

## การผลิตสารมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

## Andrographolide จากฟ้าทะลายโจร

## และการนำสารมาตรฐานไปใช้ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์

ภญ.เมทินี หลิมศิริวงษ์, ภญ.ปัทมพร แซ่มขมดาว

## วัตถุประสงค์

- เพื่อให้ผู้อ่านมีความเข้าใจถึงความสำคัญของสารมาตรฐานที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรฟ้าทะลายโจร
- เพื่อให้ผู้อ่านมีความรู้ในการผลิตสารมาตรฐานสมุนไพรฟ้าทะลายโจร

## บทนำ

สารมาตรฐานสมุนไพรมีความสำคัญอย่างยิ่งในการควบคุมคุณภาพของสารสำคัญในพืชสมุนไพรและผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร วิธีวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณสารสำคัญในสมุนไพร รวมทั้งการตรวจเอกลักษณ์เพื่อการควบคุมคุณภาพสมุนไพรส่วนใหญ่ต้องใช้สารมาตรฐานเป็นตัวเปรียบเทียบ ดังนั้นสารมาตรฐานจึงมีความสำคัญและมีผลโดยตรงต่อผลการวิเคราะห์ สารมาตรฐานสมุนไพรเป็นสารสำคัญที่มีความบริสุทธิ์สูงอาจได้จากการสังเคราะห์หรือจากการสกัดแยกจากสมุนไพรนั้นๆ แล้วนำมาทำให้มีความบริสุทธิ์สูง ผ่านการทดสอบและเข้าขบวนการผลิตเป็นสารมาตรฐาน

ฟ้าทะลายโจร เป็นไม้ล้มลุก สูงประมาณ 30-70 เซนติเมตร กิ่งเป็นใบสี่เหลี่ยม ใบเลี้ยงเดี่ยวสีเขียวเข้มเป็นมัน มีดอกออกที่ปลายกิ่งและซอกใบ ดอกย่อยมีกลีบดอกสีขาว โคนกลีบติดกัน ปลายแยกเป็น 2 ปาก ปากบนมี 3 กลีบ และมีเส้นสีม่วงแดงพาดอยู่ ส่วนปากล่างมี 2 กลีบ ลักษณะของผล จะเป็นฝัก เมื่อแก่จะเป็นสีน้ำตาล ภายในมีเมล็ดจำนวนมาก สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทั้งต้น

ฟ้าทะลายโจร มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees เป็นพืชล้มลุกฤดูเดียว ในตระกูล Acanthaceae มีถิ่นกำเนิดจากอินเดียและศรีลังกา พบได้ทั่วไปในแถบเอเชีย เป็นสมุนไพรที่ใช้กันอย่างแพร่หลายมาเป็นเวลานาน มีรสขม มีฤทธิ์ลดไข้ แก้ท้องเสีย ลดอาการคออักเสบ โดยมีสารสำคัญคือ กลุ่ม diterpene lactones ซึ่งได้แก่ andrographolide, neoandrographolide, 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide และกลุ่ม flavonoids เป็นต้น ปัจจุบันมีการใช้ยานี้อย่างกว้างขวางทั้งเป็นยาสามัญประจำบ้านและใช้ในโรงพยาบาล นอกจากนี้รัฐบาลยังส่งเสริมการใช้ยาสมุนไพรเพื่อทดแทนยาแผนปัจจุบันตามแผนยุทธศาสตร์ชาติ 20 ปี ด้านสาธารณสุขและส่งเสริมอุตสาหกรรมการผลิตสมุนไพรเพื่อการส่งออกไปยังต่างประเทศ ฟ้าทะลายโจรเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่ได้รับการส่งเสริมให้เป็นยาพัฒนาจากสมุนไพรซึ่งบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ ปัจจุบันมีการใช้ยานี้

ชื่อเรื่อง: การผลิตสารมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ Andrographolide จากฟ้าทะลายโจร และการนำสารมาตรฐานไปใช้ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์

รหัส: 3002-1-000-003-12-2562 จำนวนหน่วยกิต: 2.0 หน่วยกิต Corresponding author: ภญ.เมทินี หลิมศิริวงษ์ อีเมล: maytinee.l@dmsc.mail.go.th

สถานที่ทำงาน: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จำนวนหน้า 4 หน้า วันที่รับรอง : 30 ธันวาคม 2562 วันที่หมดอายุ : 29 ธันวาคม 2563

อย่างแพร่หลายทั้งขายตามร้านขายยาและการจ่ายยาในโรงพยาบาล จึงทำให้บริษัทผู้ผลิตยาสมุนไพร โรงพยาบาลและกลุ่มเกษตรกรผลิตภัณฑ์ท้องถิ่นมีการนำฟ้าทะลายโจรมาผลิตยาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม วัตถุประสงค์จากธรรมชาติจะมีปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันไปตามอายุพืช ฤดูที่เก็บเกี่ยว การตากแห้ง ดังนั้นการควบคุมปริมาณสารสำคัญของวัตถุดิบที่มาจากแหล่งต่างๆ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อให้มั่นใจในคุณภาพของวัตถุดิบที่จะนำไปผลิตเป็นยาต่อไป

การควบคุมคุณภาพวัตถุดิบฟ้าทะลายตามตำรายาของสหรัฐอเมริกาฉบับที่ 39 (USP39) มีการวิเคราะห์หาปริมาณของ diterpene lactones ในวัตถุดิบจากใบและต้น (andrographis) ผงละเอียดของใบและต้น (powdered andrographis) และผงสารสกัดฟ้าทะลายโจร (powdered andrographis extract) โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ต้องใช้สารมาตรฐาน andrographolide ในการวิเคราะห์หาปริมาณ diterpene lactones ในรูปผลรวมของปริมาณ andrographolide, neoandrographolide, 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide และ andrograpanin ซึ่งได้จากการคำนวณเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน andrographolide นอกจากนี้จะมีข้อกำหนดของปริมาณ diterpene lactones ในรูปของผลรวมของสารทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวข้างต้น ยังมีการกำหนดปริมาณสาร 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide ในโมโนกราฟ powdered andrographis extract ไว้ไม่เกิน 15% ของผลรวมของ diterpene lactones ซึ่งสามารถคำนวณได้จากการวิเคราะห์เทียบกับสารมาตรฐาน andrographolide เช่นกัน สารนี้จะปริมาณเพิ่มขึ้นจากการสลายตัวของ andrographolide ในสภาวะที่เป็นต่าง ซึ่งสาร 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide นี้ มีผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดโดยมีฤทธิ์ในการขยายหลอดเลือดและลดการเต้นของหัวใจ ผู้บริโภคที่ได้รับฟ้าทะลายโจรที่มีสารนี้ในปริมาณมากอาจมีผลให้เกิดอาการความดันโลหิตต่ำ จึงควรระมัดระวังในการจ่ายยานี้ให้กับผู้ป่วยที่มีภาวะความดันโลหิตต่ำ นอกจากนี้สภาวะเมื่อ andrographolide ในรูปผลึก amorphous สัมผัสความร้อนที่มากกว่า 70°C จะสลายตัวเป็น 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide เช่นกันดังนั้นขั้นตอนในการผลิตและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากฟ้าทะลายโจรควรหลีกเลี่ยงสภาวะที่จะทำให้เกิดการสลายตัวนี้

จากข้อกำหนดดังกล่าวสารมาตรฐาน andrographolide จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ฟ้าทะลายโจร สารมาตรฐานนี้ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง ในแต่ละปีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ซึ่งเป็นหน่วยงานคุ้มครองผู้บริโภคต้องใช้งบประมาณในการซื้อสารมาตรฐาน andrographolide เพิ่มขึ้นตามปริมาณงานควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ฟ้าทะลายโจรในท้องตลาดที่มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ศูนย์สารมาตรฐานยาและวัตถุเสพติด สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงมีแนวคิดในการผลิตสารมาตรฐาน andrographolide เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพฟ้าทะลายโจรเพื่อทดแทนการนำเข้าสารมาตรฐานจากต่างประเทศ โดยเริ่มจากการพัฒนาวิธีการสกัดสาร andrographolide จากใบของฟ้าทะลายโจร แล้วนำมาแยกให้บริสุทธิ์และมีปริมาณมากพอที่จะนำมาผลิตเป็นสารมาตรฐาน ทำการตรวจเอกลักษณ์เพื่อยืนยันชนิดของสาร andrographolide ที่แยกออกมาได้ ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน รวมทั้งทดสอบความบริสุทธิ์

ของสารเพื่อทำการกำหนดค่าความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐาน andrographolide ที่ผลิตขึ้น โดยดำเนินการตามขั้นตอนการผลิตวัสดุอ้างอิงตามระบบคุณภาพ ISO17034

ในการผลิตสารมาตรฐาน andrographolide นี้ เป็นการสกัดสาร andrographolide จากใบของฟ้าทะลายโจรด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วนำมาแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกซ้ำด้วยเอทานอล ใช้หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมที่สามารถสกัด andrographolide ได้ในปริมาณสูงแต่มี สารเจือปนอื่นๆ ออกมาในปริมาณน้อย แล้วจึงนำสารสกัดที่ได้มาแยกให้ได้ andrographolide ที่บริสุทธิ์ขึ้น โดยปกติการแยก andrographolide ในสารสกัดออกจากสารอื่นๆ สามารถทำได้หลายวิธีได้แก่ การแยกด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography) วิธี flash column chromatography สำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้นเป็นการแยก andrographolide และทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกซ้ำโดยใช้หลักการความแตกต่างของค่าการละลายของสารที่ต้องการกับสารเจือปนอยู่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เมื่อได้ตัวทำละลายและสภาวะที่เหมาะสมสารที่ต้องการจะตกผลึกออกมา วิธีนี้จะสามารถแยกสารให้บริสุทธิ์ได้อย่างรวดเร็วและได้สารที่ต้องการในปริมาณค่อนข้างสูง เป็นวิธีที่สะดวก ขั้นตอนไม่ยุ่งยากซับซ้อน แต่สามารถแยกสาร andrographolide ในฟ้าทะลายโจรออกจากสาร diterpene lactones ชนิดอื่นได้อย่างเฉพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพ

เมื่อทำการสกัดแยกและตกผลึกซ้ำจนได้สาร andrographolide ที่มีปริมาณและความบริสุทธิ์มากพอ นำไปตรวจยืนยันเอกลักษณ์และความบริสุทธิ์ด้วยวิธี IR spectroscopy, mass spectroscopy, <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy และ differential scanning calorimetry เมื่อตรวจยืนยันแล้วจึง นำไปทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของสาร andrographolide ที่ผลิตขึ้น นำไปกำหนดค่าความบริสุทธิ์โดยวิธี UPLC ซึ่งเป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นโดยศูนย์สารมาตรฐานยาและวัตถุเสพติด แล้วนำมาผลิตเป็นสารมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ andrographolide (Andrographolide DMSc reference standard) เป็นสารมาตรฐานจากสมุนไพรชนิดแรกที่เกิดและมีจำหน่ายที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยราคาถูกกว่าการนำเข้าสารมาตรฐานชนิดนี้จากต่างประเทศประมาณ 5 เท่า ผู้ประกอบการผลิตยาพัฒนาจากสมุนไพรสามารถนำไปใช้เป็นสารมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์วัตถุดิบเพื่อหาปริมาณสาร andrographolide และใช้ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ฟ้าทะลายโจรที่มีการผลิตในประเทศซึ่งเป็นการส่งเสริมการส่งออกผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยที่ได้มาตรฐานไปยังต่างประเทศ นอกจากนี้การวิจัยยังสามารถนำไปเป็นตัวเปรียบเทียบเพื่อต่อยอดงานวิจัย ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ ทดสอบความเป็นพิษและกำหนดขนาด (dose) ของสารสำคัญเพื่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

1. Aromdee C. No bitter of *Andrographis paniculata*. Khon Kaen: Khon Kaen University Press; 2015. p.2, 18.
2. Borooah D.D., Borua P.K. Column chromatography for isolation of andrographolide from in vitro grown medicinal plant-*Andrographis paniculata* Wall. ex Nees. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 2011;2(3):571–575.
3. Department of Medical Sciences, Thai Herbal Pharmacopoeia. Nonthaburi: Department of Medical Sciences. 2016: p.103–113.
4. Limsiriwong M., Sahamethapat A. and Kanjanapruk P. Development and validation of UPLC method for analysis of andrographolide from *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees. *Journal of Thai Traditional and Alternative Medicine* 2019;17(2): 153-167
5. Limsiriwong M., Sahamethapat A. and Kanjanapruk P. Production of Andrographolide Reference Standard from *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees. *Journal of Thai Traditional and Alternative Medicine* 2019;17(3).
6. Lomlim L, Jirayupong N, Plubrukarn A. Heat-accelerated degradation of solid-state andrographolide. *Chem Pharm Bull*. 2003;51(1):24–6.
7. National List of Essential Medicines A.D.2011. Published in Government Gazette, Vol. 2, (28 June 2011).
8. Pholphana N, Rangkadilok N, Satayavivad J. *Andrographis paniculata*: Herbs that are widely known both domestically and internationally [Internet]. 2016 [cited 2017 Aug 20]; [1 screen]. Available from: <http://www.eht.sc.mahidol.ac.th/article/1807>.
9. The United States Pharmacopoeial Convention, Inc., The United States Pharmacopoeia, The National Formulary 39th revision. Rockville, MD.: The United States Pharmacopoeial Convention, Inc., 2017: p.6461, 6463.
10. Yoopan N, Thisoda P, Rangkadilok N, Sahasitiwat S, Pholphana N, Ruchirawat S, Satayavivad J. Cardiovascular effects of 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide and *Andrographis paniculata* extracts. *Planta Med*. 2007;73:503–11.
11. Zala S.P., Patel K.P., Patel K.S., Parmar J.P., Sen D.J. Laboratory techniques of purification and isolation. *Int J of Drug Dev & Res*. 2012;4(2):41–55.