



คุณภาพทางเคมีของแก่นมะหาด

ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก*

อภิรักษ์ ตักดีเพชร

ประภม ทองศรีรักษ์

ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณภาพทางเคมีของแก่นมะหาด มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีรังเคสผิบบาง (Thin-Layer Chromatography; TLC) พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ และศึกษาปริมาณสารสำคัญในตัวอย่างแก่นมะหาด เมื่อนำแก่นมะหาด 1 กรัม มาสกัดด้วยเมทานอลแล้วนำไปตรวจเอกลักษณ์ด้วยวิธี TLC โดยใช้ silica gel GF254 เป็นวัสดุภาคคงที่ และคลอโรฟอร์ม : เมทานอล 4 : 1 เป็นวัสดุภาคเคลื่อนที่ นำไปตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 และ 365 นาโนเมตร และพ่นด้วยน้ำยาพ่น Anisaldehyde-H₂SO₄ จะตรวจพบ oxyresveratrol ที่ R_f เท่ากับ 0.75 และการวิเคราะห์ปริมาณ oxyresveratrol ในแก่นมะหาดด้วยวิธี Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ได้ถูกพัฒนาขึ้น ซึ่งการเตรียมตัวอย่างโดยคั้นสกัดผงแก่นมะหาด 300 มิลลิกรัม ในเมทานอล 50 มิลลิตร เป็นเวลา 60 นาที กรองและระเหยแห้ง นำสารสกัดที่ได้มาละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย 50 % เมทานอล จนครบ 100 มิลลิตร นำสารละลายตัวอย่าง 3 ไมโครลิตร มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC โดยใช้คอลัมน์ BEH C18, 2.1×50 มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร และใช้ 20 % เมทานอล เป็นวัสดุภาคเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.7 มิลลิตร/นาที ตรวจวัดด้วยแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 326 นาโนเมตร การทดสอบความใช้ได้ของวิธีพบว่า calibration curve ของ oxyresveratrol มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.06-0.42 มิลลิกรัม/มิลลิตร ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (R²) เท่ากับ 0.9998 ค่าร้อยละของสารดังกล่าวที่ได้คืนกลับมา (% recovery) อยู่ในช่วง 95.75-100.36 % ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานค่าเป็นตัวเลขได้ (Limit of Quantitation; LOQ) มีค่าเท่ากับ 0.005 และ 0.017 มิลลิกรัม/มิลลิตร ตามลำดับ จากการศึกษาปริมาณ oxyresveratrol ในแก่นมะหาด จำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณสารดังกล่าวอยู่ในช่วง 0.64-13.67 % โดยน้ำหนัก ซึ่งแตกต่างกันอย่างมากในแต่ละตัวอย่าง จึงแสดงให้เห็นว่า การควบคุมคุณภาพทางเคมีโดยการหาปริมาณสารสำคัญจึงเป็นสิ่งสำคัญยิ่ง ผลจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพของแก่นมะหาดต่อไป

คำสำคัญ : มะหาด, การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ, การพัฒนาวิธีวิเคราะห์

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดนนทบุรี 11000

*ผู้รับผิดชอบบทความ: duangpen.p@dmasc.mail.go.th

Received date 19/02/15 ■ Accepted date 27/05/15

บทนำ

แก่นมะหาด ได้จากพรรณไม้ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Artocarpus lacucha* Buch.-Ham. วงศ์ Moraceae¹ เป็นไม้ยืนต้น สูงประมาณ 30 เมตร ทรงต้นเป็นพุ่มแผ่กว้าง ใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปขอบขนาน หรือรูปวงรี กว้าง 8-10 เซนติเมตร ยาว 10-20 เซนติเมตร หลังใบเป็นมันสีเขียวเข้ม ท้องใบสีดอกช่อออกที่ซอกใบ รูปร่างค่อนข้างกลม ก้านสั้น ดอกแยกเพศอยู่บนต้นเดียวกัน ผลเป็นผลรวมสีเหลือง ผิวขรุขระ มีขนนุ่ม ในทางการแพทย์แผนไทย ใช้เปลือกต้นขับพยาธิไส้เดือน พยาธิเส้นด้าย และพยาธิตัวตืด แก่นมะหาดมีสรรพคุณแก้กระษัย คุมกำเนิด แก้วปวดเส้นเอ็น เส้นเอ็นพิการ แก้อาเจียน ละลายเลือด แก้ลม ระบายท้อง แก้ผื่นคัน เนื้อไม้มะหาด ใช้แก้ผื่นคัน โรคผิวหนัง ขับพยาธิตัวตืด พยาธิไส้เดือน แก้กูกเสียด สารสกัดที่ได้จากการนำแก่นมะหาดไปสกัดด้วยน้ำแล้วตากฟองที่ลอยอยู่เอาไปทำให้แห้ง เรียกว่า ปวกหาด² สารสำคัญที่พบในแก่นมะหาด คือ oxyresveratrol³ ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย เช่น ฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกระบวนการสร้างเมลานิน⁴ ฤทธิ์ต้านไกลโคซีน⁵ ต้านออกซิเดชัน⁶ เป็นต้น ปัจจุบัน มีการนำแก่นมะหาดมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในทางเครื่องสำอาง แก่นมะหาดที่มีขายในท้องตลาดมีราคาแพงมาก การควบคุมคุณภาพจึงมีความสำคัญ ทำให้สามารถเลือกแก่นมะหาดที่มีคุณภาพดีและมีปริมาณสารสำคัญสูงมาใช้ในการผลิตยาและผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรที่มีคุณภาพดีได้ อย่างไรก็ตาม วิธีวิเคราะห์ปริมาณ oxyresveratrol ในแก่นมะหาดยังไม่มีมากนัก วิธีที่มีรายงานตีพิมพ์เผยแพร่ เช่น capillary zone electrophoresis⁷, densitometry⁸ เป็นต้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษา

วิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพแก่นมะหาดด้วยวิธีรังคเลข ผิวบาง (Thin-Layer chromatography; TLC) 2) ศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ oxyresveratrol ในแก่นมะหาดด้วยเทคนิค Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว เชื่อถือได้ และ 3) ศึกษาคุณภาพของแก่นมะหาดที่ได้จากแหล่งธรรมชาติและที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

ระเบียบวิธีศึกษา

1. ตัวอย่างแก่นมะหาด

ตัวอย่างแก่นมะหาดจากแหล่งต่าง ๆ ทั้งแหล่งธรรมชาติและร้านสมุนไพร จำนวน 10 ตัวอย่าง ในระหว่างเดือนมิถุนายน 2556 - กุมภาพันธ์ 2557 นำมาอบแห้ง บดเป็นผงละเอียด ผ่านร่อนเบอร์ 180 เก็บในภาชนะแก้วสีชาปิดสนิท

2. สารมาตรฐาน

oxyresveratrol ความบริสุทธิ์ $\geq 97.0\%$ (Sigma, Switzerland)

3. สารเคมีและตัวทำละลาย

methanol HPLC และ AR (Merck, Germany), chloroform AR (Merck, Germany), DI Water, anisaldehyde, sulfuric acid, acetic acid

4. เครื่องมือ

Acquity™ Ultra Performance Liquid Chromatograph-PDA detector (Waters, USA) และ Empower 2 software, เครื่องชั่งไฟฟ้า ความละเอียด 0.01 มิลลิกรัม (Mettler-Toledo, Switzerland), UV Cabinet (CAMAG, Switzerland) และ TLC plate heater (CAMAG, Switzerland)

5. วัสดุวิทยาศาสตร์และเครื่องแก้ว

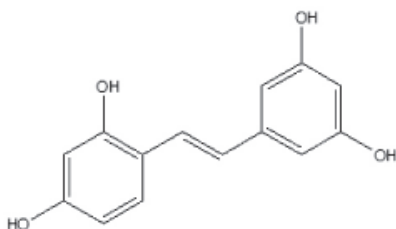
Acquity™ UPLC BEH C18, 2.1x50 mm,

1.7 μm (Waters, USA), PTFE syringe filter สำหรับกรองสารละลายตัวอย่าง, TLC plate ชนิด Silica gel GF254 precoated (E. Merck, Germany), กระดาษกรอง เบอร์ 4 (Whatman, UK), PVDF membrane filter 0.2 μm สำหรับกรองตัวทำละลาย, Nylon membrane filter 0.45 μm (Pall Corporation, USA) สำหรับกรอง DI water, Tuberculin syringe สำหรับดูดสารละลายตัวอย่าง ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง, volumetric flask ชนิด light protect ขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร, Pipette ขนาด 1-8 มิลลิลิตร และเครื่องแก้ว

วิธีการศึกษา

1. วิวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพแก่นมะหาดด้วยวิธี รงคเลขณิฆาง (TLC)

วิวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพโดยใช้วิธี TLC ได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีของ แก่นมะหาด โดยได้พัฒนา solvent system ที่เหมาะสม และเลือก oxyresveratrol ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในแก่นมะหาดเป็น chemical marker สารดังกล่าวมีโครงสร้างทางเคมี ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ oxyresveratrol

2. วิวิธีวิเคราะห์ปริมาณ oxyresveratrol ใน แก่นมะหาด

2.1 การเลือกชนิดของตัวทำละลายในการ

สกัด ทำการศึกษาผลของการสกัดตัวอย่างแก่นมะหาด 300 มิลลิกรัม ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เมทานอล, เอทานอล, แอซีโตน และเอทิลอะซิเตท ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่เวลา 60 นาที เปรียบเทียบผลของตัวทำละลายต่อความสามารถในการสกัด oxyresveratrol จากแก่นมะหาด

2.2 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการ

สกัด ทำการศึกษาผลของการสกัดตัวอย่างแก่นมะหาด 300 มิลลิกรัม ด้วยเมทานอลปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยวิธี reflux เป็นเวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที แล้วเปรียบเทียบผลของเวลาต่อความสามารถในการสกัด oxyresveratrol จากแก่นมะหาดได้อย่างสมบูรณ์

2.3 การศึกษาแบบโครมาโทกราฟี

ได้แก่ ความยาวคลื่นในการตรวจวัดสาร oxyresveratrol, ชนิดของวัฏภาคคงที่ (stationary phase) และวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) และอื่น ๆ เช่น ปริมาตรการฉีดสาร อุณหภูมิของระบบ

2.4 การทดสอบความใช้ได้ของวิวิธีวิเคราะห์

ทำการทดสอบความใช้ได้ของวิวิธีวิเคราะห์ปริมาณ oxyresveratrol ในแก่นมะหาดที่พัฒนาขึ้น ตามแนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดี่ยวกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3. การศึกษาคุณภาพของแก่นมะหาด

โดยการตรวจสอบคุณภาพของแก่นมะหาดที่รวบรวมจากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 10 ตัวอย่าง โดยวัดจากปริมาณ oxyresveratrol ด้วยวิวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

ผลการศึกษา

1. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพแก่นมะหาดด้วยวิธีรังเคลขมิวนาง⁹

การเตรียมตัวอย่าง

นำผงแก่นมะหาด น้ำหนัก 1 กรัม เติมนเมทานอล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ไปสกัดโดยวิธี reflux เป็นเวลา 20 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ 4

การเตรียมสารละลายสารมาตรฐาน

ละลายสาร oxyresveratrol น้ำหนัก 2 มิลลิกรัม ในเมทานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

ระบบโครมาโทกราฟี

วัสดุภาคคงที่ Silica gel 60 GF254,

ความหนา 0.25 มิลลิเมตร

วัสดุภาคเคลื่อนที่ คลอโรฟอร์ม : เมทานอล

4 : 1

ระยะทางการเคลื่อนที่ 10 เซนติเมตร

ของวัสดุภาคเคลื่อนที่

ปริมาตรสารละลายที่ใช้ 5 ไมโครลิตร สำหรับ

สารละลายตัวอย่าง 3

ไมโครลิตร สำหรับสาร

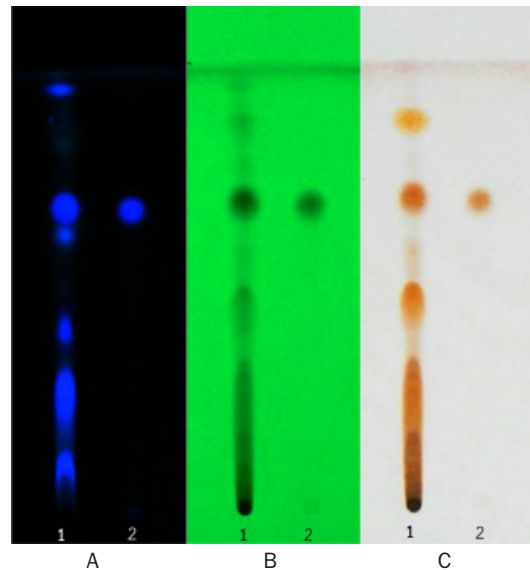
ละลายสารมาตรฐาน

การตรวจวัด

1) ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 และ 365 นาโนเมตร

2) พ่นด้วยน้ำยาพ่น Anisaldehyde-H₂SO₄ reagent

ผลการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี TLC ในตัวอย่างแก่นมะหาด จะพบ spot ของ oxyresveratrol ที่ค่า R_f เท่ากับ 0.75 ในทุกตัวอย่าง โดย TLC chromatogram ดังแสดงในรูปที่ 2 และพบว่า ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบ (limit of detection; LOD) ของ oxyresveratrol มีค่าเท่ากับ 450 นาโนกรัม/spot



รูปที่ 2 TLC chromatogram ของแก่นมะหาด

1. สารสกัด methanol จากแก่นมะหาด

2. oxyresveratrol

การตรวจวัด

A. UV 365 นาโนเมตร

B. UV 254 นาโนเมตร

C. Anisaldehyde-H₂SO₄

2. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ oxyresveratrol ในแก่นมะหาด⁹

2.1 การเลือกชนิดของตัวทำละลายในการสกัด

ผลของการสกัดตัวอย่างแก่นมะหาด 300 มิลลิกรัม ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 60 นาที พบว่า เมทานอลสามารถสกัด oxyresveratrol ได้มากที่สุดโดยมี impurity ชนิดอื่นปนออกมาน้อย และสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้มีความคงตัวดีที่อุณหภูมิห้องในภาชนะกันแสง เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 2 วัน ดังนั้นในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้จึงเลือกใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด

2.2 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการ

สกัด ผลของการสกัดตัวอย่างแก่นมะหาด 300 มิลลิกรัม ด้วยเมทานอลปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยวิธี reflux ที่เวลาต่าง ๆ ตั้งแต่ 30-120 นาที พบว่าระยะเวลาสกัด 60-120 นาที สามารถสกัด oxyresveratrol ออกมาได้เท่ากัน แสดงว่า การสกัด oxyresveratrol สามารถเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ที่เวลา 60 นาที ดังนั้น ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้จึงเลือกใช้ระยะเวลาสำหรับการสกัด 60 นาที

2.3 การศึกษาระบบโครมาโทกราฟี

ความยาวคลื่นในการตรวจวัด oxyresveratrol พบว่าสารดังกล่าวมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากับ 254, 286 และ 326 นาโนเมตร แต่เมื่อทดสอบกับตัวอย่างแก่นมะหาด พบว่า ที่ความยาวคลื่น 326 นาโนเมตร ไม่พบ impurity อื่นจากแก่นมะหาดที่ดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่นนี้

ภูมิภาคคงที่ การเปรียบเทียบผลของคอลัมน์ชนิดต่าง ๆ ที่แตกต่างกันในเรื่องของชนิดอนุภาคภายใน (BEH C18, BEH C8 และ BEH Phenyl) ความยาวของคอลัมน์ (50 และ 100 มิลลิเมตร) โดยพิจารณาจากลักษณะ peak ของ oxyresveratrol (peak shape และ peak symmetry) และ retention time พบว่า คอลัมน์ชนิด BEH C18, 2.1×50 mm, 1.7 μ m ให้ peak ของ oxyresveratrol ดีที่สุดที่ retention time 1.7 นาที

ภูมิภาคเคลื่อนที่ ผลการศึกษาชนิดและสัดส่วนของภูมิภาคเคลื่อนที่ที่จะใช้โดยพิจารณาจาก peak shape และ retention time ของ oxyresveratrol ความสามารถในการแยก impurity อื่นออกจาก oxyresveratrol ในตัวอย่างแก่นมะหาดและความดันของระบบ ดังนั้น ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้ จึงเลือกใช้ 20 % เมทานอล เป็นภูมิภาค

เคลื่อนที่ ที่อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตร/นาที ตั้งอุณหภูมิของตัวอย่างและคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส จากผลการศึกษาข้างต้น สามารถสรุปวิธีวิเคราะห์ปริมาณ oxyresveratrol ได้ดังนี้

การเตรียมตัวอย่าง

นำผงแก่นมะหาด น้ำหนัก 300 มิลลิกรัม มาสกัดด้วยเมทานอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร กรองแล้วระเหยแห้ง จากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย 50 % เมทานอล จนครบ 100 มิลลิลิตร

ระบบโครมาโทกราฟี

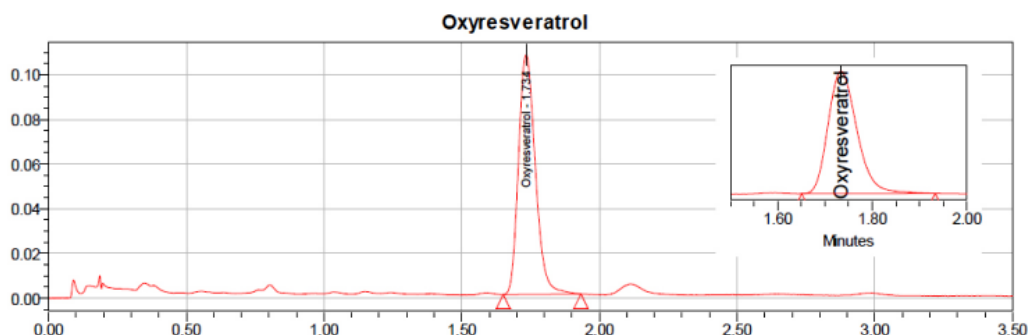
นำสารละลายตัวอย่างที่ได้ ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ฉีดเข้าสู่ระบบโครมาโทกราฟี ซึ่งประกอบด้วย คอลัมน์ชนิด BEH C18, 2.1×50 mm, 1.7 μ m และ 20 % เมทานอล เป็นภูมิภาคเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิของตัวอย่างและคอลัมน์ที่ 40 องศาเซลเซียส และตรวจวัดสารด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 326 นาโนเมตร โดย peak ของ oxyresveratrol จะปรากฏที่ retention time เท่ากับ 1.7 นาที chromatogram ของสารละลายตัวอย่างแก่นมะหาด ดังแสดงในรูปที่ 3

2.4 การทดสอบความใช้ได้ของวิธี

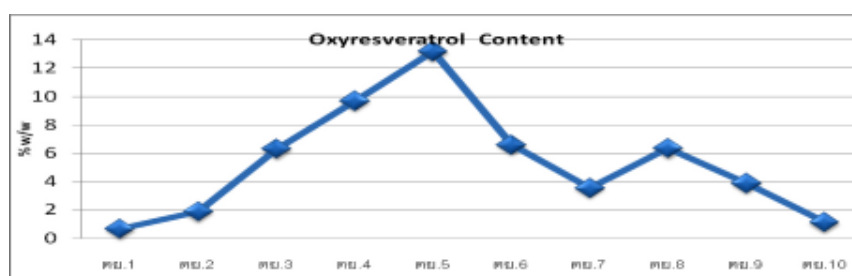
พบว่าการ calibration curve ของสาร oxyresveratrol มีความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.06-0.42 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9998 ค่าร้อยละของสารดังกล่าวที่ได้คืนกลับมา (% recovery) อยู่ในช่วง 95.75-100.36 % มีค่าปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบ (LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานค่าเป็นตัวเลขได้ (LOQ) เท่ากับ 0.005 และ 0.017 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

3. การศึกษาคุณภาพของแก่นมะหาด

จากการวิเคราะห์ปริมาณ oxyresveratrol ใน



รูปที่ 3 Chromatogram ของสารสกัดจากตัวอย่างแก่นมะหาด



รูปที่ 4 ปริมาณ oxyresveratrol ในแก่นมะหาด

แก่นมะหาด จำนวน 10 ตัวอย่าง ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น ผลแสดง ดังรูปที่ 4

วิจารณ์

1. เนื่องจาก oxyresveratrol ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีในแบบ *trans*-form มีคุณสมบัติ photosensitization สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวของโมเลกุลทำให้โครงสร้างทางเคมีเปลี่ยนเป็น *cis*-form ได้เมื่อถูกแสง ดังนั้น เครื่องแก้ววัดปริมาณในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์รวมถึงงานทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์จึงต้องใช้เครื่องแก้วกันแสง¹⁰

2. เมื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ ปริมาณสารสำคัญ oxyresveratrol ในแก่นมะหาดที่พัฒนาขึ้น พบว่า วิธีที่ดังกล่าวมีความเหมาะสม

ให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรชนิดนี้ต่อไปได้

3. จากการศึกษาปริมาณ oxyresveratrol ในตัวอย่างแก่นมะหาด จะเห็นได้ว่า แก่นมะหาดจากแหล่งต่าง ๆ มีปริมาณสารสำคัญ oxyresveratrol ที่แตกต่างกันอย่างมาก ดังนั้น การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ จึงมีความสำคัญยิ่งสำหรับการควบคุมคุณภาพสมุนไพรชนิดนี้

ข้อสรุป

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพของแก่นมะหาดด้วยวิธีรังสีเลเซอร์พบว่า สารสกัดเมทานอลจากแก่นมะหาดจะต้องตรวจพบ oxyresveratrol เมื่อใช้ silica gel GF254 เป็นวัสดุภาคคงที่ และคลอโรฟอร์ม :

เมทานอล 4 : 1 เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ มีค่า R_f เท่ากับ 0.75

การวิเคราะห์หาปริมาณ oxyresveratrol ในแก่นมะหาดมีวิธีการดังนี้ นำผงแก่นมะหาด 300 มิลลิกรัม มาสกัดด้วยเมทานอล 50 มิลลิลิตร กรองแล้วระเหยแห้ง จากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย 50 % เมทานอล จนครบ 100 มิลลิลิตร จากนั้น สารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ฉีดเข้าสู่ระบบ Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ใช้คอลัมน์ชนิด BEH C18, 2.1×50 มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร และ 20 % เมทานอล เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิของตัวอย่างและคอลัมน์ที่ 40 องศาเซลเซียส และตรวจวัดสารด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 326 นาโนเมตร โดย peak ของ oxyresveratrol จะปรากฏที่ retention time เท่ากับ 1.7 นาที

ส่วนผลการสำรวจคุณภาพของแก่นมะหาด ซึ่งวัดจากปริมาณสารสำคัญ oxyresveratrol จะพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมากในเรื่องปริมาณสารสำคัญ ดังนั้น การควบคุมคุณภาพของสมุนไพรชนิดนี้จึงมีความสำคัญซึ่งจะทำให้ได้มาซึ่งวัตถุดิบสมุนไพรที่มีคุณภาพส่งผลให้เกิดยาหรือผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Berg CC, Pattharahirantricin N, Chantarasuwan B. Moraceae. In: Flora of Thailand. Vol. 10, part 4: Bangkok: Prachachon Co. Ltd.; 2011. P. 489-91.
2. นันทวรรณ บุญยะประกศกร, อรุณ โชคชัยเจริญพร. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน (3). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัทประชาชน จำกัด; 2542. หน้า 724-6.
3. Sambhandharaksa C, Ratanachai T. Pharmacognostical and phytochemical studies of *Artocarpus lakoocha* Roxb. J Natl Res Counc Thailand. 1962;3:245-55.
4. Sritularak B, De-Eknamkul W, Likhitwitayawuid K. Tyrosinase inhibitors from *Artocarpus lakoocha*. Thai J Pharm Sci. 1998;22:149-55.
5. Povichit N, Phrutivorapongkul A, Suttajit M, Leelapornpisid P. Antiglycation and antioxidant activities of oxyresveratrol extracted from the heartwood of *Artocarpus lakoocha* Roxb. Maejo Int J Sci Technol. 2010;4(3):454-61.
6. Singhatong S, Leelarungrayub D, Chaivasut C. Antioxidant and toxicity activities of *Artocarpus lakoocha* Roxb. heartwood extract. J Med Pl Res. 2010;4(10):947-53.
7. Palanuvej C, Issaravanich S, Tunsaringkarn T, Rungsiyothin A, Vipunngun N, Ruangrunsi N, Likhitwitayawuid K. Pharmacognostic study of *Artocarpus lakoocha* heartwood. J Health Res. 2007;21(4):257-62.
8. Maneechai S, Likhitwitayawuid K, Sritularak B, Palanuvej C, Ruangrunsi N, Sirisa-ard P. Quantitative analysis of oxyresveratrol content in *Artocarpus lakoocha* and "Puag-Haad". Med Princ Prac. 2009;18:223-7.
9. ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก, อภิรักษ์ ศักดิ์เพ็ชร, พีรธรรม เทียมเทียบรัตน์, สิริกาญจน์ ธนอริยโรจน์, ประถม ทองศรีรักษ์. รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัย เรื่อง การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในมะหาด. สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. ปีงบประมาณ 2557.
10. Yokotsuka K, Okuda T. Light-induced isomerization of *trans*-resveratrol to *cis*-resveratrol in must and wine during fermentation and storage. J ASEV Jpn. 2011; 22(1):16-21.

Abstract**Chemical Quality of *Artocarpus lacucha* Heartwood**

Duangpen Pattamadilok*, Apirak Sakpetch, Prathom Thongsrirak, Sakwichai Ontong

Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000

*Corresponding author: duangpen.p@dmsc.mail.go.th

The objectives of this study were to conduct a qualitative chemical analysis of *Artocarpus lacucha* heartwood (lakoocha or *kaen mahad*) using thin-layer chromatography (TLC), to develop the analytical method for determining active principle content, and to determine the amount of active ingredient in lakoocha heartwood. One gram of powdered drug was refluxed with methanol, then a TLC analysis was performed on silica gel GF254, and chloroform : methanol (4 : 1) was used as mobile phase. The plate was examined under ultraviolet light (254 and 365 nm wavelength) and visible with anisaldehyde-sulfuric acid reagent. The spot of oxyresveratrol appeared at R_f value of 0.75. An analytical method for oxyresveratrol content using ultra-performance liquid chromatography (UPLC) was developed. Sample preparation was undertaken by refluxing 300 mg of powdered drug in 50 ml of methanol for 60 min., filtering and evaporating until dry. The residue was redissolved and adjusted with 50 % methanol to 100 ml; 3 μ l of sample solution was injected to the chromatographic system consisting of BEH C18 column, 2.1 $\times$ 50 mm, 1.7 μ m and 20 % methanol as the mobile phase. The flow rate was set at 0.7 ml/min. Detection was conducted on UV 326 nm. This method had been validated. Linearity was established for the oxyresveratrol concentration range of 0.06-0.42 mg/ml with a coefficient of determination (R^2) value of 0.9998. Recovery was in the range of 95.75-100.36 %. The limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ) were 0.005 and 0.017 mg/ml, respectively. The oxyresveratrol analysis of 10 samples of *Artocarpus lacucha* heartwood showed that the amounts of this compound were in the range of 0.64-13.67 % w/w, a high variation among all samples. Therefore, chemical quality control by determining the amount of active principle is important. The result of this study could be used for quality control of this kind of medicinal plant.

Key words: *Artocarpus lacucha*, Moraceae, oxyresveratrol, qualitative analysis, method development