

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ฮิสโตนดีอะเซทิลเลส 8

ด้วยสารแคมป์เฟอร์อลและอนุพันธ์ โดยวิธีโมเลกุลาร์ดีคกิง

Histone Deacetylase 8 Inhibitory Activity of Kaempferol and Its Derivatives:

a Molecular Docking Study

ปวิณชญา นาจันทัด (Pawinchaya Najanthad)* ดร.ชนกพร เผ่าศิริ (Dr.Chanokbhorn Phaosiri)**

ดร.คัทธรินทร์ ศิริวงศ์ (Dr.Khatcharin Siriwong)**

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของฮิสโตนดีอะเซทิลเลส 8 (HDAC8) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง ด้วยสารกลุ่มแคมป์เฟอร์อลจำนวน 5 ชนิด (ได้แก่ แคมป์เฟอร์อล กอสซิปेटิน แคมป์เฟอร์อลออกซิม แคมป์เฟอร์อลเมทิลออกซิม และแคมป์เฟอร์อลไฮดราซีนออกซิม) โดยศึกษาในเทอมของพลังงานอิสระการยึดจับ ($\Delta G_{\text{binding}}$) และค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ด้วยวิธีการจำลองแบบ โมเลกุลาร์ดีคกิง ผลการศึกษาพบว่าสารในกลุ่มนี้มีค่า $\Delta G_{\text{binding}}$ ในช่วง -6.3 ถึง -7.9 kcal/mol และค่า K_i ในช่วง 1.6 ถึง 25.8 μM และเมื่อเปรียบเทียบกับสารซูเบอร์อานิโดไฮโดรซามิกแอซิด (SAHA) ซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งในปัจจุบันและมีค่า $\Delta G_{\text{binding}}$ เท่ากับ -8.2 kcal/mol และ K_i เท่ากับ 1.0 μM จะเห็นว่าสารกลุ่มแคมป์เฟอร์อลนี้มีประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HDAC8 ได้ใกล้เคียงกับ SAHA โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารกอสซิปेटินมีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อเทียบกับสารแคมป์เฟอร์อลอื่นๆ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่ามีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสารในกลุ่มของแคมป์เฟอร์อลให้เป็นยารักษาโรคมะเร็งต่อไป

ABSTRACT

In this research, the inhibitory activity of histone deacetylase 8 (HDAC8), one of HDACs causing a cancer disease, with five kaempferol compounds (i.e. kaempferol, gossypetin, kaempferol oxime, kaempferol methyloxime and kaempferol hydrazineoxime) has been investigated in terms of binding free energy ($\Delta G_{\text{binding}}$) and inhibitory constant (K_i) using a molecular docking simulation. As a result, the values of $\Delta G_{\text{binding}}$ varied from -6.3 to -7.9 kcal/mol and K_i varied from 1.6 to 25.8 μM . By comparing with suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), a cancer drug used currently and yielded the $\Delta G_{\text{binding}}$ of -8.2 kcal/mol and K_i of 1.0 μM , the result showed that HDAC8 inhibitory efficiency of these kaempferol compounds is close to SAHA. Especially, gossypetin exhibits the best inhibitory efficiency compared to other kaempferols. Thus, there is possible to develop the kaempferol compounds to be the cancer drug.

คำสำคัญ: ฮิสโตนดีอะเซทิลเลส 8, แคมป์เฟอร์อล, โมเลกุลาร์ดีคกิง, พลังงานอิสระการยึดจับ

Keywords: HDAC8, Kaempferol, Molecular docking, Binding free energy

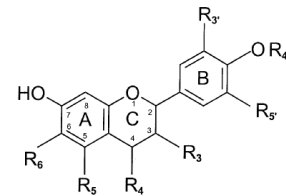
*นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาเคมีสำหรับครู คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

เอนไซม์ฮิสโตนอะเซทิลเลส (histone deacetylases, HDACs) เป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งกระบวนการถอดรหัสของยีนหลายชนิด ดังนั้นเซลล์ที่มีระดับของ HDACs สูงผิดปกติหรือมีการทำงานของ HDACs มากผิดปกติจะสามารถแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้เร็วผิดปกติและอาจพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ในที่สุด (สรายุทธ์, 2549) HDACs เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการดึงหมู่อะเซทิล (acetyl) ออกจากโปรตีนฮิสโตน (histone) ทำให้สายดีเอ็นเอ (Deoxy ribonucleic acid, DNA) เกิดการพันแน่นเข้ากับโปรตีนชนิดนี้ส่งผลให้เอนไซม์ต่างๆ ที่ทำหน้าที่ในการถอดรหัส (transcription factor) หรือไม่สามารถเข้าจับกับ DNA ได้ แต่เมื่อมีเอนไซม์ฮิสโตนอะเซทิลทรานสเฟอเรส (histone acetyltransferase, HATs) เข้าทำหน้าที่ในการเติมหมู่อะเซทิลให้กับโปรตีนฮิสโตนก็จะทำให้ DNA เกิดการคลายตัวออกจากโปรตีนฮิสโตน ส่งผลให้ transcription factor สามารถเข้าทำหน้าที่กับสาย DNA เกิดการถอดรหัสเพื่อสังเคราะห์โปรตีนต่างๆ ได้อีกครั้ง ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดจะมีกลไกการทำงานเป็นไปในลักษณะที่สมดุลกันหากเกิดการเสียสมดุลในการทำหน้าที่ของเอนไซม์ก็จะส่งผลให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ต่างๆ อันเป็นเหตุให้เกิดเป็นเซลล์มะเร็งขึ้นได้ (ทักษิณีย์, 2011) โดยทั่วไปจะสามารถพบเอนไซม์ HDACs ในคนอย่างน้อย 18 ชนิด ได้แก่ HDAC 1-18 ซึ่ง HDAC8 เป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างคล้าย RPD3 deacetylase ของยีสต์ พบในนิวเคลียสของเซลล์ทั่วไป (สรายุทธ์, 2549) จากการศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ทำให้มีการค้นพบสารสังเคราะห์ที่มีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของ HDACs (HDAC inhibitors) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น suberoyl anilide hydroxamic acid (SAHA) และ trichostatin A (TSA) เป็นต้น และสารสังเคราะห์ในกลุ่มนี้ยังมีความเป็นพิษต่ำ นอกจากนั้นยังมีการศึกษาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในพืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีสมบัติในการ

เป็น HDAC inhibitors และมีประสิทธิภาพสูงกว่าหรือใกล้เคียงกับสารที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน เช่น สารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) จัดเป็นสารประกอบกลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenolic compound) และเป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างประกอบด้วยการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว ($C_6-C_3-C_6$) มีลักษณะเป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงเบนซีน (benzene ring) 2 วง (A และ B) เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (heterocyclic pyran ring) ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (วิภาพ, 2556) ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างสารกลุ่ม flavonoids

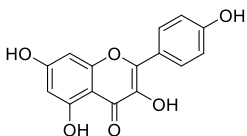
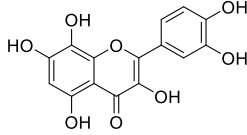
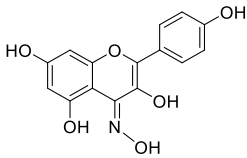
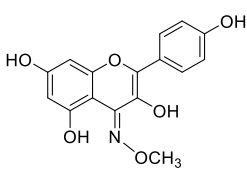
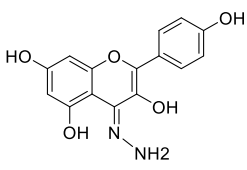
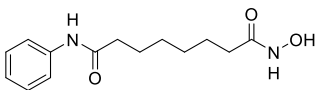
สารฟลาโวนอยด์จัดเป็นอาหารที่มีสรรพคุณทางยา (nutraceutical) มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยทำหน้าที่ในการหน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) จึงช่วยหยุดปฏิกิริยาถูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ โดยสารพฤษเคมีเหล่านี้หลายชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านหรือป้องกันโรคบางชนิดและโรคสำคัญที่มีก่อกำเนิดว่าสารกลุ่มนี้ช่วยป้องกันได้คือ “โรคมะเร็ง” กลไกการทำงานของสารพฤษเคมีเมื่อเข้าสู่ร่างกายอาจเป็นไปได้ขึ้นเอนไซม์บางชนิดทำหน้าที่ทำลายสารก่อมะเร็งที่เข้าสู่ร่างกายมีผลทำให้สารก่อมะเร็งหมดฤทธิ์ (มงคล และคณะ, 2556)

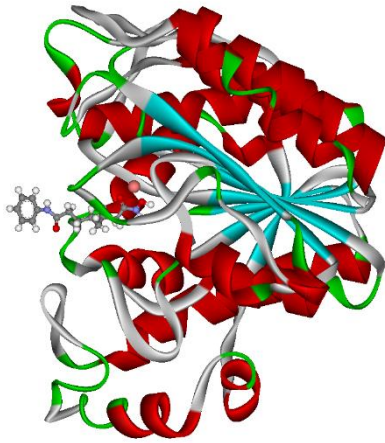
เพื่อเป็นการค้นหาสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการรักษาโรคมะเร็งและมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของผู้ป่วยน้อย งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ แคมพ์เฟอรอล (kaempferol) และกอสซิเพติน (gossypetin) ซึ่งเป็นสาร

ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่พบในมะรุมและกระเจี๊ยบแดง นอกจากนี้ยังสนใจศึกษาสารที่เป็นอนุพันธ์ของแคมป์เฟอรอล ได้แก่ Kaempferol oxime, Kaempferol methyloxime และ Kaempferol hydrazineoxime (ซึ่งต่อไปจะเรียกว่า ออกซิม เมทิลออกซิม และ ไฮดราซีนออกซิม ตามลำดับ) โครงสร้างของสารข้างต้นแสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งวิธีที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นการศึกษาทางเคมีทฤษฎี หรือ เคมีเชิงคอมพิวเตอร์ (Computational chemistry) โดยใช้ระเบียบวิธีการจำลองแบบโมเลกุลาร์ดีอกกิง (Molecular docking simulation) และการคำนวณทางกลศาสตร์ควอนตัม

(Quantum mechanics) ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลในระดับโมเลกุลที่สามารถอธิบายผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HDAC8 อีกทั้งระเบียบวิธีทางเคมีเชิงคอมพิวเตอร์มีบทบาทและมีความสำคัญอย่างยิ่งในทางวิทยาศาสตร์ สามารถใช้ศึกษาและค้นคว้าวิจัยโดยใช้คอมพิวเตอร์ในการคำนวณและออกแบบโมเลกุลก่อนทำการทดลองจริงในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นประหยัดเวลาและงบประมาณในการทำการทดลอง ซึ่งสารเคมีและอุปกรณ์ต่างๆ อีกด้วย ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาด้วยคอมพิวเตอร์จะเป็นแนวทางในการวางแผนการทำการทดลองในห้องปฏิบัติการต่อไป

ตารางที่ 1 ลิแกนด์ที่ใช้ในการศึกษาคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

ชื่อลิแกนด์	โครงสร้างโมเลกุล
Kaempferol	
Gossypetin	
Kaempferol oxime	
Kaempferol methyloxime	
Kaempferol hydrazineoxime	
SAHA	



ภาพที่ 2 โครงสร้างเอนไซม์ HDAC8 และลิแกนด์ SAHA (รหัสโครงสร้าง 1T69)

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาพลังงานอิสระการยึดจับ (binding free energy, $\Delta G_{\text{binding}}$) และค่าคงที่การยับยั้ง (inhibitory constant, K_i) ระหว่างเอนไซม์ HDAC8 กับสารต่างๆ (เรียกว่า ลิแกนด์) ได้แก่ แคมพ์เฟอร์อล กอสซิเพดิน ออกซิม เมทิลออกซิม และ ไฮดรารซินออกซิม (รวมทั้ง SAHA เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ) โดยใช้วิธีโมเลกุลาร์ได้ออกกิง ทั้งนี้เพื่อประเมินประสิทธิภาพของลิแกนด์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HDAC8
2. เพื่อศึกษาอันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์ต่างๆ กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณตำแหน่งกัมมันต์ (active site) ของเอนไซม์ HDAC8

วิธีการวิจัย

การทำโมเลกุลาร์ได้ออกกิง

1. การเตรียมไฟล์โครงสร้าง

เริ่มต้นด้วยการเตรียมโครงสร้างเอนไซม์ HDAC8 สำหรับทำโมเลกุลาร์ได้ออกกิงโดยดาวน์โหลดโครงสร้าง X-ray ของ HDAC8 รหัสโครงสร้าง 1T69 จากฐานข้อมูลธนาคารโปรตีน (<http://www.rcsb.org>) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ประกอบด้วยโครงสร้างของ HDAC8 และโมเลกุล SAHA ที่อยู่ในตำแหน่งกัมมันต์ ดังแสดง

ในภาพที่ 2 จากนั้นตัดแยก HDAC8 และ SAHA ออกจากกันและเติมอะตอมไฮโดรเจนที่ขาดหายไป

ในกรณีของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ซึ่งเฉพาะแคมพ์เฟอร์อลเท่านั้นที่มีโครงสร้าง X-ray ที่สามารถดาวน์โหลดได้จากฐานข้อมูลธนาคารโปรตีน ส่วนอนุพันธ์ของแคมพ์เฟอร์อลทั้ง 4 ชนิด ได้จากการดัดแปลงโครงสร้างของแคมพ์เฟอร์อลโดยใช้โปรแกรม HyperChem 8.0 (HyperChem Professional 8.0, 2006) จากนั้นหาโครงสร้างเสถียรของอนุพันธ์เหล่านี้ด้วยวิธีการศาสตร์เชิงโมเลกุล (Molecular mechanics) โดยใช้สนามแรงชนิด CHARMM

2. การกำหนดประจุอะตอมและเตรียมไฟล์พารามิเตอร์

ก่อนการทำโมเลกุลาร์ได้ออกกิงต้องกำหนดประจุให้แก่แต่ละอะตอมและเตรียมไฟล์พารามิเตอร์ของลิแกนด์และ HDAC8 ซึ่งทำได้โดยโปรแกรม AutoDockTools 1.5.6 (Samner, 1999) สำหรับประจุของอะตอมต่างๆ ในการศึกษาที่ใช้ประจุชนิด Gasteiger charge ส่วนการเตรียมไฟล์พารามิเตอร์ของ HDAC8 นั้นได้กำหนดให้พันธะในกรดอะมิโนบางชนิดที่อยู่ให้ตำแหน่งกัมมันต์สามารถหมุนได้ (flexible) ได้แก่ หมู่-OH ของไทโรซีน (TYR306) และ ฮิสทีดีน (HIS142 และ HIS143) และสำหรับไฟล์พารามิเตอร์ของลิแกนด์ต่างๆ ได้กำหนดให้พันธะของหมู่-OH ทั้งหมดหมุนได้ ทั้งนี้เพื่อให้เกิดอันตรกิริยากับ HDAC8 ได้ดีที่สุดและไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนโครงสร้างโดยรวมของลิแกนด์ด้วย

3. การหาตัวแปรที่เหมาะสมและการทำโมเลกุลาร์ได้ออกกิง

ในการหาตัวแปร หรือ พารามิเตอร์ที่เหมาะสมและการทำโมเลกุลาร์ได้ออกกิง (เช่น ขนาดของกล่องกริด จุดศูนย์กลางของกล่องกริด เป็นต้น) ทำได้โดยกำหนดตัวแปรเหล่านี้ให้มีค่าหลากหลาย เช่น ให้กล่องกริดมีขนาด $60 \times 60 \times 60 \text{ \AA}^3$, $70 \times 70 \times 70 \text{ \AA}^3$ และ $80 \times 80 \times 80 \text{ \AA}^3$ เป็นต้น จากนั้นทำการจำลองแบบโมเลกุลาร์ได้ออกกิงด้วยลิแกนด์ SAHA จำนวน 50 รอบ ด้วยโปรแกรม AutoDock 4.2 (Morris et al., 2009) แล้ว

เลือกตัวแปรที่ทำให้ SAHA เข้าไปอยู่ในตำแหน่งกัมมันต์ได้เหมือนเดิมกับโครงสร้าง X-ray (กระบวนการนี้เรียกว่า การทำรีดocking (redocking))

ตัวแปรที่เหมาะสมที่ได้จากการทำรีดocking ซึ่งจะใช้ทำโมเลกุลาร์ดีocking สำหรับลิแกนด์อื่นต่อไป ซึ่งในการทำโมเลกุลาร์ดีocking ของสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ได้กำหนดให้ลิแกนด์วางตัวในตำแหน่งและทิศทางต่างๆ จากนั้นเลือกโครงสร้างที่ให้ผลการทำโมเลกุลาร์ดีocking ที่ดีที่สุดเพื่อนำมาหาพลังงานการยึดจับ และค่าคงที่การยับยั้งระหว่างลิแกนด์กับเอนไซม์ HDAC8

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ในการทำรีดocking ค่าที่สำคัญที่ใช้ในการตัดสินใจว่าการทำรีดocking ให้ผลดีหรือไม่ คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน หรือ root mean square deviation (RMSD) ซึ่งเป็นค่าที่บอกความแตกต่างระหว่างตำแหน่งของสองโมเลกุล (ในที่นี้หมายถึง ตำแหน่งของ SAHA ที่ได้จากการทำรีดocking กับตำแหน่งของ SAHA จากโครงสร้าง X-ray) โดยค่าที่ยอมรับได้ต้องมีค่าไม่เกิน 2 Å ซึ่งผลการทำรีดocking พบว่าได้ค่า RMSD ประมาณ 1.3 Å โดยตัวแปรที่เหมาะสมที่ได้จากการทำรีดocking ซึ่งใช้ทำโมเลกุลาร์ดีocking สำหรับลิแกนด์อื่นๆ ต่อไป ได้แก่ ให้อะตอม Zn ใน HDAC8 เป็นจุดกึ่งกลางของกล่องกริดซึ่งอยู่ที่โคออร์ดิเนต x, y, z เท่ากับ 1.6, 5.9, 1.0 ตามลำดับ ขนาดของกล่องกริดเท่ากับ 60×60×60 Å³ ช่องว่างระหว่างกริด (grid spacing) เท่ากับ 0.375 Å และใช้อัลกอริทึมในการจำลองแบบเป็น Genetic algorithm

จากการจำลองแบบ โมเลกุลาร์ดีocking เพื่อหาตำแหน่งและการวางตัวที่เหมาะสมของลิแกนด์ในบริเวณตำแหน่งกัมมันต์ของเอนไซม์ HDAC8 รวมถึงเพื่อประเมินศักยภาพของลิแกนด์ในการยับยั้งการทำงานของ HDAC8 ได้ผลดังตารางที่ 2 ซึ่งจากตารางจะเห็นว่าค่าพลังงาน $\Delta G_{\text{binding}}$ มีค่าประมาณ -6.3 ถึง -7.9 kcal/mol (ค่าที่เป็นลบมาก หมายถึง มีความ

สามารถในการยึดจับกับ HDAC8 ได้ดี) และมีค่าคงที่ K_i ประมาณ 1.6 ถึง 25.8 μM (ค่าน้อย หมายถึง มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ HDAC8 ได้ดี) โดยที่ลิแกนด์กอสซิเพตินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของ HDAC8 ได้ดีที่สุด ($\Delta G_{\text{binding}}$ เท่ากับ -7.91 kcal/mol และ K_i เท่ากับ 1.59 μM) เมื่อเปรียบเทียบกับลิแกนด์ SAHA ซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งในปัจจุบัน พบว่า โดยรวมแล้วสารแคมพ์เฟอร์อล และอนุพันธ์ให้ค่าพลังงานอิสระการยึดจับ และค่าคงที่การยับยั้งใกล้เคียงกับ SAHA (อันตรกิริยาระหว่าง SAHA กับ HDAC8 ให้ค่า $\Delta G_{\text{binding}}$ และ K_i เท่ากับ -8.21 kcal/mol และ 0.96 μM ตามลำดับ) กล่าวคือ สารในกลุ่มของแคมพ์เฟอร์อลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HDAC8 ได้ใกล้เคียงกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารกอสซิเพติน และไฮดราซีนออกซิมซึ่งมีค่าคงที่การยับยั้งน้อยกว่า 10 μM

ตำแหน่งและการวางตัวของลิแกนด์ต่างๆ ในบริเวณตำแหน่งกัมมันต์ของเอนไซม์ HDAC8 ที่ได้จากการจำลองแบบโมเลกุลาร์ดีocking แสดงในภาพที่ 3 ซึ่งจากรูปจะเห็นว่าลิแกนด์แต่ละชนิด สามารถเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนของ HDAC8 ในบริเวณ

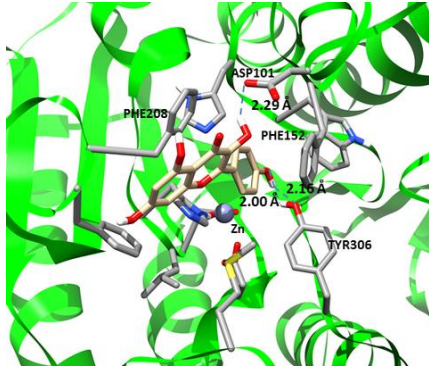
ตารางที่ 2 แสดงค่าพลังงานอิสระการยึดจับ ($\Delta G_{\text{binding}}$) และค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของเอนไซม์ HDAC8 กับลิแกนด์ต่างๆ

ลิแกนด์	K_i (μM)	$\Delta G_{\text{binding}}$ (kcal/mol)
Kaempferol	17.79	-6.55
Gossypetin	1.59	-7.91
Kaempferol oxime	25.76	-6.26
Kaempferol methyloxime	15.25	-6.56
Kaempferol hydrazineoxime	4.23	-7.33
SAHA	0.96	-8.21

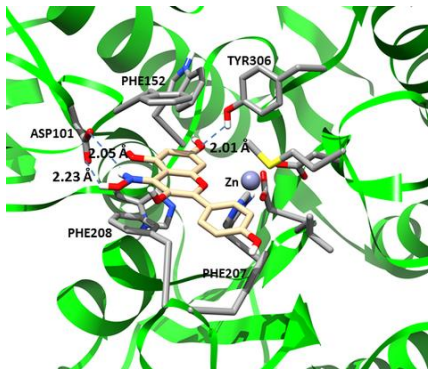
ตำแหน่งกัมมันต์ได้หลายรูปแบบ ได้แก่ การเกิดพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) อันตรกิริยาแบบไพ-ไพ (π - π interaction) และอันตรกิริยาทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic interaction) ดังแสดงในตารางที่ 3

จากตารางที่ 3 จะเห็นว่า SAHA สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน กับกรดอะมิโนได้มากถึง 5 พันธะ

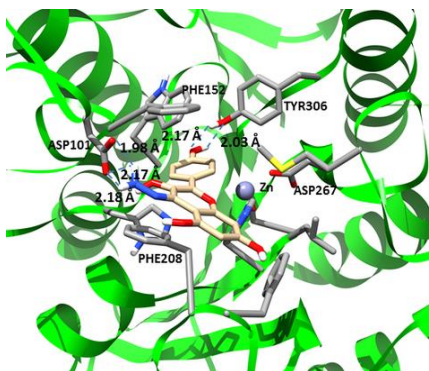
(ก) Kaempferol



(ข) Kaempferol oxime

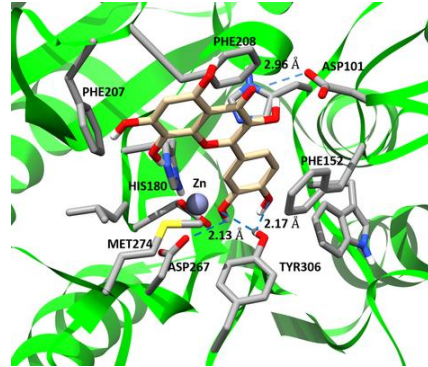


(ค) Kaempferol hydrazineoxime

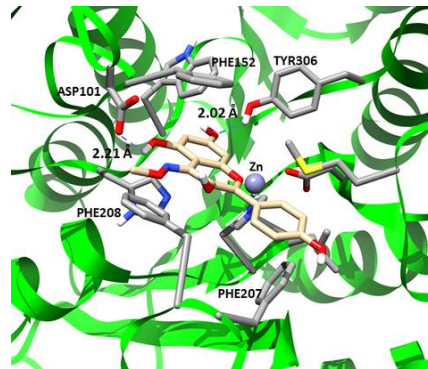


เนื่องจาก SAHA มีทั้งหมู่ -OH และ -NH ที่เป็นหมู่ให้พันธะไฮโดรเจน รวมทั้งมีหมู่ =O ที่เป็นหมู่รับพันธะไฮโดรเจนได้อีกด้วย จึงทำให้จึงทำให้ SAHA สามารถเกิดอันตรกิริยาได้แข็งแรงและยับยั้งการทำงานของ HDAC8 ได้ดี ทั้งนี้เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนเป็นอันตรกิริยาที่แข็งแรงเมื่อเทียบกับอันตรกิริยาแบบอื่นๆ

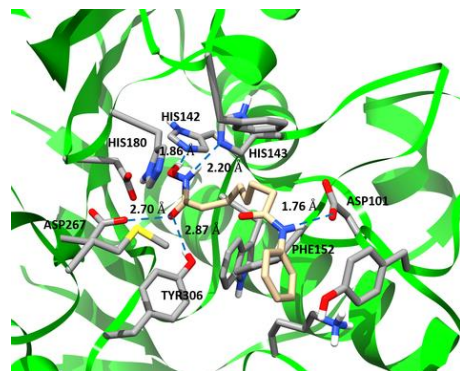
(ง) Gossypetin



(จ) Kaempferol methyloxime



(ฉ) SAHA



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะการวางตัวของลิแกนด์ต่างๆ และกรดอะมิโนที่สำคัญในตำแหน่งกัมมันต์ของเอนไซม์ HDAC8

ตารางที่ 3 แสดงอันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์กับกรดอะมิโนที่สำคัญในตำแหน่งกัมมันต์ของเอนไซม์ HDAC8

Ligand	Hydrogen bond*	π - π interaction	Electrostatic interaction
Kaempferol	ASP101 (2.29Å) TYR306 (2.00 Å, 2.16 Å)	PHE152, PHE208	PHE207, ASP267
Gossypetin	ASP101 (2.69 Å) ASP267 (2.13 Å) TYR306 (2.17Å)	PHE152, PHE208	HIS180, MET274
Kaempferol oxime	ASP101 (2.05Å, 2.23Å) TYR306 (2.01Å)	PHE152, PHE208	PHE207
Kaempferol methyloxime	ASP101 (2.21Å) TYR306 (2.02Å)	PHE152, PHE208	PHE207
Kaempferol hydrazineoxime	ASP101 (1.98Å, 2.17 Å) TRY306 (2.03Å, 2.17 Å)	PHE152, PHE208	
SAHA	ASP101 (1.76Å) ASP267 (2.70Å) HIS142 (1.86Å) HIS143 (2.20Å) TYR306 (2.87Å)	TYR100	PHE152

* ตัวเลขในวงเล็บเป็นระยะห่างของการเกิดพันธะไฮโดรเจน

เมื่อพิจารณาสารในกลุ่มของแคมพ์เฟอร์อล ซึ่งก็มีหมู่ -OH และ =O (และหมู่ -NH₂ กรณียของไฮดราซีนออกซิม) ที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ แต่โดยส่วนใหญ่แล้วหมู่ฟังก์ชันเหล่านี้อยู่ที่วงเบนซินสองวงที่ติดกันซึ่งเป็นวงที่มีความแข็ง (rigid) ทำให้การวางตัวของโมเลกุลมีความจำกัด ส่งผลให้หมู่ฟังก์ชันดังกล่าวเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ไม่ดี ซึ่งจะเห็นได้จากตารางที่ 3 ยกเว้นลิแกนด์กอสซิปेटินที่มีหมู่ -OH จำนวนสองหมู่อยู่ในส่วนของวงเบนซินวงเดียว ซึ่งวงเบนซินนี้สามารถหมุนพันธะเดี่ยวได้ จึงทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนได้ดีเมื่อเทียบกับลิแกนด์อื่น นอกจากนี้เป็นที่น่าสังเกตว่าลิแกนด์ทุกตัวสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน ASP101 และ TYR306 ได้ รวมถึงเกิดอันตรกิริยาแบบไพ-ไพได้กับกรดอะมิโน PHE152 และ PHE208

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HDAC8 (ซึ่งเป็นเอนไซม์เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็ง) ด้วยสารในกลุ่มของแคมพ์เฟอร์อลจำนวน 5 ชนิด (ได้แก่ แคมพ์เฟอร์อล กอสซิปेटิน แคมพ์เฟอร์อลออกซิม แคมพ์เฟอร์อลเมทิลออกซิม และแคมพ์เฟอร์อลไฮดราซีนออกซิม) โดยใช้วิธีการจำลองแบบโมเลกุลาร์ดอกกิงซึ่งเป็นระเบียบวิธีทางเคมีเชิงคอมพิวเตอร์ พบว่าสารในกลุ่มของแคมพ์เฟอร์อลให้ค่าพลังงานอิสระการยึดจับ และค่าคงที่การยับยั้งได้ใกล้เคียงกับ SAHA ซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งในปัจจุบัน แสดงว่าสารกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HDAC8 ได้ใกล้เคียงกับ SAHA โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร

กอสซิเพดินมีประสิทธิภาพมากที่สุดในกลุ่มของสาร
แคมป์เฟอร์อล ดังนั้น จึงสามารถกล่าวได้ว่ามีความ
เป็นไปได้ที่จะพัฒนาสารในกลุ่มของแคมป์เฟอร์อลให้
เป็นยาอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคมะเร็ง

ทั้งนี้ ปัจจัยที่ทำให้สารกลุ่มนี้สามารถเกิด
อันตรกิริยากับ HDAC8 ได้ดีเนื่องจากมีหมู่ -OH ที่
สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน และเกิดอันตรกิริยาทาง
ไฟฟ้าสถิตได้ดีกับกรดอะมิโนในบริเวณตำแหน่ง
กัมมันต์ของเอนไซม์ HDAC8 ได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสถาบันส่งเสริมการ
สอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) ตาม
โครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษ
ทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.) ที่สนับสนุน
ทุนวิจัย และภาคีโครงสร้างพื้นฐานระดับชาติด้าน
e-Science (URL: <http://www.e-science.in.th>) ที่ให้การ
สนับสนุนทรัพยากรการคำนวณ

เอกสารอ้างอิง

ทัศนีย์ สายวิชัย. การศึกษาความสามารถในการยับยั้ง

การทำงานของเอนไซม์ฮิสโตนดีอะเซทิลเลส
โดยแคลป์ไซซินและสารอนุพันธ์ของ
แคลป์ไซซิน (6-hydroxy-N-(4-hydroxy-3-
methoxybenzyl)-8-methylnonanamide)

[วารสารออนไลน์]2011; 12: 710-714.

พรรณราย ศิยะพงษ์. การศึกษาโมเลกุลาร์ดีอกกิ่งและ

กลศาสตร์ควอนตัมของควิโนรีดักเตส2
เป็นเอนไซม์เป้าหมายสำหรับมะเร็งเต้านม.
[วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาเคมี].ศรีนครินทร์วิโรฒ: บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ; 2556.

มงคล คงเสน, อัจฉรา นิยมเดชา, วาฬอ หาญณรงค์,
พนม สุขจันทร์. การรวบรวมคุณสมบัติ
และประโยชน์ของต้นลูกใต้ใบ [วารสาร
ออนไลน์]2556; ฉบับพิเศษประจำปี
2556:153-163.

วิภพ สุทธานะ.ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์:
กลไกการออกฤทธิ์. ศรีนครินทร์เวชสาร
2556; 28(4): 567-582.

ศรายุทธ์ จันทร์มหเสถียร. ยต้านมะเร็งที่มีฤทธิ์ยับยั้งฮิสโตน
ดีอะเซทิลเลส. ไทยโภชนาการ (ฉบับ
ออนไลน์) 2549; 3: 1-18.

Berin K, Wolfgang S. Docking and binding free
energy calculations of sirtuin inhibitors.
Eur J Med Chem 2015; 93: 584–598.

Dey P. Chromatin remodeling, cancer and
chemotherapy. Curr Med Chem 2006; 13:
2909–2919.

Madhusoodanan M, Shilong Zheng, Tien LH,
Guangdi W. Histone Deacetylase
inhibitors in clinical studies as templates
for new anticancer agent. Molecules
2015; 20: 3898–3941.

Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF,
Belew RK, Goodsell DS, et al. Autodock4
and AutoDockTools4: automated docking
with selective receptor flexibility. J
Comput Chem 2009; 16: 2785–2791.

Sanner MF. Python: A Programming Language for
Software Integration and Development. J
Mol Graphics Mod 1999; 17(2): 57–61.

Suzuki T, Miyata N. Non-hydroxamate histone
deacetylase inhibitors, Curr Med Chem
2005; 12: 2867–2880.