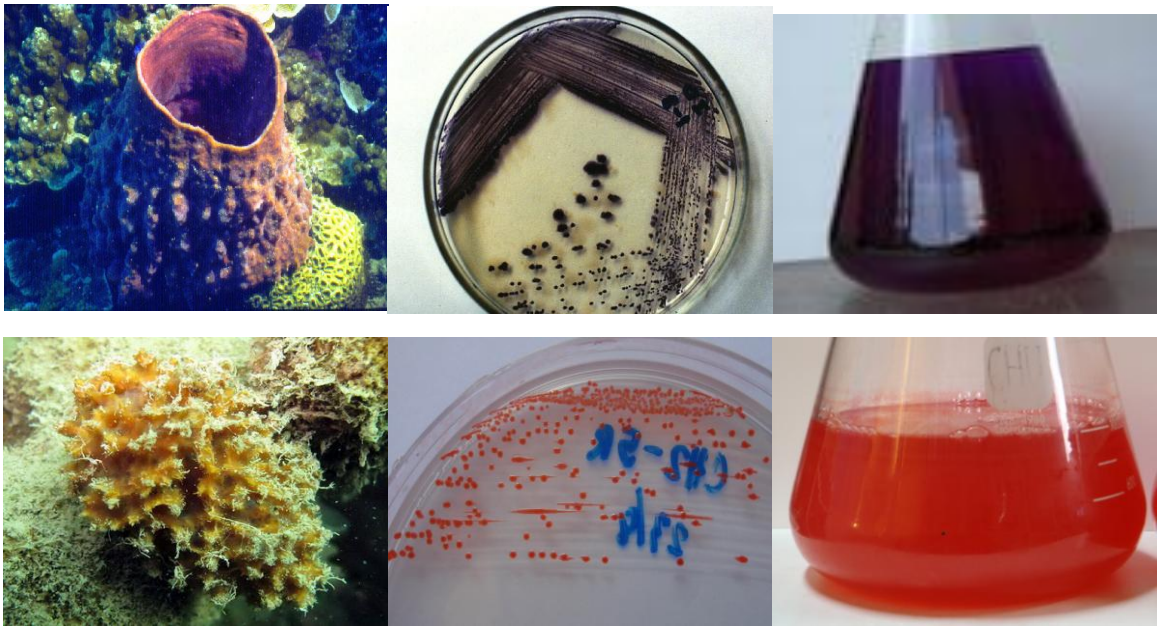
รายงานแผนงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๕

เรื่อง

การค้นหาและพัฒนาสารตัวยาจากน่านน้ำไทย

Discovery and Development on the Drug Agents from Thai Waters



โดย

ดร. ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา, มหาวิทยาลัยบูรพา

ดร. รวิวรรณ วัฒนดิลก และคณะ

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ งบประมาณแผ่นดินปี ๒๕๕๕

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

สิงหาคม พ.ศ. ๒๕๕๘

คณะที่ปรึกษาแผนงานวิจัย

๑. ศ.ดร. สุชาติ อุปถัมภ์ (อดีตอธิการบดีมหาวิทยาลัยบูรพา) ที่ปรึกษา

๒. ศ.ดร. สมศักดิ์ พันธุวัฒนา (อดีตรองอธิการบดีมหาวิทยาลัยบูรพา) ที่ปรึกษา

๓. ศ.ดร. วิชัย ริ้วตระกูล ผู้อำนวยการศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมเคมี(PERCH-CIC) ที่ปรึกษา

คณะผู้รับผิดชอบแผนงานวิจัย

๑. ดร. ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย

๒. ดร. รวิวรรณ วัฒนดิลก เลขานุการแผนงานวิจัย

หน่วยงานหลัก - สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี ๒๐๑๓๑

โทรศัพท์: ๐-๓๘๓๙ ๑๖๗๑-๓ โทรสาร: ๐-๓๘๓๙ ๑๖๗๔

e-mail address: chutiwan@buu.ac.th; chutiwan@bims.buu.ac.th

หัวหน้าโครงการวิจัย

๑. หัวหน้าโครงการวิจัยที่ ๑ นายสุเมตต์ ปุจฉาการ

๒. หัวหน้าโครงการวิจัยที่ ๒ นางรวิวรรณ วัฒนดิลก

๓. หัวหน้าโครงการวิจัยที่ ๓ นางสาวชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา

๔. หัวหน้าโครงการวิจัยที่ ๔ นางณิษา สิรนนท์ธนา

๕. หัวหน้าโครงการวิจัยที่ ๕ นางสาวรุ่งนภา แซ่เอ็ง

๖. หัวหน้าโครงการวิจัยที่ ๗ นางจริยา หาญวจนวงศ์

รายชื่อชื่อโครงการวิจัยภายใต้แผนงานวิจัย “การค้นหาและพัฒนาสารตัวยาจากน่านน้ำไทย”

โครงการวิจัยที่ ๑ **ความหลากหลายทางชนิดของฟองน้ำทะเลที่อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันตก**

Species diversity of marine sponges (Demospongiae, Porifera) along the Coast of Western Coasts of the Gulf of Thailand

โครงการวิจัยที่ ๒ **การค้นหาสารต้านเชื้อวัณโรคจากฟองน้ำทะเล**

Anti-tuberculosis Natural Products from Marine

โครงการวิจัยที่ ๓ **จุลชีพที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำ: แหล่งใหม่ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ระยะที่ 2**

Marine Microbes Associated with Sponges as Sources of Bioactive Compounds and Food Supplements, Phase II

โครงการวิจัยที่ ๔ **ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ**

Fatty Acids from Sponges and Symbiosis Marine Bacteria

โครงการวิจัยที่ ๕ **การสังเคราะห์โครงสร้างบางส่วนของสารเลียนแบบผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเลเพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ของโครงสร้างทางเคมีต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ**

Synthesis of partial structure of marine natural product for investigation of structure-activity relationship

โครงการวิจัยที่ ๖ **การเหนี่ยวนำการเกิด apoptosis ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีโดยสารสกัดบริสุทธิ์จากจุลชีพทะเลที่คัดแยกน่านน้ำไทย**

The induction of apoptosis in cholangiocarcinoma cell lines by marine microbes which isolated from Thai Waters

ผู้รับผิดชอบและหน่วยงาน ประกอบด้วยหน่วยงานหลักและหน่วยงานสนับสนุน

หน่วยงาน	ที่อยู่	ลักษณะงานที่รับผิดชอบ
1. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา	อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131	โครงการที่ 1, 2, 3, 4 หน่วยงานหลักในการวิจัย
2. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา	อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131	โครงการที่ 5 หน่วยงานหลักในการวิจัย โครงการที่ 2, 3 สนับสนุนร่วม
3. คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002	โครงการที่ 7 หน่วยงานหลักในการวิจัย
4.คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต	ถ. พหลโยธิน ต.หลักหก อ. เมือง จ.ปทุมธานี12000	โครงการที่ 2 สนับสนุนร่วมวิจัย
5. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล	เขตราชเทวี กรุงเทพฯ	โครงการที่ 3 สนับสนุนร่วม
6. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย	เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ	โครงการที่ 3 สนับสนุนร่วม
7. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา	อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา	โครงการที่ 3 สนับสนุนร่วม
8. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	อ.เมือง จ. เชียงใหม่	โครงการที่ 3 สนับสนุนร่วม
9. ศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านนวัตกรรมเคมี	มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ	สนับสนุนโครงการต่างๆ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงได้เพราะได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนจากบุคคลหลายท่านโดยเฉพาะท่านที่ปรึกษา ศ.ดร. สุชาติ อุปถัมภ์ ศ.ดร. สมศักดิ์ พันธุวัฒนา และ ศ.ดร. วิชัย ริ้วตระกูล ที่ได้ให้คำปรึกษาแก่คณะผู้วิจัยเป็นอย่างดี ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมเคมี(PERCH-CIC) ตลอดจนหน่วยงานต่างๆ ซึ่งคณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้คือ

แผนงานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปี 2553ผู้วิจัยใคร่ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ ผู้ช่วยวิจัย นักวิทยาศาสตร์ นิสิตที่ทำปัญหาพิเศษจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาและนิสิตฝึกงานของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ทุกท่านที่มีส่วนให้ความช่วยเหลือด้านต่างๆจนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงลงด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
รายชื่อคณะที่ปรึกษา	2
รายชื่อโครงการวิจัยภายใต้แผนงานวิจัย “การค้นหาและพัฒนาสารตัวยาจากน่านน้ำไทย”	3
ผู้รับผิดชอบและหน่วยงาน	4
กิติกรรมประกาศ	5
บทนำ	7
วัตถุประสงค์	11
สรุปผลโครงการวิจัย	
- โครงการวิจัยที่ 1 ความหลากหลายทางชนิดของฟองน้ำทะเลที่อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันตก	13
- โครงการวิจัยที่ 2 การค้นหาสารต้านเชื้อวัณโรคจากฟองน้ำทะเล	18
- โครงการวิจัยที่ 3 จุลชีพที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำ: แหล่งใหม่ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ระยะที่ 2	22
- โครงการวิจัยที่ 4 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ	27
- โครงการวิจัยที่ 5 การสังเคราะห์โครงสร้างบางส่วนของสารเลียนแบบผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเลเพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ของโครงสร้างทางเคมีต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ	30
- โครงการวิจัยที่ 7 การเหนี่ยวนำการเกิด apoptosis ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีโดยสารสกัดบริสุทธิ์จากจุลชีพทะเลที่คัดแยกน่านน้ำไทย	35

บทนำ

การวิจัยค้นคว้าสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการเป็นยารักษาโรค และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารมีมากมาย แต่ส่วนใหญ่แล้วเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ พืช และจุลินทรีย์บนแผ่นดิน การพัฒนาและการค้นพบผลิตภัณฑ์ใหม่ก็ลดน้อยลงไปเรื่อย ๆ เมื่อเทียบกับการเพิ่มขึ้นและการเปลี่ยนแปลงของโรคต่าง ๆ ประกอบกับการดื้อยาของโรคต่าง ๆ เหล่านี้ ทำให้เกิดภาวะคุกคามจนถึงแก่ชีวิตต่อคนไทยและประชากรโลก โดยเฉพาะโรคมะเร็งและโรคเอดส์ เป็นสาเหตุการตายที่สำคัญในประชากรทั่วโลก มีการประมาณการว่าโรคมะเร็งได้คร่าชีวิตมนุษย์ไปปีละ 7 ล้านคน มีประมาณการใน พ.ศ. 2537 พบว่า มีจำนวนผู้ป่วยโรคมะเร็งมากกว่า 18 ล้านคน และมีผู้ป่วยใหม่ประมาณ 9 ล้านคนในทุก ๆ ปี องค์การอนามัยโลกได้คาดการณ์ไว้ว่าในปี 2563 ทั่วโลกจะมีคนตายด้วยโรคมะเร็งมากกว่า 11 ล้านคน และเกิดขึ้นในประเทศที่กำลังพัฒนามากกว่า 7 ล้านคน นอกจากนี้องค์การอนามัยโลกได้รายงานผลสำรวจว่ามีผู้ติดเชื้อ HIV มากกว่า 40 ล้านคน และยังพบว่าสาเหตุหลักการเสียชีวิตของผู้ติดเชื้อ HIV นั้นเกิดจากการแทรกซ้อนของเชื้อวัณโรค(TB) (World Heath Organization, 2007) นอกจากนี้สุขภาพของประชากรโลกยังถูกคุกคามด้วยโรคต่าง ๆ เช่น โรคติดเชื้อ โรคไขข้ออักเสบ ตลอดจนความแก่ ที่เป็นไปตามธรรมชาติและแก่ก่อนวัยเนื่องจากสภาวะแวดล้อม นักวิทยาศาสตร์ในหลายประเทศ จึงมีความพยายามที่จะค้นหาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากแหล่งใหม่ก็คือมหาสมุทร จะเป็นแหล่งของผลิตภัณฑ์ใหม่ที่ยิ่งใหญ่ เนื่องจากความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในทะเล ซึ่งนักวิทยาศาสตร์ประมาณการว่าสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ (macrofouna) มีมากถึง 5 แสน ถึง 30 ล้านชนิด อีกทั้งจุลินทรีย์ที่ยังไม่สามารถประมาณการได้ ทำให้ในช่วงหลายทศวรรษ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1950 ที่ผ่านมา นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกจึงได้พยายามศึกษาเพื่อหาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ตัวยาใหม่ๆ จากสิ่งมีชีวิตในทะเล แต่ก็ยังไม่สามารถครอบคลุมถึงศักยภาพอันยิ่งใหญ่ของมหาสมุทร

จนเมื่อไม่นานมานี้โดย Whitehead (1999) ได้รายงานว่า กลุ่มสิ่งมีชีวิตที่พบว่าเป็นแหล่งของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมากที่สุดคือ ฟองน้ำ จำนวนหนึ่งในสามของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเลจำนวนกว่า 10,000 สารประกอบได้มาจากฟองน้ำ ซึ่งแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพมีหลายหลายได้แก่ anti– inflamatory, antifeedant, antimicrobial, cytotoxic, anti-cancer, anti-oxidant, anti – viral, enzyme – inhibitory, immunosuppressive ichthyotoxic ฯลฯ (Berguist, 1979 ; Konig & Wright, 1998)

แม้ว่าในขณะนี้นักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกจะตระหนักดีว่าฟองน้ำและสิ่งมีชีวิตในทะเลเป็นแหล่งของสารประกอบธรรมชาติที่ยิ่งใหญ่และแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าจะนำมาผลิตตัวยาได้ แต่ก็มักจะประสบปัญหาในการพัฒนา เนื่องจากฟองน้ำหายาก การเก็บก็ยากตลอดจนการเพาะเลี้ยงให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น ซึ่งนักวิทยาศาสตร์ก็สามารถพัฒนาตัวยาได้โดยใช้

สารประกอบที่สกัดได้ เป็นต้นแบบในการสังเคราะห์ตัวยาขึ้นมาได้ นอกจากนี้ยังมีอีกแนวทางที่ค้นพบเมื่อเร็ว ๆ นี้คือ จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำ ทั้งในแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกันกับเจ้าบ้าน หรืออยู่แบบให้ประโยชน์กับเจ้าบ้าน (ฟองน้ำ)

ประเทศไทยเองนั้นก็มีพื้นที่ติดกับทะเล ชายฝั่งทะเลของไทย มีความยาวทั้งสิ้น 2,014 กิโลเมตร แยกได้เป็นชายฝั่งด้านอ่าวไทย 1,660 กิโลเมตร และชายฝั่งทะเลอันดามัน 954 กิโลเมตร กรมพัฒนาที่ดินได้กำหนดความกว้างของพื้นที่ชายฝั่งทะเลเพื่อเป็นขอบเขตในการวางแผนการพัฒนาที่ดินชายทะเล คือ 8 กิโลเมตร มีพื้นที่รวมทั้งสิ้น 20,680 ตารางกิโลเมตร ซึ่งล้วนเป็นแหล่งของทรัพยากรธรรมชาติทางทะเลที่อุดมสมบูรณ์ ชายฝั่งทะเลของไทยก็นับได้ว่าประกอบไปด้วยระบบนิเวศต่างๆ ที่มีความหลากหลายและสมบูรณ์ อาทิเช่น ป่าชายเลน หาดเลน ที่อุดมสมบูรณ์ด้วยพันธุ์พืชและสัตว์นานาชนิดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ และมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ มีหาดทราย หาดหิน และแนวปะการังที่สวยงามอุดมสมบูรณ์ ทะเลจึงมีประโยชน์นานาประการ

ฟองน้ำจัดเป็นสัตว์หลายเซลล์ที่มีการดำรงชีวิตอยู่บนโลกมาเป็นระยะเวลายาวนานมากกว่า 1,000 ล้านปี จัดเป็นสัตว์ที่มีความน่าสนใจ เนื่องจากความหลากหลายทางชนิด สีสันที่สดใสแล้ว ยังมีการทำหน้าที่ในบทบาทที่อยู่อาศัยย่อย (micro-habitat) สำหรับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ฟองน้ำจึงเป็นระบบนิเวศย่อยๆระบบหนึ่งที่น่าสนใจ นอกจากนี้แล้วฟองน้ำยังเป็นแหล่งของสารสกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เนื่องจากฟองน้ำเป็นสัตว์ที่เกาะติดอยู่กับที่ (sessile animals) ทำให้ถูกรบกวนได้โดยง่าย ฟองน้ำจึงจำเป็นต้องหาทางในการป้องกันตัวเอง ระบบที่ได้ผลดีอย่างหนึ่งการสร้างสารเคมีเพื่อป้องกันตัวจากศัตรู จึงก่อให้เกิดความหลากหลายของสารสกัดทางธรรมชาติที่อาจจะส่งผลต่อการใช้ประโยชน์ของมนุษย์

ฟองน้ำแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ตามการจำแนกชนิด ได้แก่ กลุ่มฟองน้ำหินปูน (Class Calcarea) กลุ่ม demosponges (Class Demospongiae) และกลุ่มฟองน้ำแก้ว (Class Hexactinellida) ในจำนวนนี้กลุ่ม demosponges เป็นกลุ่มที่มีความหลากหลายทางชีวภาพมากที่สุด ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ของฟองน้ำทั้งหมด จากรายงานของ Hooper (Hooper, 1997) พบฟองน้ำจำนวน 4,500 – 5,000 ชนิดที่ได้ทำการจำแนกชนิดแล้วและคาดว่ายังไม่ได้มีการจำแนกชนิดหรือค้นพบอีกถึง 10,000 ชนิด โดยจำแนกออกเป็น 13 orders 71 families 507 สกุล ในจำนวนนี้เป็นฟองน้ำทะเล 481 สกุล และฟองน้ำน้ำจืดอีก 26 สกุล ดังนั้นฟองน้ำทะเลจึงเป็นสัตว์ทะเลกลุ่มหนึ่งที่มีความหลากหลายสูงกลุ่มหนึ่ง

ประเทศไทย จัดอยู่ในเขต Indo-Malayan ซึ่งเป็นเขตชีวภูมิศาสตร์ย่อยของเขต Indo-west Pacific เขตนี้ถือได้ว่าเป็นจุดศูนย์กลางการแพร่กระจายของสัตว์ทะเลทั้งหลายในโลกนี้ ซึ่ง Hooper (1997) ได้ประมาณว่าฟองน้ำทะเลในเขตชีวภูมิศาสตร์ย่อยนี้น่าจะมีไม่ต่ำกว่า 1,200 ชนิด สำหรับการศึกษาชนิดของฟองน้ำในประเทศไทย ยังไม่ได้มีผู้ทำการศึกษามากนัก เท่าที่มีรายงานโดย นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์และคณะ (2545) พบฟองน้ำทะเลบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออก ใน Class Demospongiae จำนวน 126 ชนิด จำแนกออกเป็น 3 subclass 10 orders และ 34 families สำหรับสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ได้เริ่มดำเนินการเก็บรวบรวมฟองน้ำทะเล มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 ในโครงการวิจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสารไบโอเอคทีฟเมตาโบไลท์จากฟองน้ำในน่านน้ำไทย ประมาณ 300 ตัวอย่าง

การค้นหาตัวยาใหม่ได้เกิดการแข่งขันในการวิจัยสูงมาก โดยเฉพาะทั้งยาต่อต้านไวรัส และต่อต้านมะเร็ง เป็นสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ซึ่งฤทธิ์จะถูกเลือกเฉพาะที่ไม่ทำอันตรายสิ่งมีชีวิตนั้นด้วย ตัวยาใหม่บางตัวเหล่านี้ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เป้าหมายในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมาคือ สิ่งมีชีวิตจากทะเล อาทิ เช่น ฟองน้ำ กัลปังหา ปะการังอ่อน นับแต่นั้นมานักวิจัยทางเคมีและเภสัชกรรมได้หันมาสนใจผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเลกันมากขึ้นเป็นลำดับ

ความต้านทานของจุลชีพที่มีต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ โดยในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมาก็ไม่มีการค้นพบกลุ่มยาปฏิชีวนะใหม่ที่สำคัญที่เลย แม้ในวงการอุตสาหกรรมยาจะมีความพยายามอย่างยิ่งที่จะค้นคว้าให้ได้ จนกระทั่งเมื่อปี ค.ศ. 1960 ได้ค้นพบแหล่งที่เต็มไปด้วยความหวังที่ยิ่งใหญ่ที่จะเป็นแหล่งใหญ่ของผลิตภัณฑ์เภสัชวิทยาก็คือ สิ่งมีชีวิตจากทะเล (Burkholder, 1963; Nigrelli, 1960) ตั้งแต่บัดนั้นจึงได้มีการศึกษาในเรื่องของเคมีและเภสัชวิทยาของพิษจากทะเลและสารอื่น ๆ อย่างมากมาย (Crescitelli and Geissman, 1962; Keegan and Mac Farlane, 1963; Halstead, 1968; Okaichi and Hashimoto, 1957; Russell, 1965, 1967; Scheuer, 1964; Welsh, 1964)

จากการศึกษาที่นำมาสู่การค้นพบความสัมพันธ์ระหว่างเคโมออโตโทรฟิคแบคทีเรีย (chemoautotrophic bacteria) และสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (Cavanaugh et al., 1981; Felbeck et al, 1981; 1983; Southward et al., 1981) การค้นพบนี้ได้ชี้นำสู่ความสำคัญของแบคทีเรียต่อสารอาหาร, การแพร่ กระจาย และการผลิตของสิ่งมีชีวิต (host organisms) และสังคมของมัน (Canvanaugh et al., 1983) ได้นำไปสู่การศึกษายุทธศาสตร์ของการแยกและการค้นพบสารประกอบใหม่ที่ประสบความสำเร็จของโปรแกรมผลิตภัณฑ์ธรรมชาติถูกพัฒนามาสู่จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่กับสิ่งมีชีวิต และ สิ่งแวดล้อมในทะเล เมื่อศึกษาฟองน้ำเพิ่มเติมพบว่าภายในประกอบด้วยแบคทีเรียหลายชนิดเป็นปริมาณถึง 40 % ของสิ่งมีชีวิตที่ตรวจพบ (Vacelet, 1975; Wilkinson, 1978 a;b; Berthold, et al., 1982)

การค้นพบสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากสิ่งมีชีวิตในทะเล โครงสร้างทางเคมีใหม่เป็นสิ่งสำคัญมาก จุลินทรีย์ทะเลนั้นเกี่ยวข้องกับเป้าหมายใหม่ของการวิจัยนี้ด้วย แบคทีเรีย และฟังไจที่ถูกคัดแยกจากสภาวะแวดล้อมน้ำทะเล ตะกอนดิน และสิ่งมีชีวิตจากทะเล ซึ่งมีบ่อยครั้งที่สารเมตาบอไลต์ที่ผลิตขึ้นนั้นถูกจำแนก หรือคล้ายกับชนิดที่ผลิตจากที่พบแผ่นดิน หลังจากมีการค้นพบก็ได้มีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่องจนกลายผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ที่นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และอุตสาหกรรมต่างๆ ที่สำคัญยิ่งอย่างแพร่หลาย ไม่ว่าจะเป็นตัวยารักษามะเร็ง ยาต้านไวรัส และในปัจจุบันได้มีหลายบริษัททำการผลิตัวยาซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเลออกมาจำหน่ายในเชิงพาณิชย์หลายชนิดรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 1 (ที่มา: Pompani 2002, http://www.chemistry.ucsc.edu/mnpr/index.html)

Fusetani (2000) ได้รายงานสถานการณ์การศึกษาด้านยาจากทะเลว่า นับตั้งแต่การประชุมในปี ค.ศ. 1967 (พ.ศ. 2510) เรื่อง "Drugs from the Sea" ณ University of Rhode Island Kingston ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้วิเคราะห์ถึงวิสัยทัศน์ที่ยิ่งใหญ่ในการพัฒนาตัวยาจากสิ่งมีชีวิตในทะเล ทำให้เกิดการวิจัย และแสวงหาตัวยาใหม่ๆ จากทะเล และมีการค้นพบสารประกอบตัวยาใหม่จำนวนมากดังตารางที่ 2

ซึ่งส่วนใหญ่มากกว่า 0.1% ของสารประกอบเหล่านี้เป็นโครงสร้างที่แสดงให้เห็นถึงนัยสำคัญของฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือนำสู่ศักยภาพของตัวยาที่สำคัญ อย่างไรก็ตามยังไม่มียาใดได้รับการพัฒนาจากสารประกอบเหล่านี้ ซึ่งมีประมาณ 300 patents ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ถูกบันทึกใช้ระหว่างปี ค.ศ. 1969 ถึง ปี 1999 (พ.ศ. 2512 - 2542)

การพบสารประกอบธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ นักเคมีจะเริ่มทำการสังเคราะห์สารเลียนแบบธรรมชาติ นั้นเนื่องจากสารที่แยกได้ส่วนใหญ่จะมีปริมาณน้อยมากจนไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ประโยชน์ การสังเคราะห์จะเป็นหนทางหนึ่งที่ทำให้ได้สารในปริมาณมากเพียงพอ(Duran, et al., 2007) สำหรับการวิจัยการสังเคราะห์สารเลียนแบบผลิตภัณฑ์ธรรมชาติยังเป็นงานที่มีขอบเขตจำกัดในประเทศไทย เนื่องจากสารเหล่านี้มักจะมีโครงสร้างโมเลกุลที่ซับซ้อนยากต่อการสังเคราะห์ให้สำเร็จในช่วงเวลาสั้นๆประกอบกับปัญหาของการนำเข้าสารเคมีหลายๆชนิด การเลือกสังเคราะห์โครงสร้างเพียงบางส่วนที่น่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพหรือน่าจะเป็นทางเลือกที่จะทำให้ได้สารที่ต้องการพัฒนาเป็นยาในช่วงระยะเวลาสั้นขึ้นและลดค่าใช้จ่ายลง

เมื่อเวลาผ่านมากว่า 30 ปี ความหวังเริ่มที่จะเป็นจริง ตัวยาใหม่จากทะเลกว่า 10 ชนิด ได้เข้าสู่การทดลองใช้จริงทางการแพทย์ในขั้นคลินิค (clinicaltrials) ดังสรุปในตารางที่ 2 (Fusetami, 2000) ซึ่งเป็นขั้นตอนก่อนการผลิตในอุตสาหกรรมยา ซึ่งเป็นก้าวที่สำคัญยิ่ง และแสดงให้เห็นถึงความสำคัญที่จะต้องสนับสนุนการวิจัยและพัฒนาสารตัวยาจากสิ่งมีชีวิตในทะเลโดยเฉพาะฟองน้ำและผลิตภัณฑ์ที่อาศัยอยู่

วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นการค้นหาและพัฒนาสารตัวยาตั้งต้นที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านต่างๆ เช่น ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (ant cancer) ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค(anti-tuberculosis) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial) ฤทธิ์ต้าน HIV (anti-HIV) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (antiinflamatory) นอกจากนี้ยังพัฒนาในด้านผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ คือ กรดไขมัน และชีวรงควัตถุ เป็นต้น ในเครือข่ายห้องปฏิบัติการหลายหน่วยงาน ตลอดจนการพัฒนาที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้จริงโดยอาศัยองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งเป็นแนวทางที่จะพัฒนาสู่ระดับอุตสาหกรรมต่อไป

เป็นการพัฒนาองค์ความรู้ สร้างนวัตกรรมทางเคมี สร้างคุณค่าเพิ่มให้กับทรัพยากรชีวภาพจากทะเลที่มีความหลากหลายที่โดดเด่นของประเทศ ซึ่งมีศักยภาพในการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนโดยสามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ ไม่ทำลายสภาวะแวดล้อม แหล่งทรัพยากรตามธรรมชาติที่อยู่ สามารถสร้างเครือข่ายการพัฒนาและวิจัยอย่างต่อเนื่องเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ อุตสาหกรรมอาหารและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สามารถถ่ายทอดความรู้สู่หน่วยงาน บุคลากรอื่นๆได้ ลดการนำเข้าตัวยาและเคมีภัณฑ์จากต่างประเทศ โดยขณะนี้ได้ร่วมมือกับเครือข่ายของ**ศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านนวัตกรรมเคมี**(PERCH-CIC) ได้สนับสนุนเครื่องมือวิจัยให้แก่ทีมวิจัยอาทิเช่น เครื่องวิเคราะห์ของเหลวสมรรถนสูง HPLC-DAD เพื่อใช้ในการวิจัยและพัฒนาบัณฑิตทางด้านเคมี นำประเทศไปสู่การใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในท้องถิ่นสร้างนวัตกรรมเคมีใหม่สามารถพึ่งพาตนเองได้

โดยมีวัตถุประสงค์รองดังต่อไปนี้

1. เพื่อศึกษาถึงความหลากหลายทางชีวภาพของฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมฟองน้ำ
2. เพื่อพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการเฉพาะทางในการทดสอบสารทีมีฤทธิ์ทางชีวภาพและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากทรัพยากรชีวภาพจากทะเล
3. เพื่อศึกษาและตรวจหาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากสารสกัดหยาบทีแยกได้จากฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ที่เก็บได้จากบริเวณชายฝั่งทะเลฝั่งตะวันตก ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (antimicrobial assay) ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค(anti-tuberculosis) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) และ สารสี
4. เพื่อศึกษาและตรวจหาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากสารสกัดหยาบทีแยกได้จากฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ที่มีศักยภาพเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

5. เพื่อศึกษาสารประกอบของแบคทีเรียในฟองน้ำที่แสดงผลในการยับยั้ง เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสังเคราะห์ หรือผลิตตัวยาใหม่หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

6. เพื่อสังเคราะห์โครงสร้างบางส่วนหรือปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสารจำพวก polyketide หรือ peptide ที่สกัดและแยกได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเลโดยเฉพาะแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำ โดยผ่านขบวนการสังเคราะห์ด้วยวิธีต่างๆเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างทางเคมีต่อ cytotoxic activity และพัฒนาให้ได้อนุพันธ์ใหม่ที่มี cytotoxic activity ที่สูงขึ้น

7. เพื่อถ่ายทอดองค์ความรู้ในการศึกษาและแนวทางการผลิตผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเล

เป้าหมายเชิงยุทธศาสตร์ของแผนงานวิจัย

เพื่อพัฒนาองค์ความรู้ใน**การพัฒนาบนฐานความหลากหลายทางชีวภาพและการสร้างความมั่นคงของฐานทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม** สามารถเผยแพร่ผลงาน และถ่ายทอดองค์ความรู้ วิจัยและพัฒนาสารตัวยาตั้งต้นไปใช้ประโยชน์ ผ่านการฝึกอบรม สัมมนาวิชาการและในรูปของเอกสารตีพิมพ์ระดับชาติอย่างน้อย 5 ผลงาน และระดับนานาชาติ อย่างน้อย 2 ผลงาน และพัฒนาศักยภาพของคุณค่าความหลากหลายทางชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่นเป็นแนวทางในการสร้างนวัตกรรมทางเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เป็นแนวทางที่จะนำไปพัฒนาสู่เชิงพาณิชย์ การพึ่งพาตนเองของวงการแพทย์และอุตสาหกรรมยา ในการค้นหาและใช้ประโยชน์จากทรัพยากรชีวภาพทางทะเลของประเทศที่ยั่งยืน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ เช่น การเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร ฯลฯ และหน่วยงานที่ใช้ประโยชน์จากผลการวิจัย

การวิจัยข้างต้นมีรูปแบบเป็นสหวิชาการ (Multidisplinary) เป็นเครือข่ายที่อาศัย ความร่วมมือจากผู้ชำนาญทางด้านชีววิทยา เคมี ชีวเคมี จุลชีววิทยา และเภสัชวิทยา ก่อให้เกิดประโยชน์ในหลายด้านซึ่งจะนำไปสู่การสร้างมูลค่าเพิ่มจากผลผลิตใหม่

- ทราบถึงสารประกอบทางเคมีหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากฟองน้ำหรือแบคทีเรียที่แยกได้จากฟองน้ำทะเลซึ่งจะยังประโยชน์ต่อการแพทย์ ด้านวิทยาศาสตร์ การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและอื่นๆ

- ได้สารตั้งต้นยาปฏิชีวนะ ข้อมูลหรือขั้นตอนการวิจัยที่เป็นประโยชน์สำหรับนำไปใช้ในการวิจัยต่อยอดในระดับสูงขึ้นและพัฒนาไปสู่การนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

- ทราบถึงนวัตกรรมทางเคมีได้โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมีที่สามารถนำไปใช้สังเคราะห์ตัวยาใหม่ที่สกัดแยกจากฟองน้ำหรือแบคทีเรียที่แยกได้จากฟองน้ำทะเลที่พบในประเทศไทย ซึ่งจะยังประโยชน์ต่อการแพทย์ ด้านวิทยาศาสตร์

- ทำให้ทราบถึงข้อมูลพื้นฐานของเภสัชวิทยาและฤทธิ์ทางชีวภาพ(bioactive compounds) จากฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำในประเทศไทย ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาด้านเภสัชกรรม ต่อไป

- ได้สารปฏิชีวนะ ข้อมูลหรือขั้นตอนการวิจัยสำหรับนำไปใช้ในการสอนวิชาเคมี ชีวเคมี จุลชีววิทยา เภสัชวิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพ ระดับอุดมศึกษา

- ทำให้มีข้อมูลและสามารถถ่ายทอดความรู้เกี่ยวการใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีอยู่ในท้องถิ่นแก่นักเรียน นิสิตนักศึกษา อาจารย์ นักวิจัยและผู้สนใจ ให้บรรลุผลตามวัตถุประสงค์และเวลาที่กำหนดไว้

โครงการวิจัยที่ 1 ความหลากหลายทางชนิดของฟองน้ำทะเลที่อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันตก

Species diversity of marine sponges (Demospongiae, Porifera) along the western coasts of the Gulf of Thailand

โดย สุเมตต์ ปุจฉาการ
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณหมู่เกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานีในโครงการวิจัยความหลากหลายทางชนิดของฟองน้ำทะเลที่อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันตกระหว่างวันที่ 24-30 มีนาคม2555 รวม 11 จุดสำรวจ การสำรวจใช้วิธีดำน้ำแบบเครื่องช่วยหายใจใต้น้ำในเวลากลางวันและสุ่มตลอดจุดสำรวจ รวบรวมตัวอย่างได้ทั้งหมด 165ตัวอย่าง และสามารถจำแนกชนิดฟองน้ำทะเลได้จำนวน 12 อันดับ 24 วงศ์ 35 สกุล และ 51 ชนิด Order Haplosclerida เป็นกลุ่มฟองน้ำพบมากที่สุด (18ชนิด, 36%) และมีความเด่นในพื้นที่ศึกษามากที่สุด รองลงมาคือ Order Poecilosclerida(12ชนิด, 26%)ฟองน้ำทะเลที่พบครั้งแรกในน่านน้ำไทย2ชนิดคือ ฟองน้ำเคลือบบางสีส้ม, *Lissodendoryx (Ectyodoryx)* sp. “orange”และฟองน้ำปะการังสีฟ้า, *Cladocroce* sp. “blue”ฟองน้ำทะเลที่พบเป็นชนิดเด่นและพบแพร่กระจายมากที่สุดคือ ฟองน้ำเคลือบแข็งสีม่วง, *Xestospongia*sp. “purple” รองลงมาคือฟองน้ำสีน้ำเงิน, *Neopetrosia*sp. “blue”, ฟองน้ำถังสีดำ, *Cacospongia*sp. “black” ฟองน้ำที่พบจากการสำรวจส่วนมากเป็นฟองน้ำที่พบได้ทั่วไปในบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออกและเขตทะเลจีนใต้จากการสำรวจความมากชนิด (Species richness) ของฟองน้ำทะเลในพื้นที่ศึกษาพบว่า จุดสำรวจอ่าวม่วง เกาะเต่า ทิศเหนือ(TAO55-E) มีความมากชนิดของฟองน้ำมากที่สุด 18 ชนิด รองลงมาคือ จุดสำรวจเกาะนางยวน ทิศตะวันออก(TAO55-F)และจุดสำรวจเกาะนางยวน ทิศตะวันตก(TAO55-G) มีความมากชนิดเท่ากันคือ 16 ชนิด ทั้งนี้จากการสังเกตพบว่าบริเวณเหล่านี้เป็นแนวปะการังที่เจริญขึ้นบนพื้นทรายปะการังมีรูปการเจริญที่หลากหลาย เช่น เป็นกิ่ง เป็นก้อน กึ่งก้อน รูปเห็ด ทำให้เพิ่มพื้นที่ที่อยู่อาศัยของฟองน้ำได้มากขึ้น เมื่อพิจารณารูปทรงการเจริญเติบโตของฟองน้ำทะเลในบริเวณพื้นที่ศึกษาพบว่า ฟองน้ำที่มีรูปทรงการเจริญแบบเคลือบ (Encrusting) มีสัดส่วน 57% ของฟองน้ำที่พบทั้งหมด รองลงมาเป็นรูปทรงการเจริญแบบกึ่งก้อน (Submassive) 17% รูปทรงการเจริญเติบโตของฟองน้ำในพื้นที่ศึกษาสอดคล้องกับสภาพถิ่นที่อยู่อาศัยที่มีปะการังอยู่หลากหลายรูปทรง

คำสำคัญ: ฟองน้ำทะเล, ความหลากหลายทางชนิด, อนุกรมวิธาน, อ่าวไทย
Keywords: Marine sponges, Porifera, Biodiversity, Taxonomy, the Gulf of Thailand

สรุปสาระสำคัญ
ความหลากหลายทางชนิดของฟองน้ำทะเลที่อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันตกปี 2555
Species diversity of marine sponges (Demospongiae, Porifera) along the western coastsof the Gulf of Thailand
โดย สุเมตต์ ปุจฉาการ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณหมู่เกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานีในโครงการวิจัยความหลากหลายทางชนิดของฟองน้ำทะเลที่อาศัยอยู่ตามชายฝั่งทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันตกระหว่างวันที่ 24-30 มีนาคม2555 รวม 11 จุดสำรวจ การสำรวจใช้วิธีดำน้ำแบบเครื่องช่วยหายใจใต้น้ำในเวลากลางวันและสุ่มตลอดจุดสำรวจ รวบรวมตัวอย่างได้ทั้งหมด 165ตัวอย่าง และสามารถจำแนกชนิดฟองน้ำทะเลได้จำนวน 12 อันดับ 24 วงศ์ 35 สกุล และ 51 ชนิด Order Haplosclerida เป็นกลุ่มฟองน้ำพบมากที่สุด (18ชนิด, 36%) และมีความเด่นในพื้นที่ศึกษามากที่สุด รองลงมาคือ Order Poecilosclerida(12ชนิด, 26%)ฟองน้ำทะเลที่พบครั้งแรกในน่านน้ำไทย2ชนิดคือ ฟองน้ำเคลือบบางสีส้ม, *Lissodendoryx (Ectyodoryx)* sp. “orange”และฟองน้ำปะการังสีฟ้า, *Cladocroce* sp. “blue”ฟองน้ำทะเลที่พบเป็นชนิดเด่นและพบแพร่กระจายมากที่สุดคือ ฟองน้ำเคลือบแข็งสีม่วง, *Xestospongia*sp. “purple” รองลงมาคือฟองน้ำสีน้ำเงิน, *Neopetrosia*sp. “blue”, ฟองน้ำถูตังสีดำ, *Cacospongia*sp. “black” ฟองน้ำที่พบจากการสำรวจส่วนมากเป็นฟองน้ำที่พบได้ทั่วไปในบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออกและเขตทะเลจีนใต้จากการสำรวจความมากชนิด (Species richness) ของฟองน้ำทะเลในพื้นที่ศึกษาพบว่า จุดสำรวจอ่าวม่วง เกาะเต่า ทิศเหนือ(TAO55-E) มีความมากชนิดของฟองน้ำมากที่สุด 18 ชนิด รองลงมาคือ จุดสำรวจเกาะนางยวน ทิศตะวันออก(TAO55-F)และจุดสำรวจเกาะนางยวน ทิศตะวันตก(TAO55-G) มีความมากชนิดเท่ากันคือ 16 ชนิด ทั้งนี้จากการสังเกตพบว่าบริเวณเหล่านี้เป็นแนวปะการังที่เจริญขึ้นบนพื้นทรายปะการังมีรูปการเจริญที่หลากหลาย เช่น เป็นกิ่ง เป็นก้อน กึ่งก้อน รูปเห็ด ทำให้เพิ่มพื้นที่ที่อยู่อาศัยของฟองน้ำได้มากขึ้น เมื่อพิจารณารูปทรงการเจริญเติบโตของฟองน้ำทะเลในบริเวณพื้นที่ศึกษาพบว่า ฟองน้ำที่มีรูปทรงการเจริญแบบเคลือบ (Encrusting) มีสัดส่วน 57% ของฟองน้ำที่พบทั้งหมด รองลงมาเป็นรูปทรงการเจริญแบบกึ่งก้อน (Submassive) 17% รูปทรงการเจริญเติบโตของฟองน้ำในพื้นที่ศึกษาสอดคล้องกับสภาพถิ่นที่อยู่อาศัยที่มีปะการังอยู่หลากหลายรูปทรง

การเผยแพร่ผลงานวิจัยของโครงการ

ผลงานวิชาการจากโครงการวิจัยได้ถูกนำเสนอเผยแพร่ในการประชุมนานาชาติ 2 เรื่อง ได้แก่

1. เสนอผลงานวิจัย (oral presentation) เรื่อง Species diversity of marine sponges along Chumporn Islands, Chumporn province, the Gulf of Thailand.ในงานสัมมนาทางวิชาการนานาชาติเรื่องThe First Asian Marine Biology Symposium in Phuket, Thailand, in 2012 ระหว่างวันที่ 13-18 ธันวาคม2555ดังบทคัดย่อผลงานวิจัยข้างล่างนี้

Species diversity of marine sponges along Chumporn Islands, Chumporn province, the Gulf of Thailand

Sumaitt Putchakarn[1*]

1* *Biodiversity Research Unit, Institute of Marine Science, Burapha University, Bangsaen, Chon-Buri 20131, Thailand*

Abstract: Species diversity of marine sponges was investigated from the Chumporn Islands in Chumporn province, the Gulf of Thailand in the species diversity of marine sponges along the western coasts of the Gulf of Thailand research project. Collections were conducted from 8 collection sites, during March, 5-13 2011. Most of the collections were carried out by hand and skin and SCUBA diving during daytime and the observations were randomly collected throughout all collection sites. One hundred and twenty five sponge specimens were collected. The results show 50 marine sponge species from 11 orders, 24 families and 35 genera. Order Haploaclerida (17 species) was the most abundance sponge group, follow by order Poecilosclerida (13 species). Moreover, most species were found commonly in the Gulf of Thailand and the South China Sea. From this investigation, we could add the marine sponges in the western coasts of the Gulf of Thailand about 74 species recorded.

Key words: Chumporn Islands, marine sponges, Porifera, species diversity, the Gulf of Thailand

2. เสนอผลงานวิจัย (oral presentation)เรื่อง“Species diversity of marine sponges along Tao Islands,Surat Thani province, the Gulf of Thailand” ในการประชุมวิชาการนานาชาติ Burapha University International Conference 2013 (BUU2013) ณJomtien Palm Beach Hotel & Resortเมืองพัทยา จังหวัดชลบุรีระหว่างวันที่4-5กรกฎาคม2556ดังบทคัดย่อผลงานวิจัยข้างล่างนี้

Species diversity of marine sponges along Tao Islands, Surat Thani province, the Gulf of Thailand

Sumaitt Putchakarn[1*]

1* *Biodiversity Research Unit, Institute of Marine Science, Burapha University, Bangsaen, Chon-Buri 20131, Thailand*E-mail: sumaitt@buu.ac.th

Abstract

Species diversity of marine sponges was investigated from the Tao Islands in SuratThani province, the Gulf of Thailand in the species diversity of marine sponges along the western coasts of the Gulf of Thailand research project. Collections were conducted from 11 collection sites, during 24-30March, 2012. Most of the collections were carried out by SCUBA diving during daytime and the observations were randomly collected throughout all collection sites. One hundred and sixty five sponge specimens were collected. The results show 51 marine sponge species from 12 orders, 25 families and 32 genera. Order Haploaclerida (18 species) was the most abundance sponge group, follow by order Poecilosclerida (12 species). Moreover, most species were found commonly in the Gulf of Thailand and the South China Sea. From this investigation, we could add the marine sponges in the western coasts of the Gulf of Thailand about 89 species recorded.

Key words: Porifera, species diversity, Tao Islands, the Gulf of Thailand

โครงการวิจัยที่ 2 การค้นหาสารต้านเชื้อวัณโรคจากฟองน้ำทะเล

รวิวรรณ วัฒนดิลก[1] จงกลณี จงอร่ามเรือง[2]
[1]สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131
[2]คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

บทคัดย่อ

จากงานวิจัยที่ผู้วิจัยดำเนินงานในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรคเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากฟองน้ำทะเลในชั้น EtOAc จำนวน 6 ตัวอย่างของอ่าวไทยฝั่งตะวันตก และ 8 ตัวอย่างของอ่าวไทยฝั่งตะวันออก ผลการทดสอบพบว่าค่า MIC ไม่เกิน 200 µg/ml ได้แก่ *Smenospongia* sp., *Ircinia mutans*, *Cathria reinwardti* และ *Iotrochota baculifera*

ฟองน้ำ *Smenospongia* sp. (Keller) (class Demospongiae, order Dictyoceratida, family Thorectidae) บริเวณเกาะริ้น หมู่เกาะล้าน จังหวัดชลบุรี พบบริเวณพื้นทรายนอกแนวปะการัง ที่ความลึก 20 เมตร

สารต้านวัณโรคที่แยกได้จากฟองน้ำ *Smenospongia* มีการรายงานเพียงเล็กน้อย โดยในปี 2002 Hu *et al*. แยกสาร aureol, aureol *N*,*N*-dimethyl thiocarbamate และ 6-bromoaplysinopsin จากฟองน้ำ *S. aurea* ซึ่งสาร aureol, aureol *N*,*N*-dimethyl thiocarbamate แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค Mtb ($H_{37}Rv$, MIC >6.25 และ <6.25 *µ*g/mL) และจากการแยกสารสกัดจากฟองน้ำ *Smenospongia* sp. ด้วยเทคนิคโครมาโตรกราฟฟี ได้แก่ Preparative TLC, column chromatography และ HPLC สามารถแยกสารประกอบที่รู้โครงสร้างแล้ว ได้แก่ aureole และสารอนุพันธ์ ซึ่งสาร aureole แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค

สรุปสาระการค้นหาสารต้านเชื้อวัณโรคจากฟองน้ำทะเล

วัณโรคเป็นโรคติดต่อเรื้อรังมีการระบาดแพรหลายทั่วโลก และยังเป็นหนึ่งในศัตรูสำคัญที่ทำลายชีวิตของมนุษยชาติมากที่สุดโรคหนึ่งมาตั้งแตสมัยดึกดำบรรพ ในระยะเวลา 40 ปที่ผานมา ปญหาวัณโรคไดลดลงและดูเหมือนจะถูกกำจัดหมดสิ้นไปในบรรดาประเทศอุตสาหกรรม แตยังคงมีอยูในประเทศกำลังพัฒนา ตรงกันขามในทศวรรษที่ผานมาวัณโรคกลับแพรระบาดมากขึ้น ประชากรโลกถึงหนึ่งในสามหรือประมาณ 1,900 ลานคนติดเชื้อวัณโรค และพบว่าทุกๆปีมีผู้ป่วยวัณโรคกรณีใหม่ๆเพิ่มขึ้นถึง 95% ในประเทศกำลังพัฒนา โดยผูปวยวัณโรคใหมอุบัติขึ้น 7-8 ลานคน เสียชีวิตรวม 2-3 ลานคนตอปีซึ่งสูงกวาการระบาดใหญในอดีต) โดยสวนใหญเนื่องมาจากการระบาดของการติดเชื้อเอดส์และความชุกของสายพันธุ์ที่ดื้อยา (MDR) คาดว่า พ.ศ. 2563 จะมีผูติดเชื้อวัณโรคเพิ่มเกือบ 1 พันล้านคนและมีผู้เสียชีวิตประมาณ 70 ล้านคน องค์การอนามัยโลกจัดอันดับประเทศไทยอยู่เป็นลำดับที่ 17 จากกลุ่ม 22 ประเทศที่มีปัญหาด้านวัณโรค 3 อันดับแรก ได้แก่ อินเดีย จีน และอินโดนีเซีย ดังนั้นจึงต้องเร่งที่จะพัฒนายาใหม่ๆที่มีประสิทธิภาพในการต้านวัณโรค โดยเฉพาะสายพันธุ์ดื้อยาเป็นปัจจัยหนึ่งที่เป็นที่กังวลกันอย่างมากกับปัญหาโรควัณโรคในปัจจุบัน

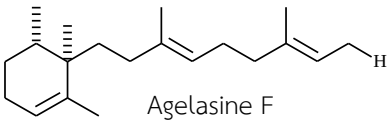
วัณโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรียชนิด *Mycobacterium* หลายสายพันธุ์ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เติบโตภายในเซลล์ (intracellular) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างแบบแท่ง เชื้อวัณโรคเป็นเชื้อที่ ทนทานต่อสภาวะแวดล้อมแบบปิดที่มีความชื้น สามารถดำรงชีพได้หลายวัน จะตายเมื่อโดนแสงแดด แม้ว่าวัณโรคจะไม่มีอาการเฉียบพลันเช่นเดียวกับ โรคซาร์ส โรคไข้หวัดนก ฯลฯ แต่ผู้ที่ได้รับเชื้อจะไม่รู้ตัว เพราะภูมิคุ้มกันในร่างกายจะกดเชื้อโรคไว้ที่ต่อมน้ำเหลือง ในขณะเดียวกันก็จะแพร่เชื้อด้วยการไอจามนำเสมหะที่เป็นเชื้อโรคสู่ผู้อื่นมีเพียง 10% ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อเหล่านี้ที่จะป่วยเป็นวัณโรค อัตราการเกิดวัณโรคกรณีใหม่ๆเกิดขึ้นอย่างกว้างขวาง เห็นได้ชัดจากระบบการดูแลสุขภาพที่แตกต่างกันในแต่ละประเทศ อาการทางคลินิกของโรควัณโรค ได้แก่ อาการเจ็บหน้าอก ไอเป็นเลือด ไอแห้งๆแบบมีเสมหะ และไอเป็นเวลานานกว่าสามสัปดาห์ ส่วนของอาการทาง Systemic symptoms ได้แก่ มีไข้ หนาวสั่น เหงื่อออกกลางคืน เบื่ออาหารและสูญเสียน้ำหนัก การรักษาวัณโรคในปัจจุบันเป็นการจัดยาปฏิชีวนะ 4 ชนิดให้รับประทานประจำทุกวันเป็นระยะเวลาหกเดือนหรือมากกว่า ในกรณีที่ผู้ป่วยไม่มีวินัยในการกินยาจะทำให้เกิดผลข้างเคียงของยาค่อนข้างสูง (เช่น ส่งผลต่อระบบการได้ยิน (ototoxicity) และเป็นพิษต่อไต (nephrotoxicity)) และระยะเวลาการรักษาก็จะยาวนาน หรืออาจส่งผลให้เกิดการดื้อยาได้ เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *M. tuberculosis* ไม่เพียงจะทนทานต่อยาที่ใช้รักษาในขั้นแรก ได้แก่ isoniazid และ rifampicin แต่ยังเพิ่มการทนทานต่อยาที่ใช้ในการรักษาขั้นที่สองมากขึ้นอีกด้วย ยาที่ใช้รักษาวัณโรคเกือบทั้งหมดมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันซึ่งก่อให้เกิดผลข้างเคียงกับชีวิตของมนุษย์ อีกทั้งใน ช่วงทศวรรษที่ผ่านมาการพัฒนายาใหม่ต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูง รวมกับการลังเลของบริษัทผลิตยาที่จะใช้โปรแกรมการค้นหาตัวยาสำหรับวัณโรค จึงเป็นผลให้ยาที่ใช้รักษาเชื้อวัณโรคใหม่ๆเข้าสู่ตลาดน้อย ความรุนแรงของโรควัณโรคที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้นักวิจัยต้องรีบเร่งหาตัวยาที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อไม่ให้เกิดการดื้อยาและเพื่อนำไปใช้เป็นต้นแบบในการพัฒนาตัวยาใหม่ๆ

ฟองน้ำทะเลเป็นแหล่งของตัวยาใหม่ ที่แสดงบทบาทสำคัญในการรักษาโรคของมนุษย์ เช่น มะเร็งและวัณโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารต้านเชื้อวัณโรคจากฟองน้ำมีรายงานสารประกอบหลายกลุ่มที่มีความโดดเด่น ได้แก่ สารประกอบกลุ่ม terpenoid และอนุพันธุ์ : สาร sesterterpene heteronemin, 12-deacetoxyscalarin 19-acetate, heteronemin acetate และ manoalide 25-acetate, agelasine F เป็นต้น

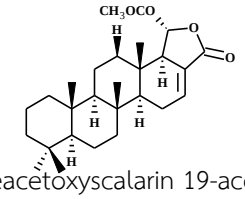
สารกลุ่มอัลคาลอยด์ : araguspongine C, 22-hydroxy-haliclonacyclamine B, haliclonacyclamine A และ B, ingenamine G, manadomanzamines A และ B, xestomanzamine A เป็นต้น

สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากฟองน้ำทะเลที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรค

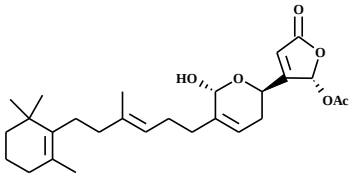
ที่ผ่านมาสารต้านเชื้อวัณโรคที่แยกได้จากฟองน้ำทะเลได้มีการรายงานมาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสารประกอบส่วนใหญ่จะเป็นสารกลุ่ม terpenoid และอนุพันธุ์ ซึ่งรวมถึง sesterterpene, alkaloid, indole, quinones หรือ hydroquinone เป็นต้น



Agelasine F



12-deacetoxyscalarin 19-acetate 25-acetate



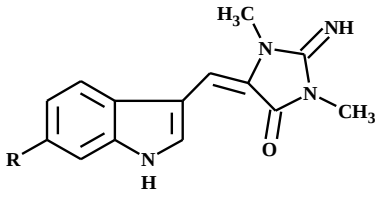
manoalide

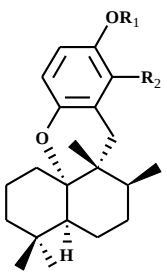
การรักษาวัณโรคยังคงใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา ยาที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อวัณโรคในปัจจุบันและได้รับการยอมรับโดย องค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration, FDA) ของสหรัฐอเมริกา เช่น isoniazid, pyrazinamide, rifampicin, ethambutol, rifapentine, cycloserine, ethionamide, capreomycin, PAS และ streptomycin ส่วนยาที่ไม่ได้รับการยอมรับโดยองค์การอาหารและยาแต่ผู้เชี่ยวชาญแนะนำให้ใช้ได้ เช่น rifabutin aminoglycosides (amikacin, kanamycin), fluoroquinolones (ciprofloxacin, moxifloxacin, levofloxacin)

จากงานวิจัยที่ผู้วิจัยดำเนินงานในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรคเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากฟองน้ำทะเลในชั้น EtOAc จำนวน 6 ตัวอย่างของอ่าวไทยฝั่งตะวันตก และ 8 ตัวอย่างของอ่าวไทยฝั่งตะวันออก ผลการทดสอบพบว่าค่า MIC ไม่เกิน 200 µg/ml ได้แก่ *Smenospongia* sp., *Ircinia mutans*, *Cathria reinwardti* และ *Iotrochota baculifera*

ฟองน้ำ *Smenospongia* sp. (Keller) (class Demospongiae, order Dictyoceratida, family Thorectidae) บริเวณเกาะริ้น หมู่เกาะล้าน จังหวัดชลบุรี พบบริเวณพื้นทรายนอกแนวปะการัง ที่ความลึก 20 เมตร

สารต้านวัณโรคที่แยกได้จากฟองน้ำ *Smenospongia* มีการรายงานเพียงเล็กน้อย โดยในปี 2002 Hu *et al*. แยกสาร aureol, aureol *N*,*N*-dimethyl thiocarbamate และ 6-bromoaplysinopsin จากฟองน้ำ *S. aurea* ซึ่งสาร aureol, aureol *N*,*N*-dimethyl thiocarbamate แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค Mtb ($H_{37}Rv$, MIC >6.25 และ <6.25 *µ*g/mL)





aplysinopsin ; R=H

6-bromoaplysinopsin; R=Br

Aureole; $R_1=R_2=H$

aureol *N,N*-dimethyl thiocarbamate; $R_1=(CH_3)_2NC(S)$; $R_2=H$

จากการแยกสารสกัดจากฟองน้ำ *Smenospongia* sp. ด้วยเทคนิคโครมาโตรกราฟฟี ได้แก่ Preparative TLC, column chromatography และ HPLC สามารถแยกสารประกอบที่รู้โครงสร้างแล้ว ได้แก่ aureole และสารอนุพันธ์ ซึ่งสาร aureole แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค

โครงการวิจัยที่ 3 จุลชีพที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำ : แหล่งใหม่ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ระยะที่ 2

ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา[1], ปรีชา ภูวไพรศิริศาล[2]
1 สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา,
2 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

พื้นผิวโลกมากกว่าร้อยละ 70 ถูกปกคลุมด้วยทะเลดังนั้นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากจุลินทรีย์ทะเลจึงเป็นแหล่งที่ใหญ่ที่สุด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทดสอบโดยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำในทะเลไทย ซึ่งจะเป็นแหล่งใหม่ของสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย จากการคัดแยกแบคทีเรียทะเลที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำจำนวน 33 ตัวอย่าง ที่เก็บมาจากบริเวณชายฝั่งหมู่เกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี สามารถคัดแยกแบคทีเรียทะเลได้ 197 สายพันธุ์ พบแบคทีเรียอาศัยอยู่ในฟองน้ำแต่ละตัวอย่างมีปริมาณแบคทีเรียที่แตกต่างกันโดยพบจำนวนน้อยที่สุดใน ฟองน้ำครกสีม่วง TAO-E-02, *Xestospongia testudinaria* จำนวน 2.0 x 10^3 โคโลนีต่อกรัม และมากที่สุดฟองน้ำท่อพุ่มสีแดง TAO-G-08 *Oceanapia sagittaria* จำนวน 8.66 x 10^6 โคโลนีต่อกรัม จากการตรวจสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียทดสอบโดยแบคทีเรียทะเลจำนวน 197 สายพันธุ์ โดยตรวจสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และแกรมลบ ได้แก่ *Psedomonas aeruginosa*, *Vibrio alginoliticus* และ *Escherichia coli* พบว่ามีแบคทีเรียทะเลที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำ 21 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ10.6 ที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบ ได้แก่ *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* และ *E. coli* แต่ไม่มีแบคทีเรียทะเลใดสามารถยับยั้ง *V. alginoliticus* โดยในจำนวนนี้มี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ T55 H 1-6, T55 J 2-7, และ T55 J 2-6 ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ดีที่สุดทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ และสามารถจำแนกชนิดได้เป็นสกุล *Pseudoalteromonas* spp. และ *Pseudomonas* sp. ตามลำดับ เมื่อนำสายพันธุ์ที่แสดงฤทธิ์ทั้ง 21 สายพันธุ์ มาทำการเพาะเลี้ยงและสกัดสารแยกออกเป็นส่วนของน้ำเลี้ยงสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท และส่วนของเซลล์สกัดด้วยสารละลายผสมเมทานอลและคลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 2:1) และระเหยแห้งด้วย Rotary Evaporator จนได้สารสกัดหยาบทั้งสองส่วน จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียซ้ำด้วยวิธี Disc Diffusion Agar Assay พบว่าสารสกัดหยาบของแบคทีเรียทะเลนี้มีเพียง 11 สายพันธุ์ที่ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบได้แก่ *B. subtilis*, *S. aureus* และ *V. alginoliticus* แต่มีสารสกัดหยาบของแบคทีเรียทะเล 10 ตัวอย่างสูญเสียความสามารถในการยับยั้ง *E. coli*

Abstract

More than 70% of the Earth's surface cover with the seas, marine derived microbial natural products have been largest and many unique microorganisms, which produce biological active compounds to adapt to particular environmental conditions. For examples, antibiotics are secondary metabolites of biosynthetic pathways in microorganisms. The aim of this study was to screening of antibacterial activity from sponge-associated bacteria. A total of 197 isolates from 33 sponges collected from northern to western coast of Tao Island, Suratthani Province were screened for antibacterial activity using disc diffusion agar assay. The result showed that 21 isolated bacteria(about 10.6%) exhibited antagonistic activity against the test bacteria, gram positive bacteria, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and gram negative bacteria, *Vibrio alginolyticus* and/or *Escherichia coli*. Among them, 3 isolates, T55 H 1-6, T55 J 2-7, and T55 J 2-6 showed high antibacterial activity against to all test gram positive- and gram negative bacteria. These isolates were identified as *Pseudoalteromonas* spp. and *Pseudomonas* sp. respectively. In further study, culture supernatant and cell pellets were extracted with ethyl acetate and mix solvents of methanol and chloroform (ratio 2:1) then both extracted fractions were evaporated by Rotary vacuum evaporator. Only ethyl acetate extracts indicated the high potential antibacterial activity from confirmed assay against test bacteria, *B. subtilis*, *S. aureus* and *V. alginolyticus.* The results obtained in this study suggest that sponge-associated bacteria may be an interesting source for discovery of antibacterial agents.

บทนำ

การศึกษาบทบาทศักยภาพของจุลชีพ /แบคทีเรียทะเลที่สำคัญต่อระบบเวศน์ในทะเล ในการผลิตสารเมตาบอไลต์ ได้กลายเป็นหัวข้อการวิจัยใหม่ที่สำคัญในปัจจุบัน(Faulkner, 2000) มีการค้นคว้าวิจัยหลาย ๆ โครงการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารปรกอบเคมีที่น่าสนใจเพิ่มจำนวนมากขึ้นเรื่อย ๆ (Barsby et al., 2001; Chelossi et al., 2004.; Hardt et al., 2000) โดยส่วนใหญ่ความสนใจจะมุ่งเน้นที่การวิจัยจุลินทรีย์ทั้งจากตะกอนดินบริเวณชายฝั่งและทะเลลึก แบคทีเรียทะเลสามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและ/หรือสารยับยั้งการลงเกาะของเพรียง antifouling(Holmstrom and Kjelleberg, 1999; De Rosa et al., 2000; Egan et al., 2000; Dechsakulwaatana et al, 2002) ซึ่ง Wilkinson (1978) ทั้งสารเคมีและ/หรือทางกายภาพภายในฟองน้ำที่เกี่ยวข้องกับมวลชีวภาพของจุลินทรรีย์มากถึง 40 % (Vacelet, 1975; Wilkinson, 1978 a;b; Berthold, et al., 1982)

ในปัจจุบันยังไม่มียาปฏิชีวนะใดที่มีคุณสมบัติดีทุกด้าน ทำให้งานการค้นหาตัวยาใหม่ๆ ยังมีความจำเป็น อย่างไรก็ตามการผลิตยาปฏิชีวนะจากจุลินทรีย์มีข้อดี คือ 1. สามารถปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตได้ 2. สามารถปรับปรุงสภาแวดล้อมในการเจริญของจุลินทรีย์ 3. สามารถปรับปรุงและควบคุมสภาวะในการผลิตสารของ จุลินทรีย์ เป็นต้น (มาลิน, 2540)

จากการค้นคว้าจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาบทบาทของแบคทีเรียที่ผลิตสารปฏิชีวนะที่แยกได้จากสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเล และคุณประโยชน์ทางการแพทย์ของสารที่ต่อต้านจุลินทรีย์ที่ผลิตโดย แบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำตลอดจนแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ในทะเลเพื่อใช้ในการพัฒนาปรับปรุงเป็นยารักษาโรคในชั้นสูงต่อไป

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในประเทศไทยยังมีอยู่น้อยมากทั้งที่ประเทศไทยเป็นแหล่งทรัพยากรทางทะเลที่อุดมสมบูรณ์และนักวิจัยชาวต่างชาติพยายามที่จะเข้ามาทำการศึกษาวิจัยในรูปแบบต่างๆ ถึงแม้ว่าจะเริ่มมีหน่วยงานอื่นที่ศึกษาในเรื่องนี้อยู่บ้างแต่จากผลการศึกษาเบื้องต้นของ Kijjoa et al. (2002, 2007) และชุติวรรณและคณะ(2541)พบว่าฟองน้ำชนิดเดียวกันที่เก็บในประเทศไทยสถานที่เดียวกันแต่แตกต่างช่วงเวลา จะให้สารประกอบและแบคทีเรียที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรที่จะสนับสนุนการศึกษาวิจัยด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเลให้มากยิ่งขึ้น และช่วยกันศึกษาวิจัยหลายๆหน่วยงานเพื่อเสริมสร้างความเข้มแข็งศักยภาพในการแข่งขันของประเทศและส่งเสริมให้ประเทศไทยได้พึ่งพาตนเองในด้านอุตสาหกรรมยาและผลิตภัณฑ์เคมีได้มากขึ้นและเร็วยิ่งขึ้นทันต่อการพัฒนาประเทศในอนาคตอันใกล้นี้

สรุปสาระสำคัญการวิจัย

ผลงานวิชาการจากโครงการวิจัยได้ถูกนำเสนอเผยแพร่ในการประชุมนานาชาติ 2 เรื่อง ได้แก่

1. เสนอผลงานวิจัย เสนอผลงานวิจัย (*poster* presentation) เรื่อง"Screening of Antibacterial Activity from Sponge-associated Bacteria Collected from Tan Island and Mud-Sum Island, Suratthani Province" ในการประชุมวิชาการนานาชาติBurapha University International Conference 2012 (BUU2012) ณ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ระหว่างวันที่ 9-11 กรกฎาคม 2555 ดังบทคัดย่อผลงานวิจัยข้างล่างนี้

Screening of Antibacterial Activity from Sponge-associated Bacteria Collected from Tan Island and Mud-Sum Island, Suratthani Province

Chutiwan Dechsakulwatana[a], Wiranphatr Apimasayanon[b], Anongrak Sawisen[b], Klaokwan Srisook[b].

Institute of Marine Science and Faculty of Science, Burapha University, Saensuk, A. Muang, Chonburi Province 20131, Thailand
Email:chutiwan@buu.ac.th

Abstract

In this study, 444 sponge-associated bacteria from 66 sponges collected from Tan Island and Mud-Sum Island, Suratthani Province were screened for antibacterial activity by disc diffusion agar assay with gram positive bacteria, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and gram negative, *Psedomonas aeruginosa*, *Vibrio alginolyticus* and *Escherichia coli*. The 43 isolated bacteria(10%) showed the potent antibacterial activity against the test bacteria, *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* and/or *E. coli* but there had no sponge – associated bacteria that could inhibited *V. alginolyticus.* In total, 43 of culture supernatant and cell pellets were extracted with ethyl acetate and mix solvents of methanol and chloroform (ratio 2:1) then both extracted fractions were evaporated by Rotary vacuum evaporator. Only nine of them indicated the high potential antibacterial activity from confirmed assay against test bacteria, *B. subtilis*, *S. aureus* and *V. alginolyticus.* This result could suggest the potential of theirs activity to further pharmaceutical activity.

2. เสนอผลงานวิจัย (poster presentation)เรื่อง“Antibacterial Activity from Sponge-associated Bacteria Collected from northern to western coast of Tao Island, Suratthani Province” ในการประชุมวิชาการนานาชาติBurapha University International Conference 2013 (BUU2013) ณJomtien Palm Beach Hotel & Resortเมืองพัทยา จังหวัดชลบุรีระหว่างวันที่ 4-5 กรกฎาคม 2556 ดังบทคัดย่อผลงานวิจัยข้างล่างนี้

Antibacterial Activity from Sponge-associated Bacteria Collected from northern to western coast of Tao Island, Suratthani Province

Chutiwan Dechsakulwatana

Institute of Marine Science, Burapha University, Saensuk, A. Muang, Chonburi Province 20131, Thailand
Email:chutiwan@buu.ac.th

Abstract

More than 70% of the Earth's surface cover with the seas, marine derived microbial natural products have been largest and many unique microorganisms, which produce biological active compounds to adapt to particular environmental conditions. For examples, antibiotics are secondary metabolites of biosynthetic pathways in microorganisms. The aim of this study was to screening of antibacterial activity from sponge-associated bacteria. A total of 197 isolates from 33 sponges collected from northern to western coast of Tao Island, Suratthani Province were screened for antibacterial activity using disc diffusion agar assay. The result showed that 21 isolated bacteria(about 10.6%) exhibited antagonistic activity against the test bacteria, gram positive bacteria, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and gram negative bacteria, *Vibrio alginolyticus* and/or *Escherichia coli*. Among them, 3 isolates, T55 H 1-6, T55 J 2-7, and T55 J 2-6 showed high antibacterial activity against to all test gram positive- and gram negative bacteria. These isolates were identified as *Pseudoalteromonas* spp. and *Pseudomonas* sp. respectively. In further study, culture supernatant and cell pellets were extracted with ethyl acetate and mix solvents of methanol and chloroform (ratio 2:1) then both extracted fractions were evaporated by Rotary vacuum evaporator. Only ethyl acetate extracts indicated the high potential antibacterial activity from confirmed assay against test bacteria, *B. subtilis*, *S. aureus* and *V. alginolyticus.* The results obtained in this study suggest that sponge-associated bacteria may be an interesting source for discovery of antibacterial agents.

Keywords: sponge-associated bacteria, antibacterial activity,

โครงการวิจัยที่ 4 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำและแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในฟองน้ำ
Fatty Acids from some Sponges and Symbiosis Marine Bacteria.

ณิษา สิรนนท์ธนา และจารุนันท์ ประทุมยศ
สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี 20131

บทคัดย่อ

จากการหาชนิดและปริมาณกรดไขมันในฟองน้ำทะเลบริเวณเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานีโดยเก็บตัวอย่างเดือนมีนาคม 2555 ทำการแยกกลุ่มของไขมันในตัวอย่างฟองน้ำด้วยเทคนิค Solidphase extraction (SPE) จากนั้นหาชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วย GC/FID ผลการศึกษาพบปริมาณไขมันรวมอยู่ในช่วงร้อยละ 0.14 - 0.23 น้ำหนักสด ปริมาณสูงสุดพบในตัวอย่างฟองน้ำ *Spheciospongiavagabunda* order Hadromeridaโดยไขมันที่พบมากที่สุดเป็นชนิด neutral lipid (31.97-39.29 % of crude lipids). และองค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Spheciospongiavagabunda*เป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs=20.98% ; C20:4n6, C20:5n3 และ C18:3n3) โดยพบกรดไขมัน Arachidonic acid (C20:4n6) ปริมาณสูงสุด 10.14±0.04 %TFA ส่วน*ตัวอย่าง* *Biemnafortis*มีคุณลักษณะเด่นเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs = 21.32%; C16:0, C14:0 และ C18:0) ส่วนกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า- 3 (EPA, DHA) จากตัวอย่างฟองน้ำ *Spheciospongiavagabunda*และตัวอย่าง *Biemnafortis*พบในปริมาณร้อยละ 3.02 -3.04, 1.46-2.02 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล *Spheciospongiavagabunda* พบคุณลักษณะกรดไขมันแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม โดยเชื้อ TAO-A-1-1Br, TAO-A-1-2y มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFAs; C17:1, C18:1n9) เชื้อ TAO-A-1-3g มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs; C18:3n3) ส่วน TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12or มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs; C16:0, C18:0) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อที่ควรนำไปพัฒนาต่อได้แก่ เชื้อ TAO-A-1-3g กับเชื้อ TAO-A-1-5 ที่ตรวจพบกรดไขมัน α- Linolenic acid (ALA; C18:3:n3) ในปริมาณที่สูง (16.26±0.04; 8.20±0.38%TFA) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญเนื่องจากเป็น parent compound ของ omega-3

สรุปสาระสำคัญการวิจัย

คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำทะเลที่ทำการศึกษาในพื้นที่อ่าวไทยตอนล่าง

จากการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเลบริเวณอ่าวไทยตอนล่าง (มกราคม 2553-มีนาคม 2555) รายชื่อตัวอย่างและจุดเก็บตัวอย่างแสดงในตารางภาคผนวกที่ 10 พบว่าคุณลักษณะกรดไขมันส่วนใหญ่จะเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) ยกเว้นตัวอย่างTAO55-A-POR-01 ที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน(PUFAs) มากกว่า และฟองน้ำ*Clathria*(Thalysias) CHUMP-A-POR03 จากหินหลักแรดทะเลชุมพรเป็นตัวอย่างที่พบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวปริมาณสูงสุด (29.08%TFA) และกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 พบปริมาณสูงสุดในตัวอย่างฟองน้ำ*Clathria*(Thalysias) CHUMP-A-POR03 เช่นกัน
(EPA = 9.06%TFA; DHA = 12.87%TFA) รายละเอียดแสดงในตารางที่ 35, 36, 37 และภาพที่ 12, 13, 14 ซึ่งรูปแบบกรดไขมัน มาจากผู้ผลิตเบื้องต้นใน marine food web อันได้แก่ macroalgaeและ phytoplankton ซึ่ง phytoplanktonในสิ่งแวดล้อมส่วนใหญ่จะเป็น Bacillarophyceae (diatoms), Dinoflagellatesและ Prymnesiophyceaeซึ่งกรดไขมันในสาหร่ายจะถูกสังเคราะห์ใน Chloroplasts ที่ประกอบไปด้วย thylakoid membranes และจะเปลี่ยนเป็น glycolipid ที่อุดมไปด้วย n-3 PUFA และช่วงระยะเวลาการเจริญของสาหร่ายก็มีผลต่อปริมาณ n-3 PUFA ด้วย โดยในระยะ Exponential growth phase ปริมาณ n-3 PUFA จะสูงถึง 50% ของไขมันทั้งหมด และสาหร่ายเหล่านี้เป็นกลุ่ม ที่สามารถสังเคราะห์ กรดไขมัน C18:2n6 , C18:3n3 ซึ่งกรดไขมัน 2 ชนิดนี้เป็นกรดไขมันหลักในการเกิดกรดไขมันตัวอื่น ๆ ได้แก่ AA, EPA, DHA ต่อไป ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นของสิ่งมีชีวิต (Jean-Pascal Berge, 2005) ดังนั้นชนิดและปริมาณกรดไขมันในการศึกษาครั้งนี้มีความแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากชนิดและปริมาณที่แตกต่างกันของ macroalgaeและ phytoplanktonในแหล่งน้ำที่อยู่อาศัยของฟองน้ำนั้น ๆ เพื่อความสมบูรณ์ของข้อมูลควรมีการศึกษาถึงชนิดและปริมาณของสาหร่ายและแพลงก์ตอน ตลอดจนคุณภาพของน้ำ(ความเค็ม, อุณหภูมิ, pH เป็นต้น)

1.ปริมาณไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Spheciospongia vagabunda*(TAO55-A-POR-01)*และฟองน้ำ Biemnafortis*(TAO55- B -POR-01) จากเกาะเต่าจังหวัดสุราษฎร์ธานี (มีนาคม 2555) พบไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ0.14 - 0.23 น้ำหนักสด ปริมาณสูงสุดพบในตัวอย่าง ฟองน้ำ*Spheciospongia vagabunda*order Hadromerida

2. องค์ประกอบกรดไขมันในตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Spheciospongia vagabunda*พบคุณลักษณะเด่นของกรดไขมันเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs=20.98% ; C20:4n6, C20:5n3 และ C18:3n3) โดยพบกรดไขมัน Arachidonic acid (C20:4n6) ปริมาณสูงสุด 10.14±0.04 %TFA ส่วนตัวอย่าง *Biemnafortis*มีคุณลักษณะเด่นเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs = 21.32%; C16:0, C14:0 และ C18:0)

3. กรดไขมันกลุ่มโอเมก้า- 3 (EPA, DHA) จากตัวอย่างฟองน้ำ *Spheciospongia vagabunda*และตัวอย่าง *Biemnafortis*พบในปริมาณร้อยละ 3.02 -3.04, 1.46-2.02

4.จากตัวอย่างฟองน้ำทะเล *Spheciospongiavagabunda*นำมาคัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้ 8 ตัวอย่าง TAO-A-1-1Br,TAO-A-1-2y, TAO-A-1-3g, TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9YW, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12orพบปริมาณไขมันมีค่าในช่วงร้อยละ0.35-4.30น้ำหนักสดโดยปริมาณสูงสุดพบในเชื้อแบคทีเรียTAO-A-1-12or ปริมาณต่ำสุดพบในเชื้อแบคทีเรีย TAO-A-1-9YW

5. พบคุณลักษณะกรดไขมันในเชื้อแบคทีเรียแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้เชื้อ TAO-A-1-1Br, TAO-A-1-2y มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิด MUFAs (C17:1, C18:1n9) เชื้อ TAO-A-1-3g มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมัน

ชนิด PUFAs (C18:3n3) ส่วน TAO-A-1-5, TAO-A-1-8, TAO-A-1-9, TAO-A-1-11w, TAO-A-1-12or มีคุณลักษณะเป็นกรดไขมันชนิดSFAsโดยปริมาณกรดไขมันที่ตรวจพบปริมาณสูงได้แก่ C16:0, C18:0 จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อที่ควรนำไปพัฒนาต่อได้แก่ เชื้อ TAO-A-1-3g กับเชื้อ TAO-A-1-5 ที่ตรวจพบกรดไขมัน Linolenic acid (ALA C18:3:n3) ในปริมาณที่สูง (ร้อยละ 16.26±0.04; 8.20±0.38) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีความสำคัญเนื่องจากเป็น parent compound ของ omega-3

6.จากการศึกษาสภาวะในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย CHUMP-POR -03-2 ที่คัดแยกจากฟองน้ำทะเล *Clathria*(Thalysias) (CHUMP-POR -03) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ ModifiedZobell medium และ Marine Medium 2216 จากนั้นเติมน้ำตาล glucose 3 ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1% และทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48, 72, 96, 120 , 144 ชม. ผลการศึกษาพบว่าปริมาณกรดไขมัน C13:0, C14:0, C14:1,C15:0,C15:1,C16:0 C16:1n9 C17:0, C17:1, C18:1, C18:2n6, C18:3n3 และปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (SFAs)ชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว(MUFAs) และชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดอาหาร ความเข้มข้นของน้ำตาล และเวลาในการเลี้ยง ยกเว้นกรดไขมัน C12:0

7.คุณลักษณะกรดไขมันในฟองน้ำทะเลที่ทำการศึกษาในพื้นที่อ่าวไทยตอนล่างบริเวณหมู่เกาะสมุย เกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี หินหลักแรด ทะเลชุมพร (มกราคม 2553-มีนาคม 2555) พบคุณลักษณะกรดไขมันส่วนใหญ่จะเป็นชนิดอิ่มตัว (SFAs) ยกเว้นตัวอย่าง*Spheciospongia vagabunda*(TAO55-A-POR-01) ที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) มากกว่า และฟองน้ำ*Clathria*(Thalysias) CHUMP-A-POR03 จากหินหลักแรด ทะเลชุมพรเป็นตัวอย่างที่พบกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวปริมาณสูงสุด (29.08%TFA) และกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 พบปริมาณสูงสุดในตัวอย่างฟองน้ำ*Clathria*(Thalysias) CHUMP-A-POR03 เช่นกัน(EPA = 9.06%TFA; DHA = 12.87%TFA)

โครงการวิจัยที่ 5 การสังเคราะห์โครงสร้างบางส่วนของสารเลียนแบบผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเลเพื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ของโครงสร้างทางเคมีต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ

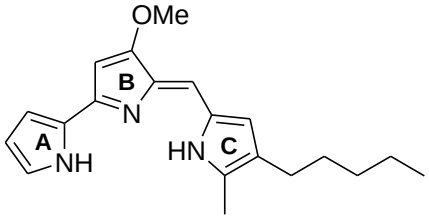
ผศ.ดร. รุ่งนภา แซ่เอ็ง[1] ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา[2] จเร จรัสจรูญพงษ์[1] อุทัยวรรณ ศิริอ่อน[1]

1 คณะวิทยาศาสตร์, 2 สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา มหาวิทยาลัยบูรพา

สรุปผลโครงการวิจัย

การสังเคราะห์โครงสร้างบางส่วนของสาร prodigiosin

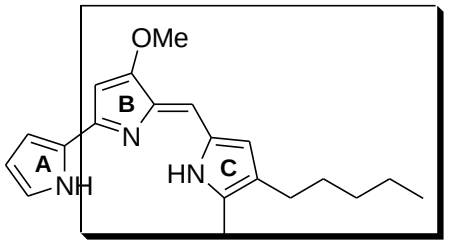
สาร prodigiosin เป็นสาร alkaloid ซึ่งเป็นสาร pigment สีแดงที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ คือมีฤทธิ์ cytotoxic, antimalaria, antimicrobial และ anticancer เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่พบในจำพวกจุลินทรีย์ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มสายพันธ์ Serratia, Streptomyces และ Barcillus ที่อยู่ในฟองน้ำที่ได้จากน่านน้ำไทย เมื่อนำมาสกัดและแยกให้บริสุทธิ์ พบว่าได้ สาร prodigiosin โครงสร้างดังรูป



รูปที่ 1 Prodigiosin

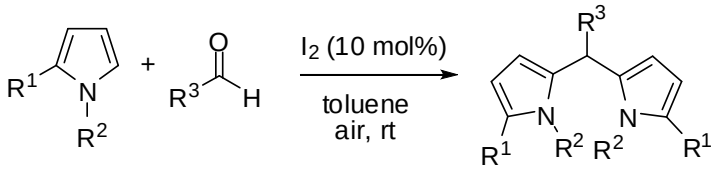
Prodigiosins เป็น alkaloid ที่มีโครงสร้างที่ประกอบด้วยวง pyrrole จำนวนสามวงเป็น pyrrolylpyrromethene skeleton ซึ่งมีหมู่ methoxy เกาะอยู่บนวง B

กลุ่มผู้วิจัยได้ทำการทดลองสังเคราะห์เลียนแบบในส่วนของโครงสร้างด้านขวามือซึ่งคือวง B และ C ของ prodigiosin

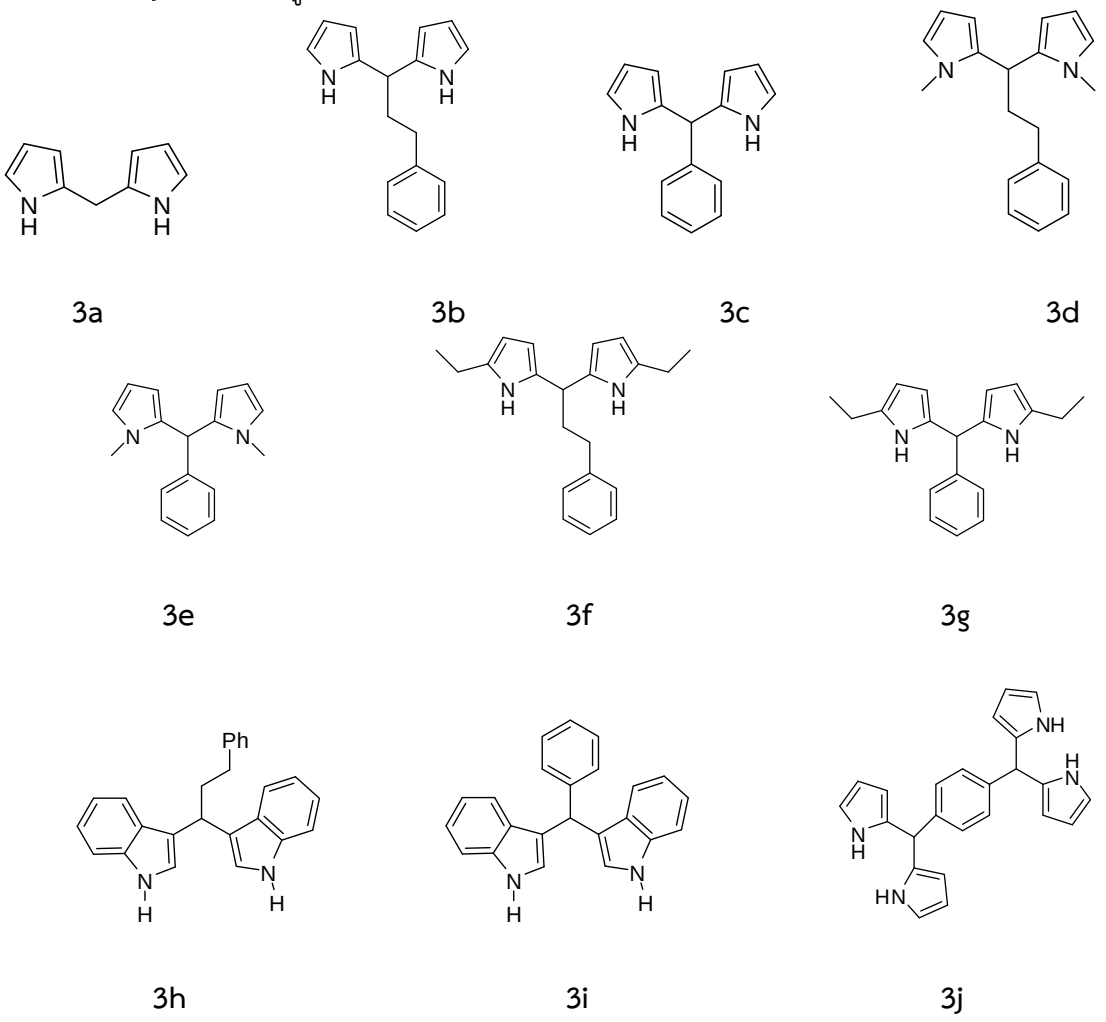


วิธีการที่ใช้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ prodigiosin

วิธีที่ 1. วิธีการใช้ iodine เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยทำปฏิกิริยาโดย aldehyde ชนิดต่างๆกับ pyrrole มี iodine เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง

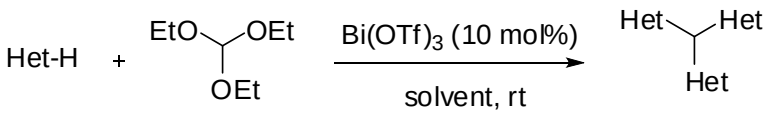


ทีมผู้วิจัยสามารถประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ใหม่ของ prodigiosin จำนวน 10 ชนิด คือสาร **3a**-**3j** ดังแสดงในรูปต่อไปนี้



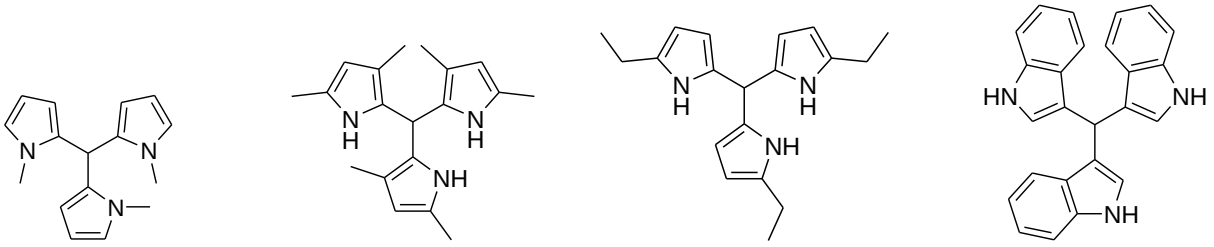
รูปที่ 2 อนุพันธ์ของ prodigiosin โดยวิธีการใช้ iodine เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

วิธีการที่ใช้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ prodigiosin วิธีที่ 2 คือการใช้ Bi(OTf)3 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยทำปฏิกิริยาของ สาร pyrrole **4** ชนิดต่างๆ และ triethyl orthoformate **5** และ catalyst $Bi(OTf)_3$ ที่อุณหภูมิห้อง



4 5 6

ทีมผู้วิจัยสามารถประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ใหม่ของ prodigiosin ด้วยวิธีการใช้ Bi(OTf)3 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จำนวน 4 ชนิด ดังแสดงในรูปต่อไปนี้



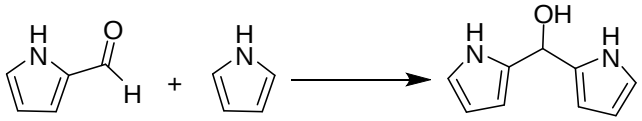
6a 6b 6c 6d

รูปที่ 3 อนุพันธ์ของ prodigiosin โดยวิธีการใช้ Bi(OTf)3 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

เนื่องจากสารเคมีในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ prodigiosin มีราคาแพง ทีมวิจัยได้ปรับปรุงการสังเคราะห์อนุพันธ์ prodigiosin โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา Silica acid catalyst ซึ่งมีราคาถูก เตรียมง่าย และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

การออกแบบการสังเคราะห์ ทำโดยการนำ pyrrole-2-carboxaldehyde และ pyrrole มาทำปฏิกิริยา aldol condensation ในสภาวะกรด ได้อนุพันธ์ dipyrromethanol เป็น product ได้ทำการศึกษาในสภาวะต่างๆเพื่อให้ได้ %yield ของผลิตภัณฑ์สูงที่สุด ดังตาราง

ตารางที่ 1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ prodigiosin กลุ่ม dipyrromethanol

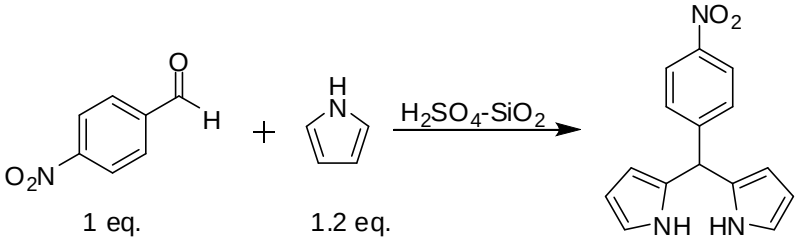


entry	pyrrole (eq.)	catalyst	solvent	time (h)	temp (^{o}C)	%yield
1	2	conc. HCl (1 drop)	CH_2Cl_2	0.5	rt	11
2	1.5	2 N HCl (1.2 eq.)	toluene	0.5	rt	4
3	2.5	conc. HCl (10 μM)	MeOH	15 min	-20	12
4	2.5	conc. H_2SO_4 (10 μM)	MeOH	15 min	-20	12
5	2.5	conc. H_2SO_4 (10 μM)	H_2O	1.0	-20	12
6	2.5	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	H_2O	3.0	-20	56
7	2.5	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	H_2O	1.0	rt	42
8	2.4	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	H_2O	2.5	-20	57
9	2.4	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	MeOH/ H_2O (1:1)	2.5	-20	18
10	2.4	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	EtOH/ H_2O (1:1)	5.0	-20	43
11	2.4	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	EtOH	2.0	-20	39
12*	2.4	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	MeOH 2 ml	2.0	-20	70
13*	2.4	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	MeOH	0.5	-20	43
14	2.4	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	MeOH	15 min	rt	18
15	2.4	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	toluene	1.0	-20	6
16	2.4	H_2SO_4-SiO_2 (10 mg)	CH_2Cl_2	1.0	-20	9

พบว่าตัวทำละลายเป็น organic solvent หรือ กรดที่มีความแรงมากๆ ปฏิกิริยาจะเกิดเร็ว แต่ก็เกิดการ polymerize ที่ค่อนข้างสูงเช่นกัน เกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ การใช้น้ำหรือ methanol เป็นตัวทำละลายปฏิกิริยาจะเกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงน้อย %yield ของผลิตภัณฑ์สูง

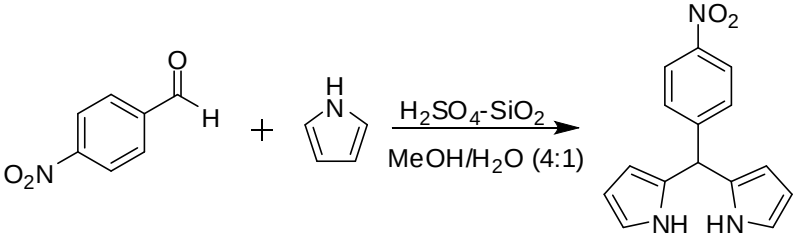
นอกเหนือจากนี้ ทีมวิจัยได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ prodigiosin ชนิด dipyrromethane โดยลองใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา Silica acid catalyst ทำโดยการนำ 4-nitrobenzaldehyde และ pyrrole มาทำปฏิกิริยา และได้ทำการศึกษาในตัวทำละลายชนิดต่างๆเพื่อให้ได้ %yield ของผลิตภัณฑ์สูงที่สุด ดังตารางที่ 2 ซึ่ง การใช้น้ำหรือ น้ำผสมกับ methanol เป็นตัวทำละลายปฏิกิริยาจะเกิดผลิตภัณฑ์ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น

ตารางที่ 2 ผลของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุพันธ์ prodigiosin ชนิด dipyrromethane



entry	solvent	time (h)	%yield	entry	solvent	time (h)	%yield
1	toluene	24	15	8	MeOH	3	12
2	1,4-dioxane	1.5	5	9	IPA	36	1
3	Et_2O	1	5	10	*t*-BuOH	36	2
4	CH_2Cl_2	24	4	11	H_2O	24	37
5	THF	2	2	12	MeOH/ H_2O (1:4)	2.5	37
6	DMF	48	12	13	Et_2O/ H_2O (1:4)	2.5	30
7	CH_3CN	15 min	3				

ตารางที่ 3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุพันธ์ prodigiosin ชนิด dipyrromethane



entry	pyrrole (eq.)	H_2SO_4-SiO_2 (eq.)	temp. (^{o}C)	time (h)	%yield
1	1.2	0.2	rt	2.5	37
2	2.2	0.2	rt	3.0	60
3	5.0	0.2	rt	2.5	73

สำหรับตารางที่ 3 เป็นการหาปริมาณของ pyrrole ที่ทำปฏิกิริยากับ 4-nitrobenzaldehyde และ H_2SO_4-SiO_2 catalyst ที่เหมาะสม พบว่า ปริมาณของ pyrrole ที่ 5.0 eq. เป็นสภาวะที่ดีที่สุดซึ่งให้ %yield สูงถึง 73%

จากผลการทดลองที่ได้ทั้งหมด ทีมวิจัยสามารถใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดใหม่ คือ Silica acid catalyst ซึ่งมีราคาถูก เตรียมง่าย และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ในการสังเคราะห์อนุพันธ์ prodigiosin

โครงการวิจัยที่ 7 การเหนี่ยวนำการเกิด apoptosis ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีโดยสารสกัดบริสุทธิ์จากจุลชีพทะเลที่คัดแยกน่านน้ำไทย

ผศ.ดร.จริยา หาญวจนวงศ์[1], ผศ.ดร.นิษณา นามวาท[1], ดร.ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา[2]
รศ.ดร.วิจิตรา ทัศนียกุล[1], รศ.ดร.บรรจบ ศรีภา[1],
1. คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งที่มีความสามารถในการบุกรุกสูง ปัจจุบันยังไม่มีการรักษามะเร็งชนิดนี้อย่างมีประสิทธิภาพ รายงานที่ผ่านมาพบว่ามีสารสกัดจากฟองน้ำและแบคทีเรียทะเลในอ่าวไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านม และมะเร็งปากมดลูก ในการศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากฟองน้ำและแบคทีเรียทะเลในอ่าวไทยจำนวน 7 ชนิด ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี 5 ชนิด คือ KKU-100, KKU-M139, KKU-M156, KKU-M213 และ KKU-M214 พบว่า มีสารสกัดจากธรรมชาติเพียงชนิดเดียวคือ MSA2-3 มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-M214 ในระดับที่ดีมาก ในขณะที่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิดอื่นๆ การที่เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีความไวต่อสารที่นำมาทดสอบแตกต่างกัน อาจเกิดเนื่องจากเซลล์มะเร็งที่นำมาทดสอบมี histological type ที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตาม คณะผู้วิจัยจะได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากฟองน้ำและแบคทีเรียทะเลในอ่าวไทยเพิ่มเติม และศึกษากลไกในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีต่อไป

สรุปผล

มะเร็งเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญในประชากรทั่วโลก จากประมาณการใน พ.ศ. 2537 พบว่า มีจำนวนผู้ป่วยโรคมะเร็งมากกว่า 18 ล้านคน และมีผู้ป่วยใหม่ประมาณ 9 ล้านคนในทุก ๆ ปี องค์การอนามัยโลกได้คาดการณ์ไว้ว่าในปี 2563 ทั่วโลกจะมีคนตายด้วยโรคมะเร็งมากกว่า 11 ล้านคน และเกิดขึ้นในประเทศที่กำลังพัฒนามากกว่า 7 ล้านคนเนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็ง สาเหตุการเกิดมะเร็งพบว่ามีปัจจัยร่วมที่หลากหลายและประกอบด้วยหลายขั้นตอน ได้แก่ initiation, promotion และ progression จากกลไกการเกิดมะเร็งที่เป็น multifactorial และ multistep processes ทำให้การรักษามีได้หลายวิธีตั้งแต่การป้องกันการเกิดมะเร็งไปจนถึงการรักษา ประกอบกับการตรวจพบมะเร็งมักจะเป็นระยะหลัง ๆ ประมาณการว่าร้อยละ 70 ของผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับการวินิจฉัยจะมีการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งแล้ว ซึ่งการรักษาแบบ local treatment (เช่น การผ่าตัด หรือรังสีรักษา) มักไม่ได้ผล การรักษาในระยะนี้จึงต้องใช้ยาต้านมะเร็งหรือยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์จึงมักมีผลต่อเซลล์ปกติที่กำลังแบ่งตัวด้วย นอกจากนี้เซลล์มะเร็งบางชนิดจะมีปัญหาการดื้อยา แม้จะให้การรักษาแบบ combination therapy ก็จะให้ผลไม่ดีนัก

มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งตับที่มีอุบัติการณ์สูงมากในประเทศไทย โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมะเร็งดังกล่าวมีอุบัติการณ์ในชายมากกว่าหญิง (1) โดยทั่วไปมะเร็งท่อน้ำดีในระยะเริ่มแรกมักไม่แสดงอาการ ประกอบกับในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการที่ใช้ในการวินิจฉัยในระยะเริ่มแรก ผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่เข้ารับการรักษามักมีการดำเนินโรคอยู่ในระยะสุดท้าย ซึ่งมะเร็งได้ลุกลามเกินกว่าจะทำการรักษาได้ ทำให้มะเร็งชนิดนี้มีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี และมีอัตราการตายสูง ปัจจุบันยังไม่มีการรักษามะเร็งชนิดนี้อย่างมีประสิทธิภาพ (2) การรักษาส่วนใหญ่จึงเป็นลักษณะบรรเทา (palliative treatment) หรือหากรักษาโดยการผ่าตัดก็มักพบการกลับเป็นซ้ำในอัตราสูง

ปัจจุบันยาที่ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคมะเร็งเป็นยาแผนปัจจุบัน ยาส่วนใหญ่ได้มาจากการนำเข้าจากต่างประเทศ การผลิตยาแผนปัจจุบันในประเทศเองก็มักใช้วัตถุดิบจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพงทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ การรักษาโรคมะเร็งโดยการให้ยารักษามะเร็งในปัจจุบัน ยังคงมีข้อจำกัด เช่น ปัญหาการดื้อยา (drug resistance) ผลข้างเคียงของยาที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วย (side effect) เป็นต้น ดังนั้นการพยายามนำเอาสารสกัดจากธรรมชาติซึ่งเป็นทรัพยากรหรือวัตถุดิบที่มีราคาไม่สูงมากนักมาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง เพื่อนำไปสู่การผลิตเป็นยารักษาโรคแผนปัจจุบัน และนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับยารักษาโรคแผนปัจจุบัน จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะให้ผู้ป่วยมีชีวิตที่ยืนยาว และมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น โดยการรักษาด้วยยาที่มีค่าใช้จ่ายไม่สูงเกินไป และช่วยทำให้การนำสารสกัดจากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันรักษาโรคมะเร็งตามแนวทางการรักษาแผนปัจจุบันแพร่หลายมากยิ่งขึ้น

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง 4 ชนิด และ HeLa, KB, MCF-7, ASK ของสารสกัดจำนวน 5 สาร พบว่า สาร MSA2-3 มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-M214 ในระดับที่ดีมาก โดยให้ค่า IC_{50} value เป็น 7.84 ± 0.55 μg/ml แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีอีก 4 ชนิด (ตารางที่ 1) ในขณะที่ สารสกัดอีก 6 สารไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีทั้ง 5 ชนิด (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจำนวน 7 สาร ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100, KKU-M139, KKU-M156, KKU-M213 และ KKU-M214 โดยทำการเลี้ยงเซลล์มะเร็งในสภาวะที่ใส่และไม่ใส่สาร นาน 72 ชั่วโมง ทำการหาปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตโดยวิธี SRB assay หาค่า IC_{50} แสดงผลเป็นค่า mean ± SEM (ทำการทดลอง 3 ครั้ง)

Extracts	IC_{50} values (μg/ml)				
	KKU-100	KKU-M139	KKU-M156	KKU-M214	KKU-M214
MSA2-3	NR	NR	NR	NR	7.84 ± 0.55
MSB6-3	NR	NR	NR	NR	NR
TA5-2	NR	NR	NR	NR	NR
CD508-SB	NR	NR	NR	NR	NR
CD508-CB	NR	NR	NR	NR	NR
TA3-3-X	NR	NR	NR	NR	NR
CD508-SX	NR	NR	NR	NR	NR

เนื่องจากการรักษาผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดี ด้วยวิธีการผ่าตัด การใช้เคมีบำบัด หรือรังสีรักษามักไม่ได้ผล การรักษาโรคมะเร็งโดยการให้ยาเคมีบำบัดรักษามะเร็งในปัจจุบัน ยังคงมีข้อจำกัด เช่น ปัญหาการดื้อยา (drug resistance) ผลข้างเคียงของยาที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วย (side effect) เป็นต้น ดังนั้น การพยายามนำเอาสารสกัดจากธรรมชาติมาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี เพื่อนำไปสู่การผลิตเป็นยารักษาโรคแผนปัจจุบันจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้ผู้ป่วยมีชีวิตที่ยืนยาวและมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น โดยการรักษาด้วยยาที่มีค่าใช้จ่ายไม่สูงเกินไป ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาค้นคว้าหาสารที่มีผลในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี รวมถึงกลไกในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

คณะผู้วิจัยได้ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี 5 ชนิด โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ 7 ชนิด พบว่า มีสารสกัดจากธรรมชาติเพียงชนิดเดียวคือ MSA2-3 มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-M214 ในระดับที่ดีมาก ในขณะที่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิดอื่นๆ การที่เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีความไวต่อสารที่นำมาทดสอบแตกต่างกันอาจเกิดเนื่องจากเซลล์มะเร็งที่นำมาทดสอบมี histological type ที่แตกต่างกัน

สารสกัดจากแบคทีเรียทะเลที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำรหัส MSA-2-3 ฟองน้ำไฟท่อใหญ่ ***Biemna*** sp. ซึ่งเก็บจากเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี IC_{50} value เป็น 7.84 ± 0.55 μg/ml ซึ่งเป็นระดับที่ดีมาก ในขณะที่การศึกษาของ Lin และคณะ(11) ก็พบแบคทีเรียทะเล 4 สายพันธุ์คือ QD1-2, NJ6-3-1, NJ1-1-1 and SS6-4 สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งอีกชนิดหนึ่งคือมะเร็งปากมดลูก(HeLa) ที่ระดับ ID(50) ranged from 77.20 to 199.84 mug ml(-1), นอกจากนี้ Sangnoi และคณะ (12) ได้รายงานการวิจัยพบแบคทีเรียกลุ่มไกด์ดิ้งจากทะเลไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเยื่อบุในลำไส้

และช่องปากได้หลายชนิด แต่ไม่พบรายงานว่ามีแบคทีเรียทะเลที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีได้เช่นเดียวกับที่พบในการวิจัยนี้

อย่างไรก็ตามคณะผู้วิจัยจะได้ทำการทดสอบกลไกในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีต่อไป

ฟองน้ำปะการังสีส้ม, *Lissodendoryx (Ectyodoryx)* sp.“orange”

ฟองน้ำปะการังสีฟ้า, *Cladocroce*sp.”blue”

ฟองน้ำที่พบครั้งแรกในน่านน้ำไทยจากการสำรวจครั้งนี้ 2 ชนิด

ฟองน้ำเคลือบแข็งสีม่วง, *Xestospongia*sp. “purple”

ฟองน้ำสีน้ำเงิน, *Neopetrosia* sp. “blue”

ฟองน้ำถูตัวสีดำ, *Cacospongia* sp.

ฟองน้ำสีน้ำตาลม่วง, *Petrosia (Petrosia) hoeksemai*

ฟองน้ำท่อพุ่มสีแดง, *Oceanapiasagittaria*

ฟองน้ำครกม่วง, *Petrosia (Petrosia) expansa var. aruensis*

ฟองน้ำทะเลที่พบทั่วไปและพบเสมอบริเวณพื้นที่หมู่เกาะเต่า อำเภอเกาะพะงัน จังหวัดสุราษฎร์ธานี

รูปที่ 1 TAO-G-08 ฟองน้ำท่อพุ่มสีแดง *Oceanapia sagittaria* พบจำนวนแบคทีเรียมากที่สุด 8.66 x 10^6 โคโลนีต่อกรัม

รูปที่ 2 TAO-E-02 ฟองน้ำครกสีม่วง *Xestospongia testudinaria* พบจำนวนแบคทีเรียน้อยที่สุด2.0 x 10^3 โคโลนีต่อกรัม

รูปที่ 3 *Halichondria* sp."yellow"
รหัส *TAO55-H-POR01*
ชื่อสามัญ : ฟองน้ำเคลือบสีเหลืองนิ่ม

รูปที่ 4 *Pseudoceratina* sp."yellow"
รหัส TAO55-J-POR02
ชื่อสามัญ : ฟองน้ำกิ่งสีเหลือง

แผ่นภาพที่ 2 รูปถ่ายฟองน้ำจากบริเวณเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี

(ภาพถ่ายโดย ดร.สุเมตต์ ปุจฉาการ)

รูปที่ 1 *Biemna fortis*

รหัส TAN-A-02

ชื่อสามัญ : ฟองน้ำไฟ

รูปที่ 2 *Oceanapia sagittaria*

รหัส TAN-A-05

ชื่อสามัญ : ฟองน้ำท่อพุ่มสีแดง

รูปที่ 3 *Axinyssa* sp.

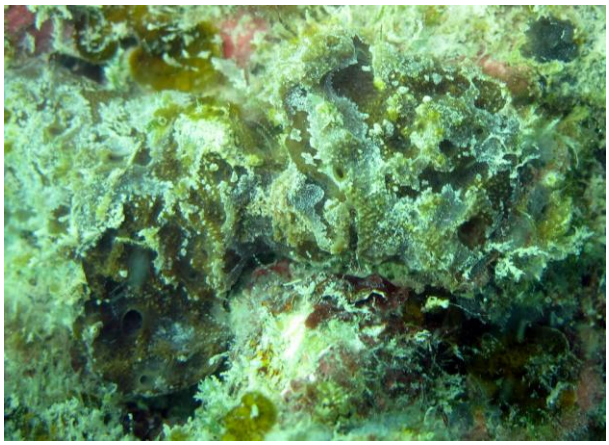
รหัส TAN-B-04

ชื่อสามัญ : ฟองน้ำเคลือบสีม่วง

รูปที่ 4 *Xestospongia* testudinaria

รหัส TAN-B-8

ชื่อสามัญ : ฟองน้ำครกแข็ง



รูปที่ 5 *Hyattella intestinalis*

รหัส TAN-C-3

ชื่อสามัญ : ฟองน้ำถูตัวสีน้ำตาลเขียว

รูปที่ 6 *Neopetrosia* sp.

รหัส TAN-C-12

ชื่อสามัญ : ฟองน้ำสีน้ำเงิน

แผ่นภาพที่ 2 รูปถ่ายฟองน้ำจากบริเวณเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี

(ภาพถ่ายโดย ดร.สุเมตต์ ปุจฉาการ)