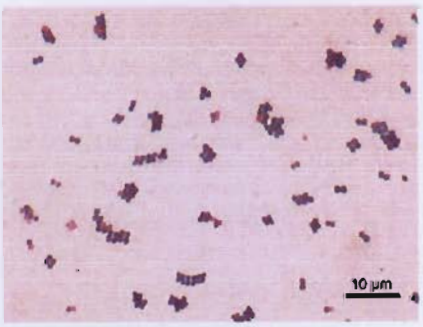
บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

Staphylococcus aureus

Staphylococci เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7-1.2 ไมโครเมตร มีลักษณะการจัดเรียงตัวของเซลล์เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น จึงได้ชื่อว่า "Staphylococcus" ซึ่งมาจากคำว่า "*Staphyle*" ในภาษากรีก หมายถึง "พวงองุ่น" (ภาพที่ 2-1)



ภาพที่ 2-1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *S. aureus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100x (Modric, 2008)

Staphylococci เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative Anaerobe) แต่เจริญได้อย่างรวดเร็วเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ แต่สร้างเอ็นไซม์ Catalase ได้ ในการจัดหมวดหมู่ของแบคทีเรีย Staphylococci ถูกจัดอยู่ในอันดับ (Order) Bacillales วงศ์ (Family) Staphylococcaceae สกุล (Genus) Staphylococcus (Crossley et al., 2009) ซึ่งปัจจุบันมีสมาชิกมากกว่า 40 ชนิด (Species) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า Staphylococci เป็นแบคทีเรียที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี โดยเจริญได้ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-เบส (Potential of Hydrogen Ion, pH) อยู่ระหว่าง 4.8-9.4 ทนอุณหภูมิสูง 60 องศาเซลเซียส ได้นาน 30 นาที ทนความแห้งและสามารถมีชีวิตรอดได้ในหนองหรือเสมหะแห้งเป็นสัปดาห์ อีกทั้งเชื้อสามารถทนต่อสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงถึงร้อยละ 7.5-10 (Crossley et al., 2009)

Staphylococci ชนิดแรกที่ถูกรายงานว่าเป็นแบคทีเรียก่อโรค คือ *S. aureus* โดยในปี ค.ศ. 1884 Rosenbach ได้จัดจำแนกชนิดของเชื้อโดยใช้สีของโคโลนีและพบว่า Staphylococci ชนิดที่ก่อโรคส่วนใหญ่จะมีโคโลนีสีเหลืองทอง (Golden Pigment) เรียกว่า *S. aureus* ซึ่งสร้างเอ็นไซม์ Coagulase ได้ส่วน Staphylococci ที่มีความสามารถในการก่อโรคต่ำ มักจะมีโคโลนีสีขาว เรียกว่า *S. albus* ซึ่งในปัจจุบันคือ *S. epidermidis* และ Staphylococci ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่สร้างเอ็นไซม์ Coagulase (Coagulase-negative Staphylococci) (Crossley et al., 2009)

S. aureus เจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 7-47 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีของเชื้อมีสีขาว-เหลือง ขอบเรียบ นูน มันวาว ลักษณะคล้ายเนย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร (Bremer, Fletcher, & Osborne, 2004) การสร้างรงควัตถุจะดีขึ้นถ้าบ่มเชื้อนานมากกว่า 24 ชั่วโมง โดยวางไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Acetate หรือ Glycerol Monophosphate (Willis & Turner, 1962; Jacobs & Willis, 1964) นอกจากนี้ *S. aureus* สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบ Beta-hemolysis บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood Agar เนื่องจากเชื้อสร้างสารพิษที่สลายเม็ดเลือดแดง (Hemolysin) ได้หลายชนิด ได้แก่ Alpha-toxin, Beta-toxin, Gamma-toxin และ Sigma-toxin (Crossley et al., 2009)

S. aureus เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบอาศัยอยู่ที่บริเวณผิวหนังและระบบทางเดินหายใจส่วนต้นโดยเฉพาะบริเวณเยื่อบุภายในโพรงจมูกของมนุษย์ ในคนปกติเชื้อนี้อาจก่อโรคติดเชื้อที่ไม่รุนแรง เช่น ฝี หนอง และตุ่มพุพองต่าง ๆ แต่อย่างไรก็ตามแบคทีเรียชนิดนี้จัดเป็นเชื้อฉวยโอกาสและสามารถก่อโรครุนแรงได้ในผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ เช่น ผู้ป่วยที่อยู่ในสภาวะที่ร่างกายอ่อนแอหรืออยู่ในระยะพักฟื้น ดังนั้น *S. aureus* จึงเป็นแบคทีเรียก่อโรคติดเชื้อที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยที่พักรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาล (Nosocomial Infection) (Tortora, Funke, & Case, 2007) ตัวอย่างโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus* เช่น ตุ่มพุพองที่ผิวหนัง (Impetigo) รูขุมขนอักเสบ (Folliculitis) ฝีที่ผิวหนัง (Skin Abscesses) แผลติดเชื้อ (Wound Infections) กระดูกและไขกระดูกอักเสบ (Osteomyclitis) ข้ออักเสบเป็นหนอง (Suppurative Arthritis) ปอดบวม (Pneumonia) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Meningitis) โลหิตเป็นพิษ (Septicemia) เยื่อบุและลิ้นหัวใจอักเสบ (Endocarditis) กลุ่มอาการท็อกซิก-ช็อก (Toxic Shock Syndrome) กลุ่มอาการผิวหนังลอกเหมือนถูกน้ำร้อนลวก (Scalded Skin Syndrome) นอกจากนี้หากพบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่สร้าง Enterotoxin ในอาหารอาจส่งผลให้ผู้บริโภคเกิดอาการอาหารเป็นพิษได้ (Food Poisoning) (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2543; อิสยา จันทรวิทยานุชิต และวัชรินทร์ รังสีภานุรัตน์, 2553; Crossley et al., 2009)

2.2 การแบ่งกลุ่มยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) เป็นสารที่เกิดจากกระบวนการ Methabolism ของเชื้อจุลินทรีย์ และมีผลออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อในลักษณะที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณยาที่ใช้ ในการรักษาแต่ไม่เกิดพิษต่อเซลล์ของมนุษย์ เช่น ยาบางชนิดออกฤทธิ์เฉพาะยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Bacteriostatic) และบางชนิดออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (Bactericidal) ซึ่งยาปฏิชีวนะที่ได้มาจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ออกฤทธิ์แคบและไม่ทนต่อสภาวะความเป็นกรดภายในร่างกาย ดังนั้นจึงพัฒนาโครงสร้างยาให้มีประสิทธิภาพต่อการรักษาดีขึ้นโดยเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีด้วยวิธีการกึ่งสังเคราะห์ ในวงการแพทย์นำยาปฏิชีวนะมาใช้เพื่อรักษาอาการเจ็บป่วยจากการติดเชื้อจุลินทรีย์การรักษาจะได้ผลหรือไม่ขึ้นอยู่กับชนิดของโรคและกลุ่มยาที่ใช้ในการรักษา เนื่องจากยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดมีฤทธิ์ในการรักษาที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับกลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ โดยทั่วไปการแบ่งกลุ่มยาปฏิชีวนะตามกลไกการออกฤทธิ์ของยาสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

1. ยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์

ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแตกต่างจากผนังเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mammal) เนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วย Peptidoglycans ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของโปรตีนและน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมต่อกันเป็น Cross Link โดยใช้เอนไซม์ Transpeptidase ดังนั้นการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียจึงเป็นเป้าหมายหนึ่งในการคิดค้นยาและปรับปรุงยาเพื่อนำมาใช้รักษาอาการเจ็บป่วยที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อจุลินทรีย์ (วีรชัย พุทธวงศ์ และวยา เส็งประชา, 2550)

ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactams และกลุ่มยับยั้งชีวสังเคราะห์ของ Peptidoglycan

ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactams เป็นกลุ่มแรกที่นำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* การออกฤทธิ์ของยามีผลไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ โครงสร้างหลักที่จำเป็นต่อการออกฤทธิ์ของยาประกอบด้วยวงแหวน Beta-lactam เชื่อมติดกับวงแหวนคาร์บอนขนาด 5 อะตอมหรือ 6 อะตอม (Fused Bicyclic Heterocyclic) ยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ที่มีความสำคัญต่อการนำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อจาก *S. aureus* ประกอบด้วยยากลุ่ม Penicillin และ Cephalosporin

Penicillin เป็นยาปฏิชีวนะตัวแรกในกลุ่ม Beta-lactams ที่นำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อจาก *S. aureus* ดังนั้น จากการค้นพบฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อของ Penicillin แล้ว จึงศึกษาอนุพันธ์กึ่งสังเคราะห์ตัวใหม่ ๆ โดยเปลี่ยนแปลงหมู่แทนที่ตำแหน่งต่าง ๆ ซึ่งอนุพันธ์แต่ละตัวจะมีคุณสมบัติและฤทธิ์ในการรักษาแตกต่างกัน เช่น Penicillin G มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ลดลงเมื่ออยู่ในรูปรับประทาน เนื่องจากถูกทำลายได้ง่ายในสภาวะที่เป็นกรด (pH 2) ดังนั้นจึงดัดแปลงโครงสร้างของ Penicillin G ให้มีประสิทธิภาพทนต่อการทำลายด้วยกรดในกระเพาะอาหารมากขึ้น โดยแทนที่หมู่เบนซิลด้วยหมู่ฟีนอกซี ได้อนุพันธ์ตัวใหม่ คือ Penicillin V พบว่า มีความสามารถทนต่อการทำลายโดยกรดในกระเพาะอาหารและดูดซึมได้ดีกว่า Penicillin G ถึง 3 เท่า (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551) แต่การใช้ Penicillin อย่างไม่เหมาะสมส่งผลให้เชื้อเกิดการดื้อยา เนื่องจากเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ Beta-lactamase เข้าทำลายวงแหวน Beta-lactam ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของยา Penicillin ยาจึงไม่สามารถทำงานได้ (นิติ ศิริวงศ์ และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์, 2552) ดังนั้น จึงพัฒนาโครงสร้างยาในกลุ่ม Penicillin ให้ทนต่อการถูกทำลายโดยเอนไซม์ Beta-lactamase ด้วยการแทนที่หมู่เบนซิลใน Penicillin G ด้วยวง Phenyl-isoxazole ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin และ Flucloxacillin เป็นต้น เหมาะกับการใช้รักษาโรคติดเชื้อที่บริเวณผิวหนัง กระดูก ข้อต่อ และการติดเชื้อในกระแสเลือดหรือใช้กับเชื้อที่ดื้อต่อยาในกลุ่ม Penicillin ตัวอื่น ๆ รวมทั้งใช้กับเชื้อสายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ Beta-lactamase จากนั้นจึงเริ่มพัฒนายาให้ทนต่อการถูกทำลายโดยเอนไซม์ Beta-lactamase มากยิ่งขึ้น โดยการแทนที่หมู่เบนซิลด้วย 2, 6-dimethoxyphenyl มีชื่อว่า Methicillin ยานี้เหมาะกับการใช้รักษาผู้ติดเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา Penicillin ตัวอื่น ๆ ต่อมาในปี ค.ศ. 1961 เริ่มพบการดื้อยา Methicillin เนื่องจากการใช้ยา Methicillin ไม่เหมาะสมกับการรักษาส่งผลให้ยา Methicillin ไปกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ Beta-lactamase ทำให้ดื้อต่อยาในกลุ่ม Penicillin ที่รุนแรงมากขึ้น (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

Cephalosporin เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactams ที่สกัดได้จากเชื้อรา *Cephalosporium acremonium* (ปัจจุบันชื่อ *Acremonium chryseoqenum*) โดยแยกสารประกอบที่ออกฤทธิ์ต่อการยับยั้งจุลชีพได้ 3 ชนิด คือ Cephalosporin P มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก Cephalosporin N มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบและ Cephalosporin C ไม่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพแต่เมื่อทำปฏิกิริยา Hydrolysis ที่สายโซ่ตำแหน่งที่ 7 ได้สารตั้งต้นเป็น 7-aminocephalosporanic Acid (7-ACA) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านจุลชีพมีความทนต่อกรดและเอนไซม์ Beta-lactamase ดังนั้นจึงใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุพันธุ์ตัวอื่น ๆ ของยาในกลุ่ม Cephalosporin (ธวัชชัย จริยะเศรษฐพงศ์,

ธนะพันธ์ พิบูลย์บรรณกิจ, ภิรุญ มุดสิกพันธุ์, ชุษณา สวนกระต่าย และอนุชา อภิสารธนรักษ์, 2548) ยากลุ่ม Cephalosporin มีสูตรโครงสร้างคล้ายยากลุ่ม Penicillin แต่ยากลุ่ม Cephalosporin มีโครงสร้างหลักเป็นวง Cephem ประกอบด้วยวงแหวน Beta-lactam เชื่อมติดกับวงแหวน Dihydrothiazine ลักษณะโครงสร้างดังกล่าวจัดได้ว่าเป็นโครงสร้างหลักที่จำเป็นต่อการออกฤทธิ์ ดังนั้น นักวิจัยจึงพัฒนายาให้มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียได้สูงขึ้นและออกฤทธิ์ได้ครอบคลุมเชื้อทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้างในตำแหน่งที่สำคัญ 2 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งที่ 3 (R_2) และ 7 (R_1) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้างในตำแหน่งที่ 3 มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้าน Metabolic และเภสัชจลนศาสตร์ส่วนตำแหน่งที่ 7 ช่วยเพิ่มความคงตัวต่อฤทธิ์การทำลายของเอนไซม์ Beta-lactamase และเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ครอบคลุมเชื้อ จากการพัฒนาโครงสร้างยาสามารถแบ่งยาในกลุ่ม Cephalosporins ออกเป็น 4 รุ่น การแบ่งรุ่นของยาดังกล่าวพิจารณาจากช่วงเวลาที่ยาถูกค้นพบและการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ นอกจากนั้นยังพบการพัฒนายาในรูปฉีดเป็นรูปกิน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งที่ 4 โดยการเติมหมู่ Ester (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

ยากลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 1 เป็นรุ่นแรกที่ผลิตขึ้นมาโดยตำแหน่งที่ 7 มี Side Chain อย่างง่าย ได้แก่ CH_2 ดังนั้น ยาในรุ่นนี้ตรงบริเวณสูตรโครงสร้างในตำแหน่งที่ 3 มีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ดื้อยา ได้แก่ Staphylococci และ Streptococci แต่ไม่มีฤทธิ์ต่อ Enterococci นอกจากนั้นยาในรุ่นนี้มีฤทธิ์ปานกลางต่อเชื้อแกรมลบบางชนิด เช่น *E. coli*, *Proteus mirabilis* และ *Klebsiella pneumonia* ที่ไม่สร้างเอนไซม์ Extended–Spectrum Beta-lactamase (ESBL) (ธวัชชัย จริยะเศรษฐพงศ์ และคณะ, 2548) สำหรับยาในรุ่นนี้ที่มีใช้และเป็นที่นิยม ได้แก่ Cefazolin โครงสร้างของยาชนิดนี้มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 3 คือ Thaiadiazole Ring เชื่อมต่อด้วยอะตอม Sulfer ส่วนตำแหน่งที่ 7 ถูกแทนที่ด้วย Tetrazoylmethylene ยาชนิดนี้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุดในรุ่น เพราะมีผลข้างเคียงน้อย ราคาถูกและมีผลการศึกษากว้างขวางที่สุด นอกจากนั้นยาชนิดนี้ใช้เป็นยารักษาผู้ป่วยแทนยาในกลุ่ม Penicillin ในการรักษาโรคติดเชื้อของผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อนที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* หรือ *Streptococcus* spp. ในผู้ป่วยที่ไม่สามารถให้ยา Penicillin ได้ แต่ยังพบการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในรุ่นนี้อยู่ ดังนั้นจึงมี Cephalosporins รุ่นที่ 2 ต่อมา (Lemke, Williams, Roch, & Zito, 2008)

ยากลุ่ม Cephalosporin รุ่นที่ 2 ดัดแปลงโครงสร้างตำแหน่งที่ 7 โดยเพิ่มกลุ่ม Hydroxy แทนธาตุ Hydrogen ส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบเพิ่มขึ้นกว่ารุ่นที่ 1 ยาที่สำคัญในรุ่นที่ 2 คือ Cefuroxime และ Cefotiam ซึ่ง Cefuroxime เป็นยาตัวเลือกแรกในรุ่นที่ 2 โดยมีหมู่ Oxyimino ที่สายโซ่แทนที่ตำแหน่งที่ 7 ส่งผลให้ยาตัวนี้ต้านทานต่อการถูกทำลายโดยเอนไซม์ Beta-lactamase ได้ สำหรับ Cefotiam มีกลุ่ม Aminothiazolyl แทนที่ในตำแหน่งที่ 7 ยาจึงมีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบดีมาก เนื่องจากตัวยาสามารถจับกับ PBP ได้ดี (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

ยากลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 3 เปลี่ยนแปลงโครงสร้างตำแหน่งที่ 7 โดยนำเอากลุ่ม Methoxyimino จาก Cefuroxime และกลุ่ม Aminothiazolyl จาก Cefotiam มาแทนที่ในตำแหน่งที่ 7 ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบก้าวกระโดดได้ยาตัวใหม่ คือ Cefotiam เป็นยาตัวแรกของรุ่นที่ 3 ที่ผลิตขึ้นมาและมีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบสูงสุดในรุ่น นอกจากนั้นยาในรุ่นนี้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่า Cephalosporins รุ่นที่ 2 เนื่องจากทนต่อเอ็นไซม์ Beta-lactamase และจับกับ PBP ของแบคทีเรียแกรมลบในกลุ่ม Enterobacteriaceae ที่สร้าง ESBL ได้ดีขึ้น แต่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกลดลงเมื่อเทียบกับ Cephalosporins ในรุ่นที่ 1 และ 2 (Lemke et al., 2008)

ยากลุ่ม Cephalosporins รุ่นที่ 4 ที่มีความสำคัญและมีวางจำหน่ายตามท้องตลาดในปัจจุบัน คือ Cefepime และ Cefpirome มีการเปลี่ยนแปลงสูตรโครงสร้างในตำแหน่งที่ 3 โดยมีหมู่ N-methylpyrplidine และ Cyclopentopyridinium แทนที่ในตำแหน่งที่ 3 ของยา Cefepime และ Cefpirome ตามลำดับ จากการแทนที่ในตำแหน่งที่ 3 ทำให้มีประจุของ Quaternary Ammonium ทำให้โมเลกุลของ Cephalosporins รุ่นที่ 4 มีประจุเป็นกลาง (Zwitterion) จึงทำให้โมเลกุลของยาสามารถผ่าน Outer Membrane ของ Lipopolysaccharides ของแบคทีเรียแกรมลบได้ดี นอกจากนั้นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในตำแหน่ง R_2 ส่งผลให้โมเลกุลของยามีความทนทานต่อการย่อยโดยเอนไซม์ Beta-lactamase ในกลุ่ม Inducible Cephalosporinases (AmpC) กับ PBP ดีขึ้น ซึ่งยาในรุ่นที่ 4 มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกในกลุ่ม Staphylococci, Streptococci และ *E. faecalis* อีกทั้งมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบ คือ Enterobacteriaceae และ Non-fermenters เช่น *Pseudomonas aeruginosa* ที่ไม่สร้าง AmpC Beta-lactamases (ธวัชชัย จริยะเศรษฐพงศ์ และคณะ, 2548)

ยาปฏิชีวนะกลุ่มยับยั้งชีวสังเคราะห์ของ Peptidoglycan ยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้แสดงฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียเช่นเดียวกับยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactams แต่ต่างกันตรงบริเวณของการออกฤทธิ์ในการสร้างผนังเซลล์หรือกลไกยับยั้งการเกิด Cross Link ซึ่งแตกต่างไปจากยาในกลุ่ม Beta-lactams ยาในกลุ่มดังกล่าวประกอบด้วย 2 กลุ่ม คือ Fosfomycin และ Glycopeptides

Fosfomycin สกัดได้จากเชื้อ *Streptomyces fradiae* ปัจจุบันสามารถสังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาเคมี โดยยาออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Pyruvate Transferase ช่วยเปลี่ยน N-acetylglucosamine และ Phosphoenol Pyruvate เป็น N-acetylmuramic Acid ซึ่งเป็นโมเลกุลของน้ำตาลที่มีความสำคัญต่อการเกิดสาย Polysaccharide ที่เป็นส่วนประกอบหลักของสาย Peptidoglycan ดังนั้น Fosfomycin จึงมีผลต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ในระยะแรกของแบคทีเรียโดยแตกต่างจากยาในกลุ่ม Beta-lactams ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ในระยะท้าย ดังนั้น Fosfomycin จึงไม่ออกฤทธิ์ดื้อยาข้ามกลุ่มกับ Beta-lactams และยาในกลุ่มอื่น ๆ อีกทั้งการใช้ยา Fosfomycin ร่วมกับยาชนิดอื่นช่วยให้ผลการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียดีขึ้น นอกจากนั้นยังช่วยป้องกันการดื้อยาของ Fosfomycin ต่อการยับยั้งเชื้อ MRSA (ศศิธร ลิขิดนุกูล, ชิษณุ พันธุ์เจริญ, สถาพร ธิดิวิเชียรเลิศ, นลินี อัศวโภคี และยุพิน ศุพุทธมงคล, 2543)

ยากลุ่ม Glycopeptide ปัจจุบันมีใช้อยู่ 2 ตัว คือ Vancomycin และ Teicoplanin ได้มาจากเชื้อ *Nocardia orientalis* และ *Actinoplanes teichomyceticus* ตามลำดับ ลักษณะโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยส่วน Peptide ที่มีกรดอะมิโน 7 ตัว โดยเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มนี้เหมือนกับยาในกลุ่ม Beta-lactams คือ ยับยั้งกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย แต่ยากลุ่ม Glycopeptide ออกฤทธิ์โดยจับที่บริเวณ D-Ala-D-Ala ซึ่งอยู่ที่ปลายสาย Peptide ส่งผลให้ตัวยาบดบังการเกิด Cross Link ของสาย Peptidoglycan ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ได้ดีกับแบคทีเรียแกรมบวก โดยเฉพาะเชื้อในกลุ่ม Staphylococci และ *S. aureus* ที่ดื้อยา Mcthicillin การให้ยาส่วนใหญ่ให้โดยวิธีการฉีดหรือหยดเพื่อป้องกันการเกิดการอักเสบของหลอดเลือดดำ (Thrombophlebitis) บริเวณที่ให้ (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

2. ยับยั้งการสร้างโปรตีน

กระบวนการสร้างโปรตีนของเซลล์ Prokaryote คล้ายการสร้างโปรตีนของ Eukaryote แต่ต่างกันที่ชนิดของไรโบโซมโดยเซลล์ Prokaryote มีไรโบโซมชนิด 70S ประกอบด้วย 2 Subunits คือ 30S และ 50S ส่วนเซลล์ Eukaryote มีไรโบโซมชนิด 80S ประกอบด้วย 2 Subunits คือ 60S และ 40S สำหรับแบคทีเรียจัดเป็นเซลล์ Prokaryote ดังนั้นยาจึงมีผลไปยับยั้งการสร้างโปรตีนโดยยาเข้าไปจับที่ Subunits ชนิด 30S หรือ 50S ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์และการซ่อมแซมตัวเอง ผลที่เกิดขึ้นกับตัวเชื้อส่งผลให้ยาในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีนมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือทำให้แบคทีเรียตาย (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551) กลุ่มยาดังกล่าวประกอบด้วย

ยากลุ่ม Aminoglycosides มีโครงสร้างหลักที่จำเป็นต่อการออกฤทธิ์ คือ 1, 3-diaminoinnositol โดยโครงสร้างดังกล่าวประกอบด้วย Steptamine, 2-deoxstreptamine และ Spectinamine โครงสร้างหลักของ Aminopglycoside เกิดจากการแทนที่ของ Aminosugar ด้วยพันธะ Glycosidic จากโครงสร้างดังกล่าวมีผลทำให้ยาในกลุ่ม Aminoglycosides ทุกตัวละลายน้ำได้ดีที่ระดับ pH ต่าง ๆ ดังนั้นยาจึงมีคุณสมบัติความเป็นขั้วสูง ยาจึงไม่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายโดยการรับประทาน จึงหันมาให้ยาโดยวิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ยาออกฤทธิ์โดยเข้าไปจับกับไรโบโซมชนิด 30S ที่บริเวณ Peptidyl A ของ 16S rRNA และยับยั้งขั้นตอนเริ่มต้นของการสังเคราะห์โปรตีน นอกจากนั้นเกิดการสะสมคอมเพล็กซ์ที่มีลักษณะผิดปกติ ส่งผลให้เกิดการแปลรหัสผิดและสร้างโปรตีนที่มีลักษณะผิดปกติ เรียกว่า Non-sense Proteins เชื้อจึงไม่สามารถนำไปใช้ได้และยาในกลุ่มนี้มีผลฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้อย่างรวดเร็ว (Lemke et al., 2008) ยากลุ่ม Aminoglycosides ส่วนใหญ่นิยมใช้รักษาผู้ติดเชื้อรุนแรงในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน เช่น *Acenetobacter* sp., *Enterobacter* sp., *E. coli*, *Klebsiella* sp., *Ps. aeruginosa* เป็นต้น โทษของยาในกลุ่มนี้ คือ เป็นพิษต่ออวัยวะรับฟังเสียงและไต (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

ยากลุ่ม Macrolides จัดเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการใช้รักษาโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยเริ่มต้นได้มาจากเชื้อ *Streptomyces* sp. ได้สารที่เรียกว่า Methymycin จัดเป็น Macrocyclic Laetone Ring จำนวนคาร์บอนอะตอมในวงแหวน 12 อะตอม ขอบเขตการออกฤทธิ์ของยากลุ่มดังกล่าวคล้ายยาในกลุ่ม Penicillin ดังนั้นผู้ป่วยที่แพ้ยาในกลุ่ม Penicillin สามารถใช้ยาในกลุ่ม Macrolides แทนได้ ยาตัวแรกในกลุ่ม Macrolides ที่นิยมนำมาใช้ในการรักษา คือ Erytromycin A ได้จากเชื้อ *S. erythraeus*

และใช้เป็นต้นแบบในการพัฒนายากลุ่ม Macrolide ตัวอื่น ๆ ด้วย โครงสร้างหลักทางเคมีที่สำคัญของยาในกลุ่ม Macrolides คือ Macrocyclic Lactone Ring มีจำนวนคาร์บอนอะตอมในวงแหวนระหว่าง 14-16 อะตอม ตำแหน่งที่ 3 และ 5 ของ Macrocyclic Lactone Ring เชื่อมติดกับน้ำตาล Cladinose และ Aminosugar ด้วยพันธะ Alpha-glycosidic และ Beta-glycosidic ตามลำดับ Aminosugar ส่งผลให้ยากลุ่ม Macrolides มีคุณสมบัติเป็นเบสอ่อน (pKa = 8) ยาจึงละลายน้ำได้น้อยแต่ละลายได้ดีในรูปเกลือบางชนิด เช่น Ethylsuccinate หรือ Lactobionate เป็นต้น (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551) กลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม Macrolides มีผลไปรบกวนกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย โดยตัวยาเข้าไปจับส่วนของนิวคลีโอไซด์ใน Domain V ของ 23S rRNA ซึ่งเป็นบริเวณที่ใช้จับกับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) หรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharide) ของ Macrocyclic Lactone Ring (Lemke et al., 2008) นอกจากนั้นตัวยายังเข้าไปจับกับเอนไซม์ Peptidyl Transferase ซึ่งมีความสำคัญต่อการสร้างสาย Peptide อีกทั้งยากลุ่ม Macrolides มีความจำเพาะเจาะจงต่อหน่วยย่อย 50S ไรโบโซมของ 70S ไรโบโซมมีผลไปยับยั้งบางส่วนของกระบวนการ Translocation โดยรบกวนการปล่อยของ tRNA จากบริเวณ P และอาจยับยั้งการครอบครองที่บริเวณ P ของ Peptidyl-tRNA จึงมีผลต่อการเกิด 70S ไรโบโซมที่ไม่สมบูรณ์ ดังนั้นจึงมีผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ Prokaryote (มาลิน จุลศิริ, 2532)

ยาในกลุ่ม Macrolides ปัจจุบันแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ตามช่วงระยะเวลาของการค้นพบและประสิทธิภาพของการออกฤทธิ์ ดังนี้

ยาในกลุ่ม Macrolides รุ่นที่ 1 ตัวแรกที่มีจำหน่ายและเป็นที่ยอมรับ คือ Erythromycin A มีสูตรโครงสร้างเป็นวงคาร์บอนอะตอม 14 อะตอม ภายในวงแหวนมีหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 9 และมีหมู่น้ำตาล Deoxy Sugar ชนิด Cladinose และ Aminosugar ชนิด Desosamine ที่ตำแหน่งที่ 3 และ 5 ตามลำดับ กลไกการออกฤทธิ์ของยามีผลไปรบกวนการรวมตัวของ 70S ไรโบโซม จึงไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ Eukaryote แต่ไม่มีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพราะตัวยาไม่มีผลต่อการรวมตัวกับ 80S ไรโบโซมยาชนิดนี้จึงใช้ได้ผลดีต่อแบคทีเรียที่ไม่มีผนังเซลล์ เช่น Mycoplasma อีกทั้งเหมาะกับผู้ป่วยที่แพ้ยาในกลุ่ม Penicillin และ Cephalosporins แต่ข้อเสียของการใช้ยาในรุ่นนี้ คือ ไม่ทนต่อสภาวะความเป็นกรดเมื่อใช้ในรูปรับประทานจึงส่งผลให้ตัวยามีประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ลดลง จึงพัฒนายาในรุ่นนี้เพื่อแก้ไขปัญหาความไม่คงตัวดังกล่าว โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดผลข้างเคียงและเพิ่มฤทธิ์ของยาให้มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งแบคทีเรียได้กว้างขึ้น โดยเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ Macrocyclic Lactone Ring (โพยม วงศ์ภูวรักษ์ และพยงค์ เทพอักษร, 2544)

Macrolide รุ่นที่ 2 พัฒนายาเพื่อลดความไม่คงตัวเมื่ออยู่ในสภาวะกรดและเพิ่มฤทธิ์การฆ่าเชื้อโดยเปลี่ยนแปลงที่ Lactone Ring ยาในรุ่นนี้เป็นยาที่มีโครงสร้างไม่มีขั้ว (Non-pola) ละลายได้ดีในไขมันและมีความคงตัวในสภาวะกรด ดูดซึมได้ดีในระบบทางเดินอาหาร ยารุ่นที่ 2 แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มย่อยตามขนาดของ Lactone Ring ดังนี้

วงคาร์บอน 14 อะตอม เช่น Clarithromycin พัฒนาโครงสร้างโดยแทนที่ตำแหน่ง 6 ด้วยหมู่ Methyl กลไกการออกฤทธิ์คล้ายยาในกลุ่ม Macrolides ตัวอื่น คือ ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยจับกับ 50S ไรโบโซมของเชื้อแบคทีเรียจึงรบกวนการสร้างโปรตีน ยา Clarithromycin มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง Streptococcus และ Staphylococcus ดีกว่า Erythromycin อีกทั้งออกฤทธิ์ครอบคลุมเชื้อแกรมลบ เช่น *Haemophilus influenza* และ *Moraxella catarrhalis* ดีกว่า Erythromycin (เหม่ยเสียน พงศ์วิไลรัตน์, 2551) Roxithromycin เป็นอนุพันธ์กึ่งสังเคราะห์ของ Erythromycin A ซึ่งดัดแปลงหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่ง 9 เป็นหมู่ Ethyl-oxime ส่งผลให้ยาดังกล่าวทนต่อกรดได้ดีและมีระดับยาในเนื้อเยื่อสูงขึ้น ส่วน Dirithromycin แทนที่อะตอมของออกซิเจนในหมู่คาร์บอนิลตำแหน่งที่ 9 ด้วยอะตอมของไนโตรเจนและสร้างวงแหวน Tetrahydrooxazine กับอะตอมของออกซิเจนตำแหน่งที่ 11 จึงมีผลทำให้ระดับยาในเนื้อเยื่อสูงขึ้นและมีค่าครึ่งชีวิตยาว (คนาวรรณ พจนาคม และจันคนา บูรณะโอสถ, 2547)

วงคาร์บอน 15 อะตอม เช่น Azithromycin เป็นยาที่เติมอะตอมของไนโตรเจนในวงแหวน Macrolides ที่ตำแหน่ง 9 และเติมหมู่ Methyl ที่อะตอมไนโตรเจน ยาจึงมีคุณสมบัติความเป็นด่างเพิ่มขึ้น ยานี้มีกลไกการออกฤทธิ์เหมือนยาในกลุ่ม Macrolides ตัวอื่น แต่ Azithromycin มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ Streptococcus และ Staphylococcus ได้ดีกว่า Erythromycin อีกทั้งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ เช่น *Haemophilus influenza*, *Moraxella catarrhalis* และ *Helicobacter pylori* ดีกว่า Erythromycin จากการศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชจลนพลศาสตร์พบว่า Azithromycin มีประสิทธิภาพเหนือกว่า Erythromycin เนื่องจาก Azithromycin สามารถเข้าสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดีกว่าและมีค่าครึ่งชีวิตในการขับยายาวนานกว่าอีกทั้งยาทนต่อกรดได้ดีกว่า Erythromycin ดังนั้น Clarithromycin, Dirithroomycin และ Azithromycin จึงให้ผลดีกว่า Erythromycin คือ ระดับยาในเนื้อเยื่อสูงขึ้น ผลข้างเคียงลดลงและประสิทธิภาพต่อเชื้อดีขึ้น (เหม่ยเสียน พงศ์วิไลรัตน์, 2551)

วงคาร์บอน 16 อะตอม ยาในกลุ่มนี้มี Macrocyclic Lactone Ring เพิ่มขึ้นเป็น 16 อะตอม เช่น Carbomycin A และ Tylosin เป็นอนุพันธ์ของ Leucomycins (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551) มีพันธะคู่ในวงแหวน การพัฒนา Macrolides รุ่นใหม่อาศัยคุณสมบัติของคาร์บอน 16 อะตอม ที่มีข้อเด่นกว่าวงคาร์บอน 14 อะตอม เพราะทนต่อกรดและผลออกฤทธิ์ต่อการยับยั้งแบคทีเรีย บางชนิดดีกว่า เนื่องจากการดัดแปลงโครงสร้างโดยดึงน้ำตาล Mycarose ที่ตำแหน่ง 5 ออก และเติมหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 4 ของน้ำตาล Mycanose พบว่า อนุพันธ์ที่ได้มีอันตรกิริยา ในการจับกับไรโบโซมมากขึ้นและมีความคงตัวต่อกรดดีขึ้น (คนาวรรณ พจนาคม และจันคนา บูรณะโอสถ, 2547)

Macrolides รุ่นที่ 3 ยาในรุ่นนี้ ได้แก่ Ketolides โครงสร้างทางเคมีของยาในกลุ่มนี้ ประกอบด้วย Macrocyclic Lactone Ring ขนาด 14 อะตอม เป็น Macrolides กลุ่มใหม่ดัดแปลง โครงสร้างโดยเปลี่ยนน้ำตาล Cladinose ตำแหน่งที่ 3 ไปเป็นหมู่ Ketone พบว่า ช่วยป้องกัน การดื้อยาแบบ Efflux Pump เปลี่ยนแปลงตำแหน่งที่ 11 และ 12 โดยมีหมู่แทนที่วงแหวน Carbamate ยามีข้อเด่น คือ ช่วยเพิ่มการจับที่บริเวณเป้าหมาย ซึ่งเป็นคนละบริเวณกับ Macrolides ตัวอื่น ๆ ดังนั้นการกลายพันธุ์ที่บริเวณนี้มีผลต่อเฉพาะยาในกลุ่ม Ketolides ไม่มีผลต่อ Macrolides ตัวอื่น ๆ และตำแหน่งที่ 13 แทนที่ด้วยหมู่ต่าง ๆ เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ การฆ่าเชื้อ ตัวอย่างยาในกลุ่ม Ketolides ได้แก่ Telithromycin มีวางจำหน่ายในยุโรปและอเมริกา นอกจากนี้การพัฒนายาในกลุ่มนี้เพื่อให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยเปลี่ยนหมู่แทนที่ตำแหน่งที่ 2 เป็นฟลูออรีนหรือเติมหมู่แทนที่ที่อะตอมของออกซิเจนที่ตำแหน่ง 6 (คนาวรรณ พจนาคม และจันคนา บูรณะโอสถ, 2547) พบว่า ช่วยเพิ่มคุณสมบัติทางเภสัชจลนพลศาสตร์ในด้านดูดซึม จากการพัฒนายาในรุ่นนี้เพื่อเพิ่มการออกฤทธิ์ของยาและลดการดื้อยา (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

Tetracyclines เป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้อย่างแพร่หลายมาเป็นเวลานานและยังคงใช้อยู่ ในปัจจุบัน ยากลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของ Hydronaphthacene ซึ่งยาชนิดแรก ที่ถูกค้นพบ คือ Chlortetracycline แยกได้จากเชื้อ *S. aureofaciens* ต่อมาได้ดัดแปลงสูตรโครงสร้าง และพัฒนาการผลิตได้เป็นสารกึ่งสังเคราะห์มีสูตรโครงสร้างหลักเป็นวง Naphthacene (โพยม วงศ์ภูวรักษ์ และพยงค์ เทพอักษร, 2544) จากการพัฒนาโครงสร้างได้ยากลุ่ม Tetracyclines ตัวอื่น ๆ อีกหลายชนิด เช่น Tetracycline, Demeclocycline, Methacycline, Doxycycline และ Minocycline ยาในกลุ่มที่กล่าวมาข้างต้นเป็นยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์กว้าง (Broad Speetrum) และครอบคลุมเชื้อทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน (Olivera & Chopra, 1992) กลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม Tetracyclines แสดงฤทธิ์ยับยั้ง

การสร้างโปรตีนของแบคทีเรียโดยจับกับ 30S ไรโบโซมและ mRNA ป้องกันไม่ให้ Aminoacyl-tRNA จับกับ mRNA ดังนั้น Ribosome Complex มีผลต่อขั้นตอนเริ่มต้นของการสังเคราะห์โปรตีนโดยปกติ Tetracyclines มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่มียาในกลุ่มนี้บางตัว เช่น Minocycline ละลายในไขมันได้ดีและมีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรีย โดยรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์จึงเกิดการรั่วของ Nucleotide และส่วนสำคัญต่าง ๆ ของเซลล์ที่อยู่ภายใน Cytoplasm (Speer, Shoemaker, & Salyers, 1992)

Incosamide ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Lincomycin และอนุพันธุ์กึ่งสังเคราะห์ Clindamycin ยา Lincomycin แยกได้จากเชื้อ *S. lincolnesis* ส่วน Clindamycin ได้จากการสังเคราะห์โดยใช้ Lincomycin เป็นสารตั้งต้น โดยแทนที่หมู่ Hydroxy ที่คาร์บอนตำแหน่ง 7 ด้วยคลอรีนได้ Clindamycin ลักษณะโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วย 8-carbon Sugar เชื่อมกับ N-methylpyrolidylcarboxylic Acid ด้วยพันธะ Amide กลไกการออกฤทธิ์ของยากลุ่ม Lincomycin เหมือนกับยากลุ่ม Macrolides คือ ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรียในขั้นตอน Translocation โดยจับที่ 50S ไรโบโซมที่บริเวณ P ของ 23S rRNA (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

Clindamycin มีขอบเขตการออกฤทธิ์เหมือนยา Erythromycin โดยยับยั้ง Aminoacyl Translocation Reaction และยับยั้งการสร้าง Initiation Complex โดยยาเข้าจับกับตำแหน่ง 50S ไรโบโซม เช่นเดียวกับ Erythromycin ยากลุ่มดังกล่าวออกฤทธิ์ต่อ Streptococci, Staphylococci, Pneumococci, *Bacteroides* sp. และแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนตัวอื่น ๆ ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ แต่ฤทธิ์ของยาไม่มีผลต่อเชื้อ Enterococci, *Clostridium difficile* และแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มที่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ (Reyes et al., 2007)

Chloramphenicol แยกได้จากเชื้อ *S. venezuelae* ในปี ค.ศ. 1947 แต่เนื่องจาก Chloramphenicol มีโครงสร้างไม่ซับซ้อนจึงสังเคราะห์ขึ้นมาใช้ในปี ค.ศ. 1949 และจัดเป็นยาปฏิชีวนะตัวแรกที่สังเคราะห์ได้ Crystalline โครงสร้างยาเป็นอนุพันธ์ของ Dichloro-acetic Acid รูปแบบที่ยาสามารถออกฤทธิ์ได้ดีอยู่ในรูป L-form ตัวยาเข้าไปยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยเข้าจับกับ 50S ไรโบโซมและขั้นตอน Transpeptidation เป็นขั้นตอนการเชื่อม Peptide กับ Amino Acid บนบริเวณ A มีผลยับยั้งเอนไซม์ Peptidyl Transferase ส่งผลให้การสังเคราะห์โปรตีนเกิดไม่สมบูรณ์ ดังนั้นยาในกลุ่มนี้มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้างและยับยั้งได้ดีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบทั้งชนิดที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ (Izard, 2001)

Streptogramin เป็นยาปฏิชีวนะที่ได้จากธรรมชาติจากเชื้อ Streptomyces หลายสายพันธุ์ สารในกลุ่มดังกล่าวประกอบด้วยชนิด A (Dalfopristin) และชนิด B (Quinupristin) ในอัตราส่วน 70 : 30 กลไกการออกฤทธิ์ของยา Streptogramin A เข้าจับที่บริเวณ Complex ของเอนไซม์ Peptidyl Transferase จึงยับยั้งการจับของ Substrate ส่งผลให้เกิดการยับยั้งขั้นตอนการเพิ่มความยาวของสาย Peptide ในขั้นตอนการสังเคราะห์โปรตีนและการเข้าจับของ Streptogramin A ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง Conformation ของ 50S ไรโบโซมส่วน Streptogramin B เข้าจับที่ตำแหน่ง 50S ไรโบโซมเช่นเดียวกับยากลุ่ม Macrolides ดังนั้นการใช้ยาร่วมกันช่วยเพิ่มฤทธิ์การฆ่าเชื้อได้ดีขึ้น เพราะ Streptogramin A ช่วยให้ Streptogramin B จับที่ 50S ไรโบโซมได้แน่นขึ้น (Beyer & Pepper, 1998) ยากลุ่ม Streptogramin ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ รวมทั้ง Multiple Drug Resistant Streptococci, Penicillin Resistant *S. pneumonia*, MRSA และ *E. faecium* เป็นต้น (Dupuis & Leclercq, 2006)

Oxazolidinone จัดเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มใหม่ที่ได้จากการสังเคราะห์โดยตรง เช่น Linezolid และ Eperezolid เป็นต้น ยาใหม่ที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อมุ่งเน้นการออกฤทธิ์ได้ดีต่อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น Staphylococci, Streptococci และ Enterococci รวมทั้งแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ ยากลุ่มดังกล่าวออกฤทธิ์โดยตัวยาเข้าจับที่ตำแหน่ง P ของ 50S ไรโบโซม จึงมีผลรบกวนการจับของ f-Met-tRNA Initiator ดังนั้นการเริ่มต้นของขั้นตอน Translation ในการสังเคราะห์โปรตีนจึงถูกยับยั้งโครงสร้างหลักทางเคมีของยากลุ่ม Oxazolidinone ประกอบด้วยวงแหวนOxazolidinone ซึ่งถูกแทนที่ด้วย 5S-acylaminomethyl และ 3-N-aryl จากการใช้ยาในกลุ่มนี้พบการดื้อยาน้อย จึงได้พัฒนายารุ่นที่ 2 เพื่อให้มีฤทธิ์ต่อเชื้อดีขึ้นและดื้อยาน้อยลง การพัฒนายาส่วนใหญ่เกิดการแทนที่และเปลี่ยนแปลงบริเวณ Aryl และ N-acyl เช่น S-oxide Fluoroacetamid เป็นอนุพันธ์ของ Linezolid เมื่อเปลี่ยนวง Aryl เป็นวง Indolinyl พบว่า ออกฤทธิ์ได้ดีต่อแบคทีเรียแกรมลบ อีกทั้งทำการทดลองโดยนำ Oxazolidinone เชื่อมต่อกับยาในกลุ่ม Fluoroquinolone เช่น Ciprofloxacin พบว่า ยาสามารถออกฤทธิ์ครอบคลุมเชื้อได้หลายกลุ่มและออกฤทธิ์ได้ดีต่อเชื้อ *E. coli* ซึ่งปกติแล้วยาในกลุ่ม Oxazolidinone ไม่มีฤทธิ์ต่อ *E. coli* (Patel et al., 2001)

3. รบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์

หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์โดยทั่วไป คือ เป็น Osmotic Barrier ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้สารต่าง ๆ เข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไปและคัดเลือกสารที่นำเข้าหรือออกจากเซลล์ กลุ่มยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์รบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ ยากลุ่ม Tryrocidins, Gramicidins และ Polymyxin เป็นต้น กลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะดังกล่าวมีผลโดยตัวยาเข้าจับบริเวณส่วนนอกของเยื่อหุ้มเซลล์และแทรกเข้าไปในชั้นของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ผิดปกติ สารต่าง ๆ สามารถรั่วออกจากเซลล์และเกิดการดูดซึมของไอออนผิดปกติ แบคทีเรียจึงไม่สามารถมีชีวิตรอดอยู่ต่อไปได้ (มาลิน จุลศิริ, 2532)

Gramicidin มีสูตรโครงสร้างเป็น Cyclic Peptide ประกอบด้วยกรดอะมิโน 15 ตัว แหล่งที่มาของยาดังกล่าวได้จากเชื้อ *B. brevis* ปกติเมื่อแยก Gramicidin จากเชื้อ *B. brevis* ได้สารผสมระหว่าง Gramicidin และ Tyrocidin ในอัตราส่วน 20 : 80 แต่ Tyrocidin มีโครงสร้างเป็น Cyclic Peptide มีกรดอะมิโน 10 ตัว กลไกการออกฤทธิ์ของยากลุ่ม Gramicidin และ Tyrocidin มีผลรบกวนกระบวนการ Oxidative Phosphorylation พลังงานในตัวเซลล์แบคทีเรียถูกปล่อยออกมาน้อยลงและยาทั้ง 2 กลุ่มเข้าทำลาย Osmotic Barrier ของเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดรูรั่ว ดังนั้นแคทไอออนที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรียเคลื่อนผ่านออกนอกเซลล์ (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

Polymyxins มีโครงสร้างเป็น Polypeptides ยาในกลุ่มนี้มีใช้อยู่ 2 ชนิด คือ Polymycin B และ Colistin A ยาทั้ง 2 ชนิดนี้มีความแตกต่างกันที่กรดอะมิโนใน Cyclic Peptide นั่นคือ Polymyxin B มีกรดอะมิโน D-Phe แต่ Colistin A กรดอะมิโน D-Phe ถูกแทนที่ด้วย D-Leu การออกฤทธิ์ของยาทั้ง 2 ชนิด แสดงฤทธิ์ยับยั้งได้ดีต่อแบคทีเรียแกรมลบโดยตัวยาใช้ส่วนของประจุบวกในโมเลกุล (L-2, 4-diaminobutyric Acid; L-Dab) จับกับหมู่ฟอสเฟตของ Phospholipid ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ดังนั้นการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์จึงผิดปกติ (กิตติศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551)

4. ยับยั้งการสังเคราะห์ Nucleic Acid

กระบวนการสังเคราะห์ Nucleic Acid มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์โปรตีน เอนไซม์ และขั้นตอนของการเจริญและแบ่งตัวของเซลล์ซึ่ง Nucleic Acid ที่มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตประกอบด้วย Deoxyribonucleic Acid (DNA) และ Ribonucleic Acid (RNA) กลุ่มยาต้านแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของกระบวนการ Methabolism ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ Nucleic Acid ส่วนใหญ่เป็นยาต้านแบคทีเรียกึ่งสังเคราะห์ เช่น ยากลุ่ม Sulfonamide และ Quinolone เป็นต้น (มาลิน จุลศิริ, 2532)

Sulfonamides ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ Nucleotide โดยตัวยายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Dihydropteroate Synthase เอนไซม์ดังกล่าวมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ของแบคทีเรีย เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวจำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์สารในกลุ่ม Folate Coenzyme A เป็นสารที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ DNA ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Dihydropteroate Synthase ยากลุ่ม Sulfonamide เกิดขึ้นได้ เนื่องจากมีโครงสร้างใกล้เคียงกับ Para-Amino Benzoic Acid (PABA) ยาจึงสามารถแย่งจับกับ PABA ในการเข้าจับกับเอนไซม์ Dihydropteroate Synthase และ Dihydrofolate Synthase จึงเกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เพราะ Folic Acid เป็นสารจำเป็นในการสังเคราะห์ DNA, RNA และโปรตีน (กิดดิศักดิ์ ศรีภา และคณะ, 2551) ยาในกลุ่มนี้จึงใช้ได้ผลดีต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ปัจจุบันใช้รักษาโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะโดยเฉพาะจากเชื้อ *E. coli* รักษาโรคริดสีดวงดา กามโรค และฝีมะม่วงที่เกิดจากเชื้อ *Lymphogranuloma venerium* แต่ยานี้ไม่เหมาะสำหรับรักษาโรคฝีหนอง เพราะฤทธิ์ของยาถูกยับยั้งโดยหนอง เนื่องจากยาออกฤทธิ์ได้ดีในสภาวะด่าง ดังนั้นในสภาวะที่เป็นกรดยาจึงใช้ไม่ได้ผลต่อการรักษา (โพยม วงศ์ภูวรักษ์ และพยงค์ เทพอักษร, 2544)

Quinolone เป็นกลุ่มยาต้านจุลชีพที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีและออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ DNA เมื่อได้รับยาเข้าสู่ร่างกายยาออกฤทธิ์โดยแทรกผ่านเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและเข้าไปในเมมเบรนชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบโดยผ่านทาง Porin ดังนั้นภายในเซลล์ของแบคทีเรียจึงมีปริมาณยาสะสมภายในเซลล์เพียงพอที่สามารถออกฤทธิ์ได้ กลไกการออกฤทธิ์ของยากลุ่ม Quinolone ตัวยาเข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA Gyrase และ Topoisomerase-4 เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์ DNA ของแบคทีเรีย ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองส่งผลให้สาย DNA ไม่อยู่ในรูปร่างที่ไม่เหมาะสม จึงไม่สามารถนำมาใช้ต่อได้และเซลล์แบคทีเรียตายในที่สุด แต่อย่างไรก็ตามการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองในแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบแตกต่างกัน เพราะ DNA Gyrase เป็นเป้าหมายหลักที่ยาออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนแบคทีเรียแกรมบวก คือ เอนไซม์ Topoisomerase-4 ยาในกลุ่มดังกล่าวนำมาใช้รักษามากที่สุดโดยเฉพาะโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ เพราะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ อีกทั้งมีฤทธิ์ครอบคลุมเชื้อได้กว้าง (Shen, Kohlbrenner, Weigl, & Baranowski, 1989)

2.3 ปัญหาและกลไกการดื้อยาของแบคทีเรีย

การเพิ่มขึ้นของอุบัติการณ์จากแบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะมีปัจจัยมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างแพร่หลายทางด้านการเกษตรและปศุสัตว์ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาตามคลินิก การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างไม่เหมาะสมส่งผลให้เชื้อได้พัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง (Crossley et al., 2009) จากเชื้อที่เคยไวต่อยาปฏิชีวนะต่อมาเกิดการดื้อยาในภายหลัง แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ทำให้มียีนส่วนที่กำหนดการดื้อยาเกิดขึ้น สำหรับในแบคทีเรียยีนดื้อยาอาจปรากฏอยู่บนโครโมโซมหรือพลาสมิด ส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงหรือเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์หรือโปรตีนบางชนิด กลไกการดื้อยาที่พบได้บ่อยจำแนกเป็น 4 ประเภท (มาลิน จุลศิริ, 2532)

1. การทำลายฤทธิ์ของยาด้วยเอนไซม์

แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์มายับยั้งหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยา มีผลทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เนื่องจากยาไม่สามารถเข้าจับกับบริเวณยับยั้งของเชื้อได้ ซึ่งพบเป็นกลไกหลักที่สำคัญและพบบ่อยที่สุดในกลไกการดื้อยาทั้ง 4 กลไก ยาที่นิยมนำมาใช้ในทางคลินิกเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactams จากการใช้ยาปฏิชีวนะในกลุ่มดังกล่าวพบแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิดที่ดื้อต่อยากลุ่มนี้ เช่น *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin หรือ Cephalosporins เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ Beta-lactamase ที่สามารถย่อยสลายส่วนวงแหวน Beta-lactam ของยาบางชนิดทั้ง 2 กลุ่ม ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ คือ Penicilloic Acid และ Cephalosporoic Acid ที่ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ ส่วนเชื้อที่ดื้อยา Chloramphenicol อาจเป็นเพราะมีการสร้างเอนไซม์ Chloramphenicol Acetyltransferase ที่เกิดปฏิกิริยา Acetylation ที่หมู่ Hydroxyl ใน Side Chain ของยา Chloramphenicol ทำให้ได้ 1, 3-diacetoxychloramphenicol ซึ่งไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ ส่วนเชื้อที่ดื้อยากลุ่ม Aminoglycosides พบว่า มีเชื้อหลายชนิดที่สามารถสร้างเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา Acetylation Adenylation หรือ Phosphorylation ที่หมู่ Amino หรือ Hydroxyl ของยาบางชนิดในกลุ่มดังกล่าว ทำให้ยาเหล่านี้ไม่แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อ (พรรณพิศ สุวรรณกูล, ชุษณา สวนกระต่าย และธีรพงษ์ คัณฑวิเชียร, 2547)

2. การเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยา

กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะประเภทนี้เกิดจากแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ มีการเปลี่ยนแปลงลำดับที่สำคัญของยีนที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งที่ใช้ในการสร้างเป้าหมาย ในการออกฤทธิ์ของยาทำให้ยาไปจับกับเป้าหมายได้ลดลง แบคทีเรียจึงไม่ถูกยับยั้งด้วย ยาปฏิชีวนะนั้น ๆ แต่ความแตกต่างของยาปฏิชีวนะในแต่ละกลุ่มหรือแต่ละชนิดก่อให้เกิดการดื้อยา แตกต่างกันซึ่งยีนที่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งการออกฤทธิ์ของยาอาจอยู่บนโครโมโซม พลาสมิด ทรานสโปซอน ก็ได้กลไกการดื้อยาชนิดนี้มักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงที่ผนังเซลล์ (พรรณพิศ สุวรรณกูล และคณะ, 2549) เช่น การดื้อต่อยากลุ่ม Beta-lactams โดยการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างของ PBP ที่ก่อให้เกิดการดื้อยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin, Cephalosporins, Monobactams และ Carbapenems ของเชื้อ *S. aureus* โดยเรียกสายพันธุ์ดังกล่าวว่า MRSA ลักษณะการดื้อยานี้เป็นผลมาจากการได้รับยีน *mecA* โดยทำหน้าที่สร้าง PBP ชนิดพิเศษ คือ PBP2a ซึ่งจับยาในกลุ่ม Beta-lactams ได้ไม่ดีเชื้อจึงไม่ถูกยับยั้ง (ภัทรชัย กีรติสิน, 2549) และการสร้าง ผนังเซลล์โดยไม่ใช้ D-Ala-D-Ala-containing pentapeptide ที่เป็นเป้าหมายของ Glycoside ของเชื้อ Enterococci ทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Glycopeptides รวมทั้งเกี่ยวข้องการเปลี่ยนแปลง กรดอะมิโนบนยีนที่สร้าง DNA Gylases และ Topoisomerases เชื้อจึงดื้อต่อยากลุ่ม Quinolones (Derlot & Courvalin, 1991)

3. การลดการผ่านของสารเข้าเซลล์

ยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยจำเป็นต้องมีระดับความเข้มข้นของยาในบริเวณ เป้าหมายสูงพอที่จะออกฤทธิ์และมีผลต่อการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้น การขัดขวางไม่ให้ยาจาก ภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์ย่อมทำให้เชื้อสามารถเจริญได้ จากกลไกการดื้อยาดังกล่าว พบเชื้อดื้อยาหลายชนิดแสดงการลดการผ่านของยาเข้าเซลล์โดยอาศัยกลไกต่าง ๆ เช่น เชื้อราที่ดื้อต่อยา Flucytosine พบการขาดเอนไซม์ที่ทำหน้าที่นำยาเข้าเซลล์ เชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยา Cycloserine พบมีการสูญเสียของ Alanine Transport System ที่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านยาเข้าเซลล์ ส่วนเชื้อบางชนิดที่ดื้อต่อยา Tetracycline พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของ Porins ซึ่งเป็นโปรตีน บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ โดยทั่วไปขนาดโมเลกุลของยาที่มีขนาดใหญ่และเป็นประเภทที่ไม่ชอบน้ำ จะทำให้ยานั้น ๆ ผ่านเข้ามาได้น้อย (พรรณพิศ สุวรรณกูล และคณะ, 2549)

4. การเพิ่มปริมาณการผลิตสารและเอนไซม์เพื่อแข่งกับปริมาณยา

ยาปฏิชีวนะบางชนิดมีสูตรโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม ทำให้เกิดการแย่งจับเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการ หากเชื้อสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตสารดังกล่าว เพื่อแข่งกับปริมาณยาสามารถแย่งจับเอนไซม์กลับคืนมาเพื่อดำเนินการเมแทบอลิซึมต่อไปได้ เช่น การเพิ่มระดับของ *p*-Aminobenzoic Acid ส่งผลให้เชื้อสามารถดื้อยาในกลุ่ม Sulfonamides ขณะเดียวกันหากมีการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ชนิดที่ถูกขัดขวางการทำงานด้วยยาปฏิชีวนะ เชื้อจึงดื้อต่อยาที่มีคุณสมบัติดังกล่าว ถึงแม้ว่าเอนไซม์บางส่วนจะถูกขัดขวางแต่ยังมีเอนไซม์ส่วนที่เหลือยังคงทำหน้าที่ต่อไปได้ เช่น การเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์ Xanthosine Monophosphate Aminase ทำให้เชื้อดื้อต่อ Psicofuranine ได้หรือถ้ามีการเพิ่มเอนไซม์ Dihydropteroate Synthetase ย่อมมีผลทำให้เชื้อดื้อยากลุ่ม Sulfonamides และเพิ่ม Dihydrofolate Reductase มีผลทำให้เชื้อดื้อต่อยา Trimethoprim ได้ (พรรณพิศ สุวรรณกูล และคณะ, 2549)

จากกลไกการดื้อยาที่กล่าวมาข้างต้นเห็นได้ว่า เชื้อแต่ละชนิดมีวิธีการดื้อยาชนิดเดียวกันในกลไกที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและยีนที่บงการการดื้อยาว่าเป็นยีนบนโครโมโซมหรือพลาสมิด เช่น การดื้อยาของ *E. coli* ต่อ Streptomycin มีผลมาจากการผลิตเอนไซม์มาทำลายยา ขณะที่การดื้อยาของเชื้อ *S. aureus* มีผลมาจากการเปลี่ยนแปลงโปรตีนที่ไรโบโซม ส่วนตัวอย่างกลไกการดื้อยาที่ถูกบงการจากยีนบนโครโมโซมและพลาสมิด เช่น การดื้อยา Erythromycin จากการบงการของยีนบนโครโมโซมมักเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโปรตีนที่เป็นเป้าหมายของยาในไรโบโซม ขณะที่การดื้อยาที่เกิดจากยีนบนพลาสมิดเพราะมีการสร้างเอนไซม์ RNA Methylase ที่กระทบต่อกระบวนการ Methylation (มาลิน จุลศิริ, 2532)

2.4 แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ

ตามระบาดวิทยาที่มีการศึกษาในประเทศไทยมีการรายงานว่า แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะและเป็นปัญหาสำคัญทางคลินิกจำแนกได้ ดังนี้

Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA)

S. aureus เป็นเชื้อที่แสดงออกถึงการปรับตัวในการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่อง ในสมัยก่อนมียาต้านจุลชีพพบมีอัตราการตายจาก *S. aureus* สูงถึงร้อยละ 90 นักวิทยาศาสตร์จึงคิดค้นยาต้านจุลชีพเพื่อลดอัตราการตาย พบว่า ในปี ค.ศ. 1940 ยา Penicillin G ถูกนำมาใช้ในการรักษาและสามารถลดอัตราการตายจากโรคติดเชื้อ *S. aureus* ได้มาก แต่ในปี ค.ศ. 1942 เริ่มพบการดื้อยา Penicillin G จนกระทั่งปี ค.ศ. 1948 พบว่า ยา Penicillin G ไม่สามารถนำมาใช้

ในการรักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในปี ค.ศ. 1959 ยา Mcthicillin เป็นยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Penicillin G ต่อมาในปี ค.ศ. 1961 เริ่มมีรายงานการพบเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Mcthicillin (MRSA) นอกจากนี้ยังพบเชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายกลุ่ม เช่น Tetracyclines, Sulfonamides, Macrolides, Cephalosporines, Chloramphenicol และ Quinolones เป็นต้น ส่วนเชื้อที่ไวต่อยาในกลุ่ม Penicillins จะจัดอยู่ในกลุ่มที่เรียกว่า MSSA (ศศิธร ลิขิตนุกูล และคณะ, 2543) ความรุนแรงของเชื้อ MRSA และ MSSA ไม่ต่างกันแต่การติดเชื้อ MRSA มีความสำคัญมากกว่า เพราะเชื้อ MRSA ไม่สามารถรักษาให้หายได้ด้วยยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาการติดเชื้อ *Staphylococcus* ทั่วไป และหากเชื้อ MRSA แพร่กระจายทำให้เกิดการระบาดขึ้นในโรงพยาบาล ซึ่งส่งผลกระทบรุนแรงต่อผู้ป่วยและโรงพยาบาล (อะเคื้อ อุณหเลขกะ, 2548)

เชื้อ MRSA ดื้อต่อยากลุ่ม Penicillin และ Beta-lactams อื่น ๆ ซึ่งการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม Beta-lactams ต่อเชื้อโดยเข้าจับกับเอนไซม์ที่เรียกว่า PBP ในเชื้อ *Staphylococcus* ซึ่ง PBP ทำหน้าที่เกี่ยวกับปฏิกิริยา Transpeptidation และ Carboxypeptidation ซึ่งสำคัญสำหรับ Cross Linking ของ Peptidoglycan Back Bone ในผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดย Beta-lactam ออกฤทธิ์ทำให้ PBP ทำงานไม่ได้จึงเกิดการแตกสลายของชั้น Peptidoglycan ส่งผลให้เชื้อตาย เชื้อ *S. aureus* ที่ไวต่อ Methicillin (MSSA) สร้าง PBP 4 ชนิด คือ PBP1, PBP2, PBP3 และ PBP4 ซึ่ง PBP1, PBP2 และ PBP3 เป็นเป้าหมายสำคัญสำหรับ Beta-lactam แต่ MRSA สร้าง PBP ที่ผิดปรกติ เรียกว่า PBP2a ซึ่งจับกับ Beta-lactam ได้ไม่ดี เนื่องจากมี Affinity ต่ำจึงมีผลทำให้ PBP2a ในเชื้อดื้อยาทำหน้าที่แทน PBP ปรกติ จึงทำให้ Beta-lactam ออกฤทธิ์ไม่ได้ซึ่งยีนที่ควบคุมการสร้าง PBP2a คือ *mecA* (ศศิธร ลิขิตนุกูล และคณะ, 2543) ส่วนการดื้อยาในกลุ่ม Macrolides ไม่แตกต่างจากการดื้อยากลุ่มอื่น คือ มีการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายการลดการนำยาเข้าสู่เป้าหมาย ซึ่งอาจเป็นการลดการซึมผ่านหรือการขับยาออกจากเซลล์และการทำให้ยาหมดฤทธิ์ (พรรณพิศ สุวรรณกูล และธีรพงษ์ ตัณฑวิเชียร, 2547)

2.5 การแบ่งประเภทตามกลไกการดื้อยาของเชื้อ MRSA

1. True Methicillin-Resistant *S. aureus* ("True" MRSA)

"True" MRSA หรือ Methicillin Resistant พบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายขนาน โดยเฉพาะยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin เช่น Methicillin, Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin และ Nafcillin รวมทั้งดื้อต่อยากลุ่ม Macrolide และ Chloramphenical ด้วย (ศศิธร ลิขิตนุกูล และคณะ, 2543) สำหรับในประเทศไทยตรวจพบเชื้อ "True" MRSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง จำนวน 105 สิ่งส่งตรวจ ระหว่างปี ค.ศ. 1994-1996 โดยวิธี Oxacillin Disc Diffusion พบเชื้อ "True" MRSA จำนวน 72 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 69 (Aswapokee, Tiengrim, Charoensook, & Sangsiriwut, 1997) กลไกการดื้อยาของเชื้อดังกล่าวเกิดจากผนังเซลล์สร้าง PBP ผิดปกติ เรียกว่า PBP2a โดยมียีน *mecA* เป็นยีนควบคุมในการสร้างซึ่ง PBP ทำหน้าที่เกี่ยวกับปฏิกิริยา Transpeptidation และCarboxypeptidation โดยมีความสำคัญต่อการเกิด Cross Link ของ Peptidoglycan Back Bone ในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ดังนั้น PBP2a จึงทำหน้าที่แทน PBP ปรกติ แต่ PBP2a จับกับ Beta-lactam ได้ไม่ดียาจึงออกฤทธิ์ได้ไม่ดี แบคทีเรียจึงไม่ถูกยับยั้งด้วยยาในกลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin (ศศิธร ลิขิตนุกูล และคณะ, 2543) จากการศึกษาของ Aswapokee et al. (1997) พบว่า เชื้อ "True" MRSA มีระดับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยา Methicillin ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (MIC) มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนั้น ตรวจพบเชื้อดังกล่าวจำนวน 72 สายพันธุ์ ดื้อต่อยา Gentamycin, Netilmicin และ Amicocin คิดเป็นร้อยละ 96, 17 และ 89 ตามลำดับ

2. Borderline Oxacillin-Resistant *S. aureus* (BORSA)

ปรากฏการณ์การดื้อยาครั้งแรกของเชื้อ BORSA มีลักษณะที่แสดงออกแบบ Non-heterogeneous มีระดับค่า MIC ของยา Oxacillin น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ต่อมาภายหลัง พบว่า เชื้อดังกล่าวดื้อต่อยา Oxacillin เพิ่มขึ้น โดยมีระดับค่า MIC อยู่ระหว่าง 2-8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สายพันธุ์ Borderline Resistant แตกต่างจาก MRSA สายพันธุ์ "True" MRSA เนื่องจากสายพันธุ์ Borderline Resistant ไม่ดื้อต่อยาข้ามกลุ่ม (Nelson et al., 2006) ในประเทศไทยตรวจพบเชื้อ BORSA จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง ระหว่างปี ค.ศ. 1994-1996 โดยวิธี Oxacillin Disc Diffusion พบเชื้อ BORSA จำนวน 11 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 10 อีกทั้งได้ทดสอบความไวของยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam, Chloramphenicol และ Erythomycin ต่อการยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ Beta-lactamase โดยวิธี Agar Dilution พบว่า BORSA

ไวต่อยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam และ Erythomycin ทุกสายพันธุ์ ส่วน Chloramphenicol คิดเป็นร้อยละ 82 (Aswapokee et al., 1997) เชื้อ BORSA มีกลไกการดื้อยาโดยเชื้อสังเคราะห์เอนไซม์ Beta-lactamase มากเกินไป (Hyperproducing Beta-lactammase) ดังนั้น เอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายบางส่วนของยากลุ่ม Penicillinase-Resistant Penicillin และ Cephalosporins ได้ แต่เชื้อสายพันธุ์ BORSA กลับมาไวต่อยากลุ่ม Beta-lactam ได้อีกเมื่อนำมาทดสอบร่วมกับสารยับยั้งเอนไซม์ Beta-lactamase เช่น Clavulanic Acid และ Sulbactam เป็นต้น จากงานวิจัยของ McDaugal and Thornsberry (1986) วิเคราะห์ค่า MIC ของยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactams ประกอบด้วย Penicillin, Oxacillin, Cephalothin และ Methicillin ร่วมกับ Clavulanic Acid ที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน Sulbactam ใช้ระดับความเข้มข้น 8 และ 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จากผู้ป่วยในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยวิธี Microdilution Plate พบว่า เมื่อใช้ยา Penicillin, Oxacillin, Cephalothin และ Methicillin โดยไม่เติมสารยับยั้งเอนไซม์ Beta-lactamase มีระดับค่า MIC น้อยกว่าหรือเท่ากับ 128, 2, 2 และ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อใช้ยาปฏิชีวนะดังกล่าวร่วมกับ Clavulanic Acid ที่ระดับความเข้มข้น 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อสายพันธุ์ BORSA ดีขึ้น เนื่องจากมีระดับค่า MIC ต่ำลง คือ 1, 0.25, น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.25 และ 1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนั้นใช้ยาปฏิชีวนะ Penicillin, Oxacillin, Cephalothin และ Methicillin ร่วมกับ Sulbactam ที่ระดับความเข้มข้น 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบมีระดับค่า MIC เท่ากับ 0.96, 0.25, น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.25 และ 1.80 ตามลำดับ จากการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเชื้อ BORSA สามารถกลับมาไวต่อยากลุ่ม Beta-lactams ได้อีกเมื่อนำมาใช้ร่วมกับ Clavulanic Acid และ Sulbactam

3. Modified-Resistant *S. aureus* (MODSA)

MODSA จัดอยู่ในกลุ่ม Borderline Resistant เป็นเชื้อสายพันธุ์ที่มียีน *mecA* เกิดความบกพร่องและมีการเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มจำนวนของ PBP อื่นที่ไม่ใช่ PBP2a ทำให้กลไกการดื้อยาต่างจากสายพันธุ์ BORSA จากความบกพร่องของยีน *mecA* ส่งผลให้มีการสร้าง PBP4 เพิ่มขึ้นร่วมกับการมี PBP1 และ PBP2 ลดลง บางสายพันธุ์มีการกลายพันธุ์ของ PBP2 กลไกเหล่านี้ทำให้การจับของ Beta-lactam ต่อ PBP ลดลง (Crossley et al., 2009) จากการแยกเชื้อจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชขนาด 2,000 เตียง จำนวน 105 สิ่งส่งตรวจ ระหว่างปี ค.ศ. 1994-1996 พบผู้ติดเชื้อสายพันธุ์ MODSA จำนวน 22 สิ่งส่งตรวจ คิดเป็นร้อยละ 21 เมื่อนำมาทดสอบความไวต่อยา Amoxicillin-Clavulanate, Ampicillin-Sulbactam

และ Erythomycin พบว่า MODSA ทุกสายพันธุ์ไวต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าว และไวต่อยา Chloramphenicol คิดเป็นร้อยละ 72 (Aswapokee et al., 1997) และมีระดับค่า MIC ของยา Oxacillin เท่ากับ 64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Crossley et al., 2009)

4. Methicillin-Aminoglycoside-Resistant *S. aureus* (MARSA)

MARSA จัดเป็นเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่สามารถดื้อต่อยา Methicillin และ Aminoglycoside เชื้อดังกล่าวมีพัฒนาการการดื้อยาสูงกว่า MRSA เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์ MARSA สามารถผลิตเอนไซม์ Aminoglycoside-modifying ชนิด Bifunctional Enzyme ประกอบด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ Aminoglycoside 6'-N-Acetyltransferase (AAC(6')) และ Aminoglycoside 2"-Phosphotransferase (APH(2")) เอนไซม์ดังกล่าวมีผลไปเร่งปฏิกิริยา N-acetylation และ O-phosphorylation ตามลำดับ จากการผลิตเอนไซม์ดังกล่าวมีผลต่อการดื้อยากลุ่ม Aminoglycoside โดยเฉพาะ Gentamycin และ Amikacin เป็นต้น (Crossley et al., 2009) ในช่วงปี ค.ศ. 1998-1990 ตรวจพบเชื้อ MARSA ในโรงเรียนแพทย์ที่ประเทศสิงคโปร์ จำนวน 26 สายพันธุ์ จากผู้ป่วยทั้งสิ้น 400 ราย จากนั้นนำเชื้อทั้ง 26 สายพันธุ์มาทดสอบความไวต่อยา Methicillin, Gentamycin และ Amikacin โดยวิธี Disc Diffusion พบว่า เชื้อ MARSA ทุกสายพันธุ์ไวต่อยาปฏิชีวนะทั้ง 3 ชนิด อีกทั้งนำมาทดสอบหาระดับค่า MIC โดยวิธี Agar Dilution พบว่า ยาทั้ง 3 ชนิดมีค่า MIC อยู่ระหว่าง 128-256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Jacob & Meers, 1992)

2.6 พืชสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษา

1. ต้นกระทือป่า (พงษ์ศักดิ์ พลเสนา, 2550)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber thorelii* Gagnep.

ชื่อวงศ์ *Zingiberaceae*

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นเป็นเหง้าใต้ดิน ใบเดี่ยว ดอกออกเป็นช่อแตกช่อจากเหง้าใต้ดิน

2. ต้นขิงแม่โขง (ปราโมทย์ ไตรบุญ, ประนอม จันทรโณทัย และไคร์ ลาร์เซน, 2548)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Zingiber mekongense* Gagncp.

ชื่อวงศ์ Zingiberaceae

ชื่ออื่น ๆ ขิงแห้ง, ขิงแม่โขง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นพืชสมุนไพรที่มีขนาดกลาง พบในบริเวณป่าดิบแล้งในภาคตะวันออกเฉียงใต้ ช่อดอกทอดเลื้อย ก้านช่อสั้น ดอกสีแดง กลีบปากลายชมพู ดอกบานในเดือนกรกฎาคม

สรรพคุณ (พงศักดิ์ พลเสนา, 2550)

เหง้า ขับลมช่วยย่อยอาหาร ดับกลิ่นคาวในอาหารประเภทเนื้อ

หน่ออ่อนและดอก รับประทานเป็นผัก ช่วยขับลม

ภาพที่ 2-2 ลักษณะลำต้นและเหง้าใต้ดินของขิงแม่โขง (*Zingiber mekongense* Gagnep.)

(ภาวิณี อุ่นกอง, 2552)

3. ว่านริดสีดวง (สถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช, ม.ป.ป.)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Curcuma* sp.

ชื่อวงศ์ Zingiberaceae

ชื่ออื่น ๆ ว่านริดสีดวง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ใบเรียวยาว ท้องใบมีขนนิ่ม รากมีลักษณะเป็นเหง้า เนื้อในสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ ในฤดูแล้งว่านจะลงหัว (ทิ้งใบเหนือดิน) ทำให้มองไม่เห็นต้น ดังนั้นก่อนที่ว่านจะลงหัวก็ให้ขุดเหง้าและตากแห้งไว้เพื่อใช้ได้นาน ๆ

สรรพคุณทางยา

เหง้าหรือลำต้นใต้ดิน ใช้รักษาโรคริดสีดวงทวาร

ภาพที่ 2-3 ลักษณะลำต้นและเหง้าใต้ดินของว่านริดสีดวง (*Curcuma* sp.) (ภาวิณี อุ่นกอง, 2552)

2.7 สารสำคัญในพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรที่ใช้รักษาโรคมีมากมายหลายชนิดและกระจัดกระจายอยู่ทั่วไป คุณภาพของพืชสมุนไพรจะดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลาย ๆ อย่าง เช่น สภาวะแวดล้อมในการปลูก ฤดูกาลและช่วงเวลาที่เก็บสมุนไพร เป็นต้น ในยาสมุนไพรแต่ละชนิดประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิดบางชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ซึ่งมักเรียกว่าเป็นสารสำคัญ สามารถนำมาใช้เป็นยา นอกจากนี้ยังใช้เป็นองค์ประกอบในอาหารและเครื่องสำอาง สารสำคัญในพืชสมุนไพรมีหลายชนิด โดยจะกล่าวต่อไปนี้ (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2550)

คาร์โบไฮเดรต เป็นสารอินทรีย์พบในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ พบมีการนำคาร์โบไฮเดรตมาใช้ประโยชน์ทั้งด้านอาหารและทางเภสัช เช่น แป้งใช้เป็นสารช่วยการแตกตัวของยาเม็ด น้ำตาลใช้แต่งรสหวานในยาน้ำ และวุ้นใช้เป็นยาระบาย

ไขมัน เป็นสารอินทรีย์ซึ่งเป็นเอสเทอร์ที่เกิดจากกรดไขมันจับกับแอลกอฮอล์ ในทางเภสัชกรรมมีการนำไขมันมาใช้ประโยชน์หลายประการ เช่น น้ำมันละหุ่งถูกนำมาใช้เป็นยาถ่ายอย่างแรง น้ำมันถั่วเหลืองนำมาใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับยาฉีด น้ำมันมะพร้าว ใช้ในการเตรียมสบู่และแชมพู

โปรตีน กรดอะมิโน และเอนไซม์ เป็นสารอินทรีย์ที่ไม่มีไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุล เกิดจากกรดอะมิโนมาจับกันเป็นสายยาว ในทางเภสัชกรรมนำโปรตีนมาใช้ประโยชน์ หลายประการ เช่น เจลลาตินนำมาใช้เป็นสารเคลือบยาเม็ด สารแขวนตะกอนในยาน้ำ และใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ

แอลคาลอยด์ พบมากในพืชชั้นสูง เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ และถูกนำมาใช้มากเพื่อเป็นยารักษาโรค เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ แก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะอาหาร และยาลดความดัน

สารกลุ่มฟีนอลิค เป็นกลุ่มสารอินทรีย์ที่ไม่มีไนโตรเจนในโมเลกุล สารในกลุ่มนี้สามารถแบ่งได้เป็น ฟีนอล กรดฟีนอลิค อนุพันธ์กรดฟีนอลิค อนุพันธ์คูมารินส์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และสารกลุ่มควิโนน สารเหล่านี้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรม เช่น ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ใช้ในการเตรียมผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อในช่องปาก ใช้เป็นยาขยายหลอดเลือดหัวใจ มีฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านไวรัส ใช้เป็นยาฝาดสมานแผลและเป็นยาระบายตามลำดับ

เทอร์พีนอยด์และสเตอรอยด์ พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ส่วนใหญ่ละลายได้ดีในไขมัน และไม่มีสี การนำมาใช้ประโยชน์ด้านเภสัชกรรม เช่น ใช้เป็นสารฆ่าเชื้อโรค แก้ปวดท้อง รวมถึงใช้ในการช่วยแต่งกลิ่นในเครื่องสำอาง ส่วนสเตอรอยด์ถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นยาลดการอักเสบยารักษาโรคหัวใจ ยาขับปัสสาวะนอกจากนี้สามารถนำมาสังเคราะห์เป็นฮอร์โมนเพศและยาคุมกำเนิด

กลัยโคไซด์ เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายได้ในตัวทำละลายมีขั้ว การนำมาใช้ประโยชน์ด้านเภสัชกรรม เช่น ช่วยกระตุ้นการหายใจ แต่หากได้รับปริมาณมากจะเกิดอันตรายถึงชีวิตได้ (นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, 2544)

2.8 การเตรียมพืชสมุนไพร

สมุนไพรที่นำมาสกัดอาจอยู่ในรูปพืชสดหรือพืชแห้ง สิ่งที่ควรคำนึงถึงประการแรก คือ ต้องมีการตรวจเอกลักษณ์ให้ถูกต้องโดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชสมุนไพรที่เก็บจากป่าอาจเกิดความผิดพลาดได้ง่าย เนื่องจากพืชมีลักษณะคล้ายกันหรือมีชื่อพ้องกัน นอกจากนี้หากเป็นพืชสมุนไพรที่หายากและขาดแคลน อาจมีการปลอมปน สำหรับพืชสมุนไพรที่ได้จากการเพาะปลูกไม่ค่อยมีปัญหาในเรื่องนี้ ดังนั้น ในการคัดเลือกสมุนไพรเพื่อให้ได้สรรพคุณที่ดีควรเริ่มตั้งแต่การปลูกให้ต้นเจริญงอกงาม จากนั้นเก็บให้ถูกช่วงเวลาที่เหมาะสม (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2550)

ราก เหง้า หรือหัว ควรเก็บตอนที่พืชหยุดการเจริญเติบโต ใบและดอกร่วงหมด ซึ่งเป็นช่วงต้นฤดูหนาวไปจนถึงฤดูร้อน เช่น กระชาย ขมิ้น และข่า เป็นต้น

เปลือกต้นและเปลือกราก ควรเก็บก่อนพืชเริ่มผลิใบใหม่ซึ่งเป็นช่วงก่อนฤดูฝน เปลือกจะมีปริมาณของสารสูงและเปลือกลอกออกง่าย

ใบ ควรเก็บเมื่อใบเจริญเต็มที่แล้ว เริ่มออกดอก และควรเก็บในเวลากลางวันที่มีอากาศแห้ง

ดอก ควรเก็บเมื่อดอกเจริญเต็มที่ หรือเริ่มบาน

ผล เก็บเมื่อผลเจริญเติบโตเต็มที่หรือสุกเต็มที่ โดยขึ้นอยู่กับชนิดของพืช

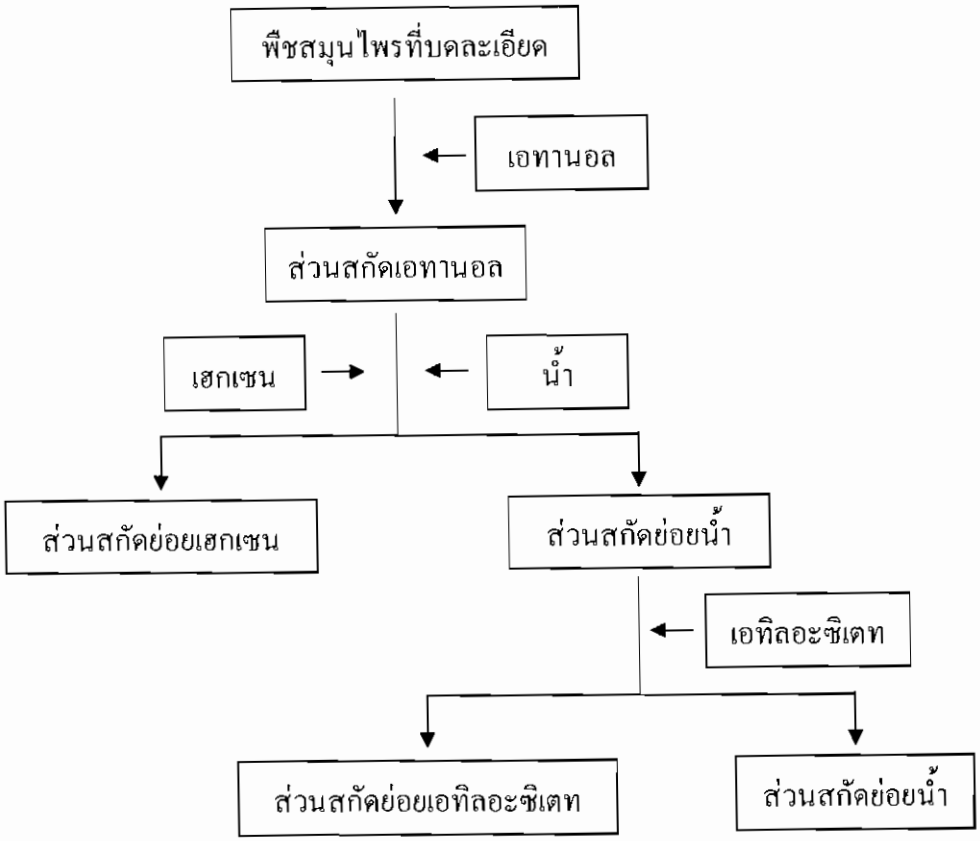
เมล็ด ควรเก็บเมื่อผลสุกงอมเต็มที่ แต่ควรเก็บก่อนที่จะแตก (จิดรลดา ชมบุญ, 2549)

พืชสมุนไพรที่เก็บเกี่ยวได้ต้องทำการตรวจสอบว่าไม่มีพืชอื่นหรือสารอื่นปะปน เนื่องจากอาจรบกวนการตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญในขั้นตอนต่อไป นอกจากนี้ควรสะอาดปราศจากสิ่งแปลกปลอม ไม่มีเชื้อรา หรือโรคพืชติดมา เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชอาจให้สารที่ถูกสกัดออกมาพร้อมกับสารที่ต้องการหรือจุลินทรีย์เหล่านี้อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการชีวสังเคราะห์ทำให้ได้สารที่แตกต่างออกไปจากธรรมชาติ ในการเก็บรักษาพืชสมุนไพรให้มีคุณภาพของสมุนไพรที่ดีควรนำพืชสมุนไพรไปทำให้แห้งด้วยวิธีที่เร็วและใช้อุณหภูมิต่ำ เพราะอุณหภูมิที่สูงจะทำให้สารสำคัญสลายหรือเปลี่ยนแปลงได้ การทำให้แห้งอาจใช้แสงแดดหรือความร้อนจากเครื่องมือ วิธีหลังมีข้อดีกว่าเนื่องจากมีการควบคุมอุณหภูมิและความสม่ำเสมอของการหมุนเวียนของอากาศได้ เมื่อพืชสมุนไพรแห้งแล้วควรเก็บรักษาไว้ให้เหมาะสม คือ ไว้ในที่แห้ง มืด เย็น และมีอากาศหมุนเวียนให้เหมาะสม เพื่อให้มีคุณภาพสูง ก่อนทำการแยกสกัดโดยทั่วไปควรหลีกเลี่ยงการเก็บสมุนไพรไว้เป็นเวลานาน ๆ เนื่องจากความชื้นและแสงมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ก่อนทำการสกัดควรต้องบดให้มีขนาดเล็กลง เพื่อให้การสกัดสารสำคัญจากพืชได้ผลดี เนื่องจากองค์ประกอบสำคัญจะอยู่ภายในเซลล์ เมื่อผงสมุนไพรได้สัมผัสกับตัวทำละลายที่เหมาะสมองค์ประกอบเหล่านั้นจะละลายออกมา

การสกัดจะสมบูรณ์ได้ถ้าเซลล์แตกออกและตัวทำละลายเข้าไปสัมผัสองค์ประกอบสำคัญได้มากที่สุด ดังนั้นในการสกัดพืชสมุนไพรจึงจำเป็นต้องบดพืชสมุนไพรให้เป็นผงละเอียดเพื่อทำลายผนังเซลล์และเพิ่มพื้นที่ผิวของพืชสมุนไพรที่สัมผัสกับตัวทำละลาย (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2550)

2.9 การสกัดสารจากพืชที่ใช้ในการทดลอง

นำสมุนไพรที่บดละเอียดใส่ในถุงผ้า จากนั้นแช่ถุงผ้าในสารละลายเอทานอล 2.5 ลิตร เป็นระยะเวลา 5 วันและต้องเขย่าถุงผ้าทุก ๆ วันในช่วงเวลาเช้าและเย็น กรองส่วนสกัดที่ได้ด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำผงของพืชสมุนไพรไปใส่ถุงเพื่อสกัดด้วยเอทานอลซ้ำอีก 2 ครั้งและนำส่วนสกัดที่ได้ทั้งหมดมาทำการระเหยตัวทำละลายเอทานอลด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) และเครื่องดูดสุญญากาศ (Vacuum Pump) ตามลำดับ ชั่งน้ำหนักส่วนสกัดเอทานอลที่ได้และเก็บไม่ให้โดนแสงที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการสกัดแยกเอทานอลโดยนำส่วนสกัดเอทานอลละลายด้วยเอทานอล 300 มิลลิลิตร เติมน้ำ 100 มิลลิลิตรและเติมเฮกเซนจำนวน 200 มิลลิลิตรอีกครั้ง นำชั้นเฮกเซนรวมกับชั้นเฮกเซนที่สกัดได้ในครั้งแรก จากนั้นนำส่วนชั้นน้ำสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท 2 ครั้ง ครั้งละ 200 มิลลิลิตร ตามแผนผังการสกัดในภาพที่ 2-4 และระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนและเครื่องดูดสุญญากาศ ตามลำดับ ชั่งน้ำหนักส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำที่ได้ก่อนนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยไม่ให้โดนแสง (ปริศนา โภคาพานิช, 2551)



ภาพที่ 2-4 แผนผังการแยกส่วนของพืช (ปริศนา โภคาพานิช, 2551)

2.10 ตรวจสอบหาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากแผ่น Thin Layer Chromatography (TLC) ด้วยเทคนิค Agar Diffusion Bioautography

ไบโอออโตกราฟี เป็นเทคนิคที่รู้จักกันมาตั้งแต่ราวปลายปี ค.ศ. 1950 นำมาใช้ในการตรวจสอบหาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกออกจากกันบนแผ่น TLC ไบโอออโตกราฟีจัดเป็นเทคนิคผสานร่วมกันระหว่างการแยกสารด้วยวิธี TLC กับการตรวจหาฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธีที่เหมาะสม เทคนิคดังกล่าวเป็นเทคนิคที่ง่าย สะดวก และเป็นที่นิยมใช้มากสำหรับการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดที่มีต่อเชื้อแบคทีเรียและราสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยเฉพาะที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในคน เช่น *Candida albicans*, *C. neoformans*, *Aspergillus fravus*, *A. fumigates* และ *A. niger* เป็นต้น ซึ่งในการทดลองจากงานวิจัยนี้เลือกใช้เทคนิคไบโอออโตกราฟีเพื่อการตรวจหาฤทธิ์ต้านจุลชีพด้วยวิธี Agar Diffusion Bioautography โดยนำแผ่น TLC ที่มีสารปรากฏที่ตำแหน่งต่าง ๆ วางทาบลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบทิ้งไว้สักครู่ แยกแผ่น TLC ออกก่อนนำจานอาหารเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม อ่านผลโดยดูจากตำแหน่งของโซนใสที่ปรากฏใน

สารตัวอย่าง ซึ่งผลการแสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารโดยอาศัยเทคนิคนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการแพร่ของสารแต่ละชนิดสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ สารออกฤทธิ์บางชนิดอาจให้ผลลบลวง เนื่องจากสารออกฤทธิ์บางชนิดดูดซับอยู่บนแผ่น TLC อย่างเหนียวแน่นไม่สามารถแพร่สู่อาหารเลี้ยงเชื้อไปออกฤทธิ์ต่อเชื้อได้ (ปนัดดา พัฒนวศิน, 2550)

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Punopas (2002) ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของพืชสมุนไพร เพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจากพืช 4 ชนิดในวงศ์กะเพรา (Lamiaceae) ซึ่งเป็นพืชที่ใช้ในการประกอบอาหารเพื่อให้มีกลิ่นหอม และยังสามารถนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรได้ เช่น ใช้เป็นยาระบาย ลดความอ้วน แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ และใช้รักษากลากเกลื้อน เป็นต้น พืชสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษามี 4 ชนิด คือ สะระแหน่สวน (*Mentha cordifolia* Opiz ex Fresen), โหระพา (*Ocimum basilicum* L.), แมงลัก (*O. basilicum* L.forma *citratum* Back) และแมงลักคาหรือกะเพราผี (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit) โดยนำพืชแต่ละชนิดมาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้น จากนั้นศึกษาการออกฤทธิ์เสริมกันในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการคัดแยกทางคลินิกทั้งชนิดที่ไวและดื้อต่อยาปฏิชีวนะ พืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่ใช้ในการทดสอบ โดยแมงลักคาแสดงการต้านเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Methicillin ได้สูงสุด และแมงลักคาเมื่อใช้ร่วมกับแมงลักแสดงการเสริมฤทธิ์กันในการต้านเชื้อ Ciprofloxacin-Resistant *P. aeruginosa* จำเป็นที่จะต้องมีการค้นคว้าเพิ่มเติมในห้องปฏิบัติการและการศึกษาทางคลินิก เพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับการพัฒนาการใช้สมุนไพรเหล่านี้เป็นแหล่งใหม่ของยาต้านจุลชีพ

Camporese et al. (2003) ศึกษาความสามารถการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากส่วนสกัดจำนวน 21 ชนิด ที่สกัดจากพืชสมุนไพร 7 ชนิด คือ *Aristolochia trilobata* (ใบและเปลือก), *Bursera simaruba* (เปลือก), *Guazuma ulmifolia* (เปลือก), *Hamelia patens* (ใบ) และ *Syngonium podophyllum* (ใบและเปลือก) ที่ใช้เป็นยาแผนโบราณใน Belize (Central America) โดยใช้ในการรักษาบาดแผลซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาต้านแบคทีเรีย จากคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้นจึงนำมาทดสอบประสิทธิภาพของสมุนไพรดังกล่าว โดยนำมาทดสอบต่อเชื้อ *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923 และ *Enterococcus faecalis* ATCC 292122 พบว่าส่วนสกัดจากเฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอลของ *G. ulmiforia* และ *H. patens* ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้เพียงชนิดเดียวและส่วนสกัดที่เหลือมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียได้มากกว่า 1 ชนิด แต่ส่วนสกัดทั้งหมดไม่มีผลในการออกฤทธิ์ต้าน *E. faecalis* ATCC 292122 จากนั้นนำมาศึกษา

หาระดับความเข้มข้นที่ต่ำสุดของส่วนสกัดที่สามารถต้านแบคทีเรีย (MIC) พบว่า ส่วนสกัดเฮกเซนจากใบและเปลือกของ *A. trilobata* ออกฤทธิ์ในการต้าน *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด และมีค่า MIC เท่ากับ 0.310 และ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Oonmettaaree, Suzuki, Gasaluck, and Eumkeb (2005) ศึกษาส่วนสกัดหยาบจากพืชเครื่องเทศ 4 ชนิดในวงศ์ขิงข่าได้แก่ ข่า (*Alpinia galangal* (Linn) Swartz.), ขิง (*Zingiber officinalis* Roscoe.), ขมิ้น (*Curcuma longa* Linn.) และกระชาย (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Holtt.) ได้นำมาทำการหาค่าความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและประเมินการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ ส่วนสกัดหยาบจากเครื่องเทศเตรียมจากตัวทำละลายได้แก่ เมทานอล เอทานอล และเอทิลอะซิเตท และทดสอบผลของการต้านตัวแทนของเชื้อแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ได้แก่ *S. aureus* และ *E. coli* โดยนำส่วนสกัดจากเมทานอลและเอทานอลของข่านำไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียอื่น ๆ เช่น *S. epidermidis*, *S. lactis*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *Salmonella* sp., *E. aerogenes*, *P.aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* และ MRSA โดยวิธี Broth Dilution เป็นวิธีซึ่งใช้ในการทดสอบผลของการต้านเชื้อแบคทีเรียของส่วนสกัดจากน้ำ พบว่า ส่วนสกัดน้ำจากขิงที่ระดับความเข้มข้น 5.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลดีที่สุดต่อการต้านการเจริญเติบโตของตัวแทนของเชื้อแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ได้แก่ *S. aureus* และ *E. coli* และส่วนสกัดจากเครื่องพืชเทศชนิดอื่นที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน คือ 5.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรให้การต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองชนิด จากนั้นใช้วิธี Agar Disc Diffusion เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อจากส่วนสกัดเมทานอล เอทานอล และเอทิลอะซิเตท ส่วนสกัดจากข่าด้วยเมทานอล เอทานอลและเอทิลอะซิเตท ให้ผลในการต้านเชื้อ *S.aureus* ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนสกัดจากเครื่องพืชเทศชนิดอื่น จากการวิเคราะห์ค่า MIC ของส่วนสกัดจากข่าด้วยเมทานอลที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อ *S. aureus* คือ 0.800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC ของเชื้อ *S. aureus* คือ 1.600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า MIC ของส่วนสกัดจากข่าด้วยเอทานอลของเชื้อ *S. aureus* คือ 0.325 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC ของเชื้อ *S. aureus* คือ 1.300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ส่วนสกัดจากข่ายังสามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. epidermidis* และ *S. cerevisiae* แต่สามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. cereus* และ *B. megaterium* ได้เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ไม่สามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแกรมลบบางชนิด ได้แก่ *Salmonella* sp., *E. aerogenes* และ *P. aeruginosa* ได้เลย

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในส่วนสกัดจากข่าด้วยเมทานอลและเอทานอล ด้วยวิธี TLC Mass Spectrometry (MS) และ Nuclear Magnetic Resonance (NMR) พบสารประกอบในส่วนสกัดจากข่าด้วยเมทานอลและเอทานอล ได้แก่ D, L-1'-acetoxychavicol Acetate, *p*-Coumaryl Diacetate และ Acetoxyeugenol Acetate เมื่อนำส่วนสกัดเมทานอลและเอทานอลจากข่ามาทำการวิเคราะห์หากลไกและบริเวณที่สารสกัดเข้าทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์เบื้องต้นด้วยการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน การตรวจสอบปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ Arginine Dihydrolase และ Urease การวัดปริมาณการนำเข้าของสารเรืองแสง Propidium Iodide เมื่อสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าส่วนสกัดเมทานอลของข่าก่อให้เกิดการรวมตัวของ Cytoplasm และการขาดหายของ Cytoplasm ในเซลล์ และส่วนสกัดเอทานอลของข่าแสดงการเปลี่ยนแปลงความแข็งแรงของเยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ ซึ่งส่วนสกัดทั้งสองชนิดสามารถชะลอการใช้น้ำตาลและต้านการทำงานของเอนไซม์ Arginine Dihydrolase และ Urease ภายใน 48 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ *S. aureus* ซึ่งถูกกระทำด้วยส่วนสกัดแสดงการนำเข้าของ Propidium Iodide เพิ่มขึ้นซึ่งบ่งชี้ว่ามีการนำเข้าสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น

จากการทดลองข้างต้น พบว่า ส่วนสกัดหยาบจากเมทานอลและเอทานอลของข่าสามารถต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดและยีสต์ ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการรบกวนความแข็งแรงของผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ และรบกวนการทำงานของเอนไซม์ Arginine Dihydrolase และ Urease

Wilson et al. (2005) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากส่วนสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม อะซิโตน และเอทานอล ของเหง้าขมิ้นอ้อย (*C. zedoria*) และ *C. malabarica* นำมาทดสอบกับแบคทีเรีย 6 ชนิดและรา 2 ชนิด โดยวิธี Agar Well Diffusion พบแสดงการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและรา จากนั้นศึกษาต่อเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของส่วนสกัดขมิ้นอ้อยและ *C. malabarica* ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุดของส่วนสกัดที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อโดยวิธี Broth Dilution พบว่า *C. malabarica* (MIC = 0.01-0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ดีกว่าขมิ้นอ้อย (MIC=0.01-0.94 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *C. malabarica* แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S. aureus* แต่ขมิ้นอ้อยไม่แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S. aureus* จากการทดลองนี้พบว่า ส่วนสกัดจาก *C. malabarica* เป็นที่น่าสนใจที่จะพัฒนาเป็นยาสมุนไพรในการรักษาโรคเช่นเดียวกับขมิ้นอ้อย

Betoni, Mantovani, Barbosa, Di Stasi, and Junior (2006) ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพซึ่งมีการศึกษากันอย่างกว้างขวางและพืชสมุนไพรก็เป็นที่นิยมนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ โดยศึกษาการออกฤทธิ์เสริมกันระหว่างยาปฏิชีวนะ 13 ชนิดและส่วนสกัดพืชสมุนไพร 8 ชนิด ได้แก่ *Mikania glomerata* (guaco), ฝรั่ง (*Psidium guajava*), กานพลู (*Syzygium aromaticum*), กระเทียม (*Allium sativum*), ตะไคร้ (*Cymbopogon citrates*), ขิง, *Baccharis trimera* (cargueja) และ สะระแหน่ญี่ปุ่น (*Mentha piperita*) ต่อการต้านเชื้อ *S. aureus* โดยวิธี Disc Diffusion และศึกษาการออกฤทธิ์เสริมกันของส่วนสกัดพืชสมุนไพรและยาต้านจุลชีพ พบว่า กานพลู, ฝรั่ง และตะไคร้ แสดงการออกฤทธิ์เสริมกันระหว่างยาด้านแบคทีเรียได้ 11, 9 และ 11 ชนิด ตามลำดับ ส่วนขิงและกระเทียม แสดงผลการออกฤทธิ์เสริมกันกับยาด้านแบคทีเรียได้ 2 และ 3 ชนิด ตามลำดับ

Trakulsomboon, Kummaluc, and Jiratchariyakul (2006) ศึกษาพืชสมุนไพรไทย 4 ชนิด ได้แก่ ขอบชะนางแดง (*Pouzolzia pentandra*), ขันทองพยาบาท (*Gelonium multiflorum*), พระขรรค์ไชยศรี (*Erycibe elliptilimba*) และโหราเทาสุนัข (*Balanophora abbreviate*) ซึ่งมีสรรพคุณในการรักษาโรคติดเชื้อบางชนิดรวมถึงรักษาอาการไข้ที่ไม่ทราบสาเหตุมาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของพืชสมุนไพรไทยทั้ง 4 ชนิด โดยวิธี Macrodilution Assay ต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *E. coli* ATCC 25922 พบว่า ส่วนสกัดน้ำต่อเมทานอลจากโหราเทาสุนัขมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 โดยมีค่า MIC เท่ากับ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งผลการออกฤทธิ์ของสมุนไพรเป็นการด้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเท่านั้น

Shan et al. (2007) ศึกษาฤทธิ์ด้านแบคทีเรียในหลอดทดลองโดยทดสอบกับส่วนสกัดพืชเครื่องเทศและสมุนไพรที่สกัดด้วยเมทานอลจำนวน 46 ชนิด และศึกษาการออกฤทธิ์ด้านเชื้อที่นำมาทดสอบ 5 ชนิดซึ่งเป็นสาเหตุของอาหารเน่าเสีย ได้แก่ *B. cereus*, *Listeria monocytogenas*, *S. aureus*, *E. coli* และ *Salmonella anatum* โดยวิธี Agar Well Diffusion พบว่า สารประกอบฟีนอลิคมีผลในการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหาร โดยมีผลการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งเชื้อ *S. aureus* ไวต่อส่วนสกัดสมุนไพรที่นำมาทดสอบมากที่สุดและ *E. Coli* ดื้อต่อส่วนสกัดสมุนไพรที่นำมาทดสอบมากที่สุด จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารประกอบฟีนอลิคมีความสัมพันธ์ต่อการด้านแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบเนื่องจากฟีนอลิคจะออกฤทธิ์ที่บริเวณ Outer Membrane ของแบคทีเรียทดสอบ

เยาวลักษณ์ บานเพียน และพรรนิภา ศิริเพิ่มพูน (2551) ทดสอบประสิทธิภาพของ Curcuminoid ในการต้านการเจริญของเชื้อ *S. aureus* จำนวน 45 ไอโซเลท ซึ่งประกอบด้วยเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อยา Methicillin (MRSA) จำนวน 20 ไอโซเลทและสายพันธุ์ที่ไวต่อยา Methicillin (MSSA) จำนวน 25 ไอโซเลท ด้วยวิธี Agar Dilution พบว่า Curcuminoid สามารถต้านการเจริญของ MRSA และ MSSA ได้ โดยมีค่า MIC_{90} เท่ากัน คือ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของ Curcuminoid ร่วมกับยาปฏิชีวนะ พบว่า ฤทธิ์ร่วมระหว่าง Curcuminoid กับยา Tetracycline เมื่อทดสอบกับ MRSA และ MSSA แสดงการออกฤทธิ์เสริมกัน ส่วนฤทธิ์ร่วมระหว่าง Curcuminoid กับยา Gentamicin เมื่อทดสอบกับ MRSA แสดงผลเช่นเดียวกับฤทธิ์ร่วมกันระหว่าง Tetracycline แต่เมื่อทดสอบกับ MSSA มีฤทธิ์แบบเสริมกัน แสดงว่า Curcuminoid ที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านการเจริญของ MRSA และ MSSA ได้ และสามารถเสริมฤทธิ์กับยา Gentamicin ในการต้านการเจริญของ MSSA บางสายพันธุ์

Abdal et al. (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของ Zerumbone พบเป็นสารประกอบที่แยกได้จากเหง้ากระทือ (*Zingiber zerumbet* Smith.) ในการทดลองนี้ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายและแยกสารให้ได้สารประกอบบริสุทธิ์โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS) และ 13C NMR, 1H NMR จากนั้นนำสารประกอบ Zerumbone ที่เป็นสารบริสุทธิ์มาศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง Human Cervical Cancer Cell Line (HeLa) โดยใช้ Cisplatin เป็น Positive Control และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดย MTT Assay และ Caspase-3 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์จากการทดสอบความเป็นพิษของ Zerumbone โดยใช้ MTT assay พบว่า Zerumbone และ Cisplatin ที่ทำให้ HeLa Cancer Cell มีการรอดชีวิตครึ่งหนึ่ง (ID_{50}) มีค่า 11.3 ไมโครโมลาห์ (2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ 7.5 ไมโครโมลาห์ (1.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ ส่วน Caspase-3 สังเกตจากความแตกต่างของ HeLa Cancer cell เมื่อมี Zerumbone สูงขึ้น โดยเปรียบเทียบกับ Untreated Control Cell จากการศึกษาแสดงให้เห็นถึงการนำ Zerumbone มาพัฒนาเป็น Chemo-Naturaal Drug ในการรักษาโรคมะเร็ง

Natta, Orapin, Krittika, and Pantip (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรในวงศ์ขิงข่าที่สกัดได้จากขิง ข่า ขมิ้น กระชาย และเร่ว (*Anomum xanthioides*) ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ น้ำ ปิโตรเลียมอีเทอร์ และเอทานอล จากนั้นนำส่วนสกัดของน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษามาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* และ *L. monocytogenes* โดยวิธี Disc Diffusion พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยน้ำของกระชายและเร่วมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ทดสอบได้ทั้งหมด รวมทั้งน้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยน้ำของขิงออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก คือ *S. aureus*, *B. cereus* และ *L. monocytogenes* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 12.5, 6.25 และ 6.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นจึงวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีในส่วนสกัดน้ำจากน้ำมันหอมระเหยของพืชสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) พบสารที่ออกฤทธิ์ คือ Zingiberene, Methyl Chavicol, Turmerone, Grammar-Terpinene และ Methyl Chavicol ตามลำดับ

Chomnawang, Surasssmo, Wongsariya, and Bunyapraphatsara (2009) ศึกษาประสิทธิภาพของสมุนไพรไทย 17 ชนิด ที่สกัดด้วยเอทานอลต่อการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* และ MRSA โดยวิธี Disc Diffusion จากนั้นจึงนำมาศึกษาต่อเพื่อหาค่า MIC และ MBC โดยวิธี Microdilution พบว่า มังคุด (*Garcinia mangostana*) มีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุด จึงนำส่วนสกัดเอทานอลของมังคุดมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์โดยวิธี TLC พบว่า Prenylated, Xanthone และ Alpha-mangostin มีระดับค่า MIC และ MBC ของเชื้อ MRSA ที่ระดับความเข้มข้น 1.95 และ 3.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Moghaddam, Iranshahi, Yazdi, and Shahverdi (2009) ศึกษาประสิทธิภาพของเคอร์คูมินต่อการออกฤทธิ์เสริมกันของยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ โดยทำการทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* โดยวิธี Disc Diffusion ที่ระดับความเข้มข้นของเคอร์คูมิน 500 ไมโครกรัมต่อดิสก์ โดยเติมเคอร์คูมินที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวลงในแผ่นดิสก์ยาปฏิชีวนะมาตรฐานชนิดต่าง ๆ พบว่าเคอร์คูมินมีผลการออกฤทธิ์เสริมกันกับยาปฏิชีวนะพียง 4 ชนิด โดยมีผลในการออกฤทธิ์เสริมกับ Cefixime ได้ดีที่สุด คือ พบมีบริเวณยับยั้งสูงขึ้นร้อยละ 52.6 รองลงมา คือ Tetracycline (ร้อยละ 26.5), Vancomycin (ร้อยละ 24.9) และ Cephotaxime (ร้อยละ 24.4) จากผลการทดลองดังกล่าวจึงสันนิษฐานได้ว่า เคอร์คูมินอาจจะมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อเชื้อต่างจากยาปฏิชีวนะที่นำมาทดสอบ จากผลการทดลองจึงมีแนวคิดว่าเคอร์คูมินน่าจะมีผลต่อระบบ Efflux Pump

Panutat and Vataanyoopaisarn (n.d) ศึกษาความสามารถในการต้านแบคทีเรียจากพืชเครื่องเทศและสมุนไพรไทยจำนวน 19 ชนิด โดยวิธี Agar Diffusion พบว่า หัวหอม (*A. cepa*) กระเทียม พริก (*Capsisium frustescens*) หมาก (*Piper betel*) และฝรั่ง แสดงการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *S. aureus* จากนั้นนำส่วนสกัดน้ำและแอลกอฮอล์ของพืชเครื่องเทศและสมุนไพรไทยดังกล่าวมาศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียอีก 5 ชนิด พร้อมทั้งหาระดับค่า MIC ของเชื้อ พบว่า ส่วนสกัดจากหมากและใบฝรั่งมีความสามารถในการต้านแบคทีเรียคนละชนิดกับส่วนสกัดจากกระเทียมซึ่งค่า MIC ของส่วนสกัดจากกระเทียมและใบฝรั่งอยู่ระหว่าง 62.5-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงศึกษาประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์กันของส่วนสกัดจากกระเทียมกับหมาก และส่วนสกัดกระเทียมกับใบฝรั่ง พบว่า การออกฤทธิ์เสริมกันของส่วนสกัดดังกล่าวมีประสิทธิภาพดีกว่าส่วนสกัดของพืชเครื่องเทศและสมุนไพรไทยเพียงชนิดเดียว นอกจากนั้นส่วนสกัดจากใบฝรั่งที่ผ่านความร้อนยังคงมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

Sittiwet et al. (n.d.) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของส่วนสกัดหยาบจากดายขัด (*Malvastrum coromandelianum* Garcke.) โดยใช้วิธี Agar Disc Diffusion Susceptibility และ Broth Macrodilution พบว่า ส่วนสกัดดายขัดสามารถต้านการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ไวต่อยา Methhicillin (MSSA) ได้ 11 สายพันธุ์จาก 14 สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบและสามารถต้านการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา Methicillin (MRSA) ได้ 8 สายพันธุ์จาก 9 สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ ระดับค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของส่วนสกัดที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อ เท่ากับร้อยละ 25 (w/v) ไม่สามาถวัดค่า MBC ได้ อย่างไรก็ตาม พบว่า ส่วนสกัดสามารถฆ่าเชื้อ 11 สายพันธุ์จากเชื้อทดสอบทั้งหมด 14 สายพันธุ์ ผลการทดสอบสามารถสรุปได้ว่าส่วนสกัดร้อยละ 25 (w/v) นั้นให้ผลการต้านการเจริญของ *S. aureus* ทั้งแบบที่ไวและดื้อยา Methhicillin และสามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ในปริมาณต่ำได้ จึงทำให้ส่วนสกัดชนิดนี้เป็นที่น่าสนใจที่นำไปพัฒนาเป็นยารักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* และศึกษาฤทธิ์ด้านอื่นในการรักษาต่อไป