



ฤทธิ์ต้าน *Candida albicans* ของสารสำคัญจากผลยอ

จิรากรณ สุวรรณชาติ¹, ภัฏพล คำธ ¹, วิสวรรณ ทนุแดง ¹, มณฑล เลิศคนาวณิชกุล^{2,3*}

บทคัดย่อ

ผลยอเป็นพืชสมุนไพรในตำรายาโบราณของไทยที่มีรายงานว่าใช้ได้ผลในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียและโรคติดเชื้อราต่าง ๆ รวมทั้งโรคติดเชื้อรา *Candida* และเพื่อยืนยันถึงฤทธิ์ดังกล่าวจึงได้ศึกษาฤทธิ์ต้าน *C. albicans* จำนวน 4 สายพันธุ์ (TISTR 5239, TISTR 5779, BCC 6120 และ Clinical isolate) ของสารสำคัญที่ได้จากผลยอในท้องถิ่นภาคใต้ของไทย ทั้งที่เป็นสารสำคัญจากผลยอสุก และจากการสกัดผลยอและแผ่นยอด้วยเอทานอล 80 % จากผลห่าม เมื่อศึกษาโดยวิธี agar well diffusion และวิธี broth microdilution พบว่าสารสำคัญจากผลยอทุกรูปแบบที่มีระดับความเข้มข้น 120 หรือ 240 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ทุกสายพันธุ์ที่นำมาศึกษา ให้ค่าบริเวณใสของการยับยั้งเชื้อราอยู่ในช่วง 14.0 ± 0.0 ถึง 20.0 ± 0.0 มม. และ 18.0 ± 0.0 ถึง 23.5 ± 0.5 มม. ตามลำดับ เมื่อศึกษาโดยวิธี agar well diffusion ซึ่งให้ค่าบริเวณใสของการยับยั้งเชื้อราใกล้เคียงกับยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B (10 มก./มล), ketoconazole (15 มก./มล.), nystatin (50 มก./มล.) และ fluconazole (25 มก./มล.) สำหรับการทดสอบโดยวิธี broth microdilution พบว่าสารสำคัญที่ได้จากผลยอทุกรูปแบบสามารถฆ่าเชื้อรา *C. albicans* ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษา โดยมีระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อราอยู่ในช่วง 0.94 ถึง 15.00 มก./มล. นอกจากนี้ยังพบว่าสารสำคัญที่ได้จากผลยอแสดงฤทธิ์ร่วมกับยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงน่าจะเป็นไปได้ที่จะนำสารสำคัญที่ได้จากผลยอไปใช้ร่วมกับยาเคมีต้านเชื้อราเพื่อใช้เป็นแนวทางในการรักษาโรคติดเชื้อราในคลินิกได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: ผลยอ, ฤทธิ์ต้านรา, *Candida albicans*

¹นักศึกษาระดับปริญญาตรี ²สาขาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์

³หน่วยวิจัยการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช 80161

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Anti-*Candida albicans* activity of active substances derived from *Morinda citrifolia* fruit

Jeeraporn Suwanchatree¹, Nattapon Khamtorn¹, Weerawan Noodang¹, Monthon Lertcanawanichakul^{2,3} *

Abstract

Morinda citrifolia (Yor in Thai) fruit is a kind of herb used in a traditional Thai medicine recipe. It has been reported to treat bacterial infections and/or fungal diseases, including candidiasis. The antimicrobial activity, especially anti-*Candida* activity was examined by means of agar well diffusion method and broth microdilution method, using 4 strains of *C. albicans* (TISTR 5239, TISTR 5779, BCC 6120 and clinical isolate) as indicating strains. The *M. citrifolia* fruit from southern region of Thailand was collected and used as source of active substances (AS), classified as 1) AS derived from ripe *M. citrifolia* fruit 2) AS derived from powder-*M. citrifolia* fruit extracted with 80 % ethanol and 3) AS derived from sheet-*M. citrifolia* fruit extracted with 80 % ethanol. It indicated that all types of AS from *M. citrifolia* fruit at a concentration of 120 or 240 mg/ml could inhibit the growth of *C. albicans* with an inhibition zone in the range of 14.0 ± 0.0 to 20.0 ± 0.0 mm and 18.0 ± 0.0 to 23.5 ± 0.5 mm, respectively when they were tested by agar well diffusion method. The inhibition zone was appeared as closely as the inhibition zone obtained by antifungal drugs; amphotericin B (10 µg/ml), ketoconazole (15 µg/ml), nystatin (50 µg/ml) and fluconazole (25 µg/ml). The minimum fungicidal concentration (MFC) against *C. albicans* obtained in the range of 0.94 to 15.00 mg/ml when tested by the broth microdilution method. Interestingly, it was also found that all types of AS derived from *M. citrifolia* fruit and amphotericin B showed synergistically effect against *C. albicans*. It implied that AS derived from *M. citrifolia* fruit may be efficaciously used in combination with antifungal drug for therapeutic or prophylaxis activity of fungal infections in the clinical trial.

Keywords: *Morinda citrifolia* Fruit, Anti fungal activity, *Candida albicans*

¹Undergraduate Medical Technology students,

²Division of Medical Technology, School of Allied Health Sciences and Public Health,

³Utilization of Natural Products Research Unit, School of Sciences, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80161

*Corresponding author (e-mail : lmonthon@wu.ac.th)

บทนำ

เชื้อรา *Candida* ที่ก่อโรคในมนุษย์มีประมาณ 11 สปีชีส์ และที่พบเป็นสาเหตุหลักของโรคติดเชื้อรา คือ *Candida albicans* ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบในคนปกติที่บริเวณเยื่อในช่องปาก ลำคอ ลำไส้ และอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศหญิง โดยจะไม่ก่อโรคในผู้ที่สุขภาพดี แต่ในผู้ที่ได้รับการรักษาด้วยยากดภูมิคุ้มกัน รังสีบำบัด เคมีบำบัด และผู้ที่ใช้ยาสวนเป็นเวลานาน รวมถึงในผู้ป่วยโรคเอดส์ สามารถก่อให้เกิดโรคได้กับเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายและเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อราวยโอกาสในโรงพยาบาลในกลุ่มอาการของโรค candidiasis^(1, 2) นอกจากนี้เชื้อรา *Candida* ยังทำให้เกิดการติดเชื้อในช่องปากให้ลักษณะทางคลินิกคือ ฝ้าขาวในช่องปาก (oral thrush) มักพบได้ในทารกเนื่องจากภูมิคุ้มกันต่อเชื้อยังไม่เพียงพอ ส่วนรายที่ใส่ฟันปลอม ฟันปลอมอาจทำให้เกิดแผลขึ้นก่อน จากนั้นเชื้อรา *Candida* ที่มีอยู่ในช่องปากเจริญลุกลามก่อโรคขึ้นเรียกว่า denture stomatitis (chronic atrophic candidosis) มีการอักเสบของเนื้อเยื่อชั้นใต้เยื่อ เกิดแผลอักเสบเรื้อรังที่รอยต่อของขอบเหงือกกับฟันปลอม มักมีอาการเจ็บเล็กน้อยและแสบเมื่อรับประทานอาหารรสจัด⁽³⁾ โดยที่การควบคุมและรักษาโรคติดเชื้อรา *Candida* ยังมีข้อจำกัดของยาเคมีต้านเชื้อราที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งมีความเป็นพิษและผลข้างเคียงจากสารเคมีมีราคาสูง^(4, 5) และหากรักษาด้วยยาเคมีต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานอาจทำให้เกิดปัญหาเชื้อดื้อยาและส่งผลให้เกิดการติดเชื้อซ้ำ รวมถึงส่งผลข้างเคียงต่อตับและไต⁽⁶⁾ จึงได้มีความพยายามหาแนวทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคติดเชื้อรา *Candida* ด้วยสมุนไพรชนิดต่าง ๆ เช่น มีวิจัยพบว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดของประเทศอิหร่านมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ได้อย่างค่อนข้างมีประสิทธิภาพ⁽⁴⁾ แต่พืชสมุนไพรดังกล่าวนี้หาได้ยากหรือบางชนิดไม่มีอยู่ในประเทศไทย อย่างไรก็ตามมีวิจัยอยู่บ้างเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ของพืชสมุนไพรในตำรับยาโบราณของประเทศไทยและพบว่าส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพรแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา รวมทั้งแบคทีเรียแตกต่างกันออกไป โดยที่ฤทธิ์ต้าน จุลชีพของสารสกัดจากผลยอมาจากองค์ประกอบของ phenolic ร่วมกับ acubin, Lasperuloside, alizarin, scopoletin, และ anthraquinones อื่นๆ⁽⁶⁾ และยังพบว่าสารสำคัญจากผลยอสุกมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ได้อย่างค่อนข้างมีประสิทธิภาพ โดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเชื้อรา *C. albicans* จากเซลล์ยีสต์

ไปเป็นเซลล์ราสาย (filamentous form) และที่น่าสนใจคือผลยอแก่และสุก รวมทั้งวิธีการต่างๆ ที่นำไปใช้ในการสกัดสารสำคัญจากผลยอทำให้ได้สารสำคัญออกฤทธิ์ในการต้านจุลชีพได้แตกต่างกัน⁽⁷⁾ อย่างไรก็ตามนอกจากวิธีการสกัดสารสำคัญจากผลยอจะทำให้ได้สารออกฤทธิ์แตกต่างกันแล้วยังขึ้นอยู่กับสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ภายในผลยอมีความแตกต่างกันในแต่ละภูมิภาคของโลก⁽⁸⁾ รวมทั้งผลยอในแต่ละฤดูกาลก็อาจจะมีสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันทั้งในด้านปริมาณสารสำคัญและ/หรือชนิดของสารสำคัญที่สกัดได้จากผลยอ ซึ่งอาจเป็นผลให้สารสกัดจากผลยอออกฤทธิ์ในการต้านจุลชีพได้แตกต่างกัน แม้จะสกัดด้วยวิธีเดียวกันก็ตาม อีกทั้งในประเทศไทยมีเพียงรายงานการศึกษาถึงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดผลยอ⁽⁸⁾ แต่รายงานการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านเชื้อรายังมีอยู่น้อย⁽⁶⁾ ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้นจึงทำให้มีความสนใจศึกษาผลยอในท้องถิ่นภาคใต้ของประเทศไทยที่เก็บเกี่ยวในช่วงคาบเกี่ยวของปลายฤดูร้อนถึงต้นฤดูฝน (เมษายน-กรกฎาคม) เพื่อนำไปสกัดหาสารสำคัญออกฤทธิ์เดียวในการต้านเชื้อรา *C. albicans* พร้อมทั้งศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ร่วมกับยาเคมีในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อราดังกล่าวเพื่อให้ได้ข้อมูลทางด้านวิทยาศาสตร์มาสนับสนุนเกี่ยวกับการใช้ผลยอในการรักษาโรคติดเชื้อรา รวมทั้งอาจนำไปประยุกต์ใช้งานจริงได้ในคลินิกเพื่อทดแทนการใช้ยาเคมีอย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. ผลยอ

เก็บผลยอสุกและผลยอห่ามจากจังหวัดพัทลุง ประเทศไทย ไปล้างด้วยน้ำให้สะอาดและแยกส่วนที่ไม่ต้องการทิ้งไป ได้แก่ ใบ และขั้วผล เป็นต้น

2. เชื้อราทดสอบ (test fungi)

เชื้อรา *Candida albicans* จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ TISTR 5239, TISTR 5779 (Thailand Institute of Scientific and Technological Research), BCC 6120 (BIOTEC Culture Collection) และเชื้อที่แยกได้จากช่องปากผู้ป่วย (clinical isolate) (โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จังหวัดนครศรีธรรมราช ประเทศไทย) เชื้อราทุกสายพันธุ์นำไปทดสอบการถูกยับยั้งการเจริญด้วยสารสำคัญจากผลยอ โดยวิธีการซึมผ่านของสารเข้าเนื้อวุ้น (agar well diffusion) และโดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว (microbroth dilution)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

Sabouraud dextrose (SD) (Difco, Detroit, MI) ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อราและ/หรือใช้ทดสอบความไวของเชื้อราต่อสารที่ใช้ทดสอบ [สารสำคัญจากผลยีสต์ สารสำคัญที่ได้จากการสกัดผลยีสต์ (ผงยีสต์และแผ่นยีสต์) และยาเคมีต้านเชื้อรา], Plasma ใช้เพื่อการศึกษาการงอก (germ tube) ของเชื้อรา *C. albicans*, Milk agar (Difco, Detroit, MI) ใช้เพื่อการศึกษาโคโคนิเดีย (chlamydoconidia) ของเชื้อรา *C. albicans*

4. ยาเคมีต้านเชื้อรา

ketoconazole, amphotericin B, nystatin, fluconazole (Sigma-Aldrich, USA)

5. สารเคมีอื่น ๆ

dimethylsulfoxide (DMSO) (Fluka, Switzerland), 99.8 % ethanol (analytical grade) (Merck, Germany)

6. อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (Sharp, Thailand), hot air oven (Mettler, Germany), lyophilizer (EYELA, USA), microtiter plate ชนิดกันแบน (Nunc), spectrophotometer (Thermo spectronic), เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Eppendorf centrifuge 5804 R), เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบเขย่าได้ (Cocono CH30), กล้องจุลทรรศน์ (Olympus), หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Tomy-pressure steam sterilizer ES-315)

7. การทดสอบยืนยันกลุ่มเชื้อ

แยกเพาะเลี้ยงเชื้อรา *C. albicans* ทั้ง 4 สายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง SD พร้อมทั้งตรวจดูลักษณะโคโคนิเดียและรูปร่างของเชื้อราทั้งหมดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมทั้งการงอกและการโคโคนิเดีย (9) จากนั้นแยกแบ่งเก็บเชื้อราลงใน 15 % glycerol ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

8. การเตรียมสารสำคัญจากผลยีสต์

8.1 สารสำคัญจากผลยีสต์ (6)

ล้างผลยีสต์ด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ จากนั้นนำไปแช่ใน 70 % แอลกอฮอล์ เป็นเวลา 10 นาที และล้างออกด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ อบให้แห้งในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บใส่ถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน เพื่อให้ไขมันจากผลยีสต์ไหลออกมา และหีบผลยีสต์ด้วย

เครื่องหีบน้ำผลไม้ แล้วกรองกากหีบออกด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำน้ำที่ได้จากผลยีสต์ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C นำส่วนใสไปทำระเหิดแห้ง (lyophilized) จนได้เป็นผงยีสต์แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C (หากไม่ได้ใช้งานในทันที)

เตรียมผงยีสต์ที่ระดับความเข้มข้น 120, 240, 480 มก./มล โดยใช้ 10 % DMSO เป็นตัวทำละลาย และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วยเยื่อกรองที่ทนต่อ DMSO ที่มีขนาดรูผ่าน 0.45 ไมโครเมตร (มคม.) นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

8.2 สารสำคัญจากผงยีสต์ที่สกัดด้วยเอทานอล (7)

ผ่านผลยีสต์ให้เป็นชิ้นบางๆ อบไว้ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C ใช้เวลาประมาณ 3 วัน จนแผ่นยีสต์แห้ง จากนั้นนำไปปั่นให้แห้งเป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้แล้วชั่งผงยีสต์ 200 กรัม นำไปแช่ไว้ในเอทานอล:น้ำ (อัตราส่วน 80:20) ปริมาตร 600 มล. ในขวดขนาดบรรจุ 1,000 มล. นำไปวางไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 3 วัน และเขย่าทุก ๆ 12 ชั่วโมง เพื่อสกัดสารสำคัญจากผงยีสต์ จากนั้นนำไปกรองเอากากหีบออกด้วยผ้าขาวบางแล้วนำส่วนใสที่ได้ไประเหยเอาแอลกอฮอล์ออกที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 วัน ในตู้อบลมร้อน ก็จะได้สารสกัดผงยีสต์เอทานอล 80% แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C (หากไม่ได้ใช้งานในทันที)

เตรียมสารสกัดผงยีสต์เอทานอล 80 % ที่ระดับความเข้มข้น 120, 240, 480 มก./มล. โดยใช้ 10 % DMSO เป็นตัวทำละลาย และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วยเยื่อกรองที่ทนต่อ DMSO ที่มีขนาดรูผ่าน 0.45 มคม. นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อรอนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

8.3 สารสำคัญจากแผ่นยีสต์ที่สกัดด้วยเอทานอล

เตรียมแผ่นยีสต์เช่นเดียวกันกับข้อ 8.2 แต่ไม่ต้องนำไปปั่นให้เป็นผงแห้ง จากนั้นทำการสกัดแผ่นยีสต์แห้งและเก็บรักษาไว้เช่นเดียวกันกับวิธีในข้อ 8.2 เรียกสารสำคัญที่ได้ว่าสารสกัดแผ่นยีสต์เอทานอล 80% เตรียมให้ได้ความเข้มข้นเช่นเดียวกันกับข้อ 8.2

9. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ของสารสำคัญจากผลยีสต์

9.1 โดยวิธี agar well diffusion

เตรียมสารแขวนลอยเชื้อราแต่ละสายพันธุ์จาก

โคโลนีในจานอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง SD ให้มีความชุ่มชื้น เทากับ McFarland standard No. 1 แล้วนำไปป้ายให้ทั่ว พื้นผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง SD ทั้งไว้ให้ผิวหน้าแห้ง จากนั้นเจาะอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นหลุมด้วยทึบขนาด 1,000 ไมโครลิตร (มค.ล.) ด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ หยดสารสำคัญที่เตรียมได้จากข้อ 8. ลงในแต่ละหลุมของอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวปริมาตรหลุมละ 100 มค.ล. ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 2 ชม. จนสารทดสอบซึมผ่านเข้าเนื้ออาหารเลี้ยงเชื้อจนหมดแล้วนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 18-24 ชม. สังเกตวงใสรอบหลุมอาหารเลี้ยงเชื้อ (inhibition zone) ทำการทดลองซ้ำสองซ้ำ และรายงานเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

หยดสารละลายยาเคมีต้านเชื้อรา ketoconazole (15 มคก./มล.), amphotericin B (10 มคก./มล.), nystatin (50 มคก./มล.) และ fluconazole (25 มคก./มล.) ลงในหลุมของจานอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง SD ข้างต้น เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans*

9.2 โดยวิธี microbroth dilution

เตรียมสารแขวนลอยเชื้อรา *C. albicans* แต่ละสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SD ให้มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อบริโภคไปทดสอบฤทธิ์เดี่ยวของสารสำคัญที่เตรียมได้จากผลยอ

ดูอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SD (ความเข้มข้น 2 เท่า) ใส่ลงในหลุมที่ 2-10 หลุมละ 100 มค.ล. จากนั้นดูสารสำคัญที่เตรียมได้จากผลยอแยกใส่ลงในหลุมที่ 1 และหลุมที่ 2 หลุมละ 100 ไมโครลิตร (มค.ล.) แล้วผสมสารทดสอบให้เข้ากันในหลุมที่ 2 จากนั้นดูสารละลายในหลุมที่ 2 ปริมาตร 100 มค.ล. ไปใส่ในหลุมที่ 3 และทำเช่นเดียวกันจนถึงหลุมที่ 9 ให้ดูสารผสมทิ้งไป 100 มค.ล. เติมสารแขวนลอยเชื้อราที่เตรียมไว้ในเบื่องต้นใส่ลงไปในทุกหลุมๆ ละ 100 มค.ล. แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อรา (minimal inhibitory concentration: MIC) โดยดูหลุมทดสอบสุดท้ายที่ใส และบันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อรา (minimal fungicidal concentration: MFC) โดยดูการเจริญในจานอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง SD เมื่อทดสอบโดยวิธีขีดเชื้อ (streak plate)

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ของยาเคมีต้านเชื้อรา ketoconazole (120 มคก./มล.),

amphotericin B (320 มคก./มล.), nystatin (400 มคก./มล.) และ fluconazole (200 มคก./มล.) และบันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกันกับการทดสอบด้วยสารสำคัญที่เตรียมได้จากผลยอ

10. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ของสารสำคัญจากผลยอร่วมกับยา amphotericin B โดยวิธี microbroth dilution

เตรียมสารแขวนลอยเชื้อรา *C. albicans* แต่ละสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SD ให้มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อบริโภคไปทดสอบฤทธิ์ร่วม

เตรียมสารละลายผสมระหว่างสารสำคัญที่เตรียมได้จากผลยอกับยาเคมีต้านรา amphotericin B ในอัตราส่วน 50:50 โดยใช้ความเข้มข้นของสารสำคัญจากผลยอตั้งต้นเท่ากับ 480 มก./มล. และความเข้มข้นของยาเคมีต้านรา amphotericin B ที่มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของค่า MIC ที่บันทึกได้จากข้อ 9.2

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 9.2 แต่เปลี่ยนสารทดสอบเป็นสารผสมระหว่างสารสำคัญที่เตรียมได้จากผลยอกับยาเคมีต้านรา amphotericin B ในอัตราส่วน 50:50 เพื่อดูฤทธิ์ร่วมหรือการเสริมฤทธิ์กันในการต้านเชื้อรา *C. albicans*

ผลการศึกษา

1. การทดสอบฤทธิ์เดี่ยวของสารสำคัญจากผลยอในการต้านเชื้อรา *C. albicans*

1.1 โดยวิธี agar well diffusion

สารสำคัญจากผลยอสูงและที่ได้จากการสกัดผงยอห่มและแผ่นยอห่มด้วย 80 % เอทานอล เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์เดี่ยวต้านเชื้อรา *C. albicans* โดยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสำคัญจากผลยอทุกรูปแบบที่มีความเข้มข้น 120 และ 240 มก./มล. มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ทุกสายพันธุ์ที่นำมาศึกษา โดยพบว่าหากใช้สารสำคัญจากผลยอที่ระดับความเข้มข้นสูงจะให้ค่าบริเวณใสของการยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) กว้างกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า ซึ่งให้ค่า inhibition zone ระหว่าง 14.0 ± 0.0 ถึง 23.5 ± 0.5 มม. ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงของฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ที่วัดได้จากยาเคมีต้านเชื้อราที่นำมาทดสอบ เปรียบเทียบ ดังแสดงใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1ฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ของสารสำคัญจากผลยอเมื่อทดสอบโดยวิธี agar well diffusion

<i>Candida albicans</i>	Inhibition zone (มม.)									
	ยาเคมีต้านเชื้อรา (มคก./มล.)				สารสำคัญ (มก./มล.)					
	Amp B	Keto	Nys	Fluco	ผงยอสุก		ผงยอสกัด		แผ่นยอสกัด	
	(10)	(15)	(50)	(25)	120	240	120	240	120	240
TISTR 5239	20.0 ± 2.0	32.0 ± 1.0	17.0 ± 1.0	20.0 ± 2.0	16.0 ± 0.0	20.0 ± 0.0	17.0 ± 1.0	22.0 ± 0.0	20.0 ± 0.0	23.5 ± 0.5
TISTR 5779	18.0 ± 0.0	28.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	20.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0	20.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0
BCC 6120	17.5 ± 0.5	32.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0	14.0 ± 0.0	18.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	20.0 ± 2.0	17.0 ± 0.0	22.0 ± 0.0
Clinical isolate	18.0 ± 0.0	32.0 ± 0.0	15.0 ± 1.0	22.0 ± 0.0	14.0 ± 0.0	18.0 ± 0.0	14.0 ± 0.0	20.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	20.0 ± 2.0

หมายเหตุ: หุ้มทดสอบมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6 มม.

- Amp B (10) = amphotericin B ที่ความเข้มข้น 10 มคก./มล.
- Keto (15) = ketoconazole ที่ความเข้มข้น 15 มคก./มล.
- Nys (50) = nystatin ที่ความเข้มข้น 50 มคก./มล.
- Fluco (25) = fluconazole ที่ความเข้มข้น 25 มคก./มล.
- TISTR = Thailand Institute of Scientific and Technological Research
- BCC = BIOTEC Culture Collection
- ผงยอสุก = สารจากผลยอสุกที่ความเข้มข้น 120 และ 240 มก./มล.
- ผงยอสกัด = สารสกัดผงยอเอธานอล 80 % ที่ความเข้มข้น 120 และ 240 มก./มล.
- แผ่นยอสกัด = สารสกัดแผ่นยอเอธานอล 80 % ที่ความเข้มข้น 120 และ 240 มก./มล.
- 10 % DMSO = Dimethylsulfoxide ที่ความเข้มข้น 10 %

ตารางที่ 2ฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ของสารสำคัญจากผลยอบเมื่อทดสอบโดยวิธี microbroth dilution

Candida albicans	ผลการทดสอบ	ยาเคมีต้านเชื้อรา (มคก./มล.)				สารสำคัญ (มก./มล.)			DMSO (10 %)
		Amp B	Keto	Nys	Fluco	ผงยอสุก	ผงยอสกัด	แผ่นยอสกัด	
TISTR 5239	MIC	0.08	0.23 - 0.94	1.56 - 3.12	6.25 - 12.50	0.94 – 3.75	3.75 - 15.00	3.75 - 7.50	12.50
	MFC	0.08	0.23 - 0.94	1.56 - 3.12	12.50	0.94 - 3.75	3.75 - 15.00	3.75 - 7.50	12.50
TISTR 5779	MIC	0.08	0.94 - 1.90	1.56 - 6.25	6.25 - 25.00	0.94 - 3.75	3.75 - 7.50	3.75 - 7.50	12.50
	MFC	0.08	0.94 - 3.75	1.56 - 6.25	12.50 - 25.00	0.94 - 7.50	3.75 - 7.50	3.75 - 7.50	12.50
BCC 6120	MIC	0.08	0.94 - 3.75	3.12	6.25 - 25.00	1.88 - 3.75	7.50	3.75 - 7.50	12.50
	MFC	0.08	0.94 - 3.75	3.12	12.50 - 25.00	1.88 - 3.75	7.50	3.75 - 7.50	12.50
Clinical isolate	MIC	0.08	3.75 - 7.50	1.56 - 3.12	6.25 - 25.00	1.88 - 3.75	7.50	7.50	12.50
	MFC	0.08	3.75 - 7.50	1.56 - 3.12	6.25 - 25.00	1.88 - 7.50	7.50	7.50 - 15.00	12.50

- Amp B = amphotericin B

- Keto = ketoconazole

- Nys = nystatin

- Fluco = fluconazole

- ผงขอสุก = สารจากผลยอบ

- ผงยอสกัด = สารสกัดผงยอบ 80%

- แผ่นยอสกัด = สารสกัดแผ่นยอบ 80%

- DMSO = Dimethylsulfoxide

- MIC = Minimum inhibitory concentration (ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้)

- TISTR = Thailand Institute of Scientific and Technological Research

- MFC = Minimum fungicidal concentration (ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถฆ่าเชื้อราได้)

- BCC = BIOTEC Culture Collection

ตารางที่ 3ฤทธิ์ร่วมกันของสารสำคัญจากผลยอและยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* เมื่อทดสอบโดยวิธี microbroth dilution

<i>Candida albicans</i>	ผลการทดสอบ	สารทดสอบ					
		Amp B + ผงยอสูก		Amp B + ผงยอสกัด		Amp B + ผ่นยอสกัด	
		Amp B (มคก./มล.)	ผงยอสูก (มก./มล.)	Amp B (มคก./มล.)	ผงยอสกัด (มก./มล.)	Amp B (มคก./มล.)	ผ่นยอสกัด (มก./มล.)
TISTR 5239	MIC	0.02	15.00	0.02	15.00	0.02	15.00
	MFC	0.02	15.00	0.02	15.00	0.02	15.00
TISTR 5779	MIC	0.02	15.00	0.02 - 0.04	15.00 - 30.00	0.02 - 0.04	15.00 - 30.00
	MFC	0.02-0.04	15.00 - 30.00	0.02 - 0.04	15.00 - 30.00	0.02 - 0.04	15.00 - 30.00
BCC 6120	MIC	0.02	15.00	0.04	30.00	0.04	30.00
	MFC	0.02	15.00	0.04	30.00	0.04	30.00
Clinical isolate	MIC	0.02	15.00	0.04	15.00	0.04	30.00
	MFC	0.02	15.00	0.02 - 0.04	15.00 - 30.00	0.04	30.00

- Amp B = amphotericin B

- ผงยอสูก = สารจากผลยอสูก

- ผงยอสกัด = สารสกัดผงยอเอธานอล 80%

- ผ่นยอสกัด = สารสกัดผ่นยอเอธานอล 80%
- MIC=Minimum inhibitory concentration (ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้)

- MFC = Minimum fungicidal concentration (ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถฆ่าเชื้อราได้)

- TISTR = Thailand Institute of Scientific and Technological Research

- BCC = BIOTEC Culture Collection

1.2 โดยวิธี microbroth dilution

สารสำคัญจากผลยอสุก และที่ได้จากการสกัดผงยอและแผ่นยอด้วย 80 % เอทานอล เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์เดี่ยวต้านเชื้อรา *C. albicans* โดยวิธี microbroth dilution พบว่าสารสำคัญจากผลยอทุกรูปแบบมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ทุกสายพันธุ์ที่นำมาศึกษา โดยพบว่าสารสำคัญจากผลยอทั้ง 3 รูปแบบ ให้ค่า MIC และ MFC เป็นค่าเดียวกันอยู่ในช่วง 0.94-15.00 มก./มล. ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่สูงกว่ายาเคมีต้านรา ดังแสดงใน ตารางที่ 2

2. ทดสอบการเสริมฤทธิ์ของสารสำคัญจากผลยอและยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* โดยวิธี microbroth dilution

สารสำคัญจากผลยอทั้ง 3 รูปแบบแสดงฤทธิ์ร่วมกับยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B ในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ทุกสายพันธุ์ที่นำมาศึกษา โดยสารสำคัญจากผลยอให้ค่า MIC และ MFC เป็นค่าเดียวกันอยู่ในช่วง 15.00-30.00 มก./มล. ส่วนยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B ใช้ความเข้มข้นลดลงจาก 0.08 มก./มล. (ตารางที่ 2) เป็น 0.02-0.04 มก./มล. ดังแสดงใน ตารางที่ 3

วิจารณ์ผลการศึกษา

“candidiasis” สามารถรักษาได้ด้วยยาเคมีต้านเชื้อรา fluconazole, nystatin, ketoconazole, itraconazole, amphotericin B แต่มักพบว่ามีผลข้างเคียง จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับสารปฏิชีวนะจากจุลินทรีย์^(1,2) สารปฏิชีวนะจากเชื้อราที่อาศัยอยู่กับพืช (endophytic fungi)⁽¹⁰⁾ รวมถึงสารสำคัญจากสมุนไพรต่างๆ ที่สามารถออกฤทธิ์ปฏิชีวนะต้านเชื้อราดังกล่าว⁽⁴⁾ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้นำเอาเชื้อราในกลุ่ม *C. albicans* จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ TISTR 5239, TISTR 5779, BCC 6120 และสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยจากโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จังหวัดนครศรีธรรมราช ประเทศไทย มาใช้เป็นเชื้อราดัชนี (indicating strain) ในการทดสอบการถูกยับยั้งการเจริญหรือถูกทำลายโดยสารสำคัญจากผลยอที่เก็บรวบรวมมาจากภาคใต้ของประเทศไทย (จังหวัดพัทลุง) ในช่วงต้นฤดูร้อนในเดือนเมษายน และได้ทดสอบยืนยันเชื้อราในเบื้องต้นด้วยการย้อมสีแกรม รวมถึงการสร้างลักษณะที่สำคัญของเชื้อรา *C. albicans* เช่น การสร้างท่อออก (germ tube) และการสร้าง โคลนเดี่ยวปอง (chlamy-

doconidia)^(7, 9)

การทดสอบฤทธิ์ของสารสำคัญจากสมุนไพรในการต้านเชื้อรา *C. albicans* มีอยู่มากมายทั้งต่างประเทศและในประเทศไทย^(4, 6) ซึ่งเบื้องต้นพบว่าสมุนไพรที่นำมาศึกษาสามารถแสดงฤทธิ์ปฏิชีวนะต้านเชื้อรา *C. albicans* ได้แตกต่างกันออกไป สำหรับในประเทศไทยมีรายงานว่าสารสำคัญที่ได้จากการสกัดด้วย 95 % เอทานอลของข่า (*Alpinia officinarum*) กระชาย (*Boesenbergia pumdata*) ฝรั่ง (*Psidium guajava*) ใบบัวบก (*Centella asiatica*) และกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum*) ที่ความเข้มข้น 0.30 มก./มล. ถึง 6.25 มก./มล. มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans*⁽¹¹⁾ หรือแม้แต่สารสำคัญจากผลยอสุกที่ความเข้มข้น 60 มก./มล. ก็มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ได้เช่นเดียวกัน⁽⁶⁾ ซึ่งผลยอเป็นพืชสมุนไพรในตำรายาโบราณของประเทศไทยและมีสรรพคุณในการรักษาโรคต่าง ๆ มากมาย เช่น ฤทธิ์ลดการอักเสบและบรรเทาปวด⁽¹²⁾ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁽¹³⁾ และการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน⁽¹⁴⁾ รวมไปถึงการรักษาโรคติดเชื้อได้หลายชนิดทั้งโรคติดเชื้อแบคทีเรียและโรคติดเชื้อรา เช่น โรคติดเชื้อรา *Candida*⁽¹⁵⁾ อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับสรรพคุณของผลยอส่วนใหญ่มักเป็นการโฆษณาที่ดูเกินความเป็นจริงเพื่อหวังผลในทางการค้า ซึ่งที่จริงแล้วยังคงมีรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์อยู่น้อยที่ได้ให้ความสนใจการศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ของสารสกัดจากผลยอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ในทางเภสัชวิทยาที่เชื่อกันว่ายอเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำไปพัฒนาและใช้ในทางการแพทย์สูงทำให้ไม่เป็นที่แพร่หลายในการนำผลยอไปใช้มากนัก ดังนั้นจึงได้มีการทดลองศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต่างๆ ของผลยออย่างกว้างขวางรวมทั้งฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์มาสนับสนุนสำหรับการนำไปใช้งานได้จริง โดยพบว่าสารสำคัญจากผลยอสุกมีฤทธิ์ปานกลางในการต้านเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบเป็นส่วนใหญ่ เช่น *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhosa* และ *Salmonella parady*⁽¹⁶⁾ และสารสกัดจากผลยอด้วยเอทานอล เมทานอล และเอทิลอะซิเตท มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ได้แตกต่างกันออกไปและจะแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราสาย *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 หรือ *Aspergillus niger* ATCC 6275 และรายีสต์ *Candida albicans* ATCC 10231 ได้ดีกว่าแบคทีเรีย *E. coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923⁽¹⁷⁾

ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าสารสำคัญที่ได้จากผลยอสุก รวมทั้งสารสำคัญที่ได้จากผลยอห่มทั้งที่เป็นผงแห้งและแผ่นแห้งที่ถูกสกัดด้วย 80 % เอทานอลมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ทั้ง 4 สายพันธุ์ (TISTR 5239, TISTR 5779, BCC 6120, clinical isolate) ที่นำมาใช้เป็นเชื้อดัชนีได้ใกล้เคียงกัน ดังแสดงใน ตารางที่ 1 และ 2 แต่สารสำคัญจากผลยอที่ใช้ต้านเชื้อรา *C. albicans* มีความแตกต่างกันในงานวิจัยที่ทำต่างสถานที่ ต่างเวลา กัน ดังเช่นรายงานของ Jainkittivong และ Butsarakamruha (2009) ที่ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* ของสารสกัดจากผลยอได้รายงานว่าสารสำคัญจากผลยอสุกเพียง 60 มก./มล. สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans*⁽⁶⁾ ในขณะที่การศึกษาในครั้งนี้ต้องใช้สารสำคัญจากผลยอสุกความเข้มข้น 120 มก./มล. หรือ 240 มก./มล. ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* ซึ่งอาจเนื่องมาจากภูมิภาคและฤดูกาลของผลยอที่เก็บมาทำวิจัยรวมทั้งอาจเนื่องมาจากเชื้อรา *C. albicans* ที่ใช้ทดสอบต่างสายพันธุ์กัน แต่อย่างไรก็ตามสารสำคัญจากผลยอสุกที่ความเข้มข้นข้างต้นอาจเทียบเคียงฤทธิ์ได้เท่ากับยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B (10 มก.ก./มล), ketoconazole (15 มก.ก./มล.), nystatin (50 มก.ก./มล.) และ fluconazole (25 มก.ก./มล.) โดยให้ inhibition zone ใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 14.0 ± 0.0 ถึง 32.0 ± 1.0 มม. (ตารางที่ 1) เมื่อทดสอบโดยวิธี agar well diffusion

ยาเคมีต้านเชื้อราที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อราสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มตามลักษณะการนำไปใช้งานได้แก่ชนิดรับประทานหรือฉีด (systemic antifungal) และชนิดใช้ภายนอก (topical antifungal) โดยส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อราโดยรบกวนกระบวนการสร้าง ergosterol ซึ่งเป็น องค์ประกอบที่สำคัญของเซลล์เมมเบรนของเชื้อรา^(18,19) แต่มักพบมีอาการข้างเคียงไม่พึงประสงค์หากใช้เป็นระยะเวลานาน⁽⁴⁻⁶⁾ ดังนั้นเพื่อลดการใช้ยาเคมีต้านเชื้อราที่มีผลข้างเคียงค่อนข้างสูงและมีราคาแพง จึงได้ทดลองหาฤทธิ์ร่วมหรือส่งเสริมกันระหว่างสารสำคัญจากผลยอกับยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* โดยพบว่าสารสำคัญจากผลยอทุกรูปแบบแสดงฤทธิ์เดียวในการต้านเชื้อรา *C. albicans* ได้ค่อนข้างดีโดยให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งและทำลายเชื้อราเท่ากับ 0.94 ถึง 15.00 มก./มล. (ตารางที่ 2) เมื่อทดสอบโดยวิธี microbroth dilution และสารสำคัญจากผลยอที่ระดับความเข้มข้น 15.00 มก./มล. หรือ 30.00 มก./

มล. สามารถลดระดับความเข้มข้นของยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B ลงได้จาก 0.08 มก.ก./มล. (ตารางที่ 2) เหลือเพียง 0.02-0.04 มก.ก./มล. (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่ามีการแสดงฤทธิ์ร่วมหรือส่งเสริมกันของสารสำคัญจากผลยอและยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B ในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา *C. albicans* โดยอาจเกิดจากสารสำคัญจากผลยอไปช่วยส่งเสริมการส่งผ่านยาเคมีต้านเชื้อราเข้าไปภายในเซลล์ของเชื้อราได้มากขึ้น หรือมีกลไกการออกฤทธิ์ที่คล้ายกันจึงร่วมกันทำงานได้ดีขึ้น⁽²⁰⁻²²⁾ และสอดคล้องกับงานวิจัยของวิสาธรและจิราภรณ์ (2549) ที่ได้รายงานว่าสารสกัดสมุนไพรสามารถแสดงฤทธิ์ร่วมกับยาด้านจุลชีพในการต้านแบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ ได้เป็นอย่างดีและมีแบบแผนที่แตกต่างกันเฉพาะตัวในสมุนไพรแต่ละชนิด⁽⁷⁾ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารปฏิชีวนะต่าง ๆ ที่สกัดได้จากเชื้อราที่อาศัยร่วมอยู่กับพืช ก็สามารถแสดงฤทธิ์ร่วมกับยาเคมีต้านเชื้อราในกลุ่มแอโซล (azole) ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* ได้ด้วยเช่นกัน⁽¹⁰⁾ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของทั้งสารสำคัญจากผลยอและยาเคมีต้านเชื้อราที่สามารถนำไปใช้งานได้จริงทางการรักษาโรคติดเชื้อรา โดยอาจเลือกใช้วิธีการรับประทานผลยอสุกหรือเลือกใช้สารสำคัญจากผลยอสุกไปใช้ได้โดยตรงหรืออาจนำไปประยุกต์ใช้เป็นน้ำยาบ้วนปากหรือกลั้วปากแทนที่จะใช้สารสำคัญที่ได้จากการสกัดด้วยสารสกัดที่เป็นสารเคมีที่อาจก่อให้เกิดพิษแก่ผู้ป่วยได้⁽⁶⁾ และควรใช้ในระดับความเข้มข้นของสารสำคัญจากผลยอที่เหมาะสมไม่ก่อให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อหรือฤทธิ์ไม่พึงประสงค์อื่นๆ^(14, 15) เพื่อประโยชน์ในการนำเอาสมุนไพรลูกยอไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้อย่างสูงสุด

สรุปผลการศึกษา

สารสำคัญที่ได้จากผลยอทั้ง 3 รูปแบบ ได้แก่ สารสำคัญจากผลยอสุก สารสำคัญที่ได้จาก ผงยอสกัดเอทานอล 80 % และสารสำคัญที่ได้จากแผ่นยอสกัดเอทานอล 80 % แสดงฤทธิ์เดียวในการต้านเชื้อรา *Candida albicans* ทุกสายพันธุ์ที่นำมาศึกษา (TISTR 5239 TISTR 5779 BCC 6120 และ clinical isolate) โดยพบว่าหากใช้ในในระดับความเข้มข้นที่สูงจะมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* ที่ดีกว่าเมื่อใช้ในในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าเมื่อทดสอบทั้งในวิธี agar well diffusion และวิธี broth microdilution นอกจากนี้ยังพบว่าสารสำคัญจากผลยอแสดงฤทธิ์ร่วมหรือส่งเสริม

ฤทธิ์กับยาเคมีต้านเชื้อรา amphotericin B ในการต้านเชื้อรา *C. albicans* ซึ่งอาจจะช่วยลดปริมาณการใช้ยาเคมีต้านเชื้อราที่มีผลข้างเคียงสูงเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้ป่วยโรคติดเชื้อราได้และอาจนำไปใช้เป็นแนวทางในการรักษาโรคติดเชื้อราในคลินิกได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากหน่วยวิจัยการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ขอขอบคุณสำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และวัสดุอุปกรณ์บางอย่างในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. กัญญา ปรีชาสุทธิ, ขจรศักดิ์ ตระกูลพั้ว, บงกชวรรณ สุตะพาหะ. เชื้อราที่สำคัญทางการแพทย์. เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2547.
2. กนกรัตน์ ศิริพานิชกร. โรคติดเชื้อ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โฮลิสติก, 2541.
3. พรรณกร อัมมิวิทยา. โรคติดเชื้อรา. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี, 2543.
4. Naeini A, Khonsravi AR, Chitsaz M, Shokri H, Kamlnejad M. Anti-*Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. J Mycol Med 2009; 19: 168-72.
5. Yigit N, Aktas E, Ayyildiz A. Antifungal activity of toothpastes against oral *Candida* isolates. J Mycol Med 2008; 18: 141-6.
6. Jankittivong A, Butsarakamruha T, Robert P. Antifungal activity of *Morinda citrifolia* fruit extract against *Candida albicans*. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology 2009; 108: 394-8.
7. วิสาตรี คงเจริญสุนทร, จิราภรณ์ อารยะศิลปธร. ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรร่วมกับยาต้านจุลชีพในการต้านแบคทีเรียแกรมลบและยีสต์. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2549; 2: 1514-27.

8. ทศนีย์ ปัญจนาท, กันทิมา ชูแสง, ชีรกุล อภรณ์สุวรรณ. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากผลยอ. วารสารสมุนไพร 2548; 1: 19-29.
9. David E, Stephen D, Helen A, Rosemary H, Robyn B. Description of Medical Fungi. 2nd ed. Adelaide: Nexus Print Solutions; 2007. pp. 21-4.
10. มალიนี อยู่เชื้อ, นงลักษณ์ ศรีอุบลมาศ, สุเทพ ไวยครุฑธา. สารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิจากราเอนโดไฟท์ที่เสริมฤทธิ์กับยากุ่มเอโซล ในการยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans*. วารสารรวบรวมผลงานโครงการที่ได้รับทุน IRPUS ประจำปี 2547; 188-9.
11. อภิราม ส่งศรี, มณฑล เลิศคณาวนิชกุล. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Candida albicans* และ *Cryptococcus neoformans* ของสารสกัดสมุนไพร. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2545; 44: 250-60.
12. Kim IT, Park HJ, Nam JH. In-vitro and in-vivo anti-inflammatory and antinociceptive effects of the methanol extract of the roots of *Morinda officinalis*. J Pharm Pharmacol 2005; 57: 607-16.
13. Su BN, Pawlus AD, Jung HA, Keller WJ, McLaughlin JL, Kinghorn AD. Chemical constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni) and their antioxidant activity. J Nat Prod 2005; 68: 592-5.
14. Wang MY, Su C. Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). Ann NY Acad Sci 2001; 952: 161-8.
15. Wang MY, West BJ, Jensen CJ. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. Acta Pharmacol Sin 2002; 23: 1127-41.
16. Samy RP, Ignacimuthu S, Sen A. Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. J Ethnopharmacol 1998; 62: 173-81.
17. Gerson S, Green LH. Preliminary evaluation of the antifungal activity of extracts of *Morinda citrifolia* Linn. 2002 general meeting of American Society for Microbiology. <http://www.niam.com/corp-web/fungal.html>. (Last accessed / March 2011)

18. Katzung BG, ed. Basic and Clinical Pharmacology. 8th ed. New York: Lange medical books/McGraw-Hill; 2001.
19. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Pharmacology. 4th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2000.
20. Kak V, You I, Zervos MJ, Kariyama R, Kumon H. *In-vitro* synergistic activity of the combination of ampicilin and arbekacin against vancomycin-and high level gentamycin- resistant *Enterococcus faecium* with the aph (2'')-Id gene. Diag Microbiol Infect Dis 2000; 37: 297-9.
21. Alfonso JA. Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era?. Archive Med Res 2005; 36: 697-705.
22. Muroi H, Nihei K, Tsujimoto K, Kubo I. Synergistic effects of anacardic acids methicillin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Bioorg Med Chem 2004; 12: 583-7.