

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบปริมาณเมลานินในใบหม่อน 19 สายพันธุ์ และเปรียบเทียบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากใบหม่อนแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ต้านอักเสบโดยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ จากการเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดด้วยเมทานอล ส่วนหนึ่งนำไปทำให้บริสุทธิ์โดยการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเมลานิน ด้วย HPLC-FD สารสกัดหยาบอีกส่วนนำไปตรวจคัดกรองฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay (DPPH assay) และวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) , ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส และ ฤทธิ์การยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ พบว่า สามารถหาปริมาณเมลานินได้จากใบหม่อนเพียง 12 สายพันธุ์เท่านั้น โดยพันธุ์ที่มีปริมาณเมลานินมากที่สุดคือ พันธุ์ไฟ (783 นาโนกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง) ส่วนพันธุ์ที่มีเมลานินน้อยที่สุดคือ พันธุ์อินโดนีเซีย (83 นาโนกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง) จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบหม่อน 19 พันธุ์ด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดใบหม่อนพันธุ์หมี มีฤทธิ์มากที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 75.86 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และพันธุ์ที่มีฤทธิ์ต่ำที่สุดคือ พันธุ์อินโดนีเซีย มีค่า IC_{50} เท่ากับ 998.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบค่า IC_{50} ของสารสกัดกับ กรดแอสคอร์บิก (4.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่าสารสกัดใบหม่อน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่า กรดแอสคอร์บิก ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบหม่อนด้วยวิธี FRAP assay ของสารสกัดใบหม่อนที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าค่า TEAC ของ สารสกัดใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีฤทธิ์มากที่สุด (1.93 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และพันธุ์ที่มีฤทธิ์น้อยที่สุด คือ พันธุ์ไผ่อบ (0.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดใบหม่อนที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า พันธุ์ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้สูงที่สุด คือ พันธุ์ไผ่อบ (0.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดใบหม่อนที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า พันธุ์ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ต่ำที่สุด คือ พันธุ์ Ryodai มีค่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 10.22 และจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ ของสารสกัดที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า พันธุ์ส้มใหญ่สามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ได้มากที่สุด (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 81.12) และพันธุ์โพธิ์ มีค่าการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ได้ต่ำที่สุด (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 46.77) สรุปได้ว่าใบหม่อนแต่ละสายพันธุ์มีเมลานินในปริมาณที่แตกต่างกัน และมีฤทธิ์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ ที่แตกต่างกัน ซึ่งน่าจะได้มีการทำวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบที่มีในใบหม่อนในแต่ละสายพันธุ์ที่น่าจะมีผลต่อฤทธิ์ต่างๆ ในอนาคตต่อไป เพื่อจะได้เป็นแนวทางนำใบหม่อนพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงนั้นมาทำการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

คำสำคัญ: ใบหม่อน, เมลานิน, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์

Abstract

This research aim to compare the amount of melatonin in 19 mulberry species and to study the pharmacological effects of mulberry leaf extracts includes antioxidant, anti-tyrosinase and anti-inflammatory activity (nitric oxide inhibition activity). Mulberry leaves were extracted with methanol. Methanolic extract was purified with solid phase extraction (SPE) to determine the amount of melatonin with HPLC-FD. In addition, the methanolic extracts were screened pharmacological activities by 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay (DPPH assay), FRAB assay, anti-tyrosinase activity assay and nitric oxide inhibition. The result showed that we could determine melatonin from only 12 strains of mulberry leaf extracts. Fai strain showed the highest level of melatonin (783 ng/g dry weight) while Indonesia strain showed the lowest level. (83 ng/g dry weight). The antioxidant activity of mulberry leaf extracts, Mhee strain showed the highest IC_{50} (75.86 $\mu\text{g/ml}$) and the lowest was Indonesia strain (998.55 $\mu\text{g/ml}$) but the IC_{50} value of all extracts were lower than L-ascorbic acid (4.25 $\mu\text{g/ml}$). For FRAB assay, mulberry leaf extracts at concentration 10 $\mu\text{g/ml}$, Burirum 60 strain showed the highest TEAC value (1.93 $\mu\text{g/ml}$) and Phai Ubon strain showed the lowest TEAC value (0.74 $\mu\text{g/ml}$). In case of anti-tyrosinase activity study, Phai-Ubon strain showed the highest anti-tyrosinase activity (% Inhibition = 36.02) at concentration of 100 $\mu\text{g/ml}$ and the lowest activity was Ryodai strain (% Inhibition = 10.22). For nitric Oxide Inhibition activity using 20 $\mu\text{g/ml}$ of the extracts was found that Somyai strain showed the highest %inhibition (81.12%) while Pho strain showed the lowest (46.77%). We concluded that the different strains of mulberry leaves provide the variety results of melatonin level and some pharmacological activities. From these results, we should study more about constituents in mulberry extract which may provide the difference activities in various strains, in the near future. This research will provide more advantage for product development in order to get the high quality of herbal products.

Keywords: mulberry leaves, melatonin, antioxidant activity, anti-tyrosinase activity, nitric oxide inhibition activity