ชื่อวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ต้านการออกซิไดส์ไลโปโปรตีนชนิด LDL ของสารสกัดจากมะพูด

ผู้เขียน นางสาวสุญาณี คงคาช่วย

สาขาวิชา ชีวเคมี

ปีการศึกษา 2544

บทคัดย่อ

LDL (low density lipoprotein) เป็นไลโปโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งคอเลสเทอรอล (cholesterol) ที่สร้างจากตับไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันว่า การเกิดออกซิเดชันของไลโปโปรตีนชนิดนี้โดยอนุมูลอิสระนั้น เป็นขั้นตอนสำคัญที่นำไปสู่ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis) จากการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน LDL ในหลอดทดลอง (*in vitro*) ของสารอนุพันธ์ฟีนอล (phenolic compounds) 2 ชนิด คือ GXM และ ES1.2 ซึ่งสกัดได้จากใบ และผลของมะพูด (*Garcinia dulcis* Kurz) ตามลำดับ โดยใช้ระบบปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีอิออนของเหล็ก (Fe^{2+}) เป็นตัวเหนี่ยวนำอนุมูลอิสระ (metal ion-dependent LDL oxidation) ภายใต้สภาวะทดสอบคือ LDL ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กับ 60 μM $FeSO_4$ และ 100 μM วิตามินซี (ascorbic acid) ในสารละลาย 10 mM PBS pH 7.4 ที่อุณหภูมิ 37^0ซ แล้วติดตามปริมาณ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทุก ๆ 30 นาที จนครบ 6 ชั่วโมง และในระบบที่ใช้ α,α'-azobutyramidine dihydrochloride (AAPH) เป็นตัวเหนี่ยวนำการเกิดอนุมูลอิสระ (non metal ion-dependent LDL oxidation) โดยนำ LDL 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมาทำปฏิกิริยากับ 4 mM AAPH ภายใต้สภาวะทดสอบแบบเดียวกับระบบแรก พบว่า สารสกัดจากมะพูดสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ในระบบทดสอบทั้งสองแบบดังกล่าว ได้ดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ วิตามินอี (α-tocopherol) มาก โดยที่ค่าความเข้มข้นของ GXM, ES1.2 และวิตามินอี ซึ่งให้ผลยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบของ

Fe^{2+} ได้อย่างสมบูรณ์ (100% inhibition) คือ 0.5, 1 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนในระบบ AAPH นั้น เท่ากับ 1, 2 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ การที่ GXM และ ES1.2 แสดงความสามารถจับกับ Fe^{2+}(Fe^{2+}-chelating activity) ยังบ่งชี้ว่า ในการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ LDL ที่เหนี่ยวนำโดยอิออนโลหะทรานซิชัน (transition metal ion) ของสารสกัดทั้งสองชนิดนั้น นอกจากการกำจัดอนุมูล $LOO^{\bullet}$ (lipid peroxyl radical) ซึ่งเป็นผลให้ลูกโซ่ของปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมันภายใน LDL หยุดชะงักลง เช่นเดียวกับการทำงานของวิตามินอี และ BHT (butylated hydroxytoluene) ที่ทราบกันโดยทั่วไปแล้ว กลไกสำคัญอีกอย่างหนึ่งได้แก่ การที่โลหะถูกสารสกัดจับเอาไว้ ทำให้ไม่มีอนุมูล $OH^{\bullet}$ (hydroxyl radical) เกิดขึ้นสำหรับตั้งต้นปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมัน นั่นเอง ดังนั้นอาจกล่าวโดยสรุปได้ว่า สารประกอบฟีนอลทั้ง 2 ชนิดที่สกัดได้จากใบ และผลของมะพูด ซึ่งแสดงประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งออกซิเดชันของ LDL ในหลอดทดลอง ทั้งนี้โดยอาศัยความสามารถต้านอนุมูลอิสระบางประการตามที่กล่าวมาแล้ว ย่อมแสดงถึงศักยภาพในการชะลอภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัวได้ดี

Thesis Title	Antioxidant Activity on Low Density Lipoprotein (LDL) by Compounds Isolated from *Garcinia dulcis*
Author	Miss Suyanee Kongkachuay
Major Program	Biochemistry
Academic Year	2001

Abstract

LDL (low density lipoprotein) is the major transporter of cholesterol in the bloodstream. Oxidative modification of this plasma lipoprotein has been taken as an important early marker in the pathogenesis of atherosclerosis. In this study, the possible anti-oxidative effect of two phenolic compounds isolated from the leaves (GXM) and fruits (ES1.2) of *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz on the human LDL oxidation was investigated *in vitro.* LDL oxidation assay was performed by monitoring the amounts of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) generated in reaction mixture containing LDL 200 μg/ml and 60 μM $FeSO_4$ in the presence of 100 μM ascorbic acid for the metal ion-dependent oxidation system or LDL 200 μg/ml and 4 mM α,α′-azobutyramidine dihydrochloride (AAPH) for the non-metal ion system, every 30 min for 6 hrs, at 37^0C. It was found that both compounds from *G. dulcis* are much more effective at preventing oxidation of LDL than standard phenolic antioxidant, vitamin E (α-tocopherol) under Fe^{2+}-induced and AAPH-induced systems. In Fe^{2+}-catalyzed oxidation system, GXM showed 100% inhibition at 0.5 μg/ml, whereas those of ES1.2 and vitamin E were 1 and 5 μg/ml, respectively. Similar results were also obtained in the AAPH system where GXM, ES1.2 and vitamin E, showing 100% inhibition at 1, 2 and 50 μg/ml, respectively, suggesting their $LOO^{\bullet}$ (lipid peroxyl) radical scavenging activities, comparable to those of well-known

chain breakers such as vitamin E and BHT (butylated hydroxytoluene). The finding that both GXM and ES1.2 could bind Fe^{2+}, indicates a plausible protective mechanism against Fe^{2+}-catalysed oxidation of LDL of these compounds *i.e.* the metal-ion chelation leading to depletion of the $OH^{\bullet}$ (hydroxyl) radicals generated for initiating reaction. Thus, the ability of both compounds from *Garcinia dulcis* in reducing the susceptibility of LDL to *in vitro* oxidation revealed in this study suggests that they may be of value as anti-atherosclerotic agents.