ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย

นางสาวดวงใจ ปานแก้ว

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549

ISBN 974-14-3494-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT OF THAI PROPOLIS

Miss Duangjai Pankaew

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Medical Science

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

ISBN 974-14-3494-4

Copyright of Chulalongkorn University

490239

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย
โดย	นางสาวดวงใจ ปานแก้ว
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การแพทย์ (เภสัชวิทยา)
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ จันทนี อิทธิพานิชพงศ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง วิไล ชินธเนศ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ จันทนี อิทธิพานิชพงศ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. นิจศิริ เรืองรังษี)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วัชรี ลิมปนสิทธิกุล)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ร.ท.หญิง ภัสราภา โตวิวัฒน์)

ดวงใจ ปานแก้ว : ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย (ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT OF THAI PROPOLIS) อ.ที่ปรึกษา: รศ.จันทนี อิทธิพานิชพงศ์, อ.ที่ปรึกษาร่วม: รศ.ดร.นิจศิริ เรืองรังษี, 90 หน้า. ISBN 974-14-3494-4

พรอโพลิส (Propolis) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากรังผึ้งและเป็นที่รู้จักกันมานานหลายศตวรรษถึงประโยชน์ทางยาอันได้แก่ การรักษาภาวะอักเสบ อาการไข้ แผลในกระเพาะอาหาร การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย จากรังผึ้งเลี้ยงที่จังหวัดเชียงใหม่ ผลการศึกษาพบว่าสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบในหนูขาวที่กระตุ้นให้เกิดการบวมของอุ้งเท้าด้วย carrageenan โดยขนาดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญนั้นคือ 200, 300 และ 400 mg/kg เมื่อให้โดยฉีดเข้าช่องท้อง และ สิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย ที่ขนาด 300 mg/kg มีฤทธิ์ในการยับยั้งการบวมของอุ้งเท้าหนูได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการบวมที่ชั่วโมงที่ 2 เท่ากับ 48.2) เมื่อศึกษากลไกของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย ต่อ pro-inflammatory mediators ในเซลล์เพาะเลี้ยงเซลล์ macrophage (RAW264.7) ที่ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) 100 ng/ml พบว่าสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย สามารถยับยั้งการหลั่ง nitric oxide (NO) และ tumor necrosis factor - α (TNF- α) ที่ความเข้มข้น 25 และ 50 μg/ml ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าความเข้มข้นของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย ที่สามารถยับยั้งการหลั่งของ NO และ TNF- α ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) คือ 33.1 μg/ml และ 29.6 μg/ml ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงว่าสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบแบบเฉียบพลันในสัตว์ทดลอง และยับยั้งการหลั่ง pro-inflammatory mediator ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบคือ NO และ TNF- α

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์ **ลายมือชื่อนิสิต** ดวงใจ ปานแก้ว

ปีการศึกษา 2549 **ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา**

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

477 48059 30 : MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEY WORDS : THAI PROPOLIS / ANTI-INFLAMMATION

DUANGJAI PANKAEW : ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT OF THAI PROPOLIS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. CHANDHANEE ITTHIPANICHPONG, THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. NIJSIRI RUANGRUNGSI, Ph.D., 90 pp. ISBN 974-14-3494-4

Propolis, a natural beehive product, has been known for centuries for a variety of beneficial traditional use, such as anti-inflammatory condition, fever, peptic ulcer. This study aimed to elucidate the anti-inflammatory effect of the ethanolic extract of Thai propolis (EEP) which obtained from Chiangmai bee farm. EEP exhibited anti-inflammatory effect in carrageenan induced rat paw edema at the dose of 200, 300 and 400 mg/ml when given intraperitoneally. Maximum inhibition was demonstrated when EEP 300 mg/ml was employed (%inhibition at the second hour = 48.2). The effect of EEP on pro-inflammatory mediators produced by the macrophage cell line (RAW 264.7) stimulated with lipopolysaccharide (LPS) 100 ng/ml revealed that EEP inhibited nitric oxide (NO) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) released significantly at the concentration of 25 and 50 μg/ml (IC_{50} = 33.1 and 29.6 μg/ml respectively). The results obtained from this study should be concluded that EEP possesses anti-inflammatory effect in acute inflammation model. Inhibition of proinflammatory mediators release, NO and TNF- α, are found.

Field of study	Medical Science	Student's Signature Duangjai Pankaew.
Academic year	2006	Advisor's Signature C. Ittipanichpong
		Co-advisor's Signature Nijsiri Ruangrungsi

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์จันทนี อิทธิพานิชพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนข้อคิดเห็น ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ และช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นิจศิริ เรืองรังษี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ เครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในการสกัดสารสกัด propolis เพื่อนำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ รวมทั้งกรุณาในการทำ fingerprint ของพรอโพลิสไทย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงวิไล ชินธเนศ ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และ ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ร.ท.หญิง ภัสราภา โตวิวัฒน์ คณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ วิจารณ์ผลการทดลอง

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรี ลิมปนสิทธิกุล ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำในทุกๆ ด้านเสมอมา และเป็นกำลังใจให้ในการทำการทดลอง

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ที่ได้ให้ความรู้ตลอดการศึกษาในระดับปริญญามหาบัณฑิต

ขอขอบพระคุณเงินทุนรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการทำวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่สนับสนุน เป็นกำลังใจในการศึกษาและการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฎ

สารบัญภาพ..... ฏ

คำอธิบายสัญญาลักษณ์และคำย่อ..... ฑ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย..... 3

1.3 สมมติฐานการวิจัย..... 3

1.4 รูปแบบการวิจัย..... 3

1.5 วิธีที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย..... 4

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 4

1.7 ปัญหาทางจริยธรรม..... 5

1.8 คำสำคัญ..... 5

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม..... 6

2.1 พรอโพลิส..... 6

2.1.1 ลักษณะทางกายภาพของพรอโพลิส..... 6

2.1.2 องค์ประกอบของพรอโพลิส..... 6

2.1.3 คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของพรอโพลิส..... 8

2.1.3.1 ฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ..... 8

2.1.3.2 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ..... 9

2.1.3.3 ฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง..... 9

2.1.3.4 ฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ..... 10

หน้า

2.2 ภูมิคุ้มกันร่างกาย..... 11
2.2.1 ภูมิคุ้มกันร่างกายแบบไม่จำเพาะ..... 11
2.2.1.1 Physical barriers..... 11
2.2.1.2 Phagocytosis..... 11
2.2.1.3 Complement system..... 11
2.2.2 ภูมิคุ้มกันร่างกายแบบจำเพาะ..... 13
2.2.2.1 Humoral immune response..... 13
2.2.2.2 Cell mediated immune response..... 13
2.3 การอักเสบ..... 16
2.3.1 สาเหตุชักนำให้เกิดการอักเสบ..... 16
2.3.2 การอักเสบแบบเฉียบพลัน..... 17
2.3.3 การอักเสบแบบเรื้อรัง..... 19
2.4 สารที่เป็นสื่อทางเคมีในกระบวนการอักเสบ..... 22
2.4.1 Histamine..... 22
2.4.2 5-Hydroxytryptamine..... 22
2.4.3 Kinin..... 23
2.4.4 Prostaglandins..... 23
2.4.5 Leukotrienes and hydroxy arachidonic acid products..... 23
2.4.6 Platelet-Activating Factor..... 25
2.4.7 Complement..... 25
2.4.8 Hydrolytic enzymes..... 25
2.4.9 Products from Molecular of Oxygen..... 26
2.4.10 Cytokine..... 28
2.4.10.1 Pro-inflmmatory cytokine..... 29
2.4.10.2 Anti-inflmmatory cytokine..... 29

หน้า

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย 31
3.1 สมุนไพรและแหล่งที่มา 31
3.2 สัตว์ทดลอง เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี 31
3.2.1 สัตว์ทดลอง 31
3.2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ 32
3.2.3 สารเคมี 33
3.3 Cell line 33
3.4 วิธีการดำเนินการวิจัย 33
3.4.1 วิธีการสกัดพรอโพลิสไทย 33
ขั้นตอนที่ 1
3.4.2 การเตรียมยา สารต่างๆ และสมุนไพร 34
3.4.2.1 การเตรียม 1% carrageenan 34
3.4.2.2 การเตรียมสารละลาย electrolyte 34
3.4.2.3 การเตรียมยา indomethacin 34
3.4.2.4 การเตรียมพรอโพลิสไทยสำหรับทดลองวัด
paw edema 35
3.4.3 วิธีการทดลองวัดการบวมของอุ้งเท้าหนู 35
3.4.4 การคำนวณเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งอาการบวม 36
ขั้นตอนที่ 2
3.4.5 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยง macrophage cell line RAW 264.7 38
3.4.6 การเลี้ยง macrophage cell line (RAW264.7)
การตรวจสอบ cell viability
และการกระตุ้นเซลล์ด้วย LPS 38
3.4.7 การทดสอบความเป็นพิษของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย 39
3.4.8 การวิเคราะห์หาปริมาณ nitric oxide 40
3.4.9 การวิเคราะห์หาปริมาณ tumor necrosis factor – α 42
3.5 การรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล 44

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัย..... 45
4.1 ผลการสกัดพรอโพลิสไทยด้วยเอทานอลและการทำ fingerprint..... 45
ขั้นตอนที่ 1
4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย
ในการยับยั้งอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่กระตุ้นด้วย carrageenan..... 47
ขั้นตอนที่ 2
4.3 ผลการศึกษาความเป็นพิษของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย..... 50
4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย
ในการยับยั้งการหลั่งของ Nitric oxide (NO)..... 51
4.5 ผลการศึกษาฤทธิ์ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย
ในการยับยั้งการสร้าง TNF - α..... 56

บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย..... 60

เอกสารอ้างอิง..... 65
ภาคผนวก..... 71
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 90

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดง mediators ต่างๆที่สร้างจากเซลล์ macrophage ที่มีผลต่อการทำลายเชื้อจุลชีพ 27
2. แสดงองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญที่ได้จากการแยกด้วย gas chromatography / mass spectrometer (GC/MS)..... 46
3. แสดงค่าเฉลี่ย volume of edema และ %Inhibition ที่เวลาต่างๆ หลังจากฉีด 1% carrageenan เข้าที่อุ้งเท้าหนูขาวหลังจากได้รับสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย และ ยา indomethacin..... 48
4. แสดงผลของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย และยา dexamethasone ต่อการหลั่ง NO โดยวัดเป็นปริมาณของ NO_2^- และ %inhibition..... 52
5. แสดงผลของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย และยา dexamethasone ต่อการหลั่ง TNF - α และ %inhibition..... 56
6. แสดงผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่กระตุ้นด้วย carrageenan ในกลุ่มควบคุมที่ให้ DMSO ฉีดเข้าช่องท้อง..... 73
7. แสดงผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่กระตุ้นด้วย carrageenan ในกลุ่มที่ให้ indomethacin 5 mg/kg ฉีดเข้าช่องท้อง..... 74
8. แสดงผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่กระตุ้นด้วย carrageenan ในกลุ่มที่ให้ EEP 200 mg/kg ฉีดเข้าช่องท้อง..... 75
9. แสดงผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่กระตุ้นด้วย carrageenan ในกลุ่มที่ให้ EEP 300 mg/kg ฉีดเข้าช่องท้อง..... 76
10. แสดงผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งอาการบวมของอุ้งเท้าหนูที่กระตุ้นด้วย carrageenan ในกลุ่มที่ให้ EEP 400 mg/kg ฉีดเข้าช่องท้อง..... 77
11. แสดงผลการศึกษาความเป็นพิษของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย และ dexamethasone..... 78
12. แสดงค่าของ NO_2^- ที่วัดได้จากการทำปฏิกิริยา Griess ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย และ dexamethasone..... 80
13. แสดงค่าการยับยั้งการหลั่ง nitric oxide ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย และ dexamethasone..... 81
14. แสดงค่าของ TNF - α ที่วัดได้และ %inhibition ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย และ dexamethasone..... 83
15. แสดงองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากการทำ GC/MS..... 85

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. แสดงกระบวนการเกิด phagocytosis 12
2. แสดง complement cascade 12
3. แสดงภูมิคุ้มกันแบบเฉพาะ (specific immune system) 14
4. แสดงภาพรวมของระบบภูมิคุ้มกันเมื่อมีสิ่งที่มากระตุ้นโดยจะแบบออกเป็น innate และ acquired immunity 15
5. แสดงกลไกของ neutrophil ในการ migrate มาที่ตำแหน่งที่เกิดการอักเสบเนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรีย 18
6. แสดงกลไกการเกิดการอักเสบเรื้อรังในโรคต่างๆ 21
7. แสดง arachidonic acid metabolism pathway 24
8. แสดงarachidonic acid metabolites,ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ eicosanoids ชนิดต่างๆ 24
9. แสดงผลของ reactive oxygen species และ reactive nitrogen species ที่ถูกสร้างขึ้นขณะเกิดการอักเสบ และ ผลของ species เหล่านั้นไปทำต่อ biomolecule ต่างๆ 26
10. แสดง nitric oxide (NO) ในการควบคุมการเกิด vasodilation ระหว่างการเกิดการอักเสบ 28
11. แสดงกระบวนการอักเสบที่ถูกกระตุ้นด้วย pro-inflammatory cytokine 29
12. แสดงฤทธิ์ของ Macrophage-derived cytokines และ chemokines 30
13. แสดงเครื่องมือ plethysmometer 37
14. แสดงสมการปฏิกิริยาของ NO ในการสลายตัวได้เป็น nitrate (NO^-_3) และ nitrite (NO^-_2) และปฏิกิริยาในการวัดปริมาณของ nitrite โดยใช้ Griess reaction 41
15. แสดงวิธีการวัดหาปริมาณ TNF – α โดยวิธีการ sandwich ELISA 43
16. แสดง chromatogram ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย 45
17. แสดงสูตรโครงสร้างของสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีที่แยกได้จากการทำ GC/MS ของสิ่งสกัดหยาบด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย 46
18. แสดงค่าเฉลี่ยการยับยั้งการบวมของอุ้งเท้าหนูที่กระตุ้นด้วย carrageenan (%inhibition) ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับยามาตรฐาน indomethacin 49

ภาพที่ หน้า

19. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย ที่ขนาด 200, 300 และ 400 mg/kg และค่าการยับยั้งการการบวมของอุ้งเท้าหนู ที่กระตุ้นด้วย carrageenan ที่เวลาต่างๆ 49
20. แสดง %viability ของเซลล์เมื่อให้สิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย ที่ความเข้มข้นต่างๆ, LPS 100 ng/ml, 0.05%DMSO, dexamethasone 10μM และ doxorubicin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ให้น้ำกลั่น..... 50
21. แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณ nitrite ที่เกิดขึ้นเมื่อให้สิ่งสกัดด้วยเอทานอลของ พรอโพลิสไทย ที่ความเข้มข้นต่างๆ และ dexamethasone 10 μM..... 53
22. แสดงการยับยั้งการหลั่ง NO (%inhibition) ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของ พรอโพลิสไทย ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 μg/ml และ ยา dexamethasone 10 μM..... 54
23. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย ที่ความเข้มข้น 12.5, 25 และ 50 μg/ml และค่าการยับยั้งการหลั่ง NO..... 55
24. แสดงแสดงค่าเฉลี่ยปริมาณ TNF - α ที่เกิดขึ้นเมื่อให้สิ่งสกัดด้วยเอทานอล ของพรอโพลิสไทย ที่ความเข้มข้นต่างๆ และ dexamethasone 10 μM..... 57
25. แสดงการยับยั้งการหลั่ง TNF - α (%inhibition) ของสิ่งสกัดด้วยเอทานอล ของพรอโพลิสไทย ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 μg/ml และ ยา dexamethasone 10 μM..... 58
26. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งสกัดด้วยเอทานอลของพรอโพลิสไทย ที่ความเข้มข้น 12.5, 25 และ 50 μg/ml และค่าการยับยั้งการหลั่ง TNF - α..... 59
27. แสดงค่าของ standard curve ของ $NaNO_2$..... 79
28. แสดง standard curve ของ TNF – α..... 82
29. แสดง chromatogram ของ EEP ที่ได้จากการทำ GC/MS..... 85
30. แสดง Mass spectrum ของ EEP ที่ Rt 3.56..... 86
31. แสดง Mass spectrum ของ EEP ที่ Rt 7.67..... 86
32. แสดง Mass spectrum ของ EEP ที่ Rt 13.08..... 87
33. แสดง Mass spectrum ของ EEP ที่ Rt 14.66..... 87
34. แสดง Mass spectrum ของ EEP ที่ Rt 16.68..... 88
35. แสดง Mass spectrum ของ EEP ที่ Rt 18.33..... 88
36. แสดง Mass spectrum ของ EEP ที่ Rt 19.40..... 89
37. แสดง Mass spectrum ของ EEP ที่ Rt 20.79..... 89

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CO_2	carbondioxide
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	dimethyl sulfloxide
EEP	ethanolic extract of propolis
FBS	Fetal Bovine Serum
GC/MS	gas chromatography / mass spectrometry
HCl	hydrochloric acid
5-HT	5-hydroxytryptamine
IC_{50}	inhibitory concentration 50%
KCl	potassium chloride
KOH	potassium hydroxide
LPS	lipopolysaccharide
mg	milligram(s)
ml	milliliter(s)
M	molarities (mole per liter)
MTT	3-(4,5-dimethythiazol-2yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide
n	sample size
NaCl	sodium chloride
NED	N-1-napthylethylenediamine dihydrochloride
NO	nitric oxide
NSAIDs	non steroidal anti-inflammatory drugs
O_2	oxygen
OD	optical density
P	probability
PBS	phosphate buffer saline solution
PBMCs	peripheral blood mononuclear cells
pH	the negative logarithm of hydrogen ion concentration
ROS	reactive oxygen species
Rt	retention time
S.E.M.	standard error of mean

TNF – α	tumor necrosis factor – alpha
^{o} C	degree Celsius
µg	microgram (s)
ng	nanogram (s)
nm	nanometer (s)
pg	picogram (s)
%	percent
<	less than
/	per