The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences

Volume 13
Issue 4 *1988*

Article 1

1-1-1988

เซลล์เพาะเลี้ยงพืชสมุนไพร : ปัญหาและศักยภาพในการสร้าง Secondary metabolites

วันชัย ดีเอกนามกูล

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/tjps

Part of the Pharmacology Commons

Recommended Citation

ดีเอกนามกูล, วันชัย (1988) "เซลล์เพาะเลี้ยงพืชสมุนไพร : ปัญหาและศักยภาพในการสร้าง Secondary metabolites," *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*: Vol. 13: Iss. 4, Article 1.
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/tjps/vol13/iss4/1

This Editorial is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

เรื่อง ๗ ก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
14
6299182 22

บทบรรณาธิการ

EDITORIALS

เซลล์เพาะเลี้ยงพืชสมุนไพร : ปัญหาและศักยภาพในการสร้าง Secondary metabolites

*วันชัย ดีเอกนามกูล, Ph.D.**

ท่านที่อยู่ในแวดวงวิชาการด้าน natural product chemistry และ pharmacognosy ซึ่งมักจะติดตามความก้าวหน้าทางด้านนี้โดยการอ่านวารสาร Journal of Natural Products, Planta Medica และ Phytochemistry คงจะมีความเห็นคล้าย ๆ กันที่ว่า ตั้งแต่ปี 1970 เป็นต้นมา วารสารเหล่านี้ได้มีการรายงานและบทความมากมายที่เกี่ยวกับการสร้างสารขั้นทุติยภูมิโดยเนื้อเยื่อและเซลล์เพาะเลี้ยงของพืช (production of secondary metabolites by plant tissue and cell cultures) อาจจะกล่าวได้ว่าการตื่นตัวของวิทยาการในสาขานี้เป็นผลสืบเนื่องมาจากความสำเร็จของนักวิทยาศาสตร์เมื่อสามสิบกว่าปีที่แล้วที่สามารถเพาะเลี้ยงพืชให้อยู่ในรูปของเนื้อเยื่อหรือเซลล์ซึ่งคล้ายกับการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลชีพนั่นเอง (1) ในสมัยนั้นนักวิทยาศาสตร์มีความคิดกันว่าน่าจะเป็นการดีไม่น้อยถ้าหากว่าเซลล์เพาะเลี้ยงสามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ใช้เป็นยาได้ เพราะนั่นหมายถึงว่าโรงงานยาสามารถที่จะได้สารที่นำมาทำเป็นยาได้โดยไม่ต้องใช้วิธีการเพาะปลูกซึ่งนอกจากจะใช้เนื้อที่และเวลามากแล้ว ยังมีความไม่แน่นอนทางด้านผลผลิตเนื่องจากขึ้นอยู่กับสภาพดินฟ้าอากาศและโรคต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดกับพืชได้ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เซลล์จะถูกเลี้ยงในตู้หมักขนาดใหญ่ซึ่งมีการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เพื่อให้ได้สารที่มีคุณภาพคงที่ในปริมาณที่สูงและใช้เวลาสั้น ทำให้สามารถที่จะป้อนโรงงานอย่างสม่ำเสมอไม่ว่าจะเป็นฤดูกาลอะไร เหตุผลเหล่านี้ได้ผลักดันให้บริษัท Pfizer (ในปี ค.ศ. 1956) โดยการนำของ Routier และ Nickell (2) ทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์พืชชนิดต่าง ๆ ในตู้หมักที่มีความจุหลายสิบลิตร ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาความคิดที่จะใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์เป็นอีกวิธีการหนึ่งในการสังเคราะห์สาร secondary metabolites ก็ได้ขยายตัวออกไปจึงทำให้งานวิจัยทางด้านนี้ตื่นตัวขึ้นเป็นลำดับดังที่ได้กล่าวในข้างต้น

---

*ภาควิชาเภสัชเวท, คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถึงแม้ว่าการศึกษาในสาขาวิชานี้ได้ผ่านมาเป็นระยะเวลาถึง 30 ปี ในปัจจุบันมีเพียง 2 โครงการเท่านั้นที่ประสบความสำเร็จในเชิงพาณิชย์ ซึ่งได้แก่การผลิต shikonins จากเซลล์เพาะเลี้ยงของ *Lithospermum erythorhizon* และการผลิต berberine จากเซลล์เพาะเลี้ยงของ *Coptis Japonica* ทั้งสองโครงการอยู่ภายใต้การควบคุมของบริษัท Mitsui Petrochemical Industry (Tokyo) ประเทศญี่ปุ่น สาเหตุที่การประยุกต์เทคนิคนี้ไปใช้ในอุตสาหกรรมยังพัฒนาไปอย่างเชื่องช้าทั้ง ๆ ที่มีงานวิจัยด้านพื้นฐานอยู่อย่างกว้างขวาง ก็เนื่องมาจากเหตุผลหลัก 2 ประการคือ 1) เซลล์เพาะเลี้ยงของพืชสมุนไพรมักจะไม่สร้างสารสำคัญ หรือถ้าสร้างก็จะมีปริมาณที่ต่ำกว่าที่พบในเซลล์ของต้นพืช และ 2) ค่าใช้จ่ายในกระบวนการการเพาะเลี้ยงเซลล์และสกัดสารยังค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะปลูก

การที่เซลล์เพาะเลี้ยงของพืชสมุนไพรไม่ค่อยสร้างสารสำคัญที่ต้องการนั้นเชื่อกันว่า มีสาเหตุหลักมาจากการที่เซลล์เพาะเลี้ยงมี degree of differentiation ไม่เท่ากับที่มีอยู่ในเซลล์ของต้นพืช กล่าวคือในพืชต้นหนึ่ง ๆ จะประกอบไปด้วยเซลล์หลายชนิดที่มีลักษณะและหน้าที่แตกต่างกันไป เซลล์ชนิดต่าง ๆ เหล่านี้เป็นผลมาจากการ differentiation ของเซลล์ที่เกิดขึ้นก่อนเมื่อพืชนั้นมีการเจริญเติบโตถึงระดับหนึ่ง เซลล์เฉพาะ (specialized cells) บางประเภทเท่านั้นที่มีกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthetic pathway) ของสารที่ต้องการเกิดขึ้น นอกจากนี้สารที่ถูกสร้างขึ้นอาจจะถูกส่งไปสะสมในเซลล์เฉพาะอีกประเภทหนึ่ง ซึ่งทำให้เพิ่มความสลับซับซ้อนในกระบวนการสร้างและสะสมของสารในกลุ่ม secondary metabolites มากยิ่งขึ้น สำหรับในระบบของเซลล์เพาะเลี้ยงนั้น เซลล์โดยทั่วไปจะมีลักษณะที่คล้าย ๆ กันและมีระดับของ differentiation ที่ต่ำซึ่งใกล้เคียงกับของ meristematic cells ในพืชที่ทำหน้าที่หลักในการแบ่งเซลล์ ดังนั้นจึงไม่น่าแปลกใจนักที่เซลล์เพาะเลี้ยงมักจะไม่สร้างสารที่ต้องการ แต่อย่างไรก็ดี เป็นที่ยอมรับกันว่าเซลล์เพาะเลี้ยงทั้งหลายมีข้อมูลทางพันธุกรรม (genetic information) ครบทุกประการเช่นเดียวกับเซลล์ในพืชต้นแม่ที่ถูกนำมาทำเป็นเซลล์เพาะเลี้ยงดังที่มักจะพบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงแต่ละเซลล์สามารถที่จะถูกเปลี่ยนสภาพกลับไปเป็นต้นพืชได้ (regeneration) โดยที่มีลักษณะใกล้เคียงกับต้นเดิมมาก การที่เซลล์เพาะเลี้ยงมีข้อมูลทางพันธุกรรมอยู่อย่างครบถ้วนย่อมเป็นสิ่งที่บ่งบอกว่าเซลล์เพาะเลี้ยงมีศักยภาพอย่างเต็มที่ในการที่จะสร้างสาร secondary metabolites ได้ ดังนั้นปัญหาของการไม่สร้างสารดังกล่าวอาจจะเป็นผลมาจากที่สภาวะแวดล้อมของเซลล์เพาะเลี้ยงไม่เหมาะมากกว่า

ถึงแม้ว่า high degree of differentiation จะมีส่วนสำคัญต่อการสังเคราะห์สาร secondary products ในพืช แต่ก็มีรายงานหลายฉบับที่แสดงให้เห็นว่าสารหลายประเภทสามารถที่จะถูกสร้างขึ้นในเซลล์เพาะเลี้ยงได้ (ดูตัวอย่างที่ถูกรวบรวมใน 3) และที่น่าสนใจก็คือสารบางตัวถูกสะสมในเซลล์เพาะเลี้ยงในปริมาณที่สูงกว่าที่พบในเซลล์ของพืชต้นแม่อีกด้วยดังตัวอย่างที่แสดงในตารางที่ 1 เซลล์เพาะเลี้ยงเหล่านี้ได้ผ่านการศึกษาถึงองค์ประกอบของเกลือแร่และฮอร์โมนพืชในอาหารเพาะเลี้ยงซึ่งเกื้อหนุนต่อการสร้างสารที่ต้องการ ดังนั้นจึงอาจจะกล่าวได้ว่าปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่สามารถกระตุ้นให้เซลล์เพาะเลี้ยงสร้างสาร secondary metabolites ก็คือองค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงซึ่งได้แก่แร่ธาตุต่าง ๆ และฮอร์โมนพืชและเนื่องจากการศึกษาผลขององค์ประกอบของอาหารต่อการสังเคราะห์สารที่สนใจสามารถที่จะทำได้ง่าย งานวิจัยส่วนใหญ่ในช่วง ค.ศ. 1965-1980 จึงออกมาในแนวนี้

ตารางที่ 1 ปริมาณของสารขั้นทุติยภูมิที่ได้จากเซลล์เพาะเลี้ยงพืชเมื่อเทียบกับต้นพืช

Chemical	Plant species	Cell culture yield	Whole plant yield
Nicotine	*Nicotiana tabacum*	2-5%	1%
Crude saponins	*Panax ginseng*	21	4.5
Diosgenin	*Dioscorea deltoidea*	2.0	2.0
Shikonins	*Lithospermum erythrorhizon*	12	1.5
Rosmarinic acid	*Coleus blumei*	15	3.0
Jatrorrhizine	*Berberis stolonifera*	7.0	1.0
Anthraquinones	*Morinda citrifolia*	18	2.2
Ubiquinone	*Nicotiana tabacum*	0.2	0.003
Serpentine	*Catharanthus roseus*	0.8	0.5
Ajmalicine	*Catharanthus roseus*	1.0	0.3
Caffeine	*Coffea arabica*	1.6	1.6
Glutathione	*Nicotiana tabacum*	1.0	0.1
Visnagin	*Ammi visnaga*	0.31	0.1

ดูเอกสารอ้างอิงใน Fowler, M.W. (1983) (10)

ส่วนในประเด็นที่สองที่กล่าวในข้างต้นที่ว่า เทคนิคการผลิตสารเคมีโดยใช้การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชจะสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมาก ก็เนื่องจากว่า 1) อาหารเพาะเลี้ยงของเซลล์พืชมีราคาแพงเพราะนอกจากจะมีน้ำตาลและเกลือแร่สิบกว่าชนิดแล้ว ยังมีไวตามินต่าง ๆ และฮอร์โมนพืชรวมอยู่ด้วย 2) การเลี้ยงเซลล์พืชในตู้หมักขนาดใหญ่ต้องใช้พลังงานในการเดินเครื่องเป็นระยะเวลานานซึ่งอาจจะถึง 3 สัปดาห์ จึงสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมากและ 3) การสกัดสารออกจากเซลล์เพาะเลี้ยงยังคงจำเป็นอยู่ถึงแม้ว่าขั้นตอนจะมีความสลับซับซ้อนน้อยกว่าการสกัดสารออกจากส่วนของพืช จากปัญหาเหล่านี้นักวิทยาศาสตร์มีความเห็นตรงกันที่ว่าสารที่จะผลิตโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์พืชจะมีความคุ้มค่าก็ต่อเมื่อสารนั้นมีราคาแพง และต้องเป็นสารที่ไม่อาจได้มาจากการสังเคราะห์โดยวิธีทางเคมีหรือโดยการเลี้ยงจุลชีพ แต่ต้องได้มาจากพืชเพียงแหล่งเดียว รายชื่อของสารเหล่านี้รวมทั้งราคาที่ขายในตลาดอเมริกา และตลาดโลกได้แสดงอยู่ในตารางที่ 2 ในปัจจุบันนี้มีห้องปฏิบัติการหลายแหล่งโดยเฉพาะในประเทศเยอรมันตะวันตก ญี่ปุ่น แคนาดา และสหรัฐอเมริกา ที่กำลังศึกษาการสร้างสารเหล่านี้ในเซลล์เพาะเลี้ยง แต่ยังไม่มีผลงานชิ้นไหนที่สร้างความตื่นเต้นในด้านการประยุกต์ไปใช้ในทางอุตสาหกรรม

จากปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น นักวิทยาศาสตร์ส่วนหนึ่งสรุปว่า ตราบใดที่ความรู้พื้นฐานทางด้านการควบคุมการสร้างสาร secondary metabolites ในพืชยังมีไม่เพียงพอ ความก้าวหน้าของสาขาวิชานี้จะเป็นไปอย่างเชื่องช้า นักวิทยาศาสตร์กลุ่มนี้จึงมุ่งศึกษาขบวนการชีวสังเคราะห์ของสารที่เกิดในเซลล์พืชในระดับเอนไซม์และระดับโมเลกุล ตลอดจนการควบคุมที่เกิดขึ้นที่ระดับยีนส์ (genes) เพื่อให้ได้ใช้ข้อมูลที่ว่าเมื่อไรที่ยีนส์ที่เกี่ยวข้องในการสร้างสาร secondary metabolite ตัวหนึ่ง ๆ จะถูกกระตุ้นให้ทำงานและ

ตารางที่ 2 ราคาของสารขั้นทุติยภูมิบางชนิดในตลาดโลก และในสหรัฐอเมริกา

Compound	Use	Wholesale price	Estimated retail market (millions)
Vinblastine/ Vincristine	Leukemia	$5000/g	$18-20 M (US)
Ajmaticine	Circulatory problems	$1500/kg	$5.25 M (World)
Digitalis	Heart disorders	$3000/kg	$20-55 M (US)
Quinine	Malaria	$100/kg	$5-10 M (US)
Codeine	Sedative	$650/kg	$50 M (US)
Jasmine	Fragrance	$5000/kg	$0.5 M (World)
Pyrethrins	Insecticide	$300/kg	$20 M (US)
Spearmint	Flavor	$30/kg	$85-90 M (US)

จาก Ellen Curtin, 1983 (11)

สร้างสารนั้นขึ้นมา การศึกษาความรู้พื้นฐานเหล่านี้อาจจะต้องใช้เวลานาน แต่ถ้าได้คำตอบแล้วการประยุกต์นำมาใช้ประโยชน์จะเป็นไปได้อย่างรวดเร็วมาก ในปัจจุบันนี้งานจากกลุ่มของ Hahlbrock ซึ่งเกี่ยวกับการสร้างสารในกลุ่ม flavonoids (4) และ งานจากกลุ่มของ Zenk เกี่ยวกับการสร้างสารในกลุ่มของ alkaloids (5) ได้มีส่วนเกื้อหนุนต่อความรู้พื้นฐานในด้านนี้มาก ในทางตรงกันข้าม นักวิทยาศาสตร์อีกกลุ่มหนึ่งยังคงสนใจในการที่จะประยุกต์เอาเซลล์เพาะเลี้ยงไปใช้ในการสังเคราะห์สารที่สนใจโดยใช้วิธีการใหม่ ๆ เช่น cell immmobilization (6), biotransformation (7), elicitation (8) และ DNA transformation (9) ในแต่ละสาขาเหล่านี้ก็กำลังมีงานวิจัยที่ทำกันอยู่อย่างคึกคัก ในนักวิทยาศาสตร์ 2 กลุ่มนี้ กลุ่มใดจะไปถึงจุดหมายของสังเคราะห์สาร secondary metabolites โดยเซลล์เพาะเลี้ยงก่อนยังคงต้องดูกันต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Gautheret, R.J. (1985) History of plant tissue and cell culture : A personal account. In : Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, V.2 (Vasil, I.K., ed.) pp.1-59, Acadermic press, New York.
2. Routier, J.B., Nickell, L.G. (1956) Culltivation of plant tissue. US patent 2, 747, 334.
3. Constabel, F. (1987) Cell culture in phytochemistry. In : Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, V.4 (Constabel, F. and Vasil, I.K. eds) pp. 3-13, Academic press, New York.
4. Hahlbrock, K. (1981) Flavonoids. In : The Biochemistry of Plants, V.7, Secondary Plant Products (Conn, E.E., ed) pp.425-456, Academic press, New York.
5. Zeun, M.H. et al. (1985) Benzylisoquinoline biosynthesis by cultivated plant cells and isolated enzymes. J. Nat. Prod. *48,* 725-738.

6. Lindsey, K., Yeoman, M.M. (1983) Novel experimental systems for studying the production of secondary metabolites by plant tissue cultures. In : Plant Biotechnology (Mantell, S.H. and Smith, H., eds.) pp. 39-66, Cambridge University Press, Cambridge.
7. Alfermann et. al. (1983) Biotransformation of β. methyldigitoxin to β. methyldigoxin by Cell Cultures of *Digitalis lanata,* In : Plant Biotechnology (Mantell, S.H. and Smith, H. eds.) pp. 67-74, Cambridge University Press, Cambridge.
8. Eilert, U. (1987) Elicitation : Methodology and aspects of application. In : Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, V.4. (Constabel, F. and Vasil, I.K., eds.) pp. 153-195, Academic Press, New York.
9. Gatenby, A.A. (1983). The expression of eukaryotic genes in bacteria and its application to plant genes. In : Plant Biotechnology (Mantell, S.H. and Smith, H. eds.) pp. 269-298, Cambridge University Press, Cambridge.
10. Fowler, M.W. (1980) Commercial applications and economic aspects of plant cell culture. In : Plant Biotechnology (Mantell, S.H. and Smith, H. eds.) pp.3-37, Cambridge, University Press, Cambridge.
11. Curtin, M.E. (1983) Harvesting profitable products from plant tissue culture. Bio/Technology, October, 649-657.