ปกใน

สารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบกวาวเครือขาว *Pueraria mirifica*

นางสาว จันทิมา อุทะกะ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยาพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-1948-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANTIMICROBIAL AGENTS FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM *Pueraria mirifica* LEAVES

Miss Jantima Utaka

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2005

ISBN 974-14-1948-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบกวาวเครือขาว *Puararia mirifica*
โดย	นางสาวจันทิมา อุทะกะ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย พรภคกุล

คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร. โสภณ เริงสำราญ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย พรภคกุล)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตติ์สิน สีหนนทน์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. นาตยา งามโรจนวณิชย์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จันทิมา อุทะกะ : สารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบกวาวเครือ *Pueraria mirifica* (ANTIMICROBIAL AGENTS OF ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM *Pueraria mirifica* LEAVES) อ.ที่ปรึกษา: ผศ.ดร. สุรชัย พรภคกุล, 159 หน้า. ISBN 974-14-1948-1

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อแยกสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบกวาวเครือขาว *Pueraria mirifica* เก็บใบกวาวเครือขาวจาก 4 จังหวัด คือกรุงเทพมหานคร ลพบุรี ตาก และเชียงราย มาคัดแยกราเอนโดไฟต์โดยผ่านวิธีฆ่าเชื้อที่ผิวนอก สามารถแยกราได้ทั้งหมด 43 ไอโซเลต ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dual agar diffusion technique พบว่าราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01, 63LVM03 และ 63LVM04 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มากกว่า 1 ชนิด เมื่อนำราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01 มาพิสูจน์เอกลักษณ์ทางสัณฐานวิทยาและอณูชีววิทยาเมื่อเทียบลำดับ DNA บริเวณ ITS 1 ITS 2 และ 5.8S rRNA พบว่าราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01 จัดเป็น *Mycoleptodiscus* sp. ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ 3 ชนิด คือ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* และสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Yeast extract broth (YEB) แล้วนำมาสกัดและแยกสารที่ราสร้างขึ้นด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีและการตกผลึกได้สาร 4 ชนิด ประกอบด้วย Uracil และ Cyclo(L-Pro-L-Leu) และสารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติใหม่ 2 ชนิด คือ คือ Cyclo(L-Ser-L-Tryp) และ Cyclo(L-Ala-L-Tryp) ซึ่งสารที่ได้ทั้ง 4 ชนิด ได้มาจากสารสกัดหยาบเอธิลแอซิเตตของน้ำเลี้ยงเชื้อ ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี minimum inhibitory concentration method (MIC) เมื่อใช้ Penicillin G, Erythromycin, Sulfadimidine, Streptomycin, Ketoconazole และ Iprodine เป็น positive control พบว่า Cyclo(L-Leu-L-Pro) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ได้ปานกลางที่ค่า MIC เท่ากับ 1.96 (9.33) µg/ml (µM) และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *C. albicans* ATCC 10231 ได้ต่ำและ Cyclo(L-Ser-L-Tryp) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 สูงที่ค่า MIC เท่ากับ 1.96 (7.18) µg/ml (µM) ซึ่งมีฤทธิ์ดีกว่า Ketoconazole และ Iprodine 2.6 และ 4.2 เท่า ตามลำดับ

สาขาวิชา .....เทคโนโลยีชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา.....2548..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

4672224823: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: ENDOPHYTIC FUNGI / *Pueraria mirifica* / ANTIMICROBIAL ACTIVITY/ *Mycoleptodiscus* sp. / Cyclo(L-Leu-L-Pro)

JANTIMA UTAKA: ANTIMICROBIAL AGENTS FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM *Pueraria mirifica* LEAVES. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SURACHAI PORNPAKAKUL, Ph.D., 159 pp. ISBN 974-14-1948-1

The purposes of this research was to isolate antimicrobial agents from endophytic fungi isolated from *Pueraria mirifica* leaves. Plant sample were collected from 4 provinces including Bangkok, Lopburi, Tak and Cheang-rai. The endophytic fungi were isolated using surface-sterilization technique and obtained 43 isolates. Fungal isolates were examined antimicrobial activity using dual culture agar diffusion technique. Isolate 63LVM01, 63LVM03 and 63LVM04 were active against at least one tested microorganisms. The morphology and comparison of DNA sequences from ITS1, ITS2 and 5.8S rRNA region of the endophytic fungus 63LVM01 was identified to *Mycoleptodiscus* sp. which was selected for the study because it exhibited activity against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. The endophyte 63LVM01 was fermented on Yeast extract sucrose broth (YEB) and followed by extraction and isolation antimicrobial agents using chromatographic techniques and crystallization. Ethyl acetate extract of culture broth gave four compounds were obtained including Uracil and Cyclo(L-Leu-L-Pro) and two new natural products, Cyclo(L-Ser-L-Tryp) and Cyclo(L-Ala-L-Tryp). Antimicrobial activity of four compounds was determined by the minimum inhibitory concentration method (MIC) using Penicillin G, Erythromycin, Sulfadimidine, Streptomycin, Ketoconazole and Iprodine as positive control. The results showed that Cyclo(L- Leu-L-Pro) exhibited moderate antimicrobial activity against *B. subtilis* ATCC 6633 with MIC value of 1.96 (9.33) μg/ml (μM) and low antimicrobial activity against *E. coli* ATCC 25922 and *C. albicans* ATCC 10231. Cyclo(L-Ser-L-Tryp) exhibited high antimicrobial activity against *C. albicans* ATCC 10231 with MIC value of 1.96 (7.18) μg/ml (μM) which was 2.6 and 4.2 fold of Ketoconazole and Iprodine, respectively.

Field of study.....Biotechnology..... Student's signature.....

Academic year.....2005..... Advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรชัย พรภคกุล อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา คอยให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาที่ผู้เขียนได้ศึกษาอยู่

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.โสภณ เริงสำราญ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตติ์สิน สีหนนทห์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.นาตยา งามโรจนวณิชย์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำแก่ผู้เขียนในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ ภาควิชาเคมี หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ และ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาอนุเคราะห์ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ที่หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ และที่หน่วยวิจัยไบโอออร์แกนิกเคมี (Research Centre for Bioorganic Chemistry, RCBC) ทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ เป็นอย่างดีตลอดเวลาที่ได้ทำงานวิจัย

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ญาติพี่น้องและนายณัฐพงษ์ สำเนียงงาม ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์ ทุนทรัพย์และเป็นกำลังใจที่ดีแก่ผู้เขียนจนสำเร็จการศึกษา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญรูป	ญ
สารบัญแผนภาพ	ฏ
คำย่อ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 คำจำกัดความของเอนโดไฟต์	3
2.2 การจัดกลุ่มเอนโดไฟต์ในทางนิเวศวิทยา	4
2.3 ประโยชน์ที่พืชได้รับจากราเอนโดไฟต์	5
2.4 การศึกษาเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟต์	5
2.5 กวาวเครือขาว	13
2.6 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกวาวเครือขาว	13
2.7 สรรพคุณทางการแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้าน	14
2.8 องค์ประกอบทางเคมีของ กวาวเครือขาว	16
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	19
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	19
3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	20
3.3 เทคนิคทางโครมาโทกราฟีที่ใช้ในการทดลอง	21
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	22
3.5 การแยกราเอนโดไฟต์จากใบกวาวเครือขาวและการเก็บรักษา	22
3.6 การคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	23
3.7 การศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อราเอนโดไฟต์ที่คัดเลือก	24
3.8 การพิสูจน์เอกลักษณ์และการจัดจำแนกราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01	24

หน้า

3.9 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต (growth curve) และการสร้างเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01..... 26
3.10 การเลี้ยงเชื้อ การสกัดและการทดสอบส่วนสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01..... 27
3.11 การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01 ให้บริสุทธิ์และการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้..... 30
3.12 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบที่แยกได้..... 31
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 34
4.1 ผลการแยกราเอนโดไฟต์จากใบกวาวเครือขาว..... 34
4.2 ผลการคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์..... 37
4.3 ผลการศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อเชื้อราเอนโดไฟต์ที่น่าสนใจ..... 42
4.4 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์และการจัดจำแนกราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01..... 48
4.4 ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโต (growth curve) และการสร้างสารเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์..... 51
4.5 ผลการเลี้ยงเชื้อ การสกัด และการแยกสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01..... 54
4.7 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ สายพันธุ์ 63LVM01 ให้บริสุทธิ์และการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้..... 59
4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบที่แยกได้ ด้วยวิธี Minimum Inhibitory Concentration Method (MIC)..... 86
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง..... 88
รายการอ้างอิง..... 90
ภาคผนวก..... 94
ภาคผนวก ก..... 95
ภาคผนวก ข..... 98
ภาคผนวก ค..... 123
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 159

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	จำนวนราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากใบกวาวเครือขาว จากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย	34
4.2	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	37
4.3	ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (บริเวณใสรอบโคโลนี) โดยใช้วิธี Dual agar diffusion	38
4.4	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	42
4.5	ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (บริเวณใสรอบโคโลนี) โดยใช้วิธี Dual agar diffusion ของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่น่าสนใจในอาหารแต่ละชนิด	43
4.6	ผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ 63LVM01 ซึ่งทำการเก็บ 2 วันต่อครั้ง ภายในระยะเวลา 22 วัน	52
4.7	ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01	56
4.8	การแยกสารสกัดหยาบเอธิลแอซิเตตจากน้ำเลี้ยงเชื้อราสายพันธุ์ 63LVM01	59
4.9	การแยกองค์ประกอบทางเคมีของลำดับส่วนที่ 880-989 (BE18)	60
4.10	ตำแหน่งการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารบริสุทธิ์ 1	62
4.11	ข้อมูล 1D และ 2D ของสารบริสุทธิ์ 1	63
4.12	ตำแหน่งการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารบริสุทธิ์ 2	67
4.13	ข้อมูล 1D และ 2D ของสารบริสุทธิ์ 2	69
4.14	ค่า ^{1}H-NMR (δ_H), ^{13}C-NMR (δ_C) ของสารบริสุทธิ์ 2 เทียบกับ Cyclo(L-Leu-L-Pro)	70
4.15	ตำแหน่งการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารบริสุทธิ์ 3	74
4.16	ข้อมูล 1D และ 2D ของสารบริสุทธิ์ 3	76
4.17	ตำแหน่งการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารบริสุทธิ์ 4	80
4.18	ข้อมูล 1D และ 2D ของสารบริสุทธิ์ 4	82
4.19	ค่า MIC ของสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	86

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	โครงสร้างทางเคมี Taxol®	6
2.2	โครงสร้างทางเคมีสารซึ่งเป็นทุติยภูมิของ *Colletotrichum* sp. ที่แยกได้จากต้น *Artemisia annua*	7
2.3	โครงสร้างทางเคมีของ cryptocandin, สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิของราเอนโดไฟต์ *Cryptosporiopsis quercina* ที่แยกมาจากต้น *Taxus wilfordii*	8
2.4	โครงสร้างทางเคมีของ amboric acid	9
2.5	โครงสร้างทางเคมีของ cytonic acid A และ B, สารต้านเชื้อไวรัส human cytomegalovirus (hCMV) จากราเอนโดไฟต์ *Cytonaema* sp.	9
2.6	โครงสร้างทางเคมีของสาร Subglutinol A, สารที่มีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกันซึ่งสร้างจากราเอนโดไฟต์ *Fusarium subglutinans*	10
2.7	โครงสร้างทางเคมีของสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิของ *P. microspora* จากต้น *T. morobensis*	11
2.8	โครงสร้างทางเคมีของ leucinostatin A, สารที่สร้างจากราเอนโดไฟต์*Acremonium* sp. ที่แยกได้จากต้น *Taxus baccata* มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช	12
2.9	ลักษณะของกวาวเครือขาว *Pueraria mirifica* (ก.) เถาและใบกวาวเครือขาว (ข.) ดอกกวาวเครือขาว (ค.) ช่อดอกและฝัก และ (ง.) หัวกวาวเครือขาว	15
2.10	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม coumarin	16
2.11	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม flavonoids	17
2.12	โครงสร้างทางเคมีของ Miroestrol	18
2.13	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม steroids	19
3.1	การทำ Slide Culture	25
4.1	ราเอนโดไฟต์ *Phomopsis* sp. isolate NO. 10LCM00	35
4.2	ราเอนโดไฟต์ *Fusarium* sp. isolate NO. 63LCM13	35
4.3	ราเอนโดไฟต์ *Aspergillus* sp. isolate NO. 57LVM04	36

รูปที่ หน้า

4.4 ราเอนโดไฟต์ Mycelia Sterilia isolate NO. 63LVM01 36
4.5 วงใสของราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารแข็งทั้ง 2 ชนิด..... 40
4.6 วงใสของราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารแข็งทั้ง 5 ชนิด..... 47
4.7 ลักษณะราเอนโดไฟต์ 63LVM01 เมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง 5 ชนิด..... 48
4.8 ลักษณะของเส้นใยราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01..... 49
4.9 วงใส (Inhibition Zone), แสดงช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการสร้างสารเมแทบอไลต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01..... 53
4.10 วงใส (Inhibition Zone), แสดงฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01..... 57
4.11 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราก่อโรคของสารสกัดหยาบจากน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโด ไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01..... 58
4.12 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ 1..... 64
4.13 gHMBC ของสารประกอบ 1..... 64
4.14 gCOSY ของสารประกอบ 1..... 65
4.15 gNOESY ของสารประกอบ 1..... 65
4.16 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ 2..... 71
4.17 gHMBC ของสารประกอบ 2..... 71
4.18 gCOSY ของสารประกอบ 2..... 72
4.19 gNOESY ของสารประกอบ 2..... 72
4.20 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ 3..... 77
4.21 gHMBC ของสารประกอบ 3..... 78
4.22 gCOSY ของสารประกอบ 3..... 78
4.23 gNOESY ของสารประกอบ 3..... 79
4.24 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ 4..... 83
4.25 gHMBC ของสารประกอบ 4..... 84
4.26 gCOSY ของสารประกอบ 4..... 84
4.27 gNOESY ของสารประกอบ 4..... 85

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่ **หน้า**

3.1 วิธีการสกัดน้ำเลี้ยงเชื้อราและเส้นใยเชื้อรา..... 28

4.1 ลำดับเบสบริเวณ 18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S ของราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01..... 50

4.2 อัตราการเจริญเติบโตและการสร้างสารเมแทบอไลต์ที่ทีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01 เมื่อเพาะเลี้ยงไปเป็นระยะเวลา 22 วัน..... 51

4.3 วิธีการสกัดน้ำเลี้ยงเชื้อราและเส้นใยเชื้อราและการแยกสารประกอบ..... 55

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

$[\alpha]_D^{20}$	=	Specific rotation at 20 °C and Sodium D line (589 nm)
ATCC	=	American Type Culture Collection, Maryland, U.S.A
br s	=	broad singlet (for NMR spectral data)
br t	=	broad triplet (for NMR spectral data)
br q	=	broad quartet (for NMR spectral data)
°C	=	degree Celsius
^{13}C-NMR	=	carbon-13 nuclear magnetic resonance
$CDCl_3$	=	deuterated chloroform
CD_3OD	=	deuterated methanol-d_4
$CHCl_3$	=	chloroform
CH_2Cl_2	=	dichloromethane
cm	=	centimeter
gCOSY	=	Gradient ^{1}H-^{1}H correlation spectroscopy
CFU	=	Colony forming unit
δ	=	chemical shift
d	=	doublet (for NMR spectral data)
dd	=	doublet of doublet (for NMR spectral data)
dsep	=	doublet of septet (for NMR spectral data)
dt	=	doublet of triplets (for NMR spectral data)
ε	=	molar absorptivity
eq	=	equatorial
EtOAc	=	ethyl acetate
g	=	gram
gHMBC	=	Gradient Heteronuclear Multiple Bond Correlation
gHSQC	=	Gradient Heteronuclear Single Quantum Coherence
^{1}H-NMR	=	Proton Nuclear Magnetic Resonance
Hz	=	hertz
IR	=	infrared spectroscopy

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

l	=	liter
µl	=	micro liter
λ_{max}	=	wavelength of maximum absorption
$[M+H]^+$	=	protonated molecular ion
m	=	multiple (for NMR spectral data)
MEA	=	Malt extract agar
MHB	=	Mueller-Hinton Broth
MeOH	=	methanol
MIC	=	Minimum inhibitory concentration
mg	=	milligram
µg	=	microgram
MHz	=	megahertz
ml	=	milliliter
mm	=	millimeter
ν_{max}	=	wave number at maximum absorption
NMR	=	nuclear magnetic resonance
No.	=	Number
ppm	=	part per million
PDA	=	Potato Dextrose Agar
q	=	quartet (for NMR spectral data)
s	=	singlet (for NMR spectral data)
SDA	=	Sabouraud's Dextrose Agar
t	=	triplet (for NMR spectral data)
TLC	=	thin layer chromatography
UV	=	Ultraviolet
YES	=	Yeast Extract Agar

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย