จักรพันธ์ โคมัยกุล. 2556. **การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอีไลซ่าเพื่อใช้ตรวจสอบปริมาณมัลเบอร์โรไซด์เอและศึกษาผลของสารกระตุ้นต่อการสร้างสารมัลเบอร์โรไซด์เอในรากเพาะเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยต้นหม่อน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชภัณฑ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ.ดร. วราภรณ์ ภูตะลุน

บทคัดย่อ

หม่อน (*Morus alba* L.) เป็นพืชสมุนไพรในวงศ์ Moraceae ส่วนเปลือกรากหม่อนถูกใช้เป็นยาแผนโบราณเพื่อต้านอาการไอ แก้อักเสบ และหอบหืด โดยมีสารมัลเบอร์โรไซด์เอเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ ปัจจุบันมัลเบอร์โรไซด์เอถูกนำมาศึกษาและใช้ในผลิตภัณฑ์สุขภาพจากธรรมชาติอย่างกว้างขวาง การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อสารมัลเบอร์โรไซด์เอขึ้นมา เพื่อใช้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารชนิดนี้ด้วยวิธีอีไลซ่าแบบแย่งจับทางอ้อม จากการศึกษาพบว่าช่วงการวิเคราะห์อยู่ที่ระดับ 0.17-15.62 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ทั้งภายในเพลทและระหว่างเพลทน้อยกว่า 5% เซลล์และรากเพาะเลี้ยงหม่อนถูกเหนี่ยวนำและย้ายลงในอาหารเหลวที่เหมาะสมแต่ละสูตรเพื่อใช้ในการศึกษา ผลการเติมสารกระตุ้นต่อการสร้างสารมัลเบอร์โรไซด์เอในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงหม่อนพบว่า ระยะเวลาที่เหมาะสมในการสัมผัสสารกระตุ้นคือ 24 ชั่วโมง การเติมสารกระตุ้น เช่น สารสกัดยีสต์ หรือกรดซาลิซิลิก สามารถเพิ่มการสะสมสารดังกล่าวได้อย่างมีนัยสำคัญทั้งในเซลล์แขวนลอยและรากเพาะเลี้ยงหม่อน ความหนาแน่นเริ่มต้นที่เหมาะสมในการเลี้ยงเซลล์ได้จากการเริ่มต้นเลี้ยงด้วยน้ำหนักสดเซลล์ 9 กรัมต่อขวด ซึ่งทำให้ผลิตสารได้สูงกว่าเปลือกรากหม่อนจากธรรมชาติ 3.08 เท่า จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า เซลล์และรากเพาะเลี้ยงหม่อนมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์กลูโคซิเดสและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงกว่ารากหม่อนจากธรรมชาติ การศึกษานี้พบจุลชีพจากหม่อนที่มีประสิทธิภาพในการใช้เป็นสารกระตุ้นสามชนิด หนึ่งในนั้นคือ *Trichoderma* sp. ที่กระตุ้นการปลดปล่อยสารมัลเบอร์โรไซด์ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ได้สูงที่สุด (เพิ่มขึ้น 9.61 เท่า) นอกจากนี้เชื้อราดังกล่าวยังให้ผลบวกเมื่อทดสอบหามัลเบอร์โรไซด์เอ (0.40±0.03 ไมโครกรัม/กรัม ของน้ำหนักสารสกัด) รวมถึงมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (IC_{50} = 0.81±0.12 มิลลิกรัม ของน้ำหนักสารสกัด/มิลลิลิตร) และเอนไซม์ไทโรซิเนส (IC_{50} = 3.72±0.58 มิลลิกรัม ของน้ำหนักสารสกัด/มิลลิลิตร)

Jukrapun Komaikul. 2013. **Development of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Determination of Mulberroside A and Effects of Elicitors on the Production of Mulberroside A in Root and Cell Suspension Cultures of *Morus* Alba L.** Master of Pharmacy Thesis in Pharmaceuticals, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Waraporn Putalun

ABSTRACT

Morus alba L. (white mulberry) is a medicinal plant belonging to Moraceae family. The root bark of *M. alba* has been used as traditional medicine for anti-tussive, anti-inflammation and anti-asthmatic. Mulberroside A (MuA) has been identified as an active compound from the root bark of *M. alba* and widely used in natural health products. In this study, polyclonal antibody against MuA was produced to develop indirect competitive ELISA method for the determination of the MuA. The result shows that optimal concentration range of the assay extends from 0.17-15.62 μg/ml, the maximum RSD of intra- and inter-assay were 4.92% and 4.85%, respectively. The cell and root cultures were induced, and then transferred into each appropriate medium to use in the studies. The result of elicitation effects on MuA levels indicates that optimal exposure time is 24 h. Addition of elicitors such as yeast extract and methyl jasmonate can significantly increase MuA production in both cell and root cultures. The optimal cell density was obtained from 9 g/flask initial FW, which is produced the MuA higher than intact root bark (3.08 folds higher). Inhibitories on tyrosinase and α-glucosidase activities from both cell and root cultures are also stronger than intact root of *M. alba*. In this study, three effective microbial elicitors for MuA production were isolated and identified. One of them is *Trichoderma* sp., which stimulated highest MuA releasing into cell culture medium (increased 9.61 folds). Additionally, this endophyte gave positive result in the MuA determination (0.40±0.03 mg/g crude extract), anti α-glucosidase activity (IC_{50} = 0.81±0.12 mg crude extract/ml) and anti-tyrosinase activity (IC_{50} = 3.72±0.58 mg crude extract/ml).