# การตรวจพิสูจน์สารต้านมะเร็งปอดที่มีศักยะจากทากเปลือยโดยใช้แบบจำลองทางคอมพิวเตอร์

สถาปัตย์ ราชา[1], วิทยา ฉวีกัลยากุล[1] ธีรัช สุเทพ[1], ขวัญธิดา ศิริแสง[1] และ กรรณิการ์ ราชา[1*]

[1]คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ, เชียงใหม่
*kannikapyu@gmail.com

**บทคัดย่อ**

Methionine Aminopeptidase 2 (MetAP2) เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการควบคุมกิจกรรมภายในเซลล์และกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน โดยพบว่าเอนไซม์ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ที่ขนาดไม่เล็ก การศึกษาก่อนหน้านี้ได้รายงานถึงศักยภาพของ สาร Jorunnamycin A, B, และ C ที่แยกจากทากเปลือย *Jorunna funebris* พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด อย่างไรก็ตามกลไกออกฤทธิ์ของสารกลุ่มดังกล่าวยังไม่ชัดเจน ในการศึกษานี้ใช้เทคนิคการจำลองโมเลกุลสำหรับทดสอบความสามารถในการเข้าจับระหว่างสาร Jorunnamycin A, B, และ C กับ เอนไซม์ MetAP2 พบว่าสาร Jorunnamycin A มีศักยะในการยับยั้งมากที่สุด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ทำให้เข้าใจฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารกลุ่มนี้มากยิ่งขึ้น

**คำสำคัญ:** มะเร็งปอด, แบบจำลองทางคอมพิวเตอร์, Methionine Aminopeptidase 2

# Identification of Small Molecule from *Jorunna Funebris* with Anti-lung Cancer Potential: Molecular Modeling Study

Satapat Racha[1], Wittaya Chaweekanlayakun[1], Teerat Suthep[1], Khuantida Sirisang[1], and Kannika Racha[1*]

[1]Faculty of Pharmacy, Payap University
*kannikapyu@gmail.com

**Abstract**

Methionine Aminopeptidase 2 (MetAP2) is an enzyme that plays a vital role in regulating post-translational processing and protein synthesis. MetAP2 is overexpressed in non-small cell lung cancer (NSCLC). Potential cytotoxicity of Jorunnamycin A-C from *Jorunna funebris*, has been reported, but the mechanism of action is unclear. The study aims to investigate the molecular interaction between Jorunnamycin A-C and MetAP2 by molecular modeling. The results showed that Jorunnamycin A is the most promising inhibitor of MetAP2. This finding provides a better understanding of the molecular basis for the cytotoxicity of *Jorunna funebris*.

**Keywords:** Lung cancer, molecular modeling, Methionine Aminopeptidase 2

**1. บทนำ**

มะเร็งปอดเป็นมะเร็งที่พบได้มากและเป็นโรคที่มีผู้เสียชีวิตมากที่สุดในกลุ่มโรคมะเร็ง โดยมะเร็งปอดสามารถจำแนกได้เป็น 2 ชนิดตามผลทางพยาธิวิทยา ได้แก่ โรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ที่ขนาดไม่เล็ก (non-small cell lung cancer (NSCLC)) และ โรคมะเร็งปอดชนิดเซลล์ขนาดเล็ก (small cell lung cancer (SCLC)) ส่วนใหญ่มักเป็นแบบชนิดเซลล์ที่ขนาดไม่เล็ก ซึ่งมะเร็งปอดส่งผลต่อสุขภาพอย่างรุนแรง ในบางรายทำให้เกิดการเสียชีวิต และเมื่อได้รับการรักษามักมีค่าใช้จ่ายในการรักษาที่สูง ซึ่งในผู้ป่วยบางรายการตอบสนองต่อการรักษาของยามีการตอบสนองที่แตกต่างกัน ในผู้ป่วยบางรายพบว่าการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดมีประสิทธิภาพดีแต่ในผู้ป่วยบางรายการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดมีประสิทธิภาพที่ไม่ดีและยังส่งผลข้างเคียงที่ร้ายแรง อาทิเช่น คลื่นไส้ อาเจียน น้ำหนักตัวลด มวลกล้ามเนื้อลดลง การรับรสเปลี่ยนแปลงไป และผมร่วง เป็นต้น และในปัจจุบัน International Agency for Research on Cancer ขององค์การอนามัยโลก มีการรายงานสถิติจากทั่วโลกว่ามะเร็งปอดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นด้วย [1]

จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการเปลี่ยนแปลงและการสังเคราะห์โปรตีนที่ทำให้เกิดมะเร็งปอด คือ MetAP จัดเป็น bifunctional protein ซึ่งในยีนของมนุษย์ MetAP แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ MetAP1 และ MetAP2 และมีการค้นพบว่า MetAP2 เป็นโมเลกุลเป้าหมายของการกระตุ้นการเกิดมะเร็งปอดชนิดเซลล์ที่ขนาดไม่เล็ก ดังนั้นหากสามารถยับยั้งการทำงานของ MetAP2 ได้จะสามารถยับยั้งการแพร่กระจายของมะเร็งปอดชนิดเซลล์ที่ขนาดไม่เล็กได้ [2]

ทากเปลือยหรือทากทะเล (nudibranch) จัดเป็นสัตว์ทะเลในกลุ่มหอยไม่มีเปลือก มีรูปร่างลักษณะที่หลากหลาย และมีสีสันสวยงาม ส่วนมากดำรงชีวิตอยู่บริเวณพื้นท้องทะเล พบได้ตามแนวปะการัง ซอกหิน เป็นสัตว์กินเนื้อเป็นอาหาร จากการศึกษาพบว่าทากเปลือยชนิด *Jorunna funebris* ที่พบกระจายทั่วไปในพื้นที่เขตร้อน มหาสมุทรอินเดียและมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตก รวมถึงในน่านน้ำไทยมีกลไกลการป้องกันตนเองจากศัตรูโดยสามารถผลิตสารเคมีชนิดหนึ่ง คือ สารแอลคาลอยด์ในกลุ่มบิสเตตราไฮโดรไอโซควิโนลินควิโนน สามารถแบ่งได้ 3 ชนิด ได้แก่ Jorunnamycin A , Jorunnamycin B และ Jorunnamycin C ซึ่ง

สารเคมีนี้จะถูกสร้างขึ้นได้เมื่อทากเปลือยชนิด *Jorunna funebris* กินฟองน้ำสีน้ำเงิน *Xestospogia sp.* เป็นอาหาร ซึ่งสารเคมีนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด [3]

งานวิจัยนี้อาศัยการจำลองการจับเชิงโมเลกุล (molecular docking simulation) ในการตรวจพิสูจน์ความสามารถในการเข้าจับระหว่างสาร Jorunnamycin A, B, และ C กับ เอนไซม์ MetAP2 โดยเปรียบเทียบกับสารยับยั้งเอนไซม์ MetAP2 ดังนั้นหากสารที่มีค่า binding affinity ต่อโมเลกุลเป้าหมายดีกว่าสารยับยั้งเอนไซม์ MetAP2 จะสามารถบ่งชี้ว่าสารนั้นสามารถเข้าจับกับโมเลกุลเป้าหมายด้วยกลไกยับยั้ง เอนไซม์ MetAP2 ได้ ซึ่งเป็นวิธีที่ปัจจุบันนิยมใช้ในการค้นพบและพัฒนายา โดยมีข้อดีคือสามารถช่วยทำนายฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ลดระยะเวลา และค่าใช้จ่ายในการทดสอบสารในห้องปฏิบัติการให้น้อยลง [4] ผลของการศึกษานี้จะนำไปสู่การสร้างองค์ความรู้ใหม่ เพื่อให้เข้าใจกลไกในระดับโมเลกุล และนำไปสู่การพัฒนาสารในการรักษาโรคมะเร็งต่อไปได้

**2. วัตถุประสงค์**

เพื่อตรวจพิสูจน์อันตรกิริยาระหว่างสาร Jorunnamycin A, B, และ C กับ MetAP2 โดยใช้แบบจำลองทางคอมพิวเตอร์

**3. วิธีดำเนินการวิจัย**

**3.1 การจำลองการจับเชิงโมเลกุล**

เริ่มจากการศึกษาค้นคว้าข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างสามมิติของ MetAP2 ซึ่งเป็นโครงสร้างจากเทคนิค X-ray crystallography เพื่อค้นหาโครงสร้างเริ่มต้นที่เหมาะสมกับงานวิจัยนี้ โดยค้นหาจากฐานข้อมูล Protein Data Bank (PDB) [5] ซึ่งจะพบว่ามีโครงสร้างสามมิติของ MetAP2 ที่จับอยู่กับสารยับยั้งต้นแบบ TNP-470 รหัส 1B6A

โครงสร้างสามมิติของ MetAP2 เตรียมโดยใช้โปรแกรม Autodock แยกโครงสร้างของ TNP-470 ที่จับอยู่ในโครงสร้างผลึกโปรตีนออก หลังจากนั้นจึงเติมไฮโดรเจนอะตอมให้กับโมเลกุล MetAP2 และประจุแบบ Gastiger charge โดยใช้โปรแกรม Autodock Tools เพื่อให้พร้อมสำหรับกระบวนการจำลองการจับเชิงโมเลกุลต่อไป

เมื่อได้โครงสร้างโมเลกุลเป้าหมายแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือ นำโครงสร้างของสารยับยั้งต้นแบบ TNP-470 ทำการ docked กลับเข้าไปในบริเวณตำแหน่งที่จับ (biding site) เดิม โดยโครงสร้างที่ docked ได้จะต้องจัดเรียงตัวใกล้เคียงโครงสร้างในผลึกรหัส 1B6A หรือ วางตัวทับกับโครงสร้างเดิมได้พอดี เรียกขั้นตอนนี้ว่า re-docking ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญในการตรวจสอบความถูกต้องของพารามิเตอร์และโปรแกรมที่ใช้ในการคำนวณว่ามีความเหมาะสมหรือไม่ หลังจากนั้นจึงนำค่าพารามิเตอร์ที่ได้นั้น มาใช้ในการจำลองการจับเชิงโมเลกุลต่อไป

โครงสร้างสามมิติของสาร Jorunnamycin A , Jorunnamycin B และ Jorunnamycin C ได้จากฐานข้อมูล Pubchem [6]

การจำลองการจับเชิงโมเลกุลใช้โปรแกรม AutoDock Vina ในการคำนวณหาการจัดเรียงตัวของสารโมเลกุลเล็กในบริเวณตำแหน่งที่จับของ MetAP2 แบ่งเป็น 3 ขั้นตอนสำคัญคือ การเตรียมลิแกนด์ กระบวนการกำหนดบริเวณและชนิดของอะตอมในการคำนวณ และในขั้นสุดท้ายคือการคำนวณการจับกันของโปรตีนและลิแกนด์ ในขั้นการกำหนดบริเวณนั้น Grid box จะถูกสร้างขึ้นเป็นบริเวณเดียวกันกับสารยับยั้งต้นแบบ TNP-470 วางตัวอยู่ใน binding site ของ MetAP2 และขนาดของกล่องคือ 20 จุดในแกน X แกน Y และแกน Z ระยะห่างระหว่างจุดคือ 1 Å

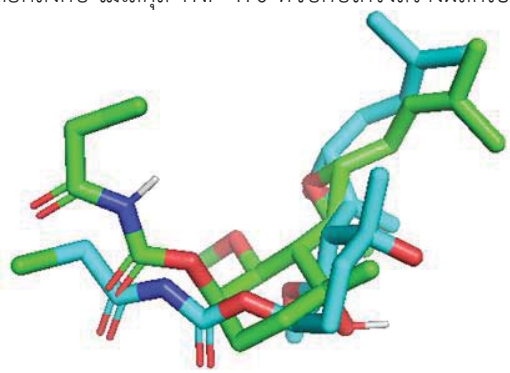
**3.2 การวิเคราะห์อันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์กับโมเลกุลเป้าหมาย**

ใช้โปรแกรม Maestro วิเคราะห์ตำแหน่งของโครงสร้างกรดแอมิโน และรูปแบบการเข้าจับของลิแกนด์ที่มีความสำคัญในการเข้าจับกับโมเลกุลเป้าหมายในรูปแบบ 2 มิติ [7]

**4. ผลการวิจัยและอภิปราย**

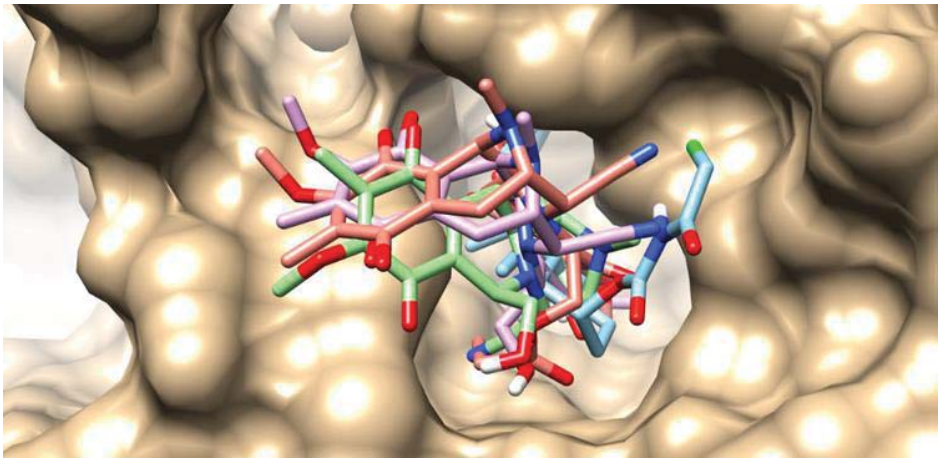
**4.1 การจำลองการจับเชิงโมเลกุล**

ในการจำลองการจับเชิงโมเลกุลการตรวจสอบความถูกต้องและเหมาะสมของโปรแกรมที่ใช้นับว่ามีความจำเป็นอย่างยิ่ง จากการ re-dock ของภาพที่ 1 แสดงให้เห็นว่า โมเลกุล TNP-470 ที่ได้จำลองการจับโมเลกุลที่ตำแหน่งเดิมของโครงสร้างโปรตีน MetAP2 สามารถจัดเรียงตัวได้คล้ายคลึงกับ โมเลกุล TNP-470 ที่จับกับโครงสร้างผลึกโปรตีน MetAP2



**ภาพที่ 1** การจัดเรียงตัวโครงสร้าง 3 มิติ ของสาร TNP-470 (สีฟ้า) จากโครงสร้างของ PDB และ โครงสร้างจากการจำลองการจับเชิงโมเลกุล (สีเขียว)

ค่า binding affinity ที่ได้จากการจำลองการเข้าจับระหว่างสารประกอบในทากเปลือยหรือทากทะเลกับโครงสร้าง MetAP2 ด้วยโปรแกรม AutoDock Vina มีค่าอยู่ในช่วง -8.0 ถึง -7.7 kcal/mol โดยสาร Jorunnamycin A , Jorunnamycin B และ Jorunnamycin C มีค่า binding affinity เท่ากับ -8.0, -7.7 และ -7.8 kcal/mol ตามลำดับ ส่วน TNP-470 กับโครงสร้าง MetAP2 มีค่าเท่ากับ -7.7 kcal/mol แสดงให้เห็นว่าสารทดสอบสามารถเข้าจับกับโปรตีน MetAP2 ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ TNP-470 นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาการจัดเรียงของโครงสร้างโมเลกุลกับบริเวณตำแหน่งออกฤทธิ์พบว่าอยู่บริเวณเดียวกัน แสดงว่าสาร Jorunnamycin A-C อาจจะมีความสามารถในการเข้าจับกับ MetAP2 ในตำแหน่งเช่นเดียวกับ TNP-470 (ภาพที่ 2)



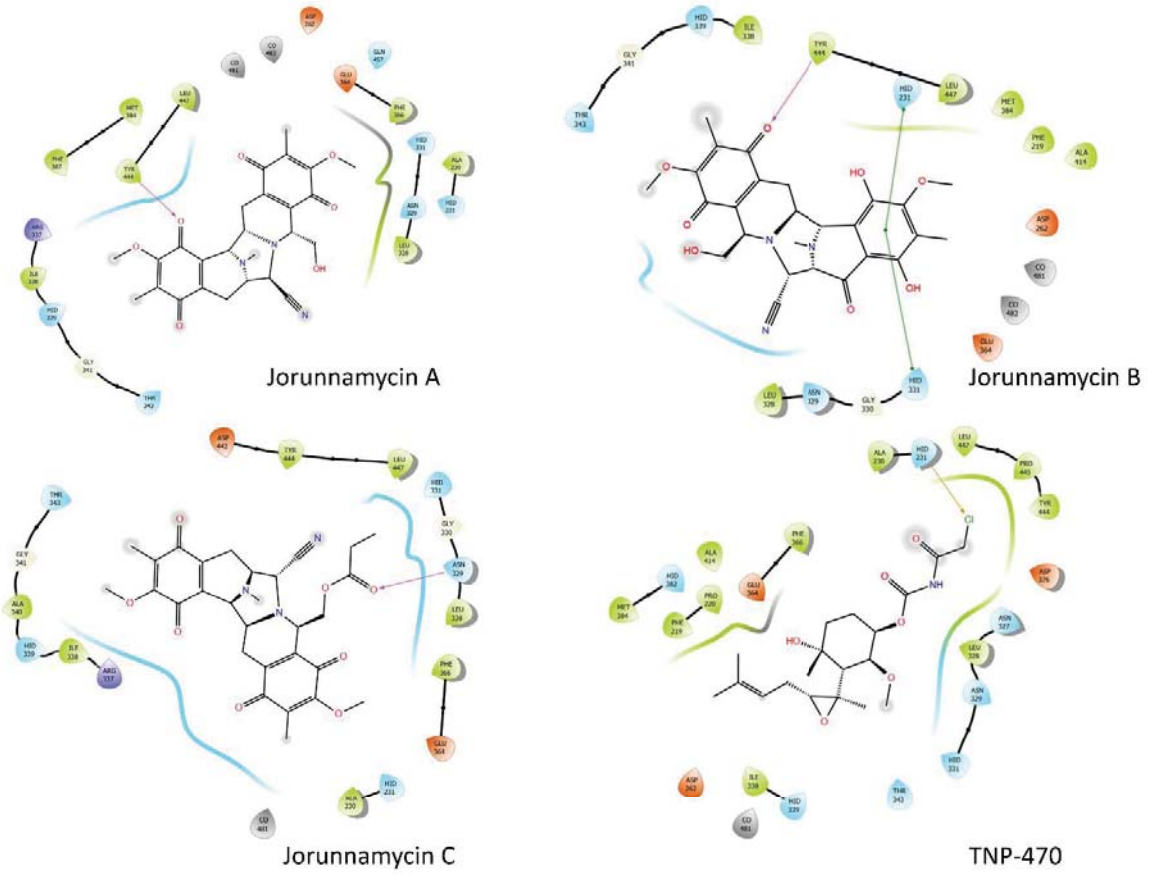
**ภาพที่ 2** การจัดเรียงตัวของสารประกอบในบริเวณตำแหน่งที่ออกฤทธิ์ของ TNP-470 (สีฟ้า), Jorunnamycin A (สีม่วง), Jorunnamycin B (สีเขียว), และ Jorunnamycin C (สีแดง)

**4.2 การวิเคราะห์อันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์กับโมเลกุลเป้าหมาย**

จากข้อมูลรายงานการเข้าจับของสารต้นแบบ TNP-470 พบว่าภายในบริเวณที่ออกฤทธิ์มีกรดแอมิโนที่มีความสำคัญในการจับกับ MetAP2 คือ กรดแอมิโนที่มีความเป็นขั้ว (polar) โดยเฉพาะ HID ตำแหน่งที่ 231 และ Cobalt ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของ MetAP2 [8]

สาร TNP-470 จัดเป็นสารต้นแบบที่ถูกพัฒนาในการเข้าจับกับ MetAP2 แต่เนื่องจากผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ทำให้สารดังกล่าวไม่สามารถนำออกจำหน่ายได้ โดยรูปแบบการเข้าจับพบว่า สาร TNP-470 มีความสามารถในการเข้าจับกับกรดแอมิโน HID231 ได้ด้วย covalent bond ทำให้การเข้าจับเป็นแบบไม่ผันกลับและยังสามารถเกิดอันตรกิริยากับ CO481 ได้ด้วย

ส่วนสาร Jorunnamycin A-C นั้น (ภาพที่ 3) มีค่าพลังงานในการยึดจับจะดีกว่า สาร TNP-470 แต่รูปแบบการเข้าจับแตกต่างกัน จากอันตรกิริยาที่พบระหว่าง HID231 เป็นการเข้าจับแบบผันกลับ และสามารถเกิดอันตรกิริยาแบบ hydrophobic กับกรดแอมิโนที่เป็นมีสมบัติเป็น hydrophobic ได้ดีโดยเฉพาะ TYR444 จึงน่าจะเป็นสาเหตุให้สารกลุ่มดังกล่าวมีความสามารถในการเข้าจับกับ MetAP2 ได้ดี โดยเฉพาะ Jorunnamycin A สามารถเข้าจับกับ TYR444 ได้ด้วยพันธะ hydrogen จึงน่าจะเป็นสาเหตุให้สาร Jorunnamycin A มีค่าพลังงานดีที่สุด จากข้อมูลที่ได้พบว่า สาร Jorunnamycin A-C น่าจะมีความปลอดภัยและอาการข้างเคียงที่น้อยกว่าสาร TNP-470 เนื่องจากมีรูปแบบการเข้าจับแบบผันกลับได้




**ภาพที่ 3** อันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์กับโมเลกุลเป้าหมาย

**5. บทสรุป**

การจำลองการจับเชิงโมเลกุลเป็นวิธีพัฒนายาและการค้นหา ที่มีความรวดเร็ว และสะดวกสำหรับการทำนายฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ในการศึกษานี้ พบว่า สาร Jorunnamycin A ซึ่งเป็นสารประกอบที่ได้จากทากเปลือยชนิด *Jorunna funebris* มีความสามารถในการเข้าจับกับ MetAP2 ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสาร TNP-470 ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ยับยั้ง MetAP2

ดังนั้นสาร Jorunnamycin A จึงเป็นสารที่มีศักยภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอดชนิดเซลล์ไม่เล็กผ่านกลไกการยับยั้ง MetAP2 แบบผันกลับได้

**6. ข้อเสนอแนะ**

การจำลองการจับเชิงโมเลกุลเป็นการศึกษาในขั้นตอนแรกๆของการวิจัยและพัฒนายา จำเป็นต้องมีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและพิษวิทยาในด้านอื่นๆเพิ่มเติมต่อไป เช่น ในหลอดทดลอง ในสิ่งมีชีวิต และในทางคลินิก เป็นต้น

**7. กิตติกรรมประกาศ**

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยพายัพ ที่ให้การสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

**เอกสารอ้างอิง (References)**

[1] Ferlay, J., Colombet, M., & Bray, F. (2021). Cancer statistics for the year 2020: An overview. **International journal of cancer**, 10.1002/ijc.33588.

[2] Shimizu, H., Yamagishi, S., & Ghazizadeh, M. (2016). Methionine Aminopeptidase 2 as a Potential Therapeutic Target for Human Non-Small-Cell Lung Cancers. **Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University**, 25(1), 117–128.

[3] Charupant, K., Suwanborirux, K., & Saito, N. (2007). Jorunnamycins A-C, new stabilized renieramycin-type bistetrahydroisoquinolines isolated from the Thai nudibranch Jorunna funebris. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, 55(1), 81–86.

[4] Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of computational chemistry**, 31(2), 455–461.

[5] Rose, Y., Duarte, J. M., & Westbrook, J. D. (2021). RCSB Protein Data Bank: Architectural Advances Towards Integrated Searching and Efficient Access to Macromolecular Structure Data from the PDB Archive. **Journal of molecular biology**, 433(11), 166704.

[6] Kim, S., Chen, J., & Bolton, E. E. (2019). PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. **Nucleic acids research**, 49(D1), D1388–D1395.

[7] Shah, B., Modi, P., & Sagar, S. R. (2020). In silico studies on therapeutic agents for COVID-19: Drug repurposing approach. **Life sciences**, 252, 117652.

[8] Liu, S., Widom, J., & Clardy, J. (1998). Structure of human methionine aminopeptidase-2 complexed with fumagillin. **Science**, 282(5392), 1324–1327.