โปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 Reverse Transcriptase ของพุทธรักษา

นางสาวปุณยนุช วงศ์พิตธินันท์
นางสาวพิชญา ทวีสุข

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ.2556

ANTI-HIV-1 REVERSE TRANSCRIPTASE PROTEIN OF *Canna indica* L.

MISS PUNYANUCH WONGPITTINUN
MISS PICHAYA TAWEESUK

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY
2013

โครงการพิเศษ

เรื่อง โปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase **ของพุทธรักษา**

.....

(นางสาวปุณยนุช วงศ์พิตธินันท์)

.....

(นางสาวพิชญา ทวีสุข)

.....

(รศ.ดร.จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(ดร.อาพันธ์ชนิด เทพอวยพร)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ
โปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase ของพุทธรักษา

ปุณยนุช วงศ์พิตธินันท์, พิชญา ทวีสุข

อาจารย์ที่ปรึกษา : จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์*, อาพันธ์ชนิด เทพอวยพร**

*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

**ภาควิชาโภชนศาสตร์เขตร้อนและวิทยาศาสตร์อาหาร คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

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

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase ของโปรตีนจากเหง้าพุทธรักษา (*Canna indica* L.) ในหลอดทดลอง โดยใช้วิธี Colorimetric assay เมื่อนำสารสกัดหยาบจากส่วนเหง้าพุทธรักษาที่ตกตะกอนด้วย 80% แอมโมเนียมซัลเฟต มาผ่านการแยกด้วย Native-PAGE มีแถบโปรตีนที่สนใจ 3 แถบ ได้แก่ แถบโปรตีน A, B และ C ทำการตัดแถบโปรตีนที่สนใจจากเจลแล้วนำไปผ่านกระบวนการแยกโปรตีนออกจากเจล วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของแถบโปรตีน A, B และ C ด้วย SDS-PAGE ได้ 16.5 และ 30.5 kDa, 17.0 และ 31.0 kDa และ 16.5 และ 30.1 kDa ตามลำดับ และได้รูปแบบโปรตีนหน่วยย่อยที่เหมือนกัน โปรตีนที่ผ่านกระบวนการแยก นำมาวัดความเข้มข้นโดยวิธี Bradford assay แล้วเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ 100 µg/ml พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ reverse transcriptase โดย A, B และ C ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%IR) เฉลี่ยเท่ากับ 49.3%, 69.1% และ 15.3% ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบ 80% แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้น 100 µg/ml ให้ %IR เท่ากับ 50.7% จากการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ แสดงให้เห็นว่าโปรตีนเชิงซ้อนจากทั้ง 3 แถบนั้นประกอบด้วยโปรตีนหน่วยย่อยหลักเดียวกัน คือมีน้ำหนักโมเลกุล 16.5 และ 30.1 kDa แต่ในปริมาณที่ต่างกัน จึงมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง reverse transcriptase ไม่เท่ากัน โดยแถบโปรตีน B มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ดีที่สุด

Abstract

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

Punyanuch Wongpittinun, Pichaya Taweesuk

Project advisor : Chanpen Wiwat*, Apanchanid Thepouyporn**

*Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

**Department of Tropical Nutrition and Food Science, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

Keywords : Anti-HIV-1 reverse transcriptase, *Canna indica* L., Protein

The objective of this study was to test the *in vitro* anti-HIV-1 reverse transcriptase of *Canna indica* L. rhizomes by colorimetric assay. 80% ammonium sulfate precipitation fraction proteins of *Canna indica* L. rhizomes were separated by native-PAGE and it showed three interesting protein bands namely A, B and C. Then the protein bands were cut and eluted from gel. The molecular weight of protein band A, B and C analyzed by SDS-PAGE were 16.5 and 30.5 kDa, 17.0 and 31.0 kDa, and 16.5 and 30.1 kDa, respectively with the same pattern of protein monomers. The eluted proteins were determined their concentrations by Bradford method and then they were diluted to the concentrations as 100 µg/ml. The result showed the inhibition ratio (%IR) as followed; protein band A was 49.3%, B was 69.1% and C was 15.3%. Furthermore, the %IR of 80% ammonium sulfate precipitation fraction at 100 µg/ml was 50.7%. The analysis of molecular weight and the inhibition ratio illustrated that the complex proteins from three protein bands were consisted of the same monomers, with molecular weight of 16.5 and 30.1 kDa. The different composition of protein monomers lead to the different inhibition ratio, while the protein band B has the highest inhibition ratio.