

## ผลของระยะเวลาการเก็บต่อปริมาณกรดคาเฟอิกในยาต้มรากเตย

รณชัย ภูวนานา<sup>1,3\*</sup>, นฤตล ฮตฤชา<sup>2</sup>, พิริยา คำชู<sup>2</sup>, จตุพร ประทุมเทศ<sup>1</sup>, จงกล พูลสวัสดิ์<sup>1</sup>

Received: 31 January 2017

Accepted: 23 March 2017

### บทคัดย่อ

**บทนำ:** เตยหอมเป็นสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของตำรับยารักษาเบาหวานที่ใช้ในโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทยสกลนคร หลวงปู่แป็บ สุภโท และเป็นตำรับยาต้มดื่ม ที่มักเกิดปัญหาในการเตรียมยาของผู้ป่วย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บยาต้ม ต่อปริมาณกรดคาเฟอิกของรากเตยหอม **วิธีดำเนินการวิจัย:** สกัด และเปรียบเทียบปริมาณสาร กรดคาเฟอิก ของยาต้มรากเตยหอมที่ผ่านการต้ม กรอง และเก็บที่ระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ 1, 24, 72 และ 120 ชั่วโมง ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบผิวนาง และโครมาโตกราฟีแบบสมรรถนะสูง **ผลการวิจัย:** กรดคาเฟอิกจากสารสกัดรากเตย มีค่าระยะทางที่ตัวถูกละลายเคลื่อนที่ เท่ากับ 0.62 และการตรวจสอบโครมาโตกราฟีแบบสมรรถนะสูง มีปริมาณกรดคาเฟอิก ในรากเตยที่ผ่านกระบวนการต้ม และเก็บที่ระยะเวลา 1, 24, 72 และ 120 ชั่วโมง ร้อยละ  $3.04 \pm 0.03$   $6.33 \pm 0.01$ ,  $11.44 \pm 0.02$  และ  $12.77 \pm 0.01$  ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทาง ( $P < 0.05$ ) โดยการเก็บยาที่ 120 ชั่วโมง พบปริมาณสารกรดคาเฟอิกมากที่สุด **สรุปผลการวิจัย:** การเก็บยาที่ระยะเวลาต่างๆ ส่งผลกระทบต่อปริมาณกรดคาเฟอิก โดยเฉพาะที่เวลา 120 ชั่วโมง วันที่พบว่าปริมาณกรดคาเฟอิกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลดังกล่าวเป็นข้อมูลสำคัญและสามารถใช้อ้างอิงเกี่ยวกับการเก็บยา ที่เป็นยาต้มรากเตยได้

**คำสำคัญ:** รากเตย กรดคาเฟอิก ยาต้มสมุนไพร

**วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2560; 13 (ฉบับพิเศษ): 83-88**

<sup>1</sup> อาจารย์, สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ต.พังโคน อ.พังโคน จ.สกลนคร 47160

<sup>2</sup> นักศึกษาปริญญาตรี, หลักสูตรแพทย์แผนไทยบัณฑิต (พท.บ) สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย, คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ต.พังโคน อ.พังโคน จ.สกลนคร 47160

<sup>3</sup> นักศึกษาปริญญาเอก, หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปร.ด.) สาขาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

\* **ติดต่อผู้พิมพ์:** สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ต.พังโคน อ.พังโคน จ.สกลนคร 47160 โทร. 082-1001443 e-mail: Ronnachai\_p1@outlook.com

## Influence of Duration Times of Storage on the Caffeic Acid Contents in *Pandanus amaryllifolius* Root Decoction

Ronnachai Poowanna<sup>1,3\*</sup>, Naruedon Hodruecha<sup>2</sup>, Piriya Kumchoo<sup>2</sup>, Jatuporn Prathumtet<sup>1</sup>, Jongkol Poonsawat<sup>1</sup>

### Abstract

**Introduction:** *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Is a medicinal plant used in the treatment of diabetes in Thai Traditional Hospital Sakon Nakhon Venerable Luang Pu Fab Subhatto. Decoction of this plant root is invention for patients to prepare the medication in this formulated. The present study aimed to investigate the effects of duration times of storage 1, 24, 72 and 120 hours after preparation on the amount of caffeic acid (CA), in *P. amaryllifolius* root. **Methods:** using the Thin layer Chromatography (TLC) and the High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) Techniques **Results:** CA in the sample showed  $R_f$  value of 0.62 and its contents inter sample after keep the preparation at 1, 24, 72 and 120 hours were  $3.04 \pm 0.03$ ,  $6.33 \pm 0.01$ ,  $11.44 \pm 0.02$  and  $12.77 \pm 0.01$  percentage respectively, storage of the sample at 120 h. gave the highest content of CA ( $P < 0.05$ ) **Conclusion:** Duration times of storage of *P. amaryllifolius* root. Decoction afforded CA content. This investigation provides important information and reference about storage time of decoction *cautionary P.amaryllifolius* root.

**Keywords:** Root of *P. amaryllifolius* Roxb., Caffeic acid, Herbal decoction

**IJPS 2017; 13 (Supplement): 83-88**

<sup>1</sup> Lecturer, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology ISAN Sakonnakorn Campus, Pungkhon, Sakonnakorn, Thailand 47160

<sup>2</sup> B.Student, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology ISAN Sakonnakorn Campus, Pungkhon, Sakonnakorn, Thailand 47160

<sup>3</sup> PhD. Student, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantarawichai, Mahasarakham, Thailand 44150

\* **Corresponding author:** Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology ISAN Sakonnakorn Campus, Pungkhon, Sakonnakorn, Thailand 47160, Tel. 081-2001443, e-mail: Ronnachai\_p1@outlook.com

## บทนำ

เตยหอม (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) วงศ์ Pandanaceae เป็นสมุนไพรที่มีการใช้ทางการแพทย์แผนไทย และการแพทย์แบบพื้นบ้าน มีสรรพคุณ แก้กระหายน้ำ รักษาโรคหิด บำรุงหัวใจ ลดความดันโลหิต (Penchom et al., 1990) และรักษาโรคเบาหวาน ซึ่งปัจจุบันเตยได้รับความนิยมนำมาใช้เพื่อรักษาโรคเบาหวานเป็นจำนวนมาก ซึ่งจากงานวิจัยพบว่ารากเตยมีกลไกการออกฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดได้ เช่น ออกฤทธิ์คล้ายอินซูลิน ออกฤทธิ์เกี่ยวกับการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อน ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์กลูโคส และเพิ่มการใช้กลูโคสในตับ (Penchom et al., 1996) ในตำราเภสัชกรรมไทย กล่าวว่า รากเตยมีสรรพคุณแก้กระษัย ไตพิการ และขับปัสสาวะ (Thamaweck, 2004) นอกจากนี้รากเตยยังเป็นส่วนประกอบสำคัญในตำรับยารักษาเบาหวานของโรงพยาบาลการแพทย์แผนไทยสกลนคร หลวงปู่แฟบ สุภัทโท ส่วนประกอบได้แก่ รากมะยม บอระเพ็ด รากเตย และอื่นๆ วิธีการเตรียมยา จะใช้วิธีการต้มโดยใช้เวลา 15 ถึง 20 นาที กรองและรับประทาน หลังอาหาร วันละ 3 มื้อ แต่เนื่องจากการใช้ชีวิตประจำวันที่รีบเร่งคนไข้ส่วนใหญ่ไม่สะดวกในการต้มยาสมุนไพรทุกวัน ผู้ทำวิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของการพัฒนายาต้มสมุนไพรพร้อมดื่ม จึงทำการศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บต่อปริมาณ กรดคาเฟอิก (caffeic acid, CA) เพื่อเปรียบเทียบปริมาณ CA ที่เก็บที่ระยะเวลาแตกต่างกัน เนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารดังกล่าวมีฤทธิ์มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด (Ghasemzadeh Ali and Jaafar Hawa, 2014) โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และวิธี High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) (Vongsak et al., 2013) เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บยาต้มสมุนไพร ต่อปริมาณ CA และเป็นข้อมูลสำคัญในการพัฒนายาต้มพร้อมดื่มให้มีมาตรฐานต่อไปในอนาคต

## วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดสมุนไพรรากเตย โดยทำความสะอาดรากเตย สับเป็นชิ้นแบบหยาบ อบที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียสใช้เวลา 3 วัน และบดให้เป็นผงละเอียด

จากนั้นชั่งผงรากเตย 100 กรัมใส่ผ้าขาวบางใส่หม้อยาต้มสมุนไพร ผสมกับน้ำ 1,000 มิลลิลิตร ตั้งอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส 15 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด ตั้งทิ้งไว้จนอุ่น แล้วกรองด้วยผ้าสี และเตรียมตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างที่ได้หลังจากการต้มแล้วเก็บไว้ 1, 24, 72 และ 120 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

2. การทำสารสกัดยาให้เข้มข้นโดยนำยาต้มมาระเหยเพื่อเอาตัวทำละลายออก โดยการใช้ความเย็น ด้วยการระเหิดแห้ง ด้วยเครื่อง Freeze dryer รุ่น Free Zone ยี่ห้อ Laboonco ที่อุณหภูมิ -100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นชั่งสารที่เหลือจากการระเหยเพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณสารสกัดยา และเก็บสารสกัดจากรากเตยที่ได้จากการระเหยแห้งไว้ที่ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

### 3. การวิเคราะห์ลักษณะทางโครมาโตกราฟี

#### 3.1 Thin Layer chromatography

เตรียมแผ่น TLC (Silica gel 60 F254 Aluminium Sheet) ขนาด 20x20 เซนติเมตร โดยตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ได้แก่ โทลูอิน เอทิลอซิเตท กรดฟอร์มิก และเมทานอล อัตราส่วน 6:6:1.6:1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ และสารมาตรฐาน คือ CA จุดลงบนแผ่น TLC รอให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วจุ่มลงใน TLC Tank ที่เตรียมไว้ รอจนสาร เคลื่อนที่ไปจนถึงจุดสิ้นสุดที่กำหนดไว้ แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย เครื่องรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาการะยะทางที่สารเคลื่อนที่ได้ หรือ Retention factor ( $R_f$ )

3.2 High performance thin layer chromatography (HPTLC)

1) เตรียมสารมาตรฐาน CA ที่ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 และ 0.03125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายในน้ำปราศจากไอออน จากนั้น ฉีดสารลงบนแผ่น TLC ด้วยเครื่อง Sample application-CAMAG Linomat 5 แล้วจุ่มลงใน TLC Tank ที่เตรียมไว้ รอจนสาร เคลื่อนที่ไปจนถึงจุดสิ้นสุด แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย เครื่อง TLC scanner-CAMAG Linomat 5 เพื่อหาพื้นที่ใต้กราฟ และทำการหาปริมาณ

2) เตรียมสารสกัดสมุนไพรรากเตย ที่

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้น ฉีดลงบนแผ่น TLC นำไปจุ่มลงใน TLC Tank ที่เตรียมไว้ และตรวจหาปริมาณสารด้วยเครื่อง TLC scanner-CAMAG Linomat 5 ด้วยการนำพื้นที่ใต้กราฟแทนในสูตรของกราฟมาตรฐาน และคำนวณปริมาณ CA ที่พบ และวิเคราะห์ทางสถิติด้วย ANOVA

## ผลการวิจัย

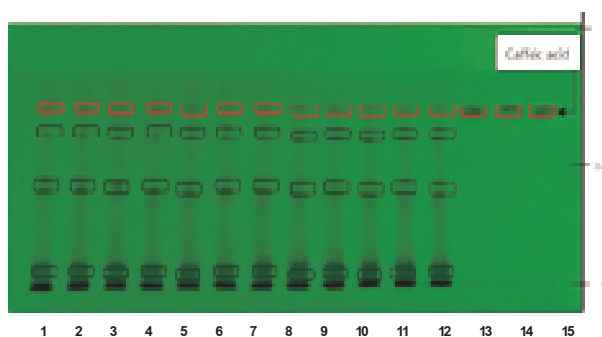
1) ปริมาณสารสกัดหยาบ จากการนำรากเตย

มาสกัดด้วยน้ำ โดยวิธีการต้มใช้ ผงรากเตย 100 กรัม ต่อน้ำ 1,000 มิลลิลิตร ที่ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 15 นาที และเก็บไว้ที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่าที่ระยะเวลาในการเก็บ 120 ชั่วโมง มีปริมาณของสารสกัดหยาบมากที่สุด คือ ร้อยละ 7.79 (ตารางที่ 1)

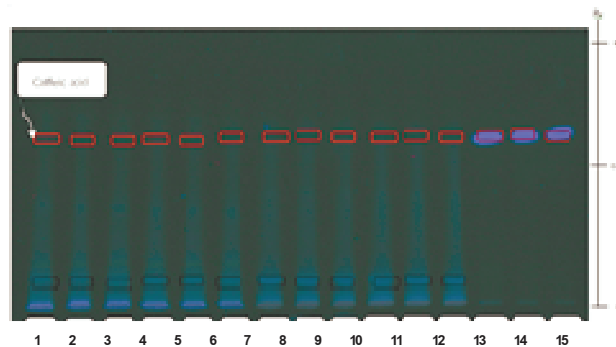
2) ลักษณะทางโครมาโตกราฟี เมื่อวิเคราะห์ด้วย TLC ผลที่ได้จากการตรวจสอบของสารสกัดรากเตย เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน คือ CA พบว่ามีจุดที่มีระยะทางการเคลื่อนที่ตรงกัน คือมีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.62 (รูปที่ 1 และ 2)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของสารสกัดหยาบ ของรากเตยที่ต้มด้วยน้ำ เก็บในระยะเวลาที่แตกต่างกันเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

| สารสกัดรากเตยที่ระยะเวลาต่าง ๆ | ค่าเฉลี่ยของสารสกัดหยาบ |
|--------------------------------|-------------------------|
| เก็บที่ 1 ชั่วโมง              | 5.35±0.02               |
| เก็บที่ 24 ชั่วโมง             | 6.27±0.02               |
| เก็บที่ 72 ชั่วโมง             | 7.62±0.03               |
| เก็บที่ 120 ชั่วโมง            | 7.79±0.01               |

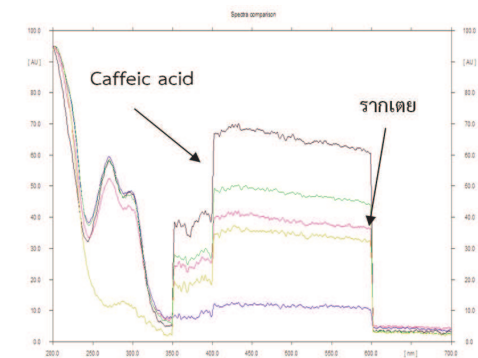


รูปที่ 1 ลักษณะของโครมาโตกราฟี จากวิธี TLC ที่สังเกตด้วย UV 254 นาโนเมตร ของสารสกัดรากเตย หมายเลข 1-3 เก็บนาน 1 ชั่วโมง หมายเลข 4-6 เก็บนาน 24 ชั่วโมง หมายเลข 7-9 เก็บนาน 72 ชั่วโมง หมายเลข 10-12 เก็บนาน 120 ชั่วโมง หมายเลข 13-15 สารมาตรฐาน CA

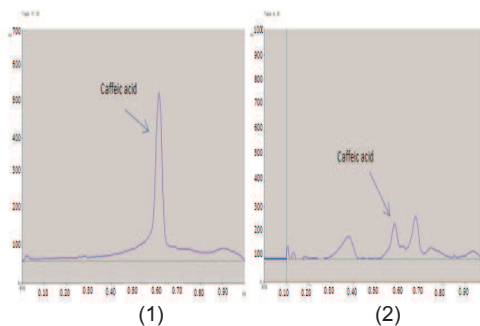


**รูปที่ 2** ลักษณะของโครมาโตกราฟี จากวิธี TLC ที่สังเกตด้วย UV 366 นาโนเมตร ของสารสกัดรากเตยหมายเลข 1-3 เก็บนาน 1 ชั่วโมง หมายเลข 4-6 เก็บนาน 24 ชั่วโมง หมายเลข 7-9 เก็บนาน 72 ชั่วโมง หมายเลข 10-12 เก็บนาน 120 ชั่วโมง หมายเลข 13-15 สารมาตรฐาน CA

3) ลักษณะทางโครมาโตกราฟีเมื่อ วิเคราะห์ด้วย HPTLC ตรวจวัดปริมาณของสารที่อยู่ใน บน TLC plate โดยใช้หลักการของการดูดกลืนแสง เรืองแสงของสาร พบว่าลักษณะของสเปกตรัม และ โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน และสารสกัดราก เตยมีลักษณะเหมือนกัน (รูปที่ 3 และ 4)



**รูปที่ 3** ลักษณะของสเปกตรัม ของสารมาตรฐาน CA และสารสกัดรากเตย ที่ค่าดูดกลืนแสง ระหว่าง 350 ถึง 600 นาโนเมตร



**รูปที่ 4** ลักษณะของโครมาโตแกรม ของ CA (1) และสารสกัดรากเตย (2)

4) การวิเคราะห์หาปริมาณ CA ในสารสกัดรากเตยหลังจากการต้มแล้วเก็บไว้ในระยะเวลา 1, 24, 72 และ 120 ชั่วโมง พบว่าที่เวลา 120 ชั่วโมงมีปริมาณ CA มากที่สุด ร้อยละ  $12.77 \pm 0.01$  รองลงมาคือที่ 72, 24 และ 1 ชั่วโมง มีปริมาณ CA ร้อยละ  $11.44 \pm 0.02$ ,  $6.33 \pm 0.01$  และ  $3.04 \pm 0.03$  ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสารสกัดรากเตยที่เก็บที่ระยะเวลามากขึ้น มีปริมาณ CA มากขึ้น โดยเฉพาะที่เวลา 120 ชั่วโมง ซึ่งเพิ่มขึ้นจากเดิมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งน่าจะเกิดจากการต้มยาและกรองด้วยผ้าขาวบาง และสารอาจจะมีการออกของสมุนไพรออกมาด้วย และการเก็บที่ระยะเวลานานขึ้นทำให้ กรดคาเฟอิกละลายออกมาได้มากขึ้น ผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดคาเฟอิกในยาต้มรากเตย ที่เก็บไว้ในตู้เย็น สามารถบอกได้ว่าการเก็บยาต้มรากเตยที่ระยะเวลาต่างๆ ไม่ทำให้ CA ลดลง แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อเก็บที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจส่งผลให้สมุนไพรดังกล่าวออกฤทธิ์ได้มากขึ้น จากการศึกษาของ Ghasemzadeh Ali. and Jaafar Hawa., (2014) พบว่ารากเตยมีการกรดคาเฟอิกเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ และมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในระดับน้ำตาลในเลือด (Jung et al., 2006)

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น จึงควรมีการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และตรวจสอบการปนเปื้อนต่อไปในอนาคต

### กิตติกรรมประกาศ

ทางคณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้บริหารมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสกลนคร และเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้คำแนะนำและสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือในการวิจัย

### References

- Ghasemzadeh Ali, JAFAAR Hawa ZE. Optimization of reflux conditions for total flavonoid and total phenolic extraction and enhanced antioxidant capacity in pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) using response surface methodology. *Sci World J*, 2014, 10 (1):57-64.
- Jung U. J., Lee M. K., Park Y. B., Jeon S. M., and Choi M. S. Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db mice. *JPET*, 2006, 318(2) 476-483.
- Penchom P., Wongkrajang Y., Ruangsomboon O. and Wisuda S. Hypoglycemic effect of water extract of the root of *Pandanus odoratus* II: in alloxan diabetic rats. *MUJPS*, 1990, 17(2) : 29-35
- Penchom P., Suwan T. and Hiroshi W., Hypoglycemic effect of water extract of the root of *Pandanus odoratus* RIDL. *Biol Pharm Bull*, 1996, 19(3) : 364-366.
- Thamawech W. Rattanakosin pharmacy text book. 2<sup>nd</sup> ed. Bangkok : Silpa Siam Packaging & Printing; 2004.
- Vongsak, B., Sithisarn, P., and Gritsanapan, W. Simultaneous determination of cryptochlorogenic acid, isoquercetin, and astragalin contents in *Moringa oleifera* leaf extracts by TLC-densitometric method. *eCAM*, 2013.