

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การประเมินคุณภาพของสมุนไพรจีน

ในตำรับตู้หัวจีซึ่งประกอบด้วยสมุนไพร 15 ชนิด ซึ่งในการนำสมุนไพรมาใช้เพื่อเป็นการรักษาโรคนั้น คุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัย เป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง ในการศึกษาจึงนำสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด มาประเมินคุณภาพโดยอ้างอิงเกณฑ์จากเกณฑ์ตำรับจีนปี 2005 ผลการศึกษาพบว่าเอกลักษณ์ทางมหภาคของสมุนไพรทั้ง 15 ชนิดมีลักษณะตรงตามที่ระบุไว้ใน monograph ทั้งลักษณะภายนอก รูปร่าง สี รอยตัด กลิ่น รส ซึ่งเป็นการบ่งชี้ว่าเป็นสมุนไพรชนิดนั้น ๆ เป็นการยืนยันความถูกต้องของชนิดพืชสมุนไพร นอกจากนั้นยังทำการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางจุลภาค เพื่อคุณลักษณะของเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิด ซึ่งนอกจากจะเป็นการยืนยันชนิดของพืชแล้วยังช่วยในการตรวจสอบการปลอมปนด้วยสมุนไพรชนิดอื่นหรือการนำสมุนไพรมาใช้ไม่ถูกต้อง ทั้งนี้เนื่องจากสมุนไพรส่วนต่าง ๆ ที่นำมาใช้จะมีลักษณะของเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน ซึ่งจะมีลักษณะที่เฉพาะเจาะจงต่อชนิดพืช ผลการศึกษาพบว่า เอกลักษณ์ทางจุลภาคของสมุนไพรตรงตามข้อกำหนดของเกณฑ์ตำรับจีนปี 2005

สำหรับการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเคมีเป็นการตรวจสอบกลุ่มและชนิดขององค์ประกอบทางเคมีที่มีในสมุนไพรทั้งที่มีฤทธิ์หรือความเป็นพิษ เพื่อเป็นการยืนยันชนิดพืช ประสิทธิภาพ และความปลอดภัยของสมุนไพร ตัวอย่างเช่น Sangjisheng เมื่อนำไปตรวจเอกลักษณ์โดยใช้ปฏิกิริยาเคมี ไม่ควรจะพบ cardiac glycoside ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต่อหัวใจอาจมีอันตรายได้ ถ้ามีการบริโภค เป็นต้น สำหรับการตรวจเอกลักษณ์โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟีผิวบาง พบว่าสมุนไพรแต่ละชนิดพบองค์ประกอบสำคัญทางเคมีเป็นไปตามเกณฑ์ที่ระบุในเกณฑ์ตำรับจีนปี 2005 โดยยืนยันจากลักษณะสีของจุด และค่า R_f ที่ตรงกับสารมาตรฐาน จึงเป็นการยืนยันได้ว่าสมุนไพรที่นำมาใช้มีองค์ประกอบของสารสำคัญเป็นไปตามเกณฑ์ข้อกำหนด และยังช่วยยืนยันความถูกต้องของชนิดสมุนไพร

ดังนั้นจากผลการตรวจเอกลักษณ์ของสมุนไพรจีนทั้ง 15 ชนิด ได้ผลตรงตามเกณฑ์มาตรฐานที่ระบุไว้ในเกณฑ์ตำรับจีน ทั้งการตรวจเอกลักษณ์ทางมหภาค จุลภาค การใช้ปฏิกิริยาเคมี และเทคนิคทางโครมาโทกราฟีผิวบาง เป็นการยืนยันผลว่าเป็นพืชสมุนไพรที่จะนำมาใช้เป็น

สมุนไพรในตำรับตู้หัวจีเซิงจริง ไม่ใช่พืชชนิดอื่นซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกัน ทำให้เชื่อมั่นได้ว่าใช้สมุนไพรถูกชนิด และถูกส่วน

สำหรับการประเมินค่าคงที่ต่าง ๆ ของสมุนไพร พบว่าสมุนไพรแต่ละชนิดมีค่าคงที่ที่อยู่ในเกณฑ์ตามที่กำหนดไว้ในเภสัชตำรับจีนปี 2005 ทั้งเถ้ารวม, เถ้าที่ไม่ละลายในกรด, ปริมาณความชื้น และปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยพบว่า Xixin ในตอนแรกมีปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรดเกินเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งเถ้ารวมถ้าพบในปริมาณมาก อาจเนื่องจากการใช้ปุ๋ยเคมีในการเพาะปลูกพืช [39] ส่วนเถ้าที่ไม่ละลายในกรด เป็นการตรวจสอบ non-volatile ที่อาจปนเปื้อนมากับตัวยา เช่น ดิน ทราย siliceous earth มักพบปนมากับรากหรือเหง้า อาจผสมมากับใบไม้ได้ด้วย โดยในตำรายาส่วนใหญ่จะไม่เกินร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ยกเว้นพืชสมุนไพรที่มี silicic acid [39] ดังนั้นจึงได้ทำการล้าง Xixin ด้วยน้ำแล้วนำไปอบให้แห้งอีกครั้ง (เพราะ Xixin เป็นสมุนไพรที่นำมาใช้ทั้งต้นจึงอาจมี หิน ดิน ทราย ติดปนมา จึงทำการล้างให้สะอาดและอบให้แห้ง) จากนั้นจึงนำไปประเมินค่าคงที่อีกครั้ง โดยหลังจากล้าง Xixin แล้วค่าปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

สำหรับปริมาณความชื้น ถ้ามีปริมาณความชื้นมากเกินไป อาจทำให้เกิดการเจริญเติบโตของเชื้อรา จุลินทรีย์ และเกิดการสลายตัวของยาได้ง่าย การวัด % loss on drying ใช้กับพืชที่ไม่มีน้ำมันหอมระเหย ถ้าพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยจะหาปริมาณความชื้น โดยการใช้วิธี Azeotropic distillation ซึ่งใช้น้ำกับชั้น toluene จะแยกกันทำให้วัดปริมาณน้ำที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรได้ เพราะน้ำมันหอมระเหยจะละลายอยู่ในชั้น toluene สำหรับการหาปริมาณสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างกันนั้น ตัวทำละลายที่ใช้ขึ้นกับคุณสมบัติของสารสำคัญและส่วนประกอบอื่นๆ ในตัวยาว่าละลายได้มากน้อยเพียงใดในตัวทำละลายนั้น เช่น water-soluble extractive จะเป็นสารจำพวก glucose, mucilage และ pectin (ตัวอย่างเช่น Shudihuang) ส่วน ethanol-soluble extractive จะเป็นสารจำพวก ketones, alcohols, ผลิก calcium oxalate [39]

สำหรับการหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยของ Xixin มีค่าน้อยกว่าที่ระบุไว้ในเกณฑ์ของเภสัชตำรับจีนนั้น จากการสอบถามแพทย์แผนจีน [5] พบว่า Xixin เป็นส่วนประกอบที่ใช้บ่อยในตำรับนี้และเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์เผ็ดร้อนใช้ไล่ความเย็นตามหลักแพทย์แผนจีนในการรักษาโรคซึ่งโรคข้อเสื่อมอาจมีสาเหตุมาจากปัจจัยภายนอก เช่น ความเย็นหรือความชื้น มากกระทบแล้วทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยจึงใช้สมุนไพรที่ฤทธิ์เผ็ดร้อนในการรักษา ซึ่งนอกจากเมืองไทยเป็นเมืองร้อนแล้วในตำรับตู้หัวจีเซิงยังมี Guizhi ซึ่งมีฤทธิ์ร้อนเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงสามารถใช้ Xixin ในปริมาณที่

น้อยลงได้หรือสามารถ Xixin ที่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่มีค่าน้อยกว่าที่ระบุไว้ตามเกณฑ์ของ เกษตรจารย์จีนได้ เนื่องจากสารสำคัญใน Xixin มักเป็นพวกน้ำมันหอมระเหยจึงไม่ต้องการฤทธิ์ของ Xixin มากตามเหตุผลข้างต้น

ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ โលหะหนัก และยาฆ่าแมลงของผง สมุนไพรตำรับตู้หัวจี้เซิงได้ผลผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานของตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ถึงแม้ว่า ค่า aerobic bacteria จะมีค่าสูงใกล้เคียงกับค่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดให้มีไม่เกิน 5×10^7 CFU (colony forming units) ต่อกรัม แต่แบคทีเรียในสมุนไพรจะถูกทำลายประมาณร้อยละ 99 เมื่อขง ด้วยน้ำเดือด [39] และในการศึกษาครั้งนี้เป็นการนำสารสกัดจากสมุนไพรมาใช้ประโยชน์แบคทีเรีย จึงถูกทำลายไปในระหว่างขบวนการสกัดที่มีการใช้ความร้อน

ดังนั้นจากผลการประเมินคุณภาพสมุนไพรจีนในตำรับตู้หัวจี้เซิงทั้ง 15 ชนิด พบว่าผ่าน ตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ในเกษตรจารย์จีนปี 2005 จึงเป็นการยืนยันว่าสมุนไพรที่นำมาใช้ไม่มีการ ปดอมปน มีประสิทธิภาพ มีคุณภาพ มีความปลอดภัย เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการเตรียมเภสัช ภัณฑ์ต่อไป

5.2 การสกัดตำรับยาตู้หัวจี้เซิง

ในการสกัดตำรับตู้หัวจี้เซิงเลือกใช้ 3 วิธี คือ วิธีแรกเป็นวิธีการต้มแบบดั้งเดิม (ทำเพื่อ ไว้อ้างอิง) ซึ่งวิธีการต้มแบบนี้มีข้อด้อย คือ ควบคุมสถานะที่ใช้ได้ยากโดยเฉพาะในเรื่องของ อุณหภูมิและอาจสูญเสียน้ำมันหอมระเหยไปบางส่วน จึงได้เลือกใช้วิธีที่ 2 คือ วิธีการรีฟลักซ์ด้วย น้ำ ซึ่งคล้ายกับวิธีการต้มแต่เป็นระบบปิด ซึ่งสามารถควบคุมสถานะการสกัดได้ง่ายและป้องกันการ สูญเสียน้ำมันหอมระเหยได้ นอกจากนั้นเพื่อเปรียบเทียบผลของการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน จึงเลือกใช้วิธีที่ 3 คือ วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยแอลกอฮอล์โดยใช้ soxhlet extractor เพราะใน ตำรับยาลูกกลอนจะมีการใช้ผงสมุนไพรเป็นส่วนประกอบในยาลูกกลอน ทำให้เมื่อรับประทานยา ลูกกลอนจะได้สารสำคัญกลุ่มที่ไม่ละลายน้ำด้วย อีกทั้งยังมีรูปแบบของยาน้ำผสมตำรับตู้หัวจี้เซิงที่ ใช้แอลกอฮอล์ในการสกัด (ภาคผนวก ก) ซึ่งสารสกัดจากแอลกอฮอล์จะมีปริมาณของสาร องค์ประกอบสำคัญที่มากกว่าสารสกัดน้ำ ทำให้อาจจะสามารถลดขนาดการให้ยาต่อครั้งลงได้

จากการสกัดตำรับตู้หัวจี้เซิงด้วย 3 วิธี ได้แก่ วิธีการต้มแบบดั้งเดิม, วิธีการรีฟลักซ์ (ทำให้ แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นหรือเครื่องทำแห้งเยือกแข็ง) และวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยตัวทำ ละลายโดยใช้ soxhlet extractor พบว่า การสกัดด้วยวิธีการรีฟลักซ์ให้ % yield ที่สูงที่สุด และเมื่อทำให้

แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งจะได้ % yield มากกว่าทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่น (ตาราง 12) โดย % yield ที่ได้จากการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นมีค่าน้อย อาจเนื่องจากสภาวะในการพ่นไม่เหมาะสมทำให้เกิดการสูญเสียในระบบมาก ในการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งจะทำให้ทราบ % yield ที่แท้จริงที่ได้จากการสกัดสารที่ถูกต้องที่สุด เพื่อจะได้คำนวณขนาดการให้ยาได้ถูกต้อง แต่การทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งจะใช้พลังงานและเวลามากกว่าทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่น แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำสารสกัดด้วยน้ำที่ทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งและที่ทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่น ไปวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่าสารสกัดน้ำที่ทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งจะให้จำนวนชนิดของสารและปริมาณของสารที่สูงกว่าสารสกัดน้ำที่ทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่น อาจเป็นเพราะสภาวะที่ใช้ในการทำให้แห้งแบบพ่นไม่เหมาะสม ทำให้สารบางชนิดสูญเสียไปในระหว่างขบวนการพ่นแห้ง จึงได้เลือกการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งหลังจากการสกัดด้วยวิธีฟลักซ์มาพัฒนาเป็นเภสัชภัณฑ์รับประทาน เพราะให้ % yield ที่สูง มีชนิดและปริมาณของสารมากกว่าการทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่น

5.3 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดน้ำและเอทานอล

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดน้ำและเอทานอล จะเห็นว่าสารสกัดน้ำมีความหนืดมากกว่าสารสกัดเอทานอล เนื่องจากการใช้น้ำในการสกัดจะสกัดเอาสารจำพวกน้ำตาลหรือเรซินออกมาทำให้สารสกัดมีความหนืดมาก

5.4 การทดสอบลักษณะลายพิมพ์นิ้วมือของสารสกัดรับประทานห้วจี่เชิงโดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีผิวบาง

จากการศึกษาลักษณะของ TLC chromatogram ของสารสกัดที่ได้จากการต้มแบบดั้งเดิม (CB) และสารสกัดน้ำที่ได้จากวิธีฟลักซ์ (CR) จะพบว่าสารสกัดทั้ง 2 แบบให้รูปแบบของ spot และค่า R_f ที่เหมือนกัน ดังนั้นการสกัดทั้ง 2 วิธีนี้ให้องค์ประกอบทางเคมีไม่แตกต่างกัน แต่อาจมีปริมาณแตกต่างกันซึ่งจะต้องตรวจสอบปริมาณสารด้วย HPLC ต่อไป และจากการศึกษาลักษณะของ TLC chromatogram ของสารสกัดน้ำที่ได้จากวิธีฟลักซ์ (CR) และสารสกัดเอทานอล (CE) พบว่าสารสกัดเอทานอลให้รูปแบบของ spot และ R_f บางตัวที่แตกต่างกับสารสกัดน้ำ ดังนั้นการสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายเอทานอลโดยใช้ soxhlet extractor สามารถสกัดได้สารชนิดเดียวกันกับการสกัดด้วยน้ำโดยใช้วิธีฟลักซ์ และยังสามารถสกัดสารออกมาได้หลายชนิดมากกว่าวิธีการสกัดด้วยน้ำโดยใช้วิธีฟลักซ์

5.5 การทดสอบลักษณะลายพิมพ์นิ้วมือของสารสกัดตำรับตู้หัวจิ้งเชิงโดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน osthole ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วย HPLC พบว่า ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร osthole จะให้ลักษณะพีคที่แคบและสูงที่สุด ดังนั้นจึงใช้ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตรในการตรวจวัด osthole โดย osthole จะให้พีคที่เวลา 33.7 นาที และให้พื้นที่ใต้พีค (peak area) ที่ใกล้เคียงกันมากในแต่ละความเข้มข้น โดยมีค่า % RSD อยู่ระหว่าง 0.05-0.67

ยาลูกกลอนตำรับตู้หัวจิ้งเชิงขนาดรับประทาน 1 วัน (24 เม็ด) นำมาสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยใช้ soxhlet extractor แล้วไปทำให้เข้มข้นด้วย rotary evaporator ได้เป็นสารสกัดเอทานอลโดยใช้ soxhlet extractor ของยาลูกกลอนตำรับตู้หัวจิ้งเชิง (CDJW) เพื่อใช้ในการคำนวณหาขนาดการให้ยาของสารสกัดน้ำที่ทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งและสารสกัดเอทานอลต่อไป

จากการวิเคราะห์สารสกัดเอทานอลโดยใช้ soxhlet extractor ของยาลูกกลอนตำรับตู้หัวจิ้งเชิง (CDJW), สารสกัดที่ได้จากการต้มแบบดั้งเดิม (CB), สารสกัดน้ำด้วยวิธีฟลักซ์หลังจากทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (CRF) และสารสกัดเอทานอล (CE) โดยใช้ HPLC พบว่าที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร ของสารสกัดทั้ง 4 ตัวอย่าง ให้พื้นที่ใต้พีคที่เวลา 33.7 นาที เท่ากับ 153501, 10616, 31293 และ 283636 uV ตามลำดับ ซึ่งเป็นที่เวลาเดียวกับสารมาตรฐาน osthole โดยจะเห็นว่าสารสกัดเอทานอลจะให้พื้นที่ใต้พีคของ osthole มากที่สุดเนื่องจาก osthole ถูกสกัดออกมาได้มากที่สุดเมื่อใช้ 95 % เอทานอล เวลา 3.6 ชั่วโมง [40]

เมื่อนำค่าพื้นที่ใต้พีคที่ได้จาก HPLC fingerprint ของสารสกัดทั้ง 4 ตัวอย่างไปคำนวณหาปริมาณ osthole เทียบกับกราฟมาตรฐาน (รูป 2.1 และ 2.2) ที่ทำไว้ข้างต้นจะได้ผลตามตาราง 30 แล้วนำมาเปรียบเทียบเพื่อคำนวณขนาดการให้ยาที่ควรได้รับต่อวัน โดยเทียบกับยา

ลูกกลอนที่ควรได้รับต่อวัน

ตาราง 30 ความเข้มข้นของ osthole ที่มีในสารสกัดแบบต่างๆ

สารสกัด	พื้นที่ใต้พีค (uV)	ความเข้มข้นของ osthole ที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน (มก./มล.)
CDJW	153501	7.14
CB	10616	Not detected
CRF	31293	1.03
CE	283636	13.65

จากขนาดการรับประทานยาลูกกลอน 1 วัน (24 เม็ด) เมื่อนำมาสกัดแล้วจะได้สารสกัด 1.83 กรัมต่อวัน เทียบเท่ากับปริมาณ osthole 1.307 มก. (วิธีคำนวณ : จาก CDJW ปริมาณ 10 มก. จะมี osthole อยู่ 7.14 มก. ถ้า CDJW ปริมาณ 1.83 ก. จะมี osthole อยู่ 1.307 มก.)

ดังนั้น หากใช้ CRF เพื่อให้ได้ขนาดการให้ยาที่มี osthole 1.307 มก. จะต้องใช้ CRF ในปริมาณ 12.62 ก. (วิธีคำนวณ : จาก CRF 9.948 มก. จะมี osthole อยู่ 1.03 มก. ถ้าต้องการ osthole 1.307 มก. จะต้องใช้ CRF เท่ากับ 12.62 ก.) และถ้าหากใช้ CE เพื่อให้ได้ขนาดการให้ยาที่มี osthole 1.307 มก. จะต้องใช้ CE ในปริมาณ 957.5 มก. (วิธีคำนวณ : จาก CE 10 mg จะมี osthole อยู่ 13.65 มก. ถ้าต้องการ osthole 1.307 มก. จะต้องใช้ CE เท่ากับ 957.5 มก.)

จากข้อมูลข้างต้นจึงนำสารสกัดน้ำที่ทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็งมาพัฒนาเป็นยาแกรนูล เพราะต้องรับประทานสารสกัดในขนาดที่สูง และนำสารสกัดเข้มข้นด้วยเอทานอลโดยใช้ชุด soxhlet มาพัฒนาเป็นยาเม็ด เพราะรับประทานสารสกัดได้ในขนาดต่ำ

5.6 การพัฒนาเภสัชภัณฑ์รับประทานห้วใจเชิง

5.6.1 การพัฒนายาแกรนูลจากสารสกัดน้ำ

จากการทดลองก่อนการตั้งตำรับแกรนูลของสารสกัดที่ทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (CRF) พบว่า เมื่อใช้ CRF กับ lactose (ใช้ lactose เป็นสารเพิ่มปริมาณ เนื่องจากต้องการแกรนูลขงที่ละลายน้ำได้ดี) ในอัตราส่วน 1: 2, 1: 2.5 จะได้ก้อนเปียกที่เหลวและแข็งเกินไปตามลำดับ เมื่อกดผ่านแรง No. 12 ได้เป็นแกรนูลที่ไม่ดีมีสีไม่สม่ำเสมอ อาจเป็นเพราะปริมาณน้ำที่ใช้และปริมาณ lactose ไม่เหมาะสม จึงทำการลดปริมาณน้ำที่ใช้ลงและปรับ

ปริมาณ lactose ตามตาราง 16 พบว่าตัวรับที่ 1 ปริมาณ lactose ที่ใช้ยังไม่เพียงพอทำให้ได้แกรนูลหลังผ่านแรง No. 16 มีสีไม่สม่ำเสมอ มีความแข็งมาก และละลายน้ำได้ไม่ดี ดังนั้นสัดส่วนของปริมาณน้ำกับปริมาณ lactose ต้องเหมาะสมกันถึงจะสามารถทำเป็นแกรนูลที่มีสีสม่ำเสมอ ละลายน้ำได้ดี จึงทำการปรับสัดส่วนของปริมาณน้ำและปริมาณ lactose ใหม่ โดยใช้น้ำให้น้อยลงและเพิ่มปริมาณ lactose มากขึ้นจนได้เป็นสูตรตัวรับที่ 2 จึงได้เป็นแกรนูลหลังผ่านแรง No. 16 ที่ละลายน้ำดี มีความแข็งไม่แตกง่ายโดยทดลองใช้ตุ้มน้ำหนักขนาด 200 กรัม ทับลงบนแกรนูลแล้วพบว่าแกรนูลไม่แตก ดังนั้นจึงเลือกตัวรับที่ 2 มาผลิตเป็นยาแกรนูล

การควบคุมคุณภาพของยาแกรนูลในด้านต่าง ๆ ใช้แนวทางการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ตามข้อกำหนดของยาผงในด้านปริมาณความชื้น ซึ่งตามมาตรฐานของเภสัชตำรับจีนความชื้นในแกรนูลไม่ควรมีค่าเกินร้อยละ 9 เพื่อป้องกันตัวยาค่าสำคัญเสื่อมสลายเนื่องจากความชื้น และป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในยา พบว่ามีความชื้นร้อยละ 2.14 จึงผ่านตามเกณฑ์มาตรฐานสำหรับการไหลมีมุมการไหล 32.41 ± 0.17 (passable) และมี % compressibility ratio 9.80 (excellent), ขนาดอนุภาคเฉลี่ยของแกรนูลเท่ากับ 656.54 ไมครอน, ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.791 ± 0.014 และมีการละลายในน้ำดี ได้สารละลายใสไม่มีตะกอน สำหรับการแปรผันของน้ำหนักแกรนูลในซองไม่ทำการทดสอบเนื่องจากในการบรรจุใส่ซองจะทำการบรรจุโดยชั่งแกรนูล 12 ± 0.01 ก. ด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่งใส่ซองที่ละซอง เมื่อวิเคราะห์แกรนูลด้วย HPLC พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้น CRF 10 มก./มล. ที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร พิกที่เวลา 33.7 นาที ให้พื้นที่ใต้พีก 76394 uV คิดเป็น osthole เท่ากับ 3.287 มก./มล. (CRF 10 มก. มี osthole อยู่ 3.287 มก. ถ้า CRF 2 ก. จะมี osthole 657.46 มก.) แกรนูล 1 ซองมี CRF 2 ก. มี osthole อยู่ 657.46 มก. ดังนั้น ถ้าต้องการ osthole 1.307 มก.ต่อวัน จะต้องรับประทานแกรนูล ประมาณ 2 ซองต่อวัน ดังนั้นยาแกรนูลจึงเป็นผลิตภัณฑ์ยาสำเร็จรูปจากสมุนไพรที่มีคุณภาพตามข้อกำหนดของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

5.6.2 การพัฒนาตำรับยาเม็ดของสารสกัดเอทานอล

การพัฒนาตำรับแกรนูลก่อนตั้งตำรับยาเม็ดได้ใช้ corn starch เป็นสารเพิ่มปริมาณ (เนื่องจาก corn starch สามารถหาได้ง่าย มีราคาถูก เป็นสารดูดซับและสารช่วยในการแตกตัวได้) ในอัตราส่วนต่างๆ แล้วใช้สารสกัดเอทานอลเป็นสารช่วยยึดเกาะซึ่งสามารถทำเป็นก้อนเปียกได้และผ่านแรงเป็นแกรนูลได้ แต่เมื่อนำไปทดลองตกเป็นเม็ดด้วยแรงตกต่าง ๆ พบว่ายาน้ำที่ที่มีความแข็งแรงและดูดความชื้นได้ง่ายสังเกตได้จากสีของเม็ดยาที่มีสีเข้มขึ้นหลังจากตกเป็นเม็ดแล้วทิ้งไว้สักพัก เนื่องจากสารสกัดจากสมุนไพรมักจะดูดความชื้นได้ง่าย ดังนั้นจึงได้ทดลองเพิ่มปริมาณ corn starch และลองใช้สารช่วยยึดเกาะชนิดต่าง ๆ มาช่วยในเรื่องของความแข็งแรงและช่วยลดการดูดความชื้น โดยการพัฒนาตำรับเริ่มจากใช้ สารสกัดเอทานอล: corn starch อัตราส่วน 1: 2.5 ใช้สารช่วยยึดเกาะเป็น PVP K30 ในน้ำ พบว่าให้เม็ดยาแข็งขึ้นเมื่อใช้ PVP K30 เพิ่มขึ้น แต่เม็ดยายังดูดความชื้นได้เร็วอยู่ จึงเพิ่มอัตราส่วน สารสกัดต่อ corn starch เป็น 1: 3 และ 1: 4 แล้วเปลี่ยนไปใช้ PVP K30 ในเอทานอล เนื่องจาก PVP K30 ละลายได้ดีมากในเอทานอลทำให้ใช้ PVP K30 ได้ปริมาณเยอะขึ้น เมื่อทดลองใช้ PVP K30 ในเอทานอลแล้วพบว่าสามารถช่วยลดการดูดความชื้นของเม็ดยาได้จึงลดปริมาณ corn starch ลง เป็น 1: 2.5 แต่ยังไม่แข็งแรงพอจึงได้ลองเปลี่ยนชนิดของสารช่วยยึดเกาะเป็น PVP K90 และ gelatin ซึ่งจะมีความหนืดเพิ่มมากขึ้นเพื่อให้ได้เม็ดยาที่แข็งขึ้น

จากกราฟ pressure-hardness profile (รูป 9) ที่แรงตก 1 ตัน จะได้ว่าตำรับที่ 7 กับ 8 ให้ความแข็งแรงที่พอเหมาะและเตรียมเป็นแกรนูลได้ง่าย โดยสารช่วยยึดเกาะที่ใช้เป็น 10 % PVP K30 และ 5 % PVP K90 ตามลำดับ สำหรับตำรับที่ 9 ถึงจะให้ความแข็งแรงมากกว่า แต่ลักษณะเม็ดยามีขอบไม่เรียบ เพราะแกรนูลยึดติดกันเองมาก สำหรับตำรับที่ 10 ใช้ 20 % gelatin เป็นสารช่วยยึดเกาะจะให้ความแข็งแรงที่ใกล้เคียงกับตำรับที่ 7 ที่แรงตก 1 ตัน แต่เนื่องจาก gelatin เป็นโปรตีนอาจเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ได้ง่าย และ corn starch มีสมบัติเกาะกันได้ไม่ดีจึงต้องการสารช่วยยึดเกาะที่มีประสิทธิภาพ ซึ่ง PVP เป็นสารช่วยยึดเกาะที่มีประสิทธิภาพแม้ใช้ในปริมาณที่น้อย โดย PVP K90 จะมีมวลโมเลกุลมากกว่า

PVP K30 จึงให้ความหนืดมากกว่าเมื่อใช้ในปริมาณที่เท่ากัน ดังนั้นจึงเลือกตัวรับที่ 7 และ 8 ที่ใช้ 10 % PVP K30 และ 5 % PVP K90 ในเอทานอล มาพัฒนาตำรับยาเม็ด แล้วนำมาประเมินคุณภาพของแกรนูลในด้านการไหลรวมทั้งยาเม็ดในด้านของความกร่อนและความแข็ง พบว่าการใช้ 5 % PVP K90 ในเอทานอลให้ยาเม็ดที่ดีกว่า 10 % PVP K30 ในเอทานอล ในด้านของความกร่อนและให้ความแข็งที่เหมาะสม แต่ยังคงความชื้นอยู่เล็กน้อยจึงเพิ่มปริมาณ corn starch เป็น 3 เท่าของ CE ได้เป็นสูตรตัวรับที่ 11 พบว่า มีความแข็งเพิ่มขึ้นแต่ก็ยังดูความชื้นและระยะเวลาการแตกตัวของเม็ดยานาน ดังนั้นจึงเลือกสูตรตัวรับที่ 8 เป็นสูตรตัวรับที่เหมาะสมที่สุดเนื่องจากให้เม็ดยาที่ลักษณะเนียนสวย ไม่แตกกร่อน มีความแข็งเพียงพอ มาผลิตเป็นยาเม็ดสารสกัดเข้มข้นด้วยเอทานอลแล้วนำมาควบคุมคุณภาพในด้านต่าง ๆ ตามแนวทางการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรและแนวทางการตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการผลิตยาในรูปแบบของแข็ง [41]

ผลการควบคุมคุณภาพของยาเม็ดจากสารสกัดเอทานอล (ตาราง 24 และ 25) พบว่า ยาเม็ดที่ได้มีน้ำหนักเม็ดยาต่ำสุดและสูงสุดที่ได้เท่ากับ 0.9713 และ 1.0196 กรัม ตามลำดับ โดยช่วงน้ำหนักมาตรฐาน $\pm 5\%$ มีค่าเท่ากับ 0.9501 ถึง 1.0501 กรัม ดังนั้นการแปรผันของน้ำหนักเม็ดยาอยู่ในช่วงที่กำหนดในเกสซ์ตำรับของประเทศสหรัฐอเมริกา (ค่าเฉลี่ย $\pm 5\%$) และในประเทศไทยตามแนวทางการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาจากสมุนไพรจะกำหนดให้ยาเม็ดแผนโบราณที่ดกอัดตามกรรมวิธีการผลิตยาแผนปัจจุบันมีค่าอยู่ในช่วง น้ำหนักเม็ดยาที่ขึ้นทะเบียนไว้ $\pm 15\%$ สำหรับความกร่อนของเม็ดยาที่ได้นั้นมีค่าไม่ถึง 1 % และเวลาในการแตกตัวของเม็ดยามีค่าน้อยกว่า 30 นาที เมื่อวิเคราะห์ยาเม็ดสารสกัดเอทานอล (10 มก./มล.) ด้วย HPLC พบว่าที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร พิกที่เวลา 33.7 นาที ให้พื้นที่ได้พิก 660227 uV คิดเป็น osthole 32.479 มก./มล. (CE 10 มก. ให้ osthole 32.479 มก. ถ้า CE 250 มก. จะให้ osthole 812 มก.) ดังนั้นถ้าต้องการ osthole 1.307 มก.ต่อวันจะต้องรับประทานยาเม็ดสารสกัดเอทานอลประมาณวันละ 2 เม็ด ดังนั้นยาเม็ดจากสารสกัดเอทานอลจึงเป็นผลิตภัณฑ์ยาสำเร็จรูปจากสมุนไพรที่มีคุณภาพตามข้อกำหนดของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

5.7 การทดสอบความคงสภาพของเอกลักษณ์ตำรับคู่หัวจีเซิง

จากการศึกษาความคงสภาพของแกรนูล CRF ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 % วันที่ 30, 60 และ 90 พบว่าลักษณะปรากฏไม่เปลี่ยนแปลง แต่ความชื้นและความเป็นกรด-ด่างของแกรนูลมีแนวโน้มลดลง สำหรับ HPLC fingerprint ของแกรนูลที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 % วันที่ 30, 60 และ 90 ณ ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร มีลักษณะของ fingerprint ไม่เปลี่ยนแปลง แต่มีพื้นที่ใต้พีคลดลงเมื่อเวลาผ่านไป สำหรับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 % วันที่ 30, 60 และ 90 พบว่าลักษณะปรากฏของแกรนูลมีสีเข้มขึ้นกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 % ความชื้นและความเป็นกรด-ด่างของแกรนูลมีแนวโน้มลดลง สำหรับ HPLC fingerprint ของแกรนูลที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 % วันที่ 30, 60 และ 90 ณ ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร มีลักษณะของ fingerprint ไม่เปลี่ยนแปลง แต่มีพื้นที่ใต้พีคลดลงเมื่อเวลาผ่านไป การที่แกรนูลมีลักษณะสีเข้มขึ้นอาจเนื่องจาก lactose อาจกลายเป็นสีน้ำตาลได้เมื่อถูกเร่งด้วยความร้อนและความชื้น [42] สำหรับปริมาณของ osthole ที่มีอยู่ในแกรนูลที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 % และ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 % ณ เวลา 90 วัน ลดลงเหลือ 89.94 % และ 64.43 % ตามลำดับ ซึ่งปริมาณ osthole ในยาแกรนูลเหลือน้อยกว่า 90 % หลังจากผ่านไป 90 วัน จึงเป็นไปได้ว่าของลามีเนตที่ใช้บรรจุยาแกรนูลไม่สามารถป้องกันความร้อนและความชื้นได้ดีพอจึงทำให้ปริมาณของ osthole ในแกรนูลลดลง ดังนั้นจึงควรเปลี่ยนภาชนะบรรจุในการบรรจุยาแกรนูลโดยเลือกภาชนะบรรจุที่ป้องกันความร้อนและความชื้นได้ดีขึ้น

จากการศึกษาความคงสภาพของยาเม็ด CE ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 % วันที่ 30, 60 และ 90 พบว่าลักษณะปรากฏไม่เปลี่ยนแปลง ความชื้นในยาเม็ดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเวลาผ่านไป ความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มลดลง ความแข็งมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อเวลาผ่านไป เวลาในการแตกตัวไม่เปลี่ยนแปลง สำหรับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 % วันที่ 30, 60 และ 90 ได้ผลเช่นเดียวกับที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 % คือความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนความเป็นกรด-ด่าง และความแข็งมีแนวโน้มลดลง สำหรับ HPLC fingerprint ที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร ลักษณะของ fingerprint ไม่เปลี่ยนแปลง แต่พื้นที่ใต้พีคมีแนวโน้มลดลงเมื่อเวลาผ่านไป สำหรับปริมาณของ

osthole ที่มีอยู่ในยาเม็ดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65 % และ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 % ณ เวลา 90 วัน ลดลงเหลือ 98.64 % และ 95.25 % ตามลำดับ ซึ่งถ้าระดับของตัวยาสำคัญยังมีเหลืออยู่มากกว่า 90 % ถือว่ายายังมีความคงสภาพดีอยู่ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าขวดแก้วที่ใช้บรรจุยาเม็ดสามารถป้องกันความร้อนและความชื้นได้ดีทำให้ยาเม็ดมีความคงสภาพดีแม้อยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิและความชื้นสูง

5.8 การทดสอบความพึงพอใจของเภสัชภัณฑ์ตำรับตู้หัวจีเซิง

การวิเคราะห์ข้อมูลจากแบบสอบถามความพึงพอใจของเภสัชภัณฑ์ตำรับตู้หัวจีเซิงใช้โปรแกรม SPSS ในการวิเคราะห์ข้อมูลโดยเลือกใช้สถิติแบบนอนพารามेटริก เนื่องจากข้อมูลระดับความพึงพอใจเป็นข้อมูลแบบอันตรภาค (interval data) ซึ่งเป็นข้อมูลที่บอกถึงความแตกต่างระหว่างค่าที่วัดได้แต่ละช่วงที่มีความห่างเท่ากันทุกช่วง เป็นข้อมูลที่เป็นตัวเลข สามารถบวก ลบ กันได้ แต่ไม่มีศูนย์แท้ อีกทั้งข้อมูลที่นำมาใช้ในสถิติแบบนอนพารามेटริกไม่จำเป็นต้องมีข้อตกลงเบื้องต้นเกี่ยวกับลักษณะการแจกแจงของตัวแปรในประชากร ไม่เหมือนกับสถิติพารามेटริกที่ต้องมีข้อตกลงเบื้องต้นเกี่ยวกับลักษณะของประชากรมากมาย เช่น กลุ่มตัวอย่างจะต้องสุ่มมาจากประชากรที่มีการกระจายเป็นปกติ กลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่มต้องเป็นอิสระจากกัน กลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่มจะต้องได้มาจากประชากรที่มีความแปรปรวนเท่ากัน เป็นต้น ซึ่งถ้าข้อมูลที่นำมาทดสอบไม่ปฏิบัติตามข้อตกลงจะทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์และการแปลผล แต่สถิตินอนพารามेटริกจะไม่มีข้อจำกัดเกี่ยวกับการแจกแจง ใช้กับข้อมูลระดับใดก็ได้ กลุ่มตัวอย่างได้มาจากการสุ่มหรือไม่ก็ได้ ใช้กับกลุ่มตัวอย่างขนาดใดก็ได้ ดังนั้นจึงเลือกใช้สถิตินอนพารามेटริกในการวิเคราะห์ความพึงพอใจของเภสัชภัณฑ์ตำรับตู้หัวจีเซิง โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำแนก 2 ทางแบบนอนพารามेटริก เพราะกลุ่มตัวอย่างมี 3 กลุ่ม คือ ลูกกลอน ยาแกรนูล และยาเม็ด

จากผลการศึกษาความพึงพอใจของเภสัชภัณฑ์ตำรับตู้หัวจีเซิง พบว่า ผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงมีอายุ 31-40 ปี มีสถานภาพสมรส มีระดับการศึกษาปริญญาตรี อาชีพกิจการส่วนตัว มีรายได้มากกว่า 20000 บาท เคยใช้ผลิตภัณฑ์ยาจिनรูปแบบลูกกลอน มีระดับความพึงพอใจต่อสีและกลิ่นของรูปแบบยา ลูกกลอน ยาแกรนูล และยาเม็ดไม่แตกต่างกัน มีความพึงพอใจต่อความสะดวกในการใช้ของยา ลูกกลอนมากกว่ายาแกรนูล ส่วนยา ลูกกลอนกับยาเม็ด และ

ยาแกรนูลกับยาเม็ดมีความพึงพอใจต่อความสะดวกในการใช้ไม่แตกต่างกัน มีความพึงพอใจโดยรวมต่อยาลูกกลอนมากกว่ายาแกรนูล ส่วนยาลูกกลอนกับยาเม็ดและยาแกรนูลกับยาเม็ดมีความพึงพอใจไม่แตกต่างกัน มีความพึงพอใจต่อยาลูกกลอนมากกว่ายาแกรนูล ส่วนยาลูกกลอนกับยาเม็ดและยาแกรนูลกับยาเม็ดมีความพึงพอใจไม่แตกต่างกัน มีความเชื่อมั่นในด้านคุณภาพและด้านการบริโภคในแต่ละรูปแบบไม่แตกต่างกัน ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของยาลูกกลอน ยาแกรนูล และยาเม็ดไม่แตกต่างกันมาก อาจเนื่องจากจำนวนตัวอย่างไม่มากเพียงพอ อีกทั้งกลุ่มผู้ตอบแบบสอบถามเป็นกลุ่มที่เคทานยาลูกกลอนเป็นส่วนใหญ่ จึงมีความเคยชินในรูปแบบยาลูกกลอนมาก ทำให้ผลการวิเคราะห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน