

การสกัดและหาโครงสร้างของสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI

สารนิพนธ์
ของ
มนัสวรรณ ภูยาตาว

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ตุลาคม 2553

การสกัดและหาโครงสร้างของสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI

สารนิพนธ์
ของ
มนัสวรรณ ภูยาตาว

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ตุลาคม 2553
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

มนสวรรณค์ ภูยาदार (2553). การสกัดและหาโครงสร้างของสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI. สารนิพนธ์ กศ.ม. (เคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มณีกานต์ ชินวรังสี.

ราเอนโดไฟต์ LI สามารถแยกได้จากต้นโสมภูเขา (*Talinum paniculata* (Jacq.) Gaertn.) พบว่ายังไม่มีรายงานการค้นพบสารจากเชื้อราจากต้นโสมภูเขา จึงเลือกเชื้อรา LI มาทำการศึกษาทางด้านเคมี โดยนำสารสกัดหยาบจากชั้นเอทิลอะซิเตตในส่วนของเซลล์มาทำการแยกด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี ได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิดคือ Lateritin และทำการพิสูจน์โครงสร้างสารนี้ด้วยวิธีการทางสเปกโทรสโคปี สาร Lateritin แสดงฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งในมนุษย์ และด้านจุลชีพ

Monsawan Phooyadao. (2010). *Isolation and Elucidation of Compound(s) from Endophytic Fungi LI*. Master's Project, M.Ed. (Chemistry). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Project Advisor: Asst. Prof. Dr. Maneekarn Chinworrungsee

Endophytic fungi LI was isolated from the Thai medicinal plant *Talinum paniculata* (Jacq.) Gaertn. The study of the isolation of constituents from cell endophytic fungi of *Talinum paniculata* (Jacq.) Gaertn have not been reported. The ethyl acetate extract of fungus LI was isolate by chromatographic technique. Chemical investigation of the fungus LI led to the isolation of Lateritin. The chemical structure of Lateritin was elucidated by spectral analysis. Lateritin exhibiting bioactive properties such as anticancer in human and antimicrobial.

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตร และ
คณะกรรมการสอบได้พิจารณาสารนิพนธ์เรื่อง การสกัดและหาโครงสร้างของสารจากเชื้อราเอนโด
ไฟต์ LI ของ มนสวรรค์ ภูยาдав ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มณีกานต์ ชินวรรังสี)

ประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตร

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จินดา แต่มบวรจง)

คณะกรรมการสอบ

..... ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มณีกานต์ ชินวรรังสี)

..... กรรมการสอบสารนิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ ดร. ธารวรัตน์ ศุภศิริ)

..... กรรมการสอบสารนิพนธ์

(ดร. ปิยะดา จิตรตั้งประเสริฐ)

อนุมัติให้รับสารนิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิเชียร มากตุ่น)

วันที่ เดือน พ.ศ. 2553

ประกาศคุณประการ

สารนิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาอย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มณีกันต์ ชินวรรังสี ประธานควบคุมสารนิพนธ์ ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้คำแนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำสารนิพนธ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ธาวรัตน์ ศุภศิริ ที่เป็นทั้งอาจารย์ที่ปรึกษา กรรมการสอบเค้าโครง และเป็นกรรมการสอบปากเปล่า ที่ได้ให้ความเมตตาช่วยเหลือให้คำปรึกษา และคำแนะนำต่างๆ ดร. ปิยะดา จิตรตั้งประเสริฐ ที่ได้ให้ความกรุณา เป็นกรรมการสอบเค้าโครง และกรรมการสอบปากเปล่า รวมทั้งการให้คำแนะนำ ตรวจสอบ จนทำให้การทำสารนิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ ความเมตตาแก่ผู้วิจัย ในการศึกษาตามหลักสูตรการศึกษามหาบัณฑิต ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมี เพื่อนๆ นิสิตปริญญาโททุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกและเป็นกำลังใจแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของทุกท่านจึงขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ท้ายนี้คุณค่าและประโยชน์ใดๆ อันเกิดจากสารนิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ บิดา มารดา ครู อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

มนสวรรณค์ ภูยาตาว

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	2
ความสำคัญของการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
ขั้นตอนของการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ราเอนโดไฟต์	4
สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากเชื้อราเอนโดไฟต์	10
สารที่มีฤทธิ์เป็นสารปฏิชีวนะ.....	10
สารที่มีฤทธิ์เป็นสารปฏิชีวนะระเหย.....	23
สารที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านมะเร็ง.....	24
สารที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ.....	35
สารที่มีฤทธิ์เป็นสารฆ่าแมลงและเชื้อโรคพืช.....	36
สารที่มีฤทธิ์เป็นสารป้องกันโรคเหาหวาน.....	38
สารที่มีฤทธิ์เป็นสารกดภูมิคุ้มกัน.....	39
สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ HIV.....	39
สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย.....	39
สารที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท.....	41
สารที่แสดงฤทธิ์เป็นพิษ.....	42
โสมภูเขา.....	44

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	49
วัสดุและสารเคมี.....	49
อุปกรณ์ / เครื่องมือ	49
การสกัดสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI	50
การแยกสารสกัดจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI	50
การศึกษาสมบัติทางกายภาพและสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ ที่แยกได้จาก เชื้อราเอนโดไฟต์ LI.....	53
4 ผลการวิจัย.....	56
การสกัดสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI (cell)	56
การแยกสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI (cell)	56
การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์.....	60
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	61
การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้	61
การพิสูจน์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้.....	61
บรรณานุกรม.....	66
ภาคผนวก.....	77
อภิธานศัพท์	79
ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์.....	81

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 สารปฏิชีวนะและ Cytotoxic ของสาร Dicerandrols A ,B และ C.....	18
2 การต้านเซลล์มะเร็ง ของสารประกอบ Globosumones.....	32
3 การต้านเชื้อมาลาเรียและต้านเซลล์มะเร็ง ของสาร Phomoxanthone.....	40
4 ผลการตรวจสอบสารที่แยกได้จากสารสกัด เอทิลอะซีเตต ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีด้วยเฮกเซน : เอทิลอะซีเตต.....	56
5 ผลการตรวจสอบผลแยกสารกลุ่ม F_6 ด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟีด้วย เฮกเซน : เอทิลอะซีเตต.....	57
6 ผลการตรวจสอบผลการแยกสารกลุ่ม F_7 รวมกับกลุ่ม F_8 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีด้วยเอทิลอะซีเตต : เมทานอล.....	57
7 แสดงผลการตรวจสอบผลการแยกสารกลุ่ม $F_{(7+8,2)}$ ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีด้วย เอทิลอะซีเตต : เมทานอล.....	58
8 แสดงผลการตรวจสอบผลการแยกสารกลุ่ม $F_{(7+8,2,7)}$ ที่นำมารวมกับสารกลุ่ม $F_{(7+8,2,8)}$ ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วยเอทิลอะซีเตต : เมทานอล.....	59
9 ผลการตรวจสอบผลการแยกสารกลุ่ม F_9 ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ด้วยเอทิลอะซีเตต : เมทานอล	59
10 แสดงข้อมูลของ ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของ lateritin และ สารประกอบ A บันทึกลงใน acetone- d_6	63
11 แสดงข้อมูลของ ^1H NMR (acetone- d_6), COSY, HMBC และ HMQC ของสารประกอบ A.....	64
12 แสดงข้อมูลการต้านจุลชีพของสาร lateritin ที่สกัดจากเชื้อรา 5 ชนิด.....	65

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 การป้องกันโรคพืชของเชื้อราเอนโดไฟต์ในต้นโกโก้.....	4
2 ราเอนโดไฟต์ ในเนื้อเยื่อพืช ในใบพืช ในเมล็ดพืช.....	6
3 วงจรชีวิตของราเอนโดไฟต์ในพืช.....	6
4 โครงสร้างทางเคมีของสาร Cryptocandin A.....	11
5 โครงสร้างทางเคมีของสาร Cryptocin.....	11
6 โครงสร้างทางเคมีของสาร Amburic acid, Pestalocide และ Pestalotiopsin.	12
7 โครงสร้างทางเคมีของสาร Jesterone และ Hydroxyjesterone	13
8 โครงสร้างทางเคมีของสาร Phomopsichalasin	13
9 โครงสร้างทางเคมีของสาร Pentaketide ชนิดใหม่ CR377.....	14
10 โครงสร้างทางเคมีของสาร Collectotric acid.....	14
11 โครงสร้างทางเคมีของสาร 6-isoprenylindole-3- carboxylic acid	15
12 โครงสร้างทางเคมีของสาร Oocyadin A	15
13 โครงสร้างทางเคมีของสาร Phomoenamide	16
14 โครงสร้างทางเคมีของสาร Aurasperone	16
15 โครงสร้างทางเคมีของสาร Periconicin.....	17
16 โครงสร้างทางเคมีของสาร Guignardic acid	17
17 โครงสร้างทางเคมีของสาร Dicerandrols.....	18
18 โครงสร้างทางเคมีของสาร Cytonic acid.....	19
19 โครงสร้างทางเคมีของสาร Pullularin A	19
20 โครงสร้างทางเคมีของสาร 5,7-dihydroxy-2-[1-(4-methoxy-6-oxo-6H- pyran -2-yl)-2- phenylethylamino]-[1,4] naphthoquinone.....	20
21 โครงสร้างทางเคมีของสาร Sordaricin.....	20
22 โครงสร้างทางเคมีของสาร 1,3,5,7- cyclooctatetraene or (8)-annulene...	21
23 โครงสร้างทางเคมีของสาร Preussomerin G-L.....	21
24 โครงสร้างทางเคมีของสาร Indole – 3- acetic acid (IAA)	22
25 โครงสร้างทางเคมีของสาร Altersolanol A.....	23

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
26 โครงสร้างทางเคมีของสาร Preussomerin D.....	23
27 โครงสร้างทางเคมีของสาร Taxol.....	25
28 โครงสร้างทางเคมีของสาร Torreyanic acid.....	26
29 โครงสร้างทางเคมีของสาร Cytochalasin 1,2,3 และ E	26
30 โครงสร้างทางเคมีของสาร Oreganic acid.....	27
31 โครงสร้างทางเคมีของสาร Leucinostatin A.....	27
32 โครงสร้างทางเคมีของสาร Sequoiatone.....	28
33 โครงสร้างทางเคมีของสาร Sequoiamonascin	28
34 โครงสร้างทางเคมีของสาร Camptothecin.....	29
35 โครงสร้างทางเคมีของสาร Trichodermamide C.....	29
36 โครงสร้างทางเคมีของสาร Podophyllotoxin	30
37 โครงสร้างทางเคมีของสาร Penicillenon และ Leptosphaerone	30
38 โครงสร้างทางเคมีของสาร Radicol, Chaetochiversin A, Chaetochiversin B, Eugenetin, 6-methoxymethyleugenin และ 6- hydroxymethyleugenin	31
39 โครงสร้างทางเคมีของสาร Globosumones A และ Globosumones B	31
40 โครงสร้างทางเคมีของสาร Enniatins A และ Enniatins B.....	32
41 โครงสร้างทางเคมีของสาร Beauvericin และ Bikaverin	33
42 โครงสร้างทางเคมีของสาร Deoxybostrycin, Altersolanol B และ Dactylariol.....	33
43 โครงสร้างทางเคมีของสาร Graphislactone, Ggraphislactone H, Graphislactone A และ alternariol monomethyl ether G.....	34
44 โครงสร้างทางเคมีของสาร Cytoskyrins A.....	34
45 โครงสร้างทางเคมีของสาร Lactone 1893 A และ Lactone 1893 B.....	35
46 โครงสร้างทางเคมีของสาร Brefeldin A.....	35
47 โครงสร้างทางเคมีของสาร Isopestacin และ Pestacin	36
48 โครงสร้างทางเคมีของสาร Nodulisporic acid A และ Nodulisporic acid B	36

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
49 โครงสร้างทางเคมีของสาร 5-hydroxy-2-(1'-oxo-5'-methyl-4'-hexenyl) benzofuran และ 5-hydroxy-2-(1'-hydroxy-5'-methyl-4'-hexenyl) benzofuran	37
50 โครงสร้างทางเคมีของสาร 3-O-methylalaternin และ Altersalanol A	37
51 โครงสร้างทางเคมีของสาร Tricin, 7-O-(β -D-glucopyranosyl) tricin, soorientin และ 7-O-[- α -L-Rhamnopyranosyl (1-6)- β -D glucopyranosyl]tricin.....	38
52 โครงสร้างทางเคมีของ Subglutininol A และ Subglutininol B	39
53 โครงสร้างทางเคมีของสาร Pestaloficiols A, Pestaloficiols B และ Pestaloficiols D.....	39
54 โครงสร้างทางเคมีของสาร สาร Phomoxanthone A และ Phomoxanthone B	40
55 โครงสร้างทางเคมีของสาร 7-Butyl-6,8- dihydroxy-3(R)-pent-11-enylisochroman-1-one สาร 7-Butyl-15-enyl-6,8-dihydroxy-3(R)-pent-11-enylisochroman-1-one และ สาร 7-Butyl-6,8-dihydroxy-3(R)- pentylisochroman-1-one.....	41
56 โครงสร้างทางเคมีของสาร Lolitrem B.....	41
57 โครงสร้างทางเคมีของ Lolitrem C, สาร Peramine, สาร Diacetylperamine, สาร Paxilline, สาร Loline alkaloid และ สาร Ergovaline.....	42
58 โครงสร้างทางเคมีของ Lysergic acid, สาร Isoysergic acid, สาร Pospalic acid, สาร Lysergol, สาร Lysergic acid amide, สาร Lysergic acid diethylamide และสาร Lycergic – 2-propanolamide.....	43
58 ลักษณะรากของโสมภูเข.....	45
59 ลักษณะลำต้นของโสมภูเข.....	45
60 ลักษณะใบของโสมภูเข.....	46
61 ลักษณะดอกของโสมภูเข.....	47
62 ลักษณะผลของโสมภูเข.....	47

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
63 ลักษณะเมล็ดของโสมภูเขา.....	48
64 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	54
65 ขั้นตอนการแยกสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI	55
66 โครงสร้างสารประกอบ A.....	61
67 ข้อมูล COSY แสดงการ coupling ระหว่างโปรตอน.....	62
68 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ A.....	62

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

มนุษย์ได้นำเอาวัตถุดิบจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ทางยาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน จึงทำให้เราได้เรียนรู้และค้นพบสารที่น่าสนใจมากมาย โดยเฉพาะในเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งเป็นสารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช (ปัทมา พิทยขจรวุฒิ. 2546) ในปัจจุบันการพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชยังอยู่ในวงจำกัด เนื่องจากการสูญเสียทรัพยากรพืชไปอย่างรวดเร็วจากการพัฒนาประเทศและการเพิ่มจำนวนของประชากรอย่างรวดเร็วส่งผลให้ความต้องการใช้ทรัพยากรเพิ่มสูงขึ้นด้วยเช่นกัน ประกอบกับการที่พืชถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคเป็นเวลานานนับพันปี ในขณะที่จุลินทรีย์มีการค้นคว้าและนำมาใช้ในการรักษาโรคเมื่อระยะเวลา 50 ปีที่ผ่านมา แต่ยาจากจุลินทรีย์กลับได้รับการตอบรับเป็นอย่างมากเช่น ยาปฏิชีวนะ เป็นต้น ประเทศไทยจัดเป็นดินแดนที่มีความหลากหลายในทรัพยากรธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์ หรือแม้แต่สิ่งมีชีวิตเล็กๆอย่างจุลินทรีย์ เป็นที่ทราบกันดีว่าความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตทั้งหลายในระบบนิเวศไม่ว่าจะเป็นระหว่างพืชกับพืช พืชกับสัตว์ พืชกับเชื้อจุลินทรีย์ หรือพืชกับแมลงล้วนแต่สื่อสารกันด้วยสารเคมี สารเคมีจากระบบนิเวศเหล่านี้มักส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตอื่นในลักษณะของการดึงดูด ขับไล่ ยับยั้งหรืออาจทำให้ถึงขั้นเสียชีวิตได้ จึงนำไปสู่การศึกษาวิจัยที่สามารถค้นพบสารใหม่หรือสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สามารถควบคุมศัตรูของพืชเศรษฐกิจได้นอกจากนี้กระบวนการทางชีวภาพที่เกิดขึ้นในตัวของสิ่งมีชีวิตเองไม่ว่าพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ ยังมีศักยภาพที่จะนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในเชิงพาณิชย์ การแพทย์ เกษตรกรรม และอุตสาหกรรมได้อีกด้วย (วันชัย ดีเอกนามกุล. 2545)

ราเอนโดไฟต์ (endophytic fungi) เป็นเชื้อราที่ช่วงชีวิตหนึ่งหรือตลอดทั้งชีวิตเจริญอยู่ในเนื้อเยื่อพืชที่มีชีวิต โดยไม่ทำให้พืชแสดงอาการเกิดโรค (Wilson. 2000) มีรายงานจำนวนมากที่ศึกษาเกี่ยวกับราเอนโดไฟต์ พบว่าราในกลุ่มนี้มีประโยชน์ต่อพืชที่อาศัยอยู่ โดยช่วยให้พืชนั้นมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค (Webber. 1981; Funk. 1983) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าราเอนโดไฟต์ที่อาศัยอยู่กับพืชสมุนไพรบางชนิด สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ได้หลายชนิด (Fisher; et al. 1984b; Bills and Polishook. 1992; Petrini. 1996) และพบว่าเชื้อราที่แยกได้จากสมุนไพรชนิดนั้นอาจจะมีผลผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดเดียวกับพืชที่เชื้อราอาศัย เช่นราที่อยู่ในต้น Yew ซึ่งผลิตสาร Taxol เช่นเดียวกับพืช (Stierle, Strobel and Stierle. 1993; Pulici; et al. 1997) นอกจากนี้ยังมีรายงานจำนวนมากที่ศึกษาราเอนโดไฟต์แล้วพบสารออกฤทธิ์

ยั้งยังภูมิคุ้มกัน (Strobel. 2002) จากคุณสมบัตินี้อาจนำไปสู่การใช้ราเอนโดไฟต์ให้เป็นประโยชน์ โดยเฉพาะการผลิตสารทุติยภูมิชนิดใหม่ที่มีความหลากหลายซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น ยาปฏิชีวนะ และเอนไซม์ ซึ่งมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหาร แต่พบว่าราเอนโดไฟต์ยังมีข้อมูลการศึกษาน้อยมากทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยเฉพาะในประเทศไทยเท่าที่รวบรวมได้จนถึงปัจจุบันเป็นการศึกษาราเอนโดไฟต์ของพืชในเขตหนาวและเขตอบอุ่น (วิทยา มีวุฒิสม. 2542) ราเอนโดไฟต์สามารถแฝงตัวอยู่ในเนื้อเยื่อพืชมีชีวิตทุกชนิดและมีความสัมพันธ์กับเซลล์พืชแบบพึ่งพาอาศัย คาดว่าในพืชแต่ละชนิดน่าจะมีราเอนโดไฟต์อยู่หนึ่งชนิดหรือมากกว่า และในขณะนี้ยังมีพืชเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่ได้รับการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางชีววิทยาของราเอนโดไฟต์อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นในบรรดาจุลินทรีย์ทั้งหลายนับว่าราเอนโดไฟต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ และจากการที่ราเอนโดไฟต์อยู่ในเนื้อเยื่อพืชที่มีความแตกต่างกันทางด้านสิ่งแวดล้อมและมีความแตกต่างทางนิเวศวิทยาจึงมีโอกาที่จะพบสารใหม่ๆ เนื่องจากความหลากหลายทางชีวภาพ ซึ่งจะสอดคล้องกับความหลากหลายทางเคมี เพราะสารประกอบทางเคมีมีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงสิ่งที่อยู่ในระบบนิเวศ กระตุ้นให้สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีวิวัฒนาการเพื่อให้สามารถอยู่รอดได้ ดังนั้นการสังเคราะห์สารทุติยภูมิของราเอนโดไฟต์แต่ละชนิดจึงน่าจะแตกต่างกันไปตามสภาพความหลากหลายทางชีวภาพ ซึ่งประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพสูง จึงเป็นแหล่งที่น่าสนใจที่จะพบราเอนโดไฟต์อีกหลายชนิด ที่ยังไม่ถูกค้นพบซึ่งจะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

โสมภูเขามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Talinum paniculata* (Jacq.) Gaertn. อยู่ในวงศ์ PORTULACACEAE เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้รากนำมาดองเหล้าแล้วนำน้ำที่ได้มาดื่มใช้บำรุงร่างกาย และบำรุงกำลัง บำรุงปอด แก้ไอ แก้ท้องเสีย บัสสาวะขัด แก้อ่อนเพลียหลังฝนใช้ ใบและยอดอ่อนใช้รับประทานเป็นผักใบเขียว มีสรรพคุณบำรุงร่างกาย (ดร.ณ เพ็ชรพลาย, ชาตรี ชาญประเสริฐ และ ญัตตรา จันทรวานิชย์. 2538) และเนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาด้านเคมีของเชื้อราจากต้นโสมภูเข ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาเกี่ยวกับสารที่เป็นองค์ประกอบที่อยู่ภายในราเอนโดไฟต์ LI จากต้นโสมภูเข โดยคาดหวังว่าจะได้ข้อมูลทางเคมี ซึ่งจะเป็นแนวทางในการนำความรู้ที่ได้ไปต่อยอดโดยการนำสารที่ได้ไปศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆต่อไป

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัด การแยกสารและการทำสารให้บริสุทธิ์
2. เพื่อศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเชื้อราเอนโดไฟต์

ความสำคัญของการวิจัย

ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ผลของการวิจัยจะได้ประโยชน์ดังนี้

1. ทำให้เกิดการเรียนรู้เทคนิคการสกัด การแยกสารและการทำให้สารบริสุทธิ์จากเชื้อราเอนโดไฟต์
2. ทำให้เกิดการเรียนรู้วิธีการหาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเชื้อราเอนโดไฟต์โดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี
3. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้อาจเป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยทางด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและเภสัชวิทยาต่อไป

ขอบเขตของการวิจัย

1. การสกัดสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ที่สกัดจากต้นโสมภูเขา
2. การแยกสารให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคโครมาโทกราฟี
3. ศึกษาโครงสร้างสารบริสุทธิ์ที่แยกได้โดยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี

ขั้นตอนของการวิจัย

1. ศึกษาค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับราเอนโดไฟต์และกระบวนการหาสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบ ที่พบในราเอนโดไฟต์
2. วางแผนการทดลอง
 - 2.1 การสกัดสารจากราเอนโดไฟต์ที่ได้จากต้นโสมภูเขา
 - 2.2 นำสารสกัดมาทำการแยกให้ได้สารบริสุทธิ์โดยเทคนิคโครมาโทกราฟี
 - 2.3 ศึกษาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคทางสเปกโตรสโคปี

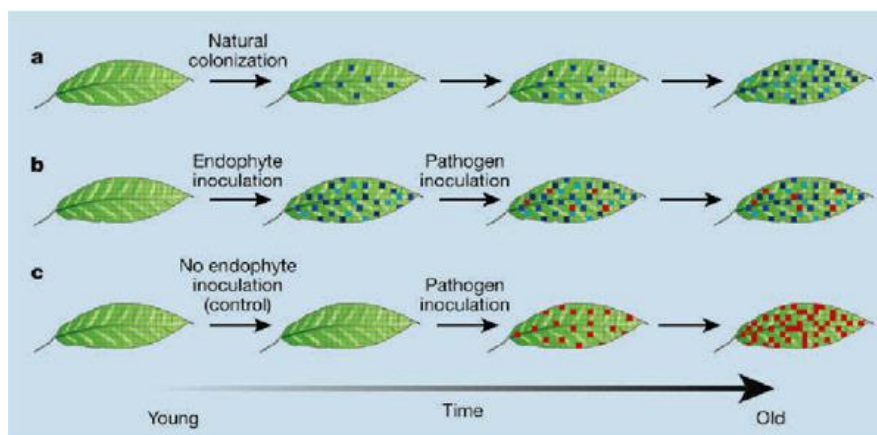
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ราเอนโดไฟต์

เอนโดไฟต์ (endophyte) มาจากคำว่า endo หมายความว่าข้างใน และคำว่า phyte หมายถึงพืช ดังนั้น เอนโดไฟต์ จึงหมายถึงสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในต้นพืช (Chanway. 1996: 321-322) รวมถึงราเอนโดไฟต์ ซึ่งเป็นราที่มีช่วงชีวิตหนึ่งหรือตลอดทั้งชีวิตอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชโดยไม่ก่อให้เกิดโรคในพืช (Carroll. 1988: 2-9) ราเอนโดไฟต์พบในทุกส่วนของใบ เปลือก และ รากของพืชเกือบทั้งหมดที่ทำการตรวจสอบ (Petrini. 1986: 175-187) พบในไม้ยืนต้น (Petrini. 1996: 87-100) หญ้า (Clay. 1989: 10-12) นอกจากนี้ยังพบในสาหร่าย (Hawksworth. 1988: 3-20) มอสในแบบ endophytic parasymbionts และพบใน ไลเคน (Petrini, Hake & Dryfus. 1990: 44-45) ราเอนโดไฟต์มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับพวก pathogen หรืออาจเป็นพวก weak pathogen (Kehr. 1992: 29-40) ซึ่งอาจทำให้พืชแสดงอาการของโรคเมื่อพืชเกิดความเครียด (Carroll. 1988: 2-9)

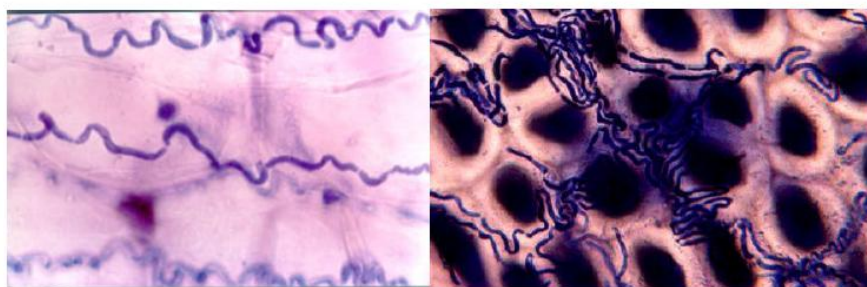
ราเอนโดไฟต์ ถูกค้นพบครั้งแรกในนิวซีแลนด์และสหรัฐอเมริกาปลายปี 1940 โดยพบว่ามี การสร้างสารพิษจากราเอนโดไฟต์ที่เจริญอยู่ในหญ้าที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ซึ่งหลังจากที่สัตว์กินหญ้าเข้าไปแล้วแสดงอาการผิดปกติจึงได้มีการศึกษาเรื่อยมาจนปัจจุบันทำให้ทราบว่าราเอนโดไฟต์มี บทบาทสำคัญ ในการช่วยป้องกันพืช โดยสามารถผลิตสารพิษขึ้นมาในเนื้อเยื่อพืช (Clay. 1986: 2984-2988) ดังภาพประกอบ 1 เป็นการทดลองที่แสดงให้เห็นถึงการช่วยป้องกันโรคพืชของเชื้อราเอนโดไฟต์ในต้นโกโก้



ภาพประกอบ 1 การป้องกันโรคพืชของเชื้อราเอนโดไฟต์ในต้นโกโก้

- a การอยู่ร่วมกันของราเอนโดไฟต์ ในใบไม้ตามปกติ
 - b ใบไม้ที่ได้รับการฉีดราเอนโดไฟต์ เมื่อฉีดเชื้อโรคพืช เข้าไปพบว่าราเอนโดไฟต์ช่วยสร้างสารควบคุมเชื้อโรคทำให้เนื้อเยื่อได้รับความเสียหายเพียงเล็กน้อย
 - c ใบไม้ที่ไม่ได้รับการฉีดราเอนโดไฟต์เข้าไปควบคุม เมื่อฉีดเชื้อโรคพืชเข้าไป พบว่าเชื้อโรคพืชสามารถเจริญเติบโตได้อย่างอิสระจึงทำให้ใบพืชเสียหายและตายในที่สุด
- ที่มา : www.nature.com

การอยู่ร่วมกันของราเอนโดไฟต์กับพืชมีทั้งแบบพึ่งพาอาศัย (mutualism) โดยราเอนโดไฟต์รับสารอาหารและที่อยู่อาศัยจากพืช ในขณะที่เดียวกันก็ช่วยเพิ่มความสามารถในการหาอาหาร ความต้านทานต่อโรคและแมลงให้กับพืชที่อาศัย รวมทั้งช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดหรือช่วยให้พืชทนทานต่อสภาวะเครียดจากการขาดน้ำ (Carroll. 1995: 316-324; Saikkonen; et al. 1998: 319-343) หรือแบบได้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน (neutral symbionts) ไปจนถึงการเป็นราที่ก่อเกิดโรค (latent) เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมหรือสารอาหารที่เปลี่ยนไป (Petrini. 1986: 175-187) นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนาเป็นรา saprobe ย่อยสลายพืชแห้งเหี่ยวหรือตายแล้ว (Lacth. 1993: 143-156; Brown, Hyde & Guest. 1998: 26-50; Photita; et al. 2004: 1508-1513) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่สามารถหาข้อยุติในปัญหาที่ว่าราเอนโดไฟต์ที่แบบแฝงอยู่ในพืช (latent pathogen) หรือเป็นเพียงราที่เข้าไปอาศัยอยู่ร่วมกับพืชแบบปรสิตร หรือแบบพึ่งพาอาศัย ราเอนโดไฟต์ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ Ascomycetes และ Duteromycetes พบเล็กน้อยในวงศ์ Basidiomycetes และพบจำนวนน้อยมากในวงศ์ Oomycete (Isaac. 1992: 45-50) หน้หลายชนิดเป็นโฮสต์ของราเอนโดไฟต์ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในตระกูล Clavicipitaceae (Ascomycotina) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสปีชีส์ tribe Balansiae (Clavicipitaceae) พบว่ามีถึง 5 genera ที่เป็นราเอนโดไฟต์ เช่น *Atkinsonella*, *Balansiopsis*, *Balansai*, *Epichloe* และ *Myriogenospora* และประมาณ 30 สปีชีส์ ของสกุล ต่างๆ ดังกล่าวเป็นราเอนโดไฟต์สำหรับสปีชีส์ tribe Balansiae (Clavicipitaceae) พบว่าบางชนิดเป็นปรสิตของพืชตระกูลหญ้าด้วย ราเอนโดไฟต์สามารถแฝงตัวได้ทั้งภายในและจากภายนอกเนื้อเยื่อพืชเช่น ใบ ลำต้น เปลือก (Carlile, Watkinson & Gooday. 2001: 314-318) ดังแสดงในภาพประกอบ 2

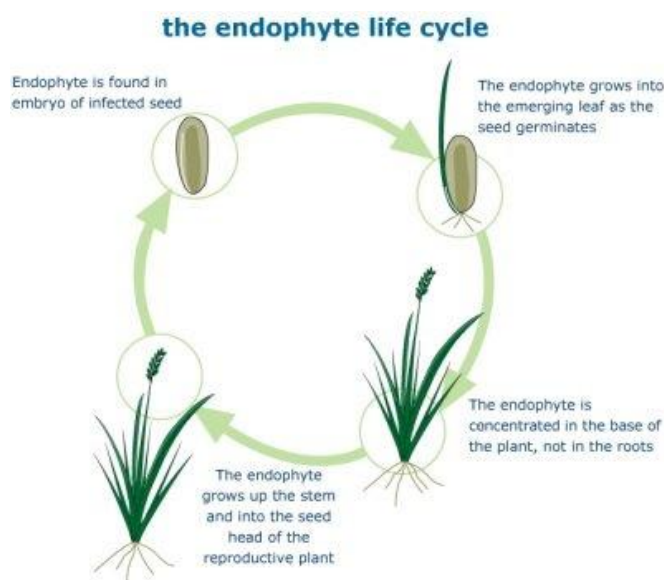


(a)

(b)

ภาพประกอบ 2 ราเอนโดไฟต์ ในเนื้อเยื่อพืช (a) ในใบพืช (b) ในเมล็ดพืช

ราเอนโดไฟต์บางชนิดมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการส่งเส้นใย ผ่านเข้าไปแอบแฝงในเมล็ดแล้วผลิตเส้นใย รุ่งต่อไปแล้วเจริญไปพร้อมกับเนื้อเยื่อของโฮสต์ ภายในเนื้อเยื่อโฮสต์เส้นใย ของราจะเจริญอยู่ระหว่างเซลล์ และเส้นใยจะแพร่กระจายไปทั่วทั้งใบและลำต้นโดยแพร่กระจายในแนวนานกับแกนยาวของพืช ไม่มีเส้นใยเหมือนราทั่วไป ทำให้มีการแพร่กระจายไปยังโฮสต์อื่นโดยอาศัยโครงสร้างระยะเจริญเข้าไปเจริญอยู่ในรังไข่และเมล็ดของพืช เช่น ราเอนโดไฟต์ *Neophodum lolii* ใน perennial rye grass (*Lolium perenne*) ดังภาพประกอบ 3



ภาพประกอบ 3 วงจรชีวิตของราเอนโดไฟต์ในพืช
ที่มา ; www.grasslanz.com/images/lifecycle.

การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศของราเอนโดไฟต์เกิดขึ้นภายในสโตรมาบนใบและช่อดอกของพืชโดยการสร้างสปอร์ ซึ่งราเอนโดไฟต์ไม่สามารถสร้างสปอร์ หรือสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศบนผิวโฮสต์ได้ ดังนั้นสปอร์ที่สร้างใหม่ก็จะมีแพร่กระจายโดยลม แผลง ไปยังโฮสต์ใหม่ เมื่อมีการแพร่กระจายไปติดยังดอกของโฮสต์ก็จะมีการแฝงเข้าไปในออวูล ซึ่งเจริญไปเป็นเมล็ดต่อไปพร้อมกับการเจริญของเอนโดไฟต์เช่น การเจริญของราเอนโดไฟต์ *Epichloe typhina* กับหญ้า cocksfoot (*Dactylis glomerata*) นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์ของราเอนโดไฟต์กับหญ้าที่มีการแพร่พันธุ์ทั้งแบบติดไปกับเมล็ดพืชและการสร้างสปอร์ เช่นรา *Epichloe festucae* กับหญ้า red fescue (*Festuca rubra*) ความสมดุลขึ้นกับเงื่อนไขทางสิ่งแวดล้อมและการรวมกันของ genotype อัตราการเพิ่มขึ้นของราเอนโดไฟต์ในพืชเพิ่มขึ้นตามอายุและจำนวนประชากรของพืช และมีความเป็นไปได้ที่พืชบางชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตโดยปราศจากราเอนโดไฟต์ (Carlile, Watkinson & Gooday. 2001: 314-318) ราเอนโดไฟต์ทำให้พืชแข็งแรงโดยมีผลกับกระบวนการทางนิเวศวิทยา และสรีรวิทยา (Redin and Carris. 1985: 12-13)

1.1 ความจำเพาะต่อโฮสต์ของราเอนโดไฟต์ (Host specificity)

ราเอนโดไฟต์จะมีการจำเพาะต่อโฮสต์ โดยมีกลไกการจดจำ เช่นการงอกของสปอร์ราเอนโดไฟต์ *Xylaria* จะตอบสนองกับสารสกัด monolignol glucoside ของพืชที่อาศัย (Chapela, Petrini & Hagmann. 1991: 289-298) ระดับความจำเพาะต่อโฮสต์ (host specificity) ในราเอนโดไฟต์ยังไม่เป็นที่ทราบชัดนักในขณะนี้ บางชนิดพบได้ทั่วไปและอาจแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์ได้จากพืชหลายชนิดที่เจริญเติบโตอยู่ในที่ซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ชนิดของราเอนโดไฟต์ที่พบในพืชทั่วๆไปได้แก่ *Cladosporium* sp., *Nodulisporium* sp. และ *Pleospora* sp. ราเอนโดไฟต์บางชนิดค่อนข้างจะมีความจำเพาะต่อต้านพืชและมักจะแยกได้จากพืช family เดียวกันหรือจาก family ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันเท่านั้น บางชนิดก็มักพบในเนื้อเยื่อชนิดเดียวกัน เช่นราเอนโดไฟต์ที่อยู่ในพวงสน (conifer needle) (Carroll & Petrini. 1983: 53-63) ส่วนระดับความจำเพาะต่อเนื้อเยื่อหรือต่ออวัยวะพืชในราเอนโดไฟต์ยังไม่เป็นที่ทราบชัด (Isaac. 1992: 45-50)

อย่างไรก็ตามความจำเพาะต่อเนื้อเยื่อหรืออวัยวะของพืชมีความแตกต่างอย่างเด่นชัดน้อยมากรวมทั้งยังได้รับการสำรวจเพียงเล็กน้อยในปัจจุบัน (Isaac, 1992: 45-50)

1.2 ผลกระทบของราเอนโดไฟต์ต่อพืช

โดยตรง ราเอนโดไฟต์ไม่มีโครงสร้างพิเศษสำหรับหาอาหารเหมือนราชนิดอื่น เส้นใยของราเอนโดไฟต์มีขนาดความกว้างประมาณ 10 – 15 มิลลิไมครอน เมื่อเข้าไปอยู่ในเส้นใยพืชแล้ว เส้นใยอาจจะม้วนแล้วราเอนโดไฟต์อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโฮสต์ตลอดชีวิต โดยไม่ทำให้พืชแสดง

อาการผิดปกติ เส้นใยแทงทะลุเข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์หรืออาจเข้าไปอยู่ในเซลล์ของโฮสต์ก็ได้และได้รับอาหารจากโฮสต์เปลี่ยนรูปร่างไปหรืออาจมีลักษณะบวมก็ได้ ผลกระทบต่อกระบวนการสรีรวิทยาในพืชยังไม่เป็นที่ทราบชัด ความสัมพันธ์ในแบบของราเอนโดไฟต์ไม่มีผลต่อการแสดงอาการของโรค แต่อาจมีผลกระทบบางประการต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยา และกระบวนการสรีรวิทยาของพืช อย่างไรก็ตามผลกระทบของราเอนโดไฟต์ที่มีผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงก็ยังไม่ชัดเจนนัก (Clay. 1989: 9-12) มีการตั้งข้อสังเกตว่าเอนโดไฟต์อาจมีการผลิตสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืชได้ (Porter; et al. 1985: 1429-1431) นอกจากนี้ราเอนโดไฟต์บางชนิดอาจเกี่ยวข้องกับกลไกความต้านทานทางเคมีของพืช และราเอนโดไฟต์ทำหน้าที่ต่อต้านการเจริญลุกลามของเชื้อโรคชนิดอื่นในพืช (antagonist) ทำให้พืชมีความต้านทานต่อโรค (Isaac. 1992: 45-50)

1.3 ผลกระทบของราเอนโดไฟต์ต่อแมลง

ราเอนโดไฟต์เป็นที่สนใจศึกษาค้นคว้าเนื่องจากมีผลกระทบต่อแมลงศัตรูพืช การที่มีราเอนโดไฟต์ อยู่ในเนื้อเยื่อของพืช ทำให้พืชมีลักษณะที่ไม่สามารถเป็นอาหารของแมลงได้อีกต่อไป นอกจากนี้ราเอนโดไฟต์ยังชักนำให้พืชผลิตสารพิษที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนของแมลง ตลอดจนมีความสามารถในการขยายพันธุ์ของแมลงหรือทำให้แมลงตายได้ ราเอนโดไฟต์ไม่มีผลกระทบต่อแมลงพวกจิ้งหรีด เพลี้ยอ่อน และมอดแป้ง มีข้อมูลเป็นจำนวนมากที่ยอมรับในความสามารถของราเอนโดไฟต์ในการควบคุมแมลงของพืชตระกูลหญ้า (Clay. 1989: 10-12) ราเอนโดไฟต์สามารถป้องกันหญ้า ryegrass (*Lolium perene* L.) จากการกัดกินของตัวอ่อนแมลง (Funk; et al. 1983: 189-191) ราเอนโดไฟต์มีผลในการลดความสามารถในการขยายพันธุ์และลดจำนวนประชากรของแมลงเปลือกแข็งที่ทำลายเปลือกไม้ได้ (Webber. 1981: 449-451) ตัวอย่างเช่นราเอนโดไฟต์ *Phomopsis oblonga* ปกป้องต้นเอลม์ (elm) ที่มีด้วงปีกแข็ง (*Physocnemum brevilineum*) เป็นพาหะในการแพร่กระจายของโรค Elm Dutch Disease ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Ceratocystis ulmi* ทำให้ด้วงที่ได้รับสปอร์ของราเอนโดไฟต์เข้าไปได้รับสารพิษและถูกทำลาย ทำให้ลดการแพร่พันธุ์ของแมลง (Webber. 1981: 449-451) ราเอนโดไฟต์ที่เป็นสมาชิกของวงศ์ Xylariaceae ที่อยู่ในพืช *Fagus* sp. มีผลต่อระยะตัวอ่อนของด้วงปีกแข็ง (Claydon, Groove, & Pople. 1985: 937-943) ราเอนโดไฟต์ *Neotyphodium* sp. สามารถผลิตสาร N-fomilonine และ paxiline analogous ในพืช *Echinopogum ovatus* สารประกอบดังกล่าวมีฤทธิ์ในการกำจัดแมลงชนิดต่างๆ (Miles; et al. 1998: 601-606) ราเอนโดไฟต์ *Acremonium coenophialum* จากต้นหญ้า tall fescue (*Festuca arundinacea*) สามารถสร้าง

สารอัลคาลอยด์ที่มีความเฉพาะเจาะจงซึ่งเกิดจากการกระตุ้นโดยความสัมพันธ์ของต้นพืชกับรา เอนโดไฟต์ สารนี้มีผลเข้าทำลายแมลงที่กัดกินพืชเป็นอาหาร (Bultman; et al. 1997: 221-231) ในต้น Canadian fir ซึ่งเป็นสนอีกชนิดหนึ่งที่พบว่ามีราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารพิษกำจัดตัวอ่อนของ หนอนต้นสนทำให้ทั้งลดจำนวนประชากรและอัตราการเจริญเติบโตด้วย (Miller. 1986: 221-231) แต่ยังไม่ทราบชัดถึงวิธีการสร้างสารพิษและปริมาณที่ผลิตตลอดจนการตอบสนองต่อการสร้างสาร จากราว่ามีความเกี่ยวข้องกันอย่างไร

1.4 ผลกระทบของราเอนโดไฟต์ต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

ราเอนโดไฟต์ในหญ้ามีพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัตว์กินหญ้าที่ได้รับสารพิษจากราเอนโดไฟต์เข้าไปจะมีผลทำให้น้ำหนักลดลง อุณหภูมิร่างกายสูงขึ้น เดินขากระเผลและเน่าเปื่อย อาการดังกล่าวนี้จะพบมากในช่วงฤดูร้อน เนื่องจากในช่วงที่อากาศร้อนสัตว์เหล่านี้จะได้รับความกดดันทางสรีรวิทยามาก นอกจากนี้ราเอนโดไฟต์บางชนิดของข้าวไรน์จะมีผลทำให้กล้ามเนื้อเกิดการเกร็งตัวทำให้สัตว์ไม่สามารถยืนหรือทรงตัวได้

ราเอนโดไฟต์ของหญ้าหลายชนิดอยู่ในกลุ่ม Clavicipitaceae ซึ่งสามารถผลิตสารอัลคาลอยด์ได้ ราเอนโดไฟต์ชนิด balensia สามารถผลิตสารอัลคาลอยด์ในอาหารได้ และเชื่อกันว่าอัลคาลอยด์ดังกล่าวจะมีพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้เช่นเดียวกัน (Isaac. 1992: 45-50)

1.5 ราเอนโดไฟต์กับการต้านทานเชื้อโรคพืช

ราเอนโดไฟต์มีส่วนช่วยในการต้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคพืช (Carroll. 1988: 2-9) การมีราเอนโดไฟต์ใน pyrenial ryegrass ทำให้สามารถป้องกันโรคที่เกิดจาก *Puccinia coronate* ได้ดีกว่าพืชที่ไม่มีการ infect ของราเอนโดไฟต์ (Clay. 1989: 10-12) สันนิษฐานว่าราเอนโดไฟต์บางสปีชีส์สามารถเป็นปฏิปักษ์ต่อราชนิดอื่นเช่น ราเอนโดไฟต์ *Acremonium coenophialum* มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ pathogen ในหญ้า (White & Cole. 1985: 487-489)

1.6 ราเอนโดไฟต์กับ pathogen

แม้ว่าการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของราเอนโดไฟต์จะยังอยู่ในขีดจำกัด แต่ก็มีการสันนิษฐานว่าราเอนโดไฟต์มีพัฒนาการมาจากเชื้อโรคในพืช ราเอนโดไฟต์หลายชนิดมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ virulent pathogen เช่น ราเอนโดไฟต์ *Acremonium coenophialum* มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค *Epichloe typhina* และเกิดบนพืชชนิดเดียวกันกับราเอนโดไฟต์ *Rhabdocline parkeri* ที่พบในสน Douglas fir (Sherwood – Pike; et al. 1986: 1849-1855) ในฤดูใบไม้ร่วงจะแตกหน่อโดย conidia โดยอาศัยน้ำเมือกจากต้นไม้อแล้วสร้างตะขอทะลุเข้าไปใน

เนื้อเยื่อพืชสร้างไฮฟาเข้าไปใน epidermis cell และอยู่ภายในนั้น ไม่เพิ่มจำนวน (2-5 ปี) จนกว่าใบจะแก่ ตลอดช่วงอายุของเนื้อเยื่อโฮสต์จะมีราเอนโดไฟต์อยู่ภายในรอบๆ เนื้อเยื่อ โดยมีโครงสร้างที่ประสานสอดคล้องกัน จากนั้นการสร้างสปอร์จะเริ่มขึ้นเมื่อใบหลุดออก ราเอนโดไฟต์ *Rhabdocline parkeri* มีความใกล้ชิดกับเชื้อโรคพืช *R. wierli* และ *R. pseudotsugae* และ สปีชีส์นี้ทั้งหมดแฝงในต้นไม้ที่มีความคล้ายกัน อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ระหว่างราเอนโดไฟต์กับเชื้อโรคก็ยังไม่เป็นที่แน่ชัด เชื้อโรคบางชนิดแฝงตัวเป็นราเอนโดไฟต์ด้วยระยะเวลาที่ยาวนานก่อนจะแสดงอาการและการแสดงออกของราเอนโดไฟต์ก็ขึ้นอยู่กับทางที่เป็นประโยชน์มากกว่าที่จะไปเป็นทางที่เป็นเชื้อโรค (Isaac. 1992: 45-50) ราหลายชนิดมีการแพร่กระจายเข้าไปในเมล็ดพืชคล้ายกับราเอนโดไฟต์ (Clay. 1986: 2984-2988) และจากรายงานเมื่อเร็วๆ นี้พบว่าการที่มีราเอนโดไฟต์อยู่ภายในเมล็ดพืชช่วยให้เมล็ดพืชปราศจากเชื้อโรคซึ่งนับว่าเป็นประโยชน์ต่อพืช

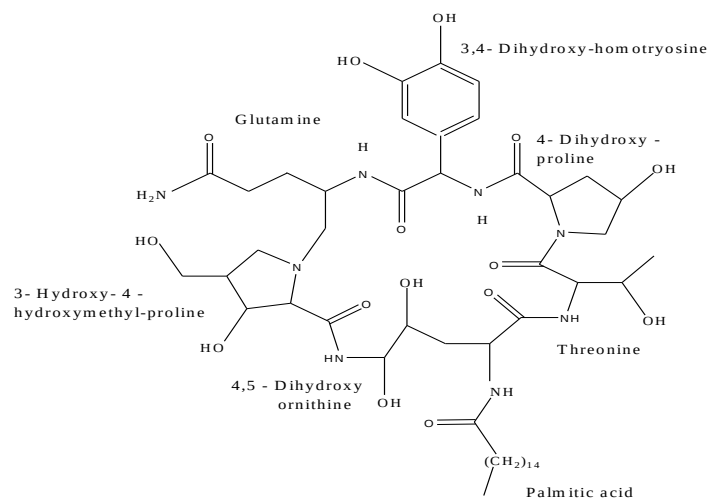
2. สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากราเอนโดไฟต์

ราเอนโดไฟต์สามารถผลิตสารที่มีศักยภาพทางด้านเภสัชวิทยาและด้านเกษตรกรรมดังนี้

2.1 สารที่มีฤทธิ์เป็นสารปฏิชีวนะ

สารปฏิชีวนะเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการต้านจุลชีพชนิดอื่นๆ (Demain. 1981: 987-994) ราเอนโดไฟต์เป็นแหล่งของสารปฏิชีวนะที่ช่วยยับยั้งและฆ่าเชื้อโรคที่ก่อเกิดโรค ตัวอย่างสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากราเอนโดไฟต์ชนิดต่างๆ มีดังนี้

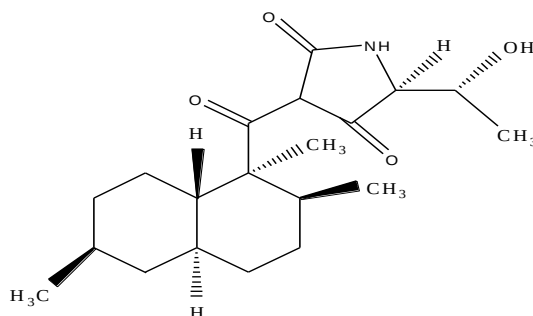
2.1.1 ราเอนโดไฟต์ *Cryptosporiosis cf. quercina* ที่แยกได้จาก *Tripterigeum wilfordii* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านแถบยูเรเชีย ผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Candida albicans* และ *Trichophyton* sp. ได้แก่สาร Cryptocandin A (1) เป็นสารที่ประกอบด้วย hydroxylated amino acid และอะมิโน ชนิดใหม่ 3-hydroxyl-4-hydroxymethylproline แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา และ ช่วยต้านเชื้อราในพืช เช่น *Sclerotinia sclerotiorum* และ *Botrytis cinerea* นอกจากนี้สาร cryptocandin A สามารถต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคผิวน้ำองุ่น (Walash. 1992: 349-373) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 4



Cryptocandin A (1)

ภาพประกอบ 4 โครงสร้างทางเคมีของสาร Cryptocandin A (1)

นอกจากนี้ ราเอนโดไฟต์ *Cryptosporiosis cf. quercina* ยังผลิตสาร Cryptocin (2) ซึ่งจัดเป็น tetramic acid ชนิดหนึ่ง มีศักยภาพต้านเชื้อรา *Pyricularia Oryzae* ซึ่งเป็นราที่ก่อโรคในข้าว ด้วยค่า MIC 0.39 $\mu\text{g/mL}$ ใช้เป็นสารเคมีธรรมชาติควบคุมหนอนข้าว (rice blast) และใช้เป็นแม่แบบในการสังเคราะห์สารต้านเชื้อราชนิดอื่นๆ (Li; et al. 2000: 767- 770) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 5

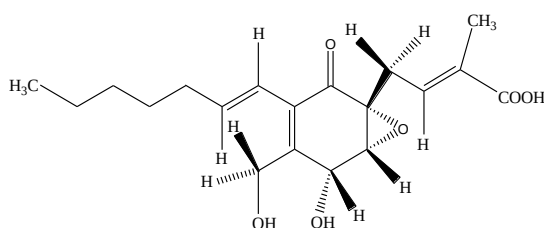


Cryptocin (2)

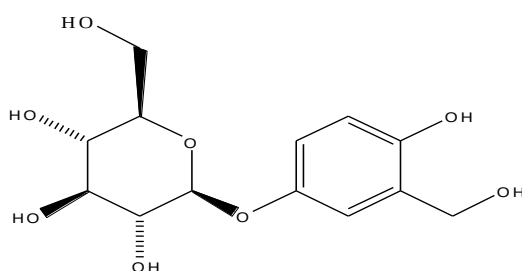
ภาพประกอบ 5 โครงสร้างทางเคมีของสาร Cryptocin (2)

2.1.2 ราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis microspora* พบได้ทั่วไปในป่าดิบชื้นสามารถผลิตสารทุติยภูมิหลายชนิดที่แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา (Li; et al. 1996: 2223-2226) ผลิตสาร Amburic acid (3) มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราเป็นสาร cyclohexenone สารประกอบชนิดนี้เคยใช้เป็นต้นแบบในการทำ solid state NMR เพื่ออธิบายโครงสร้างสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (Harper; et al.

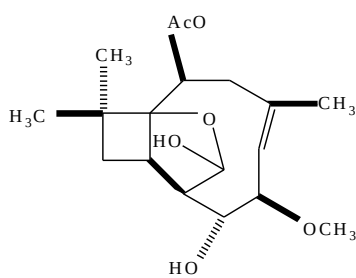
2001: 9837-9842; 2003: 2471-2476) และราเอนโดไฟต์ *P. microspora* ที่แยกได้จากต้น *Torrey taxifolia* สามารถผลิตสาร Pestalosite (4) ซึ่งเป็น glucosilate aromatic compound ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา (Lee; et al. 1996: 3232-3233) นอกจากนี้ราเอนโดไฟต์ *P. microspora* จากต้น *Texas brevifolia* ผลิตสาร Pestalotiopsins A (5) และ B (6) ซึ่งเป็นสารประกอบพวก Caryophyllene sesquiterpene (Pulici; et al. 1996: 47-48) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 6



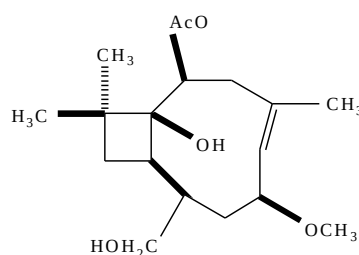
Amburic acid (3)



Pestalosite (4)



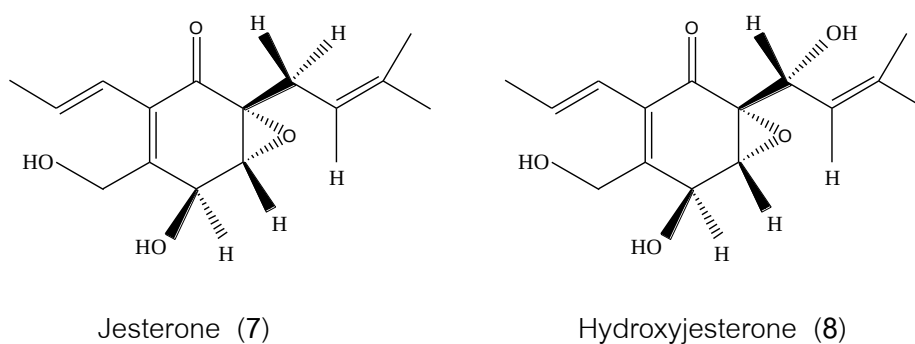
Pestalotiopsin A (5)



Pestalotiopsin B (6)

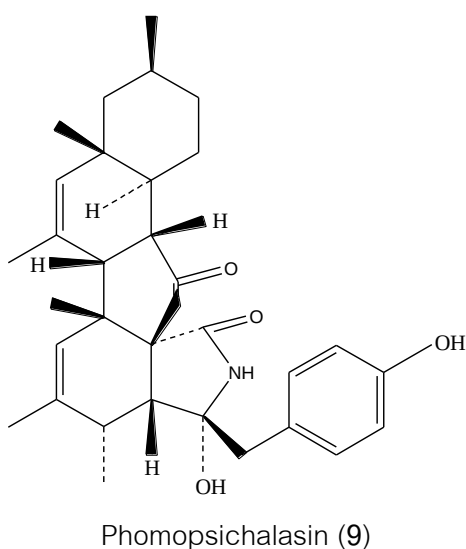
ภาพประกอบ 6 โครงสร้างทางเคมีของสาร Amburic acid (3) Pestalosite (4)
Pestalotiopsin A (5) และ Pestalotiopsin B (6)

2.1.3 ราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis jester* ที่ได้จากแม่น้ำเซพิคในประเทศปาปัวนิวกินี สามารถผลิตสาร jesterone (7) และ hydroxyjesterone (8) (Li & Strobel. 2001: 261-265) ซึ่งแสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อราโรคพืช สาร jesterone เป็นสารพวก cyclohexenone epoxide ซึ่งมีฤทธิ์ควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อโรคพืช สามารถทำการสังเคราะห์ได้โดยมีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 7



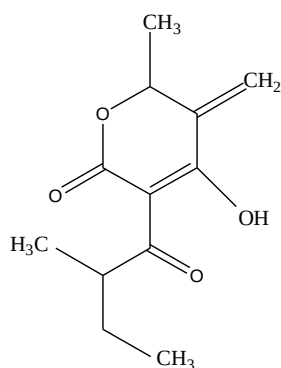
ภาพประกอบ 7 โครงสร้างทางเคมีของสาร Jesterone (7) และ Hydroxyjesterone (8)

2.1.4 ราเอนโดไฟต์ *Phomopsis* sp. สามารถสร้างสาร Phomopsichalasin (9) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้าน *Bacillus subtilis*, *Samonella gallinarum* และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้ยังแสดงฤทธิ์ในการต้านยีสต์ *Candida tropicalis* ด้วย (Horn; et al. 1995: 3969-3978) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 8



ภาพประกอบ 8 โครงสร้างทางเคมีของสาร Phomopsichalasin (9)

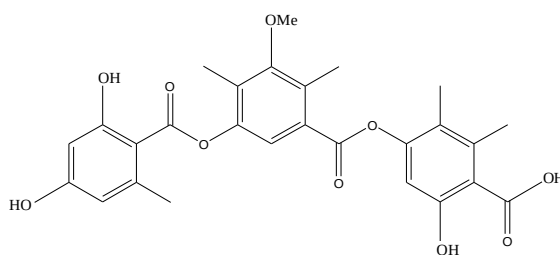
2.1.5 ราเอนโดไฟต์ *Fusarium* sp. จากต้น *Selaginella pallescens* ในคอสตาริกาได้รับการสำรวจเพื่อหาสารปฏิชีวนะ พบว่ามีสาร pentaketide ชนิดใหม่ CR377 (10) แสดงฤทธิ์ในการต้าน *Candida albicans* เมื่อทดสอบด้วยวิธี agar diffusion assay (Brady & Clardy. 2000: 1447-1448) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 9



CR377 (10)

ภาพประกอบ 9 โครงสร้างทางเคมีของสาร pentaketide ชนิดใหม่ CR377 (10)

2.1.6 ราเอนโดไฟต์ *Collectotrichum gloeosporioides* แยกได้จากเปลือกต้น *Artemisia mongolica* ผลิตสาร Collectotric acid (11) ซึ่งสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีพอๆ กับต้านเชื้อรา *Helminthosporium sativum* (Zou; et al. 2000: 1529-1530) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 10

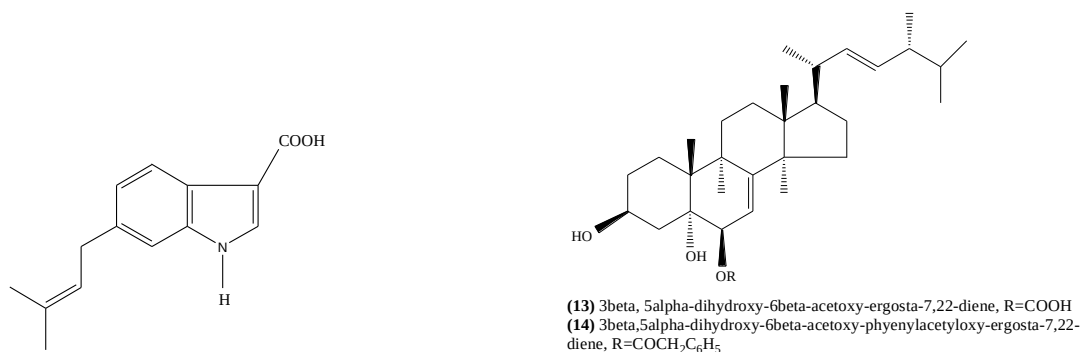


Collectotric acid (11)

ภาพประกอบ 10 โครงสร้างทางเคมีของสาร Collectotric acid (11)

2.1.7 ราเอนโดไฟต์ *Collectotrichum geosporioides* ที่แยกจากต้น *Artemisia annua* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านของจีนที่รู้จักกันทั่วไปในการผลิต artemisinin (ยาต้านมาลาเรีย) และความสามารถในการยับยั้งขึ้นอยู่กับสภาพทางภูมิศาสตร์ ราเอนโดไฟต์ที่พบในพืชชนิดนี้สามารถสร้างสารชนิดใหม่คือ 6-isoprenylindole-3-carboxylic acid (12), 3 β ,5 α -dihydroxy-6 β -

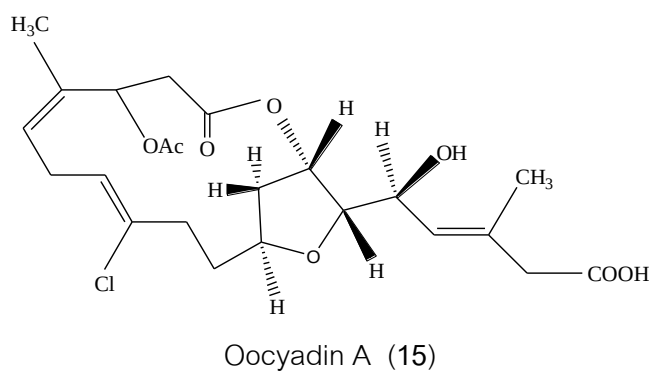
acetoxy-ergosta-7,22-diene (13) และ 3 β ,5 α -dihydroxy-6 β -acetoxy-phenylacetyloxy-ergosta-7,22-diene (14) แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Lu; et al. 2000: 67-73) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 11



6-isoprenylindole-3-carboxylic acid (12) 3 β ,5 α -dihydroxy-6 β -acetoxy-ergosta-7,22-diene (13) 3 β ,5 α -dihydroxy-6 β -acetoxy-phenylacetyloxy-ergosta-7,22-diene (14)

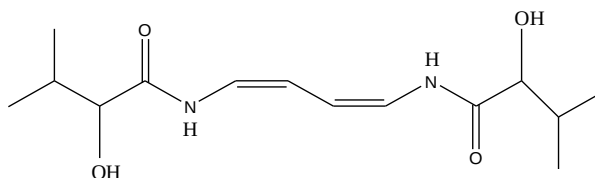
ภาพประกอบ 11 โครงสร้างทางเคมีของสาร 6-isoprenylindole-3-carboxylic acid (12) 3 β ,5 α -dihydroxy-6 β -acetoxy-ergosta-7,22-diene (13) 3 β ,5 α -dihydroxy-6 β -acetoxy-phenylacetyloxy-ergosta-7,22-diene (14)

2.1.8 ราเอนโดไฟต์ *Serratai marcescens* ที่แยกได้จากพืชน้ำพวก *Rhyncholacis penicillata* พบในแถบตะวันตกเฉียงใต้ของเวเนซุเอลา พบสาร Oocyadin A (15) ซึ่งเป็นสาร chlorinated macrocyclic lactone มีฤทธิ์ควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อโรคพืช (Strobel; et al. 1999: 3557-3564) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 12



ภาพประกอบ 12 โครงสร้างทางเคมีของสาร Oocyadin A (15)

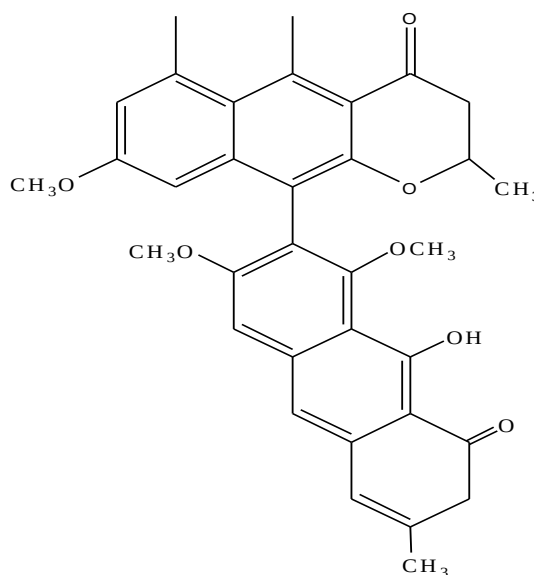
2.1.9 ราเอนโดไฟต์ *Phomopsis* sp. PSU-D15 ซึ่งสกัดจากใบของ *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz. สร้างสาร Phomoenamide (16) ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้าน *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra. ด้วยค่า MIC 6.25 µg/mL (Rukachaisirikul; et al. 2008: 783-787) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 13



Phomoenamide (16)

ภาพประกอบ 13 โครงสร้างทางเคมีของสาร Phomoenamide (16)

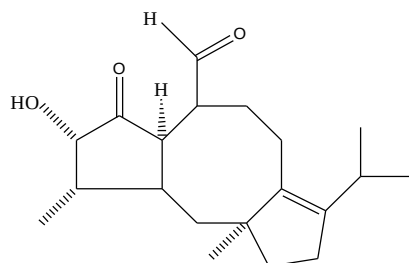
2.1.10 ราเอนโดไฟต์ *Aspergillus niger* จากพืช *Cyanodon dactylon* (L.) ผลิตสาร Aurasperone (17) แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Trycophyton rubrum* และ *Candida albicans* โดยให้ผลการยับยั้งได้เช่นเดียวกับสาร ketoconazole (Song; et al. 2004: 241) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 14



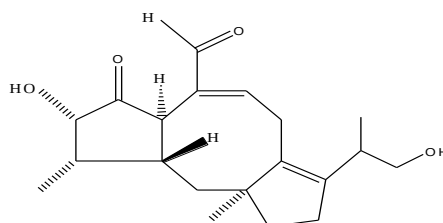
Aurasperone (17)

ภาพประกอบ 14 โครงสร้างทางเคมีของสาร Aurasperone (17)

2.1.11 ราเอนโดไฟต์ *Periconia* sp. จากเปลือกในของ *Texus cuspidate* ผลิตภัณฑ์ด้านแบคทีเรีย คือ Periconicin A (18) และ Periconicin B (19) แสดงฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* (Kim. 2004: 448-450) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 15



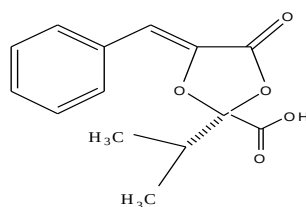
Periconicin A (18)



Periconicin B (19)

ภาพประกอบ 15 โครงสร้างทางเคมีของสาร Periconicin A (18) และ Periconicin B (19)

2.1.12 ราเอนโดไฟต์ *Guignardia* sp. ที่สกัดจากพืชสมุนไพร *Spondias mombin* ในประเทศบราซิล พบสาร Guignardic acid (20) ซึ่งแสดงฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย (Rodriguez-Heerkotz; et al. 2001: 3766) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 16



Guignardic acid (20)

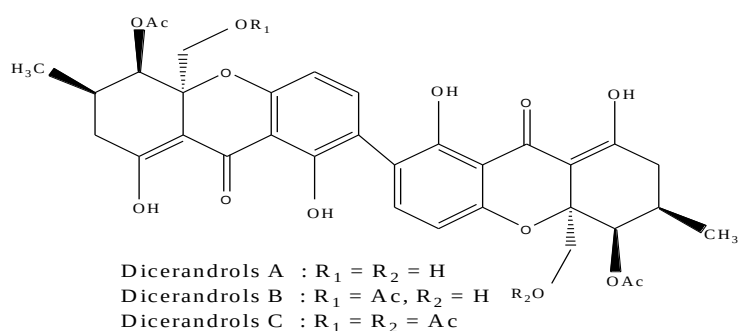
ภาพประกอบ 16 โครงสร้างทางเคมีของสาร Guignardic acid (20)

2.1.13 ราเอนโดไฟต์ *Phomopsis longicolla* ที่พบในพืช endangered mint (*Dicerandra frutescens*) พบสาร Dicerandrol A (21) Dicerandrol B (22) และ Dicerandrol C (23) ซึ่งแสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* นอกจากนี้ยังแสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ได้แก่ A549 (human lung tumor cell) และ HCT-116 (human colon tumor cell) ดังแสดงผลในตาราง 1 (Wagenaar & Clardy. 2001: 1006-1009) และมีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 17

ตาราง 1 แสดงผลการเป็นสารปฏิชีวนะและ Cytotoxic ของสาร Dicerandrols A ,B และ C

Compound	Zone of inhibition ^a (mm)		IC ₅₀ (µg/mL)	
	<i>B.subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	A549	HCT116
Dicerandrols A (21)	11.0	10.8	7.0	7.0
Dicerandrols B (22)	9.5	8.5	1.8	1.8
Dicerandrols C (23)	8.0	7.0	1.8	7.0

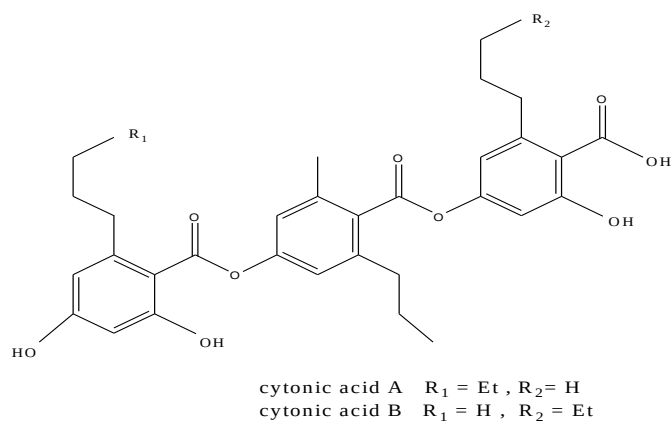
^a Zones of inhibition resulting from 300 µg/disk



Dicerandrols A – C (21) – (23)

ภาพประกอบ 17 โครงสร้างทางเคมีของสาร Dicerandrol A (21) Dicerandrol B (22) และ Dicerandrol C (23)

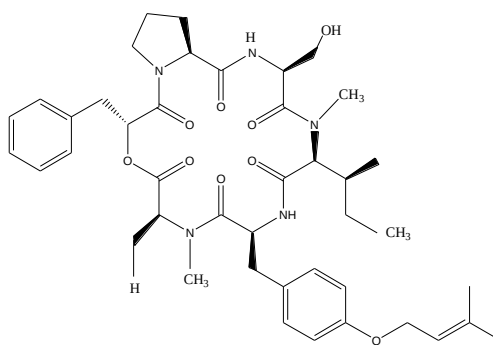
2.1.14 ราเอนโดไฟต์ *Cytospora* sp. สามารถผลิตสาร Cytonic acid A (24) และ Cytonic acid B (25) ซึ่งเป็น human cytomegalovirus (hCMV) protease inhibitor ซึ่งโครงสร้างสารได้รับการอธิบายว่าเป็น *p*-tridepside isomer โดยใช้ MS และ NMR ในการตรวจสอบ สารดังกล่าวแสดงฤทธิ์ในการต้านไวรัส (Guo; et al. 2000: 602-604) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 18



Cytonic acid A (24) และ Cytonic acid B (25)

ภาพประกอบ 18 โครงสร้างทางเคมีของสาร Cytonic acid A (24) และ Cytonic acid B (25)

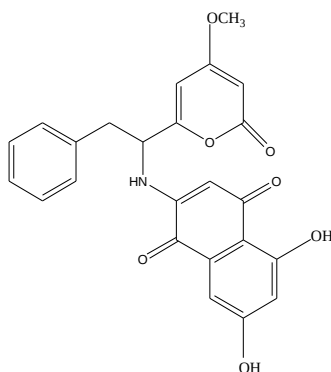
2.1.15 ราเอนโดไฟต์ *Pullularai* sp. BCC8613 ซึ่งแยกได้จากใบของ *Culophyllum* sp. ที่เก็บจากป่าในจังหวัดนราธิวาส พบสาร Pullularin A (26) เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์พบว่ามีฤทธิ์ต้านไวรัส ชนิด HSV-1 ด้วยค่า IC_{50} 3.3 $\mu g/mL$ และ ต้านมาลาเรีย ชนิด *Plasmodium falciparum* K1 ด้วยค่า IC_{50} 3.6 $\mu g/mL$ (Isaka; et al. 2007: 6855- 6860) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 19



Pullularin A (26)

ภาพประกอบ 19 โครงสร้างทางเคมีของสาร Pullularin A (26)

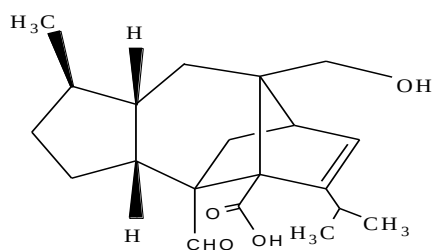
2.1.16 ราเอนโดไฟต์ *Aspergillus niger* EN-13 แยกได้จากเนื้อเยื่อสาหร่ายสีน้ำตาล *Colpomenia sinuosa* พบสารชนิดใหม่คือ 5,7-dihydroxy-2-[1-(4-methoxy-6-oxo-6H-pyran-2-yl)-2-phenylethylamino]-[1,4] naphthoquinone (27) ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Zhang. 2007: 951-953) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 20



5,7-dihydroxy-2-[1-(4-methoxy-6-oxo-6H-pyran-2-yl)-2-phenylethylamino]-[1,4]naphthoquinone] (27)

ภาพประกอบ 20 โครงสร้างทางเคมีของสาร 5,7-dihydroxy-2-[1-(4-methoxy-6-oxo-6H-pyran-2-yl)-2-phenylethylamino]-[1,4] naphthoquinone (27)

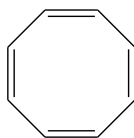
2.1.17 ราเอนโดไฟต์ *Xylaria* sp. PSU-D14 ที่เลี้ยงใน Potato dextrose agar (PDA) ให้สาร Sordaricin (28) ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิด *Candida albicans* ATCC90028 (CA28) ด้วยค่า MIC 32 µg/mL (Pongcharean; et al. 2008: 1900-1902) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 21



Sordaricin (28)

ภาพประกอบ 21 โครงสร้างทางเคมีของสาร Sordaricin (28) แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อราชนิด *Candida albicans* ATCC90028 (CA28)

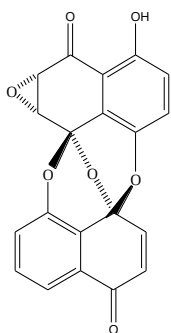
2.1.18 ราเอนโดไฟต์ *Glilotadium* sp. จากพืช *Eucryphia cordifolia* พบว่ามีสาร 1,3,5,7-cyclooctatetraene or (8)-annulene (29) แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Stinson, Ezra & Strobel. 2003: 913-922) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 22



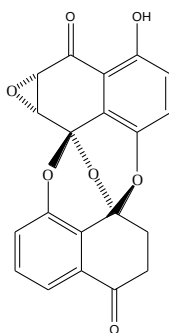
1,3,5,7 cyclooctatetraene or (8)-annulene (29)

ภาพประกอบ 22 โครงสร้างทางเคมีของสาร 1,3,5,7- cyclooctatetraene or (8)-annulene (29)

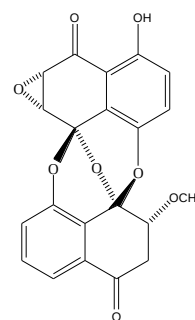
2.1.19 ราเอนโดไฟต์ *Mycelia sterile* จากพืช *Atropa belladonna* พบว่ามีสาร Preussomerin G (30) Preussomerin H (31) Preussomerin I (32) Preussomerin J (33) Preussomerin K (34) Preussomerin L (35) แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและเชื้อรา (Krohn; et al. 2001: 4343-4348) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 23



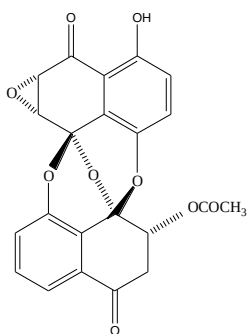
Preussomerin G (30)



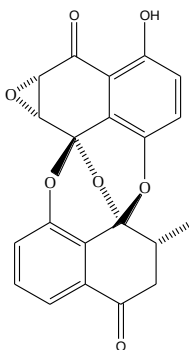
Preussomerin H (31)



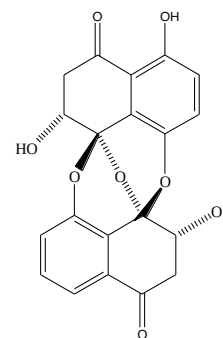
Preussomerin I (32)



Preussomerin J (33)



Preussomerin K (34)

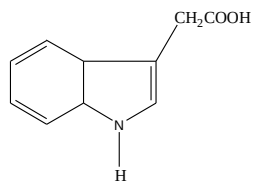


Preussomerin L (35)

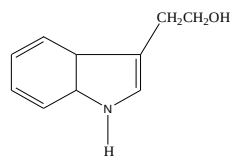
ภาพประกอบ 23 โครงสร้างทางเคมีของสาร Preussomerin G (30) Preussomerin H (31)

Preussomerin I (32) Preussomerin J (33) Preussomerin K (34) Preussomerin L (35)

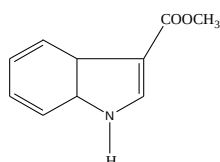
2.1.20 ราเอนโดไฟต์ *Epicole/ Neotyphodium* sp. จาก Grasses พบว่ามีสาร Indole-3-acetic acid (IAA) (36) Indole -3- ethanol (IEtOH) (37) Methylindole-3- carboxylate (38) Indole -3- carboxaldehyde (39) Diacetamide (40) และ Cyclonerodiol (41) แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Yue; et al. 2000: 4687–4692) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 24



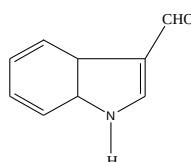
Indole - 3- acetic acid (IAA) (36)



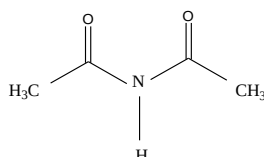
Indole - 3 - ethanol (IEtOH) (37)



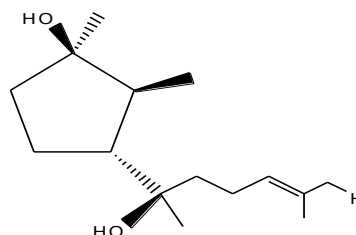
Methylindole - 3 - carboxylate (38)



Indole - 3 - carboxaldehyde (39)



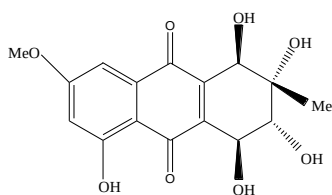
Diacetamide (40)



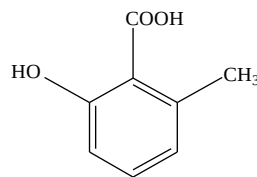
Cyclonerodiol (41)

ภาพประกอบ 24 โครงสร้างทางเคมีของสาร Indole-3-acetic acid (IAA) (36) Indole-3-ethanol (IEtOH) (37) Methylindole-3-carboxylate (38) Indole-3-carboxaldehyde (39) Diacetamide (40) และ Cyclonerodiol (41)

2.1.21 ราเอนโดไฟต์ *Phoma* sp. จากพืช *Taxus wallachiana* พบว่ามีสาร Altersolanol A (42) และ 2-hydroxyl-6-methyl benzoic acid (43) แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Yang; et al. 1994: 1-9) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 25



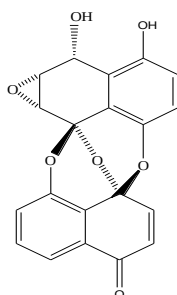
Altersolanol A (42)



2-hydroxy-6-methyl benzoic acid (43)

ภาพประกอบ 25 โครงสร้างทางเคมีของสาร Altersolanol A (42) 2-hydroxy-6-methylbenzoic acid (43)

2.1.22 ราเอนโดไฟต์ *Hormonema dematioides*. จาก Conifer wood พบว่ามีสาร Preussomerin D (44) แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อรา (Polishook; et al. 1993: 62-64) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 26



Preussomerin D (44)

ภาพประกอบ 26 โครงสร้างทางเคมีของสาร Preussomerin D (44)

2.2 สารที่มีฤทธิ์เป็นสารปฏิชีวนะระเหย

ราเอนโดไฟต์ *Muscodor albus* เป็นราเอนโดไฟต์ ชนิดใหม่ที่พบในต้น *Cinnamomum zelanicum* (cinnamon tree) (Worapong; et al. 2001: 67-79) เป็นราในตระกูล xylariaceae (ไม่สร้างสปอร์) สร้างสารประกอบไอระเหยในการฆ่าและยับยั้งเชื้อราอื่นๆ รวมทั้งแบคทีเรียด้วย สารประกอบไอระเหยที่สร้างได้แก่ สารประกอบเอสเทอร์ ซึ่งมีองค์ประกอบพวก isoamyl acetate พบว่าแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีที่สุด จึงใช้ *M. albus* เป็นต้นแบบในการสร้างสารปฏิชีวนะระเหยอื่นๆ (Ezra & Strobel. 2003: 1229-1238) การใช้ *M. albus* เป็นต้นแบบในการหาราเอนโดไฟต์ ชนิดอื่นๆ ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะระเหยมีความเป็นไปได้มาก ซึ่งเมื่อเร็วๆ นี้ได้มีการค้นพบ *M. roseus* จากต้นไม้ทางตอนเหนือของออสเตรเลีย ราชนิดนี้มีผลต่อการยับยั้งและฆ่าจุลินทรีย์ จากการทดลองในห้องปฏิบัติการได้เหมือน *M. albus* (Worapong; et al. 2002: 463-475) ใน

ตอนแรกการค้นพบสารปฏิชีวนะระเหยพบในพืชที่ไม่ใช่ตระกูล Muscodor เช่น *Gliocadium* sp. ซึ่งพบว่าสามารถผลิตสารปฏิชีวนะระเหยได้แต่มีประสิทธิภาพและครอบคลุมได้ไม่เท่า *Muscodor* sp. (Stinson, Ezra, & Strobel. 2003: 165:913-922)

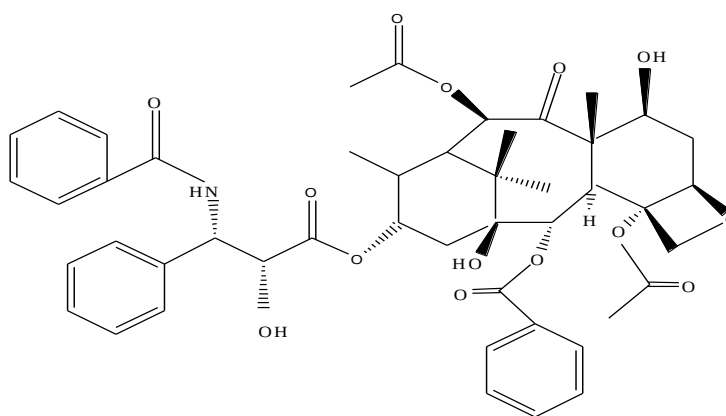
2.3 สารที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านมะเร็ง

2.3.1 Taxol (45) และสารอนุพันธ์ เป็นสารที่ผลิตจากราเอนโดไฟต์ และใช้ในการต้านมะเร็ง Taxol เป็นสารในกลุ่ม diterpenoid ที่พบในต้นไม้ตระกูลยิว (*Taxus*) ในตอนแรกได้มีการนำมารักษา มะเร็งปากมดลูกและมะเร็งทรวงอกแต่ในปัจจุบันสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อเหี่ยวแห้งตัวผิดปกติได้ดี สาร Taxol สกัดได้จากราเอนโดไฟต์ *Taxomyces andeanae* ซึ่งพบในต้น *Taxus brevifolia* (Strobel; et al. 1993: 71-78)

การศึกษา Taxol ที่แยกได้จาก *T. andeanae* โดยใช้ electrospray mass spectroscopy พบว่า Taxol ให้ 2 peak คือ m/z 854 $[M+H]^+$ และ m/z 876 $[M+Na]^+$ นี่เป็นจุดเริ่มต้นที่ทำให้เกิดการศึกษาราเอนโดไฟต์ที่พบได้โดยทั่วไปทั้งในพืชตระกูล *Taxus* และพืชอื่นๆ ได้แก่ *Pestalotiopsis* sp. (Li; et al. 1996: 2223-2226) ที่พบได้บ่อยที่สุดคือราเอนโดไฟต์ชนิด *Pestalotiopsis microspora* (Strobel. 2002: 315-333) จากการตรวจสอบ *Pestalotiopsis microspora* จากต้น *Taxus wallichiana* พบว่ามีสาร Taxol เช่นเดียวกัน (Strobel; et al. 1996: 435-440) นอกจากนี้ยังพบว่า *P. microspora* ที่แยกได้จากต้นไม้ใน แครโรไลนาได้ สามารถผลิต Taxol (Li; et al. 1996: 2223-2226) มีการสันนิษฐานกันว่าราเอนโดไฟต์ที่ผลิตสาร Taxol แพร่มาจาก อเมริกาตอนใต้และออสเตรเลีย มาจากไม้หายากที่ใกล้สูญพันธุ์ คือสน Wollemi (*Wollemia nobilis*) ซึ่งมีราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis guepini* ที่สามารถผลิตสาร Taxol ได้ (Strobel; et al. 1997) และมีการค้นพบว่าพืชในตระกูล rubiceous ได้แก่ *Maguireothamus speiosus* ซึ่งเป็นพืชที่พบในทางตอนใต้ของเวเนซุเอลา มีราเอนโดไฟต์ *Seimatoantlerium tepuiense* สามารถผลิตสาร Taxol ได้ (Strobel. 1999: 3557-3564) นอกจากนี้ยังพบใน *Periconia* sp. (Li; et al. 1998: 259-264) และ *Seimatoantlerium nepalense* (Bashyal; et al. 1999: 33-42) ซึ่งเป็นการยืนยันว่าสาร Taxol สามารถพบได้ในต้นไม้ทั่วไปไม่ได้จำกัดเฉพาะใน *Taxus* sp. เท่านั้น

ระบบนิเวศน์และลักษณะทางกายภาพถูกนำมาใช้อธิบายในเรื่องการแพร่กระจายของราที่สามารถผลิตสาร Taxol ได้ว่า สาร Taxol มีสมบัติในการเป็นสารฆ่าเชื้อราและกำจัดเชื้อโรคพืช เช่น *Phythium* sp. และ *Phytophthora* sp. (Young; et al. 1992: 882-885) ซึ่งพบว่าราเอนโดไฟต์มีการสร้างสาร Taxol เพื่อป้องกันพืชที่มันอาศัยจากการรุกรานของเชื้อโรคพืชเหล่านี้

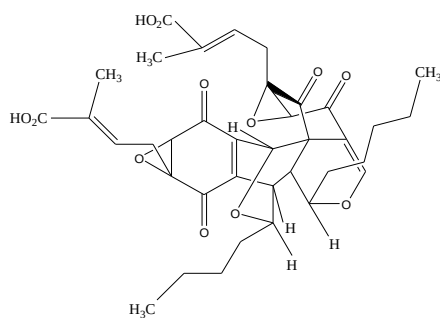
งานวิจัยอื่นๆ ที่มีการค้นคว้าการผลิตสาร Taxol จากราเอนโดไฟต์เช่น ราเอนโดไฟต์ *Tubercularai* sp. ที่แยกได้จาก Chinese yew (*Taxus mairei*) ที่พบในจังหวัดฟูเจียน ทางตะวันออกเฉียงใต้ของจีน (Wang; et al. 2000: 249-253) และราเอนโดไฟต์อีก 2 ชนิดที่แยกได้จากต้น *Taxus wallichiana* ที่สามารถผลิตสาร Taxol ได้ด้วยได้แก่ *Sporormia minima* และ *Trichothecium* sp. (Shrestha; et al. 2001: 374-376) จากการใช้ HPLC และ ESIMS ทำให้สามารถตรวจสอบได้ว่ามีสาร Taxol ในต้น *Corylus avellana* cv.Gasaway (Hoffman; et al. 1998: 22-32) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 27



Taxol (45)

ภาพประกอบ 27 โครงสร้างทางเคมีของสาร Taxol (45)

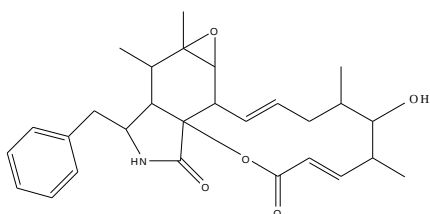
2.3.2 สาร Torreyanic acid (46) มีศักยภาพในการต้านมะเร็งแยกได้จากราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ *Pestalotiopsis microspora* ซึ่งแยกได้จากต้น *Torreya taxifolia* (Lee; et al. 1996: 3232-3233) สาร torreyanic acid (46) ถูกนำมาทดสอบกับเซลล์มะเร็งหลายครั้งและได้รับการอธิบายถึงประสิทธิภาพในความไวต่อ โปรตีนไคเนส C ซึ่งมีผลต่อการตายของเซลล์ ปัจจุบันสามารถสังเคราะห์ torreyanic acid (46) ได้สำเร็จจากการประยุกต์ทาง Biomimetic oxidation/dimerization (Li, Johnson & Porco. 2003: 5059-5106) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 28



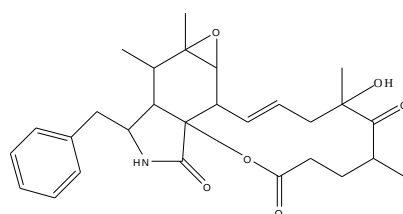
Torreyanic acid (46)

ภาพประกอบ 28 โครงสร้างทางเคมีของสาร Torreyanic acid (46)

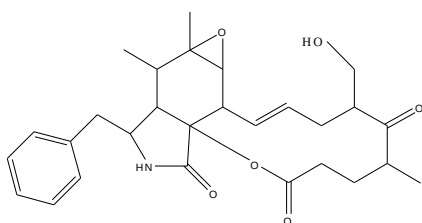
2.3.3 สารโครงสร้างขนาดใหญ่ที่เป็นที่รู้จักกันคือ Cytochalasin ที่พบได้โดยทั่วไปในราเอนโดไฟต์เช่น ในรากกลุ่ม Xylaria, Phoma, Hypoxylon และ Chalara สามารถผลิตสารที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นที่รู้จักกันกว่า 20 ชนิดในขณะนี้ หลายชนิดแสดงผลในการต้านมะเร็ง สารปฏิชีวนะ และมีฤทธิ์ยับยั้ง HIV-1 protease แต่ยังคงอยู่ในช่วงการทดลองระดับเซลล์ยังไม่ได้มีการพัฒนาไปสู่การเป็นยาเนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องความเป็นพิษต่อเซลล์ Cytochalasin ชนิดใหม่ที่ได้มาจากรา *Rhinoctadiella* sp. ซึ่งเป็นราเอนโดไฟต์ที่พบใน *Tripterygium wilfordii* (Wagenaar; et al. 2000: 1692-1695) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 29



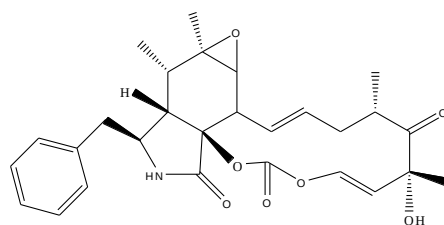
Cytochalasin 1 (47)



Cytochalasin 2 (48)



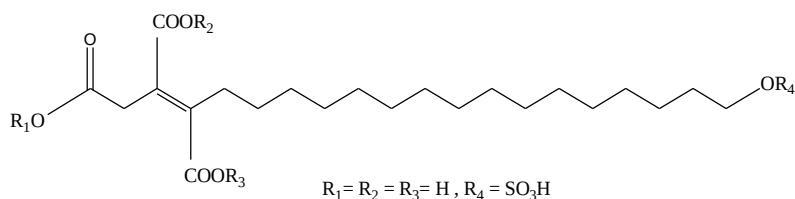
Cytochalasin 3 (49)



Cytochalasin E (50)

ภาพประกอบ 29 โครงสร้างทางเคมีของสาร cytochalasin 1, 2, 3 และ E (47) - (50)

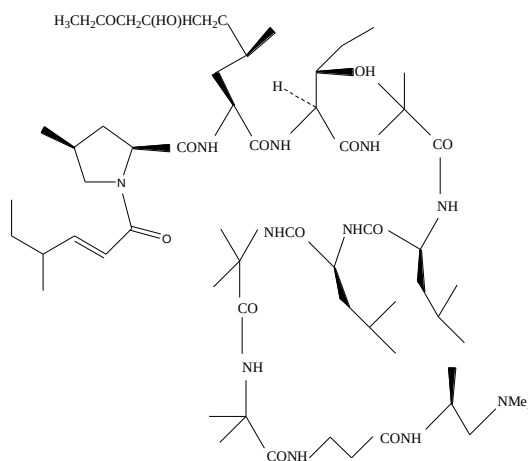
2.3.4 สาร Oreganic acid (51) ค้นพบในปี 1996 โดย Jayasuriya และคนอื่นๆ ซึ่งสาร Oreganic acid นี้เป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ RAS farnesyl – protein transferase (FPTase) ด้วยค่า IC_{50} 14 nM จากราเอนโดไฟต์ ซึ่งแยกได้จากใบของต้น *Berberis oregano* เป็นสารที่มีศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นสารต้านมะเร็งสำหรับเซลล์มะเร็งที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของ RAS มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 30



Oreganic acid (51)

ภาพประกอบ 30 โครงสร้างทางเคมีของสาร oreganic acid (51)

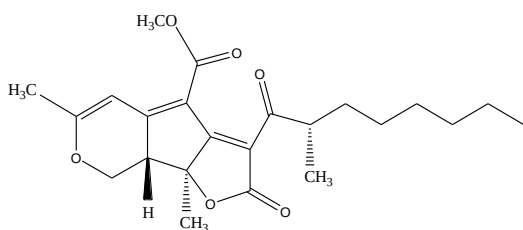
2.3.5 สาร Leucinostatin A (52) ค้นพบในปี 1997 โดย Strobel และคนอื่นๆ ได้พบว่าราเอนโดไฟต์จาก European yew (*Taxus baccata*) คือ *Acremonium* sp. สามารถสร้างสาร Leucinostatin A (52) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อราและต้านมะเร็ง มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 31



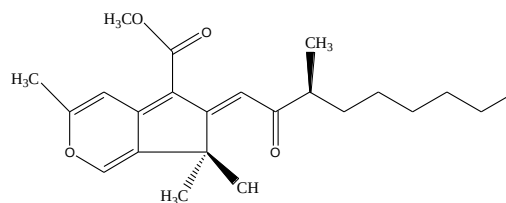
Leucinostatin A (52)

ภาพประกอบ 31 โครงสร้างทางเคมีของสาร Leucinostatin A (52)

2.3.6 สาร Sequoiatone ค้นพบในปี 1999 โดย Stierle และคนอื่นๆ ได้พบสารต้านมะเร็ง ชนิดใหม่คือสาร sequoiatone A (53) และ Sequoiatone B (54) จากราเอนโดไฟต์ *Aspergillus parasiticus* ซึ่งแยกได้จาก coast redwood (*Sequoia sempervirens*) แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมด้วยค่า GI_{50} (concentrations required inhibit growth by 50 %) ระหว่าง 4 และ 10 μM ด้วยค่า $LC_{50} > 100 \mu M$ มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 32



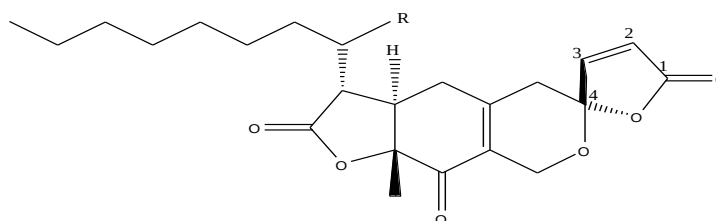
Sequoiatone A (53)



Sequoiatone B (54)

ภาพประกอบ 32 โครงสร้างทางเคมีของสาร sequoiatone A (53) และ Sequoiatone B (54)

2.3.7 สาร Sequiamonascin ค้นพบในปี 2003 โดย Strobel พบสารใหม่ที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งจากราเอนโดไฟต์ สายพันธุ์ *Aspergillus parasiticus* ซึ่งแยกได้จาก coast redwood (*Sequoia sempervirens*) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 33



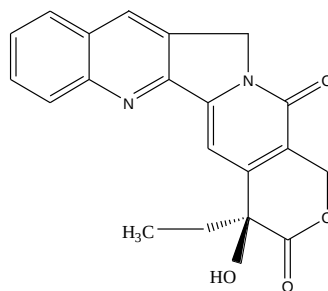
Sequiamonascin A (55) R = OH

Sequiamonascin B (56) C₄ = epimer of A

ภาพประกอบ 33 โครงสร้างทางเคมีของสาร Sequiamonascin A (55) และ

Sequiamonascin B (56)

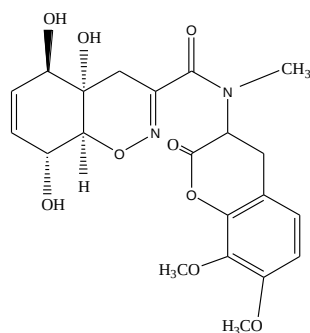
2.3.8 สาร Camptothecin (57) ค้นพบในปี 2005 โดย Puri และคนอื่นๆ พบว่าราเอนโดไฟต์ RJMEF001 ที่แยกได้จากเปลือกของพืช *Nothapodytes foetida* ผลิตสาร Camptothecin (57) ซึ่งเป็น anticancer lead compound ในการต้านเซลล์มะเร็งหลายชนิดเช่น มะเร็งปอด (A-549), มะเร็งตับ (HEP-2), มะเร็งรังไข่ (OVACAR-5) เช่นเดียวกับที่แยกได้จากพืช *Camptotheca acuminata* Dene และพืชในสกุล *Nothapodytes* อีกหลายชนิด มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 34



Camptothecin (57)

ภาพประกอบ 34 โครงสร้างทางเคมีของสาร Camptothecin (57)

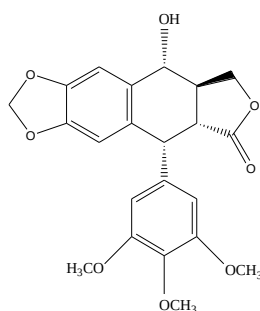
2.3.9 Trichodermamide C (58) ค้นพบในปี 2005 โดย Davis และคนอื่นๆ พบว่าราเอนโดไฟต์ *Eupenicillium* sp. จากเปลือกนอกของต้น *Glochidion ferdnandi* ในประเทศออสเตรเลีย ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HCT 116) และ เซลล์มะเร็งตับ (A 549) ในมนุษย์ด้วยค่า IC_{50} 0.68 และ 4.28 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 35



. Trichodermamide C (58)

ภาพประกอบ 35 โครงสร้างทางเคมีของสาร Trichodermamide C (58)

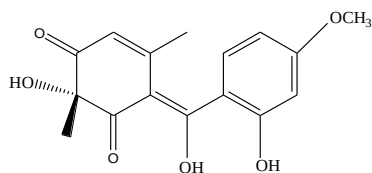
2.3.10 สาร Podophyllotoxin (59) ค้นพบในปี 2006 Eyeberger และคนอื่นๆ ได้รายงานการค้นพบสาร Podophyllotoxin (59) จากราเอนโดไฟต์ *Trametes hirsute* ซึ่งแยกได้จากรากของต้น *Podophyllum hexandrum* และ ราเอนโดไฟต์ *Phialocephala fortinii* ซึ่งแยกได้จากต้น *Podophyllum peltatum* L. สาร Podophyllotoxin เป็นสารสำคัญที่เป็น precursor ของยาต้านมะเร็ง etoposide , teniposide และ etoposide phosphate มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 36



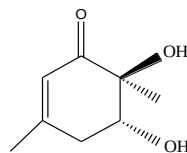
Podophyllotoxin (59)

ภาพประกอบ 36 โครงสร้างทางเคมีของสาร Podophyllotoxin (59)

2.3.11 สาร Penicillenone (60) ค้นพบในปี 2007 Lin และคนอื่นๆ ได้ศึกษาสารสกัดจากราเอนโดไฟต์ *Penicillium* sp. JP-1 จากเปลือกในของต้น mangrove tree (*Aegiceras conicullatum*) พบสารที่แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งที่สำคัญ 2 ชนิดคือสาร Penicillenone (60) แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง P388 ด้วยค่า IC_{50} 1.38 $\mu\text{g/mL}$ และสาร Leptosphaerone C (61) แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง A-549 ด้วยค่า IC_{50} 1.45 $\mu\text{g/mL}$ มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 37



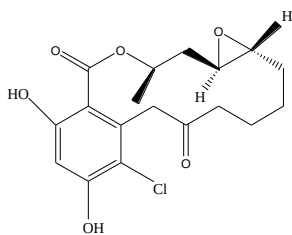
Penicillenone (60)



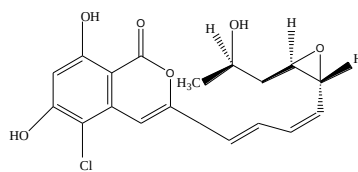
Leptosphaerone C (61)

ภาพประกอบ 37 โครงสร้างทางเคมีของสาร Penicillenone (60) และ Leptosphaerone C (61)

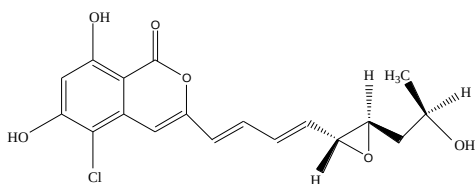
2.3.12 ราเอนโดไฟต์ *Chaetomium chiversii* จากเนื้อเยื่อบนลำต้น Mormon tea (*Ephedra fasciculate* A. Nels.) ผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ได้แก่ Radicol (62) (Turbyville; et al. 2006: 178-184) Chaetochiversin A (63), Chaetochiversin B (64), Eugenetin (65), 6-methoxymethyleugenin (66) และ 6-hydroxymethyleugenin (67) (Wijeratne; et al. 2006: 8439 – 8446) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 38



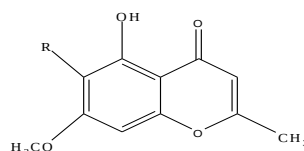
Radicol (62)



Chaetochiversin A (63)

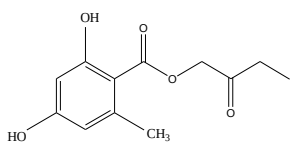


Chaetochiversin B (64)

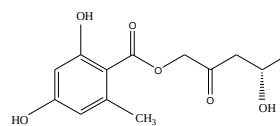
R = CH₃ ; Eugenetin (65)R = CH₂OCH₃ ; 6 - methoxymethyleugenin (66)R = CH₂OH ; 6 - hydroxymethyleugenin (67)

ภาพประกอบ 38 โครงสร้างทางเคมีของสาร Radicol (62) Chaetochiversin A (63), Chaetochiversin B (64), Eugenetin (65), 6-methoxymethyleugenin (66) และ 6-hydroxymethyleugenin (67)

2.3.13 สาร Globosumones A (68) และ B (69) สร้างจากราเอนโดไฟต์ *Chaetomium globosum* จากเนื้อเยื่อบนลำต้น Mormon tea (*Ephedra fasciculata* A. Nels.) แสดงผลในการยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด NCI-H460 (ปอด), MCF-7 (เต้านม), SF-268 (สมอง), MIAPaCa-2 (ตับ) และ fibroblast cell (WI-38) (Bashyal; et al. 2005: 724- 728) แสดงผลในตาราง 2 และมีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 39



Globosumones A (68)



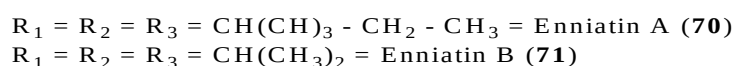
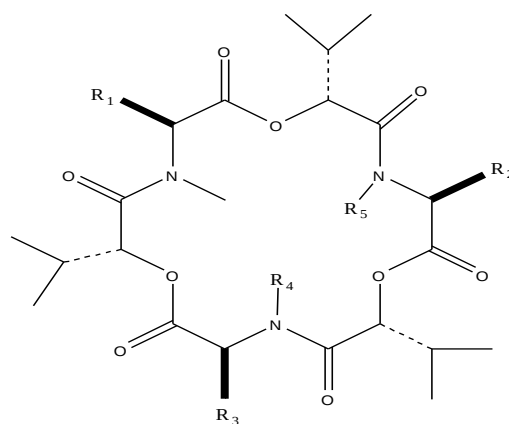
Globosumones B (69)

ภาพประกอบ 39 โครงสร้างทางเคมีของสาร Globosumones A (68) และ B (69)

ตาราง 2 การต้านเซลล์มะเร็ง ของสารประกอบ Globosumones A (68) และ B (69) ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H460), มะเร็งเต้านม (MCF-7), มะเร็งสมอง (SF-268), มะเร็งตับ (MIA Pa Ca-2) และ fibroblast cells (WI-38)

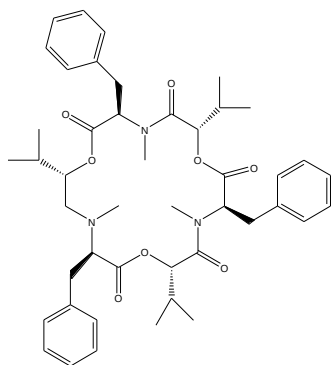
Compound	Cytotoxicity, IC ₅₀ (µg/mL)				
	NCI – H460	MCF - 7	SF - 268	MIA PaCa - 2	WI- 38
Globosumone A (68)	6.50	21.30	8.80	10.60	13.00
Globosumone B (69)	24.80	21.90	29.10	30.20	14.20

2.3.14 สาร Enniatins A (70) และ B (71) จากราเอนโดไฟต์ *Fusarium acuminatum* จากเนื้อเยื่อส่วนรากของต้น creosote bush (*Larrea tridentata*) แสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิด NCI-H460 (มะเร็งปอด), MCF-7 (มะเร็งเต้านม), SF-268 (มะเร็งสมอง, MIAPaCa-2 (มะเร็งตับ), fibroblast cell (WI-38) (Bashyal; et al. 2005: 33-42) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 40

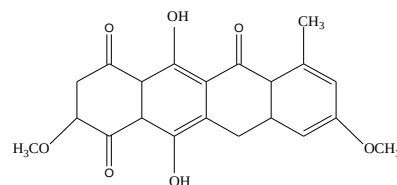


ภาพประกอบ 40 โครงสร้างทางเคมีของสาร Enniatins A (70) และ B (71)

2.3.15 ราเอนโดไฟต์ *Fusarium oxysporum* จากเนื้อเยื่อส่วนรากของ Mormon tea (*Ephedra fasciculata* A. Nels.) และเนื้อเยื่อในส่วนลำต้น Silver cholla (*Cylindropuntia echinocarpus*) ผลิตสาร Beauvericin (72) แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H460) และสาร Bikaverin (73) แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งตับ (MIAPaCa-2) (Meade –Tollin; et al. 2004: 2-4) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 41



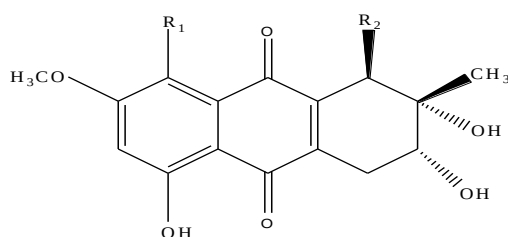
Beauvericin (72)



Bikaverin (73)

ภาพประกอบ 41 โครงสร้างทางเคมีของสาร Beauvericin (72) และสาร Bikaverin (73)

2.3.16 ราเอนโดไฟต์ *Pleospora* sp. IFBE006 จาก ส่วนต้นของ *Imperata cylindrical* (Gramineae) สร้างสารที่สำคัญหลายชนิดได้แก่ Deoxybostrycin (74) Altersolanol B (75) และ Dactylariol (76) สามารถแสดงฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (SW116) ด้วยค่า IC_{50} 5.8, 3.3 และ 0.8 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ และ leukemia (K562) ด้วยค่า IC_{50} 3.1, 3.7 และ 1.3 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ (Ge, Song, & Tan, 2005: 1063-1065) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 42

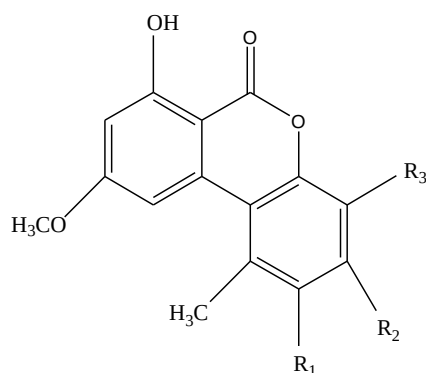


- (74) $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$
 (75) $R_1 = R_2 = \text{H}$
 (76) $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$

ภาพประกอบ 42 โครงสร้างทางเคมีของสาร Deoxybostrycin (74) Altersolanol B (75)
 Dactylariol (76)

2.3.17 ราเอนโดไฟต์ *Cephalosporium acremonium* IFB-E007 จากส่วนรากของ

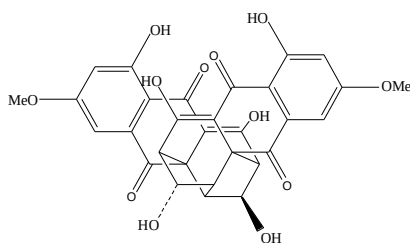
Trachelomum jasminoides (LINCL.) LEM. สร้างสาร graphislactone G (77) graphislactone H (78) graphislactone A (79) และ alternariol monomethyl ether (80) ซึ่งแสดงฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็ง SW116 ด้วยค่า IC_{50} 21, 12, 8.5 และ 14 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ (Zhang; et al. 2005: 2861-2864) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 43



- (77) $R_1 = \text{Cl}, R_2 = \text{OMe}, R_3 = \text{H}$
 (78) $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OMe}, R_3 = \text{OMe}$
 (79) $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OMe}, R_3 = \text{OH}$
 (80) $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$

ภาพประกอบ 43 โครงสร้างทางเคมีของสาร graphislactone G (77) graphislactone H (78) graphislactone A (79) และ alternariol monomethyl ether (80)

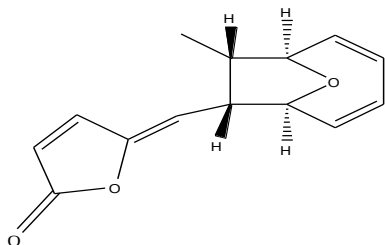
2.3.18 ราเอนโดไฟต์ *Cryptospora* sp. CR200 จากต้น *Conocarpus erecta* สร้างสาร Cytoskyrins A (81) ซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีศักยภาพเป็นสารต้านมะเร็ง แสดงฤทธิ์ biochemical induction assay activity 12.5 ng ใน standard BIA (Brady; et al. 2000: 4047-4049) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 44



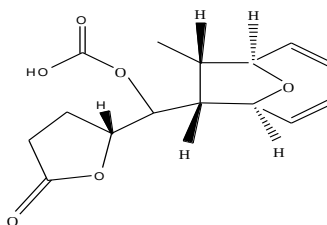
Cytoskyrins A (81)

ภาพประกอบ 44 โครงสร้างทางเคมีของสาร Cytoskyrins A (81)

2.3.19 ราเอนโดไฟต์ No. 1893 จากพืช *Kandelia candel* สร้างสาร Lactone 1893 A (82) และ Lactone 1893 B (83) ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (Chen; et al. 2003: 4907- 4909) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 45



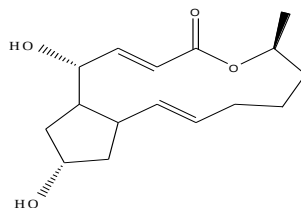
Lactone 1893 A (82)



Lactone 1893 B (83)

ภาพประกอบ 45 โครงสร้างทางเคมีของสาร Lactone 1893 A (82) และ Lactone 1893 B (83)

2.3.20 ราเอนโดไฟต์ *Paecilomyces* sp. และ *Aspergillus clavatus* จากพืช *Taxus mairei* และ *Torreya grandis* พบว่ามีสาร Brefeldin A (84) แสดงฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (Wang; et al. 2002: 51-57) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 46

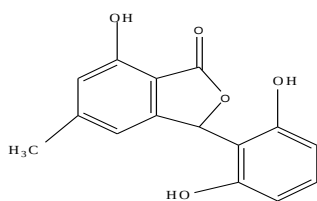


Brefeldin A (84)

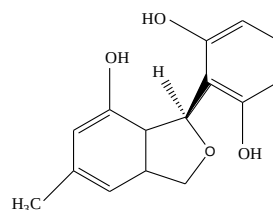
ภาพประกอบ 46 โครงสร้างทางเคมีของสาร Brefeldin A (84)

2.4 สารที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

สาร isopestacin (85) และ pestacin (86) แยกได้จากราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis microspora* จากพืชตระกูล combetaceae คือต้น *Terminalia morobensis* แสดงฤทธิ์ในการเป็นสารปฏิชีวนะได้ดีเท่ากับการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Strobel; et al. 2002: 315-333; Haper; et al. 2003: 2471-2476) และพบว่า Pestacin (86) มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่า trolox หรืออนุพันธ์ของวิตามิน E (Haper; et al. 2003: 2471-2476) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 47



Isopestacin (85)



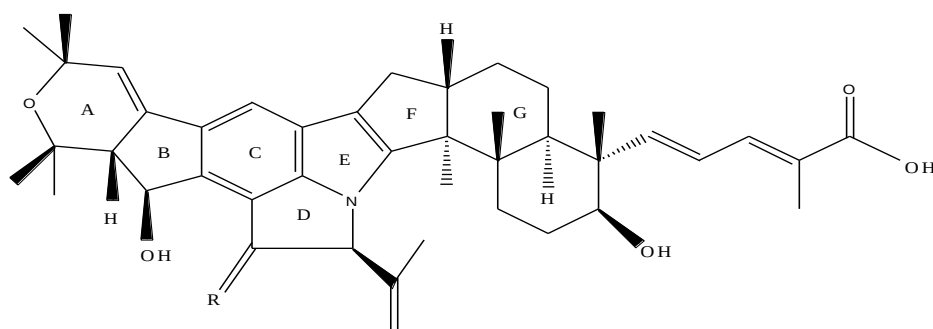
Pestacin (86)

ภาพประกอบ 47 โครงสร้างทางเคมีของสาร Isopestacin (85) และ Pestacin (86)

2.5 สารที่มีฤทธิ์เป็นสารฆ่าแมลงและเชื้อโรคพืช

สารฆ่าแมลงทางธรรมชาติเป็นเพียงกลุ่มย่อยของสารฆ่าแมลง แต่กำลังเป็นที่ต้องการของตลาดเพิ่มมากขึ้น (Demain, 2000: 13-16) พบว่าราเอนโดไฟต์หลายชนิดมีคุณสมบัติสามารถต้านแมลง

2.5.1 สาร Nodulisporic acid A (87) และ Nodulisporic acid B (88) เป็นสาร indole diterpene ที่ค้นพบใหม่ ซึ่งแยกได้จากราเอนโดไฟต์ *Noduliporium* sp. จากต้น *Bontia daphnoide* มีคุณสมบัติในการกำจัดตัวอ่อนของแมลงโดยการไปกระตุ้นช่องทางการลำเลียงสาร (glutamate – gate chlorine channel) ของแมลง (Bills; et al. 2002: 2471-2476) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 48



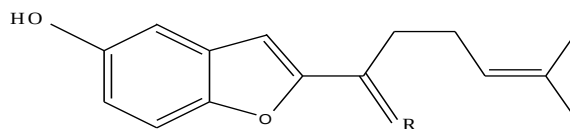
R = O , Nodulisporic acid A (87)

R = H₂ , Nodulisporic acid B (88)

ภาพประกอบ 48 โครงสร้างทางเคมีของสาร Nodulisporic acid A (87) และ Nodulisporic acid B (88)

2.5.2 สารพิษต่อแมลงที่ได้จากราเอนโดไฟต์จากต้น wintergreen (*Gaultheria procumbens*) คือ 5-hydroxy-2-(1'-oxo-5'-methyl-4'-hexenyl) benzofuran (89) และ 5-hydroxy-2-(1'-hydroxy-5'-methyl-4'-hexenyl)benzofuran (90) ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดแสดงฤทธิ์ในการเป็นพิษต่อหนอน และตัวอ่อนของแมลง (Findlay; et al. 1997: 1214-1215) นอกจากนี้ราเอนโดไฟต์

Muscodor vitigenus ที่แยกได้จากพืช liana (*Pullina paullinoides*) สามารถให้สาร Naphthalene ซึ่งเป็นส่วนประกอบในลูกเหม็นที่ใช้ในการขับไล่แมลง สามารถช่วยไล่แมลงในต้นข้าวสาลี (*Cephus cintus*) (Daisy, Strobel, & Runyon, 2002: 3737-3741) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 49

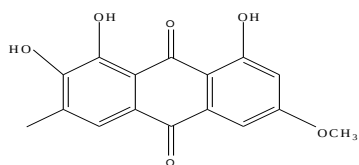


(89) R = O

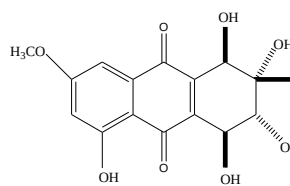
(90) R = OH, H

ภาพประกอบ 49 โครงสร้างทางเคมีของ สารประกอบชนิดใหม่ 5-hydroxy-2-(1'-oxo-5'-methyl-4'-hexenyl) benzofuran (89) และ 5-hydroxyl-2-(1'-hydroxy-5'-methyl-4'-hexenyl) benzofuran (90)

2.5.3 ราเอนโดไฟต์ *Ampelomyces* sp. จากดอก *Urospermum picroides* ซึ่งเป็นไม้ดอกพื้นเมืองแถบ Mediteranean ซึ่งก่อนหน้านี้มีการค้นพบว่าแสดงฤทธิ์ด้านการอักเสบ ผลิตสาร 3-O-methylalaternin (91) และ สาร altersalanol A (92) ที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อเชื้อโรคพืชพวก *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* และ *Enterococcus faecalis* ด้วยค่า MIC 12.5 µg/mL และ 12.5 – 25 µg/mL ตามลำดับ (Aly; et al. 2008: 1716-1725) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 50



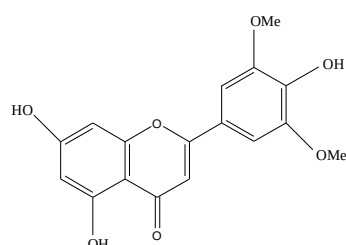
3-O-methylalaternin (91)



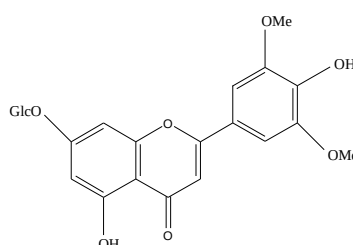
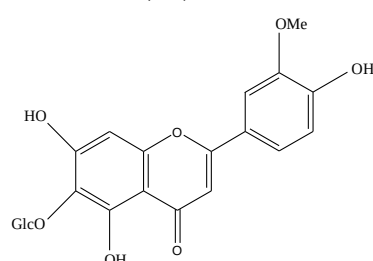
altersalanol A (92)

ภาพประกอบ 50 โครงสร้างทางเคมีของสาร 3-O-methylalaternin (91)และสาร altersalanol A (92)

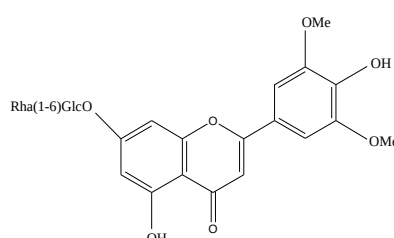
2.5.4 ราเอนโดไฟต์ *Neotyphodium typhonium* จากพืช *Poa ampla* สร้างสาร Tricin (93) 7-O-(β -D-glucopyranosyl) tricin (94) soorientin (95) 7-O-[- α -L-Rhamnopyranosyl (1-6)- β -D-glucopyranosyl] tricin (96) ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านแมลง (Ju, Sacallis & Still. 1998: 3785-3788) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 51



Tricin (93)

7-O-(β -D-glucopyranosyl) tricin (94)

soorientin (95)

7-O-[- α -L-Rhamnopyranosyl
(1-6)- β -D-glucopyranosyl] tricin (96)

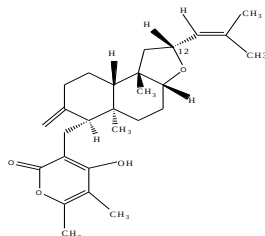
ภาพประกอบ 51 โครงสร้างทางเคมีของสาร Tricin (93) 7-O-(β -D-glucopyranosyl) tricin (94) soorientin (95) 7-O-[- α -L-Rhamnopyranosyl (1-6)- β -D-glucopyranosyl] tricin (96)

2.6 สารที่มีฤทธิ์เป็นสารป้องกันโรคเหาหวาน

สารทุติยภูมิ (L-783, 281) ที่ได้จากราเอนโดไฟต์ *Pseudomassaria* sp. ซึ่งเก็บจากป่าฝนในแอฟริกาแถบประเทศ Congo (Zhang, et al. 1999: 974-981) แสดงผลใกล้เคียงกับอินซูลิน แต่ไม่เหมือน อินซูลิน ตรงที่ไม่ถูกทำลายในระบบย่อยอาหารและสามารถให้ทางปากได้ จากการทดลองให้สาร L-783, 281 ทางปากกับหนู 2 ตัวที่มีอาการของโรคเบาหวานพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญซึ่งการทดลองนี้อาจนำไปสู่การรักษาโรคเบาหวานแบบใหม่ (Bensky & Gamble. 1993)

2.7 สารที่มีฤทธิ์เป็นสารกดภูมิคุ้มกัน

ราเอนโดไฟต์ *Fusarium subglutinols* ที่แยกได้จากต้น *Texus wilfordii* สามารถผลิตสารกดภูมิคุ้มกันคือสาร Subglutinol A (97) และ B (98) (Lee; et al. 1995: 721-727) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 52

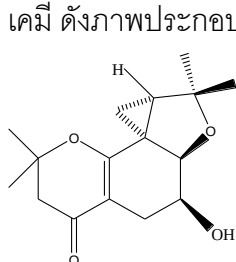


(97) Subglutinol A - 12 S
(98) Subglutinol B - 12 R

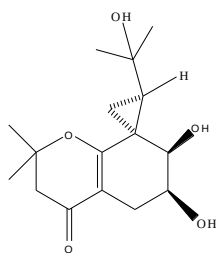
ภาพประกอบ 52 โครงสร้างทางเคมีของ Subglutinol A (97) และ B (98)

2.8 สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ HIV

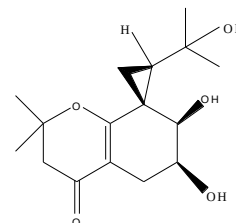
ราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis fici* สร้างสาร Pestaloficiols A, B และ D (99) - (101) ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งเชื้อ HIV ใน C 8116 cell (Liu; et al. 2008: 6021-6026) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 53



Pestaloficiol A (99)



Pestaloficiol B (100)

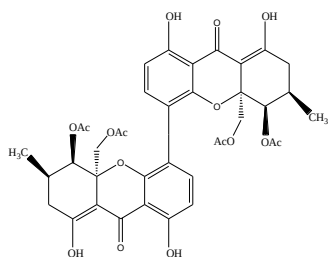


Pestaloficiol D (101)

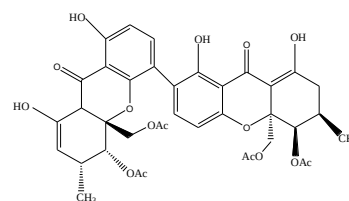
ภาพประกอบ 53 โครงสร้างทางเคมีของสาร Pestaloficiols A, B และ D (99) - (101)

2.9 สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย

2.9.1 ราเอนโดไฟต์ *Phomopsis* sp. BCC1323 สร้างสาร Phomoxanthone A (102) และ Phomoxanthone B (103) แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Plasmodium falciparum* (K₁, multi drug resistant strain) และ *Mycobacterium tuberculosis* (H37Ra strain) ดังแสดงในตาราง 3 นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง KB, BC-1 และ Vero cell (Isaka; et al. 2001: 1015-1018.) ดังตาราง 3 และมีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 54



Phomoxanthone A (102)



Phomoxanthone B (103)

ภาพประกอบ 54 โครงสร้างทางเคมีของสาร สาร Phomoxanthone A (102) และ B (103)

ตาราง 3 การต้านเชื้อมาลาเรียและต้านเซลล์มะเร็ง ของสาร Phomoxanthone A (102) และ B (103)

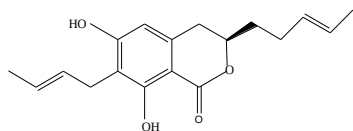
Compound	Antimalarial	Antitubercular	Cytotoxic (IC ₅₀ , µg/mL) ^c		
	activity	activity			
	(IC ₅₀ , µg/mL) ^a	(MIC, µg/mL) ^b			
	<i>P.falciparum</i> K ₁	<i>M.tuberculosis</i> H37Ra	KB cell	BC-1 cell	Vero cell
Phomoxanthone A (102)	0.11	0.50	0.99	0.51	1.40
Phomoxanthone B (103)	0.33	6.50	4.10	0.70	1.80

^a The IC₅₀ value of the standard antimalarial compound, chloroquine diphosphate and artemisinin, are 0.16 and 0.0011 µg /mL, respectively

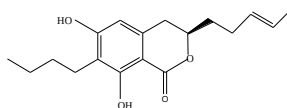
^b The MIC value of the antituberculosis, isoniazide and kanamycin sulfate, are 0.050 and 2.5 µg /mL, respectively

^c The IC₅₀ value of the standard compound, ellipticine, are 0.46 µg /mL for KB cell and 0.60 µg /mL for BC-1 cell

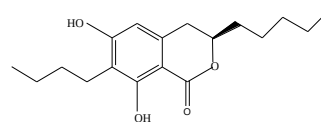
2.9.2 ราเอนโดไฟต์ *Geotrichum* sp. จากพืช *Crassocephalum crepidioides* สร้างสาร 7-Butyl-6,8-dihydroxy-3*R*-pent-11-enylisochroman-1-one(104) 7-Butyl-15-enyl-6,8-dihydroxy-3(*R*)-pent-11-enylisochroman-1-one (105) 7-Butyl-6,8-dihydroxy-3(*R*)-pentylisochroman-1-one (106) แสดงฤทธิ์ในการต้านมาลาเรีย (Kongsaree; et al. 2003: 709-711) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 55



(104)



(105)

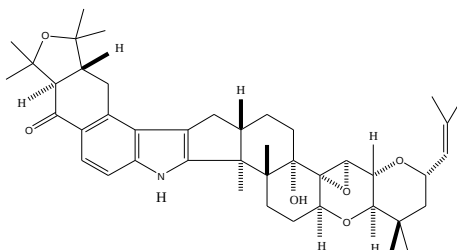


(106)

ภาพประกอบ 55 โครงสร้างทางเคมีของสาร 7-Butyl-6,8- dihydroxy-3(R)-pent-11-enylisochroman-1-one (104) 7-Butyl-15-enyl-6,8-dihydroxy-3(R)-pent-11-enylisochroman-1-one (105) 7-Butyl-6,8-dihydroxy-3(R)-pentylisochroman-1-one (106)

2.10 สารที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท (Neurotoxin)

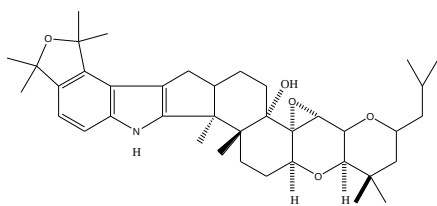
2.10.1 ราเอนโดไฟต์ *Acremonium lolii* จากพืช *Lolium perenne* ผลิตสาร Lolitrem B (107) แสดงฤทธิ์ต่อระบบประสาท (Berny; et al. 1997: 343-348) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 56



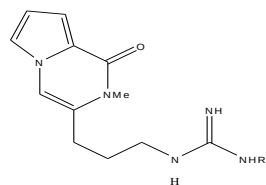
Lolitrem B (107)

ภาพประกอบ 56 โครงสร้างทางเคมีของสาร Lolitrem B (107)

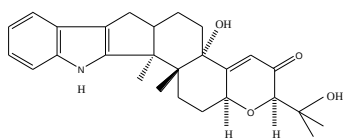
2.10.2 ราเอนโดไฟต์ *Acremonium lolii* จากพืช *Lolium perenne* ผลิตสาร Lolitrem C (108) Peramine (109) Diacetylperamine (110) Paxilline (111) Loline alkaloid (112) Ergovaline (113) แสดงฤทธิ์ต่อระบบประสาท และ ยับยั้งการกักกินของแมลง (Rowan. 1993: 103-122) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 57



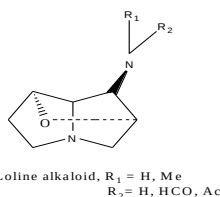
Lolitre C (108)

Peramine (109) R= H
Diacetylperamine (110) R= Ac

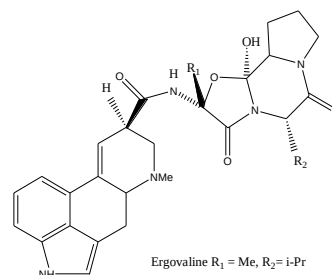
Peramine (109) และ Diacetylperamine (110)



Paxilline (111)

Loline alkaloid, R₁ = H, Me
R₂ = H, HCO, Ac

Loline alkaloid (112)

Ergovaline R₁ = Me, R₂ = i-Pr

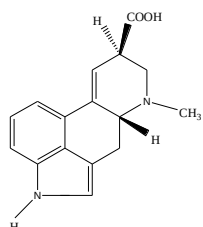
Ergovaline (113)

ภาพประกอบ 57 โครงสร้างทางเคมีของ Lolitre C (108) Peramine (109)

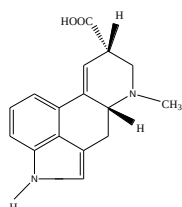
Diacetylperamine (110) Paxilline (111) Loline alkaloid (112) Ergovaline (113)

2.11 สารที่แสดงฤทธิ์เป็นพิษ (Toxin)

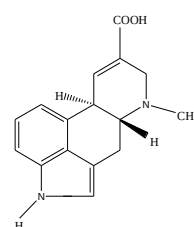
ราเอนโดไฟต์ *Acremonium coenophialun* จากพืช *Festuca arundinacea* ผลิตสาร Lysergic acid (114) Isoysergic acid (115) Pospalic acid (116) Lysergol (117) Lysergic acid amide (118) Lysergic acid diethylamide (119) Lycergic-2- propanolamide or (Ergonovine) (120) แสดงฤทธิ์เป็นพิษ (Rowan; et al. 1993: 103-122) มีโครงสร้างทางเคมี ดังภาพประกอบ 58



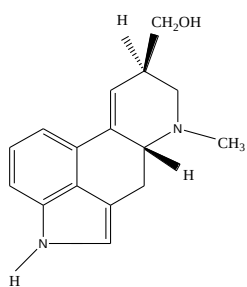
Lysergic acid (114)



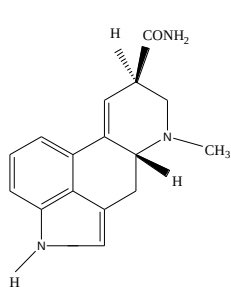
Isoysergic acid (115)



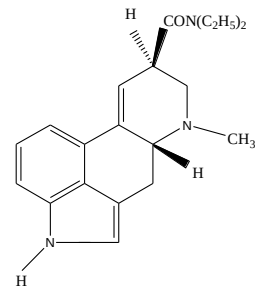
Pospalic acid (116)



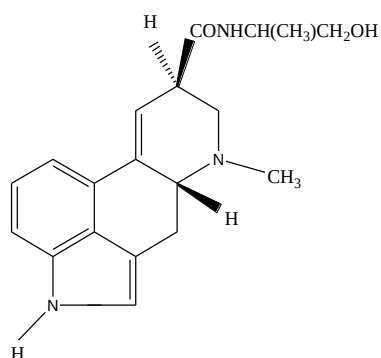
Lysergol (117)



Lysergic acid amide (118)



Lysergic acid diethylamide (119)



Lycergic-2- propanolamide or (Ergonovine) (120)

ภาพประกอบ 58 โครงสร้างทางเคมีของ Lysergic acid (114) Isoysergic acid (115) Pospalic acid (116) Lysergol (117) Lysergic acid amide (118) Lysergic acid diethylamide (119) Lycergic – 2- propanolamide or (Ergonovine) (120) แสดงฤทธิ์เป็นพิษ

โสมภูเขา

ชื่อพื้นเมือง โสมคน ว่านผักปัง โสมไทย

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Talinum paniculata* (Jacq.) Gaertn.

วงศ์ PORTULACACEAE

ชื่อสามัญ -

แหล่งที่พบ พบทั่วไปทุกภาค ตามป่าโปร่ง ไร่นาทั่วไป

นิเวศวิทยา

โสมภูเขา เป็นพืชปีเดียว ลำต้นกลมตั้งแฉ่ติดดิน สูงประมาณ 60 เซนติเมตร มักพบในที่ชุ่มชื้น บริเวณใต้ต้นไม้ใหญ่ ตามไร่นา บ้านเรือน เมื่อพบกับสภาวะแห้งแล้ง ลำต้นจะล้ม แต่จะมีหัวอยู่ เมื่อได้รับความชุ่มชื้นเพียงพอจะแตกลำต้นขึ้นมาใหม่ รวมทั้งลำต้นที่ล้มอยู่สามารถจะแตกราก ใบ เจริญเติบโตขึ้นใหม่ได้

การออกดอก โสมภูเขา จะมีดอกออกได้ตลอดปีถ้ามีความชุ่มชื้นเพียงพอ

การขยายพันธุ์ เมล็ด ปักชำ ต้นที่เจริญจากเมล็ดเท่านั้นจึงจะมีรากแก้ว สำหรับต้นที่เจริญจากลำต้นจะมีเฉพาะรากฝอย

ประโยชน์ของโสมภูเขา

1. ใช้เป็นอาหาร โดยใช้ส่วนของยอด ใบอ่อน ลำต้น ช่อดอก ในการประกอบอาหารชนิดต่างๆ นำ ยอด ใบ ลำต้น ช่อดอก มาปรุงเป็นอาหาร เช่น แกงจืด ผัด ขนมบัวลอย ขนมทองพับ ข้าวเกรียบปากหม้อ ข้าวเกรียบจากใบโสมภูเขา
2. ใช้เป็นสมุนไพร มีสรรพคุณคือใบขับน้ำนม แก้บวม อักเสบ มีหนอง รากบำรุงม้าม ปอด แก้ไอ ไอเป็นเลือด ท้องเสีย วิงเวียนศีรษะ มีไข้ ประจำเดือนผิดปกติ ร่างกายอ่อนเพลียจากการทำงานหนัก หรือหลังฟื้นไข้ รากที่ขูดผิวของราก และทำความสะอาดแล้ว นำมาดองกับสุราขาวหรือสุราพื้นบ้าน ทิ้งไว้ 1 วันขึ้นไปจึงจะรินเอาเฉพาะน้ำสุรามารับประทาน ช่วยบรรเทาอาการอ่อนเพลียของร่างกาย และมีตัวยาในการรักษาโรค
3. ปลูกเป็นไม้ประดับ เนื่องจากมีลักษณะต้นและใบเขียวชุ่ม ดอกสีม่วงสวยงาม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ราก

มีรากแก้วรอบใหญ่แตกแขนง คล้ายรากโสมเกาหลี เปลือกนอกสีน้ำตาล เมื่อขูดที่ผิวของรากสักครู่ จะพบว่า บริเวณที่ขูดจะเป็นสีแดง รากแก้วมีความเหนียว มีกลิ่นฉุนเล็กน้อย เมื่อนำไปทดสอบทางเคมีจะพบแป้งสะสมอยู่



ภาพประกอบ 58 ลักษณะรากของโสมภูเขา

ลำต้น

ไม้ล้มลุกอายุเพียงปีเดียว ลักษณะของลำต้นจะเตี้ยแข็งติดดิน แตกกิ่งก้านที่โคนต้น ออกมาบริเวณที่โคนต้นมีเนื้อแข็งคล้ายไม้ ลำต้นสีเขียวอบน้ำ สูง 30-50 ซม. ลำต้นอ่อนจะมีสีเขียว เมื่อลำต้นอายุมากจะมีสีน้ำตาลบริเวณโคนต้น ต้นอ่อนลำต้นจะเปราะ และหักง่าย เมื่อแก่ ลำต้นจะแข็ง และเหนียว ชอบขึ้นในที่ชื้นมีจำนวนของกิ่งที่แตกออกจากต้นประมาณ 5 กิ่งขึ้นไป การแตกกิ่งก้านช่วงห่างประมาณ 1 นิ้ว



ภาพประกอบ 59 ลักษณะลำต้นของโสมภูเขา

ใบ

ใบเดี่ยว ลักษณะเป็นรูปมนรี หรือรูปไข่กลับ ปลายมนหรือแหลมสั้น หรือปลายโตแหลม โคนสอบแหลม เนื้อใบหนา ขอบใบเรียบ ท้องใบและหลังใบเรียบ ใบสีเขียวอมเหลืองเป็นมัน ก้านใบชูตั้ง ใบกว้าง 2.5-3.5 เซนติเมตร ยาว 5-7.5 นิ้ว ใบออกตรงข้ามกันยาว 5 - 7 เซนติเมตร ส่วนฐานใบจะเรียวเล็กลงจนถึงก้านใบ ตัวใบสีเขียวเรียบเป็นมันทั้งสองด้าน ทางด้านบนของใบจะมีสีเขียวเข้มกว่าทางด้านล่างของใบ เป็นใบเดี่ยว เรียงตัวบนกิ่งแบบสลับเส้นใบสานกันเป็นร่างแห ปากใบคล้ายเมล็ดถั่วประกบกัน ใบไม่มีขน น้ำยางที่ใบมีสีใสและเหนียวเมื่อสัมผัสหรือจับจะรู้สึก

คันเล็กน้อย มีพื้นที่ประมาณ 21 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปทดสอบทางเคมีจะพบแป้ง และโปรตีน ลักษณะของปากใบด้านล่างของใบจะมีปากใบมากกว่าด้านบนของใบ มีเม็ดคลอโรพลาสต์แทรกตัวอยู่



ภาพประกอบ 60 ลักษณะใบของโสมภูเข

ดอก

ดอกเป็นช่ออยู่ที่ยอดหรือปลายกิ่ง ดอกมีขนาดเล็กสีชมพู ดอกบานเต็มที่ประมาณ 6 มิลลิเมตร มีอยู่ 5 กลีบ สีม่วงแดง กลีบเลี้ยงมี 2 กลีบร่วงง่าย เกสรกลางดอกมี 10 อัน คล้ายดาว เกสรสีเหลืองยื่นยาวออกจากกลีบดอกคล้ายชบา ก้านดอกยาว กลีบเลี้ยงมี 2 กลีบหลุดร่วงง่าย สีขาวใส ห่อหุ้มดอกขณะตูมโคนกลีบเลี้ยงมีลักษณะเป็นครึ่งวงกลม แกนกลางของกลีบเลี้ยงจะมีสีเขียวเข้มเป็นเส้นบางขึ้นไปตรงปลายกลีบเลี้ยงจะแหลม ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ดอกย่อยมีขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 มิลลิเมตร มีก้านดอกย่อยยาว กลีบดอกไม่มีกลิ่น มีแมลงและมดตำมาอาศัยอยู่ เป็นดอกที่มีองค์ประกอบครบทั้งเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียในดอกเดียวกัน จัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ปลายกลีบดอกแหลม เกสรตัวผู้มี 10 กว่าอันล้อมรอบเกสรตัวเมียมีสีเหลืองรูปร่างคล้ายเมล็ดถั่วประกบกัน ก้านเกสรตัวเมียเป็นเส้นบางคล้ายด้ายโค้งเล็กน้อย ส่วนปลายแตกแยกเป็น 3 แฉก มีสีชมพูเหมือนสีกลีบดอก รังไข่ทรงกลม ภายในรังไข่มีออวุลเป็นเม็ดเล็ก ๆ จำนวนมาก ละอองเรณูจะมีลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ สีเหลืองการหุบบานของดอกจะบานในเวลามีแสง มีสีสด เวลาไม่มีแสงดอกจะหุบสีของดอกจะเป็นสีแดงคล้ำ



ภาพประกอบ 61 ลักษณะดอกของโสมภูเข

ผล

ผลรูปทรงไข่ เมื่ออ่อน มีสีเขียวผิวเรียบ เส้นผ่านศูนย์กลาง ประมาณ 3 มิลลิเมตรเมื่อแก่สีเหลืองอ่อน เมื่อผลแก่จัดจะแตกทำให้เมล็ด พังกระจายไปตกลงบนพื้นดิน มีเมล็ดอยู่ในสีดำ



ภาพประกอบ 62 ลักษณะผลของโสมภูเข

เมล็ด

มีลักษณะกลมแบนมีขนาดเล็ก เมล็ดมีสีขาวตอนผลอ่อน และมีสีดำเมื่อแก่ ผิวเรียบ เปลือกเมล็ดมี ลักษณะเปราะบาง ในหนึ่งผลมีเมล็ดประมาณ 50 - 60 เมล็ด เมื่อแก่จัดเมล็ดจะแตกออกเองเมื่อตกลงพื้นดินและอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะงอกเป็นต้นใหม่ได้



ภาพประกอบ 63 ลักษณะเมล็ดของโสมภูเขา

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินการวิจัยแบ่งเป็น 3 ส่วนดังนี้

1. สกัดสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI (cell)
2. นำสารสกัดที่ได้มาแยกให้บริสุทธิ์
3. ศึกษาสมบัติทางกายภาพและวิเคราะห์โครงสร้างของสารองค์ประกอบหลักที่แยกได้

วัสดุและสารเคมี

- สารสกัดราเอนโดไฟต์ LI ที่ได้จากต้นโสมภูเข
- ตัวทำละลายอินทรีย์ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่น
- Sephadex LH-20
- Silica gel สำหรับ column chromatography
 - Silica gel (0.063 – 0.200 mm Merck 1.07734)
- Silica gel สำหรับ thin layer chromatography
 - Silica gel 60 GF₂₅₄ aluminium sheet (Merck 1.05554)
- Anisaldehyde reagent (conc. H₂SO₄ : glacial acetic acid : absolute methanol)

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

- column ขนาด 1, 1.5, 2, 2.5 cm
- เครื่องซังทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- หลอดกำเนิดแสงอัลตราไวโอเล็ต ความยาวคลื่น 254 nm และ 356 nm (Spectroline ENF – 260 C /F)
- เครื่องระเหยตัวทำละลายภายใต้ความดัน (Buchi Rotavapor R-114)
- เครื่องหาจุดหลอมเหลว(Griffin)
- Nuclear Magnetic Resonance spectrometer (Bruker Avance 300)
- Mass spectrometer (Finnigan MAT 90)
- Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (Perkin Elmer FT- IR Spectrum BX)
- UV – VIS Spectrophotometer (Shimadzu UV-2401PC)

การสกัดสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI

- นำเซลล์และน้ำเลี้ยงเซลล์ของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่เพาะเลี้ยงจำนวน 8 ลิตร มากรอง เพื่อแยกน้ำเลี้ยงเชื้อราและเส้นใย
- นำเส้นใยมาแช่ในเมทานอลเป็นเวลา 2 วัน จำนวน 2 ครั้ง
- กรองเอาเส้นใยออกและนำสารสกัดไประเหยตัวทำละลาย เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- สกัดด้วยเฮกเซนครั้งละ 300 มิลลิลิตร 2 ครั้ง
- นำชั้นน้ำที่แยกได้ไปสกัดต่อด้วยเอทิลอะซีเตต ครั้งละ 300 มิลลิลิตร (2 ครั้ง) ระเหยตัวทำละลายจะได้สารสกัดหยาบในส่วนของเซลล์ซึ่งน้ำหนักได้ 5.18 กรัม ดังภาพประกอบที่ 64

การแยกสารสกัดจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI

1. การหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (Column chromatography)

นำสารที่ต้องการแยกตรวจสอบด้วยโครมาโทกราฟีแบบเยื่อบาง เพื่อหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารต่างๆ ออกจากกัน โดยตรวจหาตำแหน่งสารบน TLC จากการมองเห็นภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร หรือ/และ 365 นาโนเมตร แล้วทำการสเปรย์ด้วย anisaldehyde- H_2SO_4 reagent นำไปให้ความร้อนที่ 80 – 120 °C นาน 1 – 2 นาที จะปรากฏสีที่ต่างกัน

2. การแยกสารโดยใช้คอลัมน์โครมาโทกราฟี

นำสารสกัดหยาบในส่วนของเซลล์ชั้นเอทิลอะซีเตตที่ได้ 5.18 กรัม มาทำการแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm บรรจุซิลิกาเจล (0.063 – 0.200 mm) 140 กรัม สะดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมที่หาได้จากข้อ 1 คือ เอทิลอะซีเตต : เฮกเซน อัตราส่วน 2:8 ครั้งละ 300 มิลลิลิตร โดยทำการเพิ่มหัวที่ละ 10% ไปจนถึง 100 % เก็บสารละลายที่ผ่านออกมาจากคอลัมน์ นำแต่ละส่วนที่ได้ออกมาเป็นกลุ่มๆ จากการตรวจสอบโดยใช้ TLC

การหาตำแหน่งสารบน TLC ทราบได้จากการมองเห็นภายใต้แสง UV 254 นาโนเมตร หรือ/และ 365 นาโนเมตร หรือใช้ anisaldehyde- H_2SO_4 reagent พ่นบนแผ่น TLC แล้วนำไปให้ความร้อนที่ 80 – 120 °C นาน 1 – 2 นาที จะปรากฏสีที่ต่างกัน รวมส่วนที่ให้ผลบน TLC เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละกลุ่มที่รวมได้ไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันด้วยเครื่อง rotary evaporator สามารถแยกสารได้ 10 กลุ่ม ดังนี้

2.1 กลุ่มที่ 1 (F_1) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 9.4 มิลลิกรัม
 2.2 กลุ่มที่ 2 (F_2) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 3.7 มิลลิกรัม
 2.3 กลุ่มที่ 3 (F_3) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 9.6 มิลลิกรัม
 2.4 กลุ่มที่ 4 (F_4) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 6.1 มิลลิกรัม
 2.5 กลุ่มที่ 5 (F_5) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 4.3 มิลลิกรัม
 2.6 กลุ่มที่ 6 (F_6) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 18.3 มิลลิกรัม นำมาแยกต่อด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟี แล้วชะด้วย เฮกเซน เพิ่มซ้ำด้วย เอทิลอะซีเตต โดยทำการเพิ่มซ้ำทีละ 10% ไปจนถึง 100 % เก็บสารละลายที่ผ่านออกมาจากคอลัมน์ ครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบโดยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 4 กลุ่มดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 6.1 ($f_{6,1}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลหนัก 0.4 มิลลิกรัม
 กลุ่มย่อยที่ 6.2 ($f_{6,2}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลหนัก 0.52 มิลลิกรัม
 กลุ่มย่อยที่ 6.3 ($f_{6,3}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลหนัก 7.4 มิลลิกรัม
 กลุ่มย่อยที่ 6.4 ($f_{6,4}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลหนัก 3.9 มิลลิกรัม

2.7 กลุ่มที่ 7 (F_7) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 67.7 มิลลิกรัม และกลุ่มที่ 8 (F_8) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 83 มิลลิกรัม จาก TLC พบว่ามีลักษณะคล้ายกันจึงนำสารกลุ่มที่ 7 และสารกลุ่มที่ 8 มารวมกันได้สารหนัก 150.7 มิลลิกรัม นำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแล้วชะด้วยเอทิลอะซีเตต เพิ่มความเป็นซ้ำด้วย เมทานอล โดยทำการเพิ่มซ้ำทีละ 2% ไปจนถึง 20 % เก็บสารละลายที่ผ่านออกมาจากคอลัมน์ ครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบโดยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออกได้สารทั้งหมด 7 กลุ่มดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 7+8.1 ($f_{7+8,1}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 25.9 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 7+8.2 ($f_{7+8,2}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 31.3 มิลลิกรัม นำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยชะด้วย เอทิลอะซีเตต เพิ่มความเป็นซ้ำด้วยเมทานอล โดยทำการเพิ่มซ้ำทีละ 2% ไปจนถึง 20 % เก็บสารละลายที่ผ่านออกมาจากคอลัมน์ ครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบโดยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออกได้สารทั้งหมด 8 กลุ่มดังนี้

กลุ่มย่อยที่ 7+8.2.1 ($f_{7+8,2,1}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้มหนัก 0.5 มิลลิกรัม
 กลุ่มย่อยที่ 7+8.2.2 ($f_{7+8,2,2}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้มหนัก 0.6 มิลลิกรัม
 กลุ่มย่อยที่ 7+8.2.3 ($f_{7+8,2,3}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้มหนัก 0.5 มิลลิกรัม
 กลุ่มย่อยที่ 7+8.2.4 ($f_{7+8,2,4}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้มหนัก 0.6 มิลลิกรัม
 กลุ่มย่อยที่ 7+8.2.5 ($f_{7+8,2,5}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้มหนัก 0.4 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 7+8.2.6 ($f_{7+8,2,6}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้มหนัก 0.2 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 7+8.2.7 ($f_{7+8,2,7}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้มหนัก 7.4 มิลลิกรัม และ
กลุ่มย่อยที่ 7+8.2.8 ($f_{7+8,2,8}$) เป็นน้ำมันสีน้ำตาลเข้มหนัก 9.5 มิลลิกรัม นำมารวมกันได้สารหนัก
16.9 มิลลิกรัม นำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยชะด้วย เอทิลอะซีเตต เพิ่มความเป็น
ขั้วด้วย เมทานอล โดยทำการเพิ่มขั้วทีละ 2% ไปจนถึง 20 % เก็บสารละลายที่ผ่านออกมาจาก
คอลัมน์ ครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบโดยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละ
ส่วนไประเหยตัวทำละลายออกได้สารทั้งหมด 4 กลุ่มดังนี้

กลุ่มย่อยที่ (7+8,2,7)+(7+8,2,8),1 ($f_{[(7+8,2,7)+(7+8,2,8),1]}$) เป็นน้ำมันสี
น้ำตาลเข้มหนัก 1.5 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ (7+8,2,7)+(7+8,2,8),2 ($f_{[(7+8,2,7)+(7+8,2,8),2]}$) เป็นน้ำมันสี
น้ำตาลเข้มหนัก 6.8 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ (7+8,2,7)+(7+8,2,8),3 ($f_{[(7+8,2,7)+(7+8,2,8),3]}$) เป็นผงสีขาวหนัก
4.3 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ (7+8,2,7)+(7+8,2,8),4 ($f_{[(7+8,2,7)+(7+8,2,8),4]}$) เป็นผงสีขาวหนัก
1.7 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 7+8 .3 ($f_{7+8,3}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 1.0 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 7+8 .4 ($f_{7+8,4}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 6.3 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 7+8 .5 ($f_{7+8,5}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 21.3 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 7+8 .6 ($f_{7+8,6}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 38.7 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 7+8 .7 ($f_{7+8,7}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 6.7 มิลลิกรัม

2.8 กลุ่มที่ 9 (F_9) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 97.7 มิลลิกรัม นำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์
โครมาโทกราฟีแล้วชะด้วย เอทิลอะซีเตต เพิ่มความเป็นขั้วด้วย เมทานอล โดยทำการเพิ่มขั้วทีละ
2% ไปจนถึง 20 % เก็บสารละลายที่ผ่านออกมาจากคอลัมน์ ครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบโดย
เทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออกได้สาร
ทั้งหมด 6 กลุ่มนี้

กลุ่มย่อยที่ 9.1 ($f_{9,1}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาล หนัก 4.7 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 9.2 ($f_{9,2}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาล หนัก 4.7 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 9.3 ($f_{9,3}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาล หนัก 21.5 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 9.4 ($f_{9,4}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาล หนัก 18.3 มิลลิกรัม

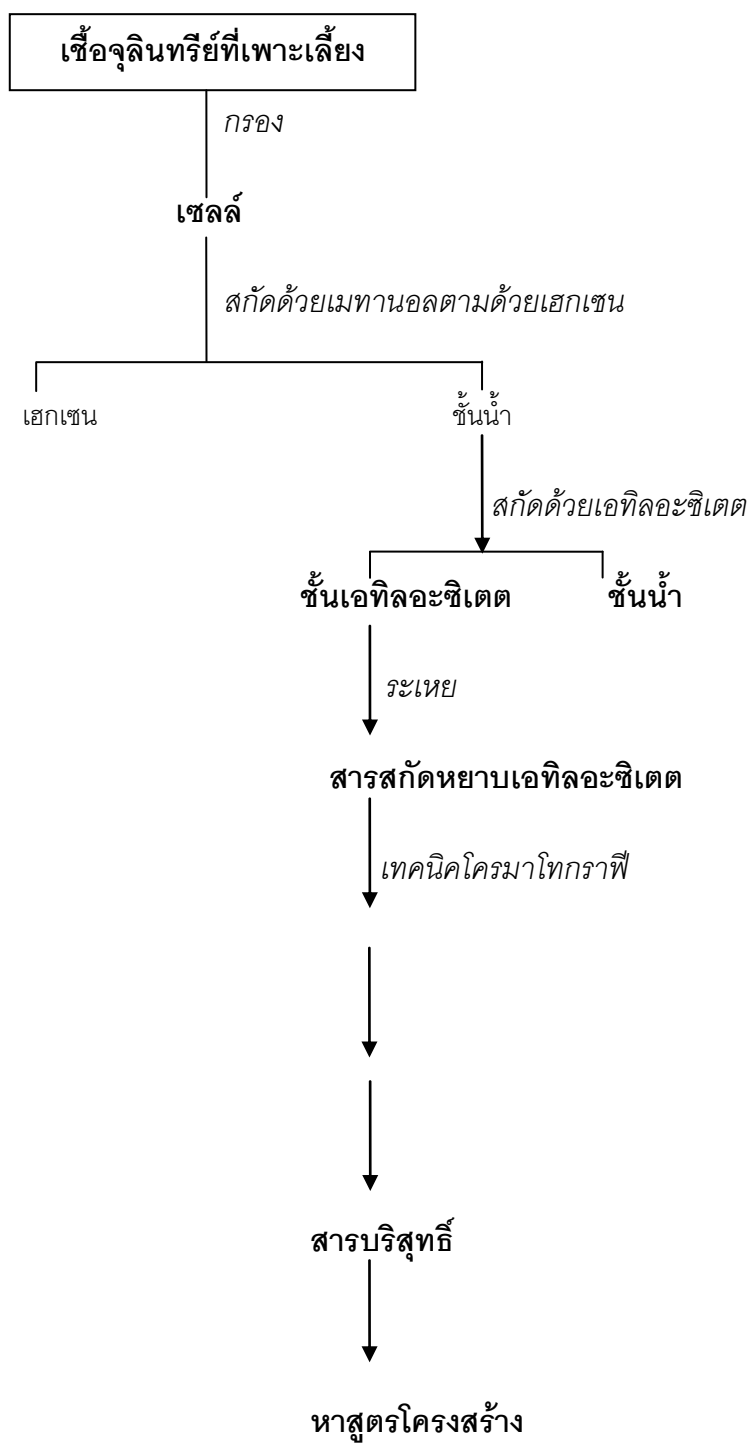
กลุ่มย่อยที่ 9.5 ($f_{9,5}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาล หนัก 11.9 มิลลิกรัม

กลุ่มย่อยที่ 9.6 ($f_{9,6}$) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาล หนัก 19.5 มิลลิกรัม

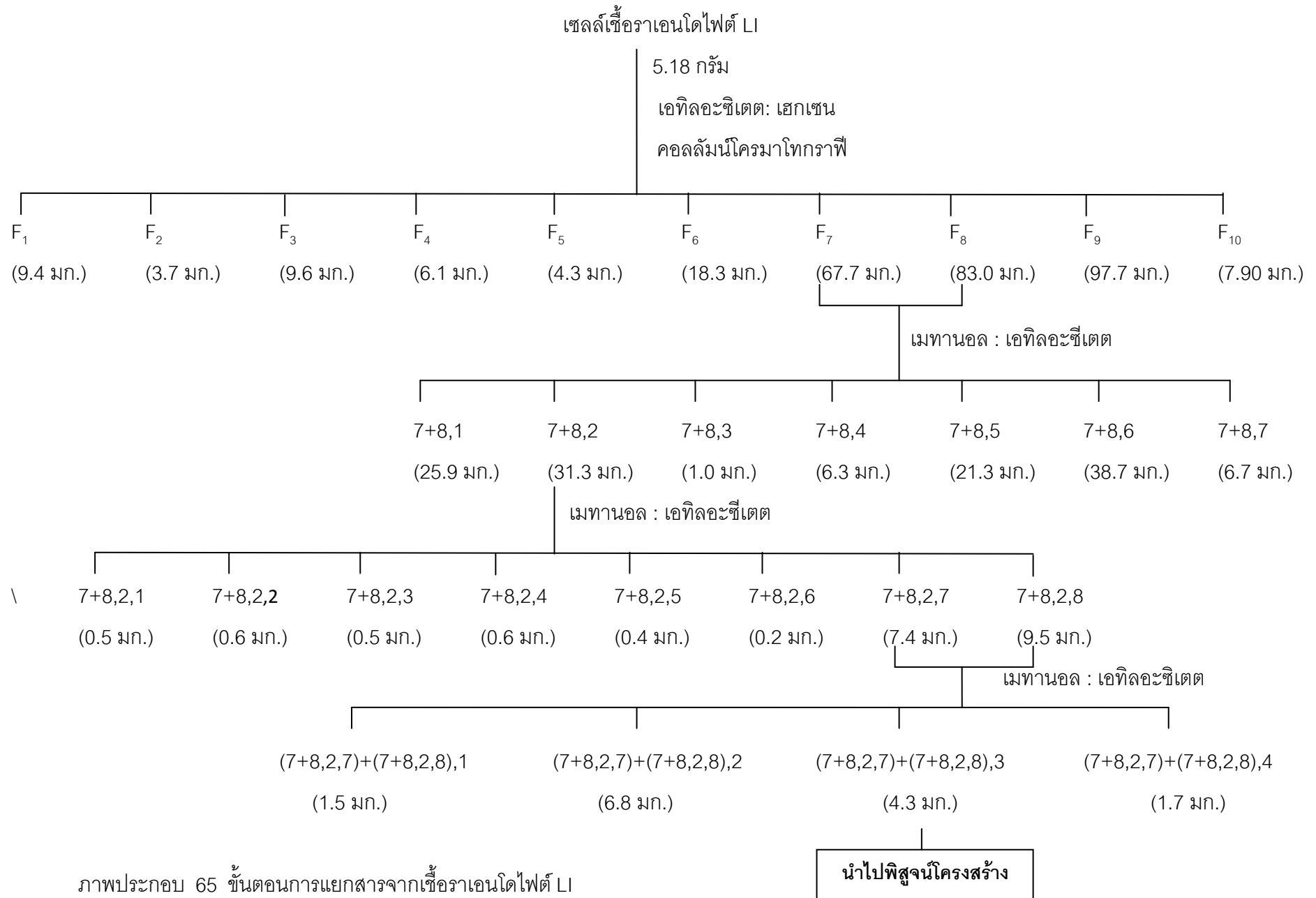
2.9 กลุ่มที่ 10 (F_{10}) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลหนัก 7.9 มิลลิกรัม

การศึกษาสมบัติทางกายภาพและสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI

สารบริสุทธิ์ที่แยกได้ นำมาหาสูตรโครงสร้างโดยใช้วิธีทางสเปกโตรสโคปีร่วมกับข้อมูลทางกายภาพแล้วเปรียบเทียบกับข้อมูลต่างๆ ของสารกับที่มีผู้รายงานไว้แล้ว งานวิจัยครั้งนี้บันทึกค่า R_f ของสารบนแผ่น precoated silica gel 60 GF₂₅₄ หาตำแหน่งของสารบน TLC โดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ 254 และ/หรือ 365 nm แล้วใช้ anisaldehyde- H_2SO_4 reagent เป็น developing reagent โดยนำไปสเปรย์บนแผ่น TLC แล้วนำไปให้ความร้อนที่ 80 – 120 °C นาน 1 นาที ซึ่งจะปรากฏเป็นสีแตกต่างกัน การบันทึกจุดหลอมเหลวใช้เครื่อง Griffin รายงานในหน่วย °C การบันทึกแถบการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดในสภาพ KBr disc ใช้เครื่อง FT-IR spectrum BX แสดงผลเป็น ν_{max} ในหน่วย cm^{-1} การบันทึกแถบการดูดกลืนรังสียูวี – วิชิเบิลสูงสุดใช้เครื่อง Shimadzu UV- 2401 PC สเปกโตรโฟโตมิเตอร์แสดงผลเป็น λ_{max} รายงานในหน่วย ϵ ในตัวทำละลาย เมทานอล การบันทึกข้อมูล 1H NMR และ ^{13}C NMR ใช้เครื่อง Bruker Advance 300 FT-NMR spectrophotometer ที่ 300 MHz และที่ 75 MHz ตามลำดับใช้ deuteriochloroform ($CDCl_3$) เป็นตัวทำละลาย และ acetone- d_6 ตามลำดับ ES mass spectrum บันทึกด้วยเครื่อง Finnigan LC- Q mass spectrometer บันทึกผลเป็น m/z



ภาพประกอบ 64 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย



บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. การสกัดสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI (cell)

นำเชื้อราเอนโดไฟต์ LI ที่เพาะเลี้ยงจำนวน 8 ลิตร มาทำการกรองเพื่อแยกเส้นใย (cell) และน้ำเลี้ยงเชื้อ (broth) แล้วนำเส้นใยมาแช่ในเมทานอล เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นระเหยเมทานอล ออกเติมน้ำ 100 มิลลิลิตร แล้วนำชั้นน้ำสกัดต่อด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซีเตต ตามลำดับ ระเหย ตัวทำละลายออกจะได้สารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซีเตต มีลักษณะเป็นของแข็งเหนียวหนืด สี น้ำตาลหนัก 5.18 กรัม

2. การแยกสารจากเชื้อราเอนโดไฟต์ LI (cell)

2.1 นำสารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซีเตต 5.18 กรัม มาทำการแยกด้วย คอลัมน์โคร มาโทกราฟี แบบ gradient โดยใช้ เฮกเซน เป็นตัวชะ แล้วเพิ่มความเข้มข้นด้วย เอทิลอะซีเตต โดย ทำการเพิ่มขั้วที่ละ 10 % จนถึง 100% เก็บส่วนที่ชะครั้งละเท่าๆกัน ทำการรวมสารที่เหมือนกันเข้า ด้วยกันด้วยเทคนิค TLC ได้สารทั้งหมด 10 กลุ่ม ผลการตรวจสอบสารที่แยกได้จากสารสกัดหยาบ เอทิลอะซีเตต ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ดังตาราง 4

ตาราง 4 แสดงผลการตรวจสอบสารที่แยกได้จากสารสกัด เอทิลอะซีเตต ด้วย คอลัมน์โครมาโท กราฟี ชะด้วยเฮกเซน : เอทิลอะซีเตต

สารกลุ่ม	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
F ₁	9.4	สารเหนียวสีน้ำตาล
F ₂	3.7	สารเหนียวสีน้ำตาล
F ₃	9.6	สารเหนียวสีน้ำตาล
F ₄	6.1	สารเหนียวสีน้ำตาล
F ₅	4.3	สารเหนียวสีน้ำตาล
F ₆	18.3	สารเหนียวสีน้ำตาล
F ₇	67.7	สารเหนียวสีน้ำตาล
F ₈	83.0	สารเหนียวสีน้ำตาล
F ₉	97.7	สารเหนียวสีน้ำตาล
F ₁₀	7.90	สารเหนียวสีน้ำตาล

2.2 นำสารสกัดกลุ่ม F_6 จำนวน 18.3 มิลลิกรัม มาทำการแยกต่อด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย เฮกเซน เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเอทิลอะซีเตต ครั้งละ 10 % จนถึง 100% เก็บส่วนที่ชะครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 4 กลุ่ม ดังตาราง 5

ตาราง 5 แสดงผลการตรวจสอบผลแยกสารกลุ่ม F_6 ด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย

เฮกเซน : เอทิลอะซีเตต

สารกลุ่ม	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
$F_{(6,1)}$	0.4	น้ำมันสีน้ำตาล
$F_{(6,2)}$	0.52	น้ำมันสีน้ำตาล
$F_{(6,3)}$	7.4	น้ำมันสีน้ำตาล
$F_{(6,4)}$	3.9	น้ำมันสีน้ำตาล

2.3 นำสารสกัดกลุ่ม F_7 รวมกับกลุ่ม F_8 ได้สารน้ำหนัก 150.7 มิลลิกรัม มาทำการแยกต่อด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยเอทิลอะซีเตต เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเมทานอล โดยทำการเพิ่มขั้วทีละ 2% ไปจนถึง 20% เก็บส่วนที่ชะครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 7 กลุ่มดังตาราง

2.4

ตาราง 6 แสดงผลการตรวจสอบผลการแยกสารกลุ่ม F_7 รวมกับกลุ่ม F_8 คอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย เอทิลอะซีเตต : เมทานอล

สารกลุ่ม	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
$F_{(7+8,1)}$	25.9	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{(7+8,2)}$	31.3	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{(7+8,3)}$	1.0	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{(7+8,4)}$	6.3	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{(7+8,5)}$	21.3	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{(7+8,6)}$	38.7	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{(7+8,7)}$	6.7	สารเหนียวสีน้ำตาล

2.5 นำสารสกัดกลุ่ม $F_{(7+8,2)}$ จำนวน 31.3 มิลลิกรัม มาทำการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ๒๒ ด้วย เอทิลอะซีเตต เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเมทานอล โดยทำการเพิ่มขั้วทีละ 2% ไปจนถึง 20% เก็บส่วนที่ชะครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 8 กลุ่ม ดังตาราง 7

ตาราง 7 แสดงผลการตรวจสอบผลการแยกสารกลุ่ม $F_{(7+8,2)}$ ด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟี ๒๒ ด้วย เอทิลอะซีเตต : เมทานอล

สารกลุ่ม	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
$F_{(7+8,2,1)}$	0.5	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
$F_{(7+8,2,2)}$	0.6	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
$F_{(7+8,2,3)}$	0.5	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
$F_{(7+8,2,4)}$	0.6	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
$F_{(7+8,2,5)}$	0.4	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
$F_{(7+8,2,6)}$	0.2	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
$F_{(7+8,2,7)}$	7.4	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
$F_{(7+8,2,8)}$	9.5	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม

2.6 นำสารสกัดกลุ่ม $F_{(7+8,2,7)}$ มารวมกับสารกลุ่ม $F_{(7+8,2,8)}$ ได้สารที่มีน้ำหนัก 16.9 มิลลิกรัม มาทำการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ๒๒ ด้วยเอทิลอะซีเตต เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเมทานอล โดยทำการเพิ่มขั้วทีละ 2% ไปจนถึง 20% เก็บส่วนที่ชะครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารทั้งหมด 4 กลุ่ม ดังตาราง 8

ตาราง 8 แสดงผลการตรวจสอบผลการแยกสารกลุ่ม $F_{(7+8,2,7)}$ ที่นำมารวมกับสารกลุ่ม $F_{(7+8,2,8)}$ ด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย เอทิลอะซีเตต : เมทานอล

สารกลุ่ม	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
$F_{[(7+8,2,7)+(7+8,2,8),1]}$	1.5	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
$F_{[(7+8,2,7)+(7+8,2,8),2]}$	6.8	น้ำมันสีน้ำตาลเข้ม
$F_{[(7+8,2,7)+(7+8,2,8),3]}$	4.3	ผลึกสีขาว
$F_{[(7+8,2,7)+(7+8,2,8),4]}$	1.7	ผลึกขาว

สารกลุ่ม $F_{[(7+8,2,7)+(7+8,2,8),3]}$ มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวจากข้อมูลทางสเปกโทรสโคปีพบว่าเป็นสารประกอบ A น้ำหนัก 4.3 มิลลิกรัม

2.6 นำสารสกัดกลุ่ม F_9 จำนวน 97.7 มิลลิกรัม มาทำการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วยเอทิลอะซีเตต เพิ่มความเป็นขั้วด้วยเมทานอล โดยทำการเพิ่มขั้วทีละ 2% ไปจนถึง 20% เก็บส่วนที่ชะครั้งละเท่าๆกัน ตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC รวมส่วนที่เหมือนกันเข้าด้วยกัน นำแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออกได้สาร 6 กลุ่ม ดังตาราง 9

ตาราง 9 แสดงผลการตรวจสอบผลการแยกสารกลุ่ม F_9 ด้วย คอลัมน์โครมาโทกราฟี ชะด้วย เอทิลอะซีเตต : เมทานอล

สารกลุ่ม	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	ลักษณะสาร
$F_{9,1}$	4.7	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{9,2}$	4.7	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{9,3}$	21.5	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{9,4}$	18.3	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{9,5}$	11.9	สารเหนียวสีน้ำตาล
$F_{9,6}$	19.5	สารเหนียวสีน้ำตาล

3. การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์

ผลการศึกษสมบัติทางกายภาพและข้อมูลทางสเปกโทรสโคปีเพื่อหาสูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากเซลล์ของเชื้อราเอนโดไฟต์ LI แสดงดังนี้

สารประกอบ A (lateritin)

น้ำหนัก 4.3 มิลลิกรัม

เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลวที่ 96 – 98 °C

UV (MeOH) λ_{max} (ϵ) 227.5 (26138)

FT IR ν_{max} 2935, 2855, 1754, 1657, 1465, 1458, 1371, 1270, 1183, 1107, 1021 cm^{-1} [lit. 2964, 1745, 1660, 1483, 1413, 1317, 1263, 1180, 1109, 1018 cm^{-1} (Oh H, et al. 2002: 345 - 348)]

^1H NMR และ ^{13}C NMR (acetone- d_6) δ : แสดงในตาราง 10

ESMS m/z 262 $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calcd for $[\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_3 + \text{H}]^+$

บทที่ 5

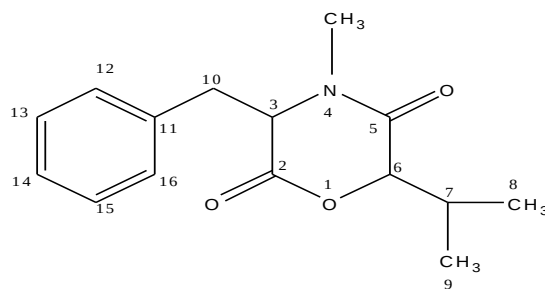
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

การสกัดเซลล์ของเชื้อราเอนโดไฟต์ LI ด้วยตัวทำละลายเมทานอลแล้วนำมาสกัดต่อด้วยเฮกเซน และ เอทิลอะซิเตตตามลำดับ ได้สารสกัดหยาบชั้นเอทิลอะซิเตต 5.18 กรัม นำมาทำการแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ที่บรรจุด้วยซิลิกาเจลและ/หรือ sephadex LH-20 สามารถแยกได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิดหนัก 4.3 มิลลิกรัม และทำการพิสูจน์โครงสร้างสารบริสุทธิ์ โดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี (UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 2D NMR และ MS) แล้วเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีผู้รายงานไว้แล้ว พบว่าสารประกอบที่แยกได้คือสาร lateritin

การพิสูจน์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

สารประกอบ A



สารประกอบ A

ภาพประกอบ 66 โครงสร้างสารประกอบ A

สารประกอบ A เป็นของแข็งสีขาว น้ำหนัก 4.3 มิลลิกรัม ให้สีม่วง กับ anisaldehyde – H_2SO_4 reagent บน TLC มีจุดหลอมเหลวที่ $96 - 98^\circ\text{C}$

UV spectrum มีแถบการดูดกลืน UV (MeOH) λ_{max} (ϵ) 227.5 (26138)

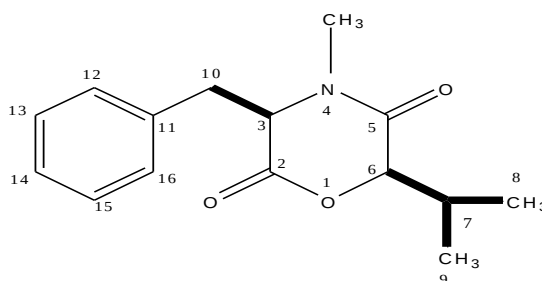
IR spectrum พบแถบการสั่นแบบยืดของหมู่เอสเทอร์ที่ 1657 cm^{-1} หมู่เอไมด์ที่ 1754 cm^{-1} หมู่เบนซีนที่ 1458 cm^{-1} และ 1465 cm^{-1} ตามลำดับ และพบการสั่นแบบยืดของ CH_2 และ CH_3 ที่ 2935 cm^{-1} และ 2855 cm^{-1} ตามลำดับ

$^1\text{H NMR}$ spectrum (300 MHz, acetone- d_6) พบสัญญาณ methine proton 8 สัญญาณที่ δ_{H} (ppm) 7.23 -7.28 (4H, m) 7.17 (1H, m) 5.66 (1H, dd, $J = 13.3, 4.9\text{ Hz}$) 4.88 (1H, d, $J = 8.4\text{ Hz}$) 1.80 (1H, m) พบสัญญาณ methylene proton ที่ δ_{H} (ppm) 3.32 (2H, dd, $J =$

12.3, 1.5 Hz) และ 3.07 (1H, dd, $J = 12.3, 1$) พบสัญญาณ methyl proton 3 สัญญาณที่ δ_H (ppm) 3.13 (3H, s) 0.79 (3H, d, $J = 6.6$ Hz) 0.29 (3H, d, $J = 6$ Hz)

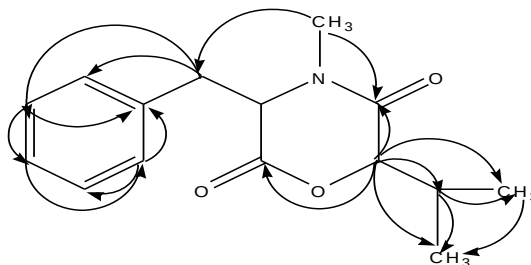
^{13}C NMR และ DEPT (75 MHz, acetone- d_6) พบสัญญาณทั้งหมด 13 สัญญาณของคาร์บอนทั้งหมด 15 คาร์บอน โดยมี methine carbon 6 สัญญาณที่ δ_C (ppm) 128.77 (C12, C16) 128.49 (C13, C15) 126.69 (C14) 75.44 (C 6) 56.50 (C3) 29.85 (C7) methylene carbon 1 สัญญาณที่ δ_C (ppm) 34.27 (C10) methyl carbon 3 สัญญาณที่ δ_C (ppm) 31.27 (C4) 17.77 (C8) 16.33 (C9) และสัญญาณ quaternary carbon 3 สัญญาณที่ δ_C (ppm) 170.92 (C2) 169.7 (C5) 136.9 (C11)

COSY spectrum พบความสัมพันธ์ระหว่าง methine proton H-3 สัมพันธ์กับ methylene protons H-10a, H-10b และพบความสัมพันธ์ระหว่าง methine proton H-6 กับ H-7 และ methine proton H-7 สัมพันธ์กับ methylene protons H-8 และ H-9



ภาพประกอบ 67 ข้อมูล COSY แสดงการ coupling ระหว่างโปรตอน

HMBC spectrum พบความสัมพันธ์ระหว่าง H-3 กับ C10 และ N-CH₃; N-CH₃ กับ C3, C5, C10; H6 กับ C2, C5, C7, C8, C9; H-7 กับ C6, C8, C9; H-8 กับ C6, C7, C9; H-9 กับ C6, C7, C8; H-10 กับ C3, N-CH₃, C12, C13, C15, C16; H-12, H-16 กับ C10, C11, C13, C15; H-13, H-15 กับ C14, C12, C16; H-14 กับ C11, C12, C13, C15, C16



ภาพประกอบ 68 ข้อมูล HMBC แสดงความสัมพันธ์ที่สำคัญของสารประกอบ A

ตาราง 10 แสดงข้อมูลของ ^1H NMR และ ^{13}C NMR ของสารประกอบ A บันทึกใน acetone- d_6 และ lateritin

ตำแหน่ง	สารประกอบ A		lateritin ^a	
	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)
2	-	170.92	-	169.9
3	5.66 (1H, dd, J=13.3,4.9)	56.50	5.45 (1H, br.d)	57.4
4-CH ₃	3.13 (3H, s)	31.27	2.99 (3H, s)	32.3
5	-	169.7	-	169.4
6	4.88 (1H, d, J=8.4)	75.44	4.91 (1H, d, J=7.5)	75.6
7	1.80 (1H, m)	29.85	2.00 (1H, m)	29.7
8	0.79 (3H, d, J =6.6)	17.77	0.83 (3H, d, J=6.8)	18.6
9	0.29 (3H, d, J = 6)	16.33	0.44 (3H, d, J=6.8)	17.7
10a	3.32 (1H, dd, J=12.3,1.5)	34.27	3.35 (1H, dd, J=13.6,4.8)	34.38
10b	3.07 (1H, dd, J =12.3,1)	34.27	2.96 (1H, dd, J=13.5,4.8)	34.38
11	-	136.9	-	136.8
12,16	7.23 -7.28 (2H, m)	128.77	7.21-7.25 (2H, m)	129.3
13,15	7.23 -7.28 (2H, m)	128.49	7.21-7.25 (2H, m)	128.7
14	7.17 (1H, m)	126.69	7.16 (1H, m)	126.9

a บันทึกใน CDCl₃ Robin K. Pettit, George R. Pettit, Jung-Ping Xu, Christin A. Webber, Linda A. Richert (2010) : 500-501

ตาราง 11 แสดงข้อมูลของ ^1H NMR (acetone- d_6), COSY, HMBC และ HMQC ของ
สารประกอบ A

ตำแหน่ง	^1H NMR δ_{H} (ppm)	COSY ^a	HMBC ^b	HMQC
2	-	-	-	-
3	5.66 (1H, dd, J=13.3,4.9)	H- 10a, H-10b	N-CH ₃ , C10	C3
N-CH ₃	3.13 (3H, s)	-	C3, C5, C10	N-CH ₃
5	-	-	-	-
6	4.88 (1H, d, J=8.4)	H-7	C2, C5, C7, C8, C9	C6
7	1.80 (1H, m)	H-8, H-9, H-6	C6, C8, C9	C7
8	0.79 (3H, d, J =6.6)	H-7	C6, C7, C9	C8
9	0.29 (3H, d, J = 6)	H-7	C6, C7, C8	C9
10a	3.32 (1H, dd, J=12.3,1.5)	H-3	C3, N-CH ₃ , C11, C12, C16	C10a
10b	3.07 (1H, dd, J =12.3,1)	-	-	C10b
11	-	-	-	-
12,16	7.23 -7.28 (2H, m)	H-13, H-15	C10, C11, C13, C15	C12, C16
13,15	7.23 -7.28 (2H, m)	H-12, H-16	C12, C14, C16	C13, C15
14	7.17 (1H, m)	H-13, H-15	C11, C12, C13, C15, C16	C14

^a proton – proton correlation

^b long – range heteronuclear ^1H - ^{13}C correlation

จากการเปรียบเทียบข้อมูล IR ^1H NMR ^{13}C NMR ของสารประกอบ A พบว่า สารประกอบ A คือ 4-methyl-6-(1-methylethyl)-3-phenylmethyl-1,4-perhydrooxazine-2,5-dione หรือ lateritin ซึ่งสารนี้มีผู้รายงานพบในเชื้อรา *Ovadendron sulphurochraceum*, *Ascochyta pisi*, *Emericellopsis minima* *Cylindrocarpon destructans*, *Fusarium oxysporum*, *Gibberella lateritium* (Keiji H.,Chikara S.,Takashi I. and Akira E. 1993:1782-1787)และ *Isaria japonica* (Taewan K. Oh.; et al. 2002: 345-348) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งโดยให้ค่า ED₅₀ 1.8 μg /mL และค่า GI₅₀ 1.7-2 μg /mL จากการทดลองกับเซลล์มะเร็งเต้านม มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้และ มะเร็งต่อมลูกหมาก และแสดงฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ ดังตาราง12 สาร lateritin ที่สกัดจาก *Gibberella lateritium* มีฤทธิ์ในการยับยั้ง acyl-CoA: cholesterol acyltransferase (ACAT) ในตับหนูด้วยค่า IC₅₀ 5.7 μM (Keiji H.,Chikara S.,Takashi I. and Akira E. 1993:1782-1787) และ lateritin ที่สกัดจาก *Isaria japonica* มีฤทธิ์

ในการยับยั้ง leukemia (HL-60) ในมนุษย์ (apoptotic cell death) ด้วย dose-dependent 5.0 µg /mL -100 µg /mL (Taewan K. Oh.; et al. 2002: 345-348)

ตาราง 12 แสดงข้อมูลการต้านจุลชีพของสาร lateritin ที่สกัดจากเชื้อรา 5 ชนิด

สาร	แสดงฤทธิ์ในการการต้านจุลชีพ	MIC _s (µg/mL)
lateritin	<i>Candida albicans</i> ATTC 90028	4-8
	<i>Micrococcus luteus</i> Presque Isle 456	2-4
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 29213	4-8
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATTC 29212	8
	<i>Streptococcus pneumonia</i> ATTC 6303	8-16

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- ดร.ณ เพ็ชรพลาญ, ชาตรี ชาญประเสริฐ และ ณัฐตรา จันทรวานิชย์. (2538). *พืชสมุนไพรในประเทศไทยตอนที่1*. กรุงเทพฯ: องค์การส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ.
- ปัทมา พิทยขจรวุฒิ. (2546). *สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าจากทรัพยากรชีวภาพไทย. วารสาร@Biotech*. 1(5): 21.
- วันชัย ดีเอกนามกุล. (2545). *แนวทางการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรชีวภาพ*. กรุงเทพฯ: สถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย.
- วิทยา มีวุฒิสม. (2542). *การตรวจกรองหาสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟต์ในต้นพืชสมุนไพรไทย*. กรุงเทพฯ: ฝ่ายสนับสนุนการวิจัยและพัฒนาวิศวกรรม ไบโอเทค.
- Aly, H.A.; et al. (2008). Bioactive Metabolites from the Endophytic Fungus *Ampelomyces* sp. Isolated from the Medicinal Plant *Urospermum picroides*. *Phytochemistry*. 69(8): 1716-1725.
- Bashyal, B.; et al. (1999). *Seimatoantlerium nepalense*, an Endophytic Taxol Producing Coelomycete from Himalayan Yew (*Taxus wallichiana*). *Mycotaxon*. 72: 33-42.
- . (2005). Globosumones A- C , Cytotoxic Orsellinic Acid Esters from the Sonoran Desert Endophytic Fungus *Chaetomium globosum* *J. Nat. Prod.* 68(5): 724- 728.
- Bensky, D.; & Gamble, A. (1993). *Chinese Herbal Medicine Materia Medica*. Seattle, Wash: Eastland Press Inc.
- Berny, P.; et al. (1997). Rapid Determination of the Mycotoxin Lolitrem B in Endophyte- Infected Perennial Ryegrass by Highperformance thin-layer Chromatography a Validate Assay. *Journal of Chromatography A*. 767: 343-348.
- Bills, G.F.; & Polishook, J.D. (1992). Recovery of Endophytic Fungi from *Chaniaecyparisthyoides*. *Sydowia*. 44: 100-102.
- Bills, G.F.; et al. (2002). Recent and Future Discoveries of Pharmacologically Active Metabolites from Tropical Fungi. In *Tropical mycology*. Edited by Watling, J. C.; Frankland, A. M. & C. H. Robinson. pp. 165-194. New York: CABI Publishing.

- Brady, S. F.; & Clardy, J. (2000). CR377, a New Pentaketide Antifungal Agent Isolated from an Endophytic Fungus. *J. Nat. Prod.* 63: 1447-1448.
- Brady, SF.; et al. (2000). Cytokyrins A and B, New BIA Active Bisanthaquinones Isolate from Endophytic Fungus. *Org. Lett.* 2: 4047-4049.
- Brown, K. B.; Hyde, K. D.; & Guest, D. I. (1998). Preliminary Studies On Endophytic Fungal Communities of *Musa acuminata* Species Complex in Hong Kong and Australia. *Fungal Diversity*. 1: 26-50.
- Bultman, T. L.; et al. (1997). Effect of a Fungal Endophyte on The Growth and Survival of Two *Euplactrus* Parasitoids. *Oikos*, 78:170-176.
- Carlile, M. J.; Watkinson, S. C.; & Gooday, G. W. (2001). *The Fungi 2nd Edition*. Sandiego: Academic Press.
- Carroll, G.C. (1988). Fungal Endophytes in Stems and Leaves from Latent Pathogen to Mutualistic Symbiont. *Ecology*. 69: 2-9.
- . (1995). Forest Endophyte Pattern and Process. *Can. J. Bot.* 73: 316-324.
- Carroll, G.C.; & Petrini, O. (1983). Pattern of Substrate Utilization by Some Endophytes from Coniferous Foliage. *Micologia*. 75: 53-63.
- Chanway, C.P. (1996). Endophytes- They're Not Just Fungi. *Can. J. Bot.* 74: 321-322.
- Chapela, I.H.; Petrini, O.; & Hagmann, L.H. (1991). Monolignol Glucosides as Specific Recognition Messengers in Fungus-Plant Symbioses. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 39: 289-298.
- Chen, G.Y.; et al. (2003). Two new metabolites of a marine endophytic fungus (No. 1893) from an estuarine mangrove on the South China Sea coast. *Tetrahedron*. 59: 4907-4909.
- Clay, K. (1986). Induced Vivipary in *Cyperus virens* and the Transmission of The Fungus *Balensia cyperi*. *Can. J. Bot.* 64: 2984-2988.
- . (1989). Clavicipitaceous Endophyte of Grasses- Their Potential as Biocontrol Agent. *Micol.Res.* 92: 10-12.
- Claydon, N.; Groove, J.F.; & Pople, M. (1985). Elm Bark Beetle Boring and Feeding Deterrents from *Phomopsis oblonga*. *Phytochemistry*. 24: 937-943.

- Daisy, B. H.; Strobel, G.A.; & Runyon, J. B. (2002). Naphthalene, an Insect Repellent, is Produced by *Muscodor vitigenus*, a Novel Endophytic Fungus. *Microbiology*. 148: 3737-3741.
- Davis, R. A.; Watters, D.; & Healy, P.C. (2005). Phomoxin B and C: Polyketides from and Endophytic Fungus of the Genus *Eupenicillium*. *Phytochemistry*. 66(23) : 2771-2775.
- Demain, A. L. (1981). Industrial microbiology. *Science*. 214: 987-994.
- (2000). Microbial Natural Products. In *a Past with a Future Biodiversity new leads for pharmaceutical and agrochemical industries*. Edited by Wrigley, S. K.; Chrystal, E. J. T.; and N. Nicholson. pp. 13-16. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Ezra, D.; & Strobel, G.A. (2003). Effect of Substrate on the Bioactivity of Volatile Antimicrobials Produce by *Muscodor albus*. *Plant Sci*. 165: 1229-1238.
- Eyberger, A.L.; Dodapati, R.; & Porter, J.R. (2006). Endophytic Fungal Isolated from *Podophyllum peltatum*. Produce Podophyllotoxin. *J. Nat. Prod*. 69: 1121-1124.
- Findlay, J.A.; et al. (1997). Insect Toxins from an Endophytic Fungus from Wintergreen. *J. Nat. Prod*. 60: 1214-1215.
- Fisher, P.J.; Anson, A.E.; & Petrini, O. (1984b). Antibiotic Activity of some Endophytic Fungi from Ericaceous Plants. *Biotanica Helvetica*. 94: 249-253.
- Funk, C.R. (1983). An Endophytic Fungus and Resistance to Sod Webworms: Association in *Lolium perenne*. *Bio/Technology*. 1:189-191.
- Ge, H. M.; Song, Y. C.; & Tan, R.X. (2005). New and Cytotoxic Anthraquinone from *Pleospora* sp. IFB-E006, an Endophytic Fungus in *Imperata cylindrical*. *Planta Med*. 71: 1063-1065.
- Guo, B.; et al. (2000). Cytonic Acids A and B: Novel Tridepside Inhibitors of hCMV Protease from the Endophytic fungus *Cytospora* Species. *J. Nat. Prod*. 63: 602-604.
- Harper, J.; et al. (2001). Characterization of Stereochemistry and Molecular Confirmation Using Solid State NMR Tensors. *J. Am. Chem. Soc*. 123: 9837-9842.

- Harper, J.; Ford, K.E. J.; & Strobel, G. A. (2003). Pestacin: A 1,3-Dihydro Isobenzofuran from *Pestalotiopsis microspora* Possessing Antioxidant and Antimycotic Activities. *Tetrahedron*. 59: 2471-2476.
- Hawkworth, D. L. (1988). The Variety of Fungal – Algal Symbiosis, Their Evolutionary Significance, and the Nature of Lichens. *Bot. J. Linn. Soc.* 96: 3-20.
- Hoffman, A.; et al. (1998). Bioprospecting for Taxol in Angiosperm Plant Extracts. *Spectroscopy*. 13: 22-32.
- Horn, W. S.; et al. (1995). Phomopsichalasin, a Novel Antimicrobial Agent from an Endophytic *Phomopsis* sp. *Tetrahedron*. 14: 3969-3978.
- Isaac, S. (1992). *Fungal – Plant Interaction*. London: Chapman & Hall.
- Isaka, M.; et al. (2001). Phomoxanthone A and B Novel Xanthone Dimers from the Endophytic Fungus *Phomopsis* species. *J. Nat. Prod.* 64:1015-1018.
- . (2007). Antiplasmodial and Antiviral Cyclohexadepsipeptides from the Endophytic Fungus *Pullularia* sp. BCC 8613. *Tetrahedron*. 63(29) : 6855-6860.
- Jayasuriya, H.; et al. (1996). Oreganic Acid: A Potent Novel Inhibitor of Ras Farnesyl-Protein Transferase from an Endofytic Fungus. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 6: 2081-2084.
- Ju, Y.; Sacallis, J.N.; & Still, C.C. (1998). Bioactive Flavonoids from Endophyte Infect Blue Grass (*Poa ampla*). *J. Agric. Food Chemistry*. 46: 3785-3788.
- Kehr, R.D. (1992). Pezicular Canker of *Quercus rubra* L., Cause by *Pezicula cinamonea* (DC) Sacc.II. Morphology and Biology of the Causal Agent. *Endophytic Fungi in Journal of Forest Pathology*. 22: 29-40.
- Kim, S.; et al. (2004). Periconicin, Two New Fusicoccane Diterpene Produce by and Endophytic Fungus *Periconia* sp. with Antibacterial Activity. *J. Nat. Prod.* 67: 448-450.
- Kongsaeree, P.; et al. (2003). Antimalarial Dihydroisocoumarins Produced by *Geotrichum* sp., an Endophytic Fungus of *Crassocephalum crepidiodes*. *J. Nat. Prod.* 66: 709-711.

- Krohn, K.; et al. (2001). Biologically Active Metabolites from Fungi. Part 16: New Pressomerins J, K and L from an Endophytic Fungus: Structure Elucidation, Crystal Structure Analysis and Determination of Absolute Configuration by CD Calculation. *Tetrahedron*. 57: 4343-4348.
- Latch, G.C.M. (1993). Physiological Interactions of Endophytic Fungi and Their Hosts; Biotic Stress Tolerance Imparted to Grasses by Endophytes. *Agric. Ecosyst. Environ.* 44:143-156.
- Lee, J.; et al. (1995). The Relationship Between an Endangered North American Tree and an Endophytic Fungus. *Chem. Biol.* 2: 721-727.
- Lee, J. C.; Strobel, G.A.; & Clardy, J. (1996). Torreyanic Acid: a Selectively Cytotoxic Quinone Dimer From the Endophytic Fungus *Pestalotiopsis microspora*. *J. Org. Chem.* 61: 3232-3233.
- Li, J. Y.; et al. (1996). Endophytic Taxol Producing Fungi from Bald Cypress *Taxodium distichum*. *Microbiology*. 142: 2223-2226.
- . (1998). The Induction of Taxol Production in the Endophytic Fungus *Periconia* sp. from *Torreya grandifolia*. *J. Ind. Microbiol.* 20: 259-264.
- . (2000). Cryptocin, A Potent Tetramic Acid Antimycotic from the Endophytic Fungus *Cryptosporiopsis cf. quercina*. *Org. Lett.* 2(3): 767- 770.
- Li, J.Y.; & Strobel, G. A. (2001). Jesterone and Hydroxy-jesterone Antioomycetocyclohexenone epoxides from the Endophytic Fungus *Pestalotiopsis jesteri*. *Phytochemistry*. 57: 261-265.
- Li, C.; Johnson, R.P.; & Porco, J. A. (2003). Total Synthesis of the Quinine Epoxide Dimer (+)-Torreyanic Acid: Application of a Biomimetic Oxidation/ Electrocyclization/Diels-Alder Dimerization Cascade. *J. Am. Chem. Soc.* 125: 5059-5106.
- Lin, Z.; et al. (2007). Polyketide from *Penillium* sp. JP-1 an Endophytic Fungus Associated with the Mangrove Plant *Aegiceras corniculatum*. *Phytochemistry*. 69(5): 1273-1278.
- Liu, L.; et al. (2008). Pestaloficiols A-E, Bioactive Cyclopropane Derivatives from the Plant Endophytic Fungus *Pestalotiopsis fici*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 16(11): 6021-6026.

- Lu, H.; et al. (2000). New Bioactive Metabolites Produced by *Colletotrichum* sp., an Endophytic Fungus in *Artemisia annua*. *Plant Sci.* 151: 67-73.
- Meade – Toline, L.; et al. (2004). Ponacidin and Oridonin are Responsible for the Antiangiogenic Activity of *Rabdosia rubescens*, a Constituent of the Herbal Supplement PC. *J. Nat. Prod.* 67(11): 2-4.
- Miles, C.O.; et al. (1998). Endophytic Fungi in Indigenous Australian Grasses Associated with Toxicity to Livestock. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 601-606.
- Miller, J.D. (1986). Toxic Metabolites of Epiphytic and Endophytic Fungi of Conifer Needles. In *Microbiology of the Phyllosphere*. Edited by Fokkema N.J. & van den Heuvel. pp. 221-231. Cambridge: Cambridge University Press.
- Petrini, O. (1986). Taxonomy of Endophytic Fungi of Aerial Plant Tissues. In *Microbiology of the Phyllosphere*. Edited by Fokkema N.J. & van den Heuvel. pp. 175–187. Cambridge: Cambridge University Press.
- . (1996). Ecological and Physiological Aspects of Host Specificity. In *Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants*. Edited by Redlin S.C. & Carris L.M. pp. 87–100. Minnesota: APS Press.
- Petrini, O.; Hake, U.; & Dryfus, M. M. (1990). an Analysis of the Fungal Communities Isolated from Fructose Lichens. *Micologia* 82: 44-45.
- Photita, W.; et al. (2004). Endophytic Fungi of Wild Banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. *Mycol. Res.* 105:1508-1513.
- Polishook, J.D.; et al. (1993). Preussomerin D from the Endophyte *Hormonema dematioides*. *Mycologia*. 85(1): 62-64.
- Pongcharean, W.; et al. (2008). Metabolites from the Endophytic Fungus *Xylaria* sp. PSU-D14. *Phytochemistry*. 69: 1900-1902.
- Porter, J.K.; et al. (1985). In vitro Auxin Production by *Balensia epichole*. *Phytochemistry*. 24: 1429-1431.
- Pulici, M.; et al. (1996). a New Isodrimeninol from *Pestalotiopsis* sp. *J. Nat. Prod.* 59: 47-48.
- Pulici, M.; et al. (1997). Metabolite of *Pestalotiopsis* spp. Endophytic Fungus of *Taxus brevifolia*. *Phytochemistry*. 46: 313-319.

- Puri, S.C.; Verma, V.; Amna, T.; Qazi, G.N. and Spiller M. (2005). An Endophytic Fungus from *Nothapodytes foetida* that Produce Camptothecin. *J. Nat. Prod.* 68: 1717-1719.
- Redin, S.C.; & Carris, L.M. (1985). *Endophytic Fungi in Woody Plants and Grasses*. Systematic ecology and evolution. Minnesota: APS Press.
- Rodriguez-Heerkotz, K.F.; et al. (2001). Guignardic Acid, a Novel Type of Secondary Metabolite Product by Endophytic Fungus *Guignardai* sp.: Isolation, Structure Elucidation and Asymmetric Synthesis. *Helv. Chim. Acta.* 84: 3766.
- Rowan, D.D. (1993). Lolitrems, Peramine and Paxilline Mycotoxins of the Ryegrass/Endophyte Interaction. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 44: 103-122.
- Rukachaisirikul, V.; et al. (2008). Metabolites from Endophytic Fungus *Phomopsis* sp. PSU-D15. *Phytochemistry.* 69: 783-787.
- Saikkonen, K.; et al. (1998). Fungal Endophytes: a Continuum of Interaction with Host Plants. *Ann.Rev.Ecol.System.* 29: 319-343.
- Sherwood-Pike, M.; Stone, J.K.; & Carroll, G.C. (1986). *Rhabdocline parkeri* a Ubiquitous Foliar Endophyte of Douglas Fir. *Can. J. Bot.* 64: 1849-1855.
- Shrestha, K.; et al. (2001). Evidence for Paclitaxel from Three new Endophytic Fungi of Himalayan Yew of Nepal. *Planta Med.* 67: 374-376.
- Song, Y.C.; (2004). Endophytic Naphthopyrone Metabolites are Co-Inhibitors of Xanthine Oxidase, SW116 cell and Some Microbial Growths. *FEMS Microbiol. Lett.* 67: 241.
- Stierle, A.; Strobel, G.A.; & Stierle, D. (1993). Taxol and Taxane Production by *Taxomyces Andreanae*, an Endophytic Fungus of the Pacific Yew. *Science* 260: 214-216.
- Stierle, A.; Stierle, D.B.; & Bugni, T. (1999). Sequoiatones A and B: Novel Antitumor Metabolite Isolated from a Redwood Endophyte. *J. Org. Chem.* 64: 5479-5484.
- Stinson, M.; Ezra, D.; & Strobel, G. A. (2003). An endophytic Gliocladium sp. of *Eucryphia cordifolia* producing selective volatile antimicrobial compounds. *Plant Sci.* 165:913-922.

- Strobel, G. A. (2002). Rainforest Endophyte and Bioactive Products. *Crit. Rev. Biotechnol* 22(4): 315-333.
- (2003). Endophyte as Source of Active Products. *Microbes and Infection*. 5: 535-544.
- Strobel, G. A.; et al. (1993). *Taxomyces andreanae* a Proposed New Taxon for a Bulbilliferous Hyphomycete Associated with Pacific yew. *Mycotaxon*. 47: 71-78.
- (1996). Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an Endophytic Fungus of *Taxus wallichiana*. *Microbiology*. 142: 435-440.
- (1997). *Pestalotiopsis guepinii*, a Taxol Producing Endophyte of the Wollemi Pine, *Wollemia nobilis*. *Aust. J. Bot.* 45: 1073-1082.
- (1999). Oocycin A, a Chlorinated Macrocyclic Lactone with Potent Anti-Oomycete Activity from *Serratia marcescens*. *Microbiology*. 145: 3557-3564.
- (2002). Ispoestacin, an Isobenzofuranone from *Pestalotiopsis microspora*, Possessing Antifungal and Antioxidant Activities. *Phytochemistry*. 60: 179-183.
- Suske, J.; & Acker, G. (1989). Identification of Endophytic Hyphae of *Lophodermium piceae*. in Tissue of Green, Symptomless by Immunoelectron Microscopy. *Can. J. Bot.* 67: 1768-1774.
- Turbyville, T. J.; Wijeratne, E.M.K.; & Gunatilaka, A.A.L. (2006). Search for Hsp90 Inhibitors with Potential Anticancer Activity: Isolation and SAR Study of Radicol and Monocillin I from Two Plant Associated Fungi of the Sonoran Desert. *J. Nat. Prod.* 69(8): 178-184.
- Wagenaar, M.; et al. (2000) Three New Chytochalasins Produced by an Endophytic Fungus in the Genus *Rhinochrysiella*. *J. Nat. Prod.* 63: 1692-1695.
- Wagenaar, M. M.; & Clardy, J. (2001). Dicerandrols, New Antibiotic and Cytotoxic Dimers Produced by the Fungus *Phomopsis longicolla* Isolated an Endangered Mint. *J. Nat. Prod.* 64: 1006-1009.
- Walsh, T. A. (1992). Inhibitors of β -Glucan Synthesis. In *Emerging Targets in Antibacterial and Antifungal Chemotherapy*. Edited by Sutcliffe, J. A. and Georgopapadakou, N. H. pp. 349-373. London: Chapman & Hall.

- Wang, J.; et al. (2000). Taxol from Tubercularia sp. Strain TF5, an Endophytic Fungus of *Taxus mairei*. *FEMS Microbiol. Lett.* 193: 249-253.
- Wang, J.; et al. (2002). Brefeldin A, a Cytotoxin Produced by *Paecilomyces* sp. and *Aspergillus clavatus* isolate from *Taxus mairei* and *Torreya grandis*. *FEMS Microbiology.* 34: 51-57.
- Webber, J. (1981). A Natural Control of Dutch Elm Disease. *Nature.* 292: 449-451.
- White, J. F.; & Cole, G. T. (1985). Endophyte-Host Associations in Forage Grasses. III. *In vitro* Inhibition of Fungi by *Acremonium coenophialum*. *Mycologia.* 77: 487-489.
- Wilson, D. (2000). Ecology of Woody Plant Endophytes. In *Microbial Endophytes*. Edited by Bacon, C.W. and White, J.F. pp. 389-420. New York & Basel: Marcel Dekker.
- Wijeratne, E.M.K.; Paranagama, P.A.; & Gunatilaka, A.A.L. (2006). Five New Isocoumarins from Sonoran Desert Plant Associate Fungal Strains *Paraphaeospora quariseptata* and *Chaetomium chiversii*. *Tetrahedron.* 62: 8439 – 8446.
- Worapong, J.; et al. (2001). *Muscodor albus* gen. et sp. nov., an Endophyte from *Cinnamomum zeylanicum*. *Mycotaxon.* 79: 67-79.
- (2002). *Muscodor roseus* ann. nov. an Endophyte from *Grevillea pteridifolia*. *Mycotaxon.* 81: 463-475.
- Yang, X.; et al. (1994). A Fungal Endophyte – Tree Relationship: *Phoma* sp. in *Taxus wallachiana*. *Plant Science.* 102: 1-9.
- Young, D. H.; et al. (1992). Antifungal Properties of Taxol and Various Analogues. *Experientia.* 48: 882-885.
- Yue, Q.; et al. (2000). Isolation and Characterization of Fungal Inhibitors from *Epichloe festucae*. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4687-4692.
- Zhang, B.; et al. (1999). Discovery of Small Molecule Insulin Mimetic with Antidiabetic Activity in Mice. *Science.* 284: 974-981.
- Zhang, H.W.; et al. (2005). Four 6*H*-Dibenzo [b,d] Pyran-6-One Derivatives Produced by Endophyte *Cephalosporium acremonium* IFB- E007. *Helv. Chim. Acta.* 88: 2861-2864.

- Zhang, Y.; et al. (2007). A New Naphthaquinone Derivative from the Marine Algal-Derivative Endophytic Fungus *Aspergillus niger* EN-13. *Chin.Chem.Lett.* 18: 951-953.
- Zou, W. X.; et al. (2000). Metabolites of *Colletotrichum gloeosporioides*, an Endophytic Fungus in *Artemisia mongolica*. *J. Nat. Prod.* 63: 1529-1530.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

Anisaldehyde reagent มีส่วนผสมดังนี้

- | | | |
|----------------------------------|-----|-----|
| 1. absolute ethanol | 135 | mL. |
| 2. conc. H_2SO_4 | 5.0 | mL. |
| 3. glacial acetic acid | 1.5 | mL. |
| 4. anisaldehyde | 3.7 | mL. |

เมื่อเตรียม reagent เรียบร้อยแล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

อภิธานศัพท์

μg	=	microgram
mL	=	milliliter
br	=	broad
d	=	doublet
dd	=	doublet of doublet
t	=	triplet
m	=	multiplet
s	=	singlet
J	=	coupling constant
δ	=	chemical shift
acetone- d_6	=	deuterated acetone
CDCl_3	=	deuteriochloroform
mp	=	melting point
m/z	=	mass to charge ratio
M^+	=	molecular ion
ESSMS	=	electron spray mass spectrometry
$^1\text{H-NMR}$	=	Proton Nuclear Magnetic Resonance
$^{13}\text{C-NMR}$	=	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
Hz	=	Hertz
COSY	=	^1H -correrated spectroscopy
DEPT	=	Distortion Enhancement Polarization Transfer
HMQC	=	Heteronuclear Multiple Quantum Corelation
HMBC	=	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
FTIR	=	Fourier Transform Infrared
λ_{max}	=	maximum absorption wave length
ν_{max}	=	maximum absorption frequency
cm^{-1}	=	reciprocal cm
TLC	=	thin layer chromatography
conc.	=	concentrate

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์

ชื่อ-สกุล	นางสาวมนสวรรค์ ภูยาदार
วันเดือนปีเกิด	22 กรกฎาคม 2519
สถานที่เกิด	อำเภอขามเฒ่า จังหวัดกาฬสินธุ์
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	318 ตลาดพร้าว 96 แขวงพลับพลา เขตวังทองหลาง กรุงเทพมหานคร 10310

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2538	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนลำปา่ววิทยาคม จังหวัดกาฬสินธุ์
พ.ศ. 2542	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี) มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
พ.ศ. 2553	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์

ชื่อ-สกุล	นางสาวมนสวรรค์ ภูยาदार
วันเดือนปีเกิด	22 กรกฎาคม 2519
สถานที่เกิด	อำเภอขามเฒ่า จังหวัดกาฬสินธุ์
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	318 ตลาดพร้าว 96 แขวงพลับพลา เขตวังทองหลาง กรุงเทพมหานคร 10310

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2538	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนลำปาววิทยาคม จังหวัดกาฬสินธุ์
พ.ศ. 2542	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี) มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
พ.ศ. 2553	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ