

**ISOLATION, IDENTIFICATION AND HPLC ANALYSIS
OF THE LEAD COMPOUND IN *GYNURA PROCUMBENS*
EXTRACT AND JUICE**

JUTAMAS SAENGSAI

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2003**

**ISBN 974-04-3975-6
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การแยก การพิสูจน์สูตรโครงสร้าง และการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดและน้ำคั้นของ
แป๊ะตำปิ้งโดยเทคนิคโครมาโตกราฟี ที่ใช้แรงดันสูง (ISOLATION, IDENTIFICATION
AND HPLC ANALYSIS OF THE LEAD COMPOUND IN *GYNURA
PROCUMBENS* EXTRACT AND JUICE)

จุฑามาศก์ แสงไสย์ 4137817 PYPP/M

วท.ม. (เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : วิชา จีรัจจวิทยาคุณ, Dr.rer.nat. (Phytochemistry),
นงลักษณ์ เรืองวิเศษ, Ph.D. (Pharmaceutical Chemistry), ลีณา สุนทรสุข, Ph.D.
(Pharmaceutical Chemistry)

บทคัดย่อ

แป๊ะตำปิ้ง (*Gynura procumbens* Merr.) ใช้เป็นยาทาภายนอกแก้อาการอักเสบ อาการ
แพ้ ผื่นคัน มีรายงานว่า แป๊ะตำปิ้งมีสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์ต้านไวรัสริม สารสำคัญนี้ได้แก่ สาร
dicaffeoylquinic acid (IC₅₀ 61.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), phytosterol (IC₅₀ 250.0
ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), phytosteryl glucoside (IC₅₀ 50.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) and
glycoglycerolipids (IC₅₀ 40.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกสารที่
มีฤทธิ์ต้านไวรัสริมในปริมาณที่มากเพียงพอต่อการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสาร
สกัดแป๊ะตำปิ้งโดยเทคนิค HPLC ได้สาร phytosterol (GpD2) และ phytosteryl glucoside
(GpE) จากสารสกัดคลอโรฟอร์ม และทำการพิสูจน์สูตรโครงสร้างทางเคมีโดยอาศัยเทคนิคของ
นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี สารสกัด phytosteryl glucoside (GpE) ถูก
เลือกเป็น lead compound ในงานวิจัยครั้งนี้ เนื่องจากสามารถแยกสารได้ในปริมาณที่มากและ
เป็นสารที่แสดงฤทธิ์ต้านไวรัสริม การวิเคราะห์ปริมาณของสาร phytosteryl glucoside (GpE)
ในสารสกัดเอทานอลและน้ำคั้นที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งด้วยความเย็น ใช้เทคนิค high-
pressure liquid chromatography (HPLC) โดยสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการวิเคราะห์
ประกอบด้วย คอลัมน์ 5 μ m Hypersil®BDS C18 (250 x 4.6 มม., i.d.) , เมทานอลกับน้ำใน
อัตราส่วนคงที่ คือ 100:3 เป็นตัวทำละลายเคลื่อนที่ และ UV detection ที่ความยาวคลื่น 210 นา
โนเมตร peak ของสารผสม sitosteryl glucoside (GpE.1) และ stigmasteryl glucoside
(GpE.2) ถูกแยกออกมาที่ 18.25 และ 20.32 นาที กราฟมาตรฐานที่ได้จาก GpE.2 ในช่วงความ
เข้มข้น 100-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งคำนวณสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation
coefficient, r^2) ได้ค่า 0.9993 ขีดจำกัดของการวัดและการหาปริมาณคือ 2.52 และ 7.63
ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และมีความถูกต้องของวิธีเป็นค่า % recovery ที่มากกว่า 90%
ปริมาณของ phytosteryl glucoside (GpE) ที่พบในสารสกัดเอทานอลและในน้ำคั้นที่ทำให้แห้ง
ด้วยความเย็นคือ 0.35% w/w และ 0.096% w/w ตามลำดับ

106 หน้า. ISBN 974-04-3975-6

ISOLATION, IDENTIFICATION AND HPLC ANALYSIS OF THE LEAD COMPOUND IN *GYNURA PROCUMBENS* EXTRACT AND JUICE

JUTAMAS SAENGSAI 4137817 PYPP/M

M.Sc.(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORS : WEENA JIRATCHARIYAKUL, Dr.rer.nat.,
(PHYTOCHEMISTRY), NONGLUCK RUANGWISES, Ph.D.,
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY), LEENA SUNTORNSUK, Ph.D.,
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY)

ABSTRACT

Gynura procumbens Merr. (Asteraceae), has been used traditionally as an anti-inflammatory remedy for skin rash and itching. A previous investigation reported that it has active components for antiherpes viral activity. They included dicaffeoylquinic acids (IC₅₀ 61.0 µg/ml), phytosterols (IC₅₀ 250.0 µg/ml), phytosteryl glucosides (IC₅₀ 50.0 µg/ml) and glyco glycerolipids (IC₅₀ 40.0 µg/ml). The purpose of this research was to isolate the active compound from *G. procumbens* in a sufficient amount for establishing the HPLC quantitative analytical method. The phytosterols (GpD2) and phytosteryl glucosides (GpE) were isolated from the chloroform extract and identified using modern NMR spectroscopy. The compound GpE was selected as the lead compound in this study because of the high yield in chloroform extract (0.2% w/w) and its antiviral activity. The quantitative analysis of the phytosteryl glucosides (GpE) using high-performance liquid chromatography (HPLC) was developed. An appropriate isocratic condition was performed using 5µ Hypersil®BDS C18 column (250 x 4.6 mm i.d.), the solvent system of methanol-water (100:3) and UV detection at 210 nm. The sitosteryl glucoside (GpE.1) and stigmasteryl glucoside (GpE.2) peaks appeared at the retention time of 18.25 and 20.32 min, respectively. The calibration curve of GpE which was obtained from GpE.2 was linear in the range 100-500 µg/ml, with the correlation coefficient 0.9993 (n=15), and the limit of detection and limit of quantitation at 2.52 and 7.63 µg/ml, respectively. The recoveries of GpE spiked into the extract and the freeze dried herb juice were above 90%, complying with the requirement of the USP. The content of the lead compound GpE in the ethanolic extract and the freeze dried herb juice were 0.35% w/w and 0.096%w/w, respectively.

KEY WORDS : *GYNURA PROCUMBENS* MERR. / PHYTOSTEROL /
PHYTOSTERYL GLUCOSIDE / HPLC QUANTITATIVE
ANALYSIS

106 P. ISBN 974-04-3975-6