0075-99960

การสกัดแยกและการตรวจเอกลักษณ์สารไดเทอร์พีนอยด์จากต้นฟ้าทะลายโจร

Isolation and Identification of Diterpenoids from *Andrographis paniculata* Wall ex. Nees

รัตนา อินทรานุปกรณ์

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
ปีการศึกษา 2545

ชื่อเรื่อง การสกัดแยกและการตรวจเอกลักษณ์สารไดเทอร์พีนอยด์จากต้นฟ้าทะลายโจร

ผู้วิจัย รัตนา อินทรานุปกรณ์

สถาบัน มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ปีที่พิมพ์ 2548

สถานที่พิมพ์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

แหล่งที่เก็บรายงานฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

จำนวนหน้างานวิจัย 49 หน้า

คำสำคัญ ฟ้าทะลายโจร, ไดเทอร์พีนอยด์, chemical marker, andrographolide, neoandrographolide, chromatography, spectrometer

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

บทคัดย่อ

ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* Wall ex. Nees) เป็นพืชสมุนไพรที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง เพื่อควบคุมคุณภาพทั้งวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ของฟ้าทะลายโจร จึงทำการสกัดแยกสารสำคัญหลัก (andrographolide) และสารสำคัญรอง (neoandrographolide) ในกลุ่มไดเทอร์พีนอยด์เพื่อใช้เป็น chemical markers โดยสกัดผงฟ้าทะลายโจรด้วย ethanol จากนั้นนำไป partition ด้วย hexane และ ethyl acetate นำน้ำยาสกัด ethyl acetate มาแยกสารไดเทอร์พีนอยด์ด้วย silica gel column chromatography ในสารละลายผสมของ chloroform และ methanol จนกระทั่งได้ andrographolide และ neoandrographolide ในสภาพบริสุทธิ์

Andrographolide ที่แยกได้มี TLC profiles เช่นเดียวกับสารมาตรฐาน andrographolide (Aldrich®) กล่าวคือมีค่า hR_f เท่ากับ 54 (ระบบตัวทำละลาย: chloroform:absolute ethanol = 85:15), quenching ภายใต้ UV 254 nm และให้สีม่วงคล้ำเมื่อสเปรย์ด้วย Kedde reagent เมื่อทำการตกผลึกด้วย hexane จะได้ผลึกรูป plate สีขาว ทำนองเดียวกับ neoandrographolide ที่แยกได้ มี TLC profiles เช่นเดียวกับ neoandrographolide ใน Thai Herbal Pharmacopoeia กล่าวคือมีค่า hR_f เท่ากับ 30 (ระบบตัวทำละลาย: chloroform:absolute ethanol = 85:15) และให้สีม่วงคล้ำเมื่อสเปรย์ด้วย Kedde reagent เมื่อทำการตกผลึกด้วย hexane-chloroform จะได้ผลึกรูปเข็มสีขาว

การตรวจเอกลักษณ์ andrographolide ที่แยกได้เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน andrographolide (Aldrich®) ด้วยการวัดค่า m.p., UV_{max}, hR_f values ใน TLC ด้วยสารละลาย 3

ระบบ (chloroform:absolute ethanol = 85:15, acetone:methanol = 90:10, n-butanol:ethyl acetate = 20:80) และ retention time ใน HPLC ด้วย mobile phase 3 ระบบ (MeOH: H_2O =80:20; 70:30; 60:40) เปรียบเทียบกับ internal standard (propyl paraben) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันมาก/เท่ากันดังนี้ m.p. 230-231°C (สารมาตรฐาน: 230-231°C), UV_{max}222 nm (สารมาตรฐาน: 222 nm), hR_f values ใน TLC ด้วยสารละลาย 3 ระบบ 54, 21, 44 ตามลำดับ (สารมาตรฐาน: 54, 21, 44 ตามลำดับ) และ retention times (เปรียบเทียบกับ internal standard : propyl paraben) ใน HPLC ด้วย mobile phase 3 ระบบ 3.133/4.225, 3.951/6.484, 5.868/11.636 (สารมาตรฐาน: 3.134/4.246, 3.939/6.459, 5.949/11.845)

สำหรับการตรวจเอกลักษณ์ neoandrographolide ที่แยกได้ เปรียบเทียบกับข้อมูลจากวารสารด้วยการวัดค่า melting point, UV_{max}และ hR_f value ใน TLC ด้วยสารละลาย 3 ระบบ (chloroform:absolute ethanol = 85:15, methanol:chloroform = 7:1, n-butanol:ethyl acetate = 20:80) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันมาก/เท่ากันดังนี้ m.p.168-169°C (วารสาร 168-169°C), UV_{max}207 nm (วารสาร 205 nm), hR_f values ใน TLC ด้วยสารละลาย 3 ระบบ 30, 39, 25 ตามลำดับ (วารสาร 30, 39, 25 ตามลำดับ) นอกจากนี้ข้อมูล 1D-/2D-^{1}H NMR spectra สามารถยืนยันโครงสร้างทางเคมีของสาร neoandrographolide ได้

Research Title Isolation and Identification of Diterpenoids from *Andrographis paniculata* Wall ex. Nees

Researcher Ratana Indranupakorn

Institution Huachiew Chalermprakiet University

Year of Publication 2005

Publisher Huachiew Chalermprakiet University

Sources Huachiew Chalermprakiet University

No. of Pages 49 pages

Keywords fa-tha-lai-chon, diterpenoids, chemical marker, andrographolide, neoandrographolide, chromatography, spectrometer

Copyright Huachiew Chalermprakiet University

Abstract

Fa-tha-lai-chon (*Andrographis paniculata* Wall ex. Nees) is extensively used as household medicines in Thailand. There is a need of standardizing its raw materials and products for obtaining consistent composition and to ensure predetermined potency of the drug. It is, therefore, necessary to standardize them on the basis of chemical constituents. The major and minor active constituents "andrographolide" and "neoandrographolide", which are diterpenoids, can be selected as characterizing compounds or chemical markers. The dry powdered whole plant of Fa-tha-lai-chon was extracted successively with ethanol. The concentrated extract was further partitioned with hexane and ethyl acetate. Andrographolide and neoandrographolide in the ethyl acetate layer were isolated from the other substances by column chromatography on silica gel. Several volumes of the mixture of chloroform and ethanol were passed through the column. Based on similar TLC profiles of standard andrographolide (Aldrich®) and neoandrographolide in Thai Herbal Pharmacopoeia (hR_f values = 54 and 30 respectively (solvent system: chloroform:absolute ethanol = 85:15); both give dark-violet color after spraying the TLC plate with Kedde reagent), the purified andrographolide and neoandrographolide were isolated and crystallized by using hexane and the mixture of

hexane and chloroform, respectively, affording white plates of andrographolide and white needles of neoandrographolide.

The purified andrographolide was identified on the basis of m.p., UV_{max}, hR_f values in the TLC using 3 different solvent systems (chloroform : absolute ethanol = 85:15, acetone : methanol = 90:10, n-butanol : ethyl acetate = 20:80) and retention time in the reversed phase HPLC using 3 different solvent systems (MeOH: H_2O =80:20; 70:30; 60:40), compared with standard andrographolide (Aldrich®), given the match of data: m.p. 230 - 231°C (standard: 230-231°C), UV_{max}222 nm (standard: 223 nm), hR_f values in the TLC using 3 different solvent systems 54, 21, 44 respectively (standard: 54, 21, 44 respectively) และ retention times (compared with internal standard : propyl paraben) in the reversed phase HPLC using 3 solvent different systems 3.133/4.225, 3.951/6.484, 5.868/11.636 (standard: 3.134/4.246, 3.939/6.459, 5.949/11.845)

The purified neoandrographolide was identified, compared with the journal's data, on the basis of melting point, UV_{max}, hR_f value in the TLC using 3 different solvent systems (chloroform:absolute ethanol = 85:15, methanol:chloroform = 7:1, n-butanol:ethyl acetate = 20:80) revealed the relevant data: m.p.168-169°C (Lit. 168-169°C), UV_{max}207 nm (Lit. 205 nm), hR_f values in the TLC using 3 different solvent systems 30, 39, 25 respectively (30, 39, 25 respectively). In addition, analyses of 1D-/2D-^{1}H NMR spectra have confirmed the chemical structure of neoandrographolide.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่อนุญาตให้ใช้สถานที่ในการทำการวิจัย

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
HUACHIEW CHALERMPRAKIET UNIVERSITY
華僑崇聖大學