บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

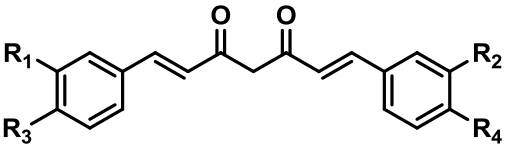
2.1 เคอร์คิวมินอยด์

เคอร์คิวมินอยด์เป็นสารที่มีอยู่ในส่วนเหง้าของพืชสมุนไพรขมิ้นชัน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* L. อยู่ในวงศ์ (family) Zingiberaceae สกุล (genus) *Curuma* มีชื่อพ้อง *C. domestica* Valeton และ *Ammonum curcuma* Jacq (Ammon และ Wahl. 1991) ชื่อท้องถิ่นในประเทศไทยที่ใช้เรียก เช่น ขมิ้น (ทั่วไป) ขมิ้นแกง ขมิ้นหยอก ขมิ้นหัว (เชียงใหม่) ขี้มิ้น หมิ้น (ภาคใต้)เป็นต้น (เต็ม สมิตินันทน์. 2544) นอกจากนี้ยังพบเคอร์คิวมินอยด์ได้ในพืชชนิดอื่น เช่น *C. xanthorhiza Roxb., C. wenyujin, C. sichuanensis, C. aeruginosa Roxb.* ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกในประเทศจีน แต่ละแหล่งที่พบจะมีปริมาณเคอร์คิวมินอยด์แตกต่างกัน (Lin และคณะ. 2001)

สมุนไพรขมิ้นชันพบได้ทั่วไปในแถบเขตร้อนของทวีปเอเชีย เช่น กัมพูชา จีน อินเดีย อินโดนีเซีย ลาว มาเลเซีย เวียดนาม และประเทศที่มีการปลูกเป็นจำนวนมากคือ จีน อินเดีย อินโดนีเซีย และไทยรวมทั้งประเทศในแถบแอฟริกา (WHO Geneva. 1999) ขมิ้นชันเป็นสมุนไพรที่มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างหลากหลายทั้งเป็นอาหารในลักษณะเครื่องเทศเพิ่มสีสัน กลิ่น และรสชาด ใช้ผสมในเครื่องสำอาง และที่สำคัญคือใช้รักษาโรคต่าง ๆ ตามแพทย์แผนโบราณมาอย่างยาวนานจนเป็นที่ยอมรับและจัดอยู่ในตำรายาของหลายประเทศ เช่น อินเดีย จีน ญี่ปุ่น เกาหลี เยอรมัน (มาตรฐานสมุนไพรไทย. 2544) ซึ่งสรรพคุณทางยาของขมิ้นชันในแต่ละประเทศอาจมีความแตกต่างกัน เช่น ในประเทศอินเดียใช้ผงขมิ้นผสมกับน้ำมะนาวพอกเพื่อรักษาอาการบาดเจ็บ บวม เคล็ดขัดยอก รักษาความผิดปกติของระบบน้ำดี แก้ไอ แก้หวัด แผลจากโรคเบาหวาน โรคข้อรูมาติซึมและไซนัสอักเสบ เป็นต้น ในประเทศจีน ใช้รักษาอาการปวดท้อง ท้องมาน ดีซ่าน (Araujo และ Leon. 2001; Amon และคณะ. 1992) ในประเทศไทยใช้รักษาอาการผอมเหลือง แก้โรคผิวหนัง แก้ท้องร่วง สมานแผล ขับลม รักษาอาการท้องอืดท้องเฟ้อ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร (สุนทรี สิงหบุตรา. 2536) มีสรรพคุณอย่างหนึ่งของขมิ้นชันที่คล้ายคลึงกันเกือบทุกประเทศคือ ช่วยบรรเทาอาการอาหารไม่ย่อย ซึ่งมีผลงานวิจัยยืนยันสรรพคุณนี้โดย Thamlikitkul และคณะ (1989) นอกจากนี้ผลของการใช้ขมิ้นชันยังไม่มีรายงานถึงความเป็นพิษต่อผู้บริโภค ดังนั้นคณะกรรมการแห่งชาติด้านยาจึงได้คัดเลือกขมิ้นชันเข้าในบัญชียาหลักแห่งชาติเพื่อรักษาอาการแน่น จุกเสียด เนื่องจากอาหารไม่ย่อย (คณะกรรมการแห่งชาติด้านยา. 2543)

องค์ประกอบทางเคมีในส่วนเหง้าของขมิ้นชัน ประกอบด้วยสารสำคัญ 2 กลุ่มคือ เคอร์คิวมินอยด์ และน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) โดยผงขมิ้นชันจะมีเคอร์คิวมินอยด์อยู่ประมาณ

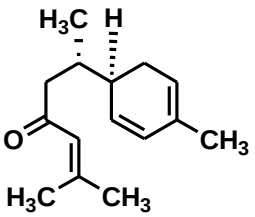
5% ลักษณะสีเหลือง-ส้มประกอบด้วยสารเคอร์คิวมิน (1) มีปริมาณมากที่สุด ส่วนดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (2) และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมิน (3) มีปริมาณลดลงตามลำดับ ในส่วนน้ำมันหอมระเหยมีประมาณ 6% ลักษณะสีเหลืองอ่อนสารสำคัญที่พบ เช่น α-turmerone, β-turmerone, α-zingiberene, ar-turberone เป็นต้น ดังภาพที่ 2 (WHO Geneva. 1999)



Curcumin (1): $R_1 = R_2 = OCH_3$; $R_3 = R_4 = OH$

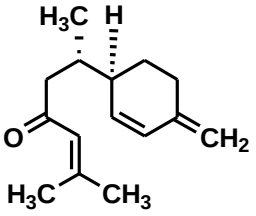
Demethoxycurcumin (2): $R_1 = H$; $R_2 = OCH_3$; $R_3 = R_4 = OH$

Bisdemethoxycurcumin (3): $R_1 = R_2 = H$; $R_3 = R_4 = OH$



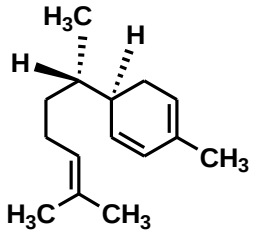
α-Turmerone

(4)



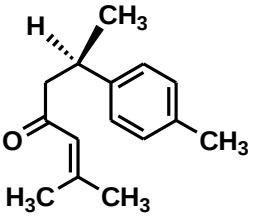
β-Turmerone

(5)



α-Zingiberene

(6)



ar-Turmerone

(7)

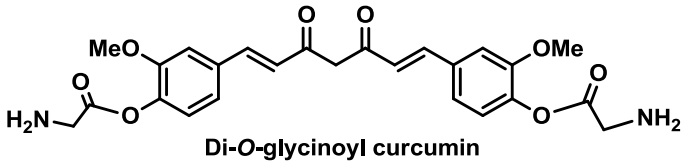
ภาพที่ 2 โครงสร้างของเคอร์คิวมินอยด์และน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าขมิ้นชัน

ในปัจจุบันขมิ้นชันเป็นพืชที่โดดเด่นมากและเป็นที่สนใจของนักวิจัยทั่วโลก เนื่องจากสารเคอร์คิวมินอยด์แสดงฤทธิ์ได้อย่างหลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Ruby และคณะ. 1995; Kuo และคณะ. 1996; Gringberg และคณะ. 1996) ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Ishida และคณะ. 2002; Lin

และคณะ. 2006) ฤทธิ์ต้านโปรโตซัว (Araujo และคณะ. 1999; Changtam และคณะ. 2010) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Chan และคณะ. 1995; Ali และคณะ. 1995; Chan และคณะ. 1998) และ ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ซึ่งงานวิจัยที่ผ่านมา ในปี ค.ศ. 1995 Apisariyakul และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราหลายชนิดในกลุ่ม เดอร์มาโตไฟต์ (dermatophytes) โมลด์ (molds) และ ยีสต์ (yeasts) ของสาร turmeric oil และสาร curcumin ที่แยกได้จากขมิ้นชัน พบว่า สาร turmeric oil แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ทั้งสามชนิด ส่วนสาร curcumin ยับยั้งได้เฉพาะยีสต์ ต่อมาในปี ค.ศ. 1999 Nagi และคณะ ได้รายงานถึงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ *Bacillus cereus, B. coagulans, B. subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของส่วนสกัดน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้นชัน พบว่าส่วนสกัดที่ได้จาก การสกัดด้วย 5% ของเอทิลอะซีเตตใน เฮกเซน สามารถยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้ได้มากที่สุด

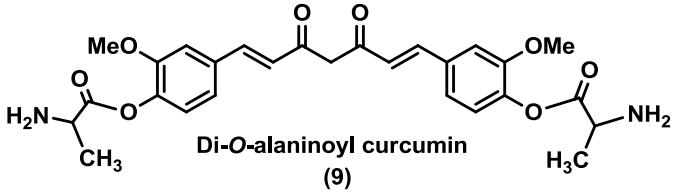
2.2 การปรับเปลี่ยนโครงสร้างเคอร์คิวมินและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

Mishra และคณะ (2005) ได้ทำการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสารเคอร์คิวมิน ให้อยู่ในรูป curcumin bioconjugates โดยการเติมหมู่กรดอะมิโน ไกลซีน (glycine) ดี-อะลานีน (D-alanine) ไพเพอรีน (piperine) และ ดี-กลูโคส (D-glucose) เข้าไปที่บริเวณหมู่ไฮดรอกซีของเคอร์คิวมิน (ดังภาพที่ 3) และได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา พบว่าแอนาลอกที่สังเคราะห์ได้เหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ดีมากกว่าสารตั้งต้นเคอร์คิวมิน และแอนาลอกบางชนิดยังให้ฤทธิ์ที่สูงกว่ายา cefeprime ซึ่งเป็นยาต้านแบคทีเรียที่ขายทั่วไปในตลาดด้วย



Di-*O*-glycinoyl curcumin

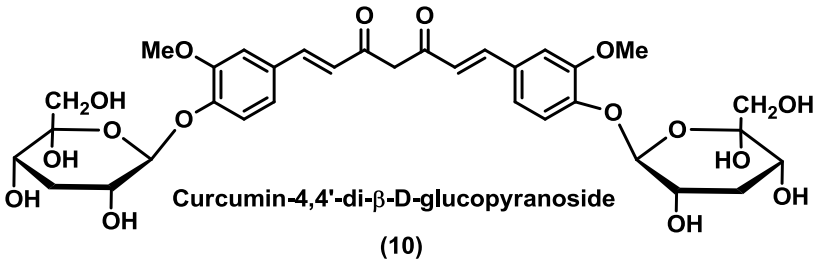
(8)



Di-*O*-alaninoyl curcumin

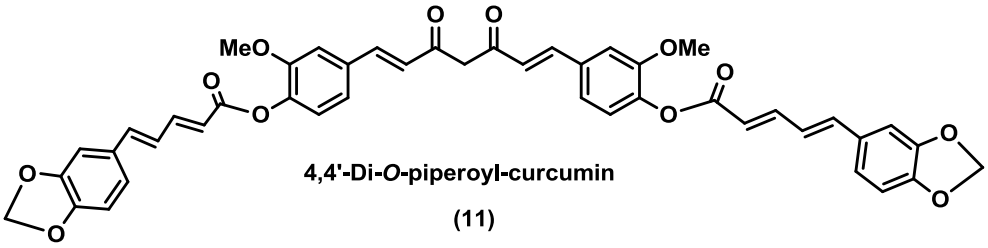
(9)

ภาพที่ 3 โครงสร้างแอนาลอกของเคอร์คิวมินที่สังเคราะห์โดย Mishra และคณะ



Curcumin-4,4'-di-β-D-glucopyranoside

(10)

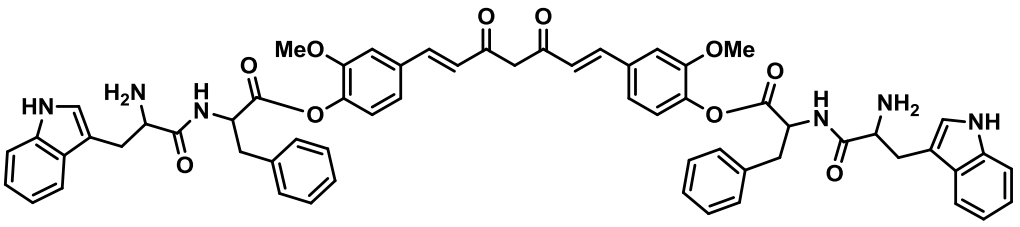


4,4'-Di-*O*-piperoyl-curcumin

(11)

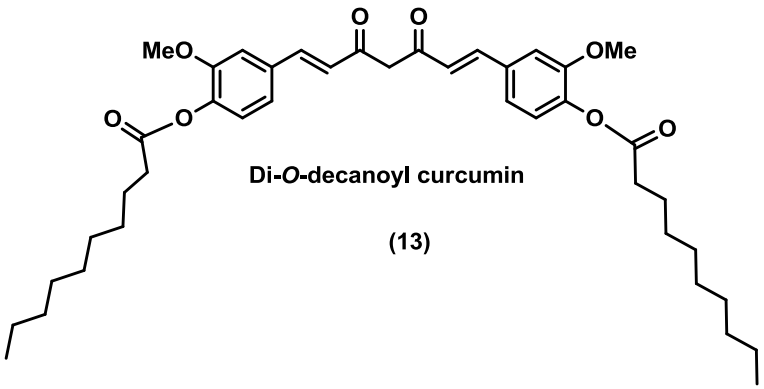
ภาพที่ 3 โครงสร้างแอนาลอกของเคอร์คิวมินที่สังเคราะห์โดย Mishra และคณะ (ต่อ)

Singh และคณะ (2010) นำเคอร์คิวมินมาทำการปรับเปลี่ยนในทำนองเดียวกับกลุ่ม Mishra โดยการเติมหมู่ไดเปปไทด์ กรดไขมัน และกรดโฟลิกเข้าไปที่บริเวณหมู่ไฮดรอกซีของเคอร์คิวมิน (ดังภาพที่ 4)



Di-*O*-tryptophanylphenylalaninecurcumin

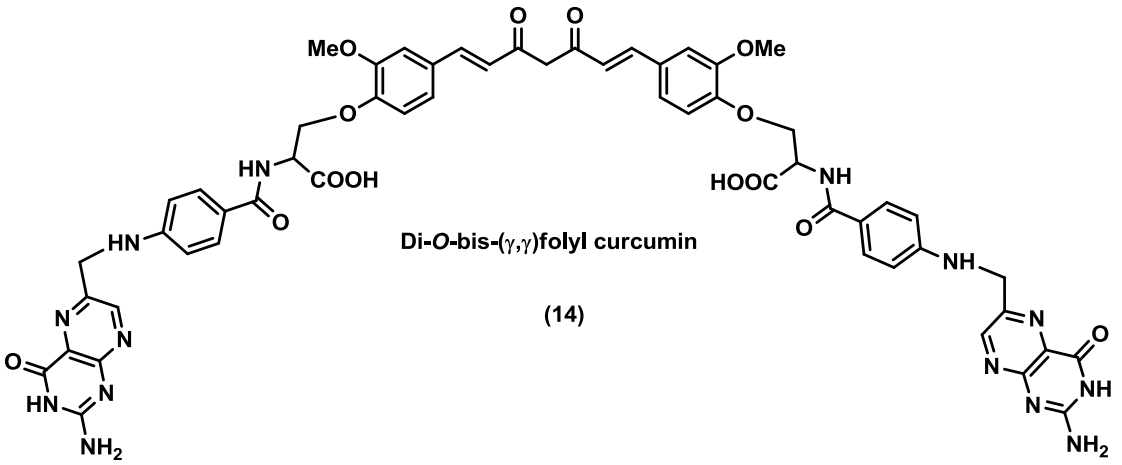
(12)



Di-*O*-decanoyl curcumin

(13)

ภาพที่ 4 โครงสร้างแอนาลอกของเคอร์คิวมินที่สังเคราะห์โดย Singh และคณะ



ภาพที่ 4 โครงสร้างแอนาลอกของเคอร์คิวมินที่สังเคราะห์โดย Singh และคณะ (ต่อ)

พบว่าแอนาลอกที่สังเคราะห์ได้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ทั้ง Gram-positive และ Gram-negative ได้ดีมากกว่าสารเริ่มต้นเคอร์คิวมิน และแอนาลอกบางชนิดยังให้ฤทธิ์ที่สูงกว่ายามาตรฐาน Ampicillin trihydrate และ Gentamicin sulfate ซึ่งเป็นยาต้านแบคทีเรียที่ใช้เปรียบเทียบในการทดลอง

ส่วนประกอบที่สำคัญต่อการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเคอร์คิวมินอยด์ประกอบด้วย วงเบนซีน 2 วง ที่เชื่อมต่อกันด้วยคาร์บอน 7 คาร์บอน และมีหมู่เบต้าไดคีโตนอยู่บริเวณกลางสายโซ่คาร์บอน นอกจากนี้หมู่เมทอกซี และหมู่ไฮดรอกซีที่เกาะอยู่กับวงเบนซีนก็เป็นส่วนที่สำคัญเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามส่วนประกอบเหล่านี้จะมีความสำคัญต่อการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน เช่น พันธะคู่ที่สายโซ่คาร์บอนมีความสำคัญต่อการแสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง นั้นคือถ้าพันธะคู่ถูกรีดิวซ์เป็นพันธะเดี่ยวจะทำให้ฤทธิ์ต้านมะเร็งลดลง (Ohtsu และคณะ. 2002) ในทางตรงกันข้ามสารที่ถูกรีดิวซ์เป็นพันธะเดี่ยว เช่น เตตระไฮโดรเคอร์คิวมิน (tetrahydrocurcumin) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารเคอร์คิวมิน (Somparn และคณะ. 2007) เป็นต้น

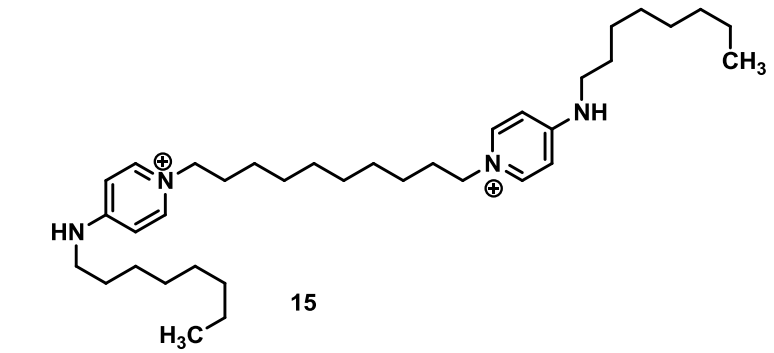
การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารเคอร์คิวมินอยด์ส่วนใหญ่เป็นการปรับเปลี่ยนสารเคอร์คิวมินที่หมู่ไฮดรอกซี ให้เป็นหมู่เอสเทอร์ต่าง ๆ คือ curcumin bioconjugates (Mishra และคณะ. 2005; Dubey และคณะ. 2008; Parvathy และคณะ. 2009; Singh และคณะ. 2010) พบว่าสารที่สังเคราะห์ได้เหล่านี้มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารเคอร์คิวมินเริ่มต้นอาจเนื่องมาจาก

(1) Curcumin bioconjugate มีความเสถียรมากกว่าสารเคอร์คิวมิน นั้นคือไม่เกิดการสลายตัวไปเป็นสารอื่นโดยกระบวนการเมตาบอลิซึมเมื่ออยู่ในเซลล์หรือเกิดขึ้นได้แต่ช้า ในขณะที่สารเคอร์คิวมินจะถูกเมตาบอไลท์เป็นสารอื่นได้ง่าย

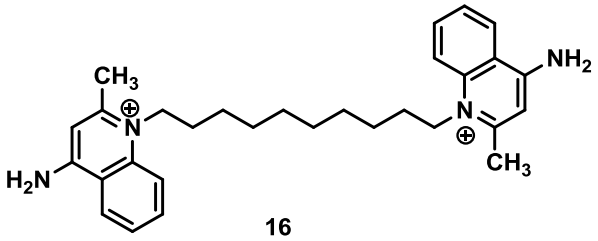
(2) ความสามารถในการละลายหรือความมีขั้ว คือ curcumin bioconjugate เป็นสารที่มีขั้วจะละลายได้ดีและถูกสะสมอยู่ในเซลล์มากขึ้น ส่วนสารเคอร์คิวมินเป็นสารที่ไม่มีขั้ว และไม่ละลายในน้ำจึงมีผลต่อการแสดงฤทธิ์ต่ำ อย่างไรก็ตาม curcumin bioconjugate บางชนิดเป็นสารที่ไม่มีขั้วเช่น สาร di-*O*-decanoylcurcumin แต่แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้สูงกว่าสารเคอร์คิวมิน (Singh และคณะ. 2010) อาจเนื่องมาจากลักษณะของโครงสร้างคล้ายกับผนังเซลล์ของแบคทีเรีย นอกจากนี้หมู่เอสเทอร์ต่าง ๆ ทั้งกรดอะมิโน กรดไขมัน กรดโฟลิก และน้ำตาลยังเป็นส่วนสำคัญต่อการแสดงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ด้วย

2.3 **สารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์**

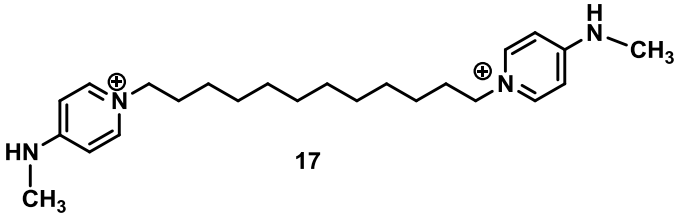
Ng และคณะ (2007) ได้สังเคราะห์สารกลุ่ม bis(pyridinium)alkanes (ดังภาพที่ 5) และศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Cryptococcus neoformans* ATCC 90112 และ *Candida albicans* ATCC 10231 พบว่าสารที่สังเคราะห์ได้แสดงฤทธิ์ในการต้าน *C. neoformans* มีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.7 - >350 μM และ *C. albicans* มีค่า MIC อยู่ในช่วง 1.4 - 175 μM



15



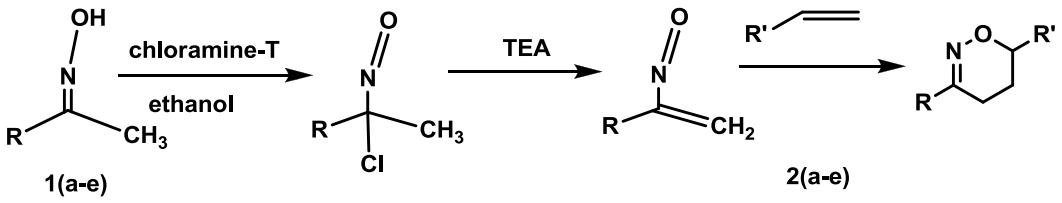
16

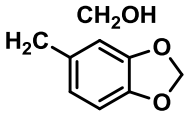


17

ภาพที่ 5 โครงสร้างแอนาลอกของ bis(pyridinium)alkanes ที่สังเคราะห์โดย Ng และคณะ

Manjula และคณะ (2009) ได้สังเคราะห์สารกลุ่ม 5,6-dihydro-4H-1,2-oxazines โดยใช้ปฏิกิริยา ดีล-อัลเดอร์ (Diels-Alder reaction) ระหว่าง α-nitrosoolefins กับ alkenes ต่าง ๆ ดังภาพที่ 6

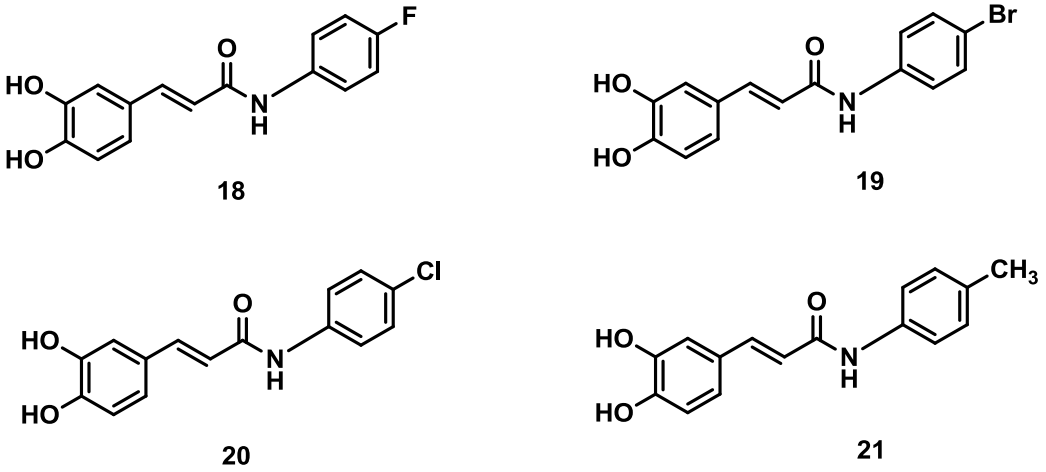


1	R	2	R'
a	p-CH_3.C_6H_4	a	CN
b	3,4-$(CH_3)_2$.C_6H_4	b	CH_2OH
c	Indan-5-yl	c	
d	p-(OCH_3).C_6H_4	d	
e	3,4-$(OCH_3)_2$.C_6H_3	e	CO_2Et

ภาพที่ 6 การสังเคราะห์ 5,6-dihydro-4H-1,2-oxazines โดย Manjula และคณะ

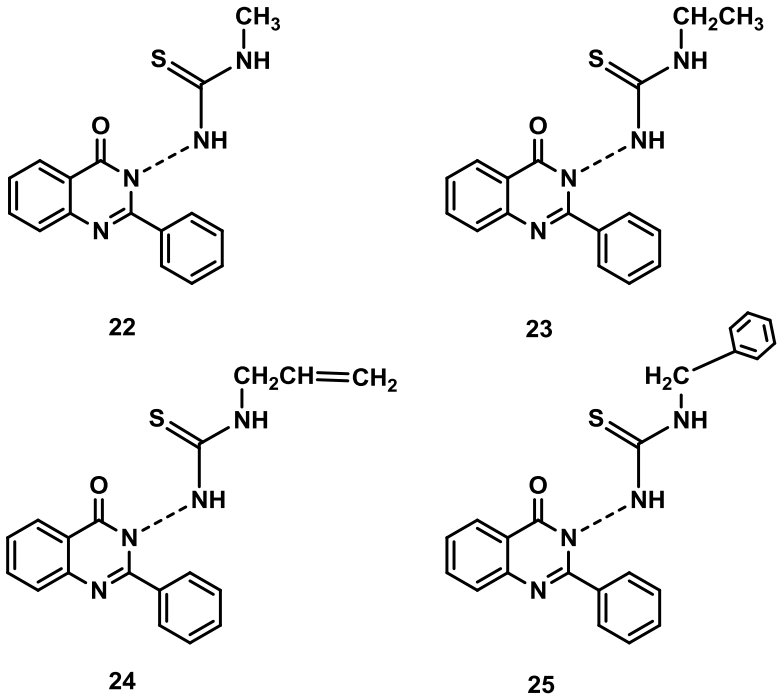
สารต่าง ๆ ที่สังเคราะห์ได้แสดงฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย *Escherichia coli, Klebsiella neumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* มีค่า MIC ช่วง 10 - 35 μg/ml และฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Fusarium moniliforme* และ *Fusarium oxysporum* มีค่า MIC อยู่ในช่วง 10 - 40 μg/ml

Fu และคณะ (2010) ได้สังเคราะห์สารกลุ่ม caffeic acid amides และศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus* และเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Candida albicans* และ *Trichophyton rubrum* สารที่สังเคราะห์ได้แสดงฤทธิ์ต้าน *B. subtilis* มีค่า MIC ช่วง 1.18 - >50 μg/ml ส่วนเชื้ออื่นแสดงฤทธิ์ได้ค่อนข้างต่ำ โครงสร้างแอนาลอกบางชนิดของ caffeic acid amides แสดงดังภาพที่ 7



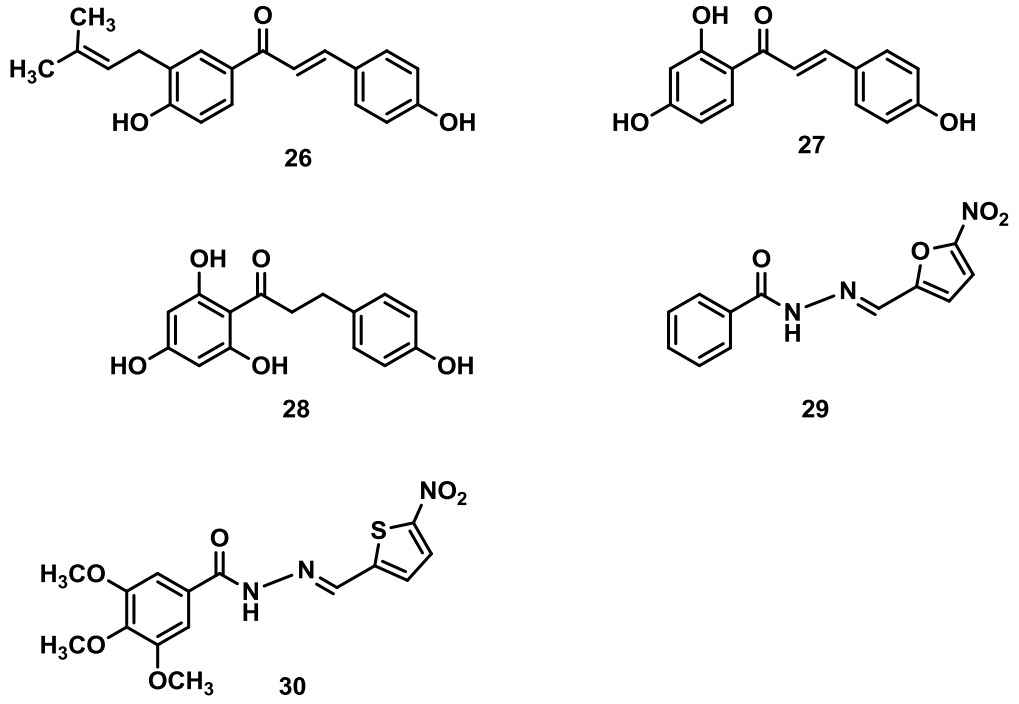
ภาพที่ 7 โครงสร้างแอนาลอกของ caffeic acid amides สังเคราะห์โดย Fu และคณะ

Kadi (2011) ได้สังเคราะห์แอนาลอก quinazolin-4(3*H*)-one และศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *B. subtilis, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus* และเชื้อรา *C. albicans* โดยมียา ampicillin และ clotrimazole เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบฤทธิ์ พบว่าสารบางชนิดแสดงฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น สาร **22** แสดงฤทธิ์ในการต้าน *B. subtilis, E. coli* และ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 12.5, 50 และ 12.5 μg/ml ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสารที่สังเคราะห์ได้แสดงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ต่ำกว่าสารมาตรฐาน โครงสร้างแอนาลอกบางชนิดของ quinazolin-4(3*H*)-one แสดงดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 โครงสร้างแอนาลอกของ quinazolin-4(3*H*)-one สังเคราะห์โดย Kadi

Osorio และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 25923 และ methicillin-resistant *S. aureus* ของสารกลุ่ม chalcones, hydrazones และ oxadiazoles ทั้งหมด 65 ชนิด ซึ่งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ พบว่ามีสารกลุ่ม chalcones 3 ชนิด (**26**, **27**, **28**) และสารกลุ่ม hydrazones 2 ชนิด (**29**, **30**) ที่สามารถแสดงฤทธิ์ต้าน MRSA ได้ที่ MIC เท่ากับ 7.8 - >1000 μg/ml โดยมียา vancomycin เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบแสดงฤทธิ์ต้าน MRSA แต่ละสายพันธ์ที่ค่า MIC เท่ากับ 0.2 - 0.8 μg/ml โครงสร้างที่มีฤทธิ์ต้าน MRSA แสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 โครงสร้างที่มีฤทธิ์ต้าน MRSA สังเคราะห์โดย Osorio และคณะ

กรอบแนวคิดในการวิจัย

จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในปัจจุบันพบว่าเป็นปัญหาอย่างยิ่งและเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทั่วโลก (Guzeldemirci และคณะ. 2010) เนื่องจากจุลินทรีย์เกิดการดื้อต่อยา และยาบางชนิดแสดงความเป็นพิษต่อคนไข้ด้วย เช่น ยา Amphotericin B ซึ่งเป็นยาต้านเชื้อรา (Barret. 2002) ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องหายาชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรค ปลอดภัยต่อคนไข้ และเพื่อป้องกันการดื้อต่อยาของจุลินทรีย์ด้วย

กลุ่มผู้วิจัยได้คำนึงถึงสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติคือสารเคอร์คิวมินอยด์ ซึ่งเป็นสารที่มีอยู่ในขมิ้นชันสมุนไพรของไทย มีสรรพคุณมากมายและหาได้ง่าย ทั้งใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร ในเครื่องสำอาง และใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ ตามแบบแผนโบราณมาอย่างยาวนาน อีกทั้งสารเคอร์คิวมินอยด์ยังไม่มีรายงานถึงความเป็นพิษต่อผู้บริโภค จึงสนใจนำสารเคอร์คิวมินอยด์มาทำการปรับเปลี่ยนโครงสร้างให้เป็นแอนาลอกต่าง ๆ โดยการปรับเปลี่ยนโครงสร้างที่วงเบนซีนให้เป็นสารประกอบที่มีขั้วและไม่มีขั้วและบริเวณหมู่ไดคีโตที่สายโซ่คาร์บอนให้เป็นแอนาลอกที่มีวงเฮตเทอโรอะตอมอยู่ในโมเลกุล เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างต่อการแสดงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ คาดว่าแอนาลอกบางชนิดที่สังเคราะห์ได้น่าจะแสดงฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าเคอร์คิวมินอยด์ตั้งต้น