

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศที่สกัดโดย  
**Soxhlet extraction และ Maceration ในการยับยั้งการเจริญของ**  
**Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**  
**Inhibitory Effect of *Senna alata* Extracted by Soxhlet extraction and**  
**Maceration on Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

กนกพร ไชยอนันต์พร<sup>1\*</sup>, วรัญญา จตุพรประเสริฐ<sup>1</sup>, สุทธิวรรณ ธรรมวัต<sup>1</sup>  
Kanokporn Chaianunporn<sup>1\*</sup>, Waranya Chatuphonprasert<sup>1</sup>, Sutthiwan Thammawat<sup>1</sup>

### บทคัดย่อ

*Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ที่สามารถดื้อต่อยาปฏิชีวนะ Methicillin ทำให้การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะไม่ได้ผล สมุนไพรจึงเป็นทางเลือกที่จะถูกนำมาใช้ในการรักษา โดยจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลชีพได้หลายชนิด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำเอาสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศด้วยวิธี soxhlet extraction และ maceration มาทำการทดสอบถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ MRSA โดยวิธี Agar well diffusion ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศด้วยวิธี soxhlet extraction และ maceration สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p$ -value < 0.01) และยังพบว่าสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศด้วยวิธี soxhlet extraction มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ MRSA ดีกว่าวิธี maceration อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p$ -value < 0.01)

**คำสำคัญ :** สารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศ, soxhlet extraction, maceration, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

### Abstract

*Staphylococcus aureus* is one of important pathogenic bacteria in medicine and public health. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a mutation strain which resists to antibiotics such as methicillin and makes antibiotic treatment options limited. Several studies report that

---

<sup>1</sup> ปรึคณินิก, คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, อำเภอเมือง, จังหวัดมหาสารคาม, 44000

<sup>1</sup> Preclinical Division, Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

\*Corresponding author: Kanokporn Chaianunporn, Preclinical Division, Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

E-mail: kanokporn.c@msu.ac.th

extracts from *Senna alata* (L.) Roxb. have the antimicrobial activity against several microorganisms. In this study, we compare the antimicrobial efficacy of crude extracts of *Senna alata* obtained by different extraction methods, namely soxhlet extraction and maceration, on MRSA. The crude extracts were tested against MRSA by agar well diffusion method. We find that the crude extract of *Senna alata* from both extraction methods significantly inhibits MRSA comparing to tetracycline ( $p$ -value < 0.01). Moreover, crude extract obtained by soxhlet extraction provides the higher antimicrobial efficacy against MRSA than extract obtained by maceration ( $p$ -value < 0.01).

**Keywords** : crude extract of *Senna alata*, soxhlet extraction, maceration, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

## บทนำ

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) เป็นแบคทีเรียที่มีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมภายนอกได้ดี และเป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสาธารณสุข สามารถก่อโรคได้หลายรูปแบบ ทั้งการติดเชื้อที่ผิวหนังทำให้ผิวหนังอักเสบเป็นฝีหนอง การติดเชื้อที่แผลผ่าตัด ตลอดจนโรคติดเชื้อที่อวัยวะภายใน เช่น ปอดอักเสบ และการติดเชื้อในกระแสโลหิต

ในอดีตยา penicillin เป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* ได้ดี แต่ภายหลังจากเริ่มใช้ penicillin ไม่นาน มีรายงานพบเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา penicillin โดยเชื้อสร้างเอนไซม์ beta-lactamase<sup>1</sup> ต่อมาจึงได้มีการพัฒนายา methicillin ซึ่งมีความทนทานต่อเอนไซม์ beta-lactamase ขึ้นมาเพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* อย่างไรก็ตามหลังจากใช้ยา methicillin ได้ไม่นาน ก็มีรายงานพบเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยา methicillin<sup>2</sup>

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) คือเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีการดื้อต่อยาเมทิซิลลิน พบเป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (Nosocomial infections) และภายนอกโรงพยาบาล (Community-acquired infection)<sup>1,3</sup> ซึ่งจะรักษาหายได้ยากเนื่องจากการดื้อยาและทำให้มีอัตรา

เสี่ยงต่อการเสียชีวิตสูง<sup>4</sup> และได้มีการรายงานถึงการแพร่ระบาดของ MRSA ในชุมชนภายนอกโรงพยาบาลซึ่งก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งทำให้การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะไม่ได้ผลและนำไปสู่การเสียชีวิตของผู้ติดเชื้อ ส่งผลให้เกิดปัญหาที่สำคัญในทางการแพทย์<sup>5,6,7</sup>

จากการศึกษาการออกฤทธิ์ของพืชในสกุล *Senna* ได้แก่ *Senna alata* (L.) Roxb. หรือชุมเห็ดเทศในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพบว่าสารสกัดจากชุมเห็ดเทศสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้หลายชนิด เช่น เชื้อราแบคทีเรีย ไวรัส และปรสิต<sup>8,9,10,11</sup> จากงานวิจัยที่ทำการศึกษาคูณสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพบว่าสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศด้วยน้ำ<sup>12</sup> และเอทานอล<sup>13</sup> มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA ได้

## วัตถุประสงค์

การศึกษาในครั้งนี้จะทำการเปรียบเทียบวิธีการสกัดและการใช้สารละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ในการสกัดสารสำคัญจากใบชุมเห็ดเทศที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยเฉพาะอย่างยิ่ง MRSA เพื่อนำมาพัฒนาองค์ความรู้พื้นฐานในการใช้พืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ดื้อยาและเป็นทางเลือกในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อดื้อยาต่อไป

## วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

### การเตรียมสารสกัดสมุนไพร (Crude extract)

นำใบชุมเห็ดเทศที่ได้จากร้านขายยาสมุนไพรทองอินทร์เภสัช จังหวัดมหาสารคาม มาล้างน้ำให้สะอาด นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และบดให้เป็นผงละเอียด ทำการสกัดสารจากใบชุมเห็ดเทศโดยวิธี maceration<sup>13</sup> โดยชั่งผงใบชุมเห็ดเทศ 300 กรัม เติมน้ำมันอลปริมาตร 1500 มิลลิลิตร ใส่ในขวดโหลปิดฝาให้สนิท แช่ทิ้งไว้ 5 วันและเขย่าวันละ 2 ครั้ง

การสกัดสารจากใบชุมเห็ดเทศโดยวิธี soxhlet extraction<sup>14</sup> ชั่งผงใบชุมเห็ดเทศ 10 กรัม ทำการสกัดครั้งแรกด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและคลอโรฟอร์มปริมาตร 1000 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายเอทานอลปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

นำสารสกัดที่ได้จากการสกัดทั้งสองวิธีมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) และดึงความชื้นที่เหลือออกด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (Lyophilizer) จากนั้นนำผงของสารสกัดมาปรับความเข้มข้นเป็น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO)

### การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

เพาะเลี้ยงเชื้อ Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) สายพันธุ์ DMST 2933 และ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) สายพันธุ์ DMST 20651 บนอาหาร Nutrient Agar (NA) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวๆ ของเชื้อ 4-5 โคโลนี มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Mueller Hinton broth (MHB) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-5 ชั่วโมง

จากนั้นนำเชื้อมาปรับให้ได้เชื้อปริมาณเท่ากับ 0.5 McFarland ( $10^8$  CFU/ml) ในอาหาร MHB<sup>8</sup>

### การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion

นำเชื้อแบคทีเรียที่ปรับความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No. 0.5 มาป้ายบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ให้ทั่ว จากนั้นใช้ Cork borer ทำการเจาะหลุมในอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตรเพื่อใส่สารทดสอบหรือสารละลายยา tetracycline (Sigma-Aldrich, Germany) หยอดสารในหลุมที่เจาะไว้ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในการทดลองนี้ใช้ DMSO เป็นตัวควบคุม นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมงและทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น<sup>8</sup> ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองจะถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี One-way ANOVA ตามด้วย Tukey post hoc test เพื่อเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ MSSA และ MRSA

### ผลการศึกษา

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรพบว่า สารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศที่สกัดต่อเนื้อด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล โดยวิธี soxhlet extraction ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MSSA และ MRSA โดยทำให้เกิด inhibition zone ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 24.33 มิลลิเมตร และ 29.33 มิลลิเมตรตามลำดับ (Table 1 และ Figure 1)

ส่วนสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศที่สกัดต่อเนื้อด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มและเอ

ทานอล โดยวิธี soxhlet extraction ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MSSA และ MRSA โดยทำให้เกิด inhibition zone ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 23.67 มิลลิเมตร และ 30.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Table 1 and Figure 1)

ในขณะที่สารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศ โดยวิธี maceration ด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MSSA และ MRSA โดยทำให้เกิด inhibition zone ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 19.00 มิลลิเมตรในทั้งสองสายพันธุ์ (Table 1 and Figure 1)

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศที่สกัดต่อเนื่องโดยวิธี soxhlet extraction ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน-เอทานอล, คลอโรฟอร์ม-เอทานอล และ สารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศโดยวิธี maceration ด้วยตัวทำละลายเอทานอล กับยาปฏิชีวนะ tetracycline ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

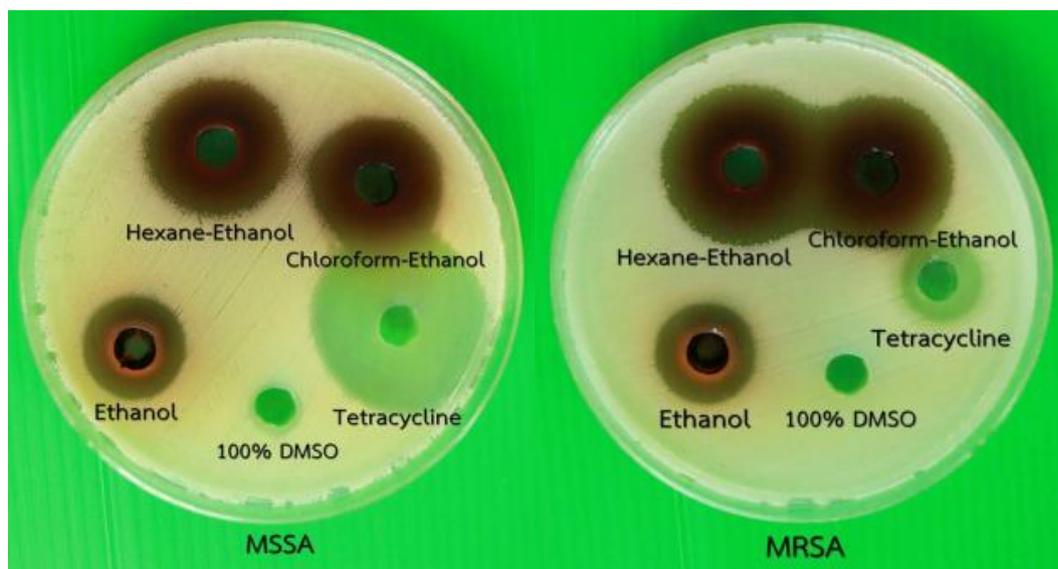
MRSA พบว่าสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศทั้งหมดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA ได้ดีกว่ายาปฏิชีวนะ tetracycline โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone แตกต่างจากเส้นผ่าศูนย์กลาง inhibition zone ที่ได้จากยา tetracycline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p$ -value < 0.01)

และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศที่สกัดต่อเนื่องโดยวิธี soxhlet extraction ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน-เอทานอล และ คลอโรฟอร์ม-เอทานอล กับสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศโดยวิธี maceration ด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ MSSA และ MRSA พบว่าสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศที่ได้จากการสกัดต่อเนื่องโดยวิธี soxhlet extraction ทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ MSSA และ MRSA ได้มากกว่าสารสกัดหยาบจากใบชุมเห็ดเทศที่ได้จากการสกัดโดยวิธี maceration อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p$ -value < 0.01)

**Table 1** Inhibitory effect of crude extracts obtained by soxhlet extraction with hexane-ethanol, chloloform-ethanol and by maceration with ethanol against MSSA and MRSA

ชนิดสารละลาย (ความเข้มข้น)	Inhibition zone (mm) <sup>a</sup>	
	MSSA	MRSA
DMSO	0.00±0.00	0.00±0.00
Tetracycline (30 ug)	32.33±0.58	15.67±1.15
Hexane-Ethanol <sup>c</sup> (200mg/ml)	24.33±1.15	29.33±1.15 <sup>b</sup>
Chloloform-Ethanol <sup>c</sup> (200mg/ml)	23.67±1.53	30.33±0.58 <sup>b</sup>
Ethanol <sup>d</sup> (200mg/ml)	19.00±1.00	19.00±0.00 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Mean±SD , <sup>b</sup>  $p$ -value < 0.01 (comparison with tetracycline) , <sup>c</sup> soxhlet extraction , <sup>d</sup> maceration



**Figure 1** Analysis of antimicrobial activity of crude extracts against MSSA and MRSA. Tetracycline (30 ug), DMSO, Hexane-Ethanol (200 mg/ml), Chloroform-Ethanol (200 mg/ml), Ethanol (200 mg/ml)

## วิจารณ์และสรุปผล

จากการศึกษาถึงองค์ประกอบสำคัญทางเคมีของใบชุมเห็ดเทศที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลชีพ จะประกอบด้วยสารในกลุ่ม anthraquinone<sup>14,15,16,17</sup> ซึ่งการสกัดสารสำคัญกลุ่มนี้มักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์มหรือเอทานอล ในการสกัดและมีวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน<sup>8,9,11,13</sup>

จากผลการทดลองที่ได้จะพบว่าสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยเฉพาะอย่างยิ่ง MRSA ซึ่งดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายกลุ่ม<sup>18</sup> โดยสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้มากกว่ายาปฏิชีวนะ tetracycline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p\text{-value} < 0.01$ ) แสดงให้เห็นว่าเชื้อ MRSA ยังคงมีความไวต่อสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ

และในการศึกษาครั้งนี้กลุ่มผู้วิจัยได้ใช้วิธีการในการสกัดสารจากใบชุมเห็ดเทศสองแบบคือ 1) soxhlet extraction โดยใช้ตัวทำละลายสองชนิดทำการสกัดแบบต่อเนื่องและมีการให้ความร้อนในระหว่างขั้นตอนการสกัด และ 2) maceration โดย

ใช้ตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศด้วยวิธี soxhlet extraction จะให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ทั้ง MSSA และ MRSA ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยวิธี maceration อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p\text{-value} < 0.01$ ) ซึ่งผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ El-Mahmood และ Doughari<sup>19</sup> โดยพบว่าการให้ความร้อนในระหว่างขั้นตอนการสกัดจะทำให้ได้สารสำคัญที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลชีพ เนื่องจากความร้อนจะช่วยให้การดึงสารสำคัญต่างๆออกจากใบชุมเห็ดเทศดียิ่งขึ้น

จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดใบชุมเห็ดเทศโดยให้ความร้อนขณะสกัดและใช้ตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วจะให้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ซึ่งจะเป็นความรู้พื้นฐานที่มีประโยชน์ในการนำเอาชุมเห็ดเทศไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถใช้ในการยับยั้งการเจริญของจุลชีพก่อโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะต่อไปในอนาคตได้

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นางสาวศิริภรณ์ มหาโคตร, นางสาวจิราพร สงศรี, และ นางสาวชวัลนุช อะปะมาเถ นิสิตสาขาแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ช่วยในงานวิจัยครั้งนี้ขอขอบคุณ ดร.ทศพล ไชยอนันต์พร ที่ได้แนะนำ ตรวจสอบแก้ไขงานวิจัยฉบับนี้ และงานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยทุนสนับสนุนการวิจัยจากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

### เอกสารอ้างอิง

1. Stefani S, Goglio A. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: related infection and antibiotic resistance. *Int. J. Infect. Dis.* 2010;14(4):19-S22.
2. Daniel L, Strynadka NCJ. Structural basis for the bold beta lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2002;9:870-876.
3. Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, Yazawa H, Aoki K, Oguchi A, et al. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet* 2002;359:1819-1827.
4. Stapleton PD, Taylor PW. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: Mechanism and modulation. *Sci. Prog.* 2002; 85(1):57-72.
5. Naimi TS, LeDell KH, Boxrud DJ, Groom AV, Steward CD, Johnson SK, et al. Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota. *Clin. Infect. Dis.* 2001;33:990-996.
6. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Pantone-Valentine leukocidin. *Clin. Infect. Dis.* 2002;35:819-824.
7. Moellering Jr RC. The growing menace of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann. Intern. Med.* 2006;144:368-370.
8. Owoyale JA, Olatunji GA, Oguntoye SO. Antifungal and antibacterial activity of an alcoholic extract of *Senna alata* leaves. *J Appl Sci Environ Mgt.* 2005;9(3):105-107.
9. Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *J Ethnopharmacol.* 2005;101:330-333.
10. Hennebelle T, Weniger B, Joseph H, Sahpaz S, Bailleul F. *Senna alata*. *Fitoterapia.* 2009;80:385-393.
11. Wuthiudomlert M, Kupittayanant P, Gritsanapan W. In vitro evaluation of antifungal activity of anthraquinone derivatives of *Senna alata*. *J Health Res.* 2010;24(3):117-122.
12. Pesewu G, Cutler RR, Humber DP. Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *J Ethnopharmacol.* 2008;116:102-111.
13. Chomnawang MT, Surassmo S, Wongsariya K, Bunyapraphatsara N. Antibacterial activity of Thai medicinal plants against Methicillin resistant

- Staphylococcus aureus*. Fitoterapia. 2009;80:102-104.
14. Panichayupakaranant P, Sakunpak A, Sakunphueak A. Quantitative HPLC Determination and extraction of anthraquinones in *Senna alata* leaves. J Chromatogr Sci. 2009;47:197-200.
  15. Elujoba AA, Ajulo OO, Iweibo GO. Chemical and biological analyses of Nigerian Cassia species for laxative activity. J. Pharmaceut. Biomed. 1989;7:1453-1457.
  16. Agarwal SK, Singh SS, Verma S, Kumar S. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. J. Ethnopharmacol. 2000;72:43-46.
  17. Manojlovic NT, Solujic S, Sukdolak S. Antimicrobial activity of extract and anthraquinones from *Caloplaca schaeeri*. Lichenologist 2002;34:83-85.
  18. Trzcinski K, Cooper BS, Hryniewicz W, Dowson GC. Expression of resistance to tetracyclines in strain of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J antimicrob chemother. 2000;45:763-770.
  19. El-Mahmood AM, Doughari JH. Phytochemical screening and antibacterial evaluation of the leaf and root extracts of *Cassia alata* Linn. African J Pharm. Pharmacol. 2008;2(7):124-129.