Thesis Title Investigation of Phenolic Compounds and Antioxidant

Activity of Selected Indigenous Plant

Author Miss Suganya Tachakittirungrod

Degree Doctor of Philosophy (Pharmacy)

Thesis Advisory Committee

No MA

Assoc. Prof. Dr. Siriporn Okonogi Chairperson

Prof. Dr. Maitree Suttajit Member

Asst. Prof. Dr. Sombat Chowwanapoonpohn Member

Prof. Dr. Fumio Ikegami Member

ABSTRACT

Indigenous plants are a source of phytochemicals such as polyphenolic compounds which have antioxidant activity and are used for health promotion and disease prevention.

The aim of the present work was to determine the antioxidant activities and cytotoxicities of the indigenous plant extracts and study the chemical characterization of phenolic compounds with high antioxidant activity in the selected plant. The ethanol extracts from several parts (n=42) of 26 kinds of indigenous plants commonly found in Thailand were investigated and compared for their antioxidant activity by ABTS, DPPH, FRAP and β -carotene bleaching assays. It was found that the ethanol

extract from the leaves of guava (Psidium guajava) showed the highest antioxidant capacity with the TEAC value of 4.908 ± 0.050 mM/mg and non toxic to PBMC. The antioxidant capacity of extracts from guava leaves by different solvents: n-hexane, ethyl acetate, *n*-butanol, and methanol, was examined. The total phenolic content was determined by Folin-Ciocalteu reaction. The results indicated that the methanol fraction possessed the highest antioxidant activity and high phenolic content, followed by the *n*-butanol and ethyl acetate fractions respectively. The methanol extract was purified by column chromatography using silica gel, RP-18 silica gel, Sephadex LH-20, MCI-gel and Toyopearl HW-40C consecutively. The active principles were identified by TLC chromatogram pattern. Three isolated active principles were chemically elucidated (Compounds 1, 2, and 3) based on spectroscopic properties (IR, MS, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR). The results indicated that Compounds 1, 2, and 3 were quercetin, quercetin-3-O-glucopyranoside, and morin respectively. Among these compounds, it was found that quercetin showed the highest antioxidant activity with the IC₅₀, TEAC, and EC values of $1.20 \pm 0.02 \,\mu \text{g/ml}$, $57.54 \pm 0.07 \,\text{mM/mg}$ and 72.69± 1.06 mM/mg, respectively. Quercetin-3-O-glucopyranoside and morin showed significant lower antioxidant power than quercetin.

It was concluded that the antioxidant compounds, antioxidizing power against free radical mainly depends on their scavenger activity and reducing property, which is in turn influenced by its structure of several phenolic hydroxyl groups. As natural antioxidants present in plants are in combination, the interaction of three isolated active compounds seems important for their action. Hence, the combination effects of quercetin, quercetin-3-*O*-glucopyranoside and morin should be further investigated.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การศึกษาสารประกอบฟืนอลิคและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ

พืชท้องถิ่นที่คัดเลือก

ผู้เขียน นางสาว สุกัญญา เตชกิตติรุ่งโรจน์

ปริญญา วิทยาศาสตรคุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. คร. ศิริพร โอโกโนกิ ประธานกรรมการ

ศ. คร. ไมตรี สุทธจิตต์ กรรมการ

ผศ. คร. สมบัติ เชาวนพูนผล กรรมการ

ศ. คร. ฟูมิโอะ อิเคงามิ กรรมการ

บทคัดย่อ

พืชท้องถิ่นหรือผักพื้นบ้านเป็นแหล่งที่ดีของสารธรรมชาติ เช่น สารประกอบฟินอลิกซึ่งมี ฤทธิ์ทางชีวภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระ มีคุณค่าในการส่งเสริมสุขภาพและใช้ในการบำบัดรักษา โรคได้

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์ ส่วน ของสารสกัดที่ให้ฤทธิ์ดีที่สุดและ ไม่เป็นพิษจะถูกนำมาแยกและพิสูจน์โครงสร้างของสารที่แสดง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดเอทานอลจากพืชไทยยี่สิบหกชนิดที่นำมาศึกษา และเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง ABTS, DPPH, FRAP และ β-carotene bleaching พบว่าสารสกัดใบฝรั่งให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ซึ่งมีค่า TEAC เท่ากับ 4.908 ± 0.050 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัม เมื่อนำใบฝรั่งมาทำการศึกษาต่อ โดยการสกัด แยกส่วนด้วยสารละลายที่มีขั้วต่ำไปจนถึงสารละลายที่มีขั้วสูงคือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต บิวทานอล และ เมทานอล ตามลำดับ พร้อมทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟินอลิก ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reaction ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งที่สกัดด้วยเมทานอล

ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟืนอลิกสูงที่สุดและตามด้วยสารสกัดจากบิวทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซนตามลำดับ สารสกัดเมทานอลจากใบฝรั่งได้ถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธีการทางคอลัมน์โครมาโตรกราฟฟิโดยใช้ silica gel, RP-18 silica gel, Sephadex LH-20, MCI-gel และ Toyopearl HW-40C สารบริสุทธิ์ทั้งสามตัวที่แยกได้ถูกพิสูจน์โครงสร้างทาง เคมีด้วยเทคนิกทางสเปกโตรเมตรี (IR, MS, 1 H-NMR, และ 13 C-NMR) พบว่าสารประกอบทั้ง สามคือ เคอซิติน เคอซิตินไกล์โคไซด์ และมอริน เมื่อนำสารบริสุทธิ์ทั้งสามมาทดสอบฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระพบว่าเคอซิตินให้ฤทธิ์สูงที่สุดด้วยค่า IC_{50} , TEAC, และ EC เท่ากับ 1.20 ± 0.02 ใมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, 57.54 ± 0.07 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัม, และ 72.69 ± 1.06 มิลลิโมลต่อ มิลลิกรัม ตามลำดับ ส่วนเคอซิตินใกล์โคไซด์และมอรินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าเคอซิติน อย่างมีนัชสำคัญ

จากการศึกษานี้สรุปได้ว่าสารประกอบที่สามารถแยกได้จากใบฝรั่งสามารถต่อต้านอนุมูล
อิสระด้วยกุณสมบัติการจับกับอนุมูลอิสระและการเป็นสารรีดิวส์โดยกุณสมบัติของหมู่ไฮดรอกซิล
บนโครงสร้าง สารต้านอนุมูลอิสระในพืชจะประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดอยู่รวมกันซึ่งมี
ความสำคัญต่อการแสดงฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นการศึกษาถึงฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของการ
รวมกันของเคอซิตินกับเคอซิตินไกล์โคไซด์และมอรินเป็นสิ่งที่น่าสนใจและควรศึกษาต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright[©] by Chiang Mai University All rights reserved

The MAI