

PHARMACOGNOSTIC EVALUATION AND CHRYSAZIN QUANTITATION  
OF *XYRIS INDICA* FLOWERING HEADS



Miss Chuanchom Khuniad

วิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
COLLEGE OF PUBLIC HEALTH SCIENCES  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Public Health Sciences

College of Public Health Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

การประเมินข้อกำหนดทางเภสัชเวชและปริมาณสารคริสซีนในช่อดอกกระถินทุ่ง



นางสาวชนชม ชุนเอียด

วิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
COLLEGE OF PUBLIC HEALTH SCIENCES

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

วิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title PHARMACOGNOSTIC EVALUATION AND CHRYSAZIN  
QUANTITATION OF *XYRIS INDICA* FLOWERING HEADS

By Miss Chuanchom Khuniad

Field of Study Public Health Sciences

Thesis Advisor Chanida Palanuvej, Ph.D.

Thesis Co-advisor Associate Professor Nijsiri Ruangrungsi, Ph.D.

---

Accepted by the College of Public Health Sciences, Chulalongkorn University in  
Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

..... Dean of the College of Public Health Sciences  
(Professor Surasak Taneepanichskul, M.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman  
(Assistant Professor Naowarat Kanchanakhan, Ph.D.)

..... Thesis Advisor  
(Chanida Palanuvej, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor  
(Associate Professor Nijsiri Ruangrungsi, Ph.D.)

..... External Examiner  
(Associate Professor Uthai Sotanaphun, Ph.D.)

วิทยาลัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
COLLEGE OF PUBLIC HEALTH SCIENCES  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ชวนชม ชุนเอียด : การประเมินข้อกำหนดทางเภสัชเวทและปริมาณสารคริสซีนในช่อดอกกระถินทุ่ง. (Pharmacognostic Evaluation and Chryszazin Quantitation of *Xyris indica* Flowering heads) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ดร. ชนิตา พลาณุเวช, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ. ดร. นิจศิริ เรืองรังษี, 135 หน้า.

กระถินทุ่ง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Xyris indica* L. กระถินทุ่งเป็นเครื่องยาสมุนไพรที่ใช้ในการแพทย์แผนไทย มีสรรพคุณรักษาโรคกลาก อาการท้องผูก และท้องอืด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจัดทำข้อกำหนดทางเภสัชเวทและวิเคราะห์หาปริมาณสารคริสซีนของช่อดอกกระถินทุ่ง จาก 15 แหล่งในประเทศไทย วาดภาพลายเส้นแสดงลักษณะทั้งต้นของกระถินทุ่ง เตรียมเครื่องยาโดยการอบแห้งและบดผง ลักษณะทางมหภาคของเครื่องยามีรูปร่างเป็นช่อดอก มีใบประดับสีน้ำตาลและดอกสีเหลือง รสขมฝาดและกลื่นเฉพาะ ลักษณะเด่นทางจุลภาคของเครื่องยาคือ กลีบดอก เมล็ด ละอองเรณู และเกสรตัวผู้ที่เป็นหมัน การศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมี-ฟิสิกส์พบว่า มีปริมาณน้ำหนักรักษาแห้งเมื่อทำให้แห้ง ปริมาณเถ้ารวมเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล และปริมาณน้ำ เท่ากับ  $6.899 \pm 0.165$ ,  $2.497 \pm 0.033$ ,  $0.409 \pm 0.027$ ,  $6.592 \pm 0.474$ ,  $4.030 \pm 0.486$  และ  $11.121 \pm 1.132$  โดยน้ำหนัก ตามลำดับ การศึกษาด้วยเทคนิคทางทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีโดยมีแผ่นซิลิกาเจลเป็นวัฏภาคคงที่ และใช้ตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์และเอทิลแอลกอฮอล์ (8:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (254 นาโนเมตร และ 365 นาโนเมตร) และภายใต้แสงธรรมชาติ หลังจากย้อมด้วยสารละลาย 5% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ พบแถบคริสซีนเรืองแสงสีเหลือง ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต 365 นาโนเมตร ที่ค่า Rf เท่ากับ 59 วิเคราะห์ปริมาณสารคริสซีนในสารสกัดหยาบด้วยเบนซีนจากช่อดอกโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีเดนซิโตเมตรีและการวิเคราะห์เชิงภาพ โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ข้างต้น การวิเคราะห์สารคริสซีนโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีเดนซิโตเมตรี มีช่วงความเป็นเส้นตรงระหว่าง 15.0-75.0 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9997 ค่าเฉลี่ยการคืนกลับระหว่างร้อยละ 90.67-99.16 ระดับความเที่ยงของการวิเคราะห์ ประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจาย มีค่าระหว่างร้อยละ 0.76 -14.28 ซีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการหาปริมาณ มีค่า 5.48 และ 16.62 ไมโครกรัม ระดับความคงทนของวิธีการ ประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายมีค่าร้อยละ 4.44 วิเคราะห์สารคริสซีนโดยวิธีการวิเคราะห์เชิงภาพทางทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี มีช่วงความเป็นเส้นตรงระหว่าง 15.0-75.0 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9985 ค่าเฉลี่ยการคืนกลับระหว่างร้อยละ 91.87-96.00 ระดับความเที่ยงของการวิเคราะห์ ประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจาย มีค่าระหว่างร้อยละ 0.78-3.95 ซีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการหาปริมาณ มีค่า 5.90 และ 17.89 ไมโครกรัม ระดับความคงทนของวิธีการ ประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายมีค่าร้อยละ 3.60 ปริมาณสารคริสซีนในช่อดอกกระถินทุ่งโดยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีเดนซิโตเมตรีและการวิเคราะห์เชิงภาพทางทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีมีค่าระหว่าง  $0.0223 \pm 0.0011$  และ  $0.0219-0.0007$  กรัม/ 100 กรัมของช่อดอกแห้ง ตามลำดับ การเปรียบเทียบปริมาณสารคริสซีนระหว่าง 2 วิธี ถูกทดสอบโดยใช้สถิติ paired t-test พบว่าปริมาณสารคริสซีนโดยสองวิธีไม่แตกต่างกัน ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเบนซีนจากช่อดอกและสารมาตรฐานคริสซีนโดยวิธี agar-overlay bioautography พบว่า สารสกัดเบนซีนบนแผ่นที่แอลซีมีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 4 ชนิด คือ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Micrococcus luteus*. สารคริสซีนในสารสกัดและสารมาตรฐานคริสซีนมีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของ *Bacillus subtilis* ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้จัดทำเป็นข้อกำหนดมาตรฐานของสมุนไพรกระถินทุ่งในประเทศไทยซึ่งเป็นประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพและเป็นข้อมูลพื้นฐานของฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของพืชชนิดนี้ต่อไป

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สาธารณสุข.....ลายมือชื่อ.....  
ปีการศึกษา 2556.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....  
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....



# # 5578954553 : MAJOR PUBLIC HEALTH SCIENCES

KEYWORDS : XYRIS INDICA / PHARMACOGNOSTIC SPECIFICATION / CHRYSAZIN /  
QUANTITATIVE ANALYSIS / ANTIMICROBIAL ACTIVITIES

CHUANCHOM KHUNIAD : PHARMACOGNOSTIC EVALUATION AND CHRYSAZIN

QUANTITATION OF XYRIS INDICA FLOWERING HEADS. ADVISOR : CHANIDA

PALANUVEJ, Ph.D., CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. NIJSIRI RUANGRUNGSI, Ph.D., 135  
pp.

Flowering heads of *Xyris indica* L. have been used as crude drug in Traditional Thai medicine for a long time. It has traditionally been used to treat ringworm, constipation and flatulence. The aim of this study was to investigate the pharmacognostic specification and analysed the content of chrysozarin in *X. indica* flowering heads. The flowering heads were collected from 15 different sources in Thailand. The drawing of whole plant of *X. indica* was illustrated in detail. The crude drug was dried in hot air oven and ground to powders. The macroscopic characteristics were dried flowering heads with brown bract, yellow flowers, variable in sizes, slightly characteristic odour and slightly bitter, astringent taste. The histological characteristics were fragment of corolla, seeds, pollen grain and staminode. The loss on drying, total ash, acid-insoluble ash, water soluble extractive matter and ethanol soluble extractive matter and water content were  $6.899 \pm 0.165$ ,  $2.497 \pm 0.033$ ,  $0.409 \pm 0.027$ ,  $6.592 \pm 0.474$ ,  $4.030 \pm 0.486$  and  $11.121 \pm 1.132$  % dry weight, respectively. TLC fingerprint of ethanolic extracts of *X. indica* flowering heads were performed using silica gel as stationary phase and petroleum ether and ethyl acetate (8:1) as mobile phase. Detection under ultraviolet light (254 nm and 365 nm) as well as under visual light after with 5% potassium hydroxide solution showed chrysozarin yellow fluorescent band under UV 365 nm at  $R_f = 59$ . The chrysozarin content in of *X. indica* flowering heads was determined by TLC-densitometry and TLC image analysis using aforementioned mobile phase. The linearity of chrysozarin by TLC-densitometry was 15.0-75.0  $\mu\text{g/ml}$  with  $R^2=0.9997$ , % recovery was in range of 90.67-99.16 %, the precision was between 0.76 -14.28 % RSD, LOD and LOQ were 5.48 and 16.62  $\mu\text{g}$ , respectively and % RSD of robustness was 4.44 %. The linearity of chrysozarin by TLC image analysis was 15.0-75.0  $\mu\text{g/ml}$  with  $R^2=0.9986$ , % recovery was in range of 91.87-96.00 %, the precision was between 0.78-3.95 % RSD, LOD and LOQ were 5.90 and 17.89  $\mu\text{g}$ , respectively and % RSD of robustness was 3.60 %. The quantitative analysis showed that chrysozarin content of *X. indica* flowering heads by TLC-densitometry was  $0.0223 \pm 0.0011$  g/100 g of dried crude drug whereas chrysozarin content by TLC image analysis was  $0.0219 \pm 0.0007$  g/100 g of dried crude drug. Both methods were compared statistically using paired t-test statistical analysis. It was indicated that the chrysozarin content from both methods were not significantly different. Antimicrobial activities of benzene extract of *X. indica* flowering heads and standard chrysozarin were tested by agar-overlay bioautography. The benzene extract on TLC plate inhibited the growth of 4 tested gram positive bacteria, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Micrococcus luteus*. The chrysozarin in benzene extract and standard chrysozarin inhibited the growth of *Bacillus subtilis*. This study is useful for identification, authentication and standardization of *X. indica* crude drug. Besides, it provides scientific evidences in antimicrobial potential of *X. indica* flowering heads.

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

Academic Year : 2013..... Advisor's Signature .....

Co-advisor's Signature .....