

จากการศึกษา pathogenic gram-negative rod bacteria ใน Enterobacteriaceae 3 ชนิด ซึ่งได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยจากโรงพยาบาลสรรพสิทธิประสงค์ จ. อุบลราชธานี ได้แก่ *E. coli* 14 ตัวอย่าง, *Salmonella* spp. 4 ตัวอย่าง และ *K. pneumoniae* 25 ตัวอย่าง เพื่อค้นหาตัวอย่างที่สามารถผลิต siderophores ปริมาณสูง พบว่า ช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต siderophores ใน *E. coli* คือ 18 ชั่วโมง *Salmonella* spp คือ 16 ชั่วโมง และ *K. pneumoniae* คือ 12 ชั่วโมง การตรวจกรองหา strain ของเชื้อ bacteria ที่ผลิต siderophores ปริมาณสูง พบว่าเชื้อที่สามารถสร้าง total siderophores ได้ปริมาณสูงสุดในแต่ละกลุ่ม คือ *E. coli* strain 896, *Salmonella* spp. strain 464 และ *K. pneumoniae* strain 957 จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณ *E. coli* strain 896, *Salmonella* spp. strain 464 และ *K. pneumoniae* strain 957 สกัดส่วนไซโตที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate จะได้สารสกัดยับยั้ง siderophores ของตัวอย่างเชื้อทั้ง 3 ชนิด จากนั้นแยก siderophores ด้วยเทคนิค preparative TLC สามารถแยกสารที่แสดงคุณสมบัติของ siderophores ได้ 3 ชนิดคือ จาก *E. coli* strain 896 2 ชนิด ให้ชื่อว่าสาร E-2 และ E-3 จาก *K. pneumoniae* strain 957 แยกได้ 1 ชนิดให้ชื่อว่า K-1 นอกจากนี้ยังแยกสารที่แสดงคุณสมบัติของ siderophores ไม่เด่นชัดได้อีก 2 ชนิด คือสารที่ชื่อว่า E-1 จาก *E. coli* strain 896 และสารชื่อ S-1 จาก *Salmonella* spp. strain 464 สารทุกชนิดที่แยกได้จะต้องมีการพิสูจน์เอกลักษณ์ต่อไป จากนั้นนำ siderophores ที่ได้จากเชื้อทั้งสองชนิดคือ สาร E-3 จาก *E. coli* strain 896 และสาร K-1 จาก *K. pneumoniae* strain 957 ไปทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยา oxidation โดยทำการศึกษาในเซลล์ HEK-293 ที่ถูกเหนี่ยวนำให้อยู่ในภาวะ oxidative stress โดยใช้ lead acetate และ Fe-NTA แล้วประเมินขีดความสามารถในการเป็นแอนติออกซิแดนท์เทียบกับ ascorbic acid ทำการศึกษาใน 4 แนวทางคือ วัดความเป็นพิษต่อเซลล์ ผลของ siderophores ในการป้องกันการเกิด protein oxidation และ lipid peroxidation และ ผลของ siderophores ในการเพิ่ม glutathione peroxidase activity ผลการศึกษาพบว่า siderophores E-3 จาก *E. coli* และ K-1 จาก *K. pneumoniae* ไม่เป็นพิษต่อเซลล์โดยมีค่า  $IC_{50}$  สูง (40 และ 96.68  $\mu\text{g}/\text{m}$  ตามลำดับ) และที่ความเข้มข้น 2.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  สารทั้งสองมีฤทธิ์ช่วยลดการเกิด protein oxidation และ lipid peroxidation ในเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังมีผลเพิ่ม glutathione peroxidase activity เช่นเดียวกับผลที่ได้จาก ascorbic acid แต่มีฤทธิ์ค่อนข้างอ่อน

**คำสำคัญ:** Siderophores, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella pneumoniae* ตัวจับเหล็ก, อนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

## Abstracts

**T167484**

The investigation of siderophores producing bacteria were performed in pathogenic gram-negative rod bacteria, enterobacteriaceae i.e. *Escherichia coli* (14 samples), *Salmonella* spp. (4 samples) and *Klebsiella pneumoniae* (25 samples) which isolated from patients in Sappasithiprasong hospital, Ubonratchathani. Determination of siderophores producing times in each species revealed that *E. coli*, *Salmonella* spp. and *K. pneumoniae* gave the highest amount of products in 18, 16 and 12 hours, respectively. The high-yield siderophores producing strains of each species were *E. coli* strain 896, *Salmonella* spp. strain 464 and *K. pneumoniae* strain 957. These potential strains were scaled up then harvested. Supernatants of each bacterial culture were extracted by partition with ethyl acetate. The crude siderophores extracts were purified by preparative TLC. The isolated compounds from *E. coli* strain 896, namely E-2, E-3 and compound K-1 from *K. pneumoniae* strain 957 were identified as siderophores but compound E-1 from *E. coli* strain 896 and S-1 from *Salmonella* spp. strain 464 showed inadequate results. The complete structures of all compounds will be elucidated in further study. The antioxidant activities of siderophores, compound E-3 and K-1, were performed. This study was performed in the HEK-293 cells which were induced by lead acetate and Fe-NTA to oxidative stress state, and then their antioxidant activities were evaluated compared with ascorbic acid. The evaluation study was performed in 4 different ways: cell toxicity, prevention for protein oxidation, prevention for lipid peroxidation, and enhancement of glutathione peroxidase activity. The result showed that siderophores E-3 and K-1 extracted from *E. coli* strain 896 and *K. pneumoniae* strain 957, respectively, are not toxic to cells with the high  $IC_{50}$  (40 and 96.68  $\mu\text{g/ml}$ , respectively). At the concentration of 2.5  $\mu\text{g/ml}$ , Those of siderophores were able to decrease the incidence of cellular protein oxidation and lipid peroxidation. Moreover, they also enhanced glutathione peroxidase activity as compare to ascorbic acid although they showed lower activity.

Keywords: Siderophores, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella pneumoniae*,

Iron chelator, antioxidant, Free radical