รายงานผลการทดสอบ

ตัวอย่างสาร: 1. Butea Superba

2. KD

3. Vetchakorn No.6

4. Vitaplus

5. TOPAZ

6. Cordyceps (ถั่งเช่า)

รายละเอียดของตัวอย่าง: แคปซูลสมุนไพร

วันที่รับตัวอย่าง: 20 พฤศจิกายน 2566

วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 22 พฤศจิกายน 2566

<u>วิธีทดสอบ</u>

1. เจือจางเอนไซม์ PDE-5 ให้มีความเข้มข้น 10 pg/µL, FAM-Cyclic-3’, 5’-GMP ความเข้มข้น 200 nM และสารทดสอบให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการด้วย PDE assay buffer
2. ทำการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ โดยการเติมสารดังแสดงในตารางที่ 1

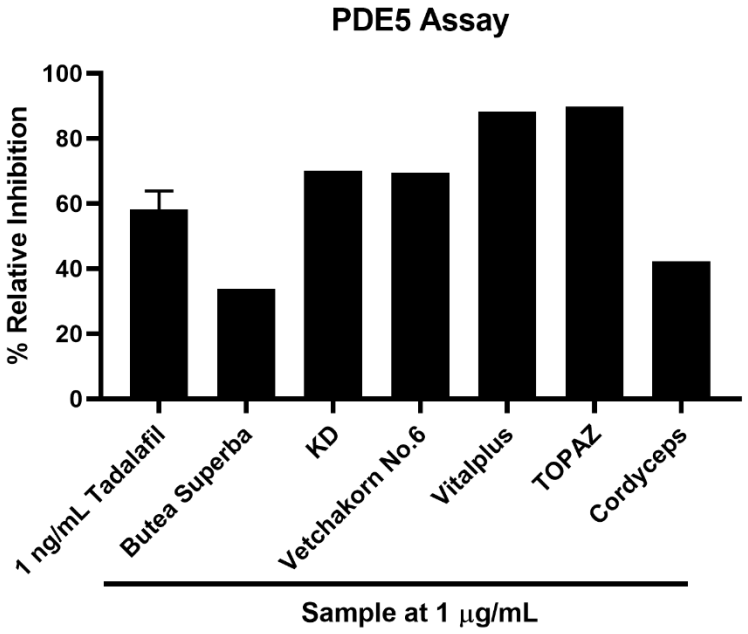
ตารางที่ 1 ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ PDE5 (50 µL/well)

Component	Blank	Substrate Control	Positive Control	Test Inhibitor
FAM-Cyclic-3’,5’-GMP (200nM)	-	25 µL	25 µL	25 µL
PDE assay buffer	45 µL	20 µL	-	-
Test Inhibitor	-	-	-	5 µL
10% DMSO in water (Inhibitor buffer)	5 µL	5 µL	5 µL	-
PDE5 (10 pg/µL)	-	-	20 µL	20 µL
Total	**50 µL**	**50 µL**	**50 µL**	**50 µL**

3. บ่มที่อุณภูมิห้อง (หลีกเลี่ยงจากแสง) เป็นเวลา 60 นาที
4. เติม 1:100 Mix binding agent (ประกอบด้วย binding agent และ binding agent diluent) ปริมาตร 100 µL
5. บ่มที่อุณภูมิห้อง (หลีกเลี่ยงจากแสง) เป็นเวลา 30 นาที (เขย่าเบาๆ)
6. วัดค่าการเรืองแสง Fluorescent ที่ความยาวคลื่น Ex/Em = 485/528 nm
7. คำนวณหาเปอร์เซ็นความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE5

ผลการทดสอบ

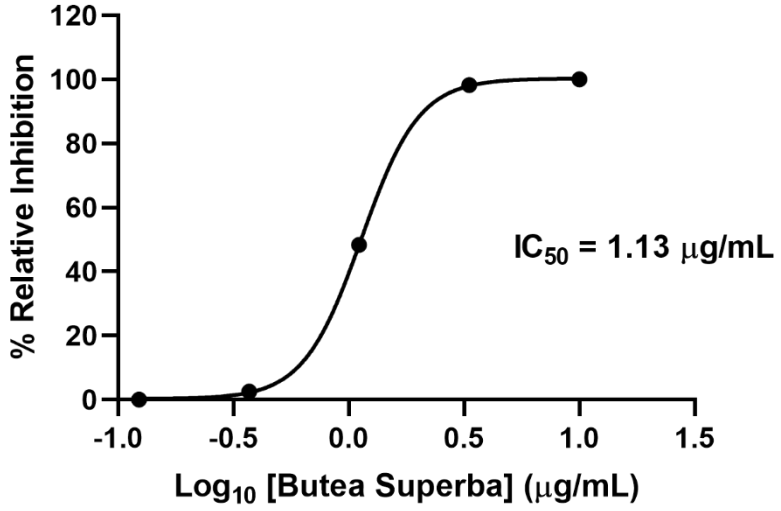
จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE5 ของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 µg/ml เทียบกับยา Tadalafil ที่ความเข้มข้น 1 ng/mL พบว่า Vitalplus และ TOPAZ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE5 ได้สูงที่สุด โดยมีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ที่ร้อยละ 88.19 และ 89.83 จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 9.98 และ 2.26 ng/mL ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับยา Tadalafil ที่มีรายงานก่อนหน้านี้ (IC_{50} เท่ากับ 1.13 ng/mL) (รูปที่ 5 รูปที่ 6 และตารางที่ 1) ในขณะที่สมุนไพรชนิดอื่นๆ แสดงค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ในช่วง 33-70 % (รูปที่ 1 และตารางที่ 1) และเมื่อนำมาคำนวณหาค่า IC_{50} พบว่าสมุนไพรดังกล่าวให้ค่า IC_{50} ที่สูงกว่ายา Tadalafil (รูปที่ 2-4 และ รูปที่ 7)



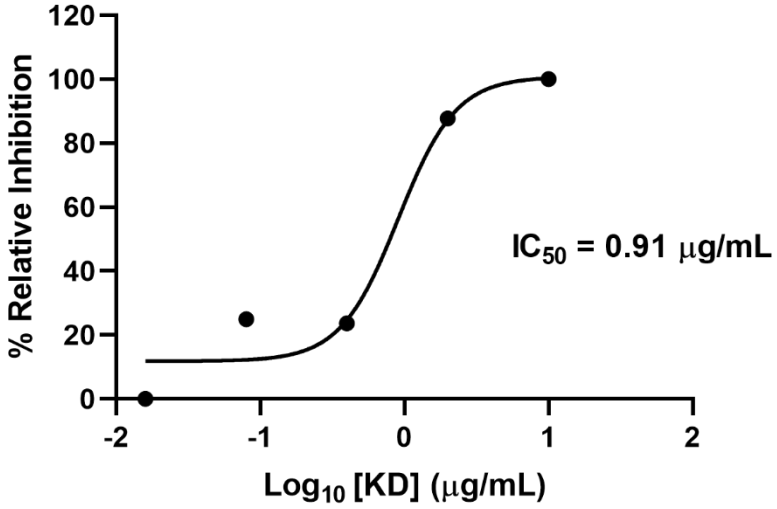
รูปที่ 1 กราฟแสดงเปอร์เซ็นความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE5 หลังทำการทดสอบกับสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 µg/ml เปรียบเทียบกับยา Tadalafil ที่ความเข้มข้น 1 ng/mL

ตารางที่ 1 ตารางแสดงเปอร์เซ็นความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE5 หลังทำการทดสอบกับสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 µg/ml เปรียบเทียบกับยา Tadalafil ที่ความเข้มข้น 1 ng/mL

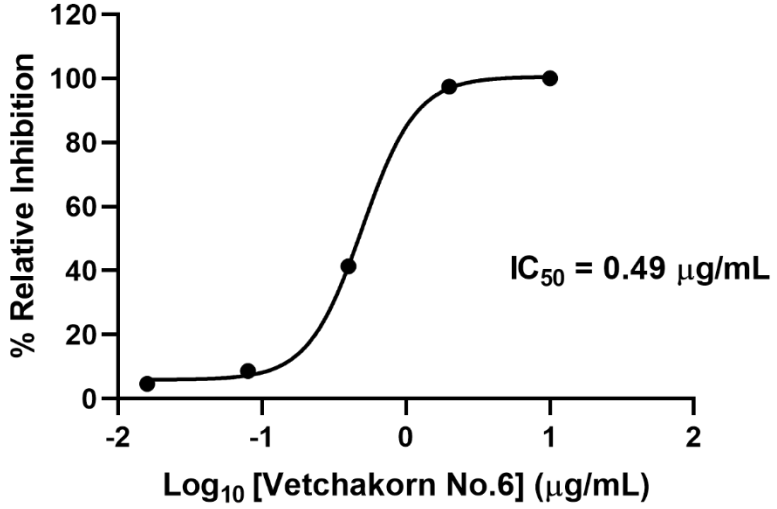
Sample	Relative Inhibition (%)	IC_{50} (ng/mL)
Tadalafil	58.25	-
Butea Superba	33.77	1,130
KD	70.14	910
Vetchakorn No.6	69.34	490
Vitalplus	88.19	9.98
TOPAZ	89.83	2.26
Cordyceps	42.28	3,110



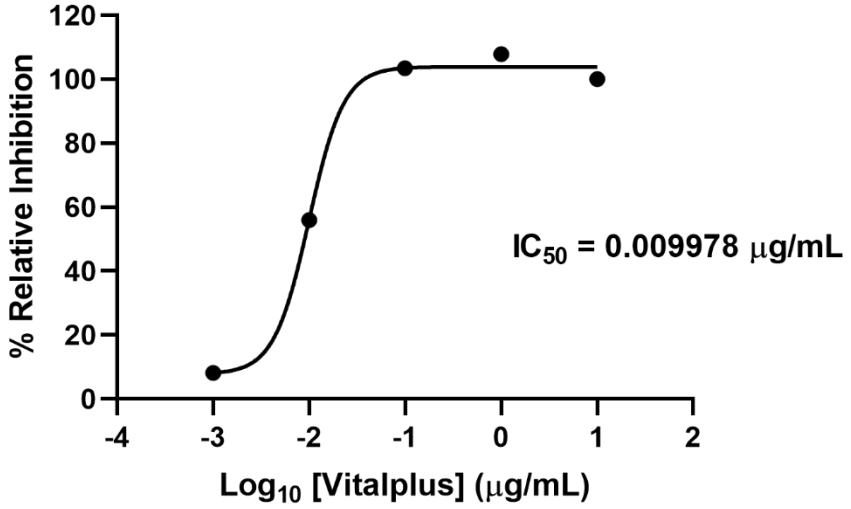
รูปที่ 2 กราฟแสดง IC_{50} ของ Butea Superba



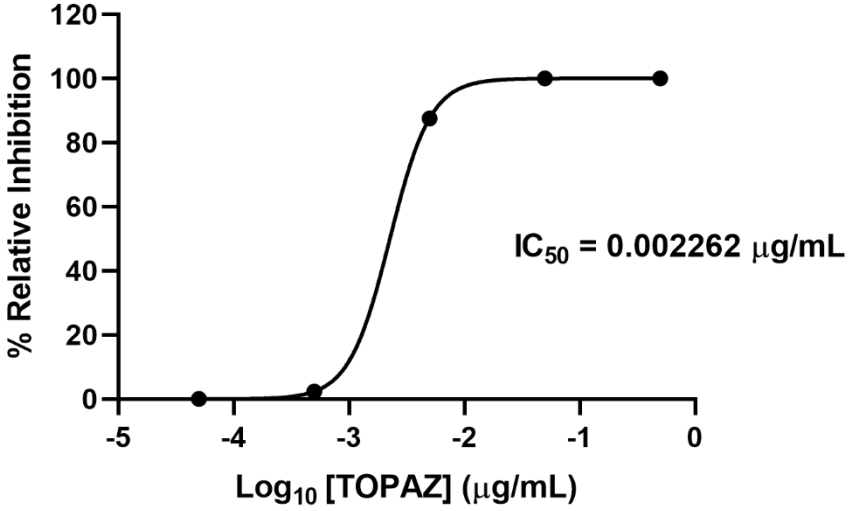
รูปที่ 3 กราฟแสดง IC_{50} ของ KD



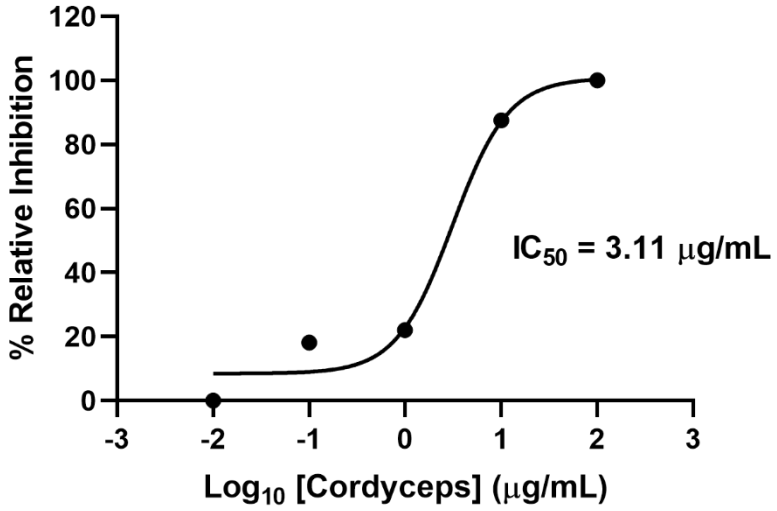
รูปที่ 4 กราฟแสดง IC_{50} ของ Vetchakorn No.6



รูปที่ 5 กราฟแสดง IC_{50} ของ Vitalplus



รูปที่ 6 กราฟแสดง IC_{50} ของ TOPAZ



รูปที่ 7 กราฟแสดง IC_{50} ของ Cordyceps

<u>สรุปผลการทดลอง</u>

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PDE5 ของสารตัวอย่างสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด เทียบกับยา Tadalafil พบว่าจากการคำนวณค่า IC_{50} สามารถจัดลำดับของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PDE5 ได้คือ TOPAZ > Vitalplus > Veychakorn No.6 > KD > Butea Superba > Cordyceps ตามลำดับ ซึ่งจากผลดังกล่าวใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อพัฒนายาที่มีประสิทธิภาพสูงที่สามารถช่วยแก้ไขปัญหาเสื่อมสมรรถภาพทางเพศได้ในอนาคต