ชื่อโครงงาน “แผ่นฟิล์มต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุด (An antibacterial plastic film made from the mangosteen peel extract)”

นศภ. ฐิติมา ศรีสุวรรณ[1)], นศภ. ชัชวรรณ ธีญะวุฒิ[1)], ดร.ฉัตรชัย วัฒนาภิรมย์สกุล[*2)], ดร.ชมจรรย์ อำนวยกิจ[3)]

1) ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
2) ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ * Email : chatchai.w@psu.ac.th
3) ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทคัดย่อ

สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสารสำคัญคือ α-mangostin มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* อันเป็นสาเหตุของการเกิดฝีหนอง นอกจากนี้สารสกัดจากเปลือกมังคุดยังมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ได้ทำการสกัดเปลือกมังคุดและแยกด้วย column chromatography เพื่อให้ได้สารสกัดที่มี α-mangostin ในปริมาณสูงโดยทำการแยก 2 ครั้ง ได้สารสกัดมา 2 ชุด สารสกัดที่ได้มีปริมาณ α-mangostin 74.43 ± 8.33 % w/w และ 71.55 ± 0.79 % w/w มีค่า MIC ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* เท่ากับ 1.95 µg/ml และผลของการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดโดยวิธี DPPH assay พบว่า สารสกัดที่ได้มีค่า IC_{50} เท่ากับ 72.38 µg/ml และ 50.65 µg/ml ศึกษาผลต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มโดยใช้ Agar diffusion method พบว่าแผ่นฟิล์มมีผลต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในการประเมินความระคายเคืองต่อผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร 60 คน พบว่าเกิดการระคายเคือง 22 คน

คำสำคัญ

Antibacterial plastic film, Mangosteen peel extract, *Garcinia mangostana*

บทนำ

1. ความเป็นมาและเหตุผล

มังคุดเป็นผลไม้ที่เป็นพืชเศรษฐกิจของภาคใต้และภาคตะวันออก โดยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* L. อยู่ในวงศ์ Guttiferae มีสารสำคัญคือ α-mangostin ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* อันเป็นสาเหตุของการเกิดฝีหนอง (Mahabusarakum *et al*., 1983) นอกจากนี้สารสกัดจากเปลือกมังคุดยังมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน จึงมีศักยภาพที่จะพัฒนามาใช้ทางเครื่องสำอางในรูปแบบต่างๆ

เนื่องจากในปัจจุบันมีการนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดมาพัฒนาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในทางเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย โดยส่วนใหญ่จะเป็นรูปแบบครีมบำรุงผิว สบู่ก้อน สบู่เหลว อันต้องการผลจากการเป็นฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ทางผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะพัฒนาแผ่นฟิล์มต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุดที่มี α-mangostin ในปริมาณสูง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณลักษณะที่อ่อนโยน ถนอมผิว ป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียซึ่ง สอดคล้องกับตำรายาสมุนไพรไทย นำเอาเปลือกมังคุดตากแห้งไปฝนกับน้ำปูนใส ใช้ทาบริเวณผิวหนังพุพอง แผลเน่าเปื่อย (บวร, 2518 ; พระเทพวิมลโมลี, 2524; หมอชีวกโกมารทัจจ์, 2517)

มีการทดสอบความเป็นพิษของสาร α-mangostin โดยฉีดในหนูขนาด 200 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1

กิโลกรัม สารนี้จะไปลดปริมาณเอนไซม์ glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) และ glutamic pyruvic transaminase (SGPT) หลังการฉีดสาร 12 ชั่วโมง แต่โปรตีนในตับมีค่าไม่เปลี่ยนแปลง (Sornprasit และคณะ, 1987) อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ภายนอกต้องคำนึงถึงการระคายเคืองต่อผิวหนัง ดังนั้นการนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทดสอบใช้จริงกับอาสาสมัครเพื่อประเมินการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์ที่ได้ น่าจะเป็นประโยชน์ที่จะสามารถนำมาปรับปรุงผลิตภัณฑ์ที่ได้เพื่อสู่ท้องตลาดได้อย่างแท้จริงต่อไป

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อเตรียมแผ่นฟิล์มต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดจากเปลือกมังคุดให้มีลักษณะสวยงาม น่าใช้

2.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในแผ่นฟิล์มในการเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรีย

2.3 ศึกษาผลของการเป็นสารต้านเชื้อออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในแผ่นฟิล์มต่างๆ

2.4 ศึกษาผลการต้านเชื้อแบคทีเรียหลังการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์

2.5 เพื่อประเมินความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์

วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

1. วัสดุอุปกรณ์

เครื่องแก้วสำหรับทำการทดลอง, 96-well microplate, pipette, micropipette, pipette tip, eppendrof tube, forceps, funnel, กระดาษกรอง, แผ่น TLC สำเร็จรูป, column เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 นิ้ว, microplate reader, reverse phase HPLC, rotary evaporator, autoclave, incubator, vernier caliper, sonicator, แผ่น adhesive Fixomull® stretch

2. สารเคมี

ethanol, petroleum ether, ethyl acetate, methanol, silica gel, dimethylsulfoxide (DMSO), absolute ethanol, butylhydroxytoluene (BHT), 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl-DPPH, alamar blue, 0.85% NaCl, Mueller hinton broth (MHB), Mueller hinton agar (MHA), pectin, chitosan, lactic acid, propylene glycol

วิธีการทดลอง

1. การสกัดสารจากเปลือกมังคุดให้ได้สารสำคัญในการออกฤทธิ์สูง

แช่เปลือกมังคุดแห้งปริมาณ 2 กก.ที่ผ่านการบดแล้วด้วย ethanol เป็นเวลา 7 วัน นำสารละลายที่ได้จากการแช่มากรองและระเหยด้วย rotary evaporator นำกากมาสกัดซ้ำ 3 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้มาแยกโดยใช้ column chromatography โดยทำการแยก 2 ครั้ง ได้สารสกัดมา 2 ชุด

2. วิธีการสกัดแยกสารด้วย Column chromatography

2.1 ชั่งสารสกัดเปลือกมังคุดที่สกัดด้วย ethanol จำนวน 30 กรัม ชั่ง silica gel จำนวน 400 กรัม

2.2 pack column แบบเปียก โดยนำ silica gel มาผสมกับ mobile phase ที่ประกอบด้วย petroleum ether และ ethyl acetate อัตราส่วน 7:3 ผสมให้เข้ากันแล้วเทลงใน column เคาะ column เพื่อปรับผิวหน้าของ silica gel ให้เรียบ

2.3 เตรียม sample แบบแห้ง โดยละลายสารสกัดด้วย ethanolเล็กน้อย แล้วบดผสมกับ silica gel จำนวน 30 กรัม จนได้สารลักษณะผงแห้งโปรยสารสกัดที่เตรียมได้ลงบนผิวหน้าของ silica gel ปรับผิวหน้าให้เรียบเสมอกัน

2.4 ชะสารใน column ด้วย mobile phase แล้วเก็บ fraction ไว้ ครั้งละ 50 ml นำแต่ละ fraction ไประเหยตัวทำละลายออก โดยใช้ rotary evaporator

2.5 นำแต่ละ fraction ไปทำ TLC แล้วรวม fraction ที่มีลักษณะ TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน โดยมีสารมาตรฐาน α-mangostin เปรียบเทียบแล้วนำ fraction ที่รวมกันแล้วไประเหยตัวทำละลายออกให้หมด

3. การวิเคราะห์หาปริมาณ α-mangostin โดยใช้ HPLC

วิเคราะห์ด้วย reverse phase HPLC โดย คุณสุกิต ยอดหนู

3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานของ α-mangostin ให้มีความเข้มข้นประมาณ 1, 5, 10, 15, 20 µg/ml แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC

3.2 สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นที่แท้จริงของ α-mangostin กับ peak area

3.3 เตรียมสารละลายของสารสกัดให้มีความเข้มข้น 5, 10, 15 µg/ml แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC

3.4 คำนวณหาประมาณ α-mangostin ของสารสกัดโดยเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐาน

4. การศึกษาผลของการเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดโดยวิธี Broth microdilution method

4.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ

Staphylococcus aureus ATCC 25923

4.2 สารสกัดที่นำมาทดสอบ

สารสกัดเปลือกมังคุดที่ผ่านการ pre-purified ด้วย column chromatography ซึ่งปรากฏลักษณะ TLC เฉพาะ α-mangostin

4.3 วิธี การทดสอบหาค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) (Lorian, 1996)

4.3.1 วิธีการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทดสอบ

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Mueller hinton agar (MHA) ที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้ loop เขี่ยเชื้อมา 2-3 โคโลนี ใส่ใน 0.85% NaCl ไร้เชื้อ และปรับความขุ่น โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 625 nm ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.08-0.1จากนั้นเจือจางต่อด้วยอาหาร Mueller hinton broth (MHB) ในอัตราส่วน 1: 100 เท่า จากนั้น ผสม alamar blue 10 µl ต่อเชื้อจุลินทรีย์ 1000 µl

4.3.2 วิธีการเตรียมสารสกัดและยาต้านจุลินทรีย์

เตรียมสารสกัดความเข้มข้นที่ต้องการ เจือจางด้วยอาหารเหลว MHB แบบลำดับสอง (two fold serial dilution) โดยเติมอาหารเหลวใน microplate หลุมละ 100 µl ใส่สารสกัด 100 µl ในหลุมแรก ผสมแล้วดูดมาใส่หลุมถัดไป 100 µl จะได้ความเข้มข้นที่ลดลง 2 เท่า โดยเตรียมทั้งหมด 9 ความเข้มข้น ซึ่งจะมีความเข้มข้น 125–0.5 µg/ml

เตรียมกลุ่มควบคุมตัวอย่างละ 3 หลุม ดังนี้

growth control : อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับเชื้อ

negative control : ตัวทำละลาย+อาหารเลี้ยงเชื้อ+เชื้อจุลินทรีย์

sterile control : ใส่เฉพาะ media

การเตรียมความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (positive control) เตรียมเช่นเดียวกับสารสกัดโดยใช้

tetracycline ความเข้มข้น 16-0.06 µg/ml

povidone iodine ความเข้มข้น 2000–0.98 µg/ml

4.3.3 วิธีการทดสอบ

ดูดเชื้อที่ใช้ทดสอบใส่ใน well หลุมละ 100 µl incubate ที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงสังเกตความขุ่นและสีของเชื้อ หากสารสกัดและยาที่นำมาทดสอบสามารถยับยั้งเชื้อได้ เชื้อจะมีสีน้ำเงิน ถ้ายับยั้งไม่ได้จะมีสีชมพู อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้เป็นค่า MIC

5. การศึกษาผลของการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัด โดยวิธี 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) assay

5.1 การเตรียมสาร

5.1.1 สารละลาย DPPH ใน ethanol

เตรียมสารละลาย DPPH ทันทีก่อนนำมาใช้ ให้มีความเข้มข้น 6×10^{-5} M จำนวน 50 ml โดยการชั่ง DPPH 1.2 mg มาละลายและปรับปริมาตรด้วย absolute ethanol แล้วจึงเก็บในภาชนะปิดสนิทป้องกันแสง

5.1.2 สารละลายมาตรฐาน

สารมาตรฐาน คือ BHT (Butylhydroxytoluene)

เตรียมให้มีความเข้มข้น 2, 20, 100 และ 200 µg/ml (final concentration หลังการเติม DPPH เท่ากับ 1, 10, 50 และ 100 µg/ml) โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

5.1.3 สารละลายตัวอย่าง

เตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุดให้มีความเข้มข้น 2, 20, 100 และ 200 µg/ml (final concentration หลังการเติม DPPH เท่ากับ 1, 10, 50 และ 100 µg/ml) โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

5.2 วิธีการทดสอบ

5.21 ปิเปตสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานใส่ใน 96 wells microplate หลุมละ 100 µl

5.22 ปิเปตสารละลาย DPPH เติมลงในสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน หลุมละ 100 µl

5.23 เตรียมหลุมที่เป็น control ซึ่งประกอบด้วย absolute ethanol 100 µl และ สารละลาย DPPH 100 µl

5.24 เตรียมหลุมที่เป็น blank โดย ปิเปต สารสกัดแต่ละความเข้มข้น และ absolute ethanol อย่างละ 100 µl ส่วน blank ของ control ใช้ absolute ethanol 200 µl (ไม่มีการเติมสารละลาย DPPH)

5.25 หลังการผสม วางทิ้งไว้ 30 นาที

5.26 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm โดยใช้เครื่อง microplate reader

5.3 การคำนวณหา % inhibition

$\%inhibition = [(OD_{control}-OD_{sample})/OD_{control}] \times 100$

6. การเตรียมแผ่นฟิล์มจากสารสกัดเปลือกมังคุด

6.1 เตรียมสารละลายผสมของ pectin 0.4% w/v และ chitosan 1% w/v โดยค่อยๆโปรย ลงใน 0.5 % lactic acid 250 ml โดยปั่นโดยใช้ magnetic stirrer ตลอดเวลา จนกระทั่ง pectin ไม่เป็นก้อน สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นโปรย chitosan ลงไป ปั่นต่อไป สารละลายจะมีลักษณะข้นขึ้น ปั่นจนกระทั่งข้นจนไม่สามารถปั่นต่อไปได้ วางสารละลายที่ได้ทิ้งไว้ 1 คืน นำไป sonicate เพื่อกำจัดฟองออก

6.2 ละลายสารสกัดจากเปลือกมังคุด 500 mg ด้วย propylene glycol 25 ml แล้วนำไปผสมกับสารละลายในข้อ 6.1 ปริมาตร 225 ml ผสมให้เข้ากัน

6.3 นำสารละลายที่ได้เทใส่ถาดแก้วขนาด 25 x 30 cm เกลี่ยให้เรียบเสมอกัน แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิประมาณ 45°C เป็นเวลาประมาณ 8-10 ชั่วโมง จนแผ่นฟิล์มแห้งและใส นำแผ่นฟิล์มที่ได้มาตัดให้มีขนาด 2 x 3 cm แล้วนำไปแปะบนแผ่น Fixomull® stretch ขนาด 4 x 5 cm

7. การศึกษาผลของการเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มโดยวิธี Agar diffusion (Lorian, 1996)

7.1 วิธีการเตรียมแผ่นฟิล์มที่จะทดสอบ

เตรียมแผ่นฟิล์มต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุดโดยตัดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm โดยศึกษาผลการต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มโดยเตรียมแผ่นฟิล์มที่ต่างกัน 3 ความเข้มข้น(ความเข้มข้นคิดจากสารละลายเริ่มต้น) ได้แก่ 200 µg/ml, 1000 µg/ml, และ 2000 µg/ml positive control คือ discมาตรฐานของยา tetracycline 30 µg/disc

7.2 วิธีการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทดสอบ

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* บนอาหาร Mueller hinton agar (MHA) ที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพาะเลี้ยง ใช้ loop เขี่ยเชื้อมา 2-3 โคโลนี ใส่ใน 0.85% NaCl ไร้เชื้อ และปรับความขุ่น โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ 625 nm ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.08-0.1

7.3 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

ใช้ cotton swab ไร้เชื้อ จุ่มเชื้อจากมาป้ายให้ทั่วผิววุ้นอาหาร MHA จากนั้นวาง disc ของแผ่นฟิล์มและยา tetracycline ลงบนผิวหน้า กดให้ disc แนบกับผิววุ้นจากนั้นนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

7.4 การอ่านผล

สังเกตการณ์เกิดวงใสรอบแผ่น disc และวัดขนาดวงใสด้วย vernier caliper

8. การทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร

ทำโดยวิธี Patch test (Mahdavi *et al*., 2006) ดังนี้

8.1 คัดเลือกผู้รับการทดสอบ โดยเลือกจากอาสาสมัครชายและหญิง อายุ 18-30 ปี ที่มีสุขภาพดี จำนวน 60 คน

8.2 นำแผ่นฟิล์มแปะบริเวณผิวหนังส่วนท้องแขนด้านบนเป็นพื้นที่ 3 x 3 ตารางเซนติเมตรวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 2 วัน (48 ชั่วโมง) โดยแปะในบริเวณเดียวกันตลอดระยะเวลาที่ทำการทดสอบ ประเมินการแพ้ 4 ครั้งคือ ณ เวลาที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง หลังจากเริ่มแปะแผ่นฟิล์ม

8.3 ให้คะแนนเพื่อใช้ประเมินอาการแพ้ในตาม Guidance for Industry Skin Irritation and Sensitization Testing of Generic Transdermal Products protocol ตามลักษณะอาการทางคลินิกที่เกิดขึ้นว่าเป็น ผื่นแดง (erythema), บวม (papules) และ ถุงน้ำ (vesicles)

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ α-mangostin โดยใช้ HPLC

ปริมาณ α-mangostin ให้ผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ α-mangostin

Set	Conc (µg/ml)	Peak area	%Content (w/w)	Average
1	5.2	368510.7 ±723.95	83.93	74.43±8.33
	10.4	637768 ±25335.34	70.88	
	15.6	934204.7 ±24639.99	68.47	
2	5.2	309084.3 ±13666.67	71.17	71.55±0.79
	10.4	652416.7 ±27710.7	72.45	
	15.6	969881.7 ±49311.02	71.02	

2. ผลของการเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดโดยวิธี Broth microdilution method

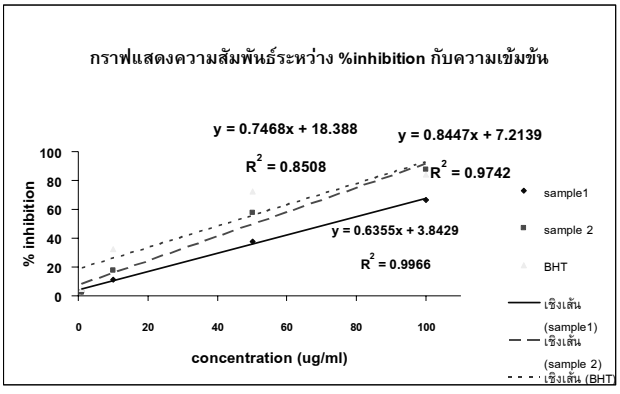
จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth microdilution method สามารถหาค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) ซึ่งแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) โดยวิธี Broth microdilution method

สารที่ใช้ทดสอบ	MIC (µg/ml)			
	1	2	3	เฉลี่ย
สารสกัดเปลือกมังคุด 1	1.95	1.95	1.95	1.95
สารสกัดเปลือกมังคุด 2	1.95	1.95	1.95	1.95
Tetracycline	0.50	0.50	0.50	0.50
Povidone iodine	2000	2000	2000	2000

3. ผลของการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดโดยวิธี 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) assay

นำค่า %inhibition ของสารสกัดมาเขียนกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นได้ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกมังคุด

คำนวณค่า IC_{50} จากสมการ ได้ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดและสารมาตรฐาน BHT

สารที่ใช้ทดสอบ	IC_{50} (µg/ml)
สารสกัดเปลือกมังคุด 1	72.38
สารสกัดเปลือกมังคุด 2	50.65
BHT	42.33

4. ผลของการเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มโดยวิธี Agar diffusion

แผ่นฟิล์มมีผลต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยปรากฏ Inhibition zone แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลของการเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มโดยวิธี Agar diffusion Method

ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ	Inhibition zone (mm)			
	1	2	3	เฉลี่ย
แผ่นฟิล์ม (200 µg/ml)	6.35	6.40	6.40	6.38±0.03
แผ่นฟิล์ม (1000 µg/ml)	6.85	6.60	6.85	6.77±0.14
แผ่นฟิล์ม (2000 µg/ml)	7.30	7.50	7.60	7.47±0.15
Tetracycline	26.95	26.85	27.00	26.93±0.08

5. ผลการทดสอบการระคายเคืองในอาสาสมัคร

จากการทดสอบการระคายเคืองโดยวิธี Patch test (โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดเท่ากับ 2000 µg/ml) พบว่า ในอาสาสมัคร 60 คน พบผู้ที่มีการระคายเคือง 22 คน โดยมีอาการเป็นผื่นคันแดง (erythema) เล็กน้อยจำนวน 16 คน และอีก 6 คน มีผื่นคันแดงและบวม (papules) ไม่มีอาสาสมัครที่เกิดตุ่มน้ำใส (vesicles) โดยอาการคันหรือระคายเคืองเกิดภายหลังจากการแปะแผ่นฟิล์มเป็นระยะเวลา 12-24 ชั่วโมง

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

การสกัดเปลือกมังคุดด้วย ethanol แล้วนำมาแยกโดยใช้ column chromatography โดยใช้ mobile phase ที่ประกอบด้วย petroleum ether และ ethyl acetate อัตราส่วน 7:3 และใช้ silica gel เป็น stationary phase ให้สารสกัดที่มีปริมาณสารสำคัญ α-mangostin ในปริมาณสูง วิเคราะห์หาปริมาณ α-mangostin ได้ 74.43 ± 8.33 % w/w และ 71.55 ± 0.79 % w/w เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth microdilution method พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชุดมีค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* เท่ากับ 1.95 µg/ml ซึ่งมีฤทธิ์ที่ดีในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใช้ภายนอก และผลของการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัด โดยวิธี 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) assay พบว่า สารสกัดที่ได้มีค่า IC_{50} เท่ากับ 72.38 µg/ml และ 50.65 µg/ml ซึ่งฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดยังด้อยกว่าสารมาตรฐาน BHT

การเตรียมผลิตภัณฑ์แผ่นฟิล์มต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุดจาก สารละลายผสม ระหว่าง pectin 0.4% w/v และ chitosan 1% w/v ในสารละลาย 0.5% lactic acid ผสมกับสารละลายของสารสกัดเปลือกมังคุดที่ใช้ propylene glycol เป็นตัวทำละลาย ศึกษาผลต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้โดยใช้ Agar diffusion method โดยเตรียมแผ่นฟิล์มที่นำมาทดสอบด้วยกัน 3 ความเข้มข้นคือ 200 µg/ml, 1000 µg/ml และ 2000 µg/ml พบว่าแผ่นฟิล์มทั้ง 3 ความเข้มข้นมีผลต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยปรากฏ Inhibition zone เท่ากับ 6.38 ± 0.03 mm, 6.77 ± 0.14 mm และ 7.47 ± 0.15 mm ตามลำดับ โดยฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้เตรียมแผ่นฟิล์มเพิ่มขึ้น จึง

เลือกเตรียมแผ่นฟิล์มที่ใช้สารสกัดเข้มข้นสูงสุดคือ 2000 µg/ml

การทดสอบความระคายเคืองโดยวิธี Patch test พบว่า ในอาสาสมัคร 60 คน พบผู้ที่มีการระคายเคือง ถึง 22 คน ซึ่งคิดเป็น 36.66 % ซึ่งเป็นค่าที่สูงมาก ซึ่งความระคายเคืองที่เกิดขึ้นในอาสาสมัครอาจเกิดจากการแพ้ หรือการระคายเคืองจากสารสกัดเปลือกมังคุดเอง หรืออาจเกิดจากส่วนประกอบในการเตรียมแผ่นฟิล์ม ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาต่อไป ซึ่งหากการระคายเคืองเกิดจากสารสกัดเปลือกมังคุด จะเป็นข้อมูลสำคัญในการระมัดระวังในการนำสารสกัดเปลือกมังคุดมาใช้ภายนอก

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย เรื่อง แผ่นฟิล์มต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุดสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์เป็นอย่างดีเนื่องจากการได้รับความร่วมมือและการสนับสนุนจากภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ในการเอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ ขอขอบคุณ คุณสุกิต ยอดหนู ในการวิเคราะห์หาปริมาณ α-mangostin นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงงานอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี ประจำปี 2549 ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

บวร เอี่ยมสมบูรณ์. ดงไม้. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์รุ่งเรืองธรรม, 2518, หน้า 247.

พระเทพวิมลโมลี. ตำรายาพื้นบ้าน. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มงกุฎราชวิทยาลัย, 2524, หน้า 80.

หมอชีวกโกมารทัจจ์. ตำรายาวิเศษ. กรุงเทพฯ: ชัยมงคลการพิมพ์, 2517, หน้า 27.

Lorian, v. Antibiotics in laboratory medicine 4 th ed. 1996, 14-32.

Mahabusarakum, W.; Phongpaichit, S.; Jansakul, C.; Wiriyachitra, P. Screening of antibacterial activity of chemicals from *Garcinia mangostana*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 1983, 5, 337-339.

Mahdavi, H.; Kermani, Z.; Faghihi, G.; Asilian, A.; Hamishehkar, H.; Jamshidi, A. Preparation and evaluation of cosmetic patches containing lactic and glycolic acids. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, 2006, 72, 432-436.

Sornprasit, A.; Sripiyarattanakul, K.; Chuay-Yim, P,; Tanakittithum, P. Preliminary toxicological study of mangostin. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 1987, 9, 51-57.