

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส
(Acetylcholinesterase หรือ AChE) ด้วยเทคนิค Acetylcholinesterase assay

ชื่อตัวอย่างสารสกัดสมุนไพร :

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

ลักษณะทางกายภาพ : ผง

รูปแบบผลิตภัณฑ์ : ของแข็ง

วันที่รับตัวอย่าง : 27 พฤศจิกายน 2567

วันที่ทดสอบ : 21 ธันวาคม 2567

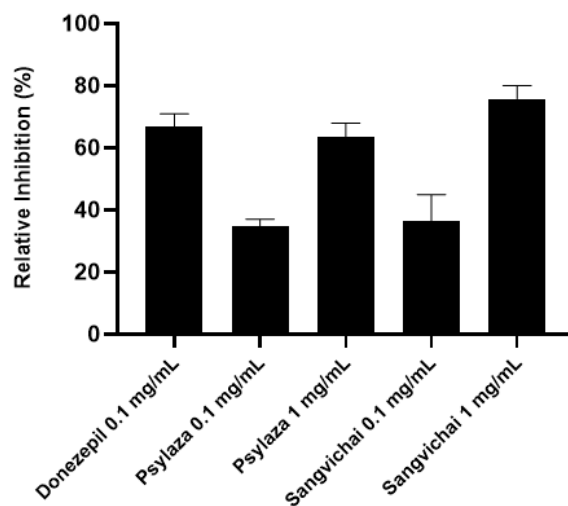
ผู้ทำการทดลอง : ศิริวรรณ แซ่หลี่

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 ที่ความเข้มข้น 0.5 U/mL และ Acetylcholine (Ach) Substrate ที่ความเข้มข้น 30 μ M 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 μ M สำหรับกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Positive control) เติม 1X Reaction buffer (50 mM Tris-HCl, pH 8.0) แทนสารทดสอบ และกลุ่มควบคุมเชิงลบ (Positive control) เติม 1X Reaction buffer แทนสารทดสอบ และเอนไซม์ AChE โดยทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ จากนั้นทำการวัดจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 571 นาโนเมตร เป็นเวลา 30 นาที และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 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 มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ได้ดีกว่าสารสกัดสมุนไพร Psylaza โดยที่ความเข้มข้น 0.1 mg/mL นี้ 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 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE หลังทำการทดสอบกับ

สารสกัดสมุนไพร Psylaza และ Sangvichai ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1 mg/ml เปรียบเทียบกับยา

Donepezil ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ตารางที่ 1 ตารางแสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 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 มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Acetylcholinesterase ได้ ซึ่งจากผลการทดลองสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำไปพัฒนาไปเป็นยาสำหรับรักษาผู้ป่วยอัลไซเมอร์ต่อไปได้