

โปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse  
transcriptase ของพุทธรักษา

นายกฤษณ์ สรวมชีพ  
นายกฤษณภักษ์ จิตจักร

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พ.ศ. 2555

Anti-HIV-1 reverse transcriptase protein  
of *Canna indica* L.

MISTER KRIT SREUMSHEEP

MISTER KRIDSANAPAT JITJAK

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY  
FACULTY OF PHARMACY  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2012

โครงการพิเศษ

เรื่อง โปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-I reverse transcriptase ของพุทธรักษา

.....

(นายกฤษณ์ สรรวมชีพ)

.....

(นายกฤษณ์ภูมิ จิตจักร)

.....

(รศ.ดร.จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์)

.....

(ศ.วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล)

## บทคัดย่อ

# โปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase ของพุทธรักษา

กฤษณ สรวมชีพ, กฤษณภักษ์ จิตจักร

อาจารย์ที่ปรึกษา : จันทรพีญา วิวัฒน์\*, วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล\*\*

\*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

\*\*ภาควิชาเภสัชพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : ยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase, พุทธรักษา, โปรตีน, *Canna indica.L.*

โครงการพิเศษนี้จัดทำเพื่อหาโปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase ในหลอดทดลอง โดยใช้วิธี Colorimetric นำสารสกัดน้ำจากส่วนเหง้าและใบสดของพุทธรักษา (*Canna indica.L.*) มาตกตะกอนโดยแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าเมื่อสารสกัดโปรตีนจากส่วนเหง้า ผ่านการแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธี Native gel electrophoresis มีแถบโปรตีนที่สนใจซึ่งเป็นโปรตีนเชิงซ้อนที่ประกอบด้วยโปรตีนหน่วยย่อย ได้แก่ แถบโปรตีน A(16 และ 18kDa) แถบโปรตีน B(14, 16 และ 18 kDa) และ แถบโปรตีน C(14 kDa) เมื่อทำการตัดแถบโปรตีนจากเจลของโปรตีนในแต่ละส่วนที่สนใจแล้วนำไปผ่านกระบวนการแยกโปรตีนออกจากเจล และทำการวัดความเข้มข้นโดยวิธี Bradford assay แล้วเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเบื้องต้นที่ 50 และ 100 mcg/ml จากนั้นนำไปวัดประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase พบว่าโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 16 kDa ที่ความเข้มข้น 100 mcg/ml แสดงค่า HIV-1 RT inhibition ratio (%IR) สูงที่สุด คือ 68% และมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 10.42 mcg/ml ส่วนสารสกัดโปรตีนที่ได้จากใบที่ไม่ได้ผ่านการแยกโดยวิธี Electrophoresis gel แบบ native gel เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase ด้วยพบว่าสารสกัดหยาบที่ 10-30% ความเข้มข้น 100 mcg/ml แสดงค่า HIV-1 RT inhibition ratio (%IR) สูงที่สุด คือ 81% และมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 5.40 mcg/ml

## Abstract

### Anti-HIV-I reverse transcriptase protein of *Canna indica* L.

Krit sreumcheep, Kridsanapat Jitjak

Project advisor : Chanpen Wiwat\*, Wongsatit Chuakul\*\*

\* Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy Mahidol University

\*\* Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy Mahidol University

Keywords : Anti HIV-I reverse transcriptase, *Canna indica* L , Protein

In vitro Reverse transcriptase assay colorimetric method was used to screen and figure out for human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) reverse transcriptase inhibitory effect of aqueous extract from leave and rhizome of *Canna indica* L. Aqueous extract of *Canna indica* L. rhizomes were fractionated by ammonium sulfate precipitation and purified from native polyacrylamide gel. The interesting complex purified protein bands from rhizomes were represented by protein band A(16 and 18 kDa), protein band B(14, 16 and 18 kDa) and protein band C(14 kDa). Subsequently, protein bands were eluted, diluted to be 50 and 100 mcg/ml and assayed for anti-HIV-1 reverse transcriptase activity. The protein B showed the highest HIV-1 reverse transcriptase inhibition ratio (%IR) with 68% at concentration 100 mcg/ml and showed IC<sub>50</sub> with 10.42 mcg/ml. For leave extract, proteins extract of *Canna indica* L. leave were fractionated by ammonium sulfate precipitation, diluted to be 50 and 100 mcg/ml and assayed for anti-HIV-1 reverse transcriptase activity sequentially. The crude protein fraction at 10-30% showed the highest anti-HIV-1 reverse transcriptase inhibition ratio (%IR) with 81% at concentration 100 mcg/ml and showed IC<sub>50</sub> with 5.40 mcg/ml.