บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

การเพิ่มขึ้นของระดับคลอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ มีผลทำให้ปัจจัยเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดแดงสูงมากขึ้น สารลดระดับไขมันที่มีผลยับยั้งโดยตรงต่อการทำงานของเอนไซม์ HMG coenzyme A reductase จัดเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจกว่ายาชนิดอื่นที่นำมาใช้รักษาอาการระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดสูง รวมไปถึงการควบคุมอาหารที่รับประทาน หรืออาหารเสริม ข้าวแดง (ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนเมล็ดข้าว) เป็นผลิตภัณฑ์ทางอาหารที่สามารถใช้ลดระดับไขมันในเลือด ซึ่งได้ทดลองแล้วทั้งในสัตว์ และมนุษย์ (Wang และคณะ, 1997; Li และคณะ, 1998; Heber และคณะ, 1999) ข้าวแดง หรืออังคัก (ในภาษาจีน) มีการใช้อย่างแพร่หลายในประเทศจีนมานานกว่าพันปีแล้ว โดยนำไปใช้ในแง่เป็นอาหาร ยาช่วยย่อยอาหาร และการไหลเวียนโลหิต งานวิจัยในปัจจุบันเผยให้เห็นองค์ประกอบหลักในข้าวแดงที่ได้จากการเจริญของเชื้อราโมแนสคัสบนเมล็ดข้าว มีสารออกฤทธิ์ทางยา ได้แก่ สารประกอบโมนาโคลินชนิดต่างๆ (Ma และคณะ, 2000 และ Hebers และคณะ, 2001) ซึ่งสารดังกล่าวพบว่าให้ผลลดระดับคลอเลสเตอรอล (Endo, 1979, 1980, 1985; Endo และคณะ, 1976, 1985 ; Brown และคณะ, 1976) โมนาโคลินสร้างขึ้นระหว่างการเจริญของโมแนสคัสในระยะคงที่ (stationary phase) โดยจัดเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดทุติยภูมิ (secondary metabolite) กลุ่มผู้วิจัยรายงานการวิจัยก่อนหน้า (Yongsmith และคณะ, 1990, 1994, 2004 ; Kriarak และคณะ, 1991, 1999, 2000) ศึกษาการเจริญและการสร้างสารสีผสมอาหาร ซึ่งมีลักษณะการเจริญ และกระบวนการสร้างที่คล้ายกัน จึงสามารถนำความรู้ความเข้าใจจากการทดลองก่อนหน้า มาประยุกต์ใช้เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโมนาโคลินบนอาหารแข็ง เทคโนโลยีการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็งได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นจากในอดีต โดยหันไปศึกษาการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว ซึ่งทำได้ง่าย แต่ก็มีข้อจำกัดในแง่ของอุปกรณ์ที่มีราคาแพง สำหรับเทคโนโลยีการเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง สามารถทำได้ง่ายเนื่องจากใช้เทคโนโลยีไม่ซับซ้อน และสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตในอุตสาหกรรมระดับเล็ก-กลาง (SME) อีกทั้งประเทศไทยมีผลผลิตธัญพืชทางการเกษตรหลายชนิดที่มีราคาถูก จึงสามารถนำมาเพิ่มมูลค่า เพื่อใช้ทั้งภายในประเทศ และการส่งออก จะช่วยยกระดับคุณภาพชีวิตในแง่ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดเนื่องจากภาวะระดับคลอเลสเตอรอลสูง

2.1 เชื้อราโมแนสคัส

ประวัติและความสำคัญของเชื้อราโมแนสคัส

เชื้อราโมแนสคัสสามารถจัดจำแนกได้ดังนี้ (Alexopoulos และ Mims , 1979)

Class Ascomycetes

Subclass Plectomycetidae

Order Eurtials

Genus *Monascus*

โมแนสคัสแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่ม ตามความแตกต่างทางสรีรวิทยา และความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ได้แก่ *M. pilosus, M. purpureus, M. ruber* (Hawksworth และ Pitt, 1983) และ *M. floridanus* (Bridge และ Hawksworth, 1985 และ Barnard และ Cannon, 1987) เจริญได้ดีบนอาหารแข็งในรูปข้าวแดง (Ang-kak) เพื่อใช้ปรุงแต่งสีในไวน์ การผลิตเต้าหู้ยี้ ใช้ถนอมอาหารประเภทเนื้อ ใช้รักษาโรครวมทั้งใช้เป็นสีผสมในอาหาร ยา และ เครื่องสำอาง ต่อมาผลิตเป็นการค้าในประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน จีน และเยอรมัน (Hendry และ Houghton, 1992 ; Kumari และคณะ , 2009)

ในปี 1920 Church รายงานถึงการทดลองแยกสายพันธุ์ที่ได้จากข้าวแดงของประเทศจีน จนในที่สุดก็ทราบว่าเชื้อราที่สร้างสารสีแดงคือ *M. purpureus* ต่อมา Palo และคณะ (1960) ได้ทดลองใช้เชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ผลิตข้าวแดงที่มีคุณภาพดีพอสมควร และสามารถนำข้าวแดงมาใช้เป็นสีผสมอาหารได้โดยตรง ภายหลังจึงมุ่งความสนใจไปที่การผลิตสารต่าง ๆ โดยการเจริญบนอาหารเหลว (Submerged cultivation) (Lin,1973) ทำให้มีรายงานการผลิตสีในอาหารเหลวต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก (Shephered และ Carels, 1983 ; Yoshimaru และคณะ, 1975 ; Lee และคณะ , 1995)

เชื้อราโมแนสคัสนอกจากสร้างสารสีแล้ว ยังสร้างสารอื่นที่เป็นประโยชน์อีกหลายชนิด สาร monascidin A จากเชื้อรา *M. purpureus* (Wong และ Bau , 1977) มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหาร ได้แก่ *Bacillus* sp. *Streptococcus* sp. และ

Pseudomonas sp. เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบการสร้างเอนไซม์ โคเอนไซม์ เอทธานอล สารโมนาโคลิน ที่ใช้ยับยั้งการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล สารลดความดันโลหิต และสารช่วยในการตกตะกอน (Flocculants) อีกด้วย (Fink-Gremmels และ Leistner, 1989)

ลักษณะสันฐานวิทยา และการสืบพันธุ์ของเชื้อราโมแนสคัส

เชื้อราโมแนสคัส *(Monascus* spp.) เคยจัดอยู่ใน Family Aspergillaceae Order Plectascales แต่ปัจจุบันอยู่ใน Family Monascaceae Class Ascomycetes Subclass Plectomycetidae Order Eurotiales เส้นใยมีผนังกั้น มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านสาขามากมาย และมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง เส้นใยเมื่ออายุอ่อนมีสีขาว แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีแดงหรือม่วง

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยสร้างโคนิเดีย (Conidia) ที่พัฒนามาจากโคนิดิโอฟอร์ (Conidiophore) จะสร้างโคนิเดีย รูปร่างกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือหลายโคนิเดียต่อกันเป็นลูกโซ่อยู่ที่ปลายเส้นใย โคนิเดียมักไม่มีสี แต่เมื่ออายุมากขึ้นอาจจะมีสีแดงหรือสีน้ำตาลอ่อน (Ainswarth และคณะ, 1973 ; Hawksworth และ Pitt, 1983) โคนิดิโอฟอร์มีขนาดสั้นอาจมีผนังกั้น (Septate) หรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ ถ้ามีขนาดยาวจะมีผนังกั้น 2 - 6 อัน เป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่ออายุมากขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร เช่น C medium เหมาะสมสำหรับการเกิดโคนิเดียของโมแนสคัส นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นอีกหลายๆ ประการ เช่น อายุสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ ระดับพีเอช ความเข้มแสง และอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 35 องศาเซลเซียส มักพบการงอกของโคนิเดียภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อได้รับความชื้น และอุณหภูมิที่เหมาะสม จึงแทงปลายเส้นใยออกจากสปอร์ (Germ tube) ขึ้นมา 1 เส้น หรือ 2 เส้น หรือบางครั้งอาจมีมากถึง 6 เส้น

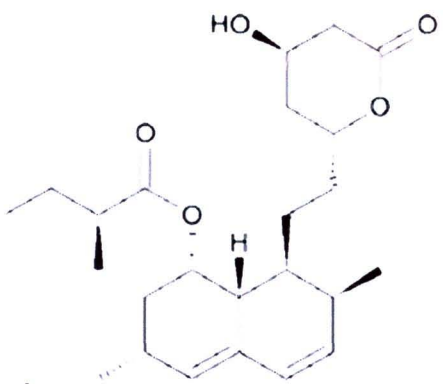
การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราโมแนสคัสคล้าย ๆ กับเชื้อราอื่นใน Class Ascomycetes มีการสร้างเพอริทีเซียม (Perithecium) หรือคลิสโททีเซียม (Cleistothecium) ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (Ascocarp) มีรูปร่างกลม โดยจะเกิดบนก้าน (stalk) (Von Arx, 1974) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (Homothallic) โดยการสร้างโครงสร้างออกมา 2 ชนิด คือ แอนเทอริเดียม (Antheridium) และแอสโคโกเนียม (Ascogonium) เกิดการหลอมรวมกัน (Fusion) ที่ปลายแอสโคโกเนียมกับส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียม แล้วจึงจะมีการขยายผนังเซลล์รวมออก และพัฒนาไปเป็นแอสโคคาร์ปขึ้นในที่สุด ซึ่งภายในแอสโคคาร์ปมีแอสโคสปอร์ (Ascospores) มากมาย โดพบ 2 – 8 แอสโค

สปอร์ จะบรรจุรวมอยู่ภายในแอสคัส (Ascus) แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีแดง สีส้ม หรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์งอกออกมา จากนั้นจึงเริ่มต้นการเจริญใหม่ต่อไป

2.2 ความสัมพันธุ์ระหว่างสารโมนาโคลิน และ คลอเลสเตอรอล (Alberts และคณะ, 1998)

คุณสมบัติสารโมนาโคลิน

โมนาโคลินหรือที่รู้จักทางการค้าว่า โลวาสแตติน ระบบการเรียกชื่อ (IUPAC) [8-[2-(4-hydroxy-6-oxo-oxan-2-yl)ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen- 1-yl] 2-*methylbutanoate* ($C_{24}H_{36}O_5$) มวลโมเลกุล 404.54 กรัมต่อโมล นำมาตรวจสอบคุณสมบัติทางยาดังนี้ ชีวปริมาณออกฤทธิ์ (Bioavailability) น้อยกว่า 5% การจับโปรตีนในกระแสเลือด (Binding protein) มีมากกว่า 95% กระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) ยาออกฤทธิ์ต่อตับ (CYP3A substrate) ส่วนค่าครึ่งชีวิต (Half life) เท่ากับ 1.1-1.7 ชั่วโมง เมื่อรับประทานยาไม่มีผลกระทบ (Negligible) ต่อการขับถ่าย (Excretion) ซึ่งตรวจพบเพียง 10 % ในปัสสาวะ และ 83 % ในอุจจาระ (ภาพที่ 2.1)



<u>ภาพที่ 2.1</u> โครงสร้างทางเคมีของ Lovastatin

ที่มา : Dhale และคณะ, 2007

ประวัติในการศึกษาสารโมนาโคลิน

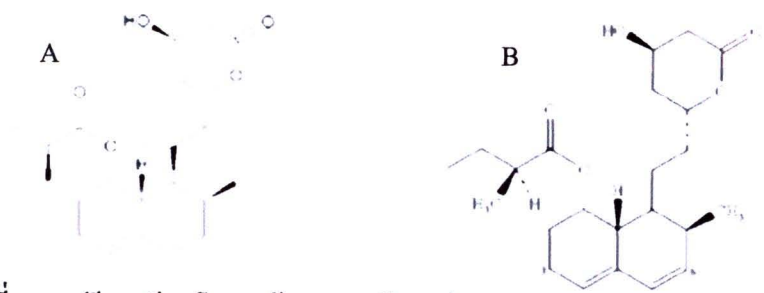
โมนาโคลิน สกัดแยกได้จากเชื้อรา *Aspergillus terreus* จัดเป็นสแตตินตัวแรกที่ได้รับอนุญาตโดยองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration หรือ FDA) และเป็นผลผลิตทางธรรมชาติ ที่ได้ปริมาณสูง จากเชื้อรา เช่น *Pleurotus ostreatus* และ *Pleurotus* spp. (Bobek และคณะ, 1998)

ในปี 1970 ค้นพบว่า สารคอมแพคติน (Compactin) และโมนาโคลิน (Lovastatin) เป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 3-hydroxy-3methyl-glutaryl-coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล และใช้คุณสมบัตินี้มาพัฒนาศักยภาพของยาสำหรับลดคลอเลสเตอรอลชนิด LDL (Vederas และคณะ, 1985)

ในปี 1976 Endo และคณะ ได้พบสารคอมแพคตินหรือในทางการค้าเรียกว่า เมวาสแตติน (Mevastatin) ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *P. citrium* ได้ทำการวิจัยพบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์เป้าหมาย และลดการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล จึงเป็นผู้ริเริ่มทำให้มีการค้นคว้า และศึกษาหาสารที่สามารถยับยั้ง HMG CoA reductase ในธรรมชาติจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และค้นพบเมแทบอลิซึมของ สารโมนาโคลิน (ภาพที่ 2.2A) ที่แยกได้จากเชื้อราในเวลาต่อมา โครงสร้างสารโมนาโคลินเสถียรและคงตัว แตกต่างกับสารคอมแพคตินที่มีกลุ่ม alphamethyl ในโครงสร้างวงแหวน hexahydronaphthalene

อย่างไรก็ตามในปี 1980 พบว่าสารคอมแพคติน มีความเป็นพิษในสัตว์ เพราะโครงสร้างที่คล้ายคลึงกันระหว่าง คอมแพคติน และโมนาโคลิน ยากต่อการตรวจสอบ (ดังแสดงในรูปที่ 2.2B) การศึกษาทางแพทย์เกี่ยวกับสารโมนาโคลิน ได้ถูกระงับชั่วคราว จึงเปลี่ยนไปศึกษาเรื่องผลกระทบของสารที่มีต่อสัตว์ทดลอง

ในปี 1982 มีการศึกษาระดับห้องปฏิบัติการเพื่อสำรวจคุณสมบัติเกี่ยวกับสารโมนาโคลิน ซึ่งแยกได้จากเชื้อรา *A. terreus* พบว่าในคนไข้ภาวะเสี่ยง สารโมนาโคลินนี้สามารถลดคลอเลสเตออลชนิด LDL ได้ และเมื่อสนับสนุนการศึกษาความเป็นพิษของสารต่อสัตว์ทดลอง ปรากฏว่าไม่มีฤทธิ์เป็นพิษ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการศึกษาสารคอมแพคติน ดังนั้นจึงได้ดำเนินงานวิจัยทางการแพทย์ต่อไป



ภาพที่ 2.2 เปรียบเทียบโครงสร้างทางเคมีระหว่าง Lovastatin (A) และ Compactin (B)
ที่มา : Dhale และคณะ (2007) และ Belo และคณะ (1993)

สารนี้ได้รับรองประสิทธิภาพโดยองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ในปี 1987 พบว่าปริมาณของสารโมนาโคลิน ที่อยู่ในแต่ละผลิตภัณฑ์ปริมาณ 80 มิลลิกรัม สามารถลด LDL ได้ถึง 40% ซึ่งมีระดับการออกฤทธิ์ดีกว่ายาลดคลอเลสเตอรอลชนิดอื่นๆ คุณสมบัติทางยามีผลกระทบน้อยมาก ง่ายต่อการรักษาคนไข้จึงเป็นที่ยอมรับอย่างรวดเร็ว แต่มีผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ทรานอะมิเนส (Transaminase) ในตับ และมีผลต่อกล้ามเนื้อด้วย

ในปี 1998 องค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกา สั่งห้ามขายอาหารเสริมที่มีส่วนผสมของข้าวแดงจากการหมักโดยใช้ยีสต์เป็นหัวเชื้อ ภายหลังพบว่ามีส่วนประกอบของโมนาโคลินในอาหารเสริม จึงมีข้อโต้แย้งว่าอาหารเสริม มีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติทางยา

2.3 การค้นพบทางชีวเคมีและทางชีววิทยา

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าปัจจัยเสี่ยงหลักของโรคหลอดเลือดหัวใจ คือ การมีระดับไขมันสูงในเลือดทำให้ไขมันเกาะติดผนังหลอดเลือดจึงมีความยืดหยุ่นน้อยและหนาขึ้นจนเกิดสภาพของหลอดเลือดแข็งและตีบ ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดหลอดเลือดแข็ง เกี่ยวข้องกับตัวพาไขมันไปตามเส้นเลือดซึ่งเรียกว่า ไลโพโปรตีน (Lipoprotein) มี 2 ชนิดคือ

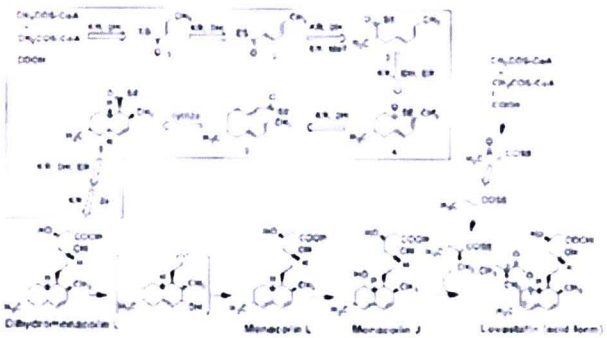
- Low-density lipoproteins (LDL) ซึ่งจะพาคลอเลสเตอรอล จากตับไปสู่ร่างกาย LDL เป็นไขมันที่ก่อให้เกิดพิษหากมีมากจะทำให้เกิดหลอดเลือดแดงตีบได้ง่าย

- High-density lipoproteins (HDL) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีประโยชน์ โดยพาคลอเลสเตอรอล จากร่างกายเข้าสู่ตับ หากมี HDL ในปริมาณสูงส่งผลให้เกิดโรคหลอดเลือดน้อยลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งคือ LDL -C (Low density lipoprotein cholresterol) ซึ่งเป็นไลโพโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีในตับมากถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ทำหน้าที่พาคลอเลสเตอรอลจากตับไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ เมื่อเนื้อเยื่อต้องการใช้คลอเลสเตอรอล ซึ่งเป็นจุดสำคัญที่ต้องลดระดับคลอเลสเตอรอลส่วนเกินในร่างกายโดยรักษาให้ร่างกายทำงานเป็นปกติอยู่เสมอ (Alberts และคณะ, 1998)

2.4 กระบวนการสังเคราะห์สารโมนาโคลิน

สารโมนาโคลินประกอบด้วยโพลีคีไทด์ 2 สายจากอนุพันธ์ของอะซีเตต โดยโพลีคีไทด์สายแรก อะซิเตตมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็น Dihydromonacolin L monacolin L และ monacolin J ตามลำดับ ส่วนโพลีคีไทด์สายที่สอง อะซิเตตมีการเปลี่ยนแปลงไอโซเมอร์แล้ว

เชื่อมต่อกับโพลีคีไทด์สายแรกในรูป monacolin J โดยพันธะเอสเทอร์แล้วได้สารโลวาสแตตินในรูปกรด (acid form) (ภาพที่ 2.3) สารประกอบนี้สร้างโดย *A. terreus* (Hendrickson, 1999)



<u>ภาพที่ 2.3</u> กระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพของ Lovastatin
ที่มา : Hirama (1982) และ Hirama (1983)

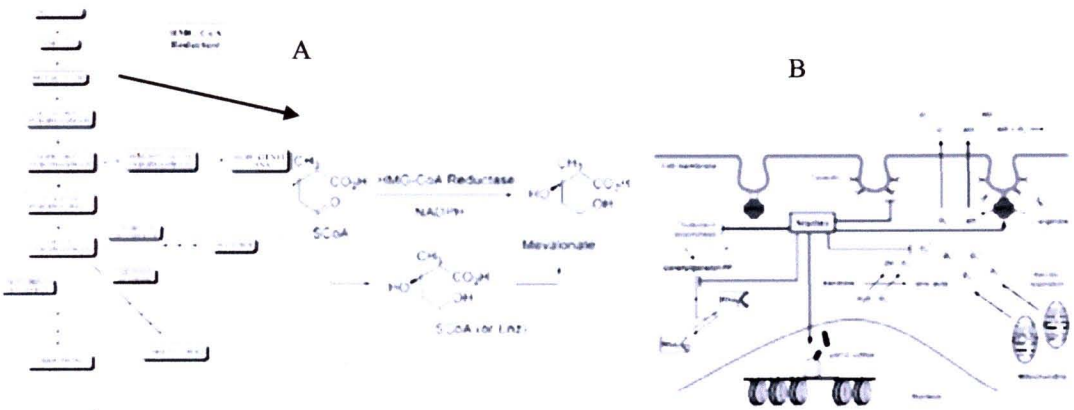
กลไกการทำงานของโมนาโคลิน (จันทนี, 2545)

สารโมนาโคลินสามารถยับยั้ง HMG-CoA reductase อย่างจำเพาะ โดยที่เอนไซม์ HMG-CoA reductase จะใช้เป็นตัวกลางในการเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นเมวาโลเนต (Mevalonate) และสังเคราะห์เป็นคลอเลสเตอรอลต่อไป (Alberts, 1998) สารโลวาแตตินจะขัดขวางการสร้างคลอเลสเตอรอล โดยการไปแย่งจับบริเวณเร่ง (Active site) ของเอนไซม์ HMG-CoA reductase จึงทำให้เกิดการยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอล (ภาพที่ 2.4) สารโมนาโคลินไม่แสดงฤทธิ์ทางยาในรูปโครงสร้างปกติ แต่เมื่อโครงสร้างถูกสลายด้วยน้ำ (Hydrolysis) เป็น β-hydroxy acid จะทำให้สารออกฤทธิ์ได้ในร่างกาย (ภาพที่ 2.5)

2.5 คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา (จันทนี , 2545)

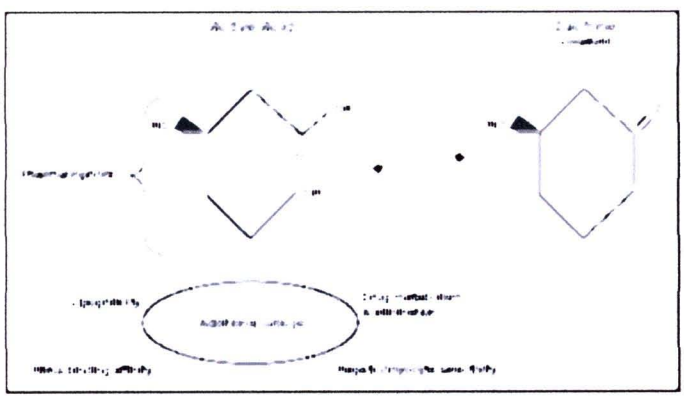
สารประกอบไขมันในเลือดมีองค์ประกอบของ ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) คลอเลสเตอรอลอิสระ (Free cholresterol) คลอเลสเตอรอลเอสเทอร์ (Cholresterol ester) และฟอสโฟลิปิด (Phospholipid) ซึ่งไขมันเหล่านี้ไม่สามารถรวมกับน้ำได้ จึงต้องรวมกับโปรตีน (Apoprotein) และไหลเวียนตามกระแสเลือดในรูปของไลโพโปรตีน เมื่อในเลือดมีสารเหล่านี้ในความเข้มข้นสูง จำเป็นต้องใช้ยาลดไขมันมาควบคุมระดับไขมันในเลือด

ยาลดไขมันในเส้นเลือด (Antihyperlipidaemic drug) มีอยู่หลายชนิด แต่ละชนิดมีคุณสมบัติและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่แตกต่างกัน ได้แก่



ภาพที่ 2.4 A วิถีการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอลทางชีวภาพ ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase เป็นขั้นตอนควบคุมอัตราเร็วการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอล

B : สารตัวกลางสแตตินมีผลโดยตรงต่อ Endothelial cells และเนื้อเยื่อต่างๆ



ภาพที่ 2.5 สเตตินชนิดต่างๆ ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายจะอยู่ในรูปของกรดที่ทำงานได้ (active acid form) จึงสามารถยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ขณะที่ Lovastatin ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายจะอยู่ในรูปของแลกโตน (lactone form) จึงต้องเปลี่ยนรูปไปเป็นกรดก่อน จึงสามารถออกฤทธิ์เพื่อเข้าจับกับเอนไซม์ได้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

1. nicotinic acid ได้แก่ niacin (Vitamin B_3)

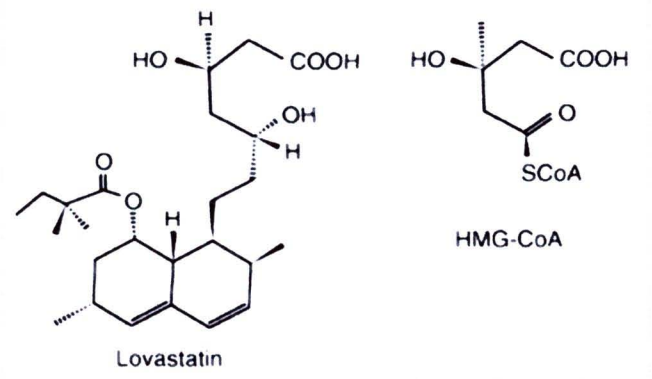
2. fibric acid derivative หรือ fibrate ได้แก่ bezafibrate , gemfibrozil , fenofibrate

3. bile acid sequestrants ได้แก่ cholestyramine และ cholestipol

4. statin (hydroxy-methylglutaryl-coenzymeA(HMG-CoA)reductase inhibitor)

5. miscellaneous ได้แก่ probucol

สารโมนาโคลินหรือโลวาสแตติน เป็นยาในกลุ่มสแตติน ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase (HMG-CoA reductase inhibitor) ยากลุ่มนี้มีโครงสร้างคล้ายกับ HMG-CoA (ภาพที่ 2.6) จะออกฤทธิ์ยับยั้งแบบผันกลับได้โดยไปแย่งจับบริเวณเร่ง (Reversible competitive inhibitor) ของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ตัวอย่างยากลุ่มสแตติน ได้แก่ Pravastatin , Fluvastatin และ Atorvastatin เป็นต้น ปัจจุบันอาจกล่าวได้ว่ายาในกลุ่มสแตตินนี้มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลด LDL- C



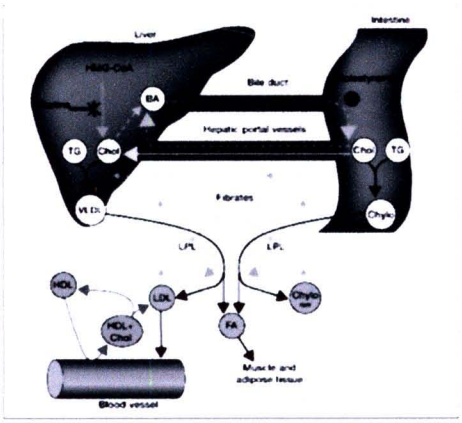
<u>ภาพที่ 2.6</u> ความคล้ายคลึงระหว่างโครงสร้าง Lovastatin และ HMG – CoA

2.6 กลไกการออกฤทธิ์

ยากลุ่มโมนาโคลินออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอลในตับ โดยเป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase (3-hydroxyl 3-methyl-glutaryl-coenzyme A) ซึ่งเป็น

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 28 ก.ย. 2555
เลขทะเบียน 246467

ตัวควบคุมการสร้างคลอเลสเตอรอล (Rate controlling enzyme) ให้ลดลง ผลที่ตามมา คือ ทำให้มีการเพิ่มปริมาณของตัวรับไลโพโปรตีน (LDL receptor) ที่ผนังเซลล์ของตับ เพื่อที่จะเพิ่มการจับ LDL จากเลือดทำให้ LDL-C ลดลง (ภาพที่ 2.7)



ภาพที่ 2.7 การขนส่งไขมัน และเภสัชวิทยาของระดับไขมันในเลือด

BA: bile acid; Chol: cholesterol; Chylo: chylomicron; Chylo rem: chylomicron remnant; FA: fatty acid; HDL: high-density lipoprotein; HMG-CoA: hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase; LDL: low-density lipoprotein; LPL: lipoprotein lipase; TG: triglyceride; VLDL: very low-density lipoprotein.

โดยในทางคุณสมบัติทางเภสัชจลศาสตร์ พบว่าสารโมนาโคลินไม่สามารถแสดงฤทธิ์ได้ในรูปปกติ (Prodrugs) จำเป็นต้องเปลี่ยนเป็นยาในรูปแบบที่ออกฤทธิ์ได้ (Active drugs) ยาในกลุ่มนี้จะเกิดกระบวนการภายหลังจากที่รับประทานยาเข้าสู่ร่างกาย และมีการขจัดผ่านทางตับ ก่อนที่ยาจะเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตและออกฤทธิ์ (First-pass metabolism) สูง พบว่าปริมาณยาเพียง 5-20 % ของขนาดยาที่เข้ากระแสเลือด และจับกับโปรตีนในเลือดสูงถึง 95% ระดับยาในเลือดจะออกฤทธิ์สูงสุดภายในเวลา 1-4 ชั่วโมง หลังการรับประทานอาหาร 70% ของยากลุ่มนี้จะถูกเปลี่ยนแปลงแล้วถูกขับออกทางตับ คุณสมบัติในการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา มีดังนี้

1. สามารถลด LDL-C ได้ 20 - 55% ขึ้นกับขนาดของยาที่ใช้ ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อคลอเลสเตอรอลในเลือด ซึ่งจะเกิดขึ้น 4 - 6 สัปดาห์ภายหลังการรับประทานยา

2. สามารถลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในผู้ป่วยที่มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ ในเลือดสูงกว่า 250 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ได้ 20-40 % โดยเฉพาะการใช้ขนาดยาที่มีความเข้มข้นสูง (High potency statins) ซึ่งได้แก่ Simvastatin และ Atovastatin ดังนั้นอัตราการลดไตรกลีเซอไรด์จึงขึ้นกับขนาดของยาเช่นกัน

3. สามารถเพิ่มระดับ HDL-C (High density lipoprotein - cholresterol) ได้ 5-10 % โดยแสดงความสามารถในการออกฤทธิ์ยาในกลุ่มสแตติน ได้ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ระดับการออกฤทธิ์ของโมนาโคลิน

Drug	Absolute Bioavailability(%)	Excretion	Half- life (t1/2 hr)	Protein binding (%)	Cytochome(CYP) P450 substate
Atorvastatin	14	<2%(urine)	14	> 98	CYP3A4
Cerivastatin	60	24% (urine) 70% (feces)	2-3	> 99	CYP3A4
Fluvastatin	24	<6% (urine) 90% (feces)	<1	98	CYP2C9
Lovastatin	< 5	10% (urine) 83% (feces)	3-4	> 95	CYP3A4
Pravastatin	17	20% (urine) 70% (feces)	1.8	50	-
Simvastatin	< 5	13% (urine) 60% (feces)	3	95	CYP3A4

ที่มา : จันทนี, 2545

2.7 ผลกระทบจากการใช้ยากลุ่มสแตติน

1. ผลกระทบต่อตับทำให้เอนไซม์ทรานอะมิเนส ในกระแสเลือดมีการทำงานเพิ่มขึ้นราว 3 เท่าของค่าปกติ พบได้ประมาณ 1 เปอร์เซ็นซึ่งมักจะเป็นแบบชั่วคราว และไม่ทำให้เกิดพิษต่อตับ ดังนั้นจึงควรวัดการทำงานของเอ็นไซม์อะมิโนทรานสเฟอเรส (Aminotransferase) ก่อนให้ยาและทุก 2-4 เดือน และควรหยุดใช้ยาเมื่อกิจกรรมของเอนไซม์อะมิโนทรานสเฟอเรสเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 3 เท่าของค่าปกติ

2. ผลกระทบต่อกล้ามเนื้อ อาการที่ไม่พึงประสงค์ที่พบรองลงมาคือ กิจกรรม Creatine kinase (CK) สูงขึ้น โดยเอนไซม์ตัวนี้เร่งการขนย้ายหมู่ฟอสเฟตจาก Creatine phosphate ไปยัง Adenosine diphosphate (ADP) และในขั้นสุดท้ายได้ Adenosine triphosphate (ATP) ซึ่งเป็นแหล่ง

พลังงานที่สำคัญ เอนไซม์ CK มีเฉพาะในกล้ามเนื้อ และพบได้บ้างในเนื้อเยื่อสมอง กระบวนการอิเล็คโตรโฟลิซิสสามารถแยกเอนไซม์ CK ได้อย่างน้อย 3 ตัว โดยที่ CK จากกล้ามเนื้อลายและสมองมีเพียงกลุ่มเดียวแต่ต่างตำแหน่งกัน ส่วน CK จากกล้ามเนื้อหัวใจจะให้ 2 กลุ่มโดยที่กลุ่มหนึ่งคล้ายกับของกล้ามเนื้อลาย ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งอยู่ระหว่าง CK ของกล้ามเนื้อลายและของเนื้อเยื่อสมอง เมื่อพบว่ากิจกรรมของ CK ในซีรั่มสูงกว่าปกติ โดยจะเริ่มเพิ่มสูงขึ้นในช่วง 3 – 6 ชั่วโมง และจะเพิ่มขึ้นสูงสุดใน 24 - 36 ชั่วโมง มีผลทำให้หัวใจวายได้ จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ตรวจภาวะของหัวใจวาย เมื่อเริ่มรู้สึกว่ามีการเจ็บหน้าอก แต่เอนไซม์ตัวนี้จะถูกกำจัดออกจากพลาสม่าได้โดยเร็ว จึงพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์นี้กลับสู่สภาวะปกติได้ภายในเวลาเพียง 3 วัน โดยเมื่อเทียบกับเอนไซม์ตัวอื่น เช่น SGOT LDH เป็นต้น และอาจทำให้เกิดความผิดปกติของกล้ามเนื้อ (Myopathy) โดยเฉพาะเมื่อใช้ยากลุ่มนี้ร่วมกับยาลดไขมันในเลือดกลุ่ม Fibric acid derivatime และ Nicotinic acid ส่วนยาอื่นๆ ที่จะมีผลทำให้อาการไม่พึงประสงค์ต่อกล้ามเนื้อถ้าให้ร่วมกับยาในกลุ่มสแตติน ได้แก่ ยาที่ถูกเมแทบอไลส์โดย Cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 4 (CYP3A4) เช่นเดียวกับสแตติน ได้แก่ Erythromycin Itraconazole ดังนั้นจึงควรวัดกิจกรรมของเอนไซม์นี้ และโดยเฉพาะผู้ป่วยที่รับประทานยาสแตตินร่วมกับยาเหล่านี้จะต้องลดขนาดยาสแตตินลง ไม่ให้ยามากกว่า 25 เปอร์เซ็นของขนาดสูงสุดที่ใช้ในการรักษา

2.8 ประโยชน์ในการรักษา

ใช้กับผู้ป่วยที่มีคลอเลสเตอรอลสูงทุกชนิดซึ่งอาจใช้ตัวยับยั้งรีดักเตสเพียงชนิดเดียวหรือใช้ร่วมกับยาอื่น ได้แก่ Bile acid-binding resins หรือ Nicotinic acid ซึ่งจะต้องระมัดระวังเรื่องของปฏิกิริยาสัมพันธ์ของยาที่อาจทำให้เกิดกล้ามเนื้อผิดปกติได้ ยาในกลุ่มสแตตินสามารถลดอัตราของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และ อัตราการตายในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจที่มีระดับไขมันสูงขณะเดียวกันยากลุ่มนี้ยังมีบทบาทในป้องกันปฐมภูมิ (Primary prevention) สำหรับผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเป็นโรคเลือดหัวใจ ได้แก่ ผู้ที่มีไขมันในเลือดสูงกับการมีโรคความดันโลหิตสูงหรือเบาหวาน เป็นต้น

2.9 ความสัมพันธ์ระหว่างเมแทบอลิซึมปฐมภูมิ และเมแทบอลิซึมทุติยภูมิ

สารโมนาโคลินจากเชื้อราโมแนสคัสจัดเป็นสารเมแทบอไลท์ประเภททุติยภูมิ (Hassan, 2001) ซึ่งไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับหน้าที่เมแทบอลิซึมที่สำคัญๆ ของสิ่งมีชีวิตที่สร้างขึ้นมา ลักษณะประการหนึ่งของสารประกอบชนิดนี้ คือ การสร้างสารหลังจากช่วงการเจริญผ่านไปแล้ว การแยกจากกันระหว่างการเจริญของเซลล์กับการสร้างสารทุติยภูมิ ในบางครั้งก็ใช้เป็นคำจำกัดความของ

สารทุติยภูมิ แต่กลไกการสร้างดังกล่าวไม่สามารถยึดเป็นหลักในการจัดจำแนกได้ เพราะว่าในบางกรณีสารทุติยภูมิสามารถสังเคราะห์ในระหว่างการเจริญ สารทุติยภูมิอยู่ในผลิตภัณฑ์หลักประเภทที่ 3 ตามการแบ่งประเภทของผลิตภัณฑ์หลักจากกระบวนการหมัก ดังนี้

1. ผลิตภัณฑ์หลักจากเมแทบอลิซึมแบบปฐมภูมิโดยตรง
2. ผลิตภัณฑ์หลักจากเมแทบอลิซึมแบบปฐมภูมิโดยอ้อม
3. ผลิตภัณฑ์หลักที่ไม่เกี่ยวกับการเมแทบอลิซึม

ผลิตภัณฑ์อื่นที่ได้จากเชื้อราโมแนสคัส

Kranz และคณะ (1992) พบว่าเชื้อรา *M. purpureus* สร้าง Methyl ketone ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสใน Blue cheese ได้ดีใกล้เคียงกับ *P. roquefortii* เมื่อใช้สารตั้งต้นเป็นกรดไขมันสายสั้น ๆ ข้าวหมักสีแดง (Red fermented rice: RFR) เป็นที่รู้จักในด้านยาสำหรับการรักษาอาการอาหารไม่ย่อย และการหมุนเวียนโลหิตในประเทศจีน และมีการบริโภคเป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพกันอย่างมาก (Wang และคณะ, 2002) Haws และคณะ (1959) พบโครงสร้างของรูโบรพังตาติน (Rubropunctatin, $C_{21}H_{22}O_5$) ซึ่งเป็นสารสีส้ม และสารสีเหลืองโมนาสซิน (Monascin, $C_{21}H_{26}O_5$) ที่แยกได้จากเชื้อรา *M. rubropunctatus* Sâto Fielding และคณะ (1961) ศึกษาการสร้างสารสีที่ Nishikawa แยกได้จาก *M. purpureus* Went คือ โมนาสโครูบริน (Monascorubrin, $C_{23}H_{23}O_5$) และ โมนาสโคฟลาวิน (Monascoflavin) หรือ โมนาซิน Nakanishi และคณะ (1959) แสดงให้เห็นว่าโมนาสโครูบรามีน (Monascorubramine) และรูโบรพังเตตามีนเปลี่ยนมาจากโมนาสโครูบริน และรูโบรพังตาติน (สีส้ม) ตามลำดับ Hiroi และคณะ (1975) ศึกษาโครงสร้างของสารสี 2 ชนิด คือ โมนาสโครูบริน (สีส้ม) และรูโบพังเตตามีน (สีม่วง) Manchand และคณะ (1973) พบว่าเชื้อราโมแนสคัสแต่ละสายพันธุ์ให้สารสีแตกต่างกันออกไปและพบการสร้างสารสีเหลืองตัวใหม่จากเชื้อรา *M. anka* Sweeny และคณะ (1981) สามารถสกัดสารสีจากโคจิของ *M. anka*

2.10 การเลี้ยงเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง (บุษบา, 2542)

เชื้อราที่เจริญบนข้าวสามารถปล่อยสารสีออกมานอกเซลล์ได้มาก ทำให้ไม่เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์สารสี จึงสร้างสารสีได้สูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว เชื้อราโมแนสคัสสายพันธุ์ที่นิยมใช้หมักข้าวแดง ได้แก่ *M. purpureus* และ *M. anka* ซึ่งการผลิตข้าวแดงให้ได้คุณภาพดี

ขึ้นอยู่กับปัจจัยสำคัญหลายประการที่มีผลต่อการสร้างสารสีของเชื้อราโมแนสคัสบนอาหารแข็ง ได้แก่ สายพันธุ์ข้าว สายพันธุ์เชื้อรา สภาวะเลี้ยงเชื้อ เช่น ความชื้น อุณหภูมิ และค่าพีเอช เป็นต้น โดยทั่วไปสายพันธุ์เชื้อราโมแนสคัสเจริญบนเมล็ดข้าวโดยการงอกของเส้นใยทั่วทั้งผิวหน้า และทะลุเข้าไปภายในเมล็ดข้าวนั้นก็จะมีการสร้างสารผลิตภัณฑ์ได้ภายหลังจากการบ่มได้นาน 3 วัน สารเหล่านี้เมื่อมีการนำมาสกัดด้วยสารละลายเอทานอล พบว่าสารสีแดงทั่วไปจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 420 และ 500 นาโนเมตร บางสายพันธุ์ที่ให้สีข้าวแดงหรือ อังคัก เป็นสีแดงสด หรือแดงเข้ม จะมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร สูงกว่าที่ 420 นาโนเมตร เช่น ที่พบในสายพันธุ์ของ *M. purpureus* หรือ *M. anka* แต่บางสายพันธุ์อาจให้สีแดงเข้มคล้ำ โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร สูงกว่าที่ 500 นาโนเมตร หรือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 370 นาโนเมตร สูงกว่าที่ 500 นาโนเมตร เป็นต้น เช่น สายพันธุ์ *M. barkeri* หรือ *M. kaoliamg*