

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RDG3/32/2543

ชื่อโครงการ : สารออกฤทธิ์ต้านไวรัสจากสาหร่าย

นักวิจัย : บุษยา บุนนาค¹, มารศรี เรืองจิตชัชวาลย์¹, ประสาท กิตตะคุปต์²,
สนทยา ลิ้มมัทวาทิธี³ และณัฐยาภรณ์ ชีระสุวรรณ⁴

¹คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี,

²ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

³คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, ⁴สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

email address: boosya.bun@kmutt.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: กันยายน 2543 - กันยายน 2546

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าประเภทประกอบทางเคมีของสารสกัดจากสาหร่ายสไปรูลีนา ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ HSV-1 โดยใช้หลัก bioassay guided fractionation และศึกษาความคงตัวของสารออกฤทธิ์ รวมทั้งพัฒนาตำรับยาทาภายนอกจากสารสกัดที่ได้

สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูลีนา 2 ชนิด คือ crude lipid และ crude hot water extract polysaccharide มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ HSV-1 ที่ค่า IC₅₀ 17.28 และ 21.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทำเฉพาะ crude lipid เนื่องจากมีปริมาณมากกว่า crude hot water extract polysaccharide โดยใช้เทคนิคทาง gel filtration chromatography ในการแยกสารสกัดให้บริสุทธิ์ และใช้ NMR HPLC-MS และ GC ในการวิเคราะห์สูตรโครงสร้างทางเคมี พบว่า สารสำคัญที่ทำให้ crude lipid มีฤทธิ์เป็นสารต้านเชื้อ HSV-1 คือ สารกลุ่ม sulfoquinovosyl diacylglycerol ที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว C18:2 และ กรดไขมันอิ่มตัว C16:0 esterify อยู่ที่ตำแหน่ง sn-1 และ sn-2 ตามลำดับ ขณะที่ตำแหน่งที่ 3 ของ glycerol backbone เป็นน้ำตาล α -D-quinovose ที่มี sulfonic acid เป็นองค์ประกอบ โดยมีค่า IC₅₀ 7.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งยับยั้งเชื้อ HSV-1 ดีกว่า crude lipid ประมาณ 2.3 เท่า และจากการพัฒนาตำรับยาโดยใช้ crude lipid เป็น active ingredient ในปริมาณร้อยละ 10 พบว่า ตำรับยา SE 002 แสดงคุณสมบัติออกฤทธิ์ต้านเชื้อ HSV-1 ดีกว่ายาครีม ZEVIN ซึ่งมี acyclovir เป็นองค์ประกอบอยู่ร้อยละ 5 การศึกษาความคงตัวทางเคมีของสารออกฤทธิ์ในสารสกัด EtOAc ของ crude lipid และตำรับยา 3 ตำรับ (SE002 SE003 และ SE006) พบว่า สารสำคัญมีความคงตัวต่ำ

สำหรับ crude hot water extract polysaccharide พบว่า สารดังกล่าวมีน้ำตาล rhamnose เป็นองค์ประกอบหลัก โดยแคลเซียมและซัลเฟตไอออนมีบทบาทสำคัญต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ HSV-1 ของ polysaccharide

คำหลัก: สาหร่ายสไปรูลีนา, HSV-1, sulfoquinovosyl diacylglycerol

Abstract

Project Code : RDG3/32/2543

Project Title : Antiviral compounds from microalgae

Investigators : Bunnag, B.¹, Ruengjitchatchawalya, M.¹, Kittakoo, P.²,
Limmatvapat, S.³ and Chirasuwan, N.⁴

¹School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi,

²National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology
Development Agency, ³Faculty of Pharmacy, Silpakorn University

⁴Pilot Plant Development and Training Institute, King Mongkut's University of Technology Thonburi

email address: boosya.bun@kmutt.ac.th

Project Duration : September 2000 - September 2003

This research project aims to detect anti HSV-1 compound from *Spirulina platensis* by bioassay guided fractionation. The stability of the bioactive compound was also tested. A study was also performed to formulate an *S.platensis* extract to be used topologically.

The results from the study showed that crude lipid extract and crude hot water extract of *S. platensis* had IC₅₀ values against HSV-1 of 17.28 and 21.32 µg/ml, respectively. Crude lipid was selected for further study on chemical structure analysis of the bioactive compound, due to the amount present in the cell. Purification of crude lipid was performed using gel filtration chromatography. The chemical structure of the bioactive compound was studied using NMR, HPLC-MS and GC. It was found that the chemical structure of the bioactive compound from crude lipid was sulfoquinovosyl diacylglycerol, which has C18:2 and C16:0 esterified at *sn*-1 and *sn*-2 respectively, while α-D-quinovose with sulfonic acid was found to link to the *sn*-3 position of glycerol backbone. The anti HSV-1 activity was IC₅₀ 7.62 µg/ml, which was 2.3 times higher than the activity of the crude lipid. Studies on formulation of the bioactive compound in order to be used topologically, found that the formulae SE 002 (10% active compound) had higher antiviral activity than ZEVIN cream (5% acyclovir). The stability of the EtOAc extract and 3 formulations (SE 002, SE 003 and SE 006) showed low stability.

The crude hot water extract was found to be a polysaccharide with rhamnose as the main sugar component. Calcium and sulfate ions in this polysaccharide also had major roles in the antiviral activity.

Keywords: *Spirulina platensis*, HSV-1, sulfoquinovosyl diacylglycerol