

การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบรวมฟีนอล และนิโคตินของสมุนไพรไทย 15 ชนิด

Evaluation of Antioxidant Activity, Total Phenolic and Nicotine Contents of 15 Thai Herbs

ชานนท์ นัยจิตร์

ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

อนรรักษ์ เชื้อมั่ง*

บัณฑิตศึกษา สาขาชีวเวชศาสตร์ คณะสหเวชศาสตร์

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Chanon Najitra

Department of Medical Technology Laboratory, Thammasat University Hospital,

Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Anurak Cheoymang*

Graduated Program in Biomedical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences,

Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

การสูบบุหรี่เป็นสาเหตุของมะเร็งปอดและโรคร้ายแรงหลายชนิด ซึ่งการกลืนนิโคตินเนื่องจากการลดลงของนิโคตินในร่างกายเป็นปัจจัยหลักทำให้ไม่ประสบความสำเร็จในการเลิกบุหรี่ วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบรวมฟีนอลและนิโคตินจากสารสกัดสมุนไพรไทย 15 ชนิด โดยการสกัดสมุนไพรด้วยการหมักกับ 95 % เอทานอล จากนั้นนำสารสกัดไปศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay สารประกอบรวมฟีนอลด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method และนิโคตินด้วยวิธี HPLC พบว่าชาเขียวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดมากกว่า L-ascorbic acid (IC_{50} เท่ากับ $7.25 \pm 0.85 \mu\text{g/ml}$) ขณะที่สารสกัดหยาบมะแว้งต้นมีสารประกอบรวมฟีนอลสูงสุด คือ $259.44 \pm 9.58 \text{ mg GAE/g DW}$ นอกจากนี้สารสกัดหยาบญ้าดอกขาวมีปริมาณนิโคตินสูงสุด คือ 1.154 mg/g รองลงมาคือ มะแว้งต้น (0.305 mg/g) มะแว้งเครือ (0.192 mg/g) ชาดำ (0.077 mg/g) ชาเขียว (0.039 mg/g) และพริกไทย (0.013 mg/g) ตามลำดับ การวิจัยนี้พบว่าสมุนไพร 6 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีสารประกอบรวมฟีนอลสูง และนิโคติน ได้แก่ ญ้าดอกขาว

มะแว้งต้น มะแว้งเครือ ชาดำ ชาเขียว และพริกไทย การศึกษานี้เป็นข้อมูลสนับสนุนสมุนไพรไทยว่าสามารถช่วยลดอาการถอนนิโคติน

คำสำคัญ : สมุนไพร; นิโคติน; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Smoking is a major cause of lung cancer and several deadly diseases. The nicotine withdrawal symptoms due to decline of nicotine in the body are the main factor for unsuccessful quit smoking. The purpose of this study was to evaluate antioxidant activity, total phenolic contents and nicotine contents of 15 Thai herbal extracts. The extraction method was maceration with 95% ethanol. The antioxidant activities of all extracts were determined by DPPH radical scavenging. The total phenolic content was estimated by the Folin-Ciocalteu colorimetric method and nicotine concentration was measured by using HPLC. The green tea extract exhibited the highest antioxidant activity, when compared to L-ascorbic acid ($IC_{50} = 7.25 \pm 0.85 \mu\text{g/ml}$), while *Solanum indicum* L. extract showed the highest value of total phenolic contents ($259.44 \pm 9.58 \text{ mg GAE/g DW}$). Moreover, The *Vernonia cinerea* L. extract showed the highest concentration of nicotine (1.154 mg/g), followed by *Solanum trilobatum* L. (0.305 mg/g), *Solanum indicum* L. (0.192 mg/g), black tea (0.077 mg/g), green tea (0.039 mg/g), and pepper (0.013 mg/g), respectively. In conclusion, *V. cinerea* L., *S. trilobatum* L., *S. indicum* L., black tea, green tea and pepper present their antioxidant activities, a rich of total phenolic, and nicotine contents, which are possible using for reducing nicotine withdrawal.

Keywords: Thai herb; nicotine; antioxidant activity

1. บทนำ

การสูบบุหรี่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญ เป็นสาเหตุให้มีผู้เสียชีวิตปีละประมาณ 3 ล้านคน [1] ซึ่ง WHO (World Health Organization) ได้ประมาณการว่าอัตราการตายที่เกิดจากการสูบบุหรี่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากปีละ 4.9 ล้านคน และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็น 10 ล้านคน ในปี 2030 [1] หรือ 1 ต่อ 6 ของผู้เสียชีวิตทั่วโลก การศึกษาในกลุ่มเยาวชนทั่วโลกพบว่าผู้สูบบุหรี่ 8 ใน 10 คน เริ่มสูบบุหรี่ ก่อนอายุ 20 ปี ซึ่งมีผู้สูบบุหรี่ใหม่เพิ่มขึ้นวันละ 80,000-1000,000 คน และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ การสูบบุหรี่มี

ความสัมพันธ์ต่อการสร้างสารอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ในร่างกายลดลง [2] ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ และชีวเคมีในร่างกาย [3] ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคต่าง ๆ เช่น อ้วนลงพุง มะเร็งปอด โรคหลอดเลือดสมองตีบตัน และโรคหลอดเลือดหัวใจแข็งตัว เป็นต้น [4,5] นอกจากนี้พบว่า 80-90 % ของผู้สูบบุหรี่จะเป็นโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง และการศึกษาในปี 2548 พบว่าประชากรไทยที่มีอายุ 15 ปีขึ้นไปป่วยเป็นโรคปอดอุดกั้นเรื้อรังแล้วประมาณ 0.4 % หรือ 180,000 ราย [6] ซึ่ง WHO ได้คาดการณ์ว่าโรคปอด

อดทนหรือร้ายจะกลายเป็นสาเหตุการตายอันดับ 3 ภายในปี ค.ศ. 2020

การติดบุหรี่เกิดจากสารนิโคติน (nicotine) ใน บุหรี่ไปจับกับตัวรับนิโคติน (nicotinic acetylcholine receptor, NAR) ที่บริเวณปลายประสาทของสมอง ส่วน ventral tegmental area (VTA) และหลั่งสาร โดปามีน (dopamine) จึงเกิดความรู้สึกพึงพอใจและมีความสุข ผ่อนคลาย และมีผลเพิ่มการหลั่งของสารสื่อประสาทอื่นๆ เช่น acetylcholine และ norepinephrine ทำให้รู้สึกสดชื่นและมีสมาธิขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงติดการติดสูบบุหรี่ [7,8] เพื่อรักษาระดับนิโคติน ดังนั้นเมื่อผู้เสพติดบุหรี่เลิกสูบบุหรี่ระดับนิโคตินในร่างกายจะลดลง จะทำให้มีความรู้สึกในเชิงลบ (อาการถอนนิโคติน) เช่น อารมณ์ไม่ดี หงุดหงิด จึงทำให้กลับมาสูบบุหรี่อีกเพื่อคงความรู้สึกในเชิงบวก [9,10]

การบำบัดการติดบุหรืมีการใช้ยาบำบัด เพื่อลดอาการถอนยา (withdrawal syndrome) จากการขาดสารนิโคติน [11,12] โดย การใช้สารนิโคตินทดแทน (nicotine replacement therapy) เช่น หมากฝรั่งผสมนิโคติน bupropion และ varenicline ร่วมกับการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมด้วยการทำกิจกรรมต่าง ๆ การออกกำลังกาย การใช้จิตสังคัมบำบัด อย่างไรก็ตาม การใช้สารนิโคตินทดแทนเสียค่าใช้จ่ายสูง และเกิดการไม่พึงประสงค์ได้ เช่น นอนไม่หลับ ปากแห้ง มือสั่น อ่อนเพลีย มึนงง และปวดศีรษะ [13] จึงมีแนวคิดพัฒนาใช้สมุนไพรในการรักษาการติดบุหรื

ปัจจุบันสมุนไพรเป็นที่ยอมรับในการรักษาโรคต่าง ๆ เนื่องจากมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย (ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดไข้ ต้านการอักเสบ เป็นต้น) ราคาถูก หาได้ง่าย และมีความปลอดภัยสูง ดังนั้นการนำสมุนไพรมาใช้บำบัดการติดบุหรืซึ่งเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ โดยเฉพาะประเทศไทยที่มีพืชสมุนไพรและตำรับยาพื้นบ้านที่หลากหลาย จาก

การศึกษารายงานการวิจัยพบว่านอกจากใบยาสูบแล้วสามารถพบสารนิโคตินในพืชจำพวกอื่นอีก เช่น พืชตระกูล Solanaceae (nightshade) ได้แก่ มะเขือเทศ มันฝรั่ง มะเขือม่วง เป็นต้น [14] และในสมุนไพรตัวเดียวกันอาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถลดอาการถอนยาได้ [15, 16] การศึกษาวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และนิโคตินของสารสกัดสมุนไพรไทย 15 ชนิด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาของสมุนไพรเพื่อลดอาการถอนนิโคติน และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสมุนไพรสำหรับการบำบัดการติดบุหรืต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีวิจัย

2.1 วิธีการสกัดสมุนไพร

สมุนไพร 15 ชนิด ได้แก่ หนวดดอกขาว (ใบ) หม่อน (ใบ) โปรงฟ้า (ใบ) ผักกาดน้ำ (ใบ) มะแว้งเครือ (ใบ) มะแว้งต้น (ใบ) พริกไทย (ใบ) กระสัง (ใบ) พญาปล้องทอง (ใบ) พริกขี้หนู (เมล็ด) พลูดาว (ใบ) ฟ้ายะลวยโจร (ใบ) และย่านาง (ใบ) ชื้อจากร้านขายต้นไม้ท้องถิ่นในเขตหนองแขม กรุงเทพมหานคร ส่วนชาดำและชาเขียวชื้อจากห้างสรรพสินค้า แล้วนำมาทำความสะอาดและอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบด และหมักด้วยเอทานอล นาน 3 คืน กรอง แล้วนำสารสกัดไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator

2.2 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยรวม (total antioxidant activity)

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระนั้นทดสอบด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay [17] เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน L- ascorbic acid ทดสอบโดยเตรียมสารสกัดยาสมุนไพรและสารมาตรฐาน L-ascorbic acid ที่ความ

เข้มข้น 1, 2, 4, 8 และ 16 $\mu\text{g/ml}$ ปริมาณ 10 μl และสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 μM ในเอทานอล ปริมาณ 190 μl ผสมให้เข้ากันลงในภาชนะหลุมชนิด 96 หลุม และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ด้วยเครื่อง microplate reader ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical scavenging activity)

$$\% \text{ DPPH radical scavenging} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

เมื่อ A_{Control} เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารกลุ่มควบคุม

A_{Sample} เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารทดสอบ

จากนั้นคำนวณหาค่า inhibition concentration ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) [18] โดยการสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ต้านอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดหยาบสมุนไพรที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ และคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบสมุนไพรที่ทำให้ความเข้มข้น DPPH ลดลง 50 % ซึ่งสารสกัดที่ให้ค่า IC_{50} ต่ำหมายถึงมีการยับยั้งอนุมูลอิสระของ DPPH ได้ดี แสดงว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดี

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบรวมฟีนอล (total phenol content)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบรวมฟีนอลด้วย Folin-Ciocalteu reagent [19,20] สารประกอบฟีนอลจะทำปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับ phosphotungstic acid และ phosphomolybdic acid เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm

การเตรียม Folin-Ciocalteu reagent และ 20 % sodium carbonate และเตรียมสารสกัดตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1 mg/ml นำสารสกัดตัวอย่าง 20 μl ผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent 100 μl และ 20 % sodium carbonate 80 μl ทิ้งไว้ 30

นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ด้วย microplate reader ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณปริมาณ total phenolic component ($\mu\text{g/ml}$) จากกราฟมาตรฐานของ gallic acid (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ในหน่วยของ $\mu\text{g GAE/g DW}$

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน (nicotine)

การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินจากสารสกัดหยาบสมุนไพรโดยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) [21] ประกอบด้วยคอลัมน์ hypersil C18 (250x4.6 mm i.d., 0.5 μm) และวัฏภาคเคลื่อนที่ประกอบด้วย acetonitril และ 0.2 % triethylamine อัตราส่วน 20:80 (v/v) ปรับ pH 6.9 ด้วย phosphoric acid ที่อัตราการไหล 1 ml/min และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 nm การวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐาน (-)-Nicotine (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Switzerland) ใน methanol ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 $\mu\text{g/mL}$ และกรองสารละลายมาตรฐานและสารสกัดหยาบสมุนไพรมาด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน ก่อนใส่ขวดตัวอย่าง และฉีดเข้าเครื่อง HPLC แต่ละตัวอย่างทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของนิโคตินกับพื้นที่ใต้ peak ของนิโคติน และคำนวณหาปริมาณสารนิโคตินในสารสกัดสมุนไพรจากกราฟมาตรฐาน

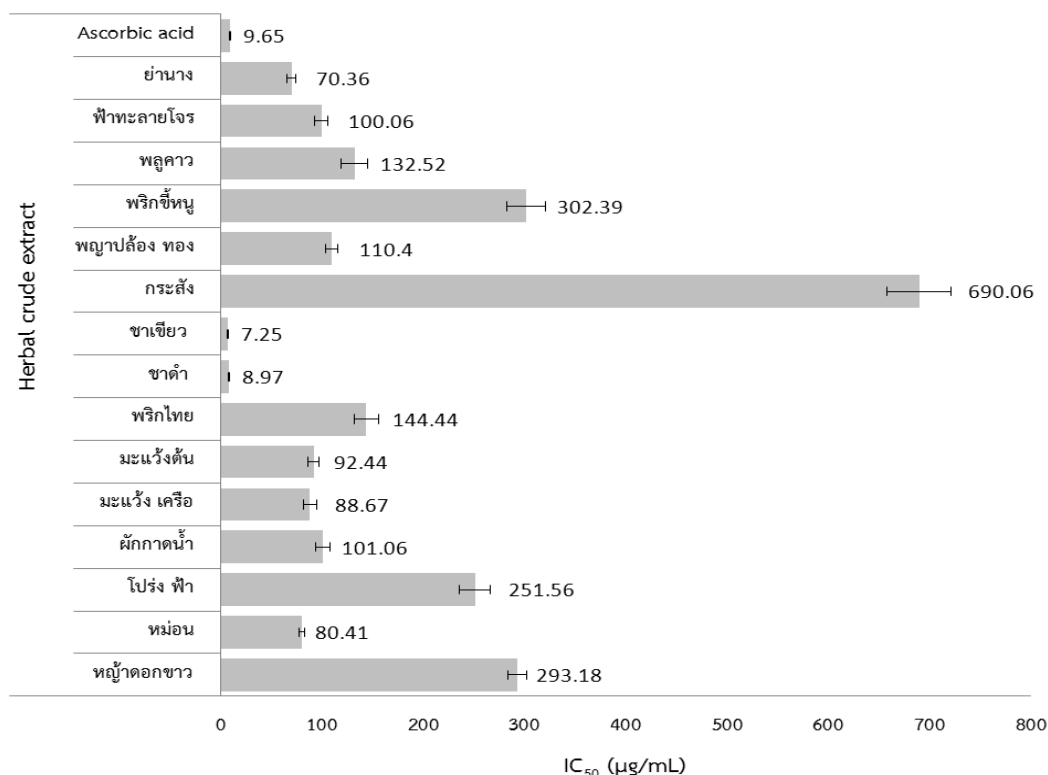
3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัดหยาบของชาเขียวและชาดำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่ามาตรฐาน L-ascorbic acid ซึ่งสารสกัดหยาบของชาเขียวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มีค่า

IC₅₀ เท่ากับ 7.25±0.85 µg/mL สารสกัดหยาบสมุนไพรส่วนใหญ่มีค่า IC₅₀ ระหว่าง 70.36-144.44 µg/mL ได้แก่ หม่อน มะแว้งต้น มะแว้งเครือ ย่านาง

ฟ้าทะลายโจร ผักกาดน้ำ พญาปล้องทอง พลูควา และพริกไทย ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบสมุนไพรชนิดอื่น ๆ มีค่า IC₅₀ สูงกว่า 150 µg/mL แสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมุนไพรเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน L-ascorbic acid

3.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบรวมฟีนอล (total phenol)

สารประกอบรวมฟีนอลจากสารสกัดหยาบสมุนไพรโดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method เทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid ที่ความยาวคลื่น 760 nm พบว่าสารสกัดหยาบสมุนไพรทั้ง 15 ชนิด มีสารประกอบรวมฟีนอลอยู่ในช่วง 9.77±0.97 ถึง 690.05±9.83 mg GAE/g DW สารสกัดหยาบสมุนไพรมะแว้งต้นมีปริมาณสารประกอบรวมฟีนอลสูงสุดเท่ากับ 259.4±9.58 mg GAE/g DW (ตารางที่ 1) ไม่สอดคล้องกับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระ (IC₅₀) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าชาเขียวและชาดำ 10 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรหยาบชาเขียวและชาดำอาจมาจากสารประกอบเคมีกลุ่มอื่น ๆ ซึ่งออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นกันกับสารประกอบรวมฟีนอล ได้แก่ flavonoid และ catechin เป็นต้น [22]

3.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน (nicotine)

การวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินโดยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) แสดง chromatogram ของสารมาตรฐานนิโคติน พบ

peak ของนิโคติน retention time ที่ 5.1 นาที และ chromatogram ของสารสกัดสมุนไพร พบ peak ที่มี retention time ตำแหน่งเดียวกันกับ peak ของนิโคติน แยกออกจาก peak รบกวนอื่น ๆ อย่างชัดเจน (รูปที่ 2B) และเพื่อยืนยันว่าเป็น peak ของนิโคติน จึงทำการใส่สารมาตรฐานนิโคตินในสารสกัดสมุนไพร และวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินซ้ำอีกครั้ง พบว่า peak ที่ตำแหน่งเดิม และมีพื้นที่ใต้ peak เพิ่มขึ้น แสดงว่า peak ที่พบใน chromatogram ของสารสกัดสมุนไพร

retention time ที่ 5.1 นาที คือ peak ของนิโคติน ผลการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินของสารสกัดสมุนไพร 15 ชนิด พบนิโคตินในสารสกัดสมุนไพร 6 ชนิด สารสกัดหยาดหยาดดอกขาวมีปริมาณนิโคตินสูงสุด คือ 1.154 ± 0.38 mg/g รองลงมาคือมะแว้งต้น มะแว้งเครือ ชาดำ ชาเขียว และพริกไทย ในปริมาณ 0.305 ± 0.07 , 0.192 ± 0.01 , 0.077 ± 0.01 , 0.039 ± 0.00 และ 0.013 ± 0.00 mg ในสารสกัดหยาดสมุนไพร 1 g ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบรวมฟีนอล

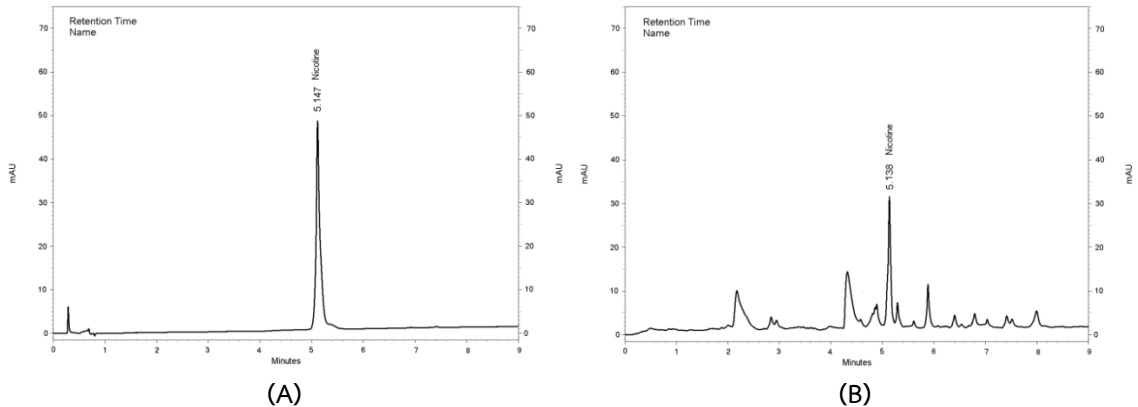
ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	Total phenolic (mg GAE/g DW)
หยาดดอกขาว	<i>Vernonia cinerea</i> Less.	179.86 ± 3.55
หม่อน	<i>Morus alba</i> Morus L.	93.12 ± 1.10
โปรงฟ้า	<i>Murraya siamensis</i> Craib.	67.53 ± 2.08
ผักกาดน้ำ	<i>Plantago major</i> L.	45.39 ± 2.81
มะแว้งเครือ	<i>Solanum trilobatum</i> L.	220.56 ± 9.03
มะแว้งต้น	<i>Solanum indicum</i> L.	259.44 ± 9.58
พริกไทย	<i>Piper nigrum</i> L.	42.83 ± 2.53
ชาดำ	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	74.32 ± 1.93
ชาเขียว	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	109.79 ± 2.89
กระสัง	<i>Peperomia pellucida</i> L.	35.09 ± 0.53
พญาปล้องทอง	<i>Clinacanthus nutans</i> (Burm. f.) Lindau.	11.33 ± 1.28
พริกขี้หนู	<i>Capsicum frutescens</i> L.	9.77 ± 0.97
พลูคว	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	21.41 ± 1.14
ฟ้าทะลายโจร	<i>Andrographis paniculata</i> (Burm. f.) Wall. ex Nees	94.69 ± 8.43
ย่านาง	<i>Tiliacora triandra</i> (Colebr.) Diels	82.75 ± 5.26

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบรวมฟีนอลของสารสกัดสมุนไพรไทยแต่ละชนิด พบรายงานการศึกษาอื่น ๆ มีทั้งที่ให้ผลสอดคล้องกันและแตกต่างกัน [23-26] เนื่องจากอิทธิพลของปัจจัยหลายชนิด เช่น แหล่งเพาะปลูก ฤดูกาล ขึ้นส่วนของพืช รวมถึงขั้นตอนการ

ผลิต ตัวอย่าง เช่น ชาเขียวและชาดำ แม้ว่าจะเป็นพืชชนิดเดียวกัน *Camellia sinensis* แต่มีกระบวนการผลิตแตกต่างกัน คือ ชาดำจะมีกระบวนการผลิตที่ซับซ้อนมากกว่า และมีการหมักทำให้สารต้านอนุมูลอิสระ เช่น flavonoid [27] จะเปลี่ยนไปเป็น theaflavin จึงทำให้ชาเขียวมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

และปริมาณสารประกอบรวมฟีนอลมากกว่าชาดำ ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินของสารสกัด สมุนไพรพบว่าพืชตระกูล Solanaceae (nightshade)

ได้แก่ มะม่วงต้น และมะม่วงเครือ มีนิโคตินในปริมาณต่ำเช่นเดียวกับพืชตระกูล Solanaceae อื่น ๆ [14]



รูปที่ 2 HPLC chromatogram ของ (A) สารมาตรฐานนิโคติน (1.0 µg) และ (B) สารสกัดหยาดดอกขาว

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณนิโคติน ในสารสกัดหยาดสมุนไพร 1 g

ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	Nicotine (mg)
หยาดดอกขาว	<i>Vernonia cinerea</i> Less.	1.154±0.38
หม่อน	<i>Morus alba</i> Morus L.	ND
โปรงฟ้า	<i>Murraya siamensis</i> Craib.	ND
ผักกาดน้ำ	<i>Plantago major</i> L.	ND
มะม่วงเครือ	<i>Solanum trilobatum</i> L.	0.192±0.01
มะม่วงต้น	<i>Solanum indicum</i> L.	0.305±0.07
พริกไทย	<i>Piper nigrum</i> L.	0.013±0.00
ชาดำ	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	0.077±0.01
ชาเขียว	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	0.039±0.00
กระสัง	<i>Peperomia pellucida</i> L.	ND
พญาปล้องทอง	<i>Clinacanthus nutans</i> (Burm. f) Lindau.	ND
พริกขี้หนู	<i>Capsicum frutescens</i> L.	ND
พลูคาว	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	ND
ฟ้าทะลายโจร	<i>Andrographis paniculata</i> (Burm.f.) Wall. ex Nees	ND
ย่านาง	<i>Tiliacora triandra</i> (Colebr.) Diels	ND

ND = not detected (ตรวจไม่พบ)

การศึกษาครั้งนี้พบว่าสมุนไพรเกือบทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารสกัดหยาบชาเขียวและชาดำ ซึ่งมีรายงานพบว่าชาเขียวช่วยลดภาวะ oxidative stress [28] การอักเสบ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ป้องกันมะเร็งปอด [29] และลดการทำลายเนื้อเยื่อในหนูที่ได้รับควันบุหรี่ [30] เช่นเดียวกับสมุนไพรอื่น ๆ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังพบนิโคตินในสารสกัดหยาบสมุนไพรหลายชนิด มีปริมาณสูงสุดในหลอดอกขาว (1.154 ± 0.38 mg) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้ชาชงหลอดอกขาวเทียบกับยาหลอกในการเลิกบุหรี่ สามารถช่วยลดอัตราการสูบบุหรี่ได้ถึง 60 % [31,32] เป็นไปได้ว่าการได้รับนิโคตินในปริมาณต่ำ ทดแทนนิโคตินจากบุหรี่อาจจะช่วยลดอาการถอนยา เช่นเดียวกันกับการรักษาด้วยนิโคตินชนิดหมากฝรั่งเคี้ยว (chewing gum) ชนิดแผ่นติดผิวหนัง (patch) และชนิดเม็ดย่อยใต้ลิ้น (nicotine sublingual tablet) เป็นต้น ซึ่งทำให้ผู้ที่สูบบุหรี่สามารถเลิกบุหรี่ได้ง่ายขึ้น [33,34]

4. สรุป

ผลการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และนิโคตินของสารสกัดหยาบสมุนไพรไทย 15 ชนิด พบสารสกัดหยาบสมุนไพรไทย 6 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีสารประกอบรวมฟีนอลิกสูง และนิโคติน ได้แก่ หลอดอกขาว มะแว้งต้น มะแว้งเครือ ชาดำ ชาเขียว และพริกไทย การศึกษานี้เป็นข้อมูลสนับสนุนว่าสมุนไพรไทยสามารถสามารถนำไปใช้ในการช่วยลดอาการถอนนิโคติน แต่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง และประสิทธิภาพในการช่วยเลิกสูบบุหรี่ต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนในการศึกษาวิจัย (53-01-04) จากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ภายใต้ “ทุนวิจัยทั่วไป” ตามสัญญาเลขที่ ทป 2/33/2557

6. รายการอ้างอิง

- [1] World Health Organization, 2008, WHO Report on the Global Tobacco Epidemic, 2008, pp. 14-21, In the MPOWER Package, World Health Organization, Geneva.
- [2] Church, D.F. and Pryor, W.A., 1985, Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications, Environ. Health Perspect. 64: 111-26.
- [3] Crofton, J. and Douglas, A., 1981, Respiratory diseases, 3 Ed., Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- [4] Benowitz, N.L., Hansson, A. and Jacob, P., 2002, Cardiovascular effects of nasal and transdermal nicotine and cigarette smoking, Hypertension 39: 1107-1112.
- [5] Vainio, H., Weiderpass, E. and Kleihues, P., 2001, Smoking cessation in cancer prevention, Toxicology 166: 47-52.
- [6] ศรัณญา เบญจกุล, มณฑา เบญจกุล และลักษณา เต็มศิริชัยกุล, 2551, สถานการณ์การสูบบุหรี่รายจังหวัด, น. 107-119, ใน ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ มหาวิทยาลัยมหิดล, สถานการณ์การบริโภคยาสูบของประชากรไทย พ.ศ. 2534-2555, เจริญดีมั่นคงการพิมพ์, กรุงเทพฯ, 36 น.

- [7] Mehic, B., 2001, Nicotine addiction, Med. Arh. 55: 165-9.
- [8] Houezec, L., 2003, Role of nicotine pharmacokinetics in nicotine addiction and nicotine replacement therapy: A review, J. Int. J. Tuberc. Lung Dis. 7: 811-819.
- [9] Hukkanen, J., Jacob, P., 3rd and Benowitz, N.L., 2005, Metabolism and disposition kinetics of nicotine, Pharmacol. Rev. 57: 79-115.
- [10] Shiffman, S.M. and Jarvik, M.E., 1976, Smoking withdrawal symptoms in two weeks of abstinence, Psychopharmacology (Berl). 50: 35-39.
- [11] Prochaska, J.J., 2015, Nicotine replacement therapy as a maintenance treatment, JAMA. 314: 718-9.
- [12] Green, G., 2015, Nicotine replacement therapy for smoking cessation, Am. Fam. Physician. 92: online.
- [13] Carrozzi, L., Pistelli, F. and Viegi, G., 2008, Pharmacotherapy for smoking cessation, Ther. Adv. Respir. Dis. 2: 301-17.
- [14] Siegmund, B., Leitner, E. and Pfannhauser, W., 1999, Determination of the nicotine content of various edible nightshades (*Solanaceae*) and their products and estimation of the associated dietary nicotine intake, J. Agric. Food Chem. 47: 3113-20.
- [15] Arora K.S., Gupta N., Manchanda K.C. and Saluja S., 2011, Quitting smoking replenishes body antioxidant status, Int. J. Biol. Med. Res. 2: 972-974.
- [16] Kim, J., Lim, J., Kang, H. and Kim, K., 2000, Evaluation of vitamin C supplementation and effectiveness of smoking cessation intervention in adolescent male smokers, Korean J. Community Nutr. 5: 432-443.
- [17] Tan, G., Thornby, J., Hammond, D.C., Strehl, U., Canady, B., Arnemann, K. and Kaiser, D.A., 2009, Meta-analysis of EEG biofeedback in treating eEpilepsy, Clin. EEG Neurosci. 40: 173-179.
- [18] Bonina, F., Puglia, C., Tomaino, A., Saija, A., Mulinacci, N., Romani, A. and Vincieri, F.F., 2000, *In-vitro* antioxidant and *in-vivo* photoprotective effect of three lyophilized extracts of *Sedum telephium* L. leaves, J. Pharm. Pharmacol. 52: 1279-85.
- [19] Folin, O. and Ciocalteu, V., 1927, On Tyrosine and tryptophane determinations in proteins, J. Biolo. Chem. 73: 627-650.
- [20] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós and Rosa, M., 1999, Analysis of Total Phenols and other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent, pp. 152-178, In Walter, H. and Johansson, G. (Eds.), Methods in Enzymology, Academic Press, New York.
- [21] Ruela, A.L.M., Figueiredo, E.C., Perissinato, A.G., Lima, A.C.Z., Araujo, M.B. and

- Pereira, G.R., 2013, *In vitro* evaluation of transdermal nicotine delivery systems commercially available in Brazil, Braz. J. Pharma. Sci. 49: 579-588.
- [22] Lee, K.W., Lee, H.J. and Lee, C.Y., 2002, Antioxidant activity of black tea vs. green tea, J. Nutri. 132: 785.
- [23] Khalaf, N.A., Shakya, A.K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z. and Farah, H., 2008, Antioxidant activity of some common plants, Turk. J. Biol. 32: 51-55.
- [24] Inpuron, S., Musikachai, L., Boonmark, W., Jarmkom, K., Suchaitanavanit, S. and Eakwaropas, P., 2013, Antioxidant activities of *Vernonia cinerea* and *Murraya siamensis*, p. 119, In The 1st Academic Science and Technology Conference, Bangkok.
- [25] Sour, E., Amin, G., Farsam, H. and Barazandeh, T.M., 2008, Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts, DARU J. Fac. Pharm. 16: 83-87.
- [26] Sundari, S.G., Rekha, S. and Parvathi, A., 2013, Phytochemical evaluations of three species of *Solanum* L., Int. J. Res. Ayurveda Pharm. 4: 420-425.
- [27] อธิพนธ์ เทพภรณ์, 2550, การศึกษาการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (โพลีฟีนอล) ในระหว่างกระบวนการผลิตชาเขียวและชาอู่หลงของจังหวัดเชียงราย, รายงานการวิจัย, มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย, 50 น.
- [28] Klaunig, J.E., Xu, Y., Han, C., Kamendulis, L.M., Chen, J., Heiser, C., Gordon, M.S. and Mohler, E.R., 1999, The effect of tea consumption on oxidative stress in smokers and nonsmokers, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 220: 249-254.
- [29] Chung, F.L., 1999, The prevention of lung cancer induced by a tobacco-specific carcinogen in rodents by green and black tea, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 220: 244-248.
- [30] Al-Awaida, W., Akash, M., Aburubaiha, Z., Talib, W.H. and Shehadeh, H., 2014, Chinese green tea consumption reduces oxidative stress, inflammation and tissues damage in smoke exposed rats, Iran J. Basic Med. Sci. 17: 740-746.
- [31] Leelarungrayub, D., Pratanaphon, S., Pothongsunon, P., Sriboonreung, T., Yankai, A. and Bloomer, R.J., 2010, *Vernonia cinerea* Less. supplementation and strenuous exercise reduce smoking rate: relation to oxidative stress status and beta-endorphin release in active smokers, J. Int. Soc. Sports Nutr. 7: 21.
- [32] Wongwiwatthanakul, S., Benjanakaskul, P., Songsak, T., Suwanamajo, S. and Verachai, V., 2009, Efficacy of *Vernonia cinerea* for smoking cessation, J. Health Res. 23: 31-36.
- [33] Lee, H.J. and Lee, J.H., 2005, Effects of medicinal herb tea on the smoking cessation and reducing smoking withdrawal symptoms, Am. J. Chin. Med.

- 33: 127-138.
- [34] Teneggi, V., Tiffany, S.T., Squassante, L.,
Milleri, S., Ziviani, L. and Bye, A., 2002,
Smokers deprived of cigarettes for 72 h:
Effect of nicotine patches on craving and
withdrawal, Psychopharmacology (Berl)
164: 177-187.