

หัวข้อคุณิพนธ์ ฤทธิ์ของสารสกัดหญาดอกขาวต่อนิโคติน อนุมูลอิสระและโครโมโซม

ผู้เขียน นาย นิติเนตร เกษสุวรรณ

ปริญญา วิทยาศาสตรคุณิบัณฑิต (วิทยาศาสตรชีวการแพทย)

คณะกรรมการที่ปรึกษา

รศ.ดร.จิรฤกษ์ ลีลารุงระยับ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รศ.ดร.สุชาติ โกทนต์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ดร.ศุภวัชร สิงห์ทอง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

สมุนไพรรหญาดอกขาวเป็นพืชพรรณธรรมชาติที่ถูกนำมาช่วยในการหยุดการสูบบุหรี่ในคลินิก แต่มีข้อมูลรองรับข้างน้อยและยังไม่ทราบกลไกหรือความเป็นพิษที่ชัดเจน ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบและฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง รวมถึงผลต่อระดับของสารแคธิโคลามีนส์ ได้แก่โดพามีน อะดรีนาลีน และนอร์อะดรีนาลีน ภาวะออกซิเดทีฟสเตรสและความเป็นพิษต่อโครโมโซมในหนูขาวที่ได้รับนิโคตินของสารสกัดหญาดอกขาวจากก้าน ดอกและใบ โดยสารสกัดหญาดอกขาวแต่ละส่วนในการศึกษาครั้งนี้ได้มาจากการอบแห้งและนำไปเคี้ยวในน้ำ ก่อนนำทำให้เป็นผงด้วยการระเหยแห้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้แต่ละส่วนไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวม วิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลโดยรวม ปริมาณแทนนินโดยรวม สารประกอบกลุ่มแคทีชิน ฟลาโวนอยด์ ไอโซฟลาโวน ไนโคทีน ในเตรทคาเฟอีนและนิโคติน และทดสอบฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ ซูเปอร์ออกไซด์ ไฮดรอกซิล และนำสารสกัดมาทดสอบในหนูทดลองร่วมกับการได้รับนิโคตินเป็นเวลา 20 วัน จากนั้นตรวจวัดระดับของแคธิโคลามีนส์ ได้แก่ โดพามีน อะดรีนาลีน และนอร์อะดรีนาลีน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวมในเลือด และปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ รวมไปถึงการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อโครโมโซมในระยะเฉียบพลัน

ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากใบหญาดอกขาว มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวมและสารประกอบฟีนอล สูงกว่าสารสกัดดอกและลำต้น แต่สารสกัดจากดอกมีปริมาณแทนนิน สูงกว่าใบและก้าน สำหรับสารประกอบกลุ่มแคทีชิน พบว่าสารสกัดจากใบมีปริมาณสูงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากก้าน และดอก ซึ่งคล้ายกันกับผลของสารประกอบไอโซฟลาโวนและกลุ่มฟลาโวนอยด์

นอกจากนั้นยังมีปริมาณสารไนไตรท์ และไนเตรทสูงกว่าสารสกัดจากก้านและมีปริมาณนิโคตินสูงกว่าสารสกัดจากดอก ผลการศึกษายังพบว่าสารสกัดจากก้านสามารถทำลายอนุมูลอิสระชนิดไนตริกออกไซด์ และซูเปอร์ออกไซด์ สูงกว่าสารสกัดจากใบและดอก ส่วนสารสกัดจากดอกสามารถทำลายไฮดรอกซิลสูงที่สุด ส่วนผลการศึกษาในหนูขาวที่ได้รับนิโคตินเป็นเวลา 20 วัน พบว่ากลุ่มที่ได้รับนิโคตินมีปริมาณโดพามีนสูงขึ้น ส่วนนอร์อะดรีนาลีนและอะดรีนาลีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม หลังจากได้ยารูโพรฟิออนพบว่าปริมาณโดพามีนลดลงและปริมาณนอร์อะดรีนาลีน อะดรีนาลีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดต่างๆ พบว่าสารสกัดดอกทำให้ปริมาณโดพามีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่ได้ทำให้ปริมาณของนอร์อะดรีนาลีนและอะดรีนาลีนเพิ่มขึ้น เพื่อเปรียบเทียบกับใบและก้าน โดยสารสกัดใบทำให้ระดับของนอร์อะดรีนาลีน และอะดรีนาลีนเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากดอกและก้าน สำหรับผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยรวมและมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเลือด พบว่าในหนูที่ได้นิโคติน ทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวมต่ำลงและมาลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มขึ้น เพื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ไม่ได้รับสารนิโคติน หลังจากที่ได้ยารูโพรฟิออน พบว่าทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวมเพิ่มขึ้นและมาลอนไดอัลดีไฮด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดพบว่า หนูที่ได้รับสารสกัดจากใบ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยรวมมีการเพิ่มขึ้นและมาลอนไดอัลดีไฮด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เพื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้สารสกัดจากดอกและก้าน นอกจากนี้ไม่พบว่าความเป็นพิษต่อโครโมโซมจากการได้รับสารสกัดต่างๆ

จากผลการศึกษาในหลอดทดลองและหนูทดลอง แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากสมุนไพรรูปร่างดอกขาวมีความหลากหลายในการต้านอนุมูลอิสระ สารออกฤทธิ์ และฤทธิ์ในการทำลายอนุมูล โดยเฉพาะในส่วนของใบ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากก้านและดอก รวมไปถึงผลต่อสารสื่อประสาทของระดับแกมิ โคลามีนส์และภาวะออกซิเดทีฟสเตรสในหนูทดลองที่ได้รับนิโคติน โดยไม่แสดงผลต่อความเป็นพิษในระดับโครโมโซมโดยตรง

Dissertation Title Effects of *Vernonia cinerea* L. Extracts on Nicotine, Free Radicals and Chromosome

Author Mr. Nitinet Ketsuwan

Degree Doctor of Philosophy (Biomedical Science)

Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Jirakrit Leelarungrayub	Advisor
Assoc. Prof. Dr. Suchart Kothan	Co-advisor
Dr. Supawatchara Singhatong	Co-advisor

ABSTRACT

Vernonia cinerea Less. (VC) is a natural plant that has been applied in clinics to stop smoking. However, there is little scientific evidence of its mechanisms and toxicity. The aims of this study were to evaluate the antioxidant activities, active compounds and radical scavenging activity *in vitro*, including catecholamine levels as dopamine, adrenaline, noradrenaline, oxidative stress and the mutagenicity effect from different stem, flower and leaf extracts in the chromosomes of nicotine-treated rats. Each VC extract was prepared from the dry heated and water-boiled system before freeze drying. Antioxidant activity with total antioxidant capacity (TAC) and active compounds such as total phenolics, total tannin, catechin, flavonoid, isoflavone, nitrite, nitrate, caffeine and nicotine, as well as radical scavenging activity (nitric oxide; NO, superoxide; O₂^{•-}, and hydroxyl; OH[•]) were evaluated. Moreover, the levels of catecholamines (dopamine, adrenaline and noradrenaline), plasma TAC and malondialdehyde (MDA) were evaluated after 20 days of co-treatment with different extracts in nicotine-treated rats. In addition, the mutagenicity effect in chromosomes was analyzed.

The results of this study found that the leaf extract had higher TAC and total phenolics when compared to flower and stem extracts, but the flower extract presented higher total tannin content than leaf and stem extracts. Leaf extract had the highest

catechin content when compared to stem and flower extracts, as in isoflavone and flavonone. Furthermore, its nitrate and nitrite levels was higher than that in stem extract, as well as it having a higher nicotine level when compared to flower extract. The results of scavenging activity showed that it was higher on NO and $O_2^{\bullet-}$ in stem extract than in leaf and flower extracts, whereas, flower extract had the highest activity on scavenging OH^{\bullet} radicals. Results found that the dopamine level significantly increased and noradrenaline and adrenaline levels decreased when compared to a control group after 20 days of nicotine treatment in a rat model. After bupropion drug treatment, the dopamine level was decreased while noradrenaline and adrenaline level increased. The dopamine level increased significantly among the extract-treated rat group, and when compared to leaf and stem extracts, there were with no changes in noradrenaline and adrenaline levels from treatment with flower extract. Leaf extract presented the highest increase in levels of noradrenaline and adrenaline when compared to flower and stem extracts. From the plasma TAC and MDA results showed that the levels of TAC decreased and MDA increased in nicotine-treated group when compared to the non-nicotine treated rat group, and both levels were reversed when bupropion was used. Leaf extract increased the TAC and reduced the MDA level among the extract-treated rat group when compared to flower and stem extract. Furthermore, no toxicity in chromosomes was found after direct administration of all extracts.

The *in vitro* results and rat model suggested that all extracts of VC present various antioxidant activity, active compounds and radical scavenging activity, especially in leaf extract, when compared to stem and flower extracts. Including, involving on the catecholamine neurotransmitters and oxidative stress status in nicotine-treated rats without direct toxicity in chromosomes.