

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการวิจัย

ในปัจจุบันโรคหลอดเลือดเลี้ยงหัวใจตีบตันเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับหนึ่งของประเทศไทย และของโลก เนื่องจากมีภาวะระดับไขมันในเลือดผิดปกติ (Dyslipidemia) เป็นปัจจัยการเสี่ยงโรค (Risk factor) อย่างหนึ่งของการเกิดโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ การมีระดับไขมันสูงในเลือดจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังหลอดเลือด ทำให้มีความยืดหยุ่นน้อย และหนาขึ้นจนเกิดสภาพของหลอดเลือดแข็ง และตีบ (Atherosclerosis) เป็นผลให้เกิดลิ่มเลือดขึ้นในหลอดเลือดหรือในหัวใจ (Thrombosis) จากนั้นเกิดเนื้อตายเนื่องจากขาดการไหลเวียนของโลหิต (Infarction) ตามมา (จันทน์, 2545) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตที่สำคัญในปัจจุบัน

ไขมันในโลหิตสูงเป็นปัจจัยเสี่ยงข้อหนึ่งของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ การเปลี่ยนแปลงอาหาร และการออกกำลังกายสามารถลดระดับไขมันในเลือดได้ ถ้าหากระดับคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือดสูง ไขมันเกาะติดผนังหลอดเลือดแดงมีลักษณะเป็นคราบ (Plaque) ทำให้หลอดเลือดแดงแคบลง ส่งผลให้หลอดเลือดแข็ง และตีบ (Atherosclerosis) โดยก่อให้เกิดอาการเจ็บหน้าอกเนื่องจากหัวใจขาดเลือด หรือ อัมพฤกษ์ หากคราบไขมันหลุดจากผนังหลอดเลือดแล้วไปอุดตันในเส้นเลือด จะทำให้เกิดอาการหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน (Stroke) เพื่อแก้ปัญหาการเกิดโรคดังกล่าว จึงมีการศึกษาผลิตยาลดระดับไขมันในเลือดซึ่งนับวันจะมีความสำคัญ และมีความจำเป็นมากขึ้น ซึ่งยาที่ลดระดับไขมันในเลือดมีหลายชนิด แบ่งออกได้เป็นกลุ่มต่างๆ ได้แก่

กลุ่ม Bile Acid Sequestrants เช่น Cholestyramine และ Colesevelam ลดระดับโคเลสเตอรอลลง 7-25 % แอล-ดี-แอล โคเลสเตอรอลลง 11-36 % มีผลต่อ เอช-ดี-แอล และไตรกลีเซอไรด์ลดลงเล็กน้อย

กลุ่ม Niasin ได้แก่ Nicotinic acid หรือ Niacin สามารถลดไขมันในเลือดได้ทั้งโคเลสเตอรอล และ ไตรกลีเซอไรด์ สามารถเพิ่มไขมัน เอช-ดี-แอล ได้มากที่สุดในบรรดายาที่มีอยู่ แต่ไม่เป็นที่นิยมใช้ เนื่องจากผลแทรกซ้อนจากยามีมาก

กลุ่ม Fibrates เช่น Gemfibrozil Bezafibrate Fenofibrate ได้ผลดีในการลดไขมันไตรกลีเซอไรด์ ลดลงได้ 20-40 % ขึ้นกับขนาดยา ลดโคเลสเตอรอลได้น้อยมาก (8-10 %)

กลุ่มอื่นๆ เช่น Orlistat เป็นยาที่ใช้ลดน้ำหนัก ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการดูดซึมของไขมันที่รับประทานเข้าไปในลำไส้

และกลุ่มสแตติน (Statins) เช่น Fluvastatin Atorvastatin Pravastatin Simvastatin Cerivastatin และ Rosuvastatin ยากลุ่มนี้เป็นกลุ่มเด่นมากในการลดไขมันโคเลสเตอรอล โดยสามารถลดระดับโคเลสเตอรอล และ แอล-ดี-แอล โคเลสเตอรอล ได้ดีมาก (25-40 %) เพิ่มเอช-ดี-แอล 6-10 % ลดไตรกลีเซอไรด์ได้ 10-20 % และยังส่งผลดีต่อหลอดเลือดแดงเพราะกลไกการลดไขมันไม่มีผลต่อผนังหลอดเลือด

ยาในกลุ่มสแตตินมีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอลในตับ ซึ่งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ควบคุมอัตราการสร้างคลอเลสเตอรอล (Rate controlling enzyme) ให้ลดลง ทำให้ไขมันบางชนิดในเลือด คือ Low-density lipoproteins (LDL) ซึ่งเป็นไขมันชนิดไม่ดี ถ้ามีมากจะทำให้เกิดหลอดเลือดแดงตีบได้ โดยพาคอเลสเตอรอลจากตับไปสู่ร่างกาย ถ้ามีคลอเลสเตอรอล และไขมันไปเกาะอยู่ตามผนังของหลอดเลือดจะส่งผลให้ลดการไหลเวียนของเลือดในร่างกาย ทำให้ออกซิเจนที่ไปเลี้ยงหัวใจ สมอง และส่วนต่างๆ ของร่างกายลดลงตามไปด้วย แต่ถ้ามีคลอเลสเตอรอล และไขมันในเลือดต่ำจะเป็นการช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจ การไหลเวียนโลหิตในหลอดเลือด ปวดเข่าอก สมองขาดเลือด และหัวใจวายได้ จึงศึกษาการผลิตยาให้ได้มากที่สุด ในเวลาที่รวดเร็ว และลงทุนต่ำ การสกัดยากลุ่มนี้ได้จากเชื้อรา เช่น *Aspergillus terreus*, *Penicillium citrinum* (Alberts และคณะ, 1980 และ Alberts, 1988) และ *Monascus* sp. (Endo, 1992) เป็นต้น

โมแนสคัสเป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่สามารถผลิตสารยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอล ตัวอย่างเช่น *M. ruber* ซึ่งผลิตสารมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอล โดยมีชื่อเรียกต่างกันไป ได้แก่ monacolin J, monacolin K, monacolin L, monacolin M และ monacolin X เป็นต้น (Endo และคณะ, 1985; Endo และคณะ, 1986; Komagata และคณะ, 1989) (ตารางที่ 1.1) ในทางการค้าจะเรียกสารนี้ว่าโลวาสแตติน (Lovastatin) มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3 - hydroxyl - 3 - methyl-glutareyl coenzyme A (HMG-CoA) reductase ซึ่งเป็นตัวควบคุมการสร้างคลอเลสเตอรอล ในกระบวนการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล ดังนั้นคุณสมบัติการออกฤทธิ์จึงส่งผล

โดยตรงต่อการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในผู้ป่วยที่มีปริมาณคอเลสเตอรอลชนิด LDL ในเลือดสูง

ตารางที่ 1.1 โครงสร้างโมนาโคลินชนิดต่างๆ

Structure	Name	R	MW
	1. Monacolin K (MK-8)		464
	2. Monacolin L (ML-1)	OH	470
	3. Monacolin M (M-1)	H	464
	4. Monacolin X (MX-1)		478
	5. Monacolin M (MM-1)		466

ที่มา ; Li และคณะ, 2004

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาคัดเลือกเชื้อรา โมแนสคัสสายพันธุ์ที่กลุ่มผู้วิจัยคัดแยกและเก็บรักษา รวมถึงการคัดแยกจากธรรมชาติ และปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้มีความสามารถใช้แป้ง หรือข้าว สำหรับการเจริญ และการผลิตโมนาโคลิน
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ และการผลิตโมนาโคลิน บนอาหารแข็งที่บรรจุในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร
3. ศึกษาการออกฤทธิ์ของยาเบียงตัน และผลข้างเคียง
4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ และการผลิตโมนาโคลิน บนอาหารแข็งที่บรรจุในถังหมักขนาด 5.0 ลิตร

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

นำเชื้อราโมแนสคัสที่กลุ่มผู้วิจัยเก็บรวบรวม มาคัดแยกหาสายพันธุ์ที่ผลิตโมนาโคลิน แต่ไม่สร้างสารซิทรินิน (citrinin) จากนั้นนำเชื้อมาปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ผลิตสารโมนาโคลินในปริมาณเพิ่มขึ้น โดยใช้แป้ง (มันเส้น) และข้าว เป็นแหล่งอาหาร เชื้อราโมแนสคัสที่คัดแยกได้

นำมาศึกษาการเจริญโดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งที่บรรจุในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ และการผลิตโมนาโคลิน ได้แก่ ปริมาณเชื้อเริ่มต้น รูปแบบการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ความชื้น การผสมผสาน อุณหภูมิ เป็นต้น โดยสภาวะเลี้ยงเชื้อที่ดีต้องปราศจากการสร้าง และสะสมสารซิติรีนิน โมนาโคลินที่ผลิตได้จะนำมาศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ 3 - hydroxyl - 3 - Methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase และการออกฤทธิ์ของสาร สุกท้ายจึงขยายขนาดการเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ถังหมัก 5.0 ลิตร ที่บรรจุแป้ง (มันเส้น) หรือข้าว ที่ปริมาณต่างๆ

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

คัดแยกเชื้อ *Monascus* sp. ที่สามารถเจริญบนอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน นำเชื้อราที่คัดแยกด้วยวิธี natural selection มาศึกษาลักษณะและสัณฐานวิทยาได้กล้องจุลทรรศน์ เชื้อราที่แยกได้นำมาศึกษาการสร้างโมนาโคลินโดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง (solid state fermentation) ที่เป็นวัสดุทางการเกษตร เลือกว่าวัสดุทางการเกษตรที่เชื้อราเจริญได้ดีที่สุด มาศึกษาการเจริญในสภาวะต่างๆ ได้แก่ ผลกระทบจากชนิดของเชื้อเริ่มต้น (inoculum) ความชื้นเริ่มต้น วิธีเตรียมวัสดุทางการเกษตรอย่างเหมาะสม การเจริญในสภาวะนิ่ง และสภาวะหมุนขวด เพิ่มปริมาณอาหารจาก 50 กรัม ไปจนถึง 1000 กรัม และขนาดของขวดเลี้ยงเชื้อต่อการสร้างผลิตภัณฑ์

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถคัดแยกเชื้อราโมแนสคัสที่สามารถเจริญได้ดีบนแหล่งคาร์บอนที่เป็นแป้งมันสำปะหลัง โครงการวิจัยนี้มุ่งผลสำเร็จไปที่การนำความรู้เบื้องต้นจากการเลี้ยงเชื้อโมแนสคัสบนอาหารแข็งเพื่อผลิตสาร โมนาโคลินในพลาสติกเลี้ยงเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร และในภาชนะขนาด 5.0 ลิตร โดยประยุกต์ใช้ประสบการณ์จากการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสในอาหารเหลวด้วยถังหมักขนาด 5.0 - 20.0 ลิตร และบนอาหารแข็งด้วยถังหมักขนาด 5.0 ถึง 10.0 ลิตร