

ภิรมณ์ยา ชนะจน : คุณสมบัติเชิงหน้าที่ทางชีวภาพของการต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้ง
เอนไซม์โพรลิลโอลิโกเปปติเดส และแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติงเอนไซม์ของไฮโดรไลสจาก
กากโปรตีนข้าวโพด (MULTI-BIOACTIVE FUNCTIONS OF ANTIOXIDANT, PROLYL
OLIGOPEPTIDASE AND ANGIOTENSIN-I-CONVERTING ENZYME INHIBITORY
ACTIVITIES OF CORN GLUTEN MEAL HYDROLYSATE) อาจารย์ที่ปรึกษา :
รองศาสตราจารย์ ดร. จีรวัดน์ ยงสวัสดิกุล, 116 หน้า.

คำสำคัญ: เพปไทด์ยับยั้งโพรลิลโอลิโกเปปติเดส/เพปไทด์ยับยั้งแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง
เอนไซม์/กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ/ไฮโดรไลสจากกากโปรตีนข้าวโพด

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งกิจกรรม
ของเอนไซม์โพรลิลโอลิโกเปปติเดส (Prolyl oligopeptidase; POP) และแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง
เอนไซม์ (Angiotensin-I-converting enzyme; ACE) ของไฮโดรไลสจากกากโปรตีนข้าวโพด ศึกษา
กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและผลต่อการลดการรวมตัวของโปรตีนแอลฟาซินนิวคลีอิน (α -synuclein)
ในเซลล์ประสาท SH-SY5Y ของเพปไทด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์โพรลิลโอลิโกเปปติเดส นอกจากนี้
ประเมินความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติงเอนไซม์ รวมทั้งฤทธิ์การลด
ความดันโลหิตของเพปไทด์ และเพปไทด์ที่เกิดจากการการย่อยด้วยระบบย่อยอาหารจำลองทาง
คอมพิวเตอร์ กากโปรตีนข้าวโพดที่ถูกย่อยด้วยเพปซินมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์โพรลิลโอลิโก
เปปติเดส และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามกิจกรรมเหล่านี้มีค่าลดลงหลังจากผ่านการย่อย
ด้วยระบบย่อยอาหารในหลอดทดลอง นอกจากนี้ไฮโดรไลสจากกากโปรตีนข้าวโพดมีความสามารถในการ
การปกป้องเซลล์จากภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ในเซลล์ที่กระตุ้นด้วยไฮโดรเจนเปอร์
ออกไซด์ (H_2O_2) แต่สมบัตินี้ลดลงหลังผ่านกระบวนการย่อยอาหาร อย่างไรก็ตาม ทั้งไฮโดรไลสและ
ไฮโดรไลสที่ผ่านการย่อยด้วยระบบย่อยอาหารจำลองยังคงมีศักยภาพในการลดภาวะเครียดออกซิ
เดชันใน SH-SY5Y cells โดยการกำจัดอนุมูลอิสระออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen
species; ROS) และเพิ่มการแสดงออกของยีนส์เอนไซม์คาตาเลส

เพปไทด์ 3 สายที่แสดงกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์โพรลิลโอลิโกเปปติเดสถูกแยกได้จาก
ไฮโดรไลสของกากโปรตีนข้าวโพด โดยที่เพปไทด์ ALLTSLPLGPA แสดงกิจกรรมการยับยั้งได้ดีที่สุด
 อย่างไรก็ตาม เพปไทด์นี้ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารทางคอมพิวเตอร์ ทำให้ได้ชิ้นส่วนเพป
ไทด์เป็น SPLGAP ซึ่งแสดงกิจกรรมในการยับยั้งลดลง แต่แสดงความสามารถในการลดกิจกรรมของ
เอนไซม์โพรลิลโอลิโกเปปติเดสในระดับเซลล์ ในขณะที่เพปไทด์ ALLTSLPLGPA แสดงการลดการ
รวมตัวของโปรตีน α -synuclein ในเซลล์ประสาท SH-SY5Y นอกจากนี้ สามารถระบุเพปไทด์ 7 สาย
ที่มีสมบัติยับยั้งแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติงเอนไซม์ โดยเพปไทด์ KQLLGY แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้

สูงสุดที่ความเข้มข้น 0.08 ± 0.01 มก. โปรตีน/มล. สำหรับการยับยั้งปฏิกิริยาครึ่งหนึ่ง (50% inhibitory concentration; IC_{50}) การย่อยเพปไทด์ด้วยเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารทางคอมพิวเตอร์ ส่งผลให้ได้เพปไทด์ที่แสดงฤทธิ์การยับยั้งแองจิโอเทนซิน- คอนเวอร์ติงเอนไซม์ ทั้งสูงขึ้นและต่ำลง อย่างไรก็ตาม เพปไทด์ KQL ที่ได้จากการย่อยเพปไทด์ KQLLYG แสดงความสามารถในการลดความดันโลหิตในหนูทดลองหลังจาก 8 ชั่วโมงที่ให้อินเพปไทด์ในปริมาณ 30 มก./กก น้ำหนักตัว นอกจากนี้ ไฮโดรไลสจากกากโปรตีนข้าวโพดมีความสามารถในการลดความดันโลหิตได้เช่นเดียวกัน โดยที่ความดันโลหิตในการบีบตัว (systolic blood pressure; SBP) ลดลงหลังจาก 2 ชั่วโมงที่ได้รับ ไฮโดรไลสที่ปริมาณ 100 มก./กก. น้ำหนักตัว และลดลงต่ำสุดที่ค่า 24.21 ± 4.34 mmHg ที่ 24 ชั่วโมง ยิ่งไปกว่านั้น การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ค่าพลังงานในการจับกับเอนไซม์ ค่าคงที่การยับยั้งเอนไซม์ (K_i) และค่าการยับยั้งแองจิโอเทนซิน- คอนเวอร์ติงเอนไซม์ ไม่สามารถนำมาใช้เพื่อบ่งบอกถึงความสามารถในการลดความดันโลหิตของเพปไทด์หรือโปรตีนไฮโดรไลสได้เสมอไป ซึ่งผล การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าเพปไทด์ที่ได้จากไฮโดรไลสจากกากโปรตีนข้าวโพดอาจนำมาใช้เพื่อพัฒนาอาหารฟังก์ชันที่มีฤทธิ์ต่อสมองและเสถียรค่าความดันโลหิต ซึ่งจะนำไปสู่การใช้ประโยชน์ของโปรตีน กากข้าวโพด



สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนักศึกษา ภิรมณ์ โชนะชน
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา [Signature]

PHIROMYA CHANAJON : MULTI-BIOACTIVE FUNCTIONS OF ANTIOXIDANT,
PROLYL OLIGOPEPTIDASE AND ANGIOTENSIN-I-CONVERTING ENZYME INHIBITORY
ACTIVITIES OF CORN GLUTEN MEAL HYDROLYSATE, THESIS ADVISOR :
ASSOC. PROF. JIRAWAT YONGSAWATDIGUL, Ph.D., 116 PP.

Keyword: PROLYL OLIGOPEPTIDASE INHIBITORY PEPTIDE/ACE-INHIBITORY
PEPTIDE/ANTIOXIDANT ACTIVITY/CORN GLUTEN MEAL HYDROLYSAT

Objectives of this study were to evaluate the antioxidant, prolyl oligopeptidase (POP) inhibitory, and angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory activities of corn gluten meal hydrolysate (CGM-H). The cellular antioxidant activity and reducing α -synuclein aggregation in neuroblastoma SH-SY5Y cells of POP inhibitory peptides were elucidated. In addition, *in vitro* ACE inhibitory activity and antihypertensive effect of peptides and their *in silico* gastrointestinal (GI)-digested fragments were determined. CGM was hydrolyzed by 1% pepsin (w/w), resulting in the sample with POP inhibitory and antioxidant activities. CGM-H protected SH-SY5Y cells against hydrogen peroxide (H₂O₂) induced oxidative stress, but this ability decreased upon simulated GI digestion. CGM-H and CGM-H digesta showed potential to reduce oxidative stress in SH-SY5Y cells by scavenging ROS and up-regulated the expression of catalase (CAT) gene.

Three novel POP inhibitory peptides were isolated from CGM-H. Peptide ALLTSLPLGPA showed the most effective inhibition. However, it degraded into SPLGPA upon *in silico* GI digestion, resulting in a decrease in POP inhibitory activity. However, SPLGPA was able to inhibit POP in SH-SY5Y cells. Meanwhile, peptide ALLTSLPLGPA reduced the aggregation of α -synuclein protein in SH-SY5Y cells. Moreover, seven novel ACE inhibitory peptides were isolated from CGM-H. Among them, KQLLGY showed the lowest IC₅₀ value at 0.08±0.01 mg protein/mL. The *in-silico* GI digestion of identified peptides resulted in either an increase or a decrease in ACE inhibitory activity. The binding energy from molecular docking and K_i values of parent peptides were lower than their GI-digested counterparts, which was related to their ACE inhibition. Peptide KQL degraded from KQLLGY showed a slight reduction of systolic blood pressure (SBP) of -7.83 mmHg after 8 h oral administration of

spontaneously hypertensive rats (SHRs) at 30 mg/kg BW as compared to saline group, although it showed lower ACE inhibitory activity than other peptides. Thus, *in vitro* ACE inhibition were not related with the *in vivo* antihypertensive effect. In addition, CGM-H also exerted greater extent of antihypertensive ability after 2 h with SBP reduction of -21.30 mmHg after oral administration at dose of 100 mg/kg BW. These results revealed the greater extent of antihypertensive activity of CGM-H as compared to GI-digested peptide. Therefore, CGM-H and its peptides would be further developed to nutraceutical products targeting brain function and blood pressure stabilization, which would ultimately lead to valorization of CGM.



School of Food Technology
Academic Year 2022

Student's Signature Phiromya Chanajon
Advisor's Signature [Signature]