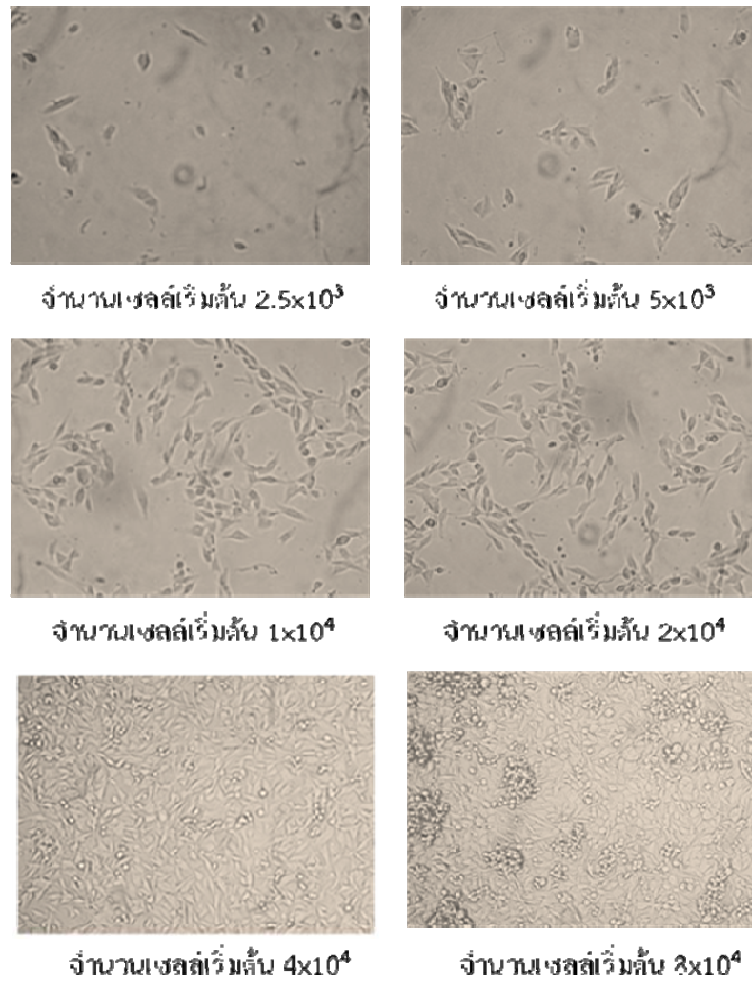


บทที่ 4 ผลการวิจัย

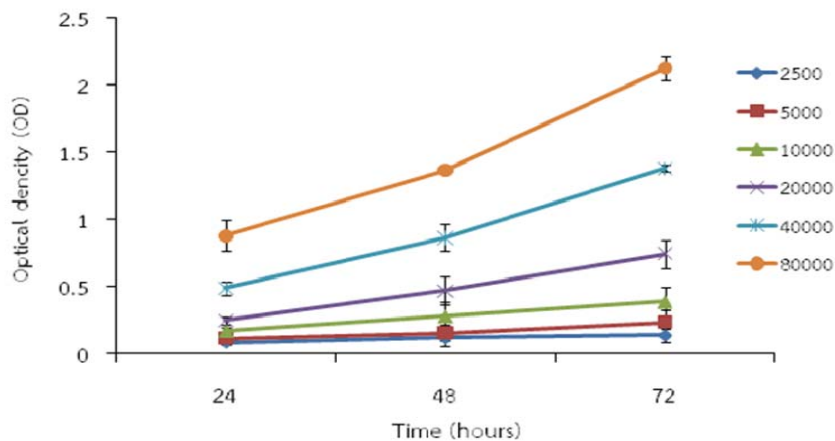
ในการศึกษาครั้งนี้ทำการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดสมุนไพรต่อเซลล์เมลานوماของคน (human melanoma cell line ,C32) โดยทำการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดมังกร์เลือดและสารสกัดจากอินทนิลน้ำ ซึ่งสารสกัดทั้งสองชนิดถูกสกัดด้วยสารสกัดอินทรีซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติ ในเบื้องต้นของการศึกษาได้ทำการทดลองการเลี้ยงจำนวนเซลล์ที่เหมาะสมในงานหลุม 96 หลุม และจึงใช้จำนวนเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดเลือดมังกร์ และสารสกัดอินทนิลน้ำ ดังนี้

การเลี้ยงจำนวนเซลล์เมลานوماที่เหมาะสมในงานหลุม

ผลการเลี้ยงเซลล์ใน 96 well plate โดยทำการทดลองเลี้ยงเซลล์เมลานوما C32 ในงานหลุม 96 หลุม ที่จำนวนเซลล์เริ่มต้นดังนี้ 2.5×10^3 , 5×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 4×10^4 และ 8×10^4 เซลล์ต่อหลุม เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงดังแสดงในภาพที่ 4.1 เป็นการเลี้ยงจำนวนเซลล์เริ่มต้นที่ 2.5×10^3 , 5×10^3 , และ 1×10^4 เซลล์ต่อหลุม พบว่ามีการเจริญของเซลล์น้อย จำนวนเซลล์เริ่มต้นที่ 4×10^4 เซลล์ต่อหลุม พบว่าเซลล์เจริญเติบโต 80-100% ในขณะที่หลุมเริ่มต้นจำนวนเซลล์ 8×10^4 เซลล์ต่อหลุม มีการเจริญของเซลล์เกินพื้นที่และเซลล์บางส่วนตาย จากการทดลองเลี้ยงจำนวนเซลล์ที่เจริญเติบโตในระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงดังแสดงในภาพที่ 4.2 โดยการย้อมเซลล์ด้วยสีคริสทอลไวเลต (crystal violet) และวัดสีด้วยเครื่องไมโครเพลทรีเดอร์ (microplate reader) และวิเคราะห์หาการเจริญของเซลล์ที่แปรผันตามค่า OD (optical density) พบว่าจำนวนเซลล์เริ่มต้น 4×10^4 เซลล์ต่อหลุม มีเซลล์เพิ่มจำนวนโดยวัดค่า OD ได้ 0.487 ± 0.049 (ค่าเฉลี่ย \pm SD) ที่ 24 ชั่วโมง เมื่อเวลา 48 และ 72 ชั่วโมงเซลล์มีการเจริญเพิ่มขึ้นแปรผันตามค่า OD ดังนี้ 0.861 ± 0.152 และ 1.376 ± 0.027 ตามลำดับ ซึ่งจำนวนเซลล์ที่ 4×10^4 เซลล์ต่อหลุม เป็นจำนวนเซลล์เริ่มต้นที่เหมาะสมเนื่องจากเซลล์เจริญได้พอเหมาะกับพื้นที่ในหลุม และไม่พบเซลล์ตาย จึงถูกเลือกนำไปใช้ในการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อไป



ภาพที่ 4.1 การเจริญของเซลล์ที่จำนวนเซลล์ในจานหลุม 96 หลุม เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
ดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กลับหัว กำลังขยาย X 200

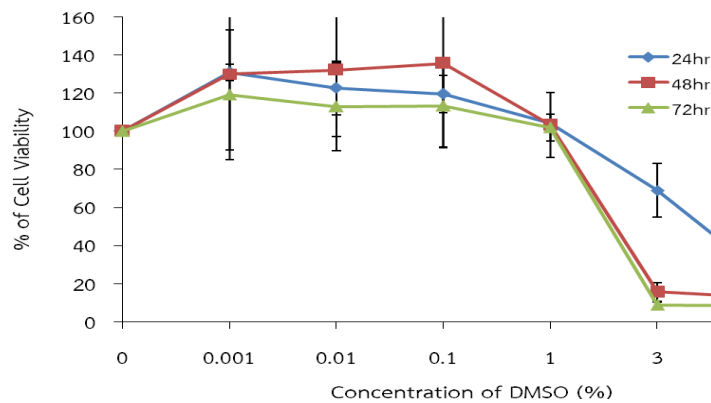


ภาพที่ 4.2 จำนวนเซลล์ที่เหมาะสมที่ถูกเลี้ยงในงานหลุม 96 หลุม เป็นเวลา 24, 48, 72 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยของค่าดูดกลืนแสง (optical density) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณจากสาม การทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษของสารโพรพานิไดอล (propanediol) และดีเอ็มเอสโอ (DMSO, dimethyl sulfoxide) ต่อเซลล์ เมลาโนมา C32

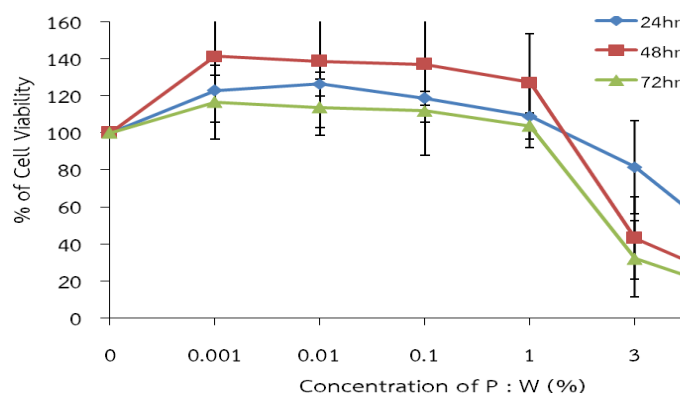
สาร ดีเอ็มเอสโอ (DMSO) และ โพรพานิไดอล (propanediol) เป็นตัวทำละลายในการ ละลายสารสกัดสมุนไพร ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้ ดีเอ็มเอสโอ สำหรับละลายสารสกัดอินทนิลน้ำ และ โพรพานิไดอล ละลายสารสกัดเลือดมังกร จึงทำการทดสอบฤทธิ์ของ ดีเอ็มเอสโอ และ โพรพานิได ออล ในความเป็นพิษต่อเซลล์โดยเจือจางความเข้มข้นของสารทั้งสองชนิด ดังนี้ 0.001, 0.01, 0.01, 0.1, 1, 3 และ 6% ทดสอบกับเซลล์เป็นต่อเซลล์ เมลาโนมา เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ผล การทดสอบพบว่า การเจริญเติบโตของเซลล์เมื่อวิเคราะห์เป็นค่าความมีชีวิต (% of cell viability)

จากการทดสอบฤทธิ์ของดีเอ็มเอสโอ (DMSO) ต่อการเจริญของเซลล์เมลาโนมาดังแสดงใน ภาพที่ 4.3 ดีเอ็มเอสโอ พบว่า ที่ความเข้มข้น 3% เมื่อทดสอบกับเซลล์เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีค่าความมีชีวิต ลดลงดังนี้ 69, 15 และ 8 % ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 6% เมื่อทดสอบกับ เซลล์เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีค่าความมีชีวิตลดลงดังนี้ 24, 12 และ 8 % ตามลำดับ เมื่อ เทียบกับการเจริญของเซลล์ หลุมที่ไม่ใส่ ดีเอ็มเอสโอ เมื่อทดสอบเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มี ค่าความมีชีวิตเท่ากับ 100 % จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ดีเอ็มเอสโอ ที่ความเข้มข้น 3 และ 6% มีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์ จากการทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0.001- 1% ของ ดีเอ็มเอสโอ ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์หรือมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับ การเจริญของ เซลล์ในหลุมที่ไม่มี ดีเอ็มเอสโอ ทั้งในระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพที่ 4.3 ใน การศึกษาครั้งนี้จึงเลือก ดีเอ็มเอสโอ ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 1% ในการละลายสารสกัดอินทนิลน้ำ เพื่อทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัด



ภาพที่ 4.3 ฤทธิ์ของดีเอ็มเอสโอ (DMSO) ที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์เมลาโนมา ค่าเฉลี่ยของค่าความมีชีวิตของเซลล์ (% of cell viability) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณจากสามการทดลอง

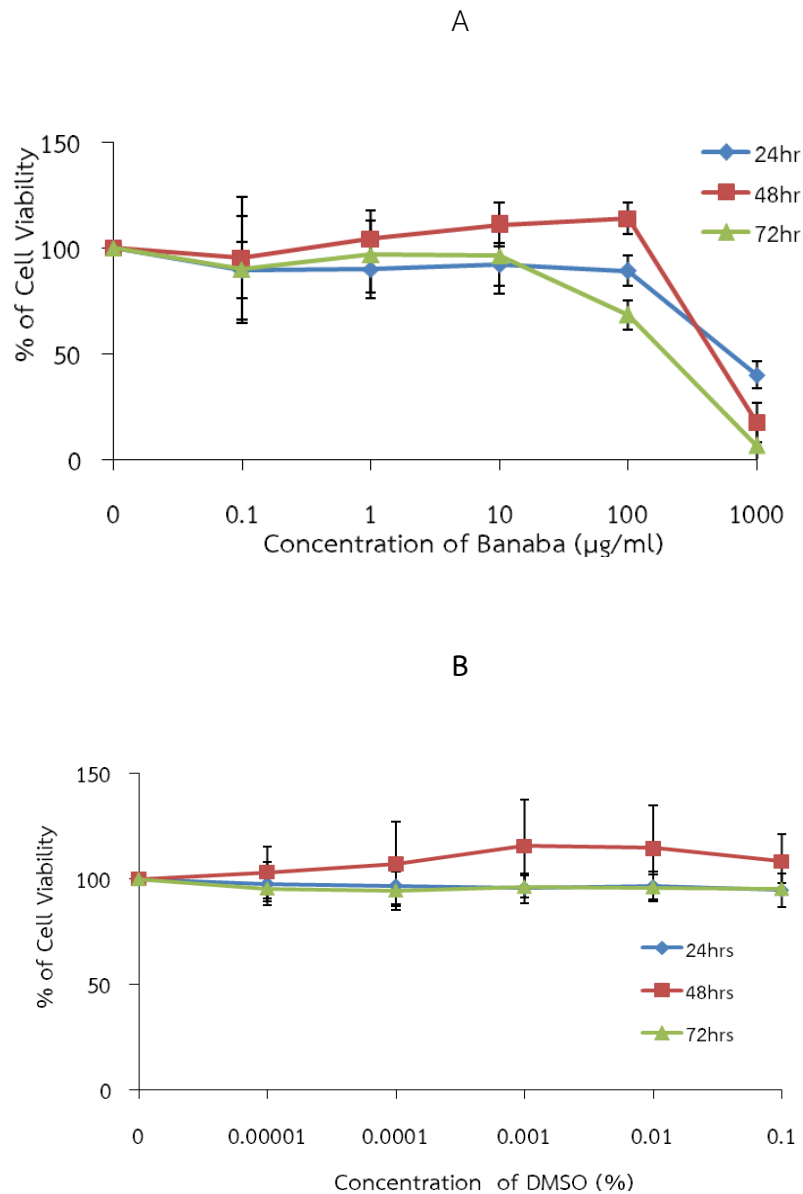
ในการละลายสารสกัดเลือดมังกรใช้สารละลายที่มีส่วนผสมของโพรพานีดิออลต่อน้ำ (propanediol : water) ในอัตราส่วน 1:1 (ใช้อักษรย่อว่า P:W) ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารต่อการเจริญของเซลล์เมลาโนมา ดังแสดงในภาพที่ 4.4 พบว่าที่ความเข้มข้น 3 % มีผลทำให้ค่าความมีชีวิตของเซลล์ลดลงเป็น 81, 43 และ 32 % ที่เวลาการทดสอบ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นเพิ่มเป็น 6 % มีผลทำให้ค่าความมีชีวิตของเซลล์ลดลงเท่ากับ 36, 18, 13 % เมื่อเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 1 % ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญของเซลล์ในหลุมที่ไม่ใส่โพรพานีดิออลซึ่งมีค่าความมีชีวิตเท่ากับ 100 % แสดงให้เห็นว่า โพรพานีดิออล ที่ความเข้มข้นมากกว่า 1 % มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์เมลาโนมา



ภาพที่ 4.4 ฤทธิ์ของโพรพานีดิออล (P:W, propanediol : water) ที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์เมลาโนมา ค่าเฉลี่ยของค่าความมีชีวิตของเซลล์ (% of cell viability) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณจากสามการทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดอินทนิลน้ำต่อเซลล์เมลาโนมา

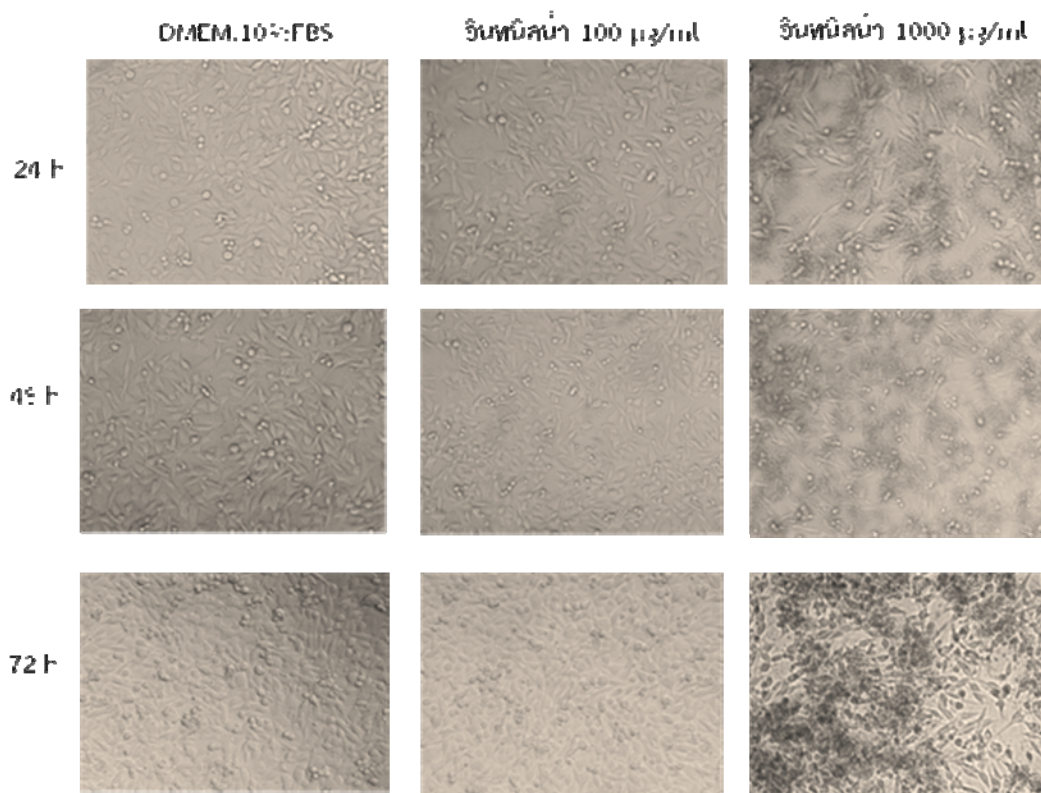
การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดอินทนิลน้ำต่อเซลล์เมลาโนมา จากภาพที่ 4.5 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดอินทนิลน้ำที่ถูกเจือจางในอัตราส่วน 1:10 (0.1-1000 $\mu\text{g/ml}$) ซึ่งถูกละลายในสารดีเอ็มเอสโอที่ความเข้มข้น 0.00001 – 0.1 % และทดสอบเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง จากภาพที่ 4.5 (A) ผลการทดสอบพบว่า เซลล์ที่อยู่ในหลุมที่มีสารสกัดอินทนิลน้ำที่ความเข้มข้น 0.1 – 10 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อเวลาผ่านไป 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ค่าความมีชีวิตของเซลล์อยู่ระหว่าง 89 ± 13 – 110 ± 10 % เมื่อเทียบกับค่าความมีชีวิตของเซลล์ในหลุมที่ไม่มีอินทนิลน้ำ ซึ่งแสดงว่าสารสกัดอินทนิลน้ำที่ความเข้มข้น 0.1 – 10 $\mu\text{g/ml}$ ไม่ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ ค่าความมีชีวิตของเซลล์ลดลงเหลือ 68 ± 6 % เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง และที่ระดับความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$ ค่าความมีชีวิตของเซลล์ลดลงเหลือ 39 ± 6 %, 17 ± 9 % 6 ± 5 % เมื่อเวลาผ่านไป 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.5 (A) แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดอินทนิลน้ำอยู่ที่ความเข้มข้นระหว่าง 100 – 1000 $\mu\text{g/ml}$ ในขณะที่สารดีเอ็มเอสโออย่างเดียวกันที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.00001 – 0.1 % พบว่าผลการทดสอบกับเซลล์ค่าความมีชีวิตของเซลล์อยู่ที่ 97 ± 6 – 102 ± 5 % เมื่อเวลาผ่านไป 24, 48 และ 72 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าดีเอ็มเอสโอที่ระดับความเข้มข้น 0.00001 – 0.1 % ไม่มีฤทธิ์ในการลดค่าความมีชีวิตของเซลล์เมื่อเทียบกับเซลล์ในหลุมที่ไม่มีสารดีเอ็มเอสโอ ดังแสดงในภาพที่ 4.5 (B) ดังนั้นผลการทดสอบนี้เป็นการแสดงผลของฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดอินทนิลน้ำอย่างชัดเจน



ภาพที่ 4.5 ฤทธิ์ของสารสกัดอินทนิลน้ำ A) สารสกัดอินทนิลน้ำเจือจางที่อัตราส่วนหนึ่งต่อสิบ และ B) ดีเอ็มเอสโอ (DMSO) เจือจางที่อัตราส่วนหนึ่งต่อสิบต่อเซลล์เมลานوماเป็นระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยของค่าความมีชีวิตของเซลล์ (% of cell viability) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณจากสามการทดลอง

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดอินทนิลน้ำต่อเซลล์เมลานوما ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดอินทนิลน้ำที่ความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีผลทำให้เซลล์ตายตั้งแต่ 24 ชั่วโมง ในขณะที่ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$ ไม่มีผลทำให้เซลล์ตายหรือยับยั้งการเจริญของเซลล์เมื่อเวลาผ่านไป 24, 48

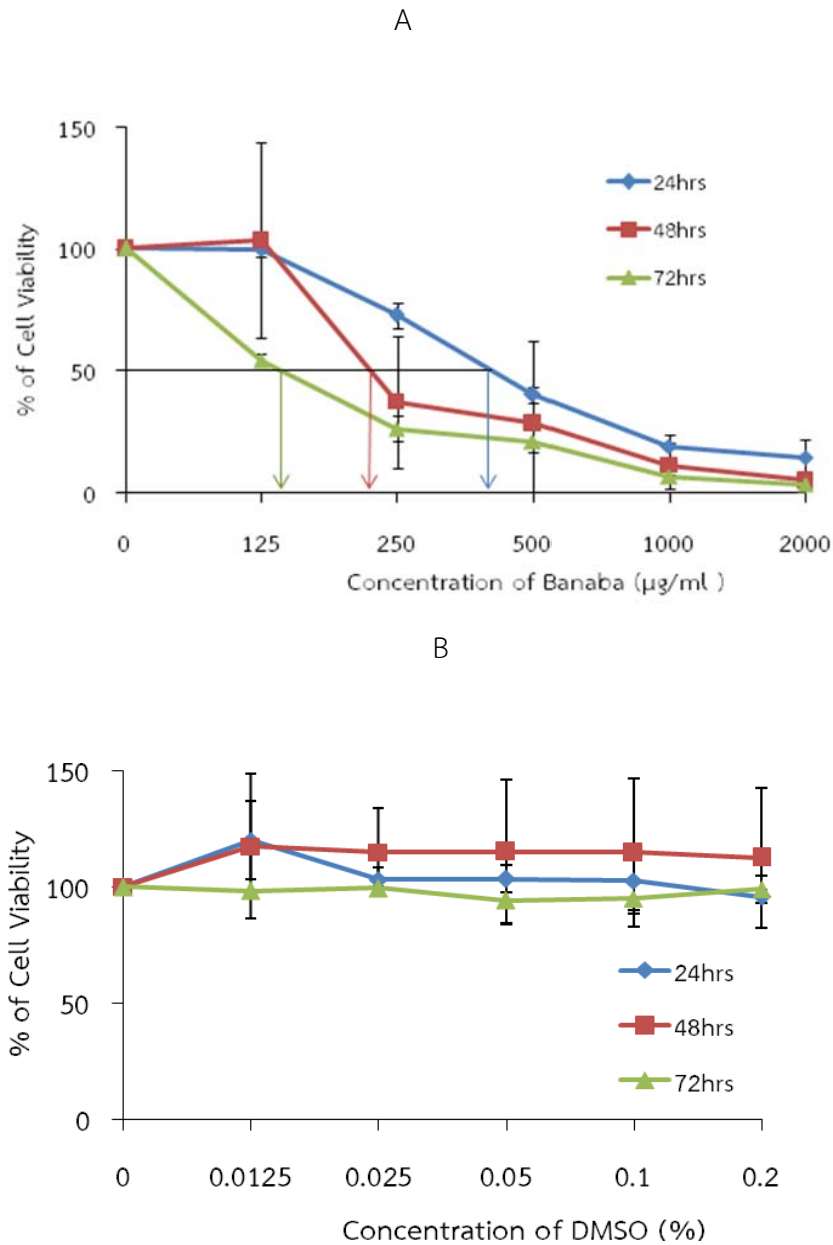
ชั่วโมง แต่ที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่าการเจริญของเซลล์ลดลง โดยเปรียบเทียบกับเซลล์ในหลุมที่ถูกเลี้ยงในอาหาร (DMEM, 10 % FBS) ที่ไม่มีสารอินทินิลน้ำ ดังแสดงในภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 ภาพเซลล์เมลาโนมาที่ถูกเลี้ยงในอาหารที่มีและไม่มีสารสกัดอินทินิลน้ำ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับที่กำลังขยาย X 200

จากผลนี้จึงทำการทดสอบเพื่อหาค่า EC_{50} (effective concentration inhibitory 50% of cell viability) โดยการเจือจางสารในอัตราส่วน 1:2 ดังนี้ 125, 250, 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ และทดสอบกับเซลล์ที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ผลการทดสอบพบว่าฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดอินทินิลน้ำโดยการวิเคราะห์หาค่า EC_{50} ที่ระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 400, 230 และ 130 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 4.7 (A) นอกจากนี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของสารดีเอ็มเอสโอที่ความเข้มข้น 0.0125 – 0.2 % ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่ใช้ละลายสารอินทินิลน้ำที่ความเข้มข้น 125 – 2000 $\mu\text{g/ml}$ ต่อเซลล์เมลาโนมา ผลการทดสอบพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายดีเอ็มเอสโอ 0.0125 – 0.2 % ไม่มีผลลดความมีชีวิตของเซลล์หรือทำให้เซลล์ตายเนื่องจากเซลล์ยังคงเจริญหรือค่าความมีชีวิตเท่ากับ 100 % เมื่อเทียบกับเซลล์ในหลุมที่ถูกเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารดีเอ็มเอสโอเมื่อเวลาผ่านไป 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพที่ 4.7 (B) ดังนั้น

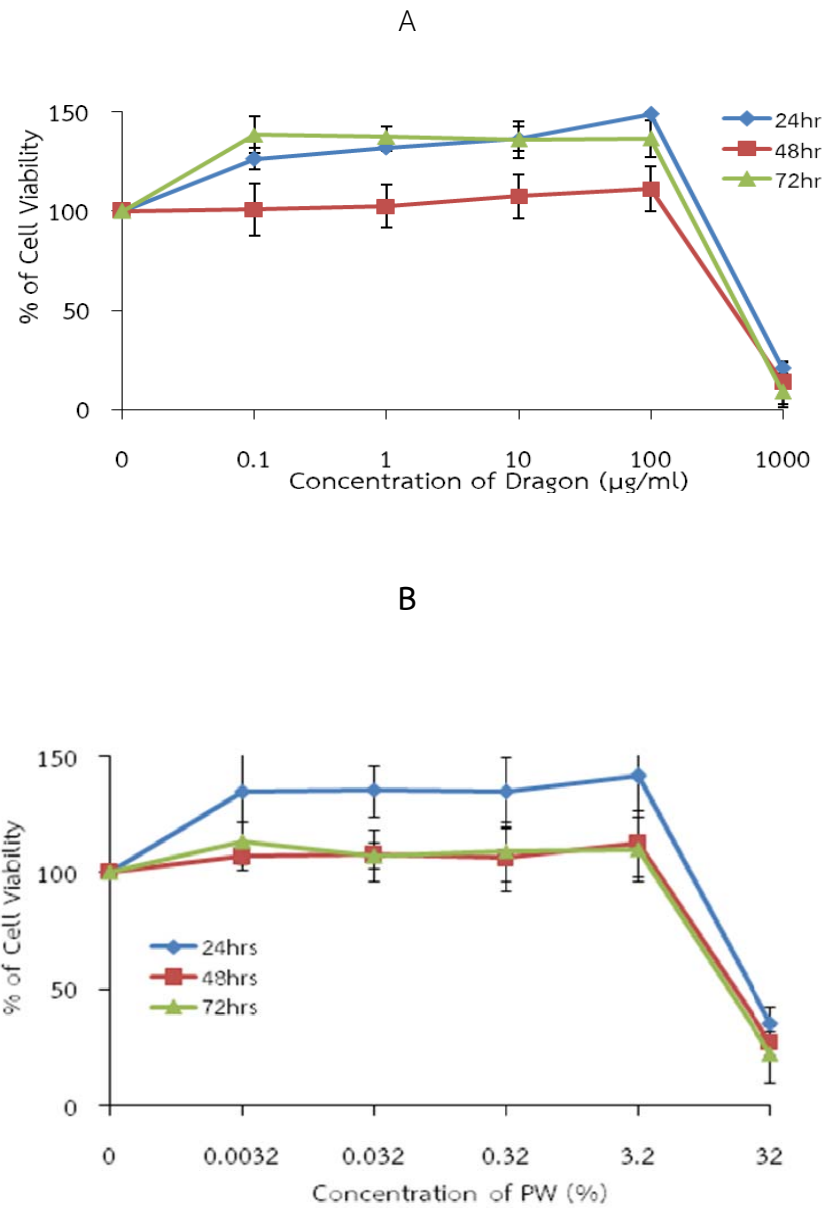
ผลการทดสอบที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์หรือทำให้เซลล์ตายนั้นเกิดจากฤทธิ์ความเป็นพิษของสารอินทนิลน้ำ



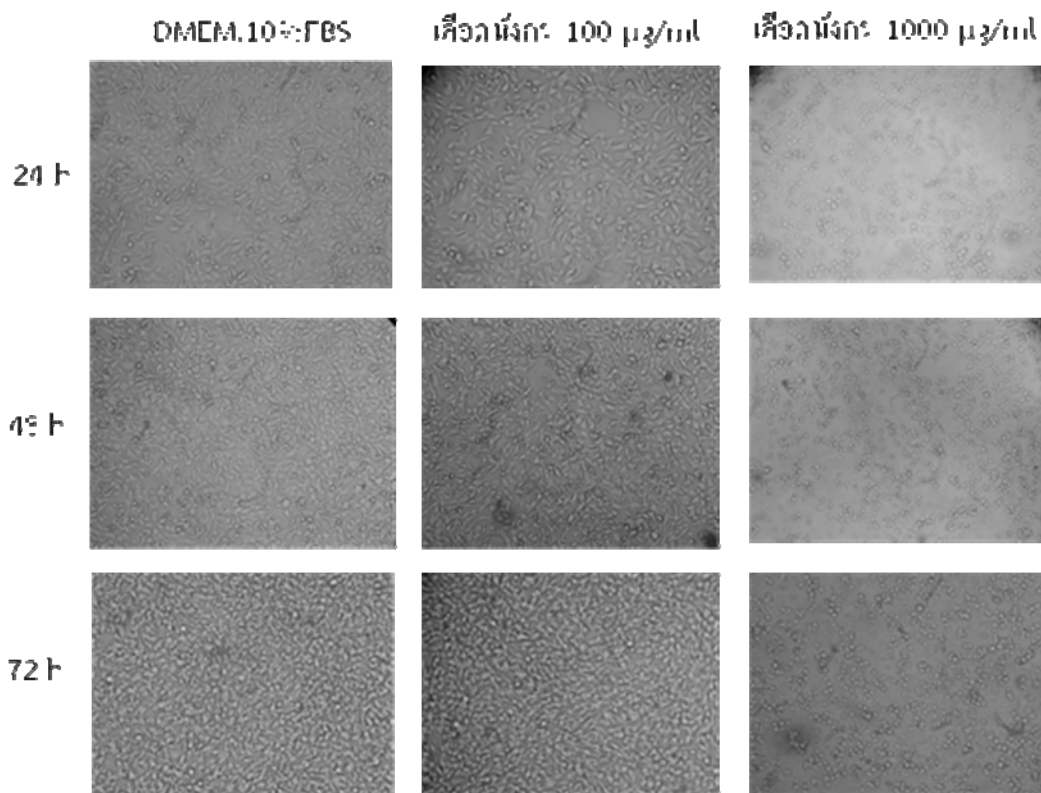
ภาพที่ 4.7 ฤทธิ์ของสารสกัดอินทนิลน้ำอัตราส่วนหนึ่งต่อสองทดสอบกับเซลล์เมลาโนมา ผลการวิเคราะห์ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ค่า EC_{50} เท่ากับ 400 $\mu\text{g/ml}$ (ลูกศรสีฟ้า) 230 $\mu\text{g/ml}$ (ลูกศรสีแดง) และ 130 $\mu\text{g/ml}$ (ลูกศรสีเขียว) ตามลำดับ B) ฤทธิ์ของสารดีเอ็มเอสโอ (DMSO) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.0125 – 0.2 %, ค่าเฉลี่ยของค่าความมีชีวิตของเซลล์ (% of cell viability) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณจากสามการทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเลือดมังกรต่อเซลล์เมลาโนมา

สารสกัดเลือดมังกรที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ถูกละลายด้วยโพรพานิไดออลต่อน้ำ (P:W ในอัตราส่วน 1:1) และถูกนำมาทดสอบกับเซลล์เมลาโนมา ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.1, 1, 10, 100 และ 1000 $\mu\text{g/ml}$ ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ผลการทดสอบพบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่อยู่ในหลุมไม่มีสารสกัดเลือดมังกรที่ไม่พบเซลล์ตายที่ความเข้มข้นของสารสกัดเลือดมังกร 0.1-100 $\mu\text{g/ml}$ แสดงว่าไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเซลล์ แต่ที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$ มีผลทำให้ค่าความมีชีวิตของเซลล์ลดลงเหลือ 20 ± 8 , 13 ± 5 และ 8 ± 4 % เมื่อเวลาผ่านไป 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.8 (A) ทำให้ทราบว่าฤทธิ์ความเป็นพิษของสารอยู่ในช่วงระหว่าง 100-1000 $\mu\text{g/ml}$ ในการทดลองเดียวกันได้ทดสอบฤทธิ์ของโพรพานิไดออลควบคู่ไปด้วย พบว่าโพรพานิไดออลที่ความเข้มข้นมากกว่า 3.2 % มีผลทำให้ค่าความมีชีวิตลดลงเหลือ 35 ± 12 , 26 ± 8 , และ 26 ± 10 % เมื่อเวลาผ่านไป 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.8 (B) แสดงว่าโพรพานิไดออลมีฤทธิ์ต่อการเจริญของเซลล์เช่นกัน จากภาพที่ 4.9 แสดงสารสกัดเลือดมังกรที่ความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีผลทำให้เซลล์ตายตั้งแต่ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.8ฤทธิ์ของสารสกัดเลือดมังกร A) สารสกัดเลือดมังกรเจือจางในอัตราส่วนหนึ่งต่อสิบและ B) PW เจือจางในอัตราส่วนหนึ่งต่อสิบ ถูกทดสอบกับเซลล์เมลานوماเป็นระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยของค่าความมีชีวิตของเซลล์ (% of cell viability) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณจากสามการทดลอง

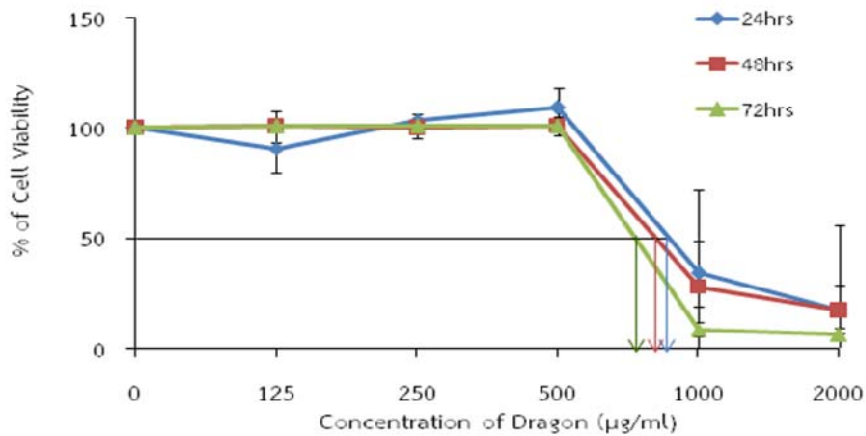


ภาพที่ 4.9 ภาพเซลล์เมลานโนมาที่ถูกทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดเลือดมังกร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับที่กำลังขยาย X 200

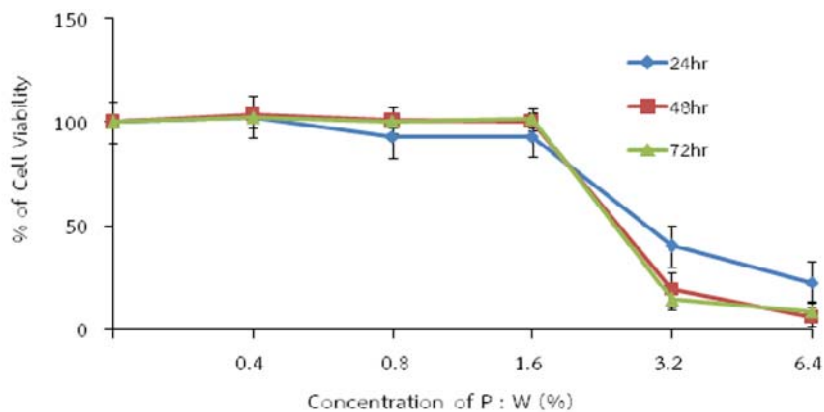
จากผลนี้จึงทำการทดสอบเพื่อหาค่า EC_{50} (effective concentration inhibitory 50% of cell viability) โดยเจือจางสารในอัตราส่วน 1:2 ดังนี้ 125, 250, 500, 1000 และ 2000 $\mu\text{g/ml}$ และทดสอบกับเซลล์ที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ผลการทดสอบพบว่าฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดเลือดมังกรโดยการวิเคราะห์หาค่า EC_{50} ที่ระยะเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 860, 800 และ 700 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 4.10 (A) เนื่องจากสารสกัดเลือดมังกรที่มีความเข้มข้นระหว่าง 125 – 2000 $\mu\text{g/ml}$ มีสารละลายโพรพานิไดออลต่อน้ำ (P:W) อยู่ด้วยที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.4 – 6.4 % ซึ่งถูกทดสอบควบคู่ไปกับการทดสอบสารสกัดเลือดมังกรด้วย ดังแสดงในภาพที่ 4.10 (B) พบว่า สารละลายโพรพานิไดออลต่อน้ำ (P:W) ที่ความเข้มข้นมากกว่า 1.6 % ทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลงจาก 100 % และความเข้มข้น 3.2 และ 6.4 % ในเวลา 24 ชั่วโมง มีผลทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลงเหลือ 40 และ 23 % ตามลำดับ ดังผลการทดสอบที่ทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลงนอกจากเกิดจากฤทธิ์ความเป็นพิษของสารสกัดเลือดมังกรแล้ว สารโพรพานิไดออลมีฤทธิ์ต่อความมีชีวิตของเซลล์เมลานโนมาลดลงด้วยเช่นกัน แต่ที่ความเข้มข้นของสารสกัดเลือดมังกรระหว่าง 125 - 500 $\mu\text{g/ml}$ ซึ่งถูกละลายอยู่ในสารโพรพานิไดออลที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.4 – 1.6 % ซึ่งที่

ความเข้มข้นช่วงนี้ทั้งของสารสกัดมังกรและโพรพานิไดอลไม่มีผลกระทบต่อความมีชีวิตของเซลล์เมลาโนมา (ภาพที่ 4.10 A, B)

A



B



ภาพที่ 4.10 ภาพที่ของสารสกัดเลือดมังกรอัตราส่วนหนึ่งต่อสองทดสอบกับเซลล์เมลาโนมา A) ผลการวิเคราะห์ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ค่า EC_{50} เท่ากับ 860 $\mu\text{g/ml}$ (ลูกศรสีฟ้า) 800 $\mu\text{g/ml}$ (ลูกศรสีแดง) และ 700 $\mu\text{g/ml}$ (ลูกศรสีเขียว) ตามลำดับ B) ภาพที่ของสารละลายโพรพานิไดอลต่อน้ำ (P:W) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.4 – 6.4 %, ค่าเฉลี่ยของค่าความมีชีวิตของเซลล์ (% of cell viability) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณจากสามการทดลอง

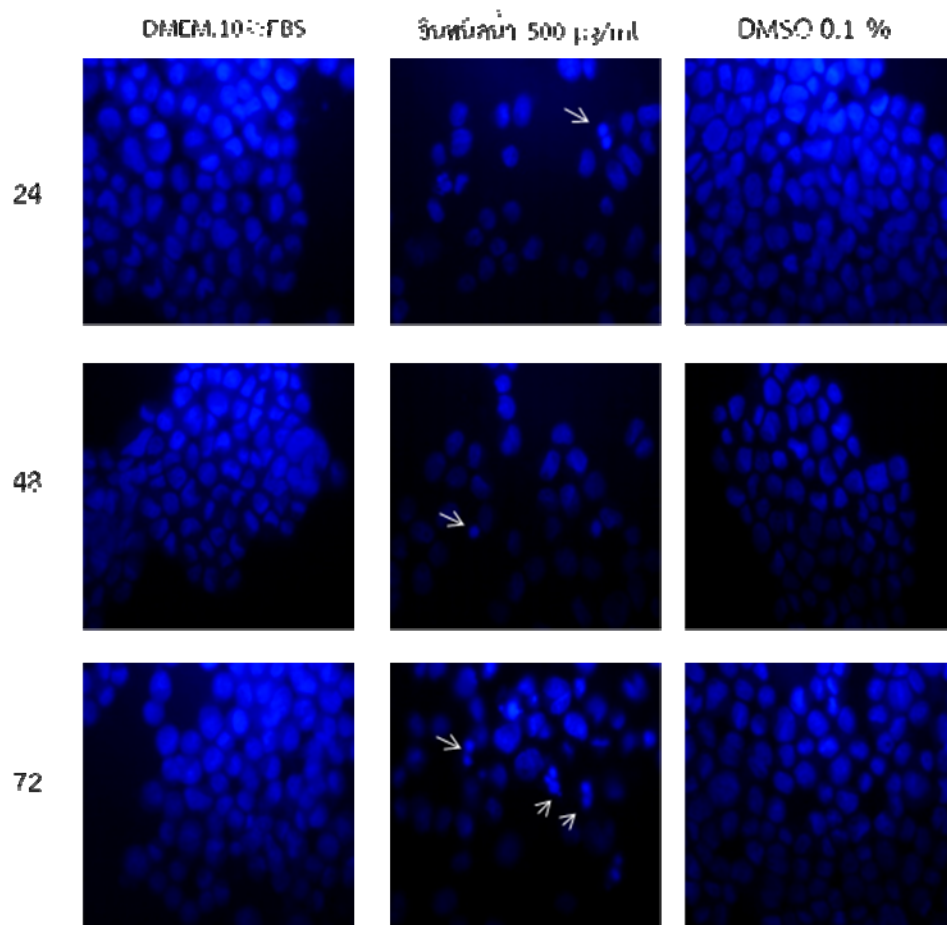
การตายของเซลล์เมานาเกิดจากฤทธิ์ของสารสกัดอินทนิลน้ำและเลือดมังกร

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดอินทนิลน้ำที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ และสารสกัดเลือดมังกรที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 24, 48, 72 ชั่วโมง ปริมาณของเซลล์ที่มีชีวิตถูกวัดโดยการย้อมด้วยสีทริปแฟนบลู (trypan blue) และวิเคราะห์เป็นค่าความมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 จะเห็นว่า เพอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ลดลงเมื่อเวลาเพิ่มจาก 24 ชั่วโมง ถึง 72 ชั่วโมง นอกจากนี้ได้ย้อมเซลล์ด้วยสีแดปี้ (DAPI, 4,6-Diamidin-2-Phenylindol Dihydrochlorid) ซึ่งเป็นสีย้อมนิวเคลียสของเซลล์ ดังแสดงในภาพที่ 4.11 และภาพที่ 4.12 จะเห็นได้ว่า สารสกัดอินทนิลน้ำมีฤทธิ์ทำให้เซลล์ตายแบบอะพอพโตซิส (apoptosis) โดยเซลล์ที่ตายมีลักษณะของนิวเคลียสหดและขนาดเล็กลง (ภาพที่ 4.11) ในขณะที่สารละลายดีเอ็มเอสโอที่ความเข้มข้น 0.1 % ไม่มีผลทำให้เซลล์ตาย สำหรับสารสกัดเลือดมังกร และสารละลายโพรพานิไดออลมีฤทธิ์ทำให้ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตลดลงหรือเพอร์เซ็นต์ของความมีชีวิตของเซลล์ลดลง และทำให้เซลล์ตาย ซึ่งการทดสอบฤทธิ์ของเลือดมังกรครั้งนี้มีข้อจำกัดเนื่องจากผลการทดสอบพบว่า สารโพรพานิไดออลที่ใช้ละลายสารสกัดเลือดมังกรมีฤทธิ์ทำให้เซลล์ตายได้เช่นกัน (ภาพที่ 4.12)

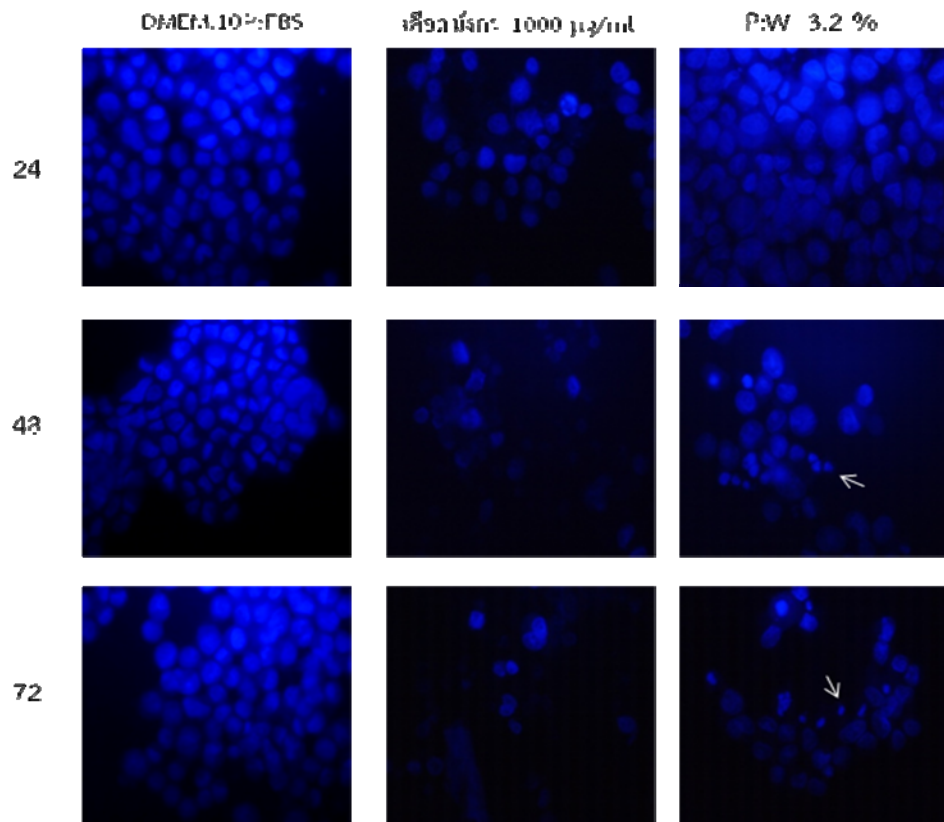
ตารางที่ 4.1 ปริมาณเซลล์ที่ยังมีชีวิตหลังจากถูกเลี้ยงในอาหารที่มีส่วนผสมของสารสกัดอินทนิลน้ำและสารสกัดเลือดมังกร

	% of cell viability*		
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
DMEM, 10% FBS	100	100	100
อินทนิลน้ำ 500 $\mu\text{g/ml}$	60.3 \pm 7	25.7 \pm 5	18.5 \pm 4
DMSO 0.1 %	100 \pm 5	100 \pm 6	98 \pm 7
เลือดมังกร 1000 $\mu\text{g/ml}$	30 \pm 8	25 \pm 9	7 \pm 3
P:W 3.2 %	47.1 \pm 7	35.5 \pm 8	19.9 \pm 8

*ค่าเฉลี่ยของค่าความมีชีวิตของเซลล์ (% of cell viability) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณจากสามการทดลอง



ภาพที่ 4.11 ภาพเซลล์ตายของเซลล์เมลาโนมาจากฤทธิ์ของสารสกัดอินทรีบลูน้ำ เซลล์ที่ตายมีลักษณะการตายแบบ อะพอพอโตซิส (apoptosis) นิวเคลียสของเซลล์ ขนาดเล็กลง (ลูกศรชี้) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เรืองแสงที่กำลังขยาย X 400



ภาพที่ 4.12 ภาพเซลล์ตายของเซลล์เมลานอมาจากฤทธิ์ของสารสกัดเล็ดมังกะ และสารโพรพานิติ ออล เซลล์ที่ตายมีลักษณะการตายแบบ อะพอพโตซิส (apoptosis) นิวเคลียสของเซลล์ ขนาดเล็กลง (ลูกศรชี้) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์เรืองแสงที่กำลังขยาย X 400