ด0 ค.

ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของกระชาย พญายอ ฟ้าทะลายโจร มังคุด รงทอง ว่านดอกดิน และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

Antimicrobial Activities of *Boesenbergia pandurata*, *Clinacanthus nutans*, *Andrographis paniculata*, *Garcinia mangostana*, *Garcinia hanburyi*, *Kaempferia rotunda* and Synthetic Polyamine Compounds.

ไพลิน เพียรพิจิตร

Phailin Peanpijit

ค.
เลขหมู่ QK99.T5 พ๑๔ 2536 ค.2
เลขทะเบียน 033469
7/ [illegible] 2537

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biological Sciences

Prince of Songkla University

2536

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของกระชาย พญายอ ฟ้าทะลายโจร มังคุด รงทอง ว่านดอกดิน และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน
ผู้เขียน	นางสาวไพลิน เพียรพิจิตร
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรรยา นครินทร์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรรยา นครินทร์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ วุฒะกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์ สุภาวิตา)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

.....
(ดร.ไพรัตน์ สงวนไทร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของกระชาย พญายอ ฟ้าทะลายโจร มังคุด รงทอง ว่านดอกดิน และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

ผู้เขียน นางสาวไพลิน เพียรพิจิตร

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ชีวภาพ

ปีการศึกษา 2536

บทคัดย่อ

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของกระชาย พญายอ ฟ้าทะลายโจร มังคุด รงทอง ว่านดอกดิน และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน กับไวรัส แบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา พบว่าในการทดลองแบบ inactivation สารสกัดจากพญายอ มังคุด และ solamine ที่ความเข้มข้น 50, 25-100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ต้านการเจริญของ Herpes simplex virus type 2 และไม่มีสารสกัดจากสมุนไพรหรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนชนิดใดต้านการเจริญของ Influenza virus, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Candida albicans* ได้ สารสกัดจากพญายอโดยมีค่า minimal inhibitory concentration (MIC) และ minimal bactericidal concentration (MBC) เท่ากับ 25,000 และ 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และรงทอง โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 50-200 และ 100-400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ต้านการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 กระชาย โดยมีค่า MIC 31-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต้านการเจริญของเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟท์ ซึ่งได้แก่ *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum* และ *Trichophyton mentagrophytes*

สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร ว่านดอกดิน solapalmitine, solapalmitenine และ solacaproine ไม่สามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิด ที่ทดสอบ

Thesis title Antimicrobial Activities of *Boesenbergia pandurata*, *Clinacanthus nutans*, *Andrographis paniculata*, *Garcinia mangostana*, *Garcinia hanburyi*, *Kaempferia rotunda* and Synthetic Polyamine Compounds.

Author Miss Phailin Peanpijit

Major program Biological Sciences

Academic year 1993

Abstract

Antimicrobial activities of the following medicinal plants: *Boesenbergia pandurata*, *Clinacanthus nutans*, *Andrographis paniculata*, *Garcinia mangostana*, *Garcinia hanburyi*, *Kaempferia rotunda* and synthetic polyamine compounds were tested against viruses, bacteria, yeast and fungi. The crude extracts of *Clinacanthus nutans* (50 ug/ml), *Garcinia mangostana* (25-100 ug/ml) and solamine (200 ug/ml) inhibited Herpes simplex virus type 2 in the inactivation treatment, but none of the extracts from medicinal plants and synthetic polyamine compounds inhibited Influenza virus, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Candida albicans*. The extracts of *Clinacanthus nutans*, with the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) values of 25,000 and 100,000 ug/ml, and *Garcinia hanburyi*, with the MIC and MBC values of 50-200 and 100-400 ug/ml respectively, were found to inhibit *Staphylococcus*

aureus ATCC 25923. *Boesenbergia pandurata*, with the MIC value of 31-500 ug/ml inhibited dermatophytes; *Epidermophyton* floccosum, *Microsporum gypseum* and *Trichophyton mentagrophytes*.

Andrographis paniculata, *Kaempferia rotunda*, solapalmitine, solapalmitenine and solacaproine showed no antimicrobial activities.

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรรยา นครินทร์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาและผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร กรรมการที่ปรึกษาร่วม ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ พร้อมทั้งผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ วุฒะกุล กรรมการผู้แทนภาควิชาจุลชีววิทยา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์ สุภาวิตา กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้กรุณาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และได้เสนอแนวทางแก้ไขปรับปรุงให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนอุดหนุนในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือจนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณแม่ และพี่ ๆ ทุกท่าน โดยเฉพาะ คุณจริยา เพียรพิจิตร ที่ให้ความห่วงใย และสนับสนุนการศึกษาตลอดมา ขอขอบคุณ คุณไพบูลย์ บุญลิปตานนท์ สำหรับกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์นี้

ประโยชน์และผลสำเร็จ ตลอดจนส่วนดีทั้งหลายของงานวิจัยนี้ขออุทิศให้แด่ผู้ที่ข้าพเจ้ากล่าวมาทุกท่าน

ไพลิน เพียรพิจิตร

สารบาญ

	หน้า
รายการตาราง	ช
รายการตารางภาคผนวก	ซ
รายการรูป	ฌ
บทนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
สมุนไพร	3
กระชาย	3
พญายอ	5
ฟ้าทะลายโจร	6
มังคุด	11
รงทอง	14
ว่านดอกดิน	15
สารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน	17
ไวรัส	18
แบคทีเรีย	23
ยีสต์และเชื้อรา	25
วัตถุประสงค์	29
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	30
ผลการทดลอง	46
บทวิจารณ์	72
บทสรุป	78
เอกสารอ้างอิง	80

สารบาญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	88
ภาคผนวก ก Plaque assay	88
ภาคผนวก ข Haemagglutination assay	90
ภาคผนวก ค Eagle minimum essential medium	93
ภาคผนวก ง ตารางผลการวิจัย	94

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน	68
2	ฤทธิ์ต้านยีสต์ *Candida albicans* ของสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน	70
3	ฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟท์ของสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน	71

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
1	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Pre-treatment	94
2	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Pre-treatment	97
3	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Inactivation	98
4	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Inactivation	101
5	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Post-treatment	102
6	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Post-treatment	105
7	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Pre-treatment	106
8	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Pre-treatment	109
9	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Inactivation	110
10	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Inactivation	113
11	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Post-treatment	114
12	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Post-treatment	118

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	กระชาย (*Boesenbergia pandurata*)	4
2	พญายอ (*Clinacanthus nutans*)	6
3	ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*)	8
4	สูตรโครงสร้างของสารสำคัญ 3 ชนิดที่พบในฟ้าทะลายโจร	9
5	มังคุด (*Garcinia mangostana*)	13
6	รงทอง (*Garcinia hanburyi*)	16
7	ว่านดอกดิน (*Kaempferia rotunda*)	16
8	สูตรโครงสร้างของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน	18
9	แสดงการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ VERO	36
10	แสดง plaques ที่เกิดจาก HSV-2 ในเซลล์ VERO	37
11	แสดงการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ MDCK	39
12	แสดงผลของ Haemagglutination Assay	40
13	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Pre-treatment	48
14	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน แบบ Pre-treatment	49
15	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Inactivation	51
16	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน แบบ Inactivation	53
17	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 แบบ Inactivation ของสารสกัดจากพญายอ มังคุด และ solamine	54
18	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Post-treatment	56

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
19	ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน แบบ Post-treatment	57
20	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Pre-treatment	59
21	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Pre-treatment	60
22	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Inactivation	62
23	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน แบบ Inactivation	63
24	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Post-treatment	65
25	ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธุ์โพลีเอมีน แบบ Post-treatment	66

บทนำ

ความเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นกับมนุษย์ทวีความรุนแรง และพบโรคใหม่ ๆ เกิดขึ้นเสมอ ในขณะที่การพัฒนาและผลิตยารักษาโรคก็มากขึ้นเช่นกัน ยาที่ใช้ในประเทศไทยส่วนใหญ่ได้จากการสั่งซื้อจากต่างประเทศ และมีแนวโน้มการสั่งซื้อสูงขึ้นอย่างรวดเร็วโดยในปี พ.ศ. 2533 มีมูลค่าการนำเข้าผลิตภัณฑ์เวชกรรมและเภสัชกรรม 5,316.2 ล้านบาท และเพิ่มเป็น 6,253.0 ล้านบาท ในปี พ.ศ. 2534 (กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์, 2535)

คนไทยรู้จักนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ในการบำบัดอาการเจ็บป่วยมาช้านาน แต่เมื่อมีการนำยาแผนปัจจุบันมาใช้ ทำให้การใช้ยาสมุนไพรลดลง เนื่องจากยาสมุนไพรมีวิธีการเตรียมที่ยุ่งยาก และการออกฤทธิ์ค่อนข้างช้ากว่ายาแผนปัจจุบัน กระทรวงสาธารณสุขมีนโยบายที่จะส่งเสริมสนับสนุนให้ประชาชนรู้จักและใช้สมุนไพรมากขึ้นกว่าเดิม โดยเฉพาะอย่างยิ่งให้รู้จักใช้สมุนไพรที่มีอยู่แล้วใกล้บ้านหรือมีอยู่แล้วในท้องถิ่นในการบำบัดอาการเจ็บป่วยที่ไม่ร้ายแรง อันจะเป็นผลดีต่อตนเองในด้านของความสะดวก ประหยัด และรู้จักพึ่งตนเอง และส่งผลกระทบเป็นการลดจำนวนยาแผนปัจจุบันที่ใช้เกินความจำเป็นและลดอันตรายจากการใช้ยาแผนปัจจุบันซึ่งมีมากกว่ายาสมุนไพร การใช้สมุนไพรในการบำบัดอาการเจ็บป่วยต่าง ๆ ทั้งหมดหรือเกือบทั้งหมด ล้วนแต่เป็นการใช้ตามความเชื่อสืบต่อกันมา และส่วนใหญ่ยังขาดข้อมูลการศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่จะยืนยันถึงสรรพคุณของสมุนไพรชนิดนั้น ๆ อย่างแท้จริง ดังนั้นควรศึกษาวิจัยสมุนไพร เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ต่อไป ซึ่งขณะนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ก็ให้ความสนใจศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรหลายชนิด (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2533) การหาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์จากสมุนไพรเพื่อนำไปใช้ในการผลิตเป็นยาในรูปแบบที่มีการใช้ได้สะดวก และใช้เฉพาะสารออกฤทธิ์ทำให้สามารถใช้ยาในขนาดคงที่ ไม่ต้องใช้ปริมาณมากเช่นเดิม อาจจะช่วยให้ความนิยมในการใช้ยาสมุนไพรกลับคืนมา นอกจากสมุนไพรแล้วสารบางตัวที่ออกฤทธิ์ในการบำบัดโรคต่าง ๆ ได้เช่นพวกสารโพลีเอมีนบางตัว เมื่อสามารถสังเคราะห์ได้เองภายในประเทศก็เป็นการพัฒนาเป็นยาอีกทางหนึ่ง นอกจากการใช้สมุนไพรในการรักษาโรค จะเป็นประโยชน์

ต่อประเทศชาติอย่างมาก แล้วยังสามารถลดอัตราการนำเข้าผลิตภัณฑ์เวชกรรมและเภสัชกรรม อีกทั้งประชาชนที่อยู่ในชนบทห่างไกลยังสามารถดูแล รักษาตัวเองเบื้องต้นได้จากสมุนไพรใกล้ตัว

การตรวจเอกสาร

1. สมุนไพร

ยาสมุนไพร ตามพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2522 หมายถึง ยาที่ได้จากพฤกษชาติ สัตว์ หรือแร่ ซึ่งยังมิได้ผสม ปรุง หรือแปรสภาพ (สดใส รักกุศล และ ธนารัตน์ รักกุศล, 2522) การใช้ยาสมุนไพรควรมีความรู้เบื้องต้นดังนี้คือ ต้องรู้จักชนิดของสมุนไพรให้ถูกต้อง เพราะในแต่ละท้องถิ่นจะเรียกชื่อพื้นเมืองซึ่งแตกต่างกัน ต้องรู้วิธีใช้ว่าจะนำส่วนใดมาทำเป็นยา มีความรู้ทางพฤกษศาสตร์ รู้จักลักษณะของยาเช่น สี กลิ่น รส ต้องรู้จักวิธีเก็บรักษาสมุนไพร (สมพร หิรัญรามเดช, 2525; สำลี ใจดี, 2525 และ สุพัตน์ ธีรเวชเจริญชัย, 2533)

1.1 กระชาย

กระชายมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Boesenbergia pandurata* (Roxb) Schlecht วงศ์ Zingiberaceae ชื่อพื้นเมืองภาคเหนือเรียก กะแอน ระแอน แม่ฮ่องสอนเรียก จี๊ปู ชีผู้ เป๊าะซอเว๊าะ เป๊าะสี่ กรุงเทพฯ เรียกว่าว่านพระอาทิตย์ กำแพงเพชรเรียกไม้ตาวอ ภาคกลางเรียกกระชาย อินโดนีเซียเรียกกุนชี

กระชายมีถิ่นกำเนิดที่ อินโดนีเซีย ไทย มาเลเซีย กระชายเป็นไม้ล้มลุกลำต้นสูงประมาณ 2 เมตร มีลำต้นใต้ดินเรียกว่าเหง้า แต่ละเหง้ามีสีน้ำตาลแกมเทาจนถึงน้ำตาลแกมส้ม ใบมีขนาดยาว โดยส่วนยาวของใบจะยาวเป็นสองเท่าของส่วนกว้างของใบ ใบมีสีเขียวอ่อน ท้องใบมีสีแดง เนื้อใบละเอียด กาบใบมีสีแดงหรือสีแดงปนสีเขียวอ่อน ดอกสีม่วงแดง กลีบเลี้ยงและกลีบดอกจะเชื่อมติดกัน เกสรตัวผู้มี 5-6 อัน ผลเป็นแบบผลแห้ง เมื่อแก่แล้วจะไม่แตก กระชายเจริญได้ดีในที่มีอากาศร้อนชื้นและเขตอบอุ่น (รูปที่ 1)

รูปที่ 1 กระชาย (*Boesenbogia pandurata*)

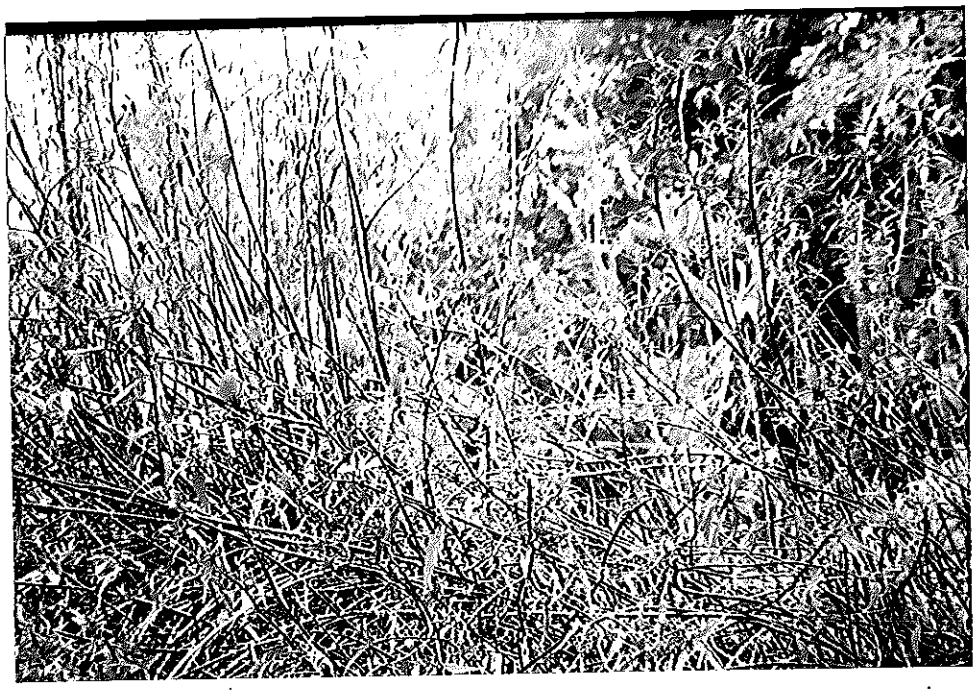
รากและเหง้าของกระชาย แก้โรคในปาก เช่น ปากเปื่อยและปากเป็นแผล แก้ใจสั่น บำรุงหัวใจ ในตำรายาไทยใช้กระชายตำรวมกับมะขามเปียกและเกลือแกง ต้มน้ำดื่มแก้โรคริดสีดวงทวาร เหง้าอ่อนและแก่ใช้ขับลม ขับปัสสาวะ ขับระดูขาว แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ รากและเหง้าสดตำเอาน้ำทาแก้โรคกลากเกลื้อน เหง้าตากแห้งบดละเอียดผสมกับน้ำผึ้งกระตุ้นสมรรถภาพทางเพศ แก้เจ็บปวดบั้นเอว (เต็ม สมิตินันท์, 2523; บัญญัติ สุชศรีงาม, 2527; การปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย, 2528; พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 2530 และวิทย์ เที่ยงบูรณธรรม, 2530) กระชายมีสารประกอบทางเคมีคือ รากและเหง้ามี alpinetin, boesenbergin A, boesenbergin B, pinocembrine, 2-dihydroxy-4-methoxychalcone และน้ำมันหอมระเหย (อรุณพร อิฐรัตน์, 2532) ซึ่ง Jaipetch และคณะ (1983) สกัดแยกสารต่าง ๆ จากเหง้ากระชายได้ 5-hydroxy-7-methoxyflavanone, 5,7-dimethoxyflavanone, 5-hydroxy-

7-methoxyflavone, 5-hydroxy-7, 4'-dimethoxyflavone, 5,7-dimethoxyflavone, 5,7-4'-trimethoxyflavone, 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone, 5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone, 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone, 3,5,7-tri-methoxyflavone และ 5-hydroxy-3,7,3',4'-tetramethoxyflavone นอกจากนี้ยังมีรายงานการแยกสารสำคัญต่าง ๆ จากเหง้ากระชาย เพิ่มอีก 5 ชนิดคือ 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone, 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone, 5-hydroxy-7, 4'-dimethoxyflavanone, 2'-hydroxy-4', 6'-dimethoxychalcone และ 2'-hydroxy-4, 4', 6'-trimethoxychalcone (Herunsalee, Pancharoen, and Tuntiwachwuttikul, 1987)

1.2 พญายอ

พญายอมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clinacanthus nutans* Lind. วงศ์ Acanthaceae ภาคกลางเรียก พญาปล้องทอง พญาปล้องดำ คงคาเย็น เชียงใหม่เรียก ผักลิ้นเขียด ผักมันไก่ ลิ้นมังกร พญายอ ลำปางเรียก พญาปล้องคำ แม่ฮ่องสอน เรียกพญายอกระเหรี่ยงแม่ฮ่องสอนเรียกโพะไซ่จ้าง มีถิ่นกำเนิด ไทย อินโดนีเซีย จีน มาเลเซีย

พญายอเป็นไม้พุ่มเลื้อย ลำต้นหรือกิ่งก้านเกลี้ยง ใบออกตรงข้ามกันเป็นคู่ ๆ ใบยาวแคบ ปลายใบยาวแหลม โคนใบกลมรี ขนาดยาว 7-9 เซนติเมตร กว้าง 2-3 เซนติเมตร ก้านใบยาว 0.5 เซนติเมตร ดอกออกเป็นกระจุกที่ปลายกิ่ง กลีบรองกลีบดอกสีเขียว ยาวเท่า ๆ กัน มีขนเป็นต่อมเหนียว ๆ อยู่โดยรอบ กลีบดอกเป็นหลอดสีแดง ยาว 3-4 เซนติเมตร ปลายแยกเป็น 2 กลีบ คือกลีบบนและกลีบล่าง ไม่เคยติดเป็นฝักในประเทศไทย (รูปที่ 2) ปลูกกันทั่วไปตามบ้าน และมีขึ้นในป่าผลัดใบ ใบสด 10-15 ใบ ตำผสมกับเหล้าพอกแผล ทั้งต้นใช้เป็นยาถอนพิษไข้ พิษร้อน แก้ร้อนใน และถอนพิษยาเบื่อเมา ในอินโดนีเซียใช้รักษาโรคบิด (บุศบรรณ ณ สงขลา, 2519; เต็ม สมิตินันทน์, 2523 และ อรุณพร อิฐรัตน์, 2532) ในใบมีสารสำคัญออกฤทธิ์คือ β -sitosterol,



รูปที่ 2 พญายอ (*Clinacanthus nutans*)

lupeol, betulin (อรุณพร อิฐรัตน์, 2532; Dampawan, *et al.*, 1977) Cherdchu และคณะ (1977) พบว่าสารสกัดจากใบพญายอ ไม่มีฤทธิ์ต้านพิษ งูเห่า ในการทดลอง *in vitro* และ *in vivo* อารีรัตน์ ลออปักษา สุรัตนา อำนวยผล และวิเชียร จงบุญประเสริฐ (2531) ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของพญายอ พบว่า ไม่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ β -streptococcus group A, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *Klebsiella pneumoniae*

1.3 ฟ้าทะลายโจร

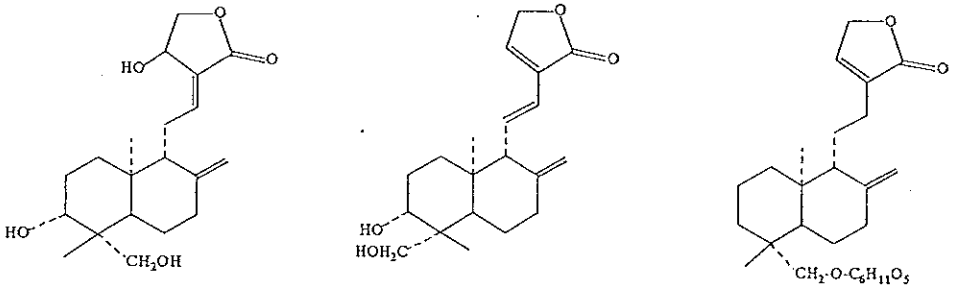
ฟ้าทะลายโจร มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Andrographis paniculata* (Burm) Wall ex Nees. วงศ์ Acanthaceae รู้จักกันในชื่อเรียกอื่น ๆ ตามแต่ละท้องถิ่น เช่น

กรุงเทพฯ เรียกฟ้าทะลาย น้ำลายพังพอน สงขลาเรียกหญ้ากันงู ทางพนัสนิคมเรียกฟ้าสาง โพธารามเรียกเขยตายยายคลุม ร้อยเอ็ดเรียกสามสิบดี ยะลาเรียกเมฆทะลาย พัทลุงเรียกฟ้าสะท้าน จีนเรียก ชวงซิมน้อย เจ็กเกี๊ยงฮี โซ่งเช่า หรือ ซี้บังกี่ (สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล, 2528; อรุณพร อิฐรัตน์, 2532 และ กระแส วัชรปาณ, 2533)

ฟ้าทะลายโจรเป็นพืชล้มลุก สูง 30-100 เซนติเมตร ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยมเห็นได้ชัดเจน ใบเดี่ยวติดกับลำต้นเป็นคู่ตรงกันข้ามในแต่ละข้อ ตัวใบรูปไข่รีหรือเรียวยาว ปลายใบและโคนใบแหลม ก้านใบยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร ขนาดของใบกว้าง 1-3 เซนติเมตร ยาว 3-12 เซนติเมตร ดอกสีขาวอมม่วง มีขนาดเล็กและยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ติดเป็นช่อยาวออกทั้งที่ปลายยอดและซอกโคนก้านใบ ผลเป็นฝักแบนขนาดหนา 3-4 มิลลิเมตร ยาว 1.5-2 เซนติเมตร เมื่อแก่ฝักจะแตกเป็น 2 ซีก ภายในมีเมล็ดแบนซีกละ 6 เมล็ด ดังรูปที่ 3 (สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล, 2528; กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2533 และ กระแส วัชรปาณ, 2533)

ต้นฟ้าทะลายโจรเป็นสมุนไพรที่ชาวจีน อินเดีย และชวา นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางและรู้จักใช้กันมานานแล้ว แต่แพทย์แผนโบราณและชาวบ้านของไทยกลับไม่ค่อยรู้จักและไม่นิยมใช้กันนัก ทั้งๆ ที่มีการทดลองพบว่าต้นไม้นี้ที่ปลูกในเมืองไทย มีสารออกฤทธิ์มากกว่าที่ปลูกในประเทศจีน (Jewvachdamrongkul, *et al.*, 1987) แต่อย่างไรก็ตาม ไม่ว่าจะปลูกที่ใด ต่างก็มีสรรพคุณเหมือนกัน เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ตัวเดียวกัน ซึ่งสารออกฤทธิ์นี้มีการค้นพบ และเปิดเผยมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2436 โดยวงการแพทย์ของประเทศจีน และได้มีการทดลองค้นคว้าอย่างต่อเนื่องถึงฤทธิ์และสรรพคุณต่าง ๆ จนได้ผลปรากฏว่าต้นฟ้าทะลายโจรมีสารสำคัญกว่า 30 ชนิด แต่ที่มีฤทธิ์รักษาโรคเด่น ๆ มีอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ แอนโดรแกรโฟไลด์ (andrographolide) นีโอแอนโดรแกรโฟไลด์ (neoandrographolide) และดีออกซี่แอนโดรแกรโฟไลด์ (deoxyandrographolide) สารที่มีมากที่สุดคือ แอนโดรแกรโฟไลด์ซึ่งเป็นตัวสำคัญที่ทำให้ฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์รักษาโรค ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้มีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 4 (สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล, 2528; จินตนา เพชรมณีโชติ, 2534 และ Dechatiwongse Na Ayudhya, *et al.*, 1990)

รูปที่ 3 ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*)



Andrographolide 14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide Neoandrographolide

รูปที่ 4 สูตรโครงสร้างของสารสำคัญ 3 ชนิดที่พบในฟ้าทะลายโจร

ฟ้าทะลายโจรที่ปลูกในประเทศไทยมีสารแอนโดรแกรโฟไลด์มากถึงร้อยละ 1.7 ในขณะที่ประเทศจีนกำหนดว่าถ้ามีสารนี้ถึงร้อยละ 1.5 ก็ใช้เป็นยาได้แล้ว ซึ่งสารนี้พบมากที่สุดในใบ ส่วนในลำต้นและกิ่งมีจำนวนน้อย ไม่พบในรากและเมล็ด (ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ อ้างโดย สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล, 2528)

สรรพคุณของฟ้าทะลายโจรสามารถรักษาโรคได้หลายชนิด แต่สรรพคุณเด่น ๆ ได้แก่

1. แก้อาการปวดท้อง ท้องเสีย บิด และแก้กระเพาะอักเสบ ลำไส้อักเสบ
2. แก้อาการไอ เจ็บคอ คออักเสบ ต่อมทอนซิลอักเสบ และหลอดลมอักเสบ
3. แก้ไข้ทั่ว ๆ ไป เช่น ไข้หวัด และไข้หวัดใหญ่
4. เป็นยาช่วยเจริญอาหาร

เนื่องจากฟ้าทะลายโจร เป็นพืชที่มีสรรพคุณรักษาโรคได้หลายชนิด วิธีใช้รักษาในแต่ละโรคจึงแตกต่างกันออกไป ทั้งในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงและประยุกต์เพื่อใช้ได้สะดวกมากขึ้น สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล (2528) ได้แบ่งวิธีใช้ออกเป็นประเภทต่าง ๆ ดังนี้

ยาชง เป็นวิธีใช้สำหรับแก้ไข้

ยาเม็ดลูกกลอน ใช้ได้ทั้งแก้ไข เจ็บคอ และท้องเสีย

ยาแคปซูล เป็นวิธีหลีกเลี่ยงรสชมของฟ้าทะลายโจร แก้ไข้ เจ็บคอ และท้องเสีย

ยาผงสูตดม ออกฤทธิ์แก้เจ็บคอโดยตรง และช่วยลดเสมหะในลำคอ

ใช้ใบสดอม เป็นวิธีที่สะดวกและแก้เจ็บคอได้ผลดี นอกจากนี้ยังใช้แก้แผลในปากได้ด้วย

ยาดองเหล้า ได้ผลดีกับอาการแผลอักเสบมีหนอง และเป็นยาชมเจริญอาหาร

ส่วนการใช้ฟ้าทะลายโจรของชาวบ้านในเมืองไทยและต่างประเทศ มีใช้กันอย่างกว้างขวางในโรคต่าง ๆ เช่น ไอกรน ไข้หวัดใหญ่ ฝี แผลบวมอักเสบ แผลตะปูตำ แผลถูกของมีคม แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แผลติดเชื้อมีหนอง ผื่นคันจากความชื้น โรคผิวหนัง งูสวัด เริม แมลงสัตว์กัดต่อย ระงับอาการบวม โรคหนองใน ทางเดินปัสสาวะอักเสบ มดลูกอักเสบ เบาหวาน โรคตับ อ่อนเพลีย ยาบำรุง ยาอายุวัฒนะ เป็นต้น

การทดลองต่าง ๆ เกี่ยวกับฟ้าทะลายโจรมีมาอย่างต่อเนื่อง ในประเทศจีนมีการทดลองฤทธิ์การลดไข้ของฟ้าทะลายโจรในกระต่าย พบว่าสามารถลดไข้ได้มากกว่ากลุ่มที่ไม่ให้ยาฟ้าทะลายโจร นอกจากนี้ยังมีการทดลองใช้ยาเม็ดแอนโดรแกรโฟไลด์ ดีอ็อกซีแอนโดแกรโฟไลด์ และนีโอแอนโดรแกรโฟไลด์ แก่คนไข้ที่เป็นไข้หวัดใหญ่ 3 กลุ่ม พบว่าคนไข้ที่ใช้ยาเม็ดแอนโดรแกรโฟไลด์ 61 ราย หาย 50 ราย คนไข้ที่ใช้ยาเม็ดดีอ็อกซีแอนโดรแกรโฟไลด์ 6 ราย หายทุกราย และคนไข้ที่ใช้ยาเม็ดนีโอแอนโดรแกรโฟไลด์ 17 ราย หาย 14 ราย ส่วนการทดลองผลการรักษาโรคติดเชื้อที่ประเทศจีนเช่นกันพบว่าฟ้าทะลายโจรใช้รักษาโรคติดเชื้อทางเดินอาหารเช่น ท้องเดิน บิด และโรคติดเชื้อทางเดินหายใจ เช่น เจ็บคอ ทอนซิลอักเสบ (อ้างโดย สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล, 2528)

ชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ (อ้างโดย สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล, 2528) พบว่าในฟ้าทะลายโจร มีสารโปแตสเซียมอยู่ถึงร้อยละ 3 ของใบแห้ง ทำให้มีฤทธิ์ขับปัสสาวะได้ดี ใช้รักษาโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ และใช้ลดความดันโลหิตสูงได้

ในประเทศบังคลาเทศ พ.ศ. 2520 (อ้างโดย สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล, 2528) มีการทดลองให้ฟ้าทะลายโจรแก่หนูที่เป็นเบาหวาน พบว่าไม่ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดหนู

ที่เป็นเบาหวาน หรือที่ปกติเปลี่ยนแปลง Chaudhuri (1978) พบว่าฟ้าทะลายโจรช่วยให้ตับหนูมีน้ำหนักมากขึ้น และช่วยขับน้ำดีมากขึ้น จึงใช้เป็นยาบำรุงตับได้ และในปีเดียวกัน Nazimudeen, Ramaswamy และ Kameswaran พบว่าสารสกัดแอลกอฮอล์ของฟ้าทะลายโจรไม่สามารถแก้พิษงูเห่าที่ทดลองฉีดกับหนูทดลองได้ คือหนูตายหมด แต่สารสกัดของฟ้าทะลายโจรทำให้หนูตายช้าลง 30-40 นาที กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2533) พบว่าสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ลดไข้ในกระต่าย และมีฤทธิ์ต้านการบวมของอุ้งเท้าหนูขาวเนื่องจากสารคาร์ราจีนิน(carrageenin) ได้ นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เล็กส่วนปลายของหนูตะเภา (โสภิต ธรรมอารีย์ และคณะ, 2528 และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2533) ส่วนการใช้ฟ้าทะลายโจรในทางคลินิคพบว่า ผู้ป่วยโรคบิดและท้องเสียที่ได้รับยาผงของฟ้าทะลายโจร มีการถ่ายอุจจาระลดลงทั้งความถี่และปริมาณ ซึ่งได้ผลดีกว่ายาเตตราซัยคลิน (Chaichantipyuth and Thanagkul, 1986) เมื่อนำฟ้าทะลายโจรมาศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดหนองได้ดี (ทิพวัลย์ เลี้ยงบุญเลิศชัย และ สุมาลี เหลืองสกุล, 2531)

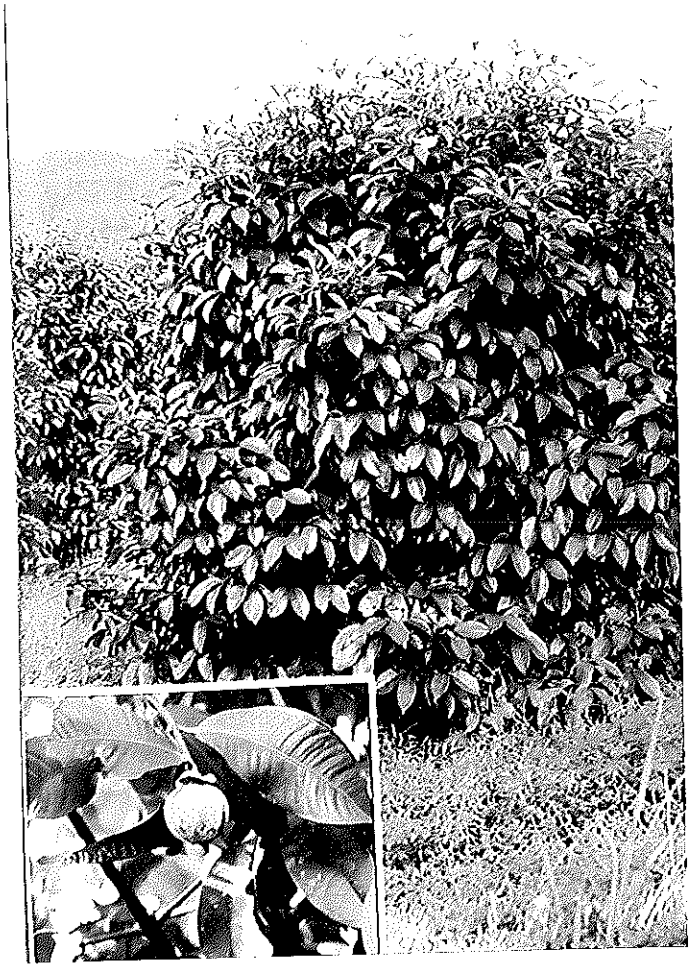
1.4 มังคุด

มังคุด (Mangosteen) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* Linn. วงศ์ Guttiferae อินโดนีเซียเรียกมังกีส (Mang-gis) มังคุดมีถิ่นกำเนิดที่อินโดนีเซีย ไทย พม่า มาเลเซีย (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2530) ถิ่นกำเนิดตามธรรมชาติในบริเวณดินเหนียวปนทราย ในสภาพที่มีฝนตกชุกและมีความชื้นสูง (หลวงบุเรศบำรุงการ, 2518) มังคุดเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงใหญ่ ลำต้นกลม แตกกิ่งเป็นทรงพุ่มใบหนาทึบ สูง 30 ฟุต ใบหนาโตยาว 6-10 นิ้ว ใบสีเขียวแก่ ออกเป็นคู่ เจริญเติบโตช้า ใช้เวลา 7-10 ปี จึงตกผลซึ่งขึ้นกับสภาพภูมิอากาศและ

ความอุดมสมบูรณ์ของดิน ผลทรงแป้น เปลือกหนา และเมื่อผลยังอ่อนเปลือกจะมีสีเขียว พอเริ่มแก่จะมีลายเส้นสีแดง เรียกว่าสายเลือด เมื่อสุกจัดจะมีสีม่วงดำ เนื้อมีสีขาวนวล ลักษณะนุ่ม ฉ่ำน้ำ กลิ่นหอมชวนรับประทาน มีรสหวานอมเปรี้ยว แบ่งเป็นกลีบประมาณ 4-7 กลีบ และมีเมล็ดประมาณ 1-3 เมล็ดต่อผล ดังรูปที่ 5 (หลวงบุเรศบำรุงการ, 2518; เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์ และคณะ, 2530 และ Coronel, 1983) สำหรับพื้นที่ปลูกมังคุดที่สำคัญของประเทศไทยได้แก่ภาคใต้ และภาคตะวันออก ส่วนการปลูกในภาคอื่นยังมีปริมาณไม่มากพอในเชิงการค้า โดยทั่วไปมังคุดจะออกผลปีละครั้ง (เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์ และคณะ, 2530)

ในตำราสมุนไพรใช้มังคุดในการรักษาโรคต่าง ๆ ได้แก่ ท้องเสีย ใช้เปลือกผลตากแห้งต้มกับน้ำ ความแรง 1 ใน 10 รับประทานครั้งละ 1 ถ้วยแก้ว ถ้าทำเป็นยาดองเหล้าความแรง 1 ใน 10 รับประทานครั้งละ 1 ช้อนชา ส่วนโรคน้ำกัดเท้าจะใช้เปลือกผลฝนกับน้ำปูนใสให้ข้นพอควร ทาแผลที่เป็นวันละ 2-3 ครั้ง จนกว่าจะหาย นอกจากนี้ยังใช้เปลือกผลสดหรือแห้ง 1 ผล หั่นต้มกับน้ำหนึ่งถ้วยแก้ว เคี่ยวให้งวดเล็กน้อย ใช้ล้างแผลเปื่อย รากต้มกับน้ำดื่มให้ประจำเดือนมาปกติ จากเปลือกผลพบว่ามี maclurin, chrysanthermin, xanthone, garcinones A,B,C, 8-deoxygartanin, gartanin, mangostin, isomangostin, normangostin และแทนนิน (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2530; วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม, 2532 และ อรุณพร อิฐรัตน์, 2532)

จากการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่สกัดจากส่วนของยาง (latex) และเปลือกผลของมังคุด พบว่ายางของต้นมังคุดมี mangostin เป็นส่วนประกอบหลักและ β-mangostin และ xanthone เป็นส่วนประกอบรอง (Yates and Bhat, 1968) ส่วนเปลือกผลมังคุดพบ γ-mangostin และ xanthone ใหม่ 3 ชนิดได้แก่ gartanin, 8-desoxygartanin และ normangostin จากการสกัดเปลือกผลแก่ด้วยเฮกเซน แต่เมื่อสกัดด้วยอะซิโตนได้ mangostin และ normangostin (Jefferson, 1970 และ Govindachari, 1971) Sen, และคณะ (1980) สกัด



รูปที่ 5 มังคุด (*Garcinia mangostana*)

สารจากเปลือกผลมังคุดเช่นกันได้ 1,3,6,7-tetraoxygenated xanthone, 1,3,5-trioxygenated xanthone, 1,3,7-trioxygenated xanthone, garcinone-A, garcinone-B และ garcinone-C

Sundaram, และคณะ (1982) ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของ mangostin, xanthone และอนุพันธ์อีก 4 ชนิดคือ viz. 3-O-methyl mangostin, 3-6-di-O-

methyl mangostin, 1-isomangostin และ mangostin triacetate ต่อแบคทีเรีย 8 ชนิด และเชื้อรา 14 ชนิด พบว่า mangostin ให้ฤทธิ์สูงสุดโดยมีค่า MIC ต่อแบคทีเรียเท่ากับ 12.5-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ MIC ต่อเชื้อราเท่ากับ 1-5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

วิลาวัลย์ มหาบุษราคัม (2528) สกัดและแยกสารจากเปลือกผลมังคุดด้วยเบนซิน ได้สารประกอบ xanthone ใหม่ 5 สารคือ 1-isomangostin (GM-6), GM-7, 3-isomangostin (GM-8), GM-9 และ GM-12 และสกัดและแยกสารจากเนื้อมังคุดด้วยเมธานอลได้สารประกอบ xanthone ใหม่ 2 สารคือ GMF-1 และ GMF-5 และสารที่มีรายงานโครงสร้างแล้ว 3 สารคือ mangostin, calabaxanthone (GMF-7) และ GMF-2 นอกจากนี้ยังทำการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย เชื้อรา และการลดอาการบวมเนื่องจากการอักเสบของสารประกอบจากเปลือกผลมังคุดและอนุพันธ์ของ mangostin ได้แก่ 6-acetylamangostin, 3,6-diacetylamangostin, 6-(carboxymethyl) mangostin, 3,6-di (carboxymethyl) mangostin dimethylmangostin และ 6-methylmangostin พบว่า mangostin ต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ทั้งสายพันธุ์ปกติ และที่ดื้อยาเพนิซิลินได้มากกว่าสารประกอบจากเปลือกผลมังคุดและอนุพันธ์ของ mangostin ชนิดอื่น มีค่า MIC เท่ากับ 7.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร γ-mangostin ออกฤทธิ์ต้านรา *Trichophyton mentagrophyte* และ *Microsporum gypseum* ได้มากกว่าสารอื่นโดยมีค่า MIC 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Mahabusarakam, Wiriyachitra and Phongpaichit, 1986) และ mangostin ยับยั้งการบวมเนื่องจากการอักเสบได้ใกล้เคียงกับ Aspirin (Mahabusarakam, Wiriyachitra and Taylor, 1987)

1.5 รงทอง

รงทองมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia hanburyi* Hook. วงศ์

Guttiferae รงทองหรือรง เป็นน้ำยางสีเหลืองที่กรีดได้จากลำต้นของต้นรงทอง ซึ่งเป็นไม้ยืนต้น แถวเขตร้อน เช่น ไทย เขมร ใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ลำต้นมียางสีเหลือง โดยกรีดที่โคนต้นให้ลึกถึงกระพี้ขึ้นไปหายอด แล้วใช้กระบอกไม้ไผ่รองรับน้ำยางสีเหลือง พอน้ำยางแข็งตัวก็แกะกระบอกไม้ไผ่ทิ้ง จะได้รงทองเป็นรูปทรงกระบอก (pipe gamboge) ดังรูปที่ 6 ซึ่งเป็นชนิดที่สะอาดที่สุด อีกชนิดหนึ่งมีคุณภาพต่ำ เนื่องจากมีสิ่งสกปรกเจือปนอยู่ ซึ่งชนิดนี้มีลักษณะเป็นแผ่น (cake gamboge) ทำโดยปล่อยให้น้ำยางไหลลงพื้นโดยไม่มีภาชนะรองรับ น้ำยางรงทองให้สารสีเหลืองที่มีฤทธิ์แรงมาก มีสรรพคุณเป็นยาถ่ายอย่างแรง ถ้ารับประทานมากจะเป็นอันตราย ซึ่งชาวจีนสมัยโบราณถือว่ารงทองเป็นสารมีพิษมาก ในรงทองประกอบด้วย กัม-เรซิน (gum-resin) และ gambogic acid ร้อยละ 65-75 ประโยชน์ของยางรงทอง ใช้เป็นยาถ่าย ใช้ทาสีไม้ และใช้เป็นสีน้ำวาดเขียน (สมพร ภูติยานันต์, 2523 และ อรุณพร อิฐรัตน์, 2532) นอกจากนี้ยังใช้รงทองผสมกับน้ำกะทิสดทาแก้แผลพุพอง น้ำเหลืองเสีย และแก้ปวด (เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2514)

1.6 ว่านดอกดิน

ว่านดอกดินมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Kaempferia rotunda* Linn. วงศ์ Zingiberaceae ซึ่งมีชื่อเรียกต่างกันออกไป เชียงใหม่เรียกว่านนอนหลับ เลยเรียกว่านตูหมูบ ขอนแก่นเรียกว่านส้ม ราชบุรีเรียกว่านหาวนอน ภาคเหนือเรียกเอื้องดิน (เต็ม สมิตินันทน์, 2523)

ว่านดอกดินเป็นพืชล้มลุก ลงหัวจำพวกมหากาฬ ใบหนา ลักษณะกลมรี กว้าง 7.5 ถึง 10 เซนติเมตร ยาว 30 เซนติเมตร ด้านบนมีสีเขียว ด้านใต้ใบสีม่วงจาง ๆ (รูปที่ 7) ดอกแทงขึ้นมาจากดิน สูงประมาณ 2.5 ถึง 7.5 เซนติเมตร อยู่เป็นกระจุกแน่น สีม่วงอ่อน หรือออกแดง มีกลิ่นหอม รากนำมาทำยาพอกแผลช่วยดูดหนองออกจากแผล และใช้ในการรักษาโรคท้องมาน (ภาวะที่มีสารน้ำในช่องท้อง) จากทั้งต้นนำมาทำเป็นผง

รูปที่ 6 รงทอง (*Garcinia hanburyi*)

รูปที่ 7 ว่านดอกดิน (*Kaempferia rotunda*)

และใช้ในรูปยาขี้ผึ้ง (ointment) ใช้ทำความสะอาดบาดแผล เหง้าใช้รักษาโรคคางทูม (Kirtikar, Basu, and An, 1980)

2. สารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน (Synthetic Polyamine Compounds)

สารประกอบโพลีเอมีน พบอยู่ทั่วไปทั้งในพืช สัตว์และจุลินทรีย์ซึ่งเป็น low molecular aliphatic nonprotein nitrogenous bases ที่พบและรู้จักกันมานาน ได้แก่ putrescine, cadaverine, spermidine และ spermine โพลีเอมีนบางตัวเป็นสารอาหารสำคัญในการเจริญของสิ่งมีชีวิต และมีสิ่งมีชีวิตบางชนิดไม่สามารถสังเคราะห์โพลีเอมีนบางตัวเช่น putrescine ได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหารเมื่อมีการเจริญในสภาวะที่ขาด putrescine ทำให้เจริญได้ช้า หรือไม่มีการเจริญเลย และโพลีเอมีนเมื่อถูกออกซิไดซ์จะกลายเป็นอัลดีไฮด์ ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (anti-bacterial antibiotics) (Cohen, 1971)

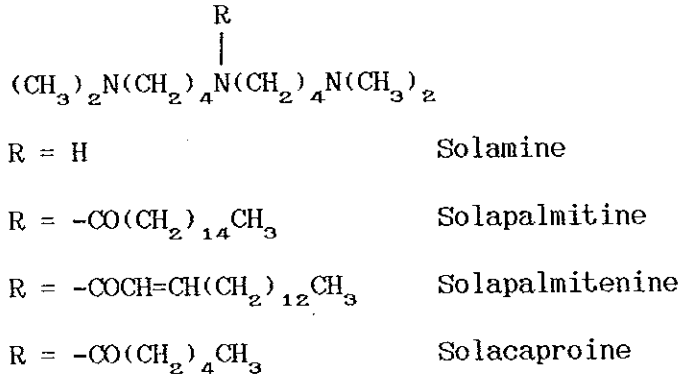
Ellestad และคณะ (1977) แยกยาปฏิชีวนะที่เป็น glycocinnamoylspermidines 3 ชนิดคือ LL-BM 123 γ, LL-BM 123 γ1 และ LL-BM 123 γ2 จากการหมักของ *Nocardia* ซึ่งสารทั้ง 3 ชนิดนี้ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ และยังป้องกันการติดเชื้อในหนูได้

Cheng และ Rinehart (1978) แยก polyandrocarpidines จากเพรียง (Tunicate, *Polyandrocarpa* sp.) พบว่าเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง L1210 และ KB และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้

Carter และ Rinehart (1978) แยก acarnidines จากฟองน้ำ (*Acarnus erithacus*) ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ต้านการเจริญของ Herpes simplex virus type I *Bacillus subtilis* และ *Penicillium atrovenetum* ได้

สารประกอบพวก solamine, solapalmitine, solapalmitenine และ solacaproine สกัดได้จากพืชตระกูล Solanaceae ซึ่งสูตรโครงสร้างพบว่ามี

homospermidine ที่สมมาตรเป็นโครงสร้างหลักและเป็นสารประกอบพวก bisdimethylamino group โดยที่ไนโตรเจนตรงกลางอยู่ในรูปของเอไมด์ จากการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า solapalmitine และ solapalmitenine มีฤทธิ์ต้านการเกิดเนื้องอก (Kupchan และคณะ, 1967 และ Kupchan และคณะ, 1969) เนื่องจากสารประกอบโพลีเอมีนที่สกัดได้จากพืชมีปริมาณน้อย จึงได้มีการสังเคราะห์ขึ้นโดยอาศัยกระบวนการทางเคมี พบว่าได้โพลีเอมีนในปริมาณที่สูงกว่าการสกัดจากพืช (นงลักษณ์ ธนิกกุล, 2532) และมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 สูตรโครงสร้างของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

3. ไวรัส

3.1 Herpes simplex virus type 2 (HSV-2)

HSV-2 เป็นไวรัสใน Family Herpetoviridae จีนัส *Herpesvirus* (Belshe, 1991) รูปร่างกลม nucleocapsid มีขนาดประมาณ 100 นาโนเมตร ล้อมรอบด้วย lipid envelope ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไวรัสประมาณ 150-250 นาโนเมตร ยีโนมเป็น DNA (deoxyribonucleic acid) สายตรงเส้นคู่ น้ำหนัก

โมเลกุล $1-5x10^8$ ดัลตัน การลอยตัวในสารละลาย (buoyant density) เท่ากับ 1.728 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ปริมาณของ guanine-cytosine ร้อยละ 69 capsid ประกอบด้วย capsomer 162 หน่วยเรียงตัวแบบ icosahedral เพิ่มจำนวนในนิวเคลียสของเซลล์ ได้ envelope โดยการ budding ออกจาก nuclear membrane เมื่อเลี้ยงในเซลล์เพาะเลี้ยงทำให้เซลล์เพาะเลี้ยงเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (CPE, cytopathic effects) พบ multinucleated cell หรือมี plaque ขนาดใหญ่ ถ้าเพาะเลี้ยงบน chorioallantoic membrane เกิดเป็น pock ขนาดใหญ่ ถ้าฉีดเชื้อเข้าสัตว์ทดลองจะทำอันตรายส่วนสมองของสัตว์ทดลอง HSV-2 ไม่ทนต่อสภาพแวดล้อม ไม่ทนความร้อน ถูกทำลายด้วยสารละลายไขมัน และยาฆ่าเชื้อ ไวรัสเข้าสู่ร่างกายทางเพศสัมพันธ์ ทางเยื่อบุ ทางรอยถลอกของผิวหนัง และติดต่อจากมารดาสู่ทารกในระยะคลอด การติดเชื้อ HSV-2 ส่วนใหญ่ไม่ทำให้เกิดอาการของโรค ผู้ติดเชื้อน้อยกว่าร้อยละ 1 เท่านั้นที่มีอาการ เมื่อการติดเชื้อครั้งแรกสิ้นสุดลงโดยจะเป็นแบบมีอาการหรือไม่ก็ตาม ไวรัสจะแอบแฝงที่ sacral nerve ganglion เมื่อร่างกายถูกกระตุ้นเชื้อไวรัสที่แอบแฝงอยู่จะเพิ่มจำนวน โดยแสดงอาการโรคหรือไม่ก็ได้ เชื้อไวรัสจะออกจากปมประสาทมาตาม sensory nerve ไปยังบริเวณที่เลี้ยงด้วยเส้นประสาทแขนงนั้น รอยโรคมักเกิดซ้ำที่ตำแหน่งเดิม สิ่งกระตุ้นนั้นมีหลายชนิด ได้แก่ แสงแดด แสงอุลตราไวโอเลต กรด สารละลายไขมัน บาดแผลที่ผิวหนัง การที่เซลล์ประสาทได้รับอันตราย การตัดเส้นประสาท (neurectomy) การมีประจำเดือน การมีเพศสัมพันธ์ ความเครียดวิตกกังวล ยาระงับประสาท การติดเชื้อและอาการไข้

ลักษณะพยาธิสภาพที่พบคือ มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่ติดเชื้อร่วมกับการอักเสบที่ผิวหนัง ลักษณะเป็นตุ่มน้ำพองใสซึ่งเป็นผลจากการสลายตัว (acantholysis) ของเซลล์ที่ติดเชื้อ ฐานของ vesicle ประกอบด้วย naked papillae ของชั้น corium ผนังของ vesicle เป็นชั้นของ cornified epithelium บริเวณขอบโดยรอบ vesicle จะพบเซลล์ติดเชื้อซึ่งมีลักษณะจำเพาะ คือเซลล์พองขนาดใหญ่ขึ้น มีนิวเคลียสหลายอัน และมีการสลายตัวของนิวเคลียส อาจพบ inclusion body เม็ด

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

เดียวชนาดใหญ่เต็มนิวเคลียส เรียก inclusion body แบบนี้ว่า Cowdry type A ในชั้น corium จะพบ inflammatory cells แทรกอยู่ แต่เซลล์ในชั้น corium ไม่ถูกทำลาย เมื่อแห้งสะเก็ดจะหลุดออกโดยไม่มีรอยแผลเป็น ในรายที่ติดเชื้อกระจายทั่วตัว สามารถ ตรวจพบเซลล์ที่มี intranuclear inclusion body ในบริเวณเนื้อตายของอวัยวะต่าง ๆ เช่น ตับ ต่อมหมวกไต ปอด และหลอดอาหาร ซึ่งจะตรวจไม่พบ multinucleated cell

การตอบสนองทางอิมมูนต่อเชื้อ HSV-2 มีทั้งทางด้านสารน้ำ (humoral immunity) และภูมิคุ้มกันผ่านเซลล์ (cell-mediated immunity) นิวตราไลซิ่งแอนติบอดี (neutralizing antibody) จะทำให้ระยะเวลาดำเนินโรคสั้นลง โดยแอนติบอดีจะยับยั้งและทำลายไวรัสที่อยู่นอกเซลล์ แต่แอนติบอดีไม่สามารถยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสในแบบจากเซลล์สู่เซลล์ (cell-mediated immunity) ปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนสำหรับป้องกันการติดเชื้อ HSV-2 ยารักษาโรคติดเชื้อ HSV-2 ที่ดีที่สุดขณะนี้คือ acyclovir (acycloguanosine, 9-2-(hydroxyethoxymethyl) guanine) จัดเป็น second generation ของ nucloside analogue ยานี้มีทั้งในรูปยารับประทาน ทา หยอด และฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ยาจะลดระยะเวลาที่ตรวจพบเชื้อไวรัส ระยะโรคจะสั้นลง แผลตกสะเก็ดแห้งหายเร็วขึ้น ใช้ได้ผลดีกับการติดเชื้อครั้งแรกมากกว่าการติดเชื้อซ้ำ ยานี้ไม่สามารถป้องกันการเกิดภาวะติดเชื้อแอบแฝงและไม่มีผลต่อไวรัสที่แอบแฝงอยู่แล้ว (จันทพงษ์ วะสี, 2530; Lennett and Schmidt, 1979; Davis, *et al.*, 1980 และ Belshe, 1991)

3.2 Influenza virus

Influenza virus เป็นไวรัสใน Family Orthomyxoviridae แบ่งออกเป็น 3 immunological types คือ A, B และ C ไวรัสในกลุ่มนี้มีการติดเชื้อในคนและสัตว์ต่าง ๆ เช่น สัตว์ปีก หมู ม้า เป็นต้น พบรูปร่างหลายแบบ เช่น กลม

(spherical form) หรือเป็นสายยาว (filamentous form) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 100 นาโนเมตร ประกอบด้วย RNA (ribonucleic acid) ร้อยละ 0.8-1.1 โปรตีนร้อยละ 70 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 6 และไขมันร้อยละ 20-24 ยีโนมเป็น RNA ขดเป็นรูปบันไดวนรวมอยู่กับ capsid protein เรียกว่า ribonucleoprotein (RNP) ยีโนมแยกเป็นชิ้นมีทั้งหมด 8 ชิ้น การที่มียีโนมแยกเป็นชิ้นนี้ทำให้ Influenza virus เกิดการรวมตัวของยีนส์ (genetic recombination) ได้บ่อย น้ำหนักโมเลกุลของ RNA เท่ากับ $5.9\text{-}6.3\times10^{6}$ ดัลตัน อัตราส่วนของ A+U/G+C ใน 3 type จะต่างกันคือ type A เท่ากับ 1.25 type B เท่ากับ 1.42 และ type C เท่ากับ 1.46 envelope ประกอบด้วยสารไขมันอยู่ล้อมรอบ nucleocapsid ผิวนอกของ envelope มี spike ซึ่งเป็นสาร glycoprotein ยื่นออกไปโดยรอบ spike นี้ เป็นตำแหน่งของสาร hemagglutinin และ neuraminidase ซึ่ง hemagglutinin (H) เป็นส่วนที่ไวรัสใช้เกาะติดกับผิวเซลล์ ในโมเลกุลของ hemagglutinin มี binding site สำหรับ neutralizing antibody ด้วย แอนติบอดีที่ร่างกายสร้างต่อ hemagglutinin ถือเป็น protective antibody ซึ่ง hemagglutinin นี้มีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงของคนและสัตว์บางชนิด เช่น ไก่ หนูตะเภา เกาะกลุ่ม คุณสมบัตินี้นำมาใช้ในการตรวจสอบหาเชื้อไวรัสได้ ส่วน neuraminidase (N) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อย receptor site บนผิวเซลล์ที่จับกับ hemagglutinin ของไวรัสทำให้ไวรัสหลุดเป็นอิสระ เอนไซม์นี้ช่วยปลดปล่อยไวรัสที่เพิ่มจำนวนเกิดขึ้นใหม่ (virus progeny) ออกจากเซลล์ที่ติดเชื้อ และทำให้ไวรัสแพร่กระจายไปตามเนื้อเยื่อที่อยู่ไกลออกไป แอนติบอดีต่อ neuraminidase ไม่ใช่ protective antibody โดยตรง เพราะไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อของไวรัส แต่สามารถยับยั้งการปลดปล่อยไวรัสออกจากเซลล์

Influenza virus เข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจเอาเชื้อไวรัสที่กระจายอยู่ในอากาศหรือในละอองน้ำมูกน้ำลายเข้าไป เซลล์เยื่อบุทางเดินหายใจตามปกติจะมีเมือกปกคลุมป้องกัน เมือกนี้เป็น mucoprotein ซึ่งจะจับไวรัสได้ แต่เอนไซม์ neuraminidase

จะทำให้ความหนืดของเมือกลดลง ไวรัสเข้ามาเกาะ receptor site ที่อยู่บนเซลล์ซึ่งไม่มีเมือกคลุมและเข้าสู่เซลล์ได้ การติดเชื้อมักจะอยู่ในระบบทางเดินหายใจเท่านั้น แต่ในรายที่มีอาการปอดบวมชนิดรุนแรง ไวรัสอาจแพร่กระจายเข้าสู่ระบบประสาทกลางด้วย ลักษณะอาการทางคลินิค ไข้สูง หนาวสั่นอย่างเฉียบพลัน ปวดศีรษะ และปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ มีน้ำมูกไหล เป็นหวัด (rhinitis) เจ็บคอ คออักเสบ (pharyngitis) ไอแห้งๆ หลอดลมอักเสบ ไข้จะอยู่ประมาณ 3 วัน การตรวจเลือดจะพบเม็ดเลือดขาวต่ำและมีการเพิ่มจำนวนของ lymphocyte ระยะฟื้นตัว จะกินเวลานานเป็นสัปดาห์ กว่าอาการอ่อนเพลียและไอจะหายไป ในผู้ใหญ่อัตราตายสูงกว่าในเด็ก และมีสาเหตุจาก type A มากกว่า type B เชื้อ Influenza virus type C มักไม่ปรากฏอาการ หรือมีอาการอย่างอ่อน ภาวะแทรกซ้อนที่พบได้ในโรคไข้หวัดใหญ่ คือปอดบวม หัวใจล้มเหลว กล้ามเนื้ออักเสบ สมองและไขสันหลังอักเสบ (encephalomyelitis) อัมพาตเฉียบพลัน (Guillain-Barre syndrome) กลุ่มอาการไรย์ (Reye's syndrome) กล้ามเนื้อและเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (perimyocarditis) อาการปอดบวมอาจเกิดจากการติดเชื้อไวรัสโดยตรง หรือเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียซ้ำเติม

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ โดยการหาแอนติเจนของไวรัสจากตัวอย่างโดยตรง โดยการย้อมตัวอย่างตรวจด้วยวิธีอิมมูนเรืองแสงกับแอนติบอดีต่อ Influenza virus type A และ B หรือการแยกเชื้อ และทดสอบโดยวิธี haemagglutination นอกจากนี้สามารถตรวจหาแอนติบอดีในซีรัมผู้ป่วยด้วยวิธี haemagglutination-inhibition test (HAI) และ complement-fixation (CF) แอนติบอดีที่มีบทบาทในการป้องกันโรคคือ แอนติบอดีต่อ hemagglutinin ส่วนแอนติบอดีต่อ neuraminidase ทำให้การลุกลามของไวรัสช้าลง และลดการแพร่กระจายของเชื้อจากผู้ป่วย นิวตราไลซิ่งแอนติบอดีที่อยู่ในกระแสโลหิตมีบทบาทในการป้องกันการติดเชื้อได้น้อย แอนติบอดีที่สำคัญคือ secretory IgA ในสารคัดหลั่ง และเยื่อบุทางเดินหายใจ ภูมิคุ้มกันมีความจำเพาะทั้งต่อ type, subtype และ antigenic structure ดังนั้นถ้าเป็นการติดเชื้อด้วยไวรัสตัวใหม่จะเกิดการติดเชื้อซ้ำได้

การป้องกันรักษา โดยการให้วัคซีนและยาสำหรับป้องกันรักษา ซึ่งวัคซีนที่ใช้ในปัจจุบันอยู่ในรูปของวัคซีนตัวตาย (inactivated virus) มี 2 แบบคือ whole virus และ split virus ยาที่ใช้ทั้งป้องกันและรักษาคือ อะแมนตาดีน (amantadine hydrochloride, symmetrel) หรือสารอนุพันธ์ rimantadine ซึ่งจะยับยั้งไวรัสขั้นตอนที่ uncoating และการปลดปล่อยไวรัสออกนอกเซลล์ อะแมนตาดีนใช้ได้ผลดีกับ Influenza virus type A แต่ใช้ไม่ได้ผลกับ type B (จันพงษ์ วะสี, 2530; Lennette and Schmidt, 1979; Davis, *et al.*, 1980 และ Belshe, 1991)

4. แบคทีเรีย

4.1 *Escherichia coli*

เป็นแบคทีเรียใน Family Enterobacteriaceae รูปร่างเป็นท่อน ย้อมติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้รวดเร็วด้วย peritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ มีการสร้าง slime layer หุ้มรอบตัวเป็นชั้นบาง ๆ เป็น facultative anaerobe เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey จะให้โคโลนีสีชมพูแดง เนื่องจากเชื้อสลายแลคโตส บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB (eosin methylene blue medium) จะให้โคโลนีลักษณะสะท้อนแสงแววววาวที่เรียกว่า metallic sheen *E. coli* เป็น normal flora ในลำไส้คนและสัตว์เลือดอุ่น และพบทั่วไปในดินและน้ำ แต่มีบางสายพันธุ์สามารถก่อโรคในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะบางอย่างได้ โดยมากจะเป็นกับระบบทางเดินปัสสาวะ นอกจากนี้ยังก่อโรคท้องร่วงได้ กลุ่มของ *E. coli* ที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงแบ่งได้เป็น 3 พวกคือ enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC) และ invasive *E. coli*

enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) เป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิต enterotoxin ได้ดี โดยจะสร้าง enterotoxin ชนิด heat-labile enterotoxin (LT) หรือ heat-stable enterotoxin (ST) หรือสร้างได้ทั้งสองชนิด โดย LT ที่สร้างขึ้นมีความคล้ายคลึงกับสารพิษของ *Vibrio cholerae* ซึ่งจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ adenyl cyclase ในลำไส้ ทำให้ adenosine triphosphate (ATP) เปลี่ยนเป็น cyclic adenosine monophosphate (C-AMP) และเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์โดยมีการขับน้ำและเกลือแร่ต่าง ๆ ออกมาสู่ทางเดินอาหารเป็นจำนวนมาก ทำให้เกิดอาการท้องร่วงคล้ายอหิวาต์

enteropathogenic *E. coli* (EPEC) เป็นสาเหตุให้เกิดท้องร่วงได้เนื่องจากจะเข้าไปทำให้เกิดการติดเชื้อที่ epithelial cell ในชั้น mucosa ของลำไส้เมื่อเข้าไปแล้วเพิ่มจำนวนมากและปล่อยสารพิษออกมาทำให้เกิดท้องร่วงขึ้น

invasive *E. coli* ทำให้เกิดท้องร่วงโดยตัวแบคทีเรียเองสามารถเข้าไปในผนังลำไส้ แต่ยังไม่ทราบกลไกในการทำให้เกิดท้องร่วงอย่างแน่ชัด (พิไลพรรณ พงษ์พูล, 2531; Myrvik and Weiser, 1988; Johnson, *et al.*, 1989 และ Brooks, *et al.*, 1991)

4.2 *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียใน Family Micrococcaceae มีรูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8-1.0 ไมครอน เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ย้อมติดสีแกรมบวก แต่เซลล์ที่แก่และเซลล์ที่ถูกเม็ดเลือดขาวกินจะติดสีแกรมลบ โคโลนีมีลักษณะกลมเรียบนูนเล็กน้อย มีขนาดตั้งแต่ 1-4 มิลลิเมตร สีเหลืองทอง ไม่เคลื่อนที่ ไม่มีการสร้างสปอร์

ความสามารถในการทำให้เกิดโรคโดย surface antigen ป้องกันการเกิด phagocytosis และมี extracellular enzyme หลายชนิด เช่น coagulase ซึ่งทำให้พลาสมาแข็งตัว lipase เป็นเอนไซม์ที่ใช้ substrate ได้หลายอย่างรวมทั้งซีรัม

fat และ oil ที่สะสมอยู่บริเวณผิวหนัง ทำให้เชื้อที่บริเวณผิวหนังมีชีวิตอยู่ได้ ซึ่งการสร้าง lipase มีความสำคัญในการบุกรุกเนื้อเยื่อบริเวณผิวหนัง hyaluronidase เป็นเอนไซม์ที่ย่อย hyaluronic acid ซึ่งมีอยู่ในเซลล์ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ทำให้การแพร่กระจายของเชื้อดีขึ้น นอกจากนี้ยังสร้างสารพิษต่าง ๆ เช่น epidermolysin ทำให้เกิดอาการหลุดลอกของหนังกำพร้าทั่วร่างกาย (scaled skin syndrome) และ enterotoxin ทำให้เกิดอาการอาหารเป็นพิษในคน

โดยปกติจะพบเชื้อที่ผิวหนัง เยื่อบุเมือกต่าง ๆ ของร่างกาย และตามโรงพยาบาลจะพบเชื้อกระจัดกระจายอยู่ทั่วไป ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่ผิวหนัง เช่น กุ้งยิง (styes) ฝีหนอง (boils) ตุ่มตามผิวหนัง (carbuncles) ตุ่มพุพอง (impetigo) นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุให้เกิดเยื่อบุตาอักเสบ (conjunctivitis) และเยื่อบุสมองอักเสบ (meningitis)

S. aureus มีความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ทั่วไป เชื้อจะคงอยู่ได้เป็นสัปดาห์ในหนองหรือเสมหะ และอยู่ได้เป็นเดือนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือที่ 4 องศาเซลเซียส ทนความร้อนได้ดี ต้องใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จึงจะทำลายเชื้อได้ (พิไลพรรณ พงษ์พูล, 2531; Myrvik and Weiser, 1988; Johnson, *et al.*, 1989 และ Brooks, *et al.*, 1991)

5. ยีสต์และเชื้อรา

5.1 ยีสต์

ยีสต์ที่นำมาใช้ในการทดสอบครั้งนี้ คือ *Candida albicans* อยู่ใน Family Cryptococcaceae มีรูปทรงกลม หรือเป็นรูปไข่ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3x4-6 ไมครอน สืบพันธุ์โดยการ budding และบางพวกมีการเจริญเป็น pseudomycelium เซลล์ทั้ง 2

รูปแบบของเชื้อมีผนังหนา ย้อมติดสีแกรมบวก แต่ไม่มีแคปซูล บางเซลล์มีขนาดใหญ่และมีผนังหนาขึ้น และกลายเป็น chlamydospores มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 7-17 ไมครอน ถ้ามีอาหารสมบูรณ์และมีอากาศมากพอเชื้อจะเจริญในรูปยีสต์เซลล์ แต่ถ้าอาหารไม่สมบูรณ์ เช่นใน cornmeal agar และในสภาพที่มีอากาศน้อยมาก เชื้อจะเจริญเป็น mycelium และสร้าง chlamydospores อยู่ใต้พื้นผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง และใต้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นของเหลว และในสภาพร่างกายของคนและสัตว์โดยทั่ว ๆ ไป จะทำให้เชื้อเจริญได้ดีทั้งในรูปของยีสต์และ mycelium

C. albicans เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรค candidiasis หรือ moniliasis มีอาการของโรคทั้งอย่างเฉียบพลันและเกือบเฉียบพลันในคนและสัตว์ ในคนพบการติดเชื้อบนชั้นผิวหนัง เรียกว่าโรค cutaneous candidiasis การติดเชื้อที่เยื่อบุเมือก (mucous membrane) เรียกว่าโรคปากและช่องคลอดเป็นฝ้าขาว (oral and vagina thrush) การติดเชื้อในหลอดลม (broncho pulmonary infection) นอกจากนี้ยังเป็นตัวแทรกซ้อนทำให้เกิดการติดเชื้อในลำไส้ (secondary intestinal infection) มีการติดเชื้อในกระแสโลหิต (septicemia) โรคติดเชื้อมาแต่กำเนิด (blood borne infection) ได้แก่โรคเยื่อหุ้มสมองและไขสันหลังอักเสบ (meningitis) โรคเยื่อบุหัวใจอักเสบ (endocarditis) โรคไตและกรวยไตอักเสบ (pyelonephritis)

การติดเชื้อที่ผิวหนังจะเกิดเพิ่มมากขึ้น ถ้าผิวหนังสัมผัสกับความชื้นเป็นระยะเวลานาน และรอยโรคที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะเป็นผื่นแดง (erythema) มีน้ำซึมออกมา (exudate) และมีผิวหนังล่อนออก (desquamation) ซึ่งลักษณะเหล่านี้จะพบเฉพาะที่รอยพับที่เปียกชื้นของร่างกาย เช่น ที่รักแร้ ขาหนีบ ช่องว่างระหว่างนิ้ว โรคที่เกิดขึ้นกับรอยพับของร่างกายที่เปียกชื้นเรียกว่าโรค intertriginous candidiasis โรค cutaneous candidiasis พบบ่อยในคนที่ต้องแช่อยู่ในน้ำตลอดเวลา ซึ่งการติดเชื้ออาจเริ่มต้นที่เล็บ ทำให้เกิดเล็บอักเสบเรื้อรัง (chronic paronychia) และโรครากเล็บอักเสบเรื้อรัง (chronic onychia) ส่วนโรคฝ้าขาวในปาก (oral thrush) มักเป็นกับทารก พบเป็นครีมสีขาวเป็นหย่อม ๆ ซึมออกมาจากเยื่อมูกภายในปากและคอที่กำลัง

อักเสบสีแดง และเป็นแผลสด ซึ่งอาการดังกล่าวจะเกิดบนลิ้นด้วย โรคฝ้าขาวในช่องคลอด (vagina thrush) พบบ่อยในสตรีมีครรภ์ หรือภายหลังจากคลอดลูกและในคนที่กำลังเป็นโรคเบาหวาน โรคเอดส์ ผู้ที่ได้รับยากดระบบภูมิคุ้มกัน (Rippon, 1982, Odds, 1988, Johnson, *et al.*, 1989 และ Brooks, *et al.*, 1991)

5.2. เชื้อรา

เชื้อราที่นำมาใช้ในการทดสอบคือ เชื้อราในกลุ่ม dermatophytes ทำให้เกิดโรคกลาก (tinea หรือ ringworm) บริเวณผิวหนัง ผม ขน และเล็บ ซึ่งเชื้อรากลุ่ม dermatophytes มีอยู่ด้วยกัน 3 จีนัส คือ *Epidermophyton*, *Microsporum* และ *Trichophyton* เชื้อราที่ศึกษาได้แก่

5.2.1 *Epidermophyton floccosum*

เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง โคโลนีของเชื้อเจริญช้า ผิวของโคโลนีจะมีลักษณะเป็นผงหยาบเล็กน้อย ตรงกลางโคโลนีจะพบว่ามี aerial mycelium สีขาวอยู่ส่วนทางด้านล่างของโคโลนี สีเขียวอมเหลือง และเมื่อเชื้อเจริญลักษณะด้านบนจะเห็นโคโลนีเป็นสีขาวล้วนคล้ายปุยนุ่น ส่วนด้านล่างจะพบสีเหลืองอ่อน เชื้อรานี้ไม่มีการสร้าง microconidia ส่วน macroconidia รูปร่างคล้ายหยดน้ำ (club shape) ขนาดใหญ่ มีหลายเซลล์ ผนังเรียบ มีความหนาแตกต่างกันตั้งแต่ขนาดบางจนถึงขนาดค่อนข้างหนา และในโคโลนีที่มีอายุมากจะสร้าง chlamydospore อยู่ที่ปลายของ hyphae ซึ่งเชื้อรานี้เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกลากบริเวณผิวหนังและเล็บ แต่ไม่ทำให้เกิดโรคที่หนังศีรษะ

5.2.2 *Microsporum gypseum*

เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งโคโลนีเจริญเร็ว ด้านล่างของโคโลนีจะมีสีเหลืองอ่อนจนถึงน้ำตาลแดง ส่วนด้านบนของโคโลนีจะเป็นสีขาวออกน้ำตาลอ่อน มี macroconidia รูปคล้ายกระสวย (ellipsoidal) มีผนังบางและผิวขรุขระ ส่วน microconidia

รูปร่างคล้ายหยดน้ำ (club shape) ส่วนเส้นใยพบ racquet mycelium และ spiral coil เชื้อนี้พบได้ทั่วไปในดิน และเป็นสาเหตุให้เกิดโรคกลากบนผมและผิวหนัง

5.2.3 *Trichophyton mentagrophytes*

เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งโคโลนีเป็นผงละเอียด หรือปุยนุ่น ช่วงแรกของการเจริญโคโลนีจะมีสีขาวครีมและเมื่อเชื้ออายุมากขึ้นสีจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลักษณะเป็นปุยเบา มีการสร้าง aerial mycelium, macroconidia และ microconidia ซึ่ง macroconidia มีรูปร่างเหมือนบุหรี่ซิการ์ มีหลายเซลล์ผนังบางและเรียบ ส่วน microconidia มีรูปร่างกลมไปจนถึงรูปหยดน้ำ มีจำนวนมากลักษณะติดกันคล้ายพวงองุ่น เชื้อนี้เป็นเหตุทำให้เกิดโรคกลากบนผิวหนัง ผมและเล็บ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดโรคกลากที่หนวด และเครา ซึ่งเป็นโรคที่พบได้ไม่บ่อยนัก เกิดขึ้นจากการสัมผัสกับปศุสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัว และส่วนใหญ่จะพบบ่อยมากในฟาร์มเลี้ยงวัวนม คนที่ติดโรคนี้จากสัตว์จะมีอาการอักเสบรุนแรง โดยมีการบวม เจ็บบริเวณหนวดและเครา เกิดเป็นตุ่มหนองหรือฝีขึ้นได้ (บุญเยี่ยม เกียรติวุฒิ, องุ่น เกียรติวุฒิ และศุภกิจ อังศุภากร, 2527; Rippon, 1982, Myrvik and Weiser, 1988, Johnson, *et al.*, 1989 และ Brooks, *et al.*, 1991)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาฤทธิ์ต้านไวรัสของสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน
2. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน
3. ศึกษาฤทธิ์ต้านยีสต์และเชื้อรา ของสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1. สารสกัดจากกระชาย (*Boesenbergia pandurata*) ได้รับจากภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้แก่

   1.1 B-1 เป็นสารสกัดจากเหง้าด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์

   1.2 B-2 เป็นสารสกัดจากเหง้าด้วยคลอโรฟอร์ม

   1.3 B-3 เป็นสารสกัดจากเหง้าด้วยแอลกอฮอล์

2. สารสกัดจากใบพญายอ (*Clinacanthus nutans*) ได้จาก ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้แก่ CN เป็นสารสกัดน้ำของใบพญายอ

3. สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*) ได้จาก ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้แก่

   3.1 Fresh *Andrographis paniculata* (FAP)

   3.2 Dry *Andrographis paniculata* (DAP)

   3.3 Andrographolide

   3.4 Dehydroandrographolide

   3.5 Neoandrographolide

   3.6 JP-51

4. สารสกัดจากเปลือกผลมังคุด (*Garcinia mangostana*) ซึ่งเป็น xanthone derivatives ได้จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้แก่

   4.1 X-1

   4.2 X-2

   4.3 X-3

5. สารสกัดจากรงทอง (*Garcinia hanburyi*) ได้แก่

   5.1 H-1 เป็นสารสกัดจากยางด้วยน้ำ

5.2 H-2 เป็นสารสกัดจากยางด้วยเอธิลแอลกอฮอล์

6. สารสกัดจากว่านดอกดิน (*Kaempferia rotunda*) ซึ่งเป็นสาร pimarane compound ได้จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้แก่ KR

7. สารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน ได้จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ได้แก่

7.1 Solamine

7.2 Solapalmitine

7.3 Solapalmitenine

7.4 Solacaproine

8. เซลล์เพาะเลี้ยง ได้แก่ เซลล์ VERO (African green monkey kidney cell) และเซลล์ MDCK (Madin-Darby kidney cell) ไวรัสได้แก่ Herpes simplex virus type 2 และ Influenza virus type A(H_3N_2) จากสถาบันวิจัยไวรัส กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

9. แบคทีเรีย ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

10. ยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* เชื้อรา ได้แก่ *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum* และ *Trichophyton mentagrophytes* จาก ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

11. เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ ได้แก่

เครื่องชั่ง (balance)

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)

ตู้อบไมโครเวฟ (microwave oven)

ตู้อบเครื่องแก้ว (hot air oven)

เตาแม่เหล็ก (stirring heating plate)

แท่งแม่เหล็ก (magnetic bar)

เครื่องกรอง (millipore membrane filter)

เครื่องปั๊มน้ำ (water pump)

อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

ไมโครปิเปตต์ (micro pipette)

ปิเปตต์เอด (pipette aid)

หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

ตู้เย็น (refrigerator)

สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) รุ่น spectronic 21

ตู้บ่มเชื้อ (incubator)

ตู้บ่มเชื้อ (CO_2-incubator)

เครื่องเขย่าหลอด (vortex mixer)

ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow cabinet)

ตะเกียงแกส (bunsen burner)

กล้องจุลทรรศน์ชนิดอินเวอเต็ด (inverted microscope)

ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (rack)

เครื่องนับเซลล์ (counting chamber)

12. เครื่องแก้วและพลาสติกชนิดต่าง ๆ ได้แก่

บีกเกอร์ (beaker)

ฟลาสก์ (flask)

กรวย (funnel)

ปิเปตต์ (pipette)

พาสเจอร์ปิเปตต์ (pasture pipette)

หลอดทดลองพร้อมจุก (test tube with lid)

ขวดแก้วพร้อมฝาปิด

ขวดพลาสติกพร้อมฝาปิด

ถาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม (24-well plate with lid)

ไมโครไตเตอร์เพลต (96-well, microtiter plate)

ลูกแก้ว (glass bead)

จานเลี้ยงเชื้อ (petri dish)

13. สารเคมีชนิดต่าง ๆ

Minimum essential medium Eagle (modified) with Earle's salts	ของ Flow laboratories
Foetal bovine serum (FBS)	ของ Flow laboratories
Trypsin	ของ Flow laboratories
Protamine sulfate	ของ Fluka
Bacto agar	ของ BBL
Crystal violet	ของ Riedel-de Haen
Vitamin mineral Eagle 100X	ของ Gibco
Folic acid	ของ Sigma
Biotin	ของ Sigma
35% Bovine albumin	ของ Sigma
Antibiotic -fungizone	ของ Squibb
-penicillin	ของ Dumex
-streptomycin	ของ Dumex
-kanamycin	ของ Medifive Phama Co., Ltd.
Trypticase soy agar (TSA)	ของ BBL
Trypticase soy broth (TSB)	ของ BBL
Sabouraud dextrose agar (SDA)	ของ BBL

Muller-Hinton broth (MHB)	ของ Merck
Nutrient agar (NA)	ของ BBL
Tween-80	ของ Merck
Czapek dox broth	ของ Difco
Ethyl alcohol	ของ Merck
Zovirax	ของ Wellcome

14. กล้องถ่ายรูปพร้อมอุปกรณ์

วิธีทดลอง

1. การเตรียม stock solution ของสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

ละลาย dehydroandrographolide, neoandrographolide, JP-51, สารสกัดจากมังคุด (x-1 และ x-3) และสารสกัดจากว่านตอกดิน (KR) ด้วยแอลกอฮอล์ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลาย สารสกัดจากกระชาย (B-2), andrographolide และสารสกัดจากมังคุด (x-2) ด้วยแอลกอฮอล์ ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากรงทอง (H-2) สกัดด้วยแอลกอฮอล์ในอัตราส่วน 1:5 มีความเข้มข้นเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดจากพญายอ ฟ้าทะลายโจร (FAP และ DAP) และสารสกัดจากรงทอง (H-1) สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:5 มีความเข้มข้นเท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน (solamine, solapalmitine, solapalmitenine และ solacaproine) ด้วยแอลกอฮอล์ให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เก็บสารละลาย stock solution ทั้งหมดไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

2. ศึกษาฤทธิ์ต้านไวรัสของสารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

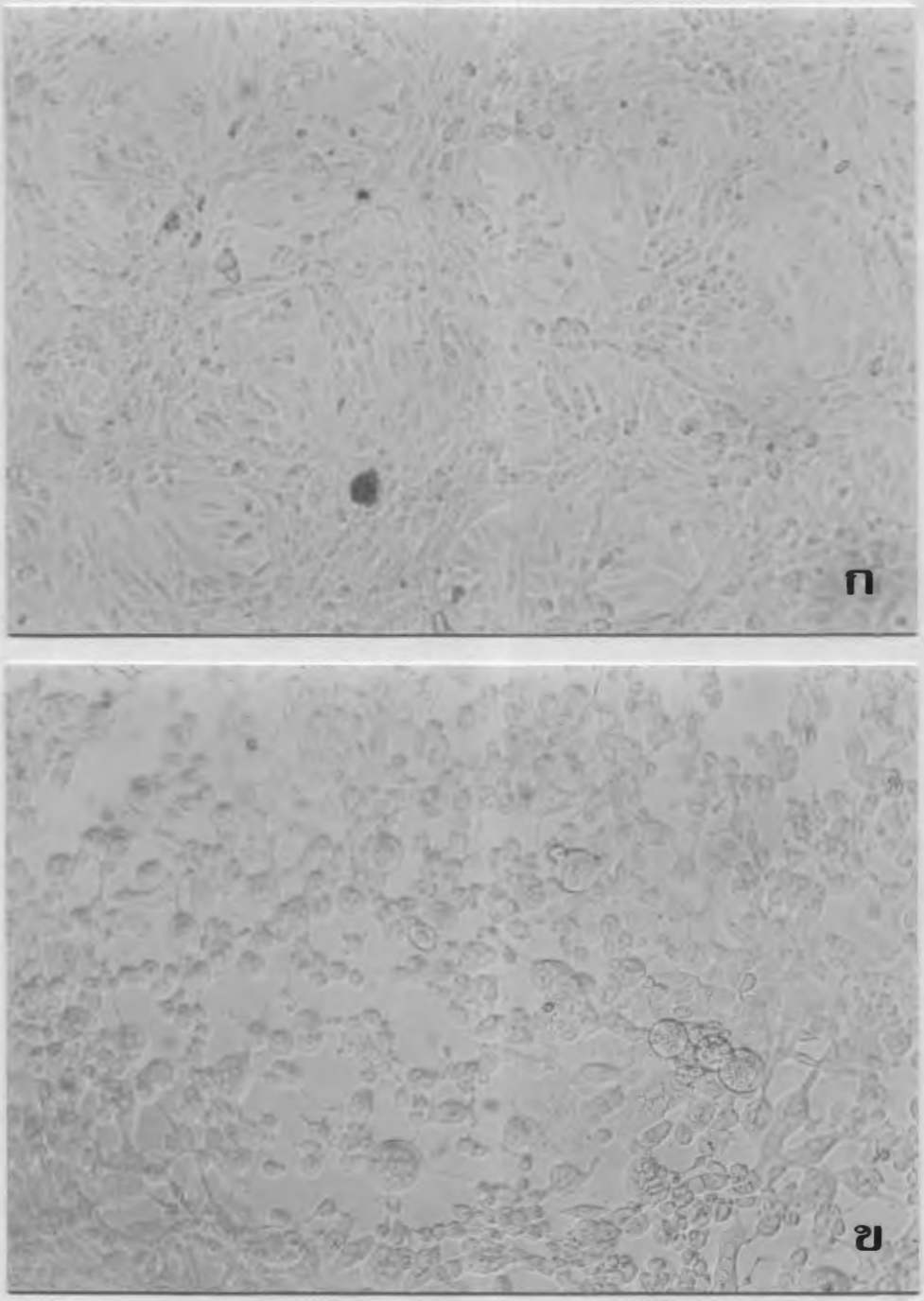
2.1 การเตรียมเชื้อไวรัส

2.1.1 Herpes simplex virus type 2

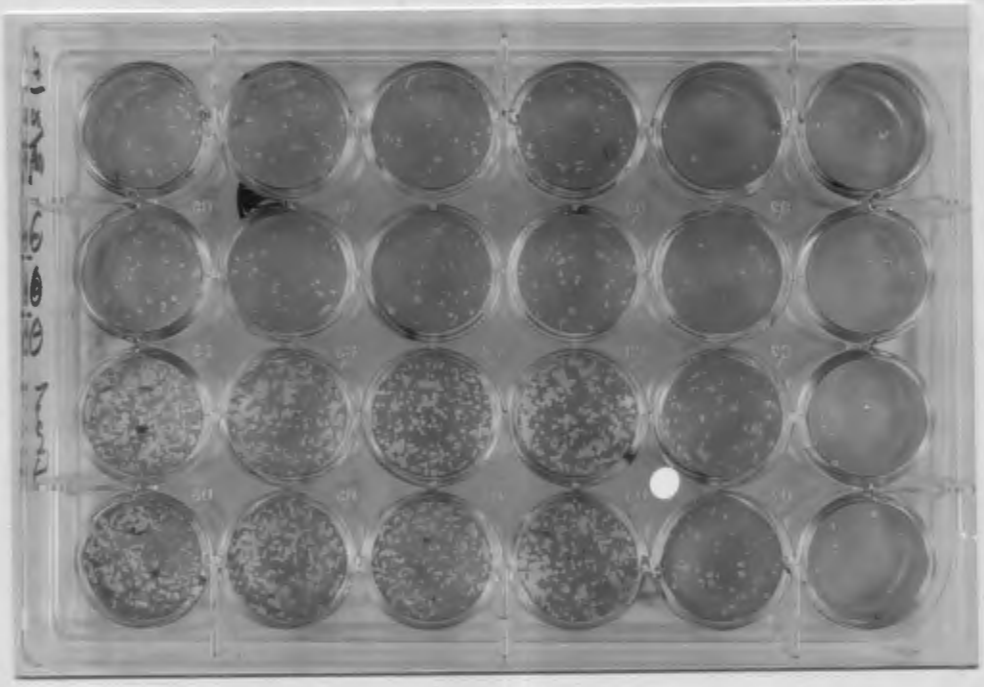
เลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยง VERO (African green monkey kidney cell) จำนวน $1x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 24 ตารางเซนติเมตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ cell growth medium บ่มใน CO_2-incubator อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 3 วัน หรือจนกระทั่งเซลล์แผ่เต็มพื้นผิว (monolayer) (รูปที่ 9ก) ดูด cell growth medium ออกแล้วล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 ใส่เชื้อ Herpes simplex virus type 2 จำนวน $1x10^5$ PFU/ml ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน VERO บ่มในสภาพเดิมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ virus growth medium บ่มต่อในสภาพเดิม ดูการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ (cytopathic effect, CPE) เมื่อเซลล์เกิด CPE ประมาณ 3+ (รูปที่ 9ข) เก็บไวรัสโดยนำน้ำเลี้ยงเซลล์ซึ่งมีไวรัสมาปั่นแยกเซลล์ออกโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แบ่งไวรัสใส่หลอดเล็ก ๆ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบหาปริมาณไวรัสโดยวิธี Plaque assay ตามวิธีของ Lennette และ Schmidt (1979) (ภาคผนวก ก) ตามรูปที่ 10

2.1.2 Influenza virus

เลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยง MDCK (Madin-Darby kidney cell) จำนวน $1x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 24 ตารางเซนติเมตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ cell growth medium บ่มใน CO_2-incubator



รูปที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ VERO ก : African green monkey kidney cell (VERO) ปกติ และ ข : African green monkey kidney cell ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ประมาณ 3+ หลังจากการติดเชื้อ HSV-2 เป็นเวลา 3 วัน (X40)



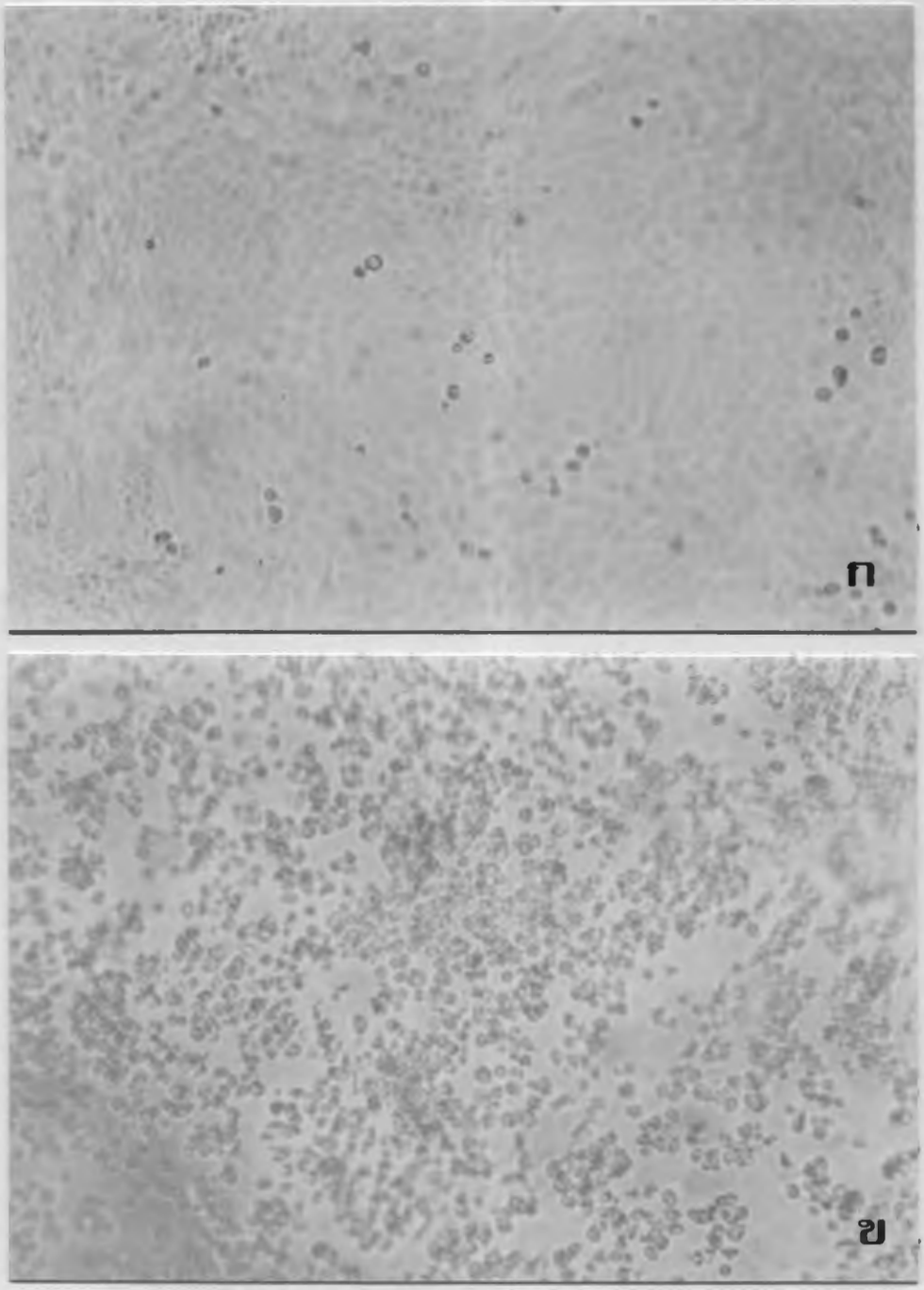
รูปที่ 10 แสดง Plaque ที่เกิดจาก Herpes simplex virus type 2 ใน African green monkey kidney monolayer cell culture (VERO)

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เมื่อเซลล์แผ่เต็มพื้นผิว (monolayer) (รูปที่ 11ก) ดูด cell growth medium ออกแล้วล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 ใส่เชื้อ Influenza virus 640 HAU/ml ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในเซลล์ MDCK บ่มในสภาวะเดิม เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ virus growth medium ปริมาตร 5 มิลลิลิตรดูการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ (รูปที่ 11ข) และทดสอบหาปริมาณไวรัสโดยวิธี Haemagglutination assay (HA) ตามวิธีของ Barrett และ Inglis (1985) (ภาคผนวก ข) ตามรูปที่ 12 เมื่อได้ไวรัสมากกว่า 1280 HAU/ml เก็บไวรัสโดยนำน้ำเลี้ยงเซลล์ซึ่งมีไวรัสมาปั่นแยกเซลล์ออกโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แบ่งไวรัสใส่หลอดเล็ก ๆ เก็บที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส

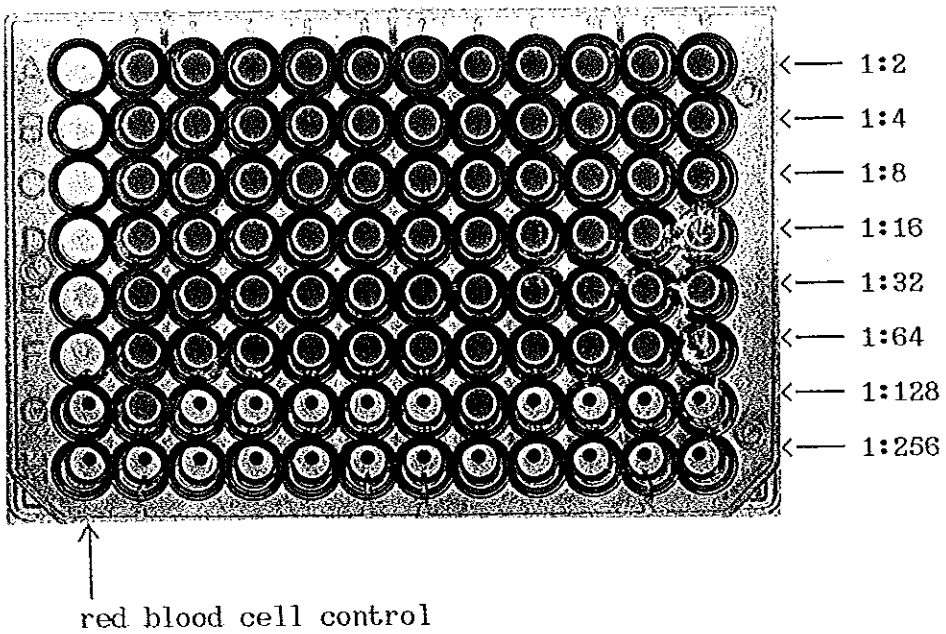
2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัส

2.2.1 Pre-treatment

เลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยง VERO และ MDCK จำนวน $1x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ cell growth medium ในถาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม หลุมละ 1 มิลลิลิตร บ่มใน CO_2-incubator อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 1-2 วัน ให้เซลล์แผ่เกือบเต็มพื้นผิว เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์เป็น cell growth medium ซึ่งมีสารสกัดจากสมุนไพรหรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนในปริมาณต่าง ๆ กัน บ่มในสภาวะเดิมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2, เติมไวรัส HSV-2 จำนวน $3.8x10^5$ PFU/ml หรือ Influenza virus 25.6 HAU/ml หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการทดสอบหาปริมาณไวรัส HSV-2 โดยวิธี Plaque assay และ Influenza virus โดยวิธี Haemagglutination assay (ภาคผนวก ก และ ข) ซึ่งในการทดลองทุกครั้งค่าที่ได้จะเฉลี่ยจากการทำ 2 ซ้ำ



รูปที่ 11 แสดงการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ MDCK ก : Madin-Darby kidney cell (MDCK) ปกติ และ ข : Madin-Darby kidney cell ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ประมาณ 4+ หลังจากการติดเชื้อ Influenza virus type A (H_3N_2) เป็นเวลา 4 วัน (X40)



รูปที่ 12 แสดงผลของ Haemagglutination assay ของ Influenza virus type A (H_3N_2) หลังจากบ่มที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มได้จนถึงขนาดเจือจาง 1:64 ฉะนั้น heamagglutination titer คือ 1280 HAU/ml

2.2.2 Inactivation

เจือจางสารสกัดจากสมุนไพรหรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนด้วย cell growth medium ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน หลังจากนั้นผสมสารต่าง ๆ นี้กับ HSV-2 จำนวน $3.8x10^5$ PFU/ml หรือ Influenza virus 25.6 HAU/ml บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปใส่ในเซลล์เพาะเลี้ยง VERO หรือ MDCK ในถาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม ที่มีเซลล์แผ่เต็มพื้นผิว ซึ่งผ่านการล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 แล้ว หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการทดสอบหาปริมาณไวรัส HSV-2 โดยวิธี Plaque assay และ Influenza virus โดยวิธี Haemagglutination assay (ภาคผนวก ก และ ข)

2.2.3 Post treatment

เลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยง VERO หรือ MDCK จำนวน $1x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ cell growth medium ในถาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม หลุมละ 1 มิลลิลิตร บ่มใน CO_2-incubator อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 1-2 วัน จนเซลล์แผ่เต็มพื้นผิว ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 จากนั้นเติมไวรัส HSV-2 จำนวน $3.8x10^5$ PFU/ml หรือ Influenza virus 25.6 HAU/ml ทำการทดสอบปริมาณไวรัส HSV-2 โดยวิธี Plaque assay และ Influenza virus โดยวิธี Haemagglutination assay (ภาคผนวก ก และ ข) ทั้งนี้ในอาหารเลี้ยงเซลล์ในช่วงการทดสอบปริมาณไวรัสนี้ มีการเติมสารสกัดจากสมุนไพร หรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนในปริมาณต่าง ๆ กัน ผสมอยู่ด้วย

การทดสอบฤทธิ์ต้านไวรัส HSV-2 และ Influenza virus ในการทดลองทั้ง 3 แบบคือ pre-treatment, inactivation และ post-treatment ชุดควบคุม (control) ทำการทดลองเช่นเดียวกับชุดทดสอบ แต่ไม่ใส่สารสกัดจากสมุนไพรหรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน กรณีที่สารสกัดจากสมุนไพรที่ทดสอบละลายในเอธิลแอลกอฮอล์ ชุดควบคุมจะเติมเอธิลแอลกอฮอล์ในความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้นของเอธิลแอลกอฮอล์

ในชุดทดสอบ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้าน HSV-2 เพิ่มชุดยาควบคุม คือเติมยา zovirax ให้มีความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การแปลผล สำหรับ HSV-2 ถือว่าสารสกัดจากสมุนไพรหรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนที่ทำให้จำนวนไวรัสลดลงจากชุดควบคุมอย่างน้อย 1 log ให้ผลบวก แล้วทำการหาร้อยละของ plaque reduction เทียบกับชุดควบคุม ส่วน Influenza virus นั้นถือว่าสารสกัดจากสมุนไพรหรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนที่ทำให้จำนวนไวรัสลดลงจากชุดควบคุมมากกว่า 2 เท่า ให้ผลบวก

3. ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

3.1 การเตรียมแบคทีเรีย

เลี้ยง *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ trypticase soy agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชี่ยโคโลนีเดี่ยว (single colony) จำนวน 2-3 โคโลนี มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ trypticase soy broth (TSB) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้นี้ไปเจือจางด้วยน้ำเกลือ (normal saline solution) ให้มีความขุ่นเท่ากับ standard Mc. Farland No. 0.5 หลังจากนั้นนำเชื้อนี้ไปเจือจางต่อด้วย Mueller-Hinton broth (MHB) เป็น 200 เท่า ซึ่งจะได้เชื้อประมาณ 10^6 CFU/ml

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

เจือจางสารสกัดบริสุทธิ์ของสมุนไพรหรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนด้วย Mueller-Hinton broth (MHB) แบบ serial 2-fold ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ

สำหรับสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน ทำการเจือจางตั้งแต่ 500 ถึง 0.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบของสมุนไพรทำการเจือจางเช่นเดียวกัน แต่ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 100,000 ถึง 195.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ชุดควบคุม (control) คือ MHB ที่ไม่มีสารต่าง ๆ ที่ทำการทดสอบผสมอยู่ เป็นชุดควบคุมของสารที่ละลายในน้ำ แต่มีสมุนไพรบางตัวละลายในเอธิลแอลกอฮอล์ ดังนั้นหลอดควบคุมจึงต้องมีการเติมเอธิลแอลกอฮอล์ ในความเข้มข้นเท่ากับสารสกัดจากสมุนไพรที่ละลายในเอธิลแอลกอฮอล์สูงสุดที่ใช้ และทำการเจือจางแบบ serial 2-fold เช่นเดียวกัน ชุดยาควบคุม เจือจางยา ampicillin, kanamycin และ penicillin G ด้วย MHB แบบ serial 2-fold ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 100 ถึง 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

แบ่งสารที่เจือจางข้างต้นใส่หลอดปราศจากเชื้อหลอดละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 4 หลอด แบ่งออกเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 เติม *E. coli* และชุดที่ 2 เติม *S. aureus* ที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1 หลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าหลอด บ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ อ่านผล minimal inhibitory concentration (MIC) ซึ่ง MIC คือ ความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่เห็นการเจริญของแบคทีเรีย

ทำการทดสอบหาค่า minimal bactericidal concentration (MBC) โดยใช้ลูปชิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ถ่ายเชื้อจากทุกหลอดที่มีการยับยั้งการเจริญจนถึงหลอด MIC ไปขีดบนอาหารเพาะเชื้อ NA (nutrient agar) บ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผล MBC ซึ่งคือความเข้มข้นสุดท้ายที่ไม่เห็นการเจริญของแบคทีเรีย (Lorian, 1991)

4. ศึกษาฤทธิ์ต้านยีสต์และเชื้อราของสารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

4.1 การเตรียมยีสต์

เลี้ยง *Candida albicans* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud dextrose agar (SDA) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เขี่ยยีสต์ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำเกลือ (normal saline solution) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และมีลูกแก้ว 2-3 เม็ด เขย่าให้เชื้อกระจายตัวโดยใช้เครื่องเขย่าหลอด เจือจางเชื้อที่ได้นี้ด้วยน้ำเกลือให้มีความเข้มข้น 90 %T ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร และเจือจางต่ออีก 10 เท่า ด้วย Czapek dox broth

4.2 การเตรียมเชื้อรา

เลี้ยงเชื้อรา *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum* และ *Trichophyton mentagrophytes* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 1 เดือน หรือจนกระทั่งสายราฟูเต็มหลอด เติมสารละลายทวีน 80 ร้อยละ 0.05 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใช้เข็มเขี่ยเชื้อเขี่ยให้สายราหลุดจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้ pasture pipette ดูดส่วนของเหลวใส่ในหลอดที่มีลูกแก้วปราศจากเชื้ออยู่ 2-3 เม็ด เขย่าให้สปอร์กระจายตัวออกโดยใช้เครื่องเขย่าหลอด นำไปเจือจางต่อด้วย Czapek dox broth ให้มีความเข้มข้น 90 %T ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร และเจือจางต่ออีก 10 เท่า ด้วย Czapek dox broth

4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านยีสต์และเชื้อรา

เจือจางสารสกัดบริสุทธิ์จากสมุนไพรหรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ serial 2-fold ด้วย SDA หลอมเหลว ทำในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 500 ถึง 0.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัด

หยาบจากสมุนไพรทำการเจือจางเช่นเดียวกัน แต่ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 100,000 ถึง 195.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ชุดควบคุม (control) ของสารที่ละลายในน้ำใช้ SDA

ชุดควบคุม (control) ของสารที่ละลายในเอธิลแอลกอฮอล์ใช้ SDA ที่มีเอธิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับสารสกัดจากสมุนไพรที่ละลายในเอธิลแอลกอฮอล์สูงสุดที่ใช้ และทำการเจือจางแบบ serial 2-fold เช่นเดียวกัน

ชุดยาควบคุม เจือจางยา fungizone แบบ serial 2-fold ใน SDA หลอมเหลวทำในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 100 ถึง 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

แบ่งสารที่เจือจางข้างต้นนี้แต่ละสาร 4 หลอด ๆ ละ 5 มิลลิลิตร วางหลอดเอียง (slant) ที่อุณหภูมิห้อง เมื่ออาหารแข็งตัวแล้ว เติมยีสต์และเชื้อราที่เตรียมไว้ในข้อ 3.1 และ 3.2 หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ อ่านผล MIC ของยีสต์เมื่อบ่มเป็นเวลา 3 วัน ส่วนเชื้อราอ่านผล MIC เมื่อบ่มเป็นเวลา 15 วัน (Lorian, 1991)

ผลการทดลอง

1. ฤทธิ์ต้านไวรัส

1.1 การทดสอบฤทธิ์ต้าน Herpes simplex virus type 2 (HSV-2)

1.1.1 Pre-treatment การทดสอบฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน โดยให้สารในความเข้มข้นต่าง ๆ กันแก่เซลล์ ก่อนเติมไวรัส แล้วทำการทดสอบปริมาณไวรัส

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนที่ใช้ทดสอบในทุกระดับความเข้มข้น ไม่สามารถต้านการเจริญของ HSV-2 ได้ (รูปที่ 13 และ 14)

1.1.2 Inactivation การทดสอบฤทธิ์ต้าน HSV-2 โดยการบ่มเชื้อไวรัสกับสารสกัดจากสมุนไพรหรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลานำไปเติม (infect) เซลล์ VERO แล้วทำการทดสอบปริมาณไวรัส พบว่าสารสกัดจากพญายอความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สกัดจากมังคุด X-1 ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร X-2 ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ X-3 ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สามารถต้านการเจริญของ HSV-2 ได้ ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดคือ สารสกัดจากกระชาย ฟ้าทะลายโจร รงทอง และว่านดอกดินในทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ไม่สามารถต้านการเจริญของ HSV-2 ได้ (รูปที่ 15)

สารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนพบว่า solamine ความเข้มข้น 200 และ 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านการเจริญของ HSV-2 ได้ ส่วน solapalmitine, solapalmitenine และ solacaproine ในทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ไม่สามารถต้านการเจริญของ HSV-2 ได้ สำหรับยา zovirax ไม่ต้านการ

รูปที่ 13 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Pre-treatment

B-1, B-2 และ B-3; สารสกัดจากกระชาย : A=12.5, B=25 และ C=50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CN; สารสกัดจากพญายอ : A=50, B=100 และ C=200 ไมโครกรัมต่อมิลลิล

FAP และ DAP; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรสดและแห้ง : A=75, B=150 และ C=300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

AND; andrographolide : A=3, B=6 และ C=12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

DEH; dehydroandrographolide, NEO; neoandrographolide และ JP-5; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร : A=12.5, B=25 และ C=50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

X-1 และ X-2; สารสกัดจากมังคุด : A=25, B=50 และ C=100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

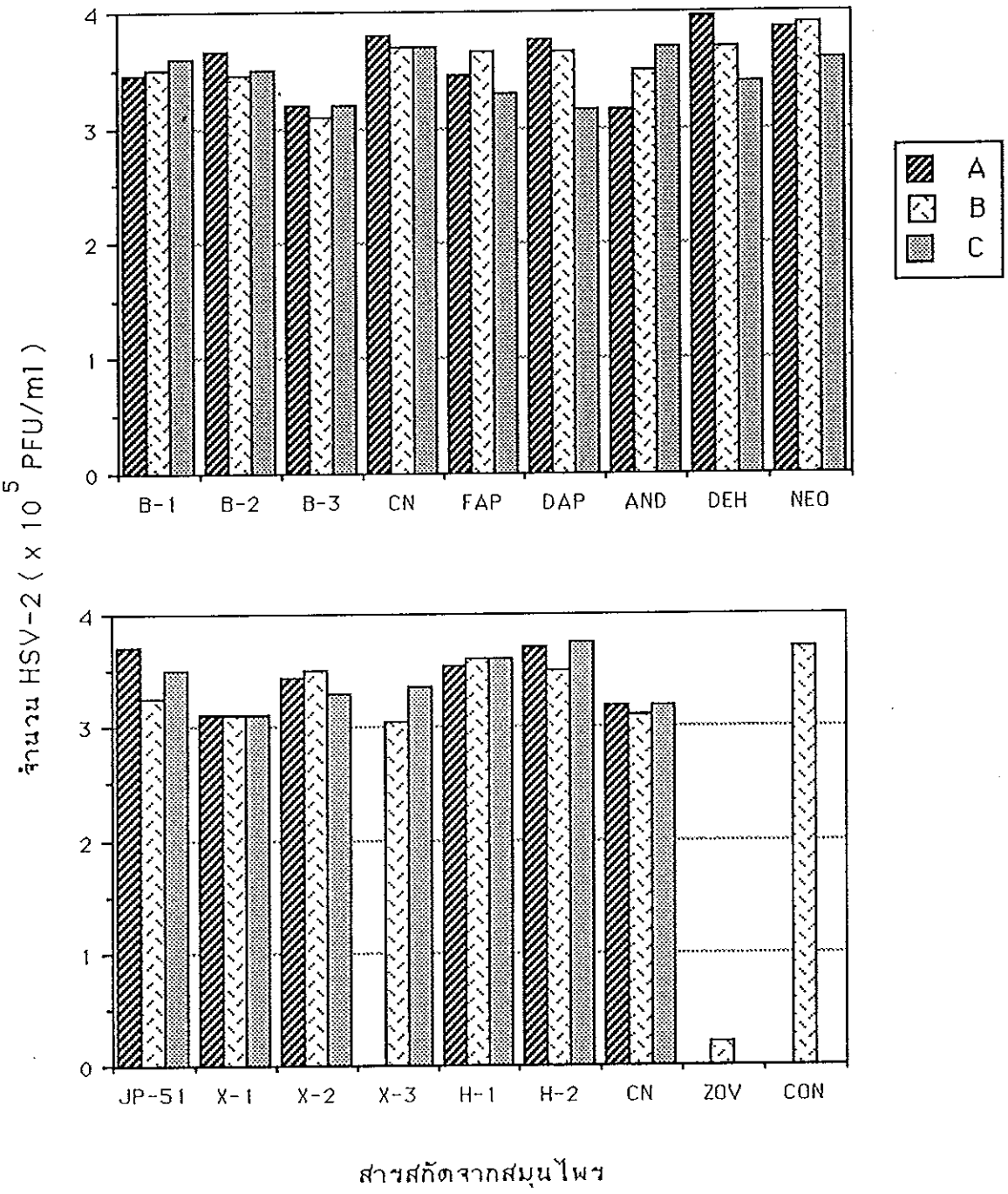
X-3; สารสกัดจากมังคุด : A=25 และ B=50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

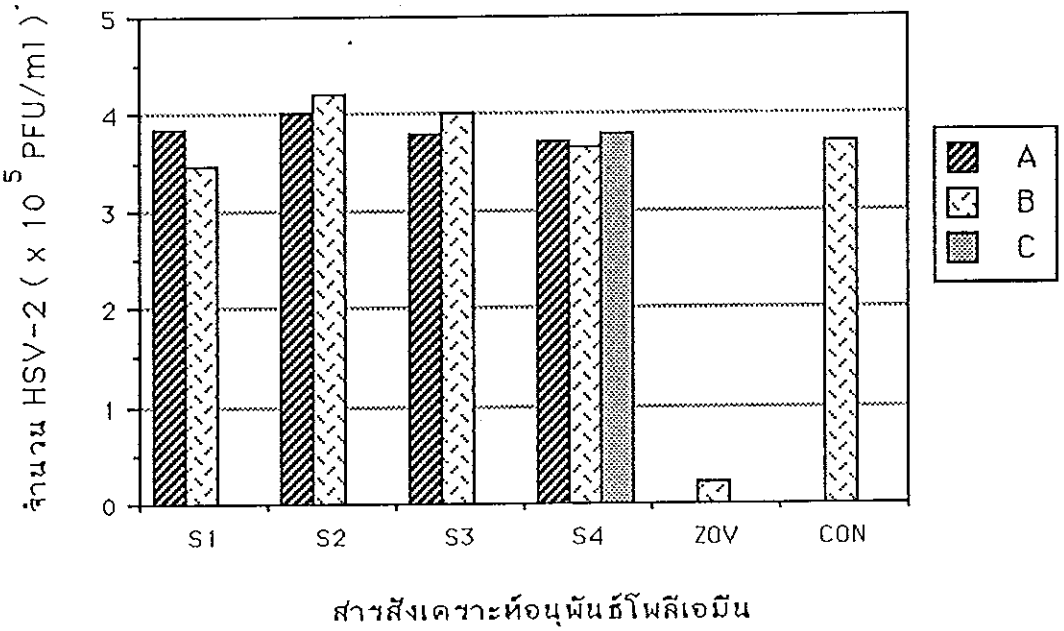
H-1 และ H-2; สารสกัดจากรงทอง : A=50, B=100 และ C=200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

KR; สารสกัดจากว่านดอกดิน : A=25, B=50 และ C=100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ZOV; zovirax : ยามาตรฐาน 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control : ชุดควบคุม


A
B
C
จำนวน HSV-2 (x 10^5 PFU/ml)
0
1
2
3
4
B-1
B-2
B-3
CN
FAP
DAP
AND
DEH
NEO
JP-51
X-1
X-2
X-3
H-1
H-2
CN
ZOV
CON
สารสกัดจากสมุนไพร



รูปที่ 14 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Pre-treatment

S-1; solamine : A=67 และ B=200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-2; solapalmitine : A=$5x10^{-4}$ และ B=$5x10^{-3}$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-3; solapalmitine : A=$1x10^{-3}$ และ B=$1x10^{-2}$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-4; solacaproine : A=313, B=625, และ C=1250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ZOV; Zovirax : ยามาตรฐาน 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control : ชุดควบคุม

รูปที่ 15 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Inactivation

B-1 และ B-3; สารสกัดจากกระชาย : A=25, B=50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

B-2; สารสกัดจากกระชาย : A=25, B=50 และ C=100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CN; สารสกัดจากพญายอ : A=25, B=50 และ C=100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

FAP และ DAP; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรสดและแห้ง : A=75, B=150 และ C=300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

AND; andrographolide : A=3, และ B=12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

DEH; dehydroandrographolide, NEO; neoandrographolide และ JP-51; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร : A=12.5, B=25 และ C=50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

X-1, X-2; สารสกัดจากมังคุด : A=25, B=50 และ C=100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

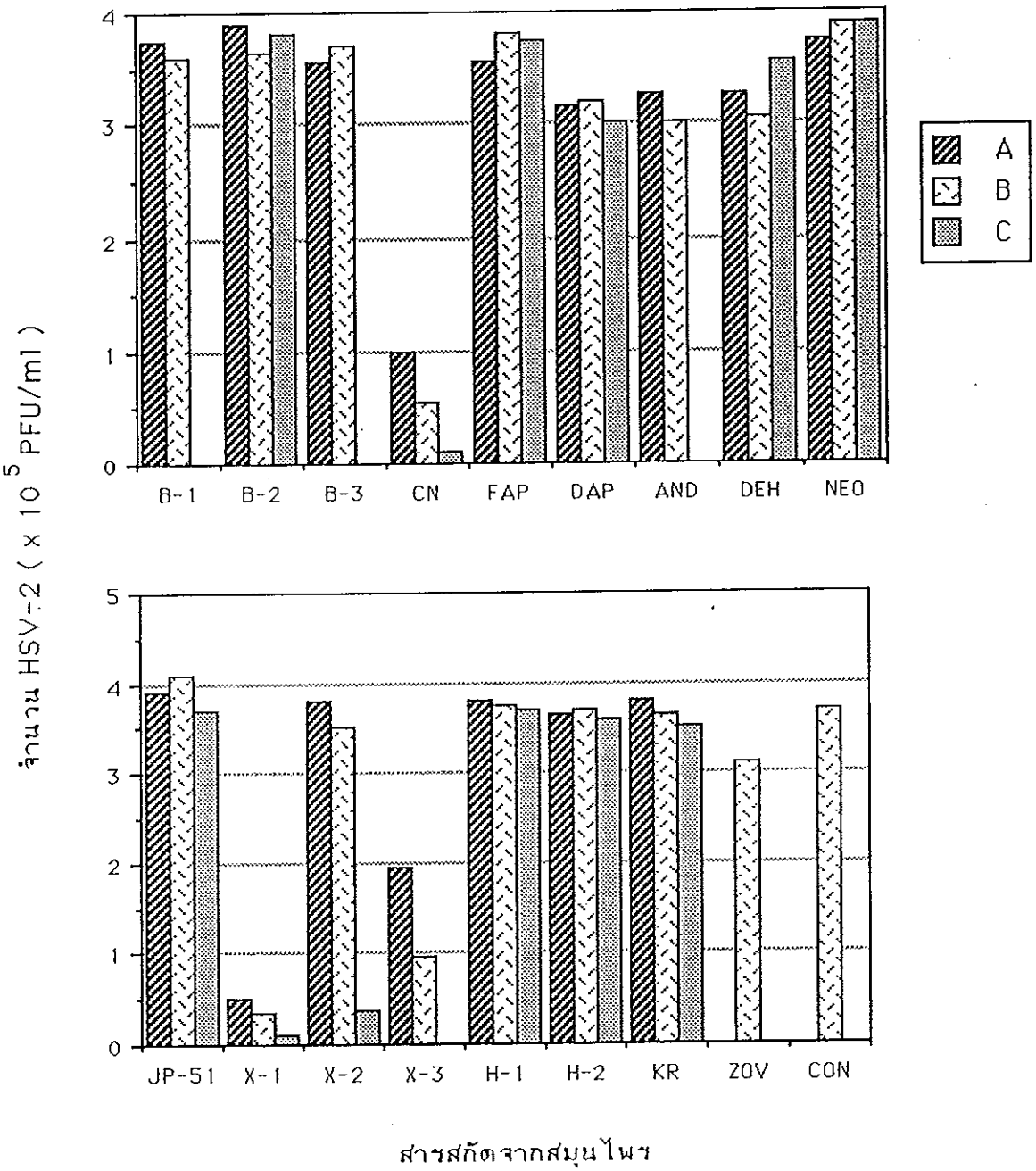
X-3; สารสกัดจากมังคุด : A=25 และ B=50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

H-1 และ H-2; สารสกัดจากรงทอง : A=50, B=100 และ C=200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

KR; สารสกัดจากว่านดอกดิน : A=25, B=50 และ C=100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ZOV; zovirax : ยามาตรฐาน 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control : ชุดควบคุม


จำนวน HSV-2 (x 10^5 PFU/ml)
A
B
C
B-1
B-2
B-3
CN
FAP
DAP
AND
DEH
NEO
JP-51
X-1
X-2
X-3
H-1
H-2
KR
ZOV
CON
สารสกัดจากสมุนไพร

เจริญของ HSV-2 ในการทดลองแบบ Inactivation ทั้งนี้เนื่องจากยา zovirax ไปยับยั้งการทำงานของ DNA polymerase ในกระบวนการสังเคราะห์ DNA ของเชื้อ ไม่ใช่มีฤทธิ์ไปจับกับตัวเชื้อโดยตรง ดังนั้นยา zovirax จึงมีฤทธิ์ต้าน HSV-2 ในการทดลองแบบ pre และ post treatment (รูปที่ 16)

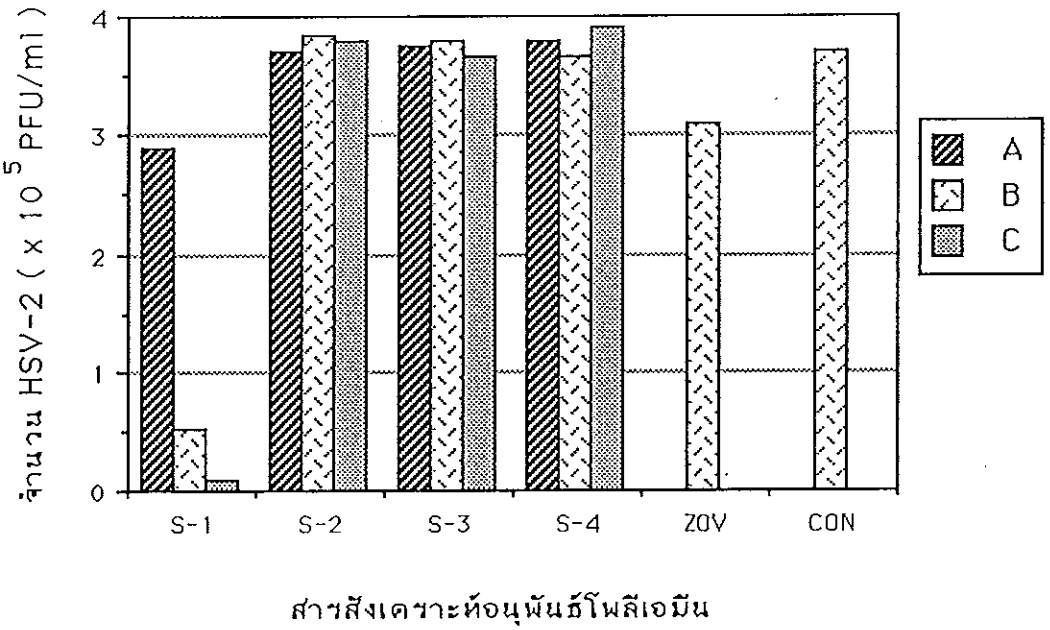
จากรูปที่ 17 พบว่าสารสกัดจากพญายอความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้จำนวน HSV-2 ลดลงประมาณร้อยละ 85 และ 97 ตามลำดับ สารสกัดจากมังคุด X-1, X-2 และ X-3 ความเข้มข้น 25, 100 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ทำให้จำนวน HSV-2 ลดลงประมาณร้อยละ 86, 90 และ 74 และ solamine ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้จำนวน HSV-2 ลดลงประมาณร้อยละ 86

1.1.3 Post-treatment การทดสอบฤทธิ์ต้าน HSV-2 โดยการเติมสารสกัดจากสมุนไพร หรือสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนในอาหารเลี้ยงเซลล์ลงในเซลล์ที่ผ่านการเติมไวรัสมาก่อน หลังจากนั้นทำการทดสอบปริมาณไวรัส

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนที่ใช้ทดสอบในทุกระดับความเข้มข้น ไม่สามารถต้านการเจริญของ HSV-2 ได้ (รูปที่ 18 และ 19)

1.2 การทดสอบฤทธิ์ต้าน Influenza virus

สารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 6 ชนิดคือ สารสกัดจากกระชาย พญายอ ฟ้าทะลายโจร มังคุด รงทอง และว่านดอกดิน สารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน 3 ชนิดคือ solamine, solapalmitine และ solapalmitenine ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบไม่สามารถต้านการเจริญของ Influenza virus ในการทดลองแบบ pre-treatment, inactivation และ post-treatment (รูปที่ 20-25)



รูปที่ 16 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Inactivation

S-1; solamine : A=67, B=200
และ C=600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

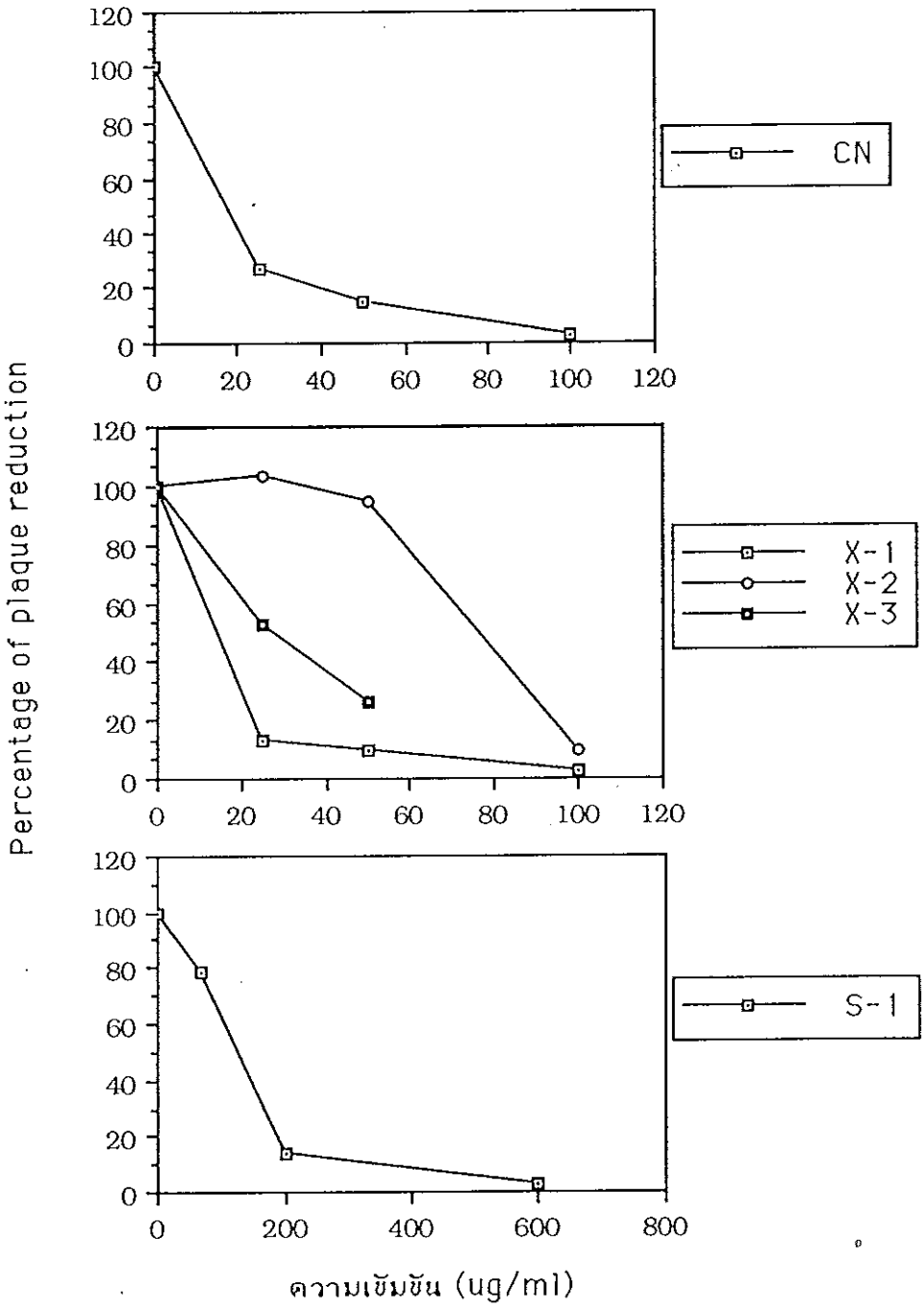
S-2; solapalmitine : A=$5x10^{-4}$, B=$5x10^{-3}$
และ C=$5x10^{-2}$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-3; solapalmitine : A=$1x10^{-3}$, B=$1x10^{-2}$
และ C=$1x10^{-1}$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

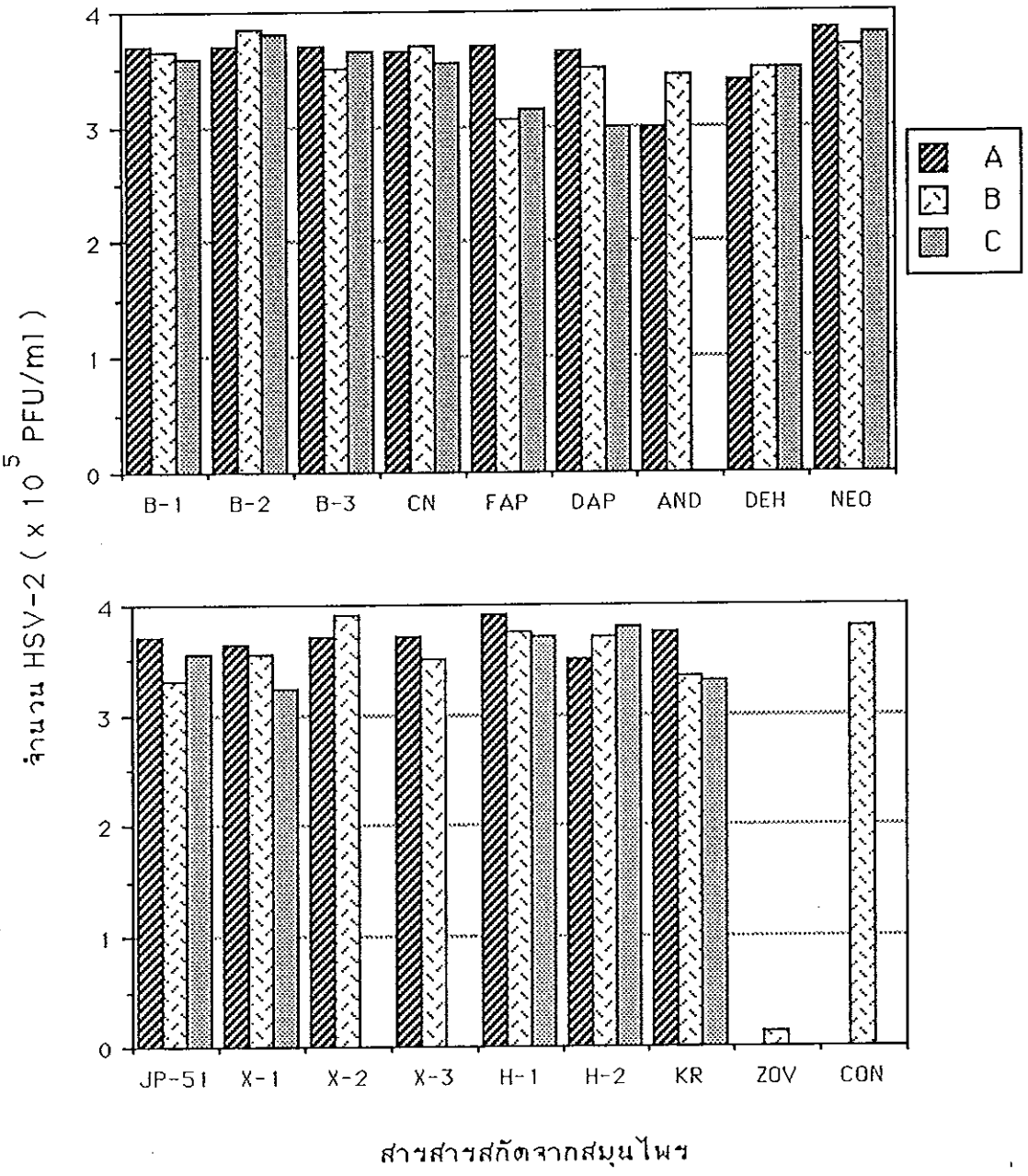
S-4; solacaproine : A=313, B=625,
และ C=1250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

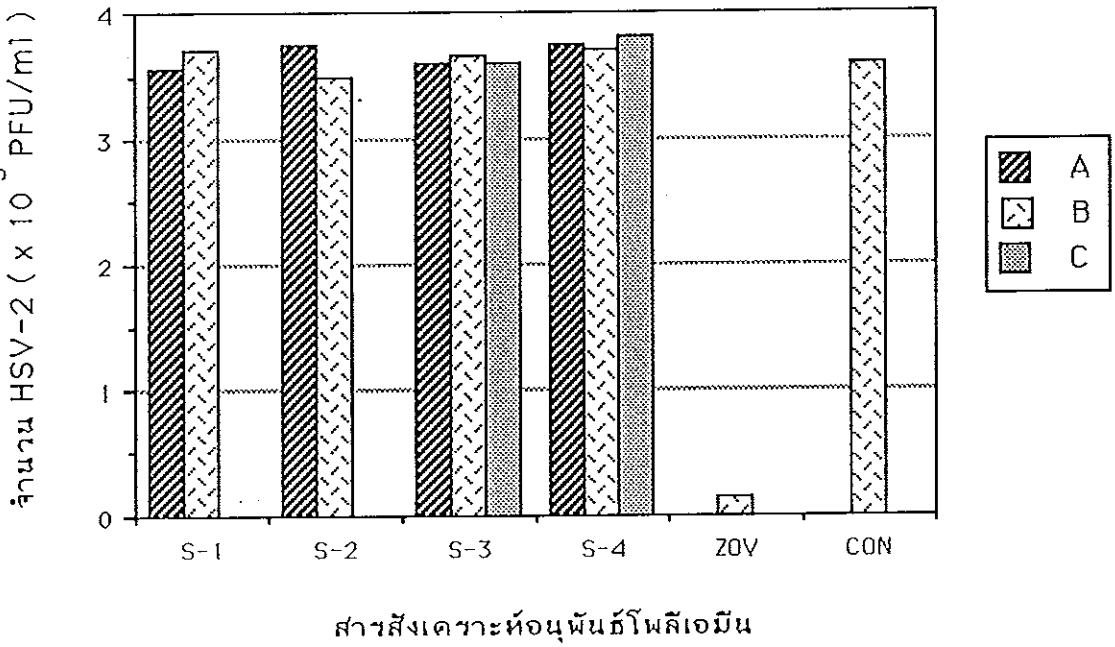
ZOV; Zovirax : ยามาตรฐาน 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control : ชุดควบคุม



รูปที่ 17 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 แบบ Inactivation ของสารสกัดจากพญายอ (CN) (รูป ก) สารสกัดจากมังคุด (X-1, X-2 และ X-3) (รูป ข) และ solamine (S-1) (รูป ค)


จำนวน HSV-2 (x 10^5 PFU/ml)
A
B
C
B-1
B-2
B-3
CN
FAP
DAP
AND
DEH
NEO
JP-51
X-1
X-2
X-3
H-1
H-2
KR
ZOV
CON
สารสกัดจากสมุนไพร



รูปที่ 19 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Post-treatment

S-1; solamine : A=67, B=200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-2; solapalmitine : A=2.5x10^{-4}, B=2.5x10^{-3} ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-3; solapalmitine : A=2.5x10^{-4}, B=2.5x10^{-3} และ C=2.5x10^{-2} ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-4; solacaproine : A=131, B=625, และ C=1250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ZOV; zovirax : ยามาตรฐาน 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control : ชุดควบคุม

รูปที่ 20 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Pre-treatment

B-1; สารสกัดจากกระชาย : 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

B-2; และ B-3; สารสกัดจากกระชาย : 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CN; สารสกัดจากพญายอ : 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

FAP; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรสด : 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

DAP; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรแห้ง : 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

AND; andrographolide : 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

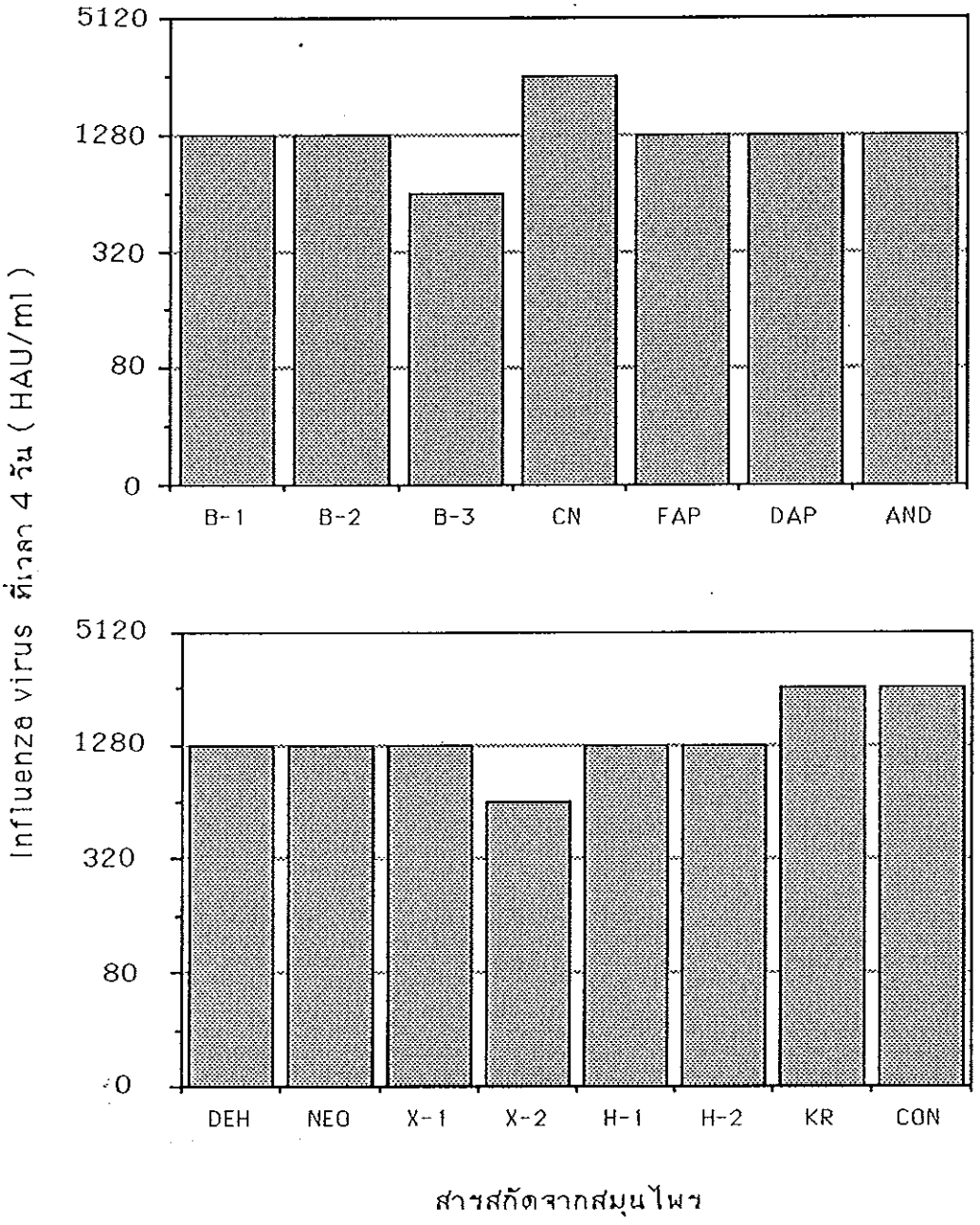
DEH; dehydroandrographolide และ NEO; neoandrographolide
: 100 โครกรัมต่อมิลลิลิตร

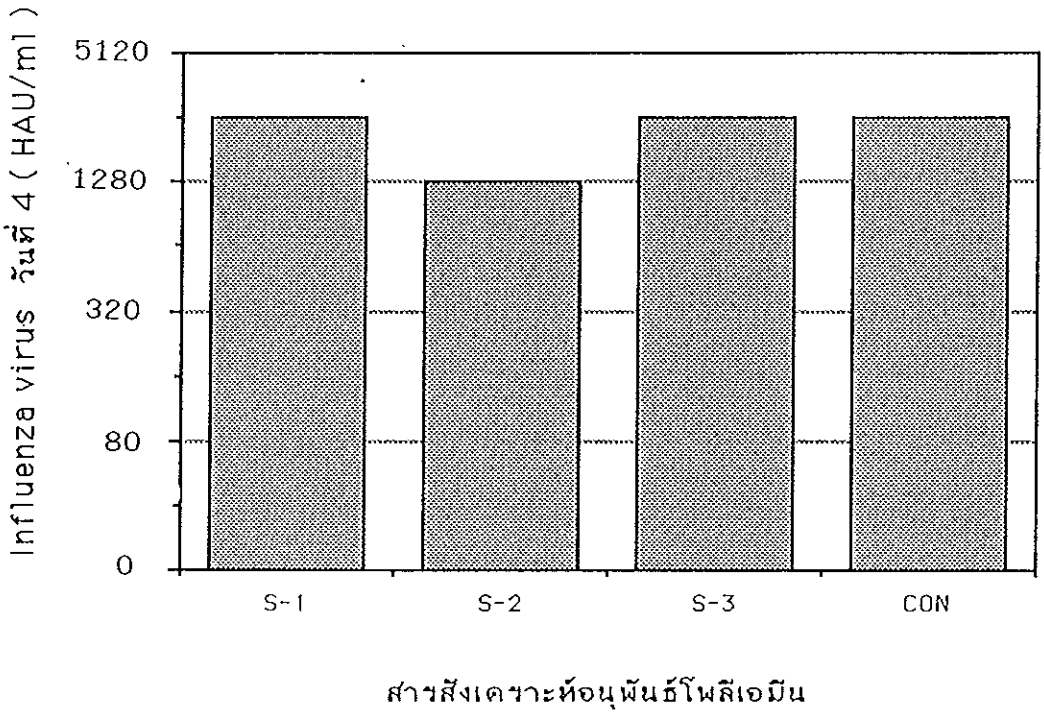
X-1 และ X-2; สารสกัดจากมังคุด : 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

H-1 และ H-2; สารสกัดจากรงทอง : 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

KR; สารสกัดจากว่านดอกดิน : 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control


5120
1280
320
80
0
B-1
B-2
B-3
CN
FAP
DAP
AND
5120
1280
320
80
0
DEH
NEO
X-1
X-2
H-1
H-2
KR
CON
Influenza virus ที่เวลา 4 วัน (HAU/ml)
สารสกัดจากสมุนไพร



รูปที่ 21 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Pre-treatment

S-1; solamine : 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-2; solapalmitine : 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-3; solapalmitenine : 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control

รูปที่ 22 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Inactivation

B-1; สารสกัดจากกระชาย : 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

B-2; สารสกัดจากกระชาย : 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CN; สารสกัดจากพญายอ : 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

FAP และ DAP; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรสดและแห้ง
: 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

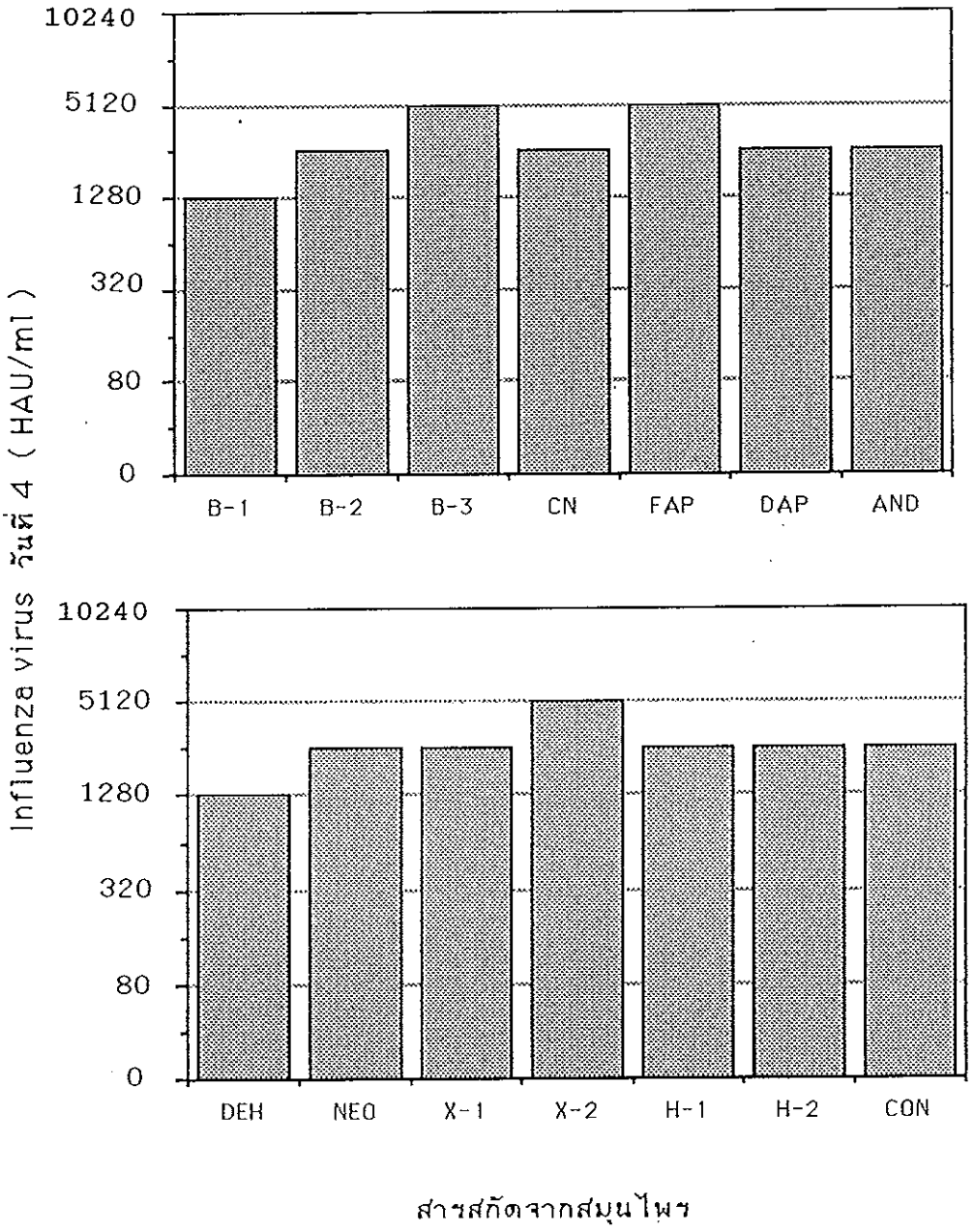
AND; andrographolide : 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

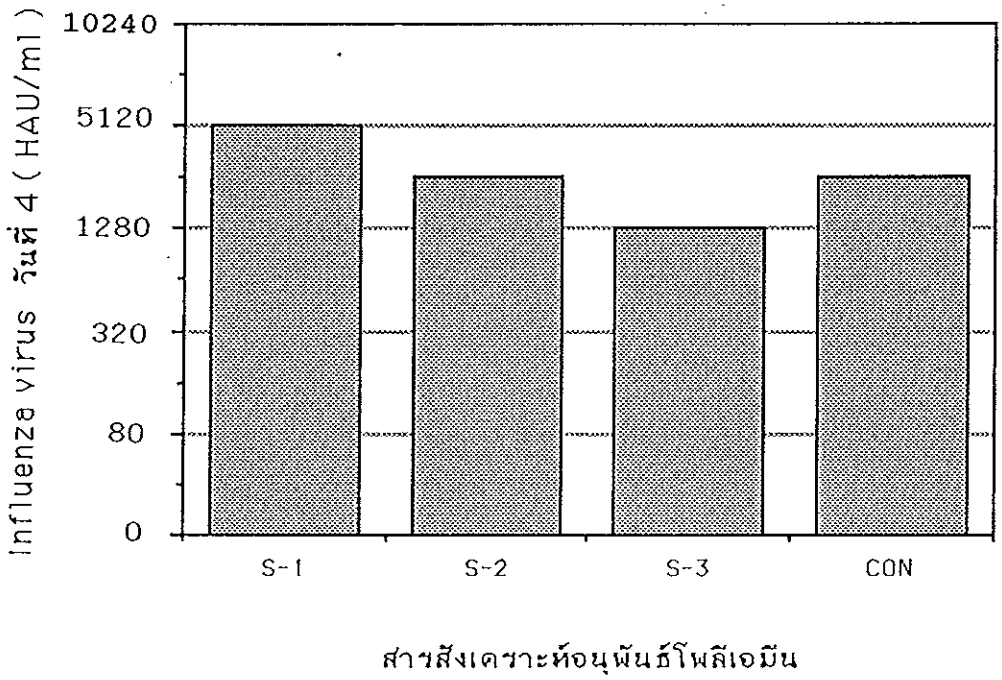
DEH; dehydroandrographolide และ NEO; neoandrographolide
: 100 โครกรัมต่อมิลลิลิตร

X-1 และ X-2; สารสกัดจากมังคุด : 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

H-1 และ H-2; สารสกัดจากรงทอง : 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control


10240
5120
1280
320
80
0
B-1
B-2
B-3
CN
FAP
DAP
AND
10240
5120
1280
320
80
0
DEH
NEO
X-1
X-2
H-1
H-2
CON
Influenza virus วันที่ 4 (HAU/ml)
สารสกัดจากสมุนไพร



รูปที่ 23 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Inactivation

S-1; solamine : 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-2; solapalmitine : 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-3; solapalmitenine : 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control

รูปที่ 24 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Post-treatment

B-1; สารสกัดจากกระชาย : 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

B-2 และ B-3; สารสกัดจากกระชาย : 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CN; สารสกัดจากพญายอ : 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

FAP; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรสด : 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

DAP; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจรแห้ง : 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

AND; andrographolide : 3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

DEH; dehydroandrographolide : 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

JP-51; สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร : 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

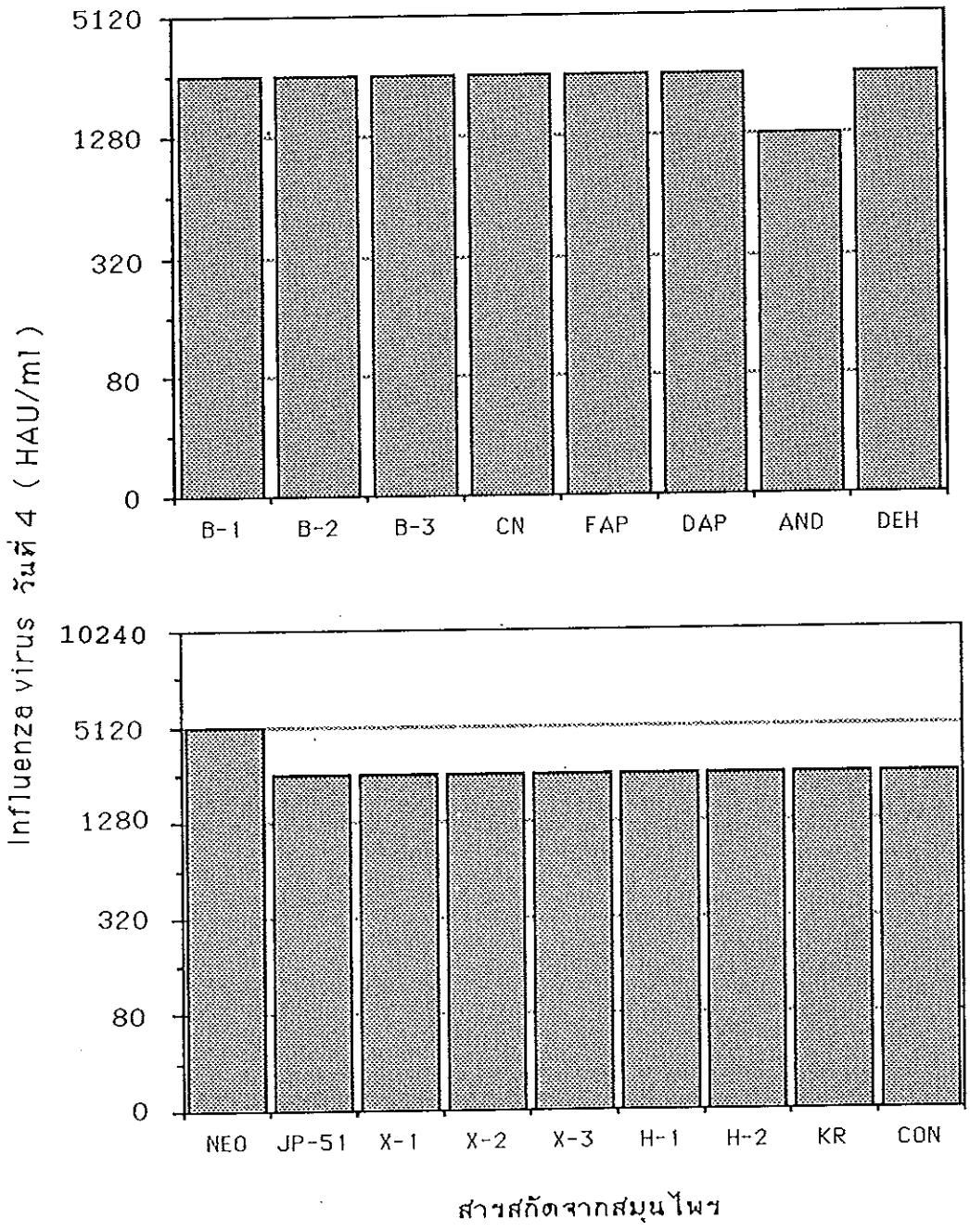
X-1 และ X-2; สารสกัดจากมังคุด : 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

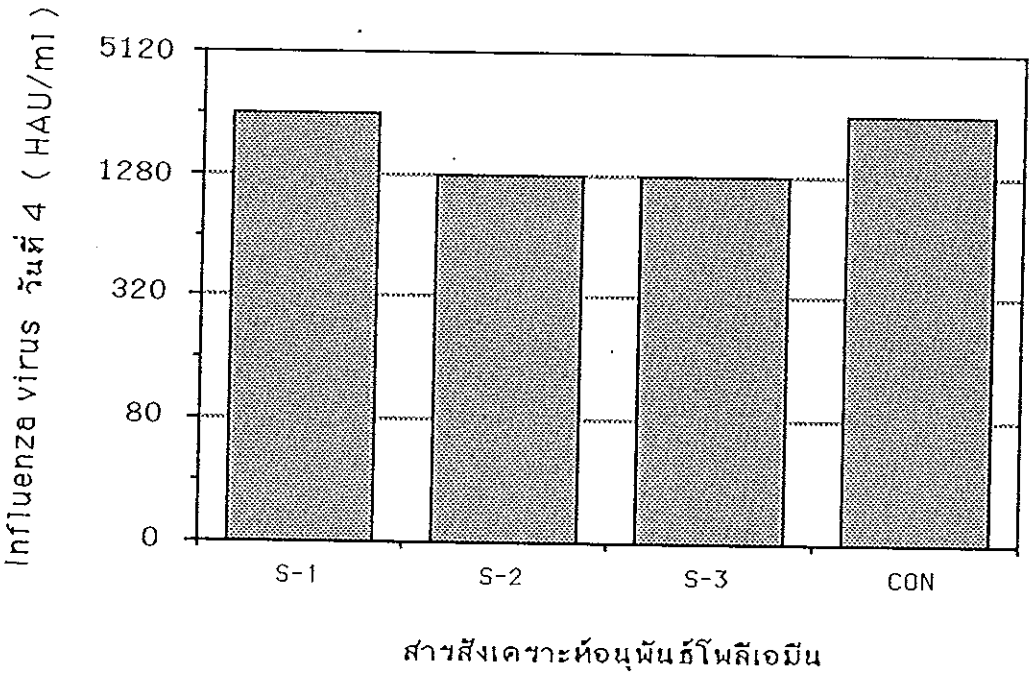
X-3; สารสกัดจากมังคุด : 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

H-1 และ H-2; สารสกัดจากรงทอง : 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

KR; สารสกัดจากว่านดอกดิน : 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control


5120
1280
320
80
0
B-1
B-2
B-3
CN
FAP
DAP
AND
DEH
10240
5120
1280
320
80
0
NEO
JP-51
X-1
X-2
X-3
H-1
H-2
KR
CON
Influenza virus วันที่ 4 (HAU/ml)
สายสกัดจากสมุนไพร



รูปที่ 25 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Post-treatment

S-1; solamine : 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-2; solapalmitine : 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

S-3; solapalmitenine : 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

CON; control

2. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

จากการทดสอบพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนทุกชนิดในความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ไม่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของ *E. coli* ATCC 25922 สำหรับสารสกัดจากพญายอ รงทอง (H-1) และรงทอง (H-2) มีฤทธิ์ต้านการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 โดยสารสกัดจากพญายอมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 25,000 และ 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่สูงมาก สำหรับสารสกัดจากรงทองมีค่า MIC ต่อ *S. aureus* น้อยกว่าสารสกัดจากพญายอ 125-500 เท่า โดยที่สารสกัดจากรงทอง (H-1) และ H-2 มีค่า MIC 200 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 400 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่สารสกัดจากรงทอง (H-2) ซึ่งสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ดีที่สุด (ตารางที่ 1)

สารสกัดจากว่านดอกดิน และสารสกัดจากมังคุด (X-1, X-2 และ X-3) ไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากสารสกัดมีปริมาณไม่เพียงพอ

3. ฤทธิ์ต้านยีสต์และเชื้อรา

สารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน ทุกชนิดในความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ไม่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของยีสต์ *C. albicans* (ตารางที่ 2)

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านรากลุ่มเดอร์มาโตไฟท์ พบว่าสารสกัดจากกระชายมีฤทธิ์ต้านรา โดยมีค่า MIC 31-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3) โดยที่สารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (B-2) มีฤทธิ์ดีที่สุด โดยมีค่า MIC ต่อเชื้อ *E. floccosum* และ *M. gypseum* เท่ากันคือ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MIC ต่อเชื้อ *T. mentagrophytes* 31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน พบว่า solapalmitine และ solapalmitenine ในความเข้มข้นที่ทดสอบไม่ต้านการเจริญของรากลุ่มเดอร์มาโตไฟท์

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

แบคทีเรีย	สารที่ทดสอบ (ug/ml)		MIC (ug/ml)	MBC (ug/ml)
Escherichia coli ATCC 25922	พญายอ	CN	>100,000	>100,000
	ฟ้าทะลายโจร	FAP	>100,000	>100,000
		DAP	>100,000	>100,000
		Andrographolide	>500	>500
		Dehydroandro-grapholide	>500	>500
		Neoandrographolide	>500	>500
		JP-51	>500	>500
	รงทอง	H-1	>100,000	>100,000
		H-2	>100,000	>100,000
	Solamine		>500	>500
	Solapalmitene		>500	>500
	Solapalmitenine		>500	>500
	Solacaproine		>500	>500
Staphylococcus aureus ATCC 25923	พญายอ	CN	25,000	100,000
	ฟ้าทะลายโจร	FAP	>100,000	>100,000
		DAP	>100,000	>100,000

ตารางที่ 1 (ต่อ)

แบคทีเรีย	สารที่ทดสอบ (ug/ml)		MIC (ug/ml)	MBC (ug/ml)
		Andrographolide	>500	>500
		Dehydroandro-grapholide	>500	>500
		Neoandrographolide	>500	>500
		JP-51	>500	>500
	รงทอง	H-1	200	400
		H-2	50	100
	Solamine		>500	>500
	Solapalmitine		>500	>500
	Solapalmitenine		>500	>500
	Solacaproine		>500	>500

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านยีสต์ *Candida albicans* ของสารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

	สารที่ทดสอบ	MIC (ug/ml)
กระชาย	B-1	>500
	B-2	>500
	B-3	>500
พญายอ	CN	>100,000
ฟ้าทะลายโจร	FAP	>100,000
	DAP	>100,000
	Andrographolide	>500
	Dehydroandrographolide	>500
	Neoandrographolide	>500
	JP-51	>500
รงทอง	H-1	>100,000
	H-2	>100,000
Solamine		>500
Solapalmitine		>500
Solapalmitenine		>500

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านเชื้อรากลุ่มเดอร์มาโตไฟท์ของสารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน

สารที่ทดสอบ		MIC (ug/ml)		
		E. floccosum	*M.gypseum*	*T.mentagrophytes*
กระชาย	B-1	500	500	250
	B-2	125	125	31
	B-3	500	250	250
พญายอ	CN	>100,000	>100,000	>100,000
ฟ้าทะลายโจร	FAP	>100,000	>100,000	>100,000
	DAP	>100,000	>100,000	>100,000
	Andrographolide	>500	>500	>500
	Dehydroandro-grapholide	>500	>500	>500
	Neoandrogra-pholide	>500	>500	>500
รงทอง	H-1	>100,000	>100,000	>100,000
	H-2	>100,000	>100,000	>100,000
Solamine		>500	>500	>500
Solapalmitine		>500	>500	>500
Solapalmitenine		>500	>500	>500

บทวิจารณ์

1. ฤทธิ์ต้านไวรัส

1.1 ฤทธิ์ต้าน Herpes simplex virus type 2 พบว่าเฉพาะสารสกัดจากใบพญายอ สารสกัดจากมังคุด X-1, X-2, X-3 และ solamine เท่านั้นที่ออกฤทธิ์ต้านการเจริญของ HSV-2 ในการทดลองแบบ inactivation และไม่ต้านการเจริญของ HSV-2 ในการทดลองแบบ pre และ post-treatment ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของชื่นฤดี ไชยวสุ และคณะ (2533) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากใบพญายอต้านการเจริญของ HSV-2 ในการทดลองแบบ inactivation เนื่องจากอาจมีตัวยาสำคัญในการจับกับไวรัสโดยตรง โดยอาจจะจับกับเมมเบรนของไวรัส ทำให้ไวรัสไม่สามารถเข้าเซลล์ต่อไปได้หรือทำให้ไวรัสถูกทำลายลงไป ซึ่งต่างจากยามาตรฐานที่ใช้ทดสอบคือ zovirax ที่มีฤทธิ์ในการทดสอบแบบ pre และ post-treatment โดยหยุดการเพิ่มจำนวน DNA ของไวรัส เนื่องจากไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase (Belshe, 1991)

1.2 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus สารสกัดจากกระชาย พญายอ ฟ้าทะลายโจร มังคุด รงทอง ว่านดอกดิน และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน 3 ชนิดคือ solamine, solapalmitine และ solapalmitenine ไม่มีฤทธิ์ในการต้านไวรัสในการทดลองทั้ง 3 วิธีการ การใช้ฟ้าทะลายโจรในโรคไข้หวัดใหญ่ได้ผลตามตำราทางสมุนไพร อาจจะมาจากสาเหตุอื่น เช่น ช่วยลดไข้ ไม่ใช่การทำลายตัวเชื้อโดยตรง การทดลองของประเทศจีน พบว่าสารสกัดฟ้าทะลายโจร ใช้รักษาผู้ป่วยไข้หวัดใหญ่ได้ผลดี (อ้างโดย สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล, 2528) การทดลองของชัยโย ชัยชาญทิพยุทธ (อ้างโดย สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล, 2528) ทดลองใช้สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร พบว่าสารแอนโดรแกรโฟไลด์ไม่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการ ซึ่งในประเทศจีนก็กล่าวถึงสารตัวนี้ในลักษณะเดียวกัน

2. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

สารสกัดน้ำจากใบของพญายอความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่ยับยั้งการเจริญของ *E. coli* แต่พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 25,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ MBC เท่ากับ 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งต่างจากการทดลองของ อารีรัตน์ ลออปักษา สุรัตนา อำนวยผล และวิเชียร จงบุญประเสริฐ (2531) ที่พบว่าสารสกัดจากพญายอความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากผู้ทำการทดลองใช้ส่วนสกัดจากพญายอทั้งต้น แต่การทดลองครั้งนี้ใช้สารสกัดจากส่วนใบเท่านั้น และสารสำคัญที่ออกฤทธิ์อาจจะมีมากในใบก็ได้

สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร FAP และ DAP ความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร andrographolide, dehydroandrographolide, neoandrographolide และ JP-51 ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ ซึ่งต่างจากผลการทดลองของทิพวัลย์ เลี้ยงบุญเลิศชัย และสุมาลี เหลืองสกุล (2531) แต่สอดคล้องกับผลการทดลองของ Nakanishi และคณะ (1965) และอารีรัตน์ ลออปักษา สุรัตนา อำนวยผล และวิเชียร จงบุญประเสริฐ (2531) ซึ่งทุกการทดลองสกัดฟ้าทะลายโจรจากทั้งต้นเช่นกัน แต่อาจจะเนื่องมาจากหลังจากการเตรียมตัวยา แล้วเก็บไว้นานก่อนทำการทดสอบ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2533) พบว่าปริมาณสารสำคัญจะลดลงประมาณร้อยละ 50 เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 ปี ในการทดลองครั้งนี้ได้รับสารสกัดจากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งอาจจะมีการเตรียมไว้นาน ซึ่งสารสำคัญอาจจะลดลงไปมาก จนกระทั่งตรวจไม่พบการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสอง แต่เมื่อทดลองเตรียม FAP ใหม่ และทำการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้โดยมี MIC และ MBC เท่ากับ 50,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้

สารสกัดจากรงทองทั้งสารสกัดน้ำ (H-1) และสารสกัดเอธิลแอลกอฮอล์ (H-2) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* แต่ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้โดย H-1 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 200 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และ H-2 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับเสงี่ยม พงษ์บุญรอด (2514) ที่กล่าวว่าใช้รงทองผสมกับน้ำกะทิสดทาแก้แผลพุพอง น้ำเหลืองเสีย อาจจะเนื่องจากฤทธิ์ของรงทองไปต้านการเจริญของเชื้อที่ทำให้เกิดแผลพุพองนั่นเอง

ส่วนสารสกัดจากกระชาย มังคุด และว่านดอกดิน ไม่ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเนื่องจากมีผู้ทำการทดสอบแล้ว และสารที่ได้รับมาก็มีปริมาณไม่เพียงพอที่จะทำการทดสอบได้ Sundaram และคณะ (1983) พบว่า mangostin, isomangostin, O-methyl mangostin และ 3,6-di-O-methyl mangostin ซึ่งสกัดจากมังคุดต้านการเจริญของ *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* และ *Bacillus subtilis* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 12.5-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิลาวัลย์ มหาบุษราคัม (2528) พบว่า mangostin เป็นสารประกอบหลักแสดงฤทธิ์ในการต้าน *S. aureus* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 7.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และจริยา สินเดิมสุข และสมเกียรติ ดีกิจเสริมพงษ์ (2532) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด พบว่ามีผลในการยับยั้งการเจริญของ enteropathogenic *E. coli*, *Salmonella* 6 species, *Shigella* 4 species, *Vibrio* 2 species และ intestinal commensal 5 genera โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 6.25-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อหาค่า MBC ของแบคทีเรียที่ทดสอบทั้งหมด 21 สปีชีส์ พบว่าหาค่า MBC ได้เพียง 8 สปีชีส์ และอยู่ในช่วง 62.5-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดี แต่มีฤทธิ์ในการทำลายแบคทีเรียไม่ค่อยได้ผลดี

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนทั้ง 4 ชนิดคือ salamine, solapalmitene, solapalmitenine และ solacaproine ในความเข้มข้นที่ทำการ

ทดสอบ ไม่ต้านการเจริญของ *E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งต่างจากผลการทดลองของ Carter และ Rinehart (1978) พบว่า acarnidines ซึ่งเป็นโพลีเอมีนที่มี homospermidine เป็นแกนหลักเหมือน solamine, solapalmitene, solapalmitenine และ solacaproine สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis*, *Penicillium atrovenetum* และ Herpes simplex virus type 1 ได้ อาจจะเนื่องมาจากส่วนที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญมาจากส่วนอื่นไม่ใช่ homospermidine จึงทำให้ solamine, solapalmitene, solapalmitenine และ solacaproine ไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบ

3. ฤทธิ์ต้านยีสต์และเชื้อรา

สารสกัดของกระชายในตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ B-1, B-2 และ B-3 เป็นสารสกัดจากเหง้ากระชายด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และแอลกอฮอล์ ตามลำดับ พบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถต้านการเจริญของ *C. albicans* ได้ ส่วนฤทธิ์ในการต้านเชื้อราพบว่าสารสกัดจากกระชายทั้ง 3 ชนิดต้านการเจริญของเชื้อราได้โดย B-1 ต้านการเจริญของ *E. floccosum*, *M. gypseum* และ *T. mentagrophytes* มีค่า MIC เท่ากับ 500, 500 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ B-2 ต้านการเจริญของ *E. floccosum*, *M. gypseum* และ *T. mentagrophytes* มีค่า MIC เท่ากับ 125, 125 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และ B-3 ต้านการเจริญของ *E. floccosum*, *M. gypseum* และ *T. mentagrophytes* มีค่า MIC เท่ากับ 500, 250 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ บัญญัติ สุขศรีงาม (2518) ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์พวกเชื้อราพบว่ากระชายสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus* sp. แต่ไม่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา 3 ชนิด ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

สารสกัดน้ำของใบพญายอความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถต้านการเจริญของยีสต์และเชื้อราได้ ซึ่งทางสมุนไพรก็ไม่มีข้อบ่งชี้ว่าใช้รักษาโรคผิวหนัง หรือเชื้อรา

สารสกัดจากฟ้าทะลายโจร FAP และ DAP ความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร andrographolide, dehydroandrographolide, neoandrographolide และ JP-51 ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถต้านการเจริญของ *C. albicans, E. floccosum, M. gypseum และ T. mentagrophytes* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Nakanishi และคณะ (1965) พบว่าสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถต้านการเจริญของ *C. albicans, Aspergillus niger, Penicillium luteum* และ *Mucor spinescens*

สารสกัดจากรงทองทั้งสารสกัดน้ำ (H-1) และสารสกัดเอธิลแอลกอฮอล์ (H-2) ความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถต้านการเจริญของ *C. albicans, E. floccosum, M. gypseum* และ *T. mentagrophytes* ซึ่งผลการทดลองไม่ต่างจากข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับรงทอง ซึ่งไม่ได้กล่าวถึงสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนังหรือเชื้อรา

ส่วนสารสกัดจากมังคุดและว่านดอกดิน ไม่ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านยีสต์และเชื้อรา เนื่องจากสารสกัดมีปริมาณไม่เพียงพอและมีผู้ทำการทดสอบแล้ว พบว่าสารสกัดจากมังคุด β-mangostin ต้านการเจริญของ *M. gypseum* และ *T. mentagrophytes* ได้โดยมีค่า MIC 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (วิลาวัลย์ มหาบุษราคัม, 2528) Sundaram และคณะ (1983) พบว่าสารสกัดจากมังคุดคือ mangostin, isomangostin และ 3-O-methyl mangostin ไม่ต้านการเจริญของ *C. albicans* แต่ต้านการเจริญของ *E. floccosum, Alternaria solani, Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Cunninghamella echinulata, T. mentagrophytes* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 1-5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Dayal และ Puronit (1971) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากเปราะหอม (*Kaempferia galanga*) พบว่า

สามารถต้านการเจริญของ *Aspergillus niger*, *A. terreus*, *Microsporum canis*, *C. tropicalis*, T. mentagrophytes และ *C. albicans* ได้ดีที่ความเข้มข้น 1:250 และได้ผลปานกลางที่ความเข้มข้น 1:500 และไม่ได้ผลที่ความเข้มข้น 1:1,000

ฤทธิ์ต้านยีสต์และเชื้อราของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน 3 ชนิดคือ solamine, solapalmitine และ solapalmitenine (solacaproine ไม่ได้ทำการทดสอบเพราะสารมีปริมาณไม่เพียงพอ) ในความเข้มข้นที่ทำการทดสอบไม่ต้านการเจริญของยีสต์ *C. albicans*, *E. floccosum*, *M. gypseum* และ *T. mentagrophytes* ซึ่งต่างจากการทดลองของ Carter และ Rinehart (1978) พบว่า acarnidines ซึ่งเป็นโพลีเอมีนชนิดหนึ่งที่แยกได้จากฟองน้ำ (*Acarnus erithacus*) สามารถต้านการเจริญของเชื้อรา *Penicillium atrovenetum* ได้

บทสรุป

1. สมุนไพรที่ใช้ศึกษาในงานวิจัยนี้มี 6 ชนิด ได้แก่ กระชาย พญายอ ฟ้าทะลายโจร มังคุด รงทอง และว่านดอกดิน สารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน 4 ชนิดคือ solamine, solapalmitine, solapalmitenine และ solacaproine

2. solamine ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากพญายอความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากมังคุด X-1, X-2 และ X-3 ความเข้มข้น 25, 100 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สามารถต้านการเจริญของ Herpes simplex virus type 2 ในการทดลองแบบ inactivation

3. ไม่มีสารสกัดจากสมุนไพร และสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนชนิดใดต้านการเจริญของ Influenza virus ในการทดลองแบบ pre-treatment, inactivation และ post-treatment

4. สารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนทุกชนิด ในความเข้มข้นที่ทดสอบไม่ต้านการเจริญของ *Escherichia coli* ATCC 25922

5. สารสกัดจากพญายอ รงทอง (H-1) และรงทอง (H-2) ต้านการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 โดยมีค่า MIC และ MBC ดังนี้ สารสกัดจากพญายอมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 25,000 และ 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดน้ำของรงทอง (H-1) มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 200 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดเอธิลแอลกอฮอล์ของรงทอง (H-2) มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

6. สารสกัดจากสมุนไพรและสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนทุกชนิดในความเข้มข้นที่ทดสอบไม่ต้านการเจริญของยีสต์ *Candida albicans*

7. เฉพาะสารสกัดจากกระชายเท่านั้นต้านการเจริญของเชื้อรา dermatophytes ได้แก่ *Epidermophyton floccosum*, *Microsprum gypseum* และ *Trichophyton* mentagrophytes ตามลำดับ โดยมีค่า MIC ของเชื้อราทั้งสามเรียง

ตามลำดับดังนี้ B-1 เท่ากับ 500, 500 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ B-2 เท่ากับ 125, 125 และ 31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และ B-3 เท่ากับ 500, 250 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2533. คู่มือสมุนไพรเพื่อการสาธารณสุขมูลฐาน. กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ.

กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์. 2535. สถิติการค้าและเครื่องชี้ภาวะเศรษฐกิจของไทย ปี 2534. กระทรวงพาณิชย์, กรุงเทพฯ.

กระแส วัชรปาน. 2533. สมุนไพรรักษาไข้. รวมทรรศน์, กรุงเทพฯ.

การปิโตรเลียมแห่งประเทศไทย. 2528. สวนสมุนไพรสมเด็จพระเทพฯ. กราฟฟิค กรุงเทพฯ.

เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์, นโนธรรม สัจจ์ถาวร, อดุลย์ พงศ์สุวรรณ, บรรณ บูรณะ และ ลิขิต เอียดแก้ว. 2530. มังคุด. สหมิตร ออฟเซต, กรุงเทพฯ.

จริยา สินเดิมสุข และสมเกียรติ ดีกิจเสริมพงศ์. 2532. ฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงและกลุ่มแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้. วารสารกรมการแพทย์ 14(6) : 421-426.

จันทพงษ์ วะสี. 2530. ไวรัสวิทยาการแพทย์, พิมพ์ครั้งที่ 3. อักษรสมัย, กรุงเทพฯ.

จินตนา เพชรรมณีโชติ. 2534. การศึกษาสูตรโครงสร้างและสารเคมีที่พบในฟ้าทะลายโจร. โครงงานทางเคมีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี-ชีวะ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

ชื่นฤดี ไชยวสุ, ทวีผล เดชาวงศ์ ณ อยุธยา, เครือวัลย์ พลจันทร์, ปราณี ชวลิตธำรง และสุทธิโชค จงตระกูลศิริ. 2533. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบเสลดพังพอนและใบพญายอ ต่อเชื้อ Herpes simplex virus type 2 ในหลอดทดลอง. ในเอกสารการประชุมวิชาการครั้งที่ 3 ธันวาคม 2533 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. หน้า 283-290. กรุงเทพฯ.

เต็ม สมิตินันท์. 2523. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ทิพวัลย์ เลี้ยงบุญเลิศชัย และสุมาลี เหลืองสกุล. 2531. ฤทธิ์ของสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว. 4(2) : 128-135.

นงลักษณ์ ธนิกกุล. 2533. การสังเคราะห์สารประกอบ Solamine, Solapalmitine, Solapalmitenine, Solacaproine, N^4 - Acylspermidines, Acarnidines และอนุพันธ์ Kukoamine A. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพรเล่ม 2. อมรการพิมพ์. กรุงเทพฯ.

บุญเยี่ยม เกียรติวุฒิ, องุ่น เกียรติวุฒิ และศุภกิจ อังศุภากร. 2527. โรคติดต่อระหว่างคนและสัตว์. บัณฑิตการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

บุศบรรณ ณ สงขลา. 2519. สมุนไพรตอนที่ 1. กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. 2530. คู่มือการใช้สมุนไพร. เมดิคัลมีเดีย, กรุงเทพฯ.

พิไลพรรณ พงษ์พูล. 2531. Pathogenic Bacteriology. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒบางแสน, ชลบุรี.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2530. พจนานุกรมสัตว์และพืชในเมืองไทย. บำรุงสาส์น, กรุงเทพฯ.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2532. สรรพคุณยาไทย. นิยมวิทยา, กรุงเทพฯ.

วิลาวัลย์ มหาบุษราคัม. 2528. การศึกษาโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบที่ได้จากเปลือกและเนื้อผลมังคุด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

สดใส รักกุศล และ ธนารัตน์ รักกุศล. 2522. พระราชบัญญัติยาฉบับสมบูรณ์. เอส. อาร์. เคมิเคิลแลบ, กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2530. อุทยานสมุนไพรพุทธมณฑล. กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการพลังงาน, กรุงเทพฯ.

สมพร ภูติยานนต์. 2523. คู่มือสมุนไพรใกล้ตัวตอนที่ 2. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สมพร หิรัญรามเดช. 2525. สมุนไพรใกล้ตัวตอนที่ 3. พิฆเณศ, กรุงเทพฯ.

สุพจน์ อัศวพันธุ์ธนกุล. 2528. ฟ้าทะลายโจร. โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, เอดิสัน เพรส โพรดักส์. กรุงเทพฯ.

สุพัฒน์ ธีรเวชเจริญชัย. 2533. ยาและสิ่งเสพติดให้โทษ. ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, กรุงเทพฯ.

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. 2514. ไม้เทศ-เมืองไทย. เกษมบรรณกิจ, กรุงเทพฯ.

โสภิต ธรรมอารี, จันทิมา ปโชติการ, มณฑิรา ตัณฑ์เกยูร และจันทนี อิทธิพานิชพงศ์. 2528. ฤทธิ์ยาสมุนไพร 30 ชนิดที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคท้องร่วงและบิดต่อการบีบตัวของลำไส้เล็กหนูตะเภา. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 29(1) : 39-51.

หลวงบุเรศบำรุงการ. 2518. การปลูกมังคุดและละมุดฝรั่ง. แพร่วิทยา, กรุงเทพฯ.

อรุณพร อิฐรัตน์. 2532. สมุนไพรไทย-เทศ เล่ม 1, 2. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

อารีรัตน์ ลออปักษา, สุรัตนา อำนวยผล และวิเชียร จงบุญประเสริฐ. 2531. การศึกษาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจ. ไทยเภสัชสาร 13(1) : 23-36.

Barrett, T. and Inglis, SC. 1985. Growth, Purification and Titration of Influenza Viruses, In Virology a Practical Approach, p. 119-150. Mahy, BWJ., eds. Washington D.C. : IRL Press.

Belshe, R.B. 1991. Textbook of Human Virology, 2nd ed. Mosby Year Book, USA.

Brooks, G.F., Butel, J.S., Ornston, L.N., Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. 1991. Jawetz, Melnick & Adelberg's

Medical Microbiology, 19 th ed. Prentice Hall, New Jersey.

Carter, G.T. and Rinehart, K.L., Jr. 1978. Acarnidines, Novel Antiviral and Antimicrobial Compounds from the Sponge *Acarnus erithacus* (de Laubenfels). J. Amer. Chem. Soc. 100(13) : 4302-4304.

Chaichantipyuth, C. and Thanagkul, B. 1986. *Andrographis paniculata* Nees as Antidiarrhoeal and Antidysentery Drug in Thailand. Enhancing Phrmacy Profession through Education. Proceeding of the 11th Asian Congress of Phamaceutical Sciences Bangkok, Thailand : 141-144.

Chaudhuri, S.K. 1978. Influence of *Andrographis paniculata* (Kalmegh) on Bile Flow & Hexabarbitone Sleeping in Experimental Animals. Indian J. Exp. Biol. 16 : 830-832.

Cheng, M.T. and Rinehart, K.L., Jr. 1978. Polyandrocarpidines : Antimicrobial and Cytotoxic Agents from a Marine Tunicate (*Polyandrocarpa* sp.) from the Gulf of California. J. Amer. Chem. Soc. 100(23) : 7409-7411.

Cherdchu, C., Poopyruchpong, N., Adcharyasucha, R. and Ratanabanangkoon, K. 1977. The Absence of Antagonism between Extracts of *Clinacanthus nutans* BURM. and *Naja Naja Siamensis* Venom. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth. 8(2) : 249-254.

Cohen, S.S. 1971. Introduction to the Polyamines. Prentice-Hall, London.

Coronel, E.R. 1983. Promising Fruits of the Philippines. College of Agriculture, University of Philippines. Los Banos.

Dampawan, P., Huntrakul, C., Reutrakul, V., Raston, C.L. and White, A.H. 1977. Constituents of *Clinacanthus nutans* and the Crystal Structure of Lep-20(29)-ene-3-one. J. Sci. Soc. Thailand. 3 : 14-26.

Davis, B.D., Dulbecco, R., Eisen, H.N. and Ginsberg, H.S. 1980. Microbiology; 3rd ed. Harper & Row, Pennsylvania.

Dayal, B. and Purohit, R.M. 1971. Screening of some Indian Essential Oils for their Antifungal Properties. Flavour Ind. 2(8) : 484-485.

Dechatiwongse Na Ayudhya, T., Jewvachdamrongkul, Y., Nutakul, W., Chokechaijaroenporn, W. and Chavalittumrong, P. 1990. Phytochemical Study on *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees. In The Meeting on Fa thalai chon 22 October 1990 Department of Medical Sciences. Nonthaburi, Thailand.

Ellestad, G.A., Cosulich, D.B., Broschard, R.W., Martin, J.H., Kunstmann, M.P., Morton, G.O., Lancaster, J.E., Fulmor, W. and Lovell, F.M. 1977. Glycocinnamoylspermidines, a New Class of Antibiotics. 3 The structures of LL-BM123 , γ1 and γ2. J. Amer. Chem. Soc. 100(8) : 2515-2524.

Govindachari, T.R., Kalyanaaman, P.S., Muthukumaraswamy, N. and Pai, B.R. 1971. Isolation of Three New Xanthones from *Garcinia mangostana* Linn. Indian J. Chem. 9(5) : 505-506.

Herunsalee, A., Pancharoen, O. and Tuntiwachwuttikul, P., 1987. Further Studies of Flavonoids of the Black Rhizomes *Boesenbergia pandurata*. J. Sci. Soc. Thailand 13 : 119-122.

Jaipetch, T., Reutrakul, V., Tuntiwachwuttikul, P. and Santisuk, T. 1983. Flavanoids in the Black Rhizomes of *Boesenbergia pandurata*. Phytochemistry 22(2) : 625-626.

Jefferson, A., Quillinan, A.J., Scheinmann, F. and Sim, K.Y. 1970. Studies in The Xanthone Series. Aust. J. Chem., 23 : 2539-2543.

Jewvachdamrongkul, Y., Chokechaijaroenporn, O., Chavalittumrong, P. and Dechatiwongse, T. 1987. Chemical Quality Evaluation of Fah Talai Joan. Bull Dept Med Sci. 29(3) : 231-237.

Johnson, A.G., Ziegler, R., Filtzgerald, T.J., Lukasewycz, O. and Hawley, L. 1989. Microbiology and Immunology. Williams & Wilkins, Maryland.

Kirtikar, K.R., Basu, B.D. and An I.C.S. 1980. Indian Medicinal Plants, 4th ed. Jayyed Press, Delhi.

Kupchan, S.M., Davies, A.P. and Barboutis, S.J. 1967. The Isolation, Structural Elucidation, and Synthesis of Solapalmitine and Solapalmitenine, Two Novel Alkaloid Tumor Inhibitors from *Solanum tripartitum*. J. Amer. Chem. Soc. 89(22) : 5718-5719.

Kupchan, S.M., Davies, A.P., Barboutis, S.J., Schnoes, H.K. and Burcingame, A.L. 1969. Tumor Inhibitors. XLIII. Solapalmitine and Solapalmitenine, Two Novel Alkaloid

Tumor Inhibitors from *Solanum tripartitum*. J. Org. Chem. 34(12) : 3888-3893.

Lennette, E.H. and Schmidt, N.J. 1979. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. 5th ed. American Public Health Association, Washington D.C.

Lorian, V. 1991. Antibiotics in Laboratory Medicines, 3rd ed. Williams & Wilkins., Los Angeles.

Mahabusarakam, W.; Wiriyachitra, P. and Phongpaichit, S. 1986. Antimicrobial Activities of Chemical Constituents from *Garcinia mangostana* Linn. J. Sci. Soc. Thailand, 12 : 239-242.

Mahabusarakam, W., Wiriyachitra, P. and Taylor, W.C. 1987. Chemical Constituents of *Garcinia mangostana*. J. of Natural Products 50(3) : 474-478.

Myrvik, Q.N. and Weiser, R.S. 1988. Fundamentals of Medical Bacteriology and Mycology, 2nd ed. Lea & Febiger, Philadelphia.

Nakanishi, K., Sasaki, S., Kiang, A.K., Goh, J., Kakisawa, H., Ohashi, M., Goto, M., Watanabe, J., Yokotani, H., Matsumura, C. and Togashi, M. 1965. Phytochemical Survey of Malaysian Plants Preliminary Chemical and Pharmacological Screening. Chem. Pharm. Bull. 13(7) : 882-890.

Nazimudeen, S.K., Ramaswamy, S. and Kameswaran, L. 1978. Effect of *Andrographis paniculata* on Snake Venom Induced Death

and its Mechanism. Indian J. of Pharm. Sci. July-August : 132-133.

Odds, F.C. 1988. Candida and Candidosis, 2nd ed. Batler & Tanner Hd, Frome and London.

Rippon, J.W. 1982. Medical Mycology the Pathologenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes. W.B. Saunders Company, Washington.

Sen, A.K., Sarkar, K.K., Mazumder, P.C., Banerji, N., Uusvuori, R. and Hase, T.A. 1980. A Xanthone from *Garcinia mangostana*. Chemistry 19 : 2223-2225.

Sundaram, B.M., Gopalakrishnan, C., Subramania, S., Shankaranarayanan, D. and Kameswaran, L. Antimicrobial Activities of Garcinia mangostana. Plant. Med. 48 : 59-60.

Yates, P. and Bhat, H.B. 1968. Structure of β-mangostin. Can. J. chem. 46 : 3770-3772.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก Plaque assay (Lennette and Schmidt, 1979)

Plaque assay (Lennette and Schmidt, 1979)

1. เลี้ยงเซลล์ VERO จำนวน 1.0 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิตร ในถาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม หลุมละ 1 มิลลิลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ cell growth medium บ่มใน CO_2-incubator อุณหภูมิ 37 องศาเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 จนได้เซลล์แผ่เต็มภาชนะ (monolayer)

2. เจือจางเชื้อ Herpes simplex virus type 2 ด้วย virus growth medium แบบ serial 10-fold ตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-10}

3. เติม HSV-2 ลงในเซลล์ VERO หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร หลุมควบคุม (control) ใช้ virus growth medium หลุมละ 0.1 มิลลิลิตร บ่มในสภาพเดิมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4. เติม overlayer medium 1 มิลลิลิตร ต่อ 1 หลุม

5. บ่มใน สภาพเดิมเป็นเวลา 4 วัน

6. เขี่ย overlayer medium ออก ย้อมเซลล์ด้วยสีย้อม (ethanol-formalin-acetic solution มี crystal violet ร้อยละ 1) เป็นเวลา 2 นาที ล้างออกด้วยน้ำ ผึ่งให้แห้ง

7. นับจำนวน plaque คำนวณหาปริมาณไวรัส HSV-2 เป็น PFU/ml

Cell growth medium

1 x Eagle MEM ซึ่งมี heat inactivated foetal bovine serum ร้อยละ 10

Virus growth medium

1 x Eagle MEM ซึ่งมี heat inactivated foetal bovine serum ร้อยละ 2

Overlayer medium

Eagle MEM ซึ่งมี bacto agar ร้อยละ 1 heat inactivated foetal bovine serum ร้อยละ 5

protamine sulfate 40 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร

สีย้อม (ethanol-formalin - acetic acid solution มี crystal violet ร้อยละ 1)

ผสม ethanol ร้อยละ 70 formalin ร้อยละ 37 และ acetic acid ในสัดส่วน 20:2:1 แล้วเติมสี crystal violet 1 กรัมในสารละลาย 100 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข Haemagglutination assay (HA) (Barrett and Inglis, 1985)

1. เจือจาง Influenza virus ด้วย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 แบบ serial 2 fold ตั้งแต่ 1:2 ถึง 1:256 ในไมโครไตเตอร์เพลต ให้มีปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร

2. เติมเลือดไก่ร้อยละ 0.5 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 หลุมละ 50 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

3. อ่านผล HA titer จากความเข้มข้นของไวรัส ที่น้อยที่สุดที่ทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่ม (haemagglutination)

เลือดไก่

1. นำเลือดไก่มาปั่นแยก Alsever's solution ออก

2. เติม ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 10 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ ให้เม็ดเลือดกระจายตัว ปั่นแยก ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 ออกโดยเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็ว 1500 รอบต่อนาที ดูดฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 ออก

3. ทำซ้ำข้อ 2 อีก 2 ครั้ง ครั้งสุดท้ายใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 2000 รอบต่อนาที ดูดฟอสเฟตบัฟเฟอร์ออก เลือดไก่ที่ได้ถือว่าเป็นเลือดไก่ร้อยละ 100

4. เจือจางเลือดไก่ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5

Alsever's solution

dextrose	20.5	กรัม
sodium citrate	8.0	กรัม
sodium chloride	4.2	กรัม

น้ำกลั่น	1	ลิตร

ผสมให้เข้ากัน autoclave ที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส 10 นาที

Phosphate buffered saline พีเอช 7.2

Stock phosphate buffered saline solution (25X ; 0.25 M)

disodium hydrogen phosphate	27.4	กรัม
sodium dihydrogen phosphate	7.2	กรัม

เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 1 ลิตร

Working phosphate buffered saline (0.01M)

stock 0.25 M PBS	40	มิลลิลิตร
sodium chloride	8.5	กรัม

เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 1 ลิตร ปรับให้มี พีเอช 7.2

autoclave อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Cell growth medium

1 x Eagle MEM ซึ่งมี heat inactivated foetal bovine serum ร้อยละ 10

Virus growth medium (2X)

10X MEM	100	มิลลิลิตร
7.5% $NaHCO_3$	40	มิลลิลิตร
vitamins mineral Eagle, 100X	2.0	มิลลิลิตร

folic acid (1 mg/ml)	2.0	มิลลิลิตร
biotin (1 mg/ml)	2.0	มิลลิลิตร
fungizone (1 mg/ml)	5.0	มิลลิลิตร
35% bovine albumin	11.4	มิลลิลิตร
double distilled water	737.6	มิลลิลิตร

เวลาใช้เจือจางเป็น 1X ด้วย double distilled water เติม acetyl trypsin (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 0.5 มิลลิลิตร ต่อ medium 100 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ค Eagle minimum essential medium (MEM)

(1) ละลาย minimum essential medium Eagle (Modified) with Earle's salts (Cat. No. 10-101-20) 1 ซอง (9.72 กรัม) ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร

(2) กวนที่อุณหภูมิห้อง (15-30 องศาเซลเซียส) เมื่อละลายเข้ากันดี เติมยาปฏิชีวนะต่อไปนี้

fungizone	2,500	ug
kanamycin	200,000	ug
penicillin	200,000	ug
streptomycin	200,000	U

(3) ค่อย ๆ เติม $NaHCO_3$ ร้อยละ 7.5 ลงในสารละลายเพื่อปรับให้มีพีเอชเท่ากับ 7.2

(4) ปรับให้มีปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น กรองผ่าน millipore filter เก็บที่ 2-8 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ง ตารางผลการวิจัย

ตารางภาคผนวกที่ 1 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Pre-treatment

	สารที่ทดสอบ	ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
กระชาย	B-1	50	3.60×10^5
		25	3.50×10^5
		12.5	3.45×10^5
	B-2	50	3.50×10^5
		25	3.45×10^5
		12.5	3.65×10^5
	B-3	50	3.20×10^5
		25	3.10×10^5
		12.5	3.20×10^5
พญายอ	CN	200	3.70×10^5
		100	3.70×10^5
		50	3.80×10^5
ฟ้าทะลายโจร	FAP	300	3.30×10^5
		150	3.65×10^5
		75	3.45×10^5

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

	สารที่ทดสอบ	ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
	DAP	300	$3.55x10^5$
		150	$3.65x10^5$
		75	$3.75x10^5$
	Andrographolide	12	$3.70x10^5$
		6	$3.50x10^5$
		3	$3.15x10^5$
	Dehydroandro-	50	$3.40x10^5$
	grapholide	25	$3.70x10^5$
		12.5	$3.95x10^5$
	Neoandrographolide	50	$3.60x10^5$
		25	$3.90x10^5$
		12.5	$3.85x10^5$
	JP-51	50	$3.70x10^5$
		25	$3.25x10^5$
		12.5	$3.50x10^5$
มังคุด	X-1	100	$3.10x10^5$
		50	$3.10x10^5$
		25	$3.10x10^5$

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

	สารที่ทดสอบ	ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
	X-2	100	$3.45x10^5$
		50	$3.50x10^5$
		25	$3.30x10^5$
	X-3	100	toxic
		50	$3.05x10^5$
		25	$3.35x10^5$
รงทอง	H-1	200	$3.55x10^5$
		100	$3.60x10^5$
		50	$3.60x10^5$
	H-2	200	$3.70x10^5$
		100	$3.50x10^5$
		50	$3.75x10^5$
ว่านดอกดิน	KR	100	$3.20x10^5$
		50	$3.10x10^5$
		25	$3.20x10^5$
	Zovirax	1	$2.10x10^4$
	Control		$3.70x10^5$

ตารางภาคผนวกที่ 2 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Pre-treatment

สารที่ทดสอบ	ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
Solamine	600	toxic
	200	3.45×10^{5}
	67	3.85×10^{5}
Solapalmitine	5×10^{-2}	toxic
	5×10^{-3}	4.20×10^{5}
	5×10^{-4}	4.00×10^{5}
Solapalmitenine	1×10^{-1}	toxic
	1×10^{-2}	4.00×10^{5}
	1×10^{-3}	3.80×10^{5}
Solacaproine	1250	3.80×10^{5}
	625	3.65×10^{5}
	313	3.70×10^{5}
Zovirax	1	2.10×10^{4}
Control		3.70×10^{5}

ตารางภาคผนวกที่ 3 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Inactivation

สารที่ทดสอบ		ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
กระชาย	B-1	100	toxic
		50	$3.60x10^5$
		25	$3.75x10^5$
	B-2	100	$3.80x10^5$
		50	$3.65x10^5$
		25	$3.90x10^5$
	B-3	100	toxic
		50	$3.70x10^5$
		25	$3.55x10^5$
พญายอ	CN	100	$1.00x10^4$
		50	$5.50x10^4$
		25	$1.00x10^5$
ฟ้าทะลายโจร	FAP	300	$3.75x10^5$
		150	$3.80x10^5$
		75	$3.55x10^5$
	DAP	300	$3.00x10^5$
		150	$3.20x10^5$
		75	$3.15x10^5$

ตารางภาคผนวกที่ 3 (ต่อ)

สารที่ทดสอบ		ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
	Andrographolide	12	toxic
		6	$3.00x10^5$
		3	$3.25x10^5$
	Dehydroandro-	50	$3.55x10^5$
	grapholide	25	$3.05x10^5$
		12.5	$3.25x10^5$
	Neoandrographolide	50	$3.90x10^5$
		25	$3.90x10^5$
		12.5	$3.75x10^5$
	JP-51	50	$3.70x10^5$
		25	$3.80x10^5$
		12.5	$3.90x10^5$
มังคุด	X-1	100	$1.00x10^4$
		50	$3.50x10^4$
		25	$5.00x10^4$
	X-2	100	$3.60x10^4$
		50	$3.50x10^5$
		25	$3.80x10^5$

ตารางภาคผนวกที่ 3 (ต่อ)

สารที่ทดสอบ		ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
	X-3	100	toxic
		50	$9.70x10^4$
		25	$1.95x10^5$
รงทอง	H-1	200	$3.70x10^5$
		100	$3.75x10^5$
		50	$3.80x10^5$
	H-2	200	$3.60x10^5$
		100	$3.70x10^5$
		50	$3.65x10^5$
ว่านดอกดิน	KR	100	$3.5x10^5$
		50	$3.65x10^5$
		25	$3.80x10^5$
	Zovirax	1	$3.10x10^5$
	control		$3.70x10^5$

ตารางภาคผนวกที่ 4 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Inactivation

สารที่ทดสอบ	ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
Solamine	600	1.00×10^{4}
	200	5.25×10^{4}
	67	2.90×10^{5}
Solapalmitine	5×10^{-2}	3.80×10^{5}
	5×10^{-3}	3.85×10^{5}
	5×10^{-4}	3.70×10^{5}
Solapalmitenine	1×10^{-2}	3.65×10^{5}
	1×10^{-3}	3.80×10^{5}
	1×10^{-4}	3.75×10^{5}
Solacaproine	1250	3.90×10^{5}
	625	3.65×10^{5}
	313	3.80×10^{5}
Zovirax	1	3.10×10^{5}
Control		3.70×10^{5}

ตารางภาคผนวกที่ 5 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Post-treatment

สารที่ทดสอบ		ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
กระชาย	B-1	50	$3.60x10^5$
		25	$3.65x10^5$
		12.5	$3.70x10^5$
	B-2	50	$3.80x10^5$
		25	$3.85x10^5$
		12.5	$3.70x10^5$
	B-3	50	$3.65x10^5$
		25	$3.50x10^5$
		12.5	$3.70x10^5$
พญายอ	CN	200	$3.55x10^5$
		100	$3.70x10^5$
		50	$3.65x10^5$
ฟ้าทะลายโจร	FAP	300	$3.15x10^5$
		150	$3.05x10^5$
		75	$3.70x10^5$
	DAP	300	$3.00x10^5$
		150	$3.50x10^5$
		75	$3.65x10^5$

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

สารที่ทดสอบ		ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
	Andrographolide	12	toxic
		6	$3.45x10^5$
		3	$3.00x10^5$
	Dehydroandro-	50	$3.50x10^5$
	grapholide	25	$3.50x10^5$
		12.5	$3.40x10^5$
	Neoandrographolide	50	$3.80x10^5$
		25	$3.70x10^5$
		12.5	$3.85x10^5$
	JP-51	50	$3.55x10^5$
		25	$3.30x10^5$
		12.5	$3.70x10^5$
มังคุด	X-1	100	$3.25x10^5$
		10	$3.55x10^5$
		1	$3.65x10^5$
	X-2	100	toxic
		10	$3.90x10^5$
		1	$3.70x10^5$

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

สารที่ทดสอบ		ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
	X-3	100	toxic
		10	$3.50x10^5$
		1	$3.70x10^5$
รงทอง	H-1	200	$3.70x10^5$
		100	$3.75x10^5$
		50	$3.90x10^5$
	H-2	200	$3.80x10^5$
		100	$3.70x10^5$
		50	$3.50x10^5$
ว่านดอกดิน	KR	100	$3.30x10^5$
		10	$3.35x10^5$
		1	$3.75x10^5$
	Zovirax	1	$1.45x10^4$
	Control		$3.80x10^5$

ตารางภาคผนวกที่ 6 ฤทธิ์ต้าน HSV-2 ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Post-treatment

สารที่ทดสอบ	ความเข้มข้น (ug/ml)	จำนวน HSV-2 (PFU/ml)
Solamine	600	toxic
	200	3.70×10^{5}
	67	3.55×10^{5}
Solapalmitine	2.5×10^{-2}	toxic
	2.5×10^{-3}	3.50×10^{5}
	2.5×10^{-4}	3.75×10^{5}
Solapalmitenine	2.5×10^{-2}	3.60×10^{5}
	2.5×10^{-3}	3.65×10^{5}
	2.5×10^{-4}	3.60×10^{5}
Solacaproine	1250	3.80×10^{5}
	625	3.70×10^{5}
	313	3.75×10^{5}
Zovirax	1	1.45×10^{4}
Control		3.60×10^{5}

ตารางภาคผนวกที่ 7 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Pre-treatment

สารที่ทดสอบ		(ug/ml)	Influenza virus							
			วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
			CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
กระชาย	B-1	100	----------toxic----------							
		10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
		1	-	-	2+	1280	4+	2560	4+	1280
	B-2	100	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
		10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	640
		1	-	-	2+	1280	4+	1280	4+	1280
	B-3	100	----------toxic----------							
		10	-	-	2+	1280	4+	1280	4+	640
		1	-	-	3+	640	4+	640	4+	640
พญายอ	CN	200	----------toxic----------							
		100	-	-	1+	1280	4+	1280	4+	2560
		50	-	-	2+	1280	4+	1280	4+	2560
ฟ้าทะลายโจร	FAP	600	-	-	1+	320	4+	640	4+	1280
		300	-	-	1+	320	4+	640	4+	1280
		150	-	-	1+	320	4+	640	4+	1280

ตารางภาคผนวกที่ 7 (ต่อ)

	สารที่ทดสอบ (ug/ml)		Influenza virus							
			วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
			CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
	DAP	600	---------- toxic ----------							
		300	-	-	1+	320	4+	640	4+	1280
		150	-	-	1+	320	4+	640	4+	640
	Androgra-	10	-	-	1+	320	4+	1280	4+	1280
	pholide	5	-	-	1+	320	4+	1280	4+	1280
		2.5	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
	Dehydroandro-	100	-	-	1+	640	4+	1280	4+	1280
	grapholide	50	-	-	2+	640	4+	2560	4+	1280
		25	-	-	2+	320	4+	1280	4+	640
	Neoandrogra-	100	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
	pholide	50	-	-	2+	640	4+	1280	4+	640
		25	-	-	2+	640	4+	1280	4+	640
	JP-51		---------- NT ----------							
มังคุด	X-1	100	-	-	1+	320	4+	640	4+	1280
		10	-	-	1+	640	4+	1280	4+	1280
		1	-	-	1+	320	4+	1280	4+	1280

ตารางภาคผนวกที่ 7 (ต่อ)

สารที่ทดสอบ (ug/ml)			Influenza virus							
			วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
			CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
	X-2	100	-	-	1+	320	4+	1280	4+	640
		10	-	-	1+	160	4+	640	4+	1280
		1	-	-	1+	320	4+	640	4+	1280
	X-3		NT							
รงทอง	H-1	200	-	-	1+	320	4+	1280	4+	1280
		100	-	-	1+	320	4+	640	4+	1280
		50	-	-	1+	320	4+	1280	4+	1280
	H-2	200	-	-	2+	320	4+	640	4+	1280
		100	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
		50	-	-	1+	320	4+	1280	4+	1280
ว่านดอกดิน	KR	100	-	-	1+	320	4+	640	4+	2560
		10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
		1	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
	Control		-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560

NT = ไม่ได้ทดสอบ

HAU = HAU/ml

ตารางภาคผนวกที่ 8 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีน แบบ Pre-treatment

สารที่ทดสอบ (ug/ml)		Influenza virus							
		วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
		CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
Solamine	600.00	----------toxic----------							
	200.00	-	-	3+	640	4+	1280	4+	2560
	67.00	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
Solapalmitine	1.00	----------toxic----------							
	0.10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
	0.01	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
Solapalmitenine	1.00	-	-	1+	320	3+	1280	4+	2560
	0.10	-	-	1+	320	4+	1280	4+	2560
	0.01	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
Solacaproine		---------- NT ----------							
Control		-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560

NT = ไม่ได้ทดสอบ

HAU = HAU/ml

ตารางภาคผนวกที่ 9 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพร แบบ Inactivation

สารที่ทดสอบ (ug/ml)			Influenza virus							
			วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
			CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
กระชาย	B-1	100	----------toxic----------							
		10	-	-	3+	640	4+	1280	4+	1280
		1	-	-	3+	640	4+	1280	4+	1280
	B-2	100	-	-	3+	640	4+	1280	4+	2560
		10	-	-	3+	1280	4+	2560	4+	5120
		1	-	-	3+	640	4+	1280	4+	2560
	B-3	100	-	-	2+	640	4+	1280	4+	5120
		10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
		1	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
พญายอ	CN	100	-	-	2+	320	4+	1280	4+	2560
		50	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
		25	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
ฟ้าทะลายโจร	FAP	600	-	-	3+	640	4+	2560	4+	5120
		300	-	-	1+	320	4+	1280	4+	2560
		150	-	-	1+	640	4+	2560	4+	2560

ตารางภาคผนวกที่ 9 (ต่อ)

สารที่ทดสอบ (ug/ml)			Influenza virus							
			วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
			CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
	DAP	600	-	-	1+	320	4+	1280	4+	2560
		300	-	-	3+	1280	4+	1280	4+	2560
		150	-	-	3+	1280	4+	1280	4+	2560
	Andrographolide	10	-	-	3+	1280	4+	1280	4+	2560
		5	-	-	3+	640	4+	1280	4+	2560
		2.5	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
	Dehydroandrographolide	100	-	-	3+	640	4+	2560	4+	1280
		50	-	-	3+	1280	4+	1280	4+	2560
		25	-	-	3+	640	4+	1280	4+	1280
	Neoandrographolide	100	-	-	3+	640	4+	2560	4+	2560
		50	-	-	3+	1280	4+	1280	4+	2560
		25	-	-	3+	1280	4+	1280	4+	2560
	JP-51		---------- NT ----------							
มังคุด	X-1	100	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
		10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
		1	-	-	3+	1280	4+	2560	4+	1280

ตารางภาคผนวกที่ 9 (ต่อ)

สารที่ทดสอบ (ug/ml)			Influenza virus							
			วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
			CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
	X-2	100	-	-	2+	640	4+	2560	4+	5120
		10	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
		1	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
	X-3		---------- NT ----------							
รงทอง	H-1	200	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
		100	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
		50	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
	H-2	200	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
		100	-	-	3+	1280	4+	2560	4+	1280
		50	-	-	3+	640	4+	1280	4+	2560
ว่านดอกดิน	KR		---------- NT ----------							
	Control		-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560

NT = ไม่ได้ทดสอบ

HAU = HAU/ml

ตารางภาคผนวกที่ 10 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Inactivation

สารที่ทดสอบ (ug/ml)		Influenza virus							
		วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
		CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
Solamine	600.00	-	-	3+	1280	4+	2560	4+	5120
	200.00	-	-	3+	1280	4+	2560	4+	2560
	67.00	-	-	3+	640	4+	1280	4+	2560
Solapalmitine	1.00	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
	0.10	-	-	3+	640	4+	1280	4+	2560
	0.01	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
Solapalmitenine	1.00	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
	0.10	-	-	3+	1280	4+	2560	4+	2560
	0.01	-	-	2+	320	4+	1280	4+	2560
Solacaproine		---------- NT ----------							
Control		-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560

NT = ไม่ได้ทดสอบ

HAU = HAU/ml

ตารางภาคผนวกที่ 11 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสกัดจากสมุนไพรแบบ Post-treatment

สารที่ทดสอบ (ug/ml)			Influenza virus							
			วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
			CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
กระชาย	B-1	10	----------toxic----------							
		1	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
		0.1	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
	B-2	10	-	-	1+	320	3+	1280	4+	2560
		1	-	-	1+	320	3+	1280	4+	2560
		0.1	-	-	1+	640	4+	1280	4+	1280
	B-3	10	----------toxic----------							
		1	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
		0.1	-	-	1+	640	4+	1280	4+	2560
พญายอ	CN	200	-		2+	320	4+	1280	4+	2560
		100	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
		50	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
ฟ้าทะลายโจร	FAP	600	-	-	1+	320	4+	1280	4+	2560
		300	-	-	1+	640	4+	2560	4+	5120
		150	-	-	1+	640	4+	1280	4+	2560

ตารางภาคผนวกที่ 11 (ต่อ)

สารที่ทดสอบ (ug/ml)		Influenza virus							
		วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
		CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
DAP	600	----------		----------		toxic		----------	
	300	-	-	1+	320	4+	1280	4+	2560
	150	-	-	1+	640	4+	1280	4+	1280
Andrographolide	3	-	-	1+	320	4+	640	4+	1280
	0.6	-	-	1+	320	4+	1280	4+	1280
	0.1	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
Dehydroandrographolide	100	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
	50	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
	25	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
Neoandrographolide	100	-	-	1+	640	4+	2560	4+	5120
	50	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
	25	-	-	1+	640	4+	1280	4+	2560
JP-51	200	-	-	1+	320	4+	1280	4+	2560
	20	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
	2	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560

ตารางภาคผนวกที่ 11 (ต่อ)

			Influenza virus							
	สารที่ทดสอบ (ug/ml)		วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
			CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
มังคุด	X-1	100	-	-	1+	320	3+	1280	4+	2560
		10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
		1	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
	X-2	100	----------toxic----------							
		10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
		1	-	-	2+	<640	4+	1280	4+	1280
	X-3	10	----------toxic----------							
		1	-	-	2+	<320	4+	1280	4+	2560
		0.1	-	-	2+	<640	4+	2560	4+	2560
รงทอง	H-1	200	-	-	2+	320	4+	1280	4+	2560
		100	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
		50	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560
	H-2	200	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
		100	-	-	1+	640	4+	1280	4+	2560
		50	-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560

ตารางภาคผนวกที่ 11 (ต่อ)

สารที่ทดสอบ (ug/ml)			Influenza Virus							
			วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
			CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
ว่านดอกดิน	KR	100	-	-	1+	320	4+	1280	4+	2560
		10	-	-	2+	320	4+	1280	4+	2560
		1	-	-	2+	320	4+	2560	4+	1280
	Control		-	-	2+	640	4+	2560	4+	2560

HAU = HAU/ml

ตารางภาคผนวกที่ 12 ฤทธิ์ต้าน Influenza virus ของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โพลีเอมีนแบบ Post-treatment

สารที่ทดสอบ (ug/ml)		Influenza virus							
		วันที่ 1		วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 4	
		CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU	CPE	HAU
Solamine	600.00	---------- toxic ----------							
	200.00	-	-	1+	320	3+	1280	4+	2560
	67.00	-	-	1+	640	4+	1280	4+	2560
Solapalmitine	1.00	---------- toxic ----------							
	0.10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
	1.00	-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560
Solapalmitenine	1.00	---------- toxic ----------							
	0.10	-	-	2+	640	4+	1280	4+	1280
	0.01	-	-	2+	320	4+	640	4+	2560
Solacaproine		---------- NT ----------							
Control		-	-	2+	640	4+	1280	4+	2560

NT = ไม่ได้ทดสอบ

HAU = HAU/ml