วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine
ปีที่ 10 ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม 2555 Vol. 10 No. 3 September-December 2012

บทปริทัศน์

สารลดการดื้อยา: ทางเลือกใหม่ในการประยุกต์ใช้สมุนไพร

ศศิธร ชูศรี*

บทคัดย่อ

การติดเชื้อดื้อยาทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบเป็นปัจจัยหลักของการเกิดโรคและการเสียชีวิตในโรงพยาบาล โดยฉพาะความขาดแคลนยาทางเลือกในการรักษาโรค ทำให้อัตราการเสียชีวิตยิ่งเพิ่มสูงขึ้น การใช้สารลดการดื้อยา (resistant modifying agent; RMA) เป็นอีกแนวคิดหนึ่งที่มีการศึกษาวิจัยการใช้สารดังกล่าวร่วมกับยาปฏิชีวนะ โดยมีจุดมุ่งหมายสำคัญในการศึกษาวิจัยคือ เพื่อนำยาปฏิชีวนะที่ไม่สามารถนำมาใช้ในการรักษาได้อีก เนื่องจากปัญหาการดื้อยากลับมาใช้ใหม่อีกครั้ง (recycling antibiotic) เพื่อลดต้นทุนในการคิดค้นและทดสอบยาชนิดใหม่ อีกทั้งอาจจะสามารถยืดระยะเวลาในการพัฒนาการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย ปัจจุบันหลายงานวิจัยให้ความสนใจในการประยุกต์ใช้สารจากธรรมชาติ เพื่อใช้เป็นสารลดการดื้อยาสำหรับแบคทีเรียก่อโรคสำคัญๆ หลายชนิด จากการรวบรวมข้อมูลพบว่า สารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์จากพืชสมุนไพรจำนวน 28 ชนิด สามารถลดการดื้อยาของแบคทีเรียโดยยับยั้งกลไกการดื้อยา 3 กลไกหลัก คือ (ก) ยับยั้งการผลิตหรือทำลายเอนไซม์ของแบคทีเรียที่ทำลายยา (ข) ยับยั้งการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายของยา และ (ค) เพิ่มการสะสมของยาภายในเซลล์ พืชสมุนไพรบางชนิด เช่น *Alpinia officinarum, Camellia sinensis* และ *Quercus infectoria* สามารถยับยั้งกลไกการดื้อยาของแบคทีเรียได้มากกว่าหนึ่งกลไก พืชสมุนไพรซึ่งสามารถเพิ่มการสะสมของยาภายในเซลล์ผ่านทางกลไกลดการขับยาออก (efflux pump inhibitor) หรือรบกวนการทำงานของผนังเซลล์ด้านนอก (permeabilizer) สามารถลดการดื้อยาได้ทั้งแบคทีเรียแกรมลบและสามารถประยุกต์ใช้ในยาได้หลายกลุ่ม หากการวิจัยดังกล่าวประสบความสำเร็จ การนำยาต้านจุลชีพที่เชื้อดื้อยาแล้วกลับมาใช้ใหม่ร่วมกับสารลดการดื้อยาจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาผู้ป่วยด้วยสาเหตุของการติดเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ

คำสำคัญ : **สมุนไพร, สารลดการดื้อยา, การดื้อต่อยาปฏิชีวนะ, การเสริมฤทธิ์**

บทนำ

ประเทศไทยและประเทศต่างๆทั่วโลกล้วนกำลังประสบปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคสำคัญหลายชนิด เช่น methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)[1], multidrug resistant extended spectrum beta-lactamases-producing Escherichia coli (MDR ESBL-producing *E. coli*)[2], และ pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (PDRAB)[3,4]

*คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ต. คอหงส์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112
ผู้รับผิดชอบบทความ: sasitorn.chu@psu.ac.th

แบคทีเรียเหล่านี้สามารถพัฒนาการดื้อต่อสารต้านจุลชีพเพิ่มมากขึ้นเป็นเงาตามตัวของการค้นพบ การผลิต และการพัฒนาใช้ยาต้านจุลชีพใหม่ๆ การเพิ่มขึ้นของการระบาดของแบคทีเรียดื้อยา และเมื่อเกิดการดื้อของแบคทีเรียต่อยาชนิดหนึ่งแล้วมักจะมีการดื้อต่อยาหลายๆ กลุ่มตามมาด้วย ดังนั้นเมื่อแบคทีเรียดื้อยาก่อโรคในผู้ป่วย จะทำให้มียาให้เลือกใช้น้อยลง ส่งผลให้เกิดอัตราการตายที่สูงตามมา โดยการเกิดการดื้อยาของแบคทีเรียสามารถเกิดขึ้นได้ 2 แนวทางหลักคือ (ก) เกิดจากการเลือกสรรตามธรรมชาติ โดยในประชากรแบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีแบคทีเรียที่มียีนดื้อยาปะปนอยู่เล็กน้อยตามธรรมชาติ แต่การสัมผัสกับยาต้านแบคทีเรีย จะทำลายแบคทีเรียที่ไม่ดื้อยาให้หมดไป เหลือส่วนที่ดื้อต่อยาไว้ซึ่งจะมีการเจริญเพิ่มจำนวนและแสดงออกเป็นแบคทีเรียดื้อยาอย่างสมบูรณ์ หรือ (ข) อาจเกิดจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโดยการใช้ยาต้านจุลชีพ โดยแบคทีเรียแต่ละชนิด เดิมมีความไวต่อยาต้านจุลชีพ แต่เมื่อใดมีโอกาสสัมผัสกับยาต้านจุลชีพในขนาดและระยะเวลาในการให้ที่ไม่เหมาะสมที่จะทำลายแบคทีเรียให้หมดไป แบคทีเรียจะเกิดพัฒนาการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมให้สามารถทนทานต่อการทำลายของยาได้ ซึ่งมีผลทำให้เกิดปัญหาการเพิ่มขึ้นของเชื้อดื้อยาอย่างต่อเนื่องและเกิดในยาหลายกลุ่ม ปัจจุบันนี้พบว่าแบคทีเรียดื้อยาบางสายพันธุ์ เช่น MRSA สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา vancomycin และ PDRAB ที่ดื้อต่อยา colistin ไม่มียาทางเลือกอื่นในการรักษา[5-8]

ดังนั้นจึงมีแนวคิดใหม่ในการพัฒนายาต้านแบคทีเรีย คือ คำนึงถึงหนทางในการลดการดื้อยาของแบคทีเรีย ด้วยการใช้สารลดการดื้อยา (resistant modifying agent; RMA) โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อนำเอายาที่ไม่สามารถนำมาใช้ในการรักษาได้อีกเนื่องจากปัญหาการดื้อยาให้กลับมาใช้ใหม่ได้อีกครั้ง ทั้งนี้เพื่อลดต้นทุนในการคิดค้นและทดสอบยาชนิดใหม่ อีกทั้งยังสามารถยืดระยะเวลาในการพัฒนาการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรีย[9-11] แนวคิดดังกล่าวเคยประสบความสำเร็จอย่างมากในอดีตจากตัวอย่างของการใช้ยา amoxicillin ร่วมกับ clavulanic acid ซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอมไซม์ beta-lactamase ซึ่งมีฤทธิ์ทำลายยา amoxicillin[12,13] แม้ว่าปัจจุบันจะยังไม่มีผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เกิดจากการใช้สารลดการดื้อยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่มาจากพืชและสมุนไพรร่วมกับยาต้านจุลชีพ แต่นับเป็นอีกประเด็นที่น่าจับตามอง เนื่องจากมีนักวิจัยหลายกลุ่มในหลายประเทศกำลังให้ความสนใจในการประยุกต์ใช้สารจากธรรมชาติเพื่อเป็นทางเลือกในการพัฒนาสารลดการดื้อยาสำหรับยาหลายกลุ่ม หากการวิจัยดังกล่าวประสบความสำเร็จ การนำยาต้านจุลชีพเก่ากลับมาใช้ใหม่ จะกลายเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาผู้ป่วยที่เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยา

การประเมินประสิทธิผลของสารลดการดื้อยา

กลไกการดื้อยาของแบคทีเรียประกอบด้วย 3 กลไกหลักคือ (ก) การผลิตเอนไซม์เพื่อยับยั้งการทำงานของยา (ข) การลดเป้าหมายยาและการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายของยา และ (ค) การลดการสะสมของยาภายในเซลล์แบคทีเรียโดยการลดการนำเข้าสารและเร่งการขับออกของยา (active efflux pump)[14] กลไกการดื้อยาเหล่านี้ทำให้เกิดการอุบัติใหม่และการกลับมาอุบัติใหม่ของโรคติดเชื้อ รวมทั้งส่งผลให้อัตราการตายจากโรคติดเชื้อสูงขึ้น[3,15] ปัญหาการดื้อยาของแบคทีเรียซึ่งระบาดไปทั่วโลก

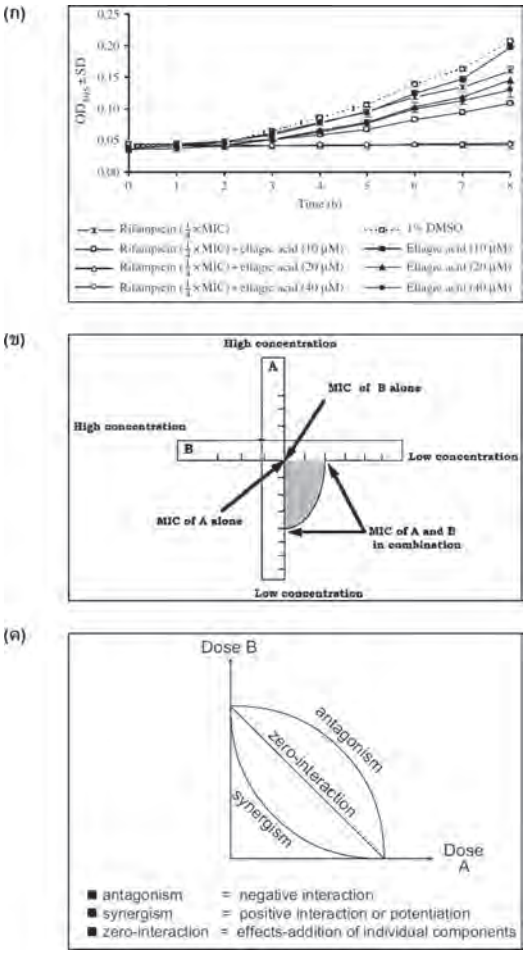
ส่งผลให้นักวิจัยในหลายสาขาวิชาศึกษาเพื่อหาแหล่งของยาชนิดใหม่เพื่อใช้รักษาโรค สารต้านเชื้อแบคทีเรียจากพืชนับเป็นอีกแหล่งหนึ่งที่มีการศึกษาและพัฒนาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากในธรรมชาติพบว่าพืชมีการติดเชื้อน้อยซึ่งเป็นสิ่งบ่งชี้ได้ดีถึงกลไกการพัฒนาการป้องกันตัวที่ดีของพืช พืชผลิตสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กที่มีความสามารถการต้านเชื้อโรค เรียกว่า “phytoalexins” ประกอบด้วยสารหลายกลุ่มได้แก่ terpenoids, glycosteroids, flavonoids, และ polyphenols แต่สารดังกล่าวมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะที่ผลิตได้จากแบคทีเรียหรือเชื้อรา[9] แต่ในปี ค.ศ. 2000 Stermitz และคณะ[16,17] พบความสามารถในการทำงานร่วมกัน (combination action) และการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน (synergistic effect) ของสารที่แยกได้จากพืช Berberis fremontii การศึกษาดังกล่าวทดสอบการทำงานร่วมกันของ berberine และ 5'-methoxyhydnocarpin D โดย berberine เป็นสาร hydrophobic alkaloid ที่มีกลไกในการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยรบกวนการสังเคราะห์และการทำงานของ DNA แต่ยังไม่สามารถใช้สารดังกล่าวในการทำลายแบคทีเรียได้ เนื่องจากสารดังกล่าวถูกขับออกโดย multidrug resistance pump (MDR pump) ของแบคทีเรีย แต่เมื่อทำงานร่วมกับสารอีกชนิดหนึ่ง คือ 5'-methoxyhydnocarpin D ซึ่งแยกได้จากพืชชนิดนี้ และสามารถยับยั้ง MDR pump ได้ การทำงานร่วมกันของสารทั้งสองชนิดส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย[18] จากแนวคิดดังกล่าว ส่งผลให้มีการพัฒนา berberine เชื่อมกับ INF55 ซึ่งเป็นสารยับยั้ง MDR pump พบว่าสารนี้สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดีและพบการสะสมของสารภายในเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว[19] สารทุติยภูมิจากพืช (secondary metabolites) จึงอาจเป็นแหล่งของสารที่มีประสิทธิผลดีในการรักษาการติดเชื้อแบบที่ใช้ร่วมกัน (combination therapy) เพื่อเพิ่มประสิทธิผลของยา ลดการดื้อยา และเพิ่มทางเลือกในการรักษาในโรคติดเชื้อ

การพิจารณาปฏิกิริยาระหว่างสารลดการดื้อยาและยาสามารถทำได้ 4 วิธี คือ checkerboard assay, time kill assay, Epsilometer test (E-test), และ isobole method ซึ่งแต่ละวิธีจะมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน checkerboard assay เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและเป็นที่นิยม แต่เป็นเพียงวิธีเบื้องต้นในการประเมินปฏิกิริยาเท่านั้น โดยการแปลผลจะใช้ค่า fractional inhibitory concentration index (FIC index) โดยค่าดังกล่าวหาจากสูตร FIC index = FIC ของสารชนิดที่ 1 + FIC ของสารชนิดที่ 2 ซึ่งค่า FIC ของสารแต่ละชนิดคำนวณจากสัดส่วนของค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) ของสารก่อนและหลังใช้ร่วมกัน หากค่า FIC index $\leq$ 0.5 แปลผลเป็นเสริมฤทธิ์ (Synergistic interaction) ค่า FIC index > 0.5 แต่ $\leq$ 4 แปลผลเป็นไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Indifferentt interaction) ค่า FIC index > 4 แปลผลเป็นต้านฤทธิ์กัน (antagonistic interactions) การจะใช้วิธีนี้ในการประเมินนั้นจำเป็นต้องทราบค่า MIC ของยาและสารลดการดื้อยาต่อแบคทีเรียทดสอบนั้นๆ วิธี time kill assay เป็นอีกหนึ่งวิธีที่ได้รับความนิยมในการนำไปประเมินปฏิกิริยาระหว่างยาและสารลดการดื้อยา และยังเป็นวิธีที่สามารถประเมินความสามารถในการฆ่าแบคทีเรียของยา สารลดการดื้อยา และการใช้แบบร่วมกันของยาและสารลดการดื้อยา โดยมีหลักการคือทดสอบความสามารถในยับยั้งหรือฆ่า

แบคทีเรียของยาปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว สารลดการดื้อยาเพียงอย่างเดียว และการใช้ร่วมกันของทั้งสองสาร โดยนับจากจำนวนโคโลนีต่อหน่วยเวลาและสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและโคโลนีที่เกิดขึ้น โดยค่าความเข้มข้นของสารที่จะใช้นั้นขึ้นอยู่กับค่า MIC ของสารนั้นๆ แปลผลจากการเปลี่ยนแปลงของกราฟที่เกิดขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 1 ข้อเสียของวิธีนี้คือจะสิ้นเปลืองปริมาณสารและเสียเวลาในการเตรียมการทดสอบมาก E-test เป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกที่สุด ในการประเมินปฏิกิริยาระหว่างยาและสารลดการดื้อยา เนื่องจากใช้แผ่นพลาสติกที่มียาหลายความเข้มข้นต่อเนื่องในแผ่นเดียวและมีขายทางการค้า ซึ่งจากงานวิจัยระบุว่า วิธีดังกล่าวให้ผลการทดลองสอดคล้องกับวิธี checker-board assay และ time kill assay โดยมีหลักการคือวัดการเปลี่ยนแปลงของค่า MIC ของยาปฏิชีวนะและสารลดการดื้อยา ในบริเวณที่เกิดการแพร่ของสารทั้งสองชนิดออกจากแผ่น E-test อย่างไรก็ตาม E-test เป็นวิธีที่ต้นทุนของแผ่นยาทดสอบค่อนข้างสูง เหมาะกับการใช้ทดสอบปฏิกิริยาต่อกันของยาปฏิชีวนะสองชนิด ส่วนวิธี isobole method ปัจจุบันเป็นวิธีที่นิยมใช้ทดสอบปฏิกิริยาระหว่างยาและสารลดการดื้อยา โดยมีหลักการคือเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ สารลดการดื้อยา และการใช้ร่วมกันระหว่างยาปฏิชีวนะและสารลดการดื้อยาที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างยาปฏิชีวนะ (แกน X) และสารลดการดื้อยา (แกน Y) เปรียบเทียบกับการใช้ร่วมกันของสารทั้งสองชนิด โดยแปลผลจากรูปแบบของกราฟเส้นที่ปรากฏขึ้น สามารถใช้ได้ทั้งในการทดสอบระดับหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง เป็นการศึกษาฤทธิ์ของสารที่ความเข้มข้นต่างๆ ในรูปแบบสารเดี่ยวและสารผสม แปลผลโดยการนำข้อมูลที่ได้จากการทดสอบแสดงในรูปแบบกราฟเส้น[11,20-22] การแปลผลสำหรับวิธีทั้งสามแสดงในรูปที่ 1

สารลดการดื้อยาที่ออกฤทธิ์โดยยับยั้งหรือทำลายกลไก enzymatic degradation

การผลิตเอนไซม์เพื่อการทำลายหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยาเป็นวิธีที่พบบ่อยซึ่งทำให้แบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ ยกตัวอย่างเช่น ในยากลุ่ม beta-lactam ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ beta-lactamases ของแบคทีเรีย ซึ่งจะออกฤทธิ์ทำลาย beta-lactam ring บริเวณ serine residue ทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียได้และส่งผลสำคัญให้แบคทีเรียหลายชนิดดื้อต่อยากลุ่มดังกล่าว สามารถแบ่ง beta-lactamases ตามหน้าที่ได้เป็น 4 กลุ่ม คือ (ก) กลุ่มเอนไซม์ cephalosporinases มีความสามารถในการทำลายยากลุ่ม cephalosporins (ข) กลุ่มเอนไซม์ TEM- and SHV-derived beta-lactamases เป็นกลุ่มใหญ่สุดของ beta-lactamases มีเอนไซม์สำคัญๆ ได้แก่ broad-spectrum beta-lactamases และ extended-broad-spectrum beta-lactamases (ESBL) ซึ่งมีความสามารถในการทำลาย third-generation cephalosporins เป็นต้น (ค) กลุ่มเอนไซม์ metallo-beta-lactamases และ (ง) กลุ่มเอนไซม์ penicillinases no molecular class ความสามารถการผลิต beta-lactamases พบได้ทั้งในแบคทีเรียแกรมบวกและ แกรมลบ เช่น *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, และ *P. aeruginosa* เป็นต้น[25] clavulanic acid เป็น



รูปที่ 1 การประเมินผลการทดสอบปฏิกิริยาระหว่างสารลดการดื้อยาและยาด้วยวิธี (ก) time kill assay แสดงผลการเสริมฤทธิ์ระหว่างสารลดการ ดื้อยา ellagic acid และยา rifampicin[23], (ข) Epsilometer test[22], และ (ค) isobole method[24]

สารลดการดื้อยาที่สามารถจับกับเอนไซม์ beta-lactamases ยับยั้งการ hydrolysis ยาปฏิชีวนะ มีการนำมาใช้ทางการค้าร่วมกับ amoxicillin แต่การดื้อต่อ clavulanic acid ของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ยังคงมีรายงานอยู่ทั่วไป การหาสารลดการดื้อยาทางเลือกจากแหล่งใหม่เพื่อใช้ในการยับยั้งหรือทำลายเอนไซม์นี้จึงเป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์ในหลายกลุ่ม มีสารจากพืชสมุนไพรหลายชนิด (ตารางที่ 1) ที่มีความสามารถในการยับยั้ง beta-lactamases เช่น epigallocatechin gallate (EGCg) แยกได้จากชา *(Camellia sinensis)* สามารถยับยั้งการผลิต penicillinase จาก MRSA และ beta-lactamase producing S. aureus ส่งเสริมการทำงานของ penicillin และ ampicillin/sulbactam เมื่อทดสอบโดยวิธี checkerboard assay และ time kill assay พบว่า EGCg ซึ่งมีค่าMIC เป็น 100 mg/L ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าค่า MIC (sub-MIC) สามารถลดค่า MIC ของยาดังกล่าวต่อเชื้อทดสอบลงได้ระหว่าง 4-16 เท่า[26] ข่าเล็ก *(Alpinia officinarum)* เป็นพืชสมุนไพรไทยอีกชนิดหนึ่งที่มีความสามารถในการลดการดื้อยาของ *S. aureus* พบว่า galangin สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากข่าเล็กเพิ่มความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของยาได้หลายชนิด เช่น amoxicillin, ampicillin, penicillin G, และ cloxacillin เป็นต้น เมื่อทดสอบด้วยวิธี checkerboard assay ค่า FIC index มีค่าระหว่าง <0.02-0.11[27] จากการทดสอบ eugenol ซึ่งเป็นสารสำคัญของน้ำมันกานพลู *(Eugenia aromatica)* ด้วยวิธี isobole method พบว่าสารดังกล่าวสามารถเสริมฤทธิ์กับ ampicillin ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *E. coli, P. aeruginosa, E. aerogenes, S. Typhimurium* และ *Proteus vulgaris*[9] นอกจากนี้จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ beta-lactamases ในหลอดทดลองของพืชสมุนไพรจำนวน 16 ชนิดในแคมเมอรูน (Cameroon) พบว่ามากกว่า 90% ของสมุนไพรที่ทดสอบสามารถยับยั้งเอนไซม์นี้ได้อย่างน้อย 1 ชนิด อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้ยังไม่ได้ทดสอบในแบคทีเรีย[28] จาก

ตารางที่ 1 ตัวอย่างสารลดการดื้อยาจากพืชที่ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งหรือทำลายเอนไซม์ของแบคทีเรียที่ทำลายยา

Medicinal plants	Active constituents /Active extracts	Antibiotics	Pathogens
Alpinia officinarum	Galangin (รูปที่ 2ก)	amoxicillin ampicillin cloxacillin penicillin G	penicillins-resistant *Staphylococcus aureus*[27]
Bridelia micrantha[28]	methylene chloride/methanol extract	NA	NA
Camellia sinensis	epigallocatechin gallate (รูปที่ 2ข)[29]	ampicillin/sulbactam penicillin	beta-lactamase producing *S. aureus*[30] methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)[26]
Emblica officinalis *Eugenia aromatic*[9]	ethanol extract eugenol (รูปที่ 2ค)	amoxicillin ampicillin penicillin	MRSA[31] *Enterobacter aerogenes* *Escherichia coli* *Proteus vulgaris* *Pseudomonas aeruginosa* *Salmonella enterica* serotype Typhimurium
Fissistigma cavaleriei	salicylsalicylic acid (รูปที่ 2ง)	NA	*P. aeruginosa*[32]
Garcinia lucida[28]	methylene chloride/methanol extract	NA	NA
Mammea africana[28]	methylene chloride/methanol extract	NA	NA
Nymphae odorata	ethanol extract	amoxicillin	MRSA[31]
Quercus infectoria	ethanol extract	amoxicillin penicillin G	MRSA[33]

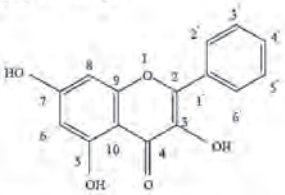
NA; Not applicable

รายงานเบื้องต้นเป็นที่น่าสนใจว่าสารพืชหลายชนิดแม้มีความสามารถในการต้านแบคทีเรียโดยธรรมชาติต่ำ (low intrinsic antibacterial activity) แต่สามารถเสริมฤทธิ์กับยาปฏิชีวนะได้ดี เพียงแต่ยังขาดการทดลองในระดับสัตว์ทดลองรวมถึงการประยุกต์ใช้อย่างจริงจัง

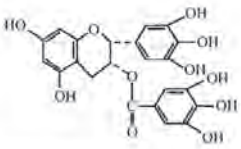
สารลดการดื้อยาที่ออกฤทธิ์โดยยับยั้งหรือทำลายกลไก target alteration

การดื้อยาปฏิชีวนะด้วยกลไกการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายของยา คือ ยาปฏิชีวนะสามารถเข้าไปในผนังเซลล์ไปถึงเป้าหมายได้แต่ไม่สามารถเข้าจับกับเป้าหมายได้ เพราะมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง

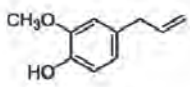
(ก) Galangin



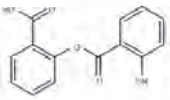
(ข) Epigallocatechin gallate



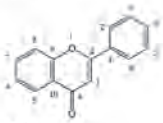
(ค) Eugenol



(ง) Salicylsalicylic acid



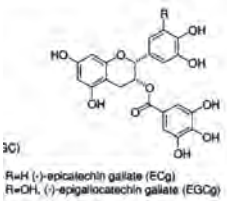
(จ) Flavone



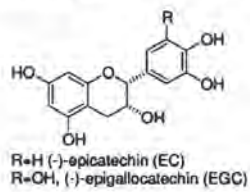
Apigenin	5,7,4'-triOH
Luteolin	5,7,3',4'-tetraOH
Kaempferol	3,5,7,4'-tetraOH
6,7-Dihydroxyflavone	6,7-diOH
7,8-Dihydroxyflavone	7,8-diOH
3',4'-Dihydroxyflavone	3',4'-diOH

(ฉ) Ethyl gallate (3), Propyl gallate (4), Isobutyl gallate (5) Butyl gallate (6) isoAmyl gallate (7), Pentyl gallate (8)

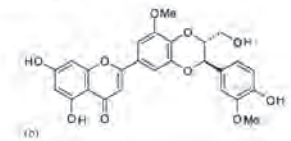
(ช) Epicatechin gallate (ECg)/Epigallocatechin gallate (EGCg)



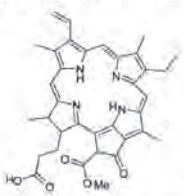
(ซ) Epicatechin (EC)/Epigallocatechin (EGC)



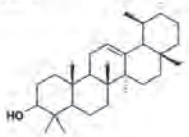
(ฌ) 5'-Methoxyhydnocarpin-D (5' MHC-D)



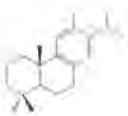
(ญ) Pheophorbide *a*



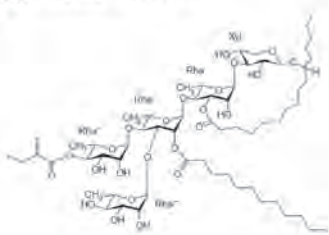
(ฎ) Uvaol



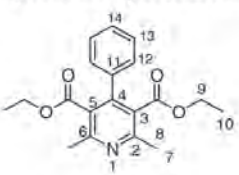
(ฏ) Furruginol



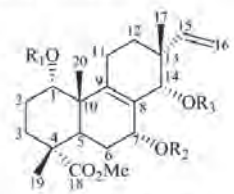
(ฐ) Pescaprein XVIII

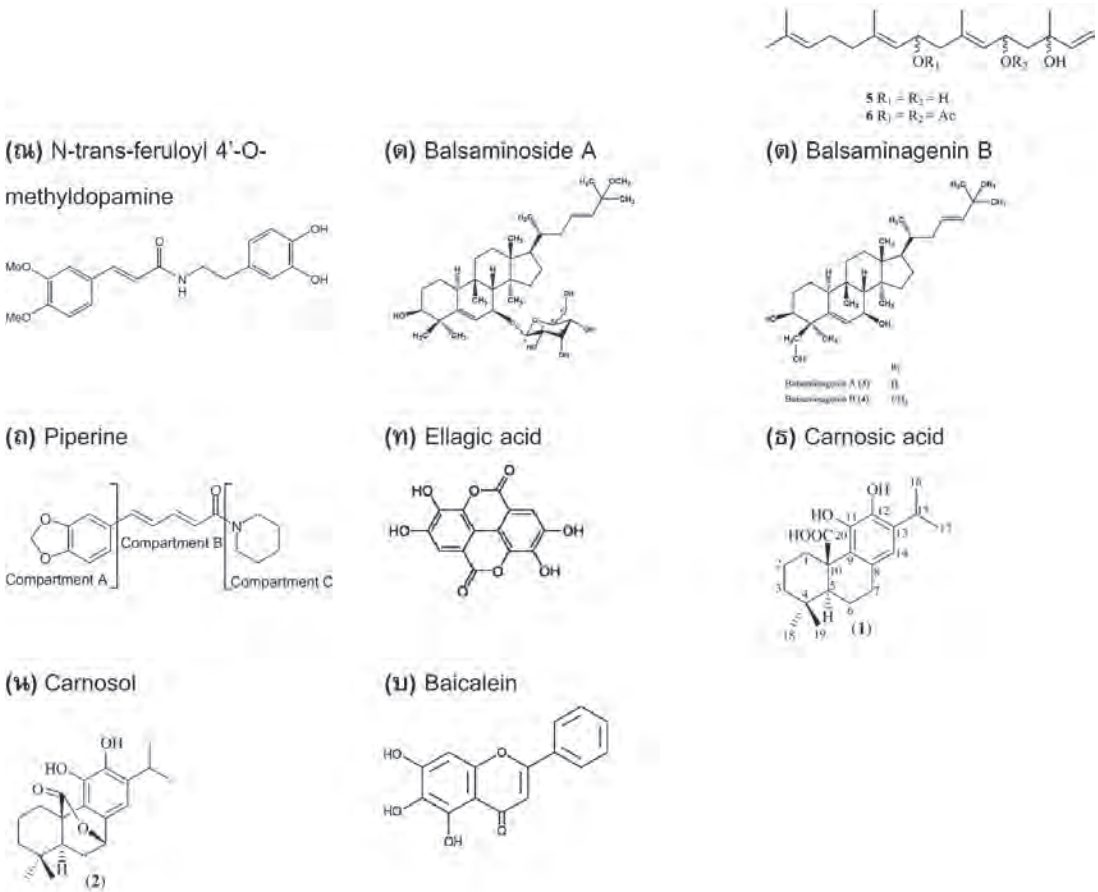


(ฑ) 2,6-Dimethyl-4-phenylpyridine-3,5-dicarboxylic acid diethyl ester



(ฒ) Diterpenes





รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญต่างๆ ซึ่งแยกจากพืชสมุนไพรและมีความสามารถในการเป็นสารลดการดื้อยา โดยมีกลไกการออกฤทธิ์แบ่งเป็น 3 กลไกหลัก คือ (ก) ยับยั้งการผลิตหรือทำลายเอนไซม์ของแบคทีเรียที่ทำลายยา (ข) ยับยั้งการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายของยา และ (ค) เพิ่มการสะสมของยาปฏิชีวนะภายในเซลล์

molecule ของเป้าหมาย จึงทำให้ยาออกฤทธิ์ต่อไม่ได้ ตัวอย่างที่พบมาก คือ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ penicillin binding protein (PBP) ซึ่งเป็นเป้าหมายของยาในกลุ่ม beta-lactam ในแบคทีเรีย เช่น MRSA, *Streptococcus pneumoniae* และ *Neisseria meningitidis* เป็นต้น[8] แม้ว่าปัจจุบันนี้ยังไม่มีสารลดการดื้อยาสำหรับกลไกการดื้อยานี้ที่สามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ได้ แต่จากรายงานต่างๆ พบว่าพืชอาจเป็นแหล่งสำคัญอีกแหล่งในการค้นหาสารลดการดื้อยาในกลไกนี้ (ตารางที่ 2) พืชที่มีรายงานการออกฤทธิ์ยับยั้งกลไกการดื้อยาซึ่งเกี่ยวข้องกับ target alteration มากที่สุด คือ ชา หลายงานวิจัยเห็นตรงกันว่า epicatechin gallate (ECg) และ EGCg ซึ่งเป็นสารสำคัญในชามีความสามารถในการลดการดื้อยาของ MRSA ต่อยา oxacillin และ carbapenems สารดังกล่าวออกฤทธิ์โดยการรบกวนการทำงานของผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้[34] การทำงานของสารทั้งสองชนิดนี้จะเพิ่มมากขึ้นเมื่อผสมกับ epicatechin (EC) หรือ epigallocatechin (EGC) ซึ่งเป็นสารจากชาเช่นเดียวกัน[35] แต่อย่างไรก็ตามพบ

ความขัดแย้งของผลต่อการสร้าง PBP ของ MRSA กล่าวคือ Yam และคณะ (1997)[36] พบว่าสารสกัดจากชาสามารถลดปริมาณการผลิตของ PBP1 และ PBP2a ของแบคทีเรียชนิดนี้ แต่ขณะเดียวกันบางรายงานการวิจัยบ่งชี้ว่าสารสำคัญจากชาซึ่งออกฤทธิ์ลดการดื้อต่อยา oxacillin นั้น ไม่มีผลต่อการแสดงออกหรือปริมาณของ PBP2a[37,38] แต่กลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญคือการแทรกตัวของสารดังกล่าวเข้าไปในผนังเซลล์ของแบคทีเรียนี้ สารกลุ่ม polyphenols นี้ยังแยกได้จาก *Caesalpinia spinosa* (Tara) และพบว่ามีความสามารถในการลดการดื้อยา oxacillin และ cephapirin ของ *S. aureus* ทั้งกลุ่มที่ดื้อยาและกลุ่มที่ไวต่อยาชนิดนี้[40] สารกลุ่ม flavonoids เช่น galangin ซึ่งรบกวนการทำงานของผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของ *S. aureus*[40] สามารถเพิ่มความไวของ penicillins-resistant *S. aureus* ต่อยา ceftazidime และ methicillin ได้เช่นเดียวกัน[27] แม้ว่าการดื้อยาด้วยกลไกการเปลี่ยนแปลงเป้าหมายของยานั้นจะพบในแบคทีเรียหลายชนิด แต่พบว่ามีเพียงรายงานการทดสอบสารลดการดื้อยาใน *S. aureus* เท่านั้น รวมทั้งมีการศึกษาในพืชไม่กี่ชนิด การศึกษาในพืชที่มีความหลากหลายมากขึ้น อาจส่งผลให้พบสารลดการดื้อยาที่มีประสิทธิผลสามารถนำยากลุ่ม beta-lactam กลับมาใช้รักษาโรคซึ่งเกิดจากแบคทีเรียดื้อยาได้ดีอีกครั้ง

สารลดการดื้อยาที่ออกฤทธิ์โดยการเพิ่มการสะสมของยาภายในเซลล์

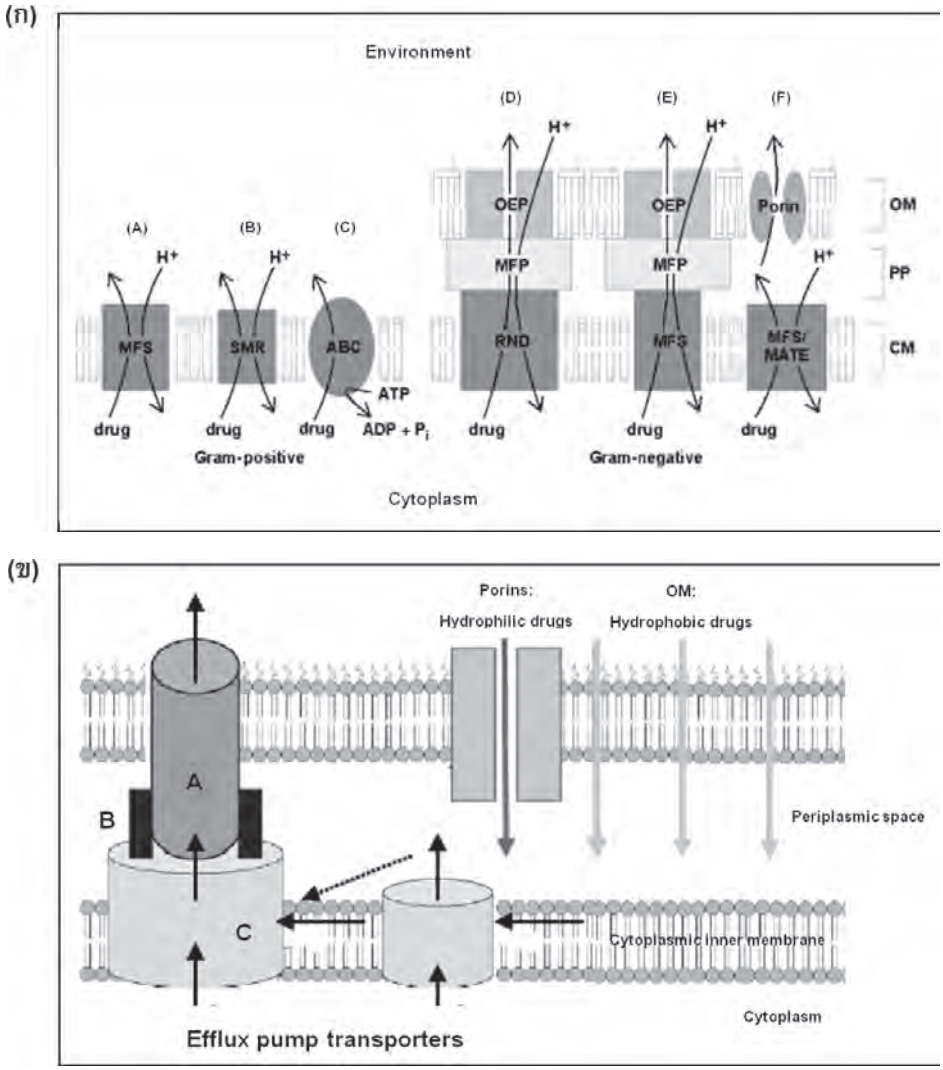
การที่ยาปฏิชีวนะจะออกฤทธิ์ได้ ตัวยาจะต้องผ่านเข้าเซลล์ของแบคทีเรียเสียก่อน การเข้าสู่

ตารางที่ 2 ตัวอย่างสารลดการดื้อยาจากสมุนไพรซึ่งออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งเป้าหมายของยา

Medicinal plants	Active constituents/Active extracts	Antibiotics	Pathogens
Alpinia officinarum	Galangin (รูปที่ 2ก)	ceftazidime methicillin	penicillins-resistant *Staphylococcus aureus*[27]
Berberidaceae and *Senna petersiana*	Flavone, 6,7-DF6,7-DF, 3′,4′-DF7,8-DF, Luteolin, Kaempferol, Apigenin (รูปที่ 2จ)[40]	methicillin	methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) methicillin susceptible *S. aureus* (MSSA)
Caesalpinia spinosa	Ethyl gallate (3), Propyl gallate (4), Isobutyl gallate (5) Butyl gallate (6) isoAmyl gallate (7), Pentyl gallate (8) (รูปที่ 2ฉ)[38]	cephapirin oxacillin	MRSA/MSSA
Camellia sinensis	Epicatechin gallate (ECg) และ epigallocatechin gallate (EGCg) (รูปที่ 2ช), epicatechin (EC) และ epigallocatechin (EGC) (รูปที่ 2ซ)[34]	oxacillin	*mecA*-containing strains of *S. aureus*
	EGC[29]	carbapenem	MRSA
	ECg[36]	oxacillin	MRSA

เซลล์ของยาอาจใช้พลังงานหรือไม่ใช้พลังงานก็ได้ ช่องทางสำคัญที่ยาปฏิชีวนะจะเข้าเซลล์ของแบคทีเรียคือที่ outer membrane protein ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีลักษณะเป็นช่อง สำหรับขนส่งโมเลกุลผ่าน lipid bilayer membranes เป็น permeability สำหรับโมเลกุลที่ละลายน้ำได้ (hydrophillic solutes) กลไกการดื้อยาของแบคทีเรียโดยการลดการสะสมของยาภายในเซลล์แบคทีเรียอาจเกิดขึ้นโดยกลไกหลัก 2 กลไก คือ การลดการซึมผ่านของยาเข้าสู่เซลล์ (decreased permeability) และการขับยาออกจากเซลล์ (active efflux) นอกจากนี้การลดการนำยาเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียอาจเกิดจากปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียโดยตรง เช่น การสร้าง biofilm ใน coaglase-negatie *Staphylococcus* spp. หรือปัจจัยที่เกี่ยวกับยา เช่น ขนาดโมเลกุลที่ใหญ่ มีประจุไฟฟ้าไม่เหมาะสม การไม่ละลายน้ำ (hydrophobicity) เป็นต้น[14]

การพัฒนาของการดื้อต่อยาปฏิชีวนะด้วยการเร่งกระบวนการขับออกนอกเซลล์ (multidrug resistant pump; MDRp) เป็นกระบวนการป้องกันเซลล์ของแบคทีเรีย โดยการลดการสะสมของสารต้านแบคทีเรียภายในเซลล์ การขับยาออกนอกเซลล์ใช้พลังงานจาก ATP hydrolysis และ ion gradient โดยสามารถแบ่งกลุ่มของ MDRp ออกได้เป็น 5 กลุ่มใหญ่ๆ (รูปที่ 3ก)[42,43] คือ (ก) the major facilitator superfamily (MFS) เป็นช่องทางนำขนส่งสารที่มีความหลากหลายมาก สามารถขนส่งสารได้หลายกลุ่ม เช่น กรดอะมิโน น้ำตาลชนิดต่างๆ และยาปฏิชีวนะหลายชนิด MDRp ที่สำคัญๆ ที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ NorA และ QacA ของ *S. aureus* ซึ่งจะขับ quaternary amine compounds, chlorhexidine, fluoroquinolones และ chloramphenical เป็นต้น PmrA ของ *Streptococcus pneumoniae* ซึ่งจะขับ fluoroquinolones และ LfrA ของ *Mycobacterium smegmatis* ซึ่งจะขับ quaternary amine compounds, acriflavin, และ fluoroquinolones เป็นต้น (ข) the small multidrug resistance family (SMR) เป็น MDRp ที่กลุ่มเล็กที่สุดสามารถขับสารออกได้น้อยชนิด โดยส่วนใหญ่จะเป็นสารเคมีที่นิยมใช้ฆ่าเชื้อเช่น benzalkonium chloride หรือ cetyltrimethylammonium bromide แต่จะไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ เช่น Smr ใน *S. aureus* เป็นต้น (ค) resistance-nodulation-division family (RND) เป็น MDRp กลุ่มที่มีความสำคัญมากในแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *E. coli, P. aeruginosa* และ *A. baumannii* เป็นต้น ทำหน้าที่ขับสารออกได้หลายกลุ่ม ได้แก่ โลหะ เช่น cobalt, zinc, cadmium, และ nickel ยาปฏิชีวนะ เช่น ยากลุ่ม beta-lactam, ยากลุ่ม fluoroquinolones, chloramphenical, erythromycin, aminocoumarins และ tetracycline เป็นต้น สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ เช่น sodium dodecylsulfate และ triclosan นับเป็นกลุ่มของ MDRp ที่ได้รับความสนใจศึกษาวิจัยเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นกลไกหลักที่ทำให้เกิดการดื้อยาในแบคทีเรียแกรมลบ (ง) ATP-binding cassette family (ABC) เป็นกลุ่มของ MDRp ที่มีความแตกต่างจากทุกกลุ่มข้างต้น เนื่องจากกลุ่มนี้ใช้พลังงานจากการสลาย ATP ในการขับสารหรือยาปฏิชีวนะออกจากเซลล์ ตัวอย่างที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ LmrA ใน *Lactococcus lactis* ทำหน้าที่ขับ ethidium bromide และ daunomycin เป็นต้น (จ) multidrug and toxic compound extrusion family (MATE) เป็น MDRp ปัจจุบันพบรายงานเฉพาะในแบคทีเรียแกรมลบ ตัวอย่างเช่น



รูปที่ 3 (ก) ความแตกต่างระหว่างชนิดและโครงสร้างของ efflux pump ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ สามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม คือ (A/E) the major facilitator superfamily (MFS) (B) the small multidrug resistance family (SMR) (C) ATP-binding cassette family (ABC) (D) resistance-nodulation-division family (RND) (F) multidrug and toxic compound extrusion family (MATE) และโครงสร้างเป้าหมายของสารลดการดื้อยาที่มีกลไกเพิ่มการสะสมของยาภายในเซลล์แบคทีเรีย (ข)

NorM ของแบคทีเรียกลุ่ม *Neisseria gonorrhoeae, N. meningitidis* และ *Vibrio parahaemolyticus* ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้แบคทีเรียกลุ่มนี้ดื้อต่อยาปฏิชีวนะกลุ่ม fluoroquinolones เป็นต้น[44,45] จากความสามารถของ MDRp ซึ่งส่งผลให้เกิดการดื้อยาได้หลากหลายชนิด จึงทำให้เกิดความพยายามในการหยุดกระบวนการขนส่งออกของ MDRp เพื่อเพิ่มความไวของแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ โดย Munoz-Price และ Weinstein (2008)[46] ได้เสนอแนะแนวทางไว้ 6 แนวทาง (รูปที่ 3ข) ได้แก่ (ก) ยับยั้ง/

เปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ gene ที่ส่งผลต่อผลิต MDRp (ข) ยับยั้งกระบวนการสร้างโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของ MDRp (ค) ยับยั้งการขับสารออกบริเวณ OM (ง) ทำลายแหล่งพลังงาน (จ) สร้างสารชนิดอื่นมาแย่งจับกับ MDRp แทนยาปฏิชีวนะ (ฉ) เปลี่ยนโครงสร้างของยาปฏิชีวนะเพื่อไม่ให้จับกับ MDRp การศึกษาสารจากพืชเพื่อใช้ในการยับยั้ง MDRp (efflux pump inhibitor; EPI) พบว่ากำลังเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน (ตารางที่ 3) การศึกษาส่วนใหญ่ทำการทดลองในระดับหลอดทดลองและมุ่งเน้นการพัฒนา EPI สำหรับแบคทีเรียแกรมบวก และปัจจุบันยังไม่มีรายงานการทดลองใช้ในสัตว์ทดลองหรือในมนุษย์

5'-methoxyhydnocarpin-D (5'MHC-D) เป็นสารจากพืชกลุ่ม Berberis ชนิดแรกที่นักวิจัยให้ความสนใจศึกษาคุณสมบัติในการเป็น EPI เนื่องจากสามารถเพิ่มการสะสมของ berberine ภายในเซลล์ *S. aureus* ทำให้ berberine สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ และเมื่อทดสอบต่อโดยใช้ยาปฏิชีวนะ พบว่า 5'MHC-D สามารถลดการดื้อต่อยา ciprofloxacin ของ *S. aureus, E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานของสาร pheophorbide a ซึ่งแยกได้จากพืชกลุ่มเดียวกันนี้มีความสามารถในการเป็น EPI ได้เช่นเดียวกับ 5'MHC-D สารกลุ่ม polyphenols เป็นอีกกลุ่มที่ได้รับความสนใจศึกษาคุณสมบัติในการเป็น EPI Roccaro และคณะ (2004)[48] พบว่า EGCg สามารถยับยั้งการทำงานของ Tet (K) และเพิ่มความไวของ MRSA ต่อยา tetracycline หรือ ellagic acid ที่สามารถพบในพืชหลายชนิด แม้ไม่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียแต่มีความสามารถในการเป็นสารลดการดื้อยาของ MDR *A. baumannii* ต่อยาหลายชนิด[23] สาร diterpenes จาก *Lycopus europaeus* สามารถเพิ่มประสิทธิผลให้กับ tetracycline และ erythromycin ในการยับยั้ง *S. aureus* สายพันธุ์ที่มีการแสดงออกของ multidrug efflux pump ชนิด Tet (K) และ Msr (A)[54] สาร 2,6-dimethyl-4-phenylpyridine-3,5-dicarboxylic acid diethyl ester จาก *Jatropha elliptica* สามารถยับยั้งการทำงานของ NorA ใน NorA resistant *S. aureus* ส่งผลในแบคทีเรียดังกล่าวมีความไวต่อ ciprofloxacin, norfloxacin และ pefloxacin เพิ่มมากขึ้น[52] ตัวอย่างเหล่านี้แสดงให้เห็นเป็นอย่างดีว่าสารจากพืช เป็นแหล่งสำคัญในการวิจัยเพื่อพัฒนาเป็นสารลดการดื้อยา

ในแบคทีเรียแกรมลบจะมีเยื่อหุ้มด้านนอกผนังเซลล์ (outer membrane; OM) อีกชั้น โดยมีองค์ประกอบสำคัญคือ lipopolysaccharide (LPS) สร้างสภาวะด้านนอกผนังเซลล์เป็น hydrophilic surface ทำหน้าที่เป็นแนวป้องกันทางธรรมชาติคัดเลือกไม่ให้สารกลุ่มที่เป็น hydrophobic ผ่านเข้ามาได้ (รูปที่ 2ข) นอกจากนี้ด้านนอกผนังเซลล์ ยังประกอบด้วยโปรตีนซึ่งประกอบกันเป็นช่องทางผ่านเข้าออกของสาร (outer membrane protein; OMP) เช่น porin ความสมดุลของ OM นั้นเกิดจากการรักษาสมดุลของไอออนระหว่าง LPS และ OMP งานวิจัยชี้ให้เห็นว่าการรบกวนสมดุลของไอออนนี้จะส่งผลต่อความไวของแบคทีเรียต่อสารหลายชนิด การใช้ EDTA รบกวนไอออนบน OM ของ *P. aeruginosa* ช่วยลดการดื้อของแบคทีเรียนี้ต่อยาหลายชนิด เช่น ampicillin, chloramphenicol, oxytetracycline, streptomycin, oxacillin, และ cefamandole เป็นต้น[63-65] คุณสมบัติเช่นเดียวกันนี้พบในสารจากพืช เช่น essential oils (thymol และ

ตารางที่ 3 ตัวอย่างสารลดการดื้อยาจากพืชที่ออกฤทธิ์ช่วยเพิ่มการสะสมของยาภายในเซลล์แบคทีเรีย

Medicinal plants (Target sites)	Active constituents/ Active extracts	Antibiotics	Pathogens
Berberis aetnensis[47] (Efflux pump inhibitor: EPI)	5′-methoxyhydnocarpin-D (5′ MHC-D) (รูปที่ 2ฌ)	ciprofloxacin	*Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus aureus*
Berberis trifoliolata[17]	pheophorbide a (รูปที่ 2ญ)	ciprofloxacin	*E. coli* *P. aeruginosa* *S. aureus*
Camellia sinensis[48] (EPI)	epigallocatechin gallate	tetracycline	*S. aureus*
Carpobrotus edulis[49] (EPI)	uvaol (รูปที่ 2ฎ)	tetracycline ciprofloxacin oxacillin	Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA)
Chamaecyparis lawsoniana[50] (EPI)	furruginol (รูปที่ 2ฏ)	NA	Multidrug resistant (MDR) *S. aureus*
Ipomoea pes-caprae[51] (EPI)	pescaprein XVIII (รูปที่ 2ฐ)	norfloxacin	MDR *S. aureus*
Jatropha elliptica[52] (EPI)	2,6-dimethyl-4-phenylpyridine-3,5-dicarboxylic acid diethyl ester (รูปที่ 2ฑ)	ciprofloxacin norfloxacin pefloxacin	NorA resistant *S. aureus*
Levisticum officinale[53] (EPI)	chloroform extract linoleic acid falcarindiol	ciprofloxacin	*Salmonella enterica* serotype Typhimurium
Lycopus europaeus[54] (EPI)	diterpenes (รูปที่ 2ฒ)	tetracycline erythromycin	MDR *S. aureus*
Mirabilis jalapa[55] (EPI)	N-trans-feruloyl 4′-O-methyldopamine (รูปที่ 2ณ)	norfloxacin	NorA resistant *S. aureus*
Momordica balsamina[56] (EPI)	balsaminoside A (รูปที่ 2ด)	NA	MRSA
	balsaminagenin B (รูปที่ 2ต)	NA	*Enterococcus faecalis*
Piper nigrum[57] *Piper longum* (EPI)	piperine (รูปที่ 2ถ)	ciprofloxacin	MRSA
Quercus infectoria[23] (EPI)	ellagic acid (รูปที่ 2ท)	novobiocin coumermycin chlorobiocin rifampicin fusidic	multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* (MDRAB)
Rhus coriaria[58] (EPI)	ethanol extract	cephalexin sulfadimethoxine enrofloxacin oxytetracycline	MDR *P. aeruginosa*
Rosmarinus officinalis[59] (EPI)	carnosic acid (รูปที่ 2ธ)	erythromycin	*S. aureus*
	carnosol (รูปที่ 2น)	erythromycin	*S. aureus*
Scutellaria baicalensis[60,61] (EPI)	baicalein (รูปที่ 2บ)	ciprofloxacin oxytetracycline tetracycline	MRSA
Thymus maroccanus *T. broussonetii*[62] (EPI and/or permeabilizer)	essential oils	chloramphenical	*S. Typhimurium* *P. aeruginosa*

NA; Not applicable

carvacrol)[64] หรือ essential oils จาก *Thymus marocanus* และ *Thymus broussonetii* ซึ่งลดการดื้อต่อยา chloramphenical ของ *S. Typhimurium* และ *P. aeruginosa* เป็นต้น[61]

บทส่งท้าย

การใช้สารลดการดื้อยาทำให้ยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์ได้กว้างขึ้น สามารถใช้ในการรักษาโรคได้นานขึ้น และลดปัญหาในการเกิดแบคทีเรียดื้อยา ดังนั้น ธรรมชาติโดยเฉพาะพืชสมุนไพรซึ่งมีการศึกษาเกี่ยวกับสารองค์ประกอบสำคัญมาเป็นเวลานาน จึงเป็นแหล่งที่น่าสนใจของการศึกษาสารลดการดื้อยาเพื่อนำมาใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะ เพื่อเพิ่มประสิทธิผลให้กับยา ลดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้เชื้อที่ดื้อยาแล้วกลับมาไวต่อยาและลดการอุบัติใหม่ของสายพันธุ์ดื้อยาได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Johnson AP. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus:* the European landscape. J Antimicrob Chemother 2011; 66:iv43-iv48.
2. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001;14:933-951.
3. Anunnatsiri S, Tonsawan P. Risk factors and clinical outcomes of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia at a university hospital in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2011;42:693-703.
4. Evans BA, Hamouda A, Abbasi SA, Khan FA, Amyes SG. High prevalence of unrelated multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Pakistani military hospitals. Int J Antimicrob Agents 2011;37:580-581.
5. Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. Int J Med Microbiol 2010;300:371-9.
6. Speer BS, Shoemaker NB, Salyers AA. Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. Clin Microbiol Rev 1992;5:387-99.
7. Stapleton PD, Taylor PW. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus:* mechanisms and modulation. Sci Prog 2002;85:57-72.
8. Wright GD. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. Adv Drug Deliv Rev 2005; 57:1451-1470.
9. Hemaiswarya S, Doble M. Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria. Phytomedicine 2009;16:997-1005.
10. Wagner H. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. Fitoterapia 2010; 82:34-7.
11. Wagner H, Ulrich-Merzenich G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. Phytomedicine 2009;16:97-110.
12. McCormack PL, Keating GM. Amoxicillin/clavulanic acid 2000mg/125mg extended release (XR): a review of its use in the treatment of respiratory tract infections in adults. Drugs 2005;65:121-36.
13. Sanchez Navarro A. New formulations of amoxicillin/clavulanic acid: a pharmacokinetic and pharmacodynamic review. Clin Pharmacokinet 2005;44:1097-115.
14. Sheldon AT Jr. Antibiotic resistance: a survival strategy. Clin Lab Sci 2005;18:170-80.
15. Estes K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections. Impacting patient care. Crit Care Nurs Q 2011;34:101-9.
16. Stermitz FR, Lorenz P, Tawara JN, Zenewicz LA, Lewis K. Synergy in a medicinal plant: antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydnocarpin, a multidrug pump inhibitor. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97:1433-7.
17. Stermitz FR, Tawara-Matsuda J, Lorenz P, Mueller P, Zenewicz L, Lewis K. 5'-Methoxyhydnocarpin-D and pheophorbide A: Berberis species components that potentiate berberine growth inhibition of resistant *Staphylococcus aureus*. J Nat Prod 2000;63:1146-9.
18. Lewis K, Ausubel FM. Prospects for plant-derived antibacterials. Nat Biotechnol 2006;24:1504-7.
19. Ball AR, Casadei G, Samosorn S, Bremner JB, Ausubel FM, Moy TI, et al. Conjugating berberine to a multidrug efflux pump inhibitor creates an effective antimicrobial. ACS Chem Biol 2006;1:594-600.
20. Bonapace CR, Bosso JA, Friedrich LV, White RL. Comparison of methods of interpretation of checkerboard synergy testing. Diagn Microbiol Infect Dis 2002;44:363-

6.

21. Bonapace CR, White RL, Friedrich LV, Bosso JA. Evaluation of antibiotic synergy against *Acinetobacter baumannii:* a comparison with E-test, time-kill, and checkerboard methods. Diagn Microbiol Infect Dis 2000;38:43-50.
22. White RL, Burgess DS, Manduru M, Bosso JA. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:1914-1918.
23. Chusri S, Villanueva I, Voravuthikunchai SP, Davies J. Enhancing antibiotic activity: a strategy to control Acinetobacter infections. J Antimicrob Chemother 2009; 64:1203-11.
24. Wagner H. Synergy research: a new approach to evaluating the efficacy of herbal mono-drug extracts and their combinations. Nat Prod Commun 2009;4:303-4.
25. Danziger LH, Pendland SL. Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics. Am J Health Syst Pharm 1995;52:S3-8.
26. Hu ZQ, Zhao WH, Hara Y, Shimamura T. Epigallocatechin gallate synergy with ampicillin/sulbactam against 28 clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.* J Antimicrob Chemother 2001;48:361-4.
27. Eumkeb G, Sakdarat S, Siriwong S. Reversing beta-lactam antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* with galangin from *Alpinia officinarum* Hance and synergism with ceftazidime. Phytomedicine 2010;18:40-5.
28. Gangoue-Pieboji J, Baurin S, Frere JM, Ngassam P, Ngameni B, Azebaze A, et al. Screening of some medicinal plants from cameroon for beta-lactamase inhibitory activity. Phytother Res 2007;21:284-7.
29. Hu ZQ, Zhao WH, Asano N, Yoda Y, Hara Y, Shimamura T. Epigallocatechin gallate synergistically enhances the activity of carbapenems against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.* Antimicrob Agents Chemother 2002;46:558-60.
30. Zhao WH, Hu ZQ, Hara Y, Shimamura T. Inhibition of penicillinase by epigallocatechin gallate resulting in restoration of antibacterial activity of penicillin against penicillinase-producing *Staphylococcus aureus.* Antimicrob Agents Chemother 2002;46:2266-8.
31. Mandal S, DebMandal M, Pal NK, Saha K. Synergistic anti-*Staphylococcus aureus* activity of amoxicillin in combination with *Emblica officinalis* and *Nymphae odorata* extracts. Asian Pacific J Trop Med 2010;3:711-714.
32. Yang Z, Niu Y, Le Y, Ma X, Qiao C. Beta-lactamase inhibitory component from the roots of *Fissistigma cavaleriei*. Phytomedicine 2009;17:139-41.
33. Chusri S, Voravuthikunchai SP. Detailed studies on *Quercus infectoria* Olivier (nutgalls) as an alternative treatment for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. J Appl Microbiol 2009;106:89-96.
34. Stapleton PD, Shah S, Ehlert Y, Hara Y, Taylor PW. The beta-lactam-resistance modifier epicatechin gallate alters the architecture of the cell wall of *Staphylococcus aureus.* Microbiol 2007;153:2093-103.
35. Stepleton PD, Shah S, Hara Y, Taylor PW. Potentiation of catechin gallate-mediated sensitization of *Staphylococcus aureus* to oxacillin by nongalloylated catechins. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:752-5.
36. Yam TS, Shah S, Hamilton-Miller JM. Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. FEMS Microbiol Lett 1997;152:169-74.
37. Stapleton PD, Shah S, Ehlert K, Hara Y, Taylor PW. The beta-lactam-resistance modifier (-)-epicatechin gallate alters the architecture of the cell wall of *Staphylococcus aureus.* Microbiology 2007;153:2093-103.
38. Zhao WH, Hu ZQ, Okubo S, Hara Y, Shimamura T. Mechanism of synergy between *epigallocatechin gallate* and beta-lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.* Antimicrob Agents Chemother 2001;45:1737-42.
39. Shibata H, Kondo K, Katsuyama R, Kawazoe K, Sato Y, Murakami K, Takaishi Y, Arakaki N, Higuti T. Alkyl gallates, intensifiers of beta-lactam susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:549-55.
40. Oonmetta-aree H, Suzuki T, Gasaluck P, Eumkeb G. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus.* LWT-Food Sci Technol 2006;39:1214-1220.
41. Sato M, Tanaka H, Yamaguchi R, Kato K, Etoh H. Synergistic effects of mupirocin and an isoflavanone isolated from Erythrina variegata on growth and recovery of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents 2004;24:241-6.
42. De Kievit TR, Parkins MD, Gillis RJ, Srikumar R, Ceri H, Poole K, et al. Multidrug efflux pumps: expression patterns and contribution to antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:1761-70.
43. Poole K. Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. Symp Ser Soc Appl Microbiol 2002;55S-64S.
44. Nikaido H. Multiple antibiotic resistance and efflux. Current

Opinion in Microbiology 1998;1:516-523.

45. Rouquette-Loughlin C, Dunham SA, Kuhn M, Balthazar JT, Shafer WM. The NorM efflux pump of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis* recognizes antimicrobial cationic compounds. J Bacteriol 2003; 185:1101-6.
46. Munoz-Price L, Weinstein RA. Acinetobacter infection. N Engl J Med 2008;358:1271-1281.
47. Musumeci R, Speciale A, Costanzo R, Annino A, Ragusa S, Rapisarda A, et al. *Berberis aetnensis* C. Presl. extracts: antimicrobial properties and interaction with ciprofloxacin. Int J Antimicrob Agents 2003;22:48-53.
48. Sudano Roccaro A, Blanco AR, Giuliano F, Rusciano D, Enea V. Epigallocatechin-gallate enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:1968-73.
49. Martins A, Vasas A, Viveiros M, Molnar J, Hohmann J, Amaral L. Antibacterial properties of compounds isolated from *Carpobrotus edulis*. Int J Antimicrob Agents 2011; 37:438-44.
50. Smith EC, Williamson EM, Wareham N, Kaatz GW, Gibbons S. Antibacterials and modulators of bacterial resistance from the immature cones of *Chamaecyparis lawsoniana*. Phytochemistry 2007;68:210-7.
51. Escobedo-Martinez C, Cruz-Morales S, Fragoso-Serrano M, Rahman MM, Gibbons S, Pereda-Miranda R. Characterization of a xylose containing oligosaccharide, an inhibitor of multidrug resistance in *Staphylococcus aureus,* from *Ipomoea pescaprae*. Phytochemistry 2010; 71:1796-801.
52. Marquez B, Neuville L, Moreau NJ, Genet JP, dos Santos AF, Cano de Andrade MC, et al. Multidrug resistance reversal agent from *Jatropha elliptica*. Phyto-chemistry 2005;66:1804-11.
53. Garvey MI, Rahman MM, Gibbons S, Piddock LJ. Medicinal plant extracts with efflux inhibitory activity against Gram-negative bacteria. Int J Antimicrob Agents 2011;37:145-51.
54. Gibbons S, Oluwatuyi M, Veitch NC, Gray AI. Bacterial resistance modifying agents from *Lycopus europaeus*. Phytochemistry 2003;62:83-7.
55. Michalet S, Cartier G, David B, Mariotte AM, Dijoux-franca MG, Kaatz GW, et al. N-caffeoylphena-lkylamide derivatives as bacterial efflux pump inhibitors. Bioorg Med Chem Lett 2007;17:1755-8.
56. Ramalhete C, Spengler G, Martins A, Martins M, Viveiros M, Mulhovo S, et al. Inhibition of efflux pumps in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* resistant strains by triterpenoids from *Momordica balsamina*. Int J Antimicrob Agents 2011;37:70-4.
57. Sangwan PL, Koul JL, Koul S, Reddy MV, Thota N, Khan IA, et al. Piperine analogs as potent *Staphylococcus aureus* NorA efflux pump inhibitors. Bioorg Med Chem 2008; 16:9847-57.
58. Adwan G, Abu-Shanab B, Adwan K. Antibacterial activities of some plant extracts alone and in combination with different antimicrobials against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. Asian Pac J Trop Med 2010;3:266-266.
59. Oluwatuyi M, Kaatz GW, Gibbons S. Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. Phytochemistry 2004;65:3249-54.
60. Chan BC, Ip M, Lau CB, Lui SL, Jolivalt C, Ganem-Elbaz C, et al. Synergistic effects of baicalein with ciprofloxacin against NorA over-expressed methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and inhibition of MRSA pyruvate kinase. J Ethnopharmacol 2011;137:767-73.
61. Novy P, Urban J, Leuner O, Vadlejch J, Kokoska L. In vitro synergistic effects of baicalin with oxytetracycline and tetracycline against *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 2011;66:1298-1300.
62. Fadli M, Chevalier J, Saad A, Mezrioui NE, Hassani L, Pages JM. Essential oils from Moroccan plants as potential chemosensitisers restoring antibiotic activity in resistant Gram-negative bacteria. Int J Antimicrob Agents 2011; 38:325-30.
63. Farca AM, Nebbia P, Re G. Potentiation of the *in vitro* activity of some antimicrobial agents against selected gram-negative bacteria by EDTA-tromethamine. Vet Res Commun 1993;17:77-84.
64. Helander IM, Alakomi H-L, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid EJ, et al. Characteriza-tion of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. J Agric Food Chem 1998;46:3590-3595.
65. Lambert RJ, Hanlon GW, Denyer SP. The synergistic effect of EDTA/antimicrobial combinations on *Pseudomonas aeruginosa.* J Appl Microbiol 2004;96:244-53.

Abstract

Resistance-Modifying Agents: New Trends in the Utilization of Medicinal Plants

Sasitorn Chusri

Faculty of Traditional Thai Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112

Corresponding author: sasitorn.chu@psu.ac.th

Multidrug-resistant gram-positive and gram-negative bacteria are major causes for hospital-related infections and deaths. Moreover, the lack of effective antibiotics against such pathogens results in high mortality rates. Resistance-modifying agents (RMAs) can be co-administered with antibiotics to treat bacterial infections. The advantages of the combinations are to decrease the degree of drug resistance of the bacteria as well as reduce the emergence of drug-resistant bacterial strains. It is rather difficult and expensive to develop new drugs; therefore, the application of RMAs becomes important to find new approaches to reduce the increase in resistance to antibiotics by pathogens. The aim of this review is to present an overview of the continuing central role of medicinal plants and medicinal plant-derived compounds in the discovery and development of RMAs. Selected examples of 28 medicinal plants and medicinal plant-derived compounds are discussed. A brief overview of plant secondary metabolites as modifiers of multidrug resistance mechanisms was additionally described including (i) inhibition of antibiotic-degrading enzymes, (ii) inhibition of antibiotic-bacterial receptor modifications, and (iii) increasing drug accumulation. The review additionally reveals some promising medicinal plants such as *Alpinia officinarum, Camellia sinensis,* and *Quercus infectoria* that have been proposed to possess multiple resistance-modifying mechanisms. Interestingly, medicinal plants that inhibit bacterial efflux pumps and increase bacterial membrane permeability can reduce the resistance of gram-negative bacteria to a wide variety of antimicrobial agents. Effective RMAs that are natural-derived compounds will be a new and alternative approach to using natural products and a new method of suppressing resistance mechanisms of bacteria, particularly multidrug-resistant strains.

Key words: **medicinal plants, resistance-modifying agent, antibiotic resistance, synergism**