

แบบสรุปผู้บริหาร

[Executive Summary]

1. รายละเอียดเกี่ยวกับแผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง

(ภาษาไทย) การศึกษาฤทธิ์ของสารสำคัญจากมังคุดเพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งและการรักษาภาวะพังผืดในตับและภาวะตับแข็ง

(ภาษาอังกฤษ) Study activities of major constituents isolated from mangosteen as chemotherapy for cancers and liver fibrosis and liver cirrhosis

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

หัวหน้าแผนงานวิจัย/หัวหน้าโครงการที่ 1

รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีมณีนัน มุ่งการดี

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โทรศัพท์ : 0-2644-8677 ต่อ 1133, 1136 โทรศัพท์มือถือ 0-817424561

โทรสาร : 0-2644-8692, 0-2354-4326

E-mail address: primchanien.moo@mahidol.ac.th

หัวหน้าโครงการย่อยที่ 2

รองศาสตราจารย์ วิสุทธิ์ ประดิษฐ์อาชีพ

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โทรศัพท์ 02-649-5358 โทรสาร 02-260-1532

E-mail: wisuit@swu.ac.th

ผู้ร่วมวิจัย

1. รองศาสตราจารย์ รมิดา วัฒนโกศลสิน

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โทรศัพท์ 02-664-1000 ต่อ 4604 โทรสาร 0-2600125

E-mail: ramidawa@yahoo.com

2. ศาสตราจารย์ แพทย์หญิง นิโบล เนื่องตัน
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
โทรศัพท์ : 0-2419-7581 โทรสาร : 0-24199141 โทรศัพท์มือถือ 0-804481140
E-mail address: sinnt@mahidol.ac.th
3. อาจารย์ ดร. ศุภโชค มั่งมุล
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
โทรศัพท์ : 0-2644-8677 ต่อ 5630 โทรสาร : 0-2644-8700
E-mail address: pysmm@mahidol.ac.th
4. นายเอกรัฐ รอดภัย
โครงการวิจัยและพัฒนาวัคซีนสถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล
โทรศัพท์ : 0-2441-9337 โทรสาร : 0-2441-9336
E-mail address: erodpai@gmail.com
5. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อุดมศรี โชว์พิทพรชัย
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-260-2234 ต่อ 4507 โทรสาร 02-260-1532
E-mail: udomsri@swu.ac.th
6. นายแพทย์ สมนึก นิลบุหงา
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-6495358 โทรสาร 02-260-1532
E-mail: chengnil@hotmail.com
7. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ รักขวรรณ พูนคำ
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-260-2234 ต่อ 4504 โทรสาร 02-260-1532
E-mail: raksawan@swu.ac.th
8. รองศาสตราจารย์ สุนิตย์ สุขสำราญ
ภาควิชาเคมี สาขาเคมีอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-664-1000 ต่อ 4604 โทรสาร 0-2600125
9. นายนพดล อินทรทัต
ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
โทรศัพท์ 02-260-1532 โทรสาร 02-260-1532
E-mail: noppadol@swu.ac.th

10. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุวดี ขวณไชยะกุล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

หมายเลขโทรศัพท์ 02-260-2234 ต่อ 4509 โทรสาร 02-260-1532

E-mail: suwadeec@swu.ac.th

11. ดร. สิรินันท์ พงศ์เมธิกุล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โทรศัพท์ 02-664-1000 ต่อ 4522 โทรสาร 0-2601532

E-mail: psirinun@hotmail.com

ที่ปรึกษาโครงการวิจัยที่ 2

ศาสตราจารย์นายแพทย์ สมเกียรติ วัฒนศิริชัยกุล

หน่วยงาน ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มศว

สถานที่ติดต่อ ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มศว

หมายเลขโทรศัพท์ 02-2602234-5

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 งบประมาณที่ได้รับ 3,315,000 บาท

ทุนอุดหนุนสำหรับแผนงานวิจัย จำนวนเงินรวม 443,084 บาท

ระยะเวลาทำวิจัย ตั้งแต่ วันที่ 27 สิงหาคม 2554 ถึง วันที่ 26 สิงหาคม 2555

ขอขยายเวลาการทำวิจัยถึง 26 มีนาคม 2556

2. สรุปโครงการวิจัย[เขียนภาพรวมโครงการในลักษณะย่อและกะทัดรัดที่สามารถใช้ในการเผยแพร่

ผลงานวิจัยได้ โดยแสดงถึงความสำคัญและที่มาของปัญหาในการวิจัย สรุปวัตถุประสงค์ของการวิจัยและระเบียบวิธีการวิจัย ผลการวิจัย คุณสมบัติ/จุดเด่นของผลิตภัณฑ์หรือเทคโนโลยีที่ได้รับ กลุ่มเป้าหมายและประโยชน์ที่ได้รับจากโครงการ การนำไปใช้ประโยชน์ และข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย (ข้อเสนอแนะเชิงนโยบาย ข้อเสนอแนะเชิงวิชาการ ข้อเสนอในการนำไปใช้ประโยชน์)

โครงการ การพัฒนายาใหม่จากสารสำคัญจากมังคุดเพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งและ

การรักษาภาวะพังผืดในตับ และภาวะตับแข็ง

เตรียมแยกสารจากเปลือกมังคุดปริมาณมาก (สำหรับตลอดโครงการ)

- สารสกัด (Crude Extracts)
- สารบริสุทธิ์ α -Mangostin
- จัดทำกำหนดขั้นตอนต่างๆ ของการแยกสาร
- ควบคุมกำหนดการตรวจสอบสารที่ได้

การตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดและสารบริสุทธิ์ต่างๆ ที่ได้

ด้านการต้านมะเร็ง

ปีที่ 1 *in vitro* :

- antiproliferation ของเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ
- การตรวจฤทธิ์ antioxidant ทางเคมีและในเซลล์
- กระบวนการเกิด apoptosis, signal proteins, gene expression และ tumor markers ที่เกี่ยวข้อง เช่น Bax, Bcl-2, cytokeratin เป็นต้น
- ศึกษาฤทธิ์ immune stimulation หรือ modulation ใช้ Flow cytometry, real time PCR

ปีที่ 2 *in vivo* : antitumor formation

ประเมินผลของค่าต่างๆที่ได้ ขนาดของก้อนเนื้อ
งอก etc. ในสัตว์ทดลอง

การทดลองศึกษาการป้องกัน ภาวะตับอักเสบ
และภาวะพังผืดในตับ

ด้านการรักษาภาวะพังผืดในตับ และภาวะตับแข็ง

- การลดการทำลายเซลล์ตับ การลดการสะสมของพังผืด
- การลดจำนวนของ activated hepatic myofibroblasts
- การลดการแสดงออกของ cyclooxygenase2 (COX2) และของโปรตีน collagen type I และ III ในตับของหนูแรท
- การคงสภาพการแสดงออกและการกระจายตัวของเอนไซม์ที่ใช้เปลี่ยนรูปของแอมโมเนีย ได้แก่ กลูตามีนซินทีเทส (glutamine synthetase) และคาร์บาโมอิลฟอสเฟตซินทีเทส (carbamoyl phosphate synthetase) ในเซลล์ตับของหนูแรท
- ระดับของตัวชี้วัดการทำงานของตับ (liver function test) ที่หลังมาในกระแสเลือด ที่เป็นเอนไซม์และโปรตีนต่างๆ ภายหลังจากที่หนูแรทถูกชักนำให้เกิดภาวะตับแข็ง
- กระบวนการเกิด apoptosis และ protein expression ที่เกี่ยวข้อง
- การแสดงออกของ ยีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะการอักเสบ TNF- α , COX-1, COX-2, collagen

แผนโครงการในอนาคต

- ศึกษา Pharmacokinetics
- ศึกษา Pharmacodynamics
- Clinical Trial ในผู้ป่วยมะเร็ง ภาวะพังผืดในตับ และภาวะตับแข็ง
- ศึกษาปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ เพื่อเพิ่มการทำปฏิกิริยากับเซลล์เป้าหมาย และ/หรือ เตรียมเป็น Drug Delivery และ/หรือ เชื่อมกับ MAb สำหรับ targeted therapy

สรุปผลการวิจัย (ภาพรวมทั้งโครงการ)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำสารสำคัญ α -mangostin (แอลฟาแมงโกสติน) ที่แยกได้บริสุทธิ์จากเปลือกมังคุดในปริมาณที่มากพอ นำมาศึกษาฤทธิ์ที่มีผลต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ และ การรักษาภาวะพังผืด และ ภาวะตับแข็งในหนูแรท เพื่อการศึกษาพัฒนาผลึกต่อในอนาคตสำหรับการพัฒนาเป็นยาใหม่ที่แยกได้จากเปลือกมังคุดที่เป็นสมุนไพรไทย

ผลการวิจัย

- การเตรียมแยกสารสำคัญ α -mangostin จากเปลือกมังคุดสามารถเตรียมได้สารที่มีความบริสุทธิ์มากกว่าร้อยละ 95 ปริมาณ 70 กรัม ซึ่งเพียงพอสำหรับการทดลองได้ทันตามกำหนด ตามที่นำเสนอ
- การตรวจฤทธิ์ต้านมะเร็ง
 1. พบว่าสาร α -mangostin มีฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ มีค่า ED_{50} แตกต่างกันระหว่าง 5.45-18.98 $\mu\text{g/ml}$ และบางเซลล์ α -mangostin จะมีฤทธิ์ที่ดีกว่ายาควบคุม
 2. พบว่าสาร α -mangostin มีฤทธิ์ antioxidant เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH method และวิธี reactive oxygen species (ROS) โดยใช้ cell line แต่ละชนิด แต่ฤทธิ์ไม่แรงเท่าสารควบคุม
 3. สาร α -mangostin มีผลให้เกิด apoptosis ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งของร่างกายที่ใช้กำจัดเซลล์ที่ไม่ต้องการหรือถึงอายุขัย แต่เซลล์มะเร็งสามารถต่อต้านการควบคุมการตายแบบ apoptosis แต่เมื่อเซลล์มะเร็งได้รับสาร α -mangostin จะมีผลทำให้เซลล์มะเร็งเกิด apoptosis มากขึ้น พบอัตราส่วนของยีน Bax/Bcl-2 เพิ่มขึ้น เนื่องจากเซลล์มะเร็ง มีการแสดงออกของยีนที่เหนี่ยวนำกระบวนการเกิด apoptosis (Bax) เพิ่มขึ้น ขณะที่ยีนที่มีการแสดงออกที่ยับยั้งกระบวนการเกิด apoptosis (Bcl-2) น้อยลง สาร α -mangostin มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ apoptosis ทำให้เซลล์มะเร็งตายได้เช่นเดียวกันกับฤทธิ์ของ Taxol ซึ่งเป็นยาที่ใช้ควบคุมการทดลอง
 4. α -mangostin มีบทบาทต่อการแสดงออกของยีน CK-19 โดยการแสดงออกของยีน CK-19 จะลดลงในเซลล์มะเร็งที่ได้รับสาร α -mangostin เช่นเดียวกันกับ เซลล์มะเร็งที่ได้รับยา Taxol
 5. ผลที่ได้จากการตรวจวัด ค่าสัดส่วนของ Bax/Bcl-2 และ cytokeratin expression เป็นการช่วยยืนยันศักยภาพของสาร α -mangostin จากมังคุด ที่จะนำมาใช้เป็นสารต้านมะเร็งได้
 6. จากการทดลอง จึงสรุปได้ว่าสาร α -mangostin จากมังคุดที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม จะมีศักยภาพในการที่จะนำมาใช้เป็นสารต้านมะเร็งได้
- Immunomodulation ของสาร α -mangostin โดยใช้ตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียส
 1. การให้สาร α -mangostin แก่ PBMCs ไม่ทำให้ระดับ IL-2 เพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับระดับ T-cells (CD3+) ที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมลบ แต่สาร α -mangostin กลับมีฤทธิ์

- ยับยั้ง ConA ไม่ให้ PBMCs หลั่ง IL-2 มากขึ้นอีก แสดงว่าสาร α -mangostin มีฤทธิ์ยับยั้งฤทธิ์ของ ConA ในการกระตุ้น $\gamma\delta$ T cells, activated conventional CD4+ และ CD8+ T cell
2. สาร α -mangostin ไม่ทำให้เซลล์เกิดการอักเสบ; IL-1 β และ TNF- α และไม่มีผลในการยับยั้งหรือเสริมฤทธิ์กับ ConA
 3. สาร α -mangostin อาจมีฤทธิ์ หรือไม่มีฤทธิ์ในด้าน immunomodulation ด้วยฤทธิ์โดยตรงของสาร และไม่มีฤทธิ์ให้เกิดการอักเสบอย่างมีนัยยะสำคัญ อย่างไรก็ตามการศึกษาต่อไป ควรทำการเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ และทำการศึกษากลไกที่มีผลเกี่ยวกับสารช่วยโคคายน์ต่างๆเพิ่มเติม เพื่อให้ได้รับคำตอบที่ชัดเจนขึ้น

● การตรวจฤทธิ์ α -mangostin ในการรักษาภาวะตับอักเสบ และภาวะพังผืดในตับในหนูแรท

1. จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้พอสรุปได้ว่าสาร α -mangostin มีคุณสมบัติที่ดีพอในการรักษาภาวะตับอักเสบ และภาวะพังผืดในตับ แต่ยังไม่ดีเพียงพอในการรักษาภาวะตับแข็ง ผลของสาร α -mangostin ต่อการฟื้นฟูการทำงานของตับ ยังไม่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจนจากผลค่าดัชนีตัวบ่งชี้การทำงานของตับ (liver function tests) ที่ได้มาจากการทดลองในครั้งนี้
2. แต่ผลจากเนื้อเยื่อวิทยาที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่าสาร α -mangostin มีฤทธิ์ต่อการรักษาฟื้นฟูสภาพของเนื้อเยื่อของตับได้ดีมากภายหลังจากที่ตับเกิดภาวะอักเสบ หรือภาวะพังผืด เพื่อพิสูจน์ประสิทธิผลของสาร α -mangostin ต่อการรักษาภาวะตับอักเสบและภาวะพังผืดในตับ ควรต้องทำการศึกษาวิจัยในอนาคตถึง pharmacodynamics และ pharmacokinetics ของสารอัลฟาแมงโกสตินต่อไป
3. การแสดงออกของโปรตีน p53, Bax และ Bcl2 โดยใช้ Western blot analysis พบว่า α -mangostin มีผลต่อการลดลงของการแสดงออกของโปรตีน p53 และ Bax ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดการตาย และเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน Bcl2 ซึ่งเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการตายแบบ apoptosis ที่ระยะเวลา 1 เดือน 2 เดือน และ 4 เดือน ตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงระยะแบบฉับพลัน (acute stage)
4. อย่างไรก็ตามกลไกของกระบวนการเกิดภาวะตับแข็ง อาจมีกลไกอื่นนอกเหนือจากกระบวนการ apoptosis มาเกี่ยวข้อง ดังนั้นอาจต้องศึกษากระบวนการยับยั้งการตายแบบ apoptosis ในเชิงลึกและกลไกอื่นที่เกี่ยวข้องต่อไป

แนวโน้มของการศึกษาเพื่อการประยุกต์ใช้ในอนาคต

ควรทำการศึกษา antitumor activities *in vivo* ของสารบริสุทธิ์ α -mangostin ตามที่ได้เคยศึกษาได้ผลดีจากสาร crude methanolic extract ของมังคุดที่เปื้อนสารตั้งต้นในการแยกสารบริสุทธิ์ α -mangostin และมีส่วนประกอบหลักเป็นสาร α -mangostin ซึ่งอยู่ในระหว่างรอผลการพิจารณาโครงการขอ

ทุนจาก วช. สำหรับปี 2556 เพื่อศึกษาผล antitumor ของสาร α -mangostin ในหนู ก่อนนำข้อมูลมาใช้ต่อไปในการศึกษาทางคลินิก

สาร α -mangostin มีคุณสมบัติที่ดีพอในการรักษาภาวะตับอักเสบ และภาวะพังผืดในตับ ในหนูแรท แต่ยังไม่ดีเพียงพอในการรักษาภาวะตับแข็ง อาจมีกลไกอื่นนอกเหนือจากกระบวนการ apoptosis มาเกี่ยวข้อง ดังนั้นอาจต้องศึกษากระบวนการยับยั้งการตายแบบ apoptosis ในเชิงลึกและกลไกอื่นที่เกี่ยวข้องต่อไป ตลอดจนการทดลองศึกษาใช้สาร α -mangostin ในการป้องกัน ภาวะตับอักเสบ และภาวะพังผืดในตับ ซึ่งคาดว่าจะมีศักยภาพที่ดีที่ควรศึกษาต่อไป

1. ประโยชน์ที่ได้รับ

- ได้ผลงานที่ศึกษาวิจัยได้องค์ความรู้สำหรับการเป็นยาใหม่จากสมุนไพรไทย สามารถดำเนินการวิจัยต่อยอดในรูปแบบต่างๆทางคลินิกในผู้ป่วยโรคมะเร็ง การรักษาภาวะพังผืดในตับและภาวะตับแข็ง
- เป็นข้อมูลในการเรียนการสอนของนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา มีนักวิจัยรุ่นใหม่ในโครงการ และมีนักศึกษาระดับปริญญาโทที่ใช้งานในโครงการวิจัยนี้บางส่วนในการทำวิทยานิพนธ์
- มีข้อมูลเตรียมการเผยแพร่ผลงานวิจัยโดยการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ
 - นำเสนอข้อมูลในการนำเสนอผลงานในงานประชุมวิชาการทางวิทยาศาสตร์ ได้เสนอผลงานแบบ Poster ในการประชุมวิชาการ Princess Congress VII, Cancer : From Basic Research to Cure. November 29-December 3, 2012, Shangri-La Hotel, Bangkok, Thailand.
 - เตรียมต้นฉบับ manuscript เปรียบเทียบการแยกสารและฤทธิ์ของสารสำคัญจากมังคุด: Comparison the biological activities of isolated constituents from mangosteen
 - โครงการการรักษาภาวะพังผืดในตับ และภาวะตับแข็ง ได้ส่งผลงานการตีพิมพ์จำนวน 3 เรื่อง ซึ่งเป็นงานที่ได้รับการสนับสนุนโครงการวิจัยจาก วช.
 - Montinee Khunvirojpanich BSc*, Somkiat Wattanasirichaigoon MD**, Wisuit Pradidarcheep PhD***. Expressional Changes in Carbamoyl Phosphate Synthetase and Glutamine Synthetase in the Liver of Rat with Thioacetamide-Induced Cirrhosis. J Med Assoc Thai 2013; 96 (Suppl.): Full text. e-Journal: <http://jmat.mat.or.th>
 - Raksawan Poonkhum; Wisuit Pradidarcheep; Somneuk Nilbu-Nga & Suwadee Chaunchaiyakul. Distribution of Hepatic Myofibroblasts and Type I and III Collagen in Rat Liver Cirrhosis Induced by Thioacetamide. Int J Morphol 2011;29(2):501-508.

■ Udomsri Showpittapornchai PhD*, Somkiat Wattanasirichaigoon MD**, Wisuit Pradidarcheep PhD*. Predominant Vascular Dilatation with NOS Expression in Lung Lower Lobe of Thioacetamide Induced-Cirrhotic Rat. J Med Assoc Thai 2012; 95 (Suppl.): Full text. e-Journal: <http://jmat.mat.or.th>

- ได้ขยายงานวิจัยทำงานร่วมมือกับผู้วิจัยในคณะ/มหาวิทยาลัยอื่น แลกเปลี่ยนข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อกัน และเป็นประโยชน์ในการวิจัยร่วมกันในอนาคต
- เป็นการเพิ่มมูลค่าและพิสูจน์คุณค่าของสมุนไพรไทย
- เป็นข้อมูลที่ทำให้เชื่อมั่นในการศึกษาต่อยอดทั้งใน *in vivo* และทางคลินิก เพื่อการประยุกต์ใช้สำหรับการเป็นยาใหม่ในอนาคต

2. หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สถาบันที่ดำเนินงานวิจัย รวมทั้งวช. ที่สนับสนุนงบการวิจัย ชาวสวนที่ปลูกมังคุดควรมีการขายได้มากขึ้น เพราะมีแนวโน้มที่จะมีการนำมังคุดไปใช้ประโยชน์ มีคุณค่าเพิ่มมากขึ้น และจะมีผู้นิยมในการบริโภคเพิ่มมากขึ้น

3. บทคัดย่อภาษาไทยและบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract)

ภาษาไทย

สาร α -mangostin (แอลฟาแมงโกสติน) เป็นสารสำคัญที่มีปริมาณมากที่แยกได้จากเปลือกมังคุด ซึ่งในแผนงานการวิจัยได้จัดเตรียมแยกให้บริสุทธิ์ให้มีปริมาณมากพอสำหรับการศึกษาทุกโครงการ โครงการย่อยที่ 1 เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็ง โดยศึกษาฤทธิ์ต่างๆที่มีผลต่อเซลล์มะเร็ง 10 ชนิด และโครงการย่อยที่ 2 ศึกษาผลการรักษาภาวะพังผืด และ ภาวะตับแข็งในสัตว์ทดลอง ทั้งนี้เพื่อนำผลมาประเมินศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาใหม่สำหรับการเป็นยาด้านมะเร็ง และยารักษาหรือป้องกันโรคตับ โดยจะเป็นสารสำคัญที่แยกได้จากเปลือกมังคุดที่เป็นสมุนไพรไทย

ฤทธิ์ต้านมะเร็ง พบว่าสาร α -mangostin มีฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ชนิดต่าง ๆ ในรูปแบบที่แปรผันตามขนาดที่ใช้ตรวจสอบ มีค่า ED_{50} แตกต่างกันระหว่าง 5.45-18.98 μ g/ml และมีฤทธิ์ต่อหลายเซลล์ที่แรงกว่ายาควบคุม นอกจากนั้นยังพบว่า α -mangostin มีฤทธิ์ antioxidant จากผลการทดสอบด้วย DPPH assay ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเคมี และ ROS assay ทำการทดสอบด้วยเซลล์ ผลการศึกษาทางด้าน immunomodulation โดยการศึกษาทดสอบด้วย PBMC ศึกษาผลของ α -mangostin ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์โดยการตรวจด้วย flow cytometry และ ELISA สำหรับตรวจสอบสารหลัง cytokines หลังการกระตุ้นด้วย α -mangostin แม้ว่าการตรวจเซลล์/สารบางตัว พบว่ามีความแตกต่างจากเซลล์/สารควบคุม แต่ยังไม่พบการแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จึงควรต้องศึกษาหาวิธีการทดลองที่เหมาะสมต่อไป หากคาดว่าสาร α -mangostin อาจมีฤทธิ์ด้านนี้

สำหรับกลไกที่ศึกษาเกี่ยวกับการเกิด apoptosis ศึกษาด้วยวิธี real time RT-PCR โดยใช้เซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ทำปฏิกิริยากับ α -mangostin และตรวจการแสดงออกของยีน Bax (เกิด apoptosis จะแสดงออกมากขึ้น), Bcl-2 (ยับยั้งกระบวนการเกิด apoptosis จะแสดงออกน้อยลง) และ cytokeratin (ตัวบ่งชี้มะเร็งจะพบเพิ่มมากขึ้นเมื่อเป็นมะเร็ง) พบว่า ค่าสัดส่วนของ Bax/Bcl-2 มีค่ามากขึ้นเมื่อทดสอบเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ กับสาร α -mangostin แสดงการเกิด apoptosis และพบว่า cytokeratin expression ของเซลล์ที่ทดสอบกับสาร α -mangostin มีค่า Ct ซึ่งเป็นค่าที่แสดงรอบของปฏิกิริยา PCR ที่เริ่มตรวจวัดได้จากสัญญาณสี SYBR พบว่ามีค่าการแสดงออกลดลง ซึ่งเป็นการช่วยยืนยันศักยภาพของสาร α -mangostin จากมังคุด ที่จะนำมาใช้เป็นสารต้านมะเร็งได้ จึงเชื่อมั่นว่าควรทำการศึกษา antitumor activities *in vivo* ของสารบริสุทธิ์ α -mangostin ตามรูปแบบที่ได้เคยศึกษาได้ผลยับยั้งการเกิดก้อนเนื้องอกได้ดีจากสาร crude methanolic extract ของมังคุดซึ่งเป็สารตั้งต้นในการแยกสารบริสุทธิ์ α -mangostin ขณะนี้อยู่ระหว่างรอผลการพิจารณาโครงการขอทุนจาก วช. สำหรับปี 2556 เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการเกิดก้อนเนื้องอกในหนูของสาร α -mangostin ก่อนนำข้อมูลมาประมวลเพื่อการศึกษาทางคลินิก

ผลการรักษาภาวะพังผืด ภาวะตับแข็ง และการอักเสบ ในสัตว์ทดลอง: เมื่อตับได้รับการสัมผัสกับสารพิษเช่นแอลกอฮอล์หรือเชื้อไวรัสซ้ำๆ ต่อเนื่องกันเป็นเวลานานๆ เซลล์ตับจะหลั่งสารที่ก่อให้เกิดกระบวนการอักเสบ ซึ่งนำไปสู่การเกิดภาวะพังผืดในตับ และภาวะตับแข็งในที่สุด โดยพบว่า activated hepatic stellate cell เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่หลักในกระบวนการเกิดภาวะพังผืด และภาวะตับแข็ง จากข้อมูลทางการวิจัยในปัจจุบันพบว่าสารอัลฟาแมงโกสทินที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และต้านการก่อสารอนุมูลอิสระ จากเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นที่มาของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อประเมินฤทธิ์ของสารอัลฟาแมงโกสทินในการรักษาภาวะตับอักเสบ ภาวะพังผืดในตับ และภาวะตับแข็ง โดยทำการทดลองในหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารไฮโออะเซตาไมด์ ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ฉีดเข้าใต้เยื่อช่องท้องเป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือนตามลำดับ หลังจากนั้นรักษาด้วยการฉีดสารอัลฟาแมงโกสทินขนาด 25 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่ออีกเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยเปรียบเทียบหนูทดลองทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ทำการรักษาด้วย celebrex ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมซึ่งเป็นยามาตรฐานที่ใช้รักษาการอักเสบ (positive control) จากนั้นนำตับของหนูแต่ละกลุ่ม มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยทำการย้อมเนื้อเยื่อตับด้วยสีย้อม H&E เพื่อประเมินภาวะการอักเสบและภาวะพังผืดในตับ และด้วยสีย้อม Picro Sirius Red เพื่อประเมินปริมาณของเส้นใยคอลลาเจนที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อตับ นอกจากนี้การศึกษาด้วยเทคนิค immunohistochemistry เพื่อการแสดงผลของ alpha smooth muscle actin (α -SMA) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเกิด activated hepatic stellate cell ในตับ การแสดงผลของเอนไซม์ cyclooxygenase2 (Cox-2) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงภาวะการอักเสบในตับ และรวมไปถึงการแสดงผลของ glutamine synthetase (GS) และ carbamoyl phosphate synthetase (CPS) เพื่อประเมินภาวะหน้าที่การกำจัด ammonia ของตับ นอกจากนี้ยังทำการตรวจวัด liver function tests ในเลือดของหนูแต่ละกลุ่มด้วย ผลจากการวิจัยพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารไฮโออะเซตาไมด์เป็นเวลา 1 เดือนเกิดภาวะตับอักเสบ และหนูกลุ่มที่ได้รับเป็นเวลา 2 เดือนเกิดภาวะพังผืดในตับ ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับเป็นเวลา 3-4 เดือนเกิดภาวะตับแข็ง และพบว่าสารอัลฟาแมงโกสทิน ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีฤทธิ์ในการรักษาภาวะตับอักเสบและภาวะพังผืดในตับได้ดีมาก โดยไปช่วย 1) ลดการอักเสบและการตายของเซลล์ตับ ซึ่งประเมินจากผลของเนื้อเยื่อตับที่ย้อมด้วย H&E และผลการแสดงผล Cox-2 ในเนื้อเยื่อตับ 2) ลดปริมาณการเกิดเส้นใยคอลลาเจนในตับ ซึ่งประเมินจากผลเนื้อเยื่อตับที่ย้อมด้วย Picro Sirius Red 3) ลดปริมาณของ activated hepatic stellate cell ในตับ ซึ่งประเมินจากการแสดงผล α -SMA-positive cells ในเนื้อเยื่อตับ 4) ช่วยให้เกิดการคงสภาพของการแสดงผลของ CPS ในเซลล์ตับให้เป็นแบบ zonation heterogeneity คล้ายกับตับในหนูกลุ่มควบคุม 5) ลดระดับของ ALT ในกระแสเลือดลง ซึ่งโดยปกติปริมาณที่เพิ่มขึ้นของ ALT ในกระแสเลือดจะแปรผันตามความรุนแรงการโรคตับ แต่อย่างไรก็ตามสารอัลฟาแมงโกสทิน ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ยังมีฤทธิ์ต่อการรักษาภาวะตับแข็งได้ไม่ดีพอ แต่ยังคงผลดีกว่าหนูกลุ่มตับแข็งที่ได้รับการรักษาด้วยสารอัลฟาแมงโกสทิน ขนาด 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และยิ่งดีกว่าหนูกลุ่มตับแข็งที่ได้รับการรักษาด้วย celebrex รวมถึงกลุ่มหนูตับแข็งที่ไม่ได้รับการรักษาใดๆ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษาขั้นพื้นฐาน ยังไม่สามารถบอกถึงกลไกในการออกฤทธิ์ของสารอัลฟาแมงโกสทินในการรักษาภาวะตับ

อักเสบและภาวะพังผืดในตับได้ เพื่อพิสูจน์ประสิทธิภาพของสารอัลฟาแมงโกสตินต่อการรักษาภาวะตับอักเสบและภาวะพังผืดในตับ ควรต้องทำการศึกษาวิจัยเชิงลึกถึง pharmacodynamics และ pharmacokinetics ของสารอัลฟาแมงโกสตินในอนาคตต่อไป

แรทที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารไอโออะเซตาไมด์ ฉีดเข้าใต้เยื่อช่องท้องเป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือนตามลำดับ หลังจากนั้นรักษาด้วยการฉีดสารอัลฟาแมงโกสตินขนาด 25 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่ออีกเป็นระยะเวลา 1 เดือน เปรียบเทียบหนูทดลองทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุม ตัวอย่างที่ได้จากสัตว์ทดลอง ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะการอักเสบด้วย realtime- reverse transcriptase (RT)-PCR สำหรับยีนของเอนไซม์ cyclooxygenase1 (COX-1) เอนไซม์ cyclooxygenase2 (COX-2) และ collagen-type I รวมไปถึงโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ apoptosis ด้วยวิธี Western blotting ของ Bax (proapoptosis), Bcl2 (antiapoptosis) และ p53 (tumor suppressor gene)

ผลการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างการแสดงออกของยีน cyclooxygenase1 (COX-1) cyclooxygenase2 (COX-2) และ collagen-type I จากการศึกษาการแสดงออกของโปรตีน p53, Bax และ Bcl2 พบว่าแอลฟาแมงโกสตินมีผลการลดลงของการแสดงออกของโปรตีน p53, Bax และเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน Bcl2 ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 1 เดือน 2 เดือน และ 4 เดือน ตามลำดับ ดังนั้นงานวิจัยนี้ใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาผลของแอลฟาแมงโกสติน ในการการรักษาภาวะการเกิดพังผืดในตับจากการถูกเหนี่ยวนำให้เป็นตับแข็งในเชิงลึกต่อไป

อย่างไรก็ตามกลไกของกระบวนการเกิดภาวะตับแข็ง อาจมีกลไกอื่นนอกเหนือจากกระบวนการ apoptosis มาเกี่ยวข้อง ดังนั้นอาจต้องศึกษากระบวนการยับยั้งการตายแบบ apoptosis ในเชิงลึกและกลไกอื่นที่เกี่ยวข้องต่อไป

ภาษาอังกฤษ

Garcinia mangostana (mangosteen) possesses α -mangostin as a major constituent at high amount in pericarp. In the study plan, the purified α -mangostin in high quantity for all experiments were isolated. The substance was used to identified the anticancer activities in 10 cell lines by various methods. Another area of study was performed *in vivo* study the effect of α -mangostin on liver myofibrosis, liver, liver function test and inflammation. The ultimate goal of the study is to evaluate the data obtained for future development α -mangostin as new drugs for anticancer and drug for the treatment or prophylaxis of liver disease.

Cytotoxic activities of α -mangostin from *G. mangostana* and paclitaxel were demonstrated the effect on antiproliferation against 10 cancer cell lines, human breast cancer cell lines (SKBR3, BT549, BT474, MCF-7, MDA-MB-231), ovarian cell lines (OV-CAR-3, SKOV3), colon cell lines (CACO-II, SW620), and hepatocellular carcinoma cell line (HepG2) in a dose-dependent manner by MTT assay. However, the different types of cancer cells were shown in the different effect on antiproliferation (ED_{50} μ g/ml were obtained between 5.45-18.98 μ g/ml). Some cell lines showed ED_{50} μ g/ml less than standard drug used.

α -mangostin was also shown the antioxidation properties in DPPH assay and ROS assay in cell. The immunomodulation in cells were also studied using PBMC treated with α -mangostin and measured the differences compared to control cell by flow cytometry and ELISA for cytokines measurement. Some markers showed the difference in cell number comparing with control but not significantly. The future study in this area needed to be performed.

Study on mechanism of apoptosis, real time RT-PCR was performed to evaluate the gene expression from cancer cells after treated with α -mangostin. RNA from treated cells isolated and one step RT-PCR was performed to detect the expression of Bax (induction of apoptosis) and Bcl-2 (inhibition of apoptosis) genes. Ratio of Bax and Bcl-2 genes were increased since Bax gene was higher express than Bcl-2.

The study was also confirmed with the cytokeratin (a tumor marker) gene expression. The data demonstrated the Ct In a real time RT-PCR assay a positive reaction is detected by accumulation of a fluorescent signal; SYBR. The Ct (cycle threshold) is defined as the number of cycles required for the fluorescent signal to cross the threshold (ie exceeds background level). Ct levels are inversely proportional to the amount of target nucleic acid in the sample (ie the lower the Ct level the greater the amount of target nucleic acid in the sample).

From all the results obtained, they showed the potential of α -mangostin as a new anticancer drug. The previous result of *in vivo* study from crude methanolic extract which is the starting material for purified α -mangostin showed the promising effective outcome. The further antitumor activities *in vivo* study is in need from the NRCT support before summarizing the information for clinical study.

Study on liver myofibrosis, cirrhosis and inflammation: Long-term approach to some toxic substances e.g. alcohol or viral infection could bring into liver inflammation, liver fibrosis and eventually liver cirrhosis. It has been known that activated hepatic stellate cell mainly

participated in fibrotic and cirrhotic formation. Since α -mangostin (α M), a major component of mangosteen pericarp, has been proven to perform anti-inflammation and anti-oxidation properties, the present study therefore aimed to investigate whether it could cure the liver inflammation, liver fibrosis and liver cirrhosis. This experiment was performed in rat model. In order to induce inflammation, fibrosis and cirrhosis, rats were administered intraperitoneally three times a week with 200 mg/kg of thioacetamide (TA), a known hepatotoxin, for 1, 2, 3 and 4 months, respectively. Animals in each group were then either left untreated or treated by intraperitoneal injections of α M at 25 mg/kg and 100 mg/kg or by standard anti-inflammation drug, celebrex, at 5 mg/kg for another 1 month. After sacrificing the animals in each group, blood samples were collected by cardiac puncture in order to analyze liver function tests. The livers were then immediately dissected and processed for light microscopic study. In order to analyze the profile of liver inflammation, some liver tissues were stained with standard H&E. To detect the collagen fibers, some tissues were dyed with Picro Sirius red. In addition, with immunohistochemistry technique, this study also aimed to evaluate the expression of alpha smooth muscle actin (α -SMA) and cyclooxygenase2 (Cox-2), indicators for revealing quantity of activated hepatic stellate cell and inflammation status in the liver, respectively. Last goal of the present study was to elucidate the immunoexpression of ammonia-metabolizing enzymes, namely; glutamine synthetase (GS) and carbamoyl phosphate synthetase (CPS) in the liver sections. These enzyme expression patterns used to imply the ammonia detoxifying function of the liver. The results confirmed that TA treatment for 1, 2 and 3 or 4 months could induce hepatic inflammation, fibrosis and cirrhosis in the rat, respectively. Compared to the control and celebrex-treated- or to 25 mg/kg- α M-treated groups, it was clearly shown that α M at 100 mg/kg has great property to cure the hepatic inflammation and liver fibrosis. This supported by the following evidences observed in the livers: 1) reduced inflammation and apoptosis/necrosis, 2) decreased collagen deposit, 3) reduced quantity of α -SMA-positive cells reflecting the number of activated hepatic stellate cells, 4) maintained the normal expression profile of CPS, and 5) decreased ALT level. In contrast, treatment with 100 mg/kg α M did not yet success to cure the liver cirrhosis. In comparison with that with 25mg/kg α M, it gave better results in term of histomorphology. The results of this study provide a basis for further investigations the pharmacodynamics and pharmacokinetics of α M involving the liver fibrosis/cirrhosis research.

Rats received intra-peritoneal injections of TAA per week for 1, 2, 3, and 4 months. After that, the animals were either left untreated or treated by intra-peritoneal injections of α M at 25 mg/kg and 100 mg/kg or vehicle (DMSO) for 1 month. Finally, the inflammatory markers cyclooxygenase1 (COX1) and (cyclooxygenase2) COX2 and the fibrosis marker collagen-I were determined by RT-PCR analysis of RNA from the liver. In addition, the markers of programmed cell death, Bax (pro-apoptotic) and Bcl2 (anti-apoptotic), and the tumor suppressor p53 were detected by Western blot analysis.

Compared to the treatment with vehicle alone, α M showed no statistically difference in the expression of cyclooxygenase1 (COX1), cyclooxygenase2 (COX2) and collagen-I expression in rats treated with TAA. The expression of Bax and p53 was decreased, whereas the Bcl2 was increased at 1, 2 and 4 months by α M treatment. The expression of p53 was decreased by α M relative to control treatment.

Therefore, the conclusions are α M influences several important markers of liver cirrhosis in this experimental model. The results of this study provide a basis for further investigations of α M in liver cirrhosis research