

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานินของสารสกัดด้วยน้ำเมธานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ของสมุนไพรไทย จำนวน 5 ชนิด คือ อัญชัน ย่านาง บัวบก หม่อน และกวาวเครือขาว โดยศึกษาฤทธิ์ด้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ป้องกันเซลล์เมลานोไซต์จากสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เมลานोไซต์ ฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินผลการทดสอบฤทธิ์ด้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH assay, ABTS assay และ FRAP assay พบว่า สารสกัดด้วยเมธานอล และน้ำของย่านาง มีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันดีที่สุด โดยมีค่า EC_{50} , VEAC, TEAC และ FRAP value เท่ากับ 61.8 $\mu\text{g/ml}$, 2.00 mM, 0.77 mM และ 546.9 mM ตามลำดับ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม เท่ากับ 82.8 $\mu\text{g GAE/mg}$ ของน้ำหนักผงแห้ง ผลการทดสอบฤทธิ์ป้องกันเซลล์เมลานोไซต์จากสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 2 mM ด้วยวิธี MTT assay พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของบัวบก ย่านาง และอัญชัน มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์ได้ดี โดยมีค่าร้อยละการรอดชีวิต เท่ากับ 89.62%, 83.14% และ 80.62% ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เมลานोไซต์ ด้วยวิธี MTT assay พบว่า สารสกัดด้วยเมธานอลของอัญชัน สารสกัดด้วยน้ำของย่านาง และสารสกัดด้วยเฮกเซนของบัวบกมีฤทธิ์ที่ดี โดยมีค่าดัชนีการเพิ่มจำนวนเท่ากับ 1.73, 1.59 และ 1.25 ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี tyrosinase activity assay พบว่าสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของย่านาง และบัวบก และสารสกัดด้วยเฮกเซนของอัญชัน มีฤทธิ์ที่ดี โดยมีค่าดัชนีการกระตุ้น เท่ากับ 12.78, 12.72 และ 9.92 ตามลำดับ ในขณะที่ผลการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสในเซลล์เพาะเลี้ยง ด้วยวิธี DOPA oxidase activity assay พบว่า สารสกัดด้วยเมธานอลของอัญชัน และบัวบก และสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของย่านางมีฤทธิ์ที่ดี โดยมีค่าร้อยละเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เท่ากับ 157.97, 147.01 และ 144.61 ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินในเซลล์เมลานोไซต์ ด้วยการวัดปริมาณเมลานิน พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของบัวบก และย่านาง และสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของอัญชัน มีฤทธิ์ที่ดีโดยมีค่าร้อยละ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เท่ากับ 231.11, 183.33 และ 166.66 ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินในขนของหนู C3H/HeJ Jel ที่ถูกโกนขนบริเวณหลัง โดยการป้อนสารสกัดสมุนไพรที่มีความเข้มข้น 100 mg/ml 0.2 cc เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า สารสกัดด้วยเมธานอลของบัวบกและสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของอัญชัน มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินในขนบริเวณหลังดีที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยน้ำ และเมธานอลของย่านางมีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินในขนบริเวณท้องได้ดีที่สุด และเมื่อทดสอบสารสำคัญเบื้องต้นในพืชพบว่า สมุนไพรส่วนใหญ่ มีสารสำคัญในกลุ่ม alkaloids, anthraquinones,

anthrones, coumarins, cardiac glycosides, flavonoid, carotenoid, tannin, xanthone และ cardenolides งานวิจัยนี้สรุปได้ว่า พืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์เมลานิน มีศักยภาพในการนำไปพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบเวชสำอางสำหรับผมงอกก่อนวัยได้ในอนาคต คือ ยานาง อัญชัน และบัวบก

ศัพท์สำคัญ: ฤทธิ์ชีวภาพผมงอกก่อนวัยสมุนไพรไทยพื้นบ้าน ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ป้องกัน เซลล์เมลานोไซต์จากสารอนุมูลอิสระ การเพิ่มจำนวนของเซลล์เมลานोไซต์ ฤทธิ์ กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสการสร้างเมลานิน

ABSTRACT

The objective of this research was to investigate the melanogenesis stimulating activity of five Thai traditional plant extracts such as aqueous, ethyl acetate, methanol and hexane extracts of *Clitoria ternatea* L., *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels., *Centella asiatica* (L.) Urb., *Morus alba* L. and *Pueraria candollei* Graham ex Benth. var *varmirifica* (Airy Shaw et Suvat.) Niyomdham. Those extracts were investigated for antioxidant activity, protective effect of melanocyte from free radical of hydrogen peroxide, stimulating activity of melanocyte proliferation, stimulating activity of tyrosinase enzyme and stimulating activity of melanin synthesis. The results of antioxidant activity by DPPH assay, ABTS assay and FRAP assay showed that methanol and aqueous extract of *T. triandra* had strong activity with the EC_{50} , VEAC, TEAC and FRAP value of 61.8 μ g/ml, 2.00 mM, 0.77 mM and 546.9 mM, respectively. It also had the highest quantity of total phenolic compounds with 82.75 μ g GAE/mg dry mass. The results of protective effect of melanocyte from free radical of 2 mM hydrogen peroxide by MTT assay exhibited that aqueous extracts of *C. asiatica*, *T. triandra* and *C. ternatea* had good activities with cell viability of 89.62%, 83.14% and 80.62%, respectively. The results of stimulating activity of melanocyte proliferation by MTT assay showed that methanol extracts of *C. ternatea*, aqueous extract of *T. triandra* and hexane extract of *C. asiatica* had strong activities with proliferation index (P.I.) of 1.73 and 1.59 and 1.25, respectively. The results of stimulating activity of tyrosinase enzyme by tyrosinase activity assay showed that ethyl acetate extracts of *T. triandra* and *C. asiatica* and hexane extract of *C. ternatea* had strong activities with stimulation index of 12.78, 12.72 and 9.92, respectively while the results of this activity in cell culture through DOPA oxidase activity assay showed that methanol extracts of *C. ternatea* and *C. asiatica* and ethyl acetate of *T. triandra* had strong activities with % of control of 157.97, 147.01 and 144.61, respectively. The results of stimulating activity of melanin synthesis in melanocyte by measuring melanin content exhibited that aqueous extract of *C. asiatica* and *T. triandra* and ethyl acetate extract of *C. ternatea* had strong activities with % of control 231.1, 183.3 and 166.66, respectively. The results of stimulating activity of melanin synthesis in hair of C3H/HeJ Jel mice by shaving back hair and fed 0.2 cc of 100 mg/ml medicinal extracts showed that

methanolic extract of *C. asiatica* and ethyl acetate extract of *C. ternatea* had strongest activity of melanin synthesis in back hair, while aqueous extract and methanolic extract of *T. triandra* had strongest activity of melanin synthesis in abdominal hair. The chemical identification and TLC fingerprints of these extracts were also done. Almost extracts composed of alkaloids, anthraquinones, anthrones, coumarins, cardiac glycosides, flavonoid, carotenoid, tannin, xanthone and cardenolides. This can be concluded that the potential medicinal plants having melanogenesis stimulating activities were *T. triandra*, *C. ternatea* and *C. asiatica*. These can be able to develop for anti-gray hair cosmetic in the future.

KEYWORDS: Biological activity, Grey hair, Thai traditional medicinal plants, Antioxidant activity, Protective effect of melanocyte from free radical, Melanocyte proliferation, Tyrosinase stimulating activity, Melanogenesis