

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพ ของผิวหนังของดอกวัชพืชในวงศ์ Asteraceae บางชนิด

Antioxidants and Inhibition of Skin Aging-related Enzyme Activities of the Flowers of Some Asteraceous Weeds

จำเนียร ชมภู^{*}, ธนพงศ์ ไกรพุด, สุนิสา อุยะตุง และ ทศพล พรพรหม
Jamnian Chompoo^{*}, Tanapong Kaiput, Sunisa U-yatung and Tosapon Pornprom

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{*}Corresponding author: Email: agrjnc@ku.ac.th

(Received: 19 May 2020; Accepted: 26 August 2020)

Abstract: Protection and nourish the skin using natural extracts are alternate ways to solve skin problems. The natural product is one of the alternative ways to protect and nourish the skin/ or solve skin problems. The aims of this study were to analyze the quantity of phytochemicals (viz. total flavonoids and total phenolics) of ethanol flower extracts from fresh and dried samples of 6 weed species, including *Bidens pilosa* L., *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski, *Eclipta prostrata* (L.), *Tridax procumbens* L., *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. and *Vernonia cinerea* Less. In addition, the extracts at a concentration of 100 µg/mL were investigated antioxidant properties (viz. DPPH and ABTS radical scavenging) and the inhibitory activities on skin aging-related enzymes (viz. collagenase, elastase, hyaluronidase and tyrosinase). The results showed that ethanol extracts of dried samples from *S. trilobata* and *B. pilosa* contained high amount of total flavonoids and total phenolics. The extracts of dried flowers had better antioxidant properties on DPPH and ABTS scavenging reactions than other weed extracts. In the case of the performance of ethanol flower extracts from weeds, they showed a mild efficacies on inhibition of skin-aging related enzymes. Ethanol extracts of fresh sample from *S. nodiflora* presented inhibitory activities on collagenase, elastase, hyaluronidase and tyrosinase. However, identification of active compounds from ethanol flower extracts of *S. trilobata*, *B. pilosa* and *S. nodiflora* should be conducted.

Keywords: Phytochemicals, *Sphagneticola trilobata*, *Bidens pilosa*, *Synedrella nodiflora*

บทคัดย่อ: การป้องกันหรือบำรุงผิวด้วยการใช้สารสกัดจากธรรมชาติเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยแก้ปัญหาผิวหนังได้ การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกของสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างดอกวัชพืชสดและแห้ง จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ก้นจ้ำขาว กระดุมทอง กะเม็ง ตีนตุ๊กแก ผักแครด และผักละออง นอกจากนี้ยังทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยปฏิกิริยา DPPH และ ABTS radical scavenging และทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความเสื่อมของผิวหนัง ได้แก่ collagenase, elastase, hyaluronidase และ tyrosinase ผลการทดลองพบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของดอกกระดุมทอง และก้นจ้ำขาว มีปริมาณของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์และกลุ่มฟีนอลิกสูง จึงเป็นผลให้สารสกัดจากตัวอย่างแห้งของดอกวัชพืชนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปฏิกิริยา DPPH และ ABTS radical scavenging ได้ดีกว่าสารสกัดจากดอกวัชพืชอื่น สำหรับผลของสารสกัดในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นั้นมีประสิทธิภาพไม่สูงมากนัก โดยสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดของดอกผักแครด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ collagenase, elastase, hyaluronidase และ tyrosinase ได้ อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมของสารพฤกษเคมีในสารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกของกระดุมทอง ก้นจ้ำขาว และผักแครด ในขั้นตอนต่อไป

คำสำคัญ: สารพฤกษเคมี กระดุมทอง ก้นจ้ำขาว ผักแครด

คำนำ

ผิวหนังเป็นอวัยวะส่วนหนึ่งของร่างกายมนุษย์ที่มีพื้นที่มากที่สุด มีบทบาทสำคัญต่อร่างกายในการป้องกันเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมเข้าร่างกาย ป้องกันแสงอัลตราไวโอเล็ต รับความรู้สึก รวมทั้งมีผลต่อสภาพจิตใจในส่วนของภาพลักษณ์และความสวยงาม (Sangmala, 2017) การเสื่อมสภาพของผิวหนัง (skin aging) จะเกิดขึ้นช้าหรือเร็วก่อนวัย มีทั้งปัจจัยภายนอกและภายในร่างกายเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งปัจจัยภายนอกที่มีผลเร่งการเสื่อมสภาพให้เร็วขึ้น เช่น แสงแดด มลภาวะ การสูบบุหรี่ และความเครียด ปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลให้เกิดการเสื่อมสลายของ collagen และ elastin ทำให้ผิวหนังเกิดริ้วรอย เหี่ยวย่น หย่อนคล้อย และสีผิวเกิดความหมองคล้ำ (Vierkötter and Krutmann, 2012) ส่วนอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species; ROS) ในร่างกายมนุษย์สามารถเกิดขึ้นได้จากการสันดาปพลังงาน โดยที่ Kim *et al.* (2011) รายงานว่า ROS เป็นสาเหตุกระตุ้นการชราของผิวหนังได้ ด้วยเกิดกระบวนการต่าง ๆ ทำลายเมทริกซ์ที่อยู่นอกเซลล์ เกิดริ้วรอย เหี่ยวย่น (de Araújo *et al.*, 2019) การใช้สารต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นการต้านหรือช่วยชะลอความแก่ของผิวหนังได้ นอกจากนี้กระบวนการเสื่อมของผิวหนังซึ่งเป็นผล

จากการลดลงของ collagen, elastin และ hyaluronic acid ทำให้เกิดการสูญเสียความแข็งแรงและความยืดหยุ่นในผิวหนัง เกิดเป็นริ้วรอยให้เห็นนั้น มีความเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ collagenase, elastase และ hyaluronidase ที่เพิ่มมากขึ้น โดยที่เอนไซม์ collagenase เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลาย collagen ซึ่งเป็นโครงสร้างหลัก 70-80 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักผิวหนังทั้งหมด (Demina and Lysenko, 1996) ส่วน hyaluronic acid เป็นองค์ประกอบสำคัญของเนื้อเยื่อเมทริกซ์ มีบทบาทในการพัฒนาการเจริญเติบโตและซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหาย (Pogrel *et al.*, 2003) ในขณะที่ elastin เป็นส่วนสำคัญของผิวหนังในการรักษาความยืดหยุ่น ซึ่งสามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ elastase ทำให้เกิดริ้วรอย (Thring *et al.*, 2009) นอกจากนี้รังสีอัลตราไวโอเล็ตจากแสงแดดยังสามารถกระตุ้นการสร้างเม็ดสี melanin ด้วยการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ tyrosinase ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการสร้างเม็ดสี จนทำให้มีการสร้าง melanin มากจนเกินไป เกิดเป็นจุดด่างดำหรือกระที่ผิวหนัง (Zaidi *et al.*, 2016) ดังนั้นการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้มีความสำคัญในการป้องกันการเสื่อมสภาพของผิวหนัง

วัชพืช (weeds) โดยทั่วไปมักเป็นพืชที่ส่งผลกระทบด้านลบต่อระบบนิเวศ และมีผลในการแย่งแย่ง

ปัจจัยต่อการเจริญเติบโตของพืชปลูก ทำให้ปริมาณและคุณภาพของผลิตผลลดลง ควรมีการจัดการและกำจัดออกจากพื้นที่ปลูกพืช แต่วัชพืชส่วนหนึ่งมีการนำมาใช้ประโยชน์ในทางยา มีรายงานการวิจัยมากมายเกี่ยวกับสรรพคุณทางยาของวัชพืช (Hassan, 2020) พืชวงศ์ Asteraceae เป็นพืชดอกวงศ์ใหญ่มากกว่า 23,600 ชนิดที่มีการกระจายอย่างแพร่หลาย และมีหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้เป็นเครื่องเทศและยาสมุนไพรรักษาโรค (Tamokou *et al.*, 2017) จากการสำรวจวัชพืชในแปลงผักในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลางของประเทศไทย Zungsontiporn *et al.* (2015) พบว่า วัชพืชวงศ์หญ้าหรือ Poaceae มีความถี่ในการพบมากที่สุด รองลงมาคือ วงศ์ Asteraceae ซึ่งวัชพืชวงศ์นี้หลายชนิดมีรายงานการใช้ประโยชน์เป็นยาสมุนไพร ตัวอย่างเช่น ก้นจ้าวมีสรรพคุณประกอบของสารฟลักซ์เคมีมากกว่า 301 ชนิด และพบมีสรรพคุณทางยาในการป้องกันและรักษาโรคได้หลายชนิด ได้แก่ โรคมาลาเรีย เบาหวาน ภูมิแพ้ ลดความดันโลหิต ลดไข้ และต้านอนุมูลอิสระ (Tran and Tran, 2016) ส่วน Udayashankar *et al.* (2019) รายงานว่า กะเม็งเป็นพืชที่มีการนำมาใช้เป็นอาหารและยาอย่างแพร่หลาย สามารถใช้เป็นยาแก้ปวด ต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย และป้องกันโรคเบาหวาน สำหรับ Sonibare *et al.* (2016) รายงานว่า ผักละอองมีสรรพคุณทางยาในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านแบคทีเรียสาเหตุโรคของมนุษย์ เช่น *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* นอกจากนี้ไม้ดอกบางชนิดในวงศ์ Asteraceae ตัวอย่างเช่น ดาวเรือง

มีรายงานว่า สารสกัดด้วยเมทานอลจากดอกดาวเรืองสามารถช่วยป้องกันผิวของมนุษย์จากการเกิดริ้วรอยก่อนวัย โดยการลดความเสียหายของเซลล์ผิวหนังจากอนุมูลอิสระ ยับยั้งการแสดงออกของเอนไซม์ matrix metalloproteinase-2 (MMP) และ/หรือกระตุ้นการสังเคราะห์คอลลาเจน (Kang *et al.*, 2018) งานวิจัยนี้จึงสนใจวิเคราะห์ปริมาณสารฟลักซ์เคมี ทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของผิวหนังของวัชพืช 6 ชนิด ในวงศ์ Asteraceae ซึ่งพบขึ้นทั่วไปเป็นจำนวนมากในแปลงปลูกพืชและที่รกร้าง ได้แก่ ก้นจ้าว กะดุมทอง กะเม็ง ตีนตุ๊กแก ผักแครด และผักละออง เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนในการนำวัชพืชมาใช้ประโยชน์ในกลุ่มเครื่องสำอาง ช่วยชะลอการชราของผิวหนัง และเป็นการเพิ่มมูลค่าวัชพืชแทนการกำจัดทิ้งโดยเปล่าประโยชน์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างดอกวัชพืช Family: Asteraceae บริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ก้นจ้าว (*Bidens pilosa* L.) กะดุมทอง (*Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski) กะเม็ง (*Eclipta prostrata* (L.)) ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* L.) ผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) และผักละออง (*Vernonia cinerea* Less.) (Figure 1)

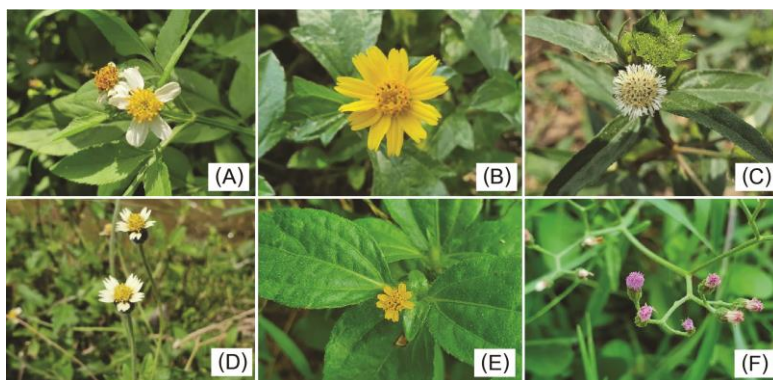


Figure 1. Characteristic of weed flowers in this study including *Bidens pilosa* (A), *Sphagneticola trilobata* (B), *Eclipta prostrata* (C), *Tridax procumbens* (D), *Synedrella nodiflora* (E) and *Vernonia cinerea* (F)

นำพืชตัวอย่างมาตรวจพิสูจน์ชนิดพืชเปรียบเทียบกับหนังสือวัชพืชในประเทศไทย (Suwanagul and Suwanketnikom, 2002) และ Major Weeds in Thailand (Noda *et al.*, 1994) และคัดเลือกส่วนที่ใช้ ทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า ใส่ตะกร้าตั้งไว้ให้แห้งหมาดประมาณ 2 ชั่วโมง ได้เป็นตัวอย่างสด ส่วนตัวอย่างแห้งนำไปตากไว้ในที่ร่ม อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งแห้ง

นำตัวอย่างสดและแห้งของดอกวัชพืช 1 กรัม แห้งลงในเอทานอล (ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ได้เป็นสารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกของวัชพืช ทำการเจือจางตัวอย่างสารสกัดด้วยเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้สารสกัดจากดอกของวัชพืชความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารฟลักซ์เคมีทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความเสื่อมของผิวหนัง

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลักซ์เคมี

2.1 วิเคราะห์ปริมาณสาร total flavonoids

นำตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96-well plate หลังจากนั้นใส่สารละลาย aluminium chloride (ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร (Jia *et al.*, 1999) ด้วยเครื่อง microplate reader (รุ่น Multiskan Go, Thermo Scientific, MA, USA) คำนวณปริมาณสาร total flavonoids จากกราฟมาตรฐานของ rutin equivalent (RUE) (Sigma-Aldrich, Inc., USA) เมื่อ $Y=0.0314x + 0.0031$ ($R^2=0.997$) มีหน่วยเป็น mg RUE/ g sample

2.2 วิเคราะห์ปริมาณสาร total phenolics

นำตัวอย่างสารสกัด 20 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96-well plate ที่มีน้ำปริมาตร 50 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติม Folin-phenol reagent (อัตราส่วน 1:1; reagent: water) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และ sodium carbonate (7.5 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากัน นำไปวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที

นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร (Siddhuraju and Becker, 2003) ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณปริมาณสาร total phenolics จากกราฟมาตรฐานของ gallic acid equivalent (GAE) (Sigma-Aldrich, Inc., USA) เมื่อ $Y=0.0079x + 0.055$ ($R^2=0.997$) มีหน่วยเป็น mg GAE/ g sample

3. ทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

3.1 ปฏิกริยา DPPH radical scavenging

นำตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich, Inc., USA) (ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 40 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลาย sodium acetate buffer (ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ มีค่า pH เท่ากับ 5.5) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Boskou *et al.*, 2006) ด้วยเครื่อง microplate reader เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกวัชพืชในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของ DPPH กับสาร tert-butylhydroxytoluene (BHT) (Sigma-Aldrich, Inc., USA)

3.2 ปฏิกริยา ABTS radical scavenging

เตรียมสารผสมของ 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammoniumsalte (ABTS) (Sigma-Aldrich, Inc., USA) (ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์) กับ potassium persulfate (ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์) นำไปไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง นาน 12-16 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา oxidation อย่างสมบูรณ์ ได้เป็นอนุมูลอิสระของ ABTS ก่อนทำการทดลองนำสารละลายมาเจือจางด้วย potassium phosphate buffer (ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ มีค่า pH เท่ากับ 7.4) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.700 ± 0.050 ด้วยเครื่อง microplate reader นำตัวอย่างสารสกัด 20 ไมโครลิตร ใส่ลงสารผสมที่เตรียมไว้ วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Hsu *et al.*, 2011) โดยมี BHT เป็น positive control

4. ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์

4.1 ทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ collagenase

ทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ collagenase จาก *Clostridium histolyticum* (Sigma-Aldrich, Inc., USA) โดยมี *N*-[3-(2-furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) (Sigma-Aldrich, Inc., USA) เป็นสาร substrate นำตัวอย่างสารสกัด 20 มิลลิเมตร ใส่ลงใน 96-well plate ที่มีเอนไซม์ collagenase ความเข้มข้น 0.1 ยูนิตต่อมิลลิเมตร ที่ละลายใน Tricine buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ (ที่มีส่วนผสมของ NaCl ความเข้มข้น 400 มิลลิโมลาร์ และ CaCl₂ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปรับค่า pH ให้ได้ 7.5) บ่มสารผสมตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นใส่สาร FALGPA (ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อีกครั้ง เป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร (Van Wart and Steinbrink, 1981) ด้วยเครื่อง microplate reader เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ collagenase ของสารสกัดด้วยเอทานอล จากดอกของวัชพืช กับสาร oleanolic acid (Sigma-Aldrich, Inc., USA)

4.2 ทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ elastase

ทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ elastase โดยมี *N*-succ-(Ala) 3-nitroanilide (SANA) (Sigma-Aldrich, Inc., USA) เป็นสาร substrate เตรียมสารผสมของ Tris-HCl buffer (ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ค่า pH เท่ากับ 8.0) ปริมาตร 160 ไมโครลิตร และเอนไซม์ elastase จาก porcine pancreas (Sigma-Aldrich, Inc., USA) (ความเข้มข้น 0.03 ยูนิตต่อมิลลิเมตร) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร หลังจากนั้นใส่ตัวอย่างสารสกัด 20 ไมโครลิตร และ SANA (ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร บ่มสารผสมตัวอย่างที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร (Lee *et al.*, 1999) ด้วยเครื่อง microplate reader โดยมีสาร oleanolic acid เป็น positive control

4.3 ทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ hyaluronidase

นำตัวอย่างสารสกัด 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ

37 องศาเซลเซียส ร่วมกับเอนไซม์ hyaluronidase จาก bovine testes (Sigma-Aldrich, Inc., USA) (ความเข้มข้น 1.50 ยูนิต) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลาย sodium phosphate buffer (ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์) เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติม hyaluronic acid sodium salt จาก rooster comb (Sigma-Aldrich, Inc., USA) (ความเข้มข้น 0.03 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มสารผสมไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที เติมสารละลาย acid albumin ปริมาตร 50 ไมโครลิตร วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (Kim *et al.*, 2009) ด้วยเครื่อง microplate reader โดยมีสาร oleanolic acid เป็น positive control

4.4 ทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ tyrosinase

นำตัวอย่างสารสกัด 20 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96-well plate เติม phosphate buffer ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ (pH 6.8) ปริมาตร 120 ไมโครลิตร และเอนไซม์ tyrosinase จาก mushroom (Sigma-Aldrich, Inc., USA) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร (ความเข้มข้น 500 ยูนิตต่อมิลลิเมตร) บ่มสารผสมตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 15 นาที เติมสารละลาย 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (Sigma-Aldrich, Inc., USA) (ความเข้มข้น 0.85 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร วางสารละลายตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร (Tadtong *et al.*, 2009) ด้วยเครื่อง microplate reader โดยมีสาร kojic acid (Sigma-Aldrich, Inc., USA) เป็น positive control

คำนวณประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ จากสูตรดังนี้

การยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระหรือกิจกรรมของเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{[(OD_{\text{ชุดควบคุม}} - OD_{\text{ตัวอย่าง}}) / OD_{\text{ชุดควบคุม}}] \times 100}$
เมื่อ OD_{ชุดควบคุม} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของเอทานอล (80 เปอร์เซ็นต์)

OD_{ตัวอย่าง} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง หรือ positive control

5. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design ซึ่งทดลอง คือ สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดและแห้งจากดอกวัชพืช 7 ชนิด จำนวน 6 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ ($P \leq 0.01$)

ผลการทดลอง

ปริมาณสารพฤกษเคมี

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีในกลุ่มฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกรวม (Table 1) พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างดอกแห้งความเข้มข้นตั้งต้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ในปริมาณที่มากกว่าตัวอย่างสดแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่สารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกของกระดุมทองมีปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกของวัชพืชอื่น (เท่ากับ 12.73 ± 0.36 mg RUE/ g sample) รองลงมา ได้แก่ สารสกัดจากตัวอย่างแห้งจากดอกของกันจ้าว (เท่ากับ 8.92 ± 0.11 mg RUE/ g sample)

ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณ สารกลุ่มฟีนอลิก พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของดอกวัชพืชทุกชนิดมีปริมาณของสารกลุ่มฟีนอลิกสูงกว่า สารสกัดจากตัวอย่างสด ยกเว้น

ดอกตีนตุ๊กแก ที่พบว่าปริมาณของสารกลุ่มฟีนอลิกไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของกระดุมทองและกะเม็งมีปริมาณของสารกลุ่มฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจากวัชพืชชนิดอื่น (เท่ากับ 9.38 ± 0.37 และ 8.31 ± 0.45 mg GAE/ g sample ตามลำดับ) รองลงมา ได้แก่ สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของดอกกันจ้าว (เท่ากับ 5.98 ± 0.08 mg GAE/ g sample)

ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งจากดอกของวัชพืชในการยับยั้งปฏิกิริยา DPPH radical scavenging (Figure 2A) พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของดอกวัชพืชทุกชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่า สารสกัดจากตัวอย่างสด โดยสารสกัดมีระดับความเข้มข้นตั้งต้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของวัชพืชทุกชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH ได้มากกว่า 80 เปอร์เซนต์ โดยที่สารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกของวัชพืชนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าสาร BHT ซึ่งสามารถยับยั้งปฏิกิริยานี้ได้ 78.57 เปอร์เซนต์ ยกเว้น สารสกัดจากตัวอย่างแห้งของดอกตีนตุ๊กแกที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งปฏิกิริยานี้ 74.32 เปอร์เซนต์

Table 1. The amount of phytochemicals in ethanol extracts from flower of 6 weed species

Weed species	Flavonoids (mg RUE/ g sample)		Phenolics (mg GAE/ g sample)	
	Fresh sample	Dried sample	Fresh sample	Dried sample
<i>Bidens pilosa</i>	1.24 ± 0.02 ^{fg} ¹	8.92 ± 0.11 ^b	4.22 ± 0.06 ^{cd}	5.98 ± 0.08 ^b
<i>Sphagneticola trilobata</i>	1.46 ± 0.19 ^{ef}	12.73 ± 0.36 ^a	4.66 ± 0.19 ^{cd}	9.38 ± 0.37 ^a
<i>Eclipta prostrata</i>	1.08 ± 0.06 ^{fg}	4.15 ± 0.04 ^c	3.75 ± 0.05 ^{cde}	8.31 ± 0.45 ^a
<i>Tridax procumbens</i>	0.85 ± 0.07 ^g	2.91 ± 0.03 ^d	2.98 ± 0.40 ^{cde}	2.22 ± 0.03 ^e
<i>Synedrella nodiflora</i>	0.70 ± 0.05 ^g	1.11 ± 0.04 ^{fg}	2.13 ± 0.02 ^e	3.63 ± 0.05 ^{cde}
<i>Vernonia cinerea</i>	0.75 ± 0.06 ^g	1.95 ± 0.04 ^e	2.59 ± 0.05 ^{de}	3.10 ± 0.07 ^{cde}

¹ The data represent the mean $\pm$ standard deviation of six replications. Value with the same letter are not significantly different at $P \leq 0.01$ from each other

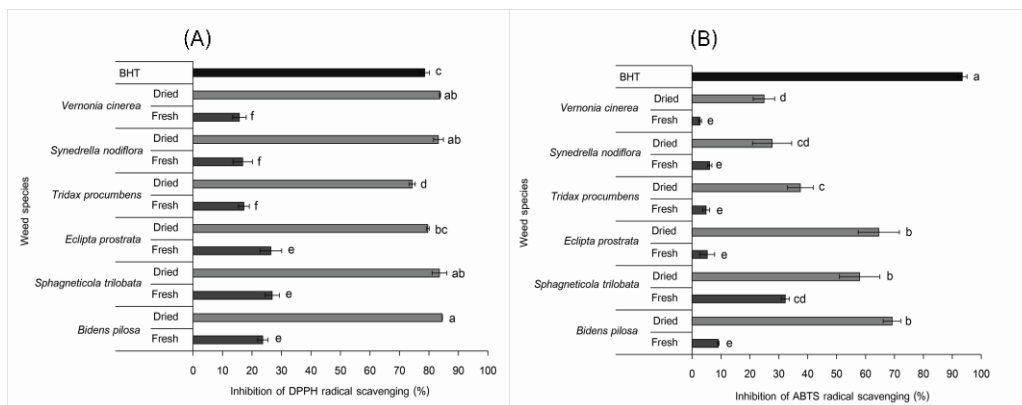


Figure 2. Inhibitory effect of ethanol extracts from flower of 6 weed species and positive control at concentration of 100 µg/mL on DPPH (A) and ABTS (B) radical scavengings

ส่วนผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกของวัชพืชในการยับยั้งปฏิกิริยา ABTS radical scavenging พบว่า สารสกัดจากตัวอย่างแห้งของดอกวัชพืชมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของ ABTS ได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวอย่างสด โดยที่สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของดอก กันจ้ำขาว กะเม็ง และกระดุมทอง มีฤทธิ์ในการยับยั้งปฏิกิริยา ABTS นี้ ได้ดีที่สุด (เท่ากับ 69.16, 64.57 และ 57.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของดอกวัชพืชชนิดอื่น โดยที่สารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกวัชพืชนี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ได้น้อยกว่าสาร BHT ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา 93.42 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2)

ประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งจากดอกของวัชพืช 6 ชนิด พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดของดอกผักแครดเพียงชนิดเดียวที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ collagenase และ hyaluronidase ได้ เท่ากับ 2.80 ± 0.08 และ 4.23 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งจากดอกของวัชพืชอื่นที่ไม่ได้กล่าวข้างต้น ไม่พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของ

เอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ (Table 2) โดยที่สารสกัดจากดอกผักแครดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ collagenase และ hyaluronidase ต่ำกว่าสาร oleanolic acid ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ เท่ากับ 80.41 ± 2.14 และ 75.17 ± 1.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สำหรับผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งของดอกวัชพืชในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ elastase (Table 2) พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของดอกตีนตุ๊กแกและผักละอองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ elastase ได้ดีที่สุด (เท่ากับ 32.72 ± 3.06 และ 29.73 ± 3.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากตัวอย่างแห้งจากดอกของวัชพืชอื่น รองลงมา คือ สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดและแห้งจากดอกผักแครด (เท่ากับ 29.08 ± 5.51 และ 27.18 ± 2.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่สารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกวัชพืชเหล่านี้มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสาร oleanolic acid ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดนี้ได้ เท่ากับ 76.02 ± 2.50 เปอร์เซ็นต์

ส่วนผลของสารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกวัชพืชในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ tyrosinase (Table 2) พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดของดอกวัชพืชส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง

Table 2. Percentage inhibition of ethanol extracts from flower of 6 weed species and positive controls at concentration of 100 µg/mL on collagenase, elastase, hyaluronidase and tyrosinase activities

Weed species	Samples	Inhibitory activities (%)			
		Collagenase	Elastase	Hyaluronidase	Tyrosinase
<i>Bidens pilosa</i>	Fresh	nd	13.96±1.43 ^{d1}	nd	3.24±0.47 ^b
	Dried	nd	25.33±2.15 ^{bcd}	nd	nd
<i>Sphagneticola trilobata</i>	Fresh	nd	24.38±2.15 ^{bcd}	nd	nd
	Dried	nd	25.38±1.31 ^{bcd}	nd	nd
<i>Eclipta prostrata</i>	Fresh	nd	22.83±3.78 ^{bcd}	nd	1.86±0.71 ^b
	Dried	nd	25.98±2.30 ^{bcd}	nd	nd
<i>Tridax procumbens</i>	Fresh	nd	15.01±2.50 ^{cd}	nd	3.52±0.72 ^b
	Dried	nd	32.72±3.06 ^b	nd	1.87±0.09 ^b
<i>Synedrella nodiflora</i>	Fresh	2.80±0.08 ^b	29.08±5.51 ^{bc}	4.23±0.20 ^b	3.38±0.15 ^b
	Dried	nd	27.18±2.79 ^{bcd}	nd	3.17±0.12 ^b
<i>Vernonia cinerea</i>	Fresh	nd	18.54±4.99 ^{bcd}	nd	2.62±0.86 ^b
	Dried	nd	29.73±3.99 ^b	nd	0.83±0.04 ^b
Oleanolic acid		80.41±2.14 ^a	76.02±2.05 ^a	75.17±1.96 ^a	
Kojic acid					87.29±3.24 ^a

¹ The data represent the mean ± standard deviation of six replications. Different letter in the same column indicate the existence of statistically significant difference at $P \leq 0.01$

nd Not detected

กิจกรรมของเอนไซม์ tyrosinase ได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวอย่างแห้ง ยกเว้นสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดและแห้งจากดอกผักแว่น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 3.38 ± 0.15 และ 3.17 ± 0.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดจากดอกวัชพืชในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ tyrosinase ต่ำกว่าสาร kojic acid ซึ่งเท่ากับ 87.29 ± 3.24 เปอร์เซ็นต์

วิจารณ์

จากรายงานของ Hasler and Blumberg (1999) พบว่า สารพฤษเคมีเป็นสารประกอบทางเคมีที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติซึ่งพบได้ในพืช มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพมนุษย์ มีรายงานวิจัยมากมาย

แสดงให้เห็นว่าพืชหลายชนิดเป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤษเคมีในสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งของดอกวัชพืชทั้ง 6 ชนิด พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกปริมาณที่มากกว่าตัวอย่างสด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Agustini *et al.* (2015) พบว่า น้ำหนักตัวอย่างที่เท่ากัน สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของ *Spirulina* sp. มีองค์ประกอบของสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดจากตัวอย่างสด นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งปฏิกิริยา DPPH scavenging ได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวอย่างสด (มีค่า IC_{50} เท่ากับ 33.07 และ 163.61 ppm ตามลำดับ) ส่วน Bernard *et al.* (2014) พบว่า ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับปริมาณของสาร phenolic ซึ่งเมื่อปริมาณของสาร phenolic สูง ทำให้สารสกัดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงด้วย นอกจากนี้ Sowndhararajan *et al.* (2016) ได้ศึกษาชนิดและปริมาณของสารอินทรีย์ที่ระเหยง่ายในตัวอย่างสดและแห้งของผล *Magnolia kobus* พบว่า ตัวอย่างแห้งที่อบในตู้อบลมร้อน 65 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง มีความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสด ซึ่ง Abu-Orabi *et al.* (2020) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดหยาบด้วยเมทานอล บิวทานอล และน้ำ

จากผลการศึกษาค้นคว้า พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกกระดุมทองและก้นจ้ำขาวมีปริมาณของสาร total flavonoids และ total phenolics สูงกว่าสารสกัดจากดอกวัชพืชชนิดอื่น จึงทำให้สารสกัดจากดอกของวัชพืชสองชนิดนี้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH และ ABTS ได้ดี ซึ่ง Meena *et al.* (2011) รายงานว่า ส่วนดอกของกระดุมทองมีส่วนประกอบของสาร sesquiterpene lactone, trilobolide-6-O-isobutyrate A และ B ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกับรายงานของ Govindappa *et al.* (2011) พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกของกระดุมทองมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยา DPPH radical scavenging และยังมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและลดไข้ ซึ่ง Lee *et al.* (2013) รายงานว่า สารสกัดจากดอกของก้นจ้ำขาวมีส่วนประกอบของสารกลุ่ม di-O-caffeoylquinic acid (DICQAs) ได้แก่ 3, 4-di-O-caffeoylquinic acid, 3,5-di-O-caffeoylquinic acid และ 4, 5-di-O-caffeoylquinic acid และกลุ่ม polyacetylene glucosides (PGAs) ได้แก่ 2-β-D-glucopyranosyloxy-1-hydroxy-5(E)-tridecene-7, 9, 11-triynone, 2-β-D-glucopyranosyloxy-1-hydroxytrideca-5, 7, 9, 11-tetrayne และ 3-β-D-glucopyranosyloxy-1-hydroxy-6(E)-tetradecene-8,10,12-triynone โดยที่พบว่า สารกลุ่ม PGAs มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคเบาหวานในหนูทดลองได้ ด้วยการกระตุ้นการสร้างอินซูลินในเลือดลดระดับน้ำตาลในเลือด ส่วน Deba *et al.* (2008) พบว่า สารสกัดจากดอกของก้นจ้ำขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้ง

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 49.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่ผลการจำแนกชนิดสารพฤษเคมีด้วยเทคนิค GC-MS พบสาร β-caryophyllene (5.1%) และ α-cadinene (6.13%) เป็นองค์ประกอบหลัก สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกของวัชพืชวงศ์ Asteraceae ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของผิวหนัง พบว่า สารสกัดจากตัวอย่างสดของดอกผักแคร์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ collagenase, elastase, hyaluronidase และ tyrosinase ได้ ซึ่งสารพฤษเคมีที่พบในดอกของผักแคร์นั้นยังไม่มีรายงานแน่ชัด ซึ่ง Abad *et al.* (1996) รายงานว่า สารสกัดด้วยเอทานอลจากส่วนลำต้นเหนือดินของผักแคร์มีฤทธิ์ในการอักเสบ จากการศึกษาค้นคว้าของ Vaidya *et al.* (2014) พบว่า ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งอาจเกิดจากความแตกต่างของปริมาณและชนิดของสารพฤษเคมีภายในตัวอย่างพืช ซึ่งอาจมีสารหลากหลายชนิดและมีความทนต่อความร้อนในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างแห้งได้แตกต่างกัน ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและสรรพคุณทางยาจึงขึ้นอยู่กับวิธีการเก็บรักษาตัวอย่าง วิธีการเตรียมตัวอย่าง และวิธีการสกัด ดังนั้นการจำแนกชนิดของสารพฤษเคมีในสารสกัดด้วยเอทานอลจากดอกของกระดุมทอง ก้นจ้ำขาว และผักแคร์จึงควรมีการศึกษา เพื่อนำมาใช้ประโยชน์เป็นตัวยาสมุนไพรต่อไป

สรุป

สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างแห้งของดอกกระดุมทอง และก้นจ้ำขาวมีปริมาณของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกสูง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปฏิกิริยา DPPH และ ABTS radical scavenging ของสารสกัดจากตัวอย่างแห้งของดอกวัชพืชเหล่านี้ที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดจากดอกวัชพืชอื่น ในขณะที่สารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดของดอกวัชพืชมี

ประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้ไม่สูงมากนัก โดยสารสกัดด้วยเอทานอลจากตัวอย่างสดของดอกผักแครด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ collagenase, elastase, hyaluronidase และ tyrosinase ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของผิวหนังได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการสนับสนุนและส่งเสริมการวิจัยของภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่มอบทุนอุดหนุนสำหรับการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- Abad, M.J., P. Bermejo, E. Carretero, C. Martinez-Acitores, B. Noguera and A. Villar. 1996. Antiinflammatory activity of some medicinal plant extracts from Venezuela. *Journal of Ethnopharmacology* 55(1): 63-68.
- Abu-Orabi, S.T., M.A. Al-Qudah, N.R. Saleh, T.T. Bataineh, S.M. Obeidat, M.S. Al-Sheraideh, H.I. Al-Jaber, H.I. Tashtoush and J.N. Lahham. 2020. Antioxidant activity of crude extracts and essential oils from flower buds and leaves of *Cistus creticus* and *Cistus salviifolius*. *Arabian Journal of Chemistry* 13: 6256-6266.
- Agustini, T.W., M. Suzery, D. Sutrisnanto, W.F. Ma'ruf and Hadiyanto. 2015. Comparative study of bioactive substances extracted from fresh and dried *Spirulina* sp. *Procedia Environmental Sciences* 23: 282-289.
- Bernard, D., A.I. Kwabena, O.D. Osei, G.A. Daniel, S.A. Elom and A. Sandra. 2014. The effect of different drying methods on the phytochemicals and radical scavenging activity of Ceylon cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) plant parts. *European Journal of Medicinal Plants* 4(11): 1324-1335.
- Boskou, G., F.N. Salta, S. Chrysostomou, A. Mylona, A. Chiou and N.K. Andrikopoulos. 2006. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry* 94(4): 558-564.
- de Araújo, R., M. Lôbo, K. Trindade, D.F. Silva and N. Pereira. 2019. Fibroblast growth factors: a controlling mechanism of skin aging. *Skin Pharmacology and Physiology* 32: 275-282.
- Deba, F., T.D. Xuan, M. Yasuda and S. Tawata. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control* 19: 346-352.
- Demina, N.S. and S.V. Lysenko. 1996. Collagenolytic enzymes synthesized by microorganisms. *Mikrobiologiya* 65(3): 293-304.
- Govindappa, M., S.S. Naga, M.N. Poojashri, T.S. Sadananda, C.P. Chandrappa, S. Gustavo, P. Sharanappa and N.V.A. Kumar. 2011. Antimicrobial, antioxidant and *in vitro* anti-inflammatory activity of ethanol extract and active phytochemical screening of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(24): 5718-5729.
- Hasler, C.M. and J.B. Blumberg. 1999. Symposium on phytochemicals: biochemistry and physiology. *Journal of Nutrition* 129(3): 756S-757S.
- Hassan, S. 2020. Positive aspects of weeds as herbal remedies and medicinal plants. *Journal of Research in Weed Science* 3(1): 57-70.
- Hsu, C.F., H. Peng, C. Basle, J. Travas-Sejdic and P.A. Kilmartin. 2011. ABTS^{•+} scavenging

- activity of polypyrrole, polyaniline and poly(3,4-ethylenedioxythiophene). Polymer International 60(1): 69-77.
- Jia, Z., M. Tang and J. Wu. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry 64(4): 555-559.
- Kang, C.H., S.J. Rhie and Y.C. Kim. 2018. Antioxidant and skin anti-aging effects of marigold methanol extract. Toxicological Research 34(1): 31-39.
- Kim, H.J., J. Yun, J. Lee, H. Hong, J. Jeong, E. Kim, Y.S. Bae and K.J. Lee. 2011. SUMO1 attenuates stress-induced ROS generation by inhibiting NADPH oxidase 2. Biochemical and Biophysical Research Communications 410(3): 555-562.
- Kim, J.H., J.C. Byun, A.K.R. Bandi, C.G. Hyun and N.H. Lee. 2009. Compounds with elastase inhibition and free radical scavenging activities from *Callistemon lanceolatus*. Journal of Medicinal Plants Research 3(11): 914-920.
- Lee, K.K., J.H. Kim, J.J. Choi and J.D. Choi. 1999. Inhibitory effects of 150 plant extracts on elastase activity, and their anti-inflammatory effects. International Journal of Cosmetic Science 21(2): 71-82.
- Lee, W.C., C.C. Peng, C.H. Chang, S.H. Huang and C.C. Chyau. 2013. Extraction of antioxidant components from *Bidens pilosa* flowers and their uptake by human intestinal Caco-2 cells. Molecules 18(2): 1582-1601.
- Meena, A.K., M.M. Rao, R.P. Meena, P. Panda and Renu. 2011. Pharmacological and phytochemical evidences for the plants of *Wedelia* genus - a review. Asian Journal of Pharmaceutical Reviews 1(1): 1-6.
- Noda, K., M. Teerawatsakul, C. Prakongvongs and L. Chaiwiratnukul. 1994. Major Weeds in Thailand. 3rd ed. Mass & Medias Co., LTD., Bangkok. 164 p.
- Pogrel, M.A., M.A. Low and R. Stern. 2003. Hyaluronan (hyaluronic acid) and its regulation in human saliva by hyaluronidase and its inhibitors. Journal of Oral Science 45(2): 85-91.
- Sangmala, S. 2017. Introduction to dermatology. (Online). Available: https://meded.psu.ac.th/binla/class05/388_573/intro_to_dematology/index.html (April 20, 2020). (in Thai)
- Siddhuraju, P. and K. Becker. 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(8): 2144-2155.
- Sonibare, M.A., O.T. Aremu and P.N. Okorie. 2016. Antioxidant and antimicrobial activities of solvent fractions of *Vernonia cinerea* (L.) Less leaf extract. African Health Science 16(2): 629-639.
- Sowndhararajan, K., H. Cho, B. Yu and S. Kim. 2016. Comparison of essential oil compositions of fresh and dried fruits of *Magnolia Kobus* DC. Journal of Applied Pharmaceutical Science 6(4): 146-149.
- Suwanagul, D. and R. Suwanketnikom. 2002. Weeds in Thailand. 1st ed. Kasetsart University Press, Bangkok. 440 p. (in Thai)
- Tadtong, S., A. Viriyaroj, S. Vorarat, S. Nimkulrat and S. Suksamram. 2009. Antityrosinase and antibacterial activities of mangosteen pericarp extract. Journal of Health Research 23(2): 99-102.

-
- Tamokou, J.D.D., A.T. Mbaveng and V. Kuete. 2017. Antimicrobial activities of African medicinal spices and vegetables. pp. 207-237. In: V. Kuete (ed.). Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases. Academic Press, London.
- Thring, T.S.A., P. Hili and D.P. Naughton. 2009. Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. BMC Complementary and Alternative Medicine 9: 27, doi: 10.1186/1472-6882-9-27.
- Udayashankar, A.C, M. Nandhini, S.B. Rajini and H.S. Prakash. 2019. Pharmacological significance of medicinal herb *Eclipta alpa* L.-a review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 10(8): 3592-3606.
- Vaidya, B.N., T.A. Brearley and N. Joshee. 2014. Antioxidant capacity of fresh and dry leaf extracts of sixteen *Scutellaria* species. Journal of Medicinally Active Plants 2(3): 42-49.
- Van Wart, H.E. and D.R. Steinbrink. 1981. A continuous spectrophotometric assay for *Clostridium histolyticum* collagenase. Analytical Biochemistry 113(2): 356-365.
- Vierkötter, A. and J. Krutmann. 2012. Environmental influences on skin aging and ethnic-specific manifestations. Dermato-Endocrinology 4(3): 227-231.
- Xuan, T.D. and T.D. Khanh. 2016. Chemistry and pharmacology of *Bidens pilosa*: an overview. Journal of Pharmaceutical Investigation 46(2): 91-132.
- Zaidi, K.U., S.A. Ali and A.S. Ali. 2016. Effect of purified mushroom tyrosinase on melanin content and melanogenic protein expression. Biotechnology Research International 2016: Article ID 9706214, doi: 10.1155/2016/9706214.
- Zungsontiporn, S., M. Thongros and T. Jongrukthai. 2015. Survey of weeds in vegetable in northeast and central region. (Online). Available: <http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=851> (May 11, 2019). (in Thai)
-