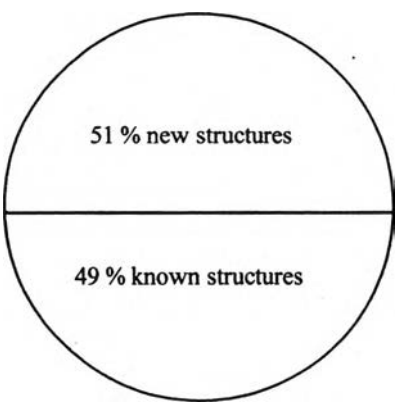
สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันการค้นคว้าหาสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากราได้มีการศึกษาต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากราเป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มใหญ่ที่มีความหลากหลายมาก และยังเป็นแหล่งสำคัญแหล่งหนึ่งที่สร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ มีรายงานแสดงสัดส่วนการพบโครงสร้างของสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่เปรียบเทียบกับโครงสร้างสารที่เคยรายงานแล้วของราเอนโดไฟต์ดังรูปที่ 2.1 (Barbara และคณะ , 2002) แสดงให้เห็นว่าการศึกษาเพื่อแยกราจากแหล่งใหม่จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะแยกได้ราสายพันธุ์ใหม่และ/หรือราที่สร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ต้นไม้ก็เป็นแหล่งสำคัญแหล่งหนึ่งที่น่าสนใจนำมาทำการศึกษาหาราสายพันธุ์ใหม่และ/หรือราที่สร้างสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเพราะว่าแต่ละพื้นที่มีภูมิประเทศที่แตกต่างกันทำให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพ และเนื่องจากมีรายงานวิจัยพบว่ามีราที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชโดยพบรามีการกระจายทั่วทั้งต้นโดยไม่ทำอันตรายกับพืชอาศัย เป็นราที่เรียกว่า “ราเอนโดไฟต์” นอกจากนี้ราที่อาศัยในต้นพืชเหล่านี้ยังสามารถสร้างสารออกฤทธิ์เช่นเดียวกับพืชที่มันอาศัยและยังเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ชนิดใหม่หลายชนิดที่สามารถนำไปพัฒนาเป็นอุตสาหกรรมทางการแพทย์และเภสัชกรรมได้



รูปที่ 2.1 แสดงสัดส่วนการพบสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่จากราเอนโดไฟต์

2.1 คำจำกัดความของเอนโดไฟต์

ในปี 1986 Petrini ได้ให้คำจำกัดความว่า เอนโดไฟต์ หมายถึงจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ในช่วงหนึ่งของวงจรชีวิตจะสั้นหรือยาวก็แล้วแต่ มาอาศัยอยู่ภายในพืชให้อาศัยในภาวะพึ่งพากัน (mutulism simbiotic) และก่อให้เกิดโรค (pathogen) ด้วยแต่อยู่แบบพักในพืชที่เป็นพืชให้อาศัย (Petrini, 1986) มีข้อมูลที่น่าเชื่อถือได้เกี่ยวกับเอนโดไฟต์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชและเอนโดไฟต์ที่อยู่กับราก แต่ยังมีข้อมูลจำนวนน้อยสำหรับเอนโดไฟต์ที่ทำให้เกิดอาการผิดปกติ ซึ่งอยู่แบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกันของโครงสร้างของพืชที่อยู่เหนือดิน

ราเอนโดไฟต์ เป็นกลุ่มราที่อาศัยอยู่กับต้นพืช โดยเฉพาะส่วนเหนือดิน โดยกระจายทั่วทั้งต้น เอนโดไฟต์เป็นกลุ่มราที่มีความแตกต่างกันทั้งชนิดและนิเวศวิทยา ส่วนใหญ่จะอยู่ในไฟลัม Ascomycota และ Deuteromycota วิธีการแยกเชื้อจะมีผลต่อชนิดของราเอนโดไฟต์ที่มีในพืชให้อาศัย จำนวนกลุ่มที่แยกจากพืชให้อาศัยแต่ละชนิดมักจะมากแต่มีน้อยที่จะจำเพาะต่อชนิดของพืชให้อาศัยซึ่งมักจะเป็น dominant ในพืช เอนโดไฟต์จะจำเพาะในระดับสปีชีส์ของพืชให้อาศัย แต่ส่วนประกอบและความถี่จะเปลี่ยนแปลงโดยสภาวะจำเพาะของถิ่นที่อยู่ (habitat) ซึ่งจะพบประมาณ 40 ชนิดต่อ 34-40 หน่วยของโครงสร้างแต่ละส่วนของต้นพืช แต่ละ individual จะพอเพียงที่จะตรวจพบถึง 80% ของ taxa ที่พบในพืชให้อาศัยที่หนึ่งๆ พบว่าเอนโดไฟต์มักจะมีการสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นในการรวมกลุ่มในเนื้อเยื่อพืช จากการศึกษาการใช้สับสเตรทและการวิเคราะห์ด้วย isozyme พบว่าเอนโดไฟต์ส่วนพืชและสร้างสารที่มีประโยชน์ในทางเภสัชกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร (Petrini, 1992)

ในปี 1977 Bacon ได้รายงานถึง ราเอนโดไฟต์ *Fusarium monniliforme* ในข้าวโพดและเป็นราเอนโดไฟต์ในพืชตระกูลหญ้าที่ใช้เลี้ยงสัตว์ได้แก่ tall fescue, *Festuca arundinacea* ซึ่งพบว่าหญ้าที่มีเอนโดไฟต์จะทนต่อการทำลายของแมลง (Johnson และคณะ, 1985) นอกจากนี้ยังทนต่อความแห้งแล้งแข่งขันกับพืชอื่นได้ดีและมีการเจริญเติบโตดี โดยจะให้น้ำหนักแห้งมากกว่าหญ้าที่ไม่มีเอนโดไฟต์ (Clay และคณะ, 1987)

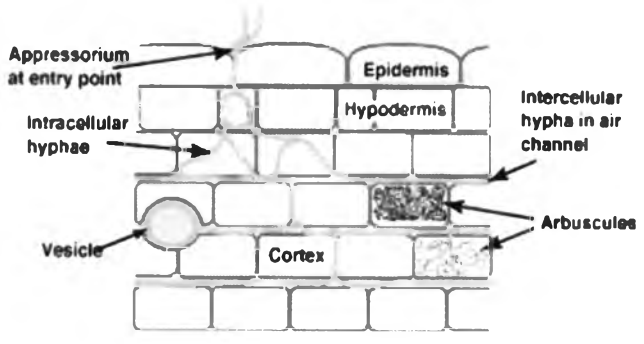
ในปี 1988 Bacon ได้รวบรวมรายงานถึงธรรมชาติและแนวทางที่จะใช้เอนโดไฟต์ในการปรับปรุงคุณภาพของหญ้า ในแง่การใช้เป็นตัวควบคุมโรคและแมลงทางชีวภาพเป็นแบบในการศึกษากลไกในการก่อให้เกิดความเครียด (stress) เช่นทนแล้ง ทนร้อนหรือทนต่อการเข้าทำลายของโรค เช่น *Acremonium coenophilium* เป็นราเอนโดไฟต์ในพืช tall fescue จะทำให้พืชนี้ทนต่อการกัดกินของแมลงและสัตว์ ราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารที่มีผลทางเภสัชกรรมกลุ่ม ergot alkaloid เช่น *Balansia cyperi* อยู่กับพืชพวก *Cyperus* sp. ราที่ทำให้พืชมีการเติบโตดี ทรงพุ่มแน่นและเขียว เช่น เชื้อ *Aremonium lolii* กับพืชล้มลุก ryegrass ราที่ทำให้พืชทนแล้งและร้อน เช่น *A. lolii* กับหญ้าเป็นต้น (Bacon, 1988)

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

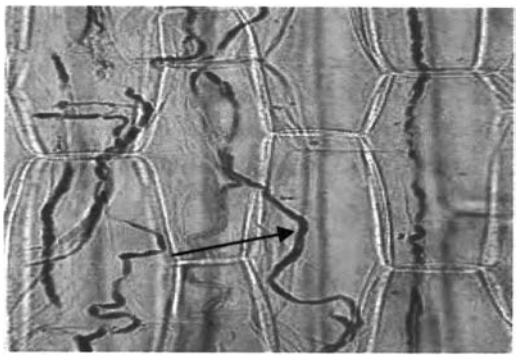
ดังนั้น เราจึงได้คำจำกัดความของเอนโดไฟต์ว่า เอนโดไฟต์คือแบคทีเรียหรือราที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชที่มีชีวิต อาจจะอาศัยอยู่ในช่วงใดช่วงหนึ่งหรือทั้งหมดของวงชีวิต และเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ไม่ปรากฏอาการในเนื้อเยื่อพืชแต่ไม่แสดงอาการของโรค ทั้งนี้จะไม่รวมราไมคอร์ไรซ่า (Mycorrhizal fungi) แต่รวมราที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชในระยะเวลาที่ยาวนานก่อนที่จะเป็นสาเหตุให้เกิดอาการของโรคในพืชที่มันอาศัยอยู่ ถึงแม้ว่าราเหล่านี้จะถูกจัดให้เป็นราที่ก่อให้เกิดโรคอย่างแน่นอน แต่ก็ยังสามารถดำรงชีวิตแบบเอนโดไฟต์ได้ในวงชีวิต และรวมถึงราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช แต่ไม่เคยแสดงอาการของโรคหลังจากที่พืชเกิดการติดเชื้อในทางนิเวศวิทยา เอนโดไฟต์สามารถใช้ชีวิตร่วมกับพืชโดยมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน จึงเป็นไปได้ที่เอนโดไฟต์สามารถดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยกันหรืออาจก่อให้เกิดโรคได้ในระยะเวลาต่างๆ กัน (Stierle และคณะ, 1995) เช่น *Epichole typhina* ซึ่งเป็นราเอนโดไฟต์ของ *Festuca rubra* และ *Atkinsonella hypoxylon* ซึ่งเป็นราเอนโดไฟต์ของ *Danthonia spicata* พบว่าราเอนโดไฟต์ทั้ง 2 ชนิด ช่วยเพิ่มความสามารถในการป้องกันแมลงศัตรูพืชเมื่อดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยกันและเป็นพวกที่ก่อให้เกิดโรค หรือปรสิตได้ โดยทำให้พืชทั้งสองชนิดข้างต้นเป็นหมันและยังสามารถสร้างสโตรมาอยู่บนเมล็ดพืชได้อีกด้วย

2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างราเอนโดไฟต์กับพืชในทางนิเวศวิทยา

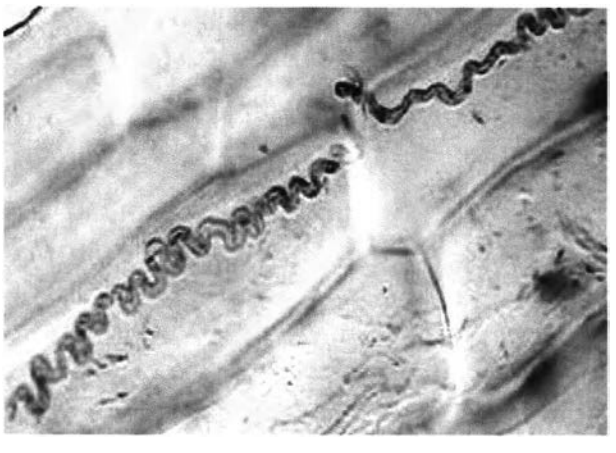
ราเอนโดไฟต์จะอาศัยอยู่ภายในต้นพืช โดยไม่ก่อให้เกิดโรคแก่ต้นพืชที่ราอาศัยอยู่ (Strobel และคณะ, 2001) โดยอาศัยอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular spaces) ของส่วนลำต้น (stem) เปลือกไม้ (bark) ท่อลำเลียงน้ำ (xylem) ใบ (leaves) เส้นใบ (petioles) ราก (root) และเมล็ด (seed) ของพืชชั้นสูง (รูปที่ 2.2) ราเอนโดไฟต์จะมีความเกี่ยวข้องกับพืชในลักษณะที่เป็นภาวะพึ่งพากัน (mutualistic) ภาวะที่ต้องอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiotic) และ ภาวะที่อยู่ร่วมกันโดยฝ่ายหนึ่งได้ประโยชน์แต่อีกฝ่ายไม่ได้ประโยชน์แต่ไม่ได้รับอันตราย (commensal) แต่บางครั้งอาจจะทำให้เกิดพยาธิสภาพกับต้นพืชได้ถ้าต้นพืชมีภาวะอ่อนแอหรือมีความเครียดเกิดขึ้น (Worapong, 2001) โดยจะพบราเอนโดไฟต์ได้ในพืชจำพวกหญ้า ไม้ผลัดใบ ไม้ยืนต้น และไม้พุ่มเป็นต้น (Strobel และคณะ, 2002)



ก.



ข.



ค.

รูปที่ 2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างราเอนโดไฟต์กับพืช

ก. การแทรกตัวของเส้นใยราเอนโดไฟต์ในช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular space)

(แหล่งที่มา: http://www.uark.edu/depts/agronomy/west/3113/lec.endophyte.html)

ข. การแทรกตัวของ เส้นใยราเอนโดไฟต์ในใบ

(แหล่งที่มา:http://www.apsnetOrg/.../PhotosE-H/endophyte.html)

ค. การแทรกตัวของ เส้นใยราเอนโดไฟต์ในใบ

(แหล่งที่มา:http://www.cafcs.wvu.edu/plsc/about.htlm)

2.3 ความจำเพาะต่อพืชให้อาศัยของเอนโดไฟต์

ในปี 1990 Petrini และ Fisher ได้ศึกษาเกี่ยวกับเอนโดไฟต์ของไซเล็มและเปลือกของต้น *Quercus rober* และ *Salix fragilis* โดยเปรียบเทียบดูความจำเพาะของเชื้อรากับชนิดของพืชและตำแหน่งเนื้อเยื่อในแต่ละ communities พบว่าราใน *Salix* ส่วนใหญ่เกือบทั้งหมดจะเป็นเอนโด

ไฟต์ที่พบทั่วๆไปในพืชอื่น ยกเว้นเชื้อ *Phomopsis salicira* จากต้น *Quercus* ที่มีความจำเพาะต่อพืชให้อาศัยมากกว่า เชื้อราที่พบจะมีการกระจายสม่ำเสมอ (homologus) ในตัวอย่างที่นำมาศึกษากลุ่มของราในกิ่งของ *Quercus* และ *S. fragilis* ชนิดที่เด่นมีน้อยมักจะพบทั้ง 2 พืช ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า ในกิ่งที่แตกออกไปนั้นมีกลุ่มของเอนโดไฟต์ต่างชนิดกัน แขนงของต้น *Q. rober* ที่เก็บจากตำแหน่งที่ออกในทิศตรงกันข้ามจะมีเอนโดไฟต์ที่เหมือนกัน เชื้อราเอนโดไฟต์มีความจำเพาะต่ออวัยวะของพืชให้อาศัย ขึ้นกับการปรับตัวของเอนโดไฟต์เอง ต่อ microecology และสภาวะทางสรีระวิทยาบางอย่างของอวัยวะนั้น (Petrini และ Fisher, 1990)

นอกจากนั้น Kolattukudy ยังให้หลักฐานเพิ่มเติมในการพัฒนาของเอนโดไฟต์ที่มีความจำเพาะสูงกับพืชให้อาศัย โดยในพืชให้อาศัยหนึ่งแยกได้เอนโดไฟต์หลายสปีชีส์แต่มีไม่กี่สปีชีส์ที่พบจำนวนมากพอ (จากจำนวนที่ taxa ทั้งหมดที่พบได้จากแบคทีเรียกับจำนวนสปีชีส์ของเชื้อรา 50%) จะไม่พบรูปแบบที่แสดงว่าชนิดของเนื้อเยื่อหรือตำแหน่งที่แยกเชื้อราจะคงที่ (consistant) ประมาณ 10% ของ taxa จะเป็นชนิดที่พบเสมอ (dominant) (Kolattukudy, 1985)

2.4 ความจำเพาะของเอนโดไฟต์ในแง่การสร้างเอนไซม์

จากรายงานการศึกษาเอนโดไฟต์ส่วนใหญ่ พบว่ารากลุ่มนี้จะสร้าง pectinase, xylanase, lipolytic enzyme, non-specific peroxidase และ laccasees นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถสร้างเอนไซม์ cellulase, hemicellulase ทั้งนี้จะจำเพาะกับพืชให้อาศัยบางชนิดหรือเฉพาะเนื้อเยื่อ การใช้แป้งจะจำกัดในไม่กี่ชนิด (Petrini และคณะ, 1991) รวมทั้งราเอนโดไฟต์ *Atkinsonella hypoxylan* และ *Balansia epichloe* สามารถเจริญในหยดขี้ผึ้งได้และมีการทำงานของ protenase (White และคณะ, 1991) นอกจากนั้นยังมีการศึกษาชีววิทยาของราเอนโดไฟต์ *Apiognomonia errbunda* และ *Melanconium* sp. ที่คัดเลือกโดย Seiber ได้แสดงหลักฐานว่าเอนโดไฟต์นั้นมีความจำเพาะสูงต่อการการทำงานของเอนไซม์ (Sieber และคณะ, 1991)

นอกจากนี้ยังพบว่าเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชให้อาศัยดียวกันจะมีการทำงานของเอนไซม์เหมือนกัน (Leuchtmann และ คณะ, 1992) ดังนั้นจึงเป็นการยืนยันว่าในราชนิดเดียวกันจะมีสายพันธุ์ที่จำเพาะต่อพืชให้อาศัย

2.5 การจัดกลุ่มราเอนโดไฟต์ในทางนิเวศวิทยา

เมื่อจัดกลุ่มของราเอนโดไฟต์ในทางนิเวศวิทยาแบ่งเป็น 2 กลุ่ม (Strobel และคณะ, 1996)

2.5.1 Clavicipitaceous grass endophyte

ราเอนโดไฟต์ที่อาศัยอยู่ในหญ้า ซึ่งเป็นราในตระกูล Clavicipitaceae การค้นพบราเอนโดไฟต์ในกลุ่มนี้ เริ่มต้นจากการที่ในปี 1999 Strobel (Strobel และคณะ, 1999) พบราเอนโด

ไฟต์ในเมล็ดของหญ้าชนิดหนึ่ง (*Lolium tumulentum* L.) ซึ่งเป็นวัชพืชที่เกิดในแปลงธัญพืช จากนั้นจึงมีรายงานการศึกษาอีกมากมายที่แสดงให้เห็นว่ารากลุ่มนี้มีแหล่งที่อยู่อาศัยในพืชอีกหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นหญ้า ได้แก่ หญ้าตระกูล Poaceae หญ้าจำพวกหญ้าแห้วหมู (Sedge) ตระกูล Cyperaceae และหญ้าทรงสูงชนิดหนึ่ง (Rush) ตระกูล Jancaceae โดยมีหญ้ากว่า 80 สกุล และอีกหลาย ร้อยชนิดที่ราเอนโดไฟต์อาศัยอยู่

2.5.2 Non-Clavicipitaceous grass endophyte

ราเอนโดไฟต์ที่อาศัยอยู่ในไม้ยืนต้นหรือไม้พุ่ม แต่รวมราเอนโดไฟต์ในหญ้าที่ไม่ใช่ตระกูล Clavicipitace ราเอนโดไฟต์ในกลุ่มนี้ได้แก่ราในไฟลัมย่อย Ascomycota, Deuteromycota, Zygomycota และ Basidiomycota

ราเอนโดไฟต์ของพืชตระกูลหญ้าเป็นที่รู้จักกันมานานกว่า 70 ปีแล้ว แต่การศึกษาราเอนโดไฟต์ของไม้ยืนต้นและไม้พุ่มเพิ่งเริ่มเมื่อ 15 ปีที่ผ่านมา โดยเริ่มศึกษาจากต้นสนพันธุ์ยุโรป หลังจากนั้นมีรายงานที่รวบรวมรายชื่อของพืชที่มีราเอนโดไฟต์เพื่อสรุปถึงการกระจายของราเอนโดไฟต์ในอาณาจักรพืชและพบว่าพืชที่มีเนื้อไม้พวกจิมโนสเปิร์มและแองจิโดสเปิร์มทั้งหมดที่ถูกตรวจสอบมีราเอนโดไฟต์อาศัยอยู่ และพบว่าราเอนโดไฟต์เหล่านี้มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง

2.6 ประโยชน์ที่พืชได้รับจากราเอนโดไฟต์ (Carroll, 1990)

Carroll ได้ทำการศึกษาและรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับประโยชน์ของพืชที่ได้รับจากราเอนโดไฟต์ไว้ดังนี้

1. สร้างสารที่เป็นพิษในพืชเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของแมลง
2. ช่วยให้พืชสังเคราะห์แสงได้มาก โดยหญ้าที่มีราเอนโดไฟต์จะยังคงมีการสังเคราะห์แสงได้มากที่อุณหภูมิสูงเมื่อเปรียบเทียบกับหญ้าที่ไม่มีราเอนโดไฟต์
3. ลดการเกิดเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยว
4. ป้องกันการก่อโรคในพืช เช่นราเอนโดไฟต์ที่พบในใบยาสูบไม่สามารถทำให้เกิดอาการโรคจุดสีน้ำตาล และยังพบอีกว่าในต้นกล้าของยาสูบที่เพาะในเรือนเพาะชำจะไม่พบราเอนโดไฟต์ แต่เมื่อนำไปปลูกในไร่จะพบราเอนโดไฟต์ในใบยาสูบ
5. ช่วยยับยั้งการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย และทำให้พืชสามารถเจริญในระยะที่นานกว่าและไม่ต้องใช้ปุ๋ยมาก
6. การสร้างฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต เช่น indo-3-acetic acid (IAA) และ cytokinin ซึ่งเร่งกระบวนการออกดอกของพืชให้อาศัย
7. การสร้างสารปฏิชีวนะ เชื้อราเอนโดไฟต์หลายชนิดสร้างสารปฏิชีวนะในขณะเพาะเลี้ยง ซึ่งมีผลต่อต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคในคนและพืช

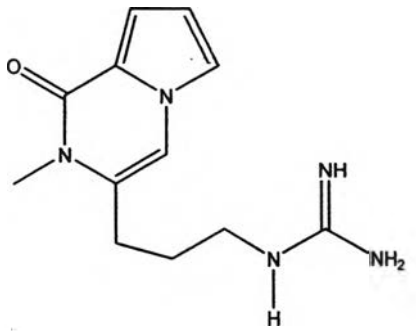
2.7 สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ได้จากราเอนโดไฟต์ (Tan และ Zou, 2001)

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิจากราเอนโดไฟต์จนถึงปัจจุบัน จะพบว่าสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ได้มีอยู่หลายประเภทด้วยกัน และเมื่อแบ่งเป็นกลุ่มตามประเภทของสารที่ได้ทำการศึกษาจะแบ่งได้ดังนี้ คือ

2.7.1 สารในกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaloids)

2.7.1.1 Amines และ amides

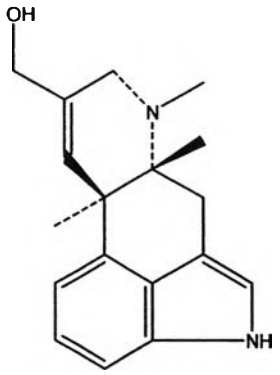
สารในกลุ่ม Amines และ amides ที่พบตัวอย่างเช่น Peramine (รูปที่ 2.3) เป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่พบโดยทั่วๆไปในราเอนโดไฟต์ *Acremonium* sp. นอกจากนั้นยังพบในราเอนโดไฟต์ *Neotyphodium coenophialum*, *N. lolli*, *Epichloe festucae* และ *Epichloe typhina* ที่แยกได้จากต้น ryegrass และหญ้าชนิดอื่นๆ โดยสารชนิดนี้จะเป็นอันตรายต่อแมลงแต่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์ชนิดอื่นๆ (Schardl และ Phillips, 1997)



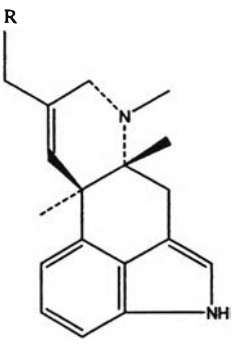
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของ Peramine

2.7.1.2 Indole derivatives

สารในกลุ่ม Indole alkaloids เช่น chanoclavine (รูปที่ 2.4) agroclavine (รูปที่ 2.5 ก.) และ elymoclavine (รูปที่ 2.5 ข.) มีรายงานว่าเคยแยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของราเอนโดไฟต์ในกลุ่ม *Neotyphodium* sp. (Powell และ Petroski, 1992) โดยจะเป็นพิษกับแมลงและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด



รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของ Chanoclavine



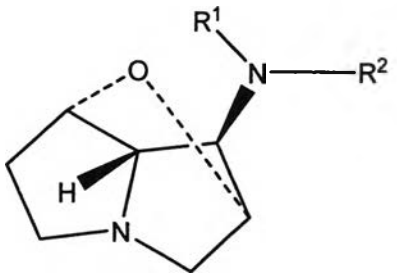
รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมี

ก. Agroclavine R = H

ข. Elymoclavine R = OH

2.7.1.3 Pyrrolizidines

สารในกลุ่มนี้คือ Lolines ซึ่งเป็นสารประเภท aminopyrrolizidine alkalojds (รูปที่ 2.6) พบได้ในราเอนโดไฟต์ *Neotyphodium coenophialum* จากต้นหญ้า *Festuca arundinacea* และราเอนโดไฟต์ *Neotyphodium unicinatum* จากต้นหญ้า *F. pratensis* สารชนิดนี้มีคุณสมบัติป้องกันราเอนโดไฟต์ชนิดอื่นๆเข้ามา infect กับหญ้าชนิดนั้นๆ (Schardl และ Phillipes, 1997) นอกจากนั้น Lolines ยังมีคุณสมบัติเป็นยาฆ่าแมลงได้ด้วย (Bush และคณะ, 1997)



ก. Loline R^1 = H, R^2 = Me

ข. Norloline R^1 = R^2 = H

ค. *N*-methylloline R^1 = R^2 = Me

ง. *N*-formylnorloline R^1 = H, R^2 = CHO

จ. *N*-acetylnorloline R^1 = H, R^2 = Ac

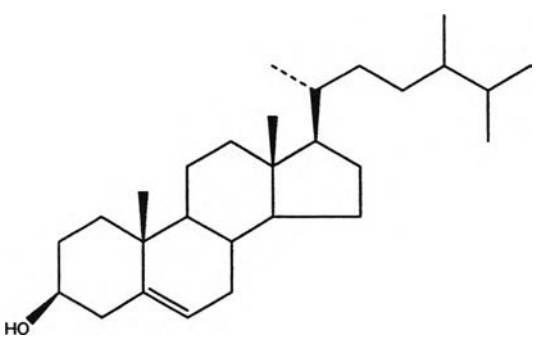
ฉ. *N*-formylloline R^1 = Me, R^2 = CHO

ช. *N*-acetylloline R^1 = Me, R^2 = Ac

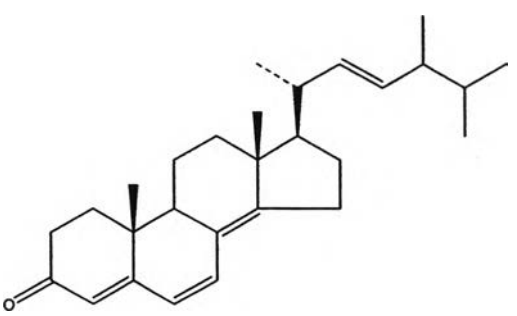
รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม aminopyrrolizidine alkaloids

2.7.2 สารในกลุ่มสเตอรอยด์ (Steroids)

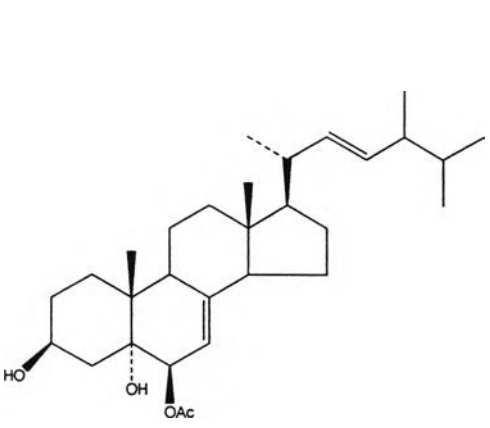
สารในกลุ่มสเตอรอยด์นี้(รูปที่ 2.7) ได้จากอาหารเหลวของราเอนโดไฟต์ในกลุ่ม *Colletotrichum* sp. ที่แยกได้จากต้น *Artemisia annua* ซึ่งพบว่าสารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อราก่อโรคพืชบางชนิดในต้นข้าวโพด เช่น *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia cerealis*, *Helminthosporium sativum* และ *Phytophthora capisici* (Lu และคณะ, 2000)



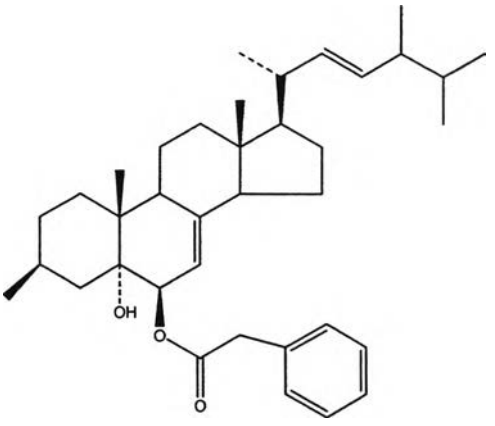
ก. 3β-hydroxyergosta-5-ene



ข. 3-oxoergosta-4,6,8(14),22-tetraene



ค. 3β,5α-dihydroxy-6β-acetoxyergosta-7,22-diene



ง. 3β,5α-dihydroxy-6β-phenyl-acetoxyergosta-7,22-diene

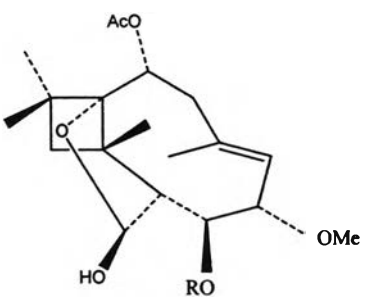
รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Steroids

2.7.3 สารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids)

สารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์นี้แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของราเอนโดไฟต์หลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นสารประเภท sesqui- และ diterpenes ตัวอย่างเช่น

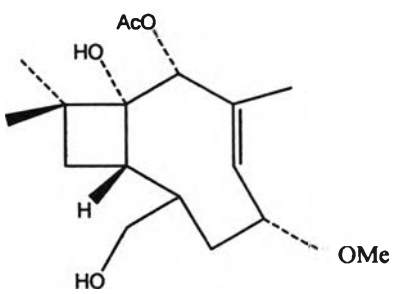
2.7.3.1 Sesquiterpenes

ตัวอย่างสารในกลุ่ม Sesquiterpenes คือ pestalotiopsin A-C (รูปที่ 2.8) ซึ่งได้จากราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis* spp. ที่แยกได้จากต้น *Taxus brevifolia* (Pulici และคณะ, 1996; Pulici และคณะ, 1997)



ก. pestalotiopsin A R = H

ข. pestalotiopsin C R = Me

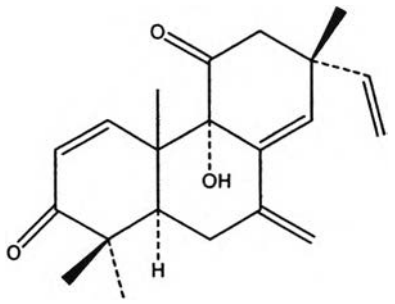


ค. pestalotiopsin B

รูปที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Sesquiterpenes

2.7.3.2 Diterpenes

มีรายงานการพบสารใหม่ 2 ชนิดในกลุ่ม pimarane diterpene (รูปที่ 2.9) ซึ่งจะเป็นพิษกับแมลง โดยแยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวของราเอนโดไฟต์ที่ไม่ระบุชนิดจากต้นสนชนิดหนึ่งชื่อว่า *Abies balsamea* ที่ใช้ทำกระดาษหรือทำต้นคริสต์มาส (Findlay และคณะ, 1995) นอกจากนั้น Taxol ที่แยกได้จากเปลือกในของต้นแปซิฟิกยิว (*Taxus brevifolia*) และ Subglutinol A และ B ที่สร้างโดยราเอนโดไฟต์ *Fusarium subglutinas* จากกิ่งของต้นองุ่น *Tripterygium wilfordii* (Lee และคณะ, 1995) ก็เป็นสารในกลุ่ม diterpene อีกด้วย

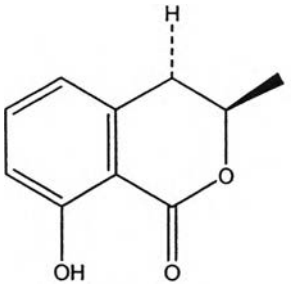


X = O, X = H_2

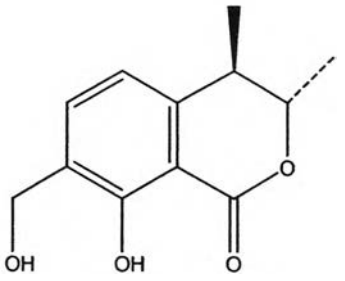
รูปที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Diterpenes

2.7.4 สารในกลุ่มอนุพันธ์ไอโซคูมาริน (Isocoumarin derivatives)

สารที่พบในกลุ่ม Isocoumarin มีหลายชนิดด้วยกันตัวอย่างเช่น Mellein (รูปที่ 2.10 ก.) ที่ได้จากราเอนโดไฟต์ *Pezicula* spp. มีคุณสมบัติใช้เป็นยาฆ่าเชื้อรา ฆ่าวัชพืช (Schulz และคณะ, 1995) และสาร Gamahorin (รูปที่ 2.10 ข.) ซึ่งเป็นสารชนิดใหม่ในกลุ่ม Isocoumarin ที่แยกได้จาก stromata ของราเอนโดไฟต์ *Epichole typhina* จากต้น *Pezicula pretense* (Koshino และคณะ, 1992)



ก. Mellein

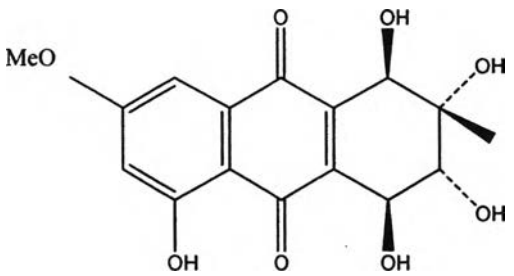


ข. Gamahorin

รูปที่ 2.10 โครงสร้างสารในกลุ่ม Isocoumarin derivatives

2.7.5 สารในกลุ่มควิโนน (Quinones)

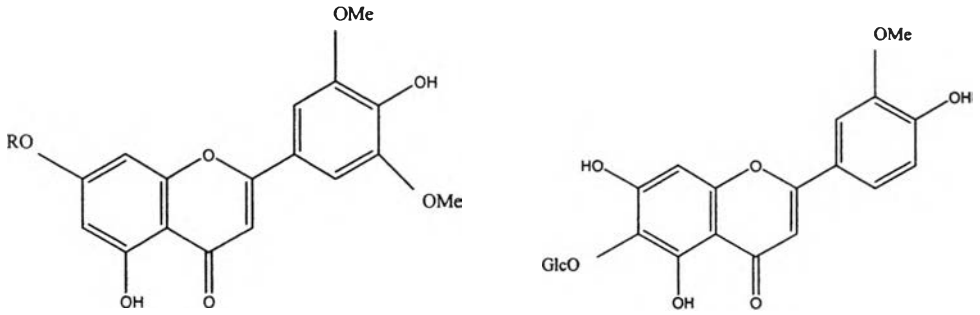
ตัวอย่างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิจากราเอนโดไฟต์ในกลุ่ม Quinones ที่พบมีหลายชนิดด้วยกัน ตัวอย่างเช่น Altersolanol A (รูปที่ 2.11) ที่แยกได้จากราเอนโดไฟต์ *Phoma* sp. มีฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย (Yang และคณะ, 1994)



รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Quinones

2.7.6 สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ตัวอย่างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิในกลุ่ม Flavonoids ที่พบในราเอนโดไฟต์ เช่น Tricin และ flavone glycosides (รูปที่ 2.12) พบจากราเอนโดไฟต์ในต้นหญ้า blue grass (*Poa ampla*) โดยสารที่พบนี้จะเป็นพิษกับตัวอ่อนของยุง (Ju และคณะ, 1998)



Tricin R = H

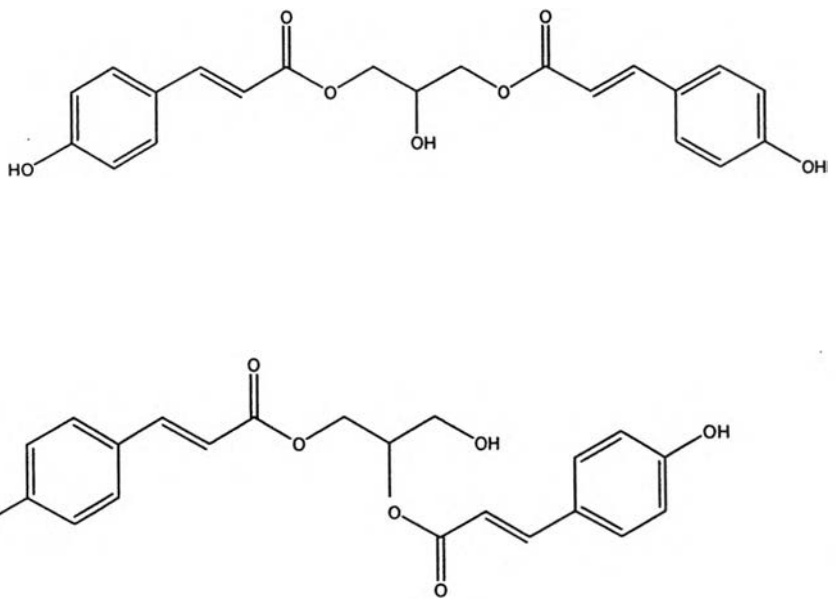
R = Glc

R = Rha-Glc

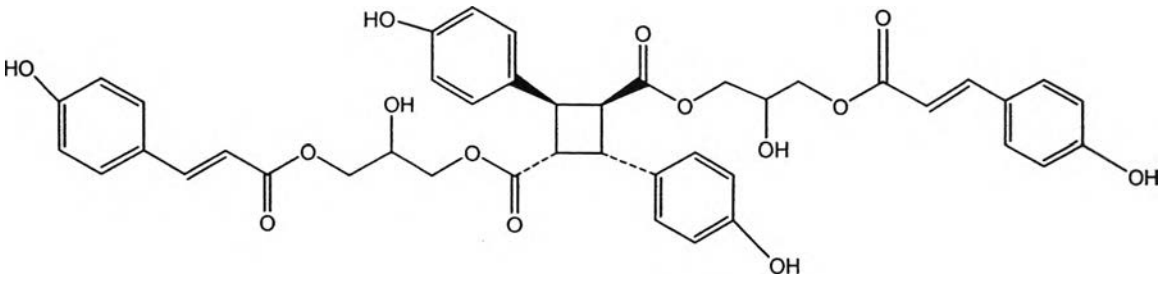
รูปที่ 2.12 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Flavonoids

2.7.7 สารในกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ และ ลิกแนน (Phynylpropanoids and lignans)

ในปี 1988 Koshino และคณะ ได้รายงานการพบสาร phenylpropanoids ชนิดใหม่ 3 ชนิด (รูปที่ 2.13) และสาร lignan (รูปที่ 2.14) ที่ได้จากราเอนโดไฟต์ *Epichloe typhina* ในพืช *Phleum pretense* (Koshino และคณะ, 1988)



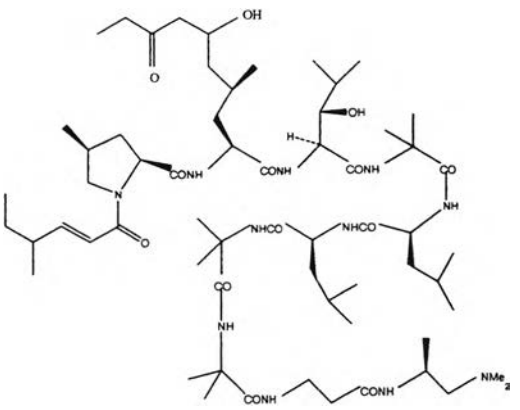
รูปที่ 2.13 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Phynylpropanoids



รูปที่ 2.14 โครงสร้างทางเคมีของ lignan

2.7.8 สารในกลุ่มเปปไทด์ (Peptides)

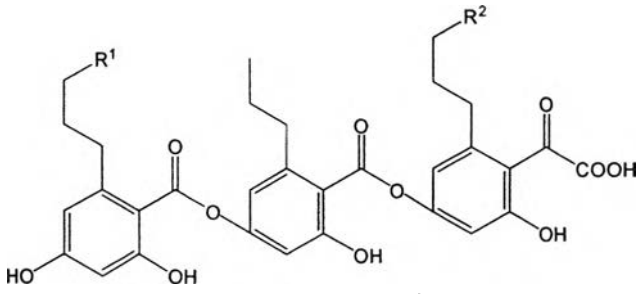
สารในกลุ่ม peptide ที่เคยมีรายงานไว้ คือ Leucinostatin A (รูปที่ 2.15) ซึ่งเป็นสาร oligopeptide ที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง และต้านเชื้อรา โดยแยกได้จากราเอนโดไฟต์ *Penicillium lilacinum* (Arai และคณะ, 1973) และยังได้จากราเอนโดไฟต์ *Acremonium* sp. จากต้น *Taxus baccata* (Strobel และคณะ, 1997)



รูปที่ 2.15 โครงสร้างทางเคมีของ Leucinostatin A

2.7.9 สารในกลุ่มฟีนอลและกรดฟีนอลิก (Phenol and phenolic acid)

ส่วนมากสารในกลุ่ม Phenol and phenolic acid พบได้ทั่วไปในอาหารเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์ และยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ตัวอย่างเช่น 2-Hydroxy-6-methylbenzoic acid ที่แยกได้จากราเอนโดไฟต์ *Phoma* sp. มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Yang และคณะ, 1994) นอกจากนั้นยังมีรายงานการพบสารใหม่ 2 ชนิด คือ cytonic acid Aและ B (รูปที่ 2.16) ที่ได้จากราเอนโดไฟต์ *Cytonaema* sp. จากต้น *Quercus* sp. (Guo และคณะ, 2000)

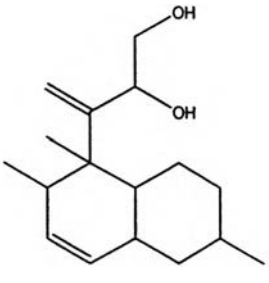


cytonic acid A R^1 = Et, R^2 = H
cytonic acid B R^1 = H, R^2 = Et

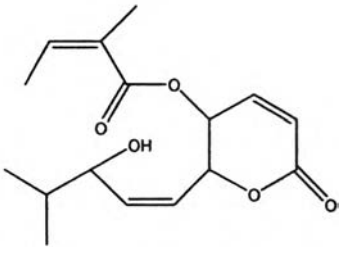
รูปที่ 2.16 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Phenol and phenolic acid

2.7.10 สารประกอบแอลิแฟติก (Aliphatic compounds)

สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิในกลุ่ม Aliphatic compounds จากราเอนโดไฟต์ *Phomopsis* sp. เช่น Phomodiol (รูปที่ 2.17 ก.) และ phomopsolide B (รูปที่ 2.17 ข.) ที่ได้จากพืชพวก *Salix* และพืชตระกูลหลิว (Horn และคณะ, 1994)



ก. Phomodiol

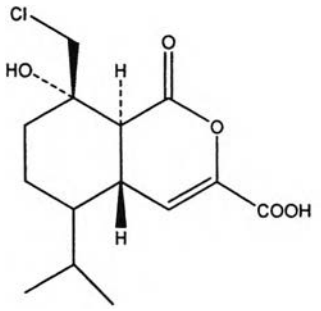


ข. Phomopsolide B

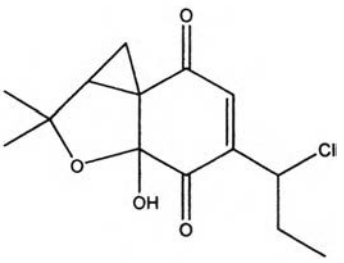
รูปที่ 2.17 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Aliphatic compounds

2.7.11 สารทุติยภูมิชนิดคลอรีเนต (Chlorinated metabolites)

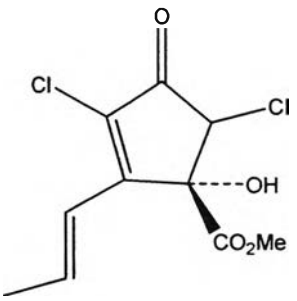
ตัวอย่างสารในกลุ่ม Chlorinated metabolites ที่เคยมีรายงานไว้โดยแยกได้จากราเอนโดไฟต์ *Phyllosticta* sp. Strain 76 ทั้งหมด 3 ชนิด คือ heptelidic acid chlorohydrin (รูปที่ 2.18 ก.) สารชนิดนี้จะเป็นพิษกับแมลง ส่วน (–)-mycorrhizin A (รูปที่ 2.18 ข.) และ (+)-cryptosporiopsin (รูปที่ 2.18 ค.) จะมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Calhoun และคณะ, 1992)



ก. heptelidic acid chlorohydrin



ข. (–)-mycorrhizin A

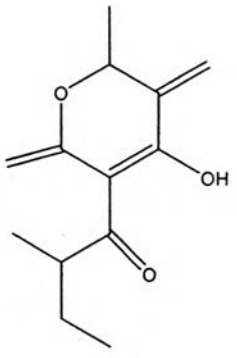


ค. (+)-cryptosporiopsin

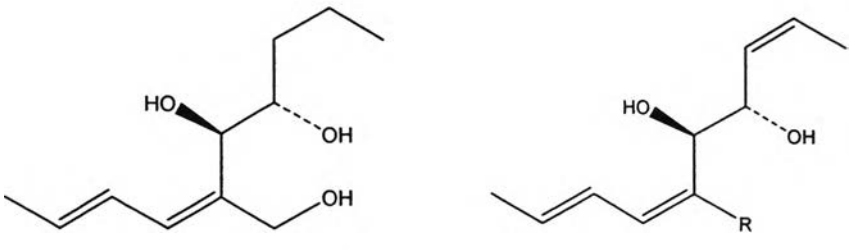
รูปที่ 2.18 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Chlorinated metabolites

2.7.12 สารประเภทอื่นๆ (Others)

สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิประเภทอื่นๆที่ได้จากราเอนโดไฟต์ เช่น pentaketide (รูปที่ 2.19) ซึ่งแยกได้จากราเอนโดไฟต์ *Fusarium* sp. ที่อาศัยอยู่ในส่วนลำต้นของพืช *Selaginella pallescens* พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา (Brady และ Clardy, 2000) นอกจากนั้นยังมีรายงานการพบสาร monoterpines ชนิดใหม่ 3 ชนิด คือ C-methylated acetogenins (รูปที่ 2.20) ที่ได้จากราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis* spp. จากพืช *Taxus brevfolia* (Pulici และคณะ ,1997)



รูปที่ 2.19 โครงสร้างทางเคมีของ pentaketide



R = CH_2OH

R = CHO

รูปที่ 2.20 โครงสร้างทางเคมีของ C-methylated acetogenins

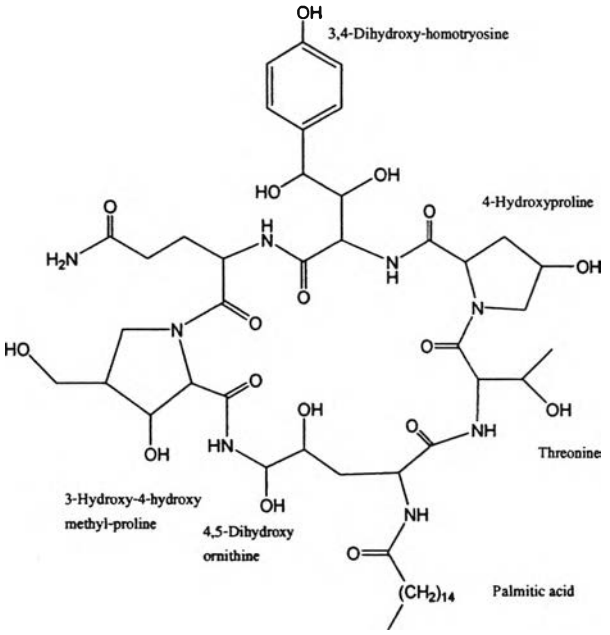
2.8 การศึกษาเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟต์

ในปัจจุบันการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ที่นำมาใช้ทางเภสัชกรรมและทางเกษตรกรรมได้มีการพัฒนาขึ้นอย่างมาก ได้มีการนำผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาใช้เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ที่ยังคงเพิ่มมากขึ้น ราเอนโดไฟต์ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับค้นคว้าวิจัยหาสารออกฤทธิ์ชีวภาพชนิดใหม่ที่ดีและมีประสิทธิภาพขึ้นมาทดแทน เนื่องจากเคยมีรายงานการวิจัยการพบสารชนิดใหม่ๆจากราเอนโดไฟต์ และจากการศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิจากราเอนโดไฟต์ก่อนหน้านี้ พบว่ามีสารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจและสามารถนำมาศึกษาเพื่อพัฒนาเป็นตัวยาชนิดใหม่ๆได้ ตัวอย่างเช่น

2.8.1 สารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial Agents)

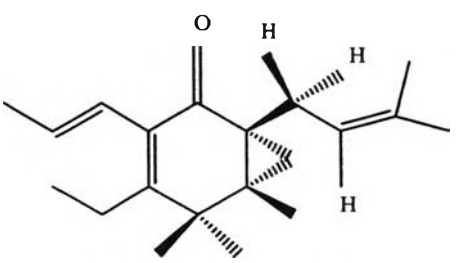
มีรายงานวิจัยพบว่าราเอนโดไฟต์หลายชนิดสามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยด้านการเจริญของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย เช่น ราเอนโดไฟต์

Cryptosporiopsis cf. *quercina* ที่แยกจากต้น *Tripterigeum wilfordii* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่พบในประเทศแถบทวีปยุโรป สารที่พบในราเอนโดไฟต์ชนิดนี้คือสารประเภท cyclopeptide ชื่อว่า Cryptocandin (Strobel และคณะ, 1999) (รูปที่ 2.21) โดยมีฤทธิ์ต้านเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช เช่น *Sclerotinia sclerotiorum* และ *Botrytis cinerea* ปัจจุบันนี้ได้มีการทดสอบและได้พัฒนานำ Cryptocandin มาใช้เพื่อรักษาเชื้อราที่เป็นสาเหตุที่ผิวหนังและเล็บ



รูปที่ 2.21 โครงสร้างทางเคมีของ Cryptocandin

นอกจากนั้นยังพบว่า ราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis jesteri* สามารถสร้างสาร jesterone ที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราได้ (Li และคณะ, 2001) (รูปที่ 2.22) และยังมีรายงานการพบยาปฏิชีวนะชนิดใหม่จากราเอนโดไฟต์ Steptomycete NRRL 30566 ที่แยกจากใบของต้นเฟิร์น *Grevillea pteridifloria* สร้างสาร antibiotic ใหม่ชื่อ kakadumycin มีโครงสร้างคล้าย echinomycin ที่มีฤทธิ์ ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Castillo และคณะ, 2002)

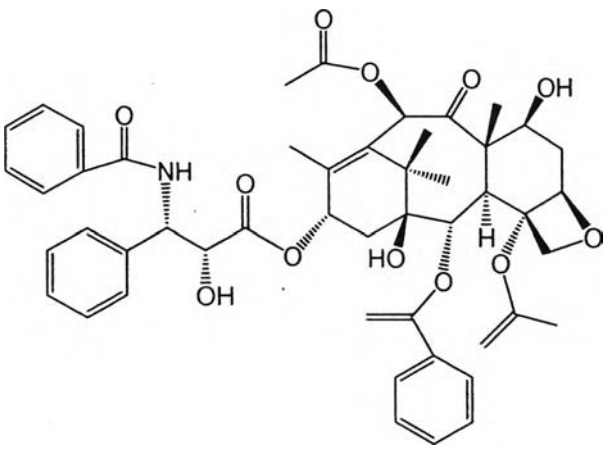


รูปที่ 2.22 โครงสร้างทางเคมีของ Jesterone

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.8.2 สารที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Anticancer Agents)

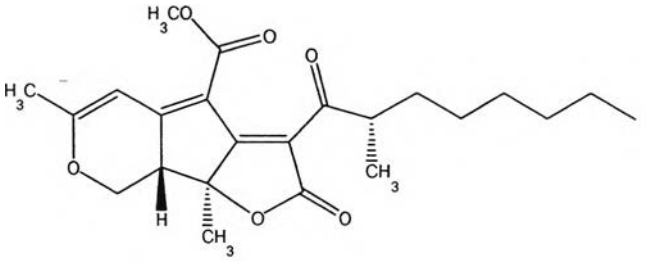
Paclitaxel (Taxol®) (รูปที่ 2.23) เป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่สร้างจากราเอนโดไฟต์ *Taxomyces andreanae* ที่แยกได้จากต้น Pacific yew *(Taxus brevifolia)* โดย Taxol นี้จะป้องกันการเกิดการ depolymerization ของ tubulin ในระหว่างกระบวนการแบ่งเซลล์ เมื่อทำการทดสอบพบว่ามีผลยับยั้งการเจริญและเพิ่มจำนวนของ P-388, P-1534 และ L-1210 murine leukemia นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของ Walker 256 carcinosarcoma และ sarcoma 180 ได้อีกด้วย (Stierle และคณะ, 1993) นอกจากนี้แล้วยังมีราเอนโดไฟต์ชนิดอื่นๆ เช่น *Pestalotiopsis micospora* ที่แยกได้จากต้น Himayalan yew (*Taxus wallachiana*) และ *Tubercularia* sp. สายพันธุ์ TF 5 จากต้น Chinese Southern yew (*Taxus mairei*) ก็สามารถสร้างสาร Taxol ได้เช่นเดียวกัน (Strobel และคณะ, 1996) ปัจจุบันนี้มีการนำ Taxol มาใช้เป็นตัวยาในการรักษาโรคมะเร็งแล้ว และ Taxol นี้เองก็เป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิสำคัญที่สร้างจากราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์เหมือนกับพืชที่ราเอนโดไฟต์อาศัยอยู่ได้ (Strobel และคณะ, 2004) และมีฤทธิ์ต้านมะเร็งได้เหมือนกับพืช



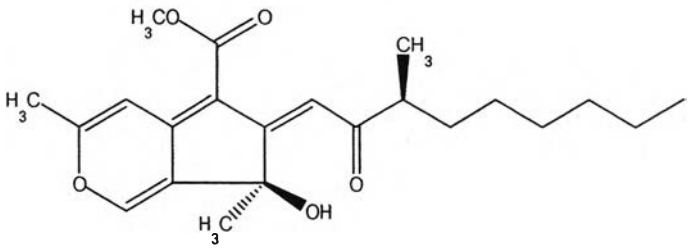
รูปที่ 2.23 โครงสร้างทางเคมีของ Taxol

2.8.3 สารต้านเนื้องอก (Antitumor Agents)

ราเอนโดไฟต์ *Aspergillus parasiticus* ที่เจริญอยู่ในพืชจำพวกไม้เนื้อแดง (Redwood) สามารถสร้างสาร Sequoiatones A และ B (รูปที่ 2.24 ก. และ ข.) ที่จัดเป็นเอสเทอร์ชนิดหนึ่ง ซึ่งเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพแล้วพบว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดเซลล์เนื้องอกได้ (Noble และคณะ, 1991)



Sequoiatones A

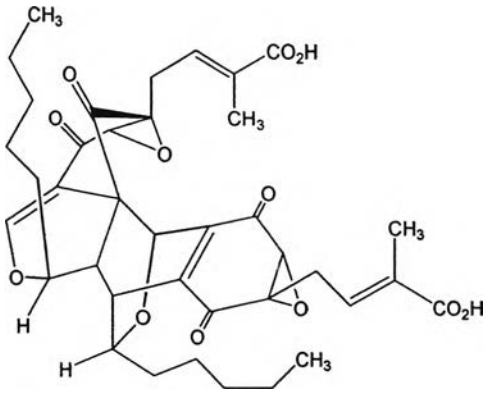


Sequoiatones B

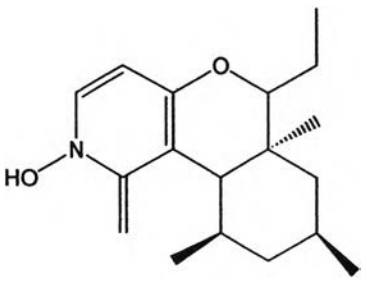
รูปที่ 2.24 โครงสร้างทางเคมีของ Sequoiatones A และ Sequoiatones B

2.8.4 สารที่เป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity Agents)

Torreyanic acid (รูปที่ 2.25) เป็นสารชนิด Quinone dimer แยกได้จากราเอนโดไฟต์ *P. microspore* ที่มาจากต้น *Torreya taxifolia* (Florida torreya) (Lee และคณะ, 1996) ที่มีฤทธิ์ทำให้เป็นพิษต่อเซลล์ได้ และยังพบอีกว่าราเอนโดไฟต์ *Fusarium* sp. จากต้น *Oxydendron arborcum* สร้างสาร Fusaricide (รูปที่ 2.26) ที่จัดเป็น Pyridine alkaloid ชนิดหนึ่ง ก็ทำให้เซลล์เป็นพิษได้เช่นเดียวกัน (Strobel และคณะ, 1993)



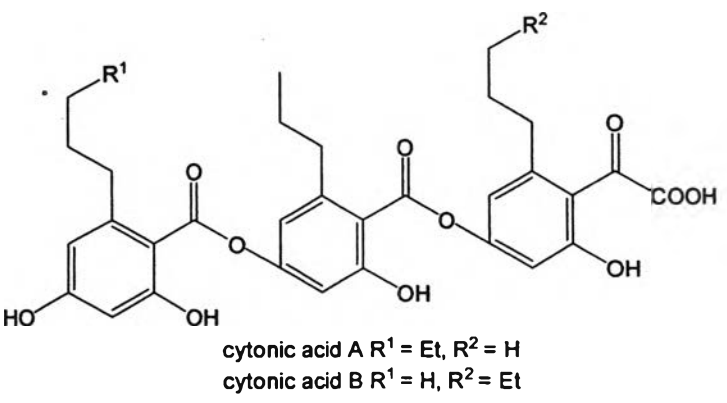
รูปที่ 2.25 โครงสร้างทางเคมีของ Torreyanic acid



รูปที่ 2.26 โครงสร้างทางเคมีของ Fusaricide

2.8.5 สารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส (Antiviral Agents)

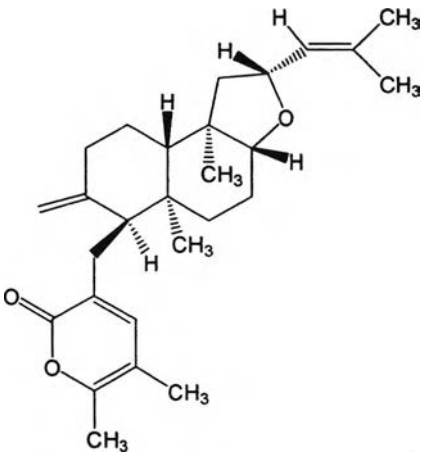
สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิอีกชนิดหนึ่งแยกได้จากต้นโอ๊ค (*Quercus* sp.) สารที่ได้คือ Cytonic acids A และ B (รูปที่ 2.27) จะมีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส human cytomegalovirus (hCMV) ที่เป็นเชื้อไวรัสที่ก่อโรคในคนได้ เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สกัดได้มาจากการหมักแบบ Solid-State ของราเอนโดไฟต์ *Cytonaema* sp. (Kantorova และคณะ, 2002)



รูปที่ 2.27 โครงสร้างทางเคมีของ Cytonic acid A และ B

2.8.6 สารที่มีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกัน (Immunosuppressive Agents)

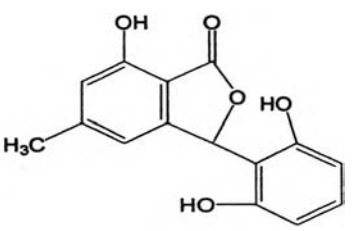
ปัจจุบันยาที่ให้แก่ผู้ป่วยที่มีการปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยที่เป็นโรคเกี่ยวกับข้อต่อ เช่น โรคปวดข้อปวดกล้ามเนื้อ โรคไขข้ออักเสบ หรือผู้ป่วยที่ร่างกายอยู่ในภาวะที่ต้องการอินซูลิน จะเป็นยาที่มีส่วนประกอบของสาร Subglutinol A และ B (รูปที่ 2.28) ซึ่งเป็นสารที่ได้จากราเอนโดไฟต์ *Fusarium subglutinans* จากส่วนเถาไม้ของต้น *Taxus wilfordii* (Lee และคณะ, 1995) ซึ่งสารตัวนี้จะมีฤทธิ์ในการทำให้เกิด Immunosuppression หรือการป้องกันหรือลดผลตอบภูมิคุ้มกัน เช่น antimetabolites, antitymphocyteserum และ specific antibody เป็นต้น



รูปที่ 2.28 โครงสร้างทางเคมีของ Subglutinol A

2.8.7 สารแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidant Agents)

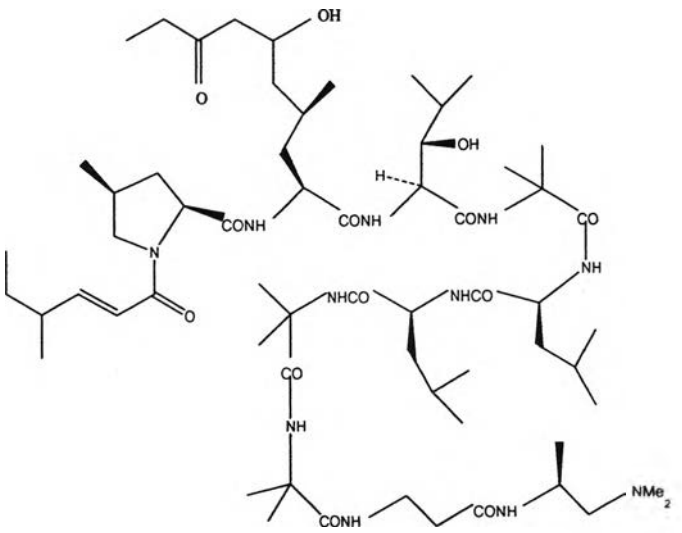
พบราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis microspora* ที่แยกได้จากต้น *Terminalia morobensis* ซึ่งเป็นพืชในเขตป่าฝนทางตอนเหนือของประเทศปาปัวนิวกินี (Strobel และคณะ, 2002) สามารถสร้างสารในกลุ่ม Isobensofuranone คือ Isopestacin (รูปที่ 2.29) โดยสารนี้นอกจากจะมีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพจำพวกราและแบคทีเรียแล้ว ยังพบว่ามีฤทธิ์ต้านการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน โดยจะไปจับกับอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดเซลล์มะเร็งได้อีกด้วย



รูปที่ 2.29 โครงสร้างทางเคมีของ Isopestacin

2.8.8 สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช (Phytotoxicity Agents)

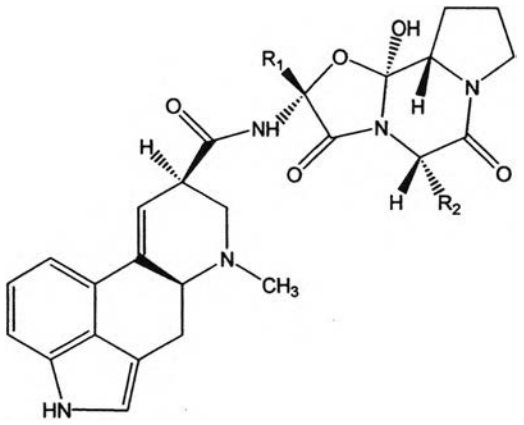
นอกจากฤทธิ์ต้านมะเร็งและต้านเชื้อราแล้ว Leucinostatin A (รูปที่ 2.30) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม oligopeptide ที่สร้างโดยราเอนโดไฟต์ *Penicillium lilacinum* (Arai และคณะ, 1973) และได้จากราเอนโดไฟต์ *Acremonium* sp. ที่แยกได้จากต้นยูโรเปียนยิว (*Taxus baccata*) ยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นพืชได้อีก (Strobel และ Hess, 1997)



รูปที่ 2.30 โครงสร้างทางเคมีของ Leucinostatin A

2.8.9 สารที่มีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ประสาท (Neurotoxicity Agents)

สารที่แยกได้จากราเอนโดไฟต์ในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่แล้วจะเป็นสารในกลุ่มของอัลคาลอยด์ เช่น Ergot alkaloid (รูปที่ 2.31) โดยสารชนิดนี้จะมีฤทธิ์เป็นพิษต่อเนื้อเยื่อประสาทของแมลงและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Bush และคณะ, 1997) ที่แยกได้จากราเอนโดไฟต์ *Neotyphodium coenophialum* และ *Clavicaeps purpurea* ที่อาศัยอยู่ในต้น *Festusa arundinacea* และ *Zizinia aquqtica* (Powell และPetroski, 1992)



รูปที่ 2.31 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มของ Ergot alkaloid

ชื่อสาร	หมู่แทนที่	
	R_1	R_2
Ergotamine	Me	$PhCH_2$
Ergosine	Me	i-Bu
β-Ergosine	Me	Sec-Bu
Egovaline	Me	i-Pr
Egostine	Et	$PhCH_2$
Egoptine	Et	i-Bu
β-Ergoptine	Et	Sec-Bu
Ergonine	Et	i-Pr
Ergocristine	i-Pr	$PhCH_2$
α-Ergocryptine	i-Pr	i-Bu
β-Ergocryptine	i-Pr	Sec-Bu
Ergocornine	i-P	i-P

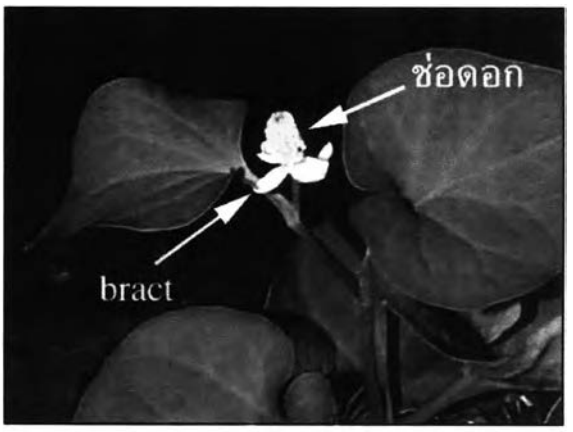
จากรายงานการพบสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟต์ที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ดังนั้นหากเราสามารถสกัดสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเช่นเดียวกับพืชที่ราเอนโดไฟต์ชนิดนั้นๆ อาศัยอยู่ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชสมุนไพรไทย เช่น พลูดาว ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่น่าสนใจอยู่หลายชนิด ก็จะมีประโยชน์อย่างมากต่อการพัฒนาด้านการแพทย์และด้านอื่นๆ ที่จะนำสารที่ได้พัฒนามาใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

2.9 พลูคาว (จารีย์และคณะ, 2546)

พลูคาว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Houttuynia cordata* Thunb. จัดอยู่ในวงศ์ Saururaceae ชื่อพื้นเมือง คือ ผักก้านตอง ผักเข้าตอง ผักคาวตอง ผักคาวทอง พลูแค เป็นพืชสมุนไพรที่มีมากทางภาคเหนือของประเทศไทย ที่ใต้ใบจะมีสีแดง (รูปที่ 2.3 ค.) ตั้งแต่อ่อนๆ ไปจนถึงแดงเข้ม เมื่อนำมาใส่มือขยี้เบาๆ จะได้กลิ่นคล้ายคาวปลาออกมาอย่างรุนแรง พลูคาวเป็นพืชล้มลุก สูงประมาณ 15-40 ซม. ลำต้นส่วนที่เลื้อยทอดไปตามพื้นดินจะมีรากแตกออกตามข้อ ทั้งต้นมีกลิ่นคาว คล้ายกลิ่นคาวปลาช่อน ใบเดี่ยวเรียงสลับเป็นรูปหัวใจสีเขียว สีเขียวตองอ่อนหรือสีเขียวอมเหลือง (รูปที่ 2.3 ก.) กว้าง 4-6 ซม. ยาว 5-8 ซม. ปลายใบแหลม ฐานใบเว้าเป็นรูปหัวใจ ขอบเรียบ ก้านใบยาว 1-3.5 ซม. ก้านใบส่วนโคนแผ่เป็นกาบหุ้มลำต้น มีหูใบติดอยู่กับก้านใบ ดอกออกเป็นช่อ และออกตรงปลายยอด มีใบประดับสีขาว 4 ใบที่โคนช่อ ช่อดอกมีดอกย่อยขนาดเล็กมากอัดแน่นกันเป็นแท่งทรงกระบอกสีเหลือง หรือสีขาวออกเหลือง (รูปที่ 2.3 ข.) ไม่มีกลีบดอกและก้านดอก ผลเป็นผลแห้งแตกได้ พลูคาวเป็นพืชที่ขึ้นเองตามธรรมชาติ พบตามริมห้วย ลำธาร และที่ชื้นแฉะริมน้ำหรือตามใต้ต้นไม้ใหญ่ที่มีความชื้นสูง เป็นไม้ที่ชอบที่ลุ่ม ความชื้นสูง

สรรพคุณของพลูคาวใช้ได้ทั้งสดและแห้ง ส่วนที่ใช้ทำยาได้แก่ ทั้งต้น ใบและราก แพทย์แผนโบราณใช้ต้นแห้งเป็นยาขับปัสสาวะ แก้บวมน้ำ ฝีบวมอักเสบ ไอ บิด โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ หูชั้นกลางอักเสบและริดสีดวง (สุนทรี, 2546; สำลี และคณะ, 2524) ต้นสดใช้ภายนอกเป็นยาพอกฝี บวมอักเสบทาบาดแผล โรคผิวหนัง และช่วยให้กระดูกเชื่อมติดกันเร็วขึ้น ใบสดผิงไฟพอนิ่มใช้พอกเนื้องอกชนิดต่างๆ รากเป็นยาขับปัสสาวะ

ก.



ข.

ค.

รูปที่ 2.32 แสดงลักษณะของพลูคาว

ก. ลักษณะต้นพลูคาว (http://www.dailynews.co.th)

ข. ลักษณะดอกพลูคาว (http:// www.pharm.chula.ac.th)

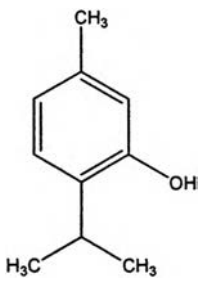
ค. ลักษณะใต้ใบพลูคาว (http://www.dailynews.co.th)

มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากผักคาวตองสามารถนำมาเตรียมเป็นครีมทาแก้ผิวหนังหยาบกร้านและใช้ป้องกันผิวหนังแตกเป็นร่องได้ผล ดังนั้นหากจะใช้พลูคาวให้ได้ผลการรักษาตรงตามต้องการ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องใช้ให้ถูกส่วนและถูกวิธี เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันมาก และสารสำคัญที่ออกฤทธิ์บางชนิดไม่คงตัวเมื่อได้รับความร้อน

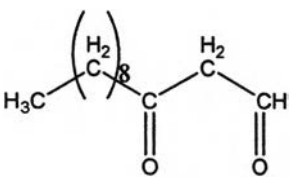
2.10 องค์ประกอบทางเคมีของพลูคาว (เอมอร, 2543)

2.10.1 สารประกอบน้ำมันหอมระเหย (volatile oil)

มีรายงานว่าพลูคาวมีน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.005-0.5 (Tang และคณะ, 1992) พลูคาวที่ปลูกในประเทศต่างๆกันจะมีองค์ประกอบและปริมาณน้ำมันหอมระเหยแตกต่างกันค่อนข้างมาก (สุนทรี, 2546) สาระสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ thymol, 1,8-cineol, decanoylacetaldehyde, *d*-bomeol, bornyl acetate, camphene, capryl aldehyde, *n*-decyladehyde และ methyl *n*-noyl ketone น้ำมันหอมระเหยบางชนิดไม่คงตัว เช่น decanoyl acetaldehyde หรือ 3-oxododecanal เกิดปฏิกิริยา polymerization ได้ง่าย จึงมีการสังเคราะห์อนุพันธ์โซเดียมของ decanoyl acetaldehyde ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า hottuynium มีทั้งในรูปแบบยาเม็ดและยาฉีด ใช้เป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะการติดเชื้อวัณโรคที่ปอด นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากพลูคาวมีฤทธิ์ต้านเชื้อเฮอร์ปีส์ วิมเพลกซ์ ต้านเชื้อเอชไอวี (Hayashi และคณะ, 1995)



Thymol

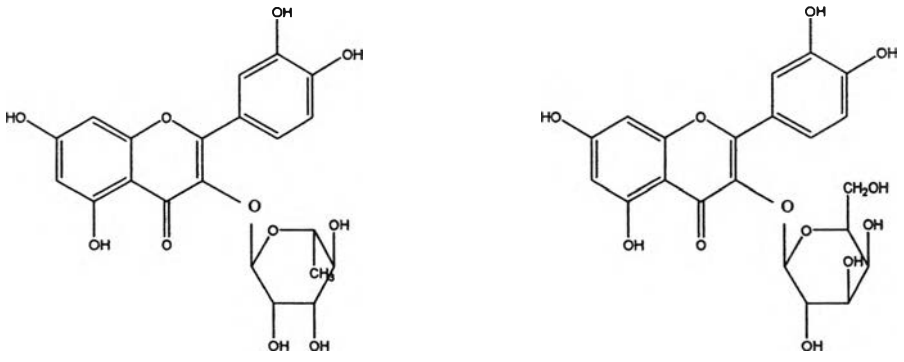


Decanoylacetaldehyde

รูปที่ 2.33 โครงสร้างทางเคมีของสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยในพลูคาว

2.10.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

พลูคาวมีสารประเภทฟลาโวนอยด์และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์หลายชนิด ได้แก่ afzelin, hyperin, isoquercetin, quercetin, quercitrin และ rutin

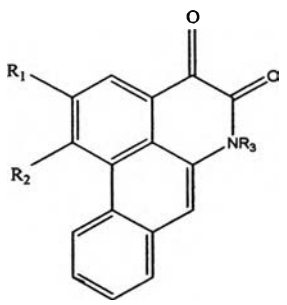


Quercitrin Hyperin

รูปที่ 2.34 โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์บางชนิดที่พบในพลูคาว

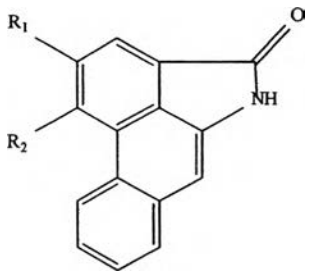
2.10.3 สารประกอบอัลคาลอยด์ (alkaloids)

มีรายงานว่าพลูคาวมีสารประเภทนี้หลายชนิด ได้แก่ aristolactam A, aristolactam A II, cepharanone B, cepharadione B, piperolactam A และ norcepharadione B



Cepharadione B; $R_1 = R_2 = OCH_3$, $R_3 = OCH_3$

Norcepharadione B; $R_1 = R_2 = OCH_3$, $R_3 = H$



Cepharanone B; $R_1 = R_2 = OCH_3$,

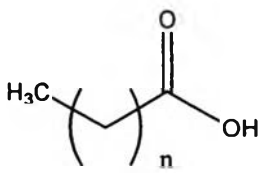
Aristolactam A II; $R_1 = OH$, $R_2 = OCH_3$,

Piperolactam A; $R_1 = OCH_3$, $R_2 = OH$

รูปที่ 2.35 โครงสร้างทางเคมีของอัลคาลอยด์บางชนิดที่พบในพลูคาว

2.10.4 สารประกอบกรดไขมัน (fatty acids)

กรดไขมันที่พบในพลูคาวเป็นสารประเภท fixed oil ได้แก่ capric acid, lauric acid, tetradecanoic acid, palmitic acid และ stearic acid



Capric acid; n = 8

Lauric acid; n = 10

Tetradecanoic acid; n = 14

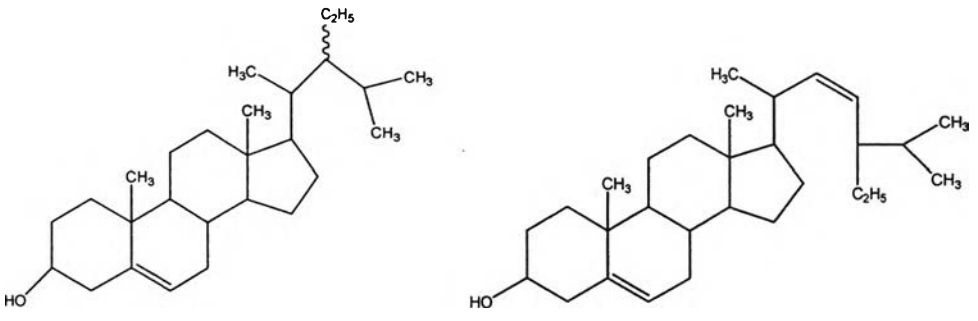
Palmiticic acid; n = 14

Stearic acid; n = 16

รูปที่ 2.36 โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันบางชนิดที่พบในพลูคาว

2.10.5 สารประกอบสเตอรอล (sterols)

สารประเภท sterols ที่พบได้แก่ phytol, β-sitosterol, spinasterol และ stigmasterol

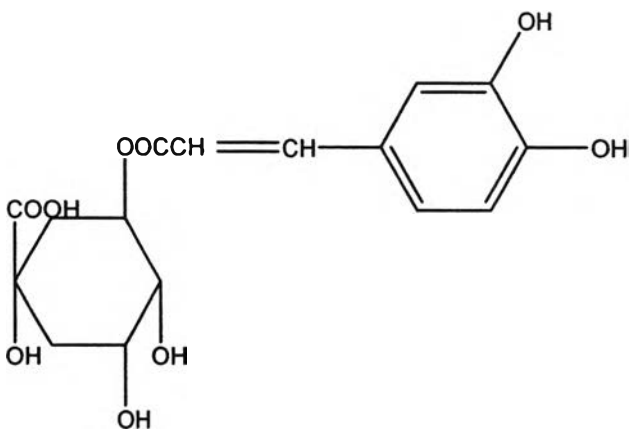


β-sitosterol stigmasterol

รูปที่ 2.37 โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันบางชนิดที่พบในพลูคาว

2.10.6 สารประกอบเคมีชนิดอื่นๆ

สารประกอบทางเคมีชนิดอื่นๆที่พบในพลูคาวได้แก่ polyphenolic acid เช่น chlorogenic acid และ แร่ธาตุ เช่น fluoride, potassium chloride และ potassium sulfate



chlorogenic acid

รูปที่ 2.38 โครงสร้างทางเคมีของสารประเภท polyphenolic acid ที่พบในพลูคาว

2.11 การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพลูคาว

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เกี่ยวข้องกับพลูคาวมีเรื่องที่น่าสนใจหลายเรื่องซึ่งเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ที่จะพัฒนาไปใช้ต่อไป ตัวอย่างเช่น

2.11.1 ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (Cytotoxic activity)

Kim และคณะ (Kim และคณะ, 2001) รายงานว่า aristolactam B, piperolactam A, aristolactam A, norcapharradione B, cepharadione และ splendidin ซึ่งเป็นอัลคาลอยด์ที่แยกได้จากส่วนเหนือดินของพลูคาวแสดงฤทธิ์ปานกลางในหลอดทดลองในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง 5 ชนิด คือ A-549 (เซลล์มะเร็งปอด; human lung adenocarcinoma), SK-OV-3 (เซลล์มะเร็งไข่; human ovarian adenocarcinoma), SK-MEL-2 (เซลล์เนื้องอกที่เป็นเนื้อร้ายแรง; human malignant melanoma), XF-498 (เซลล์มะเร็งสมอง; human CNS carcinoma) และ HCT-15 (เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่; human colon adenocarcinoma) และยังพบว่า splendidin มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งแต่ละชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า ED_{50} 3.4, 2.6, 5.8, 2.6 1.4 µg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ aristolactam B จะมีฤทธิ์เฉพาะต่อ XF-498 โดยมีค่า ED_{50} 0.84 µg/ml

2.11.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Antileukemic activity)

Chang และคณะ (Chang และคณะ, 2001) รายงานว่าเมื่อนำเซลล์เพาะเลี้ยงเม็ดเลือดขาว (leukemic cell lines) 5 ชนิด ได้แก่ L1210, U937, K526, Raja และ P3HR1 ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนสกัดด้วยน้ำของพลูคาว พบว่าสารสกัดของพลูคาวมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ leukemic cell lines ทั้ง 5 ชนิด โดยมีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 478-662 µg/ml

2.11.3 ฤทธิ์ในการต้านไวรัส (Antiviral activity)

Hsiang และคณะ (Hsiang และคณะ, 2001) ได้รายงานฤทธิ์ในการต้านเชื้อไวรัสโดยใช้ plaque reduction assay พบว่าส่วนสกัดด้วยน้ำของพลูคาวทั้งต้น ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ herpes simplex virus แต่มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยง่ายที่สกัดจากพลูคาวซึ่งมีองค์ประกอบของ n-decylaldehyde, n-dodecylaldehyde และ Methyl-n-nonyl ketone สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส influenza ในเซลล์เพาะเลี้ยง นอกจากนั้นยังพบว่าน้ำมันระเหยง่ายที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำของพลูคาวสดซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็น methyl n-nonyl ketone, lauryl aldehyde และ carpryl aldehyde มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ herpes simplex virus type 1 (HIV-1) โดยไม่ทำลายเซลล์ (cytotoxicity) แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ poliovirus and coxsackie-virus

2.11.4 ฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity)

Lee และคณะ (Lee และคณะ, 1997) ได้ทำการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า decanoyl acetaldehyde จากพลูคาวมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ จำพวก *Straphylococcus* และ mold

และยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Haemophillus influenza*, *Pneumococcus* sp., *Staphylococcus aureus* แต่มีผลน้อยต่อ *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli* และ *Salmonella typhosa* Chen และคณะ (Chen และคณะ, 1989) รายงานว่าส่วนสกัดด้วยน้ำของพลูคาวมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียช่องปาก *Streptococcus mutans* MT 5091 (serotype c) และ *Streptococcus mutans* OMZ176 (serotype d) เพียงเล็กน้อย โดยมีค่า MIC เท่ากับ 250 mg/ml

2.11.5 ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammation)

Proebstle และคณะ (Proebstle และคณะ, 1992) ได้รายงานการศึกษาในหลอดทดลอง พบว่าส่วนสกัดด้วยคลอโรฟอร์มของส่วนเหนือดินของพลูคาวแห้งมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase ได้ดี ซึ่งเมื่อนำส่วนสกัดดังกล่าวไปแยกต่อได้สารบริสุทธิ์ 4 ตัว คือ cepharanone B, aristolactam AII, piperolactam A และ norcepharadione B โดยที่ norcepharadione B มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase ได้ดี ในขณะที่สารตัวอื่นๆ มีฤทธิ์อย่างอ่อน เนื่องจาก cyclooxygenase เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้าง prostagrandins ซึ่งเป็นสารที่กระตุ้นให้เกิดอาการอักเสบ (inflammatory mediator) จึงเป็นไปได้ที่สารดังกล่าวเป็นสารสำคัญที่เป็นตัวออกฤทธิ์ด้านการอักเสบในพลูคาว นอกจากนั้นยังพบว่าส่วนสกัดด้วยเฮกเซนของพลูคาวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase ได้ดีในหลอดทดลองเช่นกัน (IC_{50} = 5.6 µg/ml) (Proebstle และคณะ, 1993)

2.11.6 ฤทธิ์ขับปัสสาวะ (diuretic activity)

จากการทดลองในกบและคางคก พบว่าน้ำคั้นจากต้นสดของพลูคาวมีผลขยายหลอดเลือดฝอย ทำให้อัตราการไหลเวียนของเลือดและการขับปัสสาวะเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าฤทธิ์ในการขับปัสสาวะนี้อาจเนื่องมาจากสาร quercetin ในพลูคาวซึ่งมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดขยายตัว (จารีย์ และคณะ, 2546)

จากรายงานวิจัยการพบองค์ประกอบทางเคมีของพลูคาวว่ามีความหลากหลายสูงและรายงานการพบราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารได้เช่นเดียวกับที่พืชสร้าง รวมทั้งการพบราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า จะมีราเอนโดไฟต์ในพลูคาวที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจและสามารถพัฒนาไปใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต