

Research Article

Received: March 19, 2019; Accepted: January 9, 2020

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารกลุ่มแลคโตโนรัมในใบพืชะลายโดยด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี Spectrophotometric Quantitative Determination of Total Lactones in *Andrographis paniculata* Leaves

นوانศรี บุนนาค*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ
วิทยาเขตสงขลา ตำบลเขารูปปั้ง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

ชุตima 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

งานวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแลคโตโนรัมโดยใช้เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี รวมถึงการแยกสารกลุ่มแลคโตโนรัมจากใบพืชะลายโดย เพื่อเป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ การทดลองนำส่วนสกัด hairy อะซีตอิโนรัมมาเป็นสารบริสุทธิ์โดยเทคนิคคลอัลมนิโครมาโทกราฟีและวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค ^1H NMR พบว่าสามารถแยกสารบริสุทธิ์ 14-ดีออกซี่-11,12-ไดเดไฮดรอแอนโดรกราโฟไลด์และแอนโดรกราโฟไลด์ จากนั้นนำสารแอนโดรกราโฟไลด์ที่ได้มาเป็นสารมาตรฐาน โดยนำมาทำปฏิกิริยาเคมีที่จำเพาะของสาร Kedde และวัดค่าการดูดกลืนและความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร แล้วตราชจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นที่ใช้วิเคราะห์ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์ 0.9969 ในช่วงความเข้มข้น 5-20 ร้อยละ โดยน้ำหนัก และมีความแม่นยำด้วยค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ 1.01 นอกจากนี้มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดเชิงตรวจวัดได้ (LOD) ที่ความเข้มข้น 0.0089 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าขีดจำกัดต่ำสุดเชิงวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) ได้ที่ความเข้มข้น 0.0211 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยผลการวิเคราะห์ในหัวข้อต่าง ๆ อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ

มาตรฐานของการตรวจสอบความถูกต้องของวิเคราะห์ ปริมาณแอลค็อกโนรูมที่ตรวจด้วยวิธีนี้ คือ $8.14 \pm 0.13\%$ ($n = 3$) และโดยวิธีมาตรฐานตาม Thai Herbal Pharmacopoeia คือ $7.86 \pm 0.26\%$ ($n = 3$) ซึ่งผลการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 %

คำสำคัญ : พื้थลายโจร; แลค์โนน; 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 $8.14 \pm 0.13\%$ ($n = 3$), and by the official method, Thai Herbal Pharmacopoeia, was $7.86 \pm 0.26\%$ ($n = 3$). The results of the two methods do not differ significantly at $p < 0.05$.

Keywords: *Andrographis paniculata*; lactone; quantitative analysis

1. บทนำ

พื้थลายโจร [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees] เป็นไม้ล้มลุก มีลำต้นสูง ประมาณ 30-100 เซนติเมตร ใบเดี่ยว ใบมีรูปหอกยาว โคนใบสอบแคบ ปลายใบเรียวแหลม กิ่งมีช่อดอก 4-12 ช่อ ดอกย่อยมีขนาดเล็ก ประกอบด้วยกลีบรองดอก 5 กลีบ สีเขียว และมีขันปักคลุม พับสาระสำคัญที่ในใบ และลำต้นเป็นสารในกลุ่มแอลค็อกโนน (lactone) ซึ่งมีองค์ประกอบหลัก 4 ชนิด คือ andrographolide,

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

ควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรให้มีปริมาณสารสำคัญ ตรงตามข้อกำหนดของ Thai Herbal Pharmacopoeia ซึ่งกำหนดให้สมุนไพรพื้นาทายโจรต้องมีสารสำคัญ กลุ่มแอลกอโนลไม่น้อยกว่าร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก [4] จึง จัดได้ว่าเป็นสมุนไพรพื้นาทายโจรที่มีประสิทธิภาพใน การรักษาโรค ซึ่งปัจจุบันมีการวิเคราะห์เชิงปริมาณของ สารกลุ่มแอลกอโนลมีอยู่หลายวิธี เช่น การໄทเทรต (titration) และการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทร กาแฟของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) [4-6] อย่างไรก็ตาม วิธีการดังกล่าวมีข้อจำกัดหลายอย่าง ได้แก่ การสกัดที่ ใช้เวลานาน มีค่าใช้จ่ายสูง การทดสอบมีความยุ่งยาก เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงพยายามพัฒนาวิธีที่สามารถ ตรวจวัดโดยใช้เวลาสั้น และมีค่าใช้จ่ายต่ำ โดยอาศัย หลักการเกิดปฏิกิริยาที่จำเพาะกับสารกลุ่มแอลกอโนล ด้วยวิธีการทำให้เกิดสีระหว่างสารของ Kedde และวัด ค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งวิธีการนี้ตรวจได้ง่าย รวดเร็ว และสามารถประยุกต์ไปใช้ในการตรวจสอบเชิง คุณภาพของสมุนไพรพื้นาทายโจร ซึ่งสามารถนำมาใช้ สำหรับการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบสมุนไพรให้มี มาตรฐาน มีประสิทธิภาพในการรักษาโรค อีกทั้งยัง ส่งผลต่อความเชื่อมั่นในการใช้ยาสมุนไพร

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การสกัดและแยกสารกลุ่มแอลกอโนลจาก ใบพื้นาทายโจร

เก็บใบพื้นาทายโจรและอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ซึ่งน้ำหนักพื้ช ตัวอย่างแห้ง 290 กรัม แล้วแช่สกัดด้วยอะซีโตนเป็น เวลา 7 วัน จากนั้นระบายน้ำด้วยเครื่องอะตอมิเตอร์แบบสุญญากาศ ได้ส่วนสกัดที่เหลือของอะซีโตนน้ำหนัก 18.97 กรัม และนำส่วนสกัดที่เหลือของอะซีโตนไปแยกให้ ได้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคลอสัมโนโครมาโทกราฟ โดย

ใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทต่อเอกเซนในอัตราส่วน 5-70 ร้อยละโดยปริมาตร ตามลำดับ (รูปที่ 1) จากนั้น ตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟแบบ แผ่นบางเปรียบเทียบกับสารแอนโอดราโฟลีด มาตรฐาน และพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิคโนเวลลี แมกเนติกโรไซแนซ์สเปกโตรมิเตอร์ความถี่ 300 MHz โดยนำสารที่ได้ละลายในตัวทำละลาย CDCl₃ นำผลที่ ได้มามาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลอ้างอิง

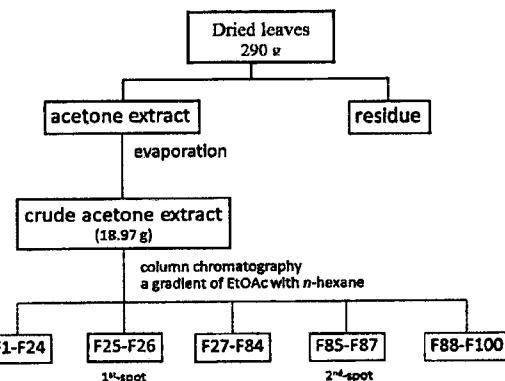


Figure 1 Schematic summary of the acetone extraction and chromatographic separation of bioactive compounds from the leaves of *Andrographis paniculata*

2.2 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการ วิเคราะห์

2.2.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity range)

เตรียมสารมาตรฐานแอนโอดราโฟลีดในช่วงความเข้มข้น 5-20 ร้อยละโดยน้ำหนัก และ ดูดสารละลายมาตรฐาน 500 ไมโครลิตร และเติม สารละลาย 2 เปอร์เซ็นต์ กรดไดโนโตรเบนโซอิก และ 5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ อย่างละ 30 ไมโครลิตร เขย่าต่อเนื่องเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นวัดค่า

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

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

เจือจากสารละลายน้ำตราชานแอนโอดราโฟไฟล์ด แล้ววิเคราะห์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยทดสอบ 3 ชั้น และคำนวณค่า LOD และ LOQ ดังสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

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

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

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

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคลคตอนรวมในพืชตัวอย่างด้วยเทคนิคเปลกໂໂໂຕมิทรี

การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิคการทำให้เกิดสีจากปฏิกริยาเคมีที่จำเพาะกับสารกลุ่มแคลคตอนรวม โดยชั่งตัวอย่างในฟ้าทะลายໂຈรแห้ง 260 มิลลิกรัม แล่สักด้ใน ethanol 200 มิลลิลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วดูดสารสักด้ในฟ้าทะลายໂຈรปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลายน 3,5-ไดไนโตรเบนโซิกแอซิด ความเข้มข้นร้อยละ 2 และสารละลายนโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 อาย่างละ 30 ไมโครลิตร เขย่าต่อเนื่องเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 541 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณสารกลุ่มแคลคตอนรวมจากสมการ

เส้นตรง (linear regression) ของกราฟมาตรฐาน โดยทดสอบ 3 ชั้น เปรียบเทียบความถูกต้องของวิธีการกับวิธีการมาตรฐานของตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) [7]

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

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

3. ผลการทดลองและอภิปราย

3.1 การสักด้สารกลุ่มแคลคตอน

นำส่วนสักด้หายาบอะซีโตนมาแยกสารบริสุทธิ์โดยอาศัยเทคนิคคลอัลมนีโครมาโทกราฟี (ขนาด column สูง 45 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร) ด้วยตัวทำละลายເກຊເຊນ แล้วเพิ่มสภาพเข้าด้วยตัวทำละลายເອທິລອະຊີເຕີທີໃນอัตราส่วน 5-70 ຮອຍລະໂດຍປຣິມາຕຣ ตามลำดับ ຜຶ່ງແຍກສາຮອກເປັນສ່ວນຍ່ອຍ (fraction) ໄດ້ທັງໝົດ 100 ສ່ວນຍ່ອຍ ຈາກນັ້ນตรวจสอบເອກລັກຂະນະດ້ວຍເຄືອນິກໂຄຣມາໂທກຣາຟແບບແຜ່ນບາງ (TLC silica gel 60 F₂₅₄) ໂດຍໃຊ້ຮະບັບ 70 ເປົ້ອເຫັນຕົ້ນເອທິລອະຊີເຕີ-ເກຊເຊນ ແລ້ວตรวจสอบภายໄດ້ແສງຢູ່ວ $\lambda = 256$ นาโนเมตร ພບລັກຂະນະແດນກາຍແຍກດັ່ງຮູບທີ 2

ລັກຂະນະ TLC ທີ່ປຣກງຸພວ່າແຍກສາຮ;br/>บรິສຸທິ່ໄດ້ 2 ສາຮ ຄື່ອ fraction 25/26 [$R_F = 0.75$: 70 % of EtOAc-hexane (1 time)] ແລະ fraction 85/86/87 [$R_F = 0.5$: 70 % of EtOAc-hexane (1 time)] ຕາມລຳດັບ ຈາກນັ້ນເຄຮັດໂຄຣສ້າງຂອງສາຮທີ່ແຍກໄດ້ໂດຍອາສີເຫັນ ¹H NMR spectroscopy ພວ່າສາຮປະກອບທີ່ແຍກໄດ້ໃນ fraction 25/26 ປຣກງຸລັກຂະນະສ້າງຢູ່ານຂອງ ¹H NMR spectral data

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

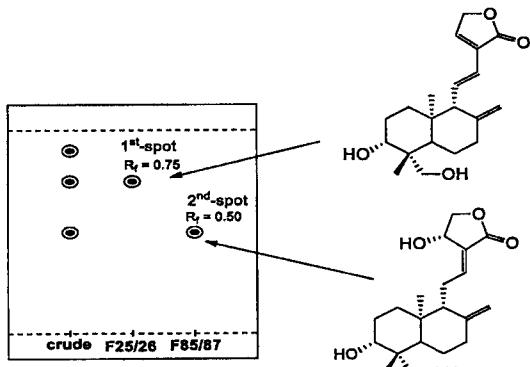


Figure 2 TLC chromatogram of F25/26 and F85/87 with a mobile phase as 70 % EtOAc-*n*-hexane

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

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, dd, J = 15.9, 10.2 Hz)	6.87 (1H, dd, J = 15.5, 10.0 Hz)
12	6.12 (1H, d, J = 15.9 Hz)	6.11 (1H, d, J = 15.5 Hz)
14	7.17 (1H, brs)	7.16 (1H, s)
15	4.81 (1H, d, J = 1.5 Hz)	4.81 (1H, s)
17	4.78 (1H, d, J = 1.5 Hz)	4.77 (1H, s)
	4.53 (1H, d, J = 1.2 Hz)	4.52 (1H, s)
18	1.26 (3H, s)	1.25 (3H, s)
19	4.22 (H, d, J = 11.0 Hz)	4.21 (H, d, J = 11.0 Hz)
	3.35 (1H, d, J = 9.9 Hz)	3.35 (1H, d, J = 11.4 Hz)
20	0.81 (3H, s)	0.80 (3H, s)

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

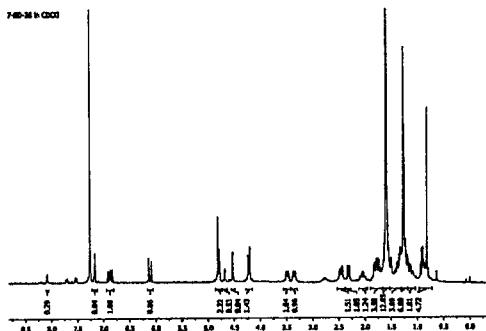


Figure 3 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) spectrum of fraction 25/26

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

Positions	δH (J in Hz)	
	F85/86/87	andrographolide
3	3.34 (H, <i>brt</i> , $J = 8.1$ Hz)	3.44 (1H, <i>m,o</i>)
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>)

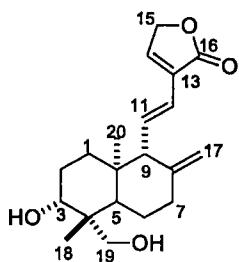


Figure 4 Structure of 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide

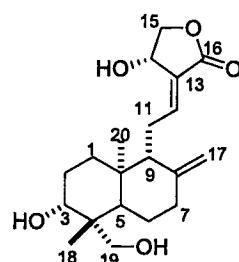
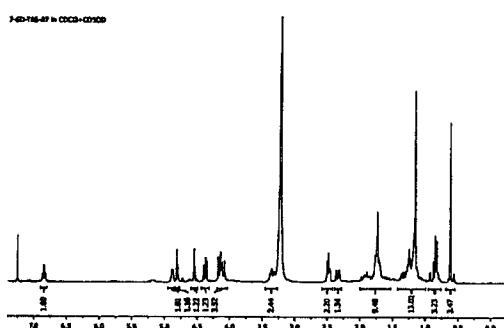


Figure 6 Structure of andrographolide

3.2 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์

หลังการเกิดปฏิกิริยาที่จำเพาะของ Kedde กับสารกลุ่มแคลคตอน พบรากเกิดสีของสารตัวอย่างเป็นสารละลายสีม่วงแดงดังแสดงในปฏิกิริยา (รูปที่ 7) จากนั้นนำข้อมูลความเข้มข้นของสารละลายน้ำฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 5–20 ร้อยละโดยน้ำหนักค่าการคูณกึ่ลนแสงที่ $\lambda_{\text{max}} = 541$ นาโนเมตร มาหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยมีค่า slope = 0.0549 และมีค่า $R^2 = 0.9969$ (รูปที่ 8)

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

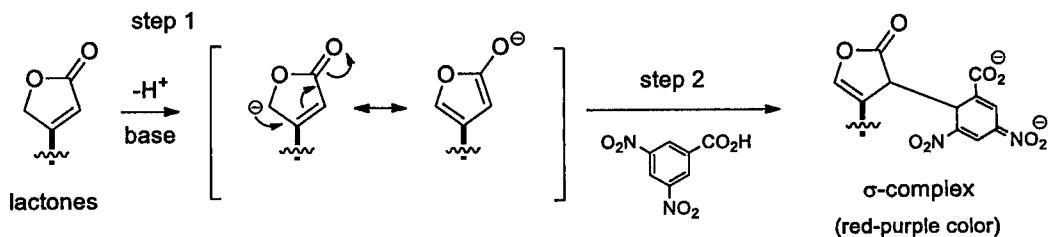


Figure 7 Kedde's reaction assay with lactones

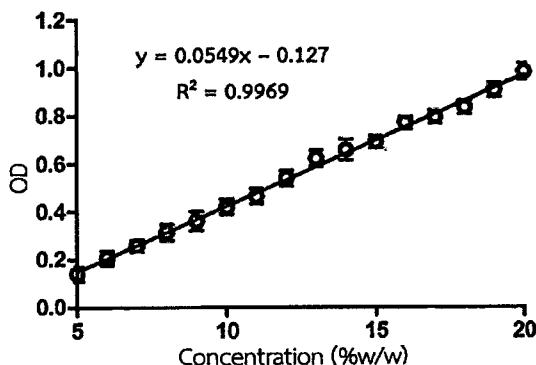


Figure 8 Standard curve of lactones at various concentration as 5-20 %w/w

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

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคลโคโนรวมในพืชตัวอย่างด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิทรี

ปริมาณแคลโคโนรวมที่ตรวจวัดโดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิทรีเท่ากับ $8.14 \pm 0.13\%$ ($n = 3$) และโดยวิธีมาตรฐานตาม Thai Herbal Pharmacopoeia เท่ากับ $7.86 \pm 0.26\%$ ($n = 3$) ซึ่งผลการวิเคราะห์ 2 วิธี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

นัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 % ดังนั้นจึงสามารถใช้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแคลโคโนรวมด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิทรีแทนการใช้วิธีไทยเด่น เนื่องจากวิธีการที่ศึกษานี้ง่าย สะดวก และให้ผลการวิเคราะห์รวดเร็ว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Aromdee และคณะ [5] ที่ตรวจวัดปริมาณแคลโคโนรวมโดยวิธีการตรวจวัดทางสเปกโตรโฟโตมิทรีเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานตาม Thai Herbal Pharmacopoeia ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิคไทยเด่น ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณแคลโคโนรวมที่วิเคราะห์จากทั้ง 2 วิธี ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

4. สรุป

การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคลโคโนรวมในพืชทั้งหลายโดยด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตมิทรี เป็นวิธีที่เหมาะสม ให้ผลรวดเร็ว และมีความน่าเชื่อถือ สามารถประยุกต์ไปใช้ในการตรวจสอบเชิงปริมาณของวัตถุดินสมุนไพรพืชทั้งหลาย โดยให้วัตถุดินสำหรับผลิตสมุนไพรพืชทั้งหลาย เป็นวิธีมาตรฐานตามมาตรฐานของตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนจากการวิจัยเงินรายได้ มหาวิทยาลัยทักษิณ กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ประจำทุนวิจัยบูรณาการประจำปีงบประมาณ 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 Buddishm Press, Bangkok.
- [5] Aromdee, C., Penkae, W. and Napaporn, J., 2005, Spectrophotometric determination of total lactones in *Andrographis paniculata* Nees, *Songklaenakarin 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.