การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 ที่มีฤทธิ์ป้องกันรังสียูวี และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

Development of *Garcinia mangostana* Linn. peel extract (MGS-1) cream with ultraviolet radiation protection and anti-tyrosinase activities.

โดย

ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สนับสนุนทุนวิจัยโดย

สถาบันวิจัย

มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปีการศึกษา 2562

ชื่อเรื่อง : การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 ที่มีฤทธิ์ป้องกันรังสียูวีและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ผู้วิจัย : ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา

สถาบัน : วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก

ปีที่พิมพ์ : 2564 **สถานที่พิมพ์ :** มหาวิทยาลัยรังสิต

แหล่งที่เก็บรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ : มหาวิทยาลัยรังสิต **จำนวนหน้างานวิจัย :** 67 หน้า

คำสำคัญ : สารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 เอนไซม์ไทโรซิเนส ค่า SPF รังสี UVA รังสี UVB ค่า Boots Star Rating

ลิขสิทธิ์ : มหาวิทยาลัยรังสิต

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา 2564: การพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 ที่มีฤทธิ์ป้องกันรังสียูวีและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส หลักสูตรปัณฑิตศึกษา วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต 67 หน้า

งานวิจัยนี้ได้ทำการแยกสารสกัดจากเปลือกมังคุด (MGS-1) โดยเก็บมังคุดจาก 9 แหล่ง ในภาคตะวันออก และภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี 3 แหล่ง ระยอง 2 แหล่ง ประจวบคีรีขันธ์ 2 แหล่ง พังงา และนครศรีธรรมราช จังหวัดละ 1 แหล่ง นำผงเปลือกมังคุดแห้งจากแต่ละแหล่งมาหมักด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 7 วัน กรองสารสกัดที่ได้ และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้ และทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน (α-mangostin) ในสารสกัดจากแต่ละแหล่งด้วยเทคนิค HPLC นำสารสกัดเปลือกมังคุดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และนำสารสกัด MGS-1 มาเตรียมเป็นครีม (O/W) แล้วทดสอบคุณสมบัติการป้องกันรังสียูวี โดยวัดค่า SPF ด้วยเครื่อง Optometric SPF-290AS

ผลการวิจัยพบว่ามังคุดจากจังหวัดจันทบุรีทั้ง 3 แหล่ง มีปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินสูงที่สุด โดยมีปริมาณร้อยละ 10.24 ± 0.06 ถึง 11.70 ± 0.01 โดยน้ำหนัก (%w/w) ของสารสกัด จากการแยกสารสกัด (จันทบุรี) จำนวน 600 มิลลิกรัมด้วยคอลัมน์โครมาโตรกราฟี ได้สารสกัด MGS-1 จำนวน 86.30 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 14.38 นำสารสกัดมาวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาแมงโกสตินด้วยเทคนิค HPLC พบสารแอลฟาแมงโกสติน 65.80 ± 1.80 มิลลิกรัม (76.24 ± 2.08%) เมื่อนำสารสกัดเปลือกมังคุดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งที่ระดับ IC_{50} เท่ากับ 102.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตรกราฟี (Top spots) มีฤทธิ์ยับยั้งที่ระดับ IC_{50} มากกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนของ Mid spots ซึ่งมีสารแอลฟาแมงโกสตินอยู่ มีฤทธิ์ยับยั้งที่ระดับ IC_{50} เท่ากับ 18.48 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งที่ระดับ IC_{50} เท่ากับ 38.46 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อนำสารสกัด MGS-1 มาเตรียมเป็นครีม (O/W) แล้วทดสอบคุณสมบัติการป้องกันรังสียูวี โดยวัดค่า SPF ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 2, 4, 6, 9 (w/w) ด้วยเครื่อง Optometric SPF-290AS (Optometric coporation, USA) พร้อมด้วย WinSPF software พบว่าค่า SPF มีค่าเท่ากับ 0.71 ± 0.01, 3.01 ± 0.22, 4.68 ± 0.27, 10.36 ± 1.07 และ 9.24 ± 0.97 ตามลำดับ โดยมีค่า UVA/UVB อยู่ในช่วง 0.226 ± 0.011 ถึง 0.489 ± 0.007 มีค่า Boot Star Rating อยู่ในระดับ minimum

ถึง moderate จะพบว่าครีมสารสกัด MGS-1 สามารถป้องกันรังสียูวีบี (UVB) ได้ดีที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 6 ในขณะที่ความสามารถในการป้องกันรังสียูวีเอ (UVA) ยังอยู่ในระดับปานกลาง และมีค่าต่ำถ้าความเข้มข้นต่ำ จึงเห็นว่าสารสกัด MGS-1 มีคุณสมบัติที่ดีที่จะนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาว สามารถป้องกันรังสียูวี หรือใช้ในเครื่องสำอางทั่วไป ทำให้ยกระดับคุณภาพของผลิตภัณฑ์และมีต้นทุนของสารตั้งต้นที่ต่ำ

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Prasan Tangyuenyongwatana 2564: Development of *Garcinia mangostana* Linn. peel extract (MGS-1) cream with ultraviolet radiation protection and anti-tyrosinase activities. Department of graduate study College of Oriental Medicine Rangsit University 67 Pages

This research prepared mangosteen rind extract (MGS-1) and analyzed alpha-mangosteen content in the extract. Mangosteen fruits were collected from 9 locations (ls) in the eastern and southern parts of Thailand which were Chanthaburi (3 ls), Rayong (2 ls), Prachuap Khiri Khan (2 ls), Phangnga (1 ls) and Nakhon Si Thammarat (1 ls). Eech rind sample was dried, powdered and macerated with 95% ethanol for 7 days. The extract was then filtered, and the solvent was removed by a rotary evaporator. The crude extract yields were calculated, and the amount of α-mangostin of each extract was analyzed by HPLC technique. The mangosteen rind extract was subjected to the anti-tyrosinase activity test. In addition, the MSG-1 extract was prepared as oil in water cream and subjected to SPF evaluation using Optometric SPF-290AS.

The analysis results found that mangosteen rind extract from Chanthaburi province (3 ls) contained the highest amounts of α-mangostin which were 10.24 ± 0.06 to 11.70 ± 0.01 (%w/w). Next, the crude extract (Chanthaburi) 600 mg. was subjected into silica gel column chromatography and eluted with hexane : ethyl acetate (6 : 4) to give MSG-1 in the amount of 86.30 mg (14.38%w/w). The amount of alpha-mangostin 65.80 ± 1.80 mg (76.24 ± 2.08%w/w) was found in MSG-1 extract analyzing by HPLC method. For the anti-tyrosinase activity of the mangosteen rind extract, the crude ethanol extract showed inhibition concentration (IC_{50}) equal to 102.67 µg/mL. In addition, the top spots demonstrated the same level of inhibition concentration (IC_{50}> 100 µg/mL) while the mid spots showed IC_{50} at 18.48 µg/mL which was better than a control compound, kojic acid (38.46 µg/mL). The MSG-1 extract was prepared as 0, 2, 4, 6, 9 (%w/w) oil in water cream and subjected to SPF evaluation using Optometric SPF-290AS (Optometric coporation, USA) with WinSPF software. The SPF analysis results were 0.71 ± 0.01, 3.01 ± 0.22, 4.68 ± 0.27, 10.36 ± 1.07 and 9.24 ± 0.97, respectively. The UVA/UVB ratios were in the range of 0.226 ± 0.011 to 0.489 ± 0.007, and the Boot Star Rating values

were demonstrated in minimum to moderate level. From the results, the 6 %w/w of MGS-1 cream performed the best SPF for UVB protection while all samples had low to medium UVA protection. In conclusion, MGS-1 extract has good properties that can be used as active ingredient in whitening product, sunscreen in commercial cosmetics with the high quality and low cost of starting material.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีโดยความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์ ดร.วันดี กฤษณพันธ์ ที่เป็นผู้ให้คำปรึกษา ข้อแนะนำในงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ของศูนย์นาโนเทคโนโลยี (สวทช) ที่อำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือวิเคราะห์ LC-MS เป็นอย่างดี และคุณสุทธิพร พิกุลทอง ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านการวิเคราะห์เครื่อง NMR, MS ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณอาจารย์ นภาพรรณ พงษ์พวงเพชร ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ได้อำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือวิเคราะห์ HPLC

ขอขอบคุณผู้บริหารของสถาบันวิจัย ที่ได้ให้ทุนวิจัยและให้ความสะดวก ความช่วยเหลือในขั้นตอนการทำวิจัย ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะผู้บริหารและเจ้าหน้าที่ของวิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต ที่ได้อำนวยความสะดวกด้านสถานที่ และความช่วยเหลือตลอดการวิจัย

ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	4
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	8
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	14
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	55
เอกสารอ้างอิง	57
ภาคผนวก	61
ประวัติผู้วิจัย	67

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 น้ำหนักสารสกัดเปลือกมังคุด 9 แหล่ง 13

ตารางที่ 2 ค่า Chemical shift ของ ^{1}H-NMR ของสาร α-mangostin และ MG-1 15

ตารางที่ 3 ค่า Chemical shift ของ ^{13}C-NMR ของสาร α-mangostin และ MG-1 19

ตารางที่ 4 Gradient system ของ HPLC mobile phase 21

ตารางที่ 5 แสดงค่าความแม่นยำ Intraday precision (n = 6) 31

ตารางที่ 6 แสดงค่าความแม่นยำ Interday precision 32

ตารางที่ 7 ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์จะทำโดยวิธี Standard addition ลงใน Sample ที่ 3 ระดับความเข้มข้น 32

ตารางที่ 8 ปริมาณสารแอลฟ่าแมงโกสตินในเปลือกมังคุดแห้งและสารสกัดจาก 9 แหล่ง 33

ตารางที่ 9 แสดงผลค่า SPF, PA, UVA/UVB และ Boot Star Rating 39

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารกลุ่มแซนโทน ได้แก่ แอลฟาแมงโกสติน(α-mangostin) เบต้าแมงโกสติน (β-mangostin) และแกมมาแมงโกสติน (γ-mangostin) 4

ภาพที่ 2 อินฟราเรดสเปคตรัมของสาร MG-1 15

ภาพที่ 3 ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) Spectrum ของ MG-1 16

ภาพที่ 4 ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) Spectrum ของ MG-1 17

ภาพที่ 5 GC-MS Spectrum ของ MG-1 [M^+ = 410.4] 20

ภาพที่ 6 HPLC โครมาโตแกรมสารมาตรฐาน α-mangostin 22

ภาพที่ 7 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดจันทรบุรี แหล่งที่ 1 22

ภาพที่ 8 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดจันทรบุรี แหล่งที่ 2 23

ภาพที่ 9 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดจันทรบุรี แหล่งที่ 3 23

ภาพที่ 10 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ แหล่งที่ 1 24

ภาพที่ 11 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ แหล่งที่ 2 24

ภาพที่ 12 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดระยอง แหล่งที่ 1 25

ภาพที่ 13 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดระยอง แหล่งที่ 2 25

ภาพที่ 14 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดนครศรีธรรมราช 26

ภาพที่ 15 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดพังงา 26

ภาพที่ 16 LC-MS TIC Chromatogram ของสารสกัดเปลือกมังคุด จันทรบุรี 1 27

ภาพที่ 17 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 2.317-2.523 นาที แสดงพีค 425.00 (m/z) m/z 425 = $[424 + H]^+$ -> β- mangostin 27

ภาพที่ 18 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 3.603-3.966 นาที แสดงพีค 413.10 (m/z) m/z 413 = $[410 + 3H]^+$ -> α-mangostin 28

ภาพที่ 19 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 3.966-4.329 นาที 28

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

แสดงพีค 427.10 (m/z) m/z = $[426+H]^+$ -> Mangostanxanthone

ภาพที่ 20 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 5.269-5.541 นาที 29
แสดงพีค 395.0 (m/z) m/z = $[396-H]^+ = 395$ -> γ-mangostin

ภาพที่ 21 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 1.839-2.012 นาที 29
แสดงพีค 410.90 (m/z) ตรงกับ α- mangostin

ภาพที่ 22 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ แอลฟาแมงโกสติน 31
กับพื้นที่ใต้พีค (Peak area)

ภาพที่ 23 TLC โครมาโตแกรม แสดง Mid spots ซึ่งเป็นตำแหน่งของสารแอลฟาแมงโกสติน 34

ภาพที่ 24 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัด MGS-1 35

ภาพที่ 25 กราฟแสดงความเข้มข้นในการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase 35
(IC_{50} = 38.46 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

ภาพที่ 26 แสดงตำแหน่งของ Top spot และ Mid spots บนแผ่น Thin-Layer 36
Chromatography

ภาพที่ 27 กราฟแสดงความเข้มข้นในการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase ของเปลือกมังคุด 36
(Crude extract) (IC_{50} = 102.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

ภาพที่ 28 กราฟแสดงความเข้มข้นในการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase ของ Top Spots 37
ของ Crude extract (IC_{50} > 100.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

ภาพที่ 29 กราฟแสดงความเข้มข้นในการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase (IC_{50} = 18.48 ไมโครกรัม/ 37
มิลลิลิตร) ของสารในช่วง Mid spots

ภาพที่ 30 กราฟ SPF ของ Cream base ครั้งที่ 1 40

ภาพที่ 31 กราฟ SPF ของ Cream base ครั้งที่ 2 41

ภาพที่ 32 กราฟ SPF ของ Cream base ครั้งที่ 3 42

ภาพที่ 33 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (2%w/w) ครั้งที่ 1 43

ภาพที่ 34 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (2%w/w) ครั้งที่ 2 44

ภาพที่ 35 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (2%w/w) ครั้งที่ 3 45

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 36 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (4%w/w) ครั้งที่ 1 46

ภาพที่ 37 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (4%w/w) ครั้งที่ 2 47

ภาพที่ 38 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (4%w/w) ครั้งที่ 3 48

ภาพที่ 39 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (6%w/w) ครั้งที่ 1 49

ภาพที่ 40 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (6%w/w) ครั้งที่ 2 50

ภาพที่ 41 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (6%w/w) ครั้งที่ 3 51

ภาพที่ 42 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (9%w/w) ครั้งที่ 1 52

ภาพที่ 43 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (9%w/w) ครั้งที่ 2 53

ภาพที่ 44 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (9%w/w) ครั้งที่ 3 54

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 1
บทนำ

ในปัจจุบัน วงการแพทย์ได้พิสูจน์และวิจัยแล้วว่า แสงแดดเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดปัญหาต่อผิวหน้า เช่น ทำให้เกิดฝ้า กระ ริ้วรอยแก่ก่อนวัย และยังทำให้ภูมิคุ้มกันของผิวหนังลดลง ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดมะเร็งผิวหนังมากขึ้น (Xu, Shao, Voorhees, & Fisher, 2006) โดยสาเหตุเกิดจากหลายปัจจัย เช่นการได้รับแสงแดดมากขึ้นเนื่องจากวิถีการใช้ชีวิตเปลี่ยนไป การเปลี่ยนรูปแบบของเสื้อผ้าที่เน้นการเปิดเผยผิวหนังมากขึ้น สภาวะชั้นโอโซนของโลกลดลง และการได้รับแสงแดดก่อให้เกิดการกดภูมิคุ้มกัน (Leiter & Garbe., 2008) ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์สารกันแดดแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือแบบการสะท้อนแสง และแบบการดูดซับรังสียูวี ซึ่งสารกลุ่มดูดซับรังสีกลุ่มนี้เป็นสารอินทรีย์ และมีราคาแพง (Lowe & Shaath, 1997; Ferrero, Pissavini, & Marguerite, 2002) หากสามารถหาสารทดแทนจากธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพทัดเทียมกันหรือดีกว่า และสามารถผลิตได้ในประเทศไทย จะทำให้ลดการนำเข้าสารกันแดดจากต่างประเทศได้มาก สมุนไพรเป็นแหล่งของสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ซึ่งมีสารหลายกลุ่มที่สามารถป้องกันรังสียูวีได้ (Saewan & Jimtaisong, 2015) ในประเทศไทยเปลือกผลมังคุดยังไม่ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่ ในบางปีมังคุดมีราคาที่ตกต่ำ ทำให้มีมังคุดที่ถูกทิ้งโดยชาวสวนเป็นอันมาก ในเปลือกมังคุดมีสารสำคัญกลุ่มแซนโทน (xanthones) ตัวที่เด่นคือ สารแอลฟาแมงโกสติน (α-mangostin) (Muchtaridi, Suryani, Qosim, & Saptarini, 2016) สารกลุ่มนี้มีช่วงการดูดกลืนรังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 230-400 นาโนเมตร โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่ความยาวคลื่น 243, 317 และ 352 นาโนเมตร (Ahmad, Yamin, & Lazim, 2013) ซึ่งช่วงความยาวคลื่นดังกล่าวตรงกับช่วงของรังสี UVA-UVB (Liandhajani, Iwo, Sukrasno, Soemardi, & Hanafi, 2013) ซึ่งเป็นรังสีที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผิวหนัง ทำให้ผิวหนังเหี่ยวย่น และมีโอกาสเป็นมะเร็งผิวหนัง นอกจากนั้นสารกลุ่มแซนโทนในเปลือกมังคุดยังสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ ซึ่งทำให้ลดการสร้างเมลานินที่เป็นเม็ดสีตรงบริเวณผิวหนัง (Tadtong, Viriyaroj, Vorarat, Nimkulat, & Suksamrarn, 2009) สารกลุ่มแซนโทนที่พบในเปลือกมังคุดในประเทศไทยมีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 9.00 – 11.50 โดยน้ำหนัก (Pothitirat, & Gritsanapan, 2008) แม้ว่าสารสกัดเปลือกมังคุดจะมีผู้ทำวิจัยจนถึงระดับการค้าแล้ว แต่ยังไม่เคยมีการนำเสนอสารสกัดเปลือกมังคุดที่มีคุณสมบัติพิเศษในการป้องกันรังสียูวีและทำให้ผิวขาวขึ้นในผลิตภัณฑ์เดียวกัน ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด (MGS-1) ในรูปแบบที่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ในท้องตลาดที่มักไม่มีการวิจัยรองรับ ดังนั้นงานวิจัยนี้ทำให้

สามารถนำสารสกัด MGS-1 มาพัฒนาต่อเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่ม พร้อมเข้าสู่กระบวนการ Start Up ทำเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าได้และมีจุดเด่นที่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์ครีมมังคุดอื่น ๆ ดังนั้นการนำสารสกัดเปลือกผลมังคุดในส่วนที่มีสารกลุ่มแซนโทนปริมาณมากๆ มาเป็นต้นแบบของการพัฒนาอุตสาหกรรมสมุนไพรเครื่องสำอางที่ป้องกันแดดและลดการสร้างเม็ดสีบนผิวหนัง จึงจัดเป็นงานวิจัยที่น่าสนใจ ผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดดังกล่าวเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำได้ง่ายจากวัตถุดิบเหลือใช้ที่มีมากในประเทศไทย และเป็นผลิตภัณฑ์สารกันแดดจากธรรมชาติที่เป็นที่ต้องการของตลาดโลกในปัจจุบัน

งานวิจัยนี้สนใจที่จะพัฒนาสารสกัดจากเปลือกมังคุดในส่วนที่มีปริมาณสารกลุ่มแซนโทนสูง โดยตั้งชื่อเป็นสารสกัด MGS-1 ซึ่งสารสกัดดังกล่าวจะถูกนำมาเตรียมในรูปแบบครีม เพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบของเครื่องสำอางที่ทำให้ผิวขาวและป้องกันรังสียูวีด้วย ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีแนวคิดใหม่ผสานสองคุณสมบัติเพื่อการปกป้องผิวกาย

1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.1.1 เพื่อเตรียมสารสกัดมังคุด MGS-1 ที่มีสารกลุ่มแซนโทนในปริมาณสูง และวิเคราะห์ปริมาณสารหลักอย่างน้อย 1 ชนิด เพื่อใช้เป็นสารบ่งชี้ (Marker) ในการควบคุมคุณภาพสารสกัด

1.1.2 แยกสารหลักใน MGS-1 โดยวิธีโครมาโตกราฟี และวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารหลักที่พบโดยเทคนิคทางสเปคโตรสโคปี ได้แก่ IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR และ MS

1.1.3 ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัด MGS-1 โดยใช้กรดโคจิก (Kojic acid) เป็นสารมาตรฐาน

1.1.4 พัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัด MGS-1 เป็นองค์ประกอบ ในรูปครีมชนิด oil in water ที่ความเข้มข้นของสารสกัด MGS-1 ที่ระดับ 2, 4, 6, และ 9% w/w

1.1.5 ทำการวัดค่า SPF, UVA-UVB ratio และค่า Boot Star Rating ของครีมที่เตรียมได้โดยใช้เครื่อง Optometric SPF-290S เพื่อหาค่าการป้องกันรังสียูวีและค่าความเข้มข้นที่เหมาะสม

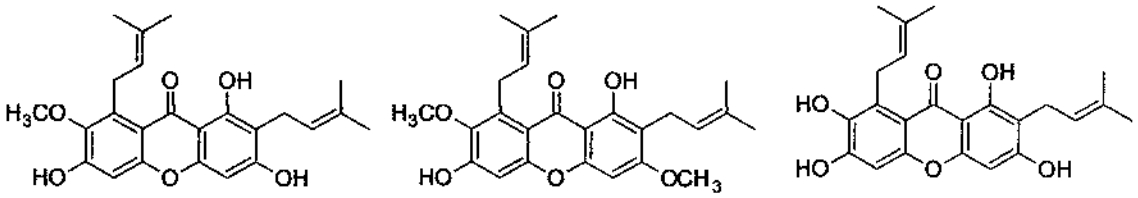
บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรม

มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) เป็นพืชในวงศ์ Clusiaceae (หรือ Guttiferae) ซึ่งได้ถูกขนานนามว่าเป็น "ราชินีแห่งผลไม้" ในประเทศไทยเนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีรสชาติที่อร่อย มังคุดเป็นพืชที่เจริญเติบโตช้า มีความสูงของต้นเมื่อโตเต็มที่อยู่ระหว่าง 7 – 12 เมตร ลำต้นมีลักษณะตรง และเปลือกมีสีเข้ม มังคุดปลูกกันมากในประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ ประเทศอินโดนีเซีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ และไทย เปลือกของผลมังคุดมีสีม่วง ภายในบรรจุด้วยเมล็ด 6 – 8 เมล็ด มีเนื้อผลสีขาว ลักษณะฉ่ำน้ำ เปลือกของมังคุดถูกนำมาใช้เป็นยาแผนโบราณในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยมีสรรพคุณใช้รักษาอาการท้องร่วง (Diarrhea) แก้บิด (Dysentery) แก้อักเสบ (Anti-inflammation) และรักษาแผลในกระเพาะอาหาร (Ulcer) (Fransworth & Bunyapraphatsara, 1992)

ในประเทศตะวันตก เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้มีการใช้ผลิตภัณฑ์ของมังคุดกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีคุณสมบัติในการดูแลบำรุงรักษาสุขภาพ (Garrity, Morton, & Morton, 2004) น้ำผลมังคุดถูกจัดอยู่ใน 3 อันดับแรกของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ขายดีที่สุดในตลาดของสหรัฐอเมริกา สารสกัดมังคุดและสารสกัดบริสุทธิ์จากเปลือกผลมังคุดได้นำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพทางด้านโรคติดเชื้อ (Infectious disease) โรคมะเร็ง (Cancer Chemotherapy) การป้องกันการเกิดมะเร็ง (Cancer Chemopreventive) โรคเบาหวาน (Diabetes) และโรคเกี่ยวกับระบบประสาท (Weecharangsan et al., 2006; Chomnawang, Surassmo, Nukoolkarn, & Gritsanapan, 2007; Loo, & Huang, 2007; Jung, Su, Keller, Mehta, & Kinghorn, 2006)

2.1 องค์ประกอบของสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ในเปลือกผลมังคุด

สารแอลฟาแมงโกสติน (α-mangostin) ถูกแยกออกมาเป็นสารบริสุทธิ์จากเปลือกผลมังคุดในปี ค.ศ.1885 โดย W. Schmid แต่โครงสร้างที่ถูกต้องได้รับการเผยแพร่ในปี ค.ศ.1958 (Wan, 1973) หลังจากนั้นสารทุติยภูมิ กว่า 85 ชนิด ได้รับการแยกออกมาเป็นสารบริสุทธิ์ มีสาร 68 ชนิดมีโครงสร้างหลักเป็นสารกลุ่มแซนโทน (Xanthone) ดังตัวอย่างในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารกลุ่มแซนโทน ได้แก่ แอลฟาแมงโกสติน(α-mangostin) เบต้าแมงโกสติน (β-mangostin) และแกมมาแมงโกสติน (γ-mangostin)

สารที่พบมากที่สุดได้แก่ สารแอลฟาแมงโกสติน เบต้าแมงโกสติน (β-mangostin) และแกมมาแมงโกสติน (γ-mangostin) สารกลุ่มอื่น ๆ ที่พบที่ไม่ใช่กลุ่มแซนโทนได้แก่ กลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ไตรเทอร์ปีนอยด์ (Triterpenoids) และเบนโซฟีโนน (Benzophenones) เป็นต้น (Huang, Chen, Chen, Huang, & Shieh, 2001; Nila, Nguyen, Venkatraman, Sim, & Harrison, 2005; Holloway & Scheinmann, 1975)

2.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological activities)

2.2.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) : การมีปริมาณของอนุมูลอิสระมากในร่างกาย มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลายโรคได้แก่ โรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคอักเสบ และการเสื่อมของระบบประสาท (Valko et al, 2007) สารกลุ่มแซนโทนในสารสกัดเปลือกผลมังคุดที่ประกอบด้วย สารแอลฟาแมงโกสติน และแกมมาแมงโกสติน ได้รับการยืนยันว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี Ferric thiocyanate (Yoshikawa et al, 1994) DPPH, Hydroxyl radical-scavenging, superoxide anion-scavenging (Yu, L., Zhao, M., Yang, B., Zhao, Q, & Jiang, Y, 2007)

2.2.2 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Anti-tyrosinase activity): สารแอลฟาแมงโกสตินมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในเซลล์ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนั้นยังยับยั้งกระบวนการเกิดเมลาโนเจเนซิส (Melanogenesis) ได้อีกด้วย (Mariani, Mohamad, Azila, Norhayati, & Ramlan, 2014) Hassan และคณะ (Hassan et al, 2015) ได้รายงานผลการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกผลมังคุดในเมทานอล (Methanol) และเอทิล อะซิเตท (Ethyl acetate) พบว่าสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท และสารแอลฟาแมงโกสตินแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโร

ซิเนสได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเมทานอล โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก ซึ่งร้อยละของการยับยั้งของสารสกัดเอทิลอะซิเตทและกรดโคจิก อยู่ที่ร้อยละ 61.11 และ 78.66 ตามลำดับ

2.2.3 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Antibacterial and antifungal activities): สารแอลฟาแมงโกสตินแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) โดยมีระดับค่า MIC (Minimum Inhibitory Concentration) อยู่ในช่วง 1.57 – 2.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 3.13 – 6.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรตามลำดับ (Iinuma et al, 1996) หากใช้สารแอลฟาแมงโกสตินร่วมกับยา Vancomycin จะมีผลในการเพิ่มฤทธิ์ anti-MRSA (Sakagami, Iinuma, Piyasena, & Dhamaratne, 2005) สารกลุ่มแซนโทน 15 ชนิดออกฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (Anti-tuberculosis)ได้ในระดับหลอดทดลอง และพบว่าสารแอลฟาแมงโกสติน เบต้าแมงโกสติน และสารการ์ซิโนน บี (Garcinone B) มีค่า MIC เท่ากับ 6.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรในการต้านเชื้อวัณโรคได้เท่ากันทั้ง 3 ชนิด (Suksamran et al, 2003) สารกลุ่มแซนโทน 8 ชนิดออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum vasinfectum*, *Alternaria tennis* และ *Dreschlera oryzae* (Gopalakrishnan, Banumathi, & Suresh, 1997)

2.2.4 ฤทธิ์ต้านรังสียูวี (Ultraviolet light protection): เปลือกผลมังคุดที่หมักกับเอทานอล (Ethanol) แล้วนำมาระเหยเอาตัวทำละลายออกได้สารสกัดเอทานอลของเปลือกมังคุด นำสารสกัดดังกล่าวมาสกัดกับตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เฮกเซน (Hexane) ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) และเอทิล อะซิเตท (Ethyl acetate) พบว่าสารสกัดเฮกเซนให้ผลการป้องกันรังสียูวีได้ดีกว่าสารสกัดอื่น โดยสารสำคัญในสารสกัดเฮกเซนคือ สารแอลฟาแมงโกสตินให้ค่า Sun Protection Factor (SPF) เท่ากับ 21.76 ที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm. และ 37.8 ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm. (Liandhajani et al, 2013) อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นการวัดสารสกัดหยาบที่ยังไม่ผ่านการแยก ทำให้มีสารหลายชนิดรวมกัน สีของสารสกัดอาจไม่เหมาะในการทำผลิตภัณฑ์ อีกทั้งไม่ได้ใช้การวัดค่า SPF โดยตรงจากเครื่องวัด SPF มาตรฐาน แต่เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงยูวีของสารจากเครื่อง UV double beam spectrophotometer แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงมาเข้าสูตรทางคณิตศาสตร์เพื่อแปลงเป็นค่า SPF

2.2.5 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammation): สารแอลฟาแมงโกสตินมีความสามารถในการยับยั้งการปลดปล่อยสารพรอสตาแกนดิน (Prostaglandin, PGE_2) และการแสดงออกของเอนไซม์ไซโคลออกซีจิเนส 2 (Cyclooxygenase 2, COX-2) ในระดับโปรตีนและ mRNA ของหนูเมื่อถูกกระตุ้นด้วย Lipopolysaccharide (LPS) (Nakatani et al, 2004) นอกจากนั้นสารแอลฟาแมงโกสตินยังสามารถยับยั้ง IκB Kinase (IKK) activity ป้องกันการเกิด COX-2 gene transcription ที่

NF-κB gene สารแอลฟาแมงโกสติน และแกมมาแมงโกสตินสามารถยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide) และสารพรอสตาแกนดินในเซลล์ LPS-induced RAW 264.7 โดยยับยั้งการแสดงออกของ iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase) (Chen, Yang, & Wang, 2008)

2.2.6 ฤทธิ์ยับยั้งมะเร็ง (Anticancer activity): สารแอลฟาแมงโกสตินสามารถกระตุ้นให้เกิดสภาวะ Apoptosis โดยทำให้เกิดการสูญเสีย membrane potential ในเซลล์ HL-60 โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ bcl-2 โปรตีน (Matsumoto et al, 2004) สารแอลฟาแมงโกสตินและเบต้าแมงโกสตินจะไปรบกวนขั้นตอนการแบ่งเซลล์ในขั้น G1 ทำให้การแบ่งเซลล์หยุดลง ส่วนแกมมาแมงโกสตินจะยับยั้งการแบ่งเซลล์ในขั้น S-phase ซึ่งจะส่งผลต่อการแสดงออกของ Cyclin, cdc2, และ p27 DLD-1 human colon cancer (Matsumoto, et al, 2005) สารแอลฟาแมงโกสติน เบต้าแมงโกสติน และแกมมาแมงโกสตินสามารถยับยั้งเอนไซม์ Topoisomerase I และ II โดยสารแกมมาแมงโกสตินมีฤทธิ์ยับยั้ง Topoisomerase II ได้ดีที่สุดที่ค่า 50% Inhibition Concentration (IC_{50}) เท่ากับ 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเทียบกับสารมาตรฐาน Etoposide (IC_{50} = 70 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) (Tosa et al, 1997)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 3
ระเบียบวิธีวิจัย

3.1. การออกแบบวิจัย

3.1.1 การเก็บตัวอย่างมังคุด จะเก็บตัวอย่างมังคุดจาก 9 แหล่ง คือ จังหวัด จันทบุรี 3 แหล่ง ระยอง 2 แหล่ง ประจวบคีรีขันธ์ 2 แหล่ง พังงา และนครศรีธรรมราช จังหวัดละ 1 แหล่ง โดยจะทำการเก็บตัวอย่างในแต่ละจังหวัดที่ระบุไว้จำนวนแหล่งละ 5 กิโลกรัม พร้อมบันทึกตำแหน่งสวนมังคุดโดยการระบุด้วยตำแหน่ง GPS นำผลมังคุดแต่ละตัวอย่างมาแยกเนื้อผลออก นำเปลือกผลมังคุดที่ได้มาทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นบางๆ อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างจากแต่ละแหล่งมา 30 กรัม นำมาบดให้เป็นผงละเอียดและหมักด้วย 95% เอทานอลจำนวน 180 มิลลิลิตรเป็นเวลา 7 วัน และเขย่าบ่อยๆ นำสารสกัดที่ได้จากการหมักมากรองผ่านกระดาษกรอง และนำมาระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator แล้วนำมาระเหยให้ได้สารสกัดเข้มข้นบน Water bath ชั่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้

3.1.2 การแยกสารสกัดมังคุดด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography) นำเปลือกมังคุดจากจังหวัดจันทบุรีที่ผ่านการอบแห้งมา 500 กรัม นำมาบดให้เป็นผงละเอียดและหมักด้วย 95% เอทานอลจำนวน 2 ลิตรเป็นเวลา 7 วัน เขย่าบ่อยๆ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้จากการหมักมากรอง และนำมาระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator แล้วนำมาระเหยให้ได้สารสกัดเข้มข้นบน Water bath จากนั้นนำมาแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี (ซิลิกาเจล) โดยใช้ระบบตัวทำละลาย Hexane : Ethyl acetate (6 : 4) เพื่อให้ได้สารกลุ่มแซนโทน จากนั้นทำการแยกต่อให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี แล้วนำสารที่แยกได้ไปพิสูจน์หาโครงสร้างสารโดยใช้เทคนิคทางสเปคโตรสโคปี ได้แก่ IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR และ MS

3.1.3 การเตรียมสารสกัด MGS-1 จากสารสกัดเปลือกมังคุด นำสารสกัดเปลือกมังคุดของจังหวัด จันทบุรี 1 มา 600 มิลลิกรัม นำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโตรกราฟี ใช้ซิลิกา เจล เป็น stationary phase และใช้ Hexane : Ethyl acetate (7 : 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ในการแยกสาร โดยเก็บ fraction ละ 5 มิลลิลิตร แล้วนำมาตรวจสอบด้วย TLC (Thin Layer Chromatography) โดยจะเลือกเก็บสารที่มีค่า Rf อยู่ในช่วง 0.5-0.6 หลังจากนั้นรวม fraction ที่มีลักษณะเหมือนกัน นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนได้สารสกัดที่แห้ง ชั่งหาน้ำหนัก และนำสารสกัด

ไปเจือจางด้วยเมทานอล แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อดูปริมาณสารหลักในสารสกัด ทำการคำนวณร้อยละของสารหลัก หากมีค่าที่ดี จะให้รหัสเป็น สารสกัด MGS-1

3.1.4 ทำการพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารสกัด MGS-1 โดยวิธี HPLC โดยการหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสาร พร้อมใช้สารหลัก (Major compound) ที่แยกได้จากข้อ 3.1.2 เป็น Markers ในการควบคุมคุณภาพสารสกัด พร้อมทำการ Validate วิธีวิเคราะห์โดยจะทำการหา linearity, precision, accuracy, limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

3.1.4.1 Linearity : ใช้สารจากข้อ 3.1.2 เป็นสารมาตรฐาน ทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม ทำการฉีดเข้าระบบ HPLC แล้วทำ calibration graph โดยใช้ความเข้มข้น 24 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จนถึง 168 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยใช้ค่า peak area กับค่าความเข้มข้นของสารมาสร้างกราฟ

3.1.4.2 Precision: การหาความแม่นยำของการวิเคราะห์ ทำโดยใช้ความเข้มข้น 72 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการฉีดเข้าระบบ HPLC จำนวน 6 ครั้ง โดยจะทำ intraday และ interday precision

3.1.4.3 Accuracy: ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์จะทำโดยวิธี Standard addition ลงใน Sample ที่ระดับ 3 ความเข้มข้น คือ 30.00, 90.00 และ 140.00 มิลลิกรัม แล้วคำนวนหาปริมาณร้อยละการคืนกลับ (%recovery)

3.1.4.4 limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ): ค่า LOD จะคำนวณจากค่าความเข้มข้นที่ให้ค่า Signal/Noise ratio = 3 : 1 ในขณะที่ค่า LOQ จะคำนวณจากค่าความเข้มข้นที่ให้ค่า Signal/Noise ratio = 10 : 1

3.1.5 การวิเคราะห์สารสกัดเปลือกมังคุดด้วย LC-MS

เนื่องจากปริมาณสารส่วนใหญ่ของสารสกัดเปลือกมังคุดเป็น α-mangostin สารชนิดอื่นที่มีปริมาณน้อยจะแยกให้บริสุทธิ์ได้ยาก ผู้วิจัยจึงนำสารสกัดเปลือกมังคุดไปทำการวิเคราะห์ด้วย LC-MS เพื่อศึกษาองค์ประกอบอื่น ๆ ในสารสกัด โดยมีสภาวะการทดลองดังนี้

Method : LC-gradient, Zorbax Eclipse Plus C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μ

MS: QQQ Mass Spectrometer

Ion Source: AJS ESI

Ion Mode: ESI+Agilent Stream

Scan Segment: Start Mass 350, End Mass 500, Scan Time 500, Frag (V) 380, Cell Acc (V) 5, Polarity Negative

Source Parameter

Gas Temp (°C)	225
Gas Flow (l/min)	15.1
Nebulizer (psi)	25
ShealthGasHeater	400
SheathGasFlow	12
Capillary (V)	3500
VCharging	500
Chromatogram Type	TIC offset = 0, Y-Range = 1000000

Auxiliary

Draw Speed	200.0 µL/min
Eject Speed	200.0 µL/min
Draw Position Offset	0.0 mm
Wait Time After Drawing	0.0 s
Sample Flush Out Factor	5.0

Injection

Injection Mode	Injection with needle wash
Injection Volume	8.0 µL

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Solvent Composition

	Channel	Ch. 1 Solv.	Name 1	Ch2 Solv.	Name 2	Selected	Used	Percent
1	A	100.0 % Methanol V.03		100.0 % Water V.03		Ch. 2	Yes	60.00 %
2	B	100.0 % Acetonitrile V.03		100.0 % Isopropanol V.03		Ch. 1	Yes	40.00 %

Timetable

	Time	A	B	Flow	Pressure
1	0.01 min	60.00 %	40.00 %	0.200 mL/min	900.00 bar
2	2.00 min	40.00 %	60.00 %	0.200 mL/min	900.00 bar
3	4.00 min	20.00 %	80.00 %	0.200 mL/min	900.00 bar
4	5.00 min	0.00 %	100.00 %	0.200 mL/min	900.00 bar
5	8.00 min	0.00 %	100.00 %	0.200 mL/min	900.00 bar
6	8.50 min	60.00 %	40.00 %	0.200 mL/min	900.00 bar

3.1.6 ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัด MGS-1 โดยใช้กรดโคจิก (Kojic acid) เป็นสารมาตรฐาน (Quispe, Hwang, Wang, & Lim, 2017) โดยดำเนินการทดลองดังนี้

3.1.6.1) ชั่งสารสกัด MGS-1 0.10 กรัม ละลายด้วย 20% เอทานอล เขย่า 30 นาที เพื่อช่วยการละลาย ปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

3.1.6.2) นำมาเจือจางด้วย 20% เอทานอล ให้ได้ความเข้มข้น 100, 75, 50 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

นำสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นต่างๆ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส เทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก โดยเติมลงในจานหลุมทดสอบ (96-well plate) ดังรายละเอียดด้านล่าง

เติมสารละลาย A, B, C และ D แยกกันลงในจานหลุม (ทำซ้ำ 3 ซ้ำ) ได้แก่

A (control) : - สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 50 ไมโครลิตร
- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 100 ไมโครลิตร
- 20% เอทานอล 50 ไมโครลิตร

B (blank of A) : - โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 150 ไมโครลิตร
- 20% เอทานอล 50 ไมโครลิตร

C (test sample) : - สารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 50 ไมโครลิตร

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 100 ไมโครลิตร

- สารละลายตัวอย่าง ใน 20% เอทานอล 50 ไมโครลิตร

D (blank of C) : - โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ (pH 6.8) 150 ไมโครลิตร

- สารละลายตัวอย่างใน 20% เอทานอล 50 ไมโครลิตร

เขย่าให้สารละลายผสมกันดี แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติม สารละลาย L-DOPA 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสอีก 2 นาที แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงในจานหลุม (microplate reader)

คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยใช้สูตร

$$\%\ Tyrosinase\ \ inhibition\ = \left[\frac{(A-B)-\ (C-D)}{(A-B)}\right] \times 100$$

3.1.7 การเตรียมครีม (Cream) ของสารสกัด MGS-1

ผลิตภัณฑ์ครีมจะถูกเตรียมอยู่ในรูป O/W emulsion ซึ่งมีส่วนผสมดังต่อไปนี้

Phase water	wt%
Water	66.8
1,3-Butylene glycol	5.0
Carbopol Ultrez 21	0.1
L-Arginine	0.1

Phase oil	
NIKKOMULESE 41	5.0
Cetostearyl alcohol	3.0
Caprylic/Capric triglyceride	15.0
สารสกัด MGS-1	5.0

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Phase water: ผสม 1,3-Butylene glycol ลงในบีคเกอร์ที่มีน้ำอยู่และค่อยๆ โปรย Carbopol Ultrez 21 ลงไปทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นคนผสมกันแล้วนำขึ้นอุ่นให้ร้อนบน water bath ให้ได้อุณหภูมิ 75 องศาเซนเซียส

Phase oil: ผสม NIKKOMULESE 41, Cetostearyl alcohol, Caprylic/Capric triglyceride และสารสกัด MGS-1 ลงในบีคเกอร์ จากนั้นนำขึ้นอุ่นให้ร้อนบน water bath ให้ได้อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส คนผสมให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียว

นำ Phase oil เทลงใน Phase water แล้วคนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Homogenizer เป็นเวลา10 นาที ปล่อยให้สารเย็นลงถึงอุณหภูมิ 60 องศาเซนเซียส ให้เติม L-Arginine แล้วคนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Homogenizer อีก 5 นาที จากนั้นใช้เครื่องคนจนกระทั่งสารผสมเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ได้เป็นครีมที่พร้อมจะนำไปทดสอบหาค่า SPF

3.1.8 ตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติด้านการป้องกันรังสี UV โดยหาค่า SPF ของครีม

การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติการป้องกันรังสี UV จะทดสอบโดยใช้เครื่อง Optometric SPF-290S (Optometric coporation, USA) พร้อม WinSPF software นำตัวอย่างสารสกัด MGS-1 ในรูปครีมที่ความเข้มข้น 2, 4, 6, และ 9% w/w ใช้สาร 100 ไมโครลิตรหยดลงบนแผ่น PMMA (Solar Light's Sandblasted, USA) จากนั้นเกลี่ยครีมให้ทั่ว แล้วปล่อยให้สารแห้งเป็นเวลา 15 นาที นำมาใส่ใน Sample holder ในเครื่อง แล้วสั่งให้เครื่องทำการ Scan จาก 290 – 400 นาโนเมตร ซึ่งจะครอบคลุมการดูดกลืนแสงในช่วง UVA และ UVB เครื่องจะแสดงค่า SPF ของตัวอย่าง ทำซ้ำ 3 ตัวอย่าง นำข้อมูลมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 การเตรียมตัวอย่างมังคุด

นำเปลือกมังคุดจาก 9 แหล่ง อันได้แก่ จังหวัดจันทบุรี 3 แหล่ง จังหวัดระยอง 2 แหล่ง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 2 แหล่ง จังหวัดนครศรีธรรมราช 1 แหล่ง และจังหวัดพังงา 1 แหล่ง ที่ผ่านการอบแห้งมาแหล่งละ 30 กรัม นำมาบดให้เป็นผงละเอียดและหมักด้วย 95% เอทานอลจำนวน 180 มิลลิ - ลิตรเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเตรียมเป็นสารสกัดมังคุด นำสารสกัดที่ได้จากการหมักมากรองผ่านกระดาษกรอง และนำมาระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator แล้วนำมาระเหยต่อให้ได้สารสกัดเข้มข้นบน Water bath จนได้สารสกัดดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 น้ำหนักสารสกัดเปลือกมังคุด 9 แหล่ง

แหล่ง	ตำแหน่ง (latitude, longitude coordinate)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ปริมาณร้อยละ (% dry wt.)
จันทบุรี 1	12.523087730860057, 102.14915189719108	2.59	8.63
จันทบุรี 2	12.519956110437422, 102.15214524232276	2.34	7.80
จันทบุรี 3	12.524375978355495, 102.14877638794492	4.74	15.80
ระยอง 1	12.745821367101172, 101.26397462418115	3.24	10.80
ระยอง 2	12.689845993593346, 101.3392367241792	5.10	17.00
ประจวบคีรีขันธ์ 1	11.293663705435467, 99.36999260481534	4.95	16.50
ประจวบคีรีขันธ์ 2	12.27113296944337, 99.85352145119411	3.56	11.87

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

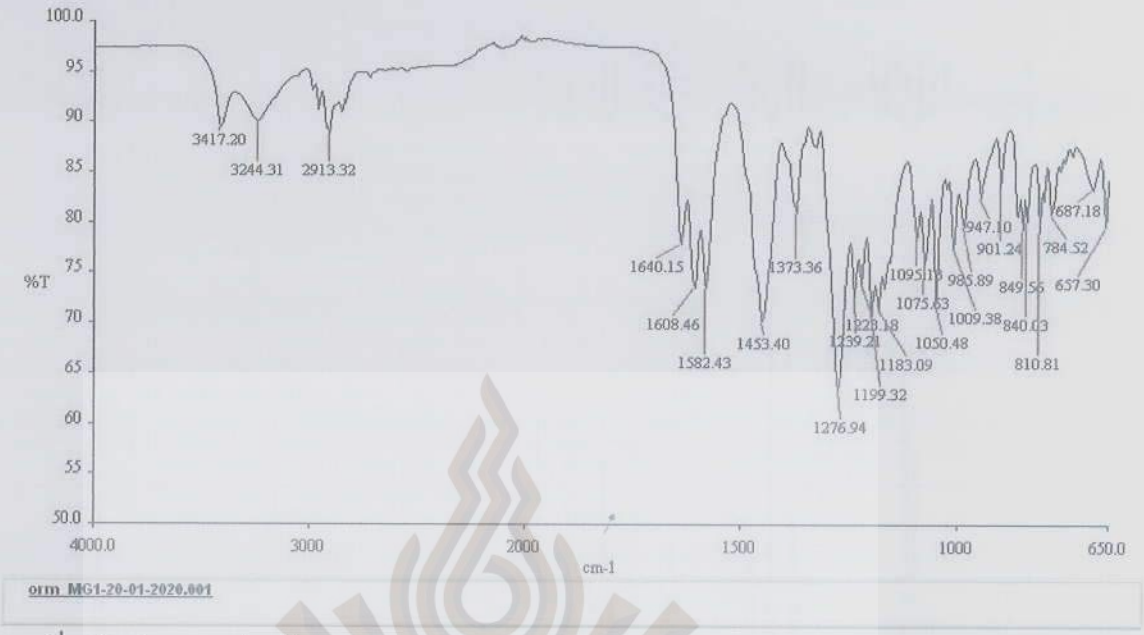
นครศรีธรรมราช	8.31524401047881, 99.80079173438202	4.52	15.07
พังงา	8.276539,98.362141	1.61	5.37

จากผลการสกัดเปลือกมังคุดจาก 9 แหล่ง พบว่า สารสกัดที่ได้มีปริมาณแตกต่างกันในช่วงที่กว้าง โดยพบที่ร้อยละ 5.37 – 17.00 โดยน้ำหนัก โดยไม่มีความเด่นชัดจากมังคุดที่มาจากภาคใด ๆ ของประเทศ ในจุดนี้ยังบอกไม่ได้ว่าที่ใดดี ต้องทำการวิเคราะห์สารหลัก (Marker) ในสารสกัดเปรียบเทียบกัน

4.2 นำสารสกัดมังคุดมาแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography)

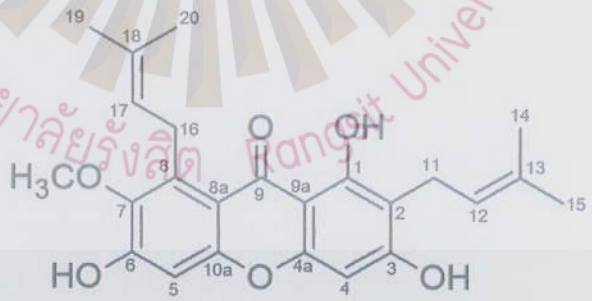
นำเปลือกมังคุดจากจังหวัดจันทบุรีที่ผ่านการอบแห้งมา 500 กรัม นำมาบดให้เป็นผงละเอียดและหมักด้วย 95% เอทานอลจำนวน 2 ลิตรเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเตรียมเป็นสารสกัดมังคุด นำสารสกัดที่ได้จากการหมักมากรอง และนำมาระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator แล้วนำมาระเหยให้ได้สารสกัดเข้มข้นบน Water bath จนได้สารสกัด 27.60 กรัม คิดเป็นผลผลิตร้อยละ 5.52 โดยน้ำหนัก การแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี (ซิลิกาเจล)ใช้ระบบตัวทำละลาย Hexane : Ethyl acetate (6 : 4) เพื่อให้ได้สารกลุ่มแซนโทน นำสารที่เป็นสารหลัก (Major compound) มาแยกต่อเพื่อแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟีเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์ โดยแยกสารหลักได้ 1 ชนิด (MG-1) จำนวน 126 มิลลิกรัม มีลักษณะของแข็งสีเหลืองอ่อน แล้วนำสารที่แยกได้ไปพิสูจน์หาโครงสร้างสารโดยใช้เทคนิคทางสเปคโตรสโคปี ได้แก่ IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR และ MS พบว่าข้อมูลสอดคล้องกับสาร α-mangostin โดยมีข้อมูลดังนี้

4.2.1 จุดหลอมเหลว (Melting point) 175-177 °C อินฟราเรดสเปคตรัมแสดงสัญญาณของหมู่ Hydroxy Free (OH-stretching) ที่ 3417 และที่ไม่อิสระพบที่ 3244 cm^{-1} พบสัญญาณหมู่ Carbonyl (C=O stretching) ที่ 1640 cm^{-1} ส่วนที่ 1453 cm^{-1} เป็นย่านความถี่ของหมู่ aromatic C=C ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 อินฟราเรดสเปคตรัมของสาร MG-1

4.2.2 ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 1.69 (3H, s, H_{20}), 1.76 (3H, s, H_{14}), 1.83 (6H, s, H_{15} และ H_{19}), 3.45 (2H, d, J = 7.15 Hz, H_{11}), 3.81 (3H, s, -OCH_3), 4.09 (2H, d, J = 7.15 Hz, H_{11}), 5.28 (2H, m, H_{12} และ H_{17}), 6.37 (1H, *br*, C_6-OH), 6.29 (1H, s, H_4), 6.82 (1H, s, H_5), 6.82 (1H, s, H_5), 13.78 (1H, s, C_1-OH)



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 3 ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) Spectrum ของ MG-1

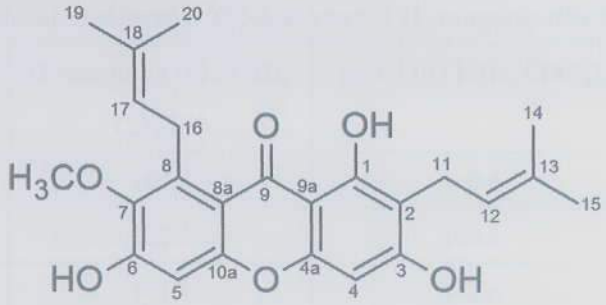
ได้ทำการเปรียบเทียบค่า Chemical shift กับสาร α-mangostin ที่มีการรายงานโดย Anggia, Bakhtiar และ Arbain (2015)* พบว่าค่า Chemical shift มีความสอดคล้องกันกับสารที่แยกได้ (MG-1) ดังตารางที่ 2

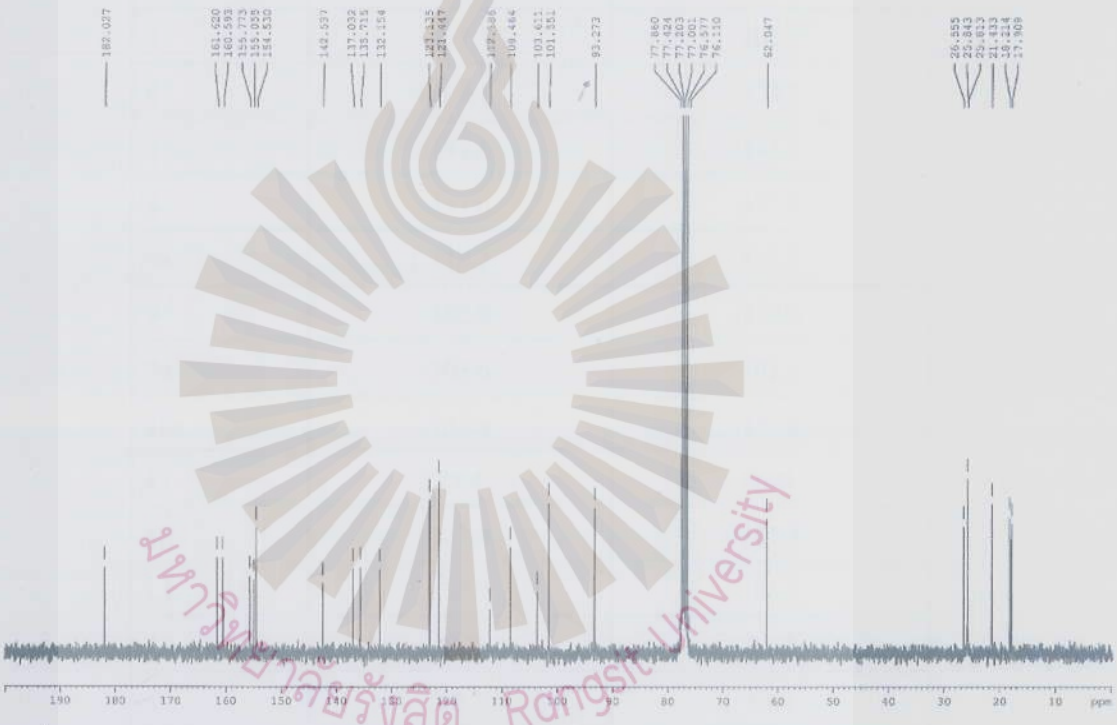
มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตารางที่ 2 ค่า Chemical shift ของ ^{1}H-NMR ของสาร α-mangostin และ MG-1

position	α-mangostin (500 MHz) $CDCl_3$)*	MG-1 (300 MHz, $CDCl_3$)
1	13.80, *s* (OH)	13.78, *s* (OH)
3	6.12, *br* (OH)	6.25, (OH)
4	6.27, *s*	6.29, *s*
5	6.81, *s*	6.82, *s*
6	6.27, (OH)	6.37, *br* (OH)
11	3.45, *d* (*J* = 7.3 Hz)	3.45, *d* (*J* = 7.15 Hz)
12	5.25, *t* (*J* = 7.3 Hz)	5.28, *m*
14	1.75, *s*	1.76, *s*
15	1.81, *s*	1.83, *s*
16	4.07, *d* (*J* = 7.0 Hz)	4.09, *d* (*J* = 7.15 Hz)
17	5.28, *t* (*J* = 7.3 Hz)	5.28, *m*
19	1.82, *s*	1.83, *s*
20	1.67, *s*	1.69, *s*
7-OMe	3.79, *s*	3.81, *s*

4.2.3 ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 17.90 (C-19), 18.2 (C-15), 21.4 (C-11), 25.8 (C-14), 25.8 (C-20), 26.5 (C-16), 62.0 (-OCH_3), 93.3 (C-4), 101.5 (C5), 103.61 (C9a), 108.4 (C-2), 112.2 (C-8a), 121.4 (C-12), 123.1 (C-17), 132.2 (C-18), 135.7 (C-13), 137.0 (C8), 142.5 (C-7), 154.5 (C-6), 155.0 (C-4a), 155.8 (C-10a), 160.6 (C-1), 161.6 (C-3), 182.0 (C-9).





ภาพที่ 4 ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) Spectrum ของ MG-1

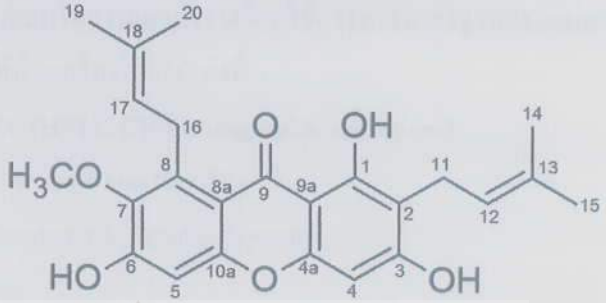
ได้ทำการเปรียบเทียบค่า Chemical shift กับสาร α-mangostin ที่มีการรายงานโดย Anggia, Bakhtiar และ Arbain (2015)* พบว่าค่า Chemical shift มีความสอดคล้องกันกับสารที่แยกได้ (MG-1) ดังตารางที่ 3

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

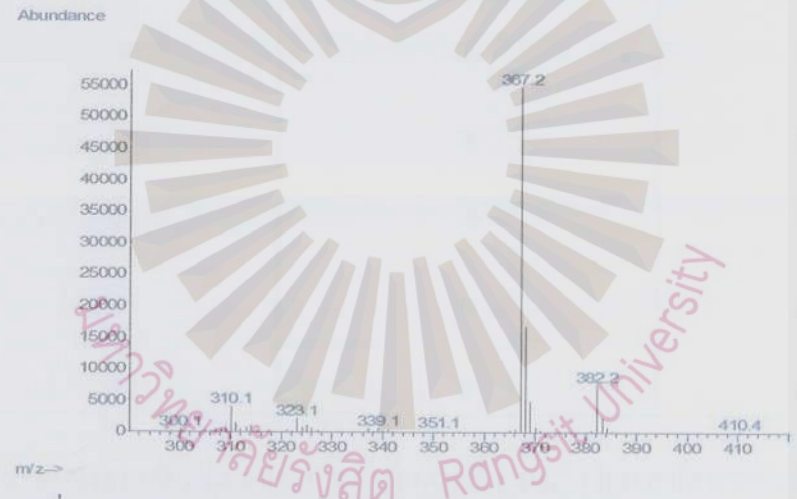
ตารางที่ 3 ค่า Chemical shift ของ ^{13}C-NMR ของสาร α-mangostin และ MG-1

position	α-mangostin (125 MHz, $CDCl_3$)*	MG-1 (75 MHz, $CDCl_3$)
1	160.6	160.6
2	108.4	108.4
3	161.6	161.6
4	93.3	93.3
4a	155.1	155.0
5	101.5	101.5
6	154.5	154.5
7	142.5	142.5
8	137.0	137.0
8a	112.2	112.2
9	182.0	182.0
9a	103.6	103.6
10a	155.8	155.8
11	21.4	21.4
12	121.4	121.4
13	135.9	135.7
14	25.9	25.8
15	18.2	18.2
16	26.6	26.5
17	123.5	123.1
18	132.2	132.2
19	17.9	17.9
20	25.8	25.8
7-OMe	62.1	62.0

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



4.2.4 GC-MS



ภาพที่ 5 GC-MS Spectrum ของ MG-1 [M^+ = 410.4]

จากผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS พบค่ามวลโมเลกุลของสาร MG-1 เท่ากับ 410.4 [M^+ = 410.4] ซึ่งตรงกับค่ามวลของสาร α-mangostin

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

4.3 การวิเคราะห์สารสกัดมังคุดเพื่อหา HPLC fingerprint profile

โดยการหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสาร พร้อมใช้สารสารมาตรฐาน α-mangostin เป็น Marker โดยมีสภาวะการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ดังนี้

เครื่อง HPLC SHIMAZU (HPLC Chromatographic conditions)

Column: Luna C-18 (5 µm, 4.6 mm ID x 25 cm)

Mobile phase: water / acetonitrile (gradient system)

Flow-rate: 1.00 ml / min

Detector: 254 nm

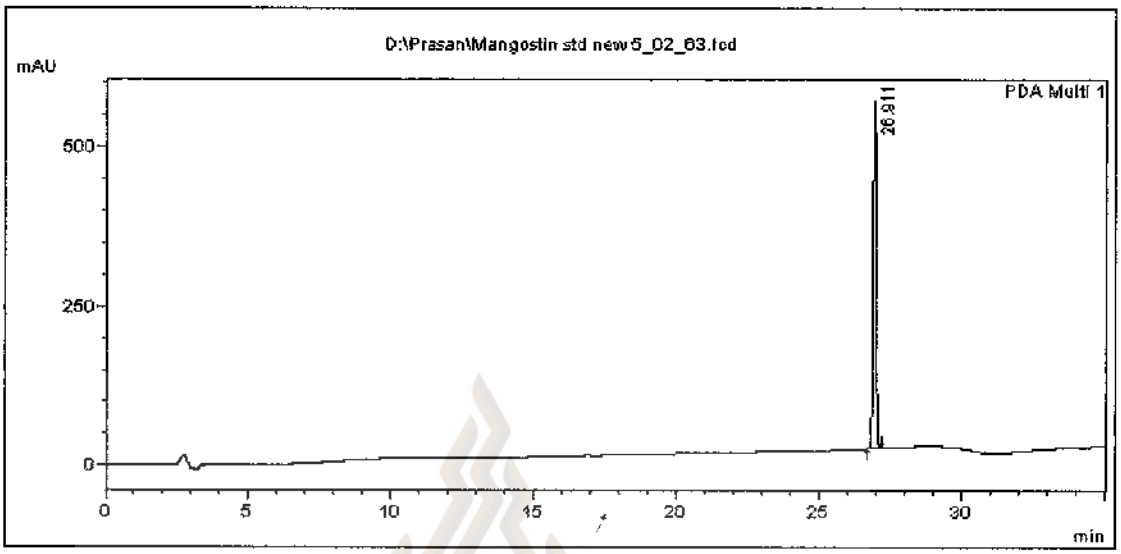
Injection volume: 10 µL

ตารางที่ 4 Gradient system ของ HPLC mobile phase *

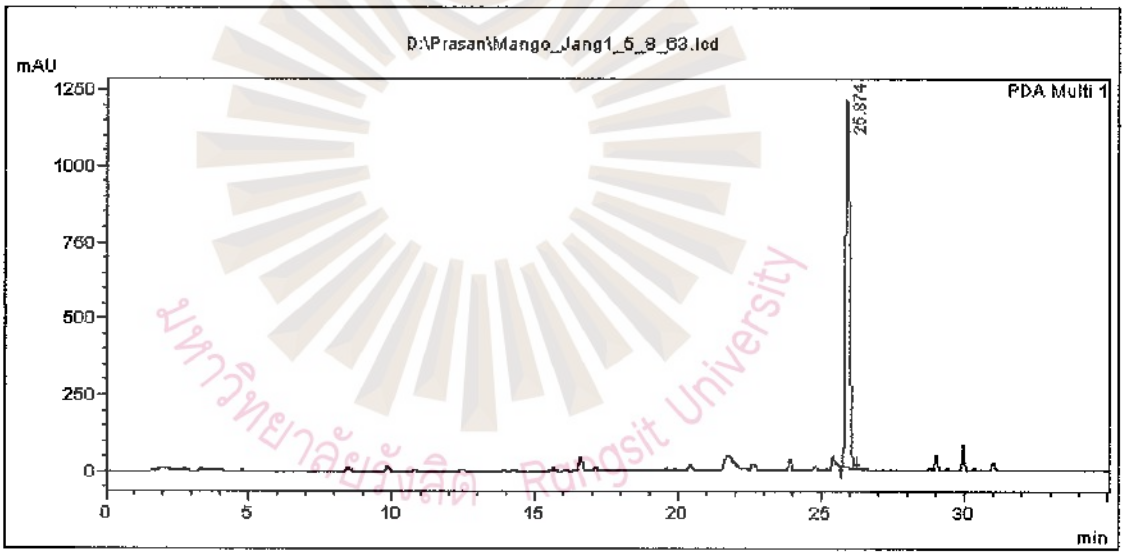
เวลา (นาที)	Water	Acetonitrile
0	60	40
5	50	50
20	30	70
25	0	100
30	0	100

สารมาตรฐาน α-mangostin จะแสดงในภาพที่ 1 ผลการวิเคราะห์สารสกัดเปลือกมังคุดในแต่ละแหล่งจะแสดงในภาพที่ 6 - 15

มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี Rajapruk University

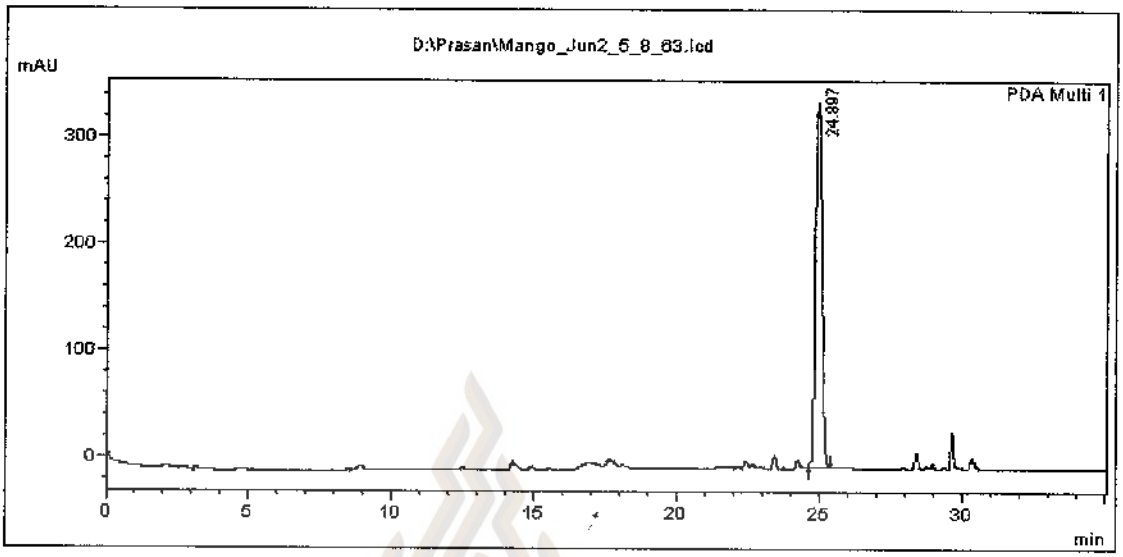


ภาพที่ 6 HPLC โครมาโตแกรมสารมาตรฐาน α-mangostin

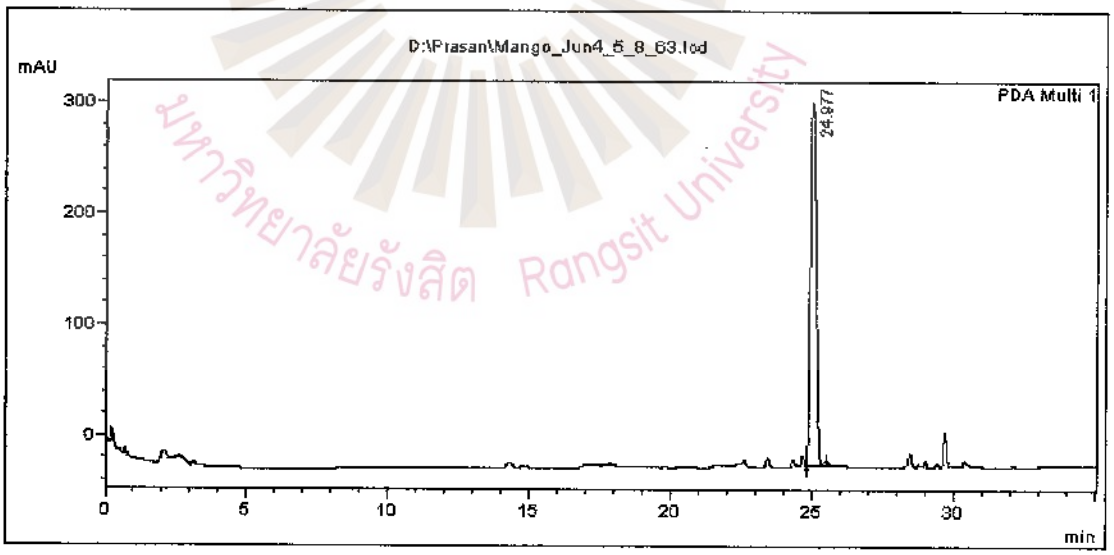


ภาพที่ 7 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดจันทบุรี แหล่งที่ 1

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

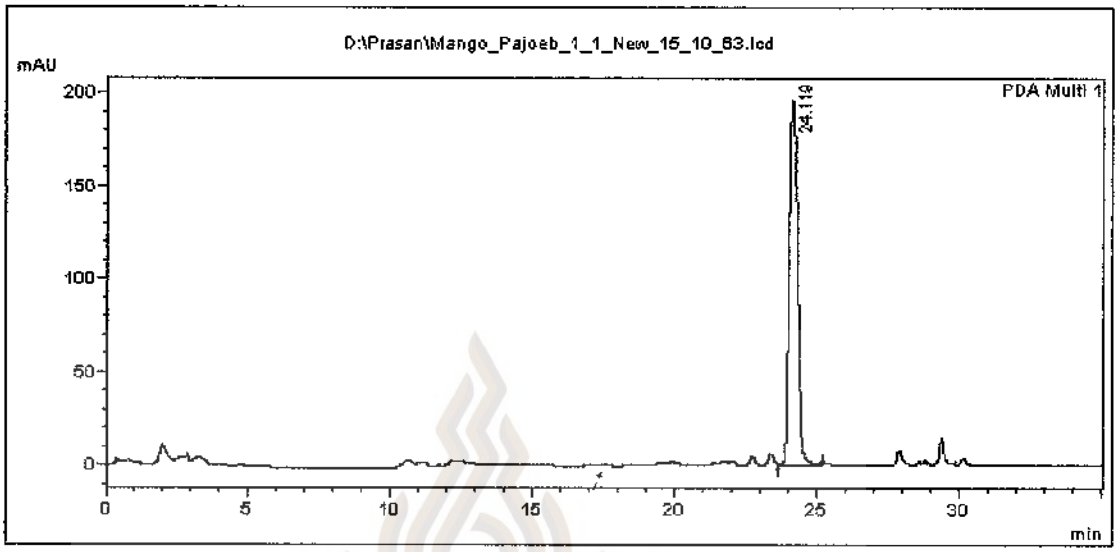


ภาพที่ 8 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดจันทบุรี แหล่งที่ 2

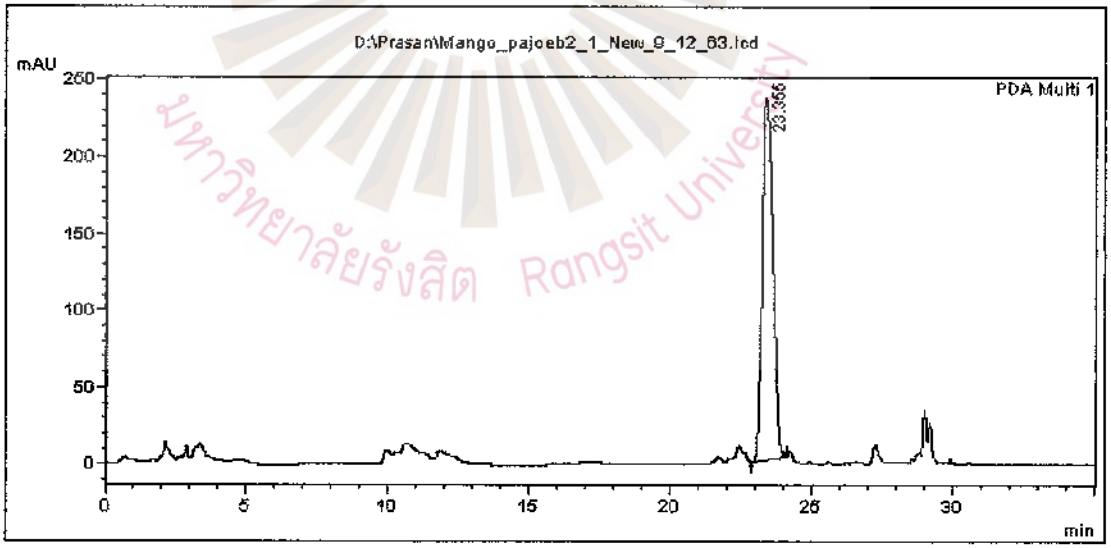


ภาพที่ 9 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดจันทบุรี แหล่งที่ 3

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

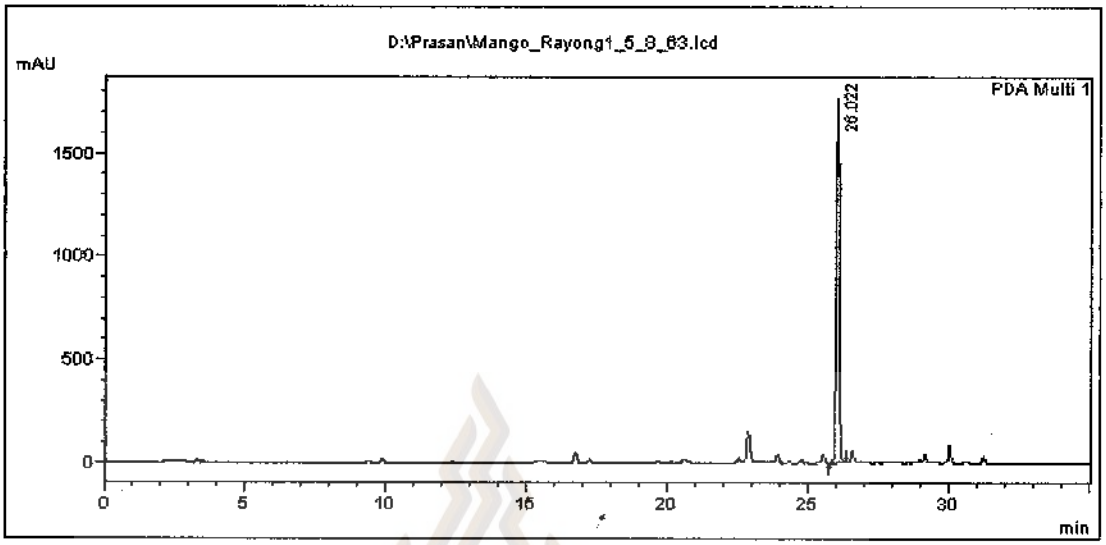


ภาพที่10 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ แหล่งที่ 1

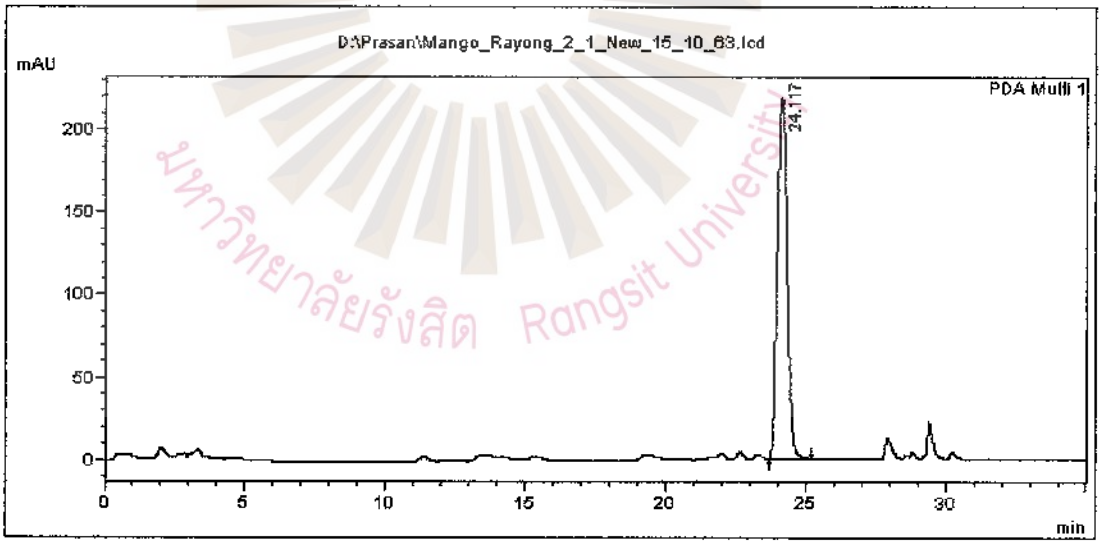


ภาพที่11 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ แหล่งที่ 2

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

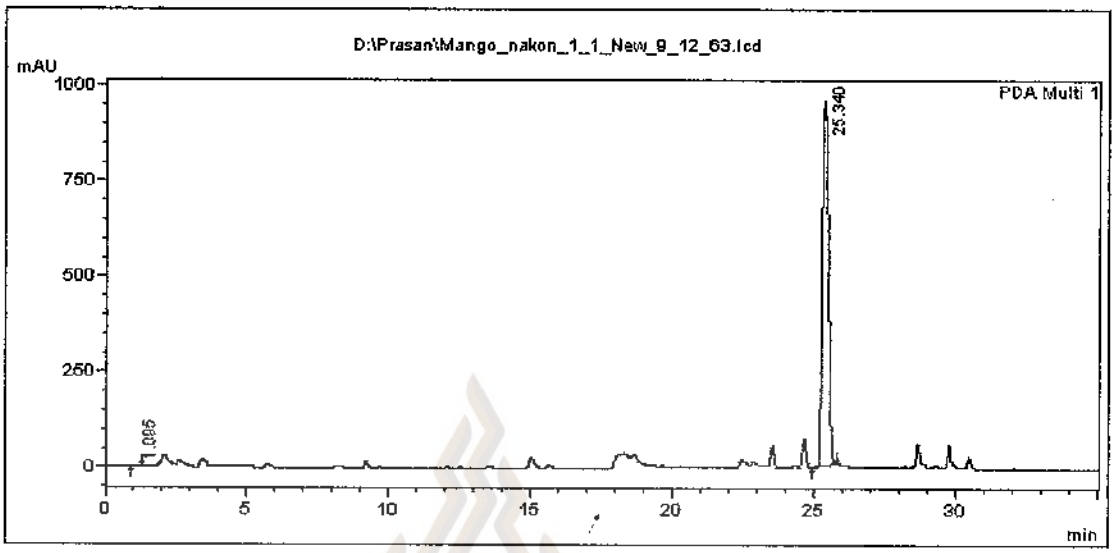


ภาพที่ 12 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดระยอง แหล่งที่ 1

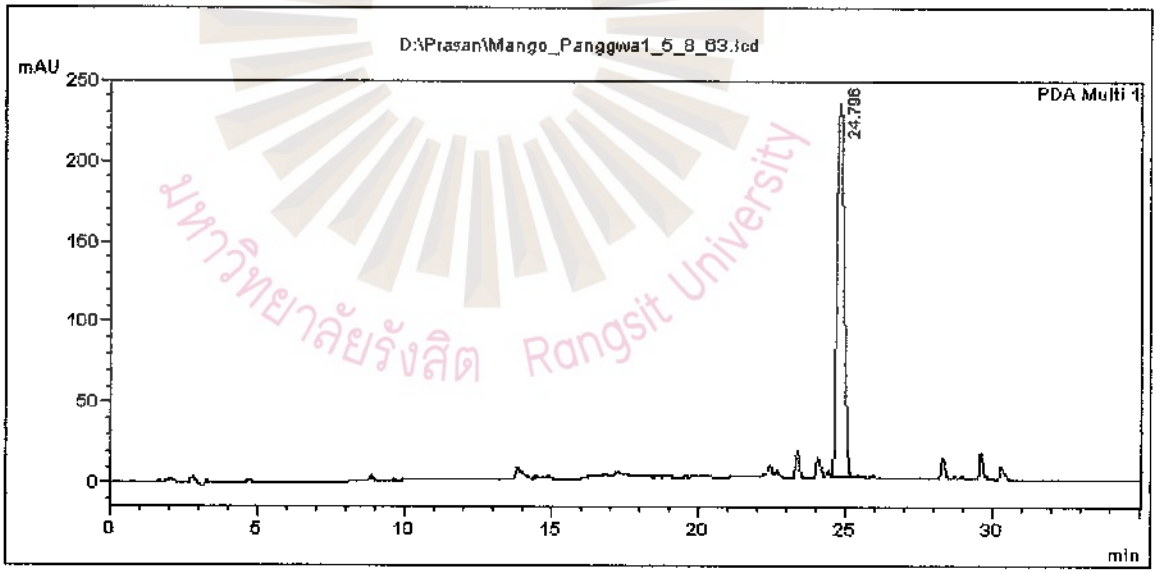


ภาพที่ 13 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดระยอง แหล่งที่ 2

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



ภาพที่ 14 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดนครศรีธรรมราช

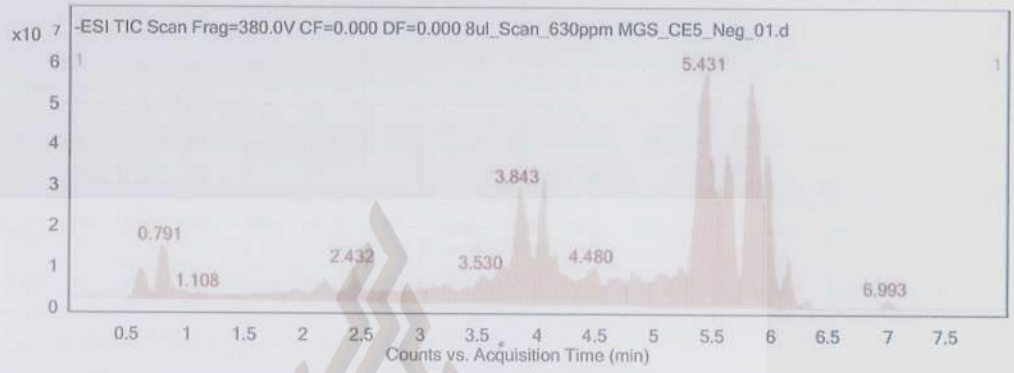


ภาพที่ 15 HPLC โครมาโตแกรมลายพิมพ์ของสารสกัดเปลือกมังคุด จังหวัดพังงา

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

4.4 ผลการวิเคราะห์ด้วย LC-MS

Fragmentor Voltage 380 **Collision Energy** 0 **Ionization Mode** ESI

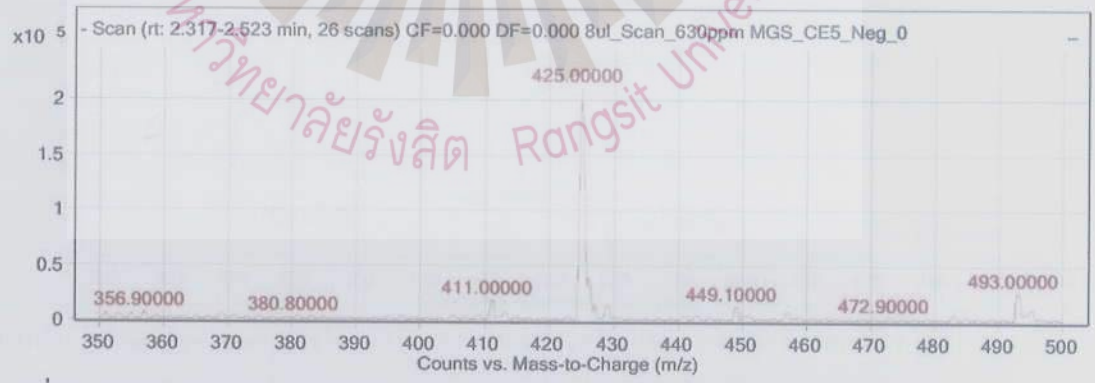


Integration Peak List

Peak	Start	RT	End	Height	Area	Area %
1	0.7	0.791	1.052	13039622	102394083	17.86
2	3.599	3.843	3.962	28273093	305073467	53.22
3	3.962	4.044	4.327	27327303	268741630	46.89
4	4.327	4.48	4.566	9161291	100681391	17.57
5	5.134	5.226	5.266	9930974	65696999	11.46
6	5.266	5.431	5.542	56690026	573185085	100
7	5.542	5.62	5.722	37625372	280550264	48.95
8	5.722	5.824	5.923	54621360	445166811	77.67
9	5.923	5.963	6.074	34325844	195213394	34.06
10	6.074	6.14	6.246	12356936	54490912	9.51

ภาพที่ 16 LC-MS TIC Chromatogram ของสารสกัดเปลือกมังคุด จันทบุรี 1

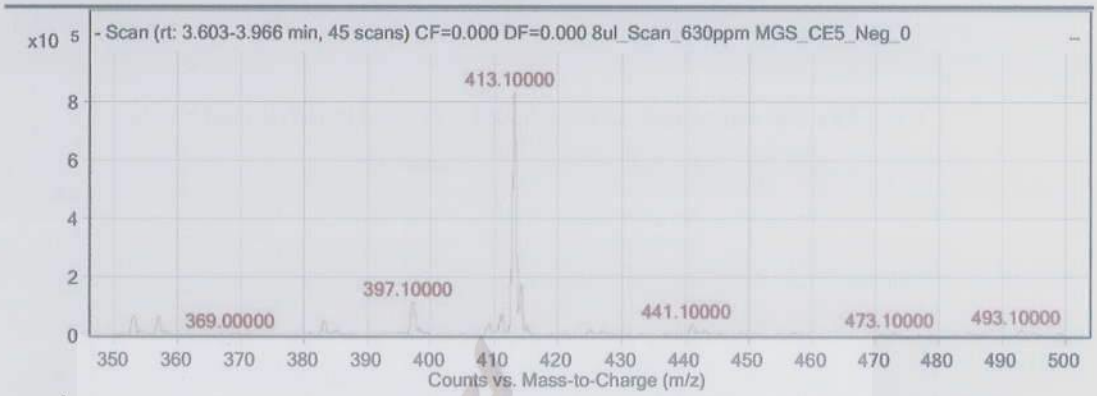
Spectrum Source	Fragmentor Voltage	Collision Energy	Ionization Mode
Peak (8) in "- TIC Scan"	380	0	ESI



ภาพที่ 17 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 2.317-2.523 นาที แสดงพีค 425.00 (m/z)

m/z 425 = $[424 + H]^+$ -> - mangostin

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

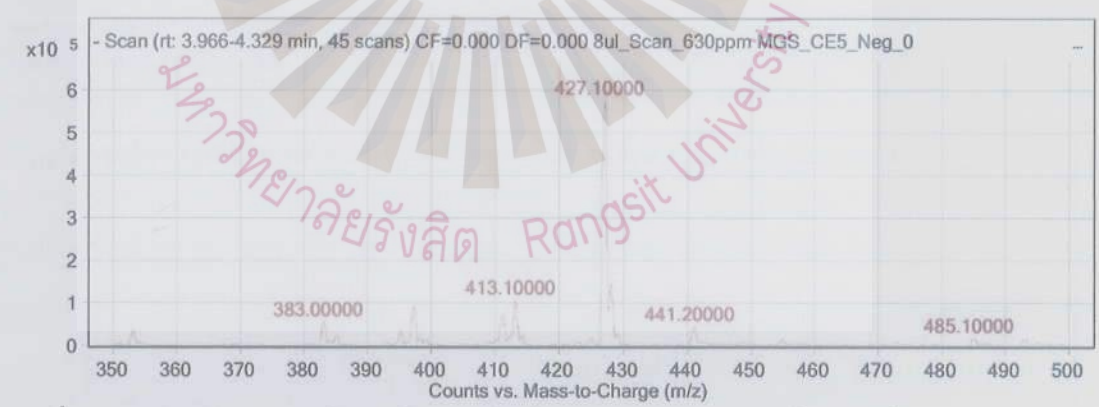


ภาพที่18 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 3.603-3.966 นาที แสดงพีค 413.10 (m/z)

$m/z\ 413 = [410 + 3H]^+$ -> α-mangostin

พบว่าที่ช่วงเวลา 2.317-2.523 นาที พบพีค 425.00 (m/z) ซึ่งตรงกับ - mangostin ที่มีไฮโดรเจนเกาะอยู่ 1 ตัวMass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 3.603-3.966 นาที แสดงพีค 413.10 (m/z) ซึ่งตรงกับ α-mangostin ที่มีไฮโดรเจนเกาะอยู่ 3 ตัว

Spectrum Source	Fragmentor Voltage	Collision Energy	Ionization Mode
Peak (14) in "- TIC Scan"	380	0	ESI

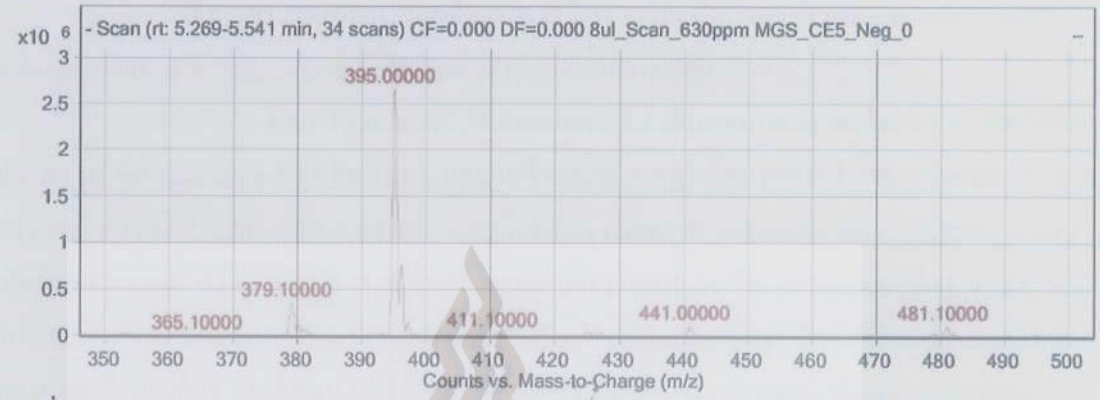


ภาพที่ 19 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 3.966-4.329 นาที แสดงพีค 427.10 (m/z)

$m/z = [426+H]^+$ -> Mangostanxanthone

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

Spectrum Source	Fragmentor Voltage	Collision Energy	Ionization Mode
Peak (20) in "- TIC Scan"	380	0	ESI

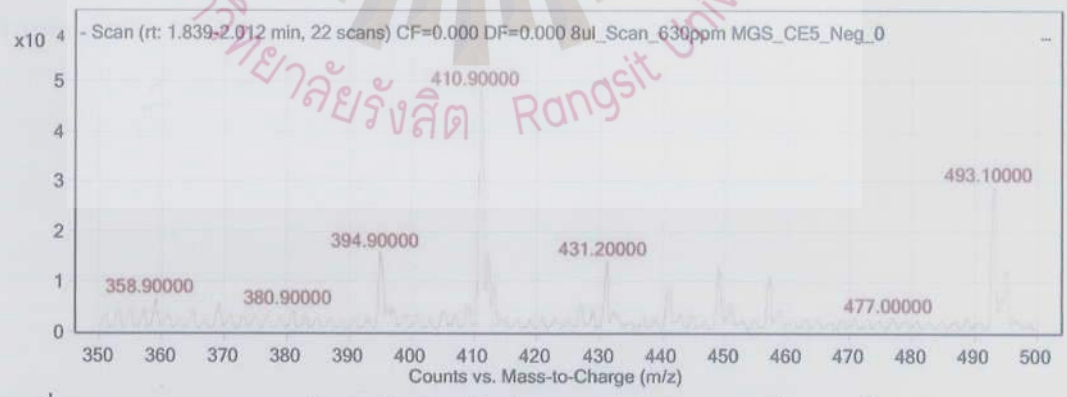


ภาพที่ 20 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 5.269-5.541 นาที แสดงพีค 395.0 (m/z)

$m/z = [396\text{-}H]^+ = 395$ -> γ-mangostin

พบว่าที่ช่วงเวลา 3.966-4.329 นาที พบพีค 427.10 (m/z) ซึ่งตรงกับ Mangostanxanthone ที่มีไฮโดรเจนเกาะอยู่ 1 ตัว Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 5.269-5.541 นาที แสดงพีค 395.0 (m/z) ซึ่งตรงกับ γ-mangostin ซึ่งขาดไฮโดรเจนอยู่ 1 ตัว

Spectrum Source	Fragmentor Voltage	Collision Energy	Ionization Mode
Peak (6) in "- TIC Scan"	380	0	ESI



ภาพที่ 21 Mass Spectrum ของโครมาโตแกรมในช่วงเวลา 1.839-2.012 นาที แสดงพีค 410.90 (m/z) ตรงกับ α- mangostin

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

4.5 การหาปริมาณ แอลฟาแมงโกสตีน ในสารสกัดเปลือกมังคุด

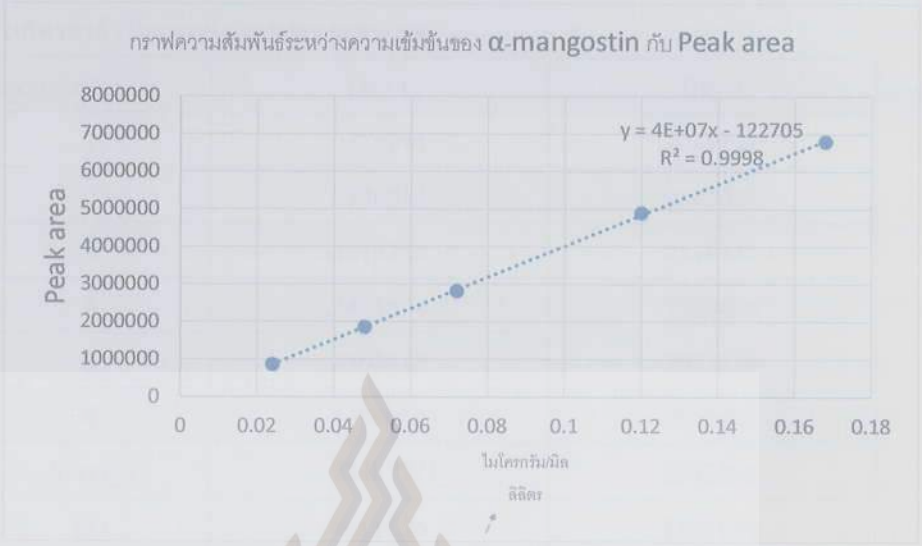
4.5.1 การตรวจสอบวิธีวิเคราะห์ (Validation of the method)

วิธีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์จะทำการหาค่า linearity, precision, accuracy, limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

4.5.1.1 Linearity : ใช้สารจากข้อ 4.2 เป็นสารมาตรฐาน จำนวน 15 มิลลิกรัม ถ่ายลงใน volumetric flask 25 มิลลิลิตร ละลายด้วยเมทานอลพร้อมปรับปริมาตร จากนั้นปิเปตสารละลายมา 1.00, 2.00, 3.00, 5.00 และ 7.00 มิลลิลิตร ถ่ายลงใน volumetric flask 25 มิลลิลิตร แล้วเติมด้วยเมทานอล พร้อมปรับปริมาตร จะได้ความเข้มข้นเริ่มจาก 24 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จนถึง 168 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการฉีดเข้าระบบ HPLC แล้วทำ calibration graph โดยใช้ค่า peak area กับค่าความเข้มข้นของสาร มาสร้างกราฟ ได้สมการความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ แอลฟาแมงโกสตีน กับค่า peak area เท่ากับ y = 4E+07x – 122705 และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9998 (ภาพที่ 22) แสดงถึงค่าสหสัมพันธ์ที่ดีของ standard curve

4.5.1.2 Precision : การหาความแม่นยำของการวิเคราะห์ ทำโดยใช้แอลฟาแมงโกสตีน ที่ความเข้มข้น 72 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการฉีดเข้าระบบ HPLC จำนวน 6 ครั้ง โดยจะทำ intraday (ตารางที่) และ interday precision (ตารางที่ 5) โดยการทำ intraday precision พบว่าได้ค่า % Relative Standard Deviation (%RSD) ของค่า peak area เท่ากับร้อยละ 0.99 ซึ่งไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดที่ร้อยละ 2 (ICH guideline, 1996) สำหรับค่า interday precision (ตารางที่ 6) จากการฉีดสารมาตรฐานเข้าระบบ HPLC จำนวน 6 ครั้ง จำนวน 2 วันติดกัน โดยใช้เครื่องมือเดิม ในสภาวะเดิมทุกอย่าง แล้วนำค่า peak area ทั้ง 12 ครั้งมาคำนวณหาค่า %RSD พบว่าได้ค่าเท่ากับร้อยละ 1.43 ซึ่งไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดที่ร้อยละ 2 (ICH guideline, 1996)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



ภาพที่ 22 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ แอลฟาแมงโกสติน กับพื้นที่ใต้พีค (Peak area)

ตารางที่ 5 แสดงค่าความแม่นยำ Intraday precision (n = 6)

Injection No.	Peak area
1	2032083
2	2065571
3	2071403
4	2049334
5	2085622
6	2040026
Average	2057340
SD	20333.1
%RSD	0.99%

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ตารางที่ 6 แสดงค่าความแม่นยำ Interday precision

Injection No.	Day 1	Day 2
1	2388644	2349122
2	2376935	2363081
3	2317355	2319723
4	2403824	2329805
5	2300412	2333216
6	2304049	2357603
Average	2348537	2342092
SD	46344.76	17091.96
%RSD	1.97	0.73
Interday %RSD	1.43	

4.5.1.3 Accuracy : ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์จะทำโดยวิธี Standard addition ลงใน Sample ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 30.00, 90.00 และ 140.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วคำนวนหาปริมาณร้อยละการคืนกลับ (%recovery) โดยได้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์จะทำโดยวิธี Standard addition ลงใน Sample ที่ 3 ระดับความเข้มข้น

ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	เติมสารมาตรฐาน (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	พบสาร (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	Recovery (%)
28.70	30.00	30.25 ± 0.75	102.50 ± 1.13
	90.00	89.00 ± 0.09	98.88 ± 1.41
	140.00	135.30 ± 0.80	96.64 ± 0.81
		เฉลี่ย	99.34 ± 2.78

(n = 3)

4.5.1.4 limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ): ค่า LOD จะคำนวณจากค่าความเข้มข้นที่ให้ค่า Signal/Noise ratio = 3 : 1 ได้ค่าความเข้มข้นเท่ากับ 0.07 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ในขณะที่ค่า LOQ จะคำนวณจากค่าความเข้มข้นที่ให้ค่า Signal/Noise ratio = 10 : 1 ได้ค่าความเข้มข้นเท่ากับ 0.21 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

4.5.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินในสารสกัดเปลือกมังคุดจาก 9 แหล่ง

ตารางที่ 8 ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินในเปลือกมังคุดแห้งและสารสกัดจาก 9 แหล่ง

ตัวอย่าง	ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน (โดยน้ำหนักจากเปลือกแห้ง, %W/W)	ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสติน (โดยน้ำหนักจากสารสกัด, %W/W)
จันทบุรี 1	3.51 ± 0.01	11.70 ± 0.01
จันทบุรี 2	3.07 ± 0.02	10.46 ± 0.04
จันทบุรี 3	3.14 ± 0.01	10.24 ± 0.06
ระยอง 1	2.53 ± 0.01	8.43 ± 0.03
ระยอง 2	1.14 ± 0.01	3.81 ± 0.01
ประจวบคีรีขันธ์ 1	1.48 ± 0.01	4.92 ± 0.01
ประจวบคีรีขันธ์ 2	2.39 ± 0.10	7.96 ± 0.32
พังงา	2.98 ± 0.07	9.95 ± 0.23
นครศรีธรรมราช	2.26 ± 0.05	7.53 ± 0.15

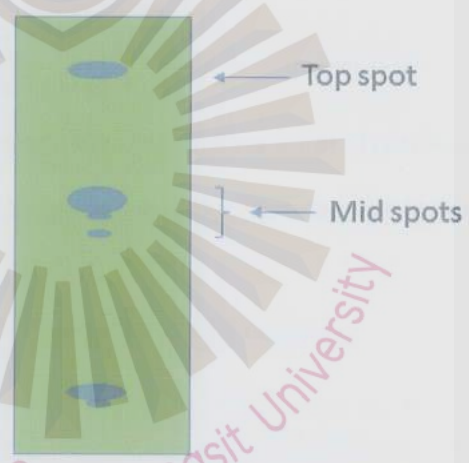
จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินในเปลือกมังคุดแห้งและสารสกัดจาก 9 แหล่ง พบว่ามังคุดจากจังหวัด จันทบุรี (จันทบุรี 1 จันทบุรี 2 จันทบุรี 3) และพังงา ให้ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินสูงที่สุด โดยพบปริมาณแอลฟาแมงโกสตินโดยน้ำหนักจากเปลือกแห้ง (%w/w) ในช่วงร้อยละ 2.98 ± 0.07 ถึง 3.51 ± 0.01 ตามลำดับ และ ปริมาณแอลฟาแมงโกสตินโดยน้ำหนักจากสารสกัด (%w/w) ในช่วง 9.95 ± 0.23 ถึง 11.70 ± 0.01 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างมังคุดที่ให้ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินในระดับปานกลาง ได้แก่มังคุดจาก ระยอง 1 ประจวบคีรีขันธ์ 2 และนครศรีธรรมราช ซึ่งมีค่าปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินโดยน้ำหนักจากเปลือกแห้ง (%w/w) ในช่วงร้อยละ 2.26 ± 0.05 ถึง 2.53

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

± 0.01 และ ปริมาณแอลฟาแมงโกสตินโดยน้ำหนักจากสารสกัด (%w/w) ในช่วง 7.53 ± 0.15 ถึง 8.43 ± 0.03ตามลำดับ สำหรับกลุ่มของมังคุดที่ให้ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินในระดับที่ต่ำ ได้แก่มังคุดจากระยอง 2 และ ประจวบคีรีขันธ์ 1 ความแตกต่างของปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินในแปลือกมังคุดขึ้นอยู่กับปัจจัยเรื่องพันธุ์มังคุด สถานที่เพาะปลูก สภาพอากาศ ส่งผลต่อการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) การตรวจสอบมังคุดจากหลายแหล่งทำให้สามารถเลือกมังคุดจากแหล่งที่มีปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินสูง เพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์

4.6 การเตรียมสารสกัด MGS-1 จากสารสกัดเปลือกมังคุด

นำสารสกัดเปลือกมังคุดจากจังหวัด จันทบุรี 1 นำมา 600 มิลลิกรัม แยกด้วยคอลัมน์โครมาโตรกราฟี ใช้ซิลิกา เจล เป็น stationary phase และใช้ Hexane : Ethyl acetate (7 : 3) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ในการแยกสาร เก็บ fraction ละ 5 มิลลิลิตร แล้วนำมาตรวจสอบด้วย TLC (Thin Layer Chromatography) ภายใต้แสงยูวี (254 nm) โดยจะเลือกเก็บสารที่มีค่า Rf อยู่ในช่วง 0.5-0.6 (ดังภาพ)

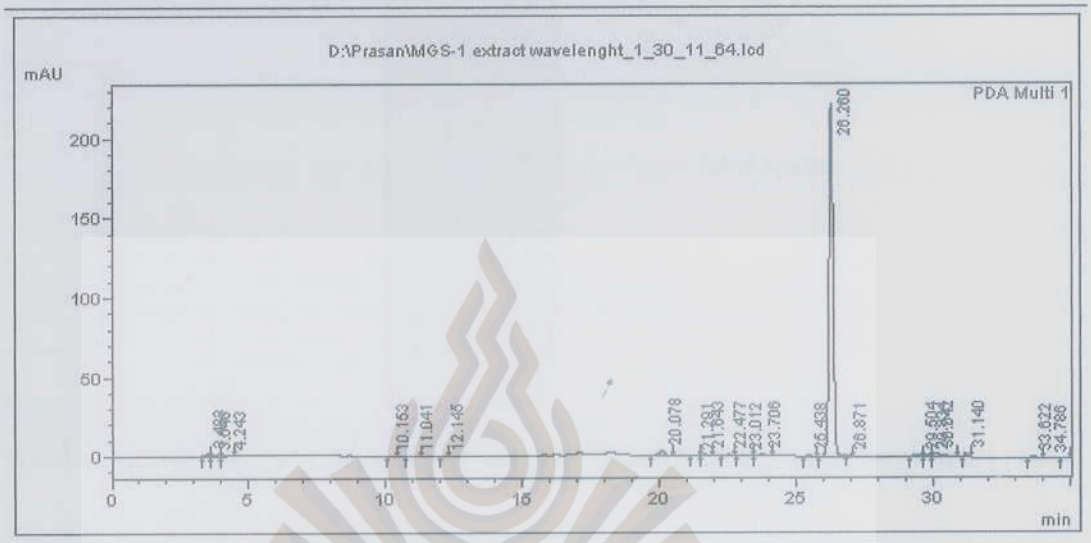


ภาพที่ 23 TLC โครมาโตแกรม แสดง Mid spots ซึ่งเป็นตำแหน่งของสารแอลฟาแมงโกสติน

ทำการรวบรวม fraction ที่มี Mid spots นำมารวมกัน และระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยเครื่อง Rotary evaporator ได้สารสกัด MGS-1 จำนวน 86.3 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 14.38 จากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดละลายด้วยเมทานอลและถ่ายลงใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลาย 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงใน Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล และฉีดเข้าระบบ HPLC จำนวน 10 ไมโครลิตรซึ่งได้ผลดังภาพที่ พบว่ามีพีคเด่น 2 พีคที่เวลา 26.26 นาที ซึ่ง

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

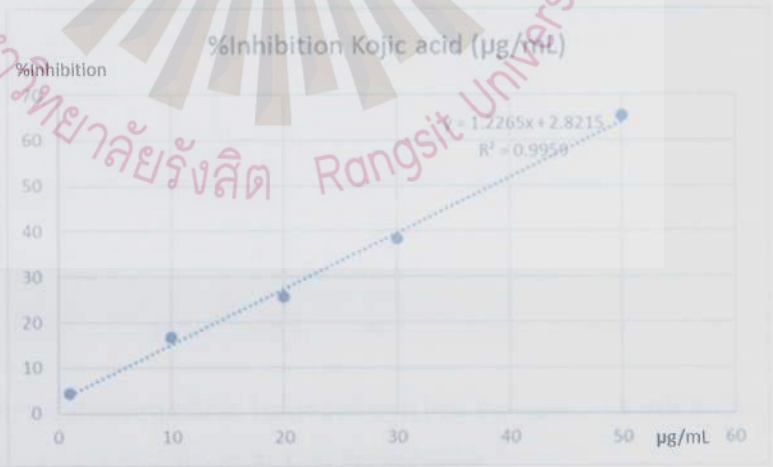
ได้แก่สาร แอลฟาแมงโกสติน คำนวณพบในปริมาณเท่ากับ 65.80 ± 1.80 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 76.24 ± 2.08 และพีคขนาดเล็กที่บริเวณเวลา 29.50 นาที ซึ่งน่าจะเป็นสารกลุ่มแซนโทน



ภาพที่ 24 HPLC โครมาโตแกรมของสารสกัด MGS-1

4.7 ผลการทดลองฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

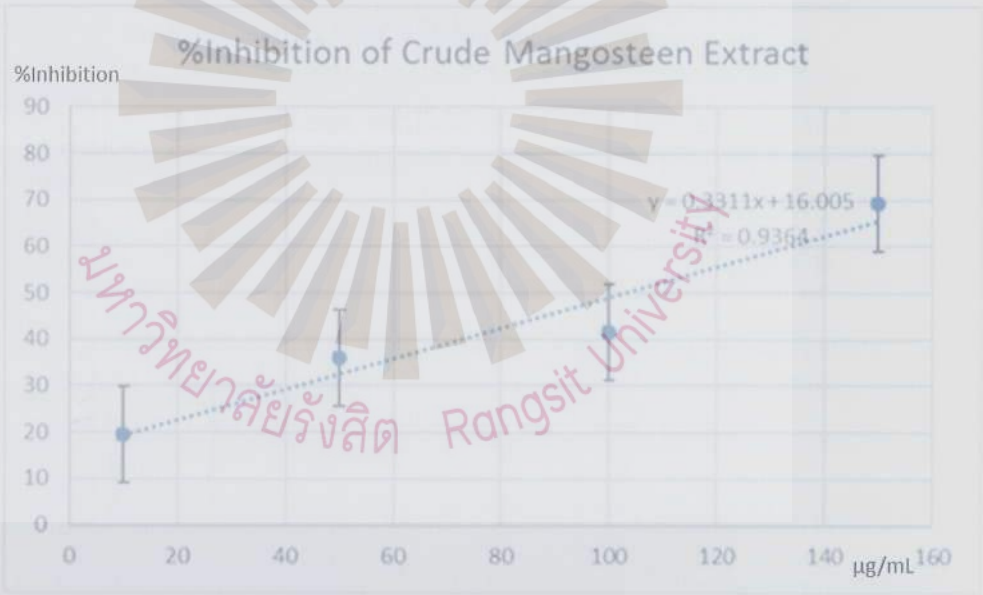
4.7.1 ผลการยับยั้งของสารมาตรฐาน Kojic acid และ สารสกัดเปลือกมังคุด (Crude extract) และที่แยกได้จาก Column Chromatography (Top spots) และ (Mid spots)



ภาพที่ 25 กราฟแสดงความเข้มข้นในการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase (IC_{50} = 38.46 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

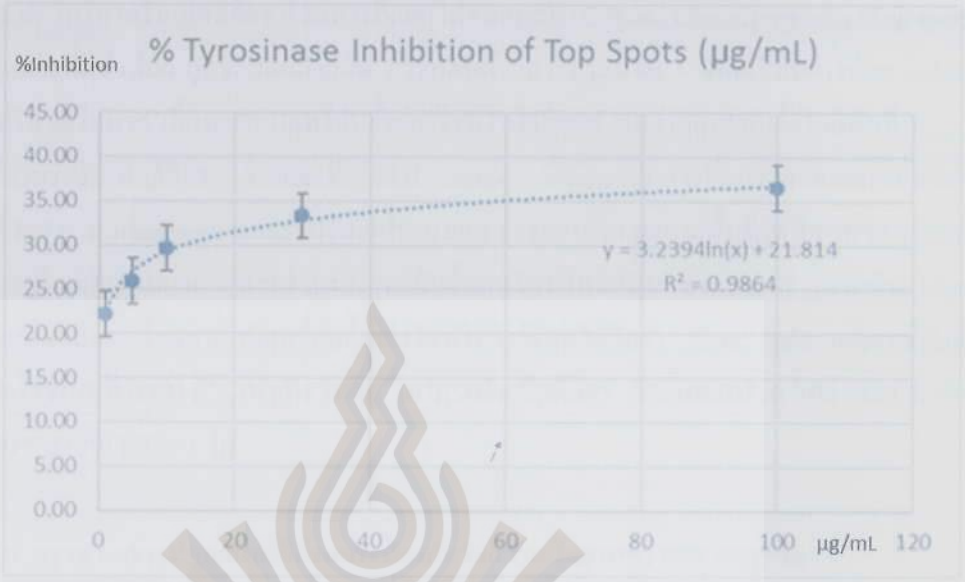
มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 26 แสดงตำแหน่งของ Top spot และ Mid spots บนแผ่น Thin-Layer Chromatography

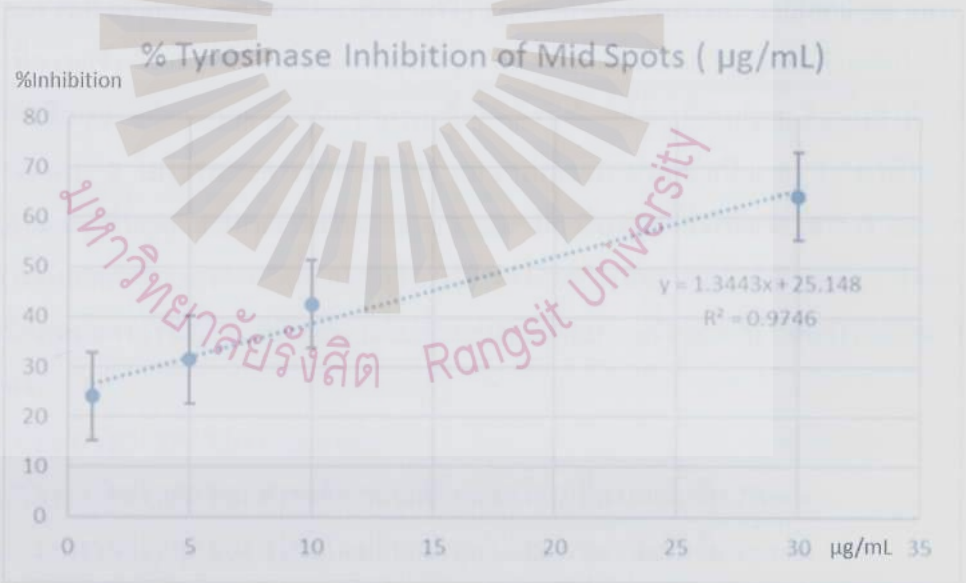


ภาพที่ 27 กราฟแสดงความเข้มข้นในการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase ของเปลือกมังคุด (Crude extract) (IC_{50} = 102.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University



ภาพที่ 28 กราฟแสดงความเข้มข้นในการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase ของ Top Spots ของ Crude extract (IC_{50} > 100.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)



ภาพที่ 29 กราฟแสดงความเข้มข้นในการยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase (IC_{50} = 18.48 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ของสารในช่วง Mid spots

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

โดยสรุป สารสกัดเอทานอลจากเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ระดับ IC_{50} เท่ากับ 102.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารที่แยกได้จากการทำ Column Chromatography (Top spots) ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่มีขั้วน้อย ถูกชะออกมาก่อน ประกอบด้วยสารประมาณ 3 ชนิดเป็นอย่างน้อย โดยแต่ละชนิดมีปริมาณไม่มาก เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งไม่ดีนักที่ IC_{50} > 100.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ Mid spots ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่อยู่ช่วงกลางของคอลัมน์ ประกอบด้วยสาร α-mangostin เป็นส่วนใหญ่ประมาณ 67.78% (คำนวณจากพื้นที่ใต้พีค HPLC) โดยมีสารอื่นปนอยู่ใกล้เคียงไม่มาก สารส่วนนี้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ระดับ IC_{50} เท่ากับ 18.48 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีกว่า Kojic acid ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ระดับ IC_{50} เท่ากับ 38.46 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังนั้นสารส่วน Mid spots จะเป็นตัวแทนของสารสกัด MGS-1 ได้

4.8 ตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติด้านการป้องกันรังสี UV โดยหาค่า SPF ของครีม

การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติการป้องกันรังสี UV จะทดสอบโดยใช้เครื่อง Optometric SPF-290AS (Optometric coporation, USA) พร้อมด้วย WinSPF software โดยขั้นตอนแรกทำการ scan ค่า blank ของ PMMA plates และเครื่องจะบันทึกค่าไว้ จากนั้นนำตัวอย่างสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 ในรูปครีมที่ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 9% w/w ขนาด 0.05 กรัมหยดลงบน PMMA plates ด้วยเข็มในพื้นที่ 25 ตารางเซนติเมตร หลังการหยดสารต้องทำการเกลี่ยให้เกิดฟิล์มลักษณะที่ราบเรียบเต็มพื้นที่ เพื่อให้มีความหนาของสาร 2 ไมโครกรัม/ตารางเซนติเมตร จากนั้นปล่อยให้สารแห้งเป็นเวลา 15 นาทีในที่มืด นำ PMMA plates ที่หยดตัวอย่างแล้วใส่ใน sample holder ในเครื่อง แล้วสั่งให้เครื่องทำการ scan จาก 290 – 400 นาโนเมตร ซึ่งจะครอบคลุมการดูดกลืนรังสีในช่วง UV-A และ UV-B ทำการ scan 6 ตำแหน่ง จากนั้นเครื่องจะแสดงค่า SPF ของตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างจะเตรียม 3 ครั้ง (n = 3) ผลการวัดแสดงในภาพที่ 30-44

1.7.1 การวัดค่า SPF ของ Cream base

1.7.2 การวัดค่า SPF ของ สารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 ที่ความเข้มข้น 2%w/w

1.7.3 การวัดค่า SPF ของ สารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 ที่ความเข้มข้น 4%w/w

1.7.4 การวัดค่า SPF ของ สารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 ที่ความเข้มข้น 6%w/w

1.7.5 การวัดค่า SPF ของ สารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 ที่ความเข้มข้น 9%w/w

ตารางที่ 9 แสดงผลค่า SPF, PA, UVA/UVB และ Boot Star Rating

Sample		SPF	UVA/UVB	Boot Star Rating
Cream base	S 1	0.70 ± 0.01	0	NA
	S 2	0.69 ± 0.01	0	NA
	S 3	0.72 ± 0.00	0	NA
ค่าเฉลี่ย (Average)		0.71 ± 0.01	0	NA
สารสกัดเปลือกมังคุด MG-1 (2%w/w)	S 1	3.05 ± 0.18	0.233	1 (Minimum)
	S 2	3.07 ± 0.26	0.231	1 (Minimum)
	S 3	2.89 ± 0.28	0.213	1 (Minimum)
ค่าเฉลี่ย (Average)		3.01 ± 0.22	0.226 ± 0.011	1 (Minimum)
สารสกัดเปลือกมังคุด MG-1 (4%w/w)	S 1	4.56 ± 0.12	0.330	1 (Minimum)
	S 2	4.78 ± 0.38	0.370	1 (Minimum)
	S 3	4.70 ± 0.30	0.340	1 (Minimum)
ค่าเฉลี่ย (Average)		4.68 ± 0.27	0.350 ± 0.02	1 (Minimum)
สารสกัดเปลือกมังคุด MG-1 (6%w/w)	S 1	10.84 ± 0.77	0.452	2 (Moderate)
	S 2	9.62 ± 1.04	0.448	2 (Moderate)
	S 3	10.62 ± 1.29	0.454	2 (Moderate)
ค่าเฉลี่ย (Average)		10.36 ± 1.07	0.451 ± 0.003	2 (Moderate)
สารสกัดเปลือกมังคุด MG-1 (9%w/w)	S 1	9.33 ± 1.15	0.488	2 (Moderate)
	S 2	9.24 ± 1.03	0.482	2 (Moderate)
	S 3	9.16 ± 1.18	0.497	2 (Moderate)
ค่าเฉลี่ย (Average)		9.24 ± 0.97	0.926 ± 0.00	2 (Moderate)

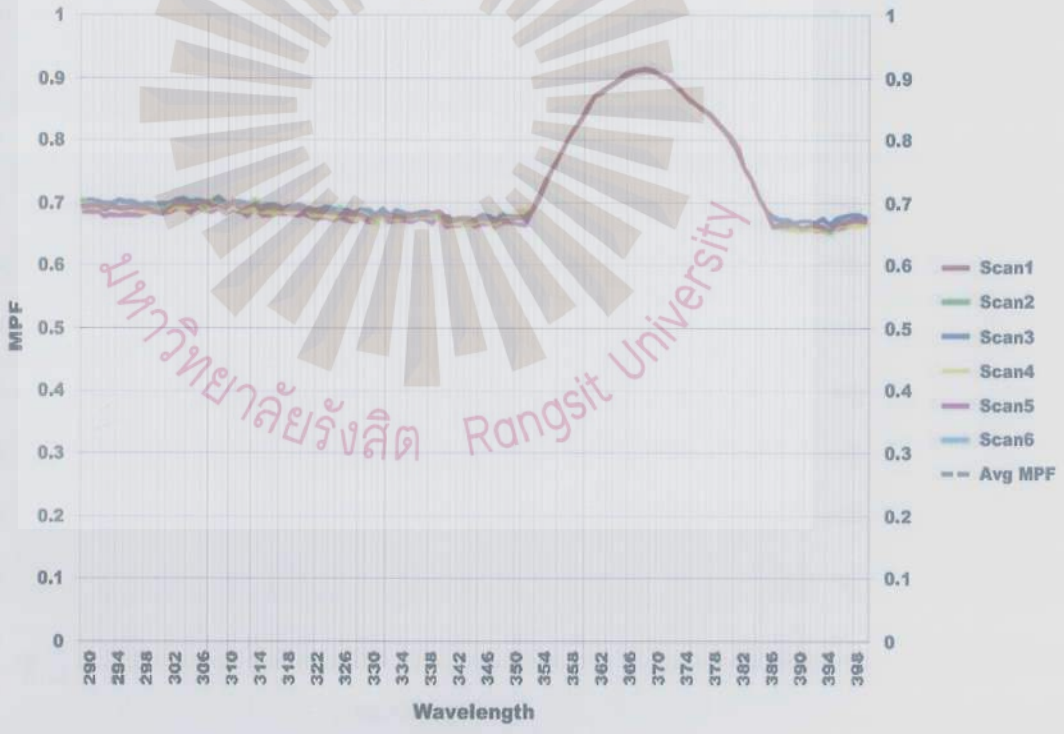
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160220-1
Time:	11:22:52	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160220-1.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	0.7	0.01
UVA/UVB ratio:	0	0
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim
UVA I/UV Ratio:	0.87	High
Max %T COV:	1.17	
Critical Wavelength:	0	0
Curve Area:	-15.53	0.23
UVA PF:	0.7	0
Erythema UVA PF:	0.71	0

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 30 กราฟ SPF ของ Cream base ครั้งที่ 1

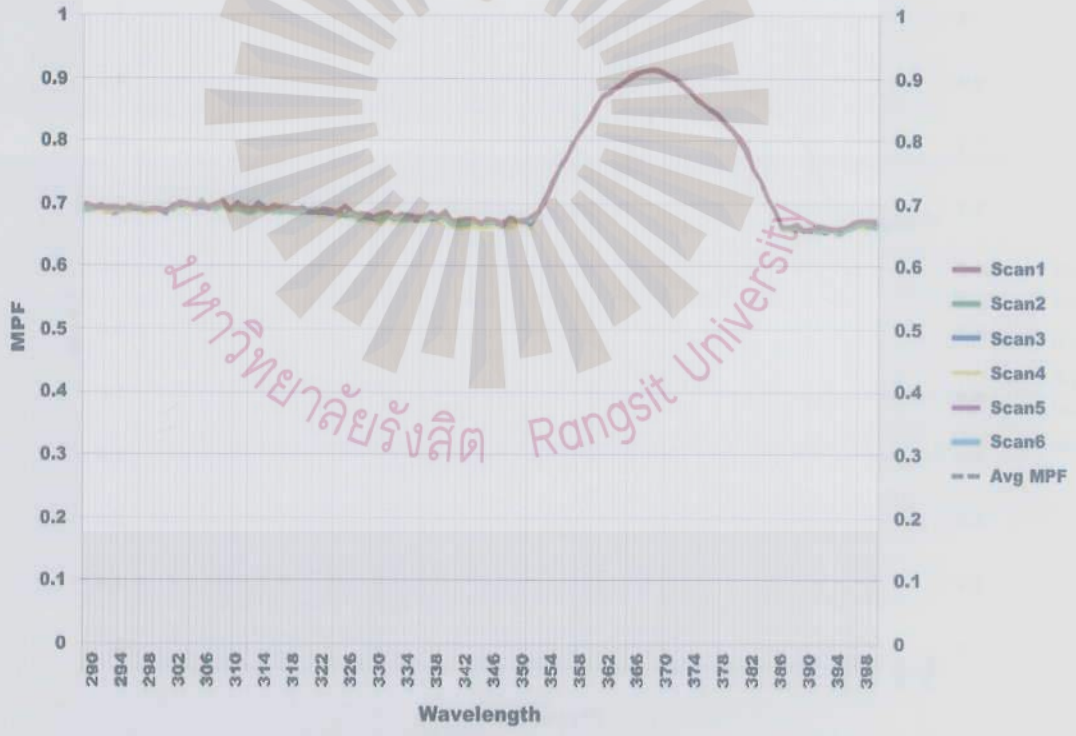
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160220-2
Time:	11:30:18	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160220-2.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	0.69	0
UVA/UVB ratio:	0	0
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim
UVA I/UV Ratio:	0.87	High
Max %T COV:	0.93	
Critical Wavelength:	0	0
Curve Area:	-15.6	0.09
UVA PF:	0.7	0
Erythema UVA PF:	0.7	0

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 31 กราฟ SPF ของ Cream base ครั้งที่ 2

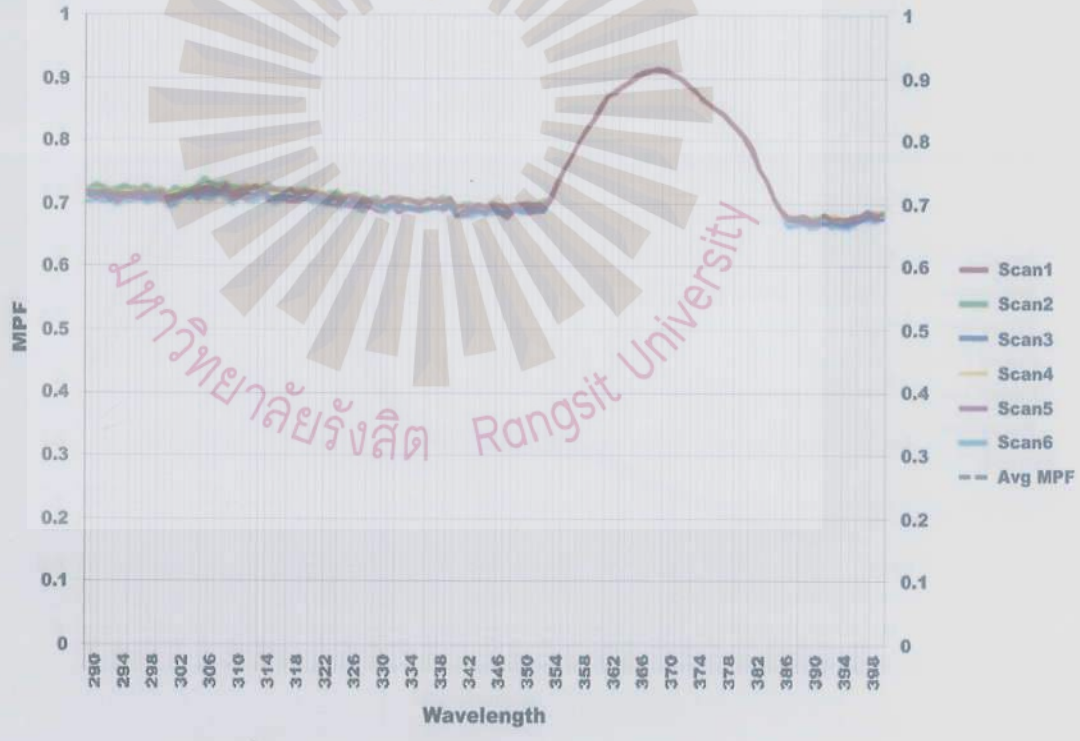
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160220-3
Time:	11:36:21	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160220-3.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	0.72	0.01
UVA/UVB ratio:	0	0
Boots Star Rating (2004):	0	No Claim
UVA I/UV Ratio:	0.9	High
Max %T COV:	1.5	
Critical Wavelength:	0	0
Curve Area:	-14.61	0.31
UVA PF:	0.71	0
Erythema UVA PF:	0.72	0.01

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 32 กราฟ SPF ของ Cream base ครั้งที่ 3

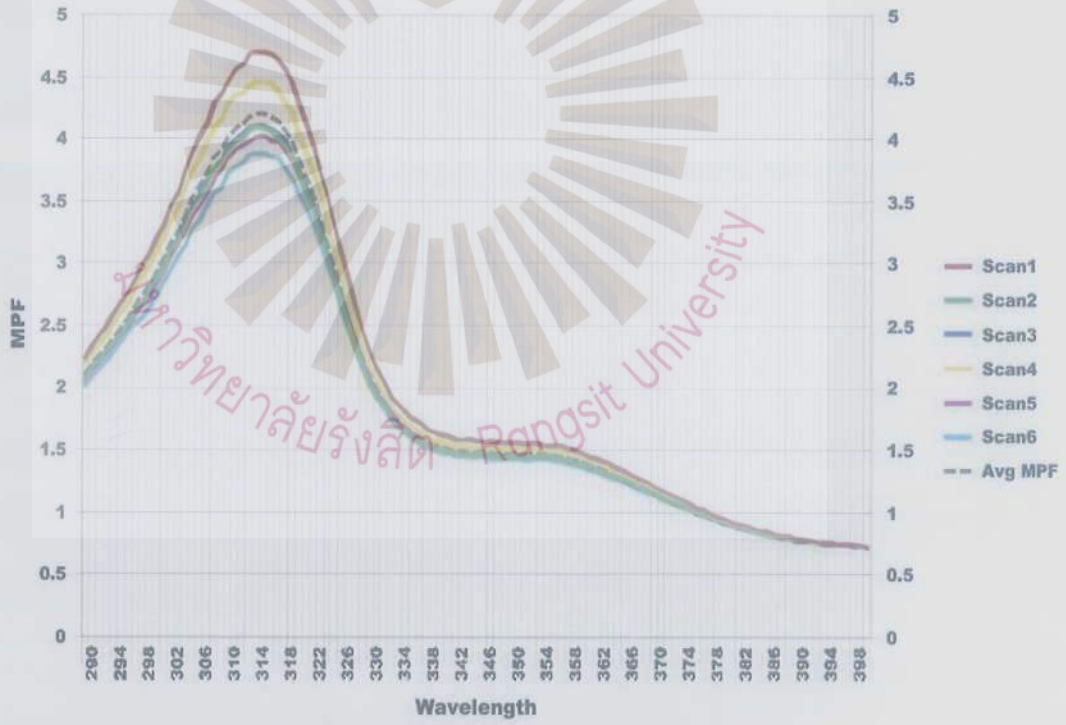
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160320-4
Time:	14:09:24	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160320-4.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	3.05	0.18
UVA/UVB ratio:	0.233	0.01
Boots Star Rating (2004):	1	Minimum
UVA I/UV Ratio:	0.19	Low
Max %T COV:	7.21	
Critical Wavelength:	340.9	1.94
Curve Area:	25.18	1.75
UVA PF:	1.39	0.05
Erythema UVA PF:	1.75	0.06

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 33 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (2%w/w) ครั้งที่ 1

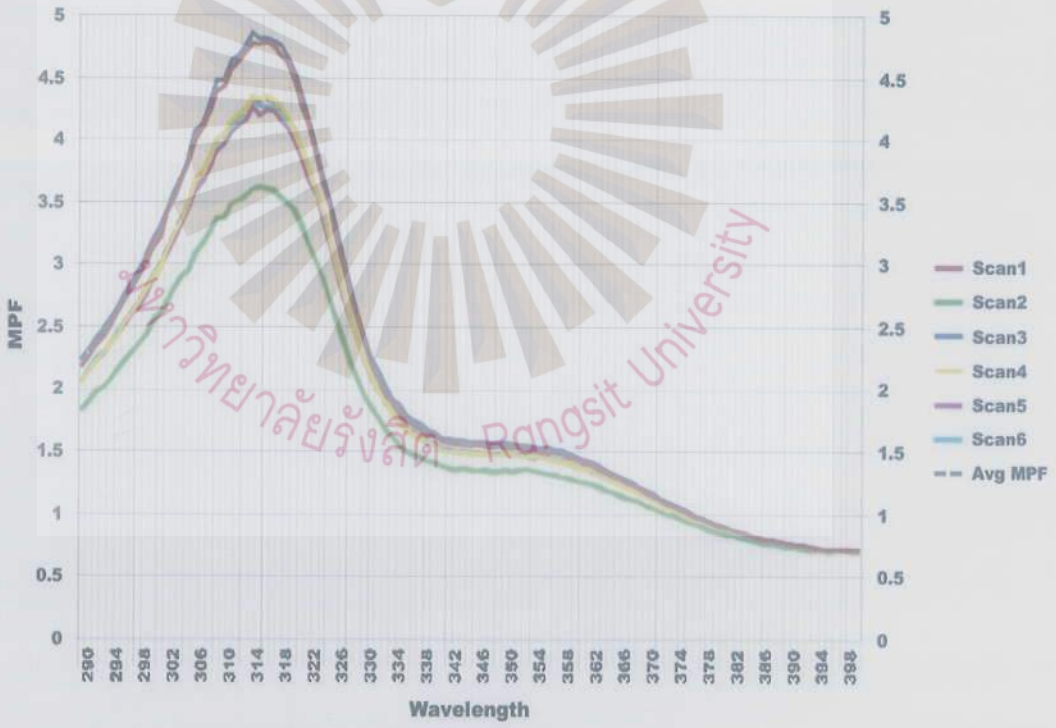
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160320-2
Time:	11:54:14	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160320-2.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	3.07	0.26
UVA/UVB ratio:	0.231	0.02
Boots Star Rating (2004):	1	Minimum
UVA I/UV Ratio:	0.16	Low
Max %T COV:	11.07	
Critical Wavelength:	339	3.05
Curve Area:	25.25	2.67
UVA PF:	1.41	0.08
Erythema UVA PF:	1.77	0.09

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 34 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (2%w/w) ครั้งที่ 2

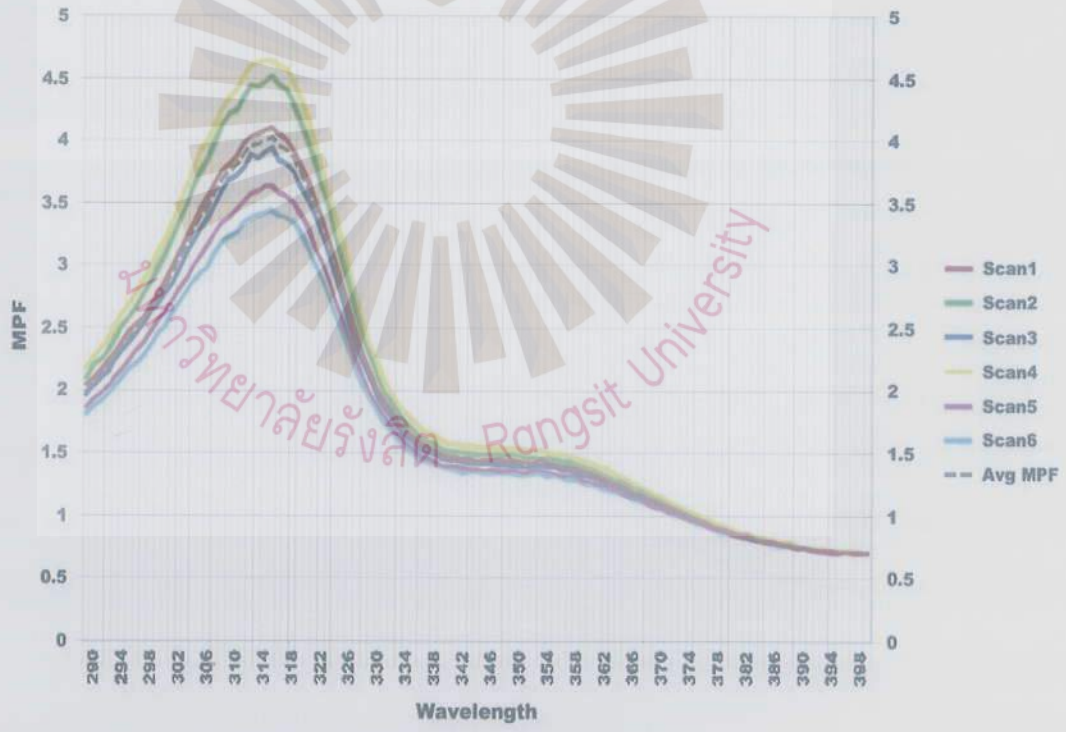
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160320-3
Time:	11:59:58	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160320-3.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	2.89	0.28
UVA/UVB ratio:	0.213	0.02
Boots Star Rating (2004):	1	Minimum
UVA I/UV Ratio:	0.12	Low
Max %T COV:	12.07	
Critical Wavelength:	336.2	3.3
Curve Area:	23.16	2.84
UVA PF:	1.35	0.08
Erythema UVA PF:	1.7	0.09

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



ภาพที่ 35 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (2%w/w) ครั้งที่ 3

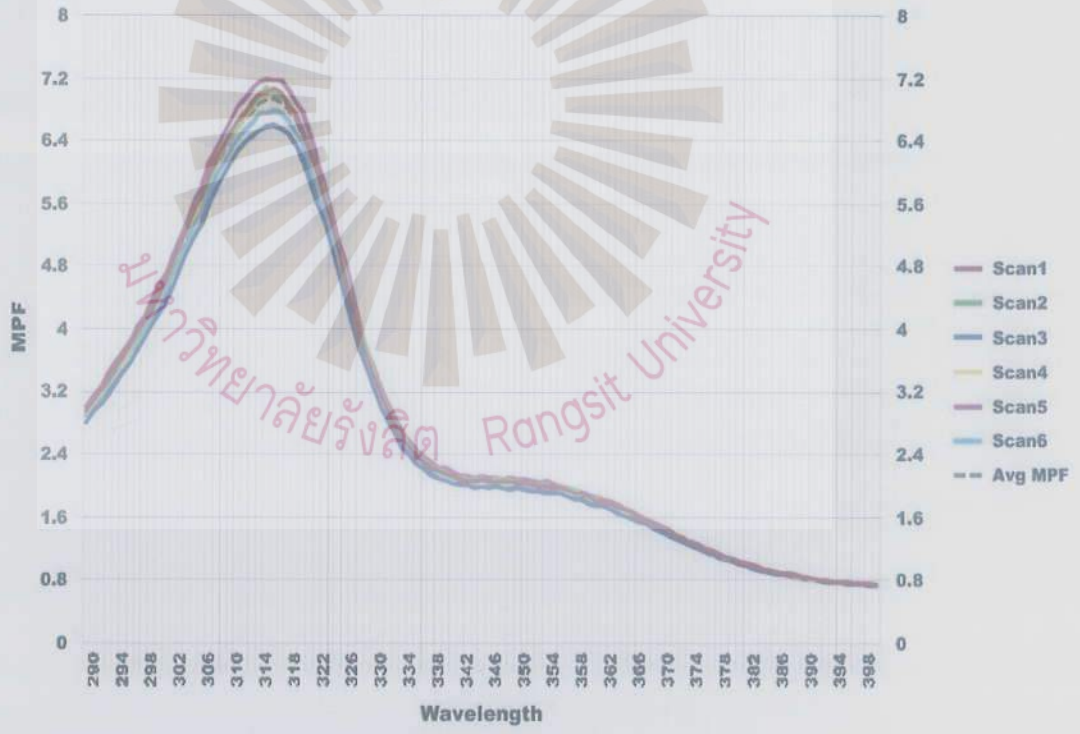
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160420-1
Time:	14:36:04	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160420-1.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	4.56	0.12
UVA/UVB ratio:	0.33	0.01
Boots Star Rating (2004):	1	Minimum
UVA I/UV Ratio:	0.36	Low
Max %T COV:	3.26	
Critical Wavelength:	352.5	0.83
Curve Area:	39.84	0.97
UVA PF:	1.94	0.04
Erythema UVA PF:	2.37	0.04

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



ภาพที่ 36 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (4%w/w) ครั้งที่ 1

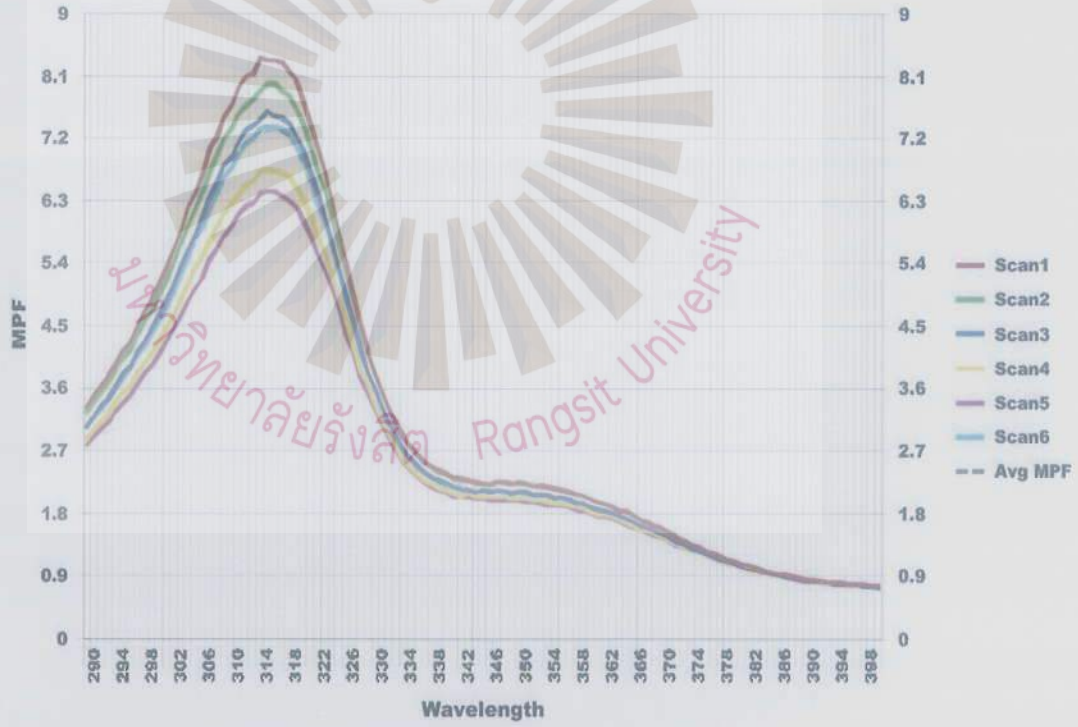
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160420-2
Time:	15:26:32	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160420-2.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	4.78	0.38
UVA/UVB ratio:	0.338	0.01
Boots Star Rating (2004):	1	Minimum
UVA I/UV Ratio:	0.37	Low
Max %T COV:	10.02	
Critical Wavelength:	353.2	1.23
Curve Area:	41.57	2.59
UVA PF:	2.02	0.11
Erythema UVA PF:	2.45	0.11

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 37 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (4%w/w) ครั้งที่ 2

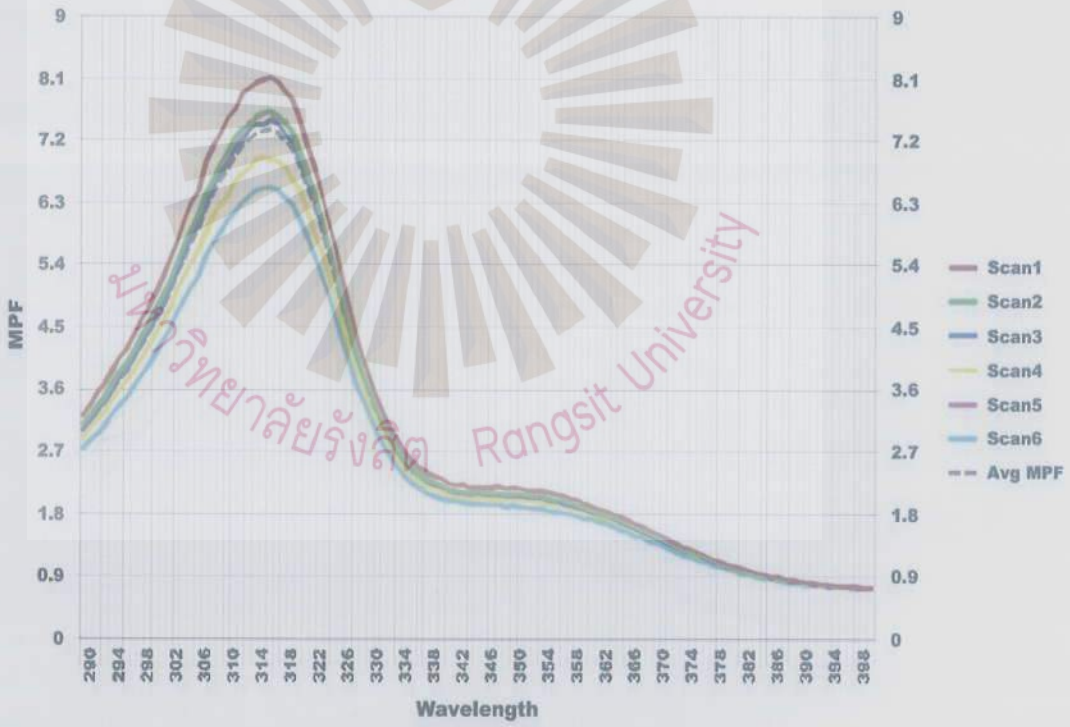
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160420-4
Time:	15:38:03	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160420-4.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	4.73	0.3
UVA/UVB ratio:	0.324	0.01
Boots Star Rating (2004):	1	Minimum
UVA I/UV Ratio:	0.34	Low
Max %T COV:	7.97	
Critical Wavelength:	351.6	1.18
Curve Area:	40.61	2.16
UVA PF:	1.98	0.09
Erythema UVA PF:	2.39	0.09

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



ภาพที่ 38 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (4%w/w) ครั้งที่ 3

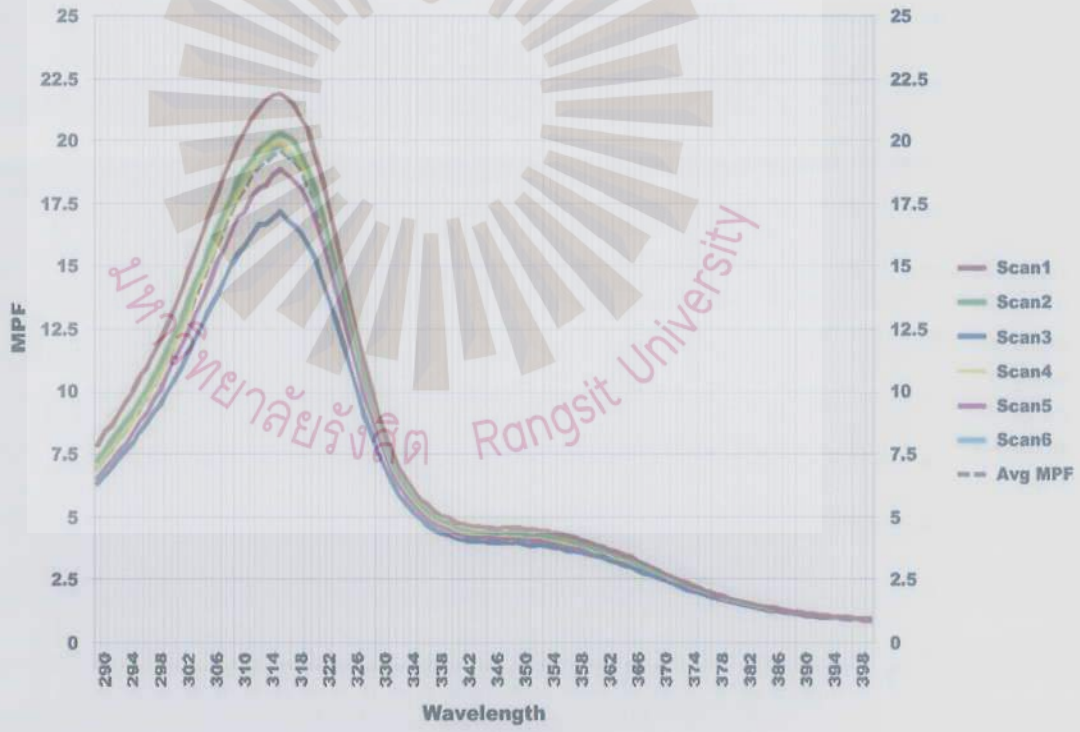
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160520-1
Time:	15:43:54	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160520-1.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	10.84	0.77
UVA/UVB ratio:	0.452	0
Boots Star Rating (2004):	2	Moderate
UVA I/UV Ratio:	0.54	Mediur
Max %T COV:	8.85	
Critical Wavelength:	364.2	0.78
Curve Area:	74.61	2.6
UVA PF:	4.28	0.24
Erythema UVA PF:	4.58	0.2

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 39 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (6%w/w) ครั้งที่ 1

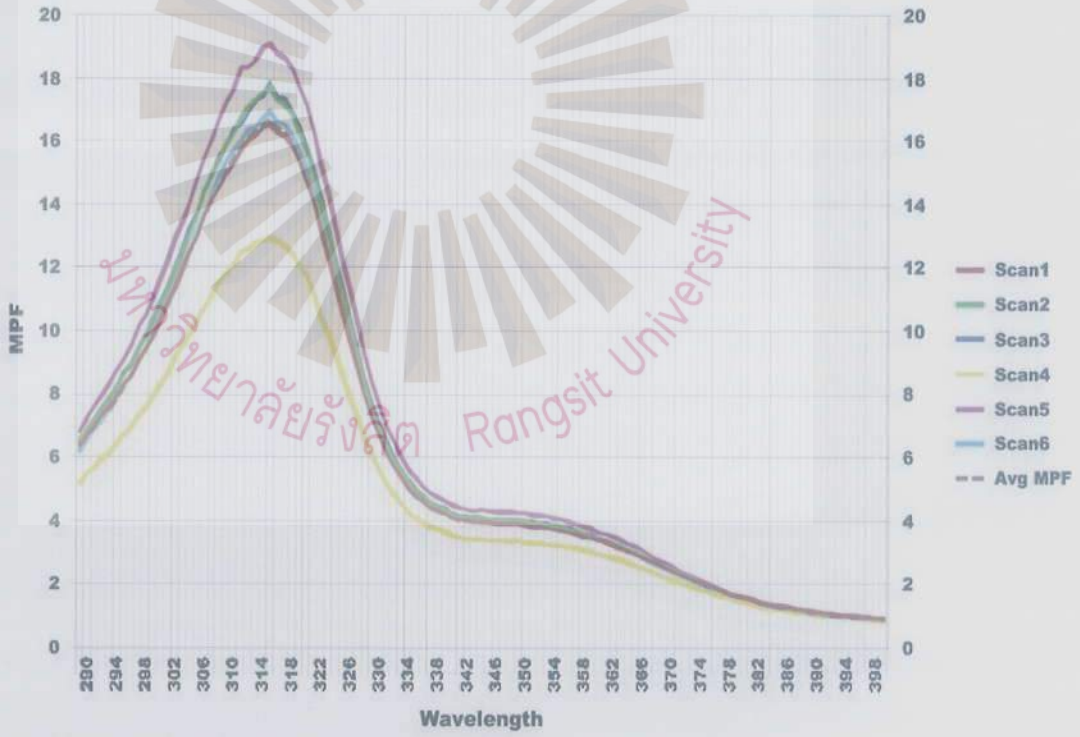
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160520-2
Time:	15:50:53	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160520-2.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	9.62	1.04
UVA/UVB ratio:	0.448	0.01
Boots Star Rating (2004):	2	Moderate
UVA I/UV Ratio:	0.54	Mediur
Max %T COV:	14.59	
Critical Wavelength:	363.9	0.64
Curve Area:	70.19	3.9
UVA PF:	3.86	0.34
Erythema UVA PF:	4.26	0.28

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



ภาพที่ 40 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (6%w/w) ครั้งที่ 2

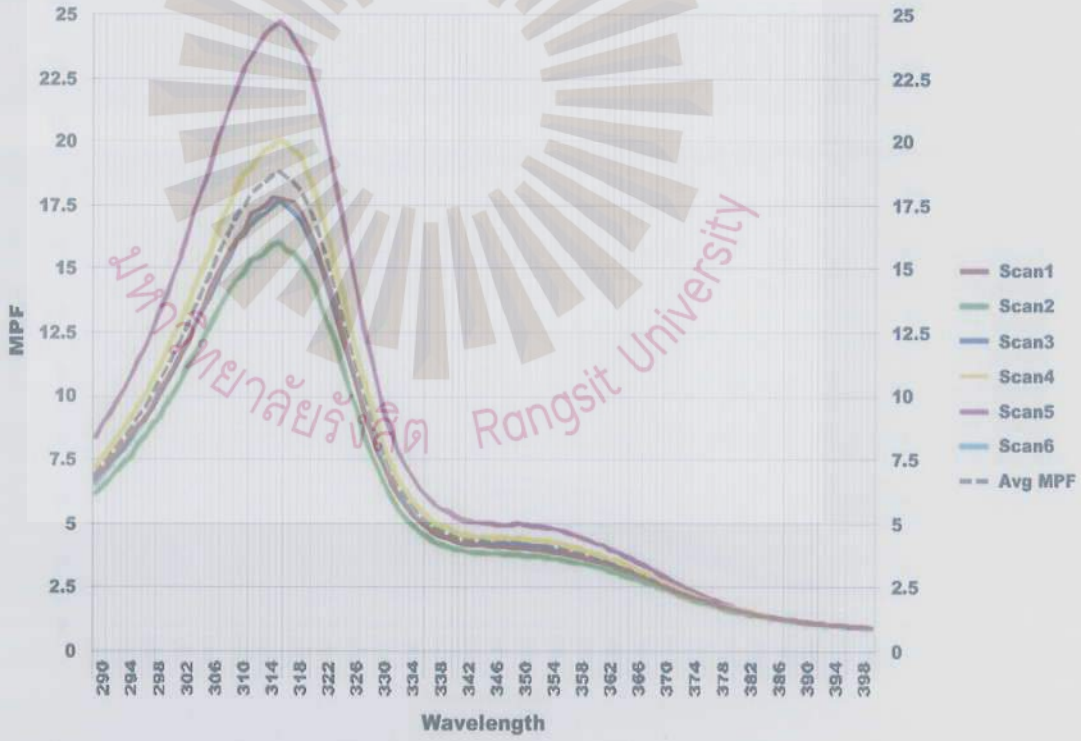
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160520-3
Time:	15:56:37	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160520-3.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	10.62	1.29
UVA/UVB ratio:	0.454	0.01
Boots Star Rating (2004):	2	Moderate
UVA I/UV Ratio:	0.54	Mediur
Max %T COV:	14.37	
Critical Wavelength:	364.5	0.72
Curve Area:	74.02	4.42
UVA PF:	4.23	0.48
Erythema UVA PF:	4.55	0.35

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



ภาพที่ 41 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (6%w/w) ครั้งที่ 3

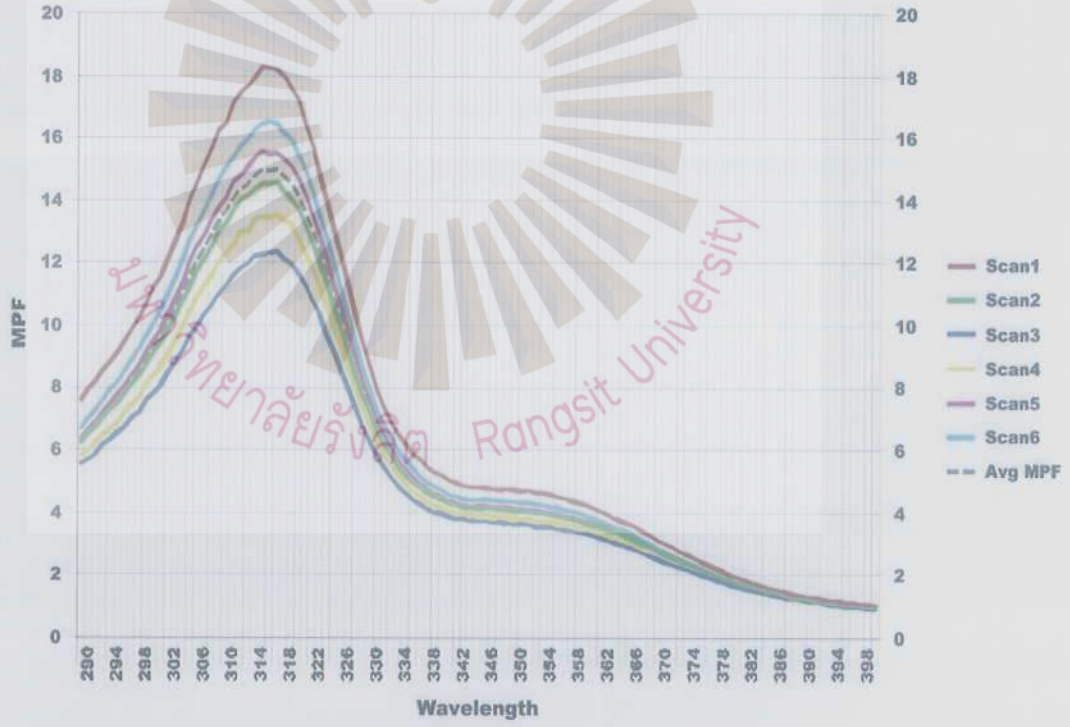
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160620-2
Time:	16:16:05	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160620-2.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	9.33	1.15
UVA/UVB ratio:	0.488	0.01
Boots Star Rating (2004):	2	Moderate
UVA I/UV Ratio:	0.59	Mediur
Max %T COV:	14.32	
Critical Wavelength:	366.9	0.8
Curve Area:	71.5	4.5
UVA PF:	3.94	0.4
Erythema UVA PF:	4.51	0.38

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



ภาพที่ 42 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (9%w/w) ครั้งที่ 1

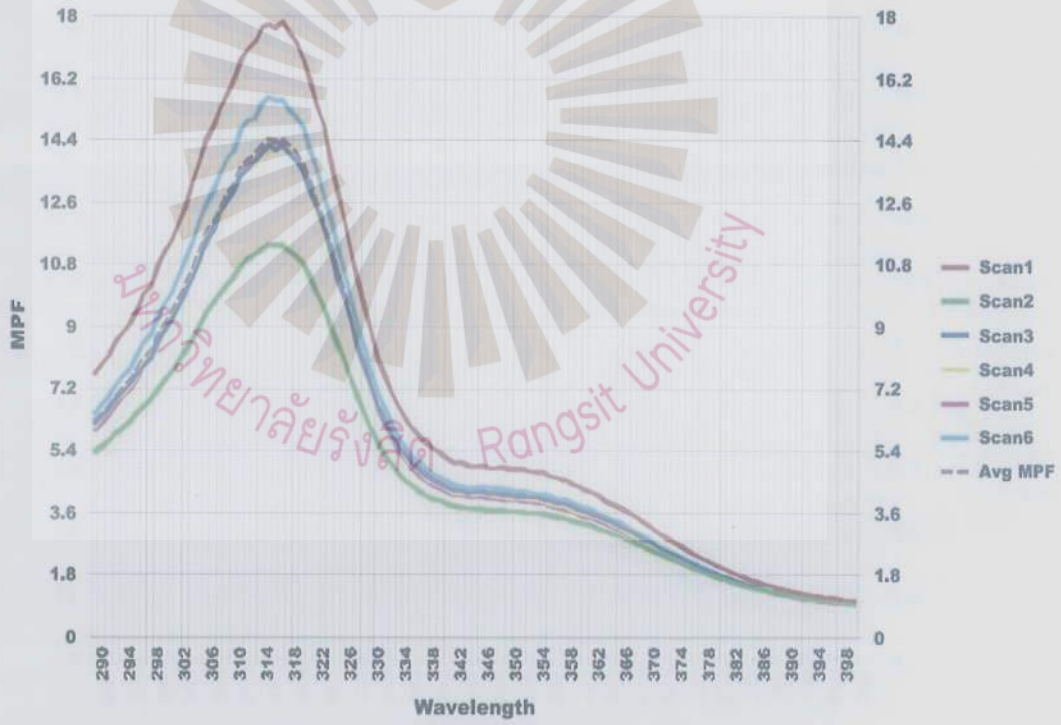
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160620-3
Time:	16:25:11	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160620-3.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	9.16	1.18
UVA/UVB ratio:	0.497	0.01
Boots Star Rating (2004):	2	Moderate
UVA I/UV Ratio:	0.6	Mediur
Max %T COV:	15.23	
Critical Wavelength:	367.7	0.79
Curve Area:	71.4	4.63
UVA PF:	3.93	0.41
Erythema UVA PF:	4.54	0.4

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



ภาพที่ 43 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (9%w/w) ครั้งที่ 2

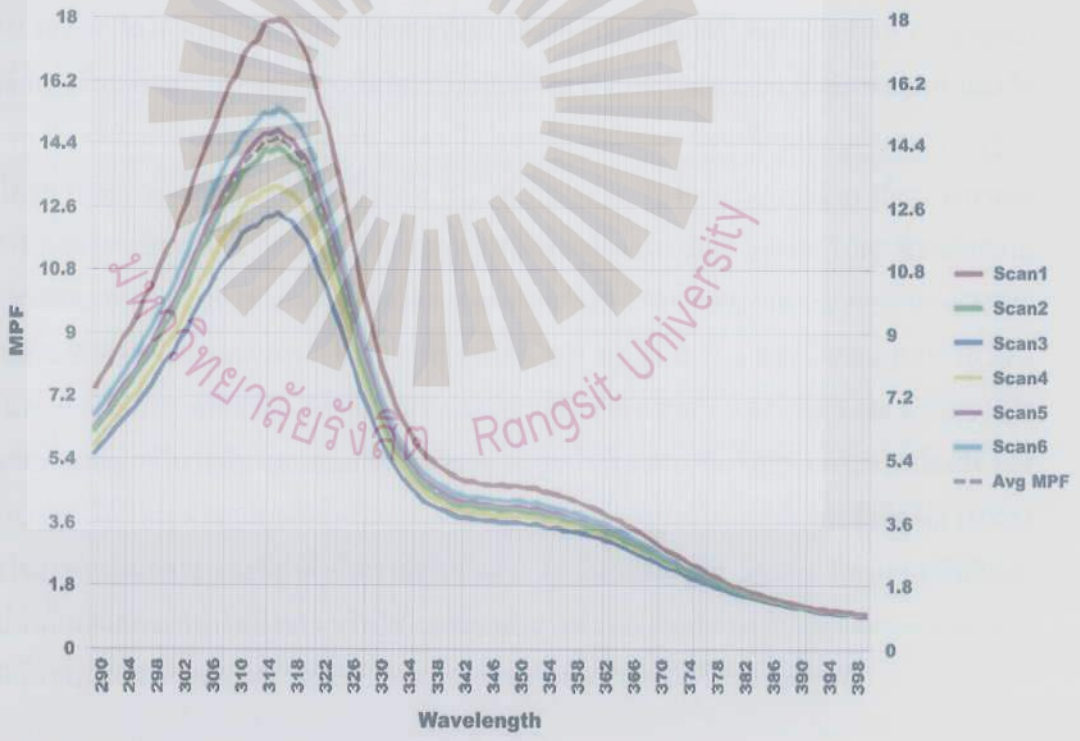
SPF-290 Graph Report

Date:	30/11/2563	Substrate:	PMMA	Sample Name:	CH-160620-4
Time:	16:52:54	Sample Prep.	1.3 mg/cm^2	Setup Filename:	autoscan.par
Operator:	klab	Num. of Scans:	6	Data Filename:	CH-160620-4.spf
Wavelength Range:	290 to 400	Num. of Ref.	1	Solar Filename:	sp40n20z.shr
Measurement Standard:	US FDA	Wavelength Step:	1 nm	Erythema Filename	erythema.ahr

	Value	STDV
SPF:	9.24	1.03
UVA/UVB ratio:	0.482	0.01
Boots Star Rating (2004):	2	Moderate
UVA I/UV Ratio:	0.58	Mediur
Max %T COV:	12.77	
Critical Wavelength:	366.6	0.78
Curve Area:	70.82	4.15
UVA PF:	3.86	0.38
Erythema UVA PF:	4.44	0.35

Parameter	Value
STDV:	Classical
Excluded Runs/Scans:	
Operating Mode:	Standard
Assay STDV:	N/A
Assay Skip Ref:	N/A
Time-Based Mode:	N/A
Time-Based Delay:	N/A

	Value	STDV
UPF:	N/A	N/A
UV-A Trans:	N/A	N/A
UV-B Trans:	N/A	N/A
%UV-A Block:	N/A	N/A
%UV-B Block:	N/A	N/A



มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 44 กราฟ SPF ของสารสกัดเปลือกมังคุด MGS-1 (9%w/w) ครั้งที่ 3

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด (MGS-1) โดยทำการเก็บมังคุดจาก 9 แหล่ง ได้แก่ จันทบุรี 3 แหล่ง ระยอง 2 แหล่ง ประจวบคีรีขันธ์ 2 แหล่ง พังงา และนครศรีธรรมราช จังหวัดละ 1 แหล่ง หมักผงเปลือกมังคุดแห้งด้วยเอทานอล 95% เป็นเวลา 7 วัน กรองสารสกัดและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator ทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักสารสกัดและปริมาณแอลฟาแมงโกสตินในแต่ละแหล่งด้วยเทคนิค HPLC โดยพบว่ามังคุดจากจังหวัด จันทบุรีทั้ง 3 แหล่ง ให้ปริมาณสารแอลฟาแมงโกสตินสูงที่สุด มีปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักจากสารสกัด (%w/w) ในช่วง 10.24 ± 0.06 ถึง 11.70 ± 0.01 จากนั้นแยกส่วนสารสกัด 600 มิลลิกรัมด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตรกราฟี ได้สารสกัด MGS-1 จำนวน 86.30 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 14.38 นำสารสกัดมาวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาแมงโกสตินด้วยเทคนิค HPLC พบสาร 65.80 ± 1.80 มิลลิกรัม (76.24 ± 2.08%) นำสารสกัดเปลือกมังคุดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยสารสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งที่ระดับ IC_{50} เท่ากับ 102.67 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารที่แยกได้จากการทำคอลัมน์โครมาโตรกราฟี (Top spots) มีฤทธิ์ยับยั้งที่ระดับ IC_{50} มากกว่า 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนของ Mid spots ซึ่งมีสารแอลฟาแมงโกสตินอยู่ มีฤทธิ์ยับยั้งที่ระดับ IC_{50} เท่ากับ 18.48 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งที่ระดับ IC_{50} เท่ากับ 38.46 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อนำสารสกัด MGS-1 มาเตรียมเป็นครีม (O/W) แล้วทดสอบคุณสมบัติการป้องกันรังสียูวี โดยวัดค่า SPF ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 2, 4, 6, 9 (%w/w) ด้วยเครื่อง Optometric SPF-290AS (Optometric coporation, USA) พร้อมด้วย WinSPF software พบว่า ค่า SPF มีค่าเท่ากับ 0.71 ± 0.01, 3.01 ± 0.22, 4.68 ± 0.27, 10.36 ± 1.07 และ 9.24 ± 0.97 ตามลำดับ โดยมีค่า UVA/UVB อยู่ในช่วง 0.226 ± 0.011 ถึง 0.489 ± 0.007 มีค่า Boot Star Rating อยู่ในระดับ minimum ถึง moderate จะพบว่าครีมสารสกัด MGS-1 สามารถป้องกันรังสียูวีบี (UVB) ได้ดีที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 6 ในขณะที่ความสามารถในการป้องกันรังสียูวีเอ (UVA) ยังอยู่ในระดับปานกลาง และมีค่าต่ำถ้าความเข้มข้นต่ำ จึงเห็นว่าสารสกัด MGS-1 มีคุณสมบัติที่ดีที่จะนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาว หรือใช้ในเครื่องสำอางทั่วไป ทำให้ยกระดับคุณภาพของผลิตภัณฑ์และมีต้นทุนของสารตั้งต้นที่ต่ำ เพราะเปลือกผลมังคุดมีราคาต่ำ และมีปริมาณมากทุกปี

ข้อเสนอแนะ

ในขั้นตอนต่อไป คือการพัฒนาสารสกัด MGS-1 ให้อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสม เช่นครีม เจล รวมถึงการศึกษาการซึมผ่านผิวแบบ *in vitro* และการศึกษาประสิทธิผลในการเพิ่มความขาวของผิว และทดสอบความระคายเคืองต่อผิวในอาสาสมัคร

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

เอกสารอ้างอิง

Ahmad, M., Yamin, B.M. & Lazim, A.M. (2013). A study on dispersion and characterization of - mangostin loaded pH sensitive microgel systems. *Chemistry Central Journal*. 7:85.

Chen, L.G., Yang, L.L., & Wang, C.C. (2008). Anti-inflammatory activity of mangostins from *Garcinia mangostana*. *Food and Chemical Toxicology, 46*(2), 688-693.

Chomnawang, M.T., Surassmo, S., Nukoolkarn, V.S., & Gritsanapan, W. (2007). Effect of *Garcinia mangostana* on inflammation caused by *Propionibacterium acnes*. *Fitoterapia. 78*, 401-408.

Ferrero, L., Pissavini, S., & Marguerite, Z.L. (2002). Sunscreen in vitro spectroscopy: Application to UVA protection assessment and correlation with in vivo persistent pigment darkening. *Int J Cosmetic Sci.* 24:63-70.

Fransworth, N.R., & Bunyapraphatsara, N. (1992). *Thai Medicinal Plants Recommended for Primary Health Care System*. Bangkok: Medicinal Plant Information Center.

Garrity, A.R., Morton, G.A., & Morton, J.C. (2004). Nutraceutical mangosteen composition. US Patent 6730333 B1 20040504.

Gopalakrishnan, G., Banumathi, B., & Suresh, G. (1997). Evaluation of the antifungal activity of natural xanthones from *Garcinia mangostana* and their synthetic derivatives. *Journal of Natural Product, 60*(5), 519-524.

Hassan, W.N.A.W., Zulkifli, R.M., Basar, N., Ahmad, F, & Yunus, M.A.C. (2015). Antioxidant and tyrosinase inhibition activities of - mangostin and *Garcinia mangostana* Linn. pericarp extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5*(9), 37-40.

Iinuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Asai, F., Kobayashi, Y., Shimano, R., & Miyauchi, K.I. (1996). Antibacterial activity of xanthones from guttiferaeous plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology. 48*(8), 861-865.

Jung, H.A., Su, B.N., Keller, W.J., Mehta, R.G., & Kinghorn, A.D. (2006). Antioxidant xanthones from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54*, 2077-2082.

Leiter, U., & Garbe, C. (2008). Epidermiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer the

role of sunlight. *Advance Experimental Medical Biology. 624*:89-103.

Liandhajani, Iwo, M.I., Sukrasno, Andreanus A. Soemardji, & Hanafi, M. (2013). Sunscreen Activity of -mangostin from the Pericarps of *Garcinia mangostana* Linn. *Journal of Applied Pharmaceutical Science, 3*(6), 70-73.

Liandhajani., Iwo, M.I., Sukrasno., Soemardi, A.A. & Hanafi, M. (2013). Sunscreen activity of -mangostin from pericarps of *Garcinia mangostana*. Linn. *Journal of applied Pharmaceutical Sciences. 3*(6):70-73.

Loo, A.E.K., & Huang, D. (2007). Assay-guided fractionation study of -amylase inhibitors from *Garcinia mangostana* pericarp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55*, 9805-9810.

Lowe, N.J., & Shaath, N.A. (1997). *Sunscreens: Development, Evaluation, and Regulatory Aspects.* 2nd ed. New York: Marcel Dekker.

Mariani A. H., Mohamad R. S., Azila A., Norhayati, M. N., & Ramlan, A. (2014). Malaysia Patent PI 2014000807.

Matsumoto, K., Akao, Y., Kobayashi, E., Ohguchi, K., Ito, T., Tanaka, T., Iinuma, M., & Nozawa, Y. (2004). Preferential target is mitochondria in alpha-mangostin-induced apoptosis in human leukemia HL60 cells. *Bioorganic Medicinal Chemistry, 12*(22), 5799-5806.

Matsumoto, K., Akao, Y., Ohguchi, K., Ito, T., Tanaka, T., Iinuma, M., & Nozawa, Y. (2005). Xanthones induce cell-cycle arrest and apoptosis in human colon cancer DLD-1 cells. *Bioorganic Medicinal Chemistry, 13*(21), 6064-6069.

Muchtaridi, M., Suryani, D., Qosim, W.A., Saptarini, N.M. (2016). Quantitative analysis of -mangostin in mangosteen (*Garcinia mangostana*. L.) pericarp extract from four district of west java by HPLC method. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 8*(8):232-236.

Nakatani, K., Yamakumi, T., Kondo, N., Arakawa, T., Oosawa, K., Shimura, S.,Inoue, H., & Oshizumi, Y. (2004). gamma-Mangostin inhibits inhibitor-kappaB kinase activity and decreases lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 gene expression in C6 rat glioma cells. *Molecular Pharmacology, 66*(3), 667-674.

Quispe, Y.N.G., Hwang, S.H., Wang, Z., & Lim, S.S. (2017). Screening of Peruvian medicinal plants for tyrosinase inhibitory properties: Identification of tyrosinase inhibitor in *Hypericum lericifolium* Juss. *Molecules, 22*, 402. doi:10.3390.

Saewan, N., & Jimtaisong, A. (2015). Natural product as photoprotection. *Journal of Cosmetics and Dermatology. 14*, 47-63.

Sakagami, Y., Iinuma, M., Piyasena, K.G.N.P, & Dhamaratne, H.R.W, (2005). Antibacterial activity of alpha-mangostin against vancomycin resistant Enterococci (VRE) and synergism with antibiotics. *Phytomedicine, 12*(3), 203-208.

Suksamran, S., Suwannapoch, N., Phakhodee, W., Thanuhiranlert, J., Ratanaukul, P., Chimnoi, N., & Suksamran, A. (2003). Antimycobacterial activity of prenylated xanthones from the fruits of *Garcinia mangostana*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 51*(7), 857-859.

Tadtong, S., Viriyaroj, A., Vorarat, S., Nimkulat, S., Suksamrarn, S. (2009). Antityrosinase and antibacterial activities of mangosteen pericarp extract. *Journal Health Research. 23*(2):99-102.

Tosa, H., Iinuma, M., Tanaka, T., Nozaki, H., Ikeda, S., Tsutsui, K., Tsutsui, K., Yamada, M., & Fujimori, S. (1997). Inhibitory activity of xanthone derivatives isolated from some Guttiferous plants against DNA topoisomerases I and II. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 45*(2), 418-420.

Valko, M., Leibfritz, D>, Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal Biochemical Cell Biology. 39*, 44-84.

Wan, A.S.C. (1973). *GARCINIA MAGOSTANA* High Resolution NMR Studies of Mangostin. *Planta Medica, 24*, 297-300.

Weecharangsan, W., Opanasopit, P., Sukma, M., Ngawhirunpat, T., Sotanaphun, U., & Siripong, P. (2006). Antioxidative and neuroprotective activities of extracts from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.). *Medical Principle and Practice, 15*(4), 281-287.

Xu, Y., Shao, Y., Voorhees, J.J., & Fisher, G.J. (2006). Oxidative inhibition of receptor-type protein tyrosine phosphatase kappa by ultraviolet irradiation activates epidermal growth factor receptor in human keratinocyte. *Journal of Biology Chemistry.* 281:27389-97.

Yoshikawa, M., Harada, E., Miki, A., Tsukamoto, K., Liang, S.Q., Yamahara, J., & Murakami, N. (1994). Antioxidant constituents from the fruit hulls of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) originating in Vietnam. *The Journal of Pharmaceutical Society of Japan. 144*, 129-133.

Yu, L., Zhao, M., Yang, B., Zhao, Q, & Jiang, Y. (2007). Phenolics from hull of *Garcinia mangostana* fruit and their antioxidant activities. *Food Chemistry, 104*, 176-180.

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 1ก เปลือกมังคุดที่ผ่านการอบแห้ง

ภาพที่ 2ก เครื่องบดเปลือกมังคุด

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 3ก หมักผงเปลือกมังคุดกับเอทานอล 95%

ภาพที่ 4ก สารสกัดเปลือกมังคุดเข้มข้นที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายออก

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 5ก Silica Gel Column Chromatography

ภาพที่ 6ก การแยกสารสกัดเปลือกมังคุดด้วย Silica Gel Column Chromatography

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 7ก สารสกัด MGS-1 ละลายในเมทานอล

ภาพที่ 8ก ครีมผสมสารสกัด MGS-1

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 9ก ตัวอย่างของครีมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0 (cream base), 2, 4, 6, 9 นำไปวัดค่า SPF

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

ภาพที่ 10ก เครื่องวัดค่า SPF Optometric SPF-290AS (Optometric coporation, USA) พร้อมด้วย WinSPF software

ประวัติผู้วิจัย

ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา (Prasan Tangyuenyongwatana, Ph.D.)

วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต

อายุ : 59 ปี

การศึกษา :

2005-2008 Ph.D. in Pharmaceutical Chemistry and Phytochemistry, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University.

2001-2004 M.S. in Organic Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Pittsburgh, Pittsburgh, USA

1987-1989 M.S. in Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Chulalongkorn University

1980-1985 B.Sc. in Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Prince of Songkla University

ประสบการณ์การทำงาน:

2004-present Lecturer, College of Oriental Medicine, Rangsit University

1995-1998 Lecturer, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Huachiew Chalermprakiet University

1985-1994 Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Prince of Songkla University