

การศึกษาเบื้องต้นถึงผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีต่อการเจริญของต่อมรากผมคนที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลอง

อรพิน เกิดประเสริฐ*, พิสมัย เหล่าภัทรเกษม**, อุทัย ตันกิตติวัฒน์, เอมอร เจริญสรรพพีช*, พูลพล ผดุงชัยโชติ*

*ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

**ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

อาการผมร่วงจัดเป็นปัญหาที่รบกวนจิตใจ ในปัจจุบันพบมากขึ้นทั้งในเพศหญิงและเพศชาย การรักษาอาการผมร่วงที่เกิดจากพันธุกรรมนิยมใช้ minoxidil และ finasteride ซึ่งมีฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ถ้าใช้เป็นเวลานาน การวิจัยเพื่อหาแนวทางการรักษาแบบใหม่ เช่น การใช้สารสกัดจากสมุนไพร อาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยแก้ปัญหาที่เกิดจากการใช้ยาได้

การศึกษานี้เพื่อตรวจหาสมุนไพรพื้นบ้านที่มีสรรพคุณกระตุ้นการเจริญของผม โดยส่วนต่าง ๆ ของสมุนไพรไทย 5 ชนิด ได้แก่ ดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea*) หัวกวาวเครือ (*Pueraria mirifica*) ใบกะเม็ง (*Eclipta prostate*) ผลมะกรูด (*Citrus hystrix*) และรากกรรณิการ์ (*Nyctanthes arbor-tristis*) นำมาสกัดหยาบด้วยน้ำและทดสอบความสามารถในการกระตุ้นการงอกของผมคนจากต่อมรากผมที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลอง

ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากดอกอัญชันที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5-5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กระตุ้นให้ต่อมรากผมสร้างผมได้ยาวขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากเติมลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมใน 2-4 วัน รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากผลมะกรูดความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถกระตุ้นให้ต่อมรากผมสร้างผมได้ยาวขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากเติมลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมระหว่าง 2-3 วัน แต่ในทางตรงกันข้ามสารสกัดหยาบจากผลมะกรูดความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะทำให้ต่อมรากผมงอกช้าลงอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารสกัดหยาบจากใบกะเม็ง รากกรรณิการ์ และหัวกวาวเครือไม่มีฤทธิ์กระตุ้นการงอกของต่อมรากผมอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับต่อมรากผมกลุ่มควบคุม จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบจากดอกอัญชันและผลมะกรูดมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการงอกของต่อมรากผมคนในห้องทดลอง

คำสำคัญ: ต่อมรากผม, อัญชัน (*Clitoria ternatea*), กวาวเครือ (*Pueraria mirifica*), กะเม็ง (*Eclipta prostate*), มะกรูด (*Citrus hystrix*), และกรรณิการ์ (*Nyctanthes arbor-tristis*), ฤทธิ์กระตุ้นการงอกของต่อมรากผม

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 prostate*, *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 prostate*, *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 ปัญหาส่วนหนึ่งมาจากพันธุกรรม แต่อีกส่วนหนึ่งเกิดขึ้นโดยที่ไม่รู้สาเหตุแน่ชัด ซึ่งอาจเป็นผลจากสภาพแวดล้อม แม้อาการดังกล่าวไม่มีผลถึงขั้นร้ายแรงจนเสียชีวิต แต่สามารถสร้างความกังวลใจและลดความมั่นใจของผู้ที่ประสบปัญหาผมร่วงส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานลดน้อยลง ในปัจจุบันมีการใช้ยารักษาอาการผมร่วงที่ได้ผลดีคือ minoxidil เป็นสารสังเคราะห์ มีฤทธิ์เป็น potassium channel opener¹ กระตุ้นการเจริญของ hair epithelial cells² และกระตุ้นให้ต่อมรากผมเข้าสู่ระยะ anagen ในสัต์วัทดลอง³ ฤทธิ์ไม่พึงประสงค์คือทำให้เกิด irritant contact dermatitis และ hypertrichosis ส่วน finasteride เป็น type II 5- α reductase inhibitor ยับยั้งการเปลี่ยน testosterone ไปเป็น dihydrotestosterone ฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ที่พบ⁴ เช่น gynecomastia, impairment of muscle growth และ severe myopathy โดยเฉพาะการให้ยาเป็นเวลานานในชายที่มีอายุระหว่าง 40-60 ปี ส่งผลให้ serum prostate specific antigen (PSA) ต่ำกว่าปกติ ทำให้การแปรผล prostate cancer ในระยะแรกผิดพลาดได้^{5,6,7} จากฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ดังกล่าว สารสกัดจากสมุนไพรจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่นักวิจัยต้องการนำมาใช้ทดแทน minoxidil และ finasteride ในแง่ของการป้องกันการร่วงของผมและกระตุ้นการเจริญของต่อมรากผม ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารสกัดจากพืชและสมุนไพร เช่น proanthocyanidins สารสกัดจาก

เมล็ดองุ่น⁸ สารสกัดหยาบจากรากของ *Sophora flavescens*⁹ และสารสกัดหยาบจากรากของ *Asiasari radix*¹⁰ มีฤทธิ์การกระตุ้นการเจริญของผมคนและการงอกของขนในสัตว์ทดลอง

ตัวอย่างสมุนไพรพื้นบ้านของไทยที่ได้มีการบันทึกในตำราสมุนไพรและตำรายาแพทย์ไทยแผนโบราณ^{11,12,13,14} ว่ามีสรรพคุณในการบำรุงผิวหนังและเส้นผม รักษาอาการผมร่วง และทำให้ผมดกดำเงางาม เช่น ดอกอัญชัน (*Clitorea ternatea* Lin) มีสรรพคุณในการรักษาอาการผมร่วง, หัวกวาวเครือ (*Pueraria mirifica* Airy-shaw) มีสรรพคุณบำรุงผิวหนังให้เต่งตึง, ลูกมะกรูด (*Citrus hystrix* DC) มีสรรพคุณบำรุงผมให้ดกดำเป็นเงางาม นิ่มสลวย แก้วคันศิระชะ แก้วรังแค, ใบกะเม็ง (*Eclipta prostate* Linn) มีสรรพคุณในการแก้ผมร่วง, รากกรรณิการ์ (*Nyctanthes arbor-tristis* Linn) มีสรรพคุณแก้ผมหงอก บำรุงผิวหนังให้สดชื่น แต่อย่างไรก็ตามสมุนไพรที่กล่าวมาข้างต้นยังไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์มาสนับสนุนถึงสรรพคุณที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการงอกของผม หรือการบำรุงผิวหนัง

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

ภายในของต่อมรากผมจะมีเส้นผม (hair shaft) บรรจุอยู่

ต่อมรากผมมีการเจริญอยู่ตลอดเวลาแบบเป็นวัฏจักร (cyclic growth) โดยเริ่มจากรยะเจริญ (anagen phase) ต่อมาต่อมรากผมผลิตเส้นผมตลอดเวลา ต่อมาต่อมรากผมเข้าสู่ระยะเลื่อม (catagen phase) และระยะพัก (telogen phase) โดยต่อมรากผมจะหยุดการสร้างเส้นผม ทำให้เส้นผมแก่ร่วงหลุดออก พร้อมกับมีการเจริญของต่อมรากผมชุดใหม่ กลไกที่ควบคุมวัฏจักรการเปลี่ยนแปลงของต่อมรากผมจาก anagen ไปเป็น catagen และเข้าสู่ telogen ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ได้มีการนำต่อมรากผมจากหนังศีรษะคนมาเพาะเลี้ยงในห้องทดลอง โดยต่อมรากผมสามารถมีอัตราการงอกของเส้นผม ปริมาณ ATP อัตราการสังเคราะห์ DNA โปรตีน และการสร้าง keratin เหมือนเส้นผมปกติ¹⁵ ดังนั้น การศึกษาการเจริญของต่อมรากผมคนในห้องทดลองจึงสามารถใช้เป็นวิธีหนึ่งในการเรียนรู้และเข้าใจถึงกลไกการเจริญของต่อมรากผมได้สะดวกและเหมือนจริง¹⁶

ในการวิจัยครั้งนี้ต้องการศึกษาถึงผลที่เกิดขึ้นเมื่อนำสารสกัดจากสมุนไพรที่มีสรรพคุณเกี่ยวกับเส้นผมและผิวหนังมาเติมลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผม เพื่อดูว่าสารสกัดจากสมุนไพรชนิดใดมีส่วนช่วยในการทำให้เส้นผมงอกยาวขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีไม่เติมสารสกัดสมุนไพร เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในเบื้องต้นมาสนับสนุนสรรพคุณของสมุนไพรดังกล่าว ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาเวชภัณฑ์ที่มีผลในการรักษาอาการผมร่วง เพื่อนำมาใช้ทดแทนยารักษาผม

ร่วงที่อาจมีฤทธิ์ที่ไม่พึงประสงค์และลดการนำเข้ายารักษาผมร่วงที่มีราคาแพงจากต่างประเทศ

วิธีการศึกษา

การเตรียมสารสกัดหยาบจากสมุนไพร

ดอกอัญชัน, หัวกวาวเครือ, ผลมะกรูด, ใบกะเม็ง และรากกรณีการ์ นำมาล้างให้สะอาดอบแห้งที่อุณหภูมิ 50-60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด ทำการชั่งน้ำหนักได้อย่างละ 1 กิโลกรัม นำสมุนไพรที่อบแห้งเติมน้ำกลั่นพอท่วม และต้มที่อุณหภูมิ 60°C นาน 30 นาที พร้อมกับคนเป็นระยะ จากนั้นปล่อยให้เย็น กรองด้วยผ้าก๊อซและสำลี กากที่เหลือนำมาต้มเป็นครั้งที่สอง โดยทำเหมือนครั้งแรก สารที่ผ่านการกรองทั้งสองครั้งนำไปทำให้เข้มข้นโดยการระเหยให้แห้งด้วยเครื่อง Spray dry ได้ผงสารสกัดหยาบ นำไปชั่งน้ำหนักจดบันทึก %yield ที่ได้เป็นน้ำหนักสารสกัดหยาบ

นำสารสกัดหยาบที่ได้ละลายในน้ำกลั่นได้ให้มีความเข้มข้น 1 mg/ml แล้วกรองด้วย syringe filter ที่มีแผ่นกรองขนาด 0.45 µm ใช้สารที่กรองได้เป็นสารละลายตั้งต้น และทำให้เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงต่อมรากผมเพื่อได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 ng/ml ถึง 10 µg/ml

การเก็บแยกต่อมรากผมจากหนังศีรษะ

หนังศีรษะเก็บจากหญิงสุขภาพดี อายุตั้งแต่ 40-60 ปี จำนวน 10 คน ที่เข้ารับการทำศัลยกรรมกระชับใบหน้า นำหนังศีรษะมาแยกชั้นหนังกำพร้าออกจากชั้นหนังแท้ด้วยใบมีด ทำการเก็บต่อมรากผมที่อยู่ชั้นไขมันออกที่ละ

ต่อมด้วยปากคืบภายใต้ 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 ภายใต้สภาวะควบคุมอุณหภูมิ 37°C มีส่วนผสมของ CO₂ ร้อยละ 5 และอากาศร้อยละ 95 หลังจากต่อมรากผมถูกเลี้ยง 1 วัน จะนำมาคัดเลือกเฉพาะต่อมรากผมที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตเท่านั้นที่จะใช้ทำการทดสอบกับสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่างๆ ทำการถ่ายภาพของต่อมรากผมที่งอกออกมาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope บันทึกเป็น day 0

ต่อมรากผมที่คัดเลือกแล้วถูกแยกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม เป็นกลุ่มของต่อมรากผมที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมปกติ ตลอดการทดลอง เปลี่ยนน้ำยาทุก 2 วัน และกลุ่มทดลอง คือ ต่อมรากผมที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่เติมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรความเข้มข้นตั้งแต่ 50 ng/ml ถึง 10 µg/ml เปลี่ยนอาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่ผสมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทุก 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

ความยาวของต่อมรากผมที่งอกออกมาแต่ละเส้นจะถูกวัดและถ่ายรูป 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 ± SEM

ผลการศึกษา

หนังศีรษะจากหญิงอายุตั้งแต่ 40-60 ปี ที่มาทำศัลยกรรมกระชับใบหน้า เมื่อนำต่อมรากผมที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมปกติ (กลุ่มควบคุม) พบว่าต่อมรากผมมีการเจริญแบบ type I growth pattern โดยมีการเจริญของ hair shaft พร้อมกับมี dermal sheath หุ้มล้อมรอบในระดับที่เท่ากัน การวัดความยาวของต่อมรากผม (day 0) นับจากเวลาที่อยู่ในน้ำยาเลี้ยงต่อมผมปกติ มีอัตราการงอกเฉลี่ย 0.36 ± 0.02 มิลลิเมตร ต่อวัน [mean±SEM] ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Philpott et al ในปี 1990¹⁵ และเมื่อวัดการงอกของต่อมรากผมทดลองการทดลอง (day 4) พบว่าต่อมรากผมงอกออกมา รวมทั้งสิ้น 1.21 ± 0.02 มิลลิเมตร [mean±SEM]

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

ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากสมุนไพร

เมื่อนำส่วนของสมุนไพร เช่น รากกรรณิการ์ ใบกะเม็ง ผลมะกรูด ดอกอัญชัน และหัวกวาวเครือ มาอบให้แห้ง ซึ่งน้ำหนัก 1 กิโลกรัม บด สกัดโดยใช้น้ำและอบแห้งได้เป็นผงของสารสกัดหยาบมีน้ำหนักของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรแต่ละชนิด และเมื่อนำผงสารสกัดหยาบมาละลายด้วยน้ำมีลักษณะดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดหยาบของสมุนไพรตัวอย่างต่อน้ำหนักของสมุนไพรแห้งและลักษณะเมื่อละลายด้วยน้ำ

สมุนไพรตัวอย่าง	น้ำหนักสารสกัดหยาบ(กรัม)/ น้ำหนักสมุนไพรแห้ง 1000 กรัม	ลักษณะสารสกัดหยาบ (เมื่อละลายน้ำ)
รากกรรณิการ์	16	ของเหลวสีน้ำตาลเข้ม
ใบกะเม็ง	19.56	ของเหลวสีน้ำตาลอ่อน
ผลมะกรูด	2.86	ของเหลวใสสีเหลืองอ่อน
ดอกอัญชัน	28.02	ของเหลวสีม่วงเข้ม
หัวกวาวเครือ	36.63	ของเหลวสีน้ำตาลอ่อน

ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีต่อการเจริญของต่อมรากผมที่เลี้ยง in vitro

สารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย สารสกัดหยาบจากรากกรรณิการ์ ใบกะเม็ง ผลมะกรูด ดอกอัญชัน

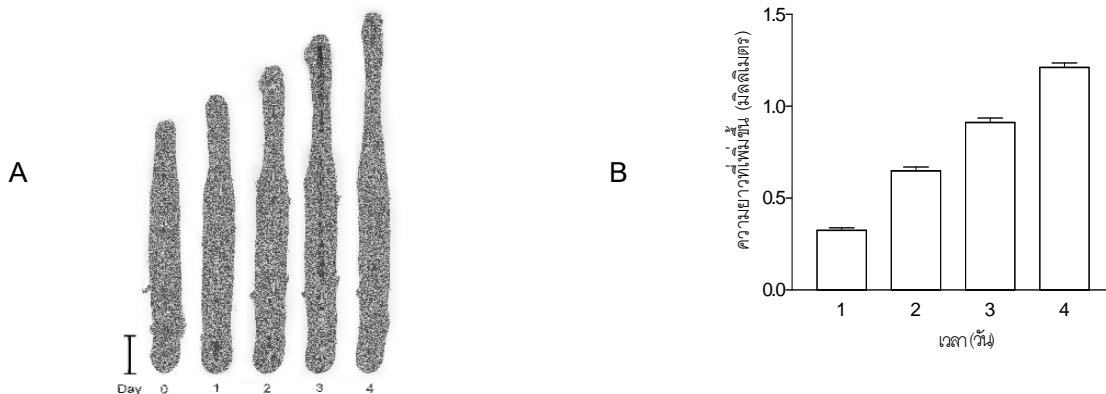
และหัวกวาวเครือ จากการทดลองนำสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ได้กล่าวมาข้างต้น นำมาผสมในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมโดยใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกันตั้งแต่ 50 ng/ml ถึง 10 µg/ml (6 ระดับ) พบว่าในวันแรกที่มีการเติมสาร

สกัดหยาบจากสมุนไพรแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมพบว่าต่อมรากผมผลิตเส้นผมที่มีความยาวใกล้เคียงกับต่อมรากผมกลุ่มควบคุม (รูปที่ 2)

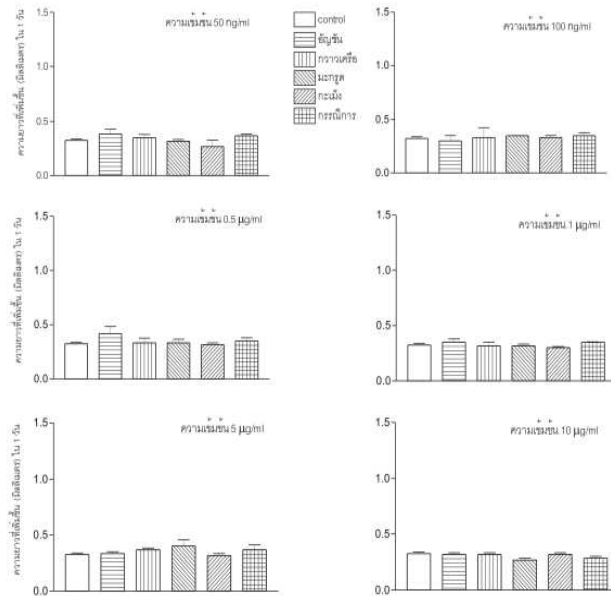
ในวันที่ 2-4 หลังการเติมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมพบว่าสารสกัดหยาบจากดอกอัญชัน มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกระตุ้นให้ต่อมรากผมผลิตเส้นผมที่ยาวมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากดอกอัญชันที่มีฤทธิ์กระตุ้นการงอกของเส้นผมเริ่มตั้งแต่ 0.5-5 $\mu\text{g/ml}$ และความเข้มข้นดังกล่าวมีฤทธิ์กระตุ้นการงอกของเส้นผมไปตลอดจนเสร็จสิ้นการทดลองในวันที่ 4 (รูปที่ 3-5) แต่เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากดอกอัญชันความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ พบว่าไม่มีฤทธิ์กระตุ้นการงอกของต่อมรากผมตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

สารสกัดหยาบที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือสารสกัดหยาบจากผลมะกรูดที่สามารถกระตุ้นให้ต่อมรากผมผลิตเส้นผมที่ยาวอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยจะปรากฏผลหลังจากเลี้ยงต่อมรากผมในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่มีสารสกัดหยาบจากผลมะกรูดความเข้มข้น 5 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 2-3 วัน แต่ถ้าเลี้ยงต่อมรากผมในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่มีสารสกัดหยาบจากผลมะกรูดความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 4 วันจะให้ผลในทางตรงกันข้ามคือทำให้เส้นผมงอกน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

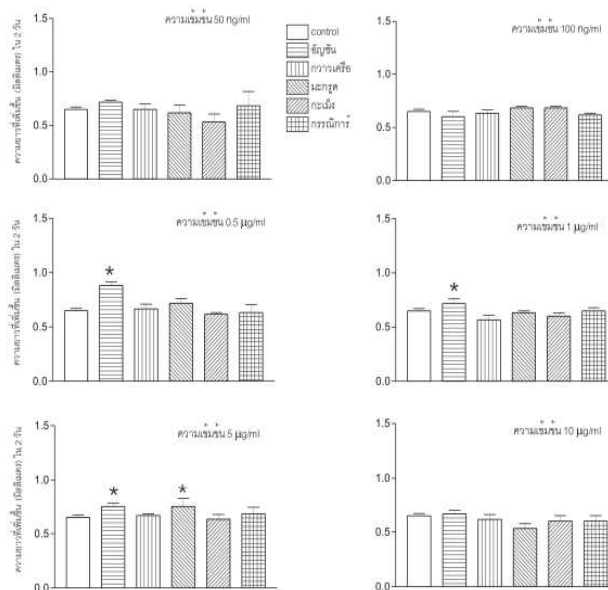
ในขณะที่สารสกัดหยาบจากหัวกวาวเครือ, รากกรรณิการ์ และใบกะเม็ง ในทุกความเข้มข้นที่ใช้ไม่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการงอกของเส้นผมอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมตลอดระยะเวลาการทดลอง (1-4 วัน)



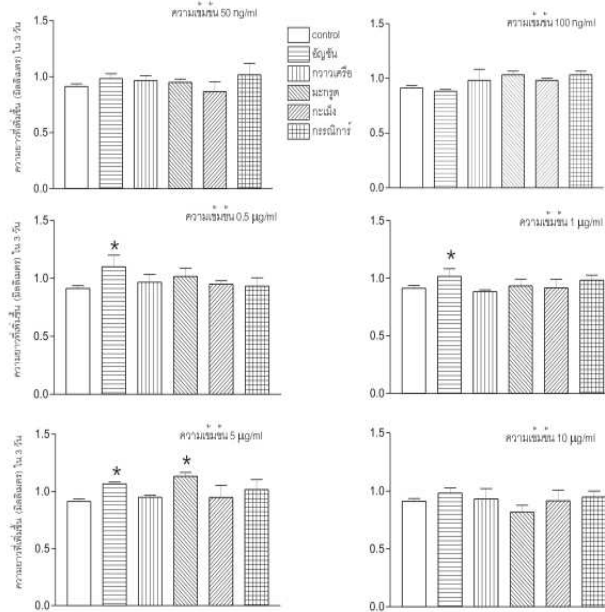
รูปที่ 1 (A) ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงต่อมรากผมคนที่ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมปกติ (กลุ่มควบคุม) ความยาวเริ่มแรกใช้เป็นความยาวเริ่มต้น (day 0) และต่อมรากผมกลุ่มควบคุมจะยาวเพิ่มขึ้นต่อไปจนสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 4 Bar = 500 μm
(B) แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความยาวของต่อมรากผมที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวัน (1-4) เมื่อเปรียบเทียบกับความยาวเริ่มต้น (day 0) ค่าที่แสดงเป็น mean \pm SEM (n = 10 คน ใช้ต่อมรากผม 6 เส้น จากแต่ละคน)



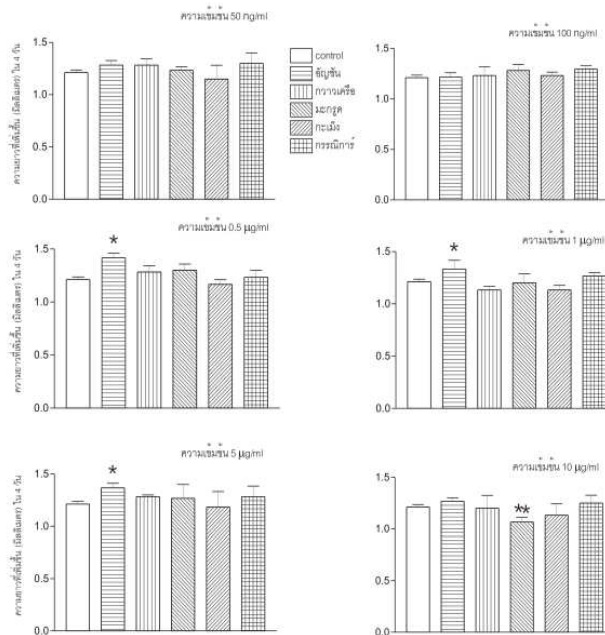
รูปที่ 2 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความยาวของต่อมรากผมที่เพิ่มขึ้นใน 1 วัน จากต่อมรากผมที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลองที่เติมสารสกัดหยาดสมุนไพรความเข้มข้นแตกต่างกันลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผม เมื่อเปรียบเทียบกับความยาวเริ่มต้น (day 0) ของต่อมรากผมจากกลุ่มควบคุม (control) ค่าที่แสดงเป็น mean \pm SEM * p < 0.05 (N = 10 คน ใช้ต่อมรากผม 3 เส้น ต่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาดแต่ละชนิด)



รูปที่ 3 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความยาวของต่อมรากผมที่เพิ่มขึ้นใน 2 วัน จากต่อมรากผมที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลองที่เติมสารสกัดหยาดสมุนไพรความเข้มข้นแตกต่างกันลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผม เมื่อเปรียบเทียบกับความยาวเริ่มต้น (day 0) ของต่อมรากผมจากกลุ่มควบคุม (control) ค่าที่แสดงเป็น mean \pm SEM * p < 0.05 (N = 10 คน ใช้ต่อมรากผม 3 เส้น ต่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาดแต่ละชนิด)



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



รูปที่ 5 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยความยาวของต่อมรากผมที่เพิ่มขึ้นใน 4 วัน จากต่อมรากผมที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลองที่เติมสารสกัดหยาดสมุนไพรความเข้มข้นแตกต่างกันลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผม เมื่อเปรียบเทียบกับความยาวเริ่มต้น (day 0) ของต่อมรากผมจากกลุ่มควบคุม (control) ค่าที่แสดงเป็น mean \pm SEM * p < 0.05, ** p < 0.05 ที่ความเข้มข้น 10 μ g/ml ของสารสกัดหยาดจากผลมะกรูดที่ทำให้ต่อมรากผมงอกน้อยลง (N = 10 คน ใช้ต่อมรากผม 3 เส้น ต่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาดแต่ละชนิด)

วิจารณ์

การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการคัดเลือกสมุนไพร 5 ชนิด คือ อัญชัน (*Clitoria ternatea* Lin) กวาวเครือ (*Pueraria mirifica* Airy-shaw) มะกรูด (*Citrus hystrix* DC) กะเม็ง (*Eclipta prostate* Linn) กรรณิการ์ (*Nyctanthes arbor-tristis* Linn) เนื่องจากสมุนไพรเหล่านี้ถูกกล่าวอยู่ในตำรายาไทยแผนโบราณเกี่ยวกับสรรพคุณในการบำรุงผิวหน้าและเส้นผม รักษาอาการผมร่วง และทำให้ผมดกดำเงางาม¹²⁻¹⁴ ซึ่งอาจจะมีความเป็นไปได้ที่จะมีสรรพคุณในการกระตุ้นการงอกของผมจากต่อมรากผมคนที่นำมาเลี้ยงในห้องทดลอง

ในการเตรียมสารสกัดหยาบได้เลือกใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเนื่องจากตามตำรายาไทยแผนโบราณ การใช้สมุนไพรดังกล่าวนิยมที่จะต้มในน้ำ และนำมาใช้ทา หรือสระผม จึงเป็นไปได้ว่าน้ำร้อนสามารถละลายสารออกฤทธิ์ที่มีสรรพคุณกระตุ้นการงอกของเส้นผมที่มีอยู่ในสมุนไพร

ผลจากการทดลองพบว่าเฉพาะสารสกัดหยาบจากดอกอัญชันที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 - 5 µg/ml และจากผลมะกรูดที่ความเข้มข้น 5 µg/ml มีฤทธิ์กระตุ้นการงอกของต่อมรากผมหลังจากเติมลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผมตั้งแต่ 2 วัน และมีฤทธิ์กระตุ้นการงอกของผมต่อเนื่อง 4 วัน สำหรับสารสกัดหยาบจากดอกอัญชันและ 3 วัน สำหรับสารสกัดหยาบจากผลมะกรูด ตามลำดับ แต่ถ้าใช้สารสกัดหยาบจากผลมะกรูดที่ความเข้มข้น 10 µg/ml เป็นเวลา 4 วัน ทำให้ผมงอกน้อยลง อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารสกัดหยาบสูงเกินไปกระตุ้นให้ต่อมรากผมเข้าสู่

ระยะเสื่อม (catagen) และทำให้ต่อมรากผมบาง เส้นหยุดการเจริญและตายลง (ไม่ได้แสดงรูป)

ผลการวิจัยนี้สามารถสรุปได้ในเบื้องต้นว่าสารสกัดหยาบจากดอกอัญชันและจากผลมะกรูดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 - 5 µg/ml มีสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นการงอกของผมในห้องทดลองสมควรทำการศึกษาต่อไป เช่น การใช้สารสกัดบริสุทธิ์จากดอกอัญชันและผลมะกรูดมาทดสอบประสิทธิภาพในการกระตุ้นการงอกของขนในสัตว์ทดลองและการเจริญของเส้นผมในมนุษย์ โดยการทาที่ผิวหน้าหรือหนังศีรษะโดยตรง เพื่อสนับสนุนผลจากการศึกษา *in vitro* และควรจะศึกษาเพิ่มเติมถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุล โดยการใช้สารสกัดบริสุทธิ์ของสมุนไพรทั้งสองชนิดมาทดสอบดูว่ามีผลกระตุ้นให้มีการเพิ่มขึ้นของ growth factor gene ในต่อมรากผมคนหรือไม่¹⁰ นอกจากนี้สมุนไพรอีกสามชนิด คือ กะเม็ง กรรณิการ์ และกวาวเครือ น่าจะมีการทดสอบเพิ่มเติมเนื่องจากการสกัดด้วยน้ำอาจไม่สามารถละลายสารออกฤทธิ์ของสมุนไพรดังกล่าว จึงน่าจะมีการทดลองสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นเช่น hexane และ methanol เพื่อสกัดเอาสารที่ไม่ละลายในน้ำมาทดสอบต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโรงพยาบาลยันฮี จรัญสโรนิตวงศ์ กทม ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บชิ้นเนื้อหนังศีรษะ งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2548 จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

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-Obana 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 stump-tailed macaques. *Am J Dermatopathol* 1985;7:283-97.
4. Uygur 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 on 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. นันทวัน บุญยะประภัศร และ อรนุช โชคชัยเจริญพร. สมุนไพรไม้พุ่มบ้าน กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2539.
12. วุฒิ วุฒิธรรมเวช. สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ จำกัด, 2540.
13. เทพพนม เมืองแมน, ภรณ์ หวังอำรวงศ์, อรสา สุดเฉียรกุล, วรัญญา แสงเพชรสอง, ร่มไทร เกล้าสุนทร. คู่มือสมุนไพรรักษาโรคตามกลุ่มอาการ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2533.
14. ปรีชา พงษ์ภมร. ตำรายาแพทย์แผนโบราณ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อานวยศาสตร์, 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.