

Efficacy of a Gel from the Seed of *Trigonella foenum-graceum* L. in Preventing Trichoptilosis: A Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial

Majid Hajizadeh¹,
 Mohammad Azadbakht^{2,3},
 Hossein Asgarirad⁴,
 Ghasem Rahmatpour Rokni⁵,
 Moloud Fakhri⁶,
 Fatemeh Mirzaee⁷

¹ Doctor of Pharmacy, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Department of Pharmacognosy and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Medicinal Plants Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Associate Professor, Department of Dermatology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁶ Assistant Professor, Traditional and Complementary Medicine Research Center, Addiction Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁷ PhD in Pharmacognosy Medicinal Plants Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received march 6, 2022 ; Accepted July 11, 2022)

Abstract

Background and purpose: Trichoptilosis with fragility and hair loss is a common disorder, but, still there is no specific and effective treatment for this condition. The aim of this study was to evaluate the efficacy of gel from the seed of *Trigonella foenum-graceum* L. in prevention of trichoptilosis in people with trichoptilosis.

Materials and methods: A double-blind placebo controlled clinical trial was carried out in 60 people with trichoptilosis in Sari Touba Clinic affiliated with Mazandaran University of Medical Sciences. The participants received either *T. foenum-graceum* seed gel or placebo gel. The extract was prepared at 500 µg/ml and the treatment period was two months. Data were analyzed using Independent t-test, Paired t-test, Fisher's exact test, and Generalized estimating equations.

Results: In this study, the average rate of hair splitting in experimental group decreased significantly compared with the placebo group ($P < 0.001$). Other factors such as dryness, fragility, and hair loss showed considerable decreasing rate in experimental group compared to the placebo group ($P \leq 0.001$, $P < 0.001$, and $P = 0.042$, respectively)

Conclusion: The positive effects of the herbal gel in reducing the incidence of trichoptilosis may probably be due to the presence of diosgenin and other steroidal saponins with antioxidant and anti-inflammatory effects.

(Clinical Trials Registry Number: IRCT20130911014630N4)

Keywords: *Trigonella foenum-graceum*, trichoptilosis, herbal gel, flavonoid, diosgenin

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (211): 25-36 (Persian).

Corresponding Author: Moloud Fakhri and Fatemeh Mirzaee - Traditional and Complementary Medicine Research Center, Addiction Institute and Medicinal Plants Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: mmfir@yahoo.com, Fa.mirzaee88@yahoo.com)

اثر ژل دانه گیاه شنبلیله در درمان موخوره: یک کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل شده با پلاسبو

مجید حاجی زاده^۱محمد آزادبخت^{۳،۲}حسین عسگری راد^۴قاسم رحمت پوررکنی^۵مولود فخری^۶فاطمه میرزائی^۷

چکیده

سابقه و هدف: اختلال موخوره به همراه شکنندگی و ریزش مو از جمله مشکلات رایجی است که اکثر افراد به آن دچار می‌شوند. با این وجود هنوز درمان مشخص و کارآمدی در بازار دارویی برای این اختلال وجود ندارد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر ژل عصاره دانه گیاه شنبلیله در درمان موخوره در یک کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل شده با پلاسبو بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به صورت کارآزمایی بالینی دوسویه کور کنترل شده با گروه دریافت کننده پلاسبو بر روی ۶۰ بیمار مبتلا به اختلال موخوره در کلینیک طبوبی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام پذیرفت. بیماران به دو گروه ژل پلاسبو و ژل دارو تقسیم شدند. عصاره در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آماده شد و دوره درمان ۲ ماه بود. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون T مستقل، T زوجی، فیشر و معادلات برآوردی تعمیم یافته استفاده شد.

یافته‌ها: در روند درمان به‌طور میانگین میزان دو شاخه شدن مو در گروه درمانی در مقایسه با گروه پلاسبو به صورت معنی‌دار ($P < 0/001$) کاهش یافت. سایر فاکتورها اعم از خشکی، شکنندگی و ریزش موها نیز در گروه درمانی نسبت به گروه پلاسبو روندهای کاهشی قابل توجهی (به ترتیب با معنی‌داری $P \leq 0/001$ ، $P < 0/001$ و $P = 0/042$) از خود نشان دادند.

استنتاج: اثرات مطلوب مشاهده شده از ژل دانه گیاه شنبلیله در کاهش بروز موخوره در بیماران، احتمالاً به دلیل وجود دیوسژنین و سایر ساپونین‌های استروئیدی با اثرات آنتی‌اکسیدانتی و ضد التهابی است.

شماره ثبت کارآزمایی بالینی: IRCT20130911014630.N4

واژه‌های کلیدی: شنبلیله، موخوره، ژل گیاهی، فلاونوئید، دیوسژنین

مقدمه

امروزه توجه به شکل ظاهری مو و سلامت مو در مهمی در احساس رضایت افراد از خود دارد. اختلالات افراد بسیار حائز اهمیت است، به‌طوری‌که ظاهر مو نقش مربوط به ساقه مو بسیار متنوع و رایج هستند. این

مؤلف مسئول: مولود فخری و فاطمه میرزائی- ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مرکز تحقیقات طب سنتی و مکمل و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی
E-mail: mmfir@yahoo.com, Fa.mirzaee88@yahoo.com

۱. دکتری عمومی داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استاد، گروه فارماکولوژی و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. استاد، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. دانشیار، گروه پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۶. استادیار، مرکز تحقیقات طب سنتی و مکمل، پژوهشکده اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۷. دکتری تخصصی فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۱/۱/۱۷ تاریخ تصویب: ۱۴۰۱/۴/۲۰

اختلالات می توانند به صورت مادرزادی و نیز به صورت اکتسابی ایجاد شوند. شکندگی ساقه مو، خشکی و دوشاخه شدن موها از جمله اختلالات رایج ساقه مو می باشد (۱). اختلال موخوره به دوشاخه شدن طولی قسمت انتهایی ساقه مو گفته می شود. این اختلال ناشی از جدا شدن طولی فیبرهای کورتکس ساقه مو در نتیجه از بین رفتن و یا آسیب لایه کوتیکولی ساقه مو ایجاد می شود (۲). در این حالت قسمت انتهایی ساقه مو به دو شاخه یا بیش تر انشعاب می یابد. این حالت معمولاً در ۲ یا ۳ سانتی متری قسمت انتهایی ساقه مو دیده می شود (۳).

اختلالات ساقه مو می تواند در ارتباط با عوامل محیطی و بیماری های زمینه ای باشد که فرد با آن درگیر است. عوامل مختلفی از جمله کمبود آهن، سوء تغذیه، اختلالات متابولیکی، در معرض قرار گرفتن با عوامل شیمیایی و یا مواد آرایشی، داروهای مختلف، کمبود کلاژن و بیماری های مرتبط با آن می توانند باعث بروز اختلالات ساقه مو شوند (۴). موخوره رایج ترین اختلال ماکروسکوپی ساقه مو در نتیجه اثرات تجمعی آسیب های فیزیکی و شیمیایی به ساقه مو می باشد (۳). این حالت در موهای نرمال و یا در موهای حجیم دیده می شود. اختلال دوشاخه شدن در موهای نرمال در نتیجه انواع آسیب به ساقه مو، درماتوزهای خارش، مدل دادن های بیش از حد موها و استفاده بیش از حد از فرآورده های آرایشی مو می تواند رخ دهد (۵). شامپوهای با دترجنت های ملایم، کرم ها و فرآورده های تقویتی مو می تواند در روند درمان این حالت و پیشگیری از افزایش شدت این اختلال کمک کننده باشند (۶). استفاده از آنتی اکسیدانت ها و فرآورده های موضعی حاوی این ترکیبات نقش به سزایی در ترمیم مو دارند (۷). در سراسر نقاط دنیا فرآورده های گیاهی متعددی جهت محافظت از مو و مشکلات پوستی مورد استفاده قرار می گیرد، که در این زمینه مطالعات مختلفی جهت به کارگیری موارد موثره موجود در گیاهان دارویی در حال انجام است (۸). استفاده از گیاهان دارویی بر پایه اطلاعات طب سنتی کشورهای مختلف،

یکی از رایج ترین روش ها، در درمان بیماری ها از جمله مشکلات پوست و مو می باشد (۸).

گیاه شنبلیله با نام علمی *Trigonella-foenum graecum* و نام عمومی Fenugreek متعلق به خانواده Leguminosae، گیاهی یکساله است که کاربردهای مختلفی در طب سنتی و پزشکی دارد. مهم ترین بخش این گیاه که خواص دارویی متنوع گیاه را به آن نسبت می دهند دانه های آن است (۹). گیاه شنبلیله بومی مناطق غربی آسیا تا مناطق جنوبی اروپا می باشد. با این حال این گیاه به صورت گسترده در هندوستان، پاکستان، فرانسه، آرژانتین، چین، اوکراین و یونان و کشورهای آفریقایی شمالی کشت داده می شود (۱۰). این گیاه به صورت بومی در ایران نیز پراکنش دارد و بیش از ۳۳ گونه ژنوتیپی از آن در نقاط مختلف کشور یافت می شود (۱۰). گیاه شنبلیله در طب سنتی ایران برای انواع اختلالات التهابی کاربرد داشته است. در طب سنتی ایران و مخصوصاً در کتب معتبر آن، مانند قانون در طب حکیم بوعلی سینا (۱۱)، مخزن الادویه عقیلی خراسانی (۱۲) و الانبیه عن الحقائق الادویه هروی (۱۳) درمورد درمان بیماری موخوره سخن به میان آمده است. داروهای معرفی شده در طب سنتی ایرانی برای درمان موخوره شامل گیاه ختمی، گل نیلوفر، کنجد، اسفرزه، گل بنفشه و مهم تر از همه حله یا شنبلیله می باشند. شنبلیله به صورت سنتی در سایر نقاط دنیا جهت تقویت پوست و مو استفاده می شود، به عنوان مثال برگ و دانه گیاه به صورت موضعی جهت افزایش رشد مو، حفظ درخشندگی و رنگ طبیعی مو، برطرف کردن شوره سر، آگزما و التهابات پوستی استفاده می شود (۱۴). بر اساس مطالعات فارماکولوژیکی اخیر که به صورت درون تنی در مدل های حیوانی انجام شده است، اثرات قابل توجه دانه این گیاه در بهبود التهابات پوستی (۱۵)، ریزش مو (۱۶) و تقویت رشد مو (۱۷) به اثبات رسیده است. دانه این گیاه به طور عمده دارای ترکیبات آلکالوئیدی، استروئیدی، فنولی و لیپیدی با اثرات درمانی متعدد می باشد (۱۸). با توجه به کاربردهای

درمانی متعدد گیاه شنبلیله در زمینه‌های مختلف و به دلیل اثرات مفید آن بر روی مو و تقویت آن که در منابع طب سنتی ذکر شده است، در این پژوهش بر آن شدیم تا اثرات فرمولاسیون ژل موضعی عصاره حاصل از دانه‌های شنبلیله را در درمان موخوره مورد ارزیابی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بالینی به صورت کارآزمایی بالینی تصادفی (تصادفی سازی ساده) دوسویه کور کنترل شده با پلاسبو در کلینیک تخصصی طبوبی مجتمع باغبان دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام گرفت. به منظور دو سو کور بودن مطالعه، ظاهر و ظرف ژل حاوی دانه شنبلیله و پلاسبو مشابه هم بودند. پروتکل انجام کارآزمایی بالینی مذکور توسط کمیته اخلاق (کد: IR.MAZUMS.REC.1396.2909) دانشگاه علوم پزشکی مازندران تصویب شد و در مرکز کارآزمایی بالینی ایران (IRCT) (کد: IRCT20130911014630N4) ثبت شد. انتخاب بیماران بدون آگاهی قبلی و براساس مراجعه آن‌ها به پزشک متخصص صورت گرفت. بیماران مراجعه کننده به کلینیک تخصصی طبوبی با محدوده سنی ۲۰ تا ۵۰ سال که با تشخیص پزشک متخصص پوست و مو، اختلالات مدنظر را داشتند و با رضایت خویش دریافت فرآورده را پذیرفتند، وارد مطالعه شدند. افرادی که در محدوده سنی ذکر شده (۵۰-۲۰ سال) نبودند، خانم‌های باردار، افراد مبتلا به یک بیماری زمینه‌ای جدی مانند پسوریازیس، افرادی که به رگم دارا بودن اختلال مدنظر تمایلی به مصرف فرآورده مذکور نداشتند و همچنین بیمارانی که بیماری‌های متابولیک و یا بیماری قارچی در سر و طاسی کلی یا جزئی داشتند، از مطالعه خارج شدند. درضمن بیمارانی که در مطالعه شرکت کرده بودند، در صورت بروز هرگونه واکنش آلرژیک، عدم بهبودی در طول درمان با فرآورده و تمایل به قطع مصرف فرآورده دارویی می‌توانستند از

کارآزمایی بالینی بنا به تشخیص خود خارج شوند و از این منظر برای آن‌ها منعی وجود نداشت.

برای انجام نمونه گیری، ۶۰ بیمار به صورت تصادفی انتخاب شدند، که ۳۰ نفر آن‌ها از ژل دارویی (۲۸ زن و ۲ مرد) و ۳۰ نفر دیگر دارونما (۲۸ زن و ۲ مرد) را به مدت دو ماه زیر نظر متخصص پوست و مو دریافت کردند. در طی این مدت بیماران برای بررسی روند درمانی، به پزشک متخصص (حداقل دوبار در هفته) مراجعه نمودند. مجری طرح علاوه بر معاینات حضوری، به صورت تلفنی نیز با بیماران در ارتباط بود. ژل حاوی عصاره، روزانه دوبار به میزان ۵ گرم به نحوی که کل موها را فراگیرد استعمال شد و پس از مصرف فرآورده تا ۱۲ ساعت بیماران نباید استحمام می‌کردند. همچنین در مدت مصرف ژل حاوی عصاره و دارونما بیماران از داروهای دیگری که بر روند درمان تاثیر می‌گذارند، مصرف نکردند.

تعداد نمونه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

با سطح معنی‌داری ۵ درصد و توان ۸۰ درصد، تعداد ۲۵ نفر برای هر گروه محاسبه شد که با در نظر گرفتن ریزش احتمالی نمونه‌ها، ۳۰ نفر برای هر گروه در نظر گرفته شد.

$$N = [(Z1 - \alpha/2 + Z1 - \beta)^2 (SD1^2 + SD2^2)] / \Delta^2$$

برای تصادفی‌سازی به روش بلوک‌های تصادفی (Random Block)، هر ۶ نفر که به‌طور متوالی وارد مطالعه می‌شدند، قبل از ورود به مطالعه به دو گروه آزمون و دارونما تقسیم شدند. در خصوص نفر هفتم تا دوازدهم نیز به همین ترتیب و همینطور ادامه یافت تا به تعداد مورد نیاز در هر دو گروه رسیدیم.

کدگذاری بسته‌های حاوی ژل، توسط فردی غیر از پژوهشگران به صورت A و B انجام گرفت و افراد داوطلب به صورت تصادفی در گروه‌های مداخله و دارونما قرار گرفتند. به تعداد افراد شرکت کننده کارتهایی با برچسب A و B به صورت مخلوط وجود داشت.

تخصیص افراد شرکت کننده در گروه مداخله و دارونما کاملاً تصادفی بود و پژوهشگران و افراد شرکت کننده نسبت به گروه‌های مطالعه کور بودند. برای این منظور ظاهر، شکل و رنگ ظرف‌های حاوی ژل دارونما و ژل دارویی کاملاً مشابه بودند.

جهت جمع‌آوری داده‌ها از پرسشنامه استفاده شد. اطلاعات پرسشنامه، زیر نظر متخصص پوست و مو و با نظارت معجری طرح تکمیل گردید. فرم پرسشنامه شامل اطلاعات فردی بیماران شامل نام و نام خانوادگی، سن، جنس، محل زندگی و...، سابقه بیماری‌های فرد شرکت کننده و یا بیماری‌های زمینه‌ای او، سابقه مشکلات ساختاری مو و درمان‌های صورت گرفته در گذشته برای فرد شرکت کننده، ارزیابی تاثیر ژل حاوی عصاره بر مواردی چون خشکی، شکنندگی، حالت‌پذیری، شاخه شاخه شدن موها و ریزش موها بود. علاوه بر آن ارزیابی بیمار در خصوص عوارض جانبی مشاهده شده از فرآورده، رنگ، بو و قوام فرآورده هم در پرسشنامه ثبت شد. در طی این مدت بیماران برای بررسی روند درمانی به پزشک متخصص (حداقل دوبار در هفته) مراجعه می‌کردند. برای تعیین اعتبار علمی سوالات پرسشنامه و یا به عبارتی روایی پرسشنامه، از روش اعتبار محتوا استفاده شد. روایی محتوایی با سه گزینه (مناسب، مناسب ولی غیرضروری و نامناسب) در اختیار ۵ نفر از اعضای هیئت علمی گروه مربوطه قرار گرفت و پس از اعمال نظر آنان، پرسشنامه‌ای که مورد تایید همگان بود در اختیار شرکت کنندگان قرار گرفت. برای پایایی پرسشنامه نیز از آلفای کرونباخ استفاده شد. ضریب آلفای کرونباخ در تمام حیطه‌ها بالاتر از ۷۵ درصد بود. روش عصاره‌گیری جهت عصاره‌گیری، تعدادی از دانه‌های شنبلیله پس از خریداری از عطاری معتبر در شهر ساری، تحت کشت کنترل شده قرار گرفتند و پس از رشد کامل گیاه نمونه هرباریومی از آن تهیه و توسط متخصص سیستماتیک گیاهی مورد تایید قرار گرفت و با کد هرباریومی E1-27-5181 در آزمایشگاه

فارماکوگنوزی ثبت شد. با استناد به روش‌های مختلف عنوان شده در کتب طب سنتی و مقالات علمی مختلف، روش پرکولاسیون با استفاده از اتانول ۸۰ درصد (۱۹) برای عصاره‌گیری از دانه‌های گیاه شنبلیله انتخاب گردید. برای انجام این روش از ستون استوانه‌ای (پرکولاتور) استفاده می‌شود. در انتهای این ستون یک شیر مناسب تعبیه شده است که به وسیله آن به خوبی می‌توان سرعت خروج عصاره تهیه شده را تنظیم نمود. در کل نسبت ارتفاع پرکولاتور به میزان پودر گیاهی در عصاره‌گیری ۵ به ۱ می‌باشد. جهت خشک نمودن عصاره‌های هیدروالکلی به دست آمده از روش پرکولاسیون از دستگاه روتاری و پمپ خلأ و در نهایت از دستگاه فریز درایر استفاده شد. با بهره‌گیری از دستگاه روتاری تا حد امکان حلال عصاره را خارج کرده و عمل تغلیظ عصاره صورت گرفت. سپس عصاره‌های تغلیظ داده شده را در محفظه پمپ خلأ قرار داده و تغلیظ عصاره را شدت می‌بخشیم.

استانداردسازی عصاره

استانداردسازی عصاره و فرآورده نهایی براساس میزان فلاونوئید تام و روش HPLC دیوسزین انجام گرفت. سنجش فلاونوئید تام جهت تعیین میزان تام ترکیبات فلاونوئیدی از روش آلومینیوم کلرید استفاده شد (۲۰)، به این صورت که میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و محلول استاندارد کوئرستین در غلظت‌های ۲۰۰-۶/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر با ۱/۵ میلی‌لیتر از اتانول ۹۵ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد مخلوط شدند و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات ۱ مولار و در نهایت ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. در نهایت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. از آنجایی که طراحی فرمولاسیون ما به صورت هیدروژل (ژل بر پایه آبی می‌باشد) و به دلیل این که انحلال عصاره پودر شده در

آب به خوبی صورت می گیرد، جهت انحلال عصاره دانه های شنبلیله از آب دیونیزه up استفاده شد. در این مرحله براساس مقادیر توصیه شده طب سنتی از دانه شنبلیله، میزان عصاره مصرفی در ۱۰۰ گرم فرآورده طوری در نظر گرفته شده که ۵ گرم از دانه گیاه مصرف شده باشد.

تعیین مقدار دیوسژنین با استفاده از روش HPLC

رقت های مختلف (۱۰۰۰-۶۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر) از استاندارد دیوسژنین تهیه شد. عصاره نیز در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر آماده شد. جهت تزریق نمونه ها به دستگاه HPLC آنالیتیکال، از حلال متانول (۹۵ درصد) و آب (۵ درصد) در سرعت جریان، ۱ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد (طول موج ۱۹۴ نانومتر). با قرار دادن سطح زیر منحنی پیک های حاصل از ماده استاندارد در برابر غلظت، منحنی کالیبراسیون به دست آمد و در نهایت بر اساس معادله خط به دست آمده، غلظت دیوسژنین موجود عصاره دانه شنبلیله محاسبه گردید (۲۱).

نحوه تهیه فرمولاسیون ژل حاوی عصاره

اجزای فرمولاسیون شامل عصاره دانه شنبلیله، کربوپل ۹۸۰، سود ۱ درصد، گلیسرین، متیل و پروپیل پارابن می باشد (۲۲). براساس بازده عصاره گیری جهت تهیه ۱۰۰ گرم ژل حاوی عصاره میزان ۵ گرم عصاره پودر شده دانه شنبلیله مورد استفاده قرار گرفت. جهت تهیه ۱۰۰ میلی لیتر فرمولاسیون ژل حاوی عصاره، علاوه بر عصاره دانه شنبلیله به میزان ذکر شده، کارباپول ۹۸۰ به میزان ۱ درصد به عنوان عامل ژل کننده، متیل پارابن به میزان پروپیل پارابن به میزان به عنوان عوامل پرزرواتو، آب دیونیزه up و گلیسرین به عنوان عامل مرطوب کننده و لطافت دهنده پوستی و مو در ساختار فرمولاسیون به کار گرفته می شود. ژل پلاسبو (دارونما) حاوی ترکیبات مشابه ژل حاوی عصاره بود با این تفاوت که عصاره دانه شنبلیله در آن وجود ندارد. در تهیه این ژل هم از اجزای ژل حاوی عصاره با همان

مقادیر ذکر شده استفاده شده است. جهت به دست آوردن بهترین فرمولاسیون، فرمولاسیون های آزمایشی زیادی با مقادیر مختلفی از اجزا تهیه شده و مورد آزمایش قرار گرفت. از جمله آن می توان به تهیه فرمولاسیون های مختلفی با درصد های مختلفی از کارباپول ۹۸۰ اشاره کرد. بهترین قوام فرمولاسیون ژل در حالتی به دست آمد که درصد کارباپول آن ۱ درصد بود. پس از تهیه این فرمولاسیون مناسب مقادیر آزمایشی از آن ساخته و مورد بررسی های فیزیکی قرار گرفت.

فاکتورهای فیزیکی مختلفی از جمله رنگ، بو، شکل ظاهری، سینریز و روان پذیری آن به دقت مورد بررسی قرار گرفت. ژل های تهیه شده در دو دمای مختلف یخچال (۴ درجه سانتی گراد) و دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) نگهداری شده و در هر دو حالت تغییری که منجر به از بین رفتن ویژگی های ظاهری فرآورده شود مشاهده نشد. برای اطمینان از وجود مقادیر مناسب عصاره و استانداردسازی ژل های حاوی عصاره تهیه شده با روش های موجود میزان فلانویئید تام در ژل های حاوی عصاره تهیه شده مورد ارزیابی قرار گرفت تا از وجود مقادیر مناسب عصاره در فرآورده اطمینان حاصل شود.

پیامدهای مورد ارزیابی

در این مطالعه، تاثیر ژل دانه گیاه شنبلیله را بر روی پیامدهای شاخه شاخه شدن مو، شکنندگی، خشکی، ریزش و تغییر حالت مو ارزیابی نمودیم. پیامد اولیه: تاثیر گذار بودن ژل دانه گیاه شنبلیله را بر روی پیامدهای شاخه شاخه شدن مو، شکنندگی، خشکی، ریزش و تغییر حالت مو در افرادی که دچار موخوره هستند.

پیامد ثانویه: احتمال ایجاد حساسیت پوستی در افراد تحت درمان با ژل دانه گیاه شنبلیله.

آنالیز آماری

برای توصیف داده ها از میانگین و انحراف معیار استفاده شد. برای مقایسه میانگین و انحراف معیار گروه کنترل و آزمایش، از آزمون T مستقل استفاده شد. برای

به میزان ۴۸۰ میکروگرم معادل کوئرستین در ۱۰۰ گرم خشک عصاره محاسبه شد.

تعیین مقدار دیوسژنین با استفاده از HPLC

براساس میزان سطح زیر منحنی استاندارد و معادله خط به دست آمده ($y = 7575/8x - 393793$, $R^2 = 0/998$)، میزان دیوسژنین در ۱ گرم از عصاره معادل ۰/۰۶۷۳۸ می باشد.

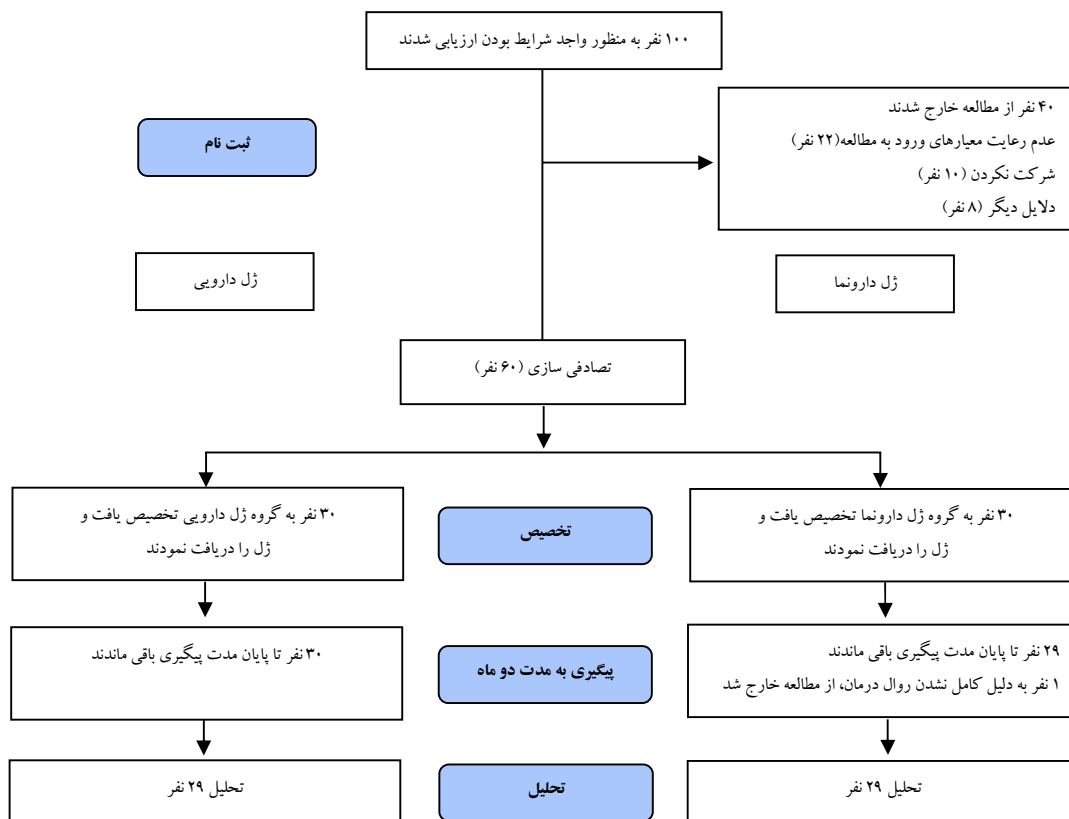
این مطالعه شامل ۶۰ بیمار بود که ۳۰ نفر آن ها ژل حاوی عصاره (۲۸ زن و ۲ مرد) و ۳۰ نفر دیگر دارونما (۲۸ زن و ۲ مرد) را به مدت دو ماه زیر نظر متخصص پوست و مو دریافت کردند. لازم به ذکر است که تعداد ۵۹ نفر از افراد شرکت کننده در مطالعه، دوره درمان را به طور کامل طی نمودند. جزئیات مربوط به غربالگری در فلوچارت شماره ۱ نشان داده شده است.

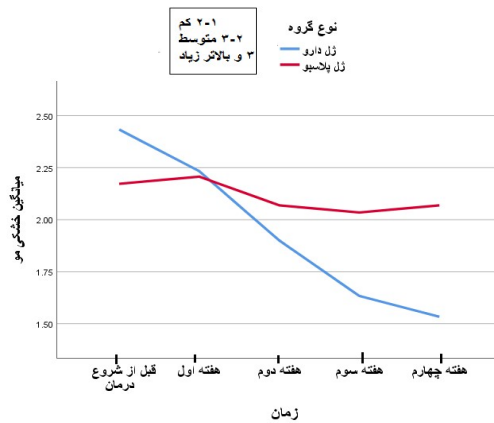
مقایسه میانگین و انحراف معیار قبل و بعد از مداخله در هر گروه، از آزمون T زوجی استفاده شد. برای آزمون بررسی همگونی توزیع جنسیت و استفاده از وسیله حرارتی در دو گروه درمانی از آزمون دقیق فیشر استفاده شد. برای تعیین فاکتورهای موثر بر شاخص های ریزش مو، موخوره، خشکی مو، شکنندگی مو و حالت مو در طول زمان و بر حسب گروه های دارویی از آزمون معادلات برآوردی تعمیم یافته ساختار ماتریس همبستگی قابل تغییر استفاده شد. آنالیزها در نرم افزار SPSS 19 انجام شد و سطح معنی داری آزمون ها $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

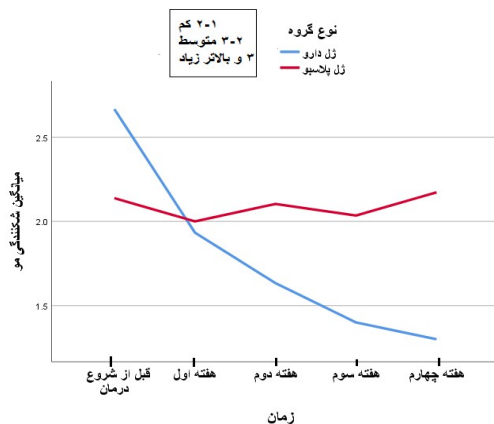
میزان تام فلاونوئید

بر اساس معادله خط به دست آمده ($R^2 = 0/998$)، $y = 0/04x - 0/187$ ، میزان تام ترکیبات فلاونوئیدی



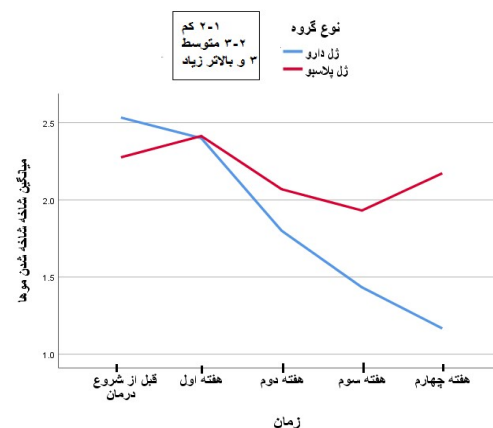


نمودار شماره ۲: نمودار میانگین خشکی مو به تفکیک گروه دریافت کننده ژل حاوی عصاره و ژل پلاسبو در طول زمان در بیماران تحت درمان موخوره



نمودار شماره ۳: نمودار میانگین شکنندگی مو به تفکیک گروه دریافت کننده ژل حاوی عصاره و دریافت کننده ژل پلاسبو در طول زمان در بیماران تحت درمان موخوره

آزمون دقیق فیشر نشان داد که از نظر توزیع جنسیت، اختلاف آماری معناداری در دو گروه دیده نشد ($P=1/00$). همچنین دو گروه از نظر استفاده از وسایل حرارتی، وضعیت یکسانی داشتند و در این زمینه هم تفاوت آماری معنی داری دیده نشد ($P=0/730$). آزمون تی-استودنت نیز نشان داد که بیماران هر دو گروه از نظر میانگین سنی، تفاوت آماری معناداری نداشتند ($P=0/730$). این تست نشان داد که میانگین سنی افراد گروه دارویی ۳۰ سال و میانگین سنی افراد گروه پلاسبو ۳۳ سال بود. روند زمانی کاهش شاخه شدن موها در گروه درمانی ژل دارویی شدت بیش تری از گروه درمانی ژل پلاسبو داشت (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: نمودار میانگین شاخه شدن مو به تفکیک گروه دریافت کننده ژل حاوی عصاره و دریافت کننده ژل پلاسبو در طول زمان در بیماران تحت درمان موخوره

بر اساس تحلیل معادلات ساختاری برآورد شده (GEE) برای ریزش مو دیدیم که مصرف ژل حاوی عصاره حاوی عصاره دانه گیاه شنبلیله به میزان ۰/۳۱ نسبت به ژل پلاسبو در کاهش ریزش مو موثر بوده و این تفاوت از نظر آماری معنی دار بوده است ($P=0/042$) (نمودار شماره ۴).

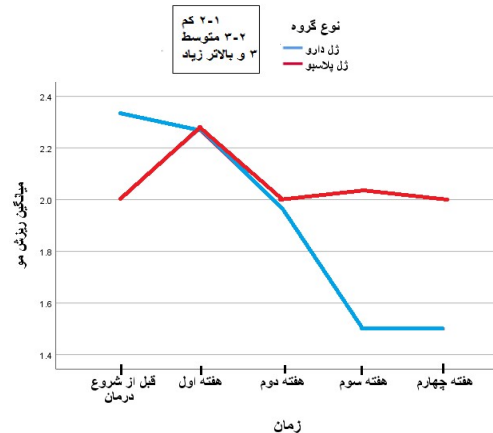
با توجه به نتایج به دست آمده روند زمانی کاهش حالت مو در گروه درمانی ژل حاوی عصاره با گروه درمانی ژل پلاسبو روند زمانی کاهشی تا حدودی یکسان دارند (نمودار شماره ۵).

به طور متوسط خشکی مو در مردان نسبت به زنان به میزان ۰/۵۴۱ واحد کم تر است. روند زمانی کاهش خشکی موها در گروه درمانی ژل حاوی عصاره شدت بیش تری از گروه درمانی ژل پلاسبو دارد (نمودار شماره ۲).

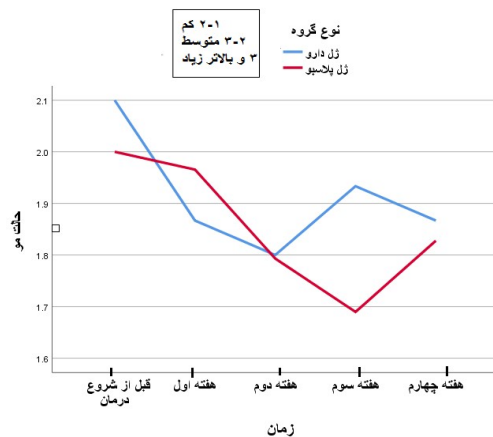
میانگین شکنندگی مو به میزان ۰/۴۷۳ در گروه ژل حاوی عصاره در مقایسه با ژل پلاسبو کم تر می باشد. روند زمانی کاهش شکنندگی مو در گروه درمانی ژل حاوی عصاره شدت بیش تری از گروه درمانی ژل پلاسبو دارد (نمودار شماره ۳).

داشت. بدین معنی که گروه دریافت کننده ژل حاوی عصاره دانه شنبلیله کاهش قابل توجهی را در میزان موخوره‌ی مو از هفته دوم درمانی به بعد به میزان $0/733$ نشان داد. براساس مطالعات انجام گرفته برخی از ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گونه‌های گیاهی اثرات متعددی در محافظت از مو و تقویت آن از خود نشان دادند (۲۳). در مطالعه کنونی با توجه به اثرات مشاهده شده و وجود ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره دانه شنبلیله شاید بتوان اینگونه ادعا نمود که دانه این گیاه تا حدود زیادی بتواند از آسیب‌های شیمیایی مختلفی که مواد آرایشی می‌توانند به ساختار مو وارد کنند، جلوگیری به عمل آورد. بر اساس تحلیل GEE، افزایش سن باعث افزایش خشکی مو در بیماران شده است. روند کاهشی خشکی موها در گروه ژل حاوی عصاره با شدت بیش‌تری نسبت به گروه پلاسبو مشاهده شد و بیش‌ترین میزان کاهش خشکی مو در گروه حاوی عصاره، در هفته چهارم به بعد و به میزان $0/90$ مشاهده گردید. براساس مطالعات انجام گرفته، دانه شنبلیله دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات لیپیدی همانند لینولینیک، لینولئیک و اولئیک اسید می‌باشد. این ترکیبات با خاصیت چرب‌کنندگی، خشکی موها را کاهش می‌دهند (۲۴).

تحلیل GEE نشان داد که بین سن بیماران و شکنندگی موهای آنان، ارتباط آماری معنی‌داری وجود دارد. به‌طوری که به ازای هر سال افزایش سن بیماران، شکنندگی موهای آنان به میزان $0/017$ افزایش می‌یابد. همچنین کاهش میزان شکنندگی مو در گروه ژل حاوی عصاره در مقایسه با گروه پلاسبو از نظر آماری معنادار بود. این در حالی است که روند شکنندگی مو در گروه پلاسبو یکنواخت بوده است. براساس تحلیل GEE، روند کاهش ریزش مو در گروه ژل حاوی عصاره به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه پلاسبو بود. در گروه پلاسبو با شدت بسیار کم‌تری، روند ریزش مو کاهش یافته است که همین میزان اندک را نیز می‌توان به علل روانی نسبت داد. چرا که بیماران گروه پلاسبو فکر کرده‌اند که



نمودار شماره ۴: نمودار میانگین حجم ریزش مو به تفکیک گروه دریافت کننده ژل حاوی عصاره و دریافت کننده ژل پلاسبو در طول زمان در بیماران تحت درمان موخوره



نمودار شماره ۵: نمودار میانگین حالت مو به تفکیک گروه دریافت کننده ژل حاوی عصاره و دریافت کننده ژل پلاسبو در طول زمان در بیماران تحت درمان موخوره

بحث

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، ژل دانه گیاه شنبلیله باعث کاهش میزان موخوره در بیماران مورد بررسی شد و اثرات مطلوب آن، احتمالاً به دلیل وجود دیوسژنین و سایر ساپونین‌های استروئیدی با اثرات آنتی‌اکسیداتی و ضد التهابی است. براساس نتایج به دست آمده از تحلیل GEE روند کاهش بروز دوشاخه شدن موها (موخوره) در گروه دریافت کننده ژل حاوی عصاره در مقایسه با گروه ژل پلاسبو تفاوت چشمگیری

تحت درمان هستند و با تلقین به خود، ریزش موی آنان اندکی کاهش یافته است. در یک پژوهش دیگر، پماد موضعی حاوی عصاره شنبلیله سبب افزایش روند رشد مجدد موها در موش‌های مورد آزمایش شده است (۲۵) که نتیجه مطالعه فعلی را تایید می‌نماید. با توجه به وجود ساپونین‌های استروئیدی مثل دیوسژنین در دانه‌های شنبلیله احتمالاً این ترکیبات با مهار عملکرد دی‌هیدروتستوسترون از ریزش موی آندروژنیک جلوگیری می‌کنند.

تحلیل GEE نشان داد که تغییرات حالت مو، در گروه ژل حاوی عصاره و گروه پلاسبو روند مشابهی داشت. این تغییرات، حالت یکنواختی را نشان داد اما در برهه‌هایی از زمان، شاهد کاهش حالت‌پذیری موها بودیم. شاید با اعمال تغییراتی در فرمولاسیون ژل حاوی عصاره بتوانیم در جهت بهبود حالت‌پذیری موها، اقدامات مفیدی انجام دهیم. اما با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، مشاهده شد که مصرف ژل حاوی دانه گیاه شنبلیله تاثیر مطلوبی بر حالت‌پذیری موی بیماران نداشت. در بیماران مورد مطالعه، تعداد کمی از آن‌ها دچار التهاب و خارش کف سر بودند. این اثر از قبل در کتب طب سنتی ایران هم بیان شده است.

در برخی از مطالعات اخیر به اثرات محافظتی گیاه شنبلیله در مشکلاتی مانند ریزش مو اشاره شده است. به عنوان مثال در مطالعه‌ای دیگر، عصاره اتانولی تهیه شده از برگ گیاه شنبلیله سبب افزایش معنی‌دار رشد مو و افزایش طول مو در موش‌های دچار ریزش مو در مقایسه با گروه کنترل (۵ درصد minoxidil) شده است (۲۶). در مطالعه بالینی که در سال ۲۰۱۷ توسط Imtiaz و همکارانش در افراد دچار ریزش مو انجام گرفت، مصرف فرآورده موضعی حاوی چندین ترکیب دارویی گیاهی از جمله اسانس حاصل از دانه گیاه شنبلیله سبب کاهش معنی‌دار ریزش مو در افراد مورد مطالعه شده است (۲۷). نتایج این دو مطالعه با نتایج حاصل از پژوهش فعلی همخوانی دارند.

محدودیت‌های مطالعه

از جمله محدودیت‌هایی که در خصوص این بررسی بالینی می‌توان به آن اشاره نمود، محدود بودن تعداد نمونه مورد بررسی است. علاوه بر آن، این مطالعه در کلینیک‌های تخصصی پوست و مو مختلف بررسی نشد و با وجود این که بیماران در خصوص مصرف داروها، شامپوها و سایر داروهای مرتبط با پوست و مو، تحت نظارت کامل بودند اما سایر داروهای مصرفی مرتبط با بیمارهای جانبی و زمینه‌ای بیماران مورد بررسی قرار نگرفت.

براساس مطالعات بالینی صورت گرفته، رابطه مستقیمی بین استفاده از وسایل حرارتی و بروز موخوره و شکنندگی مو نشان داده شد. در خصوص تاثیر جنسیت در بروز موخوره، با توجه به این موضوع که روند بیمارگیری به صورت تصادفی انجام گرفت، شاهد آن بودیم که میزان بروز موخوره در جنسیت زن از مرد بیش‌تر بود.

براساس نتایج آزمون تی-استودنت میانگین سن بروز موخوره در دو گروه دریافت‌کننده ژل حاوی عصاره و ژل پلاسبو اختلاف معناداری با همدیگر نشان نداد. در بررسی‌های بالینی صورت گرفته، گروه دریافت‌کننده فرمولاسیون ژل حاوی عصاره در مقایسه با گروه دریافت‌کننده ژل پلاسبو شدت روند کاهش ریزش مو بیش‌تر نشان داده شد. علاوه بر آن در بیماران دریافت‌کننده ژل حاوی عصاره در مقایسه با گروه پلاسبو روند کاهش ریزش را در شاخه شاخه شدن مو، خشکی و شکنندگی تارهای مو مشاهده نمودیم.

شدت بروز موخوره در بیماران دریافت‌کننده فرمولاسیون ژل حاوی عصاره در مقایسه با دریافت‌کنندگان ژل پلاسبو، روند کاهش مطلوبی را پس از کوتاه نمودن انتهای تارهای مو و استفاده از ژل حاوی عصاره از خود نشان داد. با وجود تاثیرات مطلوب ژل حاوی عصاره، در خصوص حالت‌پذیری بهتر موها بین دو گروه دریافت‌کننده ژل حاوی عصاره و پلاسبو تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد، به عبارتی در زمینه خوش حالت شدن موها تاثیرات چشمگیری از ژل حاوی عصاره در مقایسه با پلاسبو به دست نیامد.

References

1. Dawber R. Hair: its structure and response to cosmetic preparations. Clin Dermatol 1996; 14(1): 105-112.
2. Lee YJ, Ihm CW. Three Cases of Trichoptilosis. Korean J Dermatol 2004; 42(6): 762-766.
3. Liu Y, Kakani R, Nair MG. Compounds in functional food fenugreek spice exhibit anti-inflammatory and antioxidant activities. Food Chem 2012; 131(4): 1187-1192.
4. Chun D, Park H, Choi J. Central trichoptilosis associated with trichorrhexis nodosa and pili torti. Ann Dermatol 2004; 16(2): 57-60.
5. Kaur J, Singh H, Khan MU. Multifarious Therapeutic Potential of Fenugreek: A Comprehensive. Int J Res Pharm Biomed Sci 2011; 2(3): 863-871.
6. Jasim B, Thomas R, Mathew J, Radhakrishnan EK. Plant growth and diosgenin enhancement effect of silver nanoparticles in Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.). Saudi Pharm J 2017; 25(3): 443-447.
7. Trüeb RM. Pharmacologic interventions in aging hair. Clin Interv Aging 2006; 1(2): 121-129.
8. Sumit K, Vivek S, Sujata S, Ashish B. Herbal cosmetics: used for skin and hair. Inventi Rapid: Cosmeceuticals 2012; 2012(4): 1-7.
9. Goyal S, Gupta N, Chatterjee S. Investigating therapeutic potential of Trigonella foenum-graecum L. as our defense mechanism against several human diseases. J Toxicol 2016; 2016: 1250387.
10. Hassanzadeh E, Chaichi M, Mazaheri D, Rezazadeh S, Badi H. Physical and chemical variabilities among domestic Iranian fenugreek (Trigonella foenum-graecum) seeds. Asian J Plant Sci 2011; 10(6): 323-330.
11. Sina AA. Al Qanoon. Translated by Ghulam Husnain Kantoori. Delhi: Idara Kitabul Shifa. 2007.
12. Aghili MH. Makhzan-al-advia. Tehran: Tehran University of Medical Sciences. 2009.
13. Heravi MA. Al Abnieh an Haghaiegh al Advieh. Tehran: Tehran University pub; 1985.
14. Olaiya CO, Soetan KO. A review of the health benefits of fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.): Nutritional, Biochemical and pharmaceutical perspectives. Am J Soc Issues Humanit 2014; 4: 3-12.
15. Sharififar F, Khazaeli P, Alli N. In vivo evaluation of anti-inflammatory activity of topical preparations from Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) seeds in a cream base. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences 2009; 5(3): 157-162.
16. Neetu S, Dhanila V, Rakesh B, Anjali K, Ashish J, Sanjay J. Development and evaluation of polyherbal formulations for hair growth activity. Pharmacogn J 2009; 1(2): 165-170.
17. Wijaya WH, Mun'im A, Djajadisastra J. Effectiveness test of fenugreek seed (Trigonella foenum-graecum L.) extract hair tonic in hair growth activity. Int J Curr Res 2013; 5(11): 3453-3460.
18. Aftab R, Tahir M, Raza A, Noreen S, Adnan M. Therapeutic Potential of Trigonella foenum-graecum for Chronic Wound Healing. 2018.
19. Sithisarn P, Supabphol R, Gritsanapan W. Comparison of Free Radical Scavenging Activity of Siamese Neem Tree (Azadirachta indica A. Juss var. siamensis Valetton) Leaf Extracts Prepared by Different Methods of Extraction. Med Princ Pract 2006; 15(3): 219-222.

20. Mirzaee F, Mohammadi H, Azarpeik S, Amiri FT, Shahani S. Attenuation of liver mitochondrial oxidative damage by the extract and desulfo glucosinolate fraction of *Lepidium perfoliatum* L. seeds. *S Afr J Bot* 2021; 138: 377-385.
21. Jesus M, Martins AP, Gallardo E, Silvestre S. Diosgenin: recent highlights on pharmacology and analytical methodology. *J Anal Methods Chem* 2016; 2016: 4156293.
22. Safitri FI, Nawangsari D, Febrina D, editors. Overview: Application of Carbopol 940 in Gel. *Proceedings of International Conference on Health and Medical Sciences (AHMS 2020)*; 2021 Jan 27; Holland: Atlantis Press; 2021.
23. Bassino E, Gasparri F, Munaron L. Protective role of nutritional plants containing flavonoids in hair follicle disruption: A review. *Int J Mol Sci* 2020; 21(2): 523.
24. Ahmad A, Alghamdi S, Mahmood K, Afzal M. Fenugreek a multipurpose crop: Potentialities and improvements. *Saudi J Biol Sci* 2016; 23(2): 300-310.
25. Tada Y, Kanda N, Haratake A, Tobiishi M, Uchiwa H, Watanabe SJS. Novel effects of diosgenin on skin aging. *Steroids* 2009; 74(6): 504-511.
26. Umar S, Carter MJ. A Multimodal Hair-Loss Treatment Strategy Using a New Topical Phytoactive Formulation: A Report of Five Cases. *Case Rep Dermatol Med* 2021; 2021: 6659943.
27. Imtiaz F, Islam M, Saeed H, Saleem B, Asghar M, Saleem Z. Impact of *Trigonella foenum-graecum* Leaves Extract on Mice Hair Growth. *Pak J Zool* 2017; 49(4): 1405-1412.
28. Nagulapalli-Venkata KC, Swaroop A, Bagchi D. A small plant with big benefits: fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* Linn.) for disease prevention and health promotion. *Mol Nutr Food Res* 2017; 61(6): 1-15.