การพิสูจน์ชนิดทางพฤกษศาสตร์ของโกฐจุฬาลัมพาที่ใช้ในปัจจุบัน ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบาง

Botanical Identification of Kot-chula-lampha in Current Use by Thin-layer Chromatography

นิพนธ์ต้นฉบับ

อุทัย โสธนะพันธุ์[1]*, ปนัดดา พัฒนวศิน[2], จันคนา บูรณะโอสถ[2], สุนันทา ศรีโสภณ[3], Ashok Praveen Kumar[4] และ Baokang Huang[5]

[1] ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จ.นครปฐม 73000
[2] ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จ.นครปฐม 73000
[3] สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จ.นนทบุรี 11000
[4] Department of Pharmacy, GRD(PG)IMT, Dehradun สาธารณรัฐอินเดีย
[5] School of Pharmacy, The Second Military Medical University นครเซี่ยงไฮ้ สาธารณรัฐประชาชนจีน

* **ติดต่อผู้นิพนธ์:** uthai@su.ac.th

วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 2556;8(1):1-6

Original Article

Uthai Sotanaphun[1]*, Panadda Phattanawasin[2], Jankana Burana-osot[2], Sununta Srisopon[3], Ashok Praveen Kumar[4] and Baokang Huang[5]

[1] Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon-pathom, Thailand 73000
[2] Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon-pathom, Thailand 73000
[3] Institute of Medicinal Plant Research, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi, Thailand 11000
[4] Department of Pharmacy, GRD(PG)IMT, Dehradun, India
[5] School of Pharmacy, The Second Military Medical University, Shanghai, PR China

* **Corresponding author:** uthai@su.ac.th

Thai Pharmaceutical and Health Science Journal 2013;8(1): 1-6

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อพิสูจน์ชนิดทางพฤกษศาสตร์ของพืชที่ให้เครื่องยา "โกฐจุฬาลัมพา" **วิธีการศึกษา:** สุ่มซื้อตัวอย่างโกฐจุฬาลัมพาจากร้านขายยาแผนโบราณแหล่งต่าง ๆ จำนวน 17 ตัวอย่าง จัดทำลายพิมพ์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด methanol ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบางเปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิง และสกัดแยกสารบริสุทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบหลัก นำมาพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคต่าง ๆ ทางสเปกโทรสโกปี **ผลการศึกษา:** ตัวอย่างส่วนมาก (15 ตัวอย่าง) มีทีแอลซีโครมาโทแกรมเหมือนกับ *Artemisia pallens* และพบสาร cirsimaritin และ davana acid ที่มีรายงานว่าเป็นองค์ประกอบทางเคมีของ *A. pallens* และพบโกฐจุฬาลัมพาเพียง 2 ตัวอย่างที่มีทีแอลซีโครมาโทแกรมคล้ายกับ *A. argyi* **สรุป:** โกฐจุฬาลัมพาที่ใช้เป็นเครื่องยาโดยทั่วไปในปัจจุบันคือ ส่วนเหนือดินของพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *A. pallens*

คำสำคัญ: โกฐจุฬาลัมพา, โครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบาง, ลายพิมพ์องค์ประกอบทางเคมี, *Artemisia pallens*, *Artemisia argyi*, *Artemisia vulgaris*, *Artemisia annua*

Abstract

Objective: To identify the botanical origin of a crude drug named "Kot-chula-lampha". **Methods:** Seventeen samples of Kot-chula-lampha were randomly purchased from traditional drugstores. Chemical fingerprints of their methanolic extracts were developed using thin-layer chromatography compared with authentic samples. Main chemical compositions were also isolated, purified and identified by spectroscopic techniques. **Results:** Most samples (n = 15) showed identical TLC chromatograms to *Artemisia pallens*, and contained cirsimaritin and davana acid, ones of the chemical constituents found in *A. pallens*. TLC chromatograms of only two samples were similar to *A. argyi*. **Conclusion:** Kot-chula-lampha commonly used as crude drug nowadays was the aerial part of *A. pallens*.

Keywords: Kot-chula-lampha, thin-layer chromatography, chemical fingerprint, *Artemisia pallens*, *Artemisia argyi*, *Artemisia vulgaris*, *Artemisia annua*

บทนำ

โกฐจุฬาลัมพา หรือโกฐจุฬาลำพา เป็นเครื่องยาที่มีรสสุขุมหอมร้อน[1] มีสรรพคุณแก้ไข้เจลียง (ไข้จับวันเว้นวัน)[2] ไข้เจรี่ยง (ไข้ที่มีเม็ดผื่นขึ้นตามตัว เช่น เหือดหัด สุกใส ดำแดง รากสาดประดง)[3] แก้ไข้เพื่อเสมหะ แก้หืด แก้ไอ[1-3] เป็นยาขับเหงื่อ ใช้แต่งกลิ่น เป็นยาเจริญอาหาร เป็นยาระบาย[2] แก้ไข้จับ เป็นยาเร่งประสาทส่วนกลางเหมือนการบูร ขับลม แก้ตกเลือด ตำพอกแก้ลมแก้ช้ำใน แก้ปวดเมื่อยรูมาติก แก้บิด แก้ปวดท้องหลังคลอด แก้ระดูมากเกินไป[1] โกฐจุฬาลัมพาเป็นเครื่องยาที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในตำรับยาไทย เช่น ตามบัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ. 2544 กลุ่มยาแผนไทยหรือยาแผนโบราณ 50 รายการ มีโกฐจุฬาลำพาเป็นส่วนประกอบอยู่มากถึง 13 ตำรับ[4]

ชื่อทางพฤกษศาสตร์ของพืชสมุนไพรมีความสำคัญอย่างมากต่อความน่าเชื่อถือของเอกสารทางวิชาการ พืชชนิดหนึ่ง ๆ มีชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องได้เพียงชื่อเดียว และไม่ซ้ำกันกับพืชชนิดอื่น ทำให้สามารถสื่อสารการใช้สมุนไพรได้อย่างถูกต้องไม่ผิดชนิด อย่างไรก็ตามในหลาย ๆ ปีที่ผ่านมา ชื่อทางพฤกษศาสตร์ของพืชที่ให้เครื่องยาโกฐจุฬาลัมพามีความสับสนเป็นอย่างมาก แรกเริ่มเมื่อมีการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรไทย วิเชียร จีรวงส์ ราชบัณฑิตและศาสตราจารย์ด้านสมุนไพร ระบุว่าโกฐจุฬาลำพาคือใบและเรือนยอดที่กำลังออกดอกของพืช 3 ชนิด คือ *Artemisia vulgaris* หรือ *A. indica* var. *heyneana* หรือ *A. pallens* มีแหล่งกำเนิดในยุโรป เอเชีย และอัฟริกาตอนเหนือ[2] ในช่วงเวลาเดียวกัน แพทย์แผนโบราณชื่อ เสงี่ยม พงษ์บุญรอด แต่งหนังสือ "ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณยาเทศและยาไทย" ซึ่งเป็นหนังสือที่ผู้ศึกษาทางเภสัชพฤกษศาสตร์และเภสัชเวทใช้เป็นเอกสารอ้างอิงอย่างแพร่หลาย ระบุว่าโกฐจุฬาลัมพาเป็นเครื่องยาที่นำเข้าจาก

ประเทศอินเดีย ได้จากพืช 3 ชนิด คือ *A. pallens* (ชื่อพ้อง *A. indica*) หรือ *A. vulgaris* หรือ *A. absinthium*" [3] ในขณะที่ เต็ม สมิตินันทน์ ราชบัณฑิตและศาสตราจารย์ด้านพฤกษศาสตร์ แต่งหนังสือ "ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย" ซึ่งเป็นหนังสือที่ผู้ศึกษาทางพฤกษศาสตร์นิยมใช้อ้างอิงชื่อทางวิทยาศาสตร์ ระบุว่าโกฐจุฬาลัมพา คือ พืชที่มาจากต่างประเทศที่มีชื่อว่า *A. pallens*[5] ต่อมาในปี พ.ศ. 2528 ก่องกานดา ชยามฤต นักพฤกษศาสตร์ของกรมป่าไม้ระบุในหนังสือ "สมุนไพรไทย ตอนที่ 4" ว่า ต้นโกฐจุฬาลัมพามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *A. vulgaris* เป็นพืชพื้นเมืองของยุโรป เอเชีย และอเมริกาเหนือ[6] มาจนถึงปี พ.ศ. 2540 แพทย์แผนโบราณผู้มีชื่อเสียงคือ วุฒิ วุฒิธรรมเวช แต่งหนังสือ "สารานุกรมสมุนไพร" ก็ระบุว่าโกฐจุฬาลัมพาคือเครื่องยาที่ได้จาก *A. vulgaris* เช่นกัน[1] การอ้างอิงชื่อทางพฤกษศาสตร์ของพืชที่ให้เครื่องยาโกฐจุฬาลัมพาถูกเปลี่ยนแปลงครั้งใหญ่ในปี พ.ศ. 2540 เมื่อ วิเชียร จีรวงส์ กล่าวในการแสดงปาฐกถาชุดสิริธรครั้งที่ 13 ณ หอประชุมจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย[7] และเขียนอธิบายรายละเอียดในหนังสือ "คำอธิบายตำราพระโอสถพระนารายณ์" ซึ่งเป็นตำราอ้างอิงด้านสมุนไพรที่สมบูรณ์ที่สุดเล่มหนึ่ง[8] ระบุว่าโกษฐ์จุฬาลัมพา (ตัวสะกดตามเอกสารอ้างอิง) คือส่วนใบและเรือนยอดของ *A. annua* เป็นเครื่องยาที่นำเข้าจากประเทศจีน เดิมที่เคยเข้าใจผิดว่าได้จาก *A. vulgaris* จะเป็นเครื่องยาจีนชนิดอื่น ต่อมา ชยันต์ พิเชียรสุนทร และ วิเชียร จีรวงส์ อธิบายเพิ่มเติมว่า *Artemisia* ชนิดอื่น คือ *A. pallen* หรือ *A. vulgaris* var. *indica* ก็ไม่ใช่พืชที่ให้เครื่องยาชนิดนี้เช่นกัน[9] ในด้านพฤกษศาสตร์มีการจัดทำหนังสือ "ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันท์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม" ระบุให้นอกจาก *A. pallens* แล้ว ได้เพิ่มเติมให้ *A. annua* ก็มีชื่อไทยเรียกว่าโกฐจุฬาลัมพาเช่นกัน[10] ในเอกสารอ้างอิงทางสมุนไพรที่เป็นปัจจุบันที่สุดคือ "ตำราอ้างอิงยาสมุนไพรไทย เล่ม 1" (2552) อธิบายว่า โกฐจุฬาลัมพาคือส่วนเหนือดินแห้งในระยะออกดอกของ *A. annua* ในขณะที่เครื่องยาที่เรียกว่าโกฐจุฬาลัมพาไทย จะเป็นส่วนเหนือดินของ *A. pallens* หรือ *A.vulgaris* var. *indica* และเครื่องยาที่ใช้สำหรับการรักษาด้วยวิธีรมยา (moxibusion) ที่มักมีผู้เรียกผิดว่าโกฐจุฬาลัมพา จะได้จากใบของ *A. argyi*[11] ด้วยอิทธิพลของเอกสารอ้างอิงต่าง ๆ เหล่านี้ ผู้แต่งเอกสารทางวิชาการด้านสมุนไพรในช่วงระยะหลังจึงมักใช้ชื่อทางพฤกษศาสตร์ของพืชที่ให้เครื่องยาโกฐจุฬาลัมพาว่า *A. annua* แต่ก็ยังพบเอกสารทางวิชาการที่ใช้ชื่อเดิมที่นิยมคือ *A. vulgaris* โกฐจุฬาลัมพาอาจเป็นเครื่องยาที่ได้จากพืชมากกว่า 1 ชนิด หรือแหล่งที่มามีการเปลี่ยนแปลงไปตามช่วงเวลา จึงควรมีการศึกษาถึงสถานการณ์ในปัจจุบันว่าพืชที่ให้เครื่องยานี้คืออะไร เพื่อให้การเขียนเอกสารทางวิชาการมีความถูกต้องน่าเชื่อถือที่สุด

การพิสูจน์ชนิดของเครื่องยาหรือสมุนไพรในห้องปฏิบัติการจะใช้วิธีการพิสูจน์เอกลักษณ์ วิธีที่นิยมคือการตรวจสอบลายพิมพ์ขององค์ประกอบทางเคมี (chemical fingerprint) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่กำหนดในตำรายาสมุนไพร (Herbal Pharmacopoeia) และแนะนำโดยองค์การอนามัยโลก[12] สามารถใช้เทคนิคต่าง ๆ ทางโครมาโทกราฟี ได้แก่ โครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบาง (thin-layer chromatography; TLC)[13-18] โครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography; HPLC)[15,19-23] และโครมาโทกราฟีชนิดแก๊ส (gas chromatography; GC)[24-26] เป็นต้น สำหรับการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบาง เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สะดวก ง่าย ราคาถูก สามารถเลือกวิธีการตรวจสอบผลได้หลากหลาย และเป็นเทคนิคที่นิยมในตำรายาสมุนไพร

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างสมุนไพร

ซื้อตัวอย่างเครื่องยาโกฐจุฬาลัมพาจำนวน 17 ตัวอย่าง (ตัวอย่างหมายเลข 1 - 17) และเครื่องยาที่ใช้สำหรับการรักษาโดยวิธีการรมยา 2 ตัวอย่าง (ตัวอย่างหมายเลข 18 - 19) จากร้านขายยาแผนโบราณแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทยในระหว่างปี พ.ศ. 2555 แบ่งเก็บตัวอย่างส่วนหนึ่ง (voucher specimen หมายเลข KCL-1 ถึง KCL-19) ไว้ที่ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดนครปฐม ตัวอย่างอ้างอิง (authentic sample) ของ *A. vulgaris* L. เก็บจากสวนสมุนไพรของมหาวิทยาลัยปารีสที่ 5 สาธารณรัฐฝรั่งเศส ตัวอย่างอ้างอิงของ *A. annua* L. และ *A. argyi* H.Lév. & Vaniot ได้รับความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์ Baokang Huang (School of Pharmacy, The Second Military Medical University นครเซี่ยงไฮ้ สาธารณรัฐประชาชนจีน) และตัวอย่างอ้างอิงของ *A. pallens* Wall. ex Besser ได้รับความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์ Ashok Praveen Kumar (Department of Pharmacy, GRD(PG)IMT, Dehradun สาธารณรัฐอินเดีย)

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ใช้ตัวอย่างที่บดเป็นผงจำนวน 200 มิลลิกรัม สกัดด้วย methanol ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง (sonicator) นาน 30 นาที จะได้สารละลายของสารสกัด methanol เตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน artemisinin (บริษัท Sigma) cirsimaritin และ davana acid ใน methanol ให้มีความเข้มข้นอย่างละ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ระบบโครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบาง

หยดสารละลายตัวอย่างและสารละลายของสารมาตรฐานปริมาตร 5 ไมโครลิตร เป็นแถบด้วยเครื่อง Nanomat4 (บริษัท Camag) ลงบนแผ่นโครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบางชนิดอลูมิเนียมที่เคลือบด้วย silica gel $60F_{254}$ (Merck 5554) นำไปวางในถังทำโครมาโทกราฟีที่ใช้ toluene-ethyl acetate-formic acid (95:5:1) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ เมื่อวัฏภาคเคลื่อนที่เคลื่อนไปบนแผ่นโครมาโทกราฟีได้ระยะทาง 8 เซนติเมตร นำแผ่นโครมาโทแกรมชนิด

แผ่นบางออกมาวางให้แห้ง แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และพ่นด้วยน้ำยาพ่น anisaldehyde แล้วให้ความร้อน 110 องศาเซลเซียส นานจนสารเกิดปฏิกิริยาแสดงเป็นแถบสีชัดเจน ตรวจสอบภายใต้แสงธรรมชาติและแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร

การสกัดแยกและการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารมาตรฐาน

ใช้โกฐจุฬาลัมพาตัวอย่างที่ 14 ซึ่งบดเป็นผงจำนวน 150 กรัม สกัดโดยเทคนิค percolation ด้วยตัวทำละลาย hexane และ dichloromethane ตามลำดับ นำสารสกัด dichloromethane 4.2 กรัม มาสกัดแยกด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ silica gel ขนาดอนุภาค 0.040-0.063 มิลลิเมตร (Merck 9385) เป็นวัฏภาคคงที่ ชะด้วย hexane-ethyl acetate (4:1) เก็บสารสกัดเป็นส่วนส่วนละ 40 มิลลิลิตร ได้สาร 1 (145 มิลลิกรัม) จากส่วนสกัดที่ 70 - 104 นำส่วนสกัดที่ 40 - 69 ไปสกัดแยกต่อด้วยเทคนิค gel chromatography ที่ใช้ Sephadex LH20 (บริษัท Pharmacia) เป็นวัฏภาคคงที่ ชะด้วย dichloromethane-methanol (3:1) และตามด้วย column chromatography ที่ใช้ silica gel ขนาดอนุภาค 0.015 - 0.040 มิลลิเมตร (Merck 15111) เป็นวัฏภาคคงที่ ชะด้วย hexane-acetone-methanol (90:10:5) ได้สาร 2 (20 มิลลิกรัม)

การพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสาร 1 และ 2 ใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ infrared spectrometry (Nicolet Magna_IR spectrometer 750) nuclear magnetic resonance spectrometry (NMR, Bruker Ultrashield AV300 MHz) และ mass spectrometry (Agilent 6890 series GC 5973 MSD)

Cirsimaritin (1): เป็นผลึกรูปผงสีเหลืองอ่อน ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): 12.93 (s, 5-OH), 7.96 (d, J = 8.8 Hz, H-2',6'), 6.93 (d, J = 8.8 Hz, H-3',5'), 6.92 (s, H-8), 6.84 (s, H-3), 3.92 (s, 7-OC$\underline{H}_3$*), 3.73 (s, 6-OC$\underline{H}_3$*) [*อาจสลับกัน] ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): 182.2 (C-4), 164.0 (C-2), 161.3 (C-4'), 158.6 (C-7), 152.6 (C-5), 152.1 (C-8a), 131.9 (C-6), 128.5 (C-2',6'), 121.1 (C-1'), 116.0 (C-3',5'), 105.0 (C-4a), 102.7 (C-3), 91.6 (C-8), 66.0 (6-O$\underline{C}$H$_3$*), 56.4 (7-O$\underline{C}$H$_3$*) [* อาจสลับกัน]

Davana acid (2): เป็นของเหลวสีน้ำตาลอ่อน IR ν_{max} (thin film) cm^{-1} : 2500-3500 (COOH), 2975, 1711 (>C=O) ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 5.91 (dd, J = 17.2, 10.8 Hz, H-6'), 5.24 (dd, J = 17.2, 1.2 Hz, H-7'*trans*), 5.03 (dd, J = 10.8, 1.2 Hz, H-7'*cis*), 4.17 (td, J = 8.7, 6.0 Hz, H-2'), 2.55 (dq, J = 8.7, 7.2 Hz, H-2), 2.09 (dtd, J = 11.7, 6.8, 3.8 Hz, H-3'α), 1.98 (ddd, J = 12.0, 7.9, 3.8 Hz, H-4'β), 1.81 (ddd, J = 12.0, 9.5, 6.8 Hz, H-4'α), 1.67 (ddt, J = 11.7, 9.5, 7.9 Hz, H-3'β), 1.34 (s, 5'-C$\underline{H}_3$), 1.16 (d, J = 7.2 Hz, H-3) ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 178.2 (C-1), 143.8 (C-6'), 112.2 (C-7'), 84.1 (C-5'), 80.3 (C-2'), 45.3 (C-2), 37.6 (C-4'), 30.0 (C-3'), 26.6 (5'-$\underline{C}$H$_3$), 13.2 (C-3) EIMS 70 eV, *m/z* (rel. int.): 184 (2), 169 (100), 151 (15), 123 (24), 111 (60), 93 (57), 55 (96)

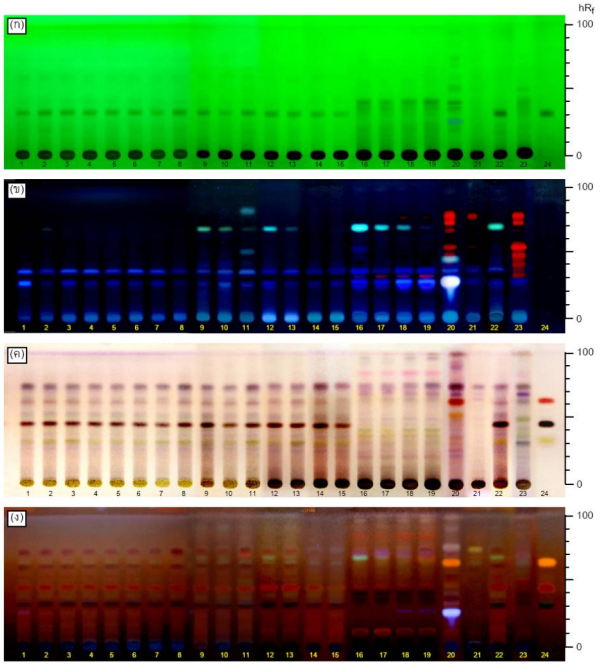
ผลและอภิปรายผลการศึกษา

ตัวอย่างเครื่องยาโกฐจุฬาลัมพาที่สุ่มซื้อจากร้านขายยาแผนโบราณในประเทศไทยในระหว่างปี พ.ศ. 2555 สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะภายนอก (macroscopic character) กลุ่มแรกประกอบด้วยตัวอย่างที่ 1 - 15 มีลักษณะเป็นกิ่งก้านสีน้ำตาลอ่อน มีใบเป็นจักฝอยและช่อดอกขนาดเล็กติดอยู่ มีขนนุ่มปกคลุมประปรายทั่วไป กลิ่นหอมฉุน กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยตัวอย่างที่ 16 - 17 มีลักษณะเป็นแผ่นใบไม้สีน้ำตาล มีขนปกคลุมหนาแน่น กลิ่นหอม เมื่อบดเป็นผงจะมีลักษณะฟูนุ่มเหมือนตัวอย่างเครื่องยาหมายเลข 18 - 19 ที่ใช้สำหรับการรักษาด้วยวิธีรมยา (รูปที่ 1)

รูปที่ 1 ลักษณะภายนอกของตัวอย่างเครื่องยาโกฐจุฬาลัมพา (ก) ชนิดสำหรับเข้าตำรับยารับประทาน (ตัวอย่างเลขที่ 3) (ข) ชนิดใช้ภายนอกสำหรับต้มน้ำอาบ (ตัวอย่างเลขที่ 17) และ (ค) เครื่องยาที่ใช้สำหรับการรักษาแบบรมยา (ตัวอย่างเลขที่ 18)

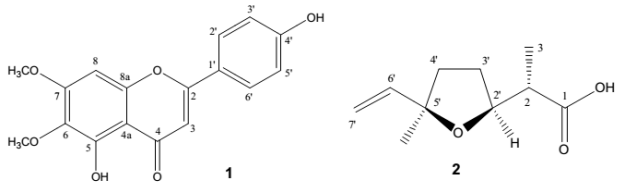
เมื่อนำตัวอย่างมาสกัดด้วย methanol แล้วนำสารสกัดไปศึกษาลายพิมพ์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบาง โดยเทียบกับตัวอย่างอ้างอิง *A. annua* (มีชื่อจีนว่า ชิงเฮา), *A. vulgaris*, *A. pallens* และ *A. argyi* (มีชื่อจีนว่า อ้ายเย่) และสารมาตรฐาน จะได้ทีแอลซีโครมาโทแกรม (TLC chromatogram) ดังรูปที่ 2 ทีแอลซีโครมาโทแกรมของตัวอย่างที่

1 - 15 มีลักษณะใกล้เคียงกันมากและเหมือนกับ *A. pallens* ในขณะที่ทีแอลซีโครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ 16 - 17 จะเหมือนกับตัวอย่างที่ 18 - 19 และมีลักษณะใกล้เคียงกับ *A. argyi* โกฐจุฬาลัมพาทุกตัวอย่างไม่พบสาร artemisinin ซึ่งเป็นสารที่พบใน *A. annua* สารนี้มีค่า hR_f เท่ากับ 63 ให้ผลบวกสีส้มแดงกับน้ำยาพ่น anisaldehyde และเรืองแสงสีส้มภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร นอกจากนี้ ทีแอลซีโครมาโทแกรมของทุกตัวอย่างจะแตกต่างจาก *A. vulgaris* อย่างชัดเจน แสดงว่าเครื่องยาที่มีชื่อว่าโกฐจุฬาลัมพาในปัจจุบันไม่ใช่ *A. annua* และ *A. vulgaris* แต่มี 2 ชนิดคือ *A. pallens* (ตัวอย่างที่ 1 - 15) ซึ่งใช้เข้าตำรับยารับประทาน เป็นเครื่องยาที่นำเข้าจากสาธารณรัฐอินเดีย และ *A. argyi* (ตัวอย่างที่ 16 - 17) ซึ่งใช้เป็นยาภายนอกสำหรับต้มน้ำอาบ เป็นเครื่องยาที่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และเป็นเครื่องยาชนิดเดียวกับที่ใช้สำหรับการรักษาโดยวิธีการรมยา โดยทั่วไปเครื่องยาที่ใช้ชื่อว่าโกฐจุฬาลัมพามักหมายถึงชนิดที่ใช้รับประทาน



รูปที่ 2 ทีแอลซีโครมาโทแกรมของสารสกัด methanol ของตัวอย่างโกฐจุฬาลัมพา (ก) ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร (ข) 366 นาโนเมตร (ค) พ่นด้วยน้ำยา anisaldehyde แล้วให้ความร้อน และ (ง) พ่นด้วยน้ำยา anisaldehyde แล้วให้ความร้อน แล้วดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร (แถวที่ 1-19 คือตัวอย่างที่ 1-19 แถวที่ 20 คือ A. annua แถวที่ 21 คือ A. vulgaris แถวที่ 22 คือ A. pallens แถวที่ 23 คือ A. argyi และแถวที่ 24 คือสารมาตรฐาน เรียงตามค่า hRf จากน้อยไปมากคือ สาร 1, 2 และ artemisinin ตามลำดับ)

เมื่อพิจารณาทีแอลซีโครมาโทแกรมของสารสกัดด้วย methanol ของโกฐจุฬาลัมพา พบว่ามีแถบสารที่เด่นชัดของสาร 1 ที่มีค่า hR_f เท่ากับ 32 สารนี้สามารถตรวจสอบได้ชัดเจนภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร และเมื่อตรวจสอบด้วยน้ำยาพ่น anisaldehyde จะให้สีเหลืองจาง ๆ จากการสกัดแยกสารบริสุทธิ์ นำมาพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และเปรียบเทียบข้อมูลกับเอกสารอ้างอิง[27,28] พบว่าสาร 1 คือ cirsimaritin ซึ่งพบเป็นองค์ประกอบทางเคมีของ *A. pallens*[29,30] แต่ไม่เคยมีรายงานพบสารนี้ใน *A. annua* และ *A. vulgaris* พืชชนิดอื่นในสกุล *Artemisia* ที่พบสารนี้ได้แก่ *A. vestita*[31] *A. ordosica*[32] *A. capillaris*[33] และ *A. judaica*[34] สารอีกชนิดที่ปรากฏชัดเจนบนลายพิมพ์องค์ประกอบทางเคมีของโกฐจุฬาลัมพาคือสาร 2 สารนี้มีค่า hR_f เท่ากับ 45 ให้ผลบวกสีน้ำตาลเข้มกับน้ำยาพ่น anisaldehyde จากการสกัดแยกสารบริสุทธิ์และพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี พบว่าสารนี้คือ davana acid สารนี้มีรายงานพบเฉพาะใน *A. pallens* เท่านั้น[35] นอกนั้นเป็นรายงานการสังเคราะห์สารนี้ด้วยวิธีทางเคมี[36] การพบสาร 1 และ 2 ในโกฐจุฬาลัมพาจึงเป็นข้อมูลที่สนับสนุนว่า เครื่องยาชนิดนี้ได้จาก *A. pallens* ไม่ใช่ *A. annua* และ *A. vulgaris* อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้เป็นการรายงานตามสถานการณ์ปัจจุบัน ชนิดที่ถูกต้องอย่างแท้จริงของพืชที่ให้เครื่องยาโกฐจุฬาลัมพาตามศาสตร์การแพทย์แผนไทยเป็นเรื่องที่สรุปได้ยาก เนื่องจากอาจมีการใช้สมุนไพรทดแทน (substitution) เปลี่ยนแปลงไปตามยุคสมัย



รูปที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีหลักที่พบในสารสกัดด้วย methanol ของโกฐจุฬาลัมพาชนิด *A. pallens* (1 = cirsimaritin, 2 = davana acid)

A. pallens เป็นไม้ล้มลุกขนาดเล็ก เพาะปลูกบริเวณตอนใต้ของสาธารณรัฐอินเดีย มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Davana เป็นแหล่งของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้เป็นน้ำหอมที่เรียกว่า davana oil[37] ประโยชน์พื้นบ้านในสาธารณรัฐอินเดียของพืชนี้ได้แก่ รักษาเบาหวาน ฆ่าหนอนพยาธิ แก้ไข้ และบำรุงกำลัง น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์แก้เกร็ง ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา และมีฤทธิ์กระตุ้น[38] ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เคยมีการศึกษา ได้แก่ แก้ปวดและต้านอักเสบ[39,40] ต้านออกซิเดชัน[41] ต้านเชื้อจุลชีพ[42,43] ลดระดับน้ำตาลในเลือด[44] และฆ่าหนอนพยาธิ[45] ข้อมูลการใช้ทางพื้นบ้านและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเหล่านี้มีทั้งที่สอดคล้องสนับสนุนการใช้ในตำรับยาไทยและแตกต่างออกไป การเก็บข้อมูลด้านสรรพคุณของตำรับยาไทยที่เตรียมโดยใช้โกฐจุฬาลัมพาที่ได้จาก *A. pallens* ว่าตรงตามภูมิปัญญาหรือไม่ จึงควรมีการศึกษาโดยผู้สนใจต่อไป

สรุปผลการศึกษา

เครื่องยาที่มีชื่อเรียกว่าโกฐจุฬาลัมพาในปัจจุบันคือ ส่วนเหนือดินของพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Artemisia pallens* วงศ์ Asteraceae (Compositae) สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของเครื่องยาชนิดนี้ด้วยลายพิมพ์องค์ประกอบทางเคมีที่สร้างด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบาง และใช้สาร cirsimaritin (1) และ davana acid (2) เป็นสารเทียบ นอกจากนี้ ยังพบเครื่องยาที่ใช้ชื่อว่าโกฐจุฬาลัมพาอีกชนิดที่ใช้สำหรับต้มน้ำอาบ ได้จากส่วนใบของพืชอีกชนิดที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Artemisia argyi* งานวิจัยนี้ทำให้ชนิดทางพฤกษศาสตร์ของพืชที่ให้เครื่องยาโกฐจุฬาลัมพาในปัจจุบันมีความชัดเจนมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงเดือน เมฆสุริเนยทร์ คณะเภสัชสาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สารมาตรฐาน artemisinin และขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่เอื้อเฟื้องบประมาณสำหรับการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. วุฒิ วุฒิธรรมเวช. สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. กรุงเทพฯ. โอเดียนสโตร์, 2540: น.112.
2. วิเชียร จีรวงส์. สมุนไพร. อนุสรณ์งานฌาปนกิจ นายกิจ จีรวงส์. กรุงเทพฯ. 2 ธันวาคม 2521: น.12-13.
3. เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณยาเทศและยาไทย. กรุงเทพฯ. เกษมบรรณกิจ, 2522: น.75.
4. บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ.2544. ตามประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ เรื่อง บัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 4) พ.ศ.2544 คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึกในพระบรมราชูปถัมภ์, 2544.
5. เต็ม สมิตินันทน์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง). กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ. ฟันนี่พับลิชชิ่ง, 2523: น.34.
6. ก่องกานดา ชยามมฤต. สมุนไพรไทย ตอนที่ 4. ฝ่ายพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กองบำรุง กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ. ชุติมาการพิมพ์, 2528: น.385.
7. วิเชียร จีรวงส์. ปาฐกถาชุด “สิรินธร” ครั้งที่ 13 เรื่อง เครื่องยาและเรื่องสมุนไพรที่น่ารู้. กรุงเทพฯ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2540: น.26.
8. ชยันต์ พิเชียรสุนทร, แม้นมาศ ชวลิต, วิเชียร จีรวงส์. คำอธิบายตำราพระโอสถพระนารายณ์. กรุงเทพฯ. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, 2544: น. 240-243.
9. ชยันต์ พิเชียรสุนทร, วิเชียร จีรวงส์. คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เล่ม 5. คณาเภสัช. กรุงเทพฯ. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, 2547: น.72-78, 95-99.
10. เต็ม สมิตินันทน์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์ประชาชน, 2544: น.55-56, 229.
11. ตำราอ้างอิงยาสมุนไพรไทย. เล่ม 1. คณะกรรมการคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก ด้วยความร่วมมือจาก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และสำนักคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, 2552: น.74-78.
12. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva. World Health Organization, 1998, pp.22-27.
13. นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, อุทัย โสธนะพันธุ์, ประไพ วงศ์สินคงมั่น (บรรณาธิการ). ทีแอลซี:วิธีอย่างง่ายในการวิเคราะห์คุณภาพเครื่องยาไทย. กรุงเทพฯ. สถาบันการแพทย์แผนไทย กระทรวงสาธารณสุข, 2551.
14. Khatoon A, Singh N, Kumar S, Srivastava N, Rathi A, Mehrotra S. Authentication and quality evaluation of an important Ayurvedic drug – Ashoka bark. *J Sci Ind Res* 2009;68:393-400.
15. Qian GS, Wang Q, Leung KSY, Qin Y, Zhaoa Z, Jiang ZH. Quality assessment of Rhizoma et Radix Notopterygii by HPTLC and HPLC fingerprinting and HPLC quantitative analysis. *J Pharm Biomed Anal* 2007;44:812-817.
16. Ram M, Abdin MZ, Khan MA, Jha P. HPTLC Fingerprint Analysis: A quality control for authentication of herbal phytochemicals. In Srivastava MM (ed.). High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC). Berlin Heidelberg. Springer-Verlag, 2011, pp.105-116.
17. Wagner H, Bauer R, Melchart D, Xiao PG, Staudinger A. Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines: Thin-layer and High Performance Liquid Chromatography of Chinese Drugs. Second, Revised and Enlarged Edition. New York. Springer-Verlag/Wien, 2011.
18. Xie P, Chen S, Liang YZ, Wang X, Tian R, Upton R. Chromatographic fingerprint analysis—a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine. *J Chromatogr A* 2006;1112:171-180.
19. He ZD, Qiao CF, Han QB, et al. Authentication and quantitative analysis on the chemical profile of cassia bark (Cortex Cinnamomi) by high-pressure liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 2005;53:2424-2428.
20. Schaneberg BT, Crockett S, Bedir E, Khan IA, The role of chemical fingerprinting: application to *Ephedra*. *Phytochemistry* 2003;62:911–918.
21. Springfield EP, Eagles PKF, Scott G. Quality assessment of South African herbal medicines by means of HPLC fingerprinting. *J Ethnopharmacol* 2005;101:75–83.
22. Wang L, Wang X, Kong L. Automatic authentication and distinction of *Epimedium koreanum* and *Epimedium wushanense* with HPLC fingerprint analysis assisted by pattern recognition techniques. *Biochem Syst Ecol* 2012;40:138–145.
23. Zou HB, Du AQ, Zhang XL, et al. Quality control methodology and their application in analysis on HPLC fingerprint spectra of herbal medicines. *Chromatog Res Int* 2012; Article ID 851792.
24. Pan R, Guo F, Lu H, Feng WW, Liang YZ. Development of the chromatographic fingerprint of *Scutellaria barbata* D. Don by GC–MS combined with Chemometrics methods. *J Pharm Biomed Anal* 2011;55:391-396.
25. Piao XL, Park JH, Cui J, Kim DH, Yoo HH. Development of gas chromatographic/mass spectrometry-pattern recognition method for the quality control of Korean Angelica. *J Pharm Biomed Anal* 2007; 44:1163–1167.
26. Yang B, Chen J, Lee FSC, Wang X. GC-MS fingerprints for discrimination of Ligusticum chuanxiong from Angelica. J *Sep Sci* 2008;31:3231–3237.

27. Nakasugi T, Komai K. Antimutagens in the Brazilian folk medicinal plant carqueja (*Baccharis trimera* Less.). *J Agric Food Chem* 1998;46:2560-2564.
28. Nyiligira E, Viljoen AM, Van Heerden FR, Van Zyl RL, Van Vuuren SF, Steenkamp PA. Phytochemistry and *in vitro* pharmacological activities of South African *Vitex* (Verbenaceae) species. *J Ethnopharmacol* 2008;119:680-685.
29. Catalán CAN, Cuenca M del R, Verghese J, Joy MT, Gutiérrez AB, Herz W. Sesquiterpene ketones related to davanone from Artemisia pallens. *Phytochemistry* 1990;29:2702-2703.
30. Manikandan L, Senthilkumar GP, Bhattacharya S, et al. Induction of apoptosis by cirsimaritin isolated from *Artemisia pallens* in human cancer cell lines. *Drug Metab Rev* 2004;36:125
31. Yin Y, Gong FY, Wu XX, et al. Anti-inflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*. *J Ethnopharmacol* 2008;120:1-6.
32. Zhang W, Zhao DB, Li MJ, Liu XH, Wang HQ. Studies on flavonoid constituents from herbs of *Artemisia ordosica* II. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2006; 31:1959-1961.
33. Okada Y, Miyauchi N, Suzuki K, et al. Search for naturally occurring substances to prevent the complications of diabetes. II. Inhibitory effect of coumarin and flavonoid derivatives on bovine lens aldose reductase and rabbit platelet aggregation. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1995;43:1385-1387.
34. Abdalla SS, Abu Zarga MH. Effects of cirsimaritin, a flavone isolated from *Artemisia judaica*, on isolated guinea-pig ileum. *Planta Med* 1987;53:322-324.
35. Misra LN, Chandra A, Thakur RS. Fragrant components of oil from Artemisia pallens. *Phytochemistry* 1991;30:549-552.
36. Sabitha, G, Nagendra PM, Bhikshapathi M, Yadav JS. Stereospecific Total Synthesis of (+)-Davana Acid, (+)-Nordavanone and (+)-Davanone. *Synthesis* 2010;5:807-810.
37. Kulkarni RN. *Artemisia pallens*. in Wright CW. *Artemisia* (Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles). CRC Press, 2001. pp.119-137.
38. Suresh J, Elango K, Dhanabal SP, Paramakrishnan N, Suresh B. A comparative pharmacognostical evaluation of two *Artemisia* species found in Nilgiris biosphere. *Anc Sci Life* 2007;27:7-13.
39. Ashok PK, Upadhyaya K. Analgesic and anti-inflammatory properties of *Artemisia pallens* Wall ex DC. *T Ph Res* 2010;3:249-256.
40. Ruikar AD, Misar AV, Jadhav RB, et al. Sesquiterpene lactone, a potent drug molecule from *Artemisia pallens* Wall with anti-inflammatory activity. *Arzneimittelforschung* 2011;61:510-514.
41. Ruikar AD, Khatiwora E, Ghayal NA, et al. Studies on aerial parts of *Artemisia pallens* wall for phenol, flavonoid and evaluation of antioxidant activity. *J Pharm Bioallied Sci* 2011;3:302-305.
42. Bail S, Buchbauer G, Schmidt E, et al. GC-MS-analysis, antimicrobial activities and olfactory evaluation of essential davana (*Artemisia pallens* Wall. ex DC) oil from India. *Nat Prod Commun* 2008;3:1057-1062.
43. Suresh J, Vasavi Reddy A, Dhanya R, Ihsanullah.M, Mohd NK. Antimicrobial Activity of *Artemisia abrotanum* and *Artemisia pallens*. *Int J Pharmacog Phytochel Res* 2010;3:18-21.
44. Subramoniam A, Pushpangadan P, Rajasekharan S, Evans DA, Latha PG, Valsaraj R. Effects of *Artemisia pallens* Wall. on blood glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 1996;50:13-17.
45. Nakhare S, Garg SC. Anthelmintic activity of the essential oil of *Artemisia pallens* Wall. *Anc Sci Life* 1991;10:185-186.
46. Froukji D, Jascha N, Evelien H, Hein V. Adolescents' view on smoking, quitting and health education. (Accessed on February. 23, 2012, at www.emeraldinsight.com2/0965-4283.htm)

Editorial note
Manuscript received in original form on January 10, 2013;
accepted in final form on June 28, 2013