



องค์ประกอบหลักทางเคมีและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสกุล *Ocimum* spp.

จิราภรณ์ โสดาจันทร์¹, บรรลือ สังข์ทอง^{2*}, สกุณรัตน์ รัตนเกียรติ²

บทคัดย่อ

องค์ประกอบหลักทางเคมีและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปากของน้ำมันหอมระเหย

จากพืชสกุล *Ocimum* spp.

จิราภรณ์ โสดาจันทร์¹, บรรลือ สังข์ทอง^{2*}, สกุณรัตน์ รัตนเกียรติ²

ว. เกษตรศาสตร์อีสาน, มีนาคม 2558; 11(ฉบับพิเศษ) : 304-310

บทนำ: ปัจจุบันโรคในช่องปากถือว่าเป็นปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งของประชากรไทย การรักษาโรคในช่องปากปกติแล้วจะเป็นการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา อาจทำให้เกิดอาการดื้อยาได้ การใช้สมุนไพรในการควบคุมเชื้อก่อโรคในช่องปากจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษา งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรในสกุล *Ocimum* spp. คือ กะเพราขาว กะเพราแดง และโหระพาแดง และฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตและฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* และเชื้อรา *Candida albicans* วิธีดำเนินการวิจัย: ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นไอน้ำ (Water distillation) เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราด้วยวิธี Agar disk diffusion และทดสอบหาค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (MIC, MBC และ MFC) ด้วยวิธี Broth dilution method ผลการศึกษาวิจัย: พบว่าองค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกะเพราขาวและกะเพราแดงคือ Methyl eugenol พบ 54.29% และ 51.21% ตามลำดับ องค์ประกอบหลักของโหระพาแดง คือ Methyl chavicol พบในปริมาณ 96.70% และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งและทำลายเชื้อจุลินทรีย์พบว่า กะเพราขาวมีค่า MIC และ MFC ต่อเชื้อ *C. albicans* ดีที่สุดที่ 1.56 mg/mL ส่วนกะเพราแดงมีค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อ *S. pyogenes* ดีที่สุดที่ 0.78 mg/mL ส่วนโหระพาแดงมีค่า MIC และ MFC ต่อเชื้อ *C. albicans* ดีที่สุดที่ 6.25 mg/mL สรุปผลการทดลอง: น้ำมันหอมระเหยจากกะเพราขาว กะเพราแดง และโหระพาแดง มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. pyogenes* และเชื้อรา *C. albicans* ได้ดีที่สุด และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ในระดับปานกลาง และยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้น้อยที่สุด

คำสำคัญ: กะเพราขาว, กะเพราแดง, โหระพาแดง, เชื้อก่อโรคในช่องปาก

¹ นิสิตหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา สมุนไพรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

² หน่วยงานปฏิบัติการวิจัยเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ติดต่อผู้พิมพ์: หน่วยงานปฏิบัติการวิจัยเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม e-mail: bun_sung@yahoo.com

Abstract

Chemical Profiling and Antimicrobial Activities against Oral Pathogens of *Ocimum* spp. Essential Oils

Jiraporn Sodachan¹, Bunleu Sungthong^{2*}, Sakulrat Rattanakiat²

IJPS, March 2015; 11(Supplement) : 304-310

Introduction: Recently, oral diseases are one of the most important problems in Thailand. These are generally treated by antibiotics which lead to antibiotics resistance. The uses of herbs to control oral pathogens are one of the alternative choices of treatment. The objectives of the research were to identify major chemical constituents of plants from *Ocimum* spp.; namely, white holy basil, purple holy basil and purple Thai basil. In addition, inhibitory and bactericidal activities against *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*; and inhibitory and fungicidal activities against *Candida albicans* were also investigated. **Method:** Essential oils were extracted by means of water



distillation. The resulting oils were then characterized by GC-MS. Antibacterial and antifungal activities were tested by agar disk diffusion method. Moreover, minimal inhibitory concentrations (MIC) and minimal bactericidal or fungicidal concentrations (MBC or MFC) were determined by broth dilution method. **Results:** Major chemical constituents of white holy basil and purple holy basil essential oils consisted of methyl eugenol at 54.29% and 51.21% by total area, respectively. While, major chemical constituent of purple Thai basil essential oils was methyl chavicol at 96.70% by total area. The MIC and MBC or MFC of essential oils were determined as followed. White holy basil and purple holy basil expressed the best MIC and MBC or MFC against *C. albicans* at 1.56 mg/mL and *S. pyogenes* at 0.78 mg/mL, respectively. In addition, purple Thai basil showed the best MIC and MFC against *C. albicans* at 6.25 mg/mL. **Conclusion:** White holy basil, purple holy basil and purple Thai basil essential oils exhibited high antimicrobial activities against *S. pyogenes* and *C. albicans*; moderate activity against *S. mutans*, and low activity against *S. aureus*.

Keywords: White holy basil, Purple holy basil, Purple Sweet Basil, Oral pathogens

¹ Student in Master of Science program in Medicinal Herb and Natural Products, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Maha Sarakham, 44150, Thailand

² Lecturer, Pharmaceutical Chemistry and Natural Products Research Unit, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Maha Sarakham, 44150, Thailand

* **Corresponding author:** Pharmaceutical Chemistry and Natural Products Research Unit, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, MahaSarakhm, 44150, Thailand Tel/Fax 043-754360 e-mail:bun_sung@yahoo.com

บทนำ

ปัจจุบันโรคในช่องปากถือว่าเป็นปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งของประชากรไทย เช่น โรคฟันผุ (Dental caries) ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียพวก *Streptococcus mutans* เป็นแบคทีเรียสำคัญที่มีบทบาทมากที่สุดในการทำให้เกิดโรคฟันผุในคน [3] โรคเหงือกอักเสบและมีหนอง โรคคออักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อ beta haemolytic streptococcus และเชื้ออื่นๆ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenza* และโรคติดเชื้อราในช่องปาก สำหรับผู้ป่วยโรคเอดส์ โรคเบาหวาน จะมีโอกาสติดเชื้อราในช่องปากมากกว่าคนปกติ ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Candida albicans* จะมีผื่นสีขาวเป็นครีมที่กระพุ้งแก้ม ลิ้น และเพดานปาก และโรคฟันผุซึ่งเป็นกันมากทั้งในวัยเด็กและวัยผู้ใหญ่

การรักษาโรคในช่องปากในปัจจุบันจะเป็นการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา อาจทำให้เกิดอาการดื้อยาได้ การนำสมุนไพรพื้นบ้านที่มีอยู่ใกล้ตัวมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในหลายๆ ด้าน จะเป็นการสร้างมูลค่าให้กับสมุนไพร และลดการนำเข้ายาและสารที่ใช้ในการป้องกันฟันผุและโรคในช่องปากจากต่างประเทศได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรในสกุล *Ocimum* spp. คือ โหระพาแดง และกะเพราขาว และกะเพราแดง ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโต และ

ฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *Streptococcus mutans*, beta haemolytic streptococcus, *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Candida albicans* โดยการหาค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (minimal inhibitory concentration, MIC) ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Minimal bactericidal concentration, MBC และ Minimal fungicidal concentration, MFC) เพื่อใช้เป็นแนวทางในการป้องกันโรคฟันผุ โรคในช่องปากและรักษาอาการเจ็บคอต่อไป

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การสกัดน้ำมันหอมระเหยแบบกลั่นไอน้ำ (Water distillation)

1. เก็บสมุนไพร กะเพราขาว กะเพราแดงและโหระพาแดง จากสวนโดยเก็บกิ่งติดก้าน ใบและดอก ในช่วงเวลาเช้าก่อนถึงเที่ยง จากบ้านหนองเพลิง ต.หนองแขวง อ.เมือง จ.ร้อยเอ็ด

2. วิเคราะห์สายพันธุ์ตัวอย่างสมุนไพรโดย ผศ.ดร. สอนง จอมเกาะ นักพฤกษศาสตร์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

2. นำมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง บันทึกน้ำหนัก แล้วบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น



3. ทำการสกัดสมุนไพรด้วยเครื่องกลั่นไอน้ำ (Water distillations)

4. บันทึกน้ำหนักน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดที่สกัดได้ นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ Yields

2. การหาองค์ประกอบทางเคมีในสมุนไพร (Harborne, 1998)

1. นำน้ำมันหอมระเหยของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (GC-MS) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น QP2010 โดยกำหนดสภาวะดังนี้

1) ใช้คอลัมน์ คือ Rtx-5MS column (1% diphenyl/95% dimethyl polysiloxane, ; Restek 25 m x 0.25 mm, film thickness 0.25 μ m, Column Oven Temp. : 40.0 $^{\circ}$ C, Injection Temp. : 200.00 $^{\circ}$ C, Injection Mode: Split, Flow Control Mode: Linear Velocity, Pressure: 52.2 kPa, Total Flow: 14.4 mL/min, Column Flow: 1.04 mL/min, Linear Velocity: 36.7 cm/sec Purge Flow: 3.0 mL/min, Split Ratio: 10.0

2) Carrier gas ที่ใช้คือ แก๊สฮีเลียม (1 มล./นาที) อุณหภูมิที่ฉีดสารตัวอย่าง (Injection port Temperature) คือ 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่อ่านค่า (Detector Temperature) คือ 280 องศาเซลเซียส ปริมาณสารที่ฉีดคือ 1 ไมโครลิตร

3) ทำการเปรียบเทียบโครมาโตแกรมและแมสสเปกตรัมกับฐานข้อมูล NIST11 Libraries.

3. การเตรียมเชื้อเพื่อการทดสอบ

1. นำเชื้อ *Streptococcus mutans* DMST 18777 *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 DMST 30653 *Staphylococcus aureus* DMST 8440 และ *Candida albicans* ATCC 10231 เชื้อเชื้อลงใน Brain Heart Infusion (BHI) เชื้อ *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ในตู้บ่ม 10% CO₂ ส่วนเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจน

2. ทำการปรับความขุ่นของเชื้อที่ได้จากการบ่มเทียบกับ 0.5 Mcfarland standard (10⁸ cell/ml.) เพื่อนำไปทดสอบขั้นตอนต่อไป

4. ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด (CLSI, 2007)

1. หยดน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดและคลอเฮกซิดีนลงบน Paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ปริมาณ 15 ไมโครลิตร ชนิดละ 3 แผ่น ในตู้ Laminar flow ทิ้งไว้ให้แห้ง 30 นาที

2. ปิเปิดเชื้อที่ปรับความขุ่น 0.5 Mcfarland standard ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด ทำการ spread plate จนทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

3. ใช้ forceps คีบ paper disc น้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดและคลอเฮกซิดีนลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

4. นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ *S. mutans* และ *S. pyogenes* ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ในตู้บ่ม CO₂ สำหรับเชื้อที่เหลืบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ในตู้บ่มแบบใช้ออกซิเจน

5. วัดค่า Clear zone ของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดเทียบกับยามาตรฐาน บันทึกผลการทดลอง

5. การทดสอบหาความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อจุลชีพ (MBC และ MFC) จากวิธี Broth dilution method (CLSI, 2007)

1. ทำการเจือจางน้ำมันหอมระเหยทุกชนิดด้วย 10% DMSO+ 10% Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเทียบกับยามาตรฐานคลอเฮกซิดีน ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.0125

2. ปิเปิดแต่ละเชื้อที่ความขุ่น 0.5 McFarland standard ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงทุกหลอดยกเว้นหลุม Negative controls

3. นำหลอดทดลองไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตามสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละเชื้อ

4. บันทึกค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งการเจริญของแต่ละเชื้อ (MIC) โดยเทียบกับ Negative control



6. การทดสอบเพื่อหาค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อจุลชีพ (MBCและ MFC) จากวิธี Broth dilution method

1. ถ่ายเชื้อจากหลอดทดลองที่ไม่พบการเจริญของเชื้อด้วยเข็มเขี่ยเชื้อ โดยการ Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar

2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตามสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละเชื้อ

3. บันทึกผลการทดลองค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (MBC, MFC)

ผลการศึกษาวิจัย

1. การสกัดน้ำมันหอมระเหยแบบกลั่นไอน้ำ (Water distillation)

จากการสกัดสมุนไพรกะเพราขาว กะเพราแดง และ โหระพาแดง ได้ค่าร้อยละของผลผลิตอยู่ในช่วงระหว่าง 0.12-0.29 ดังข้อมูลในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดง %Yield ที่ได้จากการสกัดน้ำมัน

สมุนไพร	น้ำหนัก	%Yield
กะเพราขาว	22.95 g/8.0 kg	0.2869
กะเพราแดง	12.43g/10.0 kg	0.1243
โหระพาแดง	20.86g/7.3 kg	0.2857

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในสมุนไพร

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยกะเพราขาวและกะเพราแดงที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่อง GC-MS พบว่ามีองค์ประกอบหลัก คือ Methyl eugenol พบ 54.29% และ 51.21% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบสารอื่นๆ รองลงมาเช่น caryophyllene และองค์ประกอบหลักของโหระพาแดงที่ได้จากการสกัดคือ Methyl chavicol (ชื่อพ้อง estragole) พบในปริมาณ 96.70%

3. ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิด

จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น แต่ละชนิดอย่างละ 3 ซ้ำ เทียบกับยามาตรฐาน 0.2% คลอเฮกซิดีน ได้ค่าการยับยั้งเชื้อเฉลี่ยดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าการยับยั้งเชื้อของน้ำมันหอมระเหย (Mean±SD)

Inhibition zone	<i>S.mutans</i> (mm.)	<i>S.aureus</i> (mm.)	<i>C.albicans</i> (mm.)	<i>S.pyogenes</i> (mm.)
KPW	9.67±0.29	9.50±0.50	20.67±1.53	14.50±0.50
KPR	11.7±0.35	11.33±0.57	23.33±1.53	21.67±0.29
HPR	14.3±1.15	12.67±0.29	10.50±0.50	14.67±0.29
2%CHX	23.67±0.57	16.83±0.29	11.67±0.29	16.33±0.29

หมายเหตุ – KPW คือ กะเพราขาว , KPR คือ กะเพราแดง HPR คือ โหระพาแดง CHX คือ คลอเฮกซิดีน

จากตารางที่ 2 ค่า Inhibition zone สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ 1. กลุ่มที่มีค่าเฉลี่ยน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ต่อด้าน (Resistant) การออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหย 2. ค่าเฉลี่ย 10-15 มิลลิเมตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อปานกลาง (Moderate) 3. มีค่าเฉลี่ยมากกว่า 15 มิลลิเมตร มีความไว (sensitivity) ต่อน้ำมันหอมระเหย (CLSI, 2007) จากงานวิจัยพบว่าเชื้อรา *C. albicans* มีความไว (sensitivity) ในการถูกยับยั้งเชื้อโดยน้ำมันหอมระเหยกะเพราขาวและกะเพราแดงมากที่สุด ส่วนเชื้อ *S. pyogenes* พบว่ามีความไว (sensitivity) ต่อน้ำมันหอมระเหยกะเพราแดงมากที่สุด ส่วนน้ำมันหอมระเหยกะเพราขาว และน้ำมันหอมระเหยโหระพาแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งปานกลาง เชื้อ *S. mutans* กับเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งโดยน้ำมันหอมระเหยกะเพราแดงและโหระพาแดงในระดับปานกลาง ส่วนกะเพราขาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. mutans* กับเชื้อ *S. aureus* น้อยที่สุด

4. การทดสอบค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ (MIC) และค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อจุลชีพ (MBCและ MFC)

เมื่อน้ำมันหอมระเหยกะเพราขาว กะเพราแดง และโหระพาแดงมาทดสอบหาค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ (MIC) และค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อจุลชีพ (MBCและ MFC) ต่เชื้อ *S. mutans*, *S. aureus*, *C. albicans* และ *S. pyogenes* พบว่าน้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ชนิด ออกฤทธิ์ดีในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *C. albicans* และ *S. pyogenes* โดยมีค่า MIC, MFC และ MBC



อยู่ในช่วงระหว่าง 0.78-12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนน้ำมันหอมระเหยโหระพาแดง และกะเพราขาวออกฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อ *S. mutans*, *S. aureus* ในระดับปานกลาง โดยมีค่า MIC และ MBC อยู่ในช่วงระหว่าง 25.0-100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากการทดลองทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยกะเพราขาว กะเพราแดง และโหระพาแดง ซึ่งเป็นพืชสกุล *Ocimum* spp. ด้วยวิธีกลั่นไอน้ำ โดยได้คาร์บอนิลของผลผลิตอยู่ในช่วงระหว่าง 0.12-0.29 พบว่าเป็นวิธีที่ง่ายและเหมาะสมในการสกัดเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS โดยพบว่ากะเพราขาวและกะเพราแดงมีองค์ประกอบหลัก คือ Methyl eugenol พบร้อยละ 54.29% และ 51.21% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lawrence และคณะ (1971) โดยพบว่าใบกะเพราสดมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีสารประกอบหลักคือ methyl eugenol พบร้อยละ 37.70 Caryophyllene ร้อยละ 27.40 และ methyl chavicol ร้อยละ 9.90

องค์ประกอบหลักของโหระพาแดงที่ได้จากการสกัดคือ Methyl chavicol พบในปริมาณร้อยละ 96.70 โดยงานวิจัยของ Carovic และคณะ (2010) ก็พบสารนี้ในสมุนไพรกลุ่ม *Ocimum* taxa เช่นเดียวกันซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Telci และคณะ (2006) ทำการเก็บตัวอย่างโหระพาในประเทศตุรกีจากแหล่งต่างๆจำนวน 18 แหล่ง และจัดกลุ่มองค์ประกอบทางเคมีหลักของโหระพาจากแต่ละพื้นที่ด้วยด้วยลักษณะโครงสร้างทางเคมี (Chemotype) ได้ทั้งหมด 7 Chemotype ซึ่ง Chemotype VI และ VII มีสาร methyl chavicol และ methyl chavicol/citral

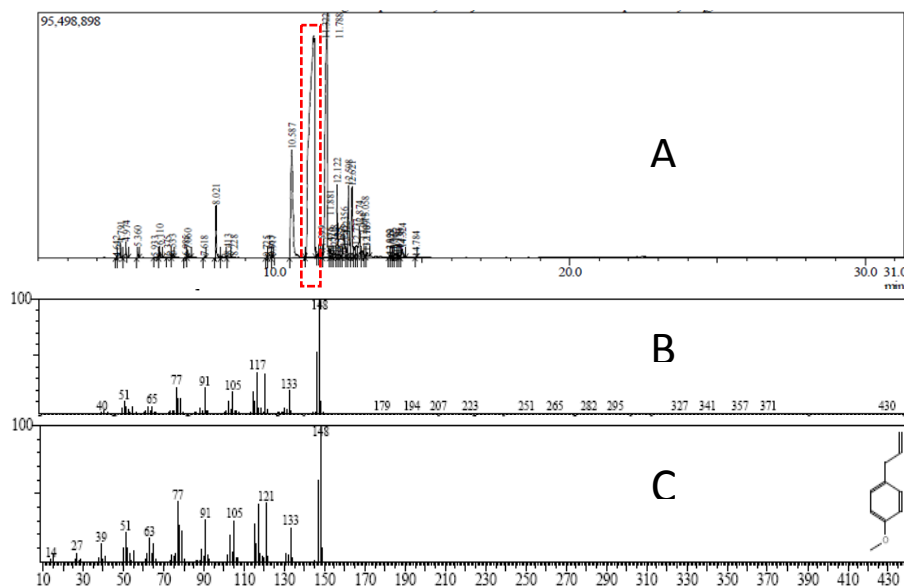
องค์ประกอบหลักพบมากที่สุดสำหรับงานวิจัยนี้พบว่ากะเพราขาวและกะเพราแดงจัดอยู่ใน Methyl eugenol chemotype ส่วนโหระพาแดงนั้นจัดอยู่ใน Methyl chavicol chemotype โดยการจัดกลุ่มนี้อ้างอิงตามองค์ประกอบหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหย และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อพบว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถแบ่งกลุ่มการออกฤทธิ์จากค่า MIC MBC และ MFC ได้ 3 กลุ่มดังนี้ คือ ค่า MIC มีค่าน้อยกว่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถือว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อดีมาก ค่าระหว่าง 100-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อปานกลาง และค่ามากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื่อน้อย (Zehra et al, 2014)

จากการวิจัยกะเพราขาว กะเพราแดงและโหระพาแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *S. Pyogenes* ดีที่สุด

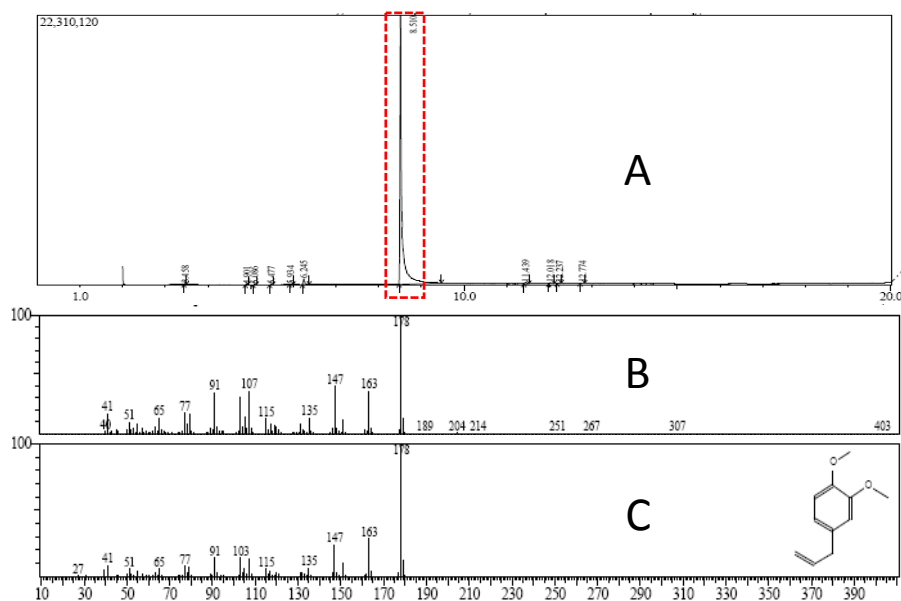
รายงานการทดสอบก่อนหน้านี้นพบว่าของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Candida* spp. และยังมีเสริมฤทธิ์ของยาต้านเชื้อรา ketoconazole (Amber, 2010, Khan, 2010) และฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของอาหารเป็นพิษ (Carovic, 2010) นอกจากนี้ยังพบการศึกษาของพืชสกุล *Ocimum* spp. ต่อเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ เช่น

Kishore-Dubey และคณะ (2000) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราจากน้ำมันหอมระเหยของ *Ocimum gratissimum* ต่อเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่ได้จากการคัดแยกจากผู้ป่วยหรือเชื้อมาตรฐาน พบว่าค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยอยู่ระหว่าง 150 – 400 µg/g ซึ่งมีฤทธิ์ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยในการศึกษานี้ ส่วนค่า MIC ขององค์ประกอบทางเคมีหลักในน้ำมันหอมระเหยเช่น Ethyl cinnamate, Linalool, Thymol, Citral และ Eugenol พบว่า Thymol มีฤทธิ์ดีที่สุดตามด้วย Eugenol และมีฤทธิ์ดีกว่าน้ำมันหอมระเหย

ส่วน Nakamura และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *Candida* spp. ของน้ำมันหอมระเหยจากใบ *Ocimum gratissimum* และยังพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Candida parapsilosis* ที่แยกได้จากผู้ป่วยได้ดีซึ่งส่วนงานวิจัยของ Runyoro และคณะ (2010) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำมันหอมระเหยสกุล *Ocimum* spp. ทั้งหมด 6 ตัวอย่าง จาก 4 สายพันธุ์ ที่ปลูกในประเทศแทนซาเนีย พบว่าสารสำคัญคือ Caryophyllene oxide มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหย ที่สกัดได้ ส่วนกลไกการฆ่าเชื้อเกิดจากองค์ประกอบหลักทางเคมีที่พบในกะเพราขาวกะเพราแดง และโหระพาแดง คือ Methyl eugenol และ methyl chavicol เป็นสารกลุ่ม Terpenoids ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ โดยน้ำมันหอมระเหยจะเข้าไปยับยั้งการสังเคราะห์และจะเข้าไปรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เชื้อแบคทีเรียทำให้เกิดการแตกของผนังเซลล์ (Trombetta และคณะ, 2005) จึงทำให้การรายงานผลของค่า MIC มีค่าเท่ากับ MBC และ MFC ของแต่ละเชื้อ จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อของน้ำมันหอมระเหยกะเพราขาว กะเพราแดง และโหระพาแดงมีความน่าสนใจที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรคในช่องปากโดยมีการควบคุมคุณภาพในลำดับต่อไป



รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยในกะเพราขาว (A) และแมสสเปกตรัมขององค์ประกอบหลัก (B) เปรียบเทียบกับ Methyl eugenol จากฐานข้อมูล NIST 11 (C)



รูปที่ 2 โครมาโตแกรมของน้ำมันหอมระเหยโหระพาแดง (A) และแมสสเปกตรัมขององค์ประกอบหลัก (B) เปรียบเทียบกับ Methyl chavicol (ชื่อพ้อง: Estragole) จากฐานข้อมูล NIST 11 (C)



ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC, mg/mL) และสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (MBC และ MFC, mg/mL)

	<i>S. mutans</i>		<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>		<i>S. pyogenes</i>	
mg/ml	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MFC	MIC	MBC
KPW	100	100	>200	>200	1.56	1.56	6.25	6.25
KPR	>200	>200	>200	>200	3.17	3.17	0.78	0.78
HPR	25.0	25.0	>200	>200	6.25	6.25	12.5	12.5
CHX (%)	0.05	0.05	0.20	0.20	0.025	0.025	0.05	0.05

หมายเหตุ – KPW คือ กะเพราขาว , KPR คือ กะเพราแดง HPR คือ โหระพาแดง CHX คือ คลอเฮกซีดีน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2557

References

- Amber K., Aijaz., Immaculata X, *et al.* Anticandidal effect of *Ocimum sanctum* essential oil and its synergy with fluconazole and ketonazole. *Phytomedicine*; 17, 2010, 921-925.
- Carovic' SK, Orlic' S, Politeo O, *et al.* Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. *Food Chemistry*. 119, 2010, 196–201.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. M100-S17. Vol 27 No.1 Replaces M100-S16 Vol.26 No.3, 2007.
- Harborne, J.B. *Phytochemical Method*. 3rd ed. London: Chapman & Hall, 1998.
- Khan A., Ahmad A., Akhtar F, *et al.* *Ocimum santum* essential oil and its active principal exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity. *Res in Microbiol.* 161, 2010. 815-823.
- Kishore-Dubey N., Tiwari T., Mandin D., Andriamboavonjy H., Chaumont J., 2000. Antifungal properties of *Ocimum gratissimum* essential oil (ethyl cinnamate chemotype). *Fitoterapia*; 71, 567 – 569.
- Lawrence, B.M., Hogg, J.W. and Terhune, S.J., The chemical composition of *Ocimum basilicum* and *Ocimum sanctum*. *Perfume Essential Oil Record*. Vol. 62 .1971, 1-20.
- Nakamura C., Ishida K., Faccin L., *et al.* 2004. In vitro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four *Candida* species. *Res Microbiol*; 155, 579 – 586.
- Runyono D., Ngassapa O, Vagionas K, *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species growing in Tanzania. *Food Chemistry*. 119. 2010, 311-316.
- Steinberg S. A paradigm shift in the treatment of caries. *Gen Dent*. Jul-Aug; 50(4) 2002, 333-8.
- Trombetta D. , Castelli F, Sarpietro MG, Venuti V, Cristani M, Daniele C *et al.* Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, June 2005, 2474–2478.
- Telci I., Bayram E, Yilmaz G, Avci B, Variability in essential oil composition of Turkish basil. *Biochemical Systematics and Ecology* 34. 2006, 489-497.
- Zegra F, Kuckbay, Kuyumcu E, Selma, Celen, Ayse Dielek Azaz and Turan Arabaci. Chemical Composition of the Essential Oils Three *Thymus* Taxa from Turkey with Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Records of Natural Products*., 2014, 110-120



The 7th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2015
"Challenges and Opportunities of Pharmacy Profession in Post-Millennium Development Agenda"
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Thailand