ชื่อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและการควบคุมคุณภาพโดยเทคนิค HPLC ของสารจากเหง้ากระชาย
ผู้เขียน	นางสาวทัศนีย์ ปานผดุง
สาขาวิชา	เภสัชศาสตร์
ปีการศึกษา	2546

บทคัดย่อ

การศึกษาพฤกษเคมีของเหง้ากระชาย สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสารสกัดเอธานอลได้ 5 ชนิด คือ pinostrobin (**1**), β-sitosterol (**2**), pinocembrin (**3**), cardamonin (**4**) และ alpinetin (**5**) โดยหาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ด้วยวิธีทางกายภาพ (จุดหลอมเหลว การเบี่ยงเบนระนาบแสง) และวิธีทางสเปคโตรสโคปี (UV, IR, MS, NMR) ในการทดสอบหาปริมาณ phenol ทั้งหมดในสารสกัดเอธานอลจากเหง้ากระชาย โดยเทียบจากสารมาตรฐาน caffeic acid ได้ปริมาณ phenol ทั้งหมด 10.6 ± 0.2 % ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ 50% (EC_{50}) ของสารสกัดเอธานอลจากเหง้ากระชาย มีค่า 67.7 ± 2.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากกระชาย พบว่า pinocembrin มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารบริสุทธิ์ชนิดอื่น มีค่า EC_{50} 297 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน pinostrobin, alpinetin, cardamonin และ β-sitosterol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ (EC_{50} >500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนการยับยั้งการสลายตัวของไขมันโดยวิธี linoleic acid assay ของสารสกัดเอธานอลจากเหง้ากระชาย มีค่า 64.4 % ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระชายเป็นสมุนไพรที่สามารถแสดงฤทธิ์ antioxidant โดยอาศัยกลไกต้านอนุมูลอิสระ การควบคุมคุณภาพเหง้ากระชายนั้น ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารในกลุ่ม flavonoids (**1**, **3** – **5**) โดยเทคนิค HPLC ใช้คอลัมน์ชนิด ODS (RP-18) เลือกสภาวะที่เหมาะสม โดยดูจากค่า resolution (Rs), capacity factor (k'), selectivity factor (α), และ tailing factor (T_f). ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารผสม 0.5% v/v acetic acid ในน้ำ กับ acetonitrile ในอัตราส่วน 45 ต่อ 55 ด้วยอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วย photodiode array UV ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร สามารถแยกสารโดยใช้เวลาวิเคราะห์น้อยกว่า 30 นาที ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ มีค่า %RSD เท่ากับ 2 และ 3 สำหรับการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน และการวิเคราะห์ต่างวัน ตามลำดับ การควบคุมคุณภาพเชิงปริมาณของ

กระชาย สามารถวิเคราะห์ได้จากสารหลัก (pinostrobin) การควบคุมคุณภาพด้วยเทคนิค HPLC จะให้ผลการวิเคราะห์ที่เร็ว และแม่นยำ นอกจากนี้ได้มีการศึกษาเหง้ากระชายจากแหล่งที่แตกต่างกัน 5 แหล่ง พบว่ามีอัตราส่วนของสารเหมือนกัน และฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระจะสัมพันธ์กับปริมาณ pinostrobin

Thesis Title	Antioxidant Activity and Quality Control by HPLC Method of Constituents from *Boesenbergia pandurata* Rhizomes
Author	Miss Tassanee Panphadung
Major Program	Pharmaceutical Sciences
Academic Year	2003

Abstract

Three flavanone, pinostrobin (**1**), pinocembrin (**3**) and alpinetin (**5**), a charcone, cardamonin (**4**) and β-sitosterol (**2**) were isolated from the fresh rhizome of *Boesenbergia pandurata*. Physicochemical properties (melting point and circular dichroism) and spectroscopic (UV, IR, MS, NMR) techniques were performed for compound characterization. The crude ethanolic extract was determined the total phenolic content using caffeic acid as standard to be 10.6 $\pm$ 0.2 %w/w, tested for the radical scavenging activity showing EC_{50} values was 67.7 ± 2.6 μg/ml, however, was found to be related to the amount of **3** presented in the rhizome (EC_{50} = 297 μ g/ml of **3** *vs.*>500 μg/ml for **1, 2, 4, 5**, respectively). The percent inhibition of autoxidation by linoleic acid assay showed to be 64.4%. The results also indicate that *B. pandurata* might be a good source of natural antioxidants, which can be used to prevent free-radical deleterious effects. An analytical method was developed to determine 4 flavonoids (compounds **1**, **3** – **5**) and crude ethanolic extract, using high performance liquid chromatographic (HPLC) technique. With an ODS column (RP-18) and diode array detection, the analytical condition was optimized in terms of resolution (Rs), capacity factor (k □), selectivity factor (α), and tailing factor (T_f).

With isocratic elution, a mobile phase consisting of 0.5% acetic acid:acetonitrile (45:55), at a flow rate of 1.0 ml/min, detection at λ 280 nm, the compounds were well separated in a total analysis time of less than 30 min. Intra-day and inter-day of the method were 2 % and 3% RSD, respectively. The quantity control demonstrated an HPLC determination of major constituents (pinostrobin, **1**) in rhizome of *B. pandurata*. This method would allow for a fast and accurate standardization method for the main ingredients presented in this plant Five different sources of dry rhizome of *B. pandulata* were then analyzed for **1** – **5** and evaluated for their antioxidation using DPPH assay. Results showed a consistent ratio for the amount of compounds. The scavenging assay was found to be related to the quantity of pinostrobin (**1**) presented in these samples.