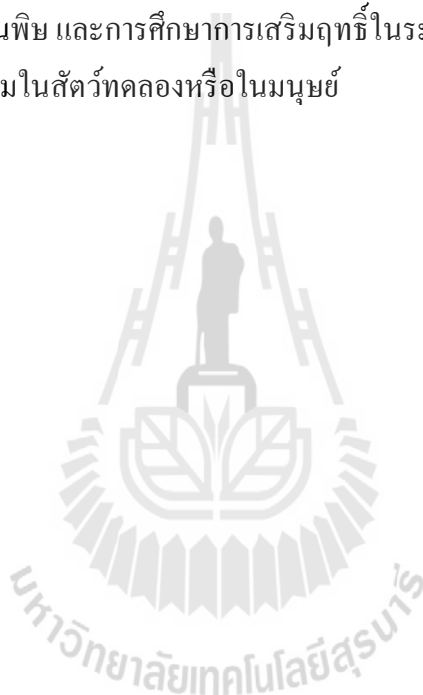


นงลักษณ์ อยู่แท้กุล : ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้างและขลุ่
(ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *STEPHANIA SUBEROSA* FORMAN AND
PLUCHEA INDICA (L.) LESS EXTRACTS AGAINST ANTIBIOTIC RESISTANT
BACTERIA) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ, 113 หน้า.

อุบัติเหตุการติดเชื้อยาปฏิชีวนะหลายขนานในแบคทีเรียก่อโรคได้สร้างความจำเป็นอย่าง
เร่งด่วนสำหรับค้นหายาปฏิชีวนะขนานใหม่รวมถึงแนวทางใหม่ๆ เพื่อรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย
ยาต้านแบคทีเรียที่ได้จากพืชที่สามารถต้านการติดเชื้อของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะที่ได้สูญเสีย
ประสิทธิภาพดั้งเดิมเป็นวัตถุประสงค์ของการวิจัยที่มีความสำคัญอย่างมาก วัตถุประสงค์ของ
การศึกษานี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและการเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้าง
ต้านเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ที่คือต่อยาแอมพิซิลิน (เออาร์เอสเอ) และสารสกัดจากขลุ่
ต้านเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส อีพิเคอร์มิคัส ที่คือต่อยาคลอกซาซิลิน (ซีอาร์เอสอี) เมื่อใช้เดี่ยวๆ
และใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะกลุ่มบีตาแลคแทม ค่าความเข้มข้นในการยับยั้งต่ำสุดสำหรับยาแอมพิ
ซิลินและสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้างในการต้านเชื้อเออาร์เอสเอ มีค่ามากกว่า 512 ไมโครกรัม/
มิลลิลิตร และ 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ ค่าความเข้มข้นในการยับยั้งต่ำสุด
ของยาคลอกซาซิลินและสารสกัดจากขลุ่ในการต้านเชื้อซีอาร์เอสอี มีค่ามากกว่า 1,024
ไมโครกรัม/มล. และ 4 มก./มล. ตามลำดับ ผลการศึกษาด้วยวิธีเชกเกอร์บอร์ดพบว่า มีการเสริม
ฤทธิ์กันระหว่างสารผสมแอมพิซิลิน (0.15 ไมโครกรัม/มล.) และสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้าง
(0.5 มก./มล) มีค่าดัชนี เอฟไอซี น้อยกว่า 0.13 ในการต้านเชื้อเออาร์เอสเอ ขณะที่ไม่มีปฏิริยา
ระหว่างยาหรือไม่มีการเสริมฤทธิ์กันระหว่างสารผสมสารสกัดจากขลุ่และยาคลอกซาซิลินที่ดัชนี
เอฟไอซี เท่ากับ 0.78 ในการต้านเชื้อซีอาร์เอสอี กราฟแสดงการตายของเชื้อเออาร์เอสเอได้ยืนยัน
ว่าการรอดชีวิตของเชื้อเออาร์เอสเอ มีการลดลงอย่างเห็นได้ชัดจาก 5×10^5 ซีเอฟยู/มิลลิลิตร
เหลือเพียง 10^3 ซีเอฟยู/มิลลิลิตร ภายในช่วง 6 ชั่วโมงและตลอด 24 ชั่วโมง หลังจากได้รับสาร
ผสมระหว่างสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้าง (0.5 มก./มล.) และยาแอมพิซิลิน (0.15 ไมโครกรัม/
มล.) การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า เชื้อเอ
อาร์เอสเอที่ได้รับสารผสมระหว่างยาแอมพิซิลินผสมกับสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้างมีรูปร่าง
ผิดปกติ แพพทิดโกลแคนและเยื่อหุ้มไซโทพลาสติกได้รับความเสียหายชัดเจนรวมไปถึงพื้นที่
เฉลี่ยของเซลล์มีขนาดเล็กกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ การซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์
ชั้นในของเชื้อเออาร์เอสเอเพิ่มขึ้นหลังจากการได้รับสารผสมดังกล่าวเช่นเดียวกัน การศึกษาการ
ทำงานของเอนไซม์แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากบอระเพ็ดพุงช้างมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ

เอนไซม์บีตาแลคแทมเมส อย่างชัดเจนและออกฤทธิ์แปรผันตามความเข้มข้นสารสกัดที่เพิ่มขึ้น ผลการศึกษาที่ได้ดังกล่าวเป็นหลักฐานที่ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากบอระเพ็ดพวงช้างมีศักยภาพสูงที่สามารถเปลี่ยนจากแบคทีเรียดื้อยาให้กลับมาเป็นแบคทีเรียที่ไวต่อยาปฏิชีวนะดั้งเดิมของมัน และกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากบอระเพ็ดพวงช้างอาจเกี่ยวข้องกับ 3 กลไก (1) ยับยั้งการสังเคราะห์แพปไทโดไกลแคนซึ่งส่งผลทำให้รูปร่างเซลล์เสียหาย (2) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บีตาแลคแทมเมส และ (3) เพิ่มการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นใน ดังนั้น สารสกัดจากบอระเพ็ดพวงช้างเป็นสารที่มีศักยภาพโดดเด่นในการนำพัฒนาเป็นยาสูตรผสมพฤษเภสัชตัวใหม่กับยาแอมพิซิลินสำหรับใช้รักษาการติดเชื้อเออาร์เอสเอ การศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาสารออกฤทธิ์ การศึกษาความเป็นพิษ และการศึกษาการเสริมฤทธิ์ในระดับเลือดและเนื้อเยื่อควรจะได้รับ การทดสอบยืนยันเพิ่มเติมในสัตว์ทดลองหรือในมนุษย์



สาขาวิชาเภสัชวิทยา

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

NONGLUK AUTARKOOL : ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF
STEPHANIA SUBEROSA FORMAN AND *PLUCHEA INDICA* (L.) LESS
EXTRACTS AGAINST ANTIBIOTIC RESISTANT BACTERIA. THESIS
ADVISOR : ASST. PROF. GRIANGSAK EUMKEB, Ph.D. 113 PP.

B-LACTAM ANTIBIOTIC/AMPICILLIN/AMPICILLIN-RESISTANT *S. AUREUS*
(ARSA)/*STEPHANIA SUBEROSA* FORMAN/ *PLUCHEA INDICA* (L.) LESS/
SYNERGISTIC ACTIVITY

The emergence of multidrug resistance in pathogenic bacteria has created an urgent need for new antibiotics and new approaches for the treatment of bacterial infections. Plant-derived antibacterial that can against the resistance to well-tried agents which have lost their original effectiveness are the research objectives of far reaching importance. The purpose of the present work was to investigate antibacterial and synergistic activities of *Stephania suberosa* extracts (SSE) against Ampicillin resistant *Staphylococcus aureus* (ARSA) and *Pluchea indica* crude extract (PIE) against Cloxacillin resistant *S. epidermidis* (CRSE) when used singly and in combination with β -lactams antibiotic. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) for ampicillin (AMP) and SSE against ARSA strains were $>512 \mu\text{g/ml}$ and 4 mg/ml respectively. Besides, the MICs of cloxacillin (CLX) and PIE against CRSE were $>1024 \mu\text{g/ml}$ and 4 mg/ml , respectively. Checkerboard assay revealed synergistic activity in the combination of AMP ($0.15 \mu\text{g/ml}$) and SSE (0.5 mg/ml) with fractional inhibitory concentration index (FICI) <0.13 against ARSA. Whereas, no interaction or synergistic effect

of PIE plus CLX with FICI <0.78 against CRSE was observed. The killing curve assay had confirmed that the viability of ARSA was a dramatic reduction from 5×10^5 cfu/ml to 10^3 cfu/ml within 6 h and throughout 24 h after exposure to SSE (0.5 mg/ml) combined with AMP (0.15 μ g/ml). Electron microscopic study clearly revealed that ARSA cells treated with AMP plus SSE caused marked cell morphological damage, peptidoglycan and cytoplasmic membrane damage, and average cell areas were significantly smaller than the control. Furthermore, the CM permeability of ARSA was also increased by this combination. The enzyme assay showed marked inhibitory activity of SSE against β -lactamase in a concentration dependent manner. These findings provide an evidence that SSE has the high potential to reverse bacterial resistance to originate traditional drug susceptibility of it and may relate to three modes of actions of SSE: (1) inhibit peptidoglycan synthesis, resulting in cell morphological damage, (2) inhibit β -lactamases activity, and (3) increase CM permeability. Therefore, this SSE offers the prominent potential to develop a novel adjunct phytopharmaceutical to ampicillin for the treatment of ARSA. Further active ingredients study, toxicity and the synergistic effect on blood and tissue should be performed and confirmed in animals or in humans.

School of Pharmacology

Academic Year 2013

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-Advisor's Signature _____