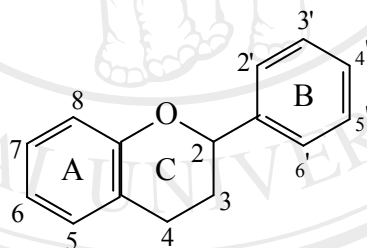


บทที่ 2

บททวนวรรณกรรม

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)⁽⁸⁻¹¹⁾

สารฟลาโวนอยด์พบอยู่ทั่วไปในพืชที่มีสีเขียว และพบในทุกส่วนของพืช ไม่ว่าจะเป็นใบ ราก เนื้อไม้ เปลือกต้น ดอก ผล หรือเมล็ด ในสัตว์สามารถพบได้บ้าง โดยเชื่อว่ามาจากพืชที่บริโภค เข้าไปมากกว่าการเกิดชีวสังเคราะห์ในร่างกายของสัตว์เอง ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารสำคัญของกลุ่ม โพลีฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาเวน (flavan) หรือ 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenylbenzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม ที่มีสูตรโครงสร้างพื้นฐานเป็น $C_6-C_3-C_6$ กล่าวคือ ประกอบด้วย substituted benzene rings จำนวน 2 หมู่เชื่อมต่อกันด้วย aliphatic chain ของคาร์บอน 3 อะตอม และมีความแตกต่างกันตรง oxidation state ของ aliphatic chain ของอะตอมคาร์บอน 3 อะตอมนี้



ภาพ 1 โครงสร้างของ flavan

การชีวสังเคราะห์

ฟลาโวนอยด์มีสูตรโครงสร้างหลักเป็น $C_6-C_3-C_6$ ซึ่งเกิดจาก phenyl-propanoid (C_6-C_3) เชื่อมกับ malonyl-CoA (C_2) 3 หน่วย ซึ่งมีวิถีการชีวสังเคราะห์ ดังภาพ 2

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา^(9,10)

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ นอกจากจะเป็นสารที่ทำให้ดอกหรือผลไม่มีสีสวย เช่น สีเหลือง ชมพู แดง ฟ้า หรือม่วง ซึ่งมีประโยชน์ใช้ล่อแมลง นก หรือผึ้งเข้ามาผสมเกสร เพื่อแพร่กระจาย พันธุ์แล้ว รายงานการศึกษามากมายยืนยันถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของฟลาโวนอยด์ ที่ใช้ในการ ป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ต้านมะเร็ง การต้าน แบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านอาการแพ้ เป็นต้น ซึ่งพบว่าคุณสมบัติเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับ คุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารฟลาโวนอยด์

สำหรับกลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์นั้น มีรายงานการศึกษา อย่างกว้างขวาง แต่ทั้งนี้ยังไม่มีรายงานยืนยันที่ชัดเจนถึงกลไกการออกฤทธิ์สำหรับฟลาโวนอยด์ ต่างชนิดกัน อย่างไรก็ตามกลไกหลักในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้ รวมถึงกลุ่มโพลีฟีนอลอื่น ๆ มี 3 กลไก คือ

1. เป็นสารคีเลต (chelating agent) โดยเฉพาะสารโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างเป็นออร์โธ ไดไฮดรอกซีฟีนอลิก (ortho-dihydroxyphenolic) ทำหน้าที่จับหรือฟอร์มพันธะโคออร์ดิเนตกับ โลหะหนัก เช่น ทองแดง และเหล็ก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระ รวมทั้ง ปฏิกริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

2. เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking antioxidant) ในการยับยั้งหรือขัดอนุมูลอิสระ เช่น lipid alkoxyl และ peroxy radicals เป็นต้น โดยทำหน้าที่ เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลเหล่านั้น ดังแสดงในปฏิกิริยา (1) หลังจากฟลาโวนอยด์ถูก ออกซิไดซ์แล้วจะได้อนุมูลของฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิลเป็นผลิตภัณฑ์ และอนุมูลที่ได้นี้มีความเสถียร มากกว่าเนื่องจากโครงสร้างของฟลาโวนอยด์มีการ delocalize ของอิเล็กตรอนตลอดเวลา



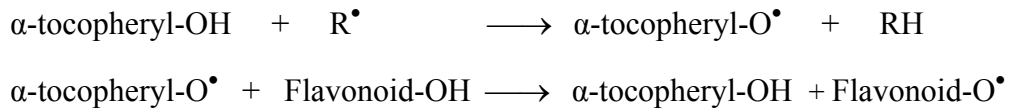
โดยที่

Flavonoid-OH = สารฟลาโวนอยด์

R[•] = อนุมูลอิสระในร่างกาย

Flavonoid-O[•] = อนุมูลฟีนอกซิล

3. ทำหน้าที่ regenerate วิตามินอี (α -tocopherol) โดยจะรีดิวซ์อนุมูล α -tocopheroxyl กลับเป็น α -tocopherol เหมือนเดิม ทำให้สามารถทำหน้าที่เป็น antioxidant ได้ ต่อไป ดังแสดงในสมการ



มีรายงานการศึกษาว่า ฟลาโวนอยด์โดยเฉพาะในกลุ่มฟลาโวน (flavone) และไอโซฟลาโวน (isoflavone) สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ โดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX-2) ผ่าน PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ) ซึ่งเป็นแฟกเตอร์ที่มีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์ COX-2 โดยพบว่าโครงสร้างที่จำเป็นในการยับยั้ง ได้แก่ (1) พันธะคู่ที่ C2-C3 ของวง C (2) หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 5 และ 7 ที่วง A และหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 4' บนวง A และยังมีรายงานการศึกษายืนยันว่า ฟลาโวนอยด์สามารถยับยั้งการแสดงออกของเอนไซม์ COX ของยีนส์ โดยเกิดอันตรกิริยาในกระบวนการ cell signaling เช่น NF- κ B, protein kinase C และ tyrosine kinase เป็นต้น นอกจากนี้ ยังมีรายงานถึงฤทธิ์อื่น ๆ เช่น สารกลุ่มไอโซฟลาโวนสามารถออกฤทธิ์เป็น phytoestrogen โดยจับกับเอสโตรเจนรีเซพเตอร์ (β -subtype) ทำให้สามารถใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนในผู้หญิงที่ใกล้หมดประจำเดือน รวมทั้งใช้ป้องกันมะเร็งที่มีความสัมพันธ์กับฮอร์โมน เช่น มะเร็งเต้านม และมะเร็งต่อมลูกหมาก เป็นต้น

โครงสร้างที่สำคัญพื้นฐานที่จำเป็นต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. โครงสร้าง catechol หรือ ortho-diphenolic group ในวง B ถือเป็นโครงสร้างที่สำคัญที่สุดสำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งนอกจากจะมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยทำหน้าที่เป็น hydrogen donating แล้ว ยังสามารถจับหรือคีเลตกับโลหะหนักโดยเฉพาะทองแดง และเหล็ก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้างและเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระในร่างกาย

2. พันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 คอนจูเกต (conjugate) กับหมู่ 4-oxo ในวง C ซึ่งจะเพิ่มความเสถียรของอนุมูลฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิล

3. หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3 และ 5 จากรายงานการศึกษาพบว่า สารกลุ่มฟลาโวนและฟลาวาโนนซึ่งไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ C3 จะมีโครงสร้างที่บิดเบี้ยว ในขณะที่สารกลุ่มฟลาโวนอลและฟลาวานอล ซึ่งมีหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งดังกล่าว จะทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล โครงสร้างจะมีลักษณะแบนราบในระนาบเดียวกัน ส่งผลให้การ delocalization ของอิเล็กตรอนผ่านพันธะคู่เกิดได้ดีขึ้น

การอักเสบ (Inflammation)⁽¹²⁻¹⁵⁾

การอักเสบ เป็นกระบวนการตอบสนองของร่างกายต่อตัวกระตุ้นที่ก่อให้เกิดอันตราย เพื่อลด และ/หรือหลีกเลี่ยงการบาดเจ็บ⁽¹²⁻¹⁴⁾ อาการของการอักเสบจะแสดงออกได้แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของตัวกระตุ้นและความรุนแรงของตัวกระตุ้นหรือระยะเวลาที่สังเกตอาการ เพราะปฏิกิริยาของอาการอักเสบจะเกิดขึ้นอย่างซับซ้อนและมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลา เมื่อร่างกายถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบไม่ว่าจะด้วยสาเหตุใดก็ตาม neutrophils จะเป็นเซลล์กลุ่มแรกที่จะถูกกระตุ้นให้ไปรวมตัวกันที่บริเวณที่มีการอักเสบเพื่อกำจัดสารหรือสิ่งแปลกปลอมที่ทำให้เกิดการอักเสบ เช่น เชื้อโรค โดย neutrophils จะกำจัดสิ่งเหล่านี้ด้วยการกลืนกิน (phagocytosis) เข้าไปในเซลล์แล้วทำลายด้วย lysosomal enzyme และ superoxide radicals ที่ถูกปล่อยเข้าไปใน phagosome นอกจากนี้ neutrophils ยังถูกกระตุ้นให้สร้างและหลั่ง inflammatory mediators ออกมาอีกมากมาย จากขบวนการต่าง ๆ นอกจากจะทำลายสิ่งแปลกปลอมแล้วยังทำให้เกิดการทำลายของเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ ๆ บริเวณที่มีการอักเสบได้ด้วย ทำให้เกิดอาการปวด บวม แดง ร้อน และถ้าอาการอักเสบนั้นเกิดอย่างรวดเร็วจะส่งผลให้อวัยวะที่เกิดการอักเสบสูญเสียหน้าที่ได้ หรือเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมาได้

การอักเสบมีความสัมพันธ์กับกระบวนการซ่อมแซมของร่างกาย โดยการอักเสบเป็นตัวทำลายหรือทำให้สารต้นเหตุลดลง ขณะเดียวกันจะมีการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ได้รับอันตรายโดยการสร้างเนื้อเยื่อชนิดเดิม (regeneration) หรือแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเกิดแผลเป็นขึ้น (repair) หรือเกิดร่วมกันทั้งสองอย่าง การซ่อมแซมเกิดขึ้นตั้งแต่วินาทีแรกของการอักเสบ และเสร็จสมบูรณ์เมื่อตัวสาเหตุของการอักเสบถูกทำลายหมดไปแล้วเท่านั้น⁽¹⁵⁾

โดยทั่วไป การอักเสบแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ การอักเสบเฉียบพลัน (acute inflammation) และการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation)

1. การอักเสบเฉียบพลัน (acute inflammation)

การอักเสบเฉียบพลัน เกิดในเวลาสั้น ๆ เพียงไม่กี่นาทีไปจนกระทั่งหนึ่งถึงสองวัน ลักษณะสำคัญคือมีของเหลวประกอบด้วยโปรตีนจากพลาสมาและเม็ดเลือดขาวเข้ามายังบริเวณที่อักเสบ เรียกว่า exudation เม็ดเลือดขาวในการอักเสบเฉียบพลันส่วนมากเป็น neutrophil เมื่อเกิดการอักเสบ อาการปวด บวม แดง ร้อน และเสียหายที่การทำงานของอวัยวะนั้นจะปรากฏให้เห็น อาการเหล่านี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของการไหลเวียนเลือด การเพิ่ม permeability ของหลอดเลือด และการมีเม็ดเลือดขาวเข้ามายังบริเวณอักเสบ ปฏิกิริยาทั้งสามนี้อาจมีบางส่วนเกิดขึ้นพร้อมกัน หรือมีการใช้สารตัวกลางร่วมกัน

2. การอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation)

การอักเสบเรื้อรัง คือการอักเสบเรื้อรังที่มีระยะเวลาเป็นอยู่นาน ทั้งนี้เนื่องจากสาเหตุที่ทำให้เกิดการอักเสบยังคงมีอยู่ และไม่ได้ถูกกำจัดออกไปให้หมด อาจเกิดตามมาจาก การอักเสบแบบเฉียบพลัน หรือเป็นการตอบสนองของร่างกายต่อจุลชีพหรือสิ่งแปลกปลอมอย่างค่อยเป็นค่อยไปไม่รุนแรง โดยไม่จำเป็นต้องมีการอักเสบเฉียบพลันนำมาก่อนก็ได้ บางกรณีอาจแยกแยะระหว่างการอักเสบเฉียบพลันกับเรื้อรังได้ไม่ชัดเจน โดยทั่วไปถือเอาระยะเวลาของการอักเสบเป็นหลัก กล่าวคือถ้าการอักเสบเกิดนานหลายสัปดาห์ หรือเป็นเดือนจะถือเป็นการอักเสบแบบเรื้อรัง การแยกที่ดีที่สุดคือดูจากปฏิกิริยาและเซลล์ที่ตอบสนองการอักเสบ และคงต้องพิจารณาถึงปัจจัยอื่นที่จะทำให้การอักเสบหายช้าด้วย เช่น สภาพร่างกายของผู้ป่วย ระบบภูมิคุ้มกัน ความรุนแรง และสาเหตุของการอักเสบ เป็นต้น

สารสื่อกลาง (Inflammatory mediator) ในการอักเสบ^(12, 15)

สารสื่อกลาง หรือ mediator ในการอักเสบมีแหล่งที่มาจาก plasma โดยอยู่ในรูปของสารตั้งต้น (precursor) หรือหลั่งออกมาโดยเซลล์บางชนิด สารสื่อกลางเหล่านี้จะไปจับกับ receptor ซึ่งมีความจำเพาะต่อกันบนเซลล์ต่าง ๆ ที่มีบทบาทในการอักเสบ ซึ่งจะถูกระตุ้นให้มีปฏิกิริยาเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบได้แตกต่างกันไปตามชนิดของสารสื่อกลาง และชนิดของเซลล์ที่เป็นเป้าหมาย (target cell) สารสื่อกลางส่วนใหญ่มีอายุสั้น มีระยะเวลาการออกฤทธิ์ไม่นาน สารสื่อกลาง บางชนิดกระตุ้นให้เซลล์สร้าง secondary mediator ต่อไปอีกเป็นการขยายผลปฏิกิริยาการอักเสบ

สารสื่อกลางกลุ่มที่สำคัญได้แก่

1. vasoactive amine สารที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ histamine และ serotonin สำหรับ histamine จัดเป็นสารสื่อกลางที่สำคัญในการเพิ่ม permeability ของหลอดเลือดในระยะแรก โดยไปจับกับ H₁ receptor บนเซลล์บุผนังหลอดเลือด ทำให้เซลล์บุผนังหลอดเลือดหดตัวและมีช่องว่างระหว่างเซลล์เพิ่มขึ้น และยังทำให้หลอดเลือดแดงขนาดเล็กขยายตัว เซลล์สำคัญในการสร้าง histamine ได้แก่ mast cell ซึ่งพบได้ทั่วไปในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อยู่บริเวณรอบหลอดเลือด basophil และเกร็ดเลือด (platelet)

ปัจจัยที่กระตุ้นการหลั่ง histamine ได้แก่ ความร้อน ความเย็น การบาดเจ็บ ปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันที่มีการกระตุ้น mast cell, anaphylatoxin ที่สร้างจาก complement system, histamine-releasing protein ที่สร้างจากเม็ดเลือดขาว, neuropeptide และ cytokine

2. สารสื่อกลางที่สร้างขึ้นจากสารประกอบใน plasma สารสื่อกลางในกลุ่มนี้ประกอบด้วยระบบสารสื่อกลางที่สำคัญ 3 ระบบ ได้แก่ ระบบ kinin ระบบ complement และระบบการ

แข็งตัวของเลือด ทำงานสัมพันธ์กันในกระบวนการอักเสบ โดย kinin มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดมากที่สุด ขณะที่ complement มีผลต่อทั้งหลอดเลือดและเป็นสาร chemotactic

3. Arachidonic acid (AA) metabolites

กลุ่มสารที่สำคัญในสารสื่อกลางกลุ่มนี้ ได้แก่ prostaglandins และ leukotrienes หรือเรียกรวมกันว่า eicosanoids

arachidonic acid เป็นกรดไขมันชนิด polyunsaturated ตามปกติจะพบอยู่ในรูป esterified ภายใน phospholipid ของ cell membrane ของเซลล์ต่าง ๆ โดยเฉพาะเซลล์เม็ดเลือดขาว เมื่อเกิดภัยอันตรายต่อเนื้อเยื่อหรือจากการอักเสบ จะเกิดการกระตุ้นเอนไซม์ phospholipase โดย C5a ทำให้เกิดการย่อย phospholipid ของเยื่อหุ้มเซลล์และปลดปล่อยกรดไขมันนี้ออกมา จากนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงของ arachidonic acid จนเกิดเป็นกลุ่มสารสื่อกลาง มีจำนวนมาก ที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการอักเสบเกือบทุกขั้นตอน สารสื่อกลางที่สำคัญ ได้แก่

- prostaglandin I₂ (PGI₂) และ prostaglandin E₂ (PGE₂) มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดขยายตัวและเพิ่มการซึมผ่านของหลอดเลือด

- thromboxane A₂ มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัวและกระตุ้นการจับกลุ่มของเกร็ดเลือด

- leukotriene C₄ leukotriene D₄ และ leukotriene E₄ มีฤทธิ์เพิ่มการซึมผ่านของหลอดเลือดและทำให้หลอดเลือดหดตัว

- leukotriene B₄ เป็น chemotactic factor ที่สำคัญมาก และมีฤทธิ์ทำให้เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดขาว

- PGE₂ มีบทบาทในการก่ออาการปวด และไข้

4. Platelet-activating factor สร้างขึ้นจากสารจำพวก phospholipid โดย basophil และเม็ดเลือดขาวชนิดอื่น ๆ มีฤทธิ์กระตุ้น platelet aggregation และ degranulation ทั้งยังมีฤทธิ์เกี่ยวกับการอักเสบอื่นอีกมากมาย

5. nitric oxide (NO) เป็นอนุพันธ์อิสระรูปก๊าซที่สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและไขมัน, NO มีคุณสมบัติเป็นสารสื่อกลางในกระบวนการอักเสบ โดยต่างจากสารเคมีสื่อกลางชนิดอื่นตรงที่มีโครงสร้างโมเลกุลง่ายไม่ซับซ้อน (N=O) ไม่มีการเก็บสะสมแต่จะสร้างขึ้นเมื่อได้รับภัยอันตราย และใช้วิธี diffusion ไปออกฤทธิ์ที่เซลล์เป้าหมาย เซลล์ที่สามารถสร้าง NO ได้แก่ เซลล์บุผนังหลอดเลือด, macrophage และ neuron บางกลุ่มในสมอง NO ถูกสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโน L-arginine, ออกซิเจน และ NADPH โดยมีเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) เปลี่ยนให้เป็น L-citrulline และ NO

เอนไซม์ NOS มี 2 รูปแบบที่สำคัญคือ constitutive NOS (cNOS) และ inducible NOS (iNOS) cNOS พบในเซลล์บุผนังหลอดเลือดและเซลล์ประสาท การทำงานของ cNOS ต้องอาศัยแคลเซียมและจะผลิต NO ออกมาในปริมาณน้อย ส่วน iNOS นั้นพบใน macrophage และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของผนังหลอดเลือด ทำงานได้โดยไม่ต้องมีแคลเซียม และจะผลิต NO ออกมาในปริมาณมาก

อนุพันธ์ NO ที่ได้จะไปจับกับส่วนของ heme protein ในเอนไซม์ guanylyl cyclase และกระตุ้นให้เอนไซม์นี้ทำงาน ผลสุดท้ายจะได้ปริมาณ cyclic guanosine monophosphate (cGMP) เพิ่มขึ้น ซึ่งจะไปทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัวเกิดหลอดเลือดขยายตัวตามมา นอกจากนี้ NO ยังไปลดการเกาะกลุ่มกันของเกร็ดเลือด การเกาะติดกับผนังหลอดเลือด และ NO ที่ถูกสร้างจาก macrophage ยังมีฤทธิ์ทำลายเซลล์เป้าหมาย เช่น เซลล์มะเร็งและจุลชีพได้โดยตรง หรือโดยไปทำปฏิกิริยากับ superoxide ได้ nitrogen dioxide และอนุพันธ์ hydroxyl ดังสมการ



ซึ่งทั้ง NO_2^\bullet และ OH^\bullet มีฤทธิ์ทำลายเซลล์เช่นกัน อนุพันธ์ NO จำนวนมากที่เกิดจาก macrophage ในการติดเชื้อทำให้หลอดเลือดขนาดเล็กขยายตัว เกิดภาวะ septic shock ได้

6. free radical oxygen ได้แก่ superoxide, hydrogen peroxide, hydrogen ion เกิดเมื่อ neutrophil หรือ macrophage จับกับสาร chemotactic หรือขณะจับกินสิ่งแปลกปลอม อนุพันธ์เหล่านี้มีผลให้เซลล์บุผนังหลอดเลือดถูกทำลาย ทำให้ permeability ของหลอดเลือดเพิ่มขึ้น หยุดการทำงานของ antiprotease เช่น α -1-antitrypsin ทำให้ protease ทำงานมาก มีการทำลายเนื้อเยื่อ elastin หรือคอลลาเจนเพิ่มขึ้น ทำอันตรายต่อเซลล์มะเร็ง เม็ดเลือดแดง และเนื้อเยื่อโดยตรง ร่างกายมีกลไกป้องกันอนุพันธ์เหล่านี้ที่อยู่ในซีรัม เนื้อเยื่อ หรือเซลล์ โดยอยู่ในรูปของ ceruloplasmin, transferrin, superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase ดังนั้นผลของอนุพันธ์อิสระของออกซิเจนในการอักเสบ จะขึ้นอยู่กับสมดุลระหว่างการสร้างและการทำลายอนุพันธ์เหล่านี้โดยสารในเซลล์หรือเนื้อเยื่อดังกล่าวข้างต้น

อนุมูลอิสระ (Free radicals)^(9, 16-18)

อนุมูลอิสระ หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่หรืออิเล็กตรอนเดี่ยว (unpaired electrons or singlet electron) อยู่ในวงโคจรของอิเล็กตรอนในอะตอมหรือโมเลกุล

ในภาวะปกติอะตอมหรือโมเลกุลจะเสถียรเมื่อมีอิเล็กตรอนครบคู่ ดังนั้นการที่อนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนเดี่ยว ทำให้เป็นสารที่ไม่เสถียร มีช่วงครึ่งอายุสั้น (half life) ซึ่งโดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นใน 2 รูปแบบ คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนมาจากสารโมเลกุลอื่นที่อยู่ข้างเคียง โดยการเพิ่มโมเลกุลของออกซิเจนเข้าไป เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl

radical) เนื่องจากอนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่อยู่ในโมเลกุล จึงมีความไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลภายในร่างกาย ทำลายสมดุลของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย โดยการทำลายองค์ประกอบหลักของเซลล์ เช่น ทำลายหน้าที่ของเซลล์เมมเบรนอันนำไปสู่การตายของเซลล์ ทำลายดีเอ็นเอโดยไปจับกับหมู่ฟอสเฟตและน้ำตาลดีออกซีไรโบส อนุมูลอิสระยังสามารถแตกพันธะเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้โปรตีนไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุของการเกิดการกลายพันธุ์และการเกิดมะเร็ง นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดสภาวะทางพยาธิสภาพในโรคสำคัญบางโรค เช่น ไขมันอุดตันในเส้นเลือด โรคหัวใจ โรคไขข้ออักเสบ ต้อกระจก เป็นต้น อนุมูลอิสระมีที่มาจากแหล่งภายนอกในร่างกาย ได้แก่ มลพิษในอากาศ โอโซน ในครัวออกไซด์ อาหารที่มีกรดไขมันอิ่มตัวหรือธาตุเหล็กมากกว่าปกติ แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา ยาบางชนิด เป็นต้น และแหล่งภายในร่างกาย ได้แก่ ออกซิเจน เป็นต้น

ออกซิเดชัน (Oxidation)^(17, 18)

ออกซิเดชัน คือ ปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนให้แก่ธาตุหรือสาร หรือการลดจำนวนอิเล็กตรอนในธาตุ ธาตุโลหะที่ถูกเติมออกซิเจนจะหมดสภาพความเป็นโลหะ ธาตุคาร์บอนอินทรีย์ที่ถูกเติมออกซิเจนจนกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ จะหมดศักยภาพของความเป็นสารที่มีพลังงานชีวภาพ จุลชีพและพืชที่สังเคราะห์แสงพยายามจะเพิ่มสถานะของคาร์บอนให้เป็น reduced carbon คือ เปลี่ยนจากคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำให้เป็นสารอินทรีย์หรือสารอาหารเสมอ เพื่อรักษาสภาพพลังงานที่เป็นประโยชน์ต่อชีวิต

ในทางตรงข้าม ในเมตะบอลิซึมของเซลล์ เช่น ในไมโทคอนเดรีย ในไมโครโซม มีออกซิเดชันตลอดเวลา ออกซิเดชันอาจเป็นพิษได้ หากมีการเติมออกซิเจน หรือการลดอิเล็กตรอนเดี่ยวออกจากธาตุและโมเลกุลบางชนิด เช่น กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว โปรตีนและดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาที่ขาดการควบคุม ขาดรีดักชัน ปฏิกิริยาจะเกิดต่อเนื่องไปเรื่อย ๆ ออกซิเดชันจะกลับเป็นอันตรายต่อเซลล์ ถ้าทำให้เกิด lipid peroxidation ที่ไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาด ทำให้เซลล์ตายเนื้อเยื่อเสื่อมสภาพและเกิดความชราตามอายุขัย ถ้าเกิดที่โปรตีนใด โปรตีนนั้นจะเสื่อมสภาพตามธรรมชาติ (denaturation) เช่น เกิดที่ lens collagen ก็จะเป็น lens cataract ได้ ถ้าเกิดที่ low-density lipoprotein molecule (LDL) จะมีปัญหาของการพาโคเลสเตอรอลในเลือด ทำให้มีการตกตะกอนของโคเลสเตอรอล และเกิด atherosclerosis ตามมา ถ้าเกิดที่ดีเอ็นเอก็จะมี DNA oxidative damage หรือ เกิด genetic mutation มะเร็ง โรคทางพันธุกรรม และอื่น ๆ อีก ภาวะที่มีการทำลายด้วยออกซิเดชันมาก ๆ เรียกว่า oxidative stress ซึ่งเป็นผลร้ายต่อเนื้อเยื่อและชีวิต

นอกจากพิษจากออกซิเจนโดยตรงแล้ว เซลล์อาจถูกปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากสารเคมีที่เป็นพิษอีกมากมาย เช่น สารพิษตกค้างในอาหารและน้ำ สารฆ่าหญ้า สารปราบศัตรูพืช ยาบางชนิด รังสี UV X-ray เชื้อโรค ไวรัส แบคทีเรียและพยาธิ สิ่งเหล่านี้จะส่งเสริมหรือเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้มากขึ้น ทำให้มีการเพิ่มการทำลายชีวโมเลกุลต่าง ๆ เช่น ไขมันที่ประกอบเป็นเยื่อหุ้มเซลล์ หากถูกออกซิไดซ์เซลล์จะแตก มีความผิดปกติ และตายในที่สุด บางทีดีเอ็นเอในนิวเคลียสจะถูกออกซิไดซ์และทำให้รหัสพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงผิดไปจากเดิม มีการกลายพันธุ์ หรือแปรสภาพเซลล์ดีให้กลายเป็นเซลล์มะเร็ง

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องในทางชีววิทยา สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, NOS) และกลุ่มที่มีสารอื่นเป็นองค์ประกอบสำคัญ สารบางชนิดสามารถจัดอยู่ได้ 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซิไนไตรท์

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

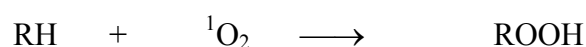
ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (free radical chain reaction) ซึ่งมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเรียกว่าอินิทิเอชัน (Initiation step) เป็นขั้นตอนที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ขั้นตอนที่สองเรียกว่าพวพาเกชัน (Propagation step) เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลตัวอื่น และขั้นตอนสุดท้ายเรียกว่าเทอร์มิเนชัน (Termination step) เป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ได้เป็นสารที่มีความเสถียร

1. ขั้นตอนอินิทิเอชัน (Initiation step)

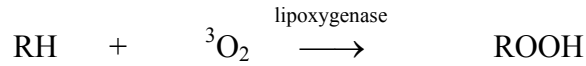
ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ มักเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการสลายพันธะด้วยน้ำ (hydrolysis), ด้วยแสง (photolysis), ด้วยรังสี (radiolysis) หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์อื่น ๆ อีกหลายชนิดที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในเซลล์ รวมถึงโมเลกุลที่มีความไวสูงในการทำปฏิกิริยา เช่น nitric oxide (NO) และ singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) ซึ่งหมายถึงออกซิเจนในสถานะที่ถูกกระตุ้น (excited state) สิ่งเหล่านี้ล้วนทำให้เกิดขั้นตอนอินิทิเอชันของปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ



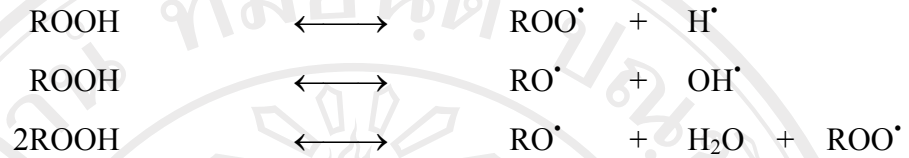
ซึ่ง singlet oxygen เมื่อทำปฏิกิริยากับไขมัน (RH) จะทำให้เกิด hydroperoxide



นอกจากนี้ hydroperoxide ยังเกิดขึ้นได้ในปฏิกิริยาที่มีออกซิเจนที่อยู่ในสถานะ ground state ซึ่งเรียกว่า triplet oxygen ($^3\text{O}_2$) โดยมีเอนไซม์ lipoxygenase อยู่ด้วย



พันธะ O-O ในโมเลกุลของ hydroperoxide เป็นพันธะที่อ่อน ดังนั้นจึงถูกสลายทำลายได้ง่าย ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ ซึ่งถือเป็นขั้นตอนอินิทิเอชันของปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

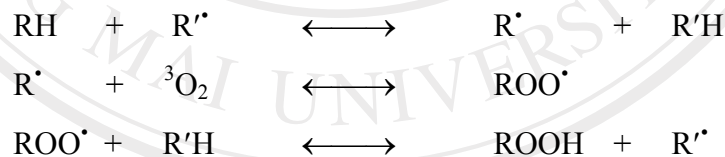


ในปฏิกิริยาที่มีโลหะไอออน เช่น เหล็ก และทองแดง พบว่าจะเป็นการช่วยเร่งการสลายโมเลกุล hydroperoxide ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น



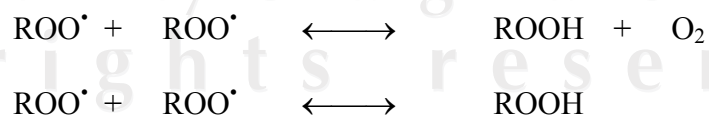
2. ขั้นตอนพรอพาเกชัน (Propagation step)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขั้นตอนอินิทิเอชันจะดำเนินปฏิกิริยาต่อไปในขั้นตอนของพรอพาเกชัน ซึ่งเกิดปฏิกิริยาขึ้นได้ 2 ทาง คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียง หรือโดยการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะ ground state ทำให้ได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ขึ้นมา



3. ขั้นตอนเทอร์มิเนชัน (Termination step)

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 อนุมูลมารวมกันได้เป็นสารที่มีความเสถียร จึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ



อนุมูลอิสระกับกระบวนการเกิดโรค⁽¹⁶⁻¹⁹⁾

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นระหว่างการเกิดกระบวนการเผาผลาญในร่างกายและหลุดลอดออกมาทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันก่อให้เกิดความเสียหาย และมีผลกระทบต่อกระบวนการที่นำไปสู่การแสดงออกทางคลินิก ผลกระทบโดยตรงได้แก่การเกิดเปอร์ออกซิเดชันที่เซลล์เมมเบรนและองค์ประกอบอื่น ๆ ของเซลล์ และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นที่โปรตีน และดีเอ็นเอ โดยปกติแล้วร่างกายจะมีการปกป้องโดยของเหลวภายในร่างกายที่มีส่วนประกอบเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ที่มีโลหะจับอยู่ ได้แก่ เอนไซม์ และโปรตีน

เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (SOD) เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPX) และเอนไซม์แคตาเลส (CAT) ที่อยู่ภายในเซลล์จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์อันเป็นอนุมูลเริ่มต้นและอนุมูลเปอร์ออกไซด์ ก่อนที่อนุมูลทั้งสองนี้จะทำปฏิกิริยาต่อโดยมีโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดอนุมูลหรือสารที่มีฤทธิ์รุนแรงขึ้นกว่าเดิม อย่างไรก็ตามจะยังมีอนุมูลหรือสารที่มีฤทธิ์รุนแรงจากปฏิกิริยาลูกโซ่เปอร์ออกซิเดชันที่เริ่มต้นโดยอนุมูลอิสระที่รอดพ้นจากการถูกทำลายโดยเอนไซม์ข้างต้น ซึ่งอนุมูลหรือสารที่มีฤทธิ์รุนแรงที่รอดพ้นจากการกำจัดโดยเอนไซม์ในขั้นแรกจะถูกกำจัดต่อโดยสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่หยุดลง สารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ได้แก่ วิตามินซีที่ละลายในน้ำ วิตามินอีที่ละลายในไขมัน และยูบิควิโนน เป็นต้น

ความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระทำให้มีอนุมูลมากเกินไปและเกิดภาวะที่เซลล์และร่างกายถูกออกซิไดซ์ (oxidative stress) ภาวะดังกล่าวมีบทบาทในโรคต่าง ๆ มากกว่า 100 โรค เช่น ภาวะผนังเส้นเลือดแดงหนาและมีความยืดหยุ่นน้อยลงเนื่องจากการสะสมไขมันที่ผนังหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดตีบตันเกิดภาวะขาดเลือดชั่วคราวที่สมอง และหัวใจ โรคซึ่งเกี่ยวกับการเสื่อมของประสาท โรคภูมิแพ้และโรคมะเร็ง นอกจากนี้การมีปริมาณอนุมูลอิสระที่ไม่สมดุลยังสัมพันธ์กับลักษณะโรคหรืออาการผิดปกติอื่น ๆ ดังนี้ โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน อาการสมองและไขสันหลังอักเสบอันเนื่องมาจากโรคภูมิแพ้ โรคเนื้องอกเรื้อรัง Down's syndrome โรคตับอักเสบ โรคข้ออักเสบ การติดเชื้อเอชไอวี โรคแทรกซ้อนอันเนื่องมาจากเป็นโรคเบาหวาน โรคต่อกระจาก แผลเปื่อย อนุมูลอิสระ มีส่วนร่วมในโรคที่เกี่ยวกับปอดหลายโรค เช่น โรคปอดที่เกิดจากการสูบบุหรี่ ไนโตรเจนไดออกไซด์ โอโซน ยากำจัดวัชพืช คาร์บอนเตตระคลอไรด์ หรือยารักษาโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังรวมถึงการมีออกซิเจนมากเกินไปในระบบร่างกาย เซลล์ที่มีหน้าที่คุ้มกันและกำจัดเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมมีความเกี่ยวข้องในการเกิดอนุมูลอิสระ เช่น ในกระบวนการอักเสบ และในภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปไม่สมดุลจะทำให้มีโอกาสเกิดโรคหลายโรคสูงขึ้น เช่น โรคเนื้องอกปอดติดเชื้อไวรัส และไข้หวัดใหญ่ เป็นต้น

โดยหลักการแล้ว ภาวะ oxidative stress หรือภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปจนสมดุล เป็นผลมาจาก

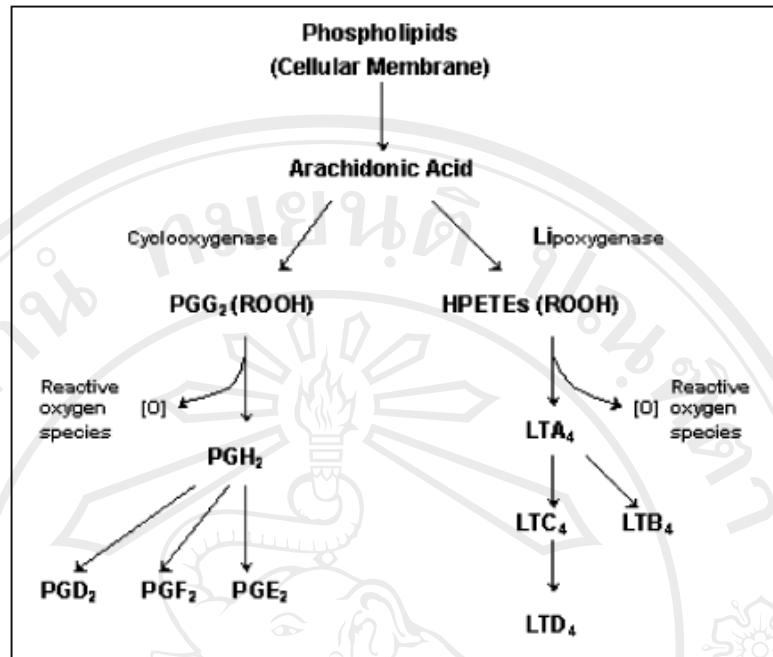
1. การลดน้อยลงของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การเกิดการกลายพันธุ์ซึ่งมีผลกระทบต่อเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ควบคุมป้องกันการเกิดออกซิเดชัน กล่าวคือทำหน้าที่ขจัด กำจัดหรือต้านอนุมูลอิสระ เอนไซม์ดังกล่าวนี้ ได้แก่ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส เป็นต้น การกลายพันธุ์ทำให้เอนไซม์เหล่านี้ไม่ทำงานหรือทำงานบกพร่อง หรือสาเหตุจากโรคที่ทำให้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดออกซิเดชันลดลงหมดไป รวมทั้งสาเหตุทางโภชนาการ คือ ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชันจากอาหารไม่เพียงพอ ทั้งหมดนี้ทำให้ร่างกายอยู่ในภาวะถูกออกซิไดซ์เกิดการผิดปกติ และตามมาด้วยโรคหรือการเจ็บป่วย

2. การเกิดอนุมูลอิสระและผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องเพิ่มขึ้น อนุมูลอิสระและผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องจะเกิดขึ้นในภาวะต่าง ๆ เช่น การได้รับออกซิเจนในปริมาณที่สูง หรือการที่เซลล์ได้รับออกซิเจนใหม่ภายหลังจากภาวะขาดเลือดชั่วคราว แม้ว่าออกซิเจนที่ได้รับจะไม่สูงก็ตาม แต่การทำงานของเอนไซม์ในเซลล์ภายหลังจากภาวะขาดเลือดจะบกพร่องทำงานได้ลดลงทำให้การเผาผลาญออกซิเจนผิดปกติเกิดอนุมูลอิสระและผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องขึ้น การได้รับสารพิษซึ่งเป็นอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูล NO_2^{\cdot} อนุมูล L^{\cdot} และอนุมูล LO^{\cdot} จากอาหาร หรือมลพิษ หรือในภาวะที่ระบบที่มีการผลิตอนุมูลอิสระถูกกระตุ้น เช่น ระบบภูมิคุ้มกันถูกกระตุ้น หรือในภาวะอักเสบ

ภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปไม่สมดุล ทำให้เกิดความเสียหายต่อชีวโมเลกุลที่สำคัญในการดำรงชีพ ชีวโมเลกุลที่เป็นเป้าหมาย คือ ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน การตายของเซลล์เกิดโดยกลไกที่สำคัญ 2 กลไก คือ กลไกการตายของเนื้อเยื่อหรือเซลล์จากสารพิษหรือจากเชื้อโรคต่าง ๆ (necrosis) และกลไกการตายตามอายุขัยตามธรรมชาติของเซลล์นั้น ๆ โดยการทำลายตัวเองของเซลล์ (apoptosis) ซึ่งทั้งสองกลไกนี้มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดภาวะที่เซลล์หรือร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมาก ในการตายของเซลล์แบบแรกเซลล์จะบวมหรือพองตัวและแตกออก ทำให้องค์ประกอบและสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์กระจายออกมายังบริเวณล้อมรอบ ทำให้มีผลกระทบต่อเซลล์อื่น ๆ ที่อยู่ใกล้เคียง สิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์อื่น ได้แก่ เอนไซม์หรือสารที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์คาตาเลส กลูตาไทโอน รวมทั้งสารโปรออกซิแดนซ์ (pro-oxidant) สารโปรออกซิแดนซ์เป็นสารที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ หรือสารที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระ เช่น อีออนของคอปเปอร์และเหล็ก และโปรตีนฮีม ในกระบวนการตายแบบ apoptosis จะไม่ปลดปล่อยสิ่งที่บรรจุอยู่ภายในเซลล์ออกมาจึงไม่ทำให้เกิดการรบกวนแก่เซลล์แวดล้อมหรือเซลล์อื่นที่อยู่ใกล้เคียง การตายของเซลล์แบบ apoptosis อาจไปเร่งหรือก่อให้เกิดโรคบางโรค เช่น โรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของระบบประสาท

โรคบางโรคสามารถเกิดขึ้นจากภาวะ oxidative stress โดยตรง เช่น การฉายรังสีหรือได้รับรังสีทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออน โดยเฉพาะโมเลกุลของน้ำจะแตกตัวทำให้มีอนุมูล $\cdot\text{OH}$ เกิดขึ้น อนุมูล $\cdot\text{OH}$ จะทำลายโปรตีน ดีเอ็นเอ และไขมัน โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในโรคส่วนใหญ่ภาวะถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปเป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรค แต่จะเป็นผลที่เกิดขึ้นตามมาภายหลังและทำให้โรคมิพัฒนาการกำเริบอย่างรวดเร็ว การที่เนื้อเยื่อเสียหายหรือถูกทำลายจากการติดเชื้อ การบาดเจ็บ การได้รับสารพิษ อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำผิดปกติ จะเป็นสาเหตุทำให้ปริมาณของสารสื่อต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับการบาดเจ็บ ได้แก่ พรอสตาแกลนดิน ลิพโคไทรอิน อินเตอร์ลิวคิน และไซโตไคน์ต่าง ๆ เช่น tumor necrosis factors (TNFs) ทั้งหมดนี้พบว่าล้วนมีบทบาทนำไปสู่การเกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

สารอนุมูลอิสระเป็นสารตัวกลางในขบวนการอักเสบ และเมื่อมีปฏิสัมพันธ์กับเกล็ดเลือด neutrophils, macrophage และเซลล์อื่น ๆ สามารถเกี่ยวข้องกับขบวนการสังเคราะห์ eicosanoids และการกระตุ้นการหลั่ง cytokines หลายชนิด ทำให้มีการลุกลามของขบวนการอักเสบจากอวัยวะหนึ่ง (เช่น ตับ) ไปสู่อวัยวะ (เช่น ไต ปอด ฯลฯ) ทำให้เกิดภาวะ oxidative stress และการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ล้มเหลว สารอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์เป็นอนุมูลที่ถูกสร้างขึ้นในร่างกายจาก L-arginine โดยเอนไซม์ Nitric oxide synthase (NOS) และนอกจากนี้ยังสร้างขึ้นโดย activated macrophage และ endothelial cell ในการตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบ ซึ่งออกฤทธิ์สั้นและเฉพาะที่ มีฤทธิ์สำคัญในการส่งเสริมการอักเสบ ได้แก่ ทำให้หลอดเลือดขยายตัว และออกฤทธิ์เป็น cytotoxic free radical แต่ NO ก็มีฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วย ได้แก่ ระวังการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด และยับยั้ง leukocyte adhesion NO จึงมีบทบาทเป็นสารสื่อกลางที่คอยควบคุมปฏิกิริยาการอักเสบไม่ให้เกิดมากเกินไป



ภาพ 3 Arachidonic acid metabolism⁽¹³⁾

ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบสามารถศึกษาได้จากหลายกลไก และจากหลักการที่ว่าเมื่อ neutrophils ถูกกระตุ้นด้วยสารหรือสิ่งแปลกปลอมแล้วจะหลั่ง inflammatory mediators ได้หลายชนิด ที่สำคัญนั้นได้แก่ eicosanoids products เช่น thromboxane, leukotriene ซึ่งเป็น end product ที่สำคัญของ arachidonic acid metabolism ของ cyclooxygenase (COX) และ lipoxygenase pathway ตามลำดับ ดังนั้นในการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบจึงสามารถทำการวัดระดับของสารสื่อกลางเหล่านี้ได้ และนอกจากนี้ยังมีกลไกหนึ่งที่สามารถนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบได้นั้นคือการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยการวัดอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ เช่น nitric oxide และ superoxide anion

การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบในสัตว์ทดลอง^(15, 19-21)

ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอาการอักเสบในสัตว์ทดลองนั้น ส่วนใหญ่มักจะเป็นการศึกษาในรูปแบบของอาการอักเสบที่เกิดแบบเฉียบพลันและเรื้อรังในแบบจำลองการอักเสบรูปแบบต่าง ๆ ซึ่งที่นิยมใช้ศึกษา ได้แก่

1. Rat hind paw edema model นิยมใช้ในรูปแบบของอาการอักเสบที่เกิดแบบเฉียบพลัน เป็นการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าหนู โดยการฉีดสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เช่น yeast, carrageenin, bradykinin, histamine หรือ serotonin แล้วเปรียบเทียบขนาดของเท้าหนูในระยะเวลาต่าง ๆ ระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับสารที่จะทดสอบกับกลุ่มควบคุม

2. Cotton thread-induced granuloma model นิยมใช้ในรูปแบบของอาการอักเสบที่ เกิดแบบเรื้อรัง เป็นการกระตุ้นหนูให้เกิดการอักเสบโดยการฝังด้าย (ขนาดคงที่และผ่านการฆ่าเชื้อ และอบแห้งแล้ว) เข้าไปได้ผิวหนังของหนู ซึ่งด้ายจะทำหน้าที่เหมือน non-immunological chronic irritant ซึ่งจะ ทำให้มีการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวและเกิด granuloma และทำการผ่าตัด แยกด้ายออกมา แล้วชั่งน้ำหนักหาส่วนต่างที่แสดงถึง granulation weight

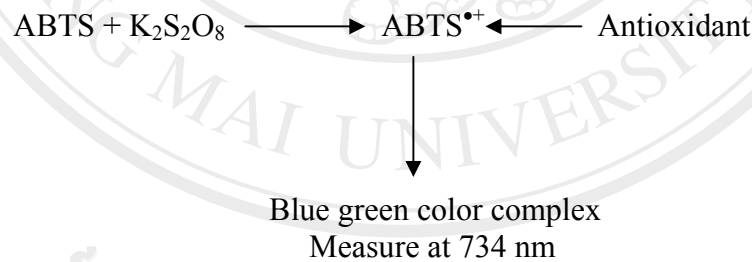
การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

ในการศึกษานี้ อาศัย 3 วิธีการ คือ

1. ABTS method (Decolorizing assay)⁽²²⁾

หลักการ

เป็นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่ทำให้เกิดสีคือ ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) โดย potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) จะไปออกซิไดซ์ ABTS ให้เป็น $ABTS^{•+}$ เกิดสี blue-green จากนั้นสารที่มีฤทธิ์ antioxidant จะรีดิวซ์ $ABTS^{•+}$ ให้กลับมาเป็น ABTS ทำให้เกิดสีน้อยลงหรือไม่เกิดสีเลย โดยจะ วัดค่าการดูดกลืนแสงของ $ABTS^{•+}$ ที่ 734 nm นาทีที่ 3 หลังจากทำปฏิกิริยา การแปลผลจะวัด ความสามารถในการยับยั้งการเกิด $ABTS^{•+}$ (percent inhibition) เทียบกับสารมาตรฐาน

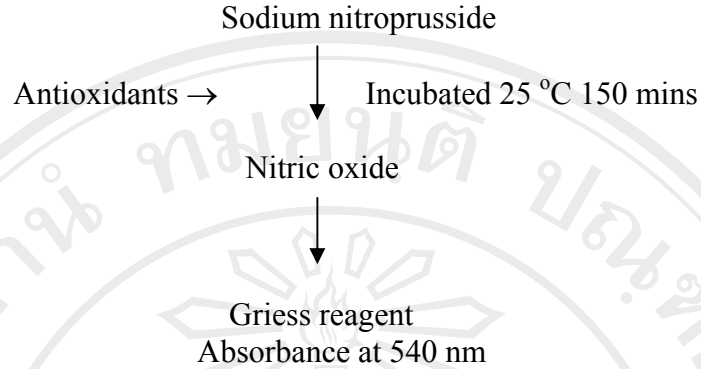


2. Scavenging effect on nitric oxide assay^(23, 24)

หลักการ

เป็นการศึกษาฤทธิ์การขจัดอนุมูล Nitric oxide ที่ถูกสร้างขึ้นจาก Sodium nitroprusside ใน Phosphate buffer saline นำไป Incubate ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 150 นาที หลังจากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับ Griess reagent วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm

Griess reagent : sulphanilamide + Naphthylethylenediamine dihydrochloride ใน Phosphoric acid



3. Scavenging effect on superoxide anion assay⁽²⁵⁾

หลักการ

เป็นการศึกษาฤทธิ์ขจัด Superoxide anion โดยในการทดลอง Superoxide anion จะถูกสร้างขึ้นใน Tris-HCl buffer (pH 7.4) ซึ่งประกอบด้วย NADH, NBT และ PMS วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 nm



Antioxidants →

↓
Reduced NBT

(Black blue color detected at 560 nm)

- NADH : β -nicotinamide adenine dinucleotide (Reduced form)
- PMS : Phenazin methosulfate
- NBT : Nitroblue tetrazolium

จากงานวิจัยของ Abreu และคณะ ได้ทำการศึกษากฤทธิ์ด้านการอักเสบในสัตว์ทดลอง โดยใช้แบบจำลอง carrageenin-induced rat paw edema และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยการประเมินฤทธิ์ในการขจัดอนุมูล ROS, RNS และ DPPH ของ *Pedilanthus tithymaloides* tincture พบว่า *P. tithymaloides* tincture สามารถยับยั้งการบวมของอุ้งเท้าหนูได้ และพบว่ามีฤทธิ์ในการขจัดอนุมูล ROS และ RNS ที่สูง ในขณะที่ฤทธิ์ในการขจัดอนุมูล DPPH นั้นให้ฤทธิ์ที่ต่ำ⁽²⁶⁾

จากงานวิจัยของ Medeiros และคณะ ได้ทำการศึกษาผลของการให้สารที่ไปยับยั้งการสังเคราะห์ไนตริกออกไซด์ต่อการอักเสบที่ถูกกระตุ้นด้วย carrageenin โดยการให้ L-NAME ซึ่งเป็น nitric oxide synthase inhibitor เป็นเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ จากนั้นทำการทดสอบด้วย

carrageenin-induced rat paw edema พบว่า L-NAME สามารถยับยั้งการบวมของอุ้งเท้าหนูได้ ซึ่งคาดว่าเกี่ยวข้องกับ การไปลด blood flow ในบริเวณที่เกิดการบวมขึ้น⁽²⁷⁾

จากงานวิจัยของ Koichi และคณะ ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบของ propolis โดยอาศัยฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ด้วยวิธี carrageenin-induced mouse paw edema โดยเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน diclofenac (NSAID drug) และ L-NAME (nitric oxide synthase inhibitor) พบว่า propolis, diclofenac และ L-NAME สามารถยับยั้งการบวมของอุ้งเท้าหนูได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ เมื่อให้ L-arginine ซึ่งเป็น precursor ในการสังเคราะห์ไนตริกออกไซด์พบว่าฤทธิ์ในการต้านการอักเสบของ propolis และ L-NAME ถูกยับยั้ง ซึ่งชี้ให้เห็นว่า propolis มีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยสามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ไนตริกออกไซด์ ซึ่งให้ฤทธิ์เช่นเดียวกับกับ L-NAME⁽²⁸⁾

วงศ์ Leeaceae⁽²⁹⁾

ลักษณะประจำวงศ์

ไม้พุ่ม หรือไม้ต้นขนาดเล็ก ใบ ประกอบยอดเดี่ยว ดัดเรียงสลับระนาบเดียว แกนกลางใบเป็นข้อ โคนก้านใบแผ่ออกคล้ายเป็นหูใบโอบกึ่ง ขอบจักซี่ฟัน ดอก ออกเป็นช่อตรงข้ามกับใบ ดอกสมบูรณ์เพศ สมมาตรตามรัศมี กลีบเลี้ยงและกลีบดอกมีอย่างละ 4 หรือ 5 กลีบ กลีบดอกแยก ท่อเกสรเพศผู้เชื่อมติดกับวงกลีบดอก รังไข่มี 4-8 ช่อง ไข่อ่อนมี 1 หน่วยต่อหนึ่งช่อง ผล มีเนื้อ มีหลายเมล็ดเนื้อเมล็ดคายน

ลักษณะเด่น

ใบประกอบยอดเดี่ยว โคนก้านใบแผ่ออกคล้ายเป็นหูใบโอบกึ่ง ขอบใบจักซี่ฟัน ช่อดอกออกตรงข้ามกับใบ เกสรเพศผู้เชื่อมติดกัน

วงศ์ใกล้เคียง – ลักษณะที่แตกต่าง

Vitaceae – ไม้เลื้อย มีมือเกาะ ไม่มีท่อเกสรเพศผู้เทียม

การกระจายพันธุ์

ในเขตร้อน พืชวงศ์นี้มีสกุลเดียว คือ สกุล *Leea* ส่วนมากพบเป็นไม้พื้นล่างในป่าดิบที่ต่ำและป่าดิบเขา เช่น กะดังใบ *Leea indica* (Burm.f.) Merr. พญารากหล่อ หรือกาสัก *Leea macrophylla* Roxb. ex Hornem.

ตาราง 2 ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีรายงานของพืชในสกุล *Leea*

พืช	ส่วนที่ใช้	องค์ประกอบทางเคมี	ฤทธิ์ทางชีวภาพ
1. <i>Leea guineense</i> G. Don (กระดังงาแดง) ⁽³⁰⁻³²⁾	ใบ	kaempferol, quercetin, quercitrin, mearnsitrin, gallic acid, quercetin-3'-sulfate-3-O- α -L-rhamnopyranoside, quercetin-3,3'-disulfate, quercetin-3,3',4'-trisulfate, volatile oil	antioxidant activity
2. <i>Leea indica</i> Merr. (กะตังใบ) ⁽²⁴⁾	ทั้งต้น	-	antioxidant and nitric oxide inhibitory activity
3. <i>Leea rubra</i> Blume ex Spreng. (กะตังใบแดง) ^(7, 33)	ใบ	myricitol 3-rhamnoside, p-hydroxybenzoic acid, syringic acid, gallic acids	-
	ราก	-	antinociceptive and antipyretic effect
4. <i>Leea thorelii</i> Gagnep. (กะตังใบเดี่ยว) ⁽³⁴⁾	ใบ	Benzyl O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside, quercetin 3-O- α -L-rhamnopyranoside, myricetin 3-O- α -L-rhamnopyranoside, citroside A, Leeaoside	-
5. <i>Leea tetramera</i> (พญารากหล่อ) ⁽³⁵⁾	ใบ, ลำต้น และราก	-	antibacterial activity
6. <i>Leea longifolia</i> Merr. ⁽³⁶⁾	ใบ	essential oil	-
7. <i>Leea gigantea</i> ⁽³⁷⁾	-	-	antinematodal activity
8. <i>Leea hirta</i> Roxb. ⁽³⁸⁾	-	-	tuberculostatic activity

เจียงแข็งม้า



ภาพ 4 เจียงแข็งม้า และส่วนที่ใช้

เจียงแข็งม้า^(6, 29, 39) (*Leea rubra* Blume ex Spreng.) เป็นชื่อที่เรียกกันในท้องถิ่นภาคเหนือ โดยมีชื่อไทยว่ากะตังใบแดง จัดอยู่ในวงศ์ Leeaceae พบว่ามีการกระจายมาจากประเทศอินเดีย, พม่า รวมถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และทางเหนือของออสเตรเลีย เป็นไม้พุ่มเตี้ย สูงประมาณ 1-3 เมตร ลำต้นและกิ่งก้านเป็นเหลี่ยม 8-10 เหลี่ยม ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก ก้านใบมักจะแผ่เป็นกาบหุ้มกิ่งเอาไว้ ใบย่อยจำนวนมากปลายแหลม โคนมน ขอบใบจักเป็นซี่เล็ก ๆ ดอกสีแดงเข้ม ออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ก้านช่อดอกยาว ดอกขนาดเล็กมีจำนวนมากอัดกันแน่น กลีบดอกปลายแยกเป็น 5 แฉก ผลค่อนข้างกลมเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร มี 3 พู เมื่อสุกเป็นสีดำ ออกดอกตลอดปี แต่จะตกในช่วงหน้าฝน ประโยชน์ทางยา ในไทย รากใช้ขับเหงื่อ แก้ไข้ และแก้ปวดเมื่อยตามร่างกาย ในคาบสมุทรมลายู ใช้รากบดผสมกับสารหนูเป็นยาพอกรักษาकुฑะโรค ในชวา ใช้ใบพอกบาดแผล และผลนำมารับประทานใช้รักษาकुฑะโรคและโรคมืด ในอินโดจีน ใช้ราก ต้มหรือคองเห่า ต้มแก้ปวดท้อง แก้ปวดกล้ามเนื้อ และใช้ในโรคไขข้ออักเสบ

จากการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัย และ Saenjum ได้ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดเอทานอล ของฝาง, เจียงแข็งม้า, มะห้านก, มะโหกโตน, มะโจ๊ก และชะจาว โดยใช้วิธี ABTS, Scavenging effect on superoxide anion และ Scavenging effect on nitric oxide ผลแสดงในตาราง 3^(5,40)

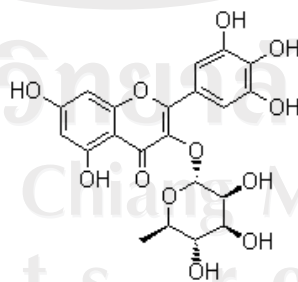
All rights reserved

ตาราง 3ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดเอธานอล ของฝาง, เหียงแข้งม้า, มะห้านก, มะโหกโตน, มะโจ๊ก และชะจาว ในแต่ละวิธี

สมุนไพร	วิธีทดสอบ		
	ABTS Method	Scavenging effect on superoxide anion	Scavenging effect on nitric oxide
	TEAC (mg/g)	EC ₅₀ (µg/ml)	EC ₅₀ (µg/ml)
ฝาง	817.27	7.73	4.24
เหียงแข้งม้า	820.10	9.27	5.49
มะห้านก	611.77	8.46	4.47
มะโหกโตน	198.38	12.60	6.08
มะโจ๊ก	1,808.10	17.45	6.38
ชะจาว	50.91	28.32	10.18

จากงานวิจัยของ Reanmongkol ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดเมธานอลจากรากกะตังใบต่อการระงับปวดและลดไข้ในหนู โดยฤทธิ์ในการระงับปวดนั้นใช้ writhing test, hot plate test และ formalin test ในการทดสอบ ส่วนฤทธิ์ลดไข้ใช้น้ yeast-induced fever ในการทดสอบ พบว่าสารสกัดจากรากกะตังใบมีฤทธิ์ระงับปวดในส่วนปลายประสาท และมีฤทธิ์ลดไข้ปานกลาง⁽³³⁾

จากงานวิจัยของ Siv ได้ทำการศึกษาดึงสารประกอบฟลาโวนอยด์ของพืชสกุล *Cananga*, *Colona*, *Grewia*, *Leea* และ *Melastoma* ในประเทศกัมพูชา โดยใช้ส่วนของใบมาทำการสกัดด้วย ethylacetate พบว่าใน *Leea rubra* ประกอบด้วย myrecitol-3-rhamnoside⁽⁷⁾



ภาพ 5 myrecitol-3-rhamnoside