

51361202: MAJOR: PHARMACEUTICAL SCIENCES

KEY WORDS: ANTIOXIDANT / NEUROPROTECTIVE / FREE RADICAL SCAVENGING
KANISTHA KAEWPOOMHAE: THE ROLE OF STANDARDIZED *MANGIFERA INDICA* L.
LEAF EXTRACTS IN ANTIOXIDATION AND NEUROPROTECTION. THESIS ADVISORS: ASST.
PROF. MONRUDEE SUKMA, Ph. D., AND ASSOC. PROF. THEERASAK ROJANARATA, Ph. D. 149
pp.

This study was performed in order to evaluate antioxidant and neuroprotective effects of standardized *Mangifera indica* L. (mango) leaf extracts. First, the effect of cultivar on free radical scavenging (FRS) effect by diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay and the extracts was standardized by quantification of total phenolic and tannic acid contents as well as quantification of three main phenolic components, mangiferin, methyl gallate and gallic acid. We found that cultivar had far less effect on free radical scavenging activities. The IC₅₀ of Namdokmai, Aokrong, Muntawai and Fahlun were 4.94 ± 0.63, 5.09 ± 1.4, 5.59 ± 1.59 and 7.26 ± 1.05 µg/ml, respectively. Mangiferin was found as the main bioactive compound. Then the standardized methanol extract of *M. indica* cv. Namdokmai leaf was selected for further antioxidant and neuroprotective experiments. To study mechanisms of antioxidation, the extract were evaluated for FRS and metal ion chelating effects. We found that the IC₅₀ value for the 2, 2-azinobis 3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate (ABTS) assay was 1.33 ± 0.13 µg/ml. The EC₁ value for ferric reducing antioxidant power (FRAP) was 202.92 ± 3.39 µg/ml. The IC₅₀ value for superoxide anion and hydrogen peroxide were 0.07 ± 0.0049 and 70.89 ± 6.56 µg/ml. In addition, The extract also chelated metal ion with IC₅₀ = 0.89 ± 0.81 µg/ml. To study neuroprotective effect, the protective activities on oxidant- and neurotoxin-induced cell death were evaluated by measuring the protection of neuroblastoma (NG 108-15) cells from H₂O₂⁻, glutamate- and 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced neurotoxicity. The extracts at 30-50 µg/ml and 100 µg/ml effectively protected the cells from H₂O₂⁻ and 6-OHDA-induced cell death, respectively. However, the extract could not protect them from glutamate-induced cell death. Mangiferin at 100 µM effectively protected the cells from H₂O₂-induced cell death. From our findings, it can be concluded that the standardized methanol extract of *M.indica* L. cv Namdokmai leaf acted as an antioxidant. The mechanisms of antioxidant result from 1) the FRS abilities which partly due to the single electron transfer (SET) capabilities and 2) metal ion chelating effect. In addition, the extract and mangiferin, the major bioactive content, could protect cells from oxidative damage. Thus, the extract as well as mangiferin may be valuable in the treatment of neurodegenerative diseases in which free radical generation is implicated.

Program of Pharmaceutical Sciences Graduate School, Silpakorn University Academic year 2009

Student's signature

Thesis Advisors' signature 1 2.....

51361205 : สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

คำสำคัญ : สารต้านออกซิเดชัน / การปกป้องเซลล์ประสาท / การขจัดอนุมูล

ขนิษฐา แก้วภูมิแห่ : บทบาทของสารสกัดมาตรฐานใบมะม่วงในการต้านออกซิเดชันและการป้องกันการตายของเซลล์ประสาท. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ภาณุ.ศศ. ดร. มนฤดี สุขมา และ ภก.รศ.ดร. ชีรศักดิ์ โรจนราชา. 149 หน้า.

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและการป้องกันการตายของเซลล์ประสาทของสารสกัดมาตรฐานใบมะม่วง เริ่มจากการศึกษาผลของสายพันธุ์ที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Diphenyl-1 picrylhydrazyl (DPPH) และทำมาตรฐานสารสกัดโดยการหาปริมาณ total phenolic content และ tannic acid content หาปริมาณสารโพลีฟีนอลที่สำคัญได้แก่ mangiferin methyl gallate และ gallic acid จากผลการทดลองไม่พบว่าสายพันธุ์มะม่วงมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ค่า IC_{50} จากสารสกัดของสายพันธุ์ น้ำดอกไม้ ออกรอง มันทะวาย และฟ้าลั่น เท่ากับ 4.94 ± 0.63 , 5.09 ± 1.4 , 5.59 ± 1.59 และ 7.26 ± 1.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ สารโพลีฟีนอลที่พบมากที่สุดในสารสกัดคือแมนจิเฟอริน ต่อมาได้เลือกสารสกัดมาทดสอบจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้เพื่อทำการศึกษากลไกการต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาท ทำการศึกษากลไกการต้านออกซิเดชันโดยการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์คีเลตโลหะ ผลการทดลองพบว่า ค่า IC_{50} ของวิธี 2, 2-azinobis 3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate (ABTS) เท่ากับ 1.33 ± 0.13 ค่า EC_{10} ของวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) คือ 202.92 ± 3.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ค่า IC_{50} ของการต้านอนุมูล superoxide anion และ hydrogen peroxide คือ 0.07 ± 0.0049 และ 70.89 ± 6.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และค่า IC_{50} จากการคีเลตโลหะเท่ากับ 0.89 ± 0.81 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม จากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ป้องกันเซลล์ประสาทตายจากการเหนี่ยวนำด้วยสารออกซิเดชันและสารพิษ โดยทดสอบฤทธิ์การปกป้องเซลล์เพาะเลี้ยงเซลล์ประสาท (NG 108-15) จากการเหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กลูตาเมท และ 6-ไฮดรอกซิลโดปามีน (6-OHDA) พบว่าที่ความเข้มข้น 30-50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม สารสกัดสามารถปกป้องเซลล์ประสาทจากการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และ 6-OHDA ตามลำดับ แต่ไม่สามารถป้องกันการตายของเซลล์จากการเหนี่ยวนำด้วยกลูตาเมทได้ และพบว่าแมนจิเฟอรินที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ สามารถปกป้องเซลล์ประสาทจากการเหนี่ยวนำให้เซลล์ตายด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ จากการทดลองพบว่าสารสกัดมาตรฐานใบมะม่วงมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ซึ่งกลไกการต้านออกซิเดชันเป็นผลจาก 1) การต้านอนุมูลอิสระซึ่งส่วนหนึ่งอาจเกิดจากกลไกการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเดี่ยว และ 2) การคีเลตโลหะ สารสกัดรวมถึงแมนจิเฟอรินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักมีฤทธิ์ในการป้องกันการตายของเซลล์ประสาทจากการเกิดออกซิเดชัน ดังนั้นสารสกัดมาตรฐานใบมะม่วงรวมถึงแมนจิเฟอรินจึงอาจมีประโยชน์สำหรับการรักษาโรคของการเสื่อมของเซลล์ประสาทที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอนุมูลอิสระได้

สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2552

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1..... 2.....