

การออกแบบอนุพันธ์เบอเบอรรีนต่อเอนไซม์ไปาหมายสำหรับมะเร็งเต้านม
โดยวิธีโมเลกุลาร์ดีคอกกิ้ง



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
สิงหาคม 2559

การออกแบบอนุพันธ์เบอเบอรรีนต่อเอนไซม์เป้าหมายสำหรับมะเร็งเต้านม
โดยวิธีโมเลกุลาร์ดีคอกกิ่ง



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
สิงหาคม 2559
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การออกแบบอนุพันธ์เบอเบอรรีนต่อเอนไซม์ไปาหมายสำหรับมะเร็งเต้านม
โดยวิธีโมเลกุลาร์ดีคอกิ่ง



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
สิงหาคม 2559

วันชนะ ชนกชนีกุล. (2559). การออกแบบอนุพันธ์เบอเบอรินต่อเอนไซม์เป้าหมายสำหรับมะเร็งเต้านม โดยวิธีโมเลกุลาร์ดีคกิง. วท.ม.(เคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยุไซะ ภูโน.

มะเร็งเต้านมเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งที่ถูพบมากที่สุดในประเทศหญิง จากรายงานผู้ป่วยโรคมะเร็งของสถาบันมะเร็งแห่งชาติของประเทศไทยเมื่อปี 2555 พบว่ามีผู้ป่วยมะเร็งเต้านมคิดเป็นร้อยละ 24 ของผู้ป่วยมะเร็งรายใหม่ทั้งหมด เบอเบอรินเป็นสารอัลคาลอยด์ที่ได้ทำการทดสอบฤทธิ์กับเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และพบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 ได้ดี อย่างไรก็ตามยังไม่มีกรรายงานที่แน่ชัดถึงเอนไซม์เป้าหมายของเบอเบอรินในการเข้าไปยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อค้นหาเอนไซม์เป้าหมายของสารประกอบเบอเบอรินที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็งเต้านมโดยใช้ Molecular docking ด้วยเทคนิค reverse docking เพื่อให้ได้ข้อมูลและเป็นแนวทางในการออกแบบเบอเบอรินให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมให้ดีขึ้น โดยทำการเลือกเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมในฐานข้อมูลธนาคารโปรตีนทั้งหมด 7 กลุ่มเอนไซม์ดังนี้ อโรมาเตส ไฮโดรเลส ไอโซเมอเรส ไลเกส ไลเอส คิวโนน รีดักเตส 2 และทรานส์เฟอเรส จากนั้นทำการออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอรินให้มีประสิทธิภาพในการจับกับเอนไซม์เป้าหมายมากขึ้น ด้วยเทคนิค docking จากการศึกษพบว่าเบอเบอรินสามารถเกิดอันตรกิริยากับเอนไซม์ของมะเร็งเต้านมในกลุ่มคิวโนน รีดักเตส 2 ได้ดีที่สุด และสารอนุพันธ์เบอเบอรินที่ออกแบบใหม่รหัส BBR_417 แสดงความสามารถในการจับกับเอนไซม์คิวโนน รีดักเตส 2 ได้ดีที่สุด โดยให้พลังงานอิสระในการเข้าจับเท่ากับ -14.29 kcal/mol หลังจากนั้นทำการศึกษอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์คิวโนน รีดักเตส 2 ด้วย M062X/6-31G(d,p) พบว่าเบอเบอริน เกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโน Trp105A, Asn161A และ Phe178B ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์คิวโนน รีดักเตส 2 BBR_417 เกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโน Trp105A, Phe131B และ Phe178B ซึ่งการศึกษาดังกล่าวทำให้รู้เอนไซม์เป้าหมายของเบอเบอรินคือเอนไซม์คิวโนน รีดักเตส 2 และสามารถออกแบบอนุพันธ์เบอเบอรินที่มีประสิทธิภาพในการจับกับเอนไซม์คิวโนน รีดักเตส 2 รหัส BBR_417 เพื่อนำไปสังเคราะห์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

MOLECULAR DESIGN OF BERBERINE DERIVATIVE TO TARGETED ENZYME FOR BREAST
CANCER BY MOLECULAR DOCKING



AN ABSTRACT
BY
WANCHANA CHANOKCHANEKUL


Presented in Partial Fulfillment of the Requirement for the
Master of Science Degree in Chemistry
at Srinakharinwirot University
August 2016

Wanchana Chanokchaneekul. (2016). *Molecular design of Berberine derivative to targeted enzyme for breast cancer by cross-docking*. Master thesis, M.Sc. (Chemistry).

Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee:

Asst. Prof. Dr. Mayuso Kuno

Breast cancer is the most frequent and the leading cause of cancer-related deaths in women. According to the 2012 Report of the National Cancer Institute of Thailand, 24% of new cancer cases were attributed to 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 target enzyme, of berberine. Therefore, this research was performed to search for potential enzyme targets of berberine using the molecular docking approach and a 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. Then, through the use of the docking procedure, a derivative of berberine was designed to be more efficient. The results showed that the binding affinity of berberine with QR2 was a significantly higher than the other targets. The berberine derivative code, BBR_417, show edits ability to bind to the Quinone reductase 2 enzyme, with a binding energy is -14.29 kcal/mol. The interaction between inhibitor and amino acid in binding site of enzyme quinone reductase 2 was calculated by M062X/6-31G(d,p). The complex interaction between berberine and amino acids in the binding site of QR2 revealed residues of Trp105A, Asn161A and Phe178B, and complex interactions between berberine derivative code BBR_417 and amino acids in the binding site of QR2 revealed residues of Trp105A, Phe131B and Phe178B.



งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยประเภททุนการศึกษาเพื่อทำปริญญาโท
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2559

ปริญญาานิพนธ์

เรื่อง

การออกแบบอนุพันธ์เบอเบอริ่นต่อเอนไซม์เป้าหมายสำหรับมะเร็งเต้านมโดยวิธีโมเลกุลาร์ดีคอกกิ่ง

ของ

วันชนะ ชนกชนี่กุล

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

วันที่ เดือน พ.ศ. 2559

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

..... ที่ปรึกษา ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยุไซะ กุโน)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัชรินทร์ ทวีทรัพย์อากาศ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยุไซะ กุโน)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจาก จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยูโซ๊ะ ฎโน ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ ท่านได้เสียสละเวลาอันมีค่า เพื่อให้คำปรึกษา คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการวิจัยทุกขั้นตอน คณะกรรมการ ควบคุมปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา และชี้แนะข้อบกพร่องต่างๆ ตลอดจนการแก้ปัญหาอัน เกิดจากการดำเนินการวิจัยและการเขียนปริญญานิพนธ์นี้แก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดี อีกทั้งทำให้ผู้วิจัยได้รับ ประสพการณ์ ได้เรียนรู้และเห็นคุณค่าของงานวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้ง และขอกราบขอบพระคุณเป็น อย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัชรินทร์ ทวีพย์อากาศ ที่ให้ความกรุณาในการเป็น ประธานในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ ที่ให้ความ กรุณาเป็นกรรมการในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำและชี้แนะข้อบกพร่อง ต่างๆ เพื่อให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ ได้ถ่ายทอดความรู้และให้ความเมตตาเอาใจใส่ ให้ความช่วยเหลือแก่ผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณต่อครอบครัว “ชนชนีกุล” ที่มอบความรัก คอยเอาใจใส่ และสนับสนุนในทุกๆด้าน ทำให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จ ในครั้งนี้

วันชนะ ชนชนีกุล

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ภูมิหลัง	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย	5
ความสำคัญของการวิจัย	5
ขอบเขตการวิจัย	6
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
เอกสารความรู้เกี่ยวกับมะเร็งเต้านม	7
ทฤษฎีและการออกแบบตัวยับยั้งมะเร็งเต้านม	10
ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์	14
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
3 วิธีการดำเนินการวิจัย	23
Redock เพื่อวิเคราะห์ความเหมาะสมของโครงสร้างโปรตีน	24
Reverse Docking เพื่อวิเคราะห์หาเอนไซม์ที่จับกับเบอเบอริน ได้ดีที่สุด	26
การออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอริน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง	27
กลศาสตร์ควอนตัมเพื่อคำนวณหาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งต่อกรดอะมิโนที่ สำคัญในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์	29
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	32
Redock เพื่อวิเคราะห์ความเหมาะสมของโครงสร้างโปรตีน	32
Reverse Docking เพื่อวิเคราะห์หาเอนไซม์ที่จับกับเบอเบอริน ได้ดีที่สุด	36
การออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอริน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง	40
กลศาสตร์ควอนตัมเพื่อคำนวณหาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งต่อกรดอะมิโนที่ สำคัญในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์	47
5 สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย ข้อเสนอแนะ	61

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
บรรณานุกรม	63
ภาคผนวก.....	66
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	68



บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 มะเร็งที่พบบ่อย 10 อันดับแรกในประเทศไทย พ.ศ. 2555	2
2 ขนาดของ Grid (Å) กับค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol) ระหว่างตัวรับยังกับโปรตีน	33
3 จำนวนรอบในการคำนวณโมเลกุลลาร์ต็อกกิ่ง(รอบ) กับ ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol) ระหว่างตัวรับยังกับโปรตีน	33
4 ค่า RMSD(Å) ของแต่ละโปรตีน	36
5 อนุพันธ์เบอเบอรินและค่า IC ₅₀ (µg/mL)ต่อเซลล์ MCF-7.....	37
6 ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์กับโปรตีนแต่ละชนิด.....	38
7 ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับระหว่างเบอเบอรินและยารักษา มะเร็งเต้านมกับโปรตีน QR2.....	40
8 แสดงค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ ของอนุพันธ์เบอเบอริน	42
9 ค่า IE ระหว่างเบอเบอริน อนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์ QR 2 ด้วยระเบียบวิธี M062X ด้วย basis set 6-31G(d,p)	49
10 ค่า IE-BSSE ระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์ QR2 ด้วยระเบียบวิธี M062X ด้วย 6-31G(d,p) basis set	50
11 ค่า IE ระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์ Quinone Reductase 2 โดยมีน้ำเป็นตัวทำลาย ด้วยระเบียบวิธี M062X ด้วย basis set 6-31G(d,p)	53

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 อัตราการเพิ่มขึ้นของผู้เสียชีวิตจากโรคมะเร็ง ปี พ.ศ. 2537-2556	1
2 เบอเบอร์ลิน.....	4
3 กระบวนการเปลี่ยนแปลงในร่างกายเมื่อสัมผัสคีตาซาร์กอสแตโรน	7
4 Cyclophosphamide, Methotrexat, และ Fluorouracil	13
5 Tamoxifen และ Anastrozole	13
6 โครงสร้าง Efavirenz	16
7 โครงสร้างของ Casimiroin (a) และ อนุพันธ์ของ Casimiroin (b)	16
8 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสาร 11 กับกรดอะมิโนข้างเคียงในบริเวณ Active site ของ เอนไซม์ Aromatase และตำแหน่งหมู่แทนที่บนโครงสร้าง Androstenedione	17
9 โครงสร้างสาร Exemestane (a) และโครงสร้างอนุพันธ์สาร Androstenedione (b)	18
10 การยับยั้งการทำงานของเบอเบอร์ลินต่อ Akt pathway	18
11 โครงสร้างเบอเบอร์ลิน พามาติน และจาทอรอริซิน	19
12 การยับยั้งการทำงานของเบอเบอร์ลินต่อ MAP (Mitogen-activated protein) kinase	20
13 Plumbagin	21
14 Piperine a) และ อนุพันธ์ของ Piperine b)	21
15 สาร Chrysosplenetin (a) และ Artemetin (b)	22
16 แผนผังการทำโมเลกุลลาต็อกกิ่งในงานวิจัย	24
17 โปรแกรม AutoDocktool 1.5.6	25
18 แสดงตำแหน่งในการเติมหมู่แทนที่บนโครงสร้างเบอเบอร์ลิน	28
19 แผนผังกลศาสตร์ควอนตัมในงานวิจัย	29
20 เปรียบเทียบการจับกันระหว่างตัวยับยั้งเดิม ในโครงสร้างเอนไซม์.....	36
21 ยารักษาโรคมะเร็งเต้านม(Tamoxifen, Raloxifene, Palbociclib)และสารที่มีฤทธิ์ ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม(14b dibenzo thiepines)	39
22 การพลิกตัวของอนุพันธ์เบอเบอร์ลิน	40
23 ตำแหน่ง R ₄ และ R ₅ ในการออกแบบอนุพันธ์เบอเบอร์ลิน.....	41
24 การวางตัวของอนุพันธ์เบอเบอร์ลินกับเบอเบอร์ลิน	41
25 บริเวณการจับของเบอเบอร์ลินกับเอนไซม์ QR2 รหัส 3G5M	42

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

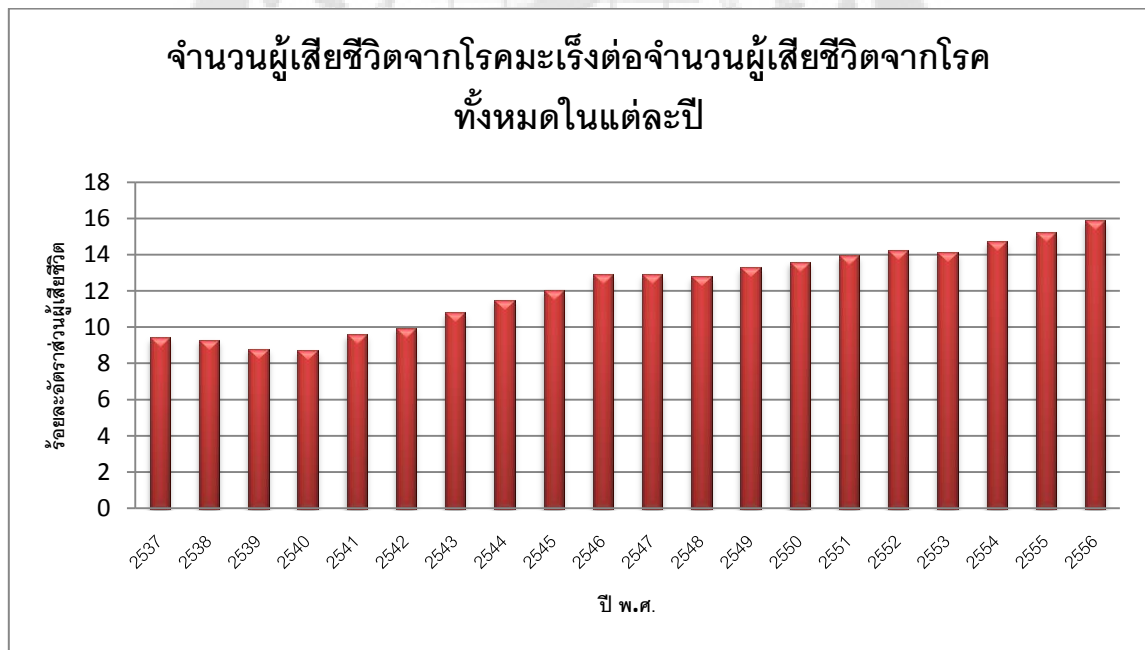
ภาพประกอบ	หน้า
26 การวางตัวของอนุพันธ์เบอเบอรีนกับเบอเบอรีน	46
27 อนุพันธ์เบอเบอรีนรหัส BBR_417.....	47
28 กรดอะมิโนรอบเบอเบอรีน 4 Å	48
29 แสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาระหว่างเบอเบอรีนและอนุพันธ์เบอเบอรีน	50
30 เปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาระหว่างวิธีคำนวณแบบ IE กับ IE-BSSE ของเบอเบอรีน ...	52
31 อันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์เบอเบอรีนรหัส BBR_000 กับกรดอะมิโนที่อยู่ใน บริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2.....	55
32 อันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์เบอเบอรีนรหัส BBR_002 กับกรดอะมิโนที่อยู่ใน บริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2.....	57
33 อันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์เบอเบอรีนรหัส BBR_002 กับกรดอะมิโนที่อยู่ใน บริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2	59
34 อนุพันธ์เบอเบอรีนรหัส BBR_417.....	62

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ปัจจุบันโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของคนไทยมากที่สุดของผู้เสียชีวิตจากโรคต่างๆ ซึ่งจากสถิติการเสียชีวิตของคนไทย พบว่าการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งเพิ่มขึ้นทุกๆปี ดังภาพประกอบ 1 เป็นผลมาจากสภาวะแวดล้อมในปัจจุบันที่วิถีชีวิตมีการใช้สิ่งอำนวยความสะดวกที่ผลิตจากอุตสาหกรรมมากขึ้น ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของมลพิษจากอุตสาหกรรม และไอเสียจากรถยนต์ที่มีมากขึ้น ซึ่งสารพิษดังกล่าวมีผลต่อการเกิดโรคมะเร็ง และได้รับมลภาวะจากความเครียดในการใช้ชีวิตประจำวัน ทั้งหมดที่กล่าวมาจะมีผลทำให้ร่างกายอ่อนแอ และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งในที่สุด อีกสาเหตุหนึ่งมาจากพฤติกรรมการกินอาหารที่เน้นความรวดเร็วและสะดวก ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีส่วนผสมของสารปรุงแต่งเพื่อให้มีความน่ากินมากขึ้น ซึ่งสารเหล่านี้ไม่มีประโยชน์และบางตัวยังให้โทษอีกด้วย (อัญชุลี อุฐา. 2557: 7-12)



ภาพประกอบ 1 อัตราการเพิ่มขึ้นของผู้เสียชีวิตจากโรคมะเร็ง ปี พ.ศ. 2537-2556

ดัดแปลงมาจาก รายงานสถิติสาธารณสุข สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข

มะเร็ง คือ กลุ่มของโรคที่เกิดจากเซลล์ร่างกายเกิดความผิดปกติที่ DNA หรือสารพันธุกรรม ส่งผลให้มีการสร้างเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตหรือแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว และมากกว่าปกติ ดังนั้น จึงอาจทำให้เกิดก้อนเนื้อของเซลล์ที่ผิดปกติ ก้อนเนื้อที่เกิดขึ้นจะไปแย่งสารอาหารจากหลอดเลือด และในที่สุดก็จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ปกติในบริเวณก้อนเนื้อนั้น ถ้าเซลล์พวกนี้เกิดอยู่ในอวัยวะใดก็จะ เรียกชื่อมะเร็ง ตามอวัยวะนั้นเช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น เท่าที่มีรายงานไว้ในขณะนี้ มะเร็งที่พบในร่างกายมนุษย์มีมากกว่า 100 ชนิด มะเร็งแต่ละชนิดจะมีการ ดำเนินของโรคไม่เหมือนกัน เช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง จะมีการดำเนินชนิดของโรคที่รุนแรง ผู้ป่วยจะมีชีวิตการอยู่รอดสั้นกว่าผู้ป่วยมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น ดังนั้น การรักษามะเร็งแต่ละชนิดจะไม่เหมือนกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอวัยวะที่เป็นมะเร็ง ระยะของมะเร็ง สภาพร่างกาย และความเหมาะสมของผู้ป่วยมะเร็ง การรักษาจะยากหรือง่ายนั้นก็ขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์มะเร็ง และการแพร่กระจายของโรคของโรคมะเร็ง เช่น มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งผิวหนัง รักษาได้ง่ายกว่า มะเร็งปอด มะเร็งสมอง เป็นต้น

จากตาราง 1 รายงานทะเบียนผู้ป่วยมะเร็งของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2555 พบว่ามะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดถึงร้อยละ 24.07 ของมะเร็งทั้งหมดที่พบในผู้ป่วยมะเร็งที่มารับการรักษา (ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล : 2555)

ตาราง 1 มะเร็งที่พบมาก 10 อันดับแรกในประเทศไทย พ.ศ. 2555

ลำดับที่	มะเร็ง	ในเพศชาย		ในเพศหญิง		รวม	
		จำนวน	เปอร์เซ็นต์	จำนวน	เปอร์เซ็นต์	จำนวน	เปอร์เซ็นต์
1	เต้านม	4	0.10	939	23.97	943	24.07
2	ลำไส้	230	5.87	224	5.72	454	11.59
3	ปอด, หลอดลม	252	6.43	155	3.96	407	10.39
4	ปากมดลูก	0	0.00	340	8.68	340	8.68
5	ตับ	191	4.88	94	2.40	285	7.28
6	ช่องปาก	115	2.94	73	1.86	188	4.80
7	ต่อม น้ำเหลือง	54	1.38	55	1.40	109	2.78
8	หลอดอาหาร	99	2.53	6	0.15	105	2.68

ตาราง 1 (ต่อ)

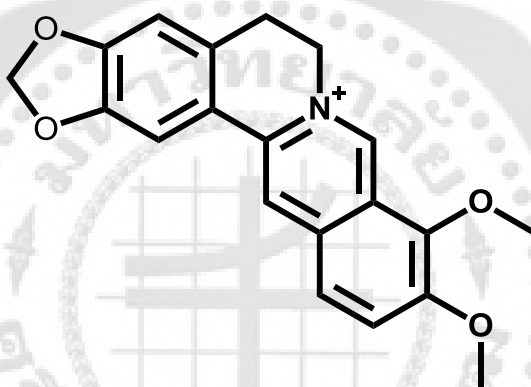
ลำดับที่	มะเร็ง	ในเพศชาย		ในเพศหญิง		รวม	
		จำนวน	เปอร์เซ็นต์	จำนวน	เปอร์เซ็นต์	จำนวน	เปอร์เซ็นต์
9	ช่องจมูก	71	1.81	29	0.74	100	2.55
10	รังไข่	0	0.00	87	2.22	87	2.22
11	ผิวหนัง	36	0.92	43	1.10	79	2.02
12	ต่อมลูกหมาก	79	2.02	0	0.00	79	2.02
13	กระเพาะอาหาร	39	1.00	37	0.94	76	1.94
14	ปากมดลูก	0	0	71	1.81	71	1.81
15	ไทรอยด์	12	0.31	46	1.17	58	1.48
16	อื่นๆ	372	9.48	164	4.21	536	13.69
	รวม	1554	39.67	2363	60.33	3917	100.00

ดัดแปลงมาจาก ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล : 2555

การรักษาโรคมะเร็งในประเทศไทย คือ การรักษามะเร็งแบบวิธีผสมผสานของการศัลยกรรม คือ การผ่าตัดเอาก้อนมะเร็งออกรวมทั้งต่อมน้ำเหลืองบริเวณข้าง การทำรังสีรักษา คือ ฉายแสงบริเวณที่มีเซลล์มะเร็งอยู่เป็นการรักษาแบบเฉพาะที่ เช่นเดียวกับวิธีศัลยกรรม การทำเคมีบำบัด คือ การรักษาหรือการทำลายเซลล์มะเร็งทั้งที่ต้นตอและที่กระจายไปตามทางเดินน้ำเหลือง กระแสเลือดหรืออวัยวะอื่นของร่างกาย เป็นการรักษามะเร็ง แบบทั้งตัวของผู้ป่วยมะเร็ง โดยการรับประทานยาที่มีความสามารถในการฆ่า หรือทำลาย เซลล์มะเร็ง ฉีดยาทางหลอดเลือดดำหรือแดง เป็นต้น การรักษาโดยใช้ฮอร์โมน เนื่องจากมะเร็งบางชนิดมีความไวต่อการรักษาด้วยฮอร์โมน และการรักษาโดยการเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย เพื่อที่จะได้กำจัดเซลล์มะเร็งให้หมดไปจากร่างกาย เนื่องจากการรักษาโดยการเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกายนี้ยังอยู่ ระหว่างการศึกษายู่ต้องการข้อมูลอีกมากมายเพื่อยืนยันว่าได้ผลในการรักษามะเร็ง ดังนั้นวิธีหลังนี้จึงเริ่ม เป็นที่แพร่หลายในประเทศไทย แต่มีการนำยาหรือสารเคมีในกลุ่มนี้ มาใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัด เพื่อให้การรักษาดีขึ้น มะเร็งแต่ละกลุ่มหรือแต่ละชนิดจะได้รับการรักษาแบบผสมผสานที่ไม่เหมือนกัน เพราะว่ามะเร็งบางชนิดมีการตอบสนองต่อการรักษาทางศัลยกรรมและรังสีรักษาดี เช่น มะเร็งผิวหนัง ก็ไม่จำเป็นต้องรักษาด้วยเคมีบำบัด หรืออื่นๆ มะเร็ง

บางชนิดมีการตอบสนองต่อเคมีบำบัด และรังสีรักษาที่ไม่จำเป็นต้องใช้วิธีคล้ายกรรม เช่น มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็นต้น มะเร็งเต้านมในผู้ป่วยบางกลุ่มโดยเฉพาะ ผู้ป่วยที่อยู่ในวัยหลังหมดระดูจะมีการตอบสนองต่อการรักษาโดยการใช้ฮอร์โมนหลังจากที่ผ่าตัดเอาก้อนมะเร็งต้นตอออกไปแล้ว ดังนั้น จะเห็นว่าการรักษามะเร็งแต่ละชนิด หรือการรักษามะเร็งแต่ละกลุ่ม มีความแตกต่างกันแม้แต่การผสมผสานวิธีการรักษามะเร็ง แต่ละวิธีก็ไม่เหมือนกัน

การรักษามะเร็งด้วยตัวยับยั้งฮอร์โมนนั้นนิยมใช้สารสกัดจากธรรมชาติ โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าเบอเบอร์ริน (Berberine) ภาพประกอบ 2 ซึ่งสามารถสกัดได้จากสมุนไพรจีน เช่น โกลด์เดนเซียล (*Goldenseal*) และอึ้งน้อย (*Coptis chinensis* (Huang-Lian)) เป็นสารประกอบธรรมชาติที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด



ภาพประกอบ 2 เบอเบอร์ริน

เคมีคอมพิวเตอร์กับการค้นหาสารออกฤทธิ์เป็นยา ใช้พื้นฐานของวิชาเคมี ในการศึกษา ค้นคว้าและทำความเข้าใจเกี่ยวกับสมบัติของสาร เพื่อนำความรู้ที่ไปประยุกต์ใช้งานต่อไป ซึ่งการแสดงผลของสมบัติของสารนั้น ถ้าจะมองให้ลึกลงไปอีกก็คือสมบัติของโมเลกุลของสารนั่นเอง กล่าวก็คือ สมบัติในระดับโมเลกุล (Micro scale) ทำให้เกิดเป็นสมบัติในระดับของสาร (Macro scale)

ดังนั้นการที่จะเข้าใจสมบัติที่แท้จริงของสารล้วนต้องศึกษาจากระดับโมเลกุลทั้งสิ้น ซึ่งการศึกษาในระดับโมเลกุลด้านการทดลองนั้น ยังมีข้อจำกัดอยู่มากมายทั้งในแง่ประสิทธิภาพของเครื่องมือ และกระบวนการทำงานที่ซับซ้อน จากข้อจำกัดดังกล่าวจึงทำให้เกิดศาสตร์ของเคมีเชิงคอมพิวเตอร์ขึ้น ซึ่งเป็นการศึกษาสมบัติของสารในระดับโมเลกุลด้านต่างๆ เช่น สมบัติเชิงไดนามิกของตัวเร่งปฏิกิริยา สมบัติเชิงไฟฟ้าของวัสดุ สมบัติเชิงกลของพอลิเมอร์ การออกแบบสารเพื่อใช้งานด้านอุตสาหกรรม และการออกแบบสารที่ใช้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการพัฒนายา แนวคิดหลักของการออกแบบสารยับยั้งเอนไซม์เพื่อพัฒนาไปเป็นยานั้นก็คือ ต้องการค้นหาสารที่มีแรง

ระหว่างโมเลกุลตัวยับยั้งกับเอนไซม์เป้าหมายได้แข็งแรงมากกว่าโมเลกุลเป้าหมายเดิมที่เอนไซม์เคยจับ เคมีเชิงคอมพิวเตอร์จึงเข้ามามีบทบาทในการคำนวณหาพลังงานการยึดจับระหว่างเอนไซม์กับสารชนิดต่างๆ เพื่อคัดเลือกเอาเฉพาะสารที่มีพลังงานการยึดจับกับเอนไซม์เป้าหมายมากกว่าตัวยับยั้งเดิม เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อไป จุดเด่นที่ชัดเจนของเทคนิคเคมีเชิงคอมพิวเตอร์ในกระบวนการพัฒนาและค้นหายา คือ ลดต้นทุนในการศึกษาวิจัยไปได้อย่างมหาศาล ตัวอย่างเช่น ถ้าต้องการทดสอบสารประมาณ 1 ล้านชนิดเพื่อค้นหาว่าสารใดบ้างที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิด ก ได้ กระบวนการแบบปกติต้องสังเคราะห์สารทั้ง 1 ล้านชนิดและทดสอบกับเอนไซม์ ก ทั้งหมด 1 ล้านครั้ง ก็จะได้คำตอบว่าสารใดบ้างที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิด ก ได้ ซึ่งอาจจะเหลือสารที่ผ่านการทดสอบในหลักหมื่น นั่นหมายความว่า การลงทุนในการทดสอบขั้นนี้สูญเสียงบประมาณไปกว่า 99% แต่ถ้าใช้เคมีเชิงคอมพิวเตอร์เข้ามาช่วยในการออกแบบและคำนวณผลของแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเอนไซม์กับโมเลกุลตัวยับยั้งประกอบการพิจารณา กระบวนการทั้งหมดในขั้นตอนนี้จะเกิดขึ้นภายในคอมพิวเตอร์เท่านั้น ทำให้ขอบเขตในการเลือกสารออกฤทธิ์เป็นยาต่อเอนไซม์เป้าหมายลดลง

โมเลกุลลาร์ดีค็อกกิง (Molecular docking) เป็นเทคโนโลยีในการออกแบบโดยอาศัยความสามารถทางคอมพิวเตอร์กราฟิกส์แบบ 3 มิติ มักใช้ศึกษา ยา หรือ เอนไซม์ ผู้ออกแบบจะนำโมเลกุลที่กำลังออกแบบมาลองสวมเข้ากับโมเลกุลเป้าหมาย เพื่อหาตำแหน่งและรูปร่างที่เหมาะสมในการจับตัวกันของโมเลกุลทั้งสอง (ธีรเกียรติ์ เกิดเจริญ. 2539: 17-22)

ดังนั้นจึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ เนื่องจากมะเร็งเต้านมมีสาเหตุมาจากเอนไซม์เอสโอสเทอโรน งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง คือ Aromatase, Oxidoreductase, Quinone Reductase 2, Transferase และ Hydrolases โดยทำการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างเบอเบอริน เพื่อค้นหาเอนไซม์ที่เบอเบอริน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งเต้านมได้ดีที่สุด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาโครงสร้างโครงสร้างเบอเบอริน และอันตรกิริยาระหว่าง เอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม กับโครงสร้างเบอเบอริน และศึกษาอนุพันธ์ของเบอเบอริน ที่ทำการออกแบบขึ้นมา เทียบพลังงานอันตรกิริยากับตัวยารักษาที่รักษามะเร็งเต้านม และอนุพันธ์ของโครงสร้างเบอเบอริน ที่มีการศึกษาแล้วว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ในหลอดทดลอง (In vitro) โดยงานวิจัยนี้จะใช้ระเบียบวิธีการคำนวณทางโมเลกุลลาร์ดีค็อกกิง

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

1. เพื่อหาเอนไซม์เป้าหมายของเบอบेरินในการยับยั้งมะเร็งเต้านม
2. เพื่อออกแบบอนุพันธ์เบอบेरิน ที่มีต่อเอนไซม์เป้าหมายให้มีประสิทธิภาพเอนไซม์เป้าหมาย
3. หาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเบอบेरินกับบริเวณการจับของเอนไซม์เป้าหมาย

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบเอนไซม์เป้าหมายที่ถูกยับยั้งโดย เบอบेरิน
2. ทำให้ทราบแนวทางการออกแบบอนุพันธ์ของเบอบेरิน ให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมะเร็งเต้านม
3. ทำให้ทราบกรดอะมิโนในบริเวณการจับที่มีความสำคัญกับอนุพันธ์เบอบेरิน

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาลักษณะการยับยั้งของเบอบेरิน ต่อเอนไซม์เป้าหมาย 4 ชนิดของมะเร็งเต้านม คือ Aromatase, Transferase, Hydrolase และ Quinone Reductase 2 นอกจากนี้ทำการพัฒนาออกแบบโครงสร้างอนุพันธ์ของโครงสร้างเบอบेरิน ให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์เป้าหมายของมะเร็งเต้านมดีขึ้น ด้วยระเบียบวิธีโมเลกุลลาร์ด็อกกิ่ง และกลศาสตร์ควอนตัม

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

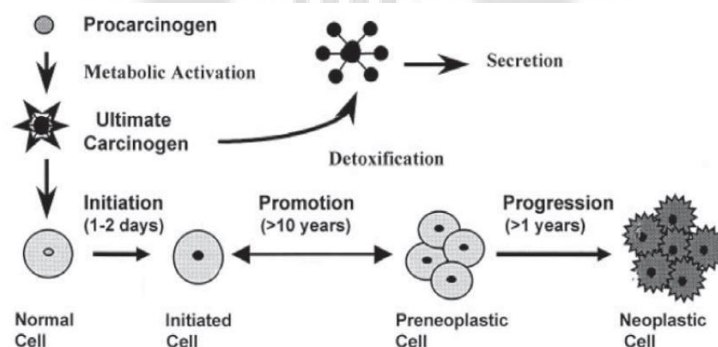
ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอหัวข้อต่อไปนี้

1. เอกสารความรู้เกี่ยวกับมะเร็งเต้านม
2. ทฤษฎีและการออกแบบตัวบ่งชี้
3. ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์
4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. เอกสารความรู้เกี่ยวกับมะเร็งเต้านม

มะเร็ง คือ กลุ่มของโรคที่เกิดจากเซลล์ร่างกายเกิดความผิดปกติที่ DNA หรือสารพันธุกรรม ส่งผลให้มีการสร้างเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตหรือแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว และมากกว่าปกติ ดังนั้น จึงอาจทำให้เกิดก้อนเนื้อของเซลล์ที่ผิดปกติ ก้อนเนื้อที่เกิดขึ้นจะไปแย่งสารอาหารจากหลอดเลือด และในที่สุดก็จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ปกติในบริเวณก้อนเนื้อนั้น ถ้าเซลล์พวกนี้เกิดอยู่ในอวัยวะใดก็จะ เรียกชื่อมะเร็ง ตามอวัยวะนั้นเช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งผิวหนัง ซึ่งกลไกการเกิดโรคมะเร็งแสดงดังภาพประกอบ 3

1.1. กลไกการเกิดมะเร็ง



ภาพประกอบ 3 กระบวนการเปลี่ยนแปลงในร่างกายเมื่อสัมผัสสารก่อมะเร็ง

จากภาพประกอบ 3 เมื่อสารก่อมะเร็งเข้าสู่ร่างกายไม่ว่าจะทางหายใจ การสัมผัส หรือ การรับประทาน ร่างกายจะมีการกระตุ้นการทำลายสารก่อมะเร็ง (Metabolic activation) โดยเอนไซม์ Phase I โดยก่อให้เกิดสารที่สามารถทำลาย DNA หรือทำให้ DNA เกิดการสูญเสียหรือการกลายพันธุ์ได้ ซึ่งระยะแรกนี้จะเกิดขึ้นยากและใช้เวลานาน เนื่องจากร่างกายจะมีกระบวนการซ่อมแซมของเซลล์ จากนั้นภายในเซลล์จะมีเอนไซม์ Phase II ของกระบวนการลดความเป็นพิษของสาร (Metabolic detoxification) ซึ่งจะทำให้สารที่ได้นั้นละลายน้ำดีและถูกกำจัดออกจากร่างกาย

ถ้ากระบวนการลดความเป็นพิษของสารเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ สารที่ได้จะไปจับกับ DNA เรียกกระบวนการในระยนี้ว่า DNA adduct ซึ่งทำให้สารไปจับกับนิวคลีโอไทด์บนสาย DNA แต่ในระยนี้ DNA จะถูกซ่อมแซมให้กลับมามากติได้โดยโปรตีนในกลุ่ม DNA repair แต่ถ้า DNA ไม่สามารถซ่อมแซมได้ จะทำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์ในรูปแบบต่างๆ และส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ DNA (Mutation) กลายเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของมะเร็ง (อดุลย์เดช ไสลบาท. 2556)

โดยระยของการเกิดเซลล์มะเร็งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระย ดังนี้

1. ระย Initiation เป็นระยที่เซลล์ปกติได้รับสารก่อมะเร็งและทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรม
2. ระย Promotion เป็นระยที่เมื่อมีสารกระตุ้น Growth factor ทำให้เซลล์มะเร็งเจริญเติบโต
3. ระย Progression เป็นระยที่เซลล์มะเร็งเกิดการเปลี่ยนแปลง DNA และกลายเป็นเซลล์มะเร็งที่สมบูรณ์ (พิสมัย เหล่าภัทรเกษม. 2548)

1.2. มะเร็งเต้านม

มะเร็งเต้านมถูกอธิบายไว้ในฐานข้อมูลมุนิถันยรักษ์ (มุนิถันยรักษ์ในพระราชูปถัมภ์ สมเด็จพระศรีนครินทรบรมราชชนนี) ดังนี้

มะเร็งเต้านม คือ มะเร็งที่พบมากที่สุดและผู้หญิงและเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของผู้หญิงไทยเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ผู้ชายก็สามารถเป็นมะเร็งเต้านมได้เช่นกัน เพียงแต่มีโอกาสน้อยมาก ปัจจุบันยังไม่สามารถทราบสาเหตุที่แท้จริงของการเป็นมะเร็งเต้านม แต่ก็มีปัจจัยมากมายที่แสดงถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่เพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านม เพราะเรื่องของกรรมพันธุ์ ความแตกต่างในการดำเนินชีวิตส่งผลให้บางคนมีความเสี่ยงมากกว่าผู้อื่น

ปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ สามารถแบ่งออกได้ดังนี้

1.2.1. ปัจจัยเสี่ยงพื้นฐาน

1.2.1.1. เพศ

มะเร็งเต้านมเป็นโรคที่พบบ่อยในผู้หญิง มะเร็งเต้านมเป็นโรคที่ทำให้ผู้หญิงไทยตายมากเป็นอันดับสอง รองจากมะเร็งปากมดลูก

1.2.1.2. อายุ

อายุมากขึ้นก็ยิ่งมีความเสี่ยงมากขึ้น

1.2.1.3. ประวัติครอบครัว

แม้เป็นมะเร็งเต้านม ลูกสาว หรือพี่สาว น้องสาว ก็มีความเสี่ยงต่อโรค และจะยิ่งมีความเสี่ยงสูงขึ้น ถ้าพ่อก็มีประวัติเป็นมะเร็งด้วยยีน BRCA1 และ BRCA2 ซึ่งเป็นยีนส์หนึ่งในหลายตัวที่ส่งผลให้เกิดความเสี่ยงทางกรรมพันธุ์ต่อมะเร็งเต้านม มีการศึกษาที่แสดงว่า มีเพียงประมาณ 5% ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีสาเหตุจากกรรมพันธุ์

1.2.2. ปัจจัยเสี่ยงอื่น ๆ

1.2.2.1. ประวัติของการมีประจำเดือน ถ้ามีประจำเดือนมากก็จะมีความเสี่ยงมากขึ้น

1.2.2.2. ผู้หญิงที่ไม่เคยมีลูก จะมีความเสี่ยงเพิ่มขึ้น

1.2.2.3. ผู้หญิงที่มีลูกหลังจากอายุ 30 ปี จะมีความเสี่ยงเพิ่มมากกว่าผู้หญิงที่ไม่มีลูก

1.2.2.4. การให้นมบุตรก็อาจมีส่วนเกี่ยวข้อง

1.2.2.5. ความเสี่ยงจะเพิ่มขึ้นในผู้หญิงที่มีประจำเดือนเร็ว และ หรือหมดประจำเดือนช้า

1.2.2.6. ความสัมพันธ์ระหว่างมะเร็งเต้านมกับฮอร์โมนยังไม่ชัดเจน การตัดสินใจใช้ฮอร์โมน หรือการรักษาด้วยการให้ฮอร์โมน ควรพิจารณาเป็นราย ๆ ไป โดยให้ปรึกษาแพทย์ประจำตัว หรือแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านสูติรีเวช

1.2.2.7. การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูง จะส่งผลต่อความเสี่ยงโรคมะเร็งเต้านมสูงขึ้น ดังนั้นสมาคมส่งเสริมการป้องกันมะเร็งของสหรัฐอเมริกา (American Cancer Society) จึงแนะนำให้รับประทานอาหารที่มีคุณค่าในสัดส่วนที่เหมาะสม และเน้นอาหารประเภทไขมันต่ำ และที่มีกากใยมาก และออกกำลังกายเพิ่มขึ้น

1.3. ชนิดของโรคมะเร็งเต้านม

ชัญวลี ศรีสุโข (ชัญวลี ศรีสุโข. 2552: 74) ได้แบ่งชนิดของมะเร็งเต้านม โดยพิจารณาชนิดของโรคมะเร็งเต้านมเป็น 2 ชนิด ดังนี้

1.3.1. มะเร็งเต้านมที่ยังไม่ลุกลาม เป็นมะเร็งที่ไม่แพร่กระจายผ่านพื้นผิวที่ห่อหุ้มเต้านมไปยังเนื้อเยื่ออื่น ของเต้านม เช่น มะเร็งในท่อน้ำนม หรือมะเร็งต่อมน้ำนม

1.3.2. มะเร็งเต้านมที่ลุกลาม มะเร็งชนิดนี้ลุกลามจากเยื่อหุ้มท่อน้ำนมหรือต่อมน้ำนมไปยังเนื้อเยื่อของเต้านม หรือแพร่กระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองบริเวณรักแร้ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น

1.3.2.1. มะเร็งลุกลามของท่อน้ำนม เป็นชนิดของมะเร็งที่พบมากที่สุด โดยเริ่มจากท่อน้ำนมแล้วลุกลามไปยังเนื้อเยื่อรอบๆ เต้านม หรือ กระจายไปทางหลอดเลือด หลอดน้ำเหลือง

1.3.2.2. มะเร็งลุกลามของต่อมน้ำนม จะเริ่มที่เยื่อหุ้มต่อมน้ำนมแล้วลุกลามไปยังเนื้อเยื่อเต้านม หรือ แพร่กระจายไปทางหลอดเลือด

1.4. ฮอโมนเอสโตรเจนกับการเกิดมะเร็งเต้านม

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าฮอโมนเอสโตรเจน มีความสำคัญในการเกิดโรคมะเร็งเต้านม โดยยังมีการได้รับฮอโมนมากยิ่งขึ้นเพิ่มโอกาสในการเกิดมะเร็งเต้านมมากขึ้น จากความรู้ข้างต้นทำให้มีการพัฒนาการรักษาโรคมะเร็งเต้านมโดยการใช้ฮอโมนในเริ่มแรกใช้วิธีการกำจัดแหล่งผลิตฮอโมน เช่น การตัดรังไข่ทั้งสองข้าง (Bilateral oophorectomy) โดย Beatson ในปี พ.ศ. 2439 การตัดต่อมหมวกไตออกทั้งสองข้าง (Bilateral adrenalectomy) โดย Huggins และ Dao ในปี พ.ศ. 2496 หรือการตัดต่อมพิทูอิทารี (Hypophysectomy) โดย Luft และ Olivecrona ในปี พ.ศ. 2496 แต่วิธีการเหล่านี้จะเป็นการทำลายแหล่งผลิตฮอโมนไปโดยสิ้นเชิง ต่อมาจึงมีการพัฒนาการใช้ยาที่ต้านฤทธิ์ฮอโมนเอสโตรเจน (Anti-estrogen) เพื่อเป็นทางเลือกที่ไม่ต้องผ่าตัด ลดผลข้างเคียงจากการตัดอวัยวะนั้นๆ การรักษาด้วยวิธีนี้จะเป็นเพียงการยับยั้งการเติบโตของเซลล์มะเร็ง ไม่ได้กำจัดหรือทำลายเซลล์มะเร็ง และต้องใช้ในการรักษาเสริมร่วมกับวิธีการรักษาอื่น เช่น การผ่าตัด รังสีรักษา เคมีบำบัด เพื่อกำจัดเซลล์มะเร็ง แต่จากการศึกษาพบว่า การรักษาด้วยวิธีนี้สามารถช่วยยับยั้งการกลับเป็นซ้ำหรือการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปสู่อวัยวะอื่นได้

2. ทฤษฎีและการออกแบบตัวยับยั้ง

2.1. การจับกันระหว่างยากับ Receptor (drug-receptor binding)

การออกฤทธิ์ของยาส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นได้ต้องมีการจับกับ Receptor หรือ Macromolecule target เมื่อยาจับกับ Receptor แล้วจะเกิด Complex กับ Protein เพื่อไปกระตุ้นเอนไซม์ต่างๆ ทำให้เกิดผลทางเภสัชวิทยาตามชนิดของ Receptor นั้นๆ การจับกันระหว่างยากับ

Receptor นั้นเกิดขึ้นจากการเกิดพันธะเคมีระหว่างกัน ได้แก่ พันธะโควาเลนต์ (Covalent) และพันธะที่ไม่ใช่โควาเลนต์ (Non-covalent) (นางสาว พิมพ์ทัย ประราชะ : กลุ่มงานเภสัชกรรม โรงพยาบาลหลวงพ่อดำศรีสะเกษ)

2.1.1. พันธะโควาเลนต์

พันธะโควาเลนต์เกิดจากการแบ่งปันคู่อิเล็กตรอนกันระหว่างอะตอม เป็นพันธะที่แข็งแรงที่สุด ยาที่จับกับ Receptor แบบโควาเลนต์จะออกฤทธิ์นานเนื่องจากจับแบบ Irreversible ตัวอย่างยาที่จับกับ Receptor แบบโควาเลนต์ เช่น ยาต้านมะเร็งกลุ่ม Nitrogen mustards ยาปฏิชีวนะกลุ่ม β -lactam หรือยา Omeprazole การเกิดพันธะโควาเลนต์อาจเป็นสาเหตุของการก่อมะเร็งหรือการเกิดพิษของยา เช่น การเกิดพิษต่อตับของยาแก้ปวดพาราเซตามอล

2.1.2. พันธะที่ไม่ใช่โควาเลนต์

การจับกันระหว่างยากับ Receptor มักเป็นพันธะที่ไม่ใช่โควาเลนต์ เป็นการจับแบบ Reversible สามารถเรียงลำดับความแข็งแรงของพันธะจากมากไปน้อยได้ดังนี้ พันธะไอออนิก แรงไดโพลไดโพล พันธะไฮโดรเจน แรงไฮโดรโฟบิก และแรงแวนเดอร์วาล

2.1.2.1. พันธะไอออนิก (Ionic bond)

เป็นแรงดึงดูดระหว่างประจุที่แตกต่างกัน เช่น Amino acid ที่มีคุณสมบัติเป็นเบส ได้แก่พวก Arginine, Lysine และ Histidine ส่วนของเบสจะถูก Protonate เกิดเป็นประจุบวกและจับกับยาที่มีประจุลบ

2.1.2.2. แรงไดโพลไดโพล (Dipole-Dipole interaction)

เป็นแรงดึงดูดระหว่างขั้วบวกและลบ อะตอมที่มีค่า EN (Electronegativity) สูงกว่าคาร์บอน เช่น O, N, S และ Halogens จะเป็นขั้วลบ อะตอมของคาร์บอนจะเป็นขั้วบวก

2.1.2.3. พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond)

เป็นชนิดหนึ่งของแรงไดโพลไดโพล เกิดจากอะตอมของไฮโดรเจนที่อยู่ติดกับอะตอมที่มีค่า EN สูง เช่น O, N และ F ไฮโดรเจนจะเกิดเป็นขั้วบวกเกิดแรงดึงดูดกับอีกอะตอมหนึ่งที่มีค่า EN สูงกว่าซึ่งอยู่ใกล้เคียงและมีขั้วลบ

2.1.2.4. แรงไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction)

เกิดขึ้นกับส่วนของโครงสร้างที่ไม่มีขั้วของทั้งยาและ Receptor ซึ่งไม่ใช่แรงดึงดูดที่แท้จริง แต่เกิดจากการเพิ่ม Entropy และการลดลงของ Free energy ทำให้ระบบมีความคงตัวมากยิ่งขึ้น

2.1.2.5. แรงแวนเดอร์วาล (Van de Waals interaction)

เกิดจากส่วนที่ไม่มีขั้วของยาและ Receptor เหมือนกับแรงไฮโดรโฟบิกแต่เป็นการเกิดไดโพลแบบเหนี่ยวนำ

กล่าวโดยสรุป ชนิดของพันธะเคมีเป็นสิ่งที่บอกความแน่นอนของยาที่จับกับ Receptor ถ้ายาจับได้หนาแน่นมากก็จะมีพลังสูง

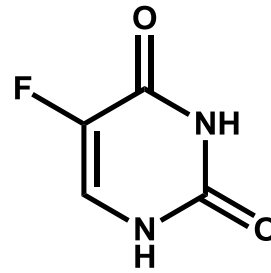
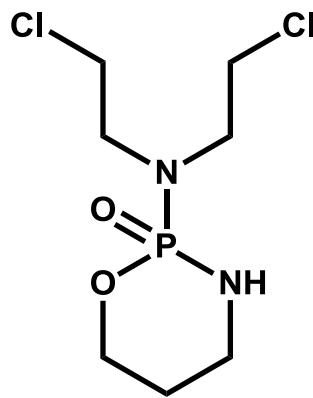
2.2. การออกแบบตัวยับยั้งด้วยโมเลกุลด็อกกิ่ง

โมเลกุลด็อกกิ่งใช้ Semi-empirical free energy force field ในการประเมินโครงสร้างระหว่างแบบจำลองตัวยับยั้งกับแบบจำลองเอนไซม์ โดยโมเลกุลด็อกกิ่งจะใช้ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของแบบจำลอง และค่าคงที่การยับยั้งหรือ K_i ซึ่งการคำนวณจะแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นตอนที่ 1 คำนวณพลังงานภายในโมเลกุลที่เปลี่ยนแปลงระหว่างพลังงานของโครงสร้างตัวยับยั้งและโปรตีนที่ไม่ได้เกิดพันธะกับพลังงานโครงสร้างตัวยับยั้งและโปรตีนที่เกิดพันธะ ขั้นตอนที่ 2 คำนวณพลังงานภายในโมเลกุลที่เกิดการจับกันของโครงสร้างโปรตีนและตัวยับยั้ง

2.3. ตัวยับยั้งมะเร็งเต้านม

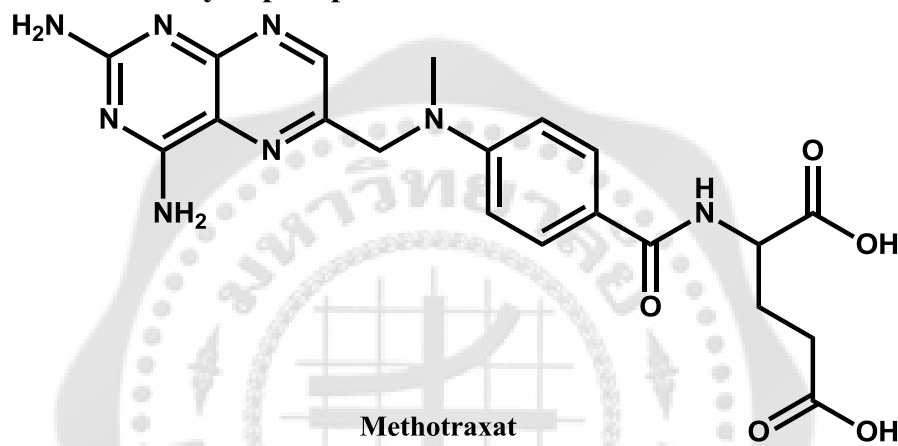
ชัญวลี ศรีสุโข (ชัญวลี ศรีสุโข. 2552: 84-87) ได้แบ่งชนิดของตัวยับยั้งที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเต้านม โดยพิจารณาชนิดของตัวยับยั้งที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเต้านมออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้

3.3.1. ตัวยับยั้งเป้าหมายที่ไม่ใช่ฮอร์โมน ได้แก่ ยาประเภทไนโตรเจน หรือมัสตาร์ด เช่น Cyclophosphamide, Fluorouracil, และ Methotrexat ดังภาพประกอบ 4



Cyclophosphamide

Fluorouracil

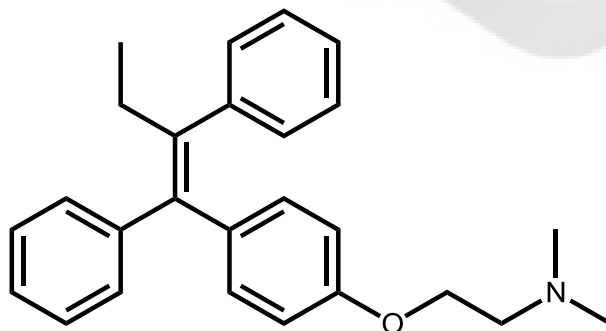


Methotrexat

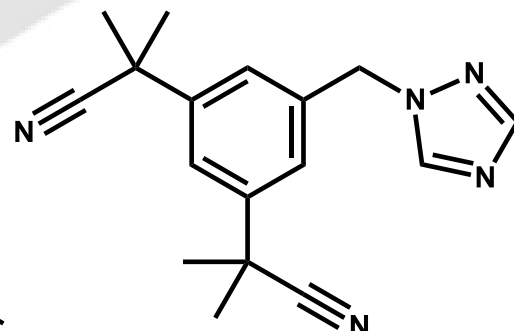
ภาพประกอบ 4 Cyclophosphamide, Methotrexat, และ Fluorouracil

3.3.2. ตัวยับยั้งเป้าหมายที่เป็นฮอร์โมน เช่น Tamoxifen และ Anastrozole

ดังภาพประกอบ 5



Tamoxifen



Anastrozol

ภาพประกอบ 5 Tamoxifen และ Anastrozole

3. ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์

เคมีคอมพิวเตอร์ เป็นศาสตร์ที่เกิดจากทฤษฎีพื้นฐานของกลศาสตร์ควอนตัมและกลศาสตร์สถิติ สามารถใช้วัดสมบัติของสารด้วยวิธีการคำนวณได้ในระดับอะตอมหรือโมเลกุล ดังนั้นเคมีคอมพิวเตอร์จึงเป็นเครื่องมือวิจัยที่ใช้ทำนายความสามารถในการจับกันของโมเลกุลในปฏิกิริยาต่างๆ (อภิตยา ศิริภิญโญานนท์. 2546: 41)

การออกแบบสารที่ใช้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการพัฒนายาจำเป็นต้องใช้เวลานานหลายปี เริ่มตั้งแต่หาสมุนไพรมีฤทธิ์ในการยับยั้งโรค ทำการสกัด ทำการทดสอบฤทธิ์กับเซลล์ของโรค และสัตว์ทดลอง หากมีผลข้างเคียงเกิดขึ้นจะต้องกลับไปเริ่มต้นใหม่ตั้งแต่กระบวนการหาสมุนไพรมีฤทธิ์ในการยับยั้งโรค ดังนั้นการออกแบบจำลองโมเลกุลของยาจึงเป็นเครื่องมือหนึ่งที่ถูกนำมาใช้แบบจำลองโมเลกุลสามารถคำนวณสมบัติทางโครงสร้าง (Structural properties) ที่มีผลต่อการเข้าจับกันระหว่างตัวยากับเอนไซม์ของโรค เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการออกแบบยาต่อไปในอนาคตแบบจำลองโมเลกุลที่ใช้อยู่ในปัจจุบันแบ่งออกเป็น 2 วิธี ได้แก่

3.1. กลศาสตร์เชิงโมเลกุล (Molecular mechanics) เป็นวิธีการออกแบบที่นิยมมากทางด้านชีวเคมี มีหลักการคือ กำหนดโมเลกุลให้มีลักษณะเป็นอะตอมยึดกันเป็นก้อนมวลด้วยสปริง คำนวณแรงกระทำระหว่างอะตอมต่างๆ จากสมการชุดหนึ่งจึงสามารถกำหนดรูปแบบการเคลื่อนที่ของอะตอมต่างๆในโมเลกุลเช่น Stretching คือการยืดหดของพันธะและ Bending คือการงอของพันธะ โดยมีค่าพารามิเตอร์แต่ละชุดสำหรับเซตของอะตอมที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ จะเรียกว่า Force-field parameters ได้มาจากการวิเคราะห์ข้อมูลจากการทดลองและจากการคำนวณทางทฤษฎี สามารถสร้างและแก้ไขโครงสร้างโมเลกุลพร้อมทั้งคำนวณหาโครงสร้างที่เสถียร

3.2. กลศาสตร์ควอนตัม (Quantum mechanics) วิธีการคำนวณทางกลศาสตร์ควอนตัมนั้นคำนวณหาพลังงานของระบบอะตอมและโมเลกุลจากการแก้สมการคลื่น (Schrödinger equation) ที่พิจารณาระบบของอนุภาคต่างๆว่าล้วนเป็นคลื่น โดยวิธีการคำนวณทางควอนตัม มีระเบียบวิธีคิดที่หลากหลายซึ่งให้ผลที่มีความถูกต้อง (Accuracy) แตกต่างกัน แม้แต่ในวิธีการเดียวกันนั้นก็ยังมีรายละเอียดปลีกย่อยที่ขึ้นกับระบบและความต้องการของผู้ใช้ ด้วยเหตุนี้ถึงแม้จะมีซอฟต์แวร์สำเร็จรูปที่ไม่ต้องการการดัดแปลงแก้ไขอะไร ผู้ใช้ก็ยังคงต้องการความรู้ทางทฤษฎีควอนตัมในระดับหนึ่ง ประโยชน์ของวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมนั้นส่วนใหญ่เป็นการประยุกต์เอาความรู้ทางพลังงานและสมบัติที่เป็นผลพลอยได้อื่นๆ เช่น ค่าประจุและแรงกระทำ เป็นต้น ไปใช้ร่วมกับวิธีการอื่น ตัวอย่างเช่น ค่าออร์บิทัลสามารถถูกนำไปแสดงผลด้วยวิธีโมเลกุลาร์กราฟฟิกส์และวิซวลไลเซชันค่าพลังงานสามารถนำไปสร้างพื้นผิวงพลังงานศักย์ (Potential energy surface) เพื่อนำไปใช้กับการ

จำลองด้วยคอมพิวเตอร์ นอกจากนั้นสมบัติทางไฟฟ้าที่ได้จากการวิเคราะห์ห่อออร์บิทัล ยังสามารถนำไปออกแบบโพลิเมอร์ และวัสดุพวกตัวนำไฟฟ้า

การออกแบบสารที่ใช้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการพัฒนายาส่วนใหญ่จะใช้วิธีโมเลกุลลาร์ด็อกกิ่ง

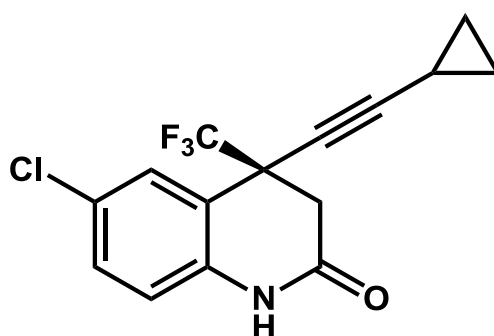
โมเลกุลลาร์ด็อกกิ่ง เป็นเทคโนโลยีใหม่ในการออกแบบโดยอาศัยความสามารถทางคอมพิวเตอร์กราฟิกแบบ 3 มิติที่มีสมรรถนะสูง มักใช้กับ ยา หรือ เอนไซม์ ผู้ออกแบบจะนำโมเลกุลที่กำลังออกแบบมาลองสวมเข้ากับโมเลกุลเป้าหมาย เพื่อหาตำแหน่งที่เหมาะสมในการจับตัวกันของโมเลกุลทั้งสอง และรูปร่างโมเลกุลที่เหมาะสมที่สุด

หลักของการโมเลกุลลาร์ด็อกกิ่ง คือ ต้องการค้นหาสารที่มีแรงกระทำระหว่างโมเลกุลกับเอนไซม์เป้าหมายได้แข็งแรงมากกว่าหรือใกล้เคียงกับโมเลกุลเดิมที่เอนไซม์เคยจับ แล้วคำนวณหาพลังงานการยึดจับระหว่างเอนไซม์กับสารชนิดต่างๆ จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อไป (ธีรเกียรติ์ เกิดเจริญ. 2539: 17-22)

โดยโมเลกุลลาร์ด็อกกิ่ง จะแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ ส่วนแรก คือ ส่วนของ Receptor เป็นตัวรับหรือตัวที่ใช้จับกับตัวยับยั้งซึ่งเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โพรตีน (เอนไซม์) และส่วนที่สอง คือ ส่วนของ Ligand เป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็ก เช่น ตัวยับยั้งหรือตัวยา การทำโมเลกุลลาร์ด็อกกิ่งของงานวิจัยนี้จะใช้โปรแกรม AutoDockTools 4.2

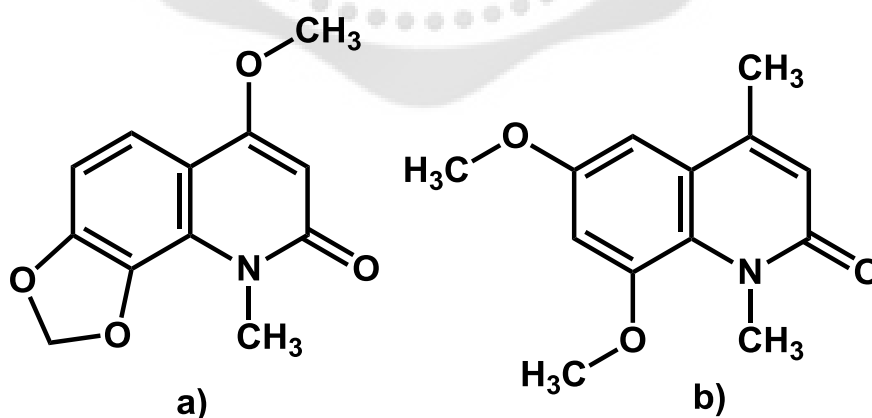
4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ. 2005 พีระพล และคณะ (Peerapol; et al. 2005: 198-202) ได้ทำการศึกษาอันตรกิริยาระหว่าง Efavirenz (ภาพประกอบ 6) กับ เอนไซม์ HIV-1 reverse transcriptase และค้นหากรดอะมิโนที่สำคัญในบริเวณการจับโดยใช้ระเบียบวิธี B3LYP/6-31G(d,p) และ ONIOM2 พบว่า Efavirenz สามารถจับกับ HIV-1 RT ได้และให้พลังงานอิสระในการเขาจับเท่ากับ -22.66 kcal/mol และเกิดพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรงระหว่าง benzoxazin-2-one และ oxygen carbonyl กับกรดอะมิโน Lys101 ให้พลังงานเท่ากับ -11.29 kcal/mol



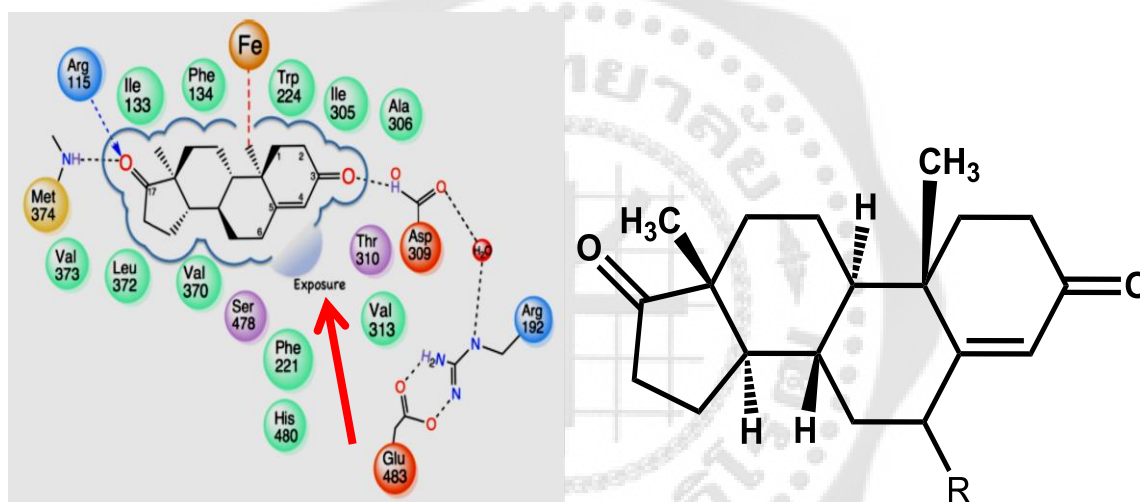
ภาพประกอบ 6 โครงสร้าง Efavirenz

ในปี ค.ศ. 2009 ไมยดี และคณะ (Maiti; et al. 2009: 1873-1884) ได้ทำการสกัดสาร Casimiroin จากเมล็ดของ *Zapote blanco* หรือ *Casimiroa edulis* ซึ่งสาร Casimiroin สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ QR2 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม และผู้วิจัยได้มีทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของสาร Casimiroin ทั้งหมด 20 ชนิด เพื่อศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ QR2 และเอนไซม์ Aromatase ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งเต้านม โดยทดสอบฤทธิ์กับเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด Hepa1c1c7, MCF-7, LNCaP และ LU พบว่าสารที่สังเคราะห์สามารถยับยั้งเอนไซม์ QR2 และเอนไซม์ Aromatase ได้ จากนั้นทำการศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นกับเอนไซม์ QR2 ด้วยเทคนิค Electron density พบว่าสาร Casimiroin 7a และอนุพันธ์ของ Casimiroin 7b (ภาพประกอบ 7) สามารถเข้าไปที่บริเวณ Active site ของเอนไซม์ QR2 ได้เหมือนกัน นอกจากนี้หมู่คาร์บอนิลของสารดังกล่าวเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่อะมิโนของ Asn161



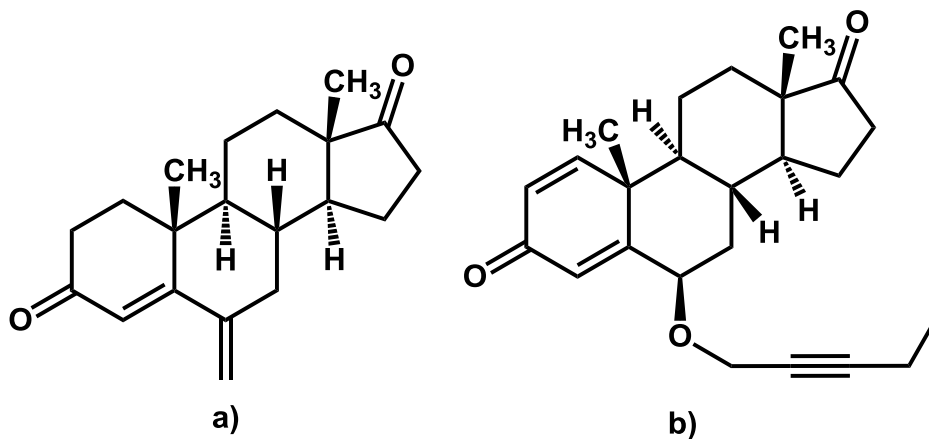
ภาพประกอบ 7 โครงสร้างของ Casimiroin (a) และ อนุพันธ์ของ Casimiroin (b)

ในปี ค.ศ. 2012 ดาบาซีส และคณะ (Debashis; et al. 2012: 8464-8476) ได้ศึกษาการการยับยั้งเอนไซม์ Aromatase ของสาร Androstenedione โดยพบว่า Androstenedione มีความจำเพาะต่อ Active site ของเอนไซม์ Aromatase และมีช่องว่างในบริเวณโพรงการจับ ดังภาพประกอบ 8 จึงทำการออกแบบโมเลกุลของสาร Androstenedione โดยเพิ่มหมู่ R ที่ตำแหน่ง C6 ของสาร Androstenedione ภาพประกอบ 8 แล้วทำโมเลกุลลาร์ด็อกกิ่งสารที่ออกแบบในโครงสร้างเอนไซม์ Aromatase รหัสดังนี้ 1QKU, 3UA1, 3T3R 1OG5, 3QM4 และ 3RUK ด้วยโปรแกรม Molecular Operating Environment (MOE) พร้อมทั้งทดสอบกับเซลล์ MCF-7 พบว่าสารประกอบดังภาพประกอบ 9b มีค่า EC_{50} ดีกว่า Exemestane ดังภาพประกอบ 9a ซึ่งเป็นตัวยับยั้ง Aromatase



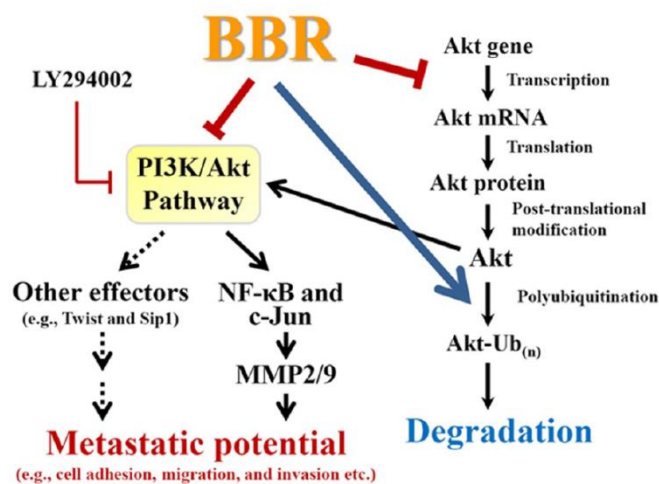
ภาพประกอบ 8 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสาร Androstenedione กับกรดอะมิโนข้างเคียงในบริเวณ Active site ของเอนไซม์ Aromatase และตำแหน่งหมู่แทนที่บนโครงสร้าง Androstenedione

ที่มา: Debashis Ghosh; et al. 2012: 8464-8476



ภาพประกอบ 9 โครงสร้างสาร Exemestane (a) และโครงสร้างอนพันท์สาร Androstenedione (b)

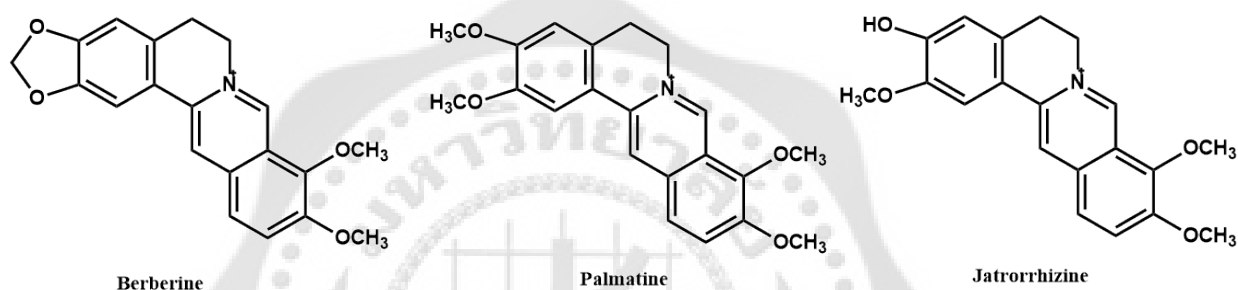
ในปี ค.ศ. 2012 ฮาน พง และคณะ (Han-Pang; et al. 2012: 9649-9658) ได้ทำการศึกษาสารประกอบเบอเบอริน ซึ่งเป็นสารประกอบธรรมชาติที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้หลายชนิด โดยทำการทดสอบสารประกอบเบอเบอรินกับเซลล์ของมะเร็งเต้านม พบว่าเบอเบอรินยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเต้านม และได้ทำการศึกษากลไกการยับยั้งของสารประกอบเบอเบอริน ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม จากการศึกษากลไกการยับยั้งของเบอเบอริน เบอเบอรินสามารถยับยั้งการทำงานของเซลล์มะเร็งเต้านมในส่วนของ Akt pathway ดังภาพประกอบ 10



ภาพประกอบ 10 การยับยั้งการทำงานของเบอเบอรินต่อ Akt pathway

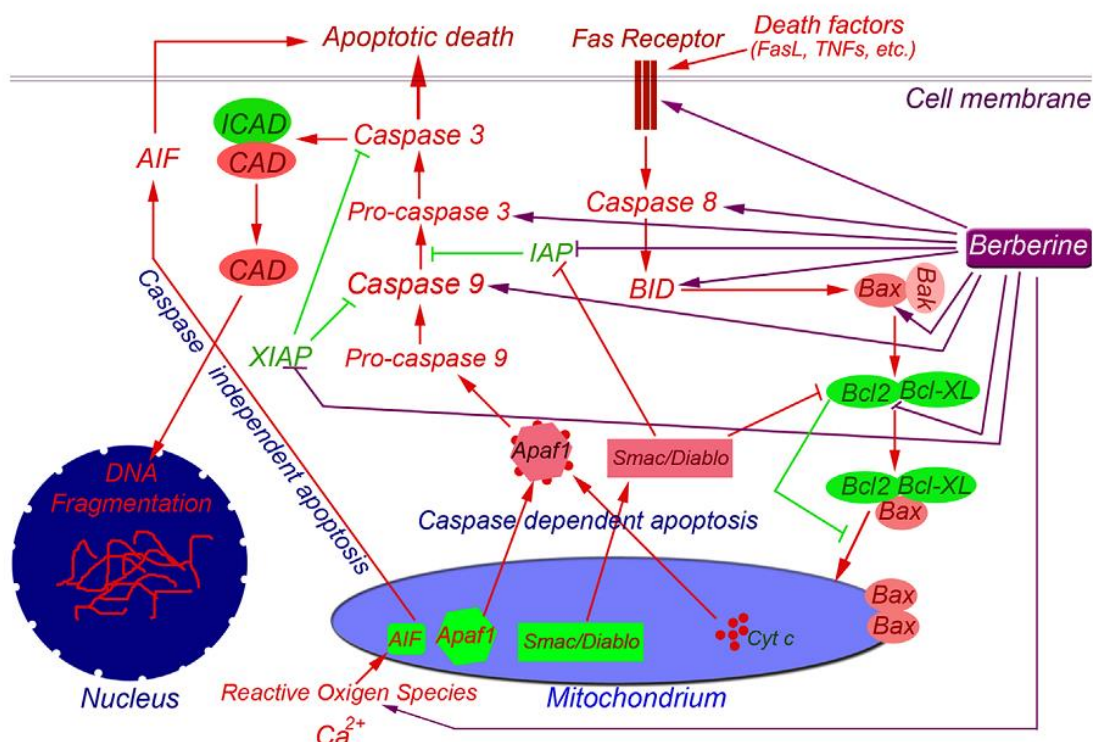
ที่มา: Han-Pang; et al. 2012: 9649-9658

ในปี ค.ศ. 2013 เซง แนน และคณะ (Sheng-Nan; et al. 2013: 671-680) ได้ทำการศึกษาสารประกอบเบอเบอริน พามาติน(Palmatine) และจาทรริซิน(Jatrorrhizine) ดังภาพประกอบที่ 11 ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม Alkaloids ที่สกัดได้จากสมุนไพรจีน เช่น โกลด์เดนเซียล(*Goldenseal*) และอี่งน้อย (*Coptis chinensis* (Huang-Lian)) เป็นต้น กับเซลล์ของมะเร็งเต้านม พบว่าสารในกลุ่ม Alkaloids ดังกล่าวสามารถยับยั้งการทำงานของ CYP1A1.1 และ CYP1B1.1 ได้และจากการวิเคราะห์กลไกการยับยั้ง พบว่าเบอเบอรินสามารถยับยั้งการทำงานของ CYP1A1.1 และ CYP1B1.1 แบบไม่แข่งขัน ในขณะที่ พามาติน และจาทรริซิน จะเกิดการยับยั้งแบบแข่งขัน ดังนั้นเบอเบอรินจึงสามารถยับยั้งการทำงานของ CYP1A1.1 และ CYP1B1.1 ได้ดีที่สุดในกลุ่ม Alkaloids ดังกล่าว



ภาพประกอบ 11 โครงสร้างเบอเบอริน พามาติน และจาทรริซิน

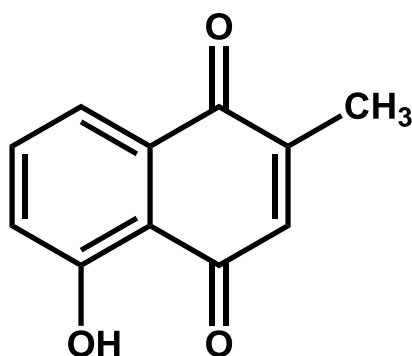
ในปี ค.ศ. 2014 ปาฮัม และคณะ (Parham; et al. 2014: 584-595) ได้ทำการวิเคราะห์เป้าหมายของเบอเบอรินในมะเร็งชนิดต่างๆ พบว่า เบอเบอรินนั้นสามารถยับยั้งการแพร่กระจาย และทำลายเซลล์มะเร็งได้หลายชนิดด้วยกัน และ เกิดการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมในตำแหน่งที่สำคัญ คือ MAP (Mitogen-activated protein) kinase ดังภาพประกอบ 12 และ Wnt/ β -catenin pathways



ภาพประกอบ 12 การยับยั้งการทำงานของเบอเบอรินต่อ MAP (Mitogen-activated protein) kinase

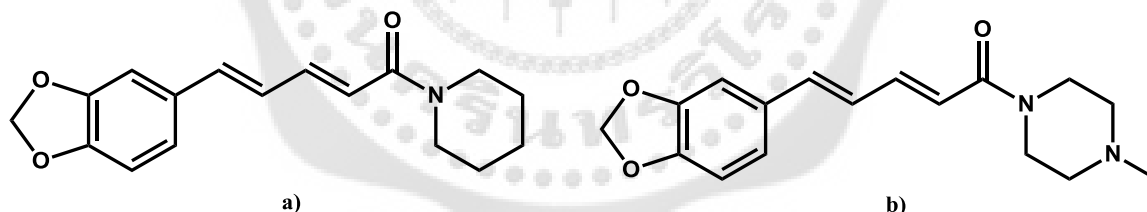
ที่มา: Parham; et al. 2014: 584-595

ในปี ค.ศ. 2014 ปราชต์ และคณะ (Prasad; et al. 2014: 2900-2904) ได้ทำการศึกษาสารประกอบ Plumbagin ภาพประกอบ 13 ที่สกัดได้จาก *Plumbago zeylanica* และอนุพันธ์ของสารประกอบ Plumbagin กับโปรตีนของมะเร็งเต้านม NF- κ B รหัส 1NFK ด้วยโปรแกรม AutoDock และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และ MDA-MB-231 นอกจากนี้ยังทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เต้านมชนิด MCF-10A พบว่า Plumbagin และอนุพันธ์สามารถจับกับโปรตีนของมะเร็งเต้านมใน Active site ของ โปรตีน NF- κ B รหัส 1NFK ได้ โดยแสดงค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับในช่วง -7.68 ถึง -8.41 kcal/mol และ Plumbagin ให้ผลของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งชนิด MCF-7 และ MDA-MB-231 (IC_{50}) เท่ากับ 5.5 และ 3.5 μ M นอกจากนี้ยังไม่ตรวจพบความเป็นพิษต่อเซลล์เต้านมปกติ



ภาพประกอบ 13 Plumbagin

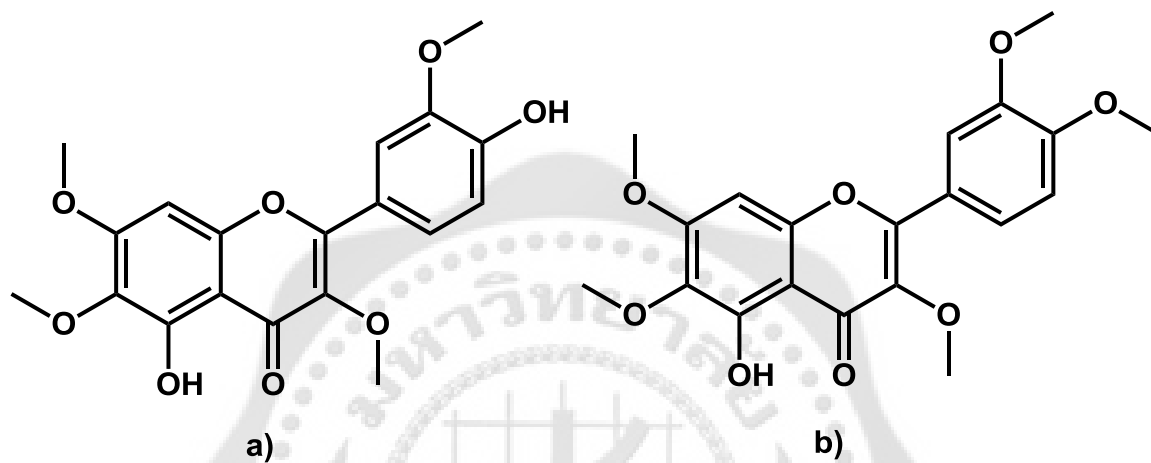
ในปี ค.ศ. 2015 เอลแฮม และคณะ (Elham; et al. 2015) ได้ทำการศึกษาสารประกอบ Piperine ภาพประกอบ 14 และอนุพันธ์ กับโปรตีนในกลุ่ม Survivin รหัส 3UIH ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งเต้านม ด้วยโปรแกรม AutoDock4.2 พบว่า Piperine และอนุพันธ์สามารถจับกับโปรตีนใน Active site ของ โปรตีน Survivin รหัส 3UIH ทั้ง 2 ตำแหน่งได้ โดย Piperine 14a และอนุพันธ์ของ Piperine 14b ภาพประกอบ 12 แสดงค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับกับ Active site ตำแหน่งที่ 1 เท่ากับ -28.00 และ -30.43 kJ/mol ตามลำดับและ กับ Active site ตำแหน่งที่ 1 เท่ากับ -25.95 และ -29.38 kJ/mol ตามลำดับ



ภาพประกอบ 14 Piperine a) และ อนุพันธ์ของ Piperine b)

ในปี ค.ศ. 2015 มามาธา และคณะ (Mamatha; et al. 2015) ได้ศึกษาสารสกัดจาก *Berberis aristata* โดยวิธี Methanolic Extracts กับเซลล์มะเร็งเต้านม พบว่าสารสกัดที่ได้ ให้ค่า IC_{50} ที่ 220 μg ในการทดสอบ Cell Viability กับเซลล์ MCF-7 ลดการสร้างอนุมูลอิสระของเซลล์ MCF-7 ลงถึง 80% ในการทดสอบ Soft agar colony formation assay เมื่อให้ สารสกัด 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ และยับยั้งกระบวนการ Cell migration ที่ 50% เมื่อใช้สารสกัด 250 μg นอกจากนี้ เมื่อใช้สารสกัดที่ 500 μg ในการทดสอบ Live / dead assay กับเซลล์ MCF-7 พบว่าอัตราการตายของเซลล์ เพิ่มขึ้นถึง 68%

ในปี ค.ศ. 2015 ซัดนา และคณะ (Sadhna; et al. 2015: 1-11) ได้ทำการทดสอบสาร Chrysosplenetin 15a และสาร Artemetin 15b ภาพประกอบ 15 ที่สกัดได้จาก *Tanacetum gracile* กับ เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 และ T47D พบว่าสารทั้งสองมีฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็งเต้านม และทำการศึกษากลไกในการยับยั้งมะเร็งเต้านม โดย โมเลกุลาร์ดีค็อกกิ้งพบว่า สารทั้งสองจับกับ Colchicine-tubulin ที่ตำแหน่ง α -Tubulin



ภาพประกอบ 15 สาร Chrysosplenetin (a) และ Artemetin (b)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

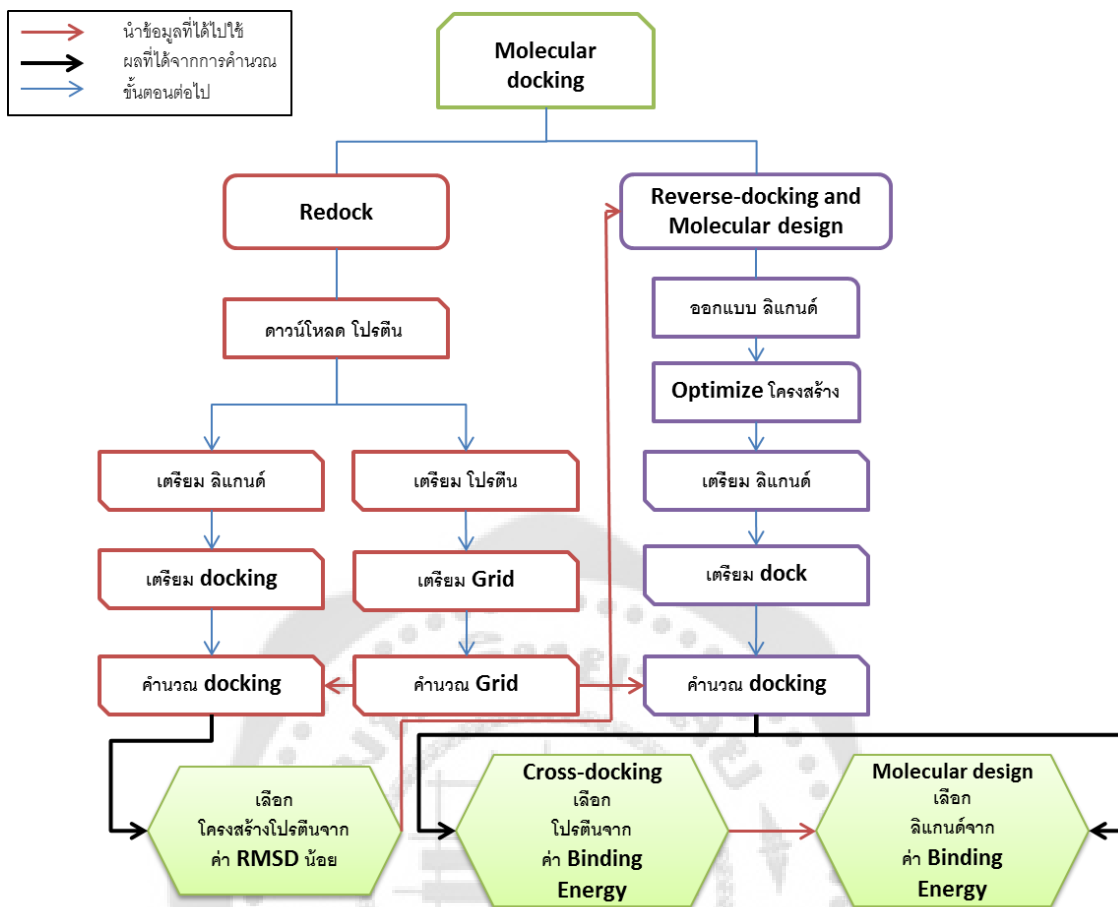
งานวิจัยนี้ผู้วิจัยสนใจทำการศึกษเกี่ยวกับตัวยับยั้งของโรคมะเร็งเต้านม โดยโรคมะเร็งมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องหลายชนิดด้วยกัน ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาค้นหาตัวยับยั้งที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็งเต้านม จากฐานข้อมูลโปรตีน (Protein Data Bank) พบว่ามีข้อมูลโครงสร้างของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมทั้งหมด 7 กลุ่มเอนไซม์ ผู้วิจัยจึงทำการเลือกเอนไซม์จาก 7 กลุ่มเอนไซม์โดยดูจากค่า Resolution ของ Ligand ในโครงสร้างโปรตีน และความสมบูรณ์ของโครงสร้างโปรตีน เป็นต้น ซึ่งงานวิจัยนี้จะใช้เทคนิคทางเคมีเชิงคอมพิวเตอร์ 2 เทคนิค คือ โมเลกุลาร์-ด็อกกิ้ง และกลศาสตร์ควอนตัม

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย ผู้วิจัยได้ดำเนินการศึกษาเป็น 4 ขั้นตอนดังนี้

(ดังภาพประกอบ 16)

1. Redock เพื่อวิเคราะห์ ความเหมาะสมของโครงสร้างโปรตีน
2. Reverse Docking เพื่อวิเคราะห์หาเอนไซม์ที่จับกับเบอเบอรินได้ดีที่สุด
3. ออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอริน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง
4. กลศาสตร์ควอนตัมเพื่อคำนวณหาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งต่อกรดอะมิโนที่

สำคัญในบริเวณการจับของเอนไซม์

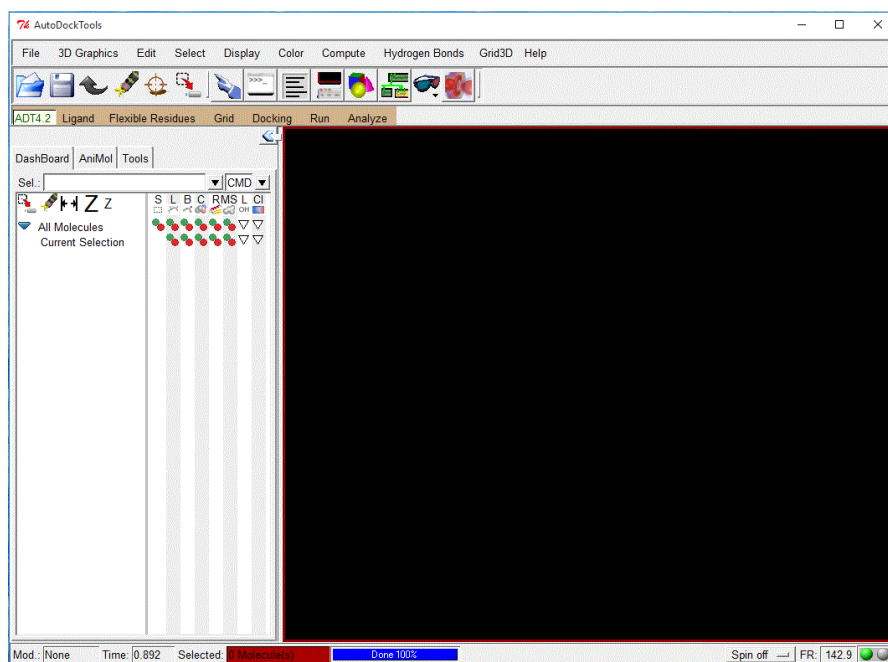


ภาพประกอบ 16 แผนผังการทำโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้งในงานวิจัย

1. Redock เพื่อวิเคราะห์ ความเหมาะสมของโครงสร้างโปรตีน

ขั้นตอนการทำโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้งจำเป็นต้องใช้โครงสร้างของโปรตีน โดยทั่วไปจะทำการดาวน์โหลด (Download) โครงสร้างของโปรตีนจากฐานข้อมูลโปรตีน เลือกโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมในแต่ละกลุ่มเอนไซม์ ดังนี้ 4GL5 จาก เอนไซม์โรมาเตส (Debashis G.; et al. 2012: 8464-8476) 4D0N จาก เอนไซม์ไฮโดรเลส (Abdul Azeez, K. R.; et al. 2014: 231-239) 4IGK จาก เอนไซม์ไลเกส (Liu, X. and Ladas, J. A. A.); 2013: 7618-7627) 3G5M จาก เอนไซม์ควิโนนรีดักเตส 2 Arup M.; et al. 2009: 1873-1884) และ 4C3P จาก เอนไซม์ทรานส์เฟอร์เรส Zorba, A.; et al. 2014)

โครงสร้างโปรตีนที่ดาวน์โหลดจากฐานข้อมูลจะมีโครงสร้างอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนของโปรตีนหรือ Receptor และส่วนของตัวยับยั้งหรือ Ligand ทำการแยกทั้ง 2 ส่วนออกจากกันแล้วทำการเตรียมไฟล์โดยใช้ AutoDocktool 1.5.6 (ภาพประกอบ 17)



ภาพประกอบ 17 โปรแกรม AutoDocktool 1.5.6

1.1. การเตรียม Receptor

ไฟล์ Receptor ที่ดาวน์โหลดจากฐานข้อมูลโปรตีนบางไฟล์จะมีโมเลกุลของน้ำอยู่ และบางไฟล์จะไม่มีอะตอมไฮโดรเจน (Hydrogens) จึงต้องนำไฟล์ Receptor มาทำการลบโมเลกุลของน้ำออกจากโมเลกุลโปรตีน แล้วทำการเติมอะตอมไฮโดรเจน เพื่อให้ได้โครงสร้างของโปรตีนที่ถูกต้อง แล้วบันทึกให้เป็นไฟล์ Protein.pdb

1.2. การเตรียม Ligand

นำไฟล์ Ligand ที่ได้จากโครงสร้างโปรตีน มาทำการเติมอะตอมไฮโดรเจน ให้ได้โครงสร้างที่สมบูรณ์ แล้วนำมา ทำการกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ แล้วบันทึกเป็นไฟล์ Ligand.pdbqt

1.3. การเตรียม Grid

เปิดไฟล์ Protein.pdb (จากข้อ 1.1) โปรแกรมจะบังคับให้บันทึกเป็นไฟล์ Protein.pdbqt และกำหนดพารามิเตอร์ต่างๆของโปรตีน และเปิดไฟล์ Ligand.pdbqt (จากข้อ 1.2) ทำการเซตค่าขนาดของ Grid และกำหนดจุดศูนย์กลาง Grid ตามที่ต้องการ จากนั้นทำการบันทึกจะได้ไฟล์ Protein.gpf แล้วทำการคำนวณ Autogrid

1.4. การเตรียม Dock

เปิดไฟล์ Protein.pdbqt (จากข้อ 1.3) และไฟล์ Ligand.pdbqt (จากข้อ 1.2) แล้วเลือกพารามิเตอร์ในการทำโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้งโดยกำหนดรอบในการคำนวณทั้งหมด 150 รอบ จากนั้นทำการบันทึกจะได้ไฟล์ Ligand.dpf แล้วทำการคำนวณ Autodock

1.5. หาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการ Docking

เลือกพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการทำ Molecular docking เพื่อให้ได้โครงสร้างการเข้าจับของตัวยับยั้งที่ใช้ในการศึกษาในบริเวณการจับของเอนไซม์ โดยมี Parameter ที่ต้องศึกษาดังนี้

- ขนาดและตำแหน่งของ Grid
- จำนวนรอบในการทำโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้ง

2. Reverse Docking เพื่อวิเคราะห์หาเอนไซม์ที่จับกับเบอเบอริน ได้ดีที่สุด

ขั้นตอนการทำ Reverse docking จะเริ่มจากการทำโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้ง และนำค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับจากแต่ละโครงสร้างมาสร้างตารางเปรียบเทียบความสามารถในการจับกันระหว่างโปรตีนกับตัวยับยั้ง ในงานวิจัยนี้จะทำการ docking โปรตีนในแต่ละรหัสเพื่อเปรียบเทียบค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับกับตัวยับยั้งดังต่อไปนี้ โครงสร้างเบอเบอริน โครงสร้างอนุพันธ์ของเบอเบอรินที่ได้ทำการทดลองฤทธิ์ในงานวิจัยที่ผ่านมาแล้วให้ค่า IC_{50} น้อยกว่าเบอเบอริน โครงสร้างอนุพันธ์ของเบอเบอรินที่ได้ทำการทดลองฤทธิ์ในงานวิจัยที่ผ่านมาแล้วให้ค่า IC_{50} มากกว่าเบอเบอริน Tamoxifen Raloxifene Palbociclib และ 14b dibenzo thiepinos โดยขั้นตอนการทำ โมเลกุลลาร์ด็อกกิ้ง จะใช้ค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการทำ Redock มาใช้ในการ dock โมเลกุลที่สนใจเข้าไปในตำแหน่ง Binding site หรือตำแหน่งของ Grid เพื่อเปรียบเทียบค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับระหว่าง Ligand เดิมของโปรตีนกับ Ligand ที่สนใจ โดยจะให้ค่าพารามิเตอร์จากการทำ Redock ดังนี้

- Protein.pdbqt
- Protein.gpf
- Ligand.dpf

2.1. การเตรียม Ligand

สร้างโครงสร้าง Ligand ที่ดังที่กล่าวมาข้างต้น แล้วทำการ Optimization ด้วยระเบียบวิธี HF/3-21G ด้วยโปรแกรม Gaussian 09 นำโครงสร้างที่ Optimize มาแปลงไฟล์ ให้เป็น .mol2 เพื่อให้สามารถนำมาเปิดด้วย โปรแกรม AutoDocktool 1.5.6 ได้ ทำการตั้งค่าพารามิเตอร์ต่างๆ แล้วบันทึกเป็นไฟล์ Ligand.pdbqt

2.2. การเตรียม dock

เปิดไฟล์ Ligand.dpf แล้วเปิดไฟล์ Ligand.pdbqt (จากข้อ 2.1) จากนั้นทำการบันทึกจะได้ไฟล์ Ligand.dpf แล้วทำการคำนวณ Autodock

2.3. Reverse-docking

นำค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับจากการทำโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้ง มาสร้างตารางเปรียบเทียบค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการจับกันระหว่าง Ligand กับ Protein ส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และวิเคราะห์หาโปรตีนที่เบอเบอร์ลิน แสดงความสามารถในการยับยั้งได้ดีที่สุด

3. ออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอร์ลิน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง การเตรียม Ligand

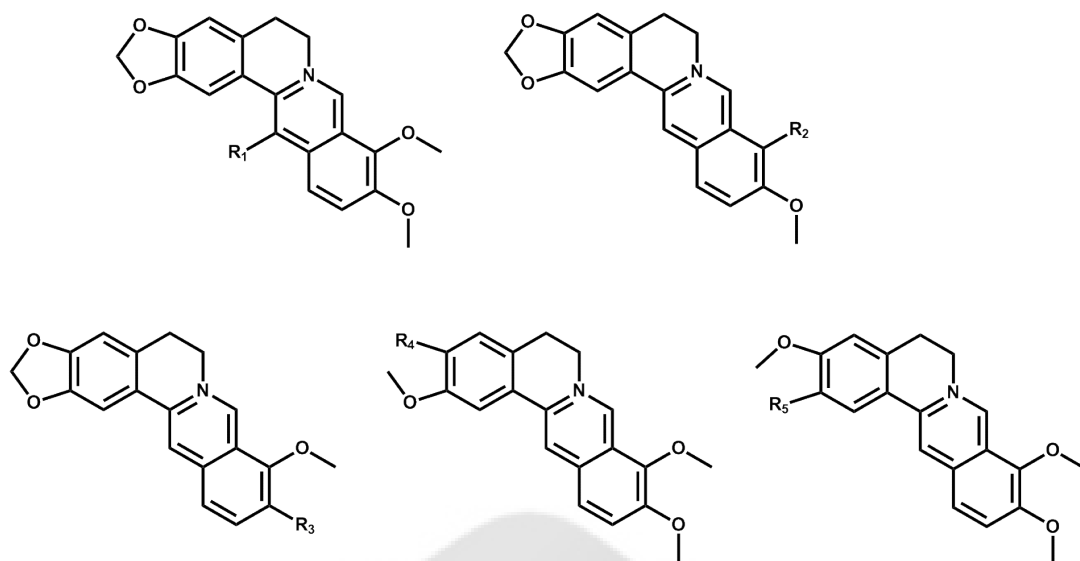
สร้างโครงสร้าง ligand ที่สนใจ แล้วทำการ Optimization ด้วยระเบียบวิธี HF/3-21G ด้วยโปรแกรม Gaussian 2003 นำโครงสร้างที่ Optimize มาแปลงไฟล์ ให้เป็น .mol2 เพื่อให้สามารถนำมาเปิดด้วยโปรแกรม AutoDocktool 1.5.6 ได้ ทำการตั้งค่าพารามิเตอร์ต่างๆ แล้วบันทึกเป็นไฟล์ Ligand.pdbqt

3.1. การเตรียม dock

เปิดไฟล์ Ligand.dpf แล้วเปิดไฟล์ Ligand.pdbqt (จากข้อ 3.1) จากนั้นทำการบันทึกจะได้ไฟล์ Ligand.dpf แล้วทำการคำนวณด้วย AutoDock 4.2

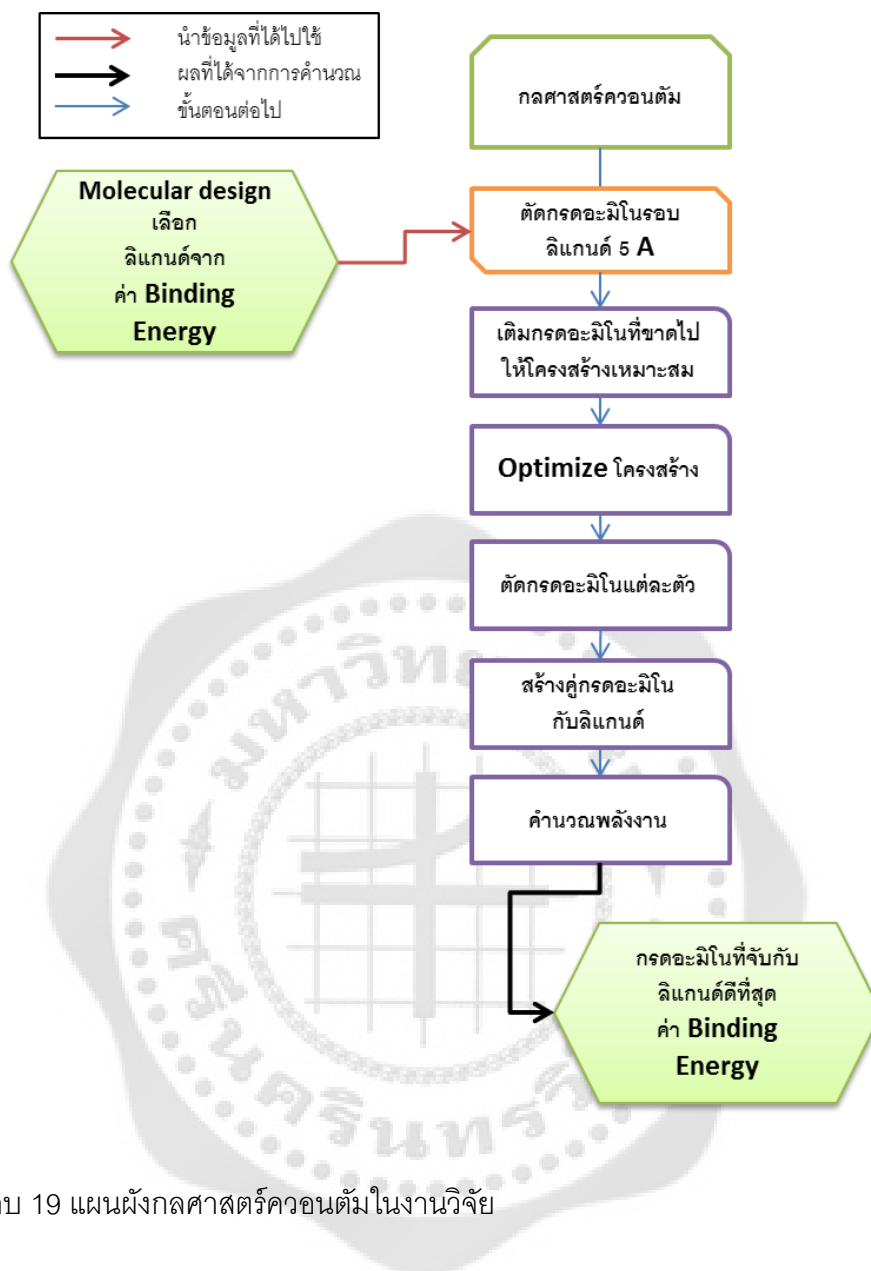
3.2. การออกแบบตัวยับยั้ง

ทำการออกแบบโครงสร้างเบอเบอร์ลินโดยการเปลี่ยนหมู่แทนที่ของโครงสร้างเบอเบอร์ลิน ในตำแหน่งต่างๆดังภาพประกอบ 18



ภาพประกอบ 18 แสดงตำแหน่งในการเติมหมู่แทนที่บนโครงสร้างเบอเบอริน

นำโครงสร้างที่ออกแบบ Optimize ด้วยระเบียบวิธี HF/3-21G นำโครงสร้างที่ผ่านการ Optimize มา Dock กับ Receptor



ภาพประกอบ 19 แผนผังกลศาสตร์ควอนตัมในงานวิจัย

4. กลศาสตร์ควอนตัมเพื่อคำนวณหาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งต่อกรดอะมิโนที่สำคัญในบริเวณการจับของเอนไซม์

ขั้นตอนการคำนวณทาง กลศาสตร์ควอนตัม จะทำหลังจากการทำ โมเลกุลาร์ดีคอกกิ่ง เพื่อหาอันตรกิริยาระหว่าง ตัวยับยั้งหรือ Ligand กับกรดอะมิโนบริเวณโดยรอบ เพื่อหากรดอะมิโนสำคัญในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง โดยใช้ โปรแกรม Gaussian 09

4.1. นำโครงสร้าง Ligand ที่ให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับกับโปรตีนดีที่สุด จากไฟล์ Ligand.dlg มาต่อกับโครงสร้างโปรตีนในไฟล์ Protein.pdb แล้ว Save เป็นไฟล์ Pro_Lig.pdb นำไฟล์ที่ได้มาเปิดด้วยโปรแกรม Discovery Studio Client เพื่อวิเคราะห์โครงสร้างโมเลกุลจะพบว่า Ligand

จะอยู่ในตำแหน่ง Binding site ของโครงสร้างโปรตีน จากนั้นทำการเลือกกรดอะมิโนในตำแหน่ง Binding site ที่อยู่ห่างจาก Ligand 4.00 Å

4.2. พิจารณาลำดับกรดอะมิโนที่ได้ในข้อ 4.1 ถ้าพบว่าลำดับกรดอะมิโนหายไปไม่เกิน 2 ลำดับ ให้เติมลำดับกรดอะมิโนที่หายไป

4.3. เติมหมู่อะซิทิล ($\text{CH}_3\text{CO}-$) ทางด้านปลาย N-และเติมหมู่ เมทิลอะมิโน ($\text{CH}_3\text{NH}-$) ทางด้านปลาย C ของแต่ละชุดของกรดอะมิโนในข้อ 4.2

4.4. สร้างโครงสร้างที่ได้ในข้อ 4.3 ให้สมบูรณ์โดยการเติมไฮโดรเจนอะตอม เนื่องจากโครงสร้างที่ได้จากฐานข้อมูลของโปรตีนจะไม่มีไฮโดรเจนอะตอม

4.5. ทำการคำนวณประจุสุทธิของแต่ละแบบจำลองที่ได้ในข้อ 4.4

4.6. ทำการ Optimize โครงสร้างของแต่ละแบบจำลอง เพื่อให้ได้แบบจำลองที่เหมาะสมด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ Semi-empirical PM3MM โดยทำการ Optimize บนพื้นฐานของ HAF (Hetero atom fixed) ของแบบจำลองที่ได้ทั้งหมด

4.7. นำแบบจำลองที่ได้ในข้อ 4.6 มาสร้างโมเดลของแต่ละกรดอะมิโน แล้วทำการเติมไฮโดรเจนที่บริเวณปลายของกรดอะมิโนแต่ละกรดอะมิโนที่ตัดออกมา และทำการ Optimize เฉพาะไฮโดรเจนที่เติมด้วย ระเบียบวิธีการคำนวณ B3LYP/6-31G(d,p)

4.8. ทำการสร้างคู่แบบจำลองระหว่างตัวยับยั้งกับแต่ละกรดอะมิโน ทำให้ได้คู่แบบจำลอง แล้วทำการคำนวณด้วยระเบียบวิธี M062X/6-31G(d,p)

4.9. คำนวณพลังงานอันตรกิริยา (IE) ที่ได้ในข้อ 4.8 ด้วยสมการ 1

$$IE = E_{[\text{BBR}+\text{Amino}]} - E_{[\text{BBR}]} - E_{[\text{Amino}]} \quad 1$$

เมื่อ IE คือ พลังงานอันตรกิริยา

$E_{[\text{BBR}+\text{Amino}]}$ คือ พลังงานของแต่ละคู่ระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนแต่ละตัว

$E_{[\text{BBR}]}$ คือ พลังงานอันตรกิริยาของตัวยับยั้ง

$E_{[\text{Amino}]}$ คือ พลังงานอันตรกิริยาของแต่ละกรดอะมิโน

4.10. คำนวณการแก้ไขพลังงานอันตรกิริยา (IE-BSSE) ที่ได้ในข้อ 4.8 ด้วยสมการ 2

$$IE^{BSSE} = E_{[BBR+Amino]}^{BSSE} - E_{[BBR]}^{BSSE} - E_{[Amino]}^{BSSE} \quad 2$$

เมื่อ IE^{BSSE} คือ พลังงานอันตรกิริยาที่การแก้ไข

$E_{[BBR+Amino]}^{BSSE}$ คือ พลังงานของแต่ละคู่ระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนในแต่ละตัวที่การแก้ไข

$E_{[BBR]}^{BSSE}$ คือ พลังงานอันตรกิริยาของตัวยับยั้งที่การแก้ไข

$E_{[Amino]}^{BSSE}$ คือ พลังงานอันตรกิริยาของแต่ละกรดอะมิโนที่การแก้ไข

4.11. ทำการคำนวณโครงสร้างที่ได้ในข้อ 4.8 ด้วยระเบียบวิธี M062X/6-31G(d,p) โดยเติม scrf=(solvent=water) เพื่อศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลาย

4.12. คำนวณพลังงานอันตรกิริยา (IE) ที่ได้ในข้อ 4.11 ด้วยสมการ 1



บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาโมเลกุลาร์ดีคกิ้งเพื่อหาโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมที่จับกับสารประกอบเบอเบอรินได้ดีที่สุด การออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอรินเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของโปรตีน และศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเบอเบอริน และอนุพันธ์ของเบอเบอริน กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการของโปรตีน ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัม โดยในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ M062X โดยใช้ 6-31G (d,p) เป็น basis set เพื่ออธิบายการกระจายของพลังงานที่เกิดขึ้นในบริเวณการจับของโปรตีน กับเบอเบอรินและอนุพันธ์ของเบอเบอริน โดยผลการวิเคราะห์ข้อมูลจะนำเสนอตามขั้นตอนการทำวิจัยดังนี้

- 4.1. Redock
- 4.2. Reverse Docking
- 4.3. ออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอริน
- 4.4. กลศาสตร์ควอนตัม

4.1. Redock

การคำนวณทางโมเลกุลาร์ดีคกิ้งต้องทำการศึกษหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการคำนวณ และทำการเลือกโครงสร้างโปรตีนที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในงานวิจัยด้วยการทำ Redock โดยใช้โปรแกรม Autodock 4.2

4.1.1. พารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการคำนวณทางโมเลกุลาร์ดีคกิ้ง

งานวิจัยนี้จะทำการเลือกรูปแบบสำหรับการ Docking เป็นแบบ Random เพื่อหาดำแหน่งในการจับของตัวยับยั้งกับโปรตีนได้ดีที่สุด และใช้วิธีการ Lamarckian GA ในการ Docking เนื่องจากเป็นวิธีที่เกิดจากการนำข้อดีของวิธี Local search parameters กับ Genetic algorithm มารวมกัน ทำให้วิธีนี้เป็นวิธีที่ดีที่สุดที่จะใช้คำนวณค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (Estimated free energy of binding)

Grid คือ แผนที่ของอะตอม (Map) ซึ่งแต่ละแผนที่จะแบ่งตามชนิดของอะตอมของ Ligand ที่ใช้ในการคำนวณอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งกับโครงสร้างของโปรตีน ดังนั้นขนาดของ Grid จึงต้องครอบคลุมโครงสร้างของตัวยับยั้งและมีความเหมาะสมกับบริเวณโพรงการจับระหว่างตัวยับยั้งกับโปรตีน เนื่องจากถ้า Grid มีขนาดเล็กเกินไปจะทำให้ขอบเขตที่ตัวยับยั้งจะเข้าจับกับโปรตีนไม่ครอบคลุมบริเวณโพรงการจับที่เหมาะสมของโปรตีน ส่งผลต่อพลังงานยึดเหนี่ยวที่คำนวณเกิดความ

คลาดเคลื่อนได้ และถ้าขนาด Grid ใหญ่เกินไปจะส่งผลให้ใช้เวลาในการคำนวณทางโมเลกุลาร์ดีอกิ่งมากเกินไป ซึ่งการพิจารณาขนาด grid ที่เหมาะสมนั้นจะพิจารณาจากค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol) เมื่อค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับเป็นพลังงานยึดเหนี่ยวระหว่างตัวยับยั้งกับโปรตีนที่ได้จากการคำนวณทางโมเลกุลาร์ดีอกิ่ง ซึ่งผลการคำนวณ ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับจะแสดงในเทอมของพลังงานติดลบ ถ้าค่าที่ได้ติดลบมากแสดงว่า ตัวยับยั้งสามารถจับกับโปรตีนได้ดี

ตาราง 2 ขนาดของ Grid (Å) กับค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol) ระหว่างตัวยับยั้งกับโปรตีน

ขนาดของ Grid (Å)	ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol)
40	-9.66
60	-10.63
80	-10.62
100	-10.62
120	-10.62

จากตาราง 2 เมื่อพิจารณาขนาดของ grid โดยกำหนดให้ Grid มีขนาด $X=Y=Z$ เท่ากับ 40 Å ถึง 120 Å พบว่า grid ขนาด 60 Å ถึง 120 Å ให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับใกล้เคียงกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ขนาดของ Grid ที่ 60 Å

จำนวนรอบในการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกิ่ง เพื่อให้ได้โครงสร้างที่เป็นไปได้มากที่สุดในการเกิดอันตรกิริยาหรือในการเข้าจับระหว่างตัวยับยั้งกับโปรตีน จำนวนรอบในการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกิ่งจะแสดงถึงโอกาสที่ตัวยับยั้งจะสามารถจับกับโปรตีนในตำแหน่งที่ให้พลังงานยึดเหนี่ยวดีที่สุด ยิ่งจำนวนรอบมาก จะทำให้เพิ่มโอกาสในการ Random การเข้าจับระหว่างตัวยับยั้งกับโปรตีนมากขึ้น

ตาราง 3 จำนวนรอบในการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกิ่ง (รอบ) กับ ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol) ระหว่างตัวยับยั้งกับโปรตีน

จำนวนรอบในการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกิ่ง (รอบ)	ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol)
50	-10.62
100	-10.63
150	-10.64

200

-10.65

ตาราง 3 (ต่อ)

จำนวนรอบในการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ่ง (รอบ)	ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol)
250	-10.63

จากตาราง 3 พบว่าเมื่อเพิ่มจำนวนรอบในการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ่ง ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกจำนวนรอบในการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ่งที่ 150 รอบ เนื่องจากถ้าใช้จำนวนรอบในการคำนวณน้อยเกินไปจะทำให้โอกาสที่ตัวจับยังจะจับกับโปรตีนในตำแหน่งที่ดีที่สุดลดลง แต่ถ้าเลือกใช้จำนวนรอบในการคำนวณมากจะส่งผลให้ใช้เวลาในการคำนวณมากเกินไป

จากนั้นนำพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ่ง มาคำนวณหาค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ ในขั้นตอนต่างๆ ต่อไป

4.2.1. Redock เพื่อวิเคราะห์ ความเหมาะสมของโครงสร้างโปรตีน

งานวิจัยนี้ทำการเลือกโครงสร้างของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ metabolism ในมะเร็งเต้านม เพื่อหาเอนไซม์เป้าหมายของเบอเบอรินในการยับยั้งมะเร็งเต้านมในกระบวนการดังกล่าว โดยทำการเลือกโครงสร้างเอนไซม์จากฐานข้อมูลธนาคารโปรตีน พบโครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านมทั้งหมด 100 โครงสร้าง จากนั้นทำการเลือกโครงสร้างเอนไซม์โดยกำหนดเงื่อนไข 2 เงื่อนไข ดังนี้ 1. เป็นโครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในร่างกายของมนุษย์หรือในกลุ่ม Homo sapiens เมื่อพิจารณาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับร่างกายมนุษย์พบว่าเอนไซม์ทั้งหมด 94 โครงสร้างเมื่อได้โครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในร่างกายมนุษย์แล้ว ทำการเลือกเอนไซม์โดยแบ่งตามกลุ่มเอนไซม์ต่างๆ ดังนี้ อโรมาเตส ไฮโดรเลส ไอโซเมอเรสไลเกส ไลเอสควิโนน รีดักเตส 2 และ ทรานส์เฟอเรส จากนั้นมาพิจารณาเงื่อนไขที่ 2. คือเป็นโครงสร้างเอนไซม์ที่มีตัวจับยังอยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์พบว่าเอนไซม์ที่มีตัวจับยังอยู่ในโครงสร้างมีดังนี้ เอนไซม์อโรมาเตสมี 3 โครงสร้าง เอนไซม์ไฮโดรเลสมี 1 โครงสร้าง เอนไซม์ไลเกสมี 3 โครงสร้าง เอนไซม์ควิโนน รีดักเตส 2 มี 54 โครงสร้างเอนไซม์ทรานส์เฟอเรสมี 17 โครงสร้าง จากนั้นเลือกตัวแทนโครงสร้างในแต่ละกลุ่มเอนไซม์โดยพิจารณาจากโครงสร้างที่มีค่า Resolution ต่ำ ซึ่งทำให้ได้โครงสร้างที่มีความถูกต้องสูงและมีความสมบูรณ์ของโครงสร้างมาก และเลือกโครงสร้างเอนไซม์ที่มีการนำเสนอใหม่เป็นตัวแทนในแต่ละกลุ่มดังนี้ โครงสร้างรหัส 4GL5 จาก เอนไซม์อโรมาเตส (Debashis G.; et al. 2012: 8464-8476) 4D0N จาก เอนไซม์ไฮโดรเลส (Abdul Azeez, K. R.; et al. 2014: 231-239) 4IGK จาก เอนไซม์ไลเกส (Liu, X.

and Ladas, J. A. A.); 2013: 7618-7627) 3G5M จาก เอนไซม์ควิโนนรีดักเตส 2 Arup M.; et al. 2009: 1873-1884) และ 4C3P จาก เอนไซม์ทรานส์เฟอร์เรส Zorba, A.; et al. 2014)

การทำ Redock เพื่อการเปรียบเทียบตำแหน่งการจับของตัวยับยั้งที่ผ่านการคำนวณด้วยระเบียบวิธีโมเลกุลาร์ดอกกิ้งเทียบกับตำแหน่งตัวยับยั้งเดิมที่ได้จากโครงสร้างเพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของบริเวณโพรงการจับในโครงสร้างเอนไซม์จะทำโดยนำโครงสร้างตัวยับยั้งเดิมจากโครงสร้างเอนไซม์ที่ดาวน์โหลดจากฐานข้อมูลธนาคารโปรตีนมาทำการ dock กับเอนไซม์ของตัวยับยั้งของแต่ละตัว คำนวณค่า RMSD (Root mean square deviation) ซึ่งเป็นค่าทางสถิติที่ใช้บ่งบอกความแตกต่างระหว่าง 2 โครงสร้างหรือมากกว่า จากตาราง พบว่าค่า RMSD ของโครงสร้างโปรตีนรหัส 3G5M ของกลุ่มเอนไซม์ Quinone Reductase2 (QR2) 4C3P ของกลุ่มเอนไซม์ Tranferase 4GL5 ของกลุ่มเอนไซม์ Aromatase มีค่าน้อย แสดงว่าตัวยับยั้งเดิมในโครงสร้างโปรตีนเข้าจับกับโปรตีนต่างจากตำแหน่งเดิมเล็กน้อย ดังนั้นโครงสร้างโปรตีนดังกล่าวมีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้คำนวณทางโมเลกุลาร์ดอกกิ้ง ซึ่งสามารถหาค่า RMSD ได้จากสมการ 3

$$RMSD = \frac{\sqrt{\sum_i d_i^2}}{n}$$

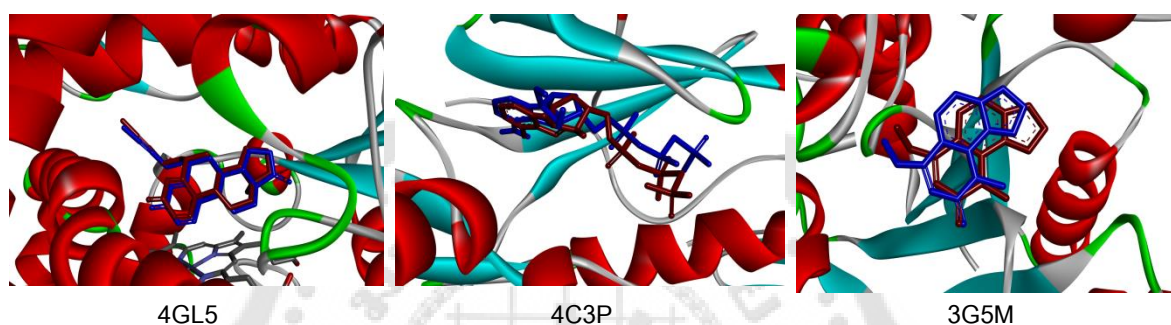
3

เมื่อ d คือ ระยะทางระหว่างอะตอมของตัวยับยั้งที่ตำแหน่งเดิมกับอะตอมของตัวยับยั้งที่ตำแหน่งใหม่ที่ทำการคำนวณโมเลกุลาร์ด้วยวิธี Redock
 n คือ จำนวนอะตอมของตัวยับยั้ง

จากตาราง 4 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 20 แสดงให้เห็นว่าตัวยับยั้งสามารถจับกับโครงสร้างเอนไซม์ของแต่ละโครงสร้างภายในบริเวณโพรงการจับเดิมของโครงสร้างเอนไซม์ และตัวยับยั้งที่ได้จากการคำนวณจะอยู่ในตำแหน่งซ้อนทับกับโครงสร้างตัวยับยั้งเดิมในโครงสร้างเอนไซม์ จึงสรุปได้ว่าโครงสร้างเอนไซม์ 4GL5, 4C3P และ 3G5M มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้คำนวณทางโมเลกุลาร์ ดอกกิ้ง

ตาราง 4 ค่า RMSD (Å) ของแต่ละโปรตีน

เอนไซม์	รหัสโปรตีน	RMSD (Å)
Aromatase	4GL5	0.429
Hydrolase	4D0N	7.118
Ligase	4IGK	7.575
Quinone Reductase 2	3G5M	0.947
Tranferase	4C3P	1.530

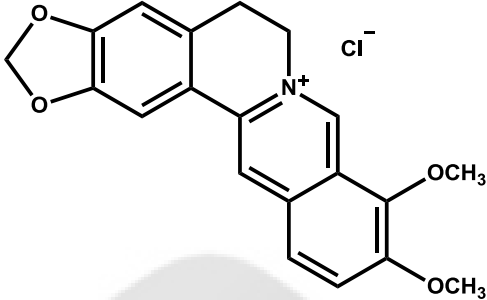
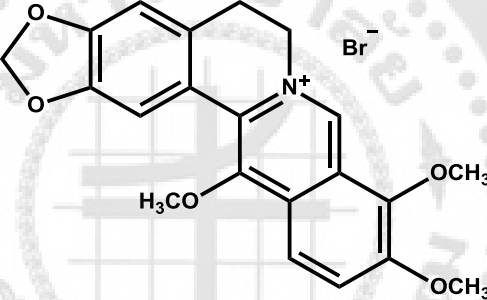
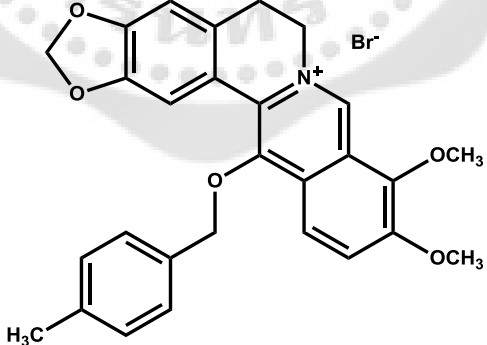


ภาพประกอบ 20 เปรียบเทียบการจับกันระหว่างตัวยับยั้งเดิม ในโครงสร้างเอนไซม์

4.2. Reverse Docking

การทำ Reverse docking เพื่อศึกษาเอนไซม์เป้าหมายของเบอเบอริน โดยวิเคราะห์พลังงานอิสระในการเข้าจับระหว่างเบอเบอรินกับโครงสร้างโปรตีนในแต่ละกลุ่มเอนไซม์ จะทำโดยนำโครงสร้างเบอเบอรินที่ optimized มา dock กับโครงสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม พิจารณาค่าพลังงานที่ได้จากการคำนวณ โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่ามีการศึกษาการออกแบบอนุพันธ์ของสารประกอบเบอเบอรินเพื่อยับยั้งการทำงานของเซลล์มะเร็งเต้านม โดยทำการสังเคราะห์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุพันธ์เบอเบอรินกับเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และรายงานผลการทดสอบโดยค่า IC_{50} (Concentration of an inhibitor where the response is reduced by half) หรือหน่วยวัดความเข้มข้นของสารหรือยาที่ใช้ยับยั้งปฏิกิริยาทางชีวเคมีของร่างกาย เชื้อโรค ให้ลดลงไปเหลือ 50% ดังตาราง 5

ตาราง 5 อนุพันธ์เบอเบอรินและค่า IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ต่อเซลล์ MCF-7

NO.	Structure	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
BBR_000		37.90
BBR_001		46.16
BBR_002		0.005

จากตาราง จะเห็นได้ว่าเบอเบอริน (BBR_000) ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 37.90 $\mu\text{g/mL}$ และอนุพันธ์ BBR_002 ให้ค่า IC_{50} น้อยที่สุดเท่ากับ 0.005 $\mu\text{g/mL}$ ผู้วิจัยจึงเลือกโครงสร้างสารทั้งสอง และเลือกอนุพันธ์ BBR_001 แทนอนุพันธ์ที่ให้ค่า IC_{50} สูงกว่าเบอเบอรินมาทำการคำนวณความสอดคล้องระหว่างค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับและ IC_{50} ดังตาราง 6

ตาราง 6 ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์กับโปรตีนแต่ละชนิด

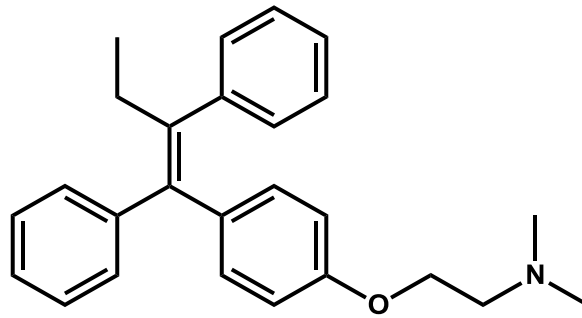
โปรตีน	ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol)			
	ตัวยับยั้งเดิม	BBR_000	BBR_002	BBR_001
3G5M	-7.68	-10.63	-11.50	-10.21
4C3P	-5.56	-7.55	-9.30	-7.10
4GL5	-12.61	-8.90	-9.58	-8.06

จากตาราง 6 พบว่าค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเซลล์มะเร็งเต้านม โดยจะพบว่าอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_002 ที่ให้ค่า IC_{50} น้อยกว่าเบอเบอรินรหัส BBR_000 ให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับน้อยกว่าเบอเบอริน และอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_001 ที่ให้ค่า IC_{50} สูงกว่าเบอเบอริน ให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ มากกว่าเบอเบอรินด้วยเช่นกัน นอกจากนี้เบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินยังให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับกับเอนไซม์ในกลุ่มของ QR2 มากกว่า ตัวยับยั้งเดิมในโครงสร้างโปรตีน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเซลล์ และเบอเบอรินสามารถยับยั้งเอนไซม์ QR2

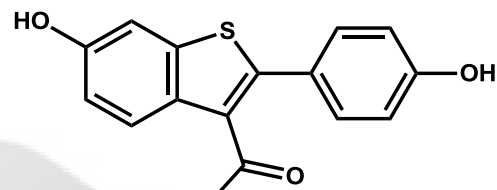
นอกจากนั้น ยังพบว่าเบอเบอรินให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับกับเอนไซม์ในกลุ่ม QR2 ต่ำกว่าเอนไซม์ในกลุ่มอื่น จึงสรุปได้ว่าเบอเบอรินยับยั้งการทำงานของเซลล์มะเร็งเต้านมในกลุ่มของเอนไซม์ QR2

จากนั้นทำการศึกษาค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ ของสารประกอบเบอเบอรินเปรียบเทียบกับยาที่ใช้ในการรักษามะเร็งเต้านม Tamoxifen, Raloxifene และ Palbociclib (ภาพประกอบที่ 21) โดยยาแต่ละตัวให้ค่า IC_{50} ดังนี้ Tamoxifen ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 9.6 μ M กับเซลล์ MCF-7 และ 10.3 μ M กับเซลล์ MDA-MB-231 (Mohd. I. Ansari; et al. 2015: 113-124) Palbociclib ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.15 μ M กับเซลล์ MCF-7 และ 0.43 μ M กับเซลล์ MDA-MB-231 Raloxifene เป็นยาที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็งเต้านม ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 50.00 μ M กับเซลล์ MCF-7 (Pavel Arsenyan; et al. 2014: 471-483) นอกจากนี้ 14b-dibenzo-thiepinos ซึ่งเป็นโครงสร้างในงานวิจัยที่ผ่านมา ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 1.33 μ M และ 5.0 μ M กับเซลล์ MDA-MB-231 (Mohd. I. Ansari; et al. 2015: 113-124)

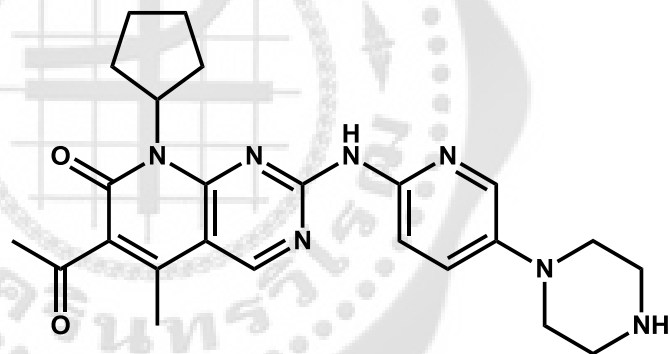
Tamoxifen



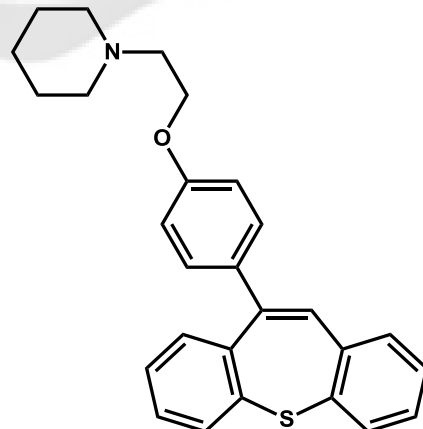
Raloxifene



Palbociclib



14b dibenzo thiepienes



ภาพประกอบ 21 ยารักษาโรคมะเร็งเต้านม (Tamoxifen, Raloxifene, Palbociclib) และสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (14b dibenzo thiepienes)

ตาราง 7 ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับระหว่างเบอเบอรินและยารักษามะเร็งเต้านมกับโปรตีน QR2

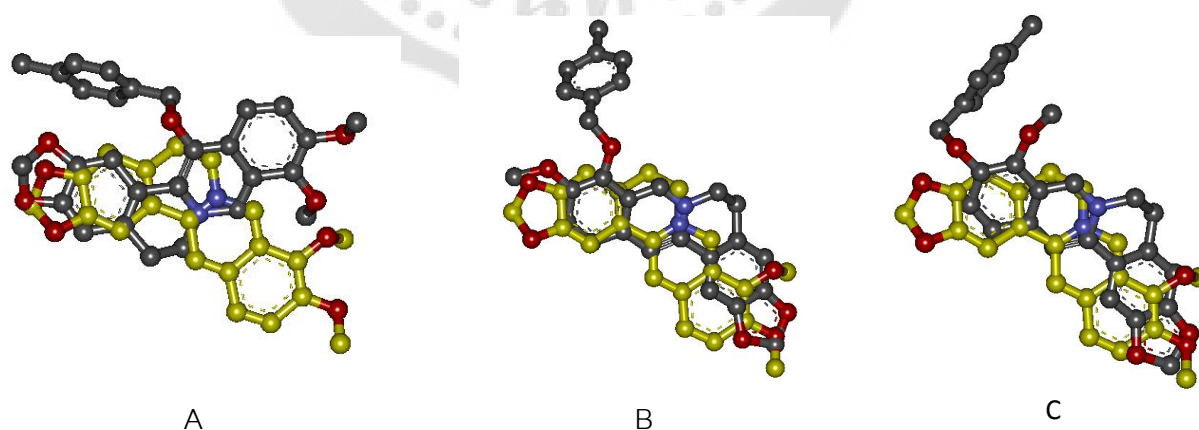
โปรตีน	ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol)				
	BBR_000	Tamoxifen	Raloxifene	Palbociclib	14b dibenzo thiepines
3G5M	-10.63	-10.90	-12.88	-12.11	-14.11

จากตาราง 7 พบว่าเบอเบอรินให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับใกล้เคียงกับยา Tamoxifen ที่เป็นยารักษาโรคมะเร็งเต้านมในกลุ่มเอนไซม์ QR2 ในปัจจุบัน

ดังนั้นจากการทำ Reverse docking สารประกอบเบอเบอรินกับโปรตีนแต่ละกลุ่มเอนไซม์ เปรียบเทียบกับอนุพันธ์ของเบอเบอรินและ ยาที่ใช้รักษามะเร็งเต้านมพบว่า สารประกอบเบอเบอริน สามารถจับกับโปรตีนในกลุ่มเอนไซม์ Quinone Reductase 2 ได้ดีที่สุดและใกล้เคียงกับยา Tamoxifen ที่ใช้รักษาโรคมะเร็งในปัจจุบัน

4.3. ออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอริน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง

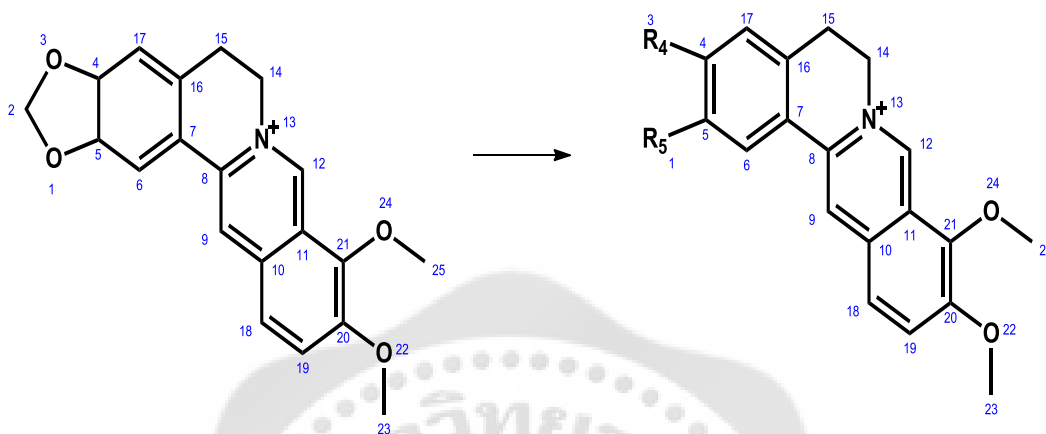
ในการออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอรินเริ่มจากการศึกษาการจับของอนุพันธ์เบอเบอรินในงานวิจัยก่อนหน้านี้กับโปรตีนรหัส 3G5M พบว่าการแทนที่ด้วยหมู่ฟังก์ชันที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่เกินไปในตำแหน่ง R_1 , R_2 และ R_3 จะส่งผลให้โมเลกุลเบอเบอรินเกิดการพลิกตัวดังภาพประกอบ 22



ภาพประกอบ 22 การพลิกตัวของอนุพันธ์เบอเบอริน

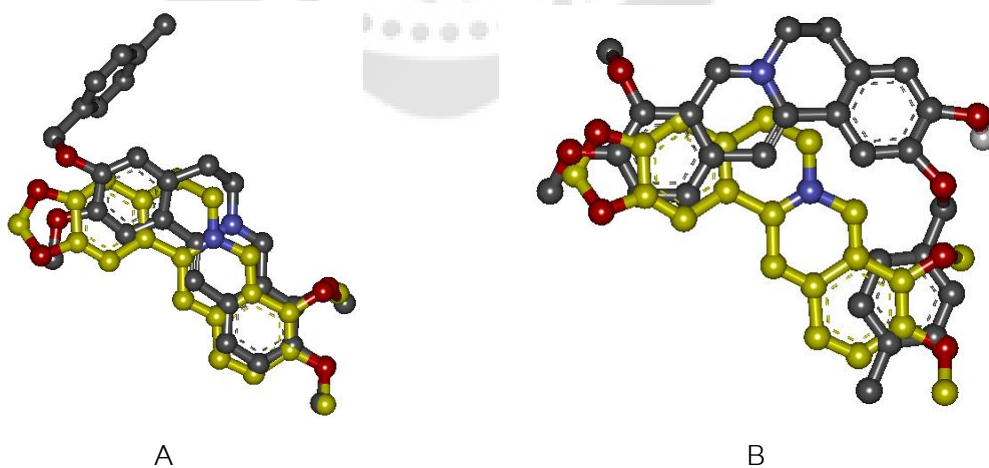
A แทนที่ตำแหน่ง R_1 B แทนที่ตำแหน่ง R_2 C แทนที่ตำแหน่ง R_3

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทดลองออกแบบตำแหน่งแทนที่อื่นนอกจากที่มีในงานวิจัยก่อนหน้านี้ เพื่อหาตำแหน่งที่เหมาะสมสำหรับการออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอรีนโดยการเปิดวง dioxolane ที่ตำแหน่ง 2 เป็นตำแหน่ง R_4 และ R_5 ดังภาพประกอบ 23



ภาพประกอบ 23 ตำแหน่ง R_4 และ R_5 ในการออกแบบอนุพันธ์เบอเบอรีน

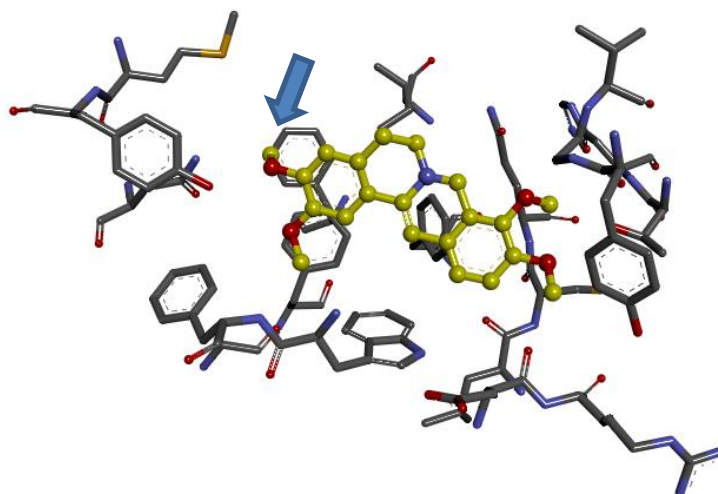
จากการออกแบบอนุพันธ์เบอเบอรีนที่ตำแหน่ง R_4 และ R_5 ด้วย 4-Methylbenzyl alcohol แล้วศึกษาการจับด้วย Molecular docking พบว่าอนุพันธ์ที่ตำแหน่ง R_4 ไม่เกิดการพลิกตัวของโครงสร้างเบอเบอรีน แต่อนุพันธ์ที่ตำแหน่ง R_5 เกิดการพลิกตัวของโครงสร้างเบอเบอรีน ดังภาพประกอบที่ 24



ภาพประกอบ 24 การวางตัวของอนุพันธ์เบอเบอรีนกับเบอเบอรีน

A แทนที่ตำแหน่ง R_4 B แทนที่ตำแหน่ง R_5

จากภาพประกอบ 24 จะพบว่าอนุพันธ์เบอเบอรินกับเบอเบอรินวางตัวในแนวเดียวกัน เนื่องจากบริเวณ R_4 มีพื้นที่ว่างสำหรับการเติมหมู่แทนที่เพื่อเพิ่มแรงอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์เบอเบอรินกับโครงสร้างโปรตีน ดังภาพประกอบ 25



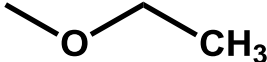




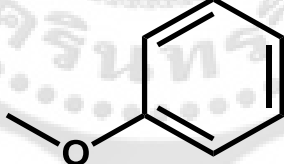
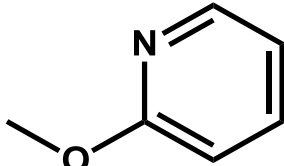
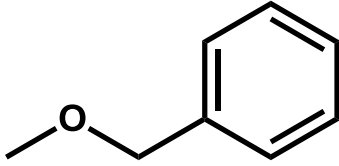
ภาพประกอบ 25 บริเวณการจับของเบอเบอรินกับเอนไซม์ QR2 รหัส 3G5M

และจากการออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอรินที่บริเวณ R_4 แล้วคำนวณหา ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ ด้วยวิธี docking ได้ค่าดังตาราง 8

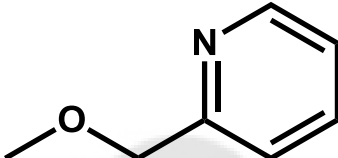
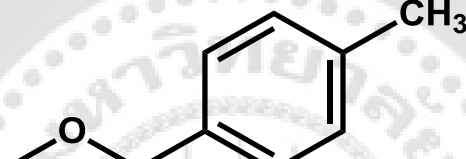
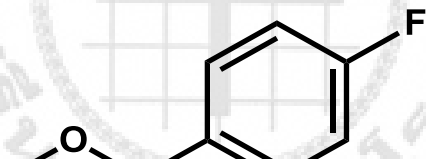
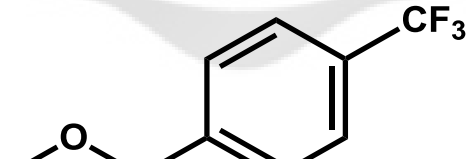
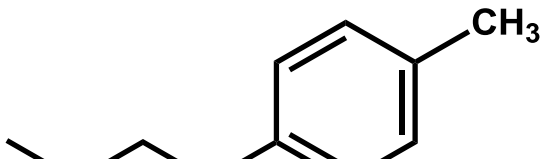
ตาราง 8 แสดงค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ ของอนุพันธ์เบอเบอรินที่ตำแหน่ง R_4

เบอเบอริน	หมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง R_4	ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ (kcal/mol)
BBR_401		-10.04
BBR_402		-10.52

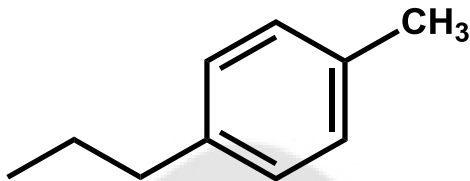
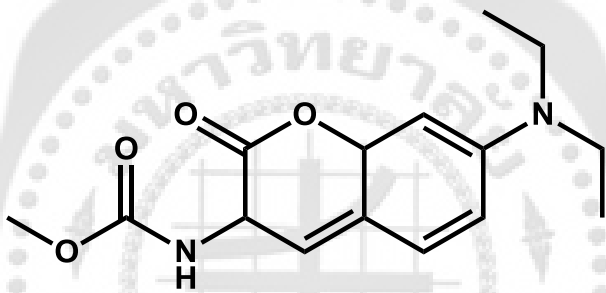
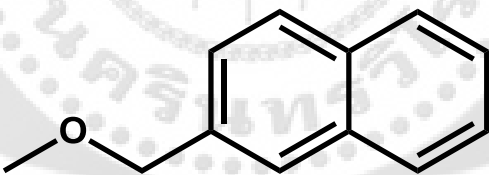
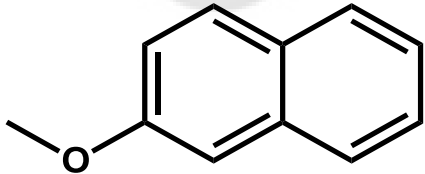
ตาราง 8 (ต่อ)

เบอเบอรีน	หมู่แทนที่	ค่าพลังงานอิสระ ในการเข้าจับ (kcal/mol)
BBR_403		-10.68
BBR_404		-10.97
BBR_405		-10.90
BBR_406		-10.96
BBR_407		-10.52
BBR_408		-11.00
BBR_409		-12.21
BBR_410		-12.30

ตาราง 8 (ต่อ)

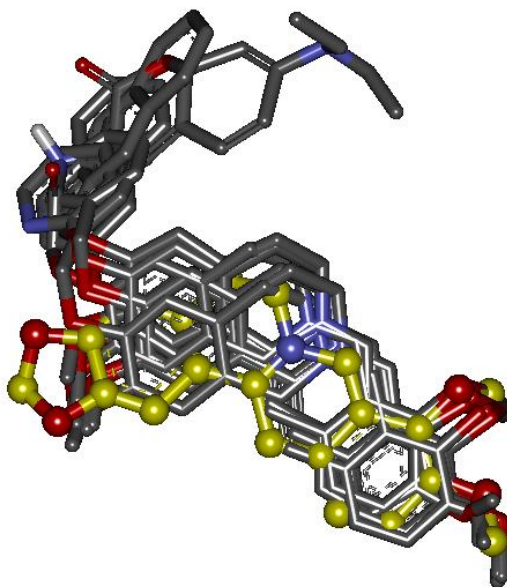
เบอเบอรีน	หมู่แทนที่	ค่าพลังงานอิสระ ในการเข้าจับ (kcal/mol)
BBR_411		-11.29
BBR_412		-11.96
BBR_413		-12.23
BBR_414		-11.84
BBR_415		-11.95

ตาราง 8 (ต่อ)

เบอเบอรีน	หมู่แทนที่	ค่าพลังงานอิสระ ในการเข้าจับ (kcal/mol)
BBR_416		-12.08
BBR_417		-14.29
BBR_418		-12.28
BBR_419		-12.88

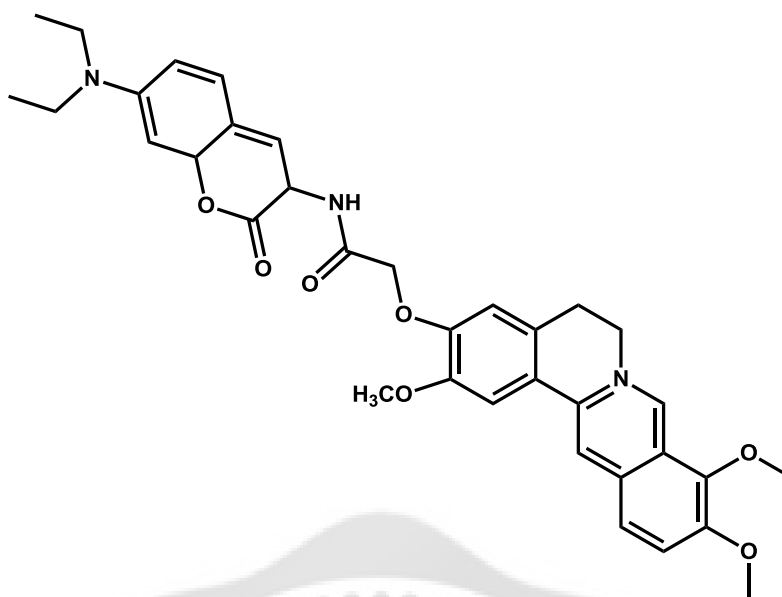
จากตาราง 8 พบว่าอนุพันธ์ของเบอเบอรีนรหัส BBR_408, BBR_409, BBR_413, BBR_417, BBR_418 และ BBR_419 ให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับสูงกว่า Tamoxifen และ Palbociclib แสดงว่าอนุพันธ์ของเบอเบอรีนดังกล่าวสามารถจับกับเอนไซม์ QR2 ได้ดีกว่ายา

Tamoxifen และ Palbociclib และเมื่อพิจารณาการวางตัวของอนุพันธ์เบอเบอรินดังกล่าวพบว่าไม่เกิดการพลิกตัวเมื่อเทียบกับเบอเบอรินดังภาพประกอบ 26



ภาพประกอบ 26 การวางตัวของอนุพันธ์เบอเบอรินกับเบอเบอริน

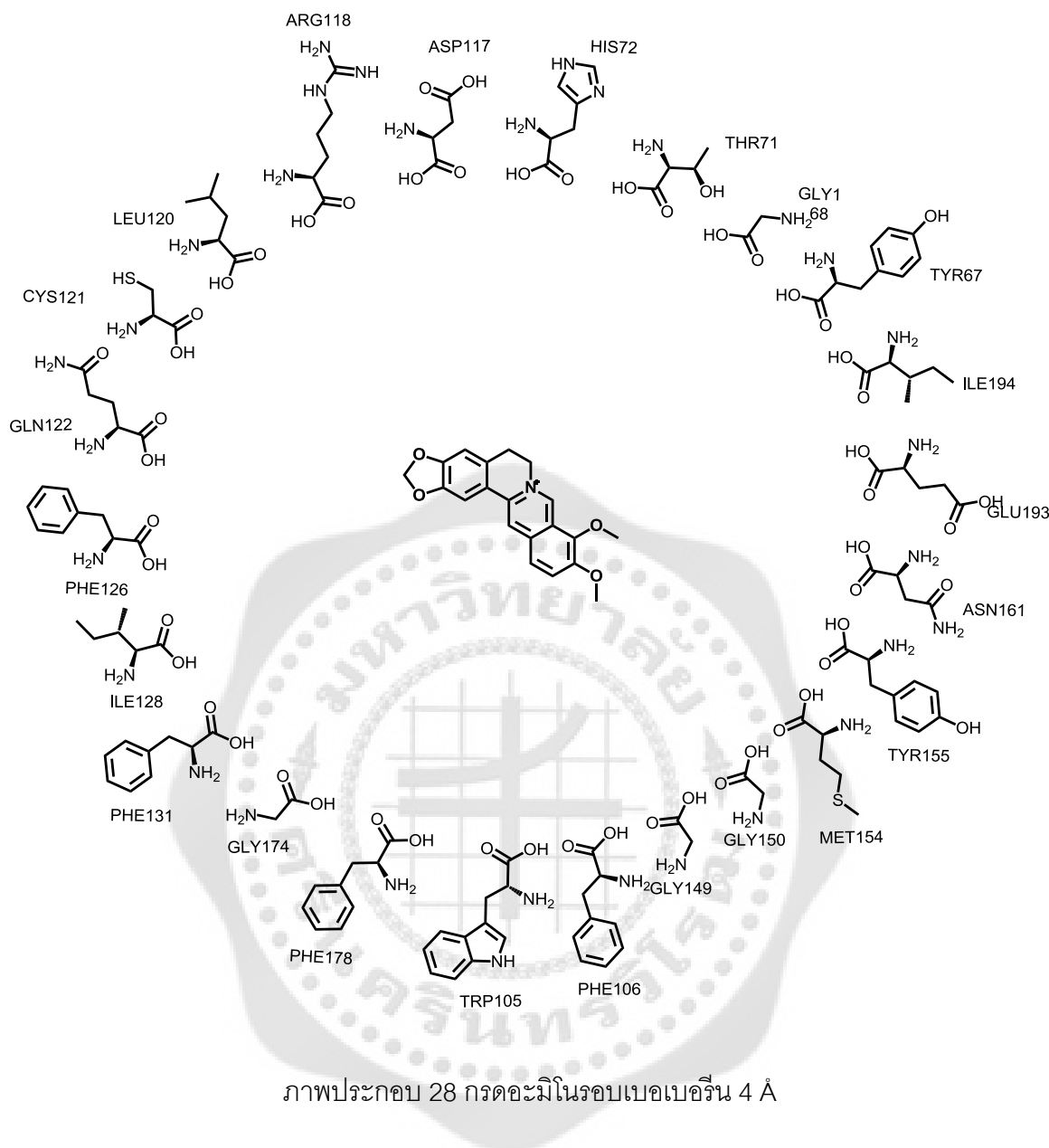
นอกจากนี้ BBR_417 (ภาพประกอบ 27) ยังให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับสูงกว่ายา Raloxifene และสาร 14b_dibenzo_thiepines จึงนำอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_417 มาคำนวณหาอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์ QR2 รหัส 3G5M เทียบกับเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินที่ให้ค่า IC_{50} ดีที่สุด



ภาพประกอบ 27 อนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_417

4.4. กลศาสตร์ควอนตัมเพื่อคำนวณหาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งต่อกรดอะมิโนที่สำคัญในบริเวณการจับของโปรตีน

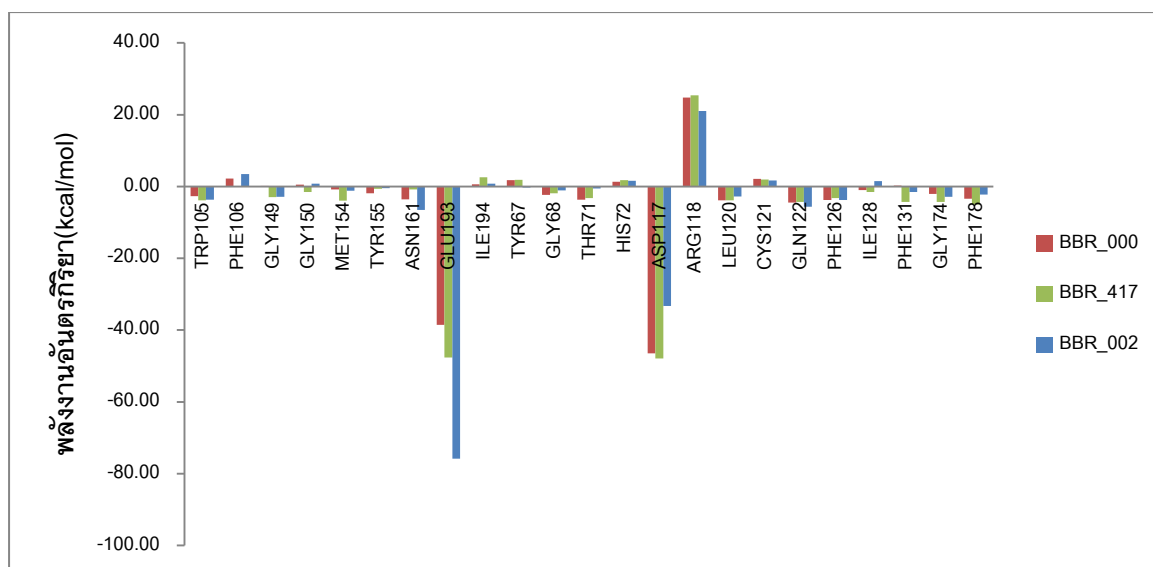
การศึกษาพลังงานอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณโพรงการจับของโปรตีน QR2 ด้วยระเบียบวิธี M062X โดยใช้ 6-31G(d,p) basis set เพื่อคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของโปรตีน QR2 จะสามารถหาได้จากการคำนวณค่า IE (Interaction energy) ซึ่งเป็นพลังงานอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนแต่ละกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณโพรงการจับของโปรตีน ถ้าค่า IE ติดลบมากแสดงว่ากรดอะมิโนเกิดอันตรกิริยาได้ดีกับตัวยับยั้ง ซึ่งจากการศึกษากรดอะมิโนในบริเวณโพรงการจับรอบๆเบอเบอริน ระยะ 4 Å พบว่ามีประกอบด้วยกรดอะมิโน 23 ตัวดังนี้ Trp105, Phe106, Gly149, Gly150, Met154, Tyr155, Asn161, Glu193, และ Ile194 ในโปรตีนสาย A Tyr67, Gly68, Thr71, His72, Asp117, Arg118, Leu120, Cys121, Gln122, Phe126, Ile128, Phe131, Gly174 และ Phe178 ในโปรตีนสาย B ดังภาพประกอบ 28



จากการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณโพรงการจับของโปรตีน QR2 พบว่าเบอเบอรีนเกิดอันตรกิริยาที่สำคัญกับกรดอะมิโน ในบริเวณการจับของเอนไซม์ QR2 ดังนี้ Glu193A, Asp117B ให้ค่า IE เท่ากับ -36.56 และ -46.52 kcal/mol ตามลำดับ อนุพันธ์เบอเบอรีนรหัส BBR_002 เกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโน Glu193A, Asp117B ให้ค่า IE เท่ากับ -75.86 และ -33.27 kcal/mol ตามลำดับ และอนุพันธ์เบอเบอรีนรหัส BBR_417 เกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโน Glu193A, Asp117B ให้ค่า IE เท่ากับ -47.62 และ -47.94 kcal/mol ตามลำดับ ซึ่งจากพลังงานอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นอันตรกิริยาแบบดึงดูด ดังตาราง 9 และภาพประกอบ 29

ตาราง 9 ค่า IE ระหว่างเบอเบอริ่น อนุพันธ์เบอเบอริ่นกับกรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์
QR 2 ด้วยระเบียบวิธี M062X โดยใช้ basis set 6-31G(d,p)

Amino	BBR_000	BBR0_002	BBR_417
	IE(kcal/mol)	IE(kcal/mol)	IE(kcal/mol)
TRP105A	-2.67	-3.71	-3.88
PHE106A	2.18	3.45	-0.08
GLY149A	0.21	-2.89	-2.95
GLY150A	0.52	0.80	-1.52
MET154A	-0.82	-1.19	-3.90
TYR155A	-1.91	-0.43	-0.59
ASN161A	-3.60	-6.50	-0.82
GLU193A	-38.56	-75.86	-47.62
ILE194A	0.60	0.79	2.57
TYR67B	1.76	-0.25	1.90
GLY68B	-2.37	-1.06	-1.86
THR71B	-3.69	-0.56	-3.21
HIS72B	1.30	1.61	1.74
ASP117B	-46.52	-33.27	-47.94
ARG118B	24.79	21.03	25.37
LEU120B	-3.84	-2.82	-3.81
CYS121B	2.10	1.71	1.93
GLN122B	-4.50	-5.65	-4.30
PHE126B	-3.78	-3.76	-3.26
ILE128B	-1.03	1.54	-1.52
PHE131B	0.24	-1.54	-4.33
GLY174B	-2.06	-2.89	-4.33
PHE178B	-3.38	-2.27	-5.00



ภาพประกอบ 29 แสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอริน

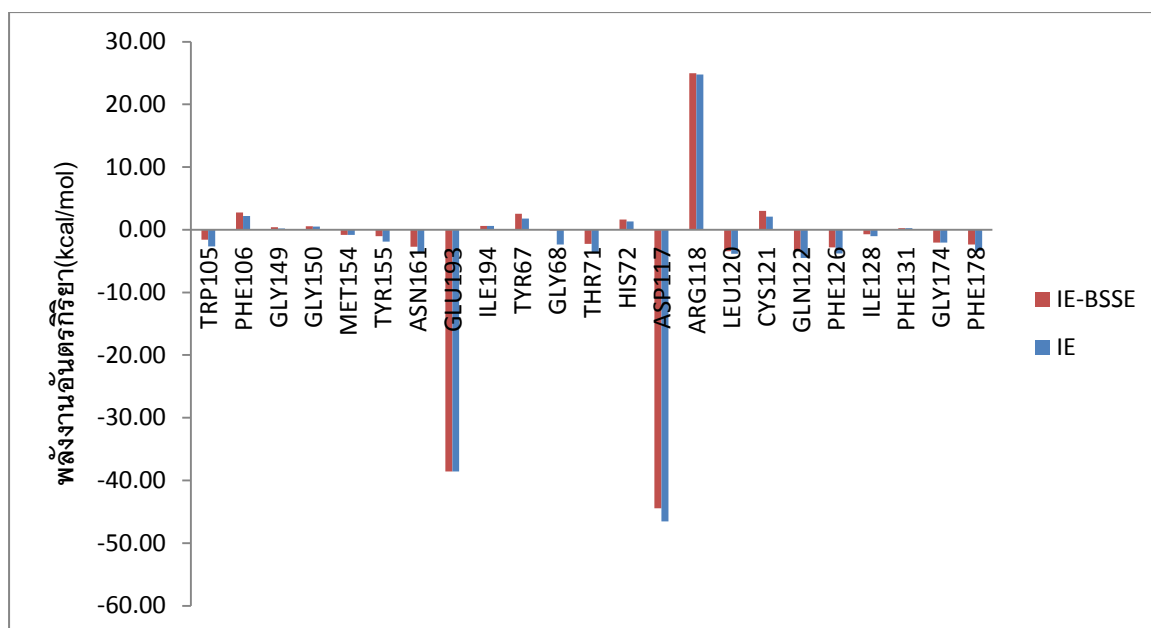
จากนั้นทำการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2 ด้วยระเบียบวิธี M062X โดยใช้ 6-31(d,p) basis set โดยการคำนวณแบบ IE-BSSE เพื่อให้ค่าพลังงานมีความถูกต้องมากขึ้น เนื่องจากวิธีคำนวณแบบ BSSE มีการลดค่าความผิดพลาดจาก basic set ทำให้ได้ค่าพลังงานอันตรกิริยาที่คาดว่าได้ใกล้เคียงกับค่าจริงมากที่สุด ดังตาราง 10

ตาราง 10 ค่า IE-BSSE ระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์ Quinone Reductase2 ด้วยระเบียบวิธี M062X โดยใช้ basis set 6-31G(d,p)

Amino	BBR_000	BBR_002	BBR_417
	IE-BSSE (kcal/mol)	IE-BSSE (kcal/mol)	IE-BSSE (kcal/mol)
Trp105A	-1.61	-3.71	-3.88
Phe106A	2.73	3.45	-0.08
Gly149A	0.38	-2.89	-2.95
Gly150A	0.58	0.80	-1.52

ตาราง 10 (ต่อ)

Amino	BBR_000	BBR_002	BBR_417
	IE-BSSE	IE-BSSE	IE-BSSE
	(kcal/mol)	(kcal/mol)	(kcal/mol)
Met154A	-0.82	-1.19	-3.90
Tyr155A	-1.01	-0.43	-0.59
Asn161A	-2.73	-6.50	-0.82
Ala191A	0.54	0.61	0.33
Pro192A	0.63	0.81	0.60
Glu193A	-38.55	-75.86	-47.62
Ile194A	0.60	0.79	2.57
Tyr67B	2.55	-0.25	1.90
Gly68B	-0.10	-1.06	-1.86
Thr71B	-2.27	-0.56	-3.21
His72B	1.62	1.61	1.74
Asp117B	-44.43	-33.27	-45.63
Arg118B	24.96	21.03	25.37
Leu120B	-3.42	-2.82	-3.81
Cys121B	3.01	1.71	1.93
Gln122B	-3.36	-5.65	-4.30
Phe126B	-2.79	-3.76	-3.26
Ile128B	-0.70	1.54	-1.52
Phe131B	0.24	-1.54	-4.33
Phe178B	-2.33	-2.27	-5.00



ภาพประกอบ 30 เปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาระหว่างวิธีคำนวณแบบ IE กับ IE-BSSE ของเบอเบอริน

จากการคำนวณค่าพลังงานอันตรกิริยาระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับเอนไซม์ QR2 ด้วยวิธีคำนวณแบบ IE-BSSE พบว่าพลังงานอันตรกิริยาที่คำนวณได้มีความแตกต่างจากการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาแบบปกติเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังแสดงในภาพประกอบ 30 นอกจากนี้พบว่า การคำนวณพลังงานอันตรกิริยาในระบบแก๊สเฟส (Gas phase) จะเกิดความคลาดเคลื่อนจากการคำนวณแรงดึงดูดทางไฟฟ้า (Electrostatic interaction) ระหว่างโมเลกุล เนื่องจากเบอเบอรินมีประจุเป็นบวกจึงเกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้ากับกรดอะมิโนที่มีประจุลบส่งผลให้พลังงานอันตรกิริยาระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนปจะจุ่มีค่าน้อยแม้อยู่ไกลจากเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินมาก ดังนั้นจึงทำการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2 ด้วยระเบียบวิธี M062X โดยใช้ 6-31(d,p) basis set โดยทำการศึกษาผลของตัวทำละลาย (Solvent) ต่อค่าพลังงานอันตรกิริยาเพื่อให้ได้ค่าพลังงานอันตรกิริยาเข้าใกล้ค่าจริงมากขึ้น เนื่องจากในโครงสร้างโมเลกุลของเซลล์จะมีน้ำเป็นตัวทำละลายที่สำคัญ ดังนั้นในการศึกษาผลของตัวทำละลายต่อค่าพลังงานอันตรกิริยา จะเลือกใช้ น้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งจากผลของการศึกษาผลของตัวทำละลายแสดงดังตาราง 11

ตาราง 11 ค่า IE ระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์ Quinone Reductase2 โดยมีน้ำเป็นตัวทำละลาย ด้วยระเบียบวิธี M062X โดยใช้ basis set 6-31G(d,p)

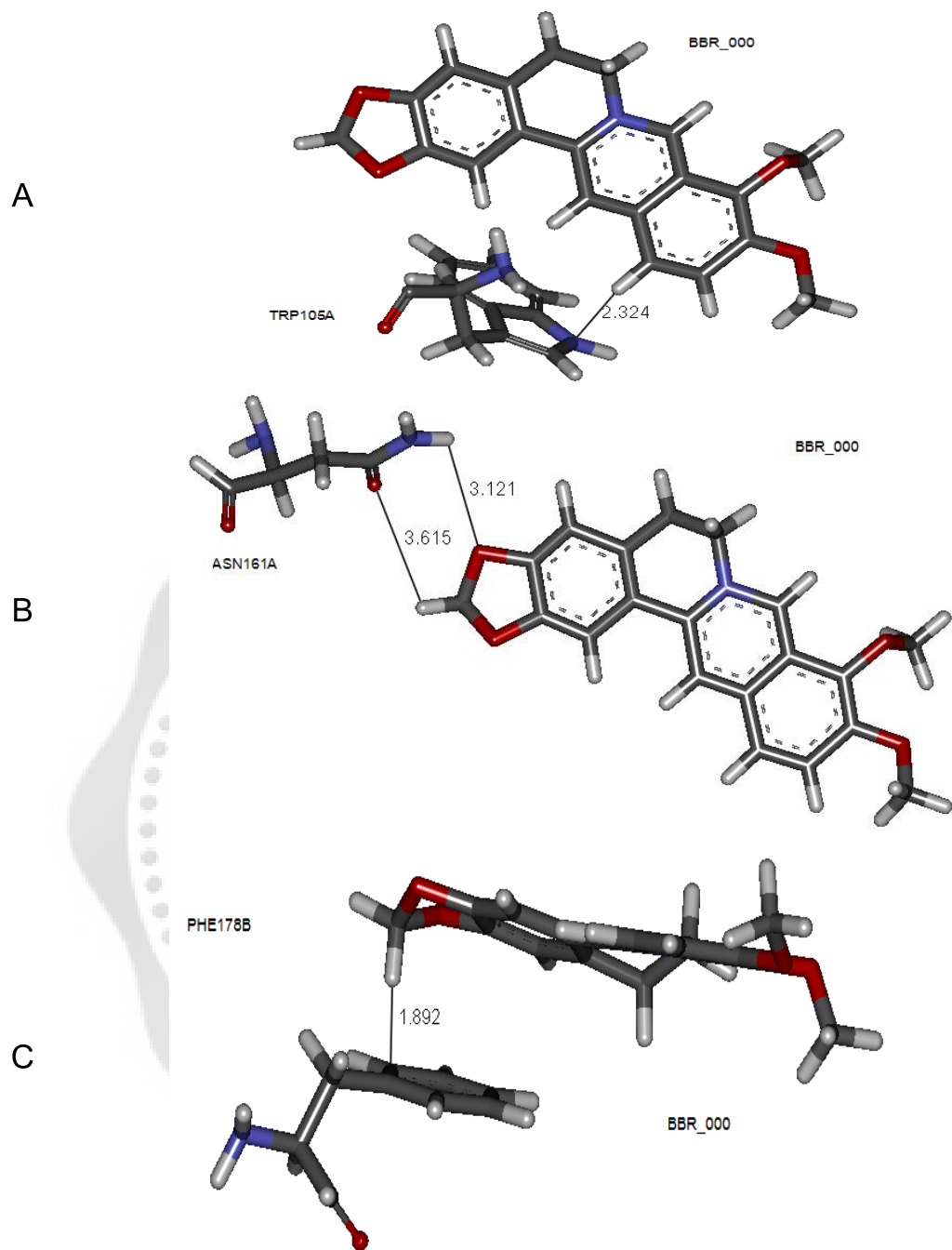
Amino	BBR_000	BBR_002	BBR_417
	IE	IE	IE
	(kcal/mol)	(kcal/mol)	(kcal/mol)
Trp105A	-2.62	-0.93	-3.35
Phe106A	1.12	1.98	-1.00
Gly149A	-0.44	-1.92	-1.95
Gly150A	-0.19	-0.17	-1.25
Met154A	-0.01	0.62	-2.65
Tyr155A	-1.23	-0.51	-0.48
Asn161A	-2.13	-3.32	-1.99
Ala191A	-0.03	0.06	-0.31
Pro192A	0.06	0.11	-0.02
Glu193A	-0.47	-9.69	0.42
Ile194A	-0.02	0.04	1.96
Tyr67B	1.01	-0.88	0.89
Gly68B	-0.21	-1.31	-0.35
THR71B	-1.50	-0.06	-1.47
HIS72B	-0.40	-0.12	-0.36
ASP117B	-1.31	-0.45	-0.62
ARG118B	-0.24	0.33	-0.31
LEU120B	-0.91	-0.04	-0.91
CYS121B	0.43	0.05	0.33
GLN122B	0.44	-1.20	0.21
PHE126B	-1.95	-0.86	-1.74
ILE128B	-0.53	1.80	-0.69
PHE131B	-0.07	-1.08	-3.13

ตาราง 11 (ต่อ)

	BBR_000	BBR_002	BBR_417
Amino	IE	IE	IE
	(kcal/mol)	(kcal/mol)	(kcal/mol)
GLY174B	-0.13	-0.69	-1.09
PHE178B	-2.05	-1.03	-3.34

จากตาราง 11 พบว่าการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างเบอเบอรีนและอนุพันธ์เบอเบอรีนกับเอนไซม์ QR2 โดยคำนวณผลจากตัวทำละลายสามารถลดความคลาดเคลื่อนจากการคำนวณแรงดึงดูดทางไฟฟ้าระหว่างเบอเบอรีนและอนุพันธ์เบอเบอรีนกับกรดอะมิโนที่มีประจุลบได้ ทำให้ทราบกรดอะมิโนที่สำคัญภายในบริเวณโพรงการจับที่สำคัญของเอนไซม์ QR2 กับเบอเบอรีนและอนุพันธ์

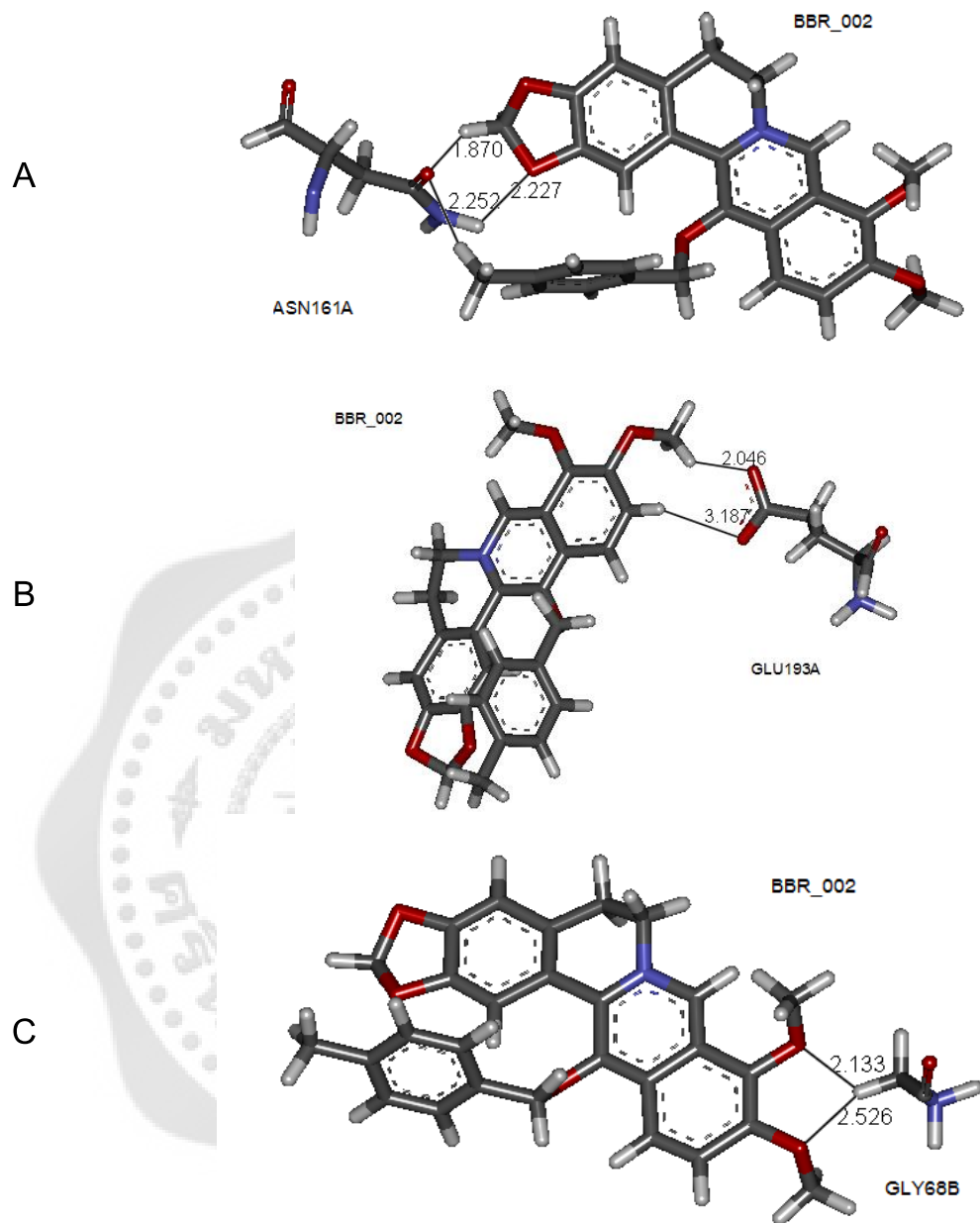
จากพลังงานอันตรกิริยาพบอันตรกิริยาที่สำคัญระหว่างเบอเบอรีนกับกรดอะมิโน คือ พันธะไฮโดรเจนระหว่างไนโตรเจนของกรดอะมิโน Trp105A กับ ไฮโดรเจนที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 18 ของเบอเบอรีนมีความยาวพันธะเท่ากับ 2.324 Å พันธะไฮโดรเจนระหว่างออกซิเจนที่ตำแหน่งคาร์บอนนิลของกรดอะมิโน Asn161A กับไฮโดรเจนที่ตำแหน่งคาร์บอน 2 มีความยาวพันธะเท่ากับ 3.615 Å พันธะไฮโดรเจนระหว่างไฮโดรเจนที่หมู่เอมีนของกรดอะมิโน Asn161A กับออกซิเจนตำแหน่ง 3 มีความยาวพันธะเท่ากับ 3.121 Å และพันธะไฮโดรเจนระหว่างวงโรมาติกของกรดอะมิโน Phe178B กับไฮโดรเจนที่ตำแหน่งคาร์บอน 2 มีความยาวพันธะเท่ากับ 1.892 Å ดังแสดงในภาพประกอบ 31



ภาพประกอบ 31 อันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_000 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2

อันตรกิริยาที่สำคัญระหว่างอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_002 กับกรดอะมิโน คือ พันธะไฮโดรเจนระหว่างออกซิเจนตำแหน่งคาร์บอนิลของกรดอะมิโน Asn161A กับไฮโดรเจนที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 2 ของ BBR_002 มีความยาวพันธะเท่ากับ 1.870 Å พันธะไฮโดรเจนระหว่างออกซิเจนตำแหน่งคาร์บอนิลของกรดอะมิโน Asn161A กับไฮโดรเจนที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 33 ของ BBR_002 มีความยาวพันธะเท่ากับ 2.252 Å พันธะไฮโดรเจนระหว่างไฮโดรเจนที่ตำแหน่งเอมีนของกรดอะมิโน Asn161A กับออกซิเจนตำแหน่ง 1 ของ BBR_002 มีความยาวพันธะเท่ากับ 2.227 Å พันธะไฮโดรเจนระหว่างออกซิเจนที่ตำแหน่งคาร์บอนิลของกรดอะมิโน Glu193A กับไฮโดรเจนที่ตำแหน่งคาร์บอน 19 มีความยาวพันธะเท่ากับ 3.187 Å พันธะไฮโดรเจนระหว่างออกซิเจนที่ตำแหน่งคาร์บอนิลของกรดอะมิโน Glu193A กับไฮโดรเจนที่ตำแหน่งคาร์บอน 23 มีความยาวพันธะเท่ากับ 2.046 Å และพันธะไฮโดรเจนระหว่างไฮโดรเจนของกรดอะมิโน Gly68B กับออกซิเจนตำแหน่ง 22 และ 24 ของ BBR_002 มีความยาวพันธะเท่ากับ 2.526 Å และ 2.133 Å ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 32

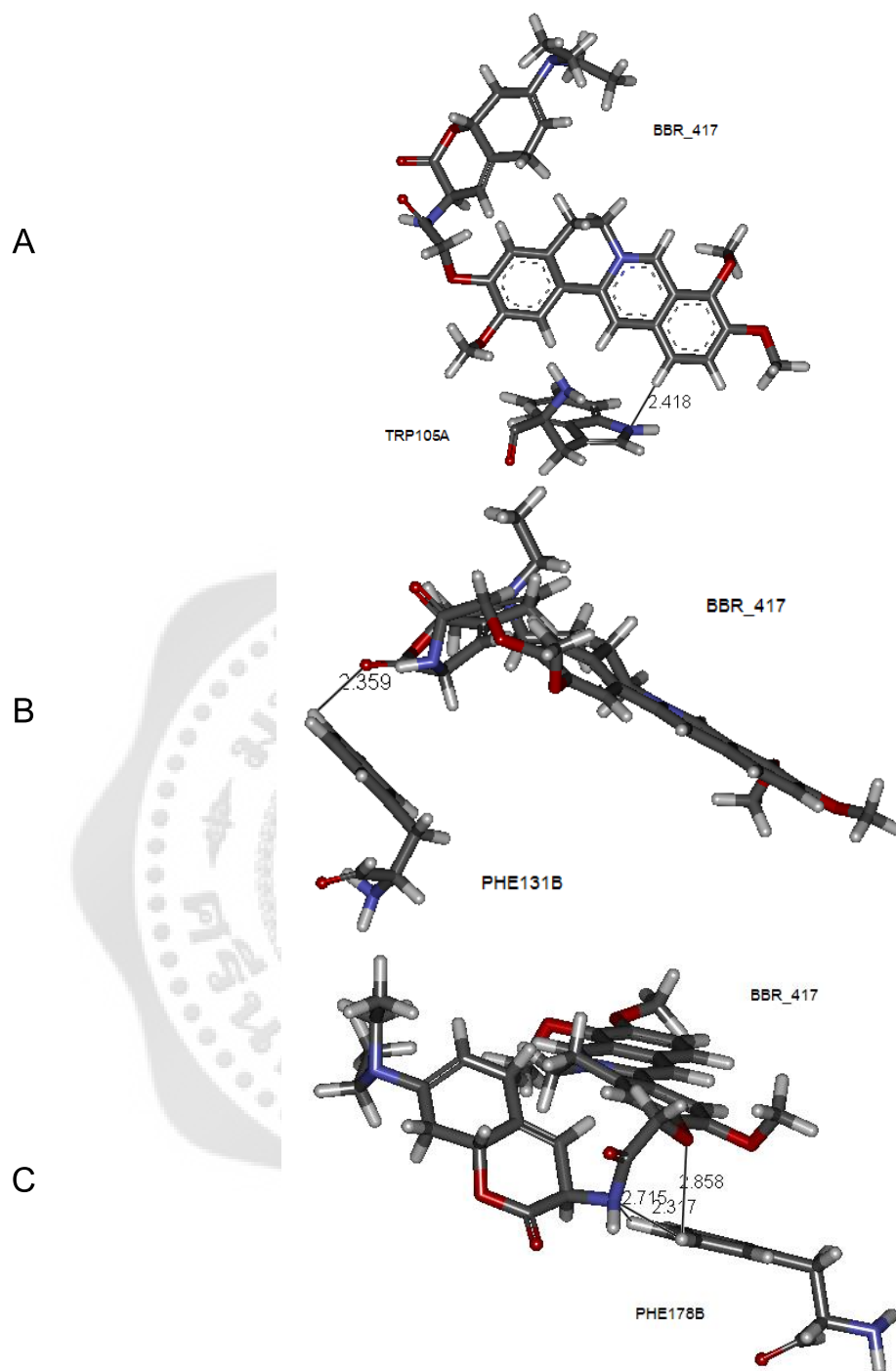




ภาพประกอบ 32 อันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_002 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2

อันตรกิริยาที่สำคัญระหว่างอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_417 กับกรดอะมิโน คือ พันธะไฮโดรเจนระหว่างไนโตรเจนในวงอินโดลของกรดอะมิโน Trp105A กับไฮโดรเจนที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 18 ของ BBR_417 มีความยาวพันธะเท่ากับ 2.418 Å พันธะไฮโดรเจนระหว่างออกซิเจนในวงอะโรมาติกของกรดอะมิโน Phe131B กับออกซิเจนของ BBR_417 มีความยาวพันธะเท่ากับ 2.359 Å พันธะไฮโดรเจนระหว่างไฮโดรเจนในวงอะโรมาติกของกรดอะมิโน Phe178B กับออกซิเจนของ BBR_417 มีความยาวพันธะเท่ากับ 2.858 Å และพันธะไฮโดรเจนระหว่างไฮโดรเจนในวงอะโรมาติกของกรดอะมิโน Phe178B กับไนโตรเจนของ BBR_417 มีความยาวพันธะเท่ากับ 2.715 Å และ 2.317 Å ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 33





ภาพประกอบ 33 อันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_002 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2

จากการคำนวณอันตรกิริยาระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2 ทำให้ทราบว่ากรดอะมิโนที่สำคัญในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2 ที่เกิดอันตรกิริยากับเบอเบอรินคือ Trp105A, Asn161A และ Phe178B ซึ่งเกิดพันธะไฮโดรเจนกับเบอเบอริน จากนั้นพิจารณาการจับอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_002 กับกรดอะมิโนในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2 พบว่า กรดอะมิโน Glu193A เกิดพันธะไฮโดรเจนกับ BBR_002 ในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2 และให้พลังงานอิสระในการเข้าจับดีที่สุดที่ -9.69 kcal/mol ซึ่งจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องที่ทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของ BBR_002 กับเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 พบว่า BBR_002 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ MCF-7 ได้ดีกว่าเบอเบอรินทำให้ทราบว่ากรดอะมิโน Glu193A มีความสำคัญที่ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ MCF-7 และอนุพันธ์เบอเบอริน BBR_417 เกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน Trp150A, Phe131B และ Phe178B ในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2



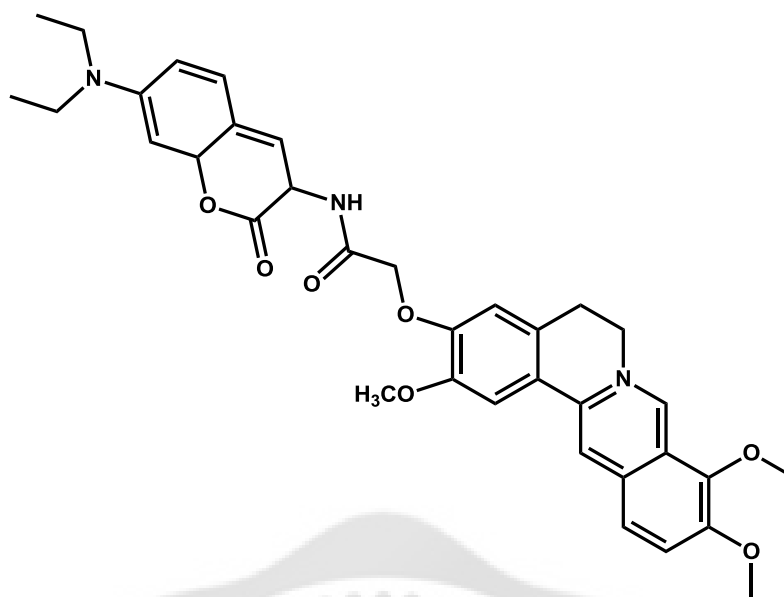
บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การศึกษารอกแบบอนุพันธ์เบอเบอรินต่อเอนไซม์เป้าหมายสำหรับมะเร็งเต้านม ด้วยวิธีครอส-ดีอกกิ้ง โดยใช้พารามิเตอร์ที่ดีที่สุดนี้ กำหนดขนาดของ Grid เท่ากับ $60*60*60 \text{ \AA}$ ตำแหน่งจุดศูนย์กลางของ Grid อยู่ที่บริเวณโพรงการจับของเอนไซม์หรือตำแหน่งเดิมของลิแกนด์ที่อยู่ในโครงสร้างเอนไซม์ โดยมีขนาดของ grid point spacing เท่ากับ 0.375 \AA และคำนวณด้วยวิธี Lamarckian GA โดยใช้รูปแบบในการคำนวณเป็นแบบ Random ทำการคำนวณทั้งหมด 150 รอบ ในการศึกษาหาเอนไซม์เป้าหมายของเบอเบอริน และการออกแบบอนุพันธ์ของเบอเบอริน

ผลการศึกษาหาเอนไซม์เป้าหมายของเบอเบอรินทำให้ทราบว่าเบอเบอรินสามารถเกิดอันตรกิริยากับเอนไซม์ในกลุ่มเอนไซม์ QR2 ได้ดีที่สุดจากเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม โดยให้พลังงานอิสระในการเข้าจับระหว่างเบอเบอรินกับเอนไซม์ QR2 เท่ากับ -10.63 kcal/mol และเกิดอันตรกิริยาที่สำคัญกับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของโครงสร้างเอนไซม์ QR2 คือ Gly68B, Thr71B, Asp117B, และ Gln122B

ผลการออกแบบอนุพันธ์เบอเบอรินโดยเปรียบเทียบค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับของอนุพันธ์เบอเบอรินกับตัวยาที่ใช้ในการรักษามะเร็งเต้านมและอนุพันธ์ของเบอเบอรินในงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่าอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_417 ดังภาพประกอบ 34 ให้ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับดีที่สุดที่ -14.29 kcal/mol มีค่าใกล้เคียงกับตัวยาที่ใช้ในการรักษามะเร็งเต้านม และสูงกว่าอนุพันธ์เบอเบอรินในงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีการทดสอบฤทธิ์ในห้องปฏิบัติการแล้วให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.005 \mu g/mL



ภาพประกอบ 37 อนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_417

ผลการศึกษาพลังงานอันตรกิริยาระหว่างเบอเบอรินและอนุพันธ์เบอเบอรินกับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2 ทำให้ทราบว่าภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ QR2 มีกรดอะมิโนที่สำคัญต่อการเกิดอันตรกิริยากับเบอเบอรินและอนุพันธ์คือ Trp150A, Asn161A, และ Glu193A โดยมีค่าพลังงานอันตรกิริยากับเบอเบอรินเท่ากับ -2.62, -2.13 และ -0.47 kcal/mol ตามลำดับ พลังงานอันตรกิริยากับ BBR_002 เท่ากับ -0.93, -3.32 และ -9.69 kcal/mol ตามลำดับ และพลังงานอันตรกิริยากับ BBR_417 เท่ากับ -3.35, -1.99 และ 0.42 kcal/mol ตามลำดับ

จากข้อมูลโครงสร้างดังกล่าว สามารถนำไปใช้เป็นประโยชน์ในการพัฒนาและออกแบบอนุพันธ์เบอเบอริน หรือนำไปใช้ในการออกแบบยาที่ใช้ในการรักษา มะเร็งเต้านมเดิมให้มีประสิทธิภาพในการจับกับเอนไซม์ QR2 เพื่อยับยั้งมะเร็งเต้านมอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น และจากงานวิจัยนี้พบว่าอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_417 สามารถจับกับเอนไซม์ QR2 ได้อย่างมีประสิทธิภาพจึงควรนำอนุพันธ์เบอเบอรินรหัส BBR_417 มาสังเคราะห์เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป



บรรณานุกรม

กลุ่มงานเทคโนโลยีสารสนเทศ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. (2557). *ทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล* :

2555. กรุงเทพฯ: บริษัท โรงพิมพ์ตะวันออก จำกัด (มหาชน).

เฉลียว ปิยะชน. (2555). *เรื่องมะเร็งที่หมอ (อาจ) ไม่ได้บอกคุณ*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ:

บริษัทอัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง

ชญาวลี ศรีสุโข (2552). *ต้าน 4 มะเร็งร้ายในผู้หญิง*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: บริษัท

อัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง

ธีรเกียรติ์ เกิดเจริญ. (2539). *เคมีคอมพิวเตอร์ช่วยออกแบบโมเลกุล กับการพัฒนาเทคโนโลยี*.

วารสารเทคโนโลยีวัสดุ. 39(4): 17-22

พิสมัย เหล่าภัทรเกษม. (2548). *บทบาทของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการป้องกันและรักษามะเร็ง*.

ศรีนครินทร์เวชสาร. 20(3): 180-189.

อัญชุลี อุธา. (2554). *กินต้านมะเร็งต้านม*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์บีเวลล์ สปีชีเยล.

อทิทยา ศิริภิญโญนนท์ ; และคนอื่น ๆ. (2546). *เคมีศาสตร์แห่งสสาร: เคมีและการโยนโยกับสาขาอื่น*.

วารสาร UpDATE. 46(192): 41.

อดุลย์เดช ไสลดบาท. (2556). *โรคมะเร็งที่เกิดขึ้นเนื่องจากการทำงาน*. (เอกสารประกอบการสอน).

อุบลราชธานี: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. อัดสำเนา.

Abdul Azeez, K. R.; et al. (2014). The crystal structure of the RhoA-AKAP-Lbc DH-PH

domain complex. *Biochemical Journal*. 464: 231-239.

Arup Maiti, P. V.; et al. (2009). Synthesis of casimiroin and optimization of its quinone

reductase 2 and aromatase inhibitory activities. *Journal of Medicinal Chemistry*. 52:

1873-1884.

Debashis G.; et al. (2012). Novel aromatase inhibitors by structure-guided design.

Medical Chemistry. 55: 8464-8476.

Elham S., Abdol-Khalegh B. and Najmeh F.; (2015). Piperine derivatives as potential

inhibitors of Survivin: An in silicomolecular docking. *Computers in Biology and*

Medicine. 63: 219-227.

Han-Pang K.; et al. (2012). Berberine, an isoquinoline alkaloid, inhibits the metastatic

potential of breast cancer cells via akt pathway modulation. *Journal of Agricultural*

and Food Chemistry. 60: 9649-9658.

- Liu, X. and Ladas, J. A. A.; (2013). Structural basis for the BRCA1 BRCT interaction with the proteins ATRIP and BAAT1. *Biochemistry*. 52(43): 7618-7627.
- Mamatha S.; et al. (2015). Anticancer activity of methanolic extract of berberis aristata in MCF-7 human breast cancer cell lines. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research Vol.4. NO. 1*.
- Nunriam P.; et al. (2005). Particular interaction between efavirenz and the HIV-1 reverse transcriptase binding site as explained by the ONIOM2 method. *Chemical Physics Letters*. 405: 198-202.
- Olivier N.; et al. (2000). Identification of the melatonin-binding site MT3 as the quinone reductase 2. *Biological Chemistry*. 40: 31311-31317.
- Parham J. K.; et al. (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.
- Prasad D.; et al. (2014). Anticancer phytochemical analogs 37: synthesis, characterization, molecular docking and cytotoxicity of novel plumbagin hydrazones against breast cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 24: 2900-2904.
- Ramasamy T. and Ricardo L. M.; (2010). Ligand-protein cross-docking with water molecules. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 50: 415-421.
- Sadhna S.; et al. (2015). Assessment of microtubule depolymerization property of flavonoids isolated from *Tanacetum gracile* in breast cancer cells by biochemical and molecular docking approach. *Chemico-Biological Interactions*. 239: 1-11.
- Sheng-Nan L.; et al. (2013). Inhibition of CYP1 by berberine, palmatine, and jatrorrhizine: selectivity, kinetic characterization, and molecular modeling. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 272: 671-680.
- Zorba, A.; et al. (2014). Molecular mechanism of Aurora A kinase autophosphorylation and its allosteric activation by TPX2. *Elife*.



ภาคผนวก

อภิธานศัพท์

IC ₅₀	Concentration of a drug that is required for 50% inhibition of viral replication in vitro.
RMSD	Root mean square deviation
IE	Interaction energy
Arg	Arginine
Asn	Asparagine
Asp	Aspartic Acid
Cys	Cysteine
Gln	Glutamine
Glu	Glutamic Acid
Gly	Glycine
His	Histidine
Ile	Isoleucine
Leu	Leucine
Met	Methionine
Phe	Phenylalanine
Thr	Threonine
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosine
Kcal/mol	Kilocalorie per mole
µg/mL	Microgram per milliliter
µM	Micromolar
Å	Angstrom



ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อสกุล	นายวันชนะ ชนกชนีกุล
วันเดือนปีเกิด	19 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2534
สถานที่เกิด	จังหวัดสมุทรปราการ
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 80/110 หมู่ 9 ซอยบุญศิริ 13 ตำบลบางเมือง ใหม่ อำเภอเมืองสมุทรปราการ จังหวัดสมุทรปราการ 10270
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2552	มัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสตรีสมุทรปราการ อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ
พ.ศ. 2556	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จังหวัดกรุงเทพมหานคร
พ.ศ. 2559	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมี จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จังหวัดกรุงเทพมหานคร