
ผลของเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชันต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจำนวนของเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร
Effect of Curcuminoids from *Curcuma longa* Linn. on Cellular Morphology and Viability of
Helicobacter pylori

แสงอุษา ประดิษฐ์ศิลป์ และ พรรณีภา ศิริเพิ่มพูล*

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Sangousa Praditsin and Punnipa Siripermpool*

Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชันต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจำนวนของเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร (*Helicobacter pylori*) โดยการทดสอบประสิทธิภาพของเคอร์คูมินอยด์ในการยับยั้งเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร จำนวน 5 ไอโซเลท ด้วยวิธี agar dilution พบว่าเคอร์คูมินอยด์สามารถยับยั้งการเจริญของ เฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไรทั้ง 5 ไอโซเลทได้ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญได้เท่ากันคือเท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อสุ่มศึกษาผลของเคอร์คูมินอยด์ต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะและจำนวนของเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร หมายเลข 2 พบว่าเคอร์คูมินอยด์ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเคอร์คูมินอยด์ในระดับความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 3.125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถทำให้เชื้อเปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นท่อนสั้น รูปกลม และสลายไปจนกระทั่งเพาะเชื้อไม่ได้ในที่สุดตามระยะเวลาที่ได้รับเคอร์คูมินอยด์ที่เพิ่มขึ้น

คำสำคัญ : *H. pylori* เคอร์คูมินอยด์ ขมิ้นชัน

*Corresponding author. E-mail: punnipa@buu.ac.th

To investigate the effect of curcuminoids from *Curcuma longa* Linn. on the viability and morphology of *Helicobacter pylori*, antimicrobial activity of curcuminoids was determined by standard agar dilution method against 5 clinical isolates of *H. pylori*. Our results indicated that the curcuminoids could inhibit growth of all isolates of *H. pylori* with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 50 µg/ml. In addition, the effect of curcuminoids on the morphology of one clinical isolate was also determined. Our results showed that the curcuminoids at the MIC level and at sub-inhibitory concentrations (25 µg/ml and 3.125 µg/ml) could irreversible transverse cellular morphology of *H. pylori* No. 2 from spiral shape to short rod, coccoid and cell debris, respectively. Finally, *H. pylori* turn to nonculturable state. The conversion of *H. pylori* from spiral form to coccoid form and cell debris was progressively changed depend on increasing curcuminoids exposure time.

Keywords : *H. pylori*, curcuminoids, *Curcuma longa* Linn.

บทนำ

Helicobacter pylori เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อนโค้งงอ (curved rod) ขนาดประมาณ 2.5 ถึง 5.0 ไมโครเมตร และสามารถเปลี่ยนเป็นรูปกลม (coccoid) ได้เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเช่น ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำบรรยากาศปกติ และสภาวะที่ขาดแคลนสารอาหาร ซึ่งเชื่อที่เปลี่ยนรูปร่างไปเป็นแบบกลมแล้วนี้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงให้เจริญได้ (Berry *et al.*, 1995; Kusters *et al.*, 1997; Eaton *et al.*, 1995) *H. pylori* เป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนปริมาณน้อยในการเจริญ จึงจัดเป็นกลุ่ม microaerophilic bacteria และเป็นเชื้อสาเหตุของโรคแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก รวมทั้งมะเร็งกระเพาะอาหาร (Forman *et al.*, 1991; Nomura *et al.*, 1991; Parsonnet *et al.*, 1991.) การรักษาซึ่งทำได้โดยการให้ยาปฏิชีวนะเช่น clarithromycin, amoxicillin หรือ metronidazole ร่วมกับยาด้านการหลั่งกรดกลุ่ม H_2 -blockers (เช่น ranitidine) และ bismuth salt เป็นระยะเวลานาน 2 สัปดาห์นั้น ยังคงมีปัญหาจากผลข้างเคียงของการใช้ยา เช่น อาการคลื่นไส้ อาเจียน คนไข้จึงมักหยุดยาเองทำให้อาการโรคกำเริบขึ้นมาใหม่ นอกจากนี้ยังมีปัญหาจากเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะทั้งสามกลุ่มดังกล่าวข้างต้น (Boyanova, *et al.*, 2002., Mollison, *et al.*, 2000., Rimbara, *et al.*, 2005) ดังนั้นการเลือกใช้ยาใหม่ที่มีผลข้างเคียงน้อยหรือการแสวงหาแนวทางใหม่ในการกำจัดเชื้อ *H. pylori* จึงเป็นสิ่งจำเป็นและเป็นประโยชน์ในการรักษาโรค

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งของไทยที่มีสรรพคุณด้านการอักเสบ ช่วยสมานแผลในกระเพาะอาหาร (สำนักงานคณะกรรมการการสาธารณสุขมูลฐาน, 2542) ซึ่งเป็นอาการที่พบได้จากการติดเชื้อ *H. pylori* นอกจากนี้ขมิ้นชันยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็งอีกด้วย ฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวนี้เกิดจากสาร curcuminoids (คณะกรรมการแห่งชาติด้านยา, 2549) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม phenolic compound มีสีเหลืองส้ม พบเป็นส่วนประกอบอยู่ในขมิ้นชันประมาณ 3-6% curcuminoids ประกอบด้วยสารหลักที่สำคัญ 3 ชนิดคือ curcumin เป็นสารที่ทำให้มีสีเหลืองส้ม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีใน dimethyl sulfoxide (DMSO) อะซิโตนและเอทานอล พบได้ในปริมาณมากที่สุดคือ 70-75% รองลงมาได้แก่ demethoxycurcumin พบได้ 15-20% และ bisdemethoxycurcumin พบได้ 3% (Bhavani & Sreenivasa, 1979) ดังนั้นหาก curcuminoids สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อหรือสามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเชื้อไปเป็นแบบที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ก็อาจจะเป็นแนวทางใหม่

ในการเลือกใช้สารนี้เพื่อการจัดการติดเชื้อ *H. pylori* ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาถึงผลของ curcuminoids ในการยับยั้งการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ *H. pylori*

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. สารที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ Curcuminoids (องค์การเภสัชกรรม กรุงเทพมหานคร)

2. ยาต้านจุลชีพ ได้แก่ Gentamicin (Liwinner Pharmaceutical Ltd., ประเทศไทย)

3. แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ 3.1) *Helicobacter pylori* จำนวน 5 isolates ซึ่งแยกได้จาก gastric biopsy ของผู้ป่วยที่มีแผลในกระเพาะอาหาร และเข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา จังหวัดชลบุรี เชื้อทั้งหมดนี้คัดแยกและพิสูจน์ชนิดตามคุณสมบัติชีวเคมีและการติดสีแกรม (Gram negative bacilli เซลล์มีขนาดเล็กโค้งงอ) เจริญได้เฉพาะในสภาวะ microaerobic ไม่เจริญในสภาวะ aerobic ให้ผลบวกต่อการทดสอบ catalase, oxidase และ urease test ไวต่อยา cephalothin ขนาด 30 ไมโครกรัม/disc ต่อยา nalidixic acid ขนาด 30 ไมโครกรัม/disc และ 3.2) *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 เป็นเชื้อควบคุมการทดสอบความไวต่อยา

4. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ curcuminoids ในการยับยั้งการเจริญของ *H. pylori* (Minimum inhibitory concentration; MIC) โดยวิธี agar dilution (Piccolomini *et al.*, 1997) ทำการทดสอบโดยเจือจางสารละลาย curcuminoids (ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในตัวทำละลาย 50% เอทานอล) ในอาหาร Mueller-Hinton agar + 5% human blood ในอัตราส่วน 1 : 19 (สารละลาย curcuminoids : อาหารเลี้ยงเชื้อ) ให้ความเข้มข้นสุดท้ายของ curcuminoids เท่ากับ 50, 25 และ 12.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เตรียมจาน positive control (Mueller-Hinton agar ซึ่งไม่เติม curcuminoids) และจาน diluent control (Mueller-Hinton agar + 50% เอทานอล แทนสารละลาย curcuminoids) จากนั้น spot เชื้อทดสอบ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนจานอาหารปริมาณเชื้อสุดท้ายประมาณ $1-5 \times 10^5$ CFU/spot (ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ) นำจานอาหารทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะ microaerobic โดยใช้ microaerophilice gas pack (Mitsubishi®) นาน 3 วัน อ่านผลความเข้มข้นต่ำสุดของ curcuminoids ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ และทดสอบเชื้อควบคุมระบบการทดสอบหาค่า MIC โดยการ spot เชื้อ *S. aureus* ATCC 29213

ปริมาณเชื้อประมาณ 10^4 CFU/spot ลงบนอาหาร Mueller – Hinton agar ที่ผสมยา gentamicin ความเข้มข้นสุดท้าย 1.0, 0.5, 0.25 และ 0.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บรรยากาศปกติเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผล ความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ)

5. การศึกษาลักษณะรูปร่างเซลล์และจำนวนเชื้อ *H. pylori* เมื่อได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ

จากการสุ่มเลือกเชื้อ *H. pylori* หมายเลข 2 (ปริมาณเชื้อสุดท้ายประมาณ 10^9 CFU/มิลลิลิตร) นำมาบ่มในอาหาร Mueller – Hinton broth + 10% fetal bovine serum (GIBCO®) ที่ผสมสารละลาย curcuminoids ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 50, 25 และ 3.125 และ 0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สภาวะ microaerobic เมื่อครบเวลา 0, 2, 6, 24 และ 48 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างจากแต่ละชุดการทดลองมา 10 ไมโครลิตร ย้อมสีแกรมแบบดัดแปลง (โดยใช้ 0.3% carbol fuchsin แทน Safranin O) ตรวจดูรูปร่าง ลักษณะเซลล์ จำนวน 100 เซลล์ และสุ่มตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในแต่ละช่วงเวลามาเพาะเชื้อเพื่อนับจำนวนโคโลนีโดยวิธีการ drop plate ลงบน blood agar (เปลี่ยน microaerophilic gaspak ใหม่ทุกครั้งหลังจากสุ่มตัวอย่างในแต่ละช่วงเวลา)

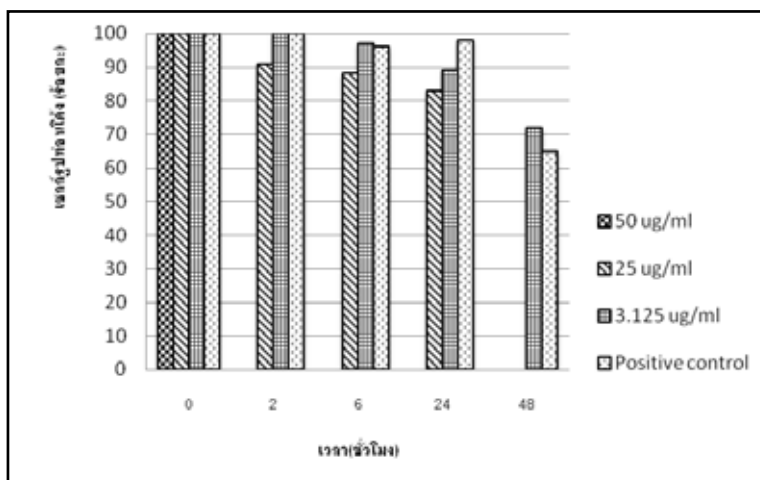
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ของ curcuminoids ด้วยวิธี agar dilution

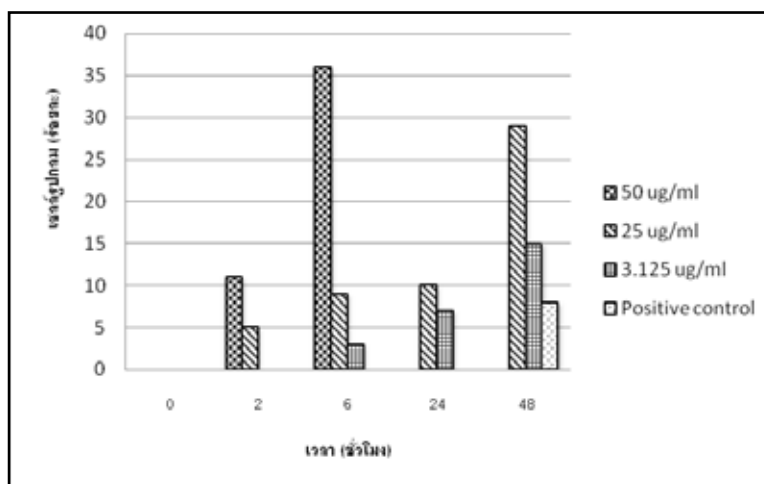
จากการหาค่า MIC ของ curcuminoids ด้วยวิธี agar dilution โดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลายพบว่าค่า MIC ของ curcuminoids ต่อ *H. pylori* ทั้ง 5 isolates มีค่าเท่ากันคือเท่ากับ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทั้งสามซ้ำของการทดลอง และเอทานอลในระดับความเข้มข้นเดียวกับที่ใช้เป็นตัวทำละลายไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง การเจริญของ *H. pylori* ทั้ง 5 isolates ทั้งนี้ค่า MIC ของยา gentamicin ต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC 29213 ในการทดสอบด้วยวิธี agar dilution มีค่าอยู่ในช่วง 0.25-0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตรงตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดโดย NCCLS, 1992

2. ลักษณะรูปร่างเซลล์และจำนวนเชื้อ *H. pylori* เมื่อได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อที่เซลล์ตั้งต้นสมบูรณ์เต็มที่ในอาหารเหลวที่ผสม curcuminoids ความเข้มข้นสุดท้าย 50 25 และ 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (1x MIC 1/2x MIC และ 1/16x MIC) พบว่าเชื้อมีแนวโน้มในการเปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นท่อนสั้น รูปกลม และสลายไปในที่สุดตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังได้รับ curcuminoids โดยเมื่อให้ curcuminoids ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (1xMIC) เชื้อมีการเปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นรูปท่อนสั้น รูปกลม และซากเซลล์อย่างรวดเร็ว กล่าวคือภายในเวลา 2 ชั่วโมงไม่พบเซลล์รูปท่อนโค้ง เหลืออยู่อีกเลย (ภาพที่1) ในขณะที่ให้ curcuminoids ในระดับต่ำกว่าความเข้มข้นน้อยสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (1/2x MIC และ 1/16x MIC) เชื้อจะเปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นรูปท่อนสั้น รูปกลม



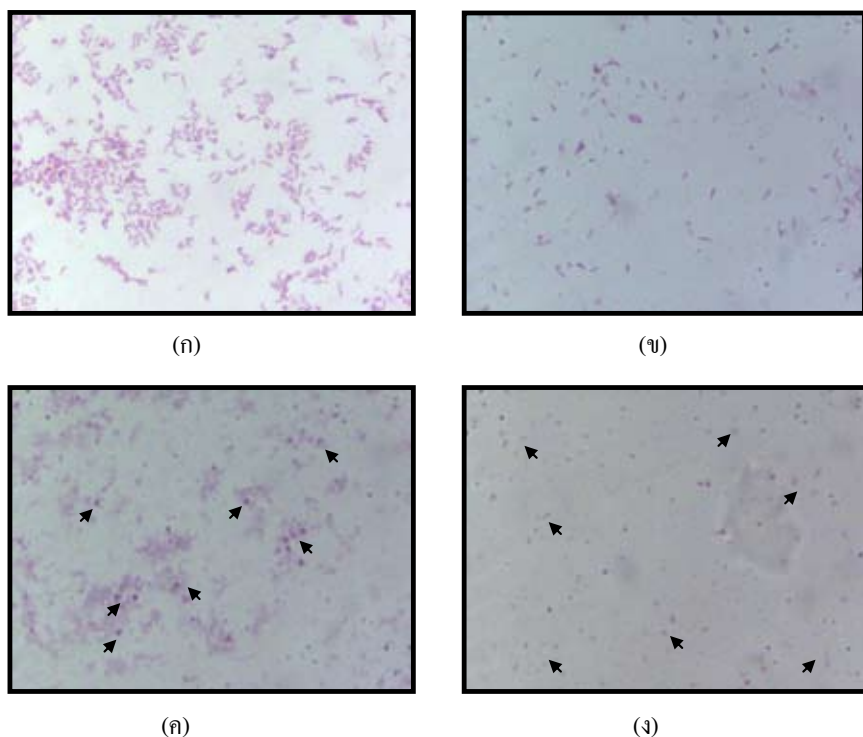
ภาพที่ 1 ร้อยละของเซลล์รูปท่อนโค้งของ *H. pylori* ที่เหลือหลังได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 2 ร้อยละของเซลล์รูปกลมของ *H. pylori* ที่ปรากฏหลังได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ

และซากเซลล์แบบค่อยเป็นค่อยไปตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น หลังได้รับ curcuminoids โดยภายใน 24 ชั่วโมงยังคงพบมีเซลล์รูปท่อนโค้งอยู่มากกว่าร้อยละ 80 และพบเซลล์รูปกลมประมาณน้อยกว่าร้อยละ 10 (ภาพที่ 1 และภาพที่ 2) ลักษณะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์เชื้อเมื่อได้รับ curcuminoids ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า MIC แสดงดังภาพที่ 3

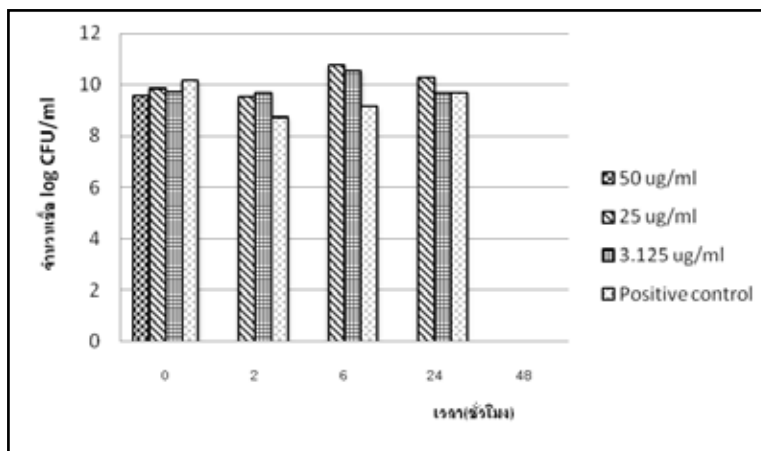
เมื่อเพาะเซลล์ตั้งต้นที่สมบูรณ์เต็มที่ในอาหารเหลวที่ไม่เติม curcuminoids พบว่าเชื้อมีการปรับตัวลดจำนวนลงประมาณ $2 \log_{10}$ CFU/มิลลิลิตร ในระยะเวลา 2 ชั่วโมงแรก แล้วจึงเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างช้าๆ ในช่วงเวลาที่ 6 และ 24 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งในระยะเวลาดังกล่าวนี้อย่างคงมีเซลล์รูปท่อนโค้งอยู่กว่าร้อยละ 90 มีเซลล์ส่วนน้อยเป็นรูปท่อนสั้น และเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 3 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์เชื้อเมื่อได้รับ curcuminoids ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า MIC (ก. เซลล์เริ่มต้นรูปท่อนโค้ง; ข. เซลล์รูปท่อนสั้น; ค. เซลล์รูปกลม; ง. ซากเซลล์)

เหลือเซลล์รูปร่างเป็นท่อนโค้งอยู่เพียงร้อยละ 65 ส่วนเซลล์ที่เหลือได้เปลี่ยนแปลงกลายเป็นรูปท่อนสั้น รูปกลม และซากเซลล์ส่งผลให้ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อให้เจริญได้ในชั่วโมงที่ 48 ในขณะที่เซลล์ซึ่งเพาะเลี้ยงไว้ในอาหารเหลวที่เติม curcuminoids 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ได้เปลี่ยนรูปร่างไปเป็นท่อนสั้นและรูปกลม

จนหมด ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้อีกตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 หลังสัมผัสสาร แต่เมื่อลดความเข้มข้นของ curcuminoids เป็น 25 และ 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยังคงสามารถเพาะเชื้อให้เจริญได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 ถึงชั่วโมงที่ 24 ในแนวโน้มเดียวกับชุดควบคุมที่ไม่เติม curcuminoids (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 จำนวนเชื้อ *H. pylori* หลังได้รับ curcuminoids ความเข้มข้นต่างๆ

วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า curcuminoids สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Mahady *et al.* (2002) ที่ทดลองนำสารสกัดจากผงขมิ้นด้วยเอทานอลและสาร curcumin มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *H. pylori* พบว่าทั้งสารสกัดจากผงขมิ้นและสาร curcumin สามารถยับยั้งเชื้อ *H. pylori* ได้โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 6.25 ถึง 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งหากเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้กับการศึกษาอื่นๆ เพื่อแสวงหาสารจากพืชสมุนไพรในธรรมชาติ เช่น หัวหอม กระเทียม เพื่อใช้รักษาการติดเชื้อ *H. pylori* พบว่าสารสกัดจากพืชดังกล่าวเหล่านี้มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อยู่ในช่วง 0.064-12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Adeniyi *et al.* 2004., Li, *et al.*, 2005; O' Gara, *et al.*, 2000; Suk *et al.* 2010; Zaidi *et al.*, 2009) ซึ่งมากกว่าค่า MIC ของ curcuminoids ประมาณ 1.28-250 เท่า แสดงให้เห็นว่า curcuminoids อาจเป็นคู่แข่งชนิดใหม่ที่มีศักยภาพในการรักษาโรคติดเชื้อ *H. pylori*

ปัจจุบันมีการนำขมิ้นชันมาผลิตจำหน่ายในรูปแบบแคปซูล ใช้รับประทานเพื่อบรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ จุกเสียดแน่น เคลือบแผลในกระเพาะอาหาร แต่ละแคปซูลประกอบด้วย

curcuminoids 0.024 กรัม รับประทานวันละ 4 ครั้ง ครั้งละ 2 แคปซูล รวมปริมาณ curcuminoids 0.2 กรัมต่อวัน แต่เนื่องจาก curcuminoids เป็นสารที่ถูกดูดซึมได้ไม่ดีนักในระบบทางเดินอาหาร มีรายงานว่าตรวจพบระดับ curcumin ในกระแสเลือดคนเพียง 0.006 ± 0.005 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายในเวลา 1 ชั่วโมงหลังจากรับประทาน curcumin ปริมาณ 2 กรัม (Anand *et al.* 2007) ดังนั้นเพื่อผลสัมฤทธิ์ในการรักษาโรคจึงอาจต้องใช้ curcuminoids ร่วมกับยาปฏิชีวนะ ซึ่งขณะนี้ผู้วิจัยกำลังศึกษาการเสริมฤทธิ์ระหว่าง curcuminoids กับยาปฏิชีวนะบางชนิดในการยับยั้ง/ฆ่าเชื้อ *H. pylori* ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและจำนวนของเชื้อเมื่อสัมผัสกับ curcuminoids โดยนำเซลล์เริ่มต้นที่สมบูรณ์เต็มที่ซึ่งทั้งหมดมีรูปร่างเป็นท่อนโค้ง ไปเลี้ยงในอาหารเหลวที่ผสม curcuminoids ความเข้มข้น 50 25 และ 3.125 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (1x MIC 1/2x MIC และ 1/16x MIC ตามลำดับ) ซึ่งพบว่าเซลล์ได้เปลี่ยนรูปร่างจากท่อนโค้งกลายเป็นรูปกลมและซากเซลล์ และไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างกลับไปเป็นรูปเดิมได้อีกเลยแม้จะลดปริมาณ curcuminoids เหลือเพียง 1/16x MIC แล้วก็ตาม แสดงให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของ curcuminoids นั้นเป็นแบบ bactericidal และ dose-dependent คือความรุนแรงของการ

เปลี่ยนแปลงสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของสารซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Horii *et al.* (2002) ที่ได้ศึกษาผลของยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β -lactamase inhibitors (clavulanate, sulbactam และ tazobactam) ต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ *H. pylori* พบว่ายาในกลุ่มดังกล่าวนี้ทำให้เชื้อลดจำนวนลงโดยขึ้นกับความเข้มข้นของยา ทำให้เซลล์เปลี่ยนรูปร่างไปเป็น filament สั้นๆ เป็น spheroplast และสลายไปในที่สุดเช่นกัน และคล้ายกับการศึกษาของ Sorberg *et al.* (1998) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ *H. pylori* และโอกาสเกิดการดื้อยาภายหลังได้รับ amoxicillin, clarithromycin และ metronidazole แล้วพบว่าเมื่อให้ยา amoxicillin ความเข้มข้นสูง (0.25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) จะทำให้เชื้อเปลี่ยนรูปร่างไปเป็น spheroplast ภายในเวลา 21 ชั่วโมง ส่วนยา clarithromycin และ metronidazole นั้นจะเหนี่ยวนำให้เชื้อเปลี่ยนรูปร่างไปเป็นแบบกลมได้ภายในเวลา 68 ชั่วโมง และ 21 ชั่วโมง (ตามลำดับ) และไม่พบการกลับมาเจริญได้ใหม่อีกของเชื้อที่เปลี่ยนเป็นแบบกลมแล้วเช่นเดียวกัน แต่จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า curcuminoids ในระดับ $1 \times \text{MIC}$ (50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ทำให้เซลล์รูปท่อนโค้งทั้งหมดเปลี่ยนไปเป็นรูปอื่นได้หมดภายในเวลา 2 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่า curcuminoids ออกฤทธิ์ได้เร็วกว่ายาปฏิชีวนะชนิดที่ใช้เป็นยารักษาการติดเชื้อชนิดนี้

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่า 1) curcuminoids เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร 2) curcuminoids ทำให้เซลล์ของ *H. pylori* เปลี่ยนแปลงรูปร่างจากท่อนโค้งไปเป็นรูปกลมและซากเซลล์อย่างรวดเร็ว และ 3) การออกฤทธิ์เป็นแบบ bactericidal และ dose-dependent ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า curcuminoids น่าจะเป็นสารที่มีศักยภาพในการรักษาโรคติดเชื้อ *H. pylori*

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณองค์การเภสัชกรรม กรุงเทพมหานคร ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ curcuminoids เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- คณะกรรมการแห่งชาติด้านยา. (2549). *บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ. 2549*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- สำนักงานคณะกรรมการการสาธารณสุขมูลฐาน. (2542). *ยาสมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน (พิมพ์ครั้งที่ 2)*. กรุงเทพฯ: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
- Adeniyi, B. A. & Anyiam, F. M. (2004). In vitro anti-*Helicobacter pylori* potential of methanol extract of *Allium ascalonicum* Linn. (Liliaceae) leaf: susceptibility and effect on urease activity. *Phytotherapy Research*, 18, 358-361.
- Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4, 807-818.
- Berry, V., Jenings, K., & Woodnutt, G. (1995). Bactericidal and morphological effects of amoxycillin on *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39, 1859-1861.
- Bhavani, S. B., & Sreenivasa, M. S. (1979). Effect of turmeric (*Curcuma longa*) fractions on the growth of some intestinal pathogenic bacteria *in vitro*. *Indian Journal Experimental Biology*, 17, 1363-1366.
- Boyanova, L., Mentis, A., Gubina, M., Rozynek, E., Gosciniak, G., Kalenic, S., Goral, V., Kupcinskis, L., Kantarceken, B., Aydin, A., Archimandritis, A., Dzierzanowska, D., Vcev, A., Ivanova, K., Marina, M., Mitov, I., Petrov, P., Ozden, A., & Popova, M. (2002). The status of antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in eastern Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 8, 388-396.
- Eaton, K. A., Catrenich, C. E., Makin, K. M., & Krakowa, S. (1995). Virulence of coccoid and bacillary forms of *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *The Journal of Infectious Diseases*, 171, 459-462.

- Forman, D., Newell, D. G., Fullerton, F., Yarnell, J. W., Stacey, A. R., Wald, N., & Sitas, F. (1991). Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer : evidence from a prospective investigation. *British Medical Journal*, 302, 1302-1305.
- Horii, T., Mase, K., Suzuki, Y., Kimura, T., Ohta, M., Maekawa, M., Kanno, T., & Kobayashi, M. (2002). Antibacterial activities of β -lactamase inhibitors associated with morphological changes of cell wall in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 7, 39-45.
- Kusters, J. G., Gerrits, M. M., Van Strijp, J. A. G., & Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E. (1997). Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. *Infection and Immunity*, 65, 3672-3679.
- Li, Y., Xu, C., Zhang, Q., Liu, J. Y., & Tan, R. X. (2005). In vitro anti-*Helicobacter pylori* action of 30 Chinese herbal medicines used to treat ulcer diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 98, 329-333.
- Mahady, G. B., Pendland, S. L., Yun, G., & Lu, Z. Z. (2002). Turmeric (*Curcuma longa*) and curcumin inhibit the growth of *Helicobacter pylori*, a group 1 carcinogen. *Anticancer Research*, 22, 4179-4181.
- Mollison, L. C., Stingemore, N., Wake, R. A., Cullen, D. J., & McGeachie, D. B. (2000). Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *The Medical Journal of Australia*, 173, 521-523.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1992). *Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents: tentative guideline M26-T*. Villanova, PA: NCCLS.
- Nomura, A., Stemmermann, G. N., Chyou, P. H., Kato, I., Perez-Perez, G. I., & Blaser, M. J. (1991). *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *The New England Journal of Medicine*, 325, 1132-1136.
- O'Gara, E. A., Hill, D. J., & Maslin, D. J. (2000). Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 2269-2273.
- Parsonnet, J., Friedman, G. D., Vandersteen, D. P., Chang, Y., Vogelstein, J. H., Orentreich, N., & Sibley, R. K. (1991). *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *The New England Journal of Medicine*, 325, 1127-1131.
- Piccolomini, R., Bonaventura, G., Catamo, G., Carbone, F. & Neri, M. (1997). Comparative evaluation of the E test, agar dilution, and broth microdilution for testing susceptibilities of *Helicobacter pylori* strain to 20 antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology* 35, 1842-1846.
- Rimbara, E., Niguchi, N., Tanabe, M., Kawai, T., Matsumoto, Y., & Sasatsu, M. (2005). Susceptibilities to clarithromycin, amoxicillin and metronidazole of *Helicobacter pylori* isolates from the antrum and corpus in Tokyo, Japan, 1995-2001. *Clinical Microbiology and Infection*, 11, 307-311.
- Sörberg, M., Hanberger, H., Nilsson, M., Björkman, A., & Nilsson, L. E. (1998). Risk of development of *in vitro* resistance to amoxicillin, clarithromycin, and metronidazole in *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42, 1222-1228.
- Suk, K. T., Kim, H. S., Kim, M. Y., Kim, J. W., Uh, Y., Jang, I. H., Kim, S. K., Choi, E. H., Kim, M. J., Joo, J. S., & Baik, S. K. (2010). In vitro antibacterial and morphological effects of the Urushiol component of the sap of the Korean lacquer tree (*Rhus vernicifera* Stokes) on *Helicobacter pylori*. *Journal of Korean Medical Science*, 25, 399-404.
- Zaidi, S. F. H., Yamada, K., Kadowaki, M., Usmanghani, K. & Sugiyama, T. (2009) Bactericidal activity of medicinal plants, employed for the treatment of gastrointestinal ailments, against *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology*, 121, 286-291.