

จินตนา จุลทัศน์. 2556.ฤทธิ์เสริมการเจริญเติบโตของเส้นผมของสารสกัดดอกคำฝอย.

วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิจัยและพัฒนาเภสัชภัณฑ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ศ.ดร. บังอร ศรีพานิชกุลชัย

บทคัดย่อ

ภาวะผมร่วงไม่ใช่ปัญหาความเครียดแต่บ่อยครั้งที่เป็นสาเหตุของความเครียด และอาจกลายเป็นปัญหาทางด้านการแพทย์ได้ ถ้าภาวะการหลุดร่วงของเส้นผมนั้นมีมากเกินปกติ หรือเกิดขึ้นก่อนวัยอันควร และทำให้ผู้ที่อยู่ในภาวะนี้เกิดอาการซึมเศร้า ดังนั้นการพัฒนายาและวิธีการรักษาเพื่อป้องกันผมร่วงและช่วยเพิ่มการเจริญของเส้นผมจึงเป็นสิ่งสำคัญ ปัจจุบันการรักษาอาการผมร่วงด้วยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติกำลังได้รับความสนใจอย่างแพร่หลาย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ตรวจสอบฤทธิ์เสริมการเจริญเติบโตของเส้นผมของพืช 15 ชนิด โดยคัดเลือกจากประวัติการใช้พื้นบ้านในการรักษาผมร่วงหรือเสริมการเจริญเติบโตของเส้นผม จากการตรวจสอบเบื้องต้นโดยศึกษาผลของสารสกัดต่อการเจริญเติบโตของเซลล์เพาะเลี้ยงที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเส้นผมคือเซลล์เดอมอล ปาปิลลา (dermal papilla cells) และเซลล์เคอราติโนไซต์ (keratinocytes) พบว่าสารสกัดดอกคำฝอยมีฤทธิ์เสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ทั้งสองนี้ โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดดอกคำฝอยในช่วง 0.005-1.250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเสริมการเจริญของเซลล์เดอมอล ปาปิลลา และเซลล์เคอราติโนไซต์ ภายหลังการบ่มนาน 24 ชั่วโมง ได้ถึง $166.02 \pm 4.89\%$ และ $114.83 \pm 6.83\%$ ตามลำดับ นอกจากนี้ปริมาณสารสกัดของดอกคำฝอยยังมีปริมาณสูงอีกด้วย ดังนั้นสารสกัดดอกคำฝอยจึงได้รับคัดเลือกให้ทำการศึกษาต่อไป จากนั้นจึงได้ทำการศึกษผลของสารสกัดดอกคำฝอยต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเส้นผมทั้งในเซลล์เดอมอล ปาปิลลา และเซลล์เคอราติโนไซต์ ด้วยวิธีอาร์ทีพีซีอาร์แบบกึ่งวัดปริมาณ(semi - quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction) โดยยีนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเส้นผมที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ได้แก่ วาสคิวลาร์ เอนโดทีเลียล โกรท แฟคเตอร์ (Vascular endothelial growth factor) และเคอราติโนไซต์ โกรท แฟคเตอร์ (keratinocyte growth factor) ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดดอกคำฝอยที่ความเข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเสริมการแสดงออกของยีนทั้งสองชนิดนี้ได้เช่นเดียวกับยามาตรฐานมิน็อกซิديل (minoxidil) และมีลักษณะแปรผันตามเวลาและความเข้มข้น และเมื่อทดสอบสารสกัดดอกคำฝอยต่อการแสดงออกของยีนที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นผม ได้แก่ ยีนทรานสฟอร์มมิง โกรท แฟคเตอร์ เบต้า-1 (Transforming growth factor β -1) และ ไฟว์ อัลฟา รีดักเตส ชนิดที่ 1 (5alpha-reductase type I) และ ไฟว์ อัลฟา รีดักเตส ชนิดที่ 2 (5alpha-reductase type II) โดยพบว่าสารสกัดดอก

คำฝอยสามารถยับยั้งการแสดงออกของยีนทั้งสามชนิดนี้ได้ นอกจากนี้เมื่อศึกษาผลของสารสกัดดอกคำฝอยต่อรากผมเพาะเลี้ยงจากหนุททดลองแรกเกิด พบว่าสารสกัดดอกคำฝอยที่ความเข้มข้น 50-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเสริมความยาวของเส้นผมจากรากผมเพาะเลี้ยงได้ ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อศึกษาในหนุทดำนและหนูขาวที่โกนขนบริเวณด้านหลัง พบว่าภายหลังการทาสารสกัดดอกคำฝอยติดต่อกันนาน 15 วันในหนุทดำน และ 20 วันในหนูขาว พบว่าเส้นขนของหนุททดลองในกลุ่มที่ทาสารสกัดดอกคำฝอยความเข้มข้น 0.1-2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เส้นขนกลับมายาวได้รวดเร็วกว่ากลุ่มควบคุม และเมื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อพบว่าจำนวนรากผม ชนิดของรากผมที่อยู่ในระยะการเจริญ และความหนาของผิวหนังหนุททดลองในกลุ่มที่ทาสารสกัดดอกคำฝอย สูงกว่ากลุ่มควบคุม และใกล้เคียงกับกลุ่มที่ทายาไมน็อกซิดิล

ยิ่งไปกว่านั้น จากการศึกษายังพบว่าสารสกัดดอกคำฝอย มีความสามารถในการเสริมการสร้างเม็ดสีของเส้นผม เนื่องจากสารสกัดดอกคำฝอยเพิ่มการสร้างเม็ดสีในเซลล์เมลานोไซต์เพาะเลี้ยงในลักษณะที่แปรผันตามความเข้มข้น และเป็นความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้หลังจากการบ่มสารสกัดดอกคำฝอยกับเซลล์เมลานोไซต์นาน 48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 6.25-25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดดอกคำฝอยสามารถเสริมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสีผม อันได้แก่ ไทโรซิเนส (tyrosinase), ไทโรซิเนสรีเลทโปรตีน-1 (tyrosinase related protein -1) และไทโรซิเนสรีเลทโปรตีน-2 (tyrosinase related protein -2) ได้ด้วย นอกจากนี้ จากการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังของสารด้วยวิธีไซด์บายไซด์ ดิฟฟิวชันเซลล์ (side by side diffusion cell method) และวัดปริมาณสารไฮดรอกซีแซฟฟลอว์ เอลโลว์เอ (hydroxysafflor yellow A) ซึ่งเป็นสารประกอบหลักของสารสกัดดอกคำฝอย พบว่าสารสกัดดอกคำฝอยมีความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังได้เป็นอย่างดี

จากข้อมูลข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่า สารสกัดดอกคำฝอย มีความสามารถในการเสริมการเจริญเติบโตของเส้นผมทั้งการทดสอบในหลอดทดลอง และในสัตว์ทดลอง รวมทั้งสารสกัดดอกคำฝอยนี้มีความคงตัวสูงและปลอดภัยอย่างยิ่ง ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์เม็ดเลือดขาว และตลอดการทดลองในสัตว์ทดลอง ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังแต่อย่างใด ดังนั้นสารสกัดดอกคำฝอยจึงมีความเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะได้รับการสนับสนุนในการพัฒนาและส่งเสริมสู่การเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเสริมการเจริญเติบโตของเส้นผมอย่างยิ่ง

Jintana Junlatat. 2013. **Hair Growth Promoting Effect of *Carthamus tinctorius***

Floret Extract. Doctor of Philosophy Thesis in Research and
Development in Pharmaceuticals, Graduate School, Khon Kaen
University.

Thesis Advisor: Prof. Dr. Bungorn Sripanidkulchai

ABSTRACT

Hair loss is not life threatening but often causes severe mental stress and becomes a medical problem when it is excessive, premature and distressing to patient. Therefore, it is of great importance to develop new drugs or substances and therapies to prevent hair loss and to enhance hair growth. In recent years, there has been growing interest in using natural products for treatment of hair loss. In this study, 15 plants that have been traditionally used for treating of hair loss or enhancing hair growth were screened for the proliferative effect on dermal papilla cells and keratinocytes. The results showed that after 24 hr of incubation, *Carthamus tinctorius* floret extract at doses of 0.005-1.250 mg/ml could promote the growth of dermal papilla cells and keratinocytes up to $166.02 \pm 4.89\%$ and $114.83 \pm 6.83\%$, respectively. In addition, the yield of the *C. tinctorius* floret extract was also high. Therefore, the *C. tinctorius* floret extract (CTE) was selected for further study. The effects of CTE on the expression of hair growth-related genes including vascular endothelial growth factor (VEGF) and keratinocytes growth factor (KGF) in dermal papilla cells and keratinocytes were investigated by using semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. It is revealed that CTE at doses of 0.5-1.0 mg/ml promoted the expression of both VEGF and KGF genes in a dose- and time-dependent manner similar to those of minoxidil. In addition, CTE could suppress the expression of hair loss related-genes including transforming growth factor β -1, 5α -reductase type I and 5α -reductase type II. Moreover, CTE at doses of 50-200 $\mu\text{g/ml}$ could significant increase in length of cultured neonate mouse hair follicle. Furthermore, topical applying of CTE at doses 0.1-2.0 mg/ml for 15 days and 20 days in mice and rats, respectively possess potent promoting effect on the growth in dorsal hair of shaved-

mice. The histological profiles of mice skin exhibited that CTE enhanced hair growing phase which could be observed as increasing in growing hair follicle number and the thickening of skin more than the control group, similar to the minoxidil treated group.

CTE also stimulated the melanogenesis in cultured melanocytes with dose-dependent and significant increase in melanin content without cytotoxic effect. In addition, the expression of tyrosinase, tyrosinase related protein-1 (TRP-1) and TRP-2 mRNA were also increased after 48 h treatment with CTE at doses of 6.25-25 µg/ml. Furthermore, the skin permeation study using side by side diffusion cell method demonstrated the high permeation of a major constituents, hydroxysafflor yellow A of CTE.

These findings suggest that CTE could promote the growth of hair both in *in vitro* and *in vivo*. The extract is stable and safe. It is not toxic to white blood cells and had no mutagenicity. Moreover, there was no skin irritation in experimental animals. Therefore, CTE may be a potential ingredient to incorporate in the hair growth promoting products.