ชื่อวิทยานิพนธ์ สารยับยั้งอะไมเลส มอลเตสและซูเครส จากถั่วแดง : การทำบริสุทธิ์และการศึกษาคุณสมบัติของสารยับยั้ง

ผู้เขียน นางสาวปิยวรรณ สิทธิพงศ์

สาขาวิชา ชีวเคมี

ปีการศึกษา 2547

บทคัดย่อ

ถั่วแดง *(Phaseolus vulgaris*) มีสารยับยั้งอะไมเลสทั้งชนิดที่เป็นโปรตีนและไม่เป็นโปรตีน สารยับยั้งชนิดที่เป็นโปรตีนเมื่อสกัดด้วยบัฟเฟอร์ฟอตเฟต พีเอช 6.9 และทำบริสุทธิ์โดยโครมาโตกราฟีผ่าน DEAE- cellulose, Sephadex G-100 และ Hydroxyapatite พบว่ามีความบริสุทธิ์เป็น 41.73 เท่า และแยกสารยับยั้งอะไมเลสได้เป็น 21.40% มีค่าการยับยั้งจำเพาะต่ออะไมเลส 41.73 เท่าเมื่อเทียบกับสารสกัดเริ่มต้น สารยับยั้งอะไมเลสมีกิจกรรมการยับยั้งสูงสุดที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 37 °ซ มีจลนศาสตร์การยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบผสม (mixed noncompetitive) มีขนาดโมเลกุล 56,234 ดาลตัน (จากเจลฟิลเตรชั่น Sephadex G-100)ประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย ซึ่งมี 2 หน่วยย่อยที่มีขนาดเท่ากันคือ 17,378 และอีกหนึ่งหน่วยย่อยมีขนาด 16,596 ดาลตัน (จาก SDS-PAGE) นอกจากนี้สารยับยั้งอะไมเลสชนิดที่เป็นโปรตีนที่บริสุทธิ์แล้ว สามารถยับยั้งเอนไซม์มอลเตสจากลำไส้เล็กหมู โดยมีค่าการยับยั้งจำเพาะเป็น 0.014 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน แต่การยับยั้งมอลเตสจะต่ำกว่าการยับยั้งอะไมเลส สารยับยั้งอะไมเลสชนิดไม่เป็นโปรตีนจำแนกโดยวิธีโครมาโตรกราฟีแบบ Thin layer พบสารยับยั้งอะไมเลส มีระยะทางการแยก(R_f)เดียวกับ acarbose และสารยับยั้งชนิดไม่เป็นโปรตีนนี้สามารถยับยั้งเอนไซม์ มอลเตสและซูเครสได้เช่นเดียวกับ acarbose แต่ศักยภาพในการยับยั้งจะต่ำกว่า สารยับยั้งชนิดไม่เป็นโปรตีนยับยั้งเอนไซม์อะไมเลสจากน้ำลายคนเท่ากับ 52.2%จากตับอ่อนหมู 34.7% ยับยั้งเอนไซม์มอลเตสจากยีสต์เป็น 20.8% ยับยั้งมอลเตสจากลำไส้เล็กหมูได้เป็น 16.4% และยับยั้งเอนไซม์ซูเครสจากยีสต์เป็น 13.9%

Thesis Title	Amylase, Maltase and Sucrase Inhibitors from Red Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*) : Purification and Characterization of the Inhibitors
Author	Miss Piyawan Sitthipong
Major Program	Biochemistry
Academic Year	2004

Abstract

Red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) contains both proteinaceous and nonproteinaceous inhibitors of α-amylase. The proteinaceous α-amylase inhibitor was extracted by phosphate buffer pH 6.9 and purified by conventional chromatography, namely DEAE-cellulose, Sephadex G-100 and hydroxyapatite columns which gave 41.73 purification fold with 21.40%yield at 41.73 of specific inhibitory unit. Purified inhibitor has its optimum inhibitory activity to amylase at pH 6.0 and 37°C. Its kinetic study revealed a mixed noncompetitive type of inhibition against amylase activity. The molecular weight of the purified proteinaceous α-amylase inhibitor was 56,234 daltons by gel filtration (Sephadex G-100) with 2 subunits of equal molecular weight at 17,378 and 1 subunit at 16,596 daltons (by SDS-PAGE). The purified proteinaceous α-amylase inhibitor also inhibits maltase from porcine small intestinal extract at 0.014 unit/mg.protein of specific inhibitory activity, but its inhibitory activity to maltase is lower than amylase. The nonproteinaceous α-amylase inhibitor identified by thin layer chromatography, showed equivalent relative mobility (R_f) to acarbose. This inhibitor also inhibited maltase and sucrase as acarbose but with lower potency than acarbose. The nonproteinaceous α-amylase inhibitor showed its inhibitory activity potency on human salivary amylase at 52.2%, porcine pancreatic amylase at 34.7%, maltase from yeast and porcine small intestinal extract at 20.8 and 16.4%, respectively and sucrase from yeast at 13.9%.