

ในการศึกษานี้เป็นการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราจากสารสกัดเมล็ดเลือดขาวของจระเข้สายพันธุ์ไทย โดยทำการแยกบริสุทธิ์เปปไทด์ด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 30 ชนิดและกลไกการเข้าทำลายเชื้อของเปปไทด์ที่แยกได้พร้อมกับศึกษาโครงสร้างของเปปไทด์โดยเทคนิค LC-MS-MS ผลการศึกษาพบว่า จากการ screen เบื้องต้นพบว่าสารสกัดเมล็ดเลือดขาวจระเข้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 8 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus megaterium*, *B. licheniformis* TISTR 1010, *Pseudomonas aeruginosa*, *Ps. aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi*, *S. typhi* ATCC 5784, *Vibrio cholerae* และเชื้อรา 1 ชนิด ได้แก่ *Candida albicans* จากนั้นแยกบริสุทธิ์สารสกัดเมล็ดเลือดขาวด้วยคอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุลบ พบโปรตีน 4 กลุ่มเป็นองค์ประกอบนั้นคือ P1, P2, P3 และ P4 โดยโปรตีน P1 และ P3 สามารถยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis*, *S. typhi* และ *C. albicans* ได้ การศึกษาโดย Zymogram refolding gel และ Western immunoblotting พบว่าสารสกัดเมล็ดเลือดขาวและ P1 มีโปรตีนขนาด 14 kDa ที่จับกันอย่างอ่อนๆกับ anti hen egg white lysozyme antibody จากนั้นนำส่วน P1 มาทำการแยกส่วนของเปปไทด์ด้วยคอลัมน์ gel filtration และนำส่วนของเปปไทด์ มาแยกบริสุทธิ์ต่อด้วยคอลัมน์ C18 reverse phase HPLC ซึ่งพบเปปไทด์ 10 peaks แต่มีเฉพาะ Leucrocine I, II, III และ IV ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ โดย Leucrocine I, II, III และ IV มีคุณสมบัติในการฆ่า (Microbicidal activity) เชลล์แบคทีเรียได้แต่ก็มีความแตกต่างกันและมีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงของคน (HRBCs) แตกต่างกัน เมื่อศึกษาวิธีการทำลายเซลล์แบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าเปปไทด์ Leucrocine I และ II เข้าไปทำลายเซลล์แบคทีเรียในส่วนเมมเบรนชั้นใน ทำให้เซลล์แบคทีเรียแตกเสียหายและ/หรือตายในที่สุด นั้นแสดงว่าเป้าหมายของเปปไทด์คืออยู่ที่เซลล์เมมเบรนของแบคทีเรีย จึงทำการศึกษาวิธีการเข้าทำลายเซลล์เมมเบรนชั้นนอกของเชื้อ *S. typhi* (Leucrocine I และ II) และ *V. cholerae* (Leucrocine III และ IV) โดยการวัดค่าการเรืองแสง fluorescent ที่เพิ่มขึ้นของสาร N-phenyl naphthylamine พบว่าเปปไทด์ ทั้งสองกลุ่มสามารถทำลายส่วนเมมเบรนชั้นนอกของเชื้อที่นำมาทดสอบได้โดยดูจากค่า fluorescence intensity ที่เพิ่มสูงขึ้น และได้ทำการวัดการแตกของเซลล์โดยการวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ 260 nm พบว่าเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ถูกทำให้แตกด้วยเปปไทด์ทั้งหมดที่นำมาทดสอบ จากการศึกษาโครงสร้างปฏิกิริยาโดยวิธี LC-MS-MS พบว่าลำดับกรดอะมิโนของ Leucrocine I คือ NGVQPKY และ Leucrocine II คือ NAGS_LSGWG จากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนพบว่าเปปไทด์ทั้งสองชนิดไม่เหมือนกับเปปไทด์ใดๆในฐานข้อมูล จากการศึกษาทั้งส่วน โครงสร้างและกลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรีย พบว่างานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่พบว่าในสารสกัดเมล็ดเลือดขาวมี antimicrobial peptides ที่มีกลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรีย โดยไปรบกวนการผ่านเข้าออกของสารบริเวณเมมเบรนของแบคทีเรีย