บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

แอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีปริมาณ guanine และ cytosine เป็นองค์ประกอบของสารพันธุกรรมในเซลล์สูง มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลายชนิด ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นเส้นใย โคโลนีเป็นกำมะหยี่สีต่างๆได้แก่ สีขาว, เหลือง, เทา เป็นต้น แอคติโนมัยสีทมีบทบาทที่สำคัญต่อระบบนิเวศ เนื่องจากเป็นผู้ย่อยสลายอินทรียวัตถุในดิน ได้แก่ ลิกโนเซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส, ไคติน และแพคติน เป็นต้น นอกจากนี้ แอคติโนมัยสีทในสกุล *Frankia* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนในอากาศ (Goodfellow and Brard, 1980)

แอคติโนมัยสีทนอกจากจะมีความสำคัญต่อระบบนิเวศแล้วยังเป็นแหล่งที่สำคัญของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive Compound) ซึ่งมีความสำคัญทั้งทางการแพทย์และมีคุณค่าทางเศรษฐกิจโดยเฉพาะทางเทคโนโลยีชีวภาพ อาทิเช่น สารปฏิชีวนะ สารต้านมะเร็ง อาหารเสริม และรงควัตถุ เป็นต้น (Mitchell *et al.,*2004) โดยยาปฏิชีวนะที่มาจากแหล่งธรรมชาตินั้นมาจากแอคติโนมัยสีทถึงร้อยละ 70 แต่ช่วง 20 ปีที่ผ่านมา อัตราการค้นพบแอคติโนมัยสีทและสารปฏิชีวนะตัวใหม่จากแหล่งที่อยู่บนพื้นดินมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ความต้องการยาปฏิชีวนะสำหรับการยับยั้งเชื้อโรคที่ดื้อยาและโรคฉวยโอกาส (opportunistic disease) เช่นผู้ป่วยโรคเอดส์และผู้ป่วยที่มีการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ มีเพิ่มมากขึ้นทุกขณะ ดังนั้นการแสวงหาแหล่งที่มาของยาปฏิชีวนะชนิดใหม่จึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งยวด

เมื่อพิจารณาถึงพื้นผิวโลกที่ถูกปกคลุมด้วยทะเลถึงสองในสามส่วนแต่กลับไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในทะเลเพื่อหาแนวทางในการใช้ประโยชน์ในทางเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเฉพาะในประเทศไทยมีพื้นที่ทางภาคใต้ติดทั้งทะเลอันดามันและ

อ่าวไทย และยังอยู่ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ซึ่งเป็นเขตร้อนชื้น ที่เป็นที่ทราบกันดีว่ามีความหลากหลายทางชีวภาพสูง จึงมีความเป็นไปได้ค่อนข้างมากที่จะศึกษาถึงการแยกแอคติโนมัยสีทจากทะเลเพื่อนำมาผลิตสารปฏิชีวนะสำหรับพัฒนาเป็นรักษาโรคต่อไป ตัวอย่างรายงานที่พบว่าแอคติโนมัยสีทในทะเลเป็นแหล่งของสารชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น bonactin (Schumacher *et al.,*2003), antimycin (Mukku *et al.,* 2003), actinoflavoniods (Jieng *et al.,*1997) และสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง เช่น neomarinone (Hardt *et al.,*2000), new indolic methabolites (López *et al.,*2003) และ aureoverticillactam (Mitchell *et al.,*2004) สารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เบต้า กลูโคซิเดส เช่น D-glucono-1,5-lactam และ D-mannono-1,5-lactam (Imada *et al.,*1994) สารต้านการอักเสบเช่น salinamides (Moore *et al.,*1999) เป็นต้น เป็นที่น่าสังเกตว่ารายงานที่เกี่ยวข้องกับสารชีวภาพจากแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากทะเลส่วนใหญ่ได้จากการศึกษาค้นคว้าในต่างประเทศแทบทั้งสิ้น ในขณะที่ประเทศไทยเองซึ่งมีอาณาเขตที่ติดกับทะเลเป็นระยะทางหลายพันกิโลเมตรกลับไม่ได้รับการศึกษาเกี่ยวกับสารชีวภาพจากแอคติโนมัยสีทเลย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยแรกๆที่มุ่งเน้นการค้นหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียจากแอคติโนมัยสีทที่พบในทะเลของประเทศไทย

บทตรวจเอกสาร

1. ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อแอคติโนมัยสีท

เชื้อแอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีปริมาณ guanine และ cytosine ในเซลล์สูงกว่า 55 % (Glazer and Nikaido, 1994) จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ยกเว้นบางชนิดที่ไม่ต้องการหรือต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อยในการเจริญ เชื้อแอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลายตั้งแต่ลักษณะเป็นทรงกลม ท่อนและเป็นเส้นสายคล้ายเชื้อราที่มีการแตกแขนงและมีการแตกหักของเส้นใยเพื่อสร้างสปอร์แบบไม่มีเพศหรือการสร้างสปอร์บน

เส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศ (aerial mycelium)ซึ่งเป็นลักษณะที่พบในเชื้อแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่ สปอร์มีทั้งแบบที่ไม่มีถุงหุ้ม (conidia) เป็นเม็ดเดี่ยวๆ และเรียงต่อกันเป็นสาย และแบบที่สร้างอยู่ในอับสปอร์ (sporangium) เชื้อแอคติโนมัยสีทแตกต่างจากเชื้อราตรงที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสและไมโตคอนเดรีย (Goodfellow and Brard, 1980) แอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่จะพบทั่วไปในดินทั้งบนบกและในทะเล เนื่องจากคุณสมบัติในการย่อยสลายอินทรีย์สารและมีหลายชนิดที่ทนต่อความเค็ม (Jensen *et al*., 1991) อย่างไรก็ตาม การ ศึกษาที่เกี่ยวข้องกับเชื้อแอคติโนมัยสีทในระยะแรกๆมักเป็นการศึกษาจากแหล่งที่อยู่บนบกเป็นส่วนใหญ่ จนกระทั่งเมื่อไม่กี่ปีมานี้นักวิจัยหลายกลุ่มได้เริ่มต้นศึกษาเกี่ยวกับเชื้อแอคติโนมัยสีทที่พบหรือแยกได้จากทะเลโดยมุ่งเน้นที่คุณสมบัติในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ

เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีของแอคติโนมัยสีท โดยดูจากกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ (Major wall amino acid) และชนิดของน้ำตาลในเซลล์ทั้งหมด (whole cell hydrolysate) สามารถจำแนกชนิดขององค์ประกอบของผนังเซลล์แอคติโนมัยสีทได้เป็น 4 ลักษณะดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 ชนิดผนังเซลล์ของแอคติโนมัยสีท

Table 1 Types of actinomycete cell wall

Type	Major amino acid	Distinguishing major constituent
I	LL-DAP	Glycine
II	Meso-DAP	Glycine
III	Meso-DAP or OH-DAP	None
IV	Meso-DAP	None

ที่มา : Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology เล่ม 4 (William, 1989)

ตารางที่ 2 แบบแผนน้ำตาลของแอคติโนมัยสีท

Table 2 Actinomycete whole cell sugar patterns

Type	Diagnostic Sugar
A	Arabinose, Galactose
B	Madurose
C	None
D	Xylose, Arabinose

ที่มา : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology เล่ม 4 (William, 1989)

2. การจำแนกประเภทของเชื้อแอคติโนมัยสีท (Classification of actinomycetes)

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology เล่ม 4 (William *et al.*, 1989) ได้แบ่ง ประเภทของเชื้อแอคติโนมัยสีทโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์เป็น 8 กลุ่มได้แก่ Nocardioforms, Multilocular sporangia, Actinoplanetes, Streptomycetes, Maduromycetes, Thermomonospora, Thermoactinomycetes และกลุ่มที่ไม่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มต่างๆข้างต้นได้

2.1 Nocardioforms

Nocardioforms เป็นกลุ่มที่เส้นใยมีการแตกหักเป็นแท่งหรือกลม บางชนิดสามารถสร้างโคนิเดีย แอคติโนมัยสีทกลุ่มนี้ทุกสกุลเป็นพวกที่ต้องการอากาศในการเจริญ ยกเว้น *Oerskoviae* ซึ่งเป็นพวกที่ต้องการอากาศเล็กน้อยในการเจริญ เชื้อในกลุ่มนี้มีผนังเซลล์เป็นแบบ I (LL – DAP และ glycine) ในสกุล *Nocardia* และ *Rhodococcus* ที่ผนังเซลล์จะมี mycolic acid และมีน้ำตาลในเซลล์เป็น type A (Arabinose และ Galactose)

2.2 Actinomycetes with multilocular sporangium

เชื้อในกลุ่มนี้ใช้ลักษณะ multilocular sporangium เป็นหลักในการจำแนกประเภทแยกออกจากเชื้อแอคติโนมัยสีทกลุ่มอื่นๆ แอคติโนมัยสีทในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 3

สกุล ดังนี้ *Dermatophilus, Geodermatophilus* และ *Frankia* โดยมีลักษณะแตกต่างกันคือ เชื้อสกุล *Geodermatophilus* ซึ่งมีเส้นสายง่ายๆ ที่ยังไม่พัฒนามากนัก thullus ทั้งหมดสร้างเป็น sporangium ส่วนสกุล *Dermatophilus* เส้นสายจะมีการพัฒนามากขึ้นมีการสร้าง multilocular sporangium แบบยาวและสกุล *Frankia* มีการสร้าง sporangium และ filament ทั้งบริเวณ intercalary swelling ตอนปลายหรือบนกิ่ง lateral branches ทั้ง 3 สกุล จะไม่พบการสร้างเส้นใยที่ชูขึ้นมาในอากาศ (aerial mycelium)

2.3 Actinoplanetes

แอคติโนมัยสีทในกลุ่ม Actinoplanetes มีทั้งสิ้น 5 สกุล ดังนี้ *Actinoplanes, Ampullariella, Pilimelia, Dactylosporangium* และ *Micromonospora* เชื้อในกลุ่มนี้ส่วนมากอยู่ในน้ำ เพราะเป็นกลุ่มที่มีสปอร์เคลื่อนที่ได้ในน้ำในช่วงหนึ่งของวงชีวิตยกเว้น *Micromonospora* ลักษณะสำคัญของเชื้อในกลุ่มนี้คือ เจริญโดยไม่มีการแตกหัก มีการแตกกิ่งก้านแล้วสร้างสปอร์อยู่บนเส้นใยที่มีผนังกั้น เส้นใยมีการพัฒนาน้อยคือจะเห็นเพียงบางๆ เชื้อในกลุ่มนี้มี DAP ที่ผนังเซลล์แบบ III (Meso – DAP และ OH – DAP) และมีน้ำตาลในเซลล์เป็น type D (Xylose และ Arabinose)

Micromonospora สร้างสปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่ (nonmotile spore) เกิดขึ้นเดี่ยวๆไม่มีก้านหรือมีเพียงสั้นๆมักพบรวมเป็นกลุ่ม มีลักษณะกลม รูปไข่หรือวงรี ผนังหนาบางครั้งพบตุ่มหรือหนามที่ผนัง พวกที่สร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ (motile spore) ใน sporangia หรือ vesicles ซึ่งมีการพัฒนาให้ไปอยู่ที่ส่วนปลายของ sporangiophore มีทั้งขนาดสั้นและยาว สปอร์มักถูกสร้างอยู่ใน sporangium ที่ถูกปกคุมไว้ด้วยกิ่งก้านที่แตกหัก หรือบางทีก็เป็นเส้นใยของ sporogenous hyphae ตรงหรือขดเป็นเกลียว ส่วนของ mutisporous sporangia มีหลายรูปร่าง

2.4 Streptomycetes และเชื้อใน genera ที่เกี่ยวข้อง

แอคติโนมัยสีทในกลุ่มนี้มีทั้งสิ้น 4 สกุล ดังนี้ *Streptomyces, Streptoverticillium, Kineo- sporia* และ *Sporichthya* ลักษณะที่สำคัญของเชื้อในกลุ่มนี้คือ เส้นใยเป็นแบบไม่มีผนังกั้นมีเส้นใยชูขึ้นมาในอากาศ และเมื่อเจริญเต็มที่จะสร้างสปอร์เป็นลูกโซ่ มีจำนวนสปอร์ตั้งแต่ 3 ขึ้นไป ผิวของโคโลนีมีลักษณะย่นๆเมื่อมีอายุมาก ที่ผิวหน้าของ

เส้นใยมีลักษณะเป็นฝุ่นผง ซึ่งก็คือสปอร์ที่สร้างขึ้นนั้นเอง เชื้อในกลุ่มนี้มี DAP ที่ผนังเซลล์เป็นแบบ I (LL – DAP)

2.5 Maduromycetes

แอคติโนมัยสีทในกลุ่มนี้มีทั้งสิ้น 7 สกุล ดังนี้ *Actinomadura, Microbispora, Microtetraspora, Planobispora, Planomonospora, Spirillospora* และ *Streptosporangium* กลุ่มนี้เป็นพวกที่ต้องการอากาศในการเจริญ สร้างเส้นใยราบที่มีการแตกแขนงไม่มีสปอร์ แต่มีเส้นใยที่ชูขึ้นมาในอากาศซึ่งมีการสร้าง arthrospore ที่มีลักษณะเป็นสายสั้นหรือใน sporangia ที่มี 1 ถึงหลายสปอร์ ผนังเซลล์เป็นแบบ III (Meso– DAP) น้ำตาลในเซลล์เป็นแบบ type B คือน้ำตาล 3-O-methyl–D-galactose (madurose)

2.6 Thermomonospora and Related Genera

แอคติโนมัยสีทในกลุ่มนี้มีทั้งสิ้น 4 สกุล ดังนี้ *Thermomonospora, Actinosynnema, Nocardioosis* และ *Streptoalloteichus* กลุ่มนี้เป็นเชื้อที่ต้องการอากาศในการเจริญและสร้าง สปอร์อยู่บนเส้นใยที่แตกกิ่งก้านชูขึ้นในอากาศ ผนังเซลล์เป็นแบบ III (Meso – DAP) ไม่มี mycolic acid แต่มี menaquinone ที่มี isoprenoid จำนวน 9–10 หน่วย (MK-9, MK-10) การเรียงตัวและลักษณะของสปอร์จะแตกต่างกันไปตามแต่ละสกุล

2.7 Thermoactinomycetes

กลุ่มนี้มีเพียง 1 สกุลคือ *Thermoactinomyces* ซึ่งเป็นพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง ซึ่งในกลุ่มนี้จะมีเอ็นโดสปอร์อย่างแท้จริง ทนความร้อนได้ดี และมีคุณสมบัติของเอนโดสปอร์ของแบคทีเรียครบถ้วน มี G+C Content ต่ำกว่าพวกแอคติโนมัยสีททั่วๆไป แต่ไปมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับพวก *Bacillus* และมีการพัฒนาสร้างเส้นใยอย่างดี และมีสัณฐานวิทยาที่ต่างจากพวก *Bacillus*

นอกจากนั้นกลุ่มนี้มีการสร้างเส้นใยชูขึ้นในอากาศพวก *T. dichotomous* มีสีเหลืองส่วนพวกอื่นจะมีสีขาวทุกสปีชีส์เป็นพวกต้องการอากาศในการเจริญ และเป็นพวกที่ชอบย่อยสลายเศษซากและเกือบทั้งหมดเป็นพวกที่ชอบเจริญในที่มีอุณหภูมิสูง เจริญได้ไม่ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่า 45 องศาเซลเซียสผนังเซลล์กลุ่มนี้เป็นแบบที่ III แต่จะไม่มี

ลักษณะของน้ำตาลและ amino acid ส่วน menaquinone เป็นแบบไม่อิ่มตัวเช่น MK-7 หรือ MK-9 ในสปอร์มี dipicolinic acid อยู่ด้วย

2.8 กลุ่มอื่นๆ

แอคติโนมัยสีทในกลุ่มนี้มีทั้งสิ้น 4 สกุล ดังนี้ *Glycomyces, Kibdelosporangium, Kitasatosporia*และ *Saccharothrix* เป็นกลุ่มที่ยังหาความสัมพันธ์กับแอคติโนมัยสีทกลุ่มอื่นๆไม่ได้

ตารางที่ 3 ลักษณะที่สำคัญของแอคติโนมัยสีททั้ง 7 กลุ่ม

Table 3 Characteristic of 7 groups of actinomycetes

Group	Cell wall type	Cell sugar patterns	Mol % G+C	Sporangia
Nocardioforms	I	A	59-79	-
Multilocular sporangia	III	B,C,D	57-75	+ / -
Actinoplanetes	II	D	71-73	+
Streptomycetes	I	-	69-78	-
Maduromycetes	III	B,C	64-74	+ / -
Thermomonospora	III	major C	64-73	-
Thermoactinomycetes	III	C	52-55	-

ที่มา : Glazer และ Nikaido (1994)

3. แอคติโนมัยสีทที่พบในทะเล

แอคติโนมัยสีทในทะเลสามารถพบได้ทั่วไปแต่ส่วนใหญ่มาจากตะกอนดิน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแอคติโนมัยสีทเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายอินทรียวัตถุได้ดี ดังที่ปรากฏในรายงานของ Takizawa และคณะ(1993) ที่ได้ทดลองแยกแอคติโนมัยสีทจากตะกอนดินบริเวณอ่าว Chesapeake โดยเก็บตะกอนดินที่ระยะห่างจากฝั่ง 10 กิโลเมตร

พบว่ามีแอคติโนมัยสีทกลุ่ม *Actinoplanetes* เป็นส่วนใหญ่ และยังพบแอคติโนมัยสีทกลุ่ม *Micromonospora* ร่วมกับกลุ่มอื่นๆดังแสดงในตารางที่ 4 Jensen และคณะ(1991) พบว่าการกระจายตัวของแอคติโนมัยสีทบริเวณเกาะ Bahamas ขึ้นกับระดับความลึกของตัวอย่างที่ใช้แยกแอคติโนมัยสีท โดยบริเวณที่ตื้นกว่า 3 เมตรจะพบ *Streptomyces* เป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่บริเวณที่ลึก 15-30 เมตรจะพบ *Actinoplanetes* ในสัดส่วนที่มากกว่า ในขณะที่บางรายงานพบว่า *Micromonospora* จะเพิ่มจำนวนมากขึ้นตามระดับความลึกในการเก็บตัวอย่างประเภทตะกอนดิน (Weyland,1981 อ้างโดย Jensen *et al.,*1991) Mincer และคณะ(2000) ศึกษาการกระจายตัวของแอคติโนมัยสีทที่หายากในตัวอย่างตะกอนดินที่ระดับความลึก 0-30 เมตร จากแหล่งต่างๆ ได้แก่ อ่าว Bahamas, ทะเลแดง และทะเล Cortez พบว่าแอคติโนมัยสีททั้งหมดจัดอยู่ในกลุ่ม *Micromonospora* นอกจากนี้ยังมีรายงานที่เกี่ยวข้องกับการแยกแอคติโนมัยสีทที่อาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ได้แก่ *Streptomyces hygroscopicus* ที่แยกได้จากทางเดินอาหารของปลา *Halichoeres bleekeri* (Takahashi *et al.,*1994) แอคติโนมัยสีทกลุ่ม *Streptomyces* สายพันธุ์ CNB-091 จากผิวแมงกระพรุน *Cassiopeia xamachana* (Moore *et al.,* 1999) และแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ BL-49-58-005 จากสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (López *et al.,* 2003) *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ BLT7 จากฟองน้ำ *Dendrilla nigra* (Selvin *et al.,* 2004) นอกจากนี้ยังมีรายงานของแอคติโนมัยสีทที่อยู่อย่างอิสระใน น้ำ (free living) โดย Woo และคณะ(2002) สามารถแยก *Streptomyces* sp. จากน้ำในบ่อเลี้ยงสาหร่าย *Porphyra* spp. เป็นต้น

ตารางที่ 4 แอคติโนมัยสีทที่พบในทะเล ณ ระดับความลึกต่างๆ

Table 4 Summary of marine actinomycetes isolated at various depths

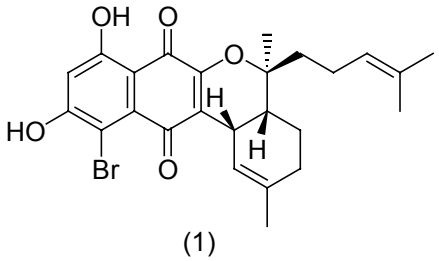
Depth	Group of actinomycetes	References
0-10 m.	*Streptomyces* sp.	Sitachtta *et al.,*1996
	Streptomyces halstedii	Jiang *et al.,*1997
	No identified	Capon *et al.,*2000
	No identified	Hardt *et al.,*2000
	Nocardiopsis dassonvillei	Schumacher *et al.,*2001
	Streptomyces sp.	Schumacher *et al.,*2003
	Streptomyces albogriseolus	Stritzke *et al.,*2004
11-20 m.	*Actinoplanetes* sp.	Jensen *et al.,*1991
	No identified	Pathirana *et al.,*1991
	No identified	William *et al.,*1999
	No identified	Cho *et al.,*2001
over 500 m.	*Streptomyces* sp.	Schumacher *et al.,*1995
	Streptomyces galbus	Imada and Okami 1994
	Streptomyces coelicolor	Mukku *et al.,*2000
	Methano submarine	Mikucki *et al.,*2003
	Norcadioforms sp.	Shin*et al.,*2003
No identified	No identified	Pathirana *et al.,*1992
	Streptomyces aureoverticillatus	Mitchell *et al.,*2004

4. สารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากแอคติโนมัยสีทในทะเล

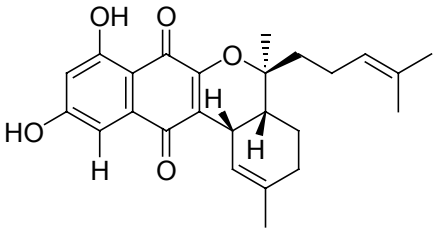
4.1 สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ในบรรดาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตได้จากแอคติโนมัยสีทนั้น สารในกลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์นับว่าเป็นสารที่มีความสำคัญมากกลุ่มหนึ่ง โดยเฉพาะเชื้อก่อโรคและเชื้อฉวยโอกาสเพราะเชื้อบางชนิดไม่สามารถถูกทำลายด้วยยาชนิดเดิม เนื่องจากเชื้อเกิดการดื้อยา ทำให้ไม่สามารถรักษาโรคให้หายขาด จึงได้มีความพยายามศึกษาค้นคว้าสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ รวมทั้งแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากทะเลดังรายงานต่อไปนี้

Pathirana และคณะ(1992) แยกแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ CNB-632 จากตะกอนดินบริเวณปากน้ำ Torrey Pines เมืองซานดิเอโก รัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยวิธี serial dilution ที่มีลักษณะโดยทั่วไปเป็นแอคติโนมัยสีทที่ไม่มีสปอร์บนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศแต่มีเส้นใย vegetative สีน้ำตาล แอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ CNB-632 นี้สร้างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ 2 ชนิด คือ marinone (1) และ debromomarinone (2) ที่แยกจากเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่มี soluble starch เป็นองค์ประกอบหลัก สารสองชนิดนี้จัดอยู่ในพวก sesquiterpenoid naphthoquinone และมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก โดยที่ marinone มีฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* (MIC เท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ debromomarinone มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus, S. epidermis, S. pneumoniae* และ *S. pyogenes* (MIC เท่ากับ 1.0-2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

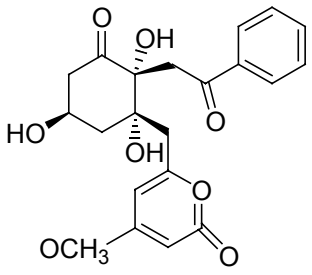


(1)

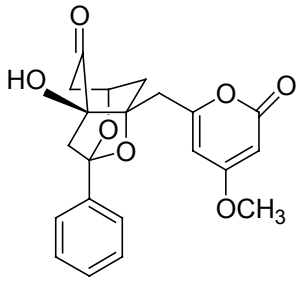


(2)

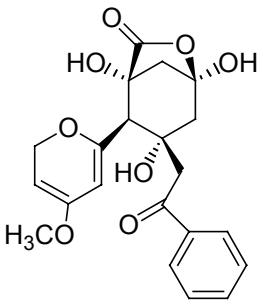
Sitachitta และคณะ(1996) แยก *Streptomyces* สายพันธุ์ BD- 26T(20) จากตะกอนดินน้ำตื้นบริเวณ ชายหาด Wailupe Beach Park ทางตะวันออกเฉียงใต้ของรัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าสามารถสร้างสปอร์บนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศมีลักษณะผิวราบเรียบ สีขาว และมีเส้นใยแบบ cylindrical arthrospore เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว Marine 2216 (Marine Broth 2216, Difco) พบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถผลิตสารในกลุ่ม α-pyrone-containing-metabolite ทั้งหมด 6 ชนิด โดยเป็นชนิดใหม่ 4 ชนิด ได้แก่ สาร wailupemycin A (3), wailupemycin B (4), wailupemycin C (5) และ 3-epi-5-deoxyenterocin (6) และเป็นสารที่มีรายงานแล้ว 2 ชนิดได้แก่ deoxyenterocin (7) และ enterocin (6)



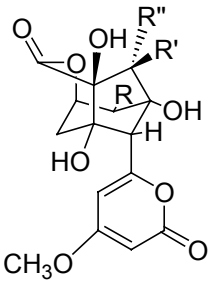
(3)



(4)



(5)

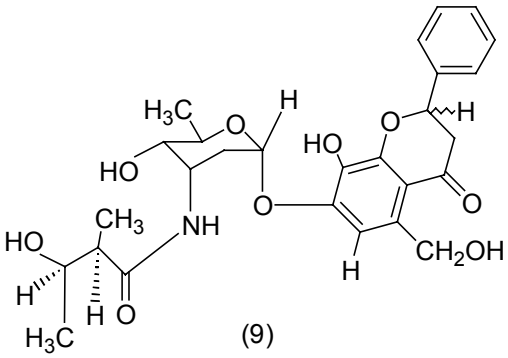


(6) R=R'=H, R"=COPh
(7) R=H, R'=COPh, R"=H
(8) R=OH, R'=COPh, R"=H

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี paper disk diffusion พบว่าสาร wailupemycin A มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* เท่านั้นและมี inhibition

zone เท่ากับ 15 มิลลิเมตร (0.1มิลลิกรัมต่อดิสก์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) และสาร 3-epi-5-deoxyenterocin มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* เท่านั้นโดยมีค่า inhibition zone เท่ากับ 18 มิลลิเมตร (0.1 มิลลิกรัมต่อดิสก์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) ในขณะที่สาร wailupemycin B และ wailupemycin C ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 2 ชนิดที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อดิสก์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

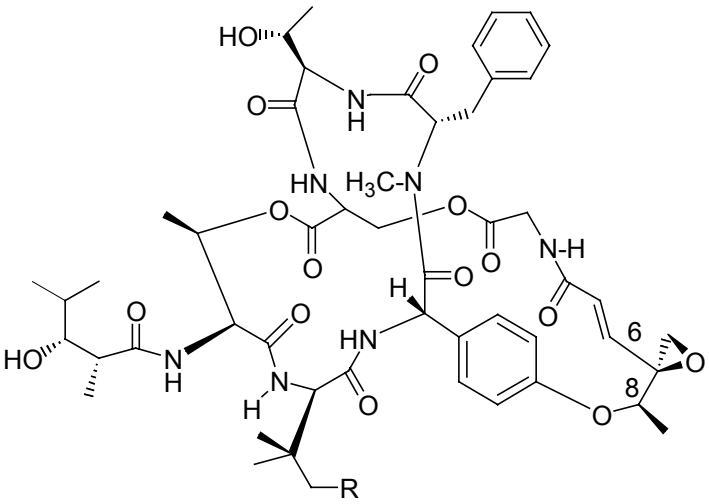
Jiang และคณะ (1997) แยกแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ CNB-689 จากตะกอนดินดำจากชายหาดในเมือง Christchurch ประเทศนิวซีแลนด์ โดยวิธี serial dilution จากการจำแนกเชื้อโดยวิธีวิเคราะห์ FAME (Fatty Acid Methyl Ester Analysis) ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความคล้ายคลึงกับ *Streptomyces halstedii* เท่ากับ 0.436 และสามารถแยก actinoflavoside (9) ได้จากน้ำหมัก และสารดังกล่าวมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis* ได้ดี อีกทั้งยังยับยั้ง *Staphylococcus pneumoniae*, *S. pyrogenes, S. aureus* และ *Micrococcus luteus* ได้เล็กน้อย โดยมีค่า MIC เท่ากับ 64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



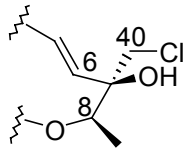
(9)

Moore และคณะ(1999) แยกเชื้อ *Streptomyces* sp.จากผิวด้านนอกของแมงกระพรุน *Cassiopeia xamachana* บริเวณอ่าวฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา และเมื่อนำสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดน้ำหมักด้วยเอทิลอะซิเตท มาแยกด้วย reversed phase HPLC จะได้สาร salinamides โดยมีอนุพันธ์ของ salinamides ทั้งหมด 5 ชนิดคือ salinamides A

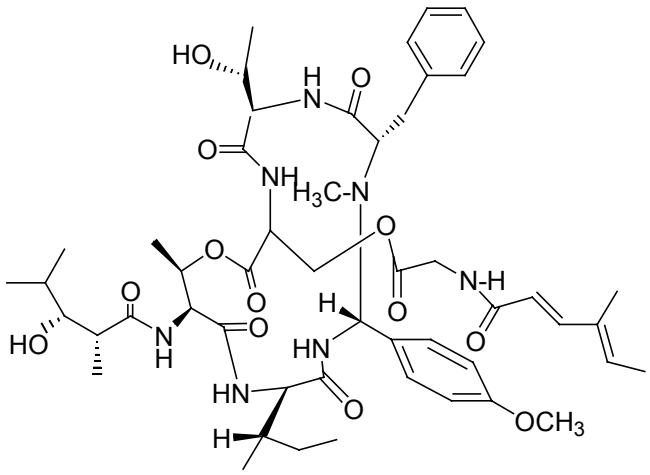
(10), B (11), C (12), D (13) และ E (14) โดยที่ salinamides A และ B ซึ่งเป็นสารส่วนหลักมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์เมื่อทดสอบกับเซลล์ใบหูของหนูที่ความเข้มข้น 50.0 ไมโครกรัมต่อ 1 ตัวอย่าง นอกจากนี้ salinamides A และ B ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก *Streptococcus pneumoniae* และ *Staphylococcus pyrogenes* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 4.0 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ



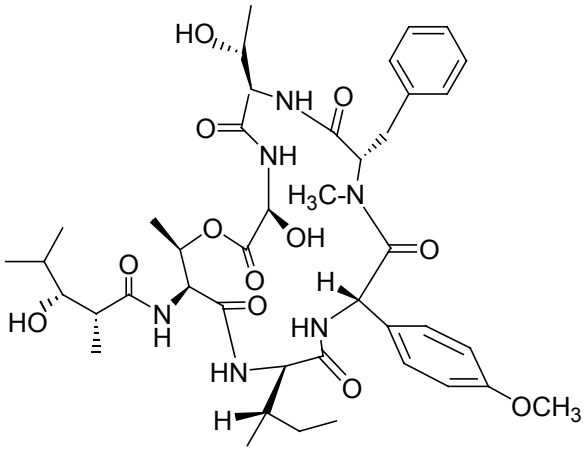
(10) R=Me
(13) R=H



(11)

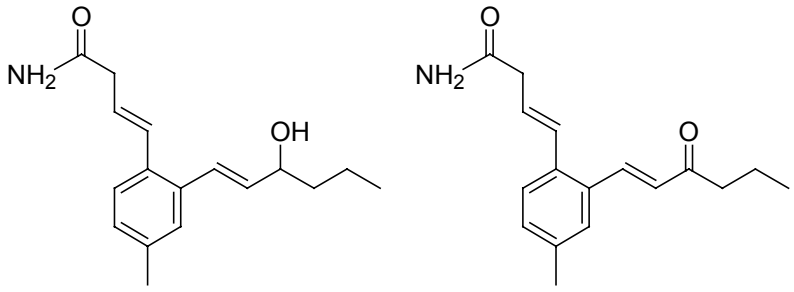


(12)



(14)

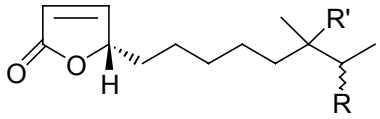
Capon และคณะ(2000) แยกสาร lorneamides A (15) และ B (16) ซึ่งเป็นสารอะโรมาติกเอไมด์ชนิดใหม่ที่จัดอยู่ในกลุ่ม tri-alkyl-substituted benzenes ได้จากการเลี้ยงแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ MST-MA190 ที่แยกจากตัวอย่างทรายของชายหาดบริเวณเมือง Lorne รัฐวิกตอเรีย ประเทศออสเตรเลีย เมื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารดังกล่าว พบว่า lorneamides A สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* (LD_{99} เท่ากับ 50.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)



(15) (16)

Mukku และคณะ (2000) ค้นพบสารในกลุ่ม antimycin ทั้งหมด 8 ชนิด โดยเป็นสารที่รายงานแล้ว 4 ชนิด และเป็นสารกลุ่มบิวทิโนไลด์ชนิดใหม่อีก 3 ชนิด ได้แก่ 4,10-dihydroxy-10-methyl-dodec-2-en-1,4-olide(17) และสาร diastereomeric4,11-dihydroxy -10-methyl-dodec-2-en-1,4-olides (18,19) จากน้ำหมักของ *Streptomyces coelicolor* สาย

พันธุ์ B5632 ในอาหารเหลว YMG และสารคีโตบิวนาโนไลด์ คือ 4-hydroxy-10-methyl-11-oxo-dodec-2-en-1,4-olide (20) จากน้ำหมักของ*Streptomyces coelicolor* สายพันธุ์ B3497 ในอาหารเหลว YMG โดยที่เชื้อทั้งสองสายพันธุ์ดังกล่าวแยกได้จากตะกอนดินโคลนบริเวณป่าชายเลน เมือง Auckland ประเทศนิวซีแลนด์ และจากการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่า 4-hydroxy-10-methyl-11-oxo-dodec-2-en-1,4-olide ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Mucor miehei* (Tu284)*, Streptomyces viridochromogenes* (Tu57) ได้

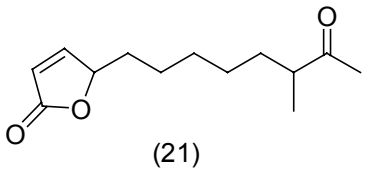


(17) R=H, R'=OH
(18/19) R=OH, R'=H (diastereomeric structure)
(20) R= ≀=O, R'=H

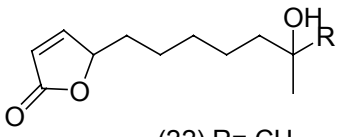
Zheng และคณะ (2000) แยกแอคติโนมัยสีทจากสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น sea hare, sea anemone และพืชทะเลอื่นๆ พบว่าแอคติโนมัยสีทที่แยกได้ส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่ม *Streptomyces* และ *Micromonospora* และเมื่อเลี้ยงแอคติโนมัยสีทในอาหารเหลว ก่อนนำมาสกัดน้ำเลี้ยงรวมทั้งเซลล์ด้วยเอทิลอะซิเตทจะได้สารสกัดหยาบ เมื่อทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดจากแอคติโนมัยสีทโดยเลือกแบบสุ่ม พบว่ามีสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ถึง 43.6% นอกจากนี้เมื่อทดสอบคุณสมบัติ cytotoxic activity โดยวิธี MTT assay และ DNA target activity ต่อเซลล์ P-388 lymphocytic leukemia และเซลล์มะเร็งลำไส้ (KB cells, HLF cells และ CNE cells) พบว่ามีสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ดังกล่าว 20% และมีฤทธิ์ inducing ต่อเซลล์ดังกล่าวเพียง 3%

Cho และคณะ(2001) แยกสาร lactone metabolites ชนิดใหม่ 6 ชนิด โดยจัดอยู่ในกลุ่มบิวทาโนไลด์ 3 ชนิด (21,22,23) และกลุ่ม 3-hydroxy-γ-butyrolactones 4 ชนิด (24,25,26,27) โดยสาร 25 เป็นสารที่มีการรายงานไว้แล้ว คือ (-)-blastmycinolactol ซึ่ง

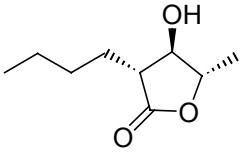
สารทั้งหมดดังกล่าวแยกได้จาก *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากดินโคลนใต้น้ำทะเล ณ ระดับความลึก 25 เมตร บริเวณ Tongyoung Bay ประเทศเกาหลี ลักษณะที่สำคัญของเชื้อดังกล่าวสามารถสร้างสปอร์สีขาว แบบที่ไม่มีถุงหุ้มบนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศ จากการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของสาร lactone metabolites ทั้ง 7 ชนิดโดยวิธี paper disk พบว่า สารในกลุ่ม 3-hydroxy-γ-butyrolactones สามารถยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* โดยมีค่า inhibition zone เท่ากับ 19.0 มิลลิเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 50.0 ไมโครกรัมต่อ disk



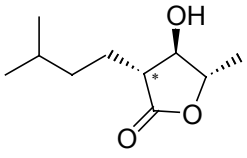
(21)



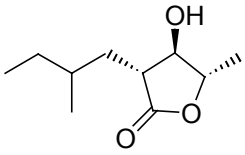
(22) R= CH_3
(23) R= CH_2CH_3



(24)



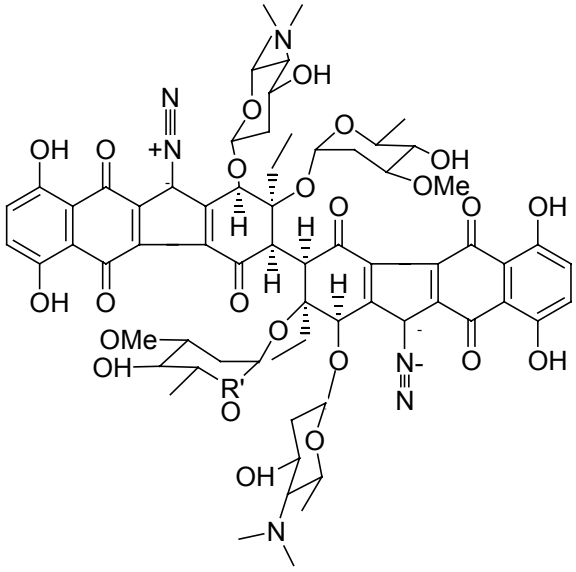
(25)
(26) epimer at *



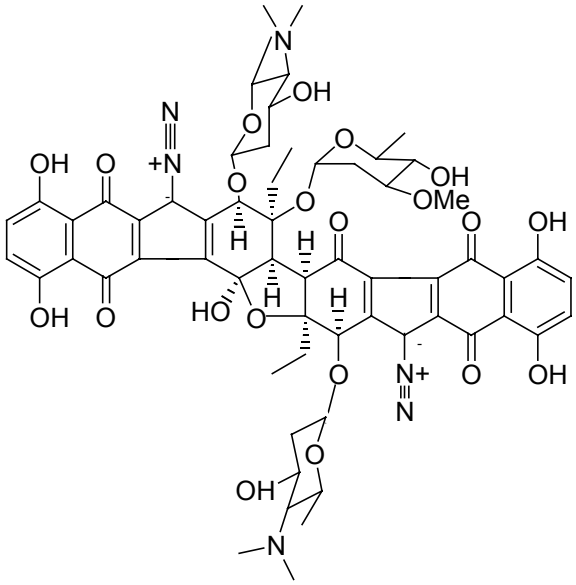
(27)

He และคณะ(2001) แยกแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ LL-371366 จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเชื้อดังกล่าวคือ *Micromonospora lomaivitiensis* จากการทดลองเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในอาหารที่มีน้ำทะเลและเรซิน HP20 สามารถแยกสาร lomaviticins A (28) และ B (29) ได้จากสารสกัดหยาบที่ถูกดูดซับไว้ด้วยเรซิน ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์พบว่า lomaviticins A และ B สามารถยับยั้งการเจริญของ

แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ*Entercoccus faecilium* ได้และจากการทดสอบการป้องกันการทำลาย DNAโดยวิธี Biochemical Induction Assay (BIA) พบว่า lomaviticins A และ B สามารถป้องกันการทำลาย DNA ได้ โดยมีค่า MIC น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร อีกทั้งพบว่า lomaviticins A ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้อีกด้วย (IC_{50} เท่ากับ 0.01-98.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร)

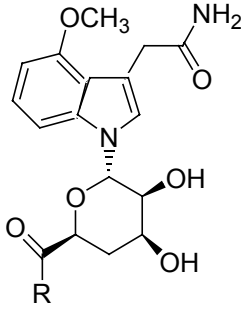


(28)



(29)

Schumacher และคณะ (2001) แยกเชื้อ *Nocardiopsis dassonvillei* จากตะกอนดินน้ำตื้นบริเวณชายฝั่งเกาะ Kauai รัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา เมื่อทดลองเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในอาหารเหลว สามารถแยกสาร Kahakamides A (30) และ B (31) ซึ่งจัดเป็นสาร indole nucleosides ชนิดใหม่ จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยวิธี disk-diffusion พบว่า kahakamide A สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ได้

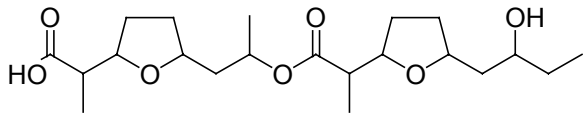


(30) R=OCH_3
(31) R=NH_2

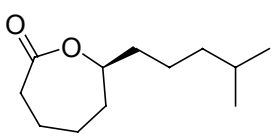
Woo และคณะ(2002) แยก *Streptomyces* sp.สายพันธุ์ AP77 จากน้ำในบ่อเลี้ยงสาหร่าย *Porphyra* spp. ประเทศญี่ปุ่น เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว ZoBell2216 แล้ว

สามารถแยก heterologous protein ซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อย 3 หน่วย คือ SAP1, SAP2 และ SAP3 ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Pythium porphyrae* ซึ่งก่อโรคจุดแดง (Red Rot) ในสาหร่าย *Porphyra* spp. (MIC เท่ากับ 1.65 ไมโครกรัมต่อ disk) และเชื้อรา *Pythium ultimum* (MIC เท่ากับ 6.3 ไมโครกรัมต่อ disk) และจากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ทั้งในระดับ *in vitro* และ *in vivo* พบว่าโปรตีนดังกล่าวมีคุณสมบัติที่เป็นพิษต่อเซลล์ *Porphyra yezoensis* ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 700.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และเป็นพิษต่อเซลล์ dermal fibroblasts ปกติที่ระดับความเข้มข้น 250.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในระยะเวลา12 ชั่วโมง เป็นที่น่าสนใจว่า SAP1-3 เสียสภาพเนื่องจากความร้อนจึงมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านอุตสาหกรรมอาหารได้ และยังมีแนวคิดที่จะนำยีนจาก *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ AP77 ไปตัดต่อกับยีน *Porphyra* spp. ทำให้สาหร่าย *Porphyra* spp.ทนต่อการติดเชื้อ *Pythium porphyrae* ที่ก่อโรคจุดแดง (Red Rot) สูงมากขึ้น

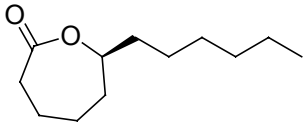
Schumacher และคณะ(2003) แยก *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ BD21-2 จากตะกอนดินน้ำตื้น บริเวณชายหาด Kailua เกาะ Oahu รัฐฮาวาย เชื้อดังกล่าวสามารถผลิต Bonactin (32) ซึ่งพบในน้ำหมัก จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยวิธี paper disk diffusion ที่ระดับความเข้มข้น Bonactin เท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อ 6 มิลลิเมตร disk พบว่า Bonactin มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Bacillus megaterium*, *Micrococcus luteus, Kleibsiella pneumoniea, Staphylococcus aureus, Alicagenes faecalis, Escherichia coli* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยมีค่า inhibition zone ในช่วง 7 -10 มิลลิเมตร



(32)



(33)



(34)

Stritzke และคณะ(2004) แยก *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ B6007 จากตะกอนดินบริเวณป่าชายเลนในปาปัวนิวกินี จากการวิเคราะห์ลำดับเบสในช่วง 16s rDNA ของเชื้อดังกล่าว พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Streptomyces albogriseolus* ถึง 99% และจากการทดลองเติมหมู่เมทิลในสารสกัดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อดังกล่าว พบสาร caprolactones ชนิดใหม่ 2 ชนิดคือ (*R*)-10-methyl-6-undecanolide (33) และ (6*R*,10*S*)-10-methyl-6-dodecanolide (34) จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า caprolactones ทั้ง 2 ชนิด มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของ *Streptomyces olivivaceus*, *Staphylococcus aureus*, *Mucor mihei* และ *Candida albicans* ได้ปานกลางแต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* และ *Bacillus subtilis* นอกจากนี้ caprolactones ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง HM0Z (gastric adenocarcinoma), HepG2 (hepatocellular carcinoma) และ MCF7 (breast adeno- carcinoma) ตลอดไปจนถึงคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของสาหร่าย เช่น *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana* และ *Scenedemus subspicatus* ได้อีกด้วย

ตารางที่ 5 สรุปสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากแอคติโนมัยสีทในทะเล

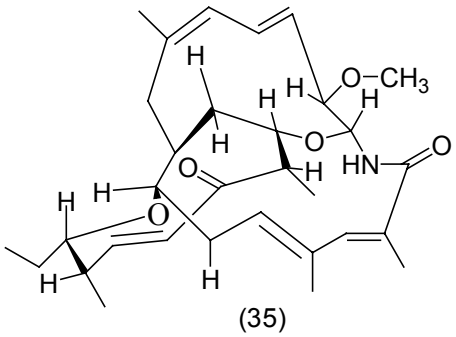
Table 5 Conclusion of antimicrobial agents from marine-derived actinomycetes

Compounds	Strain	Reference
Marinone (1)	No identified	Pathirana *et al.,*1992
Debromomarinone (2)	No identified	Pathirana *et al.,*1992
wailupemycin A (3), 3-epi-5-deoxyenterocin (6)	*Streptomyces* sp.	Sitthachitta *et al.,*1996
Actinoflavoside (9)	*Streptomyces halstedii*	Jiang *et al.,*1997
Salinamides A (10) and B(11)	*Streptomyces* sp.	Moore *et al.,*1999
Lorneamides A(15) and B(16)	*Streptomyces* sp.	Capon *et al.,*2000
4-hydroxy-10-methyl-11-oxo-dodec-2-en-1,4-olide (20)	*Streptomyces coelicolor*	Mukku *et al.,*2000
actinomycetes extract	*Streptomyces* sp.and *Micromonospora* sp.	Zheng *et al.,*2000
lactone compounds (21-27)	*Streptomyces* sp.	Cho *et al.,*2001
lomaiviticins A(28) and B(29)	*Micromonospora* sp.	He *et al.,*2001
kahakamide A (30)	*Streptomyces* sp.	Schumacher *et al.,*2001
SAP	*Streptomyces* sp.	Woo *et al.,*2002
Bonactin (32)	*Streptomyces* sp.	Schumacher *et al.,*2003
(*R*)-10-methyl-6-undecanolide (33) (6*R*,10*S*)-10-methyl-6-dodecanolide (34)	*Streptomyces* sp.	Stritzke *et al.,*2004

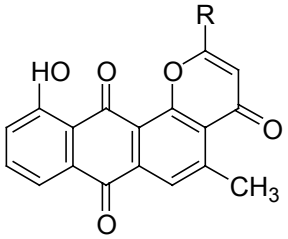
4.2 สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง

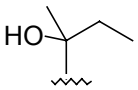
นอกเหนือจากสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แล้ว แอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากทะเลยังสามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆได้ดี จากรายงานพบว่ามีสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งที่เป็นสารชนิดใหม่หลายชนิดสร้างจากแอคติโนมัยสีทในทะเลดังต่อไปนี้

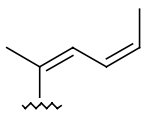
Takahashi และคณะ (1994) แยก *Streptomyces hygroscopicus* จากทางเดินอาหารของปลาทะเล *Halichoeres bleekeri* จากการเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในอาหารเหลวที่มี starch เป็นองค์ประกอบ พบว่าสามารถผลิตสาร halichomycin (35) ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ P-388 lymphocytic leukemia โดยมีค่า ED_{50} เท่ากับ 0.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

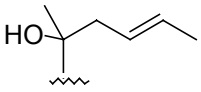


(35)



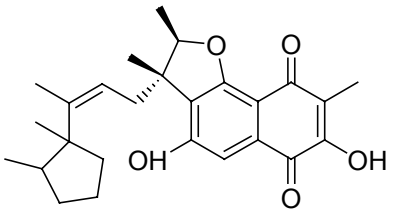
(36) R= 

(37) R= 

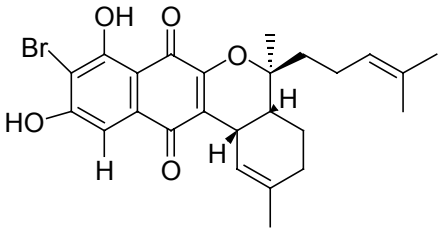
(38) R= 

Schumacher และคณะ (1995) แยก *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ PC1/B2 จากตะกอนดินที่ระดับความลึก 4,680 เมตร โดยวิธี serial dilution จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเชื้อที่แยกได้สามารถสร้างสปอร์สีเหลืองขาวบนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศ และมี arthrospore แบบ sheathed chain สีเหลืองปานกลาง ที่มีจำนวน 20-30 สปอร์ต่อสายใน substrate mycelium เชื้อดังกล่าวสามารถสร้างสารได้ 3 ชนิด โดยเป็นสารชนิดใหม่ในกลุ่ม pluramycin ที่เรียกว่า γ-indomycinone (36) และอีก 2 ชนิดคือสารที่มีรายงานก่อนหน้านี้คือ rubiflavinone C-1 (37) และ ß-indomycinone (38) จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งพบว่า rubiflavinone C-1 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปากมดลูก (KB cell) โดยมีค่า MIC น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.001 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

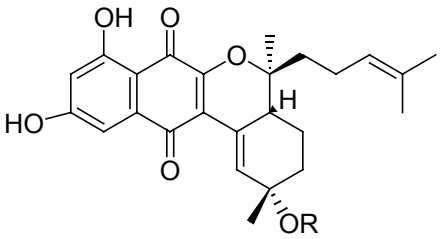
Hardt และคณะ (2000) แยกแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ CNH-099 จากตะกอนดินที่ระดับความลึก 1 เมตร บริเวณ Batiquitos Lagoon ทางตอนเหนือของเมืองซานดิเอโก รัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา เชื้อดังกล่าวสามารถสร้างสารชนิดใหม่คือ neomarinone (39) และสารที่เป็นอนุพันธ์อีก 3 ชนิด คือ isomarinone (40), hydroxydebromomarinone (41) และ methoxydebromomarinone (42) โดยจัดอยู่ในกลุ่ม sesquiterpene ร่วมกับ polyketide-derived carbon skeleton สารดังกล่าวทั้งหมดมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ปานกลาง โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ (HCT-116 colon carcinoma) ด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 8.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



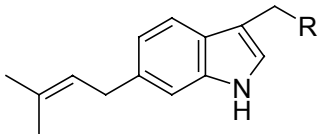
(39)



(40)



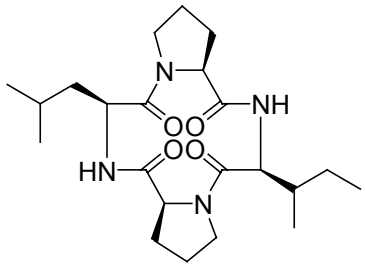
(41) R=H
(42) R=CH_3



(43) R= CH_2OH
(44) R= CH=NOH
(45) R= C $\equiv$N

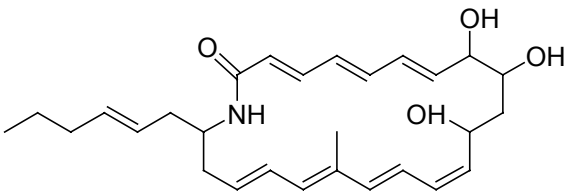
López และคณะ (2003) แยก *Streptomyces* สายพันธุ์ BL-49-58-005 จากสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังชนิดหนึ่ง ในประเทศแม็กซิโก แยกสารเมตาบอไลท์ในกลุ่ม indolic ชนิดใหม่ได้ 3 ชนิด คือ 6-prenyltryptophol (43), compound 44 และ compound 45 ได้จากเชื้อแอคติโนมัยสีทดังกล่าว จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง 14 ชนิด พบว่า6-prenyltryptophol และ compound2 สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง โดย 6-prenyltryptophol สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia cell line K-562) ได้ดีที่สุด โดยมีค่า GI_{50} เท่ากับ 8.46 ไมโครโมลาร์ และ compound 44 สามารยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้หลายชนิดโดยมีค่า GI_{50} ในระดับไมโครโมลาร์ ในขณะที่ compound 45 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง

Shin และคณะ (2003) เก็บตัวอย่างตะกอนดินที่ระดับความลึก 3,000 เมตร บริเวณ Clarion Clipperton Fracture กลางมหาสมุทรแปซิฟิก และสามารถแยกแอคติโนมัยสีทในกลุ่ม *Nocardioforms* ซึ่งมีสปอร์บนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศ สีน้ำตาลและมี substrate mycelium สีเทา และเมื่อเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในอาหารเหลวสามารถแยกสาร MKN-349A (46) โดยจัดอยู่ในกลุ่ม cyclic tetra peptide ชนิดใหม่ และจากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง พบว่าสารดังกล่าวมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia cell line K-562) โดยมีค่า LC_{50} น้อยกว่า 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



(46)

Mitchell และคณะ (2004) แยก *Streptomyces aureoverticillatus* จากตะกอนดินในทะเล เมื่อเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในอาหารเหลวที่มี soluble starch เป็นองค์ประกอบ สามารถแยกสาร aureoverticillactam (47) จากน้ำเลี้ยงรวมทั้งเซลล์ ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง พบว่า aureoverticillactam มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง HT-29, B16-F10, Jurkat cells โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.6 ± 2.6, 2.2 ± 0.9 และ 2.3 ± 1.1 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ โดยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง colorectal adenocarnioma, melanoma และ leukemia cell line ในระดับปานกลาง



(47)

ตารางที่ 6 สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งจากแอคติโนมัยสีทในทะเล

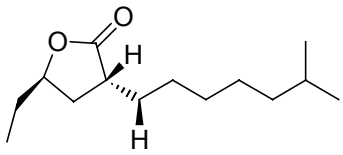
Table 6 Cytotoxic compounds from marine-derived actinomycetes

Compounds	Strain	Reference
Halichomycin	*Streptomyces hygroscopicus*	Takahashi *et al.,*1994
Rubiflavinone C-1 (37)	*Streptomyces* sp.	Schumacher *et al.,*1995
Neomarinone (39)	Not identified	Hardt *et al.,*2000
Isomarinone (40)	Not identified	
Hydroxydebromomarinone(41)	Not identified	
Methoxydebromomarinone(42)	Not identified	
Actinomycetes extract	*Streptomyces* sp. and *Micromonospora* sp.	Zheng *et al.,*2000
Lomaiviticin A (28)	*Micromonospora* sp.	He *et al.,*2001
6-prenyltryptophol (43)	*Streptomyces* sp.	López *et al.,*2003
Compound2 (44)		
MKN-349A (46)	*Nocardioforms* sp.	Shin *et al.,*2003
Aureoverticillactam (47)	*Streptomyces aureoverticilactus*	Mitchell *et al.,*2004
(*R*)-10-methyl-6-undecanolide (33)	*Streptomyces* sp.	Stritzke *et al.,*2004
(6*R*,10*S*)-10-methyl-6-dodecanolide (34)		

4.3 สารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ

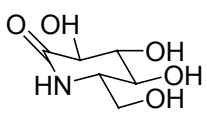
นอกเหนือจากสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆแล้ว แอคติโนมัยสีทในทะเลสามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆอาทิเช่น สารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ สารยับยั้งการเจริญของสาหร่ายและสารต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory agent) ดังเช่นที่ปรากฏในรายงาน ดังต่อไปนี้

Pathirana และคณะ(1991) แยกแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ CNB-228 จากตะกอนดินที่เกาะบาฮามาส และเมื่อเลี้ยงแอคติโนมัยสีทดังกล่าวในอาหารเหลวที่มี soluble starch เป็นองค์ประกอบหลัก จะสามารถแยกสารบิวทิโนไลด์ชนิดใหม่ได้แก่ (1′R, 2S, 4S) - 2 - (1 - hydroxyl- 6 - methyheptyl) - 4- hydroxymethyl - butanolide (48) ที่มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียในกลุ่ม actinomycetes ด้วยกัน

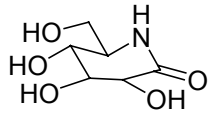


(48)

Imada และ Okami (1994) แยกเชื้อ *Streptomyces galbus* ISP-5089 จากตะกอนดินที่ในระดับความลึก 1,500 เมตร บริเวณอ่าวซากามิ ประเทศญี่ปุ่น ที่สามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ß-glucosidase ในอาหารเหลวที่มีองค์ประกอบของแป้งมันฝรั่ง จากการศึกษาทางเคมีพบว่าสารที่ออกฤทธิ์ดังกล่าวคือ D-glucono-1,5-lactam (49) และ D-mannono-1,5-lactam (50) ซึ่งเป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างใหม่



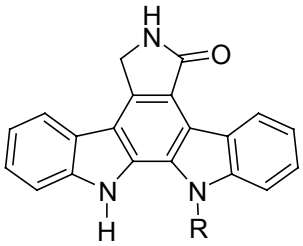
(49)



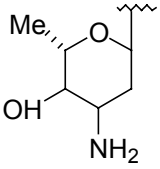
(50)

Williams และคณะ(1999) แยกแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ N96C-47 จากดินที่ระดับความลึก 13 เมตร บริเวณชายฝั่งเมือง Holyrood รัฐ Newfoundland ประเทศแคนาดา จาก

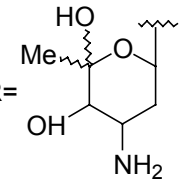
การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเชื้อดังกล่าวจัดอยู่ในกลุ่ม *Streptomyces* โดยสามารถสร้างสปอร์บนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศสีเหลืองขาวและเส้นใยในอาหารเลี้ยงเชื้อ (substrate mycelium) โดยมี arthrospore ต่อกัน 20 -30 สปอร์ สามารถแยกสารได้จากน้ำหมัก 5 ชนิด โดยพบสารชนิดใหม่ที่จัดอยู่ในกลุ่ม indolocarbazole 2 ชนิด ได้แก่ holorines A (51) และ B (52) ซึ่งเป็น intermediates ในกระบวนการสังเคราะห์ staurosporine



(51) R=



(52) R=



ตารางที่ 7 สารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆจากแอคติโนมัยสีทในทะเล

Table 7 The others bioactive agents from marine-derived actinomycetes

Compounds	Activities	Strain	Reference
(1'R, 2S, 4S)-2-(1-hydroxyl-6-methyheptyl)-4-hydroxy methyl-butanolide (48)	Metabolism of terrestrial actinomycetes	*Streptomyces virginiae*	Pathirana *et al.,*1991
D-glucono-1,5-lactam (49)	Inhibit β-glucosidase	*Streptomyces galbus*	Imada and Okami 1994
D-mannono-1,5-lactam (50)			
Salinamides A(10) and B(11)	Anti-inflammatory	*Streptomyces* sp.	Moore *et al.,* 1999
Holyrins A(51) and B(52)	Intermediates of staurosporine synthesis	*Streptomyces* sp.	William *et al.,* 1999
Lomaiviticin A (28)	DNA protector	*Micromonospora* sp.	He *et al.,*2001
(*R*)-10-methyl-6-undecanolide (33)	Phytotoxicity	*Streptomyces* sp.	Stritzke *et al.,*2004
(6*R*,10*S*)-10-methyl-6-dodecanolide (34)			

วัตถุประสงค์

1. แยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากแหล่งต่างๆในทะเลของประเทศไทย
2. คัดเลือกสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิตโดยแอคติโนมัยสีทที่แยกได้ในข้อ 1.
3. แยกสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบที่ผลิตจากแอคติโนมัยสีท