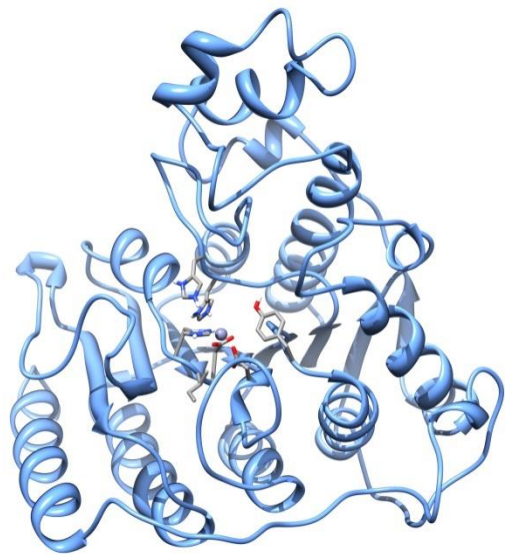


บทนำ

จากการสำรวจข้อมูลของ World Cancer Report 2014 พบว่าในปี 2012 มีผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งรายใหม่เพิ่มขึ้นทั่วโลกประมาณ 14,100,000 ราย โดยไม่รวมถึงโรคมะเร็งผิวหนังอื่นที่ไม่ใช่เนื้องอก (World Cancer Report, 2014) มีคนเสียชีวิต 8,200,000 รายหรือ 14.6% ของการเสียชีวิตของมนุษย์ทั้งหมด (WHO, 2014) มะเร็งหรือทางการแพทย์เรียกว่าเนื้องอกร้าย (malignant tumor) เซลล์จะแบ่งตัวและเจริญอย่างควบคุมไม่ได้ ก่อเป็นเนื้องอกร้ายและทำให้ร่างกายส่วนข้างเคียงไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติ มะเร็งอาจแพร่กระจายไปยังส่วนอื่นๆ ของร่างกายได้ (Amarica cancer society, 2014) เซลล์มะเร็ง หรือ เซลล์ที่มีความผิดปกติมีสาเหตุมาจากความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เช่น ยีนมะเร็ง (oncogenes) และยีนกดมะเร็ง (tumor-suppressor genes) (Cooper, Hausman, 2004) นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนของเซลล์ที่เพิ่มขึ้นผิดปกติ ยังมีสาเหตุมาจากความผิดปกติอื่นๆ ได้ด้วย เช่น เอนไซม์ฮิสโตนดีอะเซทิเลส (histone deacetylases, HDACs) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการควบคุมกระบวนการถอดรหัสของยีน (transcription) เกิดความผิดปกติในการทำงานและทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการแบ่งเซลล์ออกเป็น 2 เซลล์ในวัฏจักรเซลล์ (cell cycle) และกระบวนการเซลล์เดี่ยวแตกตายเอง (apoptosis) (Villar-Garea, Esteller, 2004) ดังนั้น HDACs จึงเป็นเป้าหมายสำคัญเป้าหมายหนึ่งในการพัฒนายาต้านมะเร็งซึ่งสารยับยั้งเอนไซม์ HDACs นี้ถูกเรียกว่า Histone deacetylase inhibitors (HDAC inhibitors) HDACs ในคนพบอย่างน้อย 18 ชนิด (Dokmanovic, Marks, 2005) และแบ่งได้ 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย HDAC1, 2, 3 และ 8 พบในนิวเคลียสของเซลล์ทั่วไป (Mork et al. 2005) พบว่าปฏิกิริยาที่ HDACs กลุ่ม 1 และ 2 โดยมีไอออนของสังกะสี (Zn^{2+}) ที่อยู่บริเวณตำแหน่งเฉพาะที่ HDACs เร่งปฏิกิริยา (catalytic site) ช่วยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาการ

ดึงหมู่อะเซทิลและเกิดปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำ (Villar-Garea, Esteller, 2004)

HDACs ในกลุ่มที่ 1 โดยเฉพาะ HDAC1 หรือ เอนไซม์ฮิสโตนดีอะเซทิเลส 1 มีความสำคัญจึงมีผู้ที่ศึกษาหาสาเหตุของโรคมะเร็งและสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งอย่างแพร่หลาย เช่น มีการรายงานว่า HDAC1 และ HDAC3 มีความเฉพาะเจาะจงที่ทำให้เกิดเนื้องอกและทำให้เป็นมะเร็งเต้านม (Krusche et al., 2005) การเพิ่มขึ้นของ HDAC1 ทำให้เป็นมะเร็งกระเพาะอาหาร (Choi et al., 2001) มะเร็งต่อมลูกหมาก (Halkidou et al., 2004) และมะเร็งเต้านม (Zhang et al., 2005) จากข้อมูลจะเห็นว่า HDAC1 เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการทำให้เกิดโรคมะเร็งหลายชนิดจึงมีผู้ที่ศึกษาสารเพื่อยับยั้ง HDAC1 (โครงสร้างของ HDAC1 แสดงในภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างบริเวณยับยั้งของ HDAC1

Hui Lu et al. (2011) พบว่าสาร Entinostat มีฤทธิ์ในการยับยั้ง HDAC1 ได้น้อย แต่ถ้าเปลี่ยนหมู่ pyridine ใน Entinostat ด้วยหมู่ 4-(2-methoxyphenyl) piperidine จะเพิ่มการยับยั้งได้ดีขึ้น สารประกอบ Entinostat ที่ต่อกับหมู่ 4-(2-methoxyphenyl)piperidine นี้มีส่วนของหมู่ฟังก์ชันที่ปลายซึ่งทำหน้าที่ยับยั้ง HDAC1 ได้และป้องกันการทำงานของเซลล์ Hct-116

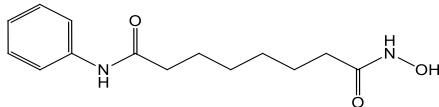
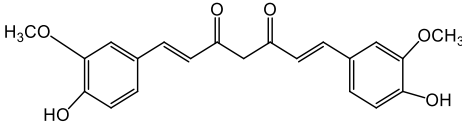
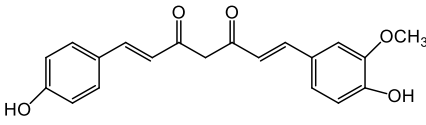
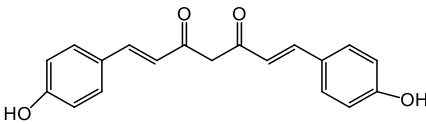
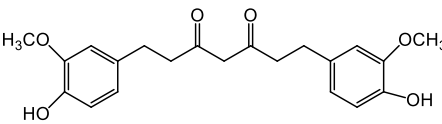
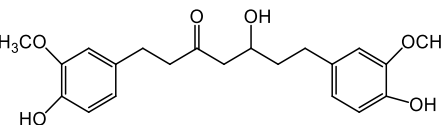
อย่างไรก็ตาม พบว่าสารนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือดดำ

สาร Suberanilohydroxamic acid หรือ SAHA เป็นยารักษามะเร็งที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน มีรายงานว่า มีผลกระทบต่อข้างเคียงต่อเซลล์ปกติค่อนข้างน้อย ทำให้ได้รับความสนใจอย่างมากในการใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็ง ซึ่งรวมถึงใช้ร่วมกับยารักษาโรคมะเร็งตัวอื่นๆ (Warrell et al., 1998; Lindemann et al., 2004)

ยาที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งมีหลายประเภทแบ่งตามกลไกการแสดงฤทธิ์ของยา แต่อย่างไรก็ตามยาหลายชนิดมีผลกระทบต่อเนื้อเยื่อปกติที่มีการแบ่งตัวเร็วคล้ายเซลล์มะเร็ง เช่น เซลล์ไขกระดูกเซลล์รากขน (hair follicles) และเซลล์เยื่อลำไส้ จึงทำให้มีข้อจำกัดในการรักษาด้วยเคมีบำบัด นอกจากนี้ยานี้ยังมักจะมีราคาค่อนข้างแพง

ขมิ้นชันเป็นพืชที่พบในประเทศไทยมาก มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* Linn อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชสมุนไพรทรงคุณค่าที่มีอยู่ตามธรรมชาติมาช้านานเพราะมีคุณสมบัติที่สามารถนำมาใช้ทางยา จากรายงานการทดลองวิจัยและศึกษาค้นคว้าของสถาบัน รวมถึงหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต่างๆ พบว่า ขมิ้นชันสามารถใช้บำบัดรักษาอาการของโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้นกับคนเราได้ไม่น้อยกว่า 50 โรค (Pfeiffer et al., 2003) สารเคมีที่พบในขมิ้นชัน จะพบในส่วนของน้ำมันหอมระเหยเป็นสำคัญ โดยทั่วไปแล้วขมิ้น จะมีน้ำมันหอมระเหยตั้งแต่ 2 – 6 % (v/w) น้ำมันมีสีเหลือง และเรืองแสงได้เล็กน้อย สารเคมีที่พบมากที่สุดคือ

ตารางที่ 1 แสดง โครงสร้างของ SAHA และลิแกนด์

ชื่อลิแกนด์	โครงสร้างโมเลกุล
SAHA	
Curcumin	
Demethoxycurcumin	
Bisdemethoxycurcumin	
Tetrahydrocurcumin	
Hexahydrocurcumin	

เทอร์มิโรน (termeron) ประมาณ 58 – 59 % นอกจากนี้ยังพบสารที่สำคัญอีกกลุ่มหนึ่งคือ เคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids) ซึ่งประกอบด้วยสารที่สำคัญ 3 ตัว ได้แก่ เคอร์คูมิน (75 – 81%) ดีเมท็อกซีเคอร์คูมิน (15 – 19%) และบิสดีเมท็อกซีเคอร์คูมิน (2.2 – 6.6%) โดยทั้งดีเมท็อกซีเคอร์คูมินและบิสดีเมท็อกซีเคอร์คูมินเป็นอนุพันธ์ของเคอร์คูมิน (Jayaprakasha et al., 2005)

ดังนั้นงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาความสามารถในการยับยั้ง HDAC1 ด้วยสารในกลุ่มของเคอร์คูมิน โดยระเบียบวิธีโมเลกุลาร์ดีค็อกกิงและกลศาสตร์ควอนตัม ซึ่งเป็นการศึกษาทางทฤษฎี ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการออกแบบและพัฒนาการรักษาโรคมะเร็งต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์ฮิสโตนดีแอซีทิลเลส 1 หรือ HDAC1 กับสารในกลุ่มของเคอร์คูมินและอนุพันธ์ ได้แก่ เคอร์คูมิน (Curcumin) ดีเมท็อกซีเคอร์คูมิน (Demethoxycurcumin) บิสดีเมท็อกซีเคอร์คูมิน (Bisdemethoxycurcumin) เตตระไฮโดรเคอร์คูมิน (Tetrahydrocurcumin) และ เฮกซะไฮโดรเคอร์คูมิน (Hexahydrocurcumin) รวมทั้ง SAHA (เรียกสารเหล่านี้ว่าลิแกนด์) โดยวิธีโมเลกุลาร์ดีค็อกกิงและการคำนวณทางกลศาสตร์ควอนตัม โครงสร้างโมเลกุลของสารต่างๆ แสดงในตารางที่ 1

วิธีการวิจัย

1. โมเลกุลาร์ดีค็อกกิง

วิธีโมเลกุลาร์ดีค็อกกิงเป็นการจำลองแบบเพื่อศึกษาตำแหน่งการวางตัวของลิแกนด์ของสารในกลุ่มของเคอร์คูมินและ SAHA ในตำแหน่งกัมมันต์ (active site) ของเอนไซม์ HDAC1 ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1.1 การเตรียมเอนไซม์ HDAC1

ดาวน์โหลดโครงสร้างของ HDAC1 ซึ่งเป็นโปรตีนจากธนาคารฐานข้อมูลโครงสร้างโปรตีน

(Protein data bank) รหัส 4BKX ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ HDAC1 จำนวน 2 สาย ได้แก่ สาย A และสาย B ในงานวิจัยนี้เลือกใช้เฉพาะสาย B ซึ่งมีความสมบูรณ์มากกว่าเพื่อทำโมเลกุลาร์ดีค็อกกิง

1.2 การเตรียมลิแกนด์

ดาวน์โหลดโครงสร้าง X-ray ของลิแกนด์เคอร์คูมินจากธนาคารฐานข้อมูลโครงสร้างโปรตีน รหัส 4PMF เพื่อใช้เป็นโครงสร้างเริ่มต้นสำหรับการทำโมเลกุลาร์ดีค็อกกิง สำหรับอนุพันธ์ของเคอร์คูมินอื่นๆ (ได้แก่ ดีเมท็อกซีเคอร์คูมิน บิสดีเมท็อกซีเคอร์คูมิน เตตระไฮโดรเคอร์คูมิน และเฮกซะไฮโดรเคอร์คูมิน) ซึ่งไม่มีโครงสร้าง X-ray สามารถเตรียมได้โดยนำโครงสร้างของเคอร์คูมินมาปรับเปลี่ยนโครงสร้างให้ถูกต้องโดยใช้โปรแกรม HyperChem 8.0 (HyperChem Professional 8.0, 2006) จากนั้นหาโครงสร้างเสถียรด้วยวิธีกลศาสตร์เชิงโมเลกุล (Molecular mechanics) โดยใช้สนามแรงชนิด CHARMM

1.3 การหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทำโมเลกุลาร์ดีค็อกกิง

ในการทำโมเลกุลาร์ดีค็อกกิงสำหรับระบบหนึ่งๆ จำเป็นต้องหาพารามิเตอร์ที่เหมาะสม ได้แก่ ขนาดของกริด (grid parameter) โดยการนำโครงสร้างของโปรตีนและลิแกนด์ที่ทราบโครงสร้าง X-ray อยู่แล้ว (ในที่นี้ใช้ SAHA ที่อยู่ในโครงสร้างของฮิสโตนดีอะเซทิลเลส 8 หรือ HDAC8, PDB รหัส 1T64) มาตัดแยกออกจากกัน แล้วทำโมเลกุลาร์ดีค็อกกิงให้โครงสร้างของลิแกนด์ SAHA ที่ตัดแยกออกมากลับไปอยู่ในตำแหน่งเริ่มต้นกระบวนการนี้เรียกว่า รีดีค็อกกิง (redocking) โดยพารามิเตอร์ที่ทำให้ลิแกนด์ SAHA กลับเข้าไปอยู่ในบริเวณยับยั้งเดิมซึ่งเป็นตำแหน่งกัมมันต์ของ HDAC8 คือ กว้างกริดขนาด $60 \times 60 \times 60 \text{ \AA}^3$ ช่องว่างระหว่างกริด (grid spacing) เท่ากับ 0.375 \AA จุดศูนย์กลางของกริดตามโคออร์ดิเนต x, y, z คือ 1.6, 5.9, 1.0 ตามลำดับ

1.4 การทำโมเลกุลาร์ดีค็อกกิงของลิแกนด์ที่ศึกษา

การเตรียมไฟล์ของโปรตีนและลิแกนด์ชนิดต่างๆ สำหรับทำโมเลกุลาร์ดีค็อกกิงทำได้โดยใช้

โปรแกรม AutoDockTools 1.5.6 (Sanner, 1999) โดยกำหนดให้อะตอม Zn ใน HDAC1 เป็นจุดกึ่งกลางของกล่องกริด และตำแหน่งเริ่มต้นของลิแกนด์แต่ละชนิดอยู่ในบริเวณตำแหน่งกัมมันต์โดยวางตัวในทิศทางที่แตกต่างกัน กำหนดให้อะตอมของลิแกนด์บางตำแหน่งสามารถขยับได้ (flexible) ตามความเหมาะสมและให้หมู่ -OH ของกรดอะมิโนไทโรซีน (TYR303) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนในบริเวณตำแหน่งกัมมันต์สามารถหมุนได้ กำหนดประจุให้อะตอมของเอนไซม์และลิแกนด์ข้างต้นด้วยประจุชนิด Gasteiger charge

ทำโมเลกุลาร์ด็อกกิงจากโครงสร้างของเอนไซม์และลิแกนด์ที่เตรียมไว้โดยใช้พารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่ได้จากกระบวนการรีด็อกกิงข้างต้น โดยใช้โปรแกรม AutoDock 4.2 (Morris et al., 2009) และกำหนดจำนวนรอบในการทำโมเลกุลาร์ด็อกกิงจำนวน 50 รอบ จากนั้นทำการวิเคราะห์พลังงานเสรีการยึดจับ ($\Delta G_{\text{binding}}$) และค่าคงที่การยับยั้ง (K_i) ของลิแกนด์

2. การคำนวณทางกลศาสตร์ควอนตัม

เพื่อศึกษาว่ากรดอะมิโนตัวใดในตำแหน่งกัมมันต์ของ HDAC1 เกิดอันตรกิริยากับลิแกนด์ได้ดี จึงได้คำนวณพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) ระหว่างลิแกนด์กับกรดอะมิโนต่างๆ ด้วยระเบียบวิธีทางกลศาสตร์ควอนตัมโดยใช้วิธี แอบ อินิซิโอ (*Ab initio*) ที่ระดับการคำนวณ MP2/6-31G(d) และการคำนวณใช้โปรแกรม Gaussian 09 (Frisch et al., 2009) ทั้งนี้กรดอะมิโนที่นำมาคำนวณจะต้องอยู่ในตำแหน่งกัมมันต์ที่อยู่รอบๆ ลิแกนด์ในระยะห่างไม่เกิน 4 Å เพราะเป็นระยะห่างที่เกิดอันตรกิริยาได้ดี โดย $\Delta E_{\text{binding}}$ คำนวณได้ดังสมการ

$$\Delta E_{\text{binding}} = E_{\text{ligand-amino}} - E_{\text{ligand}} - E_{\text{amino}}$$

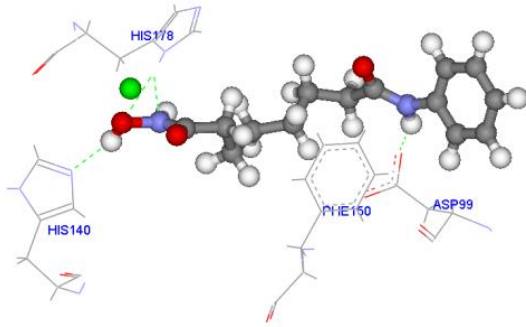
เมื่อ $E_{\text{ligand-amino}}$ หมายถึงพลังงานของคู่มอเลกุลลิแกนด์กับกรดอะมิโน ส่วน E_{ligand} และ E_{amino} หมายถึงพลังงานของโมเลกุลลิแกนด์ และโมเลกุลกรดอะมิโนที่อยู่เดี่ยวๆ ตามลำดับ

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

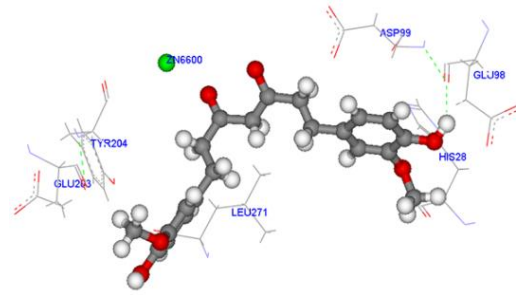
จากผลการจำลองแบบด้วยวิธี โมเลกุลาร์ด็อกกิงพบว่าสารในกลุ่มของเคอร์คูมินและอนุพันธ์ทั้ง 5 ชนิดรวมทั้งสาร SAHA สามารถเข้าสู่ตำแหน่งกัมมันต์ของเอนไซม์ HDAC1 ได้โดยวางตัวอยู่ในลักษณะแตกต่างกันและอยู่ห่างจาก Zn^{2+} ด้วยระยะทางต่างๆ โดยที่ลิแกนด์บิสติเมท็อกซีเคอร์คูมินเข้าใกล้ที่สุด (ห่างจาก Zn^{2+} 1.95 Å) การวางตัวของลิแกนด์ต่างๆ รวมถึงกรดอะมิโนที่สำคัญซึ่งเกิดอันตรกิริยาได้ดีกับลิแกนด์แสดงในภาพที่ 2 โดยโมเลกุลของลิแกนด์แสดงในรูปแบบอะตอมทรงกลมและเส้นหนา (ball and stick) ในขณะที่กรดอะมิโนแสดงในรูปแบบเส้น (line) ซึ่งจากรูปจะเห็นว่าแต่ละลิแกนด์สามารถเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนในตำแหน่งกัมมันต์ของ HDAC1 ด้วยจำนวนที่แตกต่างกัน เช่น ลิแกนด์ SAHA เกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนได้ 4 ชนิด ได้แก่ ASP99, HIS140, HIS178 และ PHE150 (ดูภาพที่ 2ก) ในขณะที่เคอร์คูมินเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนได้มากถึง 6 ชนิด ได้แก่ ASP99, HIS28, GLU98, GLU203 และ TYR204 (ดูภาพที่ 2ข) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม กรดอะมิโนแต่ละชนิดสามารถเกิดอันตรกิริยากับลิแกนด์ด้วยความแรงได้แตกต่างกัน ดังนั้นจำนวนกรดอะมิโนจึงไม่ใช่ปัจจัยหลักที่แสดงความสามารถในการเกิดอันตรกิริยารวมกับลิแกนด์ ทั้งนี้อันตรกิริยารวมซึ่งแสดงในเทอมของพลังงานเสรีการยึดจับ หรือ $\Delta G_{\text{binding}}$ และค่าคงที่การยับยั้ง หรือ K_i แสดงในตารางที่ 2

จากตารางที่ 2 จะเห็นว่าค่า $\Delta G_{\text{binding}}$ ของสารในกลุ่มของเคอร์คูมินที่ได้จากวิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิงมีค่าประมาณ -4.5 ถึง -6.9 kcal/mol (ค่าที่เป็นลบมากแสดงว่าเกิดอันตรกิริยากับเอนไซม์ HDAC1 ได้ดี) และมีค่า K_i ประมาณ 8.8 ถึง 538.7 μM (ค่าน้อยแสดงว่าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HDAC1 ได้ดี กล่าวคือมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคมะเร็งได้ดี) โดยที่ลิแกนด์บิสติเมท็อกซีเคอร์คูมินสามารถเกิดอันตรกิริยาและมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง HDAC1

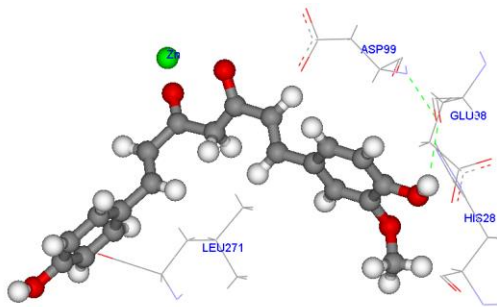
(ก) SAHA



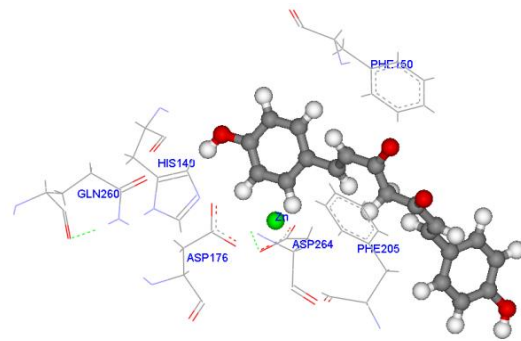
(ข) Curcumin



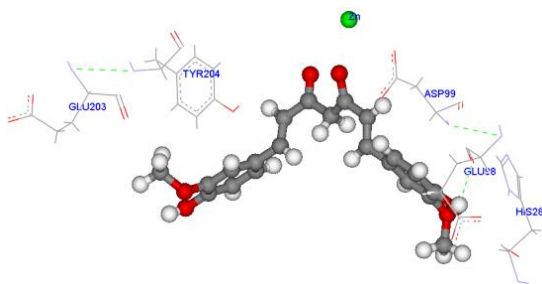
(ค) Demethoxycurcumin



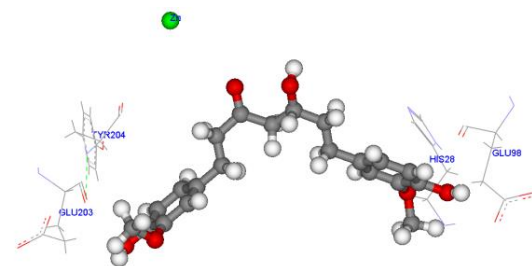
(ง) Bisdemethoxycurcumin



(จ) Tetrahydrocurcumin



(ฉ) Hexahydrocurcumin



ภาพที่ 2 แสดงอันตรกิริยาระหว่างกรดอะมิโนที่สำคัญในตำแหน่งกัมมันต์ของเอนไซม์ HDAC1 กับลิแกนด์ต่างๆ

ตารางที่ 2 แสดงค่าพลังงาน $\Delta G_{\text{binding}}$ และ $\Delta E_{\text{binding}}$ (ในหน่วยของ kcal/mol) และค่าคงที่การยับยั้ง K_i

ลิแกนด์	K_i (μM)	$\Delta G_{\text{binding}}$ (kcal/mol)	$\Delta E_{\text{binding}}$ (kcal/mol)
SAHA	5.89	-7.41	-54.28
Curcumin	273.53	-4.86	-46.47
Demethoxycurcumin	193.70	-5.07	-47.20
Bisdemethoxycurcumin	8.75	-6.90	-53.80
Tetrahydrocurcumin	316.40	-4.77	-44.09
Hexahydrocurcumin	538.66	-4.46	-30.85

ตารางที่ 3 แสดงกรดอะมิโนที่เกิดอันตรกิริยากับ
 ลิแกนด์ได้คือ

ลิแกนด์	กรดอะมิโน*	ชนิด อันตร- กิริยา**
SAHA	ASP99	H-bond
	HIS140	H-bond
	HIS178	H-bond
	PHE150	Electro
Curcumin	ASP99	Electro
	GLU203	Electro
	GLU98	H-bond
	HIS28	Electro
Demethoxycurcumin	ASP99	Electro
	HIS28	Electro
	LEU271	Electro
	GLU98	Electro
Bisdemethoxycurcumin	ASP176	Electro
	ASP264	Electro
	GLN260	Electro
	HIS140	H-bond
	PHE150	Electro
	PHE205	Electro
Tetrahydrocurcumin	ASP99	Electro
	GLU203	Electro
	GLU98	H-bond
	HIS28	Electro
	TYR204	Electro
Hexahydrocurcumin	GLU203	Electro
	GLU98	Electro
	HIS28	Electro
	TYR204	Electro

* กรดอะมิโนที่ห่างจากลิแกนด์ในระยะ 4 Å และเกิดอันตรกิริยากับลิแกนด์ได้คือ

** H-bond หมายถึง เกิดอันตรกิริยากับพันธะไฮโดรเจน

Electro หมายถึง เกิดอันตรกิริยากับแรงทางไฟฟ้าสถิตได้ดีที่สุดซึ่งมีค่า $\Delta G_{\text{binding}}$ และ K_i เท่ากับ -6.90 kcal/mol และ $8.75 \mu\text{M}$ ตามลำดับ ในขณะที่เฮกซะไฮโดรเคอร์คูมินมีประสิทธิภาพต่ำที่สุด (มีค่า $\Delta G_{\text{binding}}$ และ K_i เท่ากับ -4.46 kcal/mol และ $538.66 \mu\text{M}$ ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบกับ SAHA (เป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งในปัจจุบัน) ซึ่งเกิดอันตรกิริยากับ HDAC1 ได้ดีโดยมีค่า $\Delta G_{\text{binding}}$ เท่ากับ -7.41 kcal/mol และ K_i เท่ากับ $5.89 \mu\text{M}$ จะเห็นว่าบิสดีเมท็อกซ์เคอร์คูมินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HDAC1 ได้ใกล้เคียงกับ SAHA

จากผลการคำนวณทางกลศาสตร์ควอนตัมด้วยวิธี MP2/6-31G(d) ซึ่งเป็นการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์กับกรดอะมิโนที่อยู่รอบๆ ลิแกนด์ในระยะ 4 Å พบว่าให้ค่าพลังงาน $\Delta E_{\text{binding}}$ ในช่วงประมาณ -30.9 ถึง -53.8 kcal/mol ซึ่งจะพบว่าแนวโน้มในการเกิดอันตรกิริยากับ HDAC1 มีความสอดคล้องกับวิธีโมเลกุลาร์ดีคอกกิง กล่าวคือ สารในกลุ่มของเคอร์คูมินที่เป็นบิสดีเมท็อกซ์เคอร์คูมินจะเกิดอันตรกิริยาได้ดีที่สุดและใกล้เคียงกับ SAHA ทั้งนี้กรดอะมิโนที่สำคัญที่เกิดอันตรกิริยาได้ดีกับลิแกนด์แสดงในตารางที่ 3 โดยมีชนิดของอันตรกิริยาได้แก่พันธะไฮโดรเจน (H-bond) และแรงทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic force)

เมื่อพิจารณาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดอันตรกิริยากับ HDAC1 จะพบว่า การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่าง ลิแกนด์กับกรดอะมิโนเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการเกิดอันตรกิริยาโดยรวม (จากการคำนวณทางควอนตัมพบว่า กรดอะมิโนที่เกิดพันธะไฮโดรเจนได้จะให้ค่า $\Delta E_{\text{binding}}$ เป็นลบมากกว่า -10 kcal/mol ในขณะที่กรดอะมิโนที่เกิดแรงทางไฟฟ้าสถิตจะให้ค่า $\Delta E_{\text{binding}}$ ประมาณ -2 ถึง -8 kcal/mol เท่านั้น) จากลักษณะการวางตัวของบิสดีเมท็อกซ์เคอร์คูมินในตำแหน่งกัมมันต์ของ HDAC1 จะพบว่าหมู่ $-\text{OH}$ ในวงเบนซีนที่ปลายทั้งสองด้านของลิแกนด์สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ดี (เช่นเดียวกับหมู่ $-\text{NH}$ และ $-\text{OH}$

ของ SAHA) จึงทำให้บิสติเมที่ออกซี้เคอร์คูมินเกิดอันตรกิริยากับ HDAC1 ดีกว่าสารในกลุ่มของเคอร์คูมินอื่นๆ ถึงแม้ว่าสารเหล่านี้จะมีหมู่ $-OH$ ที่ปลายทั้งสองด้านเช่นเดียวกับบิสติเมที่ออกซี้เคอร์คูมิน แต่การมีหมู่ $-OCH_3$ ที่ปลายโมเลกุลด้วยอาจจะทำให้เกิดความเกะกะ (steric effect) ในการเกิดพันธะไฮโดรเจน (ดูโครงสร้างโมเลกุลในตารางที่ 1)

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างสารในกลุ่มของเคอร์คูมินกับเอนไซม์ HDAC1 ในเทอมของพลังงานเสรีการยึดจับและค่าคงที่การยับยั้งด้วยวิธีการจำลองแบบโมเลกุลาร์ดีคอกกิง และคำนวณพลังงานยึดจับด้วยวิธีทางกลศาสตร์ควอนตัม ทั้งนี้เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HDAC1 อันจะนำไปสู่การออกแบบและพัฒนาการรักษาโรคมะเร็งต่อไป

จากการศึกษา พบว่าสารในกลุ่มของเคอร์คูมินทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ เคอร์คูมิน บิสติเมที่ออกซี้เคอร์คูมิน บิสติเมที่ออกซี้เคอร์คูมิน เตตระไฮโดรเคอร์คูมิน และเฮกซะไฮโดรเคอร์คูมิน สามารถเกิดอันตรกิริยาและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ HDAC1 ได้ โดยที่บิสติเมที่ออกซี้เคอร์คูมินมีประสิทธิภาพมากที่สุด ซึ่งใกล้เคียงกับ SAHA ซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งในปัจจุบัน โดยอันตรกิริยาที่สำคัญ คือ การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างลิแกนด์กับกรดอะมิโนในตำแหน่งกัมมันต์ของ HDAC1 รวมทั้งแรงทางไฟฟ้าสถิตด้วย ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่ามีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสารในกลุ่มของเคอร์คูมินให้เป็นยาทางเลือกในการรักษาโรคมะเร็งต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สกว.) และได้รับการ

สนับสนุนทรัพยากรการคำนวณจากภาคีโครงสร้างพื้นฐานระดับชาติด้าน e-Science (URL : <http://www.e-science.in.th>)

เอกสารอ้างอิง

- American Cancer Society. Heredity and Cancer [online] 2015[cited 2015 September 2015]. Available from: <http://mstage.qa.cancer.org/cancer/cancercauses/geneticsandcancer/heredity-and-cancer>.
- Choi JH, Kwon HJ, Yoon BI, Kim JH, Han SU, Joo HJ, Kim DY. Expression profile of histone deacetylase 1 in gastric cancer tissues. J Cancer Res 2001; 92: 1300-4.
- Cooper GM, Hausman RE. The cell: A molecular approach 3rd ed. Washington, DC: ASM Press 2004; 631-673.
- Dokmanovic M, Marks PA. Prospects: histone deacetylase inhibitors. J Cell Biochem ; 2005; 96(2): 293-304.
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. Gaussian, Inc., Wallingford CT; 2009.
- Halkidou L, Gaughan S, Cook HY, Leung DE, Neal CN, Robson K. Halkidou Upregulation and nuclear recruitment of HDAC1 in hormone refractory prostate cancer Prostate 2004; 59: 177-189.
- Hui Lu, Ya-dong Chen, Bo Yang, Qi-dong You. Design synthesis and biological evaluation of novel histone deacetylase inhibitors based on virtual screening. Acta Pharmaceutica Sinica B Volume 1, Issue 4, December 2011; 240-247.



- HyperChem(TM) Professional 8.0, Hypercube, Inc.,
1115 NW 4th Street, Gainesville, Florida
32601, USA, 2006.
- Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK,
(article in press) Chemistry and biological
activities of *C. longa*. Food sc. & tech, 2005.
- Krusche CA1, Wülfing P, Kersting C, Vloet A,
Böcker W, Kiesel L, et al. Alfer J. Histone
deacetylase-1 and -3 protein expression in
human breast cancer: a tissue microarray
analysis. Breast Cancer Res. Treat 2005;
90(1): 15–23.
- Mork CN, Faller DV, Spanjaard RA. A mechanistic
approach to anticancer therapy:targeting the
cell cycle with histone deacetylase inhibitors.
Curr Pharm Des 2005; 11(9): 1091-104.
- Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF,
Belew RK, Goodsell DS, et al. Autodock4 and
AutoDockTools4: automated docking with
selective receptor flexibility. J. Computational
Chemistry 2009; 16: 2785-91.
- Pfeiffer E, Hohle S, Solyom AM, Metzler M. Studies
on the stability of turmeric constituents. J.
Food Eng. 56. 2003; 257-259.
- Sanner MF. Python: A Programming Language for
Software Integration and Development. J.
Mol. Graphics Mod 1999; 17(2): 57–61.
- Villar-Garea A, Esteller M. Histone deacetylase
Inhibitors: understanding a new wave of
anticancer agents. Int J Cancer 2004; 112(2):
171-8.
- Warrell R P, He L Z, Richon V, Calleja E, Pandolf PP.
Therapeutic Targeting of Transcription in
Acute Promyelocytic Leukemia by Use of an
Inhibitor of Histone Deacetylase. Journal of the
Nation Cancer Institute 1998; 1621-25.
- WHO. The top 10 causes of death Fact sheet
N°310[online] 2014 [cited 2015 September
2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>.
- World Health Organization. World Cancer Report
2014[online]2014[cited 2015 September
2015]. Available from: <http://www.iarc.fr/en/publications/books/wcr/>.
- Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, Ando
Y, Mita K, et al. Iwase H. Quantitation of
HDAC1 mRNA expression in invasive
carcinoma of the breastBreast Cancer Res.
Treat 2005; 94: 11-16.