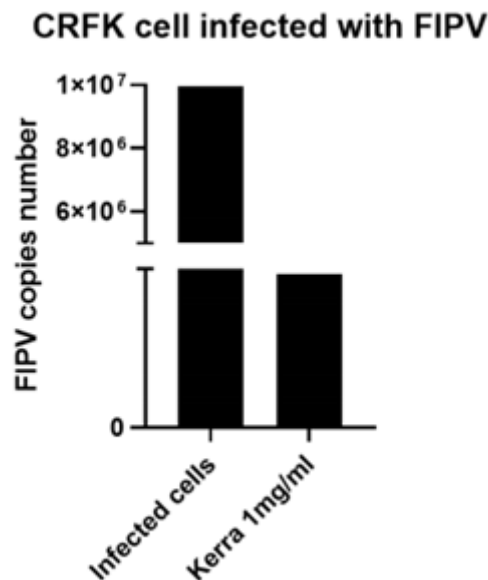
สารละลายผง Kerra จากถุง ความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลาย Favipiravir ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และตัวควบคุมเชิงบวก ผลจากการสังเกตลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเซลล์ CRFK ที่มีการเติมสารละลาย Kerra สารละลาย Favipiravir และตัวควบคุมเชิงบวก จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่เรียกว่า Cytopathic effect (CPE) ในขณะที่เซลล์ที่ได้รับเชื้อไวรัสแต่ไม่มีการเติมสารยับยั้งใดๆ จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว

		(A)	Untreated
		(B)	KERRA (Capsule) 1mg/ml
		(C)	KERRA (Capsule) 0.1mg/ml

		(D)	KERRA (Bag) 1mg/ml
		(E)	KERRA (Bag) 0.1mg/ml
		(F)	Favipiravir 1mg/ml
		(G)	Positive control

รูปที่ 8 ภาพแสดงลักษณะของเซลล์ CRFK ที่ได้รับเชื้อไวรัส และไม่มีการเติมสารยับยั้ง (A) เปรียบเทียบกับเซลล์ที่มีการเติมสารสกัด Kerra ความเข้มข้นต่างๆ (B-E) สารละลาย Favipiravir (F) และสารควบคุมเชิงบวก (G)

การยืนยันผลการทดสอบดังกล่าวด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่า เซลล์ CRFK ที่ได้รับเชื้อ ไวรัสและไม่ได้เติมสารยับยั้ง จะมีจำนวนไวรัสอยู่ที่ประมาณ 9×10^6 copies number ในขณะที่เซลล์ที่ติดเชื้อที่ได้รับสารสกัด Kerra ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีจำนวนไวรัสลดลงเหลือ 6×10^5 copies number ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารสกัด Kerra ส่งผลให้เซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสมีการเปลี่ยนแปลง และช่วยให้เชื้อไวรัสลดจำนวนลงได้



รูปที่ 9 แผนภูมิแสดงจำนวนเชื้อไวรัสในเซลล์ CRFK ที่ไม่มีการเติมสารยับยั้ง และมีการเติมสารสกัด Kerra 1 mg/mL

การทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

จากการวิเคราะห์หาระดับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวม (Total antioxidant activity) หรือ ORAC ของสารสกัด Kerra โดยห้องปฏิบัติการสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าในสารสกัด Kerra ปริมาณ 100 กรัม มีค่า ORAC 81,260 μ moles TE ซึ่งเมื่อเทียบกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของพืชชนิดอื่นในปริมาณที่เท่ากัน เช่น พ룬 (5,570) บลูเบอร์รี่ (2,400) สตรอเบอร์รี่ (1,540) เชอร์รี่ (670) และกีวี (602) จะเห็นว่าสารสกัด Kerra นั้นมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ามาก

คุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระของยาเคอรานั้นส่งผลอย่างมากต่อการรักษาโรคโควิด 19 โดยเฉพาะในการยับยั้งความเสียหายของเซลล์ปอดที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระโดยตรง และการลดการอักเสบ

ของเนื้อเยื่อต่างๆ ทั่วร่างกาย ซึ่งเป็นภาวะที่พบได้ในผู้ป่วยโควิด 19 ที่มีอาการรุนแรง เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสจะส่งผลให้สารอนุมูลอิสระบางชนิด เช่น Nitric oxide มีปริมาณสูงขึ้น และมักไปกระตุ้นการสร้าง pro-inflammatory cytokines จำนวนมาก ซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบอย่างกว้างขวาง โดยภาวะอักเสบรุนแรงดังกล่าวก็เป็นสาเหตุหลักของการเสียชีวิตในผู้ป่วยโรคโควิด 19 ดังนั้น ยาเคอราที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านสารอนุมูลอิสระสูง จึงน่าจะช่วยลดความรุนแรงของการติดเชื้อโควิด 19 และช่วยลดอัตราการเสียชีวิตในผู้ป่วยที่มีอาการวิกฤติได้

ฤทธิ์ของสารสกัด Kerra ในการยับยั้งภาวะ Acidosis

จากการศึกษาคุณสมบัติของยาแคปซูล เคอรา เราพบว่าสารสกัด Kerra น่าจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งภาวะกรดเกินในร่างกาย หรือ Acidosis ซึ่งเป็นหนึ่งในภาวะวิกฤติที่อาจพบในผู้ป่วยที่ติดเชื้อโควิด 19 ได้

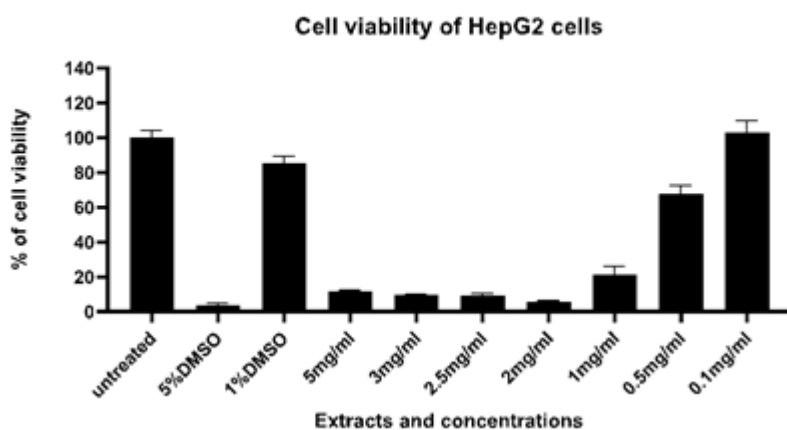
โดย Acidosis คือภาวะที่เลือดมีความเป็นกรดมากกว่าปกติ หรือมีค่า pH ต่ำกว่า 7.35 ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากภายในร่างกายมีระดับสารต่างหรือไบคาร์บอเนตต่ำ (เรียกว่า Metabolic acidosis) หรือในร่างกายมีระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และกรดคาร์บอนิกสูง (เรียกว่า Respiratory acidosis) ทำให้ความเป็นกรด-ด่างในเลือดเสียสมดุล ซึ่งภาวะที่เป็นกรดจะส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์และระบบต่างๆ ล้มเหลวตามมาได้

ในกรณีที่มีการติดเชื้อโควิด 19 ผู้ป่วยหลายรายจะเกิดการอักเสบของปอดและอวัยวะต่างๆ อย่างรุนแรง ซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดพายุไซโตไคน์ (Cytokine storm) และสารอนุมูลอิสระมหาศาลที่ร่างกายสร้างขึ้น ความเสียหายของเนื้อเยื่อปอดทำให้อัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับออกซิเจนต่ำลง ส่งผลให้มีคาร์บอนไดออกไซด์คั่งค้างอยู่ในเลือด แล้วรวมตัวกับน้ำกลายเป็นกรดคาร์บอนิก (H_2CO) ตามปฏิกิริยา $CO_2 + H_2O \rightarrow H_2CO$ ซึ่งทำให้ปริมาณกรดในเลือดเพิ่มสูงขึ้น (15) นอกจากนี้ ในสภาวะที่ร่างกายขาดออกซิเจน เซลล์จะเปลี่ยนจากการสร้างพลังงานโดยใช้ออกซิเจนมาเป็นการสันดาปกลูโคสโดยไม่ใช้ออกซิเจนแทนแทน ซึ่งส่งผลให้เกิดการสะสมของกรดแลคติก (Lactic acid) มากขึ้นด้วย ประกอบกับการที่อวัยวะอื่นๆ เช่น ตับและไต เกิดความเสียหาย ทำให้ไม่สามารถกำจัดกรดแลคติกออกจากร่างกายเพื่อรักษาสมดุลกรด-ด่างได้ ภาวะ Metabolic acidosis (16) จึงเป็นหนึ่งในอาการวิกฤติรุนแรงที่พบได้ในผู้ป่วยโรคโควิด 19 ที่มีการอักเสบติดเชื้อในปอด

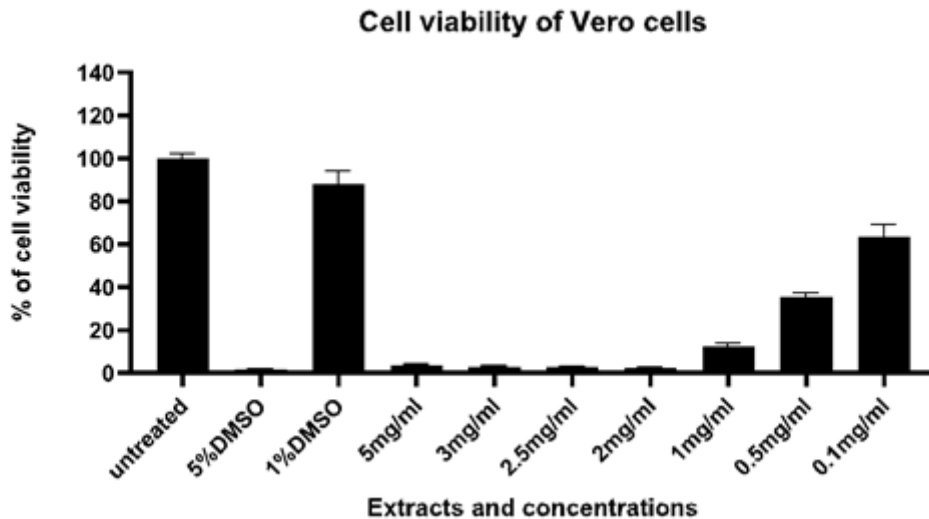
จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบแร่ธาตุในยาแคปซูล เคอรา พบว่าผงยาเคอรา 1 กิโลกรัม มีปริมาณแคลเซียมสูงถึง 61,439 มิลลิกรัม และมีโพแทสเซียมกว่า 7,000 มิลลิกรัม รวมถึงยังมีส่วนประกอบแร่ธาตุอื่นๆ เช่น แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และธาตุเหล็ก ซึ่งแร่ธาตุที่อยู่ในแคปซูลยานั้นมีความคงตัวสูงและสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ดี โดยหลักการแล้ว ประจุของแคลเซียม โพแทสเซียม และแมกนีเซียมนี้เป็นอัลคาไลไอออน ซึ่งแตกตัวในน้ำให้ไฮดรอกไซด์ไอออน (OH⁻) ที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง ประจุเหล่านี้จึงสามารถลดความเป็นกรดในเลือดได้ รวมถึงแร่ธาตุบางชนิด เช่น ธาตุเหล็ก ยังสามารถกระตุ้นฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงให้จับออกซิเจนได้ดีขึ้น คุณสมบัติดังกล่าวจึงอาจมีส่วนช่วยป้องกันการเกิดภาวะ Metabolic acidosis ในผู้ติดเชื้อโควิด 19 ได้เช่นกัน ทั้งนี้ สรรพคุณที่กล่าวมายังจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต

การทดสอบความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 cells) และเซลล์ไตลิง (Vero cells)

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด KERRA ต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) พบว่าสารสกัด KERRA ที่ความเข้มข้น 5, 3, 2.5, 2, 1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะแสดงผลความเป็นพิษต่อเซลล์ค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับตัวควบคุม (Untreated) โดยมีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 80 ในขณะที่เซลล์ HepG2 ในสารสกัด KERRA ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะแสดงอัตราการรอดชีวิตสูงสุด คือร้อยละ 102.87 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัด KERRA ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์



รูปที่ 10 กราฟแสดงอัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งตับเมื่อทดสอบด้วยสารสกัด KERRA ที่ความเข้มข้น 5, 3, 2.5, 2, 1, 0.5 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 11 กราฟแสดงอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ไตลิงเมื่อทดสอบด้วยสารสกัด KERRA ที่ความเข้มข้น 5, 3, 2.5, 2, 1, 0.5 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ส่วนผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด KERRA ต่อเซลล์ไตลิง (Vero cells) พบว่าสารสกัดทุกค่าความเข้มข้นนั้นแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเทียบกับตัวควบคุม (Untreated) โดยเซลล์ทั้งหมดที่ถูกบ่มในสารสกัด KERRA จะมีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าร้อยละ 80 อย่างไรก็ตาม จากกราฟ (รูปที่ 11) แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มความเป็นพิษที่แปรผกผันกับความเข้มข้น โดยเมื่อสารสกัด KERRA มีความเข้มข้นต่ำลง การรอดชีวิตของเซลล์ก็จะสูงขึ้น

ผลทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของยาแคปซูล เคอรา ในหนูทดลอง

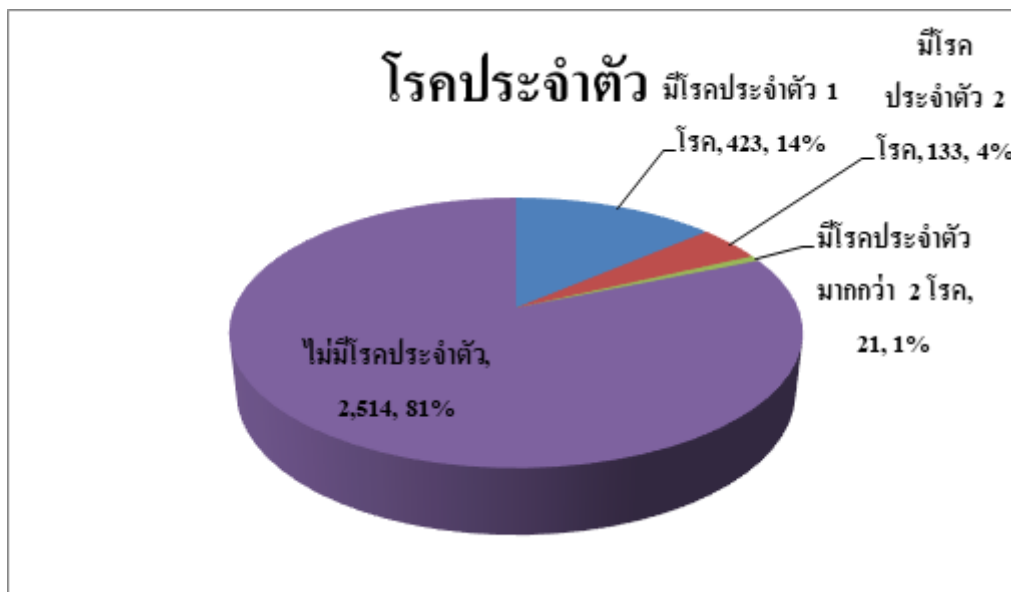
การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของยาแคปซูล เคอรา ได้ดำเนินการโดยห้องปฏิบัติการพิษวิทยา สถาบันวิจัยสมุนไพร ประเทศไทย ด้วยวิธีตามมาตรฐานของ OECD, 2001 โดยตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ ได้แก่ ผงยาเคอรา ที่นำมาแขวนตะกอนในน้ำกลั่น และปรับให้มีความเข้มข้น 0.125 กรัม/มิลลิลิตร การทดสอบดังกล่าวได้ทำในหนูทดลองด้วยการให้สารตัวอย่างทางปากแก่หนูในปริมาณ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จำนวน 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 4 ชั่วโมง จากนั้นจึงสังเกตและบันทึกปฏิกิริยาเฉียบพลันของหนูก่อนจะผ่านสูตรพยาธิสภาพของอวัยวะภายใน

จากผลการทดสอบ พบว่าหนูที่ได้รับสารตัวอย่างผงยาเคอราไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ หลังการทดสอบ หนูทุกตัวยังมีชีวิตรอดจนครบกำหนด และผลจากการผ่านสูตรก็ไม่พบความผิดปกติของอวัยวะ

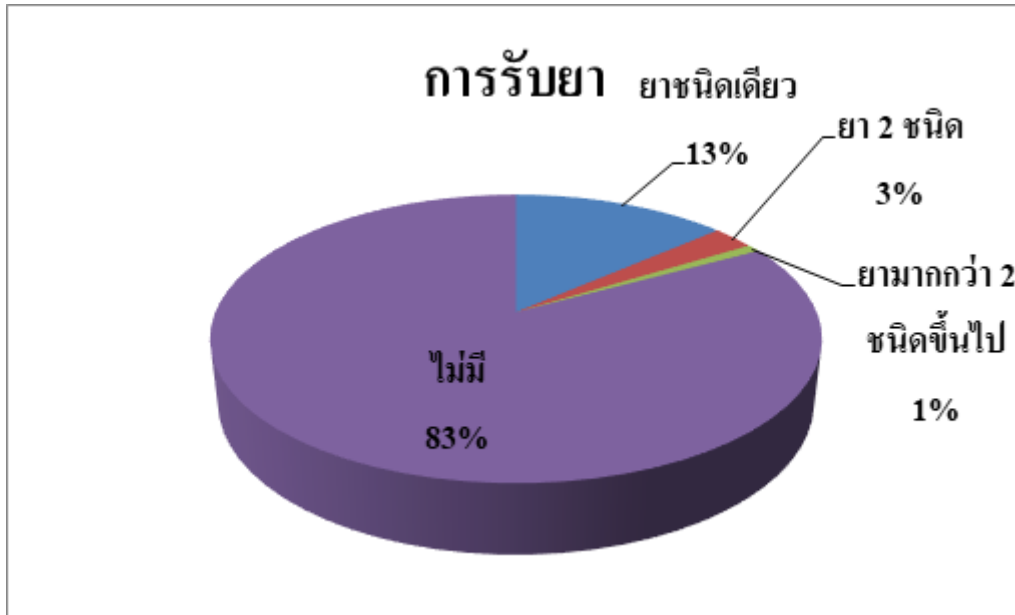
ภายในเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกุ่มควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารตัวอย่างผงยาเคอรัามีระดับความเป็นพิษเฉียบพลันที่ต่ำมาก ซึ่งจัดอยู่ใน Category 5 และขนาดตัวอย่างที่ทำให้หนูทดลองตายร้อยละ 50 (LD50) ควรจะมีค่ามากกว่า 5 กรัมต่อกิโลกรัม

ผลการใช้ยาเคอร์ในผู้ป่วยติดเชื้อโควิด 19

จากผลการใช้ยาแคปซูล เคอรั ในกลุ่มประชากรผู้ติดเชื้อโควิด 19 จำนวน 3091 คน พบว่า กลุ่มตัวอย่างชายหญิงมีอายุเฉลี่ย 36.86 ปี โดยผู้เข้าร่วมที่อายุน้อยที่สุดคือ 1 ปี และอายุมากที่สุด คือ 95 ปี กลุ่มตัวอย่างร้อยละ 81 ไม่มีโรคประจำตัว ร้อยละ 14 มีโรคประจำตัวเพียง 1 โรค โดยโรคที่เป็นมากที่สุดคือโรคความดันโลหิตสูง รองลงมาคือ โรคเบาหวาน ไมเกรน และหอบหืด ส่วนร้อยละ 4 มีโรคประจำตัว 2 โรค ที่พบมากที่สุดคือโรคความดันโลหิตสูงร่วมกับเบาหวาน รองลงมาคือภาวะไขมันในเลือดสูงร่วมกับความดันโลหิตสูง และโรคเบาหวานร่วมกับไขมันในเลือดสูง และมีกลุ่มตัวอย่างร้อยละ 1 ที่มีโรคประจำตัวมากกว่า 2 โรค ผู้ให้ข้อมูลส่วนใหญ่ (83%) ไม่ได้กินยาชนิดใดเป็นประจำ ส่วนร้อยละ 13 กินยาโรคประจำตัวเพียง 1 ชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นยาลดความดัน รองลงมาเป็นยาลดไขมัน และร้อยละ 3 กินยามากกว่า 1 ชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นลดความดันร่วมกับลดเบาหวาน รองลงมาเป็นยาพาราเซตามอลกับฟ้าทะลายโจร



รูปที่ 12 แผนภาพแสดงข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง แยกตาม โรคประจำตัว



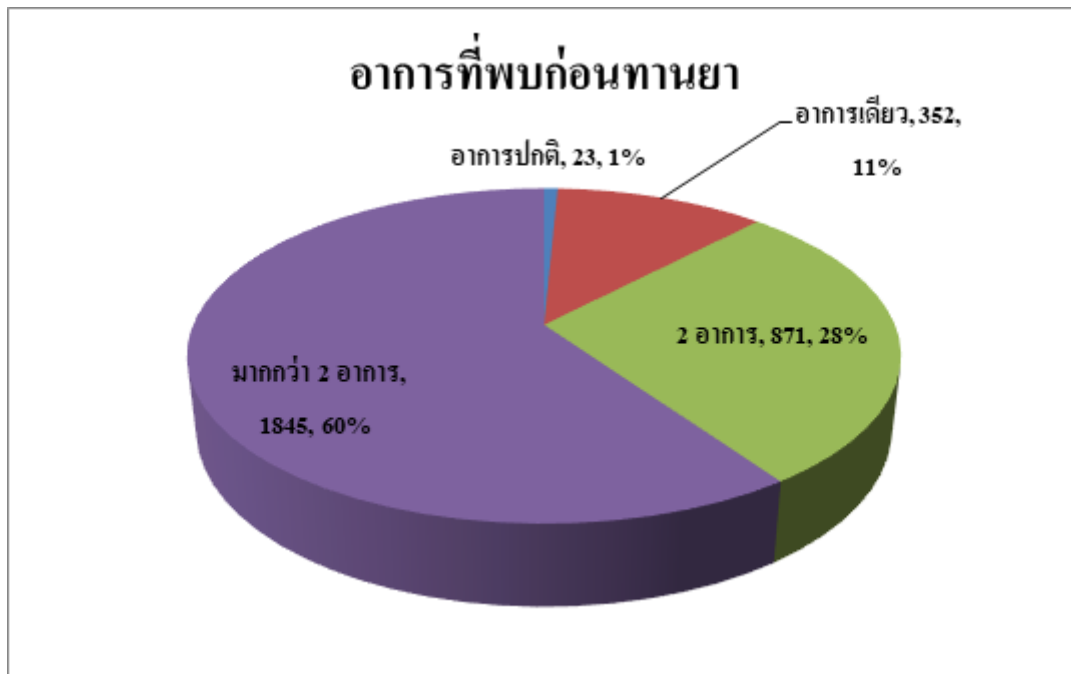
รูปที่ 13 แผนภาพแสดงข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง แยกตามยาที่ใช้เป็นประจำ

ก่อนรับยาเคอรา กลุ่มตัวอย่างซึ่งเป็นผู้ป่วยโควิด 19 มีอาการเชื้อลงปอด จำนวน 1,453 คน คิดเป็นร้อยละ 47 ส่วนอีก 1,638 คน หรือร้อยละ 53 ไม่พบเชื้อลงปอด นอกจากนี้ ยังได้แบ่งกลุ่มตัวอย่างตามอาการก่อนการรับยาเคอรา ออกเป็น 3 กลุ่มย่อยได้แก่

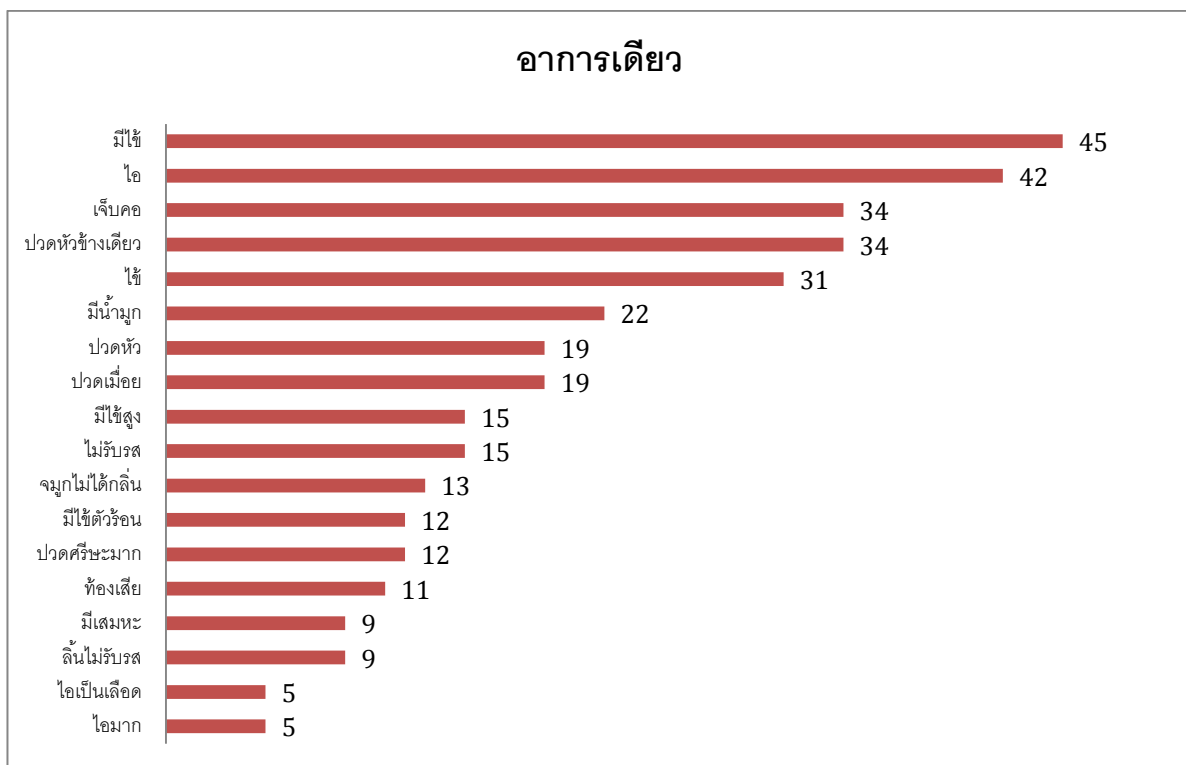
1) กลุ่มที่ไม่มีอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย คือผู้ที่ตรวจพบเชื้อโควิด 19 ด้วยวิธี RT-PCR แต่ไม่แสดงอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย ซึ่งมีจำนวน 375 คน คิดเป็นร้อยละ 12 โดยในจำนวนนี้ ร้อยละ 1 ไม่มีอาการใดๆ /อาการปกติ ส่วนร้อยละ 11 มีอาการเพียงเล็กน้อย เช่น ไอ มีน้ำมูก จมูกไม่ได้กลิ่น หรือท้องเสีย โดยแสดงเพียงอาการเดียว ไม่มีอาการอื่นข้างเคียง

2) กลุ่มที่มีอาการปานกลาง คือผู้ที่แสดงอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคโควิด 19 2 อาการควบคู่กัน ซึ่งพบร้อยละ 28 ส่วนใหญ่มีอาการไข้สูงและไอ รองลงมาคือเจ็บคอและไอ บ้างมีอาการไข้และปวดเมื่อยร่างกาย ซึ่งยังไม่แสดงอาการปวยที่รุนแรง

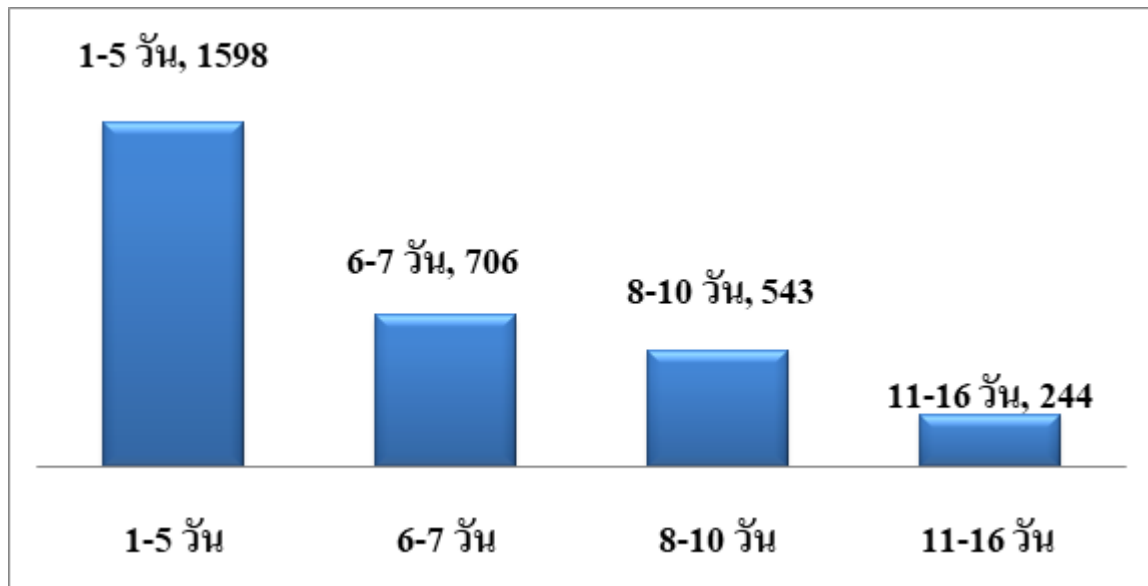
3) กลุ่มที่มีอาการมาก คือผู้ที่แสดงอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคโควิด 19 ชัดเจน มากกว่า 2 อาการขึ้นไป ซึ่งมีถึงร้อยละ 60 ส่วนใหญ่มีอาการจมูกไม่ได้กลิ่น ลิ้นไม่รับรส หายใจไม่โล่ง ไอ เจ็บคอ บางส่วนมีอาการไข้ ไอ ปวดเมื่อย น้ำมูก และมีผู้ป่วยในกลุ่มนี้มากถึง 1845 คน ที่มีอาการเชื้อลงปอดร่วมด้วย



รูปที่ 14 แผนภาพแสดงข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง แยกตามอาการป่วยของโรคโควิด 19 ก่อนได้รับยาเคอรา

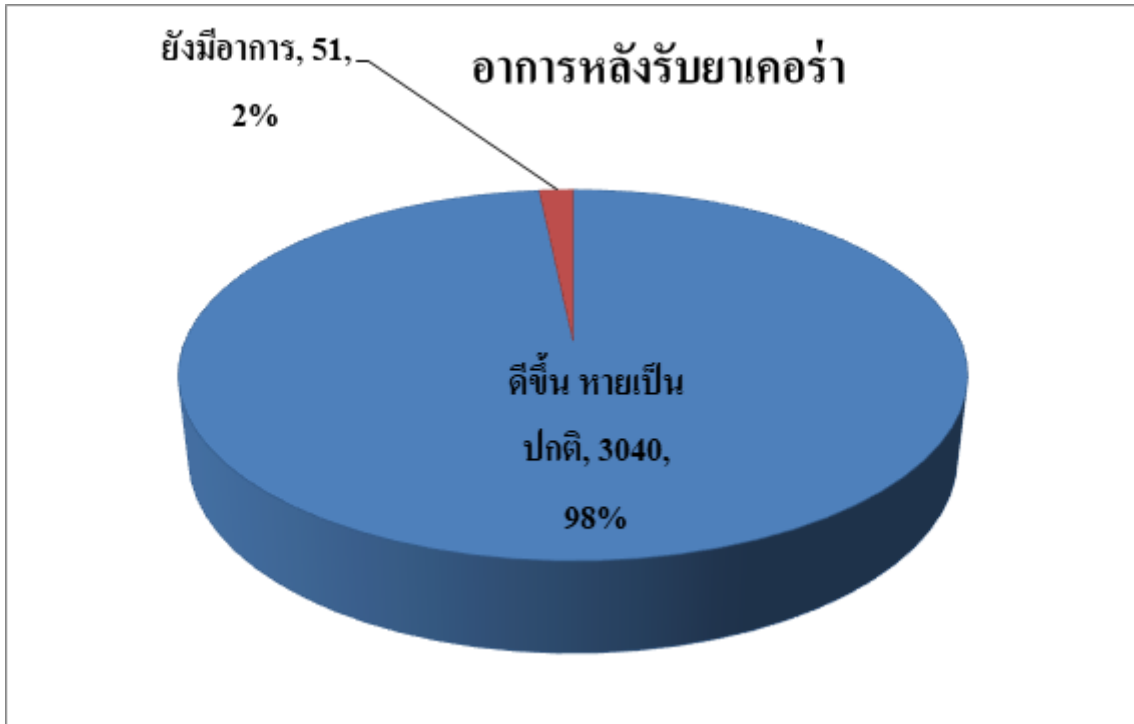


เมื่อกลุ่มตัวอย่างได้รับยาเคอรัลหลังจากตรวจพบเชื้อ พบว่าหลังรับประทานยาต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน มีกลุ่มตัวอย่างที่อาการดีขึ้นจนถึงหายเป็นปกติ จำนวน 1598 คน หรือร้อยละ 52 ส่วนกลุ่มตัวอย่างที่อาการดีขึ้นภายใน 7 วัน มีจำนวน 706 คน หรือร้อยละ 23 กลุ่มที่ดีขึ้นภายใน 10 วัน มีจำนวน 543 คน หรือร้อยละ 18 และกลุ่มที่ดีขึ้นภายในเวลา 16 วัน มีจำนวน 244 คน หรือร้อยละ 7

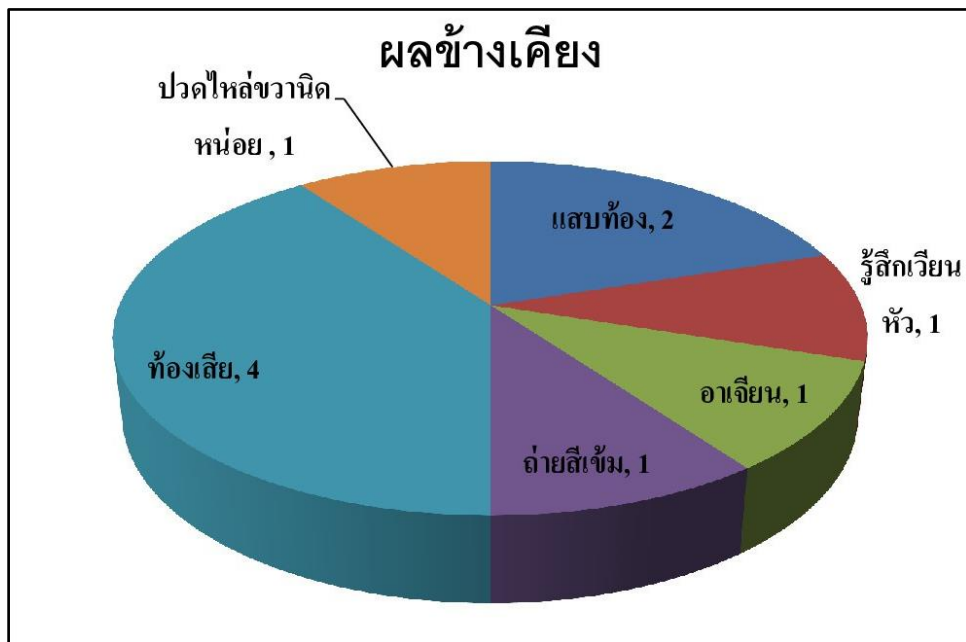


รูปที่ 16 แผนภูมิแสดงจำนวนกลุ่มตัวอย่างกับระยะเวลา (วัน) ตั้งแต่เริ่มรับยาเคอรัล จนอาการของโรคโควิด 19 ดีขึ้น

หลังจากรับยาเคอรัลไปแล้ว 16 วัน พบว่ามีกลุ่มตัวอย่างจำนวน 51 คน หรือร้อยละ 2 ยังคงมีอาการของโรคโควิด 19 อยู่ เช่น อาการเจ็บคอ ไอ มีไข้ จมูกไม่ได้กลิ่น ปวดเมื่อย เวียนศีรษะ ท้องเสีย หรืออาการไม่เปลี่ยนแปลงจากก่อนรับยา ในขณะที่กลุ่มตัวอย่างจำนวน 3040 คน หรือร้อยละ 98 มีอาการดีขึ้นอย่างชัดเจนภายใน 1-16 วันหลังได้รับยาเคอรัล กล่าวคือไม่มีไข้ จมูกได้กลิ่นปกติ ลิ้นรับรสได้ หายใจโล่งขึ้น กลับได้สบายขึ้น ไม่อ่อนเพลีย บางคนอาจยังมีอาการไอบ้างเล็กน้อย แต่ไม่มีอาการลุกลามเพิ่มขึ้นอีก และไม่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจ ส่วนผลข้างเคียงนั้นพบรายงานในกลุ่มตัวอย่างจำนวน 10 คนจากทั้งหมด ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 0.32 โดยพบมีอาการท้องเสียจำนวน 4 คน แสบท้องจำนวน 2 คน มีอาการอุจจาระเป็นสีเข้ม ปวดไหล่เล็กน้อย เวียนศีรษะ และอาเจียน อย่างละ 1 คน โดยไม่มีอาการรุนแรงอื่นๆ เพิ่มเติม

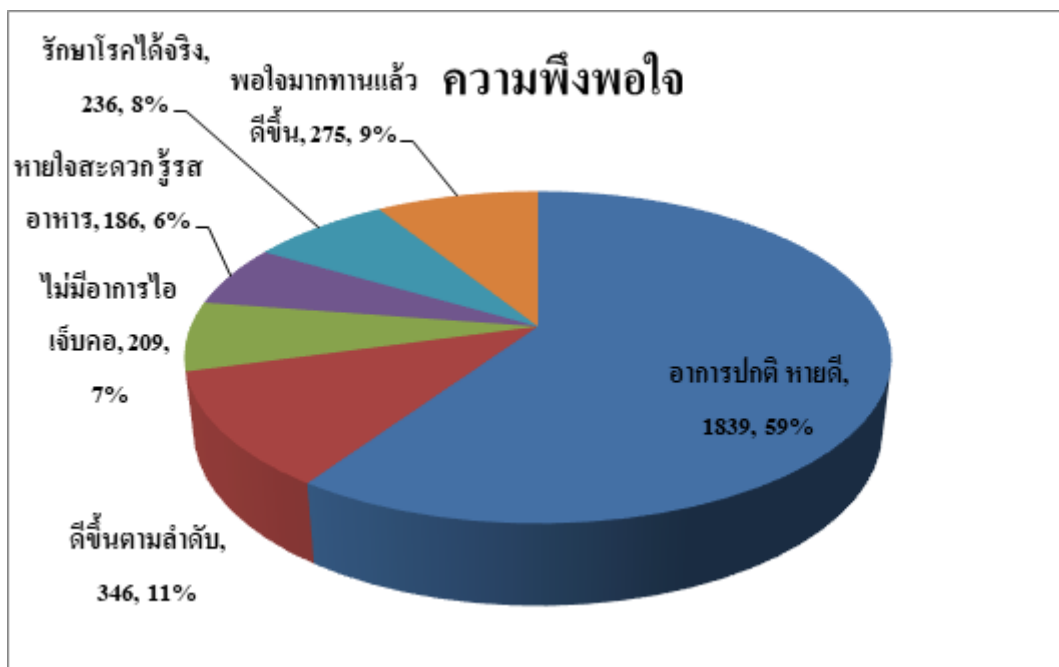


รูปที่ 17 แผนภาพแสดงสัดส่วนจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่มีอาการดีขึ้น กับยังคงมีอาการ หลังรับยาเคอร์่าจนสิ้นสุดการเก็บข้อมูล



รูปที่ 18 แผนภาพแสดงผลข้างเคียง/อาการไม่พึงประสงค์ ที่ได้รับรายงานหลังกลุ่มตัวอย่างได้รับยาเคอร์่า

จากการสำรวจความพึงพอใจของผู้ใช้ยาเคอรา พบว่ามีกลุ่มตัวอย่างที่รู้สึกพึงพอใจในผลที่ได้รับมากถึง 99.1% โดยความคิดเห็นของกลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ รับประทานยาเคอราแล้วอาการดีขึ้น จำนวน 1839 คน หรือร้อยละ 59 ยาเคอราช่วยบรรเทาอาการของโรคได้ จำนวน 346 คน หรือร้อยละ 11 มีความพึงพอใจในตัวยามาก จำนวน 275 คน หรือร้อยละ 9 และอีก 8% หรือ 236 คน เห็นว่ากินยาเคอราแล้วเห็นผล แต่กลุ่มตัวอย่าง จำนวน 9 คน หรือร้อยละ 0.4 ให้ความคิดเห็นว่า ตัวยายังมีผลข้างเคียงเล็กน้อย โดยทำให้มีอาการถ่ายท้อง และปวดศีรษะเล็กน้อย



รูปที่ 19 แผนภูมิแสดงจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่มีความคิดเห็นต่างๆ ต่อการใช้ยาเคอรา

เมื่อสำรวจกลุ่มตัวอย่างตามโรคประจำตัว พบว่ามีผู้ที่เป็นโรคเบาหวานถึง 148 คน โดยยาที่ตัวอย่างกลุ่มนี้ได้รับประจำส่วนใหญ่เป็นยาลดน้ำตาล และอาการที่เกิดขึ้นในคนไข้แทบทุกรายก่อนรับยาเคอรา คือ จมูกไม่ได้กลิ่น ลิ้นไม่รับรส หายใจไม่โล่ง ไอ และเจ็บคอ หลังจากได้รับยาเคอรา พบว่ามีกลุ่มตัวอย่างที่มีอาการดีขึ้นภายใน 5 วัน จำนวน 22 คน ส่วนที่อาการดีขึ้นภายใน 9 วัน มีจำนวน 11 คน และอีก 8 คนพบมีอาการดีขึ้นภายใน 7 วัน โดยข้อบ่งชี้ถึงอาการที่ดีขึ้น ได้แก่ ไม่มีไข้ ไม่มีอาการไอ ไม่เจ็บคอ จมูกได้กลิ่น ปกติ ลิ้นได้รับรส หายใจโล่ง ไม่มีอาการลุกลามเพิ่มหลังกินยา ไม่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจ และไม่พบผลข้างเคียง กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความพึงพอใจในตัวยาคือ โดยให้ความเห็นว่าหลังรับประทานยาแล้วหลับสบายขึ้น ค่าน้ำตาลในเลือดลดลง และหายใจสะดวก

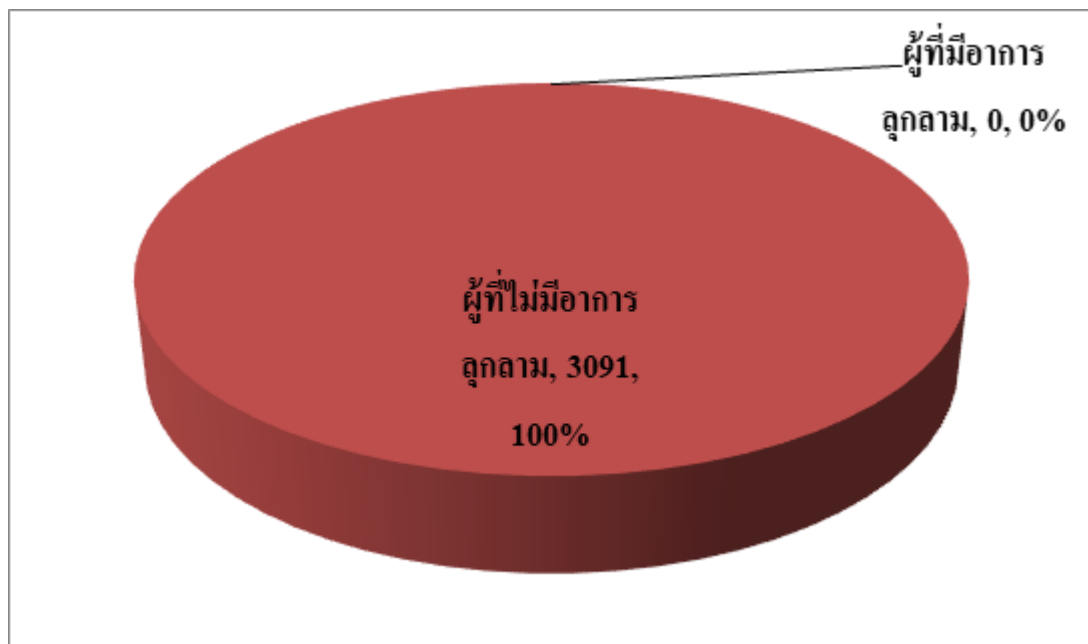
กลุ่มตัวอย่างที่มีโรคประจำตัวเป็น โรคความดันโลหิตสูง มีจำนวน 248 คน โดยยาที่รับประทาน ส่วนใหญ่เป็นยาลดความดัน อาการที่พบในกลุ่มตัวอย่างแทบทุกคนก่อนรับยาเคอรา ได้แก่ ไอ เจ็บคอ ไข้ หนาวสั่น หายใจไม่โล่ง จมูกไม่ได้กลิ่น ลิ้นไม่รับรส หลังจากรับยาเคอรา พบว่าผู้ป่วยในกลุ่มนี้มีอาการดีขึ้นภายใน 5 วัน จำนวน 31 คน และอาการดีขึ้นภายใน 6 วัน จำนวน 14 คน ซึ่งข้อบ่งชี้คือไม่มีไข้ ไอ น้อยลง หายใจโล่ง จมูกได้กลิ่น ลิ้นได้รับรส ไม่มีอาการลุกลามเพิ่มหลังกินยา ไม่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจ และไม่พบผลข้างเคียง กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความพึงพอใจในตัวยาเคอรา โดยให้ความเห็นว่า หลังรับประทานยา เคอราแล้วกลับสบายขึ้น ความดันโลหิตลดลง และหายใจสะดวก

ส่วนกลุ่มตัวอย่างที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง มีจำนวน 81 คน ยาที่รับประทานส่วนใหญ่เป็นยาลดไขมัน อาการที่พบในผู้ป่วยเกือบทุกรายก่อนรับยาเคอรา ได้แก่ ปวดหัว ไข้ตัวร้อน ไอ เจ็บคอ หลังได้รับยาเคอรา พบว่ากลุ่มตัวอย่างทุกคนมีอาการดีขึ้นภายใน 5 วัน ซึ่งข้อบ่งชี้คือหายไข้ หายปวดหัว รู้สึกสบาย ไม่ไอ ไม่เจ็บคอ ไม่มีอาการลุกลามเพิ่มหลังกินยา ไม่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจ และไม่พบผลข้างเคียง กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความพึงพอใจในตัวยาเคอรา โดยให้ความเห็นว่าหลังรับประทานยาเคอราแล้วหายปวดหัว หาย ไข้ รู้สึกสบาย ไม่ไอ ไม่เจ็บคอ

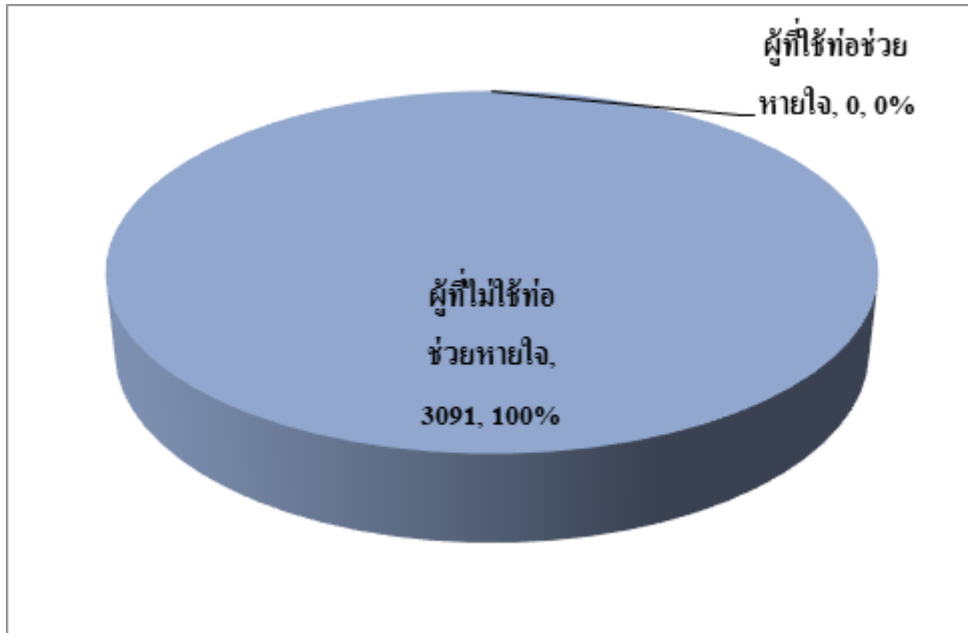
และเมื่อแบ่งตามความรุนแรงของโรค พบว่า 1) เป็นกลุ่มที่ไม่มีอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อยคือ ผู้ที่ตรวจพบเชื้อโควิด 19 ด้วยวิธี RT-PCR แต่ไม่แสดงอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย เช่น มีไอ มีน้ำมูก เมื่อได้ยาลดไข้แล้วอาการดีขึ้นและไม่ต้องให้ยา favipiravir เพื่อรักษา ในกลุ่มนี้ได้ รับประทานยาเคอราหลังทราบว่ามีการติดเชื้อและมีอาการดีขึ้นภายใน 1-3 วัน รวมทั้งไม่มีอาการใดๆ ที่ รุนแรงขึ้นจนครบการกักตัว 14 วันและตรวจไม่พบเชื้ออีก 2) กลุ่มที่มีอาการปานกลาง คือ ผู้ที่แสดงอาการ ซึ่งเกี่ยวข้องกับโรคโควิด 19 อย่างชัดเจน เช่น มีไข้สูง เจ็บคอ แสบคอ ไอแห้ง มีน้ำมูก ตาแดง ท้องเสีย อ่อนเพลีย ปวดเมื่อยร่างกาย จมูกไม่ได้กลิ่น ลิ้นไม่รับรส แต่ยังไม่พบการติดเชื้อและอีกเสบที่ปอด แต่ละคน เริ่มรับยาเคอราหลังพบว่ามีการติดเชื้อและรับประทานอย่างต่อเนื่องในระหว่างการกักตัวหรือเข้ารับรักษาใน โรงพยาบาล ผลพบว่า ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นหลังจาก 1-3 วันของการได้รับยาเคอรา มีอาการไข้ ไอ เจ็บคอ มี น้ำมูกลดลง จนหายเป็นปกติในที่สุดและไม่มีอาการรุนแรงใดๆ เพิ่มเติมอีก จนกระทั่งครบการกักตัวหรือสิ้นสุด การรักษา รวมถึง ตรวจไม่พบเชื้อโควิด 19 อีก 3) กลุ่มที่มีอาการรุนแรง คือ ผู้ที่ตรวจพบการติดเชื้อไวรัสใน ปอดหรือตรวจพบความอึกเสบของปอดอย่างรุนแรงจากการเอ็กซเรย์รวมไปถึงพบค่าออกซิเจนต่ำกว่าปกติ หรือมีอาการที่บ่งชี้ถึงความเสียหายของปอดอย่างชัดเจน เช่น หายใจติดขัด หอบเหนื่อยร่วมกับมีอาการอื่นๆ ของโรคโควิด 19 เช่น มีไข้ ท้องเสีย อ่อนเพลียและปวดเมื่อยตามตัวโดยผู้เข้าร่วมได้รับยา favipiravir ผู้ป่วย

แต่แต่ละคนได้รับยาเคอร์่าหลังจากตรวจพบเชื้อไปแล้ว 1-7 วัน โดยทั้งหมดได้รับประทานยาเคอร์่าอย่างต่อเนื่อง ในระหว่างที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาลหรือรับประทานร่วมกับยา favipiravir ผลที่ได้พบว่า หลังได้รับยาเคอร์่ามีอาการดีขึ้นหลังจาก 1-3 วันของการได้รับยาเคอร์่า ไม่มีอาการรุนแรงใดๆเพิ่มเติม ไม่พบการติดเชื้อลุกลามในปอด อาการของโรคดีขึ้นตามลำดับจนออกจากโรงพยาบาลได้ในที่สุด และเมื่อครบกำหนดกักตัวก็ตรวจไม่พบเชื้ออีก

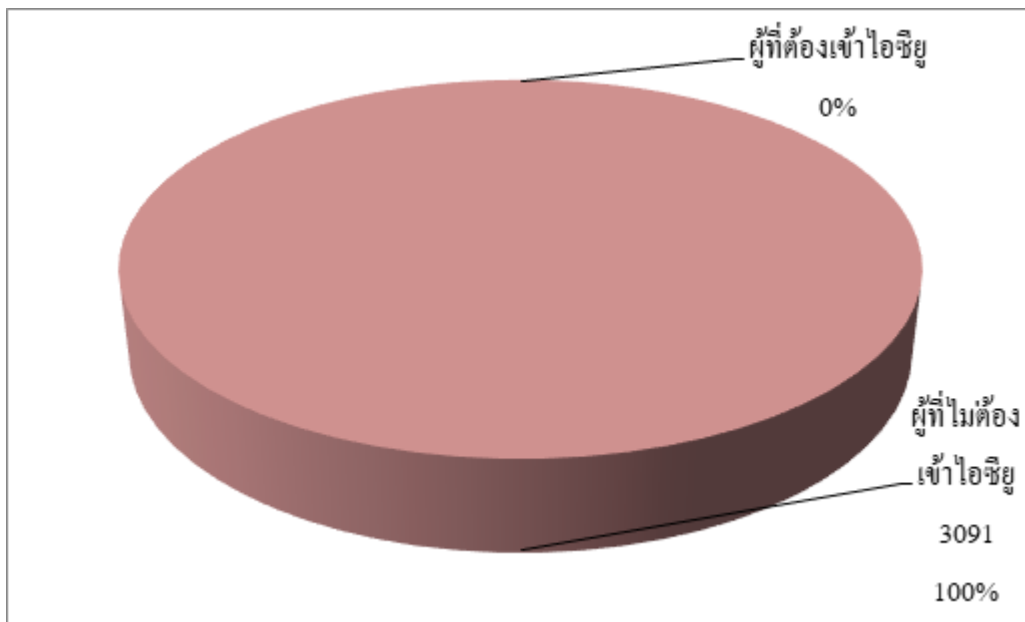
สรุปผลการใช้ยาแคปซูล เคอร์่า ในผู้ป่วยโรคโควิด 19 จำนวน 3091 ราย พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ รวบรวมร้อยละ 98 มีอาการดีขึ้นและไม่มีอาการป่วยเพิ่มเติมหลังได้รับยาเคอร์่า รวมถึงไม่พบผู้เสียชีวิตจากโรคโควิด 19 ในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด นอกจากนี้ จากผลการรายงานยังพบว่า กลุ่มตัวอย่างทุกคนที่ได้รับยาเคอร์่าไม่มีอาการของโรคลุกลาม ไม่มีอุบัติการณ์การเข้ารักษาใน ICU และไม่มีความต้องการใช้เครื่องช่วยหายใจด้วย



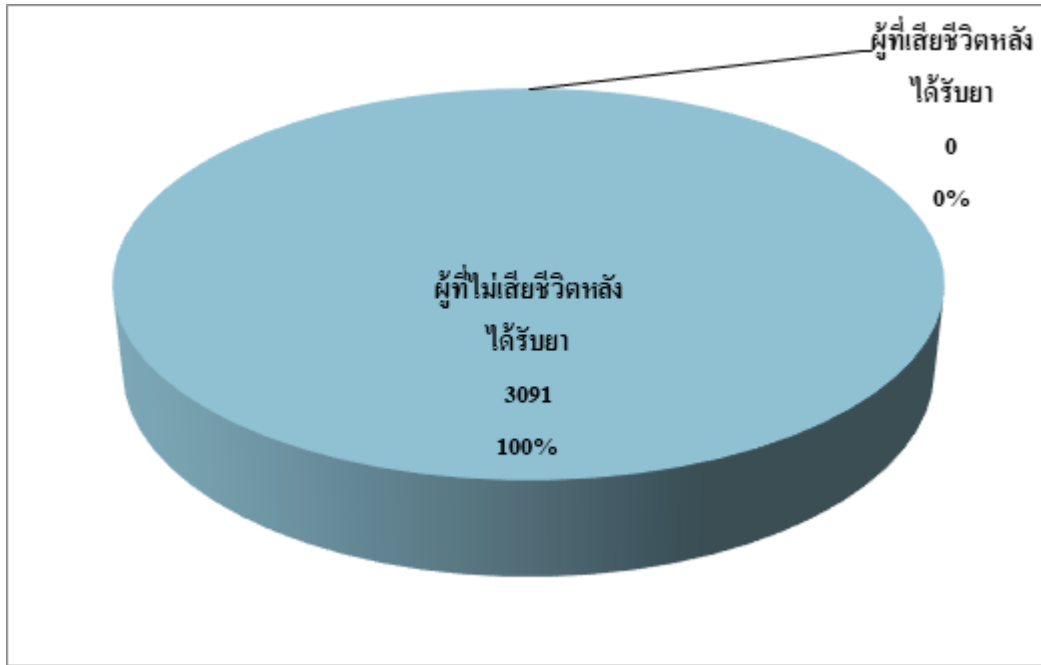
รูปที่ 20 แผนภูมิแสดงจำนวนผู้มีอาการลุกลามหลังได้รับยาเคอร์่า



รูปที่ 21 แผนภูมิแสดงจำนวนผู้ที่ต้องใช้เครื่องช่วยหายใจหลังจากได้รับยาเคอร์รา



รูปที่ 22 แผนภูมิแสดงจำนวนผู้ที่เข้ารับการรักษาใน ICU หลังได้รับยาเคอร์รา



รูปที่ 23 แผนภูมิแสดงจำนวนผู้ที่เสียชีวิตหลังได้รับยาเคอร์่า

ความปลอดภัยของยาเคอร์่า

จากการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของยาแคปซูล เคอร์่า ในการรักษาโรคโควิด 19 ในกลุ่มตัวอย่าง 3,091 คน พบรายงานผลข้างเคียงที่เกี่ยวข้องกับยาเคอร์่า จำนวน 10 ราย หรือคิดเป็นประมาณร้อยละ 0.32 โดยอาการข้างเคียงที่พบ ได้แก่ อาการท้องร่วง ถ่ายเหลวในผู้ป่วย จำนวน 4 ราย และอาการแสบท้องในผู้ป่วย 2 ราย ซึ่งคาดว่าเกิดจากตำรับยาสมุนไพรมีฤทธิ์ระคายเคืองอ่อนๆ เมื่อทำการปรับลดยาอาการดังกล่าวก็ดีขึ้น ไม่มีอันตรายรุนแรง อาการที่พบนอกเหนือจากนี้ ได้แก่ อุจจาระสีเข้ม ปวดไหล่เล็กน้อย ปวดศีรษะ และอาเจียน ซึ่งเมื่อลดปริมาณยาก็มีอาการดีขึ้นเช่นเดียวกัน

จากการทดสอบที่ผ่านมายังไม่พบกรณีที่ยาเคอร์่าส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับและไต แม้ในผู้ที่มีโรคประจำตัว เช่น โรคตับอักเสบ โรคตับแข็ง โรคไตเรื้อรัง และโรคเบาหวาน

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าผู้ป่วยโรคโควิด 19 ที่เป็นโรคไตและโรคเบาหวานอยู่แล้วมีอาการบ่งชี้ทางคลินิกดีขึ้นหลังจากได้รับยาเคอร์่า โดยตัวอย่างเป็นชายอายุ 55 ปีที่มีโรคประจำตัว ได้แก่ โรคเบาหวานและโรคไตระยะที่ 4 ผู้ป่วยสัมผัสเชื้อโควิด 19 ในที่ทำงาน คือ ห้องสืบสวนของสถานีตำรวจภูธรจังหวัดตั้งแต่

เดือน เมษายน 2021 และแสดงอาการหลังติดเชื้อคือ มีไข้ ปวดเมื่อยตามตัวและอ่อนเพลีย หลังตรวจพบการติดเชื้อผู้ป่วยได้รับประทานยาเคอร์ว่าวันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 4 แคปซูล เป็นเวลา 5 วันจากนั้นรับประทานยาเคอร์ว่าวันละ 2 แคปซูล ต่อเนื่องกันไปอีกประมาณ 3 เดือน ผลเบื้องต้นพบว่าอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคโควิด 19 นั้นดีขึ้นตั้งแต่วันแรกและต่อมาจึงตรวจไม่พบเชื้อในที่สุด

ในวันที่ 12 กรกฎาคม 2564 ผู้ป่วยได้รับการตรวจเลือดเพื่อประเมินภาวะสุขภาพซึ่งพบว่าค่าการทำงานของไต (GFR) นั้นไม่เปลี่ยนแปลงจากเดิมเมื่อเทียบกับผลการตรวจล่าสุด เมื่อเดือนตุลาคม 2563 โดยทั่วไปแล้วผู้ป่วยโรคไตระยะที่ 4 ที่มีโรคเบาหวาน มักมีความเสื่อมสภาพของไตอย่างรวดเร็ว จากการที่หน่วยไตซึ่งเหลืออยู่จำนวนน้อยต้องทำงานหนักขึ้นในการกรองของเสียและการเกิดภาวะอักเสบเรื้อรังที่เกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูงผิดปกติ ค่าการทำงานของไต(GFR) จึงมักต่ำลงอย่างต่อเนื่องในระยะเวลาไม่กี่เดือน แต่ในผู้ป่วยรายดังกล่าวกลับไม่พบการลดลงของค่า GFR รวมถึงผู้ป่วยเองยังแจ้งว่าอาการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับโรคไต เช่น อ่อนเพลีย นอนไม่หลับ ปัสสาวะสีเข้ม-ขุ่น และฟิวค้ำล้า ก็มีแนวโน้มดีขึ้นด้วย รวมถึงรู้สึกสดชื่นขึ้น อ่อนเพลียน้อยลง กลับสบายขึ้น ปัสสาวะใสขึ้น และฟิวค้ำล้น้อยลง แสดงให้เห็นว่าการรับประทานยาเคอร์ว่าอย่างต่อเนื่อง นอกจากจะไม่ส่งผลเสียต่อการทำงานของไตแล้ว ยังอาจช่วยชะลอการอักเสบเสียหายและเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อไตในผู้ป่วยโรคไตบางรายได้

บทสรุป

จากรายงานการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารสกัด Kerra และยาแคปซูล เคอร์ว่า ทั้งภายนอกร่างกาย (*In vitro*) และภายในร่างกาย (*In vivo*) พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Covid-19 main protease ได้ค่อนข้างดี โดยมีค่า half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) ประมาณ 0.05 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสมุนไพรอื่นๆ แล้ว พบว่าสารสกัด Kerra มีประสิทธิภาพการต่อต้านสูงกว่าสารออกฤทธิ์ andrographolide ในฟ้าทะลายโจร ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (6) ถึง 100 เท่า รวมทั้งสูงกว่าสารสกัดกระชายขาวในเอทานอล และสารออกฤทธิ์ panduratin A ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.62 และ 0.81 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (8) นอกจากนี้ สารสกัด Kerra ยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RdRp โดยสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่ายับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ถึงร้อยละ 57.16 ซึ่งสูงกว่ายา favipiravir สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร และสาร

สกัดจากกระชายขาวที่ความเข้มข้นเท่ากัน ซึ่งมีค่ายับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์รีอัยละ 12.13, 21.08 และ 8.38 ตามลำดับ จากผลทดสอบความเป็นพิษของสารสกัด Kerra พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้นมีความเป็นพิษต่ำมาก ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต และจากการศึกษาประสิทธิภาพการรักษาโรคโควิด 19 ในกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อจำนวนกว่า 3000 คน ก็พบว่ายาแคปซูล เคอรา นั้นมีความปลอดภัยสูง อีกทั้งให้ผลค่อนข้างดีในการบรรเทาอาการของโรคโควิด 19 ด้วย ดังนั้น ตำรับยาสมุนไพรไทยชนิดแคปซูล เคอรา จึงน่าจะเป็นหนึ่งในทางเลือกสำหรับใช้ป้องกันการแพร่กระจายและรักษาอาการของโรคโควิด 19 ในอนาคต

References:

- (1) World Health Organization, Coronavirus, (<https://www.who.int/thailand/health-topics/coronavirus>)
- (2) กรมควบคุมโรค (Department of Disease Control), โรคติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 (COVID-19), (<https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/>)
- (3) สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (Food and Drug Administration), คำแนะนำการใช้ผลิตภัณฑ์ “ฟ้าทะลายโจร” ที่มีการควบคุมปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ สำหรับผู้ป่วยโรค COVID-19, 23 Aug 2021, (<https://www.fda.moph.go.th/Pages/Document/News/%E0%B8%95%E0%B9%89%E0%B8%99%E0%B8%89%E0%B8%9A%E0%B8%B1%E0%B8%9A%20%E0%B8%9F%E0%B9%89%E0%B8%B2%20COVID-19.pdf>)
- (4) Kanjanasirirat, P., Suksatu, A., Manopwisedjaroen, S. *et al.* High-content screening of Thai medicinal plants reveals *Boesenbergia rotunda* extract and its component Panduratin A as anti-SARS-CoV-2 agents. *Sci Rep* 10, 19963 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77003-3>

- (5) กองประกอบโรคศิลปะ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข (ม.ป.ป.), ตำราการแพทย์แผนโบราณทั่วไปสาขาเวชกรรม เล่ม 1, นนทบุรี, กรมสนับสนุนสุขภาพ
- (6) Shi, T. H., Huang, Y. L., Chen, C. C., Pi, W. C., Hsu, Y. L., Lo, L. C., Chen, W. Y., Fu, S. L., & Lin, C. H. (2020). Andrographolide and its fluorescent derivative inhibit the main proteases of 2019-nCoV and SARS-CoV through covalent linkage. *Biochemical and biophysical research communications*, 533(3), 467–473.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.08.086>
- (7) Jadhav AK, Karuppayil SM. *Andrographis paniculata* (Burm. F) Wall ex Nees: Antiviral properties. *Phytother Res.* 2021 Apr 30. doi: 10.1002/ptr.7145. Epub ahead of print. PMID: 33929758.
- (8) Lim XY, Chan JSW, Tan TYC, et al. *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Wall. Ex Nees, Andrographolide, and Andrographolide Analogues as SARS-CoV-2 Antivirals? A Rapid Review. *Natural Product Communications*. May 2021. doi:10.1177/1934578X211016610
- (9) Yang, H., Bartlam, M., and Rao, Z. (2006). Drug design targeting the main protease, the achilles heel of coronaviruses. *Curr.Pharm. Des.* 12, 4573–4590.

doi: 10.3091/138161206779010369
- (10) Lv, Z., Chu, Y., and Wang, Y. (2015). HIV protease inhibitors: a review of molecular selectivity and toxicity. *HIV AIDS (Auckl)* 7, 95–104. doi:10.2147/HIV.S79956
- (11) Shi, T. H., Huang, Y. L., Chen, C. C., Pi, W. C., Hsu, Y. L., Lo, L. C., Chen, W. Y., Fu, S. L., & Lin, C. H. (2020). Andrographolide and its fluorescent derivative inhibit the main proteases of 2019-nCoV and SARS-CoV through covalent linkage. *Biochemical and biophysical research communications*, 533(3), 467–473.
- (12) Lim XY, Chan JSW, Tan TYC, et al. *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Wall. Ex Nees,

Andrographolide, and Andrographolide Analogues as SARS-CoV-2 Antivirals? A Rapid Review. *Natural Product Communications*. May 2021. doi:10.1177/1934578X211016610

(13) Zhu W, Chen CZ, Gorshkov K, Xu M, Lo DC, Zheng W. RNA-Dependent RNA Polymerase as a Target for COVID-19 Drug Discovery. *SLAS Discov*. 2020 Dec;25(10):1141-1151. doi: 10.1177/2472555220942123. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32660307; PMCID: PMC7684788.

(14) Ahmad W, Jantan I, Bukhari SN. *Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson: A Review of Its Ethnobotanical, Phytochemical, and Pharmacological Aspects. *Front Pharmacol*. 2016;7:59.

Recent
(15) Xie, P., Ma, W., Tang, H., & Liu, D. (2020). Severe COVID-19: A Review of Progress With a Look Toward the Future. *Frontiers in public health*, 8, 189.
<https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00189>

(16) Sarkar, S., Rapista, N., & Jean, L. G. (2020). CORONA VIRUS DISEASE-19-INDUCED ACUTE LIVER FAILURE LEADING TO SEVERE METABOLIC ACIDOSIS. *Chest*, 158(4), A1002. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.08.932>



Department of Biochemistry, Faculty of Science

Kasetsart University

50 Pahonyothin Road, Chuttuchak, Bangkok, Thailand 10700

Certificate of Analysis

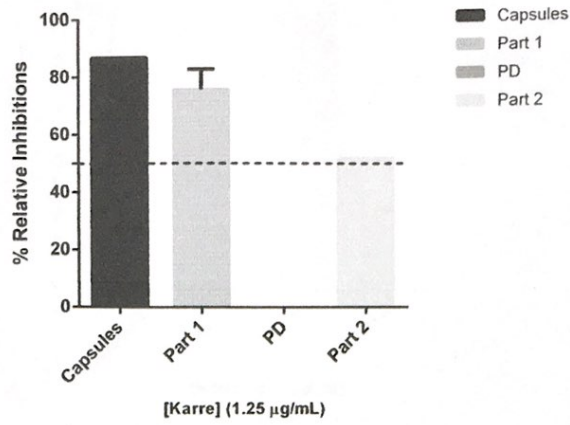
การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของ
ของเอนไซม์ Covid-19 main Protease ของสารสกัด Kerra

การทดสอบ

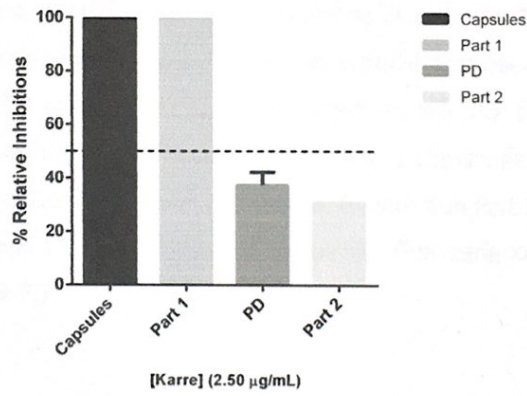
1. การเตรียมสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Covid-19 main Protease
 - 1.1 การเตรียมสารสกัด Kerra ชนิด Capsules, Part 1, Part 2 และ PD ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาเป็น 1.25, 2.50, และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g}/\text{mL}$) ตามลำดับ ในสารละลาย DMSO
2. ทดสอบการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ Covid-19 main Protease กับสารตั้งต้นเรืองแสง คือ Dabcyl-KTSAVLQSGFRKM-E(Edans) ของสารสกัด Kerra แต่ละชนิด แล้วทำการคำนวณร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) โดยเปรียบเทียบระหว่างสภาวะที่ไม่มีสารยับยั้ง และมีสารยับยั้ง ในที่นี้คือ สารสกัด Kerra แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ผลการทดสอบ

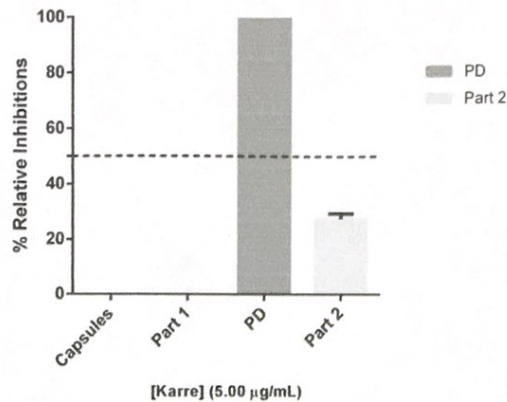
ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Covid-19 main Protease ของสารสกัด Kerra แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า สารสกัด Kerra ชนิด Capsules ที่ความเข้มข้น 1.25 และ 2.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด โดยมีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เป็น 86.81 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับสารสกัด Kerra ชนิด Part 1 มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เป็น 70.51 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสารสกัด Kerra ชนิด PD ที่ความเข้มข้น 2.50 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เป็น 37.39 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สุดท้ายสารสกัด Kerra ชนิด Part 2 ที่ความเข้มข้น 1.25, 2.50 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด พบว่า ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเป็น 51.92, 30.92 และ 27.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



รูปที่ 1 สารสกัด Kerra ชนิด Capsules, Part 1, Part 2 และ PD ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยา เป็น 1.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/mL}$)



รูปที่ 2 สารสกัด Kerra ชนิด Capsules, Part 1, Part 2 และ PD ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยา เป็น 2.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/mL}$)



รูปที่ 3 สารสกัด Kerra ชนิด Capsules, Part 1, Part 2 และ PD ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยา เป็น 5.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/mL}$)

สรุปผลการทดสอบ

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ของสารสกัด Kerra แต่ละชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ สรุปได้ว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1.25 และ 2.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัด Kerra ชนิด Capsules มีค่าร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าสกัด Kerra ชนิด Part 1 ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ส่วนสารสกัด Kerra ชนิด PD มีความสามารถในการยับยั้ง กิจกรรมของเอนไซม์ต่ำกว่าชนิด Capsules และชนิด Part 1 เนื่องจากต้องเพิ่มความเข้มข้นสูงกว่าจึง สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้ สุดท้ายสารสกัด Kerra ชนิด Part 2 ไม่สามารถยับยั้งกิจกรรม ของเอนไซม์ Covid-19 main Protease เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัด Kerra ชนิด Capsules, ชนิด Part 1 และ ชนิด PD

Approved by

Kiattawee Choowongkomon

Kiattawee Choowongkomon, Ph.D.
Department of Biochemistry, Faculty of Science
Kasetsart University, Bangkok, Thailand 10900

fsciktc@ku.ac.th

6th July 2021

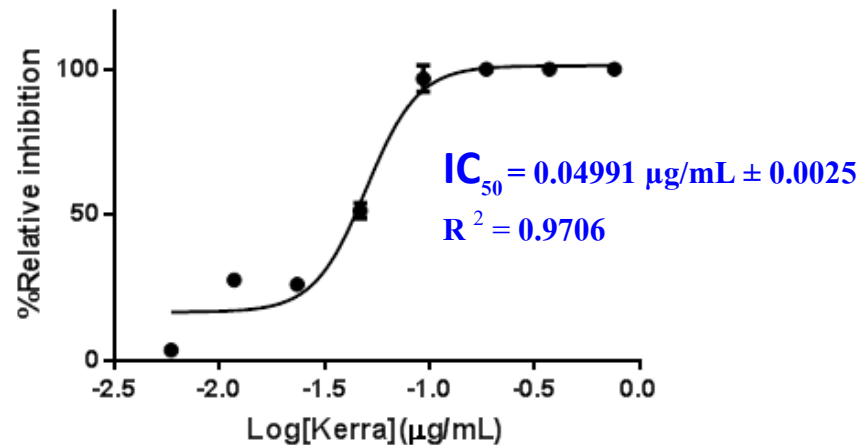
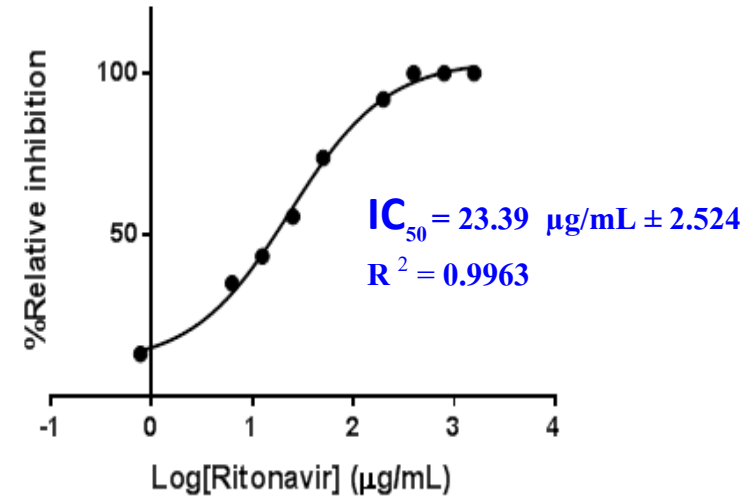
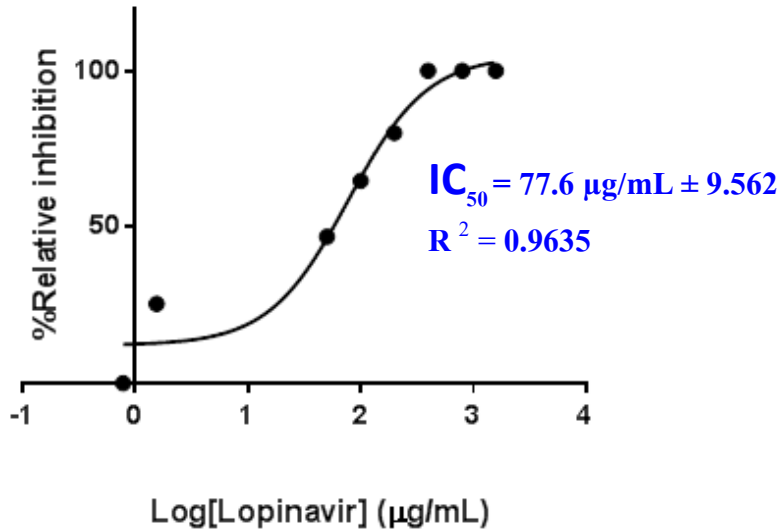
Covid-19 Protease inhibition assay: IC50

Reaction mix (25 μ l) : Assay buffer , 40 μ M substrate, 0.2 μ M Covid-19 protease

Measurement at 340/430 nm for 15 min

Inhibition sample : Kerra Sample

Positive Control : Lopinavir, Ritonavir





Department of Biochemistry, Faculty of Science

Kasetsart University

Pahonyothin Road, Chuttuchak, Bangkok, Thailand 10700

ใบรับรองผลการวิเคราะห์

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของ

ของเอนไซม์ Covid-19 main Protease ของสารสกัด Kerra

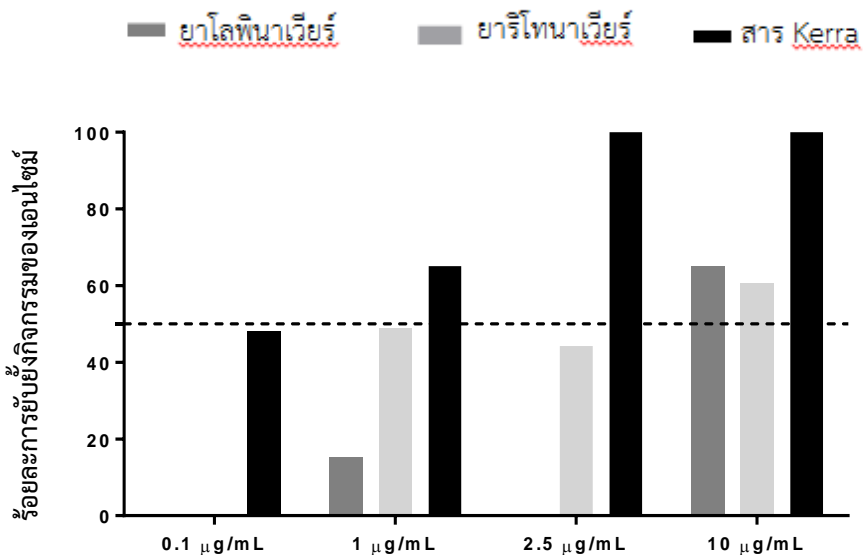
การทดสอบ

1. การเตรียมสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Covid-19 main Protease
 - 1.1 การเตรียมสารยับยั้ง คือ ยาโลพินาเวียร์ (Lopinavir) และริโทนาเวียร์ (ritonavir) ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาเป็น 0.1, 1, 2.5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g}/\text{mL}$) ตามลำดับ
 - 1.2 การเตรียมสารสกัด Kerra ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาเป็น 0.1, 1, 2.5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g}/\text{mL}$) ตามลำดับ เช่นเดียวกับยาโลพินาเวียร์ และริโทนาเวียร์
2. ทดสอบการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ Covid-19 main Protease กับสารตั้งต้นเรืองแสง คือ Dabcyl-KTSAVLQSGFRKM-E(Edans) แล้วทำการคำนวณร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) โดยเปรียบเทียบระหว่างสภาวะที่ไม่มีสารยับยั้ง และมีสารยับยั้งในที่นี้คือ ยาโลพินาเวียร์ ยาริโทนาเวียร์ และสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ผลการทดสอบ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Covid-19 main Protease ของสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับยาโลพินาเวียร์ และริโทนาเวียร์ พบว่า สารสกัด Kerra ชนิด Capsules ที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) เท่ากับ 48.16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับยาโลพินาเวียร์และริโทนาเวียร์ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด Kerra ชนิด Capsules ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) เท่ากับ 65.11 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับยาโลพินาเวียร์และริโทนาเวียร์ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 15.25 และ 49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัด Kerra

มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับยาริโทนาเวียร์ที่ความเข้มข้นเดียวกัน มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 44 เปอร์เซ็นต์ สูดท้ายที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัด Kerra มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งยาโลพินาเวียร์และริโทนาเวียร์ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ เท่ากับ 65.11 และ 60.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



ความเข้มข้นของยาโลพินาเวียร์, ริโทนาเวียร์ และสารสกัด Kerra (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

รูปที่ 1 แสดงค่าร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของยาโลพินาเวียร์, ริโทนาเวียร์ และสารสกัด Kerra ชนิด Capsules ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาเป็น 0.1, 1, 2.5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (µg/mL)

สรุปผลการทดสอบ

สรุปได้ว่า ที่ความเข้มข้นของสาร Kerra 0.1, 1, 2.5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (µg/mL) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส COVID 19 โดยความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร Kerra และที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สาร Kerra มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ เท่ากับ 48.16 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งยาโลพินาเวียร์และริโทนาเวียร์ ที่ความเข้มข้นเดียวกันไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้

Approved by

Kiattawee Choowongkomon

Kiattawee Choowongkomon, Ph.D.

Department of Biochemistry, Faculty of Science

Kasetsart University, Bangkok, Thailand 10900

fsciktc@ku.ac.th 8th July 2021



Department of Biochemistry, Faculty of Science
Kasetsart University
Pahonyothin Road, Chuttuchak, Bangkok, Thailand 10700

ใบรับรองผลการวิเคราะห์

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของ
ของเอนไซม์ Covid-19 main Protease ของสารสกัด Kerra

การทดสอบ

1. การทดสอบหาความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส Covid-19 ได้ 50% (half maximal inhibitory concentration ; IC_{50}) ของสาร Kerra เปรียบเทียบกับ ยาโลพินาเวียร์ และยาริโทนาเวียร์

1.1 การเตรียมสารยับยั้ง (Inhibitor) คือ ยาโลพินาเวียร์ (Lopinavir) และยาริโทนาเวียร์ (ritonavir) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลาย 100% (v/v) DMSO เจือจางความเข้มข้นของยาด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (assay buffer) ที่ประกอบด้วย 20 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl (PH. 7.5), 100 มิลลิโมลาร์ NaCl, 2 มิลลิโมลาร์ DTT, 0.05 มิลลิโมลาร์ EDTA สำหรับการทดสอบที่มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารยับยั้งในปฏิกิริยาเป็น 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78 และ 0.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/mL}$) ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับการเตรียมสาร Kerra ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาเป็น 3, 1.5, 0.750, 0.375, 0.188, 0.094, 0.047, 0.023, 0.012, 0.006 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/mL}$)

1.2 ทดสอบปฏิกิริยาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส Covid-19 โดยสาร Kerra เปรียบเทียบกับยาโลพินาเวียร์ และยาริโทนาเวียร์ สำหรับปฏิกิริยาการทดสอบประกอบด้วย เอนไซม์โปรตีเอส Covid-19 ความเข้มข้น 0.2 ไมโครโมลาร์ ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีสารยับยั้งที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เริ่มต้นทดสอบการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์โปรตีเอสกับสารตั้งต้นเรืองแสง คือ Dabcyl-KTSAVLQSGFRKM-E(Edans) จากนั้นติดตามจลนศาสตร์ของการเกิดปฏิกิริยาที่ความยาวคลื่นของรังสีที่เกิดการดูดกลืน (excitation wavelength) 340 นาโนเมตร และความยาวคลื่นของรังสีที่เปล่งออกมา (emission wavelength) 430 นาโนเมตรเป็นเวลา 30 นาที แล้วทำการคำนวณร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) โดยเปรียบเทียบระหว่างสภาวะที่ไม่มีสารยับยั้ง และมีสารยับยั้ง ในที่นี้คือ ยาโลพินา

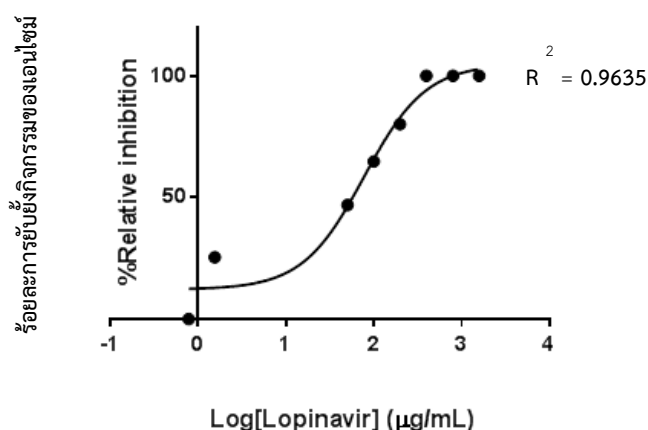
เวียร์ ยาริโทนาเวียร์ และสารสกัด Kerra ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วหาค่าความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส Covid-19 ได้ 50% (IC_{50} ; หน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร($\mu\text{g}/\text{mL}$)) สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป GraphPad Prism เวอร์ชัน 6.0

ผลการทดสอบ

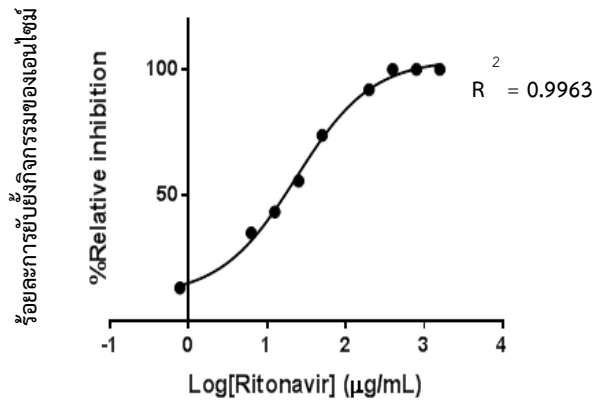
ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของเอนไซม์โปรตีเอส Covid-19 (Covid-19 main Protease) ของสารสกัด Kerra โดยเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส Covid-19 ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (half maximal inhibitory concentration ; IC_{50}) กับยาโลพินาเวียร์ และริโทนาเวียร์ พบว่า สารสกัด Kerra มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.04991 ± 0.0025 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ยาโลพินาเวียร์ และยาริโทนาเวียร์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 77.6 ± 9.562 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 23.39 ± 2.524 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังตาราง ที่ 1

ตารางที่ 1 ค่า IC_{50} ของสารสกัด Kerra เปรียบเทียบกับยาโลพินาเวียร์ และริโทนาเวียร์

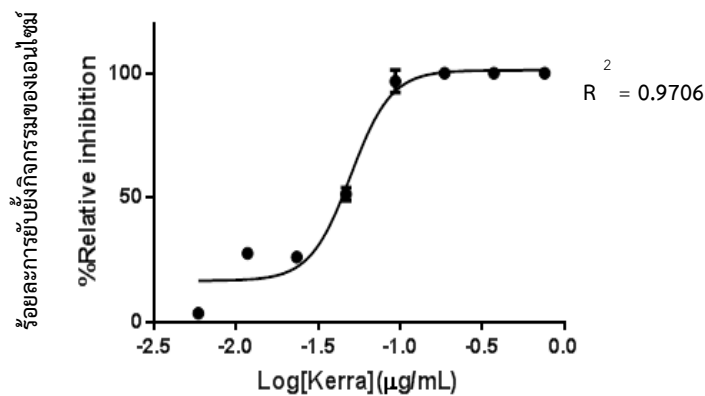
สารทดสอบ	IC_{50} (mean \pm SD) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
ยาโลพินาเวียร์	77.6 ± 9.562
ยาริโทนาเวียร์	23.39 ± 2.524
สารสกัด Kerra	0.04991 ± 0.0025



รูปที่ 1 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาโลพินาเวียร์



รูปที่ 2 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของยาริโทนาเวียร์



รูปที่ 3 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ (% Relative inhibition) กับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสาร Kerra

สรุปผลการทดสอบ

จากผลการทดสอบเนื่องจากค่า IC_{50} คือ ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหรือสารทดสอบที่ทำให้ค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ลดลงครึ่งหนึ่งจากค่าการยับยั้งสูงสุด ถ้าค่า IC_{50} น้อย แสดงว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้ดี จึงสรุปได้ว่าสาร Kerra มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอส Covid-19 โดยมีค่า IC_{50} ต่ำกว่ายาริโทนาเวียร์ และยาโลพินาเวียร์ ตามลำดับ

Approved by

Kiattawee Choowongkomon

Kiattawee Choowongkomon, Ph.D.

Department of Biochemistry, Faculty of Science

Kasetsart University, Bangkok, Thailand 10900

fscikt@ku.ac.th 14th July 2021



Department of Biochemistry, Faculty of Science
Kasetsart University
50 Pahonyothin Road, Chuttuchak, Bangkok, Thailand 10900

ใบรับรองผลการวิเคราะห์

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RdRp (SARS-CoV-2) ในหลอดทดลอง

บริการวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เลขที่ 00734/64

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ

1. Favipiravir
2. BPL/BEN
3. *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall ex Nees.
4. *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.

วิธีการทดลอง

การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งของสารตัวอย่างที่สนใจกับโปรตีน SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA Polymerase (RdRp) โดยใช้ชุดทดสอบ RdRp (SARS-CoV-2) Homogeneous assay kit (BPS Bioscience : #78109) โดยในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของโปรตีน RdRp (SARS-CoV-2) นั้น ทดสอบโดยใช้สารตัวอย่างที่สนใจที่ความเข้มข้น 100 µg/ml เทียบกับยา Favipiravir ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ RdRp (RdRp/NSP7/NSP8 (SARS-CoV-2) Complex) ที่ความเข้มข้น 24 ng/µl ทำใน 384-well flat white plate โดยเติมเอนไซม์ลงในหลุมปริมาตร 4 µl ตามด้วย RNAse inhibitor ปริมาตร 2 µl และสารตัวอย่างอีก 2 µl บ่มในเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม RdRp reaction mixture ซึ่งประกอบด้วย Digoxigenin-labeled RNA duplex และ Biotinylated ATP ใน อัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 2 µl เพื่อเป็นการเริ่มต้นการเกิดปฏิกิริยา สำหรับ blank จะไม่เติมเอนไซม์ และ positive control จะไม่เติมสารตัวอย่าง เพื่อดูการเกิดปฏิกิริยา บ่มในเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที เมื่อครบเวลาเติม AlphaLISA Anti-Digoxigenin acceptor beads (PerkinElmer : #AL113C) ปริมาตร 10 µl บ่มในเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม Streptavidin-conjugated donor beads (PerkinElmer : #6760002S) ปริมาตร 10 µl บ่มในเครื่องเขย่าที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30-60 นาที เมื่อครบเวลาทำการวัดความสามารถในการทำงานของ

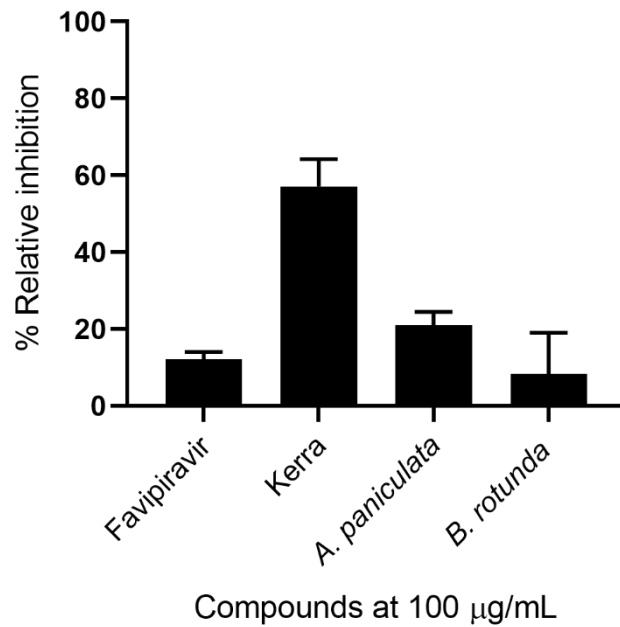
เอนไซม์ โดยใช้เทคนิค AlphaLISA ซึ่งอ่านค่าเป็นค่า Alpha-counts โดยตั้งค่าการกระตุ้นและการปลดปล่อย ที่ 680/615 นาโนเมตร และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RdRp โดยในสมการ

$$\% \text{Relative inhibition} = \frac{[(\text{Positive control} - \text{Blank}) - (\text{Positive control} - \text{Sample})]}{[(\text{Positive control} - \text{Blank})]} \times 100$$

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RdRp (SARS-CoV-2) ของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 µg/ml เทียบกับยา Favipiravir ที่ความเข้มข้นเดียวกันพบว่า Kerra นั้นมีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด อยู่ที่ร้อยละ 57.16 ในขณะที่ยา Favipiravir *A. paniculate* และ *B. rotunda* มีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ที่ร้อยละ 12.13 21.08 และ 8.31 ตามลำดับ แสดงรูปที่ 1 จากงานวิจัยก่อนหน้านี้รายงานว่ายา Favipiravir สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เป้าหมาย RdRp (SARS-CoV-2) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ในทางตรงข้ามจากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่ายา Favipiravir นั้นแสดงค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ค่อนข้างต่ำ เนื่องจากยา Favipiravir มีคุณสมบัติเป็น prodrug ซึ่งเป็นยาที่ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ด้วยตัวมันเอง สามารถทำงานได้เต็มประสิทธิภาพเมื่อเข้าสู่ร่างกาย และผ่านกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า Metabolize เพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของยาส่งผลให้ยามีประสิทธิภาพมากขึ้น จากนั้นนำ Kerra มาทดสอบเพื่อคำนวณค่า IC₅₀ พบว่า Kerra มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 43.63 µg/ml แสดงดังรูปที่ 2

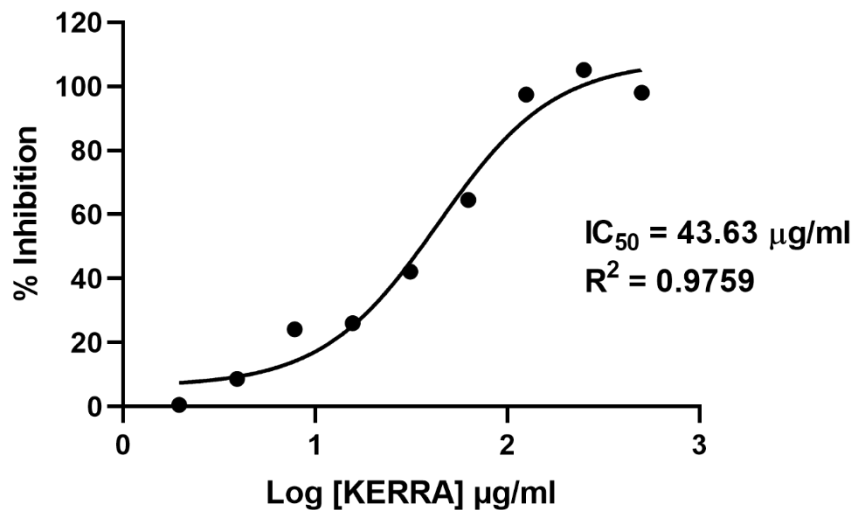
RdRp (SARS-CoV2) inhibition assay



รูปที่ 1 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ RdRp (SARS-CoV-2) หลังทำการทดสอบกับสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 µg/ml

***หมายเหตุ Favipiravir อยู่ในรูปแบบของโปร-ดรัก (prodrug) จะทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพถ้าไม่ถูกกระบวนการเมตาบอลิซึมเผาผลาญในเซลล์เปลี่ยนรูปแบบที่ออกฤทธิ์คือ Favipiravir-ribofuranosyl-5'-triphosphate (Favipiravir-RTP)

IC₅₀ of KERRA for RdRp (SARS-CoV-2)



รูปที่ 2 กราฟแสดง IC₅₀ ของ Kerra

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ RdRp (SARS-CoV-2) ของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 µg/ml เทียบกับยา Favipiravir (prodrug form) พบว่า Kerra แสดงค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด และมีค่า IC₅₀ = 43.63 µg/ml ในขณะที่ตัวอย่างอื่น ๆ มีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่ใกล้เคียงกัน

Approved by

Kiattawee Choowongkomon

Kiattawee Choowongkomon, Ph.D.
Department of Biochemistry, Faculty of Science
Kasetsart University, Bangkok, Thailand 10900

fsictc@ku.ac.th

8th September 2021

ผลการทดสอบสารสกัด KERRA ในไวรัส


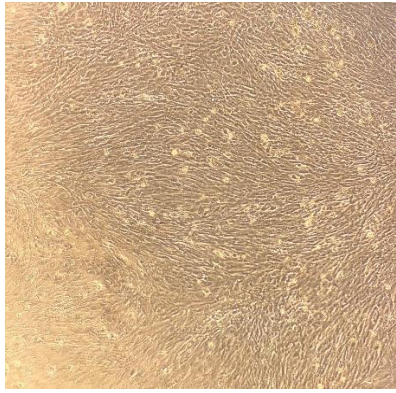
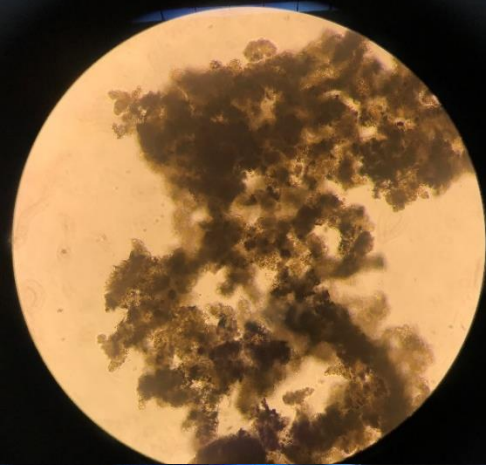
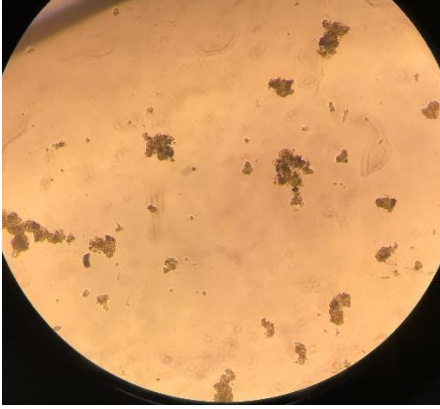
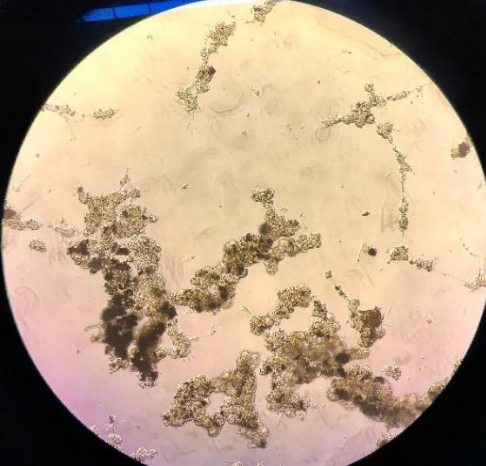
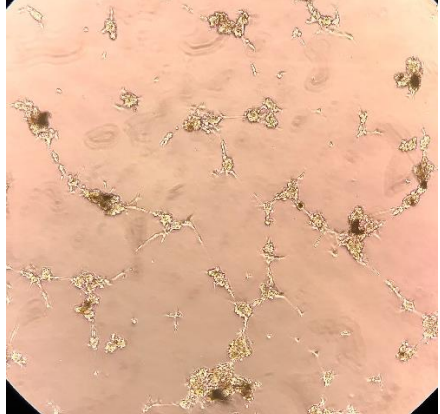
ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ

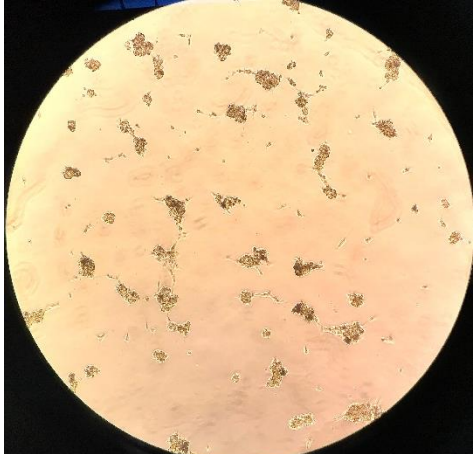
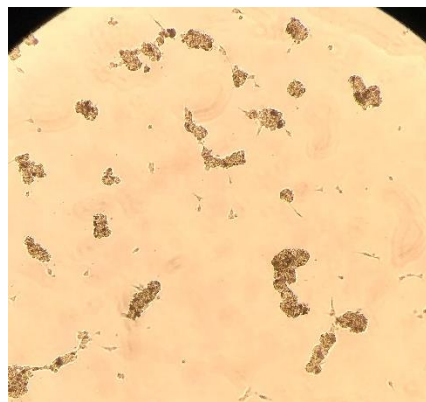
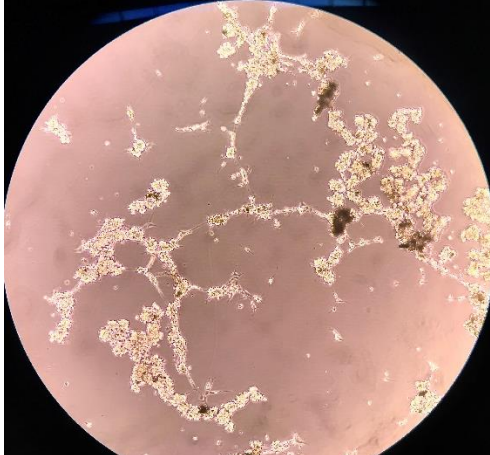
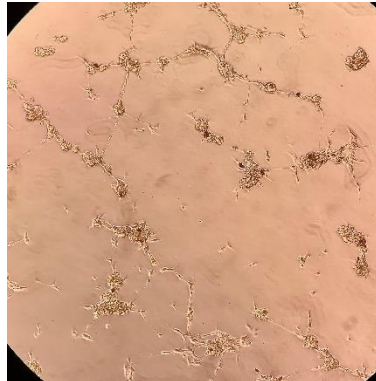
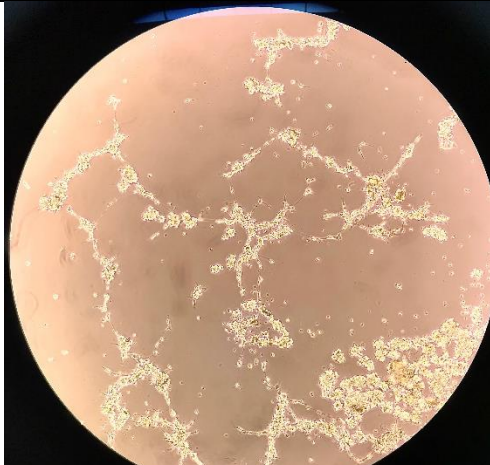
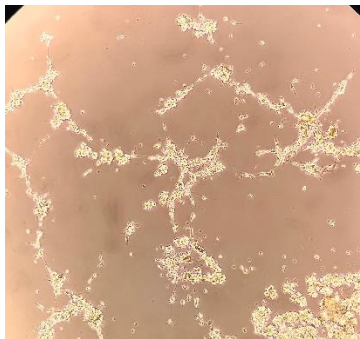
สารสกัดจาก KERRA THAI TRADITIONAL MEDICINE จำนวน 2 ตัวอย่าง 1.) จาก Capsule ทำการสกัดสารด้วย 95% Ethanol จากนั้นละลายด้วย 100% DMSO ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 2.) ผง KERRA จากถุงละลายด้วย 100% DMSO ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นสุดท้ายในการทดสอบคือ 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งหมด 2 ความเข้มข้น

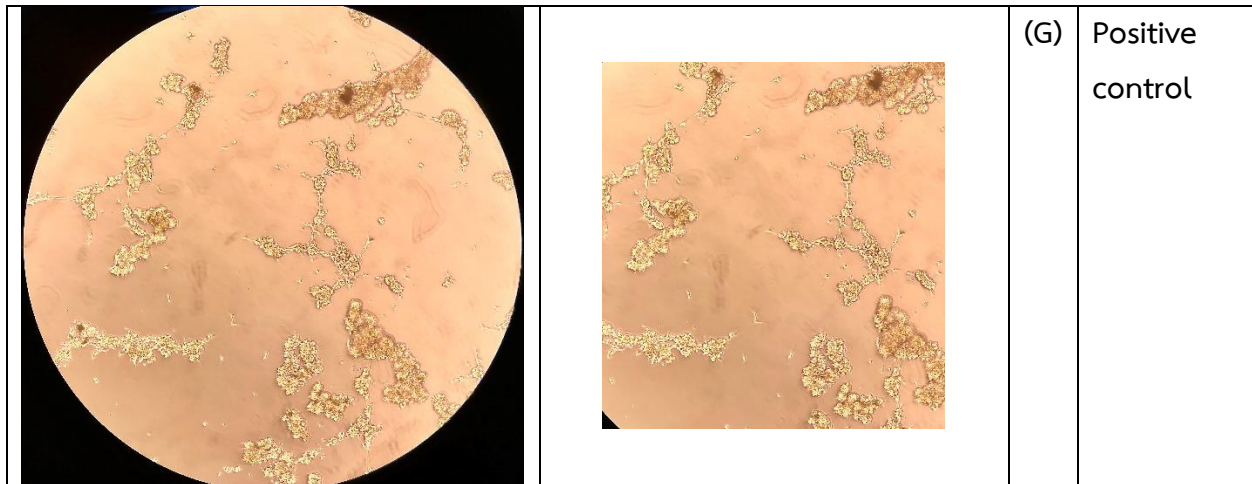
วิธีการทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยง Crandell Rees Feline Kidney Cell (CRFK) ใน T-25 flask ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ ประกอบด้วย Eagle's Minimum Essential Medium, 10% Horse serum, 0.1% L-glutamine, 0.2% Non-essential amino acid, gentamycin และ 0.1% Antibiotics ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, CO₂ 5% และความชื้นสัมพัทธ์ 5% ในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์วันเว้นวัน เมื่อเซลล์พร้อมหนาแน่นร้อยละ 80-90 ทำการย้ายเซลล์ไปยัง 24-well plate จำนวน 150,000 เซลล์ต่อหลุม ปริมาตร 500 ไมโครลิตร บ่ม 24-48 ชั่วโมงให้เซลล์ยึดเกาะกับ plate และมีความหนาแน่นร้อยละ 90-100 จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออก แทนที่ด้วยอาหารใหม่ที่มีสารทดสอบและไวรัส (ที่บ่มร่วมกันแล้วเป็นเวลา 1 ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 400 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมอาหารให้ครบปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่ม 24 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเก่าแทนที่ด้วยอาหารใหม่ 1 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บผลโดยการทำ real-time PCR

ผลการทดลอง

		(A)	Untreated
		(B)	KERRA (Capsule) 1mg/ml
		(C)	KERRA (Capsule) 0.1mg/ml

		(D)	KERRA (Bag) 1mg/ml
		(E)	KERRA (Bag) 0.1mg/ml
		(F)	Favipiravir 1mg/ml



ตารางที่ 1 แสดงรูปภาพของเซลล์จากการ infected ของไวรัสในสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ จากรูปในตารางที่ 1 ภาพ (A) แสดงตัวควบคุมในการทดลอง (Untreated) ภาพ (B) - (E) แสดงถึงเซลล์ที่ถูกทดสอบด้วยไวรัสและสารทดสอบ KERRA ที่ความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง (Cytopathic effect (CPE)) ในทุกหลุมที่ทดสอบด้วยสารทดสอบ KERRA ภาพ (F)-(G) แสดงผลการทดสอบยา Favipiravir ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ ตัวควบคุมเชิงบวก ตามลำดับ จากภาพบอกได้ถึงการ infected ของไวรัสแล้วเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง (CPE) ต้องใช้วิธีการ real-time PCR ในการแปลผลต่อไป

ผลการทดสอบสารสกัด KERRA ในโคโรนาไวรัสจากแมว

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ

สารสกัดจาก KERRA THAI TRADITIONAL MEDICINE โดยนำทำการสกัดสารด้วย 95% Ethanol จากนั้นละลายด้วย 100% DMSO ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อ ความเข้มข้นสุดท้ายในการทดสอบ คือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

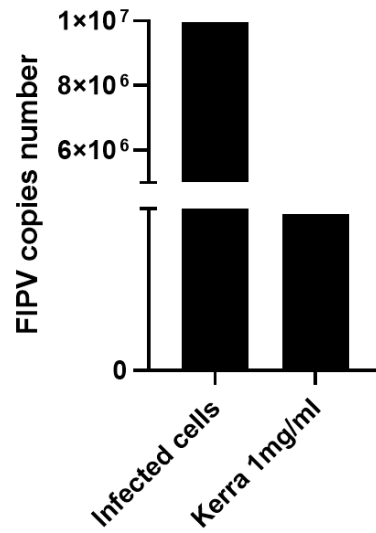
วิธีการทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยงโคโรนาไวรัสในแมว Feline infectious peritonitis (FIP) ในเซลล์ Crandell Rees Feline Kidney Cell (CRFK) ใน T-25 flask ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ ประกอบด้วย Eagle's Minimum Essential Medium, 10% Horse serum, 0.1% L-glutamine, 0.2% Non-essential amino acid, gentamycin และ 0.1% Antibiotics ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, CO₂ 5% และความชื้นสัมพัทธ์ 5% ในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์วันเว้นวัน เมื่อเซลล์พร้อมหนาแน่นร้อยละ 80-90 ทำการย้ายเซลล์ไปยัง 24-well plate จำนวน 150,000 เซลล์ต่อหลุมปริมาตร 500 ไมโครลิตร บ่ม 24-48 ชั่วโมงให้เซลล์ยึดเกาะกับ plate และมีความหนาแน่นร้อยละ 90-100 จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแทนที่ด้วยอาหารใหม่ที่มีสารทดสอบและไวรัส (ที่บ่มร่วมกันแล้วเป็นเวลา 1 ชั่วโมง) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 400 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมอาหารให้ครบปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่ม 24 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารเก่าแทนที่ด้วยอาหารใหม่ 1 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บผลโดยการทำ real-time PCR ที่จำเพาะกับไวรัส FIP

ผลการทดลอง

เมื่อทำวิเคราะห์เทียบกันระหว่างเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสที่มีและไม่มีสารทดสอบ (Kerra) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารทดสอบมีความสามารถในการยับยั้งการติดเชื้อไวรัส FIP เข้าสู่เซลล์ CRFK ได้ โดยในเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสที่ไม่มีสารทดสอบ (Infected cells) มีไวรัสอยู่ประมาณ 9×10^6 copies number ในขณะที่เซลล์ที่มีการเติมสารทดสอบ (Kerra 1 mg/ml) พบว่ามีจำนวนไวรัสลดลงเหลือ 6×10^5 copies number

CRFK cell infected with FIPV



รูปที่ 1 แสดงค่าจำนวนไวรัส (Copies number) ในเซลล์ CRFK ที่ถูกทำให้ติดเชื้อ FIP

สรุปผลการทดลอง

พบว่าสารทดสอบ Kerra ที่ความเข้มข้น 1mg/ml สามารถยับยั้งโคโรนาไวรัสในแมวได้ ในสถานะที่ทดลองในห้องปฏิบัติการ



ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

50 ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ใบรับรองการตรวจวิเคราะห์

ชื่อตัวอย่าง KERRA

สารทำละลาย Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

รายการ	ผลการทดสอบ	
ลักษณะทางกายภาพ	ผงสีดำ	
การทดสอบต้านไวรัส FIPV -ในเซลล์ CRFK	สารทดสอบ	จำนวนไวรัส (copies number) วัดด้วยเทคนิค RT-PCR
	Infected cell Kerra 1 mg/ml	9x10 ⁶ 6x10 ⁵

สรุปผลการทดลอง

พบว่าสารทดสอบ Kerra ที่ความเข้มข้น 1mg/ml สามารถยับยั้งโคโรนาไวรัสในแมว Feline infectious peritonitis (FIP) ได้ ในสภาวะที่ทดลองในห้องปฏิบัติการ

Kiattawee Choowongkamon, Ph.D.

Department of Biochemistry, Faculty of Science

Kasetsart University, Bangkok, Thailand 10900

fsciktc@ku.ac.th



ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

50 ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ใบรับรองการตรวจวิเคราะห์

ชื่อตัวอย่าง KERRA

สารทำละลาย Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

รายการ	ผลการทดสอบ		
ลักษณะทางกายภาพ	ผงสีดำ		
การทดสอบด้านการอักเสบ -เซลล์แมคโครฟาจ (Raw264.7 cells)	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	กิจกรรมด้านการ อักเสบ (%)	การรอดชีวิตของเซลล์ (%)
	10.0	53.71 ± 1.57	24.35 ± 2.26
	5.00	65.21 ± 0.57	19.39 ± 1.67
	1.00	79.66 ± 1.53	95.51 ± 0.20
	0.50	59.46 ± 2.07	96.94 ± 1.14
	0.25	34.99 ± 2.77	92.65 ± 1.62
	0.10	7.87 ± 4.69	91.16 ± 0.72

Kiattawee Choowongkomon

Kiattawee Choowongkomon, Ph.D.

Department of Biochemistry, Faculty of Science

Kasetsart University, Bangkok, Thailand 10900

fsciktc@ku.ac.th

ผลการทดลองความสามารถด้านการอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells)

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ

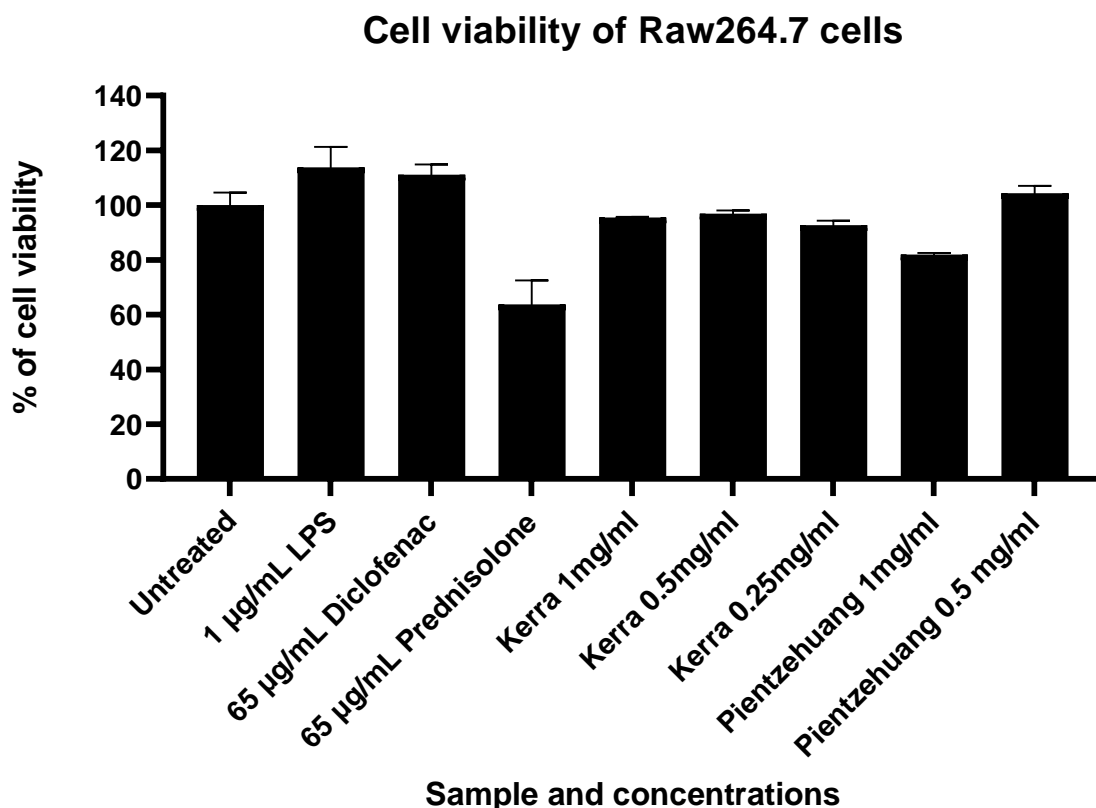
สารสกัดจาก KERRA THAI TRADITIONAL MEDICINE จำนวน 1 ตัวอย่าง ทำการสกัดสารด้วย 95% Ethanol จากนั้นละลายด้วย 100% DMSO ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นสุดท้ายในการทดสอบคือ 1, 0.5 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งหมด 3 ความเข้มข้น และ Pientzhuang ละลายด้วย 100% DMSO ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นสุดท้ายในการทดสอบคือ 1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งหมด 2 ความเข้มข้น

วิธีการทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7) ในจานเลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ ประกอบด้วย Dulbecco's modified Eagle's medium, Fetal Bovine serum (FBS) 10% และ 1% Anti-anti ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, CO₂ 5% ในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ วันเว้นวัน เมื่อเซลล์หนาแน่นร้อยละ 80-90 ทำการย้ายเซลล์ไปยัง 96-well plate จำนวน 100,000 เซลล์ต่อหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่ม 24 ชั่วโมงให้เซลล์ยึดเกาะกับ plate จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออก แทนที่ด้วยอาหารใหม่ที่มีสารตัวอย่างนาน 24 ชั่วโมง แล้วดูดอาหารมาทดสอบด้านการอักเสบ 50 ไมโครลิตร โดยใช้ Griess reagent (เติม Sulfanilamide solution 50 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 10 นาที จากนั้นเติม NED solution 50 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 10 นาที) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร แล้วนำค่ามาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ กิจกรรมด้านการอักเสบของเซลล์แมคโครฟาจโดยใช้สูตรคำนวณ Anti-inflammation activity (%) = $\frac{A_{control} - A_{test}}{A_{control}}$ และดูดอาหารเก่าที่เหลือออกให้หมดแล้วแทนที่ด้วยอาหารใหม่ที่มีสารละลาย Presto blue ในอัตราส่วน 1:10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่ม 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

ผลการทดลอง

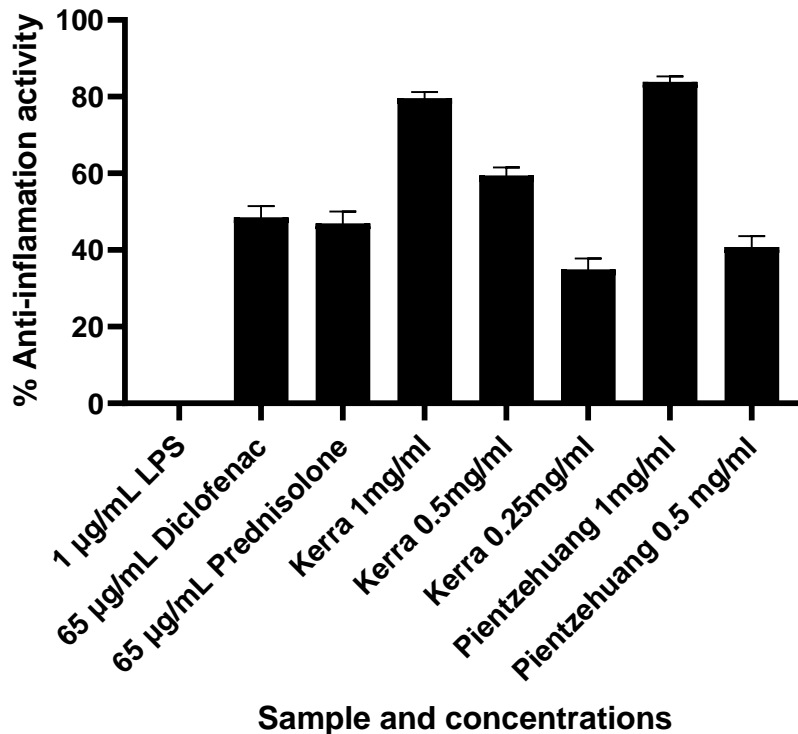
อัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์ ทดสอบโดย PrestoBlue™ Cell Viability Reagent



รูปที่ 1 กราฟแสดงร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) หลังจากทำการทดสอบกับตัวอย่าง KERRA และ Pientzhuang ที่ 24 ชั่วโมง ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่าตัวอย่าง KERRA ที่ความเข้มข้น 1, 0.5 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับตัวควบคุม (Untreated) โดยมีค่าอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่ร้อยละ 95.51, 96.94 และ 92.65 ตามลำดับ ตัวอย่าง Pientzhuang ที่ความเข้มข้น 1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อัตราการรอดชีวิตของเซลล์มีค่ามากกว่าร้อยละ 80 เมื่อเทียบกับตัวควบคุม (Untreated) เช่นกันโดยมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 82.00 และ 104.39 ตามลำดับ

Anti-inflammation activity in RAW264.7 cells



รูปที่ 2 กราฟแสดงกิจกรรมต้านการอักเสบเซลล์ของแมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) ที่ถูกทดสอบด้วยตัวอย่าง KERRA และ Pientzhuang ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

จากการทดลองต้านการอักเสบของเซลล์แมคโครฟาจ LPS เป็นตัวควบคุมเชิงลบโดยความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้ในการทดลองคือ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและมี Diclofenac เป็นตัวควบคุมเชิงบวกที่ความเข้มข้น 65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ Prednisolone ที่ความเข้มข้น 65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรค่ากิจกรรมต้านการอักเสบสูงที่สุดคือ Pientzhuang และ KERRA ตามลำดับ โดยอยู่ที่ร้อยละ 83.84 และ 79.66 ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบอยู่ที่ร้อยละ 40.75 และ 59.46 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของ KERRA มีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบร้อยละ 34.99 ค่ากิจกรรมต้านการอักเสบของ Diclofenac และ Prednisolone ที่ความเข้มข้น 65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละ 48.57 และ 46.99 ตามลำดับ

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่า Pientzhuang ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบมากที่สุดเมื่อเทียบกับสารและความเข้มข้นอื่นๆ การรอดชีวิตของเซลล์มีค่ามากกว่าร้อยละ 80 และ KERRA

มีค่ากิจกรรมด้านการอักเสบสูงรองลงมา Diclofenac และ Prednisolone มีค่าร้อยละของกิจกรรมด้านการอักเสบที่ต่ำกว่าสารตัวอย่างทั้งนี้ อันเนื่องมาจากความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองของ Diclofenac และ Prednisolone มีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองของสารตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด

ผลการทดลองความสามารถด้านการอักเสบในเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells)

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ

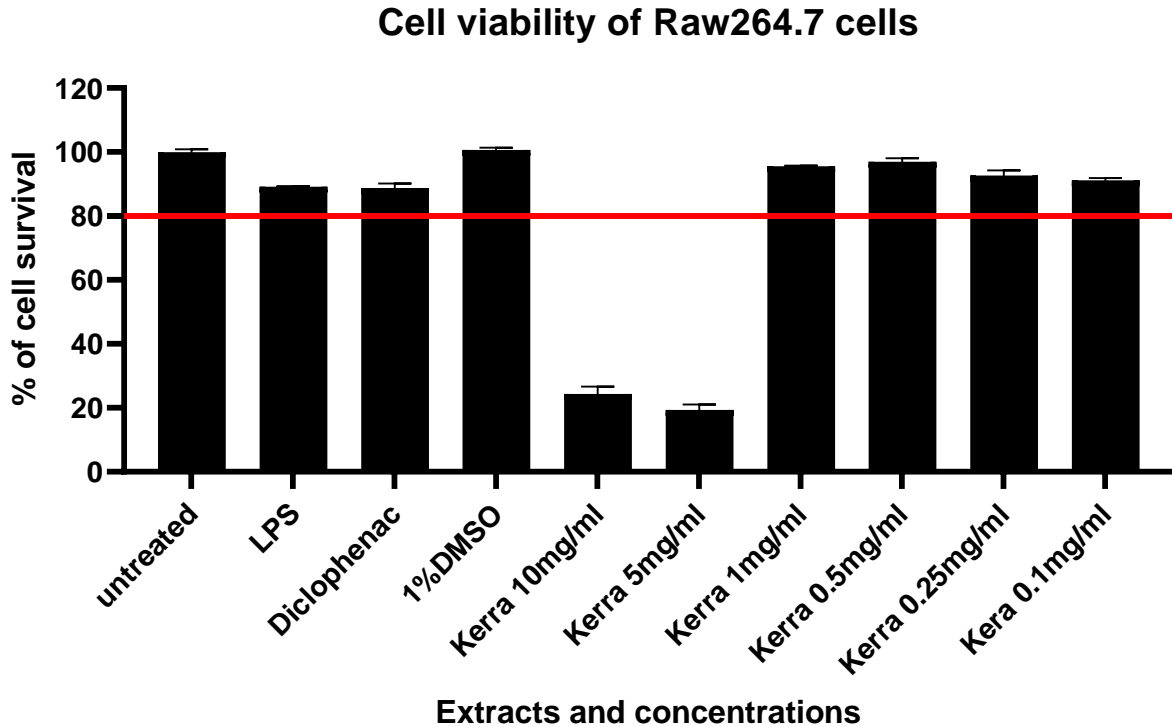
สารสกัดจาก KERRA THAI TRADITIONAL MEDICINE จำนวน 1 ตัวอย่าง ทำการสกัดสารด้วย 95% Ethanol จากนั้นละลายด้วย 100% DMSO ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นสุดท้ายในการทดสอบคือ 10, 5, 1, 0.5, 0.25 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งหมด 6 ความเข้มข้น

วิธีการทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7) ในจานเลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ ประกอบด้วย Dulbecco's modified Eagle's medium, Fetal Bovine serum (FBS) 10% และ 1% Anti-anti ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, CO₂ 5% ในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์วันเว้นวัน เมื่อเซลล์หนาแน่นร้อยละ 80-90 ทำการย้ายเซลล์ไปยัง 96-well plate จำนวน 100,000 เซลล์ต่อหลุมปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่ม 24 ชั่วโมงให้เซลล์ยึดเกาะกับ plate จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออก แทนที่ด้วยอาหารใหม่ที่มีสารตัวอย่างความเข้มข้น 10, 5, 1, 0.5, 0.25 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มนาน 24 ชั่วโมง แล้วดูดอาหารมาทดสอบด้านการอักเสบ 50 ไมโครลิตร โดยใช้ Griess reagent (เติม Sulfanilamide solution 50 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 10 นาที จากนั้นเติม NED solution 50 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 10 นาที) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร แล้วนำค่ามาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์กิจกรรมด้านการอักเสบของเซลล์แมคโครฟาจโดยใช้สูตรคำนวณ Anti-inflammation activity (%) = $\frac{A_{control} - A_{test}}{A_{control}}$ และดูดอาหารเก่าที่เหลือออกให้หมดแล้วแทนที่ด้วยอาหารใหม่ที่มีสารละลาย Presto blue ในอัตราส่วน 1:10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่ม 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

ผลการทดลอง

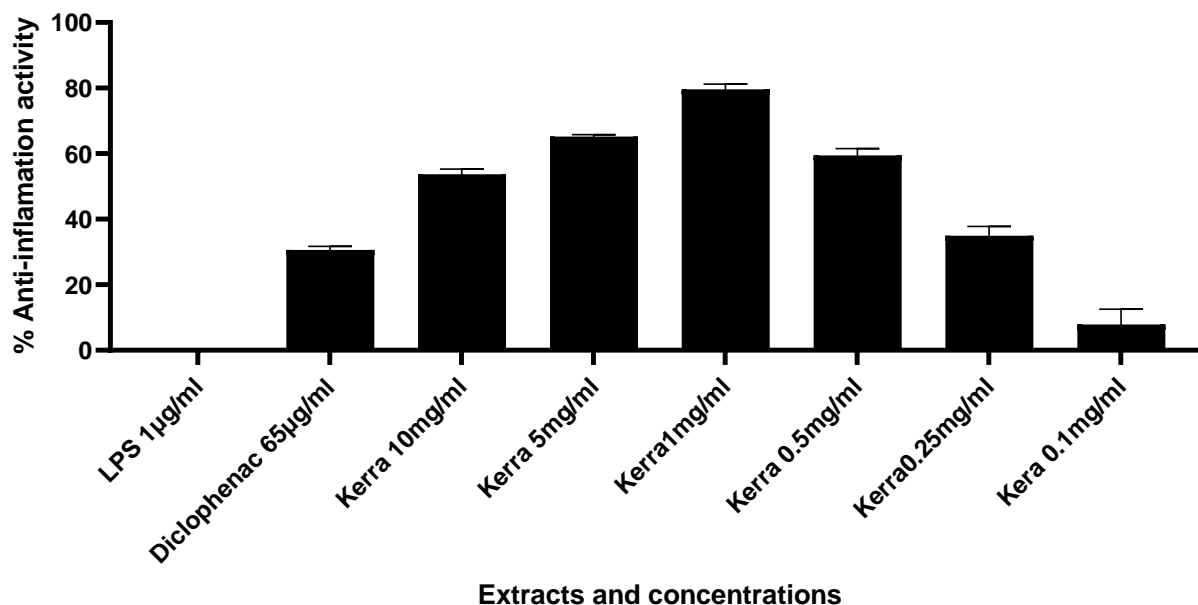
อัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์ ทดสอบโดย PrestoBlue™ Cell Viability Reagent



รูปที่ 1 กราฟแสดงร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) หลังจากทำการทดสอบกับตัวอย่าง KERRA ที่ 24 ชั่วโมง ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่าตัวอย่าง KERRA ที่ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.25 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีอัตราการรอดชีวิตสูงเมื่อเทียบกับตัวควบคุม (Untreated) โดยมีค่าอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่ร้อยละ 95.51, 96.94, 92.65, 91.16 ตามลำดับ และ KERRA ที่ความเข้มข้น 10 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อัตราการรอดชีวิตของเซลล์มีค่าต่ำเมื่อเทียบกับตัวควบคุม (Untreated) มีค่าอยู่ที่ร้อยละ 24.35, 19.39 ตามลำดับ

Anti-inflammation activity in RAW264.7 cells



รูปที่ 2 กราฟแสดงกิจกรรมต้านการอักเสบเซลล์ของแมโครฟาจ (RAW264.7 cells) ที่ถูกทดสอบด้วยตัวอย่าง KERRA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

จากการทดลองต้านการอักเสบของเซลล์แมโครฟาจ LPS เป็นตัวควบคุมเชิงลบโดยความเข้มข้นสุดท้ายที่ใช้ในการทดลองคือ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและมี Diclophenac เป็นตัวควบคุมเชิงบวกที่ความเข้มข้น 65 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบจากผลการทดลองพบว่า KERRA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นมีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบสูงที่สุด อยู่ที่ร้อยละ 79.66 ตามด้วยที่ความเข้มข้น 5, 0.5, 10, 0.25, 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบอยู่ที่ร้อยละ 65.21, 59.46, 53.71, 34.99 และ 7.87 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบต่ำที่สุด

อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่า KERRA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีค่ากิจกรรมต้านการอักเสบได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นความเข้มข้นที่อยู่ในระดับกลางไม่สูงหรือต่ำเกินไป อาจเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำงานได้ดีของสาร KERRA ที่ความเข้มข้น 10 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลความเป็นพิษต่อเซลล์สูงและค่ากิจกรรมต้านการอักเสบมีค่าต่ำเมื่อเทียบกับ KERRA ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องด้วยความเข้มข้นที่สูงจะประกอบไปด้วยเปอร์เซ็นต์ DMSO ที่สูงด้วยเนื่องจากสารตัวอย่างถูกทำลายด้วย 100% DMSO จึงก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ดังนั้นเมื่อเซลล์ลดจำนวนลงกิจกรรม

ด้านการอักเสบของเซลล์ก็ลดลงด้วย จากกราฟในรูปที่ 2 สาร Diclophenac มีค่าร้อยละของกิจกรรมด้านการอักเสบที่ต่ำกว่าสารตัวอย่าง KERRA ทั้งนี้ อันเนื่องมาจากความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองของ Diclophenac มีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองของสารตัวอย่าง KERRA

การทดสอบความเป็นพิษในเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 cells) และเซลล์ไตลิง (Vero cells)

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ

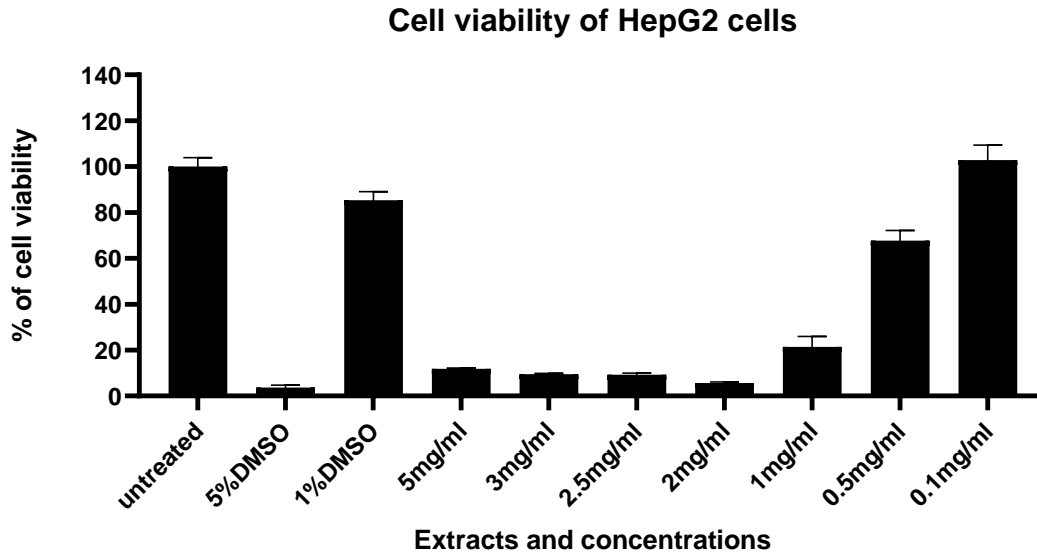
สารสกัดจาก KERRA THAI TRADITIONAL MEDICINE จำนวน 1 ตัวอย่าง ทำการสกัดด้วย 95% Ethanol จากนั้นละลายด้วย 100% DMSO ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นสุดท้ายในการทดสอบคือ 5, 3, 2.5, 2, 1, 0.5 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งหมด 6 ความเข้มข้น

วิธีการทดลอง

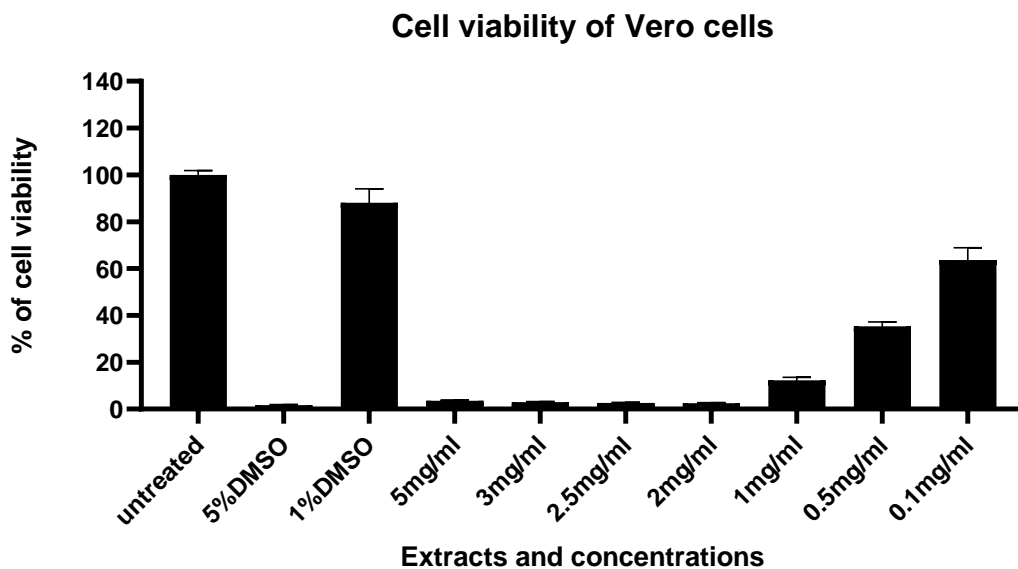
ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งตับ (HepG2 cells) และเซลล์ไตลิง (Vero cells) ใน T-75 flask ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ ประกอบด้วย Eagle's Minimum Essential Medium/Dulbecco's modified Eagle's medium, Fetal Bovine serum (FBS) 10% และ Antibiotics 1% ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, CO₂ 5% และความชื้นสัมพัทธ์ 5% ในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์วันเว้นวัน เมื่อเซลล์พร้อมหนาแน่นร้อยละ 80-90 ทำการย้ายเซลล์ไปยัง 96-well plate จำนวน 5,000 และ 2,000 เซลล์ต่อหลุมปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่ม 24 ชั่วโมงให้เซลล์ยึดเกาะกับ plate จากนั้นดูอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแทนที่ด้วยอาหารใหม่ที่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5, 3, 2.5, 2, 1, 0.5 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มนาน 72 แล้วดูอาหารเก่าออก และแทนที่ด้วยอาหารใหม่ที่มีสารละลาย MTT ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่ม 3 ชั่วโมง ดูสารละลายในหลุมออก เติม Dimethyl sulfoxide (DMSO) 100 ไมโครลิตร เพื่อละลายผลึก formazan ที่เกิดขึ้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

ผลการทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ในสารสกัด KERRA ที่ความเข้มข้นต่างๆจากรูปที่ 3 สารสกัดแสดงผลความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างมากเมื่อเทียบกับตัวควบคุม (Untreated) คือที่ความเข้มข้น 5, 3, 2.5, 2, 1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 80 ค่าความเป็นพิษลดลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้น ความเข้มข้นที่ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงค่าอัตราการรอดชีวิตของเซลล์มากที่สุดคือ 102.87 แสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นสารสกัดไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังที่แสดงตามภาพด้านล่าง



รูปที่ 3 กราฟแสดงอัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งตับเมื่อทดสอบด้วยสารสกัด KERRA ที่ความเข้มข้น 5, 3, 2.5, 2, 1, 0.5 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 4 กราฟแสดงอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ไตลิงเมื่อทดสอบด้วยสารสกัด KERRA ที่ความเข้มข้น 5, 3, 2.5, 2, 1, 0.5 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การกราฟแสดงผลในรูปที่ 4 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไตลิง (Vero cells) กับสารสกัด KERRA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเทียบกับตัวควบคุม (Untreated) ทุกความเข้มข้นมีค่าอัตราการรอดชีวิตของ

เซลล์ต่ำกว่าร้อยละ 80 ทั้งหมด แต่จากกราฟแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของสารสกัดกับเซลล์ เมื่อความเข้มข้นต่ำลง การรอดชีวิตของเซลล์มีค่าเพิ่มสูงขึ้น



ที่ สธ ๐๖๑๙/๓๐๓๙

สถาบันวิจัยสมุนไพรมหาวิทยาลัยมหิดล

๘๘/๗ หมู่ ๔ ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ

อำเภอเมืองนนทบุรี

จ.นนทบุรี ๑๑๐๐๐

๓๐ สิงหาคม ๒๕๖๔

เรื่อง รายงานผลการทดสอบ

เรียน เวชกรโอสถ

อ้างถึง หนังสือที่ / ลงวันที่ ๑๔ มิถุนายน ๒๕๖๔

สิ่งที่ส่งมาด้วย รายงานผลการทดสอบฉบับภาษาไทยและฉบับภาษาอังกฤษ๖๔๑๐๕๗๖๒๐๐๑จำนวน ๓ แผ่น

ตามหนังสือที่อ้างถึง ท่าน ได้ส่งตัวอย่างเพื่อทำการทดสอบ ซึ่งสถาบันวิจัยสมุนไพรมหาวิทยาลัยมหิดล ได้รับเมื่อวันที่ ๑๔ มิถุนายน ๒๕๖๔ นั้น

สถาบันวิจัยสมุนไพรมหาวิทยาลัยมหิดล ได้ดำเนินการทดสอบตัวอย่าง ดังกล่าวเสร็จเรียบร้อยแล้ว ตามรายงานผลการทดสอบที่ส่งมาพร้อมนี้ หากท่านมีข้อสงสัยผลการทดสอบสามารถสอบถามได้ตามหมายเลขโทรศัพท์ที่ปรากฏอยู่ด้านล่างนี้

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ

(นางศิริวรรณ ชัยสมบุญพันธ์)

ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยสมุนไพรมหาวิทยาลัยมหิดล

ปฏิบัติราชการแทนอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา

โทรศัพท์ ๐-๒๕๕๙-๙๘๕๐ ต่อ ๙๙๙๖๓

โทรสาร ๐-๒๕๕๙-๙๘๖๖



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

Medicinal Plant Research Institute,
Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health,
Tiwanon Road, Amphur Muang, Nonthaburi Province. 11000 Thailand
Tel. (66) 2589 0022, (66) 2951 0000 Ext 99963 Fax. (66) 2589 9866



Accreditation No. 1160/52

ANALYTICAL REPORT

Sample No.	64105762001	Report No.	040 /2021
Sample Name	Kerra capsule	Received Date	14 June 2021
Analyzed Date	10 August 2021	Reported Date	24 August 2021
Customer	Kamolphat Ngoenkhaio Vetchakorn Osot No.121 Pracha Rat 16/2 Talat Khwan Sub-district, Mueang Nonthaburi District, Nonthaburi 11000 Tel. 083-929-3624		
Description & Packaging	Brown powder filled in white capsule which contained in white plastic bottle, with cover. There is sticker labeled sample Kerra capsule 100 capsules Manufactured Date: 11/6/64		
Quantity	100 capsules 3 bottles		
Objective	Acute toxicity test		
Result	Sample was suspended in distilled water and adjusted to the concentration of 0.125 g/ml. The sample was orally administered to mice at a volume of 20 ml/kg twice; the second dose was given four hours after initial dose. Acute toxicity test result revealed that the experimental group had no abnormal signs after receiving the sample. All experimental mice survived until the end of the experiment. Necropsy revealed no gross lesions in the visceral organs when compared with the control group. Therefore, the LD ₅₀ of the sample should be more than 5.0 g/kg. The toxicity category of sample was classified as Category 5		
Analysis Method	SOP 12 02 004 base on standard method for acute oral toxicity by OECD (Guideline 423), 2001		

Signature	<i>Praw Suppajariyawat</i>	Reporter	Signature	<i>Pornchai Sincharoenpokai</i>	Approver
	(Miss Praw Suppajariyawat)			(Mr. Pornchai Sincharoenpokai)	
	Medical Scientist, Senior Professional Level			Lab supervisor	



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

ต้นฉบับ

สถาบันวิจัยสมุนไพร

88/7 หมู่ 4 ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมืองนนทบุรี

จ.นนทบุรี 11000

โทรศัพท์ 0-2589-9850 ต่อ 99963 โทรสาร 0-2589-9866



หมายเลขทะเบียน 1160/52

เลขที่รายงาน 64082700301


รายงานผลการทดสอบ

หน้า 1 ของ 2 หน้า

หนังสือนำส่งที่	-	ผู้ส่งตัวอย่าง	เวชกรโอสถ
ลงวันที่	14/06/2564	ที่อยู่	121 ซอยประชาราษฎร์ 16/2 ถนนประชาราษฎร์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมืองนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี 11000
วันที่รับตัวอย่าง	14/06/2564	หมายเลขตัวอย่าง	64105762001
วันที่เก็บตัวอย่าง	-	ชนิดตัวอย่าง	แคปซูลสมุนไพร
ปริมาณที่รับ	3 กระปุก กระปุกละ 100 แคปซูล	ชื่อตัวอย่าง	ยาแคปซูล เคอร์รา

ลักษณะตัวอย่าง เป็นผงสีน้ำตาลบรรจุในแคปซูลสีขาวซึ่งแคปซูลบรรจุในขวดพลาสติกสีขาวมีฝาปิดมีสติ๊กเกอร์ติดระบุชื่อตัวอย่าง ยาแคปซูลเคอร์รา บรรจุ 100 แคปซูล วันที่ผลิต 11/6/64

ผู้ทดสอบ นางสาวพรพร ศุภจริยาวัตร
ผู้ตรวจสอบ นายพรชัย สิ้นเจริญโกโคย
วันที่ทดสอบ 10/08/2564
วันที่ออกรายงาน 27/08/2564


(นางสาวสมจิตร เนียมสกุล)
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
รักษาราชการแทน
ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยสมุนไพร
ปฏิบัติราชการแทนอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

รายงานนี้รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น

ห้ามนำรายงานไปคัดลอกหรือทำสำเนาบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษร





กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

ต้นฉบับ

สถาบันวิจัยสมุนไพร

88/7 หมู่ 4 ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมืองนนทบุรี

จ.นนทบุรี 11000

โทรศัพท์ 0-2589-9850 ต่อ 99963 โทรสาร 0-2589-9866



หมายเลขทะเบียน 1160/52

เลขที่รายงาน 64082700301


รายงานผลการทดสอบ

หน้า 2 ของ 2 หน้า

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	วิธีทดสอบ
การตรวจวิเคราะห์พิษเฉียบพลัน	นำตัวอย่างมาแขวนตะกอนในน้ำกลั่น ปรับให้มีความเข้มข้น 0.125 ก./มล. กรอกตัวอย่างทางปากแก่หนูถีบจักรในปริมาตร 20 มล./กก. 2 ครั้ง (ห่างกัน 4 ชั่วโมง) ผลการทดสอบพิษเฉียบพลัน พบว่า หนูกลุ่มทดลองไม่แสดงอาการผิดปกติภายหลังได้รับตัวอย่าง หนูทุกตัวมีชีวิตรอดจนครบกำหนด ผลการผ่าซากชันสูตรไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายในทางมหัพยาธิวิทยาของหนูกลุ่มทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ดังนั้นขนาดของตัวอย่างที่ทำให้หนูถีบจักรตายร้อยละ 50 (LD50) ควรมีค่ามากกว่า 5.0 ก./กก. ระดับความเป็นพิษของตัวอย่างนี้จัดอยู่ใน Category 5	SOP 12 02 004 base on standard method for acute oral toxicity by OECD (Guideline 423), 2001

หมายเหตุ -

ผู้ทดสอบ นางสาวพราว ศุภจริยาวัตร
ผู้ตรวจสอบ นายพรชัย สิ้นเจริญโกโคย
วันที่ทดสอบ 10/08/2564
วันที่ออกรายงาน 27/08/2564


(นางสาวสมจิตร เนียมสกุล)
นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
รักษาราชการแทน
ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยสมุนไพร
ปฏิบัติราชการแทนอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

รายงานนี้รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น

ห้ามนำรายงานไปคัดลอกหรือทำสำเนาบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษร



รายงานผลการทดลอง

เรื่อง การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบครั้งนี้เป็นการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างทั้งหมด 2 ชนิดได้แก่ Kerra crude extract และ Kerra แบบขยามีค เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างแต่ละชนิดด้วยวิธีทดสอบ 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่าง

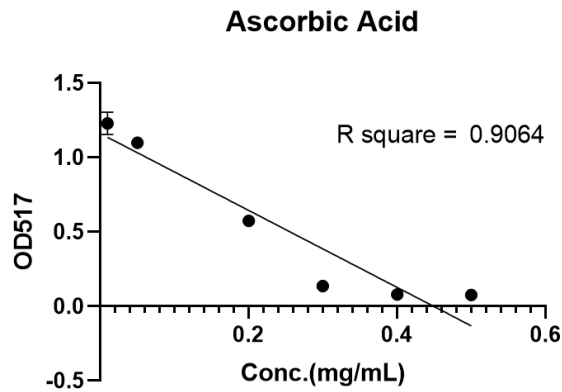
นำตัวอย่างที่ได้ที่ได้อมา Kerra crude extract และ Kerra แบบขยามีค ซึ่งโดยให้ความเข้มข้นของตัวอย่างอยู่ที่ 100 mg/mL การละลายด้วย 100% DMSO จากนั้นนำ DI ปรับความเข้มข้นของตัวอย่างให้เป็น 1mg/mL

2. การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH

การเตรียมสารละลาย DPPH radical ในเมทานอลที่ความเข้มข้น 0.2 mg/mL โดยทำการทดลองใน 96-Well นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ เติม DPPH ลงไปในแต่ละตัวอย่างเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มีดประมาณ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่คลื่นความยาวที่ 517 นาโนเมตร (n=2) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

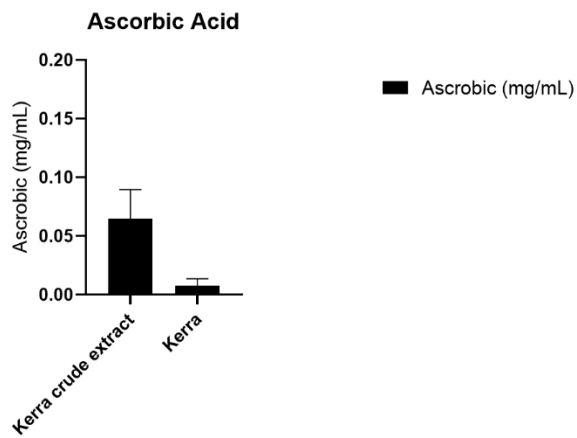
จากการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบความสามารถในการจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ตัวอย่าง Kerra crude extract และ Kerra แบบขยามีคมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 0.06477 และ 0.00758 mg/mL ตามลำดับ



ภาพที่1 กราฟ

มาตรฐานของ

Ascorbic Acid



ภาพที่2 การวัดการต้านอนุมูลอิสระของแต่ละตัวอย่างที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH

สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่ได้รับมามี 2 ตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ Kerra crude extract และ Kerra แบบขยเม็ด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 0.06477 และ 0.00758 mg/mL ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic Acid



Food and Nutrition Laboratory
Institute of Nutrition, Mahidol University

Salaya, Phuttamonthon, Nakhon Pathom 73170, THAILAND

ห้องปฏิบัติการ สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

999ถนนพุทธมณฑล สาย 4 ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170

รายงานผลการทดสอบ

ตัวอย่างอาหาร: KERRA

Lot. 0012021

เลขที่บริการ: SFC 1161/2564

รายละเอียดของตัวอย่างอาหาร: ผงละเอียดสีดำ บรรจุซองอลูมิเนียมฟอยล์ จำนวน 2 ซอง (ไม่มีฉลาก)

ผู้ขอรับบริการ: เวชกรโอสถ

121 ซอยประชาราษฎร์ 16/2 ตำบล ตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

วันที่รับตัวอย่าง: 22 มิถุนายน 2564

วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 9 กรกฎาคม 2564

วิธีทดสอบ: Ou B., et al. J Agric Food Chem, 2001. 49 (10): 4619-26

ผลการทดสอบ: (ต่อ 100 กรัม)

Total antioxidant activity (ORAC) (μ moles TE)

81,260

ห้ามนำรายงานนี้ไปประกาศโฆษณา

PROHIBITED FOR ADVERTISING

W. S.

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรางคณา ศรีจ้านงค์)

ผู้ช่วยผู้อำนวยการฝ่ายเครือข่ายความร่วมมือและบริการวิชาการ

ปฏิบัติหน้าที่แทน ผู้อำนวยการสถาบันโภชนาการ

รายงานผลการทดสอบ ตามหนังสือเลขที่ อว 78.21/0786 ลงวันที่ 13 กรกฎาคม 2564

The analytical results reported in this document are valid for the submitted sample only.

This document is prohibited for use in any type of advertising without written permission.

ผลการทดสอบใช้ได้กับตัวอย่างนี้เท่านั้น ห้ามนำเอกสารนี้ไปประกาศโฆษณาก่อนได้รับอนุญาต

งานบริการวิชาการ Tel. 02 441 9346, 02 800 2380 ext. 406, 418; Fax. 02 441 9344

FM-510-07 แก้ไขครั้งที่ 0



Food and Nutrition Laboratory
Institute of Nutrition, Mahidol University

Salaya, Phuttamonthon, Nakhon Pathom 73170, THAILAND

ห้องปฏิบัติการ สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

999ถนนพุทธมณฑล สาย 4 ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170

รายงานผลการทดสอบ

ตัวอย่างอาหาร: KERRA

Lot. 0012021

เลขที่บริการ: SFC 1161/2564

รายละเอียดของตัวอย่างอาหาร: ผงละเอียดสีดำ บรรจุซองออลูมิเนียมฟอยล์ จำนวน 2 ซอง (ไม่มีฉลาก)

ผู้ขอรับบริการ: เวชกรโอสถ

121 ซอยประชาราษฎร์ 16/2 ตำบล ตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

วันที่รับตัวอย่าง: 22 มิถุนายน 2564

วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 9 กรกฎาคม 2564

วิธีทดสอบ: Ou B., et al. J Agric Food Chem, 2001. 49 (10): 4619-26

ผลการทดสอบ: (ต่อ 100 กรัม)

Total antioxidant activity (ORAC) (μ moles TE)

81,260

ห้ามนำรายงานนี้ไปประกาศโฆษณา

PROHIBITED FOR ADVERTISING

W. S.

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรางคณา ศรีจำนงค์)

ผู้ช่วยผู้อำนวยการฝ่ายเครือข่ายความร่วมมือและบริการวิชาการ

ปฏิบัติหน้าที่แทน ผู้อำนวยการสถาบันโภชนาการ

รายงานผลการทดสอบ ตามหนังสือเลขที่ อว 78.21/ 0786 ลงวันที่ 13 กรกฎาคม 2564

The analytical results reported in this document are valid for the submitted sample only.

This document is prohibited for use in any type of advertising without written permission.

ผลการทดสอบใช้ได้กับตัวอย่างนี้เท่านั้น ห้ามนำเอกสารนี้ไปประกาศโฆษณาก่อนได้รับอนุญาต

งานบริการวิชาการ Tel. 02 441 9346, 02 800 2380 ext. 406, 418; Fax. 02 441 9344



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

ต้นฉบับ

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง
153 ม.4 ถ.ตรัง-ปะเหลียน ต.บ้านควน อ.เมือง จ.ตรัง 92000
โทรศัพท์ 0-7550-1050,0-7550-1052-3 โทรสาร 0-7550-1056
<http://rmsctrang.go.th/>



หมายเลขทะเบียน 4020/49

รายงานผลการทดสอบ

เลขที่รายงาน 64072000733

หน้า 1 ของ 1 หน้า

หนังสือนำส่งที่	ไม่ระบุ	ผู้ส่งตัวอย่าง	เวชกรโอสถ (นายจินดา หนังสือ)
ลงวันที่	22/06/2564	ที่อยู่	121 ซอยประชากรราษฎร์ 16/2 ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมืองนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี 11000
วันที่รับตัวอย่าง	22/06/2564	วันที่เก็บตัวอย่าง	-
หมายเลขตัวอย่าง	64110595001	ปริมาณที่รับ	3 ขวด ขวดละ 100 แคปซูล
ชนิดตัวอย่าง	ผลิตภัณฑ์ยาสมุนไพรและยาแผนโบราณ	ชื่อตัวอย่าง	ยาแคปซูลเคอรา
ลักษณะตัวอย่าง	ผงละเอียดสีน้ำตาล บรรจุในแคปซูลสีขาว บรรจุขวดพลาสติกกลมสีขาว ปิดด้วยฝาปิดพลาสติกชนิดปิดสนิทสีขาว แล้วบรรจุในกล่องกระดาษสีน้ำตาลอีกชั้นหนึ่ง ไม่มีฉลากถาวร มีฉลากชั่วคราวระบุข้อความ “ยาแคปซูลเคอรา 11/6/64 บรรจุ 100 แคปซูล ชื่อตัวอย่างเขียนด้วยลายมือ ยาแคปซูลเคอรา ส่งในนาม เวชกรโอสถ” บนฉลากไม่ระบุผู้ผลิต ผู้จำหน่าย รุ่นการผลิต วันที่ผลิต วันหมดอายุ ส่วนประกอบ และเลขทะเบียนยา		

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	วิธีทดสอบ	มาตรฐานกำหนด
- Dexamethasone	ตรวจไม่พบ	Thin layer chromatography	-
- Prednisolone	ตรวจไม่พบ	Thin layer chromatography	-
- ตะกั่ว (Lead)	0.6 ppm	AAS	ไม่มากกว่า 10 ppm
- สารหนู (Arsenic)	น้อยกว่า 0.4 ppm	AAS	ไม่มากกว่า 4 ppm
- แคดเมียม (Cadmium)	0.05 ppm	AAS	ไม่มากกว่า 0.3 ppm

หมายเหตุ 1.มาตรฐานกำหนดตาม Thai Herbal Pharmacopoeia 2018
2.หนังสือนำส่งระบุชื่อตัวอย่าง ยาแคปซูลเคอรา ทะเบียนยาเลขที่ G 40/57 ตรวจวิเคราะห์คุณภาพเฉพาะรายการทดสอบที่ผู้ส่งตัวอย่างระบุ ไม่ระบุวันที่เก็บตัวอย่าง ตัวอย่างส่งทางบริษัทขนส่งเอกชน

ผู้ทดสอบ	นายธงชาติ ทรัพย์จอมทอง	 (นางเกตุ สินเทศ) ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/1 ตรัง ปฏิบัติราชการแทนอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ผู้ตรวจสอบ	นายคมกฤษ รามะนะกิจจะ	
ผู้ตรวจสอบ	นางสาวณัฐชา ดั่งรัก	
วันที่ทดสอบ	28/06/2564	
วันที่ออกรายงาน	20/07/2564	

รายงานนี้รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น

ห้ามนำรายงานไปคัดลอกหรือทำสำเนาบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษร



ที่ สธ ๐๖๑๙/๓๕๙๖



สถาบันวิจัยสมุนไพรมหาวิทยาลัยมหิดล

๘๘/๗ หมู่ ๔ ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ

อำเภอเมืองนนทบุรี

จ.นนทบุรี ๑๑๐๐๐

๒๘ ตุลาคม ๒๕๖๔

เรื่อง รายงานผลการทดสอบ

เรียน เวชกรโอสถ

อ้างถึง หนังสือที่ / ลงวันที่ ๑ ตุลาคม ๒๕๖๔

สิ่งที่ส่งมาด้วย รายงานผลการทดสอบภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ๖๔๑๖๐๒๓๖๐๐๑ จำนวน ๒ แผ่น

ตามหนังสือที่อ้างถึง ท่าน ได้ส่งตัวอย่างเพื่อทำการทดสอบ ซึ่งสถาบันวิจัยสมุนไพรมหาวิทยาลัยมหิดล ได้รับเมื่อวันที่ ๑ ตุลาคม ๒๕๖๔ นั้น

สถาบันวิจัยสมุนไพรมหาวิทยาลัยมหิดล ได้ดำเนินการทดสอบตัวอย่าง ดังกล่าวเสร็จเรียบร้อยแล้ว ตามรายงานผลการทดสอบที่ส่งมาพร้อมนี้ หากท่านมีข้อสงสัยผลการทดสอบสามารถสอบถามได้ตามหมายเลขโทรศัพท์ที่ปรากฏอยู่ด้านล่างนี้

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ

(นางสาวสมจิตร เนียมสกุล)

นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ

รักษาราชการแทน

ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยสมุนไพรมหาวิทยาลัยมหิดล

ปฏิบัติราชการแทนอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ห้องปฏิบัติการเภสัชวิทยา

โทรศัพท์ ๐-๒๕๕๙-๙๘๕๐ ต่อ ๙๙๙๙๕

โทรสาร ๐-๒๕๕๙-๙๘๖๖



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

ต้นฉบับ

สถาบันวิจัยสมุนไพร

88/7 หมู่ 4 ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมืองนนทบุรี

จ.นนทบุรี 11000

โทรศัพท์ 0-2589-9850 ต่อ 99963 โทรสาร 0- 2589-9866



หมายเลขทะเบียน 1160/52

รายงานผลการทดสอบ

เลขที่รายงาน 64102700306

หน้า 1 ของ 2 หน้า

หนังสืออ้างอิงที่	-	ผู้ส่งตัวอย่าง	เวชกรโอสถ
ลงวันที่	01/10/2564	ที่อยู่	121
วันที่รับตัวอย่าง	01/10/2564		ซอยประชาราษฎร์ 16/2 ถนนประชาราษฎร์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมืองนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี 11000

หมายเลขตัวอย่าง	64160236001	วันที่เก็บตัวอย่าง	-
-----------------	-------------	--------------------	---

ชนิดตัวอย่าง	ผงสมุนไพร/แคปซูล/ชาขง การปนเปื้อน เชื้อจุลินทรีย์ 7 รายการ	ปริมาณที่รับ	30 แผง แผงละ 10 แคปซูล
--------------	---	--------------	------------------------


ชื่อตัวอย่าง	ยาแคปซูลเคอรา ทะเบียนยา 40/57
--------------	-------------------------------

ลักษณะตัวอย่าง	ผงละเอียดสีน้ำตาลเข้ม บรรจุในแคปซูลสีขาว โดยแคปซูลบรรจุในแผงบลิสเตอร์ จำนวน 10 แคปซูลต่อแผง รวม 30 แผง ข้างแผงมีข้อความ ยาเคอรา KERRA ระบุส่วนประกอบที่สำคัญ วิธีรับประทาน ทะเบียนยาเลขที่ G40/57 ปริมาณสุทธิ 500 มก.X 10 แคปซูล วันที่ผลิต 27/9/2564 วันหมดอายุ 27/9/2567
----------------	--

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	วิธีทดสอบ	มาตรฐานกำหนด
Total viable aerobic count: Bacteria	ประมาณ 20 ต่อกรัม	Thai Pharmacopoeia Volume I and II Supplement 2005	วัตถุดิบ/แคปซูล-ไม่เกิน 5 แสน /กรัม หรือ มล. ชาขง-ไม่เกิน 50 ล้าน /กรัม หรือ มล.
Total viable aerobic count: Fungi	ประมาณน้อยกว่า 10 ต่อกรัม	Thai Pharmacopoeia Volume I and II Supplement 2005	วัตถุดิบ/แคปซูล-ไม่เกิน 5 พัน /กรัม หรือ มล. ชาขง-ไม่เกิน 5 หมื่น /กรัม หรือ มล.

ผู้ทดสอบ	นางสาวปัทมาวดี เสตะกัณณะ นางอุบลพรรณ คงสา นางสาวสุนิสา กำพลชัยเดช
----------	---

ผู้ตรวจสอบ	นางสาวสุดดี รัตนจรัสโรจน์
วันที่ทดสอบ	06/10/2564
วันที่ออกรายงาน	27/10/2564


 (นางสาวสมจิตร เนียมสกุล)
 นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ
 ศึกษาราชการแทน
 ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยสมุนไพร
 ปฏิบัติราชการแทนอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

รายงานนี้รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น

ห้ามนำรายงานไปคัดลอกหรือทำสำเนาบางส่วนโดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษร





กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

Medicinal Plant Research Institute,
Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health,
Tiwanon Road, Amphur Muang, Nonthaburi Province. 11000 Thailand
Tel. (66) 2951 0000 Ext 99963 Fax. (66) 2589 9866



Accreditation No. 1160/52

ANALYTICAL REPORT

Analyzed No. 64160236001 Report No. 050/2021
Sample Name KERRA CAPSULE Received Date 1 October 2021
Analyzed Date 6-27 October 2021 Reported Date 27 October 2021
Customer Vetchakorn Osot

121 Soi Pracha Rat 16/2, Talat Khwan Sub-district, Mueang Nonthaburi District,
Nonthaburi 11000. Thailand. Tel. 083-929-3624

Description & Packaging Dark brown powder filled in white capsules, which are packed in blister packs of 10 capsules each. The total number of blister packs are thirty. The blister packs are labelled "KERRA", ingredients, usage indication, registration number G40/57, net weight 500 mg X 10 capsules, MFG. date 27/9/2564 and EXP. date 27/9/2567

Quantity 500 mg X 10 capsules X 30 packs

Objective Microbial Contamination

Result

Item	Result	Criteria
Total viable aerobic count: Bacteria	Approximately 20 per gram	not more than 500,000 per gram
Total viable aerobic count: Fungi	Approximately less than 10 per gram	not more than 5,000 per gram
Enterobacteria and certain other Gram-negative bacteria	less than 10 PN per gram	not more than 1,000 per gram
<i>Escherichia coli</i>	not found in 1 g of sample	not found in 1 g of sample
<i>Staphylococcus aureus</i>	not found in 1 g of sample	not found in 1 g of sample
<i>Salmonella</i> spp.	not found in 10 g of sample	not found in 10 g of sample
<i>Clostridium</i> spp.	not found in 10 g of sample	not found in 10 g of sample

Analysis Method Thai Pharmacopoeia Volumes I and II Supplement 2005

Signature Pattamawadee Setakanna Reporter Signature Sadudee Rattanajarasroj Approver
(Ms. Pattamawadee Setakanna) (Ms. Sadudee Rattanajarasroj)

This report certifies for the analyzed sample(s) only

Reproduction or photocopy of some parts of this report are prohibited without written permission.

This report is not to be used for advertising purposes.



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.

สาขากรุงเทพ: 2179 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Bangkok Branch: 2179 Phaholyothin Road, Lat Yao, Chatuchak, Bangkok 10900 Thailand

Tel: (662) 940 6881-3 Ext 164, 202, 204, 218 Fax: (662) 579 4895

http://www.centallabthai.com เลขประจำตัวผู้เสียภาษี 0105546096453

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 04 สิงหาคม 2564

เลขที่รายงาน TRBK64/30437

หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า เวชกร โอสด

(ข้อมูลจากลูกค้า) 121 ซอยประชาราษฎร์ 16/2 ตำบลลาดขวาง อำเภอมืองนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี 11000

รายละเอียดตัวอย่าง ยาแคปซูล เคอร์่า

(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK64/12224-001

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : ยาสมุนไพรแคปซูล

ภาชนะบรรจุ : ขวดพลาสติก ฝาพลาสติก, จำนวน : 3 ขวด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 60 กรัม/ขวด.

อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 20 กรกฎาคม 2564

วันที่ทดสอบ 21 กรกฎาคม 2564 - 03 สิงหาคม 2564

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Calcium (Ca)	61439.710	mg/kg	-	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019), 984.27 by ICP-OES
Iron (Fe)	299.577	mg/kg	-	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019), 999.10 by ICP-OES
Magnesium (Mg)	1384.427	mg/kg	-	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019), 984.27 by ICP-OES
Manganese (Mn)	48.396	mg/kg	-	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019), 984.27 by ICP-OES
Phosphorus (P) **©	1.25	g/100g	-	In-house method TE-CH-170 based on AOAC (2019), 985.01
Potassium (K)	7085.495	mg/kg	-	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019), 984.27 by ICP-OES
Silica (SiO ₂) **©	1.00	g/100g	-	In-house method IN-019-TM based on AOAC (2019) 920.08
Sodium (Na)	954.830	mg/kg	-	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019), 984.27 by ICP-OES
Zinc (Zn)	35.074	mg/kg	-	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019), 999.10 by ICP-OES

หมายเหตุ: **© : รายการทดสอบนอกขอบข่ายการรับรองของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และมีการใช้บริการทดสอบจากภายนอก

~End of Report~



(นางวนิส มีเจริญ)

ผู้มีอำนาจลงนาม

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำแจ้งฉบับ FM-QP-24-01-001-R06(16/07/63)P1/1





ใบอนุญาต ผลิต

ผลิตภัณฑ์สมุนไพร

ใบอนุญาตที่ HB 12-1-43-6

ใบอนุญาตนี้ให้ไว้แก่

นายจินดา หนึ่งสีอ

โดยมี นาย จินดา หนึ่งสีอ เป็นผู้ดำเนินกิจการ เพื่อแสดงว่า
 เป็นผู้รับอนุญาต ผลิต ผลิตภัณฑ์สมุนไพร (ตามเอกสารแนบท้าย)

ณ สถานที่ประกอบธุรกิจชื่อ

เวชกรโฮสเทล

อยู่เลขที่ 121 หมู่บ้าน/อาคาร -

หมู่ที่ - ตรอก/ซอย ประชาราษฎร์ 16/2 ถนน -

ตำบล/แขวง ตลาดขวัญ อำเภอเขต เมืองนนทบุรี

จังหวัด นนทบุรี รหัสไปรษณีย์ 11000

โทรศัพท์ 0-2968-2670-2 เวลาทำการ ทุกวัน 09.00-20.00 น.

โดยมี ผู้มีหน้าที่ปฏิบัติการชื่อ นายจินดา หนึ่งสีอ เวลาปฏิบัติงาน ทุกวัน 09.00-20.00

ผู้ประกอบโรคศิลปะแผนโบราณ สาขาเภสัชกรรม บ.ภ.18646

เป็นผู้มีหน้าที่ปฏิบัติการตามมาตรา 31 แห่งพระราชบัญญัติผลิตภัณฑ์สมุนไพร พ.ศ.2562

(ถ้ามีมากกว่าหนึ่งคนให้แจ้งเพิ่มเติมไว้ท้ายใบอนุญาตจนครบ)

ใบอนุญาตฉบับนี้ ให้ใช้ได้จนถึงวันที่ 31 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2567

และให้ใช้ได้เฉพาะสถานที่ที่ระบุไว้ในใบอนุญาตเท่านั้น

ให้ไว้ ณ วันที่ ๗ เดือน มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๖๔

(ลายมือชื่อ)

ตำแหน่ง

(นาย พงษ์ฤทธิ์ มวลประสิทธิ์พร)

นายแพทย์สาธารณสุขจังหวัดนนทบุรี

ผู้อนุญาต



หมายเหตุ 1. เลขที่ใบอนุญาตเดิม นบ 6/2543

2. ใบอนุญาตนี้ให้ถือว่าได้รับอนุญาตตั้งแต่วันที่ 1 เดือน มกราคม พ.ศ.2563



ใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับยาแผน โบราณ

เลขทะเบียนที่ G 40/57

ใบสำคัญฉบับนี้แสดงว่า

ชื่อยา ยาแคปซูล เคอร์่า

ตามแบบ ย.๑/ตามแบบ ท.ย.๑ เลขรับที่ G 576/56 รูปแบบยา ยาแคปซูล

ลักษณะยา ยาผงสีน้ำตาล บรรจุในแคปซูลใสไม่มีสี

ยานี้ ผลิตภัณฑ์

โดย นาย จินดา หนึ่งสือ

ใบอนุญาตเลขที่ นบ 6/2543 อยู่เลขที่ 72/21 อาคาร - ชั้น - ตroker/ชอย เจริญสุข

ถนน กรุงเทพ-นนทบุรี หมู่ที่ 6 ตำบล/แขวง ตลาดขวัญ

อำเภอ/เขต เมืองนนทบุรี จังหวัด นนทบุรี ประเทศ ไทย โทรศัพท์ 0 2968 2670-2

ชื่อและที่อยู่ของผู้ผลิตยาสำเร็จรูป (โปรดดูรายละเอียดเพิ่มเติมหลังใบสำคัญ)

ชื่อผู้ผลิตยาสำเร็จรูป เวชกร โอสด

อยู่เลขที่ 72/21 อาคาร - ชั้น - ตroker/ชอย เจริญสุข

ถนน กรุงเทพ-นนทบุรี หมู่ที่ 6 ตำบล/แขวง ตลาดขวัญ

อำเภอ/เขต เมืองนนทบุรี จังหวัด นนทบุรี ประเทศ ไทย โทรศัพท์ 0 2968 2670-2

ได้รับขึ้นทะเบียนไว้แล้ว

เมื่อวันที่ 12 เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557

ใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับยานี้มีอายุใช้ได้ตลอดเวลาที่ได้รับ

อนุญาตผลิตหรือนำหรือสั่งยาเข้ามาในราชอาณาจักร

(นางสาวพดี จารุ่งฤทธิ์)

พนักงานเจ้าหน้าที่

รักษาการในตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญด้านมาตรฐานยา
ปฏิบัติราชการแทนเลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยา

รายละเอียดแนบท้าย/รายการสั๊กหลัง

ชื่อและที่อยู่ของผู้แจ้งบรรจุ

เวชกร โอสถ

อยู่เลขที่

72/21

ตروق/ซอย เจริญสุข

ถนน กรุงเทพ-นนทบุรี

หมู่ที่

6

ตำบล/แขวง ตลาดขวัญ

อำเภอ/เขต เมืองนนทบุรี

จังหวัด นนทบุรี

ประเทศ

ไทย

โทรศัพท์ 0 2968 2670-2

ชื่อและที่อยู่ของผู้ตรวจปล่อยหรือผ่านเพื่อจำหน่าย

เวชกร โอสถ

อยู่เลขที่

72/21

ตروق/ซอย เจริญสุข

ถนน กรุงเทพ-นนทบุรี

หมู่ที่

6

ตำบล/แขวง ตลาดขวัญ

อำเภอ/เขต เมืองนนทบุรี

จังหวัด นนทบุรี

ประเทศ

ไทย

โทรศัพท์ 0 2968 2670-2

ผลิต

แบบ ท.ช. ๑

คำขอขึ้นทะเบียนตำรับยา

เลขรับที่	๕ 576/56
วันที่	18 ก.ค. 56
ลงชื่อ	วิรัตน์ ผู้รับคำขอ

- ประเภท
- แผนป้องกัน
 - ยาปราศจากเชื้อ
 - ยาสกัด
 - ยาน้ำ ยาขี้ผึ้งหรือครีม
 - ยาชีววัตถุ
 - ยาเภสัชเคมีภัณฑ์
 - ยาอื่น ๆ
 - ขาผง ยาเม็ด และยาแคปซูล
 - แผนโบราณ
 - ขาผง
 - ยาเม็ด
 - ยาน้ำ
 - ยาอื่น ๆ แคปซูล

ลักษณะและสีของยา ยาผงสีน้ำตาล บรรจุในแคปซูลใสไม่มีสี

๑. ชื่อยา (ก) ชื่อยาที่ขอขึ้นทะเบียน
- ภาษาไทย ยาแคปซูล เคนอร์
- ภาษาอื่น
- (ข) ชื่อยาคตามตำราที่รัฐมนตรีประกาศ เรียกว่า
- คานดารายา

๒. คำรับยา (ดูรายละเอียดด้านหลัง)
๓. ขนาดบรรจุ บรรจุขวดพลาสติกสีขาวยกึ่ง จำนวนบรรจุ 100 แคปซูล แคปซูลละ 500 มก. (น้ำหนักผงยาแคปซูลละ 405 มก.)

๔. วิธีใช้ยาโดยรับประทานก่อนอาหาร เช้า และเย็น ขนาดที่ใช้ครั้งละ 2-3 แคปซูล วันละ 2 ครั้ง

๕. วิธีวิเคราะห์มาตรฐานตำรายาที่รัฐมนตรีประกาศ คือ
- (ถ้าใช้วิธีวิเคราะห์นอกตำรายาที่รัฐมนตรีประกาศ ให้แนบรายละเอียดของวิธีวิเคราะห์มาด้วย)

๖. ได้แนบเอกสารมาประกอบการพิจารณา
- (ก) ฉลาก
- (ข) เอกสารกำกับยา
- (ค) หลักฐานมสคงสรรพคุณของยามละความปลอดภัยของยานั้นมาด้วย

ขอรับรองว่าจะแก้ไขค่าสะกดให้ตรงกับจำนวนกรม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน

๗. ชื่อสถานที่ผลิตยา เหวจวอฮ้อฮ้อ
- อยู่เลขที่ ๕2/21 ครอบ/ซอย เจริญสุข ถนน กรุงเทพ-นนทบุรี
- หมู่ที่ 6 ตำบล/แขวง ตลาดขวัญ อำเภอ/เขต เมืองนนทบุรี
- จังหวัด นนทบุรี ประเทศ ไทย โทรศัพท์ 02-9682670

๘. ชื่อสถานที่แบ่งบรรจุ
- อยู่เลขที่ ครอบ/ซอย ถนน
- หมู่ที่ ตำบล/แขวง อำเภอ/เขต
- จังหวัด ประเทศ โทรศัพท์

๙. ชื่อสถานที่นำหรือส่งยาเข้ามาในราชอาณาจักร
- อยู่เลขที่ ครอบ/ซอย ถนน
- หมู่ที่ ตำบล/แขวง อำเภอ/เขต
- จังหวัด ประเทศ โทรศัพท์

๑๐. ชื่อผู้รับอนุญาต ผลิต แบ่งบรรจุ นำหรือส่งยาเข้ามาในราชอาณาจักร ผู้ขอขึ้นทะเบียน
- คำรับยา พยาบาลวิจิตร หนั่งฮ้อ โบอนุญาตเลขที่ 941. 6/2543

(ลายมือชื่อ) วิรัตน์ ผู้รับคำขอ

หมายเหตุ ใส่เครื่องหมาย ลงในช่อง หน้าข้อความที่ต้องการ

ฉลากขวดและเอกสารกำกับยา

ยาแคปซูล เคอร์่า	เอกสารกำกับยา
ยาแผนโบราณ	ยาแคปซูล เคอร์่า
เลขทะเบียนที่.../.../...	
ครั้งที่ผลิต.....	สรรพคุณ แก้ไข้ ไข้หวัด ไข้พิษ ✓
ผลิตวันที่.../.../...	
ยาสี้นอายุ.../.../...	ขนาดรับประทาน ครั้งละ 1-2 ^{เม็ด} แคปซูล วันละ 2 ครั้ง ^{เม็ด}
ขนาดบรรจุ ขวดละ 100 แคปซูล	ก่อนอาหาร เข้าและเย็น
แคปซูลละ 500 มิลลิกรัม	
(น้ำหนักผงยาแคปซูลละ 405 มิลลิกรัม)	
ผลิตโดย	ตัวยาใน 1 แคปซูลประกอบด้วย
เวชกรโอสถ 72/21 หมู่ 6	จินตน์แดง (แก้หนาว), จินตน์ขาว (แก้ร้อน),
ช.เจริญสุข ต.ตลาดขวัญ	อินทนิลแดง, อินทนิลขาว, ไผ่สวก, ✓
อ.เมือง จ.นนทบุรี	หัวกล้า, ^{รากกล้วย, รากสะแก} ✓ (รากตะขุงพุ่มเครือ) ✓
	และตัวยาอื่นๆ

รับรองข้อความฉลากเหมือนกันทุกขนาดบรรจุ
พื้นฉลากสี ขาว ตัวอักษร สี ดำ

ขอรับรองว่าจะแก้ไขคำสะกดให้ตรงตาม
ฉลากเดิม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน ✓

ขอรับรองว่าพื้นที่ของเอกสารกำกับยา
มีขนาดไม่น้อยกว่าครึ่งหนึ่งของพื้นที่ฉลาก ✓

ขอรับรองว่าจะแจ้งชื่อยา สุครยา
ให้ตรงตามที่แจ้งในแบบ ทย.1 ✓

ขอรับรองว่าข้อความบนฉลาก
ของภาชนะบรรจุทุกชนิดและใบห่อ
ถูกต้องตรงตามมาตรา ๕๖ (๒)
หรือ ๕๘ (๒) และ (๓) แล้วแต่กรณี ✓

Signature

สำนักงานคณะกรรมการกลางอิสลามแห่งประเทศไทย

เลขที่ 45 หมู่ 3 ถนนคลองแก้ว แขวงคลองสิบ เขตหนองจอก กทม. 10530
โทรศัพท์ (662)-949-4114, (662)-096-9499 มือถือ. 086-335-1782-3 โทรสาร. (662)-949-4250
www.halal.or.th, www.halal.co.th อีเมล : halal@cicot.or.th



الجنة الاسلامي للبحر

THE CENTRAL ISLAMIC COUNCIL OF THAILAND
OFFICE: 45 MOO 3, KLONGKAO RD., KLONGSIB, NONGCHOK, BANGKOK 10530, THAILAND
TEL: (662)-949-4114, (662)-096-9499 MOBILE: 086-335-1782-3 FAX: (662)-949-4250
www.halal.or.th, www.halal.co.th E-mail : halal@cicot.or.th

หนังสือสำคัญ ให้ใช้เครื่องหมายรับรองฮาลาล หนังสือสำคัญฉบับนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

ผู้ประกอบการ _____ ร้านเวชกรโอสถ

ที่อยู่สำนักงาน _____ 121 ซอยประชาราษฎร์ 16/2 ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมืองนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี 11000

ผลิตภัณฑ์ _____ ยาแผนโบราณแคปซูล ตราเวชกร

ตามรายการที่แนบประกอบหนังสือรับรองนี้

ที่อยู่โรงงาน _____ 121 ซอยประชาราษฎร์ 16/2 ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมืองนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี 11000

สนง.คณะกรรมการกลางอิสลามแห่งประเทศไทย

ได้ดำเนินการตามกรรมวิธีอย่างถูกต้องตามหลักการศาสนาอิสลาม
คณะกรรมการกลางอิสลามแห่งประเทศไทยจึงให้ ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวใช้เครื่องหมายรับรอง "ฮาลาล"



สนง.คณะกรรมการกลางอิสลามแห่งประเทศไทย

รับรองตั้งแต่วันที่ _____ 19 มกราคม 2564

ถึงวันที่ _____ 18 มกราคม 2565

เลขทะเบียนที่ กอท.สล. _____ E635/2559

ออกให้ ณ วันที่ _____ 5 สิงหาคม 2564

หนังสือรับรองฮาลาลฉบับนี้ออกตามหมวด 3 มาตรา 18 (9)
แห่งพระราชบัญญัติการบริหารองค์กรศาสนาอิสลาม พ.ศ. 2540

ตามรายการที่แนบประกอบหนังสือรับรองฉบับนี้



No. 2564022983

ประธานคณะกรรมการกลางอิสลามแห่งประเทศไทย