

## บทคัดย่อภาษาไทย

ในปัจจุบันนี้ อุบัติการณ์คือยาแบบหลายชนิดของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและฉวยโอกาสมีมากขึ้นเรื่อยๆ ทำให้เพิ่มความเสี่ยงต่อชีวิตของผู้ป่วยและบุคลากรทางการแพทย์ในโรงพยาบาลที่จะมีโอกาสติดเชื้อ งานวิจัยที่จะหาสารต้านแบคทีเรียใหม่ๆ ที่ทำให้อาณานิคมเชื้อแบคทีเรียชนิดบีตาแลคแทมเหล่านี้กลับมาใช้ได้เหมือนเดิมจึงเป็นเป้าหมายที่สำคัญและความต้องการอย่างเร่งด่วน ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลมังคุด เมื่อใช้แบบเดี่ยวๆ และร่วมกับยาต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดบีตาแลคแทม ผลของมังคุดแก่ถูกนำมาสกัดและพิสูจน์เอกลักษณ์ การใช้เครื่องสกัดแบบชอกเลท ทำให้ได้สารสกัดหยาบไคคโลโรมีเทน สารสกัดย่อยที่ 3 และแอลฟา-แมงโกสทิน จากนั้นได้นำสารหลักไปพิสูจน์เอกลักษณ์โดยเอนเอมอาร์ พบว่าได้แก่สารแอลฟา-แมงโกสทิน เมื่อเทียบกับเอกสารอ้างอิง ค่ายับยั้งต่ำสุดของสารสกัดหยาบไคคโลโรมีเทน สารสกัดย่อยที่ 3 แอลฟา-แมงโกสทิน และออกซาซิลลิน ต่อเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ซาโพรไฟติกัส ที่คือออกซาซิลลิน (โออาร์เอสเอส) มีค่า 50, 31, 8 และ 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ค่ายับยั้งต่ำสุดของสารสกัดเหล่านี้เมื่อใช้เดี่ยวๆหรือผสมกับออกซาซิลลิน พบว่า เชื้ออี โคไลและอี โคไลเอเซที่คือต่อเซพตาซิม มีค่าคือต่อสารเหล่านี้ในทุกกลุ่มของสารที่ทดลอง ดังนั้นผลการทดสอบบ่งชี้ว่า สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเหล่านี้ มีความแรงในการต้านเชื้อโออาร์เอสเอสเหนือกว่าออกซาซิลลินเดี่ยวๆ ผลการทำซเคเคบอร์คบ่งชี้ว่า ค่าเอฟไอซี อินเดก ของสารสกัดหยาบไคคโลโรมีเทน สารสกัดย่อยที่ 3 และแอลฟา-แมงโกสทินเมื่อผสมกับออกซาซิลลิน ในการต้านเชื้อโออาร์เอสเอส มีผลเสริมฤทธิ์กันที่ค่า 0.25, 0.138, และ 0.375 ตามลำดับ กราฟยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เมื่อได้รับสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเหล่านี้ผสมกับออกซาซิลลิน พบว่าการเจริญของเชื้อนี้ที่ 6-24 ชั่วโมงลดลงอย่างมาก ผลจากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า สารสกัดเหล่านี้ รวมถึงแอลฟา-แมงโกสทิน เมื่อผสมกับออกซาซิลลิน ที่ค่าต่ำกว่าค่าการยับยั้งต่ำสุดต่อเชื้อนี้ พบว่า ทำให้เซลล์จำนวนมากขนาดเล็กกว่าเซลล์กลุ่มควบคุม รูปร่างเซลล์บิดเบี้ยวและเยื่อหุ้มเซลล์ได้รับความเสียหายในเซลล์จำนวนมาก นอกจากนั้นแล้ว การทดสอบการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกและชั้นใน พบว่า ไม่ว่าจะใช้สารสกัดจากพืชนี้เดี่ยวๆหรือผสมกับออกซาซิลลิน ที่ค่าต่ำกว่าค่าการยับยั้งต่ำสุดต่อเชื้อนี้ ทำให้เพิ่มการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกและชั้นใน นอกจากนั้นแล้ว การทดสอบเอสดีเอส-เพจ พบว่า สารผสมเหล่านี้เมื่อใช้เดี่ยวๆหรือผสมกับออกซาซิลลิน ทำให้เบนของโปรตีนที่หนักกว่าหายไป ในขณะที่พบแบนที่เบากว่าเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า ออกซาซิลลิน มีฤทธิ์ต้านเชื้อโออาร์เอสเอสน้อยมาก ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเหล่านี้ มีความแรงสูงกว่ายาเมื่อใช้เดี่ยวๆนี้มาก ยิ่งไปกว่านั้นส่วนผสมของสารสกัดเหล่านี้ โดยเฉพาะแอลฟา-แมงโกสทินและออกซาซิลลิน แสดงฤทธิ์เสริมกันในการต้านเชื้อนี้อย่างชัดเจน ดังนั้น การค้นพบนี้ เป็นเครื่องพิสูจน์ว่า สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเหล่านี้ ออกฤทธิ์เสริมกับออกซาซิลลินเพื่อให้ออกซาซิลลินสามารถนำกลับมาใช้ใหม่กับเชื้อที่คือต่อยาคำนี้แล้ว

กล่าวโดยสรุป การเสริมฤทธิ์ที่เกิดขึ้น อาจมาจากสองกลไกของสารผสมเหล่านี้ กลไกแรก มาจากการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนที่สัมพันธ์กับเปปทิโดไกลแคนและเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย กลไกที่สอง มาจากการเพิ่มการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกและชั้นใน สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดเหล่านี้มีความปลอดภัยสูงสำหรับการรักษา ด้วยเหตุนี้ อาจสามารถพัฒนาสารเหล่านี้ โดยนำมาผสมกับออกซาซิลลินในการต้านเชื้อโออาร์เอสเอส ซึ่งในปัจจุบันคือต่อยาในกลุ่มเพนิซิลลินแทบทุกตัว การทดสอบนี้กระทำในหลอดทดลอง ยังคงต้องทดสอบในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ต่อไป ถ้าเป็นไปได้ ระบุสารในเลือดและเนื้อเยื่อต้องสามารถอยู่ในระดับที่เสริมฤทธิ์กันได้



## บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

In the recent years, incidence of multidrug resistance in pathogenic and opportunistic bacteria has been increasingly documented. These bacteria pose life-threatening risks to the hospitalized patients and their care givers. The search for novel antibacterial agents that can reverse the resistance to  $\beta$ -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  $\beta$ -lactams antibiotic. The mature GML fruits extraction and identification methods were accomplished. The  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  crude extract, Fr<sub>3</sub> extract, and  $\alpha$ -Mangostin were extracted by Soxhlet extraction. Then, the main compound structure is identified as  $\alpha$ -mangostin using NMR compared with the reference. The MIC values of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  crude extract, Fr<sub>3</sub> extract,  $\alpha$ -mangostin and oxacillin against clinical isolates of oxacillin-resistant *S. saprophyticus* (ORSS) revealed 50, 31, 8 and 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 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 indicated that bioactive compounds from GML extract revealed a great deal higher potency against ORSS than oxacillin alone. The checkerboard results displayed that the FICs index of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  crude extract, Fr<sub>3</sub> and  $\alpha$ -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 GML extracts plus oxacillin caused a marked decrease of ORSS cells within 6 h and throughout 24 h periods. The TEM method exhibited that the effect of the combination of oxacillin plus these GML extract compounds including  $\alpha$ -mangostin 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, the OM and CM permeabilization results demonstrated that either bioactive compounds from this plant including  $\alpha$ -mangostin 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 either bioactive compounds from this plant including  $\alpha$ -mangostin alone or in combination with oxacillin at sub MIC value treated cells compared to control.

From these results, it can be concluded that the oxacillin had little activity against ORSS strain. Whereas, biochemical compounds of GML extracts showed rather higher potency than oxacillin alone against this strain. Moreover, the combination of oxacillin and these bioactive compounds, especially  $\alpha$ -

mangostin, obviously showed great synergism activity against this strain. So, our findings provide evidence that these GML extract 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 by these GML extract compounds in combination with oxacillin. The first is on the bacterial membrane peptidoglycan associated protein synthesis inhibition. The second mode of action is steady increase OM and CM permeabilization. These GML extract compounds including  $\alpha$ -mangostin have a sufficient margin of safety for therapeutic use. For this reason, these extract 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. If possible, blood and tissue levels would be achievable to work synergistically.

