

พงศกร กันทะ : การแยกและการศึกษาคุณสมบัติของสารต้านจุลชีพที่สร้างโดยเชื้อสเตรปโตมัยซิสสายพันธุ์ PKA51 ต่อเชื้อแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ (ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ANTIMICROBIAL COMPOUNDS PRODUCED BY *STREPTOMYCES* SP. PKA51 AGAINST ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA)
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นวรรตน์ นันทพงษ์, 98 หน้า.

คำสำคัญ: สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ, *Streptomyces*, เชื้อจุลินทรีย์ดื้อยาปฏิชีวนะ

การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างแพร่หลายทางการแพทย์นำไปสู่การพัฒนาแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ การเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วของแบคทีเรียที่ดื้อยาปฏิชีวนะเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขทั่วโลก เนื่องจากทำให้การรักษาล้มเหลว เกิดการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตในมนุษย์ ดังนั้นการค้นหาสารต้านจุลชีพที่มีศักยภาพจากแหล่งธรรมชาติจึงเป็นสิ่งสำคัญ สารต้านจุลชีพจำนวนมากถูกสร้างโดยเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจาก streptomycetes แบคทีเรียเส้นใยที่อยู่ในสกุล *Streptomyces* เป็นที่รู้กันว่าเป็นแหล่งของยาปฏิชีวนะที่มีศักยภาพ ในปี พ.ศ. 2560 เชื้อ *Streptomyces* sp. PKA51 ถูกแยกได้จากดินป่าเต็งรังที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประเทศไทย ในการศึกษาจากผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของ 16S rDNA และการวิเคราะห์แผนภูมิสายวิวัฒนาการ พบว่าสามารถระบุสายพันธุ์ PKA51 ได้เป็นเชื้อ *Streptomyces luteosporus* สายพันธุ์ PKA51 แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพแบบกว้างต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อก่อโรคดื้อยาปฏิชีวนะ ดังนั้น จุดมุ่งหมายของการศึกษานี้คือการแยกและระบุลักษณะสารประกอบต้านจุลชีพที่ผลิตโดยสายพันธุ์ PKA51 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ PKA51 ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC) และ คอลัมน์โครมาโทกราฟี (CC) จากผล CC พบสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพสองชนิดด้านเชื้อ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20654 จากผลการศึกษา อัลตราไวโอเลตและวิลิเบิลสเปกโทรสโคปี, โครมาโทกราฟีของเหลว-แมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS) และ นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโคปี (NMR) พบว่าสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้ง 2 ชนิด ถูกระบุว่าเป็น thiolutin ($C_8H_8N_2O_2S_2$) และ thiolutin dioxide ($C_8H_8N_2O_4S_2$) ตามลำดับ สารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้รับการประเมินฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อเชื้อ MRSA methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) *E. coli* 2026 ทางคลินิก และ *K. pneumoniae* 1617 ทางคลินิก จากผลการศึกษาพบว่า thiolutin มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ MRSA DMST20654 ได้สูงสุด ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ที่ 4 และ 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

นอกจากนี้ thiolutin dioxide ยังแสดงศักยภาพสูงสุดในการต้านจุลชีพต่อเชื้อ MRSE โดยมีค่า MIC และ MBC ที่ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามความรู้ที่ดีที่สุดของเรา นี่เป็นรายงานฉบับแรกที่สามารถแยกและศึกษาคุณลักษณะของ thiolutin dioxide ที่ได้จากเชื้อ *S. luteosporus* การค้นพบนี้ นำไปสู่การพัฒนาสารต้านจุลชีพที่มีศักยภาพสำหรับการใช้งานทางเภสัชกรรม



สาขาวิชาปรีคลินิก
ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่อนักศึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

พงศกร วัฒนทะ

PHONGSAKORN GANTA : ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ANTIMICROBIAL COMPOUNDS PRODUCED BY *STREPTOMYCES* SP. PKA51 AGAINST ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. NAWARAT NANTAPONG, Ph.D. 98 PP.

Keyword: Bioactive compound, *Streptomyces*, Antibiotic-resistant bacteria

The widespread use of antibiotics in medicine has led to the development of antibiotic-resistant bacteria. The rapid occurrence of antibiotic-resistant bacteria is a global public health concern since it causes treatment failure, morbidity, and mortality in humans. Thus, the discovery of potent antimicrobial compounds from natural sources is required. Several numbers of antimicrobial compounds are produced by microorganisms, especially from streptomycetes. The filamentous bacteria of the genus *Streptomyces* have been known as potential sources of antibiotics. In 2017, *Streptomyces* sp. PKA51 was isolated from dry dipterocarp forest soil at Suranaree University of Technology, Thailand. Based on 16S rDNA and phylogenetic tree, the strain PKA51 can be identified as *Streptomyces luteosporus*. The strain PKA51 showed broad-spectrum antimicrobial activity against Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, and drug-resistant pathogens. The aim of this study was to isolate and identify antimicrobial compounds produced by the strain PKA51. Bioactive compounds of PKA51 were purified by using thin-layer chromatography (TLC), and column chromatography (CC). The CC results revealed two active compounds against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST20654. Based on UV-Vis spectroscopy, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, the two bioactive compounds were identified as thiolutin ($C_8H_8N_2O_2S_2$) and thiolutin dioxide ($C_8H_8N_2O_4S_2$), respectively. Bioactive compounds were examined for antimicrobial activity against MRSA DMST20654, methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE), clinical isolate *Escherichia coli* 2026, and clinical isolate *Klebsiella pneumonia* 1617. The result showed that thiolutin was the most effective against MRSA DMST20654 with minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) values of 4 and 8

ug·ml⁻¹, respectively. Furthermore, thiolutin dioxide exhibited the most potent antimicrobial activity against MRSE with MIC and MBC values of 4 ug·ml⁻¹. To our best knowledge, this is the first report on isolation and characterization of thiolutin dioxide from *S. luteosporus*. This finding leads to the development of potential antimicrobial agents for pharmaceutical applications.



School of Preclinical Sciences
Academic Year 2021

Student's Signature
Advisor's Signature

หนวดีกร จันทร์