ฤทธิ์ต้านเชื้อราและความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใยจากเหงือกมนุษย์ของสารสกัดในแฟรกชั่นของไดคลอโรมีเทนจากผลสมอพิเภกแห้ง

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

มยุรัชฎ์ พิพัฒภาสกร[1], ประภาพรรณ เต็มกิจถาวร[2], ชัญญานุช ธีนวงศ์[3], รัตจิต ตัณฑเสน[3], อรรจนาภัคร์ วงศวิริยะ[3], อรวี ดำรงค์วานิช[3], กาญจ์หทัย ไชยล้อม[3], นาตยา ล้อพงศ์พาณิช[3], ปานฝัน ทองเป็นใหญ่[3], วาทิศ เดชพงษ์[3]
[1]ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
[2]ภาควิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
[3]คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
Mayurach Pipatphatsakorn[1], Prapapan Temkitthawon[2], Chanyanuch Teenawong[3], Ratjit Tanthasane[3], Anchapak Wongwiriya[3], Orawee Damrongwanich[3], Karnhathai Chailom[3], Nattaya Lohpongpanich[3], Parnfun Thongpenyai[3], Watis Detpong[3]
[1]Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Naresuan University
[2]Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Faculty of of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University
[3]Faculty of Dentistry, Naresuan University

ชม. ทันตสาร 2561; 39(1) : 61-74
CM Dent J 2018; 39(1) : 61-74

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ของสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชั่นไดคลอโรมีเทน รวมทั้งหาความเป็นพิษต่อเซลล์และหาความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชั่นไดคลอโรมีเทนที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใยจากเหงือกมนุษย์

นำสารสกัดหยาบของสมอพิเภกแห้งในเอทานอลมาแยกสารด้วยเทคนิคการสกัดของเหลวด้วยของเหลว โดยสามารถแยกออกได้ 5 แฟรกชั่นตามความมีขั้วของสาร

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 bellerica crude ethanolic extract was extracted by liquid-liquid extract technique. Fractionated ethanolic was separated into 5 fractions orderly by its polarity; hexane fraction,

Corresponding Author:

มยุรัชฎ์ พิพัฒภาสกร
ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

Mayurach Pipatphatsakorn
Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Naresuan University, Phitsanulok, 65000, Thailand
E-mail: ***mayurach_dt17@hotmail.com***

ได้แก่ แฟรกชั่นเฮกเซน แฟรกชั่นไดคลอโรมีเทน แฟรกชั่นเอทิล อะซีเตด แฟรกชั่นบิวทานอล และแฟรกชั่นน้ำ นำสารสกัดสมอพิเภกแห้งแต่ละแฟรกชั่นมาทดสอบหาฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ (สายพันธุ์ ATCC 90028) พบว่ามีเฉพาะแฟรกชั่นไดคลอโรมีเทนที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์เท่านั้น จึงนำความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชั่นไดคลอโรมีเทนที่สามารถยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ทดสอบด้วยวิธีดิสก์ ดิฟฟิวชั่น และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ด้วยวิธีไมโครบรอท ไดลูชั่น พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้ร้อยละ 96.51 ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้มากกว่าร้อยละ 99.93 ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

นำชิ้นเหงือกที่ได้จากการผ่าฟันคุดจากอาสาสมัคร 3 คน มาทำการเพาะเลี้ยง จากนั้นนำเซลล์สร้างเส้นใยจากเหงือกมนุษย์มาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชั่นของไดคลอโรมีเทน โดยเติมสารสกัดสมอพิเภกแห้งในแฟรกชั่นของไดคลอโรมีเทนความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเซลล์สร้างเส้นใยเหงือก แล้วเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีกลุ่มที่ใช้เพียงอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดปราศจากซีรัมเป็นกลุ่มควบคุม นำเซลล์กลุ่มต่าง ๆ เหล่านี้ไปทำการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ด้วยเทคนิคเอ็มทีที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ในช่วงความยาวคลื่นแสง 570 นาโนเมตร พบว่ากลุ่มเซลล์ที่ได้รับสารสกัดเข้มข้น 625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นที่มากที่สุดที่ไม่มีพิษต่อเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p \geq 0.01$) แต่ในขณะที่ความสามารถในการฆ่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ได้นั้นอยู่ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดของผลสมอพิเภกแห้งเพิ่มเติม และระมัดระวังหากต้องการนำมาพัฒนาเป็นตำหรับยารักษาโรคเชื้อราในช่องปากต่อไป

คำสำคัญ: แคนดิดา อัลบิแคนส์ สมอพิเภก ความเป็นพิษ

dichloromethane fraction, ethyl acetate fraction, butanol fraction and aqueous fraction. Antifungal activity against *Candida albicans* (ATCC 90028) of all fractioms 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 bellerica 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 µg/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 µg/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