ปัญจมาภรณ์ จันทเสนา : การศึกษาคุณสมบัติและประเมินฤทธิ์ของสารด้านจุลินทรีย์ที่ สร้างโดยเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกจากดินต่อเชื้อแบคทีเรียคื้อยา (CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF ANTIMICROBIAL COMPOUNDS PRODUCED BY SOIL ACTINOMYCETES AGAINST DRUG-RESISTANT BACTERIA) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คร.นวรัตน์ นันทพงษ์, 94 หน้า.

การเพิ่มขึ้นของแบกทีเรียดื้อยาถือเป็นปัญหาสุขภาพทั่วโลก สายพันธุ์คื้อยาเป็นอุปสรรค ต่อการรักษาและการควบคุมโรคติดเชื้อ ทำให้ต้องมีการค้นหาและการพัฒนายาปฏิชีวนะชนิดใหม่ ขึ้น ซึ่งสเตรปโตมัยสีทได้รับการยอมรับว่าเป็นแหล่งผลิตสารทุติยภูมิรวมถึงยาปฏิชีวนะ ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาลักษณะของสารปฏิชีวนะที่ได้จากเชื้อสายพันธ์ PJ85 ที่ แยกได้จากดินบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย จากผลการ จำแนกชนิดโดยอาศัยการวิเคราะห์ลำดับเบสบนจีน 16S rRNA และการศึกษาแผนภูมิวิวัฒนาการ ของจีน 16S rRNA พบว่า สายพันธุ์ PJ85 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ Streptomyces actinomycinicus RCU-197<sup>T</sup> (JCM 30864<sup>T</sup> TISTR 2208<sup>T</sup> และ PCU 342<sup>T</sup>) ที่แยกได้จากดินป่าพรุในจังหวัดระยอง ประเทศไทย มากที่สุด จากการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสายพันธุ์ PJ85 โดยวิธี perpendicular streak พบว่า สายพันธุ์ PJ85 สามารถยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus DMST20651 ที่ดื้อต่อยาเมทิชิลิน (MRSA) ได้ สู ง สุ ด แ ล ะ Staphylococcus epidermidis TISTR518 Staphylococcus aureus ATCC29213 Bacillus subtilis TISTR008 Bacillus cereus TISTR687 ตามลำดับ

สารออกฤทธิ์ด้านเชื้อจุลชีพที่ได้จาก PJ85 ถูกนำมาสกัดและวิเคราะห์ลักษณะสารด้วย เทคนิค liquid chromatography and mass spectrum (LC-MS) และ เทคนิคอินฟราเรดไมโครสเปก โทรสโกปีโดยใช้แสงซินโครตรอน ในการสกัดสารออกฤทธิ์นั้น เชื้อสายพันธุ์ PJ85 ถูกนำมาสกัด สารสกัดหยาบโดยใช้เอทิลอะซิเตต จากนั้น สารออกฤทธิ์ได้ถูกแยกจากสารสกัดหยาบโดยวิธี thin layer chromatography (TLC) และนำมาทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพด้วยเทคนิค contact bioautography จากการทดสอบดังกล่าว พบว่า สามารถแยกสารได้ 3 ชนิด คือ สารประกอบ 1 สารประกอบ 2a และ สารประกอบ 2b โดยสารที่ออกฤทธิ์ต้านจุลชีพได้นั้นมี 2 ชนิด คือ สารประกอบ 1 และ สารประกอบ 2a จากนั้น สารต้านจุลชีพทั้ง 2 ชนิด ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ เอกลักษณ์ด้วยวิธี LC-MS และ เทคนิคอินฟราเรดไมโครสเปกโทรสโกปีโดยใช้แสงซินโครตรอน

โดยสารประกอบ 1 ถูกระบุว่าเป็น actinomycin D ในขณะที่สารประกอบ 2a ถูกระบุว่าเป็นอนุพันธ์ ของกรด caffeoylquinic ชื่อว่า tricaffeoyl quinic ที่มีความเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายลิกนิน ซึ่ง การศึกษานี้ถือเป็นครั้งแรกที่มีการรายงานถึงลักษณะของสารออกฤทธิ์ที่แยกได้จากเชื้อสายพันธุ์ S. actinomycinicus



สาขาวิชาปรีคลินิก ปีการศึกษา 2563 ลายมือชื่อนักศึกษา ปัญหาสมา จันทุเลนา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา PANJAMAPHON CHANTHASENA: CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF ANTIMICROBIAL COMPOUNDS PRODUCED BY SOIL ACTINOMYCETES AGAINST DRUG-RESISTANT BACTERIA. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. NAWARAT NANTAPONG, Ph.D. 94 PP.

BACTERIAL SOIL ISOLATE/ ACTINOMYCETES/ STREPTOMYCES SP. PJ85/
ANTIBIOTICS/ CAFFEOYLQUINIC ACID/ DRUG-RESISTANT
MICROORGANISMS

The increasing of antibiotic-resistant bacteria is a global health problem. The resistant strains have compromised the treatment and control of infectious diseases. As the result, the search and development of a novel class of antibiotic drugs are required. Streptomycetes have been recognized as a richest source of secondary metabolites including antibiotics. The aim of this study was to characterize the antimicrobial compounds of bacterial soil isolate PJ85 which was isolated from soil in Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima province, Thailand. Based on 16S rRNA gene sequence and phylogenetic tree analysis, strain PJ85 possessed a high similarity to *Streptomyces actinomycinicus* RCU-197<sup>T</sup> (JCM 30864<sup>T</sup>, TISTR 2208<sup>T</sup> and PCU 342<sup>T</sup>) that have been isolated from soil of a peat swamp forest in Rayong province, Thailand. Perpendicular streak method was used for evaluation of antimicrobial activity of PJ85. The results revealed that methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* DMST20651 (MRSA) was the most sensitive to PJ85 followed by *Staphylococcus* 

epidermidis TISTR518, Staphylococcus aureus ATCC29213, Bacillus subtilis TISTR008 and Bacillus cereus TISTR687, respectively.

The active compounds of PJ85 were extracted and characterized by using liquid chromatography and mass spectrum (LC-MS) and synchrotron-fourier transform infrared (SR-FTIR) microspectroscopy. In order to extract active compounds, ethyl acetate was used as a solvent. The active compounds of PJ85 were then purified by using thin layer chromatography (TLC) technique and tested for antimicrobial activity by contact bioautography. The result showed that crude compound of PJ85 could be separate into 3 compounds including compound 1, compound 2a and compound 2b. Compound 1 and compound 2a that exhibited antimicrobial activity were then characterized by LC-MS and SR-FTIR microspectroscopy. Compound 1 was identified as actinomycin D while compound 2a was tricaffeoyl quinic acid, a derivative of caffeoylquinic acid involved in lignin degradation. To our best knowledge, this work provides the first report of characterization of active compounds derived from *S. actinomycinicus*.

รักยาลัยเทคโนโลยีสุรูบา

School of Preclinical Sciences

Academic Year 2020

Student's Signature ปีผูวหากเลื่อันกุลหา

Advisor's Signature