

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผล

5.1 อภิปรายผลการทดลอง

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยได้นำส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน และส่วนสกัดย่อยน้ำที่แยกได้จากส่วนสกัดหยาบเอทานอลของพืชสมุนไพรวงศ์จิงข้าจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ กระเทียมป่า จิงแมโจง และว่านริดสีดวง มาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300 และ *S. aureus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยจำนวน 41 ไอโซเลท ด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชทั้ง 3 ชนิด และส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากพืช 2 ชนิด คือ จิงแมโจงและว่านริดสีดวง ที่ขนาดบรรจุ 1 มิลลิกรัมต่อดิสก์ แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ทุกไอโซเลท ในขณะที่ส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากกระเทียมป่าที่ขนาดบรรจุเท่ากัน (1 มิลลิกรัมต่อดิสก์) แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้เพียง 11 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 25.58 ของแบคทีเรียทดสอบทั้งหมด สำหรับดิสก์ส่วนสกัดย่อยน้ำจากพืชทั้ง 3 ชนิดไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทุกไอโซเลท ข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า สารสกัดที่ได้จากพืชต่างชนิดกันอาจจะประกอบด้วยชนิดและ/หรือปริมาณของสารพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของส่วนสกัดย่อยที่แยกโดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มีประสิทธิภาพดีกว่าส่วนสกัดย่อยเฮกเซนและส่วนสกัดย่อยน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < .001$) แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายอินทรีย์ต่างชนิดกันมีประสิทธิภาพในการสกัดสารพฤษเคมีจากพืชสมุนไพรได้แตกต่างกัน ตัวทำละลายอินทรีย์ในกลุ่มที่ไม่มีขั้วก็จะดึงสารพฤษเคมีในกลุ่มสารที่ไม่มีขั้วออกมาจากสมุนไพร ส่วนตัวทำละลายอินทรีย์ในกลุ่มที่มีขั้วก็จะดึงสารพฤษเคมีในกลุ่มที่มีขั้วออกมา เฮกเซนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีค่าความแรงของความเป็นขั้ว (Elution Strength, P') อยู่ในระดับต่ำ ($P' = 0$) ดังนั้นกลุ่มของสารที่ดึงออกมาจากส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากพืชสมุนไพรจึงเป็นกลุ่มของสารพฤษเคมีที่มีขั้วต่ำ เอทิลอะซิเตทเป็นสารอินทรีย์ที่มีขั้วปานกลาง ($P' = 4.4$) ดังนั้นสารพฤษเคมีที่ดึงออกมาจากส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจึงเป็นกลุ่มสารที่มีขั้วปานกลาง และน้ำเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว ($P' = 10.2$) ดังนั้นสารพฤษเคมีที่ดึงได้จากส่วนสกัดย่อยน้ำจึงเป็นกลุ่มสารที่มีขั้ว ดังภาคผนวก ก-1 (ปนัดดา พัฒนาศิน, 2550) ดังนั้นจากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นว่าสารพฤษเคมีที่แยกได้จากพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุดเป็นสารในกลุ่มที่มีขั้วปานกลาง ซึ่งพบในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท รองลงมา คือ สารในกลุ่มที่มีขั้วต่ำ ซึ่งพบในส่วนสกัดย่อยเฮกเซน

อย่างไรก็ตามสารในกลุ่มที่มีขั้วสูงซึ่งพบได้ในส่วนสกัดย่อยน้ำไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ

เมื่อทำการตรวจหาค่า MIC และ MBC ของส่วนสกัดย่อยชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบด้วยวิธี Modified Agar Dilution โดยใช้ยาปฏิชีวนะ Oxacillin เป็นชุดควบคุม พบว่าค่า MIC₉₀ และ MBC₉₀ ของส่วนสกัดย่อยเฮกเซนและน้ำจากกระทือป่า จิงแม่โจง และว่านริดสีดวงมีค่ามากกว่า 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ในขณะที่ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากกระทือป่า จิงแม่โจง และว่านริดสีดวงแสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุดโดยมีค่า MBC₉₀ เท่ากัน คือ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร และมีค่า MIC₉₀ เท่ากับ 500, 1,000 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบเบื้องต้นด้วยวิธี Disc Diffusion ที่พบว่าส่วนสกัดย่อยที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุด คือ ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตท รองลงมา คือ ส่วนสกัดย่อยเฮกเซน และส่วนสกัดย่อยน้ำ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าค่า MIC ของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชทั้ง 3 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกับค่า MIC₉₀ ของ Oxacillin (512 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร) ที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดน่าจะมีศักยภาพในการที่จะนำมาพัฒนาเป็นสารต้านจุลชีพเพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียได้

เมื่อหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบกับคุณสมบัติความไวต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Methicillin (Oxacillin และ Cefoxitin) ของแบคทีเรียทดสอบ พบว่าคุณสมบัติความไวต่อยา Methicillin ของแบคทีเรียไม่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของส่วนสกัดย่อยจากพืชสมุนไพร แสดงให้เห็นว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดน่าจะมีศักยภาพในการที่จะนำมาพัฒนาเป็นสารต้านจุลชีพเพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อยาปฏิชีวนะ Methicillin ได้และอาจเป็นไปได้ว่ากลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสำคัญที่อยู่ในส่วนสกัดย่อยดังกล่าวแตกต่างจากกลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม Methicillin และกลไกการดื้อยาของแบคทีเรียทดสอบต่อสารสำคัญในส่วนสกัดย่อยทั้ง 3 ชนิดไม่น่าเกี่ยวข้องกับโปรตีน PBP2a ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการดื้อยา Methicillin ของ *S. aureus*

จากการแยกวิเคราะห์สารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 ในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทและเฮกเซนจากพืชทั้ง 3 ชนิด ด้วยเทคนิค TLC ร่วมกับ Agar Diffusion Bioautography พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากขิงแม่โขง ประกอบด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์จำนวน 2 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.740 ± 0.028 และ 0.765 ± 0.035) และสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะ *S. aureus* ATCC 43300 จำนวน 1 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.056) ในขณะที่ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากกระทือป่า พบเฉพาะสารสำคัญซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ATCC 43300 จำนวน 1 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.083) และส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากว่านริดสีดวงพบสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์จำนวน 1 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.750 ± 0.014) เท่านั้น เมื่อพิจารณาจากค่า R_f และฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแต่ละชนิดของสารสำคัญที่พบแต่ละกลุ่มจะเห็นได้ว่ากลุ่มสารสำคัญที่พบในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของกระทือป่านั้นจะแตกต่างจากกลุ่มของสารที่พบในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวง แต่สารทั้ง 2 กลุ่มนี้น่าจะเป็นสารที่พบในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของขิงแม่โขงหรืออาจกล่าวได้ว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของขิงแม่โขงมีกลุ่มสารพฤกษเคมีอย่างน้อย 3 ชนิดเป็นองค์ประกอบ และสารบางกลุ่มพบได้ในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวงแต่ไม่พบในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของกระทือป่า ในขณะที่สารบางกลุ่มพบได้ในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของกระทือป่าแต่ไม่พบในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของว่านริดสีดวง ซึ่งลักษณะดังกล่าวพบได้ในองค์ประกอบของส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากพืชทั้ง 3 ชนิดเช่นเดียวกัน โดยพบว่าส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากขิงแม่โขงและว่านริดสีดวง ประกอบด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์จำนวน 3 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.185 ± 0.021 , 0.515 ± 0.212 และ 0.800 ± 0.014) และ 2 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.480 ± 0.012 และ 0.795 ± 0.007) ตามลำดับ โดยสารสำคัญที่พบในส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากว่านริดสีดวงทั้ง 2 กลุ่มมีค่า R_f ใกล้เคียงกับสารสำคัญที่พบในส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากขิงแม่โขงอาจกล่าวได้ว่ากลุ่มสารดังกล่าวเป็นสารพฤกษเคมีที่พบเป็นองค์ประกอบร่วมกันของขิงแม่โขงและว่านริดสีดวง แต่ไม่พบในกระทือป่า ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าพืชสมุนไพรในวงศ์เดียวกันมักจะมีกลุ่มของสารพฤกษเคมีบางชนิดเป็นองค์ประกอบร่วมกัน และมีสารพฤกษเคมีบางชนิดที่พบได้เฉพาะในพืชบางสกุลหรือบางชนิดเท่านั้น สอดคล้องกับรายงานของ Pancharoen, Prawat, and Tuntiwachwuttikul (2000) รายงานว่าสารพฤกษเคมีที่มักพบได้ทั่วไปในพืชวงศ์ขิงข่า ได้แก่ สารในกลุ่ม Diarylheptanoid, Arylkanoids, Phenylbutanoids และ Flavonoids แต่ในพืชบางชนิดอาจจะมีสารพฤกษเคมีชนิดอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบเฉพาะตัวและไม่พบในพืชอื่น ๆ ที่อยู่ใน

วงศ์เดียวกัน เช่น จิงแม่โจง ซึ่งเป็นพืชชนิดเดียวกับในการทดลองนี้ มีรายงานการตรวจพบสาร Diarylheptanoid ตัวใหม่จากเหง้าของพืชดังกล่าวซึ่งมีฤทธิ์ต้านไวรัสเอดส์ (Chareonkla et al., 2011) นอกจากนั้นมียางานของ Moghaddam et al. (2009) ตรวจพบสารเคอร์คูมินจากขิงและขมิ้น ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองนี้ และมีรายงานของ Oonmettaaree et al. (2005) ตรวจพบสารประกอบ D, L-1'-acetxychavicol acetate, *p*-Coumaryl Diacetate และ Acetoxyeugenol Acetate ในส่วนสกัดย่อยเอทานอลจากข่า อย่างไรก็ตามการแยกวิเคราะห์สารสำคัญด้วยวิธี TLC ก่อนนำมาตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Diffusion Bioautography ตรวจไม่พบกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียในส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากกระทือป่า ซึ่งขัดแย้งกับผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ด้วยวิธี Disc Diffusion ซึ่งพบว่าส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากกระทือป่าที่ขนาดบรรจุ 1 มิลลิกรัมต่อดิสก์แสดงฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 ได้เล็กน้อย (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่บริเวณยับยั้งเท่ากับ 7.00 ± 0.00 มิลลิเมตร) อาจเนื่องมาจากฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่พบในส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากกระทือป่าด้วยวิธี Disc Diffusion เป็นฤทธิ์ร่วมกันระหว่างสารพฤษเคมีหลายชนิดซึ่งก็ยังมีประสิทธิภาพไม่ดีพอ และเมื่อนำสารดังกล่าวมาแยกออกจากกันก่อนทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก็อาจเป็นไปได้ว่าสารแต่ละกลุ่มอาจจะมีปริมาณน้อยเกินไปที่จะแสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียให้เห็นได้หรือการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียดังกล่าวจำเป็นต้องอาศัยการทำงานร่วมกันระหว่างสารพฤษเคมีมากกว่าหรือเท่ากับสองชนิด

จากผลการศึกษาข้างต้นทำให้เกิดแนวความคิดว่าในการนำสารสกัดสมุนไพรมาใช้ในการพัฒนารักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus* ทั้งสายพันธุ์ที่เป็น MSSA และ MRSA อาจทำได้โดยเลือกใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพียงอย่างเดียวหรืออาจใช้สารสกัดจากสมุนไพร ร่วมกับยาปฏิชีวนะที่มีอยู่เดิมซึ่งปัจจุบันอาจใช้ไม่ได้ผลกับแบคทีเรียในกลุ่มที่ดื้อยา ดังนั้นจึงทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อตรวจสอบผลของส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของส่วนสกัดเอทานอลจากกระทือป่า จิงแม่โจง และว่านรศิดวงต่อการเปลี่ยนแปลงแบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ของ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 ซึ่งยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้ในการทดสอบแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม คือ กลุ่ม Aminoglycoside (Gentamicin) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนโดยไปจับกับไรโบโซมชนิด 30S ที่บริเวณ Peptidyl A ของ 16S rRNA และยับยั้งขั้นตอนเริ่มต้นของการสังเคราะห์โปรตีน, กลุ่ม Beta-lactams (Ampicillin, Cefoxitin และ Oxacillin) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์โดยไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่ม Transpeptidase ที่เรียกว่า Penicillin Binding Protein (PBP), กลุ่ม Glycopeptide (Vancomycin) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์โดยไปจับที่บริเวณ D-Ala-D-Ala ซึ่งอยู่ที่

ปลายสาย Peptide ส่งผลให้ตัวยาบดบังการเกิด Cross Link ของสาย Peptidoglycan, กลุ่ม Macrolide (Erythromycin) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยตัวยาเข้าไปจับส่วนของนิวคลีโอไซด์ใน Domain V ของ 23S rRNA บน 50S ไรโบโซม, กลุ่ม Tetracycline (Tetracycline) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจับที่ S4 และ S8 ของ 30S ไรโบโซม และกลุ่ม Trimethoprim (Trimethoprim) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของกระบวนการ Metabolism ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ Nucleic Acid โดยตัวยาไปจับกับ Dihydrofolic Acid Synthetase ทำให้แบคทีเรียไม่มี Folic Acid ที่ต้องนำไปใช้สร้าง DNA

จากผลการทดลอง พบว่าการใช้ส่วนสกัดสมุนไพรร่วมกับยาปฏิชีวนะ Erythromycin และยาในกลุ่ม Beta-lactams พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกัน โดยพบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดที่ระดับความเข้มข้น 1/16 MIC มีผลทำให้เชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ซึ่งเป็นเชื้อที่ไวต่อยา Erythromycin อยู่แล้วมีความไวต่อยาดังกล่าวเพิ่มขึ้น แต่ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติความไวต่อยา Erythromycin ของเชื้อ *S. aureus* ATCC 43300 ซึ่งเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยา Erythromycin การใช้ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของสมุนไพรร่วมกับยาปฏิชีวนะ Ampicillin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม Beta-lactams พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากขิงแม้โขงมีผลทำให้ *S. aureus* ATCC 25923 เท่านั้นที่ไวต่อยา Ampicillin เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากกระเทียมและขมิ้นที่ระดับความเข้มข้น 1/16 MIC มีผลทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งของ Ampicillin ต่อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์มีความกว้างเพิ่มมากขึ้น แต่การเพิ่มฤทธิ์กันระหว่างยาและส่วนสกัดย่อยจากสมุนไพรดังกล่าวก็ยังไม่เพียงพอที่จะทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งของ Ampicillin ต่อ *S. aureus* ATCC 43300 เปลี่ยนไปอยู่ในเกณฑ์ที่ไวต่อยา Ampicillin ได้ เมื่อทดสอบโดยใช้วิธี Disc Diffusion และแปลผลตามมาตรฐาน CLSI และเมื่อใช้ยาปฏิชีวนะ Oxacillin ร่วมกับส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากกระเทียมและขิงแม้โขงที่ระดับความเข้มข้น 1/16 MIC พบว่า *S. aureus* ATCC 25923 ไวต่อยา Oxacillin มากขึ้นแต่ไม่มีผลต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC 43300 เช่นเดียวกับยา Erythromycin สำหรับการใช้ส่วนสกัดสมุนไพรร่วมกับยาปฏิชีวนะ Cefoxitin พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชทั้ง 3 ชนิดมีแนวโน้มทำให้เชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ไวต่อยาดังกล่าวเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากกระเทียมและขิงแม้โขงมีผลทำให้เชื้อดังกล่าวไวต่อยา Cefoxitin เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < .01$) แต่ในทางตรงกันข้ามส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากขิงแม้โขงมีผลทำให้เชื้อ *S. aureus* ATCC 43300 ดื้อต่อยา Cefoxitin เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < .01$) เช่นกัน ผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการใช้ส่วนสกัดจากสมุนไพรร่วมกับยาปฏิชีวนะบางชนิดอาจจะใช้ได้ผลดีเฉพาะในกลุ่มของแบคทีเรียที่ไวต่อยา

ปฏิชีวนะเท่านั้น แต่ใช้ไม่ได้ผลกับแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดื้อยาและ/หรืออาจจะมีการดื้อยาก็กันเกิดขึ้น ดังนั้นจึงไม่มีประโยชน์ที่จะนำส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดนี้ มาพัฒนาเป็นยารักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อยา Methicillin ในรูปแบบที่ต้องใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะ Erythromycin และยาในกลุ่ม Beta-lactams

ในกรณีของการใช้ยาปฏิชีวนะ Trimethoprim ร่วมกับส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีแนวโน้มทำให้แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์มีความไวต่อยาลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากขิงแม้ในกรณีที่ระดับความเข้มข้น 1/16 MIC มีผลทำให้แบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์ที่เดิมไวต่อยาเปลี่ยนเป็นดื้อต่อยา Trimethoprim แสดงให้เห็นว่าการใช้ยาปฏิชีวนะบางชนิดร่วมกับส่วนสกัดสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคนั้นอาจจะเกิดการดื้อยาก็กันได้ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อลดลง ดังนั้นจึงไม่ควรนำส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของขิงแม้ในกรณีที่ระดับความเข้มข้น 1/16 MIC มาพัฒนาเป็นสารต้านจุลชีพในรูปแบบของการใช้ร่วมกับยา Trimethoprim สำหรับกลไกในการดื้อยาก็กันระหว่างส่วนสกัดสมุนไพรและยา Trimethoprim นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเป็นไปได้ว่าสารสำคัญในส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชสมุนไพรไปรบกวนการทำงานของยาปฏิชีวนะ โดยอาจจะมีผลต่อโครงสร้างของยา ทำให้ยาเสื่อมประสิทธิภาพหรืออาจจะมีผลต่อเอนไซม์ Dihydrofolate Reductase (DHFR) ซึ่งเป็นเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา เช่น สารสำคัญในพืชสมุนไพรอาจมีฤทธิ์เหนี่ยวนำให้แบคทีเรียมีการสร้างเอนไซม์ DHFR ได้มากขึ้นหรือช่วยทำให้เอนไซม์มีประสิทธิภาพในการทำงานดีขึ้น

สำหรับการใช้ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของกระเทียม ขิง และขมิ้นชัน ร่วมกับยาปฏิชีวนะ Gentamicin, Vancomycin และ Tetracycline มีผลทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่บริเวณยับยั้งของยาปฏิชีวนะดังกล่าวต่อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์มีขนาดกว้างขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < .05) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ส่วนสกัดของสมุนไพรดังกล่าวร่วมกับยา Gentamicin มีผลทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพื้นที่บริเวณยับยั้งของ Gentamicin ต่อ *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมที่อยู่ในระดับที่ไวต่อปานกลาง (Intermediate Susceptible) และดื้อยา (Resistance) เป็นระดับที่ไวต่อยา (Susceptible) ซึ่งจากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Betoni et al. (2006) ซึ่งรายงานว่าการใช้ส่วนสกัดจากขิงร่วมกับยาปฏิชีวนะ Tetracycline มีผลทำให้ *S. aureus* มีความไวต่อยา Tetracycline เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ได้แก่ Gentamicin, Vancomycin หรือ Tetracycline ร่วมกับสารเคอร์คูมินซึ่งเป็นสารกลุ่ม Diarylheptanoid และเป็นสารพฤษเคมีที่พบได้ทั่วไปในพืชขมิ้นชัน มีผลทำให้ *S. aureus*

มีความไวต่อยาทั้ง 3 ชนิด เพิ่มขึ้นเช่นกัน (Moghaddam et al., 2009; เขียวลักษณ์ บานเพียน และ พรณิภา ศิริเพิ่มพูน, 2551) นอกจากนี้ Pancharoen et al. (2000) ยังรายงานว่าพบสารในกลุ่ม Diarylheptanoid ชนิดใหม่ในจิงแม่โจง กระเทียมป่า และพืชในสกุลเดียวกับว่านริดสีดวง ดังนั้น อาจเป็นไปได้ว่าสารพฤกษเคมีสำคัญในส่วนสกัดขอยเอทิลอะซิเตทของจิงแม่โจง ว่านริดสีดวง และกระเทียมป่า ที่ออกฤทธิ์เสริมกับยาปฏิชีวนะ Gentamicin, Vancomycin และ Tetracycline อาจเป็นสารในกลุ่ม Diarylheptanoid เช่นเดียวกัน สำหรับกลไกการเสริมฤทธิ์กันระหว่างส่วนสกัดขอยเอทิลอะซิเตทจากพืชทั้ง 3 ชนิดกับยาปฏิชีวนะดังกล่าวนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเป็นไปได้ว่า สารในกลุ่ม Diarylheptanoid ซึ่งคาดว่าเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญที่อยู่ในส่วนสกัดขอยเอทิลอะซิเตทของจิงแม่โจง กระเทียมป่า และว่านริดสีดวง อาจจะไปรบกวนการทำงานของระบบ Efflux Pump ของแบคทีเรียทดสอบ (Moghaddam et al., 2009) หรือรบกวนกระบวนการสังเคราะห์เอนไซม์ และขั้นตอนการสังเคราะห์โปรตีน (Betoni et al., 2006) หรือมีผลไปยับยั้ง FtsZ ซึ่งเกี่ยวข้องในขั้นตอนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ในช่วงระยะที่เชื้ออยู่ในระยะของการแบ่งเซลล์ (Rai et al., 2008)

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า นอกจากส่วนสกัดขอยเอทิลอะซิเตทจาก พืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดนี้เป็นส่วนสกัดของพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพในการที่จะนำมาพัฒนาเป็น สารต้านจุลชีพเพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียทั้งในรูปแบบของยาเดี่ยวแล้ว ยังอาจจะ นำมาพัฒนาในรูปแบบของการใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะบางชนิด ได้แก่ Gentamicin, Vancomycin และ Tetracycline ซึ่งคาดว่าจะจะช่วยแก้ปัญหาความเป็นพิษของยาที่ก่อให้เกิดอาการข้างเคียงที่เป็นอันตรายกับผู้ป่วยได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาปฏิชีวนะ Vancomycin ซึ่งถึงแม้ว่าจะยังคงเป็นยาที่ใช้ รักษาการติดเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อยา Methicillin ได้ดี (ในประเทศไทยยังไม่พบรายงานเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อยา Vancomycin) แต่ก็ยังคงมีปัญหาเรื่องความเป็นพิษของยาซึ่งอาจ ก่อให้เกิดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ในผู้ป่วยได้

5.2 สรุปผลการทดลอง

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นของส่วนสกัดขอยเอทิลอะซิเตท ส่วนสกัดขอยเฮกเซน และส่วนสกัดขอยน้ำของส่วนสกัดเอทานอลจากเหง้ากระเทียมป่า จิงแม่โจง และว่านริดสีดวงในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 43300 และ *S. aureus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยจำนวน 41 ไอโซเลท ด้วยวิธี Disc Diffusion พบว่าส่วนสกัดขอยเอทิลอะซิเตทจากพืชทั้ง 3 ชนิดและส่วนสกัดขอยเฮกเซน จากจิงแม่โจงและว่านริดสีดวง ที่ขนาดบรรจุ 1 มิลลิกรัมต่อดิสก์แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ ได้ทุกไอโซเลทในขณะที่ดิสก์บรรจุส่วนสกัดขอยเฮกเซนจากกระเทียมป่า 1 มิลลิกรัมต่อดิสก์

แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้เพียง 11 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 25.58 ของแบคทีเรียทดสอบทั้งหมด สำหรับดิสก์ส่วนสัปดาห์ย่อยน้ำจากพืชทั้ง 3 ชนิดไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทุกไอโซเลท เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของส่วนสัปดาห์ย่อยที่แยกโดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันพบว่าส่วนสัปดาห์ย่อยเอทิลอะซิเตทจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพดีกว่าส่วนสัปดาห์ย่อยเฮกเซนและส่วนสัปดาห์ย่อยน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < .001$) เมื่อทำการตรวจหาค่า MIC และ MBC ของส่วนสัปดาห์ย่อยชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบด้วยวิธี Modified Agar Dilution โดยใช้แบคทีเรียมาตรฐาน *S. aureus* ATCC 25923 และยาปฏิชีวนะ Oxacillin เป็นชุดควบคุม พบว่าค่า MIC₉₀ และ MBC₉₀ ของส่วนสัปดาห์ย่อยเฮกเซนและน้ำจากกระทือป่า จิงแม่โจง และว่านรืดสีดวงมีค่ามากกว่า 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ในขณะที่ส่วนสัปดาห์ย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดแสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุดโดยมีค่า MBC₉₀ เท่ากัน คือ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรและมีค่า MIC₉₀ เท่ากับ 500, 1,000 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่า MIC₉₀ ของ Oxacillin (512 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร) ที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบดังกล่าว เมื่อหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพของส่วนสัปดาห์ย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบกับคุณสมบัติความไวต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Methicillin ของแบคทีเรียทดสอบ พบว่าคุณสมบัติความไวต่อยา Oxacillin และ Cefoxitin ไม่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของส่วนสัปดาห์ย่อยจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าส่วนสัปดาห์ย่อยจากพืชสมุนไพรดังกล่าวมีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างจากยาในกลุ่ม Methicillin

จากการแยกวิเคราะห์สารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียมาตรฐาน *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 ในส่วนสัปดาห์ย่อยเอทิลอะซิเตทและเฮกเซนจากพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยเทคนิค TLC ร่วมกับ Agar Diffusion Bioautography พบว่าส่วนสัปดาห์ย่อยเอทิลอะซิเตทจากจิงแม่โจง ประกอบด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์จำนวน 2 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.740±0.028 และ 0.765±0.035) และสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะ *S. aureus* ATCC 43300 จำนวน 1 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.056) ในขณะที่ส่วนสัปดาห์ย่อยเอทิลอะซิเตทจากกระทือป่าพบเฉพาะสารสำคัญซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ATCC 43300 จำนวน 1 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.083) และส่วนสัปดาห์ย่อยเอทิลอะซิเตทจากว่านรืดสีดวงพบสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์จำนวน 1 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.750±0.014) เท่านั้น สำหรับส่วนสัปดาห์ย่อยเฮกเซนจาก

จึงแม่โขงและว่านริดสีดวงประกอบด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์ จำนวน 3 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.185 ± 0.021 , 0.515 ± 0.212 และ 0.800 ± 0.014) และ 2 กลุ่ม (R_f เท่ากับ 0.480 ± 0.012 และ 0.795 ± 0.007) ตามลำดับ โดยสารสำคัญที่พบในส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากว่านริดสีดวงทั้ง 2 กลุ่มมีค่า R_f ใกล้เคียงกับสารสำคัญที่พบในส่วนสกัดย่อยเฮกเซนจากจึงแม่โขง อย่างไรก็ตามการแยกวิเคราะห์สารสำคัญด้วยวิธีนี้ตรวจไม่พบกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียในส่วนสกัดย่อยจากกระทือป่าและว่านริดสีดวงอาจจะเป็นสารสำคัญชนิดเดียวกับที่พบได้ในส่วนสกัดย่อยจากจึงแม่โขง

จากการศึกษาฤทธิ์ร่วมกันระหว่างยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ กับส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากกระทือป่า จึงแม่โขง และว่านริดสีดวง ที่ระดับความเข้มข้น $1/16$ MIC ในการยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 และ *S. aureus* ATCC 43300 พบว่าเมื่อใช้ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากพืชทั้ง 3 ชนิดร่วมกับยาปฏิชีวนะ Gentamicin, Tetracycline และ Vancomycin มีผลทำให้เชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ไวต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < .05) ในทางตรงกันข้าม พบว่าเมื่อใช้ส่วนสกัดดังกล่าวร่วมกับยา Trimethoprim มีแนวโน้มทำให้แบคทีเรียทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์มีความไวต่อยาปฏิชีวนะนี้ลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากจึงแม่โขงมีผลทำให้เชื้อทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์ไวต่อยา Trimethoprim ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < .05) ส่วนในกรณีของยา Erythromycin พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดมีผลทำให้ *S. aureus* ATCC 25923 ไวต่อยาดังกล่าวเพิ่มขึ้นแต่ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงความไวของเชื้อ *S. aureus* ATCC 43300 ได้ และเมื่อใช้ส่วนสกัดย่อยดังกล่าวร่วมกับยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Beta-lactams พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากกระทือป่าและว่านริดสีดวงมีผลทำให้แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์มีความไวต่อยา Ampicillin เพิ่มขึ้น ในขณะที่ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากจึงแม่โขงมีผลทำให้ *S. aureus* ATCC 25923 มีความไวต่อยาเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีผลต่อเมื่อใช้กับ *S. aureus* ATCC 43300 ส่วนในกรณีของการใช้ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดร่วมกับยา Oxacillin และ Cefoxitin พบว่าส่วนสกัดย่อยทุกชนิดมีผลทำให้ *S. aureus* ATCC 25923 มีความไวต่อยาเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความไวของเชื้อ *S. aureus* ATCC 43300 เช่นกัน ยกเว้นเมื่อใช้ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทจากจึงแม่โขงที่ระดับความเข้มข้น $1/16$ MIC ร่วมกับยา Cefoxitin มีผลทำให้เชื้อ *S. aureus* ATCC 43300 ไวต่อยาดังกล่าวเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < .01)

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการทดลองการแยกสารสำคัญจากส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทและส่วนสกัดย่อยเฮกเซนต่อเพื่อแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ที่สามารถแสดงฤทธิ์ต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาและไวต่อยา Methicillin
2. ในการนำสารพฤษเคมีมาพัฒนาเป็นยาปฏิชีวนะควรคำนึงถึงประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะต่อการออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ เนื่องจากสมุนไพรบางชนิดเมื่อใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะมีผลทำให้ประสิทธิภาพของยาลดต่ำลง ซึ่งก่อให้เกิดผลเสียและเป็นอันตรายแก่ผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาดัว