

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549)

ชื่อตัวอย่าง	: IM-5 (crude) และ IM-7 (crude)
รูปแบบผลิตภัณฑ์	: แคปซูล
ลักษณะทางกายภาพ	: ผง
วันที่รับตัวอย่าง	: -
วันที่ทดสอบ	: 15 พฤศจิกายน 2567
ผู้ทำการทดลอง	: วิชิตา ทองเผือก



Location : Drive>ไฟล์งาน (Eastern Herb)+รายงานผล>รายงานผลการทดลอง>พฤศจิกายน2567> ETH-20241118 Cytotoxicity-A549-IM5-IM7 Crude

ขั้นตอนการทดสอบ

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 เตรียมตัวอย่างจากแคปซูล ให้มีความเข้มข้น 200 mg/mL ในตัวทำละลาย DMSO

1.2 เจือจางตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเซลล์ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 2 mg/mL และกรองตัวอย่างด้วย 0.22 μ m syringe filter

2. การทดสอบความเป็นพิษของสารทดสอบด้วยวิธี MTT assay

2.1 ทำการเลี้ยงเซลล์มะเร็งปอด (A549) ลงใน 96 well plate หลังจากนั้นทำการบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 37°C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

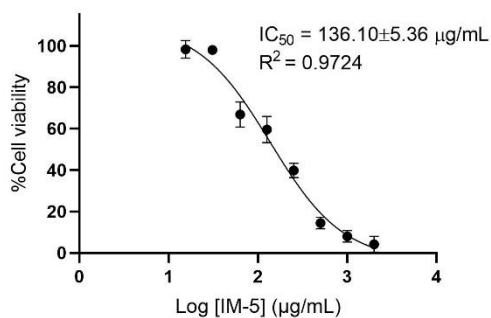
2.2 เปลี่ยนอาหาร โดยเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบที่ความเข้มข้น 1 mg/mL และทำการเจือจาง 2 เท่า ทั้งหมด 8 ความเข้มข้น และทำการบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 37°C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

2.3 เติมสารละลาย MTT แล้วบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 37°C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้เอนไซม์ succinate dehydrogenase ของเซลล์ที่มีชีวิตอยู่เปลี่ยน MTT ไปเป็นผลึกฟอร์มazan (Formazan)

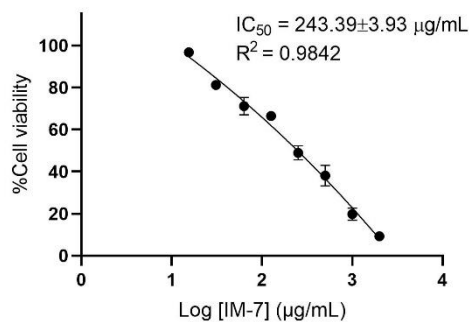
2.4 เมื่อครบกำหนดเวลาทำการละลายผลึกฟอร์มazanด้วย DMSO และวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 และ 630 nm โดยค่าการดูดกลืนแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของผลึกฟอร์มazan ซึ่งจะแปรผันโดยตรงกับจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต

ผลการทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549) ของสาร IM-5 และ IM-7 ด้วยเทคนิค MTT assay โดยความเข้มข้นของสารเริ่มต้น 2 mg/mL และทำการเจือจาง 2 เท่า ทั้งหมด 8 ความเข้มข้น พบว่าสาร IM-5 และ IM-7 ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $136.10 \pm 5.36 \mu\text{g/mL}$ และ $243.39 \pm 3.93 \mu\text{g/mL}$ ดังรูปที่ 1 และตารางที่ 1



(a)



(b)

รูปที่ 1 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งปอด (A549) ของสาร IM-5 และ IM-7 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งปอด (A549) ของสาร IM-5 และ IM-7 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Cancer name	Sample	IC_{50} value ($\mu\text{g/mL}$)
A549	IM-5	136.10 ± 5.36
A549	IM-7	243.39 ± 3.93

หมายเหตุ : Positive = 1%DMSO, Negative = 10%DMSO

สรุปผลการทดลอง

สาร IM-5 และ IM-7 ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2 mg/mL มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (A549) โดยมี IC_{50} เท่ากับ $136.10 \pm 5.36 \mu\text{g/mL}$ และ $243.39 \pm 3.93 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ