ศิณีวัณย์ พิทักษ์ทิม : ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของแอลฟา-แมงโกสตินสกัดจากเปลือกผลมังคุดต่อแบคทีเรียดื้อยา (ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF α-MANGOSTIN FROM THE PERICARP EXTRACT OF *GARCINIA MANGOSTANA* L. AGAINST DRUG RESISTANT BACTERIA) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เอื้อมเก็บ, 112 หน้า.

ในปัจจุบันนี้ อุบัติการณ์ดื้อยาแบบหลายชนิดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและฉวยโอกาสมีมากขึ้นเรื่อยๆ งานวิจัยที่จะหาสารต้านแบคทีเรียใหม่ๆ ที่ทำให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดเบตาแลคแทมเหล่านั้นนำกลับมาใช้ได้เหมือนเดิมจึงเป็นเป้าหมายที่สำคัญและความต้องการอย่างเร่งด่วน ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด เมื่อใช้แบบเดี่ยวๆและร่วมกับยาต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดเบตาแลคแทม ผลของมังคุดแก่ถูกนำมาสกัดและพิสูจน์เอกลักษณ์ การใช้เครื่องสกัดแบบซอกเลท ทำให้ได้สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน สารสกัดย่อยที่ 3 และแอลฟา-แมงโกสติน สารหลักถูกนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์โดยเอนเอมอาร์ ได้แก่สารแอลฟา-แมงโกสติน ค่ายับยั้งต่ำสุดของสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน สารสกัดย่อยที่ 3 แอลฟา-แมงโกสติน และออกซาซิลลิน ต่อเชื้อสแตปฟิโลคอคคัสซาโพลไฟติคัส ที่ดื้อออกซาซิลลิน มีค่า 50, 31, 8 และ 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ค่ายับยั้งต่ำสุดของสารสกัดเหล่านี้เมื่อใช้เดี่ยวๆหรือผสมกับออกซาซิลลิน พบว่า เชื้ออี โคไลและอี โคลเอเซที่ดื้อต่อเซพตาซิดีม มีค่าดื้อต่อสารเหล่านี้ในทุกกลุ่มของสารที่ทดลอง ดังนั้นผลการทดสอบบ่งชี้ว่า สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเหล่านี้ มีความแรงในการต้านเชื้อโออาร์เอสเอสเหนือกว่าออกซาซิลลินเดี่ยวๆ ผลการทำเชคเคอบอร์ดบ่งชี้ว่า ค่าเอฟไอซีอินเดก ของสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน สารสกัดย่อยที่ 3 และแอลฟา-แมงโกสตินเมื่อผสมกับออกซาซิลลิน ในการต้านเชื้อโออาร์เอสเอส มีผลเสริมฤทธิ์กันที่ค่า 0.25, 0.138, และ 0.375 ตามลำดับ กราฟยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เมื่อได้รับสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเหล่านี้ผสมกับออกซาซิลลิน พบว่าการเจริญของเชื้อนี้ที่ 6-24 ชั่วโมงลดลงอย่างมาก ผลจากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบว่าสารสกัดเหล่านี้ เมื่อผสมกับออกซาซิลลิน ที่ค่าต่ำกว่าค่าการยับยั้งต่ำสุดต่อเชื้อนี้ พบว่า ทำให้เซลล์จำนวนมากขนาดเล็กกว่าเซลล์กลุ่มควบคุม รูปร่างเซลล์บิดเบี้ยวและเยื่อหุ้มเซลล์ได้รับความเสียหายในเซลล์จำนวนมาก นอกจากนั้นแล้วยังพบว่า ไม่ว่าจะใช้สารสกัดเดี่ยวๆหรือผสมกับออกซาซิลลินที่ค่าต่ำกว่าค่าการยับยั้งต่ำสุดต่อเชื้อนี้ ทำให้เพิ่มการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกและชั้นในได้ นอกจากนั้นแล้ว การทดสอบเอสดีเอส-เพจ พบว่า สารผสมเหล่านี้เมื่อใช้เดี่ยวหรือผสมกับออกซาซิลลิน ทำให้แบนของโปรตีนที่หนักกว่าหายไป ในขณะที่พบแบนที่เบากว่าเข้มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากผลการศึกษานี้ สามารถสรุปได้ว่า ออกซาซิลลิน มีฤทธิ์ต้านเชื้อโออาร์เอสเอสน้อยมาก ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเหล่านี้ มีความแรงสูงกว่ายาเมื่อใช้เดี่ยวๆนี้มาก ยิ่งไปกว่านั้น ส่วนผสมของสารสกัดเหล่านี้ โดยเฉพาะแอลฟา-แมงโกสตินและออกซาซิลลิน แสดงฤทธิ์เสริมกัน ในการต้านเชื้อนี้อย่างชัดเจน ดังนั้น การค้นพบนี้ เป็นเครื่องพิสูจน์ว่า สารสกัดจากเปลือกผลมังคุด เหล่านี้ ออกฤทธิ์เสริมกับออกซาซิลลินเพื่อให้ออกซาซิลลินสามารถนำกลับมาใช้ใหม่กับเชื้อที่ดื้อต่อ ยาตัวนี้แล้ว

กล่าวโดยสรุป การเสริมฤทธิ์ที่เกิดขึ้น อาจมาจากกลไกการยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ หรือการลดการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกและชั้นใน สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเหล่านี้มี ความปลอดภัยสูงสำหรับการรักษา ด้วยเหตุนี้ อาจสามารถพัฒนาสารเหล่านี้ โดยนำมาผสมกับออก ซาซิลลินในการต้านเชื้อโออาร์เอสเอส ซึ่งในปัจจุบันดื้อต่อยาในกลุ่มเพนนิซิลลินแทบทุกตัว การทดสอบนี้ ยังคงต้องทดสอบในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาชีววิทยา ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2555 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

SINEEWAN PHITAKTIM : ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF α-MANGOSTIN FROM THE PERICARP EXTRACT OF *GARCINIA MANGOSTANA* L. AGAINST DRUG RESISTANT BACTERIA. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. GRIANGSAK EUMKEB, Ph.D. 112 PP.

GARCINIA MANGOSTANA L./β-LACTAM ANTIBIOTICS/ANTIBACTERIAL ACTIVITY/*STAPHYLOCOCUS SAPROPHYTICUS*

In the recent years, incidence of multidrug resistance in pathogenic and opportunistic bacteria has been increasingly documented. The search for novel antibacterial agents that can reverse the resistance to *β*-lactam antibiotics are research objectives of far reaching importance and urgently needed. Thus, the objective of this study was to investigate the activity of bioactive compounds from the pericarp extract of *Garcinia mangostana* L. (GML) against drug resistant bacteria, when use alone and in combination with *β*-lactams antibiotic. The mature GML fruits extraction and identification methods were accomplished. The CH_2Cl_2 crude extract, Fr_3 extract, and α-mangostin were extracted by Soxhlet extraction. Main compound structure is identified as α-mangostin using NMR. MIC values of CH_2Cl_2 crude extract, Fr3 extract, α-mangostin, and oxacillin against oxacillin-resistant *S. saprophyticus* (ORSS) revealed 50, 31, 8, and 128 µg/mL, respectively. However, the MIC values of GML extracts either alone or in combination with oxacillin exhibited high resistant against both ceftazidime-resistant *E. coli* and ceftazidime-resistant *E. cloacae* strains in all treated compounds. So that, these results indicate that these compounds revealed a higher potency against ORSS than oxacillin alone. The checkerboard displayed that the FICs index of CH_2Cl_2 crude extract, Fr_3 and α-mangostin plus oxacillin revealed

synergistic effects at 0.25, 0.138, and 0.375 respectively against ORSS strain. The killing curves proved that the combination of these extracts plus oxacillin caused a marked decrease of ORSS cells within 6 h and throughout 24 h period. The TEM method exhibited that the effect of the combination of oxacillin plus these compounds at sub-MIC value on ORSS revealed great deal smaller than the control cells, cell shape distortion and cell envelope damage in most of these cells. In addition, either compound alone or in combination with oxacillin at sub MIC value steady increased the OM and CM permeability of this strain. Besides, the SDS-PAGE results exhibited that there was an absence of protein bands at higher MW whereas appeared darker at lower MW of these compounds treated cells compared to control.

From these results, it can be concluded that GML compounds showed rather higher potency than oxacillin alone against this strain. Moreover, the combination of oxacillin and these compounds, especially α-mangostin, obviously showed great synergism activity against this strain. So, our findings provide evidence that these compounds have the synergistic effect with oxacillin to reverse bacterial resistance to oxacillin against this resistant strain.

To conclude, this activity may be involved two mechanisms of action, including the cell wall synthesis inhibition and steady increase OM and CM permeabilization. These compounds have a sufficient margin of safety for therapeutic use. For this reason, these compounds offer for the development of a valuable adjunct to oxacillin against ORSS, which currently almost penicillins resistance. These in vitro results have to be still confirmed in an animal or in humans test.

School of Biology Student's Signature_____

Academic Year 2012 Advisor's Signature_____