

2. Abstract (English)

Diabetes is a syndrome from the disordered control of blood glucose levels and associated metabolism resulting in abnormally high blood sugar levels (hyperglycemia) after feeding. One possibility for lowering postprandial glucose levels, after ingestion of complex carbohydrates anyway, is by the inhibition of α -amylase activity. In this study, aqueous extracts from seven local Thai fruits were tested for their *in vitro* inhibitory effect on α -amylase. The fruits of Kluai Hom Thong; Musa (AAA group) bananas showed a significant reduction in the test α -amylase activity. An α -amylase inhibitor (AI) was purified from this fruit using a sequential combination of ammonium sulfate precipitation, DEAE-cellulose ion exchange and Superdex-75 gel filtration chromatography. The enriched AI protein fraction had a specific activity of 355.7 AI U/mg protein and a yield of 18.5% of the total protein. The molecular weight of this proposed proteinaceous AI, estimated by SDS-15% (w/v) PAGE, was ~20 kDa. Periodic acid staining and the phenol-sulfuric assay showed that the enriched AI protein was a glycoprotein containing $10.74 \pm 0.35\%$ by weight carbohydrate, respectively. The AI showed a pH optimum of between pH 4 - 7, with poor tolerance below pH 4 and above pH 9, and was stable up to 40 °C but totally inactivated after exposure to 50 °C for 90 min. The AI activity was stimulated by Ca^{2+} , Mg^{2+} , and Mn^{2+} at less than 25 mM, but not by Fe^{3+} , Hg^{2+} , Co^{2+} and EDTA. Determination of the inhibition kinetics of α -amylase by the enriched AI protein fraction indicated non-competitive inhibition of α -amylase with a K_i of 0.89 mg protein/ml. The sequence of a 16 amino acid internal fragment of this AI protein showed sequence similarity to the plant chitinase family.

3. Abstract (Thai)

โรคเบาหวานเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของฮอร์โมนอินซูลิน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ทำหน้าที่ในการเผาผลาญสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต เป็นผลทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตเกิดความผิดปกติส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น การยับยั้งการทำงานของแอลฟา-อะไมเลสเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงได้ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการคัดเลือกผลไม้ไทยจำนวนมากสกัดในสารละลายบัฟเฟอร์ พบว่าส่วนสกัดหยาบของกล้วยหอมทองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสได้มากที่สุด จึงนำส่วนสกัดหยาบของกล้วยหอมทองมาทำให้สารยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสบริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวที่ 80 เปอร์เซ็นต์ และเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออนด้วยคอลัมน์ ดีอีเออี เซลลูโลส และโครมาโทกราฟีแบบเจลฟิลเตรชันด้วยคอลัมน์ ซูเปอร์-เดกซ์ 75 พบว่ามีกิจกรรมการยับยั้งจำเพาะ 355.74 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน กิจกรรมการยับยั้งคงเหลือ 18.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เทคนิคพอลิอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบเสียสภาพ ซึ่งสารยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสบริสุทธิ์ที่ได้ มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 20 กิโลดาลตัน ผลการย้อมสีแบบเพอร์รีออกติก พบว่าสารยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสชนิดนี้เป็นไกลโคโปรตีน และผลทดสอบหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตด้วยวิธีฟินอล-ซัลฟูริก พบว่ามีสัดส่วนเป็นคาร์โบไฮเดรต 26.30 ± 1.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก สารยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสชนิดนี้มีเสถียรภาพของกิจกรรมของการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4 จนถึง 7 และที่อุณหภูมิ 4 จนถึง 40 องศาเซลเซียส และสูงสุดที่ 40 องศาเซลเซียส สารยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสชนิดนี้ต้องการแคลเซียมไอออน แมกนีเซียมไอออน และแมงกานีสไอออนอย่างน้อย 25 มิลลิโมลาร์ ซึ่งจำเป็นสำหรับเสถียรภาพของโครงสร้าง และของกิจกรรมการยับยั้ง เมื่อศึกษาจลนพลศาสตร์ของกิจกรรมยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสให้ค่าคงที่ของการยับยั้งเท่ากับ 0.89 มิลลิกรัมโปรตีนต่อมิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโนภายในของสารยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสชนิดนี้พบว่า ลำดับของกรดอะมิโนที่ได้มีความคล้ายกับเอนโดไคตินเนสแฟมิลีจากพืช