

คุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และ การพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้นแบบจากเปลือกมังคุด

จิรานุช มิ่งเมือง วิไลลักษณ์ ชื่นนางสี สิริกาญจน์ ธนอริย์โรจน์ พรศรี ประเสริฐวารี เสาวณีย์ ทองดี
อุบลพรรณ คงสา และ ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง
สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ มังคุด (*Garcinia mangostana* L. วงศ์ Clusiaceae) มีสารสำคัญ คือ α -mangostin มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และลดการอักเสบ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ และพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากสารสกัด เปลือกมังคุด โดยนำตัวอย่างเปลือกมังคุดแห้งมาประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ ตามวิธีในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย พ.ศ. 2564 และวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ด้วยวิธี HPLC-PDA ที่พัฒนาขึ้น การเตรียมสารสกัดมาตรฐาน (GM2) โดยสกัดเปลือกมังคุดด้วย methanol แล้วนำมาสกัดแยกส่วนด้วย ethyl acetate วิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในสารสกัด การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง ได้แก่ Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Methicillin Susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Staphylococcus epidermis* และ *Propionic acnes* ด้วยวิธี disc diffusion แล้วพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบชนิด emulsion gel และ ointment ที่มีความเข้มข้นของ GM2 ร้อยละ 1 และ 2 (โดยน้ำหนัก) และทดสอบความคงตัวตามแนวทาง ICH Q1A(R2) พบว่าเปลือกมังคุดมีปริมาณความชื้น แอ้วรวม แอ้วที่ไม่ละลายในกรด สารสกัดน้ำ และสารสกัดเอทานอล (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD) ร้อยละ 8.74 ± 1.51 , 2.77 ± 0.20 , 0.10 ± 0.00 , 18.13 ± 2.08 และ 25.91 ± 4.85 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ ปริมาณ α -mangostin ในวัตถุดิบและสารสกัด เท่ากับ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD) ร้อยละ 4.78 ± 0.86 และ 16.14 ± 2.26 (โดยน้ำหนัก) พบว่าสารสกัด GM2 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ โดยมีปริมาณ α -mangostin ร้อยละ 52.0 (โดยน้ำหนัก) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ emulsion gel มีความคงตัวดีกว่า emulsion ointment โดยมีปริมาณ α -mangostin มากกว่าร้อยละ 80 หลังเก็บ 6 เดือน ภายใต้สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40 ± 2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นศักยภาพของสารสกัดเปลือกมังคุดมาตรฐานในการพัฒนา เป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณภาพ สามารถใช้เป็นต้นแบบสำหรับการพัฒนาเชิงอุตสาหกรรม และเป็นแนวทาง ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรต่อไป

คำสำคัญ: α -mangostin, คุณสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์, *Garcinia mangostana* L., ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

Corresponding author E-mail: jiranuch.m@dmsc.mail.go.th

Received: 5 April 2025

Revised: 11 March 2026

Accepted: 17 March 2026

บทนำ

มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) เป็นไม้ต้นในวงศ์ Clusiaceae⁽¹⁾ มีลำต้นแข็งแรงสูง 7-30 เมตร ทรงพุ่มกลมกิ่งแตกเป็นรัศมีจากลำต้นหลักใบเป็นใบเดี่ยวรูปรีหรือไข่ มีลักษณะหนาและมัน ส่วนดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอด ดอกเพศผู้มีขนาดเล็กกว่าเพศเมีย ผลมีสีเขียวในระยะอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีแดงอมชมพูหรือสีม่วงดำเมื่อสุก ดังแสดงในภาพที่ 1 เนื้อในผลมีสีขาวและรสหวาน จำนวนกลีบในผลอยู่ระหว่าง 4-7 กลีบ โดยมักไม่มีเมล็ดหรือมีเมล็ดลีบไม่เจริญเติบโต⁽²⁾ มังคุดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย โดยสารสำคัญ

เช่น α -mangostin^(3,4), garcinone E⁽⁵⁾, tannins⁽⁶⁾ และ phenolic acids⁽⁷⁾ ที่พบในเนื้อและเปลือกของผลมังคุดแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและลดการอักเสบได้ดี นอกจากนี้สารเหล่านี้ยังถูกนำไปใช้ในการทางการแพทย์แผนไทยสำหรับรักษาโรคต่างๆ เช่น ท้องเสีย บิด และโรคผิวหนัง^(8,9) จากการศึกษาพบว่าสารในมังคุดมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ⁽¹⁰⁾ ซึ่งอาจเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาวิธีการป้องกันและควบคุมเชื้อแบคทีเรียดีดื้อยา ซึ่งเป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญและยังคงเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตามรายงานของ WHO ปี 2022⁽¹¹⁾



ภาพที่ 1 ใบและผลมังคุด (*Garcinia mangostana* L.) ภาพถ่ายโดย นายศักดิ์วิชัย อ่อนทอง

ปัจจุบันเปลือกมังคุดได้รับความนิยมในผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์และสมุนไพรต่างๆ เช่น ยาใส่แผล สเปรย์พ่นคอ และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร แม้ว่าจะมีการจำหน่ายผลิตภัณฑ์จากเปลือกมังคุดในท้องตลาดอย่างแพร่หลาย แต่ลักษณะและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยังมีความหลากหลายการควบคุมคุณภาพจึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อให้สามารถเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากเปลือกมังคุดที่มีคุณภาพและมีปริมาณสารสำคัญที่เหมาะสม การศึกษาที่ผ่านมา มีการวิเคราะห์สารในกลุ่ม mangostins ด้วยวิธี UV-visible spectroscopy⁽¹²⁾ รวมถึงการวิเคราะห์สาร α , β , γ -mangostin ในผลิตภัณฑ์ผสมสารสกัดเปลือกมังคุด⁽¹³⁻¹⁵⁾ อย่างไรก็ตามการศึกษาคูณภาพทางเคมีของ

เปลือกมังคุดในประเทศไทยยังขาดข้อกำหนดมาตรฐานในด้านเคมี-ฟิสิกส์และปริมาณสารสำคัญ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์และวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในเปลือกมังคุดโดยใช้เทคนิค High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความแม่นยำและความถูกต้องในการวิเคราะห์สามารถตรวจวิเคราะห์สารประกอบทางเคมีหลากหลายชนิดในระดับความเข้มข้นต่ำได้อย่างรวดเร็ว ช่วยในการควบคุมคุณภาพอย่างมีประสิทธิภาพ

นอกจากนี้คณะผู้วิจัยได้พัฒนากรรณวิธีการเตรียมสารสกัดเปลือกมังคุดสำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์

ต้นแบบต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง รวมถึงได้ศึกษาความคงตัวของสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากสารสกัดเปลือกมังคุด เพื่อประเมินความคงตัวในสภาวะปกติและสภาวะเร่ง ผลการศึกษานี้ช่วยพัฒนาการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบและสารสกัดเปลือกมังคุด และเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรจากสารสกัดเปลือกมังคุดสำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ในอนาคตได้

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างเปลือกมังคุดและสารสกัดเปลือกมังคุด

วัตถุดิบเปลือกมังคุด จำนวน 14 ตัวอย่าง ประกอบด้วย สมุนไพรสดที่เก็บรวบรวมจากสวนสมุนไพรกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดจันทบุรี ซึ่งได้รับการตรวจพิสูจน์ชนิดตามหลักพฤกษศาสตร์ (Authentic, DMSC Herbarium number : 5359) นอกจากนี้มีสมุนไพรสดจากแหล่งธรรมชาติและสมุนไพรแห้งจากร้านขายยาสมุนไพรจากภาคต่างๆ ในประเทศไทย นำมาบดผ่านร่อนเบอร์ 180

การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยนำตัวอย่างวัตถุดิบเปลือกมังคุด (แห้ง) จำนวน 14 ตัวอย่าง มาบดหยาบ ใช้ปริมาณผงแห้ง 500 กรัม นำมาสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 (โดยปริมาตร) โดยวิธี Soxhlet สกัดให้สมบูรณ์โดยดูจากสีของสารสกัดบนส่วน Soxhlet ใช้เวลาประมาณ 50 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้มากรองและระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แล้วเก็บสารสกัดใส่ขวดแก้วสีชา ปิดสนิทเก็บในตู้เย็น

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐานและสารเคมี : α -mangostin ความบริสุทธิ์ 99.8% (Chromadex, USA), tetracycline, ciprofloxacin (Merck, Germany), ethanol (AR grade, Merck, Germany), methanol (AR grade และ HPLC grade, Merck, Germany), ethyl acetate (AR grade, Merck, Germany), sulfuric acid (AR grade, Merck, Germany), hydrochloric acid (AR, Merck, Germany), iron (III) chloride (LOBA Chemie, India), magnesium ribbon

(BDH, UK), น้ำกลั่น (ultrapure water, type I), Silica gel 60 (No. 107734), size 0.063–0.200 mm (Merck, Germany), Sephadex LH-20, particle size 25–100 μ m (GE Healthcare, USA), gelatin (Sigma, USA) และ 3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) (Thermo Fisher Scientific, USA)

สารเคมีที่ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบ : Glycerol Monostearate (BASF, Germany), White Soft Paraffin (Sigma, Germany), Liquid Paraffin (ExxonMobil, USA), Sodium Lauryl Sulphate (Merck, Germany), Propylene Glycol (BASF, Germany), Propyl Paraben (Merck, Germany), Methyl Paraben (Merck, Germany), Carbopol 934 (Merck, Germany), Triethanolamine (BASF, Germany), Tween 60 (Merck, Germany) และ Span 80 (Merck, Germany)

เชื้อมาตรฐาน : Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* 5304 (DMST 31874), Methicillin Resistant *S. aureus* 5309 (DMST 31879), Methicillin Susceptible *S. aureus* 5315 (DMST 31885), *S. epidermidis* 5322 (DMST 15505), *S. aureus* 5034 (DMST 8013), *Candida albicans* 5330 (DMST 5815), *Propionic acnes* 5025 (DMST 14916) และ *P. acnes* 5026 (DMST 14917)

เครื่องมือและอุปกรณ์ : TLC densitometer (CAMAG, Switzerland), High-Performance Liquid Chromatograph-PDA detector (Water 2996, Water, USA), XTERRA column, C18, 4.6 $\times$ 150 mm (Water, USA), Analytical Balance (Mettler Toledo, Switzerland), Muffle furnace (Thermolyne, USA), Hot Air oven (Mettler, Germany), Rotary Evaporator (Eyela NE-1, USA), Retsch AS200 Basic Sieve, Sonicator (Ney, Ultra sonikTM, USA), TLC hot plate II (CAMAG, Switzerland), water bath, Chamber, temperature control (Binder KBF 240, Germany), TLC Silica gel 60F₂₅₄ Glass plate ขนาด 20 $\times$ 10

เซนติเมตร No.1056420001 (Merck, Germany), Refrigerated centrifuge (Thermo Fisher Scientific, USA) และ Microplate Reader (Agilent, USA)

วิธีการศึกษา

การประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ (Physico-chemical evaluation)

การประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ โดยใช้วิธีของตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia, 2021)⁽¹⁶⁾ ได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

การตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมีโดยการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี

การเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี โดยชั่งตัวอย่างผงเปลือกมังคุด 1 กรัม ลงในขวดแก้วกันกลม เติมน้ำเอทานอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วสกัดด้วยวิธีฟลักซ์ เป็นเวลา 15 นาที กรอง และนำสารละลายที่กรองได้ (Solution A) มาทดสอบต่อตามข้อ a-c ดังนี้

a) การทดสอบสารประกอบโพลีฟีนอล โดยนำ Solution A ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานหลุมกระเบื้อง (Porcelain spotting plate) แล้วเติมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ร้อยละ 9 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) 2-3 หยด แล้วสังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลง

b) การทดสอบสารกลุ่มแทนนิน โดยนำ Solution A ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง หยดสารละลาย gelatin ร้อยละ 1 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) 2-3 หยด เขย่าให้เข้ากัน สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น

c) การทดสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ด้วยการทดสอบ Shinoda's test โดยนำ Solution A ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง หยดกรดเกลือเข้มข้น 2-3 หยด ลงไป เขย่าให้เข้ากัน ใส่แมกนีเซียม 2-3 ชิ้น แล้วสังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลง

การตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิค Thin-Layer Chromatography (TLC)

การเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับยืนยันผลด้วยเทคนิค TLC

ซึ่งผงวัตถุเปลือกมังคุด 0.5 กรัม ลงในขวดแก้วกันกลม เติมน้ำเอทานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วสกัดด้วยวิธีฟลักซ์ เป็นเวลา 15 นาที และกรอง

การเตรียมสารละลายสารมาตรฐาน

ละลายสารมาตรฐาน α -mangostin ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำสารละลายตัวอย่างและสารละลายสารมาตรฐาน α -mangostin ปริมาตร 5 ไมโครลิตร มาหยดลงบนแผ่น TLC (silica gel GF₂₅₄) โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่มีส่วนผสมของ chloroform-ethyl acetate-methanol (44:5:1) โดยใช้ระยะทางในการแยก 8 เซนติเมตร แล้วสังเกตผลภายใต้แสง UV 254 นาโนเมตร, UV 366 นาโนเมตร และภายใต้แสงขาว ภายหลังพ่นด้วยกรดกำมะถันความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) และให้ความร้อนที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ α -mangostin ของเปลือกมังคุด (Method development)⁽¹⁷⁾

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ของเปลือกมังคุด ได้แก่ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โดยตัวทำละลายที่เลือกใช้ ได้แก่ ethyl acetate, 50% methanol, methanol และการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด โดยศึกษาที่เวลา 0.5, 1 และ 2 ชั่วโมง แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสกัดสาร α -mangostin การศึกษาความยาวคลื่นในการตรวจวิเคราะห์ α -mangostin เพื่อดูความยาวคลื่นที่สารนี้สามารถดูดกลืนแสงสูงสุด ($\lambda_{\max}$) และวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างโดยใช้ PDA เพื่อเลือกความยาวคลื่นสำหรับการตรวจวัด α -mangostin โดยที่ไม่พบการเกิด co-elute

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ทางเคมี (Method validation)

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ของเปลือกมังคุดโดยใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นตามแนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดี่ยว กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข⁽¹⁸⁾ และวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในวัตถุดิบและสารสกัดสมุนไพรเปลือกมังคุดด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น ได้แก่

การทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงการวิเคราะห์ (Range)

ฉีดสารละลายสารมาตรฐาน α -mangostin ที่ 6 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ด้วยเครื่อง HPLC นำค่า peak area และความเข้มข้นของสารละลาย α -mangostin ไปสร้าง calibration curve ศึกษา linearity โดยพิจารณาจาก coefficient of determination (R^2) และช่วงความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ (Range)

การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision)

เติมสารมาตรฐาน α -mangostin (spike) ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ในช่วงการใช้งาน 3 ระดับลงใน sample blank แล้ววิเคราะห์ sample blank (unspiked) จำนวน 6 ซ้ำ และวิเคราะห์ spike sample ระดับละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำทำ duplicate จากนั้นคำนวณค่าร้อยละการกลับคืน (% recovery) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) และ HORRAT

$$\frac{(C_1 - C_2) \times 100}{C_3}$$

เมื่อ C_1 คือ ความเข้มข้นของสารใน spike sample
 C_2 คือ ความเข้มข้นของสารใน sample blank
 C_3 คือ ความเข้มข้นของสารที่เติมไป (analyte)

ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

LOD คำนวณจากจุดตัดของกราฟมาตรฐาน α -mangostin ที่ใช้เตรียม sample blank เมื่อกราฟมาตรฐานโดยใช้ spiked sample blank ที่ 6 ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน α -mangostin ระดับละ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ y-intercept (S_y/x) และคำนวณค่า LOD โดยค่า LOD คือ ค่าความเข้มข้นที่ response กับ $y\text{-intercept} + 3S_y/x$ (คำนวณจากกราฟมาตรฐานของสารแต่ละชนิด)

LOQ คำนวณโดย LOQ มีค่าเท่ากับ 10 เท่าของ S_y/x (คำนวณจากกราฟมาตรฐานของสาร α -mangostin)

ความจำเพาะ (Specificity)

วิเคราะห์ method blank โดยสกัดและวิเคราะห์ตามวิธีที่พัฒนา ใช้สารเคมีทั้งหมด แต่ไม่มีตัวอย่างเพื่อตรวจสอบสารรบกวนที่อาจมาจากสารเคมีหรืออุปกรณ์ที่ใช้

การวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในตัวอย่างวัตถุดิบและสารสกัดของเปลือกมังคุด

การวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในตัวอย่างวัตถุดิบและสารสกัดของเปลือกมังคุด ตามวิธีที่พัฒนาขึ้น มีรายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ ดังนี้

การเตรียมสารละลายตัวอย่างจากวัตถุดิบและสารสกัดจากเปลือกมังคุด

การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากวัตถุดิบเปลือกมังคุด จำนวน 14 ตัวอย่าง โดยใช้ผงเปลือกมังคุดน้ำหนัก 1 กรัม สกัดด้วย methanol ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยวิธีรีฟลักซ์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองและนำสารละลายมาระเหยจนแห้ง จากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย 50% methanol จนครบ 50.0 มิลลิลิตร กรองด้วย syringe filter ขนาด 0.45 μm ก่อนฉีดเข้าระบบโครมาโทกราฟี

สำหรับสารสกัดเปลือกมังคุดที่ได้จากการสกัดผงเปลือกมังคุดด้วยเอทานอล โดยวิธี Soxhlet เตรียมตัวอย่างทดสอบโดยชั่งตัวอย่างสารสกัดเปลือกมังคุด

น้ำหนัก 25 มิลลิกรัม นำมาละลายและปรับปริมาตรด้วย 50% methanol จนครบ 100.0 มิลลิลิตร กรองสารละลายตัวอย่างก่อนฉีดเข้าระบบโครมาโทกราฟี ด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

การเตรียมสารละลายสารมาตรฐาน α -mangostin

ชั่งสารมาตรฐาน α -mangostin ปริมาณ 30 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดแก้ววัดปริมาตร ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย methanol จากนั้นเจือจางให้ได้ 6 ระดับความเข้มข้น คือ 12, 36, 60, 84, 96 และ 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สภาวะของระบบโครมาโทกราฟี

วัฏภาคคงที่	Column : XTERRA [®] column C ₁₈ 5 μ m, 4.6 $\times$ 150 mm
อุณหภูมิคอลัมน์	Ambient
วัฏภาคเคลื่อนที่	Isocratic : Water : Methanol (7:3)
อัตราการไหล	1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
การตรวจวัดสาร	PDA ที่ความยาวคลื่น 243 นาโนเมตร
ปริมาตรการฉีด	20 ไมโครลิตร

การแยกสารบริสุทธิ์ GM1 จากเปลือกมังคุด (Purification of GM1 from mangosteen pericarp)

การแยกสาร α -mangostin โดยนำผงหยาบเปลือกมังคุด ปริมาณ 2.4 กิโลกรัม สกัดด้วยวิธี Soxhlet ด้วย methanol ระเหยสารสกัดจนแห้ง (GMEt) แล้วนำสารสกัดส่วน GMEt ปริมาณ 245 กรัม มาละลายกลับด้วย aqueous methanol (50% v/v methanol in water) แล้วนำมาสกัดแยก (partition) ด้วย ethyl acetate (สัดส่วน 2:1) แล้วนำสารสกัดในชั้น ethyl acetate มาระเหยแห้ง (F1) นำสารสกัด F1 ปริมาณ 12.4 กรัม มาทำให้มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นโดยผ่านซิลิกาเจลคอลัมน์ (Silica gel 60 No. 107734, size 0.063–0.200 mm)

โดยใช้ n-hexane : ethyl acetate อัตราส่วน 1:1 เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการแยก นำสารที่แยกได้มาระเหยจนแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (F2) และทำให้สาร F2 มีความบริสุทธิ์มากขึ้นโดยใช้ Sephadex LH-20 ระเหยสารละลายที่ได้จนแห้งจะได้สารบริสุทธิ์ (GM1) แล้วพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี ใช้บริการจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ได้แก่ Nuclear Magnetic Resonance (NMR, Bruker 500 MHz) และ High-Resolution Mass-Spectrometer (HRMS) โดยใช้โหมด positive ionization (ESI positive) ใช้ช่วงในการตรวจหาโมเลกุล 100–1500 (m/z) ช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้อนุภาคแตกตัว 200.0 องศาเซลเซียส และมีอัตราการไหลของแก๊สในระบบ 1.5 บาร์ แล้วประมวลผลการวิเคราะห์ด้วย Bruker micrOTOF software การวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของสาร GM1 ที่แยกได้ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน α -mangostin (primary standard, Chromadex[®])

การเตรียมสารสกัด GM2 จากเปลือกมังคุด (Preparation of GM2 extract from mangosteen pericarp)

การเตรียมสาร GM2 โดยนำผงหยาบเปลือกมังคุด ปริมาณ 2.4 กิโลกรัม สกัดด้วยวิธี Soxhlet ด้วย methanol กรอง และระเหยสารสกัดจนแห้ง (GMEt) แล้วนำสารสกัดส่วน GMEt ปริมาณ 500 กรัม มาละลายกลับด้วยสารละลาย aqueous methanol (methanol : water, 1:1) แล้วนำมาสกัดแยก (partition) ด้วย ethyl acetate (สัดส่วน 2:1) นำสารสกัดในชั้น ethyl acetate มาระเหยแห้ง ได้เป็นสาร GM2 นำสาร GM2 มาวิเคราะห์ปริมาณสาร α -mangostin โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน α -mangostin (primary standard, Chromadex[®])

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อรา (Assessment of antimicrobial and antifungal activities)

Disk diffusion method

การเตรียมตัวอย่าง ละลายสารสกัด GM1 และ GM2 ที่เตรียมในรูปแบบ PVP complex ในสัดส่วน (1:2) สำหรับ GM1 และ สัดส่วน (1:1) GM2 ด้วย DMSO ที่สมมูลกับความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัด ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงใน disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ปราศจากเชื้อ (คิดเป็นความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อ disc) การเตรียม negative control โดยปิเปต DMSO 20 ไมโครลิตร ใส่ disc ปราศจากเชื้อ สำหรับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ใช้ผลิตภัณฑ์ที่สมมูลกับ α -mangostin จำนวน 20 ไมโครกรัมต่อ disc โดยมี placebo เป็น negative control การเตรียม positive control ใช้ tetracycline 30 ไมโครกรัมต่อ disc, erythromycin 15 ไมโครกรัมต่อ disc และ clindamycin 2 ไมโครกรัมต่อ disc

การเตรียมเชื้อและการทดสอบด้วยวิธีนี้เริ่มต้นด้วยการใช้จุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง 8 ชนิด ได้แก่ Methicillin Resistant *S. aureus* 5304 (MRSA 5304), Methicillin Resistant *S. aureus* 5309 (MRSA 5309), Methicillin Susceptible *S. aureus* 5315 (MSSA 5315), *S. epidermis* 5322, *S. aureus* 5034, *C. albicans* 5330, *P. acnes* 5025 และ *P. acnes* 5026 โดยถ่ายเชื้อจาก MHA slant ที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ลงใน Mueller Hinton Agar (MHA) ที่เตรียมใหม่ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงถ่ายเชื้อ 1 loop ลงใน Mueller Hinton Broth (MHB) บ่มที่อุณหภูมิเดียวกัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เตรียม inoculum โดยปรับความขุ่นของเชื้อให้เทียบเท่า 0.5 McFarland standard เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 1.5×10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดสอบ เท MHA ลงใน plate ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และรอให้แข็งตัว แล้วกระจาย inoculum ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร บน plate แข็งใน 3 ระบาย โดยใช้ sterile cotton จากนั้นวาง paper disc ที่มี test extracts

(20 ไมโครกรัมต่อ disc), negative control, และ antibiotic discs เป็น positive control บนผิว agar plate โดยระยะห่างเท่ากันประมาณ 15 มิลลิเมตร ใช้ sterile forceps ในการวาง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 32.5 ± 2.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลด้วยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ zone of inhibition เป็น มิลลิเมตร ทดสอบ 3 ซ้ำ เพื่อความแม่นยำ และบันทึกผลเป็นค่า mean $\pm$ SD

Broth microdilution method

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัด GM1 และ GM2 ด้วยวิธี broth microdilution โดยนำสารสกัด GM1 และ GM2 ถูกเตรียมในรูปแบบ PVP complex ในสัดส่วน 1:2 และ 1:1 ตามลำดับ และละลายใน dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้มีความเข้มข้นสมมูล 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบสองเท่า (two-fold serial dilution) ใน Mueller-Hinton broth (MHB) นำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมลงใน 96-wells plate และเติมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียที่ปรับความขุ่นเทียบเท่า 0.5 McFarland ที่เจือจางใน MHB ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ต่อหลุม โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายของเชื้อประมาณ 5×10^5 cfu ต่อมิลลิลิตร (โดยช่วงความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัด เท่ากับ 1.96–500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังการบ่ม ตรวจสอบการมีชีวิตของเชื้อด้วยวิธี MTT reduction assay โดยเติมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (Agilent®, USA) โดยใช้ MHB เป็น blank control, เชื้อร่วมกับ DMSO เป็น negative control และ clindamycin เป็น positive control ตามลำดับ โดยกำหนดค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่เกิดการเปลี่ยนสี และหาค่าความเข้มข้น

ต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) โดย spread สารละลายจากหลุมที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ MIC ขึ้นไปบน Mueller–Hinton agar และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยกำหนดค่า MBC เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญของโคโลนี

ตารางที่ 1 สูตรตำรับของผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

Ingredients	ร้อยละ	Function
GM2	1 or 2	Active ingredient
Carbopol 934	1	Suspending agent
TEA	0.8	Alkalizing agent Emulsifying agent
Propylene glycol	5	Humectant Plasticizer
Tween 60	4	Emulsifying agent
Span 80	1	Emulsifying agent
Paraben conc.	0.4	Preservative
purified water	87	Solvent
Total	100	

การศึกษาความคงตัวและการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากสารสกัดเปลือกมังคุด (**Stability and antibacterial activity of mangosteen pericarp extract prototype product**)

การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ต้นแบบทั้ง 4 ตำรับ และตัวยาหลอก (placebo) 2 ตำรับ ดำเนินการตามแนวทางการทดสอบความคงตัวของยา⁽¹⁹⁾ โดยทำการทดสอบที่สภาวะปกติและสภาวะเร่งการศึกษาในสภาวะปกติ (room temperature stability test) เก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 ± 5 ส่วนการศึกษาที่สภาวะเร่ง (accelerated stability test) เก็บผลิตภัณฑ์ในสภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40 ± 2

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบ (Prototype Product Development)

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบอ้างอิงจากฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย จึงพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบชนิดใช้ภายนอก โดยพัฒนาสูตรตำรับจำนวน 2 สูตรตำรับ ได้แก่ emulsion gel และ emulsion ointment base โดยใส่สารสกัด GM2 ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 1 และ 2 โดยน้ำหนัก รวม 4 ตำรับ ศึกษาเปรียบเทียบกับตัวยาหลอก (Placebo) สูตรตำรับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ดังแสดงในตารางที่ 1

Ingredients	ร้อยละ	Function
GM2	1 or 2	Active ingredient
stearyl alcohol	20	Stiffening agent
white soft paraffin	20	Emollient ointment base
liquid paraffin	10	Emollient lubricant
SLS	1	Anionic surfactant Emulsifying agent
Propylene glycol	20	Humectant Plasticizer
Paraben conc.	2	Preservative
purified water	26	Solvent
Total	100	

องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ± 5 นอกจากนี้ทำการศึกษาความคงตัวภายใต้สภาวะเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (temperature cycling test) โดยเก็บผลิตภัณฑ์แบบไม่ควบคุมความชื้น (ambient RH) ที่อุณหภูมิ 40 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 4 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รวมจำนวน 8 รอบ โดยพิจารณาปัจจัย 3 ด้าน คือ ลักษณะทางกายภาพ เคมี และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ การศึกษาทางกายภาพพิจารณาลักษณะ สี กลิ่น การศึกษาทางเคมีโดยดูผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร α -mangostin และ chemical profiles ด้วยเทคนิค HPLC และการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่เวลา 0, 1, 3 และ 6 เดือน

การวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในผลิตภัณฑ์ ต้นแบบจากสารสกัดเปลือกมังคุด

ซึ่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากสารสกัดเปลือกมังคุด น้ำหนัก 100 มิลลิกรัม ลงในหลอดปั่น (falcontube) ขนาด 50 mL เติม methanol 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปสกัดในเครื่องอัลตราโซนิก (sonicator) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำหลอดปั่นมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วต่ำ ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้ทั้งหมด ใส่ในขวดแก้ววัดปริมาตรเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย 50% methanol จนครบ 50.0 มิลลิลิตร กรองสารละลายตัวอย่างก่อนฉีดเข้าระบบโครมาโทกราฟีด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

ผล

การประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ในวัตถุดิบเปลือกมังคุด

ผลการประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ในวัตถุดิบเปลือกมังคุด จำนวน 14 ตัวอย่าง พบว่าวัตถุดิบเปลือกมังคุดมีปริมาณความชื้น เถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอล ค่าเฉลี่ยร้อยละ 8.74 ± 1.51 , 2.77 ± 0.20 , 0.1 ± 0.00 , 18.13 ± 2.08 และ 25.91 ± 4.85 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ ผลการประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ของวัตถุดิบของเปลือกมังคุดสรุปเกณฑ์ที่ใช้ในการกำหนด ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ในวัตถุดิบ

รายการ	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\bar{X} \pm SD$, n = 14)	เกณฑ์กำหนดค่าบน ($\bar{X} \pm 10\%$)	เกณฑ์กำหนดค่าล่าง ($\bar{X} \pm 10\%$)
ความชื้น	8.74 ± 1.51	9.61	-
ปริมาณเถ้ารวม	2.77 ± 0.20	3.05	-
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด	0.1 ± 0.00	0.1	-
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ	18.13 ± 2.08	-	16.32
ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล	25.91 ± 4.85	-	23.32

การตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมีโดยการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีของวัตถุดิบเปลือกมังคุด พบว่าสารละลายที่ใช้ทดสอบเกิดเป็นตะกอนสีน้ำเงินอมดำ ภายหลังจากหยดสารละลายเฟอริกคลอไรด์ การทดสอบกับสารละลายเจลาติน พบว่าสารละลายเกิดตะกอนสีขาวขุ่นและการทดสอบ Shinoda's test พบว่า

สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอมส้ม ซึ่งสรุปได้ว่าวัตถุดิบเปลือกมังคุด ประกอบด้วย สารกลุ่มโพลีฟีนอล แทนนิน และฟลาโวนอยด์ เมื่อนำตัวอย่างมาตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี TLC พบสาร α -mangostin ในทุกตัวอย่าง ดังแสดงในภาพที่ 2



Control Result
(A)



Control



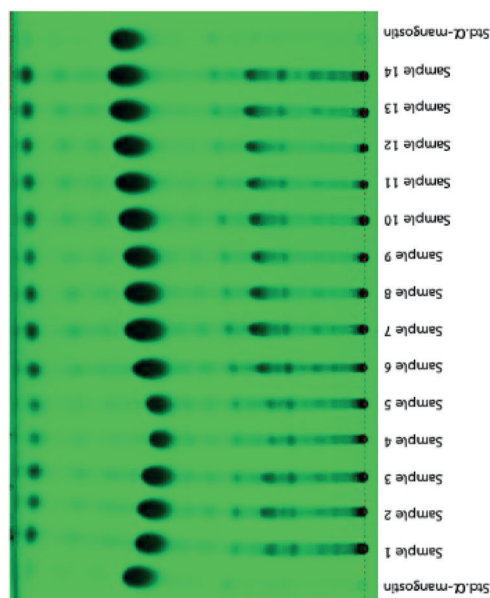
Result
(B)



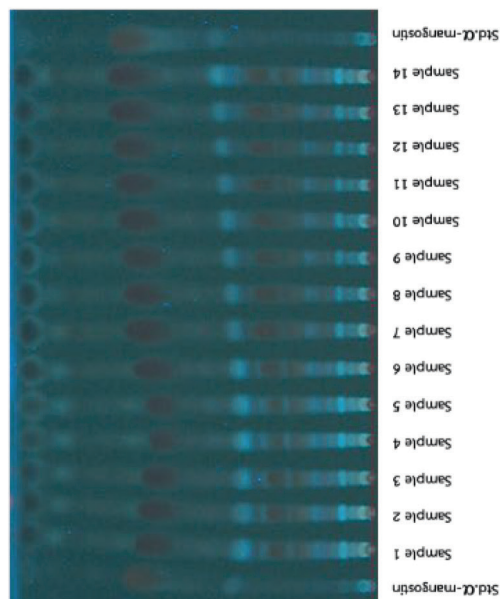
Control



Result
(C)



(D)



(E)



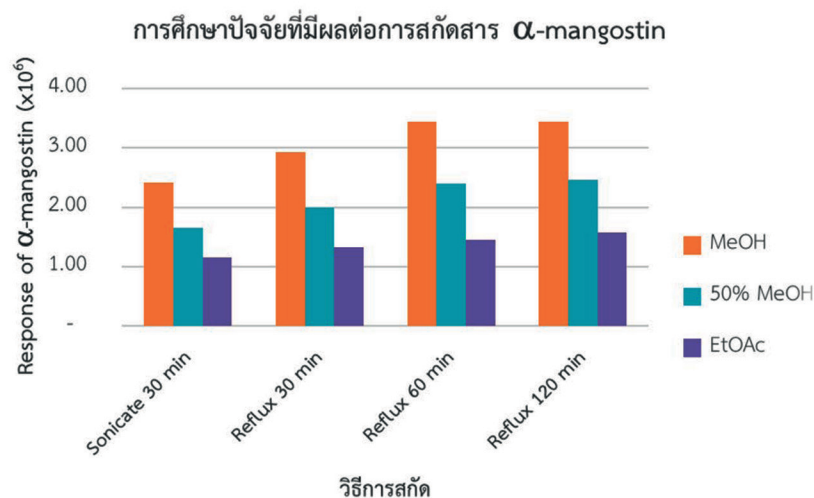
(F)

ภาพที่ 2 ผลการทดสอบเบื้องต้นทางเคมีของวัตถุดิบเปลือกมังคุด (A) เพอริคลอไรด์ (B) น้ำยาเจลาติน (C) Shinoda's test และผลการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมี ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีชั้นดีવાบาง (TLC) ของวัตถุดิบเปลือกมังคุด เมื่อสังเกตผลภายใต้ (D) UV 254 nm (E) UV 366 nm และ (F) แสงขาวภายหลังสเปรย์ด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) และให้ความร้อนที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (ภาพถ่ายโดย นางสาวจิราνούช มิ่งเมือง)

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ของเปลือกมังคุดด้วยวิธี HPLC

ผลการศึกษาการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสาร α -mangostin ของเปลือกมังคุด ด้วยการสกัดด้วย methanol, 50% methanol และ ethyl acetate พบว่า ชนิดของตัวทำละลายในการสกัดด้วย methanol ให้ปริมาณ α -mangostin สูงสุด (พบ α -mangostin ร้อยละ 2.86 โดยน้ำหนัก) ดังนั้นในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในเปลือกมังคุด จึงเลือกใช้ methanol เป็นตัวทำละลายในการสกัด การศึกษา

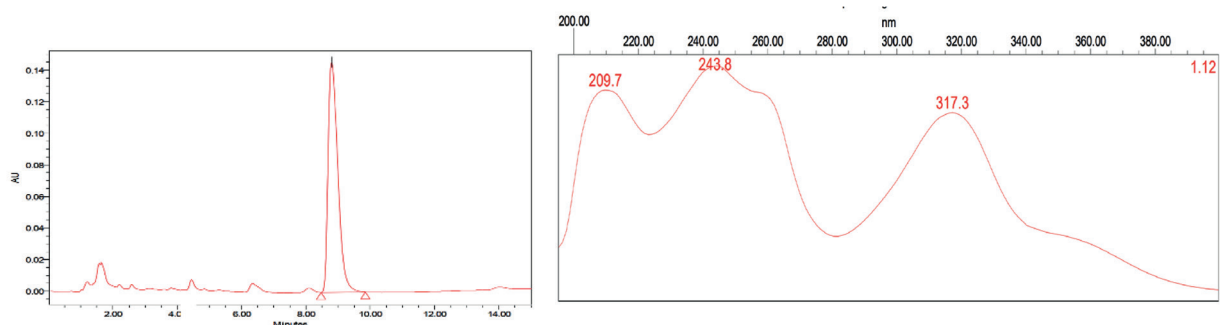
ระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด โดยสกัดตัวอย่างวัตถุดิบเปลือกมังคุดด้วยวิธีฟลักซ์โดยใช้ methanol เป็นเวลา 30 นาที, 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่าการสกัดด้วยเวลา 1 และ 2 ชั่วโมง ได้สาร α -mangostin สูงที่สุด (พบ α -mangostin ร้อยละ 2.862 และ 2.863 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ) โดยที่ระยะเวลาการสกัดที่ 1 และ 2 ชั่วโมง พบสาร α -mangostin ในปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสาร α -mangostin ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสาร α -mangostin

การศึกษาความยาวคลื่นในการตรวจวิเคราะห์สาร α -mangostin วัดการดูดกลืนแสง UV ของ α -mangostin พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) มีค่าเท่ากับ 243 นาโนเมตร ภาพโครมาโทแกรมและ UV spectrum ของสาร α -mangostin เมื่อวิเคราะห์

ด้วยเครื่อง HPLC ดังแสดงในภาพที่ 4 และเมื่อวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างเปลือกมังคุดด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ PDA เป็น detector ที่ความยาวคลื่น 243 นาโนเมตร ไม่พบการเกิด co-elute ของสารอื่น



ภาพที่ 4 โครมาโทแกรมและ UV spectrum ของสาร α -mangostin เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ดังนั้นระบบโครมาโทกราฟที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ α -mangostin คือ ใช้วัฏภาคคงที่เป็น XTERRA[®] column C18 5 μ m, 4.6 $\times$ 150 mm และมีวัฏภาคเคลื่อนที่เป็น deionized water : methanol อัตราส่วน 7:3 อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ความยาวคลื่นที่ใช้ในการตรวจวัด 243 นาโนเมตร และใช้ปริมาตรที่ฉีดสำหรับวิเคราะห์ 20 ไมโครลิตร โดยในการวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin จะสกัดตัวอย่างด้วยการรีฟลักซ์ด้วย methanol เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้ววิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ด้วยระบบ HPLC ที่ได้กล่าวมาข้างต้น

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

เตรียมสารมาตรฐาน α -mangostin โดยชั่งสารมาตรฐาน α -mangostin ปริมาณ 30 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดแก้ววัดปริมาตร ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย methanol (จะได้สารมาตรฐาน α -mangostin ที่ความเข้มข้นประมาณ 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เจือจางสารมาตรฐานให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงความเข้มข้น 10–120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ที่พัฒนาขึ้นตามแนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ พบว่าเมื่อฉีดสารละลายสารมาตรฐาน α -mangostin 6 ระดับความเข้มข้น คือ 12, 36, 60, 84, 96 และ 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ชั่วโมง และวิเคราะห์ 3 ชั่วโมง พบว่ากราฟมาตรฐาน (calibration curve) มีความเป็นเส้นตรงในช่วง 10.49–120.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า coefficient of determination (R^2) เท่ากับ 0.9999

การทดสอบความแม่นยำ (accuracy) โดยเติมสารมาตรฐาน α -mangostin ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 3 ช่วงระดับการใช้งาน ลงใน sample blank (เตรียม spiked sample) จากนั้นทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยวิเคราะห์ sample blank (unspiked sample) และ spiked sample ทำการวิเคราะห์ 6 ชั่วโมง แล้วคำนวณค่าร้อยละการคืนกลับ (%recovery) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ผลการศึกษา ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในเปลือกมังคุดที่พัฒนาขึ้น

Spiked sample	Sample blank (μ g/mL)	Spike concentration (μ g/mL)	α -mangostin Theoretical (μ g/mL)	content Experiment (μ g/mL)	% Recovery	%RSD	เกณฑ์การยอมรับ*
Low level (50% target)	1.40	43.18	44.58	45.85	102.85	1.44	95–105 %
Medium level (100% target)		86.37	87.77	89.32	101.77	1.35	
High level (150% target)		129.55	130.95	130.59	100.49	1.42	

หมายเหตุ: * The AOAC manual for peer-verified methods program (1993) การวิเคราะห์ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of Detection, LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) โดยคำนวณจากค่า $3Sy/x$ และ $10Sy/x$ ได้เท่ากับ 0.3635 และ 1.21 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

การวิเคราะห์ปริมาณสาร α -mangostin ในวัตถุดิบและสารสกัดเปลือกมังคุด

การวิเคราะห์ปริมาณสาร α -mangostin ในวัตถุดิบและสารสกัดเปลือกมังคุด จำนวน 14 ตัวอย่างต่อชนิด โดยวัตถุดิบเปลือกมังคุดมีปริมาณ α -mangostin ค่าเฉลี่ยร้อยละ 4.78 ± 0.86 (โดยน้ำหนัก) และสารสกัด

ด้วยเอทานอลของเปลือกมังคุดมีปริมาณความชื้น ร้อยละ 12.48 ± 1.54 และ α -mangostin 16.14 ± 2.26 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร α -mangostin ของวัตถุดิบและสารสกัดด้วยเอทานอลของเปลือกมังคุดสามารถสรุปเกณฑ์ที่ใช้ในการกำหนด ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในวัตถุดิบและสารสกัดด้วยเอทานอลของเปลือกมังคุด

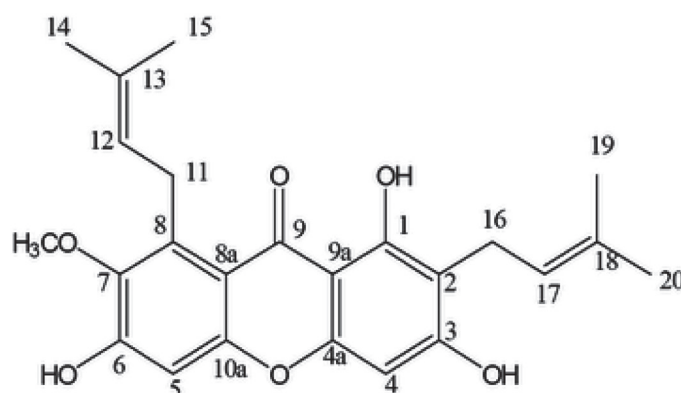
รายการ	ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน ($\bar{x}$ ±SD, n = 14)	เกณฑ์กำหนด ค่าบน ($\bar{x}$ ±10%)	เกณฑ์กำหนด ค่าล่าง ($\bar{x}$ ±10%)
วัตถุดิบเปลือกมังคุด			
ปริมาณ α -mangostin (as is)	4.78±0.86	-	4.30
สารสกัดด้วยเอทานอลของเปลือกมังคุด			
ความชื้น	12.48±1.54	13.73	-
ปริมาณ α -mangostin (as is)	16.14±2.26	-	14.53

การแยกสารบริสุทธิ์ GM1 และการเตรียมสารสกัด GM2 จากเปลือกมังคุด

การสกัดผงหยาบเปลือกมังคุด ปริมาณ 2.4 กิโลกรัม ด้วย methanol ได้สารสกัดหยาบ GMET ปริมาณ 550 กรัม (% yield คิดเป็นร้อยละ 22.92 โดยน้ำหนัก) เมื่อนำสารสกัด GMET ปริมาณ 245 กรัม มาสกัดแยกด้วย 50% methanol และ ethyl acetate ผ่านกรวยแยก ได้สาร F1 (ethyl acetate portion) ปริมาณ 12.4 กรัม แล้วนำสาร F1 มาแยกผ่านซิลิกาเจล คอลัมน์และทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นโดยผ่าน Sephadex LH20 ได้สาร GM1 มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลืองอ่อน ปริมาณ 2.06 กรัม (%yield คิดเป็นร้อยละ 0.84 โดยน้ำหนัก) เมื่อนำสาร GM1 ไปตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้ high resolution mass-spectroscopy พบว่า GM1 มีน้ำหนักโมเลกุล เท่ากับ m/z 410.1763

และวิเคราะห์ NMR spectrum ของสาร GM1 พบว่า สอดคล้องกับโมเลกุลของ α -mangostin ดังแสดงในภาพที่ 5 และ ตารางที่ 5

การเตรียมสารสกัด GM2 เตรียมจากสารสกัดหยาบด้วยเมทานอล (GMET) จากเปลือกมังคุด โดยใช้สารสกัด GMET ปริมาณ 500 กรัม นำมาสกัดผ่านกรวยแยกโดยใช้ 50% methanol และ ethyl acetate ได้สาร GM 2 มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลืองอมน้ำตาล ปริมาณ 40.2 กรัม (% yield ร้อยละ 8.04 โดยน้ำหนัก) เมื่อนำสาร GM1 และ GM2 ไปวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ด้วยวิธี HPLC ที่พัฒนาขึ้น โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานโดยใช้สารมาตรฐาน α -mangostin พบว่า GM1 และ GM2 มีปริมาณ α -mangostin ร้อยละ 92.9 และ 52.0 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ



ภาพที่ 5 โครงสร้างสาร GM1 ที่แยกได้จากเปลือกมังคุด

ตารางที่ 5 ^1H -NMR (500 MHz), ^{13}C -NMR (125 MHz) of GM1

Position	GM1 in CDCl_3	δC	α -mangostin ⁽²⁰⁾ in $\text{Acetone-}D_6$	δC
	δH (Multiplicity, J in Hz)		δH (Multiplicity, J in Hz)	
1	13.78 (1H, s, OH)	160.6	13.78 (1H, s, OH)	161.7
2	–	108.42		111.0
3	–	161.61		162.9
4	6.29 (1H, s)	93.27	6.38 (1H, s)	93.1
4a	–	154.521		155.7
5	6.83 (1H, s)	101.54	6.81 (1H, s)	102.7
6	–	155.76		156.2
7	–	142.51		144.4
8	–	137.01		138.1
8a	–	112.17		112.0
9	–	182.02		182.8
9a	–	103.60		103.6
10a	–	155.04		155.7
11	4.1 (2H, d, $J = 7.3$ Hz)	21.42	4.13 (2H, d, $J = 6.4$ Hz)	21.9
12	5.27 (1H, t, $J = 7.3$ Hz)	121.41	5.27 (1H, m)	121.4
13	–	132.17		131.4
14	1.69 (3H, s)	25.82	1.65 (3H, s)	25.9
15	1.77 (3H, s)	17.91	1.78 (3H, s)	17.9
16	3.37 (2H, d, $J = 7.3$ Hz)	26.55	3.35 (2H, d, $J = 7.2$ Hz)	26.8
17	5.27 (1H, t, $J = 7.3$ Hz)	123.11	5.27 (1H, m)	123.7
18	–	135.78		138.1
19	1.62 (3H, s)	25.84	1.65 (3H, s)	25.9
20	1.84 (3H, s)	18.21	1.80 (3H, s)	18.3
7-OMe	3.81 (3H, s)	62.05	3.79 (3H, s)	61.3

การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสาร GM1 และ GM2 ในการศึกษาพบว่า GM1 และ GM2 มีปัญหาในการละลาย ผู้วิจัยจึงได้เตรียม GM1 และ GM2 ในรูปแบบ PVP-complex ในสัดส่วน 1:2 และ 1:1 ตามลำดับ โดยพบว่าสาร PVP complex สามารถละลายได้ดีใน DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลาย ผลการศึกษาของสาร GM1 และ GM2 ต่อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนังจำนวน 8 ชนิด ได้แก่ MRSA 5304, MRSA 5309,

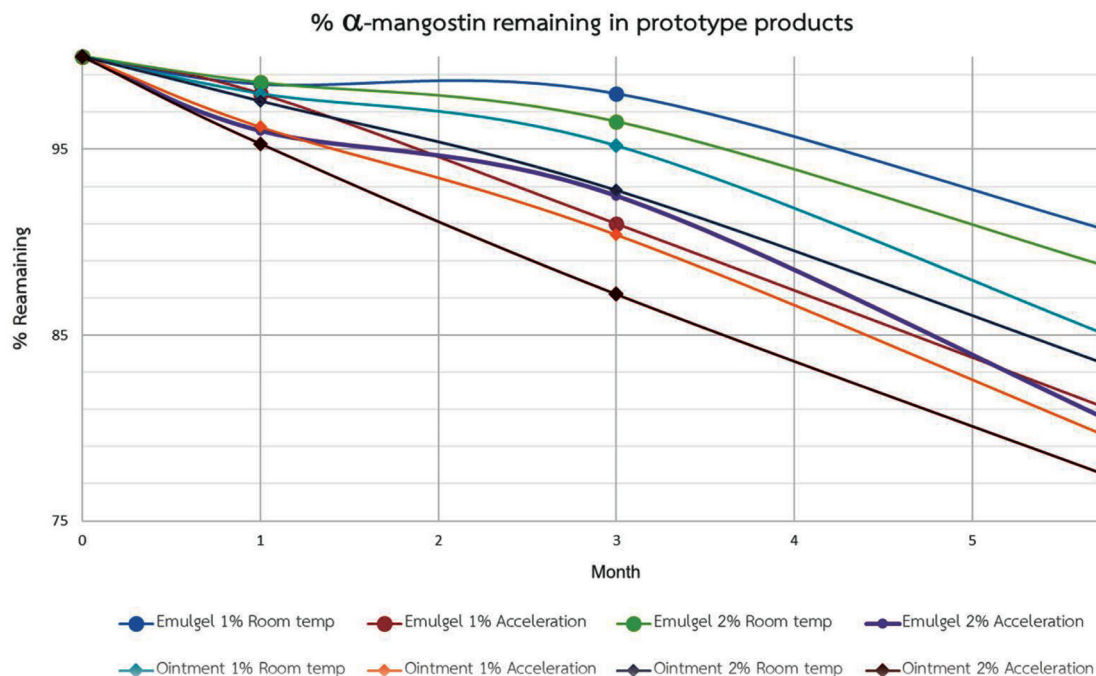
MSSA 5315, *S. epidermis* 5322, *S. aureus* 5034, *C. albicans* 5330, *P. acnes* 5025 และ *P. acnes* 5026 พบว่าสารสกัด GM2 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 7 ชนิด แต่ไม่ยับยั้งเชื้อ *C. albicans*

การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพด้วยวิธี Broth microdilution พบว่า GM2 สามารถยับยั้งเชื้อ MRSA 5304 ได้ดีที่สุด มีค่า MIC และ MBC 31.25 และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จึงได้นำสารสกัด GM2 มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในการศึกษาต่อไป

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบ การศึกษาความคงตัว และการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ต้นแบบ

ผลการศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ต้นแบบ จากสารสกัดเปลือกมังคุดที่พัฒนาเป็น emulsion gel และ emulsion ointment base ในความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 (โดยน้ำหนัก) ภายใต้สภาวะเก็บรักษา ในสองสภาวะ ได้แก่ สภาวะปกติและสภาวะเร่ง ณ เวลาเริ่มต้น (T₀) และเก็บรักษาเป็นเวลา 1, 3 และ 6 เดือนพบว่า emulsion gel มีความคงตัวที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ emulsion ointment base โดยเฉพาะความคงตัวของปริมาณ α -mangostin ซึ่งพบว่าใน emulsion gel

ทั้งสองความเข้มข้น (ร้อยละ 1.0 และ 2.0 โดยน้ำหนัก) ปริมาณ α -mangostin ลดลงร้อยละ 20 ในสภาวะเร่ง ณ เดือนที่ 6 (คงเหลืออยู่ที่ร้อยละ 80.2 และ 79.4 ตามลำดับ) ขณะที่สูตร emulsion ointment base มีการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและปริมาณสารสำคัญ ที่มากกว่า โดยเฉพาะสูตรที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 (โดยน้ำหนัก) ที่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น การเปลี่ยนแปลงสีและความหนืดตั้งแต่เดือนที่ 1 เป็นต้นไป ผลการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยการวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin และลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ดังแสดงในภาพที่ 6 และ 7 ตามลำดับ



ภาพที่ 6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ของผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ทดสอบความคงตัว ในสภาวะปกติและสภาวะเร่ง

นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ความคงตัวของ α -mangostin พบว่า emulsion gel มีการคงเหลือของ α -mangostin สูงกว่า emulsion ointment base อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยในเดือนที่ 6 emulsion gel

คงเหลือร้อยละ 79-80 (โดยน้ำหนัก) ขณะที่ emulsion ointment base เหลือร้อยละ 77-78 (โดยน้ำหนัก) แสดงว่า emulsion gel มีความคงตัวมากกว่า



ภาพที่ 7 ลักษณะผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่พัฒนาขึ้น (A) รูปแบบ emulsion gel (B) รูปแบบ emulsion ointment base ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ที่เวลา T₀ และ 6 เดือน ที่สภาวะปกติและสภาวะเร่ง (ภาพถ่าย โดย นางสาวจิราณัฐ มิ่งเมือง)

การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่า emulsion gel ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (โดยน้ำหนัก) ให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น MRSA 5304, MRSA 5309, MSSA 5315, *S. epidermidis* 5322, *S. aureus* 5034, *P. acnes* 5025 และ

P. acnes 5026 อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 สูตร ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ผลการศึกษาความคงตัว และฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ GM1, GM2 และผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากสารสกัดมังคุดที่ทดสอบความคงตัวที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อ disc

Zone of inhibition in diameter (mm)										
Month	Sample	MRSA 5304	MRSA 5309	MSSA 5315	S. epidermidis 5322	S. aureus 5034	C. albicans 5330	P. acnes 5025	P. acnes 5026	
-	GM1	17.5±0.1	14.6±0.1	12.6±0.2	16.5±0.2	15.5±0.2	0	25.2±0.1	25.7±0.1	
	GM2	19.6±0.1	16.4±0.1	14.2±0.1	18.5±0.2	17.4±0.1	0	28.3±0.1	28.9±0.1	
	1% EG	18.0±0.1	15.0±0.2	13.0±0.1	17.0±0.3	16.0±0.1	0	26.0±0.3	26.5±0.1	
	Placebo 1% EG	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2% EG	19.5±0.1	16.0±0.1	13.0±0.1	16.3±0.1	16.0±0.1	0	27.0±0.1	27.3±0.2	
	Placebo 2% EG	0	0	0	0	0	0	0	0	
0	1% EO	17.0±0.2	13.0±0.1	12.0±0.2	16.0±0.1	15.0±0.0	0	25.0±0.1	23.0±0.1	
	Placebo EO	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2% EO	13.0±0.2	12.0±0.4	10.0±0.2	15.0±0.1	15.0±0.0	0	22.0±0.1	25.0±0.1	
	Placebo 2% EO	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1% EG (RT)	17.0±0.1	14.0±0.2	13.0±0.1	16.0±0.3	15.25±0.1	0	26.0±0.3	26.5±0.1	
	1% EG (Acc)	17.0±0.1	13.5±0.1	12.5±0.1	15.25±0.3	14.5±0.2	0	24.25±0.2	24.0±0.1	
1	2% EG (RT)	19.5±0.1	16.0±0.1	14.0±0.1	16.3±0.1	16.0±0.1	0	27.0±0.1	27.3±0.2	
	2% EG (Acc)	19.0±0.1	16.0±0.1	13.5±0.1	15.0±0.1	15.5±0.1	0	25.5±0.1	26.5±0.1	
	1% EO (RT)	17.0±0.2	13.0±0.1	12.0±0.2	16.0±0.1	15.0±0.0	0	25.0±0.1	23.0±0.1	
	1% EO (Acc)	17.0±0.1	12.0±0.1	10.5±0.3	15.0±0.1	13.5±0.0	0	27.5±0.2	29.0±0.0	
	2% EO (RT)	13.0±0.2	12.0±0.4	10.0±0.2	15.0±0.1	15.0±0.0	0	22.0±0.1	25.0±0.1	
	2% EO (Acc)	8.0±0.1	10.0±0.1	15.5±0.3	19.0±0.1	17.5±0.0	0	24.5±0.2	28.0±0.0	
3	1% EG (RT)	15.0±0.2	12.75±.1	10.0±0.2	14.0±0.1	12.0±0.0	0	18.0±0.1	23.0±0.1	
	1% EG (Acc)	7.0±0.1	11.0±0.1	10.5±0.3	11.50±0.1	12.5±0.0	0	21.5±0.2	21.0±0.0	
	2% EG (RT)	18.0±0.2	14.0±0.4	8.0±0.2	13.0±0.1	10.0±0.0	0	21.0±0.1	19.0±0.1	
	2% EG (Acc)	13.0±0.1	12.0±0.1	5.5±0.3	9.0±0.1	7.5±0.0	0	19.5±0.2	8.0±0.0	
	1% EO (RT)	12.0±0.2	10.0±0.1	10.0±0.2	13.0±0.1	12.0±0.0	0	23.0±0.1	22.0±0.1	
	1% EO (Acc)	7.0±0.1	9.0±0.1	9.5±0.3	9.0±0.1	10.5±0.0	0	17.5±0.2	19.0±0.0	
	2% EO (RT)	13.0±0.2	12.0±0.4	9.0±0.2	12.0±0.1	10.0±0.0	0	22.0±0.1	21.0±0.1	
	2% EO (Acc)	8.0±0.1	10.0±0.1	5.5±0.3	9.0±0.1	7.5±0.0	0	14.5±0.2	18.0±0.0	

ตารางที่ 6 แสดงผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ GM1, GM2 และผลิตภัณฑ์ต้นแบบจากสารสกัดมังคุดที่ทดสอบความคงตัวที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อ disc (ต่อ)

Zone of inhibition in diameter (mm)										
Month	Sample	MRSA 5304	MRSA 5309	MSSA 5315	S. epidermidis 5322	S. aureus 5034	C. albicans 5330	P. acnes 5025	P. acnes 5026	
6	1% EG (RT)	12.0±0.2	12.0±0.1	10.0±0.2	12.0±0.1	12.0±0.0	0	20.0±0.1	19.0±0.1	
	1% EG (Acc)	7.0±0.1	9.0±0.1	9.5±0.3	9.0±0.1	13.5±0.0	0	17.5±0.2	15.0±0.0	
	2% EG (RT)	16.0±0.2	12.0±0.4	8.0±0.2	13.0±0.1	10.0±0.0	0	21.0±0.1	19.0±0.1	
	2% EG (Acc)	13.0±0.1	12.0±0.1	5.5±0.3	9.0±0.1	7.5±0.0	0	14.5±0.2	8.0±0.0	
	1% EO (RT)	12.0±0.2	10.0±0.1	10.0±0.2	13.0±0.1	12.0±0.0	0	23.0±0.1	22.0±0.1	
	1% EO (Acc)	7.0±0.1	9.0 ±0.1	9.5±0.3	9.0±0.1	10.5±0.0	0	17.5±0.2	19.0±0.0	
	2% EO (RT)	13.0±0.2	12.0±0.4	9.0±0.2	12.0±0.1	10.0±0.0	0	22.0±0.1	21.0±0.1	
	2% EO (Acc)	8.0±0.1	10.0±0.1	5.5±0.3	9.0±0.1	7.5±0.0	0	14.5±0.2	18.0±0.0	
Tetracycline		9.0±0.1	11.0±0.1	11.0±0.1	13.0±0.1	25.0±0.1	0	45.0±0.1	45.0±0.0	
Erythromycin		0.0±0.0	0.0±0.0	20.0±0.0	25.0±0.0	20.0±0.3	0	36.0±0.0	36.0±0.3	
Clindamycin		25.0±0.1	24.0±0.1	20.0±0.1	27.0±0.1	22.0±0.3	0	38.0±0.0	38.0±0.0	

หมายเหตุ: RT คือ สภาวะปกติ และ Acc คือ สภาวะเร่ง

Tetracycline 30 ไมโครกรัมต่อ disc, erythromycin 15 ไมโครกรัมต่อ disc, clindamycin 2 ไมโครกรัมต่อ disc

วิจารณ์

การศึกษาลิขิตภัณฑ์จากสมุนไพรเป็นกระบวนการที่สำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีศักยภาพในการรักษาและป้องกันโรคต่าง ๆ เปลือกมังคุดมีการใช้กันมาตั้งแต่อดีต โดยใช้เปลือกมังคุดรักษาโรคผิวหนัง เช่น กลากเกลื้อน บรรเทาอาการผดผื่นทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้เปลือกมังคุดเป็นสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ โดยใช้เป็นยาภายนอกการรักษาการอักเสบของผิวหนัง และแผลพุพอง การประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ของเปลือกมังคุดและสารสกัดใช้วิธีของ THP⁽¹⁶⁾ ได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอล การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด การตรวจสอบเบื้องต้นทางเคมีโดยการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีและการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิค TLC โดยใช้สาร α -mangostin เป็นสารมาตรฐาน (reference standard) ของวัตถุดิบเปลือกมังคุด นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้เตรียมสารสกัดด้วยเอทานอลจากเปลือกมังคุดและนำมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและปริมาณสารสำคัญด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นในห้องปฏิบัติการ

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่พบในเปลือกมังคุดโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นใช้ methanol ในการสกัดตัวอย่าง แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในสมุนไพรเปลือกมังคุด จากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ α -mangostin พบว่าการวิเคราะห์มีความแม่นยำ โดยพิจารณาจากร้อยละการคืนกลับ (%recovery) ของการวิเคราะห์ spike sample อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (ร้อยละ 95-105) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในเกณฑ์การยอมรับซึ่งน้อยกว่า 2 แสดงว่าวิธีดังกล่าวมีความเที่ยงและเหมาะสมสำหรับนำไปใช้วิเคราะห์ปริมาณ α -mangostin ในตัวอย่างวัตถุดิบเปลือกมังคุด การประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ของวัตถุดิบและสารสกัดเปลือกมังคุดมีความสำคัญในการกำหนดคุณภาพของวัตถุดิบและสารสกัดเพื่อให้สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์สมุนไพรได้อย่างปลอดภัยและมีคุณภาพ ผลการประเมินพบว่าวัตถุดิบและสารสกัดด้วยเอทานอลของมังคุดมีปริมาณสารออกฤทธิ์

α -mangostin (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD) เท่ากับ ร้อยละ 4.78 ± 0.86 และ 16.14 ± 2.26 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ นอกจากนี้การประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ของวัตถุดิบเปลือกมังคุดเพื่อใช้เป็นแนวทางการควบคุมคุณภาพสมุนไพรตามมาตรฐานสากล โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวมและเถ้าที่ไม่ละลายในกรด โดยปริมาณความชื้นจะส่งผลต่อการเสื่อมคุณภาพของสมุนไพร ปริมาณเถ้ารวมเป็นดัชนีหนึ่งในการกำหนดคุณภาพสมุนไพร ในขณะที่ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดจะบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนของหินหรือทราย เป็นต้น ซึ่งค่าเหล่านี้จะอนุญาตไม่ให้เกินเกณฑ์กำหนด โดยการกำหนดเกณฑ์ใช้ค่าเฉลี่ยบวกร้อยละ 10 และปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำและเอทานอล จะเป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพของสมุนไพร ในกรณีที่ไม่ทราบสารออกฤทธิ์

การศึกษานี้ได้วิเคราะห์ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอล และวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ α -mangostin เพื่อใช้กำหนดคุณภาพของวัตถุดิบเปลือกมังคุด โดยปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายและปริมาณสาร α -mangostin ซึ่งค่าเหล่านี้จะต้องไม่น้อยกว่าเกณฑ์ที่กำหนด และกำหนดเกณฑ์โดยใช้ค่าเฉลี่ยลบร้อยละ 10 อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดของวัตถุดิบเปลือกมังคุดมีค่าต่ำ กล่าวคือน้อยกว่าร้อยละ 0.1 ซึ่งจะเห็นได้ว่าวัตถุดิบเปลือกมังคุดมีคุณภาพดีและพบการปนเปื้อนของสารอนินทรีย์ เช่น หินหรือทรายน้อย และอาจไม่จำเป็นต้องนำค่าปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดมากำหนดคุณภาพของวัตถุดิบเปลือกมังคุดได้ ดังนั้นข้อกำหนดคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ของวัตถุดิบเปลือกมังคุด ควรมีปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวมไม่เกินร้อยละ 10.0 และ 3.0 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ และควรมีปริมาณสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอล และปริมาณสาร α -mangostin ไม่น้อยกว่าร้อยละ 16.0, 23.0 และ 4.3 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ นอกจากนี้การศึกษาคูณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ของสารสกัดด้วยเอทานอลของเปลือกมังคุด พบว่าสารสกัดมีลักษณะเหนียวและดูความชื้น โดยมีปริมาณความชื้นเฉลี่ยร้อยละ 12.48 ± 1.54 (โดยน้ำหนัก) ซึ่งการที่สารสกัดมีปริมาณความชื้นสูงอาจทำให้สารเสื่อมสภาพได้รวดเร็ว เนื่องจากเกิดปฏิกิริยา hydrolysis และอาจยังทำให้เชื้อจุลินทรีย์

และเชื้อราเจริญเติบโตได้ดี ดังนั้นในการกำหนดเกณฑ์ปริมาณความชื้นจึงควรมีการศึกษาเรื่องความคงตัวเพิ่มเพื่อยืนยันจากข้อมูลโดยศึกษาความคงตัวของสารสำคัญและการประเมินความเสี่ยงด้านจุลินทรีย์ โดยใช้แนวทางของ European Directorate for the Quality of Medicines and HealthCare (EDQM)^(21,22) จากการศึกษาขึ้นข้อกำหนดคุณภาพของสารสกัดด้วยเอทานอลของเปลือกมังคุด ควรมีปริมาณความชื้น ไม่เกินร้อยละ 14.0 และปริมาณสาร α -mangostin ไม่น้อยกว่าร้อยละ 14.0 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ

การศึกษครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้เตรียมสารสกัด GM2 ของเปลือกมังคุดที่ผ่านการวิเคราะห์เพื่อทราบปริมาณสารสำคัญอย่างชัดเจน เพื่อใช้เป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพและการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรในอนาคต สารสกัดดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสาร α -mangostin ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์หลักที่มีบทบาทสำคัญในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยสารนี้เป็นสารสำคัญที่พบในเปลือกมังคุดและสามารถใช้เป็นแนวทางในการประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสาร GM1 และ GM2 ซึ่งมีปริมาณสาร α -mangostin ร้อยละ 92.9 และ 52.0 ตามลำดับ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังหลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะสารสกัด GM2 ซึ่งมีค่า MIC และ MBC เท่ากันที่ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คิดเป็นความเข้มข้นของ α -mangostin เท่ากับ 16.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้า ซึ่งพบว่าสารสกัดเอทานอลจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งเชื้อ MRSA โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 6.25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ⁽²³⁾ นอกจากนี้การศึกษางานวิจัยรายงานว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งเชื้อ MRSA ที่แยกได้จากผู้ป่วย โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.05–0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร⁽²⁴⁾ รวมถึงมีรายงานว่าสารบริสุทธิ์ α -mangostin สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังได้ที่มีความเข้มข้น 2–4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร⁽²⁵⁾ การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ MRSA และ MSSA ของสารสกัดเอทานอลจากเปลือก

มังคุดในรายงานก่อนหน้า มีการระบุเพียงปริมาณสารกลุ่ม tannins แต่ไม่ได้รายงานปริมาณของ α -mangostin ในสารสกัด ส่งผลให้การเปรียบเทียบเชิงปริมาณของสารออกฤทธิ์หลักอาจยังไม่ชัดเจน อีกทั้งผลการทดสอบฤทธิ์ของ α -mangostin บริสุทธิ์ที่ต้องใช้ความเข้มข้นสูงกว่าสารสกัด GM2 ซึ่งสอดคล้องการผลการศึกษานี้ที่พบว่า สาร GM2 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าสาร GM1 แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวไม่ได้เกิดจาก α -mangostin เพียงชนิดเดียว แต่เป็นผลรวมจากสารประกอบอื่นๆ ในสารสกัด เช่น xanthone derivatives และ tannins ซึ่งมีรายงานว่าสารในกลุ่ม xanthone มีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ hydrophilic hydroxy groups และ lipophilic isoprenyl chains ที่สามารถรบกวนชั้น lipid bilayer ของผนังเซลล์แบคทีเรีย ส่งผลให้เซลล์สูญเสียความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้ม ขณะที่สาร tannins สามารถจับและทำลายโปรตีนบนผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียแตกออกได้⁽²³⁾ ดังนั้นการมีสารทั้งสองกลุ่มรวมอยู่ในสารสกัดจึงอาจเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) ทำให้สารสกัดมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าสารบริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว สำหรับเชื้อทั้ง 8 ชนิดที่ทดสอบรวมถึง MRSA, MSSA, *S. epidermidis* และ *P. acnes* แสดงถึงศักยภาพของสารสกัดเปลือกมังคุดในการใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต้านแบคทีเรีย

การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่พัฒนาในรูปแบบ emulsion gel และ emulsion ointment base ซึ่งบรรจุสารสกัดมาตรฐานจากเปลือกมังคุด (GM2) ที่มีปริมาณสารสำคัญ α -mangostin ในความเข้มข้น ร้อยละ 1.0 และ 2.0 (โดยน้ำหนัก) ได้ศึกษาทั้งสภาวะปกติ (room temperature) และสภาวะเร่ง (accelerated condition) ตามแนวทางการทดสอบความคงตัวของยา ตาม ICH Q1A(R2)⁽¹⁹⁾ โดยทำการเก็บตัวอย่างเพื่อประเมินที่ช่วงเวลา 0, 1, 3 และ 6 เดือน การศึกษาพบว่าสูตร emulsion gel มีความคงตัวของสารสำคัญและลักษณะทางกายภาพที่ดีกว่า emulsion ointment base อย่างมีนัยสำคัญ โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางสี กลิ่น หรือความหนืดของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษา ขณะที่สูตร emulsion

ointment มีแนวโน้มการแยกชั้นและการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเก็บในสภาวะเร่งตั้งแต่เดือนที่ 1 เป็นต้นไป การวิเคราะห์เชิงปริมาณของสาร α -mangostin ด้วยวิธี HPLC แสดงให้เห็นว่า ในสูตร emulsion gel ทั้งสองความเข้มข้น ปริมาณสารสำคัญคงเหลือมากกว่า ร้อยละ 80 ของค่าตั้งต้นหลังเก็บ 6 เดือนในสภาวะเร่ง โดยลดลงประมาณ ร้อยละ 20 ในขณะที่สูตร emulsion ointment แสดงค่าการลดลงของสารสำคัญมากกว่าและไม่คงตัวทางกายภาพ โดยเฉพาะสูตรที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 2.0 (โดยน้ำหนัก) ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงชัดเจนของลักษณะเนื้อผลิตภัณฑ์และความหนืด ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า emulsion gel มีความคงตัวของ α -mangostin ดีกว่า อย่างไรก็ตามแม้ว่าปริมาณ α -mangostin ในผลิตภัณฑ์ต้นแบบลดลงประมาณ ร้อยละ 20 หลังการเก็บรักษาในสภาวะเร่งเป็นระยะเวลา 6 เดือน ซึ่งเมื่อพิจารณาในเชิงการตั้งเกณฑ์คุณภาพ อาจต่ำกว่าเกณฑ์การยอมรับที่นิยมใช้ในการกำหนด specification สำหรับปริมาณสารสำคัญ ซึ่งระบุให้ปริมาณสารสำคัญลดลงได้ไม่เกินร้อยละ 5 ทั้งนี้เกณฑ์ดังกล่าวมิได้เป็นค่าที่กำหนดโดยตรงในแนวทาง ICH Q1 แต่ได้มาจากหลักการตั้ง acceptance criteria ตามแนวทาง ICH Q6A⁽¹⁹⁾ ประกอบกับแนวปฏิบัติของตำรายาและเอกสารอ้างอิงสากลหลายฉบับ ซึ่งกำหนดให้ปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติหรือสมุนไพร ต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 90 ของค่าที่ระบุ จากข้อมูลความคงตัวเบื้องต้นพบว่า ณ ระยะเวลา 3 เดือน ปริมาณ α -mangostin ยังคงอยู่มากกว่าร้อยละ 90 ของค่าเริ่มต้น แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ยังคงรักษาคุณภาพได้ในช่วงต้นของอายุการเก็บรักษา และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียยังอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับเวลาเริ่มต้น แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเหมาะสมสำหรับใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่มีอายุการเก็บสั้นภายใต้เงื่อนไขการเก็บรักษาที่กำหนด ทั้งนี้ข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการปรับปรุงสูตรตำรับและระบบบรรจุภัณฑ์ เพื่อเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญในงานวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ระยะต่อไป โดยผลิตภัณฑ์ควรคงสภาพและมีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ได้ในระยะยาวในการศึกษานี้ความคงตัวของสารสำคัญสัมพันธ์กับ

การกระจายตัวที่สม่ำเสมอของสารสกัดในเฟสของระบบเจล และการมีโครงสร้างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวที่ช่วยป้องกันการตกผลึกของสารออกฤทธิ์ในช่วงอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง การคงตัวของผลิตภัณฑ์ในลักษณะนี้จึงมีความสำคัญต่อการประกันคุณภาพและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรในเชิงอุตสาหกรรม ดังนั้นจากการทดสอบความคงตัวชี้ให้เห็นว่า emulsion gel ที่มีความเข้มข้นของสารสกัด ร้อยละ 1.0–2.0 (โดยน้ำหนัก) เป็นสูตรที่มีความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีดี ซึ่งสามารถรักษาปริมาณสาร α -mangostin ได้ในระดับที่มีนัยสำคัญต่อฤทธิ์ทางชีวภาพหลังเก็บรักษา 6 เดือน และเหมาะสมสำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบสมุนไพรต้านเชื้อแบคทีเรียจากเปลือกมังคุด

การพัฒนาวิธีการสกัดและการวิเคราะห์สารสำคัญในการศึกษานี้จะช่วยให้การใช้เปลือกมังคุดในผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์มีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้ผลการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ยังเป็นข้อมูลที่สำคัญในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรให้สามารถใช้งานได้ในระยะยาวและคงประสิทธิภาพในการรักษา การศึกษาเชิงลึกและการพัฒนาเช่นนี้ไม่เพียงแต่จะช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรที่มีอยู่ในธรรมชาติเท่านั้น แต่ยังเปิดโอกาสในการสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีคุณสมบัติทางการแพทย์ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะในด้านการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับเชื้อแบคทีเรียและการติดเชื้อทางผิวหนัง อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ อาจยังมีจำนวนตัวอย่างเปลือกมังคุดไม่ครอบคลุมที่จะเป็นตัวแทนของทั้งประเทศ เนื่องจากมังคุดเป็นพืชที่ปลูกได้เฉพาะในภาคตะวันออกและภาคใต้ของประเทศ อีกทั้งยังมีฤดูกาลในการให้ผลผลิต ดังนั้นจึงควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างเปลือกมังคุดที่นำมาศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความเหมาะสมสำหรับเป็นตัวแทนของทั้งประเทศ

สรุป

จากผลการศึกษาการประเมินคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์และการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสาร α -mangostin ในเปลือกมังคุดนี้ มีความสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรที่มีคุณภาพและปลอดภัย โดยการศึกษานี้ได้ดำเนินการตามมาตรฐาน

การประเมินของ THP และมีการพัฒนาวิธีการที่ละเอียดและเชื่อถือได้ในการสกัดและวิเคราะห์สารสำคัญในเปลือกมังคุด ผลการศึกษาพบว่าข้อกำหนดคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ของวัตถุดิบเปลือกมังคุด ควรมีปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ไม่เกินร้อยละ 10.0 และ 3.0 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ ควรมีปริมาณสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอล และปริมาณสาร α -mangostin ไม่น้อยกว่าร้อยละ 16.0, 23.0 และ 4.3 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ นอกจากนี้ในการศึกษาคุณภาพทางเคมี-ฟิสิกส์ของสารสกัดด้วยเอทานอลของเปลือกมังคุด ควรมีปริมาณความชื้น ไม่เกินร้อยละ 14.0 และปริมาณสาร α -mangostin ไม่น้อยกว่าร้อยละ 14.5 (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงศักยภาพของเปลือกมังคุดในการใช้เป็นวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพร การพัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยใช้ HPLC ร่วมกับการตรวจสอบคุณภาพด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นทำให้ได้ผลที่มีความแม่นยำและคงตัวในการวิเคราะห์สาร α -mangostin ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์หลักที่มีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้การพัฒนาสารสกัด GM1 และ GM2 จากเปลือกมังคุด และการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อ MRSA และ MSSA ซึ่งมีความทนทานต่อการรักษา การศึกษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ต้นแบบในรูปแบบ emulsion gel และ emulsion ointment base ที่บรรจุสารสกัดจากเปลือกมังคุด (GM2) ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 2.0 (โดยน้ำหนัก) ดำเนินการภายใต้ทั้งสภาวะปกติและสภาวะเร่ง ตามแนวทาง ICH Q1A(R2) โดยประเมินที่ช่วงเวลา 0, 1, 3 และ 6 เดือน ผลการทดสอบพบว่าผลิตภัณฑ์ชนิดอิมัลชันเจล (emulsion gel) มีความคงตัวทางกายภาพดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น หรือความหนืด ตรงกันข้ามกับสูตรอิมัลชันขี้ผึ้ง (emulsion ointment) ซึ่งมีแนวโน้มเกิดการแยกชั้นและการเปลี่ยนสีภายใต้สภาวะเร่ง การวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่า emulsion gel ทั้งสองความเข้มข้นสามารถคงปริมาณ α -mangostin ได้มากกว่าร้อยละ 80 หลังการเก็บ 6 เดือนภายใต้สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 40 ± 2

องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 65 ± 5 โดยมีการลดลงประมาณ ร้อยละ 20 ซึ่งต่ำกว่าช่วงที่ยอมรับได้สำหรับผลิตภัณฑ์สมุนไพร โดยเกณฑ์มาตรฐานจะกำหนดให้สารสำคัญมีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน $\pm$ ร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) ขณะเดียวกันสูตร ointment แสดงให้เห็นการสูญเสียสารสำคัญและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพอย่างชัดเจน โดยเฉพาะสูตรที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2.0 (โดยน้ำหนัก) ผลการศึกษาว่า emulsion gel มีความคงตัวของสารสำคัญสูงกว่าเนื่องจากการกระจายตัวของสารสกัดในระบบเจลมีความสม่ำเสมอและโครงสร้างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวช่วยป้องกันการตกผลึกของสารออกฤทธิ์ ดังนั้นสูตร emulsion gel ความเข้มข้นร้อยละ 1.0–2.0 (โดยน้ำหนัก) จึงเป็นสูตรที่มีความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีดีกว่า และเหมาะสำหรับนำไปเป็นพื้นฐานในการพัฒนาปรับปรุงสูตรตำรับให้มีความคงตัวทางเคมีเพิ่มขึ้นเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพในระดับอุตสาหกรรม อีกทั้งผลการศึกษานี้ยังสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการสกัดและวิเคราะห์สารจากสมุนไพรชนิดอื่นๆ ในอนาคต และเป็นแนวทางสำคัญในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อให้มีประสิทธิภาพและปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค

การเปิดเผยการใช้ปัญญาประดิษฐ์

การวิจัยครั้งนี้มีการใช้ปัญญาประดิษฐ์ ChatGPT (OpenAI, USA) ในการสืบค้นข้อมูล และ Grammarly (Grammarly Inc., USA) เพื่อปรับแก้ในส่วนภาษาอังกฤษให้ถูกต้องตามหลักไวยากรณ์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ศูนย์ตรวจสอบและรับรองคุณภาพสมุนไพร สถาบันวิจัยสมุนไพร ที่ช่วยเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบและสารสกัดเปลือกมังคุด และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. เต็ม สมิตินันท์. พรรณไม้ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : บริษัทประชาชน จำกัด; 2523.
2. โชติอนันต์ อินทุไสตรกุล, และคณะ. สมุนไพรไทย สำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน. กรุงเทพฯ : ดวงกมลพับลิชชิ่ง; 2551.
3. Nakatani K, Arakawa T, Yasuda H, and Ohizumi Y. Inhibition of cyclooxygenase and prostaglandin E2 synthesis by α -mangostin, a xanthone derivative in mangosteen, in C6 rat glioma cells. *Biochem Pharmacol* 2002; 63 : 73-9.
4. Jinsart W, Ternai B, Buddhasukh D, Polya GM. Inhibition of wheat embryo calcium-dependent protein kinase and other kinases by mangostins and α -mangostin. *Phytochem* 1992; 31 : 3711-3.
5. Li G, Thomas S, Johnson JJ. Polyphenols from the mangosteen (*Garcinia mangostana*) fruit for breast and prostate cancer. *Front Pharmacol* 2013; 4 : 80. (4 pages).
6. Yuvanatemiy V, Srean P, Klangbud WK, Venkatachalam K, Wongs J, Parametthanuwat T, et al. A review of the Influence of various extraction techniques and the biological effects of the xanthenes from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) pericarps. *Molecules* 2022; 27 : 8775. (19 pages).
7. Zadernowski R, Czaplicki A, Nacz M. Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chem* 2009; 130(3) : 685-9.
8. Albuquerque BR, Dias MI, Pinela J, Calhela RC, Pires TCSP, Alves MJ, et al. Insights into the chemical composition and *in vitro* bioactive properties of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) pericarp. *Foods* 2023; 12 : 994. (15 pages).
9. Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *J Ethnopharmacol* 2005; 101 : 330-3.
10. สุนทรี สิงหบุตร. สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักอนามัย; 2540.
11. World Health Organization. Antimicrobial resistance surveillance report 2022. Geneva : WHO; 2022.
12. Pothitirat W, Gritsanapan W. Quantitative analysis of total mangostins in *Garcinia mangostana* fruit rind. *Health Res* 2008; 22(4) : 161-6.
13. Kongkiatpaiboon S, Vongsak B, Machana S, Weerakul T, Pattarapanich C. Simultaneous HPLC quantitative analysis of mangostin derivatives in *tetragonula pagdeni* propolis extracts. *J King Saud Univ Sci* 2016; 28(2) : 131-5.
14. Boonrat C, Indranupakorn R. Influence of extraction techniques and solvents on α -mangostin amounts from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) pericarp. *Thai Bull Pharm Sci* 2015; 10(2) : 1-11.
15. Eukun Sage E, Jailani N, Md Taib AZ, Mohd Noor N, Mohd Said MI, Abu Bakar M, et al. From the front or back door? Quantitative analysis of direct and indirect extractions of α -mangostin from mangosteen (*Garcinia mangostana*). *PLoS One* 2018; 13(10) : e0205753. (12 pages).
16. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia 2021 : supplement 2024. Nonthaburi : Bureau of Drug and Narcotic, Department of Medical Sciences; 2024.
17. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). ICH harmonised guideline : analytical procedure development Q14. Geneva : ICH; 2023.
18. ทิพวรรณ นิ่งน้อย. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดี่ยว. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2549.

19. European Medicines Agency. ICH Topic Q1A(R2): stability testing of new drug substances and products. London: EMA; 2003.
20. Pyae NYL, Maiuthed A, Phongsopitanun W, Ouengwanarat B, Sukma W, Srimongkolpithak N, et al. N-Containing α -mangostin analogs via Smiles rearrangement as the promising cytotoxic, antitrypanosomal, and SARS-CoV-2 main protease inhibitory agents. *Molecules* 2023; 28(3):1104. (18 pages).
21. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Content of the dossier for herbal drugs and herbal drug preparations: quality evaluation. Strasbourg: Council of Europe; 2013.
22. European Medicines Agency. Guideline on specifications: test procedures and acceptance criteria for herbal substances, herbal preparations and herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products. London: EMA; 2018.
23. Voravuthikunchai SP, Kitpipit L. Activity of medicinal plant extracts against hospital isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(6): 510-2.
24. Leelapornpisid W. Efficacy of alpha-mangostin for antimicrobial activity against endodontopathogenic microorganisms in a multi-species bacterial-fungal biofilm model. *Arch Oral Biol* 2022; 133:105304.
25. Górecka H, Guźniczak M, Buzalewicz I, Ulatowska-Jarza A, Korzekwa K, Kaczorowska A. Alpha-mangostin: a review of current research on its potential as a novel antimicrobial and anti-biofilm agent. *Int J Mol Sci* 2025; 26: 5281. (22 pages).

Physicochemical Properties, Antibacterial Activity, and Prototype Development of Herbal Products from Mangosteen Rind

Jiranuch Mingmuang, Vilailuk Chuennangchee, Sirikarn Thana-Ariyaroj, Pornsri Prasertwaree, Saowanee Thongdee, Ubonphan Kongsas, and Sakwichai Onthong
Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT Mangosteen (*Garcinia mangostana* L., family Clusiaceae) contains α -mangostin as its major active constituent, which exhibits antibacterial and anti-inflammatory activities. This study aimed to evaluate the physicochemical quality and to develop prototype products from mangosteen rind extract. Dried mangosteen rind samples were assessed for physicochemical quality according to the Thai Herbal Pharmacopoeia 2021, and the content of α -mangostin was analyzed using a developed HPLC-PDA method. The preparation of the mangosteen rind extract (GM2) was performed by extracting mangosteen rind with methanol, followed by solvent partitioning with ethyl acetate, and determining the α -mangostin content in the extract. Antibacterial activity against skin-pathogenic bacteria, including Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, Methicillin Susceptible *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, and *Propionic acnes*, was evaluated using the disc diffusion method. Prototype formulations in the form of emulsion gel and ointment containing GM2 at concentrations of 1% and 2% (w/w) were then developed and subjected to stability testing following ICH Q1A(R2) guidelines. The results showed that mangosteen rind contained moisture content, total ash, acid-insoluble ash, and water and ethanol extractive values (mean $\pm$ SD) of $8.74\pm1.51\%$, $2.77\pm0.20\%$, $0.10\pm0.00\%$, $18.13\pm2.08\%$, and $25.91\pm4.85\%$ (w/w), respectively. The α -mangostin contents in the raw material and extract were $4.78\pm0.86\%$ and $16.14\pm2.26\%$ (w/w), respectively. The GM2 extract exhibited antibacterial activity and contained 52.0% (w/w) of α -mangostin. In addition, the emulsion gel formulation was more stable than emulsion ointment with a content of more than 80% α -mangostin after 6 months of storage under accelerated conditions at $40\pm2^{\circ}\text{C}$ and $75\pm5\%$ RH. This study demonstrated the potential of mangosteen rind extract to be developed as a high-quality antibacterial herbal product. The findings can be useful as a prototype for industrial development and provide a guideline for quality control of herbal products in the future.

Keywords: α -mangostin, Physico-chemical quality, *Garcinia mangostana* L., Antibacterial, Prototype product