รายงานผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารตัวอย่างต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7)

ตัวอย่างสาร: Plumax

รายละเอียดของตัวอย่าง: สารน้ำสีใส

วันที่ทดสอบตัวอย่าง: 6 พฤศจิกายน 2567

วิธีทดสอบ: Griess test

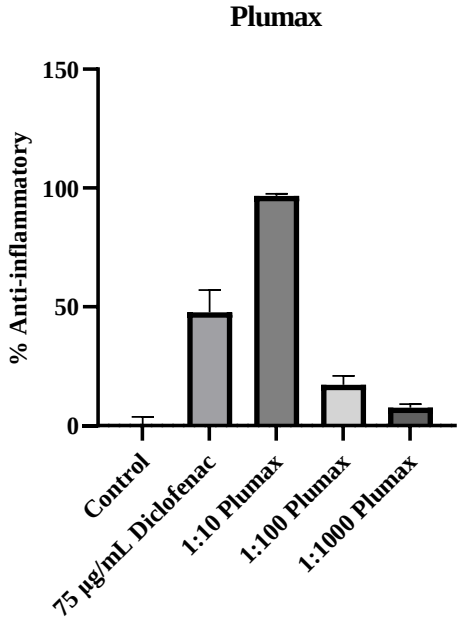
ขั้นตอนการทดสอบ

1. ทำการเลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจ (RAW 264.7) ใน 96 well plate ที่ความหนาแน่นเซลล์ 1×10^5 cells/well แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 ˚C และ 5% CO_2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วทำการล้างเซลล์ในหลุมด้วย PBS 1 ครั้ง จากนั้นทำการบ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบที่ทำการเจือจางลงในอัตราส่วน 1:10, 1:100 และ 1:1000 แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 ˚C และ 5% CO_2 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 เพื่อให้สารละลายทำหน้าที่เปลี่ยนไนไตรท์เป็นกรดไนตรัส
5. เติม NED reagent ปริมาตร 25 µL แล้วบ่มในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้สารละลายทำหน้าที่จับกับกรดไนตรัสแล้วเกิดเป็นสารประกอบเอโซ (Azo) ที่มีสีชมพูอมม่วง
6. ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 540 nm โดยความเข้มข้นของสีชมพูอมม่วงที่เกิดขึ้นจะแปรผันตามปริมาณของไนไตรท์ในตัวอย่างทดสอบ
7. แทนค่าที่ได้เทียบกับสมการของกราฟมาตรฐานของสารไนไตรท์ (Nitrite) เพื่อหาปริมาณการหลั่งไนไตรท์จากเซลล์ที่ทดสอบด้วยสารทดสอบ

ผลการทดสอบ

การประเมินความสามารถในการต้านการอักเสบของสารทดสอบ Plumax โดยสารทดสอบได้ทำการเจือจางลงในอัตราส่วน 1:10, 1:100 และ 1:1000 และผลการทดสอบพบว่า สารทดสอบทั้งหมดมีความสามารถลดการหลั่งไนไตรท์ (Nitrite) ในลักษณะขึ้นอยู่กับขนาดยา (Dose dependent inhibition) โดยสารทดสอบ Plumax

ในอัตราส่วน 1:1000, 1:100 และ 1:10 จะมีความสามารถในการต้านอักเสบอยู่ที่ 7.62±1.40, 17.22±3.75 และ 36.69±0.94% ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงร้อยละการต้านอักเสบหลังจากผ่านการบ่มด้วยสารทดสอบ Pumax เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

สรุปผลการทดสอบ

สารทดสอบ Pumax มีความสามารถในการต้านอักเสบ