

## การศึกษาพฤษเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะของสมุนไพรในเบญจผลธาตุ

เจมส์ พิงผล<sup>‡</sup>, พลอยทราย โอสามา<sup>†</sup>, ธวัชชัย กมลธรรม<sup>†</sup>, สรรใจ แสงวิเชียร<sup>†</sup>

<sup>\*</sup>หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10300

<sup>†</sup>มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10300.

<sup>‡</sup>ผู้รับผิดชอบบทความ: jamesph@hotmail.com

### บทคัดย่อ

การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะเป็นการติดเชื้อที่พบได้บ่อยและเป็นปัญหาที่สำคัญในระบบสาธารณสุขของประเทศไทย *Escherichia coli* และ *Enterococcus faecalis* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะและมักพบการดื้อยาปฏิชีวนะในเชื้อเหล่านี้ ส่งผลให้เกิดการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการรักษาหรือการติดเชื้ออาจรุนแรงถึงเสียชีวิต การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพฤษเคมีและฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะของสมุนไพรที่เป็นส่วนประกอบในเบญจผลธาตุ ได้แก่ กกลังกา เต่าเกียด หัวหมู หนุ่ยชันกาด และเปราะหอม โดยสกัดสมุนไพรด้วยวิธีต้มและนำไปทำให้แห้งด้วย freeze dry นำผงแห้งของสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *E. faecalis* ด้วยวิธี microdilution method ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากกกลังกาและเต่าเกียด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. faecalis* โดยได้ค่า MIC เท่ากับ 62.5 และ 100.0 mg/ml ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบทางพฤษเคมีพบว่า สมุนไพรทั้งสองชนิด มีสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน ดังนั้นจึงควรศึกษาพฤษเคมีของสมุนไพรชนิดนี้ในเชิงลึก เพื่อหาสารสำคัญที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย เพื่อเป็นประโยชน์นำไปพัฒนาเป็นยาได้ในอนาคต

**คำสำคัญ :** เบญจผลธาตุ, กกลังกา, เต่าเกียด, *E. faecalis*

## Preliminary Assessment of Phytochemical Content and Antibacterial Activity Against Urinary Tract Pathogens of Herbs in *Benjapoltadhu*

James Phungphol<sup>\*,‡</sup>, Ploysai Ohama<sup>†</sup>, Thavatchai Kamoltham<sup>†</sup>, Sanjai Sangvichien<sup>†</sup>

<sup>\*</sup>Master of Science Program in Applied Thai Traditional Medicine, Suan Sunandha Rajabhat University, Bangkok 10300, Thailand

<sup>†</sup>Suan Sunandha Rajabhat University, Bangkok 10300, Thailand

<sup>‡</sup>Corresponding author: jamesph@hotmail.com

### Abstract

Urinary tract infection is a common disease and a significant issue in the Thai public health system. *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* are both major causes of urinary tract infection. Antibacterial resistance is always found in these two pathogens and could lead to difficulty in treatment and may even be life-threatening. The purpose of this study was to screen phytochemical constituents and antibacterial activity of the herbs in *Benjapoltadhu*, consisting of *Cyperus alternifolius* L., *Homalomena aromatica* (Spreng.) Schott, *Cyperus rotundus* L., *Panicum repens* L. and *Kaempferia galanga* L. Extraction of the herbs was carried out by boiling them in water and then freeze drying the extracts. The antimicrobial study was performed against 2 stains, *E. coli* and *E. faecalis* using the microdilution method. The results showed that the extract from *C. alternifolius* L. and *H. aromatica* (Spreng.) Schott could inhibit *E. faecalis* with MIC 62.5 and 100.0 mg/ml, respectively. Both herbs were found to contain groups of terpenoids, flavonoids, saponins and tannins. The results suggested that further study is required to elucidate the phytochemical content that possesses antibacterial properties for the development of new medicine in the future.

**Key words:** *Benjapoltadhu*, *Cyperus alternifolius* L., *Homalomena aromatica* (Spreng.) Schott, *E. faecalis*

### บทนำ

การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะเป็นภาวะการติดเชื้อที่พบได้บ่อยโดยเฉพะอย่างยิ่งในเพศหญิงและยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญในระบบสาธารณสุขของประเทศไทย อาการของโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะที่พบได้บ่อย คือ มีอาการปวดปัสสาวะบ่อย ปวดแสบขณะถ่ายปัสสาวะหรืออาการขัดปัสสาวะ<sup>[1]</sup> สาเหตุการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะสามารถเกิดได้จากเชื้อหลายชนิด เช่น *Escherichia coli* และ *Enterococcus faecalis*<sup>[2]</sup>

*Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง เป็นสาเหตุก่อโรคในทางเดินปัสสาวะบ่อยที่สุด พบอัตราการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli* มีแนวโน้มสูงขึ้น ปัจจุบันประเทศไทยกำลังประสบปัญหาเชื้อ *E. coli* ดื้อต่อยาในกลุ่ม quinolones (Quinolone Resistant *E. coli*, QREc)<sup>[3]</sup> และ *Enterococcus faecalis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม เชื้อชนิดนี้มีความสำคัญทางสาธารณสุขอย่างมากเนื่องจากเป็นเชื้อดื้อต่อยากลุ่ม Cephalosporins และพบการดื้อต่อยาในกลุ่ม

Glycopeptides เพิ่มขึ้น<sup>[4]</sup>

เบญจผลธาตุได้กล่าวไว้ในตำราแพทย์แผนไทยว่าเป็นการจัดหมวดหมู่ของยาโดยให้ใช้สมุนไพรในอัตราส่วนเท่ากัน หมายถึงการจำกัดจำนวนตัวยาแก่ธาตุได้ผล 5 อย่าง ซึ่งประกอบด้วย หัวกัลลังกา หัวเต่า กะเทียม หัวแห้วหมู หัวหญ้าชันกาด และหัวเปราะหอม มีสรรพคุณรวมคือ แก้อาตุพิษการ บำรุงธาตุ บำรุงกำลัง เจริญไฟธาตุ แก้อาการเดินปัสสาวะ และแก้ตับทนต์<sup>[5]</sup> แพทย์แผนไทยมักใช้สมุนไพรในพิกัดเบญจผลธาตุในการแก้ไข้ที่เกี่ยวกับทางเดินปัสสาวะ

กัลลังกา (*Cyperus alternifolius* L.) อยู่ในวงศ์ Cyperaceae หัวเหง้าใช้ขับโลหิตเนื่องจากขี้ใน แก้อาตุพิษการ ขับน้ำดีให้ตกในลำไส้ แก้โรคในปาก บำรุงธาตุ แก้อาการเหน็บช้ำ แก้ไข้พิษร้อน บำรุงกำลัง ขับน้ำลาย ช่วยย่อยอาหาร<sup>[6]</sup> พบสารสำคัญ ได้แก่ umbelliferon, imperatorin, psoralen, xanthotoxin, quercetin, quercetin-3-O-rutinoside และ gallic acid<sup>[7]</sup>

เต่ากะเทียม (*Homalomena aromatica* (Spreng.) Schott) อยู่ในวงศ์ Araceae หัวเหง้าใช้ดับพิษที่ตับ ดับพิษที่ปอด ดับพิษที่หัวใจ แก้ตับทนต์ กัดฟอกเสมหะ แก้ไอ แก้ตานขโมย แก้โรคชางในเด็ก แก้ไข้เชื่อมซิม<sup>[8]</sup> พบสารสำคัญ ได้แก่ linalool, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol,  $\gamma$ -terpinene,  $\alpha$ -cadinol, geraniol, nerol,  $\alpha$ -terpinene, spatulenol และ T-cadinol<sup>[9]</sup>

แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) อยู่ในวงศ์ Cyperaceae หัว บำรุงกำลัง บำรุงธาตุ บำรุงหัวใจ เป็นยาอายุวัฒนะ บำรุงครรภ์ แก้อาตุพิษการ ช่วยให้อาหารเจริญอาหาร ทำให้น้ำนมมาก ขับพยาธิไส้เดือน ขับลม แก้ไข้ ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ แก้กระษัย<sup>[10]</sup> พบสารสำคัญ ได้แก่  $\alpha$ -cyperone, cyperene, cype-

rotundone,  $\beta$ -selinene,  $\alpha$ -copaene, valerenal, caryophyllene oxide, patchoulanyl acetate, sugeonyl acetate,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, limonene และ 1,8-cineole<sup>[11]</sup>

หญ้าชันกาด (*Panicum repens* L.) อยู่ในวงศ์ Poaceae หัว ทำให้ประจำเดือนมาตามปกติ ละลายก้อนนิ่ว ขับปัสสาวะ<sup>[10]</sup> พบสารสำคัญ ได้แก่ (25S)-spirost-5-en-3 $\beta$ -ol-3-O- $\alpha$ -l-rhamnopyranosyl-(1  $\rightarrow$  4)-O- $\alpha$ -l-rhamnopyranosyl-(1  $\rightarrow$  4)-O- $\alpha$ -l-rhamnopyranosyl-(1  $\rightarrow$  2)-O- $\beta$ -d-glucopyranoside, 16-O- $\alpha$ -l-rhamnopyranosyl-cholest-5-en-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,16 $\beta$ -triol-22-one-3-O- $\alpha$ -l-rhamnopyranoside, 16-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-cholest-5-en-3 $\beta$ ,16 $\beta$ diol-2 $\alpha$ -methoxy-22-one-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, 16-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-cholest-5-en-3 $\beta$ ,16 $\beta$ -diol-2 $\alpha$ -methoxy-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside<sup>[12]</sup>

เปราะหอม (*Kaempferia galanga* L.) อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae หัว ทำให้ขับเลือดและหนองให้ตก แก้ไอ แก้ลมพิษ แก้ผื่นคัน แก้บาดแผล แก้เสมหะ เจริญไฟธาตุ แก้ท้อง<sup>[8]</sup> พบสารสำคัญ 2-propeonic acid, pentadecane, ethyl para methoxy cinnamate, 3-carene, eucalyptol, 3-4-methoxyphenyl, borneol, 3H-3a, 7-methanoazulene, heptadecane, 1-methyl-2-(1-methylethyl), 1,6-cyclo-decadienen, 8-heptadecene, camphene, tetradecane, delta limonene, alphapinene, cyclotetradecane, betapinene, cycloctene, 1-methyl-3-(1-methylethyl,

gamma elemene<sup>[13]</sup>

จากภูมิปัญญาทางการแพทย์แผนไทยที่ใช้สมุนไพรที่อยู่ในพิกัดเบญจผลธาตุ เป็นส่วนประกอบในการปรุงยาเพื่อแก้อาการปัสสาวะขัด ไตพิการ จึงศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ของสมุนไพรในเบญจผลธาตุต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ เพื่อนำมาเป็นประโยชน์ในการสนับสนุนการใช้สมุนไพรและเป็นทางเลือกรักษาผู้ป่วยในกลุ่มโรคดังกล่าว

## ระเบียบวิธีศึกษา

### วัสดุ

ตัวอย่างสมุนไพรแห้ง จากร้านจำหน่ายยาสมุนไพร ในกรุงเทพมหานคร ได้แก่ หัวกกลังกา (*Cyperus alternifolius* L.) หัวเต่าเกียด (*Homalomena aromatica* (Spreng.) Schott) หัวแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) หัวหญ้าชันกาด (*Panicum repens* L.) และหัวเปราะหอม (*Kaempferia galanga* L.)

แบคทีเรียที่ใช้ศึกษา ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2 ชนิด คือ *Escherichia coli* ATCC25923 และ *Enterococcus faecalis* ATCC7080

### วิธีการศึกษา

#### 1. การสกัดสารจากสมุนไพร

นำสมุนไพรเดี่ยวทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ กกลังกา เต่าเกียด แห้วหมู หญ้าชันกาด และเปราะหอม ใช้ส่วนหัวตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 45°C สมุนไพรที่อบแล้วนำมาบดเก็บไว้ในที่แห้ง ไม่มีความชื้น ที่อุณหภูมิห้อง

นำผงสมุนไพรเดี่ยวแต่ละชนิด ซึ่งน้ำหนัก 50 กรัม เติมน้ำลงไปประมาณ 150 มิลลิลิตร เดี่ยวประมาณ 3 ชั่วโมง สำหรับการเตรียมสารสกัดจากเบญจผลธาตุ จะนำสมุนไพรซึ่งอย่างละ 10 กรัม นำมาต้มรวมกัน ทำการต้มเดี่ยว ประมาณ 3 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดแต่ละชนิดที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วจึงนำของเหลวที่กรองได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่อง freeze dry จะได้สารสกัดเป็นลักษณะผงแห้ง นำไปเก็บในโถดูดความชื้น (desiccator) ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลอง

#### 2. การทดสอบหาพฤกษเคมี<sup>[14]</sup>

2.1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์: ซึ่งสารสกัดมา 200 มิลลิกรัม เติมน้ำละลาย 10%  $H_2SO_4$  ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าแล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอ่างน้ำ (water bath) ประมาณ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออกแล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ไปหยดสารละลายดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) จำนวน 5 หยดแล้วเขย่า ถ้าปรากฏตะกอนสีส้มแดง แสดงว่าพบ แอลคาลอยด์

2.2 การตรวจสอบสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์: ซึ่งสารสกัดมา 200 มิลลิกรัม ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่ากรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ( $H_2SO_4$  conc.) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบเทอร์ปีนอยด์

2.3 การตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์: ซึ่งสารสกัดมา 200 มิลลิกรัม ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เขย่าและกรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่หลอดแมกนีเซียม

ขึ้นเล็กน้อย ลงไป 1 ชั้น และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (HCl conc.) จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ส้ม หรือแดง แสดงว่า พบฟลาโวนอยด์

2.4 การตรวจสอบสารกลุ่มซาโปนิน: ทดสอบการเกิดฟอง โดยชั่งสารสกัด 200 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที เขย่าอย่างแรง ถ้าปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้นในหลอดทดลอง แสดงว่าพบซาโปนิน

2.5 การตรวจสอบสารกลุ่มแทนนิน: ชั่งสารสกัดมา 200 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ (1%  $\text{FeCl}_3$ ) จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำ แสดงว่าพบแทนนิน

### 3. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย<sup>[15]</sup>

3.1 เพาะเลี้ยงแบคทีเรียแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงชนิด TSB เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$

3.1 Minimum inhibition concentration (MIC)

ทำการทดสอบด้วยวิธี microdilution method โดยละลายสารสกัดแต่ละชนิดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปรับความเข้มข้นตามความสามารถในการละลาย สูงสุด จากนั้นนำสารสกัดสมุนไพรมาเจือจางลงทีละ 2 เท่าด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth (MHB) ใน 96 well plate กกลังกามีความเข้มข้นระหว่าง 0.49-250.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่าที่เจือมีความเข้มข้นระหว่าง 0.195-100.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หัวหมู หนุ่ยชันกาด เปราะหอม และเบญจผลธาตุ มีความเข้มข้นระหว่าง 0.097-50 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร ปริมาณ 50 ไมโครลิตร เติมเชื้อแบคทีเรียจำนวนเซลล์  $10^7$  CFU/ml ลงไปในหลุมปริมาณ 50 ไมโครลิตร บ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่า MIC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่เห็นการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย สังเกตได้จากความขุ่น การทดลองทำ 3 ซ้ำ

3.2 Minimum bactericidal concentration (MBC)<sup>[16]</sup>

วิเคราะห์ MBC ด้วยการนำอาหารเลี้ยงเชื้อจากหลุมที่ไม่เกิดความขุ่นไปเพาะเลี้ยงเชื้อบน MHA แล้วนำไปบ่มในตู้อบเพาะเลี้ยงเชื้ออุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่เห็นเชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโต จะเป็นค่า MBC การทดลองทำ 3 ซ้ำ

## ผลการศึกษา

### 1. การสกัดสารจากสมุนไพร

จากสมุนไพรเดี่ยวทั้ง 5 ชนิด และ เบญจผลธาตุ เมื่อนำมาสกัดด้วยน้ำและทำให้แห้งด้วย freeze dry พบว่าสารสกัดกกลังก่า ลักษณะผงสีน้ำตาลดำเข้ม ปริมาณ yield crude extract มากที่สุดได้ 3.52% รองลงมาคือสารสกัดเท่าเกียด ลักษณะผงสีน้ำตาลส้ม ปริมาณได้ yield crude extract 2.54% สารสกัดเปราะหอม ลักษณะผงสีเหลืองขาว ได้ปริมาณ yield crude extract 2.02% สารสกัดหนุ่ยชันกาด ลักษณะผงสีเหลืองขาว ได้ปริมาณ yield crude extract 1.92% และสารสกัดหัวหมู ลักษณะผงสีน้ำตาล ปริมาณ yield crude extract น้อยที่สุดได้ 1.06% ส่วนสารสกัดที่ได้จากเบญจผลธาตุ ลักษณะผงสีน้ำตาล ได้ปริมาณ yield crude extract 1.26% ดังตารางที่ 1

### ตารางที่ 1 ร้อยละของสารสกัดต่อน้ำหนักแห้งและลักษณะของสารสกัดสมุนไพรในเบญจผลธาตุ

สมุนไพร	yield crude extract (%)	ลักษณะสารสกัด
หัวกกลังกา ( <i>Cyperus alternifolius</i> L.)	3.52	ผงสีน้ำตาลดำเข้ม
หัวเต่าเกียด ( <i>Homalomena aromatica</i> (Spreng.) Schott)	2.54	ผงสีน้ำตาลส้ม
หัวแห้วหมู ( <i>Cyperus rotundus</i> L.)	1.06	ผงสีน้ำตาล
หัวหญ้าชันกาด ( <i>Panicum repens</i> L.)	1.92	ผงสีเหลืองขาว
หัวเปราะหอม ( <i>Kaempferia galanga</i> L.)	2.02	ผงสีเหลืองขาว
เบญจผลธาตุ (ตำรับ)	1.26	ผงสีน้ำตาล

## 2. การทดสอบหาพิษเคมี

การศึกษาพิษเคมีของสารสกัดจากสมุนไพรเดี่ยวในเบญจผลธาตุ ด้วยวิธีการต้มและทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dry พบว่า กกลังกา และเต่าเกียด พบสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน แห้วหมูพบสารกลุ่ม แอลคาลอยด์ เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน เปราะหอมพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ และ ฟลาโวนอยด์ และหญ้าชันกาดพบสารกลุ่มซาโปนิน ดังตารางที่ 2

## 3. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

การศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดจาก

สมุนไพรในเบญจผลธาตุ ระดับต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (MIC) พบว่า สารสกัดจากกกลังกา และสารสกัดจากเต่าเกียด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. faecalis* ที่ความเข้มข้น 62.5 mg/ml และ 100 mg/ml ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเบญจผลธาตุ แห้วหมู หญ้าชันกาด และเปราะหอม ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. faecalis* ส่วนความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* พบว่าสารสกัดจาก เบญจผลธาตุ กกลังกา เต่าเกียด แห้วหมู หญ้าชันกาด และ เปราะหอม ไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ ดังตารางที่ 3

### ตารางที่ 2 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบพิษเคมีของสมุนไพรในเบญจผลธาตุ

สารสกัด	สารพิษเคมี				
	แอลคาลอยด์	เทอร์ปีนอยด์	ฟลาโวนอยด์	ซาโปนิน	แทนนิน
หัวกกลังกา ( <i>Cyperus alternifolius</i> L.)	-	+	+	+	+
หัวเต่าเกียด ( <i>Homalomena aromatica</i> (Spreng.) Schott)	-	+	+	+	+
หัวแห้วหมู ( <i>Cyperus rotundus</i> L.)	+	+	+	-	+
หัวหญ้าชันกาด ( <i>Panicum repens</i> L.)	-	-	-	+	-
หัวเปราะหอม ( <i>Kaempferia galanga</i> L.)	+	+	-	-	-

+ = พบสารพิษเคมี ; - = ไม่พบสารพิษเคมี

### ตารางที่ 3ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพรในเบญจผลธาตุ

สารสกัด	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>
	MIC (mg/ml)	MIC (mg/ml)
หัวกกั๊งกา ( <i>Cyperus alternifolius</i> L.)	ND	62.5
หัวเต่าเกียด ( <i>Homalomena aromatica</i> (Spreng.) Schott)	ND	100.00
หัวแห้วหมู ( <i>Cyperus rotundus</i> L.)	ND	ND
หัวหญ้าชันกาด ( <i>Panicum repens</i> L.)	ND	ND
หัวเปราะหอม ( <i>Kaempferia galanga</i> L.)	ND	ND
เบญจผลธาตุ (ตำรับ)	ND	ND

หมายเหตุ : ND หมายถึง ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง

การศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรในเบญจผลธาตุ ระดับต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย ที่ติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ (MBC) โดยนำอาหารเลี้ยงเชื้อจากหลุมที่ไม่เกิดความขุ่นซึ่งได้แก่สารสกัดจากกกั๊งกาและเต่าเกียดไปเพาะเลี้ยงเชื้อบน MHA แล้วนำไปบ่มในตู้อบเพาะเลี้ยงเชื้ออุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดจากเบญจผลธาตุ กกกั๊งกา เต่าเกียด แห้วหมู หญ้าชันกาด และเปราะหอม ไม่สามารถฆ่าแบคทีเรีย *E. coli* และ *E. faecalis*

### อภิปรายผล

จากผลการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากกกั๊งกาและเต่าเกียดสามารถยับยั้ง *E. faecalis* ได้ เพราะ *E. faecalis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งโดยทั่วไปแล้วสารสกัดจากสมุนไพรจะสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ เนื่องจากโครงสร้างของแบคทีเรียที่แตกต่างกัน ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วยเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งล้อมรอบเพปติโดไกลแคน ส่วนแบคทีเรียแกรมบวกมีเพปติโดไกลแคน

เป็นสารประกอบหลัก ซึ่งมีความซับซ้อนน้อยกว่าเมื่อเทียบกับแบคทีเรียแกรมลบ ดังนั้นผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกจึงถูกทำลายได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ<sup>[17]</sup> ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ATCC 25922 ซึ่งฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพรไทย 10 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน ชุมเห็ดเทศ จันทน์แดง จันทน์แปดกลีบ ผาง พริกไทยดำ ฟ้าทะลายโจร ยี่ห่วย สมอไทย และอบเชยโดยใช้ 95% เอทานอลเป็นตัวสกัด พบว่า แบคทีเรียแกรมบวกจะถูกยับยั้งได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ<sup>[18]</sup>

จากผลการทดสอบพิษเฉียบของกกั๊งกาและเต่าเกียด พบว่ามีสารกลุ่ม เทอร์ปีโนอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และ ซาโปนิน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยการทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย การต้านราที่ก่อโรคในมนุษย์และวิเคราะห์พิษเฉียบในพืชทะเลทรายที่พบว่ากกั๊งกาพบสารกลุ่ม เทอร์ปีโนอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน<sup>[19]</sup> และ งานวิจัยการทดสอบพิษเฉียบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากหัวเต่าเกียด พบสารกลุ่ม เทอร์ปีโนอยด์ ฟลาโวนอยด์



แทนนิน และซาโปนิน<sup>[20]</sup>

จากงานวิจัยฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของผลไม้ 5 ชนิด ได้แก่ ทุเรียน พันธุ์หมอนทอง มังคุดสุก ส้มเขียวหวาน กล้วยน้ำว่าดิบ และหมากสงดิบ เมื่อสกัดโดยใช้น้ำร้อน เอทานอล ความเข้มข้น 95% และอะซิโตน พบว่า ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารชนิดหนึ่งของกลุ่มฟลาโวนอยด์โดยเปลือกผลไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษาสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ<sup>[21]</sup> และงานวิจัยฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดยี่หว่า เมื่อสกัดด้วยเอทานอล แล้วทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. galactiae*, *S. typhi*, *E. coli* และ *K. pneumoniae* ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดจากยี่หว่า สามารถยับยั้งเชื้อทุกชนิด แต่ให้ผลในการยับยั้งที่แตกต่างกัน เพราะเป็นผลมาจากส่วนประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากพืช คือ eugenol, phenol และ thymol ซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์<sup>[22]</sup>

ผลการศึกษา พบว่า สารสกัดจากแห้วหมูไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *E. faecalis* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเรื่อง การวิเคราะห์ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของแห้วหมูและสะเดาต่อเชื้อก่อโรคในมนุษย์ ทำการทดสอบเตรียมสารสกัดแห้วหมูและสะเดา โดยใช้ บิวทานอล, เอทานอล, เมทานอล, คลอโรฟอร์ม, โพรพานอล, เฮกเซน, ไดเอทิลอีเทอร์ และน้ำ เป็นตัวทำละลาย แล้วนำไปทดสอบกับเชื้อ *S. aureus*, *E. faecalis*, *Bacillus subtilis* และ *E. coli* พบว่า สารสกัดแห้วหมูจาก ไดเอทิลอีเทอร์, เฮกเซน และน้ำ ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ ส่วนตัวทำละลายที่เหลือ ได้แก่ บิวทานอล, เอทานอล, เมทานอล, คลอโรฟอร์ม และ โพรพานอล มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทุกตัว<sup>[23]</sup> นอกจากนี้

ยังมีงานวิจัยทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสมุนไพร 6 ชนิด ได้แก่ *Acorus calamus* L., *Aristolochia indica* L., *Cyperus rotundus* L., *Desmodium gangeticum* (L.) DC., *Holostemma ada-kodien* Schult. และ *Kaempferia galanga* L. ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม และน้ำ และทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Bacillus pumilis* และ *E. coli* ด้วยวิธี disc diffusion พบว่า สมุนไพรส่วนใหญ่สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus pumilis* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่า *E. coli* ซึ่งเป็นแกรมลบ *Aristolochia indica* L. ซึ่งสกัดจาก น้ำและคลอโรฟอร์ม สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้เพียงชนิดเดียว สารสกัดจากน้ำของแห้วหมูและเปราะหอมไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*<sup>[24]</sup>

## ข้อสรุป

เบญจผลธาตุเป็นพืชยาประกอบด้วยสมุนไพร 5 ตัว ได้แก่ หัวกกลังกา (*Cyperus alternifolius* L.) หัวเต่าเกียด (*Homalomena aromatica* (Spreng.) Schott) หัวแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) หัวหญ้าชันกาด (*Panicum repens* L.) และหัวเปราะหอม (*Kaempferia galanga* L.) ในตำรายาแพทย์แผนไทยมีการใช้สมุนไพรในพืชเบญจผลธาตุในการรักษาโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ จากงานวิจัยนี้พบว่าตำรับเบญจผลธาตุมีสมุนไพรที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อก่อโรคทางเดินปัสสาวะที่สำคัญ ได้แก่ *E. faecalis* คือ กกลังกา และเต่าเกียด โดยพบสารพิษเคมีในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เทอร์ฟีนอยด์ ซาโปนินและแทนนิน ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไปในอนาคตถึงสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อ เพื่อใช้เป็นต้นแบบในการพัฒนายาปฏิชีวนะต่อไป ส่วนแห้วหมู หญ้าชันกาด และเปราะหอมถึง



แม้จะไม่พบฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรคทางเดินปัสสาวะ แต่อาจมีส่วนช่วยในกลไกอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น การขับปัสสาวะ หรือการลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ เป็นต้น ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องศึกษาวิจัยต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ตรวจ และให้คำแนะนำต่าง ๆ มาตลอด และขอขอบคุณผู้บริหารวิทยาลัยเทคโนโลยีทางการแพทย์และสาธารณสุข กาญจนภิเษก ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ห้องปฏิบัติการ และอำนวยความสะดวก

## References

- Nopparatana C. Urinary system:urinalysis. 2nd ed. Songkla: Prince of Songkla University; 2013. 197 p. (in Thai)
- Saensakdi S, Chaichet P, Kingchan S. Prevention of catheter-associated urinary tract infection in orthopedic patients, Khon Kaen Hospital. Journal of Health Science. 2014;23(2):323-34. (in Thai)
- Monmaturapoj T. Treatment of community-acquired urinary tract infection in the current era of Quinolone resistant. uropathogens. 2014;29(5):475-84. (in Thai)
- Indrawattana N, Vanaporn M. Nosocomial infection. Journal of medicine and health sciences. 2015;22(1):81-92. (in Thai)
- Picheansoonthon C, Jeerawong W. Khanapayset. 3rd ed. Bangkok: Amarin printing & publishing; 2013. 350 p. (in Thai)
- Bunyapraphatsara N, Chokchaichareonporn O, editors. Herbs: folk herbs (1). Bangkok: Faculty of Pharmacy, Mahidol University; 1996. 895 p. (in Thai)
- Awaad AS, Soliman GA, El-Sayed DF, El-Gindi OD, Alqasoumi.SI. Hepatoprotective activity of *Cyperus alternifolius* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Pharmaceutical Biology. 2012;50(2):155-61.
- Bunyapraphatsara N, Chokchaichareonporn O, editors. Herbs: folk herbs (2). Bangkok: Faculty of Pharmacy, Mahidol University; 1998. 640 p. (in Thai)
- Singh G, Kapoor IPS, Singh OD, Rao GP, Prasad YR, Leclercq PA, Klinkby N. Studies on essential oils, part 28: Chemical composition, antifungal and insecticidal activities of rhizome volatile oil of *Homalomena aromatica* Schott. Flavour and fragrance journal. 2000;15(4):278-80.
- Bunyapraphatsara N, Chokchaichareonporn O, editors. Herbs: folk herbs (5). Bangkok: Faculty of Pharmacy, Mahidol University; 2000. 580 p. (in Thai)
- Lawal OA, Oyedeji AO. Chemical composition of the essential oils of *Cyperus rotundus* L. from South Africa. Molecules. 2009;14(8):2909-17.
- Temraz A, Hozaien HE, El-Tantawy WH, El-Gindi OD, Taha KF. Cholestane and spirostane-type glycosides from the roots and rhizomes of *Panicum repens* L. Phytochemistry letters. 2014;10:173-8.
- Umar MI, Asmawi MZ, Sadikun A, Altaf R, Iqbal MA. Phytochemistry and medicinal properties of *Kaempferia galanga* L. (Zingiberaceae) extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011;5(14):1638-47.
- Chatteeranan S, Sabuyjai W, Niyomthai S. Phytochemical screening and antioxidant activity of *Clerodendrum disparifolium* leaves. KKU science Journal. 2013;41(3):723-30. (in Thai)
- Temrangsee P. Antibacterial activity of herbal extracts against clinical isolates from wound infection. Pathumthani: Thammasat University; 2011. 100 p. (in Thai)
- Ranseepanurat W, Chanwittayanuchit I, Pungmaun P, Ngamaurulel S, Chuwongwatana S. Diagnosis bacteria infections in medical. 4th ed. Bangkok: Chulalongkorn University; 2013. 285 p. (in Thai)
- Suwanpinit N, Suwanpinit P. General microbiology. Bangkok: Chulalongkorn University; 2007. 444 p. (in Thai)
- Ranseepanurat W, Kummarajadesadakul P, Chanwittayanuchit I. Antibacterial activities of ten Thai herbal extracts against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* ATCC 25922. HCU journal of Health science. 2016;19(38):35-48. (in Thai)
- Zain ME, Awaad AS, Al-Othman MR, Al-Dosary SK. Antibacterial, antifungal activity and phytochemical analysis of some desert plants against human pathogenic bacteria and fungi. Life Science Journal. 2014;11(7):343-9.
- Barua, CC, Talukdar A, Phukan B, Hazarika S, Barua AG, Baishya G. Phytochemical screening and *in vitro*

- antioxidant activity of ethanolic extract of *Homalomena aromatica* (Araceae) root. Der Pharmacia Lettre. 2014;6(1):128-38.
21. Tantipaibulvut S, Nuamsetti T, Dechayuenyong P. Antibacterial activity of some fruit-peel extracts. KKU Res.J. 2012;17(6):880-94. (in Thai)
  22. Tuntrakarnpong R, Tuntrakarnpong J. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. Crude extract. Sci J of Phetchaburi Rajabhat University. 2013;10(1):40-6. (in Thai)
  23. Prasad MP. Analysis of antimicrobial compounds in *Cyperus rotundus* and *Azadirachta indica* against human pathogens. Int J Curr Microbiol App Sci. 2014;3(3):206-10.
  24. Sini S, Malathy NS. Antimicrobial properties of roots of medicinal plants. Ancient Science of Life. 2005;25(2):62-5.