บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 รายละเอียดเกี่ยวกับเพกา (*Oroxylum indicum* (L.) Kurz)

Taxonomical Classification

Kingdom : Plantae

Division : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Lamiales

Family : Bignoniaceae

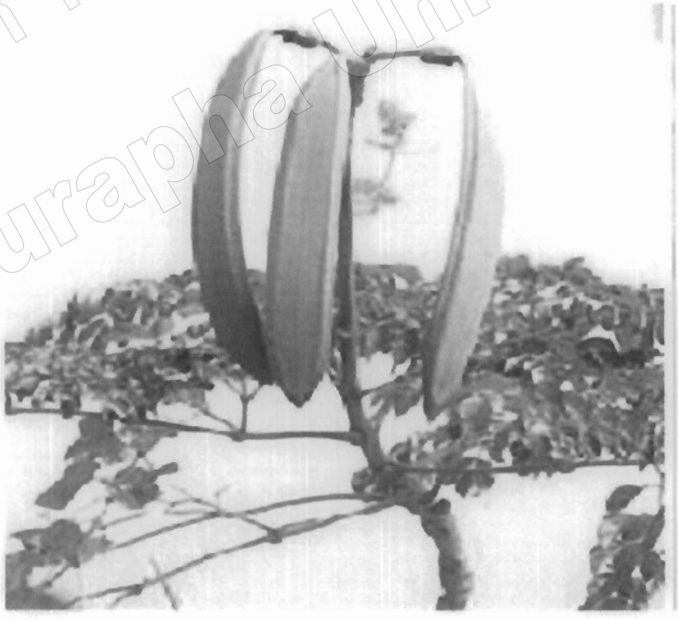
Genus : *Oroxylum*

ชื่อท้องถิ่น : กาโด้โด้ง (กะเหรี่ยง-กาญจนบุรี) ดอก๊ะด๊อกก๊ะ ดุแก (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) เบโก (มลายู-นราธิวาส) เพกา (ภาคกลาง) มะลิดไม้ มะลิ้นไม้ ลิดไม้ (ภาคเหนือ-เลย) หมากลิ้นก้าง หมากลิ้นช้าง (เงี้ยว-ภาคเหนือ) (อุดมการ อินทุใส และปาริชาติ ทะนานแก้ว, 2549) Broken Bone, Damocles Tree, Indian Trumpet Flower (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2547)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เพกาเป็นไม้ยืนต้น ผลัดใบ สูงประมาณ 4-10 เมตร เปลือกต้นเรียบสีเทา บางทีแตกเป็นรอยตื้นเล็กน้อย มีรูระบายอากาศกระจัดกระจายตามลำต้นและกิ่ง ใบมีลักษณะเป็นใบประกอบแบบขนนก มีใบเดี่ยว ๆ ขนาดใหญ่ที่ปลายก้าน รูปทรงกลม ปลายใบเรียวแหลม (ภาพที่ 2-1) โคนใบมน ก้านใบยาวใบย่อรูปไข่ ขอบใบเรียบออกตรงข้ามชิดกัน อยู่ประมาณปลายกิ่ง ก้านใบย่อยสั้น แผ่นใบสีเขียวเข้ม ดอกเป็นช่อแบบช่อกระจะ ช่อมีขนาดใหญ่ออกที่บริเวณปลายยอด มีก้านช่อดอกยาว ดอกย่อยขนาดใหญ่ รูปปากเปิด แบบสมมาตรด้านข้าง กลีบดอกหนา มี 5 กลีบ ภายนอกสีม่วงแดงหรือสีน้ำตาลคล้ำ ภายในสีเหลืองกึ่งสีชมพู โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นรูปลำโพง ส่วนปลายแยกออกเป็นกลีบย่นขยุกขยิก บริเวณปลายกลีบดอกด้านในสีขาวอมเหลือง หรือขาวอมเขียว มีเกสรตัวผู้ 5 อัน ติดกับท่อดอก โคนก้านจะมีขน ผลเป็นฝักแบน ยาวคล้ายรูปดาบ ห้อยระย้า สีน้ำตาลดำ ยาวประมาณ 45-120 เซนติเมตร (ภาพที่ 2-2) เมื่อแก่จะแตกออกเป็น 2 ซีก เมล็ดแบน มีปีกบางใสจำนานมาก (Singh & Chaudhary, 2011)

ภาพที่ 2-1 ลักษณะของใบเพกา (Singh & Chaudhary, 2011)



ภาพที่ 2-2 ลักษณะของผลเพกา (Singh & Chaudhary, 2011)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

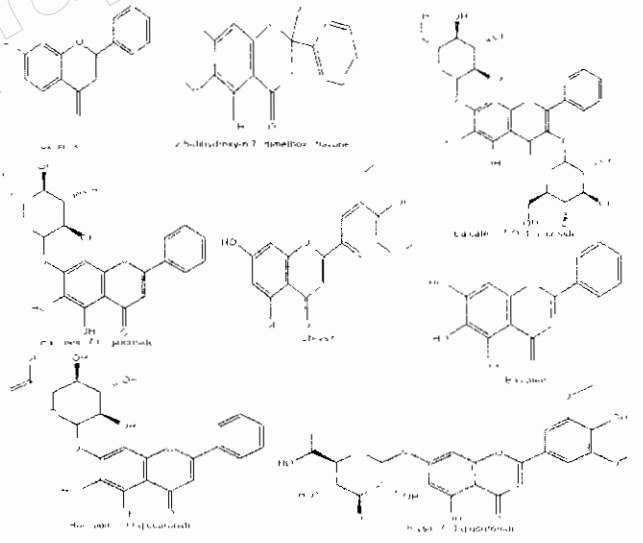
สารเคมีในเพกา

ใบ ประกอบด้วยสารกลุ่ม Flavones , Glycosides, Baicalein (5,6,7-trihydroxy flavone) และ 6, 7- Glucuronides, Chrysin (5,7-dihydroxy flavone), Scutellarein และ 7-Glucuronides, Anthraquinone (Yuan, 2008)

ลำต้น ประกอบด้วยสารกลุ่ม Oroxylin A (5,7-dihydroxy-6-methoxy flavone), Chrysin, Baicalein, 7-Glucuronide, Baicalein, Biochanin A, Ellagic Acid (Dalal and Rai, 2004) **ราก** ประกอบด้วย Flavones 3 ชนิด คือ Oroxylin A (5, 7-dihydroxy-6-methoxyflavone), Baicalein (5, 6, 7-trihydroxyflavone) และ Chrysin (5,7-dihydroxyflavone) (Vasanth et al., 1990; Singh & Chaudhary, 2011) นอกจากนี้ยังพบ Pterocarpanและ Rhodioside ซึ่งเป็น p-hydroxyphenylethanols และ Cyclohexanols

เมล็ด ประกอบด้วย Oils ดังนี้ Caprylic, Lauric, Myristic, Palmitic, Palmotoleic, Stearic, Oleic และ Linoleic Acid นอกจากนี้ยังพบ Flavonoids เช่นChrysin, Baicalein, Baicalein-7-O- glucosideและ Baicalein-7-*O*-diglucoside (Oroxylin B) Chrysin, Oroxylin A, Terpenes, Alkaloids, Saponins, Tetuin, 6-Glucoside, Benzoic Acid และ Fatty Acids(Chen et al., 2003)

ผล ประกอบด้วย Oroxylin A, Chrysin, Baicalein, Triterpene, Carboxylic Acid และ Ursolic Acid (Roy et al., 2007; Singh & Chaudhary, 2011) โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของส่วนสกัดจากเพกาแสดงดังภาพที่ 2-3



ภาพที่ 2-3 โครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่แยกได้จากส่วนต่าง ๆ จากเพกา (Singh & Chaudhary, 2010)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพของเพกา

โดยทั่วไปใบเพกามีรสฝาด ใช้ต้มดื่มแก้อาการปวดท้อง แก้ปวดข้อ และช่วยให้เจริญอาหารเปลือกลำต้น มีรสฝาดขมเย็น ใช้เป็นยาฝาดสมานแผล ดับพิษโลหิต แก้น้ำเหลืองเสีย แก้ฟกช้ำ สามารถนำมาป่นเป็นผงหรือยาชงดื่มแก้ขับเหงื่อ แก้ไขข้ออักเสบชนิดเฉียบพลัน เป็นยาขม ช่วยให้เจริญอาหาร ผงเปลือกผสมกับขมิ้นชันเป็นยาแก้โรคปวดหลังของม้า ลำต้นมีรสขม ผลอ่อนแก้ร้อนใน กระหายน้ำ เมล็ดแก่ มีรสขม เป็นยาอมแก้ไอ ขับเสมหะ ใช้เป็นส่วนประกอบอย่างหนึ่งในน้ำจับเลี้ยงของชาวจีนแก้ร้อนใน เปลือกและรากมีรสฝาดขม เป็นยาบำรุงธาตุ แก้ท้องร่วง ทำให้เกิดน้ำย่อยอาหารฝนกับปูนใสทาช่วยแก้อาการอักเสบ ฟกช้ำ บวม ผลแก่ ผลอ่อน เมล็ดแก่ เปลือกต้น รากมีรสฝาดขมเย็น ใช้สมานแผล แก้ไข้ แก้น้ำเหลืองเสีย แก้ท้องร่วง แก้อักเสบฟกช้ำ (อุดมการณ์ อินทุใส และปาริชาติ ทะนานแก้ว, 2549) ส่วนคุณสมบัติทางชีวภาพของเพกา มีดังนี้

ฤทธิ์ต้านการอักเสบ(Antiinflammatory Activity)

ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ดังนี้ กลุ่มตัวอย่างได้รับส่วนสกัดจากเพกาในปริมาน 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการป้อน ส่วนกลุ่มยามาตรฐานใช้ Diclofenac Sodium โดยการป้อน หลังจากนั้นทำการกระตุ้นให้เท้าหนูบวม โดยการฉีด Carageenan เข้าที่อุ้งเท้า จากนั้นวัดขนาดของอุ้งเท้าหนู และทำการเปรียบเทียบขนาดของอุ้งเท้าหนูที่บวมขึ้น ผลการทดสอบพบว่าอุ้งเท้าบวมลดลงเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่าส่วนสกัดเพกา ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แสดงฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ภายใน 5 ชั่วโมง โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ Prostaglandin แต่อย่างไรก็ตามฤทธิ์ของส่วนสกัดเพกาทั้งสองความเข้มข้นจะน้อยกว่าค่ามาตรฐาน นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการปลดปล่อยสาร Mycloperoxide ส่วนสกัดที่ประกอบด้วย ฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนู และมีฤทธิ์เสริมเอนไซม์ -Chrymotrypsinในการต้านอักเสบ (Upaganlawar et al., 2009)

ฤทธิ์ต้านแผลในกระเพาะ (Antiulcer Activity)

ทดสอบโดยใช้ส่วนสกัดจากเพกา โดยใช้แอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ และส่วนสกัดย่อย Petroleum Ether, Chloroform, Ethyl Acetate, *n*-butanol จากนั้นเหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะด้วยแอลกอฮอล์ และใช้ส่วนสกัดเพกาด้วยแอลกอฮอล์ขนาด 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการทดสอบพบว่า สวนสกัดย่อย Petroleum Ether และ *n*-butanol แสดงฤทธิ์สูงสุดในการยับยั้งแผลในกระเพาะ เมื่อใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวเหนี่ยวนำ โดยเปรียบเทียบกับ Omeprazole และพบว่าส่วนสกัดย่อยจากเพกาและ Omeprazole แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีผลลดขอบเขตการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไขมันและออกซิเจน (Lipid Peroxidation) พบว่าฤทธิ์ของส่วนสกัดย่อยจากรากเพกาที่ระดับปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถลดการหลั่งกรด และป้องกันการถูก

ทำลายของเยื่อบุกระเพาะอาหารได้ ซึ่งพบว่า Baicalein ในรากของเพกาเป็นส่วนสำคัญของฤทธิ์ต้านแผลในกระเพาะ (Khandhar, 2006)

ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Antimicrobial Activity)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของส่วนสกัดจากเพกา (Petroleum Ether, Ethyl Acetate, Methanol) สารประกอบ 2,5-dihydroxy-6,7-dimethoxy และสารประกอบ 3,7,3',5'-tetramethoxy-2-hydroxy การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค 11 สายพันธุ์ (แบคทีเรียแกรมบวก 5 สายพันธุ์ แบคทีเรียแกรมลบ 6 สายพันธุ์ และเชื้อรา 7 สายพันธุ์) ในการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้น โดยใช้ส่วนสกัดเพกาละลายในเมทานอลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อ 10 ไมโครลิตร ในการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของส่วนสกัดจากเพกาจะใช้เปรียบเทียบกับดิสค์ยามาตรฐาน คือ Kanamycin (30 ไมโครกรัมต่อดิสค์) ด้วยวิธี Disc Diffusion Method ส่วนการทดสอบกับเชื้อราเบื้องต้นจะใช้ความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเพกาปริมาณ 300 ไมโครกรัมต่อดิสค์เปรียบเทียบกับดิสค์ยามาตรฐาน คือ Clotrimazole (30 ไมโครกรัมต่อดิสค์) จากการทดสอบพบว่าส่วนสกัดจากเพกา (Petroleum Ether, Ethyl Acetate, Methanol) สารประกอบ 2,5-dihydroxy-6,7-dimethoxy และสารประกอบ 3,7,3',5'-tetramethoxy-2-hydroxy มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา แต่ยับยั้งได้น้อยกว่า Kanamycin และ Clotrimazole (Kawsar et al., 2003; Chopade et al., 2008) อย่างไรก็ตามเมื่อนำเพกามาต้ม และทดสอบ พบว่าไม่มีฤทธิ์ต้าน *Salmonella typi* type 2 (ค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* (ค่า MIC เท่ากับ 15.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนสกัดจากผลเพกาด้วยเอทานอล (80 เปอร์เซ็นต์) ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์อ่อนต่อเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ส่วนสกัดรากเพกาด้วย $MeCl_2$ มีฤทธิ์อ่อนต่อเชื้อ *S. aureus* (ค่า MIC เท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และนงลักษณ์ เรืองวิเศษ, 2551)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดจากใบเพกา จะใช้วิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) และวิเคราะห์โดยใช้ Griess Reagent ซึ่งพบว่าส่วนสกัดเอทานอลจากเพกามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าสามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DDPH ซึ่งมีค่า IC_{50}= 24.22 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยับยั้งอนุมูลอิสระ Nitric Oxide (NO) มีค่า IC_{50} =129.81 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นในการทดลองนี้แสดงให้เห็นได้ว่าส่วนสกัดเมทานอลจากใบเพกามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Upaganlawar & Tende, 2009)

ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (Anticancer Activity)

ทำการทดสอบส่วนสกัดเมทานอลจากผลเพกาต่อปริมาณเซลล์ HL-60 พบว่า

Baicalein เป็นองค์ประกอบสำคัญของส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง โดยเหนี่ยวนำให้ HL-60 cell line เกิด Apoptosis หลังจากที่ทดสอบฤทธิ์ของ Baicalein ในการฆ่าเซลล์มะเร็ง ภายใน 24 ชั่วโมง นำไปนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตโดยใช้ Tryptan Blue Staining ผลการทดสอบพบว่า Baicalein ที่ความเข้มข้น 25-30 ไมโครโมล มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง HL-60 ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และ Baicalei ที่ความเข้มข้น 10 หรือ 20 ไมโครโมล สามารถยับยั้งเซลล์ ได้ภายในเวลา 36-48 ชั่วโมง และทำให้ Baicalein เกิดการสะสมในเซลล์ที่ระยะ S หรือ G2M phases ของวัฏจักรเซลล์ ดังนั้นจากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่า Baicalein มีผลเซลล์มะเร็ง (Roy et al., 2007)

2.3 หลักฐานความเป็นพิษและการทดสอบความเป็นพิษ

มีการทดสอบความเป็นพิษโดยการทดลองกรอกส่วนสกัดเพกาด้วยน้ำร้อนกับหนูเพศผู้ในขนาด 1 โมลต่อกิโลกรัม โดยทำการทดลองฉีดส่วนสกัดผลเพกาด้วยเอทานอลและน้ำ (1:1) และส่วนสกัดรากเพกาด้วยเอทานอลและน้ำ (1:1) เข้าช่องท้องหนู พบว่าส่วนสกัดในขนาดสูงสุดที่หนูสามารถทนได้ (Maximum Tolerated Dose) คือ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 1 กรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ มีรายงานการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของส่วนสกัดเปลือกเพกาด้วยเอทานอล (70 เปอร์เซ็นต์) โดยการฉีดเข้าช่องท้อง และกรอกลงกระเพาะหนูถีบจักรในขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต่อน้ำหนักตัว พบว่าส่วนสกัดไม่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลันในหนู และเมื่อทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันโดยใช้ส่วนสกัดในขนาดสูงขึ้น คือ 400 และ 800 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต่อน้ำหนักตัว พบว่าส่วนสกัดไม่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลันเมื่อให้โดยการกรอกลงกระเพาะหนู แต่ทำให้เกิดพิษเฉียบพลันได้เมื่อฉีดเข้าช่องท้อง จากการตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ โดยวิธี Ames' Test พบว่าส่วนสกัดเพกาในขนาดสูงสุดที่ทำการทดสอบคือ 2 มิลลิกรัมต่อจานเพาะเชื้อไม่มีผลต่อการกลายพันธุ์ การประเมินความเป็นพิษของส่วนสกัดจากเพกาโดยใช้วิธี Somatic Mutation and Recombination Test ในแมลงหวี่ พบว่าส่วนสกัดเพกาขนาด 120 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถก่อให้เกิด Somatic Mutation ได้ โดยพบว่าแมลงหวี่ที่ได้รับสารสกัดมีจำนวนจุดบนปีกน้อยลง เมื่อเทียบกับแมลงหวี่กลุ่มควบคุม แต่มีรายงานว่าส่วนสกัดแอลกอฮอล์ของเพกาเมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับเกลือไนไตรท์ ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นกรดมีฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์จากผลการทดลองข้างต้น พบว่าเพกามีแนวโน้มที่จะนำมารักษาอาการท้องเสียได้ เพราะลดอาการบีบตัวของลำไส้ และมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhi* ที่เป็นสาเหตุของท้องเสีย (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2547)

2.4 งานวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพของเพกาและพืชวงศ์ที่เกี่ยวข้อง

Mat, Houghton, Ramar, and Hoult (1998) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพและฤทธิ์ต้านการอักเสบของส่วนสกัดจากเพกา ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ โดยใช้ Dichloromethane ในการสกัดสาร จากเปลือกและรากเพกา ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. subtilis, S. aureus* แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli , P. aeruginosa* และยีสต์ *C. albicans* จากนั้นนำไปทดสอบเพื่อแยกองค์ประกอบทางเคมี โดยใช้เทคนิค Bioassay Guided Chromatography ซึ่งพบว่าสามารถแยก Flavonoids (Bacailein, Chrysin) และ Naphthoquinone, Lapachol จากการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของ Lapachol 5 ไมโครกรัม มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกเมื่อเปรียบเทียบขนาด Inhibition Zone กับ Streptomycin 5 ไมโครกรัม และเมื่อทดสอบ Chrysin ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม พบว่าขนาด Inhibition Zone ต่อเชื้อ *C. albicans* และ *P. aeruginosa* เท่ากับ Streptomycin ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม และเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้าน Soya 5-lipoxygenase (IC_{50} 0.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของ Lapachol ที่สกัดจากรากเพกา มีค่าเท่ากับ Fisetin (IC_{50} 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งใช้เป็น Positive Control และเมื่อใช้ส่วนสกัด Dichloromethane จากรากเพกา ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม พบว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์ Leukocyte Lipoxygenase ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าส่วนสกัด Dichloromethane มีผลในการต้านการอักเสบ องค์ประกอบหลักที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ คือ Lapachol

Rasadah and Houghton (1998) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชวงศ์ Bignoniaceae บางชนิด ซึ่งได้แก่ *O. indicum* (เพกา), *Jacaranda filicifolia* (ศรีตรัง) ต่อแบคทีเรียแกรมบวก (2 สายพันธุ์) ได้แก่ *B. subtilis* และ *S. aureus* แบคทีเรียแกรมลบ (2 สายพันธุ์) ได้แก่ *E. coli* และ *P aeruginosa* และยีสต์ (1 สายพันธุ์) ได้แก่ *C. albicans* ด้วยวิธี Disc Diffusion Assay ส่วนสกัดไดคลอโรมีเทนจากเนื้อไม้ (Wood) ของเพกามีฤทธิ์ยับยั้ง *B. subtilis*, *S. aureus* และ *C. albicans* มีขนาด Inhibition Zone เท่ากับ 1.17±0.09, 0.80±0.00 และ 0.80±0.00 เซนติเมตร 34 ตามลำดับ ส่วนสกัดจากเปลือกของราก (Root) และเปลือกของลำต้น (Wood Bark) ของเพกามีฤทธิ์ยับยั้ง *B. subtilis* มีขนาด Inhibition Zone เท่ากับ 1.16±0.04 และ 0.87±0.09 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus, C. albicans, E. coli* และ *P. aeruginosa* และส่วนสกัดจากราก (Root) ของเพกามีฤทธิ์ยับยั้ง *B. subtilis, S. aureus* และ *C. albicans* มีขนาด Inhibition Zone เท่ากับ 1.93±0.09, 1.40±0.00 และ 0.60±0.00 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ส่วนสกัดจากเนื้อไม้ (Wood) และราก (Root) ของเพกาไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง *E. coli* และ *P aeruginosa*

Nakahara, Trakoontivakorn, Ono, Kameyama-Ohnishi, and Yoshida (2002) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดเมทานอลจากพืชที่รับประทานได้ในประเทศหลายชนิด พบว่ามีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ *B. cereus* และ *S. aureus* ได้แก่ กะม่วง (*Micromelum minutum*) เพกา (*O. indicum*) สะเดา (*Azadirachta indica*) พบว่าส่วนสกัดเมทานอลจากกะม่วงและเพกามีฤทธิ์ยับยั้ง *B. cereus* และ *S. aureus* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเพกามีฤทธิ์ต้านการอักเสบ มีสรรพคุณแก้ท้องร่วง โรคกระเพาะ และไขข้ออักเสบ

Uddin et al. (2003) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของเพกาที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตต ปิโตเลียมอิเทอร์ และเมทานอล โดยใช้ Chromatography จากการทดสอบพบว่าสามารถแยกสารประกอบฟลาโวนอยด์ได้ 2 ชนิด คือ 2,5-dihydroxy-6,7-dimethoxy flavones และ 3, 7, 3', 5'-tetramethoxy-4 - hydroxyl flavones และจากการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ โดยวิธี Disc Diffusion Method ต่อแบคทีเรีย ก่อโรค 14 ชนิด (แกรมบวก 5 ชนิด และแกรมลบ 9 ชนิด) และเชื้อราก่อโรค 7 ชนิด พบว่าส่วนสกัดด้วยปิโตเลียมอิเทอร์ เอธิลอะซิเตต และเมทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ปานกลาง และส่วนสกัดเมทานอล มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้น้อย แต่ยับยั้งเชื้อราได้ปานกลาง และเมื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด ของสารประกอบ 2,5-dihydroxy-6,7-dimethoxy flavones และ 3, 7, 3', 5'- tetramethoxy-4'- hydroxyl flavones ต่อเชื้อ *B subtilis, S. aureus, E. coli* และ *S. dysenteriae* พบว่าค่า MIC อยู่ในช่วง 64-128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Roy et al. (2007) ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารกลุ่มฟลาโวนอย์ คือ Baicalein ที่แยกได้จากส่วนสกัดเมทานอลจากเพกา ในการยับยั้งการเจริญและเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง โดยชักนำให้เกิด Apoptosis มีรายงานการนำส่วนสกัดเมทานอลจากผลเพกามาใช้รักษาโรคต่าง ๆ ในประเทศจีน เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดไข้ ฤทธิ์ยับยั้งการเกิดภาวะภูมิไวเกิน เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าส่วนสกัดเพกาสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ HL-60 cells ซึ่งพบว่า Baicalein เป็นองค์ประกอบหลักของส่วนสกัดในการยับยั้ง HL-60 cells งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของ Baicalein ต่อความสามารถในการรอดชีวิต และมีฤทธิ์เหนี่ยวนำให้ HL-60 cell line เกิด Apoptosis หลังจากที่บ่มเซลล์มะเร็งกับ Baicalein เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อใช้ Baicalein ความเข้มข้น 25-30 ไมโครโมล สามารถยับยั้งการเจริญของ HL-60cell ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อใช้ Baicalein ความเข้มข้น10ไมโครโมลสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ HL-60cell ได้ ภายใน 36-48 ชั่วโมง โดยมีผลยับยั้งวัฏจักรเซลล์ในระยะ S หรือ G2M และ Baicalein ยังสามารถทำให้เกิดการแตกหักของ DNA ด้วยวิธี DNA Fragmentation Assay และ Terminal Deoxynucleotidyltransferase-mediated dUTP Nick End Labeling (TUNEL) จึงแสดงให้เห็นว่า Baicalein มีฤทธิ์ต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งของมนุษย์และเสริมฤทธิ์กับยารักษามะเร็งได้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Islam, Eti, and Chowdhury (2010) ได้ทำการศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านจุลชีพของส่วนสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นเพกา โดยใช้ส่วนสกัดย่อยของเมทานอล ดังนี้ปิโตรเลียมอิเธอร์ คลอโรฟอร์ม เฮกเซน และคาร์บอนเตตตะคลอไรด์ สกัดโดยวิธี Modified Kupchan Partitioning Method จากนั้นทำการแยกสาร โดยใช้วิธี Chromatography และทำให้สารบริสุทธิ์โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ จากการวิเคราะห์โดยใช้ HNMR Spectrometric Analysis พบว่าสารประกอบ 1 ชนิด ที่เป็นส่วนสกัดย่อยของ n-hexane จากเปลือกลำต้นเพกา มีฟลาโวนอยด์ เป็นองค์ประกอบ และเมื่อใช้ส่วนสกัดย่อย 3 ชนิด คือ เฮกเซน คาร์บอนเตตตะคลอไรด์ และคลอโรฟอร์ม เป็นตัวทำลายละลายในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ โดยใช้วิธี Disc Diffusion Method พบว่าส่วนสกัดย่อยจากเปลือกลำต้นเพกาทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *B. cereus* (BTCC-19), *B. megaterium* (BTCC-18), *B. subtilis, S. aureus* (BTCC-43), *Sarcina lutea* (ATCC 9341) แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli (*BTCC-172), *P. aeruginosa* (BTCC-1252), *S. paratyphi, S. typhi, Shigella dysenteriae, S. boydii. Vibrio mimicus, V. parahemolyticus* ยีสต์และเชื้อรา ได้แก่ *Saccharromyces cevevaceae, C. albicans, A. niger* โดยในการทดลองครั้งนี้จะเปรียบเทียบกับดิสค์ยาปฏิชีวนะมาตรฐานคือแอมพิซิลิน (10 ไมโครกรัมต่อดิสค์)

Maitreyi and Bhavita (2011) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกหุ้มลำต้นและรากเพกา โดยเพกาเป็นพืชที่มีคุณสมบัติเป็นยา ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการทดสอบคุณสมบัติในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระของเพกา โดยใช้ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกัน ในขั้นต้นจะนำเปลือกหุ้มลำต้นเพกาและรากมาสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย ดังนี้ ปิโตรเลียมอิเธอร์ เอธิลอะซิเตต และบูทานอล จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี ABTS Assay, Scavenging Nitric Oxide Radical Assay และทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ ในการรับอิเล็กตรอนอิสระ โดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวซ์ในปฏิกิริยา โดยการศึกษาเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานคือ Ascorbic acid และใช้เป็น Positive Control ซึ่งสารทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้นำไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค UV-Visible Spectrophotometer (Systronics 117, Japan) ผลการทดสอบ พบว่า ส่วนสกัดบูทานอล จากเปลือกหุ้มและรากเพกา เป็นส่วนสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี

Kalaivani and Mathew (2009) ได้ทำการศึกษาลักษณะทางพฤษเคมีและคุณสมบัติในการเป็นสารขจัดอนุมูลอิสระของเพกา การศึกษาครั้งนี้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดจากเพกาโดยใช้วิธีที่ต่างกัน คือ Total Antioxidant Assay และ Beta-carotene Bleaching Assay โดยสกัดเปลือกหุ้มลำต้นเพกาให้มีลักษณะเป็นผง ซึ่งจะใช้ตัวทำละลายที่ต่างกัน และวิธีสกัดเพื่อให้

มีขั้วเพิ่มขึ้นจะใช้ Soxhlet Apparatus จากนั้นนำไปวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อหาสารประกอบทางเคมีในพืช

Das and Choudhury (2010) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของส่วนสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดเพกา และทดสอบหาส่วนสกัดย่อยของเพกาในคอลัมน์ และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดเมทานอล เอธิลอะซิเตต และเอทานอล 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบครั้งนี้ใช้กับแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวก ผลการทดสอบพบว่า ขนาด Inhibition Zone ของส่วนสกัดเอทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ จากเปลือกหุ้มเมล็ดเพกา มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้เทียบเท่ากับยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินและอะมิคาซิน และยับยั้งได้ดีกว่าแอมพิซิลิน และพบว่าขนาด Inhibition Zone ของส่วนสกัดเอธิลอะซิเตต กว้างกว่าแอมพิซิลินแต่น้อยกว่าเตตราซัยกลินและอะมิคาซิน และเมื่อใช้ส่วนสกัดเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อเชื้อ *E. coli* พบว่า ยับยั้งได้ดีกว่าแอมพิซิลินนอกจากนี้ ขนาด Inhibition Zone ของสารสกัดเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อเชื้อ *P aeruginosa* เท่ากับอะมิคาซิน และขนาด Inhibition Zone ของส่วนสกัดชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ได้แสดงจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้น้อยกว่ายาปฏิชีวนะมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบต้านอนุมูลอิสระที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนสกัดชนิดอื่น และส่วนสกัดเอทานอล แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุดใน Beta-carotene Bleaching Assays แต่ส่วนสกัดคลอโรฟรอม์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพราะสามารถรับอิเล็กตรอนอิสระ (Reducing Agent) โดยอาศัยในการเป็นตัวรีดิวซ์ในปฏิกิริยา ซึ่งการเปลี่ยนแปลงศักยภาพของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นจะมีความสัมพันธ์กับสารประกอบทางเคมีในพืช

Yan et al. (2011) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์จากเมล็ดเพกา ทดสอบโดยใช้ Glycosides ของฟลาโวนอยด์ 3 ตัวอย่าง และสารประกอบที่แยกได้จากส่วนสกัดเอทานอลจากเมล็ดเพกา จำนวน 19 ตัวอย่าง และนำ Glycosides 3 ตัวอย่าง ไปวิเคราะห์โดยใช้ Spectroscopy จากนั้นนำตัวอย่างของสารประกอบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH และ ORAC Assay ผลการทดสอบพบว่าสารประกอบ Scutellarein 7-O-β-D-glucopyranosyl-(1⟶6) -β-D-glucopyranoside, Baicalein-7-O-diglucoside, Scutellarein-7-O-glucopyranoside, Baicalin, Baicalein แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อใช้วิธี DPPH Assay และสารประกอบ Scutellarein, Chrysin-7-Ogentiobioside, Baicalein-7-O-diglucoside, Baicalein-7-O-glucoside, Scutellarein-7-O-glucopyranoside, Baicalin, Chrysin, Baicalein, Pinocembrin และ Pinobanksin แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อใช้วิธี ORAC assay

Das, Choudhury, Mandal, and Talukdar (2012) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารประกอบและส่วนสกัดจากเปลือกหุ้มลำต้นเพกา ต่อแบคทีเรียก่อโรค โดยใช้สารประกอบ

SDP_F38 ที่แยกได้จากส่วนสกัดเอธิลอะซิเตต จากเปลือกหุ้มลำต้นเพกา เปรียบเทียบประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านจุลชีพกับสารสกัดหยาบจากเปลือกหุ้มลำต้นเพกา แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ คือ *B. subtilis, E. coli, P. aeruginosa* ทดสอบโดย หยดสารประกอบ SDP_F38 ที่สกัดจากเปลือกหุ้มลำต้นเพกา ลงบนดิสค์ที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นวางลงบนผิวหน้าอาหารที่มีความเข้มข้นของเชื้อ 10^6 cfu/ml แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในการทดสอบครั้งนี้ใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน อะมิคาซิน และเตตราซัยคลิน เป็นดิสค์ยามาตรฐาน ที่ใช้เปรียบเทียบ จากนั้นนำไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบ SDP_F38 ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ผลการทดสอบพบว่า สารประกอบ SDP_F38 ทุกระดับความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อดีกว่ายาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน คา MIC ที่ได้จากการทดสอบกับเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* เท่ากับ 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารประกอบ SDP_F38 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อที่ทดสอบได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาได้ จึงเป็น ที่น่าสนใจที่จะนำไปใช้เป็นยาต้านจุลชีพ

2.5 การเสริมฤทธิ์ของสมุนไพรต่อการต้านแบคทีเรีย

Dey et al. (2012) ได้ศึกษาฤทธิ์ร่วมกันของส่วนสกัดเมทานอลจากผลทับทิม (methanolic extract of *Punica granatum* (PGME)) กับยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin ต่อ Extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL) ที่ผลิตโดย *E. coli* และ *K. pneumoniae* และ Metallo-Beta-lactamase (MBL) ที่ผลิตโดย *P. aeruginosa* ซึ่งเป็นเชื้อที่ ดื้อยาในกลุ่ม Fluoroquinolone โดยหาความเข้มข้นต่ำสุดของ ยา Ciprofloxacin และสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดทับทิม (PGME) ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ โดยวิธี Checkerboard Assay และศึกษาฤทธิ์ร่วมกันของ Ciprofloxacin-PGME โดยใช้ค่า FIC เป็นดัชนีชี้วัด จากการศึกษาฤทธิ์ร่วมกับยา Ciprofloxacin โดยวิธี Agar Well Assay พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ 19 สายพันธุ์จาก 49 โดยค่า FIC อยู่ในช่วง 0.125-0.5 ซึ่งพบว่า PGME สารกลุ่มโพลีฟีนอล เป็นองค์ประกอบสำคัญสามารถไปยับยั้งการขับยาออกนอกเซลล์โดยโปรตีน (Efflux Pump Inhibitor) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อยา Ciprofloxacin แต่แบคทีเรียอาจจะมีการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายที่ยาไปออกฤทธิ์ ในเซลล์ของแบคทีเรีย และจะทำให้ PGME ไม่มีผลต่อโปรตีนขับยาออกนอกเซลล์ของแบคทีเรียเมื่อใช้ Ciprofloxacin ในระดับที่สูง นอกจากนี้แบคทีเรียบางสายพันธุ์ที่ไวต่อยาหรือดื้อต่อยา Ciprofloxacin ในระดับที่ต่ำจะตอบสนองต่อยา Ciprofloxacin เมื่อใช้แยกหรือร่วมกันซึ่งอาจจะเป็นไปได้ที่แบคทีเรียมีการแสดงออกของโปรตีนขับยาออกนอกเซลล์สูงกว่าระดับปกติ ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ร่วมกันของ Ciprofloxacin-PGME

ต่อเอนไซม์ ESBL และ MBL ของแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน จึงเป็นทางเลือกใหม่ในการใช้รักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา

Toroglu (2011) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยบางชนิดร่วมกับยาปฏิชีวนะซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ โรสแมรี่ ผักชี ยี่หร่า และสะระแหน่ จุลชีพที่ใช้ในการทดสอบคือ *Micrococcus luteus* LA 2971, *B. megaterium* NRS, *B. brevis* FMC3, *Enterococcus faecalis* ATCC 15753, *P. pyocyaneus* DC 127, *E. coli* DM, *Mycobacterium smegmatis* CCM 2067, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, *Yersinia enterocolitica* AU 19, *S. aureus* Cowan 1, *Streptococcus faecalis* DC 74, *Saccharomyces cerevisiae* WET 136, *Kluyveromyces fragilis* DC ทดสอบโดยใช้วิธี Disc Diffusion Method ยาปฏิชีวนะที่ใช้ร่วมกับน้ำมันหอมระเหย คือ Gentamicin (10ไมโครกรัม), Cephalothin (30 ไมโครกรัม), Ceftriaxone (10 ไมโครกรัม), Nystatin (10 ไมโครกรัม) ผลการทดสอบพบว่าเมื่อใช้ โรสแมรี่ร่วมกับยา Gentamicin, Cephalothin, Ceftriaxone มีฤทธิ์ยับยั้ง *P. pyocyaneus*, *S. aureus*, *E. coli* ได้ดีที่สุดตามลำดับ โดยมีขนาด Inhibition Zone 36, 26, 37 มิลลิเมตร และเมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยจากผักชีร่วมกับยา Gentamicin มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาด Inhibition Zone 30 มิลลิเมตร เมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยจากผักชีร่วมกับยา Cephalothin และ Ceftriaxone พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง *E. coli* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาด Inhibition zone 21 และ 30 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยจากยี่หร่าร่วมกับยา Gentamicin, Cephalothin พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง *A. hydrophila* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาด Inhibition zone 50, 70 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยจากยี่หร่าร่วมกับ Ceftriaxone มีฤทธิ์ยับยั้ง *E. coli* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาด Inhibition Zone 46 มิลลิเมตร นอกจากนี้เมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ร่วมกับยา Gentamicin, Cephalothin, Ceftriaxone มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาด Inhibition Zone 30, 36, 39 มิลลิเมตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในการทดลองครั้งนี้เมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชทุกชนิดร่วมกับยาปฏิชีวนะ พบว่าขนาด Inhibition Zone กว้างกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยและยาปฏิชีวนะเสริมฤทธิ์กัน

Banu, Rathod, and Ranganath (2011) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่สังเคราะห์จาก *Rhizopus stolonifer* ร่วมกับยาปฏิชีวนะโดยใช้วิธี Disc Diffusion Method แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบคือ *E. coli*, *Klebsiella* spp. และ *Proteus* spp. สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ Extended spectrum Beta-lactamases (ESBL) และปริมาตรของอนุภาคซิลเวอร์นาโนที่ใช้ในการทดสอบคือ 20 ไมโครลิตร จากการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นพบว่าอนุภาคซิลเวอร์นาโนมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli*, *Klebsiella* spp. และ *Proteus* spp. ได้ดี โดยมีขนาด Inhibition

Zone 15, 12, 10 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อทดสอบฤทธิ์ร่วมกันของอนุภาคซิลเวอร์นาโนและยาปฏิชีวนะ Ciftriaxone (10 มิลลิกรัมต่อดิสค์) ต่อเชื้อ *E. coli*, *Klebsiella* spp. และ *Proteus* spp. พบว่ามีขนาด Inhibition Zone เท่ากับ 29, 25, 26 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อทดสอบฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะ Carbenicillin (10 มิลลิกรัมต่อดิสค์) ต่อเชื้อ *E. coli*, *Klebsiella* spp. และ *Proteus* spp. พบว่า มีขนาด Inhibition zone เท่ากับ 26, 24, 23 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อทดสอบฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะ Nitrofurantoin (10 มิลลิกรัมต่อดิสค์) ต่อเชื้อ *E. coli*, *Klebsiella* spp. และ *Proteus* spp. มีขนาด Inhibition Zone ดังนี้ 22, 18, 13 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งจากการทดสอบในครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม คือยาปฏิชีวนะ Ciftriaxone, Carbenicillin, Nitrofurantoin พบว่าเมื่อใช้อนุภาคซิลเวอร์นาโนร่วมกับยาปฏิชีวนะดังกล่าว ขนาด Inhibition Zone กว้างขึ้น ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า อนุภาคซิลเวอร์นาที่สังเคราะห์จาก *R. stolonifer* เสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดสอบ

Aboulmagd, Mohammed, and Badry (2011) ศึกษาฤทธิ์ร่วมกันของส่วนสกัดจากชาเขียว กับยาปฏิชีวนะ Imipenem ต่อเชื้อ MRSA โดยใช้วิธี Checkerboard Titration Method และ Time Kill Assay จากการทดสอบพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของส่วนสกัดจากชาเขียวต่อเชื้อ MRSA อยู่ในช่วง 0.780-6.250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MIC ของยา Imipenem ต่อเชื้อ MRSA อยู่ในช่วง 16-256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเปอร์เซ็นต์ความสัมพันธ์ของขนาด Inhibition Zone (เปอร์เซ็นต์ RIZD) อยู่ในช่วง 140-254 และค่า FIC ของส่วนสกัดจากชาเขียวร่วมกับยาปฏิชีวนะ Imipenem อยู่ในช่วง 0.156-0.50 แสดงว่าส่วนสกัดจากชาเขียวและยาปฏิชีวนะ Imipenem มีฤทธิ์เสริมกัน และพบว่าส่วนสกัดจากชาเขียวร่วมกับยาปฏิชีวนะ Imipenem ต่อ MRSA-S2 ที่ความเข้มข้น 0.25×MIC สามารถฆ่าเชื้อได้ 99.99 เปอร์เซ็นต์ หลังจากที่เชื้อสัมผัสกับยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ค่าความสามารถของยาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อหลังจากที่เชื้อไม่ได้สัมผัสกับยา (PAE) โดยระยะเวลาที่เชื้อจะกลับไปเจริญแบบ Logarithm Growth สำหรับยา Imipenem เท่ากับ 1.5-2.8 ชั่วโมง สำหรับส่วนสกัดจากชาเขียว เท่ากับ 2.2-3.55 ชั่วโมง และค่าของส่วนสกัดจากชาเขียวร่วมกับยาปฏิชีวนะ Imipenem เท่ากับ 2.9-4.7 ชั่วโมง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าส่วนสกัดจากชาเขียว และยาปฏิชีวนะ Imipenem ฤทธิ์เสริมกันในการยับยั้งเชื้อ MRSA

Deepak and Kamat (2010) ศึกษาฤทธิ์ของส่วนสกัดจากลูกสมอไทย ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน ที่สร้างเอนไซม์ Metallo-Beta-lactamase (MBL) และ Extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL) โดยวัตถุประสงค์ในการศึกษาคือ ทดสอบฤทธิ์ร่วมกันของส่วนสกัดจากลูกสมอไทยกับยาปฏิชีวนะ Cefotaxime โดยหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ซึ่งความเข้มข้นของยา Cefotaxime อยู่ในช่วง 10-640 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

และความเข้มข้นของส่วนสกัดจากลูกสมอไทยเท่ากับ 2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบฤทธิ์ร่วมกันโดยใช้วิธี Bioassay Method จากการทดสอบพบว่าค่า MIC ของยา Cefotaxime ต่อเชื้อ *Pseudomonas* spp. อยู่ในช่วง 40-320 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อใช้ยา Cefotaxime ร่วมกับส่วนสกัดจากลูกสมอไทย ค่า MIC อยู่ในช่วง 20-160 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MIC ของยา Cefotaxime ต่อเชื้อ *Acinetobacter* sp. อยู่ในช่วง 40-320 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อใช้ยา Cefotaxime ร่วมกับส่วนสกัดจากลูกสมอไทย ค่า MIC อยู่ในช่วง 10-320 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทดสอบฤทธิ์ร่วมกันโดยใช้วิธี Bioassay Method พบว่า ขนาด Inhibition Zone ของยา Cefotaxime ร่วมกับส่วนสกัดจากลูกสมอไทยต่อเชื้อ *Pseudomonas* spp. และ *Acinetobacter* sp. อยู่ในช่วง 13-20 มิลลิเมตร และ 15-23 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (ยา Cefotaxime 100 ไมโครกรัม) พบว่าขนาด Inhibition Zone กว้างกว่า และเท่ากับตัวควบคุม ดังนั้นจากการทดสอบในครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าส่วนสกัดจากลูกสมอไทยเสริมฤทธิ์ร่วมกับยา Cefotaxime

Si, Hu, Liu, and Zeng (2008) ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน่และฤทธิ์ร่วมกันกับยาปฏิชีวนะต่อ Extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL) ที่ผลิตโดย *E. coli* โดยเจือจางน้ำมันหอมระเหย และยาปฏิชีวนะโพลีมัยซิน โดยวิธี Checkerboard Microtitre Assay จากการทดสอบพบว่า *E. coli* สายพันธุ์ดื้อยาปฏิชีวนะหลายขนาน ไวต่อน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่และยาปฏิชีวนะโพลีมัยซิน ความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนโพลีมัยซินที่สามารถยับยั้งได้คือ 0.5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่ที่ยับยั้ง ได้คือ 0.8 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร เมื่อศึกษาฤทธิ์ร่วมกันของน้ำมันหอมระเหยออริกาโนกับยาปฏิชีวนะ Amoxicillin, Polymycin และ Lincomycin ต่อเชื้อ *E. coli* ให้ผลแบบมีแนวโน้มเสริมฤทธิ์กัน โดยค่า FIC อยู่ในช่วง 0.625-0.750 และค่า FIC ของน้ำมันหอมระเหยจากออริการโน่ร่วมกับยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Fluoroquinolones, Doxycycline, Maquindoxflorfenicol และ Lincomycin ต่อเชื้อ *E. coli* อยู่ในช่วง 0.375-0.500 แสดงว่าน้ำมันหอมระเหยออริกาโน่และยาปฏิชีวนะโพลีมัยซินฤทธิ์เสริมกัน และจากการศึกษาฤทธิ์ร่วมกันของน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน่ และยาปฏิชีวนะ Fluoroquinolones, Doxycycline, Lincomycine และ Maquindoxflorfenicol สามารถยับยั้ง *E. coli* สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ได้ในระดับที่ดี

Adwan and Mhanna (2008) ศึกษาฤทธิ์เสริมกันของส่วนสกัดจากพืชร่วมกับยาปฏิชีวนะต่อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากตัวอย่างในคลินิก ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ส่วนสกัดน้ำจากฝรั่ง โรสแมรี่ แซลเวียดิวินออฮัม กานพลู กระวาน และกุหลาบมอญ ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพและทดสอบฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะ Oxytetracycline HCl, Gentamicin Sulfate, Penicillin G

และ Cephalexin โดยใช้วิธี Broth Well Diffusion และ Microdilution Method โดยแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบคือ MRSA 1 ตัวอย่าง และ Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) 4 ตัวอย่าง ผลการทดสอบโดยวิธี Agar well Diffusion พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างส่วนสกัดจากพืชทั้งหมดร่วมกับยาปฏิชีวนะ ต่อเชื้อ *S. aureus* ทั้ง 5 ตัวอย่างให้ผลแบบมีแนวโน้มเสริมฤทธิ์กัน และเมื่อใช้วิธี Microdilution Method พบว่ามีฤทธิ์เสริมกันระหว่างยาปฏิชีวนะและส่วนสกัดจากพืช

Odunbaku, Ilusanya, and Akasoro (2008) ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของส่วนสกัดเอทานอลจากใบ *Ficus exasperate* ต่อ *E. coli* และ *S. albus* จากการทดสอบพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของส่วนสกัดเอทานอลจากใบ *F. exasperate* ต่อเชื้อ *E. coli, S. albus* เท่ากับ 300 และ 700 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อทดสอบฤทธิ์ร่วมกันของส่วนสกัดเอทานอลจากใบ *F. exasperate* (ความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กับยาปฏิชีวนะกลุ่มที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน (ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังนี้ Gentomycin, Tetracycline, Erythromycin Chloramphenicol พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง *E. coli* และ *S. albus* ได้ดี โดยมีขนาด Inhibition Zone อยู่ในช่วง 24-30 และ 26-30 มิลลิเมตร และเมื่อทดสอบฤทธิ์ร่วมกันของส่วนสกัดเอทานอลจากใบ *F. exasperate* (ความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กับยาปฏิชีวนะกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ กรดนิวคลีอิค และกรดโฟลิค (ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังนี้ Samtrim, Ampicillin, Penicillin พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง *E .coli* และ *S. albus* โดยมีขนาด Inhibition Zone อยู่ในช่วง 20-24 และ 21-24 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากการทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ส่วนสกัดจากใบ *F. exasperate* แยกกับยาปฏิชีวนะ พบว่าขนาด Inhibition Zone มีค่าน้อยกว่าใช้ยาปฏิชีวนะร่วมกับส่วนสกัดจากใบ *F. exasperate* ดังนั้นส่วนสกัดเอทานอลจากใบ *F. exasperate* (ความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กับยาปฏิชีวนะ (ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีการเสริมฤทธิ์กันทำให้มีประสิทธิภาพภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด

Shiota et al. (2000) ได้ศึกษาผลของสารประกอบ Tellimagrandin I และ Rugosin B ที่แยกได้จากกุหลาบแดง พบว่าสารประกอบ Tellimagrandin I มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ MRSA และค่า MIC อยู่ในระดับต่ำ ส่วนสารประกอบ Rugosin B แสดงฤทธิ์ยับยั้ง MRSA ได้บางตัวอย่าง และเมื่อใช้สารประกอบ Tellimagrandin I (ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ร่วมกับยาปฏิชีวนะ Oxacillin ต่อเชื้อ MRSA พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ คือ 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำมาคำนวณค่า FIC มีค่าเท่ากับ 0.39 แสดงว่าสารประกอบ Tellimagrandin I (ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เสริมฤทธิ์ร่วมกับยาปฏิชีวนะ Oxacillin และเมื่อใช้ยา Tetracycline ร่วมกับสารประกอบ Tellimagrandin I พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ MRSA ได้คือ 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง

S. aureus สายพันธุ์ที่ไวต่อยามีค่าเท่ากับ 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อใช้สารประกอบ tellimagrandin I ร่วมกับยา Erythromycin, Kanamycin. Ofoxacin พบว่าไม่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อ MRSA

Takahashi. Cai, Toda, Hara, and Shimamura (1995) ได้ศึกษาฤทธิ์ร่วมกันของยาปฏิชีวนะ Oxacillin และ Catechin ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ที่แยกได้จากส่วนสกัดจากชา ต่อเชื้อ MRSA ซึ่งมีรายงานพบว่า Catechin มีฤทธิ์ยับยั้ง MRSA ซึ่งกลไกในการยับยั้งคือจะทำให้ Lipid Bilayer ของ Cell Membranes แบคทีเรียเกิดความเสียหาย ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้จะแยกตัวอย่างเชื้อ MRSA โดยใช้วิธี Cup Method จากการทดสอบพบว่า เมื่อใช้ยา Oxacillin ร่วมกับ Catechin จะมีฤทธิ์ยับยั้ง MRSA และพบว่าค่า MIC ต่ำ แต่เมื่อใช้ยา Oxacillin เดี่ยว ๆ ที่ความเข้มข้น 40 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้ง MRSA เมื่อใช้ค่า MIC ของ Catechin ที่ระดับต่ำ (25-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ร่วมกับยา Oxacillin (5-12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แล้วผสมกันในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ พบว่าสามารถยับยั้ง MRSA ได้ทุกไอโซเลท เมื่อนับจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียใน Broth Culture โดยใช้ Oxcacillin (5ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แยกกับ Catechin (100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่ากราฟของการเจริญมีลักษณะคล้ายกราฟการเจริญของชุดควบคุม และเมื่อใช้ยา Oxcacillin ร่วมกับ Catechin พบว่าการเจริญของแบคทีเรียลดลง 1/100-1/1000 และเมื่อใช้ Catechin ร่วมกับยา Methicillin (12.5ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), Aminobenzyl, Penicillin (32ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Tetracycline (2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Chloramphenicol (12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อเชื้อ MRSA พบว่า ค่า MIC จะต่ำ และแสดงฤทธิ์ยับยั้ง MRSA ได้ทุกตัวอย่าง ดังนั้นจากการทดสอบในครั้งนี้จึงพบว่าสามารถใช้ Catechin ร่วมกับยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก MRSA ได้

2. 6 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

P. aeruginosa

เป็นแบคทีเรียรูปท่อน ย้อมติดสีแกรมลบ ขนาด 0.5-1.0 × 1.5-5.0 ไมโครเมตร *Pseudomonas* ถูกจัดอยู่ในอันดับ (Order) Pseudomonadales วงศ์ (Family) Pseudomonadaceae สกุล (Genus) *Pseudomonas* (Crossley et al., 2009) ลักษณะเด่นของเชื้อ *P. aeruginosa* คือกลิ่นที่พิเศษเฉพาะของเชื้อคล้ายกลิ่นองุ่นและเจริญได้ดีในอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส และเจริญในที่มีออกซิเจนมากกว่าไม่มีออกซิเจน สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาซึ่งแฟลกเจลลาเป็นส่วนที่ยื่นออกมาจากเซลล์เพื่อที่จะใช้ในการเคลื่อนที่ มีลักษณะคล้ายกับซิเลีย แต่แตกต่างกันที่แฟลกเจลลามีขนาดยาวกว่า และมีจำนวนน้อยกว่าซิเลีย มีส่วนประกอบพื้นฐานเดียวกันเป็น

ไมโครทูบูล (Microtubules) ส่วนโคนของแฟลกเจลลาและซิเลีย แต่ละอันนั้นจะอยู่ลึกเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ เรียกส่วนนี้ว่าเบซัลบอดี (Basal Body) ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมการโบกพัดของแฟลกเจลลาและซิเลีย *P. aeruginosa* บางสายพันธุ์โคโลนีจะมีลักษณะคล้ายเมือก เพราะมีความสามารถที่จะสร้างสารเมือกห่อหุ้มเซลล์ที่คล้ายแคปซูล มีการผลิตสารเม็ดสีที่เรืองแสงอัลตราไวโอเลต ไพโอไซยานินซึ่งจะเป็นสารเม็ดสีเขียวน้ำเงิน อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งจะสามารถสลายเม็ดเลือดแกะได้อย่างสมบูรณ์ (กนกรัตน์ ศิริพานิชกร, 2541) *P. aeruginosa* พบได้ในธรรมชาติทั่วไป เช่น ในน้ำ ดิน หรือต้นไม้ โดยมีความทนทานในสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี ซึ่งเชื้อนี้จะเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อในโรงพยาบาลและต่อผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง มะเร็งระยะสุดท้ายและแผลไฟไหม้ รวมทั้งในสภาพที่มีเกลือสูง ๆ ได้อีกด้วย ซึ่งเชื้อ *P. aeruginosa* สามารถใช้พลังงานจากกระบวนการออกซิเดทีฟ และสามารถสร้างไซโทโครมออกซิเดส(Cytocrome Oxidase)ได้มาก และสามารถเจริญได้ในอาหารธรรมดาที่ใช้แยกเชื้อ แต่จะไม่เร็วเท่าแบคทีเรียในตระกูลเอนเทอโรแบคทีริเอซี ซึ่งเมื่อบ่มเชื้อไว้ค้างคืนจะมีการเจริญขึ้นเป็นโคโลนี สามารถสร้างรงควัตถุไพโอซายานินที่มีสีฟ้า ไพโอเวอดินสีเหลือง เมื่อมีการส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต รงควัตถุทั้งสองสีจะรวมกันเป็นสีเขียวสารนี้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ โคโลนีนี้จะแพร่กระจายและจะมีขนาดใหญ่ โคโลนีมีลักษณะมันเงาคล้ายโลหะ (Metallic Sheen) เมื่อมีการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวจะจับกันเป็นแผ่นบริเวณผิวหน้าอาหาร (Pellicle) (กนกรัตน์ ศิริพานิชกร, 2541)

A. baumannii

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างหลายแบบทั้งแบบวงรี อยู่กันเป็นคู่หรือเป็นกลุ่ม และรูปร่างแบบท่อนเรียงตัวเป็นคู่หรือสายสั้นๆ ไม่มีแฟลกเจลลา เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา และในบรรยากาศที่มีออกซิเจน บางครั้งมีรงควัตถุชนิดแซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) พบได้ในสิ่งแวดล้อม น้ำ ดิน และในร่างกายคนที่อับชื้น *A. baumannii* โดยทั่วไปก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล ได้แก่ โรคปอดบวม ซึ่งมักจะมาจากน้ำที่ให้ความชื้นในห้อง ส่วนคนไข้ที่มีเชื้อในเลือด มักจะมาจากเครื่องมือสวนหลอดเลือด (Intravenous Catheters) ในคนที่มีแผลไหม้ หรือภูมิคุ้มกันบกพร่อง เชื้อ *A. baumannii* จะฉวยโอกาสก่อโรคได้ อาจทำให้เกิดเยื่อหุ้มสมองอักเสบ สายพันธุ์ของ *Acinetobacter* มักดื้อต่อยาปฏิชีวนะจึงเป็นปัญหาในการรักษา และการทดสอบ ความไวของเชื้อช่วยให้เลือกใช้ยาที่ดีที่สุดในการรักษาได้ เชื้อ *A. baumannii* เป็นเชื้อก่อโรคในโรงพยาบาลที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทยและทั่วโลก เนื่องจากส่งผลให้ผู้ป่วยมีอัตราการตายที่ค่อนข้างสูงจากการที่เชื้อสามารถดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดได้อย่างรวดเร็วด้วยกลไกหลากหลาย เช่น การสร้างเอนไซม์ Beta-lactamase การลดการนำยาเข้าเซลล์โดยลดจำนวน Porin หรือการสร้าง Efflux Pump เพื่อขับยาออกจากเซลล์ เป็นต้น โดยปัจจัยเสี่ยงต่อการ

ติดเชื้อ *A. baumannii* เช่น การรักษาในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน การใช้เครื่องช่วยหายใจ การพักรักษาตัวในหอผู้ป่วยภาวะวิกฤติ การใส่สายสวนในร่างกาย หรือการมีประวัติได้รับยาต้านจุลชีพมาก่อน เป็นต้น สำหรับแนวทางการรักษาในปัจจุบัน ได้มีการศึกษาในหลอดทดลองและทางคลินิกเกี่ยวกับการใช้ยาชนิดใหม่ หรือยาเดิมที่มีข้อบ่งใช้ใหม่โดยมีกลไกการดื้อยาไม่เกิดการดื้อข้ามกันกับยาต้านจุลชีพที่ใช้อยู่ เช่น การศึกษาด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยของยา Colistin, Tigecycline หรือ Imipenem เป็นต้น การใช้ยาต้านจุลชีพอย่างน้อย 2 ชนิดร่วมกันเพื่อเสริมฤทธิ์ในการรักษา เช่น การใช้ Rifampicin ร่วมกับ Imipenem หรือ Colistin ร่วมกับ Rifampicin เป็นต้น (โสภณ คงสำราญ, 2524)

E. coli

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้สร้างแคปซูลได้ ให้โคโลนีเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร ในเวลา 18 ชั่วโมง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง (Differential Media) เช่น McConkey Ager โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากเฟอร์เมนต์แล็กโทส หรือเลี้ยงในอาหาร Eosin Methylene Blue Agar (EMB) และ Endo Agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะ มีสายพันธุ์ที่เฟอร์เมนต์แลคโทสได้ช้า ถ้าเลี้ยงบนอาหารผสมเลือดบางสายพันธุ์เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบบีตาฮีโมไลซิสเชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง (15-45 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60 นาที *E. coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ใหญ่ ปกติจะไม่ทำให้เกิดโรค แต่จะทำให้เกิดโรคได้เมื่ออยู่นอกลำไส้ เช่น ในท่อปัสสาวะ ท่อน้ำดี ปอด เยื่อหุ้มปอด เยื่อหุ้มสมองและไขสันหลังในเด็กแรกเกิด ซึ่ง *E. coli* อาจทำให้เกิดโรคดังนี้ ท้องร่วง (Gastroenteritis) ทางเดินปัสสาวะอักเสบ (Urinary Tract Infection) โลหิตเป็นพิษ (Septicemia) และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Neonatal Meninggitis) สมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญคือ การทดสอบ IMViC ได้ผล + - - - คือสามารถใช้ทริปโทเฟนให้อินโดล และให้ผลบวกกับเมทิลเรดแต่ไม่สร้างอะซิติลเมทิลคาร์บินัล (Acetyl Methyl Carbinol)และไม่ใช้ซิเตรตเป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ยังมีไลซีนดีคาร์บอกซิเลส (Lysine Decarboxylase) และสามารถใช้อะซีเตต (Acetate) เป็นแหล่งคาร์บอนได้ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

K. pneumoniae

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ยาวประมาณ 1-2 ไมโครเมตร กว้าง 0.5-0.8 ไมโครเมตร เชื้อสร้างแคปซูลจึงทำให้โคโลนีมีลักษณะเป็นเมือกและเชื้อมีความรุนแรง แคปซูลจะสร้างได้มากเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตมาก โคโลนีที่มีเมือกมากมีสีขาวปนเทา โคโลนีบนอาหารผสมเลือดมีขนาดใหญ่และเป็นเมือกมาก เชื้อนี้ไม่เคลื่อนที่ มีฟิมเบรีย (Fimbriae) เจริญได้

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

ดีที่อุณหภูมิตั้งแต่ 12-43 องศาเซลเซียส เชื้อนี้ถูกฆ่าตายด้วยความร้อนชื้น 55 องศาเซลเซียส ภายใน 30 นาที สามารถทนความแห้งได้หลายเดือน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเชื้อยังมีชีวิตได้หลายเดือน การดำรงชีวิตเป็นแบบแฟคัลเตตีฟแอนแอโรบแต่เจริญในสภาวะไร้อากาศได้ไม่ดี ไม่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของม้าหรือแกะ สมบัติทางชีวเคมีคือจะหมักน้ำตาลแลคโตส *K. pneumoniae* เป็นสาเหตุของปอดบวม โดยมีการทำลายเนื้อเยื่อในปอด ทำให้เกิดโพรงหนองและทำให้เสมหะมีเลือดและข้นเหนียว นอกจากปอดบวมแล้วยังทำให้เกิดการ ติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ การติดเชื้อที่บาดแผลในกระแสเลือด และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อ *K. pneumoniae* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดเป็นปัญหาในการรักษาผู้ป่วยในโรงพยาบาลเชื้อสายพันธุ์ดังกล่าวมักจะดื้อต่อยาในกลุ่มที่เคยใช้รักษาได้ผล เช่น Aminoglycoside (Gentamicin, Amikacin), Cephalosporin รุ่นที่ 3 (Cefotaxime, Ceftriaxone, Ceftazidime), Penicillin (Piperacillin) ซึ่งเชื้อยังสามารถถ่ายทอดคุณสมบัติการดื้อยาให้แก่เชื้ออื่น ๆ ที่อยู่ในกลุ่ม Enterobacteriaceae ด้วยกัน เช่น *E. coli* (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

Serratia marcescens

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ สามารถเคลื่อนที่ได้ ให้ก๊าซ จากการหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส ส่วนใหญ่ไม่หมักย่อยน้ำตาลแกโทส บางสายพันธุ์สร้างรงควัตถุสีแดงได้ การสร้างรงควัตถุเกิดได้ดีที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีออกซิเจนเท่านั้น ให้ผลการทดสอบทางชีวเคมีคล้ายคลึงกับ *Enterobacter* sp. แบคทีเรียในสกุลนี้บางครั้งทำให้เกิดโรคในคน จัดเป็นแบคทีเรียฉวยโอกาส ซึ่งทำให้เกิดโรคเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ โรคติดเชื้อของระบบทางเดินปัสสาวะและติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2552)

B. cereus

เป็นแบคทีเรียรูปท่อนขนาดใหญ่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ 1.0-1.2 ไมโครเมตร ความยาว 3-5 ไมโครเมตร ติดสีแกรมบวก ส่วนเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลา ไม่มีแคปซูล โคโลนี มีขนาดใหญ่ค่อนข้างแบน ผิวหยาบ ไม่สม่ำเสมอ สีเทา ดำรงชีวิตเป็นแซโพรไฟต์ สามารถเจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน และเติบโตที่อุณหภูมิช่วง 40-50 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ 25-37 องศาเซลเซียส พบอยู่ในดิน น้ำ พืชผัก (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) มีรายงานพบว่า *B. cereus* บางสายพันธุ์ สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส ซึ่งมีผลทำให้อาหารเน่าเสียระหว่างการเก็บได้ เช่น ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์แช่เย็น pH อยู่ในช่วง 4.3-9.3 ค่า A_w ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ 0.99 เชื้อสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงแตกเมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่มีเลือด (Blood Agar) รอบโคโลนีจะมีลักษณะเป็นวงใสแบบ Beta-hemolysis นอกจากนี้เชื้อ *B. cereus* สามารถใช้น้ำตาลในการ

349812

เจริญเติบโตได้ เช่น น้ำตาล Glucose, Fructose, Sucrose, Maltose, Lactose และ Glycerol แต่ไม่สามารถใช้น้ำตาลและสร้างกรดจาก Mannitol ได้ *B. cereus* ก่อโรคอาหารเป็นพิษ (Food Poisoning) พบว่ามีการระบาดเป็นครั้งคราว เนื่องจากมีการรับประทานอาหารประเภทข้าวผัดที่มีการปรุงเสร็จแล้วรอการจำหน่ายหรือรอ ที่จะรับประทานเป็นระยะเวลานาน (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังษีภานุรัตน์, 2553) *B. cereus* ทำให้เกิดอาการของโรคอาหาร เป็นพิษ 2 แบบ คือ แบบที่มีอาการอาเจียนแบบท้องร่วง (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

B. subtilis

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์และเจริญในสภาพที่มีออกซิเจน สร้างเอนโดสปอร์รูปไข่อยู่ตรงกลางหรือค่อนไปทางปลายเซลล์และเอนโดสปอร์ทำให้เซลล์บวม (ภัทรชัย กีรติสิน, 2549) *B. subtilis* เป็นจุลินทรีย์ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมจะพบได้ทั่วไปในดิน และอินทรียวัตถุที่เน่าสลายซึ่ง *B. subtilis* สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในตา ปอดบวมชนิดรุนแรง ติดเชื้อในกระแสเลือด ติดเชื้อของบาดแผลผ่าตัด และโรคท้องร่วง *B. subtilis* ทำให้ขนมปังเสีย โดยขนมปังเกิดเมือก และยังปนเปื้อนอยู่ในนมพลาสเจอร์ไรด์ได้ รวมทั้งพบในอาหารกรดต่ำที่บรรจุกระป๋องที่ผลิตในครัวเรือนที่ผ่านความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส (ภัทรชัย กีรติสิน, 2545)

S. aureus

Staphylococci เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7-1.2 ไมโครเมตร มีการจัดเรียงตัวของเซลล์เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ชื่อว่า "Staphylococcus" ซึ่งมาจาก คำว่า "Staphyle" ในภาษากรีกหมายถึงพวงองุ่น *S. aureus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 7-47 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีของเชื้อมีสีขาวเหลือง ขอบเรียบ นูน มันวาว ลักษณะคล้ายเนย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร (Bremer, Fletcher, & Osborne, 2004) การสร้างรงควัตถุจะดีขึ้นถ้าบ่มเชื้อนานมากว่า 24 ชั่วโมง โดยวางไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Acetate หรือ Glycerol Monophosphate (Willis & Turner, 1962; Jacobs & Willis, 1964) นอกจากนี้ *S. aureus* สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบ Beta-hemolysis ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood Agar เนื่องจากเชื้อสร้างสารพิษที่สามารถสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolysin) ได้หลายชนิด ได้แก่ Alpha-toxin, Beta-toxin, Gamma-toxin และ Sigma-toxin (Crossley et al., 2009) *S. aureus* เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบอาศัยอยู่ที่บริเวณผิวหนัง และระบบทางเดินหายใจส่วนต้น โดยเฉพาะบริเวณเยื่อบุภายในโพรงจมูกของมนุษย์ ในคนปกติเชื้อนี้อาจก่อโรคติดเชื้อที่ไม่รุนแรง เช่น ฝี หนอง และตุ่มพุพองต่าง ๆ แต่อย่างไรก็ตามแบคทีเรียชนิดนี้จัดเป็นเชื้อฉวยโอกาสและสามารถก่อโรครุนแรงได้ในผู้ป่วย ที่มีปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ เช่น ผู้ป่วยที่อยู่ในสภาวะที่ร่างกายอ่อนแอหรืออยู่ในระยะพักฟื้น ดังนั้น *S. aureus* จึงเป็นแบคทีเรียก่อโรคติดเชื้อ

ที่พบได้ในผู้ป่วยที่พักรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาล (Nosocomial Infection) (Tortora, Funke, & Case, 2007) ตัวอย่างโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus* เช่น ตุ่มพุพองที่ผิวหนัง (Impetigo) รูขุมขนอักเสบ (Folliculitis) ฝีที่ผิวหนัง (Skin Abscesses) แผลติดชื้อ (Wound Infection) กระดูก และไขกระดูกอักเสบ (Osteomyelitis) ข้ออักเสบเป็นหนอง (Suppurative Arthritis) ปอดบวม (Pneumonia) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Meningitis) โลหิตเป็นพิษ (Septicemia) เยื่อบุและลิ้นหัวใจอักเสบ (Endocarditis) กลุ่มอาการท็อกซิกช็อก (Toxic Shock Syndrome) กลุ่มอาการผิวหนังลอกเหมือนถูกน้ำร้อนลวก (Scalded Skin Syndrome) นอกจากนี้หากพบการปนเปื้อนของ *S. aureus* สายพันธุ์ ที่สร้าง Enterotoxin ในอาหารอาจส่งผลให้ผู้บริโภคเกิดอาการอาหารเป็นพิษได้ (Food Poisoning) (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2544; อิสยา จันทรวิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภานุรัตน์, 2553; Crossley et al., 2009)

2.7 กลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ

ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์

แบคทีเรียมีผนังเซลล์เป็นโครงสร้างที่สำคัญในการจำแนกชนิดของแบคทีเรียตามลักษณะการติดสีแกรม (Gram Stain) และการติดสีแบบ Acid Fast การย้อมแบคทีเรียด้วยวิธีแบบแรกทำให้แบ่งแบคทีเรียเป็นสองพวก คือแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียทั้งสองพวกมีโครงสร้างพื้นฐานของผนังเซลล์เป็น Peptidoglycan แบคทีเรียแกรมบวกมีส่วนนี้หนามากกว่าแกรมลบ แต่แกรมลบ มีส่วนของ Lipopolysaccharide หุ้มรอบอีกชั้นหนึ่ง ยาต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดที่มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์ Peptidoglycan ของแบคทีเรียต่างมีโครงสร้างหลักของ Polysaccharide ซึ่งเป็นส่วนสลับของ N-acetylglucosamine (GlcNac) และ N-acetyl-muramate (MurNAc) แต่มี Side chain แตกต่างออกไปบ้างสำหรับตัวอย่างของยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อการสังเคราะห์ Peptidoglycan คือ Phosphonomycin, D-cycloserine, Vancomycin, Ristocetin, Enduracidin, Acitracin, ยากลุ่ม Penicillins (เช่น Penicillin G ฯลฯ) และ Cephalosporins (เช่น Cephalethin ฯลฯ) ซึ่งยาเหล่านี้สามารถยับยั้งขั้นตอนสำคัญต่าง ๆ ที่การสังเคราะห์ Peptidoglycan ได้ดังนี้ ยับยั้งขั้นตอนการสร้าง Uridinediphospho-N-acetylmuramate ยับยั้งขั้นตอนการสร้างเสริม Pentapeptide Side Chain ยับยั้งขั้นตอนของปฏิกิริยาที่เกิดการยึดติดกับเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อให้ได้ Polysaccharide สายตรงและยับยั้งขั้นตอนการประสานของ Polymer (มาลิน จุลศิริ, 2532)

รบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์

หน้าทีของเยื่อหุ้มเซลล์โดยทั่วไปคือเป็น Osmotic Barrier ที่ช่วยป้องกันไม่ให้สารต่างๆ เข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป อีกทั้งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการขนส่งเพื่อเลือกการนำส่งสารเข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป อีกทั้งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการขนส่งเพื่อเลือกการนำส่งสารเข้าหรือออกจากเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียยังมีองค์ประกอบที่เกี่ยวข้องกับ Electron Transport และ Oxidative Phosphorylation เพื่อเป็นแหล่งให้พลังงาน โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องอยู่ในส่วนของ Oxysome ตัวอย่างของยาต้านเชื้อแบคทีเรียที่สามารถรบกวนการทำงานต่างๆ ของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียคือ ยากลุ่ม Tyrocidins (เช่น TyrocidinA ฯลฯ) กลุ่ม Gramicidins (เช่น Gramicidin S ฯลฯ) กลุ่ม Polymyxins (เช่น PolymyxinB ฯลฯ) กลุ่ม Ionophorics (เช่น Valinomycin ฯลฯ) สำหรับยากลุ่ม Tyrocidins และ Gramicidins สามารถรบกวนกระบวนการ Oxidative Phosphorylation ทำให้การสร้างพลังงานในแบคทีเรียน้อยลง นอกจากนี้ยาทั้งสองกลุ่มยังทำลาย Osmotic Barrier ของเยื่อหุ้มเซลล์ด้วย สำหรับยากลุ่ม Polymyxins สามารถจับกับ Ionized Phosphate group ใน Phospholipid ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ Lipoprotein ถูกทำลาย ส่วนยากลุ่ม Ionophorics ช่วยเพิ่มการผ่านของ Inorganic Ions ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ดังตัวอย่างเช่น Valiniomycin สามารถจับกับ K^+ ทำให้การผ่านของไอออนชนิดนี้เข้าเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้เกิดการสะสมและมีผลกระทบต่อการทำงานภายในเซลล์ได้ (มาลิน จุลศิริ, 2532)

ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค

กรดนิวคลีอิคสำคัญของสิ่งมีชีวิตมี 2 ชนิดคือ Deoxyribonucleic Acid (DNA) และ Ribonucleic Acid (RNA) DNA และ RNA เกิดจาก Polymerization ของ Nucleotide ซึ่ง Nucleotide ประกอบด้วย Phosphate จับกับน้ำตาลสลับกันเป็นแกนและจับกับ Nitrogeneous Base ชนิดหนึ่งชนิดใด Base สำคัญที่พบใน DNA คือ Adenine (A), Guanine (G), Cytosine (C)และ Thymine (T) ใน RNA จะมี Uracil (U) แทน T ทั้ง A และ G เป็น Purine Base ส่วน C, T และ U เป็น Pyrimidine base น้ำตาลที่พบใน DNA เป็น Deoxyribose ส่วนทีพบใน RNA เป็น Ribose ยาต้านจุลชีพที่รบกวนการสร้างกรดนิวคลีอิค มีหลายชนิดสำหรับตัวอย่างยาต้านเชื้อแบคทีเรีย คือยาปฏิชีวนะกลุ่ม Sulfonamides (เช่น Sulfadiazine ฯลฯ) กลุ่ม Diaminopyrimidines (เช่น Trimethoprim ฯลฯ) กลุ่ม 4-quinolones (เชน Nalidixic Acid ฯลฯ), Hadacidin, Azaserine, Mycophenolic Acid, กลุ่ม Actinomycins (เช่น Actinomycin D ฯลฯ) สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพต่าง ๆ เหล่านี้แบ่งตามวิถีการสร้างกรดนิวคลีอิค ดังนี้ ยับยั้งขั้นตอนการสังเคราะห์ Nucleotide ยับยั้งขั้นตอนการสังเคราะห์ DNA และยับยั้งขั้นตอนการสังเคราะห์ RNA (มาลิน จุลศิริ, 2532)

ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (Protein Synthesis) ได้จากการแปรรหัสบน mRNA หรือที่เรียกว่าขั้นตอน Translation กระบวนการนี้เกิดขึ้นโดยการทำงานของ Ribosome องค์ประกอบของเซลล์นี้ในแบคทีเรียเป็นชนิด 70s (ประกอบจาก 2 หน่วยย่อย คือชนิด 30s และ 50s) เช่นเดียวกับที่พบใน Mitochondria ของเซลล์ชั้นสูง ดังนั้น ยาต้านจุลชีพที่มีกลไกการออกฤทธิ์แบบนี้ ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ใช้ต้านเชื้อแบคทีเรีย เพราะกลไกการออกฤทธิ์จะเลือกสรร สำหรับชนิดที่เป็นยาต้านเชื้อรามักใช้ในงานวิจัยกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนหลายขั้นตอนที่ยาต้านจุลชีพออกฤทธิ์สามารถกลับสู่สภาพเดิม (Reversible) เมื่อความเข้มข้นของยาลดลงหรือ หมดฤทธิ์ยาต้านจุลชีพที่มีกลไกการออกฤทธิ์แบบนี้ จึงมักเป็นชนิด Microbistatic แต่ชนิดที่เป็น Microbicidal ก็มีเช่นกัน โดยพวกหลังนี้จะมีผลทำให้การสร้างโปรตีนผิดปรกติที่ทำให้เซลล์ตายตัวอย่างยาต้านเชื้อแบคทีเรีย คือ ยากลุ่ม Tetracyclines (เช่น Tetracycline ฯลฯ) กลุ่ม Aminoglycosides (เช่น Streptomycin ฯลฯ) กลุ่ม Phenicols (เช่น Choramphenicol ฯลฯ) กลุ่ม Lincomycins (เช่น Lincomycin ฯลฯ), Puromycin, กลุ่ม Macrolides (เช่น Erythromycin ฯลฯ), Fusidic Acid โดยกลไกการออกฤทธิ์ของยาต่าง ๆ มีดังนี้ ยับยั้งขั้นตอนการเริ่มต้นสร้างโปรตีน และยับยั้งขั้นตอนการสร้าง Peptide Bond (มาลิน จุลศิริ, 2532)

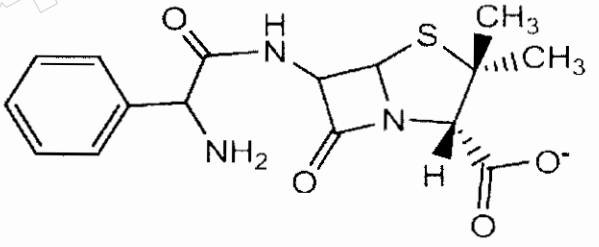
รบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึม

ยาต้านจุลชีพที่มีวิถีการออกฤทธิ์แบบนี้ ส่วนใหญ่มีลักษณะโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึม จึงแย่งจับกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้ และการยับยั้งลักษณะนี้พบว่าสามารถฟื้นฟูกลับสภาพเดิมเมื่อปริมาณของยาลดลงหรือหมดฤทธิ์ยา หรือเมื่อมี Substrate ที่เอนไซม์ไปแย่งกันจับนั้นเพิ่มกว่าปรกติ ยาต้านจุลชีพชนิดที่รบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึม โดยทั่วไปจะเป็น Microbistatic แต่ชนิดที่เป็น Microbicidal ก็มีเช่นกัน สำหรับตัวอย่างยาต้านจุลชีพที่มีผู้ศึกษาไว้ค่อนข้างมากคือ ยาต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Sulfonamides (เช่น Sulfadiazine ฯลฯ) กลุ่ม Diaminopyrimidines (เช่น Trimethoprim ฯลฯ) และ p-aminosalicylic acid (PAS) ซึ่งต่างรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมสำคัญที่เกิดขึ้น คือ การสังเคราะห์ Tetrahydrofolate (THFA) ซึ่งเป็นสารจำเป็นของเซลล์สิ่งมีชีวิตเพื่อใช้เป็น Cofactor ในการสังเคราะห์กรดอะมิโน Purines และ Pyrimidines บางชนิด ในเซลล์เชื้อรา และสัตว์เลือดอุ่น รวมทั้งแบคทีเรียบางชนิด จะได้สารดังกล่าวจากการสลาย Folic acid ที่อยู่ในอาหาร ในแบคทีเรีย ทั่ว ๆ ไป กระบวนการสังเคราะห์ THFA เริ่มต้นจากการรวมตัวของ p-aminobenzoic acid (PABA) กับ Pteridine Pyrophosphate ซึ่งจะได้ Dihydropteroate (DHPA) ยากลุ่ม Sulfonamide มีสูตรโครงสร้างคล้าย PABA มาก จึงสามารถแย่งจับกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา ทำให้การผลิต DHPA หยุดชะงัก และผล

คือไม่สามารถสร้าง Dihydrofolate (DHFA) รวมทั้ง THFA ต่อไป สำหรับช่วงจาก DHFA ไปเป็น TIIFA อาศัยเอนไซม์ DHFA Reductase พบว่า Trimethoprim มีโครงสร้างคล้าย Folate สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ และยาดังกล่าวมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ DHFA Reductase ของแบคทีเรียอย่างมาก จึงเป็นยาต้านแบคทีเรียที่มีฤทธิ์เลือกสรรค่อนข้างสูง ส่วน PAS มีสูตรโครงสร้างคล้าย PABA แต่มีความจำเพาะในการแย่งจับกับเอนไซม์ที่จะ Metabolize PABA ในเชื้อวัณโรค ยานี้จึงมีฤทธิ์ต้านเชื้อดังกล่าวมากกว่าแบคทีเรียทั่ว ๆ ไป (มาลิน จุลศิริ, 2532)

ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการศึกษา มีดังนี้

แอมพิซิลลิน เป็นยาปฏิชีวนะที่สังเคราะห์ได้โดยใช้ Penicillin G โดยแอมพิซิลลินสกัดได้จากเชื้อรา *Penicillium notatum* และ *Penicillium chrysogenum* ซึ่ง Ampicillin อยู่ในกลุ่ม aminopenicillins มีขอบเขตของการออกฤทธิ์กว้างกว่ายาชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกัน เพราะยามีความสามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยออกฤทธิ์ขัดขวางการสร้างผนังเซลล์โดยไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ Transpeptidase ซึ่งทำหน้าที่ในการเชื่อมโยงสาย Peptidoglycans ในกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่กำลังแบ่งเซลล์ ทำให้การสร้างผนังเซลล์เกิดขึ้นไม่ได้ เซลล์อาจจะแตกสลายไปในทันที หรืออาจจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปแล้วจึงมีการแตกสลายของเซลล์ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของยาชนิดของแบคทีเรีย ซึ่งยาในกลุ่มเพนนิซิลลิน ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่มี Beta-lactam ring เป็นส่วนประกอบอยู่ในโครงสร้าง (กำพล ศรีวัฒนกุล, 2545)



ภาพที่ 2-4 โครงสร้างของยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน (ที่มา: Florindo et al., 2013)

การจำแนกกลุ่มของเพนนิซิลลิน แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ตามขอบเขตของการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดังนี้ (พยงค์ เทพอักษร และโพยม วงศ์ภูวรักษ์, 2544)

1. Naturals penicillins ได้แก่ Penicillin G และ Penicillin V มีขอบเขตการออกฤทธิ์แคบ โดยมีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Streptococcus* spp. และ *Neisseria* spp. เป็นต้น

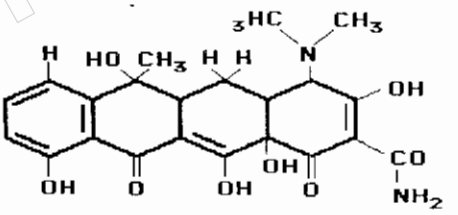
2. Penicillinase-resistant เพนนิซิลลินเป็นกลุ่มยาที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์แคบ โดยมีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Methicillin, Nafcillin, Oxacillin Flucloxacillin, Dicloxacillin เป็นต้น

3. Aminopenicillins เป็นกลุ่มยาที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง โดยมีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ Ampicillin, Amoxicillin, Bacampicillin, Cyclacillin เป็นต้น

4. Antipseudomonaspenicillis เป็นกลุ่มยาที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง ได้แก่ Carbenicillin,Ticarcillin เป็นต้น

5. Amidinopenicillins เป็นกลุ่มยาที่สามารถออกฤทธิ์ต่อ *E. coli*, *Shigella* spp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp.ได้แก่ Mecillinam, Pivmecillinam เป็นต้น

เตตราซัยคลิน มีสูตรโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของ hydronaphthacene ยาชนิดแรกในกลุ่มคือ Chlortetracycline แยกได้จากเชื้อ *Streptomyces aureofaciens* ต่อมาได้มีการดัดแปลงสูตรโครงสร้างและพัฒนาการผลิตเป็นกึ่งสังเคราะห์ ทำให้ได้ยากลุ่ม เตตราซัยคลินชนิดอื่น ๆ อีกหลายชนิด เช่น Demeclocycline, Methacycline, Doxycycline และ Minocycline Tetracycline ยาในกลุ่มเตตราซัยคลิน เป็นยาต้านจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์กว้าง (Broad Spectrum) ครอบคลุมเชื้อแอโรบิค (Aerobic) แบคทีเรียทั้งแกรมบวก แกรม โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ขัดขวางการสร้างโปรตีนของเชื้อ โดยทำให้ aminoacyltRNA ไม่สามารถเข้ามาจับกับไรโบโซมได้ ทำให้ mRNA ขาด (บุญเจือ ธรณินทร์ และคณะ, 2532)



ภาพที่ 2-5 โครงสร้างของยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน

(ที่มา: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2536)

2.8 กลไกการดื้อยาและแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ

แบคทีเรียบางชนิด มีคุณสมบัติในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะบางชนิดอยู่แล้วตามธรรมชาติ ซึ่งการดื้อยาโดยธรรมชาติ (Inherent Resistance) ของเชื้อแกรมลบมีส่วนเกี่ยวข้องกับการขัดขวางการเข้าสู่เซลล์ (Impermeability ของ Outer Layers) ของเยื่อหุ้มเซลล์ต่อยาบางชนิดทำให้ยาเข้าสู่

เซลล์ได้น้อยกว่าความเข้มข้นที่จะทำลายเชื้อได้ (Inhibitory Concentration) (มาลิน จุลศิริ, 2532)

กลไกการดื้อยาของแบคทีเรีย

การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสมส่งผลให้เชื้อได้พัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง จากเชื้อที่เคยไวต่อยาปฏิชีวนะต่อมาเกิดการดื้อยาในภายหลัง แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงทำให้มียีนส่วนที่กำหนดการดื้อยาเกิดขึ้น สำหรับในแบคทีเรียยีนดื้อยาอาจปรากฏอยู่บนโครโมโซม หรือพลาสมิด ส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงหรือเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์หรือโปรตีนบางชนิด กลไกการดื้อยาที่พบได้บ่อย แบ่งออกเป็น 4 ประเภท (มาลิน จุลศิริ, 2532; Crossley et al., 2009)

1. การทำลายฤทธิ์ของยาด้วยเอนไซม์ แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์มายับยั้งหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยา มีผลทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เนื่องจากยาไม่สามารถเข้าจับกับบริเวณยับยั้งของเชื้อได้ พบว่าแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิดที่ดื้อต่อยากลุ่มนี้ เช่น *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin หรือ Cephalosporins เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ Beta-lactamase ที่สามารถย่อยสลายวงแหวน Beta-lactam ของยาบางชนิดทั้ง 2 กลุ่ม ซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์คือ Penicilloic Acid และ Cephalosporin Acid ที่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ ส่วนเชื้อที่ดื้อยา Chloramphenicol อาจเป็นเพราะมีการสร้างเอนไซม์ Chloramphenicol Acetyltransferaที่เกิดปฏิกิริยา Acetylation ที่หมู่ Hydroxyl ใน Side Chain ของยา Chloramphenicol ทำให้ได้ 1,3-diacetoxychloramphenical ซึ่งไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อส่วนเชื้อที่ดื้อยากลุ่ม Aminoglycosides พบว่ามีเชื้อหลายชนิดที่สามารถสร้างเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา Acetylation Adenylation หรือ Phosphorylation ที่หมู่ Amino หรือ Hydroxyl ของยาบางชนิดในกลุ่มดังกล่าวทำให้ยาเหล่านี้ไม่แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อ (พรรณพิศ สุวรรณกูล และธีรพงษ์ ตัณฑวิเชียร, 2547)

2. การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการออกฤทธิ์ยา กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะประเภทนี้เกิดจากแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ มีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของยีนเพื่อให้สร้างโปรตีนที่ไปจับกับเป้าหมายได้ลดลง แบคทีเรียจึงไม่ถูกยับยั้งด้วยยาปฏิชีวนะนั้นๆ แต่ความแตกต่างของยาปฏิชีวนะในแต่ละกลุ่มหรือในแต่ละชนิดก่อให้เกิดการดื้อยาแตกต่างกัน กลไกการดื้อยาชนิดนี้มักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงที่ผนังเซลล์ (พรรณพิศ สุวรรณกูล และคณะ, 2549) เช่น การดื้อต่อยากลุ่ม Beta-lactam โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ PBP ที่ก่อให้เกิดการดื้อยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin, Cephalosporins, Monobactam และ Carbapenems ของเชื้อ *S. aureus* โดยเรียกสายพันธุ์ดังกล่าวว่า MRSA ลักษณะการดื้อยานี้เป็นผลมาจากการ ได้รับยีน *mec*A โดยทำหน้าที่สร้าง PBP ชนิดพิเศษ คือ PBP2a ซึ่งจับยาในกลุ่ม Beta-lactam ได้ไม่ดีจึงไม่ถูกยับยั้ง (ภัทรชัย กีรติสิน, 2549) และการสร้างผนังเซลล์โดยไม่ใช้ D-Ala-D-Ala-containing

pentapeptide ที่เป็นเป้าหมายของ Glycoside ของเชื้อ Enterococci ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Glycopeptides รวมทั้งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนบนยีนที่สร้าง DNA Gylases และ Topoisomerases เชื้อนี้จึงดื้อต่อยากลุ่ม Quinolones (Derlot & Courvalin, 1991)

3. ลดการผ่านของยาเข้าเซลล์ พบเชื้อดื้อยาหลายชนิดแสดงการลดการผ่านของยาเข้าเซลล์โดยอาศัยกลไกต่าง ๆ เช่น ราที่ดื้อต่อยา Flucytosine พบการขาดเอนไซม์ที่ทำหน้าที่นำยาเข้าเซลล์เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยา Cycloserine พบมีการสูญเสียของ Alanine Transport System ที่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านยาเข้าเซลล์ ส่วนเชื้อบางชนิดที่ดื้อต่อยา Tetracycline พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของ Porin ซึ่งเป็นโปนตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ โดยทั่วไปขนาดโมเลกุลของยาที่มีขนาดใหญ่และเป็นประเภทที่ไม่ชอบน้ำจะทำให้ยานั้นๆผ่านเข้ามาได้น้อย (มาลิน จุลศิริ, 2532)

4. การเพิ่มปริมาณการผลิตสารและเอนไซม์เพื่อแข่งขันกับปริมาณยา พบว่ายาปฏิชีวนะบางชนิดมีสูตรโครงสร้างคล้ายสาร ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม ทำให้เกิดการแย่งจับเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการ หากเชื้อสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตสารดังกล่าว เพื่อแข่งกับปริมาณยาสามารถแย่งจับเอนไซม์กลับคืนมา เพื่อดำเนินการเมแทบอลิซึมต่อไปได้ เช่น การเพิ่มระดับของ *p*-Aminobenzoic acid ส่งผลให้เชื้อสามารถดื้อยาในกลุ่ม Sulfonamides ขณะเดียวกันหากมีการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ชนิดที่ถูกขัดขวางการทำงานด้วยยาปฏิชีวนะ เชื้อจึงดื้อต่อยาที่มีคุณสมบัติดังกล่าว ถึงแม้ว่าเอนไซม์บางส่วนถูกขัดขวางแต่ยังมีเอนไซม์ส่วนที่เหลือยังคงทำหน้าที่ต่อไปได้ เช่น การเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์ Xanthosine Monophosphate Aminase ทำให้เชื้อดื้อต่อ Psicofuranine ได้หรือถ้ามีการเพิ่มเอนไซม์ Dihydropteroate Synthetase ย่อมมีผลทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Sulfonamides และเพิ่ม DihydrofolateReductase มีผลทำให้เชื้อดื้อ ต่อยา Trimethoprim ได้ (พรรณพิศ สุวรรณกูล และคณะ, 2549)

แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ

1. MRSA (ศศิธร ลิขิตนุกูล และคณะ, 2543) พบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายขนาน โดยเฉพาะยากลุม Penicillinase-Resistant Penicillin เช่น Methicillin, Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin และ Nafcillin รวมทั้งดื้อต่อยากลุ่ม Macrolide และ Chloramphenical ด้วย (ศศิธร ลิขิตนุกูล และคณะ, 2543) กลไกการดื้อยาของเชื้อดังกล่าวเกิดจากผนังเซลล์สร้าง PBP ผิดปกติเรียกว่า PBP2a โดยมียีน *mecA* เป็นยีนควบคุมในการสร้างซึ่ง PBP ทำหน้าที่เกี่ยวกับปฏิกิริยา Transpeptidation และ Carboxypeptidation โดยมีความสำคัญต่อการเกิด Cross Link ของ Peptidoglycan Back Bone ในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ดังนั้น PBP2a จึงทำหน้าที่แทน PBP ปรกติ แต่ PBP2a จับกับ Beta-lactam ได้ไม่ดียาจึงออกฤทธิ์ได้ไม่ดี แบคทีเรียจึงไม่ถูกยับยั้งด้วยยาในกลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin

2. *P. aeruginosa* สายพันธุ์ดื้อยา (มัลลิกา ไตรเดช, 2555) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่มักพบรายงานเกี่ยวกับการดื้อต่อยาที่ใช้รักษา ซึ่งมีผลต่ออัตราการเจ็บป่วยและอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งยังส่งผลต่อประสิทธิภาพในการรักษาทำให้ผู้ป่วยต้องพักรักษาตัวในโรงพยาบาลนานขึ้น และก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ โดยพบได้ทั้งการดื้อต่อยาที่เกิดขึ้นแต่กำเนิด (Inherent หรือ Natural Resistance) หรือการดื้อยาที่เกิดจากการได้รับถ่ายทอด ในภายหลัง (Acquired Resistance) นอกจากนี้ยังพบการดื้อยาในลักษณะที่ดื้อต่อยาหลาย ๆ ชนิดร่วมกัน (Multi-drug Resistance) ซึ่งกลไกการดื้อต่อยาแต่ละกลุ่มของเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ได้แก่ การดื้อต่อยาในกลุ่มเบต้าแลกแทม (β-lactams ยาในกลุ่มเบต้าแลกแทมที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อ *P. aeruginosa* ในปัจจุบันมีทั้งกลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillins) กลุ่มเซฟาโลสปอริน (Cephalosporins) กลุ่มคาร์บาพีเนม (Carbapenems) และกลุ่มโมโนแบคแทม (Monobactams) ซึ่งการดื้อต่อยาในกลุ่มดังกล่าวของเชื้อแบคทีเรีย *P.aeruginosa* นี้พบได้โดยหลายกลไก แต่ที่พบได้มากที่สุดได้แก่ การสร้างเอนไซม์ β-lactamase การขับยาออกโดย Efflux Pump และการลดการนำเข้ายาอันเนื่องมาจากการสูญเสียหรือลดการสร้างโปรตีนที่เป็น Outer Membrane Porin การดื้อต่อยาในกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (Fluoroquinolones) การดื้อต่อยาในกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน เช่น Ciprofloxacin และ Levofloxacin มักเกิดจากการ Mutation ของเอนไซม์ DNA gyrase และ Topoisomerase IV ซึ่งเป็นเป้าหมายของยากลุ่มนี้ร่วมกับกลไกการขับยาออกโดย Efflux Pump การดื้อต่อยาในกลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์ (Aminoglycosides) ยาในกลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์หลายชนิดนิยมใช้ในการรักษาการติดเชื้อ *P. aeruginosa* เช่น Tobramycin, Gentamicin และ Amikacin โดยเฉพาะ Amikacin และ Tobramycin ที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อที่ปอดในผู้ป่วย Cystic Fibrosis สำหรับการดื้อยาที่พบนั้น มักเกิดจากการถ่ายทอดยีนที่สร้าง Aminoglycoside-modifying enzymes และ rRNAmethylase รวมทั้งเป็นผลจาก Efflux Pump การดื้อต่อยาในกลุ่มโพลีมิกซิน (Polymyxins) ยาในกลุ่มโพลีมิกซินมีการนำมาใช้ในการรักษาการติดเชื้อ Multi-drug Resistance *P. aeruginosa* และมีการรายงานการดื้อต่อยากลุ่มนี้แล้ว แต่กลไกยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อาจเกี่ยวข้องกับการแทนที่ Lipid A ของ Lipopolysaccharides (LPS) ด้วย Aminoarabinose

3. *A. baumannii* สายพันธุ์ดื้อยา (ชาญกิจ พุฒิเลอพงศ์ และคณะ, 2554) สามารถดื้อต่อยาต้านจุลชีพได้อย่างรวดเร็วด้วยกลไกหลากหลาย ได้แก่ การสร้างเอนไซม์ Topoisomerase การสร้างเอนไซม์ Beta-lactamases การลดการนำยาเข้าเซลล์ โดยลดจำนวน Porin การสร้าง Aminoglycoside-modifying Enzymes และการสร้าง Efflux Pump เพื่อขับยาออกจากเซลล์ ซึ่งหากเชื้อมีการดื้อยาหลายกลไกพร้อมกันจะทำให้พัฒนากลายเป็นสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพทุกชนิด (Pan-resistant Strains) การดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่ม Aminoglycosides กลไกการดื้อยากลุ่มนี้เกิดได้

หลายกลไก คือ การสร้าง Aminoglycoside-modifying Enzymes การสร้าง Efflux Pump การลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ และการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งบน Ribosome ที่จับกับยา การดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่ม Quinolones การดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่มนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ DNA gyrase และ Topoisomerase IV ซึ่งจะลดความสามารถของยาในการจับกับเอนไซม์ดังกล่าว และการสร้าง Efflux Pump เพื่อขับยาออกจากเซลล์

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University