บทความวิจัย

การศึกษาเอนไซม์เป้าหมายของเบอร์เบอรินในการยับยั้งมะเร็งเต้านมโดยวิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง

วันชนะ ชนกชนีกุล* มะยูโซ๊ะ กูโน และ สิริธร สโมสร

บทคัดย่อ

มะเร็งเต้านมเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งที่ถูกพบมากที่สุดในเพศหญิง จากรายงานผู้ป่วยโรคมะเร็งของสถาบันมะเร็งแห่งชาติของประเทศไทยเมื่อปี 2555 พบว่ามีผู้ป่วยมะเร็งเต้านมคิดเป็นร้อยละ 24 ของผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ทั้งหมด เบอร์เบอรินเป็นสารอัลคาลอยด์ที่ได้ทำการทดสอบฤทธิ์กับเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และพบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 ได้ดี อย่างไรก็ตามยังไม่มีการรายงานที่แน่ชัดถึงเอนไซม์เป้าหมายของเบอร์เบอรินในการเข้าไปยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อค้นหาเอนไซม์เป้าหมายของสารประกอบเบอร์เบอรินที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็งเต้านมโดยใช้ molecular docking ด้วยเทคนิค reverse docking เพื่อให้ได้ข้อมูลและเป็นแนวทางในการออกแบบเบอร์เบอรินให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมให้ดีขึ้น โดยทำการเลือกเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมในฐานข้อมูลธนาคารโปรตีนทั้งหมด 7 กลุ่มเอนไซม์ดังนี้ อโรมาเตส ไฮโดรเลส ไอโซเมอเรส ไลเกส ไลเอส ควิโนน รีดักเตส 2 และทรานส์เฟอเรส จากการศึกษาพบว่าเบอร์เบอรินสามารถเกิดอันตรกิริยากับเอนไซม์ของมะเร็งเต้านมในกลุ่มควิโนน รีดักเตส 2 ได้ดีที่สุด และเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน Gly68 Thr71 Asp117 และ Gln122

คำสำคัญ: มะเร็งเต้านม ควิโนนรีดักเตส 2 เบอร์เบอริน โมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, E-mail: wanchana.chanokchaneekul@gmail.com

Study of Berberine Target Enzymes in Breast Cancer Inhibition by Molecular Docking Method

Wanchana Chanokchaneekul*, Mayuso Kuno and Siritron Samosorn

ABSTRACT

Breast cancer is the most frequently leading cause of cancer-related death in women. According to the 2012 Report of the National Cancer Institute of Thailand, 24% of new cancer cases were breast cancer. An alkaloid berberine was tested against breast cancer MCF-7 cell line and exhibited a significant cytotoxic effect on the MCF-7 cells. However, it has not been studied on the enzyme target of berberine. Therefore, this research was performed to search for potential enzyme targets of berberine using molecular docking approach with reverse docking procedure. The representative enzymes associated with breast cancer were obtained from the Protein Data Bank (PDB) with the target of Aromatases, Hydrolases, Isomerases, Ligases, Lyases, Quinone Reductase 2 (QR2) and Transferases. The results showed that the binding affinity of berberine with QR2 was a significantly higher than the other targets. The complex interaction between berberine and amino acids in the binding site of QR2 revealed the H-bond with residues Gly68, Thr71, Asp117 and Gln122.

Keyword: Breast cancer, Quinone Reductase 2, Berberine, Molecular docking

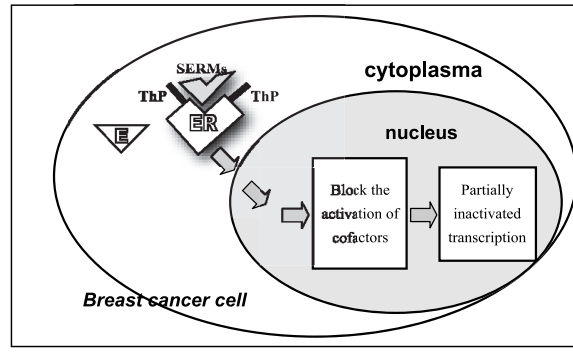
Department of Chemistry, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

*Corresponding author, E-mail: wanchana.chanokchaneekul@gmail.com

บทนำ

ในร่างกายมนุษย์จะประกอบด้วยเซลล์เป็นจำนวนหลายล้านเซลล์เกิดการแบ่งตัวและเปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆ ในร่างกายตามแต่ละชนิดของเซลล์ โดยกระบวนการนี้จะถูกควบคุมด้วยระบบการทำงานของร่างกายที่ทำหน้าที่ควบคุมให้เซลล์เกิดขึ้นในปริมาณที่เหมาะสมและสอดคล้องกับความต้องการของร่างกาย ดังนั้น ถ้ากระบวนการแบ่งตัวหรือเปลี่ยนแปลงของเซลล์เกิดขึ้นอย่างผิดปกติ จะเรียกกลุ่มเซลล์ที่ผิดปกติเหล่านี้ว่ามะเร็ง ซึ่งสามารถแบ่งประเภทของกลุ่มเซลล์ที่ผิดปกตินี้ออกเป็น 2 ชนิด โดยชนิดที่ 1 เรียกว่า Benign tumors เป็นเนื้องอก ที่เกิดเฉพาะในบริเวณที่เซลล์มีการแบ่งตัวที่ผิดปกติเท่านั้น ไม่เกิดการขยายตัวไปยังเนื้อเยื่ออื่นๆ ที่อยู่รอบข้าง มีอัตราเร็วในการแบ่งตัวเท่ากับเซลล์ปกติของร่างกาย เช่น เนื้องอกในอวัยวะต่างๆ และ ชนิดที่ 2 เรียกว่า Malignant tumors เป็นเนื้องอกที่สามารถลุกลามไปยังอวัยวะอื่นๆ ได้ มีอัตราเร็วในการแบ่งตัวเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เช่น ปอด ลำไส้ กล้ามเนื้อ ระบบเลือด เป็นต้น จากสถิติการเสียชีวิตของคนไทยพบว่าโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของคนไทยมากที่สุด และการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกๆ ปี เป็นผลมาจากสภาวะแวดล้อมในปัจจุบันที่วิถีชีวิตมีการใช้สิ่งอำนวยความสะดวกที่ผลิตจากอุตสาหกรรมมากขึ้น ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของมลพิษจากอุตสาหกรรมและไอเสียจากรถยนต์ที่มีมากขึ้นจากรายงานผู้ป่วยโรคมะเร็ง National Cancer Institute Thailand ในปี 2555 พบว่ามะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่ถูกพบมากที่สุดถึงร้อยละ 24 ของผู้ป่วยมะเร็งทั้งหมด โดยมีสัดส่วนของผู้ป่วยหญิงร้อยละ 23.9 และผู้ป่วยชายร้อยละ 0.1 [1] จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าปริมาณของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่พบหรือสะสมในร่างกายจะสัมพันธ์กับอัตราการเกิดโรคมะเร็งเต้านม กล่าวคือถ้ามีปริมาณฮอร์โมนยิ่งมากยิ่งเพิ่มโอกาสในการเกิดมะเร็งเต้านมมากขึ้น ดังนั้นแนวทางการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมคือการปรับสมดุลของฮอร์โมนในร่างกายไม่ให้มีมากจนเกินไปแล้วทำให้เกิดการทำงานของฮอร์โมนจนผิดปกติ

ปัจจุบันการรักษามะเร็งเต้านมโดยการปรับสมดุลฮอร์โมนในร่างกายแบ่งเป็น 4 กลุ่มคือ 1. Selective estrogen receptor modulators (SERMs) ทำงานโดยไปแย่งจับที่ตัวรับเอสโตรเจน (estrogen receptor) ของเซลล์เต้านมดังภาพประกอบที่ 1 ทำให้เอสโตรเจนไม่สามารถมาจับกับตัวรับเอสโตรเจนและออกฤทธิ์ได้ ส่งผลให้การแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งลดลง 2. Aromatase inhibitors ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อโรมาเตสที่มีหน้าที่เปลี่ยนแอนโดรเจนเป็นเอสโตรเจน 3. Selective estrogen receptor down regulators (SERDs) ทำงานโดยขัดขวางการจับกันระหว่างเอสโตรเจนและตัวรับเอสโตรเจนโดยจะแตกต่างจาก SERMs ที่หลังจากจับกันแล้วจะทำให้ตัวรับเอสโตรเจนไม่สามารถทำงานได้อีก และ 4. วิธี Ovarian shutdown and removal เป็นการผ่าตัดรังไข่ออกทั้งสองข้างหรือฉายรังสีที่รังไข่ เพื่อให้รังไข่หยุดทำงาน ส่งผลให้ไม่มีการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนในร่างกาย [2] จากวิธีการใช้ยารักษามะเร็งเต้านมดังกล่าวพบว่ามีการใช้ยายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาหาเอนไซม์เป้าหมายของการยับยั้งมะเร็งเต้านม จากการสืบค้นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องโดยใช้ฐานข้อมูลธนาคารโปรตีนพบว่ามีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม 7 ชนิดคือ อโรมาเตรส [3] ไฮโดรเรส [4] ไอโซเมอเรส ไลเกส [5] ไลเอส ควิโนน รีดักเตรส 2 [6] และทรานส์เฟอเรส [7]

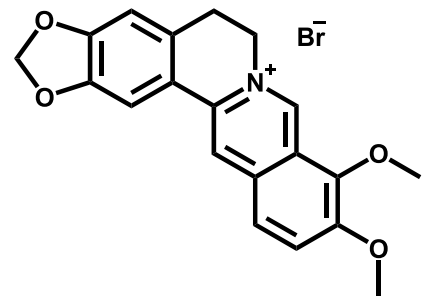


ภาพประกอบ 1 SERMs แย่งจับกับ estrogen receptor

E = Estrogen, ER = Estrogen receptor, SERMs = Selective estrogen receptor modulators [2]

ปัจจุบันการศึกษาเพื่อหาเป้าหมายในการยับยั้งการทำงานเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคต่างๆ โดยนำความรู้ทางเคมีเชิงคอมพิวเตอร์เข้ามาใช้ในการศึกษาโครงสร้างโปรตีนและออกแบบโมเลกุลตัวยับยั้งเพื่อเป็นแนวทางในการทำการทดลองในห้องปฏิบัติการจริง โดยวิธีทางเคมีเชิงคอมพิวเตอร์จะใช้พื้นฐานของวิชาเคมี ในการศึกษาค้นคว้าและทำความเข้าใจเกี่ยวกับสมบัติของสาร เพื่อนำความรู้ไปประยุกต์ใช้ในการออกแบบสารในงานด้านอุตสาหกรรม และการออกแบบสารที่ใช้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการพัฒนายา งานวิจัยทางด้านเคมีเชิงคอมพิวเตอร์สำหรับการค้นหาตัวยับยั้งที่ประสิทธิภาพดีกว่าตัวยับยั้งเดิม หรือการพัฒนาตัวยับยั้งเดิมให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นนั้น วิธีการที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดคือวิธีการทางโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง ซึ่งเป็นการค้นหาโครงสร้างที่เป็นไปได้มากที่สุดในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับเอนไซม์ที่ศึกษา โดยในขั้นตอนการเข้าจับจะมีการเคลื่อนย้ายตัวยับยั้งแบบสุ่มไปยังบริเวณการจับของเอนไซม์เป้าหมายที่มีการกำหนดขอบเขตบริเวณการจับของเอนไซม์อย่างชัดเจนและมีขนาดเหมาะสมต่อการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับเอนไซม์เพื่อให้ได้โครงสร้างที่ดีที่สุดและสอดคล้องกับค่าพลังงานอิสระในการจับกับเอนไซม์ซอฟต์แวร์ที่ใช้ในการศึกษาโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งในปัจจุบันมีอยู่หลากหลาย ทั้งที่เป็นซอฟต์แวร์เชิงพาณิชย์และที่เป็นซอฟต์แวร์เพื่อการศึกษา โดยซอฟต์แวร์เพื่อการศึกษาที่ได้รับความนิยมอย่างมาก คือ AutoDock (Molecular Docking) เป็นเทคโนโลยีในการออกแบบเพื่อทำนายสารประกอบเชิงซ้อนของสารประกอบชีวภาพกับโมเลกุลที่ออกแบบคำนวณโครงสร้างที่เหมาะสมโดยประเมินผลจากพลังงานการจับระหว่างโมเลกุลมักใช้ศึกษายา หรือ เอนไซม์ [8]

จากการศึกษาสารประกอบจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งโรคมะเร็งเต้านมพบว่าเบอร์เบอรินมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญเติบโตของมะเร็งหลายชนิดรวมทั้งมะเร็งเต้านม ซึ่งเบอร์เบอรินสามารถสกัดได้จากลำต้นและรากของพืชหลายชนิด เช่น ขมิ้นเครือ และพืชในวงศ์ Berberidaceae, Menispermaceae, Papaveraceae และ Rutaceae เบอร์เบอรินมีโครงสร้างเป็นวงอะโรมาติกที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบดังรูปประกอบที่ 2 ถึงแม้ว่าเบอร์เบอรินจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งโรคมะเร็งเต้านมแต่ยังไม่มีการรายงานที่ชัดเจนว่าเอนไซม์เป้าหมายในการยับยั้งของเบอร์เบอรินต่อมะเร็งเต้านมคือเอนไซม์ชนิดใด [9, 10]



ภาพประกอบ 2 โครงสร้างของเบอร์เบอริน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจทำการศึกษาเพื่อหาเอนไซม์เป้าหมายของเบอร์เบอรินในการยับยั้งมะเร็งเต้านมโดยใช้ระเบียบวิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง

วิธีการทดลอง

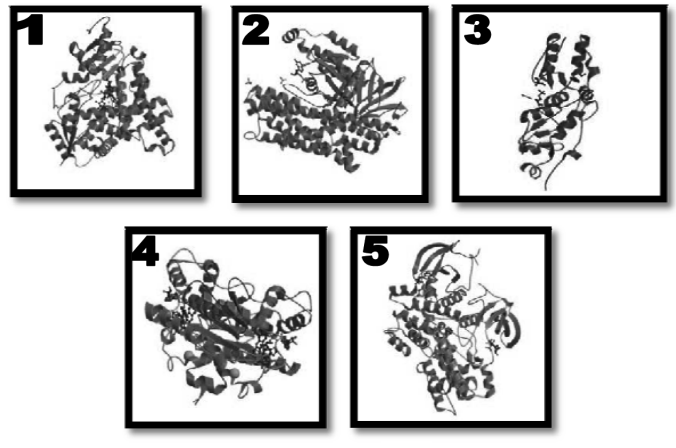
การศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเบอร์เบอรินกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม ด้วยระเบียบวิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง โดยใช้โปรแกรม Autodock 4.2.6 ทำงานบนระบบปฏิบัติการลีนุกต์ (Linux) ส่วนขั้นตอนการเตรียมไฟล์สำหรับการทำโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งใช้โปรแกรม AutoDockTools 1.5.6 บนระบบปฏิบัติการวินโดว์การทำโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งจะประกอบด้วยโครงสร้าง 2 ส่วนคือ ส่วนของตัวยับยั้งหรือ ligand และส่วนของโปรตีนหรือ receptor โดยส่วนของตัวยับยั้งจะทำการเตรียมโครงสร้างเบอร์-เบอรินที่ใช้ในการทำโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง ด้วยระเบียบวิธี HF/3-21G โดยโปรแกรม Gaussian03 [11] ซึ่งทำงานบนระบบปฏิบัติการลีนุกต์ เพื่อคำนวณโครงสร้างที่เหมาะสมและมีความเสถียรสำหรับใช้ในการทำโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งส่วนของโปรตีนจะทำการดาวน์โหลดโครงสร้างของเอนไซม์จากฐานข้อมูลธนาคารโปรตีน จากนั้นนำโครงสร้างทั้ง 2 มาเตรียมไฟล์สำหรับการทำโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งโดยใช้พารามิเตอร์ดังนี้ grid ขนาด X=Y=Z มีค่าเท่ากับ 60 Å และให้ศูนย์กลางของ grid อยู่ที่บริเวณโพรงการจับเดิมของแต่ละเอนไซม์ ใช้ grid point spacing เท่ากับ 0.375 Å รูปแบบการ Docking เป็นแบบ Random จำนวนรอบในการค้นหารูปแบบการจับทั้งหมด 150 รอบ และใช้ Lamarckian GA ในการหาพลังงานที่ดีที่สุดในแต่ละรอบของการ Docking แบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้ 1. เลือกโครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมจากฐานข้อมูลโปรตีน 2. Redock เพื่อวิเคราะห์ความเหมาะสมของโครงสร้างโปรตีน 3. Reverse Docking เพื่อวิเคราะห์หาเอนไซม์ที่จับกับเบอร์เบอรินได้ดีที่สุด

ผลการทดลอง

การรายงานผลการวิจัยเรื่องการศึกษาเอนไซม์เป้าหมายของสารประกอบเบอร์เบอรินแบ่งออกเป็น 3 ส่วนดังนี้

1. การเลือกโครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม

งานวิจัยนี้ทำการเลือกโครงสร้างของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ metabolism ในมะเร็งเต้านม เพื่อหาเอนไซม์เป้าหมายของเบอร์เบอรินในการยับยั้งมะเร็งเต้านมในกระบวนการดังกล่าว โดยทำการเลือกโครงสร้างเอนไซม์จากฐานข้อมูลธนาคารโปรตีน พบโครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมทั้งหมด 100 โครงสร้าง จากนั้นทำการเลือกโครงสร้างเอนไซม์โดยกำหนดเงื่อนไข 2 เงื่อนไข ดังนี้ 1. เป็นโครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในร่างกายของมนุษย์หรือในกลุ่ม Homo sapiens เมื่อพิจารณาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับร่างกายมนุษย์พบว่ามีเอนไซม์ทั้งหมด 94 โครงสร้างเมื่อได้โครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในร่างกายมนุษย์แล้ว ทำการเลือกเอนไซม์โดยแบ่งตามกลุ่มเอนไซม์ต่างๆ ดังนี้ อโรมาเตส ไฮโดรเรส ไอโซเมอเรสไลเกส ไลเอสควิโนน รีดักเตส 2 และ ทรานส์เฟอเรส จากนั้นมาพิจารณาเงื่อนไขที่ 2. คือเป็นโครงสร้างเอนไซม์ที่มีตัวยับยั้งอยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์พบว่ามีโครงสร้างเอนไซม์ที่มีตัวยับยั้งอยู่ในโครงสร้างมีดังนี้ เอนไซม์อโรมาเตสมี 3 โครงสร้าง เอนไซม์ไฮโดรเรสมี 1 โครงสร้าง เอนไซม์ไลเกสมี 3 โครงสร้าง เอนไซม์ควโนน รีดักเตส 2 มี 54 โครงสร้างเอนไซม์ทรานส์เฟอร์เรสมี 17 โครงสร้าง จากนั้นเลือกตัวแทนโครงสร้างในแต่ละกลุ่มเอนไซม์โดยพิจารณาจาก โครงสร้างที่มีค่า Resolution ต่ำ ซึ่งทำให้ได้โครงสร้างที่มีความถูกต้องสูงและมีความสมบูรณ์ของโครงสร้างมาก และเลือกโครงสร้างเอนไซม์ที่มีการนำเสนอใหม่เป็นตัวแทนในแต่ละกลุ่มดังนี้ โครงสร้างรหัส 4GL5 จาก เอนไซม์อโรมาเตส [12] 4D0N จาก เอนไซม์ไฮโดรเลส [13] 4IGK จาก เอนไซม์ไลเกส [14] 3G5M จาก เอนไซม์ควิโนน รีดักเตส 2 [15] และ 4C3P จาก เอนไซม์ทรานส์เฟอร์เรส [16] ดังภาพประกอบ 3



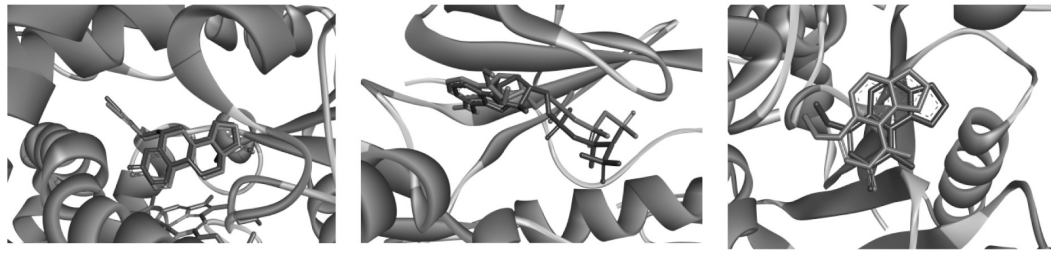
ภาพประกอบ 3 โครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม
1. 4GL5 จาก Aromatases 2. 4D0N จาก Hydrolases 3. 4IGK จาก Ligases
4. 3G5M จาก Quinone Reductase 2 5. 4C3P จาก Transferases

2. การทำ Redock

การทำ Redock เพื่อการเปรียบเทียบตำแหน่งการจับของตัวยับยั้งที่ผ่านการคำนวณด้วยระเบียบวิธี โมเลกุลาร์ด็อกกิ้งเทียบกับตำแหน่งตัวยับยั้งเดิมที่ได้จากโครงสร้างเพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของบริเวณโพรงการจับในโครงสร้างเอนไซม์จะทำโดยนำโครงสร้างตัวยับยั้งเดิมจากโครงสร้างเอนไซม์ที่ดาวน์โหลดจากฐานข้อมูลธนาคารโปรตีนมาทำการ dock กับเอนไซม์ของตัวยับยั้งของแต่ละตัว ศึกษาค่า RMSD (Root mean square deviation) ของการคำนวณการจับระหว่างตัวยับยั้งเดิมในโครงสร้างเอนไซม์กับโครงสร้างของแต่ละเอนไซม์ ซึ่งค่า RMSD เป็นค่าทางสถิติที่ใช้บอกความแตกต่างระหว่าง 2 โครงสร้างจากตาราง 1 พบว่าค่า RMSD ของโครงสร้างเอนไซม์รหัส 4GL5 4C3P และ 3G5M เท่ากับ 0.429 Å 1.530 Å และ 0.947 Å ตามลำดับ ซึ่งโครงสร้างทั้ง 3 ให้ค่า RMSD มีค่าน้อยกว่า 2.5 Å แสดงว่าความแตกต่างระหว่างตำแหน่งตัวยับยั้งทั้ง 2 แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย และทำการเปรียบเทียบตำแหน่งระหว่างตัวยับยั้งเดิมที่ผ่านการคำนวณ ตัวยับยั้งเดิมที่อยู่ในโครงสร้างเอนไซม์ผ่านโปรแกรม Discovery Studio 2016 Client ดังภาพประกอบ 4 แสดงให้เห็นว่าตัวยับยั้งสามารถจับกับโครงสร้างเอนไซม์ของแต่ละโครงสร้างภายในบริเวณโพรงการจับเดิมของโครงสร้างเอนไซม์ และตัวยับยั้งที่ได้จากการคำนวณจะอยู่ในตำแหน่งซ้อนทับกับโครงสร้างตัวยับยั้งเดิมในโครงสร้างเอนไซม์จึงสรุปได้ว่าโครงสร้างเอนไซม์ 4GL5 4C3P และ 3G5M มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้คำนวณทางโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง

ตาราง 1 ค่า RMSD(Å) ของแต่ละโปรตีน

เอนไซม์	รหัสโปรตีน	RMSD(Å)
Aromatase	4GL5	0.429
Hydrolase	4D0N	7.118
Ligase	4IGK	15.861
Quinone Reductase 2	3G5M	0.947
Tranferase	4C3P	1.530



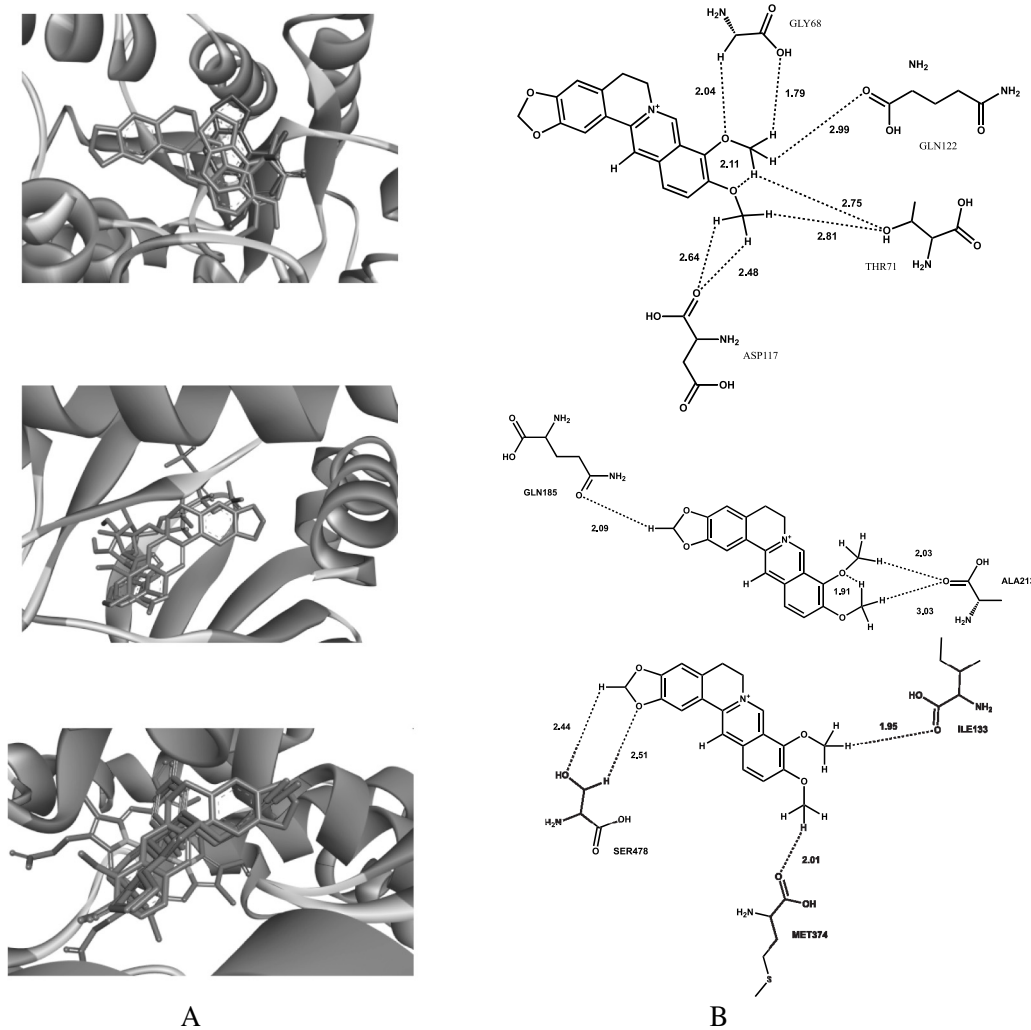
ภาพประกอบ 4 เปรียบเทียบการจับกันระหว่างตัวยับยั้งเดิม ในโครงสร้างเอนไซม์

3. การ Reverse Docking เบอร์เบอริน

การทำ Reverse docking เพื่อศึกษาเอนไซม์เป้าหมายของเบอร์เบอริน โดยวิเคราะห์พลังงานอิสระในการเข้าจับ (estimated free energy of binding) ระหว่างเบอร์เบอรินกับโครงสร้างโปรตีนในแต่ละกลุ่มเอนไซม์ โดยผลการคำนวณค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับจะแสดงในเทอมของพลังงานติดลบ ถ้าค่าที่ได้ติดลบมากแสดงว่า ตัวยับยั้งสามารถจับกับโปรตีนได้ดีเบอร์เบอรินกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม จะทำโดยนำโครงสร้างเบอร์เบอรินที่ optimized มา dock กับโครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม พิจารณาค่าพลังงานที่ได้จากการคำนวณดังตารางที่ 2 พบว่าพลังงานอิสระในการเข้าจับของเบอร์เบอรินกับเอนไซม์รหัส 4C3P 4GL5 และ 3G5M ให้พลังงานเท่ากับ -7.55 kcal/mol -8.90 kcal/mol และ -10.63 kcal/mol ตามลำดับ โดยจะพบว่าเบอร์เบอรินสามารถจับกับเอนไซม์ในกลุ่มควิโนนรีดักเตส 2 ได้ดีที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบการจับระหว่างเบอร์เบอรินกับตัวยับยั้งเดิมในโครงสร้างแต่ละเอนไซม์พบว่าเบอร์เบอรินเข้าจับกับเอนไซม์ในตำแหน่งเดียวกับตัวยับยั้งเดิม ดังภาพประกอบ 5A และเมื่อพิจารณาพันธะไฮโดรเจนของเบอร์เบอรินกับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของแต่ละโครงสร้างเอนไซม์ พบว่าเบอร์เบอรินเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโนในเอนไซม์ต่างๆ ดังนี้ เอนไซม์ควิโนนรีดักเตส 2 เบอร์เบอรินเกิดพันธะไฮโดรเจนกับ Gly68 Thr71 Asp117 และ Gln122 เอนไซม์ ทรานส์เฟอเรส เบอร์เบอรินเกิดพันธะไฮโดรเจนกับ Gln185 และ Ala213 เอนไซม์อโรมาเตสเบอร์เบอรินเกิดพันธะไฮโดรเจนกับ Ile133 Met374 และ Ser478 ดังแสดงในภาพประกอบ 5B

ตาราง 2 ค่า estimated free energy of binding ระหว่างเบอเบอรินกับโปรตีนแต่ละชนิด

โปรตีน	Estimated free energy of binding (kcal/mol)
3G5M	-10.63
4C3P	-7.55
4GL5	-8.90



A B

ภาพประกอบ 5 A เบอร์เบอรินกับตัวยับยั้งเดิมในเอนไซม์
B อันตรกิริยาระหว่างเบอร์เบอรินกับกรดอะมิโนในเอนไซม์

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองการค้นหาเอนไซม์เป้าหมายของเบอร์เบอรินในการยับยั้งมะเร็งเต้านม โดยวิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งทำให้ทราบว่าเบอร์เบอรินสามารถเกิดอันตรกิริยากับเอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์ควิโนนรีดักเตส 2 ได้ดีที่สุดจาก เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม โดยให้พลังงานอิสระในการเข้าจับระหว่างเบอร์เบอรินกับเอนไซม์ควิโนน รีดักเตส 2 เท่ากับ -10.63 kcal/mol และเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของโครงสร้าง เอนไซม์ควิโนนรีดักเตส 2 คือ Gly68 Thr71 Asp117 และ Gln122 ทำให้ทราบว่าในการยับยั้งการทำงานของมะเร็งเต้านมของสารประกอบเบอร์เบอรินจะยับยั้งการทำงานในกลุ่มเอนไซม์ควิโนนรีดักเตส 2 และงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางสำหรับการออกแบบสารประกอบเบอร์-เบอรินเพื่อเพิ่มประสิทธิ์ภาพในการยับยั้งมะเร็งเต้านมให้ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2557. ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล: 2555. กรุงเทพฯ บริษัท โรงพิมพ์ตะวันออก จำกัด (มหาชน). หน้า 2.
2. Dechaphukul, A. et al.; 2011. Antihormonal Therapy in Breast Cancer. *Songkla Med J.* 3: 127-142.
3. Ghosh, D., Lo, J., Morton, D., Valette, D., Xi, J., Griswold, J., et al.; 2012. Novel aromatase inhibitors by structure-guided design. *Journal of Medicinal Chemistry 55:* 8464-8476.
4. Abdul Azeez, K. R., Knapp, S., Fernondes, J. M. P., et al.; 2014. The crystal structure of the RhoA-AKAP-Lbc DH-PH domain complex. *Biochem. J.* 464: 231-239.
5. Liu, X. and Ladias, J. A. A.; 2013. Structural Basis for the BRCA1 BRCT Interaction with the Proteins ATRIP and BAAT1. *Biochemistry.* 52(43): 7618-7627.
6. Maiti, A., Reddy, P. V. N., Sturdy, M., Marler, L., Pegan, S. D., Mesecar, A. D., et al.; 2009. Synthesis of casimiroin and optimization of its quinone reductase 2 and aromatase inhibitory activities. *Journal of Medicinal Chemistry 52:* 1873-1884.
7. Zorba, A., Buosi, V., Kutter, S., et al.; 2014. Molecular mechanism of Aurora A kinase autophosphorylation and its allosteric activation by TPX2. *Elife.*
8. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., et al.; 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. J Comput Chem. 30(16): 2785-2791.
9. Kaboli, P. J., Rahmat, A., Ismail, P., Ling, K. H.; 2014. Targets and mechanisms of berberine, a natural drug with potential to treat cancer with special focus on breast cancer. *European Journal of Pharmacology.* 740: 584-595.
10. Sheng-Nan Lo.; et al. 2013. Inhibition of CYP1 by berberine, palmatine, and jatrorrhizine: Selectivity, kinetic characterization, and molecular modeling. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 272: 671-680.
11. Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., et al. 2003. *Gaussian 03, Revision B05.* Pittsburgh, PA: Gaussian.
12. RCSB PDB Protein Data Bank. 2014. Available from URL:http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=4GL5, October 8, 2014.
13. RCSB PDB Protein Data Bank. 2014. Available from URL:http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=4D0N, October 8, 2014.
14. RCSB PDB Protein Data Bank. 2014. Available from URL:http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=4IGK, October 8, 2014.
15. RCSB PDB Protein Data Bank. 2014. Available from URL:http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3G5M, October 8, 2014.

16. RCSB PDB Protein Data Bank. 2014. Available from URL:http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=4C3P, October 8, 2014.

ได้รับบทความวันที่ 31 มีนาคม 2559
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 16 พฤษภาคม 2559