หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

สารปฏิชีวนะ (antibiotics) หมายถึงสารประกอบเคมีใดๆ ที่ผลิตขึ้นหรือสร้างขึ้นโดยจุลชีพหรือสารประกอบเคมีที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีบางส่วนหรือทั้งหมด ซึ่งมีฤทธิ์ที่สามารถยับยั้ง หรือขัดขวางการเจริญเติบโตของจุลชีพอีกกลุ่มหนึ่งหรือมีฤทธิ์ไปทำลายจุลชีพกลุ่มนั้นๆ โดยใช้ในปริมาณความเข้มข้นต่ำ และมีความเป็นพิษน้อย (Hugo and Russel, 1984)

โดยทั่วไปแหล่งของการผลิตสารปฏิชีวนะที่สำคัญ คือ สารปฏิชีวนะที่ผลิตจากจุลินทรีย์ ซึ่งกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะประกอบด้วยกลุ่มแบคทีเรีย เช่น กลุ่มบาซิลไลจะผลิตแบซิแทรซิน (bacitracin) โพลีมัยซิน (polymycin) เป็นต้น ในกลุ่มของราจะผลิตได้โดยราที่อยู่ใน Order Aspergillales ที่ใช้มากทางการแพทย์ ได้แก่ เพนนิซิลลิน (penicillin) เซฟาโลสปอริน (cephalosporin) และจุลินทรีย์ในกลุ่มแอคติโนมัยซีทส์ (actinomycetes) พบว่าสกุล *Streptomyces* มีความสำคัญมากที่สุด โดยสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้ 75 เปอร์เซนต์ ของสารปฏิชีวนะทั้งหมดที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ เช่น สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) นีโอมัยซิน (neomycin) คานามัยซิน (kanamycin) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมี *Nocardia* ที่ผลิตโนคาร์ไดซิน (nocardicin) และ *Micromonospora* ผลิตเจนทาไมซิน (gentamicin) เป็นต้น นอกเหนือจากการผลิตโดยจุลินทรีย์แล้ว สารปฏิชีวนะยังผลิตได้จากการสังเคราะห์ (synthesis) เช่น คลอแรมฟีนิคอล (chloramphenicol) และผลิตได้จากการกึ่งสังเคราะห์ (semisynthesis) ซึ่งการผลิตสารปฏิชีวนะแบบกึ่งสังเคราะห์จะผ่านขบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์ที่ได้จะถูกดัดแปลงโดยขบวนการทางเคมีต่อไป ตัวอย่างของสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดยวิธีนี้คือ เพนนิซิลลิน และเซฟาโลสปอริน (Hugo and Russel, 1984)

ปัจจุบันได้มีการค้นพบสารปฏิชีวนะชนิดต่างๆมากมาย ซึ่งสารปฏิชีวนะเหล่านี้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของการใช้ เช่น ผลข้างเคียง ความต้านทานของจุลินทรีย์ที่มีต่อสารปฏิชีวนะ ดังนั้นการค้นพบสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ หรือการดัดแปลงพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อผลิตสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ หรือเพื่อให้มีการผลิตสารปฏิชีวนะได้ในปริมาณที่สูง และมีผลข้างเคียงน้อย จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่พัฒนาการผลิตสารปฏิชีวนะในวงการอุตสาหกรรม

สารปฏิชีวนะคานามัยซินผลิตได้โดย *Streptomyces kanamyceticus* ซึ่งเป็นสารปฏิชีวนะในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ ค้นพบครั้งแรกโดย Umezawa และคณะ ในปี 1957 (Umezawa *et al.*, 1960) คานามัยซินจัดเป็นสารปฏิชีวนะประเภทบรอดสเปรกตรัม (broad spectrum) ที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย (bactericidal) ได้หลายชนิดทั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis* และแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative) เช่น *Klebsiella*

pneumoniae, *Proteus* sp. เป็นต้น แต่ไม่มีผลยับยั้งต่อยีสต์และรา พบว่าแบคทีเรียที่เกิดการต้านทานต่อคานามัยซินจะมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาฟอสโฟมาเลท (phosphomalate) อะเซทิลเลท (acetylate) หรืออะดีนิลลีเลท (adenylylate) (Goodman and Gilman,1975)

คานามัยซินมี 3 อนุพันธ์คือ คานามัยซินเอ คานามัยซินบี และคานามัยซินซี โดยคานามัยซินเอจะเป็นอนุพันธ์หลักที่ผลิตขึ้นในอุตสาหกรรมการผลิตคานามัยซิน (Umezawa *et al.*, 1960)

จากความสำคัญของคานามัยซินซึ่งเป็นสารปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพสูงใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อทั้งในคนและสัตว์ ซึ่งนับวันจะทวีปริมาณของการใช้เพิ่มมากขึ้น ประกอบกับการผลิตคานามัยซินในประเทศยังมีขีดจำกัด เนื่องจากยังขาดสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิต จึงต้องมีการสั่งนำสารปฏิชีวนะชนิดนี้เข้ามาในประเทศปีละเป็นจำนวนมาก เป็นผลให้ราคาสารปฏิชีวนะชนิดนี้ในท้องตลาดสูงเมื่อเปรียบเทียบกับสารปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ จึงเป็นเหตุจูงใจให้มีการปรับปรุง *Streptomyces kanamyceticus* K1 สายพันธุ์ตั้งต้นที่ผลิตคานามัยซินโดยวิธีการกลายพันธุ์ ได้สายพันธุ์กลาย UUNNK1 ที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะสูงขึ้นกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น (ศรสดมภ์ ชัติยะวรา, 2539) ซึ่งต่อมา อรอนงค์ พริ้งศุลกะ (2540) ได้นำสายพันธุ์กลายดังกล่าวข้างต้นมาหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารปฏิชีวนะให้มีปริมาณสูงสุดเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ตั้งต้น เนื่องจากสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดยสายพันธุ์กลาย *S. kanamyceticus* UUNNK1 ยังมิได้มีการตรวจสอบ หรือพิสูจน์เอกลักษณ์ว่าเป็นอนุพันธ์ของคานามัยซินชนิดใด คานามัยซินเอ คานามัยซินบี คานามัยซินซี หรืออาจเป็นอนุพันธ์ตัวใหม่ก็ได้ จึงเป็นข้อจูงใจที่จะให้ผู้วิจัยทำการทดลองศึกษาชนิดของสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดย *S. kanamyceticus* UUNNK1 โดยเบื้องต้นจะศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมในการทำสารปฏิชีวนะชนิดนี้ให้บริสุทธิ์ โดยดัดแปลงจากวิธีการทำคานามัยซินให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธีของ Umezawa และคณะ (1960) ทั้งนี้เนื่องจากสายพันธุ์ UUNNK1 เป็นสายพันธุ์กลายที่ได้มาจากสายพันธุ์ตั้งต้น K1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตคานามัยซิน (ศรสดมภ์ ชัติยะวรา, 2539) ดังนั้นตลอดการทดลองของงานวิจัยนี้จะใช้คานามัยซินเอ ซัลเฟต ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของคานามัยซินที่สามารถซื้อได้ในท้องตลาด นำมาเป็นตัวชี้เปรียบเทียบ (relative index) ของการศึกษาครั้งนี้ ตลอดจนการตรวจสอบโครงสร้างของสารด้วยวิธีสเปกโตรสโกปี และโครมาโตกราฟีชนิดต่างๆ ตลอดการทดลองของงานวิจัย คาดว่าข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ สามารถนำไปประยุกต์กับการทำสารปฏิชีวนะซึ่งอยู่ในกลุ่มเดียวกัน หรือใกล้เคียงกันกับสารปฏิชีวนะที่ศึกษาในงานนี้ให้บริสุทธิ์ได้ต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. หาวิธีที่เหมาะสมในการทำคานามัยซินให้บริสุทธิ์ โดยผลิตคานามัยซินจาก *Streptomyces kanamyceticus* UUNNK1 ในระดับขวดเขย่า
2. ตรวจสอบประสิทธิภาพและชนิดของคานามัยซินโดยวิธีทางจุลชีววิทยา และวิธีทางเคมี ตามลำดับ

ขอบเขตของงานวิจัย

1. หาวิธีที่เหมาะสมในการทำคานามัยซินให้บริสุทธิ์
2. ตรวจสอบคานามัยซินที่ผ่านขบวนการทำให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธีทางจุลชีววิทยา และวิธีทางเคมี เช่น ทินเลเยอร์ โครมาโตกราฟี (Thin layer chromatography, TLC) ไฮ เพอร์ฟอร์มานซ์ ลิควิด โครมาโตกราฟี (High performance liquid chromatography, HPLC)