สมบัติต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของลำต้น ใบ ดอก และเมล็ดจากเทียนบ้าน

Antioxidant and anti-tyrosinase properties of stem, leaf, flower and seed from garden balsam

อินทิรา ขูดแก้ว[1*] และ พัชรพรรณ สุคนธ์ขจร[1]

Intira Koodkaew[1*] and Patcharaphan Sukonkhajorn[1]

บทคัดย่อ: พืชอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การศึกษานี้เป็นการตรวจสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของลำต้น ใบ ดอก และเมล็ดจากเทียนบ้าน (*Impatiens balsamina* L.) สารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ตรวจสอบโดยวิธี spectrophotometry ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใช้วิธีการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และการวัดฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสใช้ L-DOPA เป็นสารตั้งต้น ผลการศึกษาพบว่า ทุกส่วนของเทียนบ้านมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ใบและดอกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.34 ± 0.15 และ 0.99 ± 0.77 มก./มล. ตามลำดับ ซึ่งในใบและดอกพบปริมาณสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์สูงกว่าเมล็ดและลำต้นเช่นกัน พบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงในเมล็ดและดอก ซึ่งมีค่าการยับยั้งประมาณ 60 % จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเทียนบ้านอาจจะเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งสามารถนำไปศึกษาต่อเพื่อใช้ประโยชน์ด้านยาและเครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: *Impatiens balsamina* L., สารพฤกษเคมี, กำจัดอนุมูลอิสระ, ยับยั้งเอนไซม์

ABSTRACT: Plants have many bioactive compounds. This study examined some phytochemical compounds and the antioxidant and anti-tyrosinase activities of four different plant parts as stem, leaf, flower and seed, from garden balsam (*Impatiens balsamina* L.). Phenolic compounds and flavonoids contents were analyzed by spectrophotometry. Antioxidant activity was determined using DPPH radical scavenging assay. Tyrosinase inhibitory activity was examined using L-DOPA as substrate. The results showed that all plant parts possessed antioxidant and anti-tyrosinase properties. The highest antioxidant activity found in leaf and flower with 1.34 ± 0.15 and 0.99 ± 0.77 mg/mL of IC_{50}, respectively. Phenolic compounds and flavonoids contents were also higher in leaf and flower than seed and stem. Tyrosinase inhibitory activity found the highest in seed and flower, approximately 60 % of the inhibition. This study revealed that *I. balsamina* may be a source of natural antioxidant and anti-tyrosinase compounds, which can be used in pharmaceutical and cosmetic formulations following further investigation.

Keywords: *Impatiens balsamina* L., phytochemical, radical scavenging, enzyme inhibition

[1] โครงการจัดตั้งภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

Department of Botany, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Sean Campus, Nakhon pathom

* Corresponding author: faasirk@ku.ac.th

บทนำ

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้รับความนิยมเป็นอย่างสูงในการผลิตยาและเครื่องสำอาง เนื่องจากสารจากธรรมชาติส่วนใหญ่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและมีประสิทธิภาพเทียบเคียงกับสารสังเคราะห์จากห้องทดลองซึ่งมีราคาสูง เช่น ความสามารถในการบำรุงและปกป้องผิวพรรณ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการชะลอความชราภาพ รวมถึงคุณสมบัติในการลดความเข้มของสีผิว ซึ่งเป็นที่นิยมในการผลิตเครื่องสำอางทั้งในประเทศและต่างประเทศ พืชหลายชนิดอุดมไปด้วยสารประกอบที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอล (phenolic compound) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ซึ่งพืชที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด มักมีคุณสมบัติทำให้ผิวขาวรวมอยู่ด้วย (Solano et al., 2006) ดังนั้นการใช้สารประกอบจากพืชทดแทนสารสังเคราะห์จะเป็นการช่วยลดต้นทุนการผลิตและไม่มีผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค

เอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase, EC 1.14.18.1) เป็นเอนไซม์ที่พบได้ในธรรมชาติ ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาการสร้างเม็ดสี (melanin) โดยมีสารตั้งต้น 2 ชนิด ได้แก่ L-tyrosine และ 3,4-dihydroxy-L-phenyalanine (L-DOPA) (Kim and Uyama, 2005; Lin et al., 2008) เอนไซม์ไทโรซิเนสจึงเป็นเอนไซม์สำคัญของการเกิดสีผิวในมนุษย์ และการเกิดความผิดปกติของผิวหนัง เช่น ฝ้า กระ จุดด่างดำ รวมถึงมะเร็งผิวหนัง (Kim and Uyama, 2005) ซึ่งการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์นี้จะทำให้ผิวขาวขึ้น และลดความผิดปกติของผิวหนังได้ (Solano et al., 2006)

เทียนบ้าน หรือ garden balsam (*Impatiens balsamina* L.) อยู่ในวงศ์ Balsaminaceae จัดเป็นพืชล้มลุก มักปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับ นอกจากนี้ยังจัดเป็นสมุนไพรพื้นบ้านของไทย โดยส่วนเหนือดินมีสรรพคุณ ช่วยบำรุงผิวและลดริ้วรอย ในอดีตนิยมนำมาพอกผิวเพื่อเพิ่มความชุ่มชื้นและรักษาโรคผิวหนังอันเกิดจากเชื้อรา เช่น กลาก เกลื้อน และแก้แผลหนองเรื้อรัง (วิทยา, 2554) มีรายงานการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเทียนบ้านจากส่วนดอก ใบ และเมล็ด ได้แก่ แก้คัน (antipruritic) แก้โรคผิวหนัง (antidermatitis) แก้ปวด (antinociceptive) แก้อักเสบ (anti-inflammatory) และต้านเชื้อแบคทีเรีย (antimicrobial) (Oku and Ishiguro, 2001; Imam et al., 2012; Kang et al., 2013; Shivakumara et al., 2014) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของเทียนบ้าน ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น ปริมาณสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากส่วนต่างๆ ของต้นเทียนบ้าน

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างพืช

ย้ายปลูกต้นเทียนบ้านอายุ 3 เดือน จากอำเภอมโนรมย์ จังหวัดชัยนาท โดยเลือกต้นที่มีดอกสีม่วง นำมาปลูกในโรงเรือนของโครงการจัดตั้งภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม หลังจากย้ายปลูก 2 สัปดาห์ แยกเก็บส่วนลำต้น ใบ ดอก และเมล็ด นำไปล้างให้สะอาด แล้วผึ่งให้แห้ง เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

ตรวจสอบสารพฤกษเคมีในเทียนบ้านทั้ง 4 ส่วน เพื่อหาสารสำคัญ 6 กลุ่ม ได้แก่ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ ซาโปนิน เทอร์พีนอยด์ และโฟลบาแทนนิน โดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Harborne (1973) และ Trease and Evans (1989)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล ด้วยสารละลาย Folin-Ciocalteu ตามวิธีการของ Singleton

et al. (1999) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu, Japan) โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน สมการของกราฟมาตรฐานคือ y = 0.0035x + 0.0301 (r^2 = 0.9914) ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลจะแสดงในหน่วย มก. gallic acid equivalent (GAE) ต่อกรัมน้ำหนักสด

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ตามวิธีของ Tunna et al. (2015) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐาน สมการของกราฟมาตรฐานคือ y = 0.0021x - 0.0047 (r^2 = 0.9967) ดังนั้นปริมาณฟลาโวนอยด์จะแสดงเป็นหน่วย มก. quercetin equivalent (QE) ต่อกรัมน้ำหนักสด

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ที่ดัดแปลงจาก Brand-Williams et al. (1995) เตรียมสารละลายตัวอย่างพืชให้ได้ความเข้มข้นดังนี้ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./มล. โดยสกัดตัวอย่างพืชด้วยเอทานอล นำสารละลายตัวอย่างพืช 1.9 มล. ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer คำนวณค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระจากสมการ radical scavenging (%) = $[(A_0-A_1)/A_0] \times 100$ เมื่อ A_0 คือค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของชุดควบคุม A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างพืชผสมกับ DPPH จากนั้นหาค่า 50 % inhibitory concentration (IC_{50}) จากกราฟระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างพืช และ radical scavenging โดยใช้ trolox เป็นสารละลายมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบ

การวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

วิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสตามวิธีของ Neagu et al. (2016) สกัดตัวอย่างพืช 1 กรัมด้วยเอทานอล 10 มล. นำตัวอย่างพืช 25 หรือ 50 ไมโครลิตร ผสมกับเอนไซม์ mushroom tyrosinase (Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้น 0.5 มก./มล. 100 ไมโครลิตร และ phosphate buffer (pH 7.0) 0.2 โมลาร์ 1.85 มล. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 15 นาที และเติม L-DOPA 10 มิลลิโมลาร์ 50 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรที่เวลา 0 และ 6 นาที ชุดควบคุมใช้ phosphate buffer แทนสารสกัดจากพืช และใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบ จากนั้นนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสมการ การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (%) = $[(\Delta A_{control}-\Delta A_{sample})/\Delta A_{control}] \times 100$ เมื่อ $\Delta A_{control}$ คือค่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุมที่เวลา 0 และ 6 นาที และ ΔA_{sample} คือค่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างพืชที่เวลา 0 และ 6 นาที

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการศึกษาที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple-range tests ที่ระดับ $P < 0.05$ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป R-stat เวอร์ชั่น R-3.3.3

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สารพฤกษเคมี

ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นพบว่า ลำต้น ใบ และเมล็ด มีสารพฤกษเคมีในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และเทอร์พีนอยด์เช่นเดียวกัน ขณะที่พบกลุ่มสารในส่วนดอกมากที่สุด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ ซาโปนิน เทอร์พีนอยด์ และโฟลบาแทนนิน (**Table 1**) เช่นเดียวกับ Imam et al. (2012) รายงานพบสารในกลุ่ม อัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ สเตียรอยด์ ซาโปนิน และแทนนินในดอกของเทียนบ้าน

ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ในลำต้น ใบ ดอก และเมล็ดของเทียนบ้าน แสดงใน **Figure 1** ใบและดอกพบปริมาณฟีนอลสูงที่สุด คือ 122.39 ± 8.50 และ 111.53 ± 1.42 มก. GAE/กรัม ตามลำดับ รองลงมาคือเมล็ดและลำต้น (**Figure 1A**) ปริมาณฟลาโวนอยด์พบสูงสุดในส่วนดอก (44.74 ± 0.82 มก. QE/กรัม) รองลงมาคือใบ (25.48 ± 0.65 มก. QE/กรัม) เมล็ดและลำต้น ตามลำดับ (**Figure 1B**) จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์พบในส่วนของใบและดอกมากกว่าลำต้นและเมล็ด อาจเนื่องมาจากบทบาทหน้าที่ในพืช ใบและดอกจำเป็นต้องมีการสะสมสารประกอบโพลิฟีนอล (polyphenol) มาก เพื่อใช้ในการป้องกันและกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดมาจากความเข้มแสงที่พืชได้รับ (Chua, 2016) นอกจากนี้ดอกเทียนบ้านที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นสีม่วง ซึ่งอาจเป็นสีของแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ จึงทำให้พบฟลาโวนอยด์สูงที่สุดในดอก

Table 1 Phytochemical screening for chemical class identification of garden balsam.

Chemical class	Test/ procedure[1/]	Stem	Leaf	Flower	Seed
Tannin	Ferric chloride test				
Flavonoid	Shinoda's test	✓[2/]	✓	✓	✓
Alkaloid	Draggendorff's reagent			✓	
Saponin	Frothing test	✓	✓	✓	✓
Terpenoid	Salkowski's test	✓	✓	✓	✓
Phlobatannin	Hydrochloric test			✓	

[1/] Details of tests can be found in Harborne (1973) and Trease and Evans (1989).

[2/] ✓, presence

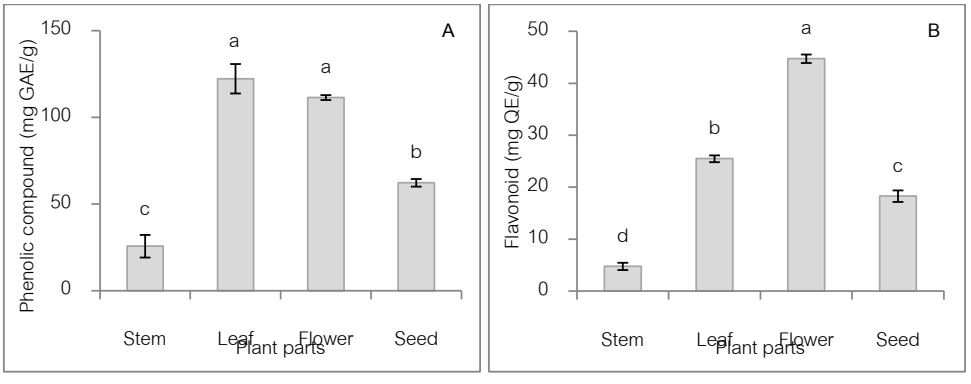

Figure 1 Phenolic compound (A) and flavonoid (B) contents of various plant parts from garden balsam. Data are expressed as mean ± SEM (n = 3). Different letters above bars indicate significant difference ($P < 0.05$).

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเทียนบ้านแสดงในรูปการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และค่า IC_{50} (**Figure 2**) ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระของพืชทั้ง 4 ส่วน แปรผันตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยใบและดอกมีความสามารถในกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าลำต้นและเมล็ด (**Figure 2A**) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมักแสดงด้วยค่า IC_{50} คือความเข้มข้นของตัวอย่างพืชที่ส่งผลให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ (DPPH) ลดลงครึ่งหนึ่ง ค่า IC_{50} ที่ต่ำจึงแสดงถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูง จากผลการศึกษาพบว่าดอกมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด คือ 0.99 ± 0.07 มก./มล. ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับส่วนใบซึ่งมีค่า

เท่ากับ 1.34 ± 0.15 มก./มล. (**Figure 2B**) แสดงว่าส่วนดอกและใบมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระสูงที่สุด Kang et al. (2013) และ Chua (2016) รายงานการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระส่วนลำต้นและใบของเทียนบ้าน โดยสารสกัดจากใบมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าลำต้น ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระที่สูงในส่วนใบและดอกของเทียนบ้าน อาจเนื่องมาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ที่พบมากในสองส่วนนี้ ซึ่งสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในพืช (Rice-Evan et al., 1997)

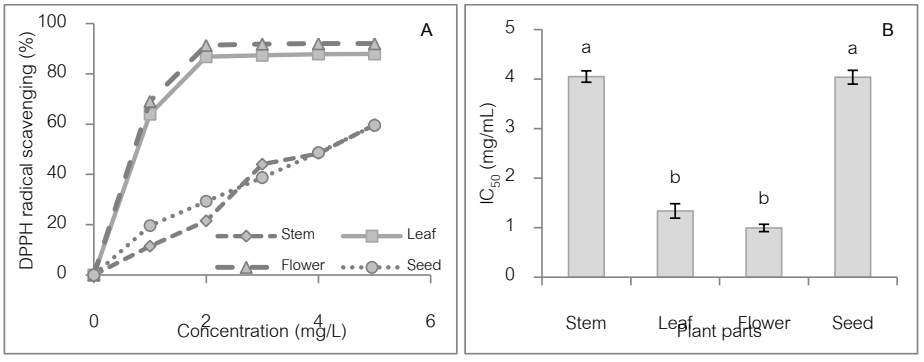

Figure 2 DPPH radical scavenging activity (A) and IC_{50} value (B) of various plant parts from garden balsam. Data are expressed as mean ± SEM (n = 3). Different letters above bars indicate significant difference ($P < 0.05$). IC_{50} of Trolox = 0.013 mg/mL.

การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

สมบัติการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของลำต้น ใบ ดอก และเมล็ดเทียนบ้าน พบว่าที่ปริมาตรตัวอย่างพืช 25 และ 50 ไมโครลิตรให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน เมล็ดและดอกมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ได้มากที่สุด ที่ 50 ไมโครลิตร มีค่า 61.11 ± 6.19 และ 60.00 ± 5.01 % ตามลำดับ รองลงมาคือใบและลำต้นตามลำดับ (**Figure 3**) ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสอาจเนื่องมาจากสารประกอบฟีนอลที่พบในตัวอย่างพืช สารประกอบฟีนอลหลายชนิด เช่น kojic acid, kaempferol และ quercetin จัดเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่สำคัญ (Kim and Uyama, 2005; Solano et al., 2006) อย่างไรก็ตามในส่วนเมล็ดพบปริมาณสารประกอบฟีนอลที่น้อย ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงอาจจะมีสารกลุ่มอื่นร่วมอยู่ด้วย

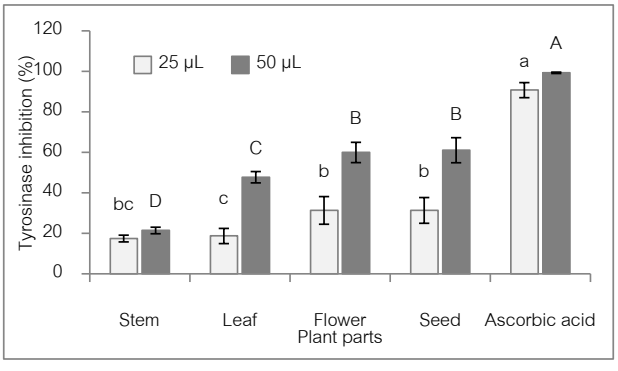

Figure 3 Tyrosinase inhibitory activity of various plant parts from garden balsam. Data are expressed as mean ± SEM (n = 3). Different letters above bars indicate significant difference ($P < 0.05$).

สรุป

เทียนบ้านทั้ง 4 ส่วน ได้แก่ ลำต้น ใบ ดอก และเมล็ด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ใบและดอกมีสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าส่วนอื่น และเมล็ดและดอกยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีกว่าส่วนอื่น เทียนบ้านจึงอาจจัดเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งสามารถนำไปศึกษาต่อเพื่อใช้ประโยชน์ด้านยาหรือเครื่องสำอางได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโครงการจัดตั้งภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำหรับการสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

วิทยา บุญวรพัฒน์. 2554. สารานุกรมสมุนไพรไทย-จีน ที่ใช้บ่อยในประเทศไทย. สมาคมการแพทย์แผนจีนในประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT Food Sci. Technol. 28: 25-30.

Chua, L.S. 2016. Untargeted MS-based small metabolite identification from the plant leaves and stems of *Impatiens balsamina*. Plant Physiol. Biochem. 106: 16-22.

Harborne, J.B. 1973. Phytochemical Methods. Chapman and Hall, Ltd, London.

Imam, M.Z., N. Nahar, S. Akter, and M.S. Rana. 2012. Antinociceptive activity of methanol extract of flowers of *Impatiens balsamina*. J. Ethnopharmacol. 142: 804-810.

Kang, S-N., Y-M. Goo, M-R. Yang, R.I.H. Ibrahim, J-H. Cho, I-S. Kim, and O-H. Lee. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extract from the stem and leaf of *Impatiens balsamina* L. (Balsaminaceae) at different harvest times. Molecules. 18: 6356-6365.

Kim, Y-J., and H. Uyama. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic source: structure, inhibition mechanism and prospective for the future. Cell. Mol. Life Sci. 62: 1707-1723.

Lin, J-W., H-M. Chiang, Y-C. Lin, and K-C. Wen. 2008. Natural products with skin-whitening effects. J. Food Drug Anal. 16: 1-10.

Neagu, E., G.L. Radu, C. Albu, and G. Paun. 2016. Antioxidant activity, acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of *Pulmonaria officinalis* and *Centarium umbellatum* extracts. Saudi J. Biol. Sci. http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.02.016

Oku, H., and K. Ishiguro. 2001. Antipruritic and antidermatitic effect of extract and compounds of *Impatiens balsamina* L. in atopic dermatitis model NC mice. Phytother. Res. 15: 506-510.

Rice-Evans, C., N. Miller, and G. Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci. 2: 152-159.

Shivakumara, S. Wahengbam, N.K. Rana, S. Kundu, S. Bole, and A.B. Vedamurthy. 2014. Phytochemical screening and biological activities of *Impatiens balsamina* L. seeds. Int. J. Fundam. Appl. Sci. 3: 22-26.

Singleton, V.L., R. Orthofer, and R.M. Lamuela-Ravenros. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Method Enzymol. 299: 152-178.

Solano, F., S. Briganti, M. Picardo, and G. Ghanem. 2006. Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects. Pigment Cell Res. 19: 550-571.

Trease, G.E., and W.C. Evans. 1989. Pharmacognosy. 11th Edition. BrailliarTiridel Can., Macmillan Publishers, London.

Tunna, T.S., I.S.M. Zaidul, Q.U. Ahmed, K. Ghafoor, F.Y. Al-Juhaimi, M.S. Uddin, M. Hasan, and S. Ferdous. 2015. Analyses and profiling of extract and fractions of neglected weed *Mimosa pudica* Linn. Traditionally used in Southeast Asia to treat diabetes. S. Afr. J. Bot. 99: 144-152.