

บทนำ

ในปัจจุบันมีโรคอันตรายร้ายแรงต่างๆ ที่ยังไม่สามารถรักษาได้และโรคที่มีอาการคล้ายมากมาย เช่น โรคมะเร็ง โรคมาลาเรีย โรคเอดส์หรือโรคติดเชื้อต่างๆ ความต้องการรักษาโรคร้ายแรง รวมถึงยาปฏิชีวนะใหม่ๆ ยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในปัจจุบันมีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วของเชื้อดื้อยาซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคติดเชื้อที่คร่าชีวิตมนุษย์ ถึงแม้จะมียาหรือสารสังเคราะห์ของยาด้านจุลชีพ แต่ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติยังคงเป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์ และมีประโยชน์สำหรับการพัฒนาเป็นยาต้านจุลินทรีย์ใหม่ๆ (Bull and Stach, 2007) จึงทำให้นักวิจัยเริ่มมองหาแหล่งของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติแหล่งใหม่ที่จะสามารถนำไปพัฒนาทำเป็นยารักษาโรคได้พบว่าแบคทีเรียทะเลเป็นแหล่งที่มีศักยภาพ เนื่องจากแบคทีเรียพวกนี้ต้องแข่งขันกันเองภายใต้สภาวะที่รุนแรงต่างๆ เช่น ความเค็ม ออกซิเจน ความเป็นกรด-ด่าง ธาตุอาหาร อุณหภูมิ ความดัน และแสงสว่าง รวมไปถึงการแย่งถิ่นที่อยู่ของจุลินทรีย์ทะเลเหล่านี้ด้วย ที่ทำให้แบคทีเรียต้องผลิตสารเพื่อป้องกันตัวเองจากสิ่งมีชีวิตอื่น และเพื่อเอาชีวิตรอด ทำให้สารที่แบคทีเรียเหล่านี้ผลิตแสดงฤทธิ์ที่รุนแรงและเป็นที่น่าสนใจของนักวิจัย โดยที่สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเหล่านี้หลายตัวแสดงคุณสมบัติทางยาที่โดดเด่น โดยเฉพาะในการรักษาโรคมะเร็งและโรคติดเชื้อต่างๆ

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ออกฤทธิ์ชีวภาพประมาณ 32,500 ชนิดมาจากแหล่งจุลินทรีย์ (Antibase data base) โดยสารกลุ่มนี้ร้อยละ 45 ได้มาจากพวกแอคติโนมัยซีท ร้อยละ 38 มาจากรา และร้อยละ 17 มาจากแบคทีเรีย (Demain and Sánchez, 2009) สารออกฤทธิ์ซึ่งรวมถึงสารที่ได้จากจุลินทรีย์ทะเลด้วยประมาณ 100 ชนิด (Singh and Pelaez, 2008) และมีสารต้านจุลชีพหลายตัวได้มาจาก marine actinomycetes (Batzl, 2008) ในปัจจุบันสองในสามของยาปฏิชีวนะจากธรรมชาติได้มาจากแบคทีเรียทะเล actinomycetes ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแหล่งทางเลือกของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ อีกด้วย (Behal, 2003) แอคติโนมัยซีททะเลเป็นแหล่งผู้ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ๆ และยังเป็นแหล่งสำคัญสำหรับผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีความหลากหลายของสารประกอบที่มีความเฉพาะ โดยเฉพาะในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ที่ผลิตสารต้านจุลชีพมากถึงร้อยละ 85 และยังเป็นกลุ่มที่ผลิตสารออกฤทธิ์ตัวใหม่ๆ อยู่จนปัจจุบัน

แอคติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีลักษณะเป็นเส้นสาย พบมีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในดิน ปุ๋ยหมัก น้ำโคลนตม และบริเวณรากพืช เป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในหลายด้านโดยธรรมชาติ ปริมาณของแอคติโนมัยซีทที่พบในดินนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพของดิน และมีความสามารถในการผลิตสารเมตาบอไลต์ได้หลายชนิด เช่น สารสี วิตามิน และผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดี โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แอคติโนมัยซีทมีวงจรชีวิตที่ซับซ้อนอยู่ในไฟลัม *Actinobacteria* แอคติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการสร้างสาร

ออกฤทธิ์ชีวภาพที่หลากหลายชนิด และสารหลายชนิดที่ถูกสร้างขึ้นสามารถพัฒนาเป็นยาปฏิชีวนะที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และเซลล์มะเร็ง ซึ่งรวมทั้งสารที่เป็นแอนติไบโอติกที่มีสียด้วย

สารสีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายๆชนิดถูกสร้างมาจากแบคทีเรียทะเลหลายชนิด ได้แก่ *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Bacillus*, *Vibrio*, และ *Cytophaga* ซึ่งแยกได้จากดินตะกอน น้ำทะเล สาหร่าย และสัตว์ทะเล ซึ่งสารรงควัตถุที่ถูกสร้างมีหลายกลุ่ม ได้แก่ อนุพันธ์ของ indole (quinones และ violacein), alkaloids (prodiginines และ tambjamines), polyenes, macrolides, peptides และ terpenoids แอคติโนมัยซีทเป็นกลุ่มหนึ่งที่เป็นผู้ผลิตสารทุติภูมิที่มีประสิทธิภาพที่สุด และยังมีความสำคัญในอุตสาหกรรมด้วย จากแอคติโนมัยซีทหลายๆชนิดพบว่า *Streptomyces*, *Saccharopolyspora*, *Amycolatopsis*, *Micromonospora* และ *Actinoplanes* เป็นผู้ผลิตหลักของสาร biomolecule ที่สำคัญทางการค้า หลายๆรายงานพบว่าสารต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราจาก marine actinomycetes ทั้งที่อยู่ในดินตะกอนและที่อาศัยร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น ฟองน้ำทะเล (Dharmaraj & Sumantha, 2009) และสารที่ได้จากกลุ่ม Streptomyces ถูกนำไปใช้ในการรักษามะเร็ง เช่น anthracyclines (aclarbucin, daunomycin และ doxorubicin), peptides (bleomycin และ actinomycin D), aureolic acids (mithramycin), enediynes (neocarzinostatin), antimetabolites (pentostatin), carzinophilin, mitomycins (Olano *et al.*, 2009)

โรคร้ายแรงต่างๆ เช่น มะเร็ง เบาหวาน โรคข้ออักเสบ โรคเก๊าต์ โรคไต โรคต่อกระดูก ความผิดปกติในระบบประสาท เช่น อัลไซเมอร์ พาร์กินสัน เป็นต้น มีรายงานการยืนยันอย่างกว้างขวางว่าอนุมูลอิสระที่เกิดจากออกซิเจนเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคเหล่านี้ นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญที่ทำให้โรคกำเริบมากขึ้น อนุมูลอิสระ (free radical หรือ oxidant) คือ โมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ในลักษณะเป็นปฏิกิริยาถูกโซ่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆของเซลล์ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) หรือการเปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ (Ames *et al.*, 1993) เป็นต้น ออกซิเจนซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์เหล่านี้ เรียกว่า oxidant เป็นของเสียที่ได้จากกระบวนการ metabolism ทั่วไป หรืออาจจะได้มาจากสิ่งแวดล้อม เข้าทำลายโมเลกุลชีวภาพ ดังนั้นจึงต้องการสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ช่วยในการปกป้องเซลล์ในร่างกายและยืดอายุของเซลล์ เป็นสารที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้มีผลทำลายเซลล์ เชื้อแอคติโนมัยซีทหลายสายพันธุ์มีรายงานว่ามียูทิกเป็น antioxidant ที่ดี สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่อาจมาจากอาหารหรือจากการสังเคราะห์ทางเคมี จำเป็นต้องคำนึงถึงความปลอดภัยในการนำไปใช้ เนื่องจากมักมีความเป็นพิษ ดังนั้นความต้องการสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ ที่มีความปลอดภัยและไม่เป็นพิษจึงมีเพิ่มมากขึ้น การศึกษา

ในปัจจุบันกำลังให้ความสนใจกับระบบการต้านอนุมูลอิสระของแบคทีเรีย ซึ่งมีความสำคัญทางเทคโนโลยีชีวภาพ มีรายงานของสารสารประกอบ 2 ชนิดที่แยกจากเชื้อ *Streptomyces* (2-allyloxyphenol และ streptopyrrolidine) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและไม่มีความเป็นพิษ (Shin, *et al.*, 2008; Arumugam, *et al.*, 2010)

อย่างไรก็ตามสารรงควัตถุที่ได้จากแอคติโนไมซีททะเลในประเทศไทยยังมีรายงานอยู่ในจำนวนไม่มากนัก และจากการที่แบคทีเรียจะผลิตสารมาเพื่อความอยู่รอดและป้องกันตัวเองในแต่ละสภาวะนั้น ทำให้คณะผู้วิจัยสนใจทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากแบคทีเรียที่แยกจากดินตะกอน และฟองน้ำทะเลจากอ่าวไทย ซึ่งอยู่ในเขตที่นับว่ามีความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งทรัพยากร

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยในปีที่ 1

เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดจากเชื้อแบคทีเรียทะเล

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียทะเล/แอคติโนไมซีท ที่จะทำการศึกษามุ่งเน้นที่คัดแยกจากฟองน้ำและดินตะกอนบริเวณชายฝั่งทะเลอ่าวไทยตอนกลาง ได้แก่ บริเวณจังหวัดนครศรีธรรมราช และชายฝั่งทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันออก
2. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioassay) ของสารสกัดจากเชื้อแบคทีเรียทะเล/แอคติโนไมซีท ทางด้าน antimicrobial และ anti-oxidation activities

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

แบคทีเรียสามารถผลิตรงควัตถุได้หลากหลาย ซึ่งรวมถึงแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในทะเลด้วย รงควัตถุนี้มีความสำคัญต่อสรีรวิทยาของเซลล์และการอยู่รอด สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเหล่านี้หลายตัวพบว่ามีคุณสมบัติเป็นยาต้านจุลชีพ ต้านมะเร็งและกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive) ส่วนใหญ่จุลินทรีย์ผลิตสารทุติยภูมิผ่านกลไก quorum sensing ซึ่งสารรงควัตถุเหล่านี้สามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียและจุลินทรีย์อื่นๆ ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ จากความหลากหลายของสารเหล่านี้และยังมีแนวโน้มที่ดีในการออกฤทธิ์ยับยั้งโรคต่างๆ ได้หลายโรค จึงมีบทบาทสำคัญทั้งในงานวิจัยทางการแพทย์และการเกษตร มันยังคงมีความไม่แน่นอนว่าทำไมสารรงควัตถุจากแบคทีเรียจึงมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ และ/หรือต้านเซลล์มะเร็ง ถึงแม้ว่าบทบาททางสรีระที่แท้จริงยังไม่ถูกค้นพบ

จากข้อมูลที่ผ่านมาได้มีการกล่าวถึงหน้าที่ทางชีววิทยาสำหรับการผลิตรงควัตถุของแบคทีเรียที่เป็นไปได้ โดยที่แบคทีเรียที่แยกจากทะเลที่ผลิตรงควัตถุเหมือนจะมีบทบาทสำคัญๆ 2 ประการ 1) พวกเขาสังเคราะห์เพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อม และ 2) เพื่อป้องกันตัวจากผู้ล่าอื่นๆ (Bhatnagar and Kim, 2010) เช่น รงควัตถุที่เป็นสีน้ำตาลของสารเมลานิน (melanin) ที่ผลิตโดย

แบคทีเรียในหลายๆชนิด เช่นเดียวกับรงควัตถุสีเหลืองเขียวของ scytonemin ที่แยกได้จาก cyanobacteria เหล่านี้เพื่อปกป้องเซลล์จากรังสี UV และป้องกันไม่ให้ผิวแห้ง (desiccation) (Margalith, 1992; Stevenson, *et al.*, 2002) ดังนั้นเพื่อปรับตัวต่อแสงแดดที่มากเกินไป และเพื่อความอยู่รอดภายใต้อันตรายจากรังสี UV แบคทีเรียจะต้องผลิตสารประกอบเหล่านี้ที่ขาดไม่ได้ ในปี ค.ศ. 1955 Griffiths *et al.* พบว่าคาโรทีนอยด์เป็นส่วนประกอบสำคัญของชั้นเมมเบรนของจุลินทรีย์ และอาจจะปกป้องเซลล์ของแบคทีเรียจากการเกิด photo-oxidation หรือความเสียหายที่เกิดจากรังสี วิชิตเบล จากที่กล่าวมาข้างต้นถึงการปรับตัวและต้องอดทนในสภาวะต่างๆของแบคทีเรียทำให้สามารถแสดงคุณสมบัติต่างๆมากมาย จากการที่แบคทีเรียทะเล (ทั้งแบบ free-living และ symbiotic) สามารถผลิตรงควัตถุและสารเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันออกไปตามปัจจัยต่างๆทางสภาวะแวดล้อมและแหล่งที่อยู่ที่แตกต่างกัน

การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะโดยทั่วไปของแอกติโนมัยซีท (Actinomycete)

แอกติโนมัยซีทเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์เซลล์เดียว เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่มีค่า GC content สูง (ประมาณ 55-78 เปอร์เซ็นต์) สามารถสร้างเส้นใย (hyphae) เป็นสายยาว หรือเส้นสายที่แตกแขนง มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ และมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับแบคทีเรียทั้งขนาดและรูปร่าง มีเซลล์แบบ prokaryotes (ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส) อัตราการเจริญของแอกติโนมัยซีทจะช้ากว่าแบคทีเรียและเชื้อรา (Waksman, *et al.*, 1967) แอกติโนมัยซีทพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำ อากาศ อาหาร และในพืช แหล่งที่พบมากได้แก่ บริเวณที่มีการสะสมสารอินทรีย์ เช่น ดินที่เพาะปลูก วัตถุเน่าเปื่อย โคลน ตะกอนในแม่น้ำ ใต้ทะเล ดินบริเวณน้ำพุร้อน หรือป่าชายเลน

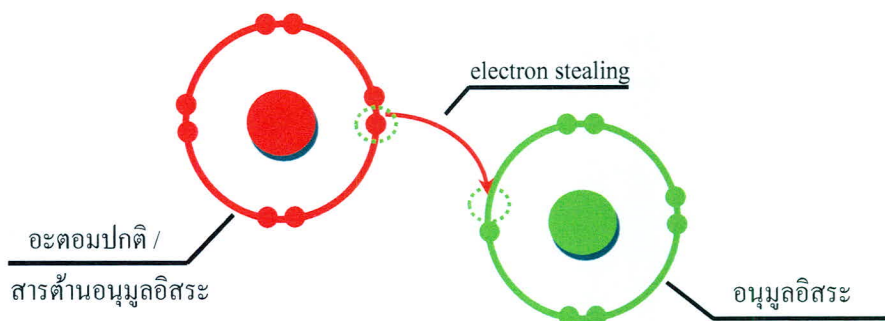
แอกติโนมัยซีทจัดอยู่ในอันดับ (Order) *Actinomycetales* ซึ่งประกอบด้วย 8 วงศ์ ได้แก่ *Actinomycetaceae*, *Mycobacteriaceae*, *Frankiaceae*, *Actinoplanaceae*, *Dermatophilaceae*, *Nocardiaceae*, *Streptomycetaceae* และ *Micromonosporaceae* ซึ่งส่วนใหญ่สามารถสร้างได้ทั้งเส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) หรืออาจพบเฉพาะเส้นใยใต้ผิวอาหาร มีลักษณะพอมบางยาวแตกกิ่งก้านสาขาซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะในวงศ์ *Streptomycetaceae* โคลนิจของแอกติโนมัยซีทมีลักษณะที่แตกต่างจากโคลนิจของแบคทีเรียอื่นๆ คือมีลักษณะทึบแสง ลักษณะของโคลนิจอาจจะมีแบบยกตัวขึ้น (raised) หรือ แบนเรียบ (flat) เส้นใยเหนือผิวอาหารแห้งและมีลักษณะเป็นผง เมื่อมองด้วยตาเปล่าสามารถสังเกตได้ชัดเจน หรือผิวโคลนิจอาจเรียบคล้ายหนังสัตว์ หรืออาจเป็นรอยย่นเป็นเส้นใยสั้นๆ สังเกตด้วยตาเปล่าคล้ายกำมะหยี่ สีของโคลนิจมีตั้งแต่สีขาว เหลือง ส้ม แดง กุหลาบ แดง ม่วง น้ำเงิน เขียว น้ำตาล และดำ (รัตนกรณ ศรีวิบูลย์, 2549) ขนาดของโคลนิจขึ้นอยู่กับ สปีชีส์ อายุ และสภาวะการเจริญเติบโต สามารถ

พบแอคติโนมัยซีทในดินซึ่งประมาณว่าในดินที่อุดมสมบูรณ์ 1 กรัม สามารถพบแอคติโนมัยซีทได้มากกว่า 1 ล้านเซลล์ โดยมันสามารถมีชีวิตอยู่ได้ด้วยการใช้สารอินทรีย์เพียงเล็กน้อยที่มีอยู่ในดินนั้น สมาชิกในกลุ่มแอคติโนมัยซีทที่มีจำนวนมากที่สุดคือ *Streptomyces* ประมาณ 70-90% รองลงมาคือ *Nocardia* ประมาณ 10-30% และอันดับสามคือ *Micromonospora* ประมาณ 1-15% แอคติโนมัยซีทเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส พบว่าส่วนใหญ่เป็นพวก mesophile สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส (Alexander, 1977) ปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมปริมาณของแอคติโนมัยซีท คือ สภาพและปริมาณอินทรีย์วัตถุ ความเป็นกรด ด่างและระดับความชื้นอุณหภูมิ (Porter, 1971) แอคติโนมัยซีทผลิตสารปฏิชีวนะมากมาย สารเหล่านี้ได้ถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์อย่างกว้างขวาง เนื่องจากเป็นสารประกอบที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ มีความเป็นพิษน้อย ย่อยสลายได้ง่ายกว่า และราคาถูกกว่าสารประกอบที่สร้างขึ้นจากปฏิกิริยาเคมี

อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ (Free radicals and antioxidants)

1. อนุมูลอิสระ (Fang, et al., 2002)

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึงสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล โดยอาจมีจำนวนอิเล็กตรอนอิสระ 1 ตัว หรือมากกว่า 1 ตัว ทำให้ไม่เสถียร มีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยา โดยรับอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ใกล้เคียง ทำให้ตัวเองเสถียรมากขึ้น ขณะเดียวกันก็ชักนำให้สารที่ให้อิเล็กตรอนนั้น มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่และเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ (ดังภาพที่ 1) จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารต่างๆ ไปตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่น สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา (Chapple and Matthews, 2007) พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อมในสิ่งมีชีวิตและในเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) อนุมูลอิสระเกิดขึ้นในร่างกายจากการขนถ่ายอิเล็กตรอนในกระบวนการเผาผลาญอาหาร ให้เกิดเป็นพลังงานโดยใช้ออกซิเจนในไมโทคอนเดรีย อิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะถูกจับโดยออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลของออกซิเจนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเรียกว่า reactive oxygen species (ROS) ตัวอย่างเช่น อนุมูลอิสระของ hydroxyl, superoxide และ peroxy อนุมูลอิสระชนิดอื่นที่เกิดขึ้นในร่างกาย เช่น reactive nitrogen species ตัวอย่างเช่น nitric oxide, nitrogen dioxide และอนุมูลอิสระ glutathyl และ methyl (Halliwell and Gutteridge, 1999) นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเกิดจากปัจจัยภายนอกร่างกาย โดยเกิดจากการใช้ยาฆ่าโรคบางชนิด ความเครียด การได้รับรังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา โอโซน ควันทูหรี่ อนุภาคอินทรีย์ ตัวทำลายอินทรีย์ และมลภาวะต่างๆ



ภาพที่ 1 การทำงานของอนุมูลอิสระ

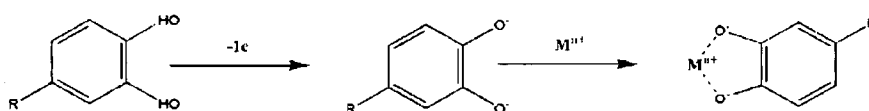
อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสถานะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสถานะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ อนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นประจุบวก (R^+) เช่น อนุมูล pyridinyl (NAD^+) และประจุลบ (R^-) เช่น อนุมูล superoxide (O_2^-) หรือเป็นกลาง เช่น อนุมูล peroxy ($ROO^\bullet$) หรืออนุมูล thiyl ($RS^\bullet$) เป็นต้น (Roberfroid and Calderon, 1995) อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ Hydroxyl radical ($HO^\bullet$), Superoxide anion radical (O_2^-) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก

2. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

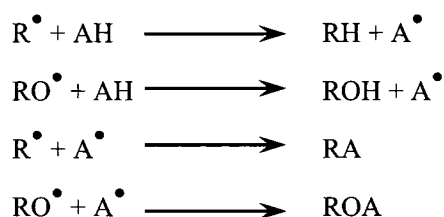
สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชันเป็นกลุ่มของสารที่เมื่อให้ในปริมาณต่ำ แก่สารออกซิแดนท์ (oxidants) แล้วให้ผลยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญ มีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ (เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหนาม, 2554) ร่างกายมนุษย์สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ปริมาณหนึ่ง เพื่อป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่แตกต่างกันไปสารเหล่านั้น ได้แก่ เอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและที่ละลายในไขมัน รวมถึงโปรตีนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione (GSH) สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินไปกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานหลายรูปแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับโลหะที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) เป็นต้น (Sies, 1991) สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชันในเซลล์โดยทั่วไป สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบไนโตรเจน และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิ

เคชั่นในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆของมนุษย์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหาร ปัจจุบันได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ เช่น สารห่วยทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา เป็นต้น

สารต้านอนุมูลอิสระทำลายอนุมูลอิสระโดยการให้หรือรับอิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ ทำให้ปฏิกิริยาถูกชะลอลง กลไกการต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้เป็น 2 กลไกตามลักษณะการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ คือ 1. ฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระ โดยที่สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ออกฤทธิ์ป้องกันไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระตั้งแต่เริ่มต้น เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ การเกิดโลหะทรานสิชัน และการระงับไม่ให้เกิด reactive oxygen species (ROS) โดยกลไกจับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟอสฟอริกแอซิด (phosphoric acid) และซิตริกแอซิด (citric acid) เป็นต้น สำหรับกลไกการจับโลหะของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ดังแสดงในสมการ



และ 2. ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ (free-radical scavenging antioxidant activity) ซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (Valacchi *et al.*, 2004) ดังสมการ



แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

1. สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (โอภา และคณะ, 2549)

สารประกอบฟีนอลิกสังเคราะห์ 5 ชนิดได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylated hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

2. สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

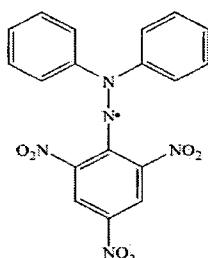
สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืช ซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติ ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ใน

ธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึง โครงสร้างโพลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น

วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

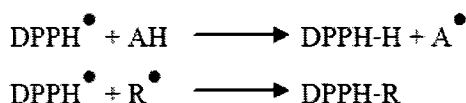
1. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สาร DPPH radical scavenging activity

เป็นการทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระของสารทดสอบโดยอนุมูลอิสระต้นแบบที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH·) การทดสอบทำโดยการวัดปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้นจากการดูดกลืนแสงด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี หากสารที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระก็จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระลดลง DPPH มีหลักการคือ อิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ (unpaired electron) ในโมเลกุลของอนุมูล DPPH สามารถดูดกลืนพลังงานแสงได้ที่มีความยาวคลื่นสูงสุด 517 นาโนเมตร ทำให้มองเห็นเป็นสีม่วง และเมื่ออนุมูล DPPH ถูกรีดิวซ์ โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติเป็น hydrogen donor อนุมูล DPPH จะเปลี่ยนเป็น DPPH-H ซึ่งการสูญเสียอิเล็กตรอนดังกล่าวจะทำให้อนุมูล DPPH สามารถดูดกลืนพลังงานแสงได้น้อยลง สารดังกล่าวจึงเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid (สุรติวัติ ภาควิทย, 2551; Bhandari and Kawabata, 2004)



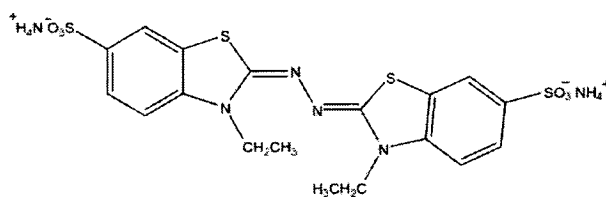
ภาพที่ 2 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH radical)
(ปริยพันธ์ บัวสด, 2549)

โดย DPPH· จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species (R·) ได้ดังสมการวิธีนี้ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ DPPH· ค่อนข้างเสถียร ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือด (บุหรัน พันธุ์สุวรรณ, 2556)



2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS radical cation decolorization assay)

เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ($\text{ABTS}^{\cdot+}$, 2,2'-azino-bis (3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงิน สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ $\text{ABTS}^{\cdot+}$ ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง $\text{ABTS}^{\cdot+}$ ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำ $\text{ABTS}^{\cdot+}$ ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยเมทานอลเจือจางซึ่งจะทำให้สีจางลงและตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้และเทียบกับสารมาตรฐาน trolox



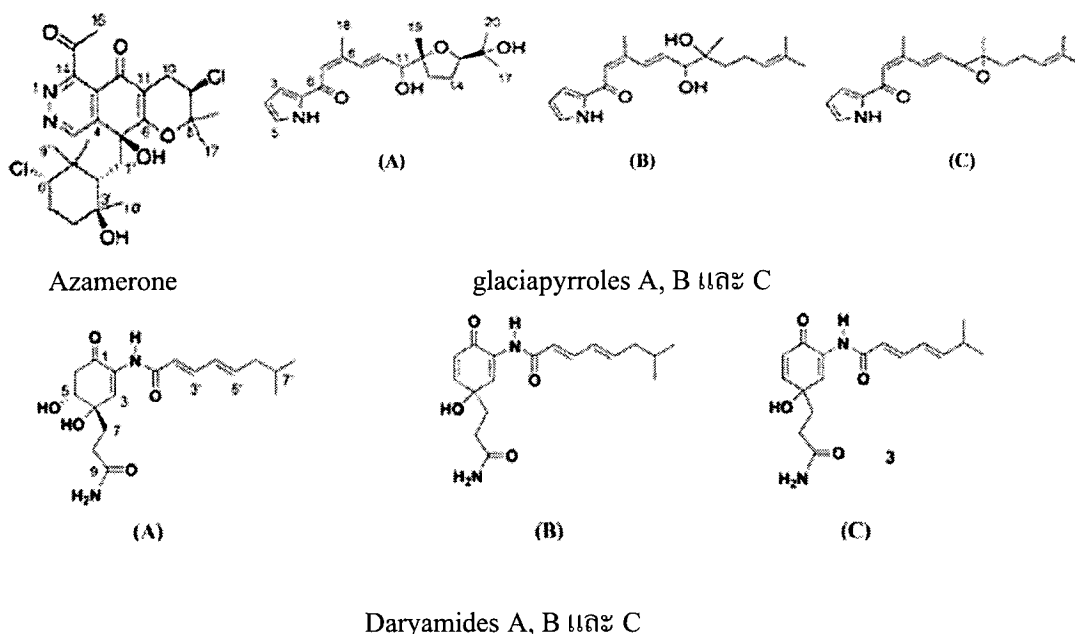
ภาพที่ 3 สูตร โครงสร้างของ 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ที่มา (ปริยพันธ์ บัสด,2549)

ข้อดีของวิธีการนี้ คือ $\text{ABTS}^{\cdot+}$ ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสีย คือ $\text{ABTS}^{\cdot+}$ ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

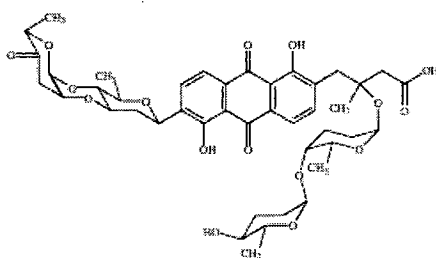
แอคติโนไมซีทเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตสารที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ โดยเฉพาะชนิด *Streptomyces* ซึ่งเป็นชนิดที่มีมากที่สุดและเป็นชนิดที่มีรายงานการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นจำนวนมาก สารเมตาบอไลต์จากแอคติโนไมซีทอาจจะมีรูปแบบที่ใช้เป็นพื้นฐานในการสังเคราะห์ตัวยาเพื่อใช้รักษาโรคและต่อสู้กับเชื้อดื้อยาได้ โดยมีฤทธิ์ค่อนข้างกว้างสามารถยับยั้งเชื้อรา ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ต้านจุลชีพ กดภูมิคุ้มกัน และต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารออกฤทธิ์เหล่านี้โดยรวมถึงสารสีจากแบคทีเรียด้วย ส่วนมากประกอบไปด้วยสารหลายประเภท ได้แก่ terpene, alkaloid, polyketide เป็นต้น

สาร Azamerone เป็นสารพวก meroterpenoid ซึ่งได้จากแบคทีเรียทะเลชนิด *Streptomyces* (Cho *et al.*, 2006) และสาร glaciapyrroles A, B และ C แยกได้จากสายพันธุ์ *Streptomyces* (NPSO 8187) ที่แยกจากดินตะกอน ซึ่งสารเหล่านี้แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Macherla *et al.*, 2005) นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 2006 Asolkar และคณะ ได้แยกสาร Daryamides A, B และ C ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของสายพันธุ์ *Streptomyces* เป็นสารพวก cytotoxic polyketides มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง colon carcinoma cell line HCT-116 ที่ระดับปานกลางและยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ในระดับไม่รุนแรง

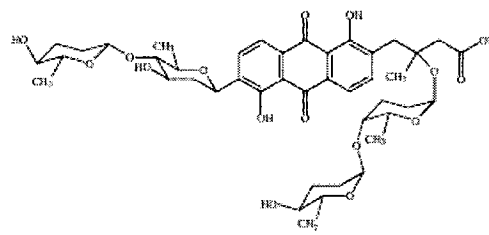


โดยทั่วไปสารประกอบพวก quinone จะเป็นกลุ่มที่มีโมเลกุลที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ และสารที่ได้จากแบคทีเรียทะเล *Streptomyces* จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูง เช่น สารประกอบเชิงซ้อนของ C-glycosides himalomycons A และ B, พวกสารกลุ่ม anthraquinones fridamycin E สารเหล่านี้ได้มาจากแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. 6921 ที่ได้จากดินตะกอนเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่รุนแรง (Maskey *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังมีสาร tetracenomycin D ซึ่งเป็นสารต้านจุลชีพพวก anthraquinone ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *S. corchorusii* AUBN (1)/7 ซึ่งสารนี้สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง HMO2 (gastric adenocarcinoma) และ HepG2 (hepatic carcinoma) และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบ (Adinarayana *et al.* 2006) สารกลุ่ม isoquinoline quinones ที่แยกจากชั้น ethyl acetate extract ของเชื้อแบคทีเรียทะเล *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ Mei37 ได้แก่ สาร Mansouramycin A-D พบว่าสารเหล่านี้มีความเฉพาะเจาะจงกับเซลล์มะเร็งจำนวนมาก เช่น เซลล์มะเร็งปอด มะเร็งเต้านม melanoma และ prostate cancer cells (Hawas *et al.*, 2009) และสาร Lucentamycins A และ B ที่แยกจากแอคติโนมัยซีททะเล *Nocardopsis lucentensis* (strain CNR-

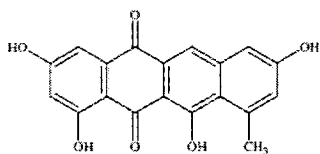
712) ซึ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง HCT-116 human colon carcinoma (Cho *et al.*, 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานการผลิตสารที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพจากแบคทีเรียทะเลที่อาศัยร่วมกับสัตว์ชนิดอื่น เช่น เชื้อแบคทีเรียทะเลที่อาศัยอยู่ร่วมกับฟองน้ำและผลิตสารที่ยับยั้งจุลชีพ เช่น เชื้อ *Streptomyces* อาศัยอยู่ร่วมกับฟองน้ำ *Callyspongia diffusa* ให้ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา (Gandhimathi *et al.* 2008)



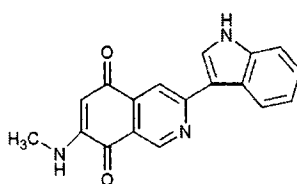
Himalomycins A



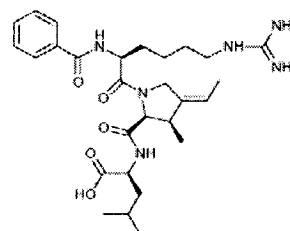
Himalomycins B



Tetracenomycin D



Mansouramycin

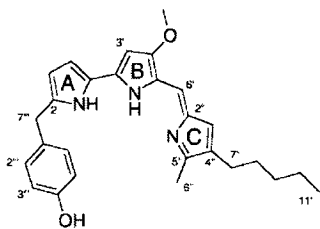


Lucentamycin A

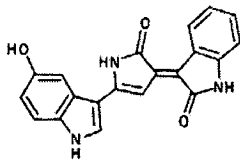
Fehe'r *et al.* (2008) ได้แยกสารสีกลุ่ม prodiginine-type จากแบคทีเรียทะเล *Pseudoalteromonas rubra* ซึ่งสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง SKOV-3, a human ovarian adenocarcinoma cell line ชื่อ 2-(*p*-hydroxybenzyl)prodigiosin จากการรวบรวมข้อมูลคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสีม่วง violacein ที่แยกได้จากแบคทีเรีย *Chromobacterium violaceum* พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งเซลล์มะเร็ง และยับยั้งเชื้อไวรัส (Lichstein & Van de Sand 1945; Durân *et al.* 1983; DuraÂn *et al.* 1996; May *et al.* 1991) นอกจากสารสีที่กล่าวมา ยังมีการรวบรวมสารสีจากจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ที่น่าสนใจ ดังแสดงในตาราง 1 (Liu & Nizet, 2009)

ตารางที่ 1 ศักยภาพของฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆของรงควัตถุจากจุลินทรีย์

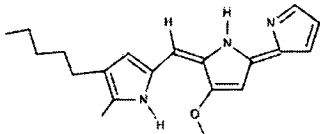
Pigment	Chemistry	Color	Human pathogens	Virulence functions
Staphyloxanthin	Carotenoid	Golden	<i>Staphylococcus aureus</i>	Antioxidant, detoxify ROS [4,5]
Pyocyanin	Phenazine-derived zwitterion	Blue-green	<i>Pseudomonas</i> spp.	Cytotoxicity [36,37,39] Neutrophil apoptosis [50] Ciliary dysmotility [43] Proinflammatory [49]
Melanin	Polyacetylene or polypyrrole polymers	Dark-brown, black	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus</i> spp., <i>Wangiella dermatitidis</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Burkholderia cepacia</i>	Antioxidant [11,30,31,32] Antiphagocytic [16] Block antimicrobials [18,19]
Porphyrin	Heteromacrocycle	Black	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Antioxidant, detoxify ROS [74]
Granadaene	Ornithine rhamno-polyene	Orange-red	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Antioxidant, detoxify ROS [64]
Violacein	Rearranged pyrrolidone scaffold	Purple	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Antioxidant, detoxify ROS [69]
Prodigiosin	Linear tripyrrole	Red	<i>Serratia marcescens</i>	Immunosuppressant [79]
Hemozoin	β-hematin aggregates	Brown-black	<i>Plasmodium</i> spp.	Detoxification [53] Macrophage suppression [56] Pro-inflammatory [58]



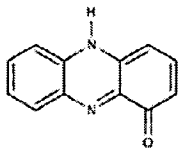
2-(p-hydroxybenzyl)prodigiosin



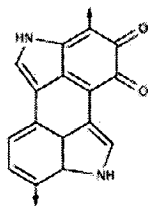
Violacein



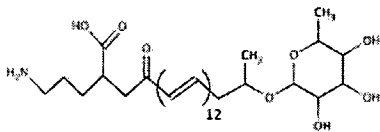
Prodigiosin



Pyocyanin



Melanin



Granadaene

Saurav และ Kannabiran (2012) แยกสารต้านอนุมูลอิสระ และประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ของสาร 5-(2,4-dimethylbenzyl) pyrrolidin-2-one (DMBPO) ซึ่งแยกได้จากเชื้อแอคทีโนมัยซีททะเล *Streptomyces VITSVK5* spp. สายพันธุ์นี้แยกได้จากตัวอย่าง ตะกอนดิน เชื้อแอคทีโนมัยซีทที่แยกได้แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อ *Aspergillus* ได้ดี จากการสกัดและแยกสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี bioactivity guided ซึ่งสาร DMBPO แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HEP 2 และ Hep G2 ที่ค่า IC₅₀ 2.8 µg/ml และ 8.3 µg/ml ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับ Vero cell (ที่ค่า IC₅₀ 22.6 µg/ml) นอกจากนี้ยังแสดงค่า hemolytic EC₅₀ (ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์กระตุ้น ได้ 50%) ที่มีต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงของมนุษย์ที่ระดับความเข้มข้น 288 µg/ml สาร DMBPO ยังแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH radical

scavenging ที่ 44.13% ที่ความเข้มข้น 5 $\mu\text{g/ml}$ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรวมทั้งหมดที่ร้อยละ 50.10 ระดับความเข้มข้น 5 $\mu\text{g/ml}$ ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า DMBPO เป็นพืชต่อเซลล์มะเร็งและมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในปีเดียวกัน Arulappan *et al.*, (2012) ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารทุติยภูมิของเชื้อ *Streptomyces* ที่แยกได้จากตัวอย่างดินชายฝั่งทะเล Puducherry อ่าวเบงกอล ประเทศอินเดีย พบว่าสารสกัดหยาบแสดงฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH assay ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่ร้อยละ 83 โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid ซึ่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่ร้อยละ 84

Revathy และคณะ (2013) ได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์จากเชื้อ *Streptomyces* SP สายพันธุ์ VITMSS05 พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญที่ค่า IC_{50} 92.49 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α amylase ที่ร้อยละ 64.1 ขณะที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ α glucosidase ที่ร้อยละ 91.5 โดยมีค่า IC_{50} คือ 385.97 และ 42.89 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปีเดียวกัน Aizuddin *et al.*, (2013) ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของแอคติโนมัยซีท 100 สายพันธุ์ ซึ่งถูกแยกจากฟองน้ำทะเล ที่เก็บมาจาก Sipadan Island ในซาบาห์ แอคติโนมัยซีททะเลมีศักยภาพสูงและยังผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เนื่องจากการปรับตัวพิเศษในสภาพแวดล้อมที่รุนแรงในมหาสมุทรได้ดี พบเชื้อ 22 สายพันธุ์ แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay โดยมีค่า IC_{50} ระหว่าง 56.3 - 99.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร