ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบใบเพกา

Antimicrobial activity of crude extracts from *Oroxylum indicum* leaves

สุจิตรา ยาหอม[1*] และ รุ่งฤดี ทิวทอง[2]

[1]คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

[2] คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

[*]Corresponding Author, E-mail: sujitra.yahom@gmail.com

Received: 24 January 2019 | Revised: 10 June 2019 | Accepted: 19 August 2019

บทคัดย่อ

เพกา (*Oroxylum indicum*) เป็นสมุนไพรที่มีการใช้ในแถบเอเชียเพื่อรักษาและป้องกันโรคต่าง ๆ เช่น โรคระบบทางเดินหายใจ โรคท้องร่วงและโรคบิด เป็นต้น การวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบใบเพกา โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตท เอทานอลและเมทานอล นำสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ แต่ละชนิดในความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ Dimethyl sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลายสารสกัดหยาบ เพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 6 สายพันธุ์ ด้วยวิธี agar well diffusion โดยผลการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบใบเพกาในตัวทำละลายเมทานอล เอทานอลและเอทิลอะซิเตด มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ได้แก่ *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505 และยีสต์ *Candida albicans* ATCC 10231 ส่วนแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 พบว่ามีการต้านทานการยับยั้งโดยสารสกัด และสารสกัดหยาบใบเพกาในตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอลมีฤทธิ์ยังยั้งจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณที่ยับยั้งอยู่ที่ 6.33±1.53 ถึง 5.67±1.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดหยาบใบเพกาในตัวลำละลายเมทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ โดยมีค่า MIC, MBC และ MFC อยู่ระหว่าง 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นสารประกอบทางชีวภาพของสารสกัดหยาบใบเพกา ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์อาจเป็นประโยชน์ในการผลิตยาและเครื่องสำอางได้

ABSTRACT

Oroxylum indicum (L.) Kurz is a traditional medicine used in Asia for the treatment and prevention of several diseases including respiratory diseases, diarrhea and dysentery. In this study, we investigated the antimicrobial activity of 4 crude extracts of *O. indicum* leaf, obtained using the solvents hexane, ethyl acetate, ethanol and methanol. Solutions containing 10 mg / ml of the crude extracts were dissolved in 50% (v/v) dimethyl sulfoxide (DMSO), and tested against 6 microorganisms by the agar well diffusion method. Methanol, ethanol and ethyl acetate extracts of *O. indicum* leaf were found to inhibit *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505 and *Candida albicans* ATCC 10231, but were inactive against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. The methanol and ethanol extracts generated the largest zones of inhibition, their mean sizes being 6.33±1.53 and 5.67±1.15 mm, respectively. Upon subsequent quantitative testing, the methanol extract of *O. indicum*

leaf was found to completely inhibit microbial growth, its minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC) and minimum fungicidal concentration (MFC) values identified as being between 25 and 50 mg / ml. In conclusion, *O. indicum* leaf extract contains antimicrobial compounds that could be useful as pharmaceutical and cosmetic products.

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ สารสกัดหยาบ เพกา

Keywords: Antimicrobial activity, Crude extract, *Oroxylum indicum*

บทนำ

พืชสมุนไพรเป็นผลผลิตจากธรรมชาติที่มนุษย์รู้จักนำมาใช้เป็นประโยชน์และมีบทบาท ในการดูแลด้านสุขภาพของผู้บริโภคทั้งในด้านการป้องกันโรคและการรักษาโรค ต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่ไม่สามารถรักษาด้วยยาแผนปัจจุบัน ซึ่งปัจจุบันในอาหารและสิ่งแวดล้อมมีเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคอาหารเป็นพิษ โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะและการติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น ถึงแม้ว่าจะมีทั้งสารเคมีและยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ในการรักษาโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ แต่สารดังกล่าวเป็นสารสังเคราะห์จึงอาจมีผลข้างเคียงและมีราคาค่อนข้างสูง ทำให้มีผู้สนใจในการศึกษาการใช้สมุนไพรในการดูแลรักษาสุขภาพแทนการใช้ยาแผนปัจจุบันมากยิ่งขึ้น

พืชวงศ์ BIGNONIACEAE ส่วนใหญ่มีสรรพคุณทางยาคือมีฤทธิ์สมานแผล แก้อักเสบ ฟกช้ำ แก้ท้องร่วง แก้ไข้ แก้น้ำเหลืองเสีย บำรุงโลหิต แก้วัณโรค แก้ไอ ขับเสมหะและแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อได้ (วุฒิ, 2540) จากสรรพคุณดังกล่าว ทำให้ผู้วิจัยสนใจทำการศึกษาพืชในวงศ์ BIGNONIACEAE ที่พบในท้องถิ่น ได้แก่ เพกา (*Oroxylum indicum*) (ก่องกานดา, 2548) ซึ่งเพกาเป็นต้นไม้ที่มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมในอินเดียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งประเทศไทย โดยพบเพกาขึ้นอยู่ตามธรรมชาติในป่าเบญจพรรณและป่าชื้นทั่ว ๆ ไป

เพกา (*Oroxylum indicum*) เป็นพืชพื้นบ้านที่สามารถนำมารับประทานในชีวิตประจำวันและใช้ประโยชน์ได้ โดยสารสำคัญที่พบในเพกา ได้แก่ aloe emodin, baicalein, chrysis, 2,5-dihydroxy-6-7-dimethoxy flavones, D-galactose, 6-methyl baicalein, prunetin และ β-sitosterols เป็นต้น (ศุภยางค์ และ สุกัลญา, 2560) ซึ่งเพกายังมีสรรพคุณในการใช้รักษาและป้องกันการเกิดโรคได้ เช่น เปลือกช่วยสมานแผล บำรุงโลหิต ฝักแก้ร้อนในกระหายน้ำ ช่วยขับลม เมล็ดช่วยระบายท้อง รากช่วยบำรุงธาตุ แก้ท้องร่วง ฝนกับน้ำปูนใสทาแก้บวมอักเสบ นอกจากนี้การรับประทานฝักเพกาหรือยอดอ่อนยังสามารถช่วยลดคอเรสเตอรอลในกระแสเลือดได้ (Lalrinzuali et al., 2015) สารสกัดจากเปลือกของเพกามีฤทธิ์ antioxidant และ antimicrobial (Moirangthem et al., 2012) และมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Roy et al., 2007) โดยข้อมูลทางวิทยาศาสตร์การแพทย์พบว่าสารสกัดฟลาโวนอยด์ที่ได้จากเปลือกต้นเพกามีฤทธิ์ช่วยลดการอักเสบ การแพ้ (anti-inflammatory and anti-allergic) (Rasadah et al., 1998) ทั้งมีฤทธิ์ยับยั้งการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหนูตะเภาในหลอดทดลอง สารลาพอคอล (lapacol) ที่สกัดได้จากรากเพกามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส (5-lipoxygenase) ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการอักเสบ (Lalrinzuali et al., 2015) ด้วยสรรพคุณที่หลากหลายด้านยาของเพกาทำให้ผู้วิจัยสนใจศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบเพกา โดยการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในคนของสารสกัดหยาบใบเพกา เพื่อเป็นข้อมูลที่สนับสนุนการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ และพัฒนาเพื่อเป็นยารักษาโรคได้ในอนาคต

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดใบเพกา

สมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ ใบเพกาซึ่งเก็บจากจังหวัดหนองบัวลำภู โดยเก็บและรวบรวมตัวอย่าง ใบพืชคัดเลือกเฉพาะใบแก่ที่มีลักษณะใบสมบูรณ์ นำมาล้างทำความสะอาด แล้วนำไปอบจนแห้งในตู้อบอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดและชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำผงใบเพกาที่บดละเอียดแล้ว 250 กรัม มาหมักแช่ด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตท เอทานอลและเมทานอล โดยใช้ตัวทำละลาย ชนิดละ 500 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน แล้วรินส่วนที่เป็นสารละลายออกโดยใช้ผ้าขาว แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง นำกากตัวอย่างเดิมมาสกัดซ้ำอีก 2 รอบ นำส่วนที่เป็น

สารละลายทั้งสามครั้งมารวมกันแล้วนำไปประเหยเอาตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่อง Rotary evaporator ชั่งหาน้ำหนักของส่วนสกัดหยาบ เก็บสารสกัดไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อไป (Nanasombat and Teckchuen, 2009; Jaisamak et al., 2014)

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของตัวทำละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทดสอบโดยตัวทำละลาย Dimethyl sulfoxide โดยการเตรียม DMSO ความเข้มข้น ร้อยละ 10, 20, 30, 50 และ 100 ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ นำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทดสอบโดยวิธี agar well diffusion เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นตัวทำละลายสารสกัดสำหรับทดสอบ

3 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดเพื่อใช้ทดสอบ

การเตรียมตัวอย่างสารสกัดใบเพกาเพื่อใช้ทดสอบ โดยการชั่งและละลายสารสกัดที่สกัดได้ โดยใช้ตัวทำละลายต่าง ๆ กัน ในตัวทำละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 100 โดยเตรียมเป็น stock solution ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 50

4 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและยีสต์ก่อโรค

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและยีสต์ก่อโรค โดยใช้วิธีของ Kirbey-Bauer (agar well diffusion method) (Balouiri et al., 2016; Bagul and Sivakumar, 2016) แบคทีเรียก่อโรคที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *B. cereus* ATCC 11778, *E.coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* DMST 8840 และ *S. epidermidis* DMST 15505 และยีสต์ *C. albicans* ATCC 10231 การทดสอบโดยนำแบคทีเรียก่อโรคมาเลี้ยงในอาหาร Mueller Hinton broth ส่วนยีสต์เลี้ยงใน Sabouraud Dextrose broth บ่มเชื้อเป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ประมาณ 10^8 cfu/ml โดยเทียบกับ McFarland standard # 0.5 กระจายเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Mueller Hinton agar และยีสต์บนอาหาร Sabouraud Dextrose agar เจาะหลุมโดยใช้ cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรและนำสารสกัดที่ได้จากตัวสกัดทำละลายต่างชนิดกันแต่ละชนิดในความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงในหลุมบนจานอาหารในปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่เกิดขึ้นมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร เปรียบเทียบกับ DMSO ความเข้มข้นที่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ และสารปฏิชีวนะมาตรฐานสำหรับแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ Gentamycin, Streptomycin, Tetracycline และ Vancomycin สารปฏิชีวนะมาตรฐานสำหรับยีสต์ทดสอบ ได้แก่ Nystatin, Voriconazole และ Fluconazole ประเมินผลการยับยั้งของสารสกัด

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นยาที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ (Minimal inhibitory concentration: MIC) ทดสอบโดยวิธี Tube dilution method (Balouiri et al., 2016; Lalitha, 2004) โดยทำการเจือจางสารสกัดอย่างเป็นลำดับส่วน (Two fold dilution) โดยมีความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562, 0.781, และ 0.390 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยอาหาร Mueller Hinton broth สำหรับการทดสอบในแบคทีเรียและในอาหาร Sabouraud Dextrose broth สำหรับการทดสอบในยีสต์ จากนั้นเติมเชื้อทดสอบในความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ในแต่ละเชื้อทดสอบ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบผลการยับยั้ง โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อเขี่ยเชื้อจากหลอดอาหารที่ผ่านการบ่มเชื้อมาแล้ว 24 ชั่วโมง ไปขีดเชื้อแบบง่ายลงบนผิวหน้าอาหารแข็งและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำจานเพาะเชื้อมาตรวจสอบการเจริญ โดยค่า MIC คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อบนจานอาหาร

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นของยาที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimal bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี plate dilution (Bagul and Sivakumar, 2016; Jorgensen and Ferraro, 2009) นำความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจากการทดสอบ MIC มาใช้ในการทดสอบ โดยการนำสารสกัดมาเจือจางในอาหาร Mueller Hinton broth จากนั้นใช้เพาะแบคทีเรีย บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทำลายเชื้อทดสอบโดยการกระจายเชื้อบนผิวอาหาร Mueller Hinton agar ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญของเชื้อเพื่อตรวจสอบฤทธิ์ทำลาย

จุลินทรีย์ ตรวจสอบการเจริญของเชื้อและอ่านค่า MBC โดยค่า MBC ที่อ่านได้คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ทำให้ไม่ปรากฏการเจริญของเชื้อในจานอาหารที่ทดสอบ

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นของยาที่สามารถฆ่าเชื้อราได้ (Minimal fungicidal concentration: MFC) โดยวิธี plate dilution นำความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจากการทดสอบ MIC มาใช้ในการทดสอบ โดยการนำสารสกัดมาเจือจางในอาหาร Sabouraud Dextrose broth จากนั้นใช้เพาะยีสต์ บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำเชื้อทดสอบโดยการกระจายเชื้อบนผิวอาหาร Sabouraud Dextrose agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญของเชื้อและอ่านค่า MFC เช่นเดียวกับการอ่านค่า MBC

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสารจากใบเพกา

จากการนำใบเพกาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วนำมาบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักได้ 250 กรัม แล้วนำมาสกัดด้วยสารสกัด 4 ชนิด ได้แก่ n-hexane, ethyl acetate, ethanol และ methanol โดยแช่ไว้ในตัวทำละลายเป็นเวลา 7 วัน ตัวทำละลายละ 3 ซ้ำ แล้วนำสารสกัดที่สกัดได้ทั้ง 3 ครั้งมารวมกัน จากนั้นนำมาระเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนได้สารสกัดลักษณะข้นเหนียวซึ่งพบว่าสารสกัดใบเพกาจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด มีน้ำหนักสารสกัดและร้อยละของสารสกัด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 น้ำหนักและร้อยละของสารสกัดใบเพกาในตัวทำละลายแต่ละชนิด

น้ำหนักผงใบเพกาแห้ง (กรัม)	ชนิดตัวทำละลาย	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	*ร้อยละสารสกัด (กรัม)
250	n-hexane	14.65	5.86
	ethyl acetate	5.57	2.29
	ethanol	7.25	5.90
	methanol	8.42	3.37

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโดยตัวทำละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโดยตัวทำละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10, 20, 30, 50 และ 100 ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และนำไปทดสอบเชื้อโดยวิธี agar well diffusion เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม สำหรับใช้เป็นตัวทำละลายสารสกัดสำหรับทดสอบ พบว่า ตัวทำละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ 5 สายพันธุ์ แต่ไม่สามารถยับยั้งยีสต์ก่อโรคได้ ดังนั้นความเข้มข้นที่เลือกใช้เพื่อเป็นตัวทำละลายสารสกัดจะใช้ตัวทำละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 50 เพื่อเป็นตัวทำละลายสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ (ตารางที่ 2)

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดใบเพกาในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค เมื่อนำสารสกัดหยาบใบเพกา มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค 5 สายพันธุ์ ได้แก่ แบคทีเรีย *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. cereus* ATCC 11778, *S. aureus* DMST 8840 และ *S. epidermidis* DMST 15505 เทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน Gentamycin, Streptomycin, Tetracycline, Vancomycin และ DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 50 การทดสอบโดยวิธี agar well diffusion โดยใช้สารสกัดเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้ DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลายในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง เมื่อทำการทดสอบ พบว่าสารสกัดหยาบใบเพกาในตัวทำละลาย ethanol, methanol และ ethyl acetate สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้มากที่สุด 3 ชนิดคือ *S. epidermidis*, *B. cereus* และ *P. aeruginosa* ตามลำดับ แต่พบการต้านทานการยับยั้งโดยสารสกัดในตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด ในแบคทีเรีย *P. aeruginosa* และฤทธิ์การยับยั้งรองมาคือสารสกัดหยาบของใบเพกาในตัวทำละลาย n-Hexane สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ได้ แต่พบว่ามีการต้านทานการยับยั้งโดยสารสกัดเช่นกัน

ตารางที่ 2 ผลการยับยั้งเชื้อของตัวทำละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ผลการยับยั้งเชื้อของตัวทำละลาย DMSO (inhibition zone, mm ± SD)					
ตัวทำละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น (ร้อยละ)	**10**	**20**	**30**	**50**	**100**
แบคทีเรียก่อโรค					
Bacillus cereus	-	-	-	-	7.34±1.00
Escherichia coli	-	-	-	-	9.33±1.00
Pseudomonas aeruginosa	-	-	-	-	7.00±0.00
Staphylococcus aureus	-	-	-	-	6.00±0.50
Staphylococcus epidermidis	-	-	-	-	6.66±0.50
ยีสต์ก่อโรค					
Candida albicans	-	-	-	-	-

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ, ผลการทดสอบ; ผลจากการทดสอบ 3 ซ้ำ แสดงในหน่วยเป็นมิลลิเมตร ± SD

ตารางที่ 3 ผลการยับยั้งแบคทีเรียโดยสารสกัดใบเพกา

การทดสอบ	ผลการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัด (inhibition zone, mm ± SD)				
	แบคทีเรียแกรมลบ		แบคทีเรียแกรมบวก		
	Ec	Pa	Bc	Sa	Se
สารสกัดจากพืช					
Crude Hexane	-	5.33±0.58^{R}	-	-	-
Crude EtOAc	-	11.33±1.53^{R}	5.00±0.00	-	4.33±0.58
Crude Ethanol	-	11.33±1.15^{R}	5.67±1.15	-	5.33±0.58
Crude Methanol	-	8.00±1.73^{R}	5.67±0.58	-	6.33±1.53
สารปฏิชีวนะมาตรฐาน					
Gentamycin	14.67±1.15	12.00±1.00	19.67±0.58	22.33±0.58	24.33±0.58
Streptomycin	7±1.00	-	-	13.67±0.58	11.67±0.58
Tetracycline	21±1.00	6.67±1.15	22.67±1.15	23.67±1.53	-
Vancomycin	-	-	11.67±0.58	11.00±0.00	13.00±1.00

หมายเหตุ แบคทีเรีย ; แบคทีเรีย Ec, *Escherichia coli* ATCC 25922 ; Pa, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ; Bc, *Bacillus cereus* ATCC 11778 ; Sa, *Staphylococcus aureus* DMST 8840 ; Se, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505
สารปฏิชีวนะมาตรฐาน ; Gentamycin (10 µg/disc); Streptomycin (10 µg/disc); Tetracycline (30 µg/disc) และ Vancomycin (30 µg/disc) BD-Sensi-Disc™ ผลิตโดย Becton, Dickinson and Company, USA. ผลการทดสอบ ; ผลจากการทดสอบ 3 ซ้ำ แสดงในหน่วยเป็นมิลลิเมตร ± SD ; -, ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ ; ^{R} , เชื้อดื้อต่อฤทธิ์ของสารสกัด โดยมีการเจริญของโคโลนีแบคทีเรียอยู่ภายในบริเวณยับยั้ง

จากตารางที่ 3 พบว่า แบคทีเรียที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด คือแบคทีเรีย *P. aeruginosa* โดยถูกยับยั้งการเจริญและเกิดบริเวณโซนใสสูงสุดจากสารสกัดในตัวทำละลายเอทานอล เมทานอล เอทิลอะซิเตดและเฮกเซน โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรีย 11.33±1.15 ถึง 5.33±0.58 มิลลิเมตร แต่พบว่าแบคทีเรีย *P. aeruginosa* เกิดการดื้อต่อฤทธิ์ของสารสกัด โดยพบการเจริญของโคโลนีอยู่ภายในบริเวณที่ยับยั้ง แบคทีเรีย *S. epidermidis* ถูกยับยั้งได้สูงสุดจากสารสกัดในตัวทำละลายเมทานอล รองลงมาคือเอทานอลและเอทิลอะซิเตด โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรีย 6.33±1.53 ถึง 4.33±0.58 มิลลิเมตร และไม่พบการยับยั้งจากสารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซน แบคทีเรีย *B. cereus* ถูกยับยั้งได้สูงสุดจากสารสกัดในตัวทำละลายเมทานอลและเอทานอล รองลงมาคือเอทิลอะซิเตด โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งแบคทีเรีย 5.67±0.58 ถึง 5.00±0.00 มิลลิเมตร และไม่พบการยับยั้งจากสารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซนเช่นกัน ส่วนแบคทีเรีย *E.coli* และ *S. aureus*

พบว่าไม่มีสารสกัดในตัวทำละลายชนิดใดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ได้

4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งยีสต์ก่อโรคของสารสกัดใบเพกาในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งยีสต์ก่อโรคของสารสกัดใบเพกา เมื่อนำสารสกัดหยาบของใบเพกาในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ n-hexane, ethyl acetate, ethanol และ methanol มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งยีสต์ก่อโรค ได้แก่ *C. albicans* เทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน Fluconazole, Nystatin และ Voriconazole การทดสอบโดยวิธี agar well diffusion โดยใช้สารสกัดเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้ DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลายในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ใช้ความเข้มข้นของเชื้อทดสอบประมาณ 10^8 cfu/ml โดยเทียบกับ McFarland standard #0.5 เมื่อทำการทดสอบแล้วพบว่าสารสกัดหยาบใบเพกาในตัวทำละลาย methanol, ethanol และ ethyl acetate สามารถยับยั้งยีสต์ก่อโรคได้มากที่สุด ตามลำดับ ส่วนสารสัดจากn-hexane ไม่สามารถยับยั้งยีสต์ก่อโรคได้ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการยับยั้งยีสต์ *Candida albicans* โดยสารสกัดใบเพกา

การทดสอบ	ผลการยับยั้งยีสต์ของสารสกัด (inhibition zone, mm ± SD)
<u>สารสกัดจากพืช</u>	
Crude Hexane	-
Crude EtOAc	4.33±0.58
Crude Ethanol	5.33±0.58
Crude Methanol	5.67±0.58
<u>สารปฏิชีวนะมาตรฐาน</u>	
Fluconazole	17.00±1.00
Nystatin	16.33±0.58
Voriconazole	10.33±0.58

หมายเหตุ ยีสต์ ; *Candida albicans* ATCC 10231

สารปฏิชีวนะมาตรฐาน ; Fluconazole (25 µg/disc); Nystatin (100 µg/disc); และ Voriconazole (1 µg/disc) BD-Sensi-Disc™ ผลิตโดย Becton, Dickinson and Company, USA.

ผลการทดสอบ ; ผลจากการทดสอบ 3 ซ้ำ แสดงในหน่วยเป็นมิลลิเมตร ± SD ; -, ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งยีสต์

จากตารางที่ 4 พบว่า สารสกัดหยาบใบเพกาใน ตัวทำละลายเมทานอล มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของยีสต์ *C. albicans* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งยีสต์ 5.67±0.58 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดในตัวทำละลายเอทานอล สามารถยับยั้งให้ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งยีสต์ 5.33±0.58 มิลลิเมตร และสารสกัดในตัวทำละลายเอทิล อะซิเตด โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งการเจริญของยีสต์ 4.33±0.58 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 5 ค่า Minimal inhibitory concentration (MIC), ค่า Minimal bactericidal concentration (MBC) และค่า Minimal fungicidal concentration (MFC) ของสารสกัดใบเพกาต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

สารสกัดจากใบพืช	*Bacillus cereus*		*Staphylococcus epidermidis*		*Candida albicans*	
	MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	MBC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	MBC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	MFC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
Crude EtOAc	50	>50	50	>50	50	50
Crude Ethanol	50	>50	50	>50	50	50
Crude Methanol	25	50	25	50	25	25

จากตารางที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดในตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด พบว่า สารสกัดในตัวทำละลายเมทานอล มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทั้ง 3 ชนิด และสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ *C. albicans* ได้อย่างสมบูรณ์ โดยมีค่า MIC ของสารสกัดอยู่ที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดในตัวทำละลายเมทานอลมีฤทธิ์ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ใน *C. albicans* เช่นกัน โดยมีค่า MFC ของสารสกัดอยู่ที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดในตัวทำละลาย เอทิลอะซิเตดและเอทานอล พบว่ายับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทั้ง 3 ชนิด โดยมีค่า MIC ของสารสกัดอยู่ที่ 25-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้เพียงยีสต์ *C. albicans* เท่านั้น โดยมีค่า MFC ของสารสกัด อยู่ที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

วิจารณ์ผลการวิจัย

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและยีสต์ก่อโรคของสารสกัดหยาบใบเพกา โดยการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งโดยวิธี agar well diffusion สามารถวิจารณ์ผลการวิจัยได้ดังนี้

1. เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยสารสกัดหยาบใบเพกา พบว่ามีความสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Eswari et al. (2018) ที่ศึกษาพฤกษเคมีและคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบเพกาที่สกัดด้วยเมทานอล ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดจากใบเพกาประกอบด้วยสาร phlobatannins, flavonoids, phenols, tannins และ glycosides และเมื่อนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากใบเพกามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก *B. subtilis* และแบคทีเรียแกรมลบ *P. aeruginosa* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยในครั้งนี้คือสารสกัดใบเพกาที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก *B. cereus* ได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารสกัดส่วนต่าง ๆ ของเพกาอีกมากมาย อาทิเช่น Samatha et al. (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกต้นเพกาที่สกัดด้วยเมทานอล และนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยวิธี disc well diffusion method แล้ววัดโซนการยับยั้งบริเวณรอบแผ่นดิสก์ เพื่อหาฤทธิ์ยับยั้งยั้งแบคทีเรีย ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากต้นเปลือกเพกามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *B. subtilis*, *B. cereus, S. albus* และ *S. aureus* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยในครั้งนี้ที่สารสกัดใบเพกาที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ได้เช่นกัน

2. เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของยีสต์ *C. albicans* ของสารสกัดหยาบใบเพกา พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ได้ โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งอยู่ที่ 4.33± 0.58 ถึง 5.67±0.58 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Islam et al. (2010) ซึ่งศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกต้นเพกา (*Oroxylum indicum* Linn.) โดยผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบและราบางชนิดได้ ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งยีสต์ *C. albicans* ได้ โดยมีขนาดบริเวณยับยั้ง 9 ถึง 21 มิลลิเมตร และยังสอดคล้องการการวิจัยของ Uddin et al. (2003) ซึ่งได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดและฟลาโวนอยด์ 2 ชนิดจากเปลือกของเพกา จากการวิจัยพบว่าสารสกัดในตัวทำละลายเอทิลอะซิเตดและเมทานอล สามารถยับยั้งยีสต์ *Candida* species โดยมีขนาดบริเวณยับยั้ง 15 ถึง 18 มิลลิเมตร

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของความแตกต่างของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นเพกา และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีการสกัดในตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ ปิโตเลียม อีเทอร์ (petroleum ether) ไดคลอโรมีเทน (dichloro-methane) และเมทานอล (methanol) แล้วนำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar disc diffusion method ซึ่งผลการวิจัย พบว่า สารสกัดจากเปลือกเพกาในตัวทำละลายเมทานอล มีสารประกอบจำพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoids) โพลีฟีนอล (polyphenols) และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) อยู่ในระดับที่สูงมาก ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีอาจผลในการยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อราได้ โดยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่ามีเพียงสารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอลเท่านั้น ที่สามารถยับยั้งทั้งแบคทีเรียและเชื้อราได้ (Moirangthem et al., 2012) ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยในครั้งนี้ที่สารสกัดหยาบจากตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด

3. เมื่อทดสอบหาค่า MIC, MBC และ MFC พบว่าสารสกัดใบเพกาในตัวทำละลายเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งและ

ทำลายจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งและทำลายได้ทั้งแบคทีเรียและยีสต์ โดยมีค่า MIC, MBC และ MFC อยู่ระหว่าง 25-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสัมพันธ์กับงานวิจัยของ Moirangthem et al. (2012) ที่ศึกษาความแตกต่างของสารสกัดเปลือกเพกาที่สกัดด้วยสารต่างชนิดกัน คือ ปิโตเลียม อีเทอร์ (petroleum ether) ไดคลอโรมีเทน (dichloro-methane) และเมทานอล (methanol) พบว่าสารสกัดเปลือกเพกาที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งทั้งแบคทีเรียและเชื้อราได้ดีที่สุด โดยมีค่า MIC ต่ำสุดอยู่ที่ 62.5 ถึง 250 ไมโครกรัมต่อแผ่นดิสก์ ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยในครั้งนี้ที่สารสกัดใบเพกาที่สกัดด้วยเมทานอลมีค่า MIC ต่ำสุดเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบค่า MIC ของแต่ละงานวิจัยแล้วพบว่า ค่า MIC มีความแตกต่างกันเล็กน้อยในแต่ละงานวิจัย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าส่วนต่าง ๆ ของพืชที่นำมาใช้เพื่อทดสอบในงานวิจัย สภาพภูมิอากาศและภูมิประเทศที่แตกต่างกันมีผลต่อการสร้างสารสำคัญในพืช ทำให้สารสกัดจากพืชที่มาจากแต่ละพื้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้แตกต่างกันอีกด้วย (Sangwan et al., 2001)

สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและยีสต์ก่อโรคของสารสกัดใบเพกา พบว่าสกัดหยาบในตัวทำละลายเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทีและยีสต์ก่อโรคได้ดีที่สุด เพกาจึงนับเป็นพืชทางเลือกหนึ่งที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีและสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมด้านยาได้ในอนาคต ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อจุลชีพก่อโรคชนิดอื่นด้วยและควรมีการศึกษาการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น นอกจากนี้ควรทดสอบถึงความปลอดภัยของสมุนไพรต่อสิ่งมีชีวิตอื่น เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนสำหรับการสนับสนุนการนำสมุนไพรไปใช้ประโยชน์ทางคลินิก ซึ่งการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบทำให้ทราบข้อมูลเบื้องต้นที่เป็นประโยชน์ และสามารถนำข้อมูลการวิจัยในครั้งนี้มาใช้ในการสนับสนุนการพัฒนาสมุนไพรเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินการวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่สนับสนุนงบประมาณทุนส่งเสริมและพัฒนาการวิจัยสำหรับบุคลากร ปีงบประมาณ 2561 และอนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย ขอขอบพระคุณคณะสาธารณสุขศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการปฏิบัติงานวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ก่องกานดา ชยามฤต. (2548). ลักษณะประจำวงศ์พรรณไม้. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักวิจัยอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. หน้า 28.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2540). เภสัชกรรมไทย รวมสมุนไพร. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. หน้า 346.

ศุภยางค์ วรวุฒิคุณชัยและสุกัลญา หลีแจ้. (2560). สมุนไพรต้านจุลินทรีย์. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 344.

Bagul, U.S. and Sivakumar, S. M. (2016). Antibiotic susceptibility testing: a review on current practices. International Journal of Pharmaceutics 6(3): 11-17.

Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibnsouda, K.S. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: a review. Journal of Pharmaceutical Analysis 2: 71-79.

Eswari, S., Dhagat, S., Naik, S. and Dibya, S. (2018). *Oroxylum indicum* leaf extracts for screening of antimicrobial properties and phytochemicals. Pharmaceutical Bioprocessing 6(1): 7-14.

Slam, M.K., Eti, I.Z. and Chowdhury, J.A. (2010).Phytochemical and antimicrobial analysis on the extract of *Oroxylum indicum* Linn. Stem-baek. Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics 9(1): 25-28.

Jaisamak, I. and Khoomsab, K. (2014). Effectiveness of ethanolic herbal plants extraction to Eliminate jack-beardsley mealybug (*Pseudococcus jackbeardsleyi*). Khon Kaen Agriculture Journal 42(1): 524-529.

Jorgensen, J.H. and Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clinical Infectious Diseases 49: 1749-1755.

Lalitha, M.K. (2004). Manual on antimicrobial susceptibility testing. Guide lines for antimicrobial susceptibility testing. Pennsylvania: Twelfth Informational Supple-ment. pp. 6-20.

Lalrinzuali, K., Vaberiryureilai, M. and Jagetia, G.C. (2015). Investigation of the anti-inflammatory and analgesic activities of ethanol extract of stem bark of Sonapatha *Oroxylum indicum* in vivo. International Journal of Inflamatiom 2016: 2-8.

Moirangthem, D.S., Talukdar, C.N., Bora, U., Kasoju, N. and Das, R.K. (2012). Differential effects of *Oroxylum indicum* bark extracts: antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and apoptotic study. Cytotechnology 65: 83-95.

Nanasombat, S. and Teckchuen, N. (2009). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of thai local vegetables. Journal of Medicinal Plants Research 3(5): 443-449.

Rasadah, M. A., Houghton, P. J., and Hoult, J. R. S. (1998). Antimicrobial and antiinflammatory activities of extracts and constituents of Oroxylum indicum (L.) Vent. Phytomedicine Journal 5(5): 375-381.

Roy, M.K., Nakahara, K., Trakoontivakorn, V.N., Takennaka, G., Takenaka, M., Isobe, S. and Tsushida, T. (2007). Baicalein, a flavonoid extracted from a methanolic extract of *Oroxylum indicum* inhibits proliferation of a cancer cell line in vitro via induction of apoptosis. International Journal of Pharmaceutical Science 62(2): 149-153.

Samatha, T., Sampath, A., Sujatha, K. and Rama, S.N. (2013). Antibacterial Activity of Stem Bark Extracts of *Oroxylum indicum* an Endangered Ethnomedicinal Forest Tree. Journal of Pharmacy and Biological Sciences 7(1): 24-28.

Sangwan, N.S., Farooqi, A.H.A., Shabih, F. and Sangwan, R.S. (2001). Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation 34(1): 3-21.

Uddin, K., Sayeed, A., Islam, A., Rahman, A.A., Khatun, S., Khan, A.M. and Sadik, G. (2003). Biolodical activities of extracts and two flavonoids from *Oroxylum indicum* Vent. (Bigniaceae). OnLine Journal of Biological Sciences 3(3): 371-375.

❑❑❑❑❑