

สารบัญ

	หน้า
ปกใน	i
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อ	iii
Abstract	iv
สารบัญ	v
สารบัญภาพ	viii
สารบัญตาราง	ix
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 ขอบเขตงานวิจัย	3
บทที่ 2 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการวิจัย	4
2.1 สารสกัดจากการบีบคั้นสด	4
2.2 สารสกัดจากเอทานอล	4
บทที่ 3 วิธีการ และผลการทดลองในหลอดทดลอง	9
3.1 การเก็บพืชสมุนไพร และ การสกัดสารด้วยตัวทำละลาย	9
3.2 Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS – PAGE	11
- สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้	11
- วิธีการเตรียมสาร	13
- วิธีการทดลอง	15
- ขั้นตอนการทดลองฤทธิ์การต้านพิษของสมุนไพร โดยใช้เทคนิค SDS - PAGE	17
- ขั้นตอนการทำ gel ให้แห้ง	23
- ผลการทดลอง SDS-PAGE	24
- สรุปผลการทดลอง	29

หน้า

3.3 การทดสอบ Phospholipase A ₂ enzyme activity	30
- สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้	32
- การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบ Phospholipase A ₂ enzyme activity	32
- การทดลองหาปริมาณพิษที่เหมาะสมในการทดสอบ	33
- ผลการทดลอง	34
- การทดลอง Phospholipase A ₂ enzyme กับสารสกัดจากสมุนไพรมะนาว	36
- Protocol การวิเคราะห์ Phospholipase A ₂ enzyme activity	37
- ผลการทดสอบ Phospholipase A ₂ enzyme activity (Malayan pit viper venom)	38
- ผลการทดสอบ Phospholipase A ₂ enzyme activity (Cobra venom)	39
- สรุปผลการทดสอบ Phospholipase A ₂ enzyme activity	40
3.4 การทดสอบ Proteolytic enzyme activity	41
- สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้	41
- การเตรียมสารเพื่อใช้ในการทดสอบ Proteolytic Activity	41
- การทดลองหาปริมาณพิษที่เหมาะสมในการทดสอบ	42
- ผลการทดลอง	43
- Protocol ในการทดสอบ Proteolytic enzyme activity	47
- ผลการทดสอบ Proteolytic enzyme activity	49
- สรุปผลการทดสอบ Proteolytic enzyme activity	50
3.5 สรุปผลการวิจัยในหลอดทดลอง (in vitro)	51
บทที่ 4 วิธีการและผลการทดลองในสัตว์ทดลอง	52
4.1 หาปริมาณพิษที่ทำให้หนูตาย 50% (LD ₅₀)	52
4.2 สารสกัดสมุนไพรมะนาวที่คัดเลือก	52
4.3 การทดลองฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรมะนาวในการต้านพิษงู	52
- การทดลองที่ 1 (In vivo antagonist (SC route))	53
- ผลการทดลองที่ 1	53
- การทดลองที่ 2	54
- ผลการทดลองที่ 2	54
- วิเคราะห์ผลการทดลอง (In vitro antagonist)	54

หน้า

4.4 การทดลองฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรมะเขือเทศในการต้านพิษงู โดยฉีดพิษงูเข้าใต้ผิวหนังของหนู mice ก่อนที่จะฉีดสารสกัดจากสมุนไพรมะเขือเทศ	55
- ผลการทดลอง	55
4.5 การทดลองฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรมะเขือเทศในการต้านพิษงู โดยฉีดพิษงูเข้าใต้ผิวหนังของหนู mice ก่อนที่จะฉีดสารสกัดจากสมุนไพรมะเขือเทศ	56
- ผลการทดลอง	56
4.6 วิจารณ์ผลการทดลองที่ 4.4 และ 4.5 (In vivo antagonist)	56
4.7 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรมะเขือเทศต่อระบบเลือดในหนู และกระต่าย (Hemorrhagic test in mouse and rabbit)	57
- การทดลองในหนูขาว 1	57
- ผลการทดลองในหนูขาว 1	57
- การทดลองในหนูขาว 2	57
- ผลการทดลองในหนูขาว 2	58
- การทดลองในกระต่าย 1	59
- ผลการทดลองในกระต่าย 1	59
- การทดลองในกระต่าย 2	60
- ผลการทดลองในกระต่าย 2	60
4.8 วิจารณ์ผลการทดลองที่ 4.7	61
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	63
บทที่ 6 บรรณานุกรม	65

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 3-1 ขั้นตอนการประกอบแผ่นกระจกเข้าเป็นชุดสำหรับการเตรียมเจล	17
ภาพประกอบ 3-2 ขั้นตอนการทดสอบการรั่วของกระจก	18
ภาพประกอบ 3-3 การเตรียมชั้น separate	19
ภาพประกอบ 3-4 การเสียบ comb เพื่อสร้าง well สำหรับ load sample	19
ภาพประกอบ 3-5 การถอดแผ่นกระจกออกจากชุดประกอบเจลเพื่อนำไปประกอบกับชุด เจลที่มีขั้วไฟฟ้า	20
ภาพประกอบ 3-6 การกำหนดจุดบนกระจกก่อนวางชุดเจลลงใน tank	20
ภาพประกอบ 3-7 การวางชุดเจลลงใน tank ที่มี running buffer	21
ภาพประกอบ 3-8 การตั้ง comb และการล้าง well	21
ภาพประกอบ 3-9 การ load sample	21
ภาพประกอบ 3-10 ขั้นตอนการให้กระแสไฟฟ้ากับแผ่นเจล	22
ภาพประกอบ 3-11 การแกะเจลออกจากแผ่นกระจก	22
ภาพประกอบ 3-12 ผลการทดลอง SDS-PAGE ของสารสกัด E018 และ E022	24
ภาพประกอบ 3-13 ผลการทดลอง SDS-PAGE ของสารสกัด E024 และ E026	24
ภาพประกอบ 3-14 โครงสร้างของ phospholipase A ₂ enzyme	30
ภาพประกอบ 3-15 สูตรโครงสร้างของ lecithin	31
ภาพประกอบ 3-16 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า O.D 580 nm กับ cobra venom และ C+antivenom ที่ความเข้มข้นต่างๆ	35
ภาพประกอบ 3-17 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า O.D 580 nm กับ Malayan pit viper venom และ M+antivenom ที่ความเข้มข้นต่างๆ	35
ภาพประกอบ 3-18 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง O.D 280 nm กับเวลาที่ใช้ในการ incubate พิษงูเห่า ปริมาณ 100,1000,1500 และ 2000 mcg	43

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 3-1 การเตรียมพิษงู	15
ตาราง 3-2 ผลการทดลอง SDS-PAGE ของสารสกัดสมุนไพรร	25
ตาราง 3-3 ค่า O.D ของพิษงู	34
ตาราง 3-4 ค่า O.D ของพิษงูกับ antivenom	34
ตาราง 3-5 ค่า O.D ของพิษงูเห่า	43