## 192985

้วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อแยกสารปฏิชีวนะจากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากเหง้าขมิ้นชั้น lonaa เก็บตัวอย่างเหง้าขมิ้นชันจาก 7 จังหวัด คือ เชียงใหม่ มหาสารคาม ร้อยเอ็ด อยุธยา ชลบุรี ราชบรี โดยเลือกเก็บตัวอย่างเหง้าจากต้นขมิ้นชันที่มีความสมบูรณ์แข็งแรงไม่เป็นโรค และนครศรีธรรมราช มาคัด แยกราเอนโดไฟต์ โดยผ่านวิธีฆ่าเชื้อที่ผิวนอก สามารถแยกราได้ทั้งหมด 47 ไอโซเลต ทำการทดสอบการยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dual agar diffusion technique พบว่ามีราเอนโดไฟต์ทั้งหมด 14 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยสายพันธุ์ NK9 มีฤทธิ์ดีที่สุด คือ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ 3 ชนิด ได้แก่ Bacillus subtilis ATCC 6633, Staphylococcus aureus ATCC 25923 une Candida albicans ATCC 10231 ดังนั้นจึงเลือกราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ NK9 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Malts Extract Broth (MEB) ้จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางสัณฐานวิทยาและอณูชีววิทยาของ ราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ NK9 เมื่อเทียบลำดับ DNA บริเวณ ITS1 ITS2 และ 5.8S rRNA พบว่าราคล้าย Fusarium equiseti เมื่อนำมาสกัดและแยกสารที่ ราสร้างขึ้นด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราพีและการตกผลึกได้สาร 3 ชนิด ประกอบด้วย Ergosterol peroxide(1), 8'-epi-hydroxyzearalenone(2), และ zearalenone(3) โดยสารทั้ง 3 ชนิด ได้มาจากสารสกัดหยาบเอธิลอะซิ เตตจากส่วนน้ำเลี้ยงและเส้นใยรา ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารทั้ง 3 ซนิด ด้วยวิธี minimum inhibitory concentration method (MIC) เมื่อใช้ streptomycin, chloramphenicol เป็น positive control พบว่าสารทั้ง 3 ชนิดมีสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ คือ zearalenone มีถุทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด คือสามารถ ยับยั้ง *B. subtilis*, *S. aureus* และ *E. coli* ได้ที่ค่า MIC 1.95 µg/ml (6.13 µM), 7.81 µg/ml (24.56 µM) และ 7.81 µg/ml (24.56 µM) ตามลำดับ สาร 8'-epi-hydroxyzearalenone มีถุทธิ์ยับยั้ง *B. subtilis,* S. aureus และ E. coli ได้ที่ค่า MIC 7.81 µg/ml (23.28 µM), 7.81 µg/ml (23.28 µM) และ 15.62 µg/ml (46.76 µM) ตามลำดับและ ergosterol peroxide มีฤทธิ์ยับยั้ง S. aureus, E. coli และ C. albican **ได้ที่**ค่า MIC\_7.81 µg/ml (23.84 µM), 31.25\_µg/ml (95.27 µM)\_และ\_62.5\_µg/ml (190.55 µM) ตามลำดับ

และจากการทดสอบฤทธิ์การขับขั้งเซลล์มะเร็งของสารที่แยกได้ พบว่าสาร สาร 8'-epihydroxyzearalenone สามารถขับขั้งเซลล์มะเร็งตับ(HEP-G2) และเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร(KATO-III) ได้ โดยมีค่า IC<sub>50</sub> 0.05 μg/ml และ 4.94 μg/ml ตามลำดับ ส่วนสาร zearalenone สามารถขับขั้งเซลล์มะเร็งเต้า นม(BT 474) เซลล์มะเร็งตับ(HEP-G2) เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร(KATO-III) เซลล์มะเร็งปอด(CHAGO) และ เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่(SW 620)ได้โดยมีค่า IC<sub>50</sub> 0.1 μg/ml, 0.001 μg/ml 0.02 μg/ml 5.89 μg/ml และ 4.78 μg/ml ตามลำดับ

## 192985

The purposes of this research were to isolate antibiotics produced by the endophytic fungi of Curcuma longa rhizomes. Plant samples were collected from 7 provinces including Chiang Mai, Maha Sarakham, Roi Et, Ayutthaya, Chon Buri, Ratcha Buri and Nakhon Si Thammarat. The endophytic fungi were isolated using surface-sterilization technique to give 47 isolates. The fungal isolates were examined for antimicrobials using dual culture agar diffusion technique. Fourteen isolates against tested microorganism but isolate NK9 have the hightest exhibited activity against Bacillus subtilis ATCC 6633, Staphylococcus aureus ATCC 25923 and Candida albicans ATCC 10231. On the basis of morphology and DNA sequences from ITS1, ITS2 and 5.8S rRNA region, the fungus was identified as Fusarium equiseti. The fungus NK9 was cultivated on Malts Extract Broth (MEB). Extraction and isolation antibiotics using chromatographic techniques and crystallization of ethyl acetate extract of culture broth and mycelium gave three known compounds including ergosterol peroxide, 8'-epihydroxyzearalenone and zearalenone. Antimicrobial activity of three compounds was determined by the minimum inhibitory concentration method (MIC) and streptomycin and chloramphenicol were used as positive control. The results showed that zearalenone exhibited antimicrobial activity against B. subtilis, S. aureus and E. coli with the MIC value of 1.95 µg/ml (6.13 µM), 7.81 µg/ml (24.56 µM) and 7.81 µg/ml (24.56 µM), respectively and cytotoxic activity against BT 474, HEP-G2 and KATO-III with the IC<sub>50</sub> value of 0.1, 0.001 and 0.02 µg/ml. 8'-epi-Hydroxyzearalenone exhibited antimicrobial activity against B.subtilis, S.aureus and E.coli with the MIC value of 7.81 µg/ml (23.28 μM), 7.81 μg/ml (23.28 μM) and 15.62 μg/ml (46.76 μM), respectively and exhibited cytotoxic activity against HEP-G2 with the IC<sub>50</sub> value of 0.05 µg/ml. Ergosterol peroxide exhibited antimicrobial activity against B. subtilis, S. aureus and E. coli with the MIC value of 7.81 µg/ml (23.84 µM), 31.25 µg/ml (95.27  $\mu M)$  and 62.5  $\mu g/ml$  (190.55  $\mu M),$  respectively.