

นงลภัส ศศิวัจน์ไพสิฐ : ข้อกำหนดทางเภสัชเวทและปริมาณสารไดออสโครีนของหัวกลอย . (Pharmacognostic Specification and Dioscorine Content of *Dioscorea hispida* Tubers) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อ. ดร. ชนิตา พลาบุษ , อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ. ดร. นิจศิริ เรืองรังษี, 98 หน้า.

กลอย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Dioscorea hispida* Dennst. หัวกลอยแห้งเป็นเครื่องยาสมุนไพรในตำรับยากรณีสันตะฆาตที่มีสรรพคุณรักษาอาการกระษัยเส้น เถาดาน (อาการแข็งเป็นล่ำในท้อง) และท้องผูก เนื่องจากกลอยยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานในตำรับยาสมุนไพรไทย อีกทั้งข้อมูลทางเภสัชวิทยา และพิษวิทยาของหัวกลอยพบว่ามีสารพิษคือไดออสโครีน ซึ่งเป็นสารมีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจัดทำข้อกำหนดทางเภสัชเวทรวมทั้งวิเคราะห์หาปริมาณสารไดออสโครีนของหัวกลอย โดยเก็บหัวกลอยจาก 14 แหล่งทั่วประเทศไทย วาดภาพฉายเส้นแสดงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชสมุนไพรกลอย นำหัวกลอยมาผ่านเป็นแผ่นบาง ตากแดดให้แห้ง ตามการเตรียมเครื่องยากลอย ลักษณะทางมหภาคของเครื่องยามีรูปร่างเป็นแท่งยาวหรือรูปทรงต่าง ๆ สีน้ำตาล ขอบสีน้ำตาลอ่อน ลักษณะเด่นทางจุลภาคของ หัวกลอยคือ เม็ดแป้งและผลึกรูปเข็ม การศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมี-ฟิสิกส์ของหัวกลอย พบว่า มีปริมาณเถ้ารวม เถ้าที่ไม่ละลายในกรด ความชื้น และปริมาณน้ำ ไม่เกินร้อยละ 3.44, 0.92, 11.50 และ 11.55 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล และปริมาณสารสกัดด้วยน้ำไม่น้อยกว่าร้อยละ 3.00 และ 15.07 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ วิเคราะห์ปริมาณไดออสโครีนโดยวิธีที่แอลซีร่วมกับการวิเคราะห์เชิงภาพเปรียบเทียบกับวิธีที่แอลซีเดนซิโตเมทรี เตรียมสารมาตรฐานไดออสโครีนโดยการสกัดหัวกลอยแห้งด้วยเอทานอล ตกลึกด้วยกรดพิคริก สกัดกลับ และทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ตรวจสอบยืนยันโดยวิธีโปรตอน และคาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สกัดหัวกลอยแห้งทั้ง 14 แหล่งด้วยเอทานอล โดยวิธีสกัดแบบชอกให้เล็ด นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารไดออสโครีนโดยวิธี TLC เฟสคงที่เป็นอะลูมิเนียมที่อบด้วยอะลูมิเนียม ออกไซด์ ใช้ตัวทำละลาย เมทานอลต่อคลอโรฟอร์ม (97 : 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ บันทึกภาพสารไดออสโครีนภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร พบว่ามีค่า hRf เท่ากับ 80 วัดปริมาณสารโดยใช้โปรแกรม Scion Image ใน TLC หนึ่งแผ่นประกอบด้วยสารมาตรฐานไดออสโครีน 5 ความเข้มข้น และสารสกัดตัวอย่างหัวกลอยจาก 14 แหล่ง แต่ละแหล่งทำ 3 ซ้ำ วิธีที่แอลซีเดนซิโตเมทรีทำเช่นเดียวกันโดยใช้เครื่อง Camag Linomat syringe และ Camag TLC scanner ร่วมกับ winCATS software ในการดำเนินการแทน พบปริมาณสารไดออสโครีนร้อยละ 0.66 และ 0.72 โดยน้ำหนัก เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีทั้งสอง ตามลำดับ วิธีวิเคราะห์สาร ไดออสโครีนทั้งสองวิธี มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.999 ใน ช่วงความเป็นเส้นตรงระหว่าง 2.50 – 12.50 ไมโครกรัมต่อหนึ่งจุด ซีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการหาปริมาณของสาร ไดออสโครีนมีค่า 0.28 และ 0.84 ไมโครกรัมต่อหนึ่งจุด เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีที่แอลซีร่วมกับการวิเคราะห์เชิงภาพ และ 0.37 และ 1.13 ไมโครกรัมต่อหนึ่งจุด เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีที่แอลซีเดนซิโตเมทรี ตามลำดับผลการศึกษานี้สามารถจัดทำเป็นข้อกำหนดมาตรฐานของ เครื่องยาสมุนไพรกลอย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ ตลอดจนการวิจัยและพัฒนาตำรับยาที่เข้าตัวยาต่อไป

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สาธารณสุข .....ลายมือชื่อ.....  
ปีการศึกษา 2554 .....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....  
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

## 5379308153 : MAJOR PUBLIC HEALTH SCIENCES

KEYWORDS : DIOSCOREA HISPIDA / DIOSCORINE / PHARMACOGNOSTIC SPECIFICATION / TLC IMAGE ANALYSIS / TLC-DENSITOMETRY

NONGLAPAT SASIWATPAISIT : PHARMACOGNOSTIC SPECIFICATION AND DIOSCORINE CONTENT OF *DIOSCOREA HISPIDA* TUBERS. ADVISOR : CHANIDA PALANUVEJ, Ph.D., CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. NIJSIRI RUANGRUNGSI, Ph.D., 98 pp

*Dioscorea hispida* Dennst. dried tubers have been used as a crude drug in Thai remedy named Thoraneesanthakhat. It has traditionally been used to treat constipation. The aim of this research is to establish the pharmacognostic specification and determine the content of dioscorine in *D. hispida* tubers. The tubers were collected from 14 different locations throughout Thailand. The drawing of whole plant of *D. hispida* was illustrated in detail. The crude drug was traditionally prepared by slicing the tuber and sun drying. The macroscopic characters were longitudinal pieces or irregularly shaped, off - white colour with some light brown epidermis. The prominent anatomical and histological characteristics were starch granules and raphide crystal. The total ash, acid insoluble ash, loss on drying and water content should be not more than 3.44, 0.92, 11.50 and 11.55 % w/w respectively whereas ethanol-soluble extractive and water-soluble extractive should be not less than 3.00 and 15.07 % w/w respectively. The content of dioscorine in *D. hispida* dried tubers was identified using TLC image analysis compared to TLC-densitometry. The standard dioscorine was prepared from dried tubers by ethanol extraction, picrate crystallization, back extraction and column chromatographic purification. The identification of isolated dioscorine was confirmed by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra as well as previously reported spectra prior to be used as dioscorine standard. Dried tuber samples were successively extracted in ethanol by soxhlet apparatus. The extracts were analyzed for dioscorine content by TLC using Aluminium oxide 60 GF<sub>254</sub> neutral as stationary phase and methanol-chloroform (3 : 97) as mobile phase. The density of dioscorine spot at hRf value of 80 detected under UV254 was analyzed and transformed to peak area by the Scion Image software. Five concentrations of standard and 14 samples were developed on the same TLC plate. Each sample was quantitated in triplicate. For TLC-densitometry, the same protocol was performed using Camag Linomat syringe and Camag TLC scanner with winCATS software instead manual. The dioscorine content of the dried crude drug determined by TLC image analysis and TLC-densitometry were 0.66 and 0.72 % w/w respectively. The polynomial regression data of both methods for dioscorine showed good linear relationship with a correlation coefficient of 0.999 in the concentration range of 2.50 – 12.50  $\mu\text{g}/\text{spot}$ . The LOD and LOQ were 0.28 and 0.84  $\mu\text{g}/\text{spot}$  by TLC image analysis and 0.37 and 1.13  $\mu\text{g}/\text{spot}$  by TLC-densitometry respectively. TLC image analysis was valid for quantification of dioscorine in *D. hispida* tuber. This study provided scientific information for the quality control of *D. hispida* tuber ingredient in Thai traditional medicine.

Field of Study : Public Health Sciences..... Student's Signature .....

Academic Year : 2011..... Advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....