

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์เมลานोไซต์ และฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานินของสารสกัดสมุนไพรไทยพื้นบ้านด้วยตัวทำละลายน้ำ เมทธานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน จำนวน 5 ชนิด คือ อัญชัน ย่านาง บัวบก หม่อน และกวาวเครือขาว เพื่อให้ได้สมุนไพรที่มีศักยภาพ สามารถนำไปพัฒนาเป็นเวชสำอาง สำหรับป้องกันภาวะผมหงอกก่อนวัย โดยสาเหตุของผมหงอกก่อนวัยอาจเกิดจาก

(1) สารอนุมูลอิสระ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่เกิดจากภาวะ oxidative stress ในร่างกาย และจากสภาพแวดล้อมภายนอก มีผลทำลายเซลล์เมลานอไซต์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในขบวนการสังเคราะห์เมลานินหากเซลล์เมลานอไซต์ลดจำนวนลง จะทำให้การผลิตเมลานินลดปริมาณลงด้วย (Wood et al., 2009)

(2) การลดจำนวนลงของเซลล์เมลานอไซต์ที่อาจเกิดจากความผิดปกติของเซลล์เอง (Tobin and Paus, 2001) ทำให้ร่างกายผลิตเมลานินได้น้อยลง

(3) การขาดเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนสารตั้งต้นไทโรซิน ไปเป็นผลิตภัณฑ์เมลานิน กลไกการเกิดสีผมจึงจำเป็นต้องอาศัยความสามารถของเอนไซม์ไทโรซิเนส หากขาดเอนไซม์ หรือเอนไซม์ทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ จะส่งผลต่อการผลิตเมลานินลดน้อยลง (Matsuda et al., 2005)

(4) ปริมาณเมลานินไม่เพียงพอที่จะส่งไปยังชั้น cortex ของเส้นผม สีของเส้นผมจึงเห็นเป็นสีเทา หรือขาว

การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานินของสารสกัดสมุนไพร จึงมุ่งพิสูจน์สรรพคุณของสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ในการตอบสนองสาเหตุการเกิดผมหงอกก่อนวัย ดังนี้

1. ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการป้องกันเซลล์เมลานอไซต์จากสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดสมุนไพร เพื่อหาศักยภาพในการเป็นสารต้านการทำลายเซลล์เมลานอไซต์จากสารอนุมูลอิสระ ซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อกระบวนการสังเคราะห์เมลานิน ผลการวิจัย พบว่า สารสกัดด้วยเมทธานอล และน้ำของย่านาง มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีที่สุด เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay สารสกัดสมุนไพรด้วยน้ำของอัญชัน บัวบก ย่านาง หม่อน และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีที่สุด เมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS assay สารสกัดสมุนไพรด้วย

เมทธานอล เอทิลอะซิเตท และน้ำของย่านาง มีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชันดีที่สุด เมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay และเมื่อทดสอบหาปริมาณ total phenolic compound ซึ่งปริมาณของ total phenolic compound ในพืชสมุนไพรที่มีปริมาณสูง เป็นตัวบ่งชี้ถึงความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ดี (ปริยพันธ์ บัวสด, 2549) ผลการวิจัยพบว่าสอดคล้องกันโดยสารสกัดด้วยน้ำเมทธานอล และเอทิลอะซิเตท ของย่านาง มีปริมาณ total phenolic compound สูงที่สุด ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สารสกัดด้วยน้ำ และเมทธานอลของย่านาง เป็นสารที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันดีที่สุด และสอดคล้องกับงานวิจัยของ บังอร วงศ์รักษ์ และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ (2549) และงานวิจัยของชุดินันท์ ประสิทธิ์ภูมิปริชา และคณะ (2009) ที่ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพื้นบ้าน พบว่า สารสกัดย่านางมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ป้องกันเซลล์เมลานोไซท์จากสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ผลการวิจัย พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของบัวบก ย่านาง อัญชัน และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์เมลานोไซท์จากสารอนุมูลอิสระ H_2O_2 โดยที่สารสกัดอัญชันมีฤทธิ์ป้องกันเซลล์แบบ dose-dependent สารสกัดที่มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์ดีที่สุดจากน้อยไปหามากเรียงลำดับ ดังนี้ บัวบก > หม่อน > ย่านาง > อัญชัน > กวาวเครือขาว

สารสกัดด้วยเมทธานอลของอัญชัน ย่านาง บัวบก และหม่อน มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์เมลานोไซท์จากสารอนุมูลอิสระ H_2O_2 สารสกัดที่มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์ดีที่สุดจากน้อยไปหามากเรียงลำดับ ดังนี้ อัญชัน > ย่านาง > บัวบก > หม่อน

สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของอัญชัน บัวบก ย่านาง และหม่อน มีฤทธิ์ในการป้องกันเซลล์เมลานอไซท์จากสารอนุมูลอิสระ H_2O_2 สารสกัดที่มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์ดีที่สุดจากน้อยไปหามากเรียงลำดับ ดังนี้ อัญชัน > บัวบก > ย่านาง > หม่อน

สารสกัดด้วยเฮกเซนของบัวบก ย่านาง หม่อน และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์ในการป้องกันเซลล์เมลานอไซท์จากสารอนุมูลอิสระ H_2O_2 สารสกัดที่มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์ดีที่สุดจากน้อยไปหามากเรียงลำดับ ดังนี้ กวาวเครือขาว > ย่านาง > หม่อน > บัวบก

ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดด้วยน้ำ เมทธานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซนของอัญชัน ย่านาง บัวบก และหม่อน และสารสกัดด้วยน้ำ และเฮกเซนของกวาวเครือขาว มีความสามารถในการป้องกันเซลล์เมลานอไซท์จากสารอนุมูลอิสระ H_2O_2 ดังตารางที่ 29

Jin et al.(2009) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ป้องกันเซลล์จากสารอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยเมทธานอล 80% ของ *Cnidium officinale* เป็นพืชในวงศ์ Umbelliferae ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับบัวบก พบว่า มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์จากสารอนุมูลอิสระ H_2O_2 ได้เช่นกัน

ตารางที่ 29 สารสกัดสมุนไพรที่มีความสามารถเป็นสารต้านออกซิเดชัน และสามารถป้องกันเซลล์เมลานोไซท์จากสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

สารสกัดสมุนไพร	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ป้องกันเซลล์เมลานอไซท์จากสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)			
	น้ำ	เมทานอล	เอทิลอะซิเตท	เฮกเซน
ย่านาง	++ ¹	++ ¹	++ ¹	++ ²
อัญชัน	++ ^A	++ ³	++ ¹	+ ²
บัวบก	++ ¹	++ ¹	++ ¹	+ ²
กวาวเครือขาว	+ ³	+ ³	++ ¹	++ ¹
หม่อน	++ ¹	++ ¹	+ ¹	+ ¹

เมื่อ	++	คือ	มีฤทธิ์ทางชีวภาพดี
	+	คือ	มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
	1	คือ	ความเข้มข้นที่ 0.75-800 $\mu\text{g/ml}$
	2	คือ	ความเข้มข้นที่ 0.75-50 $\mu\text{g/ml}$
	3	คือ	ความเข้มข้นที่ 50-800 $\mu\text{g/ml}$

2. ความสามารถในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานอไซท์

การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานอไซท์ของสารสกัดสมุนไพร เพื่อหาศักยภาพในการแก้ไขปัญหาการลดจำนวนลงของเซลล์เมลานอไซท์ในภาวะผมหงอกก่อนวัย ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดด้วยน้ำของย่านาง และบัวบก สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานอไซท์ได้ โดยสารสกัดย่านางมีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ดีที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอลของอัญชัน และบัวบก มีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานอไซท์ได้ โดยสารสกัดของอัญชันมีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเมลานอไซท์ได้ดีที่สุด สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของอัญชัน และย่านาง สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานอไซท์ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยเฮกเซนของอัญชัน บัวบก และกวาวเครือขาว สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานอไซท์ได้ โดยสารสกัดอัญชันมีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานอไซท์ดีที่สุด จากผลการวิจัยจะเห็นได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำ และเฮกเซนของบัวบก สารสกัดด้วยเมทานอลของอัญชัน และสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของย่านาง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดขึ้น สารสกัดมีผลต่อการลดจำนวนลงของเซลล์ อาจเนื่องจาก สารสกัดที่ใช้ในการวิจัยเป็นสารสกัดหยาบ ซึ่งสารสกัดหยาบจะมีการปนเปื้อน (impurity) จากสารอื่นๆ ที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นอาจ

ทำให้สารนั้นมีฤทธิ์เด่นขึ้น นอกจากนี้การทดสอบในเซลล์ยังมีความแปรปรวน (variation) เนื่องจากเซลล์เป็นสิ่งมีชีวิต และอาจเกิด feedback mechanism กล่าวคือ เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นจนถึงระดับสูงสุด เซลล์จะมีกลไกในการรักษาสมดุลภายในเซลล์ จึงทำให้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดขึ้น สารสกัดมีฤทธิ์ลดลง

จากงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำของย่านาง สารสกัดด้วยเมทานอลของอัญชัน สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของอัญชัน และย่านาง และสารสกัดด้วยเฮกเซนของอัญชันมีฤทธิ์ดีที่สุด เมื่อตรวจสอบพิษเคมีเบื้องต้นด้วยปฏิกิริยาเคมี และการทำ TLC fingerprints เพื่อหาสารสำคัญในกลุ่มต่างๆ ซึ่งเชื่อว่าสารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืช และสารเหล่านี้มักจะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน พบว่า สารสกัดด้วยน้ำ และเอทิลอะซิเตทของย่านาง พบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, coumarin, flavonoid, xanthone, cardiac glycosides, cardenolides และ carotenoid สารสกัดด้วยเมทานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซนของอัญชัน พบสารสำคัญในกลุ่ม coumarin, xanthone, tannin, cardiac glycosides และ flavonoid ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวอาจเป็นผลทำให้สารสกัดสมุนไพรมีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานोไซต์

ดังนั้น จากผลการวิจัยดังกล่าว สารสกัดด้วยน้ำ เมทานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซนของอัญชัน ย่านาง และบัวบก และสารสกัดด้วยเฮกเซนของกวาวเครือขาว เป็นสารที่มีความสามารถในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานोไซต์ได้ดี ดังตารางที่ 30

Matsuda et al. (2005) ได้ทำการทดสอบสารสกัดด้วยเอทานอลของพืชในประเทศจีน *Heracleum lanatum* (Gyubi-dokkatsu) วงศ์ Umbelliferae ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกับบัวบก มีสารสำคัญในกลุ่ม coumarin พบว่า มีฤทธิ์ในการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานोไซต์ และสามารถเพิ่มปริมาณเมลานินภายในเซลล์ murine B16 melanoma ได้เช่นกัน

ตารางที่ 30 สารสกัดสมุนไพรที่มีความสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานินในไซท์

สารสกัดสมุนไพร	ฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานินในไซท์			
	น้ำ	เมททานอล	เอทิลอะซิเตท	เฮกเซน
ย่านาง	++ ¹	-	++ ¹	+ ³
อัญชัน	+ ²	++ ²	++ ¹	++ ¹
บัวบก	++ ¹	++ ¹	-	++ ¹
กวาวเครือขาว	-	-	-	++ ¹
หม่อน	-	-	-	+ ¹

เมื่อ	++	คือ	มีฤทธิ์ทางชีวภาพดี
	+	คือ	มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
	1	คือ	ความเข้มข้นที่ 0.75-800 µg/ml
	2	คือ	ความเข้มข้นที่ 0.75-50 µg/ml
	3	คือ	ความเข้มข้นที่ 50-800 µg/ml

3. ความสามารถในการกระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส

การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสมุนไพร เพื่อหาศักยภาพในการแก้ไข ปัญหาการขาดเอนไซม์ หรือเอนไซม์ทำงานได้ไม่เต็มที่ ซึ่งเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนสารตั้งต้นไทโรซินไปเป็นเมลานิน งานวิจัยนี้ทำการทดสอบทั้งในเซลล์เพาะเลี้ยงและในหลอดทดลองเพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง ผลการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง ด้วยวิธี tyrosinase activity assay (ตารางที่31) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของอัญชัน ย่านาง หม่อน และ กวาวเครือขาว มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงสุด (50 mg/ml) โดยสารสกัดอัญชัน และย่านางมีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสดีที่สุด

สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของอัญชัน ย่านาง บัวบก และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยสารสกัดของกวาวเครือขาว อัญชัน และย่านางมีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส แบบ dose-dependent ในขณะที่บัวบก มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12.5 mg/ml และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นอีก (25-50 mg/ml) สารสกัดบัวบกให้ผลเป็นลบ คือ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส อาจเนื่องมาจาก สารสกัดที่ใช้ทดสอบเป็นสารสกัดหยาบ

อาจมีการปนเปื้อน (impurity) จากสารอื่นๆ ที่ทำให้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นอาจทำให้สารนั้นมีฤทธิ์เด่นขึ้นส่งผลให้เอนไซม์ทำงานได้น้อยลง ส่วนสารสกัดหม่อนมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

สารสกัดด้วยเฮกเซน ของอัญชัน หม่อน บัวบก ย่านาง และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยสารสกัดอัญชัน และบัวบก มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีที่สุดแบบ dose-dependent และพบว่าสารสกัดหม่อน และย่านาง มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์สูงสุดที่ความเข้มข้นหนึ่ง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นอีกสารสกัดหม่อน ให้ผลเป็นลบ คือมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ในขณะที่ ผลการวิจัยฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดด้วยเมทานอลของสารสกัดจำนวน 5 ชนิด พบว่า ไม่มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส

ตารางที่ 31 สารสกัดสมุนไพรที่มีความสามารถกระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง

เมื่อทดสอบด้วยวิธี tyrosinase activity assay

สารสกัดสมุนไพร	ฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง			
	น้ำ	เมทานอล	เอทิลอะซิเตท	เฮกเซน
ย่านาง	++ ^B	-	++ ^A	++ ¹
อัญชัน	++ ^B	-	++ ^A	++ ^A
บัวบก	-	-	++ ¹	++ ^A
กวาวเครือขาว	+ ^B	-	++ ^A	
หม่อน	+ ^B	-	-	++ ¹

เมื่อ ++ คือ มีฤทธิ์ทางชีวภาพดี + คือ มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

A คือ dose-dependent (0.75-50 mg/ml) B คือ 50 mg/ml

1 คือ ความเข้มข้นที่ 0.75-50 mg/ml

การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสในเซลล์เพาะเลี้ยง ด้วยวิธี DOPA oxidase activity assay ของสารสกัดสมุนไพร (ตารางที่ 32) ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดด้วยน้ำของอัญชัน ย่านาง บัวบก หม่อน และกวาวเครือขาว สามารถกระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยสารสกัดย่านาง และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ดีที่สุดส่วนสารสกัดด้วยเมทานอลของอัญชัน ย่านาง บัวบก หม่อน และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยสารสกัดบัวบก อัญชัน และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท ของอัญชัน ย่านาง

บัวบก หม่อน และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยสารสกัดของกวาวเครือขาว และย่านาง มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยเฮกเซนของบัวบก อัญชัน และย่านาง มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ได้ดีที่สุดเมื่อตรวจสอบพบคุณสมบัติเบื้องต้น ด้วยปฏิกิริยาเคมี และการทำ TLC fingerprints พบว่า สารสกัดที่มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ได้ดีที่สุด คือ สารสกัด ด้วยน้ำของย่านาง และ กวาวเครือขาว พบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, coumarin, flavonoid, xanthone, cardiac glycosides, cardenolides และ carotenoid สารสกัดด้วยเมทานอลของบัวบก อัญชัน และ กวาวเครือขาว พบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, flavonoid, coumarin, xanthone, cardiac glycosides, cardenolides และ carotenoid โดยอัญชันไม่พบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid สารสกัด ด้วยเอทิลอะซิเตทของย่านาง พบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, coumarin, flavonoid, xanthone, cardiac glycosides, cardenolides และ carotenoid สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของกวาวเครือขาว พบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, coumarin, cardiac glycosides, cardenolides และ carotenoid สารสกัดด้วยเฮกเซนของบัวบก อัญชัน และย่านาง พบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, coumarin, flavonoid, xanthone, cardiac glycosides, cardenolides และ carotenoid ในขณะที่อัญชันไม่พบ สารสำคัญในกลุ่ม alkaloid แต่พบสารสำคัญในกลุ่ม tannin ซึ่งสารสำคัญในกลุ่มดังกล่าวอาจเป็นผล ทำให้สารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมื่อพิจารณาผลการทดสอบในหลอดทดลอง และในเซลล์เพาะเลี้ยง อาจสรุปได้ว่า สารสกัด ด้วยน้ำ เมทานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซนของอัญชัน ย่านาง และบัวบก และสารสกัดด้วยน้ำ เมทานอล และเอทิลอะซิเตทของกวาวเครือขาว เป็นสารที่มีความสามารถในการกระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีซึ่ง Gi et al.(2001) ได้ทำการวิจัยสารในกลุ่มที่ชอบน้ำ (hydrophilic) จากสารสกัดจากลูก ชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) วงศ์ Fabaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับอัญชัน มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการ สังเคราะห์เมลานินโดยสารสกัดจากลูกชะเอมเทศ มีผลต่อการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนเมลานิน ภายในขบวนการสังเคราะห์เมลานินด้วย

Ohguchi et al.(2005) ได้ทำการวิจัย สารในกลุ่ม naringenin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม flavonoid พบทั่วไปในพืชตระกูลส้ม (citrus) มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสังเคราะห์เมลานิน โดยเพิ่มปริมาณการ ผลิตเมลานิน และกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในเซลล์ mouse B16 melanoma ได้ เช่นเดียวกัน

Jeon et al. (2009) ได้ทำการทดสอบ สารสกัดจากดอกบัว (*Nelumbo nuficera*) โดยสารสกัด นี้พบสารสำคัญกลุ่ม flavonoid และ alkaloids พบว่า สารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานิน โดยมีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส ภายในเซลล์ mouse B16 melanoma ได้เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 32 สารสกัดสมุนไพรที่มีความสามารถกระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสในเซลล์เพาะเลี้ยง เมื่อทดสอบด้วยวิธี DOPA oxidase activity assay

สารสกัดสมุนไพร	ฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสในเซลล์เพาะเลี้ยง			
	น้ำ	เมทานอล	เอทิลอะซิเตท	เฮกเซน
ย่านาง	++ ¹	++ ²	++ ¹	+ ¹
อัญชัน	+ ³	++ ¹	++ ¹	+ ¹
บัวบก	+ ³	++ ¹	++ ¹	+ ¹
กวาวเครือขาว	++ ¹	++ ¹	++ ¹	-
หม่อน	+ ¹	+ ³	+ ¹	-

เมื่อ ++ คือ มีฤทธิ์ทางชีวภาพดี
 + คือ มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
 1 คือ ความเข้มข้นที่ 0.75-800 µg/ml
 2 คือ ความเข้มข้นที่ 0.75-50 µg/ml
 3 คือ ความเข้มข้นที่ 50-800 µg/ml

4. ความสามารถในการกระตุ้นการสร้างเม็ดสีเมลานิน

การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินของสารสกัดสมุนไพร ถือเป็นกลไกที่สำคัญที่สุด เพราะเป็นการวัดผลิตภัณฑ์เมลานินที่เกิดขึ้นทั้งหมด

ผลการวิจัยในหลอดทดลอง พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของอัญชัน ย่านาง บัวบก และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินได้ โดยสารสกัดบัวบก มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเม็ดสีเมลานินสูงสุด ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอลของอัญชัน ย่านาง บัวบก หม่อน และกวาวเครือขาว มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินได้ โดยสารสกัดอัญชัน และย่านาง มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินสูงสุด สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของอัญชัน ย่านาง บัวบก หม่อน และกวาวเครือขาว สามารถกระตุ้นการสร้างเมลานินได้ โดยสารสกัดอัญชัน มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินได้สูงสุด ส่วนสารสกัดด้วยเฮกเซนของอัญชัน ย่านาง และบัวบก มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินได้ โดยสารสกัดอัญชัน มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินสูงสุด (ตารางที่ 33) สารสกัดที่มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินดีที่สุด โดยมีปริมาณเมลานินทั้งหมดสูงสุด คือ สารสกัดด้วยน้ำของบัวบก สารสกัดด้วยเมทานอลของอัญชัน และย่านาง สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทของอัญชัน และสารสกัดด้วยเฮกเซนของอัญชัน

ตารางที่ 33 สารสกัดสมุนไพรที่มีความสามารถกระตุ้นการสังเคราะห์เมลานินในหลอดทดลอง

สารสกัดสมุนไพร	ฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานินในหลอดทดลอง			
	น้ำ	เมทานอล	เอทิลอะซิเตท	เฮกเซน
ย่านาง	++ ¹	++ ²	++ ¹	++ ¹
อัญชัน	++ ¹	++ ¹	++ ¹	++ ¹
บัวบก	++ ¹	++ ¹	++ ¹	++ ¹
กวาวเครือขาว	++ ¹	+ ¹	+ ¹	-
หม่อน	-	+ ¹	+ ¹	-

เมื่อ ++ คือ มีฤทธิ์ทางชีวภาพดี
 + คือ มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
 1 คือ ความเข้มข้นที่ 0.75-800 µg/ml
 2 คือ ความเข้มข้นที่ 0.75-50 µg/ml
 3 คือ ความเข้มข้นที่ 50-800 µg/ml

ตารางที่ 34 สารสกัดสมุนไพรที่มีความสามารถกระตุ้นการสังเคราะห์เมลานินในสัตว์ทดลอง

สารสกัดสมุนไพร	ฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานินในสัตว์ทดลอง		
	น้ำ	เมทานอล	เอทิลอะซิเตท
ย่านาง	++	++	n
อัญชัน	+	++	++
บัวบก	+	++	n

เมื่อ ++ คือ มีฤทธิ์ทางชีวภาพดี
 + คือ มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
 n คือ ไม่ได้ทำการทดสอบ

ผลการวิจัยในสัตว์ทดลองสอดคล้องกับผลการวิจัยในหลอดทดลอง กล่าวคือ สารสกัดสมุนไพรที่คัดเลือกมาทดสอบทั้ง 7 ชนิด มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินในขนของสัตว์ทดลอง โดยสาร

สกัดด้วยเมทานอลของย่านาง อัญชัน และบัวบก สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตของอัญชัน และสารสกัดด้วยน้ำของย่านางมีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินดีที่สุด (ตารางที่ 34)

เมื่อตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นด้วยปฏิกิริยาเคมี และการทำ TLC fingerprints พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของบัวบก พบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, coumarin, xanthone, cardiac glycosides, cardenolides และ carotenoid สารสกัดด้วยเมทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซนของอัญชัน พบสารสำคัญในกลุ่ม coumarin, tannin, cardiac glycosides, xanthone และ flavonoid สารสกัดด้วยเมทานอลของย่านาง พบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, coumarin, flavonoid, xanthone, cardiac glycosides, cardenolides และ carotenoid ซึ่งสารสำคัญในกลุ่มดังกล่าวอาจเป็นผลทำให้สารสกัดสมุนไพรมีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานินได้

ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่า สารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, coumarin, flavonoid, xanthone และ carotenoid ของสารสกัดด้วยน้ำ เมทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซนของอัญชัน ย่านาง และบัวบก มีความสามารถในการกระตุ้นการสร้างเมลานินได้ดี ซึ่ง Matsuyama et al. (2009) ได้ศึกษาวิจัยพืช *Capparis spinosa* L. วงศ์ Capparidaceae (or Capparaceae) พบว่ามีฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานิน และพบว่า มีสารสำคัญกลุ่ม alkaloids และ flavonoids ในสารสกัดสมุนไพร

Matsuda et al. (2006) ได้ศึกษาวิจัยสารสกัดด้วย 50% ethanolic ส่วนเหง้าของพืชสมุนไพรชนิด Kava (*Piper methysticum*) พบว่า สารสกัดนี้มีฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานิน และพบสารสำคัญกลุ่ม alkaloids ในพืชสมุนไพร

Itoh and Furuichi (2005) ได้ศึกษาวิจัยสารสกัดด้วยน้ำของพืชสมุนไพร Adzuki beans (*Vigna angularis*) พบว่า มีฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานิน และมีสารสำคัญกลุ่ม tannin

Matsuda et al. (2005) ทำการทดสอบการสกัดของพืชในวงศ์ Umbelliferae มีฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานิน และพบว่า มีสารสำคัญกลุ่ม coumarin

งานวิจัยนี้ให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยดังกล่าว โดยสารสกัดสมุนไพรที่ใช้ในการวิจัยพบสารสำคัญในกลุ่มนี้เช่นเดียวกัน

จากผลการวิจัยฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานิน พบว่า สารสกัดด้วยน้ำ เมทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซนของหม่อน ไม่มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส และไม่มีฤทธิ์ต่อการสังเคราะห์เมลานิน แต่มีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน ซึ่งในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางสำหรับผลิตภัณฑ์เพื่อผิวขาว หม่อนมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Jarunee and Piyanuch (2005) รายงานว่าสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลที่ได้จากใบหม่อนมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

จะเห็นได้ว่า ในการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส และการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการสร้างเมลานิน ให้ผลสัมพันธ์กัน คือ สารสกัดที่มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส จะมีปริมาณเมลานินเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ไทโรซิเนสมีความสำคัญในสังเคราะห์เมลานินภายในเซลล์ ดังนั้น หากมีการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ให้ทำงานได้มากขึ้น ก็จะสามารถสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินได้มากขึ้นเช่นกัน (Itoh and Furuichi, 2005)

งานวิจัยนี้ใช้สารสกัดสมุนไพร ด้วยตัวทำละลายน้ำ เมทานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ซึ่งสารสกัดในแต่ละตัวทำละลายจะได้สารสำคัญแตกต่างกันไป ซึ่งสารสำคัญในกลุ่ม ต่างๆ นั้น มักจะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน ผลการวิจัย พบว่า สารสกัดที่มีศักยภาพเป็นสารที่มีความสามารถในการกระตุ้นการสังเคราะห์เมลานิน ได้แก่ สารสกัดด้วยน้ำ เมทานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ของย่านาง บัวบก และอัญชัน โดยพบสารสำคัญในกลุ่ม alkaloid, coumarin, flavonoid, xanthone และ carotenoid ซึ่งสารสำคัญในกลุ่มนี้มีความสำคัญในการกำหนดความเข้มข้น (dose) ของสารสกัดในการทำเวชสำอางในอนาคต หรือเป็นแนวทางในการนำไปทำให้บริสุทธิ์เพื่อหา active ingredient ต่อไป

ตารางที่ 35 สมุนไพรที่มีศักยภาพในการป้องกันและรักษาผมหงอก โดยมีฤทธิ์กระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์เมลานิน

สารสกัดสมุนไพร	ฤทธิ์กระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์เมลานิน			
	น้ำ	เมทานอล	เอทิลอะซิเตท	เฮกเซน
ย่านาง	√	√	√	√
อัญชัน	√	√	√	√
บัวบก	√	√	√	√

จากสาเหตุของการเกิดผมหงอก มุ่งเน้นหาสารสกัดสมุนไพรที่มีคุณสมบัติต่อกระบวนการสังเคราะห์เมลานิน เพื่อกระตุ้นการผลิตเมลานินให้เพิ่มมากขึ้น เพื่อชดเชยผลิตภัณฑ์เมลานินที่ค่อยๆ ลดน้อยลง จนทำให้สีเส้นผมที่เห็นค่อยๆ จางลง จนเป็นสีขาวในที่สุด ดังนั้น พืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติต่อการกระตุ้นการสังเคราะห์เมลานินได้ดี จนทำให้มีปริมาณเมลานินเพิ่มมากขึ้น คือ สารสกัดด้วยน้ำ เมทานอล เอทิลอะซิเตท และเฮกเซนของย่านาง อัญชัน และบัวบก (ตารางที่ 35) ซึ่งสารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีความสามารถในการกระตุ้นการสังเคราะห์เมลานิน จากกระบวนการต่างๆ ของการเกิด

ผมหอกก่อนวัย คือ มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์เมลานोไซต์ จากสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) มีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์เมลานोไซต์ มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนส และมีฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานิน ซึ่งสารสกัดดังกล่าวมีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการนำไปพัฒนาต่อในรูปแบบผลิตภัณฑ์เวชสำอาง เพื่อป้องกันภาวะผมหอกก่อนวัยได้