

โครงการวิจัยที่ 2 การค้นหาสารต้านเชื้อวัณโรคจากฟองน้ำทะเล

รวิวรรณ วัฒนติก¹ ปาริชาติ นารีบุญ² จงกลณี จงอร่ามเรือง³

¹สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

²คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยรังสิต อ. เมือง จ. ปทุมธานี 12000

³คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (anti-TB) ของสารสกัดหยาบชั้น Ethyl acetate จากฟองน้ำทะเล บริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันตก บริเวณจังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 6 ตัวอย่าง พบว่า สารสกัดหยาบจากฟองน้ำทั้ง 6 ตัวอย่าง ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) H₃₇Ra strain

การค้นหาสารต้านเชื้อวัณโรคเป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยต่อเนื่องที่เราดำเนินการอยู่ จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบชั้น EtOAc ของฟองน้ำ *Smenospongia* sp. ที่เก็บจากบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออก บริเวณจังหวัดชลบุรี ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อวัณโรคที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสามารถแยกสารประกอบเคมีได้ 11 สารโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย การแยกด้วยซิลิกา เจลคอลัมน์โครมาโตกราฟี และ HPLC ซึ่งสารทั้งหมดที่แยกได้อยู่ระหว่างการพิสูจน์โครงสร้างของสารโดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี และการประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อ วัณโรค



บทนำ

จากการที่เชื้อวัณโรคเป็นเชื้อที่แพร่กระจายจากคนไปสู่คนได้โดยผ่านทางอากาศ ทำให้เชื้อวัณโรคเป็นเชื้อที่มีอันตรายสำหรับคนที่ติดเชื้อ HIV และกลายเป็นโรคที่พบบ่อยขึ้นในยุคที่มีการระบาดของโรคเอดส์ จากข้อมูลทั่วโลกพบว่าเชื้อ TB เป็นสาเหตุหลักของการตายของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV (World Health Organization, 2007) ผู้ป่วยส่วนหนึ่งขาดความเข้าใจและไม่ร่วมมือในการรักษา รักษาไม่สม่ำเสมอรับประทานยาไม่ครบทำให้เกิดวัณโรคดื้อยาที่ใช้รักษา โดยธรรมชาติเชื้อวัณโรคสามารถดื้อต่อยารักษาวัณโรคทุกขนาน ไม่ว่าจะเป็นยาที่มีใช้ในปัจจุบันหรือยาที่จะนำมาใช้ในอนาคต ถ้าผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาวัณโรคเพียงขนานเดียว ไม่นานเชื้อจะพัฒนาดื้อต่อยาตัวนั้น ในปัจจุบันนี้อัตราการติดเชื้อวัณโรคเพิ่มขึ้นทุกปี มีการพบกรณีศึกษาใหม่ๆ เพิ่มขึ้นและมีการดื้อยาเป็นเหตุให้ทำการรักษาได้ยากมากขึ้นด้วย แพทย์ทั่วโลกพบการระบาดของโรควัณโรคสายพันธุ์ใหม่ซึ่งดื้อยาต่อยาต้านดาร์บี หรือสายพันธุ์ XDR TB ซึ่งวัณโรคสายพันธุ์ใหม่นี้ยังไม่มียวิธีการรักษาอย่างชัดเจน และมีการคาดการณ์ว่าวัณโรคจะกลับมาเป็นปัญหาที่รุนแรงในอนาคต (นิรนาม, 2549) จากอัตราการเพิ่มขึ้นของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคมักมีการดื้อยาเป็นจำนวนมาก ทำให้มีการลงทุนจำนวนมากในการค้นหาตัวยาใหม่ๆ นักวิจัยจึงเริ่มมองหาแหล่งของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติแหล่งใหม่ และพบว่าทะเลเป็นแหล่งรวมความหลากหลายทางชีวภาพของสัตว์ทะเลที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มีข้อมูลของสารประกอบที่ได้จากฟองน้ำทะเลจำนวนมากแสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อวัณโรค (anti-TB) รวมถึงจากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาของผู้ทำวิจัยเองพบว่าการทดสอบเบื้องต้นของสารสกัดที่ได้จากฟองน้ำทะเลหลายตัวให้ผลที่น่าสนใจต่อการยับยั้งเชื้อวัณโรค ในขณะที่งานวิจัยทางด้านนี้ของไทยกลับมีจำนวนไม่มากนัก ทั้งที่ท้องทะเลของไทยเป็นแหล่งของทรัพยากรธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์และมีความหลากหลายอย่างมาก

จากความรุนแรงของโรควัณโรคที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้นักวิจัยต้องรีบเร่งหาตัวยาที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อไม่ให้เกิดการดื้อยาและเพื่อนำไปใช้เป็นต้นแบบในการพัฒนาตัวยาใหม่ๆ ประกอบกับงานวิจัยที่ผ่านมาผู้วิจัยพบว่าฟองน้ำทะเลแสดงคุณสมบัติที่น่าสนใจในการยับยั้งเชื้อวัณโรค จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะทำการค้นหาสารประกอบเคมีที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรคจากฟองน้ำทะเล ซึ่งมีรายงานของสารประกอบที่แยกได้จากฟองน้ำในหลาย orders ที่แสดงฤทธิ์ทางด้าน anti-TB เช่น สารกลุ่ม puupehenones (Ravi *et al.*, 1979), agelasine F (Mangalindan *et al.*, 2000), araguspongines K และ L (Orabi *et al.*, 2002), manadomanzamines A และ B (Peng *et al.*, 2003) และ ingenamine G (de Oliveira *et al.*, 2004) เป็นต้น ส่วนข้อมูลการศึกษา anti-TB agent จากฟองน้ำในประเทศไทยนั้นยังมีรายงานอยู่น้อย โดยในปี ค.ศ. 2004 Wonganuchitmeta *et al.* ได้ทำการแยกสารจากฟองน้ำไทย *Brachiaster* sp. และพบว่าประกอบไปด้วยสารพวก antitubercular ได้แก่ heteronemin, 12-deacetoxyscalarin 19-acetate, heteronemin acetate และ manoalide 25-acetate ต่อมาในปี 2008 Pedpradab *et al.*, ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากฟองน้ำฝั่งทะเล

อันตามัน พบว่าฟองน้ำ 3 ชนิด ได้แก่ *Axinyssa* sp., *Halichondria* sp. และ *Chondrosia reticulata* แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรคที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 200 mg/mL ตามลำดับ

จากข้อมูลของการค้นพบสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่หลากหลายที่ได้จากฟองน้ำทะเล ซึ่งแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อวัณโรคที่น่าสนใจ รวมถึงมีความหลากหลายของฟองน้ำที่พบได้ในบริเวณอ่าวไทย และจากผลการวิจัยที่ผู้วิจัยได้ดำเนินการไปแล้วพบว่าฟองน้ำให้ผลที่น่าสนใจมากที่จะนำไปพัฒนาให้เป็นยารักษาโรควัณโรคได้ในอนาคต

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากฟองน้ำทะเลที่มีฤทธิ์ anti-TB

ที่ผ่านมาสารต้านเชื้อวัณโรคที่แยกได้จากฟองน้ำทะเลได้มีการรายงานมาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสารประกอบส่วนใหญ่จะเป็นสารกลุ่ม terpenoid และอนุพันธ์ ซึ่งรวมถึง sesterterpene, alkaloid, indole เป็นต้น

ปี ค.ศ. 2000 Mangalindan *et al.* ได้รายงานการแยกสารประกอบที่ได้จากฟองน้ำ *Agelas* sp. ได้แก่ agelasine F ซึ่งแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อดื้อยาสายพันธุ์ *Mycobacterium tuberculosis* ที่ระดับความเข้มข้น 3.13 µg/ml ต่อมาในปีค.ศ. 2002 Orabi *et al.* ได้แยกสารกลุ่ม araguspongines และสารใหม่ ของ *N*-oxide araguspongines ได้แก่ araguspongines K และ L จากฟองน้ำจากทะเลแดง *Xestospongia exigua* ซึ่งพบว่าสาร araguspongine C แสดงฤทธิ์ทั้งทาง antimalarial และฤทธิ์ทาง antituberculosis

นอกจากนี้ยังมีสารกลุ่ม alkaloids ที่แยกได้จากฟองน้ำ *Acanthostrongylophora* sp. ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ที่ระดับความเข้มข้น MIC 1.9 และ 1.5 µg/ml ของสาร manadomanzamines A และ B (Peng *et al.*, 2003) ในปีต่อมาได้มีรายงานของสารกลุ่ม manzamine alkaloids ที่แยกได้จากฟองน้ำชนิดนี้ ซึ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย เชื้อวัณโรค และ HIV-1 ได้แก่ สาร 12, 34-oxamanzamine E, 8-hydroxymanzamine J และ 6-hydroxymanzamine E (Rao *et al.*, 2003, 2004) นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 2004 ยังมีรายงานถึงสาร ingenamine G ที่ได้จากฟองน้ำ *Pachychalina* sp. แสดงฤทธิ์ที่หลากหลายในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ (HCT-8) เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (B-16X และมะเร็งเต้านม (MCF-7) นอกจากนี้ยังยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และยับยั้งเชื้อวัณโรค *mycobacterium tuberculosis* H37Rv (de Oliveira *et al.*, 2004)

El Sayed *et al* ได้รวบรวมสารประกอบที่ได้จากสิ่งมีชีวิตในทะเลที่น่าสนใจที่สามารถนำไปพัฒนาเป็นยาต้านเชื้อวัณโรคได้ซึ่งรวมไปถึงสารที่ได้จากฟองน้ำ ดังนี้ สารประกอบ puupehenone, 15-cyano puupehenone, 15α-cyanopuupehenol ยับยั้งเชื้อ *M. tuberculosis* ที่ระดับ 99, 90 และ 96% โดยที่ puupehenone แสดงค่า MIC ที่ 12.5 µg/ml และค่า IC₅₀ 2.0 µg/ml นอกจากนี้แล้วยังมีสารประกอบกลุ่ม sesterterpene ที่ได้จากฟองน้ำ *Heteronema erecta* ได้แก่ สาร heteronemin ซึ่งเป็นสารที่มีการรายงานกลุ่มนี้ตัวแรกที่เป็น anti-TB agent (El Sayed *et al.*, 2000)

ส่วนการค้นหารสาร anti-TB agent จากฟองน้ำประเทศไทยมีรายงานว่า Wongganuchitmeta *et al.* (2004) สามารถแยกสารกลุ่ม antitubercular sesterterpenes จากฟองน้ำ *Brachiastr* sp. ซึ่งสารที่แยกได้ ได้แก่ heteronemin, heteronemin acetate, 12-deacetoxy scalarin 19-acetate และ manoalide 25-acetate

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยครั้งนี้ ในเบื้องต้นได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (anti-TB) ของสารสกัดหยาบชั้น Ethyl acetate (EtOAc) จากฟองน้ำทะเลที่เก็บจากบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันตก บริเวณเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 6 ตัวอย่าง พบว่าสารสกัดหยาบจากฟองน้ำทั้ง 6 ตัวอย่าง ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Ra strain) ในระดับความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ที่ผ่านมาผู้วิจัยได้ทำงานวิจัยทางด้านการค้นหาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆจากฟองน้ำทะเลมาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งพบว่าสารสกัดจากฟองน้ำทะเลที่เก็บจากบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออก ส่วนมากจะแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรคที่ระดับความเข้มข้น 100-200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังนั้นใน phase ที่ 2 ผู้วิจัยจึงได้ทำการค้นหาสารต้านเชื้อวัณโรคและองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆจากฟองน้ำทะเลที่เก็บจากบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออกบางตัวที่มีปริมาณมาก และแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรคที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ฟองน้ำทะเล *Smenospongia* sp., *Ictrochota baculifera*, *Cathria reinwardti*, และ *Ircinia mutans* เก็บจากบริเวณจังหวัดชลบุรี ระยอง และจันทบุรี

จากการแยกสารประกอบเคมีของสารสกัดหยาบชั้น EtOAc ของฟองน้ำ *Smenospongia* sp. สามารถแยกสารประกอบได้ 11 สาร ซึ่งสารทั้งหมดอยู่ระหว่างการพิสูจน์โครงสร้างของสารโดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี และการประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค

ข้อเสนอแนะ

จากการส่งตัวอย่างไปทดสอบฤทธิ์ anti-TB พบว่าได้ทำการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ของตัวอย่างสารสกัดจากฟองน้ำอ่าวไทยฝั่งตะวันออก (100 µg/ml) ขณะที่สารสกัดฟองน้ำของอ่าวไทยฝั่งตะวันตกทดสอบที่ระดับ 50 µg/ml ทำให้ไม่เห็นผลในการต้านเชื้อวัณโรคเมื่อเทียบกับฟองน้ำฝั่งตะวันออก ดังนั้นจึงต้องทำการทดสอบซ้ำที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันที่ 100 µg/ml อีกครั้งหนึ่ง

เนื่องจากโครงการวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยต่อเนื่อง 3 ปี ในส่วนของการค้นหาสารด้วยจากฟองน้ำชนิดอื่น รวมทั้งโครงสร้างและการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบที่แยกได้จากฟองน้ำ *Smenospongia* sp. จะถูกนำมารายงานพร้อมกับฟองน้ำตัวอื่นๆในปีที่ 2

