

3936093 SCBC/M : สาขาวิชา : ชีวเคมี ; วท.ม. (ชีวเคมี)

เกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล : การศึกษาบทบาทหน้าที่ และการประยุกต์ใช้ ของสารโรตีนอยด์ เบต้า-กลูโคไซด์ และเอนไซม์ เบต้า-กลูโคซิเดส จากไม้พะยุง (FUNCTION AND APPLICATION OF ROTENOID  $\beta$ -GLUCOSIDE AND ITS  $\beta$ -GLUCOSIDASE ENZYME FROM THAI ROSEWOOD) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ม.ร.ว. ชัยณัฐสร สวัสดิวัฒน์ Ph.D., ประหยัด โภมารทัต Ph.D., ยอดหทัย เทพธรานนท์ Ph.D., สุพรรณมา เตชะสกุล Ph.D. 158 หน้า. ISBN 974-662-546-2

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดเอนไซม์ เบต้า-กลูโคซิเดส และ สับสเตรทในธรรมชาติของเอนไซม์ ซึ่งเป็น สาร โรตีนอยด์ เบต้า-กลูโคไซด์ (คาลโคซินินกลูโคไซด์) จากเมล็ดของต้นพะยุง นำคาลโคซินินกลูโคไซด์ที่ได้มา ไฮโดรไลส์ด้วยเอนไซม์จากพะยุง เพื่อเตรียมสารคาลโคซินิน (ส่วนที่ปราศจากน้ำตาล) การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของคาลโคซินิน และคาลโคซินินกลูโคไซด์ ทำโดยเปรียบเทียบกับสารโรตีนอยด์ โดยทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพดังนี้ คือ การยับยั้งการทำงานของไมโทคอนเดรีย, การฆ่าตัวอ่อนของแมลง, การยับยั้งการเจริญของเชื้อ มาลาเรีย, และ การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า สารทั้ง 3 ชนิด แสดงความเป็นพิษต่อไมโทคอนเดรีย และลูกน้ำยุง แต่ไม่มีผลกระทบต่อเชื้อมาลาเรีย และเชื้อจุลินทรีย์ โดยคาลโคซินินมีความเป็นพิษต่ำกว่าโรตีนอยด์ แต่สูงกว่า คาลโคซินินกลูโคไซด์ เอนไซม์จากพะยุงถูกทดสอบความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาทรานส์ไกลโคซิลเลชัน (transglycosylation) กับแอลกอฮอล์และสารประกอบฟีนอลลักษณะต่าง ๆ โดยใช้ p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (pNP- $\beta$ -D-Glc) เป็นสับสเตรทที่ให้หมู่น้ำตาลกลูโคส สารกลูโคไซด์ที่เป็นผลิตภัณฑ์ จากปฏิกิริยาถูกแยก และตรวจสอบ โดยใช้เทคนิค TLC และหาปริมาณด้วยวิธี scanning densitometry พบว่า เอนไซม์สามารถสังเคราะห์สารกลูโคไซด์ชนิดต่าง ๆ ได้จากปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ ยกเว้น เทอเชียรี่-แอลกอฮอล์ และกลีเซอรอล แต่ไม่สามารถสังเคราะห์สารกลูโคไซด์ได้จากการทำปฏิกิริยากับสารประกอบ ฟีนอลลักษณะต่าง ๆ ยกเว้น สารประกอบฟีนอลลักษณะที่มีหมู่อัลกอฮอล์อยู่ในโครงสร้างด้วย เอนไซม์สามารถ สังเคราะห์สารคาลโคซินินกลูโคไซด์ และคาลโคซินินกาแลคโตไซด์ ได้จากปฏิกิริยา โดยใช้ pNP- $\beta$ -D-Glc และ p-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (pNP- $\beta$ -D-Gal) เป็นสับสเตรทที่ให้หมู่น้ำตาล ตามลำดับ การทดสอบผลกระทบของตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีต่อปฏิกิริยาทรานส์ไกลโคซิลเลชัน พบว่า ตัวทำละลายชนิด protic จะส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสของ pNP- $\beta$ -D-Glc มากกว่าปฏิกิริยาทรานส์ไกลโคซิลเลชัน ในขณะที่ ตัวทำละลายชนิด aprotic จะยังคงเกิดปฏิกิริยาทรานส์ไกลโคซิลเลชัน เป็นส่วนใหญ่ แต่อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะลดลง ผลการวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค NMR ได้พิสูจน์ว่า สารเอธิล เบต้า-ดี-กลูโคไซด์ คือสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ จากการทำปฏิกิริยากับเอทานอล

3936093 SCBC/M : MAJOR : BIOCHEMISTRY ; M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

KEY WORDS : ROTENOID / BIOACTIVITY / TRANSGLYCOSYLATION /  
GLUCOSIDASE / ALKYL GLUCOSIDE

KRIENGSAK LIRDPRAPAMONGKOL : FUNCTION AND APPLICATION OF  
ROTENOID  $\beta$ -GLUCOSIDE AND ITS  $\beta$ -GLUCOSIDASE ENZYME FROM THAI  
ROSEWOOD. THESIS ADVISORS : JISNUSON SVASTI Ph.D., PRAYAD  
KOMARATAT Ph.D., YODHATHAI THEBTARANONTH Ph.D., SUPANNA  
TECHASAKUL Ph.D. 158 P. ISBN 974-662-546-2

A  $\beta$ -glucosidase enzyme (EC 3.2.1.21) and its natural substrate, rotenoid  $\beta$ -glucoside (dalcochinin glucoside), were isolated from the seeds of Thai Rosewood. Dalcochinin (aglycone part) was prepared by hydrolysis of dalcochinin glucoside with the purified Thai Rosewood  $\beta$ -glucosidase. Bioactivity tests of dalcochinin and dalcochinin glucoside, in comparison to rotenone, were studied by mitochondrial inhibition test, larvicidal activity test, antimalarial activity test, and antimicrobial activity test. Rotenone, dalcochinin, and dalcochinin glucoside were found to be toxic to rat liver mitochondria and mosquito larva, but they did not affect malarial parasite or microbial cultures. With mitochondria and mosquito larva, dalcochinin was less toxic than rotenone, but more toxic than dalcochinin glucoside. Transglycosylation activity of the enzyme towards alcohols and phenolic compounds was performed by using p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (pNP- $\beta$ -D-Glc) as glycosyl-donor substrate. Glucoside products were separated and detected by TLC analysis, and quantitated by scanning densitometry. The enzyme showed ability to synthesize glucoside products from reactions with alcohols and diols, except for tert-alcohol and glycerol. The reactions with phenolic compounds did not yield glucoside product, except for compounds containing alcoholic group. The enzyme was able to synthesize dalcochinin glucoside and dalcochinin galactoside by transglycosylation using pNP- $\beta$ -D-Glc and p-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (pNP- $\beta$ -D-Gal) as glycosyl-donor substrates, respectively. Test for effect of organic solvents on transglycosylation showed that protic solvent favored hydrolysis of pNP- $\beta$ -D-Glc rather than transglycosylation, whereas aprotic solvents preferred the transglycosylation, but the rate of the reaction was decreased. NMR structural determination confirmed that ethyl  $\beta$ -D-glucoside was the glucoside product from the reaction with ethanol.