

## บทคัดย่อ

การศึกษาคุณลักษณะทางเภสัชเวท และข้อกำหนดมาตรฐานวัตถุดิบและสารสกัดจากชาเมียง (สดและหมัก) หนุ่้าถอดปล้อง และเยื่อหุ้มเมล็ดฝักข้าว ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เวชสำอางของมูลนิธิโครงการหลวง มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและจัดทำคุณลักษณะทางเภสัชเวท รวมถึงข้อกำหนดทางกายภาพ และหาสารกำหนดของสารสกัดสมุนไพรดังกล่าว สำหรับใช้ในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ และสารสกัดที่ใช้เตรียมผลิตภัณฑ์พืชสมุนไพรของมูลนิธิโครงการหลวง ในการศึกษาครั้งนี้ ได้เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมาจาก 3 แหล่ง ซึ่งมีพื้นที่ครอบคลุม 3 จังหวัดในภาคเหนือ คือ เชียงใหม่ เชียงราย และลำพูน

การศึกษามหรรศลักษณะของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีลักษณะเฉพาะทางพฤกษศาสตร์ที่ต่างกัน สำหรับลักษณะของฝักพืชสมุนไพรชาเมียงสดและชาเมียงหมักมีลักษณะเป็นสีเขียว-น้ำตาลเหมือนกัน ส่วนหนุ่้าถอดปล้องและเยื่อหุ้มเมล็ดฝักข้าวมีสีเขียว-น้ำตาล และสีแดง-น้ำตาล ตามลำดับ จากการศึกษาจุลทรรศณลักษณะของเซลล์และเนื้อเยื่อพืช ทำให้ทราบว่าชาเมียงและหนุ่้าถอดปล้องประกอบด้วยเซลล์พื้นฐานที่เหมือนกัน แต่แตกต่างกันที่ชาเมียงจะมีสเคลอไรด์ (sclereid) ที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรง ด้านล่างบริเวณที่ติดกับเซลล์ผิวพบผลึกของแคลเซียมออกซาเลตรูปดอกกุหลาบ (rosette crystal) และไตรโคม (trichome) ในขณะที่หนุ่้าถอดปล้องจะมีช่องว่างกลางขนาดใหญ่ (pith cavity) ที่เด่นชัด สำหรับจุลทรรศณลักษณะของฝักพืชสมุนไพร พบว่าฝักพืชสมุนไพรชาเมียงประกอบด้วยเซลล์ปากใบ (stoma) เซลล์ผิวรูปทรงหลายเหลี่ยม (epidermal cell) กลุ่มของไฟเบอร์ (fragment of fiber) และสเคลอไรด์ (filiform sclereid) ไทรโคมเซลล์เดี่ยวปลายเรียวแหลม (unicellular trichome) จำนวนมาก และท่อลำเลียงน้ำแบบเกลียว (spiral vessel) ฝักพืชสมุนไพรหนุ่้าถอดปล้องประกอบด้วยปากใบที่เรียงติดกันแถวเดียว ไทรโคมรูปเรียวยาวหลายเซลล์ (multicellular trichome) ชิ้นส่วนของเซลล์ผิว กลุ่มของเนื้อเยื่อพาเรนไคมา (fragment of parenchyma) และไฟเบอร์รูปเรียวยาวผนังหนา และท่อลำเลียงน้ำแบบเกลียว และฝักพืชสมุนไพรเยื่อหุ้มเมล็ดฝักข้าวประกอบด้วยหยดน้ำมัน (oil droplet) ทรงกลมสีส้มจำนวนมาก ผลึกรูปปริซึมรูปทรงหลายเหลี่ยม (prism crystal of calcium oxalate) เม็ดแป้ง (starch granule) ขนาดเล็ก รูปทรงกลม กลุ่มของเนื้อเยื่อพาเรนไคมา (reserved parenchyma) สเคลอไรด์รูปร่างสั้นผนังหนา และท่อลำเลียงน้ำแบบเกลียว

การศึกษากายภาพเคมีเบื้องต้นในชาเมียงสดและหมักและหนุ่้าถอดปล้อง ตรวจพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และซาโปนิน ส่วนในเยื่อหุ้มเมล็ดฝักข้าว ตรวจพบเฉพาะสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และซาโปนิน

การวิเคราะห์ห่มงพืชสมุนไพรตามข้อกำหนดของ Thai Herbal Pharmacopoeia และ WHO ประกอบด้วย การหาปริมาณความชื้นโดยหาน้ำหนักที่หายไป ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าไม่ละลายในกรด ปริมาณน้ำมันระเหย และปริมาณสารสกัดด้วย 95 เปอร์เซ็นต์เอทานอล เมทานอล เอทิลอะซิเตท:เฮกเซน (30:70) และน้ำ พบว่าชาเมียงสดมีปริมาณความชื้นและปริมาณเถ้ารวมสูงกว่าชาเมียงหมัก ในขณะที่มีปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดเท่ากันที่ร้อยละ  $0.03 \pm 0.02$  โดยน้ำหนัก หนุ่้าถอดปล้องและเยื่อหุ้มเมล็ดฝักข้าว มีปริมาณความชื้นเฉลี่ยร้อยละ  $7.16 \pm 0.37$  และ  $5.50 \pm 0.77$  โดย

น้ำหนัก ตามลำดับ และเป็นที่น่าสังเกตว่าหญาถอดปล้องมีปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรดสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่นๆ คือ ร้อยละ  $21.83 \pm 0.16$  และ  $15.78 \pm 0.48$  โดยน้ำหนัก ตามลำดับ เนื่องจากหญาถอดปล้องมีองค์ประกอบของเนื้อเยื่อผิวเป็นสารประกอบอนินทรีย์จำพวกซิลิกาที่ไม่สลายตัวที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เมื่อนำสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ไปกลั่นน้ำมันระเหยด้วยน้ำ พบว่าไม่พบน้ำมันระเหยจากชาเมี่ยงสด ส่วนน้ำมันระเหยจากชาเมี่ยงหมัก หญาถอดปล้องและเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว มีปริมาณน้อยมาก (น้อยกว่า 0.10 มิลลิลิตร) โดยน้ำมันระเหยจากชาเมี่ยงหมักและหญาถอดปล้องมีสีเขียวมืดเป็นแผ่นฟิล์มเคลือบที่ผิวหน้า และน้ำมันระเหยจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว มีสีส้มเข้มเป็นไขที่อุณหภูมิห้อง การหาปริมาณสารสกัดด้วย 95 เปอร์เซ็นต์เอทานอล เมทานอล เอทิลอะซิเตท: เฮกเซน (30:70) และน้ำ พบว่าชาเมี่ยงหมักมีปริมาณสารสกัดมากกว่าชาเมี่ยงสดในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด โดยมีปริมาณสารสกัดมากที่สุดในน้ำ คือ ร้อยละ  $22.23 \pm 0.21$  โดยน้ำหนัก รองลงมาคือ ในเมทานอล 95 เปอร์เซ็นต์เอทานอล และเอทิลอะซิเตท:เฮกเซน (30:70) ตามลำดับ เช่นเดียวกับหญาถอดปล้องและเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่มีปริมาณสารสกัดมากที่สุดในน้ำซึ่งมีค่าเท่ากับ ร้อยละ  $15.76 \pm 0.42$  และ  $50.97 \pm 0.21$  โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

การแยกสารหลักจากสารสกัดหยาบสมุนไพรให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี และวิเคราะห์โครงสร้างของสารที่แยกได้ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี พบว่า สามารถแยกสารจากสารสกัดชาเมี่ยงสดได้ 2 สาร คือ caffeine และ (-)-epicatechin gallate (ECG) จากสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวได้ 1 สาร คือ  $\beta$ -carotene จากสารสกัดหญาถอดปล้องได้ 1 สาร ซึ่งจากการวิเคราะห์โครงสร้างเคมีเบื้องต้นทราบว่า เป็นสารในกลุ่ม glycoside เมื่อนำสารหลักที่แยกได้ไปศึกษารูปแบบโครมาโทกราฟีฉาบบางของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดๆ ละ 3 แผลง ทำให้ได้รูปแบบโครมาโทกราฟีฉาบบางในตัวเคลื่อนที่ที่เหมาะสม

จากการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำข้อมูลไปจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานวัตถุดิบสมุนไพรเพื่อใช้ในการใช้ตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบและสารสกัดต่อไป

## Abstract

The study on pharmacognostic characteristics and specifications of raw materials and extracts of tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*), horsetail (*Equisetum debile* Roxb.) and arils of gac fruit (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) used in cosmeceuticals of The Royal Project was aimed to establish the pharmacognostic characteristics together with specifications and to isolate chemical markers of those medicinal plants for use in quality control of raw materials and extracts used in the preparation of herbal products of The Royal Project. In this study, each raw material was collected from 3 different locations in northern Thailand including Chiang Mai, Chiang Rai and Lampun provinces.

Macroscopical characters of tea, arils of gac fruit and horsetail were examined. The results displayed that they had different botanical characteristics. Powdered drugs of fresh tea and fermented tea are both brownish green in color, while those of horsetail and gac fruit arils were brownish green and brownish red, respectively. Under microscopical character investigation, it was found that tea and horsetail had the same basic plant cells in common, but they were differed in that tea had sclereid, rosette crystal and trichome whereas horsetail had obvious pith cavity. Microscopical character of tea exhibited the presence of stomas, epidermal cells, fragments of fibers, filiform sclerieds, unicellular trichomes and spiral vessels. Thai of horsetail consisted of stomas, multicellular trichome, fragments of epidermal cells, fragments of parenchymas, fragments of fibers and spiral vessels. Gac fruit arils' microscopical character displayed the presence of oil droplets, prism crystals of calcium oxalate, starch granules, reserved parenchymas, sclereids and spiral vessels.

The phytochemical screening of tea (both fresh and fermented) and horsetail revealed that they had the same main chemical constituents which included alkaloids, flavonoids, tannins, cardiac glycosides and saponins, while those of arils of gac fruit contained only flavonoids and saponins.

The investigation on pharmacognostic characteristics of the plants including moisture content, total ash, acid-insoluble ash, extractive value and volatile oil content was conducted based on Thai Herbal Pharmacopoeia and WHO guidelines. The results exhibited that the moisture and total ash contents of fresh tea were higher than those of fermented tea, but their acid-insoluble contents were the same with  $0.03 \pm 0.02$  % w/w. Horsetail and gac fruit arils had moisture contents with  $7.16 \pm 0.37$  and  $5.50 \pm 0.77$  % w/w, respectively. It was noteworthy that horsetail had total ash and acid-insoluble ash contents much higher than those of the others with

21.83 ± 0.16 and 15.78 ± 0.48, respectively. This would be due to the presence of inorganic silicon compounds in epidermal cells of horsetail; the compounds can be not decomposed under 500 °C conducted in the experiment. After hydrodistillation of the four plants, it was found that no volatile oil was obtained from fresh tea, whereas fermented tea, horsetail and gac fruit arils afforded the oils in minute amount with less than 0.10 mL; fermented tea and horsetail oils' physical appearances were greenish having thin films covering a surface, and that of gac fruit arils was deep orange with a greasy appearance at room temperature. From the extractive value study in 95% EtOH, MeOH, EtOAc/hexane (30:70) and water, fermented tea yielded a greater amount than that of fresh tea in the four different solvents. The highest yield was obtained from water (22.23 ± 0.21 % w/w) followed by MeOH, 95% EtOH and EtOAc/hexane (30:70), respectively. The same result was observed in horsetail and gac fruit arils having the highest yield in water with 15.76 ± 0.42 and 50.97 ± 0.21 % w/w, respectively.

The isolation of major chemical compounds from the extracts using chromatographic techniques and structural elucidation of isolated compounds by spectroscopic evidences yielded caffeine and (-)-epicatechin gallate (ECG) from the fresh tea extract, β-carotene from the gac fruit aril extract and an unidentified glycoside from the horsetail extract. The isolated compounds were used as chemical markers in TLC chromatographic fingerprints of those four plants, each of which was collected from three different locations, and the fingerprints together with suitable mobile phases for TLC development were obtained.

From this investigation, the pharmacognostic characteristics of fresh tea, fermented tea and gac fruit arils can be used to establish the specifications of raw materials and extracts from those three plants.