



คุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแผลในกระเพาะอาหาร *Helicobacter pylori* ของโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรรักษาแผล ก้นตึกนิษฐ์ สุริยะจันทร์, ยิ่งมณี ตระกูลพัฑ*

บทคัดย่อ

คุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแผลในกระเพาะอาหาร *Helicobacter pylori* ของโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรรักษาแผล
ก้นตึกนิษฐ์ สุริยะจันทร์, ยิ่งมณี ตระกูลพัฑ*

บทนำ : เชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อโรคกระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง แผลในกระเพาะอาหาร และมะเร็งกระเพาะอาหาร สามารถพบเชื้อนี้ได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในประเทศกำลังพัฒนา ปัจจุบันพบว่าประชากรทั่วโลกติดเชื้อนี้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของประชากรและแทบทุกรายจะมีภาวะกระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง และแผลในกระเพาะอาหาร การติดต่อของเชื้อ *H. pylori* อาจติดต่อทางการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อ การรักษาที่ได้ผลพบว่าผู้ป่วยต้องได้รับยาปฏิชีวนะมากกว่าหนึ่งชนิด เนื่องจากเชื้อมีโอกาสที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นทำให้การรักษาไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้นการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ และสมุนไพรรักษาแผลจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในการป้องกัน และรักษาโรคกระเพาะอาหารอักเสบจากการติดเชื้อ *H. pylori* การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรรักษาแผล โพรพอลิส และนมผึ้งต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* **วัสดุและวิธีการ :** ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 ที่แยกได้จากผู้ป่วย และสายพันธุ์มาตรฐาน DMST 20165 ของสารสกัดจากโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรรักษาแผล ด้วยวิธี agar disc diffusion และนำมาทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อโดยวิธี disc diffusion และทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อโดยวิธี broth dilution **ผลการศึกษา :** การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรรักษาแผลที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ซึ่งมีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการยับยั้ง 8–25 mm และเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อโดยวิธี MIC และ MBC พบว่ามีค่า MIC และ MBC ในช่วง 7.8–500 mg/ml และ 3.9–500 mg/ml ตามลำดับ ส่วนสารผสมของโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรรักษาแผล พบว่าสารผสมที่มีนมผึ้งออกฤทธิ์ยับยั้งได้ดีเมื่อเทียบกับสารผสมที่ไม่มีนมผึ้ง **สรุปผล :** สารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรรักษาแผลที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 และ DMST 20165 ได้ โดยนมผึ้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 ได้ดีกว่า เชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 สารผสมที่มีนมผึ้งจะออกฤทธิ์ยับยั้งได้ดีเมื่อเทียบกับสารผสมตัวอื่นๆ นอกจากนี้พบว่าสารผสมระหว่าง สารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรรักษาแผล ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165

คำสำคัญ : *Helicobacter pylori*, แผลในกระเพาะอาหาร, โพรพอลิส, นมผึ้ง, พืชรักษาแผล

Abstract

Anti-bacterial properties of propolis, royal jelly and *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees against bacteria causing gastric ulcer, *Helicobacter pylori*

Suriyachan K, Tragoolpua Y*

Introduction : *Helicobacter pylori* bacteria are a major cause of chronic gastritis, gastric ulcer and gastric cancer. These bacteria can be found throughout the world especially in developing countries. The current status shows that more than 50 percent of population in the world infected with these bacteria and almost all patients have symptom of chronic gastritis and

*ติดต่อผู้พิมพ์: โทร (66 53) 1948-50 ext 117 โทรสาร (66 53) 892259 E-mail: yingmanee.t@cmu.ac.th

*Corresponding author: Tel (66 53) 1948-50 ext 117. Fax (66 53) 892259. E-mail:yingmanee.t@cmu.ac.th



gastric ulcer. Transmission of *H. pylori* likely occurs by consuming of contaminated food. Effective medications shows that patients need to get more than one type of antibiotics because higher chance of resistant bacteria against antibiotics occurs, thus treatment is not successful. Therefore, the use of natural extracts and medicinal plant is an alternative way that can replace the use of antibiotics and chemicals for prevention and treatment of gastritis disease caused by *H. pylori* infection. This study aims to investigate the inhibitory effect of propolis, royal jelly and *Andrographis paniculata* against *H.pylori*. **Materials and Method** : The inhibitory effects of propolis extract, royal jelly and *A. paniculata* extracts against the bacteria *H. pylori* clinical isolate strain H 54 and standard strain DMST 20165 were determined using agar disc diffusion method. Minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by disc diffusion method and minimum bactericidal concentration (MBC) was determined by broth dilution method. **Results** : Propolis, royal jelly, and aqueous and ethanolic extracts of *A. paniculata* exhibited anti-*H. pylori* activity using disc diffusion method. The inhibition zone were within the range of 8-25 mm. Minimum inhibitory concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were within the range of 7.8-500 mg/ml and 3.9-500 mg/ml, respectively. Combinations of propolis extract, royal jelly and *A. paniculata* extracts were determined for anti-*H. pylori* activity. It was found that combination containing royal jelly inhibited *H. pylori* better than other combination without royal jelly. **Conclusion** : Propolis, royal jelly, and *A. paniculata* extracts demonstrated antibacterial activity against *H. pylori* strains DMST 20165 and H 54. Royal jelly showed the highest activity and *H. pylori* strain H 54 was inhibited higher than strain DMST 20165. Moreover, combination of substances containing royal jelly demonstrated higher anti-*H. pylori* activity when compared to other combination. *H. pylori* strains H 54 was also inhibited more than *H. pylori* strains DMST 20165 after treatment with combination of propolis, royal jelly, and extracts of *A. paniculata*.

Keyword : *Helicobacter pylori*, gastric ulcer, propolis, royal jelly, *Andrographis paniculata*

บทนำ

โรคกระเพาะอาหารทำให้เกิดเป็นแผลบริเวณกระเพาะอาหารโดยตรง หรือบริเวณลำไส้ส่วนต้น โดยพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ประสบปัญหาหลังจากรักษาแผลให้หายแล้วมักกลับมาเป็นแผลอีก อาการของโรคที่มีลักษณะเรื้อรังนี้ ทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ลดลง และทำให้มีภาระค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลเพิ่มขึ้นด้วย ในอดีตมีความเชื่อว่าโรคกระเพาะอาหารเป็นผลมาจากการที่กระเพาะอาหารมีกรดมาก หรือเยื่อบุกระเพาะอาหารไม่แข็งแรงแต่เพียงอย่างเดียว ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับแล้วว่า แบคทีเรีย *Helicobacter pylori* เป็นสาเหตุโดยตรงที่ทำให้เกิดโรคกระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง เชื้อ *H. pylori* (Warren and Marshall, 1983) ลักษณะของเชื้อ *H. pylori* เป็นแบคทีเรียดิสแกรมลบ รูปร่างเกลียว มีขนาดกว้าง 0.5-0.9 μm . ยาว 3 μm เชื้อเจริญได้เฉพาะในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนน้อย แบคทีเรีย *H. pylori* สามารถสร้างเอนไซม์ยูเรียเอสที่สามารถเปลี่ยนยูเรียที่มีอยู่ในกระเพาะอาหารให้เป็นแอมโมเนีย และทำให้เกิดสภาวะที่เป็นด่าง จึงทำให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดอย่างแรงในกระเพาะอาหารได้ กลไกการก่อโรคของเชื้อ *H. pylori* เริ่มจากการติดเชื้อที่บริเวณกระเพาะอาหารส่วนล่าง โดยในระยะแรกจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียนและมีอาการปวดท้องบ่อยๆ เนื่องมาจาก *H. pylori* เกิด

การติดเชื้อในบริเวณเยื่อบุกระเพาะอาหารทำให้เกิดการอักเสบของเยื่อบุกระเพาะอาหาร เกิดแผลในกระเพาะอาหารหรือในลำไส้ส่วนต้นได้ ส่วนการได้รับเชื่อนั้น ส่วนใหญ่ผ่านทางปาก อาหารหรือดื่มน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อ รวมถึงสามารถถ่ายทอดสู่คนใกล้ชิดหรือแพร่กระจายในชุมชน (Webb *et al.*, 1994) อุบัติการณ์ของการติดเชื้อขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น พื้นที่ภูมิลาเนา อายุ เชื้อชาติและสถานะทางสังคมและเศรษฐกิจ (Brown *et al.*, 2000) การรักษาการติดเชื้อที่ได้ผลต้องใช้ยามากกว่าหนึ่งชนิด โดยมียาในกลุ่ม nitroimidazoles เช่น metronidazole หรือกลุ่ม macrolides เช่น clarithromycin ร่วมกับยาต้านเชื้อแบคทีเรียอื่น เช่น tetracycline หรือ amoxicillin และให้ยาลดกรด เช่น กลุ่ม proton pump inhibitors หรือ H_2 antagonist หรืออาจเพิ่มสาร bismuth ด้วย (Wolle and Malfertheiner, 2007) แต่คนไข้มักกลับเป็นซ้ำอีก เนื่องจากแบคทีเรียเกิดการดื้อยาในกลุ่ม nitroimidazoles และ macrolides ทำให้มีอัตราล้มเหลวในการรักษาเพิ่มสูงขึ้น (Jenks *et al.*, 1999)

โพรพอลิส หรือยางผึ้ง เป็นวัสดุสีน้ำตาลเข้ม เหนียว ที่ผลิตจากยางไม้ เมื่อพิจารณาในด้านสารประกอบทางเคมีจะพบสารสำคัญที่ทำให้โพรพอลิสมีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ



เช่นสารในกลุ่ม phenolic compound และ essential oils (Athikomkulchai, 2008) จากการศึกษพบว่าโพรพอลิสสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* และ *Pseudomonas aeruginosa* (Kosalec et al., 2005; Sonmez et al., 2005) นอกจากนี้โพรพอลิสยังมีฤทธิ์ต้านมะเร็งฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Banskota et al., 2000) ส่วนนมผึ้งผลิตจาก hypopharyngeal gland และ mandibular gland ของผึ้ง โดยนมผึ้งมีลักษณะเป็นครีมสีขาวคล้ายนมข้นหวาน มีกลิ่นเปรี้ยว รสเผ็ดเล็กน้อย นมผึ้งมีคุณสมบัติหลายประการคือสามารถลดความดันโลหิต ลดการอักเสบ ลดระดับโคเลสเตอรอล ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Nagai and Inoue, 2004) ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยพบว่าโปรตีน royalisin ในนมผึ้งมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียพวกกรัมบวก เช่น *Streptococcus* และ *Staphylococcus* (Fujiwara et al., 1990)

สมุนไพรฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) จัดอยู่ในวงศ์ ACANTHACEAE เป็นไม้ล้มลุก มีรสขม ส่วนที่นำมาใช้คือใบ และลำต้น มีสรรพคุณคือแก้ไข้ ระงับอาการอักเสบ อาการไอ เจ็บคอ คออักเสบ ต่อมทอนซิล หลอดลมอักเสบ ขับเสมหะ รักษาโรคผิวหนัง รักษาอาการปวดท้อง ท้องเสีย บิด และแก้กระเพาะลำไส้อักเสบ ใบฟ้าทะลายโจรมีสารเคมีประกอบอยู่หลายประเภท แต่ที่เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ คือ สารกลุ่ม Lactone การวิจัยด้านเภสัชวิทยาพบว่า ฟ้าทะลายโจรสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอันเป็นสาเหตุของการเป็นหนองได้ (Fujiwara et al., 1990) ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Streptococcus mutans* ยับยั้งเชื้อยีสต์ *Candida albicans* (Limsong et al, 2004; Singha et al., 2003) ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแผลในกระเพาะอาหาร *H. pylori* ของโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรฟ้าทะลายโจร

วัสดุและวิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพร สารสกัดโพรพอลิส และนมผึ้ง

นำสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง จากนั้นนำสมุนไพรมาบดให้ละเอียด และแบ่งตัวอย่างสมุนไพรออกเป็น 2 กลุ่ม สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด อัตราส่วนสารสกัด:ตัวทำละลายเท่ากับ 1:10 โดยวิธีสกัดดังนี้

- กลุ่มที่ 1 สกัดด้วยน้ำโดยแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

- กลุ่มที่ 2 สกัดด้วย 95% เอทานอล บนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

จากนั้นนำสารสกัดมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และนำกากสมุนไพรที่ได้จากการกรองไปทำการสกัดซ้ำ 2 รอบ และนำของเหลวที่กรองได้จากการสกัดทั้งหมดมารวมกันและนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง evaporator จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งเป็นผงโดยใช้เครื่อง lyophilizer และเก็บสารที่ได้ในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิทซึ่งฆ่าเชื้อแล้วในตู้เย็นอุณหภูมิ 4°C

นำสารสกัดโพรพอลิส และนมผึ้งที่ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทบีโปรดักส์ อินดัสตรี และสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่สกัดได้มาละลายด้วย dimethyl sulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ จากนั้นเก็บสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และห่อด้วย aluminum foil เพื่อป้องกันแสง

2. การทดสอบสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรฟ้าทะลายโจรต่อเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* โดยวิธี Agar disc diffusion (Cogo et al., 2010; CLSI, 2007)

เชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์มาตรฐาน DMST 20165 ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ส่วนสายพันธุ์ H 54 แยกได้จากผู้ป่วยได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ ดร. ธนิษฐา จัตรสุวรรณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นำเชื้อ *H. pylori* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Columbia agar base ที่มี 7% sheep blood มาละลายในน้ำเกลือที่ปลอดเชื้อ จากนั้นปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ McFarland standard No. 2 นำเชื้อที่เตรียมได้มาเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารแข็ง Columbia agar base ที่มี 7% sheep blood และนำ paper disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm จุ่มสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง หรือสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจร และนำมาวางบนผิวหน้าอาหารแข็งที่ทำการเกลี่ยเชื้อไว้แล้ว โดยใช้ DMSO และ ยาต้านเชื้อแบคทีเรียเป็นชุดควบคุม จากนั้นนำจานเพาะเชื้อที่วาง disc ของสารสกัดสมุนไพร ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนน้อย (microaerophilic) เป็นเวลา 3-5 วัน วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้น บันทึกค่าที่ได้

3. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* โดยวิธี Disc diffusion (Ndip et al., 2008)

นำสารสกัดเข้มข้นมาทำการเจือจางลำดับส่วนโดยวิธี two-fold dilution ใน Columbia broth ทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสาร (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* โดยวิธี disc diffusion โดยนำ paper disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm จุ่มสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และนำมาวางบนผิวหน้าอาหารแข็งที่ทำการเกลี่ยเชื้อไว้แล้ว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนน้อย (microaerophilic) เป็นเวลา 3-5 วัน อ่านผลโดยดูค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อบันทึกค่าที่ได้

4. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดโพพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจร ที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) (Ndip et al., 2008)

นำหลอดทดสอบจากการทำ MIC มา streak plate บนอาหาร Columbia agar base ที่มี 7% sheep blood จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนน้อย (microaerophilic) เป็นเวลา 3 วัน อ่านผลโดยดูการเจริญของเชื้อทดสอบ ทั้งนี้ค่า MBC คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ 100%

5. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* ของสารผสมของสารสกัดโพพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจร

นำสารผสมของสารสกัดโพพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* โดยวิธี agar disc diffusion และ broth dilution

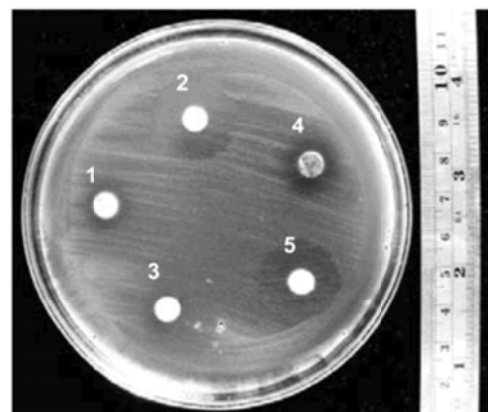
ผลการศึกษา

การทดสอบสารสกัดโพพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรต่อเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* โดยวิธี agar disc diffusion

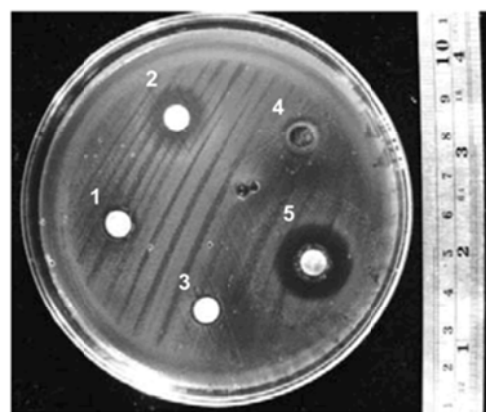
ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแผลในกระเพาะอาหาร *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และสายพันธุ์ H 54 ของสารสกัดจากโพพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจร โดยนำมาทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion โดยใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 500 mg/ml พบว่านมผึ้ง สารสกัด โพพอลิส สารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ และเอทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST20165 โดย

สามารถวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสได้ 15.3 ± 0.5 , 10.7 ± 1.1 , 8.7 ± 0.5 และ 10 ± 0.0 mm ตามลำดับ ส่วนผลการยับยั้งของเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 พบว่านมผึ้ง สารสกัด โพพอลิส สารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ และเอทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยสามารถวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสได้ 25 ± 0.0 , 15.7 ± 0.5 , 6 ± 0.0 และ 10 ± 0.0 mm ตามลำดับ

ส่วนชุดควบคุมที่ใช้ dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็น negative control นั้นพบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ทั้งสองสายพันธุ์ และชุดควบคุมที่ใช้ยาปฏิชีวนะ clarithromycin เป็น positive control ต่อการทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และ สายพันธุ์ H 54 นั้นพบว่าวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสได้ 39 ± 1.0 และ 49.3 ± 0.5 ตามลำดับ (ภาพ 1, ตาราง 1)



(a)



(b)

ภาพที่ 1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 (a) และสายพันธุ์ DMST 20165 (b) ด้วยสารสกัดจากโพพอลิส (1), นมผึ้ง (2), ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ (3), ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอทานอล (4), โพพอลิสและนมผึ้ง (5)

ตาราง 1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* โดยวิธี Agar disc diffusion

สารทดสอบ (ที่ความเข้มข้น 500mg/ml)	เส้นผ่านศูนย์กลาง การยับยั้ง (mm)	
	<i>H. Pylori</i> strains	
	DMST 20165	H 54
โพรพอลิส	10.7 ± 1.1	15.7 ± 0.5
นมผึ้ง	15.3 ± 0.5	25 ± 0.0
ฟ้าทะลายโจร ¹	8.7 ± 0.5	6 ± 0.0
ฟ้าทะลายโจร ²	10 ± 0.0	10 ± 0.0
โพรพอลิส : นมผึ้ง	15.3 ± 0.5	24.3 ± 0.5
โพรพอลิส : ฟ้าทะลายโจร ¹	10.7 ± 1.1	14.7 ± 0.5
โพรพอลิส : ฟ้าทะลายโจร ²	10.3 ± 0.5	15 ± 0.0
นมผึ้ง : ฟ้าทะลายโจร ¹	14.7 ± 0.5	20 ± 0.0
นมผึ้ง : ฟ้าทะลายโจร ²	15 ± 1.0	20.3 ± 0.5
โพรพอลิส : นมผึ้ง : ฟ้าทะลาย โจร ^{1**}	8.3 ± 0.5	16.3 ± 0.5
โพรพอลิส : นมผึ้ง : ฟ้าทะลาย โจร ^{2**}	10.3 ± 0.5	16 ± 0.0
ยาปฏิชีวนะ Clarithromycin ³	39 ± 1.0	49.3 ± 0.5
dimethyl sulfoxide (DMSO) ⁴	0	0

หมายเหตุ: ¹ ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ, ² ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอทานอล, ³ Clarithromycin เป็น positive control, ⁴ dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็น negative control, * ความเข้มข้นของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลายโจร ในสารผสมเท่ากับ 500 mg/ml, ** ความเข้มข้นของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลายโจร ในสารผสมเท่ากับ 200 mg/ml

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่า (MBC) เชื้อแบคทีเรีย *H. pylori*

จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) พบว่าค่า MIC และ MBC ของสารสกัดโพรพอลิสเท่ากับ 250 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 62.5 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54

ค่า MIC และ MBC ของนมผึ้งมีค่า เท่ากับ 125 และ 62.5 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 3.9 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54

ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ เท่ากับ 500 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และ สายพันธุ์ H 54 ส่วน ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอทานอล มีค่า เท่ากับ 500 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และ สายพันธุ์ H 54 (ตาราง 2)

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* ของสารผสมของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรฟ้าทะลายโจร โดยวิธี Agar disc diffusion

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแผลในกระเพาะอาหาร *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และสายพันธุ์ H 54 ของสารผสมจาก โพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรฟ้าทะลายโจร โดยนำมาทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion โดยสารผสม 2 ชนิด จะมีความเข้มข้นของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลายโจร ในสารผสมเท่ากับ 500 mg/ml

พบว่าสารผสมระหว่างโพรพอลิสและนมผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และสายพันธุ์ H 54 ได้ดีที่สุด สามารถวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสได้ 15.3 ± 0.5 และ 24.3 ± 0.5 mm ตามลำดับ รองลงมาคือ สารผสมระหว่างนมผึ้งและฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอทานอล สารผสมระหว่างนมผึ้งและฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ สารผสมระหว่างโพรพอลิสและฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอทานอล และสารผสมระหว่างโพรพอลิสและฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ (ตาราง 2)

ส่วนผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* ของสารผสมทั้ง 3 ชนิด คือ โพรพอลิส : นมผึ้ง : ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ หรือเอทานอล โดยมีความเข้มข้นของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลายโจร ในสารผสมเท่ากับ 200 mg/ml พบว่าสารผสมระหว่างโพรพอลิส : นมผึ้ง : ฟ้าทะลายโจรที่ใช้น้ำ และเอทานอลเป็นตัวสกัด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 ได้ดีกว่าสายพันธุ์ DMST 20165 ซึ่งวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเฉลี่ยได้ 16.3 ± 0.5 และ 16 ± 0.0 mm ตามลำดับ



การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* ของสารผสมของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรฟ้าทะลายโจร โดยวิธี MIC และ MBC

การทดสอบฤทธิ์ของสารผสมต่อเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* พบว่าสารผสมระหว่างโพรพอลิส:นมผึ้ง มีค่า MIC เท่ากับ 125 mg/ml และ MBC เท่ากับ 62.5 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และมีค่า MIC เท่ากับ 7.8 mg/ml และ MBC เท่ากับ 3.9 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 ส่วนสารผสมระหว่างนมผึ้ง: สมุนไพรฟ้าทะลายโจรสกัดด้วยน้ำ และเอทานอล มีค่า MIC เท่ากับ 125 mg/ml และ MBC เท่ากับ 62.5 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และมีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 7.8 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54

ส่วนสารผสมระหว่างโพรพอลิส : นมผึ้ง : ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 200 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และมีค่า MIC เท่ากับ 100 mg/ml และ MBC เท่ากับ 50 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 ส่วนสารผสมระหว่างโพรพอลิส : นมผึ้ง : ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอทานอล มีค่า MIC เท่ากับ 200 mg/ml และ MBC เท่ากับ 200 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และมีค่า MIC เท่ากับ 100 mg/ml และ MBC เท่ากับ 50 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 (ตาราง 2)

ตารางที่ 2 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่า (MBC) เชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* ของสารสกัดสมุนไพร

สารทดสอบ (ที่ความเข้มข้น 500mg/ml)	ค่า MIC และ MBC ที่วัดได้ (mg/ml)			
	<i>H. Pylori</i> strains			
	DMST 20165	H 54		
	MIC	MBC	MIC	MBC
โพรพอลิส	250	250	62.5	62.5
นมผึ้ง	125	62.5	3.9	3.9
ฟ้าทะลายโจร ¹	500	500	500	500
ฟ้าทะลายโจร ²	500	500	500	500
โพรพอลิส : นมผึ้ง	125	62.5	7.8	3.9
โพรพอลิส : ฟ้าทะลายโจร ¹	500	250	250	62.5
โพรพอลิส : ฟ้าทะลายโจร ²	500	250	250	62.5
นมผึ้ง : ฟ้าทะลายโจร ¹	125	62.5	7.8	7.8

นมผึ้ง : ฟ้าทะลายโจร ²	125	62.5	7.8	7.8
โพรพอลิส: นมผึ้ง:	200	200	100	50
ฟ้าทะลายโจร ^{1**}				
โพรพอลิส: นมผึ้ง:	200	200	100	50
ฟ้าทะลายโจร ^{2**}				

หมายเหตุ: ¹ ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ, ² ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอทานอล, * ความเข้มข้นของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลายโจร ในสารผสมเท่ากับ 500 mg/ml, ** ความเข้มข้นของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลายโจร ในสารผสมเท่ากับ 200 mg/ml

อภิปรายผลการศึกษา

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพร ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ทั้งสองสายพันธุ์ พบว่านมผึ้ง โพรพอลิส ฟ้าทะลายโจรที่ใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวสกัด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ โดยนมผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยได้ดีกว่าสายพันธุ์มาตรฐาน DMST 20165 รองลงมาคือสารสกัดโพรพอลิส ฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยเอทานอล และฟ้าทะลายโจรที่สกัดด้วยน้ำ ซึ่งผลจากการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาพบว่านมผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (ATCC 6535), *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringensis*, *Bacillus pumilus*, *Escherichia coli* (CCT 1371), *Enterobacter cloacae* (ATCC 23355), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 28853) (Fontana et al., 2004) และยังพบว่านมผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ *Candida albicans* ได้เช่นกัน โดยพบว่าโปรตีน royalisin ในนมผึ้งมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียพวกแกรมบวก เช่น *Streptococcus* และ *Staphylococcus* (Fujiwara et al., 1990) นอกจากนี้แล้วนมผึ้งยังมีคุณสมบัติหลายประการคือ ลดความดันโลหิต ลดการอักเสบ ลดระดับโคเลสเตอรอล ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Salazar-Olivo and Paz-Gonzalez, 2005) นอกจากนี้พบว่านมผึ้งสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาแผลในหนูที่เป็นโรคเบาหวานได้อีกด้วย (Fujii et al., 1990)

ส่วนสารสกัดโพรพอลิสที่ให้ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรองลงมา พบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อน่าจะ



เป็นผลมาจากสารสำคัญหลายชนิด เช่น สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก และเทอร์ปีน เป็นต้น (Macucci, 1995) ซึ่งจากการศึกษาพบว่ามียางจำนวนมากที่กล่าวถึงการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของโพรพอลิสจากแหล่งต่าง ๆ และโพรพอลิสก็มีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรีย รา โปรโตซัว และไวรัสได้ โดยตัวอย่างสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ ได้แก่ cupressic acid, acetylcupressic acid, imbricatolonic acid, communic acid และ syringaldehyde เป็นต้น ซึ่งสารทั้งหมดแยกได้จากโพรพอลิสของประเทศบราซิล มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ ส่วนสารสำคัญที่สามารถยับยั้งเชื้อ *H. pylori* ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคแผลในกระเพาะอาหาร ได้แก่ *p*-coumaric acid, 3-prenyl-4 dihydrocinnamolyoxycinnamic acid, และ artepillin C เป็นต้น ซึ่งสารดังกล่าวเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่แยกได้จากโพรพอลิสของประเทศบราซิล (Athikomkulchai, 2008) จากการศึกษาของ Boyanova *et al.* (2006) พบว่า โพรพอลิสยังสามารถยับยั้งการเจริญของ anaerobic bacteria ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับเชื้อ *Clostridium*, *Bacteroides* และ *Propionibacterium* นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะทางกายภาพและองค์ประกอบทางเคมีของโพรพอลิสจะแตกต่างกันตามภูมิประเทศที่เป็นแหล่งกำเนิด เนื่องจากชนิดของพืชที่ผึ้งเก็บยางเหนียวมาสร้างโพรพอลิสแตกต่างกันไปตามสภาพภูมิประเทศทำให้สารเคมีที่อยู่ในโพรพอลิสแตกต่างกันไปด้วย ฤดูที่ผึ้งเก็บโพรพอลิสก็มีส่วนทำให้องค์ประกอบทางเคมีลักษณะทางกายภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของโพรพอลิสเปลี่ยนแปลงได้ และจากการศึกษาพบว่าโพรพอลิสในภูมิประเทศที่แตกต่างกันมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันด้วย คือ โพรพอลิสจากประเทศในเขตอบอุ่น (temperate zone) ได้แก่ ประเทศในแถบเอเชีย ยุโรป แอฟริกาเหนือ และอเมริกาเหนือ เป็นต้น จะมีองค์ประกอบหลักเป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิกและอนุพันธ์ ส่วนโพรพอลิสจากประเทศในเขตร้อน (tropical zone) ได้แก่ ประเทศในแถบอเมริกาใต้และแอฟริกาใต้ เป็นต้น จะมีองค์ประกอบหลักเป็นอนุพันธ์ของสารที่มีหมู่ฟีนอลิกมาเกาะ (prenylated derivatives) ได้แก่ prenylated *p*-coumaric acid และ diterpene เป็นต้น (Kumazawa *et al.*, 2004)

สารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่มีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อน้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากฟ้าทะลายโจรไม่มีสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแผลในกระเพาะอาหาร *H. pylori* หรือสารออกฤทธิ์นั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้น้อย โดย

พบว่าตัวทำละลายที่ทำให้สกัดได้สารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากที่สุด คือ เอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร เนื่องจากสามารถสกัดสารองค์ประกอบที่สำคัญในสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการทำละลายเชื้อแบคทีเรีย หรือละลายสารสำคัญออกมาได้มาก นอกจากนี้ยังสามารถแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดได้ง่ายและสามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในสารสกัด ทำให้เก็บสารสกัดได้นานขึ้น แต่มีราคาแพงและความเป็นพิษสูงกว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (Fewole *et al.*, 2009)

ส่วนฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ของสารผสมโพรพอลิสและนมผึ้ง สมุนไพรฟ้าทะลายโจรและนมผึ้ง พบว่าสารผสมที่มีนมผึ้งเป็นส่วนผสม จะให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดี ซึ่งสอดคล้องและเป็นไปในทิศทางเดียวกับเมื่อทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียโดยใช้นมผึ้งเพียงชนิดเดียว ส่วนประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ของสารสกัดที่มีนมผึ้ง โพรพอลิสและสมุนไพรฟ้าทะลายโจรเป็นส่วนผสม ถึงแม้ว่าให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดี แต่พบว่าต้องใช้สารสกัดในปริมาณที่สูงกว่าการใช้สารสกัดเพียงชนิดเดียว โดยผลการยับยั้งน่าจะมาจากนมผึ้ง แต่ความเข้มข้นของนมผึ้งในสารผสม 3 ชนิดเท่ากับ 200 mg/ml ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าสารผสม 2 ชนิด และนมผึ้งเพียงอย่างเดียวที่มีความเข้มข้น 500 mg/ml นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของสารผสมระหว่างนมผึ้ง โพรพอลิส และสมุนไพรฟ้าทะลายโจรนั้นมีหลากหลายชนิดซึ่งสารดังกล่าวเหล่านี้ก็จะมีทั้งสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดี และอาจจะมีสารบางชนิดที่มีฤทธิ์ในการขัดขวางหรือยับยั้งการออกฤทธิ์ของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ทำให้ประสิทธิภาพโดยรวมของสารผสมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ลดลง

สรุปผลการศึกษา

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแผลในกระเพาะอาหาร *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165 และสายพันธุ์ H 54 ของสารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจร ด้วยวิธี agar disc diffusion และ broth dilution พบว่านมผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งสายพันธุ์ H 54 ได้ดีกว่า สายพันธุ์ DMST 20165 คือมีค่า MBC เท่ากับ 3.9 และ 62.5 mg/ml ตามลำดับ ส่วนผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* ของสารผสมระหว่างโพรพอลิสและนมผึ้ง



พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 และสายพันธุ์ DMST 20165 ได้ดีที่สุด คือมีค่า MBC เท่ากับ 3.9 และ 62.5 mg/ml รองลงมาคือ โพรพอลิส และสารสกัดสมุนไพรฟ้าทะลายโจร นมผึ้งจึงมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ทั้งสองสายพันธุ์ ส่วนสารผสมระหว่างนมผึ้ง: สมุนไพรฟ้าทะลายโจรสกัดด้วยน้ำ และเอทานอล มีค่า MBC เท่ากับ 7.8 และ 62.5 mg/ml เมื่อทดสอบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 และสายพันธุ์ DMST 20165 ซึ่งพบว่าสารผสมที่มีนมผึ้งจะออกฤทธิ์ยับยั้งได้ดีเมื่อเทียบกับสารผสมตัวอื่นๆ นอกจากนี้พบว่าสารผสมระหว่าง สารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง และสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่ใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวสกัดออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ H 54 ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ DMST 20165

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนวิจัยมหาวิทยาลัย สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี MRG-WI535S037 ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัยและบริษัท บีโปรดัคส์ อินดัสตรี ที่ให้อุปกรณ์สารสกัดโพรพอลิส นมผึ้ง สมุนไพรฟ้าทะลายโจร และสนับสนุนทุนในการทำวิจัย

References

Athikomkulchai S. Propolis: A Gift from Nature. *Thai Pharm Health Sci J* 2008; 3(2):286-295.
Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res* 2000; 15: 561-571.
Boyanova L, Kolarov R, Gergovaa G, Mitova I. *In vitro* activity of Bulgarian propolis against 94 clinical isolates of anaerobic bacteria. *Anaerobe* 2006; 12: 173-177.
Brown LM. *Helicobacter pylori*: Epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 283-97.
Chandrasekaran CV, Gupta A, Agarwal A. Effect of an extract of *Andrographis paniculata* leaves on inflammatory and allergic mediators *in vitro*. *J Ethnopharmacol* 2010; 129(2): 203-207.
Clinical and Laboratory Standards Institute. 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Sixteenth informational supplement M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Cogo LL, Monteiro CLB, Miguel MD, *et al.* Anti-*Helicobacter pylori* activity of plant extracts traditionally used for the treatment of gastrointestinal disorders. *Braz J Microbiol* 2010; 41: 304-309.
Fewole OA, Finnie JK, Van Staden J. Antimicrobial activity and mutagenic effects of twelve traditional medicinal plants used to treat ailments related to the gastrointestinal tract. *South Africa J Botany* 2009; 75: 356-362.
Fontana R, Mendes MA, Souza BM, *et al.* Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Peptides* 2004; 25: 919-928.
Fujii A, Kobayashi A, Kuboyama N, *et al.* Augmentation of wound healing by royal jelly (RJ) in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Jpn J Pharmacol* 1990; 53: 331-337.
Fujiwara S, Imai J, Fujiwara M, Yaeshima T, Kawashima T, Kabayashi K. A potent antibacterial protein in royal jelly. *J. Biol. Chem* 1990; 265: 11333-11337.
Jenks PJ, Ferrero RL, Labigne A. The role of the *rdxA* gene in the evolution of metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 753-758.
Kosalec I, Pepeljnjak S, Bakmaz M, Vladimir-Knezevic S. Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products. *Acta Pharm* 2005; 55(4): 423-430.
Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem* 2004; 84: 329-339.
Limsong J, Benjavongkulchai E, Kuvatanasuchati J. Inhibitory effect of some herbal extracts on adherence of *Streptococcus mutans*. *J Ethnopharmacol* 2004; 92: 281-289.
Macucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 1995; 26:83-99.



- Nagai T, Inoueb R. Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chem* 2004; 84: 181–186.
- Ndip RN, Ajonglefac AN, Mbullah SM, *et al.* *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of *Lycopodium cernuum* (Linn) Pic. Serm. *Afr J Biotechnol* 2008; 7 (22): 3989-3994.
- Salazar-Olivo LA, Paz-Gonzalez V. Screening of biological activities present in honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Toxicol in Vitro* 2005; 19: 645–651.
- Singha PK, Roy S, Dey S. Antimicrobial activity of *Andrographis paniculata*. *Fitoterapia* 2003; 74: 692-694.
- Sonmez S, Kirilmaz L, Yucesoy M, Yucel B, Yilmaz B. The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts. *J Ethnopharmacol* 2005; 102: 371-376.
- Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1(8336): 1273-1275.
- Webb PM, Knight T, Greaves S, Wilson A, Newell DG, Elder J. Relation between infection with *Helicobacter pylori* and living condition in childhood: evidence for person to person transmission in early life. *Br Med J* 1994; 308: 750-3.
- Wolle K, Malfertheiner P. Treatment of *Helicobacter pylori*. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 315-324.