

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	
บทคัดย่อ	
Abstract	
หน้าสรุปรายงานวิจัย (Executive Summary)	
สารบัญตาราง	
สารบัญรูป	
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์	5
1.5 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	5
1.6 ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2 ทัศนวิธานวรรณกรรม	6
2.1 ข้อมูลทั่วไปของขอ	6
2.2 สรรพคุณด้านสมุนไพรของขอ	6
2.3 พฤษเคมีของขอ	7
2.4 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของใบขอ	8
2.5 รายงานความเป็นพิษของใบขอ	11
2.6 หน่วยภูมิคุ้มกันและสารที่เกี่ยวข้องในงานวิจัย	12
2.7 การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของสมุนไพร	19
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	22
3.1 เซลล์เพาะเลี้ยง	22
3.2 สมุนไพร	22
3.3 สารเคมี	22

	หน้า
3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ	23
3.5 วิธีการทดลอง	24
<u>การทดลอง 1</u> การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extracts) จากใบยอ	24
<u>การทดลอง 2</u> การวิเคราะห์หาปริมาณ rutin, quercetin และ kaempferol ในสารสกัดใบยอ	25
<u>การทดลอง 3</u> การทดสอบผลของสารสกัดใบยอ และสารมาตรฐาน rutin, quercetin และ kaempferol ต่อการหลั่งไซโตไคน์จาก human leukemic T-lymphocytes (MOLT-4)	26
3.6 ขอบเขตของการวิจัย	28
3.7 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย	28
บทที่ 4 รายงานผลการวิจัย	27
<u>การทดลอง 1</u> การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extracts) จากใบยอ	29
<u>การทดลอง 2</u> การวิเคราะห์หาปริมาณ rutin, quercetin และ kaempferol ในสารสกัดใบยอ	30
2.1 HPLC condition	30
2.2 กราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของสารมาตรฐาน rutin, quercetin และ kaempferol	30
2.3 HPLC-fingerprints ของสารสกัดใบยอ และการวิเคราะห์ปริมาณ rutin, quercetin และ kaempferol ในสารสกัด	31
<u>การทดลอง 3</u> การทดสอบผลของสารสกัดใบยอ และสารมาตรฐาน rutin, quercetin และ kaempferol ต่อการหลั่งไซโตไคน์จาก human leukemic T-lymphocytes (MOLT-4)	34
3.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์	34
3.2 การทดสอบการหลั่งไซโตไคน์ด้วยเทคนิค ELISA	34
3.2.1 ผลของสารสกัดใบยอต่อการหลั่ง IFN- γ และ IL-10	34
3.2.2 ผลของ rutin, quercetin และ kaempferol ต่อการหลั่ง IFN- γ และ IL-10	35

	หน้า
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย	48
<u>การทดลอง 1</u> การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extracts) จากใบยอ	48
<u>การทดลอง 2</u> การวิเคราะห์หาปริมาณ rutin, quercetin และ kaempferol ในสารสกัดใบยอ	48
<u>การทดลอง 3</u> การทดสอบผลของสารสกัดใบยอ และสารมาตรฐาน rutin, quercetin และ kaempferol ต่อการหลั่งไซโตไคน์จาก human leukemic T-lymphocytes (MOLT-4)	53
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย	60
บรรณานุกรม	62
ภาคผนวก	69
การนำเสนอและเผยแพร่ผลงานวิจัย	69

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2-1	ประเภทของ cytokines แบ่งตามชนิดของเซลล์ที่ผลิต เซลล์เป้าหมาย และหน้าที่	18
4-1	ลักษณะทางกายภาพและร้อยละผลผลิต (% yield) ต่อน้ำหนักใบสด ที่ได้จากการสกัดใบยอด้วยเทคนิคต่างๆ	29
4-2	ปริมาณ rutin, quercetin และ kaempferol ในสารสกัดใบยอ 10 mg/mL ที่สกัดด้วยเทคนิคที่แตกต่างกัน 5 ชนิด เทียบจาก HPLC-fingerprint ของสารมาตรฐาน	32
4-3	ผลของสารสกัดใบยอที่สกัดด้วยเทคนิคต่างๆ (1-100 $\mu\text{g/mL}$) ต่อปริมาณ IFN- γ ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน unstimulated system (ไม่เติม con A)	37
4-4	ผลของสารสกัดใบยอที่สกัดด้วยเทคนิคต่างๆ (1-100 $\mu\text{g/mL}$) ต่อปริมาณ IFN- γ ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน stimulated system (เติม 5 $\mu\text{g/mL}$ con A)	37
4-5	ผลของสารสกัดใบยอที่สกัดด้วยเทคนิคต่างๆ (1-100 $\mu\text{g/mL}$) ต่อปริมาณ IL-10 ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน unstimulated system (ไม่เติม con A)	39
4-6	ผลของสารสกัดใบยอที่สกัดด้วยเทคนิคต่างๆ (1-100 $\mu\text{g/mL}$) ต่อปริมาณ IL-10 ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน stimulated system (เติม 5 $\mu\text{g/mL}$ con A)	39
4-7	ผลของสารสกัดใบยอที่สกัดด้วยเทคนิคต่างๆ (1-100 $\mu\text{g/mL}$) ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า IFN- γ /IL-10 ratio ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน unstimulated system (ไม่เติม con A) เทียบกับ stimulated system (เติม 5 $\mu\text{g/mL}$ con A)	39
4-8	ผลของ quercetin, kaempferol และ rutin (1-100 $\mu\text{g/mL}$) ต่อปริมาณ IFN- γ และ IL-10 ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน unstimulated system (ไม่เติม con A)	43
4-9	ผลของ quercetin, kaempferol และ rutin (1-100 $\mu\text{g/mL}$) ต่อปริมาณ IFN- γ และ IL-10 ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน stimulated system (เติม 5 $\mu\text{g/mL}$ con A)	44

สารบัญรูป

รูป	หน้า	
2-1	ลักษณะใบและผลยอบ้าน (<i>Morinda citrifolia</i> Linn.)	7
3-1	แผนภาพการสกัดใบยอบ (<i>M. citrifolia</i>) ด้วยเทคนิคต่างๆ	24
4-1	ตัวอย่าง chromatogram ของ rutin, quercetin และ kaempferol ความเข้มข้น 50 µg/mL	31
4-2	ตัวอย่าง HPLC-fingerprints ของสารสกัดหยาบจากใบยอบความเข้มข้น 10 mg/mL	32
4-3	ผลของสารสกัดใบยอบที่สกัดด้วยเทคนิคต่างๆ (1-100 µg/mL) ต่อปริมาณ IFN-γ ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน (a) unstimulated system (ไม่เติม con A) และ (b) stimulated system (เติม 5 µg/mL con A) เมื่อ n = 4 และ *; p<0.05	38
4-4	ผลของสารสกัดใบยอบที่สกัดด้วยเทคนิคต่างๆ (1-100 µg/mL) ต่อปริมาณ IL-10 ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน (a) unstimulated system (ไม่เติม con A) และ (b) stimulated system (เติม 5 µg/mL con A) เมื่อ n = 4 และ *; p<0.05	40
4-5	ค่า IFN-γ/IL-10 ratio ที่ได้จากการ culture สารสกัดใบยอบที่สกัดด้วยเทคนิค ต่างๆ ณ ความเข้มข้น 1-100 µg/mL ร่วมกับ MOLT-4 cells เมื่อไม่เติมและเติม 5 µg/mL con A เทียบกับค่า IFN-γ/IL-10 ratio ที่ได้จากสภาวะปกติ และผลจาก con A	41
4-6	ค่า IFN-γ/IL-10 ratio ที่ได้จากการ culture สารสกัดใบยอบที่สกัดด้วยเทคนิค ต่างๆ ณ ความเข้มข้น 1-100 µg/mL ร่วมกับ MOLT-4 cells เมื่อ (a) ไม่เติม (unstimulated system) และ (b) เติม 5 µg/mL con A (stimulated system) เทียบกับค่า IFN-γ/IL-10 ratio ที่ได้จากสภาวะปกติ และผลของ con A ตามลำดับ	42
4-7	ผลของ quercetin, kaempferol และ rutin (1-100 µg/mL) ต่อปริมาณ IFN-γ ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน (a) unstimulated system (ไม่เติม con A) และ (b) stimulated system (เติม 5 µg/mL con A) เมื่อ n = 4 และ *; p<0.05	45

รูป	หน้า
4-8 ผลของ quercetin, kaempferol และ rutin (1-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ต่อปริมาณ IL-10 ที่หลั่งจาก MOLT-4 cells ใน (a) unstimulated system (ไม่เติม con A) และ (b) stimulated system (เติม 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ con A) เมื่อ $n = 4$ และ *; $p < 0.05$	46
4-9 เปรียบเทียบผลของสารสกัด FMC_CF, FMC_HW และสารมาตรฐาน quercetin, kaempferol และ rutin (1-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า IFN- γ /IL-10 ratio ใน (a) unstimulated system (ไม่เติม con A) และ (b) stimulated system (เติม 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ con A) เมื่อ $n = 4$	47
5-1 โครงสร้างเคมีของ rutin, quercetin และ kaempferol	49