

การวิเคราะห์ปริมาณ Piperine และ Plumbagin ในตำรับ
ยาเบญจกูลด้วยวิธี TLC densitometric method

นายพิชชากร เพทายพนากิจ
นายวทัญญู ศิริภาพร

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2559

Quantitative analysis of Piperine and Plumbagin in
Benjakul formulation by TLC-densitometric method

MR PITCHAKORN PETAIPANAKIJ
MR WATHUNYU SIRITHAPORN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

2016

โครงการพิเศษ

เรื่อง การวิเคราะห์ปริมาณ piperine และ plumbagin ในตำรับยาเบญจกูล
ด้วยวิธี TLC densitometric method

.....

(นายพิชชากร เพทายพนากิจ)

.....

(นายวทัญญู ศิริภาพร)

.....

(อ. ดร. ศวิตา จิวจินดา)

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(อ. ดร. ปัทมพรรณ โลมะรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(ผศ. ดร. ปองทิพย์ สิทธิสาร)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณ piperine และ plumbagin ในตำรับยาเบญจกูล

ด้วยวิธี TLC densitometric method

พิชชากร เพทายพนาภิจ, วัทธัญ ศิริธภาพร, บัณฑิตพรณ โลมะรัตน์¹, ปองทิพย์ สิทธิสาร², ศวิตา จิวจินดา¹

¹ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

²ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : ไพเพอริน, พลัมบาจิน, วิธีที่แอลซี-เด็นซิโตเมทรี

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่แอลซี-เด็นซิโตเมทรีในการวิเคราะห์หาปริมาณไพเพอริน และ พลัมบาจิน ในตำรับยาแผนโบราณ เบญจกูล ซึ่งจัดเป็นตำรับในรายการยาสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติที่ใช้สำหรับบรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ และช่วยปรับสมดุลของร่างกาย การเตรียมตำรับยาที่เตรียมขึ้นเองทำโดยการนำผงสมุนไพรแห้งจากรากเจตมูลเพลิงแดง รากข้าวพลู เกาสะค่าน ผลดีปลี และ เหง้าชิง มาผสมกันในอัตราส่วนที่เท่ากันตามสูตรตำรับยาเบญจกูล และสำหรับตำรับที่ขายในท้องตลาด ได้ทำการจัดซื้อตำรับยาจากร้านขายยาแผนโบราณในกรุงเทพมหานคร การวิเคราะห์โดยวิธีที่แอลซีทำโดยใช้แผ่นอะลูมิเนียมที่มีซิลิกาเจลเบอร์เอฟ 254 ในวัฏภาคเคลื่อนที่ โทลูอีน ต่อ เอทิล อะซิเตท ต่อ กรดฟอร์มิก ในอัตราส่วน 8 ต่อ 2 ต่อ 0.5 และใช้ วินแคทส์ ซอฟแวร์ จาก ที่แอลซี สแกนเนอร์ 3 (คาแมก สวิตเซอร์แลนด์) ในการกราดตรวจเด็นซิโตแกรม ความยาวคลื่นของเครื่องตรวจวัดถูกตั้งไว้ที่ 254 นาโนเมตร การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่แอลซี-เด็นซิโตเมทรีประเมินจาก ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ความแม่นยำ ความถูกต้อง ซีดจำกัดในการตรวจวัด และ ซีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ ซึ่งได้อ้างอิงตามแนวทางการปฏิบัติของ International Conference on Harmonization พบว่าตัวแปรที่ใช้ประเมินวิธีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่แอลซี-เด็นซิโตเมทรีอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนั้น ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่ามากกว่า 0.995 ซึ่งบ่งบอกถึงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ ความแม่นยำของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวและต่างวันกันมีความแม่นยำดีโดยแสดงออกมาเป็นค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่าร้อยละ 5 มีค่าเฉลี่ยร้อยละการคืนกลับของไพเพอริน และ พลัมบาจิน เท่ากับ ร้อยละ 99.87 และ 107.45 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความถูกต้องของวิธีที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ซีดจำกัดในการตรวจวัดไพเพอริน และ พลัมบาจิน เท่ากับ 5.03 และ 2.84 นาโนกรัมต่อแถบสาร ตามลำดับ ในขณะที่ซีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณไพเพอริน และ พลัมบาจินมีค่าเท่ากับ 15.26 และ 7.51 นาโนกรัมต่อแถบสาร ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของตำรับยาเบญจกูลที่เตรียมขึ้นเอง และ ตำรับยาเบญจกูลที่ขายในท้องตลาดจำนวน 4 ยี่ห้อ พบว่าปริมาณของไพเพอริน และ พลัมบาจิน อยู่ในช่วงร้อยละโดยมวลเท่ากับ 0.98 ± 0.0007 ถึง 1.71 ± 0.0011 และ ตรวจไม่พบถึง 0.61 ± 0.0009 ตามลำดับ การควบคุมคุณภาพโดยวิธีที่แอลซี-เด็นซิโตเมทรีนี้มีข้อดีหลายประการ อาทิเช่น มีความรวดเร็ว น่าเชื่อถือ ใช้สารเคมีในปริมาณน้อย และ ประหยัดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ ซึ่งเหมาะสมในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารสำคัญ ไพเพอริน และ พลัมบาจิน ในตำรับยาเบญจกูลเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบก่อนการผลิต รวมถึง ตำรับยาหลังผลิตที่พร้อมออกขายในท้องตลาด

Abstract

Quantitative analysis of Piperine and plumbagin in Benjakul formulation by TLC-densitometric method

Pitchakorn Petaipanakij, Wathunyu Sirithaporn, Pattamapan Lomarat¹, Pongtip Sithisarn², Savita Chewchinda^{1*}

¹ Department of Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

² Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keywords: piperine, plumbagin, TLC-densitometric method

The purpose of this study was to develop and validate a TLC densitometric method for quantitative analysis of piperine and plumbagin content in “Benjakul (BEN)” Thai polyherbal formulation. BEN was recognized in the list of herbal medicinal products of national list of essential medicine of Thailand as carminative and adaptogenic drug. For in-house preparation, the dried powder of root of *Plumbago indica* Linn., root of *Piper sarmentosum* Roxb., stem of *Piper interruptum* Opiz., fruit of *Piper longum* Linn. and rhizome of *Zingiber officinale* Roscoe were mixed in equal proportion according to BEN formula. For BEN commercial products, 4 brands of BEN were purchased from herbal drug stores in Bangkok. TLC analysis was performed on an aluminum sheet of silica gel 60 F254 using toluene: ethyl acetate: formic acid (8:2:0.5, v/v/v) as a mobile phase. The densitometric scanning was performed by TLC Scanner 3 (Camag, Switzerland) with winCATS software. The wavelength of the detector was set at 254 nm. The TLC densitometric method was validated by evaluation of linearity, precision, accuracy, limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) according to the International Conference on Harmonization guideline. The proposed TLC densitometric method showed acceptable validation parameters. The correlation coefficient value was > 0.995 , confirming the linearity of the method. Intra-day and inter-day precisions were shown to be precise with relative standard deviations of less than 5%. The average percentage recoveries of piperine and plumbagin were 99.87% and 107.45%, suggesting acceptable accuracy. The LOD of piperine and plumbagin were found to be 5.03 and 2.84 ng/band while the LOQ of piperine and plumbagin were found to be 15.26 and 7.51 ng/band, respectively. For quantitative analysis of in-house preparation and 4 commercial products of BEN, it was found that the content of piperine and plumbagin were in the ranges of 0.98 ± 0.0007 - 1.71 ± 0.0011 %w/w and not detected - 0.61 ± 0.0009 %w/w, respectively. TLC-densitometric method showed several advantages such as rapid, reliable, less solvents used, and low cost analysis. It provides a qualitative and quantitative analysis of piperine and plumbagin in BEN for quality control of the raw materials and its commercial products.