

**Thesis Title** Evaluation of Antioxidant and Antiglycation Activities in Culinary Plants

**Author** Ms. Khwanta Kaewnarin

**Degree** Doctor of Philosophy (Biotechnology)

**Advisory Committee**

Assoc. Prof. Dr. Nuansri Rakariyatham	Advisor
Asst. Prof. Dr. Hataichanoke Niamsup	Co-advisor
Asst. Prof. Dr. Lalida Shank	Co-advisor

**ABSTRACT**

Chronic hyperglycemia generates the formation of protein glycation, leading to the production of advanced glycation end-products (AGEs), which play an important role in several diabetic complications, such as atherosclerosis, nephropathy, retinopathy, neuropathy including DNA dysfunction. Inhibition of AGE formation is one of the approaches used to prevent and suppress the progression of diabetic complications. Another therapeutic approach for the prevention of diabetic complications is to decrease postprandial hyperglycemia through  $\alpha$ -glucosidase inhibition. In the attempt to search for natural inhibitors, ethyl acetate and ethanol extracts from 26 culinary plants were primarily assessed in terms of their phenolic and flavonoid contents as well as for their antioxidant and antiglycation activities. It found a high correlation between the antiglycation and antioxidant activities of the plant extracts versus their phenolic and flavonoid contents. Especially, the ethanolic extract of young leaves (*T. indica*, *P. guajava*, *M. indica*, *D. longan* and *P. granatum*) and spices (*O. sanctum*, *M. cordifolia*, *P. sarmentosum* and *P. odoratum*) that contained high phenolic and flavonoid compounds possessed potential antiglycation and antioxidant activities. Among the Lamiaceae plant species, the ethanolic extract of *O. sanctum* (purple) showed the strongest inhibitory effect against AGE formation in both extracellular

(BSA-MGO) and intracellular (histone-MGO) model proteins as well as the antidiabetic activity through the inhibition of  $\alpha$ -glucosidase (maltase). Moreover, it also showed the ability to decrease the formation of the crosslinking of the histone.

The ethanolic extract of *O. sanctum* (purple) was chosen to be partial purified by partitioning of its extract into ethyl acetate (EA) and aqueous fractions. The active EA fraction was subjected to flash silica gel 60 column chromatography and then identified by GC/MS, LC/MS and LC/MSMS techniques. The results showed that the antiglycative compounds of the EA fraction of *O. sanctum* (purple) exhibited the mass spectral patterns of methyl eugenol, rosmarinic acid, luteolin and apigenin. Quantification of the identified phenolic compounds found that rosmarinic acid and methyl eugenol were major constituents while luteolin and apigenin were minor constituents. The inhibitory effects of both EA and aqueous fractions of *O. sanctum* (purple) were investigated for the AGE formation in various model systems comparing with the standard phenolic compounds. The results indicated that the EA fraction of *O. sanctum* (purple) showed stronger inhibitory activities against AGE formation in both extracellular and intracellular proteins than its aqueous fraction. Moreover, the EA fraction of *O. sanctum* (purple) also displayed the potent inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase, being of the mixed non-competitive inhibitor type. These results suggest that the phenolics (rosmarinic acid, luteolin and apigenin) might be the bioactive compounds in the EA fraction of *O. sanctum* (purple) that contributed to the antiglycation activities and the antidiabetic property through the inhibition of  $\alpha$ -glucosidase activity, except for methyl eugenol which only showed  $\alpha$ -glucosidase inhibition.

**Keywords:** antiglycation activity, antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase activity, culinary plants, Lamiaceae plants, phenolic compounds

หัวข้อวิทยานิพนธ์      การประเมินฤทธิ์ของสารต้านออกซิเดชันและต้านไกลโคเซชันในพืชสวนครัว

ผู้เขียน                      นางสาววิญดา แก้วนรินทร์

ปริญญา                      วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษา

รศ.ดร. นवलศรี รักษาริยะธรรม      อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ผศ.ดร. หทัยชนก เนียมทรัพย์      อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผศ.ดร. ลลิตา แสงค์                      อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

### บทคัดย่อ

ภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงทำให้เกิดกระบวนการไกลโคเซชันของโปรตีน ซึ่งนำไปสู่การสร้างผลิตภัณฑ์แอดวานซ์ไกลโคเซชันเอ็นโปรตีน ซึ่งมีความสำคัญในการเกิดโรคแทรกซ้อนเบาหวานมากมาย อาทิเช่น โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว ความผิดปกติของไต ความผิดปกติทางไต ความผิดปกติของจอประสาทตา ความผิดปกติทางเส้นประสาท รวมทั้งการทำงานที่ผิดปกติของดีเอ็นเอ การยับยั้งการสร้างผลิตภัณฑ์แอดวานซ์ไกลโคเซชันเอ็นโปรตีน เป็นหนึ่งในเป้าหมายที่ช่วยป้องกันและยับยั้งการเกิดโรคแทรกซ้อนเบาหวานในระยะรุนแรง อีกเป้าหมายหนึ่งในการป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อนเบาหวานคือการลดภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงหลังมื้ออาหาร ผ่านการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ในการพยายามหาตัวยับยั้งจากธรรมชาติ สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตและเอทานอลจากพืชสวนครัว 26 ชนิด ถูกใช้ในการประเมินปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันและต้านปฏิกิริยาไกลโคเซชันเบื้องต้น พบว่า มีความสัมพันธ์กันมากระหว่างฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาไกลโคเซชันและต้านออกซิเดชันกับปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารสกัดจากกลุ่มพืชในสวนยอด (ยอดมะขาม ยอดฝรั่ง ยอดมะม่วงยอดลำไยและยอดทับทิม)และกลุ่มเครื่องเทศ (กะเพรา สะระแหน่ ชะพลูและผักไผ่) ซึ่งมีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูง มีประสิทธิภาพในการต้านไกลโคเซชันและต้านออกซิเดชัน ท่ามกลางสารสกัดจากหลากหลายพืชในตระกูล Lamiaceae พบว่า สารสกัดเอทานอลจากกะเพราแดง มีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงที่สุดในการต้านการสร้างผลิตภัณฑ์แอดวานซ์ไกลโคเซชันเอ็นโปรตีนทั้งในโปรตีนที่อยู่ภายนอกและภายใน และต้านการเกิดโรคเบาหวานผ่านการยับยั้งเอนไซม์แอล

ฟากลูโคซิเดส (มอลเตส) ยิ่งไปกว่านั้น สารสกัดเอทานอลจากกะเพราแดง ยังมีความสามารถในการลดการเกิดโครงสร้างร่างแหของโปรตีนฮีสโตน

สารสกัดเอทานอลจากกะเพราแดงจึงถูกเลือกเพื่อทำบริสุทธิ์บางส่วนด้วยวิธีการสกัดแยกส่วนได้ส่วนของเอทิลอะซีเตตและน้ำ ส่วนของสารสกัดเอทิลอะซีเตตที่มีฤทธิ์ดี ได้ถูกแยกด้วยวิธีแฟลชคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจล 60 เป็นเฟสนิ่ง และทำการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยใช้เทคนิค GC/MS, LC/MS และ LC/MSMS ผลการทดลองแสดงว่า สารออกฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาไกลเคชันของส่วนที่สกัดด้วยเอทิล อะซีเตตของสารสกัดกะเพราแดงมีรูปแบบของเมสสเปคตรัมของ เมทิลยูจินอล กรดโรสมารินิก ลูติโอลิน และ เอพิเจนิน การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่พิสูจน์เอกลักษณ์ได้ พบกรดโรสมารินิก และเมทิลยูจินอล เป็นองค์ประกอบหลัก ขณะที่ ลูติโอลิน และ เอพิเจนิน เป็นองค์ประกอบย่อย ผลการยับยั้งทั้งส่วนของเอทิลอะซีเตตและน้ำของสารสกัดจากกะเพราแดงได้ถูกตรวจสอบการยับยั้งการสร้างผลิตภัณฑ์แควนซ์ไกลเคชันเอ็น โปรดักส์หลากหลายระบบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานฟีนอลิก ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ส่วนที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตตของกะเพราแดงแสดงฤทธิ์ต้านการสร้างผลิตภัณฑ์แควนซ์ ไกลเคชันเอ็น โปรดักส์ทั้งระบบ โปรตีนที่อยู่ภายนอกและภายในได้ดีกว่าส่วนที่สกัดด้วยน้ำ ยิ่งไปกว่านั้น ส่วนที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตตของกะเพราแดง ได้แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสในลักษณะตัวยับยั้งแบบผสม จากผลการทดลองเหล่านี้สนับสนุนว่า สารประกอบฟีนอลิกได้แก่ กรดโรสมารินิก ลูติโอลิน และเอพิเจนิน น่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ในส่วนที่สกัดด้วยเอทิลอะซีเตตของกะเพราแดง ที่แสดงฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาไกลเคชันและสมบัติด้านการเกิดโรคเบาหวานผ่านการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส ยกเว้นสารเมทิลยูจินอล ซึ่งแสดงเพียงฤทธิ์ด้านการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส

คำสำคัญ: การต้านปฏิกิริยาไกลเคชัน การต้านออกซิเดชัน กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส พืชสวนครัว พืชตระกูล Lamiaceae สารประกอบฟีนอลิก

ลิขสิทธิ์ © by Chiang Mai University  
All rights reserved