

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



249794



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของสารสกัดจากเปลือกไม้กระแจะต่อการฟื้นฟูการทำงานของ เซลล์ไฟโบรบลาสต์
ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณที่เป็นริ้วรอย

(Effects of *Hesperethusa crenulata* (Roxb.)'s bark extract on improvement of
biological functions of human fibroblasts from wrinkle biopsies)

โดย รองศาสตราจารย์ ดร. จารุภา วิโยชน์

พฤษภาคม 2555

000255241

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ

ดี



249794

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของสารสกัดจากเปลือกไม้กระแจะต่อการฟื้นฟูการทำงานของ เซลล์ไฟโบรบลาสต์
ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณที่เป็นริ้วรอย

(Effects of *Hesperethusa crenulata* (Roxb.)'s bark extract on improvement of
biological functions of human fibroblasts from wrinkle biopsies)



คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. จารุภา วิโยชน์

ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

รองศาสตราจารย์ ดร. นันทกา โกรานา

ภาควิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยเรื่อง “ผลของสารสกัดจากเปลือกไม้กระเจตต่อการฟื้นฟูการทำงานของ เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณที่เป็นริ้วรอย (Effects of *Hesperethusa crenulata* (Roxb.)’s bark extract on improvement of biological functions of human fibroblasts from wrinkle biopsies)” ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร (งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2554) จึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี ขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ในการทดลอง ขอขอบคุณนางสาวปวีณา อมรนพรัตน์กุล ผู้ช่วยวิจัยประจำโครงการ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบิดามารดาผู้เป็นกำลังใจ ตลอดจนครูบาอาจารย์ เจ้าของงานวิจัยที่ ผู้วิจัยได้อ้างอิงและมีได้อ้างอิงไว้ในรายงานฉบับนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

รองศาสตราจารย์ ดร. จารุภา วิโยชน์

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ	ผลของสารสกัดจากเปลือกไม้กระเจาะต่อการฟื้นฟูการทำงานของ เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณที่เป็นริ้วรอย
ชื่อผู้วิจัย	รองศาสตราจารย์ ดร. จารุภา วิโยชน์ ¹ รองศาสตราจารย์ ดร. นันทกา โกรานา ²
หน่วยงานที่สังกัด	¹ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ² ภาควิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
หมายเลขโทรศัพท์	0-5596-3682
ได้รับทุนอุดหนุน	กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร (งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2554)
จำนวนเงิน	สองแสนเก้าหมื่นเก้าพันบาทถ้วน
ระยะเวลาทำการวิจัย	18 เดือน

249894

เปลือกของกระเจาะที่ถูกบดอยู่ในรูปผงสีเหลืองมีประวัติการใช้เป็นเครื่องสำอางสำหรับผิวหนังมานานในประเทศพม่า ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้สกัดผงที่ได้จากเปลือกกระเจาะด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาแยกให้ได้สารบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็น marker ในการควบคุมคุณภาพสารสกัด แต่ในงานวิจัยนี้ยังได้สารที่มีความบริสุทธิ์ไม่เพียงพอ จึงทำให้ยังไม่สามารถทราบโครงสร้างของสาร ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดถูกทดสอบโดยวิธี DPPH ในงานวิจัยนี้สารสกัดถูกทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ (3.33-1,666.67 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ วิตามินซี (0.17-333.33 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็น positive control. EC_{50} ของสารสกัดเท่ากับ 316.5667 ± 52.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ EC_{50} ของวิตามินซีเท่ากับ 4.7437 ± 0.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ศึกษาโดยวิธี XTT สารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ (5-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด ผลการศึกษาแสดงในรูปแบบเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่มีชีวิต พบว่าเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่มีชีวิตหลังได้รับสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่แตกต่างกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัด และไม่ทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนแปลง หมายความว่าสารสกัดจากเปลือกกระเจาะไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการศึกษาผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการสร้าง type I procollagen และการผลิตเอนไซม์ MMP-1 ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์และถูกกระตุ้นด้วยแสง UVB พบว่า

สารสกัดจากเปลือกกระเจาะสามารถกระตุ้นการผลิต type I procollagen ที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังได้รับ UVB และสารสกัดนี้สามารถลดปริมาณ MMP-1 ที่เวลา 4 ชั่วโมงหลังได้รับ UVB ผลของสารสกัดต่อการฟื้นฟูศักยภาพในการจัดระเบียบเส้นใย collagen และการหดตัวของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ พบว่าสารสกัดความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มความสามารถในการฟื้นฟูศักยภาพในการจัดระเบียบเส้นใย collagen และการหดตัวของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เมื่อศึกษาเป็นเวลา 3 วัน

ABSTRACT

Title Effects of *Hesperethusa crenulata* (Roxb.)'s bark extract on improvement of biological functions of human fibroblasts from wrinkle biopsies

By Assoc. Prof. Dr. Jarupa Viyoch¹
Assoc. Prof. Dr. Nantaka Khorana²

Affiliation ¹Department of Pharmaceutical Technology,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University
²Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University

Tel. 0-5596-3682

Financial support by Research Funds from Yearly Budget, Naresuan University, 2011

Duration 18 months

249894

The stem bark of *Hesperethusa crenulata*, when ground to a pale yellow powder, has been commonly applied to the face by Myanmar women for more than a thousand years as a skin care. In this study, we extracted powder of bark of *H. crenulata* with dichloromethane. The marker of this extract got from isolation by column chromatography. The isolated compound wasn't high purity so; it couldn't read the structure from NMR. Antioxidant activity of this extract was tested by DPPH assay, the extract was used in this assay at various concentrations (3.33-1,666.67 $\mu\text{g/ml}$) and vitamin C (0.17-333.33 $\mu\text{g/ml}$) as positive control. EC_{50} of the extract is $316.5667 \pm 52.94 \mu\text{g/ml}$ and EC_{50} of vitamin C is $4.7437 \pm 0.45 \mu\text{g/ml}$. For cell viability, primary fibroblasts and XTT assay were used to test in this study. The extract at various concentration (5-100 $\mu\text{g/ml}$) was tested compare with cells that non-treat the extract. The result showed in term of percent cell viability, percent cell viability of the extract at every concentration showed no difference when compare the control (non-treat) and the morphology didn't change. It means this extract showed no cytotoxicity to primary fibroblasts at the highest concentration is 100 $\mu\text{g/ml}$. For effect of *H. crenulata* extract on UVB-induced type I procollagen and MMP-1 expressions, this extract could stimulate type I procollagen production at 24

hour after UVB induced. And this extract could reduce MMP-1 expression at 4 hour after UVB induced. For effect of *H. crenulata* extract on collagen reorganization and contraction of fibroblast, the extract showed no difference of diameter between control (no treat) and treat extract 100 $\mu\text{g/ml}$.

หน้าสรุปรายงานวิจัย (Executive Summary)

สัญญาเลขที่	R2554B105
โครงการ	ผลของสารสกัดจากเปลือกไม้กระเจตต่อการฟื้นฟูการทำงานของ เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณที่เป็นริ้วรอย
หัวหน้าโครงการ	รองศาสตราจารย์ ดร. จารุภา วิโชชน์
หน่วยงาน	ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
ระยะเวลาดำเนินงาน	18 เดือน
งบประมาณ	299,000 บาท (สองแสนเก้าหมื่นเก้าพันบาทถ้วน)

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อาจกล่าวได้ว่าอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญมากในเชิงเศรษฐกิจ ในปี 2549 มีการส่งออกเครื่องสำอางจากเป็นมูลค่าถึง 26,395 ล้านบาท โดยเพิ่มขึ้นจากปี 2548 ถึงร้อยละ 8.8 (ข้อมูลจากสำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม : สรุปภาวะเศรษฐกิจอุตสาหกรรมไทยปี 2549 และแนวโน้มปี 2550 (อุตสาหกรรมเคมีภัณฑ์) และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในปีต่อๆ มา ยกตัวอย่างเช่นในปี 2551 การส่งออกผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมีมูลค่าสูงถึง 36,220 ล้านบาท เครื่องสำอางที่ได้รับการยอมรับ และมียอดขายสูงในปัจจุบันพบว่าส่วนใหญ่มีสารสกัด หรือสารที่มีแหล่งที่มาจากรธรรมชาติเป็นส่วนประกอบ ตัวอย่างเช่น kojic acid, tea tree oil, licorice extract, green tea extract และ grape seed extract เป็นต้น สารสกัด หรือสารที่มีแหล่งที่มาจากรธรรมชาติเหล่านี้ได้รับการพัฒนา และศึกษาวิจัยในเชิงลึกถึงประสิทธิภาพ และความปลอดภัย ทำให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่ได้รับยอมรับในระดับสากล และถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย

ความแก่ (aging) เกิดจากการที่ร่างกายมีการสะสมโมเลกุลที่เสื่อมสภาพ ที่ร่างกายผลิตขึ้นมา โมเลกุลที่เสื่อมสภาพ เช่น โปรตีน และไขมัน ที่ถูกทำให้เปลี่ยนแปลงโดย reactive oxygen species (ROS) หรืออนุมูลอิสระ (free radicals) ซึ่งสามารถเกิดขึ้นเองในร่างกายอันเนื่องมาจากกระบวนการสันดาปหรืออนุมูลอิสระที่มีสาเหตุจากการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น รังสี UV ผิวหนังเป็นอวัยวะหลักที่สะท้อนให้เห็นถึงความเปลี่ยนแปลงของร่างกายที่เกิดขึ้นอันเนื่องมาจากความแก่ การเปลี่ยนแปลงของผิวหนังที่เห็นได้ชัดคือความยืดหยุ่นของผิวที่ลดลง ซึ่งเกิดควบคู่กับการเกิดริ้วรอย (wrinkles) ริ้วรอยซึ่งเป็นสิ่งบ่งชี้ถึงความแก่ หรือการเสื่อมสภาพของผิวหนังนั้น

เป็นผลเนื่องมาจากปริมาณคอลลาเจน (collagen) ที่ผลิตโดยเซลล์ผิวหนังลดลง ร่วมกับการเสื่อมสภาพของคอลลาเจนที่มีอยู่ จากการศึกษาพบว่าเซลล์ที่ผิวหนังที่รับผิดชอบโดยตรงต่อการผลิตคอลลาเจน และการเสื่อมสลายของคอลลาเจนคือเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblasts) โดยที่เมื่ออายุมากขึ้นหรือเมื่อผิวหนังสัมผัสกับแสง UV บ่อยครั้งจะทำให้การทำงานของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ผิวหนังมีการเปลี่ยนแปลงในเชิงถดถอย ได้แก่ ผลิตโปรคอลลาเจน โดยเฉพาะชนิดที่ 1 (type I procollagen) ลดลง และสร้างเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายคอลลาเจนมากขึ้น เอนไซม์เหล่านั้น ได้แก่ เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (matrix metalloproteinase, MMPs) ชนิดที่ 1 (MMP-1) เป็นต้น นอกจากนี้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ยังสูญเสียศักยภาพในการเคลื่อนตัว (migration) ไปยังเส้นใยคอลลาเจนและเกาะติด (adhesion) กับเส้นใยดังกล่าวในบริเวณผิวหนังชั้น dermis ส่งผลให้การจัดระเบียบหรือจัดเรียงตัว (reorganization) ของเส้นใยคอลลาเจนโดยเซลล์ไฟโบรบลาสต์เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ รวมทั้งการสูญเสียศักยภาพในการเกาะติดกับเส้นใยคอลลาเจนของไฟโบรบลาสต์ยังทำให้คุณสมบัติเชิงกล เช่น ศักยภาพในการหดตัว (contractile capacity) ของเซลล์ลดลงด้วย จากที่กล่าวมาทั้งหมดจะเห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างความแก่ ริ้วรอย อนุมูลอิสระ และการถดถอยในการทำงานของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ด้วยเหตุนี้การฟื้นฟูเซลล์ไฟโบรบลาสต์ให้สามารถทำงานได้ใกล้เคียงในสภาวะปกติ ได้แก่ ในสภาวะที่เซลล์ยังมีความอ่อนเยาว์ และ/หรือไม่ถูกกระตุ้นด้วยสภาวะแวดล้อมภายนอก เช่น รังสี UV จึงเป็นหนทางหนึ่งในการชะลอหรือฟื้นฟูสภาพของผิวหนังให้ดียิ่งขึ้น ในแง่ของการเพิ่มความยืดหยุ่นและลดริ้วรอย ในปัจจุบันพบว่าวิตามินซี (L-ascorbic acid) มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชันที่สูง สามารถฟื้นฟูการทำงานของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ โดยกระตุ้นการผลิตโปรคอลลาเจนชนิดที่ 1 และยับยั้งการผลิตเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนสชนิดที่ 1 ดังนั้นวิตามินซีจึงนิยมนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่กล่าวอ้างว่าสามารถชะลอความแก่ (anti-aging) หรือลบเลือนริ้วรอย (anti-wrinkle) โดยวิตามินซีที่นำมาใช้ส่วนใหญ่ได้มาจากการสังเคราะห์

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีทรัพยากรธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์ มีความหลากหลายทางชีวภาพ วัตถุดิบจากธรรมชาติหลายชนิด เช่น วัตถุดิบที่ได้จาก พืช สัตว์ และแร่ธาตุ มีศักยภาพที่จะนำมาพัฒนาเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในทางเครื่องสำอาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารที่มีต้นกำเนิดหรือสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยเหตุนี้คณะผู้ดำเนินการวิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำสารสกัดจากสมุนไพรที่มี

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ มาศึกษาผลของสารสกัดดังกล่าวต่อการฟื้นฟูการทำงานของเซลล์ไฟโบร بلاสต์ ที่แยกได้จากผิวหนังของผู้สูงอายุ ณ บริเวณที่เป็นริ้วรอย ในแง่ของการกระตุ้นการสร้างโปรคอลลาเจน ยับยั้งการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับทำลายคอลลาเจน และฟื้นฟูสมรรถนะทางเชิงกล ได้แก่ การหดตัว โดยมุ่งเป้าไปที่สารสกัดจากเปลือกต้นพญาบาทหรือต้นกระเจาะ (*Hesperethusa crenulata* (Roxb.)) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Moraceae เนื่องจากมีประวัติการใช้โดยการทำเปลือกไม้มาฝนจะได้ผงที่เรียกว่าทานาคา ซึ่งจะใช้ทาใบหน้าและผิวหนังเพื่อประทิมผิว ชะลอความแก่ และปกป้องผิวจากแสงแดด ในปัจจุบันได้มีการนำสารสกัดจากกระเจาะมาผสมในเครื่องสำอางและวางจำหน่ายอย่างแพร่หลาย โดยทำอ้างสรรพคุณชะลอความแก่ ซึ่งจากการค้นคว้าของคณะผู้วิจัยพบว่ายังไม่มีรายงานหรือเผยแพร่ผลของสารสกัดต่อการทำงานของเซลล์ผิวหนังเพื่อยืนยันสรรพคุณดังกล่าว

จากการศึกษาของคณะผู้วิจัยในเบื้องต้นพบว่าสารสกัดหยาบของเปลือกไม้ที่ได้จากการหมักด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เมทานอล มีฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชันโดยมีค่า IC_{50} หรือความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้ 50 เปอร์เซ็นต์เท่ากับ 130 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อเทียบกับวิตามินซี พบว่าสารสกัดนี้มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันคิดเป็น 65 เปอร์เซ็นต์ของวิตามินซี นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดดังกล่าวที่ความเข้มข้น 20 – 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบร بلاสต์โดยไม่ทำให้ลักษณะของเซลล์เปลี่ยนแปลง จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นความเป็นไปได้ของสารสกัดจากเปลือกต้นกระเจาะในการที่จะมีฤทธิ์ฟื้นฟูการทำงานของเซลล์ไฟโบร بلاสต์ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางประเภทชะลอความแก่ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าของสมุนไพรไทย สร้างความมั่นคงของภาคเศรษฐกิจท้องถิ่นและชุมชน รวมทั้งเป็นการสร้างนวัตกรรมจากทรัพยากรชีวภาพที่เป็นเอกลักษณ์ของประเทศ

2. วัตถุประสงค์

- ทราบประสิทธิผลของสารสกัดจากเปลือกไม้กระเจาะต่อการกระตุ้นการสร้าง type I pro-collagen และยับยั้งการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับทำลาย collagen ในเซลล์ไฟโบร بلاสต์ที่แยกได้จากผิวหนังบริเวณที่มีริ้วรอย

- ทราบประสิทธิผลของสารสกัดจากเปลือกไม้กระเจาะต่อการยับยั้งการทำลาย type I procollagen และการผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลาย collagen ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังบริเวณที่มีริ้วรอยที่ถูกกระตุ้นด้วยแสง UV
- ทราบประสิทธิผลของสารสกัดจากเปลือกไม้กระเจาะต่อการฟื้นฟูสภาพในการจัดระเบียบ(reorganization) คอลลาเจน และการหดตัว (contraction) ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังบริเวณที่มีริ้วรอย

3. ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาสารสกัดจากเปลือกกระเจาะ ซึ่งทำตั้งแต่การควบคุมคุณภาพของสารสกัดด้วย HPLC โดยสารที่ใช้เป็น marker ในการควบคุมคุณภาพ ได้จากการแยกจากสารสกัดโดยวิธี column chromatography สำหรับงานวิจัยนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าสารชนิดนี้คือสารอะไร เนื่องจากสารที่แยกได้ยังมีความบริสุทธิ์ไม่มากพอ นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังได้แสดงโครมาโตแกรม HPLC ของสารสกัด การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยวิธี DPPH แสดงให้เห็นว่าสารสกัดมีค่า EC_{50} เท่ากับ 316.5667 ± 52.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า EC_{50} ของวิตามินซีซึ่งใช้เป็น positive control ของการทดลองนี้ เท่ากับ 4.7437 ± 0.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การศึกษาผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณที่เป็นริ้วรอย โดยวิธี XTT พบว่าสารสกัดจากเปลือกกระเจาะที่ความเข้มข้น $100 \mu\text{g/ml}$ ไม่ทำให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลงและไม่ทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนแปลง การศึกษาผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการสร้าง type I procollagen และการผลิตเอนไซม์ MMP-1 ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังบริเวณที่มีริ้วรอยและถูกกระตุ้นด้วยแสง UVB ผลของการกระตุ้นการสร้าง type I procollagen พบว่าหลังจากเซลล์ได้รับ UVB ซึ่งก่อนหน้านั้นได้รับสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดจากเปลือกกระเจาะสามารถกระตุ้นการสร้าง type I procollagen ได้เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดทั้งที่ได้รับและไม่ได้รับ UVB สำหรับผลในการยับยั้งเอนไซม์ MMP-1 พบว่าหลังจากเซลล์ได้รับ UVB ซึ่งก่อนหน้านั้นได้รับสารสกัดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง สารสกัดจากเปลือกกระเจาะสามารถช่วยลดการผลิตเอนไซม์ MMP-1 เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับสารสกัดและได้รับ UVB การศึกษาผลของสารสกัดต่อการฟื้นฟูสภาพในการจัดระเบียบ (reorganization) เส้นใย collagen และการหดตัว (contraction) ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ศึกษา

เปรียบเทียบระหว่าง DMEM กับ DMEM ที่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ ประเมินผล โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ matrix พบว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ matrix ทั้งที่ได้รับ DMEM และ สารสกัด ไม่แตกต่างกันทั้ง 3 วัน สำหรับการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า เวลา 3 วัน สารสกัดไม่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มความสามารถในการฟื้นฟูศักยภาพในการจัดระเบียบเส้นใย collagen และการหดตัวของเซลล์ไฟโบรบลาสต์

4. Output จากงานวิจัย

องค์ความรู้ในการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากเปลือกกระเจาะ ให้แก่ผู้ที่สนใจ ตลอดจนจนภาคอุตสาหกรรม โดยการเผยแพร่ผลงานวิจัยในที่ประชุมวิชาการ

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทคัดย่อ	II
Abstract	IV
หน้าสรุปรายงานวิจัย (Executive Summary)	VI
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย	3
1.4 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
1.6 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	6
1.7 ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ	6
บทที่ 2 บริบทสนั้วรรณกรรม	7
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	10
3.1 สารเคมี	10
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	11
3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย	11
3.3.1 การเตรียมตัวอย่างสารสกัด	11
3.3.2 ทำการควบคุมคุณภาพของสารสกัด	11
3.3.3 การวัดฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน โดย DPPH assay	11
3.3.4 การศึกษาผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการเพิ่มจำนวน (proliferation) ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณที่เป็นริ้วรอย	12
3.3.5 การทดสอบผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการสร้าง type I procollagen และการผลิตเอนไซม์ MMP-1 ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังบริเวณที่มีริ้วรอยและถูกกระตุ้นด้วยแสง UVB	13

3.3.6 การทดสอบผลของสารสกัดต่อการฟื้นฟูศักยภาพในการจัดระเบียบเส้นใย collagen และการหดตัวของเซลล์ไฟโบรบลาสต์	14
3.3.7 วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล	15
บทที่ 4 รายงานผลการวิจัย	
4.1 การควบคุมคุณภาพของสารสกัด	16
4.1.1 ผลของการแยกสารสำคัญในสารสกัด	16
4.1.2 การควบคุมคุณภาพของสารสกัดโดย HPLC	17
4.2 การวัดฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน โดย DPPH assay	17
4.3 การศึกษาผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการเพิ่มจำนวน (proliferation) ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังมนุษย์บริเวณที่เป็นริ้วรอย	19
4.4 ผลของสารสกัดต่อการกระตุ้นการสร้าง type I procollagen และการผลิตเอนไซม์ MMP-1 ในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่แยกได้จากผิวหนังบริเวณที่มีริ้วรอยและถูกกระตุ้นด้วยแสง UVB	20
4.5 ผลของสารสกัดต่อการฟื้นฟูศักยภาพในการจัดระเบียบเส้นใย collagen และการหดตัวของเซลล์ไฟโบรบลาสต์	23
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	25
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	29
บรรณานุกรม	31
ภาคผนวก	34