รายงานการวิจัย

ฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากป่าชายเลน

Biological activity of endophytic fungi isolated from mangrove forest

คณะผู้วิจัย

ดร. พลวัต นิวเคลียร์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กาญนา ชินสำราญ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาณุภัทร ตางาม

โครงการวิจัยทุนสนับสนุนงานวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

งบประมาณเงินรายได้ ปี พ.ศ. 2557

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

รายงานการวิจัย

ฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากป่าชายเลน

Biological activity of endophytic fungi isolated from mangrove forest

คณะผู้วิจัย

ดร. พลวัต นิวเคลียร์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กาญนา ชินสำราญ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาณุภัทร ตางาม

โครงการวิจัยทุนสนับสนุนงานวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

งบประมาณเงินรายได้ ปี พ.ศ. 2557

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา (เทคโนโลยีชีวภาพ) ปีงบประมาณ 2557 ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ขอขอบคุณนักวิจัยพี่เลี้ยง (ผศ.ดร.นิตยา สำเร็จผล) ที่ให้คำปรึกษางานวิจัยอย่างใกล้ชิดและต่อเนื่อง ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ในการอำนวยความสะดวกครุภัณฑ์และสถานที่วิจัย

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.ขนิษฐา พุดหอม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการวิเคราะห์โครงสร้างสารจากราเอนโดไฟท์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ราเอนโดไฟท์ได้จำนวน 20 isolated จากพืชป่าชายเลน จ.สมุทรสาคร และ จ. สมุทรสงคราม จากนั้นจึงคัดเลือกราเอนโดไฟท์จำนวน 12 isolated มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 2 ชนิดคือ yeast extract broth (YEB) และ corn steep liquor broth (CSB) เมื่อราเอนโดไฟท์เจริญเต็มที่แล้วจึงนำมาสกัดแยกสารและนำสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าโปรตอน (^{1}H) พบว่าสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์จำนวน 3 isolated (isolated I, isolated V, และ isolated IX) มีค่าโปรตอนอยู่ในช่วง 6-8 ซึ่งเป็นช่วงของสารที่มีโครงสร้างเป็นวงขนาดใหญ่ (aromatic ring, functional group) มักมีฤทธิ์ทางชีวภาพ และจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ 5 isolated มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีดังนี้ (1)สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated 1 (แยกจากต้นฝาด เลี้ยงในอาหาร CSB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้ดี, (2)สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated II (แยกจากหต้นญ้าพันงู เลี้ยงในอาหาร YEB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดี, (3)สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated III (แยกจากต้นตะบูนขาว เลี้ยงในอาหาร YEB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดี, (4)สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated V (แยกจากต้นชะคราม เลี้ยงในอาหาร YEB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดี, (5)สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated IX (แยกจากต้นunknown เลี้ยงในอาหาร YEB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ได้ดี

Abstract

This research isolated 20 endophytic fungi from mangrove plants at Samutsakorn and Samutsongkhram province. After that, we select only 12 isolates for cultured in 2 liquid medium of yeast extract broth (YEB) and corn steep liquor broth (CSB) until endophytic fungi mature and then used to extract, bring crude extracts were analyzed for Proton (^{1}H). Found that extracts three isolates of endophytic fungi (isolated I, isolated V, and isolated IX) showed proton in the range of 6-8, which is a substance whose structure is the large ring (aromatic ring, functional group) are bioactive. The bioassay showed that crude extracts from 5 isolated of endophytic fungi are inhibited bacteria as well. Follows; (1) the crude extracts of endophytic fungi, Isolated I (isolated from *Lumnitzera racemosa*, cultured in CSB) can inhibited the bacteria, *Escherichia coli* as well. (2) the crude extracts of endophytic fungi, Isolated II (isolated from *Stachytarpheta jamaicensis*, cultured in YEB) can inhibited the bacteria, *Pseudomonas aeruginosa* as well. (3) the crude extracts of endophytic fungi, Isolated III (isolated from *Xylocarpus granatum*, cultured in YEB) can inhibited the bacteria, *Staphylococcus aureus* as well. (4) the crude extracts of endophytic fungi, Isolated V (isolated from *Suaeda maritima*, cultured in YEB) can inhibited the bacteria, *Staphylococcus aureus* as well. (5) the crude extracts of endophytic fungi, Isolated IX (isolated from unknown plant, cultured in YEB) can inhibited the bacteria, *Bacillus subtilis* as well.

สารบัญ

หน้า

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 วัตถุประสงค์ 1

1.2 ขอบเขตการวิจัย 1

1.3 ทฤษฎี สมมติฐาน และ /หรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม 3

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 6

3.1 สถานที่เก็บตัวอย่างพืชเพื่อแยกราเอนโดไฟท์ 6

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์ 7

3.3 อาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงราเอนโดไฟท์ 7

3.4 การเก็บตัวอย่างพืชเพื่อแยกราเอนโดไฟท์และสถานที่เก็บตัวอย่าง 7

3.5 ขั้นตอนการแยกราเอนโดไฟท์ให้บริสุทธิ์ 7

3.6 การคัดเลือกสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์ที่น่าสนใจสำหรับการสกัดสาร 8

3.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย 12

บทที่ 4 ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์ 15

4.1 การรวบรวมราเอนโดไฟท์ 15

4.2 การคัดเลือกสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์สำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อสกัดสาร 20

4.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย 22

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 25

5.1 ความหลากหลายของสถานที่เก็บตัวอย่างพืชเพื่อรวบรวมราเอนโดไฟท์ 25

5.2 ชนิดของพืชที่มีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์และการสร้างสารออกฤทธิ์ 25

5.3 อิทธิพลของอาหารเพาะเลี้ยงราเอนโดไฟท์ต่อการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 25

5.4 สรุปการคัดเลือกราเอนโดไฟท์สำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 25

5.5 ข้อเสนอแนะของงานวิจัยนี้ 25

เอกสารอ้างอิง 32

ภาคผนวก 34

ประวัตินักวิจัย 36

สารบัญรูปภาพ

รูปภาพที่	หน้า
รูปภาพที่ 1 โครงสร้างสารบริสุทธิ์จากราเอนโดไฟท์	3
รูปภาพที่ 2 สถานที่สำหรับเก็บตัวอย่างพืชป่าชายเลน จ.สมุทรสาครและจ.สมุทรสงคราม	6
รูปภาพที่ 3 แผนผังการแยกราเอนโดไฟท์ให้บริสุทธิ์และการเพาะเลี้ยง	8
รูปภาพที่ 4 แสดงการเลี้ยงราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว YEB และ CSB	10
รูปภาพที่ 5 การสกัดสาร การระเหย และสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์	11
รูปภาพที่ 6 การเก็บตัวอย่างราเอนโดไฟท์ สารสกัดหยาบและ เส้นใยรา (hypha)	12
รูปภาพที่ 7 แบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลว NB และ TSB เพื่อใช้การทดสอบฤทธิ์ทางชีภาพ	13
รูปภาพที่ 8 สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ที่ใช้ในการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย	14
รูปภาพที่ 9 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียโดยวิธี Disc Diffusion	14
รูปภาพที่ 10 พืชป่าชายเลน19 ชนิดที่นำมาแยกราเอนโดไฟท์ จ.สมุทรสาครและ จ.สมุทรสงคราม	18
รูปภาพที่ 11 ราเอนโดไฟท์บริสุทธิ์ 12 isolated ที่คัดเลือกเลี้ยงในอาหารเหลว YEB และ CSB	20
รูปภาพที่ 12 ค่าโปรตอน (^{1}H) ของสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ isolated I, isolated V และ isolated IX	21
รูปภาพที่ 13 แสดงการยับยั้งแบคทีเรีย (clear zone) ของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์	24

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์	4
ตารางที่ 2 แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบที่ใช้ในการทดลอง	13
ตารางที่ 3 แสดงการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์	23

คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ

acetone-d_6	Deuterated acetone
$^{\circ}$C	Degree Celsius
^{13}C NMR	Carbon-13 nuclear magnetic resonance
$CDCl_3$	Deuterated chloroform
$CHCl_3$	Chloroform
CH_2Cl_2	Methylene chloride
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
ε	Molar absorptivity
et al	And other
EtOAc	Ethyl acetate
g	Gram
μg	Microgram
h	Hour
^{1}H-^{1}H COSY	Homonuclear (proton-proton) correlation spectroscopy
^{1}H NMR	Proton nuclear magnetic resonance
HMBC	^{1}H-detected heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	^{1}H-detected heteronuclear multiple quantum coherence
Hz	Hertz
KBr	Potassium bromide
L	Liter (s)
λ_{max}	Maximum wavelength
μg	Microgram (s)
μL	Microliter (s)
μM	Micromolar
M	Molar
m	Multiplet (for NMR spectral data)
m.p.	Melting point
MeOH	Methanol
mg	Milligram

min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
MHz	Megahertz
MW	Molecular weight
MS	Mass spectroscopy
m/z	Mass to charge ratio
nm	Nanometer
No.	Number
NMR	Nuclear magnetic resonance
NTP	Nucleotide triphosphate
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
$[M+H]^+$	Protonated molecule
$[M+Na]^+$	Pseudomolecular ion
ppm	Part per million
q	Quartet (for NMR spectral data)
rpm	Round per minute
s	Singlet (for NMR spectral data)
sp.	Species
TLC	Thin layer chromatography
U	Unit
UV	Ultraviolet
V	Volt
v	Volume
ν_{max}	Wave number at maximum absorption
YEB	Yeast Extract Broth

บทที่ : 1 บทนำ

ในปัจจุบันพบว่ามีโรคจำนวนมากเป็นสาเหตุการป่วยและการตายของมนุษย์ทั่วโลก จากงานวิจัยพบว่า มนุษย์มีแนวโน้มจะเป็นโรคต่างๆเพิ่มขึ้นทุกปี เช่น โรคมะเร็ง โรคเอดส์ โรคไข้หวัดใหญ่ โรคท้องร่วง ฯลฯ แม้ว่ายาที่ใช้ในการรักษาโรคในปัจจุบันจะมีอยู่หลายชนิด แต่เนื่องจากปัญหาการดื้อยาของโรคและปัญหาผลข้างเคียงของยาแต่ละชนิด ดังนั้นยาที่ใช้จะต้องลดปัญหาการดื้อยาและลดผลข้างเคียง จึงทำให้นักวิจัยทั้งหลายต้องศึกษาค้นคว้าหายารักษาโรคชนิดใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพสูงและผลข้างเคียงต่ำ ซึ่งยารักษาโรคที่ใช้ได้ดีส่วนใหญ่ได้มาจากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สกัดแยกมาจากสิ่งมีชีวิตได้แก่ พืช สัตว์ เชื้อรา และแบคทีเรีย [1-2] และยังมีรายงานการวิจัยพบว่า ประมาณ 60% ของยาชนิดใหม่ที่จดทะเบียนในช่วง ค.ศ. 1981-2002 โดย FDA คือยารักษาโรคมะเร็ง ไมเกรน และความดันโลหิตสูง เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหรือสารที่ปรับเปลี่ยนโครงสร้างมาจากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

นอกจากนี้สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สำคัญยังได้จากเชื้อราอีกกลุ่มหนึ่งคือราเอนโดไฟท์ซึ่งเป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชและมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัย (mutualism)โดยพืชจะสร้างอาหารและให้ที่อยู่อาศัยแก่เชื้อรา ส่วนเชื้อราจะผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite compound) ช่วยในการเจริญเติบโตและป้องกันอันตรายให้แก่พืช [3] จากการศึกษารายงานการวิจัยต่างๆ พบว่าสารจากธรรมชาติหลายกลุ่มมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีและสามารถพัฒนาเป็นยารักษาโรคมะเร็งได้แล้ว เช่น Taxol สกัดแยกมาจากพืชและรา นอกจากนี้ผู้วิจัยยังเคยทำการศึกษาสกัดแยกสารบริสุทธิ์ aspernolide D และ asperterone จากราเอนโดไฟท์ *Aspergillus terreus* ซึ่งสารทั้งสองชนิดเป็นสารใหม่และมีฤทธิ์ในการยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ [4] และเนื่องจากประเทศไทยมีพืชจำนวนมากที่ยังขาดการคัดแยกสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์สำหรับการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเฉพาะพืชป่าชายเลนบริเวณจังหวัดสมุทรสาครและสมุทรสงครามของประเทศไทย ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเห็นว่าการค้นหาสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนชนิดต่างๆในบริเวณดังกล่าวมีความสำคัญยิ่งสำหรับการสกัดสารและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อพัฒนาไปเป็นยาในอนาคต

1.1 วัตถุประสงค์

1. แยกราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลน
2. เพาะเลี้ยงและสกัดหยาบสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟท์
3. นำสารสกัดหยาบที่แยกได้มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

1.2 ขอบเขตการวิจัย

1. แยกราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนทุกชนิด บริเวณจังหวัดสมุทรสาครและสมุทรสงคราม
2. เพาะเลี้ยงและสกัดหยาบสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟท์

3. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

1.3 ทฤษฎี สมมติฐาน และ /หรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย

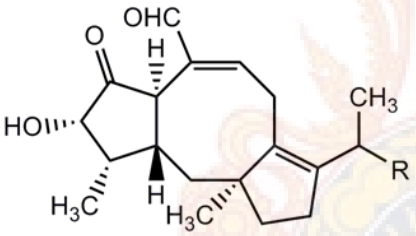
ราเอนโดไฟท์สร้างสารทุติยภูมิออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการป้องกันอันตรายให้กับพืชดังนั้นสารสกัดที่ได้จากราเอนโดไฟท์น่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

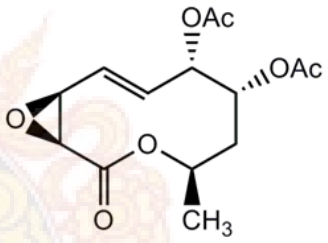
1. ได้ราเอนโดไฟท์ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้อาจใช้เป็นสารต้นแบบเพื่อที่จะพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไป
2. สารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ที่ศึกษาอาจมีประโยชน์ทั้งด้านการแพทย์และด้านเศรษฐกิจของประเทศไทย หากสารสกัดหยาบที่แยกได้จากราเอนโดไฟท์เหล่านี้ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดี

บทที่ 2 : การทบทวนวรรณกรรม

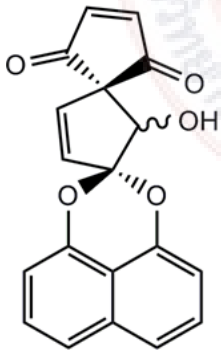
จากรายงานการวิจัยหลายปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีภาพจากเชื้อรา หลายชนิดดังนี้ ในปี ค.ศ. 2004 Kim, S. และคณะ พบสาร periconicin A[5] ของราเอนโดไฟท์ *Periconia* sp. ที่แยกจากพืช *Taxus cuspidata* มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา ถัดมาในปี ค.ศ. 2008 Paulwatt Nuclear และ Khanitha Pudhom ได้ทำการสกัดแยกสารสกัดหยาบ (crude) ของราทะเลจากปะการัง *Porites lutea* แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง 5 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร เซลล์มะเร็งเต้านม เซลล์มะเร็งลำไส้ เซลล์มะเร็งตับ และเซลล์มะเร็งปอด[6] ในปีเดียวกัน Wu,S.-H และคณะ ได้พบสาร lactone[7] ของราเอนโดไฟท์ *Phomopsis* sp. ที่แยกจากพืช *Azadirachta indica* สามารถยับยั้งเชื้อราได้เช่นเดียวกัน ต่อมาในปีค.ศ. 2009 Chen, X. และคณะ พบสาร spiropreussione A [8] ของราเอนโดไฟท์ *Preussia* sp. ที่แยกจากพืช *Angelica sinensis* มีฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นพิษต่อเซลล์และในปี ค.ศ. 2011 Isaka, M. และคณะ ค้นพบสาร xyloopimarane[9] สกัดแยก มาจากราเอนโดไฟท์ *Xylaria* sp. มีฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้ยังมีสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สกัดได้จากราเอนโดไฟท์จำนวนมาก ดังตารางที่ 1



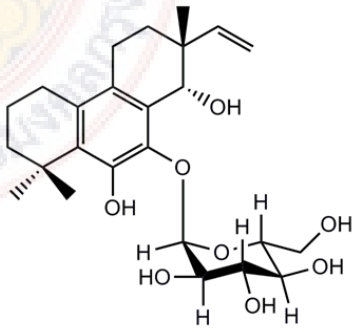
periconicin A, R = CH_3 [5]



Lactone [7]



spiropreussione A [8]



Xylopimarane [9]

รูปภาพ 1 โครงสร้างสารบริสุทธิ์จากราเอนโดไฟท์

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากราเอนโดไฟท์

ราเอนโดไฟท์	พืชที่อาศัย	การเพาะเลี้ยง	สารสกัดที่ได้	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	อ้างอิง
Aspergillus fumigatus CY018	*Cynodon dactylon*	PDB; 25 ^{o}C; 5 days	9-deacetoxy-fumigaclavine	cytotoxic	[10]
Aspergillus parasiticus RDWD1-2	*Sequoia sempervirens*	DIFCO mycological broth; 19 days	sequoiatone C sequoiatone D sequoiatone E	toxic to brine shrimp	[11]
Chaetomiu-m chiversii CS-36-62	*Ephedra fasciculata*	PDB; 27 ^{o}C; 14 days	radicicol (**7**)	cytotoxic; Hsp90 inhibitor	[12]
Edenia sp.	*Petrea volubilis*	MEB; 15 days	preussomerin EG1 palmarumycin CP_{17} palmarumycin CP_{18}	antileish-manial	[13]
Microspha-eropsis olivacea	*Pigerodendron uviferum*	rice medium; 25 ^{o}C; 30 days	graphislacone A botrallin	AchE inhibitor	[14]
Microspha-eropsis sp. NRRL 15684	*Buxus sempervirens*	SL medium; 24 ^{o}C; 13 days	lactone S 39163/F-I	antiviral; antibiotic	[15]

ในประเทศไทยเคยทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดแยกได้จากเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกมาจากพืชสมุนไพรไทยได้แก่ สารกลุ่ม Oblongolides มีฤทธิ์ในการยับยั้งไวรัสเริม (HSV) สกัดแยกจากเชื้อราเอนโดไฟท์ *Phomopsis* sp. สายพันธุ์ BCC 9789 ซึ่งแยกได้จากใบกล้วย (*Musa acuminata*) จ. เชียงใหม่ [16] ถัดมาได้แก่สาร 11-hydroxymonocerin มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) สกัดแยกจากเชื้อราเอนโดไฟท์ *Exserohilum rostratum* ซึ่งแยกได้จากใบต้นหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) จ.อยุธยา [17] และสารใหม่อีกชนิดหนึ่งคือ asperterone มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง สามชนิดได้แก่ เซลล์มะเร็งลำไส้ เซลล์มะเร็งตับและเซลล์มะเร็งปอด สกัดแยกจากราเอนโดไฟท์ *Aspergillus terreus* ซึ่งแยกได้จากใบของต้นสารภี (*Mammea siamensis*) จ. ระยอง [18]

สำหรับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลนบริเวณพื้นที่จังหวัดสมุทรสาครและสงครามของประเทศไทยนั้นยังขาดการศึกษาและมีข้อมูลอยู่น้อยจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

บทที่ 3 : วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่เก็บตัวอย่างพืชเพื่อแยกราเอนโดไฟท์

สถานที่เก็บตัวอย่างพืชป่าชายเลนเพื่อแยกราเอนโดไฟท์จะเก็บที่ จ.สมุทรสาครและจ.สมุทรสงคราม (รูปภาพที่ 2)

รูปภาพที่ 2 สถานที่สำหรับเก็บตัวอย่างพืชป่าชายเลน จ.สมุทรสาครและจ.สมุทรสงคราม

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์

สารเคมีที่ใช้ในการสกัดและแยกสารจากราเอนโดไฟท์ได้แก่ hexane, dichloromethane (CH_2Cl_2), acetone, ethyl acetate (EtOAc), methanol (MeOH), benzene, chloroform-*d* ($CDCl_3$), acetone-d_6,, อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัด แยก และวิเคราะห์สารจากราเอนโดไฟท์ได้แก่ TLC, CC, HPLC, NMR

3.3 อาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงราเอนโดไฟท์

อาหารที่ใช้เลี้ยงสำหรับการแยกราเอนโดไฟท์จากพืชป่าชายเลนคือ Water agar (WA)

อาหารที่ใช้เลี้ยงสำหรับการจำแนกราเอนโดไฟท์คือ Potato dextrose agar (PDA)

อาหารที่ใช้เลี้ยงสำหรับการผลิตสารจากราเอนโดไฟท์ได้แก่ yeast extract broth (YEB)และ corn steep liquor broth (CSB)

3.4 การเก็บตัวอย่างพืชเพื่อแยกราเอนโดไฟท์

เก็บตัวอย่างกิ่งและใบพืชป่าชายเลนที่มีสุขภาพแข็งแรงโดยแยกใส่แต่ละถุงเก็บที่อุณหภูมิ 15°C หลังจากนั้นนำมาทำการแยกราในห้องปฏิบัติการภายใน 72 ชั่วโมง (รูปภาพที่ 3)

3.5 ขั้นตอนการแยกราเอนโดไฟท์ให้บริสุทธิ์

นำตัวอย่างกิ่งและใบพืชป่าชายเลนที่มีสุขภาพแข็งแรงมาล้างน้ำให้สะอาดและทิ้งให้แห้ง จากนั้นนำทำให้ปลอดเชื้อตามขั้นตอนดังนี้

1 นำตัวอย่างกิ่งและใบพืชมาแช่ใน 70% EtOH นาน 1 นาที

2 นำมาแช่ต่อใน 6% NaOCl นาน 5 นาที

3 นำมาแช่ล้างด้วยน้ำกลั่น นาน 1 นาที (ล้าง 2 ครั้ง)

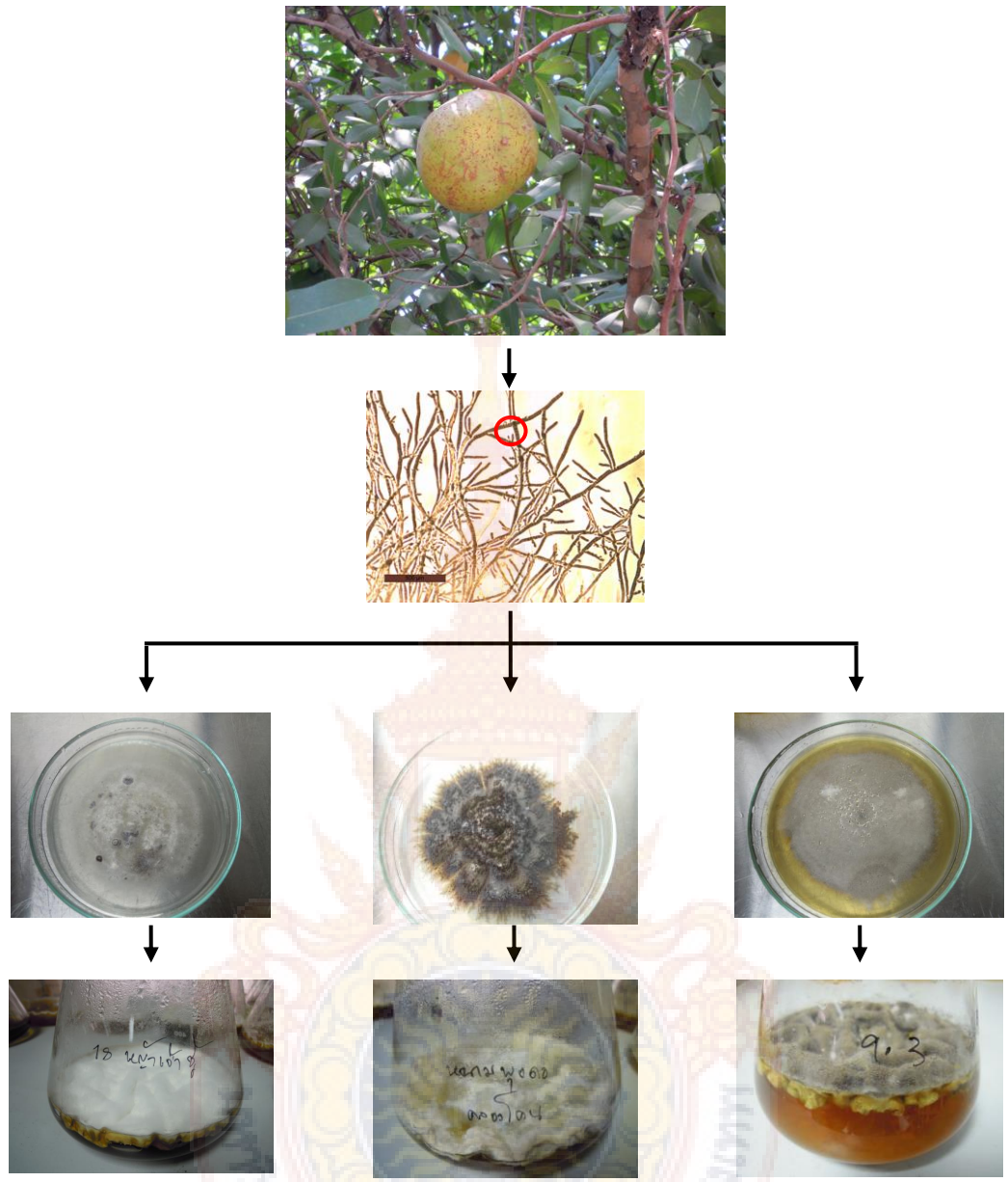
4 นำตัวอย่างกิ่งและใบพืชมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆขนาด 5 ม.ม.

5 นำชิ้นตัวอย่างที่ตัดมาวางบนวุ้นอาหาร (WA) ในจานเพาะเลี้ยง ที่อุณหภูมิ 30 °C

6 สังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์นานสองสัปดาห์ ถ้าพบเส้นใยราเอนโดไฟท์เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช จะทำการแยกราให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี hyphal tip

7 นำเส้นใยราที่บริสุทธิ์มาเลี้ยงในอาหาร PDA เพื่อจำแนกโคโลนีราเอนโดไฟท์

8 เมื่อราเอนโดไฟท์เจริญเต็มจานเพาะเลี้ยงจะทำการจัดเก็บราไว้ในอาหารปลอดเชื้อ 3 ชนิด คือ เก็บในน้ำกลั่น เก็บใน15% glycerol และเก็บใน WA เพื่อใช้ทดลองในขั้นตอนถัดไป

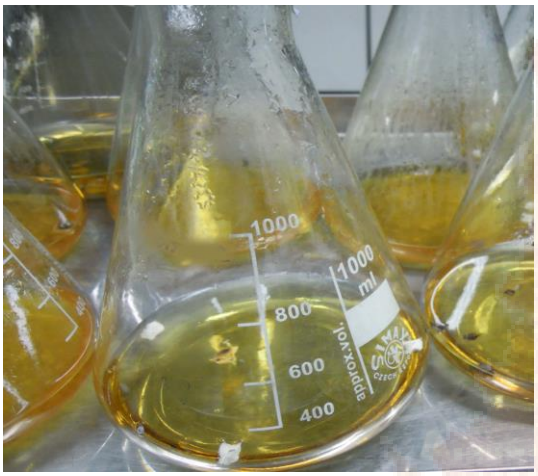


รูปภาพที่3 แผนผังการแยกราเอนโดไฟท์ให้บริสุทธิ์และการเพาะเลี้ยง

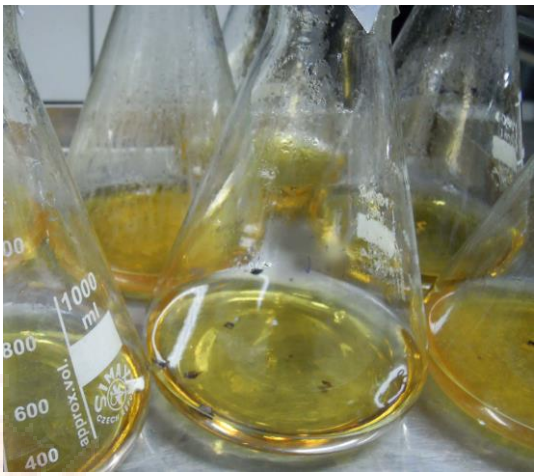
3.6 การคัดเลือกสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์สำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อสกัดสารหาฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำราเอนโดไฟท์ทุก isolated ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลนมาเลี้ยงในอาหารแข็ง (PDA) เมื่อราเจริญเต็มจานเพาะเลี้ยงจึงนำมาถ่ายเชื้อเลี้ยงต่อในอาหารเหลว 2 ชนิดคือ YEB (200 ml) และ CSB (200 ml) (เลี้ยงในขวดขนาด 250 mL) (ดังรูปภาพที่ 4) ที่อุณหภูมิ 30 $^{\circ}$C เมื่อราเจริญเต็มที่ (เต็มขวดเพาะเลี้ยง) ก็นำรามาสกัดหยาบด้วย EtOAc 3 ครั้งแล้วทำการระเหยเอา EtOAc ออกไป จะเหลือแต่สารสกัดหยาบ (ดังรูปภาพที 5 และ 6) จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้ทุก isolated ไปตรวจสอบค่าโปรตอน ^{1}H ด้วยเครื่อง NMR spectroscopy เพื่อวิเคราะห์หาโครงสร้างสารที่มีโครงสร้างเป็นวงขนาดใหญ่ (มี aromatic ring,

functional group) ซึ่งมักมีฤทธิ์ทางชีวภาพ จากนั้นนำราเอนโดไฟท์เฉพาะ isolated ที่น่าสนใจ (มีโครงสร้างสารเป็นวงขนาดใหญ่) ไปเลี้ยงในอาหารเหลว 2 ชนิดคือ YEB (20 ลิตร) และ CSB (20 ลิตร) (เลี้ยงในขวดขนาด 1000 mL) ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อราเจริญเต็มที่ (ประมาณ 4 สัปดาห์หรือเต็มขวดเพาะเลี้ยง) จึงนำรามาสกัดหยาบด้วย EtOAc 3 ครั้งแล้วทำการระเหยเอา EtOAc ออกไป จะเหลือแต่สารสกัดหยาบแล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและแยกบริสุทธิ์ต่อไป



ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว YEB สัปดาห์ 1



ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว CSB สัปดาห์ 1

ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว YEB สัปดาห์ 2

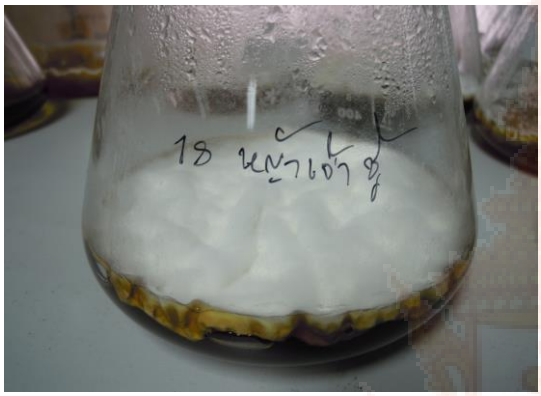
ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว CSB สัปดาห์ 2

ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว YEB สัปดาห์ 3

ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว CSB สัปดาห์ 3

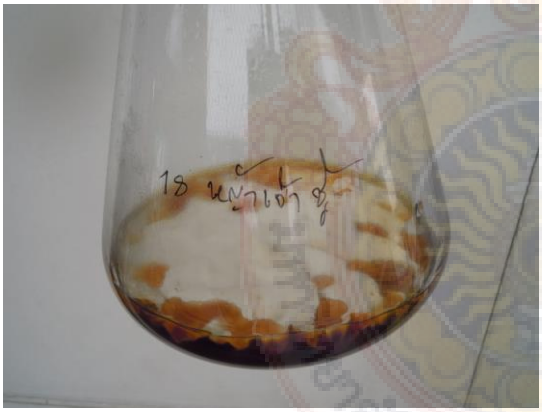
ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว YEB สัปดาห์ 4

ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว CSB สัปดาห์ 4



ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว YEB สัปดาห์ 5

ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว CSB สัปดาห์ 5



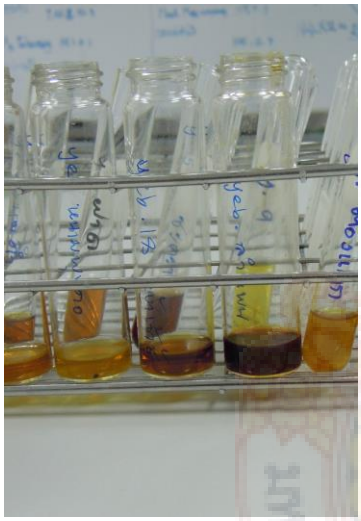
ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว YEB สัปดาห์ 6

ราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว CSB สัปดาห์ 6

รูปภาพที่ 4 แสดงการเลี้ยงราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว YEB และ CSB

การสกัดสาร

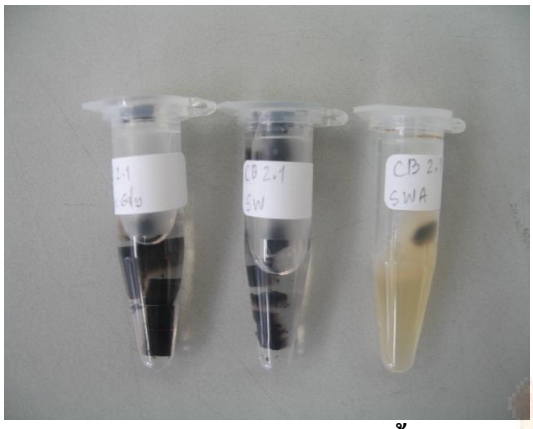
การระเหย solvent



สารสกัดหยาบ

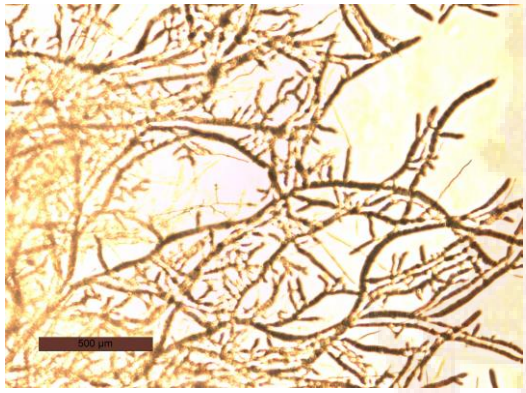
สารสกัดหยาบ

รูปภาพที่ 5 การสกัดสาร การระเหย และสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์



ราเอนโดไฟท์ในอาหารปลอดเชื้อ 3 ชนิด

สารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์



เส้นใยรา (hypha)

เส้นใยรา (hypha)

รูปภาพที่ 6 การเก็บตัวอย่างราเอนโดไฟท์ สารสกัดหยาบและ เส้นใยรา (hypha)

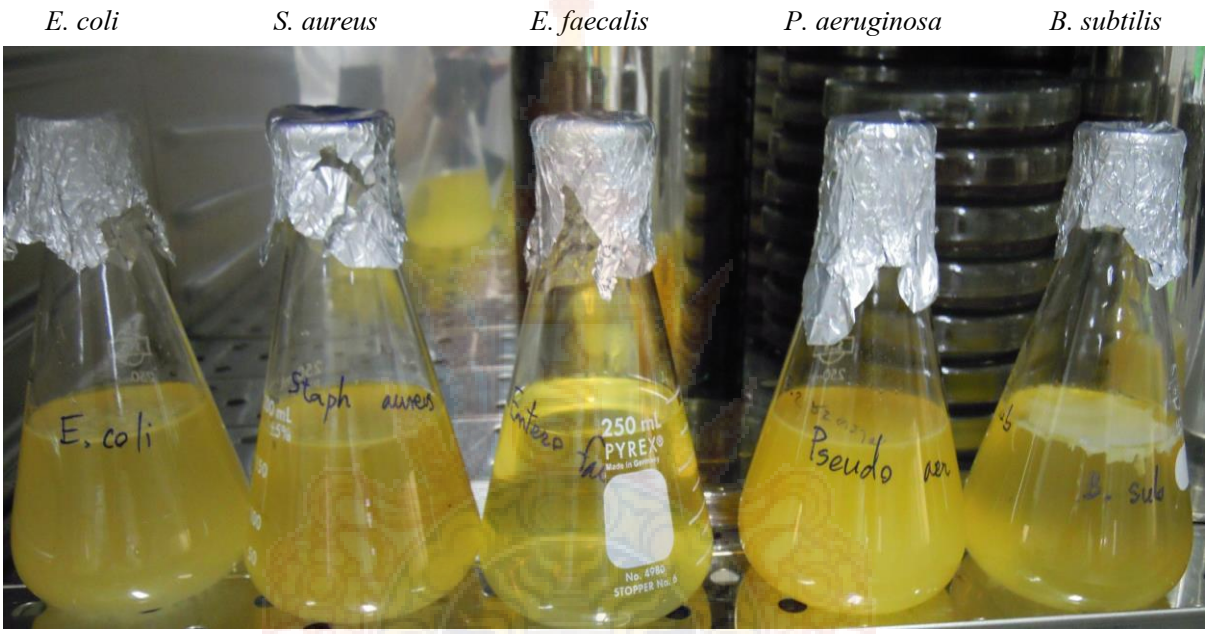
3.7 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย

โดยวิธี Disc Diffusion

นำแบคทีเรียที่เตรียมไว้ทั้ง 5 สายพันธุ์มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้ แบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (ตารางที่ 2) เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ชนิด Nutrient broth (NB) ที่อุณหภูมิ 37° C (รูปภาพที่ 7) เมื่อเจริญเต็มที่จึงนำมาเลี้ยงต่อในอาหารแข็งชนิด Nutrient agar (NA) ส่วนแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* จะต้องเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ชนิด Tryptic soy broth (TSB) ที่อุณหภูมิ 37° C เมื่อเจริญเต็มที่จึงนำมาเลี้ยงต่อในอาหารแข็งชนิด Tryptic soy agar (TSA) หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ (รูปภาพที่ 8) ที่ต้องการทดสอบจำนวน 5 μL มาหยดบนกระดาษกรองปราศจากเชื้อเบอร์ 5 ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 มม. วางแผ่นกระดาษ จำนวน 10 แผ่นต่อ 1 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ ที่อุณหภูมิ 35-37 °C นาน 16-18 ชั่วโมง ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใส ที่ไม่มีแบคทีเรียขึ้นรอบแผ่นกระดาษ (inhibitory zone) โดยวัดเป็น mm (รูปภาพที่ 9)

ตารางที่ 2 แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบที่ใช้ในการทดลอง

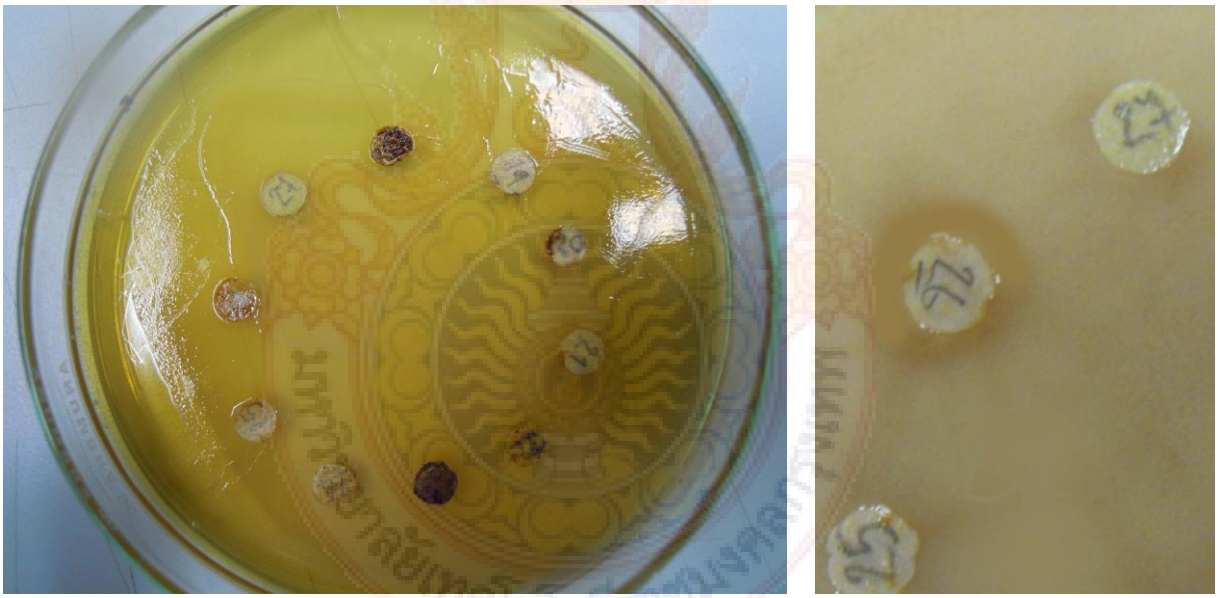
Gram-positive bacteria	**Gram-negative bacteria**
1. *Enterococcus faecalis* TISTR 1841	1. *Escherichia coli* TISTR 073
2. *Bacillus subtilis* TISTR 001	2. *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 1287
3. *Staphylococcus aureus* TISTR	



E. coli *S. aureus* *E. faecalis* *P. aeruginosa* *B. subtilis*

รูปภาพที่ 7 แบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลว NB และ TSB เพื่อใช้การทดสอบฤทธิ์ทางชีภาพ

รูปภาพที่ 8 สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ที่ใช้ในการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย

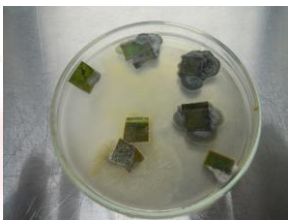
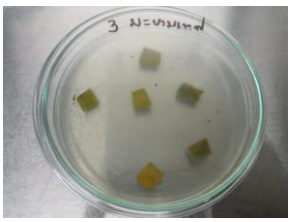


รูปภาพที่ 9 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียโดยวิธี Disc Diffusion

บทที่ 4 : ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์

4.1 การรวบรวมราเอนโดไฟท์และการเพาะเลี้ยง

งานวิจัยนี้ได้ราเอนโดไฟท์ จำนวน 20 isolated แยกจากพืชป่าชายเลน 19 ชนิด ที่ จ. สมุทรสาคร และ จ.สมุทรสงคราม โดยศึกษาจากรูปร่างลักษณะภายนอกของรา fungal morphology (รูปภาพที่ 10) และคัดเลือกสายราเอนโดไฟท์ ได้ราจำนวน 12 isolated ที่มีความแตกต่างกันทางสายพันธุ์ (รูปภาพที่ 11) จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว 2 ชนิดคือ yeast extract broth (YEB) และ corn steep liquor broth (CSB) เมื่อราเอนโดไฟท์เจริญเต็มที่แล้วจึงนำมาสกัดแยกสารจนได้สารสกัดหยาบ (crude extract)จำนวน 24 ตัวอย่าง (รูปภาพที่ 8)

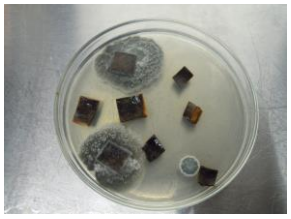
ชนิดพืช	รูปพรรณพืช	ใบและกิ่งสำหรับแยกรา	ราเอนโดไฟท์
1 โพทะเล1 *Thespesia populnea*			
2 หนามพุงดอ *Azima sarmentosa*			
3 มะขามเทศ *Pithecellobium dulce*			
4 Unknown 1			

5 ชะคราม

Suaeda maritima

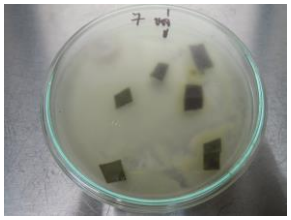
6 โกงกางใบใหญ่

Rhizophora mucronata



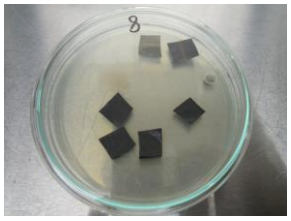
7 ขลู่

Pluchea indica



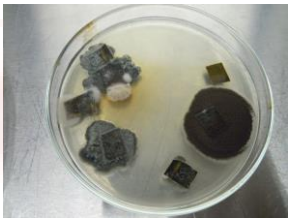
8 แสมขาว

Avicennia alba



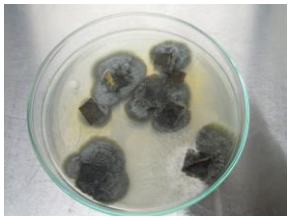
9 ปรงทะเล

Acrostichum aureum



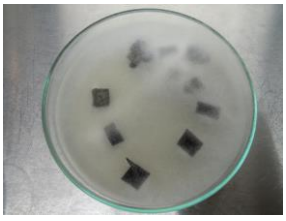
10 โพทะเล 2

Thespesia populnea



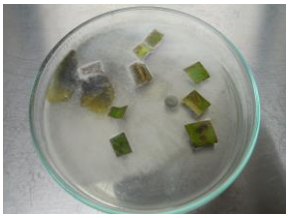
11 ตีนเป็ดทะเล

Cerbera odollam



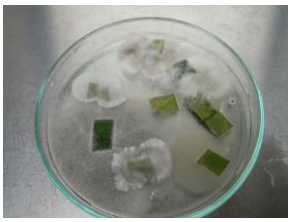
12 ฝาดดอกขาว

Lumnitzera racemosa



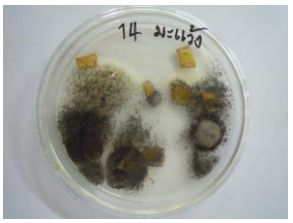
13 หงอนไก่ทะเล

Heritiera littoralis



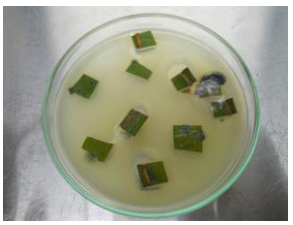
14 มะแว้ง

Solanum trilobatum



15 ตะบูนขาว

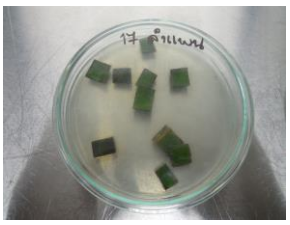
Xylocarpus granatum



16 Unknown 2

17 ลำแพน

Sonneratia ovata



18 หญ้าพันงู

Stachytarpheta jamaicensis

19 แสมดำ

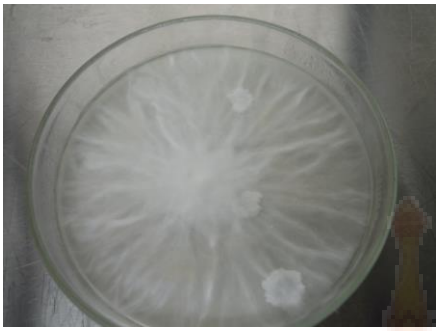
Avicennia officinalis

รูปภาพที่ 10 พืชป่าชายเลน 19 ชนิดที่นำมาแยกราเอนโดไฟท์ จ.สมุทรสาครและ จ.สมุทรสงคราม

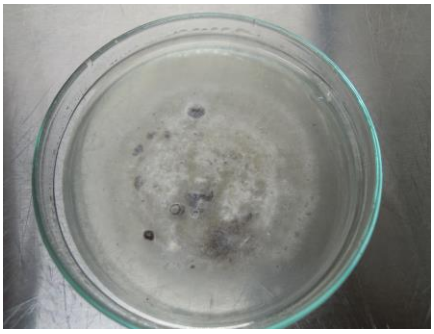
เชื้อราเอนโดไฟท์ส่วนใหญ่แยกได้จากส่วนของใบพืชมากกว่ากิ่งและส่วนอื่นๆ เนื่องจากในเนื้อเยื่อของใบพืชอาจจะมีความเหมาะสมกับการเจริญของราเอนโดไฟท์มากกว่า นอกจากนี้เชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชต่างชนิดก็มีความแตกต่างกันทางสายพันธุ์

ราเอนโดไฟท์บริสุทธิ์

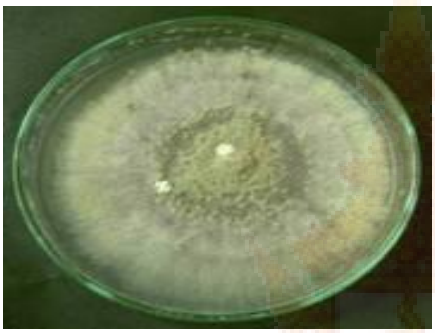
จ.สมุทรสาคร	จ.สมุทรสงคราม



Isolated I (ฝาด)



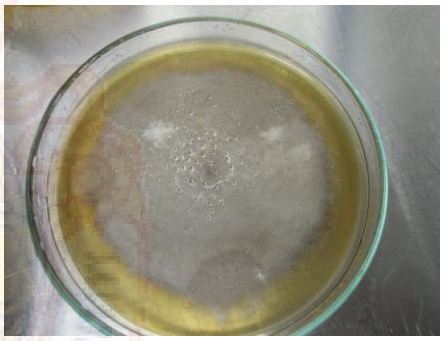
Isolated VII (ตะบูนดำ)



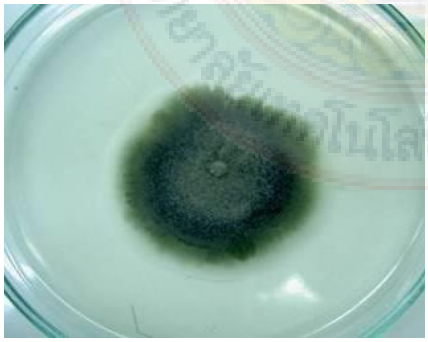
Isolated II (หญ้าพันงู)

Isolated VIII (หงอนไก่)

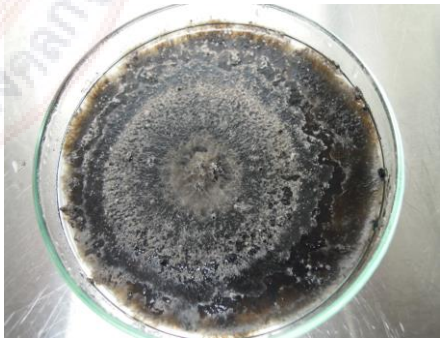
Isolated III (ตะบูนขาว)



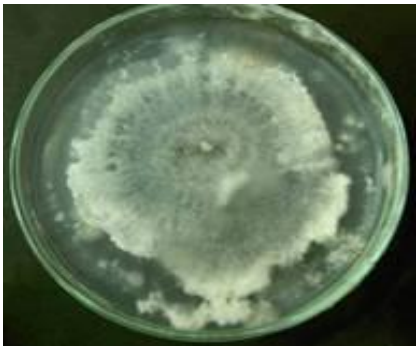
Isolated IX (unknown)



Isolated IV (ตีนเป็ด)

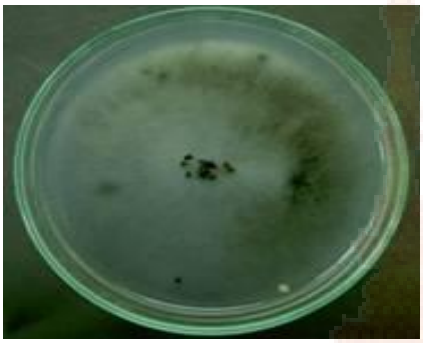


Isolated X (หนามพุงดอ)

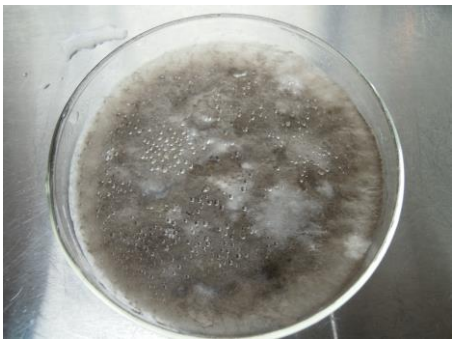


Isolated V (ชะคราม)

Isolated XI (ลำแพน)



Isolated XI (โพทะเล)

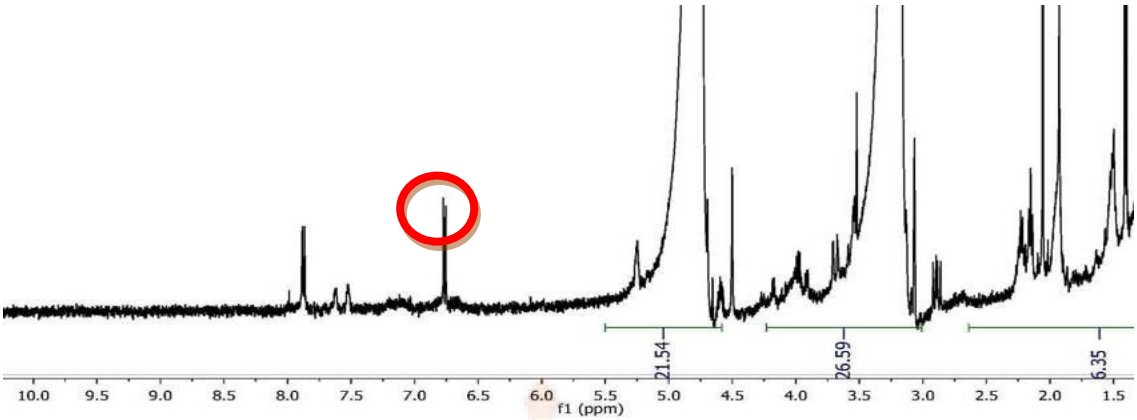


Isolated XII (ขลู่)

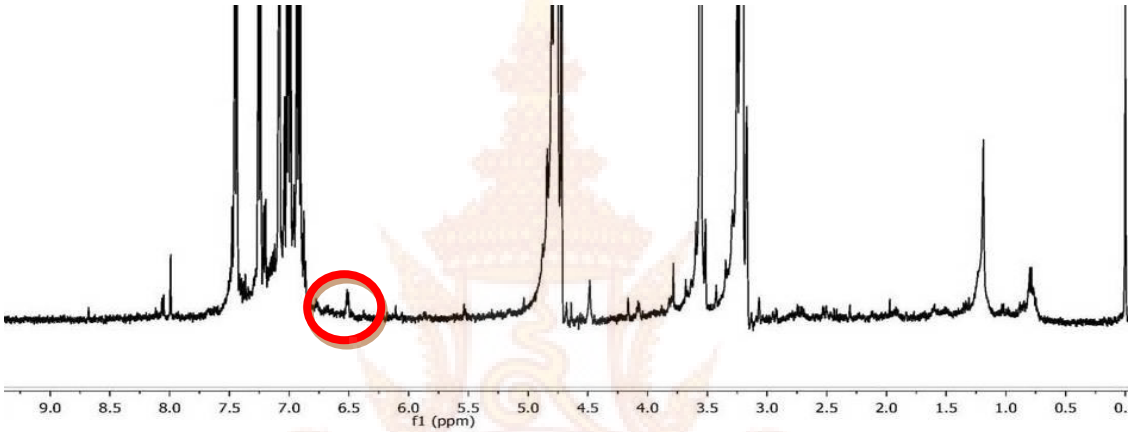
รูปภาพที่ 11 ราเอนโดไฟท์บริสุทธิ์ 12 isolated ที่คัดเลือกเลี้ยงในอาหารเหลว YEB และ CSB

4.2 การคัดเลือกสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์สำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อสกัดหาสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

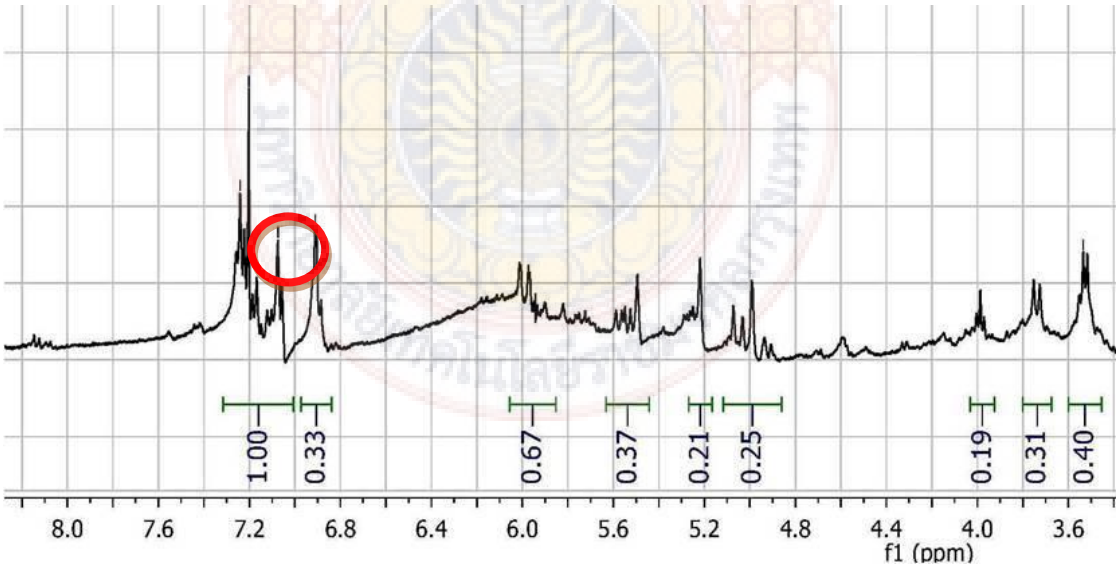
ผลการวิเคราะห์เพื่อการคัดเลือกสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์โดยตรวจหาค่าโปรตอน (^{1}H) ของสารสกัดหยาบเบื้องต้นด้วยเครื่อง NMR spectroscopy พบว่าสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์จำนวน 3 isolated (isolated I, isolated V และ isolated IX) แสดงค่าโปรตอน (^{1}H) อยู่ที่ประมาณ 6-8 (รูปภาพที่ 12) ซึ่งหมายถึงมีสารที่เป็นวง (aromatic ring) ประกอบอยู่ รวมทั้งมีหมู่ functional group ที่มักมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเซลล์แบคทีเรีย เซลล์มะเร็งและเซลล์จุลินทรีย์



^{1}H-NMR of isolated I



^{1}H-NMR of isolated V



^{1}H-NMR of isolated IX

รูปภาพที่ 12 ค่าโปรตอน (^{1}H) ของสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ isolated I, isolated V และ isolated IX

4.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย

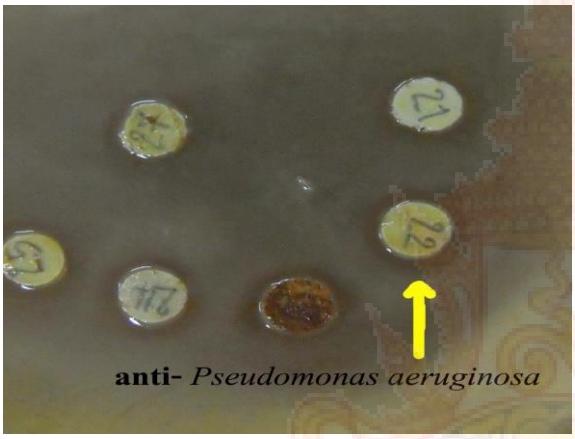
จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชป่าชายเลน isolated I เลี้ยงในอาหาร YEB จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* และถ้าเลี้ยงในอาหาร CSB จะยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, isolated II เลี้ยงในอาหาร YEB จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*, isolated III เลี้ยงในอาหาร YEB และ CSB จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, isolated IV เลี้ยงในอาหาร YEB จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และถ้าเลี้ยงในอาหาร CSB จะยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli*, isolated V เลี้ยงในอาหาร YEB จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และถ้าเลี้ยงในอาหาร CSB จะยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, isolated VI เลี้ยงในอาหาร CSB จะยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, isolated VII เลี้ยงในอาหาร YEB จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, isolated VIII เลี้ยงในอาหาร CSB จะยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli*, isolated IX เลี้ยงในอาหาร YEB จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และถ้าเลี้ยงในอาหาร CSB จะยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, isolated X และ XI เลี้ยงในอาหาร YEB จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*, isolated XII เลี้ยงในอาหาร YEB จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* และถ้าเลี้ยงในอาหาร CSB จะยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจำนวน 5 isolated ออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ดีมาก ดังนี้ (1) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate I แยกจากต้นฝาด (เลี้ยงใน CSB) สามารถยับยั้ง *Escherichia coli* ได้ดี (2) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate II แยกจากต้นหญ้าเจ้าชู้ (เลี้ยงในYEB) ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดี (3) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate III แยกจากต้นตะบูนขาว (เลี้ยงในYEB) ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดี (4) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate V แยกจากต้นชะคราม (เลี้ยงในYEB) ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดี (5) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate IX แยกจากต้น unknown (เลี้ยงในYEB) ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ได้ดี (รูปภาพที่ 13)

ตารางที่ 3 แสดงการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์

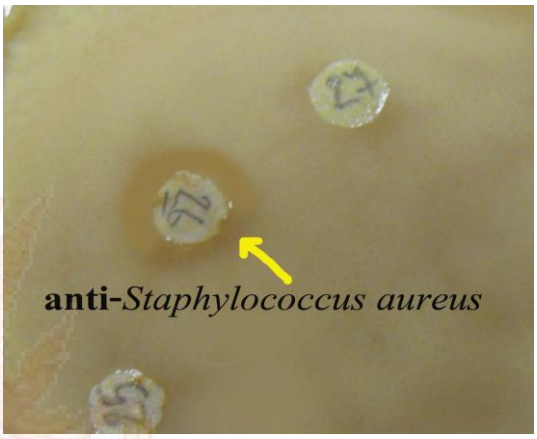
จังหวัด	สารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์ (crude extract)	แบคทีเรียแกรมบวก			แบคทีเรียแกรมลบ	
		E. faecalis	*B. subtilis*	*S. aureus*	*E. coli*	*P. aeruginosa*
สมุทรสาคร	Isolated I เลี้ยงใน YEB	-	+	-	+	-
	(ฝาด) เลี้ยงใน CSB	-	-	+	+2	-
	Isolated II เลี้ยงใน YEB	-	-	-	-	+2
	(หญ้าพันงู) เลี้ยงใน CSB	-	+	-	-	-
	Isolated III เลี้ยงใน YEB	-	-	+2	-	-
	(ตะบูนขาว) เลี้ยงใน CSB	-	-	+	-	-
	Isolated IV เลี้ยงใน YEB	-	+	-	-	-
	(ตีนเป็ดน้ำ) เลี้ยงใน CSB	-	-	-	+	-
	Isolated V เลี้ยงใน YEB	-	-	+2	+	-
	(ชะคราม) เลี้ยงใน CSB	-	+	-	-	-
	Isolated VI เลี้ยงใน YEB	-	-	-	-	-
	(โพทะเล) เลี้ยงใน CSB	-	+	-	-	-
สมุทรสงคราม	Isolated VII เลี้ยงใน YEB	-	+	-	+	-
	(ตะบูนดำ) เลี้ยงใน CSB	-	-	-	-	-
	Isolated VIII เลี้ยงใน YEB	-	-	-	-	-
	(หงอนไก่) เลี้ยงใน CSB	-	-	-	+	-
	Isolated IX เลี้ยงใน YEB	-	+2	-	-	-
	(Unknown) เลี้ยงใน CSB	-	-	+	-	-
	Isolated X เลี้ยงใน YEB	-	-	-	-	+
	(หนามพุงดอ) เลี้ยงใน CSB	-	-	-	-	-
	Isolated XI เลี้ยงใน YEB	-	-	-	-	+
	(ลำแพน) เลี้ยงใน CSB	-	-	-	-	-
	Isolated XII เลี้ยงใน YEB	-	+		-	+
	(ขลู่) เลี้ยงใน CSB	-	-	-	+	-

หมายเหตุ +2 แสดงผลยับยั้งดีมาก + แสดงผลยับยั้ง - แสดงผลไม่ยับยั้ง

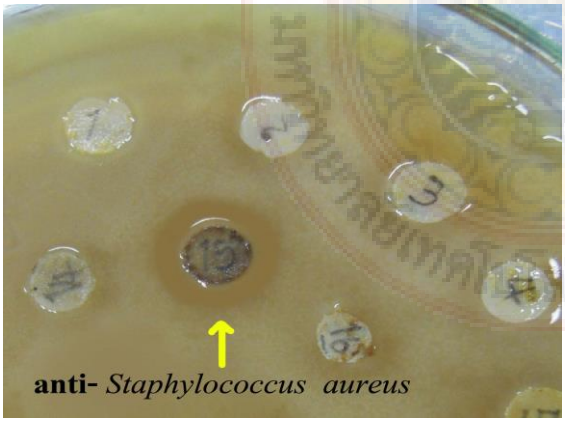
สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate I แยกจากต้นฝาด (เลี้ยงใน CSB) สามารถยับยั้ง *Escherichia coli* ได้ดี



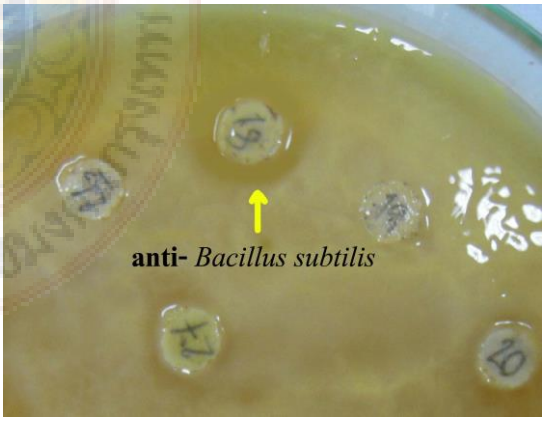
สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate II แยกจากต้นหญ้าเจ้าชู้ (เลี้ยงในYEB) ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดี



สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate III แยกจากต้นตะบูนขาว (เลี้ยงในYEB) ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดี



สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate V แยกจากต้นชะคราม (เลี้ยงในYEB) ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดี



สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolate IX แยกจากต้น unknown (เลี้ยงในYEB) ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ได้ดี

รูปภาพที่ 13 แสดงการยับยั้งแบคทีเรีย (clear zone) ของสารสกัดหยาบจากราเอนโดไฟท์

บทที่ 5 : สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปงานวิจัยนี้ได้ราเอนโดไฟท์ได้จำนวน 20 isolated จากพืชป่าชายเลน จ.สมุทรสาคร และ จ. สมุทรสงคราม จากนั้นนำราเอนโดไฟท์มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว YEB และ CSB แล้วนำมาสกัดสารและนำสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบพบว่าสารสกัดหยาบ ของราเอนโดไฟท์จำนวน 5 isolated มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีดังนี้ (1) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated I (แยกจากต้นฝาด เลี้ยงในอาหาร SCB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้ดี, (2) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated II (แยกจากต้นหญ้าเจ้าชู้ เลี้ยงในอาหาร YEB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดี, (3) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated III (แยกจากต้นตะบูนขาว เลี้ยงในอาหาร YEB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดี, (4) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated V (แยกจากต้นชะคราม เลี้ยงในอาหาร YEB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดี, (5) สารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ isolated IX (แยกจากต้นunknown เลี้ยงในอาหาร YEB) สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ได้ดี

จากผลการวิจัยแสดงว่าการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์มีความสัมพันธ์ตั้งแต่สถานที่เก็บตัวอย่างพืชที่ใช้แยกรา ชนิดของพืชที่ใช้แยกรา เทคนิคการตรวจสอบค่าโปรตอน ^{1}H เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ราและ สูตรอาหารสำหรับการเลี้ยงรา ดังนี้

5.1 ความหลากหลายของสถานที่เก็บตัวอย่างพืชเพื่อรวบรวมราเอนโดไฟท์

สำหรับสถานที่เก็บตัวอย่างที่หลากหลายนั้นมีผลต่อการเจริญของพืชและราเอนโดไฟท์ที่จะผลิตสาร secondary metabolite ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีและมีโอกาสได้สารใหม่ในการพัฒนาเป็นยาได้ ดังนั้นสถานที่แต่ละแห่งจึงมีผลต่อการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์ที่แตกต่างกันด้วยแม้จะเป็นราเอนโดไฟท์สายพันธุ์เดียวกันก็ตาม

5.2 ชนิดของพืชที่มีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์และการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การแยกราเอนโดไฟท์จากพืชชนิดเดียวกันมักได้ราเอนโดไฟท์สายพันธุ์เดียวกัน ส่วนการแยกราเอนโดไฟท์จากพืชต่างชนิดกันมักได้ราเอนโดไฟท์ต่างสายพันธุ์ แต่การผลิตสาร secondary metabolite ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพมักต่างกันตามชนิดและสถานที่ของพืชที่ราอาศัยอยู่

5.3 อิทธิพลของอาหารเพาะเลี้ยงราเอนโดไฟท์ต่อการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

จากการเลี้ยงราเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว YEB จะทำให้ราหลายชนิดเจริญได้ดีและผลิตสาร secondary metabolite ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด และการเลี้ยงราในอาหารเหลว SCB ที่มีส่วนประกอบสำคัญของ $C_5H_8NNaO_4$, KH_2PO_4, และ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ซึ่งจะเป็นแหล่งของธาตุอาหาร Na, P, และ Mg ที่ราจะนำไปใช้ในการสังเคราะห์สาร secondary metabolite ที่มีส่วนประกอบของ

ธาตุ Na, P, และ Mg ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี ดังนั้นการปรับสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงราก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะทำให้ราผลิตสาร secondary metabolite ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี

5.4 สรุปการคัดเลือกราเอนโดไฟท์สำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การคัดเลือกสายพันธุ์ราเอนโดไฟท์สำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตสาร secondary metabolite ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพนั้นเราจะใช้เทคนิคที่ประหยัดค่าใช้จ่ายและใช้ระยะเวลาน้อยโดยเฉพาะเทคนิคด้าน NMR spectroscopy ซึ่งจะใช้สารสกัดหยาบปริมาณน้อยในการวิเคราะห์หาค่าโปรตอน (^{1}H) เพื่อวิเคราะห์และทำนายโครงสร้างสารเบื้องต้นที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพแล้วนำเฉพาะราเอนโดไฟท์สายพันธุ์ที่สนใจ (ผลิตสารกลุ่มที่เราสนใจ) มาเพาะเลี้ยงเพื่อแยกสารบริสุทธิ์ต่อไป ซึ่งองค์ความรู้ทั้งหมดนี้จะนำไปสู่การค้นหาและพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ๆต่อไปในอนาคต

5.5 ข้อเสนอแนะของงานวิจัยนี้

จากเหตุผลที่ว่าราเอนโดไฟท์มักสร้างสาร secondary metabolite ออกฤทธิ์ทางชีวภาพสัมพันธ์กับพืชที่อาศัยอยู่ โดยราจะสังเคราะห์สารทุติยภูมิ (secondary metabolite compound) จาก สารปฐมภูมิ (primary metabolite compound) ของราเองหรือจากสารปฐมภูมิและทุติยภูมิของพืช ซึ่งพืชที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในประเทศไทยมีจำนวนมากทั้งพืชทั่วไปและพืชสมุนไพร ดังนั้นพืชที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและมีสรรพคุณทางยาจำนวนมากที่น่าสนใจในการนำมาใช้แยกราเอนโดไฟท์มีดังนี้ มะกล่ำตาหนู (jequirty bean หรือ crab's eye) *Abrus precatorius* L. มีสรรพคุณแก้ไอ แก้ไข้หวัด และรักษาอาการโรคหอบหืด, หอมแดง (shallot) *Allium cepa* L. มีสรรพคุณสมานแผลสด เนื่องจากมีผลทำให้เกล็ดเลือดถูกสร้างขึ้นมาปิดบาดแผลอย่างรวดเร็ว แก้อาการปวดศีรษะ แก้หวัดคัดจมูก และท้องร่วง, กระเทียม (garlic) *Allium sativum* L. มีคุณสมบัติลดปริมาณการสร้างสารโคเลสเตอรอลในเส้นเลือด ลดปริมาณน้ำตาลในเลือด ลดอาการปวดศีรษะ บรรเทาอาการปวดบวมจากแมลงต่อย ปวดตามข้อของร่างกาย ปวดฟัน นอกจากนี้ยังมีสารที่ช่วยลดอาการตึงของกล้ามเนื้อ สารปฏิชีวนะ ลดอาการจุกเสียดแน่นท้อง, กุ่ยช่าย (Chinese chives) *Allium tuberosum* Rottler ex Sprengel มีสรรพคุณรักษาอาการปวดท้อง การติดเชื้อในทางเดินอาหาร ใบและหัวใช้เป็นยาปฏิชีวนะ เมล็ดใช้เป็นยาแก้ปวดฟัน และเป็นส่วนผสมของยาปฏิชีวนะในน้ำยาบ้วนปาก, ว่านหางจระเข้ (Aloe หรือ Barbados aloe) *Aloe vera* (L.) Burm. f. มีสรรพคุณใช้สำหรับเป็นยาระบาย ยาแก้ร้อนใน มีชื่อเรียกทางการค้าว่า ยาดำ หรือ Cape Aloe เนื้อใบที่มีลักษณะคล้ายวุ้นสามารถนำมารักษาแผลสด ผิวไหม้จากแดดเผา แผลไฟไหม้หรือน้ำร้อนลวก และผสมในครีมหรือโลชั่นกันแดด ครีมลดริ้วรอย ครีมโกนหนวด และในลิปมันสำหรับให้ความชุ่มชื้นแก่ริมฝีปาก, ผักขมหนาม (Spiny amaranth) *Amaranthus spinosus* L. มีสรรพคุณคือ รากนำมาใช้แก้โรคปวดตามข้อ ขับปัสสาวะ แก้หนองใน แก้ไข้ ใบถูกนำมาใช้รักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก สารออกฤทธิ์สำคัญที่พบในรากได้แก่ อัลฟ่า-สไพนาสเตอรอล(*a*-spinasterol) ซาโพนิน(saponins) เบต้า-ซิโทสเตอรอล(b-sitosterol) สทิกมาสเตอรอล(stigmasterol) แคมเพสเทอรอล(campesterol) โคเลสเทอรอล(cholesterol) เอ็น-อัลเคน(*n*-

alkanes) กรดสเทียริก(stearic acid) กรดโอเลอิก(oleic acid) และกรดไลโนเลอิก(linoleic acid), ฟ้าทะลายโจร (green chireta) *Andrographis paniculata* (Burm. f.) มีสรรพคุณคือ ใบและรากนำมาใช้รักษาพิษงูแมลงกัด ใบถูกนำมาใช้รักษาอาการเจ็บคอ เป็นไข้ ปวดท้อง ท้องร่วง อาการปวดตามข้อ รักษาโรคหนองใน สารออกฤทธิ์ที่พบได้แก่ แอนโดรกราโฟไลด์(andrographolide) ไอโซแอนโดรกราโฟไลด์(isoandrographolide), คว่ำตายหงายเป็น (Life plants) *Bryophyllum pinnatum* (Lamk) Oken มีสรรพคุณคือ แผ่นใบถูกนำมาใช้ในการรักษาแผลสด ไฟไหม้ น้ำร้อนลวก และผิวหนังไหม้ที่เกิดจากถูกแดดเผา โดยตัดแผ่นใบมาคั้นน้ำหรือใช้เนื้อภายในใบ สารออกฤทธิ์ในใบคือ ไบรโอฟิลลิน(bryophyllin) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย, กัญชา (hemp , marihuana) *Cannabis sativa* L. มีสรรพคุณคือ เมล็ดนำมาใช้เป็นยาขับระดู ขับปัสสาวะ ยาระบาย คลื่นไส้อาเจียน บรรเทาอาการปวดบาดแผล อาการปวดจากมะเร็ง และปวดฝี สารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ แคนนาบินอยด์(cannabinoids), แพงพวยฝรั่ง (Madagascar periwinkle) *Catharanthus roseus* (L.) G. Don มีสรรพคุณใช้เป็นยารักษามาลาเรีย อหิวาตกโรค เบาหวาน มะเร็ง และโรคผิวหนัง สารสกัดจากใบถูกนำมาใช้เป็นยาล้างแผล ยาป้องกันการเกิดริดสีดวงทวาร และน้ำยาบ้วนปากป้องกันโรคฟันผุ นอกจากนี้ยังมีการดัดแปลงนำส่วนต่าง ๆ ไปผสมในยาช่วยย่อยอาหาร ยาบรรเทาอาการเบื่ออาหาร ยาแก้โรคบิด ยาแก้ปวดฟัน ยาแก้พิษจากแมลงต่อย สารอัลคาลอยด์ที่สกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของลำต้นที่อยู่เหนือดิน ได้แก่ วินคริสทีน(vincristine) วินบลาสทีน(vinblastine) วินดีซีน(vindesine) ไวโนเรลบีน(vinorelbine) สารอัลคาลอยด์เหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งอาการของโรคมะเร็ง สารวินคริสทีนถูกนำมาใช้ยับยั้งมะเร็งเม็ดโลหิตขาว ภูมิคุ้มกันทำลายตัวเอง มะเร็งเต้านม สารออกฤทธิ์ได้แก่ สารวินบลาสทีน ถูกนำมาใช้เป็นยารักษามะเร็งต่อมลูกหมาก และโลหิตจาง ส่วนสารวินดีซีน ถูกนำมาใช้รักษาอาการมะเร็งเม็ดโลหิตขาว, บัวบก (Asiatic pennywort) *Centella asiatica* (L.) Urb. สารสกัดที่ได้จากพืชนี้ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาแผลผ่าตัด แผลไฟไหม้ขนาดเล็ก ลบรอยแผลเป็นชนิดนูนแดง แผลฝี ผิวหนังอักเสบ สารออกฤทธิ์ที่สำคัญ ได้แก่ เอเชียทิโคไซด์(asiaticoside) มาเดคัสสิก(madecassic acid) เบต้า-ซิโทสเทอรอล(*b*-sitosterol) และสทิกมาสเทอรอล(stigmasteerol),หญ้าแห้วหมู (Purple nut grass) *Cyperus rotundus* L. มีสรรพคุณคือ ส่วนของลำต้นใต้ดิน(tuber) ถูกนำมาใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ ขับเหงื่อและขับปัสสาวะ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากลำต้นใต้ดินมีประมาณ 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักสด ประกอบด้วยสารจำพวกเทอร์พีนอยด์(terpenoids) หรือเซสควิเทอร์พีนอยด์(sesquiterpenoids) ได้แก่ ไซเพอโรน(cyperone) ไซเพอรอล(cyperol) ไซเพอโรโลน(cyperolone) ไซเพอรีน(cyperene) โคพาไดอีน(copadiene) อีพอกซี-กัวอีน(epoxy-guiaene) โรทันโดน(rotundone) โรทันดอล(rotundol) แพทชูลีโนน(patchoulenone) โคบูโซน(kobusone) ซูจีโอนอลอะซีเทต(sugeonolacetate) ซูจีไทรออล(sugetriol) ออกซิโด-ยูเดสมีนอล(oxido-eudesmenol) มัสทาโคน(mustakone) และเบต้า-ซีลินีน(b-selinene), ลำโพง (Downy thorn apple) *Datura metel* L. มีสรรพคุณคือ ใบแห้ง ลำต้น และดอก ถูกนำมาใช้ทำไส้บุหรี่สำหรับดูดควันเพื่อรักษาอาการ หอบหืด ดอกถูกนำมาคั้นน้ำสำหรับใช้ลดอาการหอบหืด แก้ไอ ใบสดตำแล้วนำมาพอกฝี แก้ปวดบวมอักเสบ เมล็ดใช้รักษากลากเกลื้อน และใส่แผล สารออกฤทธิ์คือ ไฮออสไซยามีน

(hyoscyamine) และสโคโพลามีน(scopolamine) ซึ่งเป็นสารอัลคาลอยด์, ดองดึง (Flame lily) *Gloriosa superba* L. มีสรรพคุณคือใช้เป็นยาแก้ปวดตามข้อ และโรคเก๊าท์ ปัจจุบันมีการสกัดสารโคลชิซีน (colchicine) เพื่อใช้เป็นยารักษาโรคเก๊าท์และใช้งานห้องปฏิบัติการ แต่พบว่ามีพิษต่อเซลล์สัตว์ จึงนิยมใช้กับเซลล์พืช เพื่อยับยั้งการสร้างเส้นใยสปินเดิล(spindle fiber) ในระยะเมทาเฟส(metaphase) ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช สารออกฤทธิ์ ได้แก่ โคลชิซีน (colchicine) และกรดอะมิโนอัลคาลอยด์(amino alkaloid), กระเจี๊ยบแดง (Roselle) *Hibiscus sabdariffa* Linn. มีสรรพคุณคือ ใบและยอดอ่อนมีรสเปรี้ยว ใช้แก้ไอ เมล็ดใช้บำรุงธาตุ ขับปัสสาวะ กลีบเลี้ยงที่หุ้มผลใช้ชงหรือต้มในน้ำร้อนแล้วดื่ม เพื่อทำให้ถ่ายปัสสาวะสะดวกขึ้น, หญ้าคา (cogon grass ,satintail) Imperata cylindrica (L.) Raeuschel มีสรรพคุณคือ รากและเหง้าใช้เป็นยาขับปัสสาวะ แก้อาการกระเพาะปัสสาวะอักเสบ ปัสสาวะแดง บำรุงไต ขับระดูขาว, มะลิ (Arabian jasmine) *Jasmine sambac* (L.) Aiton มีสรรพคุณคือ ใบนำมาใช้ลดไข้ และปิดแผลบนผิวหนัง ดอกแห้งนำมาใช้ปรุงเป็นยาหอม ถูกจัดอยู่ในเกสรทั้ง 5 ทำให้จิตใจชุ่มชื่น แก้ไข้, หญ้าหนวดแมว (Java tea) *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. มีสรรพคุณคือ ใช้ลำต้นและใบเป็นยาขับปัสสาวะ แก้โรคปวดตามสันหลังและบั้นเอว ใบเป็นยารักษาโรคเบาหวานและความดันโลหิต ในใบมีโพแทสเซียมสูงถึง 600-700 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม จึงไม่ควรใช้กับผู้ป่วยโรคหัวใจ สารออกฤทธิ์ ได้แก่ ไซเนนซีทิน(sinensetin) ฟลาโวนอล กลัย โคไซด์(flavonol glycosides) สารอนุพันธ์ของ กรดคาเฟอิก(caffeic acid derivatives) อินอซิทอล(inositol) ไฟโทสเทอรอล (phytosterols) ซาโพนิน(saponin) และน้ำมันหอมระเหย, มะระขี้นก (Bitter Cucumber) *Momordica charantia* Linn. มีสรรพคุณคือ ส่วนต่าง ๆ ของลำต้นถูกนำมาใช้รักษาอาการบาดเจ็บของผิวหนัง ถูกไฟไหม้หรือน้ำร้อนลวก โดยการนำมาคั้นน้ำ หรือนำมาใช้ดื่มเพื่อรักษาอาการปวดท้อง ท้องร่วง บำรุงน้ำดี แก้โรคของม้ามและตับ ขับพยาธิ น้ำคั้นจากผลเป็นยาระบายอ่อน ๆ สารสกัดจากเนื้อผลมีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด สามารถต้านทานการเจริญของไวรัส และเซลล์มะเร็งบางชนิดได้ สารออกฤทธิ์ที่สำคัญซึ่งพบในเมล็ดและผนังผล ได้แก่ เรซิน(resin) ซาโพนินกลัยโคไซด์(saponin glycoside) และสารอัลคาลอยด์, ฝิ่น (Opium poppy) *Papaver somniferum* L. การใช้ประโยชน์ น้ำยางที่ได้จากการกรีดผลฝิ่น ถูกนำมาใช้เป็นยาแก้ไข และท้องร่วง มีการสกัดสารมอร์ฟีน เพื่อใช้เป็นยาแก้ปวดบาดแผลขนาดใหญ่ สารออกฤทธิ์ที่สำคัญได้แก่ มอร์ฟีน(morphine) โคดีอีน(codeine) เพพาเวอรีน(papaverine), บอระเพ็ด *Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook. F. et. Thoms. มีสรรพคุณคือ นำลำต้นมาต้มกับน้ำ แล้วคั้นเอาน้ำดื่ม เพื่อเป็นยาลดไข้ รักษามาลาเรีย และเป็นยาขมเจริญอาหาร นอกจากนี้ยังนำมาใช้เป็นส่วนผสมของการผลิตยาธาตุ สารออกฤทธิ์ที่พบได้แก่ สารในกลุ่มไดเทอร์พีน(diterpines) อัลคาลอยด์(alkaloids) และฟลาโวนอยด์(flavonoids)

นอกจากนี้แล้วยังพบว่าพืชผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพแล้วเชื้อราเอนโดไฟท์นำไปสังเคราะห์สารทุติยภูมิต่ออีกทอดหนึ่งแล้วได้สารอนุพันธ์หรือสารชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน สารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่พืชสร้างมีจำนวนมากได้แก่ reserpine (Alkaloid) ในรากระท่อมมีสรรพคุณลดความดันเลือด สาร Quinine (Alkaloid) ในเปลือกต้นซิงโคนา

(cinchona) มีสรรพคุณรักษาโรคมาเลเรีย และสาร morphine (Alkaloid) ในยางของผลฝิ่น มีสรรพคุณระงับอาการปวด น้ำมันหอมระเหย (Volatile oil หรือ Essential oil) พบในพืชสมุนไพร เช่น กระเทียม ขิง ข่า ตะไคร้ มะกรูด ไพร ขมิ้น มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาด้านขับลมและฆ่าเชื้อโรคและเชื้อรา (Flatulence และ antibacterial, antifungal) ไกลโคไซด์ (Glycoside) เป็นสารประกอบที่พบมากในพืชสมุนไพร มีโครงสร้างแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล กับส่วนที่ไม่ได้เป็นน้ำตาล ที่เรียกชื่อว่า aglycone (หรือ genin) การที่มีน้ำตาล ทำให้สารนี้ละลายน้ำได้ดี ส่วน aglycone เป็นสารอินทรีย์ ซึ่งมีสูตรโครงสร้างและเภสัชวิทยาแตกต่างกันไป และส่วนนี้เองที่ทำให้คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของ glycoside แตกต่างกันไป และทำให้แบ่ง glycoside ได้เป็นหลายประเภท เช่นสาร Cardiac glycoside ในใบยี่โถ มีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจและระบบการไหลเวียนของโลหิต สาร Anthraquinone glycoside ในใบชุมเห็ดเทศ เมล็ดชุมเห็ดไทย ใบขี้เหล็ก ใบมะขามแขก เป็นยาระบาย (laxative) ยาฆ่าเชื้อ (antibiotic) และสีย้อม สาร Saponin glycoside (จากลูกประคำดีควาย) เมื่อผสมกับน้ำจะได้ฟองคล้ายสบู่ มักใช้เป็นสารตั้งต้นการผลิตยา ประเภทสเตอรอยด์ สาร Flavonoid glycoside จากดอกอัญชันเป็นสีที่พบในดอกและผลของพืช ทำเป็นสีย้อมหรือสีแต่งอาหาร บางชนิดใช้เป็นยา สารแทนนิน (Tannin) พบในพืชทั่วไปเช่น ใบฝรั่ง เนื้อของกล้วยน้ำว้าดิบ เป็นสารที่ มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน และสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ มีฤทธิ์ฝาดสมานและฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีสารอื่นที่พืชสร้างขึ้นได้แก่ เด็กซ์ทริน(dextrins) ฟรุคแทน(fructans) กรดอัลจีนิก(algenic acid) วุ้น(agar) และยาง(gums) นำมาใช้ในทางเภสัชกรรมด้านปรับสมดุลของร่างกาย ยับยั้งเนื้องอก และยับยั้งการทำงานของไวรัสบางชนิด(antiviral activiral activities), สารเบต้า-ซิโทสเตอรอล(*b*-sitosterol) ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาสเตีย-รอยด์, สารเลซิทิน(lecithin) ในน้ำมันถั่วลิสงช่วยทำหน้าที่ในการย่อยอาหาร, กรดแกรมมา-ไลโนเลอิก(g-linoleic acid) เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการผลิต พรอสทาแกลนดิน(prostaglandins) ลิวโคไทรอีน(leukotrienes) และทรอมบอกเซน(thromboxanes), สารอะซีโทเจนิน (Acetogenins) มีโมเลกุลยาวที่เกิดจากธาตุคาร์บอนมาเชื่อมรวมกัน 35-39 อะตอม ส่วนปลายของโมเลกุลประกอบด้วยสารแกมม่า-แลคโทน((g-lactone) พบในพืชวงศ์น้อยหน่า คือ ANONACEAE สารนี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเนื้องอก (antitumour) ได้แก่สารอะซิมัยซิน(asimicin) บุลลาทาซิน (bullatacine) สารยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย(antibacterial) ได้แก่ เชอริโมลิน(cherimolin) และสารกำจัดแมลง (insecticidal) ได้แก่ แอซิมัยซิน(asimicin) แอนโนนิน(annonin) แอนโนนาซิน(annonacin), สาร คิวเคอร์บิทิน(cucurbitine) เป็นกรดอะมิโนที่มีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค และบางชนิดเป็นสารพิษได้แก่ มิโมซีน (mimosine) ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีอิกในสัตว์เคี้ยวเอื้องทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตช้า, สารไซยาโนเจนิกกลัยโคไซด์ (Cyanogenic glycosides) เป็นสารอนุพันธ์ของกรดอะมิโนชนิดแอล(L-amino acids) พบในพืชวงศ์ กุหลาบ(ROSACEAE) วงศ์ถั่ว(LEGUMINOSAE) วงศ์ข้าว(GRAMINAE) วงศ์หมาก(ARECACEAE) วงศ์ยางพารา(EUPHORBIACEAE) วงศ์กะทกรก(PASSIFLORACEAE),

สารประกอบที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (Sulphur-containing compounds) สารในกลุ่มนี้ได้แก่ อัลลีอิน(allein) อัลลิซิน(allicin) อะโจอีน(ajoene) และสารประกอบชนิดอื่นที่สกัดได้จากกลีบของหัว

กระเทียม สารอัลลิซินและอะโจอีนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างสารตั้งต้นของโคเลสเตอรอล การตกตะกอนของเกร็ดเลือด ลดความดันโลหิต และยับยั้งการทำงานของเชื้อรา, เลกทิน(lectins) เป็นสารประกอบโปรตีนที่มีการเชื่อมต่อกันของโมเลกุลกับคาร์โบไฮเดรตพบในเยื่อหุ้มเซลล์ของเมล็ดพืชชั้นสูง โดยทั่วไปพบในเมล็ดของพืชวงศ์ถั่ว ได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วเหลือง และถั่วชนิดต่าง ๆ สารเลกทินบางชนิดเป็นสารพิษได้แก่ ไรซิน(ricin) ในเมล็ดละหุ่ง, เอนไซม์ (enzymes) เอนไซม์จากพืชที่นำมาใช้ลดอาการท้องอืดคือ ปาเปน(papain) และ บรอมมีลิน(bromeelin) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยโปรตีน, สารอัลคาลอยด์ในพืชบางสารเป็นของเสียที่พืชสร้างขึ้น และเป็นแหล่งของธาตุไนโตรเจน มีคุณสมบัติเกี่ยวข้องกับการงอกของเมล็ดพืช การป้องกันอันตรายจากโรคและแมลงในพืช และเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชมักพบในพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยว พบมากในพืชวงศ์ว่านสี่ทิศ (AMARYLIIDACEAE) วงศ์ลิลี่ (LILIACEAE) วงศ์ลั่นทม(APOCYANACEAE) วงศ์ถั่ว (LEGUMIONSAE) วงศ์ฝิ่น (PAPAVERACEAE) วงศ์กาแฟ (RUBIACEAE) และวงศ์มะเขือ (SOLANACEAE) สารประกอบฟีนอลมีลักษณะเป็นโมเลกุลรูปวงแหวนหกเหลี่ยมเชื่อมต่อกันเป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ ได้แก่ แคปไซซิน (capsicin) ที่พบในพริก วานิลลา (vanillin) ที่พบในผลของวานิลลา, แทนนิน (Tannins) เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลซับซ้อน มักเป็นสารผสมของสารจำพวกโพลีฟีนอล (polyphenols) ประกอบด้วยเอสเทอร์ที่เกิดจากกรดกัลลิก(gallic acid) หรือสารประกอบโพลีไฮดริก (polyhydric compound) จับกับน้ำตาลกลูโคส หรือเกิดจากสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) จับกับสารคาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน ได้แก่ กรดแทนนิก(tannic acid) และฮามาเมลิแทนนิน (hamamelitannin) แทนนินสามารถทำปฏิกริยากับสารประกอบจำพวกโปรตีน สามรถดูดซับสีย้อมและใช้ในการฟอกหนังสัตว์ แทนนินเป็นสารประกอบที่พบในพืชหลายชนิด มีคุณสมบัติต่อต้านการทำลายของเชื้อราและแบคทีเรีย มีรายงานว่าสารแทนนินที่พบในใบพืชเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโต และพบว่าแทนนินในพืชแต่ละชนิดทำหน้าที่แตกต่างกัน แทนนินถูกนำมาใช้เป็นยารักษาอาการของโรคท้องร่วง และอาการพิษที่เกิดจากโลหะหนัก และมีรายงานว่าแทนนินสามารถยับยั้งอาการของโรคมะเร็ง และโรคที่เกิดจากเชื้อ เอชไอวี (HIV), คูมารินและสารกลัยโคไซด์ของคูมาริน (Coumarins and their glycosides) คูมารินเป็นสารอนุพันธ์ของ เบนโซ-อัลฟ่า-ไพโรน(benzo-a-pyrone) ซึ่งอยู่ในรูปสารอิสระ และสารที่รวมกับโมเลกุลของน้ำตาลเป็นไกลโคไซด์ ถูกสร้างในพืชด้วยวิถีชิคิมิก (shikimic acid pathway) ได้แก่ สารอัมเบลลิเฟอโรน(umbelliferone) เฮอร์นิอาริน(herniarin) เอสคูเลทิน (aesculetin) สโคโพเลทิน(scopoletin) แฟรกซิน(fraxin) และชิคอริน(chicorin), ควิโนน (Quinones) เป็นสารประกอบที่มีธาตุออกซิเจนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล ได้แก่ พาราควิโนน(paraquinones) ออร์โทควิโนน(orthoquinones) เบนโซควิโนน(benzoquinones) แนพโทควิโนน(naphthoquinones) แอนทราควิโนน (anthraquinones) แอนทราไซคลิโนน(anthracyclinones), ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารประกอบที่ให้สีสันของดอกไม้ ผลไม้ และใบไม้หลายเฉดสีด้วยกันนอกจากนี้ยังช่วยป้องกันอันตรายจากรังสีอัลตร้าไวโอเล็ต(UV) จากดวงอาทิตย์ด้วย สีสันจากสารสี(pigment) บนกลีบดอกยังทำหน้าที่ล่อแมลงให้มาช่วยใน

การถ่ายเรณูอีกด้วย การสร้างสารกลุ่มนี้ในพืช ถูกสร้างขึ้นจากวิถีของกรดชิคิมิก(shikimic acid pathway) และวิถีอะซีเทต(acetate pathway) มีการนำมาใช้ประโยชน์ทางยาเพื่อรักษาโรคท้องร่วง รักษาอาการฟกช้ำดำเขียวที่ส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย, แอนโทไซยานิน (anthocyanins) สารกลุ่มนี้เป็นสารที่ให้สีแดง ชมพู บานเย็น ม่วงแดง น้ำเงิน และม่วงน้ำเงิน ในดอกไม้และผลไม้ เป็นสารสีที่สามารถละลายน้ำได้มีการนำมาเติมสีสันให้กับเครื่องดื่ม แยม และอาหารสำเร็จรูป ต่าง ๆ, ฟลอโรกลูซินอล (Phloroglucinols) เป็นสารอนุพันธ์ของ วัน,ทรี,ไฟว์-ไทรไฮดรอกซีเบนซีน(1,3,5 – trihydroxybenzene) ถูกนำมาใช้ในการกระตุ้นระบบประสาท, ลิกแนนและสารอื่นที่มีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกัน (Lignans and related compound) สารในกลุ่มนี้เกิดขึ้นจากการรวมตัวกันของหน่วยเฟนิลโพรเพน(phenylpropane units) เป็นสารประกอบในผนังเซลล์ปฐมภูมิและผนังเซลล์ทุติยภูมิในพืช เป็นสารประกอบโพลีเมอร์ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของแอลกอฮอล์กับโครงสร้างของสาร พี-ไฮดรอกซีซินนามิก(*p*-hydroxycinnamic structure) มักมีการเชื่อมต่อกันของโมเลกุลกับสารโพลีแซคคาไรด์ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาอาการปวดตามข้อ ยับยั้งการเติบโตของเนื้องอก, สารประกอบเทอร์พีนอยด์และสเตียรอยด์ (Terpenoids and Steroids) ได้แก่ โมโนเทอร์พีน (Monoterpenes) เป็นสารประกอบที่มีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 10 อะตอม เกิดจากการรวมกันของหน่วยไอโซพรีน(isoprene unit) จำนวน 2 หน่วย ได้แก่สาร ไอริดอยด์ (iridoid) เมนทอล (menthol) ลินาลูล (linalool) ไพรีทรินวัน (pyrithrin I) เซสควิเทอร์พีน (Sesquiterpenes) เป็นสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยของพืชหลายชนิด ทั้งในเห็ดรา ไบรโอไฟต์และพืชชั้นสูง ได้แก่ บิซาโบลอล (bisabolol) ฮิวมูลีน (humulene) และคารีโอฟิลลีน(caryophyllene) ไดเทอร์พีน (Diterpenes) เป็นสารประกอบที่มีธาตุคาร์บอน 20 อะตอม ได้แก่ แทกซอล(taxol) ใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็ง และสตีวิโอไซด์ (stevioside) ใช้เป็นสารให้รสหวานแทนน้ำตาล ไตรเทอร์พีนและสเตียรอยด์(Triterpenes and steroids)เป็นสารประกอบที่มี 30 อะตอม สารที่นำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคกันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ ซาโพนิน (saponin) ในรากโสม และรากชะเอม (liquorice) ซึ่งยับยั้งอาการของโรคบางชนิดได้ และคาร์ดิแอคไกลย์โคไซด์ (cardiac glycosides) ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคหัวใจ แคโรทีนอยด์ (carotenoids) เป็นสารประกอบที่มี สีเหลือง หรือส้ม ในของกลีบดอกไม้ เปลือกและเนื้อของผลไม้ ถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ ๆ คือ แคโรทีน (carotene) และแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) โดยพบว่าสารเบต้า-แคโรทีน(*b*-carotene) มีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็งในร่างกายของมนุษย์และสัตว์ และยังถูกนำไปใช้ในการสร้างวิตามินเอ ซึ่งมีผลต่อการมองเห็นของตา หรือการมองในที่มีแสงน้อย และยังมีการนำสารสี แคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากพืช ไปใช้ในการผสมอาหารและเครื่องสำอางด้วย [19, 20, 21]

จากการเปรียบเทียบข้อมูลวิจัยด้านฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟท์นี้และข้อมูลฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชทั้งหมดเราพบว่ามีความเกี่ยวข้องกันในการสังเคราะห์สาร secondary metabolite ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพดี สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หรือยาใหม่ๆในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

[1] Newman, D.J., and Cragg, G.M. (2007). Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. Journal of Natural Products 70 (3), 461-477.

[2] Young, P. (1997). Major microbial diversity initiative recommended. ASM News 63, 417-421.

[3] Pudhom, K., Sommit, D., Nuclear, P., Ngamrojanavanich, N. and Petsom, A. 2010 "Muloccensins H-J, 30-Ketophragmalin Limonoids from *Xylocarpus muloccensis*" J. Nat. Prod, 73, 263-266.

[4] Nuclear, P. and Pudhom, K. 2010 "Butenolide and Furandione from an Endophytic Aspergillus terrius" Chem. Pharm. Bull., 58 (9), 1221-1223.

[5] Kim, S., Shin, D.-S., Lee, T., and Oh, K.-B. 2004 "Periconicins, Two New Fusicoccane Diterpenes Produced by an Endophytic Fungus Periconia sp. with Antibacterial Activity" Journal of Natural Products 67, 448-450.

[6] Nuclear, P. and Pudhom, K. 2008 "Biological activity of marine-derived fungi" The 34th Congress on Science and Technology of Thailand, 86.

[7] Wu, S.-H., et al. 2008 "Ten-Membered Lactones from *Phomopsis* sp., an Endophytic Fungus of *Azadirachta indica*" Journal of Natural Products 71, 731-734.

[8] Chen, X., Shi, Q., Lin, G., Guo, S., and Yang, J. 2009 "Spirobisnaphthalene Analogues from the Endophytic Fungus *Preussia* sp." Journal of Natural Products 72, 1712-1715.

[9] Isaka, M., Yangchum, A., Auncharoen, P., Srichomthong, K., and Srikitikulchai, P. 2011 "Ring B Aromatic Norpimarane Glucoside from a *Xylaria* sp." Journal of Natural Products 74, 300-302.

[10] Ge, H.-M., Yu, Z.-G., Zhang, J., Wu, J.-H., and Tan, R.X. (2009). Bioactive Alkaloids from Endophytic Aspergillus fumigatus. Journal of Natural Products 72, 753-755.

[11] Stierle, A.A., Stierle, D. B., and Bugni, T.(2001). Sequoiatones C-F, Constituents of the Redwood Endophyte *Aspergillus parasiticus*. Journal of Natural Products 64,1350-1353.

[12] Turbyville, T.J., et al. (2006). Search for Hsp90 inhibitors with Potential Anticancer Activity: Isolation and SAR Studies of Radicicol and Monocillin I from Two Plant-Associated Fungi of the Sonoran Desert. Journal of Natural Products 69, 178-184.

[13] Martinez-Luiz, S., et al. (2008). Antileishmanial Constituents of the Panamanian Endophytic Fungus *Edenia* sp. Journal of Natural Products 71, 2011-2014.

[14] Hormazahal, E., Schmeda-Hirschmann, G., Astudillo, L., Rodriguez, J., and Theoduloz, C.Z. (2005). Metabolites from *Microsphaerosis olivacea*, an endophytic fungus of *Pilgerodendrum uviferum*. Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of Biosciences 60C, 11-21.

[15] Tscherter, H., Hofmann, H., Ewald, R., and Dreyfuss, M.M.(1998). U.S. Patent No. 4,753, 959.

[16] Bunyapaiboonsri, T., Yoiprommarat, S., Srikitikulchai, P., Srichomthong, K., and Lumyong, S. (2010). Oblongolides from the Endophytic Fungus *Phomopsis* sp. BCC 9789. Journal of Natural products 73, 55-59.

[17] Sappapan, R., et al. (2008). 11-Hydroxymonocerin from the plant endophytic fungus *Exserohilum rostratum*. Journal of Natural products 71, 157-165.

[18] Pudhom, K., Nuclear, P., Sommit, D., and Boonyuen, N. (2010). Butenolide and Furandione from an Endophytic *Aspergillus terreus* Chemical & Pharmacuetical Bulletin 58, 1221-1223.

[19] De Padua , L.S. , N. Bunyapraphatsara and R.H.M.J. Lemmens. 1999. Plant Resources of South – East Asia . No.12(1) : Mediciinal and Poisonous Plants 1. PROSEA Foundation, Indonesia . 711 p.

[20] คณะเภสัชศาสตร์. 2539. สมุนไพรสวนสิรีรุกขชาติ. มหาวิทยาลัยมหิดล , กรุงเทพ ฯ . 246 น.

[21] วันดี กฤษณพันธ์. ม.ป.ป. ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล , กรุงเทพ ฯ . 189 น.

ภาคผนวก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

อาหารเหลว

Nutrient Broth (NB)

Beef Extract	3	g
Peptone	5	g
Distiled water	1	L

Tryptic Soy Broth (NB)

Pancreatic Digest of Casein	15	g
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5	g
Sodium Chloride	5	g
Distiled water	1	L

อาหารแข็ง

Nutrient Agar (NA)

Beef Extract	3	g
Peptone	5	g
Agar	15	g
Distiled water	1	L

Tryptic Soy Agar (TSA)

Pancreatic Digest of Casein	15	g
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5	g
Sodium Chloride	5	g
Agar	15	g
Distiled water	1	L

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟท์

อาหารเหลว

Corn steep broth (CSB)

Corn steep liquor	1	g
Mannitol	1	g
Maltose	10	g
Glucose	5	g
Monosodium glutamate	10	g
KH_2PO_4	0.5	g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.3	g
Yeast extract	3	g
Distilled water	1	L

Yeast extract broth (YEB)

Yeast extract	15	g
Peptone	1	g
Glucose	20	g
Distilled water	1	L

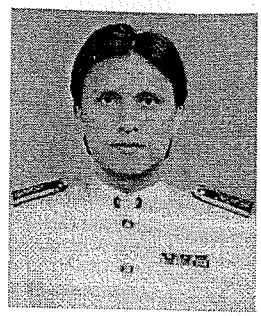
อาหารแข็ง

Potato dextrose agar (PDA)

Potato dextrose broth	240	g
Agar	15	g
Distilled water	1	L

Water agar (WA)

Agar	15	g
Distilled water	1	L



ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ นายพลวัต นิวเคลียร์

MR. PAULWATT NUCLEAR

2. รหัสนักวิจัย -

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงาน

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

โทรศัพท์ 02 2879600 E-mail: paulwatt.n@rmutk.ac.th

5. ประวัติการศึกษา (2007-2010) Ph.D. (Biotechnology), Chulalongkorn University

6. ความชำนาญ Natural Product, Marine Biology, Coral Reef Ecology

7. ประสบการณ์ด้านวิชาการ

Scholarship and Awards

1998 Win award of "Bioerosion rates by a sea urchin, *Diadema setosum* in coral communities at Khang Khao Island, during the Southeast Monsoon" The 24th Congress on Science and Technology of Thailand

1998-2001 Biodiversity Research and Training Program Scholarship (BRT), Bangkok, Thailand

2007-2010 Thai Government Science and Technology Scholarship, National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Pathumthani, Thailand

Work Experience

1997-2001 Researcher Assistant, Marine Biodiversity Group, Ramkhamhaeng University, Bangkok, Thailand

2002-present Lecturer, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep, Bangkok, Thailand

Subjects

- Environment and Resources Management
- Conservation and Environmental Management for Tourism
- Biology
- Biotechnology

Consult Experience

2015 Detailed Design and construction estimates for water tourist attraction development at ancient City, Uthong, Suphanburi, Thailand

Research Experience

2010-2011 Researcher, Institute of Pharmaceutical Biology and Biotechnology, Heinrich-Heine University Düsseldorf, Germany

2012 Co-Researcher, "The project situation process and knowledge of impact, recovery, and coral reef management after the phenomenon coral bleaching" Marine Biodiversity Group, Ramkhamhaeng University, Bangkok, Thailand, supported by TRF

2014-2015 Biological activity of endophytic fungi isolated from mangrove forest, UTK budget.

2015-2016 Biological activity of extracts from endophytic fungi isolated from *Euphorbia ligularia*, *Euphorbia heterophylla*, and *Euphorbia medusa*, government budget.

Workshop

1998 "Attended the workshop on sampling design and data analysis in marine ecological studies" by Dr. Richard Warwick (The UK Darwin Initiative), Phuket Marine Biological Center, Thailand

2007 "Chemistry, Biological Activities and Biodiversity of Marine Organisms" Bioactive substances & bio-products; Biological activities; Marine drugs; Marine biotechnology; Synthesis of active compounds and Biodiversity of marine organisms, Burapha University, Thailand

2008 "Biosynthesis of natural products" Kasetsart University, Thailand

International conference Experience

1999 Ecology of a marine sponge, *Haliclona* cf. *coerulescens* from coral communities in the Gulf of Thailand" Proceeding 9th Joint Seminar on Marine and Fisheries Sciences, Bali, Indonesia

2004 Ecology of a marine sponge, *Petrosia* sp. from coral communities in the Gulf of Thailand" The 10th International Coral Reef Symposium, Okinawa, Japan

2008 Coral community structures of shallow reefs and pinnacles at Kood Island, the Eastern Gulf of Thailand" The 11th International Coral Reef Symposium, Florida, USA

2012 Impacts of coral bleaching, recovery and management in Thailand" Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium, Cairns, Australia

2014 Study visit to education management at Hong Kong, Shenzhen, Macau, China

Research Publications

Nuclear, P., Yeemin, T., Ruengsawang, N. and Chaitanawisuti, N. "Ecological of a marine spone, *Oceanapia sagittaria* in coral communities in the Gulf of Thailnd" The 24th Congress on Science and Technology of Thailand, 1998, 430.

Ruengsawang, N., Yeemin, T. and **Nuclear, P.** " Bioerosion rates by a sea urchin, *Diadema setosum* in coral communities at Khang Khao Island, during the Southeast Monsoon" 1998, 432.

Yeemin, T., Ruengsawang, N., **Nuclear, P.,** Phantaewee, W., Nopchinwong, P. and Buaruang, J. "Coral bleaching in the Gulf of Thailand: A significant natural disturbance" The 24th Congress on Science and Technology of Thailand, 1998, 698.

Yeemin, T., **Nuclear, P.** Ruengsawang, N., Phantaewee, W. and Nopchinwong, P. "Distribution pattern and population density of a marine bivalve, *Asaphis* cf. *deflorata* at Nok Island, Inner Gulf of Thailand" The 24th Congress on Science and Technology of Thailand, 1998, 436.

Nuclear, P. Yeemin, T., Ruengsawang, N. and Chaitanawisuti, N. "Ecology of a marine sponge, *Haliclona* cf. *coerulescens* from coral communities in the Gulf of Thailand" Proceeding 9th Joint Seminar on Marine and Fisheries Sciences, Bali, Indonesia, 1999, 157-163.

Buaruang, J., Yeemin, T., Ruengsawang, N. and **Nuclear, P.** "Soft-sediment macrobenthos of coral communities in the Gulf of Thailand" The Asia-Pacific Congress on Biology of the Environment, Singapore, 1999, 27.

Nuclear, P. Yeemin, T., Ruengsawang, N. Chaitanawisuti, N. and Kritsanapuntu, A. " Reproductive ecology of a marine sponge, *Petrosia* sp. (new species) from coral communities in the Gulf of Thailand" The 26th Congress on Science and Technology of Thailand, 2000, 520.

Yeemin, T., Buaruang, J., Nopchinwong, P., **Nuclear, P.** and Ruengsawang, N. " Sexual reproduction of two different population strutures of *Acropora hyacinthus* in the Gulf of Thailand" The 26th Congress on Science and Technology of Thailand, 2000, 504

Nuclear, P. and Yeemin, T. "Reproduction of a sponge, *Petrosia* sp. (Porifera: Demospongiae: Haploslerida: Petrosiidae) in coral communities of the Inner Gulf of Thailand" The 5th Biodiversity Research and Training Program conference, Thailand, 2001, 181.

Yeemin, T., Sudara, S., Krairapanond, N., Silpsoonthorn, C., Ruengsawang, N. and **Nuclear, P.** "International coral reef initiative country report: Thailand" Regional ICRI Workshop for East Asia, Thailand, 2001.

Yeemin, T., Ruengsawang, N., Thipaksorn, A., **Nuclear, P.**, Phantaewee, W., Nopchinwong, P., Buaruang, J., Pettongma, R. and Prapin, S. " Marine plankton and marine benthos in the vicinity of Laem Chabang Port" Thailand, 2001.

Nuclear, P. and Yeemin, T. " Ecology of a marine sponge, *Petrosia* sp. from coral communities in the Gulf of Thailand" The 10th International Coral Reef Symposium, Okinawa, Japan, 2004, 308.

Buaruang, J., Suttacheep, M., **Nuclear, P.,** Sambunruang, D., Sanghisuk, C. and Yeemin, T. " Coral community structures of shallow reefs and pinnacles at Kood Island, the Eastern Gulf of Thailand" The 11th International Coral Reef Symposium, Florida, USA, 2008.

Nuclear, P. and Pudhom, K. "Biological activity of marine-derived fungi" The 34th Congress on Science and Technology of Thailand, 2008, 86.

Pudhom, K., Sommit, D., **Nuclear, P.**, Ngamrojanavanich, N. and Petsom, A. "Protoxylocarpins F-H, Protolimonoids from the Kernel Seeds of *Xylocarpus granatum*" *J. Nat. Prod.* 2009, 72, 2188-2191.

Pudhom, K., Sommit, D., **Nuclear, P.**, Ngamrojanavanich, N. and Petsom, A. "Muloccensins H-J, 30-Ketophragmalin Limonoids from *Xylocarpus muloccensis*" *J. Nat. Prod.* 2010, 73, 263-266.

Nuclear, P. and Pudhom, K. " Butenolide and Furandione from an Endophytic *Aspergillus terreus*" *Chem. Pharm. Bull.* 2010, 58(9), 1221-1223.

Yeemin, T., Mantachitra V., Plathong S., **Nuclear P.**, Klinthong W. and Sutthacheep M. "Impacts of coral bleaching, recovery and management in Thailand" Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium, Cairns, Australia, 2012.
http://climatechange.jgsee.org/detail.php?ID=565&typeid=5

Nuclear, P. Chinsamran, K. and Ta-Ngam, P. "Biological activity of endophytic fungi isolated from mangrove forest" Proceedings of the 7th Rajamangala University of Technology International Conference, 2017 (manuscript)

Nuclear, P. and Chinsamran, K. "Biological activity of extracts from endophytic fungi isolated from *Euphorbia ligularia*, *Euphorbia heterophylla*, and *Euphorbia medusa*" Proceedings of the 7th Rajamangala University of Technology International Conference, 2017 (manuscript)

ประวัติผู้ร่วมงานวิจัย

1. ชื่อ ผศ.ดร.กาญจนา ชินสำราญ

Asst.Prof.Dr. Kanjana Chinsamran

2. เลขบัตรประจำตัวประชาชน 3250100512278

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

4. หน่วยงาน

สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

2 ถนนนางลิ้นจี่ แขวงทุ่งมหาเมฆ เขตสาทร กรุงเทพฯ 10120

โทร. 02-2879600 email : kanjana.c@rmutk.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี วท.บ. (ชีววิทยา) ม. ศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน(ปัจจุบัน ม.บูรพา)

ปริญญาโท วท.ม. (จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริญญาเอก วท.ด. (เทคโนโลยีชีวภาพ) ม.เกษตรศาสตร์

6. ความชำนาญ ชีววิทยา จุลชีววิทยา และเทคโนโลยีชีวภาพ

7. ประสบการณ์ในการทำวิจัย

- เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย : การศึกษาปัจจัยบางประการในการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำอ้อย งบประมาณผลประโยชน์สะสมของ รม. พ.ศ. 2544
- เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย : การพัฒนาการผลิตแป้งฟลาวร์จากพืชบางชนิดในประเทศไทย และการศึกษาสมบัติบางประการด้านเคมี-ฟิสิกส์และชีวภาพของแป้งฟลาวร์ที่ผลิตได้ งบประมาณผลประโยชน์ มทร.กรุงเทพ ปี 2551
- หัวหน้าโครงการ : The Role of Lactic Acid Fermentation on Processing and Properties of Sweet Potato and Cassava Starch. *In* : Tomasik, P.,V.P.Yuryev and E.Bertoft(Editors). 2004. Starch: Progress in Structural studies, Modification and Applications. Polish Society of Food Technologists, Poland.
- ผู้ร่วมวิจัย : Development of a standard protocol for the Processing of high quality sweetpotato starch for noodle production. *In.* Fuglie, K.O. and M. Hermann (Editors). 2004. Sweetpotato Post-Harvest Research and Development in China. Proceedings of an International Workshop held in Chengdu,

Sichuan,PR China, Nov. 7-8, 2001. Bogor, Indonesia: International Potato Center (CIP).

- งานวิจัยที่เสร็จสิ้น :

หัวหน้าโครงการ : การใช้น้ำมะพร้าวเป็นสารอาหารเสริมในกากน้ำตาลเพื่อผลิตกรดโพรพโอนิกโดยเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965

ประวัติผู้ร่วมงานวิจัย

1. ชื่อ ผศ.ภาณุภัทร ตางาม

Asst.Prof.Panupat Ta-ngam

2. เลขบัตรประจำตัวประชาชน 3160600153103

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

4. หน่วยงาน

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ
โทรศัพท์/โทรสาร 02-2879600
E-mail: Ta_panupat@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี	ค.บ. (ชีววิทยา) วิทยาลัยครูเทพสตรี
ปริญญาโท	กศ.ม. (ชีววิทยา) ม. ศรีนครินทรวิโรฒ

6. ความชำนาญ ชีววิทยา

7. ประสบการณ์ด้านวิชาการ

- การสกัดและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพร อุดมวิชช์ พลเยี่ยม, ภาณุภัทร ตางาม, อมรรัตน์ ทองน้อย, 2548
- การรวบรวมพันธุ์ปลาดุกพื้นบ้าน สายใจ วิชญ์สันต์กุล, โฆษิต ศรีภูธร, ธวัชชัย งามศิริ, ภาณุภัทร ตางาม, สมศักดิ์ ระยัน, 2548
- การเจริญเติบโตและต้นทุนการผลิตของการเลี้ยงปลานิล ปลาไน ปลาแรด ปลาช่อน ร่วมกัน สมศักดิ์ ระยัน, โฆษิต ศรีภูธร, นิศาชล ฤาแก้วมา, ภาณุภัทร ตางาม, สมพิศ ตามสั่ง, สายใจ วิชญ์สันต์กุล, 2552
- โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2556