บทที่ 1

บทนำ

เมื่อประมาณ 200 - 300 ปีมานี้ ประชากรส่วนใหญ่มักจะเสียชีวิตด้วยโรคติดเชื้อ (Infectious Diseases) ทั้งนี้เพราะความรู้ด้านการแพทย์และยารักษาโรคที่มีใช้ในสมัยนั้นยังอยู่ในวงกำจัด จนกระทั่งความรู้ด้านการรักษาด้วยยา (chemotherapy) ได้เริ่มขึ้นเมื่อ พอลล์ อีลิช (Paul Ehlich) ได้นำยาซัลวาซาน (salvasan) มาใช้รักษาโรคซิฟิลิสได้สำเร็จในปี ค.ศ. 1910 (Brinton, 1976) ต่อจากนั้นอเลคซานเดอร์ เฟลมมิง (Alexander Flamming) ได้ค้นพบเพนนิซิลิน (Penicillin) ในปี ค.ศ. 1929 ซึ่งยานี้มีความสำคัญมากในการรักษาโรคในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2

คำว่า "ปฏิชีวนะสาร" (Antibiotics) นั้นแวคสแมน (Waksman) ได้ให้คำจำกัดความไว้ว่า เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขบวนการเมตาโบลิซึม (Metabolism) ของสิ่งมีชีวิตบางชนิด ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและ/หรือ การอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นได้โดยใช้สารเพียงความเข้มข้นต่ำ ๆ เท่านั้น (Waksman, 1961; Brinton, 1976; Anthony, 1979) ปฏิชีวนะสารเป็นสารเมตาโบไลซ์ (metabolites) ที่ไม่ได้ถูกผลิตขึ้นมาเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของผู้ผลิตเอง แต่ถูกผลิตขึ้นมาเป็นพิเศษในจุลชีพ ผู้ผลิตปฏิชีวนะสารนั้น (Gottlieb, 1976; Katz, 1977) ซึ่งเราเรียกเมตาโบไลท์ชนิดนี้ว่า เซคันดารีเมตาโบไลท์ (secondary metabolite) ซึ่งจะถูกผลิตขึ้นในช่วงการผลิต (production phase; Juan, 1980) และจะถูกผลิตขึ้นมาโดยขบวนการ (pathway) ต่าง ๆ มากกว่าพรายมารีเมตาโบไลท์ (primary metabolite) ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโต จุลชีพบางจำพวกเท่านั้นที่สามารถผลิตปฏิชีวนะสารได้ ซึ่งจุลชีพเหล่านี้ได้แก่ แบคทีเรีย, รา ตลอดไปจนถึงพวกสเตรบโตไมซีส (Streptomyces) (Aharonowitz, 1981)

เนื่องจากมีแบคทีเรีย, รา และไวรัสบางชนิดทำให้เกิดโรคในคน, สัตว์ และพืช จึงได้มีการนำเอายาปฏิชีวนะสารมารักษาโรคดังกล่าว จนกระทั่งปัจจุบันนี้มียาปฏิชีวนะสารมากกว่า 300 ชนิด ได้ถูกนำมาใช้รักษาและป้องกันโรคติดเชื้อ แต่อย่างไรก็ตามการค้นหายาปฏิชีวนะสารชนิดใหม่ก็เป็นสิ่งจำเป็นที่จะต้องทำเพื่อที่จะได้นำมาใช้กับเชื้อโรคที่เพิ่มความต้านทานสูงขึ้นหรือเชื้อโรคที่ยังหายามากำจัดไม่ได้ การคัดเลือกหาจุลชีพที่สามารถผลิตปฏิชีวนะสารจากธรรมชาตินั้นนิยมคัดเลือกจากดินและจากนั้นนำมาทดสอบคุณสมบัติของยาปฏิชีวนะสารที่ผลิตขึ้น ซึ่งอาจทำได้โดยทำการเพาะจุลชีพที่ผลิตยาปฏิชีวนะสารบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อทำให้เกิดโรคเจริญอยู่แล้วดูความกว้างของบริเวณที่ยาสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรค (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น ต่อมาได้มีการพัฒนาวิธีการดังกล่าวมาเป็นวิธีพินพอยท์อินอคคูเลชัน (pin point inoculation) ซึ่งสะดวกกว่า (Brinton, 1976) จากนั้นได้มีการเลี้ยงจุลชีพที่ผลิตยาปฏิชีวนะสารได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำน้ำใส (culture filtrate) มาทดสอบประสิทธิภาพโดยวิธีการซึมของยาในวุ้นเพาะเชื้อ (agar diffusion) ยาปฏิชีวนะสารที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันถูกแบ่งออกได้เป็นหลายชนิดตามโครงสร้างทางเคมีของมัน เช่น เปปไทด์แอนติไบโอติค (peptide antibiotic), อมิโนไกลโคไซด์ (amino glycoside), นอนโพลีอีนแมคโครไลด์ (non - polyene macrolide) และโพลีอีนแมคโครไลด์ (polyene macrolide) เป็นต้น (Anthony, 1979)

ราเป็นจุลชีพชนิดยูคาริโอท (eukaryote) ซึ่งเป็นต้นเหตุของโรคติดเชื้อมากมายหลายชนิดทั้งที่เกิดกับมนุษย์, พืช และสัตว์ ดังนั้นการค้นพบยาปฏิชีวนะสารที่มีคุณสมบัติต่อต้านเชื้อราได้จึงเป็นสิ่งที่น่าจะเกิดประโยชน์แก่มนุษย์ โดยทั่วไปแล้วยาปฏิชีวนะสารที่มีโครงสร้างทางเคมีเป็นแบบโพลีอีน (polyene antibiotic) มักจะมีคุณสมบัติต่อต้านเชื้อราและยีสต์ แต่มักจะไม่มีผลต่อต้านแบคทีเรียเลย (Norman, 1972) ดังนั้นจึงสามารถนำเอายาปฏิชีวนะสารชนิดโพลีอีนมาใช้รักษาโรคที่เกิดจากเชื้อราและยีสต์ได้ เช่น ใช้แอมโฟเทอริซิน บี (Amphotericin B) รักษาโรคฮีสโตพลาสโมซิส (histoplasmosis), ค็อกซิดิโออิโดไมโคซิส (coccidioidomycosis) และใช้ไนสแตนติน (Nystantin) รักษาโรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหาร โรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อ Candida เป็นต้น นอกจากจะใช้ยาปฏิชีวนะสารชนิด

โพลีอีนมาเป็นประโยชน์ด้านรักษาโรคแล้ว ยังสามารถนำไปใช้ในจุดประสงค์อื่นเช่น การถนอมอาหาร, ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดจนควบคุมและรักษาโรคพืชบางชนิด (J.M.T. Hamilton-Miller, 1973) โพลีอีนเป็นสารที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยพันธะคู่ (double bond) หลายตำแหน่ง ซึ่งชื่อที่ใช้เรียกขึ้นอยู่กับจำนวนพันธะคู่ที่มีเช่น โพลีอีนที่มีพันธะคู่ 5 ตำแหน่ง เรียกว่า เพนตาอีน (pentaene) เป็นต้น โพลีอีนสามารถทำลายเชื้อราและยีสต์ได้โดยที่สารประเภทนี้จะไปจับกับสารที่อยู่บนเยื่อเซล (cell membrane) ของราและยีสต์ ซึ่งมีผลทำให้โครงสร้างของเยื่อเซลเปลี่ยนแปลงไป ทำให้เซลสูญเสียความสามารถในการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ เซลจึงไม่สามารถดำรงชีพอยู่ได้ตามปกติ (Brinton, 1976; Zygmunt, 1966) เช่น ปฏิกิริยาของสารโพลีอีนชื่อ ฟิลิปิน (Filipin) ซึ่งเป็นเพนตาอีนสามารถทำปฏิกิริยากับคอเลสเตอรอล (cholesterol) ในเยื่อเซลของรา และปฏิกิริยานี้ทำให้คุณสมบัติด้านสรีระวิทยา (physiology) ของเยื่อเซลเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ซึ่งทำให้การผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของ รา เป็นไปได้ไม่ดี (Norman, 1972)

คุณสมบัติของการดูดแสงในย่านวิสิบิล (visible) และอุลตราไวโอเลต (ultraviolet) ของสาร เป็นคุณสมบัติขั้นต้นที่ใช้ตรวจสอบว่าสารนั้นเป็นโพลีอีนหรือไม่ นอกจากนั้นยังสามารถบอกได้ว่าเป็นโพลีอีนกลุ่มใดเช่น ไตรอีน (triene), เทตราอีน(tetraene) หรือเฮบตาอีน (heptaene) เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามการใช้คุณสมบัติการดูดแสงก็เป็นเพียงวิธีคร่าว ๆ เท่านั้น ซึ่งนอกจากจะใช้คุณสมบัติการดูดแสงในการศึกษาแล้วยังมีการใช้วิธีการทางโครมาโตกราฟฟี (chromatography) มาช่วยอีกด้วย ยาปฏิชีวนะสารบางชนิดโพลีอีนมักเป็นสารที่มีสีและสีขึ้นกับจำนวนพันธะคู่ที่มี ถ้ามีพันธะคู่มากก็จะมีสีเข้มขึ้นเป็นลำดับ (Hamilton Miller, 1973)

เป็นที่น่าสนใจที่ในจำนวนยาปฏิชีวนะสารที่ถูกนำมาใช้มีมากกว่า 50% ได้มาจากจุลชีพจำพวกแอคทีโนไมซีติส (actinomycetes) (Aharonwitz, 1981) และ 90% ของกลุ่มแอคทีโนไมซีติสนี้เป็นจุลชีพในสกุลสเตรปโตไมซีส (Streptomyces) สเตรปโตไมซีสเป็นจุลชีพที่จัดอยู่ระหว่างราและแบคทีเรีย มีการสร้างสายใยที่ยื่นขึ้นมาในอากาศ (aerial mycelium) และสายใยที่เจริญอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (substrate mycelium) มีผนังเซล (cell wall)

ที่ประกอบด้วย มิวโคเปปไทด์ (mucopeptide) ต่อกับเอน-อซิทิลมิวรามิคเอซิด (N-acetyl muramic acid), ไดอมิโน พิมิลิค เอซิด (diamino pimilic acid) (Waksman, 1974) ไม่มีสเตียรอยด์ เป็นส่วนประกอบของเยื่อเซล (cell membrane) (Davis, 1973) สร้างสปอร์ (spore) แบบสายใย โคโลนีมีขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 - 10 ม.ม. อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 25 - 35 องศาเซลเซียส ช่วงความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 6.5 - 8.0 การเจริญสามารถถูกยับยั้งได้โดยยาต่อต้านแบคทีเรีย (antibacterial drug) เช่น เพนนิซิลิน, สเตรบโตไมซิน และเททราไซคลิน เป็นต้น (Davis, 1973) จุลชีพในสกุลนี้มีลักษณะโดยละเอียดแตกต่างกันไปอีกโดยเฉพาะ เช่น ลักษณะสายใย, สีของสปอร์, ความสามารถในการเจริญบนอาหารชนิดต่าง ๆ และความสามารถในการใช้สารแหล่งคาร์บอนเป็นต้น ซึ่งเราได้ใช้คุณสมบัตินี้เป็นประโยชน์ในการจัดแบ่งหมวดหมู่ของสเตรบโตไมซีสออกเป็นชนิดต่าง ๆ กัน โดยได้จัดทำเป็นหมวดหมู่ไว้โดยเฉพาะ (Waksman, 1974) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาทดลองและสรุปเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับศึกษาและจัดหมวดหมู่สเตรบโตไมซีสโดยเฉพาะขึ้นโดย Shirling E.B. และคณะ (Shirling, 1966) ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นที่ยอมรับและนิยมใช้ทั่วไป

ในประเทศไทยยังไม่ได้มีการศึกษาค้นคว้าหายาปฏิชีวนะสารใหม่กันอย่างจริงจัง ดังนั้นการแยกเชื้อสเตรบโตไมซีสจากดินในประเทศไทยและการศึกษายาปฏิชีวนะสารที่ผลิตโดยเชื้อสเตรบโตไมซีสจึงเป็นงานวิจัยที่น่าสนใจมาก เพราะอาจจะทำให้พบยาปฏิชีวนะสารชนิดใหม่และบางทีอาจจะพบยาที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้สนใจงานวิจัยดังกล่าวและได้เริ่มศึกษาตั้งแต่การแยกเชื้อสเตรบโตไมซีสจากดิน ทดสอบความสามารถในการสร้างสารต่อต้านเชื้อรา จนกระทั่งคัดเลือกได้เชื้อ Streptomyces sp. CU 279 ซึ่งนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการศึกษาลักษณะและการจัดจำแนกชนิดของเชื้อ การหาอาหารที่เหมาะสมในการผลิตสารต่อต้านเชื้อรา การทำสารให้บริสุทธิ์เป็นบางส่วน ศึกษาคุณสมบัติบางประการของสาร การนำสารไปใช้ยับยั้งการแพร่กระจายของโรค และศึกษาความเป็นพิษของสารในสิ่งมีชีวิต