

Thesis Title Study of Thai Shallot (*Allium ascalonicum* L.) extracts on glutathione synthesis and degradation under oxidative stress and inflammation in human monocytic cell line (U937)

Author Mr. Nuttakaan Leelarungrayub

Degree Doctor of Philisophy (Biochemisty)

Thesis Advisory Committee

Assoc.Prof. Dr. Viboon Rattanapanone	Chairperson
Assoc.Prof. Dr. Janusz M Gebicki	Member
Asst.Prof. Dr. Sugunya Wongpornchai	Member
Assoc.Prof. Nantaya Chanarat	Member
Dr. Somdet Srichairatanakool	Member

ABSTRACT

The principal aim of this study was to investigate the potential antioxidant properties of extracts of Thai shallots. The extracts were obtained from fresh shallot bulbs by crushing or by blending with water or hexane. Their antioxidant properties were measured by the ability to reduce the ABTS⁺ radical, to scavenge hydrogen peroxide, and to reduce the hydroperoxides in proline, BSA and in lipids, both in solution and liposome membranes. The results were compared with duplicate studies carried out with extracts of Thai garlic, two commercial garlic capsules (Immunytop and Kyolic) and three standard antioxidants (trolox, gallic acid and butylated hydroxytoluene). The ability of the extracts to protect proteins and lipids from oxidation by hydroxyl and peroxy radicals was measured by simultaneous exposure of these molecules and extracts to the radicals, followed by assays of the oxidized lipids and proteins with the Tri-iodide and FOX assays. Control solutions were treated similarly in the absence of the extracts. The results showed that all of the fresh shallot and garlic extracts possessed significant radical scavenging ability, with the commercial garlic much less effective.

Since it is widely held that the antioxidant properties of extracts derived from garlic and shallot depend on the contents of the extracts were analysed for total phenolics and for diallyl disulfide and allicin by Folin method and HPLC technique. There was linear relationship between the total phenolic content of the aqueous shallot extracts and the rate of their reduction of the ABTS⁺ radical, suggesting that phenolic compounds determined the antioxidant capacity of this and probably also of the other preparations.

Studies of the ability of the extracts to provide protection from oxidative challenge and provide anti-inflammatory capacity to more complex biological systems were conducted with erythrocytes and with two lines of cultured cells, U937 and J744. Oxidative challenge was applied by exposure to AAPH, hydrogen peroxide or to hydroxyl radicals generated by gamma radiation. Formation of peroxides and NO, changes in GSH concentration, and cell viability were measured as a function of incubation with the extracts. Since the oxidative stress was associated with loss of GSH, concentration of GSH was deliberately decreased by inhibition of the GSH synthetase or increased by *N*-acetyl cysteine, or diallyl disulfide, or a combination of both. The hexane shallot extracts had a protective effect on cell viability, inhibited formation of NO, enhanced GSH synthesis and reduced the levels of peroxides generated.

The overall conclusion of this study is that Thai shallot preparations have radical scavenging capacity equal to or exceeding similar extracts of the well-regarded extracts of fresh garlic and superior to the two commercial garlic preparations tested here.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงไทยต่อการสร้างและการสลายกลูตาไธโอนในภาวะออกซิเดทีฟสเตรสและการอักเสบในเซลล์เม็ดเลือดขาวโมโนไซต์เพาะเลี้ยง (U937)

ผู้เขียน นาย นัฏฐกาล ลีลารุ่งระยับ

ปริญญา วิทยาศาสตร์ดุสิตบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. วิบูลย์ รัตนานนท์	ประธาน
รศ. ดร. Janusz M Gebicki	กรรมการ
ผศ. ดร. สุกัญญา วงษ์พรชัย	กรรมการ
รศ. นันทยา ชนะรัตน์	กรรมการ
ดร. สมเดช ศรีชัยรัตนกุล	กรรมการ

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์หลักของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหอมแดงไทย โดยการนำส่วนหัวหอมแดงสดทำการคั้นหรือสกัดด้วยน้ำหรือเฮกเซน และตรวจวัดคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระซึ่งอาศัยความสามารถที่จะลดอนุมูล ABTS⁺ ทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และลดปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์ของกรดอะมิโนโพรลีน โปรตีนอัลบูมินจากซีรัมของวัวและลิปิดที่อยู่ในสารละลายและเชื้อหุ้มลิโปโซม นำผลการศึกษาระดับเซลล์เพาะเลี้ยงพืช (อิมมูโนทีปและโคโอติก) และสารแอนติออกซิเดนท์มาตรฐาน (โทร็อกซ์ กรดแอสคอร์บิกและสารบีบีทีไฮดรอกซีโทลูอิน) มาเปรียบเทียบกับ การตรวจวัดความสามารถของสารสกัดที่จะป้องกันการออกซิเดชันโปรตีนและลิปิดด้วยอนุมูลไฮดรอกซิลและเปอร์ออกซิล จากนั้นจึงทำการตรวจวัดลิปิดและโปรตีนที่ถูกออกซิไดซ์ด้วยวิธี Tri-iodide และวิธี FOX ผลที่ได้แสดงว่าสารสกัดหอมแดงและกระเทียมมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระดีกว่ากระเทียมบรรจุแคปซูลอย่างมีนัยสำคัญ

จากสารสกัดที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากหอมแดงและกระเทียม ได้นำมาตรวจวัดปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ไดอัลลิลไดซัลไฟด์ และอัลลิซิน โดยวิธี Folin และ

เทคนิค HPLC พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในสารสกัดหอมแดงและ อัตราการลดลงของอนุมูล ABTS⁺ แสดงว่าสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกที่พบเกี่ยวข้องข้องกับ ประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระ

นอกจากนี้ยังทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดในการป้องกันการออกซิเดชัน ในเม็ดเลือดแดง การออกซิเดชันและการอักเสบในเซลล์เพาะเลี้ยงเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (U937) และแมคโคร-ฟาจ (J774) ที่ถูกกระตุ้นด้วยอนุมูล AAPH ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และการฉายรังสีแกมมาที่ทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซิล จากนั้นตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์ในตริกออกไซด์ กลูตาไธโอนและจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต จากการศึกษพบว่าการออกซิเดชันทำให้ระดับของกลูตาไธโอนภายในเซลล์ลดลงอันเป็นผลจากกัมมันตภาพของเอนไซม์กลูตาไธโอนซินเทสลดลง แต่เมื่อเติมสารเอ็นอะเซติลซิสเทอีนหรือไดอัลลิลไธอไซด์ไฟต์หรือทั้งสองสาร และสารสกัดหอมแดงด้วยเฮกเซนในปริมาณที่ทำให้เซลล์มีชีวิตอยู่ได้สามารถยับยั้งการหลังในตริกออกไซด์ กระตุ้นการสังเคราะห์กลูตาไธโอนและลดระดับไฮโดรเปอร์ออกไซด์ภายในเซลล์ได้

ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดหอมแดงไทยมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระเทียบเท่าหรือมากกว่าสารสกัดกระเทียมและยังมีฤทธิ์สูงกว่ากระเทียมบรรจุแคปซูลที่ขายตามท้องตลาด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved