

## ประสิทธิภาพของส่วนสกัดจากมะไฟจีนร่วมกับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินใน การยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสดื้อยา

### Synergistic effect of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels extract with ampicillin and tetracycline against opportunistic gram negative bacteria

พชนันท์ ทองศรีพันธ์ (Phatchanan Thongsriphan)<sup>\*</sup>

วิสาตรี คงเจริญสุนทร (Wisatre Kongchareonsuntorn)<sup>\*\*</sup>

#### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วมกันของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีน (*Clausena lansium* (Lour.) Skeels) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส 6 ชนิด ด้วยวิธีการหาค่าดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพร่วม (Fractional Inhibitory Concentration Index: FICI) ผลการทดสอบ พบว่าส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียฉวยโอกาสที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิด โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 ได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ *Acinetobacter baumannii*, *A. baumannii* ดื้อยา, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* ดื้อยา และ *Klebsiella pneumoniae* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (minimal inhibitory concentration: MIC) เท่ากันคือ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดสอบการออกฤทธิ์ร่วมกัน พบว่าส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนร่วมกับยาแอมพิซิลลินแสดงฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้ยาแอมพิซิลลินในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ คือ *A. baumannii* ไม่ดื้อยา และ ดื้อยา *E. coli* ATCC25922 และ *K. pneumoniae* (FICI เท่ากับ 1.01-2.02) แต่ต้านฤทธิ์กับยาแอมพิซิลลินในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* (FICI เท่ากับ 4.01) นอกจากนี้ พบว่าส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนร่วมกับยาเตตราซัยคลินมีฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้ยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งเชื้อ *A. baumannii* และ *K. pneumoniae* (FICI เท่ากับ 1.02-2.02) และให้ผลต้านฤทธิ์กับยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งเชื้อ *A. baumannii* ดื้อยา *E. coli* ATCC25922 และ *P. aeruginosa* ไม่ดื้อยาและดื้อยา (FICI เท่ากับ 4.01-8.01)

<sup>\*</sup> นักศึกษาระดับปริญญาโท ชีววิทยาศึกษา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

M.Eng. Biology education, Department of Biology, Faculty of Science, Burapa university, Chon-Buri, Thailand, E-mail: krunong-st@hotmail.co.th

<sup>\*\*</sup> อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ADVISORS: Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Chon-Buri, Thailand, Corresponding Author, E-mail: wisatre@buu.ac.th

**คำสำคัญ:** ส่วนสกัดใบมะไฟจีน/ การเสริมฤทธิ์/ ด้านแบคทีเรีย/ แบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส/ ยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลิน

### Abstract

The objectives of this research were to study synergistic effect of crude methanol extract from the leaves of Wampee (*Clausena lansium* (Lour.) Skeels) combined with two antibiotics (ampicillin and tetracycline). The antibacterial activity was studied against six strains of opportunistic gram-negative bacteria, and evaluated by Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI). The results indicated that crude methanol extract of Wampee inhibited the growth of all tested opportunistic bacteria. The crude methanol extract indicated the best antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC25922 by the MICs of 20 mg/ml, followed by antibacterial activity against *Acinetobacter baumannii*, drug-resistant *A. baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, drug-resistant *P. aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* by the equal MICs of 40 mg/ml. Also, the synergistic effect was clarified that the leave of crude methanol extract combined with ampicillin exhibited indifferent effects against four strains of drug-resistant and non-resistant *A. baumannii*, *E. coli* ATCC25922 and *K. pneumoniae* (FICI was 1.01-2.02). However, there was an antagonistic effect of ampicillin with crude methanol extract against non-resistant *P. aeruginosa* (FICI = 4.01). Moreover, the mixture of the leave of crude methanol extract combined with tetracycline exhibited indifferent effect against *A. baumannii* and *K. pneumoniae* (FICI was 1.02-2.02). In contrast, the antagonistic effects of tetracycline with crude methanol extract were indicated against drug-resistant *A. baumannii*, *E. coli* ATCC25922, drug-resistant and non-resistant *P. aeruginosa* (FICI was 4.01-8.01).

**Keywords:** / Antibiotic/ synergistic effect/ antibacterial activity/ opportunistic gram-negative bacteria/ ampicillin and tetracycline

### บทนำ

ปัจจุบันเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสจัดเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญโดยสามารถก่อโรคเมื่อร่างกายอ่อนแอในหลาย ๆ ระบบของร่างกาย การติดเชื้อเกิดจากการพักรักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน ติดเชื้อจากบาดแผล การสอดใส่เครื่องมือแพทย์ เป็นต้น แบคทีเรียเหล่านี้มีกลไกทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยเสียชีวิตเพิ่มสูงขึ้น มักเป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกาย เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบบ่อย ได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* และ *Klebsiella pneumoniae* (Bangera et al., 2016; Varga et al., 2015) เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้คือตัวการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะที่ใช้ในปัจจุบัน และพบอุบัติการณ์การดื้อยาของเชื้อเหล่านี้เพิ่มสูงขึ้นทุกปี นอกจากนี้เชื้อดื้อยาเหล่านี้ยังสามารถถ่ายทอดการดื้อยาให้แก่เชื้อข้ามสายพันธุ์ทำให้ประสิทธิภาพของยาลดลงหรือเชื้อ

แบคทีเรียดื้อต่อยาปฏิชีวนะ การดื้อยาของเชื้อเหล่านี้เกิดจากการใช้ยาอย่างไม่เหมาะสมส่งผลให้เชื้อพัฒนาการดื้อยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินอย่างต่อเนื่อง บ่อยครั้งมักพบว่ามียาต้านเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาแอมพิซิลลิน เช่น ก่อให้เกิดอาการแพ้ หากรุนแรงอาจเกิดอาการช็อกเสียชีวิตได้ ผลข้างเคียงจากการใช้ยาเตตราซัยคลิน เช่น ผิวหนังมีความไวต่อแสงแดด (Anvarinejad et al., 2015; Chen et al., 2016; Uppu et al., 2016) จากอัตราการติดเชื้อแบคทีเรียฉวยโอกาสและเชื้อดื้อยาที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้ไม่สามารถพัฒนายาปฏิชีวนะที่มีอนุพันธ์สูงขึ้นให้ทันต่อความต้องการของแพทย์ในการเลือกจ่ายยาปฏิชีวนะตัวใหม่ ถึงแม้จะสามารถพัฒนายาที่มีอนุพันธ์สูงขึ้นก็มักจะมีผลข้างเคียงซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้ป่วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะใช้สมุนไพรซึ่งเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่รู้จักในท้องถิ่นซึ่งมีประวัติการใช้มายาวนานเพื่อนำกลับมาพัฒนาหาสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เพื่อลดอันตรายจากการใช้ ยาปฏิชีวนะ ปัจจุบันมีข้อมูลการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในพืชมากมายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรควงศ์ Enterobacteraceae (Silva & Junior, 2010) ตัวอย่างสมุนไพรไทยที่สามารถต้านแบคทีเรีย เช่น ขิง (*Zingiber officinale*) สามารถต้านเชื้อ *P. aeruginosa* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด (Chakotiya et al., 2017) กระเทียม (*Allium sativum*) สามารถต้านเชื้อก่อโรคทางคลินิก เช่น *Salmonella* (NCTC8385), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Lysia monocytogenes* (ATCC19116) และ *Streptococcus pneumoniae* (ATCC63) (Andualem, 2013) ดีวชน (*Cratoxylum formosum*) สามารถต้านเชื้อ *E. coli*, *S. aureus*, *Campylobacter jejuni* (Jarriyawattanachai et al., 2016) เป็นต้น

มะไฟจีน (*Clausena lansium* (Lour.) Skeels) เป็นไม้พุ่มเมืองปลูกทั่วไปทางตอนใต้ของจีนในประเทศไทยปลูกมากที่จังหวัดน่าน อยู่ในวงศ์ส้ม (Rutaceae) , เต็ม สมิตินันท์) 2544 มีประโยชน์ คือรักษาโรค ( ) หลอดลมอักเสบ แก้วหัวดี แก้วโอ แก้วพิษร้อนใน และขจัดรังแคพิศศักดิ์ วรสุนทรโรสถ , 2546 คุณค่าในเชิงเภสัช ( ) โภชนสารเช่น กลุ่มของ limonene และ phellandrene มีฤทธิ์ในการแก้หวัดและการติดเชื้ออักเสบจากการศึกษาสารประกอบทางเคมีประกอบด้วยสารในกลุ่ม carbazole, alkaloids, coumarin และ amides (Maneerat et al., 2011) ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อโปรโตซัว ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านอักเสบ (Zeng et al., 2014; Jiang et al., 2013) นอกจากนี้มีฤทธิ์ป้องกันโรคเบาหวานและโรคตับ (Xu et al., 2015; Zeng et al., 2014; Jiang et al., 2013) เนื่องจากมะไฟจีนมีสรรพคุณมากมาย ที่จะสามารถช่วยลดอันตรายจากการใช้ยาปฏิชีวนะ และเพื่อใช้ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสดื้อยา นอกจากการศึกษาวิจัยผลการเสริมฤทธิ์กันของสมุนไพรหลายชนิดกับยาปฏิชีวนะ เช่น น้ำมันหอมระเหยจากใบ *Eucalyptus globulus* เสริมฤทธิ์กับ gentamicin สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* (Pereira et al., 2014) สาร luteolin เสริมฤทธิ์กับ amoxicillin ในการยับยั้ง *E. coli* (Eumkeb et al., 2012) ส่วนสกัดเมทานอลจากผลทับทิม (PGME) ร่วมกับ (Ciprofloxacin เสริมฤทธิ์กันเพื่อยับยั้ง *E. coli*, *K. pneumoniae* และ *P. aeruginosa*) Dey et al., 2012 หรือส่วนสกัดจากชาเขียวร่วมกับ (imipenem มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) (MRSA) (Aboulmagd et al., 2011) นอกจากนี้การใช้ส่วนสกัดจากลูกสมอไทยร่วมกับยาปฏิชีวนะ ( cefotaxime พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. และ *Acinetobacter* sp. (Deepak et al., 2010) จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ (

ว่ามะไฟจีนอาจจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส หรือนำมาผสมร่วมกับยาปฏิชีวนะที่ใช้ไม่ได้ผลให้กลับมามีประสิทธิภาพต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะนำมะไฟจีนมาใช้ร่วมกับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลิน อาจจะช่วยลดปริมาณการใช้ยาเหล่านี้และเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินที่เคยใช้ไม่ได้ผลให้นำกลับมาใช้ใหม่ ทั้งนี้เพื่อช่วยลดค่าใช้จ่ายในการรักษา ลดอันตรายจากผลข้างเคียงแก่ผู้ป่วยที่รักษาด้วยยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินในระยะยาว

การศึกษานี้มุ่งศึกษาประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วมกันระหว่างส่วนสกัดเมทานอลจากมะไฟจีนกับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส เพื่อเป็นแนวทางให้แพทย์สามารถใช้ส่วนสกัดจากมะไฟจีนมาทดแทนยาปฏิชีวนะ เพื่อลดอุบัติการณ์การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียและลดการเกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยาสังเคราะห์หรือในอนาคตอาจนำสารสกัดจากมะไฟจีนมาผสมกับผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เช่น น้ำยาทำความสะอาด สบู่เหลว รวมถึงเครื่องสำอาง

### วิธีดำเนินการวิจัย

**การเตรียมส่วนสกัดจากใบมะไฟจีน (Crude extract)** นำใบมะไฟจีน รหัสพรรณไม้อ้างอิงเลขที่ ScBuu-RC01 (ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กรมป่าไม้, 2557) จากชุมชนบ้านดอนมูล ตำบลโนนเวียง อำเภอเมือง จังหวัดน่าน นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง บดละเอียดจำนวน 3 กิโลกรัม จากนั้นนำผงใบมะไฟจีนละลายในเมทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 80:20) ปริมาตร 3 ลิตร (สัดส่วน 4:1) (ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ได้คล้ายกับการใช้เหล้าขาวละลายยาแผนไทยโบราณ และสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้มากที่สุด) จากนั้นทิ้งไว้ 3 วันให้ตกตะกอนทำการกรองสมุนไพรรด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 แล้วนำสารละลายที่กรองได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน นำส่วนสกัดไปทำให้แห้งโดยเครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ (Rotary Evaporator, R-114 BüCH) จะได้ส่วนสกัดหยาบ (crude extract) ใบมะไฟจีนที่มีลักษณะหนืดสีน้ำตาลเข้มคล้ำจำนวน 107.37 กรัม ซึ่งคิดเป็น 21.47 % จากน้ำหนักเริ่มสกัดแล้วนำส่วนสกัดที่ได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

**แบคทีเรียทดสอบ** ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงพยาบาลชลบุรี จังหวัดชลบุรี และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ดังนี้ *A. baumannii*, *A. baumannii* ตื้อยา, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. aeruginosa* ตื้อยา และ *E. coli* ATCC25922

**การเตรียมเชื้อทดสอบ** เริ่มจากเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA, Merck, Germany) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงคัดเลือกโคโลนีเดี่ยว ๆ ของเชื้อที่ใช้ทดสอบจำนวน 4-5 โคโลนีมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB, Becton Dickinson, USA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-5 ชั่วโมงจากนั้นนำมาเทียบความเข้มข้นกับ McFarland No. 0.5 เพื่อเตรียมเชื้อทดสอบให้มีปริมาณ  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml

**การหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนโดยวิธี Agar Diffusion Susceptibility Test** ปรับปรุงจากวิธีของ Chung et al. (2011) เริ่มจากเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงคัดเลือกโคโลนีเดี่ยว ๆ ของเชื้อที่

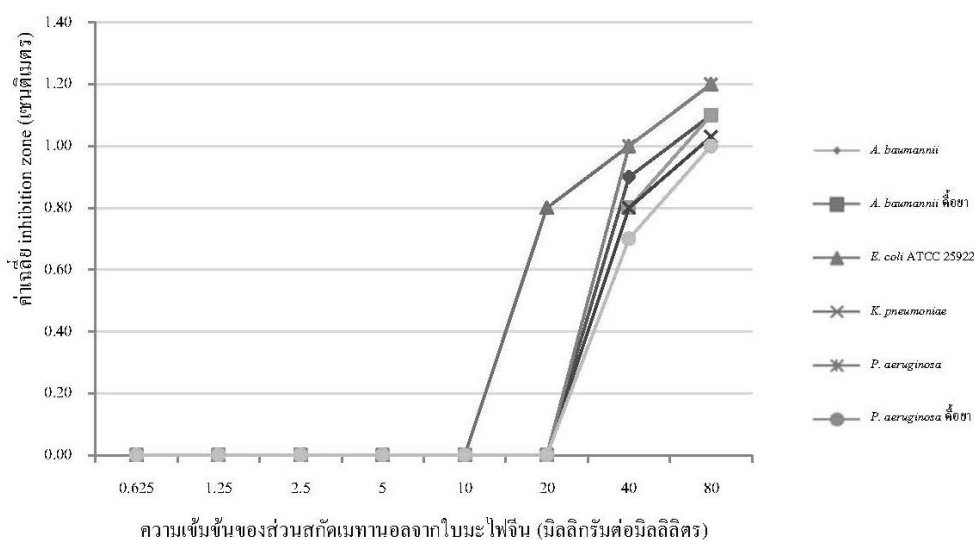
ใช้ทดสอบจำนวน 4-5 โคโลนีมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-5 ชั่วโมงจากนั้นนำมาเทียบความขุ่นกับ McFarland No. 0.5 (มีปริมาณ  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml) โดยปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่า McFarland No. 0.5 ด้วย sterile sodium chloride 0.85 % จากนั้นเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA, Becton Dickenson and Company, U.S.A.) ใส่ลงในหลอดทดลองหลอดละ 19 มิลลิลิตรมาผสมกับแบคทีเรียที่ปรับเทียบความขุ่นเท่ากับ McFarland No. 0.5 จำนวน 1 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันแล้วเทลงในจานเพาะเชื้อให้อาหารแข็ง จากนั้นทำการเจาะหลุมในอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตรเพื่อใส่สารทดสอบ จากนั้นนำสารละลายส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนที่ความเข้มข้นเจือจางลดลงสองเท่า คือ 0.625-80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ หยดลงในหลุมที่เจาะไว้ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร (ในการทดสอบนี้ใช้ 10% Dimethyl sulfoxide (DMSO) 100% เมทานอล และน้ำกลั่น ที่ปราศจากเชื้อเป็น control negative) แล้วนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกับสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงทำการทดสอบดังกล่าวข้างต้น ของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนต่อแบคทีเรียแต่ละชนิดซ้ำ 3 ครั้งนำไปบันทึกผลการทดลอง หาค่าเฉลี่ยของค่าเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (clear zone) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานแล้วนำมาหาค่า MIC จากนั้นเปลี่ยนสารทดสอบเป็นสารละลายยาเตตราซัยคลิน และสารละลายยาแอมพิซิลลินแล้วทำการทดลองในทำนองเดียวกันจนครบทุกความเข้มข้น (ยาแอมพิซิลลิน และยาเตตราซัยคลินเป็น control positive)

**การหาค่า MIC ของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนร่วมกับยาปฏิชีวนะ** ปรับปรุงจากวิธีของ Chung et al. (2011) ทำเช่นเดียวกับ MIC ของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีน แตกต่างกันในวิธีหาค่าตัวอย่างยาปฏิชีวนะและส่วนสกัดใบมะไฟจีนดังนี้ คือผสมยาปฏิชีวนะที่ระดับความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรผสมกับสารละลายส่วนสกัดใบมะไฟจีนที่ระดับความเข้มข้น 0.625-80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจำนวน 20 ไมโครลิตรที่ละความเข้มข้น (วางแผนการหยดตัวอย่างด้วยวิธี checkerboard assay) จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารทดสอบทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงทำการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อถูกยับยั้ง (inhibition zone) และทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผลการทดลองและหาค่าเฉลี่ยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานแล้วนำมาหาค่า MIC ประเมินผลการเสริมฤทธิ์จากค่าดัชนีชี้วัดประสิทธิภาพร่วม Fractional Inhibitory Concentration Indices (FICI) ดังนี้  $FICI \leq 0.5$  หมายถึงเสริมฤทธิ์กัน (Synergistic effect),  $0.5 < FICI \leq 1$  หมายถึง มีแนวโน้มเสริมฤทธิ์ (Additive),  $1 < FICI \leq 4$  หมายถึง ฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว (Indifferent),  $FICI > 4$  หมายถึง ต้านฤทธิ์กัน (Antagonistic)

## ผลการวิจัย

**ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีน** จากการศึกษา พบว่าส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทุกชนิดที่นำมาทดสอบ แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่แตกต่างกัน 1 ตารางที่ 1 (อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)  $P \leq 0.05$  (ส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้ดีที่สุด ค่า)MIC เท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รองลงมาคือ *A. baumannii* ไม่ดื้อยาและดื้อยา *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ไม่ดื้อยาและดื้อยา ค่า)MIC

เท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (พบว่าความเข้มข้นของส่วนสกัดจากใบมะไฟจีนสูงขึ้น ให้ค่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณที่แบคทีเรียถูกยับยั้งมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)  $P \leq 0.05$ ) (ไม่ได้แสดงผล (10% DMSO 100% เมทานอล และน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อซึ่งเป็น control negative ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่นำมาทดสอบทุกชนิด



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบฤทธิ์ของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนกับแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส

เมื่อพิจารณาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งได้ (MIC) ของยาแอมพิซิลลิน พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสดียาและไม่ดียาที่ใช้ทดสอบได้ 5 ชนิด จาก 6 ชนิด ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1 ภาพที่ 1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ยาแอมพิซิลลินมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC25922 ได้ดีที่สุด แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้อย่างดี และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของยาเตตราซัยคลิน พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทุกชนิดที่นำมาทดสอบ และยาเตตราซัยคลินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1 ภาพที่ 1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ยาเตตราซัยคลินมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ATCC25922 และ *K. pneumoniae* ได้ดีที่สุด

**ตารางที่ 1** เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่ส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนและยาปฏิชีวนะสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบด้วยวิธี Agar diffusion susceptibility test

| แบคทีเรีย                   | ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) |             |              |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------|
|                             | ชนิดของสารที่ใช้ทดสอบ                                                      |             |              |
|                             | ส่วนสกัดใบมะไฟจีน                                                          | แอมพิซิลลิน | เตตราซัยคลิน |
| <i>A. baumannii</i>         | 40                                                                         | 1.25        | 0.0195       |
| <i>A. baumannii</i> ดื้อยา  | 40                                                                         | 20          | 0.039        |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922   | 20                                                                         | 0.156       | 0.0067       |
| <i>K. pneumoniae</i>        | 40                                                                         | 0.625       | 0.0097       |
| <i>P. aeruginosa</i>        | 40                                                                         | 2.5         | 0.039        |
| <i>P. aeruginosa</i> ดื้อยา | 40                                                                         | -           | 2.5          |

การศึกษามูลการเสริมฤทธิ์ของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนร่วมกับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Synergistic effect) ผลการเสริมฤทธิ์ของยาแอมพิซิลลินร่วมกับส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีน (ตารางที่ 2) พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้เพียง 5 สายพันธุ์ จากเชื้อจำนวน 6 สายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ แต่ไม่มีส่วนช่วยกันในการเสริมฤทธิ์ กล่าวคือถ้าใช้ยาแอมพิซิลลินลำพังชนิดเดียวกันก็สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (indifferent effect) (FICI อยู่ในช่วง 1.01-2.02) และไม่สามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* สายพันธุ์ดื้อยาได้ แต่กลับให้ผลต้านฤทธิ์กัน (antagonistic effect) เมื่อทดสอบกับเชื้อ *P. aeruginosa* สายพันธุ์ไม่ดื้อยา (FICI เท่ากับ 4.02) (แสดงในตารางที่ 2)

ผลการเสริมฤทธิ์ของยาเตตราซัยคลินร่วมกับส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนแสดงในตารางที่ 3 พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ (FICI อยู่ในช่วง 1.02-2.02) แต่ส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนไม่มีส่วนช่วยเสริมฤทธิ์ (indifferent effect) กับยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งเชื้อ *A. baumannii* สายพันธุ์ไม่ดื้อยา *E. coli* ATCC25922 และ *K. pneumoniae* แต่กลับให้ผลต้านฤทธิ์กัน เมื่อทดสอบกับเชื้อ *A. baumannii* สายพันธุ์ดื้อยา, *P. aeruginosa* ดื้อยาและไม่ดื้อยา (FICI เท่ากับ 8.01, 4.04 และ 4.01 ตามลำดับ) (แสดงในตารางที่ 3)

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วมของส่วนสกัดเมทานอลจากมะไฟจีนกับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบด้วยโอกาส (แสดงในตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่าส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนไม่ได้ช่วยเสริมฤทธิ์กับยาแอมพิซิลลินและ ยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เช่น เมื่อใช้ร่วมกับยาแอมพิซิลลินในการยับยั้งเชื้อ *A. baumannii*, *A. baumannii* ดื้อยา, *E. coli* ATCC25922 และ *K. pneumoniae* และเมื่อใช้ร่วมกับ ยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งเชื้อ *A. baumannii*, *E. coli* ATCC25922 และ *K. pneumoniae* เป็นต้น แต่กลับพบข้อสังเกตว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลิน กลับไปช่วยลดความเข้มข้นของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟ

เงินให้ใช้น้อยลง ซึ่งจะช่วยให้ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบด้วยโอกาสได้ดียิ่งขึ้น (ค่า FIC ของไบมะไฟเงินน้อยกว่า 1 และอยู่ระหว่าง 0.0078-0.0165 ตารางที่ 2 และ 3)

**ตารางที่ 2** ผลการออกฤทธิ์ร่วมกันระหว่างส่วนสกัดจากไบมะไฟเงินและยาแอมพิซิลลินในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ค่า FICI)

| แบคทีเรีย                  | MIC alone<br>แอมพิซิลลิน | MIC combination<br>แอมพิซิลลิน | MIC alone<br>ไบมะไฟเงิน | MIC combination<br>ไบมะไฟเงิน | FIC<br>แอมพิซิลลิน | FIC<br>ไบมะไฟเงิน | FICI | แปลผลดัชนีชี้วัด<br>ประสิทธิภาพร่วม |
|----------------------------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------|------|-------------------------------------|
| <i>A. baumannii</i>        | 1.25                     | 2.5                            | 40                      | 0.312                         | 2                  | 0.0078            | 2.01 | Indifferent                         |
| <i>A. baumannii</i> คีอชา  | 20                       | 20                             | 40                      | 0.312                         | 1                  | 0.0078            | 1.01 | Indifferent                         |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922  | 0.156                    | 0.312                          | 20                      | 0.312                         | 2                  | 0.0156            | 2.02 | Indifferent                         |
| <i>K. pneumoniae</i>       | 0.625                    | 0.625                          | 40                      | 0.312                         | 1                  | 0.0078            | 1.01 | Indifferent                         |
| <i>P. aeruginosa</i>       | 2.5                      | 10                             | 40                      | 0.312                         | 4                  | 0.0078            | 4.01 | Antagonistic                        |
| <i>P. aeruginosa</i> คีอชา | -                        | -                              | 40                      | -                             | -                  | -                 | -    | -                                   |

**หมายเหตุ:** การอ่านค่า FICI ดังนี้  $FICI \leq 0.5$  หมายถึง เสริมฤทธิ์กัน (Synergistic effect),  $0.5 < FICI \leq 1$  หมายถึง มีแนวโน้มเสริมฤทธิ์ (Additive),  $1 < FICI \leq 4$  หมายถึง ฤทธิ์ไม่แตกต่างจากการใช้สารตัวเดียว (Indifferent),  $FICI > 4$  หมายถึง ต้านฤทธิ์กัน (Antagonistic)

**ตารางที่ 3** ผลการออกฤทธิ์ร่วมกันระหว่างส่วนสกัดจากไบมะไฟเงินและยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ค่า FICI)

| แบคทีเรีย                  | MIC alone<br>เตตราซัยคลิน | MIC combination<br>เตตราซัยคลิน | MIC alone<br>ไบมะไฟเงิน | MIC combination<br>ไบมะไฟเงิน | FIC<br>เตตราซัยคลิน | FIC<br>ไบมะไฟเงิน | FICI | แปลผลดัชนีชี้วัด<br>ประสิทธิภาพร่วม |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------------------|---------------------|-------------------|------|-------------------------------------|
| <i>A. baumannii</i>        | 0.0195                    | 0.0195                          | 40                      | 0.312                         | 1                   | 0.0078            | 1.01 | Indifferent                         |
| <i>A. baumannii</i> คีอชา  | 0.039                     | 0.312                           | 40                      | 0.312                         | 8                   | 0.0078            | 8.01 | Antagonistic                        |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922  | 0.0097                    | 0.039                           | 20                      | 0.312                         | 4.020               | 0.0165            | 4.04 | Antagonistic                        |
| <i>K. pneumoniae</i>       | 0.0097                    | 0.0195                          | 40                      | 0.312                         | 2.010               | 0.0078            | 2.02 | Indifferent                         |
| <i>P. aeruginosa</i>       | 0.039                     | 0.156                           | 40                      | 0.312                         | 4                   | 0.0078            | 4.01 | Antagonistic                        |
| <i>P. aeruginosa</i> คีอชา | 2.5                       | 10                              | 40                      | 0.312                         | 4                   | 0.0078            | 4.01 | Antagonistic                        |

**หมายเหตุ:** การอ่านค่า FICI เช่นเดียวกับตารางที่ 2

**ตารางที่ 4** การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วมระหว่างส่วนสกัดจากไบมะไฟเงินกับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบด้วยโอกาส

| แบคทีเรีย                  | ประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วมระหว่างส่วนสกัดจากไบมะไฟเงินกับยาปฏิชีวนะ |              |                                      |              |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------------|--------------------------------------|--------------|
|                            | ส่วนสกัดจากไบมะไฟเงิน+ยาแอมพิซิลลิน                                 |              | ส่วนสกัดจากไบมะไฟเงิน+ยาเตตราซัยคลิน |              |
|                            | ค่า FICI                                                            | แปลผล        | ค่า FICI                             | แปลผล        |
| <i>A. baumannii</i>        | 2.01                                                                | Indifferent  | 1.01                                 | Indifferent  |
| <i>A. baumannii</i> คีอชา  | 1.01                                                                | Indifferent  | 8.01                                 | Antagonistic |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922  | 2.02                                                                | Indifferent  | 4.04                                 | Antagonistic |
| <i>K. pneumoniae</i>       | 1.01                                                                | Indifferent  | 2.02                                 | Indifferent  |
| <i>P. aeruginosa</i>       | 4.01                                                                | Antagonistic | 4.01                                 | Antagonistic |
| <i>P. aeruginosa</i> คีอชา | -                                                                   | -            | 4.01                                 | Antagonistic |

## สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสเบื้องต้นของส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีน พบว่าส่วนสกัดเมทานอลจากมะไฟจีนสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสที่นำมาทดสอบได้ทุกชนิด และข้อสำคัญคือสามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้อย่างดี (ในขณะที่ยาแอมพิซิลลินเพียงชนิดเดียวไม่สามารถยับยั้งเชื้อนี้) ซึ่งผลการวิจัยนี้ตรงกับผลการวิจัยของ Rodanant et al., (2015) เพราะแสดงให้เห็นว่ามะไฟจีนสามารถยับยั้งเชื้อได้หลากหลาย คือสามารถยับยั้งเชื้อ *A. baumannii*, *E. coli* ATCC25922, *K. pneumoniae* และ *P. aeruginosa* อาจจะเป็นเพราะสาร carbazolealkaloids ที่พบในกิ่งของมะไฟจีน ได้แก่ glycozolidol, 3-formyl-6 methoxycarbazole และ lansine สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแกรมลบคือ *P. gingivalis* และรายงานการวิจัยของ Xu et al., (2014) พบว่า สาร xanthotoxal ในกลุ่ม coumarins สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *S. dysenteriae* แต่รายงานวิจัยนี้ใช้ crude extract จากเมทานอลแม้มีพิษแต่ให้ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี อาจเกิดจากใน crude extract อาจมีสารหลากหลายกลุ่ม เช่น sabinene และ sesquiterpene ที่พบมากในใบมะไฟจีน (Chokeprasert et al., 2007) จึงส่งเสริมให้มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ดี (Senthilkumar and Venkatesalu, 2009) และงานวิจัยของ Chatchawanchonteera et al. (2011) ยังพบว่า ส่วนสกัดเมทานอลจากใบสอ่งฟ้าแดง (พืชในสกุลเดียวกับมะไฟจีน) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *Klebsiella* spp. ซึ่งตรงกับงานวิจัยนี้ เพราะสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC25922, *K. pneumoniae* และ *P. aeruginosa* ได้ดีเช่นเดียวกันหรืออาจจะเป็นผลมาจากสารในกลุ่ม carbazole alkaloids, coumarins และ essential oil ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในมะไฟจีน ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเช่นเดียวกัน (Maneerat et al., 2013; Deng et al., 2014; Xu et al., 2014; Xia et al., 2015; Rodanant et al., 2015; Du et al., 2015) อย่างไรก็ตามคงต้องทำการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของใบมะไฟจีนในเชิงลึกต่อไป ได้แก่การนำใบมะไฟจีนไปสกัดด้วยเอทานอลแทนการใช้เมทานอลเพื่อแยก Fraction และวิเคราะห์หาสารบริสุทธิ์ในลำดับถัดไป ได้แก่ การนำแต่ละ Fraction ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดีที่สุดนั้นไปวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ในลำดับถัดไป ประโยชน์จากการทำ Fraction นี้ อาจประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมหรือเครื่องสำอางเพื่อลดการอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย

การศึกษาประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วมของส่วนสกัดเมทานอลส่วนสกัดจากใบมะไฟจีนกับ ยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาส พบว่าการใช้ใบมะไฟจีนผสมกับยาปฏิชีวนะทั้งสองชนิดนี้ให้ผลการทดสอบไม่แตกต่างจากการใช้ยาปฏิชีวนะเพียงตัวเดียวอาจมีผลมาจากสารบริสุทธิ์ในใบมะไฟจีนบางกลุ่มออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่แตกต่างจากฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ จึงพบปรากฏการณ์ต้านทั้งฤทธิ์ของยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินหรือทำให้สารออกฤทธิ์หลาย ๆ ชนิดจากใบมะไฟจีนเองต้านฤทธิ์กัน และที่สำคัญงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการบริโภคสมุนไพรบางชนิดร่วมกับยาปฏิชีวนะนั้นอาจใช้ไม่ได้ผล เพราะพบตัวอย่างการใช้ใบมะไฟจีนร่วมกับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินแล้วเกิดการต้านฤทธิ์กันเมื่อใช้ยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* (ให้ค่า FICI เท่ากับ 4.01) และผลกระทบนี้อาจเป็นผล

เนื่องจากส่วนสกัดเมทานอลจากมะไฟจีนอาจไปมีผลหักล้างการออกฤทธิ์กับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลิน หรืออาจไปขัดขวางกลไกการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะแล้วทำให้ประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะเหล่านี้นลดลง เช่น ขัดขวางกลไกการยับยั้งสร้างผนังเซลล์ของยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลิน (Tortora et al., 2012) หรืออาจไปขัดขวางการผ่านของยาเข้าไปในเซลล์ทำให้ลดประสิทธิภาพของยา หรืออาจไปขัดขวางการทำงานของยาแอมพิซิลลินในการยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ เช่น ด้านการจับกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพันธะเพปไทด์ในชั้นเพปทิโดไกลแคนของแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้อาจไปขัดขวางการทำลายเอนไซม์  $\beta$ -lactamase หรืออาจขัดขวางการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของโปรตีนพอริน (Day et al., 2012) หรือขัดขวางการรบกวนการทำงานของพอรินบริเวณผนังเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบ หรืออาจไปขัดขวางการรบกวนสมดุลการผ่านเข้าออกของสารบริเวณ Outer membrane และ membrane ของแบคทีเรีย หรืออาจขัดขวางการยับยั้งเอนไซม์ที่จำเป็นหรือขัดขวางการจับกับ ไรโบโซม 30S ของเซลล์แบคทีเรียในกลไกการสังเคราะห์โปรตีนของยาเตตราซัยคลิน นอกจากนี้สารออกฤทธิ์ในส่วนสกัดเมทานอลจากมะไฟจีนบางตัวอาจขัดขวางการนำพาเตตราซัยคลินเข้าไปในเซลล์ผ่าน Outer membrane ของแบคทีเรีย (Dhama et al., 2014) หรือสารบางตัวอาจขัดขวางกลไกการยับยั้ง และกลไกการออกฤทธิ์ในการถ่ายทอด DNA และการยับยั้งการสังเคราะห์ RNA และโปรตีน (Chung et al., 2011) ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียจากการทำงานร่วมกันระหว่าง น้ำมันหอมระเหยของ *Peleargonium grave* ข้อสังเกตประการสุดท้าย คือการเติมยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลินผสมเข้ากับส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนไปเพิ่มประสิทธิภาพของสารบางกลุ่มในใบมะไฟจีน ได้ดียิ่งขึ้นเมื่อทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ (สังเกตจากค่า FIC ของใบมะไฟจีนจะน้อยกว่า 1 เสมอ) อธิบายได้ว่ายาปฏิชีวนะอาจจะรวมตัวกับสารออกฤทธิ์จากส่วนสกัดจากใบมะไฟจีนบางตัวทำให้สารบางกลุ่มจากใบมะไฟจีนออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามต้องออกแบบการทดสอบสมมติฐานนี้ด้วยเทคนิค Flow Cytometry เพื่อยืนยันสมมติฐานดังกล่าว

ดังนั้นการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ทางการแพทย์ เพื่อพิจารณาการนำใบมะไฟจีนมาใช้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เพื่อลดความรุนแรงของการติดเชื้อจากแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสได้ เพื่อลดผลข้างเคียงที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะและเพื่อลดการอักเสบ ซึ่งจะต้องนำส่วนสกัดจากใบมะไฟจีนไปศึกษาฤทธิ์ต้านอักเสบในลำดับต่อไป หรือศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งสารอนุมูลอิสระมักเป็นสาเหตุหลักของการอักเสบหลังติดเชื้อแบคทีเรีย งานวิจัยนี้สามารถประยุกต์ใช้เพื่อนำส่วนสกัดจากใบมะไฟจีนมาเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่มักเป็นสารก่อมะเร็ง เช่น สารไตรโคลซาน (triclosan) ซึ่งนิยมใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ ทำความสะอาดร่างกาย เช่น สบู่อาบน้ำ ยาสระผม โฟมล้างหน้า ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก ผลิตภัณฑ์ระงับเห็บ และเครื่องสำอาง (Bedoux et al., 2012; Hinthier et al., 2011) และทำให้เราทราบว่าไม่ควรรับประทานใบมะไฟจีนร่วมกับยาปฏิชีวนะ เพราะอาจลดล้างฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ จะเห็นได้ว่ามะไฟจีนนั้นมีสรรพคุณมากมายดังที่ได้กล่าวมาแล้ว แต่อย่างไรก็ตามก่อนนำไปใช้งานควรทดสอบความเป็นพิษของใบมะไฟจีนทั้งในท้องปฏิบัติการ ผลต่อเซลล์ ผลต่อร่างกาย

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสที่นำมาทดสอบทุกชนิด และส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนมีประสิทธิภาพดีขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลิน แต่ส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนไม่มีส่วนช่วยเสริมฤทธิ์

(indifferent effect) กับยาแอมพิซิลลินและยาเตตราซัยคลิน เพราะต่างก็สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแบคทีเรียแกรมลบฉวยโอกาสเช่นเดียวกันโดยไม่ต้องผสมกับส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีน นอกจากนี้ยังพบด้วยว่า ส่วนสกัดเมทานอลจากใบมะไฟจีนต้านฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะทั้งสองชนิดในการยับยั้งเชื้อ *A. baumannii* และ *P. aeruginosa* ที่ดื้อยา

#### กิตติกรรมประกาศ

ผู้ดำเนินการวิจัยขอขอบพระคุณ ดร. เบญจวรรณ ชีวปรีชา ภาควิชาชีววิทยาที่ช่วยตรวจสอบพันธุ์มะไฟจีน และภาควิชาชีววิทยา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำวิจัย ภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. วารีย์ เนื่องจางค์ และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ และโรงพยาบาลศูนย์ชลบุรี จังหวัดชลบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ดื้อยา

## เอกสารอ้างอิง

### ภาษาไทย

- ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กรมป่าไม้. (2557). **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันท์**. ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พศ. 2557. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.
- เต็ม สมิตินันท์. (2544). **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย**. (พิมพ์ครั้งที่ 2). ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้.
- พิรศักดิ์ วรสุทโธสถ. (2546). **ทรัพยากรพืชในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้: พืชสมุนไพรและพืชพิษ**. กรุงเทพฯ. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

### ภาษาต่างประเทศ

- Aboulmagd, E., Al-Mohammed, H. I., & Al-Badry, S. )2011 .(Synergism and postantibiotic Effect of Green Tea Extract and Imipenem Against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Microbiology Journal**, 1)3(, 89-96.
- Andualem, B. (2013). “Combined antibacterial activity of stingless bee (*Apismellipodae*) honey and garlic (*Allium sativum*) extracts against standard and clinical pathogenic bacteria.” **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 3(9), 725-731.
- Anvarinejad, M., Pouladfar, G., Japoni, A., Bolandparvaz, S., Satiary, Z., Abbasi, P. and Mardaneh, J. (2015). “Isolation and Antibiotic Susceptibility of the Microorganisms Isolated from Diabetic Foot Infections in Nemazee Hospital, Southern Iran.” **Journal of Pathogens**, 2015(2015), 328796-7.
- Bangera, D., Shenoy, S. M. and Saldanha, D. RM. (2016). “Clinico-microbiological study of *Pseudomonas aeruginosa* in wound infections and the detection of metallo- $\beta$ -lactamase production.” **International Wound Journal**, 13(6), 1299-1302.
- Bedoux, G., Roig, B., Thomas, O., Dupont, V. and Le Bot, B. (2012). “Occurrence and toxicity of antimicrobial triclosan and by-products in the environment.” **Environmental science pollution research international.**, 19, 1044–1065.
- Chakotiya, A. S., Tanwar, A., Narula, A. and Sharma, R. K. (2017). “ *Zingiber officinale*: Its antibacterial activity on *Pseudomonas aeruginosa* and mode of action evaluated by flow cytometry.” **Microbial Pathogenesis**, 107, 254-260.
- Chatchawanchonteera, A., Wangboonsakul, J., Supakit, T., Benjamaparinayakul, M. and Numkang, L. (2011). “Antibacterial activity of *Clausena harmandiana* leaf extract against pathogenic bacteria isolated from animals.” **KKU Veterinary Journal**, 21(1), 61-68.

- Chen, P. W., Tseng, S. Y. and Huang, M. S. (2016). "Antibiotic Susceptibility of Commensal Bacteria from Human Milk." **Current Microbiology**, 72, 113-119.
- Chung, P. Y., Navaratnam, P., & Chung, L. Y. (2011). Synergistic antimicrobial activity between pentacyclic triterpenoids and antibiotics against *Staphylococcus aureus* strains. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, 10(25), 1-6.
- Chokeprasert, P., Charles, A. L., Sue, K-H. and Huang, T-C. (2007). "Volatile components of the leaves, fruits and seeds of Wampee [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels]." **Journal of food Composition and Analysis**, 20, 52-56.
- Deepak, S., Kamat, S. D. and Kamat, D. V. (2010). "Effect of aqueous extract of *Terminalia chebula* on metallo-beta-lactamase." **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 2, 172-175.
- Deng, H. D., Mei, W. L., Wang, H., Guo, Z. K., Dong, W. H., Wang, H., Li, S. P. and Dai, H. F. (2014). "Carbazole alkaloids from the peels of *Clausena lansium*." **Journal of Asian Natural Products Research**, 16(10), 1024-8.
- Dey, D., Debnath, S., Hazra, S., Ghosh, S., Ray, R. and Hazra, B. (2012). "Pomegranate pericarp extract enhances the antibacterial activity of ciprofloxacin against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) and metallo- $\beta$ -lactamase (MBL) producing Gram-negative bacilli." **Food and Chemical Toxicology**, 50, 4302-4309.
- Dhama, K., Tiwari, R., Chakraborty, S., Saminathan, M., Kumar, A., Karthik, K., Wani, M.Y., Amarpal, Singh, S.V. and Rahal, A. (2014). "Evidence based antibacterial potentials of medicinal plants and herbs countering bacterial pathogens especially in the era of emerging resistance: an integrated update". **International Journal of Pharmacology**, 10(1), 1-43.
- Du, Y., Liu, H., Li, C., Ma, J., Zhang, D., Li, L., Sun, H., Bao, X. and Zhang, D. (2015). "Bioactive carbazole alkaloids from the stems of *Clausena lansium*." **Fitoterapia**, 103, 122-128.
- Eumkeb, G., Siri Wong, S. and Thumanu, K. (2012). "Synergistic activity of luteolin and against amoxicillin-resistant *Escherichia coli* and mode of action." **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 117, 247-253.
- Hemaiswarya, S. and Doble, M. (2009). "Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria." **Phytomedicine**, 16, 997-1005.
- Hinther, A., Bromba, C. M., Wulff, J. E. and Helbing, C. C. (2011). "Effects of triclocarban, triclosan, and methyl triclosan on thyroid hormone action and stress in frog and mammalian culture systems." **Environmental Science and Technology**, 45, 5395-5402.

- Jarriyawattanachaikul, W., Chaveerach, P. and Chokesajjawatee, N. (2016). “Antimicrobial Activity of Thai-herbal Plants against Food-borne Pathogens *E. Coli*, *S. aureus* and *C. Jejuni*.” Agriculture and Agricultural Science Procedia, **11**, 20-24.
- Jiang, H. Y., Wang, C. F., Fan, K., Yang, K., Feng, J. B., Geng, Z. F., Xu, J., Deng, Z. W., Du, S. S. and Yin, H. B. (2013). “Cytotoxic constituents from the stems of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels.” **Molecules**, 18, 10768-75.
- Maneerat, W., Tha-in, S., Cheenpracha, S., Prawat, U. and Laphookhieo, S. (2011). “New amides from the seeds of *Clausena lansium*.” **Journal of Medicinal Plants Research**, 5(13), 2812-15.
- Maneerat, W., Phakhodeea, W., Cheenprachac, S., Ritthiwigrom, T., Deachathaia, S. and Laphookhieo, S. (2013). “*Clausena waallines* G-K, carbazole alkaloids from *Clausena wallichii* twigs.” **Phytochemistry Letters**, 88, 74-78.
- Pereira, V., Dias, C., Vasconcelos, M. C., Rosa, E., and Saavedra, M. J. (2014). “Antibacterial activity and synergistic effects between *Eucalyptus globulus* leaf residues (essential oils and extracts) and antibiotics against several isolates of respiratory tract infections (*Pseudomonas aeruginosa*).” **Industrial Crops and Products**, 52, 1-7.
- Rodanant, P., Surarit, R., Laphookhieo, S., and Kuvatanasuchati, J. (2015). “In vitro evaluation of the antibacterial and anti-inflammation activities of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels.” **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, 37(1), 43-8.
- Senthilkumar, A., and Venkatesalu, V. (2009). “Phytochemical analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Clausena anisata* (Willd.) Hook.f. ex Benth.” **International Journal of Integrative Biology**, 5(2), 116-120.
- Silva, NCC., and Junior, F. (2010). “Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity.” **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, 16(3). 402-413.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2012). **Microbiology an introduction** (9<sup>th</sup> eds.). San Francisco: Benjamin Cumming.
- Uppu, D. S., Samaddar, S., Ghosh, C., Paramanandham, K., Shome, B. R., and Haldar, J. (2016). “Amide side chain amphiphilic polymers disrupt surface established bacterial bio-films and protect mice from chronic *Acinetobacter baumannii* infection.” **Biomaterials**, 74, 131-143.

- Varga, J. J., Barbier, M., Mulet, X., Bielecki, P., Bartell, J. A., and Owings, J. P. (2015). "Genotypic and phenotypic analyses of a *Pseudomonas aeruginosa* chronic bronchiectasis isolate reveal differences from cystic fibrosis and laboratory strains." **BMC Genomics**, 16(883), 12864-015.
- Xia, H. M., Yang, G-Q. O., Li, J-C., Yang, J-Z., Zhang, J. M. D., and Li, Y. (2015). "Clauemarazoles A-G, seven carbazole alkaloids from the stems of *Clausena emarginata*." **Fitoterapia**, 103, 83-89.
- Xu, X., Xie, H., and Wei, X. (2014). "Jasmonoid glucosides, sesquiterpanps and coumarins from the fruit of *Clausena lansium*." **Food Science and Technology**, 59, 65-69.
- Xu, X., Shan, B., Liao, C-H., Xie, J-H., Wen, P-W., and Shi, J-Y. (2015). "Anti-diabetic properties of *Momordica charantia* L. polysaccharide in alloxan-induced diabetic mice." **International Journal of Biological Macromolecules**. 81, 538-543.
- Zeng, X., Zhou, X., Cui, L., Liu, D., Wu, K., Li, W., and Huang, R. (2014). "The fruits of wampee inhibit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis in PC12 cells via the NF-KB pathway and reguration of cellular redox status." **Molecules**, 19(6), 7368-87.