บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การนำสารบริสุทธิ์ หรือสารสกัดจากสมุนไพรมาใช้ไม่ว่าในด้านการรักษา และด้านเสริมสุขภาพความงามจะต้องคำนึงถึงความปลอดภัยจากการใช้สารเหล่านั้นเป็นเรื่องแรกและสำคัญ ปัจจุบันจึงมีการคิดหาวิธีทดสอบสารก่อนนำมาใช้ ซึ่งเบื้องต้นจะต้องทดสอบฤทธิ์ความพิษต่อเซลล์ของคน ดังนั้นสารบริสุทธิ์ หรือสารสกัดจากสมุนไพรที่ถูกนำมาใช้เป็นสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับคน นักวิทยาศาสตร์จึงได้มีการเพาะเลี้ยงเซลล์ของคนในหลอดทดลอง และทำการทดสอบฤทธิ์ของสารต่อเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมและแพร่หลาย เนื่องจากไม่ต้องทดสอบกับร่างกายของคนโดยตรงซึ่งอาจเกิดความไม่ปลอดภัยต่อชีวิต โดยเฉพาะถ้าเป็นสารตัวที่ถูกค้นพบใหม่ หรือสารที่ยังไม่เคยใช้กับคนมาก่อน ฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์ หรือสารสกัดจากสมุนไพรที่ถูกศึกษาในเบื้องต้นคือ ฤทธิ์ความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของสาร หมายถึง สารที่มีปริมาณความเข้มข้นที่เมื่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้รับเข้าไปแล้วมีผลทำให้เซลล์ตาย โดยมีการกำหนดเกณฑ์ ดังนี้ ปริมาณของสารที่มีผลทำให้เซลล์ตาย ครึ่งหนึ่งหรือ 50 % ของจำนวนเซลล์ทั้งหมด ซึ่งถูกกำหนดเป็นค่า EC 50 (Effective concentration inhibitory 50 % of cells death) (Tengchaisri et al., 1998) ค่า ED50 เป็นที่ยอมรับในระดับสากลในการระบุความเป็นพิษของสารที่จะนำมาใช้ในคนทั้งด้านใช้เป็นยารักษา หรือการเสริมสุขภาพและความงาม

เนื้อเยื่อชั้นผิวหนัง

ผิวหนังของคนเป็นเนื้อเยื่อที่มีหน้าที่ปกคลุมร่างกาย เพื่อป้องกันสิ่งแปลกปลอมภายนอกเข้าสู่ร่างกาย และช่วยรักษาสมดุลของอุณหภูมิของร่างกายโดยการระบายความร้อนเป็นเหงื่อออกตามผิวหนัง และทำหน้ารับสัมผัสจากสิ่งกระตุ้นภายนอกหรือสิ่งแวดล้อม (Madison, 2003) เนื้อเยื่อผิวหนังแบ่งออกได้ดังนี้ ชั้นแรกอยู่นอกสุด คือ ชั้นของอีพิเดอร์มิส (epidermis) ชั้นสองอยู่ใต้ชั้นแรก คือชั้นเดอร์มิส (dermis)

1. ชั้น อีพิเดอร์มิส (epidermis) เป็นเนื้อเยื่อผิวหนังชั้นนอกสุด ซึ่งประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด พบว่า 95 % ของเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นนี้เป็นเซลล์เคอราติโนไซท์ (keratinocytes) และที่เหลือเป็นเซลล์ชนิด เมลาโนไซท์ (melanocytes), เซลล์เมอร์เคล (Merkel cells), และเซลล์แลงเกอร์ฮาน (langerhans cells) (Ageing skin-structure, 2011) เซลล์เคอราติโนไซท์ ทำหน้าที่แบ่งเซลล์ และเจริญไปแทนที่เซลล์ที่ผิวชั้นนอกที่ตาย นอกจากนี้ยังทำหน้าที่สร้างสาร keratin และไขมันเพื่อปกคลุมผิวหนัง และให้ความชุ่มชื่น (Breitkreutz, et al., 2009)

ระหว่างเนื้อเยื่อชั้นอีพิเดอร์มิส กับชั้นเดอร์มิส จะมีชั้นเบสเมนท์ (basement membrane) ซึ่งเป็นชั้นไฟเบอร์ (fiber) ทำหน้าที่ควบคุมการเดินทางของโมเลกุลของสารระหว่างชั้นอีพิเดอร์มิส และชั้น เดอร์มิส นอกจากนี้ยังเป็นที่สารไซโตไคน์ (cytokines) และสารกระตุ้นการเจริญ (growth factors) มาจับเพื่อกระตุ้นการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ (Iozzo, 2005)

2. เนื้อเยื่อชั้นเดอร์มิส (dermis) เป็นเนื้อเยื่อที่อยู่ชั้นล่าง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเนื้อเยื่อชนิดเนนื้อเยื่อเกี่ยวพันธ์ (connective tissue) ทำหน้าเกี่ยวกับ ความยืดหยุ่น และความตรึงของผิวหนัง

โดยประกอบด้วย สายคอลลาเจน (collagen fibrils), สายไฟเบอร์ขนาอเล็ก (microfibrils) และสายไฟเบอร์ที่มีการยืดหยุ่น (elastic fibers) ที่ชั้นเดอร์มิส ถูกแบ่งออกเป็นสองชั้น คือ ชั้น เพพิลลารี (papillary region) เป็นชั้นที่อยู่ติดกับชั้นเบสเมนท์ ซึ่งเนื้อเยื่อในชั้นนี้เป็นชนิดเนื้อเยื่อเกี่ยวพันธ์มีรูปร่างคล้ายนิ้ว (areolar connective tissue) ยื่นแทรกเข้าไปในชั้น อีพิเดอร์มิส ส่วนอีกชั้น คือ เรติคูล่า (reticular region) ชั้นนี้อยู่ลึกลงมาจากชั้น เพพิลลารี มีความหนา และประกอบด้วย คอลลาเจน อีลาสติค (elastic) และสายเรติคูล่า (reticular fibers) ซึ่งเป็นชั้นที่ทำให้ผิวมีความตรึงแข็งแรงและยืดหยุ่น ที่ชั้นนี้มี เซลล์รากขน ต่อมเหงื่อ เซลล์เล็บ และเส้นเลือดมาหล่อเลี้ยงเซลล์ที่ผิวหนัง (Breitkreutz, et al., 2009)

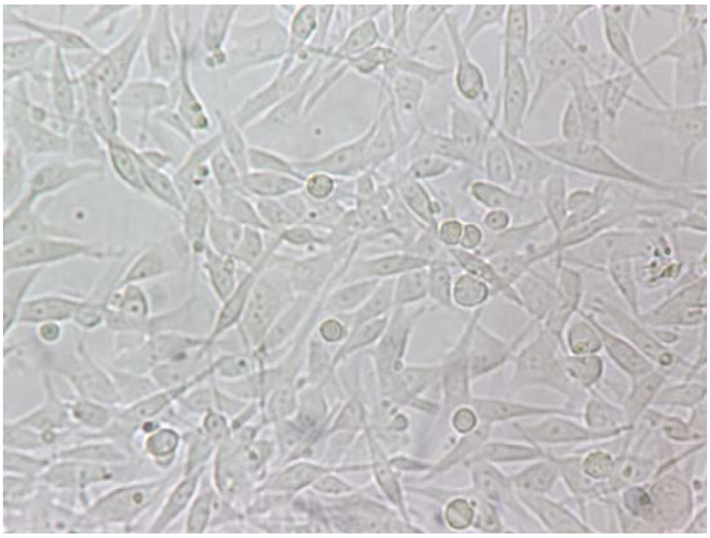
เนื้อเยื่อชั้นซับคูทิส (Subcutis) หรือไฮโพเดอร์มิส (hypodermis) หรือเรียกว่า เนื้อเยื่อซับคิทาเนียส (subcutaneous tissue) เป็นชั้นที่อยู่ล่างต่อจากชั้นเดอร์มิส ที่ชั้นนี้ไม่ถูกจัดว่าเป็นเนื้อเยื่อของผิวหนัง ในชั้นนี้เป็นที่อยู่ของกล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมัน เส้นเลือด เส้นประสาท และเซลล์เม็ดเลือดขาวของระบบภูมิคุ้มกัน เนื้อเยื่อส่วนใหญ่ของชั้นนี้เป็นเนื้อเยื่อไขมัน 50 %

เซลล์เมลาโนมา (melanoma cells)

ในเนื้อเยื่อผิวหนังประกอบด้วยเซลล์หลายชนิดที่เป็นส่วนประกอบของผิวหนัง เซลล์เมลาโนไซท์ (melanocytes) เป็นเซลล์ที่อยู่ในชั้นอีพิเดอร์มิส ซึ่งอยู่ชั้นบนสุดของผิวหนัง ซึ่งเซลล์เมลาโนไซท์ ทำหน้าที่สร้างเม็ดสีเมลานินของผิวหนัง มักจะพบเซลล์ชนิดนี้มากบริเวณรักแร้ รอบหัวนม รอบทวารหนัก ถุงอัณฑะ และบริเวณเนื้อเยื่อของรากผม (hair follicle)

เซลล์เมลาโนไซท์มีต้นกำเนิดมาจากนิวรอลเครสท์ (neural crest) มีรูปร่างกลมและมีแขนงยื่นยาวจากตัวเซลล์อยู่แทรกกับเซลล์เคอราติโนไซท์อยู่ในชั้นสทราทั้ม (stratum basale) ของชั้นอีพิเดอร์มิสของผิวหนัง

จากการศึกษาของนักวิจัยกลุ่มอื่น ได้นำเซลล์เมลาโนมา มาใช้ศึกษาฤทธิ์ของสารสำคัญทางเครื่องสำอาง และทางเภสัช (McKim et al., 2012) มีศึกษาความเป็นพิษของสมุนไพรหลายชนิดต่อเซลล์เมลาโนของคน ได้แก่ *Annona pickelii Diels* (Annonaceae), *Annona salzmannii* A. DC. (Annonaceae), *Guatteria blepharophylla* Mart. (Annonaceae), *Guatteria hispida* (R.E. Fr.) Erkens & Maas (Annonaceae), *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae), *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae), *Kielmeyera rugosa* Choisy (Clusiaceae), *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae), และ *Hyptis calida* Mart. Ex Benth (Lamiaceae) เป็นต้น (Ribeiro et al., 2012) ซึ่งข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์จัดเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญและสามารถศึกษาได้ง่าย เนื่องจากสามารถทดสอบได้โดยใช้เซลล์ของคนที่สามารถถูกเพาะเลี้ยงได้ในหลอดทดลอง ปัจจุบันจึงมีการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดพืชสมุนไพรต่อเซลล์หลากหลายชนิด ดังที่กล่าวในข้างต้น



ภาพที่ 2.1 เซลล์เมลาโนมาของคน

สมุนไพร (Herbs)

สมุนไพรเป็นพืชที่มีประโยชน์สามารถนำมาใช้บริโภคเป็นอาหารและยาสำหรับรักษาโรคและบำรุงร่างกาย และบางชนิดใช้เป็นยาใช้รักษาแผลภายนอกร่างกาย จะเห็นว่าพืชสมุนไพรมีสรรพคุณและคุณประโยชน์อย่างมากมาย นอกจากนี้ในปัจจุบันมีการนำสมุนไพรมาใช้เป็นส่วนประกอบหรือสาระสำคัญใน ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อบำรุงผิวพรรณให้ดูเปล่งปลั่งสวยงาม และสุขภาพดี ได้แก่ น้ำมันน้ำข้าว ขมิ้น ใบฝรั่ง ทับทิม มะหะหมาด โดยการสกัดสารจากสมุนไพร และนำสารสกัดมาใช้เป็นสารประกอบสำคัญของผลิตภัณฑ์ต่างๆ ซึ่งได้รับความนิยมมากขึ้น สารสกัดจากต้น *Croton lechleri* และจาก *Lagestroemia speciosa* ในปัจจุบันได้รับความสนใจและมีการศึกษาเพื่อนำมาใช้เป็นสารสำคัญในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเช่นกัน

1. ยางเลือดมังกร (dragon's blood) เป็นน้ำยางจากต้น *Croton lechleri* อยู่ในวงศ์ (family) Euphorbiaceae สกุล (genus) *Croton* และสายพันธุ์ (species) *lechleri* นอกจากนี้พบว่ายางเลือดมังกรยังสามารถสกัดได้จากพืชอีก 3 สกุล คือ *Dracaena*, *Daemonorops* และ *Pterocarpus* (Mabberley, 1998) สำหรับสถุล *Croton lechleri* เป็นสมุนไพรที่พบในแถบลุ่มแม่น้ำอเมซอน ประเทศเปรู ประเทศเอคัวดอร์ ประเทศเม็กซิโก ประเทศเวเนซูเอลาและประเทศโคลัมเบีย โดยน้ำยางของต้น *Croton lechleri* มีสีแดง จึงเรียกว่า เลือดมังกร (dragon's blood) ยางเลือดมังกรถูกนำมาใช้ตั้งแต่ยุคโรมัน ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคเป็นเวลามากกว่า 1,400 ปี โดยนำมาใช้เป็นยาสมานบาดแผล ห้ามเลือด และรักษาอาการท้องร่วง (Milburn, 1984) ต่อมาได้แพร่หลายในหลายประเทศ ได้แก่ ประเทศจีน อินเดีย อินโดนีเซีย นำมาใช้ทางการแพทย์ โดยมีคุณสมบัติในการห้ามเลือด รักษาแผล แก้อาการท้องเสีย ลดไข้ รักษาแผลเรื้อรังในทางเดินอาหาร และรักษาโรคติดเชื้อไวรัส เป็นต้น (Casson, 1989, p. 168-170; Gibbs et al., 1983) จากการทดสอบโดยวิธี wound healing ในหลอดทดลองของสารสกัดมังกรเลือดต่อการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาส (fibroblasts) พบว่าสารสกัดมังกรเลือดสามารถกระตุ้นเซลล์ไฟโบรบลาสให้เจริญมาปกคลุม

บริเวณที่เซลล์ไฟโบรบลาสถูกทำลายไป (Fujiwara et al., 1997; Oates et al., 2001) สารสกัดเลือดมังกรมีสาระสำคัญหลักคือ สารโพรแอนโธไซยานิดินส์ (proanthocyanidins) และสารทาสพีน (taspine) ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ต้านการอักเสบ ช่วยสมานแผล และกระตุ้นคอลลาเจน (Miller et al., 2001) จากการศึกษาพบว่าสารโพรแอนโธไซยานิดินส์มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการเจริญของขน (Takahashi et al., 1998) จึงได้มีการนำสารสกัดเลือดมังกรมาพัฒนาใช้กระตุ้นการเจริญของผม เพื่อแก้ปัญหาผมร่วง นอกจากนี้สารสกัดเลือดมังกรมีสาระสำคัญตัวอื่นๆ ที่มีฤทธิ์หลากหลาย ได้แก่ สารคาเทชิน (catechin) และสารอะซิทิล อะลียูริโทลิค (acetyl aleuritolic) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Staphylococcus *aureus, Salmonella typhimurium*) (Peres et al., 1997) มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Gurgel et al., 2005) ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ (*Influenza, Parainfluenza*) เชื้อไวรัสตับอักเสบ (Hepatitis A, B) (Chen et al., 1994; Ubillas et al., 1994; Sidwell et al., 1994; Meza, 1999) สารเอสพีส303 (SP-303) มีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสโรคเริม (*Herpes simplex*) (Barnard et al., 1993; Ubillas et al., 1994) และสารทาสพีน พบว่ามีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ได้แก่ เซลล์เคบี (KB cell) และเซลล์วี 79 (V-79 cell) (Gonzales & Valerio, 2006) และฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (K562 cell) (Rossi et al., 2003) ในปัจจุบันได้นำสารสกัดเลือดมังกรมาใช้เป็นส่วนผสมในยาสีฟัน และในน้ำมันช่วยขัดมันแวววาว ใช้ห้ามเลือด และรักษาโรคหลายโรค นอกจากนี้ได้นำใช้เป็นสาระสำคัญของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหลายชนิด ได้แก่ น้ำยาหลังโกนหนวด ครีมทาหลังถูกแสงแดด ลิปสติก รักษาแผลที่เกิดจากสิว และลดรอยเหี่ยวย่น เป็นต้น

2. อินทนิลน้ำ (Banaba or Queen's flower) หรือ ตะแบกดำ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Lagestroemia speciosa* พบในแถบเอเชีย ประเทศอินเดีย บังคลาเทศ มาเลเซีย ไทย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย ไต้หวัน และญี่ปุ่น นอกจากนี้มีการนำไปปลูกที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ต้นอินทนิลน้ำเป็นไม้ยืนต้น ออกดอกสีชมพูม่วง ลำต้นถูกนำไปทำเป็นเฟอร์นิเจอร์ สารกัดจากอินทนิลน้ำถูกนำไปใช้ประโยชน์หลากหลาย เช่น สารสกัดจากรากใช้สำหรับรักษาโรคทางเดินอาหาร สารสกัดจากใบอินทนิลสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ยังพบว่ามีฤทธิ์ด้านอื่น ๆ ได้แก่ ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อจุลินทรีย์ แอนติออกซิเด้นท์ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ต้านการอักเสบ และต้านเซลล์มะเร็ง เป็นต้น สารที่สกัดได้จาก อินทนิลน้ำได้แก่ ไทรเทอร์พีน (triterpene), กรดคอโรโซอิค (corosolic acid or interpenoid), 31 นอร์ลาเจนรีนอล อะซิเทท์ (31-norlagerenol acetate), และ ซิโทสเทอรอล อะซิเทท์ (sitosterol acetate) เป็นต้น ส่วนประกอบชนิดอื่น ได้แก่ ประเภทไฟเบอร์ และแร่ธาตุ เช่น แมกนีเซียม และสังกะสี เป็นต้น (Faruk et al., 2002; Ragasa et al., 2005; Kim et al., 2012) จากคุณสมบัติที่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือด จึงมีนำใบอินทนิลน้ำมาผลิตเป็นชาสำหรับชงดื่ม นอกจากนี้ยังมีพบว่าไม่เฉพาะที่ใบเท่านั้น ในส่วนอื่นๆของต้นอินทนิลน้ำ ได้แก่ ราก ลำต้น ดอก เป็นต้น พบว่ามีสารสกัดที่มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลได้เช่นกัน (Liu et al., 2001) ในการลดระดับน้ำตาลจากศึกษาพบว่าสารกรดคอโรโซอิคช่วยเพิ่มการนำน้ำตาลผ่านเมแบรนเข้าสู่เซลล์ (Murakami et al., 1993; Takagi et al., 2008) จากการศึกษาในผู้ป่วยโรคเบาหวานแบบสุ่ม พบว่าสารสกัดจากใบของอินทนิลน้ำสามารถลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้ (Judy et al., 2003) จึงนิยมทำเป็นชาใช้ดื่มเพื่อลดระดับน้ำตาล และทำเป็นเครื่องดื่มเพื่อลดน้ำหนัก **ในด้านของความงามมี**

การศึกษาพบว่าสารสกัดจากอินทนิลน้ำมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ, การยับยั้งการเหนี่ยวนำของกระบวนการของการเกิดริ้วรอย, ต้านการอักเสบ, ลดความอ้วน (Priya et al., 2008) อย่างไรก็ตามการนำพืชสมุนไพรอินทนิลน้ำมาใช้ไม่ว่าจะเป็นในลักษณะสารสกัด หรือสารบริสุทธิ์ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาทั้งข้อมูลและทำการทดลองได้ผลเป็นที่น่าเชื่อถือ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างปลอดภัยต่อสุขภาพ

การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษ (Cytotoxic test)

การทดฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพร มีการทดสอบทั้งต่อเซลล์เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง สำหรับการทดสอบฤทธิ์ความเป็นของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมีหลายแบบ โดยอาศัยคุณสมบัติของเซลล์เกี่ยวกับ **การเจริญของเซลล์** (Cell Proliferation) **และการทำงานของเซลล์** (metabolic activity) วิธีการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ในหลอดทดลองมีหลายวิธี ดังนี้

1. วิธีเอ็มทีที (MTT) การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษโดยวิธี MTT (3-4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyl tetrazolium romide test) ในการทดสอบใช้สี tetrazolium salt (Jiao et al., 1992; Buttkeet al., 1993; VanBuskirk et al., 1995; Nomura et al., 1996; Mire-Sluis and Thorpe, 1998;Toriizuka et al., 2000; Xu et al., 1999) หลักการทำงานของ MTT คือเซลล์ซึ่งยังมีชีวิตอยู่ มี enzyme succinate dehydrogenase ซึ่งจะเปลี่ยน tetrazolium salt ให้เป็น formazan โดยปฏิกริยา reduction และผลึก formazan มีสีม่วงน้ำเงินที่ไม่ละลายในน้ำต้องละลายด้วย DMSO และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm (Mosmann, 1983; Denizot & Lang,1986) ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของformazan ที่แปรผันโดยตรงกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

2. วิธีเอ็มทีเอส (MTS) เป็นการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดโดยใช้สาร MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium) ซึ่งหลักการของวิธีคือการวัดการทำงานของเอนไซม์ mitochondrial reductase ที่อยู่ภายใน mitochondria ของเซลล์ เปลี่ยนสาร tetrazolium เป็นผลึก formazan ที่สามารถถูกละลายในน้ำได้ absorption ที่ 490 nm ซึ่งแปรผันตามปริมาณของเซลล์มีชีวิต (Cory et al., 1991) การใช้สี crystal violet ย้อมโปรตีนของเซลล์ และวัดความเข้มของสีที่ความยาวคลื่น 560 nm ซึ่งแปรผันกับจำนวนเซลล์ (Tengchaisri et al., 1998) วิธีนี้เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและราคาถูก

3. วิธี Sulforhodamine B (SRB) เป็นการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดโดยการย้อมเซลล์ด้วยสี Sulforhodamine B ซึ่งเซลล์ถูกตรึงเซลล์ด้วย 40% trichloroacetic acid (TCA) และย้อมด้วยสี Sulforhodamine B ซึ่งเป็นสาร aminoxanthene dye สามารถจับกับ basic

amino acid ของโปรตีนภายในเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ ซึ่งความเข้มของสีแปรผันตามจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (Vchai & Kirtikara, 2006)

4. วิธี Alamar Blue เป็นการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดโดยใช้สาร resazurin-based compound ที่สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ (Cell-permeant) โดยไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ จึงสามารถวัดสีของสาร แบบจับเวลา (kinetic assay) ได้ เมื่อสารเข้าสู่เซลล์จะถูก reduced เปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีแดง สารมีความไวต่อสภาวะ reducing ภายในเซลล์มาก (high-sensitivity) ดังนั้นจึงใช้เวลาสั้นเพียง 10 นาที เป็นการประหยัดเวลาในการทำทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี MTT และ MTS สีถูกวัดเป็นความเข้มของแสงเรืองแสง (Fluorescent intensity) (Mao et al., 2012

กรอบแนวคิดในการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้สนใจที่จะใช้เซลล์เมลาโนมาของคน (human melanoma cell line ,C32) ถูกเพาะเลี้ยงมาจากเนื้อเยื่อผิวหนัง(skin) จากผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งผิวหนังชนิดเมลาโนมา (Chen & Shaw, 1973; Chen, 1978) โดยสถาบัน ATCC (American Tissue Culture Collection) ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นผู้ผลิตและจำหน่าย มาทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดมังกรเลือด และสารสกัดจากอินทนิลน้ำ ซึ่งสารสกัดทั้งสองชนิดถูกสกัดด้วยสารสกัดอินทรีย์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติ ซึ่งข้อมูลและความรู้ที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นพื้นฐานที่จะนำไปใช้ประโยชน์เพื่อพัฒนางานวิจัยและผลิตภัณฑ์ของสมุนไพรทั้งสองชนิดนี้ต่อไป