

การศึกษาเบื้องต้นถึงผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีต่อการเจริญ ของต่อมรากผมคนที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลอง

อรพิน เกิดประเสริฐ*, พิสมัย เหล่าวัฒน์**, อุทัย ตันกิตติรัตน์*, เอมอร์ เจริญสรราพพีช*,
พูลพล ผดุงชัยโชค*

*ภาควิชาการวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

**ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

อาการผมร่วงจัดเป็นปัญหาที่รบกวนจิตใจ ในปัจจุบันพบมากขึ้นทั้งในเพศหญิงและเพศชาย การรักษาอาการผมร่วงที่เกิดจากพันธุกรรมนิยมใช้ minoxidil และ finasteride ซึ่งมีฤทธิ์ไม่เพียงประสงค์ถ้าใช้เป็นเวลานาน การวิจัยเพื่อหาแนวทางการรักษาแบบใหม่ เช่น การใช้สารสกัดจากสมุนไพร อาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยแก้ปัญหาที่เกิดจากการใช้ยาได้

การศึกษาครั้งนี้เพื่อตรวจหาสมุนไพรพื้นบ้านที่มีสรรพคุณกระตุ้นการเจริญของผม โดยส่วนต่าง ๆ ของสมุนไพรไทย 5 ชนิด ได้แก่ ดอกอัญชัน (*Clitoreia ternatea*) หัว瓜瓜เครื่อ (*Pueraria mirifica*) ใบกะเมง (*Eclipta prostrate*) ผลมะกรูด (*Citrus hystrix*) และรากกรรณิการ์ (*Nyctanthes arbor-tristis*) นำมาสกัดหยาบด้วยน้ำและทดสอบความสามารถในการกระตุ้นการออกของผมคนจากต่อมรากผมที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลอง

ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากดอกอัญชันที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5–5 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร กระตุ้นให้ต่อมรากผมสร้างผมได้ยาวขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากเติมลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมใน 2–4 วัน รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากผลมะกรูดความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นให้ต่อมรากผมสร้างผมได้ยาวขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากเติมลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมระหว่าง 2–3 วัน แต่ในทางตรงกันข้ามสารสกัดหยาบจากผลมะกรูดความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะทำให้ต่อมรากผมออกซ้ำลงอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารสกัดหยาบจากใบกะเมง รากกรรณิการ์ และหัว瓜瓜เครื่อ ไม่มีฤทธิ์กระตุ้นการออกของต่อมรากผมอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับต่อมรากผมกลุ่มควบคุม จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบจากดอกอัญชันและผลมะกรูดมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการออกของต่อมรากผมคนในห้องทดลอง

คำสำคัญ: ต่อมรากผม, อัญชัน (*Clitoreia ternatea*), กวางเครื่อ (*Pueraria mirifica*), กะเมง (*Eclipta prostrate*), มะกรูด (*Citrus hystrix*), และกรรณิการ์ (*Nyctanthes arbor-tristis*), ฤทธิ์กระตุ้นการออกของต่อมรากผม

Effect of crude extracts from Thai herbs on growth of cultured human hair follicle: A pilot study

Orapin Gerdprasert^{*✉}, Pisamai Laupattarakasem^{**},

Uthai Tankitiwat^{*} Em-orn Jareonsuppaperch^{*}, Poolpol Padungchaichot^{*}

^{*}Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University,

^{**}Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Khonkaen University

ABSTRACT

Hair loss is an anguish problem which increases in both men and women nowadays. Minoxidil and finasteride are currently used as a combined treatment of hair loss due to genetic problem. In spite of their several side effects, searching of new drugs such as plant extracts for the treatment of hair loss may resolve the adverse effects from drug therapy.

The objective of this pilot study was to elucidate the hair growth promoting effects of selected natural Thai herbs which were declared in ancient Thai remedies with respect to their hair and skin treatment. Crude extracts of 5 natural Thai herbs: *Clitorea ternatea*, *Pueraria mirifica*, *Eclipta prostrata*, *Citrus hystrix*, and *Nyctanthes arbor-tristis* were tested on cultured human hair follicles.

The data revealed that the extract of dried flowers of *C. ternatea* at concentration between 0.5–5 µg/ml promoted the hair growth after 2–4 days. Similarly, the extract from *C. hystrix* fruit at 5 µg /ml activated hair growth after 2–3 days. However, inhibitory effect on hair growth was observed when 10 µg /ml of *C. hystrix* extracted were applied in 4 days. The others herb extracts showed no effect on hair growth. These results suggest that water extracts of *C. ternatea* flower and *C. hystrix* fruit have potentially promoted human hair follicle growth *in vitro*.

Key words: hair follicles, *Clitorea ternatea*, *Pueraria mirifica*, *Eclipta prostrata*, *Citrus hystrix*, *Nyctanthes arbor-tristis*, hair growth

Orapin Gerdprasert[✉]

Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University,

114 Sukhumvit 23, Wattana, Bangkok 10110, Thailand. Telephone; 02-260-1532 e-mail; Orapin@swu.ac.th

บทนำ

อาการผมร่วงหรือผมบางในเพศหญิง และเพศชายเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ ปัญหาส่วนหนึ่งมาจากการพันธุกรรม แต่อีกส่วนหนึ่งเกิดขึ้นโดยที่ไม่รู้สาเหตุแน่นัด ซึ่งอาจเป็นผลจากสภาพแวดล้อม เมมอการดังกล่าวไม่มีผลถึงขั้นร้ายแรงจนเสียชีวิต แต่สามารถสร้างความกังวลใจและลดความมั่นใจของผู้ที่ประสบปัญหามรร่วงส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานลดน้อยลง ในปัจจุบันมีการใช้ยาวัสดุอาการ ผมร่วงที่ได้ผลดีคือ minoxidil เป็นสารสังเคราะห์ มีฤทธิ์เป็น potassium channel opener¹ กระตุ้นการเจริญของ hair epithelial cells² และกระตุ้นให้ต่อมรากผมเข้าสู่ระยะ anagen ในสัตว์ทดลอง³ ฤทธิ์ไม่เพียงประسังค์คือทำให้เกิด irritant contact dermatitis และ hypertrichosis ส่วน finasteride เป็น type II 5- α reductase inhibitor ยับยั้งการเปลี่ยน testosterone ไปเป็น dihydrotestosterone ฤทธิ์ไม่เพียงประสังค์ที่พบ⁴ เช่น gynecomastia, impairment of muscle growth และ severe myopathy โดยเฉพาะการให้ยาเป็นเวลานานในชายที่มีอายุระหว่าง 40–60 ปี ส่งผลให้ serum prostate specific antigen (PSA) ต่ำกว่าปกติทำให้การแพร่ผล prostate cancer ในระยะแรกผิดพลาดได้^{5,6,7} จากฤทธิ์ไม่เพียงประสังค์ดังกล่าว สารสกัดจากสมุนไพรจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่นักวิจัยต้องการนำมาใช้ทดแทน minoxidil และ finasteride ในเรื่องของการป้องกันการร่วงของผม และกระตุ้นการเจริญของต่อมรากผม ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารสกัดจากพืชและสมุนไพร เช่น proanthocyanidins สารสกัดจาก

เมล็ดองุ่น⁸ สารสกัดหยาบจากรากของ *Sophora flavesrens*⁹ และสารสกัดหยาบจากรากของ *Asiasari radix*¹⁰ มีฤทธิ์การกระตุ้นการเจริญของผมคนและการออกของไขนในสัตว์ทดลอง

ตัวอย่างสมุนไพรพื้นบ้านของไทยที่ได้มีการบันทึกในตำราสมุนไพรและตำรายาแพทย์ไทยแผนโบราณ^{11,12,13,14} ว่ามีสรรพคุณในการบำรุงผิวหนังและเส้นผม รักษาอาการผมร่วง และทำให้ผมดกดำเงางาม เช่น ดอกอัญชัน (*Clitorea ternatea Lin*) มีสรรพคุณในการรักษาอาการผมร่วง, หัว瓜瓜เครื่อ (*Pueraria mirifica Airy-shaw*) มีสรรพคุณบำรุงผิวหนังให้เต่งตึง, ลูกมะกรูด (*Citrus hystrix DC*) มีสรรพคุณบำรุงผมให้ดกดำเป็นเงางาม มีมลภาวะ แก้คันศีรษะ แก้รังแค, ใบกะเม็ง (*Eclipta prostrate Linn*) มีสรรพคุณในการแก้ผมร่วง, รากกรรณินิการ์ (*Nyctanthes arbor-tristis Linn*) มีสรรพคุณแก้ผมแห้ง บำรุงผิวหนังให้สดชื่น แต่อย่างไรก็ตาม สมุนไพรที่กล่าวมาข้างต้นยังไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์มาสนับสนุนถึงสรรพคุณที่เกี่ยวข้อง กับการกระตุ้นการออกของผม หรือการบำรุงผิวหนัง

ต่อมรากผม (Hair follicle) มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก ส่วนโคนที่มีลักษณะเป็นกระปาคลุม dermal papilla มี dermal papilla cells บรรจุอยู่ ผนังของต่อมรากผมมี 2 ส่วน คือ ผนังด้านนอกสุด (outer root sheath) เป็นชั้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่แยกส่วนของหนังกำพร้าออกจากหนังแท้ และ ผนังชั้นใน (inner root sheath) ประกอบด้วย keratinocytes ซึ่งว่าง

ภายในของต่อมรากผมจะมีเส้นผม (hair shaft) บรรจุอยู่

ต่อมรากผมมีการเจริญอยู่ตลอดเวลา แบบเป็นวัฏจักร (cyclic growth) โดยเริ่มจาก ระยะเจริญ (anagen phase) ต่อมรากผมผลิตเส้นผมตลอดเวลา ต่อมาต่อมรากผมเข้าสู่ระยะเสื่อม (catagen phase) และระยะพัก (telogen phase) โดยต่อมรากผมจะหยุดการสร้างเส้นผม ทำให้เส้นผมเก่าร่วงหลุดออก พร้อมกับมีการเจริญของต่อมรากผมซุดใหม่ กลไกที่ควบคุม วัฏจักรการเปลี่ยนแปลงของต่อมรากผมจาก anagen ไปเป็น catagen และเข้าสู่ telogen ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ได้มีการนำต่อมรากผมจากหนังศีรษะคนมาเพาะเลี้ยงในห้องทดลอง โดยต่อมรากผมสามารถมีอัตราการออกของเส้นผม ประมาณ ATP อัตราการสังเคราะห์ DNA โปรตีน และการสร้าง keratin เมื่อൺเส้นผมปกติ¹⁵ ดังนั้น การศึกษาการเจริญของต่อมรากผมคนในห้องทดลองจึงสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการเรียนรู้ และเข้าใจถึงกลไกการเจริญของต่อมรากผมได้สะดวกและเมื่อจริง¹⁶

ในการวิจัยครั้งนี้ต้องการศึกษาถึงผลที่เกิดขึ้นเมื่อนำสารสกัดจากสมุนไพรที่มีสรรพคุณเกี่ยวกับเส้นผมและผิวนังมาเติมลงในอาหาร เลี้ยงต่อมรากผม เพื่อดูว่าสารสกัดจากสมุนไพรชนิดใดมีส่วนช่วยในการทำให้เส้นผมงอกยาวขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมสารสกัดสมุนไพร เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในเบื้องต้นมาสนับสนุนสรรพคุณของสมุนไพรดังกล่าว ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาเวชภัณฑ์ที่มีผลในการรักษา อาการผมร่วง เพื่อนำมาใช้ทดแทนยา_rักษาผม

ร่วงที่อาจมีฤทธิ์ที่ไม่เพียงประสงค์และลดการนำเข้ายา_rักษาผมร่วงที่มีราคาแพงจากต่างประเทศ

วิธีการศึกษา

การเตรียมสารสกัด hairy จากระเษน

ตอกอัญชัน, หัว瓜瓜เครื่อ, ผลมะกรูด, ใบกะเม็ง และรากกรรณิการ์ นำมาล้างให้สะอาด อบแห้งที่อุณหภูมิ 50-60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด ทำการซั่นน้ำหนักได้อย่างละ 1 กิโลกรัม นำสมุนไพรที่อบแห้งเติมน้ำกลั่นพอท่วม และต้มที่อุณหภูมิ 60°C นาน 30 นาที พร้อมกับคนเป็นระยะ จากนั้นปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น กรองด้วยผ้าก๊อฟและสำลี ภาชนะที่เหลือนำมาต้มเป็นครัวงที่สอง โดยทำเหมือนครัวงแรก สารที่ผ่านการกรองทั้งสองครัวงนำไปทำให้เข้มข้นโดยการระเหยให้แห้งด้วยเครื่อง Spray dry ได้ผงสารสกัด hairy นำไปซึ่งน้ำหนักจดบันทึก %yield ที่ได้เป็นน้ำหนักสารสกัด hairy

นำสารสกัด hairy ที่ได้ละลายในน้ำกลั่น ได้ให้ได้ความเข้มข้น 1 mg/ml และกรองด้วย syringe filter ที่มีแผ่นกรองขนาด 0.45 μm ใช้สารที่กรองได้เป็นสารละลายตั้งตัน และทำให้เจือจากด้วยอาหารเลี้ยงต่อมรากผมเพื่อได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 ng/ml ถึง 10 μg/ml

การเก็บแยกต่อมรากผมจากหนังศีรษะ

หนังศีรษะเก็บจากหญิงสุขภาพดี อายุตั้งแต่ 40-60 ปี จำนวน 10 คน ที่เข้ารับการทำศัลยกรรมกระชับใบหน้า นำหนังศีรษะมาแยกชั้นหนังกำพร้าออกจากชั้นหนังแท้ด้วยใบมีดทำการคีบต่อมรากผมที่อยู่ในชั้นไขมันออกทีละ

(Vol.15 No.1 April 2008)

ต่อมด้วยปากคีบภายในได้ stereomicroscope คัดเลือกเฉพาะต่อมรากผมที่อยู่ในระยะเจริญเติบโตเท่านั้น

การเลี้ยงต่อมรากผม

ต่อมรากผมถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมปกติ ประกอบด้วย William's E medium ที่เติม 2 mM L-glutamine, 10 ng/ml hydrocortisone, 10 µg/ml insulin, 100 unit/ml Penicillin และ 100 µg/ml Streptomycin ภายในได้สภาวะควบคุมอุณหภูมิ 37°C มีส่วนผสมของ CO₂ ร้อยละ 5 และอากาศร้อยละ 95 หลังจากต่อมรากผมถูกเลี้ยง 1 วัน จะนำมาคัดเลือกเฉพาะต่อมรากผมที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตเท่านั้นที่จะใช้ทำการทดสอบกับสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำการถ่ายภาพของต่อมรากผมที่งอกออกมากลายได้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope บันทึกเป็น day 0

ต่อมรากผมที่คัดเลือกแล้วถูกแยกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม เป็นกลุ่มของต่อมรากผมที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมปกติ ตลอดการทดลอง เปลี่ยนน้ำยาทุก 2 วัน และ กลุ่มทดลอง คือ ต่อมรากผมที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่เติมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรความเข้มข้นตั้งแต่ 50 ng/ml ถึง 10 µg/ml เปลี่ยนอาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่ผึ่งสมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทุก 2 วัน ต่อมรากผมทั้งสองกลุ่มถูกเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน

ต่อมรากผมที่เก็บจากหนังศีรษะของคนเดียวกันจะนำมาทดสอบกับสารสกัดหยาบจาก

สมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 ng/ml, 100 ng/ml, 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 5 µg/ml และ 10 µg/ml (6 ระดับ) โดยใช้ต่อมรากผม 3 เส้น ต่อ 1 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบสมุนไพรแต่ละชนิด (ต่อมรากผม 18 เส้น ต่อสารสกัดหยาบ 1 ชนิด และ ต่อมรากผม 6 เส้น สำหรับกลุ่มควบคุม)

การวัดความยาวของต่อมรากผม

ความยาวของต่อมรากผมที่งอกออกมานั้นจะถูกวัดและถ่ายรูป ในวันแรกที่เริ่มทดลอง (day 0) ต่อมาทำการวัดและถ่ายรูปทุกวันในเวลาใกล้เคียงกันเป็นเวลา 4 วัน บันทึกเป็น day 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ โดยใช้กล้อง Nikon Diaphot inverted microscope ที่มีการติดตั้งกล้องถ่ายภาพ การวัดความยาวของต่อมรากผมทำการวัด sheath length คือการวัดความยาวตั้งแต่ส่วนฐานจนถึงส่วนปลายของต่อมรากผม ความยาวที่เพิ่มขึ้นคือ ผลต่างระหว่างความยาวของต่อมรากผมในวันแรกที่ทำการเพาะเลี้ยง (day 0) กับความยาวของต่อมรากผมที่เพิ่มขึ้นในวันต่อมา (day 1, 2, 3 และ 4) ผลที่ได้เป็นค่าเฉลี่ย (means) และ standard error ของความยาวของต่อมรากผมที่เพิ่มขึ้นทุกวันตลอดการทดลอง (4 วัน) ข้อมูลทางสถิติใช้การคำนวณด้วย One-way ANOVA โดยการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทำตามวิธีของ Dunn's test ที่มีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เติมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรแต่ละชนิดกับกลุ่มควบคุม ค่าที่ได้แสดงเป็น mean \pm SEM

ผลการศึกษา

หนังศีรษะจากหญิงอายุตั้งแต่ 40–60 ปี ที่มาทำศัลกรรมกระชับใบหน้า เมื่อนำต่อมรากผมที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมปกติ (กลุ่มควบคุม) พบร่วมกับต่อมรากผมมีการเจริญแบบ type I growth pattern โดยมีการเจริญของ hair shaft พร้อมกับมี dermal sheath หุ้มล้อมรอบในระดับที่เท่ากัน การวัดความยาวของต่อมรากผม (day 0) นับจากเวลาที่อยู่ในน้ำยาเลี้ยงต่อมรากผมปกติ มีอัตราการ增長 0.36 \pm 0.02 มิลลิเมตร ต่อวัน [mean \pm SEM] ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Philipott et al ในปี 1990¹⁵ และเมื่อวัดการ增长ของต่อมรากผมตลอดการทดลอง (day 4) พบร่วมกับต่อมรากผมออกอกอกกามาร่วมทั้งสิ้น 1.21 \pm 0.02 มิลลิเมตร [mean \pm SEM]

ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดหมายของสมุนไพรตัวอย่างต่อน้ำหนักของสมุนไพรแห้งและลักษณะเมื่อลดลายด้วยน้ำ

สมุนไพรตัวอย่าง	น้ำหนักสารสกัดหมาย(กรัม)/ น้ำหนักสมุนไพรแห้ง 1000 กรัม	ลักษณะสารสกัดหมาย (เมื่อลดลายน้ำ)
รากกรรณิการ์	16	ของเหลวสีน้ำตาลเข้ม
ใบกะเม็ง	19.56	ของเหลวสีน้ำตาลอ่อน
ผลมะกรูด	2.86	ของเหลวใสสีเหลืองอ่อน
ดอกอัญชัน	28.02	ของเหลวสีม่วงเข้ม
หัว瓜萎เครือ	36.63	ของเหลวสีน้ำตาลอ่อน

ผลของสารสกัดหมายจากสมุนไพรที่มีต่อการเจริญของต่อมรากผมที่เลี้ยง *in vitro*

สารสกัดหมายจากสมุนไพรที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย สารสกัดหมายจากรากกรรณิการ์ ใบกะเม็ง ผลมะกรูด ดอกอัญชัน

เมื่อนำรูปถ่ายต่อมรากผมในวันแรก (day 0) มาเปรียบเทียบกับต่อมรากผมที่เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (day 4) (รูปที่ 1) แสดงให้เห็นว่า ต่อมรากผมมีการเจริญเพิ่มความยาวตลอด เวลาจนสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 4

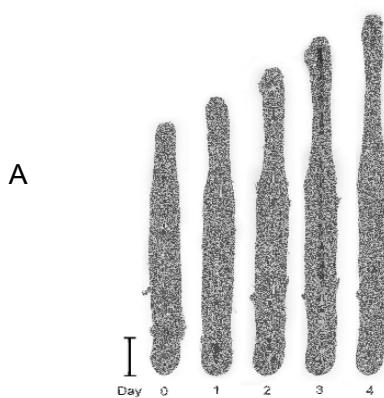
ผลการสกัดสารสกัดหมายจากสมุนไพร

เมื่อนำส่วนของสมุนไพร เช่น รากกรรณิการ์ ใบกะเม็ง ผลมะกรูด ดอกอัญชัน และหัว瓜萎เครือ มาอบให้แห้ง น้ำหนัก 1 กิโลกรัม บด สกัดโดยใช้น้ำและอบแห้งได้เป็นผงของสารสกัดหมายมีน้ำหนักของสารสกัดหมายจากสมุนไพรแต่ละชนิด และเมื่อนำผงสารสกัดหมายมาละลายด้วยน้ำมีลักษณะดังแสดงในตารางที่ 1

และหัว瓜萎เครือ จากการทดลองนำสารสกัดหมายจากสมุนไพรที่ได้กล่าวมาข้างต้น นำมาผสมในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมโดยใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกันตั้งแต่ 50 ng/ml ถึง 10 μ g/ml (6 ระดับ) พบร่วมกับต่อมรากที่มีการเติมสาร

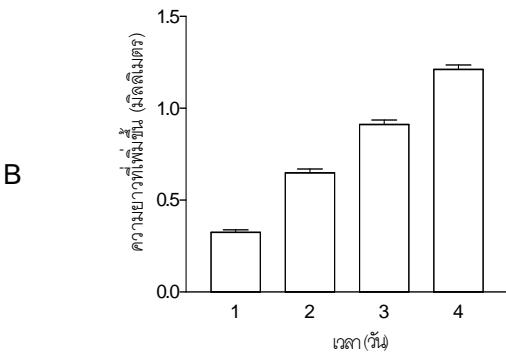
สารสกัด hairy จากรากสมุนไพรแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมพบว่า ต่อมรากผมผลิตเส้นผมที่มีความยาวใกล้เคียงกับต่อมรากผมกลุ่มควบคุม (รูปที่ 2)

ในวันที่ 2-4 หลังการเติมสารสกัด hairy จากรากสมุนไพรลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมพบว่า สารสกัด hairy จากดอกอัญชัน มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกระตุ้นให้ต่อมรากผมผลิตเส้นผมที่ยาวมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบ กับกลุ่มควบคุม ความเข้มข้นของสารสกัด hairy จากดอกอัญชันที่มีฤทธิ์กระตุ้นการออกของเส้นผมเริ่มตั้งแต่ $0.5-5 \mu\text{g}/\text{ml}$ และความเข้มข้นดังกล่าวมีฤทธิ์กระตุ้นการออกของเส้นผมไปตลอดจนเสร็จสิ้นการทดลองในวันที่ 4 (รูปที่ 3-5) แต่เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นของสารสกัด hairy จากดอกอัญชันความเข้มข้น $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ พบร่วมกับมีฤทธิ์กระตุ้นการออกของต่อมรากผมตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง



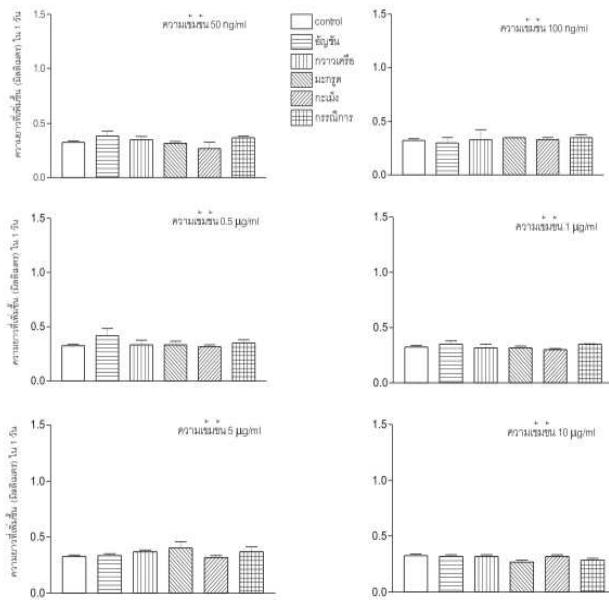
รูปที่ 1 (A) ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงต่อมรากผมคนที่ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมปกติ (กลุ่มควบคุม) ความยาวเริ่มแรกใช้เป็นความยาวเริ่มต้น (day 0) และต่อมรากผมกลุ่มควบคุมจะยาวเพิ่มขึ้นต่อไปจนสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 4 Bar = $500 \mu\text{m}$

(B) แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความยาวของต่อมรากผมที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวัน (1-4) เมื่อเปรียบเทียบกับความยาวเริ่มต้น (day 0) ค่าที่แสดงเป็น mean \pm SEM ($n = 10$ คน ใช้ต่อมรากผม 6 เส้น จำกัดแต่ละคน)

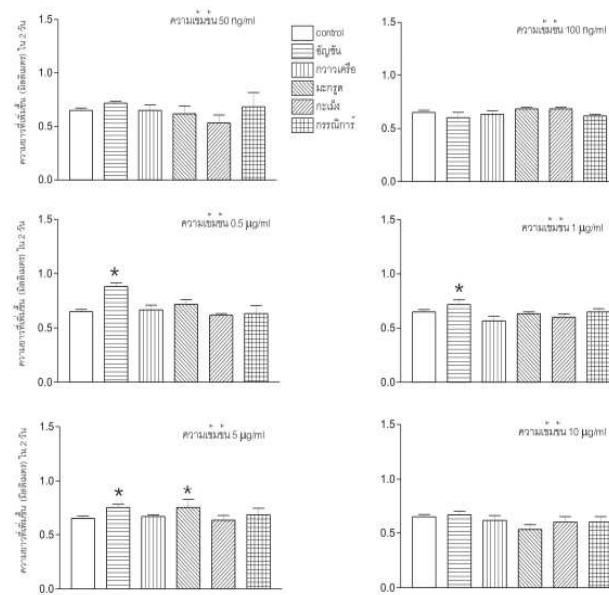


สารสกัด hairy ที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือสารสกัด hairy จากรากผมปกติที่สามารถกระตุ้นให้ต่อมรากผมผลิตเส้นผมที่ยาวอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยจะปรากฏผลหลังจากเลี้ยงต่อมรากผมในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่มีสารสกัด hairy จากรากผมความเข้มข้น $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ เป็นเวลา 2-3 วัน แต่ถ้าเลี้ยงต่อมรากผมในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่มีสารสกัด hairy จากรากผมความเข้มข้น $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ เป็นเวลา 4 วันจะให้ผลในทางตรงกันข้ามคือทำให้เส้นผมออกน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

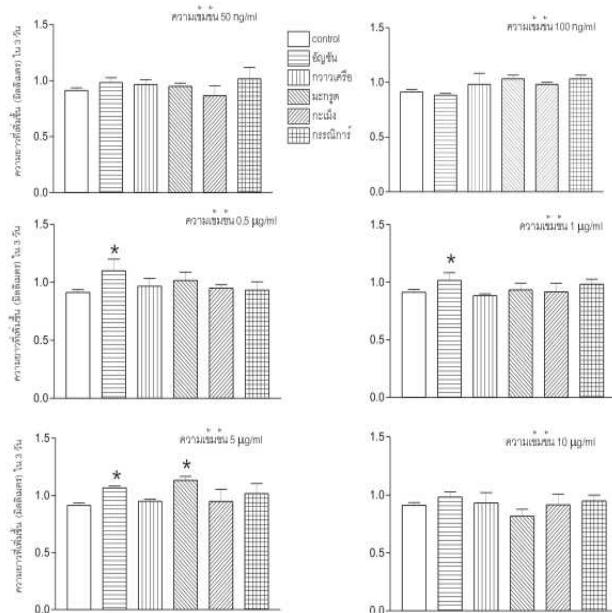
ในขณะที่สารสกัด hairy จากหัว瓜ava เครื่อง, รากกรรณิการ์ และใบกะเมือง ในทุกความเข้มข้นที่ใช้มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการออกของเส้นผมอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมตลอดระยะเวลาการทดลอง (1-4 วัน)



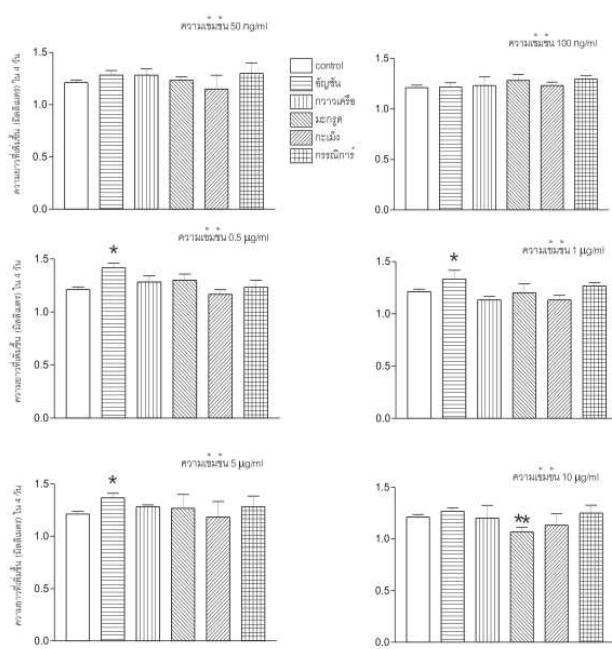
รูปที่ 2 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความขาวของต่อมรากผอมที่เพิ่มขึ้นใน 1 วัน จากต่อมรากผอมที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลองที่เติมสารสกัดขยายสมุนไพรความเข้มข้นแตกต่างกันลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผอม เมื่อเปรียบเทียบกับความขาวเริ่มต้น (day 0) ของต่อมรากผอมจากกลุ่มควบคุม (control) ค่าที่แสดงเป็น $mean \pm SEM$ * $p < 0.05$ ($N = 10$ คน ใช้ต่อมรากผอม 3 เส้น ต่อความเข้มข้นของสารสกัดขยายแต่ละชนิด)



รูปที่ 3 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความขาวของต่อมรากผอมที่เพิ่มขึ้นใน 2 วัน จากต่อมรากผอมที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลองที่เติมสารสกัดขยายสมุนไพรความเข้มข้นแตกต่างกันลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผอม เมื่อเปรียบเทียบกับความขาวเริ่มต้น (day 0) ของต่อมรากผอมจากกลุ่มควบคุม (control) ค่าที่แสดงเป็น $mean \pm SEM$ * $p < 0.05$ ($N = 10$ คน ใช้ต่อมรากผอม 3 เส้น ต่อความเข้มข้นของสารสกัดขยายแต่ละชนิด)



รูปที่ 4 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความยาวของต่อมรากผมที่เพิ่มขึ้นใน 3 วัน จากต่อมรากผมที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลองที่เติมสารสกัดขยายสมุนไพรความเข้มข้นแตกต่างกันลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผม เมื่อเปรียบเทียบกับความยาวเริ่มต้น (day 0) ของต่อมรากผมจากกลุ่มควบคุม (control) ค่าที่แสดงเป็น mean \pm SEM * $p < 0.05$ ($N = 10$ คน) ใช้ต่อมรากผม 3 เส้น ต่อความเข้มข้นของสารสกัดขยายแต่ละชนิด)



รูปที่ 5 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความยาวของต่อมรากผมที่เพิ่มขึ้นใน 4 วัน จากต่อมรากผมที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลองที่เติมสารสกัดขยายสมุนไพรความเข้มข้นแตกต่างกันลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผม เมื่อเปรียบเทียบกับความยาวเริ่มต้น (day 0) ของต่อมรากผมจากกลุ่มควบคุม (control) ค่าที่แสดงเป็น mean \pm SEM * $p < 0.05$, ** $p < 0.05$ ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ ของสารสกัดขยายจากผลมะกรูดที่ทำให้ต่อมรากผมองคันอย่าง ($N = 10$ คน) ใช้ต่อมรากผม 3 เส้น ต่อความเข้มข้นของสารสกัดขยายแต่ละชนิด)

วิจารณ์

การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการคัดเลือกสมุนไพร 5 ชนิด คือ อัญชัน (*Clitorea ternatea Lin*) กวางเครื่อ (*Pueraria mirifica Airy-shaw*) มะกรูด (*Citrus hystrix DC*) กะเมือง (*Eclipta prostrate Linn*) บรรณิการ์ (*Nyctanthes arbortristis Linn*) เนื่องจากสมุนไพรเหล่านี้ถูกกล่าวอุյงในตำราไทยแผนโบราณเกี่ยวกับสรรพคุณในการบำรุงผิวหนังและเส้นผม รักษาอาการผื่นร่วง และทำให้ผิวเด้งงาม¹²⁻¹⁴ ซึ่งอาจจะมีความเป็นไปได้ที่จะมีสรรพคุณในการกระตุ้นการออกซูตรามากจากตัวยาที่มีฤทธิ์กระตุ้นการออกซูตรามากในตัวยาที่ผิวหนังหรือหนังศีรษะโดยตรง เพื่อสนับสนุนผลจากการศึกษา *in vitro* และควรจะศึกษาเพิ่มเติมถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุล โดยการใช้สารสกัดบริสุทธิ์ของสมุนไพรทั้งสองชนิดมาทดสอบดูว่ามีผลกระตุ้นให้มีการเพิ่มขึ้นของ growth factor gene ในต่อมรากผมคนหรือไม่¹⁰ นอกจากนี้สมุนไพรอีกสามชนิด คือ กะเมือง บรรณิการ์ และกวางเครื่อ น่าจะมีการทดสอบเพิ่มเติมเนื่องจากการสกัดด้วยน้ำอาจไม่สามารถละลายสารออกฤทธิ์ของสมุนไพรดังกล่าว จึงน่าจะมีการทดลองสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น เช่น hexane และ methanol เพื่อสกัดเอกสารที่ไม่ละลายในน้ำมาทดสอบต่อไป

ผลจากการทดลองพบว่าเฉพาะสารสกัด hairy จากรากอัญชันที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 - 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ และจากผลมะกรูดที่ความเข้ม 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ มีฤทธิ์กระตุ้นการออกซูตรามากจากต่อมรากผมหลังจากเติมลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมตั้งแต่ 2 วัน และมีฤทธิ์กระตุ้นการออกซูตรามากต่อเนื่อง 4 วัน สำหรับสารสกัด hairy จากรากอัญชันและ 3 วัน สำหรับสารสกัด hairy จากผลมะกรูด ตามลำดับ แต่ถ้าใช้สารสกัด hairy จากผลมะกรูดที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ เป็นเวลา 4 วัน ทำให้ผิวมองออกน้อยลง อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารสกัด hairy บสูงเกิดไปกระตุ้นให้ต่อมรากผมเข้าสู่

ระยะเสื่อม (catagen) และทำให้ต่อมรากผมบางเส้นหยุดการเจริญและตายลง (ไม่ได้แสดงรูป)

ผลการวิจัยนี้สามารถสรุปได้ในเบื้องต้นว่าสารสกัด hairy จากรากอัญชันและจากผลมะกรูดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 - 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ มีสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นการออกซูตรามากในห้องทดลอง สมควรทำการศึกษาต่อไป เช่น การใช้สารสกัดบริสุทธิ์ จากรากอัญชันและผลมะกรูดมาทดสอบประสิทธิภาพในการกระตุ้นการออกซูตรามากในสัตว์ทดลอง และการเจริญของเส้นผมในมนุษย์ โดยการหาที่ผิวหนังหรือหนังศีรษะโดยตรง เพื่อสนับสนุนผลจากการศึกษา *in vitro* และควรจะศึกษาเพิ่มเติมถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุล โดยการใช้สารสกัดบริสุทธิ์ของสมุนไพรทั้งสองชนิดมาทดสอบดูว่ามีผลกระตุ้นให้มีการเพิ่มขึ้นของ growth factor gene ในต่อมรากผมคนหรือไม่¹⁰ นอกจากนี้สมุนไพรอีกสามชนิด คือ กะเมือง บรรณิการ์ และกวางเครื่อ น่าจะมีการทดสอบเพิ่มเติมเนื่องจากการสกัดด้วยน้ำอาจไม่สามารถละลายสารออกฤทธิ์ของสมุนไพรดังกล่าว จึงน่าจะมีการทดลองสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น เช่น hexane และ methanol เพื่อสกัดเอกสารที่ไม่ละลายในน้ำมาทดสอบต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโรงพยาบาลยันธี จัรบุสินทวงศ์ กทม ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บชิ้นเนื้อหนังศีรษะ งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2548 จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทร์ โวฒ

เอกสารอ้างอิง

1. Buhl A, Conrad S, Waldon D, Bruden M. Potassium channel conductance as a control mechanism in hair follicles. *J Invest Dermatol* 1993;101:148S-52S.
2. Tanigaki-Obama N, Ito M. Effects of ceparanthine and minoxidil on proliferation and differentiation and keratinization of cultured cells from the murine hair apparatus. *Arch Dermatol* 1992;284:290-6.
3. Uno H, Cappas A, Schkagel C. Cyclic dynamics of hair follicles and effect of minoxidil on the bald scapls of stumptailed macaques. *Am J Dermopathol* 1985;7:283-97.
4. Uygun M, Gur E, Ariki A, Erol D. Erectile dysfunction following treatment of benign prostatic hyperplasia: a prospective study. *Andrologia* 1998;30:5-10.
5. D' Adamico A, Roehrborn C. Effect of 1 mg/day finasteride on concentrations of serum prostate-specific antigen in men with androgenic alopecia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2007;8:21-5.
6. Thompson I, Goodman P, Tangen C. The influence of finasteride o the development of prostate cancer. *New Engl J Med* 2003;349:215-24.
7. Klein E. Are PSA adjustments necessary of prostate cancer screening in men taking finasteride for hair loss? *Nature Clin Prac Uro* 2007;4:412-3.
8. Takahashi T, Kamiya T, Yakoo Y. Proanthocyanidins from grape seeds promote proliferation of mouse hair follicle cells in vitro and convert hair cycle in vivo. *Acta Derm Venerol (Stockh)* 1998;78:428-32.
9. Roh S, Kim C, Lee M, Hwang S, Rang M, Yoon Y. The hair growth promoting effect of *Saphora flavescens* extract and its molecular regulation. *J Dermatol Sci* 2002;30:43-9.
10. Roh S, Park S, Hwang S, Lee M, Kim C, Lee I, et al. The hair growth promoting effect of *Asiasari radix* and its molecular regulation. *J Dermal Sci* 2005;38:89-97.
11. นันทวน บุญยะประภัศร และ อรุณช โชคชัยเจริญพร. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์คณะ เกสชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2539.
12. วุฒิ วุฒิธรรมเวช. สารานุกรมสมุนไพร รวมหลัก เภสัชกรรมไทย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอดีเยนสโตร์ จำกัด, 2540.
13. เพพพนม เมืองแม่น, ภรณี หวังคำรงวงศ์, อรสา สุดเฉียรกลุ, วรัญญา แสงเพชรส่อง, ร่มไทร เกล้า สุนทร. คู่มือสมุนไพรรักษาโรคตามกลุ่มอาการ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์คณะ เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2533.
14. ปรีชา พงษ์ภรณ. ตำรายาแพทย์แผนโบราณ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์คำนวณสาสน์, 2529.
15. Philpott M, Green M, Kealey T. Human hair growth *in vitro*. *J Cell Sci* 1990;97 (Suppl):463-71.
16. Philpott M, Sanders D, Westgate G, Kealey T. Human hair growth *in vitro*: a model for the study of hair follicle biology. *J Dermatol Sci* 1994;7(Suppl):55S-72S.