

บทคัดย่อ

สมบัติด้านการอักเสบสามารถทดสอบโดยใช้เทคนิคทางด้านเซลล์ไลน์ แต่อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวใช้เวลาค่อนข้างนาน และมีค่าใช้จ่ายสูง อีกทั้งผู้ทดสอบต้องมีความชำนาญ ในการวิจัยนี้จึงได้ทดลองเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติด้านการอักเสบ และสมบัติด้านการเกิดออกซิเดชัน โดยทดสอบวิธีวัดสมบัติด้านการเกิดออกซิเดชันวิธีต่างๆ เช่น วิธี DPPH, ABTS, ORAC และ xanthine oxidase (XO) เพื่อทดสอบกับสารฟลาโวนอยด์ 3 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่ 1 flavonol: quercetin, myricetin, กลุ่มที่ 2 flavanone: eriodictyol, naringenin และกลุ่มที่ 3 flavone: luteolin, apigenin ที่ความเข้มข้นต่างๆ และพบว่าสมบัติด้านการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์มากกว่า 50 ppm พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ THP-1 โมโนไซต์ ดังนั้นจึงได้คัดเลือกความเข้มข้นฟลาโวนอยด์ 10, 20 และ 50 ppm มาทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบกับเซลล์ THP-1 โมโนไซต์ที่ได้รับการกระตุ้นให้อักเสบด้วย endotoxin ชนิด lipopolysaccharide จากผลการทดลองพบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบที่ลดลง ได้แก่ ยีน IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 และ TNF- α เมื่อความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้น เมื่อทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติด้านการเกิดออกซิเดชันจากการวัดด้วยวิธีต่างๆ และสมบัติด้านการอักเสบโดยใช้เซลล์ THP-1 โมโนไซต์ โดยใช้เทคนิค principle component analysis (PCA) ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าวิธี DPPH, ABTS และ ORAC มีความสัมพันธ์ตรงกันข้ามกับการลดการแสดงออกของยีน นอกจากนี้การวิเคราะห์ด้วยวิธี Pearson correlation แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของวิธี ABTS และการลดการแสดงออกของยีน; IL-1 β , IL-6 และ IL-8 จากทั้งหมด 5 ยีนที่ทำการศึกษา จากผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าวิธี ABTS มีแนวโน้มที่จะเป็นวิธีบ่งชี้สมบัติด้านการอักเสบของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

คำสำคัญ : สมบัติด้านการเกิดออกซิเดชัน, วิธีวัดสมบัติด้านการเกิดออกซิเดชัน, สมบัติด้านการอักเสบ, ฟลาโวนอยด์, ตัวยับยั้ง

Abstract

The complexity of in vitro anti-inflammatory assays, the cost and time consumed, and the necessary skills can be a hurdle to apply to promising compounds in a high throughput setting. In this study, several antioxidative assays i.e. DPPH, ABTS, ORAC and xanthine oxidase (XO) were used to examine the antioxidative activity of three sub groups of flavonoids: (i) flavonol: quercetin, myricetin (ii) flavanone: eriodictyol, naringenin (iii) flavone: luteolin, apigenin. A range of flavonoid concentrations was tested for their antioxidative activities and were found to be dose-dependent. However, the flavonoid concentrations over 50 ppm were found to be toxic to the THP-1 monocytes. Therefore, 10, 20 and 50 ppm of flavonoid concentrations were tested for their anti-inflammatory activity in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated THP-1 monocytes. Expression of inflammatory genes, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α was found to be sequentially decreased when flavonoid concentration increased. Principle component analysis (PCA) was used to investigate the relationship between the data sets of antioxidative assays and the expression of inflammatory genes. The results showed that DPPH, ABTS and ORAC assays have an opposite correlation with the reduction of inflammatory genes. Pearson correlation exhibited relationship between ABTS assay and expression of three out of five analyzed genes; IL-1 β , IL-6 and IL-8 gene. Our findings indicate that ABTS can potentially be an assay marker for anti-inflammatory activity of flavonoids.

Keywords: anti-oxidative activity, anti-oxidative assay, anti-inflammatory activity, flavonoid, marker