การตรวจวิเคราะห์คุณภาพยาจากสมุนไพรตามมาตรฐาน

THAI HERBAL PHARMACOPOEIA (THP)

ภญ. ดร. กรวิกา จารุพันธ์
กลุ่มจัดทำตำรายาของประเทศไทย
สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ณ โรงแรมทีค การ์เด้น สปา รีสอร์ท จังหวัดเชียงราย

วันที่ 28 มกราคม 2559

สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ภารกิจตามกฎหมาย เป็นหน่วยงานหลักที่มีหน้าที่เป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้านยาและวัตถุเสพติด

- พัฒนาระบบ และกำหนดมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์
- ตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ
- ศึกษา วิเคราะห์ วิจัย
- **พัฒนาการจัดทำตำรายาของประเทศไทย** (Thai Pharmacopoeia, TP และ Thai Herbal Pharmacopoeia, THP)
- พัฒนาคุณภาพห้องปฏิบัติการ

ตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย
(Thai Herbal Pharmacopoeia,THP)

- THP เป็นตำราที่เกี่ยวกับข้อกำหนดมาตรฐานยาสมุนไพรที่เป็นวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์

สถานะทางกฎหมาย

- ตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia, THP) เป็นตำรายาตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่องระบุตำรายา พ.ศ. 2556
- ประกาศ โดยอาศัยอำนาจตามความในมาตรา 76(1) แห่งพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติยา (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2522 และมาตรา 78 แห่งพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510
- รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข โดยคำแนะนำของคณะกรรมการยา ออกประกาศดังกล่าว

kornvika charupant, Ph.D.

การจัดทำตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย

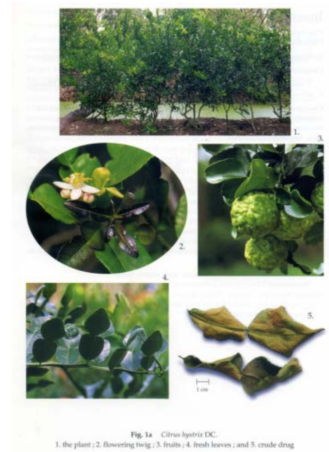
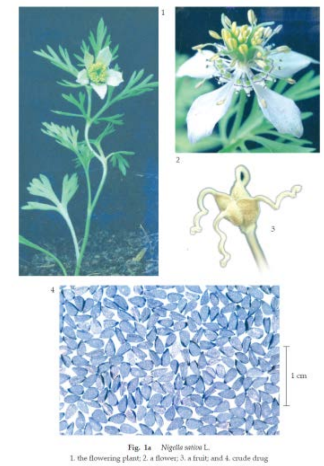
Establishment of Thai Herbal Pharmacopoeia, THP

วัตถุประสงค์

- เพื่อเป็นมาตรฐานที่ใช้เป็นเกณฑ์ตัดสินคุณภาพยาสมุนไพร
- เพื่อใช้เป็นตำราสำหรับอ้างอิงตามกฎหมาย
- เพื่อสนับสนุนธุรกิจยาสมุนไพร
- เพื่อเป็นคู่มือสำหรับผู้มีหน้าที่ควบคุณภาพยาสมุนไพร ผู้ถือกฎหมายบุคลากรทางการศึกษา ผู้ประกอบธุรกิจที่เกี่ยวข้องและอื่นๆ

Thai Herbal Pharmacopoeia, THP





49 มอโนกราฟ (วัตถุดิบยาสมุนไพร 46 ตัวยา และยาเตรียมสมุนไพร 3 ตำรับ)

ตำรา	รายชื่อวัตถุดิบยาสมุนไพร	รายชื่อยาเตรียมสมุนไพร	หมายเหตุ
THP Volume I 1995	บอระเพ็ด ชุมเห็ดเทศ ฟ้าทะลาย กระเพราแดง ขมิ้นชัน มะแว้งเครือ ไพล พริกไทยดำ พริกไทยล่อน สวาด ตานหม่อน	–	พิมพ์เพิ่มอีก 2 ครั้งในปี 1998 และ 2009
THP Volume II 2000	ดีปลี กระเทียม หมากสง ใบมะกรูด ผิวมะกรูด มะขามป้อม พลู สมอพิเภก สมอไทย ว่านน้ำ	–	พิมพ์เพิ่มอีก 1 ครั้งในปี 2007
Supplement to THP 2004	บัวบก ขมิ้นอ้อย	ยาชงชุมเห็ดเทศ ยาแคปซูลฟ้าทะลาย ยาแคปซูลขมิ้นชัน	พิมพ์เพิ่มอีก 1 ครั้งในปี 2007
THP Volume III 2009	ชุมเห็ดไทย ขมิ้นเครือ กระชายดำ เทียนแดง เทียนดำ เทียนขาว เทียนข้าวเปลือก เทียนเกล็ดหอย เทียนตาตั๊กแตน เทียนเยาวพาณี หญ้าหนวดแมว	–	–
Supplement to THP 2011	พญายอ ใบช้าพลู	–	–
THP Volume IV 2014	ใบรางจืด จันทน์ขาว จันทน์แดง ลักจั่น เทียนสัตตบุษย์ เทียนตากบ บุนนาค เพชรสังฆาต เกสรบัวหลวง ดอกพิกุล	–	–

วัตถุดิบยาสมุนไพร

(Herbal Drug)

Monograph of Herbal Drug

Nomenclature

บุนนาค (BUNNAK)

Mesuae Ferreae Flos

Ironwood Flower

Synonyms Ceylon Ironwood Flower; Indian Rose Chestnut Flower; Cobra's Saffron Flower

Category

Category Cardiotonic; antipyretic.

Definition

Ironwood Flower is the dried blooming flower of *Mesua ferrea* L.; Herbarium Specimen Number: DMSC 5165, BKF 166239; Crude Drug Number: DMSc 0763 (Family Clusiaceae).

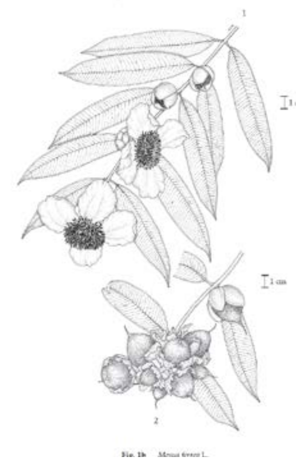
Constituents

Constituents Ironwood Flower contains 4-phenylcoumarins, biflavonoids, chromones, triterpenes, volatile oil, oleoresin, etc.

kornvika charupant, Ph.D.

Description of the plant

บรรยายลักษณะของสมุนไพร



Description บรรยายลักษณะกลิ่น รส ของเครื่องยาสมุนไพร

Macroscopical Description บรรยายลักษณะมหทรรศน์ของเครื่องยา

Microscopical Description บรรยายลักษณะ histology ของยาสมุนไพรภายใต้กล้องจุลทรรศน์

kornvika charupant, Ph.D.

Transverse section

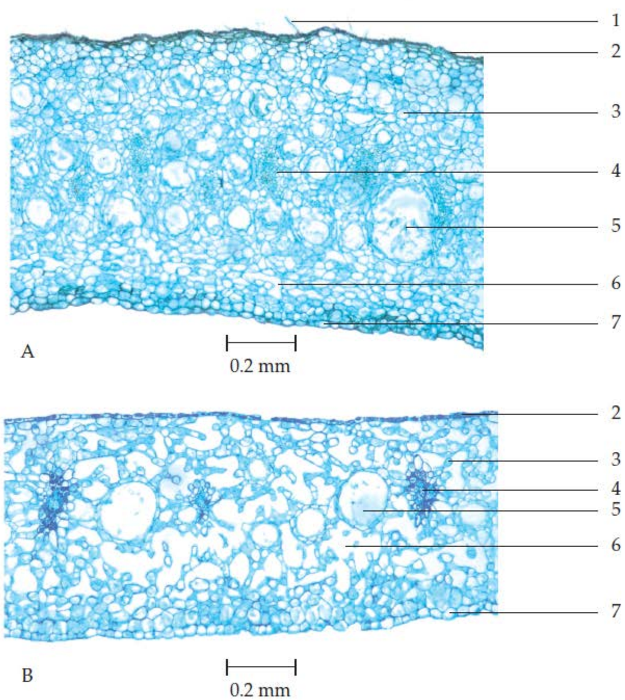


Fig. 2a Photomicrographs of Transverse Section of the Flower of *Mesua ferrea* L., Stained with Safranin-Fast Green

A. Sepal
B. Petal

1. unicellular trichome
2. upper epidermis
3. parenchyma
4. vascular bundle
5. resin duct
6. air space
7. lower epidermis

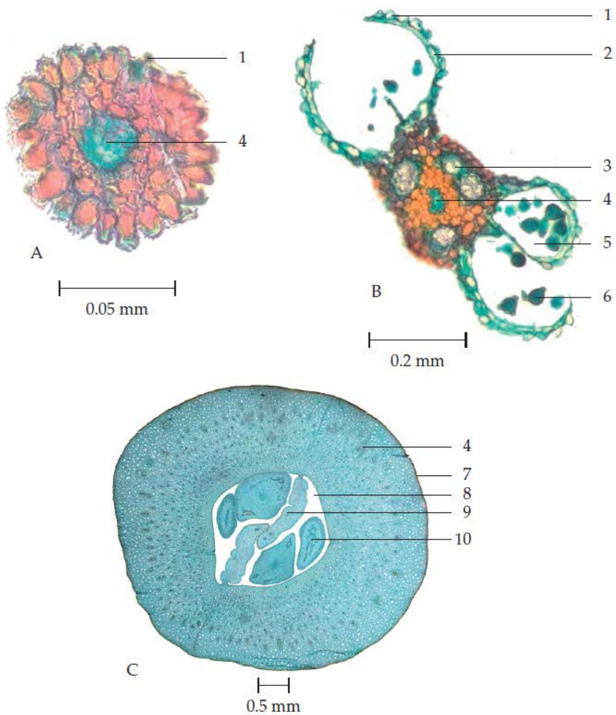


Fig. 2b Photomicrographs of Transverse Section of the Flower of *Mesua ferrea* L., Stained with Safranin-Fast Green

A. Filament
B. Anther
C. Ovary

1. epidermal cell with papilla
2. fibrous layer of pollen sac
3. resin duct
4. vascular bundle
5. pollen sac
6. pollen grain
7. epidermis of ovary wall
8. locule
9. septum
10. ovule

kornvika charupant, Ph.D.

Powdered drug

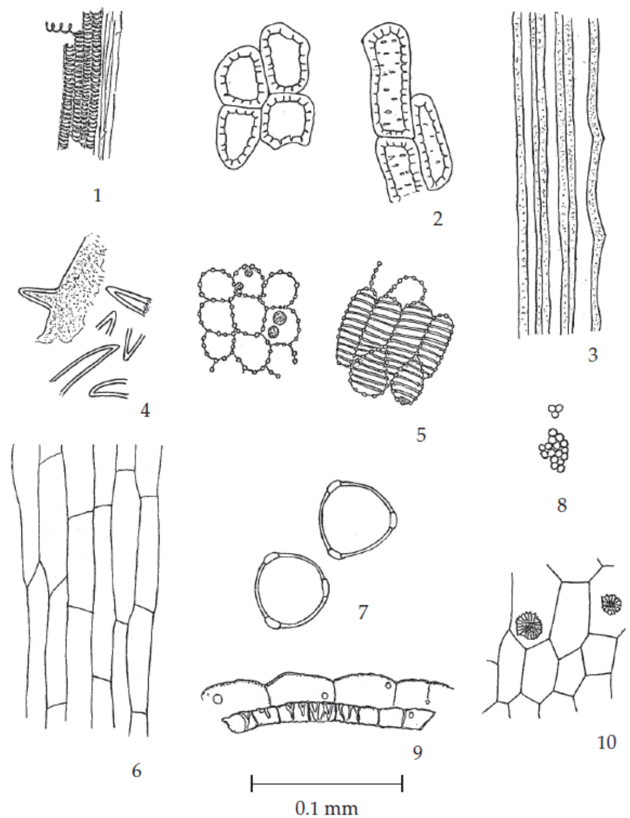
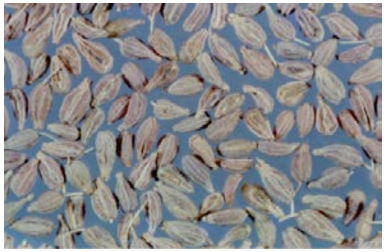


Fig. 2c Powdered Drug of the Flowers of *Mesua ferrea* L.

1. fragment of spiral vessels and fibres
2. sclereids
3. fibres
4. unicellular trichomes of sepal
5. fragments of fibrous layer of pollen sac in different views, some containing oil globules
6. fragment of filament showing elongated epidermal cells
7. pollen grains
8. starch grains
9. part of pollen sac in sectional view with epidermal layer and underlying fibrous layer
10. fragment of sepal showing parenchyma cells and rosette aggregates

Identification

Pimpinellae Anisi Fructus



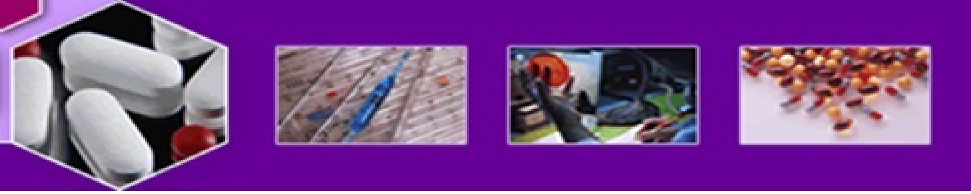
Identification

A. Boil 500 mg of the sample, in powder, with 10 ml of *water* in a water-bath for 10 minutes and filter. To 2 ml of the filtrate, add 1 or 2 drops of a 1 per cent w/v solution of *iron(III) chloride*: a greenish brown colour develops.

B. Mix 1 g of the sample, in powder, with 3 ml of *ethanol*, shake for 5 minutes and filter. To 1 ml of the filtrate, add 1 ml of *dinitrophenylhydrazine TS1*: an orange-yellow solution is produced.

C. Add 5 ml of *chloroform* to 500 mg of the sample, in powder, shake well, set aside for 30 minutes, and filter. Allow 0.1 ml of the filtrate to dry and add a few drops of a 5 per cent w/v solution of *vanillin* in *sulfuric acid*: a reddish brown colour develops and changes to red and to purple, consecutively.

D. Carry out the test as described in the "Thin-layer Chromatography" (Appendix 3.1), using *silica gel GF254* as the coating substance and a mixture of 90 volumes of *toluene* and 10 volumes of *ethyl acetate* as the mobile phase. Apply separately to the plate 2 µl of each of solutions (A), (B) and (C). Prepare solution (A) by shaking 2 g of sample, in *fine powder*, with 5 ml of *ethyl acetate* for 3 minutes and filtering. For solution (B), add 5 µl of *anethole* to 1 ml of *ethyl acetate* and mix. For solution (C), add 2 µl of *olive oil* to 1 ml of *ethyl acetate* and mix. After removal of the plate, allow it to dry in air and examine under ultraviolet light (254 nm), marking the quenching spots. The chromatogram obtained from solution (A) shows a quenching spot (hR_f value 65 to 66), corresponding to the anethole spot from solution (B). Spray the plate with *vanillin-sulfuric acid TS* and heat at 110° for 10 minutes; the spot due to anethole is brownish purple. One violet spot (hR_f value 74 to 76) corresponds to the triglycerides of olive oil from solution (C). Several other violet spots are also observed (Table 1); see also Fig. 3.



Identification

Table 1 hR_f Values of Components in Ethyl Acetate Extract of the Fruits of *Pimpinella anisum* L.

Spot	hR_f Value	Detection	
		UV 254	*Vanillin-Sulfuric Acid TS*
1	1-3	–	violet
2	10-12	quenching	pale violet
3	15-17	weak quenching	violet
4	19-20	–	pale violet
5	23-24	–	pale violet
6	30-31	–	pale violet
7	32-33	–	pale violet
8	41-42	weak quenching	–
9	47-49	–	violet
10	57-58	weak quenching	pale violet
11*	65-66	quenching	brownish purple
12**	74-76	–	violet

*anethole

**triglycerides of olive oil

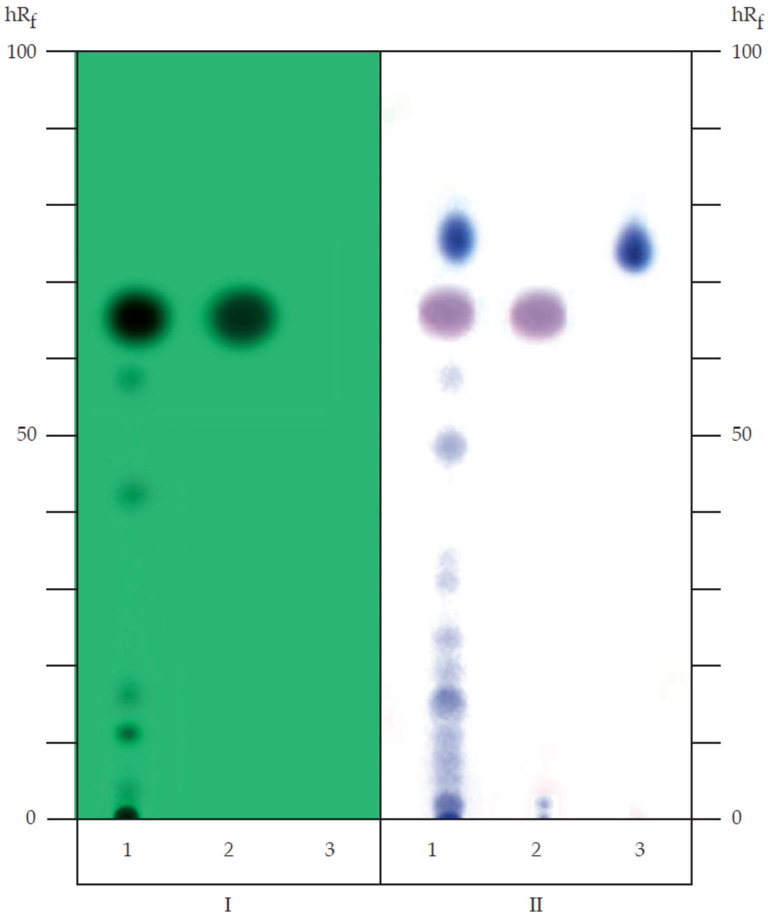


Fig. 3 Thin-layer Chromatogram of Ethyl Acetate Extract of the Fruits of *Pimpinella anisum* L.
1 = solution (A)
2 = solution (B)
3 = solution (C)
I = detection under UV light (254 nm)
II = detection with *vanillin-sulfuric acid TS*

Test

- Loss on drying or Water content
  การหาปริมาณความชื้นในสมุนไพร

- Foreign matter
  ชิ้นส่วนอื่นๆ ของสมุนไพรที่ไม่ได้ใช้เป็นยา รวมถึงกรวด ชิ้นส่วนของแมลง เป็นต้น

- Total ash, Acid-insoluble ash
  การหาปริมาณสิ่งปนปลอมโดยการเผาผงยาจนเป็นเถ้า

kornvika charupant, Ph.D.

Test

- Extractives

  การหาปริมาณสารสกัดที่ได้จากสมุนไพร โดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน

  - Water-soluble extractive
  - Ethanol-soluble extractive
  - Chloroform-soluble extractive
  - Hexane-soluble extractive

Assay

การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสมุนไพร ที่เป็นส่วนประกอบหลัก

Quantitative determination

Alkaloid content

Fig. 1a *Piper retrofractum* Vahl
1. the plant ; 2. flowering twig ; 3. ripening fruit-spikes ; 4. ripe fruit-spike ; and 5. crude drug

Alkaloids content Not less than 2.5 per cent w/w of alkaloids, calculated as piperine, when determined by the following method. (**Note** Use light-resistant glassware to reduce photodegradation of piperine in solution.)

Standard piperine solution Dissolve about 10 mg of *piperine*, accurately weighed, in sufficient *1,2-dichloroethane* to produce 100.0 ml.

Standard piperine curve Transfer into six 100-ml volumetric flasks, 1, 2, 3, 4, 5, and 6 ml, respectively, of *Standard piperine solution*, dilute to volume with *1,2-dichloroethane*, and mix. Measure the absorbances of the standard solutions relative to the blank at 342 nm (Appendix 2.2). Plot the readings and draw the curve of best fit.

Procedure Place about 500 mg of Java Long Pepper, in *No. 180 powder* and accurately weighed, in a soxhlet apparatus. Add a sufficient quantity of *1,2-dichloroethane* and extract, until complete extraction of the alkaloids is effected (Appendix 7.4). Transfer the dichloroethane extract to a 100-ml volumetric flask and dilute with *1,2-dichloroethane* to volume. Transfer 2.0 ml of this solution to a 100-ml volumetric flask and dilute with *1,2-dichloroethane* to volume. Measure the absorbance of the resulting solution, and by reference to the Standard piperine curve, calculate the content of alkaloids as piperine in the sample.

Volatile oil content

- การกำหนดปริมาณน้ำมันหอมระเหยเป็นการควบคุมคุณภาพสมุนไพรอีกวิธีหนึ่ง
- กลั่นสมุนไพรกับน้ำ
- เก็บของเหลวที่กลั่นได้ในหลอดแก้ววัดปริมาตร (graduated tube)
- xylene หรือ decaline

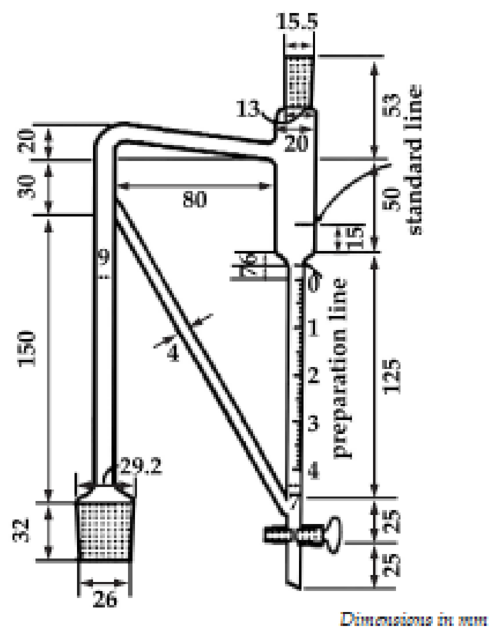


Fig. 1

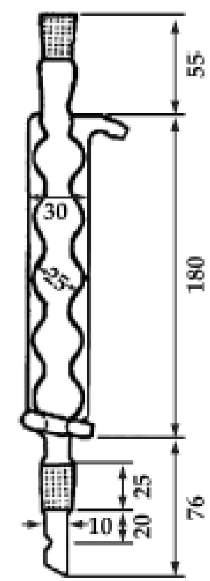


Fig. 2

Monograph of Herbal Drug (continued)

Contra-indication

Warning

Precaution

Additional information

Packaging and storage

Dose

kornvika charupant, Ph.D.

ยาเตรียมสมุนไพร

(Herbal Drug Preparation)

ข้อกำหนดมาตรฐาน

"Monograph of Herbal drug preparation"

- Name of herbal preparation
- Category
- Definition
- Strength available
- Dose
- Warning
- Packaging and storage
- Labelling

ยาชงชุมเห็ดเทศ (YAA CHONG CHUMHETTHET)

Cassia Alata Tea

Category Laxative.

Cassia Alata Tea contains an amount of powdered Cassia Alata Leaf equivalent to not less than 90.0 per cent and not more than 110.0 per cent of the labelled content of hydroxyanthracene derivatives, calculated as rhein-8-glucoside.

Strength available 3 g (powder), supplied in a sachet.

Dose One or two sachets, prepared as an infusion by soaking each with 120 ml of boiling water for 10 minutes, once a day at bedtime.

Warning It should be used with caution in children under 12 years of age.

Packaging and storage Cassia Alata Tea should be kept in well-closed containers, protected from light.

Labelling The label on the container states (1) the equivalent amount of hydroxyanthracene derivatives, calculated as rhein-8-glucoside; (2) expiration date.

ข้อกำหนดมาตรฐาน “Monograph of Herbal drug preparation”

- Identification
- Loss on drying
- Microbial limit
- Assay
- Other requirements

Identification

1. The tea contents exhibit diagnostic structures of the powdered drug described under *Chumhetthet.*

2. The tea contents comply with the tests for Identification A and B described under *Chumhetthet.*

Loss on drying Of the tea contents, not more than 11.0 per cent w/w after drying at 105° for 5 hours (Appendix 4.15).

Microbial limit Complies with the requirements for Category 5 in the “Limits for Microbial Contamination” (Appendix 10.5).

Assay Grind the contents of not less than 20 sachets of Cassia Alata Tea to *fine powder*. Transfer about 150 mg, accurately weighed, to a 100-ml round-bottomed flask. Add 30.0 ml of *water*, mix, weigh, and place in a water-bath. Heat under a reflux condenser for 15 minutes. Allow to cool, weigh and adjust to the original weight with *water*. Centrifuge and transfer 20.0 ml of the supernatant liquid to a 150-ml separator. Add 0.1 ml of 2 M *hydrochloric acid* and shake with three 15-ml portions of *chloroform*. Allow to separate and discard each chloroform layer. Add 100 mg of *sodium hydrogencarbonate* and shake for 3 minutes. Centrifuge and transfer 10.0 ml of the supernatant liquid to a 100-ml round-bottomed flask. Add 20 ml of a 10.5 per cent w/v solution of *iron(III) chloride* and mix. Heat for 20 minutes under a reflux condenser in a water-bath with its water level above that of the liquid in the flask, add 1 ml of *hydrochloric acid* and heat for a further 20 minutes with frequent shaking, to dissolve the precipitate. Cool, transfer the mixture to a separator and shake with three 25-ml portions of *ether* previously used to rinse the flask. Combine the ether layers and wash with two 15-ml portions of *water*. Transfer the ether layers to a 100-ml volumetric flask and dilute with *ether* to volume. Evaporate 25.0 ml carefully to dryness at a low temperature and dissolve the residue in 10.0 ml of a 0.5 per cent w/v solution of *magnesium acetate* in *methanol*. Measure the absorbance of this solution at the maximum at about 515 nm (Appendix 2.2), using the magnesium acetate solution as the blank. Calculate the quantity, in mg, of rhein-8-glucoside in the sample taken by the formula:

$$(446.37/284.22)\,(1200A/440),$$

in which 446.37 and 284.22 are the molecular weights of rhein-8-glucoside and rhein, respectively, *A* is the absorbance of the solution at 515 nm and 440 is the specific absorbance.

Other requirements Complies with the requirements described under “Herbal Teas” (Appendix 1.16H).

Contaminationsในสมุนไพร

- การปนเปื้อนจากสิ่งมีชีวิตทางชีวภาพ (biological contamination) ได้แก่ การปนเปื้อนจุลินทรีย์ (microbial contamination) การปนเปื้อนปรสิต (parasitic contamination) เป็นต้น
- การปนเปื้อนสารเคมี (chemical contamination) ได้แก่ สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxins) โลหะและธาตุที่ไม่ใช่โลหะที่เป็นพิษ (toxic metals and non-metals) สิ่งตกค้างของสารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ (pesticide residues, Appendix 7.22H in THP) การปนเปื้อนของสารกัมมันตรังสี (radioactive contamination) เป็นต้น

ดิน

Bacillus,

Clostridium botulinum,

Moulds (*Aspergillus*)

มนุษย์

อุจจาระ

Salmonella typhi,

E. coli

เส้นผม, แผล, เยื่อเมือก

Staphylococcus aureus

สาเหตุการปนเปื้อน
จุลินทรีย์

มูลสัตว์

Clostridium perfringens,

Salmonella, Parasite,

Virus

ราก, เหง้า -ปนเปื้อนด้วย mould และ spore-forming bacteria จากดิน

ดอก, ใบ -พื้นผิวกว้าง พบปริมาณจุลชีพสูง

10.5 LIMITS FOR MICROBIAL CONTAMINATION

Table 2 Acceptance Criteria for Microbiological Quality of Herbal Drug Preparations

Category	Types	Requirements[*]
1	Preparations from crude drug extracts which underwent a process for reduction of micro-organisms.	
	A. Preparations for oral use.	- Total aerobic microbial count: not more than 5 x 10^3 CFU per g or per ml and total combined yeasts and moulds count: not more than 5 x 10^2 CFU per g or per ml. - Bile-tolerant gram-negative bacteria: not more than 10^2 probable number of bacteria per g or per ml. - Absence of *Escherichia coli* per g or per ml. - Absence of *Salmonella* spp. per 10 g or per 10 ml.
	B. Topical preparations for intact skin.	- Total aerobic microbial count: not more than 5 x 10^3 CFU per g or per ml and total combined yeasts and moulds count: not more than 5 x 10^1 CFU per g or per ml. - Absence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* per g or per ml.

[*] Carry out the tests as described in the "Microbial Limit Tests" (Appendix 10.2).

kornvika charupant, Ph.D.

Category	Types	Requirements*
2	Preparations of crude drugs and mixtures of crude drugs for internal use which will undergo a process for reduction of microbial count before use (e.g., by pouring boiling water over them).	- Total aerobic microbial count: not more than 5×10^7 CFU per g or per ml and total combined yeasts and moulds count: not more than 5×10^5 CFU per g or per ml. - Absence of *Escherichia coli* and *Clostridium* spp. per g or per ml. - Absence of *Salmonella* spp. per 10 g or per 10 ml.
3	Preparations of crude drugs and mixtures of crude drugs for external use.**	- Total aerobic microbial count: not more than 5×10^7 CFU per g or per ml and total combined yeasts and moulds count: not more than 5×10^5 CFU per g or per ml. - Absence of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Clostridium* spp. per g or per ml.

**The examples are LUKPRAKHOP (herbal compress), YAPHOK (herbal poultice).

Category	Types	Requirements*
4	Other preparations for internal use containing whole or ground crude drugs.	- Total aerobic microbial count: not more than 5×10^5 CFU per g or per ml and total combined yeasts and moulds count: not more than 5×10^4 CFU per g or per ml. - Bile-tolerant gram-negative bacteria: not more than 10^3 probable number of bacteria per g or per ml. - Absence of *Escherichia coli* and *Clostridium* spp. per g or per ml. - Absence of *Salmonella* spp. per 10 g or per 10 ml.

*Carry out the tests as described in the "Microbial Limit Tests" (Appendix 10.2).

Other requirements

Dosage forms

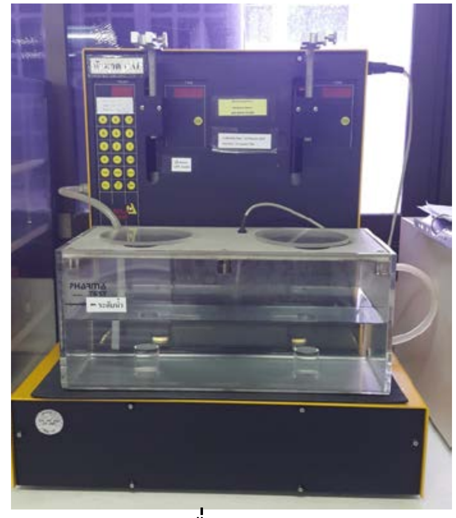
- Capsules

  Disintegration/Dissolution

  Weigh variation

- Herbal Teas

  Weigh variation




ตัวอย่าง เครื่องทดสอบการแตกตัว

ตัวอย่าง เครื่องทดสอบการละลาย

kornvika charupant, Ph.D.

ขอบคุณค่ะ

Kornvika.c@dmsc.mail.go.th