การเสริมฤทธิ์ของส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรง (*Sterculia foetida* Linn.) กับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียฉวยโอกาส

Synergistic Effect of Stem Bark Extract from *Sterculia foetida* Linn. with Antibiotics against Opportunistic Bacteria

ณัฐวดี ฟูเจริญไพบูลย์ และวิสาตรี คงเจริญสุนทร*

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ถนนลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

วารี เนื่องจำนงค์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ถนนลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

Nattawadee Phoocharoenpaiboon and Wisatre Kongchareonsuntorn*

Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University,

Long-Hard Bangsaen Road, Saensook, Muang, Chon Buri 20131

Waree Naengchomnong

Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University,

Long-Hard Bangsaen Road, Saensook, Muang, Chon Buri 20131

Received: October 9, 2019; Accepted: October 29, 2019

บทคัดย่อ

สำโรง (*Sterculia foetida* Linn.) เป็นสมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณรักษาโรคผิวหนัง โรคบิด และโรคท้องร่วง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาองค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกลำต้นสำโรง และทดสอบการเสริมฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียฉวยโอกาสบางสายพันธุ์ ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบฟลาโวนอยด์ ฟีโนลิค ฟีนอล เทอร์พีน สเตรอยด์ และน้ำตาล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดเมทานอลแสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0086±0.0017 mg/mL จากการทดสอบ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ผลการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* และ *Klebsiella pneumoniae* ได้ดีที่สุด และสามารถยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบ (MIC อยู่ระหว่าง 10-80 mg/mL) เมื่อนำส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงทดสอบการเสริมฤทธิ์กับยาแอมพิซิลลินและเตตราซัยคลิน พบว่าส่วนสกัดเอทานอลเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะยับยั้งแบคทีเรียบางสายพันธุ์ได้ดีกว่าส่วนสกัดเมทานอล (FICI อยู่ระหว่าง 0.03-0.5) และเสริมฤทธิ์กันได้ดีที่สุดช่วง log phase ในการยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae*, *P.*

**Corresponding author: wisatre@go.buu.ac.th*

DOI: 10.14456/tjst.2020.21

aeruginosa และ *S. aureus* ATCC 25923 ในชั่วโมงที่ 2-8 เมื่อใช้ความเข้มข้นยาปฏิชีวนะลดลง 1/32 - 1/4 เท่าของ MIC ยาปฏิชีวนะเพียงชนิดเดียว และลดการใช้สำโรง 1/512 - 1/8 เท่าของ MIC สำโรงเพียงชนิดเดียว ดังนั้นการใช้สำโรงร่วมกับยาปฏิชีวนะอาจเป็นทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย หรือประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

คำสำคัญ : สำโรง; แบคทีเรียฉวยโอกาส; แอมพิซิลลินและเตตราซัยคลิน; การเสริมฤทธิ์

Abstract

Sterculia foetida Linn. is a Thai medicinal plant commonly used for healing many diseases such as skin infection, dysentery, and diarrhea. This research aimed to analyze chemical components of *S. foetida* extract, and to study synergistic effect of the extract against some opportunistic bacteria. From chemical analysis of bark extract from *S. foetida*, flavonoid, phenolic compound, phenol, terpene, steroid and sugar were found. The antioxidant activity determined by DPPH (2,2- diphenyl- 1-picrylhydrazyl), of methanol extract was shown as the IC_{50} of 0.0086±0.0017 mg/mL. The bark extract of *S. foetida* showed the highest antibacterial activities against *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. In addition, the results showed that both methanol and ethanol extract from *S. foetida* exhibited antibacterial activities against all opportunistic bacteria (MIC values between 10-80 mg/mL). From the study of synergistic effect, the ethanol extract of *S. foetida* combined with ampicillin and tetracycline showed the better synergistic effect than the methanol extract against some opportunistic bacteria (FICI values between 0.03-0.5). The best times of synergistic effect against *Escherichia coli* ATCC 25922*, K. pneumoniae, P. aeruginosa* and *S. aureus* ATCC 25923 were in the log phase at the 2-8 hours after inoculum. The reduced MICs of antibiotics alone for killing bacteria were between 1/32 - 1/4 MICs of MICs' alone. Also, the reduced MICs of *S. foetida* extract were 1/512 - 1/8 MIC of MICs' alone. Thus, *S. foetida*' s extract mixed with antibiotics may be a new medicinal alternative to treat bacterial infection, and may be applied as a mixing in cosmetic products.

Keywords: *Sterculia foetida*; opportunistic bacteria; ampicillin and tetracycline; synergistic effect

1. คำนำ

แบคทีเรียฉวยโอกาสพบเป็นสาเหตุสำคัญในการติดเชื้อในผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน และมักก่อให้เกิดอุบัติการณ์แบคทีเรียดื้อยา ซึ่งทวีความรุนแรง ทำให้พบผู้ป่วยเสียชีวิตในอัตราที่สูงทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ (Fair and Tor, 2014) ในประเทศไทยมีการติดเชื้อฉวยโอกาสและดื้อยาประมาณปีละ 87,000 ครั้ง และเสียชีวิตจากเชื้อดื้อยา 38,000 ราย (ร้อยละ 40 ของผู้ติดเชื้อดื้อยา) (คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพ, 2558) เชื้อฉวยโอกาสเหล่านี้มักดื้อยาปฏิชีวนะทุกขนาน ทำให้อนาคตหากไม่ควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะจะส่งผลให้ไม่มียาปฏิชีวนะชนิดใดที่สามารถรักษาโรคติดเชื้อ

จากแบคทีเรียฉวยโอกาส จึงเป็นความจำเป็นอย่างเร่งด่วนที่ต้องหายาปฏิชีวนะชนิดใหม่ที่ปลอดภัยได้มาตรฐาน เพื่อนำมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะที่ในปัจจุบันใช้ไม่ได้ผล แต่ข้อเสียของการค้นหายาปฏิชีวนะชนิดใหม่นั้นใช้เวลานาน ค่าใช้จ่ายสูง และต้องทดสอบความปลอดภัยของยาชนิดใหม่ ซึ่งเสียเวลานานและอาจมีผลข้างเคียงต่อตับและไตของผู้ป่วย ดังนั้นแนวทางแก้ปัญหาเร่งด่วน คือ การนำสมุนไพรมาใช้ทดแทนหรือเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะ เช่น แอมพิซิลลินและเตตราซัยคลิน เนื่องจากมีประวัติการใช้รักษาโรคมาอย่างยาวนาน และสมุนไพรซึ่งใช้บริโภคอย่างแพร่หลาย มักเป็นส่วนผสมในยาแผนโบราณเสมอจึงมีความปลอดภัยสูง โดยเฉพาะสมุนไพรกลุ่มที่มีสรรพคุณเสริมภูมิคุ้มกัน ต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งจุลินทรีย์ เพราะอาจสามารถลดภาวะแทรกซ้อนจากการใช้ยาปฏิชีวนะในระยะเวลานาน ขณะเดียวกันการเสริมภูมิคุ้มกันและการต้านอนุมูลอิสระจะทำให้เม็ดเลือดขาวต่อสู้จุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และลดความเครียดของเซลล์ติดเชื้อในร่างกายไปพร้อมกัน (Dhama *et al*., 2014) ซึ่งสรรพคุณเหล่านี้ล้วนอยู่ในต้นสำโรง ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่มีประวัติการใช้ในตำรับยาไทยมาอย่างยาวนาน ทั้งใบ ดอก ผล และเปลือกมีสรรพคุณรักษาโรคท้องร่วง โรคบิด ติดเชื้อหนองใน โรคตับอักเสบ (อุทยานธรรมชาติวิทยาสิรีรุกขชาติโดยมหาวิทยาลัยมหิดล, 2553)

ต้นสำโรง (*Sterculia foetida* Linn.) วงศ์ Malvaceae เป็นไม้ยืนต้นผลัดใบขนาดใหญ่ ประเทศไทยพบในภาคอีสาน เหนือ ใต้ และตะวันออก มีสรรพคุณขับเสมหะ ต้านพิษ แก้โลหิต และลมพิการ แก้ไตพิการ และสมานแผลในกระเพาะและลำไส้ (El-Sherei *et al*., 2016) มีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ flavonoid, saponin, alkaloid, tannin, triterpene และ steroid (Shamsundar and Paramjyothi, 2010) รายงานการวิจัยต่าง ๆ พบว่าส่วนสกัดเปลือกสำโรงมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย เช่น การยับยั้ง *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mitis*, *S. aureus*, *Shigella flexneri*, *Salmonella* Typhi และ *K. pneumoniae* (Khatoon *et al*., 2016) นอกจากฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ยังพบฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น กรดไขมัน sterculic acid จากเมล็ดสำโรง ลดการเกิดก้อนเนื้องอกในหนู (rat) ที่ปลูกเซลล์มะเร็ง และมีฤทธิ์ต้านอักเสบ (Huang *et al*., 2012) lectin ในสำโรงสามารถต้านแบคทีเรียและป้องกันเม็ดเลือดแดงแตก (Braga *et al*., 2015) และมีการศึกษาใบสำโรง พบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และลดระดับน้ำตาลในเลือด (Galla, 2012; Hussain *et al*., 2014; Raja *et al*., 2014) นอกจากนี้สำโรงและสารบริสุทธิ์อื่น ๆ จากสำโรง มีฤทธิ์ชีวภาพที่น่าสนใจและเสริมภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Thabet *et al*., 2018) นอกจากนี้ยังพบการศึกษาผลการเสริมฤทธิ์ของ pentacyclic triterpenoids กับยา methicillin และ vancomycin สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* (Chung *et al*., 2011) รวมถึงพืชในวงศ์เดียวกับสำโรงอย่างกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) สามารถเสริมฤทธิ์ยา clarithromycin และ metronidazole ยับยั้ง *Helicobacter pylori* (ก่อให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้) (FICI = 0.21 และ FICI = 0.34, 0.39 ตามลำดับ) Hassan และคณะ (2016) รายงานการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าต้นสำโรงนั้นมีประวัติการใช้ในตำรับยาไทยโบราณ รวมถึงมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ แต่ยังขาดข้อมูลการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกลำต้นสำโรง และการเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรง ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการเสริมฤทธิ์กับยาแอมพิซิลลินและ

เตตราซัยคลินในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ฉวยโอกาส ความรู้จากงานวิจัยนี้อาจนำไปใช้ประโยชน์ เช่น นำเปลือกสำโรงผสมในเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด ทนแทนการใช้สารกันเสีย และในอนาคตอาจใช้สำโรงเพื่อการเสริมสุขภาพ ทั้งนี้เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับต้นสำโรง และเป็นการพิสูจน์ให้เห็นว่าเปลือกสำโรงที่มักใช้ในตำรับยาไทยมีสรรพคุณรักษาโรคติดเชื้อจุลินทรีย์

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมสมุนไพร

เปลือกลำต้นสำโรงแห้ง ได้รับการยืนยันสายพันธุ์โดย อ.ดร.เบญจวรรณ ชิวปรีชา นักพฤษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา รหัสพรรณไม้อ้างอิง คือ ScBuu-MS01 (เต็ม, 2557) ซึ่งเป็นส่วนของเปลือกสำโรงที่ได้รับจากร้านขายยาแผนโบราณ (สามัคคีเภสัช ตำบลบางปลาสร้อย อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี เก็บในช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2559) จำนวน 3.3 kg นำมาตากแดดให้แห้ง บดให้เป็นผงละเอียด และเก็บรักษาไว้ในที่แห้ง

2.2 การเตรียมส่วนสกัดหยาบ

สกัดเปลือกลำต้นสำโรงด้วยวิธีการหมัก (maceration) โดยนำผงละเอียดเปลือกลำต้นสำโรงแห้งจำนวน 2.3 และ 1 kg มาละลายในเมทานอล : น้ำ (อัตราส่วน 80 : 20) ปริมาตร 6,900 mL และละลายในเอทานอล : น้ำ (อัตราส่วน 80 : 20) ปริมาตร 3,000 mL ตามลำดับ หมักไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นกรองเฉพาะส่วนใส นำส่วนใสปราศจากตะกอนไประเหยแห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 55 °C จะได้ส่วนสกัดหยาบ (crude extract) เมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงจำนวน 97.09 g คิดเป็น 4.22 % (yield %) จากน้ำหนักเริ่มสกัด 2.3 kg และได้ส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงจำนวน 29.03 g คิดเป็น 2.903 % จากน้ำหนักเริ่มสกัด 1 kg จากนั้นเก็บรักษาไว้ในที่มืด

2.3 การหาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิกโครมาโทกราฟี

นำส่วนสกัดหยาบเมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรง น้ำหนัก 26.1787 g มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ระบบตัวทำละลายแบบ gradient elution (MeOH : EtOAc) 10 % จากนั้นหาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นด้วยวิธี thin layer chromatography โดยการสเปรย์รีเอเจนท์ 1 % aluminium chloride เพื่อทดสอบฟลาโวนอยด์ สเปรย์สารละลาย *p*-anisaldehyde-sulfuric acid และให้ความร้อน ทดสอบหาสารประกอบอื่น ๆ ได้แก่ ฟีนอล น้ำตาล สเตอรอยด์ และเทอร์พีน สเปรย์สารละลาย DPPH เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Houghton and Raman, 1998) และสเปรย์สารละลาย Dragendoff เพื่อทดสอบหาอัลคาลอยด์ (María *et al*., 2018)

2.4 การเตรียมแบคทีเรีย

แบคทีเรีย ได้แก่ *E. coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* ATCC 25923 และ *Bacillus subtilis* (ได้รับความอนุเคราะห์และยืนยันสายพันธุ์ด้วยวิธีทดสอบทางชีวเคมีจากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา) นำแบคทีเรีย 3-4 โคโลนี มาเลี้ยงในอาหาร nutrient broth (NB, Becton Dickinson, USA) ปริมาตร 2 mL บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 hr จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหาร nutrient agar (NA, Becton Dickinson, USA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 hr ให้เจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ก่อนทดสอบ

2.5 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

เป็นการทดสอบที่ปรับปรุงจากวิธี agar diffusion susceptibility test (Clinical and

Standard Institute, 2006) นำแบคทีเรีย 3-4 โคโลนีจากอาหาร NA มาเพาะเลี้ยงในอาหาร Mueller Hinton broth (MHB, Becton Dickinson, USA) ปริมาตร 3 mL เป็นเวลา 3 hr จากนั้นนำแบคทีเรียมาเทียบความขุ่นให้มีจำนวนเท่ากับ McFarland No. 0.5 โดยเจือจางด้วย 0.85 % NaCl จากนั้นนำเชื้อที่ปรับความขุ่นแล้วปริมาตร 1 mL (1.5×10^8 CFU/mL) ผสมให้เข้ากันกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA, Becton Dickinson, USA) ปริมาตร 19 mL จากนั้นเจาะหลุมเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm แล้วใส่สารทดสอบ (เจือจางสารทดสอบด้วยวิธี 2-fold serial dilution จากความเข้มข้น 80 mg/mL จะได้สารทดสอบที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.3125-80 mg/mL) ปริมาตร 40 µL ในการทดลองนี้ใช้ยาแอมพิซิลลินและเตตราซัยคลินเป็นยามาตรฐาน นำเพลททั้งหมดบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 hr ทดสอบทุก treatment จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นนำมาวัดค่า inhibition zone และบันทึกผล inhibition zone พร้อมหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและหาค่า MIC

2.5.1 การออกฤทธิ์ร่วมของส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงกับยาปฏิชีวนะ

ใช้วิธี agar diffusion susceptibility test โดยวางแผนการทดสอบการออกฤทธิ์ร่วมโดยใช้ checkerboard assay ผสมสารทดสอบทั้ง 2 ชนิด โดยใส่สารทดสอบที่ระดับความเข้มข้นลดลง 2 เท่า ตั้งแต่ 80-0.3125 mg/mL ปริมาตรอย่างละ 20 µL โดยนำส่วนสกัดจากเปลือกสำโรงมาผสมกับยาปฏิชีวนะ 20 µL ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน และนำมาใส่ในหลุมที่เจาะ เช่นเดียวกับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย นำเพลททดสอบทั้งหมดบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 hr บันทึกผล inhibition zone พร้อมหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและหาค่า MICco (MIC ของการออกฤทธิ์ร่วมกันของสารทดสอบกับยาปฏิชีวนะ) ทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง และนำไปยืนยันผลทดสอบการออกฤทธิ์ร่วมของยาปฏิชีวนะในแต่ละครั้งด้วยวิธี broth dilution susceptibility test แล้วนำค่า MIC ของยาปฏิชีวนะและสำโรง และค่า MICco ที่ได้มาหาค่าประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วม (fractional inhibitory concentration index, FICI) (Chung *et al*., 2011) โดยคำนวณได้จากสูตร FICI = (ค่า MICco ของการออกฤทธิ์ร่วมของสำโรง ÷ ค่า MIC สำโรง) + (ค่า MICco ของการออกฤทธิ์ร่วมของยาปฏิชีวนะ ÷ ค่า MIC ยาปฏิชีวนะ) โดยแปลผลค่า FICI ดังนี้ FICI ≤ 0.5 หมายถึง เสริมฤทธิ์กัน (synergistic); FICI = 0.51-0.99 หมายถึง เสริมฤทธิ์กันบางส่วน (partially synergistic); FICI = 1 หมายถึง มีแนวโน้มเสริมฤทธิ์ (additive); FICI = 1.01-4 หมายถึง ฤทธิ์ไม่ต่างจากการใช้สารตัวเดียว (indifferent); FICI > 4 หมายถึง ต้านฤทธิ์กัน (antagonistic)

2.5.2 การศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียต่อหน่วยเวลา (time kill curve)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ปริมาตร 2,800 µL ใส่แบคทีเรียปริมาตร 100 µL และเติมสารทดสอบ 100 µL (ส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรง 50 µL + ยาปฏิชีวนะ 50 µL โดยเลือกใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งอยู่ระหว่าง 0.25-512 เท่า MIC ของสำโรงและยาปฏิชีวนะ) สำหรับชุดควบคุม คือ MHB ที่เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อและยาปฏิชีวนะเป็นสารเทียบมาตรฐาน บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นับจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 และ 48 ตามลำดับ โดยการเจือจางแบคทีเรีย (10-fold serial dilution) แล้ว spread เชื้อปริมาตร 100 µL บนอาหาร NA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-20 hr นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียและบันทึกผล จากนั้นหาค่าประสิทธิภาพของการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจากจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิต (effectiveness antibacterial activity, EAA) (Sedlarik *et al*., 2010) โดยคำนวณจากสูตร EAA (%) = [(N_0 -

N_E) ÷ N_0] x 100 โดย N_0 คือ จำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย (CFU/mL) ของกลุ่มควบคุม; N_E คือ จำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย (CFU/mL) ของกลุ่มทดลอง แล้วสร้างกราฟ semilog จากความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและค่า log10 ของจำนวนแบคทีเรีย (CFU/mL)

2.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และ FRAP (ferric reducing antioxidant power)

นำส่วนสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงความเข้มข้น 1 mg/mL ปริมาตร 50 µL ผสมกับสารละลาย DPPH 0.2 mM ในเมทานอลปริมาตร 100 µL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วย microplate reader โดยใช้สาร butylated hydroxytoluene (BHT) เป็นสารมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบ จากนั้นคำนวณ radical scavenging (%) และคำนวณหาค่า IC_{50} ส่วนวิธี FRAP นำส่วนสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรง 1 mg/mL ปริมาตร 30 µL ในเมทานอลมาผสมกับ FRAP reagent 300 mM เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 596 nm ด้วย microplate reader (ทดสอบ 3 ซ้ำ)

2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) ของค่าเฉลี่ย inhibition zone และหาค่าความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธี Tukey โดยใช้โปรแกรม Minitab17 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และการวิเคราะห์แบบแฟคเทอเรียลในแผนแบบสุ่มในบลอคสมบูรณ์ (factorial experiment in a randomized complete block design) เพื่อทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างยาแอมพิ-ซิลลินและเตตราซัยคลินกับส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงในการยับยั้งแบคทีเรียที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การหาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

การวิเคราะห์หาสารประกอบทางเคมีของส่วนสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี แยกสารได้ทั้งหมด 46 fraction แต่ไม่พบสารบริสุทธิ์ เพียงพบว่าแต่ละ fraction มีองค์ประกอบของ flavonoid, phenolic compound, steroid, terpene และน้ำตาล รวมถึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อนำ fraction ที่มีปริมาณมากที่สุดจำนวน 5 fraction พบว่าบาง fraction ได้แก่ fraction ที่ 2.2 และ 5.5 สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ (20 mg/mL) (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Mari และคณะ (2016) พบว่าเปลือกสำโรงมี flavonoid, triterpene, steroid, saponin, tannin, alkaloid, protein และ carbohydrate ในปริมาณมาก และแต่ละ fraction ที่พบมักมี polyphenol ในปริมาณที่สูงมากซึ่งอาจช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ เพราะ polyphenol มีฤทธิ์รบกวนการผ่านเข้าออกของอิเล็คโตรไลท์จากเยื่อหุ้มเซลล์ และยับยั้งการขับสารออกนอกเซลล์ของแบคทีเรีย (Dey *et al*., 2012)

3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ส่วนสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีค่า IC_{50} 0.0086± 0.0017 mg/mL (รูปที่ 1) และมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก 12.16±0.62 มิลลิกรัมสมมูลของเฟอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิกรัมของส่วนสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรง ซึ่งผลการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระนี้มีค่าต่ำกว่ารายงานการวิจัยของ Khatoon และคณะ (2016) แม้จะใช้ส่วนสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงเหมือนกัน (มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} 66.84 mg/mL) แสดงให้เห็นว่าเปลือกลำต้นสำโรงหากเก็บจากแหล่งที่ต่างกัน อาจ

มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกันได้ (Boutakiout *et al.*, 2018)

3.3 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ฉวยโอกาส

ส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียฉวยโอกาสทุกชนิดที่ทดสอบ (ทดสอบทั้งหมด 7 สายพันธุ์) แสดงดังตารางที่ 2 โดยส่วนสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด (10 mg/mL) และส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงยับยั้งการเจริญของ *K. pneumoniae* ได้ดีที่สุด (20 mg/mL) และส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงทั้งเอทานอลและเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ATCC 25922, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* และ *S. aureus* ATCC 25923 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงกับ inhibition zone พบว่าเมื่อทดสอบด้วยความเข้มข้นที่สูงขึ้นจะทำให้ค่า inhibition zone ของแบคทีเรียมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้งานวิจัยนี้พบว่าส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงสามารถยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ได้เช่นเดียวกันกับส่วนสกัดจากใบสำโรงที่ได้จากรายงานการวิจัยของ Vital และคณะ (2010) และการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจากเปลือกลำต้นสำโรงที่ศึกษาวิจัยในครั้งนี้ให้ผลใกล้เคียงกับส่วนสกัดจากพืชวงศ์เดียวกันกับสำโรง เช่น เปลือกลำต้น *Sterculia setigera* Del. สามารถยับยั้งแบคทีเรียฉวยโอกาส ได้แก่ *S. aureus*, *P. mirabilis* และ *K. pneumoniae* (MIC = 25 mg/mL) (Anyiin *et al.*, 2011) ดังนั้นงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้เช่นเดียวกับส่วนอื่น ๆ ของต้นสำโรงและไม้วงศ์ใกล้เคียงกัน นอกเหนือจากพืชในวงศ์สำโรงและใกล้เคียงที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียฉวยโอกาสได้แล้วนั้น จะเห็นได้ว่าการสกัดเปลือกลำต้นสำโรงด้วยตัวทำละลายเมทานอล ให้สารออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีเช่นเดียวกันกับการสกัดมะม่วง ฝรั่ง ชา อาโวคาโด และส้มด้วยตัวทำละลายเมทานอล ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli*, *K. pneumoniae* และ *P. aeruginosa* (MIC = 32-1024 µg/mL) (Dzotam and Kuete, 2017)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของ fraction ที่ทราบองค์ประกอบทางเคมี

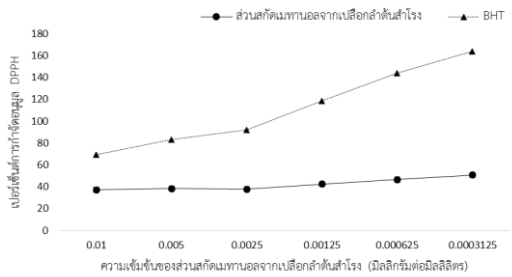
Methanol extract	Weight (g)	Rf	Compounds	Antibacterial Activity	
				Bacteria	MIC (mg/mL)
Fraction 2.1	0.2699	0.60	flavonoids + phenolic compound, phenol, terpenoid, steroid และน้ำตาล	*E. coli* ATCC 25922	n
				S. aureus ATCC 25923	20
Fraction 4.2	0.3494	0.50	flavonoids + antioxidants + phenolic compound, phenol, terpenoid, steroid และน้ำตาล	*E. coli* ATCC 25922	n
				S. aureus ATCC 25923	n
Fraction 5.2	0.4228	0.40	flavonoids + antioxidants + phenolic compound, phenol, terpenoid, steroid และน้ำตาล	*E. coli* ATCC 25922	n
				S. aureus ATCC 25923	n
Fraction 5.5	0.4478	0.60	antioxidants + phenolic compound, phenol, terpenoid, steroid และน้ำตาล	*E. coli* ATCC 25922	20
				S. aureus ATCC 25923	20
Fraction 6.2	0.2861	0.36, 0.90	antioxidants + phenolic compound, phenol, terpenoid, steroid และน้ำตาล	*E. coli* ATCC 25922	n
				S. aureus ATCC 25923	n

*n หมายถึง ไม่พบ inhibition zone

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงและยาปฏิชีวนะ

Test substance	Bacteria	Diameters of zones of inhibition from various of concentration (mg/mL)										Controls	MIC
		0.1563	0.3125	0.625	1.25	2.5	5	10	20	40	80		
Methanolic extract from *S. foetida*	*E. coli* ATCC 25922	n	n	n	n	n	n	n	n	0.80±0.00^{a}	1.10±0.00^{a}	n	40
	S. marcescens	n	n	n	n	n	n	n	0.83±0.05^{b}	0.97±0.06^{a}	1.00±0.05^{a}	n	20
	P. mirabilis	n	n	n	n	n	n	n	n	0.97±0.06^{a}	1.10±0.00^{a}	n	40
	P. aeruginosa	n	n	n	n	n	n	0.89±0.03^{c}	0.99±0.06^{b}	1.13±0.06^{a}	1.31±0.01^{a}	n	10
	K. pneumoniae	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
	S. aureus ATCC 25923	n	n	n	n	n	n	n	0.75±0.05^{b}	0.80±0.00^{a}	0.83±0.06^{a}	n	20
	B. subtilis	n	n	n	n	n	n	n	0.80±0.00^{b}	0.90±0.00^{a}	1.10±0.00^{a}	n	20
Ethanolic extract from *S. foetida*	*E. coli* ATCC 25922	n	n	n	n	n	n	n	n	0.80±0.00^{b}	1.10±0.00^{a}	n	40
	S. marcescens	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
	P. mirabilis	n	n	n	n	n	n	n	n	n	0.80±0.06^{a}	n	80
	P. aeruginosa	n	n	n	n	n	n	n	n	n	1.10±0.00^{a}	n	80
	K. pneumoniae	n	n	n	n	n	n	n	0.90±0.00^{b}	1.00±0.00^{b}	1.10±0.00^{a}	n	20
	S. aureus ATCC 25923	n	n	n	n	n	n	n	n	n	1.20±0.00^{a}	n	80
	B. subtilis	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
Ampicillin	*E. coli* ATCC 25922	n	1.10±0.00^{de}	1.30±0.00^{de}	1.50±0.00^{cde}	1.80±0.00^{bcde}	2.10±0.00^{abcde}	2.40±0.00^{abcd}	2.60±0.00^{abc}	2.80±0.00^{ab}	3.13±0.06^{a}	n	0.3125
	S. marcescens	1.12±0.03^{e}	1.15±0.26^{de}	1.20±0.00^{de}	1.42±0.06^{cde}	1.60±0.10^{bcde}	1.90±0.05^{abcde}	1.98±0.15^{abcd}	2.05±0.09^{abc}	2.25±0.13^{ab}	2.45±0.13^{a}	n	0.1563
	P. mirabilis	n	1.10±0.00^{de}	1.30±0.00^{de}	1.53±0.06^{cde}	1.77±0.06^{bcde}	2.07±0.06^{abcde}	2.37±0.06^{abcd}	2.57±0.06^{abc}	2.80±0.00^{ab}	3.00±0.00^{a}	n	0.3125
	P. aeruginosa	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
	K. pneumoniae	n	n	n	n	n	n	n	1.20±0.00^{abc}	1.30±0.00^{ab}	1.40±0.00^{a}	n	20
	S. aureus ATCC 25923	n	n	n	n	n	n	0.60±0.00^{abcd}	0.70±0.00^{abc}	0.73±0.06^{ab}	0.80±0.00^{a}	n	10
	B. subtilis	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
Tetracycline	*E. coli* ATCC 25922	n	1.10±0.00^{ef}	1.43±0.06^{ef}	1.60±0.00^{de}	1.80±0.00^{cde}	2.10±0.00^{cde}	2.40±0.00^{bcd}	2.60±0.00^{abc}	2.80±0.00^{ab}	3.00±0.00^{a}	n	0.3125
	S. marcescens	n	1.02±0.06^{ef}	1.18±0.21^{ef}	1.57±0.08^{de}	1.78±0.06^{cde}	1.90±0.08^{cde}	1.97±0.33^{bcd}	2.42±0.12^{abc}	2.63±0.06^{ab}	2.88±0.10^{a}	n	0.3125
	P. mirabilis	n	n	n	1.20±0.06^{de}	1.43±0.06^{cde}	1.60±0.00^{cde}	1.80±0.00^{bcd}	2.03±0.06^{abc}	2.33±0.06^{ab}	2.63±0.06^{a}	n	1.25
	P. aeruginosa	n	n	n	n	n	n	n	n	0.72±0.08^{ab}	0.95±0.13^{a}	n	40
	K. pneumoniae	0.96±0.06^{f}	1.23±0.06^{ef}	1.50±0.00^{ef}	1.73±0.06^{de}	1.90±0.00^{cde}	2.13±0.06^{cde}	2.40±0.00^{bcd}	2.60±0.00^{abc}	2.80±0.00^{ab}	3.00±0.06^{a}	n	0.3125
	S. aureus ATCC 25923	n	n	n	n	n	n	1.70±0.00^{bcd}	2.00±0.00^{abc}	2.90±0.00^{ab}	3.17±0.23^{a}	n	10
	B. subtilis	n	1.40±0.00^{ef}	1.73±0.00^{ef}	1.90±0.00^{de}	2.12±0.00^{cde}	2.33±0.06^{cde}	2.40±0.00^{bcd}	2.47±0.06^{abc}	2.60±0.00^{ab}	2.96±0.06^{a}	n	0.3125

n หมายถึง ไม่เกิด inhibition zone และ $^{a-f}$ เป็นตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)



รูปที่ 1 ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระของส่วนสกัดเมทานอลจากปลือกลำต้นสำโรง (DPPH) เมื่อปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT

3.4 ผลการเสริมฤทธิ์ของส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงกับยาปฏิชีวนะ

แสดงผลการทดสอบดังตารางที่ 3 พบว่าส่วนสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงสามารถเสริมฤทธิ์กับยาเตตราซัยคลินยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 (FICI = 0.156) และเสริมฤทธิ์กันบางส่วนในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ATCC 25922 แต่ไม่สามารถเสริมฤทธิ์กับยาแอมพิซิลลินในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ซึ่งงานวิจัยนี้ให้ผลทดสอบที่ต่างจากการใช้ส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรง โดยพบว่าถ้าใช้ส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงในการเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะแทน จะสามารถเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิด ได้ดีขึ้น เช่น สามารถร่วมกันยับยั้งการเจริญของ *K. pneumoniae* และ *P. aeruginosa* โดยเสริมฤทธิ์กับยาเตตราซัยคลินได้ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* (FICI = 0.156) เสริมฤทธิ์กับยาแอมพิซิลลินได้ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของ *K. pneumoniae* (FICI = 0.039) และงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารจากเมทานอลเป็นเอทานอล มีผลต่อการเสริมฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตาม ยังไม่

ทราบถึงกลไกการออกฤทธิ์ของส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงในการยับยั้งและเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะ จะต้องศึกษาด้วยเทคนิคอื่น ๆ เช่น flow cytometer เพื่อศึกษาการผ่านเข้าออกของสมุนไพรและยาปฏิชีวนะต่อเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย งานวิจัยนี้สนับสนุนการเสริมฤทธิ์กับพืชวงศ์อื่น ๆ เช่น เมื่อใช้ส่วนสกัดเอทานอลจากใบ *Ficus exasperata* จะเสริมฤทธิ์กับยาในกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์และสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มเดียวกันกับการทดสอบครั้งนี้ (Odunbaku *et al*., 2008) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางตัวในเปลือกลำต้นสำโรง อาจเข้าไปรบกวนการทำงานบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย หรือสารกลุ่ม polyphenol คือ eugenol อาจไปเสริมฤทธิ์กับยาแอมพิซิลลินยับยั้ง *E. coli* และ *S. aureus* (Hemaiswarya and Doble, 2009) หรือสารกลุ่ม terpene ในเปลือกสำโรงอาจช่วยเสริมฤทธิ์ให้ยาแอมพิซิลลินยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของ *S. aureus* ดีเหมือนการเสริมฤทธิ์ของ pentacyclic และ triterpenoid ร่วมกับยา methicillin และ vancomycin (Chung *et al*., 2011) จะเห็นได้ว่าสำโรงสามารถเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะหลายกลุ่มเช่นเดียวกับสมุนไพรชนิดอื่น เช่น *Rubus fellatae*, *Passiflora edulis* และ *Manihot esculenta* (Manekeng *et al*., 2018)

นอกจากนี้งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าส่วนของส่วนสกัดเมทานอลและเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรง เมื่อนำมาผสมกับยาแอมพิซิลลินและเตตราซัยคลินจะสามารถลดปริมาณการใช้ยาอย่างมีประสิทธิภาพ เพราะสามารถลดค่า MIC ของยาปฏิชีวนะลง 0.25-32 เท่าจากค่า MIC ของยาปฏิชีวนะเพียงชนิดเดียว และยาแอมพิซิลลินและเตตราซัยคลินก็สามารถลดปริมาณการใช้ส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงให้ลดลง 8-512 เท่าจากค่า MIC เดิมของส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรง (แสดงดังตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ร่วมของส่วนสกัดจากเปลือกลำต้นสำโรงกับและยาปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

Bacteria	The synergistic effect from *S. foetida* extract combined with antibiotics							
	Methanol extract combined with Ampicillin		Methanol extract combined with Tetracycline		Ethanol extract combined with Ampicillin		Ethanol extract combined with Tetracycline	
	FICI	Interpretations	FICI	Interpretations	FICI	Interpretations	FICI	Interpretations
Gram-negative bacteria								
E. coli ATCC 25922	4.008	Antagonistic	0.750	Partially synergistic	0.504	Synergistic	0.504	Synergistic
P. mirabilis	1.500	Indifferent	1.016	Indifferent	0.502	Synergistic	0.508	Synergistic
P. aeruginosa	-	-	1	Additive	-	-	0.156	Synergistic
K. pneumoniae	-	-	-	-	0.039	Synergistic	2.008	Indifferent
Gram-positive bacteria								
S. aureus ATCC 25923	1.031	Indifferent	0.156	Synergistic	0.563	Partially synergistic	0.375	Synergistic
B. subtilis	-	-	2.125	Indifferent	-	-	-	-

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบการลดค่า MIC จากเปลือกลำต้นสำโรงที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน (เอทานอลและเมทานอล)

Bacteria	Minimum Inhibitory Concentration (MIC)			
	Methanol extract alone/combination	Antibiotics alone/combination	Ethanol extract alone/combination	Antibiotics alone/combination
Ampicillin				
E. coli ATCC 25922	40/0.3125 = 128	0.3125/1.25 = 0.25	40/0.1563 = 256	0.3125/0.1563 = 2
P. mirabilis	40/20 = 2	0.3125/0.3125 = 1	80/0.1563 = 512	0.3125/0.1563 = 2
P. aeruginosa	-	-	-	-
K. pneumoniae	-	-	20/0.1563 = 128	20/0.625 = 32
S. aureus ATCC 25923	20/20 = 1	10/0.3125 = 32	80/5 = 16	10/5 = 2
B. subtilis	-	-	-	-
Tetracycline				
E. coli ATCC 25922	40/20 = 2	0.3125/0.078 = 4	40/0.1563 = 256	0.3125/0.1563 = 0.5
P. mirabilis	40/0.625 = 64	1.25/1.25 = 1	80/0.625 = 128	1.25/0.625 = 2
P. aeruginosa	10/5 = 2	40/20 = 2	80/10 = 8	40/1.25 = 32
K. pneumoniae	-	-	20/0.1563 = 128	0.3125/0.625 = 2
S. aureus ATCC 25923	20/2.5 = 8	10/0.3125 = 32	80/10 = 8	10/2.5 = 4
B. subtilis	20/2.5 = 8	0.3125/0.625 = 0.5	-	-

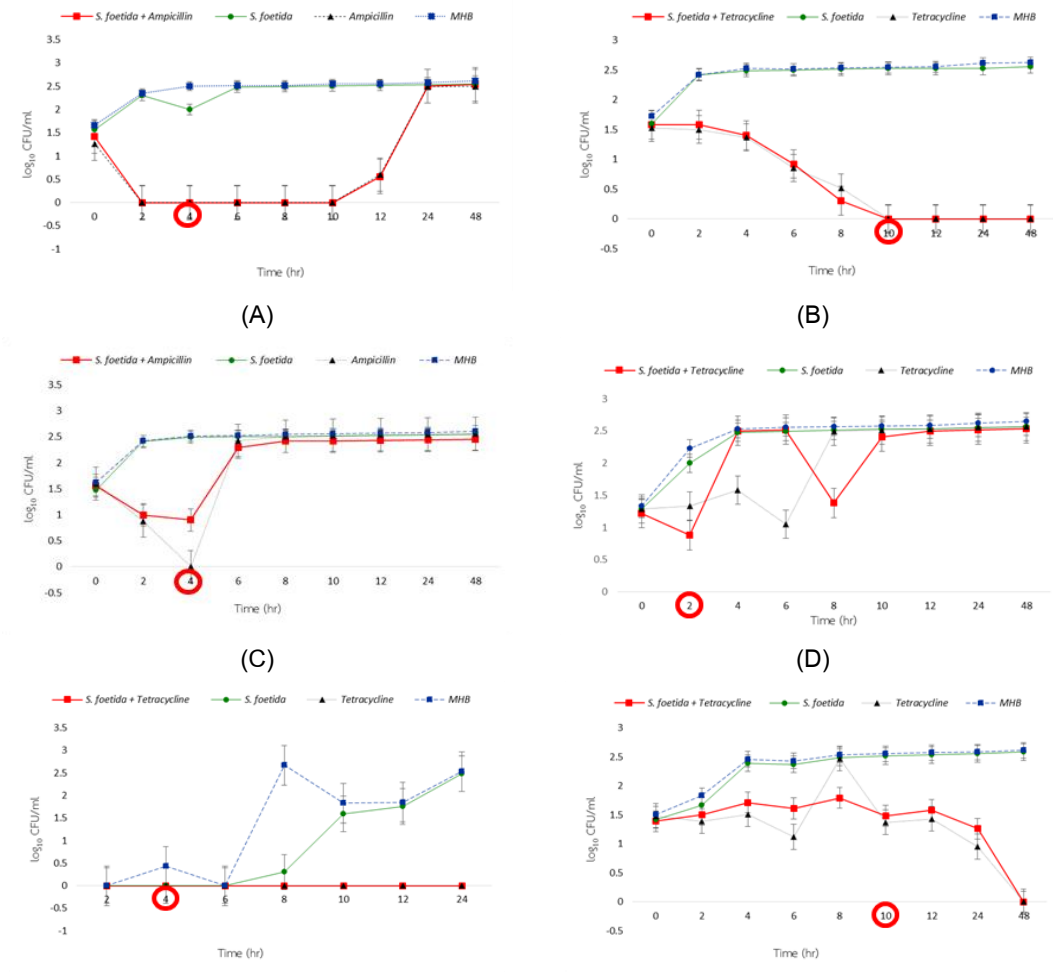
3.5 การศึกษา time kill curve

การทดสอบเพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเสริมฤทธิ์กันของส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงและยาปฏิชีวนะ โดยทดสอบกับเชื้อที่ให้ผลดีที่สุด 4 สายพันธุ์ คือ *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* และ *S. aureus* ATCC 25923 เมื่อศึกษาและติดตาม growth curve ของแบคทีเรียเป็นเวลา 48 hr พบว่าส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงกับยาปฏิชีวนะเสริมฤทธิ์กันในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในช่วงเริ่มต้นของการเจริญเติบโต (log phase) ในชั่วโมงที่ 2-8 (ค่า EAA ร้อยละ 91-100) (แสดงดังรูปที่ 2A-2F) และผลการทดสอบทางสถิติ พบว่าเวลาและส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงร่วมกับยาปฏิชีวนะ มีอิทธิพลร่วมกันในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่นำมาทดสอบ ซึ่งการเสริมฤทธิ์ร่วมกันนี้อาจเกิดจากการยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก การยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน การยับยั้งการเกาะติดบริเวณผิวเซลล์การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม การยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ รวมถึงรบกวนการแพร่ผ่านของสารอิเล็กโตรไลท์ที่เข้าออกบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Dzoyem *et al*., 2013; Xie *et al.,* 2015) และงานวิจัยนี้พบว่าเมื่อปรับสัดส่วนปริมาณการใช้ส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงร่วมกับยาแอมพิซิลลินและเตตราซัยคลินให้น้อยที่สุด คือ ต่ำกว่า 1/256 - 1/2 MIC ก็ยังสามารถออกฤทธิ์ร่วมกันได้ดี เพราะการปรับลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะจะช่วยลดผลข้างเคียงของการใช้ยาปฏิชีวนะต่อร่างกายมนุษย์หรือสัตว์ ซึ่งอาจนำผลการวิจัยนี้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำยาฆ่าเชื้อจากสารสกัดจากธรรมชาติ เช่น การนำส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือก

ลำต้นสำโรงมาผสมกับยาปฏิชีวนะเพื่อใช้ทดแทนวัตถุกันเสีย

4. สรุป

เปลือกลำต้นสำโรงพบองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ flavonoid, phenolic compound, steroid, terpene และน้ำตาล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียฉวยโอกาส รวมถึงสามารถเสริมฤทธิ์กับยาแอมพิซิลลินและเตตราซัยคลินเพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอย่างมีประสิทธิภาพ (สามารถลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิด ลง 1/32 - 1/4 เท่า MIC ของยาปฏิชีวนะเดิม) งานวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากธรรมชาติ หรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดที่มีสรรพคุณในการยับยั้งแบคทีเรีย



รูปที่ 2 A-F กราฟแสดงการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเมื่อทดสอบการเสริมฤทธิ์ของส่วนสกัดเอทานอลจากเปลือกลำต้นสำโรงกับยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ [A: *E. coli* ATCC 25922 (ampicillin), 2B: *E. coli* ATCC 25922 (tetracycline), 2C: *K. pneumoniae* (ampicillin), 2D: *K. pneumoniae* (tetracycline), 2E: *P. aeruginosa* (tetracycline) และ 2F: *S. aureus* ATCC 25923 (ampicillin)]

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยประเภทเงินรายได้ประจำปีงบประมาณ 2561 และขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา ภาควิชาเคมี และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และสารเคมี ในการศึกษาวิจัยเป็นอย่างดียิ่งเสมอมา

6. รายการอ้างอิง

คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพ, 2558, ภูมิทัศน์ของสถานการณ์และการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศไทย, สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์, กรุงเทพฯ.

เต็ม สมิตินันทน์, 2557, ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทยฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2557, โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

อุทธยานธรรมชาติวิทยาสิรีรุกขชาติโดยมหาวิทยาลัยมหิดล, แหล่งที่มา : https://www.pharmacy.mahidol.ac.th, 17 พฤษภาคม 2553.

Anyiin, T.A.T., Akpuaka, M.U. and Oluma, H.O.A., 2011, Phytochemical and antimicrobial studies on stem bark extract of *Sterculia setigera,* Del., Afr. J. Biotechnol. 10: 11011-11015.

Braga, A.A., Rodrigues, L.R., Medeiros, G.K., Gonçalves, G.F., Pessoa, H.L., Cardoso, J.D., Gadelha, C.A., da Silva, B.A. and Santi-Gadelha, T., 2015, Antibacterial and hemolytic activity of a new lectin purified from the seeds of *Sterculia foetida* L., Appl. Biochem. Biotechnol. 175:1689-1699.

Boutakiout, A., Elothmani, D., Hanine, H., Mahrouz, M., Le Meurlay, D., Hmid, I. and Ennahli, S., 2018, Effects of different harvesting seasons on antioxidant activity and phenolic content of prickly pear cladode juice, J. Saudi Soc. Agric. Sci. 17: 471-480.

Chung, P.Y., Navaratnam, P. and Chung, L.Y., 2011, Synergistic antimicrobial activity between pentacyclic triterpenoids and antibiotics against *Staphylococcus aureus* strains, Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 10: 25.

Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006, Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing, 16th Informational Supplement, Document M100S16, CLSI, Wayne, P.A.

Dey, D., Debnath, S., Hazra, S., Ghosh, S., Ray, R. and Hazra, B., 2012, Pomegranate pericarp extract enhances the antibacterial activity of ciprofloxacin against extended-spectrum β-lactamase (ESBL) and metallo-β-lactamase (MBL) producing Gram-negative bacilli, Food Chem. Toxicol. 50: 4302-4309.

Dhama, K., Singh, S.D., Barathidasan, R., Desingu, P.A., Chakraborty, S., Tiwari, R. and Kumar, M.A., 2014, Emergence of avian infectious bronchitis virus and its variants need better diagnosis, prevention and control strategies: A global perspective, Pak. J. Biol. Sci. 17: 751-767.

Dzotam, J.K. and Kuete, V., 2017, Antibacterial and antibiotic-modifying activity of methanol extracts from six Cameroonian food plants against multidrug-resistant

enteric bacteria, BioMed Res. Int. 2017: 1583510.

Dzoyem, J.P., Hamamoto, H., Ngameni, B., Ngadjui, B.T. and Sekimizu, K., 2013, Antimicrobial action mechanism of flavonoids from *Dorstenia* species, Drug Discov. Ther. 7: 66-72.

El-Sherei, M.M., Ragheb, A.Y., Kassem, M.E.S., Marzouk, M.M., Mosharrafa, S.A. and Saleh, N.A.M., 2016, Phytochemistry, biological activities and economical uses of the genus *Sterculia* and the related genera: A review, Asian Pac. J. Trop. Dis. 6: 492-501.

Fair, R.J. and Tor, Y., 2014, Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century, Perspect. Med. Chem. 6: 25-64.

Galla, N.R., 2012, *In vitro* antioxidant activity of *Sterculia foetida* seed methanol extract, Am. J. Pharm. Res. 2: 572-581.

Hassan, S.T.S., Berchová, K., Majerová, M., Pokorná, M. and Švajdlenka, E., 2016, *In vitro* synergistic effect of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extract in combination with standard antibiotics against *Helicobacter pylori* clinical isolates, Pharm. Biol. 54: 1736-1740.

Hemaiswarya, S. and Doble, M., 2009, Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against gram negative bacteria, Phytomedicine 16: 997-1005.

Houghton, P. and Raman, A., 1998, Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts, Chapman & Hall, London.

Huang, J., Amaral, J., Lee, J.W., Larrayoz, I.M. and Rodriguez, I.R., 2012, Sterculic acid antagonizes 7-ketocholesterol-mediated inflammation and inhibits choroidal neovascularization, Biochem. Biophys Acta 1821: 637-646.

Hussain, S.S., Janarthan, M., Anusha, S.K. and Ranjani, M., 2014, Preclinical evaluation of antidiabetic and antihyperlipidemic activity of methanol extract of *Sterculia foetida* leaves by using wistar albino rats, Indian J. Res. Pharm. Biotechnol. 2: 1430-1438.

Khatoon, A., Mohapatra, A. and Satapathy, K.B., 2016, Studies on *in vitro* evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Sterculia foetida* L. bark, Int. J. Pham. Sci. Res. 7: 2990-2995.

Manekeng, H.T., Mbaveng, A.T., Nguenang, G.S., Seukep, J.A., Wamba, B.E.N., Nayim, P., Yinkfu, N.R., Fankam, A.G. and Kuete, V., 2018, Anti-staphylococcal and antibiotic-potentiating activities of seven Cameroonian edible plants against resistant phenotypes, Investigational Med. Chem. Pharm. 1(1): 7.

Mari, K., Vadivu, R. and Radha, R., 2016, Phytochemical screening on the successive extracts of bark of *Sterculia foetida* Linn., Imperial J. Interdisciplinary Res. 2: 288-294.

María, R., Shirley, M., Xavier, C., Jaime, S., David, V., Rosa, S. and Jodie, D., 2018, Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador, J. King Saud Univ. Sci.

30: 500-505.

Odunbaku, O.A., Ilusanya, O.A. and Akasoro, K.S., 2008, Antibacterial activity of ethanol leaf extract of *Ficus exasperata* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus albus*, Sci. Res. Essay 3: 562-564.

Raja, T.A.R., Reddy, R.V.R. and Rao, K.U.M., 2014, Evaluation of anticonvulsant effect of *Sterculia foetida* (pinari) in Pentylenetetra zole (PTZ) and mes induced convulsions in albino rat, World J. Pharm. Pharm. Sci. 3: 1898-1907.

Sedlarik, V., Galya, T., Sedlarikova, J., Valasek, P. and Saha, P., 2010, The effect of hydrolysis degree on the properties of antibacterial polymeric films based on poly(vinyl alcohol) and zinc sulphate for biomedical applications, J. Biomat. Sci. Polym. Edit. 21: 1421-1440.

Shamsundar, S.G. and Paramjyothi, S., 2010, Preliminary pharmacognostical and phytochemical investigation on *Sterculia foetida* Linn. Seeds, Afr. J. Biotechnol. 9: 1987-1989.

Thabet, A.A., Youssef F.S., El-Shazly, M. and Singab, A.N.B., 2018, Sterculia and Brachychiton: A comprehensive overview on their ethnopharmacology, biological activities, phytochemistry and the role of their gummy exudates in drug delivery, J. Pharm. Pharm. 70: 450-474.

Vital, P.G., Velasco, Jr.R.N., Demigillo, J.M. and Rivera, W.L., 2010, Antimicrobial activity, cytotoxicity and phytochemical screening of *Ficus septica* Burm and *Sterculia foetida* L. leaf extracts, J. Med. Plants Res. 4: 58-63.

Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X. and Ren, L., 2015, Antibacterial activities of flavonoids: Structure-activity relationship and mechanism, Curr. Med. Chem. 22: 132-149.