บทความวิจัย (Research Article)

ฤทธิ์ต้านราของสารสกัดหยาบผลสมอพิเภกต่อแคนดิดา อัลบิแคนส์

ปิยวรรณ จิตรแจ่ม, ฉัตรกมล เสนาพันธ์, ปรัชญานียศักดิ์ เอี่ยมดี, อรวรรณ แก้วจุรัตน์, มยุรัชฎ์ พิพัฒภาสกร*

Antifungal activity of *Terminalia bellerica* fruit crude extract on *Candida albicans*

Piyawan Jitjam, Chatkamol Senaphan, Pratyaneeyasak Aiumdee, Orawan Keawjurat, Mayurach Pipatphatsakorn*

Faculty of Dentistry, Naresuan University, Phitsanulok Province 65000

* Corresponding author, E-mail: mayurach_dt17@hotmail.com

Naresuan Phayao J. 2015;8(3):159-162.

บทคัดย่อ

การศึกษามุ่งหมายกำหนดหาฤทธิ์ต้านราของสารสกัดหยาบผลสมอพิเภกในร้อยละ 10 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์และในร้อยละ 60 สารสะลายโพลีเอทิลีนไกลคอล 400 ที่ต่างความเข้มข้นต่อแคนดิดา อัลบิแคนส์ และเปรียบเทียบพื้นที่ยับยั้งกับนิสแตตินตัวควบคุมเชิงบวกและไดเมทิลซัลฟอกไซด์ตัวควบคุมเชิงลบ สารสกัดขนาด 700 มิลลิกรัม (มก.) ต่อมิลลิเมตรในไดเมทิลซัลฟอกไซด์และนิสแตติน 100 หน่วย ให้พื้นที่ยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 20.24 ± 1.12 (ไม่สมบูรณ์) และ 16.19 ± 0.07 มิลลิเมตร (มม.) ตามลำดับ ส่วนการเจือจางสารเหลวแสดงความเข้มข้นยับยั้งน้อยที่สุดเท่ากับ 75 มก. ต่อมิลลิลิตร (มล.) และความเข้มข้นฆ่าราเท่ากับ 150 มก. ต่อมล. เบื้องต้นแสดงว่าสารสกัดหยาบอาจมีฤทธิ์ต้านรา

คำสำคัญ: สมอพิเภก, แคนดิดา อัลบิแคนส์, ฤทธิ์ต้านรา

Abstract

The study aims to determine the antifungal activity of *Terminalia bellerica* fruit crude extract in 10% dimethyl sulfoxide, and 60% polyethylene glycol 400 at different concentration on *Candida albicans*. The zone of inhibition was compared with positive control of nystatin, and negative control of dimethyl sulfoxide. Seven hundreds mg/mL of extract in dimethyl sulfoxide and nystatin 100 units had the inhibition zone of 20.24 ± 1.12 (incomplete) and 16.19 ± 0.07 mm, respectively. The broth dilution showed the minimal inhibition concentration (MIC) of 75 mg/mL, and minimal fungicidal concentration (MFC) of 150 mg/mL. The crude extract might have antifungal activity in preliminary.

Keywords: *Terminalia bellerica*, *Candida albicans*, antifungal activity

บทนำ

ช่องปากเป็นถิ่นที่อยู่สำหรับจุลชีพชนิดพันธุ์จำนวนมากอยู่ร่วมกับแบคทีเรียปกติประจำถิ่น มีชนิดพันธุ์ของราแคนดิดา (Candida) มากกว่า 20 ชนิดพันธุ์ การติดเชื้อฉวยโอกาสพบบ่อยที่สุดเป็นการติดเชื้อราแคนดิดาอัลบิแคนส์ (*Candia Albicans*) [1,2]

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

รับต้นฉบับวันที่ 16 มกราคม 2558, รับลงตีพิมพ์วันที่ 5 พฤศจิกายน 2558

จุลชีพเกิดโรคฉวยโอกาสเพิ่มจำนวนตามพื้นผิวร่างกายมนุษย์ตำแหน่งต่างกายวิภาค ส่วนใหญ่บริเวณอุ่นและชื้นเช่นช่องปาก, ผิวหนัง, ทางเดินอาหาร และช่องคลอด ตำแหน่งเพาะเลี้ยงแคนดิดา อัลบิแคนส์มากที่สุดคือช่องปาก [3,4]

ความเสี่ยงอันเป็นปัจจัยชวนเกิดการติดเชื้อและเพิ่มจำนวนของราได้แก่ อนามัยช่องปากไม่ดี, กดภูมิต้านทาน, ขาดสารอาหาร, ใช้ยาปฏิชีวนะนาน, ฉายรังสี, ฟันเทียม, เบาหวาน, กินอาหารแป้งมาก, และสูบบุหรี่จัด [5,6]

ส่วนผสมใช้ในสูตรยาสีฟันสมัยใหม่ประกอบด้วยสารเกี่ยวกับขัดถูก, ทำให้ตึง, ทำให้ชื้น, ทำให้หนาตัว, ให้กลิ่น, แต่งสี, และต้านจุลชีพ ส่วนสารต้านจุลชีพประกอบด้วยเกลือเหล็ก, ฟินอล, สารสกัดสมุนไพร, น้ำย่อย (โปรตีนที่ควบคุมปฏิกิริยาทางชีวเคมีในร่างกาย), น้ำมันหอมสกัดจากพืช และสารฆ่าแบคทีเรียกลุ่มบิสไบกัวไนด์ [2,7,8] การศึกษามุ่งหมายกำหนดหาฤทธิ์ต้านราแคนดิดา อัลบิแคนส์ของสารสกัดหยาบสมอพิเภก

วัสดุและวิธีการ

เตรียมสารสกัดหยาบโดยใช้เนื้อผลสมอพิเภกแห้งแหล่งจากจังหวัดระนองบดเป็นผง หมักด้วยร้อยละ 95 เอทานอล, นาน 3 วัน, ที่อุณหภูมิห้อง, กรองและหมักซ้ำแบบเดียวกันเป็นครั้งที่สอง ระเหยแห้งได้ของเหลวสีน้ำตาลข้นเหนียว เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (องศาซี)

ทดสอบฤทธิ์ต้านราแคนดิดา อัลบิแคนส์โดยการแพร่กระจายของแผ่นจานกระดาษ (disc diffusion method) กลุ่มทดลองคือสารสกัดหยาบสมอพิเภกแห้งในร้อยละ 10 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์, ความเข้มข้น 100, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัม (มก.) ต่อมิลลิลิตร (มล.) ส่วนกลุ่มควบคุมเชิงบวกและเชิงลบได้แก่ ยาต้านรานิสแตตินและไดเมทิลซัลฟอกไซด์ตามลำดับ

หยดสารทดลองและสารควบคุมปริมาตร 20 ไมโครลิตร (μL) บนแผ่นจานกระดาษขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (มม.) วางแผ่นจานกระดาษบรรจุสารต่างชนิดต่างความเข้มข้นบนจานอาหารเลี้ยงราจำนวน 3 ชุด, เลี้ยงบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาซี, นาน 48 ชั่วโมง (ชม.) วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของพื้นที่ยับยั้งราอันเป็นขอบเขตวงใส, หน่วยวัดเป็น มม.

หาความเข้มข้นยับยั้งราน้อยที่สุดด้วยการเจือจางสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 600 มก. ต่อ มล. เจือจางลดความเข้มขึ้นลดลงครึ่งหนึ่งตามลำดับ ประกอบด้วยความเข้มข้น 300, 150, 75, 37.5 และ 18.75 มก. ต่อมล. จำนวน 3 ชุด, เลี้ยงบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาซี, นาน 48 ชม. ใช้สถิติเชิงพรรณนาแสดงจำนวน, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation – SD)

ผลการศึกษา

ตาราง 1. เส้นผ่าศูนย์กลางพื้นที่ยับยั้งราของสารสกัดหยาบสมอพิเภก

ความเข้มข้น	**เส้นผ่าศูนย์กลางพื้นที่ยับยั้ง:** มม. (SD)	
มก. ต่อ มล.	**ในไดเมทิลซัลฟอกไซด์**	**ในโพลีเอทิลีนไกลคอล**
100	9.72 (1.32)	8.01 (1.14)
200	14.67 (2.34)	12.57 (0.58)
300	16.23 (2.23)	15.67 (1.78)
400	17.01 (1.89)	16.12 (0.13)
500	17.81 (1.67)	-
600	19.20 (1.88)	-
700	20.24 (1.12)	-

เส้นผ่าศูนย์กลางพื้นที่ยับยั้งรา (SD) ของสารสกัดหยาบสมอพิเภกแห้งในร้อยละ 10 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์, ความเข้มข้น 700 มก. ต่อมล. เท่ากับ 20.24 (1.12) มม. ส่วนสารสกัดหยาบสมอพิเภกแห้งในร้อยละ 60 โพลีเอทิลีนไกลคอล, ความเข้มข้น 400 มก. ต่อมล. (กลุ่มควบคุมลบ) ไม่ปรากฏวงใส สำหรับนิสแตติน 100 ยูนิตต่อมล. (กลุ่มควบคุมลบ) เส้นผ่าศูนย์กลางพื้นที่ยับยั้งราเท่ากับ 16.19 (0.07) มม. พื้นที่ยับยั้งของสารทดสอบต่างความเข้มข้น แสดงดังตาราง 1.

การเจือจางสารเหลวแสดงความเข้มข้นยับยั้งราลดลงร้อยละ 90, ความเข้มข้นน้อยที่สุดเท่ากับ 75 มก. ต่อมล. ส่วนความเข้มข้น 150 มก. ต่อมล. เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจสอบการเจริญของราโดยไม่เห็นความขุ่นของสารละลายสังเกตได้ด้วยตาเปล่า

วิจารณ์

การศึกษาของประเทศอินเดียรายงานความเข้มข้นยับยั้งแคนดิดา อัลบิแคนส์น้อยที่สุดของสารสกัดหยาบผลสมอพิเภกในเมทานอลเท่ากับ 2 มก. ต่อมล. [9] ขณะที่การศึกษานี้เท่ากับ 75 มก. ต่อมล. ความเข้มข้นยับยั้งขึ้นกับปัจจัยของความแตกต่างของพื้นที่เพาะปลูก และตัวทำละลายอันอาจมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของรา แม้ว่าความเข้มข้นต่ำสุดยับยั้งราเท่ากับ 75 มก. ต่อมล. เป็นจุดหลักในการปรับขนาดสารสกัดหยาบที่เหมาะสม แต่ก็ขึ้นกับขององค์ประกอบของพืชของแต่ละพื้นที่

ผลพืชสกุลเทอร์มินาเลียในประเทศไทยมีฤทธิ์ต้านราหลายชนิด ทั้งราช่องปากและราผิวหนัง ประกอบด้วย สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz), หูกวาง (*Terminalia chebula* Linn) [10-13] ขณะที่ใบของพืชสกุลเทอร์มินาเลียที่มีฤทธิ์ต้านราหลายชนิดได้แก่ หูกวาง, สมอเทศ (*Terminalia arjuna*) [14] พืชสกุลนี้มีช่วงกว้างของฤทธิ์ด้านเภสัชวิทยาโดยเฉพาะต้านราหลายชนิด กระนั้นก็ตามควรศึกษาความเป็นพิษระยะเฉียบพลันและเรื้อรังของพืชสกุลนี้ในประเทศไทยเพิ่มเติมเป็นต้นว่า ผลสมอไทย, ผลและใบหูกวาง ใบสมอเทศ อนึ่ง การศึกษาความเป็นพิษของสมอพิเภกเฉียบพลันและเรื้อรังขนาด 5,000 (ครั้งเดียว) และ 1,200 (นาน 270 วัน) มก. ต่อน้ำหนักตัวของหนูหนึ่งกิโลกรัม (กก.) ไม่พบสิ่งผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม [15]

ควรศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและประโยชน์เชิงลึกของนานาพืชสกุลเทอร์มินาเลียของประเทศไทย ระบุหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ, กลไกการออกฤทธิ์ และความสามารถบำบัดโรคผ่านการทดลองทางคลินิก

การศึกษาระยะต่อไปควรเป็นการประยุกต์องค์ประกอบยาสีฟัน ด้วยสารสกัดหยาบผลสมอพิเภก, ร่วมหรือไม่ร่วมกับโซเดียมฟลูออไรด์ไรด์ในความเข้มข้นที่เหมาะสม เพื่อยับยั้งการเจริญของราแคนดิดา อัลบิแคนส์

เอกสารอ้างอิง

1. Furlletti VF, de Cássia Mardegan R, Obando-Pereda GA, Aníbal PC, Duarte MCT, Gonçalves RB, et al. Susceptibility of *Candida* spp. Oral isolates for azolic antifungals and amphotericin B. Braz J Oral Sci. 2008;7(25):1543–9.
2. Yigit N, Aktas E, Ayyildiz A. Antifungal activity of toothpastes against oral *Candida* isolates. J MycolMed. 2008;18:141–6.
3. Oztan MD, Kiyan M, Gerceker D. Antimicrobial effect, *in vitro*, of gutta-percha points containing root canal medications against yeasts and *Enterococcus faecalis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;102:410–6.
4. Prasanth M. Antimicrobial efficacy of different toothpastes and mouthrinses: An *in vitro* study. Dent Res J. 2011;8:85–94.
5. Patel M, Shackleton JT, Coogan MM. Effect of antifungal treatment on the prevalence of yeasts in HIV-infected subjects. J Med Microbiol. 2006;55(Pt 9):1279–84.
6. Nayak A, Nayak RN, Bhat K. Antifungal activity of a toothpaste containing *Ganoderma lucidum* against *Candida albicans* – an *in vitro* study. J Int Oral Health. 2010;2(2):51–7.
7. Stamm JW. Multi-function toothpastes for better oral health: a behavioural perspective. Int Dent J.2007;57(S5):351–63.

8. van der Mei HC, White DJ, Atema-Smit J, van de Belt-Gritter E, Busscher HJ. A method to study sustained antimicrobial activity of rinse and dentifrice components on biofilm viability *in vivo*. J Clin Periodontol. 2006;33:14–20.
9. Elizabeth KM. Antimicrobial activity of *Terminalia bellerica*. Indian J ClinBiochem. 2005;20(2):150-3.
10. Barazani VO, Sathiyomoorthy P, Shalev R, Vardy D, Golan GA. Screening of South-Indian medicinal plants for anti-fungal activity. Phyther Res. 2003;17(9):1123–5.
11. Dutta BK, Rahman I, Das TK. Antifungal activity of Indian plant extracts. Mycoses. 1998;41(11–12):535–6.
12. Mehmood Z, Ahmad I, Mohammad F, Ahmad S. Indian medicinal plants: A potential source of anticandidal drugs. Pharm Biol. 1999;37(3):237–42.
13. Rubini R, Shanthi G, Soundhari C, Rajarajan S. Antifungal activity of Terminalia Chebula and Trrminalia cstappa on two dermatophytes. J Med Arom Plants. 2013;4(2):15-9.
14. Mandloi S, Srinivasa R, Mishra R, Varma R. Antifungal activity of alcoholic leaf of Terminalia catappa ad Terminalia arjuna on some pathogenic and pathogenic and allergenic fungi. Adv Life Sci Technol. 2013;8:25-7.
15. Sireeratawong S, Jaijoy K, Panunto W, Nanna U, Lertprasertsuke N, Soonthornchareonnon N. Acute and chronic toxicity study of the water extract from dried fruit of *Terminalia bellerica* (Gaertn) Roxb. in Spargue-Dawley rats. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2013;10(2):233-1.