สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ

1.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพเบื้องต้น

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพเบื้องต้นของสารสกัดถั่วเหลือง สารสกัดกวาวเครือขาว และน้ำมันชนิดต่างๆ ทั้งน้ำมันทั่วไป คือ น้ำมันงา น้ำมันมะพร้าว น้ำมันรำข้าว และน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำมันโหระพา น้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม น้ำมันขิง น้ำมันเลมอน น้ำมันส้ม และน้ำมันสะระแหน่ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Staphylococcus aureus* และ *Malassesia furfur* ที่เป็นสาเหตุของภาวะผมร่วงในผู้ป่วยที่มีอาการติดเชื้อที่หนังศีรษะ ด้วยวิธี agar disc diffusion ความเข้มข้นของสารสกัดถั่วเหลืองและกวาวเครือขาวที่ 50 mg/ml และน้ำมันชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 500 mg/ml พบว่า สารสกัดถั่วเหลือง สารสกัดกวาวเครือขาว น้ำมันมะพร้าว น้ำมันงา และน้ำมันรำข้าวนั้น ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งสองชนิด ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดสอบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้ง 2 ชนิด ยกเว้น น้ำมันเลมอนที่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรค และ น้ำมันขิงที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* การรายงานฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพแสดงโดยความยาวของเส้นผ่าศูนย์กลางในการยับยั้งเชื้อจุลชีพ

1.2 การประเมินประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหย

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพด้วยวิธี agar disc diffusion นำน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลชีพ ไปทดสอบหาปริมาณต่ำสุดของสารที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลชีพ (MIC) ด้วยวิธี agar dilution พบว่า น้ำมันตะไคร้ เป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลชีพสูงสุดทั้ง 2 ชนิด ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น มีค่า MIC อยู่ในช่วงระหว่าง 6.5-25 mg/ml ในเชื้อทั้งสองชนิดเช่นเดียวกัน ยกเว้น น้ำมันขิงที่มีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลชีพของสารสกัดพืชและน้ำมันชนิดต่างๆ ด้วยวิธี agar disc diffusion (N=3)

สารทดสอบ	ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลาง (mm)	
	S. aureus	*M.furfur*
กลุ่มสารสกัดพืช		
สารสกัดถั่วเหลือง	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
สารสกัดกวาวเครือขาว	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
กลุ่มน้ำมันทั่วไป		
น้ำมันมะพร้าว	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
น้ำมันงา	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
น้ำมันรำข้าว	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
กลุ่มน้ำมันหอมระเหย		
น้ำมันโหระพา	17.89 ± 3.15	12.81 ± 3.47
น้ำมันตะไคร้หอม	9.32 ± 1.02	12.97 ± 0.15
น้ำมันขิง	8.56 ± 0.77	0.00 ± 0.00
น้ำมันเลมอน	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
น้ำมันตะไคร้	36.39 ± 2.61	44.87 ± 1.35
น้ำมันส้ม	7.80 ± 0.39	6.89 ± 0.28
น้ำมันสะระแหน่	24.32 ± 1.55	12.84 ± 3.52
กลุ่มควบคุม		
Ampicilin	40.32 ± 2.42	-
Amphotericin B	-	11.24 ± 2.03
ตัวทำละลาย	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นต่ำสุดน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลชีพ (N=3)

สารทดสอบ	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพได้ (mg/ml)	
	S. aureus	*M.furfur*
น้ำมันโหระพา	12.500	6.250
น้ำมันตะไคร้หอม	12.500	12.500
น้ำมันขิง	200.000	-
น้ำมันตะไคร้	3.125	0.780
น้ำมันส้ม	25.000	25.000
น้ำมันสะระแหน่	6.250	6.250

1.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยในนีโอโซม

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อในข้อ 1.2 ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในรูปแบบนีโอโซมที่ความเข้มข้น 10 mg/ml ด้วยวิธี broth micro-dilution พบว่า นีโอโซมน้ำมันตะไคร้ที่ความเข้มข้น 2.50 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพทั้ง 2 ชนิด ในขณะที่นีโอโซมจากน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นๆ ต้องใช้ปริมาณมากกว่า 2.50 mg/ml จึงสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพได้

2. การทดสอบฤทธิ์การกระตุ้นการงอกของเส้นผม

2.1 การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นต่อมรากผม

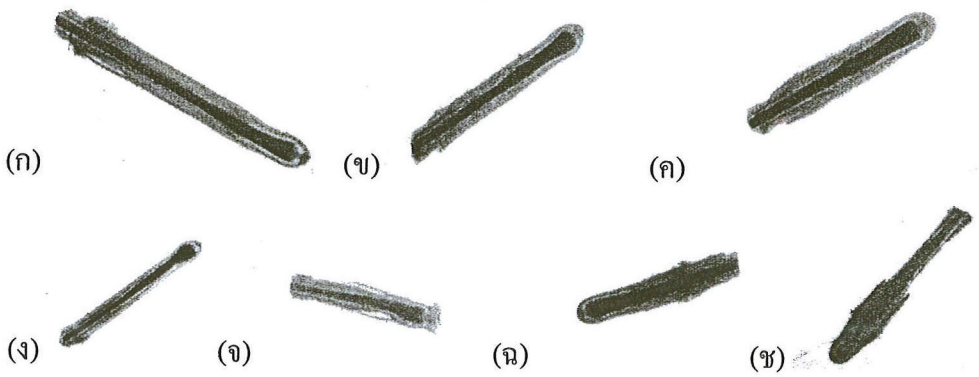
ต่อมรากผมที่แยกได้จากชิ้นเนื้อหนังศีรษะตัวอย่าง เมื่อทำการตรวจสอบลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ พบว่าต่อมรากผมที่แยกได้นั้น ประกอบไปด้วยต่อมรากผมที่มีลักษณะแตกต่างกัน เช่น ต่อมรากผมที่อยู่ในระยะ anagen และมีองค์ประกอบภายในครบถ้วน เมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมจะพบว่า ต่อมรากผมดังกล่าวสามารถเจริญเติบโตได้ในอัตราการงอกยาวเฉลี่ยวันละ 0.3 mm (รูปที่ 1.1 ก-ค) ส่วนต่อมรากผมที่ไม่สมบูรณ์ คือต่อมรากผมที่มีองค์ประกอบไม่ครบถ้วน จะไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ (รูปที่ 1 ง-ฉ) ไม่นำมาใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ ต่อมรากผมที่มีอัตราการงอกยาวน้อยกว่าวันละ 0.2 mm (รูปที่ 1 ฉ) และต่อมรากผมที่อยู่ในระยะ telogen (รูปที่ 1 ช) ก็จัดเป็นต่อมรากผมที่ไม่ได้นำมาใช้ในการทดลอง จากการคัดเลือกต่อมรากผมภายใต้กล้องจุลลทรรศน์หัวกลับ พบว่า ชิ้นเนื้อหนังศีรษะที่ได้จากอาสาสมัครอายุน้อยจะมีต่อมรากผมในระยะ anagen มากกว่าระยะ telogen ส่วนหนังศีรษะที่ได้จากอาสามาสมัครที่มีอายุมากขึ้นจะพบว่ามีต่อมรากผมระยะ telogen มากขึ้นด้วย ส่วนต่อมรากผมที่มีองค์ประกอบไม่สมบูรณ์เกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น ต่อมรากผมที่แยกได้ อยู่ในระยะ telogen อยู่

สำนักงานหอสมุดแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 2 มิ.ย. 2556
209264

แล้ว ระยะเวลาที่ได้รับชิ้นเนื้อหนังศีรษะจากอาสาสมัครหลังจากการผ่าตัดอาจนานเกิน 24 ชั่วโมง และความชำนาญในการแยกต่อมรากผม เป็นต้น ดังนั้น ต่อมรากผมที่นำมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของต่อมรากผมโดยสารสกัด จะต้องเป็นต่อมรากผมที่นำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมเป็นเวลา 1-2 วัน ก่อน ทำการวัดความยาวของต่อมรากผมทุกวัน เพื่อให้แน่ใจว่าต่อมรากผมที่จะนำมาใช้ทดลองมีอัตราการงอกยาววันละไม่น้อยว่า 0.3 mm (Philpott et al., 1990) ดังรูปที่ 2

จากปัจจัยที่มีผลต่อการงอกยาวของต่อมรากผมที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์นั้น เมื่อทำการแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น เพศและระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง จะพบว่า ต่อมรากผมที่เก็บจากหนังศีรษะในเวลาไม่เกิน 24 ชั่วโมง หลังจากผ่าตัดออกมาจากผู้บริจาค จะมีอัตราการงอกยาวของต่อมรากผมที่ไม่แตกต่างกัน คือมีอัตราการงอกยาวประมาณ 0.32 ± 0.12 mmในเพศชาย และ 0.34 ± 0.18 mmในเพศหญิง และตัวอย่างต่อมรากผมที่ได้ภายหลัง 24 ชั่วโมง จากผ่าตัดออกมาจากผู้บริจาค พบว่าต่อมรากผมมีอัตราการงอกยาวน้อยกว่าวันละ 0.2 mm ทั้งในเพศชายและเพศหญิง

จากการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของต่อมรากผมโดยใช้นีโอโซมน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิด พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1% v/v มีผลยับยั้งการงอกยาวของต่อมรากผม (รูปที่ 2) และผลยับยั้งจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของนีโอโซมลดลง (ภาพที่ 3-8) จนกระทั่งที่ความเข้มข้น 10^{-6} % v/v ของนีโอโซมน้ำมันตะไคร้ และนีโอโซมน้ำมันสะระแหน่ มีผลกระตุ้นให้ต่อมรากผมงอกยาวกว่ากลุ่ม control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ *p-value* < 0.5



รูปที่ 1 ตัวอย่างลักษณะต่อมรากผม ภายหลังจากเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 1 วัน

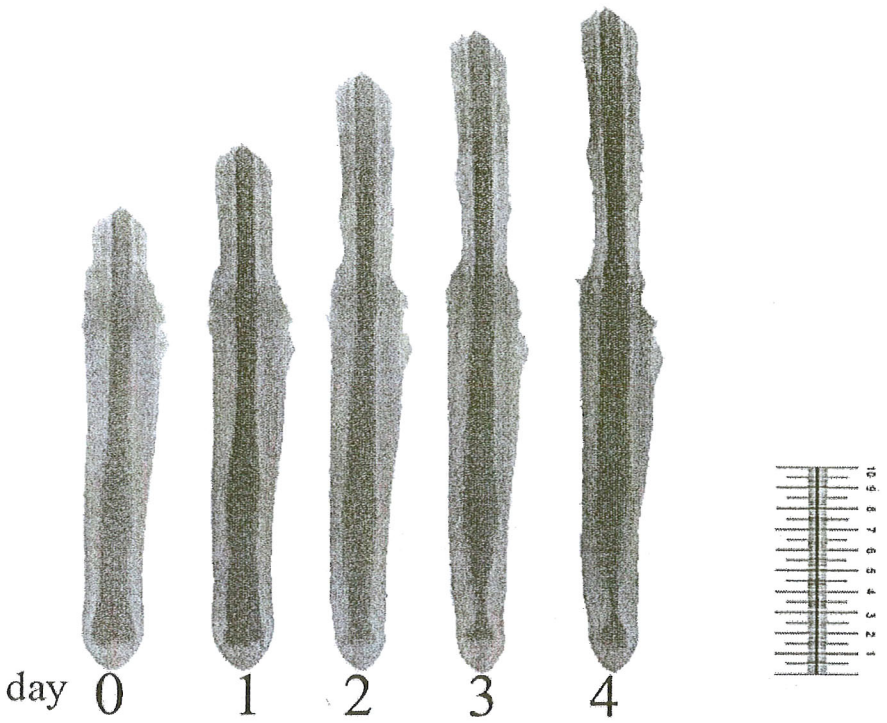
(ก) - (ค) เป็นลักษณะของต่อมรากผมที่มีโครงสร้างสมบูรณ์และมีอัตราการโตปกติ เฉลี่ยวันละ 0.3 mm สามารถนำมาใช้ในการทดสอบต่อไปได้

(ง) - (จ) เป็นลักษณะของต่อมรากผมที่มีโครงสร้างไม่สมบูรณ์

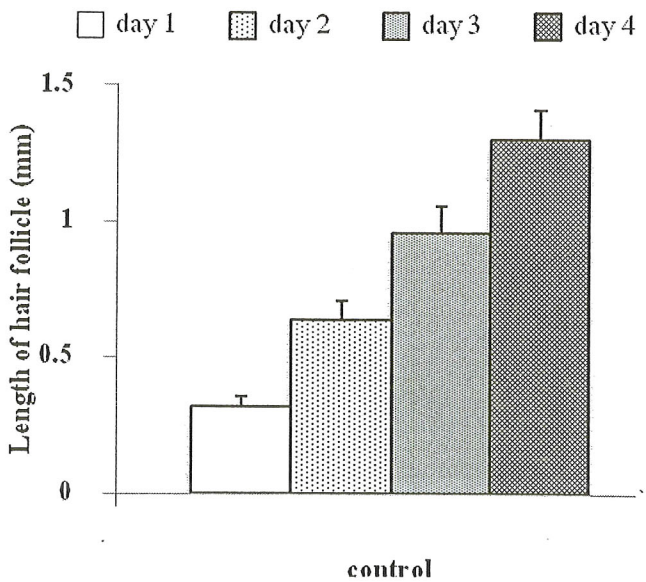
(ฉ) เป็นต่อมรากผมที่มีอัตราการ โตน้อยกว่าวันละ 0.2 mm

(ช) เป็นต่อมรากผมที่อยู่ในระยะสิ้นสุดการโต (telogen phase)

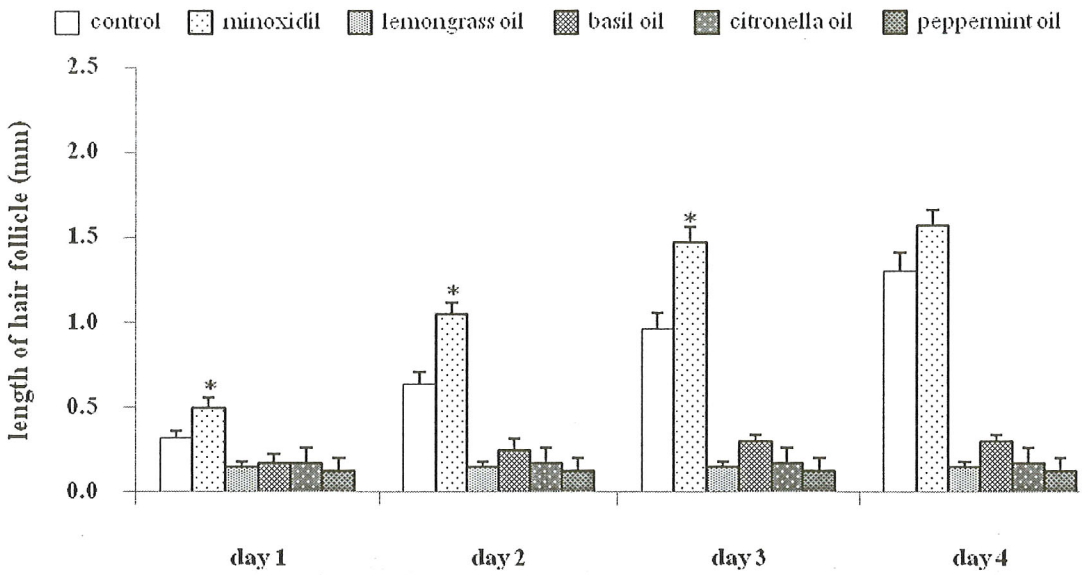
(ก)



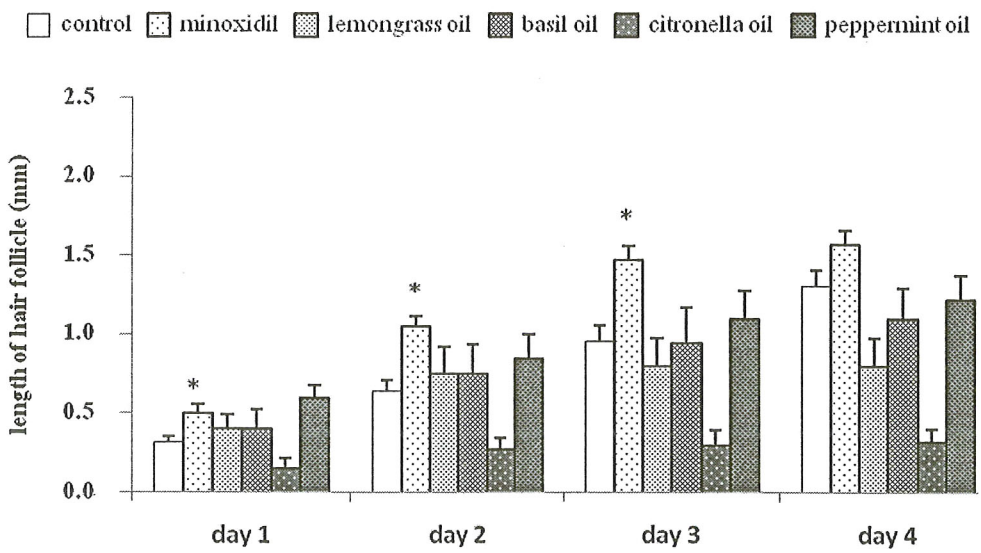
(ข)



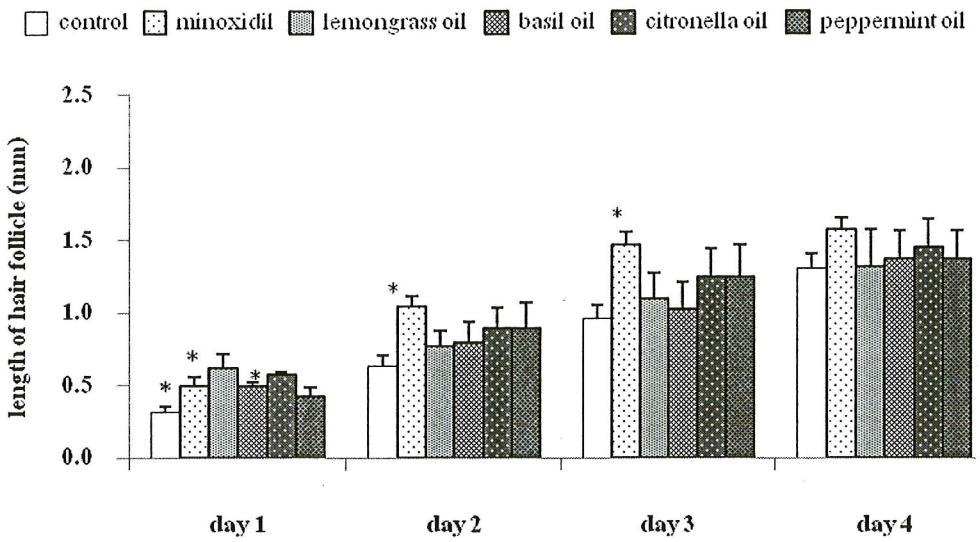
รูปที่ 2 (ก) ลักษณะทางกายภาพของต่อมรากผม และ (ข) ความยาวของต่อมรากผม ในแต่ละวัน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมปกติเป็นระยะเวลา 4 วัน (day 4) เริ่มต้นนับจากวันที่ทำการเลี้ยง (day 0), scale 1 mm.



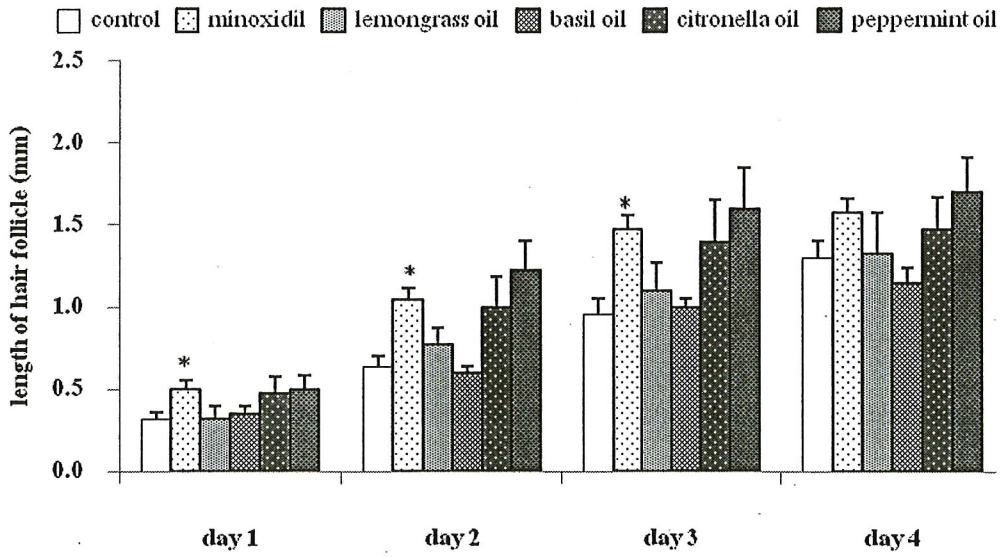
รูปที่ 3 อัตราการงอกยาวของต่อมรากผมในแต่ละวันที่ทดสอบด้วย minoxidil (10 μM) และนีโอโซมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 10 μg/ml (N=4), *p-value < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่มนีโอโซมเปล่า (control)



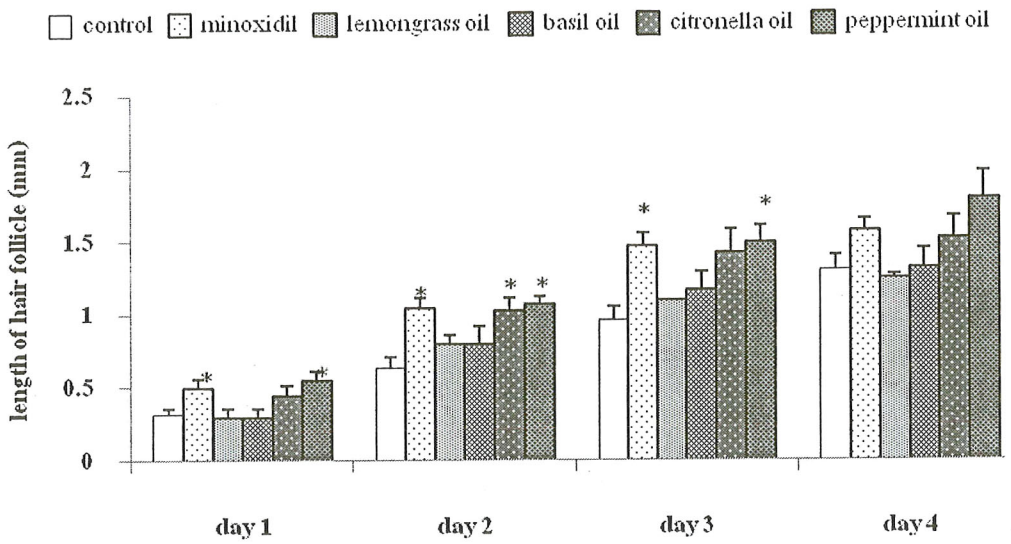
รูปที่ 4 อัตราการงอกยาวของต่อมรากผมในแต่ละวันที่ทดสอบด้วย minoxidil (10 μM) และนีโอโซมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 1 μg/ml (N=4), *p-value < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่ม control



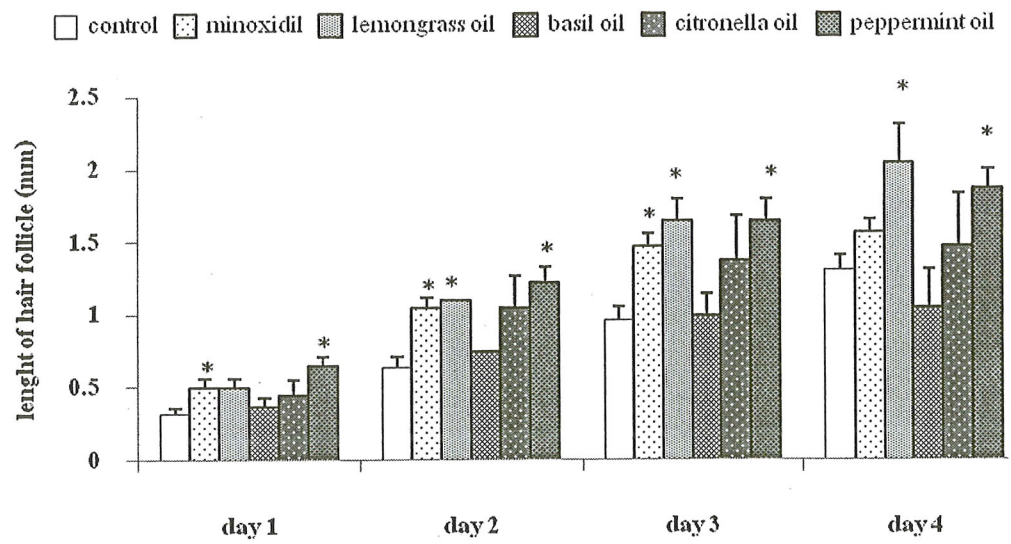
รูปที่ 5 อัตราการงอกยาวของต่อมรากผมในแต่ละวันที่ทดสอบด้วย minoxidil (10 μM) และนีโอโซมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 0.1 μg/ml (N=4), *p-value < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่ม control



รูปที่ 6 อัตราการงอกยาวของต่อมรากผมในแต่ละวันที่ทดสอบด้วย minoxidil (10 μM) และนีโอโซมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 0.01 μg/ml (N=4), *p-value < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่ม control



รูปที่ 7 อัตราการงอกยาวของต่อมรากผมในแต่ละวันที่ทดสอบด้วย minoxidil (10 μM) และนีโอโซมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 0.001 μg/ml (N=4), *p-value < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่ม control



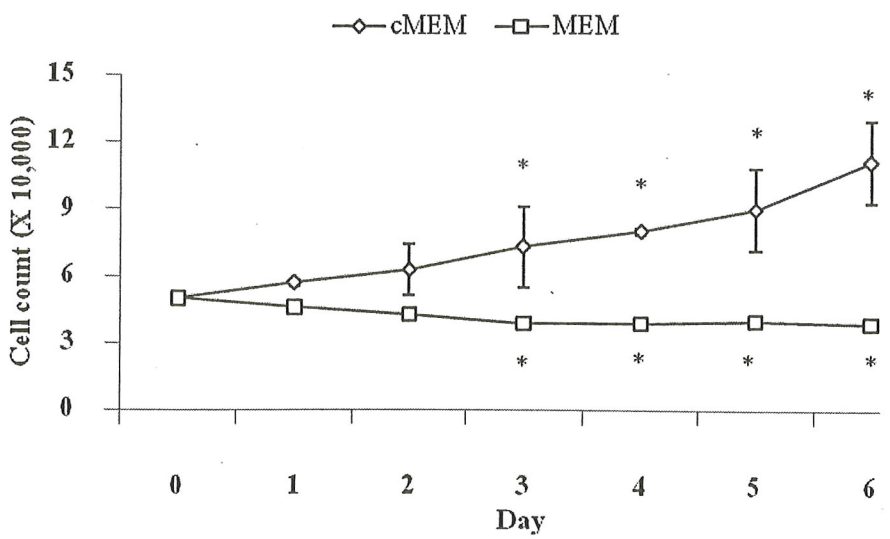
รูปที่ 8 อัตราการงอกยาวของต่อมรากผมในแต่ละวันที่ทดสอบด้วย minoxidil (10 μM) และนีโอโซมน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 0.0001 μg/ml (N=4), *p-value < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่ม control

2.2 การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม

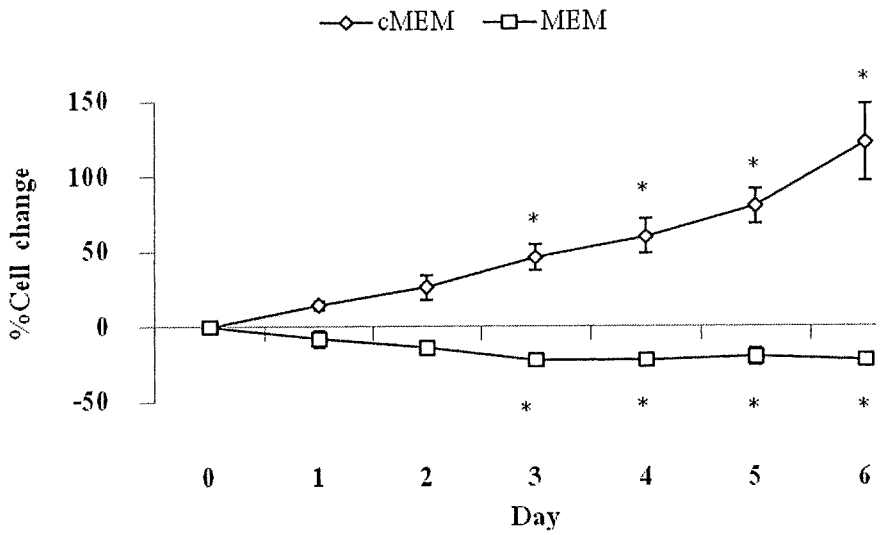
2.2.1 อัตราการเจริญของเซลล์รากผมของอาหารเลี้ยงเซลล์

เซลล์รากผมที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้แยกจากต่อมรากผมมนุษย์มีลักษณะดังภาพที่ 4.47 ในการศึกษาอัตราการเจริญของเซลล์รากผมในอาหารเลี้ยงเซลล์ (cMEM) และอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่เติม 10% fetal bovine serum (MEM) มีอัตราการเจริญของเซลล์รากผมที่แตกต่างกันในวันที่ 3 ของการเลี้ยงเซลล์ ซึ่งเซลล์รากผมในอาหาร cMEM จะมีปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้นแตกต่างจากปริมาณเซลล์เริ่มต้นในวันแรก (day 0) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ *p-value* < 0.5 ดังรูป10 และมีปริมาณเซลล์รากผมเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของวันแรกในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยงเซลล์ ซึ่งคิดเป็นอัตราการเจริญของเซลล์รากผมเป็น 200% ของจำนวนเซลล์เริ่มต้น ในขณะที่ เซลล์รากผมในอาหารเลี้ยงเซลล์ MEM มีปริมาณเซลล์รากผมลดลงจากวันแรกและมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง จนกระทั่งวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยงเซลล์ซึ่งมีปริมาณเซลล์รากผมลดลงแตกต่างจากวันแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ *p-value* < 0.5 และในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยงเซลล์รากผม มีปริมาณเซลล์รากผมคิดเป็น 80% ของจำนวนเซลล์เริ่มต้น ดังนั้นในการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นเซลล์รากผมจึงเลือกใช้อาหาร MEM เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ในการทดสอบเพื่อลดผลกระตุ้นเซลล์จาก fetal bovine serum และทำการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเซลล์รากผมในวันที่ 1 (day 1) และ 5 (day 5)

รูปที่ 9 ลักษณะเซลล์รากผมที่ใช้ในการทดสอบ (ขนาดกำลังขยาย 12X)



ก



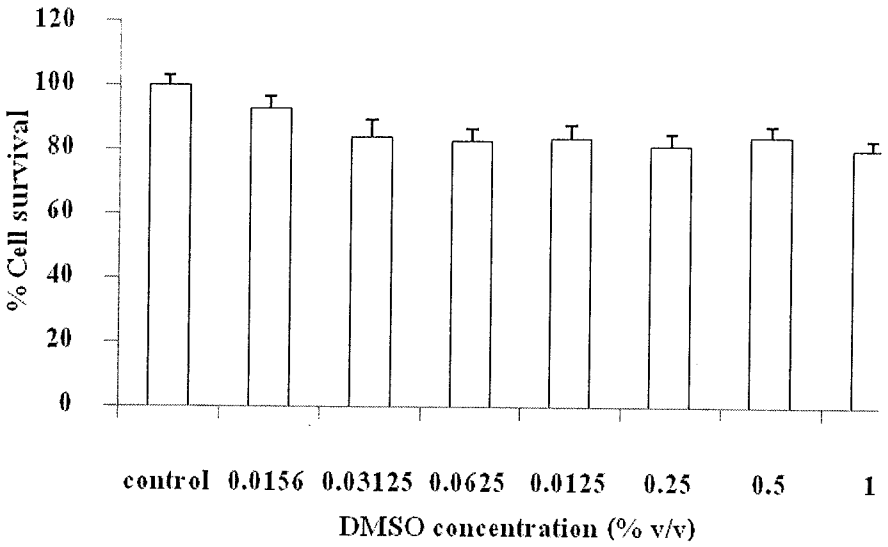
ข

รูปที่ 10 ปริมาณ (ก) และร้อยละอัตราการเปลี่ยนแปลง (ข) ของเซลล์รากผมที่เลี้ยงเซลล์ cMEM และ MEM เป็นระยะเวลา 6 วัน; *p-value* < 0.5 เมื่อเทียบกับปริมาณเซลล์เริ่มต้น (day 0)

2.2.2 การศึกษาผลของตัวทำละลายที่มีต่อการเจริญของเซลล์รากผม

1) ผลของตัวทำละลายสารสกัดและน้ำมันหอมระเหย

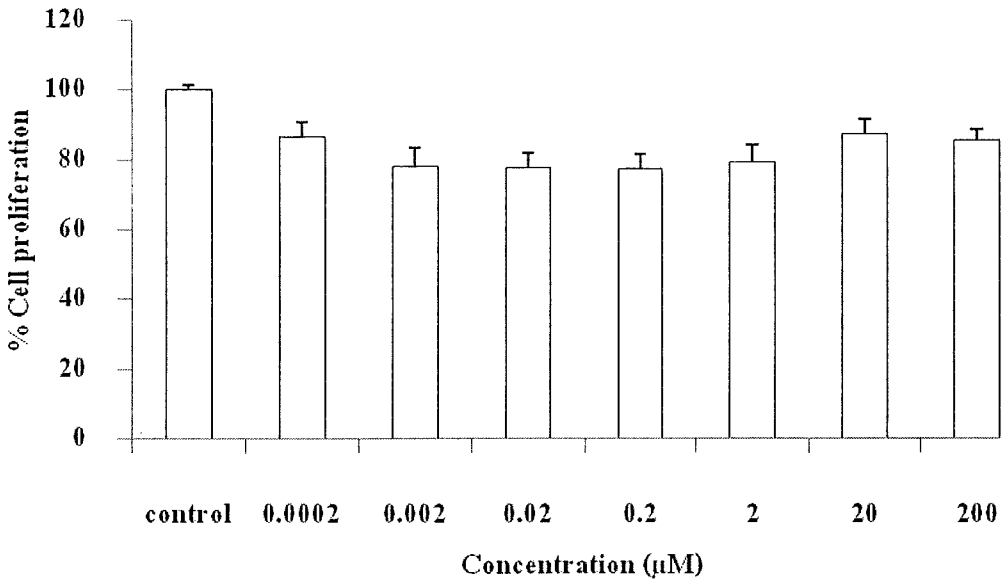
เนื่องจากสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดลองไม่สามารถละลายในน้ำได้ แต่สามารถละลายได้ใน DMSO และ DMSO นั้นมีผลต่อการเจริญของเซลล์เพาะเลี้ยงหลายชนิด ดังนั้นในการทดลองนี้จึงต้องทดลองหาความเข้มข้นของ DMSO สูงสุดที่ไม่มีผลต่อการเจริญของเซลล์รากผม ในการทดลองนี้ใช้ DMSO ที่ความเข้มข้น 0.01-1% v/v ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ปกติเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคืออาหารเลี้ยงเซลล์รากผม พบว่า กลุ่มที่เติม DMSO เซลล์มีอัตราการรอดตายอยู่ระหว่าง 90% (0.01% DMSO) และ ประมาณ 79% (1% DMSO) (รูปที่ 11) จากผลการทดลองดังกล่าวจึงได้เลือกใช้ ความเข้มข้นสูงสุดที่สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยสามารถละลายได้ใน DMSO และเซลล์มีอัตราการรอดตายสูง ในที่นี้คือ DMSO ความเข้มข้น 0.5% v/v ซึ่งมีปริมาณเซลล์รอดตาย 84.17 ± 3.41%



รูปที่ 11 อัตราการรอดตายของเซลล์รากผมของตัวทำละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น 0.01-1% v/v เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอาหารเลี้ยงเซลล์รากผม (control) (N=3)

2) ผลของนีโอโซมเปล่าต่อการเจริญของเซลล์รากผม

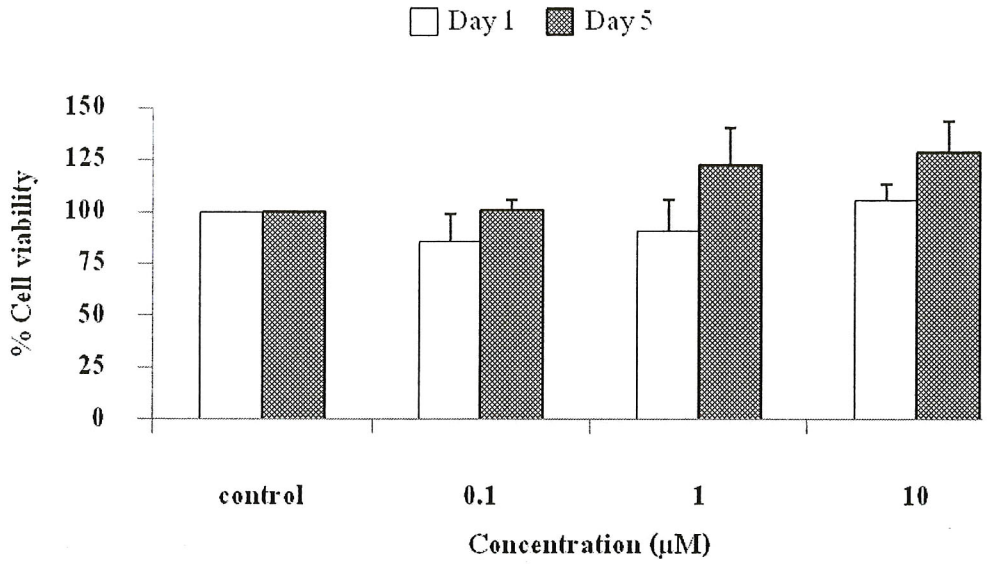
เนื่องจากในการครั้งนี้ ยังไม่มีรายงานถึงผลของระบบนำส่งนีโอโซมต่อเซลล์รากผม ซึ่งเป็นเซลล์เป้าหมายในการนำส่งทางรูขุมขน ดังนั้นจึงต้องทดลองหาความเข้มข้นของนีโอโซมเปล่าที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่มีผลรบกวนต่อการเจริญของเซลล์รากผม ในการทดลองนี้ใช้นีโอโซมเปล่าที่ความเข้มข้น 0.0002-200 μM พบว่า อัตราการรอดตายของเซลล์รากผมที่ความเข้มข้น 200 μM มีค่าเป็น 82.50% เมื่อเทียบกับเซลล์รากผมที่ได้รับเพียงอาหารเลี้ยงเซลล์ (control) ดังรูปที่ 12 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อลดปริมาณของนีโอโซม ดังนั้นในการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยนั้น จึงเลือกใช้ นีโอโซมที่ความเข้มข้น 200 μM เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่สูงสุดที่สามารถใช้ในการทดลองได้โดยไม่รบกวนการวิเคราะห์ จากการตกตะกอนของนีโอโซมและไม่มีผลรบกวนต่อการเจริญของเซลล์รากผม



รูปที่ 12 อัตราการรอดตายของเซลล์รากผมของนีโอโซมเปล่าที่ความเข้มข้น 0.0002-200 μM เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอาหารเลี้ยงเซลล์รากผม (control) (N=3)

2.2.3 การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วย minoxidil

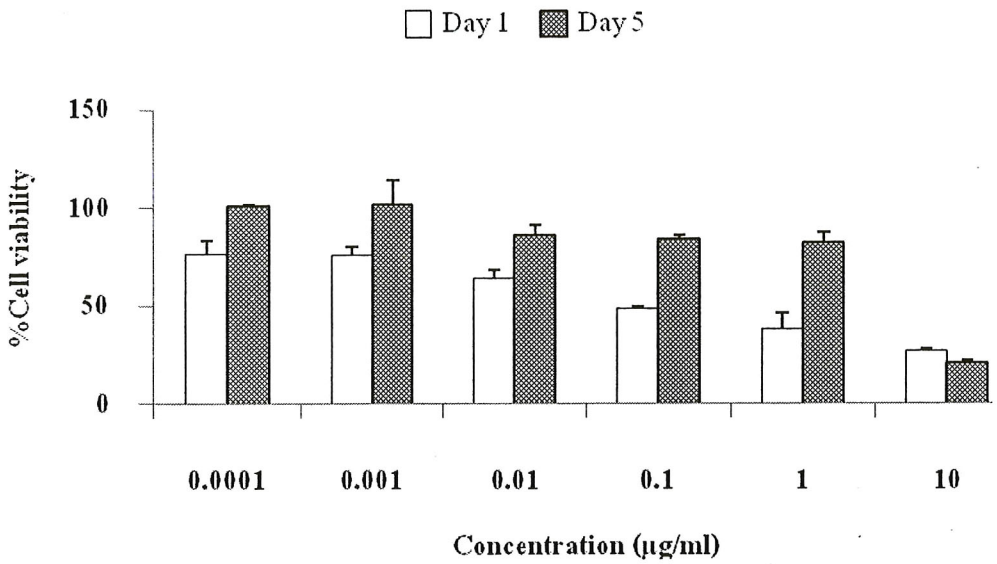
เนื่องจาก minoxidil เป็นตัวยาที่ใช้สำหรับบรรเทาอาการผมร่วงและกระตุ้นการงอกยาวของเส้นผม ดังนั้นในการศึกษานี้ จึงนำ minoxidil มาใช้ทดสอบฤทธิ์การกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมควบคู่กับสารสกัด น้ำมันหอมระเหย และนีโอโซม ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า minoxidil ทุกความเข้มข้น มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมในวันที่ 5 ของการทดลอง (day 5) และมีแนวโน้มของจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ minoxidil ในขณะที่ minoxidil ความเข้มข้น 10 μM เท่านั้นที่ฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมในวันแรกของการทดลอง (day 1) ที่มากกว่ากลุ่มควบคุม (0.12 mM HCl) ดังรูปที่ 13



รูปที่ 13 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยสารละลาย minoxidil ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 μM ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้ สารละลาย HCl เป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

2.2.4 การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วย 17 β-estradiol

เนื่องจากสารสกัดที่นำมาใช้ในการศึกษาเป็นสารสกัดที่มีฤทธิ์เป็นไฟโตเอสโตรเจน ดังนั้นในการศึกษานี้จึงนำ 17β-estradiol มาใช้ทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมเพื่อเปรียบทเยบประสิทธิภาพของสารสกัดไฟโตเอสโตรเจน ซึ่งพบว่า 17β-estradiol ที่ความเข้มข้น 0.0001-0.001 μg/ml มีผลกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม และที่ความเข้มข้น 10 μg/ml มีผลในการยับยั้งการเจริญของเซลล์รากผม ในวันที่ 5 ของการทดลอง (day 5) ในขณะที่ 17β-estradiol ทุกความเข้มข้น ไม่มีผลกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม ในวันแรกของการทดลอง ดังรูปที่ 14



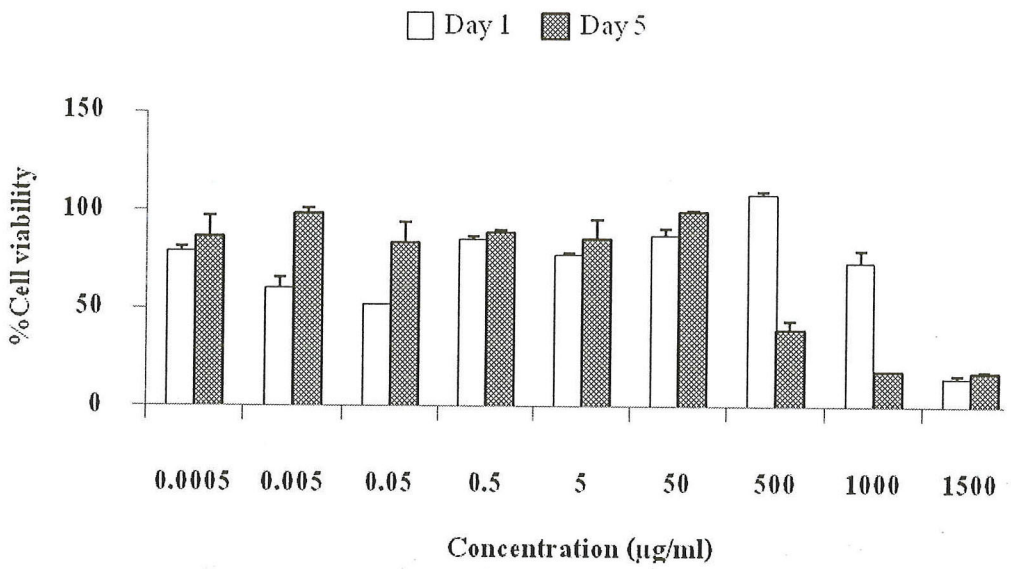
รูปที่ 14 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยสารละลาย 17β-estradiol ความเข้มข้น 0.0001-10 µg/ml ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้ DMSO เป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

2.2.5 การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยสารสกัดไฟโตเอสโตรเจน

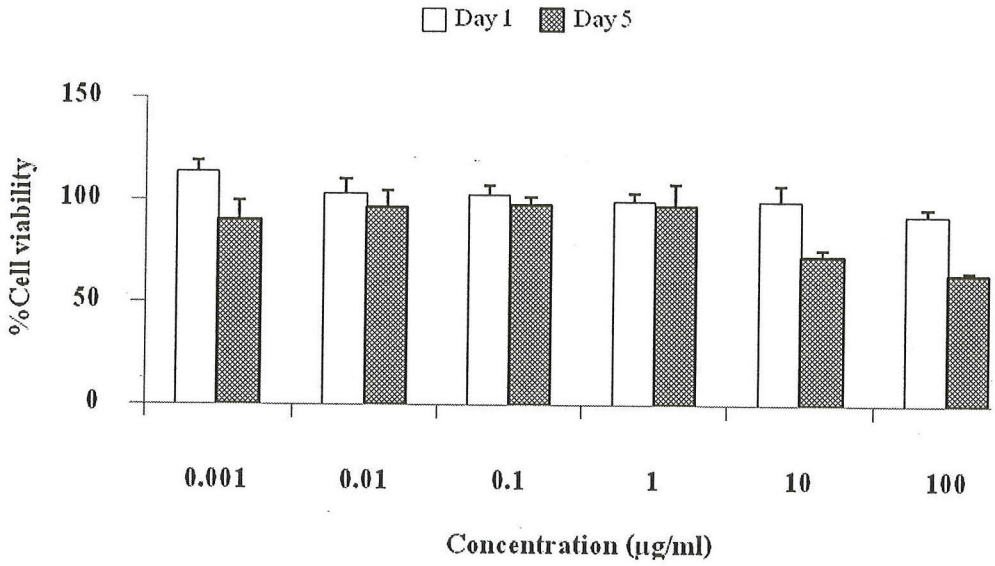
1) ผลของสารสกัดกวาวเครือขาว

จากผลการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยสารสกัดกวาวเครือขาวในตัวทำละลาย DMSO พบว่า สารสกัดกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้น 500-1500 µg/ml และ ที่ความเข้มข้น 1500 µg/ml มีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์รากผมในวันที่ 5 (day 5) และวันที่ 1 (day 1) ของการทดลอง ตามลำดับ ในขณะที่ สารสกัดกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้น 0.0005 µg/ml และ 500 µg/ml มีผลการตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม ในวันที่ 5 (day 5) และวันที่ 1 (day 1) ของการทดลอง ตามลำดับ ดังรูปที่ 15

ส่วนการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บสารสกัดกวาวเครือขาวนั้น พบว่า สารสกัดกวาวเครือขาวในนีโอโซมที่ความเข้มข้น 0.001 µg/ml (จากสูตรตำรับ) เท่านั้นที่มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมในวันแรกของการทดลอง ดังรูปที่ 16



รูปที่ 15 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยสารสกัดกวาวเครือขาวความเข้มข้น 0.0005-1500 µg/ml ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้ DMSO เป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

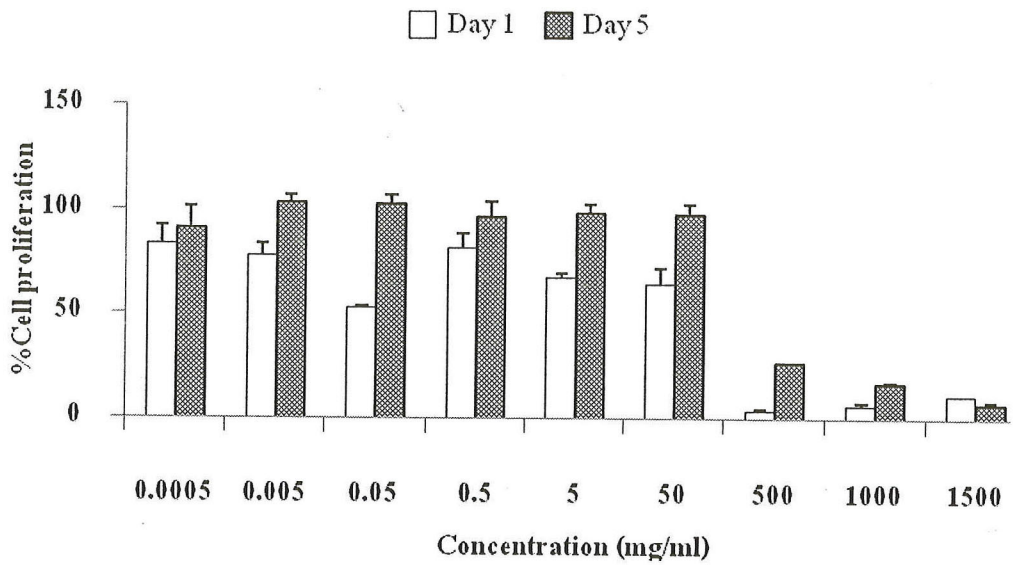


รูปที่ 16 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บสารสกัดกวาวเครือขาว ที่ความเข้มข้น 0.001-100 µg/ml (จากสูตรตำรับ) ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้นีโอโซมเปล่าเป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

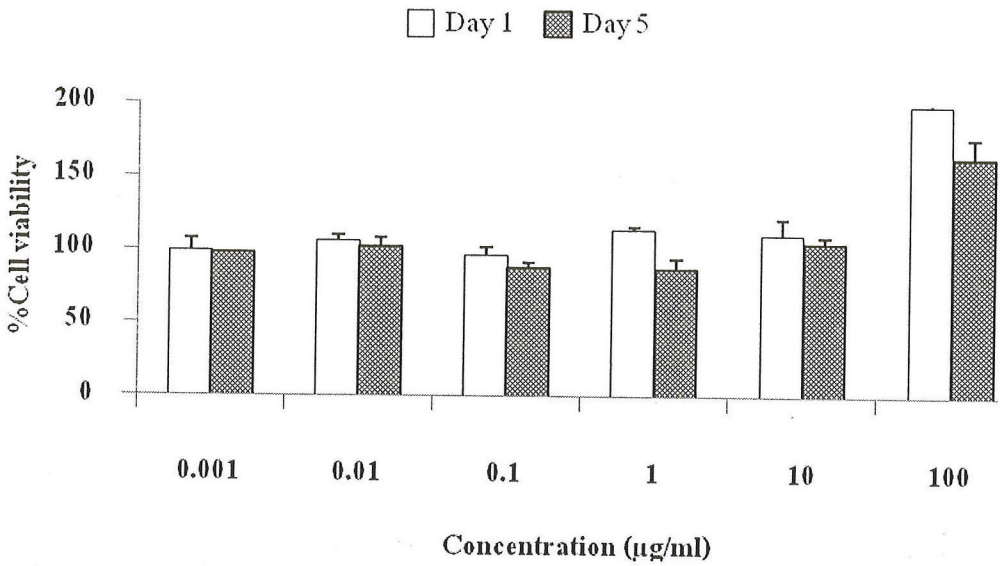
2) ผลของสารสกัดถั่วเหลือง

จากการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยสารสกัด ถั่วเหลือง พบว่า สารสกัดถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 500-1500 μg/ml มีผลยับยั้งการเจริญของ เซลล์รากผมในวันแรก (day 1) และวันที่ 5 (day 5) ในการทดลอง ในขณะที่ สารสกัดถั่วเหลืองความเข้มข้น 0.005-0.05 μg/ml มีผลกระตุ้นเซลล์รากผมในวันที่ 5 ของการทดลอง และไม่พบการกระตุ้นเซลล์รากผมในการทดลองวันแรก (day 1) ดังรูปที่ 17

ส่วนการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บสารสกัดถั่วเหลืองนั้น พบว่า สารสกัดถั่วเหลืองในนีโอโซมที่ความเข้มข้น 100 μg/ml (จากสูตรตำรับ) เท่านั้นที่มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมทั้งการทดสอบในวันที่ 1 (day 1) และวันที่ 5 (day 5) ในขณะที่ความเข้มข้นอื่นๆ ไม่มีผลกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม ดังรูปที่ 18



รูปที่ 17 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยสารสกัดถั่วเหลือง ความเข้มข้น 0.0005-1500 μg/ml ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้ DMSO เป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)



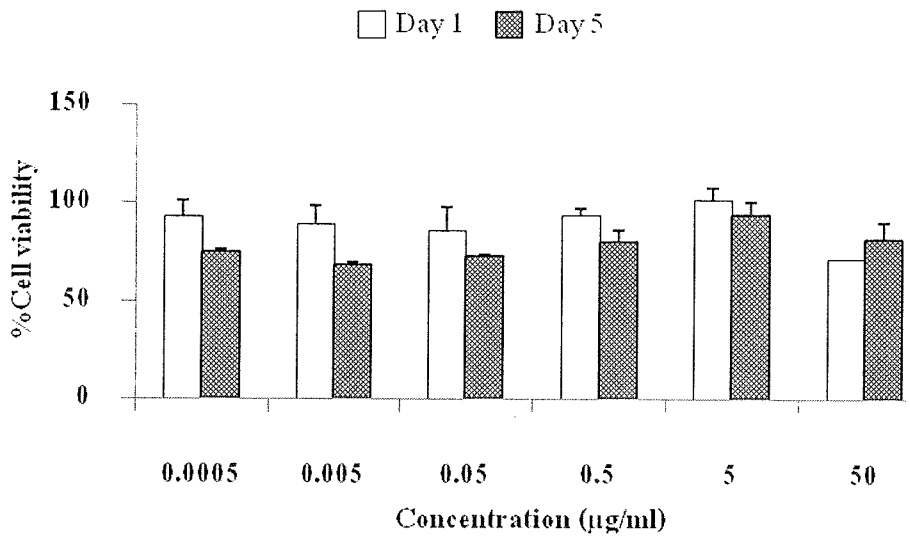
รูปที่ 18 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บสารสกัดถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 0.001-100 µg/ml (จากสูตรตำรับ) ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้นีโอโซมเปล่าเป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

2.2.6 การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยน้ำมันหอมระเหย

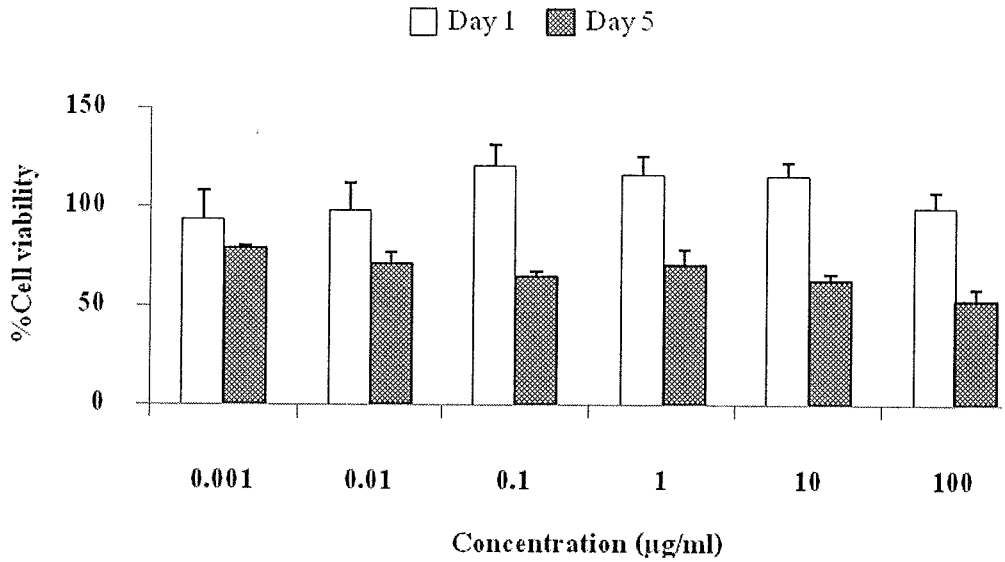
1) ผลของน้ำมันตะไคร้

จากการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยน้ำมันตะไคร้ พบว่าน้ำมันตะไคร้ความเข้มข้น 5 µg/ml ให้ผลกระตุ้นเซลล์รากผมในวันแรก (day 1) ของการทดลองเท่านั้น ดังรูปที่ 19

ส่วนการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บน้ำมันตะไคร้นั้น พบว่า น้ำมันตะไคร้ในนีโอโซมที่ความเข้มข้น 0.1-10 µg/ml (จากสูตรตำรับ) มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมในวันที่ 1 (day 1) ของการทดสอบเท่านั้น ในขณะที่ วันที่ 5 (day 5) ของการทดลอง ไม่มีผลกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม ดังรูปที่ 20



รูปที่ 19 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยน้ำมันตะไคร้ ความเข้มข้น 0.0005-50 µg/ml ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้ DMSO เป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

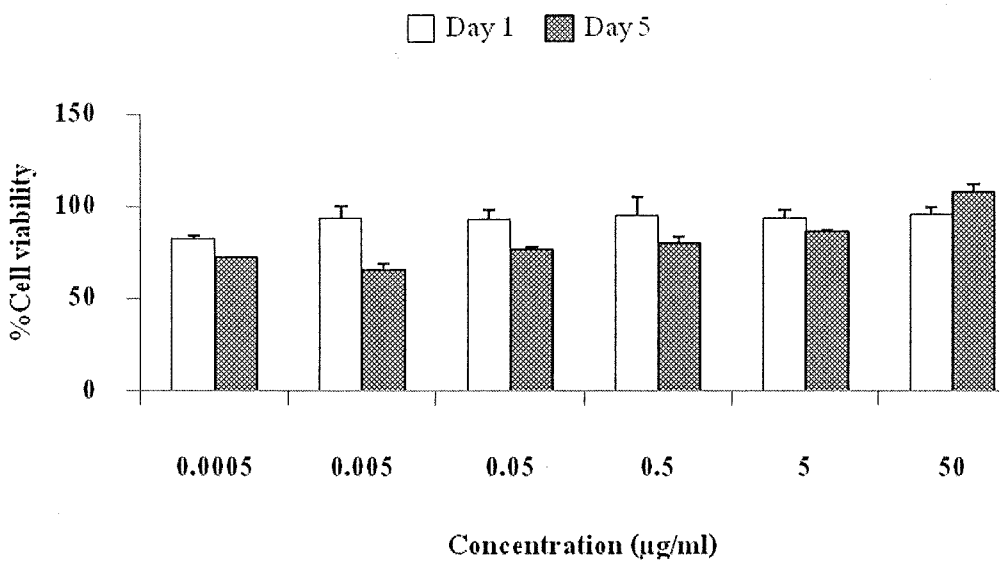


รูปที่ 20 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บน้ำมันตะไคร้ที่ความเข้มข้น 0.001-100 µg/ml (จากสูตรตำรับ) ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้นีโอโซมเปล่าเป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

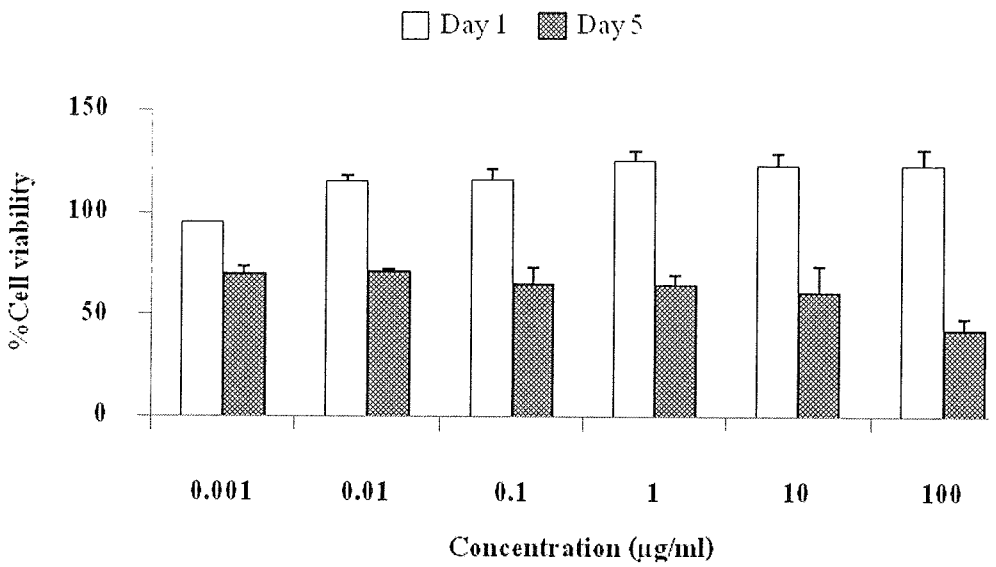
2) ผลของน้ำมันตะไคร้หอม

จากการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยน้ำมัน ตะไคร้หอม พบว่า น้ำมันตะไคร้หอมที่ความเข้มข้น 50 μg/ml ในวันที่ 5 (day 5) ของการทดลองเท่านั้นที่มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม ในขณะที่วันที่ 1 (day 1) ของการทดลองไม่มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมแต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นของปริมาณเซลล์รากผมเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอม ดังรูปที่ 21

ส่วนการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บน้ำมันตะไคร้หอม พบว่า น้ำมันตะไคร้หอมในนีโอโซม ที่ความเข้มข้น 0.01-100 μg/ml (จากสูตรตำรับ) มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอม ในขณะที่น้ำมันตะไคร้หอมในนีโอโซมทุกความเข้มข้นมีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์รากผมในวันที่ 5 ของการทดลอง และมีแนวโน้มการยับยั้งการเจริญของเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้หอมในนีโอโซม ดังรูปที่ 22



รูปที่ 21 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยน้ำมันตะไคร้หอม ความเข้มข้น 0.0005-50 μg/ml ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้ DMSO เป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

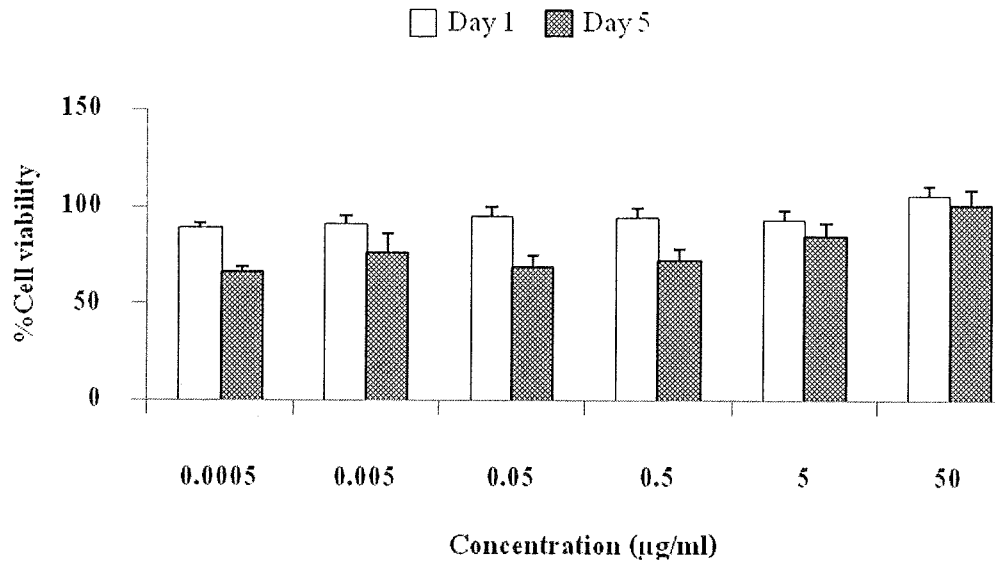


รูปที่ 22 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บน้ำมันตะไคร้หอม ความเข้มข้น 0.001-100 µg/ml (จากสูตรตำรับ) ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้นีโอโซมเปล่าเป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

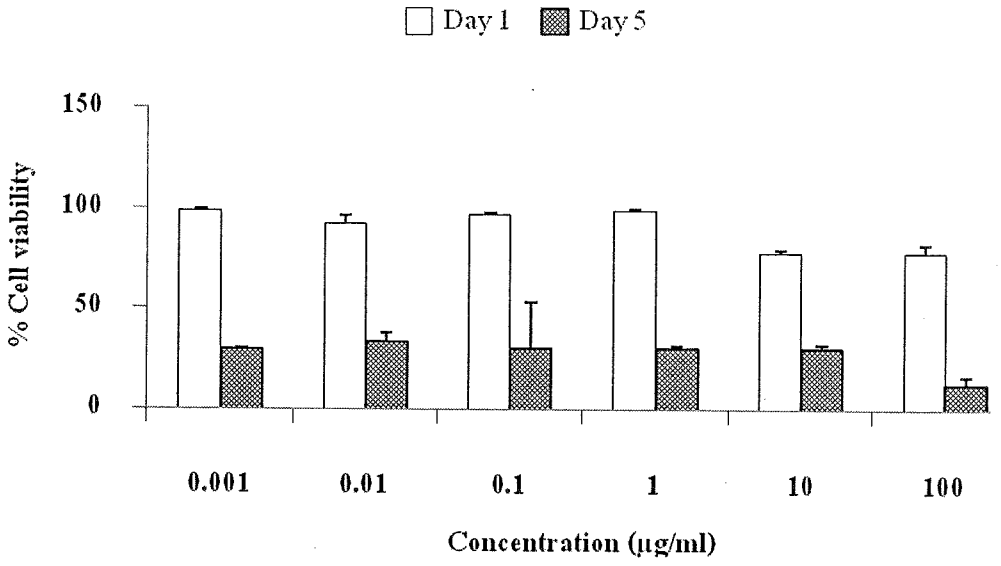
3) ผลของน้ำมันโหระพา

จากการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยน้ำมันโหระพา พบว่า น้ำมันโหระพาที่ความเข้มข้น 50 µg/ml มีผลกระตุ้นเซลล์รากผมทั้งในวันที่ 1 (day 1) และวันที่ 5 (day 5) ของการทดลอง และมีแนวโน้มการกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมลดลงเมื่อลดความเข้มข้นลง ดังรูปที่ 23

ส่วนการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บน้ำมันโหระพา พบว่า น้ำมันโหระพาในนีโอโซมทุกความเข้มข้นไม่มีผลกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม แต่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเซลล์รากผม ในวันที่ 5 (day 5) ของการทดลอง ดังรูปที่ 24



รูปที่ 23 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยน้ำมันโหระพา ความเข้มข้น 0.0005-50 µg/ml ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้ DMSO เป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

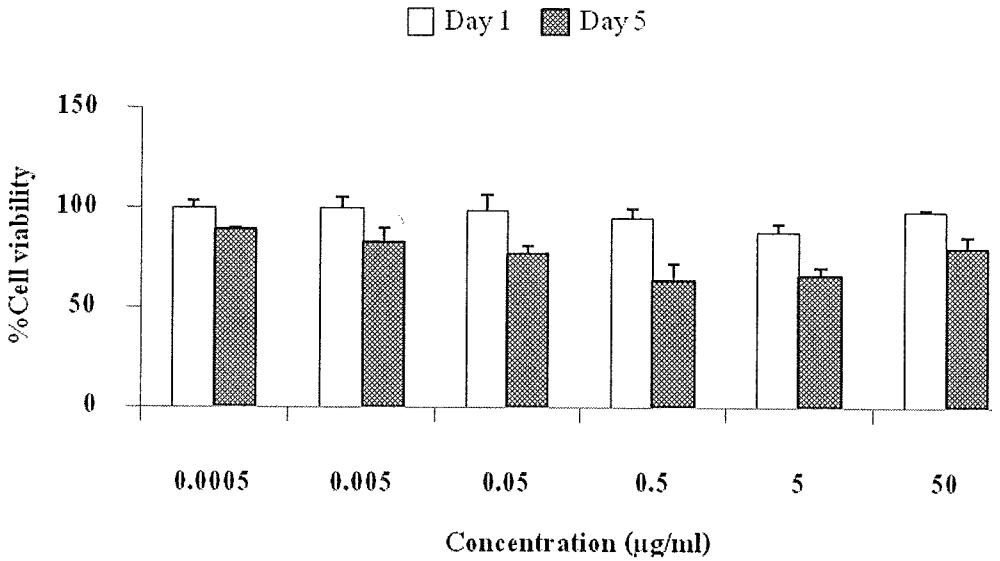


รูปที่ 24 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บน้ำมันโหระพาความเข้มข้น 0.001-100 µg/ml (จากสูตรตำรับ) ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้นีโอโซมเปล่าเป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

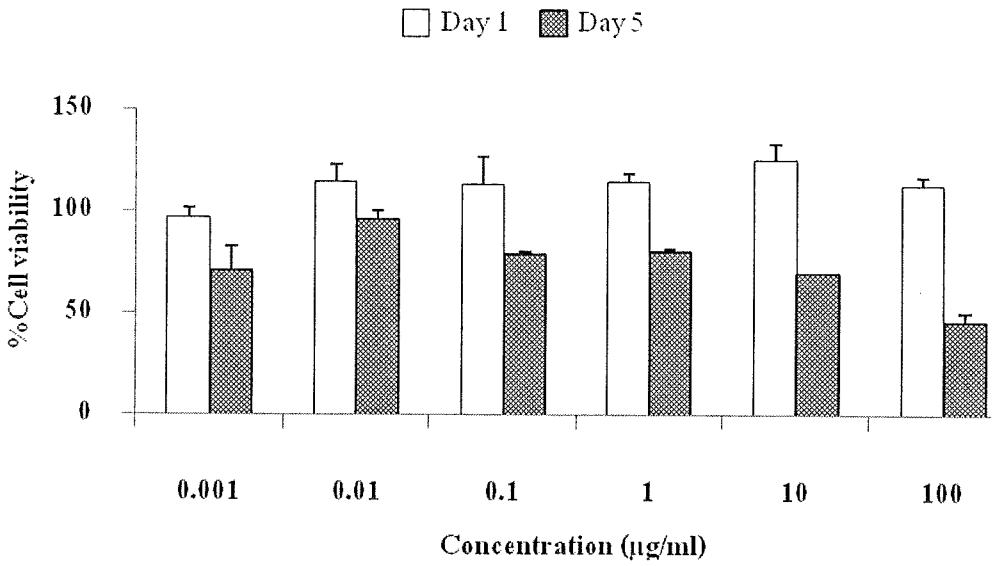
4) น้ำมันสะระแหน่

จากการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยน้ำมันสะระแหน่ พบว่า ความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่ทุกความเข้มข้นในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์รากผมทั้งในวันที่ 1 (day 1) และวันที่ 5 (day 5) ของการทดลอง และที่ความเข้มข้น 0.5-50 µg/ml มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์ในวันที่ 5 ของการทดลอง และมีแนวโน้มลดลงเมื่อลดความเข้มข้นของน้ำมันสะระแหน่ ดังรูปที่ 25

ส่วนการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บน้ำมันสะระแหน่พบว่า น้ำมันสะระแหน่ที่ความเข้มข้น 0.1-100 µg/ml (จากสูตรตำรับ) มีการกระตุ้นเซลล์รากผมเพิ่มขึ้นในวันที่ 1 (day 1) ของการทดลอง ในขณะที่วันที่ 5 ของการทดลองนั้น น้ำมันสะระแหน่มในนีโอโซมไม่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์รากผม เมื่อเทียบกับนีโอโซมเปล่า ดังรูปที่ 26



รูปที่ 25 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยน้ำมันสะระแหน่ ความเข้มข้น 0.0005-50 µg/ml ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้ DMSO เป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)



รูปที่ 26 ร้อยละของการเพิ่มจำนวนเซลล์รากผมด้วยนีโอโซมกักเก็บน้ำมันสะระแหน่ ความเข้มข้น 0.001-100 µg/ml (จากสูตรตำรับ) ในวันที่ 1 และ 5 ของการทดสอบ เมื่อใช้นีโอโซมเปล่าเป็นกลุ่มควบคุม (control) (N=3)

อภิปรายผลการทดลอง

1. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสกัดถั่วเหลืองและสารสกัดกวาวเครือขาวที่ความเข้มข้น 50 mg/ml ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสารสกัดทั้งสองชนิดไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *M. furfur* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าปริมาณ genistein ของสารสกัดถั่วเหลืองสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง และที่เวลา 24 ชั่วโมง ไม่สามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ (Verdrengh et al., 2004) นอกจากนี้ สารสกัดกวาวเครือขาวจากตัวทำละลาย ethyl acetate มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เนื่องจากมีปริมาณสารไฟโตเอสโตรเจนสูงกว่าตัวทำละลาย methanol และ hexane (Chukeatirote et al., 2009) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานการวิจัยของสารสกัดถั่วเหลืองและสารสกัดกวาวเครือขาวในการยับยั้งเชื้อ *M. furfur* ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันทั่วไป คือ น้ำมันรำข้าว น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันงา ที่ความเข้มข้น 500 mg/ml พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิด เช่นเดียวกับสารสกัดกวาวเครือขาวและสารสกัดถั่วเหลือง แม้ว่าน้ำมันมะพร้าวมีรายงานถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Candida* sp. (Ogbolu et al., 2007) ซึ่งเชื้อรากลุ่มดังกล่าวมีลักษณะเป็นยีสต์เช่นเดียวกับเชื้อ *M. furfur* แต่ *M. furfur* เป็นเชื้อราที่คุณสมบัติชอบไขมันและพบบริเวณผิวหนังที่มีไขมันสูงเช่น ใบหน้า หนังบริเวณหลัง และหนังศีรษะ (Ranganathan et al., 2001) อาจเป็นผลให้น้ำมันดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ได้ นอกจากนี้น้ำมันทั่วไปยังมีส่วนช่วยในการเจริญของเชื้อ *M. furfur* เมื่อเทียบในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีน้ำมันผสมอยู่ (Vijayakumar et al., 2006)

ส่วนการทดสอบของน้ำหอมระเหย พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากกว่าน้ำมันทั่วไป ซึ่งอาจเป็นผลมาจากคุณสมบัติในการซึมผ่านเซลล์เมมเบรนของเชื้อโดยน้ำมันทั่วไปซึมผ่านได้ยากกว่าน้ำมันหอมระเหย (Fisher et al., 2008) จากผลการศึกษาพบว่าน้ำมันตะไคร้ เป็นน้ำมันที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิด ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Hammer และคณะ ซึ่งได้ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ ด้วยวิธี agar dilution ต่อเชื้อ *S. aureus* ค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นๆ ได้แก่ น้ำมันส้ม น้ำมันเลมอน และน้ำมันขิง อยู่ระหว่าง 1-2% v/v ส่วนน้ำมันตะไคร้หอม น้ำมันสะระแหน่ และน้ำมันโหระพาเป็น 0.5-2% v/v ในขณะที่น้ำมันตะไคร้มีค่า MIC เป็น 0.06% v/v (Hammer et al., 1999) นอกจากนี้ ยังมีรายงานถึงประสิทธิภาพของน้ำมันโหระพาต่อเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี well diffusion เป็น 0.53% v/v (Nedorostova et al., 2009) ส่วนในการศึกษาของ Fisher และคณะ ซึ่งรายงานฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของน้ำมันเลมอน น้ำมันส้ม ต่อเชื้อชนิดอื่นๆ เช่น *E. coli, S.aureus, Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes* และ *Bacillus cereus* ทั้งใน *in vitro* และอาหารต่างๆ (Fisher et al., 2006) นอกจากนี้ ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพที่แตกต่างของน้ำมันหอมระเหยดังกล่าว อาจเกิดได้จากหลายปัจจัย เช่น ความบริสุทธิ์และองค์ประกอบ

ของน้ำมันที่ในการทดสอบ นอกจากนี้ ฤดูกาลที่เก็บเกี่ยวยังเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ได้องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกัน (Hussain et al., 2008)

นอกจากนี้การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของนีโอโซมกักเก็บน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 10 mg/ml พบว่า มีเพียงนีโอโซมน้ำมันตะไคร้เท่านั้นที่สามารถต้านเชื้อจุลชีพได้ทั้ง ใน *S.aureus* และ *M. furfur* ที่ความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้ 2.50 mg/ml ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับค่า MIC ของ lemongrass oil ใน crosslinked PVA microcapsules ที่มีค่า MIC ของน้ำมันตะไคร้ต่อเชื้อ *S.aureus* ที่ 2.79 mg/ml (Leimann et al., 2009)

และเมื่อเทียบกับค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยพบว่าความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการศึกษามีปริมาณมากกว่า 1.6 เท่าของค่า MIC โดยประมาณ ดังนั้นฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพที่เกิดขึ้นของนีโอโซมน้ำมันตะไคร้นั้นอาจเป็นผลมาจากประจุบนผิวนีโอโซม เช่นเดียวกับการศึกษาของ Drulis-Kawa และคณะ ซึ่งพบว่า ไลโปโซมของยาปฏิชีวะที่มีประจุลบหรือเป็นกลาง จะมีค่า MIC เท่ากับหรือมากกว่า ยาปฏิชีวนะในรูปอิสระ ในขณะที่ไลโปโซมของยาปฏิชีวะที่มีประจุบวกมีค่า MIC น้อยกว่ายาปฏิชีวนะในรูปอิสระ (Drulis-Kawa et al., 2006) นอกจากนี้ยังพบว่า ขนาดอนุภาคของกรดไขมันที่มีขนาดเล็กประมาณ 120 nm จะมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพมากกว่ากรดไขมันอิสระ (Yang et al., 2009)

2. การทดสอบฤทธิ์การกระตุ้นการงอกของเส้นผม

2.1 การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นต่อมรากผม

จากการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการงอกของต่อมรากผม โดยการแยกต่อมรากผมมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผม เป็นเวลา 4 วัน ทำการวัดความยาวของต่อมรากผมจากปลายลงมาถึง hair bulb พบว่าต่อมรากผมที่ใช้มีอัตราการงอกยาวเฉลี่ยแตกต่างกันตามระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง ตัวอย่างต่อมรากผมที่เหมาะสมในการเลือกมาใช้คือต่อมรากผมที่มีอัตราการโตเฉลี่ยวันละ 0.3 mm ซึ่งเป็นอัตราการงอกยาวปกติของเส้นผมที่อยู่บนศีรษะ (Tang et al., 2008) จากผลการคัดเลือกต่อมรากผมพบว่า ต่อมรากผมที่เก็บในระยะเวลาก่อน 24 ชั่วโมง ภายหลังการตัดแยกชิ้นหนังศีรษะออกจากร่างกาย มีอัตราการงอกยาวเฉลี่ยของต่อมรากผมในเพศชายและเพศหญิงไม่แตกต่างกัน คือ 0.32 ± 0.12 mm และ 0.34 ± 0.18 mm ตามลำดับ ซึ่งคล้ายกับการทดลองของ Philpott และคณะ ซึ่งมีอัตราการงอกยาวของต่อมรากผมเฉลี่ยวันละ 0.3 mm (Philpott et al., 1990) และจากการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการงอกยาวของต่อมรากผมด้วยนีโอโซมเปล่าพบว่า อัตราการงอกยาวของต่อมรากผมให้ผลไม่แตกต่างจากการเลี้ยงต่อมรากผมในอาหารเลี้ยงเซลล์ปกติ ที่มีความยาวของต่อมรากผมในวันที่ 4 ของการเลี้ยงต่อมรากผมเป็น 1.304 ± 0.106 mm ในขณะที่อาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่ผสม minoxidil (10 μM) มีความยาวของต่อมรากผมประมาณ 1.575 ± 0.085 mm เมื่อทำการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 4 วัน คิดเป็นอัตราการงอกยาวเฉลี่ยของต่อมรากผมวันละ 0.39 mm ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการศึกษาของ Han และคณะ ที่พบว่า minoxidil (1 μM) มีอัตราการงอกยาวของ

ต่อมราผมเฉลี่ยวันละ 0.41 mm (Han et al., 2004) ในขณะที่ minoxidil (1 μM) ของการศึกษาของ Kwon และคณะ มีอัตราการงอกยาวของต่อมราผมเฉลี่ยวันละ 0.25 mm (Kwon et al., 2007)

จากผลการศึกษาการกระตุ้นการงอกยาวของต่อมรากผมที่มีนีโอโซม กักเก็บน้ำมันหอมระเหย 4 ชนิดคือ น้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม น้ำมันโหระพา และน้ำมันสะระแหน่ พบว่าที่ความเข้มข้นของนีโอโซม 0.1 %v/v ไม่มีผลต่อการกระตุ้นการงอกยาวของต่อมรากผม และเมื่อลดความเข้มข้นของสารทดสอบพบว่าต่อมรากผมมีอัตราการงอกยาวเพิ่มขึ้น และ ที่ความเข้มข้น 10^{-6}% v/v ของนีโอโซม พบว่า นีโอโซมกักเก็บน้ำมันหอมระเหย น้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม และน้ำมันสะระแหน่ มีความยาวของต่อมรากผม เป็น 2.050±0.260 mm, 1.475±0.357 mm และ 1.875±0.125 mm ตามลำดับ มีการงอกของต่อมรากผมแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (นีโอโซมเปล่า) อย่างมีนัยสำคัญที่ *p-value* < 0.5 ยกเว้นนีโอโซมกักเก็บน้ำมันโหระพา

2.2 การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม

จากการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมในอาหารเลี้ยง เซลล์รากผม cMEM เปรียบเทียบกับ MEM พบว่า อาหารเลี้ยงเซลล์ทั้ง 2 ชนิด มีจำนวนเซลล์รากผมไม่แตกต่างกันในวันที่ 1 ของการทดสอบ (day 1) ในขณะที่จำนวนเซลล์รากผมในอาหาร cMEM มีจำนวนเซลล์มากขึ้น 200% จากวันแรก (day 0) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ *p-value* < 0.5 และจำนวนเซลล์รากผมในอาหารเลี้ยงเซลล์รากผม MEM มีจำนวนเซลล์ มีจำนวนคงเหลือเพียง 80% จากวันแรก (day 0) ซึ่งจำนวนเซลล์รากผมในอาหารเลี้ยงเซลล์ทั้งสองชนิดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ *p-value* < 0.5 ตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดสอบ (day 3) ในการทดสอบการเจริญของเซลล์รากผมโดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์รากผม MEM ของ Yoo และคณะ เป็นระยะเวลา 5 วัน (Yoo et al., 2007) ซึ่งน่าจะเป็นเพราะใน serum มี growth factor บางชนิด ที่อาจรบกวนการวิเคราะห์ของสารได้

จากการศึกษาการกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยสารละลาย minoxidil ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 μM พบว่า เซลล์รากผมในแต่ละความเข้มข้นมีอัตราการกระตุ้นการเจริญที่แตกต่างกัน โดยในการทดสอบวันที่ 1 พบว่า มีเพียงความเข้มข้นที่ 10 μM ที่สามารถกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม 5.33% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ การทดสอบวันที่ 5 สารละลาย minoxidil ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 μM มีอัตราการกระตุ้นการเจริญของ เซลล์รากผมเพิ่มขึ้น เป็น 0.60, 2.34 และ 28.26% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Han และคณะ ที่ทดสอบประสิทธิภาพการกระตุ้นเซลล์รากผมด้วย minoxidil ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 μM ที่พบว่ามีอัตราการกระตุ้นเซลล์รากผมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมเป็นความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงกับความเข้มข้น (Han et al., 2004) แต่จากการทดลองพบว่าการกระตุ้นที่เกิดขึ้นจาก minoxidil นั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ *p-value* < 0.5 เมื่อเทียบกับตัวทำละลายของ minoxidil ซึ่งอาจเป็นผลมาจากอัตราการเจริญของเซลล์รากผมในอาหารเลี้ยงเซลล์รากผม MEM ซึ่งพบว่า มีอัตราเซลล์

คงเหลือในวันที่ 5 ของการทดสอบ ประมาณ 80% จากวันแรก (day 0) และจากการทดสอบสาร 17β-estradiol พบว่า.ในการทดสอบวันที่ 1 และวันที่ 5 ให้ผลการทดสอบที่คล้ายกันคือที่ความเข้มข้นสูงจะเป็นพิษต่อเซลล์รากผมมากกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ และจำนวนเซลล์รากผมมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับความเข้มข้นของสารทดสอบ ส่วนการทดสอบสารสกัดกวาวเครือขาวซึ่งมีสารสำคัญเป็นสารไฟโตเอสโตรเจน พบว่าที่ความเข้มข้นสูง จะมีความเป็นพิษต่อเซลล์เช่นเดียวกับ 17β-estradiol นอกจากนี้ความเข้มข้นที่กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมของสารสกัดกวาวเครือขาวในการทดสอบของวันที่ 1 จะมีความเข้มข้นสูงกว่าการทดสอบวันที่ 5 ส่วนการทดสอบของนีโอโซมกักเก็บสารสกัดกวาวเครือขาวพบว่าที่ความเข้มข้นของนีโอโซม 0.001 μg/ml ซึ่งมีปริมาณสารสกัดกวาวเครือขาวอยู่ระหว่าง 5-50 μg/ml จะมีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม และในการทดสอบของสารสกัดถั่วเหลืองพบว่าในการทดสอบ 1 ให้ผลในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมไม่ชัดเจน ในขณะที่การทดสอบ 5 วัน ของสารสกัดพบว่าตั้งแต่ความเข้มข้น 0.005-50 μg/ml มีผลกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม ในขณะที่ความเข้มข้นของนีโอโซมที่ 100 μg/ml ซึ่งมีปริมาณเทียบเท่ากับสารสกัดถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นระหว่าง 50-500 μg/ml มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p\text{-value} < 0.5$ ทั้งการทดสอบในวันที่ 1 และ 5

ในการทดสอบการกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดต่างๆ พบว่า ในทุกความเข้มข้นของการทดสอบไม่มีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผมที่ชัดเจน ในขณะที่ นีโอโซมกักเก็บสารสกัดน้ำมันหอมระเหย น้ำมันตะไคร้ น้ำมันตะไคร้หอม และน้ำมันสะระแหน่ จะมีการกระตุ้นการเจริญของเซลล์รากผม ดังนี้ นีโอโซมน้ำมันตะไคร้ที่ความเข้มข้น 0.1-10 μg/ml น้ำมันตะไคร้หอมและน้ำมันสะระแหน่ที่ความเข้มข้น 0.01-100 μg/ml ในวันที่ 1 ของการทดสอบ ในขณะที่การทดสอบ 5 วัน พบว่ามีจำนวนเซลล์รากผมในการทดสอบลดลง ซึ่งอาจเกิดจากความเป็นพิษของสารทดสอบที่นำเข้าเซลล์ได้ในปริมาณที่มากกว่าในการทดสอบ 1 วัน