



รายงานการวิจัย/รายงานการวิจัยชุดโครงการวิจัย เรื่อง

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากลำพู

Antimicrobial activities of the extracts from *Sonneratia caseolaris*

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จันทนา เวสพ์พันธ์

Assistance Professor Chantana Wessapan

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชูลี ยมภักดี

Assistance Professor Dr. Chulee Yompakdee

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

สถาบัน วิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2555

คำนำ

รายงานการวิจัยนี้ได้รับรวมผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดจากลำพู โดย
การวิจัยนี้เน้นการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากลำพูในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะกลุ่มที่ก่อให้เกิด
ปัญหาบริเวณผิวหนัง โรคที่ทำให้เกิดการอักเสบของเหงือกและโพรงฟัน รวมทั้งโรคที่เป็นปัญหา
สาธารณสุขต่างๆ

ผู้วิจัย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำวิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ซึ่งให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยนี้ และขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ ในความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ สำหรับการวิจัย

ชื่อโครงการ	ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากลำพู
ชื่อผู้วิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จันทนา เวสพันธ์
ชื่อร่วมวิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชูลี ยมภักดี
หน่วยงานที่สังกัด	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย	สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีที่เสร็จ	พ.ศ. 2555

บทคัดย่อ

สารสกัดลำพูที่ใช้ในการทดลองนี้มีการปนเปื้อนเชื้อโรคในระดับต่ำและไม่พบเชื้อก่อโรคต่าง ๆ อันได้แก่ *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.* สารสกัดที่เตรียมด้วยสารทำละลายที่มีความเป็นขี้ดต่ำกว่าเมธานอลในการทดลองนี้ไม่ค่อยแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโรค ขณะที่สารสกัดที่ได้จากการหมักด้วยเมธานอลออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบแกรมลบได้ดีกว่าแกรมบวกเล็กน้อย ทั้งเชื้อชนิดไวต่อยาและดื้อยา และสามารถฆ่าเชื้อทดสอบแกรมลบได้ดี ในขณะที่ไม่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบแกรมบวกได้ ฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบส่วนใหญ่เป็นแบบการฆ่าเชื้อโรค โดยเฉพาะเชื้อก่อโรคชนิดดื้อยาหลายชนิด ขณะที่ฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตสำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก สำหรับสารสกัดเมธานอลภายหลังที่ได้ที่ผ่านการสกัดด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และ ethyl acetate มาก่อนแล้ว ให้ผลคล้ายกับการสกัดด้วยการหมักเมธานอลในสารสกัดส่วนใหญ่ที่สกัดจากเมล็ดและที่หุ้มดอก ดังนั้นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์นี้น่าจะเป็นสารที่มีขี้ด สารสกัดจากลำพูส่วนใหญ่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อในช่องปากกลุ่มที่เป็นเชื้อประจำถิ่นส่วนใหญ่ที่ระดับความเข้มข้น $>1000 \mu\text{g/ml}$ ส่วนที่หุ้มดอกที่สกัดด้วยเมธานอลด้วยการหมัก (PO) และผ่าน soxhlet ในส่วนเมธานอล PO hM และ ส่วนเมล็ดที่สกัดด้วยเมธานอลด้วยการหมัก (SO) มีผลต่อเชื้อ *Leptospira interrogans*, *Salmonella* และ *Shigella* แบบขึ้นกับความเข้มข้นสารสกัด แต่สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีผลยับยั้งเชื้อวัณโรคหรือยับยั้งได้น้อยมากต่อเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) H37Ra สำหรับการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุของโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจและโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลของสารสกัดจากลำพูพบว่ามีค่า MIC ค่อนข้างสูง

คำสำคัญ: ลำพู, การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

Research Title	Antimicrobial activities of the extracts from <i>Sonneratia caseolaris</i>
Researcher	Assistance Professor Chanthana Wessapan Assistance Professor Dr. Chulee Yompakdee
Office	Faculty of Pharmacy, Silpakorn University
Research Grants	Research and Development Institute, Silpakorn University
Year	2012

Abstract

Sonneratia caseolaris extracts contained the microbe contamination at low level and there was no pathogens such as *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.* The extracts prepared by using low polar solvent which the polarity was lower than methanol did not exhibit the antimicrobial activity. The methanolic extracts from all tested parts of *Sonneratia caseolaris* exhibited antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria, but was mainly bactericidal against the Gram-negative bacteria, including the multidrug resistant strains, compared to only bacteriostatic against the Gram-positive bacteria. The extracts obtained from sequential soxhlet extraction with hexane, dichloromethane and ethyl acetate revealed no discernable antibacterial activity and only slightly, if at all, reduced the antibacterial activity of the subsequently obtained methanolic extract. Therefore, the antibacterial active compounds of the *Sonneratia caseolaris* extract should have a rather polar structure. The extract could inhibit the normal flora of oral cavity at concentration >1000 µg/ml. The methanolic extract of petal (PO), seed (SO) and petal after sequential extract (PO hM) could inhibit *Leptospira interrogans*, *Salmonella* and *Shigella* with concentration dependence. This extracts could not or slightly inhibit *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra at concentration of 5 and 10 µg/ml. For respiratory microbes and nosocomial infection microbes, the minimal inhibitory concentration (MIC) of extract was rather high.

Key words: *Sonneratia caseolaris*, antimicrobial activity

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
สารบัญเรื่อง	iv
สารบัญตาราง	v
สารบัญรูป	vi
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	vii
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	4
ผลการวิจัยและวิจารณ์	11
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	41
บรรณานุกรม	42
ภาคผนวก	-
ประวัติผู้ทำวิจัย	44

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	รายละเอียดเกี่ยวกับตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ	7
2	ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคของสารทดสอบชุดที่ 1	12
3	ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคของสารทดสอบชุดที่ 2	13
4	ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคของสารทดสอบชุดที่ 1 และ 2 เมื่อสารทดสอบตกตะกอนแล้วนำส่วนใสมาทดสอบ	13
5	ผลการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดที่ทดสอบเมื่อสารทดสอบยังไม่ตกตะกอน (สารทดสอบชุดที่ 1)	14
6	ผลการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดที่ทดสอบเมื่อสารทดสอบยังไม่ตกตะกอน (สารทดสอบชุดที่ 2)	15
7	คุณสมบัติของเชื้อที่ใช้	18
8	ค่าเฉลี่ยของ clear zone ในการทดสอบความไวของเชื้อ	19
9	ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดส่วนต่างๆของลำพู	20
10	ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดส่วนต่างๆของลำพูภายหลังจากย้ายมายังตัวกลางใหม่	20
11	เชื้อทดสอบแกรมบวกที่ใช้ในการทดลอง	22
12	เชื้อทดสอบแกรมลบที่ใช้ในการทดลอง	22
13	การยับยั้งเชื้อโรคต่างๆที่ทดสอบด้วยวิธี broth microdilution method ของสารสกัดจากลำพู (S (1-4), P (1-4) และ L (1-4))	25
14	การยับยั้งเชื้อโรคต่างๆที่ทดสอบด้วยวิธี broth microdilution method ของสารสกัดจากลำพู S4 , P4 และ L4 ซึ่งทำการทดสอบซ้ำ	26
15	การยับยั้งเชื้อโรคต่างๆ ที่ทดสอบด้วยวิธี broth microdilution method ของสารสกัด L, E, S, P, T, F และ C ซึ่งเป็นส่วนต่างๆของลำพูที่สกัดด้วยการหมักด้วยเมธานอล	27
16	การยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดจากลำพูด้วยการทดสอบด้วยวิธี disk diffusion	29
17	ค่า MIC การยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดจากลำพูจากการทดสอบวิธี Microdilution method	30
18	การยับยั้งเชื้อ <i>Leptospira inteerogans</i> ของสารสกัดจากลำพู	31
19	ฤทธิ์ทำลายเชื้อ (MBC) และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (MIC) ของสารสกัดจากลำพู	31
20	ฤทธิ์ของ P4 ต่อเชื้อ <i>Salmonella</i> & <i>Shigella</i> 34 สายพันธุ์	33
21	Plate count colony	37
22	การยับยั้งเชื้อด้วย BACTEC MGIT 960 : Antimycobacterial activity	37
23	การยับยั้งเชื้อวัณโรค (TB*) ของสารสกัดจากลำพู	38

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	Clear zone diameter จากการยับยั้งเชื้อโรคของสารสกัดจากส่วนต่างๆของลำพูที่สกัดด้วยการหมักด้วยเมธานอล	19
2	ผลการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรต่อเชื้อ <i>Salmonella</i> 100 สายพันธุ์ (สมุนไพร SO, P4 และ P1 ที่ 3 mg/ml มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่ทดสอบทั้งหมดเป็น 94, 35 และ 0 % ตามลำดับ)	33
3	ฤทธิ์ของสารสกัดต่อเชื้อ <i>Shigella</i> 100 สายพันธุ์ (สมุนไพร P4, SO และ P1 ที่ 3 mg/ml มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่ทดสอบทั้งหมดเป็น 99, 88 และ 0% ตามลำดับ)	33
4	ฤทธิ์ของสารสกัด P4 ต่อเชื้อ <i>Salmonella & Shigella</i> 34 สายพันธุ์	34
5	Microplate Alamar Blue Assay (MABA): จำนวนเซลล์และการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสี	36
6	BACTEC™ MGIT™ 960 Indicator System	37
7	ฤทธิ์สารสกัดลำพู (100 ug/ml) ต่อการต้านเชื้อวัณโรค <i>M. tuberculosis</i> H37Ra	38
8	MIC ₉₀ ของสารสกัดต่อแบคทีเรียก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลทดสอบในช่วง 1050-1500 ug/ml	40
9	MIC ₉₀ ของสารสกัดต่อแบคทีเรียสาเหตุของโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจทดสอบในช่วง 375-1500 ug/ml	40

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

cfu/ml	=	colony-forming units per mliliter
Da	=	dalton
DMSO	=	dimethyl sulfoxide
INH	=	isoniazid
MBC	=	minimal bactericidal concentration
MIC	=	minimal inhibitory concentration
MRSA	=	methicilin resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
ml	=	milliliter
mg	=	milligram
NA	=	not active
nm	=	nanometer
RIE	=	rifampin
SD	=	standard deviation
µg	=	microgram