

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของสารสกัดจากผลทุเรียนหมอนทองต่อฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ ในหลอดทดลอง (*In vitro*) ในเซลล์เพาะเลี้ยง (cell culture) และในสัตว์ทดลอง (*In vivo*) รวมทั้งได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญที่มีในสารสกัดจากผลทุเรียนหมอนทอง จากการทดลองในหลอดทดลอง เพื่อคัดกรองฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรส และฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มกันของโปรตีนเบต้าอะไมลอยด์ 42 ของสารสกัดจากผลทุเรียนทั้งหมด 3 กลุ่ม ได้แก่ สารสกัดหยาบเอทานอล (CE) สารสกัดหยาบเฮกเซน (CH) และสารสกัดหยาบเอทานอลที่มีการกำจัดไขมันออกโดยใช้เฮกเซน (dCE) พบว่าสารสกัด CE และ dCE มีฤทธิ์ดีในการต้านออกซิเดชันทั้งในโมเดล ABTS และ DPPH assay สำหรับการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรส พบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/mL}$ ไม่ให้ผลในการทดสอบเมื่อทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธี *in vitro* Ellman's method และจากการทดสอบฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มกันของโปรตีนเบต้าอะไมลอยด์ 42 พบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL มีฤทธิ์ในการต้านการเกาะกลุ่มของโปรตีนเบต้าอะไมลอยด์ 42 สำหรับการทดสอบในเซลล์เพาะเลี้ยงถึงฤทธิ์ในการป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากภาวะ oxidative stress และ beta amyloid ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดพยาธิสภาพของโรคอัลไซเมอร์ พบว่า สารสกัด CE สามารถป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทจากภาวะ oxidative stress และจากเบต้าอะไมลอยด์ 42 โดยผ่านวิถี extrinsic pathway โดยการยับยั้งการกระตุ้น DR5 expression ส่งผลต่อการกระตุ้นการตัด caspase 8 และ caspase 3 รวมทั้งมีผลป้องกันการทำลายเซลล์ประสาทโดยผ่านวิถี Akt โดยป้องกันการเติมฟอสเฟต (phosphorylation) ให้กับ Akt และจากการศึกษาฤทธิ์ในการป้องกันภาวะความจำเสื่อมที่ถูกเหนี่ยวนำโดย scopolamine ของสารสกัด CE ในแบบจำลองสัตว์ทดลอง พบว่าสารสกัดจากผลทุเรียนหมอนทองมีผลป้องกันภาวะความจำเสื่อมที่ถูกเหนี่ยวนำโดย scopolamine ในหนูไม่ซีได้ โดยมีผลทั้ง spatial short-term memory (ความจำระยะสั้น) และ spatial long term memory (ความจำระยะยาว) รวมทั้งมีผลการการทำงานของเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรสในสมองส่วน hippocampus ของหนูไม่ซีที่ถูกเหนี่ยวนำโดย scopolamine ด้วย จากข้อมูลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดจากผลทุเรียนหมอนทองสามารถออกฤทธิ์ผ่านหลายกลไกคือ ออกฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของโปรตีนเบต้าอะไมลอยด์ 42 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรส และฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาท รวมทั้งยังมีผลป้องกันภาวะความจำเสื่อมที่ถูกเหนี่ยวนำโดย scopolamine ได้ จากข้อมูลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาสารสกัดทุเรียนไปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ในการรักษาหรือป้องกันภาวะความจำเสื่อมในโรคอัลไซเมอร์ นอกจากนี้ยังได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการส่งเสริมให้ผู้บริโภคได้เห็นความสำคัญของผลไม้ชนิดนี้ โดยเฉพาะประโยชน์ในแง่โภชนาบำบัด และการช่วยป้องกันการเกิดโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคอัลไซเมอร์

คำสำคัญ : ทุเรียน ความจำบกพร่อง ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรส ฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของโปรตีนเบต้าอะไมลอยด์ ฤทธิ์ป้องกันการทำลายเซลล์ประสาท

ABSTRACT

The present study was aimed to evaluate the effects of the ethanol extract (CE), defatted ethanol extract (dCE) and hexane extract (CH) of *Durio zibithinus* cultivar “Mon Thong” on pathological cascade of Alzheimer’s disease (AD) by *in vitro*, *in vivo* and cell culture models. The results exhibited that both of CE and dCE showed good antioxidant activity by both 2,2’-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay. The result from Ellman method indicated that all extracts at the concentration of 500 µg/mL could not inhibit acetylcholinesterase function. In addition, for thioflavin T assay which studies an effect on β -amyloid ($A\beta$) aggregation indicated that CE, dCE and CH at the concentration of 1 mg/mL were able to inhibit $A\beta$ aggregation. The neuroprotection study in cell culture revealed that both CE and dCE could reduce human neuroblastoma cell (SH-SY5Y) death induced by H_2O_2 and $A\beta$. Moreover, the result from Western blotting analysis indicated that CE inhibited H_2O_2 and $A\beta$ -induced cell death via DR5 inhibition, resulting in inhibiting of cleave-caspase 8, cleave-caspase 3 activation and changes in the phosphorylation level of Akt (protein kinase B). The *in vivo* effect on the improvement of cognitive impairment induced by scopolamine indicated that CE at the dose of 250 mg/mL/day was able to decrease the time spent in quadrant 1 in the Morris water maze test which reflects on long-term memory and significantly increase percent alternation measured by the Y-maze test which reflects on short-term memory when compared with the only scopolamine treated mice. Moreover, CE at the dose of 250 and 500 mg/mL/day could decrease acetylcholinesterase function in mice hippocampus. The overall results indicated that the *Durio zibithinus* extract possesses multimode of action involved with AD pathology cascade including antioxidant, anti- $A\beta$ aggregation, anti-acetylcholinesterase and neuroprotection against oxidative stress and β -amyloid. Thus, the *Durio zibithinus* cultivar “Mon Thong” might be a potential candidate for further developing as drug for Alzheimer’s disease.

Keywords: *Durio zibithinus*, Memory deficit, Antioxidant, Acetylcholinesterase inhibition, beta amyloid aggregation inhibition, Neuroprotection.