
การยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 ที่ย่อยสลายนิโคตินในคน: ทางเลือกใหม่ในการลดการสูบบุหรี่

Inhibition of the Human CYP2A6, the Nicotine-Metabolizing Enzyme: An Alternative Smoking Cessation Strategy

ทรงกลด สารภูษิต*

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Songklod Sarapusit*

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University.

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันปัญหาโรกระบบทางเดินหายใจ อันเนื่องมาจากการสูบบุหรี่ นับเป็นหนึ่งในปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนและด้านเศรษฐกิจของประเทศ จึงมีการศึกษาวิจัยเพื่อช่วยในการลด ละ เลิกการสูบบุหรี่ เพื่อป้องกันไม่ให้ผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิด ได้รับสารพิษและสารก่อมะเร็งจากบุหรี่ ซึ่งจะลดภาวะการเกิดโรคและเพิ่มคุณภาพชีวิตของประชาชน จากการศึกษาพบว่า สารนิโคตินในบุหรี่ที่ออกฤทธิ์ทำให้ผู้สูบบุหรี่มีพฤติกรรมติดการสูบบุหรี่ และส่งผลให้ได้รับสารพิษที่ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจต่างๆ นั้น จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ CYP2A6 ในตับก่อนที่จะถูกย่อยสลายต่อไปจนถูกกำจัดออกจากร่างกายทางปัสสาวะ และบางส่วนของผู้สูบบุหรี่ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ลดน้อยลง มีแนวโน้มที่จะสูบบุหรี่น้อยและเลิกสูบบุหรี่ได้ง่ายกว่าผู้สูบบุหรี่ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติ ดังนั้นการบำบัดรักษาอาการเสพติดบุหรี่ร่วมกับการลดการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ด้วยตัวยับยั้งจำเพาะที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย จะช่วยรักษาระดับนิโคตินในกระแสเลือด ซึ่งอาจส่งผลให้ผู้สูบบุหรี่ลดลงและลดโอกาสที่ร่างกายจะได้สัมผัสกับสารประกอบเป็นพิษในบุหรี่ จึงช่วยลดผลร้ายต่างๆ ที่จะเกิดขึ้นกับร่างกายในตัวผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิดได้อย่างปลอดภัย

คำสำคัญ : การสูบบุหรี่ นิโคติน เอนไซม์ไซโตโครม พี450 CYP2A6 ตัวยับยั้ง

*E-mail: songklod@buu.ac.th

Cigarette smoking has enormous deleterious effects on healthcare and economic consequence and is the leading cause of various tobacco-specific respiratory diseases and premature death in the nation. Therefore, smoking cessation via experimental-based studies is crucially important for smoking control programs. Nicotine in cigarette is not a direct cause of most tobacco-related diseases, but the addictiveness of nicotine is the cause of the continuing use of tobacco products thus continued exposing to deleterious bioactive and carcinogenic compounds contained in cigarettes. Cigarette-derived nicotine is mainly metabolized by the liver specific cytochrome P450 2A6, CYP2A6, enzyme to nontoxic compounds before excretion from the body. In addition, some of deficient CYP2A6 allele smokers that drastically decrease in CYP2A6 activity tended to smoke few cigarettes per day and are low-risk of nicotine dependence compared to normal allele smokers. Thus, co-medication of smoking cessation therapy with specific CYP2A6 inhibitor could possibly aid in blood-nicotine level maintenance and reduce number of cigarette smoke, diminish chemical compounds exposure and health effect from cigarette smoke in both smokers and passive smokers.

Keyword : Cigarette smoking, Nicotine, Human cytochrome P450, CYP2A6, inhibitors

บทนำ

โรคระบบทางเดินหายใจอันเนื่องมาจากการสูบบุหรี่เป็นหนึ่งในปัญหาสำคัญในหลายประเทศทั่วโลกรวมถึงประเทศไทย โดยในปี 2549 พบว่าโรคระบบทางเดินหายใจจากการสูบบุหรี่ทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจถึง 9.86 ล้านบาท (Leartsakulpanich *et al.*, 2007) และผลการสำรวจล่าสุดในปี พ.ศ. 2552 พบว่ามีคนไทยสูบบุหรี่ถึง 10.90 ล้านคนหรือร้อยละ 20.70 ของประชากรที่อายุมากกว่า 15 ปีทั้งประเทศ 52.7 ล้านคน โดยผู้สูบบุหรี่ส่วนใหญ่ร้อยละ 23.04 อยู่ในวัยทำงาน (อายุ 25-59 ปี) แยกเป็นชาย 10.40 ล้านคน และหญิง 0.54 ล้านคน นอกจากนี้ อัตราการสูบบุหรี่ยังเพิ่มขึ้นในกลุ่มเยาวชน กลุ่มผู้ด้อยโอกาส ผู้มีการศึกษาน้อย อยู่ในชนบท ยากจนและผู้มีฐานะในระดับปานกลางทั่วไป นอกจากนี้ผู้สูบบุหรี่เหล่านี้ร้อยละ 58.95 หรือ 6.39 ล้านคน สูบบุหรี่ขณะอยู่ในบ้านที่บุคคลในครอบครัวอาศัยอยู่เป็นประจำ รวมถึงสตรีมีครรภ์ราว 17,059 คน ที่สูบบุหรี่ในระหว่างตั้งครรภ์และในจำนวนนี้ร้อยละ 84.78 สูบบุหรี่ระหว่างให้นมบุตร ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของทารกตั้งแต่อยู่ในครรภ์มารดา จนเติบโตเป็นผู้ใหญ่ และยังเป็นการปลูกฝังพฤติกรรมกรรมการสูบบุหรี่ให้แก่เด็กและเยาวชนอีกด้วย และจากการสำรวจพบว่าผู้เลิกสูบบุหรี่ทั้งสิ้นร้อยละ 30.4 หรือ 4.7 ล้านคน จากประชากรที่เคยสูบบุหรี่ทั้งหมด 15.6 ล้านคน (ปัจจุบันยังสูบบุหรี่อยู่ 10.9 ล้านคน) โดยมี 1.77 ล้านคน ที่พยายามเลิกบุหรี่แต่ไม่ประสบความสำเร็จ ทั้งนี้เพราะเกิดการหงุดหงิด/ฉุนเฉียว/โกรธง่ายร้อยละ 38.61 และเพราะความเครียดร้อยละ 27.42 โดยเฉลี่ยผู้สูบบุหรี่จะเลิกบุหรี่ได้ 11.44 เดือนก่อนกลับมาสูบบุหรี่ซ้ำอีกครั้ง โดยที่แม่เลิกบุหรี่ไปแล้วถึง 20 ปีก็สามารถกลับมาสูบบุหรี่ได้อีก แสดงให้เห็นว่าการเลิกสูบบุหรี่นั้นทำได้ยาก (ครันยา และคณะ 2551, ศิริวรรณ และคณะ 2552)

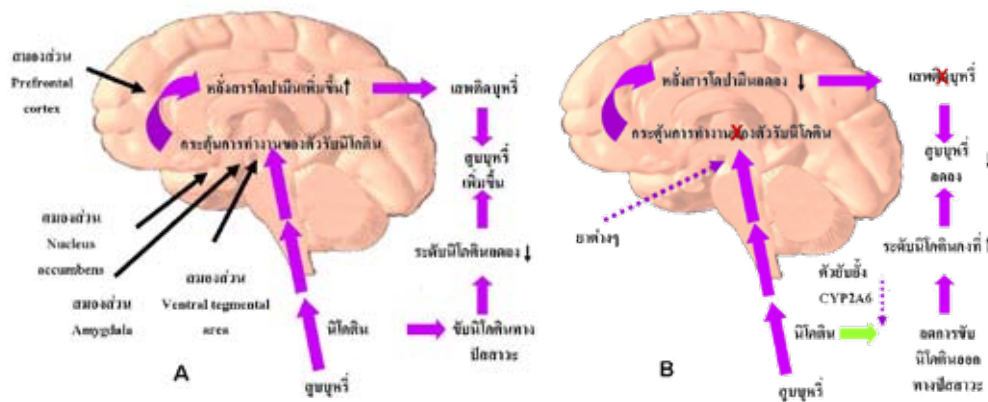
จากการศึกษาถึงสารเคมีต่างๆ ในบุหรี่พบว่า บุหรี่ประกอบด้วยสารประกอบต่างๆ มากมายกว่า 4,000 ชนิด โดยที่มากกว่า 40 ชนิด เป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิด (Passive smokers) จึงมีอัตราเสี่ยงเป็นโรคมะเร็งปอดและโรคทางเดินหายใจอื่นๆ เช่น โรคถุงลมโป่งพองมากกว่าคนทั่วไป รวมถึงเป็นกลุ่มเสี่ยงที่จะมีอาการของโรคหัวใจขาดเลือด โรคหัวใจวาย และโรคที่เกี่ยวข้องต่างๆ อีกด้วย (WHO, 2008)

นิโคติน กลไกการเสพติดบุหรี่ และการรักษาการเสพติดบุหรี่ในปัจจุบัน

อุบัติการณ์การเกิดโรคต่างๆ จากการสูบบุหรี่เกิดขึ้น

เนื่องจากสารนิโคติน (Nicotine) ที่เข้าสู่ร่างกายผ่านการสูดควันบุหรี่ โดยนิโคตินประมาณ 1.8-3.25 มิลลิกรัมต่อมวน (จากที่มีประมาณ 9-13 มิลลิกรัมต่อมวน) จะถูกดูดซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ทางเดินหายใจและทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือดไปออกฤทธิ์กระตุ้นระบบตอบสนองต่อความยินดี (Brain reward system) ซึ่งเป็นบริเวณของสมองส่วนกลางที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเกิดความรู้สึกพึงพอใจและมีความสุข โดยการจับของนิโคตินกับตัวรับนิโคติน (Nicotinic Acetylcholine Receptor, NAR) ที่บริเวณปลายประสาทของสมองส่วน Ventral Tegmental Area (VTA) จะทำให้มีการหลั่งสารโดปามีน (Dopamine) ออกมาเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 1A) ผู้สูบบุหรี่จึงมีอาการเป็นสุข ลดความเครียดต่างๆ และเกิดอาการติดการสูบบุหรี่ (เสพติดบุหรี่) นอกจากนี้นิโคตินยังมีผลเพิ่มการหลั่งของสารสื่อประสาทอื่นๆ เช่น Acetylcholine และ Norepinephrine เช่นเดียวกับสารเสพติด เช่น เฮโรอีนและโคเคน ผู้สูบบุหรี่จึงตื่นตัว สดชื่นและมีสมาธิขึ้นด้วยเหตุนี้ผู้สูบบุหรี่จึงเป็นผู้ที่เสพติดนิโคติน เพื่อคงระดับนิโคตินในเลือดทำให้นิโคตินไปออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลางที่ระบบตอบสนองต่อความยินดี ดังนั้นเมื่อผู้เสพติดบุหรี่เลิกสูบบุหรี่จะทำให้มีความรู้สึกในเชิงลบ (อาการถอนนิโคติน) เช่น อารมณ์ไม่ดี หงุดหงิด เนื่องจากไม่ได้รับนิโคตินจากบุหรี่เข้าไปกระตุ้นระบบตอบสนองต่อความยินดีในสมองให้มีการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนเพิ่มขึ้น ทำให้กลับมาสูบบุหรี่อีก เพื่อคงความรู้สึกในเชิงบวกเหมือนเดิม (Hukkanen *et al.*, 2005)

เนื่องด้วยการเสพติดบุหรี่จากนิโคตินเป็นสิ่งที่จำเป็นต้องได้รับการรักษา ปัจจุบันจึงมีวิธีต่างๆ เพื่อช่วยในการบำบัดและช่วยให้ผู้เสพติดบุหรี่เลิกจากการสูบบุหรี่ โดยใช้วิธีการรักษาที่ลดการย่อยสลายนิโคติน (ภาพที่ 1B) เพื่อคงระดับของนิโคตินในเลือด ทำให้นิโคตินจับกับตัวรับนิโคตินที่สมองได้นานขึ้น ส่งผลให้ลดการสูบบุหรี่และลดอัตราการได้รับสารพิษต่างๆ จากบุหรี่ลง (Carrozzi *et al.*, 2008) ทั้งการใช้นิโคตินทดแทนในรูปของนิโคตินหมากฝรั่งชนิดเคี้ยวและนิโคตินชนิดแผ่นติดผิวหนัง (Nicotine Replacement Therapy, NRT) ร่วมกับการบำบัดพฤติกรรมของผู้เสพติดบุหรี่ แต่วิธีนี้ไม่ได้รับความนิยมเนื่องจากความไม่สะดวกในการใช้ เห็นผลช้าและมีผลข้างเคียง (Sellers *et al.*, 2003) เช่นเดียวกับการรักษาด้วยยาที่ไปลดการจับของนิโคตินกับตัวรับนิโคตินที่สมองทำให้ลดการเสพติดนิโคตินลง ทั้งในกลุ่มยาที่เลือกใช้ก่อน (First-line drug) เช่นยา Bupropion HCl และ Varenicline และยาในกลุ่มที่เลือกใช้ถัดไป (Second-line drug) เช่นยา Nortriptyline และ Clonidine ที่มีผลข้างเคียงกับผู้ใช้ยา



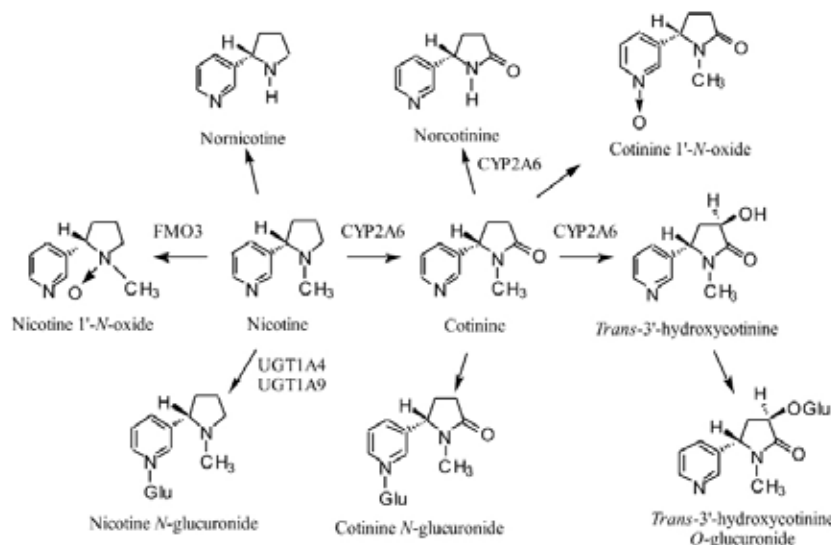
ภาพที่ 1 แผนภาพการออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทของนิโคตินที่สมองและกลไกของยาที่ใช้ในการรักษาการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน (ภาพที่ 1A) นิโคตินที่เข้าสู่สมองจะไปกระตุ้นการหลั่งของโดปามีนในสมอง ทำให้เกิดการเสพติดนิโคติน ส่งผลให้ผู้สูบบุหรี่มีอาการเป็นสุข ลดความเครียดต่างๆ ลงและสูบบุหรี่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 1B) กลไกของยาที่ใช้รักษาการเสพติดบุหรี่ในปัจจุบันที่มีทั้งกลไกในการแย่งจับกับตัวรับนิโคตินในสมอง ทำให้ลดการเสพติดและการใช้ตัวยับยั้งการย่อยสลายนิโคติน เพื่อคงระดับนิโคตินในกระแสเลือดทำให้สูบบุหรี่น้อยลง

ได้แก่การทำให้เกิดอาการนอนไม่หลับ ปากแห้ง มือสั่นและปวดศีรษะ อ่อนเพลีย มึนงง ความดันโลหิตสูง หรือทำให้เกิดอาการอาเจียน และปวดหัว เพราะฤทธิ์ของยาไปมีผลต่อการทำงานของสมองที่เป็นศูนย์กลางการสั่งงานของร่างกาย (Carrozzi *et al.*, 2008)

เอนไซม์ Cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) กับการย่อยสลายนิโคติน

นิโคตินจากการสูบบุหรี่จะเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจและระบบทางเดินอาหาร ผ่านทางการดูดซึมที่เซลล์เยื่อบุจมูกและ

เนื้อเยื่อคอตหลังที่ปาก โดยที่ประมาณร้อยละ 80-90 ของนิโคตินที่เข้าสู่ร่างกายจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) โดยเอนไซม์ CYP2A6 ในตับเกิดเป็นสารประกอบโคทีนิน (Cotinine) ที่จะเกิดปฏิกิริยา hydroxylation และถูกเติมหมู่ น้ำตาล (Glucuronation) อย่างต่อเนื่อง ได้เป็นสารประกอบต่างๆ เช่น *trans*-3'-hydroxycotinine, *trans*-3'-hydroxycotinine O-glucuronide, Cotinine N-glucuronide, Cotinine 1'-N-oxide และ Normicotine (ภาพที่ 2) ที่จะถูกขับออกทางปัสสาวะ (Hukkanen *et al.*, 2005; Yamanaka *et al.*, 2004)



ภาพที่ 2 กลไกในการกำจัดนิโคตินในคนที่เป็นการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ CYP2A6 เอนไซม์ Flavin-containing monooxygenase และ UDP-glucuronosyltransferase 1A4 และ 1A9 (UGT1A4 และ UGT1A9) (ที่มา: Yamanaka *et al.*, 2004)

CYP2A6 เป็นเอนไซม์ในกลุ่มไซโตโครมพี 450 (cytochrome P450; CYP, P450) ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารต่างๆ ทั้งภายในและภายนอกร่างกาย เช่น ฮอร์โมน ยาหรือสารปนเปื้อนในอาหารและสิ่งแวดล้อม ในคนมีเอนไซม์ P450 ถึง 18 กลุ่มใหญ่ (Family) และ 43 กลุ่มย่อย (Sub-Family) (<http://drnelson.utmen.edu/CytochromeP450.html>) โดยเอนไซม์ CYP2A6 จะพบมากที่ตับ (ประมาณร้อยละ 1-10 ของเอนไซม์ P450 ที่ตับทั้งหมด) และส่วนน้อยที่เยื่อทางเดินหายใจ กล่องเสียง ปอดและอวัยวะอื่นๆ (Ortiz de Montellano., 2005) จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ CYP2A6 สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายยารักษาโรคต่างๆ ที่มีในปัจจุบันได้ประมาณร้อยละ 3 ของยาที่มีในท้องตลาด เช่น ยารักษาอาการชัก (Valproic acid หรือ Losigamone) ยารักษาโรคเอดส์ (Efavirenz) ยารักษาโรคเมรัง (Cyclophosphamine) (ในสัดส่วนร้อยละ 5-30, ร้อยละ 20-50 และร้อยละ 20-40 ของยาทั้งหมดที่เข้าสู่ร่างกายตามลำดับ) และมีส่วนช่วยในการย่อยสลายสารในร่างกาย เช่น Retinoic acid, Testosterone และ Estradiol ร่วมกับเอนไซม์ P450 อื่นๆ แต่บทบาทที่สำคัญของเอนไซม์ CYP2A6 คือการเร่งปฏิกิริยาย่อยสลายสารนิโคตินในบุหรี่ (ร้อยละ 80-90 ของนิโคตินทั้งหมดที่เข้าสู่ร่างกาย) (Di et al., 2009; Ortiz de Montellano., 2005) โดยเอนไซม์ CYP2A6 ที่ได้จากตับและเอนไซม์ CYP2A13 ที่ได้จากปอดสามารถย่อยสลายนิโคตินได้ดีด้วยค่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาสูงสุด (V_{max}) ที่สูงและค่าคงที่ Michealis (K_m) ต่อนิโคตินที่ต่ำ แต่บทบาทของเอนไซม์ CYP2A13 ในการย่อยสลายนิโคตินยังไม่ชัดเจน (Patten et al., 1996; Su et al., 2000) จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ P450 อื่นสามารถย่อยสลายนิโคตินได้เช่นกันแต่ไม่ใช่เอนไซม์หลักในการย่อยสลายนิโคติน โดยเอนไซม์เหล่านี้ได้แก่ CYP2B6 ที่พบในสมอง ลำไส้เล็กและไต เอนไซม์ CYP2D6 ที่พบในสมองและเอนไซม์ CYP2E1 ที่พบในปอดและสมอง ดังนั้นการย่อยสลายของนิโคตินที่ตับโดยเอนไซม์ CYP2A6 เป็นกระบวนการหลักของร่างกายในการกำจัดนิโคติน (Di et al., 2009; Hukkanen et al., 2005) นอกเหนือไปจากบทบาทหลักในการย่อยสลายนิโคตินแล้วเอนไซม์ CYP2A6 ยังสามารถกระตุ้นสารก่อมะเร็ง Nitrosamine ในบุหรี่ เช่น Nicotine-derived nitrosamine ketone หรือ NNK [4-(methyl nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone] (Patten et al., 1996) ทำให้เกิดมะเร็งในหนูทดลอง (Hecht., 1998) ดังนั้นการย่อยสลายนิโคตินในร่างกายยังเป็นการเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการก่อโรคมะเร็งด้วย

จากการศึกษาพบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP2A6 ที่ถอดรหัสเป็นเอนไซม์ CYP2A6 ในมนุษย์ (CYP2A6 Polymorphism) ที่มีถึง 37 อัลลีลนั้น (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2a6.htm>; Di et al., 2009; Kamataki et al., 2005) มีบทบาทต่อระดับนิโคตินในเลือดและพฤติกรรมกาสูบบุหรี่ของผู้สูบบุหรี่ โดยสามารถแบ่งเป็นกลุ่มได้ดังนี้ 1) กลุ่มคนที่มีอัลลีลของ CYP2A6 ปกติมากกว่าสองชุด ($CYP2A6^*1X2A$ หรือ $CYP2A6^*1X2B$) ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ดีกว่าปกติมาก (Ultrarapid Metabolizer; UM) 2) กลุ่มคนที่มีอัลลีลของ CYP2A6 ปกติสองชุด ($CYP2A6^*1A^*1A$ หรือ $CYP2A6^*1A^*1B$ หรือ $CYP2A6^*1B^*1B$) ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติ (Extensive Metabolizer; EM) ซึ่งคนในทั้งสองกลุ่มนี้พบว่า จะย่อยสลายนิโคตินได้เร็วและสูบบุหรี่มากกว่าคนปกติ 3) กลุ่มคนที่มีกลุ่มคนที่มีอัลลีลของ CYP2A6 ปกติหนึ่งชุดและอัลลีลอื่นๆ ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ลดลงหนึ่งชุด ($CYP2A6^*1A^*4C$ หรือ $CYP2A6^*1B^*4C$ หรือ $CYP2A6^*1A^*7$ หรือ $CYP2A6^*1A^*8$ หรือ $CYP2A6^*1A^*9$ หรือ $CYP2A6^*1A^*10$ หรือ $CYP2A6^*1B^*7$ หรือ $CYP2A6^*1B^*8$ หรือ $CYP2A6^*1B^*9$ หรือ $CYP2A6^*1B^*10$) ซึ่งจะมีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 น้อยกว่าปกติ (Intermediate Metabolizer; IM) และ 4) กลุ่มคนที่มีกลุ่มคนที่มีอัลลีลของ CYP2A6 อื่นๆ ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ลดลงสองชุดหรือหนึ่งชุดร่วมกับอัลลีล $CYP2A6^*4C$ ที่ยีนของ CYP2A6 หายไป ($CYP2A6^*7^*9$ หรือ $CYP2A6^*7^*10$ หรือ $CYP2A6^*9^*10$ หรือ $CYP2A6^*4C^*9$) หรือมีอัลลีล $CYP2A6^*4C$ ที่ยีนของ CYP2A6 หายไปสองชุด ($CYP2A6^*4C^*4C$) ทำให้มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ต่ำกว่าปกติมากหรือไม่มีเลย (Poor Metabolizer; PM) (Di et al., 2009; Lynch & Price., 2007) โดยคนกลุ่ม PM นี้พบว่าจะย่อยสลายนิโคตินช้า มีอัตราการสูบบุหรี่ต่อวัน ความเสี่ยงในการเสพติดนิโคตินและการเป็นมะเร็งปอดน้อยกว่าผู้สูบบุหรี่ทั่วไป รวมถึงเลิกสูบบุหรี่ได้ง่ายกว่าผู้สูบบุหรี่ที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติหรือดีกว่าปกติ (Miyamoto et al., 1999; Tyndale & Sellers., 2001, 2002)

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP2A6 ในประเทศไทยพบว่าประเทศไทยมีประชากรที่มีการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติ (EM) น้อยกว่าปกติ (IM) และต่ำกว่าปกติมาก (PM) ร้อยละ 45.4 ร้อยละ 47.9 และร้อยละ 6.7 ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาความถี่ในการกระจายตัวของอัลลีลในกลุ่มประชากรพบว่าประชากรไทยมีความถี่ในการกระจายตัวของอัลลีลปกติ ($CYP2A6^*1A$ และ

CYP2A6*1B) รวมกันถึงร้อยละ 69.3 และมีความถี่ในการกระจายตัวของ CYP2A6*4C ที่เป็นการขาดหายไปของยีน CYP2A6 เพียงร้อยละ 9.3 เท่านั้น (Mahavorasirikul *et al.*, 2009; Peamkrasatam *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังพบว่าผู้สูบบุหรี่ร้อยละ 37.5 จะมีอัลลีลที่การทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ปกติ (EM) และคนกลุ่มนี้จะสูบบุหรี่ต่อวันมากกว่ากลุ่มคนที่การทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 น้อย (IM) และต่ำกว่าปกติ (PM) (Apinan *et al.*, 2010; Mahavorasirikul *et al.*, 2009) ด้วยเหตุที่ประชากรส่วนใหญ่ของประชากรไทยเป็นคนที่การทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 แบบปกติ (EM) และน้อยกว่าปกติ (IM) ทำให้ผู้สูบบุหรี่คนไทยมีแนวโน้มจะเสพติดบุหรี่ได้ง่ายเพราะระดับนิโคตินในเลือดลดลงอย่างรวดเร็ว จึงต้องสูบบุหรี่เพิ่มขึ้นเพื่อคงระดับนิโคตินในเลือดไว้ ทำให้ส่งผลเสียต่อสุขภาพทั้งผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิด แม้ว่ายังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความเกี่ยวข้องหรือบทบาทของความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP2A6 อัลลีลต่างๆ กับความสามารถในการย่อยสลายนิโคตินและพฤติกรรมการเสพติดบุหรี่ในผู้สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ในประเทศไทยต่อไป แต่การลดการสูบบุหรี่โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 เพื่อคงระดับของนิโคตินในเลือด น่าที่จะเป็นอีกหนึ่งกลไกที่สำคัญที่น่าจะช่วยลดการสูบบุหรี่ในผู้สูบบุหรี่ได้

การลดการย่อยสลายนิโคตินโดยตัวยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาพบสารหลายตัวที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 เพื่อช่วยลดการเสพติดบุหรี่ และทำให้ผู้สูบบุหรี่น้อยลง ตัวอย่างสารยับยั้ง เช่น สาร Methoxsalen (8-methoxypsoralen หรือ 8-MOP) สาร Tranylcypromine และสาร Tryptamine สารเหล่านี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ผ่านกลไกการยับยั้งแบบแข่งขัน (Competitive inhibition) และแบบ Mechanism-based inhibition (สารยับยั้งถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์แต่ผลิตภัณฑ์หรือตัวกลางที่เกิดขึ้นจับแน่นกับเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์หมดสภาพในการทำงาน) นอกจากนี้ยังพบว่าสาร 8-MOP สามารถยับยั้งการกระตุ้นการเกิดมะเร็งในหนู และสามารถลดการย่อยสลายนิโคตินและลดการกำจัดนิโคตินออกจากร่างกายของผู้สูบบุหรี่ได้ (Siu & Tyndale, 2007; Taavitsalnen, 2001) การใช้สาร 8-MOP และสาร Tranylcypromine ร่วมกับการได้รับนิโคติน จะทำให้ระดับของนิโคตินในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น ใช้เวลานานขึ้นก่อนที่จะสูบบุหรี่วันต่อไป และลดจำนวนครั้งของการสูบบุหรี่ลง (Sellers *et al.*, 2000, 2003) แต่การใช้สาร 8-MOP หรือสาร Tranylcypromine ส่งผลกระทบบ้างเคียงต่อผู้ให้ทำให้ต้องระงับการใช้สารทั้งสองตัวนี้

(Siu & Tyndale, 2007)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสังเคราะห์ ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับนิโคติน (Nicotine analogs) เช่นอนุพันธ์ของ Pyridine ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งที่ 3 เป็นวง Heteroaromatic หรือหมู่ Alkynyl ชนิดต่างๆ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้อย่างจำเพาะ (Yano *et al.*, 2006) รวมถึงยา Selegiline ที่นำมาใช้ในการลดการสูบบุหรี่เพราะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Monoamine oxidase ในสมอง ทำให้สมองสร้างสารสื่อประสาท โดปามีนลดลงนั้น สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้ในหลอดทดลองเช่นกัน (Siu & Tyndale, 2008) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความจำเพาะของฤทธิ์การยับยั้งในผู้สูบบุหรี่และผลข้างเคียง จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าตัวยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 สามารถ ทำให้ผู้สูบบุหรี่น้อยลง ส่งผลให้ลดการได้รับสารก่อมะเร็งในบุหรี่เข้ามาในร่างกายได้

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ด้วยสารจากธรรมชาติ

เนื่องด้วยความเป็นพิษและผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากยาสังเคราะห์ที่ใช้ในการลดการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน จึงมีการใช้สารจากธรรมชาติมาช่วยบำบัดอาการถอนนิโคตินให้บรรเทาลงอย่างปลอดภัยปราศจากผลข้างเคียง ซึ่งเป็นแนวทางที่เป็นผลดีต่อสุขภาพและคุณภาพชีวิตของผู้สูบบุหรี่ที่จะสามารถนำมาใช้ลดการสูบบุหรี่ต่อไปได้ในอนาคต เช่น การนำสารแต่งกลิ่น Menthol จากพืชที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 มาผสมลงในบุหรี่ และพบว่าสามารถเพิ่มครึ่งชีวิตของสารโคทีนินในกระแสเลือดในผู้สูบบุหรี่ผู้หญิงได้ (MacDougall *et al.*, 2003) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลจากการใช้ Menthol เพียงอย่างเดียวในการลดการสูบบุหรี่

นอกจากนี้ยังมีพืชและผลไม้ต่างๆ ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 ในหลอดทดลอง (*in vitro*) ได้เช่นสารสกัด Nootkatone บริสุทธิ์ที่สกัดจาก Grapefruit (ผลไม้ในกลุ่มของส้มโอแต่ไม่พบในประเทศไทย) ที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้ดี แต่เนื่องจากสารในกลุ่ม Furanocoumarin เช่น Bergamottin และสาร 6',7'-dihydroxybergamottin (DHB) บริสุทธิ์ที่อยู่ใน Grapefruit สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 ที่เป็นเอนไซม์หลักในการย่อยสลายสารยาและสารแปลกปลอมภายนอกร่างกายได้ดีกว่าเอนไซม์ CYP2A6 (He *et al.*, 1998; Merket *et al.*, 1994; Tassaneeyakul *et al.*, 2000) ทำให้การนำน้ำ Grapefruit มาใช้เพื่อลดการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์อื่นในร่างกาย (Herb-Drug

Interaction; HDI) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องระวังผลกระทบต่อสุขภาพในการนำไปใช้จริง เช่นเดียวกับสารสกัดจากต้น Kava (*Piper methysticum*) ที่เป็นพืชในกลุ่มพริกไทยและสารในกลุ่ม Kavalactone ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 และ CYP2C9 ได้ดีกว่าเอนไซม์ CYP2A6 (Mathews *et al.*, 2002) ในขณะที่สารประกอบในกลุ่ม Isothiocyanate ของพืชในกลุ่มผักกะหล่ำสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้อย่างจำเพาะด้วยกลไกการยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (Non-competitive inhibition) ที่สารยับยั้งจับกับเอนไซม์ที่บริเวณที่ไม่ใช่บริเวณเร่ง (Active site) ซึ่งมีผลลดอัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยา แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งอยู่ในระดับต่ำ (von Weymarn *et al.*, 2007) และสารสกัด Decursinol angelate บริสุทธิ์ที่สกัดได้จากรากของพืช *Angelica gigas* (ไม่พบพืชชนิดนี้ในประเทศไทย) ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้แบบ Mechanism-based inhibition แต่ยังไม่มียารายงานถึงความจำเพาะในการยับยั้ง (Yoo *et al.*, 2007) จากการศึกษาเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าพืชและผลไม้ในธรรมชาติมีสารที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้ เพียงแต่ยังต้องมีการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมถึงความจำเพาะในการยับยั้งและผลข้างเคียงต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้น (Xi *et al.*, 2009) และการบำบัดการสูบบุหรี่ด้วยวิธีการอื่นๆ ร่วมกับการใช้ผลิตภัณฑ์จากพืชและผลไม้จากธรรมชาติที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 อย่างจำเพาะโดยไม่มีผลข้างเคียงและไม่เป็นพิษต่อร่างกาย น่าที่จะเป็นหนึ่งในแนวทางเลือกที่สำคัญในการป้องกันการเสพติดบุหรี่เพื่อลดภาวะการเกิดโรคทางเดินหายใจทั้งในผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิดผู้สูบบุหรี่ต่อไป

การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 ของพืชสมุนไพรและผลไม้ไทยเพื่อนำมาใช้ในการลดการสูบบุหรี่อย่างปลอดภัย

เนื่องด้วยประเทศไทยมีพืชสมุนไพรและผลไม้ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ที่นิยมใช้รับประทานเพื่อดับกระหายและบำรุงสุขภาพอยู่มากมาย เพราะมีคุณค่าทางยาสูง สามารถพบได้ทั่วไปและนำมาดื่มหรือรับประทานได้ง่าย ทำให้นอกเหนือไปจากการบำบัดรักษาเพื่อลดการสูบบุหรี่ด้วยยาโคดีนทดแทนหรือยาอื่นๆ แล้วในปัจจุบันประเทศไทยจึงมีผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรหรือยาอมสมุนไพรจากพืชสมุนไพร เช่น หนุ่ยดอกขาว โปรงฟ้า ชะอมเทศสมอไทย และมะนาว มาใช้สำหรับลดการสูบบุหรี่อย่างกว้างขวาง (Wongwiwatthanakul *et al.*, 2009) โดยขาดหลักฐานรองรับทางวิชาการถึงกลไกและความปลอดภัยในการนำมาใช้ลดการ

สูบบุหรี่ของพืชสมุนไพรเหล่านี้ ด้วยเหตุนี้การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ CYP2A6 ของพืชสมุนไพรต่างๆ ที่ใช้ลดการสูบบุหรี่ในปัจจุบัน ร่วมกับการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อค้นหาพืชสมุนไพรและผลไม้ไทยชนิดใหม่ๆ ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ได้อย่างจำเพาะโดยไม่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ P450 อื่นๆ ที่มีบทบาทหลักในการย่อยสลายยาและสารแปลกปลอมภายนอกเช่นเอนไซม์ CYP3A4 และ CYP2C9 น่าจะทำให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญที่จำเป็นสำหรับการวางแผนแนวทางในการนำพืชสมุนไพรและผลไม้ไทยมาใช้ร่วมกับวิธีการบำบัดการสูบบุหรี่อื่นๆ ได้อย่างปลอดภัย และสามารถใช้ได้ทั่วไปเพื่อป้องกันอันตรายจากบุหรี่ต่อผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิดอย่างยั่งยืน รวมถึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพร ผักและผลไม้ไทยอีกด้วย

สรุป

ปัญหาโรคระบบทางเดินหายใจและการสูญเสียทางเศรษฐกิจอันเนื่องมาจากการสูบบุหรี่ เป็นปัญหาสำคัญของประเทศที่เกิดจากภาวะการเสพติดบุหรี่ อันเกิดจากการออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลางของสารเสพติดนิโคตินในบุหรี่ ด้วยเหตุนี้การลดการทำงานของเอนไซม์ CYP2A6 ในตับที่ทำหน้าที่หลักในการย่อยสลายนิโคตินให้มีการย่อยสลายนิโคตินช้าลงโดยใช้พืชสมุนไพรและผลไม้ไทย เพื่อให้ระดับนิโคตินในเลือดคงอยู่ได้นานขึ้นและลดการสูบบุหรี่ลง จึงเป็นอีกหนึ่งในแนวทางที่สำคัญ ที่น่าจะนำมาใช้ในการช่วยลดการสูบบุหรี่และการเสพติดนิโคตินในผู้สูบบุหรี่ร่วมกับวิธีการลดการทำงานของเซลล์ประสาทในสมองที่ทำหน้าที่ในการหลั่งสารสื่อประสาทโดปามีนและวิธีการบำบัดการสูบบุหรี่แบบอื่นๆ ได้ อย่างไรก็ตามแนวทางนี้ยังคงต้องมีการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมถึงความจำเพาะในการยับยั้งและผลข้างเคียงต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้น เพื่อให้สามารถนำพืชสมุนไพรและผลไม้ไทยในการช่วยลดการสูบบุหรี่ได้อย่างปลอดภัย ซึ่งจะเป็นการลดผลร้ายต่างๆ จากสารประกอบเป็นพิษในบุหรี่ที่จะเกิดขึ้นกับร่างกายของผู้สูบบุหรี่และผู้ใกล้ชิดต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ (ศจย.) ที่ให้ทุนสนับสนุนในการศึกษาวิจัย (53-01-04) และรศ. ดร. พรพิมล รงคันพรัตน์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความกรุณาตรวจทาน และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการเขียนบทความครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ศรัณยา เบญจกุล มณฑา เก่งการพานิช และลักขณา เต็มศิริกุลชัย. (2551). *สถานการณ์การบริโภค ยาสูบของประชากรไทย พ.ศ. 2534-2550*. (ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ
- ยาสูบของประชากรไทย พ.ศ. 2534-2550. (ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ
- ศิริวรรณ พิทยรังสฤษฏ์ และประภาพรณ เอี่ยมอนันต์ (2552). *สรุปสถานการณ์การควบคุมการบริโภคยาสูบของประชากรไทย พ.ศ. 2552*. กรุงเทพฯ: ศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมยาสูบ
- Apinan, R., Tassaneeyakul, W., Mahavorasirikul, W., Satarug, S., Kajanawart, S., Vannaprasaht, S, Ruenweerayut, R., & Na-Bangchang K. (2010). The influence of CYP2A6 polymorphisms and cadmium on nicotine metabolism in Thai population. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28, 420-424.
- Carrozzi, L., Pistelli, F., & Viegi, G. (2008). Pharmacotherapy for smoking cessation. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 2, 301-317.
- Di, YM., Chow, VD., Yang LP., & Zhou SF. (2009). Structure, function, regulation and polymorphism of human cytochrome P450 2A6. *Current Drug Metabolism*, 10, 754-780.
- He, K., Iyer, KR., Hayes, RN., Sinz, MW., Woolf, TF., & Hollenberg, PF. (1998) Inactivation of Cytochrome P450 3A4 by Bergamottin, a Component of Grapefruit Juice. *Chemical Research in Toxicology*, 11(4), 252-259
- Hecht, SS. (1998). Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. *Chemical Research in Toxicology*, 11, 559-603.
- Hukkanen, J., Jacob, P., & Benowitz, NL. (2005) Metabolism and disposition kinetics of Nicotine. *Pharmacological Reviews*, 57, 79-115.
- Kamataki, T., Fujieda, M., Kiyotani, K., Iwano, S., & Kunitoh H. (2005). Genetic polymorphism of CYP2A6 as one of the potential determinants of tobacco-related cancer risk. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 338, 306-310.
- Lertsakulpanitch, J., Nganthavee, W., & Salole, E. (2007). The economic burden of smoking-related disease in Thailand: A prevalence-based analysis. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 90, 1925-1929.
- Lynch, T., & Price, A. (2007). The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *American Family Physician*, 76, 391-396.
- MacDougall, JM., Fandrick, K., Zhang, X., Serafin, SV., & Cashman, JR. (2003). Inhibition of human liver microsomal (S)-nicotine oxidation by (-)-menthol and analogues. *Chemical Research in Toxicology*, 16, 988-993.
- Mahavorasirikul, W., Tassaneeyakul, W., Satarug, S., Reungweerayut, R., Na-Bangchang, C., & Na-Bangchang, K. (2009). CYP2A6 genotypes and coumarin-oxidation phenotypes in a Thai population and their relationship to tobacco smoking. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 65, 377-384.
- Mathews, JM., Etheridge, AS., & Black, SR. (2002). Inhibition of human cytochrome P450 activities by kava extract and kavalactones. *Drug Metabolism and Disposition*, 30, 1153-1157.
- Merkel, U., Sigusch, H., & Hoffmann, A. (1994). Grapefruit juice inhibits 7-hydroxylation of coumarin in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 46, 175-177.
- Miyamoto, M., Umetsu, Y., Dosaka-Akita, H., Sawamura, Y., Yokota, J., Kunitoh, H., Nemoto, N., Sato, K., Ariyoshi, N., & Kamataki, T. (1999). CYP2A6 gene deletion reduces susceptibility to lung cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 261, 658-660.

- Ortiz de Montellano, PR. (Ed.), (2005). *Cytochrome P450: Structure, Mechanism and Biochemistry*, third edition. New York : Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Patten, CJ., Smith, TJ., Murphy, SE., Wang, MH., Lee, J., Tynes, RE., Koch, P., & Yang, CS. (1996). Kinetic analysis of the activation of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone by heterologously expressed human P450 enzymes and the effect of P450-specific chemical inhibitors on this activation in human liver microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 333, 127-138.
- Peamkrasatam, S., Sriwatanakul, K., Kiyotani, K., Fujieda, M., Yamazaki, H., Kamataki, T., & Yoovathaworn, K. (2006). In vivo evaluation of coumarin and nicotine as probe drugs to predict the metabolic capacity of CYP2A6 due to genetic polymorphism in Thais. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 21, 475-484.
- Sellers, EM., Kaplan, HL., & Tyndale, RF. (2000). Inhibition of cytochrome P450 2A6 increases nicotine's oral bioavailability and decreases smoking. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 68, 35-43.
- Sellers, EM., Tyndale, RF., & Fernandes, LC. (2003). Decreasing smoking behaviour and risk through CYP2A6 inhibition. *Drug Discovery Today*, 8, 487-493.
- Siu, ECK., & Tyndale, RF. (2007). Non-nicotinic therapies for smoking cessation. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 47, 541-564.
- Siu, ECK., & Tyndale, RF. (2008). Selegiline is a mechanism-based inactivator of CYP2A6 inhibiting nicotine metabolism in humans and mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 324, 992-999.
- Su, T., Bao, Z., Zhang, QY., Smith, TJ., Hong, JY., & Ding X. (2000). Human cytochrome P450 CYP2A13: predominant expression in the respiratory tract and its high efficiency metabolic activation of a tobacco-specific carcinogen, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Research*, 60, 5074-5079.
- Taavitsainen, P., Juvonen, R., & Pelkonen, O. (2001). In vitro inhibition of cytochrome P450 enzymes in human liver microsomes by a potent CYP2A6 inhibitor, *trans*-2-phenylcyclopropylamine (trans-cyclopropylamine), and its nonamine analog, cyclopropylbenzene. *Drug Metabolism and Disposition*, 29, 217-222.
- Tassaneeyakul, W., Guo, LO., Fukuda, K., Ohta, T., & Yamazoe, Y. (2000). Inhibition selectivity of grapefruit juice components on human cytochromes P450. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 378, 356-363.
- Tyndale, RF., & Sellers, EM. (2001) Variable CYP2A6-mediated nicotine metabolism alters smoking behavior and risk. *Drug Metabolism and Disposition*, 29, 548-552.
- Tyndale, RF., & Sellers, EM. (2002). Genetic variation in CYP2A6 mediated nicotine metabolism alters smoking behavior. *Therapeutic Drug Monitoring*, 24, 163-171.
- Von Weymarn, LB., Chun, JA., & Hollenberg, PF. (2007). Effects of eleven isothiocyanates on P450 2A6- and 2A13-catalyzed coumarin 7-hydroxylation. *Chemical Research in Toxicology*, 20, 1251-1259.
- WHO Report on the Global Tobacco Epidemic. (2008). The MPOWER package. Geneva, World Health Organization.
- Wongwiwatthanakul, S., Benjanakaskul, P., Songsak, T., Suwanamajo, S., & Verachai, V. (2009). Efficacy of *Vernonia cinerea* for smoking cessation. *Journal of Health Research*, 23(1), 31-36

- Xi, ZX., Spiller, K., & Gardner, EL. (2009) Mechanism-based medication development for the treatment of nicotine dependence. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30, 723-739.
- Yamanaka, H., Nakajima, M., Nishimura, K., Yoshida, R., Fukami, T., Katoh, M., & Yokoi, T. (2004). Metabolic profile of nicotine in subjects whose CYP2A6 gene is deleted. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22, 419-425.
- Yano, JK., Denton, TT., Cerny, MA., Zhang, X., Johnson, EF., & Cashman, JR. (2006). Synthetic inhibitors of cytochrome P450 2A6: Inhibitory activity, difference spectra, mechanism of inhibition, and protein co-crystallization. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 6987-7001.
- Yoo, HH., Lee, MW., Kim, YC., Yun, CH., & Kim DH. (2007). Mechanism-based inactivation of cytochrome P4502A6 by decursinol angelate isolated from *Angelica gigas*. *Drug Metabolism and Disposition*, 35, 1759-1765.