



ผลของสารสกัดโพลีฟีนอลจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งเชื้อ สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ ในห้องปฏิบัติการ

ปานดา ตรีสุวรรณ*, อาภา จันท์เทวี, อาริยา รัตนทองคำ, จอมใจ พิรพัฒนา, นาฏศิริ นวลแก้ว, สุภาภรณ์ ฉัตรชัยวิวัฒนา

บทคัดย่อ

ผลของสารสกัดโพลีฟีนอลจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ ในห้องปฏิบัติการ

ปานดา ตรีสุวรรณ*, อาภา จันท์เทวี, อาริยา รัตนทองคำ, จอมใจ พิรพัฒนา, นาฏศิริ นวลแก้ว, สุภาภรณ์ ฉัตรชัยวิวัฒนา

บทนำ : โรคฟันผุจัดเป็นปัญหาที่สำคัญทางด้านทันตกรรม ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการก่อโรคฟันผุและทำให้รอยโรคฟันผุลุกลามคือเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ (*Streptococcus mutans*) มีการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด จากการศึกษาทางพิษวิทยาเคมีแสดงให้เห็นว่าเปลือกมังคุดมีสารองค์ประกอบที่มีโครงสร้างทางเคมีแบบโพลีฟีนอลิกหลายชนิด และมีสารหลักที่สำคัญคือแอลฟา-แมงโกสติน ซึ่งมีประสิทธิภาพในการต่อต้านแบคทีเรียมากที่สุด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดโพลีฟีนอลจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) **วัสดุและวิธีการ :** เตรียมสารสกัด 95% ethanol แล้วตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีวิธี TLC จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric Method และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* สายพันธุ์ ATCC 25175 ด้วยวิธี broth dilution method (2-fold serial dilution) โดยทำใน microtiter 96-well plate และวิธี drop plate แสดงผลที่ได้เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) **ผลการศึกษา :** สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีแอลฟา-แมงโกสตินเป็นองค์ประกอบ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 25.88 µg/mL ของสารสกัดที่สมมูลกับ gallic acid (GAE) แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* สายพันธุ์ ATCC 25175 โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโต คือ 0.25 mg/mL และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อคือ 1 mg/mL **สรุปผล :** การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดโพลีฟีนอลจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อ *S. mutans* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในการก่อโรคฟันผุและรอยโรคฟันผุลุกลาม

คำสำคัญ : สารสกัดจากเปลือกมังคุด, *Garcinia mangostana* L., สเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์

Abstract

Inhibitory effects of polyphenol from mangosteen extracts on *Streptococcus mutans* in vitro

Treesuwan P*, Juntavee A, Rattanathongkom A, Peerapattana J, Nualkaew N, Chatrchaiwiwatana S

Introduction : Dental caries is an important dental problem. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) is a leading cause of dental caries and associated with caries development. Previous studies have shown that the extracts from pericarp of mangosteen have demonstrated antibacterial activity against a wide variety of microorganisms. Phytochemical studies have shown that its active components are polyphenolic compounds. Among these, α -mangostin has the most potent antibacterial activity. The aim of this study was to examine the antibacterial activity of polyphenol from mangosteen extracts against *S. mutans*.

*ติดต่อผู้พิมพ์ : โทร 089 9369311, E-mail : panjung2010@gmail.com

*corresponding author : Tel 089 9369311, E-mail : panjung2010@gmail.com



Materials and methods : Chemical pattern of the 95% ethanol extract of mangosteens were investigated by TLC. The total phenolic contents were determined by Folin-Ciocalteu Colorimetric Method. The antibacterial activity of *S. mutans* ATCC 25175 was determined by broth dilution method (2-fold serial dilution) in microtiter 96-well plate and drop plate. Antibacterial activity was expressed as minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). **Results** : The mangosteen extracts composed of α -mangostin as one of chemical constituents. The total phenolic contents of mangosteen extracts was 25.88 μ g/mL gallic acid equivalence (GAE). The extracts was effective against *S. mutans* ATCC 25175. The MIC was 0.25 mg/mL and the MBC was 1 mg/mL. **Conclusion** : The results showed the antibacterial activity of polyphenol from mangosteen extracts against *S. mutans*, the leading cause of dental caries and associated with caries development.

Key words : mangosteen extracts, *Garcinia mangostana* L., *Streptococcus mutans*

บทนำ

การเกิดโรคฟันผุจัดเป็นปัญหาทางทันตสาธารณสุขที่สำคัญปัญหาหนึ่งของประเทศไทย ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการก่อโรคฟันผุและทำให้รอยโรคฟันผุลุกลามคือเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ (*Streptococcus mutans*) ดังนั้นการทำให้ *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ในช่องปากถูกยับยั้งหรือลดปริมาณลง จะช่วยควบคุมกระบวนการเกิดโรคฟันผุได้ (Fejerskov, 1997)

มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) เป็นพืชวงศ์ Clusiaceae จัดเป็นยาสมุนไพรซึ่งถูกนำมาใช้ในการรักษาอาการต่างๆ จากตำรับยาแผนโบราณระบุว่าเปลือกของมังคุดมีฤทธิ์ในการแก้ท้องเสียได้ เป็นยาสมานแผล แก้แผลเปื่อยพุพอง และติดเชื้อมีได้ (Pongboonrawd, 1976) โดยมีการศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุด พบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด มีฤทธิ์ในการต่อต้านแบคทีเรียได้หลายชนิด มีความสามารถในการต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเกิดก้อนเนื้อได้อีกด้วย (Selwitz *et al.*, 2007; Gibbons, 1984; Hamada and Slade, 1980) การศึกษาทางพฤกษเคมี (Phytochemistry) แสดงให้เห็นว่าเปลือกมังคุดมีองค์ประกอบเคมีในกลุ่มโพลีฟีนอลิก ซึ่งส่วนใหญ่มีสูตรโครงสร้างแบบที่เป็นอนุพันธ์ของแซนโทน (xanthone derivatives) เช่น แอลฟา, เบต้า, และแกมมาแมงโกสติน (α -, β - and γ -mangostin), การ์ทีนิน (gartinin), วัน-แอน ทรี-ไอโซแมงโกสติน (1- and 3-isomangostin), และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive substances) อื่นๆ (Deachathai *et al.*, 2006; Jung *et al.*, 2006) โดยสารที่มีปริมาณมากและมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีคือ แอลฟา-แมงโกสติน (α -mangostin) ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการต่อต้านแบคทีเรียมากที่สุด

(Pothitirat and Gritsanapan, 2008; Punjapratheep *et al.*, 2007; Singleton *et al.*, 1999; Torrungruang *et al.*, 2007; Reuben *et al.*, 2008; Microbial population count, 2010)

วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อที่จะศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดโพลีฟีนอลจากเปลือกมังคุด ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* ซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาสารตัวใหม่เพื่อใช้ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในรอยโรคฟันผุต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1.1 อุปกรณ์และสารเคมี

Mangosteen powder (4spectrum, USA), Mitis salivarius agar (Difco, USA), Todd Hewitt Broth (Difco, USA), *S. mutans* ATCC 25175 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ประเทศไทย), 95% ethanol (กรมสรรพสามิต, ประเทศไทย), Chloroform (บริษัทพี.ไอ., ประเทศไทย), Ethyl acetate (บริษัทพี.ไอ., ประเทศไทย), Methanol (บริษัทพี.ไอ., ประเทศไทย), Chlorhexidine digluconate (Sigma, USA), สารมาตรฐานแอลฟา-แมงโกสติน (α -mangostin) (Chungdu Biopurify Phytochemicals Ltd, China), Gallic acid (Sigma, USA), ตู้บเลี้ยงเชื้อ 5% CO₂ ที่ 37 °C (CO₂ incubator, Forma Scientific, USA), UV spectrophotometer (DU730, Germany), Vortex mixer (VM-300, Taiwan), Rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan), Freeze dryer (CHRIST, Germany), TLC silica gel 60GF₂₅₄ (precoated plate) (Merck, Germany), เครื่องซั่งสารทศนิยม 5 ตำแหน่ง (KERN ALT 100-5AM, Germany)



1.2 วิธีทดลอง

1.2.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุด (Pothitirat and Gritsanapan, 2008)

นำผงเปลือกมังคุด 200 g แช่ใน 95% ethanol ปริมาตร 1,400 mL นำไปเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 130 รอบ/นาที่ เป็นเวลา 3 วัน เปลี่ยนตัวทำละลาย 2 ครั้ง กรองแยกสารสกัดออกจากผงเปลือกมังคุดด้วยชุดกรองบุชเนอร์ นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายออกจากด้วยเครื่อง Rotary vacuum evaporator หลังจากนั้นนำไประเหิดแห้งโดยใช้เครื่อง Freeze dryer

1.2.2 การทำ TLC ของสารสกัดเอทานอลจากเปลือกมังคุด (Punjabratheep *et al.*, 2007)

ใช้แผ่น TLC silica gel 60GF₂₅₄ (precoated plate) ขนาด 4.5 x 9 cm (Pongboonrawd, 1976) โดยมีเฟสเคลื่อนที่คือ Chloroform : Ethyl acetate : Methanol (8:1:0.5) ระยะทางที่ใช้เท่ากับ 7 cm ซึ่งหลังจากที่เอาแผ่น TLC ออกจากภาชนะแก้วที่มีฝาปิด จะถูกทำให้แห้งด้วยเครื่องเป่าแห้งและสเปรย์ด้วยสารละลาย 10% sulfuric acid ใน ethanol แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 10 min ตรวจจุดตำแหน่งของสารบนแผ่น TLC ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 366 nm เปรียบเทียบค่ากับ R_f ขององค์ประกอบเคมีในสารสกัดกับสารมาตรฐานแอลฟา-แมงโกสติน (α -mangostin)

1.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ในเปลือกมังคุด (Singleton *et al.*, 1999)

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างสมุนไพร โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric Method ใช้สารมาตรฐาน Gallic acid และสมุนไพรตัวอย่าง ทำปฏิกิริยาใน microtiter 96-well plate ปฏิกริยาประกอบด้วย 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 μ L, 7% Na₂CO₃ 80 μ L, สารละลาย Gallic acid 5 ความเข้มข้นได้แก่ 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 μ g/mL ความเข้มข้นละ 3 หลุม ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 min ที่อุณหภูมิห้อง ป้องกันแสงแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 750 nm สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง Gallic acid ความเข้มข้นต่างๆ (แกน x) และค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) แล้วหาสมการเส้นตรง แทนค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด ethanol จากเปลือกมังคุดลงในสมการเส้นตรงที่ได้จาก Gallic acid

1.2.4 การทดสอบคุณภาพสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

(Torrungruang *et al.*, 2007; Reuben *et al.*, 2008; Microbial population count, 2010)

1.2.4.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

S. mutans ATCC 25175 จะถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (Todd Hewitt Broth) และจะถูกบ่มเชื้อในตู้บ่มเลี้ยงเชื้อ 5% CO₂ ที่ 37 °C เจือจางเชื้อจุลินทรีย์ให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์โดยมีค่า OD เท่ากับ 0.1 ที่ความยาวคลื่น 600 nm จากการวัดด้วย UV spectrophotometer

1.2.4.2 การศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* ในเบื้องต้นและหาตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยวิธี Agar well diffusion

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 mL มาผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้น (Mitis salivarius agar) ปริมาตร 100 mL ขณะที่อาหารยังไม่แข็งตัว โดยเขย่าเบาๆ ให้ผสมกันแล้วนำอาหารไปเทลง plate จากนั้นรอให้วุ้นแข็งตัว แล้วเจาะหลุม โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm นำสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ละลายใน 95% ethanol สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ละลายใน 1% DMSO สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ละลายในน้ำกลั่น โดยใช้ตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารสกัดแต่ละชนิดเป็นตัวควบคุมหยดลงในหลุม จากนั้นบ่มเพาะเชื้อ 24 hr แล้วอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงกลมที่ไม่มีเชื้อขึ้น (inhibition zone) หากพบว่ามี inhibition zone เกิดขึ้นแสดงว่าสารดังกล่าวมีฤทธิ์ต่อการยับยั้ง *S. mutans* (Torrungruang *et al.*, 2007; Reuben *et al.*, 2008)

1.2.4.3 การหาความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* (MIC)

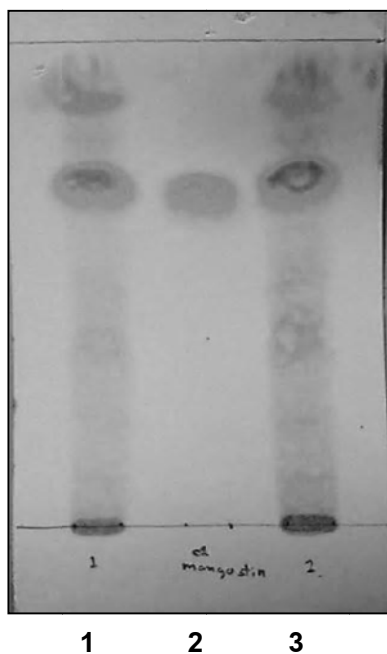
นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้แล้วลงใน microtiter 96-well plate และใส่สารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยให้ความเข้มข้นเริ่มต้น 1 mg/mL แล้วเจือจางลดความเข้มข้นลงทีละครึ่งแบบ 2-fold serial dilution โดยปริมาตรในแต่ละหลุมเท่ากับ 100 μ L เขย่าให้ผสมกันดีแล้วเลี้ยงต่อในตู้บ่มเลี้ยงเชื้อ 5% CO₂ ที่ 37 °C เป็นเวลา 24 hr โดยใช้ chlorhexidine digluconate เป็นกลุ่มควบคุมที่จะมีการตอบสนอง (positive control) อ่านผลจากการเจริญเติบโตของเชื้อ หากสารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ก็จะแสดงผลเป็นไม่มีตะกอนของเชื้อให้เห็น ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์คือค่า MIC (Torrungruang *et al.*, 2007)

1.2.4.4 การหาความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สามารถฆ่า *S. mutans* (MBC)

หาค่า MBC โดยใช้วิธี drop plate หยดสารตัวอย่างที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจากข้อ 1.2.4.3 ลงบนจานอาหาร โดยแต่ละจุดใช้ปริมาณ 0.01 mL ตัวอย่างจะถูกปล่อยให้แห้งอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อในจานอาหาร แล้วนำไปเข้าตู้อบเลี้ยงเชื้อ 5% CO₂ ที่ 37 °C เป็นเวลา 24 hr หากสารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถฆ่าเชื้อได้ก็จะแสดงผลคือไม่มีโคโลนีของเชื้อปรากฏ ความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์คือค่า MBC (Torrunguang *et al.*, 2007; Microbial population count, 2010)

ผลการศึกษาวิจัย

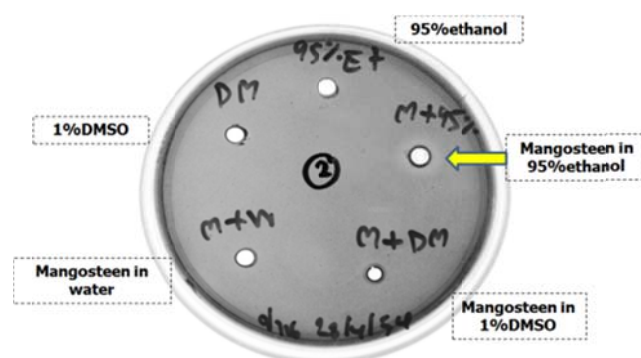
จากการสกัดได้สารสกัด 95% ethanol 15.16 g คิดเป็นร้อยละของปริมาณสารสกัดที่ได้ (%yield) เท่ากับ 7.58 และจากการวิเคราะห์สารด้วยวิธี TLC พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีส่วนประกอบของ แอลฟา-แมงโกสทิน ดังแสดงในภาพที่ 1 ที่ R_f เท่ากับ 0.7 และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 25.88 µg/mL ของสารสกัดที่สมมูลกับ gallic acid (GAE)



ภาพที่ 1 แสดงผลการทำ TLC ของสารสกัดเอทานอลจากเปลือกมังคุด (เลน 1 และ 3 เป็นสารสกัดจากเปลือกมังคุด, เลน 2 เป็นสารแอลฟา-แมงโกสทินมาตรฐาน)

เมื่อศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* สายพันธุ์ ATCC 25175 ด้วยวิธี

Agar well diffusion พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ละลายใน 95% ethanol ปรากฏ inhibition zone ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 9.53±0.06 mm ส่วนสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ละลายใน 1% DMSO สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ละลายในน้ำกลั่น และตัวทำละลายที่ใช้ละลายสารสกัดแต่ละชนิดซึ่งใช้เป็นตัวควบคุมไม่ปรากฏ inhibition zone ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงผลการทดสอบของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Streptococcus mutans* ในเบื่องต้น และหาตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยวิธี Agar well diffusion

จากการนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ละลายใน 95% ethanol มาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* สายพันธุ์ ATCC 25175 ใน microtiter 96-well plate โดยใช้วิธีลดความเข้มข้นลงทีละครึ่งแบบ 2-fold serial dilution พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) คือ 0.25 mg/mL และจากการหาความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) โดยวิธี drop plate พบว่ามีค่าเท่ากับ 1 mg/mL

อภิปรายผลและสรุป

แอลฟา-แมงโกสทินเป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีแบบแซนโทน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มโพลีฟีนอลิก และมีรายงานว่า มีประสิทธิภาพในการต่อต้านแบคทีเรียมากที่สุด (Iinuma *et al.*, 1996; Sundaram *et al.*, 1983; Mahabusarakum *et al.*, 1983; Mahabusarakam *et al.*, 1986; Suksamrarn *et al.*, 2003; Chomnawang *et al.*, 2005) ในการทดสอบ TLC แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่นำมาศึกษาครั้งนี้ มีสารแอลฟา-แมงโกสทินที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านแบคทีเรียเป็นส่วนประกอบโดยการเปรียบเทียบ R_f กับสารแอลฟา-แมงโกสทินมาตรฐาน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Punjapratheep *et al.* (2007)



จากการหาตัวทำลายที่เหมาะสม พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดไม่สามารถละลายน้ำได้ เมื่อนำเฉพาะส่วนที่ใส่ไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. mutans* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าไม่มี inhibition zone ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chutivat *et al.* (2001) พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วย 80 % ethanol โดยปริมาตรไม่สามารถละลายน้ำได้ เมื่อนำสารสกัดนั้นไปหาค่า MIC จึงไม่ปรากฏ inhibition zone นั่นคือไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. mutans* ซึ่งอาจสรุปได้ว่าสารสำคัญในการออกฤทธิ์ยับยั้ง *S. mutans* จะละลายได้ไม่ดีในน้ำ (Chutivat and Rattanavisanon, 2010)

ในการศึกษานี้เป็นการวิจัยที่ศึกษาถึงผลของสารสกัดโพลีฟีนอลจากเปลือกมังคุดต่อการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาสารที่ใช้ในการกำจัดเชื้อในรอยโรคฟันผุ ซึ่งทดสอบในสารสกัด 95% ethanol จากเปลือกมังคุด พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายเชื้อ *S. mutans* สายพันธุ์ ATCC 25175 โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) คือ 0.25 mg/mL และ 1 mg/mL ตามลำดับ ซึ่งผลการศึกษาที่ได้ครั้งนี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Punjapratheep *et al.* (2007) ซึ่งทดสอบในสารสกัด 80% ethanol จากเปลือกมังคุด พบว่าค่า MIC มีค่า 0.39 mg/mL (Punjapratheep *et al.*, 2007) จากการศึกษาของ Torrungruang *et al.* (2007) พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วย Hexane และ Ethyl acetate ที่มีต่อ *S. mutans* พบว่ามีฤทธิ์ต้าน *S. mutans* 2 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ ATCC25175 และ KPSK₂ โดยความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) ในการฆ่าเชื้อ (MBC) สายพันธุ์ ATCC25175 มีค่าเท่ากันคือ 0.625 µg/mL ส่วนสายพันธุ์ KPSK₂ คือ 0.625 และ 1.25 µg/mL ตามลำดับ (Torrungruang *et al.*, 2007) โดยค่า MIC และ MBC ของการศึกษานี้แตกต่างจากการศึกษานี้เนื่องจากเนื่องจากแหล่งที่มาของเปลือกมังคุดมาจากคนละแหล่ง วิธีการสกัดและสารที่ใช้ในการสกัดแตกต่างกัน บางการศึกษาได้นำส่วนที่ทำการสกัดแยกสารสำคัญออกมาแล้วมาทดลอง แต่ในการศึกษานี้ใช้สารสกัดหยาบ (crude extract) และนอกจากนี้สายพันธุ์ของเชื้อที่แตกต่างกัน วิธีที่ใช้ในขั้นตอนการหาค่า MIC และ MBC ที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจจะมีส่วนทำให้ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกัน

ในปัจจุบันการศึกษาถึงผลของโพลีฟีนอลต่อการต้านฟันผุนั้น ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในหลอดทดลองเพื่อดูฤทธิ์ต้าน *S. mutans* พบกลไกการต้านเชื้อที่หลากหลาย เช่น กลไกการยับยั้งการทำงานของกลูโคซิลทรานสเฟอเรส

(glucosyltransferases) และยับยั้งการสังเคราะห์กลูแคนส์ชนิดที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble glucan) ซึ่งสาร glucan เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส ทำหน้าที่คล้ายซีเมนต์ยึดเซลล์แบคทีเรียเข้ากันและทำให้เกาะติดฟันได้ glucan จะถูกสร้างในขณะที่มีน้ำตาลทราย (sucrose, glucose-1-fructose) โดยใช้เอนไซม์ glucosyltransferase ซึ่งอยู่ที่ผิวของเชื้อ นอกจากนี้ยังมีกลไกการยับยั้งการยึดเกาะกับพื้นผิวเนื้อเยื่อแข็ง กลไกการยับยั้งการสร้างกรดจากการย่อยน้ำตาลซูโครสและกลูโคส และกลไกที่ลดการสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นในกระบวนการเมแทบอลิซึมของ *S. mutans* ดังนั้นจะพบว่าสารโพลีฟีนอลออกฤทธิ์รบกวนการเมแทบอลิซึมของ *S. mutans* จึงทำให้สามารถลดการเจริญเติบโตและความรุนแรงของเชื้อลงได้ (Petti and Scully, 2009)

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดโพลีฟีนอลจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อ *S. mutans* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในการก่อโรคฟันผุและรอยโรคฟันผุลุกลาม จึงได้มีแนวคิดที่จะนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดไปสู่การพัฒนาสารตัวใหม่เพื่อใช้ในการกำจัดเชื้อในรอยโรคฟันผุและเป็นแนวทางในการนำไปพัฒนาวัสดุที่ใช้ในการกำจัดรอยผุโดยวิธีเชิงกล (Atraumatic Restorative Treatment, ART) ในงานทันตกรรมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนการศึกษาวิจัยครั้งนี้

References

- Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. Dent oral epidermiol 1997;25(8):5-12.
- Pongboonrawd S. Foreign plants in Thailand: properties of foreign and Thai medicine. Bangkok: Kasembannakit; 1976. p. 443.
- Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. Lancet 2007;369(9555):51-9.
- Gibbons RJ. Adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth. J Dent Res 1984;63(3):378-85.
- Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 1980;44(2):331-84.



- Deachathai S, Mahabusarakam W, Phongpaichit S, Taylor WC. Phenolic compounds from the fruit of *Garcinia dulcis*. *Phytochemistry* 2005;66(19):2368-75.
- Jung HA, Su BN, Keller WJ, Mehta RG, Kinghorn AD. Antioxidant xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *J Agric Food Chem* 2006;54(6):2077-82.
- Pothitirat W, Gritsanapan W. Quantitative analysis of total mangostin in *Garcinia mangostana* fruit rind *J Health Res* 2008;22(4):161-66.
- Punjapratheep W, Pienputtarapong U, Gritsanapan W. Developmental of herbal mouthwash for prevention of tooth decay [online]. 2007 Dec 31 [cited 2011 Dec 1]. Available from: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th>.
- Singleton, V.L., R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventos. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 1999;299:152-78.
- Torrunguang K, Vichienroj P, Chutimaworapan S. Antibacterial activity of mangosteen pericarp extract against cariogenic *Streptococcus mutans*. *CU Dent J* 2007 30:1-10.
- Reuben KD, Abdulrahman FI, Akan JC, *et al*. Phytochemical Screening and *In Vitro* Antimicrobial Investigation of the Methanolic Extract of *Croton Zambesicus* Muell ARG. *Stem Bark. Eur J Sci Res* 2008;23(1):134-40.
- Microbial population count [online]. 2010 Dec 31 [cited 2011 Dec 1]. Available from: <http://science.kmutt.ac.th/class/mic291/mic291lab7.doc>
- linuma M, Tosa H, Tanaka T, Asa iF, Kobayashi Y, Shimano R, *et al*. Antibacterial activity of xanthenes from guttiferaceous plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Pharmacol* 1996;48(8):861-5.
- Sundaram B, Gopalakrishnan C, Subramanian S, Shankaranarayanan D, Kameswaran L. Antimicrobial activities of *Garcinia mangostana*. *Planta Med* 1983;48(1):59-60.
- Mahabusarakum W, Phongpaichit S, Jansakul C, Wiriyaichitra P. Screening of antibacterial activity of chemicals from *Garcinia mangostana*. *Songklanakarin J Sci Technol* 1983;5:337-40.
- Mahabusarakam W, Wiriyaichitra P, Phongpaichit S. Antimicrobial activities of chemical constituents from *Garcinia mangostana* Linn. *J Sci Soc Thailand* 1986;12:239-42.
- Suksamrarn S, Suwannapoch N, Phakhodee W, Thanuhiranlert J, Ratananukul P, Chimnoi N, *et al*. Antimycobacterial activity of prenylated xanthenes from the fruits of *Garcinia mangostana*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2003;51(7):857-9.
- Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *J Ethnopharmacol* 2005;101(1-3):330-3.
- Chutivat V, Rattanavisanon W. The development of herbal product for anti-tooth decay [online]. 2010 Dec 31 [cited 2011 Dec 1]. Available from: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th>.
- Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: A review. *J Dent* 2009;37(6):413-23.