



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการ “การสำรวจศักยภาพของ มะม่วง ในการปกป้องและเพิ่มประสิทธิภาพการ
ทำงานของสมอง”

โดย จินตนาภรณ์ วัฒนธร และคณะ

30 กันยายน พศ. 2552

๖๐๐๒๕๐๗๖๕

19 ส.ค. 2553

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



245541



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการ “การสำรวจศักยภาพของ มะม่วง ในการปกป้องและเพิ่มประสิทธิภาพการ
ทำงานของสมอง”

โดย จินตนาภรณ์ วัฒนธร และคณะ

30 กันยายน พ.ศ. 2552



ที่ ศธ 0514.7.2.16/1719

คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
จ.ขอนแก่น 40002

11 สิงหาคม พ.ศ. 2553

เรื่อง ขอส่งข้อเสนอโครงการฉบับแก้ไข

เรียน ศาสตราจารย์ ดร.นันทวัน บุญยะประกัศ
ผู้ประสานงาน โครงการฯ

ตามที่คณะผู้ทรงคุณวุฒิได้ประเมินโครงการและส่งมาให้แก่นักวิจัยได้ส่งรายงานพร้อมการแก้ไขในประเด็นที่สามารถทำได้มาพร้อมคำชี้แจงดังนี้

1. ได้แนบ manuscript ซึ่งเป็นเนื้อหาบางส่วนที่จะเผยแพร่ในวารสารมาด้วยแล้ว
2. ในโครงการที่ส่งนั้นตอนแรกมีการจะทำทดสอบในclinical phaseแต่ตอนที่อนุมัติโครงการมีเพียงในส่วนของpreclinical phase ดังนั้นงบประมาณที่อนุมัติไม่ได้รวมในส่วนclinical phase ดังนั้นกิจกรรมจะครอบคลุมในสัญญาหน้าที่ 6 ส่วนในการหาสาระสำคัญในมะม่วงนั้น ในการศึกษาครั้งนี้วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์มะม่วงต่อสมอง ตามรายงานที่ผ่านมามีการรายงานว่าสารเบต้าแคโรทีน และ phenolic compound มีอิทธิพลต่อการทำงานของสมอง ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงตรวจวัดปริมาณสารสำคัญที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องกับการทำงานของสมอง หากจะตรวจทุกสารต้องการงบประมาณมากกว่านี้เนื่องจากเป็น crude extract มีองค์ประกอบหลายชนิด และต้อง identify ว่าสารแต่ละตัวเป็นอะไรซึ่งไม่ใช่ขอบเขตของการศึกษาครั้งนี้การทำการควบคุมคุณภาพในส่วนนี้เพื่อให้สามารถบอกได้ว่าการที่สารสกัดมะม่วงในการศึกษาครั้งนี้สามารถเพิ่มการเรียนรู้และความจำได้นั้นสารดังกล่าวมีปริมาณเบต้าแคโรทีนและ phenolic compound ที่มีรายงานว่าสามารถมีอิทธิพลต่อการทำงานของสมองมากน้อยขนาดใด ในกรณีที่ปริมาณน้อยกว่านี้ก็ได้หมายความว่าไม่เห็นผล ดังนั้นหากจะทำโดยละเอียดเช่นนั้นต้องเป็นโครงการการควบคุมสารสกัดมาตรฐานในการเตรียม product ใช้งบประมาณมากกว่านี้ภายใต้งบประมาณนี้คณะผู้วิจัยทำได้เพียงเท่านี้
3. ในรูปที่ 27 ผู้วิจัยได้อธิบายไว้แล้วในรายงานว่าพบการเปลี่ยนแปลงที่มีนัยสำคัญในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดน้ำหนัก 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ในกลุ่มที่ได้รับขนาด 50 มิลลิกรัม

ต่อกิโกรัมน้ำหนักตัวถึงแม้จะแสดงแนวโน้มแต่เมื่อทดสอบสถิติยังไม่มียัยสำคัญจึงไม่ได้อ้างไว้ว่ามีนัยสำคัญตามรายงาน สำหรับเครื่องหมาย # ได้อธิบายไว้ได้รูปที่ 27 อยู่แล้วต่อจากวงเล็บที่เขียนว่า(n=8)

4. ผู้วิจัยต้องขอรหัสที่ไม่ได้ระบุว่าสารสกัดน้ำมะม่วงมี %yield = 40 หลังจากได้สารสกัดแล้วเวลานำซังน้ำหนักรสสกัดกว่า 1 มิลลิกรัมเท่ากับน้ำหนัก 80 มิลลิกรัมแล้วป้อนสัตว์ทดลองตามขนาดของสัตว์ทดลองและปริมาณที่ assign แต่ละกลุ่มถ้าจะคำนวณขนาดปริมาณมะม่วงที่ต้องกินก็คิดจาก %yield คำนวณกลับไปได้เช่นในกรณีนี้ให้ผลที่ 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโกรัมน้ำหนักตัว คนหนัก 60 กิโลกรัมจะเห็นผลที่ต้องกิน = 6,000 และ 12,000 มิลลิกรัม หรือมาจากปริมาณมะม่วง 15,000 และ 30,000 มิลลิกรัม หรือประมาณ 15 และ 30 กรัมต่อวัน สำหรับสารสกัดแอลกอฮอล์ ผู้วิจัยได้ระบุไว้ว่า %yield ของสารสกัด = 6.91 ดังนั้นสามารถคำนวณกลับเป็นปริมาณมะม่วงได้อยู่แล้วจึงไม่จำเป็นต้องระบุออบแล้วน้ำหนักเท่าไร
5. ได้ปรับแก้ Aricept เป็น donepezil ตามข้อเสนอแนะ
6. ได้ระบุขนาดของ donepezil และ vitamin C ไว้ในวิธีการทดลองตั้งแต่ต้น
7. การเตรียม artificial CSF นั้นระบุว่าผ่านกระบวนการเช่นเดียวกับ AF64A นั่นคือทำทุกอย่างเหมือนกันต่างกันเพียงไม่มีสาร toxin เท่านั้น
8. การป้อนสารสกัดป้อนวันละครั้งติดต่อกันและประเมินผลที่ต้องการศึกษาเป็นระยะๆ เพื่อให้เข้าใจง่ายจึงได้เพิ่มเติมข้อมูลไว้ใน 3.4
9. การเขียนระบุว่าให้ทางสมองแต่เพียง AF64A แต่ vit C และ donepezil จะป้อนวันละครั้ง เพื่อความชัดเจนได้ใส่ข้อมูลส่วนนี้ไว้ใน 3.4 ดังที่แจ้งแล้วในข้อ 8
10. จากรูปที่ 12 นั้นหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดแอลกอฮอล์ของมะม่วงขนาด 200 มิลลิกรัมต่อกิโกรัม น้ำหนักตัวเพียงครั้งเดียว 1 และ 2 สัปดาห์ต่างให้ผลลด escape latency ทั้งสิ้นแต่ไม่ได้แสดง treatment duration dependent ให้เห็นอย่างมีนัยสำคัญถึงแม้กราฟที่แสดงค่า mean±SEM จะแสดงแนวโน้มแต่การเปลี่ยนแปลงไม่มีนัยสำคัญจึงไม่ถือว่าเป็นหนึ่งใน main findings จึงไม่ได้อภิปรายส่วนนี้อย่างไรก็ตามเพื่อความกระจ่างจึงเพิ่มข้อมูลให้ชัดเจนว่าการที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจเป็นผลจากการที่มีการปรับตัวหรือความสัมพันธ์ระหว่าง parameters ทั้งสองตัวนั้น ไม่ได้เป็น simple relationship หรืออาจไม่เกี่ยวข้องโดยตรงแต่อาจเปลี่ยนแปลงผ่าน mediator อื่น นอกจากนั้นการเปลี่ยนแปลงของ escape latency และ retention time ในรูปที่ 13 ไม่มีความจำเป็นต้องไปด้วยกันเหมือนกัน ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการทั้งสองส่วนไม่ได้เหมือนกัน 100% ดังนั้นจึงไม่แปลกที่ retention time จะเห็นผลที่ 12.5 mg/kg โดยไม่เห็นผลในขนาดสูงแม้ว่า

จะพบผลดังกล่าวใน escape latency ทั้งนี้เนื่องจาก neurotransmitter และ brain pathway ที่เกี่ยวข้อง ไม่ได้มีอิทธิพลต่อกระบวนการทั้งสองอย่างเหมือนกันเท่ากับ 100%

11. รูปที่ 16 และ 17 นั้นแสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกันคือกลุ่มที่ได้ donepezil+AF64A มีแนวโน้มลด AChE แต่เนื่องจากการทดลองทำในสัตว์ทดลอง สัตว์ทดลองเองก็มี variation ของการตอบสนองอยู่โดยตัวมันเอง หนูต่าง batch โดยเฉพาะต่างฤดูกาลที่ได้รับนั้นบางครั้งมี seasonal response ต่างกันและกระบวนการที่ toxin ที่ฉีดเข้าไปไปทำลายสมองนั้นก็ไม่ได้ไปมีผลทำลายเท่ากันทุกครั้ง ทำให้ค่า variation นั้นต่างกันเป็นผลให้ในการศึกษาช่วงที่ทำในสารสกัด alcohol ไม่เห็นผลในการต่างกัน ซึ่งข้อมูลเป็นเช่นนี้ จึงรายงานตามจริง ไม่สามารถปรับแก้ใดๆได้ เพราะ data ที่ได้เป็นเช่นนี้การทำการวิเคราะห์ก็ทำแบบ triple assay แล้วและข้อมูลครั้งนี้ผู้วิจัยเองเจอสภาพเช่นนี้จึงต้องรายงานผลเช่นนี้

ผู้วิจัยได้ปรับเปลี่ยนข้อสรุปว่าการออกฤทธิ์ของสารสกัดมะม่วงที่พบนี้อาจจะเป็นผลจาก interaction effect ขององค์ประกอบที่สำคัญในสารสกัดมะม่วงมากกว่าการที่เป็นผลโดยตรงของสาร betacarotene และ total phenolic compound เนื่องจากผลการเพิ่มการเรียนรู้ของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารสกัดไม่ได้แสดงความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับปริมาณสารเบต้าแคโรทีนและ total phenolic compound หรืออาจเกี่ยวข้องกับ phenolic compound ชนิดอื่นที่ไม่ใช่ simple phenolic compound ดังเช่น gallic acid ก็เป็นไปได้ ในรายงานวิจัย

12. การที่สารสกัด vitamin C จะให้ผลดีในการเพิ่มการเรียนรู้และความจำในขนาด 250 mg/kg BW ดังนั้นคนหนัก 60 kg ต้องบริโภคถึง 15,000 mg/day ซึ่งสูงมาก เกินขนาด upper limit ที่แนะนำไว้คือ 2,100 mg/day ดังนั้นจึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เพื่อประโยชน์ด้านนี้

13. ในการศึกษา electrophysiology ใน cell ซึ่งเป็น in vitro study นั้นไม่สามารถจำลองสภาพจริงได้ เพราะเป็นการจำกัด factor ที่มีอิทธิพลต่อ system ที่สนใจ หากใช้ในระดัแรกเพื่อ screen หรือศึกษาทางลึกลงไป ปัจจัยใดมีผลอย่างไรต่อการทำงานของเซลล์ประสาทอาจจะตรงวัตถุประสงค์มากกว่าหากการศึกษาที่เป็นการดู effect ก่อน implement ในคนน่าจะเป็น in vivo

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณาและดำเนินการต่อไป



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จินตนาภรณ์ วัฒนธร)

หัวหน้าโครงการวิจัย

2009年8月 第23卷 第4期

ISSN 1000-3002
CODEN ZYYZEW

中国药理学与毒理学杂志

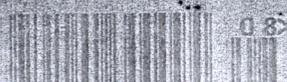
Chinese Journal of
Pharmacology
and
Toxicology

Abstracts of the First World Conference on Pharmacology of
Natural and Traditional Medicines

August 2009
Volume 23 No. 4

军事医学科学院毒物药物研究所
中国药理学会 中国毒理学会
Institute of Pharmacology and Toxicology
Academy of Military Medical Sciences
Chinese Pharmacological Society

ISSN 1000-3002



duced hippocampal neuronal cell death. **METHODS** Various doses of visnagin ($0 - 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) were orally administered 20 min before intracerebroventricular injection of KA (0.1 g). One day after KA injection, we performed cresyl violet staining and immunohistochemistry to observe the expression of various signal molecules (such as p-ERK, c-Fos, and OX-42). **RESULTS** In cresyl violet staining, pretreatment of visnagin significantly inhibited KA-induced CA3 hippocampal cell death compared to the control group. Previously, our group reported that KA increased p-ERK and c-Fos expression in CA3 and dentate gyrus regions. Visnagin also dramatically reduced the KA-induced p-ERK and c-Fos expression. In addition, visnagin inhibited OX-42 expression (activation of microglia) induced by KA in CA3 region. **CONCLUSION** Taken together, these results suggest a potential for use of visnagin treatment in modulation of neurological disease associated with excitotoxicity.

Key words: visnagin; kainic acid; hippocampus; neuroprotection

* Corresponding author.

N19 Improvement of memory in mice and increase of hippocampal excitability in rats by ginsenoside Rg1's metabolite protopanaxatriol

Shi-Feng CHU, Ji CHEN, Yu-Zhu WANG, Xiao-Ying WANG, Nai-Hong CHEN, Jun-Tian ZHANG
(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: AIM To observe Rg1's metabolite protopanaxatriol (PPT) memory-enhancing effect *in vivo*. **METHODS** Behavioral test and electrophysiological study were employed to investigate the memory-improving effect. To examine whether Rg1 could convert into metabolite in cerebrospinal fluid (CSF), UPLC/MS/MS were used to detect the concentration of Rg1 and its metabolites in CSF. **RESULTS** The step through study showed that PPT significantly ameliorated memory-impairment induced by scopolamine in mice. Consistently, the electrophysiological work revealed that PPT and its precursor ginsenoside Rg1 could increase hippocampal excitability in the dentate gyrus of anesthetized rats. Concentration detection showed that there was no PPT in CSF in the Rg1 treated animals. It suggested that Rg1 could not convert into PPT in CSF. **CONCLUSION** PPT has similar but more potent actions than ginsenoside Rg1 in improving memory and hippocampal excitability, suggesting that the role of ginsenoside's sugar moieties in biological activities is not as necessary as traditionally considered.

Key words: ginsenoside Rg1; protopanaxatriol; cognition; hippocampal excitability

N20 *Mangifera indica* juice protects against hippocampal neurodegeneration in animal model of Alzheimer disease

Wanusnun PANNANGRONG¹, Supaporn MUCHIMAPURA², Jintanaporn WATTANATHORN²
(1. Neuroscience Program and Graduate School, 2. Neuroscience Laboratory Unit, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand)

Abstract: AIM Reactive oxygen species contribute the important role in numerous disorders including neurodegeneration in Alzheimer disease. The fruit of mango or *Mangifera indica*, a Family of Annonaceae, contains polyphenol and carotenoid which possess antioxidant activity and cytoprotective effect. However, the neuroprotective effect of mango juice is still unknown until now. Therefore, this study was carried out to determine and evaluate the effect of mango juice on the density of neurons and oxidative stress in hippocampus. **METHODS** Male adult Wistar rats had been orally given *M. indica* juice at doses of 50, 100 and 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ body weight once daily for a period of 14 d before and 7 d after bilateral administration of AF64A via intracerebroventricular route. Then the animals were sacrificed and determined the neurons density in CA1, CA2, CA3 and dentate gyrus of hippocampus using histological technique. The effect of the juice on the oxidative stress was also determined using the level of malondialdehyde (MDA) and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase as indices using biochemical assay. **RESULTS** The mango juice extract could attenuate the neurodegeneration in CA1, CA3 and dentate gyrus of hippocampus. The results also showed that the high dose of extract significantly decreased MDA but increased the activities of SOD, CAT and glutathione peroxidase in hippocampus. Therefore, the neuroprotection of *M. indica* might occur partly via the increase of scavenger enzymes leading to the decrease of excess oxidative stress and neurodegeneration. **CONCLUSION** *M. indica* might be useful as neuroprotectant in the early management of various neurodegenerative diseases including Alzheimer disease

Key words: *Mangifera indica*; mango; neurodegeneration; Alzheimer disease

Acknowledgement: This study was supported by Thailand Research Fund and the Development of Nutraceutical Compound & Brain Plasticity Research Group, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, 40002, Thailand

Title: Mango (Namdokmai) mitigates memory impairment and neurodegeneration.

Author names and affiliations: Jintanaporn Wattanathorn^{1*}, Wipawee Boongvang¹, Supaporn Muchimapura¹, Kornkanok Ingkaninant², Sakchai Wittaya-areekul²

¹Neuroscience Laboratory Unit, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand, 40002

²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresaun University, Phitsanulok, 65000

Corresponding authors: Jintanaporn Wattanathorn

Department of Physiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University,

Khon Kaen, Thailand 40002

Phone: 66-43-348394

Fax: 66-43-348394

E-mail: jintanapornw@yahoo.com, jinwat05@gmail.com

Mango or *Mangifera indica* (Namdokmai variety), a Thailand's premier tropical fruits in a family of Anacardiaceae, has been consumed both as fruits and as medicine in traditional folklore. It contains numerous active ingredients which have been previously reported to improve oxidative damage and brain function. Therefore, the neuroprotective and cognitive enhancing effects of the mango pulp extract has gained concentration. To elucidate this issue, this study was carried out to determine the effect of the aqueous extract of mango pulp extract on learning and memory and neuron density in hippocampus. The mango pulp extract which contained total phenolic compound at concentration of 413.61 ± 17.28 mg of Gallic Acid Equivalent (GAE)/mg fruit weight and beta carotene and contained beta carotene at concentration of $6.19 \mu\text{g/g}$ were orally given to male Wistar rats, weighing 180-200 g, once daily at a period of 2 weeks before and 1 week after the intraventricular administration of AF64A bilaterally. Then, the animals were determined spatial memory using Morris water maze test and determined the neurons density in hippocampus using histochemical technique. The results showed that all dosage range of the extract used in this study enhanced spatial memory and neuron density in hippocampus. The possible underlying mechanisms were further explored via the determination of AChE activity and MDA level in hippocampus. The present findings suggested that the inhibition of both parameters just mentioned played the important role on these phenomena. In conclusion, mango is the potential functional food which will provide neuroprotection for the elderly.

Key words: Mango, *Mangifera indica*, learning and memory, neuroprotection

Abbreviation: milligram/kilogram (mg/kg), Body weight (BW), gram (gm), microliter (μl), centimeter (cm.), Celsius ($^{\circ}\text{C}$), northeast (NE), northwest (NW), southeast (SE), southwest (SW), North (N), East (E), South (S), West (W), second (s), acetylcholinesterase (AChE), malondialdehyde (MDA), intracerebroventricular (icv)