สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตนั้นมีกลไกการป้องกันการเกิดอันตรายจากสภาวะเครียด โดยใช้กระบวนการต่างๆภายในเซลล์โดยเอนไซม์ในเฟส 2 นั้นมีบทบาทที่สำคัญในการต่อต้านความเป็นพิษจากสารพิษโดยทำหน้าที่ขับออกนอกร่างกายเพื่อไม่ให้สะสมแล้วก่อโทษได้ เอนไซม์เฟส 2 ที่สำคัญได้แก่ UDP- glucuronosyltransferase, glutathione-s-transferase, N-acetyltransferase และ Quinone reductase นอกจกนี้การเร่งกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายนั้นจะเป็นหนทางหนึ่งในการป้องกันโรคอันมีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระเช่น มะเร็ง เบาหวาน โรคหัวใจเป็นต้น จากการวิจัยพบว่าเมื่อรับประทานผัก และผลไม้นั้นสามารถช่วยกำจัดสารอนุมูลอิสระที่มากได้และยังช่วยป้องกันโรคได้อีกทางหนึ่ง เมื่อนำผักผลไม้ต่างๆมาวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ที่สำคัญนั้นพบว่าสารกลุ่มโพลีฟีนอลนั้นเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยป้องกันโรคได้ โดยเฉพาะกรดกาเฟอิกนั้นมีบทบาทหน้าที่สำคัญในการป้องกันมะเร็ง กำจัดอนุมูลอิสระได้ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารที่ออกฤทธิ์ให้มีฤทธิ์เพิ่มมากขึ้นโดยการวิจัยครั้งนี้ได้สังเคราะห์อนุพันธ์กรดกาเฟอิกในรูปของเอสเทอร์และเอไมด์จากนั้นทำการศึกษาสมบัติของสารสังเคราะห์ได้แก่การกำจัดอนุมูลอิสระในหลอดทดลองคือ DPPH และ superoxide anion ศึกษาการยับยั้งการเกิดลิปิดออกซิเดชันของเม็ดเลือดแดง ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของกรดไลโนเลอิกและศึกษาการเหนี่ยวนำเอนไซม์เฟส 2 ได้แก่ glutathione-s- transferase, UDP- glucuronosyltransferase, , N-acetyltransferase และ quinine reductase ในเซลล์มะเร็งตับชนิด Hep G2

การทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ superoxide anion นั้นพบว่าอนุพันธ์เอไมด์นั้นมีฤทธิ์กำจัดมากกว่าเอสเทอร์เนื่องจากว่าเอไมด์นั้นภายในโมเลกุลประกอบด้วยไฮโดรเจนอะตอมที่สามารถให้กับอนุมูลอิสระได้ถึง 3 อะตอมเมื่อเทียบกับเอสเทอร์ที่ให้ไฮโดรเจนได้เพียง 2 อะตอมเท่านั้น จากสมบัตินี้เองทำให้ฤทธิ์การป้องกันการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงเมื่อเหนี่ยวนำด้วย AAPH ที่เป็นอนุมูลอิสระสารหนึ่งกลไกการป้องกันการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงนั้นน่าจะมาจากการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ AAPH ทำให้ลดความรุนแรงของการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงได้ กรดไลโนเลอิกนั้นเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีความสำคัญในร่างกายและมัก

ถูกออกซิเดชันได้ง่ายจากอนุมูลอิสระภายในเซลล์หรือร่างกาย ซึ่งในการทดลองนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไลโนเลอิกจากการทดลองพบว่าสารสังเคราะห์อนุพันธ์กลุ่มเอไมด์นั้นสามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไลโนเลอิกได้ด้วยกลไกเดียวกัน นอกจากเมื่อเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างพบว่าอนุพันธ์ที่มีโมเลกุลเล็กๆสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ ต้านปฏิกิริยา ออกซิเดชันได้ดีกว่าสารที่มีโมเลกุลใหญ่และมี side chain ที่ใหญ่ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแรงของการให้อิเล็กตรอนของสารที่มี side chain สั้นนั้นมีความสามารถในการให้ ไฮโดรเจนอะตอมได้ง่ายกว่า

การศึกษาการเหนี่ยวนำเอนไซม์เฟส 2 พบว่าสารที่มี side chain ยาวหรือมีวงเบนซินหลายวงภายในโมเลกุลสารมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เอนไซม์เฟส 2 นั้นมีแอกติวิตีเพิ่มสูงมากกว่าสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลขนาดใหญ่นั้นมีความสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดีกว่าสารโมเลกุลเล็กจากสมบัติความไม่มีขั้วของสารสังเคราะห์โมเลกุลขนาดใหญ่มากกว่าโมเลกุลขนาดเล็ก (Ardhaouia et al, 2004)

Nrf-2 เป็นทรานสคิปชันแฟกเตอร์ (transcription factor) ที่ควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์เฟสที่ 2 โดยผ่านกลไกที่ซับซ้อนภายในเซลล์ในภาวะปกติของร่างกาย Nrf-2 จะจับกับ Keap-1 ในไซโทพลาสซึมทำให้ไม่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์เฟส2 แต่เมื่อมีภาวะเครียดหรือได้รับสารที่มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน สารเหล่านั้นจะทำลายพันธะซัลไฮดริลที่ยึด Nrf-2 และ Keap-1 ไว้ด้วยกันทำให้ Nrf-2 หลุดออกเป็นอิสระจากนั้นโมเลกุลของ Nrf2 ก็จะแพร่เข้าสู่นิวเครียสเพื่อไปกระตุ้นการสร้างเอนไซม์เฟส 2 (Surh, 2003)จากการศึกษาของ Wang และคณะ (2010) โดยใช้สาร caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ในการศึกษาครั้งนี้คือสาร PAL กลไกของ PAL นั้นน่าจะไปรบกวนสารประกอบ Nrf-2- Keap 1 ทำให้เพิ่มปริมาณของ Nrf-2 ซึ่งจะเข้าไปจับกับดีเอ็นเอในส่วนที่เรียกว่า ARE ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการสร้าง mRNA ของเอนไซม์ในเฟสที่ 2 อนุพันธ์ของกรดคาเฟอิกตัวอื่นๆอาจมีกลไกการกระตุ้นการสร้างเอนไซม์เฟส 2 ในกลไกเดียวกันเพราะเนื่องจากว่าสารเหล่านี้มีโครงสร้างโมเลกุลที่ใกล้เคียงกัน และกลไกเหล่านี้ก็ต้องศึกษาต่อไป(Jaikang and Chaiyasut; 2010)