

จันทิมา อุทะกะ : สารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบกวาวเครือ
Pueraria mirifica (ANTIMICROBIAL AGENTS OF ENDOPHYTIC FUNGI
 ISOLATED FROM *Pueraria mirifica* LEAVES) อ.ที่ปรึกษา: ผศ.ดร. สุรชัย พรภคกุล,
 159 หน้า. ISBN 974-14-1948-1

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อแยกสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบ
 กวาวเครือขาว *Pueraria mirifica* เก็บใบกวาวเครือขาวจาก 4 จังหวัด คือกรุงเทพมหานคร ลพบุรี
 ตาก และเชียงราย มาคัดแยกราเอนโดไฟต์โดยผ่านวิธีฆ่าเชื้อที่ผิวนอก สามารถแยกได้ทั้งหมด 43
 ไอโซเลต ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dual agar diffusion technique พบว่าราเอน
 โดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01, 63LVM03 และ 63LVM04 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มากกว่า 1 ชนิด
 เมื่อนำราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01 มาพิสูจน์เอกลักษณ์ทางสัณฐานวิทยาและอนุชีววิทยาเมื่อ
 เทียบลำดับ DNA บริเวณ ITS 1 ITS 2 และ 5.8S rRNA พบว่าราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01
 จัดเป็น *Mycocleptodiscus* sp. ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ 3 ชนิด คือ *Bacillus subtilis*,
Staphylococcus aureus และ *Candida albicans* และสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด คั่งนั้นจึงเลือกราเอนโด
 ไฟต์สายพันธุ์ 63LVM01 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Yeast extract broth (YEB) แล้วนำมาสกัด
 และแยกสารที่ราสร้างขึ้นด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีและการตกผลึกได้สาร 4 ชนิด ประกอบ
 ด้วย Uracil และ Cyclo(L-Pro-L-Leu) และสารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติใหม่ 2 ชนิด คือ
 Cyclo(L-Ser-L-Tryp) และ Cyclo(L-Ala-L-Tryp) ซึ่งสารที่ได้ทั้ง 4 ชนิด ได้มาจากสารสกัดหยาบเอ
 ซิลแอซิเตดของน้ำเลี้ยงเชื้อ ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี
 minimum inhibitory concentration method (MIC) เมื่อใช้ Penicillin G, Erythromycin, Sulfadimidine,
 Streptomycin, Ketoconazole และ Iprodine เป็น positive control พบว่า Cyclo(L-Leu-L-Pro) มีฤทธิ์
 ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ได้ปานกลางที่ค่า MIC เท่ากับ 1.96 (9.33) $\mu\text{g/ml}$ (μM) และมี
 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *C. albicans* ATCC 10231 ได้ต่ำและ Cyclo(L-Ser-L-Tryp)
 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 สูงที่ค่า MIC เท่ากับ 1.96 (7.18) $\mu\text{g/ml}$ (μM) ซึ่งมีฤทธิ์
 ดีกว่า Ketoconazole และ Iprodine 2.6 และ 4.2 เท่า ตามลำดับ

4672224823: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: ENDOPHYTIC FUNGI / *Pueraria mirifica* / ANTIMICROBIAL ACTIVITY/
Mycoleptodiscus sp. / Cyclo(L-Leu-L-Pro)

JANTIMA UTAKA: ANTIMICROBIAL AGENTS FROM ENDOPHYTIC FUNGI
ISOLATED FROM *Pueraria mirifica* LEAVES. THESIS ADVISOR : ASST. PROF.
SÜRACHAI PORNPAKAKUL, Ph.D., 159 pp. ISBN 974-14-1948-1

The purposes of this research was to isolate antimicrobial agents from endophytic fungi isolated from *Pueraria mirifica* leaves. Plant sample were collected from 4 provinces including Bangkok, Lopburi, Tak and Cheang-rai. The endophytic fungi were isolated using surface-sterilization technique and obtained 43 isolates. Fungal isolates were examined antimicrobial activity using dual culture agar diffusion technique. Isolate 63LVM01, 63LVM03 and 63LVM04 were active against at least one tested microorganisms. The morphology and comparison of DNA sequences from ITS1, ITS2 and 5.8S rRNA region of the endophytic fungus 63LVM01 was identified to *Mycoleptodiscus* sp. which was selected for the study because it exhibited activity against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. The endophyte 63LVM01 was fermented on Yeast extract sucrose broth (YEB) and followed by extraction and isolation antimicrobial agents using chromatographic techniques and crystallization. Ethyl acetate extract of culture broth gave four compounds were obtained including Uracil and Cyclo(L-Leu-L-Pro) and two new natural products, Cyclo(L-Ser-L-Tryp) and Cyclo(L-Ala-L-Tryp). Antimicrobial activity of four compounds was determined by the minimum inhibitory concentration method (MIC) using Penicillin G, Erythromycin, Sulfadimidine, Streptomycin, Ketoconazole and Iprodine as positive control. The results showed that Cyclo(L- Leu-L-Pro) exhibited moderate antimicrobial activity against *B. subtilis* ATCC 6633 with MIC value of 1.96 (9.33) $\mu\text{g/ml}$ (μM) and low antimicrobial activity against *E. coli* ATCC 25922 and *C. albicans* ATCC 10231. Cyclo(L-Ser-L-Tryp) exhibited high antimicrobial activity against *C. albicans* ATCC 10231 with MIC value of 1.96 (7.18) $\mu\text{g/ml}$ (μM) which was 2.6 and 4.2 fold of Ketoconazole and Iprodine, respectively.