



245565



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของ
องค์ประกอบทางเคมีจากใบหนาด

โดย

ดร. นิสากร แซ่วัน

สิงหาคม 2553

๖๐๐๒๕๒๔๐

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



245565



สัญญาเลขที่ MRG5180174

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของ
องค์ประกอบทางเคมีจากใบหนาด

โดย

ดร. นิสากร แซ่วัน
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนการวิจัยตลอดโครงการวิจัย ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ก้าน จันทร์พรหมมา นักวิจัยที่ปรึกษาในโครงการ ที่ให้คำปรึกษาจนงานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี และขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อูมา ประวัติ ดร. สวพร โภยสมบุรณ์ นางสาวบุษเรศน์ พัลพัฒน์ และนางสาวนารีรัตน์ ทองทิพย์ ที่ช่วยเหลือการบันทึกข้อมูล NMR บางส่วน และสุดท้ายนี้ ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่สนับสนุนสถานที่และอุปกรณ์เครื่องมือในการวิจัย

ดร. นิสากร แซ่วัน
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2553

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ:	MRG5180174
ชื่อโครงการ:	การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสขององค์ประกอบทางเคมีจากใบหนาด
ชื่อนักวิจัย:	ดร. นิสากร แซ่วัน อาจารย์ประจำสำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
Email address:	nisakorn@mfu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ:	15 พฤษภาคม 2551 – 14 พฤษภาคม 2553

245565

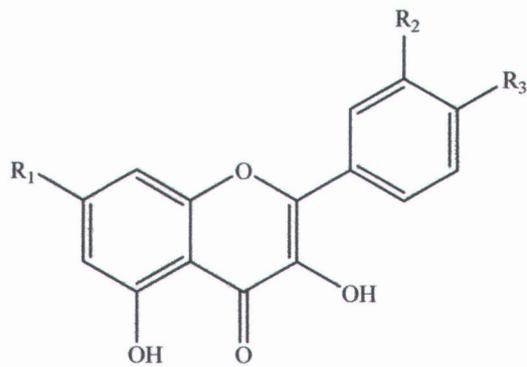
การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบหนาดด้วยเอทิลอะซิเตท สามารถแยกสารประเภทฟลาโวนอยด์ได้ 9 สาร ซึ่งประกอบด้วย ฟลาโวนอล 3 สาร คือ quercetin (1), rhamnetin (2), และ tamarixetin (3) ฟลาโวน 2 สาร คือ luteolin (4) และ luteolin-7-methyl ether (5) ไดไฮโดรฟลาโวนอล 2 สาร คือ dihydroquercetin-4'-methyl ether (6) และ dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (7) และ ฟลาโวนอน 2 สาร คือ 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (8) และ blumeatin (9) โครงสร้างของสารดังกล่าววิเคราะห์โดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทสโกปี UV NMR และ MS และเปรียบเทียบกับสารที่ได้มีการรายงานมาแล้ว จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้โดยใช้ L-DOPA เป็นสารตั้งต้น พบว่าฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารบริสุทธิ์เรียงลำดับดังนี้ quercetin (1) > rhamnetin (2) > tamarixetin (3); dihydroquercetin-4'-methyl ether (6) > dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (7); luteolin (4) > luteolin-7-methyl ether (5); 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (8) > blumeatin (9) จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารบริสุทธิ์ลดลงตามลำดับดังนี้ quercetin (1) > L-ascorbic acid > Blumatin > 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (8) > Butylated hydroxytoluene > dihydroquercetin-4'-methyl ether (6) > Butylated hydroxytoluene > dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (7)

ใบหนาดจาก 7 อำเภอ (เชียงใหม่, เชียงแสน, คอยหลวง, แม่จัน, แม่สาย, พญาเม็งราย, เวียงชัย) ในจังหวัดเชียงราย มาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างกัน คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำ จากนั้นตรวจวัดได้ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดโดยวิธี Folin-Ciocalteu ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH และ ferrous reducing และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเอทิล อะซิเตทด้วยวิธี dopa chrome ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH และ ferrous reducing ของสารสกัดหยาบลดลงตามลำดับดังนี้ สารสกัดเอทิลอะซิเตท >

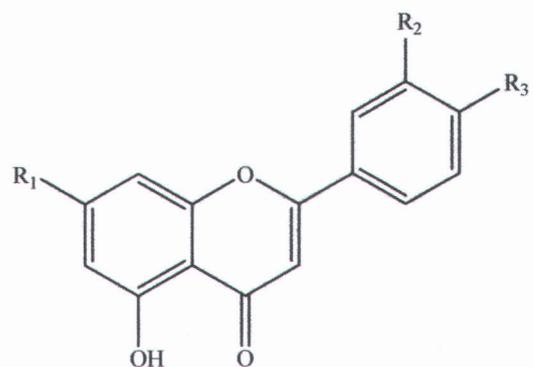
สารสกัดเอทานอล > สารสกัดไดคลอโรมีเทน > สารสกัดเฮกเซน > สารสกัดน้ำ ซึ่งสารสกัดเอทิลอะซีเตทแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดด้วยเอทิลอะซีเตทพบว่าไบโหนดจากอำเภอดอยหลวงแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงกว่าแหล่งอื่น

จากการวิเคราะห์ปริมาณ ฟลาโวนอยด์ในสารสกัดด้วยเทคนิค RP-HPLC พบว่าฟลาโวนอยด์หลัก 4 สาร คือ dihydroquercetin-4'-methyl ether (6), dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (7), 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (8), และ blumatin (9) ในสารสกัดไบโหนดที่เก็บจากแหล่งที่ต่างกัน พบว่ามีความแตกต่างทั้งปริมาณและชนิดของสารฟลาโวนอยด์ โดยสารสกัดเฮกเซนพบเฉพาะ dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (7) ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วต่ำที่สุดในบรรดาสารฟลาโวนอยด์หลักทั้ง 4 สาร ในขณะที่สารฟลาโวนอยด์ที่ออกฤทธิ์สูงสุด คือ 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (8) ตรวจพบในสารสกัดเอทิลอะซีเตทซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด จากการศึกษานี้พบว่าแหล่งที่เก็บไบโหนดมีผลต่อปริมาณและชนิดของสารฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

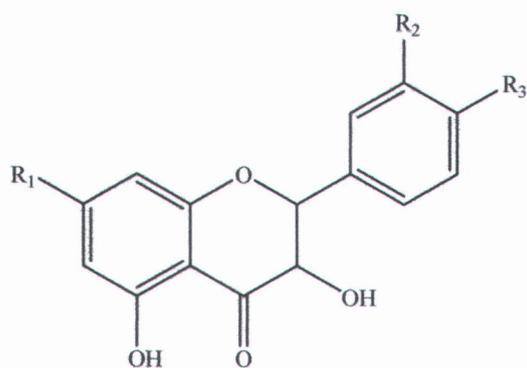
คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, สารฟลาโวนอยด์, ไบโหนด



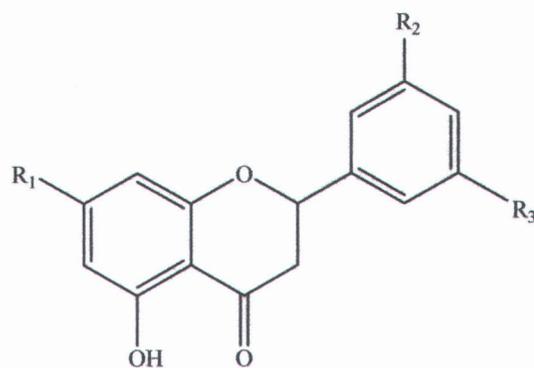
	R ₁	R ₂	R ₃
(1) Quercetin	OH	OH	OH
(2) Rhamnetin	OCH ₃	OH	OH
(3) Tamarixetin	OH	OH	OCH ₃



	R ₁	R ₂	R ₃
(4) Luteolin	OH	OH	OH
(5) Luteolin-7-methyl ether	OCH ₃	OH	OH



	R ₁	R ₂	R ₃
(6) Dihydroquercetin-4'-methylether	OH	OH	OCH ₃
(7) Dihydroquercetin-7,4'-dimethylether	OCH ₃	OH	OCH ₃



	R ₁	R ₂	R ₃
(8) 5,7,3',5'-Tetrahydroxyflavanone	OH	OH	OH
(9) Blumeatin	OCH ₃	OH	OH

Abstract

Project code: MRG5180174
Project title: The study of free radical scavenging and tyrosinase inhibitor of chemical constituent from *Blumea balsamifera* DC leave
Investigator: Dr. Nisakorn Saewan, School of Cosmetic Science, Mae Fah Luang University
Email address: nisakorn@mfu.ac.th
Project period: May 15, 2008 to May 14, 2010

245565

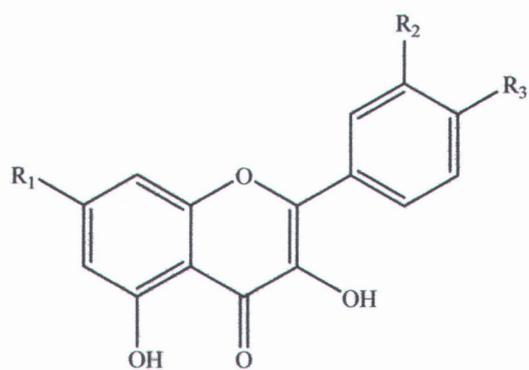
Fractionation of an ethylacetate extract from leaves of *Blumea balsamifera* DC, led to isolation of nine flavonoids. The isolated compounds consist of three flavonols: quercetin (1), rhamnetin (2), tamarixetin (3); two flavones: luteolin (4), luteolin-7-methyl ether (5), two dihydroflavonols: dihydroquercetin-4'-methyl ether (6), dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (7), two flavanones: 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (8), and blumeatin (9). Their chemical structures were elucidated by spectroscopic methods including UV, NMR and MS analyses. Their inhibitory activities on mushroom tyrosinase using L-DOPA as substrate were evaluated. The anti-tyrosinase activities of all compounds tested decreased in the order: quercetin (1) > rhamnetin (2) > tamarixetin (3); dihydroquercetin-4'-methyl ether (6) > dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (7); luteolin (4) > luteolin-7-methyl ether (5); 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (8) > blumeatin (9). The antioxidant activities as determined by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity assay of the isolated compounds were investigated. The order of DPPH radical scavenging activity of the chemical constituents were as following: quercetin (1) > L-ascorbic acid > blumatin > 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (8) > butylated hydroxytoluene > dihydroquercetin-4'-methyl ether (6) > butylated hydroxytoluene > dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (7).

Leaves of *Blumea balsamifera* DC from seven districts in Chiangrai were extracted by different organic solvents (hexane, dichloromethane, ethyl acetate, ethanol and water). The total phenolic content of the extracts were evaluated by Folin-Ciocalteu procedures. Antioxidant activities of the extracts were determined using DPPH method and ferrous reducing assay. Tyrosinase inhibitory activities of the ethyl acetate extracts were determined by dopa chrome method.

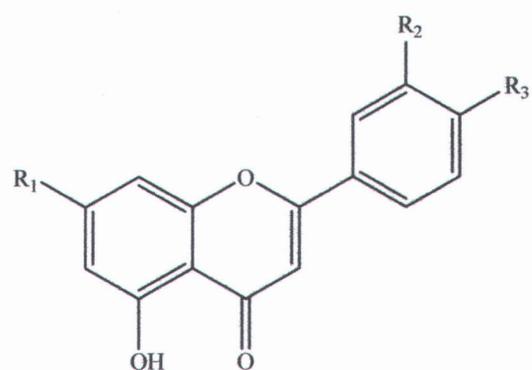
The antioxidant activities (DPPH radical scavenging and ferrous reducing power) of crude extracts decreased in the order: ethyl acetate extract > ethanol extract > dichloromethane extract > hexane extract > water extract. The ethyl acetate extract of *Blumea balsamifera* DC leaves from Doi Luang established highest activity than other sources.

The major flavonoids, dihydroquercetin-4'-methyl ether (**6**), dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (**7**), 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (**8**), and blumatin (**9**), in the extracts were quantified by RP-HPLC technique. The results showed different amount and type of flavonoids in each extract. The hexane extracts were found only the less polarity of major flavonoid, dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (**7**). For the highest antioxidant activities of major flavonoids, 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (**8**), was observed in the ethyl acetate extract which is also showed strongest antioxidant activities. This study showed topography effect to amount and type of flavonoids in each sources of *Blumea balsamifera* DC leaves extract and also their activities.

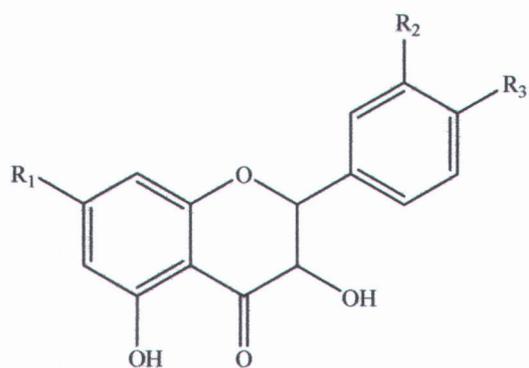
Key word: antioxidant, *Blumea balsamifera* DC, flavonoids, tyrosinase inhibitor



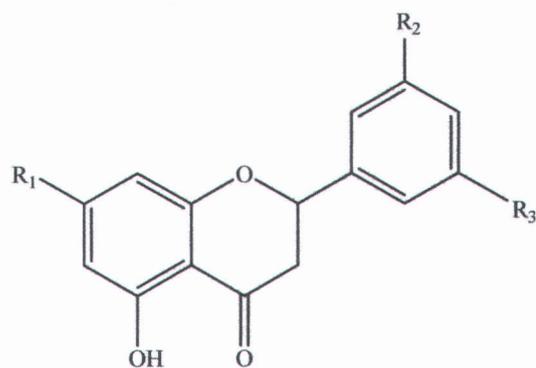
	R ₁	R ₂	R ₃
(1) Quercetin	OH	OH	OH
(2) Rhamnetin	OCH ₃	OH	OH
(3) Tamarixetin	OH	OH	OCH ₃



	R ₁	R ₂	R ₃
(4) Luteolin	OH	OH	OH
(5) Luteolin-7-methyl ether	OCH ₃	OH	OH



	R ₁	R ₂	R ₃
(6) Dihydroquercetin-4'-methylether	OH	OH	OCH ₃
(7) Dihydroquercetin-7,4'-dimethylether	OCH ₃	OH	OCH ₃



	R ₁	R ₂	R ₃
(8) 5,7,3',5'-Tetrahydroxyflavanone	OH	OH	OH
(9) Blumeatin	OCH ₃	OH	OH

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อ (ไทย)	ii
บทคัดย่อ (อังกฤษ)	v
บทนำ	1
วิธีการทดลอง	6
ผลการทดลอง วิเคราะห์ และสรุปผลการทดลอง	13
เอกสารอ้างอิง	29
Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกอ. และ สกว.	31