รายงานผลการทดสอบ

ตัวอย่างสาร: 1. BOVA

2. KERRA

รายละเอียดของตัวอย่าง: ผงสมุนไพรละเอียด

วันที่รับตัวอย่าง: 16 เมษายน 2566

วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 15 พฤษภาคม 2566

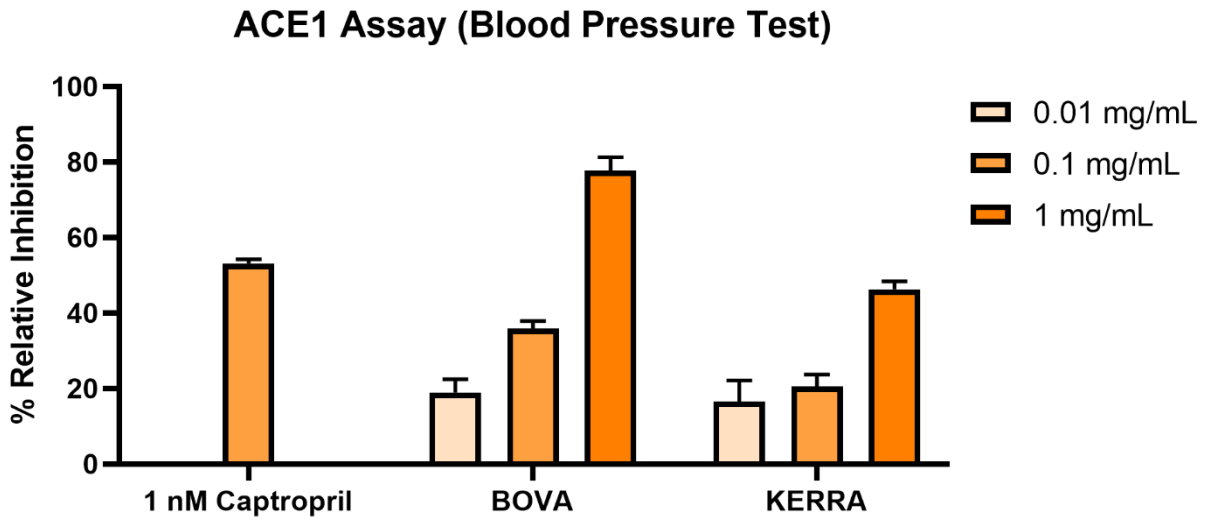
<u>วิธีทดสอบ</u>

การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งของสารตัวอย่างที่สนใจกับโปรตีน ACE1 โดยใช้ชุดทดสอบ Angiotensin I Converting Enzyme (ACE1) Inhibitor Screening Kit (ab283372) โดยในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของโปรตีน ACE1 นั้นทดสอบโดยใช้สารตัวอย่างที่สนใจที่ความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 1 mg/ml เทียบกับยา Captopril ที่ความเข้มข้น 1 nM ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ACE1 ที่ความเข้ม 1:20 โดยการทดลองดังกล่าวทำใน 96-well transparent plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติม ACE1 Substrate ที่ความเข้มข้น 1:6 เพื่อเป็นการเริ่มต้นการเกิดปฏิกิริยา สำหรับ Background control จะไม่เติมเอนไซม์ และ Positive control จะไม่เติมสารตัวอย่าง เพื่อดูการเกิดปฏิกิริยา บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที โดยวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ด้วยเทคนิคการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ โดยตั้งค่าการกระตุ้นและการปลดปล่อยที่ 340/430 นาโนเมตร และคำนวณหาเปอร์เซ็นความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE1 และคำนวณค่า IC_{50}

<u>ผลการทดสอบ</u>

จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE1 ของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 1 mg/ml เทียบกับยา Captopril ที่ความเข้มข้น 1 nM พบว่า BOVA สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE1 ได้ดีกว่า KERRA ที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดย BOVA ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml นั้นมีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด อยู่ที่ร้อยละ 77.78 ในขณะที่ความเข้มข้น 0.1 mg/ml และ 0.01 mg/mL มีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ลดลงประมาณ 2 และ 4 เท่า ตามลำดับ โดยผลการยับยั้งอยู่ที่ร้อยละ 35.87 และ 18.98 (รูปที่ 1 และ ตารางที่ 1) ในขณะที่ KERRA ที่ความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 1 mg/ml มีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ACE1 อยู่ที่ร้อยละ 16.54 20.53 และ 46.28 ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 1 และ ตารางที่ 1

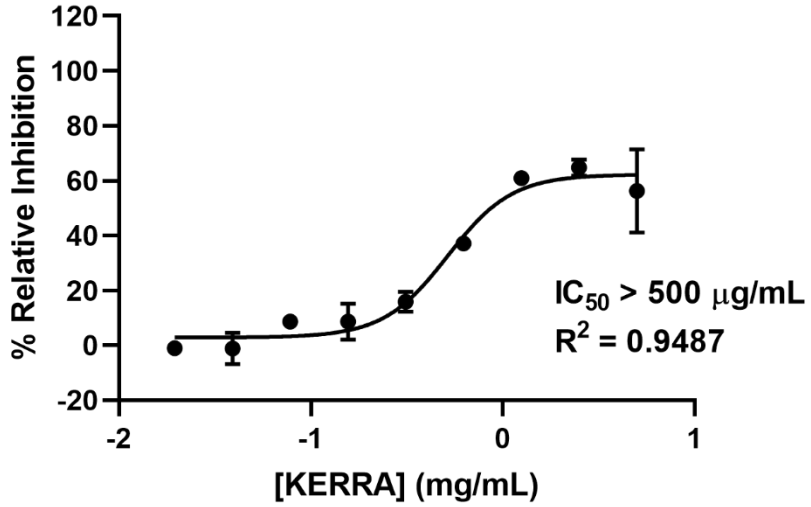
และเมื่อเปรียบเทียบสารตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด กับยา Captopril ความเข้มข้น 1 nM พบว่า KERRA ความเข้มข้น 1 mg/ml มีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่ใกล้เคียงกันกับยา Captopril (53.13%) ในขณะที่ BOVA ความเข้มข้น 1 mg/ml มีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่ายา Captopril ประมาณ 1.5 เท่า แสดงดังรูปที่ 1 และตารางที่ 1 จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} ของสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด คือ KERRA และ BOVA พบว่า สมุนไพรดังกล่าวมีค่า IC_{50} เท่ากับ >500 µg/ml และ 454.30 µg/ml ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 2 และ 3 จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าสมุนไพร KERRA แสดงค่า IC_{50} >500 µg/ml เนื่องจากตัวอย่างมีสีค่อนข้างเข้ม ทำให้ส่งผลต่อการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์



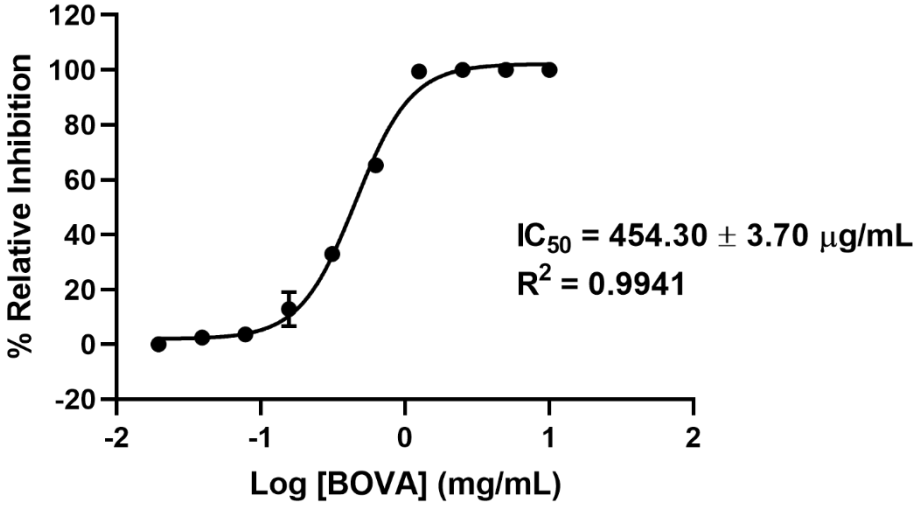
รูปที่ 1 กราฟแสดงเปอร์เซ็นความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE1 หลังทำการทดสอบกับสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 1 mg/ml เปรียบเทียบกับยา Captopril ที่ความเข้มข้น 1 nM

ตารางที่ 1 ตารางแสดงเปอร์เซ็นความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE1 หลังทำการทดสอบกับสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 1 mg/ml เปรียบเทียบกับยา Captopril ที่ความเข้มข้น 1 nM

Sample	Relative Inhibition (%)
1 nM Captopril	53.13
0.01 mg/ml BOVA	18.98
0.1 mg/ml BOVA	35.87
1 mg/ml BOVA	77.78
0.01 mg/ml KERRA	16.54
0.1 mg/ml KERRA	20.53
1 mg/ml KERRA	46.28



รูปที่ 2 กราฟแสดง IC_{50} ของ KERRA



รูปที่ 3 กราฟแสดง IC_{50} ของ BOVA

<u>สรุปผลการทดลอง</u>

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ACE1 ของสารตัวอย่างสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด เทียบกับยา Captopril พบว่าที่ความเข้มข้นเดียวกัน สามารถจัดลำดับของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE1 ได้คือ BOVA > KERRA ด้วยค่า IC_{50} คือ 454.30 µg/ml และ >500 µg/ml ตามลำดับ ซึ่งจากผลดังกล่าวแสดงว่าสารตัวอย่างเหล่านี้มีคุณสมบัติในการลดความดันเลือดได้ แต่อาจจะต้องใช้ในปริมาณสูงกว่าเมื่อเทียบกับยา Captopril