b. 114556

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของสารสกัดกวาวเครือต่อการส่งเสริมการเจริญของเส้นผม

The Hair Growth Promoting Effect of *Butea superba* Roxb. Extract

โดย

นาย จารุภัค แสนสมชัย

นางสาว มยุรมาศ แสงเงิน

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ประจำปี พ.ศ.2552

สัญญาเลขที่ 22 / 2551

รหัสโครงการวิจัย 51108030022

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของสารสกัดกวาวเครือต่อการส่งเสริมการเจริญของเส้นผม

The Hair Growth Promoting Effect of *Butea superba* Roxb. Extract

โดย

นาย จารุภัค แสนสมชัย

นางสาว มยุรมาศ แสงเงิน

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ประจำปี พ.ศ.2552

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยความกรุณาจากทุนมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ผู้ให้การสนับทุนแหล่งทุนทรัพย์ ในการวิจัยเพื่อความก้าวหน้าในสาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางในด้านสุขภาพ ผู้เขียนขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย ศิริชนะ อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง รองศาสตราจารย์ ดร. ชยาพร วัฒนศิริ รองอธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และรองศาสตราจารย์ พรรณวิภา กฤษฎาพงษ์ คณบดีสำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง ที่ได้ให้การสนับสนุน และส่งเสริมการศึกษาวิจัยครั้งนี้ตลอดมา ขอขอบคุณผู้ร่วมงานวิจัย เจ้าหน้าที่มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณ ดร. ไชยยง รุจจนเวท ที่ได้ให้กำลังใจ การแนะแนวประกอบการทำวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์เพื่อพัฒนาสถาบันการศึกษา และต่อผู้บริหารสถานศึกษา ตลอดจนหน่วยงานต่างๆ ที่มีบทบาทและหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง หากมีสิ่งใดผิดพลาด หรือข้อบกพร่องประการใด ผู้เขียนขอน้อมรับ และขออภัยไว้ ณ ที่นี่ด้วย

จารุภัค แสนสมชัย หัวหน้าโครงการวิจัย

31 ตุลาคม 2555

บทสรุปผู้บริหาร

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการส่งเสริมการเจริญของเส้นผมโดยใช้เซลล์เส้นผมต้นแบบที่ทำการทดลองในหลอดทดลอง จากการทดลองเบื้องต้นเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดกวาวเครือแดงเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป โดยนำสาสรสกัดกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ บ่มการเซลล์ต้นแบบของเส้นผม เปรียบเทียบกับเซลล์เส้นผมต้นแบบที่ไม่บ่มกับสารใดๆ เลย และเปรียบเทียบกับเซลล์เส้นผมต้นแบบที่บ่มกับสารกระตุ้นการเจริญของเส้นผม คือยา minoxidril พบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงความเข้มข้นสูงที่สุดที่สามารถนำมาใช้ในการทดลองต่อไป โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์เส้นผมต้นแบบคือ สารสกัดกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงใช้สารสกัดกวาวเครือแดงที่ไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของเซลล์เส้นผมต้นแบบ เพื่อทำการทดลองในการส่งสัญญาณในระดับโมเลกุลต่อไป

จากการทดลองพบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงสามารถส่งผลให้เซลล์เส้นผมต้นแบบมีการเจริญได้ดีขึ้น โดยการส่งสัญญาณระดับโมเลกุล โดยเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มโปรตีนส่งสัญญาณที่มีชื่อว่า โปรตีน IGF-1 ทำให้เกิดการกระตุ้นการเจริญของเส้นผม แต่ในทางกลับกันสารสกัดกวาวเครือแดง ไม่สามารถส่งผลต่อการลดจำนวนของโปรตีนส่งสัญญาณที่มีชื่อว่า TGF-β1 ได้ โดยโปรตีนการส่งสัญญาณนี้จะทำให้เกิดการหลุดร่วงของเส้นผม โดยการทดลองระดับโมเลกุลนี้ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบกับยา minoxidril ที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญของเส้นผมผ่านโปรตีนส่งสัญญาณที่มีชื้อว่า IGF-1 อีกทั้งยานี้สามารถยับยั้งการเจริญโปรตีนส่งสัญญาณที่ทำให้เกิดการหลุดร่วงของเส้นผมคือ โปรตีน TGF-β1

จากการทดลองนี้สามารถนำไปสู่ความรู้เรื่องสารสกัดสมุนไพรที่ที่ออกฤทธิ์ต่อการเจริญของเส้นผม ที่สามารถส่งสัญญาณในระโมเลกุล อันเป็นกลไกที่ออกฤทธิ์จากภายใน โดยยังเป็นแนวทางการใช้สมุนไพรในตำรับยาไทยให้เป็นประโยชน์ในระดับสากล เพื่อทดแทนการใช้ยา หรือสารเคมี อีกทั้งเป็นทางเลือกของการใช้สมุนไพรเพื่อการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุล นอกจากนี้การใช้ประโยชน์จากการวิจัยนี้ยังเป็นการต่อยอดการพัฒนาคุณค่าทางสมุนไพรไทยเพื่อการใช้ทางด้านความงาม การเสริมสร้างบุคคิลภาพของบุคคลโดยทั่งไปอีกด้วย

ชื่อเรื่อง ผลของสารสกัดกวาวเครือต่อการส่งเสริมการเจริญของเส้นผม

คณะผู้ทำวิจัย 1. จารุภัค แสนสมชัย หัวหน้าโครงการวิจัย

2. มยุรมาศ แสงเงิน ผู้ร่วมโครงการวิจัย

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงต่อการเจริญของเส้นผม โดยใช้เซลล์ hair epithelium โดยมีการตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดกวาวเครือแดงด้วยวิธี MTT เปรียบเทียบกับ Minoxidil และตรวจสอบผลการส่งเสริมการงอกของเส้นผม ผ่านการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor อีกทั้งยังตรวจสอบการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการเจริญของเส้นผม พบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุด ที่สามารถทำให้เกิดการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 โดยไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ hair epithelium แต่ไม่มีผลต่อการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน TGF−β1 ได้ ส่วน Minoxidil ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมล่าห์ เป็นความเข้มข้นที่มากที่สุดที่ไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ hair epithelium และยังส่งผลในการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 อีกทั้งยังสามารถยังยั้งการแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 ได้ จึงสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดกวาวเครือแดงมีฤทธิ์ในการส่งเสริมโปรตีนการงอกของเส้นผม แต่ไม่ได้ยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนที่ยับยั้งการงอกของเส้นผมได้

คำสำคัญ; สารสกัดกวาวเครือแดง, IGF-1, TGF-β1, เซลล์ hair epithelium

Project Title **The hair growth promoting effect of *Butea superba* Roxb. extract**

Members **1. Jarupux Saansoomchai** **Head of the project**

2. Mayuramas Sang-Ngern **Member**

Abstract

This research was study the effect of *B. superba* crude extract to promote the hair growth by using hair epithelium cell. This study was examined the toxicity of *B. superba* extract by MTT test. That was compared with Minoxidil, to check the enhancement of hair growth by IGF-1 protein expression. Moreover, examine the inhibition of the TGF-β1 protein expression. The results showed that *B. superba* extract at the concentration 100 μg/ml show the best concentration in IGF-1 protein expression and not have toxicity to hair epithelium cell. On the other hand, the *B. superba* extract not shows the effect to TGF-β1 protein expression. For the Minoxidil, Minoxidil at concentration 100 μM that is the best concentration, not show the toxicity to hair epithelium cell, have the effect in increasing the IGF-1 protein expression, and show inhibitory effect to TGF-β1 protein expression. In the conclusion, the *B. superba* extract show ability in promotion the protein of hair growth but not inhibit protein expression that is the inhibitory effect on hair growth.

Keywords; *B. superb* extract, IGF-1, TGF-β1, Hair epithelium cell

สารบัญ

		หน้า
กิตติกรรมประกาศ		**ข**
บทสรุปผู้บริหาร		**ค**
บทคัดย่อภาษาไทย		**ง**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		**จ**
บทที่ 1 บทนำ		**1**
1.1	ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2	วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.3	ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4	คำถามหลักของงานวิจัย	3
1.5	ทฤษฎี สมมติฐาน หรือกรอบแนวคิดขอโครงงานวิจัย	3
1.6	ขอบเขตการวิจัย	5
1.7	ระยะเวลาในการดำเนินงาน	6
1.8	นิยามศัพท์	6
1.9	คณะนักวิจัยและที่ปรึกษางานวิจัย	7
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง		**8**
2.1	แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและครอบคลุมงานวิจัย	8
2.2	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย		**10**
3.1	ระเบียบวิธีการวิจัย	10
3.2	กิจกรรมวิจัย ขั้นตอนการดำเนินงาน การวิเคราะห์ทดสอบ การติดตามผล	12
3.3	สถิติที่ใช้ในการวิจัย	12
บทที่ 4 ผลการศึกษาวิจัย		**13**
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ		**20**
ภาคผนวก		

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1.1	ระยะเวลาในการดำเนินงาน	6
ตารางที่ 4.1	แสดงผลของการสกัดหยาบและร้อยละโดยน้ำหนักของกวาวเครือแดง	13
ตารางที่ 4.2	แสดงผลของการรอดชีวิตของเซลล์ Epithelium ของเส้นผม เมื่อได้บ่มสารต่างๆ กับเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	14

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 4-1	การวิเคราะห์โปรตีน IGF-1 growth factor ด้วยวิธี western blot	15
ภาพที่ 4-2	จำนวนเท่าของโปรตีน IGF-1 growth factor	16
ภาพที่ 4-3	การวิเคราะห์โปรตีนTGF-β1 growth factor ด้วยวิธี western blot	17
ภาพที่ 4-4	จำนวนเท่าของโปรตีน TGF-β1 growth factor	18

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันนี้มนุษย์เรามีปัญหาด้านสุขภาพมากมาย ไม่ว่าจะเป็นโรคที่เกิดขึ้นจากพาหะ หรือโรคที่เกิดจากยีนที่ติดตัวมาแต่กำเนิด ซึ่งทั้งหมดนี้เป็นปัญหาด้านสุขภาพ และบุคลิกภาพ โรคที่เป็นปัญหา และพบมากทั้งในผู้ชาย และผู้หญิง คือโรคผมร่วง โดยปัญหานี้มักเกิดขึ้นกับบุคคลที่มีอายุอยู่ในวัยกลางคน โดยโรคนี้ก่อให้เกิดบุคลิกภาพที่ไม่ดี และทำให้บั่นทอนความมั่นใจเวลาต้องออกไปดำเนินชีวิตในระหว่างวัน โดยปกติทั่วไปแล้ว เส้นผมของคนเราจะมีการผลัดเปลี่ยนหมุนเวียนกันอยู่ตลอดเวลาตามวัฏจักรธรรมชาติของเส้นผม ซึ่งโดยทั่วไปจะไม่เกิดผลกระทบใดใดต่อบุคคลนั้น แต่ถ้าวัฏจักรตามธรรมชาติมีความผิดปกติ เช่น ความเครียด อายุ การใช้สารเคมีเกี่ยวกับเส้นผมมากเกินไป หรือความผิดปกติของยีนที่แสดงออก ก็อาจส่งผลถึงความผิดปกติของการงอกและหลุดร่วงของเส้นผมด้วย โดยพืชมีความสำคัญในชีวิตประจำวันของมนุษย์มากมายเช่น ใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งในอาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง สีย้อม และยารักษาโรค พืชมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์เรา เนื่องจากพืชเป็นแหล่งรวมสาระสำคัญนานาชนิด อีกทั้งประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพทางทรัพยากรพืช ดังจะเห็นได้จากรายงานทางวิทยาศาสตร์มากมายที่ใช้พืชที่สามารถพบได้ในประเทศไทย เป็นเครื่องมือในการวิจัย

จากข้อมูลทางวิทยาศาสตร์พบว่าวงจรของเส้นผมมีอยู่ 3 วงจร คือ วงจรการเจริญ (anagen), วงจรถดถอย (catagen), และวงจรพักตัว (telogen) ปัญหาผมร่วงนั้นเกิดจากวงจรการเจริญมีระยะเวลาน้อย หรือการเข้าสู่วงจร catagen ที่เร็ว หรือการที่วงจร catagen มีระยะเวลานาน ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของการเกิดผมร่วง (Toshihiko, 2004) ปัจจัยที่มีผลควบคุมวงจร catagen คือ ฮอร์โมน androgen โดยการควบคุมนี้เป็นผลเนื่องมาจากฮอร์โมน thyroid และวิตามิน ดี (Hsieh, 2003) จากการศึกษาในหนูทดลองพบว่าปัจจัยมากมายที่มีผลต่อวงจร catagen ไม่ว่าจะเป็นปัจจัยภายนอก เช่น การหวี การทำร้ายเส้นผมที่รุนแรง (การย้อมสีผม, การดัดผม, การอบไอน้ำเป็นเวลานาน เป็นต้น) การเกิดรังแค และปัจจัยจากภายในเช่น transforming growth factor-β (TGF- β) (Rho, 2005, Foitzil, 2000 และ Maria, 1998), fibroblast growth factor-5 (FGF-5) (Suzuki, 2000), insulin like growth factor (IGF) (Rho, 2005) พืชมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์เรา เนื่องจากพืชเป็นแหล่งรวมสารสำคัญนานาชนิด อีกทั้งประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพทางทรัพยากรพืช

ดังจะเห็นได้จากรายงานทางวิทยาศาสตร์มากมายที่ใช้พืชที่สามารถพบได้ในประเทศไทย เป็นเครื่องมือในการวิจัย

กวาวเครือแดงเป็นพืชมีหัวใต้ดินที่สามารถทานได้ และเป็นพืชที่ใช้ในการรักษาการแสดงออกถึงลักษณะความเด่นชัดของผู้ชาย (Cherdshewasart, 2008) และสามารถใช้รักษาผู้ที่มีปัญหาการหลั่ง (erectile dysfunction)ในผู้ชายไทย (Cherdshewasart, 2003) อีกทั้งกวาวเครือแดงยังถูกจัดอยู่ในทะเบียนยาแผนโบราณจากคณะกรรมการอาหารและยาของไทย และกวาวเครือแดงยังถูกประกาศจากกระทรวงสาธารณะสุข ให้เป็นสมุนไพรควบคุม ในปี 2549 คือเป็นสมุนไพรที่คุณค่าทางเศรษฐกิจ และงานวิจัย งานวิจัยที่ทดสอบฤทธิ์ของกวาวเครือแดง เช่นฤทธิ์การต้านแพร่ของเซลล์มะเร็งเต้านม (Cherdshewasart, 2004 และ Ingram, 1997) สาร Phyto-estrogen นี้เป็นสารที่มีความสำคัญต่อมนุษย์เรา (Murkies, 1998) สาร Phytoestrogen นี้สามารถพบได้ในพืชกวาวเครือแดง (Cherdshewasart, 2004) โดยสารสกัดจากพืชนี้สามารถใช้ป้องกันผู้ที่มีภาวะไม่สมดุลของฮอร์โมน estrogen (Sukawattana, 1940 และ Muangman, 2001) อีกทั้งยังพบสารสำคัญมากมายเช่น daidzin, daidzein, genistein, coomestrol, genistin (Ingham, 1989), puerarin, mirificin (Ingham, 1986), kwakhurin (Tahara, 1987) โดยสารเหล่านี้อยู่ในกลุ่มของสาร isoflavonoids (Chansakaow, 2000) ในการนี้ยังขาดการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการเจริญของเส้นผม ซึ่งในการควบคุมการเจริญของเส้นผมนั้น ขึ้นอยู่กับ growth factor มากมายเช่น IGF-1 growth factor และ TGF-β1 growth factor

จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการแสดงออกของเจริญของเส้นผม หรือการป้องกันการร่วงของเส้นผม ผ่านทาง IGF-1 growth factor และ TGF-β1 growth factor

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1 เพื่อทราบถึงผลความเป็นพิษของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการเจริญของเซลล์เส้นผม

2 เพื่อทราบถึงความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการแสดงออกของ IGF-1 growth factor และ TGF-β1 growth factor กับ minoxidil

3 เพื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการแสดงออกของ IGF-1 growth factor และ TGF-β1 growth กับ minoxidil

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรไทย เพื่อเพิ่มมูลค่าของพืชท้องถิ่น

2. น่าจะพบสารมีฤทธิ์ที่ดีในการส่งเสริมการงอกของเส้นผม เพื่อลดการนำเข้าสารสำคัญจากต่างประเทศ
3. ได้ข้อมูลพื้นฐานที่มีประโยชน์ในการพัฒนายาจากพืชสมุนไพรไทย เพื่อการผลิตเชิงปริมาณ
4. ในการผลิตและการแปรรูป จะทราบถึงการปรับปรุงขั้นตอนการผลิตเพื่อให้ได้กวาวเครือที่มีคุณภาพดี
5. ได้ทราบถึงการงอกของเส้นผมผ่านการกระตุ้นจากสาร cytokine
6. ได้ทราบถึงกลไกการควบคุมการงอกของเส้นผม

1.4 คำถามหลักของงานวิจัย

สารสกัดจากกวาวเครือแดงสามารถส่งเสริมให้มีการงอกของเส้นผมผ่านทาง IGF-1 growth factor และ TGF-β1 growth factor ได้หรือไม่

1.5 ทฤษฎี สมมติฐาน หรือกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

การเกิดผมร่วง และหัวล้านนั้น เป็นผลมาจากฮอร์โมน Androgen และส่งผลต่อการที่วงจรของเส้นผมจากวงจร anagen ล่วงเข้าสู่วงจร catagen เร็วขึ้น และจะส่งผมต่อการหลุดร่วงของเส้นผมเร็วขึ้น ในการที่จะเข้าใจถึงกระป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผมนั้น มีกระบวนการสำคัญที่ต้องทำความเข้าใจคือ 1. กลไกการเหนี่ยวนำให้วงจร anagen นั้นให้คงอยู่นานๆ 2. การลดระยะวงจร anagen ล่วงเข้าสู่วงจร catagen 3. กลไกของฮอร์โมน androgen ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นผมนั้นให้คงอยู่ได้นาน (Rho, 2005) จากปัจจัยของฮอร์โมน ซึ่งเป็นปัจจัยพื้นฐานจากภายในนั้น ฮอร์โมน androgen จะถูกแปรสภาพไปเป็นสารที่มีชื่อว่า Dihydrotestosterone (DHT) (Thigpen, 1992 และ Hoffmann, 2000) ในการนี้มันจะส่งผลกระตุ้นต่อการสังเคราะห์ transforming growth factor-β2 (TGF- β2) ในกลุ่มเซลล์ของ DP โดย TGF- β2 จะยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ epithelial ในกลุ่มเซลล์รากผม และส่งผลต่อการสร้างของเอนไซม์ตัวทำลายเซลล์ epithelial ในกลุ่มเซลล์รากผมแทน นั่นก็คือ เอนไซม์ caspase โดยในการนี้ตัวของ TGF-β2 ที่ทำงานเป็นโครงข่ายร่วมกับ caspase จะส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ epithelial ในกลุ่มเซลล์รากผม และจะถูกกำจัดออกไปแบบ apoptotic ดังนั้นเพื่อป้องกันการทำลายเซลล์ epithelium ในกลุ่มเซลล์รากผมนี้ สารหรือตัวที่ทำหน้าที่ต้านการทำงานของ TGF- β จะต้องมี

ผลต่อการเปลี่ยนแปลงการเข้าสู่วงจร catagen โดยจะต้องมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่นการเพิ่มขนาด หรือจำนวนเซลล์ DP ในกลุ่มเซลล์รากผม อีกทั้งจะต้องยืดอายุของ follicle เส้นผม (Toshihiko, 2004) ทั้งนี้นอกจากกลไกที่กล่าวมาในข้างต้นนั้น ยังมีการศึกษาจากนักวิทยาศาสตร์ทั้งการศึกษาจากหลอดทดลอง และในสิ่งมีชีวิต พบว่ากระบวนการต่อไปนี้เป็นหลักฐานสำคัญ หรือแนวทางสำคัญในการเกิดวงจร catagen โดยเหล่านี้จะเป็นสาเหตุของการเกิดผมหลุดร่วง และทำให้เกิดสภาพหัวล้านในผู้ชายส่วนใหญ่ (1) การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน testosterone ไปเป็น DHT โดยเอนไซม์ 5-α-reductase ชนิดที่ 2; (2) การที่ในกลุ่มเซลล์ของ DP สังเคราะห์ TGF- β2; และสุดท้าย (3) การเกิดการกระตุ้นของระบบการทำงานของเอนไซม์ Caspase ส่งผลให้เกิดการทำลายเซลล์ epithelium ใน DP โดยทั้งหมดนี้เป็นหลักฐานสำคัญโดยสรุปที่ทำให้วงจรชีวิตของเส้นผมเรามีระยะเวลาสั้นลง (Toshihiko, 2004)

Cytokines หรือสารส่งสัญญาณระดับโมเลกุลหลายชนิด การตัวที่ส่งผลต่อโปรตีนที่เป็น Growth factors หลายตัวที่มีผลต่อการควบคุมการเจริญ หรือการงอกของเส้นผม โดยในนี้พบว่ามีโปรตีนดังต่อไปนี้เช่น epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor-α (TGF-α) และ TGF β, keratinocyte growth factor (KGF), insulinlike growth factor-1 (IGF-1), interleukin-1 (IL-1), basic fibroblast growth factor (bFGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), และ hepatocyte growth factor (HGF) เมื่อ DP ได้รับการกระตุ้น หรือการส่งสัญญาณจากสารเหล่านี้จะส่งผลต่อสภาวะเคมีโดยรอบกลุ่มเซลล์ DP และจะส่งผลต่อการเจริญของเส้นผม (Rho, 2005, Danilenko, 1996, Fujie, 2001, Tsuboi, 1993 Lachgar, 1996, และ Toshihiko, 2004)

ทั้งนี้ผลจากโปรตีน Growth factors ต่างๆ เหล่านี้ที่มีความสำคัญ และเป็นที่รู้ดีว่ามีผลต่อการหลุดร่วงของเส้นผม นั่นก็คือฮอร์โมน androgens ฮอร์โมน androgens นี้เป็นที่รู้โดยทั่วไปอยู่แล้วว่า เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการหลุดร่วงของเส้นผม และทำให้เกิดสภาพหัวล้านในที่สุด และสภาวะเช่นนี้เป็นเรื่องที่เกี่ยงข้องกับสายพันธุ์กรรมด้วย ฮอร์โมนtestosterone และฮอร์โมน DHT ซึ่งฮอร์โมนสำคัญสองชนิดนี้เกี่ยวข้องเป็นอย่างมากต่อการเจริญ หรือการหลุดร่วงของเส้นผม โดยฮอร์โมน testosterone จะถูกเปลี่ยนเป็นฮอร์โมน DHT โดยการกระทำของเอนไซม์ 5α-reductase โดยฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้เป็นฮอร์โมนหลักสำคัญในกลุ่มฮอร์โมน androgen โดยฮอร์โมนหลักในการเกิดการเปลี่ยนแปลง การเจริญ หรือการหลุดร่วงของเส้นผม คือ ฮอร์โมน DHT และ เอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้มีอยู่สอง

รูปแบบที่สำคัญคือ 5α-reductase ชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 และฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้มีการแสดงออกอย่างมากให้เพศชาย (Tilakaratne, 2001 และ Sooriyamoorthy, 1989)

เอนไซม์ 5α-reductase ชนิดที่ 1 จะแสดงออกได้เด่นในส่วนกะโหลกศีรษะ ส่วน5a-reductase ชนิดที่ 2จะมีส่วนสำคัญโดยจะควบคุมการเจริญของเส้นผม ฮอร์โมน Androgens มีผลกระทบต่อกลุ่มเซลล์ DP โดยจะส่งสัญญาณ paracrine เช่นสาร growth factors ดังที่กล่าวมาแล้วในข้างต้น เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งว่า กลุ่มฮอร์โมน Androgen มีผลอย่างมากต่อการเจริญของเส้นผมของมนุษย์เรา จากการรายงานเมื่อไม่นานมานี้ในกลุ่มเซลล์ DP นั้นสารสื่อสัญญาณ TGF-b ชนิดที่ 1 มีผลอย่างมากต่อการกระตุ้นฮอร์โมน Androgen อีกทั้งยังมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของกลุ่มเซลล์ Epithelial ใน DP ในทางกลับกันฮอร์โมน Androgen ที่ส่งผลต่อสารสื่อสัญญาณ IGF-1 และ IGF-1 ที่ถูกปล่อยออกมาจากกลุ่มเซลล์ DP นั้น มีความสำคัญต่อการส่งเสริมองค์ประกอบรอบเซลล์ Epithelial และตัวของเซลล์ Epithelial เองด้วย ทั้งที่กลไก หรือข้อมูลต่างๆ ที่แสดงถึงการควบคุมการเจริญของเส้นผมในมนุษย์เรานั้น ยังไม่เป็นที่กระจ่างชัด

กวาวเครือแดงเป็นพืชที่มีสาร flavonoid และ flavonoid glycoside ซึ่งมีผลยับยั้ง cAMP phosphodiesterase (Roengsumran, 2000) จากการทดลองพบว่าพืชนี้ใช้ในการแพทย์ทางเลือกในการบำบัด erectile dysfuncetion (Cherdshewasart, 2003) ยับยั้งเอนไซม์ acetylcholineesterase (Inkaninan, 2003) ซึ่งน่าจะคาดเดาได้ว่าพืชนี้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด anti-estrogenic และ androgenic effect (Cherdshewasart, 2004)

ผู้วิจัยจึงสนใจในการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดกวาเครือแดงต่อการแสดงออกของเจริญของเส้นผม หรือการป้องกันการร่วงของเส้นผม โดยการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นหรือแนวทางการศึกษาของ การใช้สารสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่ส่งผลต่อการส่งเสริมการเจริญของเซลล์เส้นผมโดยผ่านโปรตีนควบคุมที่มีชื่อว่า IGF-1 growth factor และ การใช้สารสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่ส่งผลต่อการยับยั้งโปรตีนควบคุมที่มีชื่อว่า TGF-β1 growth factor ซึ่งเป็นโปรตีนที่ผลต่อการหลุดร่วงของเส้นผม

1.6 ขอบเขตการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างกวาวเครือแดง และสกัดด้วยตัวทำละลาย
2. ตรวจสอบผลของสารสกัดกวาวเครือแดง และยา minoxidil ต่อความเป็นพิษของเซลล์ epithelium เส้นผม

3. ตรวจสอบผลจากสารสกัดกวาวเครือแดง และยา minoxidil ต่อการเพิ่มแสดงออกของโปรตีน IGF-β growth factor และการลดแสดงออกของโปรตีน TGF-β growth factor

1.7 ระยะเวลาในการดำเนินงาน

ตารางที่ 1.1 ระยะเวลาในการดำเนินงาน

ขั้นตอน	เดือน											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. เก็บตัวอย่าง และสกัดด้วยตัวทำละลาย	←	→										
2. ตรวจสอบการงอกของเส้นผม/ IGF-1		←	→									
3. ตรวจสอบการงอกของเส้นผม/ TGF-β1				←	→							
4. ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัด/ IGF-1						←	→					
5. ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัด/ TGF-β1								←	→			
6. สรุปผลการทดลองเขียนรายงาน และ Manuscript										←	→	

1.8 นิยามศัพท์

กวาวเครือแดง (*Butea superb* Roxb.) เป็นพืชที่สามารถพบได้ง่ายในป่าของประเทศไทย โดยทั่วไปคนไทยเรียกว่า กวาวเครือแดง โดนพืชนี้มีการใช้อย่างมากมายในการแพทย์เพื่อการกระตุ้นพลังเพศชาย (Male sexual vigor) (Cherdshewasart, 2004)

Dermal papilla (DP) โดยกลุ่มเซลล์นี้มีส่วนช่วยในการควบคุมการเจริญของเส้นผม โดยความสามารถนี้ มันจึงเป็นตัวการสำคัญที่ใช้ในการศึกษาการควบคุม การเจริญของเส้นผม โดยพบว่า ขนาดของ DP จะมีความสัมพันธ์เป็นอย่างมากต่อวงจรชีวิตการเจริญของเส้นผม อีกทั้งยังพบว่าจำนวนเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของ DP นี้จะมีผลต่อระยะแอนนาเจน (Toshihiko, 2004)

Minoxidil เป็นอนุพันธ์ของ pyrimidine (2, 4-diamino-6-piperidino-pyrimidine-3-oxide) โดยก่อนหน้านี้ใช้เพื่อ anti-hypertensive นอกจากนี้สารนี้ยังใช้ทั่วไปเพื่อเป็นยาใช้รักษาอาการผมร่วง ถ้ามีการใช้ยานี้มาเกินไป และถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดจะทำให้เกิดอาการหน้ามืดเนื่องจากความดันโลหิตต่ำ (Han, 2004)

1.9 คณะนักวิจัยและที่ปรึกษางานวิจัย

1. ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.	พรรณวิภา กฤษฎาพงษ์
Assoc. Prof.	Panvipa Krisdaphong, Ph.D.
ตำแหน่งปัจจุบัน	รองศาสตราจารย์ คุณวุฒิ Ph.D.
สถานที่ติดต่อ	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ตำบลท่าสุด อำเภอเมืองเชียงราย จังหวัดเชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6833
โทรสาร	0-5391-6831
E-mail:	panvipa@mfu.ac.th

2. นายพหล แสนสมชัย หัวหน้าโครงการวิจัย

สัดส่วนงานที่ทำวิจัย	ร้อยละ 80
ที่อยู่	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อำเภอเมือง เชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6836

3. นางสาว มยุรามาศ แสงเงิน ผู้ร่วมโครงการวิจัย

สัดส่วนงานที่ทำวิจัย	ร้อยละ 20
ที่อยู่	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อำเภอเมือง เชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6833

บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและครอบคลุมงานวิจัย

การหลุดร่วงของเส้นผม

Androgenic alopecia (AGA) เป็นพันธุกรรมอันเนื่องมาจากฮอร์โมน androgen ทำให้เกิดลักษณะเส้นผมบนหนังศีรษะบาง และทำให้เกิดผมร่วงในที่สุด โดยการนี้ยังไม่ทราบกลไกทางพันธุ์กรรมที่แน่ชัด แต่ที่ได้ศึกษานั้นเนื่องมาจาก metabolism ของฮอร์โมน androgen ซึ่งการเกิดกระบวนการนี้เป็นผลเนื่องมาจากการจับตัวกันของ dihydrotestosterone (DHT) กับ androgen receptor (AR) การทำงานของเซลล์ที่ขึ้นอยู่กับ DHT จะแปรผันกับสัญญาณของ androgen ที่อ่อน และจะมีผลจากการทำงานของ 5alpha-reductase โดยเอนไซม์นี้เรียกว่า low enzymatic activity of androgen inactivating enzymes และสามารถกระตุ้น AR ได้เป็นอย่างดี ในการเกิดเหตุการณ์เช่นนี้จะทำให้บริเวณหนังศีรษะมีปริมาณของ DHT สูง ซึ่งจะมีผลทำให้เกิด AR ในปริมาณที่สูง การเปลี่ยนแปลงของ testosterone ไปเป็น DHT ในเซลล์ dermal papilla เชื่อว่ามีอิทธิพลมาจากการเจริญเติบโตขององค์ประกอบอื่นๆ ของ follicle ของเส้นผม ในปัจจุบันนี้สามารถรักษาอาการนี้ได้เนื่องจากรับประทานยา finasteride ซึ่งเป็นตัวยับยั้งแบบแข่งขันกับ 5alpha-reductase แบบที่ 2 และการใช้ยา minoxidil คือ ตัวเปิดช่องของ adenosine-triphosphate-sensitive potassium ที่เคยมีรายงานว่ากระตุ้นการสร้าง vascular endothelial growth factor ในเซลล์ dermal papilla เนื่องจากการทดลองที่มีการรักษา AGA ด้วยการจำกัดตัวควบคุม androgen metabolism หรือ promoter ของการเจริญของเส้นผม การเกิดผมร่วงอย่างถาวรเกี่ยวเนื่องจากการอักเสบอย่างถาวรในระดับ microscopic follicular กับการเกิดใหม่ของเนื้อเยื่อเกี่ยวกัน (connective tissue) (Ralph, 2002)

ในกวาวเครือแดงนี้เป็นพืชที่ได้รับการทดลองที่สามารถก่อกวน androgen และได้ทดสอบความเป็นพิษจากหนูตัวผู้แล้ว พบว่าไม่ก่อให้เกิดพิษ และยังมีผลต่อระดับ testosterone ในกระเลือด (Cherdshewasart, 2008)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความรู้ในระดับโมเลกุลของ alopecias หรือโรคอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับเส้นผมบนหนังศีรษะนั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่ในการพัฒนาการการควบคุมปัญหานั้นสามารถทำได้แค่เปลี่ยนแปลงการควบคุมของระยะเวลาวงจร follicle ของเส้นผมคือ anagen, catagen, และ telogen สำหรับ alopecia areate นั้นเป็นผลเนื่องจาก การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของตัวเอง (McElwee, 1999) ในแต่ละ follicle ของเส้นผมจะมีสัญญาณระยะเวลาวงจรของเส้นผมแต่ละเส้นเอง ซึ่งในการส่งสัญญาณในการเจริญเติบโตของเส้นผมแต่ละเส้นจะขึ้นอยู่กับ follicle ของมันเอง โดยเครือข่ายการส่งสัญญาณที่จะเหนี่ยวนำให้เกิด catagen และ telogen นั้นซับซ้อนมาก (Rogers, 2001) จากการทดลองในสัตว์ทดลองที่ใส่ TGF-β1 ลงไปในยีนพบว่าทำให้จำนวนของ follicle ลดลง และทำให้เส้นผมหยุดการเจริญเติบโต (Selheyer, 1993) และในการทดลองในสัตว์ทดลองที่ใส่ IGF-1 ลงไปในยีนพบว่าทำให้ follicle ของเส้นผมมีการเจริญดีมากกว่าสัตว์ทดลองปกติ (Bol, 1997) ในการศึกษาของ Rho และคณะ ปี 2005 พบว่าสาร cytokine ที่ผลต่อการหลุดร่วงของเส้นผมคือ TGF-β1 และสาร cytokine ที่มีผลต่อการเจริญงอกงามของเส้นผม คือ IGF-1

ในปัจจุบันนี้มียามากมายที่สามารถรักษาการเกิด alopecia เช่น minoxidil จากการศึกษาพบว่ายานี้ที่ความเข้มข้น 0.01-1.0 μM สามารถกระตุ้นการเจริญของ dermal papilla ของเส้นผมได้ (Han, 2004) แต่บางรายงานพบว่า minoxodil นี้มีผล 2 แบบคือ ในระดับ micromolar จะมีผลต่อการเจริญเติบโต และมีผลต่อการแบ่งเซลล์ keratinocyte ของมนุษย์เรา และในระดับ millimolar จะมีผลต้านการเจริญเติบโต และต้านการแบ่งเซลล์ keratinocyte ของมนุษย์เรา (Lachgar, 1998) นอกจากนี้มีการให้ minoxidil และ/หรือควบคู่ไป placebo ทำให้ทราบว่าบางครั้ง ยานี้ก็ไม่มีฤทธิ์การป้องกันการเกิดผมร่วงและก็ไม่มีรายงานการเกิดการเจริญใหม่ของเส้นผม (Duvic, 1996)

จากรายงานการทดลองจากชาวไทยพบว่าสารสกัดจากกวาวเครือสามารถต้านการแบ่งตัว และต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง MCF-7 มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของเส้นผม (Cherdshewasart, 2004) และยังมีรายงานการทดลองในการใช้สารสกัดกวาวเครือแดงกับหนูเพศผู้พบว่าสารสกัดจากกวาวงเครือแดงมีผลทำให้ฮอร์โมน testosterone ลดลง (Cherdshewasart, 2008)

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 ระเบียบวิธีวิจัย

1. ทางด้านเคมี

ศึกษาการสกัดสารสำคัญจากกวาวเครือแดง

วิธีการดำเนินงาน

1. เตรียมตัวอย่างพืช

   ตัวอย่างกวาวเครือแดงได้รับจาก ชมรมรักษ์สมุนไพรลำปาง ต.บ่อแห้ว อ. เมือง จ.ลำปาง โดยตัวอย่างพืชได้ทำการยืนยัน และรับรองจากทางชมรมรักษ์สมุนไพรลำปาง (177 ม. 12 บ้านเขลางค์ทอง ถ. คันเหมือง ต. บ่อแฮ้ว อ. เมือง จ. ลำปาง)

2. แยกสกัดด้วยตัวทำละลาย

   นำผงแห้งกวาวเครือแดงตัวอย่างที่ได้มาทำการหมักด้วยเอธานอลให้ท่วมผงกวาวเครือแดง ทำการสกัด 7 วัน จากนั้นนำไประเหยเพื่อเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator และนำไประเหยเอาน้ำคงค้างออกด้วยเครื่อง freeze dryer จรได้สารสกัดกวาวเครือแดงที่เป็นผงแห้ง

การเตรียมสารละลายเพื่อการทดสอบปฏิกิริยาการส่งสัญญาณระดับเซลล์

1. นำส่วนสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่ได้เตรียมเป็นสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ เก็บที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอทดสอบส่งสัญญาณระดับเซลล์

การเตรียมเซลล์ Hair epithelium เพื่อใช้ในการทดลอง (Messenger AG., 1984)

ในการเตรียมเซลล์นี้ได้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการให้เหมาะสมบ้างจาก Messenger AG., ในปี ค.ศ. 1984

1. เซลล์ epithelium เส้นผมได้รับความอนุเคราะห์จาก อาจารย์ คมศักดิ์ พินธะ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ทำการแยกเซลล์ Hair epithelium มาเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหาร 10% FBS ใน DMEM สภาวะ 5% CO_2 37 ^{o}C

3. ทำการเลี้ยงเซลล์จนเซลล์สามารถพัฒนาการแบ่งตัวได้จำนวน 1 ล้านเซลล์ต่อปริมาตร

4. ตรวจสอบกลไกการงอกของเส้นผมผ่านทาง IGF-1 growth factor (Rho S. S.และคณะในปี ค.ศ. 2005)

ในการเตรียมเซลล์นี้ได้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการให้เหมาะสมบ้างจาก Rho S. S. และคณะในปี ค.ศ. 1984

1. เตรียมเซลล์ Hair epithelium โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM เลี้ยงจนเซลล์มีปริมาณ 1 ล้านเซลล์ต่อ มิลลิลิตร
2. ทำการตรวจสภาพเซลล์ด้วย MTT [3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrolium bromide] 1 mg/ml (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) test เพื่อดูการรอดชีวิตของเซลล์
3. จากนั้นเอาเซลล์ที่เลี้ยงได้ 1 ล้านเซลล์มาตรวจหาปริมาณโปรตีน IGF-1 growth factor ด้วยวิธี western blot analysis โดยใช้คู่สมทางระบบภูมิคุ้มกันที่จำเพาะ
4. เปรียบเทียบปริมาณ IGF-1 growth factor ที่ได้กับปริมาณ IGF-1 growth factor หลังจากที่เซลล์ได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดกวาวเครือแดง
5. เปรียบเทียบปริมาณ IGF-1 growth factor ที่ได้กับปริมาณ IGF-1 growth factor หลังจากเซลล์ที่ได้รับยา Minoxidil (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (เป็นชุดควบคุม)

5. ตรวจสอบกลไกการงอกของเส้นผมผ่านทาง TGF-β1 growth factor (Rho S. S.และคณะในปี ค.ศ. 2005)

ในการเตรียมเซลล์นี้ได้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการให้เหมาะสมบ้างจาก Rho S. S. และคณะในปี ค.ศ. 1984

1. เตรียมเซลล์ Hair epithelium โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM เลี้ยงจนเซลล์มีปริมาณ 1 ล้านเซลล์ต่อ มิลลิลิตร

2. ทำการตรวจสภาพเซลล์ด้วย MTT [3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrolium bromide] 1 mg/ml (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) test เพื่อดูการรอดชีวิตของเซลล์
3. จากนั้นเอาเซลล์ที่เลี้ยงได้ 1 ล้านเซลล์มาตรวจหาปริมาณโปรตีน TGF-β1 growth factor ด้วยวิธี western blot analysis โดยใช้คู่สมทางระบบภูมิคุ้มกันที่จำเพาะ
4. เปรียบเทียบปริมาณ TGF-β1 growth factor ที่ได้กับปริมาณ TGF-β1 growth factor หลังจากที่เซลล์ได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดกวาวเครือแดง
5. เปรียบเทียบปริมาณ TGF-β1 growth factor ที่ได้กับปริมาณ TGF-β1 growth factor หลังจากเซลล์ที่ได้รับยา Minoxidil (Sigma-Aldrich, St. Louis< MO) (เป็นชุดควบคุม)

3.2 กิจกรรมวิจัย ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย การวิเคราะห์ทดสอบ การติดตามผล

1 สกัดสารสำคัญจากกวาวเครือแดง

2 ตรวจสอบกลไกการงอกของเส้นผมผ่านทาง IGF-1 growth factor

3 ตรวจสอบกลไกการงอกของเส้นผมผ่านทาง TGF-β1 growth factor

3.3 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

t-test ค่า $p < 0.05$ (ANOVA [c, PostTest + Bonferroni, SignificanceLevel < 0.05)

บทที่ 4 ผลการศึกษาวิจัย

4.1 ผลของการสกัดกวาวเครือแดง

ในขั้นตอนต่างก่อนทำการทดลองนั้นได้ทำการสกัดสารสำคัญจากกวาวเครือแดง จากการนำพืชกวาวเครือแดงตัวอย่างที่ได้รับจากสวนสมุนไพรลำปางมาทำการสกัดได้สาสกัดหยาบกวาวเครือแดง 26.63 กรัม คิดเป็นร้อยละ 2.63 จากน้ำหนักแห้ง 1013.37 กรัม ซึ่งผลการสกัดแสดงตังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงผลของการสกัดหยาบและร้อยละโดยน้ำหนักของกวาวเครือแดง

พืช	น้ำหนักแห้ง (ก.)	สารสกัดหยาบ (ก.)	ร้อยละโดยน้ำหนัก
***B. superb* Roxb.**	1013.37	26.63	2.63

4.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ Epithelium ของเส้นผม

ในขั้นตอนเพื่อจะทำการทดสอบผลของสารสกัดกวาวเครือแดงต่อการแสดงออก หรือการเจริญของสาร IGF-1 growth factor และ TGF-β1 growth factor นั้นจะต้องทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกวาวเครือแดง หรือหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่มีผลต่อเซลล์ Epithelium ของเส้นผมก่อนด้วยวิธีการทดสอบของ MTT ซึ่งทำการทดลอง 5 ซ้ำ โดยการทดลองนี้เป็นการทดลองเพื่อจะหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดกวาวเครือแดง ที่จะสามารถนำไปใช้ในการทดลองต่อๆ ไปได้

จากการนำสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ มาทำการบ่มกับเซลล์ epithelium ของเส้นผม เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว ทั้งหมดถูกนำมาวิเคราะห์การรอดชีวิตด้วย MTT test โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm และนำมาคำนวณร้อยละการรอดชีวิตจากสมการ

ร้อยละการรอดชีวิต = $(A_x \times 100)/A_{control}$

และข้อมูลทั้งหมดจัดแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงผลของการรอดชีวิตของเซลล์ Epithelium ของเส้นผมเมื่อได้บ่มสารต่างๆ กับเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

สารทดสอบ	ค่าการดูดกลืนแสง A_{540}	ร้อยละการรอดชีวิต
Control	0.999 ± 0.004	99.90
Minoxidil 0.025 μg/ml	0.996 ± 0.004	99.70
Minoxidil 0.1 μg/ml	0.929 ± 0.005	92.99
B. superb Roxb. 1 μg/ml	0.983 ± 0.007	98.40
B. superb Roxb. 10 μg/ml	0.959 ± 0.008	96.00
B. superb Roxb. 100 μg/ml	0.940 ± 0.006	94.09
B. superb Roxb. 1000 μg/ml	0.204 ± 0.014	20.42 *

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงเป็นค่า Mean ± SD

n = 5

* แสดงความต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุมที่ $P < 0.05$

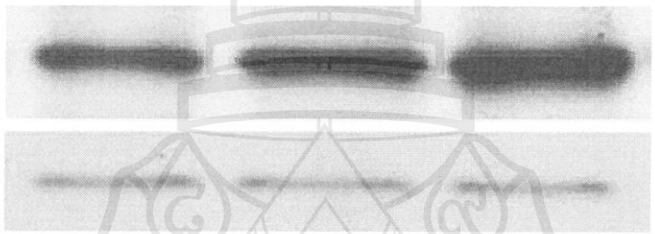
จากการทดลองนี้จะสามารถบอกได้ว่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 1.0, 10.0, และ100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ไม่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์ epithelium ของเส้นผม เนื่องจากมีอัตราการเจริญของเซลล์อยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับตัวควบคุม (เซลล์ epithelium ของเส้นผมที่ยังไม่ได้บ่มกับสารใดๆ เลย) โดยพบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้นเหล่านี้มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ epithelium ของเส้นผม มากว่าร้อยละ 90 ส่วนสารสกัดกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร นั้นส่งผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์ epithelium ของเส้นผมในอัตราที่ต่ำมาก คือมีอัตราการรอดชีวิตที่ร้อยละ 20

4.3 การแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor

เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีการของ MTT แล้ว ทำให้ทราบความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือแดงคือ สารสกัดกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 1.0, 10.0, และ100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ที่จะใช้ในการดูผลการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor ซึ่งเป็น cytokine หรือโปรตีนที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์ Epithelium ของเส้นผม โดยการทดลองจะทำควบคู่ไปกับการบ่มสารสกัดกวาวเครือแดงความเข้มข้นดังกล่าว กับเซลล์

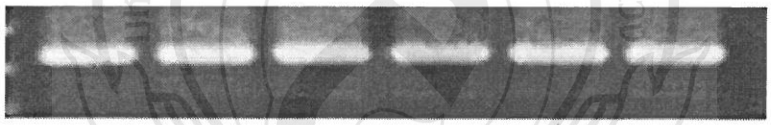
epithelium ของเส้นผม เปรียบเทียบกับการใช้ยา Minoxidil ที่ความเข้มข้นต่างๆ บ่มกับเซลล์ epithelium ของเส้นผม และเปรียบเทียบกับเซลล์ epithelium ของเส้นผมที่ไม่ได้บ่มกับสารใดๆ เลย

ในการดูผลของการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor นั้นได้เปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ส่งผลต่อการแสดงออกของโปรตีนนี้ เปรียบเทียบกับสารควบคุมคือ Minoxidil ที่ความเข้มข้นต่างๆ ผลการทดลองที่ได้แสดงผลในรูปที่ 4.1 (A) และ 4.1 (B)



(A) Control Minoxidil 0.025 μg/ml Minoxidil 0.1 μg/ml

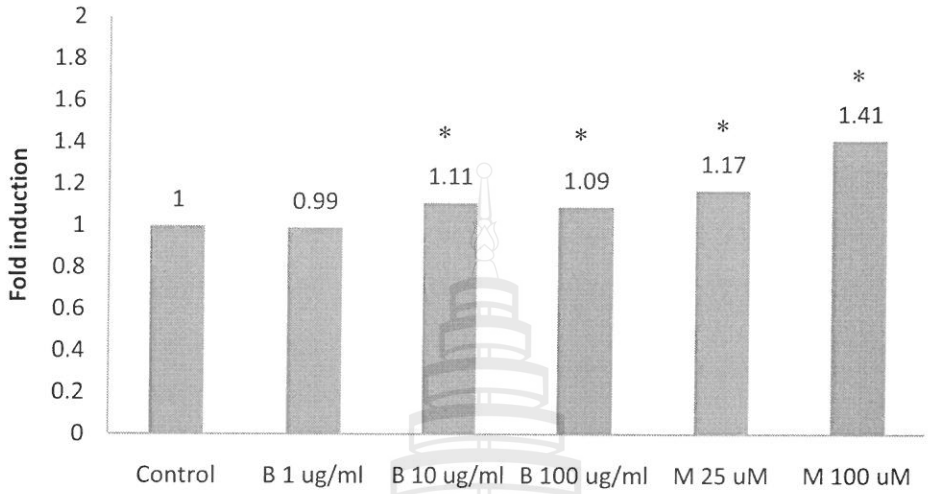
Fold 1.00 1.19 1.32



(B) Lane 1 Lane 2 Lane 3 Lane 4 Lane 5 Lane 6

Fold 1.00 0.99 1.11 1.09 1.17 1.41

ภาพที่ 4.1 การวิเคราะห์โปรตีน IGF-1 growth factor ด้วยวิธี western blot. หลังจากที่บ่มสารต่างๆ ไว้กับเซลล์ Epithelium ของเส้นผมcell เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว จากนั้นนำเอาเซลล์ที่ได้มาวัดปริมาณโปรตีน IGF-1 growth factor ที่เกิดขึ้น โดย (A) เป็นการเปรียบเทียบปริมาณ IGF-1 growth factor กับ β-actin และ (B) เป็นการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีน IGF-1 growth factor ที่เกิดขึ้นเมื่อเติมสารสกัดกวาวเครือแดง โดย Lane 1 ชุดควบคุม, Lane 2 สารสกัดกวาวเครือ 1 μg/ml, Lane 3 สารสกัดกวาวเครือ 10 μg/ml, Lane 4 สารสกัดกวาวเครือ 100 μg/ml, Lane 5 minoxidil 0.025 μg/ml, and Lane 6 minoxidil 0.1 μg/ml



ภาพที่ 4.2 จำนวนเท่าของโปรตีน IGF-1 growth factor. ปริมาณโปรตีน IGF-1 ที่เพิ่มขึ้นที่เป็นจำนวนเท่าของปริมาณโปรตีนที่ได้จากการวัดความเข้มของแถบโปรตีนที่เกิดขึ้นโดยเปรียบเทียบกับโปรตีนที่เซลล์ epithelium ของเส้นผมได้สร้างขึ้นมาในสภาวะที่ไม่ได้บ่มกับสารใดๆ เลย

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงเป็นค่า Mean ± SD

n = 5

* แสดงความต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุมที่ $P < 0.05$

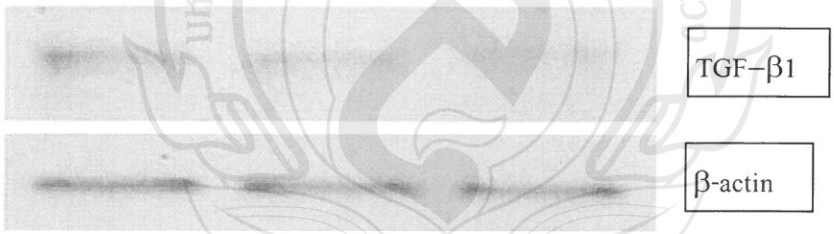
จากภาพที่ 4.1 และภาพที่ 4.2 เป็นการแสดงปริมาณโปรตีน IGF-1 growth factor ที่ได้จากการทำวิเคราะห์ด้วยวิธี western blot พบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงที่ ณ ความเข้มข้น 1, 10, และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างโปรตีน IGF-1 growth factor ในเซลล์ epithelium ของเส้นผม เมื่อเทียบกับสาร Minoxidil ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากผลของการวิเคราะห์ด้วยวิธี western blot นี้พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดของกวาวเครือแดงนี้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างโปรตีน IGF-1 growth factor ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และจากภาพที่แสดงนั้นเป็นการวัดปริมาณความเข้มของแถบโปรตีน IGF-1 growth factor ที่เกิดขึ้นพบว่าความเข้มของปริมาณโปรตีนแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือแดง และเป็นความสัมพันธ์เดียวกับความเข้มข้นสาร

Minoxidil ที่ใช้ และสาร Minoxdil นี้เองสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการงอกของเส้นผมได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

4.4 การแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 growth factor

จากการทดลองที่ 4.2 และ 4.3 นั้นทำให้ทราบความเข้มข้นของกวาวเครือแดงที่เหมาะสมต่อการใช้ทดลอง และทราบความสามารถของกวาวเครือแดงต่อการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor ซึ่งเป็นcytokine ที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์ Epithelium ของเส้นผม โดยการทดลองจะทำควบคู่ไปกับการใช้สารสกัดกวาวเครือเพียงอย่างเดียว เปรียบเทียบกับการใช้ยา Minoxidil ที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งในการทดลองนี้จะเป็นการทดลองผลของสารสกัดกวาวเครือแดงที่มีผลต่อการยับยั้งการแสดงออกของTGF-β1 โดยสาร cytokine หรือโปรตีนที่เป็นสาเหตุของการหลุดร่วงของเส้นผม จึงหวังผลการทดลองในการยับยั้งการแสดงออกของ TGF-β1 growth factor นี้

ในการดูผลของการแสดงออกของ TGF-β1 growth factor นั้นได้เปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงความเข้มข้นต่างๆ ที่บ่มกับเซลล์ epithelium ของเส้นผม เปรียบเทียบกับการใช้ยา Minoxidil ที่ความเข้มข้นต่างๆ บ่มกับเซลล์ epithelium ของเส้นผม และเปรียบเทียบกับเซลล์ epithelium ของเส้นผมที่ไม่ได้บ่มกับสารใดๆ เลย ผลการทดลองที่ได้แสดงผลในรูปที่ 4.3 (A) และ 4.3 (B)



(A) Control Minoxidil 0.025 μg/ml Minoxidil 0.1 μg/ml

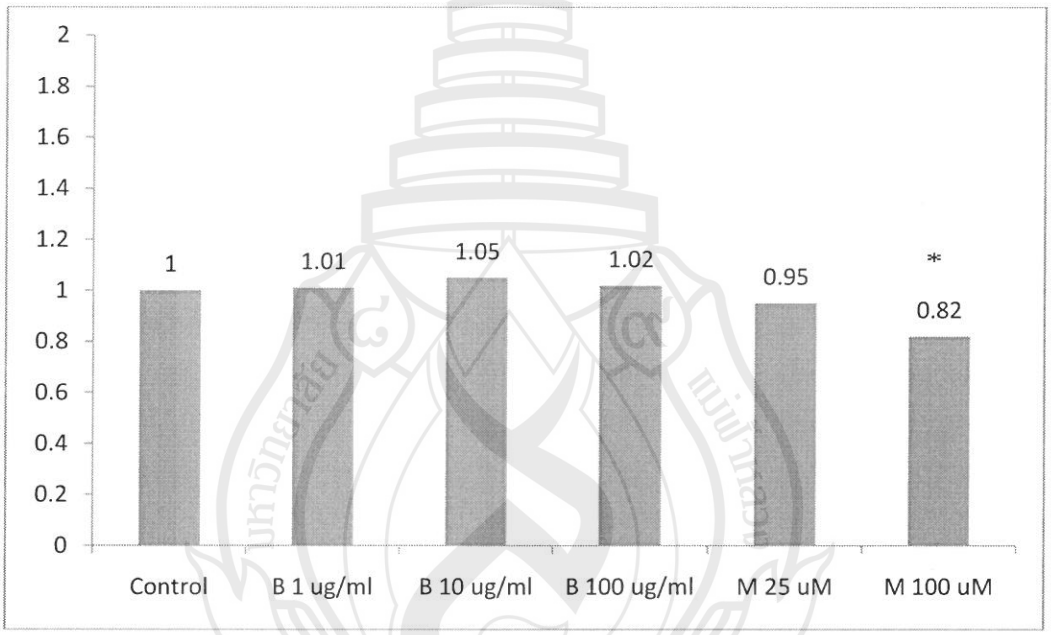
Fold 1.00 0.97 0.74

(B) Lane 1 Lane 2 Lane 3 Lane 4 Lane 5 Lane 6

Fold 1.00 1.01 1.05 1.02 0.95 0.82

ภาพที่ 4.3 การวิเคราะห์โปรตีนTGF-β1 growth factor ด้วยวิธี western blot หลังจากที่บ่มสารต่างๆ ไว้กับ Hair epithelium cell เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว จากนั้นนำเอาเซลล์ที่

ได้มาวัดปริมาณโปรตีน TGF-β1 growth factor ที่เกิดขึ้น โดย (A) เป็นการเปรียบเทียบปริมาณ TGF−β1 growth factor กับ β-actin และ (B) เป็นการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีน TGF-β1 growth factor ที่เกิดขึ้นเมื่อเติมสารสกัดกวาวเครือแดง โดย Lane 1 ชุดควบคุม, Lane 2 สารสกัดกวาวเครือ 1 μg/ml, Lane 3 สารสกัดกวาวเครือ 10 μg/ml, Lane 4 สารสกัดกวาวเครือ 100 μg/ml, Lane 5 minoxidil 0.025 μg/ml, and Lane 6 minoxidil 0.1 μg/ml



ภาพที่ 4.4 The fold induction of TGF-β1 growth factor protein. ปริมาณโปรตีน TGF-β1 ที่เพิ่มขึ้นที่เป็นจำนวนเท่าของปริมาณโปรตีนที่ได้จากการวัดความเข้มของแถบโปรตีนที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกับโปรตีนที่เซลล์ epithelium ของเส้นผมได้สร้างขึ้นมาในสภาวะที่ไม่ได้บ่มกับสารใดๆ เลย

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงเป็นค่า Mean ± SD

n = 5

* แสดงความต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุมที่ $P < 0.05$

จากภาพที่ 4.3 และภาพที่ 4.4 เป็นการแสดงปริมาณโปรตีน TGF-β1 growth factor ที่ได้จากการทำวิเคราะห์ด้วยวิธี western blot พบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงที่ ณ ความเข้มข้น 1, 10, และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้ลดการสร้างโปรตีน TGF-β1 growth factor ในเซลล์ Hair epithelium เมื่อเทียบกับสาร Minoxidil ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากผลของ western blot analysis นี้พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือแดงนี้ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการลดปริมาณโปรตีน TGF-β1 growth factor ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และจากภาพที่แสดงนั้น เป็นการวัดปริมาณความเข้มของแถบโปรตีน TGF-β1 growth factor ที่เกิดขึ้นพบว่าความเข้มของปริมาณโปรตีนไม่ได้แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของสารสกัดกวาวเครือแดง ส่วนยา Minoxidil ที่ใช้สามารถทำให้เกิดการลดลงของการสร้างโปรตีน TGF-β1 growth factor ตามความเข้มข้นที่ใช้

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ

สารสกัดหยาบกวาวเครือแดงมีที่ความเข้มข้น 1, 10, 100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตรไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ Hair epithelium ของเส้นผม จากการทดลองด้วยวิธี MTT แต่สารสกัดหยาบกวาวเครือแดงมีที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ Hair epithelium ของเส้นผม จึงได้ใช้สารสกัดหยาบกวาวเครือแดงความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษ หรือความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่ไม่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ epithelium ของเส้นผม ในการทำการทดลองการยับยั้งในระดับโมเลกุล

จากการทดลองสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่ส่งผลต่อการเจริญของเส้นผมผ่านการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor นั้นพบว่าสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงสามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor ได้ คือสารสกัดกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 10, 100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่สามารถเทียบได้กับยา Minoxidil ที่ความเข้มข้น 0.025 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตรได้ โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของโปรตีน IGF-1 growth factor นี้ตรงตามหลักการและเหตุผลที่ว่าโปรตีน IGF-1 growth factor มีผลต่อการส่งเสริมการงอกของเส้นผม ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดกวาวเครือแดงที่ความเข้มข้น 10, 100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร มีแนวโน้มทำให้เกิดการเจริญของเส้นผมได้อย่างมีนัยสำคัญ

จากการทดลองสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงที่ส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นผมผ่านการแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 growth factor นั้นพบว่าสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงไม่สามารถเหนี่ยวนำให้มีการลดแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 growth factor ได้ ส่วนยา Minoxidil ที่ความเข้มข้น 0.025 และ 0.1 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร สามารถลดการแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 growth factor ได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ซึ่งการเหนี่ยวนำให้เกิดการลดจำนวนของโปรตีน TGF-β1 growth factor นี้ตรงตามหลักการและเหตุผลที่ว่าโปรตีน TGF-β1 growth factor มีผลต่อการลดปริมาณการงอกของเส้นผม แต่ยา Minoxidil ที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร สามารถลดการแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 growth factor ได้อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดกวาวเครือแดงที่

ความเข้มข้น1, 10, 100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ไม่มีแนวโน้มทำให้เกิดการเจริญของเส้นผมได้ ซึ่งต่างจากยา minoxidil ที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร

จากผลการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบกวาวเครือแดงสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญของเส้นผมผ่านทางการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor แต่ไม่สามารถลดการแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 growth factor ซึ่งเป็นโปรตีนที่ยับยั้งการเจริญของเส้นผมได้ เมื่อเทียบกับยา Minoxidil และสารสกัดกวาวเครือแดงที่วามเข้มข้น 10, และ100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร เป็นสารสกัดกวาวเครือแดงที่ดีที่สุดที่สามารถก่อให้เกิดการเจริญของเส้นผมผ่านการแสดงออกของโปรตีน IGF-1 growth factor ได้

ในการทดลองคราวต่อไปควรมีการหาวิธีการสกัด หรือเปลี่ยนตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารเพื่อให้ผลที่สามารถยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 growth factor และควรมีการทดลองเพื่อหาสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ

เอกสารอ้างอิง

1. Bol D.K., Kiguchi K., Giminez-Conti., *et* al. (1997) Over-expression of insulin-like growth factor-1 induces hyperplasia, dermal abnormalities and spontaneous tumour formation in transgenic mice. Oncogene; 114: 1725–34.
2. Cherdshewasart, W. and Nimsakul, N., (2003). Clinical trial of *Butea superba* an alternative herbal treatment for erectile dysfunction. *Asian Journal of Andrology* **5**, 243–246.
3. Cherdshewasart W., Bhuntaku P., Panriansaen R., Dahlan W., Malaivijitnond S. (2008) Androgen disruption and toxicity tests of *Butea superba* Roxb., a traditional herb used for treatment of erectile dysfunction, in male rats. Maturitas 60, 131–137.
4. Cherdshewasart W., Cheewasopit W., and Picha P. (2004). The differential anti-proliferation effect of whit (Pueraria mirifica), red (Butea superb), and black (Mucuna collettii) Kwao Krua plants on the growth of MCF-7 cells. J. Ethnopharma., 93, 255-260.
5. Danilenko D.M., Ring B.D., Pierce G.F (1996). Growth factors and cytokines in hair follicle development and cycling: recent insights from animal models and the potentials for clinicaltherapy. Mol Med Today; 2:460-7.
6. Fujie T. *et* al. (2001). The chemotactic effect of a dermal papilla cell-derived factor on outer root sheath cells. J Dermatol. Sci.; 25:206-12.
7. Han, J. H. *et* al. (2004). Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. J. of Dermato. Sci., 34,91-98.
8. Hoffmann R., and Happle R. (2000). Current understanding of androgenetic alopecia. Part II. Clinical aspects and treatment. Eur. J. Dermatol., 10 (5): 410-7.
9. Hsieh, J. C., Sisk, J. M., Jurutka, P.W., Haussler, C. A., Slater, S. A., Haussler, M. R. and Thompson, C. C. (2003). Physical and functional interaction between the vitamin D receptor and hairless corepressor, two proteins required for hair cycling. *J Biol Chem* **278**, 38665-74.
10. Ingham J.L., Tahara S., Dziedzic S.Z. (1989). Minor isoflavones from the roots of *Pueraria mirifica*. Zeitschrift für Naturforschung C, 41c; 724–726.
11. Ingham, J. L. *et* al. (1986). Puerarin 6-*O*-β-apiofuranoside, a C-glycosylisoflavone *O*-glucoside from *Pueraria mirifica*. *Phytochemistry*, **25**, 1772–1775.
12. Ingkaninan, K. *et al.* (2003). Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotic remedies. *Journal of Ethnopharmacology* **89**, 261–264.

13. Ingram D., Sanders K., Kolybaba M., Lopez D. (1997) Case-control study of phyto-oestrogens and breast cancer. The Lancet, 350; 990–994.

14. Lachgar S., Charveron M., Gall Y., Bonafe J.L. (1998) Minoxidil upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in human hair dermal papilla cells. Br J Dermatol; 138: 407-11.

15. McElwee K. J., Tobin D. J., Bystryn J.-C., King L. E. Jr., Sundberg J. P. (1999) Alopecia areata: an autoimmune disease? Experimental Dermatology. 8 (5), 371–379.

16. Muangman V., Cherdshewasart W. (2001) Clinicaltrial of the phytoestrogen-rich herb, *Pueraria mirifica* as a crude drug in the treatment of symptoms in menopausal women. Siriraj Hospital Gazzette, 53; 300–309.

17. Murkies A.L., Wilcox G., Davis S.R. (1998) Phytoestrogens. Journal of Clinical Endocrinology Metabolism, 83; 297–303.

18. Ralph M. T. (2002). Molecular mechanisms of androgenetic alopecia. Experimental Gerontology, 37, 981–990.

19. Rho S. S. *et* al. (2005). The hair growth promoting effect of Asiasari radix extract and its molecular regulation. J. of Dermat. Sci., 38, 89-97.

20. Rogers, G.E. and Hynd P.I. (2001). Animal Models and Culture Methods in the Study of Hair Growth. *Clinics in Dermatology* Y; 19: 105-119.

21. Roengsumran S., Petsom A., Ngamrojanavanich N., Rugsilp N., Sittiwichieanwong P., Korphueng P., Cherdshewasart W., Chaichantipyuth C. (2000) Flavonoid and flavonoid glycoside from *Buteasuperba* Roxb. and their cAMP phosphodiesterase inhibitory activity. Journal of Scientific Research (Chulalongkorn University), 25; 169–176.

22. Sooriyamoorthy, M., Gower, D.B., 1989b. Phenytoin stimulation of 5a-reductase activity in inflamed gingival fibroblasts. Med. Sci. Res. 17, 989–990.

23. Sukawattana T. (1940) Oestrogenic principle of *Butea superba*, preliminary report. Journal of the Medical Association of Thailand, 24; 183–194.

24. Suzuki S. *et* al. (2000) Dual-Mode Regulation of Hair Growth Cycle by Two Fgf-5 Gene Products. The Journal of Investigative Dermatology, 114 (3), 456-463.

25. Tahara, S., Ingham, J. L. and Dziedzic, S. Z. (1987). Structure elucidation of Kwakhrurin, a new phenylated isoflavone from *Pueraria mirifica* root. *Zeitschrift fur Naturforschung C* **42c**, 510–518.

26. Tilakaratne A., Soory M. (2001) Effects of the anti-androgen finasteride on the modulatory actions of oestradiol on androgen metabolism by human gingival fibroblasts. Archives of Oral Biology. 46 (2), 109–115.

27. Thigpen A. E. *et* al. (1992). Molecular genetics of steroid 5a-reductase 2 deficiency. J. Clin. Invest., 90:799-809.

28. Toshihiko H. and Toshio N. (2004). Role of TGF-b2 in human hair cycle. J. of Dermat. Sci., 35, 9-18.

29. Tsuboi R. *et* al. (1993). Keratinocyte growth factor (FGF-7) stimulates migration and plasminogen activator activity of normal human keratinocytes. J. Invest. Dermatol., 101:49-53.

ภาคผนวก

ประวัตินักวิจัย และคณะ

1. ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.	พรรณวิภา กฤษฎาพงษ์
Assoc. Prof.	Panvipa Krisdaphong, Ph.D.
ตำแหน่งปัจจุบัน	รองศาสตราจารย์ คุณวุฒิ Ph.D.
สถานที่ติดต่อ	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ตำบลท่าสุด อำเภอเมืองเชียงราย จังหวัดเชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6833
โทรสาร	0-5391-6831
E-mail:	panvipa@mfu.ac.th

2. นายพหล แสนสมชัย	หัวหน้าโครงการวิจัย
สัดส่วนงานที่ทำวิจัย	ร้อยละ 80
ที่อยู่	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อำเภอเมือง เชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6836

3. นางสาวมยุรมาศ แสงเงิน	ผู้ร่วมโครงการวิจัย
สัดส่วนงานที่ทำวิจัย	ร้อยละ 20
ที่อยู่	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อำเภอเมือง เชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6833