

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารกลุ่มแลคโตนรวม
ในใบฟ้าทะลายโจรด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี
Spectrophotometric Quantitative Determination of
Total Lactones in *Andrographis paniculata* Leaves

ณวงค์ บุญนาค*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ
วิทยาเขตสงขลา ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

ชุตินา แก้วพิบูลย์

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง
ตำบลบ้านพร้าว อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง 93210

Nawong Boonnak*

Department of Basic Science and Mathematics, Faculty of Science, Thaksin University,
Songkhla campus, Khoa Roob Chang, Muang, Songkhla 90000

Chutima Kaewpiboon

Department of Biology, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung Campus,
Ban Phrao, Pa Payom, Phatthalung 93210

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแลคโตนรวมโดยใช้เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี รวมถึงการแยกสารกลุ่มแลคโตนจากใบฟ้าทะลายโจร เพื่อเป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ การทดลองนำส่วนสกัดหยาบอะซีโตนมาเป็นสารบริสุทธิ์โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีและวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค ^1H NMR พบว่าสามารถแยกสารบริสุทธิ์ 14-ดีออกซี-11,12-ไดดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์และแอนโดรกราโฟไลด์ จากนั้นนำสารแอนโดรกราโฟไลด์ที่ได้มาเป็นสารมาตรฐาน โดยนำมาทำปฏิกิริยาเคมีที่จำเพาะของสาร Kedde และวัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร แล้วตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นที่ใช้วิเคราะห์ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9969 ในช่วงความเข้มข้น 5-20 ร้อยละ โดยน้ำหนัก และมีความแม่นยำด้วยค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 1.01 นอกจากนี้มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดซึ่งตรวจวัดได้ (LOD) ที่ความเข้มข้น 0.0089 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าขีดจำกัดต่ำสุดซึ่งวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) ได้ที่ความเข้มข้น 0.0211 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยผลการวิเคราะห์ในหัวข้อต่าง ๆ อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

*ผู้รับผิดชอบบทความ : nawong@tsu.ac.th

มาตรฐานของการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ปริมาณแลคโตนรวมที่ตรวจวัดโดยวิธีนี้ คือ 8.14 ± 0.13 % ($n = 3$) และโดยวิธีมาตรฐานตาม Thai Herbal Pharmacopoeia คือ 7.86 ± 0.26 % ($n = 3$) ซึ่งผลการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 %

คำสำคัญ : ฟ้าทะลายโจร; แลคโตน; การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

Abstract

This research was a quantity determination of total lactones content in *Andrographis paniculata* leaves using spectrophotometry technique. In addition, the lactones isolation procedures for standard compound of quantity analysis were also studied. The crude acetone extract was separated by column chromatography and elucidated by ^1H NMR spectroscopy technique. The isolated structures were 14- deoxy- 11,12- didehydroandrographolide and andrographolide. Then the isolated andrographolide was used as a standard compound for total lactones determination by using colorimetric method with Kedde's reagent with maximum absorption wavelength (λ_{max}) at 541 nm. The method validation was reliable in the terms of specificity, linearity and a range correlation coefficient (R^2) of 0.9969 at the concentration ranges of 5-20 %w/w and precision (% RSD of 1.01). Moreover, the detection limit (LOD) and the quantitation limit (LOQ) were 0.0089 and 0.0211 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively, which complied with the acceptance criteria in the validation protocol. The total lactones content, calculated as andrographolide, determined by this method was 8.14 ± 0.13 % ($n = 3$), and by the official method, Thai Herbal Pharmacopoeia, was 7.86 ± 0.26 % ($n = 3$). The results of the two methods do not differ significantly at $p < 0.05$.

Keywords: *Andrographis paniculata*; lactone; quantitative analysis

1. บทนำ

ฟ้าทะลายโจร [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees] เป็นไม้ล้มลุก มีลำต้นสูงประมาณ 30-100 เซนติเมตร ใบเดี่ยว ใบมีรูปหอกยาว โคนใบสอบแคบ ปลายใบเรียวแหลม กิ่งมีช่อดอก 4-12 ช่อ ดอกย่อยมีขนาดเล็ก ประกอบด้วยกลีบรองดอก 5 กลีบ สีเขียว และมีขนปกคลุม พบสาระสำคัญที่ในใบและลำต้นเป็นสารในกลุ่มแลคโตน (lactone) ซึ่งมีองค์ประกอบหลัก 4 ชนิด คือ andrographolide,

neoandrographolide, 14- deoxy- 11, 12- didehydroandrographolide และ 14- deoxyandrographolide [1] นอกจากนี้ฟ้าทะลายโจรเป็นสมุนไพรที่จัดอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2558 มีสรรพคุณในการบรรเทาอาการเจ็บคอและโรคหวัด (common cold) เช่น เจ็บคอ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ [2] โดยกระทรวงสาธารณสุขได้ให้หน่วยงานบริการในสังกัดทุกระดับมีการสั่งใช้ยาสมุนไพรฟ้าทะลายโจรเป็นยาลำดับแรก (first line drug) [3] แต่ยังคงมีปัญหาเรื่องการ

ควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรให้มีปริมาณสารสำคัญตรงตามข้อกำหนดของ Thai Herbal Pharmacopoeia ซึ่งกำหนดให้สมุนไพรฟ้าทะลายโจรต้องมีสารสำคัญกลุ่มแลคโตนไม่น้อยกว่าร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก [4] จึงจัดได้ว่าเป็นสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรค ซึ่งปัจจุบันมีการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารกลุ่มแลคโตนมีอยู่หลายวิธี เช่น การไทเทรต (titration) และการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) [4-6] อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวมีข้อจำกัดหลายอย่าง ได้แก่ การสกัดที่ใช้เวลานาน มีค่าใช้จ่ายสูง การทดลองมีความยุ่งยาก เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงพยายามพัฒนาวิธีที่สามารถตรวจวัดโดยใช้เวลาสั้น และมีค่าใช้จ่ายต่ำ โดยอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาที่จำเพาะกับสารกลุ่มแลคโตนด้วยวิธีการทำให้เกิดสีระหว่างสารของ Kedde และวัดค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งวิธีการนี้ตรวจวัดได้ง่าย รวดเร็ว และสามารถประยุกต์ไปใช้ในการตรวจสอบเชิงคุณภาพของสมุนไพรฟ้าทะลายโจร ซึ่งสามารถนำมาใช้สำหรับการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรให้มีมาตรฐาน มีประสิทธิภาพในการรักษาโรค อีกทั้งยังส่งผลต่อความเชื่อมั่นในการใช้ยาสมุนไพร

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การสกัดและแยกสารกลุ่มแลคโตนจากใบฟ้าทะลายโจร

เก็บใบฟ้าทะลายโจรและอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักพืชตัวอย่างแห้ง 290 กรัม แล้วสกัดด้วยอะซิโตนเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ ได้ส่วนสกัดหยาบอะซิโตนน้ำหนัก 18.97 กรัม และนำส่วนสกัดหยาบอะซิโตนไปแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดย

ใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตต่อเฮกเซนในอัตราส่วน 5-70 ร้อยละโดยปริมาตร ตามลำดับ (รูปที่ 1) จากนั้นตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบางเปรียบเทียบกับสารแอนโดรกราโฟไลด์มาตรฐาน และพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิคนิวเคลียสมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรเมเตอร์ความถี่ 300 MHz โดยนำสารที่ได้ละลายในตัวทำละลาย CDCl₃ นำผลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลอ้างอิง

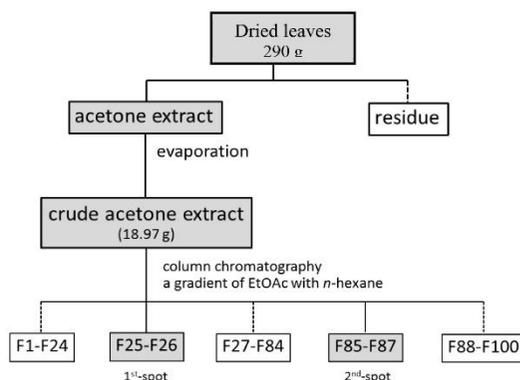


Figure 1 Schematic summary of the acetone extraction and chromatographic separation of bioactive compounds from the leaves of *Andrographis paniculata*

2.2 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

2.2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity range)

เตรียมสารมาตรฐานแอนโดรกราโฟไลด์ในช่วงความเข้มข้น 5-20 ร้อยละโดยน้ำหนัก แล้วดูดสารละลายมาตรฐาน 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย 2 เปอร์เซ็นต์ กรดไดโนโตรเบนโซอิก และ 5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ อย่างละ 30 ไมโครลิตร เขย่าต่อเนื่องเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นวัดค่า

เตรียมสารมาตรฐานแอนโดรกราโฟไลด์ในช่วงความเข้มข้น 5-20 ร้อยละโดยน้ำหนัก แล้วดูดสารละลายมาตรฐาน 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย 2 เปอร์เซ็นต์ กรดไดโนโตรเบนโซอิก และ 5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ อย่างละ 30 ไมโครลิตร เขย่าต่อเนื่องเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นวัดค่า

การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานและค่าการดูดกลืนแสง จากนั้นหาค่าความชัน (slope) จุดตัดแกน y (intercept) ค่าสมการเส้นตรง (linear regression) และทดสอบความแม่นยำ (precision) จากร้อยละค่าสัมประสิทธิ์เบี่ยงเบนมาตรฐาน (%RSD) โดยการศึกษาตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำทำปฏิกิริยา 3 เวลา (interday) เป็นเวลา 3 วัน (intraday)

2.2.2 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (limit of detection, LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (limit of quantitation, LOQ)

เจือจางสารละลายมาตรฐานแอนโดรกราโฟไลด์ แล้ววิเคราะห์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณค่า LOD และ LOQ ดังสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

$$\text{LOD} = \frac{3.3 \sigma}{S} \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \sigma}{S} \quad (2)$$

เมื่อ σ คือ ค่า SD ของ intercept; S คือ ค่าความชัน (slope)

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแลคโตนรวมในพืชตัวอย่างด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิทรี

การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิคการทำให้เกิดสีจากปฏิกิริยาเคมีที่จำเพาะกับสารกลุ่มแลคโตนรวม โดยชั่งตัวอย่างใบฟ้าทะลายโจรแห้ง 260 มิลลิกรัม แช่สกัดในเอทานอล 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วดูดสารสกัดใบฟ้าทะลายโจรปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย 3,5-ไดไนโตรเบนโซอิกแอซิด ความเข้มข้นร้อยละ 2 และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 อย่างละ 30 ไมโครลิตร เขย่าต่อเนื่องเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณสารกลุ่มแลคโตนรวมจากสมการ

เส้นตรง (linear regression) ของกราฟมาตรฐาน โดยทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความถูกต้องของวิธีการกับวิธีการมาตรฐานของตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) [7]

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลแสดงด้วยค่า $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ ($n = 3$) ใช้โปรแกรม GraphPad Prism version 4 ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม 2 กลุ่ม โดยใช้สถิติ Student's t-test โดยใช้ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติที่ 0.05

3. ผลการทดลองและอภิปราย

3.1 การสกัดสารกลุ่มแลคโตน

นำส่วนสกัดหยาบอะซีโตนมาแยกสารบริสุทธิ์โดยอาศัยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (ขนาด column สูง 45 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร) ด้วยซิลิกา 100 (0.063-0.200 มิลลิเมตร) และชะด้วยตัวทำละลายเฮกเซน แล้วเพิ่มสภาพขั้วด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทในอัตราส่วน 5-70 ร้อยละ โดยปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งแยกสารออกเป็นส่วนย่อย (fraction) ได้ทั้งหมด 100 ส่วนย่อย จากนั้นตรวจสอบเอกลักษณ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC silica gel 60 F₂₅₄) โดยใช้ระบบ 70 เปอร์เซ็นต์เอทิลอะซิเตท-เฮกเซน แล้วตรวจสอบภายใต้แสงยูวี $\lambda = 256$ นาโนเมตร พบลักษณะแถบการแยกดังรูปที่ 2

ลักษณะ TLC ที่ปรากฏพบว่าแยกสารบริสุทธิ์ได้ 2 สาร คือ fraction 25/26 [$R_f = 0.75$: 70 % of EtOAc-hexane (1 time)] และ fraction 85/86/87 [$R_f = 0.5$: 70 % of EtOAc-hexane (1 time)] ตามลำดับ จากนั้นวิเคราะห์โครงสร้างของสารที่แยกได้โดยอาศัยเทคนิค ¹H NMR spectroscopy พบว่าสารประกอบที่แยกได้ใน fraction 25/26 ปรากฏลักษณะสัญญาณของ ¹H NMR spectral data

(รูปที่ 3 และตารางที่ 1) เช่นเดียวกับสาร 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide ในข้อมูลอ้างอิง [8]

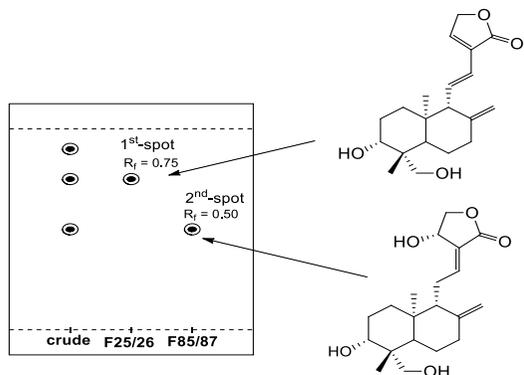


Figure 2 TLC chromatogram of F25/26 and F85/86/87 with a mobile phase as 70 % EtOAc-*n*-hexane

ข้อมูล ¹H NMR spectral data ของสาร fraction 25/26 สรุปได้ว่าสารที่แยกได้จาก fraction 25/26 คือ สาร 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide โดยมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 4

เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างของสาร fraction 85/86/87 โดยอาศัยเทคนิค ¹H NMR spectroscopy พบว่าสารใน fraction 85/86/87 ปรากฏลักษณะสัญญาณของ ¹H NMR spectral data (รูปที่ 5 และตารางที่ 2) เหมือนกับสาร andrographolide (รูปที่ 6) ในข้อมูลอ้างอิง [8] จากข้อมูล ¹H NMR spectral data ของสาร fraction 85/86/87 สรุปได้ว่าสารที่แยกได้จาก fraction 85/86/87 คือ สาร andrographolide โดยมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 6

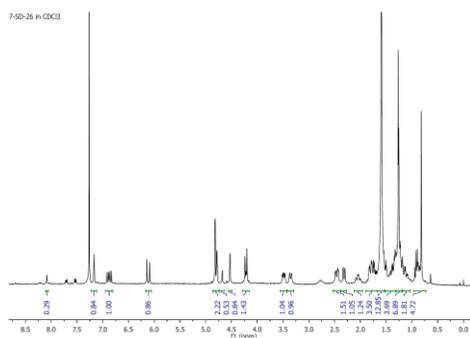


Figure 3 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) spectrum of fraction 25/26

Table 1 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) spectral data of fraction 25/26

Positions	¹ H (J in Hz)	
	F25/26	14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide
11	6.87 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15.9, 10.2 Hz)	6.87 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 15.5, 10.0 Hz)
12	6.12 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15.9 Hz)	6.11 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15.5 Hz)
14	7.17 (1H, <i>brs</i>)	7.16 (1H, <i>s</i>)
15	4.81 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1.5Hz)	4.81 (1H, <i>s</i>)
17	4.78 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1.5 Hz)	4.77 (1H, <i>s</i>)
	4.53 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1.2 Hz)	4.52 (1H, <i>s</i>)
18	1.26 (3H, <i>s</i>)	1.25 (3H, <i>s</i>)
19	4.22(H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11.0 Hz)	4.21(H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11.0 Hz)
	3.35 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9.9 Hz)	3.35 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 11.4 Hz)
20	0.81 (3H, <i>s</i>)	0.80 (3H, <i>s</i>)

Table 2 ^1H NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) spectral data of fractions 85/86/87

Positions	^1H (J in Hz)	
	F85/86/87	andrographolide
3	3.34 (H, <i>brt</i> , $J = 8.1$ Hz)	3.44 (1H,m,o)
12	6.85 (H, <i>dt</i> , $J = 6.9, 1.5$ Hz)	6.84 (1H, <i>dt</i> , $J = 6.8, 1.5$ Hz)
14	4.87 (H, <i>d</i> , $J = 5.7$ Hz)	5.01 (H, <i>d</i> , $J = 6.1$ Hz)
15	4.38 (H, <i>dd</i> , $J = 10.5, 6.0$ Hz)	4.45 (H, <i>dd</i> , $J = 10.2, 6.1$ Hz)
	4.17 (H, <i>dd</i> , $J = 10.5, 2.0$ Hz)	4.14 (H, <i>dd</i> , $J = 10.2, 2.0$ Hz)
17	4.81 (H, <i>brs</i>)	4.87 (H, <i>s</i>)
	4.54 (H, <i>brs</i>)	4.67 (H, <i>s</i>)
18	1.16 (3H, <i>s</i>)	1.20 (3H, <i>s</i>)
19	4.10 (H, <i>d</i> , $J = 10.8$ Hz)	4.11 (H, <i>d</i> , $J = 11.0$ Hz)
	3.31 (H, <i>m</i>)	3.36 (H, <i>m</i>)
20	0.62 (3H, <i>s</i>)	0.74 (3H, <i>s</i>)

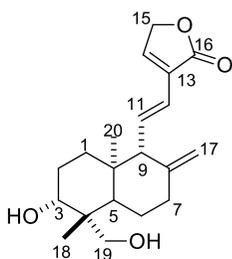


Figure 4 Structure of 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide

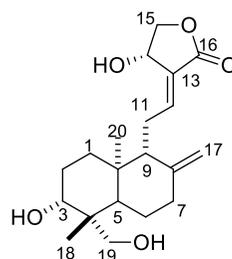
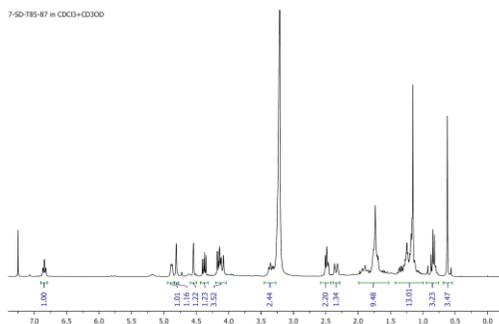


Figure 6 Structure of andrographolide

Figure 5 ^1H NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) spectrum of fractions 85/86/87

3.2 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

หลังการเกิดปฏิกิริยาที่จำเพาะของ Kedde กับสารกลุ่มแลคโตน พบการเกิดสีของสารตัวอย่างเป็นสารละลายสีม่วงแดงดังแสดงในปฏิกิริยา (รูปที่ 7) จากนั้นนำข้อมูลความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 5–20 ร้อยละโดยน้ำหนัก ค่าการดูดกลืนแสงที่ $\lambda_{\text{max}} = 541$ นาโนเมตร มาหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยมีค่า slope = 0.0549 และมีค่า $R^2 = 0.9969$ (รูปที่ 8)

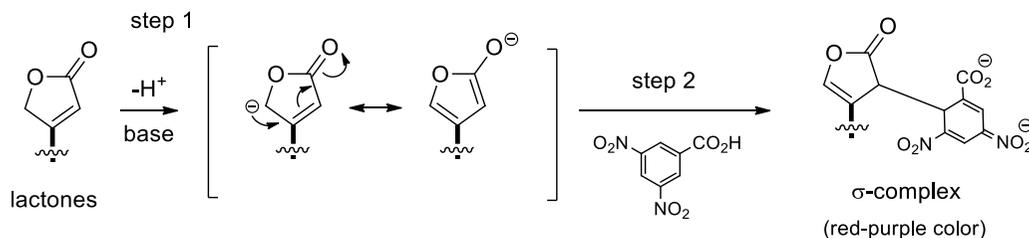


Figure 7 Kedde’s reaction assay with lactones

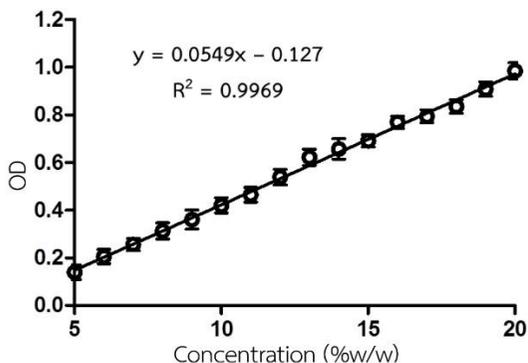


Figure 8 Standard curve of lactones at various concentration as 5-20 %w/w

จากนั้นศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOQ) พบว่าวิธีการนี้มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.0089 และ 0.0211 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าวิธีการตรวจวัดเชิงปริมาณของสารกลุ่มแลคโตนในงานวิจัยนี้มีค่าสัมประสิทธิ์เบี่ยงเบนมาตรฐาน (%RSD) 1.01 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่เป็นไปตามมาตรฐาน

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแลคโตนรวมในพืชตัวอย่างด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี

ปริมาณแลคโตนรวมที่ตรวจวัดโดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรีเท่ากับ 8.14 ± 0.13 % (n = 3) และโดยวิธีมาตรฐานตาม Thai Herbal Pharmacopoeia เท่ากับ 7.86 ± 0.26 % (n = 3) ซึ่งผลการวิเคราะห์ 2 วิธี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 % ดังนั้นจึงสามารถใช้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแลคโตนรวมด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรีแทนการใช้วิธีไทเทชัน เนื่องจากวิธีการที่ศึกษานี้ง่าย สะดวก และให้ผลการวิเคราะห์รวดเร็ว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Aromdee และคณะ [5] ที่ตรวจวัดปริมาณแลคโตนรวมโดยวิธีการตรวจวัดทางสเปกโตรโฟโตเมทรีเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานตาม Thai Herbal Pharmacopoeia ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิคไทเทชัน ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณแลคโตนรวมที่วิเคราะห์จากทั้ง 2 วิธี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

4. สรุป

การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแลคโตนรวมในฟ้าทะลายโจรด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี เป็นวิธีที่เหมาะสม ให้ผลรวดเร็ว และมีความน่าเชื่อถือ สามารถประยุกต์ไปใช้ในการตรวจสอบเชิงปริมาณของวัตถุตีบสมุนไพรฟ้าทะลายโจร ทำให้วัตถุตีบสำหรับผลิตสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมีคุณภาพสูงตรงตามมาตรฐานของตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนจากโครงการวิจัยเงินรายได้มหาวิทยาลัยทักษิณ กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ประเภททุนวิจัยบูรณาการประจำปีงบประมาณ 2562

6. References

- [1] Hossain, M.S., Urbi, Z., Sule, A. and Hafizur Rahman, K.M., 2014, *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: A review of ethnobotany, phytochemistry, and pharmacology, *Sci. World J.* 2014: 274905-274905.
- [2] Jarukamjorn, K. and Nemoto, N., 2008, Pharmacological aspects of *Andrographis paniculata* on health and its major diterpenoid constituent andrographolide, *J. Health Sci.* 54: 370-381.
- [3] Dos Santos-Neto, L.L., de Vilhena Toledo, M.A., Medeiros-Souza, P. and de Souza, G.A., 2006, The use of herbal medicine in Alzheimer's disease – a systematic review, *Evid. Based Complement Alternat. Med. (eCAM)* 3: 441-445.
- [4] Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand, 2007, Thai Herbal Pharmacopoeia, Vol. II, Office of Notional Buddhism Press, Bangkok.
- [5] Aromdee, C., Penkae, W. and Napaporn, J., 2005, Spectrophotometric determination of total lactones in *Andrographis paniculata* Nees, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 27: 1227-1231.
- [6] Seema, S., Yash, P.S. and Chitra, B., 2018, HPLC quantification of andrographolide in different parts of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees, *J. Pharm. Phytochem.* 7: 168-171.
- [7] Medical Sciences Department, Fa-Tha-Lai, 1995, Thai Herbal Pharmacopoeia, Vol. I, Prachachon Co., Ltd., Bangkok.
- [8] Sombut, S., Bunthawong, R., Sirion, U., Kasemsuk, T., Piyachaturawat, P., Suksen, K., Suksamrarn, A. and Saeeng, R., 2017, Synthesis of 14-deoxy-11,12-didehydro andrographolide analogues as potential cytotoxic agents for olangiocarcinoma, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 27: 5139-5143.