

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

ชื่อตัวอย่าง	: Hepa4,Hepa5 และ Lyphorim
รูปแบบผลิตภัณฑ์	: ถุงพรอยด์
ลักษณะทางกายภาพ	: สารสกัด
วันที่รับตัวอย่าง	: -
วันที่ทดสอบ	: 29 พฤศจิกายน 2567
ผู้ทำการทดลอง	: วิชิตา ทองเผือก

ขั้นตอนการทดสอบ

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 เตรียมตัวอย่างสารสกัด ให้มีความเข้มข้น 200 mg/mL ในตัวทำละลาย DMSO

1.2 เจือจางตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเซลล์ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 1 mg/mL และกรองตัวอย่างด้วย 0.22 μ m syringe filter

2. การทดสอบความเป็นพิษของสารทดสอบด้วยวิธี MTT assay

2.1 ทำการเลี้ยงเซลล์ ลงใน 96 well plate หลังจากนั้นทำการบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 37°C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

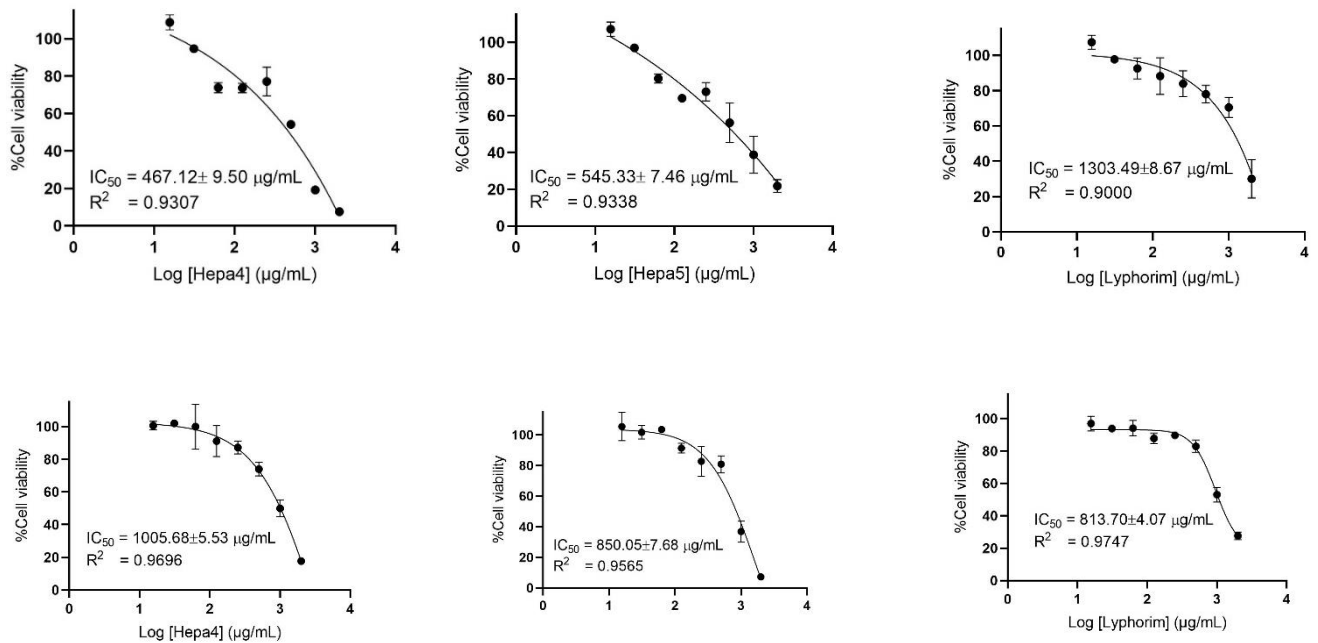
2.2 เปลี่ยนอาหาร โดยเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบที่ความเข้มข้น 2 mg/mL และทำการเจือจาง 2 เท่า ทั้งหมด 8 ความเข้มข้น และทำการบ่มในตู้ที่อุณหภูมิ 37°C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

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 โดยค่าการดูดกลืนแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของผลึกฟอร์มazanซึ่งจะแปรผันโดยตรงกับจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต

ผลการทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัด Hepa4, Hepa5 และ Lyphorim ด้วยเทคนิค MTT assay โดยความเข้มข้นของสารเริ่มต้น 2 mg/mL และทำการเจือจาง 2 เท่า ทั้งหมด 8 ความเข้มข้น พบว่าสารสกัด Hepa4, Hepa5 และ Lyphorim ที่ความเข้มข้น 2 mg/mL มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) และเซลล์มะเร็งปอด (A549) โดยมีค่า IC_{50} ดังรูปที่ 1 และตารางที่ 1



รูปที่ 1 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) และเซลล์มะเร็งปอด (A549) และหลังบ่มด้วยสารสกัด Hepa4, Hepa5 และ Lyphorim เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 แสดงค่า IC_{50} ของสารสมุนไพรสำหรับทดสอบเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) และเซลล์มะเร็งปอด (A549) และหลังบ่มด้วยสารสกัด Hepa4, Hepa5 และ Lyphorim เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

No.	Cancer name	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)		
		Hepa4	Hepa5	Lyphorim
1	HepG2	467.12±8.50	545.33±7.46	1303.49±8.67
2	A549	1005.68±5.53	850.05±7.68	813.70±4.07

หมายเหตุ : Positive 1%DMSO, Negative 10%DMSO

สรุปผลการทดลอง

สารสกัด Hepa4, Hepa5 และ Lyphorim ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2 mg/mL มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) และเซลล์มะเร็งปอด (A549) ที่ความเข้มข้นสูงๆ