

รายงานผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารตัวอย่างต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7)

ตัวอย่างสาร: AMC-1

รายละเอียดของตัวอย่าง: ผงแห้ง

วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 11 ธันวาคม 2567

วิธีทดสอบ: Griess test

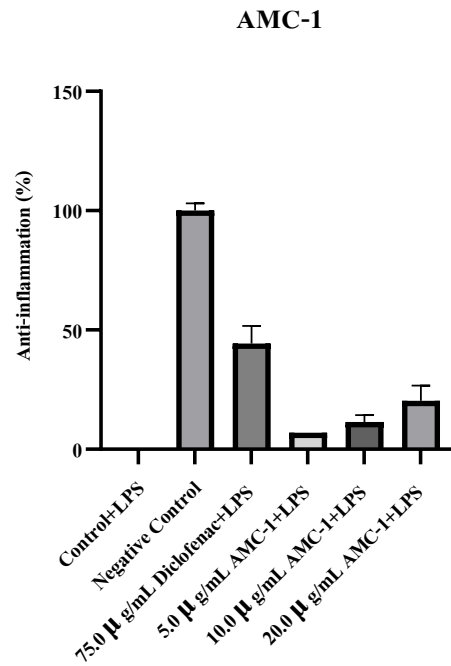
ขั้นตอนการทดสอบ

1. ทำการเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ (RAW 264.7) ใน 96 well plate ที่ความหนาแน่นเซลล์ 1×10^5 cells/well แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. งดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วทำการล้างเซลล์ในหลุมด้วย PBS 1 ครั้ง จากนั้นทำการบ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีความปลอดภัยต่อเซลล์มากกว่า 80% และทำการเจือจางลง 2 เท่าเป็นจำนวน 3 ความเข้มข้นแล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วย LPS (Lipopolysaccharide) ที่ความเข้มข้น 1 µg/mL
3. ทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. ทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกมาปริมาตร 25 µL แล้วเติม Sulfanilamide reagent ปริมาตร 25 µL แล้วบ่มในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้สารละลายทำหน้าที่เปลี่ยนไนไตรท์เป็นกรดไนตริก
5. เติม NED reagent ปริมาตร 25 µL แล้วบ่มในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้สารละลายทำหน้าที่จับกับกรดไนตริกแล้วเกิดเป็นสารประกอบเอโซ (Azo) ที่มีสีชมพูอมม่วง
6. ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 540 nm โดยความเข้มข้นของสีชมพูอมม่วงที่เกิดขึ้นจะแปรผันตามปริมาณของไนไตรท์ในตัวอย่างทดสอบ
7. แทนค่าที่ได้เทียบกับสมการของกราฟมาตรฐานของสารไนไตรท์ (Nitrite) เพื่อหาปริมาณการหลั่งไนไตรท์จากเซลล์ที่ทดสอบด้วยสารทดสอบ

ผลการทดสอบ

การประเมินความสามารถในการต้านการอักเสบของ AMC-1 โดยความเข้มข้นของสารทดสอบเริ่มต้นที่ 25.0 µg/mL และเจือจางลง 2 เท่าและผลการทดสอบพบว่า AMC-1 มีความสามารถลดการหลั่งไนไตรท์ (Nitrite) ในลักษณะที่ขึ้นกับขนาดของสารทดสอบ (Dose dependent) โดย AMC-1 ที่ความเข้มข้น 5.0, 10.0 และ

20.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ มีความสามารถในการต้านการอักเสบอยู่ที่ 6.91, 11.38 และ 20.33% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงปริมาณการหลั่งสารไนไตรท์ (Nitrite) ของเซลล์ภายหลังจากผ่านการบ่มด้วย AMC-1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

สรุปผลการทดสอบ

สารทดสอบ AMC-1 มีความสามารถในการต้านอักเสบ