

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(1)
Abstract	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการรูป	(8)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(11)
1. บทนำ	1
บทนำตั้งเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	4
วัตถุประสงค์	29
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	30
วัสดุ	30
อุปกรณ์	33
วิธีการ	34
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	43
4. สรุป	75
เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก	92
ประวัติผู้เขียน	95

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. อะโปไลโปโปรตีนชนิดต่าง ๆ ที่พบในพลาสมาของคน	6
2. ขนาด และส่วนประกอบของไลโปโปรตีนชนิดต่าง ๆ	8
3. การเปลี่ยนแปลงบางประการของ LDL ที่ถูกออกซิไดส์	17
4. สารต้านออกซิเดชันของ LDL	24
5. เปรียบเทียบค่า T_{lag} และ T_{max} จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL โดย Fe^{2+} เมื่อมี GXM, ES1.2 และ วิตามินอีอยู่ด้วย	66
6. ความสามารถจับ Fe^{2+} ของ ES1.2 และ GXM เทียบกับ EDTA และ เอทานอล	68
7. เปรียบเทียบค่า T_{lag} และ T_{max} จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL โดย AAPH เมื่อมี GXM, ES1.2 และ วิตามินอีอยู่ด้วย	74

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1. โครงสร้างทั่วไปของไลโปโปรตีนในพลาสมา	5
2. เมแทบอลิซึมของโคเลสเตอรอล	12
3. เมแทบอลิซึมของ VLDL และ LDL	13
4. เมแทบอลิซึมของ HDL	13
5. ขั้นตอนของ lipid peroxidation ในโมเลกุล LDL	16
6. เปรียบเทียบลักษณะ LDL ปกติ กับ LDL ที่ถูกออกซิไดส์	17
7. ขั้นตอนการเกิด atherosclerotic plaque	19
8. โครงสร้างของสารโพลีฟีนอลต่าง ๆ	25
9. ลักษณะทั่วไปของต้น ใบ และผลของมะพลูด	28
10. ผลการปั่นเหวี่ยงพลาสมาด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแรงสูงที่ความเร็วรอบ 30,000 รอบต่อนาที นาน 3 ชั่วโมง	36
11. ผลการปั่นเหวี่ยงสารละลายชั้นกลาง เพื่อแยก LDL ออกมา ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแรงสูงที่ความเร็ว 30,000 รอบต่อนาที นาน 18 ชั่วโมง	36
12. สารบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากผลมะพลูด (ES1.2) และ ใบมะพลูด (GXM)	40
13. แบบแผนของแถบไลโปโปรตีนจากการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสของตัวอย่าง LDL	45
14. ตัวอย่างของแบบแผนแถบไลโปโปรตีนจากการทำอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสของพลาสมาคนปกติที่อดอาหารเป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง (fasting) และ ไม่ได้อดอาหาร (postprandial) (Montgomery <i>et al.</i> , 1996)	46
15. แบบแผนของแถบไลโปโปรตีนจากการทำโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส ซึ่งย้อมด้วยสี Oil red O	47

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
16. กราฟมาตรฐานของ MDA ที่ได้จากการเตรียมสารละลาย MDA ในสารละลาย 50 mM H ₂ SO ₄ เปรียบเทียบกับสารละลาย MDA ใน 50 mM H ₂ SO ₄ ที่มี 2% (v/v) เอทานอล	49
17. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับระดับของ TBARS ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน LDL ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	50
18. กราฟแสดงระดับเฉลี่ยของ TBARS สูงสุด (A) และ ค่า lag time (B) เมื่อใช้ LDL ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ทำปฏิกิริยากับ 30 μM FeSO ₄	51
19. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับระดับของ TBARS ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL โดยใช้ FeSO ₄ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	52
20. กราฟแสดงระดับเฉลี่ยของ TBARS สูงสุด และ ค่า lag time เมื่อใช้ FeSO ₄ ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	53
21. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับระดับของ TBARS ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL โดยใช้ FeSO ₄ 60 μM ร่วมกับ วิตามินซี ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	55
22. กราฟแสดงระดับเฉลี่ยของ TBARS (A) สูงสุด และ ค่า lag time (B) เมื่อใช้ วิตามินซี ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ร่วมกับ FeSO ₄ 60 μM	56
23. แบบแผนจากการทำโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ของตัวอย่าง LDL ปริมาณ 20 ไมโครกรัม ที่ถูกออกซิไดส์โดย FeSO ₄ ร่วมกับวิตามินซี ที่เวลา 0 ชั่วโมง (แถวที่ 1), 3 ชั่วโมง (แถวที่ 2), 6 ชั่วโมง (แถวที่ 3) และ 24 ชั่วโมง (แถวที่ 4) ตามลำดับ	58
24. รูปแบบการดูดกลืนแสง (spectrum) ของสารสกัด ES1.2	59
25. รูปแบบการดูดกลืนแสงของสารสกัด GXM	60

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
26. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ระดับของ TBARS ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL โดย FeSO_4 ในสถานะที่มีเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	62
27. โครงสร้างของวิตามินอี	64
28. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ระดับของ TBARS ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL โดยใช้ $60 \mu\text{M FeSO}_4$ ร่วมกับวิตามินซีในสถานะที่มีสารสกัดจากผลมะพุด (ES1.2), ไบมะพุด (GXM) และ วิตามินอี ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	65
29. กลไกการจับกันระหว่างอนุมูลของโลหะกับสารประกอบฟลาโวนอยด์	68
30. เปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH^\bullet ของสารสกัด ES1.2, GXM และวิตามินอี ที่ความเข้มข้น $13.7 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}$	70
31. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ระดับของ TBARS ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL โดยใช้ 4 mM AAPH ในสถานะที่มีสารสกัดจากผลมะพุด (ES1.2), ไบมะพุด (GXM) และ วิตามินอี ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	73

ตัวย่อและสัญลักษณ์

$^{\circ}\text{C}$	=	องศาเซลเซียส
%	=	percent
α	=	alpha
β	=	beta
v/v	=	โดยปริมาตร
g	=	gram
μg	=	microgram
mg	=	milligram
l	=	litre
ml	=	millilitre
μl	=	microlitre
μmole	=	micromole
A	=	absorbance
AAPH	=	α, α' - azobutyramidine dihydrochloride
BHT	=	butylated hydroxytoluene
BSA	=	bovine serum albumin
Da	=	Dalton
DPPH	=	1, 1 - diphenyl-2-picryl-hydrazyl
EDTA	=	ethylenediaminetetraacetic acid
ES1.2	=	สารสกัดจากผลมะพุด
GXM	=	สารสกัดจากใบมะพุด
HDL	=	high density lipoprotein
IC ₅₀	=	concentrations that inhibit oxidation by 50%

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

LDL	=	low density lipoprotein
M	=	molar
M.W.	=	molecular weight
MDA	=	malonaldehyde bis (dimethyl acetal)
min	=	minute
mM	=	millimolar
nmole	=	nanomole
O.D.	=	optical density
PBS	=	phosphate buffer saline
pH	=	hydrogen ion concentration
ROS	=	reactive oxygen species
SDS	=	sodium dodecyl sulphate
TBA	=	thiobarbituric acid
TBARS	=	thiobarbituric acid reactive substances
TCA	=	trichloroacetic acid
TEMED	=	N, N, N', N'-tetramethylethylenediamine
TMM	=	tetramethyl murexide
Tris	=	tris (hydroxymethyl) aminomethane
T _{lag}	=	จากจุดตัดระหว่างเส้นสัมผัสของ propagation phase กับ เส้นขนานแกนนอนที่ลากจากจุดเริ่มปฏิกิริยา
T _{max}	=	ปริมาณ TBARS ที่เกิดขึ้นสูงสุดในปฏิกิริยา
VLDL	=	very low density lipoprotein