

## Abstract

**Project Code:** RDG5120072

**246720**

**Project Title:** Antioxidative effects of Thai fruits in diabetes mellitus and cardiovascular diseases: Protection against lipoprotein, protein oxidation and their fibrinolytic activities

**Investigator:** Assist. Prof. Dr. ROONGSIRI CHOTPADIWETKUL

**E-mail Address:** c\_roongsiri@hotmail.com

**Project Period:** 12 months (August 1<sup>st</sup>, 2008 –July 31<sup>st</sup>, 2009)

This study aimed to investigate the antioxidative effect upon lipoprotein oxidation, plasma oxidation, protein oxidation and fibrinolytic activities of Thai fruits including mangosteen, raw mango (Kheosawoei), ripe mango (Nahmdawgmai), pomelo, raw papaya, ripe papaya, banana (Nahmwah) and guava. Water extracts of Thai fruits were lyophilized. The concentrations used in this study were 5-400 µg/ml along with the standard antioxidants; glutathione and vitamin C. Lipoprotein and plasma oxidation was analyzed in terms of the reduction of malondialdehyde (MDA) formation by TBARS assay. Inhibition of protein oxidation by Thai fruit extracts was assessed by the recovered band intensity on SDS-PAGE as compared to the Cu<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treated-BSA. Protection of high-glucose induced protein BSA oxidation was analysed by the level of protein carbonyl content. In order to assess the fibrinolytic activity, the *in vitro* modified fibrin plate assay was employed using plasmin as a standard. All Thai fruits significantly attenuated lipoprotein and plasma oxidation (p<0.05). The IC<sub>50</sub> of Thai fruit extracts in lipoprotein oxidation was as follows; guava (59.7 µg/ml) < raw papaya (85.0 µg/ml) < banana (Nahmwah) (144.9 µg/ml) ~ ripe papaya (146.9.0 µg/ml) ~ ripe mango (Nahmdawgmai) (148.5.0 µg/ml) < pomelo (231.6 µg/ml) < mangosteen (236.5 µg/ml) < raw mango (Kheosawoei) (522.7 µg/ml). Thus, Guava exhibited strongest antioxidant activity in protection against lipoprotein oxidation. Moreover, guava also inhibited plasma peroxidation from healthy subjects and diabetes patients more than other Thai fruit extracts (74.9±4.52%, 66.1 ± 1.63%, respectively). Mangosteen clearly protected Cu<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – induced protein oxidation, followed by riped mango and pomelo, respectively. Unfortunately, the results of *in vitro* protein glycation as assessed by protein carbonyl content were inconclusive. According to the fibrinolytic activities, ripe papaya, at 2 mg, produced clear zone equivalent to plasmin at less than 2 µg. In summary, Thai fruits attenuate lipoprotein oxidation, plasma peroxidation, protein oxidation and possess fibrinolytic activity. This has to be pursued *in vivo* for their effects in protection and treatment of diabetes mellitus and cardiovascular disease.

**Key words:** Thai fruits, lipoprotein oxidation, plasma oxidation, protein oxidation, MDA

## บทคัดย่อ

246720

รหัสโครงการ: RDG5120072

ชื่อโครงการ: ผลไม้ไทยต้านออกซิเดชันในโรคเบาหวานและโรคหลอดเลือดหัวใจ:  
การปกป้องไม่ให้เกิดออกซิเดชันต่อลิโปโปรตีน โปรตีนและการสลายไฟบรินในหลอดทดลอง

ชื่อนักวิจัย: นางรุ่งสิริ โชติปฏิเวชกุล

E-mail Address: c\_roongsiri@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 12 เดือน (1 สิงหาคม พ.ศ. 2551 – 31 กรกฎาคม พ.ศ. 2552)

การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการยับยั้งออกซิเดชันของลิโปโปรตีน พลาสมาและโปรตีน รวมถึงฤทธิ์การสลายไฟบรินของผลไม้ไทย ได้แก่ มังคุด, มะม่วง, เชียวเสวยดิบ, มะม่วงน้ำดอกไม้สุก, ส้มโอ, มะละกอดิบ, มะละกอสุก, กล้วยน้ำว่า และฝรั่ง สกัดผลไม้ด้วยน้ำกลั่นและนำไประเหิดแห้ง ความเข้มข้นที่ทดสอบคือ 5-400  $\mu\text{g/ml}$  โดยมี glutathione และวิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน วิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งออกซิเดชันของลิโปโปรตีนและพลาสมาจากปริมาณ MDA ด้วยวิธี TBARS วัดฤทธิ์การยับยั้งโปรตีน BSA ที่ถูกออกซิไดซ์ด้วย  $\text{Cu}^{2+}$  และ  $\text{H}_2\text{O}_2$  ในรูปของความเข้มข้นของแถบโปรตีนบนเจลด้วยวิธี SDS-PAGE วัดฤทธิ์การยับยั้งโปรตีนออกซิเดชันจากการชักนำด้วยกลูโคสความเข้มข้นสูงด้วยการวัด protein carbonyl content สำหรับการทดสอบฤทธิ์การสลายไฟบรินทำโดยวิธี *in vitro* modified fibrin plate ผลการทดลองพบว่าสารสกัดผลไม้ไทย ทั้ง 8 ชนิด มีฤทธิ์ลดการเกิดออกซิเดชันของลิโปโปรตีนและพลาสมาได้อย่างมีนัยสำคัญ ค่า  $\text{IC}_{50}$  ของการยับยั้งลิโปโปรตีนออกซิเดชันเรียงตามลำดับดังนี้คือ ฝรั่ง (59.7  $\mu\text{g/ml}$ ) < มะละกอดิบ (85.0  $\mu\text{g/ml}$ ) < กล้วยน้ำว่า (144.9  $\mu\text{g/ml}$ ) ~ มะละกอสุก (146.9.0  $\mu\text{g/ml}$ ) ~ มะม่วงน้ำดอกไม้สุก (148.5.0  $\mu\text{g/ml}$ ) < ส้มโอ (231.6  $\mu\text{g/ml}$ ) < มังคุด (236.5  $\mu\text{g/ml}$ ) < มะม่วงเขียวเสวยดิบ (522.7  $\mu\text{g/ml}$ ) ดังนั้นฝรั่งจึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการป้องกันลิโปโปรตีนออกซิเดชันสูงที่สุด นอกจากนั้นฝรั่งยังยับยั้งพลาสมาออกซิเดชันจากคนที่มีความผิดปกติ และจากผู้ป่วยเบาหวานได้ดีที่สุดด้วย (74.9 $\pm$ 4.52%, 66.1  $\pm$  1.63% ตามลำดับ) ส่วนฤทธิ์ในการต้านโปรตีนออกซิเดชันจาก  $\text{Cu}^{2+}$  และ  $\text{H}_2\text{O}_2$  พบว่าสารสกัดมังคุด ยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุกและสารสกัดส้มโอ อย่างไรก็ตาม ผลการยับยั้ง การเกิด glycation ในหลอดทดลองจากการวัดปริมาณ protein carbonyl ยังสรุปผลไม่ได้แน่ชัด สำหรับผลการสลายไฟบรินพบว่า สารสกัดมะละกอสุก ที่ความเข้มข้น 2 mg สามารถทำให้เกิดส่วนใสเทียบกับ plasmin คิดเป็นความเข้มข้น < 2  $\mu\text{g}$  จากผลการทดลองทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าผลไม้ไทยสามารถลดการเกิดออกซิเดชันของลิโปโปรตีนและพลาสมา ด้านโปรตีนออกซิเดชัน รวมทั้งมีฤทธิ์สลายไฟบริน ซึ่งจะต้องศึกษาในร่างกาย (*in vivo*) ต่อไป เพื่อจะนำไปประยุกต์ใช้ในการนำไปป้องกันและรักษาโรคเบาหวาน และโรคหลอดเลือดหัวใจได้

คำหลัก: ผลไม้ไทย, ลิโปโปรตีนออกซิเดชัน, พลาสมาออกซิเดชัน, โปรตีนออกซิเดชัน