เอนไซม์กับงานทางเภสัชกรรม (Enzyme and Pharmaceutics)
ตอนที่ 2: ยาที่มีกลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์
(Part 2: Enzyme Inhibitors Derived Drugs)

รศ.ดร.ศักดา ดาดวง
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้กล่าวมาแล้วในตอนที่ 1 ตอนที่มีชื่อว่า “ยาที่มีต้นกำเนิดจากเอนไซม์ (Enzyme Derived Drugs)” มาแล้วว่า เอนไซม์ทำหน้าที่เร่งการเปลี่ยนสสาร หรือที่เรียกว่า “สารตั้งต้น (substrate หรือ reactant)” ให้เป็นสารประกอบอีกอย่างหนึ่งซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีต่างออกไปจากเดิม ซึ่งเรียกว่า “ผลิตภัณฑ์ (product)” โดยที่โมเลกุลหรือโครงสร้างของตัวเอนไซม์เองแทบไม่มีการเปลี่ยนแปลง ได้กล่าวถึงกลไกการทำงานและจลศาสตร์ของเอนไซม์ ผลของอุณหภูมิและพีเอช (pH) ต่อการทำงานของเอนไซม์ และการประยุกต์ใช้เอนไซม์เป็นยาโดยตรงเพื่อการรักษา

สำหรับในตอนที่ 2 นี้ จะกล่าวถึงอีกหนึ่งของเอนไซม์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการรักษา แต่เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitor) ที่มีการใช้เพื่อการรักษาอย่างหลากหลาย ซึ่งในเบื้องต้น จะขอเกริ่นนำถึงความรู้เรื่องของกลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และจะยกตัวอย่างโมเลกุลที่ได้รับการพัฒนาขึ้นมาเป็นยาเพื่อการรักษา โดยยาเหล่านั้นมีต้นกำเนิดจากการเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์

ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับกลไกการทำงานและจลศาสตร์ของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

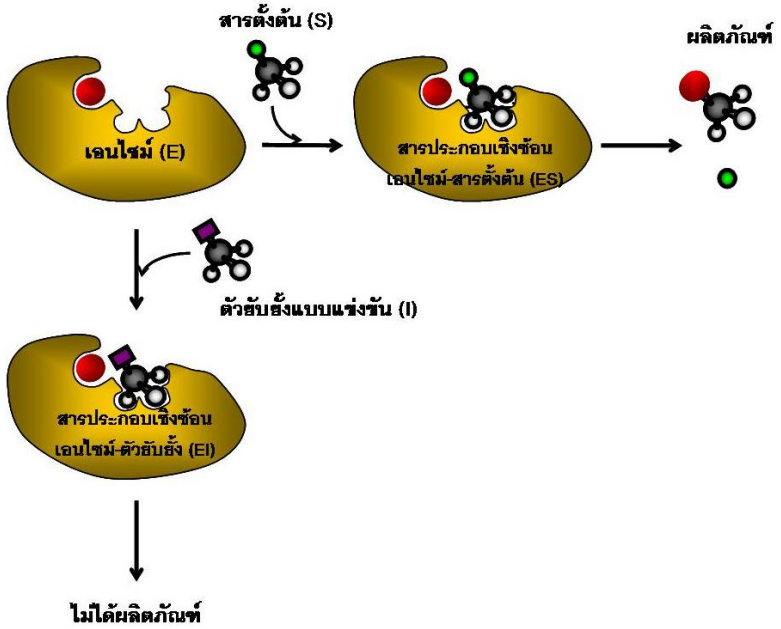
การศึกษาตัวยับยั้งของเอนไซม์ ทำให้ทราบกลไกการออกฤทธิ์ของสารเคมีต่าง ๆ ต่อเซลล์และร่างกาย และยังเป็นเครื่องมือที่ดีในการศึกษากลไกการทำงานของเอนไซม์ในรายละเอียด การยับยั้งแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ **การยับยั้งแบบผันกลับได้** และ**การยับยั้งแบบผันกลับไม่ได้** สำหรับการยับยั้งแบบผันกลับได้ ยังแบ่งตามบริเวณที่เข้าจับของสารตั้งต้นบนเอนไซม์ ได้เป็น 2 แบบ คือ จับบริเวณเดียวกับสารตั้งต้น เรียกว่า **การยับยั้งแบบแข่งขัน** (competitive inhibition) และจับกันคนละบริเวณกับสารตั้งต้น เรียกว่า **การยับยั้งแบบไม่แข่งขัน** (uncompetitive หรือ noncompetitive inhibition) ซึ่งการยับยั้งแบบไม่แข่งขัน มักจะเป็นความสามารถในการเปลี่ยนโครงรูปของเอนไซม์ หรือกระทบต่อจลนศาสตร์ของเอนไซม์

การยับยั้งแบบผันกลับได้ ตัวยับยั้งจะสร้างพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับเอนไซม์แล้วนำไปสู่การยับยั้งเต็มที่อย่างรวดเร็ว การยับยั้งแบบผันกลับได้ จึงสามารถผันกลับให้เอนไซม์กลับมาทำงานตามปกติได้ โดยการเจือจางเพื่อลดความเข้มข้นของตัวยับยั้งหรือการขจัดตัวยับยั้งด้วยวิธีการทางไดอะลิซิส (dialysis) การยับยั้งแบบผันกลับได้มีสองรูปแบบย่อยคือ การยับยั้งแบบแข่งขันและการยับยั้งแบบไม่แข่งขัน ดังกล่าวข้างบน

1. การยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive inhibition)

การยับยั้งแบบนี้ ตัวยับยั้ง (Inhibitor) มีโครงสร้างเกือบเหมือนหรือคล้ายโครงสร้างของสารตั้งต้น จึงสามารถเข้าจับกับบริเวณเร่ง (active site) บนเอนไซม์ได้ **การยับยั้งแบบแข่งขันนี้สามารถ**

ผันกลับได้ (reversible) เพราะว่าตัวยับยั้งและสารตั้งต้น พยายามแข่งขันแย่งกันเข้าจับกับบริเวณเร่งของเอนไซม์ (รูปที่ 1) หากตัวใดมีความเข้มข้นมากกว่า ก็จะเข้าจับได้ดีกว่า การยับยั้งแบบนี้ เป็นการยับยั้งแบบย้อนกลับได้ โดยการกำจัดตัวยับยั้งออกไปจากสารละลาย หรือโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้น สารตั้งต้นที่มีจำนวนความเข้มข้นสูงกว่าจะเข้าแย่งจับที่บริเวณเร่ง ทำให้ตัวยับยั้งหลุดออกไปจากบริเวณเร่ง



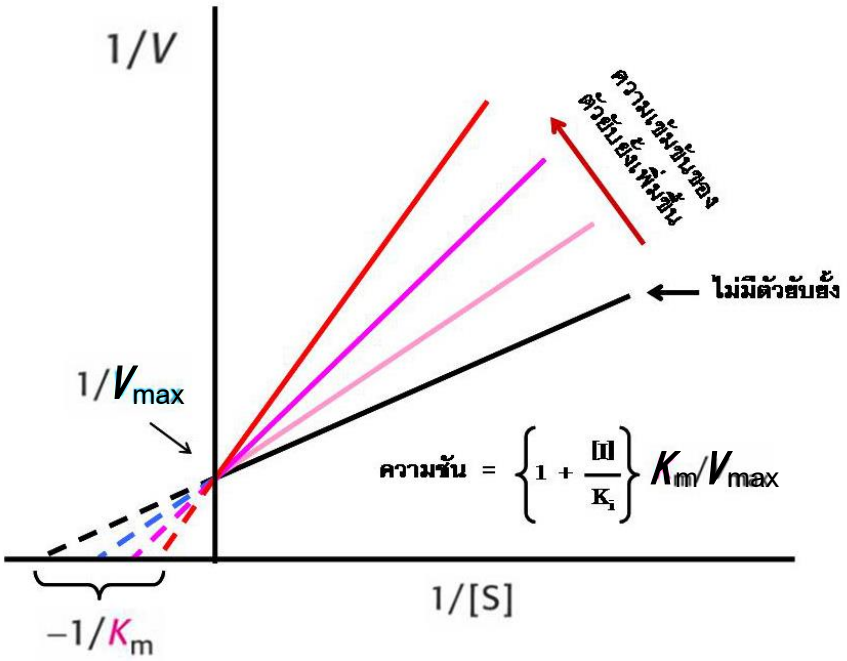
รูปที่ 1 การยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive inhibition) ตัวยับยั้งเข้าแย่งจับกับสารตั้งต้นที่บริเวณเร่งของเอนไซม์

สมการไมเคลิส-เมนเทน (Michelis-Menten Equation) สำหรับจลนศาสตร์ของการยับยั้งแบบแข่งขัน คือ

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} \left\{ 1 \quad \frac{[I]}{K_i} \right\}$$

เมื่อ $$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

โดยที่ [S] คือ ความเข้มข้นของสารตั้งต้น, [E] คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์, [I] คือ ความเข้มข้นของตัวยับยั้ง, [EI] คือ ความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-ตัวยับยั้ง, V คือ ความเร็วของการเร่งปฏิกิริยา, V_{max} คือ ความเร็วสูงสุดของการเร่งปฏิกิริยา, K_m คือค่าคงที่ไมเคลิส (Michelis constant) และเมื่อทำการ plot ระหว่าง 1/v กับ 1/[S] จะได้ดังกราฟในรูปที่ 2



รูปที่ 2 กราฟลายวีฟเวอร์เบอร์ก (Lineweaver Burk plot) เขียนระหว่าง 1/v กับ 1/[S] เมื่อมีและไม่มีตัวยับยั้งแบบแข่งขัน จะเห็นว่า เมื่อมีตัวยับยั้ง ความชันของเส้นกราฟจะเพิ่มขึ้น จุดตัดแกน Y คงที่ ส่วนจุดตัดแกน X ติดลบน้อยลง ดังนั้น ค่าคงที่ของไมเคลิส (K_m) จะเพิ่มขึ้น ส่วนค่าความเร็วสูงสุด (V_{max}) ไม่เปลี่ยนแปลง (Zubay, หน้า 148)

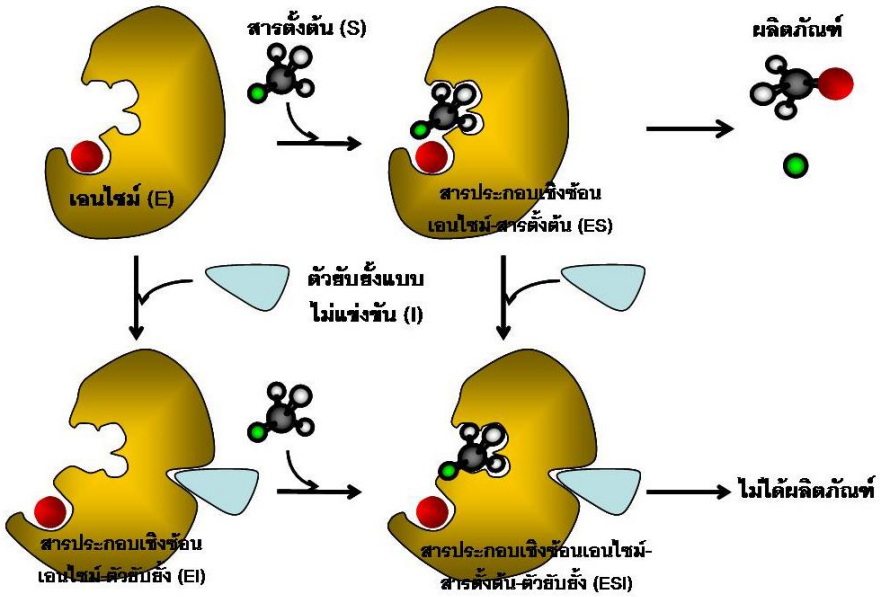
จากกราฟในรูปที่ 2 จะเห็นว่า การยับยั้งแบบแข่งขัน**จะเพิ่มค่าคงที่ของไมเคลิส (K_m)** เนื่องจากต้องใช้ความเข้มข้นของสารตั้งต้นมากขึ้น จึงจะแข่งขันกับตัวยับยั้งเพื่อเข้าจับกับเอนไซม์ได้ แต่**ค่าความเร็วสูงสุด (V_{max}) ไม่เปลี่ยนแปลง** เนื่องจากตัวยับยั้งไม่มีผลต่อโครงสร้างของเอนไซม์ ความสามารถของเอนไซม์ในการเปลี่ยนสารตั้งต้นให้เป็นผลิตภัณฑ์ยังคงเดิม

2. การยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (Noncompetitive และ Uncompetitive inhibition)

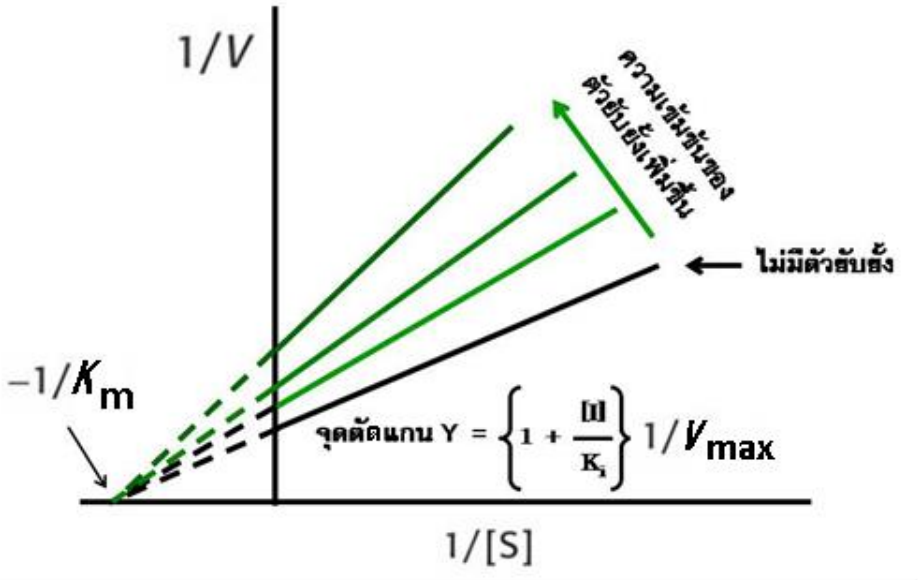
การยับยั้งแบบไม่แข่งขันนี้ ตัวยับยั้งจะไม่เข้าแข่งขันจับกับบริเวณเร่งโดยตรง แต่จะยับยั้งโดยการเข้ารบกวนการเกิดสารเชิงซ้อนเอนไซม์-สารตั้งต้น การยับยั้งแบบไม่แข่งขันนี้ผันกลับได้ โดยการกำจัดตัวยับยั้งออกไปจากสารละลาย แต่จะไม่ผันกลับหากเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้น เพราะว่าตัวยับยั้งและสารตั้งต้น มิได้จับในบริเวณเดียวกัน การยับยั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 แบบ ดังนี้

2.1 การยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 1 (Noncompetitive inhibition) เป็นการยับยั้งโดยตัวยับยั้งเข้าจับที่ที่ไม่ใช่บริเวณเร่ง โดยเข้าจับได้ทั้งกับสารเชิงซ้อนเอนไซม์-สารตั้งต้น และเอนไซม์อิสระ หรือกล่าวอีกอย่างหนึ่งว่า ตัวยับยั้งแบบนี้ เข้าจับกับเอนไซม์ได้ โดยไม่สนใจว่ามีสารตั้งต้นจับอยู่กับเอนไซม์หรือไม่ (รูปที่ 3) พบว่า ตัวยับยั้งแบบนี้ไม่รบกวนการจับของสารตั้งต้นที่บริเวณเร่ง แต่จะทำให้โครงสร้างของเอนไซม์เปลี่ยนไป ทำให้หมู่คะตะไลติกไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ จึง

เปลี่ยนสารตั้งต้นให้เป็นผลิตภัณฑ์ได้น้อยลง หรือเปลี่ยนไม่ได้เลย เมื่อเขียนกราฟระหว่าง 1/v กับ 1/[S] จะได้ดังกราฟรูปที่ 4



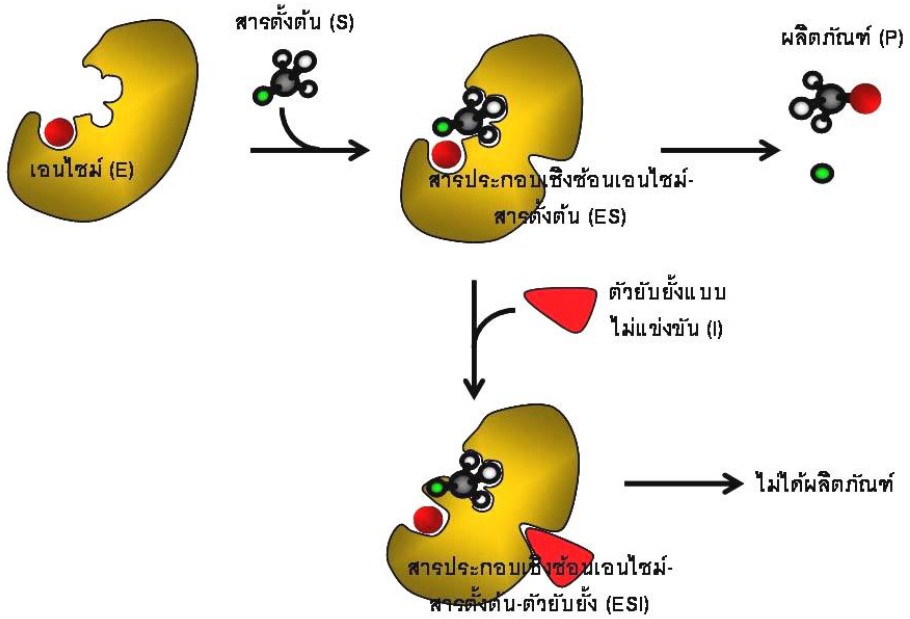
รูปที่ 3 การยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 1 (Noncompetitive inhibition) ตัวยับยั้งเข้าจับกับเอนไซม์ ณ บริเวณอื่นบนเอนไซม์ที่ไม่ใช่บริเวณเร่ง จึงไม่มีผลต่อการเข้าจับของสารตั้งต้นกับเอนไซม์ แต่มีผลทำให้โครงสร้างของเอนไซม์เปลี่ยนไป และความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาลดลง หรือหมดไป การจับของตัวยับยั้งดังกล่าวจับได้ทั้งเอนไซม์ในรูปเชิงซ้อน หรือเอนไซม์ในรูปอิสระ



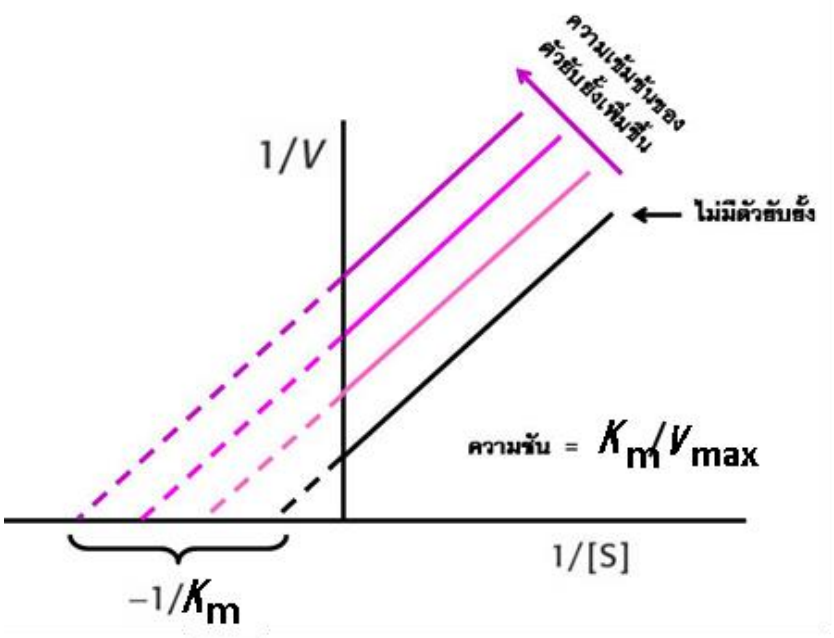
รูปที่ 4 กราฟลายวีฟเวอร์เบอร์ก เขียนระหว่าง 1/V กับ 1/[S] เมื่อมีและไม่มีตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 1 (noncompetitive inhibitor) จะเห็นว่า เมื่อมีตัวยับยั้ง ความชันของเส้นกราฟจะเพิ่มขึ้น จุดตัดแกน Y จะมากขึ้น ส่วนจุดตัดแกน X คงที่ ดังนั้น ค่าคงที่ของไมเคลิส (K_m) ไม่เปลี่ยนแปลง แต่ค่าความเร็วสูงสุด (V_{max}) จะลดลง (Zubay, หน้า 149)

จากกราฟจะเห็นว่า การยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 1 (Noncompetitive inhibition) นี้ ไม่รบกวนการจับของสารตั้งต้นกับเอนไซม์ ทำให้**ค่าคงที่ของไมเคลิส (K_m) ไม่เปลี่ยนแปลง** แต่จะไปลดความสามารถของเอนไซม์ในการเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นผลิตภัณฑ์ ดังนั้น จึงทำให้ค่า**ความเร็วสูงสุด (V_{max}) ลดลง**

2.2 การยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 2 (Uncompetitive inhibition) เป็นการยับยั้งโดยตัวยับยั้งเข้าจับเฉพาะกับสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-สารตั้งต้น แต่ไม่จับกับเอนไซม์อิสระ (รูปที่ 5) ผลของการจับของตัวยับยั้งทำให้เอนไซม์เสียโครงรูปไป ทำให้ความสามารถในการเปลี่ยนสารตั้งต้นให้เป็นผลิตภัณฑ์ลดลง หรือหมดไป อย่างไรก็ตาม เมื่อนำไปวิเคราะห์ตามสมการของไมเคลิส-เมนเทน และเขียนกราฟตามสมการลายวีฟเวอร์เบอร์ก พบว่า ทั้งค่าคงที่ของไมเคลิส (K_m) และค่าความเร็วสูงสุด (V_{max}) กลับลดลง และเมื่อเขียนกราฟระหว่าง 1/V กับ 1/[S] จะได้ดังกราฟรูปที่ 6 จากกราฟจะเห็นว่า **การยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 2 (Uncompetitive inhibition) มีผลต่อทั้งค่าความเร็วสูงสุด (V_{max}) และค่าคงที่ของไมเคลิส (K_m)** จะเห็นว่า **ค่าความเร็วสูงสุดจะลดลง** เนื่องจากเอนไซม์เสียโครงรูป ไม่สามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นให้เป็นผลิตภัณฑ์ได้ ส่วนค่าคงที่ของไมเคลิสลดลง หากเขียนกราฟตามสมการลายวีฟเวอร์เบอร์ก



รูปที่ 5 การยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 2 (Uncompetitive inhibition) ตัวยับยั้งเข้าจับกับเอนไซม์ ณ บริเวณอื่นบนเอนไซม์ที่ไม่ใช่บริเวณเร่ง จึงไม่มีผลต่อการเข้าจับของสารตั้งต้นกับเอนไซม์ แต่มีผลทำให้โครงสร้างของเอนไซม์เปลี่ยนไป และความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาลดลง หรือหมดไป การจับของตัวยับยั้งดังกล่าวจับได้เฉพาะกับเอนไซม์ในรูปเชิงซ้อน แต่ไม่จับกับเอนไซม์ในรูปอิสระ



รูปที่ 6 กราฟลายวีฟเวอร์เบอร์ก เขียนระหว่าง 1/v กับ 1/[S] เมื่อมีและไม่มีตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 2 (uncompetitive inhibitor) จะเห็นว่า เมื่อมีตัวยับยั้ง ความชันของเส้นกราฟคงที่ แต่จุดตัดแกน Y จะมากขึ้น และจุดตัดแกน X ติดลบมากขึ้น ดังนั้น ทั้งค่าคงที่ของไมเคลิส (K_m) และค่าความเร็วสูงสุด (V_{max}) จะเปลี่ยนแปลง โดยค่าความเร็วสูงสุด (V_{max}) จะลดลง (Voet, หน้า 359)

ตัวอย่างตัวยาที่มีพัฒนาการมาจากตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบไม่ผันกลับ

การยับยั้งแบบแข่งขัน หรือไม่แข่งขัน สามารถผันกลับได้ เมื่อกำจัดเอาตัวยับยั้งออกไป อย่างไรก็ตาม มีตัวยับยั้งบางตัวเข้าจับกับเอนไซม์ด้วยการสร้างพันธะโควาเลนท์ระหว่างตัวยับยั้งกับหมู่ข้าง (side chain) ของกรดอะมิโนของเอนไซม์หรือโคเอนไซม์ ทำให้ย้อนกลับไม่ได้ (irreversible) ตัวอย่างของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบไม่ผันกลับ ตัวอย่างบางส่วนในตารางที่ 1

ตัวอย่างอื่น ๆ ก็ได้แก่

1. การจับของไซยาไนด์ (cyanide, CN^-) กับไอออนโลหะต่าง ๆ ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี และไอออนโลหะอื่นๆ ซึ่งทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ที่เร่งกระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนในลูกโซ่หายใจ ซึ่งจะนำไปสู่การปั๊มโปรตอนออกจากผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย และมีการสร้าง ATP ต่อไป การจับดังกล่าวของไซยาไนด์ ส่งผลให้โคแฟกเตอร์ไม่สามารถส่งและรับอิเล็กตรอน และการสร้างเอทีพีก็หยุดลงในที่สุด

2. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดด้วยไอออนของโลหะตะกั่ว (Cu^{2+}) โดยไอออนจะเข้าทำปฏิกิริยาโควาเลนท์กับหมู่ซัลไฮดริล (sulfhydryl) ซึ่งเป็นหมู่ข้างของซิสเตอีน (cysteine) ของเอนไซม์

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบไม่ผันกลับที่พัฒนาขึ้นใช้ในงานทางเภสัชกรรม (Ouertani และคณะ, 2019)

Type of enzyme inhibitor	Enzyme inhibitor (drug)	Enzyme Target	Pharmaceutical use
Irreversible inhibitors	Aspirin	Cyclooxygenase	Inflammation/pain/fever
	Penicillin	Transpeptidase	Bacterial infection
	Acyclovir	Viral DNA polymerase	Herpes
	Allopurinol	Xanthine oxidase	Gout
	Amoxicillin	Penicillin binding proteins	Bacterial infection

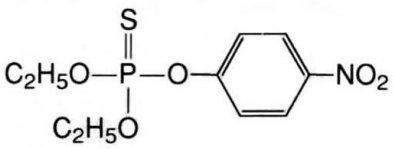
ตารางที่ 2 ตัวอย่างของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบแข่งขันที่พัฒนาขึ้นใช้ในงานทางเภสัชกรรม (Ouertani และคณะ, 2019)

Type of enzyme inhibitor	Enzyme inhibitor (drug)	Enzyme Target	Pharmaceutical use
Competitive reversible inhibitors	Lovastatin, Pravastatin, other statins	HMG-CoA reductase	Cholesterol lowering
	Captopril, enalapril	Angiotensin converting enzyme	Hypertension
	Saquinavir, indinavir, ritonavir	HIV protease	AIDS
	Acetazolamide	Carbonic anhydrase	Glaucoma
	Viagra, Levitra	Phosphodiesterase	Erectile dysfunction
	Gleevec	Bcr-Abl kinase	Cancer
	Methotrexate	Dihydrofolate reductase	Cancer, bacterial infection

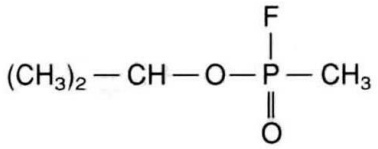
ตารางที่ 3 ตัวอย่างของตัวยับยั้งเอนไซม์แบบไม่แข่งขันที่พัฒนาขึ้นใช้ในงานทางเภสัชกรรม (Ouertani และคณะ, 2019)

Type of enzyme inhibitor	Enzyme inhibitor (drug)	Enzyme Target	Pharmaceutical use
Non competitive reversible inhibitors	Nevirapine, efavirenz	HIV reverse transcriptase	AIDS
	SB-715992	KSP kinesin	Cancer
	PD0325901, CI-1040	MAP kinase kinase (MEK)	Cancer
	TF-505	Steroid 5a-reductase	Benign prostate Hyperplasia
	Etoposide	Topoisomerase II	Cancer
	Tacrine	Acetylcholinesterase	Alzheimer's disease
	Trazodone	Adenosine deaminase	Depression
	Mycophenolic acid, VX-148	Inosine 5'-monophosphate dehydrogenase	Immunosuppression, cancer
	Finasteride, epristeride, dutasteride	Steroid 5α-reductase	Benign prostate hyperplasia, male pattern baldness
Uncompetitive reversible inhibitors	Valproic acid	UDP-glucuronosyltransferases	Xenobiotic metabolism
	Camptothecin	Topoisomerase I	Cancer
	Ciglitazone	15-Hydroxyprostaglandin, Dehydrogenase	Inflammatory diseases

3. การจับของสารเคมีในกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต (organophosphate) กับเอนไซม์อะเซทิลคอลีนเอสเทอเรส (acetylcholinesterase) สารเคมีในกลุ่มนี้ ได้แก่ ยาฆ่าแมลงและยากำจัดวัชพืช เช่น พาราไทออน (parathion), มาลาไทออน (malathion), ไดคลอวอส (dichlorvos), เมอร์ฟอส (merphos) เป็นต้น ก๊าซพิษทำลายระบบประสาท (nerve gas) เช่น ซาริน (sarin), ทะบูน (tabun), วีเอ็กซ์ (VX) เป็นต้น กลไกการยับยั้งเอนไซม์ เกิดขึ้นโดยเข้าไปสร้างพันธะโควาเลนท์กับหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งเป็นหมู่ข้างของกรดอะมิโนชนิดเซอรีนบนบริเวณเร่งของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำลายอะเซทิลคอลีน (acetylcholine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ของเซลล์ประสาทได้ การมีอะเซทิลคอลีนอยู่มากเกินจำเป็น ทำให้การส่งกระแสผ่านรีเซพเตอร์ชนิดมัสคารินิกและนิโคตินิก (muscarinic and nicotinic receptor) มีสูงเกินไป การทำงานของอวัยวะโดยเฉพาะกล้ามเนื้อชนิดต่าง ๆ ผิดไป ทำให้เกิดการเกร็ง ชักกระตุก และมีอาการอื่น ๆ เกิดขึ้นอีกมาก

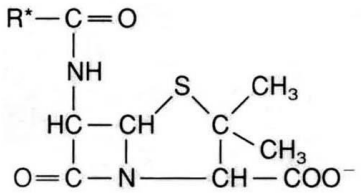


พาราไทออน (parathion)



ซาริน (sarin)

4. เพนิซิลลิน (penicillin) เป็นยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้โดยยับยั้งการสร้างเปบติโดไกลแคน (peptidoglycan) ของผนังเซลล์แบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเซลล์ใหม่ได้ พบว่า เพนิซิลลินเข้าไปสร้างพันธะโควาเลนท์กับหมู่ไฮดรอกซิลของกรดอะมิโนชนิดเซอรีนบนบริเวณเร่งของเอนไซม์ transpeptidase ซึ่งทำหน้าที่สร้างโครงข่ายซึ่งเป็นโอลิโกเปบไทด์ (oligopeptide) เชื่อมระหว่างเปบติโดไกลแคนแต่ละเส้น การมีโอลิโกเปบไทด์ เป็นส่วนเชื่อม ทำให้เปบติโดไกลแคนแข็งแรงและผนังเซลล์ก็แข็งแรง การยับยั้งเอนไซม์ทรานสเปบติเดสของเพนิซิลลินทำให้การสร้างส่วนเชื่อมโอลิโกเปบไทด์เสียไป ผนังเซลล์จึงไม่แข็งแรงและมีการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ โดยไม่สามารถควบคุมได้ เซลล์แบคทีเรียจึงตายในที่สุด



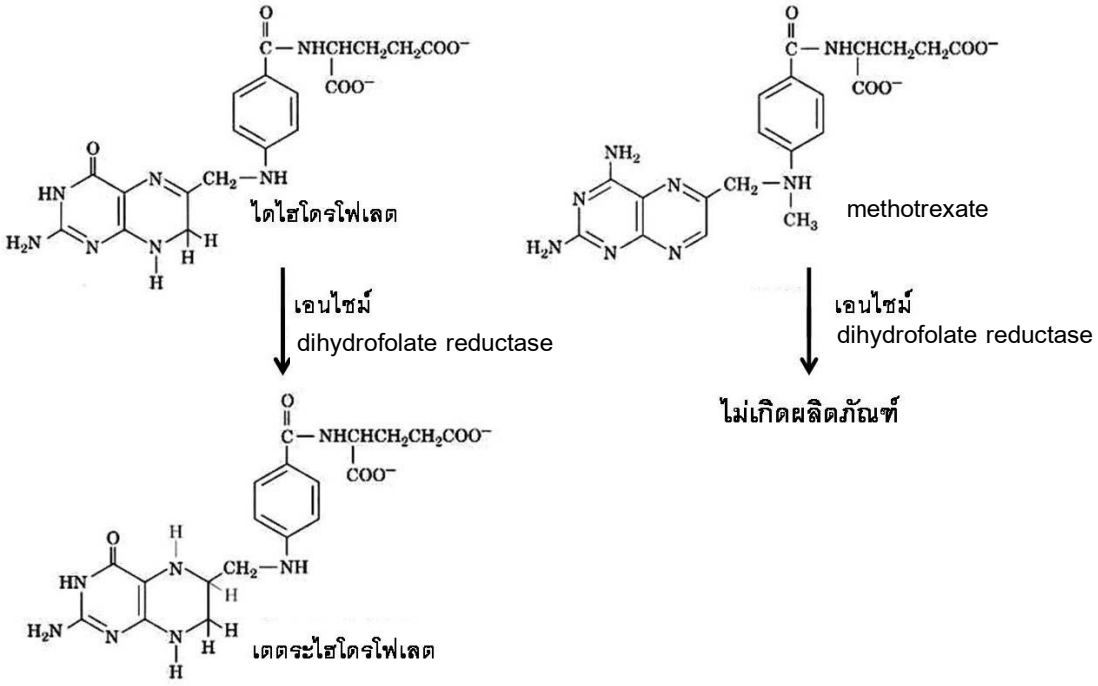
เพนิซิลลิน (penicillin)

5. ไอโอโดอะซีเตต (iodoacetate, ICH_2COO^-) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดด้วยการสร้างพันธะโควาเลนท์กับหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl) ของกรดอะมิโนชนิดซีสเตอีน, หมู่อิมิดาโซล (imidazole) ของกรดอะมิโนชนิดฮีสติดีน, หมู่คาร์บอกซิล (carboxyl) ของกรดอะมิโนชนิดกรดแอสปาร์ติกและกลูตามิก

ตัวอย่างตัวยาที่มีพัฒนาการมาจากตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบแข่งขัน

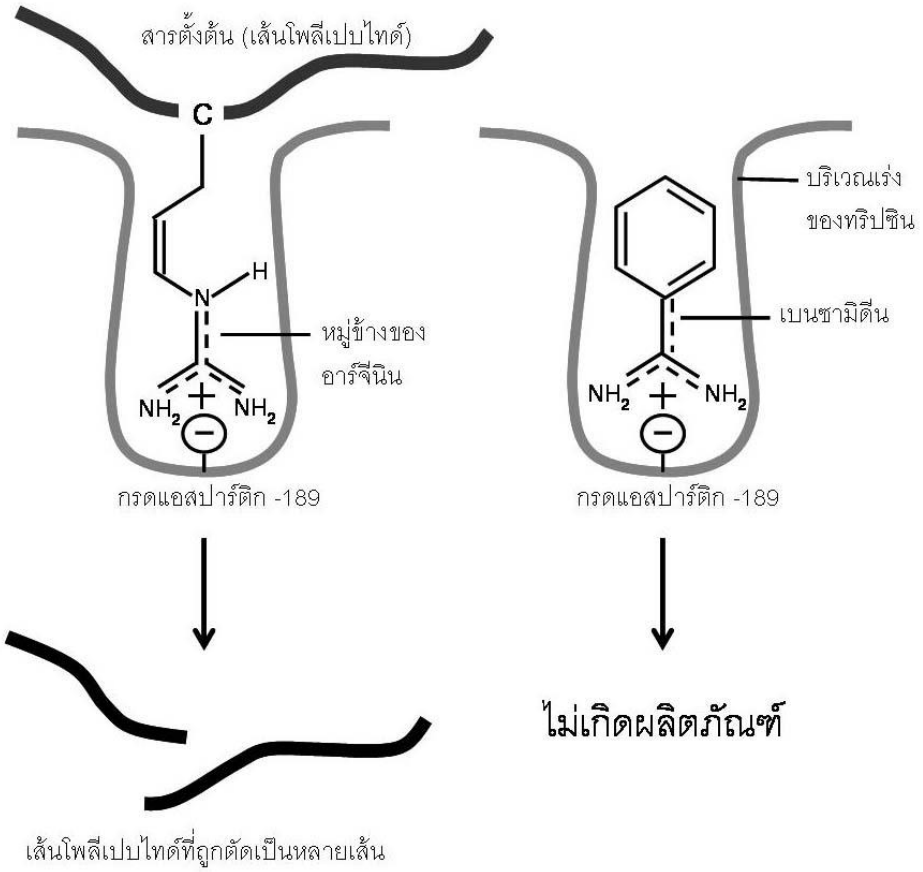
การยับยั้งแบบนี้มีตัวอย่างจำนวนมาก ตัวอย่างบางส่วนในตารางที่ 2 และอธิบายเพิ่มเติมดังต่อไปนี้

1. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ dihydrofolate reductase หรือ DHFR ด้วย methotrexate ซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษามะเร็งบางชนิดในปัจจุบัน (รูปที่ 7) เอนไซม์ DHFR ทำหน้าที่เร่งการเปลี่ยนไดไฮโดรโฟเลต ให้เป็นเตตระไฮโดรโฟเลต ในกระบวนการสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ ส่วน methotrexate นั้นมีโครงสร้างคล้ายกับไดไฮโดรโฟเลต จึงเข้าแย่งจับกับบริเวณเร่งบนเอนไซม์ DHFR ทำให้เซลล์ขาดเตตระไฮโดรโฟเลตส่งผลให้ลดการสร้าง DNA และยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ในที่สุด



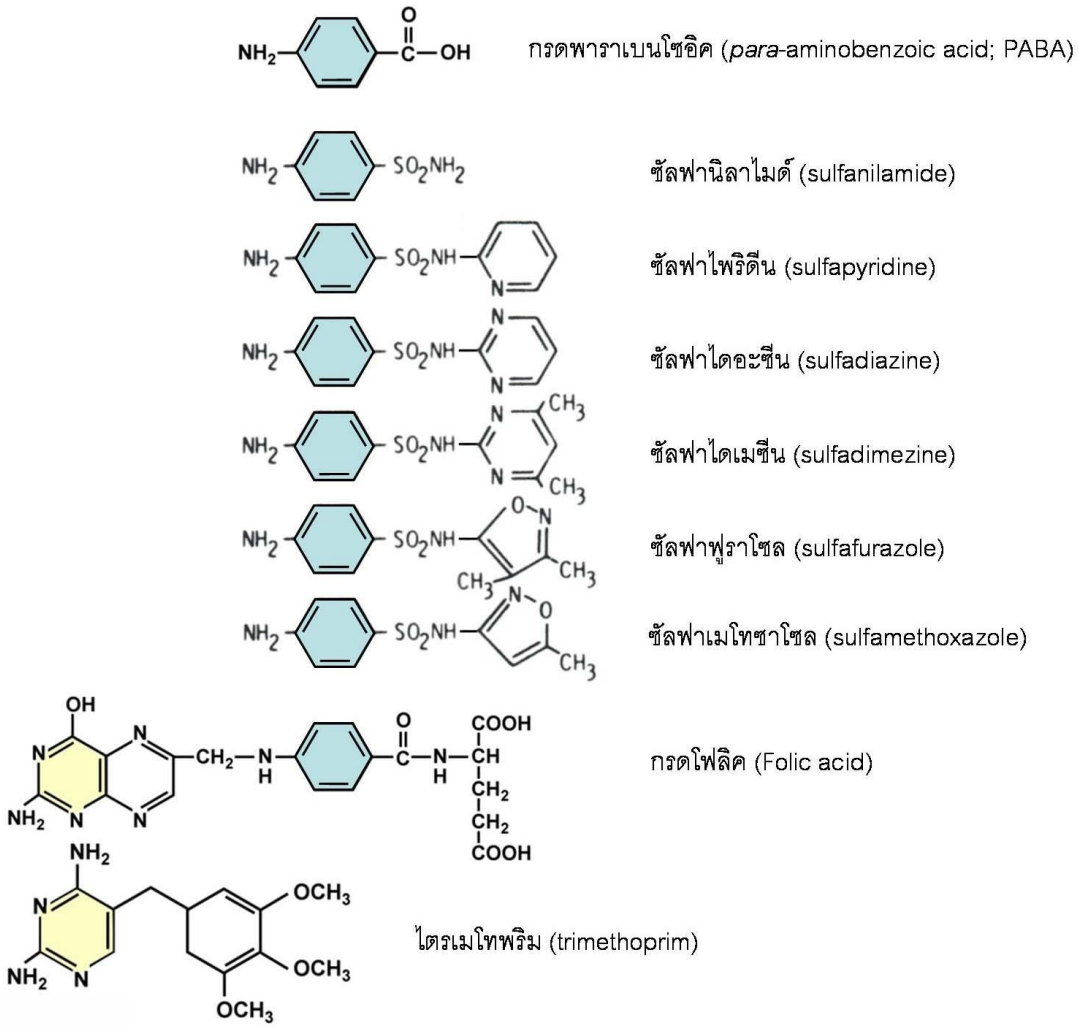
รูปที่ 7 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ dihydrofolate reductase แบบแข่งขันด้วย methotrexate จากรูปจะเห็นว่า methotrexate มีโครงสร้างคล้ายกับไดไฮโดรโฟเลต (dihydrofolate) จึงเข้าแย่งจับที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ (Voet, หน้า 356)

2. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (trypsin) ด้วยเบนซามิดีน (benzamidine; รูปที่ 8) เอนไซม์ทริปซินเป็นโปรตีเอสชนิดหนึ่งซึ่งเร่งการตัดเส้นโพลีเปปไทด์ด้วยน้ำ ตรงตำ แหน่งถัดไปจากกรดอะมิโนชนิดเบส (basic amino acid residue) คือ ไลซีนหรืออาร์จีนีน ในทิศทางทางปลายคาร์บอกซี (โดยต้องไม่มีโพรลีนอยู่ใกล้ ๆ) พบว่า เบนซามิดีนมีโครงสร้างคล้ายกับหมู่ข้างของอาร์จีนีน จึงเข้าจับที่บริเวณเร่งบนเอนไซม์ทริปซิน ทำให้ขัดขวางการเข้าจับของเส้นโพลีเปปไทด์



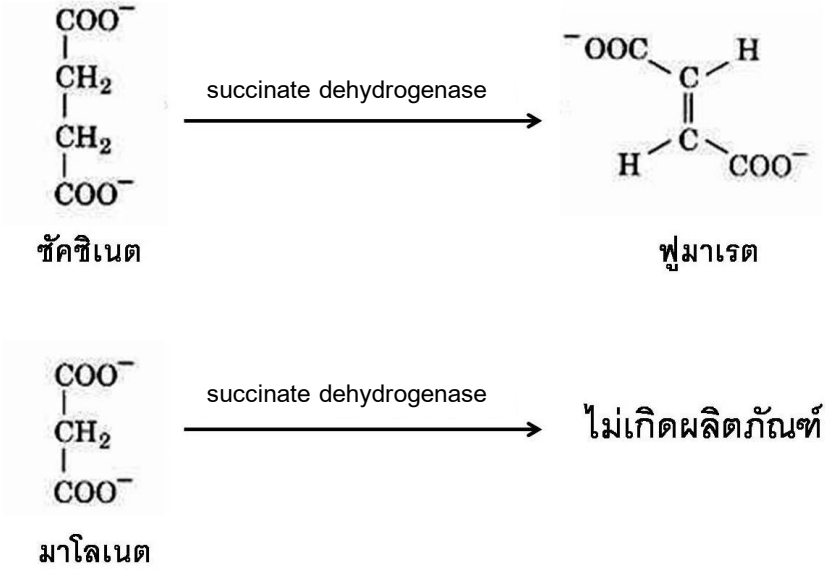
รูปที่ 8 การยับยั้งเอนไซม์ทริปซินแบบแข่งขันของเบนซามิดีน (Benzamidine) พบว่า เบนซามิดีน (ขวา) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายหมู่ข้างของอาร์จีนีน (ซ้าย) ของเส้นโพลีเปปไทด์ซึ่งเป็นสารตั้งต้น, Asp = กรดแอสปาร์ติก (aspartic acid) เส้นประคือ พันธะคู่บางส่วน (partial double bond) (Zubay, หน้า 148)

3. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ dihydropteroate synthase ด้วยยาในกลุ่มซัลฟา (sulfa drug) และไตรเมโทพริม (trimethoprim) ในสภาพปกติ เอนไซม์ชนิดนี้ ทำหน้าที่เร่งการนำกรดพาราเบนโซอิก (*para*-aminobenzoic acid) หรือ PABA มารวมกับ dihydropteridine แล้วได้ dihydropteroate ในวิถีการสังเคราะห์กรดโฟลิก (folic acid) ในแบคทีเรีย และกรดโฟลิกจะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ต่อไป พบว่า ยาในกลุ่มซัลฟา ซึ่งเป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรีย มีโครงสร้างคล้ายกับ PABA (รูปที่ 9) จึงเข้าแย่งจับกับเอนไซม์ dihydropteroate synthase ทำให้แบคทีเรียไม่มีกรดโฟลิกสำหรับการสร้างนิวคลีโอไทด์ DNA และRNA ส่วนไตรเมโทพริม มีโครงสร้างคล้ายกับส่วน pteridine ของกรดโฟลิก จึงสามารถยับยั้งเอนไซม์ dihydrofolate reductase แบบแข่งขันได้ ทำให้ยับยั้งการเร่งการเปลี่ยนไดไฮโดรโฟเลต ให้เป็นเตตระไฮโดรโฟเลต ส่วนในสัตว์ชั้นสูงนั้น ไม่มีวิถีการสร้างกรดโฟลิก จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร ยาในกลุ่มซัลฟา จึงไม่มีผลกระทบต่อเซลล์มนุษย์และสัตว์ต่าง ๆ



รูปที่ 9 โครงสร้างของกรดพาราเบนโซอิค หรือ PABA, กรดโฟลิค ยาในกลุ่มซัลฟา และไตรเมโทพริม จากรูปจะเห็นว่าซัลฟาชนิดต่าง ๆ มีโครงสร้างคล้ายกับ PABA จึงแข่งขันเข้าจับกับเอนไซม์ dihydropteroate synthase ได้ ส่วนไตรเมโทพริม มีโครงสร้างคล้ายกับส่วน pteridine ของกรดโฟลิค จึงสามารถยับยั้งเอนไซม์ dihydrofolate reductase แบบแข่งขันได้ ทำให้ยับยั้งการเร่งการเปลี่ยนไดไฮโดรโฟเลต ให้เป็นเตตระไฮโดรโฟเลต

4. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ succinate dehydrogenase หรือ SDH ด้วยมาโลเนต (malonate; รูปที่ 10) เอนไซม์ SDH ทำหน้าที่ในวัฏจักรเครปส์ (Krebs' cycle) เร่งออกซิเดชันของซัคซิเนต (succinate) ได้ฟูมาเรต (fumarate) เป็นผลิตภัณฑ์ พบว่า มาโลเนตซึ่งมีโครงสร้างคล้ายซัคซิเนต สารมารถเข้าแย่งจับที่บริเวณเร่งบนเอนไซม์ SDH ได้ และขัดขวางการจับของซัคซิเนต



รูปที่ 10 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ซัคซิเนตดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenase) ด้วยมาโลเนต (malonate) จากรูปจะเห็นว่า มาโลเนต มีโครงสร้างคล้ายกับซัคซิเนต จึงสามารถเข้าแย่งจับที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ได้ (Voet, หน้า 356)

ตัวอย่างตัวยาที่มีพัฒนาการมาจากตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบไม่แข่งขัน

การยับยั้งแบบนี้มีบางส่วนในตารางที่ 2 และอธิบายเพิ่มเติมดังต่อไปนี้

ตัวอย่างของการยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 1 (Noncompetitive inhibition) ได้แก่ การขัดขวางการทำงานของส่งกระแสประสาทของดีดีที (DDT: **d**ichloro-**d**iphenyl-**t**richloroethane หรือ 1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethane) ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่ม organochlorine ดีดีทีได้ชื่อว่าเป็นยากำจัดแมลงชั้นยอด ช่วยทำให้ยุงและโรคมาลาเรียลดความรุนแรงลงได้มาก แต่เร็ว ๆ นี้ พบว่า ดีดีทีทำให้แมลงอื่น ๆ แทบจะสูญพันธุ์ไปจากโลก ส่งผลเสียต่อสภาพแวดล้อม และสุขภาพของมนุษย์อย่างรุนแรง จนกระทั่งหลายประเทศประกาศเลิกใช้ พบว่าดีดีทีเข้าจับกับโซเดียมชันเนล (sodium channel) ซึ่งทำหน้าที่เป็นเอนไซม์เร่งการผ่านของไอออนโซเดียมเข้าออกในเส้นประสาทของเซลล์ประสาท ขณะมีการส่งกระแสประสาท ทำให้การส่งกระแสประสาทผิดไป และแมลงจะเป็นอัมพาต และตายในที่สุด การจับของดีดีทีกับโซเดียมชัลแนล เป็นการจับแบบไม่แข่งขันกับไอออนโซเดียม ไม่ได้เข้าจับกับบริเวณเร่งที่โซเดียมเข้าจับ

ตัวอย่างของการยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 2 (Uncompetitive inhibition) ตัวอย่างของการยับยั้งแบบนี้ ได้แก่

1. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ glucose-6-phosphate dehydrogenase) หรือ G6PD ด้วย dehydroepiandrosterone หรือ DHEA เอนไซม์ G6PD เป็นเอนไซม์ตัวแรกของวิถีเพนโตสฟอสเฟต (pentose phosphate pathway หรือ pentose phosphate shunt) เร่งการ

เปลี่ยนกลูโคส-6-ฟอสเฟต (G6P) ให้ได้น้ำตาลชนิด 5 คาร์บอน คือไรโบส-5-ฟอสเฟต (ribose 5-phosphate) เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย พร้อมทั้งได้ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate หรือ NADPH เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการต้านออกซิเดชัน และกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ต่าง ๆ ของเซลล์ ส่วน DHEA เป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมน สร้างมาจากต่อมหมวกไต ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ G6PD โดยเข้าจับเฉพาะกับสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-สารตั้งต้น แต่ไม่จับกับเอนไซม์อิสระ ตรงบริเวณอื่นซึ่งไม่ใช่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ผลของการจับ ทำให้ลดการสร้าง NADPH และคาดว่าน่าจะส่งผลเร่งกระบวนการก่อมะเร็ง ทำให้เกิดโรค-ของระบบเลือดและหัวใจ และโรคความจำเสื่อมชนิดที่เรียกว่า Alzheimer's disease ได้ และน่าจะทำให้กระบวนการแก่ เกิดได้เร็วขึ้นอีกด้วย (Heffner และ Milam,1990)

2. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ *myo*-inositol monophosphatase (IMPase, EC 3.1.3.25) โดยลิเทียม (lithium) เอนไซม์ I-1-P synthase (EC 5.5.1.4) เร่งการเปลี่ยน glucose-6-phosphate ให้เป็น inositol-1-phosphate (I-1-P) และ IMPase เร่งการกำจัดหมู่ฟอสเฟตออกจาก I-1-P ทำให้ได้ inositol ในที่สุด inositol มีบทบาทสูงในการส่งสัญญาณของเซลล์ โดยเฉพาะการส่งสัญญาณของเซลล์ประสาท พบว่า IMPase ถูกยับยั้งแบบไม่แข่งขันแบบที่ 2 ได้ด้วยลิเทียม โดยลิเทียมจะเข้าจับได้เฉพาะกับสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-สารตั้งต้น แต่ไม่จับกับเอนไซม์อิสระ ตรงบริเวณอื่นซึ่งไม่ใช่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ลิเทียมถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคประสาทบางชนิด โดยเชื่อว่า การรักษาโรคดังกล่าวได้เกิดจากลิเทียมยับยั้งการทำงานของ IMPase (Chen และ Roberts, 1998)

3. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลฟอตฟาเตส (alkaline phosphatase; EC 3.1.3.1) หรือ AP ด้วยกรดอะมิโนบางชนิด เอนไซม์ AP ทำหน้าที่เร่งการตัดหมู่ฟอสเฟตในสภาวะด่าง พบว่า AP ที่ได้จากรกของทารกมนุษย์ สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยกรดอะมิโนบางชนิด ได้แก่ เฟนิลอะลานีน (phenylalanine), ทริปโตแฟน (tryptophan) และโฮโมอาร์จินีน (homoarginine) การยับยั้งเป็นแบบไม่แข่งขันแบบที่ 2 (Hoylaerts และคณะ, 1992)

4. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3-phosphoshikimate 3-carboxyvinyltransferase หรือ EPSP (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate) synthase (EC 2.5.1.19) ด้วย *N*-phosphonomethylglycine ซึ่งรู้จักกันดีในชื่อ ไกลโฟเซส (glyphosate) หรือยาฆ่าหญ้าราวอัพ (Roundup) เอนไซม์ EPSP synthase เป็นเอนไซม์หนึ่งในวิถีชิคิเมต (shikimate pathway) ซึ่งเป็นวิถีของการสังเคราะห์กรดอะมิโนชนิดวงแหวนในแบคทีเรีย พืช และรา ได้แก่ ทริปโตฟาน ฟีนิลอะลานีน และไทโรซีน พบว่า EPSP synthase สามารถถูกยับยั้งได้ด้วย glyphosate โดยการจับกับสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-สารตั้งต้น (EPSP synthase-shikimate 3-phosphate complex) ทำให้เซลล์ขาดกรดอะมิโนชนิดดังกล่าว ไกลโฟเซสถูกนำมาพัฒนาเป็นยากำจัดวัชพืชซึ่งใช้กันแพร่หลายในหมู่เกษตรกรทั่วไป

ตัวอย่างอื่น ๆ ที่น่าสนใจ

Echinocandins, enfumafungin และ papulacandins เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา ทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งการสังเคราะห์ β-(1,3)-glucan ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์ของเชื้อราต่างๆ ส่วน Polyoxins และ nikkomycins สามารถยับยั้งแบบแข่งขันโดยมีรูปร่างหน้าตา

คล้ายคลึงกับ UDP-N-acetyl glucosamine ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ไคติน สารยับยั้งเอนไซม์ทั้งสองรบกวนการสังเคราะห์ไคติน จึงมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา

Imatinib, nilotinib และ dasatinib เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ไคเนส ใช้ได้ดีกับผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดไมอีลอยด์ (CML) และเนื้องอกในระบบทางเดินอาหาร (GIST) และ Tofacitinib ซึ่งเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ JAK 3 ได้รับการยอมรับให้ใช้รักษาโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์อีกด้วย

บทสรุป

เอนไซม์นับเป็นเป้าหมายที่สำคัญยิ่งเมื่อต้องพัฒนาโมเลกุลใด ๆ เพื่อการรักษา เหตุก็เนื่องมาจากเอนไซม์มีบทบาทในการเร่งปฏิกิริยาทางเคมีในวิถีต่าง ๆ ในกระบวนเมแทบอลิซึมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิต รวมไปถึงมนุษย์ การก่อโรคจากกระบวนการที่ผิดปกติในร่างกาย หรือการติดเชื้อจากภายนอก โดยทฤษฎีแล้วสามารถระงับยับยั้งได้ด้วยการยับยั้งที่เอนไซม์ ด้วยความก้าวหน้าในศาสตร์ด้านชีววิทยาโครงสร้างร่วมกับความรู้พื้นฐานด้านชีวเคมี ทำให้กระบวนการออกแบบยามีความหลากหลายอย่างยิ่ง ส่งผลดีเยี่ยมต่อวงการเภสัชกรรม การออกแบบดังกล่าวสามารถทำนายได้จากการใช้ซอฟแวร์ของระบบคอมพิวเตอร์ขั้นก้าวหน้า ช่วยลดระยะเวลาและความสิ้นเปลืองในการพัฒนาโมเลกุลหรือยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เป้าหมาย ความก้าวหน้าเช่นนี้ ประหนึ่งเป็นอาวุธอันทรงประสิทธิภาพที่จะต่อสู้กับโรคภัยไข้เจ็บและเชื้อโรคที่นับวันก็พัฒนาตนเองให้ก้าวล้ำไปเช่นกัน

บรรณานุกรมและเอกสารอ้างอิง

ศักดา ดาดวง **ชีวเคมีของโปรตีนในน้ำพิษของสัตว์พิษในไฟลัมสัตว์ขาปล้อง (อาร์โทรพอด) และการประยุกต์ใช้** (Biochemistry of Proteins in Arthropod Venom and Applications) โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2561.

ศักดา ดาดวง **เอนไซม์** (Enzyme) โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น พ.ศ. 2550, 72 หน้า

Lehninger, A., Nelson, D. and Cox, M., **Principles of Biochemistry**, 6nd ed., Worth publishers, New York, 2013.

Ouertani A., Neifar M., Ouertani R., Masmoudi A.S., Mosbah A., Cherif A. Effectiveness of enzyme inhibitors in biomedicine and pharmacotherapy. **Adv Tissue Eng Regen Med Open Access.** 2019;5(3):85-90.

Stryer, L., **Biochemistry**, 8th ed., W.H.Freeman and Company, New York, 2015.

Zubay, G. L., Parson, W. W. and Vance, D. E., **Principles of Biochemistry,** Volume one, Wm. C. Brown Publishers, Iowa, 1995.

Vellard M. The enzyme as drug: application of enzymes as pharmaceuticals. **Curr Opin Biotechnol**. 2003 Aug;14(4):444-50.

Teajaroen W, Phimwapi S, Daduang J, Klaynongsruang S, Tipmanee V, Daduang S. A Role of Newly Found Auxiliary Site in Phospholipase A₁ from Thai Banded Tiger Wasp (*Vespa affinis*) in Its Enzymatic Enhancement: In Silico Homology Modeling and Molecular Dynamics Insights. **Toxins (Basel).** 2020 Aug 8;12(8):510.