

## รายงานผลการทดสอบ

- ตัวอย่างสาร:
1. ABHI-B
  2. BOVA
  3. REVITA
  4. Branara
  5. Psylaza
  6. Vetchakorn No.6



รายละเอียดของตัวอย่าง: แคปซูลสมุนไพร

วันที่รับตัวอย่าง: 1 มิถุนายน 2566

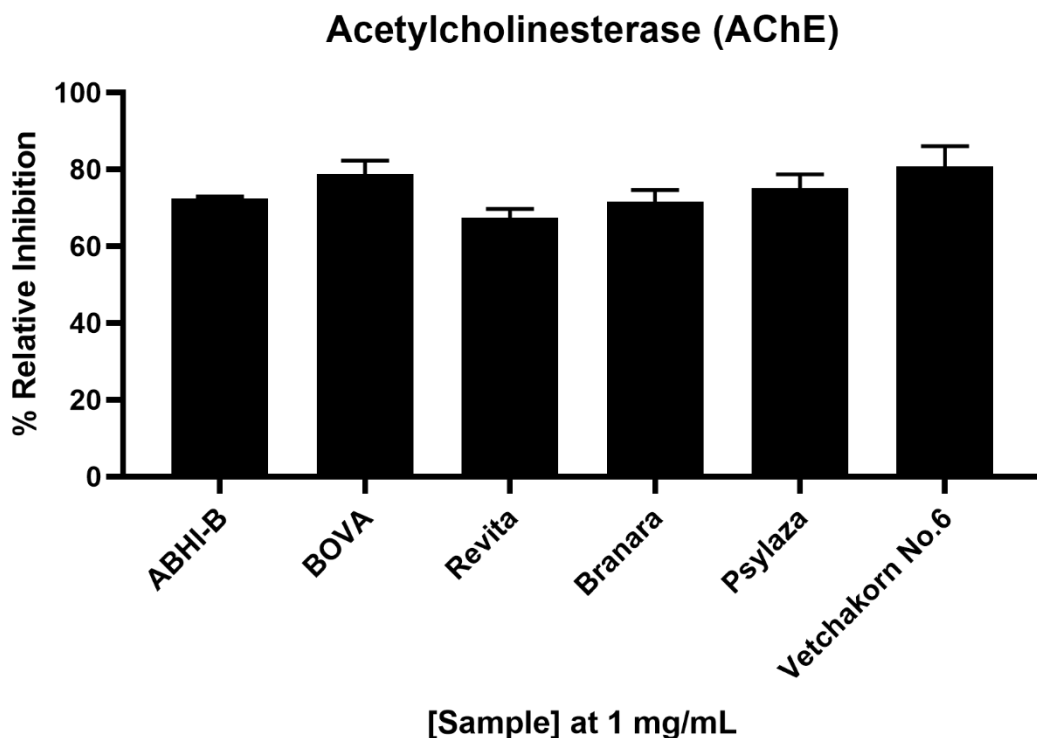
วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 7 กรกฎาคม 2566

### วิธีทดสอบ

การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งของสารตัวอย่างที่สนใจกับโปรตีน Acetylcholinesterase (AChE) โดยใช้ชุดทดสอบ Amplex Red Acetylcholine/Acetylcholinesterase assay kit (A12217) โดยในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของโปรตีน AChE นั้นทดสอบโดยใช้สารตัวอย่างที่สนใจที่ความเข้มข้น 1 mg/ml เทียบกับสมุนไพร ABHI-B ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ AChE ที่ความเข้มข้น 0.1 U/mL และ Acetylcholine (ACh) Substrate ความเข้มข้น 30  $\mu$ M โดยการทดลองดังกล่าวทำใน 96-well transparent plate บ่มที่อุณหภูมิห้อง 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  $\mu$ M สำหรับ Background control จะไม่เติม Substrate และ Positive control จะไม่เติมสารตัวอย่าง จากนั้นทำการวัดจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 571 นาโนเมตร เป็นเวลา 30 นาที และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE และคำนวณค่า  $IC_{50}$

## ผลการทดสอบ

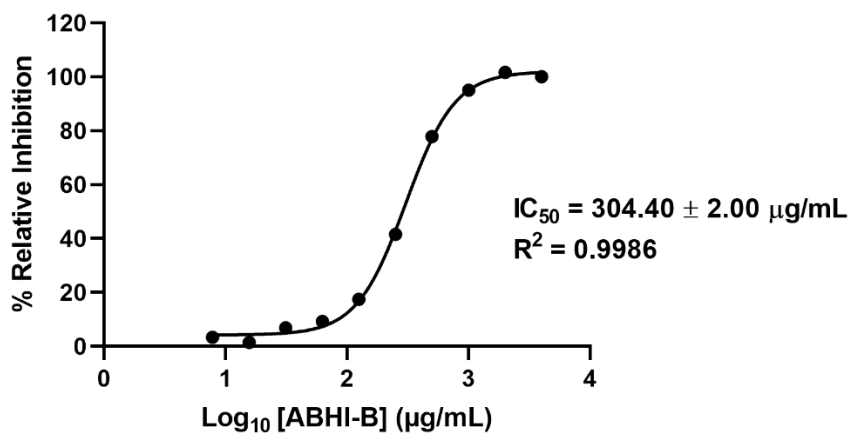
จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 mg/ml เทียบกับสมุนไพร ABHI-B ที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่า Vetchakorn No.6 สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ได้ดีที่สุดในที่ความเข้มข้น 1 mg/ml นั้นมีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด อยู่ที่ร้อยละ 80.67 และมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 55.09  $\mu\text{g/mL}$  ซึ่งต่ำกว่า ABHI-B ( $IC_{50}$  เท่ากับ 304.40) ประมาณ 5 เท่า (รูปที่ 1 รูปที่ 7 และตารางที่ 1) ในขณะที่สมุนไพรชนิดอื่นๆ แสดงค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ในช่วง 67-78 % (รูปที่ 1 และตารางที่ 1) และเมื่อนำมาคำนวณหาค่า  $IC_{50}$  พบว่าสมุนไพร Psylaza BOVA และ Branara ให้ค่า  $IC_{50}$  ที่ต่ำกว่าสมุนไพร ABHI-B ประมาณ 3-10 เท่า ด้วยค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 27.65 44.61 และ 89.00  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ (รูปที่ 3 รูปที่ 5 และ รูปที่ 7) แต่เนื่องจากตัวอย่างสมุนไพร Psylaza ละลายได้ไม่ดีในตัวทำละลายเอทานอลเกิดการตกตะกอนขึ้นภายในหลุมเมื่อดำเนินการปฏิบัติ ทำให้ส่งผลต่อการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ และอาจทำให้ผลการทดลองมีความคลาดเคลื่อนได้ นอกจากนี้พบว่าสมุนไพร Revita สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ได้น้อยที่สุด ด้วยค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 413.00  $\mu\text{g/mL}$  ซึ่งสูงกว่าสมุนไพร ABHI-B ประมาณ 2 เท่า (รูปที่ 1 รูปที่ 4 และตารางที่ 1)



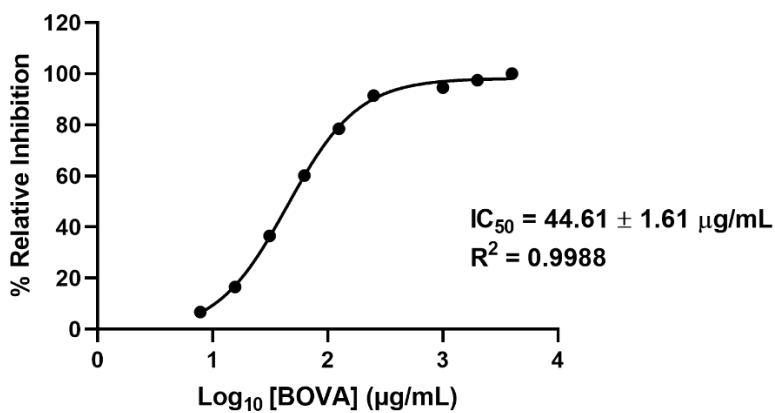
รูปที่ 1 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE หลังทำการทดสอบกับสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 mg/ml เปรียบเทียบกับสมุนไพร ABHI-B ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ตารางที่ 1 ตารางแสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE หลังทำการทดสอบกับสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 mg/ml เปรียบเทียบกับสมุนไพร ABHI-B ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

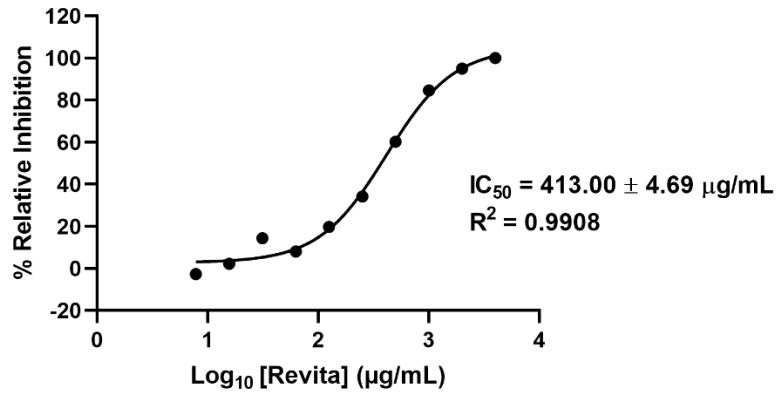
| Sample          | Relative Inhibition (%) | IC <sub>50</sub> (µg/mL) |
|-----------------|-------------------------|--------------------------|
| ABHI-B          | 72.38 ± 0.61            | 340.40 ± 2.00            |
| BOVA            | 78.74 ± 3.58            | 44.61 ± 1.61             |
| REVITA          | 67.35 ± 2.35            | 413.00 ± 4.69            |
| Branara         | 71.55 ± 3.04            | 89.00 ± 1.76             |
| Psylaza         | 75.07 ± 3.67            | 27.65 ± 2.48             |
| Vetchakorn No.6 | 80.67 ± 5.36            | 55.09 ± 1.26             |



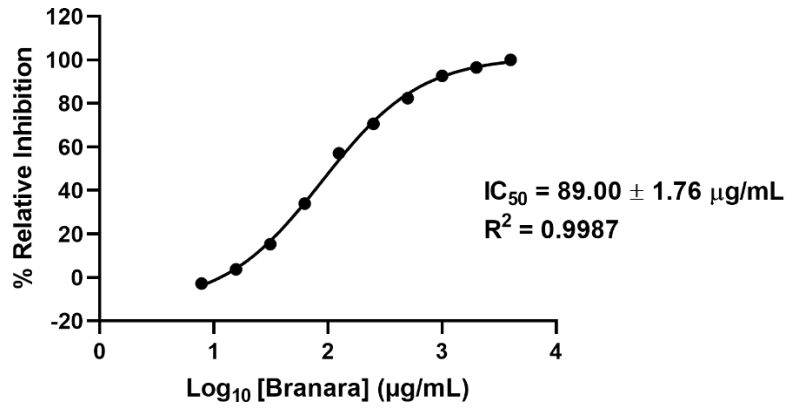
รูปที่ 2 กราฟแสดง IC<sub>50</sub> ของ ABHI-B



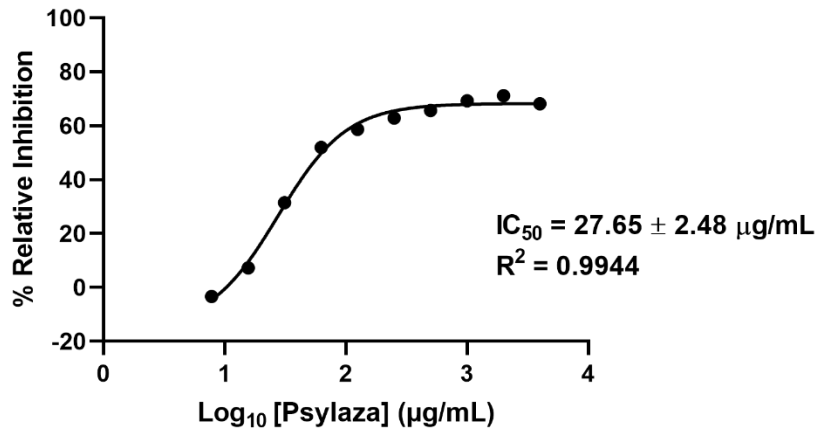
รูปที่ 3 กราฟแสดง IC<sub>50</sub> ของ BOVA



รูปที่ 4 กราฟแสดง  $\text{IC}_{50}$  ของ REVITA

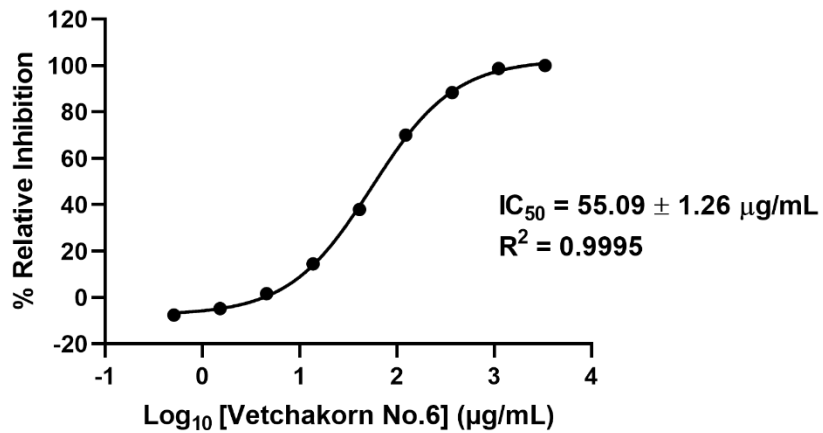


รูปที่ 5 กราฟแสดง  $\text{IC}_{50}$  ของ Branara



รูปที่ 6 กราฟแสดง  $\text{IC}_{50}$  ของ Psylaza

หมายเหตุ Psylaza เกิดการตกตะกอนขึ้นในหลุมเมื่อทำปฏิกิริยา ทำให้ส่งผลต่อการตรวจสอบกิจกรรมของ เอนไซม์และอาจทำให้ผลการทดลองมีความคลาดเคลื่อน



รูปที่ 7 กราฟแสดง IC<sub>50</sub> ของ Vetchakorn No.6

### สรุปผลการทดลอง

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ AChE ของสารตัวอย่างสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด เทียบกับสมุนไพร ABHI-B พบว่าจากการคำนวณค่า IC<sub>50</sub> สามารถจัดลำดับของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ได้คือ Psylaza > BOVA > Veychakorn No.6 > Branara > Revita ตามลำดับ ซึ่งจากผลดังกล่าวใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อพัฒนาไปเป็นยาสำหรับผู้ป่วยอัลไซเมอร์ได้