

ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์

การสำรวจข้อมูลกระทำโดยสำรวจข้อมูลของพืชที่มีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ HIV-reverse transcriptase (class A) และพืชที่มีคุณสมบัติเสริมภูมิคุ้มกัน (class B) สามารถคัดเลือกพืช class A ได้จำนวน 14 ต้น และ class B 12 ต้น

เมื่อนำพืช class A มาเรียงลำดับตามปริมาณข้อมูลที่มีใน CAS โดยเรียงลำดับจากข้อมูลน้อยไปมาก พืชลำดับต้นๆ จัดว่าเป็นพืชที่ควรนำไปศึกษาวิจัยเพื่อการตีพิมพ์ผลงาน พืชดังกล่าว ได้แก่

1. *Aporosa villosa* Baill. (เหมือดโสด) วงศ์ Euphorbiaceae [0]
2. *Breynia angustifolia* Hook.f (ก้างปลาขาว) วงศ์ Euphorbiaceae [0]
3. *Paranephelium longifoliolatum* Lec. (ลำไยป่า) วงศ์ Sapindaceae [0]
4. *Gardenia coronaria* Ham. (พริ้วค้ำม) วงศ์ Rubiaceae [0]
5. *Turpinia cochinchinensis* Merr. (ม่วงก้อม) วงศ์ Staphyleaceae [0]
6. *Securinega leucopyrus* Muell. Arg. (ก้างปลาแดง) วงศ์ Euphorbiaceae [0]
7. *Drypetes roxburghii* Wall. (มะค่าไก่) วงศ์ Euphorbiaceae [2]
8. *Duabanga sonneratioides* Ham. (ลำพูป่า) วงศ์ Sonneratiaceae [3]
9. *Schrebera swietenoides* Roxb. (มะกอกคอน) วงศ์ Oleaceae [3]

10. *Bridelia retusa* Spreng. (เค็งหนาม) วงศ์ Euphorbiaceae [4]

11. *Harrisonia perforata* Merr. (สีพันคนทา) วงศ์ Simaroubaceae [5]

หมายเหตุ : ตัวเลขในวงเล็บปีกกา แสดงจำนวน literature ที่ปรากฏใน Chemical Abstract

ก่อนจะสำรวจคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ HIV-reverse transcriptase ของพืช จำเป็นต้องกำจัดสารแทนนินออกจากพืชก่อน เนื่องจากแทนนินสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ แทนนินเป็น phenolic compound ขนาดน้ำหนักโมเลกุล 500-3,000 D ละลายในน้ำ หากร่างกายได้รับแทนนินเกินขนาดจะเป็นอันตรายต่อตับ อีกประการหนึ่งแทนนินแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ reverse transcriptase เช่นกัน

ทำการตรวจหาแทนนินจากส่วนต่างๆ ของพืช โดยใช้ปฏิกิริยาสีกับน้ำยา Ferric chloride แทนนินจะให้ผลบวก (สีเขียว/น้ำเงิน) กับน้ำยาทดสอบ คัดเลือกเฉพาะส่วนของพืชที่ไม่ให้สีเขียว/น้ำเงิน มาทำการสกัดโดยวิธีหมักกับ 95% ethanol เป็นเวลา 1 สัปดาห์ สารสกัดที่ได้นำมาทำให้แห้งและส่งตรวจสอบคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ reverse transcriptase และผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน สารสกัดจากพืชทั้ง 4 คือ ลำพู ก้างปลาขาว สีพันคนทา และก้างปลาแดง ไม่มีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ reverse transcriptase ผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน ยังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจน เนื่องจากจำนวน subject จำกัด และผลจะขึ้นกับระบบภูมิคุ้มกันของ subject อย่างไรก็ตามก็อาจกล่าวได้ว่า สีพันคนทา (ใบ) และก้างปลาแดง (กิ่ง) มีแนวโน้มเพิ่ม CD 3/4 และ CD 3/8

เนื่องจากความจำเป็นเร่งด่วนที่ต้องพัฒนาชาติด้านเอดส์จากทรัพยากรในประเทศ ผู้วิจัยจึงเลือกพืชที่มีข้อมูลสนับสนุนคุณสมบัติต้านเอดส์มากพอ เป็นพืชที่หาได้ง่ายและไม่มีพิษ พืชที่มีคุณสมบัติดังกล่าวคือ มะระ (*Momordica charantia* L.) ซึ่งมีสารโปรตีนที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุล 30 kD มีชื่อว่า *Momordica anti-HIV protein* หรือ MAP 30 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ HIV

การสกัดโปรตีนต้องระมัดระวังเรื่องอุณหภูมิ ต้องรักษาไว้ที่ 4°C ความสะอาด และต้องแห้ง เช่นเก็บในรูปแบบ freeze dry มักใช้น้ำหรือ aqueous salt solution สกัดโปรตีน การแยกโปรตีนจากสารอื่นๆ นิยมใช้การตกตะกอนโปรตีนด้วย neutral salt ที่ใช้บ่อยที่สุด คือ ammonium sulfate เนื่องจาก salt concentration ที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนจะเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละโปรตีน เราสามารถ fractionate precepitation ของ protein mixture ได้โดยเพิ่มความเข้มข้นของเกลือทีละน้อย การทำให้บริสุทธิ์ในขั้นต่อไปมักกระทำโดย gel filtration chromatography และ electrophoresis

จากการศึกษาวิจัยมะระพันธุ์ไทย (*Momordica charantia* L.) 2 ชนิด ได้แก่ มะระขี้นก และมะระป่า พบว่าเมล็ดมีปริมาณโปรตีนรวมมากกว่าเนื้อผลประมาณ 5-10 เท่า เมล็ดมะระป่ามีปริมาณโปรตีนรวมมากกว่าเมล็ดมะระขี้นก 2 เท่า ปริมาณ active protein fraction ซึ่งได้จากการตกตะกอนโปรตีนด้วย ammonium sulfate ที่ 30-60% saturation ของมะระป่าจะเป็น 2 เท่าของมะระขี้นก fraction นี้ แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-reverse transcriptase มีค่า 50% IR ที่ความเข้มข้น 120 µg/ml โปรตีนเด่น

(major protein) จาก fraction นี้ ถูกนำมาแยกให้บริสุทธิ์โดย gel filtration chromatography (superose 12 ซึ่งต่อกับเครื่อง hplc) major protein มีค่า retention time ประมาณ 29 นาที ให้ชื่อโปรตีนบริสุทธิ์นี้ว่า MRK 29 มีน้ำหนักโมเลกุล 29 kD และมีลำดับกรดอะมิโน 20 ตัว นับจาก N-terminal ดังนี้ Asp Val Ser Phe Arg Leu Ser Gly Ala Asp Pro Arg Ser Tyr Gly Meth Phe Ile Lys Asp

MRK 29 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HIV-reverse transcriptase มีค่า 50% IR ที่ความเข้มข้น 18 µg/ml active protein fraction ที่แยกได้จากเมสลิคมะระปะา แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ reverse transcriptase มีค่า 50% IR ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า active protein fraction จากเมสลิคมะระจันก 2 เท่า

เมื่อตรวจสอบผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของโปรตีนจากมะระ (total proteins, active protein fraction และ MRK 29) พบว่ามีแนวโน้มที่เพิ่มการหลั่งสาร Tumor necrosis factor (TNF) เมื่อกระตุ้น macrophage ด้วย lipopolysaccharide

จากการวิเคราะห์ข้อมูลและผลการวิจัย ทำให้สรุปได้ว่าเมสลิคมะระพันธุ์ไทยมีโปรตีนที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ HIV สมควรที่จะทำการวิจัย โดยละเอียดและควรวางจรเพื่อนำไปสู่การพัฒนายาต้านเชื้อ HIV