

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทีมผู้วิจัยได้มีการศึกษา แนวคิด ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยเรื่องการศึกษาจุลินทรีย์จากเปลือกผลไม้ ทุเรียนและเปลือกมังคุดที่มีศักยภาพในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยมีหัวข้อแยกเป็น ดังนี้ คือ

- 2.1 สารปฏิชีวนะจากเชื้อจุลินทรีย์
- 2.2 การคือยาของเชื้อจุลินทรีย์กับแนวโน้มการพัฒนา
- 2.3 สารปฏิชีวนะจากเชื้อจุลินทรีย์
- 2.4 งานวิจัยเกี่ยวข้องกับเปลือกทุเรียนและมังคุด

#### 2.1 สารปฏิชีวนะจากเชื้อจุลินทรีย์

แม้ว่าทีมงานวิจัยค้นพบสารชีวภาพมากมาย โดยเฉพาะสารปฏิชีวนะจากเชื้อจุลินทรีย์ประเภทเชื้อรา ในขณะที่เดียวกันได้มีการพบสารปฏิชีวนะจากแบคทีเรียจากสภาพสิ่งแวดล้อมธรรมชาติอยู่บ้าง เช่น จากดิน ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียในดินที่สร้างสารปฏิชีวนะต่างๆ มีความหลากหลายที่สุด คือ เชื้อ สเตรปโตไมซีต (*Streptomyces* spp.) ซึ่งเป็นเชื้อแกรมลบ มีสรีระ ลักษณะทางกายภาพหลากหลาย คือเป็นแบคทีเรีย หรือ เปลี่ยนรูปร่างเหมือนเชื้อรา พบว่า *Streptomyces* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะปฏิชีวนะหลากหลาย อาทิเช่น คลอแรมฟี-นิกอล ออกซีเตตระซัยคลิน และ สเตรปโตไมซิน ได้มีงานวิจัยศึกษาที่มาจากการศึกษาที่พบว่ามีดิน อาจมีการสะสมของยาปฏิชีวนะจาก *Streptomyces* จึงได้มีทดลองการคัดแยก *Streptomyces* จากตัวอย่างดิน จากที่ต่างๆ ในประเทศไทย และผลการผลิตสารปฏิชีวนะ ได้พบ *Streptomyces* ด้วยการคัดเลือกครั้งแรก (primary screening) โดยวิธี spot test ซึ่งพบเชื้อบาง isolate สร้างสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นได้ และเมื่อทำการคัดเลือกครั้งที่ 2 (secondary screening) โดยวิธี agar well พบว่าบาง isolate นี้สร้างสารคลอแรมฟี นิกอล ([www.scisoc.or.th/stt/32/sec\\_h/paper/stt32\\_H\\_H0036.pdf](http://www.scisoc.or.th/stt/32/sec_h/paper/stt32_H_H0036.pdf)) เชื้อเหล่านี้บางสายพันธุ์พบว่าสามารถ

สร้างสารประกอบพวกโปรตีนที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เช่น สาร polyketides (Holger et al., 2006) และได้พบสาร Actinomycin-D จากเชื้อ *Streptomyces griseoruber* (Praveen และ Tripathi 2009)

## 2.2 การคือยาของเชื้อจุลินทรีย์กับแนวโน้มการพัฒนา

ในอดีตพบว่าการระบาดของเชื้อก่อโรคที่คือยามาจากกลุ่มยาประเภทซัลฟา และเพนนิซิลิน ซึ่งเป็นยาในกลุ่มแรกที่ได้นำมาใช้ จนถึงปัจจุบันพบว่าการคือยาของเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มมากยิ่งขึ้น งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาลดปัญหาการคือยาที่ใช้ในขณะนี้ เช่น ศึกษาทำความเข้าใจสรีรวิทยาของเชื้อก่อโรคในระดับโมเลกุล (Yoneyama และ Katsumata 2006) เพื่อหาแนวทางเลือกใช้ยามายับยั้งเชื้อ โดยมุ่งหวังวิธีนี้สามารถเป็นแนวทางหนึ่งช่วยยืดอายุการใช้ยาปฏิชีวนะที่ผลิตขึ้นมาได้ นอกจากนี้ได้มีการวิจัยศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคกับผู้ป่วย เพื่อหาทางยับยั้งความเป็นพิษของเชื้อ (pathogenesis) และคุณลักษณะของเชื้อมีต่อผู้ป่วยพร้อมทั้งหาแนวทางกระตุ้น เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ ซึ่งวิธีหลังนี้เป็นที่นิยมมาก แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยเหล่านี้พบว่าไม่สามารถช่วยลดปัญหาการคือยาของเชื้อได้มากนัก (Briken 2008, Lebeis and Kalman, 2009)

ด้วยสภาวะการคือยาของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลกระทบต่อการระบาดอย่างต่อเนื่อง และก่อเกิดเชื้อกลายพันธุ์ขึ้นได้ งานวิจัยที่เน้นการค้นหายาตัวใหม่ๆที่มีประสิทธิภาพได้ถูกพัฒนาขึ้น งานวิจัยมุ่งเน้นความสนใจในการหาแนวทางใหม่ๆเพื่อพัฒนาต่อต้านเชื้อได้เข้ามามีบทบาทมากขึ้น เช่น การปรับปรุง เปลี่ยน โครงสร้างทางเคมีจากยาที่มีอยู่แล้ว เช่น พยายามสร้างยาตัวใหม่ๆจากยาที่มีโครงสร้างหลัก beta-lactam ซึ่งได้มาจากเชื้อจุลินทรีย์ทั้งแกรมลบ และ แกรมบวกทั่วไป โดยมุ่งเน้นที่ขั้นตอนการสร้างสาร (biosynthesis pathway) ในระดับ genes เพื่อนำมาผสมผสาน ปรับปรุงให้ได้สารตัวใหม่ (combinatorial synthesis) (Martin 1998) งานวิจัยส่วนใหญ่ในขณะนี้มุ่งเน้นการคิดค้นหายาจากเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรีย จากสิ่งแวดล้อมธรรมชาติ ทั้งหมด เช่น ดิน โดยเลือกศึกษาในระดับยีนส์ทั้งหมด (genomic-based discovery strategies) (Rogers 2004, Taylor และ Write 2008) เพื่อทราบถึงกลไกทางชีวเคมีของการออกฤทธิ์ยับยั้ง โดยคาดหวังว่าจะได้สารปฏิชีวนะตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพ ได้ สามารถช่วยลดปัญหาการคือยาลงได้ นอกจากนี้ได้มีงานวิจัยเพื่อการ



ผลิตยาที่คล้ายคลึง โดยเน้นการปรับปรุงขบวนการค้นหา genome ทั้งหมด (genomic approach) แต่เริ่มจาก genome ของเชื้อแบคทีเรียที่ไม่สามารถเลี้ยงได้ (non-culturable bacteria) และของเชื้อไวรัส bacteriophage งานวิจัยนี้พบว่าสามารถได้สารปฏิชีวนะตัวใหม่ธรรมชาติ และได้สารที่สามารถนำไปดัดแปลง (structural analogous drug) เพื่อใช้เป็นยาที่อาจมีประสิทธิภาพดีขึ้น (Coates 2007) และมีงานวิจัยใหม่ๆ ได้อาศัยหลักการอ่านลำดับสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ (DNA Sequencing) มาช่วยในการคัดเลือก genomes ในการทดลองนี้ทางคณะผู้วิจัยได้ทำ DNA sequencing ของ genomes ของจุลินทรีย์ที่สกัดได้ทั้งหมดจากดิน และด้วยหลักการ microbial genomic sequencing นี้พบว่าได้สารออกฤทธิ์ตัวใหม่ๆ (Bax et al., 2000)

ตัวอย่างยาปฏิชีวนะที่พบจากแบคทีเรีย เช่น สาร Retapamulin (Altabax : GSK) ซึ่งเป็นยาตัวแรกในประเภทยามาเชื้อแบคทีเรียกลุ่มใหม่ ที่เรียกว่า pleuromutilins ยาตัวนี้ได้รับอนุมัติจาก US FDA ให้ใช้ทาภายนอก รักษาผิวหนังพุพอง (impetigo) ซึ่งเป็นโรคผิวหนังที่ติดเชื้อแบคทีเรีย ยานี้มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคผิวหนังพุพอง

ผิวหนังพุพองเป็น โรคติดเชื้อทางผิวหนังที่ร้ายแรง พบได้บ่อยในเด็กอายุ 2-5 ขวบ เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* หรือ *Streptococcus pyogenes* โดยปกติจะรักษาโดยการทายา mupirocin, fusidic acid และ bacitracin อย่างไรก็ตาม เนื่องจากเชื้อมีการคือยาระบายอยู่ทั่วไป จึงจำเป็นต้องหาชนิดใหม่ที่มกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างไปจากยาเก่า จึงจะใช้ ได้ผล

### 2.3 สารปฏิชีวนะจากเชื้อจุลินทรีย์ (Bacteriocin) (ที่มา

<http://ejournals.swu.ac.th/index.php/ssj/article/view/100/105>

แบคทีริโอซินเป็นเปปไทด์หรือโปรตีนที่สังเคราะห์จากไรโบโซม และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย แบคทีริโอซินมีแตกต่างจากสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ที่ออกฤทธิ์การยับยั้งแคบและเป็นพิษกับแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน และสามารถสร้างได้จากแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบและแกรมบวกหลายสปีชีส์ ตัวอย่าง เช่น กลุ่มแบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria) ที่เป็นที่ได้รับความสนใจมาก ได้แก่ *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Aerococcus*,

*Tetragenococcus, Vagococcus, Oenococcus* และ *Weissella* เชื้อเหล่านี้สามารถเปลี่ยนอาหารที่มีน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติกประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และผลิตภัณฑ์อื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โคอะเซทิล อะเซโทอิน (acetoin) และกรดอินทรีย์

แบคทีเรียโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติกมีกลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน โดยที่มียกลไกการออกฤทธิ์ที่เข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมายโดยอาศัยแรง electrostatic เหนี่ยวนำให้เกิดรูบนเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เป้าหมาย เช่น ไนซิน จะทำให้เกิดรู และขับเคลื่อนการเคลื่อนที่ของ proton motive force รวมทั้งรบกวนสมดุลของ pH เป็นผลให้เกิดการรั่วไหลของไอออน และการสลายตัวของ ATP ทำให้เซลล์เกิดการตายที่สุด คุณสมบัติที่ดีของแบคทีเรียโอซิน คือ เป็นที่ยอมรับว่าเป็นสารที่ปลอดภัย ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ยูคาริโอต สามารถยับยั้งได้ด้วยน้ำย่อยประเภทโปรติเอส จึงมีผลน้อยมากกับแบคทีเรียที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร มักจะทนต่อ pH และความร้อน บางชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งกว้างคือสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในอาหาร เช่น *Listeria monocytogenes* และ *Clostridium botulinum* ยีนส์มักถูกควบคุมการสร้างโดยพลาสมิด จึงง่ายต่อการทำ genetic manipulation ทั้งยังช่วยให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีคุณภาพดีขึ้น เช่น เพิ่มความปลอดภัย และรสชาติดีขึ้น สารนี้มีแอกติวิตีจำเพาะ (specific activity) สูง สารเหล่านี้ เช่น เมอร์ซาดิน (mersacidin) ซึ่งออกฤทธิ์รบกวนการสร้างผนังเซลล์โดยการเข้าเชื่อมต่อกับสารตั้งต้นในการสร้างเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ได้ ผลิตภัณฑ์ของแบคทีเรียโอซินมีในรูปแบบแข็ง เช่น ไนซิน (nisin) ในรูปของ Nisaplin<sup>TM</sup> จากบริษัท Aplin and Barrett Ltd., UK ซึ่งสร้างจาก *Lactococcus lactis* เพคคิโอซิน PA-1/AcH ในรูป ALTATM 2431 จากบริษัท Quest International, Australia ซึ่งสร้างจาก *Pediococcus acidilactici*

ตัวยา pleuromutilin เป็นสารธรรมชาติที่พบในเชื้อรา *Pleurotus mutilus* มาหลายทศวรรษแล้ว สารนี้มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ปานกลาง โดยเฉพาะชนิดแกรมบวก การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ pleuromutilin ได้สารที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้กว้าง มีอนุพันธ์ 2 ตัว คือ tilamulin และ valnemulin ซึ่งได้รับอนุญาตให้ใช้เป็นยาสำหรับสัตว์ และสารนี้ในชื่อของ retapamulin เป็นชื่อยาตัวแรกที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในคน ใช้ทาบริเวณที่เป็นวันละ 2 ครั้ง ติดต่อกัน 5 วัน ใช้ในคนอายุ 9 เดือนขึ้นไป ยานี้ออกฤทธิ์โดยจับกับ 50S subunit ของไรโบโซมของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยผลทางคลินิก มีการประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยของยา retapamulin โดยการใช้ทาวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 5 วัน ในอาสาสมัคร 210 คน มี 164 คน ซึ่งเป็นโรคผิวหนัง หรือผิวหนังอักเสบซึ่งไม่เกิด



การคิดเชื้อทุติยภูมิ เมื่อรับยา retapamulin พบว่าได้ผล 89.5% เทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยา  
 ([http://www.medicthai.com/admin/news\\_cpe\\_detail.php?id=289](http://www.medicthai.com/admin/news_cpe_detail.php?id=289))

## 2.4 งานวิจัยเกี่ยวข้องกับเปลือกทุเรียนและเปลือกมังคุด

### 2.4.1 งานวิจัยเกี่ยวข้องกับเปลือกทุเรียน

ทุเรียน (Durian) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Durio zibethinus* Murr. วงศ์ Bombaceaceae มีสัดส่วนของสารอาหารในเชิงโภชนาการ แสดงดังตารางที่ 2.1

คุณค่าทางโภชนาการ ต่อ 100 กรัม (3.5 ออนซ์) ของทุเรียน	
พลังงาน	150 กิโลแคลอรี
คาร์โบไฮเดรต	27.09 กรัม
เส้นใยอาหาร	3.8 กรัม
ไขมัน	5.33 กรัม
โปรตีน	1.47 กรัม
น้ำ	65 กรัม
วิตามินซี	19.7 มิลลิกรัม ร้อยละ 33
โพแทสเซียม	436 มิลลิกรัม ร้อยละ 9
Source: USDA Nutrient database Percentages are relative to US	

## ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของทุเรียน ต่อ 100 กรัม

ในปัจจุบันการศึกษาวิจัยพบว่า เนื้อทุเรียนมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันพบว่าหมอนทอง ชะนี และพวงมณีมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าพันธุ์กระดุมและก้านยาว โดยการทดสอบด้วยวิธี FRAP, CUPRAC และ TEAC ผู้วิจัยจึงแนะนำให้พิจารณาใช้ทุเรียน 3 สายพันธุ์ดังกล่าวเป็นอาหารเสริมได้ (Arancibia-Avila et al., 2008) สำหรับงานวิจัยด้านเปลือกทุเรียน โดยพบว่าคุณสมบัติของสารสกัดจากส่วนเปลือกซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิด (Lipipun et al., 2002) โดยสารสกัดที่ความเข้มข้นที่ 20 และ 15 มก./มล. มีผลในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* (เชื้อก่อโรคฟันผุ) และ เชื้อ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (เชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบ) ตามลำดับในเวลา 24 ชั่วโมง แต่จากการศึกษาพบว่า ที่ความเข้มข้นสูงประมาณ 35 มก./มล. แบคทีเรียทั้งสองชนิดจะถูกฆ่าภายในเวลา 4 ชั่วโมง (Musikapong et al., 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าสารออกฤทธิ์ดังกล่าว ไม่มีความเป็นพิษเมื่อทดสอบกับหนูทดลอง โดยการให้กินสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ในครั้งเดียวที่ปริมาณ 2 ก. ค่อน้ำหนักหนู 1 กก. หรือให้กินติดต่อกันในขนาด 0.5 ก. ค่อน้ำหนักหนู 1 กก. เป็นเวลา 100 วัน (Pongsamart et al., 2001; Pongsamart et al., 2002)

### 2.4.2 งานวิจัยเกี่ยวข้องกับเปลือกมังคุด

มังคุด (mangosteen) ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* Linn. วงศ์ Guttiferace มังคุดมีสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายที่มีในเนื้อมังคุดในส่วนที่กินได้ 100 กรัม แสดงดัง ตารางที่ 2.2

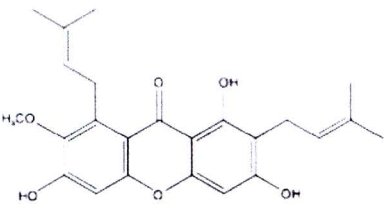
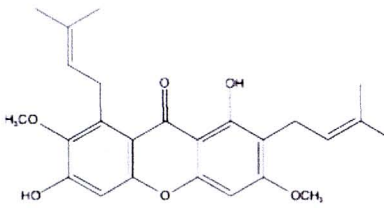
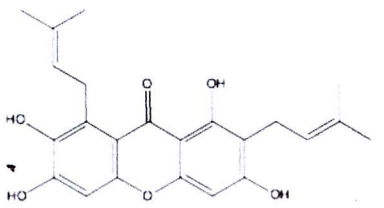
คุณค่าทางอาหาร/ สารอาหาร	ปริมาณใน 100 กรัม*
พลังงาน	76 กิโลแคลอรี
ความชื้น	79.2 กรัม
โปรตีน	0.50 กรัม
ไขมัน	0 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	18.4 กรัม
ใยอาหาร	1.7 กรัม
เถ้า	0.2 กรัม
แคลเซียม	11 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	17 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.9 มิลลิกรัม
วิตามินบี ๑	0.09 มิลลิกรัม
วิตามินบี ๒	0.06 มิลลิกรัม
ไนอาซิน	0.1 มิลลิกรัม

\*ที่มา กองโภชนาการ กรมอนามัย พ.ศ. 2535

## ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางโภชนาการของมังคุด ต่อ 100 กรัม

การศึกษาวิจัยในปัจจุบันพบว่าเปลือกมังคุดมีสาร Mangostin ได้แก่  $\alpha$ -mangostin,  $\gamma$ -mangostin และ  $\beta$ -mangostin (ตารางที่ 2.3) ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ทั้งสายพันธุ์ปกติและคือต่อยามетиซิลลิน นอกจากนี้ ยังมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและรักษาแผลอักเสบหรือแผลเรื้อรังได้ดี (Pedraza-Chaverri et al., 2008; Obolskiy et al., 2009) โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคผิวหนัง คือ *Staphylococcus species* ซึ่งเป็นที่รู้จักว่าเป็นเชื้อที่กระตุ้นการเกิดหนอง อันส่งผลให้เกิดการอักเสบของผิวหนัง จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา (Chomnawang et al., 2009)พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีคุณสมบัติลดปัจจัยที่ก่อให้เกิดผิวหนังอักเสบ

ทั้ง 3 ประการได้ดีที่สุด โดยมีฤทธิ์การต้านเชื้อที่ทำให้เกิดสิวอักเสบได้ดีที่ความเข้มข้นประมาณ 39 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร และมีฤทธิ์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบได้สูงกว่า 90% อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระอันเป็นต้นเหตุ การเกิดรอยแผลเป็นของสิวอักเสบสูงถึง 77.8% แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีศักยภาพที่จะสามารถนำมาทำการศึกษาค่อยๆ เพื่อพัฒนาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ในการป้องกันและรักษาสิวอักเสบได้ต่อไป จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาสามารถกล่าวโดยสรุปได้ว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีคุณลักษณะที่สำคัญได้แก่ ระวังการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial) ด้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) ด้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant) และสามารถ สมานผิว กระชับรูขุมขน (Astringent) (Pedraza-Chaverri et al., 2008)

Compound name	Structure	Plant part
XANTHONES $\alpha$ -Mangostin		Pericarp, Whole fruit, Stem, Arils, Seed
$\beta$ -Mangostin		Pericarp, Whole fruit, Stem
$\gamma$ -Mangostin		Pericarp, Whole fruit

ตารางที่ 2.3 แสดงโครงสร้างของสาร  $\alpha$ -mangostin,  $\gamma$ -mangostin และ  $\beta$ -mangostin