

บทนำ

ด้วยปัจจุบันนี้มีความต้องการหาสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่เพื่อนำไปใช้ในการบำบัดรักษาโรคที่ยังไม่มียาที่ให้ผลในทางการรักษาหรือนำมาทดแทนยาที่ใช้อยู่ในปัจจุบันซึ่งแสดงผลข้างเคียงอันไม่พึงประสงค์ โดยแหล่งที่มาของสารเหล่านั้นที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก คือ รา เนื่องจากรามีความหลากหลายทางสายพันธุ์และยังมีอีกจำนวนมากที่ยังไม่มีผู้ค้นพบ นอกจากนี้รายังเป็นแหล่งที่สำคัญแหล่งหนึ่งในการสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและสามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคได้

ราเอ็นโดไฟต์เป็นกลุ่มราประเภทหนึ่งที่เจริญอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชที่ยังมีชีวิตอยู่โดยไม่ทำให้พืชชนิดนั้นเกิดโรค ราเอ็นโดไฟท์สามารถเจริญอยู่ได้ทุกส่วนของพืช ได้แก่ ใบ กิ่ง ก้าน เปลือก ลำต้น และราก ราเอ็นโดไฟท์นั้นได้มีการศึกษาอย่างจริงจังตลอดระยะเวลาเกือบ 20 ปี โดยพบว่าราเอ็นโดไฟท์มีประโยชน์ต่อพืชที่มันอาศัยอยู่ ตัวอย่างเช่น การสร้างสารที่เป็นประโยชน์เพื่อป้องกันการคุกคามพืชผู้ให้อาศัยโดยสัตว์และแมลง การสร้างสารที่ยับยั้งหรือป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรคพืช การสร้างสารที่ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืชและการช่วยให้พืชผู้ให้อาศัยทนแล้งได้ดีขึ้น เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานแสดงสัดส่วนการพบโครงสร้างของสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่เปรียบเทียบกับโครงสร้างสารที่เคยรายงานแล้วของราเอ็นโดไฟท์พบว่ามีโอกาสได้สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่จากราเอ็นโดไฟท์มากถึง 51% ในขณะที่ราบนพื้นแผ่นดินในกลุ่มอื่นๆมีโอกาสได้สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่ในสัดส่วนที่น้อยกว่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการศึกษาเพื่อแยกกราจากแหล่งใหม่จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะแยกได้สายพันธุ์ใหม่และ/หรือราที่สร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ยังพบอีกว่าราเอ็นโดไฟท์สามารถสร้างสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และ รา ฤทธิ์การทำลายเชื้อมาลาเรีย และ ฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็ง การค้นพบซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นที่ทำให้ราเอ็นโดไฟท์ได้รับความสนใจอย่างมาก คือ การพบราเอ็นโดไฟท์ *Taxomyces andreane* ซึ่งแยกได้จากเปลือกลำต้นของ *Taxus brevifolia* (Pacific yew) สามารถสร้าง Taxol ซึ่งเป็นยารักษาโรคมะเร็งในปัจจุบัน ได้เช่นเดียวกับพืชที่มันอาศัยอยู่ นอกจากนี้ยังพบว่าราเอ็นโดไฟท์ *Pestalotiopsis microspore* ซึ่งเป็นราที่เจริญอยู่ในต้น *Taxus wallachiana* ก็สามารถสร้าง Taxol ได้เช่นเดียวกัน

ข้าพเจ้าและหน่วยวิจัย RCBC ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ได้ศึกษาวิจัยสารเมแทบอไลต์และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเมแทบอไลต์ที่สร้างโดยราเอ็นโดไฟท์พืชสมุนไพรไทย พบว่าราเอ็นโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรสามารถสร้างสารเมแทบอไลต์ชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ตัวอย่างเช่น รา *Diaporthe* sp. ที่แยกได้จากใบเปล้าน้อยสร้างสารยับยั้ง CYP3A4 ชนิดใหม่ คือ Diaporthichalasin ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง CYP3A4 ด้วย IC_{50} 0.626 μ M ราเอ็นโดไฟท์ *Xylaria* sp. ที่แยกได้จากใบกระท้อนพบสารเมแทบอไลต์ชนิดใหม่สองชนิดที่มีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย นั่นคือ 2-chloro-5-methoxy-3-methylcyclohexa-2,5-diene-1,4-dione และ xylariaquinone A ซึ่งสารทั้งสองนี้มีฤทธิ์ต้านมาลาเรียสายพันธุ์ *Plasmodium falciparum*, K1, ด้วยค่า IC_{50} 1.84 และ 6.68 ไมโครโมลาร์ และมีความเป็นพิษต่อ African green monkey kidney fibroblasts (Vero cells) ซึ่งเป็นเซลล์

ปรกติด้วยค่า IC_{50} 1.35 และ >184 ไมโครโมลาร์, ตามลำดับ ซึ่งจากผลที่ได้นี้ สาร xylariaquinone A มีการออกฤทธิ์ที่ดีและมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปรกติต่ำ

จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าราเอ็นโดไฟต์เป็นแหล่งผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงให้ความสนใจในการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอ็นโดไฟต์ ซึ่งในอนาคตราเอ็นโดไฟต์มีแนวโน้มว่าจะเป็นแหล่งผลิตสารสำคัญที่มีประโยชน์ในทางยาหรือแหล่งผลิตสารชนิดใหม่ๆที่สามารถพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่างๆหรือแหล่งผลิตสารชนิดใหม่ๆที่อาจนำไปใช้เป็นสารมาตรฐานหรือเครื่องมือในการศึกษาวิจัยได้ เมื่อมานานานนี้ได้แยกราเอ็นโดไฟต์จากพืชสมุนไพรรไทยและได้ทำการคัดกรองฤทธิ์ต้านจุลชีพและความเป็นพิษต่อไรทะเล (brine shrimp) พบว่าได้ราเอ็นโดไฟต์ที่สร้างสารต้านจุลชีพและมีความเป็นพิษต่อไรทะเล ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีความมุ่งหมายเพื่อศึกษาสารเมแทบอลิไทต์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านมะเร็งของราเอ็นโดไฟต์เหล่านั้น

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการสร้างสารเมแทบอลิไทต์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านมะเร็งของราเอ็นโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรรไทย
2. เพื่อสกัด แยกและวิเคราะห์สารเมแทบอลิไทต์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านมะเร็งซึ่งสร้างโดยราเอ็นโดไฟต์ที่แยกได้

ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้จะทำการศึกษาราคาเอ็นโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านมะเร็งซึ่งสร้างโดยราเอ็นโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรรไทย โดยราเอ็นโดไฟต์ที่ได้ทำการคัดกรองฤทธิ์ต้านจุลชีพและฤทธิ์เป็นพิษต่อไรทะเลที่ได้รวบรวมไว้ นำมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มปริมาณ แล้วทำการสกัดแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากน้ำเลี้ยงและจากเส้นใย ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่ได้และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

วิธีการดำเนินการวิจัยโดยทั่วไป

- 1 ศึกษาค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องทั้งหมด
- 2 ศึกษาการสร้างสารเมแทบอลิไทต์ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านมะเร็งโดยการเพาะเลี้ยงราเอ็นโดไฟต์ที่คัดเลือกไว้
- 3 สกัดแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากส่วนน้ำเลี้ยงและจากส่วนเส้นใยราโดยวิธีทางโครมาโทกราฟี หรือวิธีการสกัดแยกอื่นๆที่เหมาะสม
- 4 ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ โดยใช้ IR, NMR, MS
- 5 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง
- 6 รวบรวมผลการทดลอง วิเคราะห์และสรุปผล เขียนรายงาน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สายพันธุ์ราที่สร้างสารต้านจุลชีพและ/หรือสารต้านมะเร็ง ซึ่งเป็นแหล่งผลิตสารสำคัญที่มีประโยชน์ในทางยาหรือแหล่งผลิตสารชนิดใหม่ๆที่สามารถพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่างๆหรือแหล่งผลิตสารชนิดใหม่ๆที่อาจนำไปใช้เป็นสารมาตรฐานหรือเครื่องมือในการศึกษาวิจัย
2. ได้สารต้านจุลชีพและ/หรือสารต้านมะเร็งชนิดใหม่ซึ่งมีประโยชน์ในทางยาหรือสามารถนำไปพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่างๆหรือการนำไปใช้เป็นสารมาตรฐานหรือเครื่องมือในการศึกษาวิจัย