

การทดสอบฤทธิ์เอนไซม์ GTPase  
ในหลอดทดลองของสารยับยั้ง FtsZ  
เพื่อใช้เป็นสารต้านแบคทีเรีย

นายสมบูรณ์ ชุคมะเริง  
นายสุมิตร ลีวานิชกุล

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
พ.ศ. 2552

*In vitro* GTPase activity assay of FtsZ inhibitors  
as antibacterial agents

Mister Somboon Chudmaroeng

Mister Sumitr Leevanichchakhul

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY  
FACULTY OF PHARMACY  
MAHIDOL UNIVERSITY

โครงการพิเศษ  
เรื่อง การทดสอบฤทธิ์เอนไซม์ GTPase ในหลอดทดลอง  
ของสารยับยั้ง FtsZ เพื่อใช้เป็นสารต้านแบคทีเรีย

.....  
(นายสมบุญ ชูดมะเร็ง)

.....  
(นายสุมิตร ลีวานิชกุล)

.....  
(ดร.กฤษณ์ ธิรพันธุ์เมธี)  
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....  
(ดร.จตุรงค์ ประเทืองเดชกุล)  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....  
(ดร.วีณา นุกูลการ)  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## บทคัดย่อ

### การทดสอบฤทธิ์เอนไซม์ GTPase ในหลอดทดลอง ของสารยับยั้ง FtsZ เพื่อใช้เป็นสารต้านแบคทีเรีย

สมบุญ ชูดมะเรียง, สุมิตร ลีวานิชกุล

อาจารย์ที่ปรึกษา : กฤษณ์ ธิรพันธุ์เมธี\*, จตุรงค์ ประเทืองเดชกุล\*, วีณา นุกูลการ\*\*

\* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

\*\* ภาควิชาเภสัชวินิฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : FtsZ, GTPase, curcumin, berberine, สารต้านแบคทีเรีย, การแบ่งเซลล์

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสาร curcumin และ berberine ในการยับยั้งเอนไซม์ GTPase ของโปรตีน FtsZ ซึ่งจำเป็นต่อ GTP hydrolysis cycle ที่แบคทีเรียใช้ในการสร้าง Z ring เพื่อเริ่มเข้าสู่กระบวนการแบ่งตัว จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion method และ agar dilution method กับเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 พบว่า curcumin และ berberine ให้ฤทธิ์ยับยั้งที่ติดต่อเชื้อทั้ง 2 เชื้อ (minimum inhibitory concentration (MIC) ของ curcumin ต่อ *E. coli* และ *B. subtilis* มีค่า 2.4 mg/ml เท่ากัน และ MIC ของ berberine ต่อ *E. coli* และ *B. subtilis* มีค่า 2.4 และ 0.48 mg/ml ตามลำดับ) และเมื่อนำไปทดสอบผลต่อการแบ่งตัวโดยคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *E. coli* สายพันธุ์ JE 6617 พบว่า เชื้อแบคทีเรียมีการต่อเป็นสายที่ยาวจำนวนมาก ตามเวลาที่ใช้เพาะบ่มกับสาร ซึ่งแสดงถึงความสามารถของสารในการยับยั้งการแบ่งตัวของแบคทีเรีย จากนั้นทำการสกัดโปรตีน FtsZ จากเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ JE 6617 เพื่อนำไปทดสอบหา GTPase activity และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ GTPase ของ curcumin และ berberine โดยดูผลจากปริมาณ phosphate ที่ถูกปลดปล่อยมาหลังจากทำปฏิกิริยากับ GTP พบว่าสารทั้งสองชนิดสามารถยับยั้ง GTPase ของโปรตีน FtsZ ได้โดย median inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) ของ curcumin และ berberine เท่ากับ 0.05 และ 0.06 mcg/mL ตามลำดับ

จากผลการศึกษาโครงการพิเศษดังกล่าวพบว่าทั้ง curcumin และ berberine มีความน่าสนใจที่จะนำมาศึกษาเพิ่มเติม เพื่อวิจัยและพัฒนาเป็นยาต้านจุลชีพใหม่ในอนาคตต่อไป

**Abstract**  
***In vitro* GTPase activity assay of FtsZ inhibitors**  
**as antibacterial agents**

Somboon Chudmaroeng, Sumitr Leevanichchakhul

**Project advisor :** Krit Thirapanmethee\*, Jaturong Pratuangdejkul\*, Veena Nukoolkarn\*\*

\* Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

\*\* Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

**Keyword :** FtsZ, GTPase, curcumin, berberine, antibacterial agents, cell division

The aim of this special project is to assay the GTPase inhibitory activity of curcumin and berberine toward FtsZ protein, which is essential for the initial step of bacterial cell division. First both compounds were tested for their antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Bacillus subtilis* ATCC 6633 by disc diffusion and agar dilution method. The results showed minimum inhibitory concentration (MIC) of curcumin was 2.4 mg/ml for both bacteria. While MIC of berberine against *E. coli* and *B. subtilis* were 2.4 and 0.48 mg/ml respectively. These compounds were subsequently tested for their effect on the morphology of *E. coli* JE6617. The results showed morphology of *E. coli* was altered, form long filament, by both compounds. The length and number of bacteria filamentous was time dependent manner. After that, the FtsZ protein was extracted from *E. coli* JE 6617 and used as GTPase enzyme for testing GTPase inhibitory activity of curcumin and berberine. The mean inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of curcumin and berberine was 0.05 และ 0.06 mcg/mL respectively.

In conclusion, the results of this special project show that curcumin and berberine are intensive substances to be further studies in order to develop as new generation of antimicrobial agents