

# การทำนายอันตรกิริยาระหว่างสารพฤกษเคมีที่พบได้ในพืชท้องถิ่น กับโปรตีนที่สำคัญของ *Helicobacter pylori* ด้วยการจำลองทางคอมพิวเตอร์

## In silico Prediction of the Interaction between Phytochemicals in Local Plants and Crucial Proteins of *Helicobacter pylori*

มิตติ เจียรพันธุ์\* และ ศักดิ์ชัย กรรमारังกูร

Miti Jearaphunt\* and Sakchai Kanmarangkool

Received: 25 June 2021, Revised: 22 September 2021, Accepted: 14 October 2021

### บทคัดย่อ

*Helicobacter pylori* แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคหลายชนิด ตั้งแต่การติดเชื้อในกระเพาะอาหาร ไปจนถึงมะเร็งในกระเพาะอาหาร วิธีการจัดการติดเชื้อคือการใช้ยาปฏิชีวนะ แต่พบว่ามีเชื้อบางสายพันธุ์ที่สามารถต้านยาปฏิชีวนะได้ การมีข้อมูลของสารประกอบที่สามารถใช้พัฒนาเป็นยาปฏิชีวนะจึงมีความจำเป็นต่อการต้านเชื้อเหล่านั้น การศึกษาครั้งนี้เป็นการค้นหาสารพฤกษเคมีในพืชท้องถิ่นที่สามารถจับกับโปรตีนของ *H. pylori* คือ GyrA และ PBP2 โดยใช้เทคนิคโปรตีน-ลิแกนด์ docking ผลการศึกษาพบว่า จากสารพฤกษเคมีที่ทดสอบ 24 ชนิด quercetin และ panduratin A เป็นสารพฤกษเคมีที่จับกับโปรตีนทดสอบได้ดีที่สุดสองอันดับแรก สารทั้งสองจึงมีศักยภาพในการนำไปศึกษาและพัฒนาเพื่อใช้เป็นยาต่อไป

**คำสำคัญ:** *Helicobacter pylori*, สารพฤกษเคมี, โมเลกุลาร์ดีocking

## ABSTRACT

*Helicobacter pylori* is a bacterium responsible for several diseases from infection in the stomach to stomach cancer. The treatment for the infection is to use antibiotics, but some antibiotic-resistant strains are found. Therefore, the information of compounds for the new antibiotic candidates against those bacterial strains is crucial. The current study aimed to screen the plausible candidates from phytochemicals found in local plants that could bind to *H. pylori* proteins: GyrA and PBP2 This was implemented by using protein–ligand docking technique. The results showed that out of 24 phytochemicals tested, quercetin and panduratin A were the topmost favorable ligands. Thus, these ligands have potential for drug development.

**Key words:** *Helicobacter pylori*, phytochemical, molecular docking

### บทนำ

*Helicobacter pylori* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่เจริญได้ในระบบทางเดินอาหาร อาจนำไปสู่การเกิดโรคแผลในทางเดินอาหาร ภาวะอาหารอักเสบ จนถึงความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร (Tsay and Hsu, 2018) การกำจัดเชื้อ *H. pylori* นั้นใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น levofloxacin และ amoxicillin (Chu *et al.*, 2020) ยาปฏิชีวนะ levofloxacin มีการออกฤทธิ์แบบ broad-spectrum สามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก โดยเป็นตัวยับยั้งของเอนไซม์ DNA gyrase (Gyr) (Trespacios-Rangél *et al.*, 2016) ส่วน amoxicillin เป็นยาปฏิชีวนะที่มีการออกฤทธิ์แบบ moderate spectrum สามารถป้องกันการสร้างผนังเซลล์ส่วนเพปติโดไกลแคนจากการบล็อกโปรตีน penicillin binding proteins (PBP) (Mégraud and Lehours, 2007) ปัจจุบันพบการดื้อยา levofloxacin และ amoxicillin ของเชื้อ *H. pylori* (Chu *et al.*, 2020) การศึกษาเพื่อหาสารที่สามารถใช้ต่อยอดเป็นยาปฏิชีวนะทดแทนสารชนิดเดิมจึงมีความสำคัญ

สารพฤกษเคมีเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในพืชผ่านการสกัดด้วยวิธีการต่างๆ และถูกใช้ในการรักษาโรคมานาน การคัดเลือก

สารพฤกษเคมีที่เหมาะสมนั้นอาจใช้เทคนิคโมเลกุลาร์ดีค็อกกิ้งซึ่งเป็นเทคนิคการจำลองทางคอมพิวเตอร์ (*In silico*) ที่ทดสอบความสามารถในการจับกันของลิแกนด์กับโปรตีน มีการใช้เทคนิคนี้เพื่อหาสารพฤกษเคมีสำหรับใช้ต่อยอดเป็นยาหลายชนิด เช่น ยาต้านไวรัส (Tahir ul Qamar *et al.*, 2020) และมาลาเรีย (Chaturvedi *et al.*, 2019) สำหรับการศึกษาเป็นการใช้เทคนิคโมเลกุลาร์ดีค็อกกิ้งทำนายการจับกันระหว่างสารพฤกษเคมีที่พบได้ในพืชท้องถิ่นกับโปรตีนในกระบวนการเมแทบอลิซึมของ *H. pylori* เพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไป

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 1. โครงสร้างโปรตีนและลิแกนด์ที่ใช้ในการทดลอง

ในการทดสอบอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนจากเชื้อ *H. pylori* กับสารพฤกษเคมีต่างๆ นี้ โปรตีนที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ DNA gyrase A (GyrA) และ Penicillin-Binding Protein (PBP) เนื่องจากโปรตีน GyrA นี้ยังไม่มีโครงสร้างในฐานข้อมูล PDB โครงสร้างที่ใช้จึงได้จากการทำโมเดลเปรียบเทียบ (homology model) ซึ่งดาวน์โหลดได้จากเซิร์ฟเวอร์ของ SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/> SMR: P48370) (Waterhouse

*et al.*, 2018; Bienert *et al.*, 2017) โครงสร้างโปรตีนของ PBP ที่มีพื้นฐานข้อมูล Protein Data Bank เป็นโครงสร้างของ PBP2 (PDB ID: 5LP4) ซึ่งได้มาจากการเทคนิค X-RAY diffraction (Contreras-Martel *et al.*, 2017) โครงสร้าง 3 มิติของสารพฤกษเคมีที่ใช้เป็นลิแกนด์ในการทดสอบทั้งหมด 24 ชนิด ซึ่งพบในสมุนไพรไทย ได้แก่ หอมแดง (Pan *et al.*, 2018) ข่า (Wu *et al.*, 2014) กระชาย (Kanjanasirirat *et al.*, 2020) กวางตุ้งดอก (Ragasa *et al.*, 2016) พริกขี้หนู (Rivera *et al.*, 2019) ขี้เหล็ก ใบบัวบก มะกรูด หม่อน (Siriamornpun *et al.*, 2014) ขอ (Siriamornpun *et al.*, 2014; Abou Assi *et al.*, 2017) ผักชี (Mandal and Mandal, 2015)

ยี่หระ (Li and Jiang, 2004) ตะไคร้ (Brügger *et al.*, 2019) สะระแหน่ (Nair, 2007) โหระพา (Purkayastha and Nath, 2006) พริกไทย (Meghwal and Goswami, 2013) ขิง (de Lima *et al.*, 2018) และ โครงสร้าง 3 มิติของลิแกนด์ควบคุม 3 ชนิด ได้แก่ levofloxacin ซึ่งเป็นตัวยับยั้งของเอนไซม์ GyrA (Trespacios-Rangél *et al.*, 2016) penicillin และ amoxicillin ที่สามารถยับยั้ง PBP (Mégraud and Lehours, 2007) ดาวน์โหลดจากฐานข้อมูล PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) โดยมีข้อมูล PubChem CID ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารพฤกษเคมีที่ใช้เป็นลิแกนด์ในการทดสอบ

PubChem CID	สารพฤกษเคมี	แหล่งที่พบ	ชื่อภาษาไทย
5280343	Quercetin	<i>Allium ascalonicum</i>	หอมแดง
2758	Eucalyptol	<i>Alpinia galangal</i>	ข่า
6483648	Panduratin A	<i>Boesenbergia rotunda</i>	กระชาย
5281654	Isorhamnetin	<i>Brassica rapa var. parachinensis</i>	กวางตุ้งดอก
689043	Caffeic acid	<i>Brassica rapa var. parachinensis</i>	กวางตุ้งดอก
1548943	Capsaicin	<i>Capsicum frutescens</i>	พริกขี้หนู
23217	1-heptadecene	<i>Cassia siamea</i>	ขี้เหล็ก
7362	Furfural	<i>Cassia siamea</i>	ขี้เหล็ก
12533	Octadecanal	<i>Centella asiatica</i>	ใบบัวบก
5280435	Phytol	<i>Citrus hystrix</i>	มะกรูด
638072	Squalene	<i>Citrus hystrix</i>	มะกรูด
6549	Linalool	<i>Coriandrum sativum</i>	ผักชี
5280443	Apigenin	<i>Coriandrum sativum</i>	ผักชี
7461	$\gamma$ -terpinene	<i>Cuminum cyminum</i>	ยี่หระ
7463	P-Cymene	<i>Cuminum cyminum</i>	ยี่หระ
638011	Citral	<i>Cymbopogon citratus</i>	ตะไคร้
1254	Menthol	<i>Mentha piperita</i>	สะระแหน่
984	Palmitaldehyde	<i>Morinda citrifolia</i>	ขอ
998	Benzenacetaldehyde	<i>Morinda citrifolia</i>	ขอ
6293	Alizarin	<i>Morinda citrifolia</i>	ขอ

ตารางที่ 1 (ต่อ)

PubChem CID	สารพฤกษเคมี	แหล่งที่พบ	ชื่อภาษาไทย
8063	Pentanal	<i>Morus alba</i>	หม่อน
22311	Limonene	<i>Ocimum basilicum</i>	โหระพา
638024	Piperine	<i>Piper nigrum</i>	พริกไทย
442793	Gingerol	<i>Zingiber officinale</i>	ขิง
149096	Levofloxacin		- (ลิแกนด์ควบคุม)
2349	Penicillin		- (ลิแกนด์ควบคุม)
33613	Amoxicillin		- (ลิแกนด์ควบคุม)

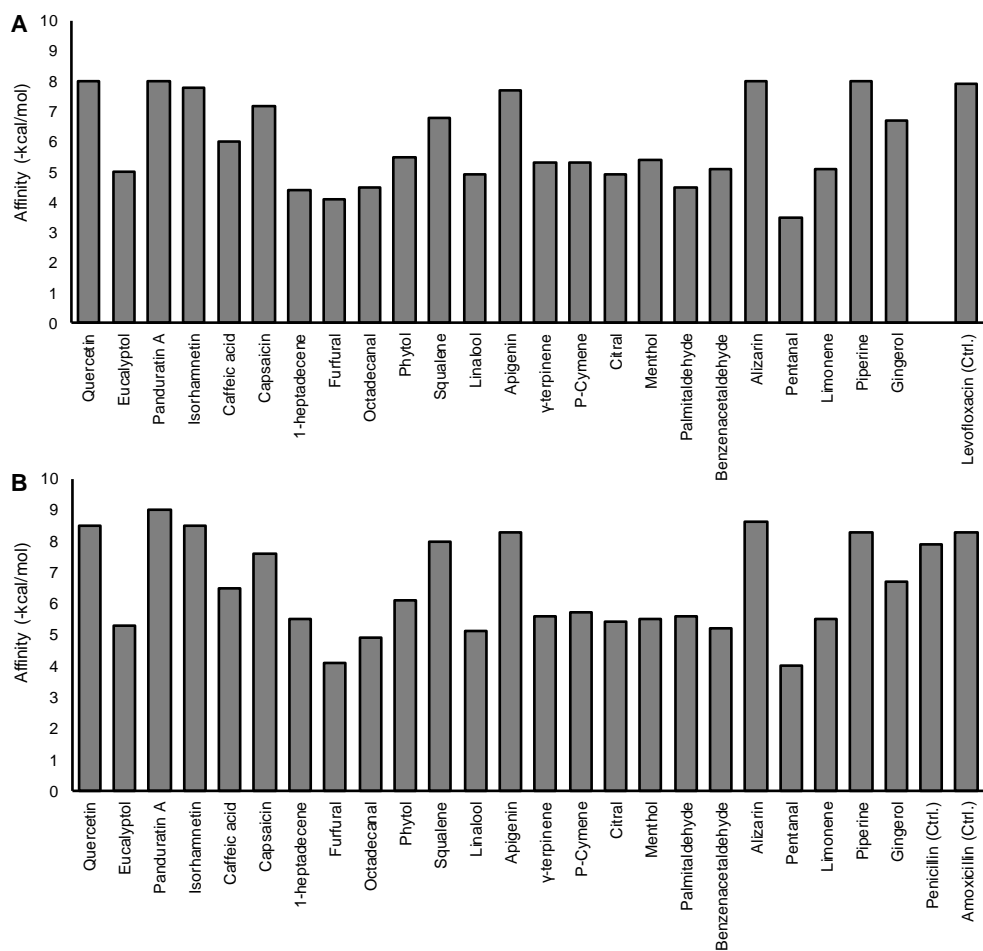
## 2. โมเลกุลาร์ด็อกกิงและการวิเคราะห์ผล

ทดสอบอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน GyrA และ PBP กับลิแกนด์ด้วยวิธี blind docking แบบ flexible docking ด้วย CB-Dock ที่สามารถทำนาย binding site และขนาด cavity แล้วคือกด้วยอัลกอริทึมของ AutoDock Vina (Liu *et al.*, 2020) โดยอัปโหลดไฟล์โปรตีนและลิแกนด์ผ่านเว็บเซิร์ฟเวอร์ (<http://clab.labshare.cn/cb-dock/php/index.php>) ใช้ parameter ที่ค่าเริ่มต้นคือ จำนวน cavities เท่ากับ 5 บันทึกและเปรียบเทียบค่าสัมพรรคภาพ (affinity) กับลิแกนด์ควบคุม คัดเลือกลิแกนด์ที่มีค่า affinity ดีกว่าลิแกนด์ควบคุมและตรวจสอบกรดอะมิโนที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์ด้วยภาพที่สร้างโดย NGL Viewer (Rose *et al.*, 2018) ซึ่งเป็นอินเทอร์เฟซในหน้าแสดงผลของ CB-Dock

## ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

เมื่อทดสอบการจับกันระหว่าง GyrA กับลิแกนด์ทั้ง 24 ชนิด ด้วยวิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิง ได้ค่า

affinity ระหว่าง -3.5 ถึง -8.0 kcal/mol (ภาพที่ 1A) พบว่า quercetin, alizarin, panduratin A และ piperine เป็นลิแกนด์ที่มีค่า affinity ดีกว่า levofloxacin ที่เป็นลิแกนด์ควบคุม โดยลิแกนด์ทั้งสี่มีค่า affinity เท่ากับ -8.0 kcal/mol ในขณะที่ levofloxacin มีค่า -7.9 kcal/mol สำหรับค่า affinity ของ PBP2 กับลิแกนด์ที่ทดสอบ พบว่าอยู่ระหว่าง -4.0 ถึง -9.0 kcal/mol (ภาพที่ 1B) โดย panduratin A, alizarin, quercetin และ isorhamnetin มีค่า affinity อยู่ที่ -9.0, -8.6, -8.5 และ -8.5 kcal/mol ตามลำดับ ในขณะที่ penicillin มีค่า -7.9 kcal/mol และ amoxicillin -8.3 kcal/mol จากค่า affinity ข้างต้นจึงตรวจสอบอันตรกิริยาระหว่าง quercetin, alizarin, panduratin A และ piperine กับกรดอะมิโนของ GyrA และตรวจสอบอันตรกิริยาระหว่าง panduratin A, alizarin, quercetin และ isorhamnetin กับกรดอะมิโนของ PBP2 ต่อไป



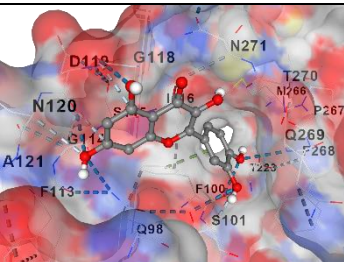
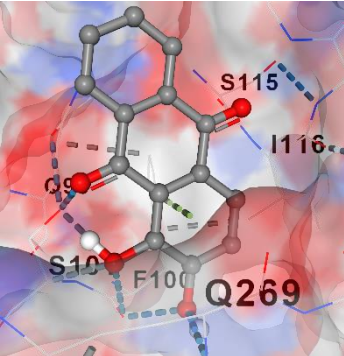
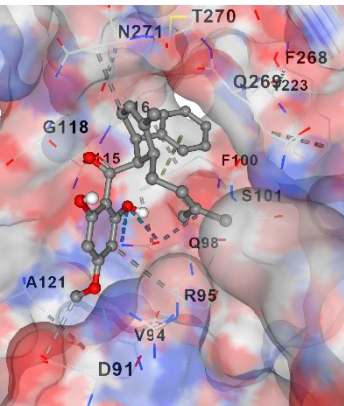
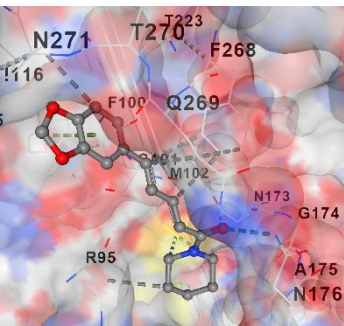
ภาพที่ 1 ค่า affinity ของการจับกับลิแกนด์ของ GyrA (A) และ PBP2 (B)

เมื่อตรวจสอบกรดอะมิโนของ GyrA ที่มีอันตรกิริยากับ quercetin, alizarin, panduratin A และ piperine จาก interactive 3D viewer พบว่า quercetin, alizarin และ panduratin A จับกับ GyrA บนเพปไทด์สาย A ในขณะที่ piperine จับกับเพปไทด์สาย B เช่นเดียวกับ levofloxacin ที่เป็นลิแกนด์ควบคุม (ตารางที่ 2)

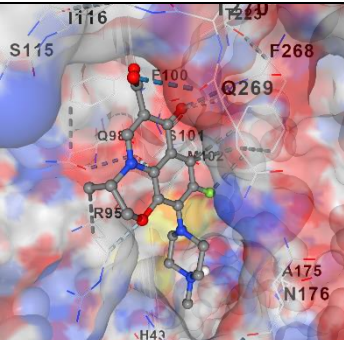
แรงที่ลิแกนด์ใช้จับกับโปรตีนมีทั้งแรงไฮโดรโฟบิก พันธะไฮโดรเจน และ  $\pi$ - $\pi$  stacking แตกต่างไปตามชนิดของลิแกนด์ จำนวนพันธะไฮโดรเจนพบได้ตั้งแต่ 3-9 พันธะ โดยลิแกนด์ quercetin เกิดพันธะไฮโดรเจน 9 พันธะ กับกรดอะมิโน Gln98, Phe100, Ser101 (2 พันธะ), Gly118 (2 พันธะ), Asp119,

Asn120 และ Gln269 ส่วน alizarin เกิดพันธะไฮโดรเจน 6 พันธะ กับกรดอะมิโน Phe100 (2 พันธะ), Ser101 (3 พันธะ) และ Gln269 สำหรับ panduratin A เกิดพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะที่กรดอะมิโน Asp91 และ Gln98 (2 พันธะ) ลิแกนด์ piperine ที่จับกับโปรตีนบนเพปไทด์สาย B พบว่าการจับด้วยพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะ ที่กรดอะมิโน Met102 (2 พันธะ) และ Asn176 ส่วนลิแกนด์ควบคุม levofloxacin เกิดพันธะไฮโดรเจน 5 พันธะ กับกรดอะมิโน Arg95, Ser101 และ Gln269 (3 พันธะ) (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่า piperine มีอันตรกิริยากับกรดอะมิโนที่มีอันตรกิริยากับ levofloxacin ทั้งหมด 3 อะมิโน ได้แก่ Arg95, Phe268 และ Gln269 (ตารางที่ 2 ตัวหนา)

ตารางที่ 2 Affinity, ภาพจำลอง 3D และกรดอะมิโนของ GyrA ที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์

ลิแกนด์	Affinity (kcal/mol)	ภาพจำลอง 3D	กรดอะมิโนของ GyrA ที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์	จำนวน พันธะ H
Quercetin	-8.0		(Chain A)  <u>Hydrogen bond</u> Gln98, Phe100, Ser101, Gly118, Asp119, Asn120, Gln269  <u>Weak Hydrogen bond</u> Ser101, Gly118  <u><math>\pi</math>-<math>\pi</math> stacking</u> Phe100	9
Alizarin	-8.0		(Chain A)  <u>Hydrogen bond</u> Phe100 (x2), Ser101 (x2), Gln269  <u>Weak Hydrogen bond</u> Ser101  <u><math>\pi</math>-<math>\pi</math> stacking</u> Phe100	6
Panduratin A	-8.0		(Chain A)  <u>Hydrophobic contact</u> Arg95, Ile116, Asn271  <u>Hydrogen bond</u> Gln98 (x2)  <u>Weak Hydrogen bond</u> Asp91  <u><math>\pi</math>-<math>\pi</math> stacking</u> Phe100	3
Piperine	-8.0		(Chain B)  <u>Hydrophobic contact</u> <b>Arg95</b> , Ile116, <b>Phe268</b> (x2), <b>Gln269</b>  <u>Hydrogen bond</u> Asn176  <u>Weak Hydrogen bond</u> Met102 (x2)  <u><math>\pi</math>-<math>\pi</math> stacking</u> Phe100	3

ตารางที่ 2 (ต่อ)

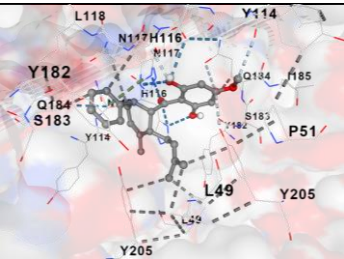
ลิแกนด์	Affinity (kcal/mol)	ภาพจำลอง 3D	กรดอะมิโนของ GyrA ที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์	จำนวน พันธะ H
Levofloxacin (Ctrl.)	-7.9		(Chain B) Hydrophobic contact Arg95, Phe268 (x2), Gln269 Hydrogen bond Gln269 (x2) Weak Hydrogen bond Arg95, Ser101, Gln269	5

สำหรับลิแกนด์ที่มีอันตรกิริยากับ PBP2 นั้นพบว่าทั้ง panduratin A, quercetin และ isorhamnetin มีอันตรกิริยากับเพปไทด์ทั้งสองสายเช่นเดียวกับลิแกนด์ควบคุม ส่วน alizarin มีอันตรกิริยากับเพปไทด์สาย A เพียงสายเดียว จากการวิเคราะห์พบพันธะไฮโดรเจนตั้งแต่ 2 - 9 พันธะ โดยอันตรกิริยาระหว่าง panduratin A กับ PBP2 มีพันธะไฮโดรเจนมากที่สุดคือ 9 พันธะที่กรดอะมิโน His116 (2 พันธะ) และ Asn117 บนเพปไทด์สาย A Leu113, Asn115, His116 (2 พันธะ), Gln184 และ Tyr205 บนเพปไทด์สาย B ลิ

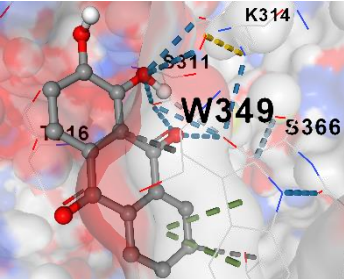
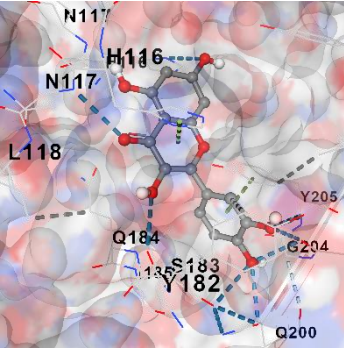
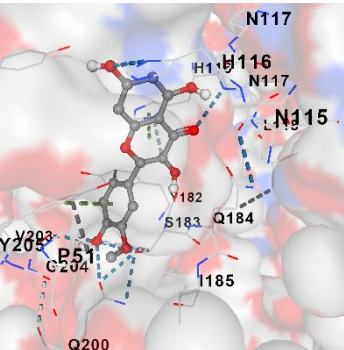
แกนด์ alizarin, quercetin และ isorhamnetin จับกับ PBP2 ด้วยพันธะไฮโดรเจน 5, 8 และ 8 พันธะตามลำดับ (ตารางที่ 3)

เมื่อพิจารณากรดอะมิโนที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์พบว่า panduratin A ที่มีค่า affinity น้อยที่สุดมีกรดอะมิโนที่เกิดอันตรกิริยาในรูปแบบและตำแหน่งเดียวกับ penicillin (ตัวหนา) และ amoxicillin (ตัวเอียง) ทั้งหมด 3 อะมิโน ได้แก่ Tyr205, His116 และ Gln184

ตารางที่ 3 Affinity, ภาพจำลอง 3D และกรดอะมิโนของ PBP2 ที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์

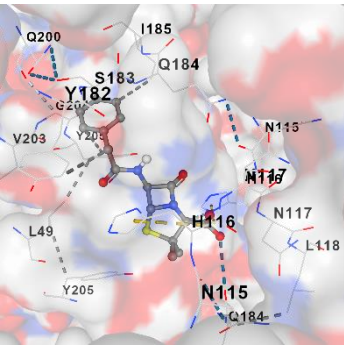
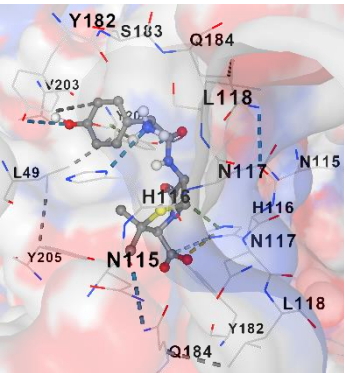
ลิแกนด์	Affinity (kcal/mol)	ภาพจำลอง 3D	กรดอะมิโนของ PBP2 ที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์	จำนวน พันธะ H
Panduratin A	-9.0		(Chain A) <u>Hydrophobic contact</u> Leu49, Gln184, <b>Tyr205</b> <u>Hydrogen bond</u> <b>His116</b> (x2), Asn117  (Chain B) <u>Hydrophobic contact</u> Leu49, <i>His116</i> , Asn117, Gln184, Tyr205 <u>Hydrogen bond</u> <i>Asn115</i> , <i>His116</i> <u>Weak Hydrogen bond</u> Leu113,	9

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลิแกนด์	Affinity (kcal/mol)	ภาพจำลอง 3D	กรดอะมิโนของ PBP2 ที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์	จำนวน พันธะ H
Alizarin	-8.6		His116, Gln184, Tyr205 $\pi$ - $\pi$ stacking His116 (Chain A) Hydrophobic contact Trp349, Thr498 Hydrogen bond Ser311 (x2), Ser366, Asp368 (x2) $\pi$ - $\pi$ stacking Trp349 (x2)	5
Quercetin	-8.5		Hydrogen bond Asn117 $\pi$ - $\pi$ stacking His116 (Chain B) Hydrophobic contact Tyr182 Hydrogen bond His116, Tyr182 (x2), Ser183, Gln200, Val203 (x2) $\pi$ - $\pi$ stacking Tyr205	8
Isorhamnetin	-8.5		Hydrogen bond Asn117 Weak Hydrogen bond His116 $\pi$ - $\pi$ stacking His116 (Chain B) Hydrophobic contact Tyr182 Hydrogen bond His116, Ser183, Gln200, Val203 Weak Hydrogen bond Ser183 (x2) $\pi$ - $\pi$ stacking Tyr205	8



ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลิแกนด์	Affinity (kcal/mol)	ภาพจำลอง 3D	กรดอะมิโนของ PBP2 ที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์	จำนวนพันธะ H
Penicillin (Ctrl.)	-7.9		(Chain A) Hydrophobic contact Tyr182, Ile185, Tyr205 Weak Hydrogen bond His116 Ionic Interaction His116 (Chain B) Hydrogen bond Gln184 Ionic Interaction His116	2
Amoxicillin (Ctrl.)	-8.3		(Chain A) Hydrophobic contact Tyr182 Hydrogen bond Tyr182, Tyr205 Weak Hydrogen bond His116 $\pi$ - $\pi$ stacking His116, Tyr205 Ionic Interaction His116 (Chain B) Hydrogen bond His116	4

จากผลการทดลองข้างต้นซึ่งใช้เทคนิคโมเดล กูลาร์ต็อกกิงระหว่าง โปรตีนเป้าหมายกับสารพฤษเคมีจากสมุนไพรทั้งหมด 24 ชนิด พบว่ามี 5 ชนิด ได้แก่ quercetin, panduratin A, alizarin, isorhamnetin และ piperine ที่สามารถจับกับโปรตีนเป้าหมายได้ใกล้เคียงหรือดีกว่าลิแกนด์ควบคุมซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะ สารพฤษเคมีที่จับได้ทั้ง GyrA และ PBP2 แล้วเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างลิแกนด์กับกรดอะมิโนได้ดี 2 อันดับแรก คือ quercetin และ panduratin A แม้ว่าจากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าพบ ionic interaction ระหว่างลิแกนด์ควบคุมทั้ง penicillin และ amoxicillin ที่ตำแหน่ง His116 ของ PBP2 ก็ตาม แต่ค่า affinity

ของ quercetin และ panduratin A ยังคงต่ำกว่า penicillin และ amoxicillin อาจมีสาเหตุจากอันตรกิริยาที่ตำแหน่งอื่นสามารถจับได้ดีกว่าลิแกนด์ควบคุม เมื่อ quercetin จับกับ GyrA เกิดพันธะไฮโดรเจน 9 พันธะ และเมื่อจับ PBP2 เกิดพันธะไฮโดรเจน 8 พันธะ ซึ่งว่า quercetin มีศักยภาพในการจับกับทั้ง GyrA และ PBP2 และยับยั้งเชื้อ *H. pylori* ได้ quercetin เป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอลที่พบได้ในพืช เช่น *A. ascalonicum* หรือหอมแดง (Pan *et al.*, 2018) ความสามารถของ quercetin มีทั้งฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านไวรัส และมีส่วนช่วยในระบบภูมิคุ้มกัน (Li *et al.*, 2016) นอกจากความสามารถในการจับ GyrA ของ *H. pylori* แล้ว ยังพบว่า quercetin

สามารถจับกับ gyrase B ของ *Escherichia coli* (Plaper et al., 2003) สามารถยับยั้ง *H. pylori* ผ่านกระบวนการ membrane disruption ยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการสร้างกรดไขมันของเชื้อ (Baker, 2020) และจับกับ HsrA ที่เป็นแอกทิเวเตอร์ในกระบวนการถอดรหัส (González et al., 2019) สำหรับ panduratin A เมื่อจับกับ GyrA เกิดพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะ เมื่อจับกับ PBP2 เกิดพันธะไฮโดรเจน 9 พันธะ และมีการเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนเดียวกันกับตำแหน่งที่ยาปฏิชีวนะซึ่งเป็นลิแกนด์ควบคุมจับได้รวม 3 อะมิโน และเป็นลิแกนด์ที่มีค่า affinity ดีที่สุดในลิแกนด์ที่ทดสอบ จึงเป็นลิแกนด์ที่มีศักยภาพในการจับกับโปรตีนทั้งสองชนิดและยับยั้งเชื้อ *H. pylori* ได้ panduratin A เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในไรโซมของ *B. rotunda* หรือกระชาย (Kanjanasirirat et al., 2020) มีการศึกษาชี้ว่า panduratin A มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* (Rukayadi et al., 2009) ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ช่องปาก และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อกลุ่ม *Enterococci* ที่พบในลำไส้ (Eng-Chong et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าสารสกัดจาก *B. rotunda* ช่วยลดการอักเสบและยับยั้งเชื้อ *H. pylori* ได้ (Rosdianto et al., 2020; Bhamarapravati et al., 2006) ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถของ panduratin A ในการจับกับโปรตีนที่สำคัญของ *H. pylori* ชี้ว่า panduratin A เป็นสารที่มีศักยภาพในการยับยั้ง *H. pylori* ได้ และ quercetin และ panduratin A อาจเป็นลิแกนด์ที่สามารถใช้ต่อยอดเพื่อยับยั้งเชื้อ *H. pylori* สายพันธุ์ดื้อยา โดยอาจยืนยันผลด้วยเทคนิค molecular dynamics simulation ก่อนการทดสอบในห้องปฏิบัติการและในสัตว์ทดลอง

นอกจาก quercetin และ panduratin A แล้ว สารพฤกษเคมีที่น่าสนใจอีกชนิดคือ alizarin ที่จับกับ PBP2 ได้ดีแม้จะจับในตำแหน่งที่ต่างกับลิแกนด์ควบคุม หากการกลายพันธุ์ของ *H. pylori* สายพันธุ์

ดื้อยาเกิดในตำแหน่งที่เกิดอันตรกิริยากับยาปฏิชีวนะ การใช้ลิแกนด์ที่จับในตำแหน่งอื่นอาจช่วยยับยั้งเชื้อแทนยาปฏิชีวนะเดิมได้ alizarin จึงเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจสำหรับการศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป

## สรุป

การทดสอบการจับกันระหว่างสารพฤกษเคมี 24 ชนิด กับโปรตีน GyrA และ PBP2 ของเชื้อ *H. pylori* ด้วยเทคนิคโมเลกุลาร์ดอกกิง พิจารณาค่า affinity จำนวนพันธะไฮโดรเจน และกรดอะมิโนที่มีอันตรกิริยากับลิแกนด์ทดสอบ พบว่า quercetin และ panduratin A เป็นสารที่มีความสามารถจับกับโปรตีนทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด 2 อันดับแรก จึงเป็นสารที่มีศักยภาพต่อยอดเพื่อใช้เป็นยาปฏิชีวนะสำหรับสายพันธุ์ดื้อยาต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

- Abou Assi, R., Darwis, Y., Abdulbaqi, I.M., Khan, A.A., Vuanghao, L. and Laghari, M.H. 2017. *Morinda citrifolia* (Noni): A Comprehensive Review on Its Industrial Uses, Pharmacological Activities, and Clinical Trials. **Arabian Journal of Chemistry** 10(5): 691-707.
- Baker, D.A. 2020. Plants against *Helicobacter pylori* to Combat Resistance: An Ethnopharmacological Review. **Biotechnology Reports** 26: e00470.
- Bhamarapravati, S., Juthapruth, S., Mahachai, W. and Mahady, G. 2006. Antibacterial Activity of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. and *Myristica fragrans* Houtt. against *Helicobacter pylori*. **Songklanakar Journal of Science and Technology** 28(Suppl.1): 157-63.
- Bienert, S., Waterhouse, A., De Beer, T.A.P., Tauriello, G., Studer, G., Bordoli, L. and Schwede, T.

2017. The SWISS-MODEL Repository-New Features and Functionality. **Nucleic Acids Research** 45(D1): D313-19.
- Brügger, B.P., Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Castro, B.M. de C.e., Soares, M.A., Wilcken, C.F., Carvalho, A. G., Serrão, J.E. and Zanuncio, J.C. 2019. Bioactivity of the *Cymbopogon citratus* (Poaceae) Essential Oil and Its Terpenoid Constituents on the Predatory Bug, *Podisus nigripinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific Reports** 9(1): 1-8.
- Chaturvedi, P., Raina, V., Solanki, P.S. and Saxena, V.L. 2019. In Silico Prediction of Anti-Plasmodial Activity of Spices: Targeting Malarial Proteases. **Journal of Clinical and Diagnostic Research** 13(8): KC01- KC06.
- Chu, A., Wang, D., Guo, Q., Lv, Z., Yuan, Y. and Gong, Y. 2020. Molecular Detection of *H. pylori* Antibiotic-resistant Genes and Molecular Docking Analysis. **The FASEB Journal** 34(1): 610-18.
- Contreras-Martel, C., Martins, A., Ecobichon, C., Trindade, D.M., Mattei, P.J., Hicham, S., Hardouin, P., Ghachi, M. El, Boneca, I.G. and Dessen, A. 2017. Molecular Architecture of the PBP2-MreC Core Bacterial Cell Wall Synthesis Complex. **Nature Communications** 8(776): doi: 10.1038/s41467-017-00783-2.
- de Lima, R.M.T., dos Reis, A.C., de Menezes, A.A.P.M., Santos, J.V. de O., Filho, J.W.G.d.O., Ferreira, J.R.d.O., de Alencar, M.V.O.B., da Mata, A.M. O.F., Khan, I.N., Islam, A., Uddin, S.J., Ali, E.S., Islam, M.T., Tripathi, S., Mishra, S.K., Mubarak, M.S. and Melo-Cavalcante, A.A.d.C. 2018. Protective and Therapeutic Potential of Ginger (*Zingiber Officinale*) Extract and [6]-Gingerol in Cancer: A Comprehensive Review. **Phytotherapy Research** 32(10): 1885-1907.
- Eng-Chong, T., Yean-Kee, L., Chin-Fei, C., Choon-Han, H., Sher-Ming, W., Li-Ping, C.T., Gen-Teck, F., Khalid, N., Abd Rahman, N., Karsani, S.A., Othman, S., Othman, R. and Yusof, R. 2012. *Boesenbergia rotunda*: From Ethnomedicine to Drug Discovery. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine** 2012: doi: 10.1155/2012/473637.
- González, A., Salillas, S., Velázquez-Campoy, A., Espinosa Angarica, V., Fillat, M.F., Sancho, J. and Lanás, Á. 2019. Identifying Potential Novel Drugs against *Helicobacter pylori* by Targeting the Essential Response Regulator HsrA. **Scientific Reports** 9(1): 1-13.
- Kanjanasirirat, P., Suksatu, A., Manopwisedjaroen, S., Munyoo, B., Tuchinda, P., Jearawuttanakul, K., Seemakhan, S., Charoensutthivarakul, S., Wongtrakoongate, P., Rangkasenee, N., Pitiporn, S., Waranuch, N., Chabang, N., Khemawoot, P., Sa-ngiamsuntorn, K., Pewkliang, Y., Thongsri, P., Chutipongtanate, S., Hongeng, S., Borwompinyo, S. and Thitithanyanont, A. 2020. High-Content Screening of Thai Medicinal Plants Reveals *Boesenbergia Rotunda* Extract and Its Component Panduratin A as Anti-SARS-CoV-2 Agents. **Scientific Reports** 10(1): 1-12.
- Li, R. and Jiang, Z.T. 2004. Chemical Composition of the Essential Oil of *Cuminum cyminum*

- L. from China. **Flavour and Fragrance Journal** 19(4): 311-313.
- Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M.T., Wang, S., Liu, H. and Yin, Y. 2016. Quercetin, Inflammation and Immunity. **Nutrients** 8(3): doi: 10.3390/nu8030167.
- Liu, Y., Grimm, M., Dai, W.t., Hou, M. chun, Xiao, Z.X. and Cao, Y. 2020. CB-Dock: A Web Server for Cavity Detection-Guided Protein-Ligand Blind Docking. **Acta Pharmacologica Sinica** 41(1): 138-144.
- Mandal, S. and Mandal, M. 2015. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Essential Oil: Chemistry and Biological Activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** 5(6): 421-428.
- Meghwal, M. and Goswami, T.K. 2013. *Piper nigrum* and Piperine: An Update. **Phytotherapy Research** 27(8): 1121-1130.
- Mégraud, F. and Lehours, P. 2007. *Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. **Clinical Microbiology Reviews** 20(2): 280-322.
- Nair, B. 2007. Final Report on the Safety Assessment of *Capsicum annuum* Extract, *Capsicum annuum* Fruit Extract, *Capsicum annuum* Resin, *Capsicum annuum* Fruit Powder, *Capsicum frutescens* Fruit, *Capsicum frutescens* Fruit Extract, *Capsicum frutescens* Resin, and Capsaicin. **International Journal of Toxicology** 26(SUPPL. 1): 3-106.
- Pan, Y., Zheng, Y.M. and Ho, W.S. 2018. Effect of Quercetin Glucosides from Allium Extracts on HepG2, PC-3 AND HT-29 Cancer Cell Lines. **Oncology Letters** 15(4): 4657-4661.
- Plaper, A., Golob, M., Hafner, I., Oblak, M., Šolmajer, T. and Jerala, R. 2003. Characterization of Quercetin Binding Site on DNA Gyrase. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 306(2): 530-36.
- Purkayastha, J. and Nath, S.C. 2006. Composition of the Camphor-Rich Essential Oil of *Ocimum basilicum* L. Native to Northeast India. **Journal of Essential Oil Research** 18(3): 332-334.
- Ragasa, C.Y., Guardamano, J.D., Tan, M.C.S. and Shen, C.C. 2016. Chemical Constituents of *Brassica rapa Chinensis* L. and *Brassica rapa* Var. *Parachinensis* (Baily) Hanelt. **International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research** 7(5): 316-318.
- Rivera, M.L.C., Hassimotto, N.M.A., Bueris, V., Sircili, M.P., Almeida, F.A. and Pinto, U.M. 2019. Effect of *Capsicum frutescens* Extract, Capsaicin, and Luteolin on Quorum Sensing Regulated Phenotypes. **Journal of Food Science** 84(6): 1477-1486.
- Rosdianto, A.M., Puspitasari, I.M., Lesmana, R. and Levita, J. 2020. Bioactive Compounds of *Boesenbergia* sp. and Their Anti-Inflammatory Mechanism: A Review. **Journal of Applied Pharmaceutical Science** 10(7): 116-126.
- Rose, A.S., Bradley, A.R., Valasatava, Y., Duarte, J.M., Prlić, A. and Rose, P.W. 2018. NGL Viewer: Web-Based Molecular Graphics for Large Complexes. **Bioinformatics** 34(21): 3755-3758.
- Rukayadi, Y., Lee, K., Han, S., Yong, D. and Hwang, J.K. 2009. In Vitro Activities of Panduratin A against Clinical *Staphylococcus* Strains.

- Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 53(10): 4529-4532.
- Siriamornpun, S., Sriket, C. and Sriket, P. 2014. Phytochemicals of Thai Local Edible Herbs. **International Food Research Journal** 21(3): 1045-1052.
- Tahir ul Qamar, M., Alqahtani, S.M., Alamri, M. and Chen, L.L. 2020. Structural Basis of SARS-CoV-2 3CLpro and Anti-COVID-19 Drug Discovery from Medicinal Plants. **Journal of Pharmaceutical Analysis** 10(4): 313-319.
- Trespalacios-Rangél, A.A., Otero, W., Arévalo-Galvis, A., Poutou-Piñales, R.A., Rimbara, E. and Graham, D.Y. 2016. Surveillance of Levofloxacin Resistance in *Helicobacter pylori* Isolates in Bogotá-Colombia (2009-2014) edited by M. Galdiero. **PLOS ONE** 11(7): e0160007.
- Tsay, F.W. and Hsu, P.I. 2018. *H. pylori* Infection and Extra-Gastrointestinal Diseases. **Journal of Biomedical Science** 25(1): 65.
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R. and Schwede, T. 2018. SWISS-MODEL: Homology Modelling of Protein Structures and Complexes. **Nucleic Acids Research** 46(W1): W296-W303.
- Wu, Y., Wang, Y., Li, Z.H., Wang, C.F., Wei, J.Y., Li, X.L., Wang, P.J., Zhou, Z.F., Du, S.S., Huang, D.Y. and Deng, Z.W. 2014. Composition of the Essential Oil from *Alpinia galanga* Rhizomes and Its Bioactivity on *Lasioderma serricornis*. **Bulletin of Insectology** 67(2): 247-254.