



## รายงานการวิจัย เรื่อง

ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ  
สารสกัดจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ของไทย เพื่อพัฒนาเป็น  
ผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้นแบบสำหรับลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคอัลไซเมอร์  
Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities of the  
Southern traditional Thai medicinal plant extracts for  
developing to be the herbal product decreasing  
the risk of Alzheimer's disease

คันธมาทน์ กาญจนภูมิ  
(คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา)  
สุพัตร์ หลังยาหน่าย  
(คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่)  
ประภาพร จันท์เอียด  
(สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์)

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา  
ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565)

|                   |                                                                                                                                                                                          |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| หัวข้อวิจัย       | ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ของไทย เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้นแบบสำหรับลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคอัลไซเมอร์ |
| ผู้ดำเนินการวิจัย | 1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คันธมาพันธ์ กาญจนภูมิ<br>2. อาจารย์สุพัทธ์ หลั่งยาหน่าย<br>3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประภาพร จันทรเอียด                                                        |
| ที่ปรึกษา         | -                                                                                                                                                                                        |
| หน่วยงาน          | 1. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา<br>2. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่<br>3. สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์                         |
| ปี พ.ศ.           | 2567                                                                                                                                                                                     |

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ ดังนี้ เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ของไทย สำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้นแบบสำหรับลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคอัลไซเมอร์ในผู้ป่วยโรค ผลการวิจัยมีดังนี้ การศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรไทยในท้องถิ่นภาคใต้จำนวน 45 ชนิด โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญจากส่วนต่าง ๆ ของพืชทั้งสิ้น 66 ตัวอย่าง เมื่อใช้ Galantamine เป็นสารมาตรฐานในการศึกษาการออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ของพืชสมุนไพร พบว่า ส่วนของต้นมะมุด *Mangifera foetida* Lour. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Amacardiaceae ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ได้ดีที่สุดคือ ร้อยละ  $94.95 \pm 1.97$  รองลงมาคือ เนื้อไม้ของสนทะเล *Casuarina equisetifolia* J. R. & C. Forst. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Casuarinaceae ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE เท่ากับ ร้อยละ  $82.17 \pm 1.05$  ในขณะที่ ก้านใบของอ้อดิบ (คุน) *Colocasias gigante* Hook. F. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Araceae ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE น้อยที่สุด คือ ร้อยละ  $2.55 \pm 2.81$  ส่วนผลทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ค่า  $EC_{50}$  อยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.91-104.55  $\mu\text{g/ml}$  โดยพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ ใบทำม้ง *Litsea elliptica* Boerl. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Lauraceae ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.91  $\mu\text{g/ml}$  ตรงข้ามกับเนื้อไม้ของแสลงใจ *Strychnos nux-vomica* L. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Loganiaceae มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 104.55  $\mu\text{g/ml}$  เมื่อใช้ Ascorbic acid และ Quercetin เป็นสารมาตรฐาน ดังนั้น การพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อลดความเสี่ยงต่อโรคอัลไซเมอร์ควรใช้ส่วนของต้นมะมุด *Mangifera foetida* Lour. และใบทำม้ง *Litsea elliptica* Boerl. เป็นส่วนสำคัญในการสกัดสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ AChE และต้านอนุมูลอิสระ

**คำสำคัญ** ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ โรคอัลไซเมอร์

|                             |                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Research Title</b>       | Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities of the Southern traditional Thai medicinal plant extracts for developing to be the herbal product decreasing the risk of Alzheimer's disease |
| <b>Researcher</b>           | 1. Asst. Prof. Kantamaht Kanchanapoom<br>2. Mr. Supat Langyanai<br>3. Asst. Prof. Prapaporn Phaniad                                                                                                     |
| <b>Research Consultants</b> | -                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Organization</b>         | 1.Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University.<br>2.Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University.<br>3.School of Medicine, Walailak University.                |
| <b>Year</b>                 | 2024                                                                                                                                                                                                    |

The objectives of this research are as follows: to study the inhibitory effects on acetylcholinesterase enzyme (AChE) and the antioxidant activities of local medicinal plants from southern Thailand, with the aim of developing a prototype herbal product to reduce the risk of Alzheimer's disease in consumers. The results of the research are as follows: The study examined the AChE inhibitory activity and antioxidant activity of 45 species of local Southern Thai herbs, using ethanol as a solvent to extract key compounds from 66 plant samples. Galantamine was used as a reference standard for studying AChE inhibitory activity. Among the herbs tested, the stem of *Mangifera foetida* Lour. from the Anacardiaceae family showed the highest AChE inhibitory activity at  $94.95\% \pm 1.97$ , followed by the wood of *Casuarina equisetifolia* J.R. & C. Forst. from the Casuarinaceae family with an inhibition rate of  $82.17\% \pm 1.05$ . On the other hand, the petiole of *Colocasia gigantea* Hook. F., from the Araceae family, showed the lowest inhibition at  $2.55\% \pm 2.81$ . In the antioxidant activity test using the DPPH method, the  $EC_{50}$  values ranged from 0.91 to 104.55  $\mu\text{g/ml}$ . The herb with the highest antioxidant activity was the leaf of *Litsea elliptica* Boerl. from the Lauraceae family, with an  $EC_{50}$  of 0.91  $\mu\text{g/ml}$ . In contrast, the wood of *Strychnos nux-vomica* L., from the Loganiaceae family, exhibited the lowest antioxidant activity, with an  $EC_{50}$  of 104.55  $\mu\text{g/ml}$ . Ascorbic acid and Quercetin were used as reference standards. Therefore, to develop herbal products aimed at reducing the risk of Alzheimer's disease, the stem of *Mangifera foetida* Lour. and the leaf of *Litsea elliptica* Boerl. should be key components in extracting effective AChE inhibitory and antioxidant compounds.

**Keywords:** Acetylcholinesterase inhibitory activity, Antioxidant activity,  
Local Southern herbal plants, Alzheimer's disease.



## กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีด้วยความกรุณาของท่านผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน โดยสละเวลาให้ความร่วมมือช่วยเหลือแนะนำ ตลอดจนให้ข้อมูลที่มีคุณค่าและเป็นประโยชน์ต่อการวิจัย เช่น แหล่งปลูกของพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ เป็นต้น

ขอขอบคุณ งบประมาณกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 ประเภททุนพัฒนานักวิจัยระดับกลาง ที่ได้สนับสนุนทุนในการทำงานวิจัยนี้ ทำให้งานวิจัยสามารถขับเคลื่อนดำเนินการจนบรรลุเป้าหมายที่วางไว้ได้เป็นอย่างดี

ท้ายที่สุด ขอขอบคุณทุกหน่วยงานและผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องให้รายงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี หากมีสิ่งผิดพลาดประการใดในการจัดทำรายงานฉบับนี้ ขอกราบอภัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

คณะผู้วิจัย

2567



## สารบัญ

|                                                               | หน้า      |
|---------------------------------------------------------------|-----------|
| บทคัดย่อภาษาไทย                                               | ก         |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ                                            | ข         |
| กิตติกรรมประกาศ                                               | ง         |
| สารบัญ                                                        | จ         |
| สารบัญตาราง                                                   | ช         |
| สารบัญภาพ                                                     | ซ         |
| <br>                                                          |           |
| <b>บทที่ 1    บทนำ</b>                                        | <b>1</b>  |
| ความเป็นมาและความสำคัญ                                        | 1         |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย                                       | 2         |
| ขอบเขตการวิจัย                                                | 2         |
| คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย                                   | 3         |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ                                     | 3         |
| <br>                                                          |           |
| <b>บทที่ 2    แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b> | <b>4</b>  |
| แนวคิดและทฤษฎี                                                | 4         |
| เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง                                | 6         |
| <br>                                                          |           |
| <b>บทที่ 3    วิธีดำเนินการวิจัย</b>                          | <b>7</b>  |
| เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง                          | 7         |
| วิธีการทดลอง                                                  | 8         |
| การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE                                 | 11        |
| การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ผ่านเครื่อง Microplate reader   | 11        |
| การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH                     | 12        |
| <br>                                                          |           |
| <b>บทที่ 4    ผลการวิจัย</b>                                  | <b>14</b> |
| ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและ            |           |
| ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ                                          | 14        |
| การแบ่งกลุ่มของพืชสมุนไพรตามระดับการออกฤทธิ์ต้าน AChE         | 18        |
| การแบ่งกลุ่มของพืชสมุนไพรตามระดับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ   | 20        |

|                                                  |        |
|--------------------------------------------------|--------|
|                                                  | หน้า   |
| บทที่ 5   สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ | 23     |
| สรุปผลการวิจัย                                   | 23     |
| อภิปรายผล                                        | 25     |
| ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้                 | 27     |
| ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป                 | 27     |
| <br>บรรณานุกรม                                   | <br>29 |
| บรรณานุกรมภาษาไทย                                | 29     |
| บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ                         | 31     |
| <br>ภาคผนวก                                      | <br>34 |
| ภาคผนวก ก การเผยแพร่ผลงานวิจัย                   | 35     |
| <br>ประวัติผู้วิจัย                              | <br>44 |



## สารบัญตาราง

หน้า

|         |                                                                                                                                                                                                        |    |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ตาราง 1 | รายละเอียดของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 46 ชนิด<br>ที่คัดเลือกมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ต้าน<br>อนุมูลอิสระ                                              | 8  |
| ตาราง 2 | ลำดับการเติมสารเคมีลงใน 96-well plate เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์<br>อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส                                                                                                              | 12 |
| ตาราง 3 | ผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน (% AChE inhibition) และผลการทดสอบฤทธิ์ต้าน<br>อนุมูลอิสระ (EC50) จากส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้<br>ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิด จาก 37 วงศ์                              | 14 |
| ตาราง 4 | จำนวนและร้อยละของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน<br>66 ตัวอย่างจากส่วนต่าง ๆ ของพืช 45 ชนิด เมื่อจำแนกกลุ่มตามระดับการ<br>ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ | 22 |

## สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ 1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากผงสมุนไพรด้วยวิธีการของ Ingkaninan และคณะ  
(2003)

10



## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญ

เนื่องด้วยประเทศไทยเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุโดยสมบูรณ์ (Aged society) ตั้งแต่ปี 2564 และคาดการณ์ว่าในปี 2574 จะเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุระดับสุดยอด (Super-aged society) โดยจะมีประชากรที่มีอายุสูงกว่า 65 ปีขึ้นไปประมาณ 25% ของจำนวนประชากรทั้งหมดในปี พ.ศ. 2583 ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีโอกาสเป็นโรคสมองเสื่อม (Dementia) ประมาณร้อยละ 10 ส่วนคนที่มีอายุตั้งแต่ 80 ปีขึ้นไป จะมีโอกาสเป็นโรคสมองเสื่อมเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 20 และยังมีอายุมากขึ้น 90 ปีขึ้นไปก็ยังมีโอกาสพบอัตราการเกิดโรคสูงขึ้นถึงร้อยละ 30-50 (กลุ่มเสริมสร้างและพัฒนาศักยภาพเครือข่าย กองส่งเสริมศักยภาพผู้สูงอายุ, 2564)

โรคสมองเสื่อมที่พบได้บ่อยที่สุดในกลุ่มผู้สูงอายุคือ โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease; AD) จัดเป็นหนึ่งในเจ็ดอันดับแรกของโรคที่พบบ่อยในผู้สูงอายุของประเทศไทย โดยประมาณทุก ๆ 68 วินาทีจะมีผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์เพิ่มขึ้น 1 คนบนโลก (สำนักสารนิเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข, 2562) เกิดจากความผิดปกติของเซลล์ประสาทในระบบประสาทส่วนกลางถูกทำลายจากการเกิด Oxidative stress การเกิด Lipid peroxidation ในสมอง การอักเสบของระบบประสาท ภาวะขาดวิตามินบี 12 และโฟเลต (Folate) การสะสมของ Hyper-phosphorylated tau protein การสะสมของเบต้า-อะไมลอยด์ ( $\beta$ -amyloid) ใน Amygdala, Hippocampus และ Neocortex ของสมอง จึงส่งผลให้ความเข้มข้นของเหล็กและทองแดงในเนื้อเยื่อสมองลดลง (Ho et al., 2001) นอกจากนี้ สาเหตุสำคัญอีกประการหนึ่งคือ การลดลงของสารสื่อประสาทอะซิติลโคลีน (Acetylcholine, ACh) ซึ่งส่งผลโดยตรงกับความทรงจำที่ถูกหลังจากปลายประสาทในสมอง ทำให้ผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์มีการจดจำที่ด้อยลงจนถึงอาการความจำเสื่อม มีอาการหลงลืมโดยเฉพาะเรื่องที่เกิดขึ้นใหม่ ๆ ในชีวิตประจำวัน มีปัญหาเรื่องการพูดและการใช้ภาษา สติปัญญาความเฉลียวฉลาดลดลง ทักษะต่าง ๆ จะเริ่มหายไป อารมณ์หงุดหงิด ไม่สามารถควบคุมอารมณ์ตัวเองได้ อาการของโรคจะรุนแรงมากขึ้นเรื่อยๆ ตามอายุและสาเหตุของโรค โดยในระยะท้ายของโรคจะสูญเสียความจำทั้งหมด โดยเฉลี่ยจะมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 8-10 ปี ขึ้นอยู่กับระยะเมื่อได้รับการวินิจฉัยและภาวะสุขภาพทางกายโดยรวมของผู้ป่วยนั้น ๆ ด้วย ซึ่งเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อครอบครัว คนรอบข้าง และผู้ดูแล (โรงพยาบาลบำรุงราษฎร์, 2564)

วิธีการรักษาโรคอัลไซเมอร์สามารถทำได้ทั้งโดยวิธีไม่ใช้ยาและใช้ยา ในการรักษาโดยวิธีไม่ใช้ยาสามารถทำได้โดยการดูแลสุขภาพตนเองอย่างง่าย ๆ เพื่อช่วยประคองการเสื่อมของสมองได้ เช่น การออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ การพักผ่อนให้เพียงพอ การร่วมทำกิจกรรมกับผู้อื่นเพื่อช่วยให้ผู้ป่วยมีความสุขและตื่นน้ำให้เพียงพอ เพราะน้ำคือสิ่งสำคัญที่ทำให้เลือดไม่ข้นเกินไป จนเป็นเหตุให้เลือดไหลเวียนได้ไม่ดี ซึ่งจะส่งผลให้เลือดไปหล่อเลี้ยงสมองได้ไม่เต็มที่ ส่วนวิธีการรักษาโดยใช้ยา เป็นการควบคุมอาการเสื่อมของสมอง ซึ่งไม่ช่วยให้ความจำดีขึ้นมากนัก เป็นเพียงยาที่ชะลอการดำเนินโรคหรือรักษาตามอาการ โดยยาจะออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ที่คอยทำลายสารสื่อประสาท แต่หากผู้ป่วยมีอาการทางจิตเวช ก็อาจจะต้องใช้ยารักษาโรคจิตเวชร่วมกับยารักษาโรคอัลไซเมอร์ด้วย ปัจจุบันโรคอัลไซเมอร์จึงเป็นโรคที่ยังไม่มียารักษาให้หายขาดได้ ยาที่ได้รับการยอมรับโดยทั่วไปและเป็นกลุ่มยาหลักที่ใช้รักษา ได้แก่ ยากลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholine-esterase inhibitors; AChEIs) ซึ่ง

มีอยู่เพียง 4 ชนิดที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ได้แก่ Tacrine, Donepezil, Rivastigmine และ Galantamine โดยจะช่วยเพิ่มระดับของสารสื่อประสาทอะซิติลโคลีน เอสเตอเรส (AChE) ให้มากขึ้น และมียาที่ออกฤทธิ์ด้านการทำงานของตัวรับ NMDA (N-methyl-D-aspartate receptor antagonist) ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ Memantine (Lau and Broadney, 2007; Kumar et al., 2015) นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระในการชะลออาการของผู้ป่วยจากการเกิดภาวะ Oxidative stress ด้วย แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการใช้ยาดังกล่าวส่งผลให้เกิดผลข้างเคียงจากยาได้ เช่น อาการคลื่นไส้ อาเจียน อ่อนเพลีย หน้ามืด ปวดศีรษะ และอ่อนแรง เป็นต้น จึงทำให้ผู้ป่วยเลิกใช้ยาเอง ส่งผลให้การรักษาอาจไม่ได้ผล อีกทั้งยายังมีราคาที่สูงมากด้วย (บริษัท ดอกเตอร์ รักษา จำกัด, 2564)

จากปัญหาเรื่องชนิดของยาที่ใช้รักษาโรคอัลไซเมอร์ซึ่งยังมีจำนวนน้อย ราคาแพง และมีผลข้างเคียงสูง ตลอดจนการเลือกรับประทานอาหารที่ช่วยบำรุงสมองและอาหารต้านอนุมูลอิสระซึ่งพบได้ใน ผัก ผลไม้ และสมุนไพรหลายชนิด นับว่าเป็นแนวทางในการลดความเสี่ยงของการป่วยเป็นโรคสมองเสื่อมอัลไซเมอร์วิธีหนึ่งที่สำคัญ (นันทิกา, 2557) การวิจัยเพื่อหาสารสำคัญในพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจ เพราะเป็นแนวทางหนึ่งในการนำองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยมาใช้ในการลดความเสี่ยงของการป่วยเป็นโรคสมองเสื่อม ตลอดจนสามารถพัฒนาต่อยอดเพื่อนำความรู้ไปใช้ในการชะลอหรือรักษาอาการของโรคอัลไซเมอร์ได้ จึงได้มีการศึกษาหาปริมาณของสารสำคัญจากพืชสมุนไพรในธรรมชาติ เพื่อที่จะนำมาใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคสมองเสื่อมอัลไซเมอร์ สำหรับพืชสมุนไพรในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยนั้น พบว่ามีหลายชนิดที่น่าสนใจเนื่องจากลักษณะภูมิประเทศมีความหลากหลายทางชีวภาพ และมีภูมิปัญญาการใช้สมุนไพรในพื้นที่ภาคใต้มาช้านานแล้ว โดยพืชหลายชนิดถูกนำมาใช้บริโภคเป็นอาหารและใช้เป็นยารักษาโรคโดยหมอพื้นบ้าน มีรายงานการศึกษาพบว่าพืชผักพื้นบ้านในพื้นที่ภาคใต้หลายชนิด เช่น จิกนา เนียง มะเดื่อกรวด มะเดื่อขื่นน้อย เพกา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี (วิชุดาและคณะ, 2556) ในขณะที่พืชสมุนไพรอีกหลายชนิดยังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นจากปัญหาของโรคอัลไซเมอร์และยาที่ใช้ในการรักษาโรคดังกล่าวข้างต้น ทางคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาพืชสมุนไพรที่มีอยู่ในท้องถิ่นภาคใต้ของประเทศไทย โดยนำพืชสมุนไพรมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้จากการวิจัยมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้นแบบ ในรูปแบบของอาหารเสริม เช่น ชาสมุนไพร เพื่อลดความเสี่ยงของการเป็นโรคอัลไซเมอร์ เป็นต้น ซึ่งอาจช่วยชะลอและป้องกันมิให้มีจำนวนของผู้ป่วยภาวะสมองเสื่อม โดยเฉพาะผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ในประเทศไทยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้อาจมีการนำองค์ความรู้ไปพัฒนาเป็นยาที่ใช้รักษาโรคอัลไซเมอร์ต่อไปในอนาคต

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ของไทย
- เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ของไทย

## ขอบเขตการวิจัย

เตรียมสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้อย่างน้อย 30 ชนิด ด้วยวิธีหมักยู่ จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ด้วยวิธี Ellman's colorimetric และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เพื่อหาพืชสมุนไพรตัวอย่างที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE หรือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แล้วนำมาเขียนรายงานและตีพิมพ์บทความวิจัยในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติ

## คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

- สารสกัดจากพืชสมุนไพร เป็นสารประกอบที่บ่งบอกความเฉพาะตัวของสมุนไพร เป็นสารออกฤทธิ์หรือสารสำคัญที่ก่อให้เกิดฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
- พืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ของไทย เป็นยาที่มาจากพืชที่พบในพื้นที่จังหวัดภาคใต้ คือ ชุมพร ระนอง พังงา กระบี่ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง พัทลุง สงขลา สตูล ยะลา ปัตตานี รือเสาะ และนราธิวาส

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- ทราบข้อมูลพื้นฐานของสารสำคัญในพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ในประเทศไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสามารถนำความรู้ดังกล่าวไปประยุกต์ใช้เพื่อต่อยอดงานวิจัยอื่น ๆ เช่น ผลิตเป็นยารักษาโรคอัลไซเมอร์ เป็นลำต้น
- คาดว่าสถิติจำนวนของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ไม่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และ/หรือคงที่ และ/หรือลดลง
- สามารถต่อยอดงานวิจัยเพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์สมุนไพรลำต้นแบบที่เป็นอาหารเสริมเพื่อลดภาวะเสี่ยงของการเป็นโรคอัลไซเมอร์ หรือโรคอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับภาวะสมองเสื่อม

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### แนวคิดและทฤษฎี

จากพระราชบัญญัติผลิตภัณฑ์สมุนไพร พ.ศ. 2562 มาตรา 4 (บางวรรค) ระบุความหมายของ “สมุนไพร” หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากพืช สัตว์ จุลชีพ หรือแร่ ที่ใช้ ผสม ประ หรือแปรรูป เป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร และ “ผลิตภัณฑ์สมุนไพร” หมายความว่า (1) ยาจากสมุนไพร และให้หมายความรวมถึงยาแผนไทย ยาพัฒนาจากสมุนไพร ยาแผนโบราณที่ใช้กับมนุษย์ตามกฎหมายว่าด้วยยา หรือยาตามองค์ความรู้การแพทย์ทางเลือกตามที่ รัฐมนตรีโดยคำแนะนำของคณะกรรมการประกาศกำหนด เพื่อการบำบัด รักษา และบรรเทาความเจ็บป่วยของมนุษย์ หรือการป้องกันโรค (2) ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบสำคัญที่เป็นหรือแปรรูปจากสมุนไพร ซึ่งพร้อมที่จะนำไปใช้แก่มนุษย์เพื่อให้เกิดผลต่อสุขภาพหรือการทำงานของร่างกายให้ดีขึ้น เสริมสร้างโครงสร้างหรือการทำงานของร่างกาย หรือลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรค (3) วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์สมุนไพร (4) วัตถุอื่นตามที่รัฐมนตรีโดยคำแนะนำของคณะกรรมการประกาศกำหนดให้เป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร ความตาม (1) (2) หรือ (3) ไม่หมายความรวมถึง (ก) วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้ในการเกษตร การอุตสาหกรรม หรือการอื่นตามที่รัฐมนตรีโดยคำแนะนำของคณะกรรมการประกาศกำหนด (ข) วัตถุที่จัดเป็นยาแผนปัจจุบัน ยาแผนโบราณสำหรับสัตว์ อาหารสำหรับมนุษย์หรือสัตว์ เครื่องกีฬา เครื่องมือเครื่องใช้ในการส่งเสริมสุขภาพ เครื่องสำอาง เครื่องมือแพทย์ วัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท ยาเสพติดให้โทษ วัตถุอันตราย “ยาแผนไทย” หมายความว่า ยาที่ได้จากสมุนไพรโดยตรง หรือที่ได้จากการผสม ประ หรือแปรรูปสมุนไพร ที่มุ่งหมายสำหรับใช้ตามศาสตร์องค์ความรู้การแพทย์แผนไทยหรือยาที่รัฐมนตรีประกาศกำหนดให้เป็นยาแผนไทย “ยาพัฒนาจากสมุนไพร” หมายความว่า ยาที่ได้จากสมุนไพรโดยตรง หรือที่ได้จากการผสม ประ หรือแปรรูปสมุนไพร ที่ไม่ใช่ยาแผนไทยและยาตามองค์ความรู้การแพทย์ทางเลือก “สารสำคัญ” หมายความว่า วัตถุดิบเป็นส่วนประกอบสำคัญของผลิตภัณฑ์สมุนไพรหรือสารในผลิตภัณฑ์สมุนไพร ที่ใช้เพื่อบำบัด รักษา และบรรเทาความเจ็บป่วยของมนุษย์ หรือการป้องกันโรค ส่งเสริมสุขภาพ บำรุงร่างกาย หรือลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรค “ความแรงของสารสำคัญ” หมายความว่า (1) ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีปริมาณของสารสำคัญระบุเป็นน้ำหนักต่อน้ำหนัก น้ำหนักต่อปริมาตร หรือปริมาณของสารสำคัญต่อหนึ่งหน่วยการใช้ (2) การแสดงผลหรือสรรพคุณของผลิตภัณฑ์สมุนไพรตามที่ได้มีการทดสอบในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการที่ได้มาตรฐานหรือผ่านการใช้อย่างได้ผลเพียงพอแล้ว “ตำรับ” หมายความว่า สูตรซึ่งระบุส่วนประกอบสิ่งปรุงที่มีสมุนไพรรวมอยู่ด้วย ไม่ว่าสิ่งปรุงนั้นจะมีรูปลักษณะใด และให้หมายความรวมถึงผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีลักษณะเป็นวัตถุสำเร็จรูปทางเภสัชกรรมซึ่งพร้อมที่จะนำไปใช้แก่มนุษย์ “ผลิต” หมายความว่า ทำ ผสม ประ หรือแปรรูป และให้หมายความรวมถึงเปลี่ยนรูป แบ่ง และการแบ่งบรรจุจากภาชนะหรือหีบห่อเดิมเพื่อขาย (กองผลิตภัณฑ์สมุนไพร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2562)

โดยสรุปพืชสมุนไพร หมายถึง พืชทุกชนิดที่ใช้ทำเครื่องยา เพื่อเป็นยาบำรุงและยารักษาโรค แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารบริโภคในชีวิตประจำวัน อาหารเสริมบำรุงสุขภาพ หรือผลิตเป็นเครื่องสำอาง โดยอาจใช้พืชสมุนไพรเพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดผสมกันตามความเหมาะสม และตรงกับความต้องการของการนำไปใช้ประโยชน์ เนื่องจากพืชสมุนไพรมีคุณค่าทางโภชนาการ ช่วยบำรุงร่างกาย บรรเทาอาการและ

รักษาโรคได้ คนไทยจึงนิยมปลูกพืชสมุนไพรไทยหลายชนิดประจำบ้าน เพราะพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสรรพคุณทางยาที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสมุนไพร สมุนไพรแต่ละชนิดมีสารสำคัญที่ก่อให้เกิดฤทธิ์ต่างกัน เป็นสารประกอบที่บ่งบอกความเฉพาะตัวของสมุนไพร ดังนั้นการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรจึงเป็นวิธีการนำสารที่มีสรรพคุณทางยาไปใช้ประโยชน์ (ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม, ม.ป.ป.)

ส่วนผลิตภัณฑ์สมุนไพร เป็นการนำส่วนของพืชสมุนไพรมาผสม ประุง หรือ แปรรูปอย่างอื่น ๆ เช่น บด ละเอียด โดยการเปลี่ยนแปลงสถานะของสมุนไพรให้แตกต่างไปจากเดิม เพื่อประโยชน์ในการใช้งานที่หลากหลายรูปแบบมากขึ้น ทั้งนี้สมุนไพรหลายชนิดและมีสรรพคุณทางยาที่แตกต่างกันทั้งทางรูป รสชาติ กลิ่น สี ซึ่งนับว่าเป็นปัจจัยสำคัญเพื่อให้การแปรรูปผลิตภัณฑ์สมุนไพรมีคุณภาพดี ตลอดจนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพใกล้เคียงผลิตภัณฑ์เดิมมากที่สุด เนื่องจากผลิตภัณฑ์บางประเภทไม่สามารถคงสภาพอยู่ได้นาน การแปรรูปจึงเป็นการคงไว้ซึ่งคุณค่าและสรรพคุณที่ดีของพืชสมุนไพร เช่น ผงขมิ้นผงของน้ำมะตูม ชาใบหม่อน ขมิ้นชันชนิดแคปซูล เป็นต้นพืชสมุนไพรจึงเป็นกลุ่มพืชที่น่าสนใจ มีผู้ศึกษาทางด้านพฤกษศาสตร์พื้นบ้านมากที่สุด ส่งผลให้ยารักษาโรคปัจจุบันหลายขนานที่ผลิตเป็นอุตสาหกรรมได้มาจากการศึกษาวิจัยการใช้พืชสมุนไพรพื้นบ้านของกลุ่มชนพื้นเมืองที่ได้รับการถ่ายทอดมาจากบรรพบุรุษ เกิดเป็นภูมิปัญญาชาวบ้านที่ได้จากการสังเกตว่าพืชใดนำมาใช้บำบัดโรคได้ มีสรรพคุณอย่างไร จากการเรียนรู้ด้วยประสบการณ์ และการทดลองแบบพื้นบ้าน หากนำพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ของไทยมาตรวจสอบเพื่อหาปริมาณของสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอัลไซเมอร์ ก็จะสามารถนำข้อมูลมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรลำดับแบบในรูปแบบของอาหารเสริม เพื่อลดความเสี่ยงของการเป็นโรคอัลไซเมอร์ได้ ตลอดจนสามารถพัฒนาเป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ต่อไปในอนาคตได้

อะซิติลโคลีน เป็นสารสื่อประสาทตัวแรกที่ถูกค้นพบ ซึ่งถูกหลังจากปลายประสาท โดยมีโคลีน (Choline) จากตับ เป็นสารตั้งลำดับต้นในการสังเคราะห์ ปลายประสาทที่สร้างอะซิติลโคลีนจะดูดซึมโคลีนเข้าสู่ไซโทพลาสซึม (Cytoplasm) โดยระบบตัวพาที่ใช้พลังงาน เพื่อรวมกับกลุ่มอะซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl CoA) โดยใช้เอนไซม์โคลีนอะซิติลทรานสเฟอเรส (Choline acetyltransferase) ได้อะซิติลโคลีนสะสมไว้ในกระเปาะเวสิเคิล (Vesicle) ที่ปลายแอกซอน เมื่อกระแสประสาทวิ่งมาถึงปลายประสาทจะเปิดช่องให้แคลเซียมไอออน ( $Ca^{++}$ ) เข้าไปในปลายประสาท เพื่อช่วยดึงกระเปาะเวสิเคิล ให้สัมผัสเยื่อหุ้มเซลล์ แล้วหลังอะซิติลโคลีนหลายพันโมเลกุลผ่านช่องว่างไซแนปส์ (Synapse) ไปกระทำต่อรีเซปเตอร์ (Receptor) ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ถัดไป (เซลล์หลังไซแนปส์) ทั้งนี้ อะซิติลโคลีนมีคุณสมบัติเป็นทั้งแบบกระตุ้นและแบบยับยั้ง ขึ้นอยู่กับชนิดของรีเซปเตอร์ที่กระทำต่ออะซิติลโคลีนนั้น ซึ่งเมื่อทำงานเสร็จ จะถูกทำลายอย่างรวดเร็วโดย AChE ที่อยู่ตามผิวเยื่อหุ้มเซลล์ให้กลายเป็นโคลีน และกรดอะซิติก (Acetic acid) นอกจากนี้ โคลีนส่วนหนึ่งจะถูกดูดกลับเข้าปลายประสาทเพื่อใช้สังเคราะห์อะซิติลโคลีนใหม่ อะซิติลโคลีนทำหน้าที่เกี่ยวกับการรับรู้ความรู้สึกเจ็บปวด ร้อนหนาว การรับรสชาติเกี่ยวข้องกับศูนย์คลื่นไส้อาเจียน สรีรวิทยาของการตื่น การนอน การฝัน และอาการซึมเศร้า

จากจำนวนผู้ป่วยภาวะสมองเสื่อมด้วยโรคอัลไซเมอร์ในประเทศไทยซึ่งเพิ่มขึ้นทุกปี แนวทางในการลดความเสี่ยงและป้องกันโรคอัลไซเมอร์จากการเลือกรับประทานอาหารที่ช่วยบำรุงสมอง เช่น อาหาร MIND ซึ่งเป็นคำย่อของ "Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay" และอาหารต้านอนุมูลอิสระซึ่งพบได้ในผักผลไม้ และสมุนไพรหลายชนิด จึงนับว่าเป็นวิธีการป้องกันโรคที่สำคัญวิธีหนึ่ง ทำให้เกิดงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาสารสำคัญจากพืชสมุนไพรธรรมชาติที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจำนวนมาก เพื่อนำมาใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ ตัวอย่างของงานวิจัยในต่างประเทศที่ได้มีการค้นพบสารสำคัญจากพืชที่มีคุณสมบัติในการรักษา

โรคอัลไซเมอร์ได้ เช่น Huperzine A ที่แยกได้จากมอส *Huperzia serrata* (Lui et al., 1986) EGb 761 จากใบแปะกวย (Massieu et al., 2004) สารต้านออกซิเดชัน Resveratrol จากเปลือกของผลองุ่นดำ (Soleas et al., 1997) (-)-Galanthamine จากดอกของพืช *Galanthus nivalis* และยังพบได้ในพืชวงศ์ Amaryllidaceae ซึ่งมีฤทธิ์เป็น competitive AChE inhibitor (Greenblatt et al., 1999)

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับงานวิจัยในประเทศไทยที่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดจากผักพื้นบ้านในจังหวัดพัทลุงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ดังนี้คือ ใบจิกนา (*Barringtonia acutangula* Gaertn) เปลือกเนียง (*Archidendron jiringa* Nielsen) ใบเนียงรอก ผลมะเดื่อกรวด (*Ficus semicordata* J.E.Smith) ผลมะเดื่อขี้หนู (*Ficus* sp.) และผักเพกา (*Oroxylum indicum* (L.) Kurz) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยเพกาแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยกำจัดสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 92.25 ในขณะที่ผลมะเดื่อขี้หนูแห้งมีกิจกรรมยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสูงสุด เหมาะที่จะนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเสริมป้องกันโรคเบาหวานได้ (วิชุดาและคณะ, 2556) ส่วนงานวิจัยของ ปศุณฯ และอังคณา (2551) พบสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ในไม้หอมอินเดีย (*Santalum album* Linn.) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยหลายชิ้นที่พบสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ในพืชหลายชนิด ดังนี้คือ ขี้พลู (*Piper sarmentosum* Roxb.ex Hunter) อยู่ในวงศ์ Piperaceae (ระวีวรรณ และคณะ, 2557) เหง้าของว่านนางคำ ซึ่งเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae (วรพจน์ และคณะ, 2559) ใบกฤษณา ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Thymelaeaceae (ปาจริย์ และอัญชิรา, 2560) แค (อนันต์ และคณะ, 2562) ส่วนเหนือดินของพืชบอนเต่า (*Hapaline benthamiana* Schott) (จันทรา, 2563) และใบตองแตก (*Baliospermum solanifolium* (Burm.) Suresh) จากงานวิจัยของคงเดชและคณะ (2563) แต่จากงานวิจัยของธนากรณ์ (2562) ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ในทุกส่วนสกัดของขี้เหล็ก *Cassia siamea* (Lam.)

ในส่วนของพืชทางภาคใต้ คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยศึกษาสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี 2558 โดยเริ่มศึกษาในพืชตระกูลขิงโค (สุพัตร์ และคณะ, 2558) พืชสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสในมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา (สุพัตร์ และคณะ, 2559) ผักในครัวเรือน (Langyanai et al., 2017) สมุนไพรไทยบางชนิดในวงศ์ Asteraceae และ Cucurbitaceae (สุพัตร์ และคณะ, 2560) และในยาหอมนวโกฐและพืชสมุนไพรในตำรับยาหอมนวโกฐ จำนวน 54 ชนิด (สุพัตร์ และคณะ, 2561) พบว่าโกฐพุงปลา มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเอนไซม์ AChE ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ มะขามป้อม สมุลแว้ง หนุ่ยแห้วหมู กานพลู สมอพิเภก กระลำพัก ดอกบุนนาค และเทียนตากบ อย่างไรก็ตาม ยังมีพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้อีกหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ คณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ที่ยังไม่ได้ทำการศึกษา จึงต้องการเก็บรวบรวมพืชสมุนไพรดังกล่าวมาศึกษาวิจัย เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหารเสริมและยารักษาโรคอัลไซเมอร์ในอนาคต

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง
  - Micropipettes ขนาด 20, 200, 1000  $\mu$ L
  - Micropipettes Tip ขนาด 20, 200, 1000  $\mu$ L
  - Multi-micro Pipettes 200  $\mu$ L
  - Plates for reagent
  - 96-well plate
  - เครื่อง Vortex Mixer
  - เครื่อง Microplate reader
  - เครื่องปั่น (Blender)
  - เครื่อง Sonicator
  - เครื่อง Evaporator
  - ตู้อบสมุนไพร
  - เครื่องบดสมุนไพร
  - เครื่องชั่งไฟฟ้า 5 ตำแหน่ง
- อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง
  - ขวดโหลสำหรับหมักตัวอย่างพืชสมุนไพร
  - กระดาษกรอง
  - ปีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100, 250, 500, 1000 mL
  - กระดาษฟอยล์อลูมิเนียม หรือ แผ่นอลูมิเนียม (Aluminum foil)
  - พาราฟิล์ม (Parafilm)
  - Eppendorf
  - มีด
  - เขียง
  - ขวดปริมาตร หรือ ฟลasks (Flask) ขนาด 50, 250, 500, 1000 mL
  - วัสดุสำนักงาน เช่น กรรไกร ไม้บรรทัด ปากกาเขียนฉลาก เป็นต้น

## วิธีการทดลอง

- คัดเลือกและเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทย 45 ชนิด มาทำการตรวจสอบเอกลักษณ์ ลักษณะ และวินิจฉัยชื่อพืช (Plant Identification) บางชนิดใช้ทั้งลำต้น บางชนิดใช้ใบ บางชนิดแยกสกัดเป็นส่วนลำต้น ใบ ดอก และราก เป็นต้นเมื่อนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ สามารถแยกได้เป็น 66 ตัวอย่าง ดังแสดงในตาราง 1

**ตาราง 1** รายละเอียดของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิดที่คัดเลือกมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

| ชื่อท้องถิ่น<br>Local name | ชื่อวิทยาศาสตร์<br>Scientific name                  | วงศ์<br>Family   | ส่วนที่ใช้<br>Part use |
|----------------------------|-----------------------------------------------------|------------------|------------------------|
| 1 ผักโขมหนาม               | <i>Amaranthus spinosus</i> L.                       | Amaranthaceae    | ลำต้น/ ใบ<br>ดอก/ราก   |
| 2 มะมุด                    | <i>Mangifera foetida</i> Lour.                      | Anacardiaceae    | ลำต้น/ ใบ              |
| 3 มะม่วงหิมพานต์           | <i>Anacardium occidentale</i> L.                    |                  | ลำต้น                  |
| 4 มะปริง                   | <i>Bouea microphylla</i> Merr.                      |                  |                        |
| 5 อ้อดิบ (คุน)             | <i>Colocasia gigante</i> Hook. f.                   | Araceae          | ก้านใบ                 |
| 6 เล็บครุฑกระจก            | <i>Polyscias fruticosa</i> (L.) Harms               | Araliaceae       | ใบ                     |
| 7 จิก                      | <i>Barringtonia acutangula</i><br>Gaertn.           | Barringtoniaceae | ลำต้น/ ใบ              |
| 8 เพกา                     | <i>Oroxylum indicum</i> (L.) Kurz                   | Bignoniaceae     | ลำต้น/ กิ่ง            |
| 9 สนทะเล                   | <i>Casuarina equisetifolia</i> J. R. &<br>C. Forst. | Casuarinaceae    | เนื้อไม้               |
| 10 ผักเสี้ยนป่า            | <i>Cleome chelidonii</i> L.f.                       | Cleomaceae       | ลำต้น                  |
| 11 หูกวาง                  | <i>Terminalia catappa</i> L.                        | Combretaceae     | ลำต้น                  |
| 12 ชมจันทร์                | <i>Ipomoea alba</i> L.                              | Convolvulaceae   | ดอก                    |
| 13 ส้านแดง                 | <i>Dillenia hookeri</i> pierre                      | Dilleniaceae     | ลำต้น                  |
| 14 ไม้เท้ายายม่อม          | <i>Clerodendrum petasites</i><br>S.Moore            | Labiatae         | ราก/ ใบ                |
| 15 ทำม้ง                   | <i>Litsea elliptica</i> Boerl.                      | Lauraceae        | ลำต้น/ ใบ              |
| 16 กระโดนบก                | <i>Careya arborea</i> Roxb.                         | Lecythidaceae    | ดอก                    |
| 17 แสลงใจ                  | <i>Strychnos nux-vomica</i> L.                      | Loganiaceae      | เนื้อไม้               |

ตาราง 1 รายละเอียดของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิดที่คัดเลือกมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ต่อ)

| ชื่อท้องถิ่น<br>Local name      | ชื่อวิทยาศาสตร์<br>Scientific name                 | วงศ์<br>Family                  | ส่วนที่ใช้<br>Part use |
|---------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------|
| 18 โครกเครือ                    | <i>Melastoma malabathricum</i> L.                  | <u>Melastomataceae</u>          | ลำต้น                  |
| 19 เนียง                        | <i>Archidendron pauciflorum</i>                    | Mimosaceae                      | ลำต้น/ ใบ              |
| 20 ฦิง - มะเดื่อ                | <i>Ficus botryocarpa</i> Miq.                      | Moraceae                        | ลำต้น                  |
| 21 จำปาตะ                       | <i>Artocarpus integer</i>                          |                                 |                        |
| 22 มะรุม                        | <i>Moringa oleifera</i> Lam.                       | Moringaceae                     | ลำต้น/ ฝัก             |
| 23 ตะขบนก                       | <i>Muntingia calabura</i> L.                       | Muntingiaceae                   | ลำต้น                  |
| 24 บัวหลวง                      | <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.                    | Nelumbonaceae                   | ก้านดอก                |
| 25 พระขรรค์ไชยศรี<br>(ฝนแสนห่า) | <i>Myxopyrum smilacifolium</i><br>Blume.           | Oleaceae                        | ลำต้น/ ใบ              |
| 26 ปรีศนา                       | <i>Chionanthus ramiflorus</i> Roxb.                |                                 | ใบ                     |
| 27 หมากหมก                      | <i>Lepionurus sylvestris</i> BL.                   | Opiliaceae                      | ใบ                     |
| 28 มะเฟือง                      | <i>Averrhoa carambola</i> L.                       | Oxalidaceae                     | กิ่ง/ ผล               |
| 29 เต้าร้าง                     | <i>Caryota mitis</i> Lour.                         | Palmae                          | ลำต้น                  |
| 30 กะทกรก                       | <i>Passiflora foetida</i> L.                       | Passifloraceae                  | ลำต้น/ ใบ              |
| 31 กรดน้ำ                       | <i>Scoparia dulcis</i> Linn.                       | Plantaginaceae                  | ลำต้น/ ใบ              |
| 32 ตาเปิดตาไก่                  | <i>Ardisia crenata</i> Sims                        | Primulaceae หรือ<br>Myrsinaceae | กิ่ง                   |
| 33 ลำเพ็ง                       | <i>Stenochlaena palustris</i>                      | Pteridaceae                     | ลำต้น                  |
| 34 หญ้าคา                       | <i>Imperata cylindrica</i> (L.)<br>Raeusch         | Poaceae<br>Gramineae            | ราก<br>ใบ/ลำต้น        |
| 35 กาแฟ                         | <i>Coffea arabica</i> L.                           | Rubiaceae                       | ลำต้น                  |
| 36 ดอนย่าแดง                    | <i>Mussaenda erythrophylla</i><br>Schum. et Thonn. |                                 |                        |
| 37 หมุย                         | <i>Clausena cambodiana</i> Guill.                  | Rutaceae                        | ลำต้น                  |
| 38 กำขำ (มะหวด)                 | <i>Lepisanthes rubiginosa</i> Leenh.               | Sapindaceae                     | ลำต้น                  |
| 39 ลำไย                         | <i>Dimocarpus longan</i> Lour.                     |                                 | ลำต้น/ ใบ              |
| 40 ละมุด                        | <i>Manilkara zapota</i> (L.) P.Royen               | Sapotaceae                      | ลำต้น/ ใบ              |

ตาราง 1 รายละเอียดของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิดที่คัดเลือกมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ต่อ)

| ชื่อท้องถิ่น<br>Local name | ชื่อวิทยาศาสตร์<br>Scientific name                    | วงศ์<br>Family | ส่วนที่ใช้<br>Part use |
|----------------------------|-------------------------------------------------------|----------------|------------------------|
| 41 ปลาไหลเผือก             | <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.                      | Simaroubaceae  | ลำต้น                  |
| 42 มะเขือพวง               | <i>Solanum torvum</i> Sw.                             | Solanaceae     | ลำต้น                  |
| 43 เทียนทอง                | <i>Duranta erecta</i> L.                              | Verbenaceae    | ลำต้น/ ใบ              |
| 44 ปุด                     | <i>Etlingera coccinea</i> (Blume)<br>S.Sakai & Nagam. | Zingiberaceae  | ลำต้น                  |
| 45 ขมิ้นขาว                | <i>Curcuma manga</i> Val.& Zijp.                      |                | เหง้า                  |

- นำพืชสมุนไพรดังกล่าวมาเตรียมเพื่อเป็นตัวอย่างสารสกัดหยาบ ด้วยวิธีการของ Ingkaninan และคณะ (2003) ดังนี้

- ล้างพืชตัวอย่างให้สะอาด รวบรวมให้แห้ง แล้วนำไปหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ภาชนะ
- นำพืชตัวอย่างชิ้นเล็กๆ ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 3 วัน
- บดหรือย่อยขนาดของชิ้นส่วนสมุนไพรให้เล็กลงด้วยเครื่องบดจนได้ขนาดที่เล็กพอสมควร
- นำผงสมุนไพรที่บดได้ ไปเตรียมหมักด้วยวิธี Maceration โดยหมักในเมทานอล 95% จำนวน 2 ครั้ง เป็นเวลา 3 วัน และ 7 วัน เพื่อให้เนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่มและตัวทำละลายที่นำมาสกัดสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้ จากนั้นนำไปกรองแล้วระเหยให้แห้งภายใต้สุญญากาศ (Evaporated) ดังภาพ 1



ภาพ 1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากผงสมุนไพรด้วยวิธีการของ Ingkaninan และคณะ (2003)

- การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE (Ingkaninan et al, 2003)

สารเคมีที่ใช้ คือ - Acetylthiocholine iodide (ATCI)

- Acetylcholinesterase (AChE)
- Bovine serum albumin (BSA)
- 5,5-dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB)
- Galanthamine
- 50 mM Tris-HCl pH 8.0 เตรียมเป็นบัฟเฟอร์โดยละลายในน้ำกลั่น
- เอทานอล (Ethanol)

เอนไซม์ AChE ที่ใช้ในการทดลองเป็นเอนไซม์จากปลาไหลไฟฟ้า (type VI-S lyophilized powder, 480 U/mg solid, 530 U/mg protein) เอนไซม์ถูกเตรียมให้เป็น Stock solution 1130 U/mL ในบัฟเฟอร์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ -20 °C เมื่อจะทำการทดลองโดยทำให้เจือจางในบัฟเฟอร์ที่มี 0.1% BSA สารละลาย DTNB เตรียมในบัฟเฟอร์ที่มี 0.1M NaCl และ 0.02M MgCl<sub>2</sub>. ส่วนสาร ATCI ละลายใน deionized water (Ingkaninan et al., 2003)

- การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ผ่านเครื่อง Microplate reader

ในการทดสอบฤทธิ์ต้าน AChE สามารถทำได้โดยใช้ปฏิกิริยาเคมีและอ่านผลด้วยวิธี Ellman's colorimetric ทาง Spectrometry โดย Ellman และคณะได้ค้นพบวิธีตรวจหา Activity ของเอนไซม์ AChE โดยใช้ ACh เป็นสารตั้งต้น สารจะเกิดปฏิกิริยา Hydrolysis เมื่อมีเอนไซม์ และได้ Thiocholine ออกมา สารนี้จะเกิดปฏิกิริยากับ 5,5-dithiobis [2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ได้สารสีเหลืองซึ่งสามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 405 nm

ก่อนจะมีการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ผ่านเครื่อง Microplate reader นั้นต้องมีการเตรียมสารสกัดจากพืชก่อน เพื่อนำไปเติมลงใน 96-well เพื่อทดสอบ โดยเตรียมจาก

- |                                |     |    |
|--------------------------------|-----|----|
| - ชั่งสารสกัดหยดลงใน Eppendorf | 1   | mg |
| - เติมเอทานอล                  | 100 | μL |
| - เติมบัฟเฟอร์                 | 900 | μL |

หลังจากที่เติมสารละลายครบถ้วนแล้ว นำสารสกัดใน Eppendorf ไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer หรือเครื่อง Sonicator เพื่อให้สารสกัดจากพืชสมุนไพรและตัวทำละลายละลายเข้าด้วยกัน จากนั้นนำมาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE โดยทดสอบผ่านเครื่อง Microplate reader ตามวิธี Ellman และคณะ ซึ่งดัดแปลงโดย Ingkaninan และคณะ (2003) โดยเติมสารละลายดังตาราง 2 ลงไปใน 96-well plate ตามลำดับ

เมื่อเติมสารละลายลงใน 96-well plate ครบถ้วนแล้ว จึงนำไปใส่ในเครื่อง Microplate reader เพื่อนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 nm โดยวัดทุก ๆ วินาทีเป็นเวลา 2 นาที โดยใช้เครื่อง CERES UV 900C Microplate reader (Bio-Tek Instrument, USA) จากนั้นคำนวณค่า % Enzyme activity จากการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงต่อเวลา โดยคำนวณจาก Enzyme activity ของตัวอย่างเทียบกับ Blank (ซึ่งใช้บัฟเฟอร์แทนตัวอย่าง) ทุกตัวอย่างทำการทดลอง 3 ครั้ง

ตาราง 2 ลำดับการเติมสารเคมีลงใน 96-well plate เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเอ็นไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรส

| Chemical                   | Blank (μL) | Test sample (μL) | Positive control (μL) | Negative control (μL) |
|----------------------------|------------|------------------|-----------------------|-----------------------|
| 50 mM Tris/HCl buffer pH 8 | 75         | 50               | 50                    | 50                    |
| 15 mM ATCI                 | 25         | 25               | 25                    | 25                    |
| 3 mM DTNB                  | 125        | 125              | 125                   | 125                   |
| 1/5000 AChE                | 25         | 25               | 25                    | 25                    |
| Sample                     |            | 25               |                       |                       |
| Galantamine                |            |                  | 25                    |                       |
| Ethanol                    |            |                  |                       | 25                    |
| Total volume (μL)          | 250        | 250              | 250                   | 250                   |

การคำนวณค่า Percent inhibition คำนวณได้โดยใช้สูตร

$$\frac{\text{Mean velocity of blank} - \text{Mean velocity of sample}}{\text{Mean velocity of blank}} \times 100$$

- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (Yamasaki et al., 1994)

- สารเคมีที่ใช้ คือ - Absolute EtOH  
 - DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)  
 - L-Ascorbic acid  
 - Quercetin

การเตรียมสารละลายของ DPPH ใน Ethanol ทำได้โดยเตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น  $6 \times 10^{-5}$  M จำนวน 100 mL (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.32) โดยชั่งน้ำหนัก DPPH 2.4 mg. ละลายและปรับปริมาตรให้ครบ 100 mL ด้วย Absolute ethanol แล้วเก็บในขวดสีชา

หมายเหตุ ควรเตรียมทันทีก่อนใช้และเก็บที่ 4 °C

การเตรียมสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่าง

สารมาตรฐานที่ใช้คือ L-Ascorbic acid เตรียมให้มีความเข้มข้น 0.5-200 μg/mL (ความเข้มข้นสุดท้ายคือ 0.25-100 μg/mL) ความเข้มข้นละ 5 mL โดยใช้ Absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

เตรียมสารละลายของสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 1-200 μg/mL ความเข้มข้นละ 5 mL โดยใช้ Absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

การเตรียมสารละลายวิเคราะห์ DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 nm

- เตรียมสารละลาย Control : ปิเปตสารละลาย DPPH 100 μL + solvent 100 μL
- เตรียมสารละลาย Control blank : ปิเปตสารละลาย EtOH 100 μL + solvent 100 μL
- เตรียมสารละลาย Sample : ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 100 μL + สารละลาย DPPH 100 μL

- เตรียมสารละลาย Sample blank : ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 100  $\mu\text{L}$  + สารละลาย EtOH 100  $\mu\text{L}$

#### วิธีการทดสอบ

- ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 100  $\mu\text{L}$  ใส่ในหลุม 96-well microplates ในแต่ละความเข้มข้น
- เติมสารละลายของ DPPH ใน Absolute ethanol 100  $\mu\text{L}$
- นำไปเขย่าให้สารผสมเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที
- นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยใช้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่างๆ 100  $\mu\text{L}$  ผสมกับ Absolute ethanol 100  $\mu\text{L}$  เป็น Blank ของสารละลายตัวอย่าง
- วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน L-Ascorbic acid และ Control ที่ความคลื่น 517 nm โดยที่ Control ประกอบด้วย Absolute ethanol 100  $\mu\text{L}$  และ DPPH 100  $\mu\text{L}$  และใช้ Absolute ethanol 200  $\mu\text{L}$  เป็น Blank ของ Control

หมายเหตุ ในแต่ละความเข้มข้นจะทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

$$\text{การคำนวณหา \% Inhibition} = \left[ (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \right] \times 100$$

โดย  $A_{\text{control}}$  = The absorbance of DPPH solution ที่ไม่มีสารตัวอย่าง

$A_{\text{sample}}$  = The absorbance of DPPH solution ที่มีสารตัวอย่าง



## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการนำพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิด จาก 39 วงศ์ มาเตรียมเพื่อเป็นตัวอย่างสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพร เช่น ลำต้น ใบ ดอก ราก กิ่ง เนื้อไม้ ฝัก ก้านดอก หรือ เหง้า เป็นต้น ได้ทั้งสิ้น 66 ตัวอย่าง (ตาราง 1) แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE (% AChE inhibition) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (EC<sub>50</sub>) ของพืชสมุนไพรดังกล่าว ได้ผลการทดลองดังตาราง 3

**ตาราง 3** ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (% AChE inhibition) และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (EC<sub>50</sub>) จากส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิด จาก 37 วงศ์

| ชื่อท้องถิ่น<br>Local name | ชื่อวิทยาศาสตร์<br>Scientific name        | วงศ์<br>Family   | Part<br>use | % AChE<br>inhibition | EC <sub>50</sub> |
|----------------------------|-------------------------------------------|------------------|-------------|----------------------|------------------|
| 1 มะมุด                    | <i>Mangifera foetida</i> Lour.            | Amacardiaceae    | ลำต้น       | 94.95 ± 1.97         | 1.85             |
|                            |                                           |                  | ใบ          | 51.38 ± 3.48         | 11.96            |
| 2 ผักโขมหนาม               | <i>Amaranthus spinosus</i> L.             | Amaranthaceae    | ลำต้น       | 40.07 ± 1.08         | 40.16            |
|                            |                                           |                  | ใบ          | 43.29 ± 1.83         | 37.24            |
|                            |                                           |                  | ดอก         | 43.66 ± 1.58         | 28.23            |
|                            |                                           |                  | ราก         | 39.10 ± 3.47         | 17.49            |
| 3 มะม่วง<br>หิมพานต์       | <i>Anacardium occidentale</i><br>L.       | Anacardiaceae    | ใบ          | 54.51 ± 2.98         | 2.54             |
|                            |                                           |                  | ลำต้น       | 43.31 ± 1.59         | 3.07             |
| 4 มะปริง                   | <i>Bouea microphylla</i> Merr.            |                  | ลำต้น       | 28.78 ± 2.22         | 2.87             |
| 5 อ้อดิบ (คุน)             | <i>Colocasia gigante</i><br>Hook. f.      | Araceae          | ก้านใบ      | 2.55 ± 2.81          | 35.94            |
| 6 เล็บครุฑ<br>กระเจก       | <i>Polyscias fruticosa</i> (L.)<br>Harms  | Araliaceae       | ใบ          | 20.18 ± 3.20         | 48.63            |
| 7 จิก                      | <i>Barringtonia acutangula</i><br>Gaertn. | Barringtoniaceae | ลำต้น       | 31.52 ± 4.66         | 3.65             |
|                            |                                           |                  | ใบ          | 24.49 ± 1.22         | 6.05             |

ตาราง 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (% AChE inhibition) และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (EC<sub>50</sub>) จากส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิด จาก 39 วงศ์ (ต่อ)

| ชื่อท้องถิ่น<br>Local name | ชื่อวิทยาศาสตร์<br>Scientific name                  | วงศ์<br>Family  | Part<br>use        | %<br>inhibition                              | EC <sub>50</sub>        |
|----------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------|--------------------|----------------------------------------------|-------------------------|
| 8 เพกา                     | <i>Oroxylum indicum</i> (L.)<br>Kurz                | Bignoniaceae    | กิ่ง<br>ต้น        | 38.81 ± 3.61<br>58.66 ± 1.74                 | 11.29<br>11.29          |
| 9 สนทะเล                   | <i>Casuarina equisetifolia</i><br>J. R. & C. Forst. | Casuarinaceae   | เนื้อไม้           | 82.17 ± 1.05                                 | 1.85                    |
| 10 ผักเสี้ยนป่า            | <i>Cleome chelidonii</i> L.f.                       | Cleomaceae      | ลำต้น              | 30.24 ± 3.29                                 | 11.34                   |
| 11 หูกวาง                  | <i>Terminalia catappa</i> L.                        | Combretaceae    | ลำต้น              | 58.31 ± 3.01                                 | 2.40                    |
| 12 ขมิ้นชัน                | <i>Ipomoea alba</i> L.                              | Convolvulaceae  | ดอก                | 5.53 ± 6.68                                  | 22.08                   |
| 13 ส้านแดง                 | <i>Dillenia hookeri pierre</i>                      | Dilleniaceae    | ลำต้น              | 22.64 ± 1.30                                 | 4.89                    |
| 14 ไม้เท้ายายม่อม          | <i>Clerodendrum</i><br><i>petasites</i> S.Moore     | Labiatae        | ลำต้น<br>ราก<br>ใบ | 24.80 ± 2.61<br>26.72 ± 2.26<br>43.83 ± 1.78 | 22.80<br>22.47<br>21.68 |
| 15 ทำมัง                   | <i>Litsea elliptica</i> Boerl.                      | Lauraceae       | ใบ<br>ลำต้น        | 8.26 ± 3.33<br>55.04 ± 0.69                  | 0.91<br>1.89            |
| 16 กระโดนบก                | <i>Careya arborea</i> Roxb.                         | Lecythidaceae   | ดอก<br>ลำต้น       | 36.53 ± 2.63<br>48.05 ± 1.23                 | 2.08<br>17.88           |
| 17 แสลงใจ                  | <i>Strychnos nux-vomica</i><br>L.                   | Loganiaceae     | เนื้อไม้           | 37.25 ± 1.67                                 | 104.55                  |
| 18 โครจเครง                | <i>Melastoma</i><br><i>malabathricum</i> L.         | Melastomataceae | ลำต้น              | 57.27 ± 2.02                                 | 3.58                    |
| 19 เนียง                   | <i>Archidendron</i><br><i>pauciflorum</i>           | Mimosaceae      | ลำต้น<br>ใบ        | 23.14 ± 2.68<br>57.50 ± 2.78                 | 2.50<br>1.71            |
| 20 ฝรั่ง - มะเดื่อ         | <i>Ficus botryocarpa</i> Miq.                       | Moraceae        | ลำต้น              | 32.51 ± 3.21                                 | 6.91                    |
| 21 จำปาตะ                  | <i>Artocarpus integer</i>                           |                 |                    | 19.14 ± 2.64                                 | 19.38                   |
| 22 มะรุม                   | <i>Moringa oleifera</i> Lam.                        | Moringaceae     | ลำต้น<br>ฝัก       | 51.80 ± 1.99<br>38.16 ± 3.48                 | 5.30<br>23.41           |
| 23 ตะขบนก                  | <i>Muntingia calabura</i> L.                        | Muntingiaceae   | ลำต้น              | 32.02 ± 1.54                                 | 3.32                    |

ตาราง 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (% AChE inhibition) และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (EC<sub>50</sub>) จากส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิด จาก 39 วงศ์ (ต่อ)

| ชื่อท้องถิ่น<br>Local name   | ชื่อวิทยาศาสตร์<br>Scientific name                 | วงศ์<br>Family                  | Part<br>use     | %<br>inhibition              | EC <sub>50</sub> |
|------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------|------------------------------|------------------|
| 24 บัวหลวง                   | <i>Nelumbo nucifera</i><br>Gaertn.                 | Nelumbonaceae                   | ก้านดอก         | 21.78 ± 1.94                 | 2.69             |
| 25 พระขรรค์ไชยศรี (ฝนแสนห่า) | <i>Myxopyrum smilacifolium</i> Blume.              | Oleaceae                        | ลำต้น<br>ใบ     | 30.85 ± 3.44<br>8.18 ± 3.36  | 10.55<br>19.23   |
| 26 หมากหมก                   | <i>Lepionurus sylvestris</i> Bl.                   | Opiliaceae                      | ใบ              | 23.07 ± 2.21                 | 35.98            |
| 27 มะเฟือง                   | <i>Averrhoa carambola</i> L.                       | <u>Oxalidaceae</u>              | กิ่ง<br>ผล      | 42.93 ± 3.83<br>7.75 ± 3.61  | 37.24<br>20.60   |
| 28 ปรีศนา                    | <i>Chionanthus ramiflorus</i> Roxb.                | Oleaceae                        | ใบ              | 29.73 ± 3.44                 | 39.96            |
| 29 เต่าร้าง                  | <i>Caryota mitis</i> Lour.                         | Palmae                          | ลำต้น           | 12.63 ± 0.59                 | 18.52            |
| 30 กะทกรก                    | <i>Passiflora foetida</i> L.                       | Passifloraceae                  | ลำต้น<br>ใบ     | 45.54 ± 1.46<br>55.78 ± 2.33 | 18.41<br>31.39   |
| 31 กรดน้ำ                    | <i>Scoparia dulcis</i> Linn.                       | Plantaginaceae                  | ลำต้น<br>ใบ     | 51.73 ± 3.54<br>65.55 ± 2.23 | 4.97<br>20.60    |
| 32 ตาเป็ดตาไก่               | <i>Ardisia crenata</i> Sims                        | Primulaceae หรือ<br>Myrsinaceae | กิ่ง            | 21.51 ± 3.61                 | 32.11            |
| 33 ลำแพ้ง                    | <i>Stenochlaena palustris</i>                      | Pteridaceae                     | ลำต้น           | 19.07 ± 1.21                 | 53.72            |
| 34 หญ้าคา                    | <i>Imperata cylindrica</i> (L.)<br>Raeusch         | Poaceae หรือ<br>Gramineae       | ราก<br>ใบ/ลำต้น | 16.77 ± 1.76<br>53.44 ± 0.82 | 27.92<br>4.52    |
| 35 กาแฟ                      | <i>Coffea arabica</i> L.                           | Rubiaceae                       | ลำต้น           | 14.19 ± 4.73                 | 11.46            |
| 36 ดอนยาแดง                  | <i>Mussaenda erythrophylla</i><br>Schum. et Thonn. |                                 |                 | 22.67 ± 2.14                 | 7.73             |
| 37 หมุย                      | <i>Clausena cambodiana</i><br>Guill.               | Rutaceae                        | ลำต้น           | 25.10 ± 3.54                 | 7.20             |
| 38 กำขำ<br>(มะหวด)           | <i>Lepisanthes rubiginosa</i><br>Leenh.            | Sapindaceae                     | ลำต้น           | 22.74 ± 1.43                 | 23.19            |

ตาราง 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (% AChE inhibition) และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (EC<sub>50</sub>) จากส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิด จาก 39 วงศ์ (ต่อ)

| ชื่อท้องถิ่น<br>Local name | ชื่อวิทยาศาสตร์<br>Scientific name                    | วงศ์<br>Family | Part<br>use | %<br>inhibition              | EC <sub>50</sub> |
|----------------------------|-------------------------------------------------------|----------------|-------------|------------------------------|------------------|
| 39 ลำไย                    | <i>Dimocarpus longan</i><br>Lour.                     | Sapindaceae    | ลำต้น<br>ใบ | 20.70 ± 1.57<br>36.21 ± 0.30 | 5.38<br>2.71     |
| 40 ละมุด                   | <i>Manilkara zapota</i> (L.)<br>P.Royen               | Sapotaceae     | ลำต้น<br>ใบ | 31.90 ± 1.73<br>66.79 ± 3.37 | 19.31<br>2.20    |
| 41 ปลาไหลเผือก             | <i>Eurycoma longifolia</i><br>Jack.                   | Simaroubaceae  | ลำต้น       | 38.50 ± 3.87                 | 25.89            |
| 42 มะเขือพวง               | <i>Solanum torvum</i> Sw.                             | Solanaceae     | ลำต้น       | 19.62 ± 3.11                 | 4.97             |
| 43 เทียนทอง                | <i>Duranta erecta</i> L.                              | Verbenaceae    | ลำต้น<br>ใบ | 38.56 ± 1.88<br>54.36 ± 2.62 | 1.98<br>1.75     |
| 44 ปุด                     | <i>Etlingera coccinea</i><br>(Blume) S.Sakai & Nagam. | Zingiberaceae  | ลำต้น       | 30.42 ± 4.32                 | 3.65             |
| 45 ขมิ้นขาว                | <i>Curcuma manga</i> Val.&<br>Zijp.                   |                | เหง้า       | 14.78 ± 1.89                 | 11.58            |
| Positive control           | Galantamine                                           |                |             | 96.68 ± 0.78                 |                  |
| Positive control           | Ascorbic acid<br>Quercetin                            |                |             |                              | 1.58<br>1.64     |

จากตาราง 3 การศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE จากพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิด จาก 39 วงศ์ ผ่านเครื่องอ่านไมโครเพลท โดยใช้ Galantamine เป็นสารมาตรฐาน พบว่า ส่วนลำต้นของมะมุด *Mangifera foetida* Lour. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Anacardiaceae ในส่วนลำต้นของออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ได้ดีที่สุดคือ 94.95 ± 1.97% รองลงมาคือ เนื้อไม้ของสนทะเล *Casuarina equisetifolia* J. R. & C. Forst. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Casuarinaceae ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE เท่ากับ 82.17 ± 1.05% ในขณะที่ ก้านใบของอ้อดิบ (คุน) *Colocasia gigante* Hook. F. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Araceae ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE น้อยที่สุด คือ 2.55 ± 2.81%

## การแบ่งกลุ่มของพืชสมุนไพรตามระดับการออกฤทธิ์ต้าน AChE

จากการแบ่งกลุ่มของพืชสมุนไพรตามระดับการออกฤทธิ์ต้าน AChE สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม (Vinutha et al., 2007) คือ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้าน AChE ระดับสูงมาก (Extremely high) กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้าน AChE ระดับสูง (High) กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้าน AChE ระดับปานกลาง (Moderate) และกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้าน AChE ระดับต่ำ (Low) ดังรายละเอียดคือ

-กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้าน AChE ระดับสูงมาก มีค่า AChE inhibition สูงกว่า 70% มีทั้งหมด 2 ตัวอย่าง ได้แก่ ส่วนลำต้นของมะมุด *Mangifera foetida* Lour. และ

เนื้อไม้ของสนทะเล *Casuarina equisetifolia* J. R. & C. Forst.

-กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้าน AChE ระดับสูง มีค่า AChE inhibition 50-70% มีทั้งหมด 14 ตัวอย่าง ได้แก่

ใบมะมุด *Mangifera foetida* Lour.

ใบมะม่วงหิมพานต์ *Anacardium occidentale* L.

ส่วนลำต้นของหูกวาง *Terminalia catappa* L.

ส่วนลำต้นของทำมัง *Litsea elliptica* Boerl.

ส่วนลำต้นของโครจรง *Melastoma malabathricum* L.

ใบเนียง *Archidendron pauciflorum*

ส่วนลำต้นของมะรุม *Moringa oleifera* Lam.

ใบกะทกรก *Passiflora foetida* L.

ส่วนลำต้นและใบของกรดน้ำ *Scoparia dulcis* Linn.

ส่วนลำต้นหรือใบของหญ้าคา *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch

ใบละมุด *Manilkara zapota* (L.) P.Royen

ใบเทียนทอง *Duranta erecta* L. และ

ลำต้นเพกา *Oroxylum indicum*

-กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้าน AChE ระดับปานกลาง มีค่า AChE inhibition 30-50% มีทั้งหมด 23 ตัวอย่าง ได้แก่ ส่วนลำต้น ใบ ดอก และรากของผักโขมหนาม *Amaranthus spinosus* L.

ส่วนลำต้นของมะม่วงหิมพานต์ *Anacardium occidentale* L.

ส่วนลำต้นของจิก *Barringtonia acutangula* Gaertn.

กิ่งของเพกา *roxylum indicum* (L.) Kurz

ส่วนลำต้นของผักเสี้ยนป่า *Cleome chelidonii* L.f.

ใบไม้เท้ายายม่อม *Clerodendrum petasites* S.Moore

ดอกและส่วนลำต้นของกระโดนบก *Careya arborea* Roxb.

เนื้อไม้ของแสลงใจ *Strychnos nux-vomica* L.

ส่วนลำต้นของฉิ่ง - มะเดื่อ *Ficus botryocarpa* Miq.

ฝักของมะรุม *Moringa oleifera* Lam.

ส่วนลำต้นของตะขบนก *Muntingia calabura* L.

ส่วนลำต้นของพระขรรค์ไชยศรี *Myxopyrum smilacifolium* Blume.

กิ่งของมะเฟือง *Averrhoa carambola* L.

ส่วนลำต้นของกะทกรก *Passiflora foetida* L.

ใบลำไย *Dimocarpus longan* Lour.

ส่วนลำต้นของละมุด *Manilkara zapota* (L.) P.Royen

ส่วนลำต้นของปลาไหลเผือก *Eurycoma longifolia* Jack.

ส่วนลำต้นของเทียนทอง *Duranta erecta* L. และ

ส่วนลำต้นของปุด *Etlingera coccinea* (Blume) S.Sakai & Nagam.

-กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้าน AChE ระดับต่ำ มีค่า AChE inhibition ต่ำกว่า 30% มีทั้งหมด

27ตัวอย่าง ได้แก่

ส่วนลำต้นของมะปริง *Bouea microphylla* Merr.

ก้านใบของอ้อดิบ (คุน) *Colocasia gigante* Hook. F.

ใบเล็บครุฑกระจก *Polyscias fruticosa* (L.) Harms

ใบจิก *Barringtonia acutangula* Gaertn.

ดอกชมจันทร์ *Ipomoea alba* L.

ส่วนลำต้นของส้านแดง *Dillenia hookeri* pierre

ส่วนลำต้นและรากของไม้เท้ายายม่อม *Clerodendrum petasites* S.Moore

ใบทำมัง *Litsea elliptica* Boerl.

ส่วนลำต้นของเนียง *Archidendron pauciflorum*

ส่วนลำต้นของจำปาตะ *Artocarpus integer*

ก้านดอกของบัวหลวง *Nelumbo nucifera* Gaertn

ใบพระขรรค์ไชยศรี (ฝนแสนห่า) *Myxopyrum smilacifolium* Blume.

ใบหมากหมก *Lepionurus sylvestris* Bl.

ผลมะเฟือง *Averrhoa carambola* L.

ใบปริศนา *Chionanthus ramiflorus* Roxb.

ส่วนลำต้นของเต่าร้าง *Caryota mitis* Lour.

กิ่งของตาเบ็ดตาไก่ *Ardisia crenata* Sims

ส่วนลำต้นของลำเพ็ง *Stenochlaena palustris*

รากหญ้าคา *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch

ส่วนลำต้นของกาแฟ *Coffea arabica* L.

ส่วนลำต้นของดอนยาแดง *Mussaenda erythrophylla* Schum. et Thonn.

ส่วนลำต้นของหมุย *Clausena cambodiana* Guill.

ส่วนลำต้นของกำขำ (มะหวด) *Lepisanthes rubiginosa* Leenh.

ส่วนลำต้นของลำไย *Dimocarpus longan* Lour.

ส่วนลำต้นของมะเขือพวง *Solanum torvum* Sw. และ

เหง้าของขมิ้นขาว *Curcuma manga* Val.& Zijp.

## การแบ่งกลุ่มของพืชสมุนไพรตามระดับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ส่วนผลทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ โดยใช้ Ascorbic acid และ Quercetin เป็นสารมาตรฐาน พบว่า ค่าที่ได้แตกต่างกันไปอยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.91-104.55  $\mu\text{g/mL}$  โดยพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ ใบตำมั่ง ซึ่งอยู่ในวงศ์ Lauraceae ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า  $\text{EC}_{50}$  เท่ากับ 0.91  $\mu\text{g/mL}$  ตรงข้ามกับเนื้อไม้ของแสลงใจ *Strychnos nux-vomica* L. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Loganiaceae มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด โดยมีค่า  $\text{EC}_{50}$  เท่ากับ 104.55  $\mu\text{g/mL}$

ทั้งนี้ จากการแบ่งกลุ่มของพืชสมุนไพรตามระดับการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับสูงมาก กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง และกลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำ ดังรายละเอียดคือ

-กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับสูงมาก มีค่า  $\text{EC}_{50}$  ต่ำกว่า 5  $\mu\text{g/mL}$  มีทั้งหมด 24 ตัวอย่าง ได้แก่

ส่วนลำต้นของมะมุด *Mangifera foetida* Lour.  
 ใบและส่วนลำต้นของมะม่วงหิมพานต์ *Anacardium occidentale* L.  
 ส่วนลำต้นของมะปริง *Bouea microphylla* Merr.  
 ส่วนลำต้นของจิก *Barringtonia acutangula* Gaertn.  
 เนื้อไม้ของสนทะเล *Casuarina equisetifolia* J. R. & C. Forst.  
 ส่วนลำต้นของทุกว่าว *Terminalia catappa* L.  
 ส่วนลำต้นของส้านแดง *Dillenia hookeri* pierre  
 ใบและส่วนลำต้นของตำมั่ง *Litsea elliptica* Boerl.  
 ดอกกระโดนบก *Careya arborea* Roxb.  
 ส่วนลำต้นของโครจรง *Melastoma malabathricum* L.  
 ส่วนลำต้นของตะขบนก *Muntingia calabura* L.  
 ใบและส่วนลำต้นของเนียง *Archidendron pauciflorum*  
 ส่วนลำต้นของตะขบนก *Muntingia calabura* L.  
 ก้านดอกของบัวหลวง *Nelumbo nucifera* Gaertn  
 ส่วนลำต้นของกรตน้ำ *Scoparia dulcis* Linn.  
 ส่วนลำต้นหรือใบของหญ้านาคา *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch  
 ใบลำไย *Dimocarpus longan* Lour.  
 ใบละมุด *Manilkara zapota* (L.) P.Royen  
 ใบและส่วนลำต้นของเทียนทอง *Duranta erecta* L. และ  
 ส่วนลำต้นของปุด *Etlingera coccinea* (Blume) S.Sakai & Nagam.

-กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง มีค่า  $\text{EC}_{50}$  อยู่ในช่วง 5-20  $\mu\text{g/mL}$  มีทั้งหมด 19 ตัวอย่าง ได้แก่ ใบมะมุด *Mangifera foetida* Lour.

รากของผักโขมหนาม *Amaranthus spinosus* L.  
 ใบจิก *Barringtonia acutangula* Gaertn.

กิ่งของเพกา *roxylum indicum* (L.) Kurz  
 ส่วนลำต้นของผักเสี้ยนป่า *Cleome chelidonii* L.f.  
 ส่วนลำต้นของกระโดนบก *Careya arborea* Roxb.  
 ส่วนลำต้นของชิง - มะเดื่อ *Ficus botryocarpa* Miq.  
 ส่วนลำต้นของจำปาตะ *Artocarpus integer*  
 ส่วนลำต้นของมะรุม *Moringa oleifera* Lam.  
 ส่วนลำต้นและใบของพระขรรค์ไชยศรี *Myxopyrum smilacifolium* Blume.  
 ส่วนลำต้นของเตาร้าง *Caryota mitis* Lour.  
 ส่วนลำต้นของกะทกรก *Passiflora foetida* L.  
 ส่วนลำต้นของกาแฟ *Coffea arabica* L.  
 ส่วนลำต้นของดอนยาแดง *Mussaenda erythrophylla* Schum. et Thonn.  
 ส่วนลำต้นของหมุย *Clausena cambodiana* Guill.  
 ส่วนลำต้นของลำไย *Dimocarpus longan* Lour.  
 ส่วนลำต้นของละมุด *Manilkara zapota* (L.) P.Royen และ  
 เหง้าของขมิ้นขาว *Curcuma manga* Val.& Zijp.

-กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง มีค่า  $EC_{50}$  อยู่ในช่วง 20-50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  มีทั้งหมด 21 ตัวอย่าง ได้แก่ ส่วนลำต้น ใบ และดอกของผักโขมหนาม *Amaranthus spinosus* L.

ก้านใบของอ้อดิบ (คุณ) *Colocasia gigante* Hook. F.  
 ใบเล็บครุฑกระจัก *Polyscias fruticosa* (L.) Harms  
 ดอกขมจันทร์ *Ipomoea alba* L.  
 ส่วนลำต้น ราก ใบของไม้เท้ายายม่อม *Clerodendrum petasites* S. Moore  
 ฝักของมะรุม *Moringa oleifera* Lam.  
 ใบหมากหมก *Lepionurus sylvestris* Bl  
 กิ่งและผลของมะเฟือง *Averrhoa carambola* L.  
 ใบปริศนา *Chionanthus ramiflorus* Roxb.  
 ใบกะทกรก *Passiflora foetida* L.  
 ใบกรรน้ำ *Scoparia dulcis* Linn.  
 กิ่งของตาเบ็ดตาไก่ *Ardisia crenata* Sims  
 รากหญ้าคา *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch  
 ส่วนลำต้นของกำขำ (มะหาด) *Lepisanthes rubiginosa* Leenh. และ  
 ส่วนลำต้นของปลาไหลเผือก *Eurycoma longifolia* Jack.

-กลุ่มที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำ มีค่า  $EC_{50}$  สูงกว่า 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  มีทั้งหมด 2 ตัวอย่าง ได้แก่ เนื้อไม้ของแสลงใจ *Strychnos nux-vomica* L. และ  
 ส่วนลำต้นของลำเพ็ง *Stenochlaena palustris*

จากข้อมูลการจำแนกกลุ่มของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยตามระดับการออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังกล่าวข้างต้น สามารถแบ่งพืชสมุนไพรท้องถิ่นออกเป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่ม I เป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์ในระดับสูงมาก กลุ่ม II เป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์ในระดับสูง กลุ่ม III เป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์ในระดับปานกลาง และกลุ่ม IV เป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์ในระดับต่ำ (ตาราง 4)

**ตาราง 4** จำนวนและร้อยละของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 66 ตัวอย่าง จากส่วนต่าง ๆ ของพืช 45 ชนิด เมื่อจำแนกกลุ่มตามระดับการออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

| กลุ่ม |         | การออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์<br>อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส |               | การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ |               |
|-------|---------|-------------------------------------------------|---------------|----------------------------|---------------|
|       |         | จำนวน<br>ตัวอย่าง                               | ร้อยละ<br>(%) | จำนวน<br>ตัวอย่าง          | ร้อยละ<br>(%) |
| I     | สูงมาก  | 2                                               | 3.03          | 24                         | 36.36         |
| II    | สูง     | 14                                              | 21.21         | 19                         | 28.79         |
| III   | ปานกลาง | 23                                              | 34.85         | 17                         | 31.82         |
| IV    | ต่ำ     | 27                                              | 40.91         | 2                          | 3.03          |
| รวม   |         | 66                                              | 100.00        | 66                         | 100.00        |

จากข้อมูลการจำแนกกลุ่มของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยตามระดับการออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังกล่าวข้างต้น สามารถแบ่งพืชสมุนไพรท้องถิ่นออกเป็น 4 กลุ่ม (ตาราง 4) กล่าวคือ

- **กลุ่ม I** เป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์ในระดับสูงมาก โดยพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ในระดับสูงมากมี 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 3.03 ส่วนพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับสูงมากมี 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 36.36

- **กลุ่ม II** เป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์ในระดับสูง โดยพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ในระดับสูงมี 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 21.21 ส่วนพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับสูงมี 19 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 28.79

- **กลุ่ม III** เป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์ในระดับปานกลาง โดยพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ในระดับปานกลางมี 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 34.85 ส่วนพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลางมี 17 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 31.82

- **กลุ่ม IV** เป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์ในระดับต่ำ โดยพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ในระดับต่ำมี 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40.91 ส่วนพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำมี 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 3.03

## สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

### สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ( $EC_{50}$ ) จากพืชสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิด (Species) จาก 39 วงศ์ (Family) ซึ่งได้แก่ 1. ผักโขมหนาม 2. มะมุด 3. มะม่วงหิมพานต์ 4. มะปริง 5. อ้อดิบ (คุน) 6. เล็บครุฑกระจก 7. จิก 8. เพกา 9. สนทะเล 10. ผักเสี้ยนป่า 11. หูกวาง 12. ขมิ้นชัน 13. ส้านแดง 14. ไม้เท้ายายม่อม 15. ทำม้ง 16. กระโดนบก 17. แสลงใจ 18. โครกเครือ 19. เนียง 20. ฉิ่ง – มะเดื่อ 21. จำปาตะ 22. มะรุม 23. ตะขบถ 24. บัวหลวง 25. พระขรรค์ไชยศรี (ฝนแสนห่า) 26. ปรีศนา 27. หมากหมก 28. มะเฟือง 29. เต่าร้าง 30. กะทกรก 31. กรดน้ำ 32. ตาเป็ดตาไก่ 33. ลำเพ็ง 34. หนุ่ยคา 35. กาแฟ 36. ดอนยาแดง 37. หมุย 38. กำขำ (มะหวด) 39. ลำไย 40. ละมุด 41. ปลาไหลเผือก 42. มะเขือพวง 43. เทียนทอง 44. ปุด และ 45. ขมิ้นขาว สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

5.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE (% AChE inhibition) ผ่านเครื่องอ่านไมโครเพลท โดยใช้ Galantamine เป็นสารมาตรฐาน แสดงค่าการต้านเอนไซม์ AChE ที่  $96.68 \pm 0.78\%$  พบว่า ลำต้นของมะมุด (*Mangifera foetida* Lour.) ที่อยู่ในวงศ์ Amacardiaceae และเนื้อไม้ของสนทะเล (*Casuarina equisetifolia* J.R. & C. Forst.) ที่อยู่ในวงศ์ Casuarinaceae มีฤทธิ์ต้าน AChE สูงที่สุด โดยมีค่า % AChE inhibition เท่ากับ  $94.95 \pm 1.97\%$  และ  $82.17 \pm 1.05\%$  ตามลำดับ ส่วนพืชสมุนไพรท้องถิ่นที่มีฤทธิ์ต้าน AChE น้อยที่สุดคือ ก้านใบของอ้อดิบ (คุน) (*Colocasia gigante* Hook. F.) ซึ่งมีค่า % AChE inhibition เท่ากับ  $2.55 \pm 2.81\%$

จากผลการศึกษาสามารถแบ่งกลุ่มพืชสมุนไพรตามระดับการออกฤทธิ์ออกเป็น 4 กลุ่มคือ 1. กลุ่มพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ระดับสูงมาก (Extremely high) มีค่า AChE inhibition สูงกว่า 70% พบใน 2 ตัวอย่างคือ ลำต้นของมะมุด และเนื้อไม้ของสนทะเล 2. กลุ่มพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ระดับสูง (High) มีค่า AChE inhibition 50-70% พบใน 14 ตัวอย่าง คือ ส่วนลำต้นของหูกวาง ทำม้ง โครกเครือ มะรุม กรดน้ำ และเพกา ส่วนของใบมะมุด มะม่วงหิมพานต์ กะทกรก กรดน้ำ หนุ่ยคา เนียง ละมุด และเทียนทอง 3. กลุ่มพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ระดับปานกลาง (Moderate) มีค่า AChE inhibition 30-50% พบใน 23 ตัวอย่าง คือ ส่วนลำต้น ใบ ดอก และรากของผักโขมหนาม ส่วนลำต้นของมะม่วงหิมพานต์ จิก ผักเสี้ยนป่า กระโดนบก ตะขบถ กะทกรก พระขรรค์ไชยศรี ฉิ่ง-มะเดื่อ ละมุด ปลาไหลเผือก เทียนทอง และปุด กิ่งของเพกา และมะเฟือง ใบไม้เท้ายายม่อม และลำไย ดอกของกระโดนบก เนื้อไม้ของแสลงใจ และฝักของมะรุม และ 4. กลุ่มพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ระดับต่ำ (Low) มีค่า AChE inhibition ต่ำกว่า 30% พบใน 27 ตัวอย่าง คือ ส่วนลำต้นของมะปริง ส้านแดง ไม้เท้ายายม่อม เนียง จำปาตะ เต่าร้าง ลำเพ็ง กาแฟ ดอนยาแดง หมุย กำขำ (มะหวด) ลำไย และมะเขือพวง ก้านใบของอ้อดิบ (คุน) ใบของเล็บครุฑกระจก จิก ทำม้ง พระขรรค์ไชยศรี (ฝนแสนห่า) หมากหมก และปรีศนา ดอกขมิ้นชัน ก้านดอกของบัวหลวง รากของไม้เท้ายายม่อมและหนุ่ยคา ผลมะเฟือง กิ่งของตาเป็ดตาไก่ และเหง้าของขมิ้นขาว

5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ( $EC_{50}$ ) ด้วยวิธี DPPH ผลการทดสอบที่ได้แตกต่างกันไป โดยใช้ L-Ascorbic acid และ Quercetin เป็นสารอ้างอิงมาตรฐาน ( $EC_{50}$  เท่ากับ 1.58 และ 1.64  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ) พืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือ ใบของตำมั่ง (*Litsea elliptica* Boerl.) ที่อยู่ในวงศ์ Lauraceae โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.91  $\mu\text{g/mL}$  ส่วนพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ เนื้อไม้ของแสลงใจ (*Strychnos nux-vomica* L.) ที่อยู่ในวงศ์ Loganiaceae ซึ่งมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 104.55  $\mu\text{g/mL}$

จากผลการศึกษาสามารถแบ่งกลุ่มพืชสมุนไพรตามระดับการออกฤทธิ์ออกเป็น 4 กลุ่มคือ 1. กลุ่มพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ระดับสูงมาก (Extremely high) มีค่า  $EC_{50}$  ต่ำกว่า 5  $\mu\text{g/mL}$  พบใน 24 ตัวอย่าง คือส่วนลำต้นของมะมุด มะม่วงหิมพานต์ มะปริง หูกวาง ส้านแดง จิก ตำมั่ง ไคร้ครั่ง กรดน้ำ ตะขบถ เนียงปุด และเทียนทอง ส่วนของใบมะม่วงหิมพานต์ ตำมั่ง เนียง หญ้าคา ลำไย ละคร และเทียนทอง เนื้อไม้ของสนทะเล ดอกกระโดนบก และก้านดอกของบัวหลวง 2. กลุ่มพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง (High) มีค่า  $EC_{50}$  อยู่ในช่วง 5-20  $\mu\text{g/mL}$  มีทั้งหมด 19 ตัวอย่าง ได้แก่ ส่วนลำต้นของผักเสี้ยนป่า กระโดนบก ฉิ่ง-มะเดื่อ จำปาตะ มะรุม พระขรรค์ไชยศรี เต่าร้าง กะทกรก กาแฟ ดอนยาแดง หมุย ลำไย และละคร ใบของจิก พระขรรค์ไชยศรี และมะมุด รากของผักโขมหนาม กิ่งของเพกา และเหง้าของขมิ้นขาว 3. กลุ่มพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง (Moderate) มีค่า  $EC_{50}$  อยู่ในช่วง 20-50  $\mu\text{g/mL}$  มีทั้งหมด 21 ตัวอย่าง ได้แก่ ส่วนลำต้น ใบ และดอกของผักโขมหนาม ส่วนลำต้น ราก ใบของไม้เท้ายายม่อม กิ่งและผลของมะเฟือง ส่วนลำต้นของกำขำ (มะหวด) และปลาไหลเผือก ใบของเล็บครุฑกระเจก หมากหมก ปรีศนา กะทกรก และกรดน้ำ ก้านใบของอ้อดิบ (คุน) กิ่งของตาปีเตาไก่ ดอกขมิ้นจันทน์ ผักของมะรุม และรากหญ้าคา 4. กลุ่มพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับต่ำ มีค่า  $EC_{50}$  สูงกว่า 50  $\mu\text{g/mL}$  มีทั้งหมด 2 ตัวอย่าง ได้แก่ เนื้อไม้ของแสลง และส่วนลำต้นของลำเพ็ง

ผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า พืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยมีศักยภาพในการพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะในการพัฒนาสารยับยั้งเอนไซม์ AChE ซึ่งเกี่ยวข้องกับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ และสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ในการป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระ เช่น มะเร็งและโรคหัวใจอีกด้วย นอกเหนือจากการป้องกันโรคอัลไซเมอร์ดังกล่าว ทั้งนี้ เนื่องจากเอนไซม์ AChE เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของอะซิติลโคลีนในสมอง ทำให้มีศักยภาพในการป้องกันและรักษาโรคอัลไซเมอร์ ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระในเซลล์สมองและอาจลดความเสี่ยงในการเกิดโรคอัลไซเมอร์ได้ จึงสรุปได้ว่า ส่วนของต้นมะมุด *Mangifera foetida* Lour. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Amacardiaceae ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE ได้ดีที่สุดคือ ร้อยละ  $94.95 \pm 1.97$  รองลงมาคือ เนื้อไม้ของสนทะเล *Casuarina equisetifolia* J. R. & C. Forst. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Casuarinaceae ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE เท่ากับ ร้อยละ  $82.17 \pm 1.05$  ในขณะที่ ก้านใบของอ้อดิบ (คุน) *Colocasia gigante* Hook. F. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Araceae ออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE น้อยที่สุด คือ ร้อยละ  $2.55 \pm 2.81$  ส่วนผลทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ค่า  $EC_{50}$  อยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.91-104.55  $\mu\text{g/mL}$  โดยพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ ใบตำมั่ง *Litsea elliptica* Boerl. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Lauraceae ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 0.91  $\mu\text{g/mL}$  ตรง

ข้ามกับเนื้อไม้ของแสลงใจ *Strychnos nux-vomica* L. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Loganiaceae มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 104.55  $\mu\text{g/mL}$  เมื่อใช้ Ascorbic acid และ Quercetin เป็นสารมาตรฐาน ดังนั้น การพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อลดความเสี่ยงต่อโรคอัลไซเมอร์ จึงควรใช้ส่วนของต้นมะมุด *Mangifera foetida* Lour. และใบทำม้ง *Litsea elliptica* Boerl. เป็นส่วนสำคัญในการสกัดสารที่มีประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ AChE และต้านอนุมูลอิสระ

## อภิปรายผล

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลจากตาราง 3 ที่แสดงถึงชื่อท้องถิ่น ชื่อวิทยาศาสตร์ วงศ์ ส่วนของพืชที่ใช้ เปรอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ AChE และค่า  $EC_{50}$  ของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 45 ชนิด จาก 39 วงศ์ พบว่า พืชสมุนไพรท้องถิ่นที่มีศักยภาพสูง ควรที่จะศึกษาทางเภสัชวิทยาเพิ่มเติม เพื่อนำสารสกัดมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้นแบบสำหรับลดภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคอัลไซเมอร์ ได้แก่ ส่วนของลำต้นมะมุด (*Mangifera foetida*) และเนื้อไม้ของสนทะเล (*Casuarina equisetifolia*) เนื่องจากการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE สูง โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ AChE เท่ากับ 94.95 และ 82.17 ตามลำดับ และออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง โดยมีค่า  $EC_{50}$  ต่ำ เท่ากันคือ 1.85  $\mu\text{g/mL}$  ส่วนพืชสมุนไพรที่อาจมีศักยภาพสูง พบว่า พืชบางชนิดแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ AChE ที่ต่ำกว่า แต่มีค่า  $EC_{50}$  ที่ต่ำมาก เช่น ส่วนของลำต้นทำม้ง (*Litsea elliptica*) ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ AChE เท่ากับ 55.04% แต่ค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 1.89  $\mu\text{g/mL}$  ในขณะที่ ใบทำม้งมีค่า  $EC_{50}$  เพียง 0.91  $\mu\text{g/mL}$  แต่ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ AChE ก็ต่ำมาก เพียง 8.26% เท่านั้น นอกจากนี้ สารสกัดจากใบเนียง (*Archidendron pauciflorum*) และใบเทียนทอง (*Duranta erecta*) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงมาก โดยมีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 1.71 และ 1.75  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ แม้ว่าฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE จะอยู่ในระดับปานกลางคือ 57.50% และ 54.36% ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม ส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญก็มีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์แตกต่างกัน จึงให้ผลการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE และต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน เช่น ในส่วนของลำต้น ใบ ดอก และรากของผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus*) แสดงให้เห็นถึงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ AChE อยู่ในระดับใกล้เคียงกัน โดยอยู่ในช่วงระหว่าง 39.10-43.66% แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน โดยส่วนของลำต้นผักโขมหนามมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุดคือ 40.16  $\mu\text{g/mL}$  ตรงข้ามกับรากของผักโขมหนามมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือ 17.49  $\mu\text{g/mL}$  เป็นต้น ดังนั้น จึงควรเลือกใช้ส่วนที่เฉพาะเจาะจงของพืชมาสกัดสารสำคัญในการพัฒนายา เพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ที่มีความเข้มข้นและประสิทธิภาพสูงสุด

จากการศึกษาสารสำคัญหรือสารพฤษเคมีของพืชสมุนไพรท้องถิ่นในภาคใต้ของประเทศไทย พบว่า สารสำคัญที่มีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคอัลไซเมอร์ โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE และการต้านอนุมูลอิสระ มักเป็นสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) อัลคาลอยด์ (Alkaloids) และสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) ซึ่งมีผลต่อการป้องกันหรือชะลอความเสื่อมของระบบประสาทที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE (Howes & Perry, 2011; Orhan & Şenol, 2011)

ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบทางเคมีในกลุ่มโพลีฟีนอลที่พบในพืชสมุนไพรทั้ง 45 ชนิดที่ศึกษา โดยมีคุณสมบัติที่สำคัญหลากหลาย เช่น การต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และด้านการเสื่อมสภาพของเซลล์ประสาท โดยเฉพาะบทบาทในการยับยั้งเอนไซม์ AChE ที่เกี่ยวข้องกับโรคทางระบบประสาท เช่น

โรคอัลไซเมอร์ สามารถแบ่งพืชสมุนไพรตามการใช้ประโยชน์และคุณสมบัติ ดังนี้คือ พืชที่ใช้ส่วนลำต้น ได้แก่ มะขูด มะม่วงหิมพานต์ มะปริง สนทะเล ผักเสี้ยนป่า หูกวาง ส้านแดง โครงเครง เนียง ฉิ่ง-มะเตี๋ย จำปาตะ มะรุม ตะขบนก พระขรรค์ไชยศรี ลำเพ็ง หญ้าคา กาแฟ ดอนยาแดง หมุย กำขำ ลำไย ปลาไหลเผือก ละมุด มะเขือพวง เทียนทอง และ ปุด พืชที่ใช้ส่วนใบ ได้แก่ ผักโขมหนาม เล็บครุฑกระจก จิก ขมิ้นชัน ทำมั่ง แสลงใจ ปรีศนา หมากหมก มะเฟือง กะทกรก และ กรดน้ำ พืชที่ใช้ดอก ได้แก่ บัวหลวง และ กระโดนบก พืชที่ใช้รากหรือเหง้า ได้แก่ หญ้าคา และ ขมิ้นขาว พลาโวนอยด์ในพืชสมุนไพรเหล่านี้เป็นสารสำคัญที่มีบทบาทในการบำรุงสุขภาพ ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจ โรคเมเร็ง และโรคอัลไซเมอร์ (Tungmunthum et al., 2018; Harborne & Williams, 2000)

นอกจากนี้ สารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชสมุนไพรมีหลายชนิดที่แสดงศักยภาพในการรักษาหรือชะลอการเกิดโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งเป็นโรคทางระบบประสาทที่ทำให้สมองเสื่อม โดยมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์ AChE และบิวทิลโคลีนเอสเตอเรส (BChE) ซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการสลายสารสื่อประสาทอะเซทิลโคลีนที่เกี่ยวข้องกับความจำและการเรียนรู้ ตัวอย่างสารอัลคาลอยด์ที่มีศักยภาพในการรักษาอัลไซเมอร์ ได้แก่ **กาแลนตามีน (Galanthamine)** เป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE และมีการใช้ในยารักษาโรคอัลไซเมอร์ระยะเริ่มต้นถึงปานกลาง เพื่อเพิ่มระดับอะเซทิลโคลีนในสมอง **ฮิวเปอร์ซีน เอ (Huperzine A)** เป็นสารยับยั้งเอนไซม์ AChE ที่มีประสิทธิภาพ ช่วยเพิ่มระดับสารสื่อประสาทในสมองที่เกี่ยวข้องกับความจำและการเรียนรู้ และ **โคลชิซิน (Colchicine)** เป็นสารอัลคาลอยด์ที่มีคุณสมบัติในการป้องกันการสะสมของโปรตีน Amyloid-beta ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในโรคอัลไซเมอร์ (Zhang et al., 2022)

สารประกอบฟีนอลิก เป็นกลุ่มสารพฤกษเคมีที่พบได้ในพืชหลายชนิด ซึ่งมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ จึงส่งผลดีต่อการป้องกันหรือชะลอการเสื่อมของระบบประสาท โดยสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE ทำให้ระดับอะเซทิลโคลีนในสมองสูงขึ้น ส่งผลดีต่อการเรียนรู้และความจำ โดยเฉพาะในผู้ที่มีภาวะสมองเสื่อม เช่น โรคอัลไซเมอร์ เป็นต้น ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ได้แก่ กรดแกลลิก (Gallic acid) เควอซีติน (Quercetin) รุทีน (Rutin) เอพิกาทะชิน (Epicatechin) และ กรดคาเฟอิก (Caffeic acid)

จากการทบทวนเอกสาร สามารถพบสารสำคัญได้ในสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั้ง 45 ชนิดที่ทำการวิจัย ดังนี้คือ ผักโขมหนาม มีสารเบทาอีน (Betaine) มะขูด มีสารแมงจีเฟอริน (Mangiferin) ซึ่งเป็นอัลคาลอยด์ชนิดหนึ่งที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบ มะม่วงหิมพานต์ มีสาร Anacardic acid มะปริง มีสารฟลาโวนอยด์และสารที่เป็นกลุ่มฟีนอล อ้อดิบ (คูณ) มีสาร Oxalic acid ที่เป็นพิษ เล็บครุฑกระจก มีสารกลุ่มซาโปนิน (Saponins) และฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Polysciasaponin และ Polysciasine จิก มีสาร Saponins เพกา มีสาร Oroxylin A สนทะเล มีสารฟลาโวนอยด์ และ แทนนิน ที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ผักเสี้ยนป่า มีสาร Glucosinolates หูกวาง มีสารแทนนิน และ Saponins ขมิ้นชัน มีสารอัลคาลอยด์ LSA (Lysergic Acid Amide) ส้านแดง มีสาร Triterpenoids ไม้เท้ายายม่อม มีสาร Sterols และ Glycosides ทำมั่ง มีสาร อัลคาลอยด์ Lauric acid และฟีนอลิก ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและช่วยปรับสมดุลในระบบประสาทกระโดนบก มีสาร Saponins แสลงใจ มีสาร Strychnine และ Brucine โครงเครง มีสารแทนนิน และ Saponins เนียง มีสารฟลาโวนอยด์ และ สารประกอบฟีนอลิก ฉิ่ง-มะเตี๋ย มีสาร Triterpenes จำปาตะ มีสาร Morin และ สารฟลาโวนอยด์ มะรุม มีสาร Moringine และ Benzyl isothiocyanate ตะขบนก มีสารแทนนิน และ สารฟลาโวนอยด์ บัวหลวง มีสาร Nuciferine และ Roemerine พระขรรค์ไชยศรี (ฝนแสนห่า) มีสารฟลาโวนอยด์ ปรีศนา มีสาร Iridoid glycosides หมากหมก มีสารอัลคาลอยด์ มะเฟือง มีสาร Oxalic acid และ แทนนิน เต่าร้าง มีสาร Saponins กะทกรก มีสาร Harman alkaloids กรดน้ำ มีสาร Dulcinone ตาเป็ดตาไก่ มีสาร

Triterpenoid saponins ลำเพ็ง มีสาร Saponins ญ้าคา มีสาร Saponins กาแฟ มีสาร Caffeine และ Chlorogenic acid ดอนย่าแดง มีสารฟลาโวนอยด์ และ Saponins หมุย มีสารฟลาโวนอยด์ กำซา (มะหาด) มีสาร Alkaloids ลำไย (*Dimocarpus longan*) มีสารแทนนิน และสารฟลาโวนอยด์ ละมุด มีสารแทนนิน ปลาไหลเผือก มีสาร Eurycomanone มะเขือพวง มีสาร Solasonine เทียนทอง มีสาร Saponins และ แทนนิน ปุด มีสาร ฟลาโวนอยด์ และ ขมิ้นขาว มีสาร Curcumin (May et al., 2009; Rahman et al., 2021; Arias-Sánchez et al., 2023; Goyal et al., 2024)

ทั้งนี้ สารสำคัญในพืชสมุนไพรบางชนิดอาจออกฤทธิ์เสริมกันหรือต้านกัน จึงควรทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมทางเภสัชวิทยา เพื่อหาความเป็นไปได้ในการใช้พืชสมุนไพรดังกล่าวเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมหรือยารักษาโรคที่มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อไปในอนาคต อย่างไรก็ตาม การใช้พืชสมุนไพรควรพิจารณาให้ถี่ถ้วน และศึกษาเพิ่มเติมอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้มั่นใจในความปลอดภัยและประสิทธิภาพในการใช้งานทางการแพทย์

### ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

#### 1. พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือตำรับยา

จากผลการวิจัย ควรนำสารสกัดจากมะมุด (*Mangifera foetida* Lour.) และ ทำม้ง (*Litsea elliptica* Boerl.) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE และต้านอนุมูลอิสระที่โดดเด่นมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือตำรับยา เพื่อป้องกันและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอัลไซเมอร์

#### 2. พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพและความงาม

เนื่องจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบทำม้งมีค่า  $EC_{50}$  ต่ำมาก จึงเหมาะสำหรับนำไปใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลผิวพรรณ เช่น ครีมบำรุงผิว หรือผลิตภัณฑ์ชะลอวัยที่ช่วยป้องกันการเกิดริ้วรอยจากอนุมูลอิสระ เป็นต้น

#### 3. ส่งเสริมการผลิตและใช้ประโยชน์จากสมุนไพรท้องถิ่น

การนำผลการวิจัยไปส่งเสริมการปลูกและการผลิตสมุนไพรที่มีศักยภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จะช่วยสร้างรายได้ให้กับชุมชนในภาคใต้ของประเทศไทย โดยเฉพาะมะมุดและทำม้ง ซึ่งเป็นสมุนไพรที่มีผลดีต่อสุขภาพ จึงเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีคุณค่าในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร

#### 4. การนำเสนอข้อมูลสู่ผู้บริโภคและผู้ประกอบการ

ควรนำเสนอผลการวิจัยในรูปแบบที่เข้าใจง่ายต่อผู้บริโภคทั่วไปและผู้ประกอบการในอุตสาหกรรมสมุนไพรและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เพื่อเพิ่มความตระหนักรู้เกี่ยวกับประโยชน์ของสมุนไพรท้องถิ่นภาคใต้ที่สามารถช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคอัลไซเมอร์ได้

#### 5. สนับสนุนการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์โดยภาครัฐและเอกชน

จัดทำฐานข้อมูลผลการวิจัยเพื่อดึงดูดการลงทุนจากหน่วยงานภาครัฐและเอกชนในการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ และการขยายตลาดสมุนไพรท้องถิ่นไทยให้เป็นที่รู้จักในระดับสากล

### ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

1. ควรศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในกลุ่มของพืชสมุนไพรที่พบการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE อยู่ในระดับปานกลาง แต่มีค่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง เพื่อระบุสารสำคัญออกฤทธิ์ ปรับปรุงวิธีการสกัด และสำรวจผลการทำงานร่วมกันเมื่อผสมกับสารสกัดจากพืชหรือสารประกอบอื่น ๆ

2. ควรขยายขอบเขตการวิจัยไปยังตัวทำละลายอื่น ๆ เช่น เมทานอล น้ำ หรือ เอทิลอะซีเตท เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างในการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร ซึ่งอาจส่งผลต่อฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3. ควรศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับโมเลกุล เช่น การศึกษาการยับยั้งเอนไซม์แบบใด หรือการเกิดปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระอย่างไร จะช่วยให้เข้าใจกลไกการทำงานของสมุนไพรได้ลึกยิ่งขึ้น

4. ควรต่อยอดงานวิจัยในเชิงเภสัชกรรม โดยวิจัยเพิ่มเติมในระดับก่อนการทดสอบในมนุษย์ (Pre-clinical studies) เช่น การทดสอบและประเมินความเป็นพิษของสารสกัดจากสมุนไพรทั้งในระดับเซลล์ และในสัตว์ทดลอง การทดสอบประสิทธิภาพในสัตว์ทดลอง จะช่วยสร้างหลักฐานสนับสนุนช่วยยืนยันความปลอดภัยของสารสกัดจากสมุนไพรไปสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรและยาชนิดใหม่สำหรับรักษาหรือป้องกันโรคอัลไซเมอร์อย่างเป็นรูปธรรม

5. ควรทดลองศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งในสภาวะจำลองในร่างกาย (*In vivo*) และในสภาวะหลอดทดลอง (*In vitro*) ในงานวิจัยครั้งถัดไป โดยควรขยายการศึกษาไปสู่การทดลองในสัตว์หรือมนุษย์ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในสิ่งมีชีวิตจริง

6. ควรสำรวจและศึกษาพืชสมุนไพรชนิดอื่นในท้องถิ่นที่นอกเหนือจากสมุนไพร 45 ชนิดที่ศึกษาในครั้งนี้ โดยควรพิจารณาสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ที่ยังไม่เคยถูกศึกษา เพื่อขยายโอกาสในการค้นพบสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านโรคอัลไซเมอร์ได้ดียิ่งขึ้น

7. ควรพัฒนาเทคโนโลยีการสกัดและการเตรียมสารสกัด โดยศึกษาวิธีการสกัดที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพและความบริสุทธิ์ของสารสำคัญ รวมถึงการศึกษาวิธีการเตรียมสารสกัดที่สามารถคงคุณสมบัติทางชีวภาพได้นานในกระบวนการผลิต

8. ควรสร้างมาตรฐานคุณภาพสำหรับสารสกัดสมุนไพร โดยกำหนดมาตรฐานการสกัดและควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากมะขุมและตำมั่ง เพื่อให้มั่นใจว่าสารสกัดที่ได้มีคุณภาพสม่ำเสมอและปลอดภัย ซึ่งเป็นก้าวสำคัญสำหรับการนำไปผลิตเชิงพาณิชย์

9. ควรศึกษาผลกระทบทางเศรษฐกิจและสังคมจากการนำมะขุมและตำมั่งมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร รวมถึงศึกษาความเป็นไปได้ทางการตลาด

## บรรณานุกรม

### บรรณานุกรมภาษาไทย

- กลุ่มเสริมสร้างและพัฒนาศักยภาพเครือข่าย กองส่งเสริมศักยภาพผู้สูงอายุ. (2564). *สังคมผู้สูงอายุในปัจจุบันและเศรษฐกิจในประเทศไทย*. <https://dop.go.th/th/know/15/926>
- กองผลิตภัณฑ์สมุนไพร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2562). *พระราชบัญญัติผลิตภัณฑ์สมุนไพร พ.ศ. 2562*. สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึกในพระบรมราชูปถัมภ์. <https://www.fda.moph.go.th > Law01-Herbal-Act-01>
- เชชมชัย เสือวรรณศรี, <http://www.thaiclinic.com /Alzheimer.html>, 8 June 2000 (ออนไลน์) สืบค้นวันที่ 5 พฤษภาคม 2559.
- คงเดช สวาสดีพันธ์, ดามรัศเมน สุรางกูร, อนุชิต ภาณุมาสวิวัฒน์ และภรณ์พร สำอางค์. (2563). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรสของสารสกัดและส่วนสกัดย่อยจากใบทองแตง. *PSRU Journal of Science and Technology* 5(1): 107-122.
- จันทร์ จันทรารมย์. (2563). *การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรส จากส่วนเหนือดินของพืชบอนเต่า*. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- ชุติมา ลิ้มมัทวาทิธี. (2548). การรักษาโรคอัลไซเมอร์. *วารสารไทยไกลสุขภาพ* 29-46.
- ธนาภรณ์ คำสุด. (2562). *การศึกษาพืชสมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐานที่มีฤทธิ์รักษาโรคในสังคมผู้สูงอายุ*. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ทุนวิจัยจากเงินรายได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561.
- นันทิกา ทวิชาชาติ. (2557). *ลำดับแบบการป้องกันความเสี่ยงในการเกิดโรคสมองเสื่อมอัลไซเมอร์*. (พิมพ์ครั้งที่ 2). มูลนิธิอัลไซเมอร์แห่งประเทศไทยและศูนย์ความเป็นเลิศด้านวิทยาศาสตร์ (องค์การมหาชน) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. พิมพ์ครั้งที่ 2. 1-16.
- บริษัท ดอกเตอร์ รักษา จำกัด. (2564). *โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer)*. <https://www.doctorraksa.com/th-TH/blog/alzheimer.html>
- ปศุณา บริพันธ์ทวินันท์ และอังคณา โควีระวงศ์. (2551). *การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรส และด้านเชื้อแบคทีเรียของลำต้นไม้หอมอินเดีย (Santalum album Linn.)*. โครงการพิเศษ หลักสูตรเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ปาจริย์ ไทยอ่อน และอัญชิรา นิพัทธ์พันธุ์. (2560). *การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและด้านการทำงานของเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรสของสารสกัดใบกฤษณาในหลอดทดลอง*. โครงการพิเศษ หลักสูตรเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ปานบตี เอกะจัมปะกะ และ นิธิศ วัฒนมะโน. (2552). รายงานสถานการณ์สภาวะสุขภาพและพฤติกรรมสุขภาพผู้สูงอายุไทย. *สถานการณ์สุขภาพไทย*. 4: 1-32.
- ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์ และนุตติยา วีระวัชรชัย. (2557). *สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซีติลโคลีนเอสเตอเรส และต้านอนุมูลอิสระจากข้าวพุด*. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. โครงการวิจัยประเภทได้รับงบจากสำนักงานงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553-2555.

- โรงพยาบาลบำรุงราษฎร์. (2564). อัลไซเมอร์. <https://www.bumrungrad.com/th/conditions/alzheimer>
- วรพจน์ หริตกุล, วาสนา ถาวร และปาริชาติ สืบศักดิ์วงศ์. (2559). สารเซสควิเทอร์พีนอยด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส จากเหง้าของว่านนางคำ. *SDU Research Journal of Sciences and Technology* 9 (3): 51-61.
- วิชุดา กล้าเวช, ฮายาตี เจ๊ะตาเห, ศิญาพร เจ้ยทองศรี และปวีณา ดิกิจ. (2556). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจากสารสกัดผักพื้นบ้านในจังหวัดพัทลุง. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 5. *วารสารวิชาการและวิจัย มทร. พระนคร* ฉบับพิเศษ 331-336.
- ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม. (ม.ป.ป.) *หลักการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร*. [www3.rdi.ku.ac.th/cv/knowledge/2563/Herbal\\_extract.pdf](http://www3.rdi.ku.ac.th/cv/knowledge/2563/Herbal_extract.pdf)
- สำนักสารนิเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. (2562, 20 กันยายน). หมอดี ห่วงสูงวัยสมองฝ่อ เชิญชวนร่วมกิจกรรม “ออกกำลังกายสมอง” ห่างไกลโรคอัลไซเมอร์. *ข่าวในรัฐ สธ.* <https://pr.moph.go.th/?url=pr/detail/2/02/132212>
- สุพัทธ์ หลังยาหน่าย, คันธมาทน์ กาญจนภูมิ, เยาวลักษณ์ เตียนวน และจินดาพร ฐิริพัฒนางษ์. (2558). การศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสจากพืชตระกูลขิงโค. *งานประชุมวิชาการระดับชาติ ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลาครั้งที่ 3*. วันที่ 28-29 พฤษภาคม 2558. (ได้รับเป็นบทความวิจัยดีเด่น สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)
- สุพัทธ์ หลังยาหน่าย, คันธมาทน์ กาญจนภูมิ, เยาวลักษณ์ เตียนวน และจินดาพร ฐิริพัฒนางษ์. (2559). การศึกษาพืชสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสในมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา. *การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาครั้งที่ 6 การศึกษาและวัฒนธรรมเพื่อการพัฒนาท้องถิ่น*. วันที่ 15-16 สิงหาคม 2559. มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา, จังหวัดสงขลา.
- สุพัทธ์ หลังยาหน่าย, ประภาพร จันทร์เอียด และจินดาพร ฐิริพัฒนางษ์. (2560). ฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสและต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรไทยบางชนิดในวงศ์ Asteraceae และ Cucurbitaceae. *วารสารวิทยาศาสตร์ มศว.* 33: 279-290.
- สุพัทธ์ หลังยาหน่าย, ฟาชัน สาเส้น, ประภาพร จันทร์เอียด และนันทพร ศรีนิม. (2561). ฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากตำรับยาหอมนวโกศ. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. กองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561.
- แสงสุรีย์ ทศนพูนชัย. (2007). สมองเสื่อม...โรคภัยยุคใหม่คุกคามชีวิตผู้ป่วยและผู้ดูแล. *Quality of Life*. 14 (122): 115-120.
- อนันต์ อธิพรชัย, วรางคณา จุ่งลก และสุวรรณา เสมศรี. (2562). *การศึกษาทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคสสำหรับรักษาโรคอัลไซเมอร์*. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561.
- อุมานนท์ พวงทอง. (2556). อัลไซเมอร์โรคใกล้ตัวกับคนสูงวัย. *พลังใจดีเริ่มที่มนารมย์*. 7(19): 6-7.

## บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ

- Ahmad, N. (2012). Flavonoids and Phenolic Compounds in *Sesbania grandiflora*. *Phytochemistry Reviews* 11(3): 459-467.
- Ahmed, S., & Ahmed, F. (2021). Flavonoid content in *Tamarindus indica* and *Sesbania grandiflora*: A comparative study. *Journal of Plant Sciences* 15(3): 123-130.
- Alzheimer's Association. (2016). Alzheimer's Association Report. Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's & Dementia* 12(4): 1-80.
- Arias-Sánchez, R. A., Torner, L., & Fenton Navarro, B. (2023). Polyphenols and Neurodegenerative Diseases: Potential Effects and Mechanisms of Neuroprotection. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(14), 5415. <https://doi.org/10.3390/molecules28145415>
- de las Cuevas, N., Munoz, U., Bartolome, F., Esteras, N., Alquezar, C. & Martin-Requero, A. (2010). Cell cycle and Alzheimer's disease: studies in non-neuronal cells. *Journal of Applied Biomedicine* 8: 121-130.
- Duthey. (2013). Priority Medicines for Europe and the World "A Public Health Approach to Innovation" Update on 2004 Background Paper, BP 6.11 Alzheimer Disease.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. & Featherstone, R.M.. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7: 88-95.
- Goh, S. H., & Yap, W. H. (2011). Neuroprotective effects of *Clinacanthus nutans* and its Phenolic compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(3), 845-852.
- Goyal, R., Mittal, P., Gautam, R.K. et al. (2024) Natural products in the management of neurodegenerative diseases. *Nutrition & Metabolism* (Lond) 21: 26. <https://doi.org/10.1186/s12986-024-00800-4>
- Greenblatt, H.M., Kryger, G., Lewis, T., Silman, I., & Sussman, J.L. (1999). Structure of acetylcholinesterase complexed with (-)-galanthamine at 2.3 Å resolution. *FEBS Letters* 463: 321-326.
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55(6): 481-504.
- Ho, R., Ortiz, D., & Shea, T. (2001). Amyloid-beta promotes calcium influx and neurodegeneration via stimulation of voltage-sensitive calcium channels rather than NMDA channels in cultured neurons. *Journal of Alzheimer's Disease* 3(5): 479-483.
- Howes, M. J. R., & Perry, E. (2011). The role of phytochemicals in the prevention and treatment of dementia. *Journal of Pharmacology*, 36(6): 823-841.
- Ingkaninan K, Temkitthawon P, Chuenchom K, Yuyaem T & Thongnoi W. (2003). Screening for Acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic Remedies. *Ethnopharmacology*. 89: 261–264.

- Kim, H. K., & Jeong, T. S. (2011). Isoflavones in Glycine max : Their role in disease prevention. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2197-2208.
- Klimova, B., & Kuca, K. 2015 . Alzheimer's disease: Potential preventive, non-invasive, intervention strategies in lowering the risk of cognitive decline - A review study. *Journal of Applied Biomedicine*. 13: 257-261.
- Kumar, A., Singh, A., & Ekavali. (2015). A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacological Reports*. 67(2): 195-203.
- Langyanai, S. Chaniad, P. & Puripattanavong, J. (2017). Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidant Properties of Thai Vegetables. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences* 6 (2): 67-72.
- Lau, L.F. & Broadney, M.A. (2007). Therapeutic approaches for the treatment of Alzheimer's disease: An overview. In: Lau, L.F., Brodney, M.A. (eds) Alzheimer's Disease. *Topics in Medicinal Chemistry*, vol 2: 1-24. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/7355\\_2007\\_017](https://doi.org/10.1007/7355_2007_017)
- Lui, J.S., Zhu, Y.L., Yu, C.M, Zhou, Y.Z., Han, Y.Y., Wu, F.W., & Qi, B.F. (1986). The structure of huperzine A and B, two new alkaloids exhibiting marked anticholinesterase activity. *Canadian Journal of Chemistry* 64: 837-839.
- Massieu, L., Moran, J., & Christen, Y. (2004). Effects of Ginkgo biloba (EGb 761) on staurosporine-induced neuronal death and caspase activity in cortical cultured neurons. *Brain Research* 1002: 76-85.
- May, B. H., Lit, M., Xue, C. C., Yang, A. W., Zhang, A. L., et al. (2009). Herbal medicine for dementia: a systematic review. *Phytotherapy research* 23(4): 447-459. <https://doi.org/10.1002/ptr.2656>
- Orhan, I. E., & Şenol, F. S. (2011). Acetylcholinesterase inhibitory effects of the plants. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 15(9), 957-973.
- Pandey, A., & Kumar, S. (2013). Catharanthus roseus: A reservoir of medicinal properties. *Journal of Medicinal Plants Research* 7(30): 2238-2247.
- Prakash, D., & Gupta, C. (2014). Role of Flavonoids in Plants and their Applications in Health Care. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 7(9), 1210-1215.
- Rahman, M.H., Bajgai, J., Fadrique, A., Sharma, S., Trinh, T.T., et al. (2021). Therapeutic Potential of Natural Products in Treating Neurodegenerative Disorders and Their Future Prospects and Challenges. *Molecules* 26 (17): 5327. doi:10.3390/molecules26175327. PMID: 34500759; PMCID: PMC8433718.
- Sekiwa, Y., Kubota, K., & Kobayashi, A. (2000). Isolation of novel glucosides related to gingerdiol from ginger and their antioxidative activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 373-377.
- Soleas, G.J., Diamandis, E.P., & Goldberg, D.M. (1997). Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? *Clinical Biochemistry* 302: 91-113.

- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines* 5 (3): 93. <https://doi.org/10.3390/medicines5030093>
- Vinutha, B., Prashanth, D., Salma, K., Sreeja, S.L., Pratiti, D., Padmaja, R., et al. (2007). Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Ethnopharmacol.* 109(2): 359-363.
- Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T. & Sato, T. (1994). Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin.* 42(8): 1663-1665.
- Zhang, F. S., He, Q. Z., Qin, C. H., Little, P. J., Weng, J. P., & Xu, S. W. (2022). Therapeutic potential of colchicine in cardiovascular medicine: a pharmacological review. *Acta pharmacologica Sinica* 43 (9): 2173–2190. <https://doi.org/10.1038/s41401-021-00835-w>





## ภาคผนวก ก

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

# Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities of the Southern traditional Thai medicinal plant extracts for developing to be the herbal product decreasing the risk of Alzheimer's disease

Kantamaht KANCHANAPOOM<sup>1\*</sup>, Supat LANGYANAI<sup>12</sup>, Prapaporn CHANIAD<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University, Songkhla 90110, Thailand

<sup>2</sup> Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai 50300, Thailand

<sup>3</sup> School of Medicine, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80160, Thailand

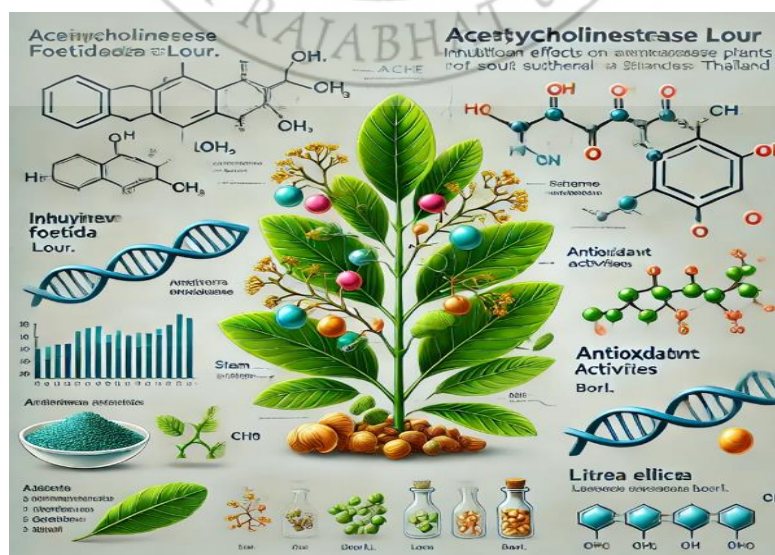
(\*Corresponding author's e-mail: kantamaht.ka@skru.ac.th)

Received: xxx, Revised: xxx, Accepted: xxx, Published: xxx

## Highlights

- Investigated the acetylcholinesterase (AChE) inhibitory and antioxidant activities of 45 species of local Southern Thai medicinal plants.
- *Mangifera foetida* Lour. stem showed the highest AChE inhibition ( $94.95\% \pm 1.97$ ), suggesting strong potential for Alzheimer's disease prevention.
- *Litsea elliptica* Boerl. leaf exhibited the strongest antioxidant activity ( $EC_{50} = 0.91 \mu\text{g/mL}$ ), highlighting its efficacy in combating oxidative stress.
- Identified key plant species for the development of herbal products to reduce Alzheimer's risk, using *Mangifera foetida* Lour. and *Litsea elliptica* Boerl. as primary ingredients.

## Graphical abstract



## Abstract

The objectives of this research are as follows: to study the inhibitory effects on acetylcholinesterase enzyme (AChE) and the antioxidant activities of local medicinal plants from Southern Thailand, with the aim of developing a prototype herbal product to reduce the risk of Alzheimer's disease in consumers. This study examined the AChE inhibitory activity and antioxidant activity of 45 species of local Southern Thai herbs, using ethanol as a solvent to extract key compounds from 66 plant samples. Galantamine was used as a reference standard for studying AChE inhibitory activity. Among the herbs tested, the stem of *Mangifera foetida* Lour. from the Anacardiaceae family showed the highest AChE inhibitory activity at  $94.95\% \pm 1.97$ , followed by the wood of *Casuarina equisetifolia* J.R. & C. Forst. from the Casuarinaceae family with an inhibition rate of  $82.17\% \pm 1.05$ . On the other hand, the petiole of *Colocasia gigantea* Hook. F., from the Araceae family, showed the lowest inhibition at  $2.55\% \pm 2.81$ . For the antioxidant activity test using the DPPH method, the  $EC_{50}$  values ranged from 0.91 to 104.55  $\mu\text{g/mL}$ . The herb with the highest antioxidant activity was the leaf of *Litsea elliptica* Boerl. from the Lauraceae family, with an  $EC_{50}$  of 0.91  $\mu\text{g/mL}$ . In contrast, the wood of *Strychnos nux-vomica* L., from the Loganiaceae family, exhibited the lowest antioxidant activity, with an  $EC_{50}$  of 104.55  $\mu\text{g/mL}$ . Ascorbic acid and Quercetin were used as reference standards. Therefore, to develop herbal products aimed at reducing the risk of Alzheimer's disease, the stem of *Mangifera foetida* Lour. and the leaf of *Litsea elliptica* Boerl. should be key components in extracting effective AChE inhibitory and antioxidant compounds.

**Keywords:** Acetylcholinesterase inhibitory activity, Antioxidant activity, Local Southern herbal plants, Alzheimer's disease, DPPH method,  $EC_{50}$  values, Thai medicinal plant extracts

## Introduction

Since 2021, Thailand has officially transitioned into an aged society, with predictions indicating that by 2031, it will reach a super-aged society status, where approximately 25% of the population will be aged 65 and older. This demographic shift raises concerns about age-related conditions, particularly dementia [1]. Statistics indicate that about 10% of individuals aged 65 and above will develop dementia, a figure that increases to 20% for those aged 80 and older, and up to 30-50% for individuals over 90 case (AD) is the most prevalent form of dementia among the elderly in Thailand, with a significant increase in incidence worldwide—one new case every 68 seconds [2]. The disease factors are oxidative stress, lipid peroxidation, inflammatory processes and deficiencies in vital nutrients like vitamin B12 and folate [3]. Symptoms of Alzheimer's include difficulties in communication, cognitive decline and emotional instability. Progression typically leads to a complete loss of memory, with an average life expectancy of 8-10 years post-diagnosis [4].

Currently, treatment options for Alzheimer are both pharmacological and non-pharmacological approaches. Non-drug interventions focus on lifestyle changes such as regular exercise, social activities, and adequate hydration to mitigate cognitive decline [5]. Pharmacological treatments primarily involve medical slow disease progression, such as acetylcholinesterase inhibitors (e.g., Donepezil, Rivastigmine) and NMDA receptor antagonists (e.g., Memantine), though these do not provide a cure and often have side effects [6]. Given the limitations of current treatments, research into antioxidants and traditional herbs with potential neuroprotective effects is crucial. Many local plants in Southern Thailand, known for their rich biodiversity and traditional medicinal use, are being studied for their ability to inhibit acetylcholinesterase and combat oxidative stress [7, 8]. This research could pave the way for the development of herbal suppling the risk of Alzheimer's disease, thereby addressing a growing public health concern in Thailand.

## Materials and methods

- **Selection and Collection:** 45 local herbs from Southern Thailand were selected for this study. Each herb was examined for its identification and characteristics (Plant Identification). Depending on the plant

type, different parts were used, such as stems, leaves, flowers, and roots. This process resulted in 66 plant samples, as shown in Table 1.

- *Extraction Process:* The herbs were washed and cut into small pieces for cleaning. Then, the herb pieces were dried in an oven at 55°C for 3 days and ground into smaller particles using a grinder. Later, the herb powder was then subjected to maceration using 95% methanol for 2 rounds—one for 3 days and the other for 7 days. This allowed for better penetration of the solvent into the herbal tissue to extract the active components. The solvent was finally evaporated to obtain the final crude extract.

- *Testing for AChE Inhibition* [9]: AChE Inhibition Testing via Microplate Reader using Ellman's colorimetric method, the reaction between the substrate (ACh) and the enzyme AChE results in the production of Thiocoline, which reacts with DTNB to produce a yellow compound measurable at 405 nm. The AChE enzyme used was sourced from an electric eel (type VI-S lyophilized powder) and prepared into a stock solution of 1130 U/mL in buffer, stored at -20°C. Samples were prepared by dissolving the crude extract in ethanol and buffer. The testing was performed using a 96-well microplate reader, and the results were analyzed based on the change in absorbance over time.

- *Testing for antioxidant Activity:* Test using DPPH [10]. DPPH was dissolved in ethanol to prepare a  $6 \times 10^{-5}$  M solution. The sample solutions and standards (L-Ascorbic acid) were prepared at various concentrations. For DPPH Assay, the samples were tested for their ability to scavenge DPPH free radicals by mixing the sample with DPPH solution and incubating it for 30 minutes. The absorbance was then measured at 517 nm, and the antioxidant activity was determined based on the reduction of DPPH absorbance. Each sample was tested in triplicate, and the results were compared to control samples of L-Ascorbic acid and Quercetin.

## Results and discussion

The potential evaluation of Southern Thailand local herbs in inhibiting the AChE enzyme, relevant to Alzheimer's disease treatment, and their antioxidant properties, which have broad applications in health supplements were studied. A study was conducted to test the AChE inhibitory activity and antioxidant properties of 45 species of medicinal plants from 39 families in Southern Thailand.

For Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities, crude extracts were prepared from various parts of these plants, including stems, leaves, flowers, roots, branches, wood, pods, flower stalks and rhizomes, resulting in 66 samples (as shown in Table 1). These extracts were tested for AChE inhibition (% AChE inhibition) and antioxidant activity ( $EC_{50}$ ). In this research, the AChE inhibitory activity was measured using a microplate reader, with Galantamine as the positive control, yielding  $96.68 \pm 0.78\%$  inhibition. The antioxidant activity was measured by  $EC_{50}$  values, with Ascorbic acid and Quercetin used as positive controls, showing  $EC_{50}$  values of 1.58 and 1.64, respectively. The results are also presented in Table 1.

For the inhibiting AChE enzyme evaluation, *Mangifera foetida* Lour., member of Anacardiaceae family, showed the highest AChE inhibition with  $94.95 \pm 1.97\%$  in the stem extract. In addition, *Casuarina equisetifolia* J. R. & C. Forst which is member of Casuarinaceae showed  $82.17 \pm 1.05\%$  AChE inhibition in its wood extract. In contrast, *Colocasia gigantea* Hook. f. in the Araceae family exhibited the lowest AChE inhibition, with only  $2.55 \pm 2.81\%$  in its petiole extract. These results showed that both *Mangifera foetida* Lour. and *Casuarina equisetifolia* J. R. & C. Forst show strong potential for therapeutic applications targeting Alzheimer's disease due to its high inhibitory activity. Nevertheless, medicinal plants were classified into 4 groups based on their AChE inhibitory effects: **Extremely high inhibition (>70%)** has 2 samples. **High inhibition (50-70%)** has 14 samples, including species like *Mangifera foetida* (leaves) and *Anacardium occidentale*. **Moderate inhibition (30-50%)** has 23 samples and **Low inhibition (<30%)** has 27 samples, such as *Bouea microphylla* and *Colocasia gigantea*.

**Table 1:** Results of AChE inhibition activity (% inhibition) and antioxidant activity (EC<sub>50</sub>) tests from various parts of 45 species of local medicinal plants from Southern Thailand, representing 37 families.

| Local name (Thai)             | Local name (English)              | Scientific name                                  | Family           | Plant part               | % AChE inhibition                                               | EC <sub>50</sub>                    |
|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------|------------------|--------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 1. มะมุด                      | Wild mango                        | <i>Mangifera foetida</i> Lour.                   | Anacardiaceae    | Stem, Leaf               | 94.95 ± 1.97,<br>51.38 ± 3.48                                   | 1.85,<br>11.96                      |
| 2. ผักโขมหนาม                 | Spiny amaranth                    | <i>Amaranthus spinosus</i> L.                    | Amaranthaceae    | Stem, Leaf, Flower, Root | 40.07 ± 1.08,<br>43.29 ± 1.83,<br>43.66 ± 1.58,<br>39.10 ± 3.47 | 40.16,<br>37.24,<br>28.23,<br>17.49 |
| 3. มะม่วงหิมพานต์             | Cashew nut                        | <i>Anacardium occidentale</i> L.                 | Anacardiaceae    | Leaf, Stem               | 54.51 ± 2.98,<br>43.31 ± 1.59                                   | 2.54,<br>3.07                       |
| 4. มะปริง                     | Marian plum                       | <i>Bouea microphylla</i> Merr.                   | Anacardiaceae    | Stem                     | 28.78 ± 2.22                                                    | 2.87                                |
| 5. อ้อดิบ (คุณ)               | Giant elephant ear                | <i>Colocasia gigantea</i> Hook. f.               | Araceae          | Petiole                  | 2.55 ± 2.81                                                     | 35.94                               |
| 6. เล็บครุฑกระจก              | Ming aralia                       | <i>Polyscias fruticosa</i> (L.) Harms            | Araliaceae       | Leaf                     | 20.18 ± 3.20                                                    | 48.63                               |
| 7. จิก                        | Freshwater mangrove               | <i>Barringtonia acutangula</i> Gaertn.           | Barringtoniaceae | Stem, Leaf               | 31.52 ± 4.66,<br>24.49 ± 1.22                                   | 3.65,<br>6.05                       |
| 8. เพกา                       | Broken bones tree                 | <i>Oroxylum indicum</i> (L.) Kurz                | Bignoniaceae     | Branch, Stem             | 38.81 ± 3.61,<br>58.66 ± 1.74                                   | 11.29,<br>11.29                     |
| 9. สันทะเล                    | Beach she-oak                     | <i>Casuarina equisetifolia</i> J. R. & C. Forst. | Casuarinaceae    | Wood                     | 82.17 ± 1.05                                                    | 1.85                                |
| 10. ผักเสี้ยนป่า              | Spider flower                     | <i>Cleome chelidonii</i> L. f.                   | Cleomaceae       | Stem                     | 30.24 ± 3.29                                                    | 11.34                               |
| 11. หูกวาง                    | Indian almond                     | <i>Terminalia catappa</i> L.                     | Combretaceae     | Stem                     | 58.31 ± 3.01                                                    | 2.40                                |
| 12. ขมิ้นฝรั่ง                | Moonflower                        | <i>Ipomoea alba</i> L.                           | Convolvulaceae   | Flower                   | 5.53 ± 6.68                                                     | 22.08                               |
| 13. ส้านแดง                   | Hooker's dillenia                 | <i>Dillenia hookeri</i> Pierre                   | Dilleniaceae     | Stem                     | 22.64 ± 1.30                                                    | 4.89                                |
| 14. ไม้เท้าขาม่อม             | Glorybower                        | <i>Clerodendrum petasites</i> S. Moore           | Lamiaceae        | Stem, Root, Leaf         | 24.80 ± 2.61,<br>26.72 ± 2.26,<br>43.83 ± 1.78                  | 22.80,<br>22.47,<br>21.68           |
| 15. หำม้ง                     | Medang tree                       | <i>Litsea elliptica</i> Boerl.                   | Lauraceae        | Leaf, Stem               | 8.26 ± 3.33,<br>55.04 ± 0.69                                    | 0.91,<br>1.89                       |
| 16. กระโดนบก                  | Wild guava                        | <i>Careya arborea</i> Roxb.                      | Lecythidaceae    | Flower, Stem             | 36.53 ± 2.63,<br>48.05 ± 1.23                                   | 2.08,<br>17.88                      |
| 17. แสลงใจ                    | Poison nut tree                   | <i>Strychnos nux-vomica</i> L.                   | Loganiaceae      | Wood                     | 37.25 ± 1.67                                                    | 104.55                              |
| 18. โครมเครง                  | Malabar melastome                 | <i>Melastoma malabathricum</i> L.                | Melastomataceae  | Stem                     | 57.27 ± 2.02                                                    | 3.58                                |
| 19. เนียง                     | Pithed bean                       | <i>Archidendron pauciflorum</i>                  | Mimosaceae       | Stem, Leaf               | 23.14 ± 2.68,<br>57.50 ± 2.78                                   | 2.50,<br>1.71                       |
| 20. ฝรั่ง - มะเดื่อ           | Fig tree                          | <i>Ficus botryocarpa</i> Miq.                    | Moraceae         | Stem                     | 32.51 ± 3.21                                                    | 6.91                                |
| 21. จำปาตะ                    | Chempedak                         | <i>Artocarpus integer</i> Merr.                  | Moraceae         | Stem                     | 19.14 ± 2.64                                                    | 19.38                               |
| 22. มะรุม                     | Drumstick tree                    | <i>Moringa oleifera</i> Lam.                     | Moringaceae      | Stem, Pod                | 51.80 ± 1.99,<br>38.16 ± 3.48                                   | 5.30,<br>23.41                      |
| 23. ตะขบถ                     | Jamaican cherry                   | <i>Muntingia calabura</i> L.                     | Muntingiaceae    | Stem                     | 32.02 ± 1.54                                                    | 3.32                                |
| 24. บัวหลวง                   | Sacred lotus                      | <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.                  | Nelumbonaceae    | Flower stalk             | 21.78 ± 1.94                                                    | 2.69                                |
| 25. พระขรรค์ไชยศรี (ฝนแสนห่า) | Sword of Chaisri (Rainstorm tree) | <i>Myxopyrum smilacifolium</i> Blume             | Oleaceae         | Stem, Leaf               | 30.85 ± 3.44,<br>8.18 ± 3.36                                    | 10.55,<br>19.23                     |
| 26. หมาทอมก                   | Rat-tail plant                    | <i>Lepionurus sylvestris</i> Bl.                 | Opiliaceae       | Leaf                     | 23.07 ± 2.21                                                    | 35.98                               |
| 27. มะเฟือง                   | Starfruit                         | <i>Averrhoa carambola</i> L.                     | Oxalidaceae      | Branch, Fruit            | 42.93 ± 3.83,<br>7.75 ± 3.61                                    | 37.24,<br>20.60                     |

| Local name (Thai) | Local name (English)       | Scientific name                                     | Family                    | Plant part      | % AChE inhibition          | EC <sub>50</sub> |
|-------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------|-----------------|----------------------------|------------------|
| 28. ปริศนา        | Unknown tree               | <i>Chionanthus ramiflorus</i> Roxb.                 | Oleaceae                  | Leaf            | 29.73 ± 3.44               | 39.96            |
| 29. เต้าร้าง      | Fishtail palm              | <i>Caryota mitis</i> Lour.                          | Palmae                    | Stem            | 12.63 ± 0.59               | 18.52            |
| 30. กะทกรก        | Stinking passionflower     | <i>Passiflora foetida</i> L.                        | Passifloraceae            | Stem, Leaf      | 45.54 ± 1.46, 55.78 ± 2.33 | 18.41, 31.39     |
| 31. กรดน้ำ        | Sweet broom                | <i>Scoparia dulcis</i> L.                           | Plantaginaceae            | Stem, Leaf      | 51.73 ± 3.54, 65.55 ± 2.23 | 4.97, 20.60      |
| 32. ตาเป็ดดาไก่   | Coralberry                 | <i>Ardisia crenata</i> Sims                         | Primulaceae (Myrsinaceae) | Branch          | 21.51 ± 3.61               | 32.11            |
| 33. ลำเพ็ง        | Fern-leaved climbing plant | <i>Stenochlaena palustris</i>                       | Pteridaceae               | Stem            | 19.07 ± 1.21               | 53.72            |
| 34. หญ้าคา        | Cogon grass                | <i>Imperata cylindrica</i> (L.) Raeusch             | Poaceae (Gramineae)       | Root, Leaf/Stem | 16.77 ± 1.76, 53.44 ± 0.82 | 27.92, 4.52      |
| 35. กาแฟ          | Coffee                     | <i>Coffea arabica</i> L.                            | Rubiaceae                 | Stem            | 14.19 ± 4.73               | 11.46            |
| 36. ดอนขำแดง      | Red Mussaenda              | <i>Mussaenda erythrophylla</i> Schum. & Thonn.      | Rubiaceae                 | -               | 22.67 ± 2.14               | 7.73             |
| 37. หมูข          | Cambodian wood             | <i>Clausena cambodiana</i> Guill.                   | Rutaceae                  | Stem            | 25.10 ± 3.54               | 7.20             |
| 38. กำขำ (มะหาด)  | Rubiginous soapberry       | <i>Lepisanthes rubiginosa</i> Leenh.                | Sapindaceae               | Stem            | 22.74 ± 1.43               | 23.19            |
| 39. ลำไย          | Longan                     | <i>Dimocarpus longan</i> Lour.                      | Sapindaceae               | Stem, Leaf      | 20.70 ± 1.57, 36.21 ± 0.30 | 5.38, 2.71       |
| 40. ละมุด         | Sapodilla                  | <i>Manilkara zapota</i> (L.) P. Royen               | Sapotaceae                | Stem, Leaf      | 31.90 ± 1.73, 66.79 ± 3.37 | 19.31, 2.20      |
| 41. ปลาไหลเผือก   | Tongkat Ali                | <i>Eurycoma longifolia</i> Jack                     | Simaroubaceae             | Stem            | 38.50 ± 3.87               | 25.89            |
| 42. มะเขือพวง     | Turkey berry               | <i>Solanum torvum</i> Sw.                           | Solanaceae                | Stem            | 19.62 ± 3.11               | 4.97             |
| 43. เทียนทอง      | Golden dewdrop             | <i>Duranta erecta</i> L.                            | Verbenaceae               | Stem, Leaf      | 38.56 ± 1.88, 54.36 ± 2.62 | 1.98, 1.75       |
| 44. ปลูด          | Torch ginger               | <i>Etlingera coccinea</i> (Blume) S. Sakai & Nagam. | Zingiberaceae             | Stem            | 30.42 ± 4.32               | 3.65             |
| 45. ขมิ้นขาว      | White turmeric             | <i>Curcuma manga</i> Val. & Zijp.                   | Zingiberaceae             | Rhizome         | 14.78 ± 1.89               | 11.58            |
| Positive control  | Galantamine                | -                                                   | -                         | -               | 96.68 ± 0.78               | -                |
| Positive control  | Ascorbic acid, Quercetin   | -                                                   | -                         | -               | -                          | 1.58, 1.64       |

For the study on antioxidant potential by DPPH method, the best antioxidant activity was found in the leaves of *Litsea elliptica* with an EC<sub>50</sub> value of 0.91 µg/mL, while the lowest was in the wood of *Strychnos nux-vomica* (104.55 µg/mL). Antioxidant capacity was classified into 4 groups as follows: **Extremely high activity** (EC<sub>50</sub> < 5 µg/mL) has 24 samples, including *Mangifera foetida* and *Casuarina equisetifolia*. **High activity** (5-20 µg/mL) has 19 samples. **Moderate activity** (20-50 µg/mL) has 21 samples. And **Low activity** (>50 µg/mL) has 2 samples. *Litsea elliptica* shows significant antioxidant activity, offering potential for preventing oxidative stress-related diseases like cancer and heart disease.

In addition, grouping based on both AChE inhibition and antioxidant activity could be analyzed for 4 categories. (1) **High AChE inhibition & strong antioxidant activity**: stem of *Mangifera foetida* (Wild mango) is known for its rich content of mangiferin, a xanthonoid with strong antioxidant properties. Its high AChE inhibition (94.95%, EC<sub>50</sub>=1.85) suggests that this chemotype may have a unique alkaloid or phenolic

profile contributing to its neuroprotective effects [11]. Moreover, another interesting sample is wood of *Casuarina equisetifolia* (Beach she-oak) which AChE inhibition was 82.17% and EC<sub>50</sub> value was 1.85 µg/mL. This plant species contains tannins, flavonoids and triterpenes which are responsible for both its antioxidant and AChE inhibitory properties, marking it as a potent chemotype with neuroprotective and anti-inflammatory potential [12]. Nevertheless, leaves of both *Duranta erecta* (Golden dewdrop) and *Litsea elliptica* (Medang tree) are also appropriated to utilize for the purpose of Alzheimer prevention. Of these, the AChE inhibition of Golden dewdrop and Medang tree leaves were 54.36% and 55.04% while the EC<sub>50</sub> valued for antioxidant activity were 1.75 and 0.91 µg/mL, respectively. Previous studies demonstrated that Golden dewdrop contains flavonoids such as quercetin and kaempferol, which contribute to its antioxidant and AChE inhibition activities, possibly making it a polyphenol-rich chemotype [13]. For Medang tree, a rich source of lignans and phenolic acids, known for their antioxidant and neuroprotective properties. Its chemotype may include unique compounds that strongly inhibit AChE [14].

**(2) High AChE inhibition & moderate antioxidant activity:** leaves of *Anacardium occidentale* (Cashew nut), *Scoparia dulcis* (Sweet broom) and *Passiflora foetida* (Stinking passionflower) were able to classify in this class with the percentage inhibition of 54.51, 65.55, 55.78 and the EC<sub>50</sub> of 2.54, 4.97 and 18.41 µg/mL, respectively. In addition, stem of *Oroxylum indicum* (Broken bones tree) has also high AChE inhibition in 58.66% and moderate antioxidant activity with an EC<sub>50</sub> of 11.29 µg/mL. It is found that Cashew nut contains anacardic acids, cardanols, and flavonoids that contribute to moderate antioxidant activity and high AChE inhibition. The chemotype of the leaf and stem may vary in the ratio of these active compounds [15]. Sweet broom is also rich in flavonoids, terpenoids, and phenolics, contributing to its moderate antioxidant activity and high AChE inhibition. This chemotype is notable for its potential cognitive-enhancing properties [16]. While Stinking passionflower contains flavonoids, alkaloids, and cyanogenic glycosides, with a chemotype focusing on high AChE inhibition but moderate antioxidant properties [17]. Moreover, Broken bones tree contains baicalein, oroxylin A, and other flavonoids which may act synergistically for AChE inhibition. The moderate antioxidant activity suggests a chemotype focused on neuroprotection [18].

**(3) Moderate AChE inhibition & strong antioxidant activity:** stem of 4 plant species those are *Bouea microphylla* (Marian plum), *Barringtonia acutangula* (Freshwater mangrove), *Archidendron pauciflorum* (Pithed bean) and *Moringa oleifera* (Drumstick tree) have moderate AChE inhibition in 28.78, 31.52, 23.14 and 51.80%, respectively. Nevertheless, they have the strong antioxidant activity shown as EC<sub>50</sub> value 2.87, 3.65, 2.50 and 5.30, respectively. Former evidence found that Marian plum is rich in xanthenes and flavonoids, contributing to both AChE inhibition and strong antioxidant activity, indicating a flavonoid-dominant chemotype [19, 20]. Freshwater mangrove contains saponins, triterpenoids, and flavonoids, which contribute to its antioxidant effects. The moderate AChE inhibition may stem from a secondary alkaloid-rich chemotype [21, 22]. Whereas Pithed bean is known for phenolic compounds and flavonoids, contributing to strong antioxidant activity. The moderate AChE inhibition suggests a secondary presence of neuroactive compounds [23, 24]. For the last one, Drumstick tree has a chemotype rich in glucosinolates, isothiocyanates, and flavonoids that support both antioxidant and moderate AChE inhibitory activity, making it a versatile medicinal plant [25].

**(4) Moderate AChE inhibition & moderate to low antioxidant activity:** Poison nut tree wood (*Strychnos nux-vomica*) and leaves of *Polyscias fruticosa* (Ming aralia), *Lepionurus sylvestris* (Rat-tail plant) and *Clerodendrum petasites* (Glorybower) are classified in this group with the percentage of AChE inhibition value 37.25, 20.18, 23.07 and 43.83, respectively. For their antioxidant activity, EC<sub>50</sub> value 104.55, 48.63, 35.98 and 21.68, respectively. From the previous study, Poison nut tree contains strychnine and brucine, alkaloids that are more neuroactive than antioxidant, accounting for moderate AChE inhibition and low antioxidant activity. This chemotype focuses on alkaloidal neurotoxins [26]. Ming aralia is rich in saponins and terpenoids, contributing to its moderate antioxidant and AChE inhibition activities. This chemotype appears to focus on saponin content for neuroprotection [27]. Rat-tail plant contains flavonoids and terpenes, with a chemotype that provides moderate AChE inhibition but lower antioxidant effects, possibly focusing on neuroactive flavonoids. [28]. For the last one, Glorybower contains diterpenes and phenolic acids,

contributing to its moderate AChE inhibition and low antioxidant activity. Its chemotype is characterized by neuroprotective terpenes [29].

This grouping highlights the plants that are of most interest for both activities, separating those with consistently high values from those where one activity is stronger than the other. This classification allows for better identification of plants with potential for developing treatments for Alzheimer's (due to AChE inhibition) and diseases related to oxidative stress.

## Conclusions

The AChE inhibition activity and antioxidant activity (measured as EC<sub>50</sub>) of various medicinal plants from Southern Thailand were evaluated. These plants, covering 45 species across 37 families, exhibited a wide range of inhibitory and antioxidant properties depending on their part and species. For AChE inhibitory activity, out of 66 plant extracts, the highest AChE inhibition was observed in the stem of *Mangifera foetida* (94.95 ± 1.97%) and the wood of *Casuarina equisetifolia* (82.17 ± 1.05%). On the other hand, the lowest AChE inhibition was recorded in the petioles of *Colocasia gigantea* (2.55 ± 2.81%).

This study highlights the potential of various southern Thai medicinal plants, particularly *Mangifera foetida* and *Casuarina equisetifolia*, for their AChE inhibitory and antioxidant activities. Plants with high AChE inhibition and strong antioxidant activity tend to have chemotypes rich in polyphenols, flavonoids, and phenolic acids e.g., *Mangifera foetida*, *Casuarina equisetifolia*. Those with high AChE inhibition and moderate antioxidant activity often possess alkaloids, saponins, or terpenoids, with selective neuroprotective properties e.g., *Oroxylum indicum*, *Scoparia dulcis*. Moderate AChE inhibition and strong antioxidant activity indicate chemotypes abundant in flavonoids and phenolic compounds e.g., *Bouea microphylla*, *Archidendron pauciflorum*. Plants with moderate AChE inhibition and low antioxidant activity typically have chemotypes centered around alkaloids and terpenoids e.g., *Strychnos nux-vomica*, *Polyscias fruticosa*. Each chemotype within these species plays a significant role in their medicinal properties, particularly in targeting neurodegenerative conditions and oxidative stress. These findings could be valuable for developing natural therapeutic agents for diseases related to AChE dysfunction, such as Alzheimer's disease. Furthermore, the antioxidant activities observed, especially in species like *Litsea elliptica* and *Duranta erecta*, indicate their potential in combating oxidative stress. These findings warrant further investigation into these plants' bioactive components for future pharmaceutical applications.

## Acknowledgements

This research project was successfully completed with the kind support of all those involved. I would like to extend my sincere gratitude to the Research Fund of Songkhla Rajabhat University for the 2022 fiscal year, specifically for the Mid-Career Researcher Development Grant, which provided the financial support necessary for this research. This funding enabled the project to progress and achieve its intended goals successfully. Lastly, I would like to thank all the organizations and individuals who contributed to the successful completion of this report.

## References

- [1] T Thongdee, P Udomsak and N Naewboonien. Aging and dementia in Thailand: A growing public health concern. *Journal of Aging and Health* 2023; 35(2), 245-260. doi:10.1177/08982643211056302.
- [2] C Chaiseri, K Boonmee, K and S Wongsawat. Prevalence and risk factors of dementia in the elderly population of Thailand: An epidemiological update. *Aging Clinical and Experimental Research* 2022; 34(3), 679-685. doi:10.1007/s40520-021-01967-4.
- [3] S K Sah, H S Kim and Y A Moon. Pathogenesis of Alzheimer's disease: Oxidative stress, lipid peroxidation, and inflammatory processes. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22(4), 2163. doi:10.3390/ijms22042163.

- [4] A Khan, M Ikram and J S Park. Neuroinflammatory and oxidative stress pathways in Alzheimer's disease: Mechanisms and therapeutic implications. *Journal of Neuroinflammation* 2022; 19(1), 74. doi:10.1186/s12974-022-02441-y.
- [5] C A Lane, J Hardy and J M Schott. Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology* 2022; 29(1), 1-10. doi:10.1111/ene.14597.
- [6] A E Budson and P R Solomon. New pharmacological treatments for Alzheimer's disease: *Current progress*. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions* 2021; 7(1), e12277. doi:10.1002/trc2.12277.
- [7] N Wongpakaran, T Wongpakaran and J Somboonwong. Thai traditional herbal medicine as a potential treatment for cognitive impairment in Alzheimer's disease. *Journal of Ethnopharmacology* 2023; 305, 115582. doi:10.1016/j.jep.2022.115582.
- [8] K Phromnoi, P Sornchan and N Waranuch. Neuroprotective effects of Thai medicinal plants with acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities. *BMC Complementary Medicine and Therapies* 2021; 21(1), 171. doi:10.1186/s12906-021-03347-8.
- [9] K Ingkaninan, P Temkitthawon, K Chuenchom, T Yuyaem and W Thongnoi. Screening for Acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic Remedies. *Ethnopharmacology* 2003; 89, 261–264.
- [10] K Yamasaki, K Yamasaki, A Hashimoto, Y Kokusenya, T Miyamoto and T Sato. Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1994; 42(8), 1663-1665.
- [11] N Shafaei, H Karimian, Z Mohamed and S Zainalabidin. A review on the medicinal properties and bioactive compounds of *Mangifera* species. *Journal of Herbal Medicine* 2020; 23, 100369. doi:10.1016/j.hermed.2020.100369.
- [12] Y Naidoo, Y H Dewir, K A Salim and A M El-Sayed. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Casuarina* species: A review. *South African Journal of Botany* 2020; 130, 104-113. doi:10.1016/j.sajb.2019.12.018.
- [13] J Rivera-Chávez, L Ibarra-Castro, R García-Macedo and F Hernández-Navarro. Antioxidant and antimicrobial activity of *Duranta erecta* leaf and flower extracts. *Molecules* 2021; 26(4), 1045. doi:10.3390/molecules26041045.
- [14] A Masek, E Chrzescijanska, B Grygierzec and M Zaborski. Antioxidant and AChE inhibition activities of *Litsea* species: Chemical constituents and *in vitro* assays. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 2019; 15, 100222. doi:10.1016/j.jarmap.2019.100222.
- [15] P H Pandya, M P Zaveri and P P Parekh. Therapeutic potential of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) in metabolic and neurodegenerative disorders. *Nutrients* 2022; 14(9), 1809. doi:10.3390/nu14091809.
- [16] C R Nunes, T de Albuquerque Lima, J G M da Costa and J L L Filho. Phytochemical profile and biological activities of *Scoparia dulcis* L. extracts. *Natural Products Research* 2022; 36(1), 1-9. doi:10.1080/14786419.2020.1748242.
- [17] P H F Pereira, A C X Oliveira, A G M Souza, M C B Santos and L A L Soares. Chemical profile, biological properties, and toxicology of *Passiflora foetida* L. *Food Chemistry* 2019; 277, 362-371. doi:10.1016/j.foodchem.2018.10.113.
- [18] N Singh, P Kumar and A Singh. *Oroxylum indicum* (L.) Kurz: A comprehensive review on its ethnobotany, phytochemistry, and pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology* 2020; 246, 112244. doi:10.1016/j.jep.2019.112244.
- [19] S Siddiqui, A Verma, S Mehrotra and A Dwivedi. Phytochemical and pharmacological potential of *Bouea microphylla*: A review. *Journal of Ethnopharmacology* 2021; 278, 114292. doi:10.1016/j.jep.2021.114292.

- [20] M Farooq, M H Ibrahim and M Hafeez. Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of xanthenes from *Bouea microphylla* fruits. *Pharmaceutical Biology* 2020; 58(1), 457-466. doi:10.1080/13880209.2020.1742913.
- [21] G Brahmachari, D Gorai and R Roy. Chemical constituents and biological potential of *Barringtonia acutangula* (L.) Gaertn.: A mini-review. *Natural Product Research* 2020; 34(14), 2026-2035. doi:10.1080/14786419.2019.1577265.
- [22] S Mahmud, M Waqas and A Ahmed. Antioxidant and enzyme inhibitory activities of saponins from *Barringtonia acutangula*: Insights into its neuroprotective potential. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 2019; 9(3), 254-261. doi:10.1016/j.jtcme.2018.04.002.
- [23] A Ismail, M Hamid and N Hassan. Flavonoid and phenolic content of *Archidendron pauciflorum* (Jering): Impact on acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activities. *Food Bioscience* 2020; 37, 100690. doi:10.1016/j.fbio.2020.100690.
- [24] R Shah and B Mirza. Phenolic compounds in *Archidendron pauciflorum* as key contributors to its antioxidant and moderate acetylcholinesterase inhibitory activities. *Journal of Functional Foods* 2019; 58, 297-306. doi:10.1016/j.jff.2019.05.062.
- [25] L C C Araújo, P F Lima, D L F Melo and M T H Cavalcanti. Phytochemical composition and bioactive compounds in *Moringa oleifera* leaves. *Current Pharmaceutical Design* 2020; 26(20), 2402-2413. doi:10.2174/1381612826666200409151431.
- [26] N Patel, M Raval and A Patel. Phytochemistry and pharmacological activities of *Strychnos nux-vomica*: A review. *Journal of Ethnopharmacology* 2019; 241, 111973. doi:10.1016/j.jep.2019. 111973.
- [27] L Arambewela and W Ratnasooriya. Antioxidant and antimicrobial activities of *Polyscias fruticosa* root and leaf extracts. *South African Journal of Botany* 2020; 130, 164-171. doi:10.1016/j.sajb.2019. 12.031.
- [28] S Kumla, N Suwannarach, B Bussaban and S Lumyong. Phytochemical screening and biological activities of *Lepionurus sylvestris* Bl. *Molecules* 2020; 25(15), 3403. doi:10.3390/molecules25153 403.
- [29] C Wang, Z Xu, Y Sun, Y Wang and X Gao. Phytochemical composition and antioxidant activity of *Clerodendrum* species: A review. *Phytochemistry Letters* 2021; 45, 145-154. doi:10.1016/j.phytol. 2021.05.003.