รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการ

ภาษาไทย การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเพื่อการป้องกันการทำลายเซลล ประสาท จากสารสกัดผักชี

ภาษาอังกฤษ Development of Heath Product from *Coriandrum sativum* extract for Neurodegenerative Protection

คณะผู้วิจัย

ผศ.ดร.พรทิพย์ ไววุฒิ

สังกัด คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2562

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย มอบ. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเพื่อการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากสารสกัดผักชี สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่ได้สนับสนุนทุนในการทำโครงการวิจัย ขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่คณะเภสัชศาสตร์ และนักศึกษาสารนิพนธ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ตลอดการทำงานวิจัยนี้จนสามารถสำเร็จได้ และขอขอบคุณ คณเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้ให้การสนับสนุนสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์เพื่อให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

บทสรุปผู้บริหาร

ภาวะเครียดออกซิเดชัน คือภาวะที่เซลล์ถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระหมายถึงอะตอมหรือโมเลกุลที่วงโคจรของอิเล็กตรอน (Electron orbital) ชั้นนอกมี orbital ที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว ไม่มีคู่ (Unpaired electron orbital) อยู่ 1 orbital หรือมากกว่านั้น โดยที่อะตอมหรือโมเลกุลนั้นสามารถดำรงอยู่ได้จริงโดยอิสระ ทำให้มีความไวในการทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลอื่นๆ ในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และหน่วยสารพันธุกรรม ดีเอนเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อชีวโมเลกุลเหล่านี้ จึงเป็นสาเหตุของพยาธิสภาพของโรคต่างๆ ตามมา รวมทั้งโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของระบบประสาท เช่น โรคอัลไซเมอร์ โดยปกติอนุมูลอิสระเหล่านี้เกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาในร่างกาย เช่น จากกระบวนการหายใจ กระบวนการเผาผลาญพลังงาน แต่ร่างกายจะมีระบบการกำจัดอนุมูลอิสระ (Antioxidant defense system) โดยเอนไซม์ หรือสารต้านออกซิเดชัน เช่น superoxide dismutase, catalase, peroxidase และ glutathione แต่พบว่าในผู้สูงอายุระบบการกำจัดอนุมูลอิสระในร่างกายเสื่อมประสิทธิภาพลง จึงทำให้มีอนุมูลอิสระสะสมในร่างกายมากขึ้นเป็นผลให้เซลล์ถูกทำลายเนื่องจากภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาชี้ให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระและโลหะหนักเช่น Fe, Al, Cu ภายในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ มีผลกระตุ้นการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน นำไปสู่การตายของเซลล์สมอง นอกจากนี้ภาวะเครียดออกซิเดชันยังมีผลกระตุ้นให้มีการหลั่งกลูตาเมทเพิ่มมากขึ้น ส่งผลกระตุ้นการไหลผ่านของแคลเซียมไอออนเข้าสู่เซลล์เพิ่มมากขึ้น นำไปสู่การกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เช่น phospholipase, proteases, nitric oxide synthase, protein kinases และ xanthine oxidases ให้มีการสร้าง อนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ส่งผลต่อการดำเนินไปของโรคอัลไซเมอร์ (Floyd & Hensley, 2002; León et al, 2013; Madeo et al, 2013; Agis-Torres et al, 2014; Ott et al, 2007) ดังนั้น แนวทางในการพัฒนายาเพื่อใช้ในการป้องกันการเกิดพยาธิสภาพอันเนื่องจากภาวะเครียดออกซิเดชัน ได้แก่ยาที่ปิดกั้นแคลเซียม (Calcium channel blockers) และยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งตัวรับ NMDA (N-methyl D-aspartate) จึงเป็นแนวทางในการป้องกันรักษาโรคที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ประสาทจากภาวะเครียดออกซิเดชัน รวมถึงการใช้พืชผักสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย

ผักชี (Coriander) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Coriandrum sativum* เป็นพืชในสกุล Coriandrum อยู่วงศ์ Apiaceae แหล่งเพาะปลูกสำคัญๆ ในประเทศไทยได้แก่ จังหวัดราชบุรี นครปฐม และกรุงเทพมหานคร ผักชีเป็นผักที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว จึงเป็นที่นิยมอย่างมากในการนำมาใช้ประกอบอาหารต่างๆ เพื่อทำให้อาหารมีกลิ่นหอมน่ารับประทานมากขึ้นส่วนต่างๆของผักชีได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางยา เช่น สารสกัดจากใบผักชีเป็นพิษต่อมะเร็งเม็ดเลือดขาว (Gomez-F., et al., 2010) สารสกัด ethyl acetate จากรากผักชี ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (Tang, et al., 2013) เมล็ดของผักชี ใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหารได้หลากหลายชนิดเช่น อาหารไม่ย่อย คลื่นไส้ โรคบิด (Wangensteen, et al., 2004 and Maroufi, et al,. 2010) ทุกส่วนของพืชสามารถใช้แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องเสีย ไอ หลอดลมอักเสบ เจ็บท้อง ดีซ่าน (Khan, et al,. 2008) ในประเทศอินเดียมีการใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจ และทางเดินปัสสาวะ ขับลม ขับปัสสาวะ ขับเหงื่อ ในตำราอายุรเวท พบว่ามีการใช้เพื่อลดระดับไขมันในเลือด (Lal, et al,. 2004) ใช้ในการรักษาโรคข้ออักเสบหรือโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ

อื่นๆเพราะว่าผักชีมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์แก้ปวดที่ช่วยในโรคข้ออักเสบ (Thabrew, et al,. 2003) ในประเทศอิหร่านมีการใช้ผักชีมาอย่างยาวนานเพื่อป้องกันการชัก วิตกกังวล และโรคนอนไม่หลับ (Emamghoreishi, et al,. 2004 and Emamghoreishi, et al,2006) งานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการศึกษาฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทของสารสกัดจากผักชี และพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากผักชีเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมกับผู้สูงอายุเพื่อต้านการทำลายเซลล์ประสาทจากอนุมูลอิสระ และเป็นการสร้างมูลค่าใหม่แก่ผักชีซึ่งเป็นพืชที่ปลูกง่ายมีปริมาณมากและราคาไม่สูง ให้มีมูลค่ามากขึ้นเพื่อให้เกิดรายได้แก่ชุมชน

งานวิจัยนี้ได้ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase และฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของสารสกัดจากส่วนรากและใบซึ่งเป็นส่วนที่นิยมรับประทานโดยสกัดด้วยน้ำและเอทานอล ซึ่งผลพบว่า สารสกัดจากใบผักชีด้วยเอทานอลมีผลในการยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase ส่วนรากไม่มีผลและสารสกัดทั้งสองส่วนไม่มีผลในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ ทำให้ได้ข้อมูลว่าส่วนใบมีสารที่อาจช่วยป้องกันเซลล์ประสาทผ่าน cholinergic hypothesis โดยการลดการทำลาย neurotransmitter คือ acetyl choline ได้ ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ได้พัฒนาเป็นเจลลี่กัมมี่หนัก 10 กรัม/ก้อน จากส่วนใบผักชี และมีสารสกัดจากผักชีประมาณ 0.6 mg/ก้อน

บทคัดย่อภาษาไทย

บทนำ: การนำผักและสมุนไพรไทยมาศึกษาฤทธิ์ต้านการทำลายเซลล์ประสาทกำลังได้รับความสนใจสูง งานวิจัยนี้จึงเล็งเห็นประโยชน์ของการนำผักชี (*Coriandrum sativum*) มาศึกษาฤทธิ์ต้านการทำลายเซลล์ประสาทที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ฤทธิ์ต้านเอนไซม์ acetylcholinesterase รวมถึงการพัฒนาผักชีเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเพื่อเป็นการยกระดับและเพิ่มมูลค่าผักชี และเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร

วิธีการดำเนินการวิจัย: นำผักชีส่วนลำต้นและใบ และส่วนราก มาสกัดหยาบด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำและเอทานอล และนำสารสกัดหยาบทั้ง 4 ชนิด จำนวนอย่างละ 3 ความเข้มข้น (10, 100 และ 1000 µg/ml) มาศึกษาฤทธิ์ต้านการทำลายเซลล์ประสาท (SH-SY5Y) ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยวัดการอยู่รอดของเซลล์ด้วยวิธี MTT assay และทดสอบฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase รวมถึงนำสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ดีมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพรูปแบบ gummy jelly

ผลการศึกษาวิจัย: สารสกัดหยาบจากผักชีทั้ง 4 ชนิดไม่มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์ประสาทจากการทำลายของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ส่วนสารสกัดจากใบด้วยเอทานอลความเข้มข้น 1 µg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ 99.67 ± 1.23 % และได้นำสารสกัดหยาบจากใบผักชีนี้มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพรูปแบบ gummy jelly

สรุปผลการศึกษาวิจัย: สารสกัดจากใบผักชีมีผลในการยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase ได้ ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ได้พัฒนาเป็นเจลลี่กัมมี่หนัก 10 กรัม/ก้อน จากส่วนใบผักชี และมีสารสกัดจากผักชีประมาณ 0.6 mg/ก้อน

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Introduction:

The study of neuroprotective activity of Thai vegetables and herbs is gaining popularity. This research is interested in examining neuroprotective activity of coriander towards cell lines of neuron cell induced by hydrogen peroxide and anti-acetylcholinesterase activity. In addition, this research aims at developing a health product from coriander in order to increase its value and generate more household income for farmers.

Methods: Coriander trunks and leaves vs. root were extracted with two solvents (water and ethanol). All four types of crude extracts were diluted into three concentrations each (10, 100 and 1000 µg/ml). Studies of neuroprotective effects of coriander were conducted on neuroblastoma cell line (SH-SY5Y). Cell viability was measured by MTT assay. The effects of extracts on acetylcholinesterase enzyme activity was tested. The coriander crude extract was formulated into a gummy jelly health product.

Results: All four coriander crude extracts have no effects to H_2O_2-induced SH-SY5Y cell death. Coriander leaf extract with ethanol 1 µg/ml showed inhibitory activity on acetylcholinesterase enzyme activity with % inhibition was 99.67 ± 1.23. The coriander leave crude extract was subsequently developed into gummy jelly as a health product.

Conclusion: The leaf of coriander extract inhibited acetylcholinesterase enzyme activity. This coriander leaf extract was formulated into gummy jelly health product 10 g/each with extract 0.6 mg/each.

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์	2
สมมติฐานการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
การทำลายเซลล์ประสาท	3
ผักชี	5
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	10
ครุภัณฑ์ในงานวิจัย	10
วัสดุและอุปกรณ์เครื่องแก้ว	10
สารเคมี	11
เซลล์ที่ใช้ในการทดลอง	12
การสกัดสารจากผักชี	13
การทดสอบฤทธิ์ของสาร สกัดจากผักชีในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากภาวะ oxidative stress อันเนื่องจาก hydrogen peroxide โดยวิธี MTT assay	13
การทดสอบฤทธิ์ Acetylcholinesterase inhibitor	14
การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพคตินเจลลี่น้ำตาลต่ำจากสารสกัดผักชี	15
บทที่ 4 ผลการวิจัย	17
การสกัดสารจากผักชี	17
ผลของสารสกัดจากผักชีต่อการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase	17
ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักชีในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากภาวะ oxidative stress อันเนื่องจาก hydrogen peroxide	18
การพัฒนาผลิตภัณฑ์ผักชี	19

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 20
เอกสารอ้างอิง 21
ประวัตินักวิจัย 22

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงสารที่พบในผักชี	7

สารบัญภาพ

รูป	หน้า
รูปที่ 1 สมมติฐานภาวะเครียดออกซิเดชัน	4
รูปที่ 2 กระบวนการสร้างสารสื่อประสาท Ach	5
รูปที่ 3 ผักชี	6
รูปที่ 4 เซลล์มะเร็งสมอง SH-SY5Y cell (ATCC CRL-2266)	12
รูปที่ 5 ปฏิกิริยาของ acetylcholinesterase	14
รูปที่ 6 ผลของสารสกัดจากผักชีด้วยเอทานอลต่อการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase	17
รูปที่ 7 ผลของสารสกัดจากผักชีด้วยน้ำ DI ต่อการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase	18
รูปที่ 8 ผลของสารสกัดจากผักชีส่วนรากและใบด้วยเอทานอลต่อเซลล์ประสาทที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	19
รูปที่ 9 ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ กัมมี่เยลลี่ผักชี	19

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

ภาวะเครียดออกซิเดชัน คือภาวะที่เซลล์ถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระหมายถึงอะตอมหรือโมเลกุลที่วงโคจรของอิเล็กตรอน (Electron orbital) ชั้นนอกมี orbital ที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว ไม่มีคู่ (Unpaired electron orbital) อยู่ 1 orbital หรือมากกว่านั้น โดยที่อะตอมหรือโมเลกุลนั้นสามารถดำรงอยู่ได้จริงโดยอิสระ ทำให้มีความไวในการทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลอื่นๆ ในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และหน่วยสารพันธุกรรม ดีเอนเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อชีวโมเลกุลเหล่านี้ จึงเป็นสาเหตุของพยาธิสภาพของโรคต่างๆ ตามมา รวมทั้งโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของระบบประสาท เช่น โรคอัลไซเมอร์ โดยปกติอนุมูลอิสระเหล่านี้เกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาในร่างกาย เช่น จากกระบวนการหายใจ กระบวนการเผาผลาญพลังงาน แต่ร่างกายจะมีระบบการกำจัดอนุมูลอิสระ (Antioxidant defense system) โดยเอนไซม์ หรือสารต้านออกซิเดชัน เช่น superoxide dismutase, catalase, peroxidase และ glutathione แต่พบว่าในผู้สูงอายุระบบการกำจัดอนุมูลอิสระในร่างกายเสื่อมประสิทธิภาพลง จึงทำให้มีอนุมูลอิสระสะสมในร่างกายมากขึ้นเป็นผลให้เซลล์ถูกทำลายเนื่องจากภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาชี้ให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระและโลหะหนักเช่น Fe, Al, Cu ภายในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ มีผลกระตุ้นการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน นำไปสู่การตายของเซลล์สมอง นอกจากนี้ภาวะเครียดออกซิเดชันยังมีผลกระตุ้นให้มีการหลั่งกลูตาเมทเพิ่มมากขึ้น ส่งผลกระตุ้นการไหลผ่านของแคลเซียมไอออนเข้าสู่เซลล์เพิ่มมากขึ้น นำไปสู่การกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เช่น phospholipase, proteases, nitric oxide synthase, protein kinases และ xanthine oxidases ให้มีการสร้าง อนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ส่งผลต่อการดำเนินไปของโรคอัลไซเมอร์ (Floyd & Hensley, 2002; León et al, 2013; Madeo et al, 2013; Agis-Torres et al, 2014; Ott et al, 2007) ดังนั้นแนวทางในการพัฒนายาเพื่อใช้ในการป้องกันการเกิดพยาธิสภาพอันเนื่องจากภาวะเครียดออกซิเดชัน ได้แก่ยาที่ปิดกั้นแคลเซียม (Calcium channel blockers) และยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งตัวรับ NMDA จึงเป็นแนวทางในการป้องกันรักษาโรคที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ประสาทจากภาวะเครียดออกซิเดชัน รวมถึงการใช้พืชผักสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย

ผักชี (Coriander) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Coriandrum sativum* L. เป็นพืชในสกุล Coriandrum อยู่วงศ์ Apiaceae แหล่งเพาะปลูกสำคัญๆ ในประเทศไทยได้แก่ จังหวัดราชบุรี นครปฐม และกรุงเทพมหานคร ผักชีเป็นผักที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว จึงเป็นที่นิยมอย่างมากในการนำมาใช้ประกอบอาหารต่างๆ เพื่อทำให้อาหารมีกลิ่นหอมน่ารับประทานมากขึ้นส่วนต่างๆของผักชีได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางยา เช่น สารสกัดจากใบผักชีเป็นพิษต่อมะเร็งเม็ดเลือดขาว (Gomez-F., et al., 2010) สารสกัด ethyl acetate จากรากผักชี ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (Tang, et al., 2013) เมล็ดของผักชี ใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหารได้หลากหลายชนิดเช่น อาหารไม่ย่อย

คลื่นไส้ โรคบิด (Wangensteen, et al., 2004 and Maroufi, et al,. 2010) ทุกส่วนของพืชสามารถใช้แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องเสีย ไอ หลอดลมอักเสบ เจ็บท้อง ดีซ่าน (Khan, et al,. 2008) ในประเทศอินเดียมีการใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจ และทางเดินปัสสาวะ ขับลม ขับปัสสาวะ ขับเหงื่อ ในตำราอายุรเวท พบว่ามีการใช้เพื่อลดระดับไขมันในเลือด (Lal, et al,. 2004) ใช้ในการรักษาโรคข้ออักเสบหรือโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบอื่นๆเพราะว่าผักชีมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์แก้ปวดที่ช่วยในโรคข้ออักเสบ (Thabrew, et al,. 2003) ในประเทศอิหร่านมีการใช้ผักชีมาอย่างยาวนานเพื่อป้องกันการชัก วิตกกังวล และโรคนอนไม่หลับ (Emamghoreishi, et al,. 2004 and Emamghoreishi, et al,2006) งานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการศึกษาฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทของสารสกัดจากผักชี และพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากผักชีเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมกับผู้สูงอายุเพื่อต้านการทำลายเซลล์ประสาทจากอนุมูลอิสระ และเป็นการสร้างมูลค่าใหม่แก่ผักชีซึ่งเป็นพืชที่ปลูกง่ายมีปริมาณมากและราคาไม่สูง ให้มีมูลค่ามากขึ้นเพื่อให้เกิดรายได้แก่ชุมชน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทของสารสกัดจากผักชี
2. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเพื่อป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากสารสกัดจากผักชี
3. เพื่อเป็นส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากผักพื้นบ้าน

สมมติฐานการวิจัย (ถ้ามี)

ผักชีมีสารสำคัญที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย และมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ดังนั้นมีความเป็นไปได้ว่าผักชีจะสามารถป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากภาวะเครียดออกซิเดชันได้ เมื่อทดสอบว่าผักชีมีฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทแล้วจึงนำไปพัฒนาเป็นเพคตินเยลลี่ผักชี ซึ่งมีสารสกัดที่ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาท รับประทานง่าย เป็นที่นิยม ไม่ใส่สีสังเคราะห์ มีสีเขียวตามธรรมชาติ ปราศจากสารปนเปื้อนเนื่องจากใช้ผักอินทรีย์รวมถึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารแทนน้ำตาล และมีพลังงานต่ำ เหมาะกับผู้สูงอายุในการควบคุมความดัน เบาหวานและป้องกันเซลล์ประสาท และยังเพิ่มมูลค่าให้ผักชีอีกด้วย

ขอบเขตของการวิจัย

ขอบเขตการดำเนินงานเดิม	ขอบเขตการดำเนินงานต่อยอด
1.ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักชี	1. ศึกษาฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาท
2.ศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง	2.ทำผลิตภัณฑ์ต้นแบบเพคตินเจลลี่ผักชีโลว์ชูการ์สำหรับผู้สูงอายุ
3.ศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดผักชีในเซลล์มะเร็ง	

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลวิทยาศาสตร์ด้านการต้านการทำลายเซลล์ประสาท
2. ได้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบเป็นทางเลือกสำหรับสังคมสูงวัย
3. สร้างมูลค่าใหม่แก่ผักชีของกลุ่มเกษตรกร
4. เพิ่มการขายและรายได้จากการขายผักชีของกลุ่มเกษตรกร

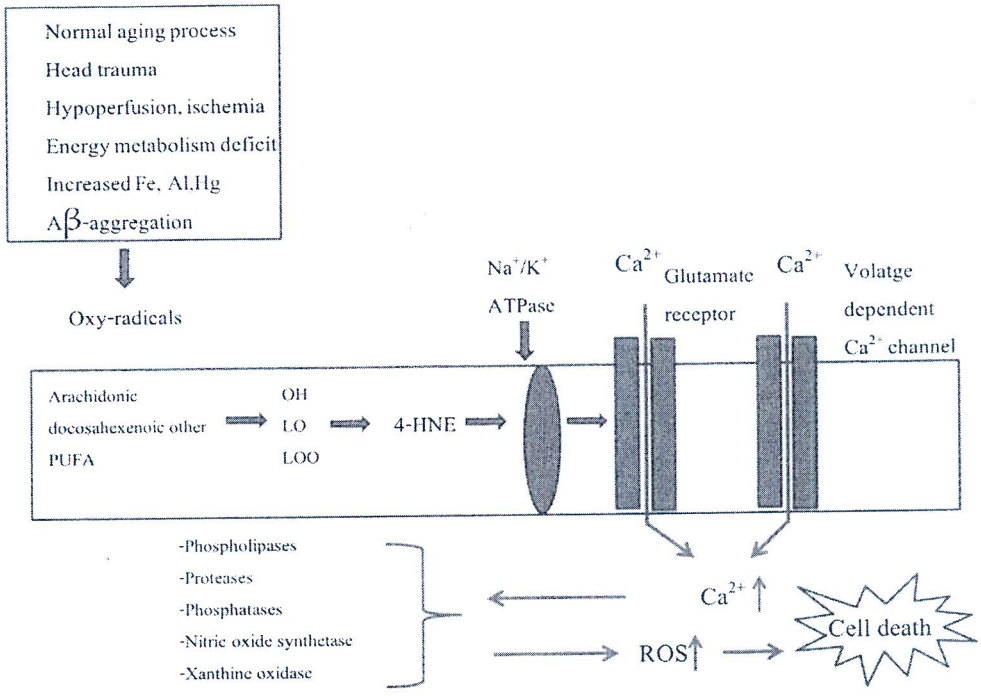
บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การทำลายเซลล์ประสาท

อนุมูลอิสระ (free radical หรือ oxidant) คือ โมเลกุล หรือ ไอออนที่มีอิเล็คตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการ เกิดปฏิกิริยาเคมีในลักษณะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่สามารถ เข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่อยู่รอบข้าง ในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่ องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะ เป็นการทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยน สภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้าง พันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับโปรตีนหรือ เอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์เหล่านั้น ผิดปกติ (Ames et al.,1993) เป็น สาเหตุสำคัญของโรคหลายชนิด (Nakabeppu et al., 2006; Valko et al. ,2007) รวมทั้งโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของระบบประสาท เช่น โรคอัลไซเมอร์ซึ่งเป็นผลมาจากการสร้างสารเบต้าอะมัยลอยด์ (Beta Amyloid) ในสมอง ใยสมองที่พันกันทำให้สารอาหารไม่สามารถไปเลี้ยงสมอง สารอะมัยลอยด์นี้เมื่อสลายจะให้ สารอนุมูลอิสระออกมา อนุมูลนี้จะทำให้เกิดการอักเสบของเซลล์สมองส่งผลให้เกิดความจำน้อยลงได้ (Dennis W. Dickson,2004) ดังนั้นแนวทางในการพัฒนายาเพื่อใช้ในการป้องกันการเกิดพยาธิสภาพอันเนื่องจากภาวะเครียดออกซิเดชัน ได้แก่ยาที่ปิดกั้นแคลเซียม (Calcium channel blockers) และยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งตัวรับ NMDA จึงเป็นแนวทางในการป้องกันรักษาโรคที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ประสาทจากภาวะเครียดออกซิเดชัน รวมถึงการใช้พืชผักสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย

สมมุติฐานการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ภาวะเครียดออกซิเดชัน คือภาวะที่เซลล์ถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระหมายถึงอะตอมหรือโมเลกุลที่วงโคจรของอิเล็กตรอน (Electron orbital) ชั้นนอกมี orbital ที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวไม่มีคู่ (Unpaired electron orbital) อยู่ 1 orbital หรือมากกว่านั้น โดยที่อะตอมหรือโมเลกุลนั้นสามารถดำรงอยู่ได้จริงโดยอิสระ ทำให้มีความไวในการทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลอื่นๆ ในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และหน่วยสารพันธุกรรม ดีเอนเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อชีวโมเลกุลเหล่านี้ จึงเป็นสาเหตุของพยาธิสภาพของโรคต่างๆ ตามมา รวมทั้งโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของระบบประสาท เช่น โรคอัลไซเมอร์ โดยปกติอนุมูลอิสระเหล่านี้เกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาในร่างกาย เช่น จากกระบวนการหายใจ กระบวนการเผาผลาญพลังงาน แต่ร่างกายจะมีระบบการกำจัดอนุมูลอิสระ (Antioxidant defense system) โดยเอนไซม์ หรือสารต้านออกซิเดชัน เช่น superoxide dismutase, catalase, peroxidase และ glutathione แต่พบว่าในผู้สูงอายุระบบการกำจัดอนุมูลอิสระในร่างกายเสื่อมประสิทธิภาพลง จึงทำให้มีอนุมูลอิสระสะสมในร่างกายมากขึ้นเป็นผลให้เซลล์ถูกทำลายเนื่องจากภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาชี้ให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระและโลหะหนักเช่น Fe, Al, Cu ภายในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ มีผลกระตุ้นการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน นำไปสู่การตายของเซลล์สมอง นอกจากนี้ภาวะเครียดออกซิเดชันยังมีผลกระตุ้นให้มีการหลั่งกลูตาเมทเพิ่มมากขึ้น ส่งผลกระตุ้นการไหลผ่านของแคลเซียมไอออนเข้าสู่เซลล์เพิ่มมากขึ้น นำไปสู่การกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เช่น phospholipase, proteases, nitric oxide synthase, protein kinases และ xanthine oxidases ให้มีการสร้าง อนุมูลอิสระเพิ่มมาก

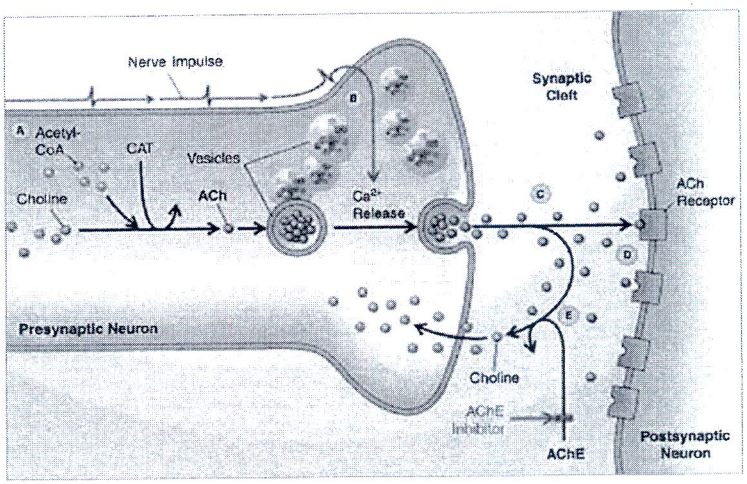
ขึ้น เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (รูปที่ 1) ส่งผลต่อการดำเนินไปของโรคอัลไซเมอร์ (Floyd et al., 2002; León et al., 2013; Madeo et al, 2013; Agis-Torres et al., 2014; Ott et al., 2007) ดังนั้นแนวทางในการพัฒนายาเพื่อใช้ในการป้องกันการเกิดพยาธิสภาพอันเนื่องจากภาวะเครียดออกซิเดชัน ได้แก่ยาที่ปิดกั้นแคลเซียม (Calcium channel blockers) และยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งตัวรับ NMDA



รูปที่ 1 สมมติฐานภาวะเครียดออกซิเดชัน

สมมติฐานโคลิเนอร์จิก (Cholinergic hypothesis) อธิบายว่าสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคอัลไซเมอร์อาจเกิดจากความผิดปกติของสารสื่อประสาท ซึ่งสารสื่อประสาทมีอยู่หลายชนิดได้แก่ อะซิทิลโคลีน นอร์เอพิเนฟริน (Norepinephrine) เอนดอร์ฟิน (Endorphin) โดปามีน (Dopamine) กาบ้าหรือแกมม่าอะมิโนบิวไทริกแอซิด (Gamma-aminobutyric acid) สารสื่อประสาทแต่ละชนิดจะมีบทบาทแตกต่างกันคือ นอร์เอพิเนฟรินเป็นทั้งฮอร์โมนและสารสื่อประสาท ถูกหลั่งจากปลายประสาท Adrenergic Neuron มีผลต่อการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบและอวัยวะภายใน ยับยั้ง Lipolysis ของ Fat cells ยับยั้งการหลั่งอินซูลิน มีบทบาทในการทำให้ตื่นตัวและการทำงานของฮอร์โมนส่วนโดปามีน จะมีบทบาทในการควบคุมอารมณ์ การเรียบเรียงความนึกคิด การทำหน้าที่ของสมองในการควบคุมการเคลื่อนไหว ซึ่งถ้ามีการเสียสมดุลระหว่างแอซิติลโคลีน กับ โดปามีน จะทำให้เป็นโรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) เนื่องจากการขาดสารโดปามีน ในสมองเกิดจากการเสื่อมและตายของเซลล์สมองในตำแหน่งที่สร้างสารโดปามีน ส่วนกาบ้าหรือแกมม่าอะมิโนบิวไทริกแอซิด เป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (non-essential amino acid) พบมากในสมองและตาของมนุษย์ ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเซลล์ประสาทอื่นๆ ควบคุมการเคลื่อนไหวเป็นสารที่ช่วยให้ผ่อนคลาย (Relaxation) และลดความตึงเครียด ถ้ามีกาบา (GABA) ต่ำ จะทำให้เกิดอาการชัก และสารสื่อประสาทอะซิทิลโคลีนเป็นสารสื่อประสาทตัวแรกที่ถูกค้นพบมีหน้าที่กระตุ้นหรือยับยั้งระบบประสาทส่วนกลาง และ

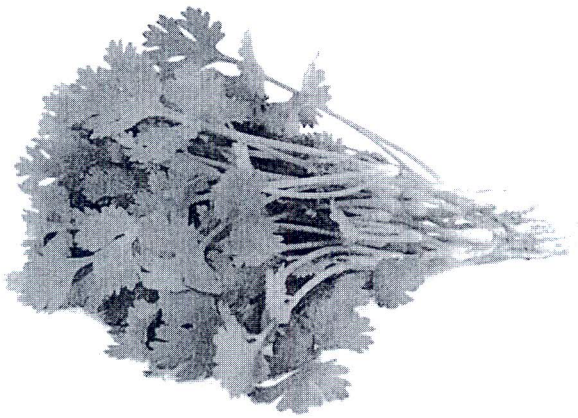
เกี่ยวกับการรับความรู้สึก ความเจ็บปวด ซึ่งคนที่เป็นโรคอัลไซเมอร์อาจเกิดจากความผิดปกติของระบบสารสื่อประสาทของอะเซทิลโคลีน โดยปกติการสังเคราะห์อะเซทิลโคลีน เริ่มต้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารโคลีน (Choline) และอะซิทิลโคเอ (Acetyl CoA) โดยมีเอนไซม์ choline acetyltransferase (ChAT) เป็นตัวกระตุ้นในการทำปฏิกิริยา หลังการสังเคราะห์ อะเซทิลโคลีน จะถูกเก็บไว้ใน vesicles เมื่อมีกระแสประสาทมากระตุ้น อะเซทิลโคลีน จะถูกปลดปล่อยออกมาที่บริเวณไซแนป อะเซทิลโคลีน ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจะจับกับ cholinergic receptor ที่บริเวณ postsynaptic จึงเกิดการส่งกระแสประสาทเกิดขึ้น แต่ในผู้ป่วยที่เป็นโรคอัลไซเมอร์พบว่าอะเซทิลโคลีน ลดลงอย่างมาก การลดลงของระดับอะเซทิลโคลีน อาจเกิดจากการทำลายอะเซทิลโคลีน โดยเอนไซม์อะซิทิลโคลินเอสเตอเรส (AChE) มากเกินไป หรืออาจมีการสังเคราะห์ อะเซทิลโคลีน จาก choline และ acetyl CoA ด้วยเอนไซม์ ChAT ลดลง รวมถึงการลดลงของ cholinergic receptor ดังรูปที่ 2 ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนายาซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ซึ่งจะทำให้มีสารสื่อประสาทอะเซทิลโคลีน ในสมองเพิ่มมากขึ้นทำให้ช่วยฟื้นฟูความจำที่บกพร่อง (Giacobini et al., 2004)



รูปที่ 2 กระบวนการสร้างสารสื่อประสาท Ach
ที่มา: Bonpong et al., 2009

ผักชี

ผักชี (Coriander) (รูปที่ 2) มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Coriandrum sativum* L. เป็นพืชในสกุล Coriandrum อยู่วงศ์ Apiaceae มีชื่ออื่นคือ ผักหอม(นครพนม) ยำแย้(กระบี่) ผักหอมป้อม ผักหอมผอม(ภาคเหนือ) ผักหอมน้อย (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) ผักชีมีถิ่นกำเนิดในแถบเมดิเตอร์เรเนียน อินเดีย และเอเชียตะวันตก สำหรับประเทศที่ปลูกและส่งออกผักชีคือ ประเทศอินเดีย และมอรอคโค ส่วนแหล่งเพาะปลูกสำคัญๆ ในประเทศไทยได้แก่ จังหวัดราชบุรี นครปฐม และกรุงเทพมหานคร ผักชีเป็นพืชผักที่สามารถปลูกได้ตลอดปี แต่ช่วงที่เหมาะที่สุดคือฤดูหนาว เพราะจะทำให้ผักชีโตเร็ว ผักชีเป็นผักที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว จึงเป็นที่นิยมอย่างมากในการนำมาใช้ประกอบอาหารต่างๆ เพื่อทำให้อาหารมีกลิ่นหอมน่ารับประทานมากขึ้น (Gomez-F., et al., 2010)



รูปที่ 3 ผักชี

ที่มา: https://www.bigc.co.th/fresh/2000000615523.html

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ผักชีเป็นไม้ล้มลุก ที่มีลำต้นตั้งตรง ภายในจะกลวง และมีกิ่งก้านที่เล็ก ไม่มีขน มีรากแก้วสั้น แต่รากฝอยจะมีมาก ซึ่งลำต้นนี้จะสูงประมาณ 8-15 นิ้ว ลำต้นสีเขียวแต่ถ้าแก่จัดจะออกสีเขียวอมน้ำตาล ใบ ลักษณะการออกของใบจะเรียงคล้ายขนนก แต่อยู่ในรูปทรงพัด ซึ่งใบที่โคนต้นนั้นจะมีขนาดใหญ่กว่าที่ปลายต้น เพราะส่วนมากที่ปลายต้นใบจะเป็นเส้นฝอย มีสีเขียวสด ดอก ออกเป็นช่อ ตรงส่วนยอดของต้น ดอกนั้นมีขนาดเล็ก มีอยู่ 5 กลีบสีขาวหรือชมพูอ่อนๆ ผล จะติดผลในฤดูหนาว ลักษณะของผลเป็นรูปทรงกลมโตประมาณ 3-5 มิลลิเมตร ตรงปลายผลจะแยกออกเป็น 2 แฉก ตามผิวจะมีเส้นคลื่นอยู่ 10 เส้น (Wangensteen, et al., 2004 and Maroufi, et al,. 2010)

สรรพคุณทางยา

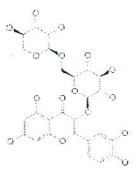
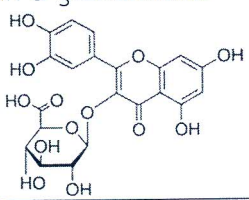
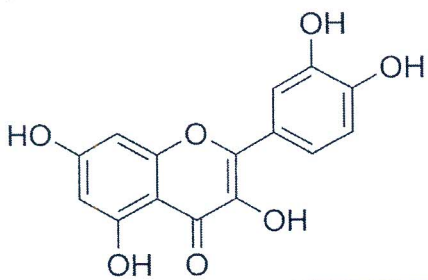
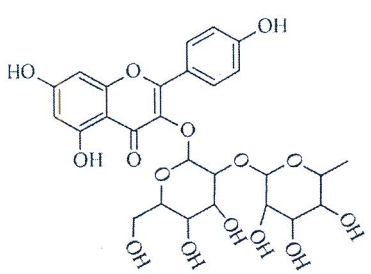
ส่วนต่างๆของผักชีได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางยา เช่น สารสกัดจากใบผักชีเป็นพิษต่อมะเร็งเม็ดเลือดขาว (Gomez-F., et al., 2010) สารสกัด ethyl acetate จากรากผักชี ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (Tang, et al., 2013) เมล็ดของผักชี ใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหารได้หลากหลายชนิดเช่น อาหารไม่ย่อย คลื่นไส้ โรคบิด (Wangensteen, et al., 2004 and Maroufi, et al,. 2010) ทุกส่วนของพืชสามารถใช้แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ท้องเสีย ไอ หลอดลมอักเสบ เจ็บท้อง ดีซ่าน (Khan, et al,. 2008) ในประเทศอินเดียมีการใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจ และทางเดินปัสสาวะ ขับลม ขับปัสสาวะ ขับเหงื่อ ในประเทศตุรกี มีการใช้เมล็ดเพื่อกระตุ้นการอยากอาหาร (Ugulu, et al,. 2009) ในประเทศซาอุดิอาราเบีย จอแดน โมร็อคโค มีการใช้เมล็ดเพื่อเป็นสารในการลดระดับน้ำตาลในเลือด (Rowais, 2002 and Otoom, et al,. 2006 and Tahraoui, et al,. 2007) ในตำราอายุรเวทพบว่ามีการใช้เพื่อลดระดับไขมันในเลือด (Lal, et al,. 2004) ใช้ในการรักษาโรคข้ออักเสบหรือโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบอื่นๆเพราะว่าผักชีมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์แก้ปวดที่ช่วยในโรคข้ออักเสบ (Thabrew, et al,. 2003) ในประเทศอิหร่านมีการใช้ผักชีมาอย่างยาวนานเพื่อป้องกันการชัก วิตกกังวล และโรคนอนไม่หลับ

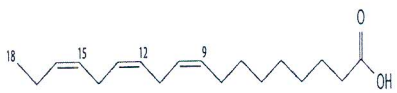
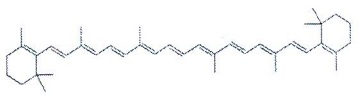
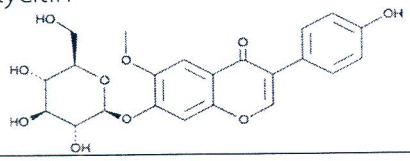
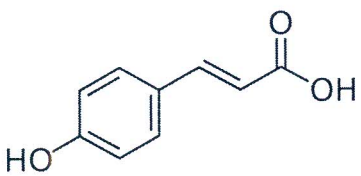
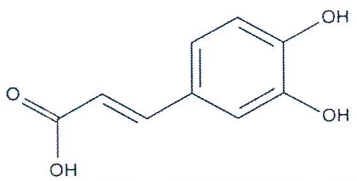
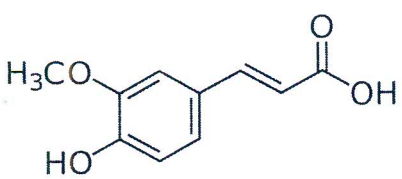
(Emamghoreishi, et al,. 2004 and Emamghoreishi, et al,. 2006) สุดท้ายมีการใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อในการทำความสะอาดแผลและทำให้แผลหายเร็วขึ้น (Chaudry, et al,. 2006)

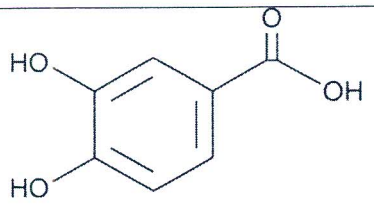
องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของผักชี

ในปี 2015 Bochra Laribi และคณะ ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบและฤทธิ์ทางชีวภาพจากการทบทวนวรรณกรรมบนฐานข้อมูลออนไลน์ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงสารที่พบในผักชี

สารที่พบ	ฤทธิ์ทางชีวภาพของผักชี
กลุ่ม Flavonoids	
1.quercetin-3-O-rutinoside 	- ยับยั้งการทำงานของ efflux pumps (adenosine triphosphate-binding cassette transporters) - กระตุ้นให้เกิดการ apoptosis - ทำให้เกิด cell cycle arrest
2.quercetin 3-glucuronide 	- ออกฤทธิ์ผ่านกระบวนการ cell-cycle arrest (S phase and decreased the number of G0/G1 and G2/M) ใน human breast MCF-7 cells
3.quercetin -3-O-glucoside 	- เป็น antitumor agent ต่อต้าน liver cancer โดยออกฤทธิ์ผ่าน cell-cycle arrest และการทำให้เกิด apoptosis - ยับยั้ง cell proliferation ใน HepG2 cells (blockade of the cell cycle in the S-phase) - ยับยั้ง DNA topoisomerase II - ชักนำให้เกิด apoptosis ใน HepG2 cells (activation of caspase-3)
4.kaempferol-3-O-rutinoside 	- เป็น Antiproliferation ต่อ human hepatoma cell line (HepG2), mouse colon cancer cell line (CT26) และ mouse melanoma cell line (B16F1) - กระตุ้นให้เกิด HepG2 cell apoptosis - ยับยั้ง AKT phosphorylation - กระตุ้นกระบวนการ caspase-dependent apoptosis in liver cancer cells

กลุ่ม Lipid	
5.α-linolenic (C18:3n-3) 	- down-regulate cell proliferation ของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากเต้านม และกระเพาปัสสาวะ - down-regulate malignant potential in human (HT29 and HCT116) และ mouse (MCA38) colon cancer cell lines
6.β-carotene 	- ยับยั้งการมีชีวิตรอดของเซลล์ HepG2 - ทำให้เกิดการ apoptosis โดยการกระตุ้นการทำงานของ caspase-3 และลด mitochondrial membrane potential - ลดการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2, PARP และ NF-kB แต่เพิ่มการแสดงออกของโปรตีน Bax - down-regulated the expression of endogenous antioxidant enzymes, SOD-2 and HO-1, and transactivation factor, Nrf-2
กลุ่ม phenolic acids	
7.glycitin 	- ยับยั้งการแสดงออกของ MMP-3 และ MMP-9 (Matrix metalloproteinases) ซึ่งเป็นหัวใจสำคัญในการสร้างหลอดเลือดมาเลี้ยงเซลล์มะเร็งและบุกรุกเนื้อเยื่อรอบข้าง
8.p-coumaric 	- เพิ่มการทำงานของ PRODH/POX, P53 - กระตุ้นการทำงานของ caspases-3 and -9 - ทำให้เกิด cytotoxic effect ต่อ CAL-27.
9.caffeic acid 	
10.ferulic acid 	
11.protocatechuic acid	- anticancer HEP-G2 cells และ human colon cancer HT-29 cells

	- ลดการอัตราการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งและการ colony formation ของ OVCAR-3, SKOV-3 และ A2780 cells - ทำให้เกิด cell cycle arrest in G2/M phase - Modulate apoptosis and autophagy
กลุ่ม anthocyanin	
12.peonidin-3-O-feruloyl glucoside-5-O-glucoside	- ป้องกันการเกิด colorectal cancer โดยการยับยั้งอนุมูลอิสระ - รบกวนกระบวนการ cell cycle และชักนำให้เกิดanti-proliferation และ apoptosis

มีรายงานพบว่า quercetin ซึ่งเป็นสารสำคัญหลักที่พบในผักชีมีฤทธิ์ในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจาก อัลกอฮอล์ แคดเมียม และรังสี และพบว่าสารสกัดจากผักชีสามารถป้องกันการชักได้ในหนูทดลอง งานวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผักชีในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ครุภัณฑ์ในงานวิจัย

1. หม้อนึ่งไอน้ำสำหรับฆ่าเชื้อ (Autoclave)
2. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow cabinet class II)
3. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิได้ (Refrigerated centrifuge)
5. เครื่องอ่านไมโครเพลท (Microplate reader)
6. กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับ (Inverted Microscope microscope)
7. เครื่องชั่ง (Balance)
8. เครื่องวัด pH (pH meter)
9. เครื่องกวนสาร (Hotplate Stirrer)
10. เครื่องผสมสาร (Vertex mixture)
11. ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิและคาร์บอนไดออกไซด์ (Incubator)
12. ตู้เย็น (Refrigerator)
13. ตู้แช่แข็ง (Freezer)
14. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
15. เครื่องเขย่าสารละลาย (Horizontal shaker)
16. เครื่องเคลื่อนย้ายโปรตีน (Trans-blot semi dry transfer electrophoretic cell)
17. เครื่องอิเล็คโตรโฟรีซีส (Gel electrophoresis)
18. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)
19. เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dryer)

วัสดุและอุปกรณ์เครื่องแก้ว

1. 3.2.1 ขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 25 และ 75 ตารางเซนติเมตร (Cell culture flask)
2. 3.2.2 จานเลี้ยงเซลล์ชนิด 6 และ 96 หลุม (Cell culture plate)
3. 3.2.3 บีกเกอร์ขนาด 50 100 250 และ 1000 มิลลิลิตร (Beaker)
4. ปิเปตขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร (Pipette)
5. สไลด์นับเซลล์ (Hemocytometer)
6. หลอดทดลอง (Test tube)
7. หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube)
8. Eppendorf ขนาด 2 มิลลิลิตร (Microtube)

9. ปิเปตอัตโนมัติขนาด 100 - 1000 ไมโครลิตร (Automatic pipette)
10. ปิเปตอัตโนมัติขนาด 50 - 200 ไมโครลิตร (Automatic pipette)
11. ปิเปตอัตโนมัติขนาด 1 - 20 ไมโครลิตร (Automatic pipette)
12. ปิเปตอัตโนมัติขนาด 0.2 - 2 ไมโครลิตร (Automatic pipette)
13. อะลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium foil)
14. คีมจับ (Forceps)
15. สำลี (Cotton)
16. พาราฟินฟิล์ม (Paraffin film)
17. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask)
18. ขวดก้นกลม (Round bottom flask)
19. แท่งขูดเซลล์ (Cell scraper)

สารเคมี

1. 2-Amino-2-(hydroxymethyl)propane-1,3-diol hydrochloride pH 6.8 (Tris)
2. 2-Amino-2-(hydroxymethyl)propane-1,3-diol hydrochloride pH 8.8 (Tris)
3. 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)
4. Acrylamide
5. Ammonium persulfate (APS)
6. Dimethyl sulfoxide (DMSO)
7. Doxorubicin
8. Ethanol
9. Enhanced chemiluminescence (ECL)
10. Fetal bovine serum (FBS)
11. Film developer
12. Film fixer

เซลล์ที่ใช้ในการทดลอง

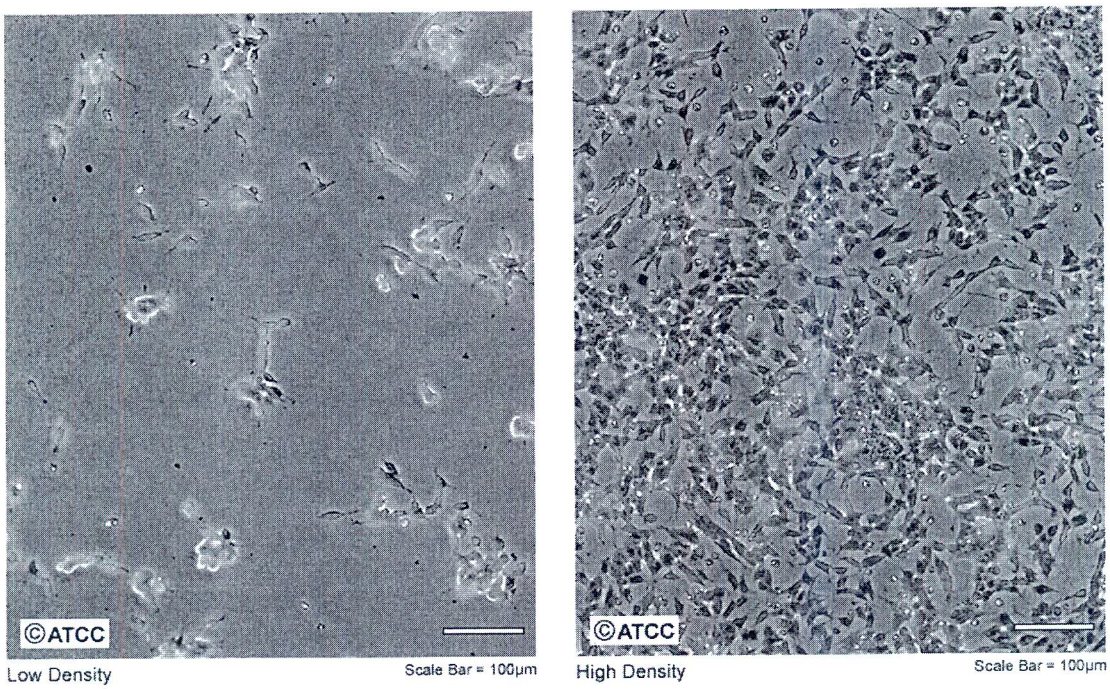
SH-SY5Y (Neuroblastoma) (รูปที่ 4)

ลักษณะ: epithelial

อวัยวะ: ไขกระดูก

อาหารเลี้ยงเซลล์: Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM)

ATCC Number: **CRL-2266**
Designation: **SH-SY5Y**



รูปที่ 4 เซลล์มะเร็งสมอง SH-SY5Y cell (ATCC CRL-2266)
ที่มา: ATCC (2011: เว็บไซต์)

เพาะเลี้ยงเซลล์ SH-SY5Y ในขวดเลี้ยงเซลล์ โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ ชนิด Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) บ่มในตู้บ่มเซลล์อุณหภูมิ 37°C หล่อเลี้ยงด้วย 5% CO_2 อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนทุก 2 – 3 วัน

นำเซลล์ที่ต้องการทดสอบมาเลี้ยงในถาดเพาะเลี้ยง 96 well plate ปริมาณ 4 x 10^5 cell/well บ่มในตู้อบอุณหภูมิ 37°C หล่อเลี้ยงด้วย 5% CO_2 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การสกัดสารจากผักชี

ผักชีที่ใช้เป็นผักชีจากแปลงกลุ่มเกษตรอินทรีย์ศรีไค อ.วารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี การสกัดจะใช้ตัวทำละลายเพื่อสกัดสารออกมา 2 ชนิดแตกต่างกัน คือ น้ำและเอทานอล ใช้ 95.50% ethanol (hydro alcohol)

ขั้นตอนการเตรียมพืชเพื่อทำการสกัดสาร

1. ผักชีมา 2 กิโลกรัม แล้วทำการล้างด้วยน้ำให้สะอาด
2. แยกส่วนใบและรากออกจากกัน และนำไปใส่ถาดแยกกันไว้
3. นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C จนกระทั่งส่วนต่างๆผักชีแห้ง
4. นำส่วนต่างๆของพืชที่แห้งแล้ว ไปบดให้ละเอียด
5. นำผงที่ได้ 10 g เพื่อเตรียมไปสกัดในขั้นตอนถัดไป ส่วนพืชที่เหลือให้เก็บในตู้เย็น

ขั้นตอนการสกัดด้วยน้ำ

1. นำผงของพืชส่วนต่างๆ อย่างละ 10 g ผสมกับน้ำกลั่น 40 ml แยกกันใส่ลงไปใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml นาน 1 วัน และต้มส่วนผสมเป็นเวลา 15 นาที
2. กรองเอาเฉพาะสารละลาย ทิ้งส่วนกากพืช (กรณีที่กรองไม่ได้ให้นำไป centrifuge)
3. นำสารสกัดหลังจากที่กรองได้ทั้งหมด ใส่ลงไปใน Round bottom flask
4. นำ Round bottom flask ไป Freeze dry
5. เก็บส่วนที่ได้ในตู้เย็น

ขั้นตอนการสกัดด้วยเอทานอล

1. นำผงของพืชส่วนต่างๆ อย่างละ 10 g ผสมกับเอทานอล 40 ml แยกกันใส่ลงไปใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml นาน 7 วัน
2. กรองเอาเฉพาะสารละลาย ทิ้งส่วนกากพืช (กรณีที่กรองไม่ได้ให้นำไป centrifuge)
3. นำสารสกัดหลังจากที่กรองได้ทั้งหมด ใส่ลงไปใน Round bottom flask
4. นำ Round bottom flask ไประเหยตัวทำละลายที่ Rotary evaporator
5. นำไป Freeze dry
6. เก็บส่วนที่ได้ในตู้เย็น

การทดสอบฤทธิ์ของสาร สกัดจากผักชีในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากภาวะ oxidative stress อันเนื่องจาก hydrogen peroxide โดยวิธี MTT assay

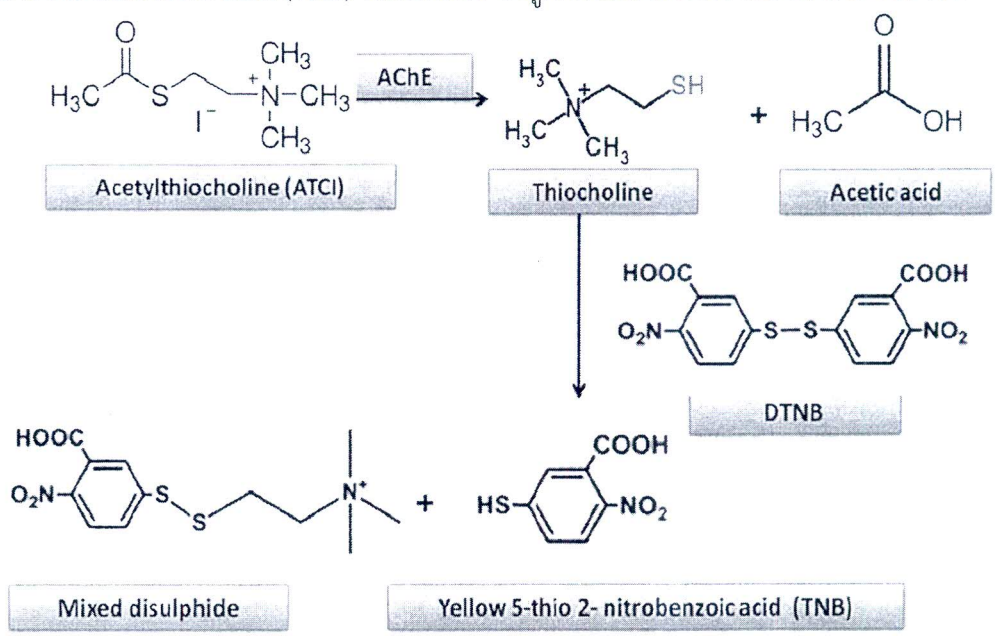
เพาะเลี้ยง human neuroblastoma cell (SH-SY5Y) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ชนิด Ham's F12: Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) ในอัตราส่วน 1:1 ในถาดเพาะเลี้ยง ขนาด 100 mm x 10 mm ในตู้อบอุณหภูมิ 37°C หล่อเลี้ยงด้วย 5% CO_2 อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนทุก 2 – 3 วัน เซลล์จะถูกทดสอบโดยนำมาเลี้ยงในถาดเพาะเลี้ยง 96 หลุม 3 วันทดสอบความสามารถในการป้องกันการทำลายเซลล์ โดยนำสารสกัดจากผักชีที่ความเข้มข้นต่างๆ 3 ความเข้มข้น (1, 10, 100 µg/ml) และ N-acetylcysteine (NAC) ความเข้มข้น 100 µg/ml (positive control) มาบ่มกับเซลล์ที่ได้ในถาดเพาะเลี้ยง 96 well plate เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ต่อจากนั้นเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิด

ภาวะ oxidative stress ด้วย hydrogen Peroxide (H_2O_2) 4 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารตัวทำละลาย DMSO แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 nm คำนวณร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์ (Park et al., 2015)

การทดสอบฤทธิ์ Acetylcholinesterase inhibitor

หลักการ Ellman method (Microplate assay)

เป็นการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเอนไซม์ Acetylcholinesterase โดยใช้ thiol ester acetylthiocholine แทน oxy ester acetylcholine (รูปที่ 5) โดยเอนไซม์ Acetylcholinesterase จะ hydrolyses acetylthiocholine ไปเป็น thiocholine และ acetate ซึ่ง thiocholine ที่ได้จะไป reduces Dithiobis-Nitrobenzoic Acid (Ellman's reagent) ได้เป็น 5-thio 2-nitrobenzoic acid (TNB) ที่มีสีเหลือง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 405 nm



รูปที่ 5 ปฏิกิริยาของ Acetylcholinesterase

ที่มา : Ali-Shtayeh, M. S., et al., 2014

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เติมสารละลายปริมาตร 125 µL ของ 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) และ Acetylthiocholine Iodide (ATCI) ปริมาตร 25 µL ลงใน 96-well plate
2. เติมสารสกัดผักชีที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้น 1, 10, 100 µg/ml และ สารมาตรฐาน Tacrine 0.4 µM ปริมาตร 25 µL ลงไป เพื่อเป็น positive control และเติม DMSO ลงใน control และ negative control แทนสารที่ต้องการทดสอบ 25 µL
3. เติมสารละลาย ปริมาณ 50 µL ของ Sodium Phosphate (pH 7.4) ลงใน 96-well plate เพื่อเป็น negative control
4. เติมสารละลายเอนไซม์ Acetylcholinesterase 0.2 U/mL ปริมาตร 50 µL
5. ตรวจสอบการเกิดไฮโดรไลซิสของ Acetylthiocholine โดยติดตามการเกิดสีเหลืองของแอนไอออน 5-thio-2-nitrobenzoate ซึ่งเกิดจาก ปฏิกิริยาระหว่าง DTNB กับ Thiocholines ซึ่งถูก Catalyzed

สำนักวิทยบริการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

โดยเอนไซม์ Acetylcholinesterase โดยวัดที่ความยาวคลื่น 405 nm วัดค่าการดูดกลืนแสงหลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องทุก 30 นาที เป็นเวลา 5 นาที

6. คำนวณร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์อะซีทิลโคลินเอสเทอเรสได้จากสูตร

$$\text{Acetylcholinesterase Inhibition (\%)} = [(A-B)-(C-D)]/(A-B) \times 100$$

กำหนด A คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่เติมเอนไซม์แต่ไม่เติมสารตัวอย่าง
B คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่เติมเอนไซม์และสารตัวอย่าง
C คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่เติมเอนไซม์และสารตัวอย่าง
D คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่เติมสารตัวอย่างแต่ไม่เติมเอนไซม์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพคตินเจลลี่น้ำตาลต่ำจากสารสกัดผักชี

หลังจากที่รู้ว่าในผักชีมีฤทธิ์ในการป้องกันเซลล์ประสาทอย่างมีนัยสำคัญ ขั้นตอนถัดไปคือการนำผักชีมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อเสริมสร้างมูลค่าให้กับผักชีจากการส่งขายในตลาด โดยผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมาจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้อุปกรณ์มากมาย สามารถนำมาทำตามได้จริง

กัมมี่เยลลี่ผักชี

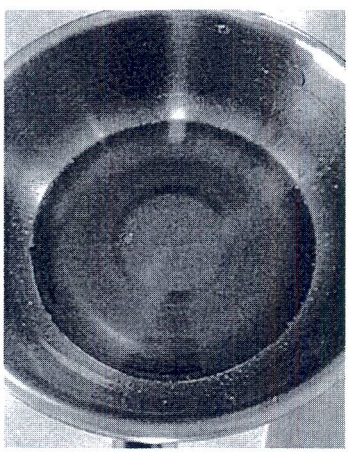
ส่วนประกอบ

1. น้ำผักชี 250 มิลลิลิตร
2. เจลาติน 40 กรัม
3. สารให้ความหวาน 40 กรัม
4. สารแต่งกลิ่น

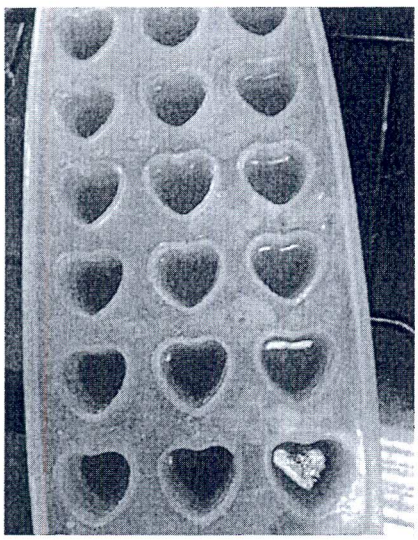
วิธีการทำ

1. ปั่นผักชี 300 กรัม กับน้ำเปล่า 300 มิลลิลิตร จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง นำไปต้มแล้วกรองอีกรอบจนได้น้ำผักชีใส

2. นำน้ำผักชี ผสมกับสารให้ความหวาน จากนั้นนำไปตั้งไฟ คนส่วนผสมละลายให้เข้ากัน จากนั้นหยดกลิ่นลงไป



3. ละลายเจลาตินด้วยน้ำอุ่น แล้วน้ำไปผสมรวมกับน้ำผักชีและสารให้ความหวาน จากนั้นคนให้เข้ากัน และเทลงในพิมพ์ที่เตรียมไว้



4.พักไว้ให้เซ็ตตัว และแกะออกจากพิมพ์

5.บรรจุลงในบรรจุภัณฑ์

บทที่ 4
ผลการวิจัย

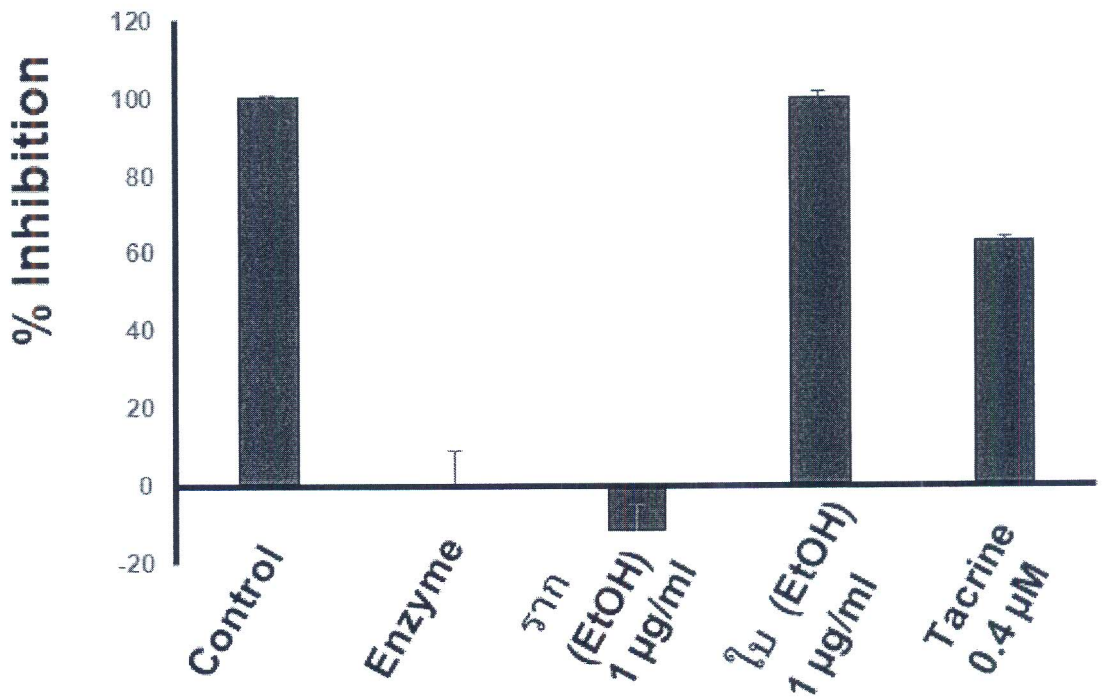
การสกัดสารสำคัญจากผักชี

การสกัดสารสำคัญจากผักชีโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำและเอทานอล ได้สารสกัดหยาบจากผักชีทั้งหมด 4 ชนิด คือ

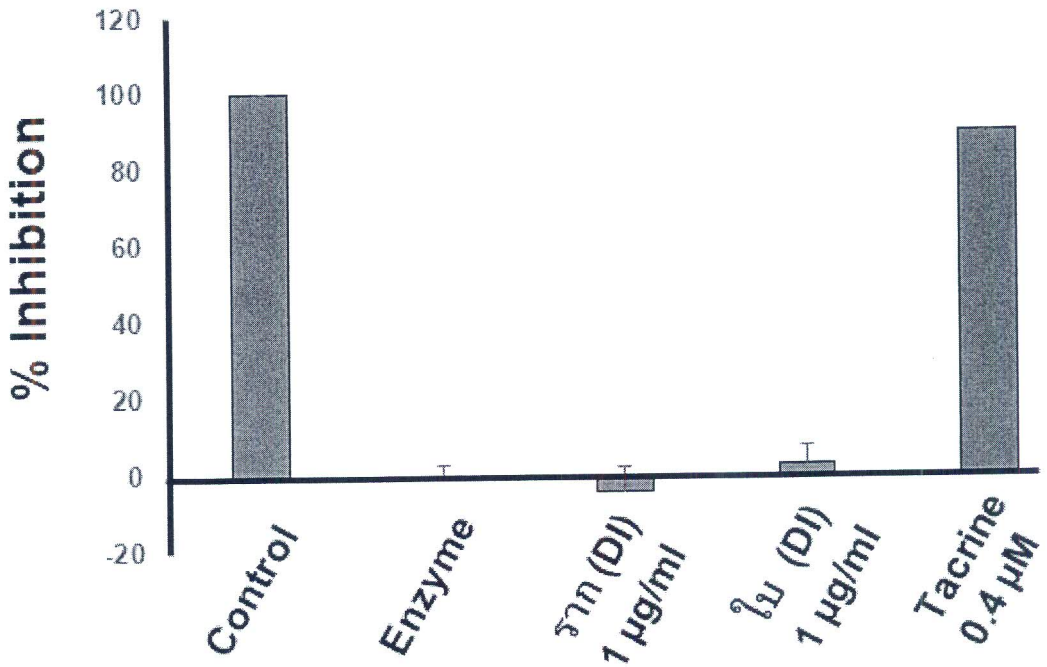
1. ใบและต้นผักชีที่สกัดด้วยน้ำ
2. รากผักชีที่สกัดด้วยน้ำ
3. ใบและต้นผักชีที่สกัดด้วยเอทานอล
4. รากผักชีที่สกัดด้วยเอทานอล

ผลของสารสกัดจากผักชีต่อการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผักชีส่วนรากและใบที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ต่อการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในส่วนสารสกัดด้วยเอทานอล สารสกัดจากรากความเข้มข้น 1 µg/ml ไม่มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ส่วนสารสกัดจากใบความเข้มข้น 1 µg/ml สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ 99.67 ± 1.23 % (รูปที่ 6) โดยมี tacrine เป็น positive control สำหรับสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ DI พบว่าทั้งส่วนรากและใบไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ (รูปที่ 7)



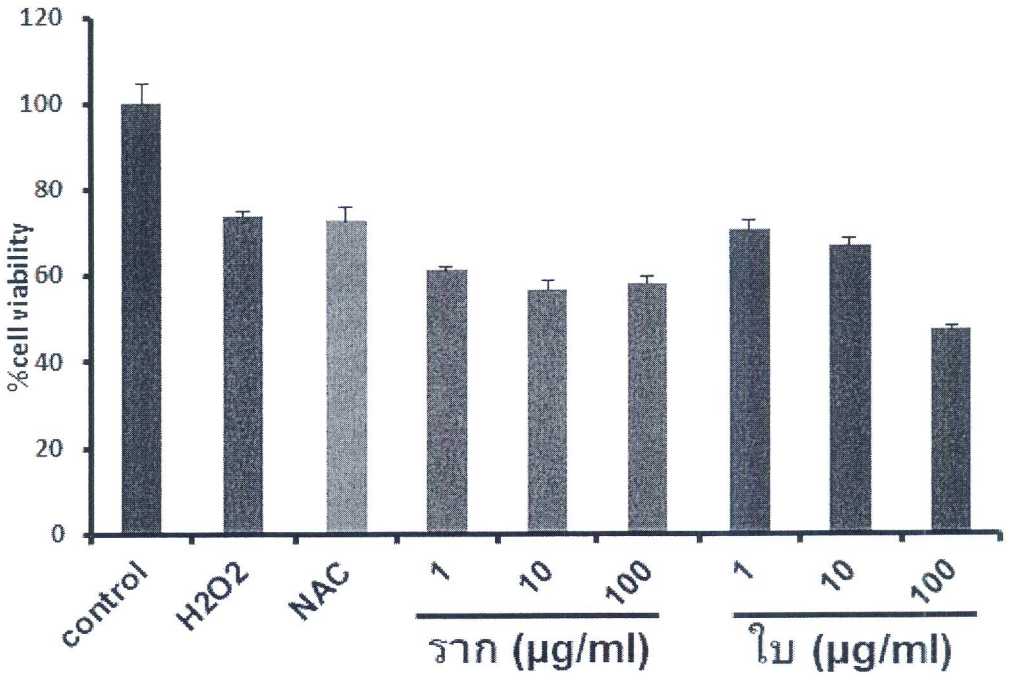
รูปที่ 6 ผลของสารสกัดจากผักชีด้วยเอทานอลต่อการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase



รูปที่ 7 ผลของสารสกัดจากผักชีด้วยน้ำ DI ต่อการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase

ฤทธิ์ของสารสกัดจากผักชีในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากภาวะ oxidative stress อันเนื่องจาก hydrogen peroxide

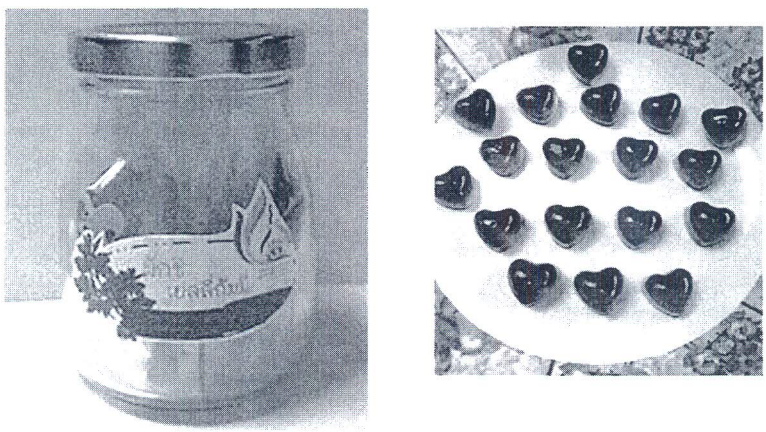
จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผักชีส่วนรากและใบด้วยเอทานอลและน้ำความเข้มข้นต่างๆ ในการป้องกันเซลล์ประสาทจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์พบว่าสารสกัดทั้งสองส่วนไม่มีฤทธิ์ในการป้องกันเซลล์ประสาทจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่ม positive control คือ N-acetyl cystein



รูปที่ 8 ผลของสารสกัดจากผักชีส่วนรากและใบด้วยเอทานอลต่อเซลล์ประสาทที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ผักชี

นำสารสกัดผักชีมาพัฒนาต่อเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ คือ กัมมี่เยลลี่ผักชี ซึ่งมีลักษณะเหนียว นุ่ม ไม่เละ ปราศจากน้ำตาลและสารกันเสีย มี 2 รสชาติ ได้แก่ รสใบเตย และรสแอปเปิล ซึ่งแต่ละชิ้นของกัมมี่เยลลี่ผักชีมีสารสกัดจากผักชีประมาณ 0.6 mg ดังรูปที่ 9



รูปที่ 9 ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ กัมมี่เยลลี่ผักชี

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase และฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของสารสกัดจากส่วนรากและใบซึ่งเป็นส่วนที่นิยมรับประทานโดยสกัดด้วยน้ำและเอทานอลซึ่งผลพบว่า สารสกัดจากใบผักชีด้วยเอทานอลมีผลในการยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase ส่วนรากไม่มีผลและสารสกัดทั้งสองส่วนไม่มีผลในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ ทำให้ได้ข้อมูลว่าส่วนใบมีสารที่อาจช่วยป้องกันเซลล์ประสาทผ่าน cholinergic hypothesis โดยการลดการทำลาย neurotransmitter คือ acetyl choline ได้ ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ได้พัฒนาเป็นเจลลี่กัมมี่หนัก 10 กรัม/ก้อน จากส่วนใบผักชี และมีสารสกัดจากผักชีประมาณ 0.6 mg/ก้อน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาในเซลล์ประสาทหลากหลายชนิดมากขึ้น เพราะสารสกัดหยาบจากผักอาจออกฤทธิ์ได้จำเพาะต่อเซลล์แต่ละชนิดได้แตกต่างกัน
2. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตายแบบอะพอพโทซิส ผ่าน Intrinsic pathway ควรทำการศึกษาโปรตีนที่มีความหลากหลายมากขึ้นทั้งใน anti-apoptotic protein และ pro-apoptotic protein
3. ควรทำการตรวจสอบโปรตีนเกี่ยวข้องผ่านกลไกอื่นที่ทำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส ในวิถี Extrinsic pathway ด้วย หรืออาจทำการศึกษาการยับยั้งเซลล์มะเร็งผ่านกลไกอื่น เช่น การยับยั้งการเคลื่อนที่และการบุกรุกของเซลล์มะเร็ง
4. ควรทำการศึกษาหาฤทธิ์เพิ่มเติมในผลผักชี ซึ่งหากสามารถออกฤทธิ์ได้ดี จะเป็นการเพิ่มมูลค่าผักชีได้
5. ควรใช้สารสำคัญที่พบในส่วนใบมาทดสอบเพิ่มเติมและขยายผลไปยังการทดสอบ *in vivo* และระดับคลินิคต่อไป
6. การรับประทานผักชีในรูปใบสดเพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายอาจกินร่วมกับผักใบเขียวชนิดอื่นในปริมาณ 400-500 กรัมต่อวัน และหากได้รับในรูปสารสกัดจะทำให้รับประทานง่ายขึ้นและมีขนาดเล็กลง อาจรับในรูปขนมเช่น เจลลี่กัมมี่ หรือหากไม่ต้องการหรือกลิ่นของผักชีสามารถรับประทานในรูปแบบแคปซูลได้
7. ผักชีมีวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด รวมถึงไฟเบอร์ และสารสำคัญจากผักชีซึ่งต้านอนุมูลอิสระ ต้านการทำลายเซลล์ประสาท นอกจากนี้กลุ่มวิจัยยังทำการทดสอบเพิ่มเติมพบว่าผักชีมีฤทธิ์ต้านมะเร็งอีกด้วย และไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกาย

เอกสารอ้างอิง

1. อรพิชญา ไกรฤทธิ์, สิรินทร ฉันศิริกาญจน. **ภาวะสมองเสื่อม มหันตภัยใกล้ตัว.** การสาธารณสุขไทย 2548-2550. สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข.
2. Agis-Torres A, Sölhuber M, Fernandez M, and Sanchez-Montero JM. Multi-Target-Directed Ligands and other Therapeutic Strategies in the Search of a Real Solution for Alzheimer's Disease. **Current Neuropharmacology**. 12: 2-36, 2014.
3. Amanda Danuello A, Romeiro NC, Giesel GM, Pivatto M, Viegas C, Verli H, and Eliezer J. Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Semi-Synthetic Piperidine Alkaloids as Acetylcholinesterase Inhibitors. **Journal of the Brazilian Chemical Society.** 23: 163-170, 2012.
4. Ansari MA, Abdul HM, Joshi G,. Opii WO, and Butterfielda DA. Protective Effect of Quercetin in Primary Neurons Against Aβ(1-42): Relevance to Alzheimer's
5. Arancibia-Avila P, Fernando T. Yong-Seo P, Soon-Teck J, Seong-Gook K, Buk Gu H, Sang-Hyun L, and Mietek S. Antioxidant properties of durian fruit as influenced by ripening. **Food Science and Technology**. 41: 2118-2125, 2008.
6. Bochra L, Karima K, Mahmoud MH, Taoufik B. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and its bioactive constituents. Fitoterapia 2015
7. Lillian B, Montserrat D, Maria ID, Maria JS, Celestino SB, Isabel CF. Phenolic profiles of *in vivo* and in vitro grown *Coriandrum sativum* L. Food Chemistry 2012;132:841-8
8. Veda P, Supaluk P, Somsak R, Virapong P, Coriander (*Coriandrum sativum*): A promising functional food toward the well-being. Frin 2017

ประวัตินักวิจัย

ผศ.ดร.พรทิพย์ ไววุฒิ

สถานที่ทำงาน

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ถนนสถลมาร์ค
ตำบลเมืองศรีไค อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190
โทรศัพท์ 045-353609 มือถือ 080-8955511

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2555 Doctor of Philosophy สาขา Pharmaceutical Sciences มหาวิทยาลัยโทยามะ ประเทศญี่ปุ่น

ประวัติการทำงาน

- พ.ศ. 2562 ปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- พ.ศ.2559-2562 ผู้ช่วยอธิการบดี ฝ่ายบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
  ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- พ.ศ.2558-2559 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- พ.ศ.2547-2558 อาจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ความเชี่ยวชาญ

- Biochemistry and molecular biology
- Cancer biology, Oncology
- Anticancer activity and neuroprotective activity of natural products

งานบริการวิชาการ

พ.ศ.2559-2562 ผู้ช่วยอธิการบดี ฝ่ายบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

รับผิดชอบโครงการบริการวิชาการรับใช้สังคมดังต่อไปนี้

- โครงการโครงการบูรณาการความรู้สู่ชุมชนเพื่อพัฒนาอาชีพและส่งเสริมเศรษฐกิจฐานรากเป็นโครงการที่ส่งเสริมอาชีพและเพิ่มรายได้ให้ประชาชนในจังหวัด ศรีสะเกษและอุบลราชธานี
- โครงการบูรณาการความรู้สู่การปฏิบัติจริงเป็นโครงการบูรณาการความรู้สาขาต่างๆของอาจารย์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาชุมชนด้านต่างๆ
- โครงการขับเคลื่อนปรัชญาของศรษฐกิจอเพียงด้วยลังนิสิตนักศึกษา มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ร่วมกับบมูลนิธิรากแก้ว เป็นโครงการส่งเสริมให้ชุมชนพัฒนาและพึ่งพาตนเองได้ในมิติต่างๆ ได้แก่ การจัดการน้ำ

สิ่งแวดล้อม การศึกษา สุขภาพ และพัฒนาอาชีพ โดยมีชุมชนเป้าหมายคือ บ้านศรีไคออก อ.วารินชำราบ จ. อุบลราชธานี

งานวิจัยและทุนวิจัยที่ได้รับ

1. พ.ศ. 2563 โครงการวิจัยการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดส่องฟ้าและการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้านมะเร็ง (โครงการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก เครือข่ายอุดมศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง)
2. พ.ศ. 2563 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเพื่อการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากสารสกัด มะเขือเทศ (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)
3. พ.ศ.2562 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเพื่อการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากสาร สกัดผักชี ทุนนักวิจัยเพื่อพัฒนาต้นแบบนวัตกรรมเพื่อสังคมสูงวัย (มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)
4. พ.ศ. 2660 ผลของสารสำคัญจากหยีน้ำต่อการเจริญเติบโต การเคลื่อนที่ และ การบุกรุกเซลล์ข้างเคียงของเซลล์มะเร็ง สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
5. พ.ศ.2559 ฤทธิ์ของสารสกัดจากผลทุเรียนต่อภาวะความจำบกพร่อง (สกว.)
6. พ.ศ.2559 การเก็บข้อมูลสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งในเขตจังหวัดอุบลราชธานี (มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)
7. พ.ศ.2559 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากไข่น้ำต่อการป้องกันภาวะความจำเสื่อม สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
8. พ.ศ.2557 ผลกระตุ้นของสารสำคัญจากส่องฟ้าต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งลำไส้ด้วยเทล (สกว.)
9. พ.ศ.2557 การใช้ภาษาอังกฤษในการสื่อสารผ่านสื่อการสอนออนไลน์ (มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี)
10. พ.ศ.2556 ฤทธิ์ของสารสกัดจากผลส้มโอพันธุ์ทับทิมสยาม พันธุ์ทองดี และพันธุ์ขาวน้ำผึ้งต่อภาวะความจำบกพร่องและความซึมเศร้า (สกว.)
11. พ.ศ.2556 การศึกษาฤทธิ์ต่อภาวะความจำบกพร่อง ภาวะซึมเศร้าของผลมะปรางและหมากเม่า และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ (สกว.)
12. พ.ศ. 2551 กระบวนการพัฒนาอาสาสมัครสาธารณสุขหมู่บ้าน [อสม.] เพื่อปรับเปลี่ยนพฤติกรรมด้านสุขภาพของชุมชน หมู่บ้านหนองบัว ตำบลขามใหญ่ อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี (สกว. งานวิจัยเพื่อท้องถิ่น)

หนังสือและตำรา

1. **Pornthip Waiwut**, Hiroki Inoue, Ikuo Saiki and Hiroaki Sakurai. Gomisin N: A Herb-derived Compound that Enhances Death Receptor-mediated Apoptosis of Cancer Cells: in *Traditional Medicine: New research*. New York, USA: Nova Science Publishers, Inc. 2013. p147-157.

ผลงานตีพิมพ์

1. Takomthong P, **Waiwut P,** Yenjai C, Sripanidkulchai B, Reubroycharoen P, Lai R, Kamau P, Boonyarat C. **Structure-Activity Analysis and Molecular Docking Studies of Coumarins From** Toddalia asiatica **as Multifunctional Agents for Alzheimer's Disease.** ***Biomedicines*****, 2020;** 8(5):107. (Impac factor 4.717)
2. Chheng C, **Waiwut P**, Plekratoke K, Chulikhit Y, Daodee S, Monthakantirat O, Pitiporn S, Musigavong N, Kwankhao P, Boonyarat C. Multi-target activities of Kleeb Bua Daeng, a Thai traditional herbal formula, against Alzheimer's disease. *Phamaceuticals*, 2020; 25;13(5):79. (Impact factor 4.421)
3. Piyapan Suwanttananuruk, Jutamas Jiaranaikulwanitch, **Pornthip Waiwut,** Opa Vajragupta Lead discovery of a guanidinyl tryptophan derivative on amyloid cascade inhibition. *Open Chemistry*, 2020; 18: 546–558. (Impact factor 1.216)
4. Chantana Boonyarat, Bunthita Jongpremkitpaisan, Suwapak Chaiwasukul, Prasert Reubroycharoen, **Pornthip Waiwut**. The Effects of Thai Traditional Herbal Extracts on the Death of Cancer Cells. *Thai J Pharmacol*, 2020; 43: 36-47.
5. Plekratoke K, **Waiwut P**, Suchaichit N, Bunyapraphatsara N, Reubroycharoen P, Boonyarat C. Neuroprotective Effect of Durio zibithinus against Beta Amyloid. Thai J Pharmacol. Vol. 40: 14-26, 2018
6. Boonsin P, Boonyarat C, Plekartoke K, Reubroycharoen P, Waiwut P. Antioxidant activity, β-amyloid aggregation inhibition, and neuroprotective effect of cricket (Gryllus bimaculatus) ethanol extract. The 6 th International Conference on Biochemistry and Molecular Biology (BMB2018): 2-8, 2018.
7. Sonphueng P, **Waiwut P,** Chulikhit Y, Doadee S, Boonyarat C. In vitro activity of pomelo relevant to treatment of Alzheimer's Disease. *Proceedings of the* APFP 2016. Berkeley Hotel, Bangkok, Thailand: 253, 2016.
8. Boonyarat C, Yenjai C, Reubroycharoen P, **Waiwut** P. Combination of nimbolide and TNF-α-increases human colon adenocarcinoma cell death through JNK-mediated DR5 upregulation. *Asian Pac J Cancer Prev*. (2016): 2637-2641.
9. Boonyarat C, Yenjai C, Vajragupta O, **Waiwut P**. Heptaphylline induces apoptosis in human colon adenocarcinoma cells through Bid and Akt/NF-×B (p65) Pathways. Asian Pac J Cancer Prev 2015;15(23): 10483-10487.
10. **Waiwut P**, Boonyarat C. Bufotalin Promotes TRAIL-induced Apoptosis in Non-Small Lung Cancer Cells. IJTRA. 2015; 13.
11. Thiratmatrakul S, Yenjai C, **Waiwut P**, Vajragupta O, Reubroycharoen P, Tohda M, Boonyarat C. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of novel tacrine-carbazole hybrids

as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *European J. of Medicinal Chemistry* 2014; 75: 21-30.

12. **Waiwut P**, Yokoyama S, Saiki I, and Sakurai H. Gomisin A enhances TNF-α-induced G1 cell cyclearrest via STAT1-mediated RB phosphorylation. *Biol Phrm Bull,* 35(11):1997-2003, 2013.
13. Inoue H, Waiwut **P**, Saiki I, Shimada Y, Sakurai H. Gomisin N enhances TRAIL-induced apoptosis via reactive oxygen species-mediated up-regulation of death receptors 4 and 5. *Int J Oncol.* 40(4):1058-65, 2012.
14. Thanaketpaisarn O, Waiwut P, Sakurai H, Saiki I. Artesunate enhances TRAIL-induced apoptosis in human cervical carcinoma cells through inhibition of the NF-**K**B and PI3K/Akt signaling pathways. *Int J Oncol.* 39(1):279-85, 2011.
15. **Waiwut P**, Inujima A, Inoue H, Saiki I, and Sakurai H.: Bufotalin sensitizes death receptor-induced apoptosis via Bid- and STAT1-dependent pathways. *Int. J. Oncol.* 40: 203-208, 2011.
16. **Waiwut P**, Shin MS, Inujima A, Zhou Y, Koizumi K, Saiki I, and Sakurai H.: Gomisin N enhances TNF-α-induced apoptosis via inhibition of the NF-**K**B and EGFR survival pathways. *Mol. Cell. Biochem.* 350: 169-175, 2011.
17. **Waiwut P**, Saiki I, Sakurai H. "Dihydrocapsaicin inhibits cancer cell proliferation by regulating cell cycle proteins." *Proceedings of the 8th International Symposium of the Protein Society of Thailand.* Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand, 2013: 151-154
18. **Waiwut P**, Boonyarat C, Reubroycharoen P, Janjaratjit N, ISaiki I, Sakurai H. "Bufotalin inhibits cell proliferation and migration of cervical cancer cells." *Proceedings of the fourth international conference on Natural products for health and beauty.* Chiang Mai University, Chiang Mai, 2012: 406 - 551

การนำเสนองานในที่ประชุมวิชาการ

1. **Waiwut P.** In vitro biological activities of Wolffia globosa relevant to prevention of Alzheimer's disease. Presentation at the academic conferences and symposium. The 4th International Conference on Pharma and Food (ICPF) 2018, Nippondaira Hotel, Shizuoka, November 14-16, 2018.น
2. **Waiwut P** Nelumbo nucifera as a promising multifunctional extract with acetylcholinesterase inhibition, anti-β-amyloid aggregation and neuroprotective properties for the treatment of Alzheimer's disease. The 4th International Conference on Pharma and Food (ICPF) 2018, Nippondaira Hotel, Shizuoka, November 14-16, 2018.

3. **Waiwut P,** Boonyarat C, Nualkaew S. Antioxidant and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Thai Herbal Prasaplai Formula. 3rd International Symposiu on Phytochemicals in Medicine and Food. 25 August 2018 - 30 August 2018 12:00, Kunming, China.
4. Boonyarat C, **Waiwut P.** The Pouteria Campechiana fruit extract Induced Cytotoxicity and Apoptosis in HT29 Colon AdenocarcinoBasel, Switzerland, 19-21 September 2016.
5. **Waiwut P,** Boonyarat C. In Vitro Activity of Capsaicin Derivatives Relevant to Treatment of Alzheimer's Disease, Basel, Switzerland, 19-21 September 2016.
6. Boonyarat C, Yenjai C, Vajragupta C, Reubroycharoen P, **Waiwut P.** Nimboline sensitizes TNF-α-induced colon adenocarcinoma cell death through JNK pathway. The JSPS-NRCT Follow-Up Seminar 2015 and 31st International Annual Meeting in Pharmaceutical Sciences (JSPS-NRCT and IAMPS) "Advanced Science and Technology in Pharmaceutical Research" January 22nd-23rd, 2015, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
7. **Waiwut P,** Boonyarat C. Bufotalin Promotes TRAIL-induced Apoptosis in Non-Small Lung Cancer Cells. 4th International Conference on Science and Technology (ICST), January 3-4, 2015, Bangkok,Thailand.
8. **Waiwut P,** Sakurai H, Saiki I, Boonyarat C. Bufotalin Enhances Tumor Necrosis Factor-α-Mediated-Apoptosis through DR5 Upregulation. The 4th International Biochemistry and Molecular Biology Conference 2014 "Bridging ASEAN Biochemical Research Communities". Rama Gardens Hotel & Resort, Bangkok, Thailand, Poster presentation. April 2-3, 2014.
9. Boonyarat C, Yenjai C, Vajragupta O, Reubroycharoen P, **Waiwut P.** Heptaphylline induced human colon adenocarcinoma cell death by regulating apoptotic proteins. The 7th AOHUPO Congress in 2014. Miracle grand hotel, Bangkok, Thailand. August 6-8, 2014. P.195.
10. **Waiwut P,** Sukhano W, Puthongking P, Reubroycharoen P and Boonyarat C. Neuroprotective effects of five melatonin derivatives. The 6th annual northeast pharmacy conference of 2014. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani. February 1 – 2, 2014. P.172 \
11. **Waiwut P,** Saiki I, Sakurai H. Dihydrocapsaicin inhibits cancer cell proliferation by regulating cell cycle protein. Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand. August 5-8, 2013. P.151.
12. **Waiwut P,** Chulikhit Y, Daodee S, Reubroycharoen P, Boonyarat C. Effects of *Antidesma Velutinosum* extracts on improvement of memory deficit induced by scopolamine in mice. The fourth international conference on Natural products for health and beauty. Chiang Mai University, Chiang Mai, November 28-30, 2012. P310.
13. **Waiwut P,** Boonyarat C, Reubroycharoen P, Janjaratjit N, Saiki I and Sakurai H. Bufotalin inhibits cell proliferation and migration of cervical cancer cells. The fourth international conference on

Natural products for health and beauty. Chiang Mai University, Chiang Mai, November 28-30, 2012. P. 551.406 - 551.409.

14. **Waiwut P**, Saiki I, Sakurai H. Bufotalin enhances TRAIL-induced apoptosis in non-small lung cancer cells via DR4 pathway. The fourth international conference on Natural products for health and beauty. Chiang Mai University, Chiang Mai, November 28-30, 2012
15. Boonyarat C, Sakurai H, Saiki I, **Waiwut P**. Molecular docking study of Gomisin A and STAT1 receptor interactions. MipTec 2012 - the premier European Drug Discovery Event. Congress Center Basel, Basel, Switzerland, Poster presentation. September 24-27, 2012. P. 53
16. Boonyarat C, Thiratmatrakul S, Yenjai C, **Waiwut P**, Tohda M. Tacrine-heptaphylline hybrid: a potential multifunctional agent for the treatment of Alzheimer's disease. Rihga royal hotel, Osaka, Japan. Poster presentation. November 6 – 8, 2013: P.104.
17. Boonyarat C, Chulikhit Y, **Waiwut P**, Luecha P. Effects of *Piper sarmentosum* extract on improvement of memory deficit induced by scopolamine in mice. The 4th International Biochemistry and Molecular Biology Conference 2014 "Bridging ASEAN Biochemical Research Communities". Rama Gardens Hotel & Resort, Bangkok, Thailand, Poster presentation. April 2-3, 2014
18. **Waiwut P**, Sakurai H, Saiki I, Boonyarat C. Bufotalin Enhances Tumor Necrosis Factor-**α**-Mediated-Apoptosis through DR5 Upregulation. The 4th International Biochemistry and Molecular Biology Conference 2014 "Bridging ASEAN Biochemical Research Communities". Rama Gardens Hotel & Resort, Bangkok, Thailand, Poster presentation. April 2-3, 2014.

รางวัลที่ได้รับ

- พศ. 2558 ได้รับรางวัล the best paper presenter จากการนำเสนอผลงานวิชาการแบบ oral presentation ในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ the 4th International Conference on Science and Technology (ICST), Bangkok 2015 วันที่ 3-4 มกราคม พ.ศ.2558
- พ.ศ.2562 ได้รับรางวัลสร้างสรรค์นวัตกรรมดีเด่น "เครื่องตรวจสารต้านมะเร็งในพืช" จากสำนักส่งเสริมกิจการบ้านเมืองที่ดี สำนักงานกพร. วันที่ 16 มกราคม พ.ศ.2562