

บทคัดย่อ

เอเชียติโคไซด์เป็นสารประกอบกลุ่มไตรเทอร์ปีนอยด์ซาโปนิน ที่พบเป็นองค์ประกอบหลักใน บัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urban) ซึ่งเป็นพืชพื้นบ้านของไทยที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางยามาเป็น เวลานาน โดยสารเอเชียติโคไซด์แสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญได้แก่ ช่วยเพิ่มความจำและป้องกันการ เกิดอัลไซเมอร์ สมานแผล และรักษาแผลเปื่อย ด้านการซึมเศร้า ด้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นกระบวนการสร้าง คอลลาเจน กระตุ้นหรือเสริมภูมิคุ้มกัน ลดความดันโลหิต ด้านการอักเสบ ป้องกันการเกิดมะเร็ง และปกป้อง เซลล์ประสาท จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้ มีการใช้บัวบกเป็นส่วนประกอบในเภสัชภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์เสริม สุขภาพ และเครื่องสำอางหลายประเภทในปัจจุบัน ดังนั้นการควบคุมคุณภาพและปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ใน วัตถุดิบบัวบกจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งต่อผู้บริโภค ทั้งในด้านความปลอดภัยและเพื่อประสิทธิผลในการใช้ ใน การศึกษาวิจัยนี้ได้ผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อสารเอเชียติโคไซด์ และพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ สารเอเชียติโคไซด์ด้วยวิธีทางอิมมูโนโลยี ได้แก่ เอนไซม์-ลิงค์ อิมมูโนแอสเซย์ (อีไลซา) และอิสเทิร์น บล็อกทิง โดยวิธีอีไลซาสามารถตรวจวัดปริมาณสารเอเชียติโคไซด์ได้ในช่วง 0.78 - 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และวิธีอิสเทิร์น บล็อกทิงสามารถตรวจวัดปริมาณสาร เอเชียติโคไซด์ได้ในช่วง 62.5 - 500 นาโนกรัม เมื่อทำ การตรวจรับรองความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธี พบว่ามีความถูกต้องและแม่นยำ รวมถึงมีความ สอดคล้องกันกับวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงซึ่งใช้เป็นวิธีมาตรฐาน ดังนั้นวิธีอีไลซา สามารถใช้เป็น วิธีมาตรฐานในวิเคราะห์ปริมาณสารเอเชียติโคไซด์ในทั้งตัวอย่างพืชและผลิตภัณฑ์ ในขณะที่วิธีอิสเทิร์น บล็อกทิงเหมาะกับการวิเคราะห์เฉพาะในตัวอย่างพืชเท่านั้น โดยทั้งสองวิธีเป็นวิธีที่มีความไวและมี ความจำเพาะเจาะจงสูง ทำให้สามารถวิเคราะห์สารได้อย่างสะดวกรวดเร็วและประหยัดค่าใช้จ่ายเมื่อ เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน นอกจากนี้ยังได้ทำการพัฒนาชุดทดสอบสาร เอเชียติโคไซด์เพื่อใช้คัดกรอง วัตถุดิบบัวบกเบื้องต้น ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นสามารถตรวจสอบสารได้ในเวลา 10-15 นาทีโดยใช้ปริมาณ ตัวอย่างเพียงเล็กน้อย ปริมาณสารต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยชุดทดสอบคือ 12.5 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร

Abstract

Asiaticoside, triterpenoid saponin, is the major active component of Thai medicinal herb name as Bua bok (*Centella asiatica* (L.) Urban). Asiaticoside was reported to possess the effects of memory enhancer, prevention of Alzheimer's disease, wound healing activity, antidepressant, free radical scavenger, collagen enhancement, anti-hypertension, anti-inflammatory, anticancer and neuroprotection. According to the Pharmacological activities of asiaticoside, the use of products from Bua bok has been increasing in the form of food supplements, nutraceuticals and cosmetics. Therefore, the quality control of the raw material and finished products are necessary to concern about safety and efficacy of products. In order to quality control of Bua bok, a fast and accurate analytical procedure is required for estimating the asiaticoside content of individual plants and products. In this study, we produced the monoclonal antibody against asiaticoside and also developed the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and Eastern Blotting for quantitative analysis of asiaticoside. The measuring range of asiaticoside by using ELISA and Eastern Blotting method was 0.78 - 25 µg/ml and 62.5 - 500 ng, respectively. The two methods were specificity, precision and accuracy and also correlated with High performance liquid chromatography (HPLC). Thus the ELISA method can be used as a standard method for quantitative analysis of asiaticoside in plants and finished products, whereas the Eastern Blotting is suitable for quantitative analysis in plants only. These immunoassays have several advantages that include high sensitivity, specificity, rapidity and ease of use for determination of asiaticoside. In addition, we also developed the immunochromatographic strip for screening of asiaticoside. This strip was developed due to the rapidity of analyzing using only 10 - 15 minute and small volume of sample. The limited detection of immunochromatographic strip is 12.5 µg/ml.