

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



E42145

CONTRIBUTIONS OF CAFFEIC ACID AND ITS DERIVATIVES TO
ANTIOXIDATION, MICROSOMAL ENZYME ACTIVITIES
AND TOXICITY ON HUMAN LIVER CELLS

CHURDSAK JAIKANG

DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN PHARMACY

THE GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
MARCH 2011

600256317

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



**CONTRIBUTIONS OF CAFFEIC ACID AND ITS DERIVATIVES TO
ANTIOXIDATION, MICROSOMAL ENZYME ACTIVITIES
AND TOXICITY ON HUMAN LIVER CELLS**



CHURDSAK JAIKANG

**A THESIS SUBMITTED TO THE GRADUATE SCHOOL IN
PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN PHARMACY**

**THE GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY**

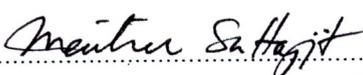
MARCH 2011

CONTRIBUTIONS OF CAFFEIC ACID AND ITS DERIVATIVES TO
ANTIOXIDATION, MICROSOMAL ENZYME ACTIVITIES
AND TOXICITY ON HUMAN LIVER CELLS

CHURDSAK JAIKANG

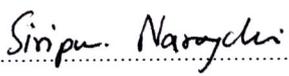
THIS THESIS HAS BEEN APPROVED
TO BE A PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN PHARMACY

EXAMINING COMMITTEE

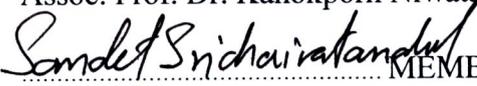
 CHAIRPERSON
Prof. Emeritus Dr. Maitree Suttajit

 MEMBER
Asst. Prof. Dr. Chaiyavat Chaiyasut

 MEMBER
Prof. Dr. Paitoon Narongchai

 MEMBER
Assoc. Prof. Siripun Narongchai

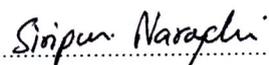
 MEMBER
Assoc. Prof. Dr. Kanokporn Niwatananun

 MEMBER
Assoc. Prof. Dr. Somdet Srichairatanakool

THESIS ADVISORY COMMITTEE

 ADVISOR
Asst. Prof. Dr. Chaiyavat Chaiyasut

 CO-ADVISOR
Prof. Dr. Paitoon Narongchai

 CO-ADVISOR
Assoc. Prof. Siripun Narongchai

 CO-ADVISOR
Assoc. Prof. Dr. Kanokporn Niwatananun

11 MARCH 2011

© Copyright by Chiang Mai University

ACKNOWLEDGEMENTS

The success of this thesis has been attributed to the support and help from my major advisor, Asst. Prof. Dr. Chaiyavat Chaiyasut. I would like to express my gratitude for his supervision, guidance and opportunity. I also wish to express my sincere thanks and appreciation to my co-advisors, Assoc. Prof. Dr. Kanokporn Niwatananun, Prof. Dr. Paitoon Narongchai and Assoc. Prof. Siripun Narongchai for valuable guidance and advice for my research work.

I would like to gratitude and grateful thanks to my committee, Prof. Emeritus Dr. Maitree Suttajit and Assoc. Prof. Dr. Somdet Srichairatanakool for kindly recommendation and technical guidance.

My gratitude thanks are extended to Asst. Prof. Dr. Songyot Anuchapreeda for kind recommendation, technical guidance and giving me an opportunity to be trained in cell laboratory.

I would like to thank the Thailand Research Fund (DBG5080008), the Graduate School, Chiang Mai University for the partially support of research grant. I also thank the Toxicology Section, Chiang Mai Regional Medical Science Center for HPLC instruments and chemicals throughout this work. Finally, I would like to profoundly thank to my family for their understanding, encouragement and spiritual support.

Churdsak Jaikang

Thesis Title Contributions of Caffeic acid and Its Derivatives to Antioxidation, Microsomal Enzyme Activities and Toxicity on Human Liver Cells

Author Mr. Churdsak Jaikang

Degree Doctor of Philosophy (Pharmacy)

Thesis Advisory Committee

Asst. Prof. Dr. Chaiyavat Chaiyasut	Advisor
Prof. Paitoon Narongchai, M.D.	Co-advisor
Assoc. Prof. Siripun Narongchai	Co-advisor
Assoc. Prof. Dr. Kanokporn Niwatananun	Co-advisor

ABSTRACT

E 42145

Caffeic acid (CAF) and derivatives are a group of naturally occurring polyphenol, which have been shown to have beneficial health effects. In order to understand the structure-activity relationship on their properties including antioxidant activities, effect on microsomal enzymes activity and cytotoxicity on human liver cells, therefore CAF derivatives were synthesized and studied. The synthetic CAF ester derivatives included ethyl 1- (3', 4'- dihydroxyphenyl) propenate (EDP), octyl 1- (3', 4'- dihydroxyphenyl) propenate (ODP), phenylmethyl 1- (3', 4'-

dihydroxyphenyl) propenate (PMDP), phenylethyl 1- (3', 4'- dihydroxyphenyl) propenate (PEDP), and amide derivatives included, ethyl 1- (3', 4'- dihydroxyphenyl) propenamide (EDPA), octyl 1- (3', 4'- dihydroxyphenyl) propenamide (ODPA), phenmethyl 1- (3', 4'- dihydroxyphenyl) propenamide (PMDPA) and phenethyl 1- (3', 4'- dihydroxyphenyl) propenamide (PEDPA). The CAF derivatives were subsequently investigated for antioxidant microsomal enzymes and cytotoxicity. The results showed that CAF and its derivatives had high potency to scavenge DPPH radicals, hydroxyl radical, superoxide anion and nitric oxide in dose- dependent manner. Antioxidant properties were evaluated using ferric reducing antioxidant power (FRAP), reducing power and inhibition of linoleic acid emulsion system. EDPA and EDP possessed the highest potency to scavenge free radicals and antioxidative activity comparing with other derivatives. Pooled human liver microsomes were prepared as a source of microsomal enzymes and phenacetin, *p*-nitrophenol and diazepam were used as the substrates for CYP1A2, CYP2E1 and CYP3A4, respectively and were analysed by HPLC and spectrophotometer. Cornish-Bowden and Dixon plots showed that CAF inhibited all CYP isoforms with uncompetitive inhibition, whereas ester derivatives inhibited CYP1A2, CYP2E1 and CYP3A4 with mixed type, uncompetitive and competitive, respectively. In addition, the amide derivatives inhibited the CYP1A2 and CYP2E1 with uncompetitive type, whereas CYP3A4 was competitively inhibited. The EDPA strongly inhibited CYP1A2 and CYP3A4 activity as indicated by IC_{50} of 0.39 and 0.82 μ M, respectively. The ODP was found to be the most potent inhibitor of CYP2E1 with its IC_{50} of 0.14 μ M.

UDP-glucuronosyltransferase (UGT), glutathione S-transferase (GST), and heme oxygenase-1 (HO-1) were prepared from the extract from Hep G2 cells line which had been treated with CAF and its derivatives for 6, 12, 24, 48 and 72 hrs. The UGT, GST and HO-1 activity were determined using *p*-nitrophenol, CDNB and hemin as substrates and measured by spectrophotometer. The results showed that EDP, PMDPA and CAF were the most potent inducers of UGT, GST and HO-1 activity, respectively. Cytotoxicity of the Hep G2 cells by CAF and its derivatives was assessed by MTT method. The PEDPA was the most cytotoxic compound to human liver cells with IC_{50} of 37.80 μ M. The small molecules of CAF derivatives are highly effective to scavenge free radicals and antioxidant properties, while large molecules are highly effective to induce phase II enzymes and cytotoxicity. Furthermore, the effects of CAF and its derivatives, especially EDP, EDPA, PMDPA and PEDPA should be extensively studied in *in vivo* models.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การมีส่วนร่วมของกรดคาเฟอิกและอนุพันธ์ในการต้านออกซิเดชัน กิจกรรมของเอนไซม์ไมโครโซมและความเป็นพิษต่อเซลล์ตับมนุษย์
ผู้เขียน	นายเชดศักดิ์ ใจแข็ง
ปริญญา	วิทยาศาสตร์คหุฎิบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร. ไชยวัฒน์ ไชยสุด	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ศ.นพ. ไพฑูรย์ ฌรงค์ชัย	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
รศ. สิริพันธ์ ฌรงค์ชัย	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
รศ. ดร. กนกพร นิวัฒนนันท์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

E 42145

กรดคาเฟอิกและอนุพันธ์จัดอยู่ในกลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งได้มีการศึกษาถึงผลประโยชน์ต่อสุขภาพ เพื่อที่จะเข้าใจถึงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต่อเอนไซม์ในไมโครโซม และความเป็นพิษต่อเซลล์ตับมนุษย์ จึงได้สังเคราะห์อนุพันธ์กรดคาเฟอิกขึ้นมาและศึกษาสมบัติต่างๆ โดยอนุพันธ์เอสเทอร์ได้แก่ เอทิล 1- (3', 4'- ไดไฮดรอกซีฟีนิล) โพรพีเนท (อีดีพี) ออกซิล 1- (3', 4'- ไดไฮดรอกซีฟีนิล) โพรพีเนท (โอดีพี) ฟีนิลเมทิล 1- (3', 4'- ไดไฮดรอกซีฟีนิล) โพรพีเนท (พีเอ็มดีพี) ฟีนิลเอทิล 1- (3', 4'- ไดไฮดรอกซีฟีนิล) โพรพีเนท (พีอีดีพี) และอนุพันธ์เอไมด์ได้แก่ เอทิล 1- (3', 4'- ไดไฮดรอกซีฟีนิล) โพรเพนนาไมด์ (อีดีพีเอ) ออกซิล 1- (3', 4'- ไดไฮดรอกซีฟีนิล) โพรเพนนาไมด์ (โอดีพีเอ) เฟนเมทิล 1- (3', 4'- ไดไฮดรอกซีฟีนิล) โพรเพนนาไมด์ (พีเอ็มดีพีเอ) และเฟนเอทิล 1- (3', 4'- ไดไฮดรอกซีฟีนิล) โพรเพนนาไมด์ (พีอีดีพีเอ) ผลการทดลองพบว่ากรดคาเฟอิกและอนุพันธ์มีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระชนิด คีพีพีเอช อนุมูลไฮดรอกซิล อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ และ ไนตริกออกไซด์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพและฤทธิ์แปรผันตามความเข้มข้นของสาร เอฟอาร์เอพี ริควิงเพาเวอร์ และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไลโนเลอิก ในระบบอิมัลชัน เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสังเคราะห์พบว่า อีดีพีเอ นั้นมีฤทธิ์สูงที่สุดในการกำจัดอนุมูลอิสระและต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อเทียบกับสารสังเคราะห์ตัว

อื่น ได้ใช้ไมโครโซมจากตับมนุษย์เป็นแหล่งของเอนไซม์และใช้ ฟินาซีดิน ในไตรฟีนอล และ ไดอะซีแพม เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ไซโตโครมพี450 1เอ2 ไซโตโครมพี 450 2อี1 และ ไซโตโครมพี 450 3เอ4 ตามลำดับและได้วิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง และสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จากการประเมินรูปแบบการยับยั้งเอนไซม์โดยความสัมพันธ์แบบคอปิก-บาวเดน และคิกซอน พบว่ากรดคาเฟอิกยับยั้งเอนไซม์ทั้งหมดแบบไม่แข่งขัน อนุพันธ์เอสเทอร์ยับยั้ง ไซโตโครมพี450 1เอ2 ไซโตโครมพี 450 2อี1และ ไซโตโครมพี 450 3เอ4 แบบผสมแบบไม่แข่งขันและแบบแข่งขันตามลำดับ ส่วนสารอนุพันธ์เอไมด์ยับยั้ง ไซโตโครมพี450 1เอ2 และไซโตโครมพี 450 2อี1 แบบไม่แข่งขัน และยับยั้ง ไซโตโครมพี 450 3เอ4 แบบแข่งขันโดยสารพีเอ็มดีพี มีฤทธิ์ยับยั้ง ไซโตโครมพี450 1เอ2 และ ไซโตโครมพี 450 3เอ4 สูงที่สุดโดยมีค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ร้อยละ50 (IC_{50}) มีค่า 0.39 และ 0.82 ไมโครโมลาร์ตามลำดับและกรดคาเฟอิกนั้นยับยั้ง ไซโตโครมพี 450 2อี1 ได้ดีที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.14 ไมโครโมลาร์ หลังจากให้สารสังเคราะห์แก่เซลล์มะเร็งตับเป็นเวลา 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงได้วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ ยูดีพี-กลูคิวโรโนซิลทรานเฟอเรส กลูตาไทโอน เอส ทรานเฟอเรส และ ฮีมออกซีจีเนส-1 โดยใช้ ในไตรฟีนอล, 1-กลอโร-2, 4- ไดไนโตรเบนซีน และ ฮีมิน เป็นสับสเตรตตามลำดับ จากการทดลองพบว่า อีดีพี พีเอ็มดีพีเอ และกรดคาเฟอิก เหนี่ยวนำกิจกรรมของเอนไซม์ ยูดีพี-กลูคิวโรโนซิลทรานเฟอเรส กลูตาไทโอน เอส ทรานเฟอเรส และ ฮีมออกซีจีเนส -1 ได้ดีที่สุดตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าวิธีเอ็มทีที พีอีดีพีเอ มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุด (IC_{50} =37.80 ไมโครโมลาร์) จากผลทดลองพบว่าอนุพันธ์กรดคาเฟอิกที่มีขนาดโมเลกุลเล็กมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระและต้านออกซิเดชันได้ดีในขณะที่อนุพันธ์กรดคาเฟอิกที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่นั้นสามารถเหนี่ยวนำเอนไซม์ในเฟสที่ 2 และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ตับสูงจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาสมบัติอื่นๆของ กรดคาเฟอิกและอนุพันธ์ที่สังเคราะห์โดยเฉพาะ อีดีพี อีดีพีเอ พีเอ็มดีพีเอ ในสัตว์ทดลอง

TABLE OF CONTENTS

	Page
ACKNOWLEDGEMENT	iii
ABSTRACT (IN ENGLISH)	iv
ABSTRACT (IN THAI)	vii
TABLE OF CONTENTS	ix
LIST OF TABLES	xi
LIST OF FIGURES	xi
ABBREVIATIONS AND SYMBOLS	xvii
CHAPTER I INTRODUCTION	1
CHAPTER II LITERATURE REVIEWS	4
CHAPTER III MATERIAL AND METHODS	27
CHAPTER IV RESULTS AND DISCUSSION	41
CHAPTER V CONCLUSION	117
REFERENCES	119
APPENDICES	143
APPENDIX A	144
APPENDIX B	147
CURRICULUM VITAE	164

LIST OF TABLES

Table	Page
2.1 Examples of free radicals found in biological system	8
3.1 Detail of the donors whose liver samples were used	33
4.1 The IC ₅₀ values of CAF and its derivatives on free radical scavenging	63
4.2 The IC ₅₀ values of CAF and its derivatives on cytochrome P450 isoform	82

LIST OF FIGURES

Figure	Page
2.1 The structure of caffeic acid	4
2.2 The interacting mechanism of cell injury by oxidative stress	10
2.3 Prosthetic of haemoprotein: Fe(III) protoporphyrin-IX linked with a proximal cysteine ligand	17
2.4 A scheme of the catalytic cycle of cytochrome P450	20
2.5 Types of glucuronides formed by UGT enzymes	24
3.1 Synthetic procedure of caffeic acid ester derivatives	28
3.2 Synthetic procedure of caffeic acid amide derivatives	29
4.1 The structure of EDP	41
4.2 The structure of ODP	42
4.3 The structure of PMDP	43
4.4 The structure of PEDP	44
4.5 The structure of EDPA	45
4.6 The structure of ODPA	46
4.7 The structure of PMDPA	47
4.8 The structure of PEDPA	48
4.9a DPPH radical scavenging ability of CAF and its ester derivatives	50
4.9b DPPH radical scavenging ability of CAF and its amide derivatives	50
4.10a Percent inhibition of CAF and its ester derivatives on scavenging hydroxyl radical.	52

LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
4.10b Percent inhibition of CAF and its amide derivatives on scavenging hydroxyl radical.	52
4.11a Ferric reducing antioxidant power of CAF and its ester derivatives.	54
4.11b Ferric reducing antioxidant power of CAF and its amide derivatives	54
4.12a Reducing power of CAF and its ester derivatives	56
4.12b Reducing power of CAF and its amide derivatives	56
4.13a Percent inhibition of CAF and its ester derivatives on superoxide anion generation	58
4.13b Percent inhibition of CAF and its amide derivatives on superoxide anion generation	58
4.14a Percent inhibition of CAF ester on nitric oxide generation	60
4.14b Percent inhibition of CAF amide on nitric oxide generation	60
4.15a Percent inhibition of CAF and its ester derivatives on AAPH- induced linoleic peroxidation	62
4.15b Percent inhibition of CAF and its amide derivatives on AAPH- induced linoleic peroxidation	62
4.16 Cornish-Bowden plot between s/v and caffeic acid ester derivatives concentrations (Mm) of CYP1A2 activity.	66
4.17 Dixon plot between $1/v$ and caffeic acid ester derivatives concentrations (mM) of CYP1A2 activity.	68
4.18 Cornish-Bowden plot between s/v and caffeic acid ester derivatives concentrations (mM) of CYP2E1 activity.	72

LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
4.19 Dixon plot between 1/v and caffeic acid ester derivatives concentrations (mM) of CYP2E1 activity.	74
4.20 Cornish-Bowden plot between s/v and caffeic acid ester derivatives concentrations (mM) of CYP3A4 activity.	78
4.21 Dixon plot between 1/v and caffeic acid ester derivatives concentrations (mM) of CYP3A4 activity.	80
4.22 UGT activity of Hep G2 cells treated with CAF for 6, 12, 24, 48 and 72 h	87
4.23 UGT activity of Hep G2 cells treated with EDP for 6, 12, 24, 48 and 72 h	87
4.24 UGT activity of Hep G2 cells treated with ODP for 6, 12, 24, 48 and 72 h	88
4.25 UGT activity of Hep G2 cells treated with PMDP for 6, 12, 24, 48 and 72 h	88
4.26 UGT activity of Hep G2 cells treated with PEDP for 6, 12, 24, 48 and 72 h	89
4.27 UGT activity of Hep G2 cells treated with EDPA for 6, 12, 24, 48 and 72 h	89
4.28 UGT activity of Hep G2 cells treated with ODPA for 6, 12, 24, 48 and 72 h	90
4.29 UGT activity of Hep G2 cells treated with PMDPA for 6, 12, 24, 48 and 72 h	90
4.30 UGT activity of Hep G2 cells treated with PEDPA for 6, 12, 24, 48 and 72 h	91
4.31 UGT activity of Hep G2 cells treated with curcumin for 6, 12, 24, 48 and 72 h	91
4.32 UGT activity of Hep G2 cells treated with β - naphthoflavone for 6, 12, 24, 48 and 72 h	92
4.33 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with CAF	97

LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
4.34 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with EDP	97
4.35 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with ODP	98
4.36 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with PMDP	98
4.37 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with PEDP	99
4.38 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with EDPA	99
4.39 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with ODP A	100
4.40 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with PMDPA	100
4.41 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with PEDPA	101
4.42 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with curcumin	101
4.43 GSTs activity in Hep G2 cells incubated for 6, 12, 24, 48 and 72 h with β - naphthaflavone	102

LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
4.44 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with CAF	107
4.45 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with EDP	108
4.46 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with ODP	108
4.47 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with PMDP	109
4.48 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with PEDP	109
4.49 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with EDPA	110
4.50 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with ODPA	110
4.51 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with PMDPA	111
4.52 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with PEDPA	111
4.53 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with curcumin	112
4.54 HO-1 activity in Hep G2 cells incubated with β -naphthoflavone	112
4.55 Dose-dependent cytotoxicity of CAF and its derivatives	115
1B Infrared spectrum of EDP	147
2B ^1H - NMR spectrum of EDP	148
3B ^{13}C - NMR spectrum of EDP	148
4B Mass spectrum of EDP	149
5B Infrared spectrum of ODP	149
6B ^1H - NMR spectrum of ODP	150
7B ^{13}C - NMR spectrum of ODP	150
8B Mass spectrum of ODP	151
9B Infrared spectrum of PMDP	151
10B ^1H - NMR spectrum of PMDP	152

LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure	Page
11B ^{13}C - NMR spectrum of PMDP	152
12B Mass spectrum of PMDP	153
13B Infrared spectrum of PEDP	153
14B ^1H - NMR spectrum of PEDP	154
15B ^{13}C - NMR spectrum of PEDP	154
16B Mass spectrum of PEDP	155
17B Infrared spectrum of EDPA	155
18B ^1H - NMR spectrum of EDPA	156
19B ^{13}C - NMR spectrum of EDPA	156
20B Mass spectrum of EDPA	157
21B Infrared spectrum of ODPA	157
22B ^1H - NMR spectrum of ODPA	158
23B ^{13}C - NMR spectrum of ODPA	158
24B Mass spectrum of ODPA	159
25B Infrared spectrum of PMDPA	159
26B ^1H - NMR spectrum of PMDPA	160
27B ^{13}C - NMR spectrum of PMDPA	160
28B Mass spectrum of PMDPA	161
29B Infrared spectrum of PEDPA	161
30B ^1H - NMR spectrum of PEDPA	162
31B ^{13}C - NMR spectrum of PEDPA	162
32B Mass spectrum of PEDPA	163

ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

%	percent
μM	micromolar
$^{13}\text{C-NMR}$	carbon-13 nuclear magnetic resonance
$^1\text{H-NMR}$	proton nuclear magnetic resonance
2-AA	2-aminoanthracene
2-AAF	2-acetylaminofluorene
2-AF	2-aminofluorene
2-NA	2-naphthylamine
AAPH	2, 2'-azobis-2-methyl-propanimidamide dihydrochloride
Abs	absorbance
ABTS	2,2'-azobis-2-methyl-propanimidamide dihydrochloride
AFB1	aflatoxin B1
AhR	aryl hydrocarbon receptor
ANOVA	one-way Analysis of Variance
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BHA	beta hydroxy acid
BHT	butylated hydroxytoluene
CAF	caffeic acid
CAPE	caffeic acid phenethyl ester
CAR	constitutive androstane receptor
CAT	catalase

CDNB	1-chloro-2, 4-dinitrobenzene
ChA	chlorogenic acid
CO	carbon monoxide
CoA	<i>p</i> -coumaric acid
CYP	cytochrome P450
DCC	1, 3- dicyclohexyl carbodiimide
DMAP	dimethyl aminopyridine
DMAPB	3, 2'-dimethyl-4-aminobiphenyl
DMEM	dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	dimethyl sulfoxide
DNA	deoxyribonucleic acid
DPPH	2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EDP	ethyl 1-(3', 4'-dihydroxyphenyl) propenate
EDPA	ethyl 1-(3', 4'-dihydroxyphenyl) propenamide
EDTA	ethylenediamine tetraacetic acid
FA	ferrulic acid
FBS	fetal bovine serum
FRAP	ferric reducing antioxidant power
FT-IR	fourier transform infrared spectroscopy
GPX	glutathione peroxidase
GSH	glutathione
GST	glutathione- S- transferase
HO-1	heme oxygenase-1
HPLC	high performance liquid chromatography

LDL	low density lipoprotein
MC	methyl caffeate
MCA	motorcycle accident
MeOH	methanol
mM	millimolar
MS	mass spectrometry
MTT	3-(4, 5- dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetra zolium bromide
NADH	nicotinamide dinucleotide
NADPH	nicotinamide dinucleotide phosphate
NAT	<i>N</i> -acetyltransferase
NBT	nitroblue tetrazolium salt
NF-kB	nuclear factor kB
NHOF	normal human oral fibroblast
NO	nitric oxide
NO [•]	nitric oxide radical
NO ₂ [•]	nitrogen dioxide radical
O ₂ [•]	superoxide radical
ODP	octyl 1-(3', 4'-dihydroxyphenyl) propenate
ODPA	octyl 1-(3', 4' dihydroxyphenyl) propenamide
OEC-M1	epidermoid carcinoma-Meng 1
OH [•]	hydroxyl radical
PEC	phenethyl caffeate
PEDMC	phenethyl dimethyl caffeate
PEDP	phenylethyl 1- (3', 4'-dihydroxyphenyl) propenate

PEDPA	phenethyl 1-(3', 4'-dihydroxyphenyl) propenamide
PMDP	phenylmethyl 1-(3', 4'-dihydroxyphenyl) propenamide
PMDPA	phenmethyl 1-(3', 4'-dihydroxyphenyl) propenamide
PMS	phenazine methosulfate
PXR	pregnane X receptor
RNA	ribonucleic acid
RO [•]	alkoxyl radical
RO ₂ [•]	peroxyl radical
ROS	reactive oxygen species
SA	sinapic acid
SAS	oral squamous cell carcinoma
SD	standard deviation
SOD	superoxide dismutase
SULT	sulfotransferase
THF	tetrahydrofuran
TPTZ	tripyridyltriazine
UDPGA	uridine diphosphate glucuronic acid
UGT	UDP- glucuronosyltransferase