อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

ดร.อธิป สกุลเผือก

บทคัดย่อที่มาและความสำคัญ และวัตถุประสงค์

อนุมูลอิสระเป็นเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นในร่างกายเป็นปกติ และร่างกายจะมีการกำจัดอนุมูลอิสระเหล่านี้ออกไปผ่านทางเอนไซม์ และสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ อย่างไรก็ตามการไม่สมดุลกันระหว่างการเกิดและการต้านอนุมูลอิสระนั้นจะส่งผลเสียต่อสุขภาพ โดยเฉพาะหากภาวะความไม่สมดุลเกิดขึ้นเป็นระยะเวลานานและบ่อยครั้ง ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์จำนวนมากที่ได้อ้างถึงประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการเข้าใจกลการทำงานและการรับประทานหรือรับสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปในร่างกายในปริมาณที่เหมาะสมจึงเป็นสำคัญมากสำหรับเภสัชกรในการแนะนำผลิตภัณฑ์ต่างๆให้ได้อย่างเหมาะสม ในบทความนี้จะกล่าวถึงการเกิดอนุมูลอิสระและกลไกการต้านอนุมูลอิสระ โดยชี้ให้เห็นถึงบทบาทและความสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆภายในร่างกาย รวมถึงการจัดลำดับสารต้านอนุมูลอิสระ

คำค้น :antioxidant, reactive oxygen species, antioxidant enzyme, superoxide dismutase, glutathione

จำนวนคำทั้งหมดของบทความซึ่งไม่รวมรูปและตาราง **ประมาณ 3,200 คำ**

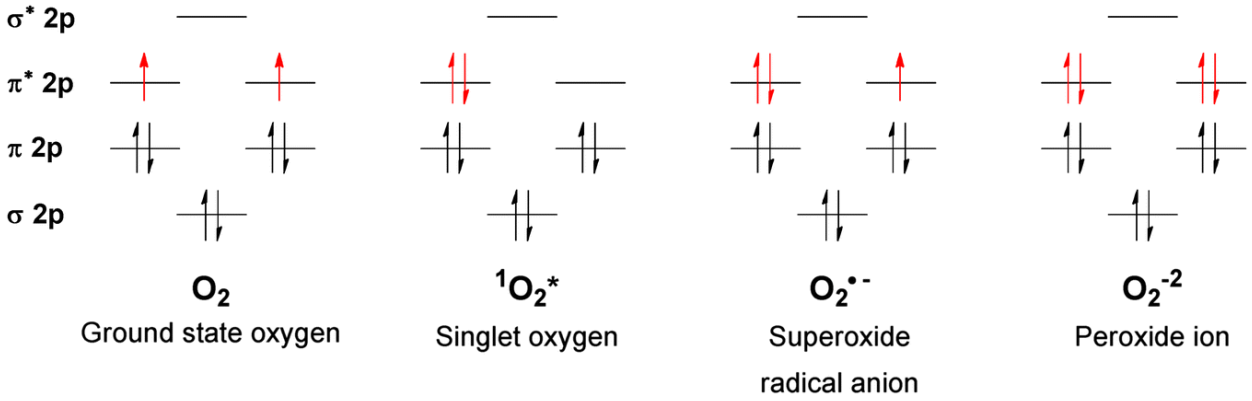
อนุมูลอิสระ (free radical) หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มี unpaired electron อย่างน้อย 1 electron เกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก อนุมูลอิสระนั้นไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียงเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น ผลที่ตามมาคือโมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ ซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction)[1] อย่างไรก็ตามการที่จะสรุปว่าอนุมูลอิสระทุกชนิดเป็นสารพิษต่อร่างกายนั้นไม่ถูกต้องนัก สิ่งที่ควรจะนำมาใช้บอกระดับความเป็นพิษควรจะเป็นความสามารถในการ oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกายมากกว่า สารที่มีความสามารถในการ oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกายเรียกว่า Reactive species (RS) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในรูปของ reactive oxygen species (ROS) และยังพบในรูปของ reactive chlorine species และ reactive nitrogen species ตามโมเลกุลที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา oxidation อาจจะพบได้ในรูปของ lipid radical หรือ genetic radical RS นั้นไม่จำเป็นว่าจะต้องอยู่ในรูปของ free radical เสมอไป สารประกอบบางโมเลกุลที่อยู่ในรูป non-radical แต่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา oxidation เช่น H_2O_2 ก็จัดเป็น RS เช่นกัน (ตารางที่ 1) [2]

ตารางที่ 1ตัวอย่างของ RS โดยแบ่งประเภทตามโมเลกุลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา oxidation และแบ่งย่อยโดยลักษณะของการเป็น radical ของโมเลกุล

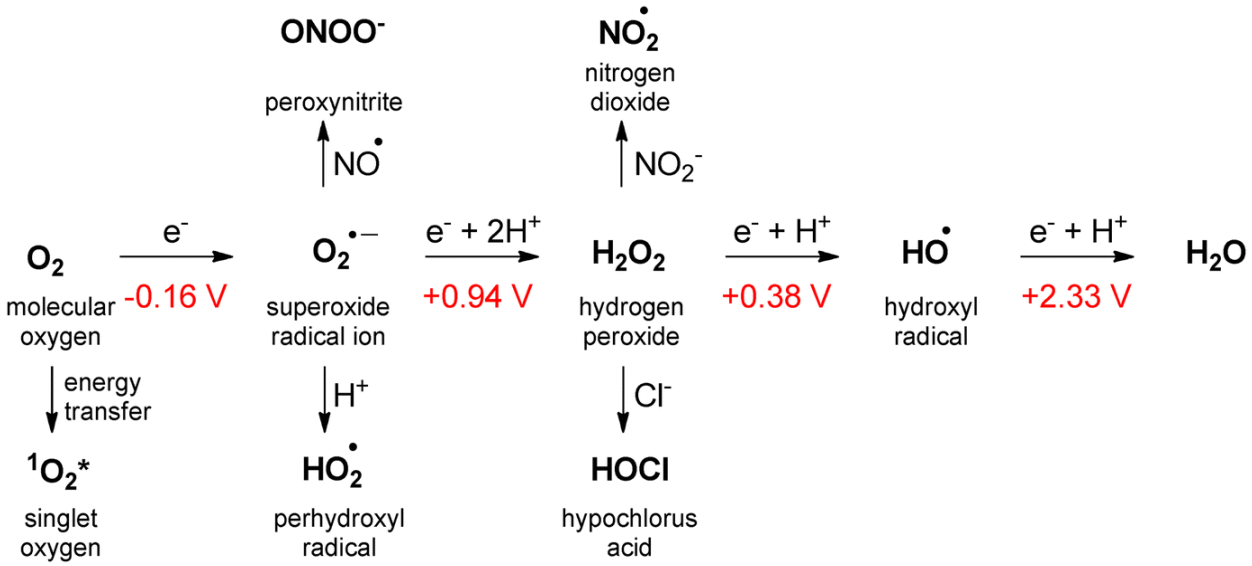
Reactive oxygen species			
Free radicals	**Formula**	**Non-radicals**	**Formula**
Oxygen radical	$O_2^{\bullet}$	Singlet oxygen	$^1O_2$*
Superoxide radical	$O_2^{\bullet -}$	Hydrogen peroxide	H_2O_2
Hydroxyl radical	$OH^{\bullet}$	Ozone	O_3
Hydroperoxyl radical	$HO_2^{\bullet}$	Organic peroxide	ROOH
Peroxyl radical	$RO_2^{\bullet}$		
Alkoxyl radical	$RO^{\bullet}$		
Carbonate radical	$CO_3^{\bullet -}$		
Reactive chlorine species			
Chlorine radical	$Cl^{\bullet}$	Hypochloric acid	HOCl
		Nitryl chloride	NO_2Cl
		Chlorine gas	Cl_2
Reactive nitrogen species			
Nitric oxide radical	$NO^{\bullet}$	Nitric oxide	HNO_2
Nitrogen dioxide radical	$NO_2^{\bullet}$	Peroxynitrite	$ONOO^-$
		Peroxynitrous acid	ONOOH
		Nitryl chloride	NOOCl

ใน ground state oxygen ประกอบด้วย electron จำนวน 8 electron ที่โคจรอยู่ใน 5 orbital ได้แก่ 1S, 2S 2Pz 2Px และ 2Py ซึ่ง electron ที่อยู่ใน 2Px และ 2Py นั้นไม่ได้เข้าคู่ ทำให้โมเลกุลของ

oxygen นั้นไวต่อการเกิดปฏิกิริยา (รูปที่ 1) เมื่อโมเลกุลของ oxygen รับ electron จากโมเลกุลอื่น เช่น โลหะหนัก (Fe, Cu)หรือ lipid free radical จะเกิดเป็น superoxide radical anion ซึ่งเป็น oxidizing agent ที่แรงกว่า oxygen และพร้อมที่จะเปลี่ยนไปเป็น hydrogen peroxide และ hydroxyl radical ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อโมเลกุล oxygen ถูกกระตุ้นด้วยแสง UV จะเกิดเป็น singlet oxygen ซึ่งเป็น oxidizing agent ที่แรงกว่า superoxide radical anion อีกด้วย (รูปที่ 2) จะเห็นได้ว่า ROS เหล่านี้เกิดปฏิกิริยาได้ง่ายและนำไปสู่การเกิดผลิตภัณฑ์สุดท้ายในการเกิดปฏิกิริยาของ ROS คือน้ำ (H_2O) เนื่องจากน้ำไม่เป็นพิษต่อเซลล์ซึ่งเป็นการป้องกันตัวเองของระบบการทำงานภายเซลล์ [2]



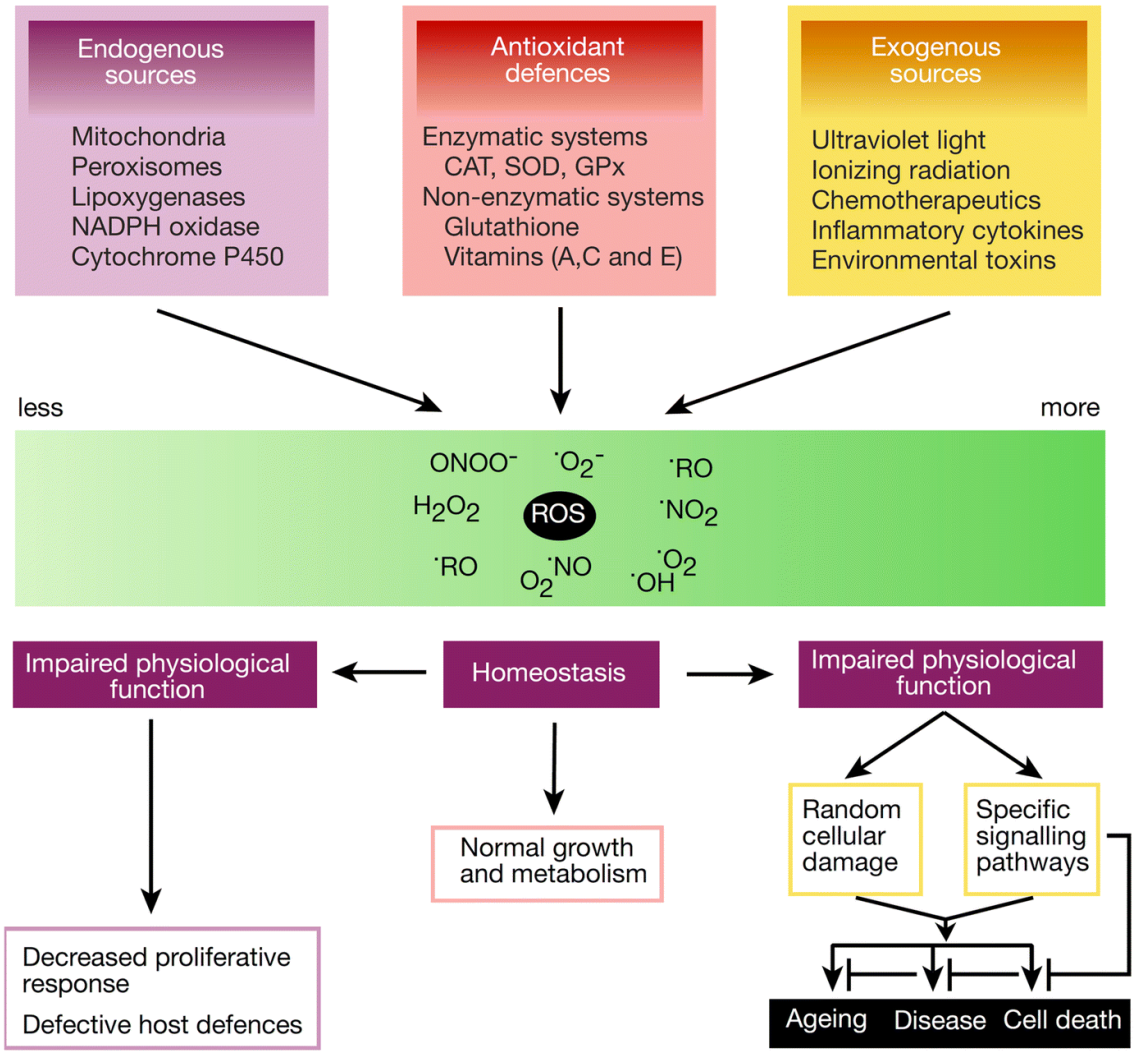
รูปที่ 1 แสดง molecular orbital ของ oxygen ในสเตทต่างๆ [2]



รูปที่ 2 การเปลี่ยนแปลงของ ROS ไปเป็นโมเลกุลน้ำและการเกิด RS ต่างๆ [3]

ROS นั้นเกิดจากการเผาผลาญอาหาร สารต่างๆ กระบวนการสร้างพลังงาน การหายใจระดับเซลล์ รวมไปถึงเกิดขึ้นในกลไกการป้องกันตัวเองของร่างกายจากเชื้อจุลชีพต่างๆ หากร่างกายมีกระบวนการดังกล่าวที่มากเกินไป หรือการที่ร่างกายขาดสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้มีการสะสมของ ROS มากขึ้นและทำให้เกิด

ภาวะ oxidative stress ขึ้นได้ ภาวะ oxidative stress นั้นหากเกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นๆเพียงชั่วขณะนั้นจะไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพมากนัก [3] แต่หากเกิดภาวะดังกล่าวเป็นเวลานานจะทำให้มีความเสี่ยงที่จะมีผลไปทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ เยื่อหุ้มเซลล์ รวมถึง DNA และจะนำไปสู่โรคในหลายระบบและนำไปสู่ความเสื่อมของอวัยวะต่างๆได้ เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคทางสมองและระบบประสาท เช่น Parkinson และ Alzheimer ผลต่อระบบต่อมไร้ท่อต่างๆ มะเร็ง รวมไปถึงมีผลต่อความยืดหยุ่นของผิวหนัง [1,4] จากการศึกษาพบว่าภาวะ oxidative stress นั้นเป็นสาเหตุของโรค และร่างกายจะมีภาวะนี้เมื่อเป็นโรคบางอย่าง ซึ่งภาวะ oxidative stress ที่เพิ่มขึ้นนั้นสัมพันธ์กับการเกิดโรคเหล่านี้อย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แหล่งของ ROS เกิดขึ้นจากในและนอกร่างกาย และแสดงถึงสมดุลของระบบ antioxidant [4]

ROS เกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แหล่งที่แตกต่างกันดังนี้

1. ปัจจัยภายในร่างกาย (Endogenous Sources) [3]

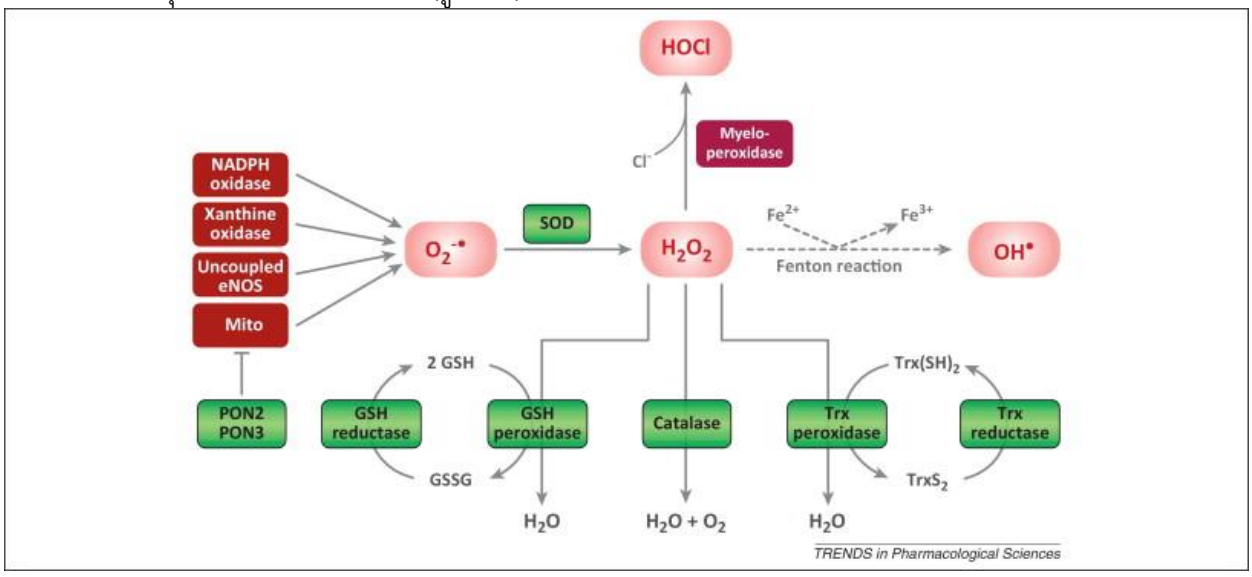
ROS จะเกิดขึ้นจากกระบวนการต่างๆของร่างกายผ่านกระบวนการสร้าง ATP โดย O_2 จะเปลี่ยนไปเป็น H_2O โดยปกติร่างกายของมนุษย์จะต้องการ ATP วันละ 300 mol ซึ่งจะได้จากการใช้ O_2 จำนวน 100 mol ซึ่ง ROS ที่เกิดขึ้นนั้นจะถูกเปลี่ยนให้กลายเป็นน้ำโดยผ่านเอนไซม์และบางขั้นตอนก็ผ่านปฏิกิริยาโดยไม่ใช้เอนไซม์นอกจากการสร้างพลังงานแล้ว ในกลไกป้องกันตัวเองของร่างกายเมื่อถูก pathogen เข้ารุกรานก็มีการสร้าง ROS ขึ้นมาได้เช่นกัน โดยเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า oxidative burst เมื่อเซลล์เม็ดเลือดขาวเช่น macrophage และ leukocyte ถูกกระตุ้นโดยสิ่งเร้าต่างๆจะมีการสร้าง $O_2^{\bullet -}$ ขึ้นผ่านทาง NADPH oxidase โมเลกุล $O_2^{\bullet -}$ ที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนต่อไปเป็น H_2O_2 และเกิดเป็น hypochlorite (HOCl) ในที่สุด

2. ปัจจัยภายนอกร่างกาย (Exogenous Sources) [3]

ปัจจัยแวดล้อมนั้นมีส่วนอย่างมากในการกระตุ้นให้เกิด ROS โดยเฉพาะอย่างยิ่งรังสีต่างๆ เช่น UV, X-ray, Gamma ray โดยรังสีเหล่านี้จะกระตุ้นให้น้ำเปลี่ยนไปเป็น hydroxyl radical อย่างง่ายดาย หรือแม้แต่มลภาวะทางเคมีเช่น paraquat ที่กระตุ้นให้เกิด peroxide หรือ ozone สารจำพวก quinones และ nitroaromatics ก็สารที่ทำให้เกิด superoxide ได้ นอกจากนี้ยังมีโลหะหนักซึ่งเมื่อได้รับไปมากๆ ก็จะเสี่ยงต่อการเกิด Fenton reaction ได้ สารต่างๆเหล่านี้มักจะก่อให้เกิดมะเร็ง และโรคที่เกี่ยวกับการเสื่อมของอวัยวะต่างๆ อย่างไรก็ตามก็ยังมียาต้านมะเร็งที่ใช้ความสามารถของสารในการสร้าง ROS ขึ้นเพื่อฆ่าเซลล์มะเร็งเช่น cisplatin และ adriamycin

Antioxidant Enzyme [4]

เป็นที่ทราบกันว่า ROS ที่เกิดขึ้นนั้นจะถูกเปลี่ยนให้กลายเป็นน้ำโดยผ่านเอนไซม์ภายในร่างกาย เอนไซม์ที่ใช้เพื่อการกำจัด ROS ที่เกิดขึ้นเรียกรวมว่า antioxidant enzymes ประกอบไปด้วยเอนไซม์หลักที่สำคัญได้แก่ superoxide dismutases (SODs), catalases และ glutathione peroxidases ซึ่งแต่ละเอนไซม์มีโมเลกุลเป้าหมายที่ต่างกันไป (รูปที่ 4)



รูปที่ 4การทำงานของ antioxidant enzyme [4]

1. Superoxide dismutases (SODs) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของ superoxide ให้เปลี่ยนเป็น H_2O_2 ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะพบในเซลล์ทุกเซลล์และพบใน extracellular fluid SODs นั้นจะมี cofactor เป็นโลหะหนักซึ่งได้แก่ Cu, Zn และ Mn ในมนุษย์ Cu/Zn-SODs จะพบใน cytoplasm ส่วน Mn-SODs จะพบใน mitochondria จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ของ SODs ยังคงเป็น ROS ซึ่งในสภาวะปกติจะมีเอนไซม์ catalases และ peroxidases เข้ามาเปลี่ยนโมเลกุลของ H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำและ O_2 ต่อไป อย่างไรก็ตามหากร่างกายเกิดภาวะขาดเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดข้างต้นจะทำให้เกิดภาวะ oxidative stress และเสี่ยงต่อการเกิด Fenton reaction ซึ่งจะเปลี่ยน H_2O_2 ให้กลายเป็น hydroxyl radical ซึ่งเป็น oxidizing agent ที่รุนแรงได้ (รูปที่ 5) [3,5]

$$Fe^{3+} + O_2^{\bullet -} \longrightarrow Fe^{2+} + O_2$$
$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + HO^{\bullet} + OH^-$$

รูปที่ 5แสดงการเกิด Fenton reaction ของโลหะหนัก

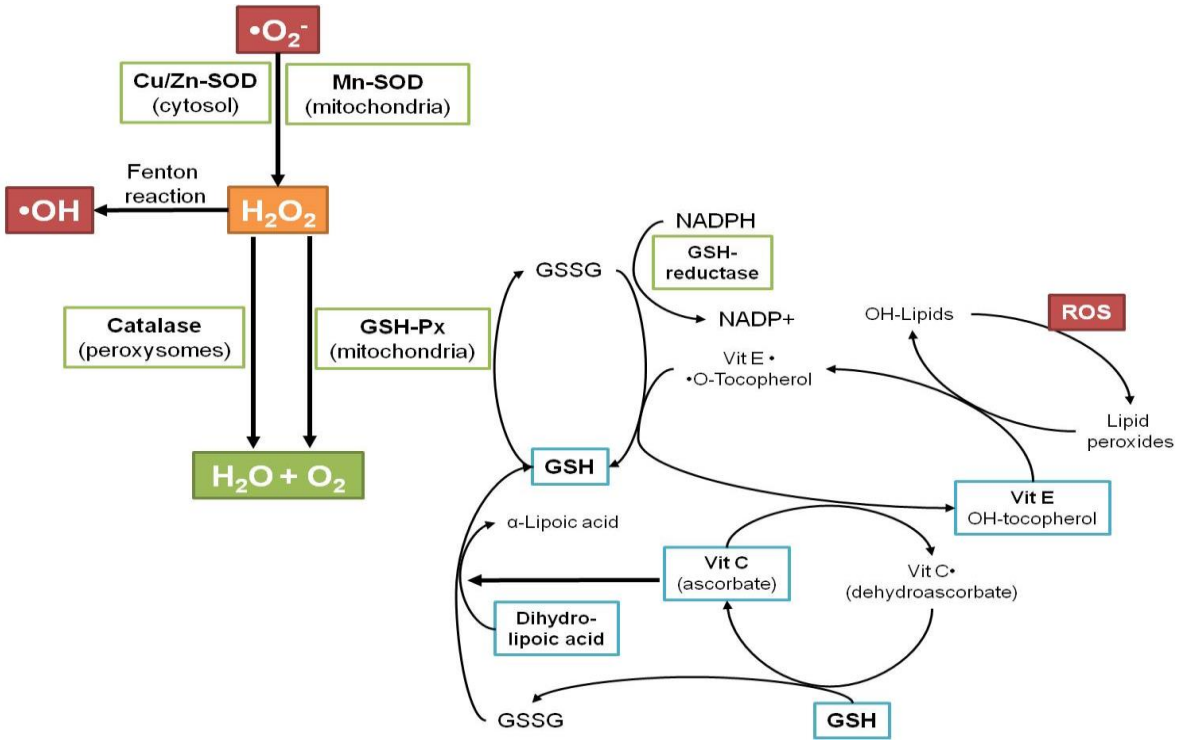
2. Catalases เป็นเอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของ H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำและ O_2 โดยใช้ substrate เป็น H_2O_2 จำนวน 2 โมเลกุล เอนไซม์ชนิดนี้มี Mn หรือ Fe เป็น cofactor ซึ่งจะพบเอนไซม์ชนิดนี้ได้ใน eukaryotic cell ทั่วไป [3]

3. glutathione peroxidases ซึ่งจะช่วยเร่งปฏิกิริยา reduction ของ hydrogen peroxide ซึ่งจะเปลี่ยน H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำ [3]

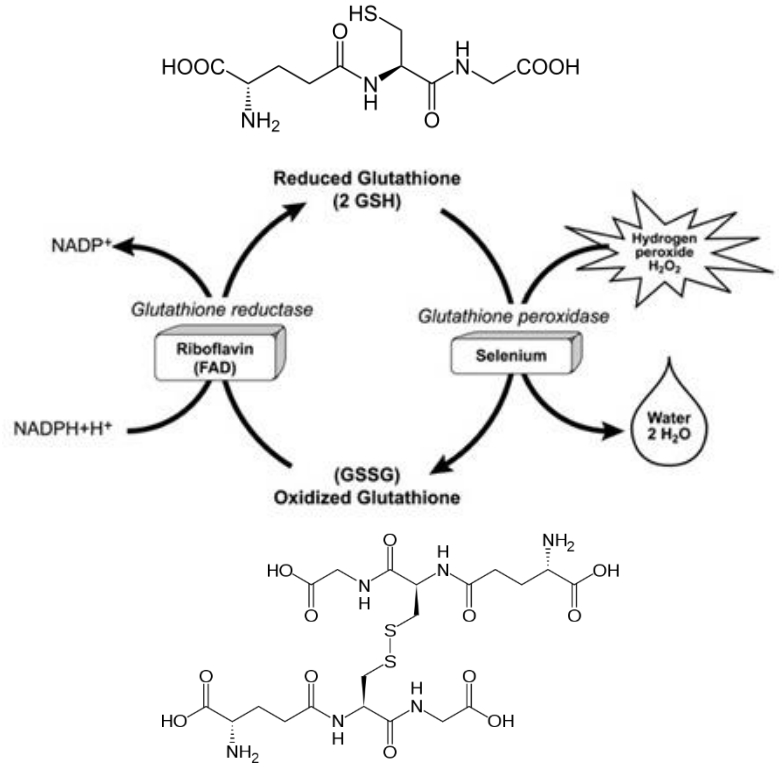
Antioxidant network [1,4,5]

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในแต่ละส่วนของเซลล์จะมีสารต้านอนุมูลอิสระที่เข้ามาจัดการที่แตกต่างกันตามสภาวะที่อยู่ เช่น หากอนุมูลอิสระนั้นเกิดที่ชั้น lipid bilayer ของเยื่อหุ้มเซลล์ vitamin E จะเข้ามามีบทบาทในการรับ free radical เหล่านั้น แต่ถ้าหากเกิดขึ้นใน cytoplasm vitamin C ซึ่งละลายในน้ำได้ดีก็จะเข้ามามีบทบาทแทน หากคิดตามทฤษฎีการเกิด ROS ในร่างกายแล้ว ในทุกๆวันจะต้องมี ROS เกิดขึ้นประมาณ 1 mol หากสมมติว่า vitamin E เป็น antioxidant เพียงอย่างเดียวที่ใช้ในการกำจัด ROS เราจำเป็นต้องได้รับ vitamin E ถึง 431 กรัมต่อวันซึ่งเป็นไปไม่ได้ที่จะได้รับ vitamin E ที่สูงขนาดนั้นในการรับประทานอาหารตามปกติ แสดงให้เห็นว่าร่างกายมีกลไกจำนวนมากในการรับมือกับ ROS ที่เกิดขึ้น และส่งผ่าน free radical ต่อๆกันไป โดยทำงานกันอย่างเป็นระบบ เรียกว่า antioxidant network เมื่อสารต้านอนุมูลอิสระได้รับหรือให้ electron แก่อนุมูลอิสระไป ตัวสารนั้นก็จะกลายเป็น pro-oxidant โดยสามารถอธิบาย antioxidant network ภายในร่างกายได้ดังนี้ เมื่อเกิด lipid peroxidation ที่เยื่อหุ้มเซลล์ อนุมูลอิสระเกิดขึ้นที่บริเวณ lipid bilayer จะมี vitamin E (α-tocopherol) มารับไปเกิดเป็น vitamin E radical ซึ่ง vitamin C (ascorbic acid) จะมารับ free radical ต่อและเปลี่ยนให้กลับมาเป็น vitamin E ปกติจากนั้น reduced glutathione (GSH) จะมารับ free radical จาก vitamin C radical (dehydroascorbic acid) และ coupling กับ GSH อีกโมเลกุล เกิดเป็น oxidized glutathione (GSSG) ก็จะเป็นการกำจัด free radical ออกไปได้เพื่อที่จะนำเอา glutathione กลับมาใช้อีกครั้ง ในร่างกายจะมี GSH reductase ที่ทำงานควบคู่กับ riboflavin เพื่อจะเปลี่ยน GSSG ให้กลับมาอยู่ในรูป GSH และพร้อมที่จะจับกับอนุมูลอิสระต่อไปนอกจากนี้

vitamin C และ dihydrolipoic acid ก็ยังช่วยในกระบวนการเปลี่ยน GSSG ให้กลับมาอยู่ในรูป GSH เช่นกัน (รูปที่ 6 และ 7)



รูปที่ 6 แสดง antioxidant network ภายในร่างกาย [4]



รูปที่ 7 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของ glutathione ในร่างกาย [5]

สารต้านอนุมูลอิสระ [6]

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยา oxidation ด้วยเหตุที่ ROS เกิดขึ้นมาจากกระบวนการต่างๆในการดำรงชีวิต ดังนั้นร่างกายจึงต้องสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาเพื่อกำจัดและลดความรุนแรงของ ROS ที่เกิดขึ้นด้วย เช่น co-enzyme Q10 alpha-lipoic acid เป็นต้น โดยปกติแล้วการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีอย่างเพียงพอต่อการเกิดอนุมูลอิสระขึ้นภายในร่างกาย แต่หากมีสภาวะผิดปกติในร่างกาย เช่นความเครียด การนอนดึกติดต่อกันนานๆ การรับประทานยาที่มีผลลด antioxidant enzyme หรือสภาวะโรคต่างๆ ก็อาจจะทำให้การสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจนเสียสมดุลระหว่าง antioxidant และ อนุมูลอิสระเกิดเป็นภาวะ oxidative stress อนุมูลอิสระที่ไม่ได้ถูกกำจัดจะไปทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อทำให้เป็นต้นเหตุของการเกิดโรคต่างๆได้ เช่น เป็นต้นเหตุของภาวะหลอดเลือดอุดตัน มะเร็ง Parkinson รวมถึงอาการอักเสบต่างๆ จะเห็นได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีความสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคและความเสื่อมของร่างกายเป็นอย่างมาก นอกจากการไปจับกับอนุมูลอิสระแล้วสารต้านอนุมูลอิสระควรจะต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้ร่วมด้วย

1. ป้องกันการเกิดขึ้นของ ROS ได้
2. สามารถจับกับ ROS ที่เกิดขึ้นก่อนที่ ROS นั้นจะไปทำอันตรายเนื้อเยื่อต่างๆ
3. ต้องไม่เพิ่มความแรงของอนุมูลอิสระหรือไม่เปลี่ยน ROS ที่มีความแรงต่ำไปเป็น ROS ที่มีความแรงสูงเช่นไม่เปลี่ยนจาก super oxide ไปเป็น hydroxyl radical เป็นต้น
4. ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของ antioxidant enzyme หรือสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ
5. เพิ่มการแสดงออกของยีนที่ใช้สร้าง antioxidant enzyme และช่วยในการฟื้นฟูความเสียหายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อจากการถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ

เราสามารถแบ่งสารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกายได้เป็น 4 ประเภทดังนี้

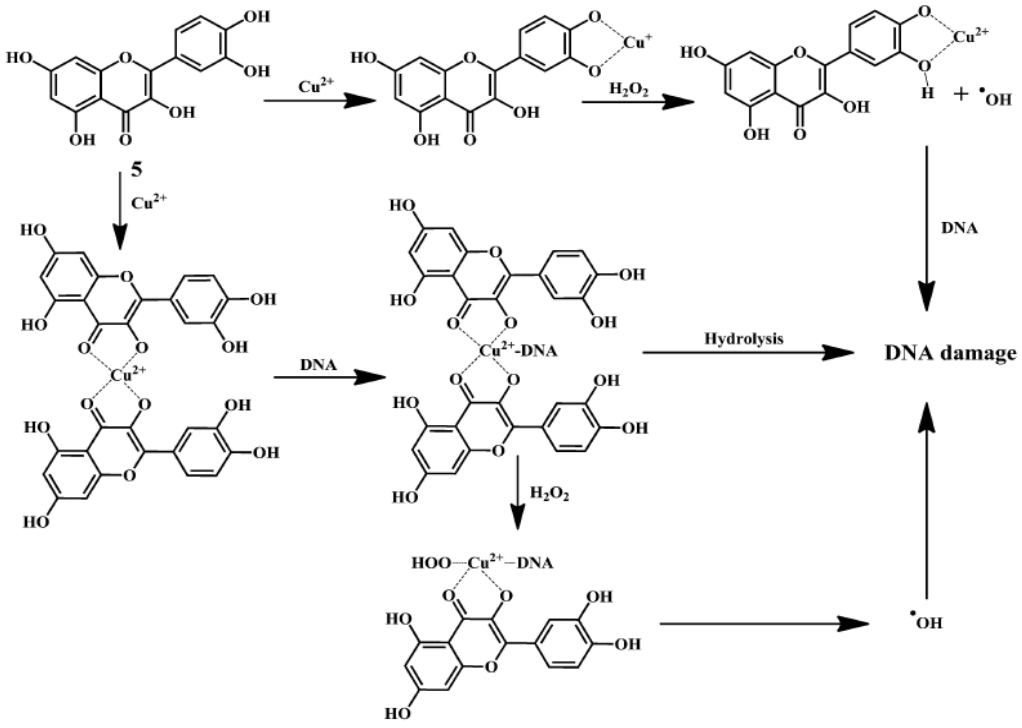
1. Intracellular antioxidants (antioxidant enzyme) ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆที่ใช้ในการต้านอนุมูลอิสระเช่น catalase glutathione peroxidase superoxide dismutase
2. Extracellular antioxidants ได้แก่ Vitamin C สารที่มีกลุ่ม sulfhydryl groups
3. Membrane antioxidants ได้แก่ Carotenoids Ubiquinone Vitamin E
4. สารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์เอนไซม์ที่ใช้ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ Copper Manganese Selenium Zinc

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีขายในปัจจุบันนี้กว่าร้อยละ 90 จัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ส่วนการนำไปใช้เพื่อหวังผลด้านสุขภาพนั้นขึ้นกับการศึกษาทั้งทางด้าน *in vitro, in vivo* และ clinical research โดยทั่วไปแล้วผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมักจะมีประโยชน์กับระบบต่างๆ เช่น ระบบหัวใจและหลอดเลือดช่วยในการมองเห็นเสริมสุขภาพความงามของผิวและผมเพื่อป้องกันโรคมะเร็ง และโรคจากความเสื่อมของระบบต่างๆ สารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในอาหารและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติส่วนใหญ่ เช่น vitamin E และ vitamin C สารในกลุ่ม flavonoids สารกลุ่ม carotenoids และสารกลุ่ม phenolics โดยลักษณะสำคัญของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ที่มีร่วมกันก็คือ การมี conjugated double bond

อยู่ในโครงสร้าง เพราะเมื่อสารเหล่านี้รับหรือสูญเสีย electron ไป free radical ที่เกิดขึ้นจะ delocalized ภายในโครงสร้างได้และทำให้โมเลกุลมีความเสถียรกว่าสารที่ไม่มี conjugated double bond ดังนั้นความรุนแรงของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมาใหม่ก็จะลดลง

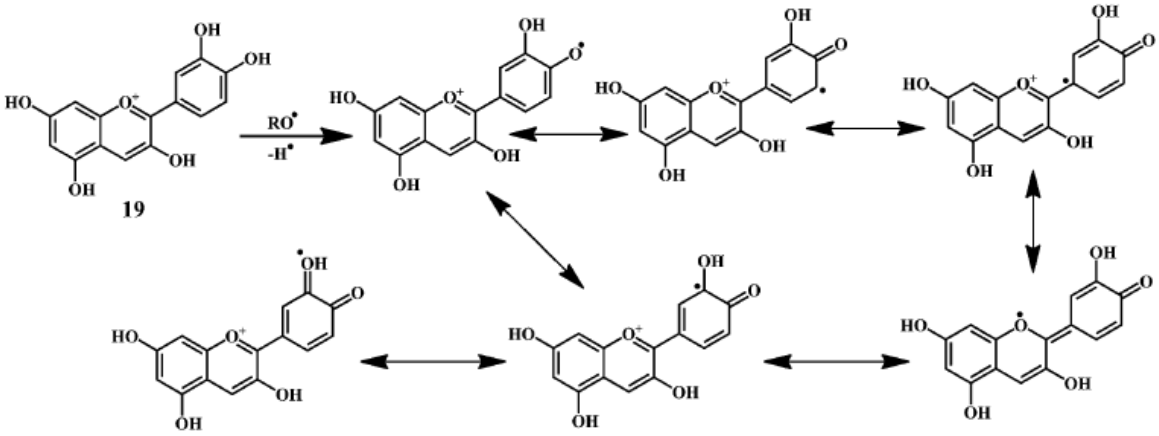
Flavonoid [3,6] เป็นสารที่มีการรายงานถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจำนวนมาก โดยเฉพาะการเป็น freeradical scavenger สารในกลุ่มนี้มักพบในผัก และผลไม้ มีรายงานถึงความสามารถในการปกป้อง DNA จาก hydroxyl radical ได้ นอกจากจะเป็น free radical scavenger แล้วสารกลุ่ม flavonoid ยังมีกลไกที่สำคัญอีกอย่างก็คือการจับกับโลหะหนักโดยเฉพาะ Fe และ Cu ซึ่งจะช่วยป้องกันการเกิด fenton reaction ซึ่งจะก่อให้เกิด hydroxyl radical อีกด้วย อย่างไรก็ตามสารในกลุ่มนี้ยังเคยมีรายงานว่าเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งได้เช่นกัน เนื่องจาก complex ระหว่าง flavonoid กับโลหะหนัก quercetin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม flavonoid ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากในสภาวะที่ร่างกายมี Cu^{2+} ในความเข้มข้นต่ำ (น้อยกว่า 25 mM) แต่หากอยู่ในสภาวะที่มี Cu^{2+}มากกว่า 25 mM quercetin จะไปมีผลทำลาย DNA เสียเอง ทั้งนี้เกิดจากการเกิดเป็น complex ของสารกับโลหะหนักซึ่งจะไปจับกับ DNA และเมื่อเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ขึ้นก็จะทำให้ DNA ได้รับความเสียหาย (รูปที่ 8) ดังนั้นจึงควรระวังการใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเหล่านี้ร่วมกับผลิตภัณฑ์วิตามินที่มีการเสริมธาตุเหล็กและทองแดงเข้าไปในปริมาณสูง หรือผู้ป่วยที่มีภาวะความผิดปกติของธาตุเหล่านี้ด้วยเช่นผู้ป่วย Wilson's disease และผู้ที่มีภาวะ hemochromatosis หมู่ function ที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่ม flavonoid มี 3 ตำแหน่งดังนี้

1. ตำแหน่ง ortho-dihydroxy ของ ring B
2. conjugated double bond ที่ติดต่อกันภายในโครงสร้าง
3. ตำแหน่ง 4-oxofunction (carbonyl group) ใน ring C



รูปที่ 8 การจับกับโลหะหนักของ quercetin ที่อาจทำให้เกิดอันตรายต่อ DNA ได้ [6]

โดยเมื่อสารในกลุ่มนี้รับอนุมูลอิสระเข้ามาในโมเลกุล อนุมูลอิสระจะเข้าไปอยู่ในวิถี resonance และทำให้โมเลกุลดังกล่าวเสถียรขึ้นและลดความรุนแรงของอนุมูลอิสระลง (รูปที่ 9)

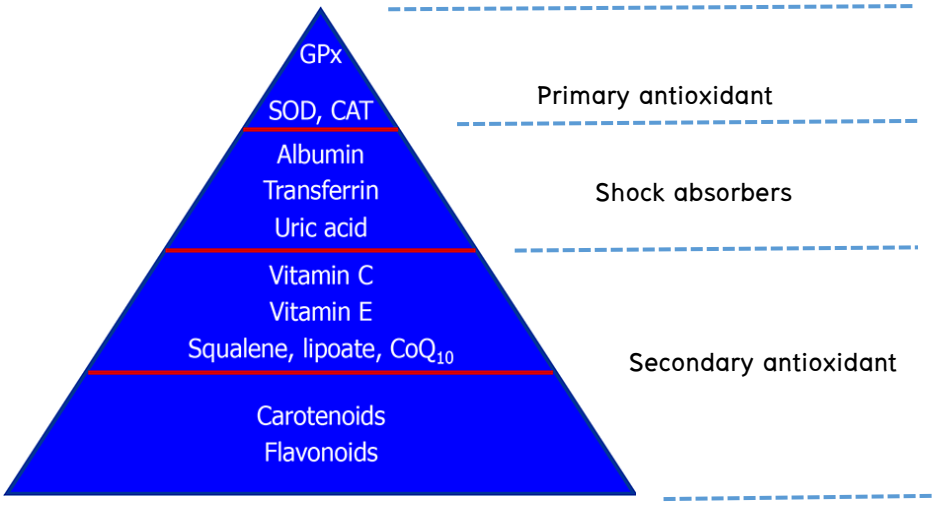


รูปที่ 9 การเกิด resonance ของอนุมูลอิสระในโมเลกุลของ cyanidin [3]

Carotenoids เป็นรงควัตถุที่ละลายได้ดีในน้ำมัน พบได้ในผักและผลไม้ที่มีสีสัน เช่น แครอท มะเขือเทศ เป็นต้น สารในกลุ่ม carotenoids ที่พบในธรรมชาติมีอยู่กว่า 600 ชนิด โดย carotenoid ที่พบมากได้แก่ lycopene และ β-carotene ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี สารในกลุ่มนี้มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระประเภท peroxyl radical ได้ดีกว่า ROS ชนิดอื่น เพราะสามารถละลายในน้ำมันได้ดี ซึ่ง peroxyl radical นั้นเกิดจากกระบวนการ lipid peroxidation ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ดังนั้น carotenoids จึงมีส่วนสำคัญในการปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์ สาร lipoprotein จากการทำลายของ ROS เมื่อ carotenoid จับกับอนุมูลอิสระแล้วจะสามารถ delocalized อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ผ่านทาง conjugated double bond สายยาวและทำให้โมเลกุลนั้นมีความเสถียรขึ้น สารในกลุ่ม carotenoid นั้นมักจะนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และสายตา ทั้งในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอาง [7]

การแบ่งประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ [1]

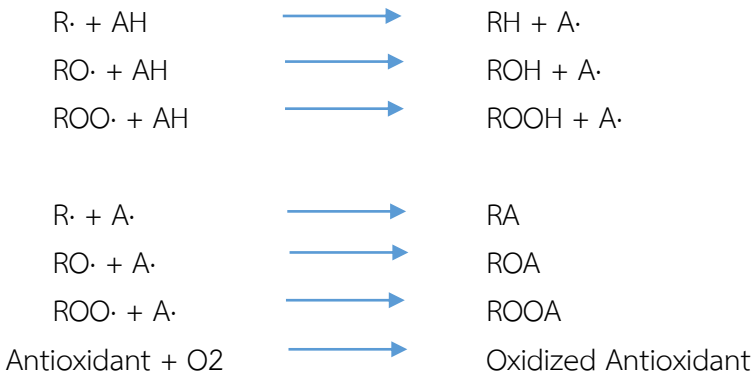
สารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดจะมีความแรงที่แตกต่างกัน โดยเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในหลอดทดลองแล้วพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความแรงสูงที่สุดคือสารในกลุ่ม endogenous antioxidant ซึ่งนอกจากจะมี potency สูงแล้วยังสามารถนำไปใช้เพื่อการเปลี่ยนแปลงสารให้เป็นไปตามที่ร่างกายต้องการได้อีกด้วย เช่น catalases glutathione peroxidases หรือเรียกอีกอย่างว่า primary antioxidant สารต้านอนุมูลอิสระอีกประเภทหนึ่งที่ถือเป็น shock absorbersมีความแรงรองลงมาจาก endogenous antioxidants โดยสารเหล่านี้จะพบได้ในเนื้อเยื่อต่างๆ เช่น albumin transferrin เป็นต้น อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ไม่สามารถสร้างขึ้นได้หากในร่างกายเกิดภาวะ oxidative stress ไปแล้ว กลุ่มต่อมาจัดเป็นสารในกลุ่ม vitamin กรดอะมิโนบางชนิด และ co-enzyme Q10 และกลุ่มสุดท้ายซึ่งมีมากที่สุดประกอบไปด้วยสารทุติยภูมิที่มีรายงานการต้านอนุมูลอิสระเช่น flavonoids, polyphenols และ carotenoids เป็นต้น โดย 2 กลุ่มสุดท้ายจะเรียกว่า secondary antioxidant ดังแสดงในรูปที่ 10



รูปที่ 10 แสดงการจัดลำดับชั้นของสารต้านอนุมูลอิสระตามลำดับความแรงของสาร [1]

กลไกการต้านอนุมูลอิสระ [7]

1. Free radical scavenging สารต้านอนุมูลอิสระจะให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระและทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้น เมื่อสารต้านอนุมูลอิสระได้ให้ ไฮโดรเจนหรืออิเล็คตรอนไปแล้วก็จะเกิดเป็นอนุมูลอิตัวใหม่ซึ่งมีความรุนแรงน้อยกว่าอนุมูลอิสระเดิม อาจจะไปรวมตัวกันกับอนุมูลอิสระอีกโมเลกุลหนึ่งเกิดผลิตภัณฑ์ที่เสถียร หรือมีสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆมาให้อิเล็คตรอนหรือไฮโดรเจนเพื่อเกิดผลิตภัณฑ์ที่เสถียรต่อไปดังแสดงในรูปที่ 11 สารที่มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านกลไกนี้เช่น Butylated hydroxyl anisole(BHA), Vitamin E (alpha-tocopherol) เป็นต้น



รูปที่ 11 กลไกการต้านอนุมูลอิสระแบบ Free radical scavenging [7]

2. Singlet oxygen quenching ($^1O_2$) ออกฤทธิ์โดยไปยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen โดยการเปลี่ยน Singlet oxygen ($^1O_2$) ให้ไปอยู่ในรูป triplet oxygen ($^3O_2$) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน สารที่ออกฤทธิ์ผ่านกลไกนี้เช่น carotenoids โดย carotenoids 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับ singlet oxygen ได้ 1,000 โมเลกุล

3. Metal chelating โลหะหนักเช่น Fe^{2+}/Fe^{3+} และ Cu^{2+} มีผลเร่งให้เกิดปฏิกิริยา oxidation ในร่างกายซึ่งโลหะหนักดังกล่าวจะไปเร่งการเกิดอนุมูลอิสระหลายประเภทเช่น peroxyl radical, hydroxyl radical และ alkyl radical รวมถึง singlet oxygen ดังนั้นการที่มีสารไปจับกับโลหะหนักเหล่านี้จะช่วยชะลอการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายได้ สารที่ออกฤทธิ์ผ่านกลไกนี้ได้แก่ flavonoids, phosphoric acid, citric acid และ ascorbic acid เป็นต้น

4. ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibitor) สารประกอบ phenolics บางชนิด เช่น flavonoids phenolic acid และ gallates สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ lipoxygenase โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็น cofactor ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้

เอกสารอ้างอิง

1.Cornelli U. Antioxidant Use in Nutraceuticals. Clinics in Dermatology. 2009;27(2):175-94.

2.Lockwood B. Nutraceuticals: A Guide for Healthcare Professionals. Second ed. London: Pharmaceutical Press; 2007.

3.Nimse SB, Pal D. Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. RSC Advances. 2015;5(35):27986-8006.

4.Li H, Horke S, Förstermann U. Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention. Trends in Pharmacological Sciences. 2013;34(6):313-9.

5.Choe E, Min DB. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2009;8(4):345-58.

6.Mason P. Dietary Supplements. Fourth ed. London: Pharmaceutical Press; 2011.

7.Silvia V, Angela A, Stefano M. The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. Current Pharmaceutical Design. 2004;10(14):1677-94.