**การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส**

**(Acetylcholinesterase หรือ AChE) ด้วยเทคนิค Acetylcholinesterase assay**

**ชื่อตัวอย่างสารสกัดสมุนไพร** :

1. **Psylaza extract**
2. **Sangvichai extract**

**ลักษณธทางกายภาพ** : ผง

**รูปแบบผลิตภัณฑ์** : ของแข็ง

**วันที่รับตัวอย่าง** : 27 พฤศจิกายน 2567

**วันที่ทดสอบ** : 21 ธันวาคม 2567

**ผู้ทำการทดลอง**  :ศิริวรรณ แซ่หลี

**วิธีการทดลอง**

 การทดสอบความสามารถของสารสกัดสมุนไพรในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholinesterase (AChE) ดำเนินการโดยใช้ชุดทดสอบ Amplex Red Acetylcholine/Acetylcholinesterase assay kit (A12217) โดยใช้สารสกัดสมุนไพร Psylaza และ Sangvichai ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1 mg/mL เทียบกับยามาตรฐาน Donepezil ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/mL หรือที่ความเข้มข้นเดียวกัน นำไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ AChE ที่ความเข้ม 0.5 U/mL และ Acetylcholine (Ach) Substrate ที่ความเข้มข้น 30 µM ใน 96-well transparent plate และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม Detector ซึ่งประกอบด้วย Horseradish peroxidase (HRP) ความเข้มข้น 1 U/mL เอนไซม์ Choline oxidase (ChO) ความเข้มข้น 0.1 U/mL และ Amplex Red reagent ความเข้มข้น 100 µM
สำหรับกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Positive control) เติม 1X Reaction buffer (50 mM Tris-HCl, pH 8.0) ปริมาตร
แทนสารทดสอบ และกลุ่มควบคุมเชิงลบ (Positive control) เติม 1X Reaction buffer แทนสารทดสอบ
และเอนไซม์ AChE โดยทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ จากนั้นทำการวัดจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์
โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 571 นาโนเมตร เป็นเวลา 30 นาที และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์
การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE

**ผลการทดลอง**

 จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ของสารสกัดสมุนไพร Psylaza และ Sangvichai เทียบกับยามาตรฐาน Donepezil พบว่า สารสกัดสมุนไพร Psylaza ที่ความเข้มข้น 0.1 และ
1 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ได้ โดยมีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ที่
34.865 ± 2.143 และ 63.653 ± 4.285 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดสมุนไพร Sangvichai มีความสามารถใน
การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ได้ดีกว่าสารสกัดสมุนไพร Psylaza โดยที่ความเข้มข้น 0.1 mg/mL นั้น
มีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ที่ 36.381 ± 8.571 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 1 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ 75.774 ± 4.285 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ยามาตรฐาน Donepezil ที่ความเข้มข้น
0.1 mg/mL สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้สูงที่สุด โดยมีค่าการยับยั้งอยู่ที่ 66.670 ± 4.285 เปอร์เซ็นต์
เมื่อเทียบสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้น 0.1 mg/mL กับยามาตรฐาน Donepezil ที่ความเข้มข้นเดียวกันนั้นแสดงให้เห็นว่า Donepezil สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้ดีกว่าสารสกัดสมุนไพร 2 เท่า (รูปที่ 1 และตารางที่ 1)



**รูปที่ 1** กราฟแสดงเปอร์เซ็นความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE หลังทำการทดสอบกับ
 สารสกัดสมุนไพร Psylaza และ Sangvichai ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1 mg/ml เปรียบเทียบกับยา

 Donepezil ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

**ตารางที่ 1** ตารางแสดงเปอร์เซ็นความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE หลังทำการทดสอบกับ
 สารสกัดสมุนไพร Psylaza และ Sangvichai ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1 mg/ml เปรียบเทียบกับยา

 Donepezil ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

| สารทดสอบ | ความเข้มข้น (mg/mL) | เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE(ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) |
| --- | --- | --- |
| Donepezil | 0.1 | 66.670 ± 4.285 |
| Psylaza | 0.1 | 34.865 ± 2.143 |
|  | 1 | 63.653 ± 4.285 |
| Sangvichai | 0.1 | 36.381 ± 8.571 |
|  | 1 | 75.774 ± 4.285 |

**สรุปผลการทดลอง**

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ AChE ของสารสกัดสมุนไพร Psylaza และ Sangvichai มีฤทธ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholinesterase ได้ ซึ่งจากผลการทดลองสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำไปพัฒนาไปเป็นยาสำหรับรักษาผู้ป่วยอัลไซเมอร์ต่อไปได้