

อิทธิพลของอนุพันธ์บางตัวของ โรคานีนที่มีต่อการเจริญเติบโต  
ของแมกที่เรียบางชนิดที่ทำให้เกิดโรค



นางสาว กรรณิกา อัมพะเนตร์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่ง ของ การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาพฤกษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2522

000015

EFFECT OF SOME RHODANINE DERIVATIVES ON  
GROWTH OF SOME PATHOGENIC BACTERIA

MISS KANNIKA AMPANET

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment . of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Botany

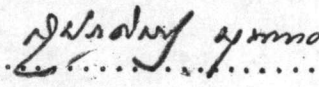
Graduate School

Chulalongkorn University

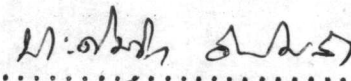
1979

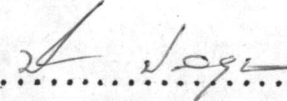
หัวข้อวิทยานิพนธ์ อธิพจน์ของอนุพันธ์บางตัวของโรคานีนที่มีต่อการเจริญเติบโตของ  
 แบคทีเรียบางชนิดที่ทำให้เกิดโรค  
 โดย นางสาว กรรณิกา อัมพะเนตร  
 ภาควิชา พฤกษศาสตร์  
 อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล  
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิชัย ไทวิวิชัย

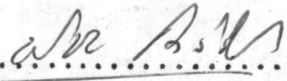
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วน  
 หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต


 ..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
 (รองศาสตราจารย์ ดร. สุประสิทธิ์ บุญนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

 ..... ประธานกรรมการ  
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประติมา อินทรโสมิต)

 ..... กรรมการ  
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล)

 ..... กรรมการ  
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิชัย ไทวิวิชัย)

 ..... กรรมการ  
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรรณิการ กัทยาวงศ์)

อธิบดีของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์      อธิพิพลของอนุพันธ์บางตัวของโรคานีนที่มีต่อการเจริญเติบโต  
 ของแบคทีเรียบางชนิดที่ทำให้เกิดโรค  
 ชื่อผู้                      นางสาว กรรณิกา อัมพะเนตร  
 อาจารย์ที่ปรึกษา        ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล  
    ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิชัย โคววิชัย  
 ภาควิชา                      พฤกษศาสตร์  
 ปีการศึกษา                2521



บทคัดย่อ

เนื่องจากได้มีผู้ศึกษาค้นคว้า พบว่าสารโรคานีนและอนุพันธ์ของสารโรคานีนบางชนิดสามารถระงับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดังเช่น Strube ได้รายงานว่ามี 3-acylamido rhodanines ที่มีกลุ่ม phenyl, p-nitrophenyl หรือ 4-pyridyl สามารถยับยั้งการเจริญของ Mycobacterium tuberculosis ได้ (Strube, 1957) ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสังเคราะห์ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสารโรคานีนที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่ในการระงับการเจริญของแบคทีเรียในจานเลี้ยงเชื้อ (in vitro) ด้วยวิธี paper disc diffusion แบคทีเรียที่ใช้มีทั้งแกรมบวกและแกรมลบรวมทั้งหมด 22 ชนิด ส่วนสารสังเคราะห์นั้นได้ทดลองใช้ 7 ชนิด คือ

- ชนิดที่ 1 5-(2-nitrobenzylidene) rhodanine (R-1)
- ชนิดที่ 2 5-(4-nitrobenzylidene) rhodanine (R-2)
- ชนิดที่ 3 5-(2,6-dichlorobenzylidene) rhodanine (R-3)
- ชนิดที่ 4 5-(2-chlorobenzylidene) rhodanine (R-4)
- ชนิดที่ 5 5-(4-chlorobenzylidene) rhodanine (R-5)
- ชนิดที่ 6 5-(4-N-dimethylaminobenzylidene) rhodanine (R-6)
- ชนิดที่ 7 5-(3,4-methylenedioxybenzylidene) rhodanine (R-7)



ผลการทดลองในงานเลี้ยงเชื้อ พบว่า R-1, R-2, R-3, R-4 และ R-5 สามารถระงับ  
การเจริญของแบคทีเรียพวกแกรมบวกที่ใช้ในการทดลองได้คือ B. subtilis ATCC 6633,  
S. aureus, S. aureus ATCC 25923 แต่ไม่สามารถระงับการเจริญของแบคทีเรียพวก  
แกรมลบ และ R-2 เป็นอนุพันธ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในพวกที่มีกลุ่มไนโตร (nitro  
group) เกาะอยู่ และ R-3 เป็นอนุพันธ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในพวกที่มีกลุ่มคลอโร  
(chloro group) เกาะอยู่ ส่วน R-6 และ R-7 ไม่มีประสิทธิภาพในการระงับ  
การเจริญของแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง ดังนั้นจึงได้คัดเลือกสาร R-2 และ R-3  
และเชื้อ S. aureus ไปทดลองในหนูขาว (in vivo test) ผลการทดลองหาค่า  
ความเป็นพิษ (toxicity) ในหนูขาว พบว่า R-3 มีความเป็นพิษสูงกว่า R-2 กล่าว  
คือ R-2 มีค่า LD<sub>50</sub> เท่ากับ 354.00 มิลลิกรัมต่อหนูขาวหนัก 1 กิโลกรัม ส่วน R-3  
มีค่า LD<sub>50</sub> เท่ากับ 81.60 มิลลิกรัมต่อหนูขาวหนัก 1 กิโลกรัม ผลการทดสอบประ-  
สิทธิภาพในการรักษาหนูขาวที่เป็นหนองด้วยเชื้อ S. aureus พบว่า การฉีดสารสัง-  
เคราะห์ R-2 และ R-3 จำนวน 7.5 และ 0.75 มิลลิกรัม ต่อหนูขาวหนัก 30 กรัม  
ตามลำดับ เข้าทางกล้ามเนื้อหนูขาวที่เป็นหนองแล้วในความถี่ 1 ครั้งตลอดการทดลอง  
ทุก ๆ 4 วัน และทุก ๆ 2 วัน ไม่สามารถรักษาหนูขาวให้หายเร็วกว่ากลุ่มควบ  
คุมการวัดผล (control group) คือใช้เวลาประมาณ 25-30 วันเท่า ๆ กัน แต่พบ  
ว่า ถ้าฉีด R-2 และ R-3 เข้าบริเวณที่เป็นหนองโดยตรงในจำนวนเดียวกับที่ฉีดเข้า  
กล้ามเนื้อด้วยความถี่ทุก ๆ 2 วัน พบว่า หนูขาวที่ได้รับ R-2, R-3 หายจาก  
อาการเป็นหนองได้ในระยะเวลา 15-20 วัน และ 11-15 วัน ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบ  
คุมการวัดผลหายจากอาการหนองได้ในระยะเวลา 25-30 วัน ซึ่งจะเห็นได้ว่า R-3  
ดีกว่า R-2 เพราะใช้ R-3 ในการรักษาหนูขาวที่เป็นหนองน้อยกว่า R-2 ถึง 10 เท่า  
และหนูขาวที่ใช้ R-3 รักษาหายเร็วกว่าหนูขาวที่ใช้ R-2 รักษาประมาณ 5 วัน

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า R-2 และ R-3 สามารถระงับการเจริญเติบโต  
ของ S. aureus ได้ทั้งในหลอดทดลอง (in vitro) และในสัตว์ทดลอง (in vivo)  
และการที่จะใช้ R-2 และ R-3 เพื่อรักษาอาการเป็นหนอง เนื่องจาก S. aureus นั้น  
ต้องให้สาร R-2 และ R-3 ตรงบริเวณที่เป็นหนองโดยตรงจึงจะรักษาได้.

Thesis Title            Effect of Some Rhodanine Derivatives on Growth  
                                 of Some Pathogenic Bacteria

Name                      Miss Kannika Ampanet

Thesis Advisor          Assistant professor      Naline Nilubol, Ph.D.  
                                 Assistant professor      Phichai Tovivich, Ph.D.

Department              Botany

Academic Year          1978

#### ABSTRACT

Previous studies have suggested that rhodanine and its derivatives are able to inhibit the growth of certain species of bacteria. In this report, the ability of rhodanine derivatives to inhibit the growth of 22 species of bacteria, 3 species of Gram positive and 19 species of Gram negative, were tested by using the paper disc diffusion in conjunction with the following compounds.

1. 5-(2-nitrobenzylidene) rhodanine (R-1)
2. 5-(4-nitrobenzylidene) rhodanine (R-2)
3. 5-(2,6-dichlorobenzylidene) rhodanine (R-3)
4. 5-(2-chlorobenzylidene) rhodanine (R-4)
5. 5-(4-chlorobenzylidene) rhodanine (R-5)
6. 5-(4-N-dimethylaminobenzylidene) rhodanine (R-6)
7. 5-(3,4-methylenedioxybenzylidene) rhodanine (R-7)



The results showed that all but the last two compounds were able to inhibit the growth of Gram positive bacteria - namely Bacillus subtilis ATCC 6633, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus ATCC 25923 but they were unable to inhibit the growth of tested Gram negative bacteria. R-3 and R-2 were the two most active compounds. However, R-6 and R-7 showed no inhibitory effect against both Gram positive and Gram negative bacteria under the test conditions employed in the present study. R-2 and R-3 were selected for in vivo testing against Staphylococcus aureus. Swiss mice were used as the experimental animal. The toxicity of R-2 and R-3 in mice is 354.00 milligrams and 81.60 milligrams per kilogram respectively. The result showed that the toxicity of R-3 was about 4 times higher than R-2. The formation of pus in the mice was induced by infecting S. aureus subcutaneously. 7.5 and 0.75 milligrams of R-2 and R-3 per 30 grams of mouse body weight was injected intramuscularly in a single dose for the whole experimental period and also at 2 different interval period - every 4 days and every 2 days. However the treatment had no significant systemic effect in curing the mice. Infected mice injected with the same dose of R-2 and R-3 at the area of pus every 2 day intervals recovered within 15-20 and 11-15 days respectively while the control group recovered within 25-30 days. This result suggests that R-3 is more effective than R-2 because the dosage of R-3 was 10 times lower than that of R-2 and the recovery period of the infected mice that were injected with R-3 was 5 days shorter than that of those infected with R-2.





กิติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความดูแลเอาใจใส่ให้คำปรึกษาแนะนำ และให้กำลังใจจากอาจารย์ที่ปรึกษา 2 ท่านคือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิชัย โคววิวิชัย ผู้วิจัยมีอาจลิมบุญคุณและชอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย


กราบขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประคิษฐา อินทรโสมิต หัวหน้าภาควิชาพฤกษศาสตร์ และประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์นี้ ศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.พุดพิงศ์ วรวิจิ หัวหน้าภาควิชาชีววิทยา ที่กรุณาให้ใช้สถานที่และอุปกรณ์ในการเลี้ยงสัตว์ทดลอง รวมทั้งอาจารย์ดวงพรรณ บุนนัจฉา และ อาจารย์ใหม่ วงศ์วิวัฒน์ แห่งคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อเชื้อแบคทีเรียบางชนิด และให้คำแนะนำในการทดลองบางตอน

ขอขอบคุณ นายแพทย์อำคม สมหาร, คุณพนิจ ชลสุวัฒน์, คุณสุนันทา รามศิริ และคุณศิริพรพรรณ เหลี่ยมศิริวัฒนา แห่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทวีศักดิ์ บุญเกิด ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คุณจรัล เอกะวิภาต, คุณทองรววย สุวารี และคุณบุญธรรม ชำสุวรรณ ที่มีส่วนช่วยทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้

ด้วยเงินทุนสมเด็จพระมหิตลาธิเบศรออกุศลยเคชวิกรมบรมราชชนก จึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงดังต่อไปนี้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .....	๑
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	๒
กิตติกรรมประกาศ .....	๓
รายการตารางประกอบ .....	๓
รายการแผนภูมิประกอบ .....	๕
รายการรูปประกอบ .....	๗
รายการแผนผังประกอบ .....	๘
	
บทที่	
1 บทนำ .....	1
2 การวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	5
3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง .....	10
สารสังเคราะห์และยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดลอง .....	10
บั๊กเตอรีที่ใช้ในการทดลอง .....	10
การหาวิธีที่เหมาะสมเพื่อใช้ทดสอบสารสังเคราะห์ทั้ง 7 ชนิด ..	12
การเตรียมแผนกระดาษบรรจุสารสำหรับทดสอบ .....	12
การเตรียมเชื้อเพื่อนำมาเพาะลงในจานเลี้ยงเชื้อ .....	13
การเตรียมจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการ ทดลอง .....	13
การทดสอบประสิทธิภาพในการต่อต้านบั๊กเตอรีของสารสังเคราะห์	14
การทดสอบเปรียบเทียบคุณสมบัติในการต่อต้านบั๊กเตอรี ระหว่าง สารสังเคราะห์กับยาปฏิชีวนะ .....	15
การตรวจดูแบบของการต่อต้านบั๊กเตอรีของสารสังเคราะห์ .....	15
การหาความเป็นพิษของสารสังเคราะห์ .....	16
การทดสอบประสิทธิภาพในการรักษาโรคในหนูขาวของสารสัง- เคราะห์ .....	17

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่

หน้า

4	ผลการทดลอง .....	24
	ผลการหาวิธีเพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสังเคราะห์ใน	
	การระงับการเจริญของแบคทีเรีย .....	24
	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสังเคราะห์ในการระงับ	
	การเจริญของแบคทีเรีย .....	24
	ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการระงับการเจริญเติบโต	
	ของแบคทีเรียระหว่างสารสังเคราะห์กับยาปฏิชีวนะ .....	27
	ผลการตรวจรูปแบบของการระงับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	
	ของสารสังเคราะห์ .....	32
	ผลการหาความเป็นพิษ (toxicity) ของ 5-(4-nitro-	
	benzylidene) rhodanine (R-2) และ 5-(2,6-dich-	
	lorobenzylidene) rhodanine (R-3) .....	33
	ผลการทดลองทำให้หนูขาว (Swiss mice) เป็นโรค (หนอง)	
	ด้วยเชื้อ <u>S. aureus</u> .....	35
	ผลการใช้ R-2, R-3 รักษาอาการหนองในหนูขาว โดยฉีด	
	เข้าทางกล้ามเนื้อ .....	36
	ผลการใช้ R-2, R-3 รักษาอาการหนองในหนูขาว โดยฉีด	
	เข้าบริเวณที่เป็นหนองโดยตรง .....	38
5	การอภิปรายผล .....	60
6	ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ .....	67
	เอกสารอ้างอิง .....	69
	ประวัติ .....	75



รายการตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างและคุณสมบัติของสารสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลอง	12
2	แสดงประสิทธิภาพของสารสังเคราะห์ในการระงับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยแสดงเป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารสังเคราะห์ที่สามารถระงับการเจริญของแบคทีเรียได้ (MIC) เป็นไมโครกรัม/แผ่น .....	25
3	แสดงประสิทธิภาพในการต่อต้านแบคทีเรียของสารสังเคราะห์เทียบกับยาปฏิชีวนะ เมื่อความเข้มข้นของสารเป็น 20 ไมโครกรัม/แผ่นเท่า ๆ กัน โดยแสดงค่าเฉลี่ยของความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อเจริญรอบแผ่นบรรจุสาร (inhibition zone) เป็นมิลลิเมตร .....	28
4	แสดงแบบของการระงับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของสารสังเคราะห์ .....	32
5	แสดงการเปรียบเทียบความเป็นพิษของ 5-(4-nitrobenzylidene) rhodanine และ 5-(2,6-dichlorobenzylidene) rhodanine .....	34
6	เปรียบเทียบจำนวนหนูขาว (Swiss mice) ที่เป็นหนองโดยการฉีด <i>S. aureus</i> ที่เลี้ยงใน TSB และเชื้อชนิดเดียวกันที่ได้ผ่านการฉีดเข้าสัตว์ทดลองมาแล้วตามแผนผังที่ 1 .....	35
7	แสดงผลการใช้ R-2, R-3 รักษาอาการหนองของหนูขาว (Swiss mice) โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อหนูขาวที่ได้ถูกทำให้เป็นหนองแล้ว .....	37
8	แสดงผลการใช้ R-2, R-3 รักษาอาการหนองในหนูขาวโดยฉีดเข้าบริเวณที่เป็นหนองโดยตรง .....	38



รายการแผนภูมิประกอบ

แผนภูมิที่		หน้า
1	แสดงประสิทธิภาพของสารสังเคราะห์กับยาปฏิชีวนะ ในการต่อต้านแบคทีเรีย <u>B. subtilis</u> ATCC 6633 .....	29
2	แสดงประสิทธิภาพของสารสังเคราะห์กับยาปฏิชีวนะ ในการต่อต้านแบคทีเรีย <u>S. aureus</u> .....	30
3	แสดงประสิทธิภาพของสารสังเคราะห์กับยาปฏิชีวนะ ในการต่อต้านแบคทีเรีย <u>S. aureus</u> ATCC 25923 .....	31

## รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1	แสดงให้เห็นหนองภายในบริเวณที่พองออกใต้ผิวหนังของหนูขาวที่ได้รับการฉีด <u>S. aureus</u> ประมาณ 10 วัน .....	41
2-7	รูปหนูขาวชุดที่ได้รับการฉีดสารสังเคราะห์เข้าบริเวณที่เป็นหนองเพียงครั้งเดียวตลอดการทดลอง .....	42-47
8-13	รูปหนูขาวชุดที่ได้รับการฉีดสารสังเคราะห์เข้าบริเวณที่เป็นหนองทุก ๆ 2 วัน .....	48-53
14-19	รูปหนูขาวชุดที่ได้รับการฉีดสารสังเคราะห์เข้าบริเวณที่เป็นหนองทุก ๆ 4 วัน .....	54-59

## รายการแผนผังประกอบ

แผนผังที่		หน้า
1	แสดงการเตรียมเชื้อ <u>S. aureus</u> เพื่อใช้ฉีดเข้าหนูขาว ให้เกิดอาการเป็นหนอง .....	22
2	แสดงขั้นตอนของการฉีดเชื้อ <u>S. aureus</u> เพื่อให้เกิดหนอง และการฉีด R-2, R-3 เข้าหนูขาวทางไตฉีวหนึ่งเพื่อรักษา	23