

เชียงใหม่ทันตแพทยสาร ปีที่ 39 ฉบับที่ 1 มกราคม – เมษายน 2561
Chiang Mai Dental Journal Vol.39 No.1 January – April 2018

ฤทธิ์ต้านเชื้อราและความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใยจากเหงือกมนุษย์
ของสารสกัดในแฟรกชันของไดคลอโรมีเทนจากผลสมอพิเภกแห้ง

Antifungal Activity and Cytotoxicity to Human Gingival Fibroblast of Terminalia Bellirica
Compounds in Dichloromethane Fraction

มยุรชฎี พิพัฒภัสกร¹, ประภาพรพรณ เต็มกิจฉาวร², ชัญญานุช ถิ่นวงศ์³, รัตจิต ตัณฑุเสณ³,
อรรจกักร วังศิริวิยะ³, อรวี ดำรงค์วานิช³, กาญจัทย์ ไชยล้อม³, นาทยา ล้อพงศ์พานิช³,
ปานฝัน ทองเป็นใหญ่³, วาทีศ เดชพงษ์³

¹ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

²ภาควิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

³คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

Mayurach Pipatphatsakorn¹, Prapapan Temkitthawon², Chanyanuch Teenawong³, Ratjit Tanthasane³,

Anchapak Wongwiriya³, Orawee Damrongwanich³, Karnhathai Chailom³, Nattaya Lohpongpanich³,

Parnfun Thongpenyai³, Watis Detpong³

¹Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Naresuan University

²Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University

³Faculty of Dentistry, Naresuan University

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชันไดคลอโรมีเทน รวมทั้งหาความเป็นพิษต่อเซลล์และหาความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชันไดคลอโรมีเทนที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใยจากเหงือกมนุษย์นำสารสกัดหยาบของสมอพิเภกแห้งในเอทานอลมาแยกสารด้วยเทคนิคการสกัดของเหลวด้วยของเหลว โดยสามารถแยกออกได้ 5 แฟรกชันตามความมีขี้ของสารได้แก่ แฟรกชันเฮกเซน แฟรกชันไดคลอโรมีเทน แฟรกชันเอทิล อะซีเตต แฟรกชันบิวทานอล และแฟรกชันน้ำ นำสารสกัดสมอพิเภกแห้งแต่ละแฟรกชันมาทดสอบหาฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ (สายพันธุ์ ATCC 90028) พบว่ามีเฉพาะแฟรกชันไดคลอโรมีเทนที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์เท่านั้น จึงนำความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชันไดคลอโรมีเทนที่สามารถยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ทดสอบด้วยวิธีดิสก์ ดิฟฟิวชัน และทดสอบหาฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ด้วยวิธีไมโครบรอต ไคลูชัน พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ร้อยละ 96.51 ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและฆ่าเชื้อแคนดิดาอัลบิแคนส์ได้มากกว่าร้อยละ 99.93 ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนำชิ้นเหงือกที่ได้จากการผ่าฟันคุดจากอาสาสมัคร 3 คน มาทำการเพาะเลี้ยง จากนั้นนำเซลล์สร้างเส้นใยจากเหงือกมนุษย์มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชันของไดคลอโรมีเทน โดยเติมสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชันของไดคลอโรมีเทนความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเซลล์สร้างเส้นใยเหงือก แล้วเพาะเลี้ยง

ต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีกลุ่มที่ใช้เพียงอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดปราศจากซีรัมเป็นกลุ่มควบคุม นำ เซลล์กลุ่มต่าง ๆ เหล่านี้ไปทำการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ด้วยเทคนิคเอ็มทีที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ในช่วงความยาวคลื่นแสง 570 นาโนเมตร พบว่ากลุ่มเซลล์ที่ได้รับสารสกัดเข้มข้น 625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นที่มากที่สุดที่ไม่มีพิษต่อเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p \geq 0.01$) แต่ในขณะที่ความสามารถในการฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้นั้นอยู่ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดของผลสมอพิเภกแห้งเพิ่มเติมและระมัดระวังหากต้องการนำมาพัฒนาเป็นตำหรับยารักษาโรคเชื้อราในช่องปากต่อไป

คำสำคัญ: แคนดิดา อัลบิแคนส์ สมอพิเภก ความเป็นพิษ

Abstract

The aims of this study were to evaluate anticandidal effect of Terminalia bellirica compounds in dichloromethane fraction on *Candida albicans* and to determine the cytotoxic effect on human gingival fibroblasts. Dried Terminalia bellirica crude ethanolic extract was extracted by liquid-liquid extract technique. Fractionated ethanolic was separated into 5 fractions orderly by its polarity; hexane fraction, dichloromethane fraction, ethyl acetate fraction, butanol fraction and aqueous fraction. Antifungal activity against *Candida albicans* (ATCC 90028) of all fractions was determined using disc diffusion method. In this study, the only dichloromethane fraction showed the effect against *Candida albicans*. Then, the lowest concentration of Terminalia bellirica compounds in dichloromethane fraction that exhibited anticandidal activity on disc diffusion assay was used as initial concentration in microbroth dilution. The results showed the minimum concentrations of Terminalia bellirica compounds in dichloromethane fraction that inhibited 96.51% and 99.93% of *Candida albicans* growth were 20 mg/ml and 25 mg/ml, respectively. Gingival tissue samples were collected from 3 subjects. The gingival tissues were harvested during a surgical procedure of impacted tooth removal. Human gingival fibroblast cultures were obtained from gingival explants. The fibroblasts were cultured in cell culture medium without serum and treated with various concentrations of Terminalia bellirica compounds in dichloromethane fraction for 24 hours. Dichloromethane fraction-free wells were used as a control condition. Cells viability was determined by using the MTT solution and the optical density (OD) was measured using microplate reader (wave length 570 nm). The Terminalia bellirica compounds in dichloromethane fraction at concentration of 625 $\mu\text{g}/\text{mL}$ was the maximum concentration that had no cytotoxicity on human gingival fibroblasts ($p \geq 0.01$) whereas the maximum fungicidal concentration of Terminalia bellirica compounds in dichloromethane fraction was 25,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Thus, the dichloromethane fraction of Terminalia bellirica compounds need more studies for further be used clinically in oral medicine.

Keywords: *Candida albicans*, terminalia bellirica, cytotoxic effect