

การพัฒนาวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อ
วิเคราะห์กรดคาเฟอิกและโรสมารินิคใน
สารสกัดใบรางจืด

นางสาวพนิดา โพธิ์พรหม

นายสันหวัช พรหมโยธิน

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2560

DEVELOPMENT OF HIGH PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY METHOD FOR
DETERMINATION OF CAFFEIC ACID AND
ROSMARINIC ACID IN *THUNBERGIA LAURIFOLIA*
LEAF EXTRACT

MISS PANIDA PHOPHROM

MR. SANHAWAT PROMYOTHIN

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

2017

โครงการพิเศษ

เรื่อง การพัฒนาวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อวิเคราะห์
กรดคาเฟอิกและโรสมารินิคในสารสกัดใบรางจืด

ลายเซ็น

(นางสาวพนิดา โพธิ์พรม)

ลายเซ็น

(นายสัณหวัช พรหมโยธิน)

ลายเซ็น

(ผศ.ดร.ภญ.ปิยนุช ใจงาม)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ลายเซ็น

(รศ.ดร.ภญ.ชุตินา เพชรกระจ่าง)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ลายเซ็น

(ผศ.ดร.ภญ.ปองทิพย์ สิริสาร)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อวิเคราะห์ กรดคาเฟอิกและโรสมารินิกในสารสกัดใบรางจืด

พนิดา โพธิ์พรม, สัณหวัช พรหมโยธิน

อาจารย์ที่ปรึกษา: ปิยนุช ไรจน์สง่า*, ชุตติมา เพชรกระจ่าง*, ปองทิพย์ สิทธิสาร**

*ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

**ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ: รางจืด, กรดคาเฟอิก, กรดโรสมารินิก, โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

รางจืด (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) เป็นสมุนไพรที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ในบัญชียาหลักแห่งชาติ ระบุข้อบ่งใช้ของรางจืดในรูปแบบยาแคปซูลและชาชงสำหรับ ถอนพิษไข้ แก้อ่อนใน อย่างไรก็ตามยังไม่มีการระบุสารสำคัญสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพใบรางจืดมาก่อน โครงการพิเศษนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดคาเฟอิกและกรดโรสมารินิกในสารสกัดใบรางจืด โดยอาศัยเทคนิค quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) สภาวะที่เหมาะสมประกอบด้วย คอลัมน์รีเวอร์สเฟส C-18 ภูมิภาคเคลื่อนที่คือ 0.02% ortho-phosphoric acid และ acetonitrile แบบ gradient elution ที่ความยาวคลื่น 330 นาโนเมตรและอัตราการไหลของภูมิภาคเคลื่อนที่คือ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดคาเฟอิกและกรดโรสมารินิกโดยวิธี external standard แล้วจึงเลือกกรดโรสมารินิกเป็นตัวแทนภายใน ในการหาค่า relative correction factors (RCF) ระหว่างกรดคาเฟอิกและกรดโรสมารินิก ปริมาณกรดคาเฟอิกจึงสามารถคำนวณได้โดยตรงจากค่า RCF เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของกรดคาเฟอิกที่ได้จากการคำนวณโดยวิธี external standard และวิธี QAMS พบว่าปริมาณกรดคาเฟอิกที่ได้จากทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p มากกว่า 0.05 เมื่อวิเคราะห์ด้วยสถิติแบบ paired T-test ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธี QAMS ที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีที่ถูกต้องและเชื่อถือได้ สามารถประยุกต์ใช้ในการควบคุมคุณภาพสารสกัดใบรางจืดต่อไปในอนาคต

Abstract

Development of high performance liquid chromatography method for determination of caffeic acid and rosmarinic acid in *Thunbergia laurifolia* leaf extract

Panida Phoprom, Sanhawat Promyothin

Project advisor : Piyanuch Rojsanga*, Chutima Petchkrajang*, Pongthip Sitthisarn**

* Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

** Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword : *Thunbergia laurifolia*, Caffeic acid, Rosmarinic acid, High performance liquid chromatography

Thunbergia laurifolia Lindl., known as Rang Chuet, is a medical plant that is popularly used in Thailand. In National Drug list, the indication of Rang Chuet capsules and infusion was assigned for treatment of fever and aphthous ulcer. However, a marker compound for the quality control of *T. laurifolia* was not clearly identified. The objective of this study was to develop the high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the quantitative analysis of caffeic acid and rosmarinic acid in *T. laurifolia* leaf extract using quantitative analysis of multi-components by single-marker technique. The optimal condition consisted of a C-18 reversed-phase column with the mobile phase of 0.02% ortho-phosphoric acid and acetonitrile using gradient elution. The detection wavelength was 330 nm and the flow rate was 1 ml/min. Quantitative analysis of caffeic acid and rosmarinic acid were conducted using the external standard (ES) method, then rosmarinic acid was selected as the internal constituent to calculate the relative correction factors (RCF) between caffeic acid and rosmarinic acid. The content of the caffeic acid can be directly calculated from the RCF. Comparing caffeic acid contents obtained from ES and QAMS method, it was found that there is no significant difference between caffeic acid contents obtained from both methods with p-value higher than 0.05% using paired T-test statistical analysis. The results from this study indicated that the developed QAMS method was accurate and reliable which could be applied for quality control of *T. laurifolia* leaf extract in the future.