

---

ปฏิกิริยาเคมีระหว่างโปรตีนและพอลิฟีนอลและผลต่อระบบชีวภาพของปฏิกิริยา  
Chemical Reactions between Proteins and Polyphenols and Human Biological Consequences  
of Reaction

มณฑนา วีระวัฒนากร\*

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

Monthana Weerawatanakorn\*

Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University.

---

### บทคัดย่อ

สารพอลิฟีนอลคือสารทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเองจากสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม และมีประโยชน์ต่อมนุษย์ด้านส่งเสริมสุขภาพโดยลดอัตราเสี่ยงการเกิดโรคเรื้อรังเนื่องจากฤทธิ์ทางชีวภาพ สารพอลิฟีนอลเกิดปฏิกิริยาเคมีกับโปรตีนประเภทต่างๆ เช่น โปรตีนจากอาหาร และเอนไซม์ในร่างกาย โดยสร้างพันธะโควาเลนต์และไม่ใช้พันธะโควาเลนต์ได้แก่ พันธะไฮโดรเจนและไฮโดรโฟบิก ความแข็งแรงของพันธะที่สร้างขึ้นกับหลายปัจจัยโดยเฉพาะชนิดและโครงสร้างของโปรตีนและพอลิฟีนอล ปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้เกิดผลดีและผลเสียต่อระบบชีวภาพของมนุษย์ ผลเสียที่เกิดขึ้นคือการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการของสารอาหารเนื่องจากการลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหาร และการลดลงของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารพอลิฟีนอลโดยเฉพาะด้านการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลทางบวกของปฏิกิริยาคือการควบคุมปฏิกิริยาทางชีวเคมีในร่างกายโดยการทำปฏิกิริยาเคมีกับเอนไซม์หรือโปรตีนที่มีผลต่อการกระตุ้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการลดอัตราเสี่ยงการเกิดโรคเรื้อรังในมนุษย์

คำสำคัญ : พอลิฟีนอล พันธะโควาเลนต์ ปฏิกิริยาเคมี โปรตีน ฤทธิ์ทางชีวภาพ

### Abstract

Polyphenols are the secondary metabolites present in plants to protect themselves from dangerous environment. Polyphenols assess the promotion of health benefit by lowering risk of chronic non communicable degenerative diseases due to their bioactivity. Polyphenols have been known to interact with a variety of proteins especially food proteins and biological enzymes by covalent or non – covalent bonding including hydrogen bonding, and hydrophobic bonding. The bonding strength depends on many factors mainly types and structure of proteins and polyphenols. The chemical reaction causes the positive and negative impacts on human biological systems. The negative impact is the loss of nutritional value due to lowering digestive enzyme activity. In addition, it has an impact on bioactivities of polyphenols by impairing the antioxidant activities. On the other hand, such reaction causes the positive effect that helps to regulate the biochemical reactions in human through interaction with biological enzymes or proteins which play an important role on the activation or inhibition of biochemical reactions associated with degenerative chronic diseases.

**Keywords :** polyphenols, covalent bond, chemical reaction, proteins, bioactivity

---

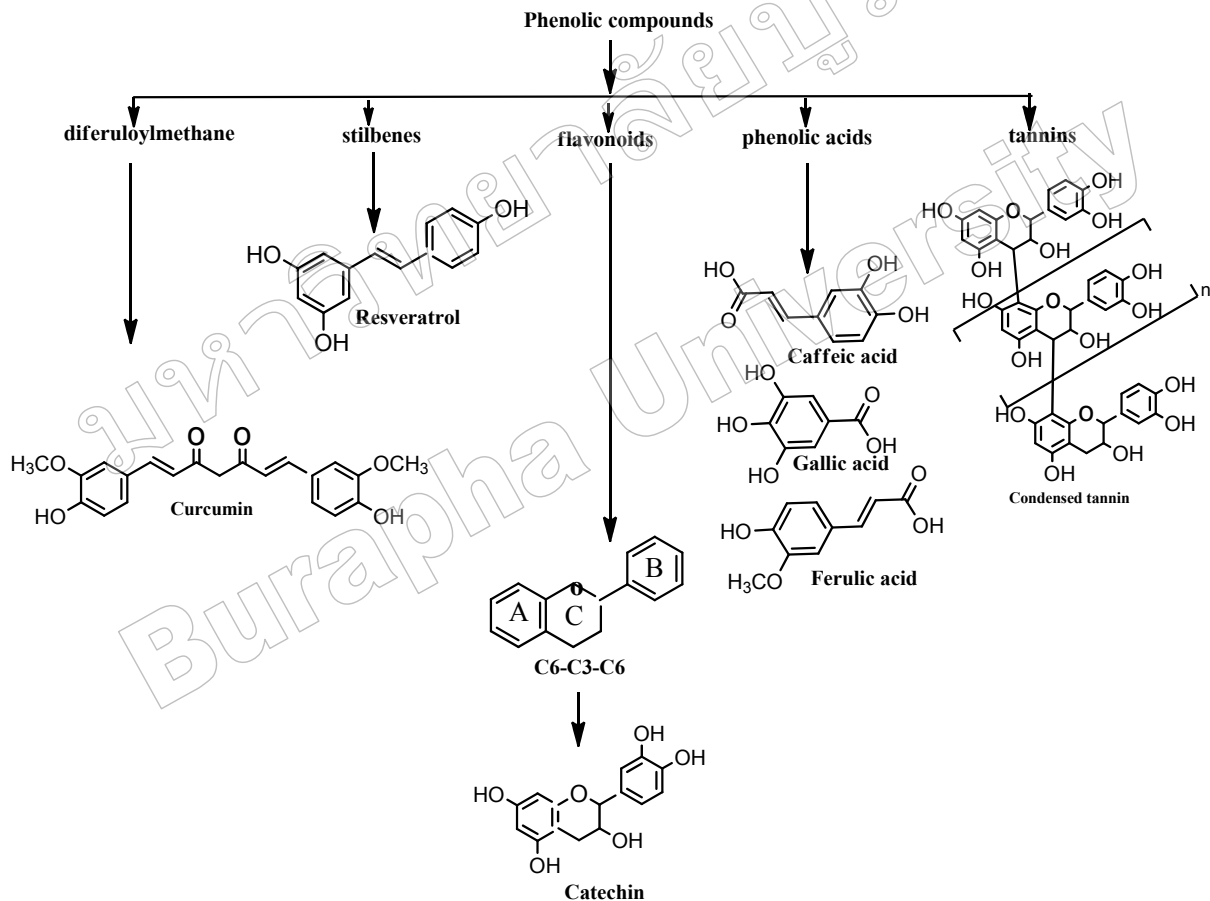
\*E-mail: monthanac@nu.ac.th

## ประเภท และผลต่อสุขภาพของพอลิฟีนอล

สารพอลิฟีนอล (polyphenols; phenolic compounds) จัดเป็นสารพฤกษเคมี (phytochemicals) หมายถึง สารทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้นเป็นส่วนประกอบของใบ ดอก ผล เพื่อทำหน้าที่ต่างๆ รวมทั้งเพื่อปกป้องตัวเองจากสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่นต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา แมลง รังสียูวีจากแสงแดด กำจัดโลหะหนัก (chelation) และต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสง (Manach *et al.*, 2004; Stevenson & Hurst, 2007; Butterfield *et al.*, 2002) สารพอลิฟีนอลในพืชพบมากกว่า 8,000 ชนิดซึ่งจำแนกตามโครงสร้างออกเป็น 5 ประเภทขึ้นอยู่กับจำนวนของวงแหวนฟีนอลและองค์ประกอบอื่นของโครงสร้างที่เชื่อมวงแหวนดังกล่าวซึ่งแสดง

ในภาพที่ 1 ได้แก่ 1. ไดเฟอรูลอยล์มีเทน (diferuloylmethane) 2. สทิลบีน (stilbenes) 3. ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) 4. กรดฟีนอลิก (phenolic acids) 5. แทนนิน (tannins) (Manach *et al.*, 2004; Han *et al.*, 2007) พอลิฟีนอลลุ่มฟลาโวนอยด์และกรดฟีนอลิกเป็นสารพบมากที่สุดในพืชอาหารและได้รับความสนใจจากนักวิชาการมากที่สุด ถึงแม้ว่าพอลิฟีนอลไม่จัดเป็นสารอาหารตามหลักโภชนาการเนื่องจากไม่ให้พลังงานโดยตรงหรือไม่เป็นสารช่วยให้เกิดพลังงานเหมือนวิตามินและแร่ธาตุ และไม่ช่วยในด้านการเจริญเติบโตของร่างกาย แต่สารดังกล่าวมีบทบาทด้านส่งเสริมสุขภาพ

ปัจจุบันมีข้อมูลจากการศึกษาวิจัยพบว่า การรับประทานผักและผลไม้มีความสัมพันธ์กับการลดอุบัติการณ์ของการเกิดโรค



**ภาพที่ 1** โครงสร้างของพอลิฟีนอลจำแนกตามโครงสร้าง 1. ไดเฟอรูลอยล์มีเทน (diferuloylmethane) เช่น สารคูเคอร์มิน (curcumin) ในขมิ้น 2. สทิลบีน (stilbenes) เช่น เรสเวอราทรอล (resveratrol) ในเปลือกองุ่น และถั่วลิสง 3. ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่โครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย วงแหวนเอ (A ring) และวงแหวนบี (B ring) เชื่อมกันด้วยวงแหวนไพแรนหรือวงแหวนซี (C ring) (C6-C3-C6) เช่น แคทเทชิน (catechin) ในชา โกโก้ ไวน์แดง 4. กรดฟีนอลิก (phenolic acids) เช่น กรดควินิก (quinic acid) กรดแกลลิก (gallic acid) กรดเฟอร์ริก (ferulic acid) พบในผลไม้ทั่วไป 5. แทนนิน (tannins) (ดัดแปลงจาก Han *et al.*, 2007)

โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (non-communicable chronic diseases) เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งลำไส้ใหญ่ ทั้งนี้เนื่องจากเยื่อใย วิตามินและแร่ธาตุในผักผลไม้ ปัจจัยสำคัญอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้เกิดความสัมพันธ์เชิงบวกดังกล่าว คือ สารพฤกษเคมีโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารพอลิฟีนอลซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน เช่น การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ การกระตุ้นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ และกำจัดสารพิษ ด้านการอักเสบ ด้านมะเร็ง ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน การควบคุมวิถีการส่งทอดสัญญาณเข้าสู่เซลล์ (signal transduction pathway) ที่ควบคุมกระบวนการอักเสบ หรือควบคุมกระบวนการเกิดเซลล์มะเร็ง (Han *et al.*, 2007; Manach *et al.*, 2005; Pan *et al.*, 2008)

### ปฏิกิริยาเคมีระหว่างโปรตีนและพอลิฟีนอล

หลายงานวิจัยศึกษาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนทั้งจากอาหารและโปรตีนในระบบชีวภาพ เช่น โปรตีนอัลบูมิน (albumin) โปรตีนนมเคซีน (casein) เวย์โปรตีน (whey) เจลาติน เอนไซม์ย่อยอาหาร และพอลิฟีนอลหลายชนิด โดยเฉพาะประเภทฟลาโวนอยด์และกรดฟีนอลิก เช่น สารแคเทชิน (catechin) กรดคลอโรเจนิค (chlorogenic acid) กรดเฟอร์ริก (ferulic acid) กรดแกลลิก (gallic acid) คูเคอร์มิน (curcumin) เรสเวราทรอล (resveratrol) ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าปฏิกิริยาเคมีเกิดจากพันธะเคมีทั้งพันธะโควาเลนต์ (covalent bonds) และที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนต์ (non-covalent bonds) เช่น พันธะไฮโดรเจน พันธะไฮโดรโฟบิก (hydrophobic bonding) ปฏิกิริยาอาจเกิดจากพอลิฟีนอลหลายโมเลกุลและโปรตีนหนึ่งโมเลกุล (multisite interaction) หรือพอลิฟีนอลหนึ่งโมเลกุลและโปรตีนหลายโมเลกุล (multidentate interaction) ส่งผลให้เกิดการตกตะกอนและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีน (Siebert *et al.*, 1996) ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาเคมี ได้แก่ ชนิดและความเข้มข้นของโปรตีนและพอลิฟีนอล ชนิดของตัวกลางหรือสารละลาย เช่น ชนิดของตัวทำละลาย ความเป็นกรดต่าง และอุณหภูมิในการเกิดปฏิกิริยา (Prigent *et al.*, 2003; Siebert *et al.*, 1996) ชนิดของกรดอะมิโน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโปรตีนมีผลต่อปฏิกิริยาโดยกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยา ได้แก่ โพรลีน (proline) อาร์จินิน (arginine) ซิสทีอีน (cysteine) เมทไทโอนีน (methionine) ทริปโตแฟน (tryptophan) ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ไทโรซีน (tyrosine) ฮิสทีดีน (histidine) ไลซีน (lysine) (Luck *et al.*, 1994; O'Connell & Fox, 2001; Siebert *et al.*, 1996)

### ปฏิกิริยาเคมีระหว่างโปรตีนและพอลิฟีนอลโดยพันธะไม่ใช่พันธะโควาเลนต์ (พันธะไฮโดรเจนและไฮโดรโฟบิก)

พันธะไฮโดรเจนระหว่างโปรตีนและสารพอลิฟีนอลเกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลในวงแหวนฟีนอลของสารพอลิฟีนอลและหมู่คาร์บอนิลของกรดอะมิโน หรือของพันธะเพปไทด์ในโครงสร้างหลักของโปรตีน (peptide backbone) ปัจจัยหลักที่มีผลต่อความแข็งแรงของพันธะ ได้แก่ จำนวนและตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิล หมู่แกลลอลิล (galloyl group) ของพอลิฟีนอล ชนิดของโปรตีน (de Freitas & Mateus, 2001; Kroll *et al.*, 2000; Rawel *et al.*, 2002a) ตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลของวงแหวนฟีนอล ตำแหน่งวงแหวน A และ B ของพอลิฟีนอลกลุ่มฟลาโวนอยด์มีผลต่อความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจนโดยตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลที่อยู่ติดกันในแบบออร์โท (ortho) (1,2-dihydroxy and 1,2,3-trihydroxy groups) ลดความสามารถในการเกิดพันธะไฮโดรเจนกับโปรตีนเนื่องจากพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลเองในโมเลกุลพอลิฟีนอล (Simon *et al.*, 2003) โปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนโพรลีนจำนวนมาก (proline-rich proteins) เช่น โปรตีนในน้ำลาย โปรตีนนม สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนได้ดีกับพอลิฟีนอล เนื่องจากโพรลีนทำให้โครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนมีความยืดหยุ่น (flexibility) จึงทำให้หมู่ไฮดรอกซิลของพอลิฟีนอลสามารถเข้าถึงพันธะเพปไทด์ได้ง่าย และโพรลีนมีไนโตรเจนแบบ secondary amine ทำให้เกิดหมู่คาร์บอนิลในพันธะเพปไทด์แบบ tertiary amides ที่สร้างพันธะไฮโดรเจนกับพอลิฟีนอลได้ดีกว่าพันธะเพปไทด์แบบ primary หรือ secondary amides เนื่องจากความสามารถในการรับไฮโดรเจนที่มากกว่า (hydrogen bond acceptor) การเปรียบเทียบโครงสร้างกรดอะมิโนแบบ primary amine และแบบ secondary amine ซึ่งทำให้เกิดหมู่คาร์บอนิลแบบ tertiary amides แสดงในภาพที่ 2 (Luck *et al.*, 1994; O'Connell & Fox, 2001)

พันธะไฮโดรโฟบิกระหว่างโปรตีนและพอลิฟีนอลเกิดจากหมู่แอลิฟาติก (aliphatic) หรือหมู่วงแหวน (aromatic group) ของกรดอะมิโนในโครงสร้างโปรตีน เช่น กรดอะมิโนฟีนิลอะลานีน ไทโรซีน ฮิสทีดีน ไลซีน และหมู่วงแหวนของสารพอลิฟีนอล โปรตีนที่มีกรดอะมิโนโพรลีนจำนวนมากสร้างพันธะไฮโดรโฟบิกได้แข็งแรงกว่าโปรตีนชนิดอื่นเช่นเดียวกับพันธะไฮโดรเจน นอกจากนี้พอลิฟีนอลโมเลกุลใหญ่ซึ่งมีจำนวนวงแหวนมากจะสร้างพันธะไฮโดรโฟบิกกับโปรตีนได้ดีกว่าพอลิฟีนอลที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก (Baxter *et al.*, 1997; Wroblewski *et al.*, 2001; Charton *et al.*, 2002; Prigent *et al.*, 2003; Luck *et al.*, 1994;

ตารางที่ 1 การศึกษาปฏิกิริยาระหว่างพอลิฟีนอลและโปรตีน

ผู้วิจัย/ปี	ชนิดโปรตีน <sup>1</sup>	ชนิดพอลิฟีนอล <sup>2</sup>	พันธะทางเคมี
Luck <i>et al.</i> , 1994	Casein, gelatin, PRPs	PGG, 4GG, 3GG, tea polyphenol	Hydrophobic and Hydrogen bonding
Siebert <i>et al.</i> , 1996	Different peptides	Tannic acid, catechin	Hydrophobic hydrogen bonding
Kroll <i>et al.</i> , 2000	Myoglobin	Chlorogenic, caffeic and quinic acids, <i>p</i> -quinone	Covalent binding
De-Freitas and Mateus, 2001ab	BSA, PRPs	Procyanidin	Hydrophobic and Hydrogen bonding
Wroblewski <i>et al.</i> , 2001	HSTS	EGCG, PGG	Hydrophobic bonding
Charlton <i>et al.</i> , 2002 ab	PRPs and peptides	EGCG, ECG, PGG, 3GG, 4GG	Hydrophobic and hydrogen bonding
Rawel <i>et al.</i> , 2002a	SG, STI	Chlorogenic, caffeic and gallic acid, flavone, kaempferol, quercetin, myricetin	Covalent binding
Frazier <i>et al.</i> , 2003	BSA, gelation	Tannins	Hydrophobic interaction
Prigent <i>et al.</i> , 2003	BSA, lysozyme, $\alpha$ -La	Chlorogenic acid	Non-covalent interactions
Rawel <i>et al.</i> , 2003	WPI, $\beta$ -Lg	Quercetin, rutin	Covalent binding
Simon <i>et al.</i> , 2003	PRPs	B3 procyanidin	Hydrogen bonding
Chen and Hagerman, 2004	BSA	PGG, PGG <sub>ox</sub>	Hydrophobic, hydrogen and covalent bonding
He <i>et al.</i> , 2006	Histone, BSA-Casein, Gelatin	Gallotannin	Hydrophobic, hydrogen bonding
Frazier <i>et al.</i> , 2006	BSA	EGCG	Hydrogen bonding
Sahoo <i>et al.</i> , 2008	BSA	Curcumin (IOC, DAC)	Hydrophobic, hydrogen bonding

<sup>1</sup> BSA, bovine serum albumin; HSP, human salivary protein; WPI, whey protein isolate;  $\beta$ -Lg,  $\beta$ -lactoglobulin  $\alpha$ -La,  $\alpha$ -lactalbumin; PRPs, proline-rich proteins; SG, soy glycine; STI, soy trypsin inhibitor; HSTS, human histatin

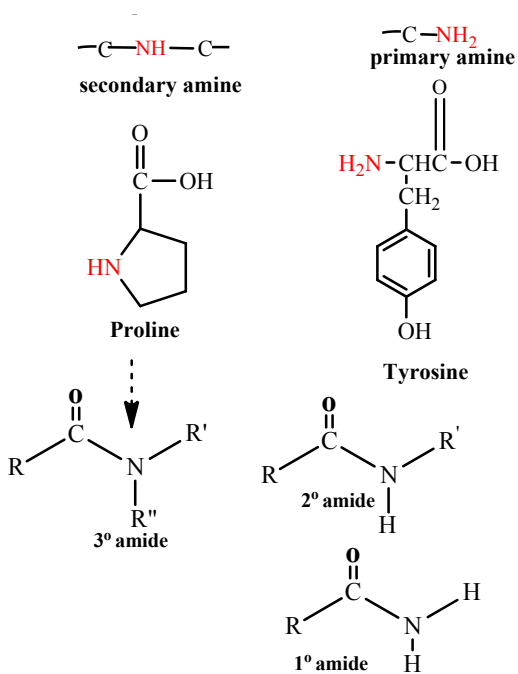
<sup>2</sup> PGG, pentagalloylglucose; PGG<sub>ox</sub>, oxidized PGG; EC16-C, epicatechin<sub>16</sub>(4→8)catechin; 4GG, tetragalloylglucose; 3GG, trigalloylglucose; EGCG, epigallocatechin gallate; ECG, epicatechin gallate; IOC, isoxazolcurcumin; DAC, diacetylcurcumin

Simon *et al.*, 2003) พันธะชนิดใดมีผลต่อการปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนและพอลิฟีนอลมากกว่ากันขึ้นกับความเข้มข้นของพอลิฟีนอล โดยสารพอลิฟีนอลที่มีค่าสูงจะเกิดพันธะไฮโดรเจนมากกว่าพันธะไฮโดรโฟบิก และพอลิฟีนอลที่มีค่าต่ำการเกิดพันธะไฮโดรโฟบิก

จะมากกว่าพันธะไฮโดรเจน (Siebert *et al.*, 1996; Wroblewski *et al.*, 2001)

#### ปฏิกิริยาโดยพันธะโควาเลนต์

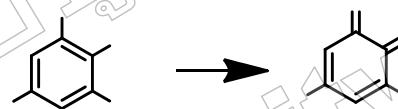
พันธะโควาเลนต์ระหว่างโปรตีนและสารพอลิฟีนอลเกิด



ภาพที่ 2 การเปรียบเทียบโครงสร้างกรดอะมิโนไทโรซีนซึ่งเป็น primary amine และกรดอะมิโน โพรลีนซึ่งเป็น secondary amine และชนิดของ amide แบบ primary amide (1°), secondary amide (2°), tertiary amide (3°) โดยกรดอะมิโนโพรลีนในองค์ประกอบโปรตีนจะทำให้เกิดหมู่คาร์บอนิลในพันธะเพปไทด์แบบ tertiary amide (3°)

ผ่านสารควิโนน (quinone) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารพอลิฟีนอลซึ่งป็นผลจากพอลิฟีนอลมีความสามารถในการรับอิเล็กตรอน (electrophilic character) จากโซ่ข้าง (side chain) ของกรดอะมิโนบางชนิดที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน (nucleophilic substance) สารควิโนนเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของพอลิฟีนอลจากหลายกลไก ได้แก่ การกระตุ้นโดยเอนไซม์ อาทิเช่นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยเอนไซม์ (enzymatic browning reaction) ซึ่งเป็นการเร่งการเกิดออกซิเดชันของสารพอลิฟีนอลที่ตำแหน่ง 1,2-dihydroxy หรือ 1,2,3-trihydroxy phenolic ในสภาวะต่างได้เป็นสาร ortho-quinone ดังภาพที่ 3 และทำให้เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันกับโมเลกุลอื่นต่อไปได้เป็นสารสีน้ำตาล เอนไซม์ดังกล่าวคือ พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase/PPO) พบทั่วไปในพืช (Chen & Hagerman, 2004; Rawel *et al.*, 2002b) นอกจากนี้การออกซิเดชันของสารพอลิฟีนอลได้เป็นสารประกอบควิโนนเกิดจากความร้อนและสภาวะต่างจากกระบวนการผลิตอาหาร (Rohn *et al.*, 2006) สารควิโนนมีความ

ว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา ดังนั้นจึงเกิดการรวมตัวกับควิโนนโมเลกุลอื่น หรือโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอน ได้แก่ ฮิสทีดีน ไลซีน เมทไทโอนีน ฮีสทีดีน ไทโรซีน และ ทริปโตแฟนทำให้สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนเปลี่ยนแปลง (Rawel *et al.*, 2002 a; Rawel *et al.*, 2003) ควิโนนที่เกิดจาก EGCG ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์จากชาทำปฏิกิริยากับโปรตีนระดับเซลล์ (cellular proteins) โดยเฉพาะที่หมู่ไรโธล (thiol group) ของกรดอะมิโนฮิสทีดีนที่บริเวณเร่ง (active-site) ของเอนไซม์ หลายชนิด เช่น matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (Tian, 2006; Garbisa *et al.*, 2001) ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว



ภาพที่ 3 การเกิดสารควิโนนจากหมู่ฟีนอล

## ผลของปฏิกิริยาระหว่างพอลิฟีนอล และโปรตีน

### ผลเชิงลบของปฏิกิริยาระหว่างพอลิฟีนอล และโปรตีน

#### 1. ผลของพอลิฟีนอลต่อคุณค่าทางโภชนาการ

คุณค่าทางโภชนาการของสารอาหารมีความสัมพันธ์กับเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการเผาผลาญสารอาหาร เช่น เอนไซม์ทริปซิน (trypsin) ไคโมทริปซิน (chymotrypsin) เพปซิน (pepsin) แอลฟา-อะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) ปฏิกิริยาระหว่างพอลิฟีนอลและเอนไซม์ดังกล่าวทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลง (enzyme activity) เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (conformation) ของโปรตีนที่โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) โดยพันธะโควาเลนต์และพันธะที่ไม่ใช่โควาเลนต์ (Huang & Zhao., 2008; He *et al.*, 2006) พอลิฟีนอลประเภทกรดพิโนลิก ได้แก่ กรดคาฟเฟอิก กรดคลอโรเจนิก กรดเฟอรูลิก กรดแกลลิก กรดควินิก (quinic acid) ทำให้การไฮโดรไลซิส (hydrolysis) อาหารประเภทโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตลดลงเนื่องจากไปลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร (digestive enzymes) ได้แก่ แอลฟาอะไมเลส ทริปซิน ไลโซไซม์ (Rohn *et al.*, 2001; Rohn *et al.*, 2002) เช่นเดียวกับ ฟลาโวนอยด์ในชาดำโดยเฉพาะที่ฟลาเวิน (theaflavins) และแคเทชินในชาเขียวที่ลดประสิทธิภาพ



การทำงานของเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลส เปปซิน ทริปซิน และไลเปส (Hara & Honda, 1990; Rohn *et al.*, 2001; Rohn *et al.*, 2002; He *et al.*, 2006)

## 2. ผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลีฟินอล

สารพอลีฟินอลมีบทบาททางชีวภาพโดยแสดงฤทธิ์หลายด้าน เช่น การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ (anti-inflammation) ด้านมะเร็ง (Han *et al.*, 2007; Pan *et al.*, 2008) การศึกษาผลของโปรตีนต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลีฟินอล เริ่มจากข้อถกเถียงถึงผลของการเกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างโปรตีนนมและการทำลายฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลีฟินอลในชา การศึกษาที่จุดประเด็นดังกล่าวคือการศึกษาด้านระบาดวิทยาของ Hertog และคณะ (1997 และ 1993) ซึ่งพบว่าอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจของชาวเวลส์ (Welsh) ในประเทศอังกฤษในผู้ดื่มชาดิลดลงแต่ไม่พบผลดังกล่าวในผู้ดื่มชาดำที่เติมนม ชาอุดมไปด้วยสารพอลีฟินอลซึ่งมีประมาณ 30-40% ในชาเขียว และ 3-10% ในชาดำ (Sharangi, 2009) ประโยชน์ต่อสุขภาพของชาได้แก่ การลดความเสี่ยงการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง เบาหวาน หัวใจ บางประเทศนิยมดื่มชาโดยการเติมนม เช่น อังกฤษ ไอร์แลนด์ ตุรกี แคนาดา นมวัวประกอบด้วยโปรตีนเคซีน (caseins) ประมาณ 76-86% ของโปรตีนทั้งหมด และเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนโปรลีนและไฮดรอกซีโปรลีนจำนวนมากซึ่งเป็นโปรตีนประเภทไฮโดรโฟบิก โปรตีนเคซีนในนมมีหลายประเภทและเคซีนชนิดที่เกิดปฏิกิริยากับ พอลีฟินอลในชามากที่สุดคือ  $\alpha$ -Casein และ  $\beta$ -Casein (Brown & Wright, 1963)

การศึกษาถึงผลของโปรตีนนมต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลีฟินอลในชาโดยเฉพาะด้านกิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ บางการศึกษาบ่งชี้ว่าโปรตีนนมเกิดการรวมตัวกับพอลีฟินอลในชาทั้งชาเขียวและชาดำส่งผลต่อการลดลงของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ ทั้งการศึกษาในหลอดทดลอง และการศึกษาในสัตว์ทดลอง (Hertog *et al.*, 1997; Dubeau *et al.*, 2010; Krull *et al.*, 2001; Lorenz *et al.*, 2007) ในขณะที่บางการศึกษาไม่พบผลเชิงลบดังกล่าว (Van het Hof *et al.*, 1998; Leenen *et al.*, 2000; Reddy *et al.*, 2005)

อย่างไรก็ตามผลของโปรตีนนมต่อการลดฤทธิ์ทางชีวภาพของชายังเป็นข้อถกเถียงทั้งนี้เนื่องจากแบบการศึกษาต่างกัน การใช้ปริมาณนมที่ต่างกัน วิถีวิเคราะห์ฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกัน และการศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของพอลีฟินอลที่สกัดได้จากชาโดยตรงซึ่งสารดังกล่าว

ไม่ได้เป็นตัวแทนของสารในระบบทางชีวภาพที่สารจะเกิดการเปลี่ยนรูปหรือเมแทบอลิซึม (metabolism) นอกจากนี้ยังขาดการศึกษาถึงผลของโปรตีนนมต่อการดูดซึมสารพอลีฟินอล และผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ

## ผลเชิงบวกของปฏิกิริยาระหว่างพอลีฟินอล และโปรตีน

นอกจากสารพอลีฟินอลมีคุณสมบัติสำคัญในด้านการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว กลไกสำคัญที่ทำให้สารพอลีฟินอลมีคุณสมบัติทางชีวภาพในด้านลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ อีกกลไกหนึ่งที่สำคัญคือ ผลต่อการกระตุ้น ยับยั้ง หรือควบคุมการทำงานของเอนไซม์และโปรตีนระดับเซลล์ที่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน กระบวนการอักเสบ โดยมีผลต่อระบบสื่อสารสัญญาณในเซลล์ (signal transduction) ซึ่งเป็นกระบวนการของการตอบสนองต่อสิ่งเร้าของเซลล์ หรือการส่งสัญญาณระหว่างเซลล์โดยอาศัยตัวกลางเพื่อกระตุ้นการทำงานของสารชีวโมเลกุลเป้าหมาย เช่น ทำให้เกิดการแบ่งตัว (cell proliferation) การอักเสบ (inflammation) การตายของเซลล์ (apoptosis) การศึกษาเชิงลึกในระดับเซลล์โดยกลไกดังกล่าวเป็นการศึกษาระดับหน่วยพันธุกรรมหรือระดับยีนที่มีความสัมพันธ์กับกระบวนการถอดรหัส (transcription) การสร้างโปรตีนชนิดต่างๆ ที่ควบคุม หรือมีความเกี่ยวข้องกับการพัฒนาการเกิดโรคเรื้อรังแต่ละชนิด สารพอลีฟินอลที่เกิดปฏิกิริยาเคมีกับยีนหรือโปรตีนระดับเซลล์อื่นๆ ในระบบสื่อสารสัญญาณในเซลล์แล้วสามารถยับยั้งหรือกระตุ้นการสร้างโปรตีนชนิดต่างๆ ได้น่าจะมีศักยภาพด้านความสามารถทางชีวภาพในการป้องกันโรคนั้นๆ ได้

สารพอลีฟินอลที่มีการศึกษากันมาก ได้แก่ สารอิพิغالโลแคทชิน แกลเลต (EGCG) ซึ่งเป็น แคทเทชิน พบมากในชาเขียว กลไกหนึ่งที่ทำให้ EGCG สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้คือ การเกิดปฏิกิริยาเคมีกับโปรตีนรีเซพเตอร์ 67 (67-kDa receptors) ก่อให้เกิดการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนดังกล่าวซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความสัมพันธ์กับการแพร่กระจายเซลล์มะเร็ง (metastasis) (Tachibana *et al.*, 2004) พันธะโควาเลนต์ระหว่าง EGCG กับโปรตีนระดับเซลล์ (cellular proteins) ที่หมู่ไรโธล (thiol group) ของกรดอะมิโนซิสทีอีนที่บริเวณเร่ง (active-site) ของเอนไซม์ประเภทโปรตีโอไลติก (proteolytic enzymes) ได้แก่ matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) และเอนไซม์ glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวและยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งโดยกระตุ้นการตายของเซลล์และยับยั้งกระบวนการ

สร้างหลอดเลือดใหม่ของเซลล์มะเร็ง (angiogenesis) (Tian, 2006; Garbisa *et al.*, 2001)

นอกจากนี้ฤทธิ์ทางชีวภาพด้านการเป็นสารป้องกันโรคมะเร็งของพอลิฟีนอลโดยวิถี signal transduction เป็นผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างพอลิฟีนอลและโปรตีนไคเนส (kinase) ซึ่งเป็นโปรตีนที่อุดมไปด้วยกรดอะมิโนโปรลีน และเป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องในกระบวนการเกิดมะเร็ง (carcinogenesis) โดยควบคุมวงจรชีวิตของเซลล์ เช่น การตายของเซลล์ การเพิ่มจำนวนการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของเซลล์ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการสร้างโปรตีนที่ก่อให้เกิดมะเร็ง เช่น NF-KB, AP-1 (Bode *et al.*, 2002) พอลิฟีนอลในชาสามารถรวมตัวกับเอนไซม์ squalene epoxidase เป็นผลให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสัมพันธ์ในการสร้างคอเลสเตอรอล (Abe *et al.*, 2000) พันธะโควาเลนต์ระหว่างพอลิฟีนอลจากชาเขียวและเอนไซม์ Dopa decarboxylase (DDC) ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DDC ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) (Bertoldi *et al.*, 2001)

ถึงแม้ว่าสารพอลิฟีนอลสามารถเกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารหลายชนิดเนื่องจากทำให้การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ของเอนไซม์ และมีผลต่อการลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ (Huang & Zhao, 2008) ส่งผลต่อการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการของสารอาหารตั้งอริบายเบื้องต้น แต่อีกด้านปฏิกิริยาดังกล่าวส่งผลดีในด้านการลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรัง เช่น พอลิฟีนอลในชาช่วยยับยั้งหรือลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสถึงแม้ในด้านโภชนาการส่งผลเสียต่อคุณค่าทางโภชนาการของอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต แต่ในทางกลับกันทำให้การเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดต่ำลงเนื่องจากการย่อยสลายแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคสเกิดในอัตราที่ช้าเป็นผลดีต่อการป้องกันภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) และเป็นผลดีต่อผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Honda, 1994; McCue, & Shetty, 2004) ด้วยกลไกดังกล่าวทำให้อาหารที่อุดมด้วยสารพอลิฟีนอล เช่น สมุนไพรจึงมีบทบาทในการควบคุมค่าดัชนีน้ำตาล (glycemic index) โดยชะลอการดูดซึมน้ำตาล (McCue & Shetty, 2004)

## เอกสารอ้างอิง

- Abe, I., Seki, T., Umehara, K., Miyase, T., Noguchi, H., Sakakibara, J., & Ono, T. (2000). Green tea polyphenols: Novel and potent inhibitors of Squalene epoxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 268, 767-771.
- Akande, K. E., Doma1, U. D., Agu, H.O., & Adamu, H. M. (2010). Major antinutrients found in plant protein sources: Their effect on nutrition. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(8), 827-832.
- Bertoldi, M., Gonsalvi, M., Borri, C., & Voltattorni, B. (2001): Green tea polyphenols: Novel irreversible inhibitors of Dopa Decarboxylase. *Biochemical and biophysical research communications*. 284, 90-93.
- Bode, A. M., & Dong, Z. (2002). Signal transduction pathways: targets for green and black tea polyphenols. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 36(1), 66-77.
- Brown, P. J., & Wright, W. B. (1963). An investigation of the interactions between milk proteins and tea polyphenols. *Journal of Chromatography A*, 11, 504-514.
- Butterfield, D.A., Castegna, A., Pocernich, C. B., Drake, J., Scapagninib, G., & Calabrese, V. (2002). Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. *Journal of Nutrition Biochemistry*, 13, 444-461.
- Chartlon, A. J., Haslam, E., & Williamson, M.P. (2002). Multiple conformations of the proline-rich protein/epigallocatechin gallate complex determined by time-averaged nuclear overhauser effect. *Journal of the American Chemical Society*, 124, 9899-9905.
- Chen, Y., & Hagerman, A. E. (2004). Quantitative examination of oxidized polyphenol-protein complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6061-6067.

- De Freitas V., & Mateus N. (2001). Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 940-945.
- Dubeau, S., Samson, G., & Tajmir-Riahi, H. A. (2010) Dual effect of milk on the antioxidant capacity of green, Darjeeling, and English breakfast teas. *Food Chemistry*, 122, 539-545.
- Garbisa, S., Sartor, L., Biggin, S., Salvato, B., Benelli, R., & Albini, A. (2001). Tumor gelatinases and invasion inhibited by the green tea flavanol epigallocatechin-3-gallate. *Cancer*, 91, 822-832.
- Han, X., Shen, T., & Lou, H. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance *International Journal of Molecular Sciences*, 8, 950-988.
- Hara, Y., & Honda, M. (1990). The inhibition of  $\alpha$ -amylase by tea polyphenols. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(8), 1939-1945.
- He, Q., Shi, B., & Yao, K. (2006). Interactions of gallotannins with proteins, amino acids, phospholipids and sugars. *Food Chemistry*, 95, 250-254.
- Hertog, M. G., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M., & Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly study. *The Lancet*, 342, 1007-1011.
- Hertog, M. G. L., Swertman, P. M., Fehily, A. M., Elwood, P. C., & Kromhout, D. (1997). Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welch population of men: The Caerphilly Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 85, 1489-1494.
- Honda, M. (1994). Inhibition of saccharide digestive enzymes by tea polyphenols. *Food composition*, 547, 83-89.
- Huang, H., & Zhao, M. (2008). Changes of trypsin in activity and secondary structure induced by complex with trypsin inhibitors and tea polyphenol. *European Food Research Technology*, 227, 361-365.
- Kroll, J., Rawel, H. M., & Seidelmann, N. (2000). Physicochemical properties and susceptibility to proteolytic digestion of myoglobin-phenol derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1580-1587.
- Krull, C., Luiten-Schuite, A., Tenfelde, A., van Ommen, B., Verhagen, H., & Havenaar, R. (2001). Antimutagenic activity of green tea and black tea extracts studied in a dynamic in vitro gastrointestinal model. *Mutation Research*, 474, 71-85.
- Lazaro, I., Palacios, C., Gonzales, M., & Gonzalezporque, P. (1995). Inhibition of human spleen protein-tyrosine kinase by phenolic compounds. *Analytical Biochemistry*, 225, 180-83.
- Leenen, R., Roodenburg, A. J., Tijburg, L. B. & Wiseman, S. A. (2000). A single dose of tea with or without milk increase plasma antioxidant activity in humans. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54, 87-92.
- Luck, G., Liao, H., Murray, N. J., Grimmer, H. R., Warminski, E. E., Williamson M. P, Lilley, T. H., & Haslam, E. (1994). Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. *Phytochemistry*, 37, 357-371.
- Lorenz, M., Jochmann, N., Krosigk, von A., Martus, P., Baumann, G., Stangl, K., & Stangl V. (2007). Addition of milk prevents vascular protective effects of tea. *European Heart Journal*, 28(2), 219-223.
- Manach, C., Mazur, A., & Scalbert, A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 16, 77-84.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-47.
- McCue, P. P., & Shetty, K. S. (2004). Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase in Vitro. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13, 101-106.



- O'Connell, J. E., & Fox, P. E. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11, 103-120.
- Pan, M. H., Ghai, G., & Ho, C. T. (2008). Food bioactive, apoptosis, and cancer. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52, 43-52.
- Prigent, S. V. E., Gruppen, H., Visser, A. J. W. G., van Koningsveld, G. A., de Jong G. A. H., & Voragen, A. G. J. (2003). Effects of non-covalent interactions with 5-O-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid) on the heat denaturation and solubility of globular proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5088-5095.
- Rawel, H. M., Czajka, D., Rohn, S., & Kroll, J. (2002a). Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 30, 137-150.
- Rawel, H. M., Rohn, S., & Kroll, J. (2002b). Structural changes induced in bovine serum albumin by covalent attachment of chlorogenic acid. *Food Chemistry*, 78, 443-455.
- Rawel, H. M., Rohn, S., & Kroll, J. (2003). Influence of a sugar moiety (rhamnosylglucoside) at 3-O position on the reactivity of quercetin with whey proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 32, 109-120.
- Reddy, V. C., Vidya, S. G. V., Sreeramulu, D., Venu, L., & Raghunath, M. (2005). Addition of milk does not alter the antioxidant activity of black tea. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 49, 189-195.
- Rohn, S., Petzke, K. J., Rawel, H. M., & Kroll, J. (2006). Reactions of chlorogenic acid and quercetin with a soy protein isolate-influence on the in vivo food protein quality in rats. *Molecular Nutrition and Food Research*, 50, 696-704.
- Rohn, S., Rawel, H. M., Pietruschinski, N., & Kroll, J. (2001). *In vitro* inhibition of  $\alpha$ -chymotryptic activity by phenolic compound. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1512-21.
- Rohn, S., Rawel, H. M., & Kroll, J. (2002). Inhibitory effects of plantphenols on the activity of selected enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3566-71.
- Sharangi, A. B. (2009). Medical and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.)-A review. *Food Research International*, 42, 529-535.
- Siebert, K. J., Troukhanova, N. V., & Lynn, P. Y. (1996) Nature of polyphenol-protein interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 80-85.
- Simon, C., Barathieu, K., Laguerre, M., Schmitter, J-M., Fouquet, E., Pianet, I., & Dufourc, E. J. (2003). Three-dimensional structure and dynamics of wine tannin-saliva protein complexes. A multitechnique approach. *Biochemistry*, 42, 10385-10395.
- Tachibana, H., Koga, K., Fujimura, Y., & Yamada, K. (2004). A receptor for green tea polyphenol EGCG. *Nature Structural Molecular Biology*, 11, 380-81.
- Thompson, L. U. (1993). Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Research International*, 26, 131-149.
- Tian, W. X. (2006). Inhibition of fatty acid synthase by polyphenols. *Current Medical Chemistry*, 13, 967-977.
- Van het Hof, K. H., Kivits, G. A. A., Weststrate, J. A., & Tijburg, L. B. M. (1998). Bioavailability of catechins from tea: the effect of milk. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52, 356-59.
- Wroblewski, K., Muhandiran R., Chakrabatty, A., & Bennick, A. (2001). The molecular interaction of human histatins with polyphenolic compounds. *European Journal of Biochemistry*, 268, 4384-4397.