

บทคัดย่อ

โครงการย่อยที่ 1

การศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดบริสุทธิ์แอลฟาแมงโกสตินจากมังคุดในหนู

จากรายงานโครงการปีที่ 1 ได้นำเปลือกของผลมังคุดที่เป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากการรับประทานนำมาแยกสารสำคัญที่มีปริมาณมากในเปลือกคือ α -mangostin มีฤทธิ์ที่ดีในการต้านเซลล์มะเร็งในหลอดทดลองโดยศึกษา กับ tumor cell lines ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับยาควบคุมที่ใช้ในการรักษามะเร็งมาตรฐานที่ใช้ในปัจจุบัน สาร α -mangostin มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อเซลล์ และผลต่อการแสดงออกของยีนที่ก่อให้เกิดกระบวนการ apoptosis (Bax, Bcl) และลดยับยั้งบ่งบอกการเกิดมะเร็ง cytokeratin 19 (CK-19)

การศึกษาในปีที่ 2 นำสารบริสุทธิ์ α -mangostin มาศึกษาฤทธิ์ด้านการต้านมะเร็งในสัตว์ทดลอง ศึกษาผลต่อยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิด apoptosis (Bax, Bcl) และ ยีน tumor marker (cytokeratin 19) การศึกษาได้ใช้เทคนิคที่ปรับจาก Gupta et al. and Holland โดยปลูกเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ NL-17 cells ปริมาณ 1.5×10^6 cells ในหนู BALB/c แต่ละตัว (5 ตัว/กลุ่ม) ฉีดบริเวณใต้ผิวหนัง (แนะนำให้ฉีดบริเวณหลังเยื้องทางขวา; subcutaneous inoculation) เป็นเวลา 3 วัน เพื่อดูว่าปริมาณก้อนมะเร็งเกิดที่ขึ้นในขนาดที่ใกล้เคียงกัน ฉีดสาร α -mangostin ในหนูแต่ละกลุ่มที่ความเข้มข้นต่างๆ 25, 50 และ 100 มก./กก. ทางช่องท้องวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 14 วัน ขนาดของก้อนมะเร็ง น้ำหนักและพฤติกรรมการกินอาหาร ถูกบันทึกทุก 2 วัน ขนาดของก้อนมะเร็งแสดงเป็นปริมาตร (Volume, V, mm^3) คำนวณจาก ความยาว (Length, L, mm) และความกว้าง (Width, W, mm) ตามสมการ $V = L \times (W^2/2)$

การฉีดสาร α -mangostin ที่ความเข้มข้น 100 mg/kg ทางช่องท้องเป็นเวลา 14 วัน พบว่าก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กกว่าก้อนมะเร็งของหนูกลุ่มควบคุมที่ฉีดด้วย 0.5% hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) สารช่วยละลายอย่างมีนัยสำคัญ วันสุดท้ายของ การทดลอง ปริมาตร (Tumor volume) และน้ำหนัก (Tumor weight) เฉลี่ยของกลุ่มควบคุม คือ $969.9 \pm 194.3 \text{ mm}^3$ และ $0.725 \pm 0.187 \text{ g}$ ในขณะที่หนูกลุ่มที่ฉีด α -mangostin มีปริมาตรและน้ำหนักของก้อนมะเร็งที่ $363.6 \pm 109.4 \text{ mm}^3$ และ $0.326 \pm 0.144 \text{ g}$ ซึ่งให้ฤทธิ์ยับยั้งที่ดีกว่าหนูที่ฉีด 5-FU 10 มก./กก. ในฐานะยามาตรฐานซึ่งมีปริมาตรก้อนมะเร็งเฉลี่ยที่ $906.4 \pm 398.4 \text{ mm}^3$ และมีน้ำหนักก้อนมะเร็งเฉลี่ยที่ $0.674 \pm 0.285 \text{ g}$ ตามลำดับ สรุปว่าหนูกลุ่มที่ฉีด α -mangostin สามารถยับยั้งการเจริญได้ 68.7% ในขณะที่หนูกลุ่มที่ฉีด 5-FU ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ 32.7% เมื่อเทียบกลับหนูกลุ่ม

ควบคุม อย่างไรก็ตามการฉีด α -mangostin ทางช่องท้องทำให้น้ำหนักร่างกายหนูลดลง 11% แต่พฤติกรรมภายนอกยังปกติและไม่พบการตกค้างของ α -mangostin ในช่องท้อง เมื่อใช้ขนาด 100 มก./กก.จึงจัดเป็นช่วงความเข้มข้นที่ปลอดภัย และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งในหนู

การศึกษานี้ได้ตรวจสอบประสิทธิภาพของ α -mangostin ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งด้วยวิธีการป้อนทางปาก การศึกษาความเป็นพิษในโครงการนี้ α -mangostin ที่มีความเข้มข้นสูง 500 mg/kg ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางร่างกายและพฤติกรรมใดๆ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ α -mangostin ที่ความเข้มข้น 250 มก./กก.เนื่องจากละลายใน 0.5% HPMC ได้ดีกว่าสำหรับกลุ่มยาควบคุมใช้ 5-FU ยามาตรฐานในขนาด 20 มก./กก.ตามขนาดยาที่ปรับสำหรับใช้ป้อนทางปาก ผลการทดลองด้วยการป้อน α -mangostin เป็นเวลา 14 วัน ในหนูแสดงให้เห็นว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปริมาตรและน้ำหนักของก้อนมะเร็งเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ป้อน 0.5% HPMC เท่านั้น การป้อน α -mangostin ไม่พบผลกระทบต่อร่างกายใด ๆ ต่อพฤติกรรมภายนอก เช่น การเคลื่อนไหว การบริโภคอาหารและน้ำ ส่วนน้ำหนักร่างกายเฉลี่ยของหนูแต่ละกลุ่มก็ไม่แตกต่างกันตลอดการทดลอง

ประเมินศักยภาพของ α -mangostin ต่อการเพิ่มหรือลดปริมาณของระดับ mRNA ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์มะเร็งแบบ apoptosis คือ Bax และ Bcl-2 โดยใช้วิธี real time RT-PCR แบบ one-step method โดยใช้ก้อนเนื้อมะเร็งจาก หนู BALB/c ที่ทำการทดลองฤทธิ์ของ α -mangostin ต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในหนูมาสักัด total RNA

ในการทดลอง จะแสดงผลเป็นจำนวนเท่าของการแสดงออกของยีน (relative expression) เปรียบเทียบกับ β_2 microglobulin ซึ่งเป็น house-keeping gene พบว่าสาร α -mangostin มีผลต่อการกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ในหนูที่ปลูกถ่ายเซลล์มะเร็ง เมื่อหนูได้รับสาร α -mangostin จะมีผลทำให้มี อัตราส่วนของ Bax/Bcl-2 (relative expression) เพิ่มขึ้น เนื่องมาจากการแสดงออกของยีนที่เหนี่ยวนำกระบวนการเกิด apoptosis (Bax) มากขึ้น และที่มีการแสดงออกของยีนที่ยับยั้งกระบวนการเกิด apoptosis (Bcl2) น้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับก้อนมะเร็งในหนูที่ไม่ได้รับสาร α -mangostin และดีกว่าก้อนมะเร็งจากหนูที่ได้รับยามาตรฐาน 5-FU อย่างมีนัยสำคัญ

ในการวัดการแสดงออกของยีน CK-19 ซึ่งเป็นยีนชนิดหนึ่งที่บ่งบอกการเป็นมะเร็ง พบว่าระดับการแสดงออกของยีนมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่ปริมาณ α -mangostin 25, 50 และ 100 มก./กก.ซึ่งหมายถึงปริมาณของเซลล์มะเร็งมีแนวโน้มลดลงตามขนาดสารที่ใช้

เมื่อเปรียบเทียบกับ การให้ยา α -mangostin โดยวิธีการป้อนนั้น อัตราการแสดงออกของยีน Bax, Bcl-2 และ CK-19 นั้น ไม่มีความเปลี่ยนแปลง อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับไม่มีการให้ยา

จากผลการทดลอง การให้ยารักษามะเร็งในหนู โดยการฉีดมีประสิทธิภาพดีกว่าการให้ยาผ่านทาง การป้อน และสรุปได้ว่าสาร α -mangostin จากมังคุดนั้นมีศักยภาพที่จะนำมาใช้พัฒนาเป็นยาต้านมะเร็งได้ แต่รูปแบบของการได้รับยาต้องมีความเหมาะสม จึงจะมีประสิทธิภาพในการรักษามะเร็งได้

Abstract

Study on antitumor activities of purified alpha mangostin isolated from mangosteen in mice

The first grant in the fiscal year 2013, we reported the isolation high amount of α -mangostin from mangosteen peel which are the waste after eating the meat. α -Mangostin demonstrated strong antiproliferation and antioxidation in various tumor cell lines comparing to standard drugs. The apoptosis genes; Bax and Bcl, were also shown more expression whereas tumor marker gene; cytokeratin 19 (CK-19) was more decreasing than control.

The second year 2014-2015, the *in vivo* antitumor activity of α -mangostin was studied. The tumor tissue excised from experimental mice was obtained to observe apoptosis gene; Bax, Bcl and tumor marker; CK-19. The protocol was modified according to Gupta et al. and Holland. In brief, BALB/c mice were implanted by subcutaneous inoculation with NL-17 colon cancer cells (1.5×10^6 cells/mouse) at the right-back (five mice per group). After 3 days, the tumor growth was observed with similar size of tumor formation, then α -mangostin at various concentrations 25, 50 and 100 mg/kg were injected in each group of mice intraperitoneally once daily for 14 days and 5-FU at 10 mg/kg was served as a positive drug control. Tumor size, body

weight, food, and water intake were recorded every 2 days. The volume (V) of the tumor were calculated from length, and width as formula $V = L \times (W^2/2)$.

After 14 days of intraperitoneal administration α -mangostin at 100 mg/kg, tumor size was significantly smaller than 0.5% hydroxypropyl methylcellulose (HPMC; solubilized solvent; untreated control group) and also smaller than the 5-FU treated group. Average of tumor volume and tumor weight obtained from 0.5% HPMC; α -mangostin; and 5-FU groups were $969.9 \pm 194.3 \text{ mm}^3$ and $0.725 \pm 0.187 \text{ g}$; $363.6 \pm 109.4 \text{ mm}^3$ and $0.326 \pm 0.144 \text{ g}$; and $906.4 \pm 398.4 \text{ mm}^3$ and $0.674 \pm 0.285 \text{ g}$, respectively. Antitumor growth observing from mice after treated with α -mangostin and 5-FU comparing with untreated tumor bearing control group were 68.7% and 32.7%, respectively. However, the treated α -mangostin group, mice were decreasing weight 11%, but showed normal physical behavior. No residue of α -mangostin in peritoneal was observed after injection at 100 mg/kg. It was concluded that α -mangostin at dose 100 mg/kg was safe and efficiently demonstrated antitumor activity.

For orally α -mangostin administration, the study was performed to administer α -mangostin as high as 500 mg/kg and no observable toxicity and abnormal behavior in mice. Doses of α -mangostin at 250 mg/kg solubilized in 0.5% HPMC and 5-FU as positive drug control at 20 mg/kg were performed for the oral antitumor activity. After 14 days oral administration, no significant difference were observed either by antitumor activity, behavior, movement, food and water intake, weight variation comparing with the untreated group.

Study on mechanism of apoptosis, real time RT-PCR as one step method was performed to evaluate the gene expression in tumor of mice after treating with α -mangostin. β_2 microglobulin, a house-keeping gene was used as comparable gene. Total RNA from tumor of treated mice, was isolated and one step RT-PCR was performed to detect the expression of Bax (induction of apoptosis) and Bcl-2 (inhibition of apoptosis) genes. Tumor tissue from α -mangostin treated mice,

demonstrated apoptosis since Bax gene was higher expressed and Bcl-2 was decreased. Then, the ratio of Bax and Bcl-2 genes (relative expression) were significantly increased comparing with untreated implanted tumor mice and also comparing with 5-FU positive control drug.

CK-19, a tumor marker was demonstrated decreasing expression at α -mangostin 25, 50 and 100 mg/kg treated mice in a dose dependent manner.

For oral administration of α -mangostin, the expression of Bax, Bcl-2 and CK-19 showed no significantly difference comparing with untreated group.

In summary, α -mangostin showed significantly effect on antitumor activity in mice by intraperitoneal administration but no effect observed in oral administration. From *in vivo* study, the results confirmed that α -mangostin has high potential to develop as antitumor drug with suitable dosage form and route of administration.

โครงการย่อยที่ 2

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดบริสุทธิ์แอลฟาแมงโกสตินจากมังคุด

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดบริสุทธิ์ α - mangostin โดยการฉีดสาร α - mangostin โดยการฉีดเข้าช่องท้อง ขนาด 2 ก./กก. (ใน 0.1% carboxymethylcellulose, CMC) ให้หนูแรทและหนูเม้าส์ทั้ง 2 เพศ ไม่ทำให้เกิดอาการผิดปกติ หรือตายในเวลา 14 วัน แต่ทำให้น้ำหนักตัวของหนูแรทและหนูเม้าส์ลดลงทั้งสองเพศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นค่า LD50 ของสาร α - mangostin โดยการฉีดเข้าช่องท้องมีค่า > 2 ก./กก. ทั้งในหนูแรท และหนูเม้าส์

การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันโดยการฉีดเข้าช่องท้อง พบว่าสาร α - mangostin ความเข้มข้น 100 มก./5 มล. 0.1% CMC ฉีดเข้าช่องท้องขนาด 100 มก./กก./วัน ฉีด 5 วันต่อสัปดาห์ ติดต่อกัน 4 สัปดาห์ ทำให้น้ำหนักตัวของหนูแรทเพศผู้ลดลงแต่น้ำหนักของหนูเพศเมียเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การตรวจเลือดพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม หนูทั้ง 2 เพศ ที่ได้รับสาร α - mangostin มีจำนวนเม็ดเลือดแดง ปริมาณ hemoglobin และ hematocrit ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม มีปริมาณเกล็ดเลือดเพิ่มขึ้น แต่ซึ่งค่าต่างๆยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ มีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงขึ้นเนื่องมาจากการสร้างเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น มีปริมาณ neutrophil เพิ่มขึ้นแต่ lymphocyte ลดลง ดังนั้นสาร สาร α - mangostin ไม่เป็นพิษกับเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด การตรวจเคมีของเลือดไม่พบความเป็นพิษต่อดับและไต การตรวจทางพยาธิวิทยาของ ตับ ไต หัวใจ ปอด ลำไส้และม้าม ไม่พบพยาธิสภาพในอวัยวะสำคัญ ยกเว้นที่ม้าม พบมีการสร้างเม็ดเลือดนอกไขกระดูกอย่างชัดเจน ส่วนที่ตับและลำไส้ พบมีเพิ่มขึ้นของเซลล์เยื่อช่องท้อง (mesothelial hyperplasia) และการอักเสบจากสารแปลกปลอมภายนอกร่างกาย (foreign body granuloma) อยู่ทางผนังด้านนอกซึ่งอาจเกิดจากผลึกของสารแอลฟาแมงโกสตินที่ตกค้างอยู่ อย่างไรก็ตามควรเฝ้าระวังการทำงานของตับ ไต และตรวจสุขภาพอย่างต่อเนื่องเมื่อได้รับสาร α - mangostin

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดบริสุทธิ์ α - mangostin โดยการป้อนสาร 2 ก./กก. ให้หนูแรทและหนูเม้าส์ทั้ง 2 เพศ ไม่ทำให้เกิดอาการผิดปกติ หรือตายในเวลา 14 วัน แต่ทำให้น้ำหนักตัวของหนูแรทเพศผู้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นค่า LD50 ของสาร α - mangostin โดยการป้อนมีค่า > 2 ก./กก. ทั้งในหนูแรท และหนูเม้าส์

การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดบริสุทธิ์ α - mangostin โดยการป้อนสาร 100 มก./กก./วัน ให้หนูแรทและหนูเม้าส์ทั้ง 2 เพศ ติดต่อกัน 13 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัวของหนูทั้งสองเพศ และ เมื่อเก็บเลือดไปทำการวิเคราะห์ชีวเคมีของเลือด พบว่าไม่ทำให้เกิดพิษใดๆกับเม็ดเลือดและไม่เปลี่ยนแปลงค่าเคมีของเลือด การตรวจทางพยาธิวิทยาไม่พบความเป็นพิษกับอวัยวะที่สำคัญได้แก่ ลำไส้ หัวใจ ปอด ตับ ไต และกระเพาะอาหาร

Abstract

Toxicity study of purified α - mangostin from *Garcinia mangostana* Linn

Acute toxicity study of purified α - mangostin by intraperitoneal injection (IP) at the dose of 2 g/kg (in 0.1% carboxymethylcellulose, CMC) showed that both sexes of rats and mice did not have any abnormal symptom or die in 14 days. However, the body weight of both sexes of rats and mice significantly decreased. The IP LD50 of α - mangostin in rats and mice were more than 2 g/kg.

Subacute toxicity study of purified α - mangostin in rats by intraperitoneal injection (IP) at the dose of 100 mg/kg/day, 5 days per weeks for 4 weeks significantly decreased body weight of male rats but increased body weight of female rats. Blood cell analysis of treated rats comparing to the control group showed that both sexes of treated rats had lower hemoglobin and hematocrit but higher platelet than the control rats. However, those blood values of both groups were in the normal range. The treated rats had higher amount of white blood cell which might be due to the increase of production. The increase in neutrophil and decreased in amount of lymphocyte changed the ratio of white blood cell. Blood chemistry determination showed no toxicity to liver and kidney functions. Histopathological examination of liver, kidney, heart, lung, intestine and spleen demonstrated no pathology excepted the increasing blood cell production outside the bone marrow. The mesothelial hyperplasia and foreign body granuloma causing by inflammation were found in outer surface of liver and intestine. This may cause by unabsorbed residue of α - mangostin. The monitoring the kidney and liver functions is recommended if continuous receiving α - mangostin for a long period.

Acute oral toxicity study of purified α - mangostin at the dose of 2 g/kg showed that both sexes of rats and mice did not have any abnormal symptom or die in 14 days. However, the body weight of male rats significantly decreased. The oral LD50 of α - mangostin in rats and mice were more than 2 g/kg.

Subchronic oral toxicity study of purified α - mangostin in rats at the dose of 100 mg/kg/day for 13 weeks did not affect body weight of both sexes of rats. Blood cell analysis and blood chemistry showed no toxicity to blood cell and no different in

all checked blood chemistry values between treated and control group. .
Histopathological examination demonstrated no pathology of intestine, heart, lung, liver, kidney and stomach.

โครงการย่อยที่ 3

การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากสารเปลือกมังคุดเพื่อลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง

เปลือกมังคุดประกอบด้วยสารในกลุ่มแซนโทนซึ่งมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันและต้านมะเร็ง ศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุด โดยทำการศึกษาประเภทของอาหารที่คนปกติชอบรับประทานและการเลือกซื้ออาหารเพื่อสุขภาพ โดยการทำแบบสอบถามในกลุ่มอายุ 20 – ≥ 60 ปี จำนวนคน 270 คน การศึกษาความคงตัวของสารสกัด จากการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาแมงโกสทินเทียบกับสารมาตรฐานโดยใช้ HPLC พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุด (แอลฟาแมงโกสทิน) ทนความร้อนสูงสุดที่ 150 องศา สารสกัดมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำ แต่แสดงฤทธิ์ที่ดีในการต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่ (CACO-2, MTT Assay) โดยมีค่า ED_{50} ต่ำกว่า 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับสารสกัดน้ำจากเปลือกมังคุด พบว่า ในรูปผงแห้ง สารสกัดน้ำจากเปลือกมังคุดทนความร้อนสูงสุดได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 105 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดน้ำไม่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่ (CACO-2, MTT Assay) แต่แสดงฤทธิ์ที่ดีในการต้านออกซิเดชัน (DPPH) โดยมีค่า IC_{50} ของสารสกัดน้ำเท่ากับ 14-18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้พัฒนาจากสารสกัดจากเปลือกมังคุด (แอลฟาแมงโกสทิน) คือ ข้าวเคลือบสารสกัดจากเปลือกมังคุดซึ่งประกอบด้วยแอลฟาแมงโกสทินเท่ากับ 66.63 มก./มล พบว่าข้าวสารเคลือบสารสกัดมีปริมาณแอลฟาแมงโกสทินที่สูงสูญเสียในระหว่างกระบวนการเคลือบและอบแห้งเท่ากับ ร้อยละ 16.85 และเมื่อนำข้าวสารเคลือบสารสกัดไปหุงสุก พบว่าปริมาณแอลฟาแมงโกสทินที่สูงสูญเสียไปเฉพาะในช่วงการหุงสุกสูงสุดเท่ากับร้อยละ 50.99 ไม่เหมาะที่จะนำไปพัฒนาต่อไป ทั้งนี้ฤทธิ์ต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่ (CACO-2, MTT Assay) ต่ำลงกว่าในรูปของสารสกัด สำหรับผลิตภัณฑ์สแน็คบาร์ที่ได้พัฒนาขึ้น มี 3 สูตร คือ สแน็คบาร์สูตรลูกเกด, สูตรสตอว์เบอร์รี่ และสูตรช็อกโกแลต มีขนาดกว้าง 1.2 ซม x ยาว 5 ซม x สูง 1.5 ซม (น้ำหนัก 20 กรัมต่อชิ้น) มีปริมาณผงแห้งสารสกัดจากเปลือกมังคุด 220 มิลลิกรัมต่อ 1 แท่ง (1 หน่วยบริโภค) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (โดยวิธี DPPH) โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 15.56, 19.06, และ 27.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีการ

ทำการประเมินผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัสโดยวิธี 9-Point Hedonic Scale ส่วนผลิตภัณฑ์ไอศกรีมชนิดแท่งที่ได้พัฒนาขึ้นมี 3 รส ได้แก่ รสชาเขียว รสช็อกโกแลต และรสชาไทย ขนาด 12.5 ซม. X 5 ซม. X 1.5 ซม. (น้ำหนัก 50 กรัมต่อแท่ง) โดยประกอบด้วยสารสกัดจากเปลือกมังคุดในปริมาณ 250 มิลลิกรัมต่อ 1 แท่ง (1 หน่วยบริโภค) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของไอศกรีมมังคุดโดยวิธี DPPH โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.29, 11.15, และ 40.83 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ มีการทำการประเมินทางประสาทสัมผัสโดยวิธี 9-Point Hedonic Scale

การวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยวิธี Aerobic Plate Count จำนวนเชื้อราจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียและ *E. coli* โดยวิธี MPN ในตัวอย่างสารสกัดน้ำจากเปลือกมังคุด และผลิตภัณฑ์สแน็คบาร์และไอศกรีม พบว่าการปนเปื้อนอยู่ในเกณฑ์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 144 เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุปิดสนิท และฉบับที่ 222 เรื่องไอศกรีม

ผลิตภัณฑ์สแน็คบาร์และผลิตภัณฑ์ไอศกรีมชนิดแท่งผสมสารสกัดน้ำจากเปลือกมังคุดมีแนวโน้มที่ดีในการพัฒนาในทางการค้าเพื่อใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ

Abstract

Development of food products from mangosteen hull extract for chemoprevention of cancer

Xanthonenes and its derivatives are found in high amounts in the pericarp of mangosteen. Xanthonenes exhibit anti-oxidative and anticancer activities, etc. The purpose of this study was to develop Functional foods from mangosteen extracts. A survey on choices of normal food dishes and functional foods, as a questionnaire, was carried out among 270 people, aged 20-≥60 yr. Studies on the stability of mangosteen extracts, analyzed as alpha-mangostin, using HPLC, showed that the mangosteen pericarp extract (alpha-mangostin) was heat-stable up to 150 °C. The extract exhibited low antioxidant activity but strong anticancer activity against a colon cancer cell line (Caco-2, MTT assay), with an ED_{50} of <10 µg/ml. As for the water extract spray-dried powder, it was able to withstand the temperature near to 105 °C. The water extract showed no toxicity towards Caco-2 cell line but showed high antioxidant activity, with the IC_{50} of 14-18 mg/ml.

Alpha-mangostin-coated rice was developed; the product contained 66.63 mg/100g of dried rice grain. The coated rice lost 50.99% of alpha-mangostin during

the cooking (gelatinization) step, thus, it had no potential to be further developed as a functional food. The anticancer activity against Caco-2 cell, in MTT assay, was lower than the extract as well. Three formulae of snack bars, Raisin, Chocolate and Strawberry were developed. The snack bars measured 1.2 cm x 5 cm x 1.5 cm (4-5 g) and contained 220 mg of the water extract of mangosteen pericarp/ 1 bar (1 serving). The antioxidant activity was determined using DPPH method. The IC_{50} of Raisin formula, Strawberry formula, and Chocolate formula, were 15.56, 19.06, and 27.25 mg/mL, respectively. Sensory evaluation test, using 9-point Hedonic scale method, was carried out. Three flavors of ice cream bar were developed, chocolate, green tea, and Thai tea. Each ice cream bar, 12.5 cm x 5 cm x 1.5 cm (50 g/bar) contained 250 mg of the pericarp extract (1 serving). The antioxidant activity was determined, using DPPH method. The IC_{50} of Green tea flavor, Chocolate flavor, and Thai tea flavor, were 4.29, 11.15, and 40.83 μ g/mL respectively. Sensory evaluation test using 9-point Hedonic Scale Method was also carried out.

Microbiological examinations, Total Aerobic Microbial Count, Total Yeasts and Moulds Count, Total Coliform Bacteria, *E. coli* (MPN Method), were carried out in the water extract of mangosteen pericarp, Snack bars and Ice Cream bars. All the samples conformed with the Regulations of the Ministry of Public Health No. 144, Foods in Hermetically-sealed container and No. 222, Ice Cream.

Snack bars and Ice Cream Bars containing the water extract of mangosteen pericarp showed potentials to be further developed commercially as a Functional food.