Published online: 22 March 2018

ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดใบและดอกจักรนารายณ์

Tyrosinase Inhibitory Activities of *Gynura procumbens* Leave and Flower Extracts

สมมนัส มนัสไพบูลย์
อีเมล์: Somanatm@gmail.com
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ดร. ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ
อีเมล์: phanuphong@mfu.ac.th
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

Mae Fah Luang University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากใบและดอกของจักรนารายณ์ ผลการศึกษาพบว่าเมื่อสกัดใบและดอกจักรนารายณ์ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ให้ปริมาณสารสกัดหยาบ ร้อยละ 2.44 และ 1.50 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่าสารสกัดจากใบและดอกให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมเท่ากับ 44.02 $\pm$ 0.53 และ 50.11 $\pm$ 0.53 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจาก ดอก ใบ และสารมาตรฐานกรดโคจิก ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรให้ค่าการยับยั้งคิดเป็นร้อยละ 54.62 $\pm$ 0.77, 47.47 $\pm$ 1.92 และ 66.66 $\pm$ 1.90 ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสร้อยละ 50 (IC_{50}) ของสารสกัดจากใบเท่ากับ 751.77 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนดอกให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 893.33 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตามสารมาตรฐานกรดโคจิกแสดงค่า IC_{50} น้อยกว่าทั้งสองสกัดคือ 37.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และจากการวิเคราะห์หาสารองค์ประกอบสำคัญในสารสกัดด้วยวิธี HPLC พบว่าประกอบด้วย p-hydroxybenzoic acid, sinapic acid และ apigenin ในสารสกัดจากดอกเท่ากับ 0.61 $\pm$ 0.04 , 0.98+0.02 และ 0.34+0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนในสารสกัดจากใบพบ p - hydroxybenzoic acid , sinapic acid, และ apigenin เช่นกันและมีปริมาณเท่ากับ 0.92 $\pm$ 0.09 , 1.22 $\pm$ 0.02 และ 0.59 $\pm$ 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าดอกของจักรนารายณ์มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเช่นเดียวกับใบ และสามารถนำมาใช้ประโยชน์เป็นสารเพิ่มความขาวในเครื่องสำอางได้เช่นเดียวกัน

คำสำคัญ: ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส/สารประกอบฟีนอลิก/จักรนารายณ์/ใบ/ดอก

Abstract

This research was purposed to study tyrosinase inhibitory activities from *Gynura procumbens* (Jak-na-rai) leave and flower extracts. The study indicated that when extracting leave and flower with 95% ethanol were provided the extraction yield of 2.44 and 1.50 w/w, respectively. Total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteau method. The result showed that flower and leave extracts gave the total phenolics content of 50.11 $\pm$ 0.53 and 44.02 $\pm$ 0.53 mg GAE/g, respectively. The tyrosinase inhibitory activities test revealed that the flower , leave extracts and kojic acid at 100 µg/mL, exhibited activities of 54.62 $\pm$ 0.77, 47.47 $\pm$ 1.92 and 66.66 $\pm$ 1.90 percent, respectively. The half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of the leave extracts showed 751.77 µg/mL while flower extracts exhibited 893.33 µg/mL. However, all extracts were less effective than gallic acid that showed 37.55 µg/mL. Phenolic acids and flavonoids content were determined by using HPLC method. The results indicated that *G. procumbens* flower extracts contains p-hydroxybenzoic acid, sinapic acid and apigenin , 0.61 $\pm$ 0.04 , 0.98 $\pm$ 0.02 and 0.34 $\pm$ 0.01 µg/mL, respectively while leave extracts exhibited p-hydroxybenzoic acid , sinapic acid , and apigenin 0.92 $\pm$ 0.09, 1.22$\pm$0.02 and 0.59$\pm$0.01 µg/mL. This study indicated that *G. procumbens* leave and flower extracts exhibited the same activities and can be used to whitening cosmetics.

Keywords: Tyrosinase inhibitory activities / Phenolic compounds / Gynura procumbens / Leave / Flower

Mae Fah Luang University

บทนำ

จักรนารายณ์หรือแป๊ะตำปึงเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณหลากหลายจนได้รับการขนานนามว่าเป็นยาอายุวัฒนะ เนื่องจากมีการนำมาใช้รักษาโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อมของร่างกาย เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพเช่น เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย เชื้อมาลาเรีย อีกด้วย นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยปกป้องเซลล์และช่วยดูดซับรังสีอัลตร้าไวโอเลต ฯลฯ ประโยชน์ด้านสุขภาพของจักรนารายณ์เกิดจากสารประกอบหลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน ไกลโคไซด์ และเทอปีนอยด์ เป็นต้น แม้ว่าจักรนารายณ์จะเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่นำมาใช้เป็นยาอายุวัฒนะมานานและมีสรรพคุณในการรักษาโรคหลายชนิด แต่ยังมีการนำมาศึกษาฤทธิ์ทางเครื่องสำอางน้อยมาก ในประเทศไทยมีการปลูกจักรนารายณ์เพื่อใช้ประโยชน์จากใบเป็นหลัก เมื่อต้นจักรนารายณ์ออกดอก ใบและลำต้นจะมีขนาดเล็กลงทำให้เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ลดลง ชาวสวนจึงต้องเด็ดทิ้งไป ทำให้เพิ่มงาน สูญเสียเวลาและเพิ่มปริมาณขยะ หากมีการนำดอกของจักรนารายณ์มาใช้ประโยชน์จะช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้ จากเหตุผลดังกล่าวผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาฤทธิ์ทางเครื่องสำอางของจักรนารายณ์ โดยเลือกศึกษาในส่วนใบซึ่งปกติเป็นส่วนที่นำมาใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้านและศึกษาในดอกที่ไม่ค่อยมีการนำไปใช้ประโยชน์มาศึกษาเปรียบเทียบด้วยโดยเลือกวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม วิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดฝ้าและผิวหมองคล้ำ และวิเคราะห์หาชนิดสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในส่วนดังกล่าว หากผลการศึกษาพบว่าใบและดอกของจักรนารายณ์มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้จริง จะได้นำมาพัฒนาเป็นสารประกอบสำคัญที่ช่วยให้ผิวขาว เป็นการเพิ่มทางเลือกของสารออกฤทธิ์ทางเครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสกัดสารสำคัญจากใบและดอกของจักรนารายณ์
2. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากสารสกัดใบและดอกของจักรนารายณ์
3. เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากใบและดอกของจักรนารายณ์
4. เพื่อวิเคราะห์สารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในสารสกัดจากใบและดอกของจักรนารายณ์

การทบทวนวรรณกรรม

กระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินเกิดขึ้นในหนังกำพร้าชั้นล่างสุด (stratum basale) มีกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่าเซลล์สร้างสีผิว (melanocytes) ทำหน้าที่สร้างและหลั่งเมลาโนโซม (melanosomes)

Mae Fah Luang University

ซึ่งเป็นเม็ดสีน้ำตาล (brown organells) ที่ภายในประกอบด้วย เอนไซม์ไทโรซิเนส ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในกระบวนการสังเคราะห์เมลานิน โดยเปลี่ยนสารต้นแบบไทโรซีน (tyrosine) ไปเป็นสาร DOPA,DOPAquinone,จนถึงเม็ดสีดำของ Eu-melanins เอนไซม์ไทโรซิเนสมีทองแดงเป็นองค์ประกอบ สามารถพบได้ทั้งในสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก พืชและสัตว์ สำหรับในมนุษย์เอนไซม์ไทโรซิเนสจะพบมากที่ผิวหนัง หากมีการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินมาสะสมที่ผิวหนังจำนวนมากทำให้ผิวหนังบริเวณนั้นมีสีเข้ม (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2551) ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่พึงปรารถนา ดังนั้นกระบวนการที่ทำให้ผิวขาวหรือขจัดสีผิว (depigmentation) จึงมุ่งเน้นที่ลดการสร้างหรือเพิ่มการขจัดเม็ดสีเมลานิน ซึ่งสามารถทำได้หลายขั้นตอน เช่น การทำลายเซลล์สร้างเม็ดสีผิวเมลาโนไซต์ (melanocytes) การรบกวนชีวสังเคราะห์ของเมลานินและสารเริ่มต้นของกระบวนการสังเคราะห์ การยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนส การรบกวนกระบวนการส่งผ่าน melanosome ไปยัง malpighian cell โดยระงับ phagocytosis ของ melanocytic dendrite หรือทำให้เกิด intercellular edema การเปลี่ยนแปลงเมลานินที่สร้างแล้วใน melanosome จาก oxidized form (สีเข้ม) ไปเป็น reduced form (สีจาง)

จักรนารายณ์มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. จัดอยู่ในวงศ์ Compositae (Asteraceae) มีชื่อพ้องทางวิทยาศาสตร์หลายชื่อ เช่น *Gynura sarmentosa* DC, *Gynura divaricata* และ *Calcalia sarmentosa*. Blume (Quattrocchi, 2012) มีชื่อท้องถิ่น เช่น แป๊ะตำปึง (ไทลื้อ), ใบเบก (คนเมือง), ชั่วจ่อ (ม้ง) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์เป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก ลำต้นอวบน้ำ ใบรูปไข่หรือรูปหอก สูง 0.5-0.8 เมตร ลำต้นเลื้อยทอดตามพื้น มีกิ่งก้านสาขามาก ยางใส ใบเดี่ยว รูปหอก เรียงสลับ ขอบใบจักห่าง ปลายใบเรียวแหลม ดอกเป็นช่อ กลีบดอกสีเหลือง ออกตามซอกใบและปลายยอด (Rahman & Asad, 2013) จักรนารายณ์เป็นพืชที่เป็นแหล่งต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเพราะมีสารประกอบฟีนอลิกสูง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Akowuah, Marium & Chin, 2009; Maw, Mon & Oo, 2011) ทั้งนี้มีรายงานการพบสารที่สำคัญที่คาดว่าสามารถแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งในกลุ่มกรดฟีนอลิกและกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Kaewseejan, Sutthikun & Siriamornpun, 2015) สารสกัดจากส่วนเหนือดินมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์หลายชนิด ได้แก่ kaempferol และ quercetin ทั้งในรูปอิสระและกลัยโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ (วีณา จิรัจฉริยากูล, 2555) ทำให้จักรนารายณ์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ฤทธิ์ลดความดันโลหิตและปกป้องหัวใจ (Kim, Lee, Wiryowidago & Kim, 2006; Hoe, Kamaruddin & Lam, 2007) ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด (Algariri et al., 2013; Hassan, Yam, Ahmad & Yusof, 2010) ช่วยเพิ่มจำนวน เพิ่มการเคลื่อนไหวและลดการตายของสเปิร์มและช่วยกระตุ้นความต้องการทางเพศ (Noor & Radzuan, 2012; Kaur & Bansal, 2004) และจักรนารายณ์ยังเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้ในการรักษามะเร็งหลายชนิดมา

Mae Fah Luang University

ยาวนาน เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งเต้านม (Agustina, Wasito & Supatinah, 2006) สารสกัดเอทานอลของจักรนารายณ์มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ตั้งแต่มะเร็งระยะเริ่มต้น (initiation) ระยะการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferation) ระยะแพร่กระจาย (metastasis) ระยะการสร้างเส้นเลือดใหม่ (angiogenesis) กดการแพร่กระจายของมะเร็งเต้านมและเซลล์เนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและลดเนื้องอกในการทดลองในสัตว์ (Meiyanto & Jenie, 2007; Hew, Khoo & Gam, 2013; Ghofur, Hamid & Listyorini, 2015) การรับประทานสารสกัดจักรนารายณ์ร่วมกับการให้ยาเคมีบำบัดบางชนิดช่วยเสริมฤทธิ์ต้านมะเร็งได้ดีขึ้น (Meiyanto & Janie, 2007) สารสกัดจักรนารายณ์มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพ เช่น เชื้อมาเลเรีย เชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคเริม ช่วยยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Rahman & Asad, 2013) อีกด้วย นอกจากนี้ใบของจักรนารายณ์ยังพบสารประกอบฟลาโวนอยด์อีกหลายชนิดที่พบมากที่สุดคือ Kaempferol รองลงมาคือ Myricetin Quercetin Apigenin และ Rutin ตามลำดับ ซึ่งในปัจจุบันมีการสกัดสารดังกล่าวมาใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย เนื่องจากพบว่าสามารถต้านอนุมูลอิสระ ให้ความชุ่มชื้น ป้องกันแสงแดดได้ การศึกษาฤทธิ์ทางเครื่องสำอางพบว่าจักรนารายณ์ลดการทำลายของเซลล์ผิวโดยแสงแดดอย่างมีนัยสำคัญ (Kaewseejan et al. 2015; Kim et al., 2011) และจากการศึกษาในสัตว์ทดลองไม่พบความเป็นพิษของสมุนไพรจักรนารายณ์แต่อย่างใด (Tan, Chan, Pusparajah, Lee & Goh, 2016)

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมีและวัตถุดิบที่ใช้

1. ดอกและใบสดของจักรนารายณ์
2. 95% Ethanol บริษัท Labscan
3. Folin- Ciocalteau reagent บริษัท Merck
4. 4-Hydroxybenzoic acid บริษัท Sigma-Aldrich, USA
5. Myricitin บริษัท Sigma-Aldrich, USA
6. Sinapic acid บริษัท Sigma-Aldrich, USA
7. Gallic acid บริษัท Merck
8. Sodium carbonate บริษัท Carlo Erba
9. Quercetin บริษัท Sigma-Aldrich, USA
10. Rosmarinic acid บริษัท Sigma-Aldrich, USA
11. Apigenin บริษัท Sigma-Aldrich, USA

Mae Fah Luang University

12. Kojic acid บริษัท Sigma-Aldrich, USA

13. Tyrosinase บริษัท Sigma-Aldrich, USA

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำใบและดอกของจักรนารายณ์มาล้างทำความสะอาดและคัดแยกสิ่งสกปรกออกแล้วนำมาทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C จนแห้งและมีน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า ร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 60 เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการทดลองต่อไป

2. การสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากดอกและใบของจักรนารายณ์

นำใบและดอกของจักรนารายณ์ที่ผ่านการอบลมร้อนและบดละเอียดมาสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยใช้อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการสกัดด้วยวิธีหมักแช่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารสกัดผ่านกระดาษกรอง นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 °C คำนวณหาร้อยละสารสกัดหยาบ (% yield) และรายงานผลในรูป mean $\pm$ SD

$$\text{ร้อยละสารสกัดหยาบ (\% yield)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดหลังทำให้แห้ง}}{\text{น้ำหนักของสมุนไพรแห้งก่อนการสกัด}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content : TPC)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteau (Abu Bakar, Mohamed, Rahmat, & Fry, 2009) ผสมสารละลายของสารสกัดจากดอกและใบของจักรนารายณ์ 1 มิลลิลิตร กับสารละลาย Folin-Ciocalteau reagent 1 มิลลิลิตร(เจือจางด้วยน้ำ 1:10 แล้วนำมา 1 มิลลิลิตร) ทิ้งไว้ 5 นาทีแล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 7.5% (w/v) 0.8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 30 นาที หากตัวอย่างมีสารประกอบฟีนอลิกจะเปลี่ยนสีของ Folin จากสีเหลืองเป็นสีน้ำเงิน วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ 765 นาโนเมตร หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก(gallic acid) ทุกอย่างทำ 3 ซ้ำ รายงานผลในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน รายงานค่าเป็นมิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อ 1 กรัมน้ำหนักของตัวอย่าง (mg GAE/g)

4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

Mae Fah Luang University

ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยดัดแปลงวิธีการจาก Maisutthisakul และ Gordon (2009) โดยใช้ L-3,4- dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) เป็นสารตั้งต้น

นำสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายไทโรซิเนสและสารละลาย phosphate buffer pH 6.8 เขย่าให้เข้ากัน และนำไปบ่มเพาะในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 40 $\pm$ 1 °C เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นหยดสารละลาย L-DOPA เขย่าสารในหลอดทดลองให้เข้ากัน จับเวลาต่ออีก 6 นาที หากตัวอย่างมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส สารละลายจะเปลี่ยนจากสีใสกลายเป็นสีส้มอ่อน วัดค่าการดูดกลืนแสงของ dopachrome ที่ 475 นาโนเมตร รายงานค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสร้อยละ 50 (IC_{50})

5. การวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดด้วยวิธี HPLC

การวิเคราะห์สารองค์ประกอบสำคัญในดอกและใบจักรนารายณ์โดยใช้ชุดเครื่องมือโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) ในการวิเคราะห์ สารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ Gallic acid, Rosmarinic acid, p - Hydroxybenzoic acid, Sinapic acid ,Apigenin, Quercetin และ Myricetin

ผลการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากใบและดอกจักรนารายณ์

จากการสกัดสารจากใบและดอกของจักรนารายณ์ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยใช้วิธีหมักแช่เป็นเวลา 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องพบว่า สารสกัดจากใบจักรนารายณ์มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเขียวเข้ม ส่วนสารสกัดที่ได้จากดอกมีสีเขียวแกมเหลือง ค่าความเป็นกรดด่างของสารสกัดจากดอกและใบมีค่าเป็นกลางโดยสารสกัดจากดอกมีค่า pH เท่ากับ 7.09 ส่วนสารสกัดจากใบมีค่า pH เท่ากับ 7.17 เมื่อนำสารสกัดไประเหยแห้ง สารสกัดจากใบจักรนารายณ์ให้ร้อยละปริมาณสารสกัดหยาบเท่ากับ 2.44 โดยน้ำหนัก ส่วนสารสกัดจากดอกจักรนารายณ์ให้ร้อยละปริมาณสารสกัดหยาบเท่ากับ 1.50 โดยน้ำหนัก

2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากดอกและใบของจักรนารายณ์ โดยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่า สารสกัดหยาบจากดอกจักรนารายณ์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าสารสกัดหยาบจากใบ โดยสารสกัดหยาบจากดอกจักรนารายณ์ มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 50.11 $\pm$ 0.53 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม ส่วนสารสกัดหยาบจากใบจักรนารายณ์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 44.02 $\pm$ 0.53 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม

Mae Fah Luang University

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสพบว่า เมื่อเตรียมสารสกัดหยาบจาก ดอก ใบ และสารมาตรฐานกรดโคจิกให้มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับร้อยละ 54.62 $\pm$ 0.77, 47.47 $\pm$ 1.92 และ 66.66 $\pm$ 1.90 ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสร้อยละ 50 (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบจาก ดอก ใบ และสารมาตรฐานกรดโคจิกเท่ากับ 893.33, 751.77 และ 37.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิกพบว่า กรดโคจิก แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากใบและดอก 20 และ 24 เท่า ตามลำดับ

4. การวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดด้วยวิธี HPLC

จากการวิเคราะห์หาสารองค์ประกอบในสารสกัดหยาบจากดอกจักรนารายณ์เมื่อเปรียบเทียบกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานพบว่า ตรงกับสารมาตรฐาน p-Hydroxybenzoic acid, Sinapic acid และ Apigenin โดยปริมาณที่พบเท่ากับ 0.61 $\pm$ 0.04 , 0.98 $\pm$ 0.02 และ 0.34 $\pm$ 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนในสารสกัดหยาบจากใบจักรนารายณ์ พบ p-Hydroxybenzoic acid, Sinapic acid, และ Apigenin เช่นเดียวกัน แต่มีปริมาณเท่ากับ 0.92 $\pm$ 0.09 , 1.22 $\pm$ 0.02 และ 0.59 $\pm$ 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษานี้พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบจักรนารายณ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 44.02 $\pm$ 0.53 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม ในขณะที่การศึกษาของ Kaewseejan et al. (2015) พบสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบจากใบด้วยเอทานอล 16.08 $\pm$ 0.38 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง นอกจากการศึกษาในใบแล้ว การศึกษานี้ยังได้ทำการศึกษาในดอกจักรนารายณ์ด้วย พบว่าดอกจักรนารายณ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 50.11 $\pm$ 0.53 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัม ซึ่งใกล้เคียงกับใบ ดังนั้นดอกจักรนารายณ์น่าจะมีสารกลุ่มฟีนอลิกที่ให้ฤทธิ์ทางชีวภาพที่คล้ายคลึงกับใบด้วยเช่นกัน

ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสพบว่า สารสกัดเอทานอลจากดอกและใบจักรนารายณ์ให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสใกล้เคียงกัน แต่น้อยกว่าสารมาตรฐานกรดโคจิก ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสน่าจะเกิดจากสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (No et al, 1999) โดยเฉพาะสารที่มีหมู่ 3-OH และ 4-carbonyl (3-hydroxy-4-keto moiety) ที่พบในโครงสร้างของ Kaempferol และ Quercetin สารทั้งสองชนิดมีโครงสร้างคล้ายกับสารมาตรฐานกรดโคจิก ทำให้สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้เช่นเดียวกัน (Kubo et al., 2000) กลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไท

Mae Fah Luang University

โรซิเนสเกิดจาก กรดโคจิกหรือสารที่มีโครงสร้างคล้ายกัน เข้าจับกับไอออนของทองแดง ในโมเลกุลของเอนไซม์ไทโรซิเนส ฟลาโวนอยด์จะเกิดพันธะไฮโดรเจนกับบริเวณ active site ของเอนไซม์ไทโรซิเนสทำให้เอนไซม์ไม่แสดงฤทธิ์ จึงขัดขวางกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน แม้ว่าการศึกษานี้จะไม่ได้นำ Kaempferol มาใช้เป็นสารมาตรฐานและไม่พบ Quercetin แต่จากการศึกษาก่อนหน้าของ Kaewseejan et al. (2015) พบ Quercetin และ Kaempferol เป็นองค์ประกอบสำคัญในสารสกัดเอทานอลของใบจักรนารายณ์ และเนื่องจากในสารสกัดจากดอกให้ฤทธิ์ที่ใกล้เคียงกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่ามีสารดังกล่าวในดอกด้วยเช่นกัน นอกจากนี้อาจจะมีสารประกอบอื่น ๆ ที่ให้ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ ซึ่งอาจจะต้องทำการศึกษาต่อไป

จากผลการวิเคราะห์หาสารองค์ประกอบในสารสกัดจากใบด้วยวิธี HPLC โดยสารมาตรฐานกลุ่ม Phenolic acids ที่นำมาวิเคราะห์ในการศึกษานี้มี 4 ชนิดคือ p-Hydroxybenzoic acid, Gallic acid, Sinapic acid, Rosmarinic acid พบว่าสารสกัดจากใบจักรนารายณ์ประกอบด้วย Sinapic acid, p – Hydroxybenzoic acid ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Kaewseejan et al. (2015) ที่พบสารทั้งสองชนิดเช่นเดียวกัน และการศึกษาดังกล่าวยังพบสารประกอบ Phenolic acids ชนิดอื่น เช่น *p* – Coumaric acid, Syringic acid, Caffeic acid ด้วย ส่วนสารมาตรฐานกลุ่ม Flavonoids ที่นำมาวิเคราะห์ในการศึกษานี้มี 3 ชนิดคือ Myricetin, Quercetin และ Apigenin จากการวิเคราะห์พบ Apigenin ในสารสกัดจากใบจักรนารายณ์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Kaewseejan et al. (2015) และพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ชนิดอื่น ๆ ได้แก่ Kaempferol, Myricetin, Quercetin และ Rutin อีกด้วย ส่วนสารสกัดจากดอกจักรนารายณ์ที่ยังไม่มีรายงานการศึกษามาก่อน ก็พบสาร Phenolic acids คือ Sinapic acid และ p – hydroxybenzoic acid และสารกลุ่ม Flavonoids คือ Apigenin ด้วยเช่นกัน

ข้อเสนอแนะ

1. แม้ว่าผลการศึกษาจะพบว่าสารสกัดจากดอกของจักรนารายณ์มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และมีสารองค์ประกอบใกล้เคียงกับสารสกัดจากใบ แต่ที่ผ่านมายังไม่มีรายงานการศึกษาในดอกมาก่อน ดังนั้นจึงควรนำดอกมาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพควบคู่ไปกับส่วนอื่น ๆ ด้วย โดยเฉพาะในด้านความเป็นพิษ เพื่อที่จะได้นำดอกมาใช้ประโยชน์แทนที่จะทิ้งไป

2.ในการศึกษานี้ใช้ดอกและใบที่ผ่านการอบแห้งมาสกัดด้วยเอทานอล แต่การนำมาใช้เป็นสมุนไพรพื้นบ้านมักใช้ใบสด ดังนั้นหากนำดอกและใบสดของจักรนารายณ์มาศึกษาเปรียบเทียบน่าจะให้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับการนำไปใช้จริงมากขึ้น

Mae Fah Luang University

3. เมื่อนำใบจักรนารายณ์มาสกัดด้วยเอทานอลจะให้สารละลายสีเขียวเข้มและติดทนนาน ดังนั้น น่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสีเพื่อจะได้นำใบจักรนารายณ์ไปใช้ประโยชน์ในด้านสีสันในอนาคต

4. ในการเก็บตัวอย่างพืชมาศึกษาควรคำนึงถึงฤดูกาลและสายพันธุ์ที่เป็นการผลิตเพื่อจำหน่ายด้วย

รายการอ้างอิง

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. (2551). เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์.

วีณา จิรัจฉริยากูล. (2555). *แป๊ะตำปึง*. สืบค้นเมื่อ 23 กุมภาพันธ์ 2559, จาก www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/93/แป๊ะตำปึง/

Abu Bakar, M. F., Mohamed, M., Rahmat, A. & Fry, J. (2009). Phytochemicals and antioxidant activity of difference parts of bambangan (Magnifera pajang) and tarap (Artocarpus odoratissimus). *Food chemistry, 113*, 479-483.

Agustina, D., Wasito, H. S. & Supatinah, A. (2006). Anticarcinogenesis effect of *Gynura procumbens* (Lour) Merr on tongue carcinogenesis in 4NQO-induced rat. *Dentist Journal, 39,* 126–132.

Akowuah, G. A., Marium, A. & Chin, J. H. (2009). The effect of extraction temperature on total phenols and antioxidant activity of Gynura procumbens leaf. *Pharmacognosy Magazine, 5*(17), 81-85.

Algariri, K., Meng, K. Y., Atangwho, I. J., Asmawi, M. Z., Sadikun, A. & Murugaiyah, V. (2013). Hypoglycemic and anti-hyperglycemic study of Gynura procumbens left extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 3*(5), 358-366.

Gofur, A., Hamid, I. S. & Listyorini, D. (2015). Gene p53 mutation after the induction of 7,12-Dimethylbenz(a) anthracene (DMBA) and administration of anti-carcinogenesis properties of Gynura procumbens in Sprague Dawley rats. *Biomedical Engineering, 1*(1), 53-57.

Hassan, Z., Yam, M.F., Ahmad, M. & Yusof, A. P. M. (2010). Antidiabetic properties and mechanism of action of Gynura procumbens water extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecule, 15* (12), 9008-9023.

Mae Fah Luang University

Hew C. S., Khoo B.Y. & Gam L. H. (2013). The anti-cancer property of proteins extracted from *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. *PLoS ONE, 8*(7), e68524. doi:10.1371/journal. pone.0068524.

Hoe, S. Z., Kamaruddin, M. Y. & Lam, S. K. (2007). Inhibition of Angiotensin-converting enzyme activity by partially purified fraction of *Gynura procumbens* in spontaneously hypertensive rats. *Medical Principle and Practice, 16*(3), 203-208.

Kaewseejan N., Sutthikun V. & Siriamornpun S. (2015). Potential of *Gynura procumbens* leaves as source of flavonoid-enriched fractions with enhanced antioxidant capacity. *Journal of Functional Foods,12,* 120-128.

Kaur, P. & Bansal, M. P. (2004). Influence of selenium induced oxidative stress on spermatogenesis and lactate dehydrogenase-X in mice testis. *Asian Journal of Andrology, 6*(3), 227-232.

Kim, M. J., Lee, H. J., Wiryowidago, S. & Kim, H. K. (2006). Antihypertensive effect of Gynura procumbens extract in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Medicinal Food, 9*(4), 587-590.

Kubo, I., Kinst-Hori, I., Chaudhuri, S. K., Kubo, Y., SaÂnchezb, Y. & Ogurab, T. (2000). Flavonols from Heterotheca inuloides: Tyrosinase inhibitory activity and structural criteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry, 8*(7), 1749-1755.

Maisuthisakul, P. & Gordon, M. H. (2009). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. *Food Chemistry, 117*(2), 332-341.

Maw, S. S., Mon, M. M. & Oo, Z. K. (2011). Study on antioxidant and antitumor activities of some herbal extracts. *World academy of Science, Engineering Technology, 75,* 450-455.

Meiyanto, E. & Jenie, R. I. (2007). Co-chemotherapy of sambung nyawa (*Gynura procumbens (Lour.) Merr.*) leaves ethanolic extract and doxorubicin on breast cancer cell. *Indonesian Journal of Pharmacy, 18,* 81–87.

No, J. K., Soung, D. Y., Kim, Y. J., Shim, K. H., Jun, Y. S., Rhee, S. H., Yokozawa, T. & Chung, H. Y. Inhibition of tyrosinase by green tea components. *Life Sciences, 65*(21), 241-246.

Noor, M. M. & Radzuan, N.R. M. (2012). Anti-hyperglycemic effect of Gynura procumbens methanolic extract on fertility and libido of induced diabetic male rats. *Sains Malaysia Journal, 41*(12), 1549-1556.

Quattrocchi, U. (2012). *CBC World Dictionary of Medicinal and Poisonus Plants: Common names, Scientific Names, Eponyms, Synonymes, and Etymology* (5 Volume Set). Boca Raton, FL: CRC Press.

Mae Fah Luang University

Rahman, A. & Asad, M. (2013). Chemical and biological investigations of the leaves of Gynura procumbens. *International Journal of Biosciences, 3*(4), 36-43.

Tan, H. L., Chan, K. G., Pusparajah, P., Lee, L. H & Goh, B. H. (2016). Gynura procumbens: An overview of the biological activities. *Frontiers in Pharmacology, 7*, 52.

Mae Fah Luang University