

## บทที่ 6

### สรุปผลการวิจัย

1. เมื่อสกัดใบยอดสดและแห้งด้วยเทคนิคการสกัด (ไม้อุ่น, ใช้ความร้อน) และน้ำยาสกัด (น้ำ, ethanol) ที่แตกต่างกัน 5 เทคนิค ได้สารสกัดหยาบ (crude extracts) ซึ่งมีลักษณะทางกายภาพและร้อยละผลผลิต (% yield) ค่อน้ำหนักใบสดแตกต่างกัน โดยสารสกัดจากใบยอดสดปั่นคั้นน้ำและทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (FMC\_CF) มีผลผลิตสูงสุด 7.14% และสารสกัดใบยอดที่ผ่านการอบแห้งก่อนหมักใน ethanol มีผลผลิตต่ำสุด 5.16%

2. จากการวิเคราะห์สารองค์ประกอบในสารสกัดใบยอดด้วยเทคนิค HPLC พบ rutin, quercetin และ kaempferol ในปริมาณที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังสารองค์ประกอบอื่นๆ อีกหลายชนิดที่ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ โดยสารสกัดใบยอดฯ ทุกชนิดมีปริมาณ rutin มากที่สุดและรองลงมาคือ kaempferol และ quercetin ยกเว้นสารสกัดใบยอดสดคั้นน้ำ (FMC\_HW) พบว่ามี unidentified peak หนึ่งที่มีปริมาณมากกว่า rutin

3. ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดในงานวิจัยนี้ ได้แก่ (1) การเตรียมวัตถุดิบที่เหมาะสม ซึ่งการใช้ใบยอดสดเหมาะสมกว่าการใช้ใบอบแห้ง (2) การเลือกน้ำยาสกัดที่เหมาะสม เช่น ethanol หรือ ส่วนผสมระหว่างน้ำและ ethanol (3) การสกัดใช้ความร้อนเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด แต่มีผลต่อการเสื่อมสลายของสารที่ไม่ทนความร้อนบางชนิด การลดเวลาในการสัมผัสความร้อน เช่นการใช้ microwave ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้

4. ลำดับประสิทธิภาพของวิธีการสกัดซึ่งประเมินโดยคร่าวๆ จาก flavonoids เฉพาะ rutin quercetin และ kaempferol พบว่าประสิทธิภาพในการสกัด flavonoids ในงานวิจัยนี้คือ  $FMC\_CE = 3.46$ ,  $DMC\_CE = 0.49$ ,  $FMC\_CF = 11.72$ ,  $DMC\_CF = 9.26$ ,  $FMC\_HW = 0.62$  mg/hr ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่าวิธีการปั่นใบยอดสดคั้นน้ำ นอกจากจะให้ %yield สูงสุดแล้วการปั่นคั้นน้ำยังให้ค่าประสิทธิภาพการสกัดฯ มากที่สุดด้วย จึงนับว่าเป็นวิธีการสกัดที่น่าสนใจ และหากมีการพัฒนาใช้ใบยอดเพื่อสุขภาพในอนาคต ก็สามารถเตรียมใช้ได้ง่ายและประหยัดเวลา ลดการใช้ organic solvent และมีต้นทุนการผลิตไม่มาก

5. เทคนิคการสกัดที่แตกต่างกัน มีผลให้ได้สารสกัดที่มีผลต่อการหลั่ง IFN- $\gamma$  และ IL-10 แตกต่างกัน สารสกัดใบยอดบางชนิดมีผลกระตุ้นและบางชนิดมีผลกดหรือยับยั้ง และสารสกัดบางชนิดก็มีผลทั้งกระตุ้นและยับยั้งเมื่อทดสอบ ณ ความเข้มข้นของสารสกัดต่างกัน การเติม con A ใน

ระบบ มีผลให้สารสกัดบางชนิดแสดงผลที่ชัดเจนมากขึ้นและบางชนิดมีผลเปลี่ยนไปจากเมื่อไม่เติม con A

6. สารสกัดใบยอส่วนใหญ่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ การปั่นใบยอสดคั้นน้ำฯ ให้สารสกัด (FMC\_CF) ที่มีผลลดการหลั่ง IFN- $\gamma$  และเพิ่มการหลั่ง IL-10 (เฉพาะเมื่อเติม con A) จึงมีฤทธิ์ต้านอักเสบมากที่สุด หรือมีผลต่อการตอบสนองของ Th2 มากกว่า Th1 โดยมีค่า IFN- $\gamma$  /IL-10 ratio = 0.74, 0.36 (100  $\mu$ g/mL) เมื่อไม่เติมและเติม con A ตามลำดับ ในขณะที่การต้มใบยอในน้ำ (FMC\_HW) ให้สารสกัดที่ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงปริมาณ IFN- $\gamma$  แต่ลดการหลั่ง IL-10 จึงมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันมากที่สุด หรือมีผลต่อยับยั้งการตอบสนองของ Th2 โดยไม่มีผลต่อ Th1 โดยมีค่า IFN- $\gamma$ /IL-10 ratio สูงสุดเท่ากับ 5.69 และ 13.3 (100  $\mu$ g/mL) ในระบบที่ไม่เติมและเติม con A ตามลำดับ

7. rutin, quercetin และ kaempferol ทั้งที่ไม่เติมและเติม con A ส่วนใหญ่มีผลกระตุ้นการหลั่ง IFN- $\gamma$  และ IL-10 ยกเว้น kaempferol + con A ที่มีผลลดการหลั่ง IL-10 และ rutin ที่ไม่มีผลต่อการหลั่ง IFN- $\gamma$  เมื่อพิจารณาจากค่า Th1/Th2 balance พบว่า rutin, quercetin และ kaempferol มีฤทธิ์ต้านอักเสบหรือมีผลต่อการตอบสนองของ Th2 มากกว่า Th1 มีเฉพาะบางช่วงความเข้มข้นเท่านั้นที่แสดงฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น rutin, rutin + con A, quercetin + con A ความเข้มข้นสูงมาก และ quercetin, kaempferol ความเข้มข้นต่ำมาก ซึ่งอาจเป็นผลจากการที่สารเกิดเป็น pro-oxidant และ pro-apoptotic หรือเกิด post transcription ณ ช่วงความเข้มข้นนั้น

8. แม้ว่าจะไม่สามารถชี้ชัดได้ว่าผลของสารสกัดใบยอฯ เป็นผลจาก flavonoids ชนิดใด เนื่องจากยังมี unidentified peak ที่ยังไม่ได้ทำการศึกษาโครงสร้าง ซึ่งอาจมีส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์ของสารสกัดเช่นกัน แต่หากอนุมานเทียบผลของ flavonoids ที่ทำการศึกษาในช่วงความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกับที่พบในสารสกัดฯ อาจเทียบได้ว่า FMC\_CF ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอักเสบ น่าจะเกิดจากผลของ rutin เป็นหลัก ส่วนสารสกัด FMC\_HW ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน น่าจะเป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของ quercetin และ kaempferol ซึ่งพบในสารสกัด FMC\_HW มากกว่าสารสกัดใบยออื่นๆ

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบยอไทยมีฤทธิ์ต่อภูมิคุ้มกันทั้งด้านอักเสบ และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ขึ้นกับเทคนิคการสกัดที่แตกต่างกันซึ่งมีผลให้ได้สารองค์ประกอบในปริมาณและรูปที่แตกต่างกัน จึงมีผลต่อการตอบสนองของ T lymphocyte ต่างกันด้วย ใบยอใช้เป็นอาหารของมนุษย์มานานแล้ว และหลายประเทศได้ทำการพัฒนาใบยอในรูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพเพื่อการค้าแล้ว แต่จากการทบทวนวรรณกรรมพบทั้งรายงานที่แสดงถึงความปลอดภัยและรายงานความเป็นพิษที่เกิดจากสารองค์ประกอบ ในการพัฒนาใบยอไทยเพื่อสุขภาพและเชิงพาณิชย์ นอกจากการควบคุมปริมาณสารสำคัญเพื่อให้มีฤทธิ์ตามต้องการ โดยใช้วิธีการสกัดที่เหมาะสม ตลอดจนการทดสอบเทียบเคียงประสิทธิภาพกับสมุนไพรเพื่อสุขภาพที่ได้มาตรฐานแล้ว ยังควรทำการศึกษาพิษวิทยาของสารสกัดใบยอไทยด้วย