

ฟ้าทะลายโจรต่อเชื้อโควิด-19

จากเหตุการณ์การระบาดของโรคปอดอักเสบที่อุ่ฮั่น สาธารณรัฐประชาชนจีนตั้งแต่วันที่ 3 มกราคม 2563 สาเหตุจากเชื้อไวรัสชนิดโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 และพบการแพร่เชื้อจากคนสู่คน ปัจจุบันพบผู้ป่วยติดเชื้อในทุกรัฐ และพบผู้ป่วยยืนยันในหลายประเทศ สถานการณ์ทั่วโลกพบผู้ป่วยในเกือบทุกทวีป โดยประเทศที่มีจำนวนผู้ป่วยสูงสุดและพบการเสียชีวิตสูงสุดตามข้อมูลจากองค์การอนามัยโลกในวันที่ 1 มีนาคม 2563 คือ จีน เกาหลี อิตาลี อิหร่าน ญี่ปุ่น ตามลำดับ ทั้งนี้จำนวนรวมผู้ป่วยทั่วโลกตั้งแต่วันที่ 30 ธันวาคม 2562 ถึงวันที่ 1 มีนาคม 2563 พบผู้ป่วยทั้งสิ้น 86,992 ราย เสียชีวิต 2,979 ราย คิดเป็นอัตราการเสียชีวิตร้อยละ 2.4 ส่วนใหญ่เป็นผู้สูงอายุ¹⁻²

SARS-CoV-2 เป็นเชื้อไวรัสโคโรนา อยู่ในวงศ์ Coronaviridae ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคตั้งแต่ใช้หวัดธรรมดาจนถึงก่อโรครุนแรง สัญญาณที่บ่งชี้ของการติดเชื้อ ได้แก่ มีไข้ ไอ หายใจถี่ และ หายใจลำบากในกรณีที่รุนแรงมากขึ้นอาจพบอาการปอดอักเสบ โรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง ไตวาย จนถึงขั้นเสียชีวิต ไวรัสในกลุ่มนี้มีสมาชิกหลากหลายเป็นสาเหตุก่อโรคได้ทั้งคนและสัตว์หลายชนิด เช่น สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และสัตว์ป่าอื่น ๆ ซึ่งมีโอกาสแพร่ระหว่างสัตว์และคนได้ทั้งสายพันธุ์ที่ก่อโรค ระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร และระบบประสาท เชื้อในสกุลเดียวกัน (beta-coronavirus) ที่พบการแพร่ข้ามสายพันธุ์ระหว่างสัตว์และคน และก่ออาการโรคที่รุนแรงจนถึงขั้นเสียชีวิต ได้แก่ SARS-CoV และ MERS-CoV ซึ่งเป็นสาเหตุการระบาดเมื่อปี พ.ศ. 2545 – 2546 และ 2557 ตามลำดับ รายงานผลลำดับเบสของสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของเชื้อ SARS-CoV-2 จากผู้ป่วย พบว่าไวรัส SARS-CoV-2 มีจีโนมใกล้เคียงคล้ายกับ SARS-CoV (ร้อยละ 80)¹

การติดเชื้อ SARS-CoV-2 สามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อของร่างกายเกิดการอักเสบได้ ซึ่งถือเป็นหนึ่งในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยกระบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วย อาจพบได้ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังในกรณีที่ผู้ป่วยไม่แสดงอาการในเบื้องต้นโดย ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 มีระดับ Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8), Induced protein-10 (IP-10), Interleukin-1 β (IL-1 β), Interferon- γ (IFN- γ), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) สูงขึ้นจากกลุ่มปกติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหากช่วยลดระดับ cytokines เหล่านี้ลง จะทำให้กระบวนการอักเสบลดลง และลดความรุนแรงหรือชะลอการดำเนินของโรคให้ช้าลงได้³⁻⁴

จากข้อมูลการศึกษาผลของสารสกัดฟ้าทะลายโจรต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและ inflammatory cytokines ต่าง ๆ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารสกัดฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ลดระดับ IL-1 β , IL-6, TNF- α จากโมเดลการศึกษาต่าง ๆ รวมถึงการอักเสบจากการติดเชื้อไวรัสในรายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์การปกป้องเนื้อเยื่อปอดของหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ⁵⁻⁷

นอกจากนี้ จากผลการศึกษานำร่องผลของสารสกัดฟ้าทะลายโจรขนาดสูงต่อผู้ป่วยโรคโควิด-19 ระดับความรุนแรงน้อย ซึ่งศึกษาผลเบื้องต้นในผู้ป่วยโรคโควิด-19 ระดับความรุนแรงน้อย 6 ราย พบว่าคะแนนอาการแสดงทางคลินิกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งวันที่ 3 และ 5 ของการรักษา ความรุนแรงอาการไอ

ความถี่การไอ ความรุนแรงอาการเจ็บคอ ปริมาณเสมหะ และความรุนแรงความปวดศีรษะ ส่วนผลการส่งตรวจ RT-PCR พบว่ามีผู้ป่วยสองรายผลเป็นลบในวันที่ 5 และผู้ป่วยสามรายมีจำนวนไวรัสลดลง

กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ในผู้ป่วยโรคโควิด-19 โดยหวังลดความรุนแรงและระยะเวลาของอาการและอาการแสดง รวมถึงการดำเนินของโรคของผู้ป่วยโรคโควิด-19 ได้ จึงดำเนินโครงการการศึกษาประสิทธิผลของสารสกัดฟ้าทะลายโจรขนาดสูงต่อระยะเวลาการหายจากอาการป่วยโรคในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสโควิด-19 เพื่อสามารถนำข้อมูลไปใช้เป็นแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยโควิด-19 ระดับความรุนแรงน้อย และขยายผลการรักษาในผู้ป่วยระดับความรุนแรงมากขึ้นได้ รวมไปถึงการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหายาด้านไวรัสตัวใหม่ อีกทั้งการศึกษานี้จะเป็นส่วนหนึ่งในการให้ข้อมูลที่ถูกต้องกับสังคมเกี่ยวกับการใช้ฟ้าทะลายโจรในผู้ป่วยโควิด-19

4.1 รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรค COVID-19^{1-2, 8-11}

ไวรัส SARS-CoV-2 เป็นไวรัสโคโรนา อยู่ในวงศ์ (Family) Coronaviridae แบ่งเป็น 4 สกุล (Genus) ได้แก่ Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus และ Deltacoronavirus ซึ่งพบเป็นสาเหตุของโรคตั้งแต่ไข้หวัดธรรมดาจนถึงก่อโรครุนแรง สัญญาณที่พบบ่อยของการติดเชื้อ ได้แก่ มีไข้ ไอ หายใจถี่ และ หายใจลำบาก ในกรณีที่รุนแรงมากขึ้นอาจพบอาการปอดอักเสบ โรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง ไตวาย จนถึงขั้นเสียชีวิต ไวรัสโคโรนา มีสารพันธุกรรมเป็นอาร์เอ็นเอ มีโปรตีนเป็นเปลือกหุ้มด้านนอก และมีกลุ่มคาร์โบไฮเดรตเป็นปุ่ม (spikes) ยื่นออกไปจากอนุภาคไวรัส ซึ่งจะมีลักษณะเป็นเหมือนมงกุฎ ล้อมรอบเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ไวรัสในกลุ่มนี้มีสมาชิกหลากหลายเป็นสาเหตุก่อโรคได้ทั้งคนและสัตว์หลายชนิด เช่น สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และสัตว์ป่าอื่น ซึ่งมีโอกาสแพร่ระหว่างสัตว์และคนได้ทั้งสายพันธุ์ที่ก่อโรค ระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร และระบบประสาท เชื้อไวรัสโคโรนา 6 ชนิด ที่มีรายงานก่อโรคใน คน ได้แก่ 229E, OC43, NL63 และ HKU1 ก่อโรกระบบทางเดินหายใจในคนซึ่งมีอาการไม่รุนแรง

MERS-CoV และ SARS-CoV ซึ่งพบสาเหตุการแพร่ข้ามสายพันธุ์ระหว่างสัตว์และคน และมักก่ออาการโรครุนแรงจนถึงขั้นเสียชีวิต โดย SARS-CoV เป็นสาเหตุการระบาดของเมื่อปี พ.ศ.2545 – 2546 (ค.ศ. 2002-2003) ณ มณฑลกว่างตุง สาธารณรัฐประชาชนจีน และ MERS-CoV เป็นสาเหตุการระบาดของโรคทางเดินหายใจ รุนแรงเมื่อปี พ.ศ. 2557 (ค.ศ. 2012) ณ ประเทศซาอุดีอาระเบีย สำหรับไวรัส SARS-CoV-2 มีสารพันธุกรรมเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว ความยาวประมาณ 30,000 คู่เบส จาก รายงานผลลำดับเบสของสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของเชื้อ 2019-nCoV ที่ได้จากผู้ป่วย พบว่าไวรัส SARS-CoV-2 เป็นสมาชิกใหม่ในสกุล Betacoronavirus เช่นเดียวกับ SARS-CoV และ MERS-CoV และจีโนมมีความใกล้เคียงกับ SARS-CoV (ร้อยละ 80) และ SARS-like bat CoV (ร้อยละ 88)

เชื้อไวรัสโคโรนา สามารถแพร่ผ่านละอองฝอยและการสัมผัสโดยตรง ระยะฟักตัวของ seasonal human coronavirus โดยเฉลี่ย 2 วัน (12 ชั่วโมง – 5 วัน) ระยะฟักตัวของ SARS-CoV โดยเฉลี่ย 4 - 5 วัน (2 – 10

วัน) และ MERS-CoV โดยเฉลี่ย 5 วัน (2 – 14 วัน) ส่วนไวรัส SARS-CoV-2 พบมีระยะฟักตัวนานกว่า โดยคาดการณ์จากประวัติของผู้ป่วยแต่ละรายโดยเฉลี่ย 14 วัน อาการทางคลินิก ได้แก่ ไข้ ไอ หายใจถี่ และหายใจลำบาก ในกรณีที่รุนแรงมากขึ้นอาจพบอาการปอดอักเสบ โรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง ไตวาย จนถึงขั้นเสียชีวิต

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วยโรค COVID-19^{6,12}

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Immune System) มี 2 กลุ่ม คือ ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะหรือภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (Innate immuneresponse) และภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Adaptive immune response) ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันทำหน้าที่ป้องกันและกำจัดสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคออกจากร่างกาย หากระบบภูมิคุ้มกันใดภูมิคุ้มกันหนึ่งบกพร่องหรือทั้ง 2 ระบบภูมิคุ้มกันไม่สมดุล อาจทำให้นำไปสู่การบาดเจ็บหรือเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่าง ๆ ได้ ซึ่งกลไกในการป้องกันร่างกายหรือการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอม สามารถเกิดผ่านกระบวนการต่าง ๆ ได้ เช่น กลไกทางกายภาพ ทางเคมี ทางพันธุกรรม กระบวนการอักเสบ กระบวนการ phagocytosis หรือ การได้รับวัคซีน เซรุ่ม เป็นต้น

การติดเชื้อ SARS-CoV-2 สามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อของร่างกายเกิดการอักเสบได้ ซึ่งถือเป็นหนึ่งในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยกระบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วย อาจพบได้ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังในกรณีที่ผู้ป่วยไม่แสดงอาการในเบื้องต้น กระบวนการอักเสบนั้นมีความสัมพันธ์กับการสร้าง cytokines สามารถพบได้ทั้งในพลาสมาและเซลล์ โดย cytokines จะถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นจากเชื้อโรค สิ่งแปลกปลอมหรือ cytokines ชนิดอื่น ๆ ได้ และจะไปออกฤทธิ์กับเซลล์เป้าหมายชนิดใดชนิดหนึ่งทำให้เกิดผลของการอักเสบตามมา ซึ่งพบว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 และ SARS มีระดับ Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8), Induced protein-10 (IP-10) สูงขึ้นจากกลุ่มปกติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วน Interleukin-1 β (IL-1 β), Interferon- γ (IFN- γ), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 และ MERS มีระดับสูงขึ้น แต่ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ SARS ระดับของ mediator เหล่านี้แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มปกติ ซึ่ง IL-1 β และ IL-6 เป็น cytokines ที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันที่ต่อต้านการติดเชื้อ การตอบสนองต่อการอักเสบ การเกิดไข้และอาการปวด นอกจากนี้ TNF- α ยังเป็น cytokines ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบด้วยเช่นกัน

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลในร่างกายมนุษย์ (Metabolomics)

Metabolomics เป็นการศึกษาทดลองด้านประสิทธิภาพและด้านความปลอดภัยที่ใช้ในทางการแพทย์ที่ได้รับความนิยมโดยเฉพาะการศึกษาในการใช้ยาสมุนไพรเนื่องจากมักมีสารเคมีหลายกลุ่มเป็นส่วนประกอบ โดยธรรมชาติทำให้มีความยากและซับซ้อนในการระบุสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ที่ส่งผลต่อการรักษาและอาการที่เกี่ยวข้อง ดังนั้นการประยุกต์ใช้วิธีการทาง metabolomics (metabolomics-based strategy) ในการศึกษาสมุนไพรเพื่อให้ได้รูปแบบของกลุ่มสารทางเคมี (chemical profiling) ซึ่งจะตรวจพบในตัวยาสมุนไพร และรูปแบบข้อมูลกลุ่มสารเมแทบอไลต์ (metabolite profiling) ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่ตรวจพบในเลือดอาสาสมัคร ซึ่งอาจเป็นกลุ่มสารที่ตรวจพบทั้งในเลือดอาสาสมัครหลังกินยาและในตัวยาสมุนไพรถือเป็นสารจากสมุนไพรที่ถูก

ดูดซึม (what are absorbed) หรือเป็นกลุ่มสารที่ตรวจพบเฉพาะในเลือดอาสาสมัครหลังกินยาสมุนไพรแต่ไม่พบในตัวสมุนไพร สันนิษฐานว่าเป็นสารที่เกิดขึ้นใหม่จากกระบวนการของร่างกายในการเปลี่ยนแปลงสารจากสมุนไพรที่ถูกดูดซึมถือเป็นสารอนุพันธ์ (derivative metabolites) metabolite profiling ที่ตรวจพบในเลือดนั้น อาจมีสารบางชนิดไปมีผลบางอย่างต่อร่างกายอาสาสมัคร (what are influenced) ทั้งในระดับโมเลกุล และระดับการแสดงออกทางคลินิก

สารสกัดฟ้าทะลายโจรและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

รายงานการศึกษาฤทธิ์ของสาร andrographolide ต่อ coronavirus

1) มีข้อมูลการจดสิทธิบัตรในประเทศจีน (CN1454592A และ CN1165302C) เป็นสิทธิบัตรการใช้ andrographolide และอนุพันธ์เพื่อรักษาโรคซาร์ส (Severe Acute Respiratory Syndrome: SARS) ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสในตระกูลโคโรนาไวรัส (Coronavirus) เช่นเดียวกับไวรัสก่อโรค COVID-19 โดยแสดงผลของ andrographolide และอนุพันธ์ในการลด cytopathic effect ของไวรัสใน *in vitro* system¹³⁻¹⁴

2) รายงานการศึกษาโมเลกุลาร์ ด็อกกิง (Molecular Docking) ของสารสำคัญของสมุนไพรจีนจำนวน 93 ชนิดที่ใช้ในตำรับยาจีนสำหรับโรคของระบบทางเดินหายใจ พบว่า andrographolide สามารถจับกับตัวรับเป้าหมายสองชนิด คือ 1) Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) receptor บนเซลล์เจ้าบ้าน (host cell) จึงอาจช่วยลดปริมาณไวรัสเข้าสู่เซลล์ และ 2) viral main protease (M protease) ซึ่งมีบทบาทในขั้นตอนการสังเคราะห์โปรตีนและการจำลองลักษณะทางพันธุกรรมเพื่อเพิ่มจำนวนไวรัส (viral replication) และจากการที่ฟ้าทะลายโจรเป็นตัวยาสำคัญในตำรับยาจีนที่ใช้ในโรคทางเดินหายใจมานาน สามารถสกัดสารนี้จากฟ้าทะลายโจรได้ในปริมาณมาก ผู้วิจัยจึงสรุปว่า andrographolide เป็นสารสำคัญหนึ่งใน 13 ชนิดที่มีศักยภาพในการนำมาวิจัยและพัฒนาเป็นยารักษาโรค COVID-19 ต่อไป¹⁵

3) การศึกษาผลของสารสกัดฟ้าทะลายโจรและ andrographolide ต่อ cytopathic effect ของเชื้อไวรัสก่อโรคโควิด-19 ในหลอดทดลอง

จากรายงานผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดฟ้าทะลายโจร ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตยาแคปซูล สารสกัดฟ้าทะลายโจรของบริษัทผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทย และสารสำคัญ andrographolide ต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี Plaque reduction assay ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ให้ผลการทดสอบแต่ละวิธี ดังนี้

- การทดสอบการยับยั้งการติดเชื้อของเซลล์ (cell protection test) โดย incubate สารทดสอบกับ Vero cells ก่อน infect ด้วยไวรัส พบว่า ทั้ง andrographolide และสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการติดเชื้อ SARS-CoV-2
- การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัส (viral inactivation test) โดย incubate ไวรัสในสารทดสอบก่อน infect Vero cells พบว่าสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ยับยั้งไวรัส SARS-CoV-2 มากกว่า andrographolide โดยค่า IC₅₀ ของสารสกัดฟ้าทะลายโจรและ andrographolide มีค่า <1 และ 15.6 µg/ml ตามลำดับ

- การทดสอบฤทธิ์ต้านการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัส (antiviral test) โดย incubate Vero cells ที่ติดเชื้อไวรัสแล้วกับสารทดสอบก่อน พบว่า ทั้งสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรและ andrographolide มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสในเซลล์ (viral replication) โดยค่า IC50 ของสารสกัดฟ้าทะลายโจรและ andrographolide เท่ากับ 3.02 และ 0.64 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ

4) การศึกษานำร่องผลของสารสกัดฟ้าทะลายโจรขนาดสูงต่อผู้ป่วยโรคโควิด-19 ระดับความรุนแรงน้อย ผลการศึกษานำร่องการใช้สารสกัดฟ้าทะลายโจรที่เทียบเท่ากับการใช้ andrographolide ขนาด 180 มิลลิกรัมต่อวัน นาน 5 วัน ร่วมกับการรักษามาตรฐานซึ่งไม่มีการใช้ยาอื่น ในผู้ป่วยโรคโควิด-19 ระดับความรุนแรงน้อย 6 ราย พบว่าคะแนนอาการแสดงทางคลินิกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งวันที่ 3 และ 5 ของการรักษา ความรุนแรงอาการไอ ความถี่การไอ ความรุนแรงอาการเจ็บคอ ปริมาณเสมหะ และความรุนแรงความปวดศีรษะ ส่วนผลการส่งตรวจ RT-PCR พบว่ามีผู้ป่วยสองรายผลเป็นลบในวันที่ 5 และผู้ป่วยสามรายมีจำนวนไวรัสลดลง โดยไม่พบความผิดปกติของค่าเคมีในเลือดหรือเกิดอาการไม่พึงประสงค์ใดๆในผู้ป่วยทั้ง 6 ราย ถึงอย่างไร แม้พบรายงานผลการศึกษานี้ที่รายงานการเปลี่ยนแปลงของ inflammatory marker ในผู้ป่วยโรคโควิด-19^{3,16} แต่ในการศึกษาดังกล่าวนี้ยังไม่สามารถสรุปผลของสารสกัดฟ้าทะลายโจรต่อการเปลี่ยนแปลงของ inflammatory marker ได้แก่ CRP, LDH, serum ferritin และ ESR จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มประชากรที่ใหญ่ขึ้น

รายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบและยับยั้ง pro-inflammatory cytokines ของ andrographolide และอนุพันธ์ในสัตว์ทดลอง

- 1) ผลต่อหนูทดลองที่เกิดการอักเสบจาก influenza A virus¹⁷

การศึกษาผลของ andrographolide ในหนูที่ถูกกระตุ้นให้ติดเชื้อ Influenza A virus ด้วย 2 วิธี คือวิธีที่ 1 รักษาทันทีที่ติดเชื้อ (initial treatment) และวิธีที่ 2 รักษาหลังจากติดเชื้อแล้ว 4 วัน (delayed treatment) โดยให้การรักษาทั้งหมด 14 วันทั้ง 2 วิธี พบว่าวิธี initial treatment หนูกลุ่มที่ได้รับการรักษา oseltamivir (50 mg/kg) และ ribavirin (40 mg/kg) จะมีอัตราการรอดชีวิตมากกว่ากลุ่มที่ได้ andrographolide (10 mg/kg) แต่ในทางกลับกันวิธี delayed treatment หนูกลุ่มที่ได้รับการรักษา oseltamivir (50 mg/kg) และ ribavirin (40 mg/kg) มีอัตราการรอดชีวิตไม่ต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับ placebo ทั้งนี้หนูกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย andrographolide ทั้ง 2 วิธีมีอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน

เมื่อศึกษา cytokines ในหนูกลุ่มที่ติดเชื้อ Influenza A virus พบว่า กลุ่มที่ได้รับ andrographolide มีระดับของ IL-6 , IL-10, TNF- α และ IFN- γ ลดลง แต่เมื่อให้ร่วมกับ CL-385319 ซึ่งเป็น Influenza virus entry inhibitor พบว่าไม่ได้ช่วยเพิ่มการยับยั้งหรือการลดลงของ cytokines เหล่านี้ โดย IL-6 และ TNF- α เป็น cytokines ที่เกี่ยวข้องกับ NF- κ B signaling pathways ในการติดเชื้อไวรัส สรุปว่า

andrographolideสามารถลดการทำงานของ NF- κ B signaling pathways ได้จากผลการยับยั้งเนื้อเยื่อของหนูอีกด้วย

ส่วนการศึกษา JAK/STAT pathways ซึ่งเป็น pathway ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบในปอด ซึ่ง IFN- γ เป็น cytokine ที่เกี่ยวข้องนั้น พบว่า กลุ่มที่ได้รับ andrographolide สามารถลดการทำงานของ JAK/STAT pathways ได้ แต่เมื่อให้ร่วมกับ CL-385319 ผลไม่แตกต่างจากการให้ andrographolide แบบเดี่ยว ๆ สรุปได้ว่า หนูกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย andrographolide มีอัตราการรอดชีวิตมากขึ้น สามารถลดพยาธิสภาพในปอด ลดปริมาณเชื้อไวรัสและกระบวนการอักเสบได้ผ่านทาง NF- κ B และ JAK/STAT signaling pathways

2) ผลต่อหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด colitis¹⁸

การศึกษารูปแบบของ andrographolide ในยับยั้งการตอบสนองของการอักเสบผ่านการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในเซลล์และสัตว์ทดลอง พบว่า andrographolide สามารถลดการแสดงออกของ mRNA และลดการสร้างของ IL-6, TNF- α และ IL-1 β ได้ รวมถึงยังสามารถลดปริมาณ iNOS และ COX-2 ใน macrophage cell line ที่ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) โดยผลเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับขนาดที่ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า andrographolide มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบอื่น ๆ โดยสามารถยับยั้ง NF- κ B, MAPK และ TLR4-MyD88 signaling pathways รวมถึงการกระตุ้น AMPK pathway ซึ่งถือเป็นกลไกหนึ่งในการต้านการอักเสบ

การศึกษาในหนูโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดลำไส้ใหญ่อักเสบ (colitis) โดยใช้ Dextran sulfate sodium (DSS) พบว่า คะแนน Disease activity index (DAI) ที่ใช้ในการประเมินอาการของลำไส้อักเสบของหนูกลุ่มที่ได้รับ andrographolide ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษา นอกจากนี้พบว่า andrographolide สามารถลดระดับ mRNA ของ IL-6, TNF- α และ IL-1 β ในเนื้อเยื่อของลำไส้ใหญ่ ในขณะที่พบการยับยั้งการสร้าง cytokines ดังกล่าวในเนื้อเยื่อมาด้วยเช่นกัน และการศึกษาในระดับ AMPK, NF- κ B และ MAPK pathway โดย western blotting พบว่า andrographolide กระตุ้น AMPK pathway และยับยั้ง NF- κ B และ MAPK pathway ในสัตว์ทดลอง

จากผลการศึกษาทั้ง *in vitro* และ *in vivo* แสดงให้เห็นว่า andrographolide มีกลไกต้านการอักเสบโดยการยับยั้งการตอบสนองของการอักเสบผ่านการกระตุ้น AMPK pathway

การประเมินสารประกอบ Andrographolide จากฟ้าทะลายโจร พบว่าเป็นสารยับยั้ง protease หลักของ SARS-COV-2 (Mpro) ผ่านการศึกษาแบบ *in silico* เช่นเดียวกับวิธี molecular docking, target analysis, toxicity prediction และ ADME (Adsorption, Distribution, Metabolism and Excretion) prediction ซึ่ง andrographolide สามารถจับกับ Mpro ได้ จากการคำนวณยังทำนายได้ว่าโมเลกุลนี้จะมีความสามารถในการละลายได้ดี มีคุณสมบัติทางเภสัชพลศาสตร์และสามารถจับกับเป้าหมายได้อย่างแม่นยำ โมเลกุลนี้ยังเป็นไปตามกฎของ Lipinski ซึ่งทำให้ andrographolide มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะพัฒนาเป็นตัวยาที่ใช้ในการต้านเชื้อ COVID-19 ต่อไป¹⁹

การศึกษาศักยภาพของสารพฤษเคมี 4 ชนิด ได้แก่ andrographolide (AGP1), 14-deoxy 11,12- didehydro andrographolide (AGP2), neoandrographolide (AGP3) และ 14- deoxy andrographolide (AGP4) จาก *A. paniculata* ต่อ 4 เป้าหมาย ได้แก่ โปรตีนที่ไม่มีโครงสร้าง 3 ชนิด (3 L main protease (3CLpro), Papain-like proteinase (PLpro), RNA-directed RNA polymerase (RdRp) และโปรตีนโครงสร้าง (spike protein (S)) ของไวรัส ซึ่งมีหน้าที่ในการจำลองตัวเอง, การถอดรหัส พันธุกรรม, และการจดจำ host cell นอกจากนี้ยังมีการประเมินศักยภาพในการรักษา Covid-19 ของ สารพฤษเคมีเปรียบเทียบกับยาที่มีจำหน่ายทั่วไป โดยข้อมูล binding free energy ซึ่งให้เห็นว่า AGP3 สามารถใช้เป็น drug-analog ที่คุ้มค่าสำหรับรักษาการติดเชื้อ COVID-19 ในประเทศกำลังพัฒนา²⁰

andrographolide และ 14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide มีความสามารถในการจับกับ papain-like protease สูง คือ -6.7 kcal/mol และ -6.5 kcal/mol ตามลำดับ ในขณะที่ทำปฏิกิริยากับพลังงานยึดเหนี่ยวกับ 3clpro (-6.8 kcal / mol) และ spike protein (-6.9 kcal / mol) การวิเคราะห์ network pharmacology พบว่า สารประกอบทั้งสองปรับระบบภูมิคุ้มกันผ่านทางการควบคุม chemokine signaling pathway, NF-kappa B signaling pathway, ras-signaling pathway, p53 signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, และ Natural killer cell-mediated cytotoxicity. แม้ว่า 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide จะมีคะแนนคุณสมบัติเหมือนตัวยา แต่จากการทดลอง แสดงให้เห็นว่ามีปฏิกิริยากับโปรตีนเป้าหมายของ COVID-19 น้อยกว่า Andrographolide²¹

3) ผลต่อหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด tumor²²

การศึกษาผลของสารสกัดฟ้าทะลายโจรและ andrographolide ในหนูที่ถูกกระตุ้นให้เป็นมะเร็งระยะลุกลาม พบว่า เมื่อให้สารสกัดฟ้าทะลายโจรและ andrographolide ในหนู ทำให้ระดับ IL-1 β , IL-6, GM-CSF และ TNF- α มีระดับลดลงเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในวันที่ 7 และ 21 ของการศึกษา ซึ่ง cytokine เหล่านี้มีบทบาทในการสร้างภูมิคุ้มกันและยังสัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบ การติดเชื้อ และภาวะที่มีการทำลายเนื้อเยื่อ นำไปสู่การเป็นมะเร็งได้ นอกจากนี้ ยังพบว่าระดับของ IL-2 และ TIMP-1 ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดฟ้าทะลายโจรและ andrographolide มีค่าสูงกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย IL-2 จะถูกสร้างมาจาก lymphocyte ทำหน้าที่ช่วยเสริมความสามารถการทำลายเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมของ Natural Killer Cell (NK Cell) ทำให้สามารถกำจัดเซลล์มะเร็งได้ ส่วน TIMP-1 เป็นตัวยับยั้ง MMPs ในร่างกาย ช่วยในการกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดงและยับยั้งกระบวนการตายของ B cell

4) การศึกษาอนุพันธ์ของ andrographolide ต่อการลดการอักเสบ²³⁻²⁴

จากรายงานการศึกษาของ Guo (2012) ทดสอบสาร andrographolide sulfonate (ชื่อการค้า Xi-Yan-Ping injection) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ andrographolide ที่ละลายน้ำได้ดีกว่า andrographolide ในหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ sepsis ด้วย lipopolysaccharide พบว่า andrographolide sulfonate ทั้งที่ให้ทางปากและฉีดเข้าหลอดเลือดดำสามารถเพิ่มอัตราการรอดของหนู

ทดลอง ณ 100 ชั่วโมงหลังการเหนี่ยวนำเกิดภาวะ sepsis อัตราการรอดชีวิตของหนูทดลองเพิ่มขึ้นจาก 12.5% เป็น 50 และ 62.5% เมื่อให้ andrographolide sulfonate ทางปาก 30 mg/kg BW และ ทางหลอดเลือดดำในขนาด 10 mg/kg BW

นอกจากนี้ พบว่า อัตราการรอดชีวิตของหนูที่ได้รับ andrographolide sulfonate สูงขึ้นเมื่อใช้ขนาดยาสูงขึ้น การศึกษานี้ยังพบว่า andrographolide sulfonate มีผลลดระดับ inflammatory cytokines คือ IL-1 β และ TNF- α ในหนูทดลองที่มีภาวะ sepsis ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ช่วยลดความเสียหายต่ออวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ และปอดของหนูทดลองจากการถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide อย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Peng (2016) ซึ่งแสดงถึงกลไกการลดการอักเสบของ andrographolide sulfonate ผ่านการยับยั้งการสร้าง pro-inflammatory cytokines ที่ถูกสร้างจากกระบวนการ mitogen-activated protein kinase (MAPK) และ nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway

5) ผลของ andrographolide และ diterpenoids อื่น ๆ ในฟ้าทะลายโจรต่อระบบคอมพลีเมนต์ ระบบคอมพลีเมนต์ (complement system) เป็นกลุ่มโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน การทำงานหรือการตอบสนองของระบบคอมพลีเมนต์มีผลต่อการดำเนินของพยาธิสภาพของโรค รวมถึงในลักษณะของการตอบสนองของระบบคอมพลีเมนต์ที่มากเกินไป จะกระตุ้นให้เกิดการอักเสบและเสียหายของเนื้อเยื่อต่าง ๆ รวมถึงโรคที่เกิดจาก influenza virus และการอักเสบที่ปอด ดังนั้นการยับยั้งการกระตุ้นการทำงานของระบบคอมพลีเมนต์ จะช่วยชะลอการอักเสบหรือการดำเนินของโรคได้²⁵

การทดสอบฤทธิ์ ต้านระบบคอมพลีเมนต์ (complement system) ของสารกลุ่ม diterpenoids จากส่วนเหนือดินของฟ้าทะลายโจร พบว่ามี diterpenoids หลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านระบบคอมพลีเมนต์ ทั้งที่ผ่านการทำงานของแอนติบอดี-แอนติเจน (classical pathway) และชนิดที่ไม่ผ่านแอนติบอดี-แอนติเจน (alternative pathway) ถึงแม้ว่า andrographolide จะไม่มีฤทธิ์ต้านคอมพลีเมนต์ แต่พบว่าสารเมทาบอลิต์ของ andrographolide ที่ เกิดจากทั้งการเมทาบอลิซึมใน phase I (dehydration, deoxygenation, reduction) และ phase II (glucuronidation) เป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านคอมพลีเมนต์ได้²⁵

รายงานการทบทวนวรรณกรรมอย่างมีระบบ (Systematic review) ของงานวิจัยทางคลินิกเพื่อศึกษาประสิทธิผลของฟ้าทะลายโจรในการบรรเทาอาการของโรคติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนต้น (URI) มี 3 รายงาน ดังนี้

มีการทำ systematic review จากรายงานการวิจัยข้างต้น จำนวน 3 รายงาน และจากการรวบรวมและการวิเคราะห์รายงานวิจัยทั้ง systematic review และ meta-analysis ทั้งหมดจากฐานข้อมูล Natural Standard Database พบว่าฟ้าทะลายโจรมีผลการศึกษาวินิจฉัยที่สนับสนุนสรรพคุณการบรรเทาอาการของโรคติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนต้นอยู่ในเกรด A (strong positive scientific evidence)²⁶⁻²⁹

Coon และคณะ ทำ systematic review ของรายงานการวิจัยทางคลินิกที่เป็น double-blind controlled trial ของฟ้าทะลายโจรในการรักษา URI 7 รายงานในอาสาสมัครจำนวนรวม 896 ราย สรุปว่าฟ้า

ทละลายโจรมีประสิทธิผลเหนือกว่ายาหลอกในการรักษาอาการของ URI และมีรายงานอาการไม่พึงประสงค์เพียงเล็กน้อย²⁶

Poolsup และคณะ ทำ systematic review ของงานวิจัยเพื่อประเมินประสิทธิผลของฟ้าทะลายโจรในการลดอาการของ uncomplicated URI ที่เป็น double-blind, randomized trial จำนวน 4 ฉบับ และทำ meta-analysis ของรายงาน 3 ฉบับ (N=433 คน) ได้ข้อสรุปว่ายาฟ้าทะลายโจรเดี่ยว และยาฟ้าทะลายโจรที่ผสมสารสกัด *Acanthopanax senticosus* มีประสิทธิผลเหนือกว่ายาหลอกในการลดความรุนแรงของอาการของโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจส่วนบนที่ไม่รุนแรง ($P < 0.0001$ และ $P = 0.0002$) ตามลำดับ²⁷

Kligler และคณะ ได้ทำ systematic review จาก systematic review จำนวน 2 ฉบับ และรายงานการวิจัยคลินิก 8 ฉบับ รวบรวมงานวิจัยที่ใช้ฟ้าทะลายโจรทั้งแบบผงของส่วนเหนือดินของพืช และยา Kan Jang ซึ่งเป็นสารสกัดผสมระหว่างฟ้าทะลายโจรและสารสกัด *Acanthopanax senticosus* ที่มีขนาดของยาที่แตกต่างกันและมีทั้งการศึกษาประสิทธิผลของการรักษาและการป้องกันโรคติดเชื้อทางเดินหายใจ โดยเลือกเฉพาะงานวิจัยที่มี JADAD score มากกว่าหรือเท่ากับ 3 อย่างไรก็ตามการทบทวนวรรณกรรมอย่างมีระบบนี้เป็นการวิพากษ์การศึกษาแต่ละรายงานโดยไม่มีในส่วนของสรุป²⁸

ข้อมูลด้านความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ฟ้าทะลายโจร

ข้อมูลจากวารสาร “ข่าวสารด้านยาและผลิตภัณฑ์สุขภาพ” ของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ฉบับเดือนกรกฎาคม-กันยายน พ.ศ. 2559 รายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ของผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร/ยาแผนไทย จากฐานข้อมูล Thai Vigibase ของศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ อย.ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2558 พบว่ามีรายงาน adverse drug reactions/adverse events (ADRs/AEs) ที่สงสัยว่ามีความสัมพันธ์กับการใช้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร/ยาแผนไทย ทั้งหมดจำนวน 1,216 ฉบับ 1,938 เหตุการณ์ ผลการประเมินความสัมพันธ์เชิงสาเหตุ (causality assessment) พบว่า ร้อยละ 43.8 อยู่ในระดับ น่าจะใช้ (probable) และร้อยละ 3.6 อยู่ในระดับ ใ้แน่ (certain)²⁹

ในจำนวนรายงาน 1,216 ฉบับ เป็นผลิตภัณฑ์กลุ่มที่เป็นสมุนไพรเดี่ยว 784 ฉบับ โดยฟ้าทะลายโจรมีรายงานมากที่สุด จำนวน 275 ฉบับ 365 เหตุการณ์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นความผิดปกติของระบบผิวหนัง และพบเหตุการณ์แพ้รุนแรงชนิด anaphylactic shock 13 เหตุการณ์ และ anaphylactic reaction จำนวน 15 เหตุการณ์ ดังมีรายละเอียดเพิ่มเติมในภาคผนวก 1

ผลการศึกษานำร่องการใช้สารสกัดฟ้าทะลายโจรที่เทียบเท่ากับการใช้ andrographolide ขนาด 180 มิลลิกรัมต่อวัน โดยแบ่งรับประทานวันละ 3 ครั้ง นาน 5 วัน ในผู้ป่วยโรคโควิด-19 ระดับความรุนแรงน้อย จำนวน 6 ราย ไม่พบความผิดปกติของค่าเคมีในเลือด การทำงานของตับและไต หรือเกิดอาการไม่พึงประสงค์ใดๆ ในผู้ป่วยทั้ง 6 ราย

เอกสารอ้างอิง

1. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. คู่มือการตรวจวินิจฉัย โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ทางห้องปฏิบัติการ. <https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/file/guidelines/G37.pdf>
2. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 41(Data as reported by 10AM CET 01 March 2020). https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200301-sitrep-41-covid-19.pdf?sfvrsn=6768306d_2
3. Liu, B., Li, M., Zhou, Z., Guan, X., & Xiang, Y. (2020). Can we use interleukin-6 (IL-6) blockade for coronavirus disease 2019 (COVID-19)-induced cytokine release syndrome (CRS)?. *Journal of Autoimmunity*, 102452.
4. Noroozi, R., Branicki, W., Pyrc, K., Łabaj, P. P., Pośpiech, E., Taheri, M., & Ghafouri-Fard, S. (2020). Altered cytokine levels and immune responses in patients with SARS-CoV-2 infection and related conditions. *Cytokine*, 155143.
5. Chandrasekaran, V., C., Murali, B., Deepak, M., & Agarwal, A. (2012). In vitro comparative evaluation of non- leaves and leaves extracts of *Andrographis paniculata* on modulation of inflammatory mediators. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, 11(2), 191-197.
6. Cao, X. (2020). COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nature reviews immunology*, 20(5), 269-270.
7. Gupta, S., Mishra, K. P., & Ganju, L. (2017). Broad-spectrum antiviral properties of andrographolide. *Archives of virology*, 162(3), 611-623.
8. Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. In *Coronaviruses* (pp. 1-23). Humana Press, New York, NY.
9. Chen, Y., Liu, Q., & Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of medical virology*, 92(4), 418-423.
10. World Health Organization. (2020). Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it.
11. Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., ... & Bi, Y. (2020). Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 395(10224), 565-574.

12. García, L. F. (2020). Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Frontiers in immunology*, 11, 1441.
13. CN1454592A Medical use of andrographolide and its derivatives. Available from: <https://patents.google.com/patent/CN1454592A/en>
14. CN1165302C Medical use of andrographolide and its derivatives. Available from: <https://patents.google.com/patent/CN1165302C/en>
15. Yan YM et al. Discovery of anti-2019-nCoV agents from 38 Chinese patent drugs toward respiratory diseases via docking screening. Available from: <https://www.preprints.org/manuscript/202002.0254/v2>
16. Velavan, T. P., & Meyer, C. G. (2020). The COVID-19 epidemic. *Tropical medicine & international health*, 25(3), 278.
17. Ding Y., et al. Andrographolide inhibits influenza A virus-induced inflammation in a murine model through NF- κ B and JAK-STAT signaling pathway. *Microbes Infect.* 2017;19(12):605-15.
18. Kim N, et al. Andrographolide Inhibits Inflammatory Responses in LPS-stimulated Macrophages and Murine Acute Colitis Through Activating AMPK. *Biochem Pharmacol.* 2019;170:113646.
19. Murugan, N. A., Pandian, C. J., & Jeyakanthan, J. (2020). Computational investigation on *Andrographis paniculata* phytochemicals to evaluate their potency against SARS-CoV-2 in comparison to known antiviral compounds in drug trials. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-12.
20. Enmozhi, S. K., Raja, K., Sebastine, I., & Joseph, J. (2020). Andrographolide as a potential inhibitor of SARS-CoV-2 main protease: an in silico approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-7.
21. Dey, Y. N., Khanal, P., Patil, B. M., Wanjari, M. M., Srivastava, B., Gurav, S. S., & Gaidhani, S. N. (2020). The role of andrographolide and its derivative in COVID-19 associated proteins and immune system.
22. Sheeja K, Kuttan G. *Andrographis paniculata* down regulates proinflammatory cytokine production and augments cell mediated immune response in metastatic tumor-bearing mice. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2010;11:723-9.

23. Guo W, et al. Water-soluble Andrographolide sulfonate exerts anti-sepsis action in mice through down-regulating p38 MAPK, STAT3 and NF-**KB** pathways. *Int Immunopharmacol.* 2012;14(4):613-9
24. Peng S, et al. Andrographolide sulfonate ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by down-regulating MAPK and NF-**KB** pathways. *Acta Pharm Sin B.* 2016;6(3):205-11.
25. Wen Q, et al. Anticomplement ent-labdane diterpenoids from the aerial parts of *Andrographis paniculata*. *Fitoterapia* 2020;142:104528.
26. Coon JT, Ernst E. (2004). *Andrographis paniculata* in the treatment of upper respiratory tract infections: a systematic review of safety and efficacy. *Planta Med,* 70(4):293-8.
27. Poolsup N, Suthisisang C, Prathanturarug S, Asawamekin A, Chanchareon U. (2004). *Andrographis paniculata* in the symptomatic treatment of uncomplicated upper respiratory tract infection: systematic review of randomized controlled trials. *J Clin Pharm Ther,* 29(1):37-45.
28. Kligler B, Ulbricht C, Basch E, et al. (2006). *Andrographis paniculata* for the treatment of upper respiratory infection: a systematic review by the Natural Standard Research Collaboration. *Explore (NY).* 2(1):25-9.
29. Wagner L, Cramer H, Klose P, et al. (2015). Herbal Medicine for Cough: a Systematic Review and Meta-Analysis. *ForschKomplement Med,* 22(6):359-68.
30. Ngamjarus C., Chongsuvivatwong V. (2014). n4Studies: Sample size and power calculations for iOS. The Royal Golden Jubilee Ph.D. Program - The Thailand Research Fund&Prince of Songkla University.
31. Saxena, R. C., Singh, R., Kumar, P., Yadav, S. C., Negi, M. P. S., Saxena, V. S., ... & Amit, A. (2010). A randomized double blind placebo controlled clinical evaluation of extract of *Andrographis paniculata* (KalmCold™) in patients with uncomplicated upper respiratory tract infection. *Phytomedicine,* 17(3-4), 178-185.
32. วิมล สุวรรณเกษาวงษ์. (2559). รายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร/ยาแผนไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2558. *ข่าวสารด้านยาและผลิตภัณฑ์สุขภาพ,* 19(3):86-96.