

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแมงจิเฟอรินจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการ
ต่อเชื้อสแตฟไฟโลคอคไค

Antimicrobial Activity of Mangiferin from NamDokMai Mango Leaves, Samut
Prakan Province to Staphylococci

อิสยา จันทรวิทยานุชิต^{1*}, วิชาญ จันทรวิทยานุชิต², สมหญิง งามอรุเลิศ¹, สุวรรณนา เสมศรี, วรณศิริ เมฆศรีนวน¹,
พรทิพย์ พึ่งม่วง¹, ปัญจพร นิมมณี¹, สุมลรัตน์ ชูวงษ์วัฒน์¹, วัชรินทร์ รังษิภาณุรัตน์¹, พัชรี กัมมารเจษฎากุล¹

¹คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

²คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

*Email : isaya.jan@gmail.com

บทคัดย่อ

แมงจิเฟอริน (Mangiferin) เป็นสารพฤษเคมีที่มีโครงสร้างอยู่ในกลุ่มแซนโธนไกลโคไซด์ (Xanthone glycoside) เป็นสารที่พบมากโดยเฉพาะใบมะม่วงน้ำดอกไม้ มีรายงานการศึกษาพบว่าใบมะม่วงมีสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายชนิด ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดระดับไขมันในเลือด ลดระดับเอนไซม์ในตับ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity) ของแมงจิเฟอรินจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการต่อเชื้อสแตฟไฟโลคอคไค จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Clinical isolate), methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (Clinical isolate), *Staphylococcus epidermidis* (Clinical isolate) ในด้วยวิธี Agar disk diffusion โดยใช้แมงจิเฟอรินความเข้มข้น 256, 128, 64, 32 $\mu\text{g/mL}$ จากการศึกษาเบื้องต้นนี้ พบว่าแมงจิเฟอรินความเข้มข้น 256, 128 $\mu\text{g/mL}$ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* (Clinical isolate) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่ยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ได้ 9 ± 0.5 , 8 ± 0.5 mm ตามลำดับ ส่วนแมงจิเฟอรินความเข้มข้นอื่น ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อสแตฟไฟโลคอคไคที่เหลืออีก 4 สายพันธุ์

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ แมงจิเฟอริน สแตฟไฟโลคอคไค

Abstract

Mangiferin is a phytochemical structured in the Xanthone glycoside group, a substance found especially in NamDokMai mango leaves. There is a study report that mango leaves contain a variety of biologically active substances, including antioxidant activity. lowering blood sugar levels, reduce blood lipid levels, decrease in liver enzyme levels, antimicrobial activity to gram-positive and gram-negative bacteria. Antimicrobial activity of mangiferin from NamDokMai mango leaves,

Samut Prakan Province against five strains of staphylococci, namely *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (clinical isolate), methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (clinical isolate), *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate) was investigated by agar disk diffusion method. In this study, mangiferin concentrations were 256, 128, 64, 32 $\mu\text{g/mL}$. This preliminary study was found that 256, 128 $\mu\text{g/mL}$ of mangiferin had antimicrobial activity to *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate). It had an inhibition zone diameter of 9 ± 0.5 , and 8 ± 0.5 mm, respectively. Other concentrations of mangiferin had no inhibitory activity effect on the remaining four Staphylococci.

Keywords : Antimicrobial activity, Mangiferin, Staphylococci

บทนำ

สารแมงจิเฟอริน (Mangiferin) (1,3,6,7-tetrahydroxy-2 - [(2S, 3R, 4R, 5S, 6R) 3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) oxan-2-yl] xanthen-9-one) เป็นสารพฤษเคมีที่มีโครงสร้างจัดอยู่ในกลุ่มแซนโทนไกลโคไซด์ (Xanthone glycoside) โดยมีพันธะ C-glycosidic ซึ่งเป็นพันธะที่เชื่อมต่อระหว่างโครงสร้างของน้ำตาลกับโครงสร้างที่ไม่ใช่น้ำตาล แมงจิเฟอรินเป็นสารที่พบได้หลายส่วนของมะม่วงโดยเฉพาะส่วนของใบเป็นส่วนที่มีรายงานว่าพบสารแมงจิเฟอรินในปริมาณที่มากกว่าส่วนอื่น ๆ (Barreto JC, 2008) จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารแมงจิเฟอรินในใบมะม่วง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ น้ำดอกไม้ เขียวเสวยและแก้ว พบว่าสายพันธุ์ที่มีปริมาณแมงจิเฟอรินมากที่สุดคือสายพันธุ์น้ำดอกไม้โดยพบร้อยละ 2.80 โดยน้ำหนัก (Aranya Jutiviboonsuk, 2010) องค์ประกอบทางเคมีของสารในมะม่วง ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก (phenolic secondary metabolites) รวมทั้ง gallic acid, quercetin 3- β -D glucoside, α tocopherol, 3-methyl-gallate, propyl gallate, propyl benzoate (+) catechin, (-) epicatechin, benzoic acid และ D-glucose จากรายงานการศึกษาพบว่าใบมะม่วงมีสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายชนิด (Barreto JC, 2008) ได้แก่ Alkaloids, Flavonoids, Saponins, Cardiac glycosides, Resins, Sterols, Benzenoids, Lactones, Terpenes, Balsam, Tannin และมีสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ Polyphenols, Flavonoids, Terpenoids, Steroids, Fatty acids, Mangiferin ส่วนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของมะม่วงพบว่ามีการศึกษาคุณสมบัติลดระดับน้ำตาลในเลือด ได้แก่ Alkaloids, Glycosides, Flavonoids และ Saponins มีรายงานการศึกษาผลของสารสกัดใบมะม่วงจากการสกัดด้วยน้ำ พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาล ลดระดับไขมันในเลือด ลดระดับเอนไซม์ ALP, AST และ ALT และไม่เป็นพิษต่อตับ นอกจากนี้สารสกัดจากใบและเมล็ดมะม่วงจากการสกัดด้วย Ethanol สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและเพิ่มระดับอินซูลินได้ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Streptococcus pneumonia*, *Bacillus cereus* และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* (Du S, 2018) คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจต้องการนำใบมะม่วงซึ่งเป็นสิ่งเหลือใช้ (Waste) หลังจากกระบวนการเก็บเกี่ยวผลผลิตมาพัฒนาวิธีการสกัดสารแมงจิเฟอรินให้ได้ปริมาณมาก รวดเร็ว ประหยัดและมีความบริสุทธิ์ เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อเป็นข้อมูลและนำไปพัฒนาต่อยอด เพิ่มมูลค่าให้กับใบมะม่วงน้ำดอกไม้สมุทรปราการอีกทางหนึ่ง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ (Antimicrobial agent) ของแมงจิเฟอริน (Mangiferin) ในเบื้องต้นจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการต่อเชื้อ Staphylococci

วิธีการวิจัย

1. การสกัดสารแมงจิเฟอรินจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการ

1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบใบมะม่วง นำใบมะม่วงล้างให้สะอาด เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน จากนั้นนำไปอบให้แห้งและนำไปบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักได้ 4,234 กรัม นำใบมะม่วงบดละเอียด ใส่ถังสกัด เติมน้ำเอทานอล (80%) ลงไป 16 ลิตร หมักทิ้งไว้ 3 วัน โดยกวนบ่อย ๆ กรองผ่านสำลี เก็บของเหลวที่กรองได้ (filtrate) ไว้ นำผงมะม่วงไปหมักรอบที่ 2 โดยใช้เอทานอล (80%) 10 ลิตร ทิ้งไว้ 3 วัน หลังจากนั้นนำไปกรองอีกครั้ง เก็บ filtrate แล้วนำไปรวมกับครั้งแรก นำผงใบมะม่วงหมักรอบที่ 3 ด้วยวิธีเดียวกัน กรองแล้วนำ filtrate ที่ได้ไปรวมกับ 2 ครั้งแรก นำ filtrate ไประเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบสีน้ำตาลเข้มปนเขียว น้ำหนัก 1,627.74 กรัม (38.44%)

1.2 การแยกสารแมงจิเฟอรินจากสารสกัดหยาบใบมะม่วงด้วยเอทานอล เติมน้ำละลาย 95% ethanol 3 mL/g ลงในสารสกัดหยาบใบมะม่วง กวนที่อุณหภูมิ 60-70°C นาน 2 ชั่วโมง กรองขณะร้อน ล้างตะกอน ด้วยเอทานอลเย็น นำตะกอนไปอบให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก

1.3 การตกผลึกสารบริสุทธิ์แมงจิเฟอริน เติมน้ำเอทานอลลงในสารสกัดแมงจิเฟอรินที่ได้ อุ่นที่อุณหภูมิ 60-70°C จนละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-8 °C 24 ชั่วโมง กรองผลึกที่ได้ นำไปอบให้แห้ง แล้วนำไปตรวจสอบเอกลักษณ์

1.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย TLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานแมงจิเฟอริน

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพต่อเชื้อแบคทีเรีย Staphylococci ด้วยวิธี Agar disk diffusion

2.1 เชื้อแบคทีเรีย Staphylococci ที่ใช้ในการทดสอบ เชื้อแบคทีเรีย Staphylococci จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (clinical isolate), methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (clinical isolate), *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate)

2.2 การทดสอบฤทธิ์ของแมงจิเฟอรินเบื้องต้นด้วยวิธี Agar disk diffusion (Bereksi MS, 2018) Sahin F, 2003) นำเชื้อที่จะทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ มาปรับปริมาณเชื้อให้เท่ากับ 0.5 McFarland standard (10^8 CFU/mL) ด้วย Normal Saline (NSS) แล้วมาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) วาง paper disk ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm ที่มีสาร Mangiferin ความเข้มข้น 256, 128, 64, 32 $\mu\text{g/mL}$ ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการกระจายเชื้อไว้แล้ว โดยใช้ paper disk ที่มีตัวทำละลาย DMSO ปริมาตร 10 $\mu\text{L/disk}$ เป็นตัวควบคุมผลลบ (Negative control) และใช้ Ciprofloxacin 5 $\mu\text{g/disk}$ เป็นตัวควบคุมผลบวก (Positive control) นำไปบ่มที่ 35 ± 2 °C นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่าน

ศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone) ที่เกิดขึ้น หน่วยเป็น mm ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน (three-independent experiment) และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิจัย

จากการทดสอบสารแมงจีเฟอร์ินความเข้มข้น 256, 128, 64, 32 $\mu\text{g/mL}$ กับเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococci* จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (clinical isolate), methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (clinical isolate), *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate) จากการศึกษาเบื้องต้นนี้ พบว่าแมงจีเฟอร์ินความเข้มข้น 256, 128 $\mu\text{g/mL}$ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate) โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone) 9 ± 0.5 , 8 ± 0.5 mm ตามลำดับ ส่วนแมงจีเฟอร์ินความเข้มข้นอื่นมี Inhibition zone 6 mm โดยมี Ciprofloxacin 5 μg เป็นตัวควบคุมบวก (Positive control) ให้ Inhibition zone 26 ± 0.3 mm ตาม CLSI กำหนด และมี 0.1%DMSO เป็นตัวควบคุมลบ (Negative control) ให้ Inhibition zone 6 mm แสดงดังตารางที่ 1

Table 1 Antimicrobial activity of Mangiferin to *Staphylococci*

Mangiferin ($\mu\text{g/mL}$)	Inhibition zone (mm)				
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (clinical isolate)	methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) (clinical isolate)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (clinical isolate)
256	6 ± 0.5	6 ± 0.5	6 ± 0.4	6 ± 0.5	9 ± 0.5
128	6 ± 0.5	6 ± 0.5	6 ± 0.4	6 ± 0.5	8 ± 0.5
64	6 ± 0.5	6 ± 0.5	6 ± 0.4	6 ± 0.5	6 ± 0.5
32	6 ± 0.5	6 ± 0.5	6 ± 0.4	6 ± 0.5	6 ± 0.5
Ciprofloxacin 5 $\mu\text{g/disk}$	26 ± 0.3				
0.1%DMSO	6 ± 0.4				

สรุป วิเคราะห์ผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาฤทธิ์ของแมงจีเฟอร์ินที่สกัดด้วย Ethanol ด้วยวิธี Agar disk diffusion ที่ความเข้มข้น 256, 128, 64, 32 $\mu\text{g/mL}$ กับเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococci* จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (clinical isolate), methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (clinical isolate),

Staphylococcus epidermidis (clinical isolate) พบว่าแมงจิจิเพอรินความเข้มข้น 256, 128 $\mu\text{g/mL}$ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate) ได้ปานกลาง ส่วนแมงจิจิเพอรินความเข้มข้นอื่นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ Staphylococci ที่เหลืออีก 4 สายพันธุ์ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Yehia และคณะ (Ramy S. Yehia, 2023) พบว่าแมงจิจิเพอรินมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexeri* มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ (MIC) เท่ากับ 1.95, 7.81, 7.81, 62.5 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Singh และคณะ (Shashi Kant Singh, 2012) พบว่าแมงจิจิเพอรินมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus* and *Salmonella virchow* เชื้อราได้แก่ *Thermoascus aurantiacus*, *Aspergillus flavus* ได้ดีมาก อย่างไรก็ตามการศึกษาคั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นซึ่งจะต้องมีการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อื่น เช่น แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Aranya Jutiviboonsuk, Sardsaengjun. C. (2010). Mangiferin in Leaves of Three Thai Mango (*Mangifera indica* L.) Varieties. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(3),122-129.
- Barreto JC, Trevisan MTS, Hull WE, Erben G, de Brito ES, Pfundstein B, *et al.* (2008). Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark, Kernel, Leaves, and Peel of Mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5599-5610.
- Berekisi MS, Hassaine H, Bekhechi C, Abdelouahid DE. (2018). Evaluation of Antibacterial Activity of some Medicinal Plants Extracts Commonly Used in Algerian Traditional Medicine against some Pathogenic Bacteria. *Pharmacogn J*, 10(3), 507-512.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2021). 31st ed., Zone diameter and MIC breakpoint for *Staphylococcus* spp., 64-74.
- Du S, Liu H, Lei T, Xie X, Wang H, He X, *et al.* (2018). Mangiferin : An effective therapeutic agent against several disorders (Review). *Mol Med Rep*, 18(6), 4775-4786.
- Ramy S. Yehia, Sarah A. Altwaim. (2023) An Insight into In Vitro Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxic, and Apoptosis Induction Potential of Mangiferin, a Bioactive Compound Derived from *Mangifera indica*. *Plants*, 12(7),1539; <https://doi.org/10.3390/plants12071539>
- Sahin F, Karaman I, Gulluce M, Oguteu H, Sengul M, Adiguzel A, *et al.* (2003) Evaluation of antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. *J Ethopharmacol*, 87, 61-65.

Shashi Kant Singh, Rupali M Tiwari, Saurabh K Sinha, Chhanda C Danta, Satyendra K Prasad. (2012)

Antimicrobial evaluation of mangiferin and its synthesized analogues. Asian Pacific J of Tropical Biomedicine. 2(2), 5884-5887.

[https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60329-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60329-3)

