



การศึกษาอันตรกิริยาของอนุพันธ์ควิโนลีนกับเอนไซม์ HIV-1 RT โดยใช้เทคนิคทางเคมีควอนตัม
PARTICULAR INTERACTION STUDY OF QUINOLINE DERIVATIVES TO HIV-1 RT BY
QUANTUM CHEMISTRY

พศวัต บุญเฟื่อง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2563

การศึกษาอันตรกิริยาของอนุพันธ์ควิโนลีนกับเอนไซม์ HIV-1 RT โดยใช้เทคนิคทางเคมีควอนตัม



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีการศึกษา 2563

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

PARTICULAR INTERACTION STUDY OF QUINOLINE DERIVATIVES TO HIV-1 RT BY
QUANTUM CHEMISTRY



PODSAWAT BUNFUEANG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Chemistry)

Faculty of Science, Srinakharinwirot University

2020

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาอันตรกิริยาของอนุพันธ์ควิโนลีนกับเอนไซม์ HIV-1 RT โดยใช้เทคนิคทางเคมีควอนตัม

ของ

พศวัต บุญเฟื่อง

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ที่ปรึกษาหลัก

ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มะยุไช๊ะ ภูโน)

(ดร.อาทิตย์ มกรเสน)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ สังศรีโรจน์)

ชื่อเรื่อง	การศึกษาอันตรกิริยาของอนุพันธ์ควิโนลีนกับเอนไซม์ HIV-1 RT โดยใช้เทคนิคทางเคมีควอนตัม
ผู้วิจัย	พศวัต บุญเฟื่อง
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยุทธิ์ ภูโน

เชื้อไวรัส HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus Type 1) เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคเอดส์และผู้ป่วยที่ยังใช้รักษาผู้ป่วยเอดส์ในปัจจุบันมีอยู่หลายชนิดแต่ไม่สามารถรักษาผู้ป่วยเอดส์ให้หายขาดได้แต่สามารถชะลอหรือยืดอายุผู้ป่วยเอดส์ได้ ซึ่งทำให้ผู้ป่วยเอดส์สามารถอยู่ในสังคมได้อย่างปกติ งานวิจัยนี้มีเป้าหมายที่จะศึกษาเปรียบเทียบโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนและ TMC278(Rilpivirine) กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ทั้ง 5 เอนไซม์(รหัสโปรตีน 2ZD1, 3MEG, 2ZE2, 3MEG, 4G1Q) ด้วยวิธีการทางเคมีควอนตัมเพื่อใช้ในการคำนวณโครงสร้างและอันตรกิริยาโดยใช้เทคนิคโมเลกุลลาร์ต็อกกิ้งและกลศาสตร์ควอนตัมจากการศึกษาด้วยเทคนิคโมเลกุลลาร์ต็อกกิ้งพบว่าอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ HIV-1 RT ใกล้เคียงกับ TMC278 ซึ่งค่าพลังงานในการจับของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT (PDB:4G1Q) มีค่าเท่ากับ -12.59, -11.53, -12.76 kcal/mol ตามลำดับ ค่าพลังงานที่ได้ไม่แตกต่างกันมากนักจากนั้นได้ทำการคำนวณทางกลศาสตร์ควอนตัมที่ระดับการคำนวณ M06HF/6-311g(d,p) พบว่าอันตรกิริยาระหว่างกรดอะมิโนแต่ละตัวในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ให้พลังงานส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกัน ยกเว้น Pro095, Val179, His235, Pro236, Tyr318 ซึ่งอนุพันธ์ควิโนลีนมีค่าอันตรกิริยาใกล้เคียงหรือสูงกว่า TMC278 จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าอนุพันธ์ควิโนลีนมีศักยภาพที่สามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบในการพัฒนาเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ในอนาคต

คำสำคัญ : อนุพันธ์ควิโนลีน, TMC278, M06HF/6-311g(d,p), HIV-1 RT

Title	PARTICULAR INTERACTION STUDY OF QUINOLINE DERIVATIVES TO HIV-1 RT BY QUANTUM CHEMISTRY
Author	PODSAWAT BUNFUEANG
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2020
Thesis Advisor	Mayuso Kuno

HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus Type 1) is a major cause of AIDS and there are currently several inhibitors used to treat AIDS patients. While they cannot cure AIDS, it can be decelerated and the lives of AIDS patients may be marketed, allowing them to live normally in society. The aim of this research is to compare the structure and interactions between quinoline derivatives, quinoline and TMC278 (Ralpivirine) versus all five HIV-1 RT target enzymes (PDB: 2ZD1, 3MEG, 2ZE2, 3MEG, 4G1Q) using quantum chemistry for structure and interactions using molecular docking techniques and quantum mechanics, based on a molecular study with the docking technique. The two quinoline derivatives were found to inhibit the HIV-1 RT enzyme similarly to TMC278 and the value of the binding energy of the two quinoline derivatives, TMC278 and the target enzyme HIV-1 RT. (PDB:4G1Q) and equal to -12.59, -11.53, -12.76 kcal/mol, respectively. The resulting energy values were not significantly different than the quantum-mechanical calculations technique at the computational level. M06HF/6-311g (d,p) showed no difference in interactions between individual amino acids in the binding site enzymes, with the exception of Pro095, Val179, His235, Pro236, Tyr318, which are derivatives of quinoline and have an interaction value close to or higher than TMC278. From the above study found that quinoline derivatives have the potential to be used as a model for the development of Future HIV-1 RT target enzyme inhibitors.

Keyword : quinoline derivatives, TMC278, M06HF/6-311g(d,p), HIV-1 RT

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยุโธ๊ะ ภูโน ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ ที่ท่านได้เสียสละเวลาอันมีค่า เพื่อให้คำปรึกษาคำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการวิจัยทุกขั้นตอน และชี้แนะข้อบกพร่องต่างๆ ตลอดจนการแก้ไขปัญหอันเกิดจากการดำเนินการวิจัยและการเขียนปริญญานิพนธ์นี้ แก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดี อีกทั้งทำให้ผู้วิจัยได้รับประสบการณ์ ได้เรียนรู้และเห็นคุณค่าของงานวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้ง และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.อาทิตย์ มกรเสน ที่ให้ความกรุณาในการเป็นประธานในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เกรียงศักดิ์ ส่งศรีโรจน์ ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำและชี้แจงข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้และความเมตตาเอาใจใส่ ให้ความช่วยเหลือแก่ผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณต่อครอบครัว “ บุญเฟื่อง ”

ที่มอบความรัก คอยให้กำลังใจเอาใจใส่ และสนับสนุนในทุกด้าน ทำให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในครั้งนี้

พศวัต บุญเฟื่อง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญภาพประกอบ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายงานวิจัย.....	4
ความสำคัญของการวิจัย.....	4
ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
1. เอกสารความรู้เกี่ยวกับไวรัส HIV-1.....	5
1.1 กลไกการติดเชื้อของไวรัส HIV-1.....	6
1.2 สายพันธุ์ของไวรัส HIV.....	6
2. เอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส.....	7
3. ทฤษฎีและการพัฒนาออกแบบตัวยับยั้ง.....	8
3.1 การจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์.....	8
3.2 การดัดแปลงต้นแบบตัวยับยั้ง.....	8
4. การคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์.....	9
5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	11

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
1. Redock เพื่อทำการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมของโครงสร้างโปรตีน	20
2. Docking เพื่อหาค่าพลังงานอิสระในการจับระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง และ TMC278 กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT	23
3. กลศาสตร์ควอนตัมเพื่อคำนวณหาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งต่อกรดอะมิโนสำคัญ ในบริเวณการจับของเอนไซม์	24
บทที่ 4 ผลการศึกษา	27
1. การศึกษาโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้งระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน ทั้ง 2 โครงสร้างและTMC278 กับ เอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT	27
2. การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนและTMC278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่อยู่ใน บริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT	33
3. ผลการแก้ไขพลังงานอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ IE-BSSE.....	40
บทที่ 5.....	42
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	42
1. สรุป	42
2. อภิปรายผลการทดลอง.....	44
3. ข้อเสนอแนะ.....	45
บรรณานุกรม.....	46
ประวัติผู้เขียน.....	50

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ค่า RMSD ของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT.....	29
ตาราง 2 ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับกับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT	32
ตาราง 3 เปรียบเทียบค่าอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน (B24) กับกรดอะมิโนแต่ละชนิด ภายในโพรงการจับของเอนไซม์ด้วยระเบียบวิธี B3LYP, M062X, M06HF /6-311g(d,p).....	34
ตาราง 4 ค่าอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับกรดอะมิโน แต่ละชนิดภายในโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ M06HF/6-311g(d,p)	36
ตาราง 5 แสดงค่าการคำนวณ IE-BSSE	41

สารบัญภาพประกอบ

หน้า

ภาพประกอบ 1 สาเหตุการเสียชีวิตมากที่สุดของประชากรไทย ปี 2560.....	1
ภาพประกอบ 2 ตัวยับยั้ง HIV-1 RT ในกลุ่ม NRTIs	2
ภาพประกอบ 3 ตัวอย่างยาในกลุ่ม NNRTIs	3
ภาพประกอบ 4 แสดงวัฏจักรของแพร่เชื้อไวรัส HIV-1 เมื่อเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย.....	5
ภาพประกอบ 5 โครงสร้าง 2K ภายในบริเวณ โพรงการจับของเอนไซม์ HIV-1 IN.....	12
ภาพประกอบ 6 การเกิดอันตรกิริยาของโครงสร้าง 5R ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์...	13
ภาพประกอบ 7 แสดงการวิเคราะห์การจับกันบริเวณโพรงการจับของ สาร 8G และ Etravirine กับ HIV-1 NNIBP	13
ภาพประกอบ 8 การผสมผสานระหว่างตัวยับยั้ง TMC125 และ TMC278 เพื่อให้ได้อนุพันธ์ใหม่	14
ภาพประกอบ 9 แสดงจำนวนหมู่แทนที่ใหม่ที่ปรับปรุงแทนลงไปใน TMC278	15
ภาพประกอบ 10 แสดงโครงสร้าง 5E ในบริเวณของโพรงการจับของเอนไซม์.....	15
ภาพประกอบ 11 แนวทางการออกแบบอนุพันธ์ใหม่ของ Diarylnicotinamide 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole	16
ภาพประกอบ 12 โครงสร้าง 4b ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์.....	17
ภาพประกอบ 13 โครงสร้างสาร 16C (ซ้าย) และโครงสร้าง 16C ภายในเอนไซม์ RT	18
ภาพประกอบ 14 การออกแบบ heterocycle-biphenyl-DAPYs ด้วยวิธีการ bioisosterism strategy.....	19
ภาพประกอบ 15 โปรแกรม AutoDocktool 1.5.6	21
ภาพประกอบ 16 แสดงการตั้งค่าเพื่อกำหนดรอบการคำนวณการวางตัวของตัวยับยั้งภายในโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย.....	23
ภาพประกอบ 17 แสดงตำแหน่งในการเติมหมู่แทนที่ลงในอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง	24
ภาพประกอบ 18 แสดงการ cap ที่บริเวณปลายกรดอะมิโน	26

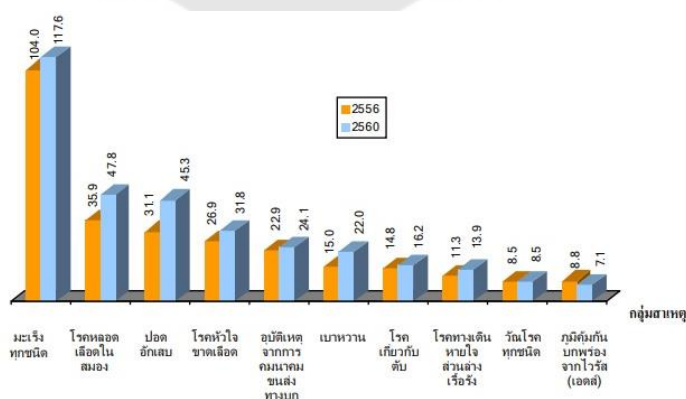
ภาพประกอบ 19 a) แสดงการวางตัวของ Redock ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์ เป้าหมาย HIV-1 RT b) แสดงการวางตำแหน่งที่ทับซ้อนกันระหว่าง Redock กับ TMC278.....	29
ภาพประกอบ 20 a) แสดงตำแหน่งที่อนุพันธ์ควิโนลีนและ TMC278 เข้าทำการจับภายในบริเวณ โพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1RT b) ลักษณะการวางตัวของตัวยับยั้งทั้ง 3 โครงสร้าง	31
ภาพประกอบ 21 แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน Pro236 a) อนุพันธ์ ควิโน ลีน (B24) b) อนุพันธ์ควิโนลีน (B46) c) TMC278.....	37
ภาพประกอบ 22 แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน Tyr318 a) อนุพันธ์ควิโน ลีน B24 b) อนุพันธ์ควิโนลีน B46 c) TMC278	38
ภาพประกอบ 23 แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน His235 a) อนุพันธ์ควิโน ลีน B24 b) อนุพันธ์ควิโนลีน B46 c) TMC278	39
ภาพประกอบ 24 แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน Val179 a) อนุพันธ์ควิโน ลีน B24 b) อนุพันธ์ควิโนลีน B46 c) TMC278	40

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

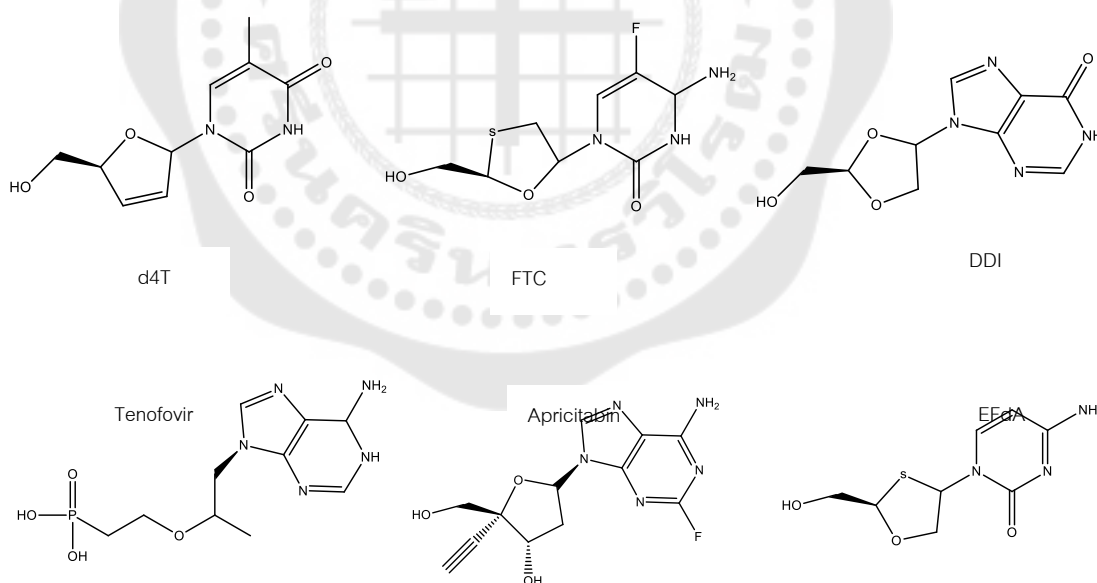
จากการสำรวจสาเหตุการเสียชีวิตต่อประชากร 100,000 คน ระหว่างปี พ.ศ.2556 ถึง พ.ศ.2560 พบว่าโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องเนื่องจากไวรัส (Human Immunodeficiency Virus) เป็นโรคที่ติดอันดับ 1 ใน 10 ของสาเหตุการเสียชีวิตสูงสุดของคนไทยมากที่สุด โดยถูกจัดอยู่ในอันดับที่ 10 ดังภาพประกอบ 1 เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้นั้นนอกเหนือจากการมีเพศสัมพันธ์แล้ว ยังสามารถติดต่อได้จากสาเหตุอื่นๆ ได้อีก อาทิเช่น จากมารดาสู่บุตรในครรภ์ จากการใช้สิ่งของร่วมกับผู้ติดเชื้อ จากการทำงานที่เกี่ยวข้องกับผู้ติดเชื้ออย่างใกล้ชิด และจากผู้ที่ได้รับการบริจาคเลือดที่ปนเปื้อนเชื้อไวรัส เป็นต้น โดยมักจะพบผู้ป่วยติดเชื้อในเพศชายมากกว่าเพศหญิง ประมาณ 2 เท่า อีกทั้งยังจะพบมากที่สุดในช่วงอายุ 15-59 ปี แต่ผลการสำรวจบ่งชี้ว่าปริมาณผู้ติดเชื้อภายใน 5 ปีลดน้อยลงตามลำดับ เป็นผลมาจากประชากรได้มีการตระหนักถึงเรื่องนี้ได้มีการรณรงค์ในรูปแบบต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการประชาสัมพันธ์หรือทางสื่อสังคมออนไลน์ รวมไปถึงการศึกษาของเยาวชนที่ถูกต้องและที่สำคัญได้มีการศึกษาวิจัยค้นคว้าอย่างจริงจังและได้มีการนำเทคโนโลยีต่างๆ เข้ามาช่วยในการออกแบบและพัฒนายาให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยการพัฒนาตัวยับยั้งมุ่งเน้นในการยับยั้งกลไกการเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรัสเอดส์ ซึ่งพบว่าเอนไซม์ที่สำคัญในการดำรงอยู่ได้ของเชื้อไวรัสมี 3 ชนิดได้แก่ 1) เอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส (Reverse transcriptase) 2) เอนไซม์อินทิเกรส (Integrase) 3) เอนไซม์โปรตีเอส (Protease)



ภาพประกอบ 1 สาเหตุการเสียชีวิตมากที่สุดของประชากรไทย ปี 2560

ที่มา: กองยุทธศาสตร์และแผนงาน กระทรวงสาธารณสุข. (2560). สถิติสาธารณสุข.

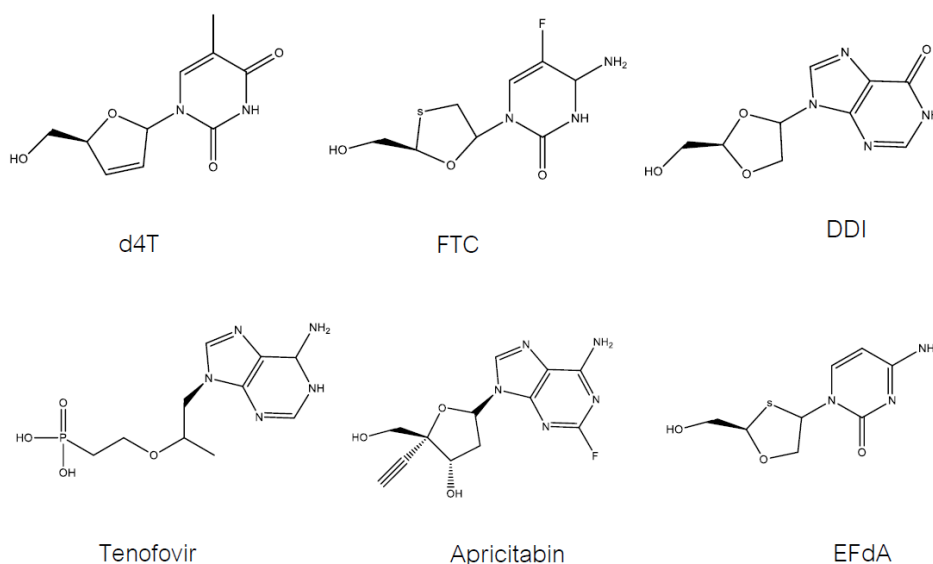
เอนไซม์ที่โดดเด่นในการเพิ่มปริมาณตัวเองคือ เอนไซม์รีเวอร์ทรานสคริปเตส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถเพิ่มปริมาณของ HIV-DNA ได้จาก mRNA ผ่านกระบวนการรีเวอร์ทรานสคริปชันโดยปกติเชื้อไวรัส HIV เน้นทำลายระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์ นั้นหมายความว่าเซลล์ที่ได้รับผลโดยตรงคือ CD4 cell หรือ T-Cell ซึ่งเซลล์เหล่านี้จะคอยกำจัดเชื้อแปลกปลอมที่หลุดรอดจากภายนอกเข้าสู่ภายในร่างกายมนุษย์เมื่อเซลล์ปกติติดเชื้อจากไวรัส จะทำให้เซลล์ตายลงและลดจำนวนลงทำให้ร่างกายมนุษย์มีความอ่อนแอซึ่งเป็นผลให้เชื้อโรคชนิดอื่นๆ หรือไวรัสสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายโดยไม่มีเซลล์ที่จะมาทำลายต่อสู้กับเชื้อชนิดนั้น จึงเป็นเหตุให้เกิดโรคแทรกซ้อนตามมาส่งผลให้เสียชีวิตในเวลาต่อมา ปัจจุบันยาต้านไวรัส HIV-1 RT ที่ใช้กันมี 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือ Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTIs) เป็นตัวยับยั้งในกลุ่มที่มีกลไกการออกฤทธิ์คล้ายกับตัวยับยั้งไวรัสในกลุ่มนิวคลีโอไซด์แอนะล็อก โดยเฉพาะโครงสร้างสารมีการเติมหมู่ฟอสเฟต เพื่อให้โครงสร้างเป็นอนุพันธ์ของนิวคลีโอไทด์ ฟอสเฟตซึ่งอยู่ในรูปที่ออกฤทธิ์ ตัวอย่างตัวยับยั้งในกลุ่มนี้เช่น AZT (Retrovir), DDI (Videx), DDC (Hivid), 3TC (Epivir), และ D4T (Zerit) ดังภาพประกอบ 2



ภาพประกอบ 2 ตัวยับยั้ง HIV-1 RT ในกลุ่ม NRTIs

กลุ่มที่สองคือ Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs) ดังภาพประกอบ 3 ซึ่งตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์คล้ายกลุ่มแรกแต่ในตำแหน่งที่แตกต่างกัน โดย

ตัวยับยั้งในกลุ่ม NNRTIs จะจับบริเวณ Allosteric แบบ Non-competitive จะส่งผลให้โครงสร้างเอนไซม์มีลักษณะที่ผิดแปลกไปจากเดิมจึงไม่สามารถจะนำนิวคลีโอไซด์ไตรฟอสเฟตไปต่อการเชื่อมต่อกับสายของ DNA ได้ตามที่ควรจะเป็นและตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ไม่จัดว่าเป็น Pro-drug เนื่องจากไม่จำเป็นที่จะต้องผ่านการเมตาบอลิซึมเพื่อให้สารที่ออกฤทธิ์ต้านไวรัสและตัวยับยั้งกลุ่มนี้ให้ได้ผลดีกับ HIV-1 เท่านั้น โดยยังไม่สามารถใช้ได้ผลดีกับประเภท HIV-2 ซึ่งพบมากแถบประเทศแอฟริกา โดยยาที่ใช้ร่วมกันในปัจจุบันกับประเภท HIV-1 RT ได้แก่ Delavirdine (Rescriptor), Efavirenz (Sustiva), Nevirapine (Viramune), Dapivirine (TMC120), Etravirine (TMC125), Rilpivirine (TMC278) (โสภา วัชรคุปต์, 2551)



ภาพประกอบ 3 ตัวอย่างยาในกลุ่ม NNRTIs

TMC278 ได้รับการจดทะเบียนจาก Food and Drug Administration (FDA) ในปี ค.ศ.2010 ซึ่งเป็นองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา ซึ่งใช้ชื่อทางการค้า Edurant โดยพบว่า เป็นตัวยับยั้งที่มีค่าครึ่งชีวิตสูงยาวนาน (Half life) และช่วยลดอาการผลข้างเคียง (Side effect) ได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับในกลุ่มเดียวกัน เช่น TMC125 และสามารถยับยั้งไวรัส HIV ได้ทั้ง ชนิดไม่มีการกลายพันธุ์และชนิดที่มีการกลายพันธุ์

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT โดยการวิจัยครั้งนี้ใช้

ระเบียบวิธีการทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์ เพื่อนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญที่ใช้อธิบายเชิงลึกเพื่อให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกในการยับยั้งของตัวยับยั้งกับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการวิจัยมีความสำคัญต่อการออกแบบและพัฒนาตัวยับยั้งใหม่หรือพัฒนาตัวยับยั้งเดิมที่มีอยู่ให้มีประสิทธิภาพสูงมากขึ้น

ความมุ่งหมายงานวิจัย

1. ศึกษาการเข้าจับระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนกับ HIV-1 RT ชนิดแบบไม่กลายพันธุ์และชนิดแบบที่มีการกลายพันธุ์ด้วยระเบียบวิธีทางเคมีควอนตัม
2. เพื่อศึกษาหาอันตรกิริยาที่เกิดระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนกับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับกับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบถึงข้อมูลการเข้าจับของโครงสร้างอนุพันธ์ควิโนลีนในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT เพื่อการออกแบบและพัฒนาให้มีประสิทธิภาพสูงสุด
2. เพื่อให้เข้าใจถึงการมีอยู่ของกรดอะมิโนในบริเวณโพรงการจับที่มีความสำคัญในการเกิดอันตรกิริยากับอนุพันธ์ควิโนลีน

ขอบเขตของงานวิจัย

ต้องการที่จะศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโครงสร้างเอนไซม์ HIV-1 RT ทั้ง 4 เอนไซม์ชนิดแบบที่ไม่มีการกลายพันธุ์และชนิดแบบที่มีการกลายพันธุ์ระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนและ TMC278 กับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT โดยใช้ระเบียบวิธีการคำนวณทางโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้งและกลศาสตร์ควอนตัมใช้ระเบียบวิธีคำนวณ B3LYP, M062X, M06HF เบซิสเซต 6-311g(d,p) เพื่อที่จะได้เข้าใจและอธิบายกลไกการอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนและ TMC278 กับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ได้อย่างลึกซึ้ง อีกทั้งยังส่งผลให้สามารถออกแบบโครงสร้างอนุพันธ์ควิโนลีนให้มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อไวรัส HIV ได้อย่างสูงที่สุด

บทที่ 2

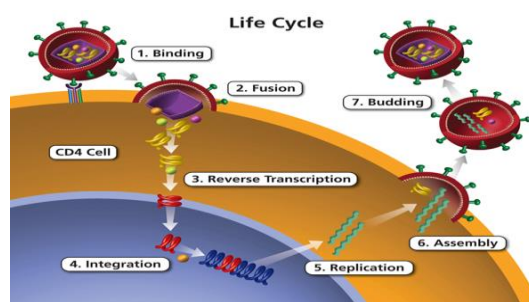
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในงานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและได้รวบรวมนำเสนอในหัวข้อต่อไปนี้

1. เอกสารความรู้เกี่ยวกับไวรัส HIV-1
2. เอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส
3. ทฤษฎีและการพัฒนาออกแบบตัวยับยั้ง
4. การคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์
5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. เอกสารความรู้เกี่ยวกับไวรัส HIV-1

HIV เป็นคำย่อที่มาจากคำว่า Human Immunodeficiency Virus ซึ่งไวรัสชนิดนี้ เป้าหมายที่จะทำลายระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์คือจะทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาว CD4 Cell หรือ T Cell โดยปกติระบบภูมิคุ้มกันคือระบบที่คอยสอดส่องและต่อสู้กับเชื้อโรคหรือไวรัสภายนอก ร่างกายที่เข้าสู่ร่างกายเมื่อระบบล้มเหลวหรือเสียหายจนมีปริมาณ CD4 Cell ไม่เพียงพอส่งผลให้ เชื้อโรคต่างๆ จะสามารถเข้าสู่ร่างกายได้อย่างง่าย จึงส่งผลให้ผู้ติดเชื้อ HIV จะมีอาการแทรกซ้อน ได้หลายโรคเป็นเหตุให้ผู้เสียชีวิตส่วนมากจะเสียชีวิตด้วยอาการแทรกซ้อนมากกว่าการที่เสียชีวิต เพราะติดเชื้อ HIV เท่าที่มีการศึกษาค้นคว้าในปัจจุบันยังไม่มียาชนิดไหนที่สามารถยับยั้งเชื้อไวรัส HIV-1 ได้หายขาดเพราะเชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถปรับตัวหรือที่เรียกว่าการกลายพันธุ์ได้ง่ายตรวจพบที่ผู้ป่วยรับประทานยาไม่สม่ำเสมอทำให้เชื้อดื้อยาในเวลาต่อมา



ภาพประกอบ 4 แสดงวัฏจักรของแพ้วเชื้อไวรัส HIV-1 เมื่อเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย
ที่มา: AIDSinfo. (2018). Life Cycle.

1.1 กลไกการติดเชื้อของไวรัส HIV-1

จากภาพประกอบ 4 จะสามารถเห็นได้ว่ากลไกการติดเชื้อไวรัสมี 7 ขั้นตอนหลักในการโจมตีเซลล์เป้าหมาย CD4 Cell

ขั้นตอนที่ 1 เริ่มจาก glycoprotein ที่ผิวของไวรัส HIV-1 จะจับกับโปรตีนบนเม็ดเลือดขาว (CD4 Cell) อย่างเจาะจงและหลอมรวมเข้ากับเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดขาวของ host ทำให้ capsid หลุดเข้าสู่ cytoplasm ของ host

ขั้นตอนที่ 2 หลังจากที่ไวรัสสามารถจับกับเซลล์เป้าหมายได้แล้ว จากนั้น HIV-RNA และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องของไวรัสจะถูกปลดปล่อยออกจาก capsid เพื่อเข้าสู่ cytoplasm ของ CD4 cell

ขั้นตอนที่ 3 เอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตสจะทำการเปลี่ยน HIV-RNA ของไวรัสให้เป็น DNA โดยใช้ Nucleoside ของ host เอง หลังจากนั้นจะได้ DNA ของไวรัส

ขั้นตอนที่ 4 HIV-DNA จะรวมเข้ากับ DNA ของ host โดยใช้เอนไซม์อินทิเกรสเพื่อให้สามารถเกิดการ translation ในตำแหน่งที่ DNA ของไวรัสแทรกตัวอยู่ออกมาเป็นโปรตีนสายยาวๆ ซึ่งผลจะทำให้ได้ HIV-RNA ขึ้นมาใหม่

ขั้นตอนที่ 5 หลังจากนั้นจะเป็นหน้าที่ของเอนไซม์โปรตีเอสจะเข้ามาทำการตัดโปรตีนนี้ ทำให้ได้โปรตีนที่พร้อมจะแพร่เชื้อต่อไป

ขั้นตอนที่ 6 หลังจากเอนไซม์โปรตีเอส ตัดโปรตีนต่างๆ เป็นที่เรียบร้อยแล้ว ในขั้นตอนนี้จะทำการเตรียมเอนไซม์ต่างๆ ที่จะใช้ในการแพร่เชื้อต่อไปโดยจะบรรจุใส่ใน capsid

ขั้นตอนที่ 7 capsid ได้ทำการปลดปล่อยตัวเองออกจาก Host cell ไปยัง cell ใหม่ ๆ

1.2 สายพันธุ์ของไวรัส HIV

เชื้อไวรัส HIV เป็นเชื้อที่สามารถกลายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วหรือมีการกลายพันธุ์อยู่ตลอดเวลา ก็เป็นไปได้เสมอ จึงเป็นเหตุให้เชื้อไวรัสชนิดนี้มีหลากหลายสายพันธุ์ ในปัจจุบันสามารถจำแนกไวรัส HIV ได้ 2 ประเภทใหญ่ๆ นั่นคือ ประเภท HIV-1 และ HIV-2 ซึ่งข้อแตกต่างระหว่าง 2 ประเภท โดย HIV-2 จะติดต่อได้ยากกว่า HIV-1 รวมไปถึงระยะเวลาการติดเชื้อเมื่อปรากฏอาการเป็นครั้งแรกด้วยแต่เชื้อไวรัส HIV-1 เป็นสาเหตุหลักสำคัญในการเกิดโรคเอดส์ทั่วโลกโดยทั่วไป ถ้าไม่ระบุว่าเป็นเชื้อไวรัส HIV-2 จะหมายถึง HIV-1 โดยปริยาย ไวรัส HIV-2 สามารถพบได้มากที่สุดแถว West Africa โดยทั้ง 2 สายพันธุ์นั้นติดต่อทางเพศสัมพันธ์ เลือด และอาจติดต่อจากมารดาสู่บุตรได้เหมือนกันทั้ง 2 สายพันธุ์

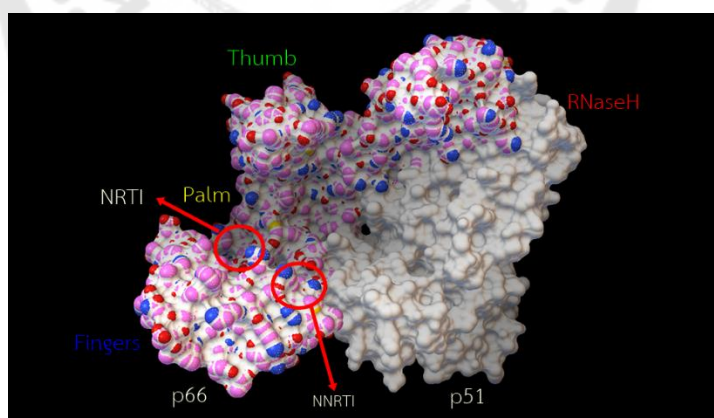
2. เอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส

เอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตสมีความสำคัญอย่างมากในกระบวนการเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัส HIV-1 โดยทำหน้าที่แปลรหัสจากสาย RNA ของไวรัส HIV-1 ให้กลายเป็นสาย DNA ของไวรัส HIV-1 โดยเอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส มี 3 รูปแบบ ที่ใช้ในการทำงานของไวรัส

1. RNA-directed DNA polymerase activity: เติม nucleotides เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ DNA

2. RNase H: exonuclease สำหรับย่อย RNA primer เมื่อมีการสังเคราะห์ DNA เสร็จแล้ว

3. DNA-directed DNA polymerase: สังเคราะห์ ssDNA (single-stranded DNA) หลังจาก RNA primer ถูกย่อยแล้วด้วย RNase H แล้ว เอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส จะประกอบด้วย sub-unit 2 ชนิด คือ p66 และ p51 ตามภาพประกอบ 5 ซึ่งในแต่ละส่วนจะมีบริเวณสำคัญแตกต่างกันออกไป ในส่วน p66 จะมีขนาดใหญ่กว่า p51 และภายในเอนไซม์จะมีบริเวณที่สำคัญอยู่ 2 บริเวณ นั่นคือ Active site ซึ่งยาที่ใช้สำหรับการยับยั้งในกลุ่มนี้จะเป็นประเภท NRTIs ในส่วนของโพรงการจับจะเป็นกลุ่มของ NNRTIs โดยในงานวิจัยนี้สนใจบริเวณโพรงการจับ เนื่องจากตัวยับยั้งที่เข้าจับบริเวณดังกล่าวจะเป็นการยับยั้งแบบไม่มีแข่งขัน จึงเหมาะสมในการศึกษา



ภาพประกอบ 5 แสดงองค์ประกอบของเอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส

3. ทฤษฎีและการพัฒนาออกแบบตัวยับยั้ง

เมื่อได้ตัวยับยั้งที่สามารถออกฤทธิ์เป็นที่เรียบร้อยแล้ว แต่ส่วนใหญ่มักจะพบปัญหาต่างๆ หลังจากการใช้ตัวยับยั้งดังกล่าวหรือส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงที่ไม่ต้องการตามมาภายหลัง จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาตัวยับยั้งตามหลักทฤษฎีต่างๆ เพื่อที่จะให้ได้ตัวยับยั้งที่มีประสิทธิภาพที่ดี ซึ่งการพัฒนายามีด้วยกันหลากหลายวิธี ข้อเสียของการพัฒนาตัวยับยั้งแบบเก่าคือจะใช้เวลานานกว่าที่จะทราบผลว่าโครงสร้างไหนบ้างที่มีฤทธิ์ต้านไวรัสแต่ในปัจจุบัน ศาสตร์ทางเคมีคอมพิวเตอร์ได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในการค้นคว้าวิจัยพัฒนาตัวยับยั้งโดยจะนำทฤษฎีต่างๆ มาอธิบาย อาทิเช่น การจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์

3.1 การจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์

การที่ตัวยาจะออกฤทธิ์เพื่อยับยั้งเอนไซม์ได้จะต้องเกิดอันตรกิริยากันระหว่างตัวยับยั้งและเอนไซม์เป้าหมาย ซึ่งการที่จะจับกันได้จะต้องเกิดพันธะเคมีระหว่างกัน

3.1.1 พันธะโควาเลนต์ (Covalent bond)

พันธะโควาเลนต์เกิดจากการที่อะตอม 2 อะตอมใช้อิเล็กตรอนร่วมกันจัดได้ว่าเป็นพันธะที่มีความแข็งแรง โดยตัวยับยั้งที่จับกับเอนไซม์ที่เป็นแบบพันธะโควาเลนต์จะสามารถออกฤทธิ์ได้นานรวมไปถึงยาในกลุ่ม NNRTIs เนื่องจากเป็นการจับแบบไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่จะส่งผลให้เอนไซม์หยุดการทำงาน กล่าวอีกนัยคือต้องการหยุดการทำงานของเอนไซม์อย่างถาวร

3.1.2 พันธะไอออนิก (Ionic bond)

เป็นพันธะเคมีอีกชนิดหนึ่งที่เกิดจากที่อะตอมสร้างพันธะกันโดยที่อะตอมให้อิเล็กตรอนกับอะตอม ทำให้เกิดเป็นประจุบวก ในส่วนอะตอมที่รับอิเล็กตรอนจะเกิดเป็นประจุลบ ซึ่งทำให้อะตอมทั้ง 2 มีประจุที่แตกต่างกันออกไป ส่งผลให้เกิดแรงดึงดูดระหว่างกันขึ้นมาหรือทำให้เกิดพันธะไอออนิก

3.1.3 พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond)

เป็นพันธะที่เกิดขึ้นโดยอะตอมของไฮโดรเจน อยู่ระหว่างอะตอมที่มีอิเล็กโตรเนกาติวิตีสูง ซึ่งพันธะไฮโดรเจนสามารถเกิดได้ทั้งภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุล

3.2 การดัดแปลงต้นแบบตัวยับยั้ง

ส่วนขั้นตอนนี้คือการแก้ไขหรือดัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของตัวยับยั้งเพื่อให้ได้ความแรงเพิ่มขึ้น (Potency) หรือกระทั่งกำจัดข้อเสียต่างๆ ที่มีอยู่ในตัวยับยั้ง ซึ่งการกระทำดังกล่าวจะกระทำบริเวณที่เรียกว่า ฟาร์มาโคฟอร์ (Pharmacophore) ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวสามารถออกแบบโดยใช้โปรแกรมช่วยในการพิจารณาได้

3.2.1. การศึกษาทางเภสัช (1-D Pharmacophore Study)

Pharmacophore คือกลุ่มอะตอมที่มีความสำคัญต่อการเกิดอันตรกิริยากับกับกรดอะมิโนภายในโพรงการจับของเอนไซม์ เมื่อทราบว่าอะตอมไหนจำเป็นต่อการเกิดอันตรกิริยา และต้องการรู้ข้อมูลอื่นๆ เพิ่มเติมเช่น ควรอยู่ห่างกันระยะเท่าใด ต้องทำมุมต่อกันกี่องศา เป็นต้น โดยเป็นการศึกษา 3-D Pharmacophore

3.2.2. การศึกษาโครงสร้างทางชีวภาพ

โดยปกติแล้วโมเลกุลที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่มักมีความยืดหยุ่น (Flexible) ได้นั้นหมายความว่าโครงสร้างสามารถบิดหมุนรอบพันธะเดี่ยวได้เนื่องจากเป็นพันธะที่มีความแข็งแรงน้อย และยังเป็นพันธะที่มีจำนวนมากที่สุดในโมเลกุล โดยสภาวะปกติแล้วโมเลกุลสามารถวางตัวได้หลากหลาย conformation ในแต่ละการวางตัวก็จะมีระดับพลังงานที่แตกต่างกันออกไป conformation ที่มีพลังงานต่ำที่สุดจะเรียกว่า Global energy minimum conformation (วิเชษฐ์ ลีลามานิตย์, 2550)

4. การคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์

Computational Chemistry เคมีคอมพิวเตอร์ถือเป็นเครื่องมือที่สำคัญต่อการศึกษาค้นคว้าวิจัย โดยใช้รากฐานของหลักวิชาเคมี ในการเข้าใจอย่างเป็นระบบเพื่อนำไปสู่ความรู้ความเข้าใจอย่างลึกซึ้ง ในระดับโมเลกุลของสสาร ซึ่งจะส่งผลโดยตรงกับสมบัติของสาร ในปัจจุบัน การศึกษาระดับโมเลกุลภายในห้องปฏิบัติการยังมีขีดจำกัดอยู่ในหลายด้าน ทั้งด้านประสิทธิภาพของเครื่องมือวิทยาศาสตร์และด้านวิทยาการ ดังนั้นเคมีคอมพิวเตอร์ได้มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในงานวิจัย อาทิเช่น การค้นหาสารออกฤทธิ์เป็นยาหรือการพัฒนาที่มีอยู่ในปัจจุบันให้มีฤทธิ์สูงขึ้นกว่าเดิม ซึ่งการที่จะสามารถพัฒนาตัวใหม่ให้มีฤทธิ์ตามต้องการจำเป็นต้องใช้การคำนวณและออกแบบโครงสร้างระดับโมเลกุลระหว่างโมเลกุลที่ได้รับการออกแบบหรือพัฒนาขึ้นกับเอนไซม์เป้าหมายโดยจะคำนวณพลังงานในการยึดจับกันระหว่างโมเลกุลที่ได้รับการออกแบบกับเอนไซม์เป้าหมายเพื่อที่จะนำเอาค่าที่ได้จากการคำนวณไปเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากยาที่ใช้อยู่ในปัจจุบันจะทำให้ทราบได้ว่าโมเลกุลที่ได้รับการออกแบบมีพลังงานในการยึดจับแยกว่าหรือสูงกว่าตัวยา ก่อนที่ทำการทดลองจริงในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะลดระยะเวลาในการค้นคว้าหาโมเลกุลยับยั้งกับเอนไซม์เป้าหมายได้รวดเร็วขึ้น รวมไปถึงค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นอย่างมหาศาลที่จะต้องลงทุนไปกับการวิจัยในห้องปฏิบัติการจริงหลายๆ ด้าน อาทิเช่น การสังเคราะห์สารเคมี การทดสอบฤทธิ์

ทางเภสัชวิทยา และอื่นๆ อีกมากมายการนำเคมีคอมพิวเตอร์เข้ามาช่วยจะส่งผลให้สามารถลดต้นทุนดังที่กล่าวมาข้างต้นได้

ในการศึกษาทางเคมีคำนวณมักจะใช้โปรแกรมหรืออัลกอริทึมเพื่อใช้ในการคำนวณคุณสมบัติทางกายภาพที่สนใจ อาทิเช่น การคำนวณค่าพลังงานของการจัดเรียงของอะตอมในรูปแบบต่างๆ หรือการคำนวณเพื่อหาคุณสมบัติอื่นๆ ประจักษ์ โดยขั้นตอนเหล่านี้จะมีความซับซ้อนเป็นอย่างมากเกินกว่าที่จะอธิบายได้อย่างลึกซึ้งได้จึงขออธิบายแต่พื้นฐานของการคำนวณเท่านั้นโดยจะแบ่งออกได้ 2 ส่วนคือ molecular mechanic และ quantum mechanic

Molecular mechanic คือการคำนวณอาศัยกฎพื้นฐานทางหลักฟิสิกส์เพื่อคาดการณ์พฤติกรรมของอะตอม โดยคำนึงถึงเฉพาะนิวเคลียส โดยไม่สนใจอิเล็กตรอนก็เพราะว่าขนาดและน้ำหนักของอิเล็กตรอนมีมวลน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับนิวเคลียส สำหรับการศึกษา นั้นจะมองว่าโมเลกุลนั้นประกอบไปด้วยทรงกลม คืออะตอมเชื่อมต่อกันด้วยพันธะอาจมองเสมือนสปริง เมื่ออะตอมเกิดการสั่นหรือเกิดการบิดหมุนจะส่งผลให้พลังงานเกิดการเปลี่ยนแปลงไปโดยสามารถคำนวณพลังงานนั้นได้โดยใช้หลักกลศาสตร์

Quantum mechanic คือการนำหลักควอนตัมฟิสิกส์ มาใช้ในการคำนวณคุณสมบัติของโมเลกุล ซึ่งจะคำนึงถึงอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างนิวเคลียสกับอิเล็กตรอนในโมเลกุลหรืออะตอมนั้น เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ การคำนวณที่อาศัยมองอะตอมเป็นแบบมวลทรงกลม ซึ่งในการคำนวณการเกิดอันตรกิริยาทางควอนตัมจึงจำเป็นต้องกำหนดค่าประมาณการหลายข้อเพื่อใช้ในการคำนวณสามารถเกิดขึ้นได้

1. นิวเคลียสซึ่งมีมวลมากกว่าอิเล็กตรอนจะถูกมองว่าไม่มีการเคลื่อนที่ โดยมองว่าอิเล็กตรอนเคลื่อนที่รอบนิวเคลียสเพียงอย่างเดียว เป็นสาเหตุให้สามารถอธิบาย electronic energy ที่แยกออกจาก nucleus energy ได้โดยการประมาณค่าแบบ Born-Oppenheimer

2. อิเล็กตรอนแต่ละตัวจะมีการเคลื่อนที่แบบอิสระจากอนุภาคอื่นๆ ดังนั้นอิทธิพลที่เกิดจากอิเล็กตรอนและนิวเคลียสจะนำมาคำนวณแบบเฉลี่ย

การคำนวณทางกลศาสตร์ควอนตัมสามารถแบ่งได้ 2 แบบ ได้แก่ ab initio และ semi empirical ซึ่งข้อแตกต่างของทั้ง 2 แบบ มีดังต่อไปนี้

Ab initio จะทำการคำนวณค่าที่ได้ใหม่ในทุก ๆ รอบการคำนวณนั้น กล่าวได้ว่าเมื่อคำนวณเสร็จ 1 รอบจะเริ่มต้นคำนวณใหม่ตั้งแต่ต้น จึงจำเป็นต้องใช้ทรัพยากรเครื่องในการคำนวณที่มาก ถึงแม้ว่าวิธีนี้จะมีความถูกต้องแม่นยำมากกว่า แต่ก็นิยมใช้กับโมเลกุลที่มีขนาดเล็กไม่ใหญ่มากจนเกินไป

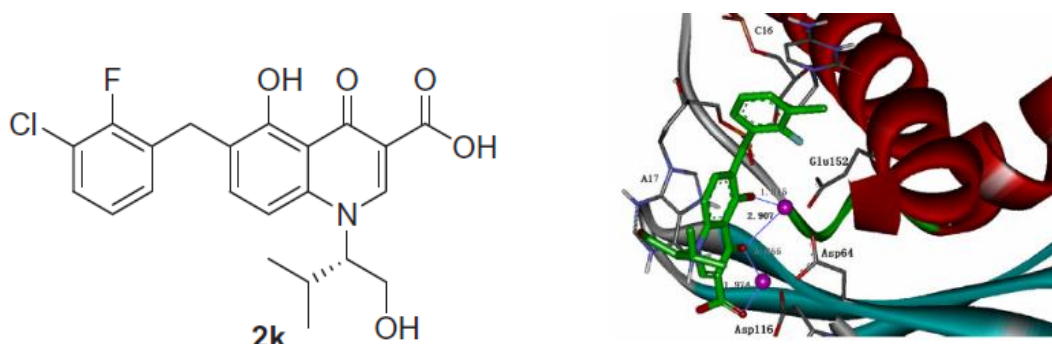
Semi empirical จะคำนวณแต่อิเล็กทรอนิกส์ของวงนอกสุดเท่านั้น โดยผลการคำนวณจะใช้คู่กับค่าพารามิเตอร์ที่ได้คำนวณไว้ก่อนหน้านี้บางส่วน ทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้การประมวลผลที่สูงหรือใช้ทรัพยากรคอมพิวเตอร์ที่มากขึ้น รวมไปถึงสามารถทำการคำนวณโครงสร้างโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่มากขึ้นแบบ ab initio

3. Molecular docking ในกรณีที่ทราบกลไกในการออกฤทธิ์และมีข้อมูลของโครงสร้างสามมิติของเป้าหมายที่ศึกษา การออกแบบตัวยังสามารถทำได้โดยการศึกษาบริเวณที่จับกับสารและทำให้เกิดฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ทั้งในด้านโครงสร้างนั้นคือ องค์ประกอบและในด้านรูปร่างและขนาดในเชิงสามมิติ ซึ่งจะสามารถบอกได้ถึงควมมีขั้ว ขนาด รวมไปถึงตำแหน่งที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนและการเกิด อันตรกิริยาอื่นๆ วิธีที่ง่ายที่สุดที่สามารถทำได้ง่ายนั้นคือการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมโครงสร้างสามมิติเข้ามาช่วย ซึ่งจากการศึกษาด้วยโปรแกรมแสดงโครงสร้างสามมิติทำให้ทราบข้อมูลต่างๆ ข้อมูลเหล่านั้นจะถูกนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการออกแบบสารต่อเป้าหมายนั้นๆ โดยเทคนิคที่นำมาใช้เพื่อได้ผลนั้นคือ เทคนิคโมเลกุลลาร์ต็อกกิง ซึ่งโดยหลักการจะทำการทดสอบโดยนำโครงสร้างสารที่ออกแบบทำการคำนวณประจุขั้ว ในกรณีที่โครงสร้างของเป้าหมายประกอบไปด้วยกรดอะมิโนจะคำนวณโดยใช้วิธีของ Kollman ถ้าองค์ประกอบของโครงสร้างเป็นสารอื่นๆ จะใช้วิธีของ Gasteiger คำนวณจากนั้นจะคำนวณค่าคงที่ของตัวทำละลาย (Solvent parameter) เพื่อเป็นการจำลองสถานะแวดล้อมที่มีตัวทำละลายล้อมรอบโมเลกุลเป้าหมาย เมื่อเตรียมโครงสร้างเป้าหมายเรียบร้อยแล้ว ลำดับต่อไปคือการกำหนดบริเวณที่จะทำการทดสอบการจับของสาร ซึ่งสามารถทำได้โดยใช้หลักการคำนวณค่า Grid โดยในกรณีของชุดโปรแกรม AutoDock จะมีโปรแกรมช่วยที่มีชื่อว่า autogrid เป็นโปรแกรมช่วยในการคำนวณ

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ. 2010 เซน-เซง และคณะ (Zeng และคนอื่น ๆ, 2010) ได้ทำการศึกษาการต้านเชื้อไวรัส HIV-1 โดยทำการนำโครงสร้างโมเลกุลสร้างที่รู้ว่ามีฤทธิ์กับเชื้อไวรัสมาผสมกันซึ่งใช้ตัวยับยั้ง 2 ชนิดมาเป็นแกนหลักในการพัฒนาโครงสร้างใหม่ๆ ได้แก่ DPC083 และ Etravirine การใช้เทคนิคโมเลกุลลาร์ต็อกกิงในการออกแบบอนุพันธ์ใหม่ของ diarylbenzoprimeidine (DABPs) (5A-Z) คือโครงสร้างที่ได้รับออกแบบและสังเคราะห์ขึ้นโดยนำไปทดสอบฤทธิ์กับเชื้อ HIV โดยใช้เซลล์ MT-4 หลังจากผลการทดสอบพบว่า มีฤทธิ์ที่ดีกับไวรัสประเภทที่ไม่มีการกลายพันธุ์และที่มีการกลายพันธุ์ โดยโครงสร้างโมเลกุลที่ 5R ออกฤทธิ์ได้ดีกับประเภทที่ไม่มี การ

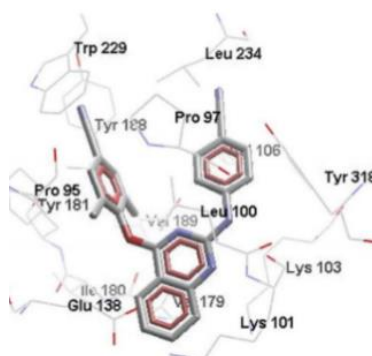
กลายพันธุ์ ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1.8 nM รวมไปถึงมีฤทธิ์ดีกว่า efavirenz ในกลุ่มที่มีการกลายพันธุ์ ได้แก่ L100I, K103N, Y188L และ K103N+Y181C แสดงภาพประกอบ 6



ภาพประกอบ 5 โครงสร้าง 2K ภายในบริเวณ โพรงการจับของเอนไซม์ HIV-1 IN

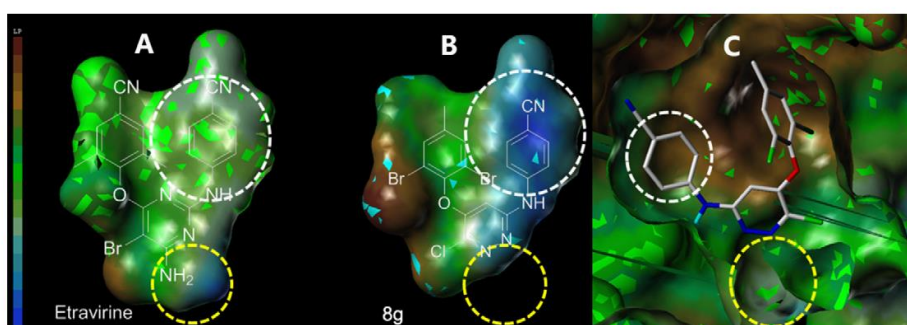
ที่มา: Zeng, Z. S., et al. (2010). Hybrid diarylbenzopyrimidine non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors as promising new leads for improved anti- HIV- 1 chemotherapy. Bioorg Med Chem, 18(14), 5039-5047.

ในปี ค.ศ. 2011 คิว คิว ฮี และคณะ (He และคนอื่น ๆ, 2011) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับใหม่อนุพันธ์ของ quinolone-3-carboxylic acid โดยมีหมู่ Hydroxyl อยู่ตำแหน่งที่ 5 ของอะตอมคาร์บอนได้ทำการสังเคราะห์และพัฒนาโดยใช้ทดสอบกับเชื้อ HIV-1 ในเซลล์ C8166 ผลที่ได้คือโครงสร้างทุกตัวที่สังเคราะห์และทดสอบเชื้อให้ฤทธิ์การต้านที่ดีซึ่งค่า EC_{50} อยู่ในช่วง μM ถึง sub- μM โดยโครงสร้างสาร 2K ให้ฤทธิ์การต้านเชื้อดีที่สุดที่สังเคราะห์ขึ้นในเชื้อที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ซึ่งค่า EC_{50} เท่ากับ 0.13 μM แสดงภาพประกอบ 7



ภาพประกอบ 6 การเกิดอันตรกิริยาของโครงสร้าง 5R ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์
ที่มา: He, Q. Q., et al. (2011). Structural modifications of quinolone-3-carboxylic acids with anti-HIV activity. *Bioorg Med Chem*, 19(16), 5039-5045.

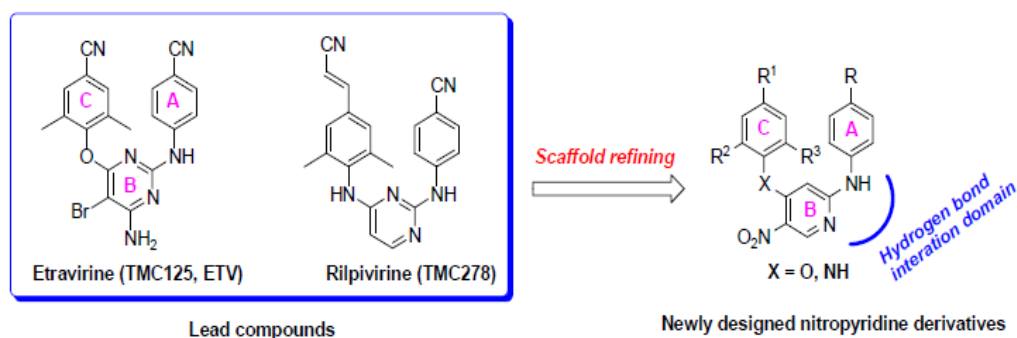
ในปี ค.ศ. 2013 ตงเยว ลี และคณะ (Li และคนอื่น ๆ, 2013) ได้ทำการศึกษาด้วยยับยั้ง HIV-1 Reverse transcriptase (NNRTIs) โดยใช้เทคนิคชีวกลศาสตร์ตามที่ศึกษาโครงสร้างอนุพันธ์ของ Diarylpyridazine ชุดใหม่ถูกสังเคราะห์และทดสอบเพื่อต่อต้านไวรัส HIV-1 ซึ่งสารประกอบส่วนใหญ่แสดงฤทธิ์ต่อต้าน HIV-1 ได้ดีที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง sub-micromolar ตั้งแต่ 34 nM ถึง 5.08 μ M ส่วนสารประกอบ 8g มีแนวโน้มมากที่สุดต่อการยับยั้งไวรัส HIV-1 IIIB ในเซลล์ MT-4 ที่ค่า EC_{50} เท่ากับ 0.034 μ M ซึ่งมีค่าต่ำกว่าตัวยาที่นำมาเทียบเคียง คือ nevirapine และ delavirdine



ภาพประกอบ 7 แสดงการวิเคราะห์การจับกันบริเวณโพรงการจับของ สาร 8G และ Etravirine กับ HIV-1 NNIBP

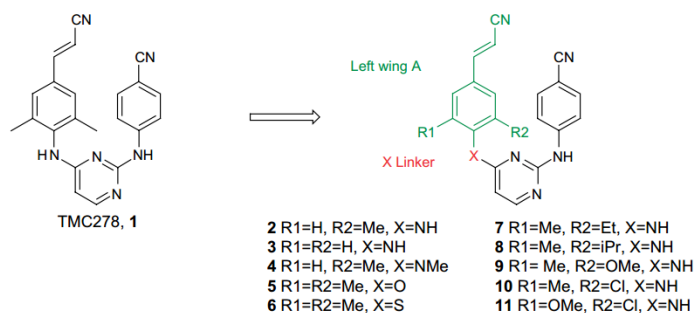
ที่มา: Li, D., et al. (2013). Synthesis and biological evaluation of pyridazine derivatives as novel HIV-1 NNRTIs. *Bioorg Med Chem*, 21(7), 2128-2134.

ในปี ค.ศ. 2014 จุน วาง และคณะ (Wang และคนอื่น ๆ, 2014) ได้ทำการศึกษาค้นคว้าและพัฒนา DAPYs อนุพันธ์ของหมู่แทนที่ Nitropyridine ที่ได้รับการออกแบบโดยใช้วิธี refining ของโครงสร้างแบบพื้นฐาน พร้อมทำการสังเคราะห์และทำการทดสอบเชื้อในหลอดทดลอง HIV-1 โดยใช้เซลล์ MT-4 การทดสอบเชื้อในเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าสารส่วนใหญ่มีฤทธิ์ยับยั้งการติดเชื้อ HIV-1 IIIB แต่โครงสร้างที่ดีที่สุดคือสารประกอบ 7B มีแนวโน้มมากที่สุดในการยับยั้งการจำลองตัวเองของไวรัส HIV-1 ซึ่ง EC_{50} เท่ากับ $0.056 \mu M$ และ Selective Index (SI) เท่ากับ 1251 ซึ่งดีกว่า NVP, มีค่า $EC_{50} = 0.23 \mu M$ และ DLV มีค่า $EC_{50} = 0.51 \mu M$ นอกจากนี้สารประกอบอื่น ได้แก่ 7k, 7c, 7j และ 7e ก็มีฤทธิ์ต้านไวรัส HIV-1 มีค่า $EC_{50} = 0.034, 0.11, 0.11$ และ $0.16 \mu M$ ตามลำดับ สารบางชนิดยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งอยู่ในระดับปานกลางต่อ HIV-1 RT ซึ่งการสร้างแบบจำลองระดับโมเลกุลของอนุพันธ์ใหม่ๆ เหล่านี้ให้ดูทางที่มีคุณค่าสำหรับอนาคตต่อการเพิ่มประสิทธิภาพระดับโมเลกุล แสดงภาพประกอบ 9



ภาพประกอบ 8 การผสมผสานระหว่างตัวยับยั้ง TMC125 และ TMC278 เพื่อให้ได้อนุพันธ์ใหม่
ที่มา: Wang, J., et al. (2014). Discovery of nitropyridine derivatives as potent HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors via a structure-based core refining approach. Eur J Med Chem, 76, 531-538.

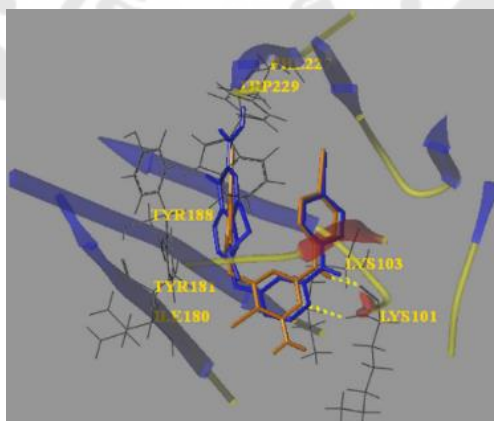
ในปี ค.ศ. 2015เทียน จี เหมา และคณะ (Mao และคนอื่น ๆ, 2015) ได้ทำการสังเคราะห์สารในกลุ่มของ novel diarylpyrimidine ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ TMC278 โดย TMC278 เป็นตัวยับยั้งที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน โดยนักวิจัยได้พัฒนาสารตัวใหม่ๆ เพื่อมีวัตถุประสงค์ให้สารตัวใหม่มีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวเดิมที่มีใช้อยู่ ทำได้โดยการเปลี่ยนแทนที่ไปเป็นหมู่ต่างๆ



ภาพประกอบ 9 แสดงจำนวนหมู่แทนที่ใหม่ที่ปรับปรุงแทนลงไปใน TMC278

ที่มา : Mao, T. Q., et al. (2015). Anti-HIV diarylpyrimidine-quinolone hybrids and their mode of action. Bioorg Med Chem, 23(13), 3860-3868.

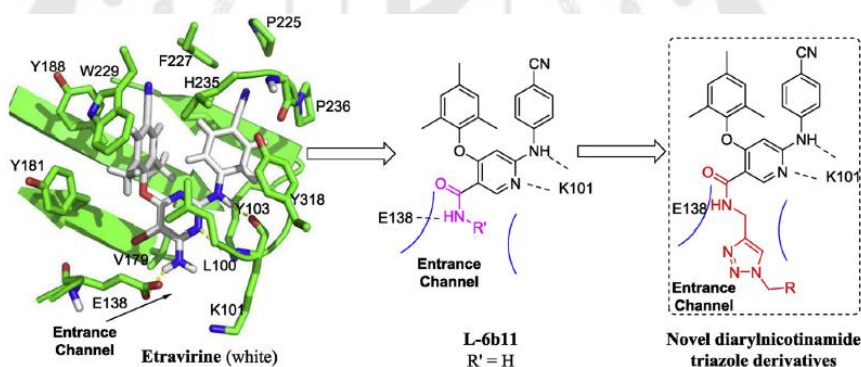
ในปี ค.ศ. เทียนกี และคณะ (Mao และคนอื่น ๆ, 2015) ได้ทำการศึกษาซึ่งพบว่าวิธีการผสมกันของหมู่แทนที่ที่มีฤทธิ์ของโมเลกุลนั้นเป็นเครื่องมือที่ทรงพลังในการออกแบบโมเลกุลใหม่ๆ โดยงานวิจัยนี้มีการสังเคราะห์พร้อมกันทดสอบเพื่ออนุพันธ์ของ Diarylpyrimidine-quinolone hybrids กับ HIV-1 และสายพันธุ์ไวรัสที่กลายพันธุ์ โดยผลการทดสอบเชื้อ 5E มีฤทธิ์ที่สูงที่สุดเมื่อพิจารณาจากค่า EC_{50} ที่ $0.28 \pm 0.07 \mu\text{M}$ เทียบกับ HIV-1 IIB และจากการศึกษาโครงสร้างผสมเหล่านี้สามารถเข้าไปอยู่ใน NNIBP ของ HIV-1 RT ได้ถึงแม้จะมีขนาดใหญ่และความมีขั้วของ quinolone 3-carboxylic acid ในโมเลกุล แสดงภาพประกอบ 11



ภาพประกอบ 10 แสดงโครงสร้าง 5E ในบริเวณของโพรงการจับของเอนไซม์

ที่มา: Mao, T. Q., et al. (2015). Anti-HIV diarylpyrimidine-quinolone hybrids and their mode of action. Bioorg Med Chem, 23(13), 3860-3868.

ในปี ค.ศ.2018 ยี่ เทียน และคณะ (Tian และคนอื่น ๆ, 2018) ได้รับแรงบันดาลใจมาจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ได้ทำการดัดแปลงโครงสร้างสารของ Diarylpyrimidine ของยาต้านเชื้อไวรัส HIV-1 ในกลุ่มของ NNRTIs จึงได้ทำการออกแบบอนุพันธ์ใหม่ของ Diarylnicotinamide โดยมีส่วนของโครงสร้างเป็นพวก Triazole เพื่อให้มีความเหมาะสมพอดีกับรูปร่างบริเวณทางเข้าของบริเวณNNRTI เพื่อให้เกิดการยึดจับที่ดีเพิ่มมากขึ้น โดยผลการสังเคราะห์และทดสอบเชื้อกับ MT-4 Cell ให้ผลดังต่อไปนี้ สารที่นำมาทดสอบทั้งหมดมีฤทธิ์ที่ดีต่อเชื้อไวรัส HIV-1 RT แบบ WT ค่า EC₅₀ อยู่ในช่วง 0.02-1.77 μM หลังจากนั้นจะเลือกโครงสร้างที่ออกฤทธิ์ดีกับแบบเชื้อที่มีการกลายพันธุ์ตำแหน่ง E138K ซึ่งถือว่าเป็นกุญแจสำคัญในการพัฒนายาในรุ่นใหม่สำหรับเชื้อที่มีการกลายพันธุ์ โดยมีผลดังนี้ propionitrile (3b2, EC₅₀ WT=0.020 μM , EC₅₀ (E138K)=0.015 μM , CC₅₀= 40.15 μM) pyrrolidine- 1- ylmethanone (3b8, EC₅₀ WT= 0.020 μM , EC₅₀ (E138K)= 0.014 μM , CC₅₀= 58.09 μM) pholinomethanone (3b9, EC₅₀ WT= 0.020 μM , EC₅₀ (E138K)=0.027 μM , CC₅₀=180.9 μM) แสดงภาพประกอบ 12

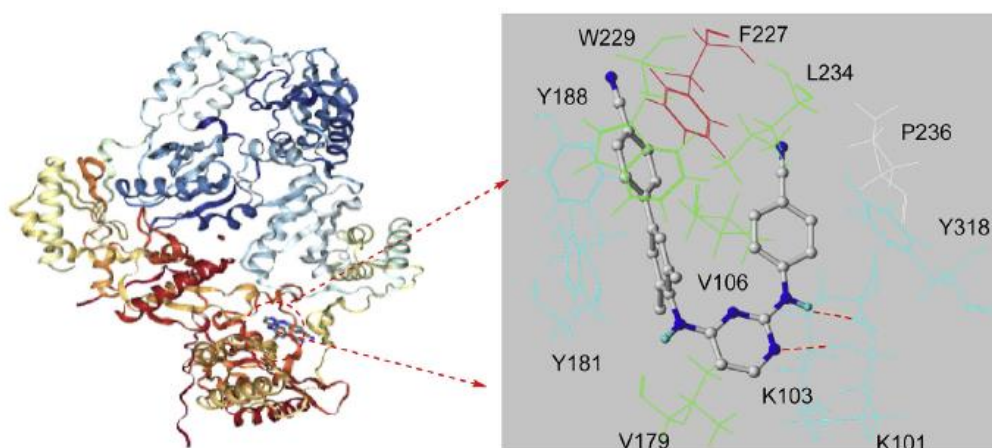


ภาพประกอบ 11 แนวทางการออกแบบอนุพันธ์ใหม่ของ Diarylnicotinamide 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole

ที่มา: Tian, Y., et al. (2018). Targeting the entrance channel of NNIBP: Discovery of diarylnicotinamide 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles as novel HIV-1 NNRTIs with high potency against wild-type and E138K mutant virus. Eur J Med Chem, 151, 339-350.

ในปี ค.ศ.2018 ไคจุน จิน และคณะ (Jin, Yin, และคนอื่น ๆ, 2018) ได้ทำการศึกษาอนุพันธ์ของ Diarylpyrimidine โดยมีหมู่แทนที่เป็นแบบ biphenyl เพื่อทดสอบกับเชื้อไวรัส HIV-1 RT ทั้งแบบไม่มีการกลายพันธุ์และแบบที่มีการกลายพันธุ์หลายตำแหน่ง โดยทดสอบกับ MT-4 Cell

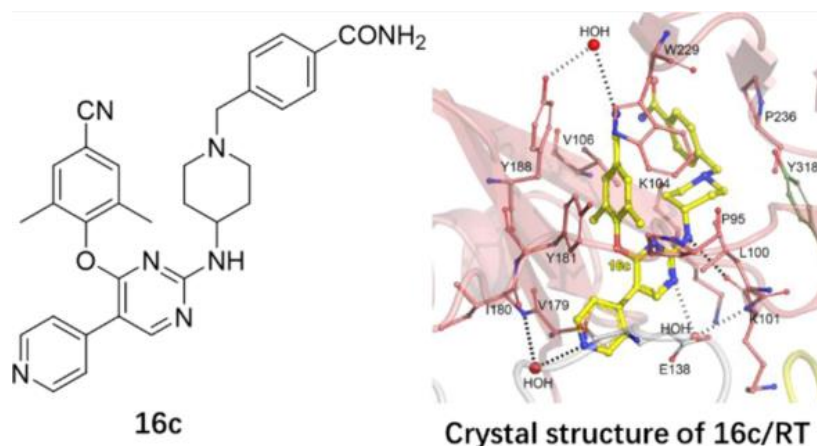
ผลที่ได้จากการทดลองพบว่าการออกฤทธิ์ที่ดีโดยมีความเข้มข้นอยู่ในระดับ nanomolar ซึ่งโครงสร้างที่ 4b ค่า EC_{50} ดังต่อไปนี้ 1 nM HIV-1 IIIB, 1.3 nM กลายพันธุ์ 1 ตำแหน่งบริเวณกรดอะมิโน L100I, 0.84 nM กลายพันธุ์ 1 ตำแหน่งบริเวณกรดอะมิโน K103N, 1.5 nM กลายพันธุ์บริเวณกรดอะมิโน Y181C, 11 nM กลายพันธุ์บริเวณกรดอะมิโน Y188L, 2 nM กลายพันธุ์บริเวณกรดอะมิโน E138K, 10 nM กลายพันธุ์ 2 ตำแหน่งบริเวณกรดอะมิโน K103 N / Y181C และ 110 nM กลายพันธุ์ 2 ตำแหน่งบริเวณกรดอะมิโน F227L/V106 โดยเชื่อว่าการวิจัยครั้งนี้จะเป็นตัวแทนขั้นตอนสำคัญสู่การค้นพบ DAPYs แบบใหม่ในการรักษาโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องที่ได้รับอาการในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV-1 แสดงภาพประกอบ 13



ภาพประกอบ 12 โครงสร้าง 4b ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์

ที่มา: Jin, K., et al. (2018). Discovery of biphenyl-substituted diarylpyrimidines as non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors with high potency against wild-type and mutant HIV-1. *Eur J Med Chem*, 145, 726-734.

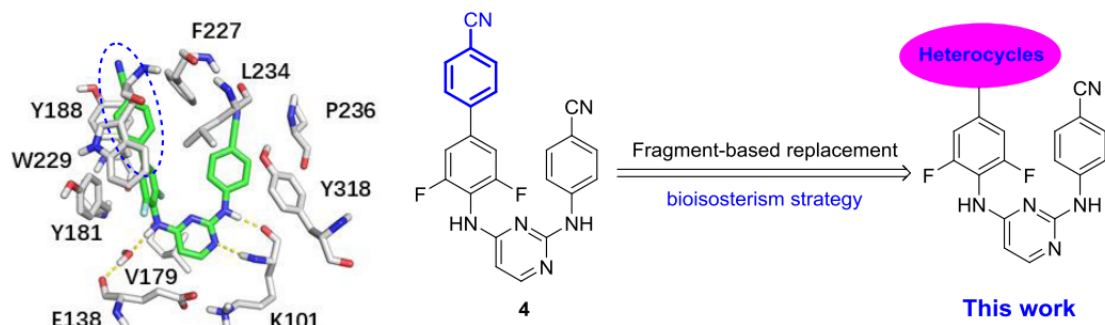
ในปี ค.ศ.2021 ตงเว่ย คัง และคณะ (Kang และคนอื่น ๆ, 2021) ได้ทำการศึกษาตัวยับยั้งไวรัส HIV-1 RT แบบใหม่ซึ่งมีประสิทธิภาพในการต่อต้านกับเอนไซม์ HIV-1 RT ชนิดแบบมีการกลายพันธุ์ ซึ่งคณะผู้วิจัยได้นำตัวยับยั้งที่มีให้อยู่ในปัจจุบันเป็นต้นแบบในการพัฒนายา ได้แก่ ETRAVIRINE, RILPIVIRINE โดยในงานวิจัยได้ศึกษาสาร K-5a2 ได้พัฒนาศึกษาจนกระทั่งพบสารยับยั้ง 16C ที่มีประสิทธิภาพสูงใกล้เคียงกับ ETRAVIRINE และสาร 16C ยังแสดงให้เห็นคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์และความปลอดภัยได้ดี



ภาพประกอบ 13 โครงสร้างสาร 16C (ซ้าย) และโครงสร้าง 16C ภายในเอนไซม์ RT

ที่มา : Kang, D., et al. (2021). 2,4,5-Trisubstituted Pyrimidines as Potent HIV-1 NNRTIs: Rational Design, Synthesis, Activity Evaluation, and Crystallographic Studies. J Med Chem, 64(7), 4239-4256.

ในปี ค.ศ.2021 ลี ดิง และคณะ (Ding, Pannecouque, De Clercq, Zhuang, และ Chen, 2021) ได้ทำการศึกษาตัวยับยั้งใหม่ในกลุ่ม Heteroaromatic-difluoro-biphenyl-diarylpyrimidines เพื่อยับยั้งกลไกของเอนไซม์ HIV-1 RT วัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงความสามารถในการให้ยาประสิทธิภาพดีขึ้น โดยพัฒนาในกลุ่ม biphenyl ซึ่งปรับเปลี่ยนขนาดของวงอะโรมาติก ในงานวิจัยได้ศึกษาอนุพันธ์ทั้งหมด 23 โครงสร้าง ซึ่งสารประกอบทั้งหมดเหล่านี้มีฤทธิ์ในการยับยั้ง HIV-1 ที่ดีเยี่ยมในช่วงนาโนโมลาร์ ในกลุ่ม 23 โครงสร้าง พบว่า โครงสร้าง 12G กับ 4-pyridine แสดงฤทธิ์ยับยั้งที่ดีกับที่ไม่การกลายพันธุ์และกลายพันธุ์ที่สำคัญนอกจากนี้ สารประกอบนี้มีการปรับปรุงความสามารถในการให้ยาได้ดีกว่าเอทราวิรินและริลพิวิริน โดยรวมแล้ว heteroaromatic-biphenyl-DAPYs ใหม่เหล่านี้เป็นตัวแทนของยาที่มีแนวโน้มว่าจะได้รับการรักษาทางคลินิกด้วย HIV



ภาพประกอบ 14 การออกแบบ heterocycle-biphenyl-DAPYs ด้วยวิธีการ bioisosterism strategy

ที่มา : Ding, L., et al. (2021). Improving Druggability of Novel Diarylpyrimidine NNRTIs by a Fragment- Based Replacement Strategy: From Biphenyl- DAPYs to Heteroaromatic-Biphenyl-DAPYs. J Med Chem, 64(14), 10297-10311.

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้สนใจทำการศึกษาเกี่ยวกับ HIV-1 โดยมีเอนไซม์ที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของไวรัสหลายเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส เอนไซม์อินทิเกรส เอนไซม์โปรตีเอส เป็นต้น โดยสนใจที่จะศึกษาเอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีหน้าที่แปลรหัส RNA ไปเป็น DNA จากฐานข้อมูลโปรตีนพบว่ารหัสของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องมีจำนวนมาก โดยสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ได้ 3 กลุ่ม คือ 1) แบบที่ไม่กลายพันธุ์ 2) แบบที่กลายพันธุ์ 1 ตำแหน่ง 3) แบบที่กลายพันธุ์มากกว่า 1 ตำแหน่ง ซึ่งผู้วิจัยได้ทำการเลือกเอนไซม์ที่นำมาใช้โดยจะพิจารณาจากข้อมูลดังนี้ 1) ค่า Resolution 2) ปี พ.ศ. ที่ทำการทดสอบเอนไซม์ 3) ตัวยับยั้งในโครงสร้างเอนไซม์เดิม 4) สภาวะที่เหมาะสมของโครงสร้างโปรตีนนั้นๆ โดยเอนไซม์ที่นำมาใช้ศึกษาในงานวิจัยมีจำนวนโครงสร้าง HIV-1 RT ได้แก่ 2ZD1, 2ZE2, 3BGR, 3MEG, 4G1Q ซึ่งงานวิจัยนี้จะใช้ 2 เทคนิคทางเคมีคอมพิวเตอร์มาศึกษา คือ โมเลกุลลาร์ด็อกกิ้ง และ กลศาสตร์ควอนตัม

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย ผู้วิจัยได้ดำเนินการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนมีดังนี้

1. Redock เพื่อทำการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมของโครงสร้างโปรตีน
2. Docking เพื่อหาค่าพลังงานอิสระในการจับระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง และ TMC278 กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT
3. กลศาสตร์ควอนตัมเพื่อคำนวณหาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งต่อกรดอะมิโนสำคัญในบริเวณการจับของเอนไซม์

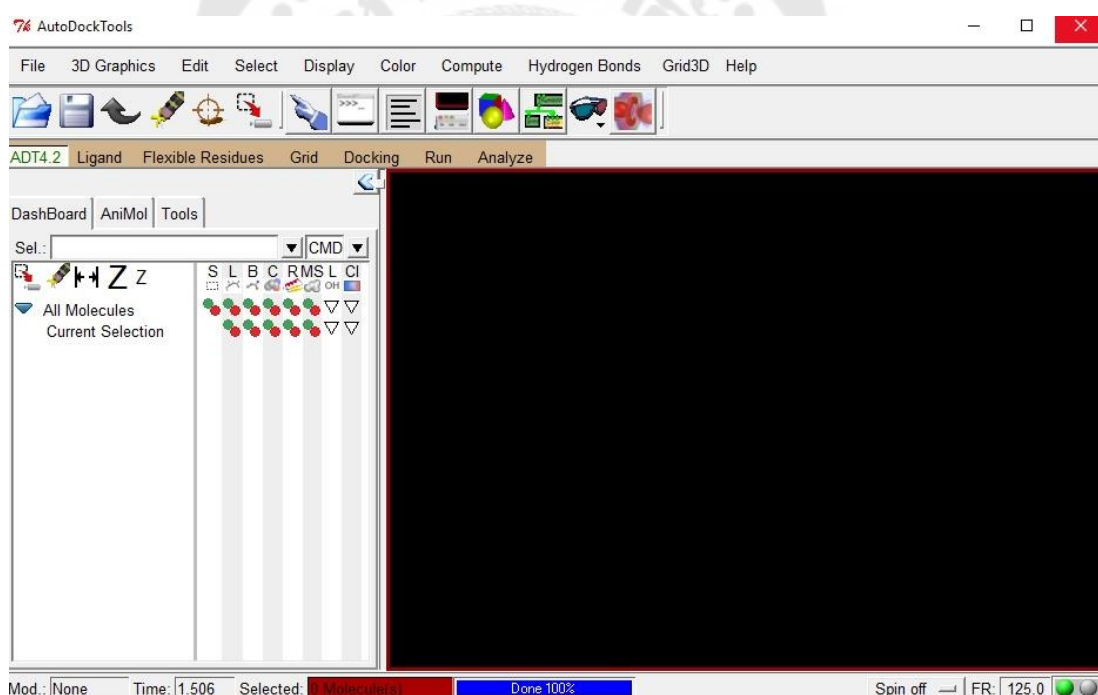
1. Redock เพื่อทำการวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมของโครงสร้างโปรตีน

การศึกษาโดยเทคนิคโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้งที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดต้องจะทำการวิเคราะห์ความเหมาะสมของโปรตีนที่นำมาคำนวณโดยทำ Redock ซึ่ง Redock เป็นขั้นตอนในการตรวจสอบเชิงเปรียบเทียบตำแหน่งของการเกิดอันตรกิริยาของอนุพันธ์ควิโนลีนกับตัวยับยั้งที่มาพร้อมกับโครงสร้าง X-ray ที่ดาวนโหลด ซึ่งดูจากค่า Root mean square deviation (RMSD) โดยค่าที่ได้จากการทำ Redock ถ้ามีค่าเข้าใกล้ 0.00 Å หมายความว่าโครงสร้างของอนุพันธ์ควิโนลีนที่เข้าไปภายในบริเวณโพรงของการจับของเอนไซม์และได้มีการวางตัวของโมเลกุล

ใกล้เคียงกับตัวที่ยังเดิมที่มาพร้อมกับโปรตีน โดยจะแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ซึ่งใช้โปรแกรม AutoDocktools 1.5.6 โดยโครงสร้างโปรตีนที่ดาวน์โหลดที่ Protein Data Bank จะแบ่งได้ 2 ส่วน

1.1 การเตรียมเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1

เอนไซม์ที่นำมาศึกษาในบางครั้งจะมีโมเลกุลแปลกปลอมเข้ามาในไฟล์ที่ดาวน์โหลด อาทิ เช่น โมเลกุลของน้ำ โมเลกุลของโลหะบางชนิด อาจรวมไปถึง Receptor ที่ไม่มีโมเลกุลของไฮโดรเจน จึงเป็นเหตุให้ต้องทำการลบโมเลกุลที่ไม่ต้องการออก และเพิ่มอะตอมของไฮโดรเจนเข้าไปให้โปรตีนดังกล่าว เพื่อให้โปรตีนมีสภาพที่สมบูรณ์ที่สุดจะส่งผลให้การคำนวณออกมาใกล้เคียงความจริงมากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ พร้อมทั้งดูรายละเอียดในส่วนอื่นๆ ของโปรตีนที่ศึกษา เช่น sub-protein สมบูรณ์หรือไม่ เพื่อที่จะให้โปรตีนมีความพร้อมมากที่สุดใกล้เคียงความจริงมากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้



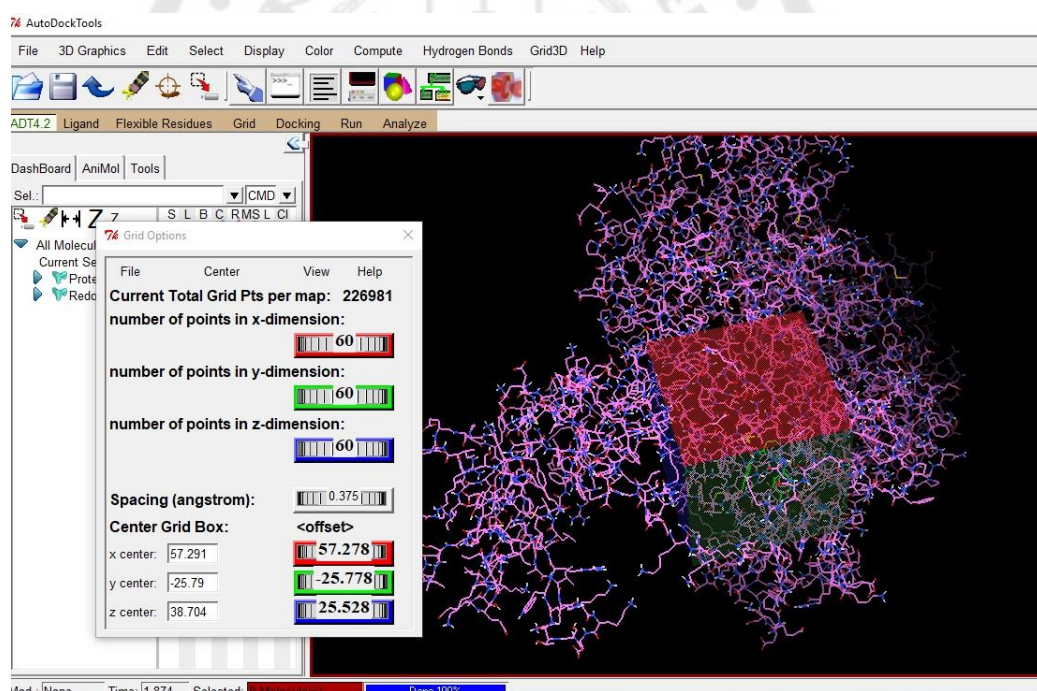
ภาพประกอบ 15 โปรแกรม AutoDocktool 1.5.6

1.2 การเตรียมตัวบัพยั้ง

ในส่วนการเตรียมตัวบัพยั้งหรือตัวบัพยั้งเดิมที่ได้มาจากการที่ดาวนโหลดเพื่อจัดการให้โครงสร้างอยู่ในสภาพที่พร้อมสมบูรณ์ไม่ว่าจะเป็นการเติมอะตอมไฮโดรเจนให้กับโมเลกุล และยังกำหนดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่จะใช้ในการคำนวณ เช่น การกำหนด Set Number of Torsions

1.3 การเตรียม Grid parameter

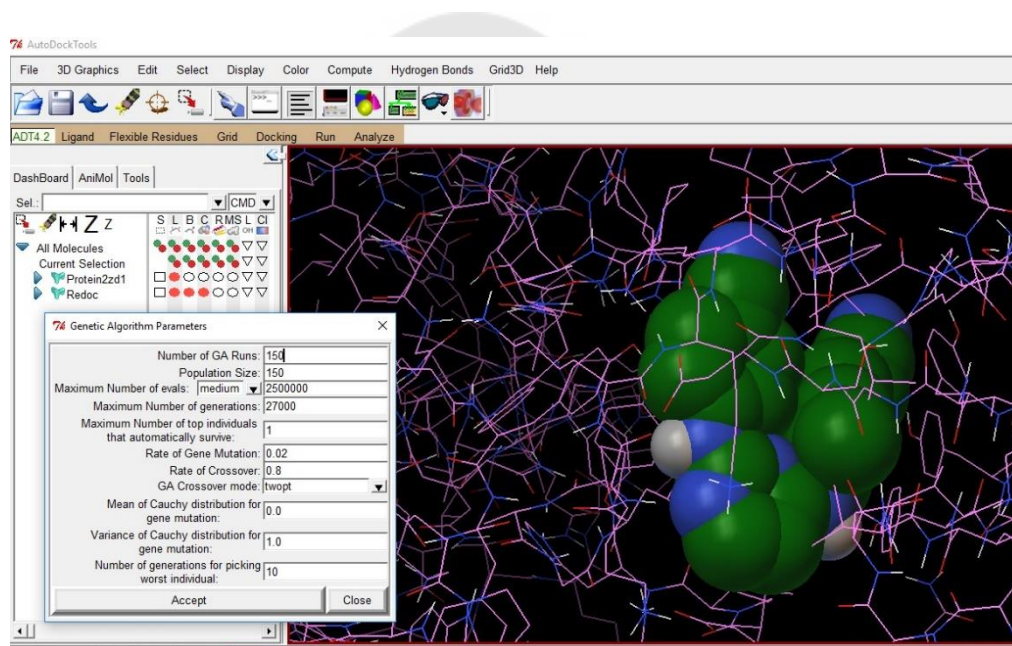
การตั้งค่าพิกัด Grid เพื่อเป็นการกำหนดตำแหน่งหรือบริเวณที่ตัวบัพยั้งจะเข้าไปในโพรงโดยจะกำหนดพิกัดในรูปแบบ 3 มิติ ซึ่งการปรับแต่งค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ให้สอดคล้องกันระหว่างตัวบัพยั้งกับเอนไซม์เป้าหมาย ค่าที่ได้จากการปรับแต่งจะส่งผลอย่างมากต่อการคำนวณ ถ้าใส่ค่าพารามิเตอร์ที่ไม่สอดคล้องกัน เมื่อทำการคำนวณโปรแกรมจะไม่สามารถคำนวณให้ค่า RMSD ที่ถูกต้อง ซึ่งหลังจากนั้นให้ทำการคำนวณให้เสร็จเรียบร้อย แสดงภาพประกอบ 17



ภาพประกอบ 17 การตั้งค่า Grid box เพื่อให้ตัวบัพยั้งเข้าไปทำการจับในบริเวณที่กำหนดไว้

1.4 การเตรียม Dock

เปิดไฟล์ เอนไซม์.pdbqt (จากข้อ 1.3) พร้อมด้วยไฟล์ ตัวยับยั้ง.pdbqt (จากข้อ 1.2) หลังจากเปิดไฟล์ทั้ง 2 ให้ทำการปรับค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ Genetic Algorithm Parameters. โดยตั้งค่าในการคำนวณทั้งหมด 150 รอบ เพื่อจะได้เห็นค่าทางสถิติในการวางตัวของตัวยับยั้งที่เข้าไปจับกับเอนไซม์ในบริเวณโพรงการจับ และจะทำให้สามารถพิจารณาความถูกต้องได้สมบูรณ์มากขึ้น จากนั้นทำการบันทึกไฟล์ที่พร้อมทำการคำนวณคือ ตัวยับยั้ง.dpf แล้วทำการคำนวณโดยโปรแกรม AutoDock แสดงภาพประกอบ 18



ภาพประกอบ 16 แสดงการตั้งค่าเพื่อกำหนดรอบการคำนวณการวางตัวของตัวยับยั้งภายในโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย

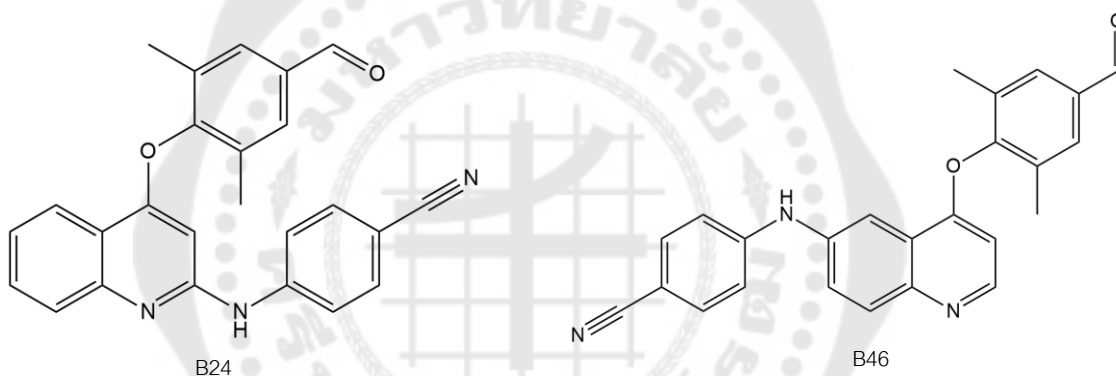
2. Docking เพื่อหาค่าพลังงานอิสระในการจับระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง และ TMC278 กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT

ขั้นตอนแรกทำการสร้างโครงสร้างโมเลกุลของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างโดยใช้โปรแกรม GaussView ซึ่งโปรแกรมสามารถทำให้เห็นภาพโครงสร้าง 3 มิติของโมเลกุล และทำการปรับโครงสร้างให้มีพลังงานต่ำที่สุด (Optimization) ด้วยระเบียบวิธี B3LYP/6-311g(d,p) ด้วยโปรแกรม Gaussian09 โดยเมื่อคำนวณเสร็จสิ้นจะได้ไฟล์ .log ซึ่งจำเป็นต้องแปลงให้อยู่ใน

ไฟล์ .mol2 ที่จะนำไปใช้กับโปรแกรม AutoDockTools 1.5.6 พร้อมกับทำการตั้งค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการคำนวณ เช่น ขอบเขตของการคำนวณ จำนวนรอบในการคำนวณ เป็นต้น

2.1 อนุพันธ์ควิโนลีน

โครงสร้างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง ได้มีการเติมหมู่แทนที่ 2 หมู่ ได้แก่ 1) 3,5-dimethyl-4-hydroxybenzaldehyde 2) 4-aminobenzonitrile โดยตำแหน่งที่เข้าแทนที่ จะมีความแตกต่างกันบนวงควิโนลีน ซึ่งอนุพันธ์ควิโนลีน (B24) จะมีหมู่แทนที่ 3,5-dimethyl-4-hydroxybenzaldehyde อยู่ที่ตำแหน่ง 4 ของโครงสร้าง และหมู่แทนที่ 4-aminobenzonitrile อยู่ที่ตำแหน่งที่ 2 ของโครงสร้าง ในส่วนอนุพันธ์ควิโนลีน (B46) จะมีหมู่แทนที่ 3,5-dimethyl-4-hydroxybenzaldehyde อยู่ที่ตำแหน่ง 4 ของโครงสร้าง และหมู่แทนที่ 4-aminobenzonitrile อยู่ที่ตำแหน่งที่ 6 ของโครงสร้าง ดังภาพประกอบ 19



ภาพประกอบ 17 แสดงตำแหน่งในการเติมหมู่แทนที่ลงในอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง

2.2 การเตรียม Dock

บันทึกไฟล์จากการออกแบบจากข้อ 2.1 เป็นไฟล์ใหม่พร้อมตั้งชื่อให้แตกต่างกัน กรณีตั้งชื่อเหมือนกันไฟล์จะเกิดการเขียนทับกันทำให้ไฟล์เสียหายได้ ดังนั้นชื่อไฟล์ใหม่ได้แก่ B24.dpf และ B46.dpf หลังจากนั้นทำการคำนวณด้วยโปรแกรม AutoDock ต่อไป

3. กลศาสตร์ควอนตัมเพื่อคำนวณหาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งต่อกรดอะมิโนสำคัญในบริเวณการจับของเอนไซม์

ในส่วนเทคนิคทางกลศาสตร์ควอนตัมจะเริ่มทำการศึกษาลงจากศึกษาในส่วนโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้งเพื่อศึกษาและเข้าใจเชิงลึกของอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนภายในโพรงของเอนไซม์ ซึ่งการคำนวณจะใช้โปรแกรม Gaussian 09

3.1 เลือกตัวยับยั้งที่มีค่าพลังงานอิสระที่ดีที่สุดในการเข้าจับกันระหว่างตัวยับยั้งกับ เอนไซม์เป้าหมายจากผลการศึกษาดังวิธีโมเลกุลลาร์ด็อกก็งจะได้ไฟล์ที่ชื่อ ตัวยับยั้ง.dlg หลังจากนั้นนำข้อมูลมาต่อกับ เอนไซม์.pdb โดยจะใช้โปรแกรม EditPlus 3 โดยบันทึกชื่อไฟล์ใหม่ เป็น ตัวยับยั้ง-เอนไซม์.pdb เมื่อต้องการพิจารณาการวางตัวของโครงสร้างระหว่างตัวยับยั้งกับ เอนไซม์ที่ได้ โดยการเปิดด้วยโปรแกรม Discovery Studio Client เพื่อจะได้เห็นภาพ 3 มิติพร้อม วิเคราะห์กรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย จากนั้นทำการตัดกรดอะมิโน รอบๆ ตัวยับยั้งในรัศมี 5.00 Å

3.2 หลังจากตัดอะมิโนมาจากข้อ 3.1 เสร็จสิ้นแล้วให้พิจารณาลำดับของกรดอะมิโน ที่ตัดมาว่ามีลำดับกรดอะมิโนขาดหายไปหรือไม่ ถ้าหากตรวจพบว่ามีลำดับของกรดอะมิโนได้ขาด หายไปไม่เกิน 2 ลำดับให้ทำการเพิ่มเข้าไป โดยการเติมเข้าไปในโครงสร้าง

3.3 เติมหมู่ $\text{CH}_3\text{CO}-$ ทางปลาย N ของกรดอะมิโน และในส่วนทางด้านปลาย C เติม $\text{CH}_3\text{NH}-$ ของกรดอะมิโน ดังภาพประกอบที่ 20

3.4 นำโครงสร้างจากข้อ 3.3 ไปทำการเติมอะตอมไฮโดรเจนให้กับโมเลกุลเพื่อเพิ่ม ความสมบูรณ์ของโครงสร้าง เนื่องจากโครงสร้างที่ดาวน์โหลดมาจากรฐานข้อมูลโปรตีนไม่มีอะตอม ไฮโดรเจน

3.5 หลังจากนั้น optimize โครงสร้างของแต่ละแบบจำลอง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ semi-empirical= PM3 โดยใช้พื้นฐานของ Hetero Atom Fixed ของแบบจำลอง

3.6 หลังจากคำนวณเสร็จเรียบร้อยแล้วให้นำโครงสร้างที่ได้จากข้อ 3.5 มาสร้างโมเดล ใหม่โดยครั้งนี้ให้พิจารณาระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนแต่ละตัวเท่านั้น และทำการเพิ่ม ไฮโดรเจนอะตอมที่ปลายกรดอะมิโนที่ถูกตัดออกไป หลังจากนั้น Optimize ด้วยระเบียบวิธี คำนวณ HF/6-31g(d,p)

3.7 ทำการสร้างคู่จำลองระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนแต่ละตัว แล้วทำการคำนวณ ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ B3LYP, M062X, M06HF เบสิสเซต 6-311g(d,p)

3.8 ทำการคำนวณค่าอันตรกิริยา (IE) ด้วยสมการ 1

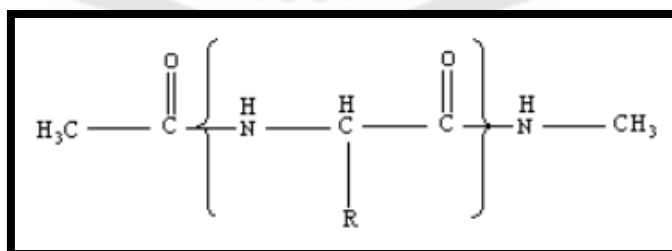
$$IE = E_{\text{(ตัวยับยั้ง+กรดอะมิโน)}} - E_{\text{(ตัวยับยั้ง)}} - E_{\text{(กรดอะมิโน)}} \quad (1)$$

IE	คือ พลังงานอันตรกิริยา
$E_{\text{(ตัวยับยั้ง+กรดอะมิโน)}}$	คือ พลังงานของแต่ละคู่ระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน
$E_{\text{(ตัวยับยั้ง)}}$	คือ พลังงานของตัวยับยั้ง
$E_{\text{(กรดอะมิโน)}}$	คือ พลังงานอันตรกิริยาของแต่ละอะมิโน

3.9 คำนวณการแก้ไขพลังงานอันตรกิริยา (IE-BSSE) ที่ได้ในข้อ 3.7 ด้วยสมการ 2

$$IE^{BSSE} = E^{BSSE}_{\text{(ตัวยับยั้ง+กรดอะมิโน)}} - E^{BSSE}_{\text{(ตัวยับยั้ง)}} - E^{BSSE}_{\text{(กรดอะมิโน)}} \quad (2)$$

IE^{BSSE}	คือ พลังงานอันตรกิริยาที่ทำการแก้ไข
$E^{BSSE}_{\text{(ตัวยับยั้ง+กรดอะมิโน)}}$	คือ พลังงานของแต่ละคู่ระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนที่ทำการแก้ไข
$E^{BSSE}_{\text{(ตัวยับยั้ง)}}$	คือ พลังงานของตัวยับยั้งที่ทำการแก้ไข
$E^{BSSE}_{\text{(กรดอะมิโน)}}$	คือ พลังงานอันตรกิริยาของแต่ละ Amino ที่ทำการแก้ไข



ภาพประกอบ 18 แสดงการ cap ที่บริเวณปลายกรดอะมิโน

บทที่ 4

ผลการศึกษา

การศึกษาโมเลกุลลาร์ติค็อกกิ่งเพื่อหาโครงสร้างที่เหมาะสมสำหรับการเข้าจับของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างได้แก่

1) 4-((4-(4-formyl-2,6-dimethylphenoxy)quinolin-2-yl)amino)benzonitrile (B24)

2) 4-((4-(4-formyl-2,6-dimethylphenoxy)quinolin-6-yl)amino)benzonitrile (B46)

เทียบกับ TMC278 กับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดที่ไม่มีการกลายพันธุ์ (2ZD1, 4G1Q) ชนิดที่มีการกลายพันธุ์ 1 ตำแหน่ง K103N (3MEG) และ การกลายพันธุ์ 2 ตำแหน่ง (2ZE2, 3MRG) L100I/K103N, K103N/Y181C ตามลำดับ

1. การศึกษาโมเลกุลลาร์ติค็อกกิ่งระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน ทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT

เอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT แบ่งได้ 3 ชนิดดังนี้ ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์ ชนิดมีการกลายพันธุ์ 1 ตำแหน่ง ชนิดมีการกลายพันธุ์ 2 ตำแหน่ง ในงานวิจัยนี้ได้เลือกเอนไซม์รีเวอร์ทรานสคริปเตส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญอย่างมากในกระบวนการเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัส HIV-1 โดยทำหน้าที่แปลรหัสจากสาย mRNA ของไวรัส HIV-1 ให้กลายเป็นสาย DNA ของไวรัส HIV-1

1.1 การคำนวณ Redock

กระบวนการทำ Redock ทั้ง 5 โครงสร้างของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบตำแหน่งหรือบริเวณการจับของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับตำแหน่งตัวยับยั้งเดิมที่ได้จากโครงสร้างจากฐานข้อมูล ซึ่งผลการทดลองแต่ละโครงสร้างมีดังต่อไปนี้

2ZD1 คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์ โดยมีตัวยับยั้งเดิมที่มาพร้อมโครงสร้างได้แก่ TMC278 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มตัวยับยั้งประเภท NNRTIs โดยผลการคำนวณค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีค่าเท่ากับ -12.62 kcal/mol จำนวนการวางตัวมีค่าเท่ากับ 150 รอบ และค่า RMSD มีค่าเท่ากับ 0.522 Å

4G1Q คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์ โดยมีตัวยับยั้งเดิมที่มาพร้อมโครงสร้างได้แก่ TMC278 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มตัวยับยั้งประเภท NNRTIs โดยผลการ

คำนวณหาค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีค่าเท่ากับ -12.96 kcal/mol จำนวนการวางตัวมีค่าเท่ากับ 150 รอบ และค่า RMSD มีค่าเท่ากับ 0.332 Å

3MEG คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบมีการกลายพันธุ์ที่ลำดับ 103 โดยกรดอะมิโนชนิด Lysine กลายเป็น Asparagine ซึ่งมีตัวยับยั้งเดิมที่มาพร้อมโครงสร้างได้แก่ TMC278 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มตัวยับยั้งประเภท NNRTIs โดยผลการคำนวณหาค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีค่าเท่ากับ -12.62 kcal/mol จำนวนการวางตัวมีค่าเท่ากับ 150 รอบ และค่า RMSD มีค่าเท่ากับ 0.522 Å

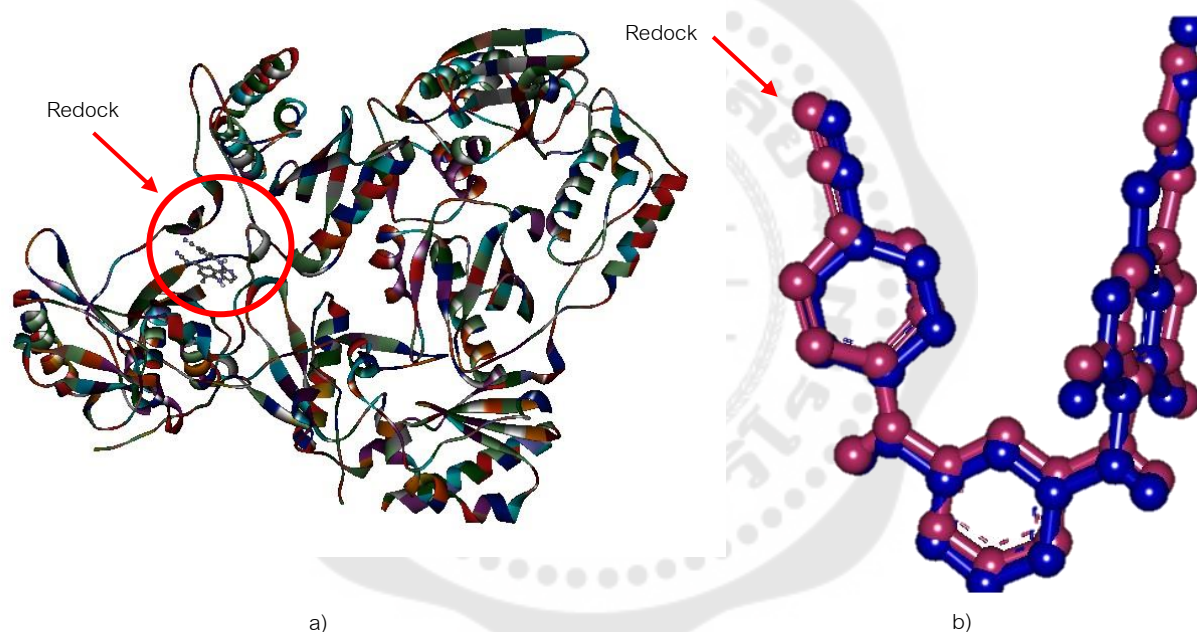
2ZE2 คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบมีการกลายพันธุ์ที่ลำดับ 100 และ 103 โดยกรดอะมิโนชนิด Leucine กลายเป็น Isoleucine และ Lysine กลายเป็น Asparagine ตามลำดับ ซึ่งมีตัวยับยั้งเดิมที่มาพร้อมโครงสร้างได้แก่ TMC278 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มตัวยับยั้งประเภท NNRTIs โดยผลการคำนวณหาค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีค่าเท่ากับ -11.36 kcal/mol จำนวนการวางตัวมีค่าเท่ากับ 135 รอบ และค่า RMSD มีค่าเท่ากับ 0.574 Å

3BGR คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบมีการกลายพันธุ์ที่ลำดับ 103 และ 181 โดยกรดอะมิโนชนิด Lysine กลายเป็น Asparagine และ Tyrosine กลายเป็น Cysteine ตามลำดับ ซึ่งมีตัวยับยั้งเดิมที่มาพร้อมโครงสร้างได้แก่ TMC278 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มตัวยับยั้งประเภท NNRTIs โดยผลการคำนวณหาค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีค่าเท่ากับ -12.46 kcal/mol จำนวนการวางตัวมีค่าเท่ากับ 150 รอบ และค่า RMSD มีค่าเท่ากับ 0.622 Å

เมื่อพิจารณาเอนไซม์ทั้ง 5 โครงสร้าง โดยตีความจากค่า RMSD ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ และจำนวนการวางตัว พบว่าเอนไซม์ทั้งหมดให้ค่า RMSD ต่ำกว่า 1.00 Å :ซึ่งค่าที่ยอมรับได้อยู่ที่ 2.00 Å เมื่อนำตัวยับยั้งเดิมวางทับซ้อนกับ TMC278 สามารถวางตัวใกล้เคียงกันทั้ง 2 โครงสร้าง ตามภาพประกอบที่ 21 ในส่วนค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับระหว่างตัวยับยั้งเดิมกับเอนไซม์เป้าหมายทั้งหมด ให้ค่าพลังงานติดลบอยู่ในช่วง -11.50 ถึง -13.00 kcal/mol และจำนวนการวางตัวของตัวยับยั้งส่วนใหญ่เฉลี่ยอยู่ที่ 150 รอบ จากข้อมูลตารางที่ 1 สามารถสรุปได้ว่า เอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ทั้ง 5 โครงสร้าง มีความเหมาะสมที่จะนำไปศึกษาในขั้นต่อไป ในงานวิจัยครั้งนี้มีสนใจเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์ในการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ต่อไป

ตาราง 1 ค่า RMSD ของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT

รหัสโปรตีน	ตัวยับยั้งเดิม	RMSD (Å)	ค่าพลังงานอิสระ (kcal/mol)
2ZD1	TMC278	0.522	-12.62
2ZE2	TMC278	0.574	-11.36
3BGR	TMC278	0.622	-12.46
3MEG	TMC278	0.325	-11.95
4G1Q	TMC278	0.332	-12.96



ภาพประกอบ 19 a) แสดงการวางตัวของ Redock ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT b) แสดงการวางตำแหน่งทับซ้อนกันระหว่าง Redock กับ TMC278

1.2 การ Docking อนุพันธ์ควิโนลีน และ TMC278

การทำ Docking เพื่อศึกษาเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 โดยพิจารณาพลังงานอิสระในการเข้าจับที่บริเวณภายในโพรงการจับระหว่างตัวยับยั้งกับเอนไซม์ ซึ่งผลการคำนวณพลังงานอิสระในการเข้าจับจะแสดงผลในรูปแบบค่าพลังงานที่ติดลบ ถ้ามีค่าติดลบมาก อธิบายได้ว่าตัวยับยั้งที่ศึกษาสามารถจับกับเอนไซม์

เป้าหมาย HIV-1 RT ได้ดี ดังนั้นโครงสร้างที่นำมาศึกษาต้อง optimized ก่อนทำการ Dock กับ เอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ผลการคำนวณเป็นดังต่อไปนี้ ตามตารางที่ 2

2ZD1 คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์ โดยผลการ คำนวณหาค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับและจำนวนการวางตัวในบริเวณโพรงการจับของ TMC278 อนุพันธ์ควิโนลีน(B24) และอนุพันธ์ควิโนลีน(B46) มีค่าดังนี้ ค่าพลังงานอิสระในการเข้า จับมีค่าเท่ากับ -12.69, -13.30, -11.84 kcal/mol ตามลำดับ จำนวนการวางตัวในบริเวณโพรง การเข้าจับ มีค่าเท่ากับ 150,145, 98 รอบ ตามลำดับ

4G1Q คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์ โดยผลการ คำนวณหาค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับและจำนวนการวางตัวในบริเวณโพรงการจับของ TMC278 อนุพันธ์ควิโนลีน(B24) และอนุพันธ์ควิโนลีน(B46) มีค่าดังนี้ ค่าพลังงานอิสระในการเข้า จับมีค่าเท่ากับ -12.76, -12.69, -11.53 kcal/mol ตามลำดับ จำนวนการวางตัวในบริเวณโพรง การเข้าจับ มีค่าเท่ากับ 150,127, 36 รอบ ตามลำดับ

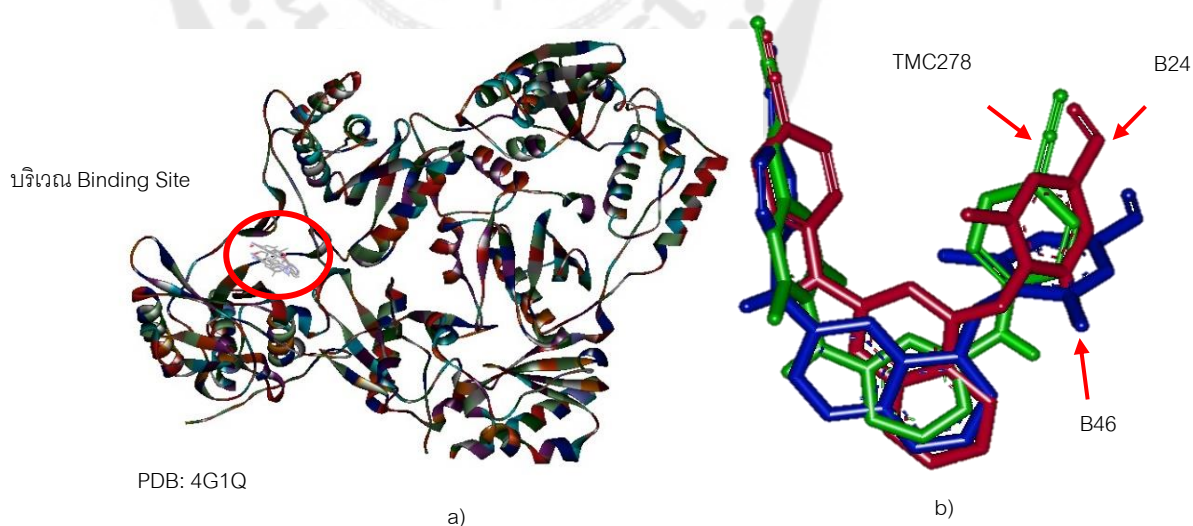
3MEG คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบมีการกลายพันธุ์ที่ลำดับ 103 โดย กรดอะมิโนชนิด Lysine กลายเป็น Asparagine โดยผลการคำนวณค่าพลังงานอิสระในการเข้า จับและจำนวนการวางตัวในบริเวณโพรงการเข้าจับของ TMC278 อนุพันธ์ควิโนลีน(B24) และ อนุพันธ์ควิโนลีน(B46) มีค่าดังนี้ ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีค่าเท่ากับ -11.88, -12.08, -11.88 kcal/mol ตามลำดับ จำนวนการวางตัวในบริเวณโพรงการเข้าจับ มีค่าเท่ากับ 142,137, 90 รอบ ตามลำดับ

2ZE2 คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบมีการกลายพันธุ์ที่ลำดับ 100 และ 103 โดยกรดอะมิโนชนิด Leucine กลายเป็น Isoleucine และ Lysine กลายเป็น Asparagine ตามลำดับ โดยผลการคำนวณค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับและจำนวนการ วางตัวในบริเวณโพรงการเข้าจับของ TMC278 อนุพันธ์ควิโนลีน(B24) และอนุพันธ์ควิโนลีน(B46) มีค่าดังนี้ ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีค่าเท่ากับ -11.33, -12.21, -11.80 kcal/mol ตามลำดับ จำนวนการวางตัวในบริเวณโพรงการเข้าจับ มีค่าเท่ากับ 3,126, 43 รอบ ตามลำดับ

3BGR คือเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบมีการกลายพันธุ์ที่ลำดับ 103 และ 181 โดยกรดอะมิโนชนิด Lysine กลายเป็น Asparagine และ Tyrosine กลายเป็น Cysteine ตามลำดับ โดยผลการคำนวณค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับและจำนวนการวางตัว ในบริเวณโพรงการเข้าจับของ TMC278 อนุพันธ์ควิโนลีน(B24) และอนุพันธ์ควิโนลีน(B46) มีค่า

ดังนั้น ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับมีค่าเท่ากับ -12.41, -12.12, -11.30 kcal/mol ตามลำดับ จำนวนการวางตัวในบริเวณโพรงการเข้าจับ มีค่าเท่ากับ 150,148, 116 รอบ ตามลำดับ

จากข้อมูลตามตารางที่ 2 บ่งชี้ได้ว่าอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ได้ใกล้เคียงกับ TMC278 โดยพิจารณาจากค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับ และอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างมีความเสถียรใกล้เคียงกับ TMC278 เมื่อนำตัวยับยั้งทั้ง 3 โครงสร้างมาวางทับซ้อนกันปรากฏสามารถวางซ้อนทับกันได้ในรูปแบบเกือบก้ำกึ่งเหมือนกันทั้ง 3 โครงสร้าง ตามภาพประกอบ 22 ซึ่งพิจารณาจากจำนวนรอบการวางตัวในบริเวณโพรงการจับ และจากการคำนวณทำให้ทราบได้ว่ามีกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT มี 15 กรดอะมิโน ได้แก่ Pro95, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 เนื่องจากเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT มีชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์และที่มีการกลายพันธุ์ซึ่งงานวิจัยครั้งนี้ได้เลือกเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์ใช้ในการศึกษาระดับควอนตัมต่อไป โดยสาเหตุ HIV-1 RT ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์มีโครงสร้างที่ไม่ซับซ้อนและสะดวกต่อการเข้าใจกลไกการยับยั้งของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง เพื่อพัฒนาต่อยอดไปยังชนิดที่มีการกลายพันธุ์ต่อไป



ภาพประกอบ 20 a) แสดงตำแหน่งที่อนุพันธ์ควิโนลีนและ TMC278 เข้าทำการจับภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1RT b) ลักษณะการวางตัวของตัวยับยั้งทั้ง 3 โครงสร้าง

ตาราง 2 ค่าพลังงานอิสระในการเข้าจับกับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT

รหัสโปรตีน	ตัวยับยั้ง	พลังงานในการเข้าจับ (kcal/mol)	จำนวนการวางตัวใน บริเวณโพรงการจับ (รอบ)
2ZD1			
	TMC278	-12.69	150
	ควิโนลีน (B24)	-13.30	145
	ควิโนลีน (B46)	-11.84	98
4G1Q			
	TMC278	-12.76	150
	ควิโนลีน (B24)	-12.69	127
	ควิโนลีน (B46)	-11.53	36
3MEG K103N			
	TMC278	-11.88	142
	ควิโนลีน (B24)	-12.08	137
	ควิโนลีน (B46)	-11.88	90
2ZE2 L100I/K103N			
	TMC278	-11.33	3
	ควิโนลีน (B24)	-12.21	126
	ควิโนลีน (B46)	-11.80	43
3BGR K103N/Y181C			
	TMC278	-12.41	150
	ควิโนลีน (B24)	-12.12	148
	ควิโนลีน (B46)	-11.30	116

1.3 การศึกษาเปรียบเทียบเอนไซม์ HIV-1 RT ชนิดไม่มีการกลายพันธุ์

การศึกษาในขั้นตอนนี้ทำการศึกษาเพื่อหาตัวแทนของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์จาก 2 โครงสร้าง ได้แก่ 2ZD1 และ 4G1Q ให้เหลือเพียง 1 โครงสร้างที่จะนำไปศึกษาในส่วนของการอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโนแต่ละชนิดในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ต่อไป โดยพิจารณาค่าต่างๆ

พิจารณาจากปี ค.ศ. ที่ทำการเผยแพร่โครงสร้างเอนไซม์ พบว่าโครงสร้าง 4G1Q เผยแพร่วันที่ 2013-02-06 และ 2ZD1 เผยแพร่วันที่ 2008-02-12

พิจารณาจากค่า Resolution ของโครงสร้างเอนไซม์เป้าหมาย พบว่าโครงสร้าง 4G1Q มีค่าเท่ากับ 1.51 Å และ 2ZD1 มีค่าเท่ากับ 1.80 Å

พิจารณาจากค่า RMSD ของโครงสร้างเอนไซม์เป้าหมาย พบว่าโครงสร้าง 4G1Q มีค่าเท่ากับ 0.332 Å และ 2ZD1 มีค่าเท่ากับ 0.522 Å

พิจารณาจากค่าพลังงานอิสระในการจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์เป้าหมาย พบว่าค่าพลังงานระหว่างเอนไซม์เป้าหมาย 4G1Q กับตัวยับยั้ง TMC278, B24, B46 มีค่าเท่ากับ -12.76, -12.69, -11.53 kcal/mol ตามลำดับ ส่วนเอนไซม์เป้าหมาย 2ZD1 มีค่าเท่ากับ -12.69, -13.30, -11.84 kcal/mol ตามลำดับ

จากข้อมูลต่างๆ ตามตารางที่ 1 และ 2 เมื่อนำมาวิเคราะห์สรุปผลได้ว่าโครงสร้างเอนไซม์เป้าหมาย 4G1Q ชนิดแบบไม่มีการกลายพันธุ์โดยปี ค.ศ. การเผยแพร่โครงสร้างเอนไซม์ที่มีความเป็นปัจจุบันมากกว่าเอนไซม์ 2ZD1 มีค่า Resolution ที่ต่ำกว่าเอนไซม์ 2ZD1 และมีค่า RMSD ที่ต่ำกว่าเอนไซม์ 2ZD1 ดังนั้นเอนไซม์ 4G1Q จึงมีความเหมาะสมมากที่สุดที่จะนำไปศึกษาในขั้นตอนของกลศาสตร์ควอนตัมต่อไป

2. การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลินและTMC278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่อยู่ในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT

การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลินและ TMC278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่อยู่ในบริเวณโพรงการเข้าจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT (4G1Q) ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ 1) B3LYP 2) M062X 3) M06HF เบซีสเซต 6-311g(d,p) เพื่อคำนวณค่าอันตรกิริยาแต่ละคู่กรดอะมิโน และทำการคำนวณ IE-BSSE ต่อไป

2.1 การศึกษาเปรียบเทียบระเบียบวิธีการคำนวณอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลิน B24 กับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยระเบียบวิธี 1) B3LYP 2) M062X 3) M06HF เบซีสเซต 6-311g(d,p) มีผลการคำนวณดังนี้

ระเบียบวิธีคำนวณ B3LYP/6-311G(d,p) ใช้ในการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลิน B24 กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.04, 13.95, 6.94, 13.85, 13.06, 4.31, 2.27, 2.18, 0.50, 3.28, -1.16, 16.85, 0.35, -2.34, -0.96 kcal/mol ตามลำดับ

ระเบียบวิธีคำนวณ M062X/6-311g(d,p) ใช้ในการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลิน (B24) กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179,

Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.01, 3.55, -0.74, 7.79, 2.61, 0.06, -2.38, -2.30, -2.05, -3.05, -3.15, 7.60, -4.50, -8.52, -4.20 kcal/mol ตามลำดับ

ระเบียบวิธีคำนวณ M062X/6-311g(d,p) ใช้ในการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน (B24) กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.12, 0.33, -5.24, 6.52, -0.97, -1.62, -3.00, -3.31, -2.02, -4.38, -3.68, 3.45, -7.90, -9.68, -5.14 kcal/mol ตามลำดับ

จากข้อมูลตาม ตารางที่ 3 พบว่าระเบียบวิธีการคำนวณทั้ง 3 ระเบียบวิธี 1) B3LYP 2) M062X 3) M06HF เบสิคเซต 6-311g(d,p) ให้ผลการคำนวณที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาแล้วระเบียบวิธีที่เหมาะสมที่สุดคือ M06HF/6-311g

ตาราง 3 เปรียบเทียบค่าอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน (B24) กับกรดอะมิโนแต่ละชนิด ภายในโปรแกรมของเอนไซม์ด้วยระเบียบวิธี B3LYP, M062X, M06HF /6-311g(d,p)

ตารางเปรียบเทียบระเบียบวิธีการคำนวณ (kcal/mol)			
กรดอะมิโน	B3LYP	M062X	M06HF
Pro095	-0.04	-0.01	-0.12
Leu100	13.95	3.55	0.33
Lys101	6.94	-0.74	-5.24
Lys102	13.85	7.79	6.52
Lys103	13.06	2.61	-0.97
Val106	4.31	0.06	-1.62
Val179	2.27	-2.38	-3.00
Tyr181	2.18	-2.30	-3.31
Pro225	0.50	-2.05	-2.02
Phe227	3.28	-3.05	-4.38
Trp229	-1.16	-3.15	-3.68
Leu234	16.85	7.60	3.45
His235	0.35	-4.50	-7.90
Pro236	-2.34	-8.52	-9.68
Tyr318	-0.96	-4.20	-5.14

2.2 ค่าอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน และ TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณภายในโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT

จากการคำนวณค่าอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ M06HF/6-311g(d,p) ผลการคำนวณตามตารางที่ 4

อันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B24 กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.12, 0.33, -5.24, 6.52, -0.97, -1.62, -3.00, -3.31, -2.02, -4.38, -3.68, 3.45, -7.90, -9.68, -5.14 kcal/mol ตามลำดับ

อันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B46 กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.30, -4.08, -6.51, -1.80, -1.38, -0.05, -1.93, -7.13, -2.67, -3.79, -7.85, -1.99, -3.78, -9.78, -1.38 kcal/mol ตามลำดับ

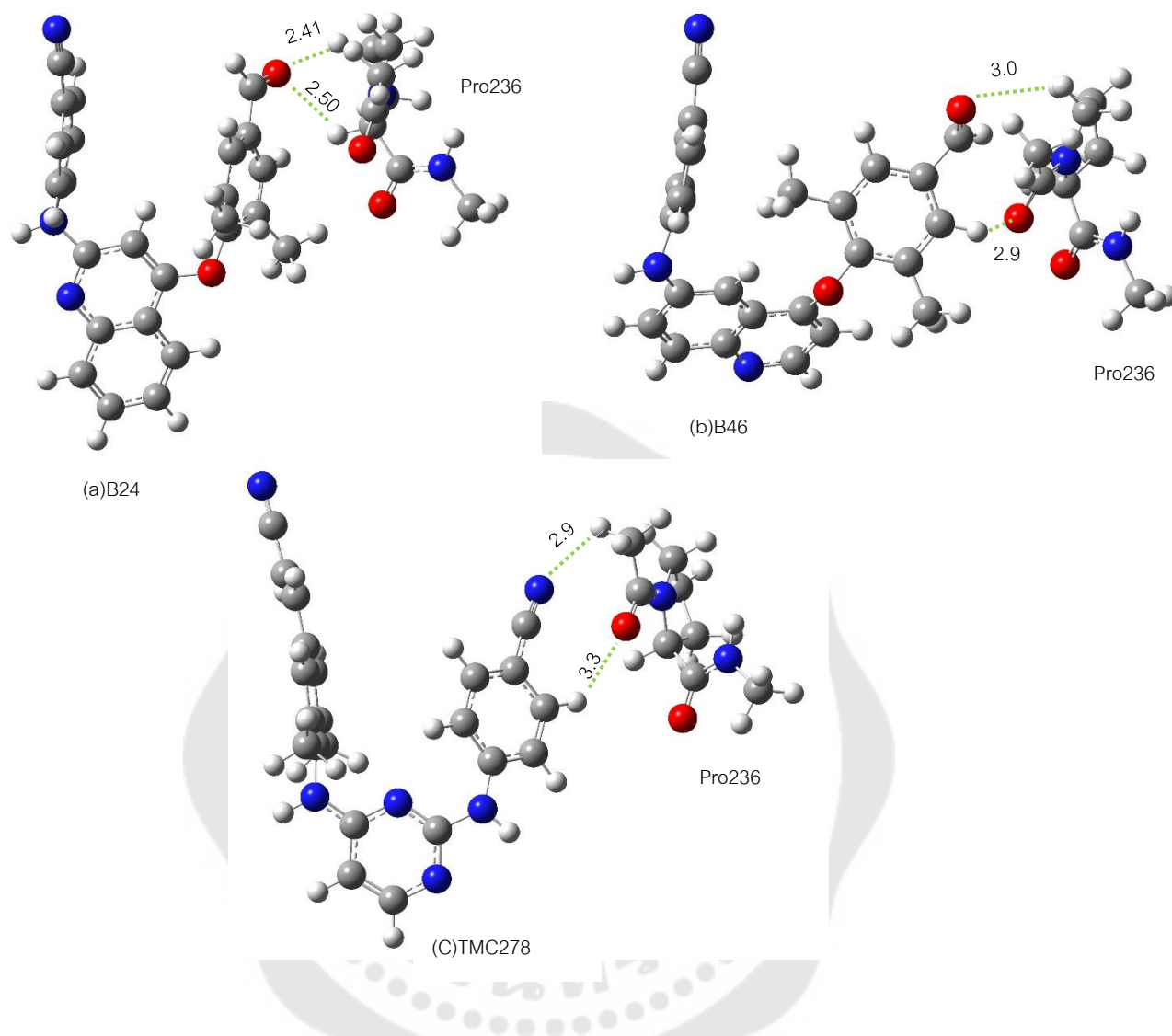
อันตรกิริยาระหว่าง TMC278 กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.17, -6.16, -11.74, -8.97, -5.28, -1.85, -1.03, -7.92, -2.88, -6.42, -8.14, -2.77, -7.92, -7.96, -1.88 kcal/mol ตามลำดับ

จากข้อมูลตามตารางที่ 4 พบว่า อันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง มีค่าสูงกว่าหรือใกล้เคียงกับ TMC278 ที่ตำแหน่งของกรดอะมิโน ดังนี้ Pro095, Val179, His235, Pro236, Tyr318 อนุพันธ์ควิโนลีน (B24) มีค่าเท่ากับ -0.12, -3.00, -7.90, -9.68, -5.14 kcal/mol ตามลำดับ อนุพันธ์ควิโนลีน (B46) มีค่าเท่ากับ -0.30, -1.93, -3.78, -9.78, -1.38 kcal/mol ตามลำดับ และ TMC278 มีค่าเท่ากับ -0.17, -1.03, -7.92, -7.96, -1.88 kcal/mol ตามลำดับ โดยค่าอันตรกิริยาของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างมีการกระจายของค่าอันตรกิริยาออกไปแต่ละกรดอะมิโน โดยไม่มีค่าอันตรกิริยาที่ติดลบมากๆ อยู่ที่ตำแหน่งของกรดอะมิโนเพียง 1 กรดอะมิโนเหมือนโครงสร้างของ TMC278 ที่ตำแหน่ง Lys101 มีค่าเท่ากับ -11.74 kcal/mol เพื่อลดโอกาสการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งดังกล่าว

ตาราง 4 ค่าอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ M06HF/6-311g(d,p)

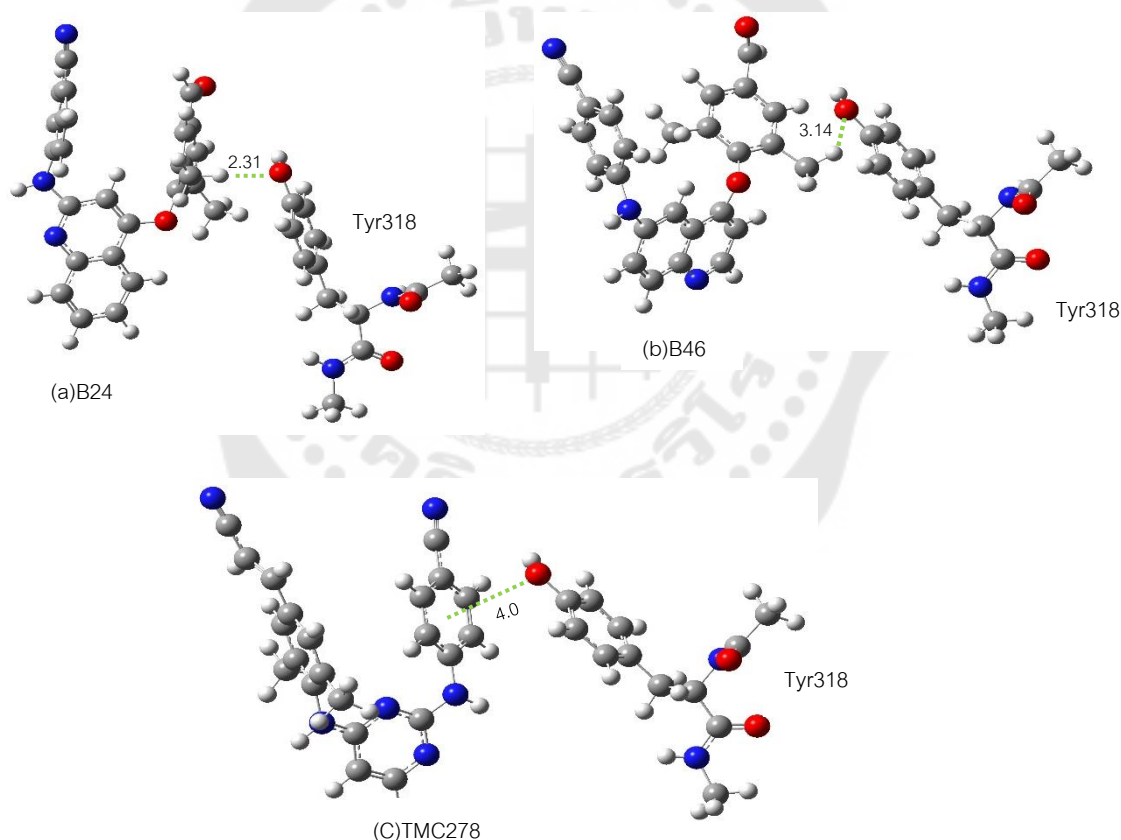
กรดอะมิโน	ค่าอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน (kcal/mol)		
	อนุพันธ์ควิโนลีน (B24)	อนุพันธ์ควิโนลีน (B46)	TMC278
	IE	IE	IE
Pro095	-0.12	-0.30	-0.17
Leu100	0.33	-4.08	-6.16
Lys101	-5.24	-6.51	-11.74
Lus102	6.52	-1.80	-8.97
Lys103	-0.97	-1.38	-5.28
Val106	-1.62	-0.05	-1.85
Val179	-3.00	-1.93	-1.03
Tyr181	-3.31	-7.13	-7.92
Pro225	-2.02	-2.67	-2.88
Phe227	-4.38	-3.79	-6.42
Trp229	-3.68	-7.85	-8.14
Leu234	3.45	-1.99	-2.77
His235	-7.90	-3.78	-7.92
Pro236	-9.68	-9.78	-7.96
Tyr318	-5.14	-1.38	-1.88

อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง และ TMC278 กับกรดอะมิโน Pro236 ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ M06HF/6-311g(d,p) พบว่า เกิดพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่างตัวยับยั้งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับกรดอะมิโน Pro236 ซึ่งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างมีค่าอันตรกิริยาที่สูงกว่า TMC278 โดยอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นแบบดึงดูด ทำให้โครงสร้างทั้ง 2 ของอนุพันธ์ควิโนลีนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้สูงขึ้น ความยาวพันธะระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B24 กับกรดอะมิโน Pro236 เท่ากับ 2.40, 2.50 และ 2.1 Å อนุพันธ์ควิโนลีน B46 เท่ากับ 3.0 และ 2.9 Å และ TMC278 เท่ากับ 2.9, 3.3 และ 3.1 Å ดังภาพประกอบ 23



ภาพประกอบ 21 แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวรับยั้งกับกรดอะมิโน Pro236 a) อนุพันธ์ควิโนลีน (B24) b) อนุพันธ์ควิโนลีน (B46) c) TMC278

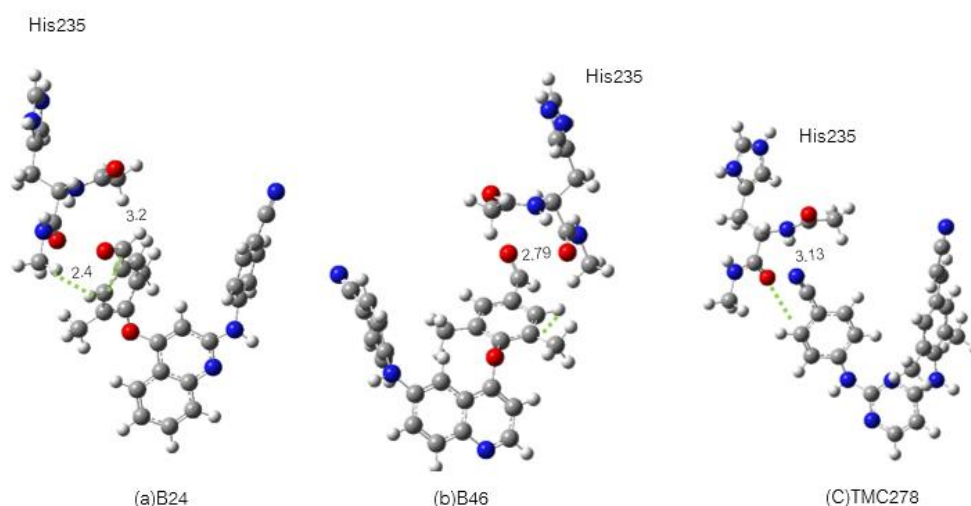
อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง และ TMC278 กับกรดอะมิโน Tyr318 ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ M06HF/6-311g(d,p) พบว่า เกิดพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่างตัวยับยั้งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง กับกรดอะมิโน Tyr318 ในส่วน TMC278 เกิดพันธะแบบ π - π ซึ่งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง มีค่าอันตรกิริยาที่สูงกว่า TMC278 โดยอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นแบบดึงดูด ทำให้โครงสร้างทั้ง 2 ของอนุพันธ์ควิโนลีนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้สูงขึ้น ความยาวพันธะระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B24 กับ กรดอะมิโน Tyr236 เท่ากับ 2.01 Å อนุพันธ์ควิโนลีน B46 เท่ากับ 3.14 Å และ TMC278 เท่ากับ 4.0 Å ดังภาพประกอบ 24



ภาพประกอบ 22 แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน Tyr318

a) อนุพันธ์ควิโนลีน B24 b) อนุพันธ์ควิโนลีน B46 c) TMC278

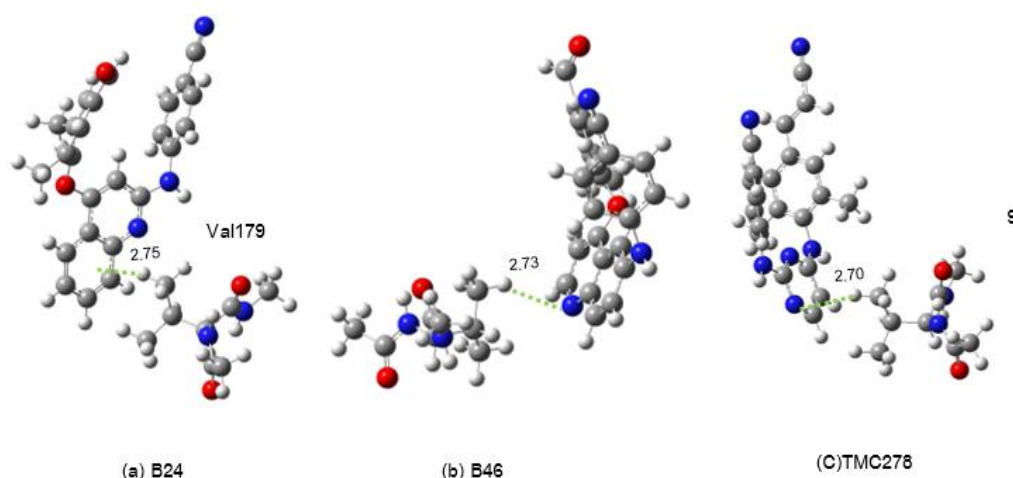
อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง และ TMC278 กับกรดอะมิโน His235 ภายในบริเวณโพรงของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ M06HF/6-311g(d,p) พบว่า เกิดพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่างตัวยับยั้งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง และ TMC278 กับกรดอะมิโน His235 ซึ่งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง มีค่าอันตรกิริยาที่สูงกว่า TMC278 โดยอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นแบบดึงดูด ทำให้โครงสร้างทั้ง 2 ของอนุพันธ์ควิโนลีนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้สูงขึ้น ความยาวพันธะระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B24 กับ กรดอะมิโน Tyr236 เท่ากับ 3.2, 2.4 Å อนุพันธ์ควิโนลีน B46 เท่ากับ 2.79 Å และ TMC278 เท่ากับ 3.13 Å ดังภาพประกอบ 25



ภาพประกอบ 23 แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน His235

a) อนุพันธ์ควิโนลีน B24 b) อนุพันธ์ควิโนลีน B46 c) TMC278

อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง และ TMC278 กับกรดอะมิโน Val179 ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ M06HF/6-311g(d,p) พบว่า เกิดพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่างตัวยับยั้งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง กับกรดอะมิโน Val179 ในส่วน TMC278 เกิดพันธะแบบ ซึ่งอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง มีค่าอันตรกิริยาที่สูงกว่า TMC278 โดยอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นแบบดึงดูด ทำให้โครงสร้างทั้ง 2 ของอนุพันธ์ควิโนลีนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้สูงขึ้น ความยาวพันธะระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B24 กับ กรดอะมิโน Tyr236 เท่ากับ 2.75 Å อนุพันธ์ควิโนลีน B46 เท่ากับ 2.73 Å และ TMC278 เท่ากับ 2.70 Å ดังภาพประกอบ 26



ภาพประกอบ 24 แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน Val179

a) อนุพันธ์ควิโนลีน B24 b) อนุพันธ์ควิโนลีน B46 c) TMC278

3. ผลการแก้ไขพลังงานอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ IE-BSSE

หลังจากคำนวณอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง และ TMC278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณของโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ M06HF/6-311g(d,p) จากนั้นทำการคำนวณแก้ไขพลังงานอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ BSSE ของโครงสร้างสร้างทั้งหมด เพื่อให้ข้อมูลในการคำนวณมีความถูกต้องแม่นยำที่มากขึ้น ดังสมการที่ 2 โดยผลการคำนวณมีค่าดังต่อไปนี้

การคำนวณ IE-BSSE ระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B24 กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.12, 2.58, -2.23, 9.81, 1.97, -0.30, -1.94, -1.64, -0.75, -2.58, -2.84, 5.23, -5.77, -6.22, -3.54 kcal/mol ตามลำดับ

การคำนวณ IE-BSSE ระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B46 กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.04, -1.44, -4.30, 0.58, -0.02, 1.15, -1.04, -4.49, -1.44, -1.88, -6.32, -0.26, -1.69, -6.53, -0.06 kcal/mol ตามลำดับ

การคำนวณ IE-BSSE ระหว่าง TMC278 กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235,

Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ 0.08, -3.91, -9.44, -6.96, -3.43, -1.20, -0.08, -5.86, -2.24, -4.93, -6.30, -0.99, -6.09, -5.91, -1.29 kcal/mol ตามลำดับ

จากข้อมูลตามตารางที่ 5 พบว่าหลังการคำนวณแก้ไขพลังงานอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ IE-BSSE ให้ผลการคำนวณมีความถูกต้องมากขึ้น

ตาราง 5 แสดงค่าการคำนวณ IE-BSSE

ค่าอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับกรดอะมิโน (kcal/mol)						
	อนุพันธ์ควิโนลีน B24		อนุพันธ์ควิโนลีน B46		TMC278	
	IE	IE-BSSE	IE	IE-BSSE	IE	IE-BSSE
Pro095	-0.12	-0.12	-0.30	-0.04	-0.17	0.08
Leu100	0.33	2.58	-4.08	-1.44	-6.16	-3.91
Lys101	-5.24	-2.23	-6.51	-4.30	-11.74	-9.44
Lus102	6.52	9.81	-1.80	0.58	-8.97	-6.96
Lys103	-0.97	1.97	-1.38	-0.02	-5.28	-3.43
Val106	-1.62	-0.30	-0.05	1.15	-1.85	-1.20
Val179	-3.00	-1.94	-1.93	-1.04	-1.03	-0.08
Tyr181	-3.31	-1.64	-7.13	-4.49	-7.92	-5.86
Pro225	-2.02	-0.75	-2.67	-1.44	-2.88	-2.24
Phe227	-4.38	-2.58	-3.79	-1.88	-6.42	-4.93
Trp229	-3.68	-2.84	-7.85	-6.32	-8.14	-6.30
Leu234	3.45	5.23	-1.99	-0.26	-2.77	-0.99
His235	-7.90	-5.77	-3.78	-1.69	-7.92	-6.09
Pro236	-9.68	-6.22	-9.78	-6.53	-7.96	-5.91
Tyr318	-5.14	-3.54	-1.38	-0.06	-1.88	-1.29

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาในงานวิจัยนี้ สามารถสรุปผลการดำเนินงาน โดยแบ่งหัวข้อในการสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

1. สรุป
2. อภิปรายผลการทดลอง
3. ข้อเสนอแนะ

1. สรุป

การศึกษาและโครงสร้างของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างได้แก่

1) 4-((4-(4-formyl-2,6-dimethylphenoxy)quinolin-2-yl)amino)benzonitrile (B24)

2) 4-((4-(4-formyl-2,6-dimethylphenoxy)quinolin-6-yl)amino)benzonitrile (B46)

และ TMC278 กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ทั้ง 5 โครงสร้าง โดยใช้เทคนิคโมเลกุลลาร์ด็อกกิ้งและมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพิจารณาโครงสร้างเอนไซม์ที่นำมาศึกษาวิจัยในครั้งนี้ว่ามีความเหมาะสมถูกต้องซึ่งพิจารณาจากการทำการคำนวณในส่วนของ Redock และหาค่าพลังงานอิสระในการจับของตัวยับยั้งกับเอนไซม์เป้าหมายด้วยวิธีการคำนวณ Docking ต่อไป

ในส่วนของการคำนวณ Redock พบว่าเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ทั้ง 5 โครงสร้าง (2ZD1, 4G1Q, 3MEG, 2ZE2, 3MRG) ในการศึกษาวิจัยนี้ครั้งมี TMC278 เป็นตัวยับยั้งเดิมที่มาพร้อมโครงสร้างที่ได้จากการดาวน์โหลดจากธนาคารข้อมูลโปรตีน ซึ่งผลการทำ Redock ทั้ง 5 โครงสร้างให้ค่า RMSD ต่ำกว่า 1.00 Å ดังนี้ 0.522, 0.33, 0.32, 0.574, 0.62 Å ตามลำดับ

ในส่วนของการคำนวณ Docking ระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B24 อนุพันธ์ควิโนลีน B46 และ TMC278 กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ทั้ง 5 โครงสร้าง โดยมีการกำหนดตัวแปรต่างๆ ในการคำนวณได้แก่ Grid box เท่ากับ 60x60x60 Å Spacing of grid เท่ากับ 0.375 Å จำนวนรอบในการคำนวณ เท่ากับ 150 รอบ ซึ่งผลการคำนวณพลังงานในการเข้าจับกับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ทั้ง 5 โครงสร้าง ได้ดังนี้ อนุพันธ์ควิโนลีน B24 อนุพันธ์ควิโนลีน B46 และ TMC278 กับเอนไซม์ 2ZD1 มีค่าเท่ากับ -13.30, -11.84, -12.69 kcal/mol ตามลำดับ อนุพันธ์ควิโนลีน B24 อนุพันธ์ควิโนลีน B46 และ TMC278 กับเอนไซม์ 4G1Q มีค่าเท่ากับ -12.69, -11.53, -12.76 kcal/mol ตามลำดับ อนุพันธ์ควิโนลีน B24 อนุพันธ์ควิโนลีน B46 และ TMC278 กับเอนไซม์

3MEG มีค่าเท่ากับ -12.08, -11.88, -11.88 kcal/mol ตามลำดับ อนุพันธ์ควิโนลีน B24 อนุพันธ์ควิโนลีน B46 และ TMC278 กับเอนไซม์ 2ZE2 มีค่าเท่ากับ -12.21, -11.80, -11.33 kcal/mol ตามลำดับ และ อนุพันธ์ควิโนลีน B24 อนุพันธ์ควิโนลีน B46 และ TMC278 กับเอนไซม์ 3BGR มีค่าเท่ากับ -12.12, -11.30, -12.41 kcal/mol ตามลำดับ

การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับกรดอะมิโนที่บริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ด้วยการเปรียบเทียบการคำนวณ B3LYP/6-311g(d,p), M062X/6-311g(d,p), M06HF/6-311g(d,p) และการคำนวณแก้พลังงานอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ IE-BSSE

ในส่วนการคำนวณด้วยระเบียบวิธีทั้ง 3 วิธี ดังนี้ B3LYP/6-311g(d,p), M062X/6-311g(d,p), M06HF/6-311g(d,p) โดยผลการคำนวณมีความแตกต่าง จึงจำเป็นต้องหาระเบียบวิธีการคำนวณที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ในการคำนวณอันตรกิริยาในขั้นต่อไป ซึ่งเมื่อพิจารณาพบว่าระเบียบวิธีที่มีความเหมาะสมที่สุดในงานวิจัยครั้งนี้ได้แก่ M06HF/6-311g(d,p)

ในส่วนการคำนวณอันตรกิริยาระหว่างระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับกรดอะมิโนที่บริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT พบว่าภายในรัศมี 5.0 Å มีกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องอยู่จำนวน 15 กรดอะมิโนที่มีความสำคัญในการเกิดอันตรกิริยากับตัวยับยั้งที่ศึกษา ได้แก่ Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 โดยมีผลการคำนวณดังนี้ อนุพันธ์ควิโนลีน (B24) มีค่า -0.12, 0.33, -5.24, 6.52, -0.97, -1.62, -3.00, -3.31, -2.02, -4.38, -3.68, 3.45, -7.90, -9.68, -5.14 kcal/mol ตามลำดับ อนุพันธ์ควิโนลีน (B46) มีค่า -0.30, -4.08, -6.51, -1.80, -1.38, -0.05, -1.93, -7.13, -2.67, -3.79, -7.85, -1.99, -3.78, -9.78, -1.38 ตามลำดับ และ TMC278 มีค่า -0.17, -6.16, -11.74, -8.97, -5.28, -1.85, -1.03, -7.92, -2.88, -6.42, -8.14, -2.77, -7.92, -7.96, -1.88 kcal/mol ตามลำดับ และเมื่อพิจารณากรดอะมิโน Pro095, Val179, His235, Pro236, Tyr318 พบว่าอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างสามารถเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนได้ดีกว่า TMC278

ในการคำนวณ IE-BSSE ระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B24 กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.12, 2.58, -2.23, 9.81, 1.97, -0.30, -1.94, -1.64, -0.75, -2.58, -2.84, 5.23, -5.77, -6.22, -3.54 kcal/mol ตามลำดับ

การคำนวณ IE-BSSE ระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีน B46 กับกรดอะมิโน Pro095, Leu100, Lys101, Lys102, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Pro225, Phe277, Trp229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 ผลการคำนวณมีค่าดังนี้ -0.04, -1.44, -4.30, 0.58, -0.02, 1.15, -1.04, -4.49, -1.44, -1.88, -6.32, -0.26, -1.69, -6.53, -0.06 kcal/mol ตามลำดับ

2.อภิปรายผลการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ได้นำสารที่ได้รับการพัฒนาออกแบบด้วยยับยั้งของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างได้แก่ 1) 4-((4-(4-formyl-2,6-dimethylphenoxy)quinolin-2-yl)amino)benzonitrile 2) 4-((4-(4-formyl-2,6-dimethylphenoxy)quinolin-6-yl)amino)benzonitrile (B46) โดยศึกษาระดับโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT โดยใช้เทคนิคทางเคมีควอนตัม ซึ่ง TMC278 เป็นตัวยับยั้งที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยา สหรัฐอเมริกา โดยงานวิจัยนี้ได้นำมาเป็นตัวศึกษาเปรียบเทียบกับอนุพันธ์ควิโนลีน

ผลการคำนวณ Redock ทั้ง 5 โครงสร้างของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ให้ค่า RMSD ที่ต่ำกว่า 1.00 Å ค่าที่ยอมรับได้อยู่ที่ 2.00 Å และเมื่อพิจารณารูปแบบวางตัวของตัวยับยั้งเดิมเปรียบเทียบกับ TMC278 ซึ่งรูปแบบการวางตัวของตัวยับยั้งเหมือนกันในบริเวณของโพรงการเข้าจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT จากข้อมูลข้างต้นทำให้เอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ทั้ง 5 โครงสร้าง มีความเหมาะสมที่ใช้ในการศึกษา Docking ต่อไป

ผลการคำนวณ Docking ของอนุพันธ์ควิโนลีนเปรียบเทียบกับ TMC278 โดยใช้เอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ทั้ง 5 โครงสร้าง ให้ผลการคำนวณค่าพลังงานอิสระในการจับใกล้เคียง TMC278 ซึ่งเครื่องบ่งชี้ได้ว่าอนุพันธ์ควิโนลีนมีฤทธิ์การยับยั้งไวรัส HIV-1 RT ซึ่งการวางตัวของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT มีการวางตัวแบบเดียวกับ TMC278 ในรูปแบบเกือบมาก ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาโครงสร้างเอนไซม์ HIV-1 RT แบบชนิดไม่มีกลายพันธุ์ 2 โครงสร้างได้แก่ 2ZD1 และ 4G1Q เนื่องจาก 2ZD1 เป็นโครงสร้างที่ล้าหลัง จึงไม่เหมาะสมกับสถานะการปัจจุบันที่มีโครงสร้างใหม่ที่ดีกว่า 4G1Q อาทิเช่น ค่า Resolution ของโครงสร้างที่ต่ำกว่าโครงสร้างเก่า ดังนั้นคณะผู้วิจัยเลือกเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT (4G1Q) ในการศึกษาในด้านกลศาสตร์ควอนตัมเพื่อเกิดความเข้าใจการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งและ TMC278 กับกรดอะมิโนในบริเวณโพรงการจับต่อไป

ผลการคำนวณอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนและ TMC278 กับกรดอะมิโนบริเวณฉพรงการเข้าจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT เมื่อทำการพิจารณากรดอะมิโนรอบๆ ตัวยับยั้งในรัศมี 5.00 Å พบกรดอะมิโนจำนวน 15 กรดอะมิโน โดยพบว่าอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างมีค่าการเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่มีรูปแบบการกระจายพลังงานออกไปโดยไม่มีการกระจุกของค่าอันตรกิริยาไว้กับกรดอะมิโนเพียง 1 กรดอะมิโนเหมือนกับ TMC278 ที่ตำแหน่ง Lys101 ซึ่งมีกรดอะมิโนที่สำคัญอยู่ 5 กรดอะมิโน ที่ให้ค่าอันตรกิริยาที่ติดลบมากกว่า TMC278 ซึ่งค่าอันตรกิริยาของ TMC278 เพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้เกิดการกลายพันธุ์ที่กรดอะมิโนที่มีค่าติดลบมาก

ผลการคำนวณค่า IE-BSSE ของอนุพันธ์ควิโนลีนและ TMC278 ให้ค่าอันตรกิริยาที่มีความถูกต้องแม่นยำเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการคำนวณ IE-BSSE จะลดความผิดพลาดของระเบียบวิธีคำนวณและเบซิสเซต โดยคำนวณแต่ไม่เลกุลแยกออกจากกัน

3. ข้อเสนอแนะ

ในปัจจุบันยังไม่มีตัวยับยั้งที่สามารถยับยั้งเชื้อไวรัส HIV-1 ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด เนื่องจากเชื้อไวรัสสามารถเกิดการกลายพันธุ์ได้ จากข้อมูลในงานวิจัยโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้างและ TMC278 กับกรดอะมิโนภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1 RT ดังกล่าวนี พบว่าอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 โครงสร้าง ยังมีแนวโน้มในการพัฒนาตัวยับยั้งให้มีการเข้าจับกับเอนไซม์เป้าหมาย HIV-1RT โดยการเปลี่ยนหมู่แทนที่ที่มีฤทธิ์ดีกว่าเดิมในตำแหน่งที่ 2, 4, 6 หรือตำแหน่งใหม่ๆ บนโครงสร้างของอนุพันธ์ควิโนลีน หรือ การนำโครงสร้างของอนุพันธ์ควิโนลีนทั้ง 2 ไปทำการคำนวณกับเชื้อไวรัสชนิดอื่นๆ เพื่อได้ทราบถึงการออกฤทธิ์กับเชื้อไวรัสหรือโรคอื่นๆ ซึ่งแนวทางการใช้ประโยชน์ของอนุพันธ์ควิโนลีน โดยหวังว่าสามารถนำไปใช้เป็นตัวยับยั้งร่วมกับตัวยับยั้งที่ใช้อยู่ในปัจจุบันเพื่อเป็นทางเลือกให้กับบุคลากรทางการแพทย์ในการรักษาผู้ติดเชื้อ HIV-1 RT ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

บรรณานุกรม

- Chander, S., et al. (2016). Design, synthesis and in-vitro evaluation of novel tetrahydroquinoline carbamates as HIV-1 RT inhibitor and their antifungal activity. *Bioorg Chem*, 64, 66-73.
- Chander, S., et al. (2017). Synthesis and study of anti-HIV-1 RT activity of 5-benzoyl-4-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1,5-benzodiazepin-2-one derivatives. *Bioorg Chem*, 72, 74-79.
- Ding, L., et al. (2021). Improving Druggability of Novel Diarylpyrimidine NNRTIs by a Fragment-Based Replacement Strategy: From Biphenyl-DAPYs to Heteroaromatic-Biphenyl-DAPYs. *J Med Chem*, 64(14), 10297-10311.
- He, Q. Q., et al. (2011). Structural modifications of quinolone-3-carboxylic acids with anti-HIV activity. *Bioorg Med Chem*, 19(16), 5039-5045.
- Huang, B., et al. (2019). Exploiting the Tolerant Region I of the Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor (NNRTI) Binding Pocket: Discovery of Potent Diarylpyrimidine-Typed HIV-1 NNRTIs against Wild-Type and E138K Mutant Virus with Significantly Improved Water Solubility and Favorable Safety Profiles. *J Med Chem*, 62(4), 2083-2098.
- Jin, K., et al. (2018). Design and synthesis of a novel series of non-nucleoside HIV-1 inhibitors bearing pyrimidine and N-substituted aromatic piperazine. *Bioorg Med Chem Lett*, 28(22), 3491-3495.
- Jin, K., et al. (2018). Discovery of biphenyl-substituted diarylpyrimidines as non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors with high potency against wild-type and mutant HIV-1. *Eur J Med Chem*, 145, 726-734.
- Kang, D., et al. (2021). 2,4,5-Trisubstituted Pyrimidines as Potent HIV-1 NNRTIs: Rational Design, Synthesis, Activity Evaluation, and Crystallographic Studies. *J Med Chem*, 64(7), 4239-4256.

- Kang, D., et al. (2018). Further Exploring Solvent-Exposed Tolerant Regions of Allosteric Binding Pocket for Novel HIV-1 NNRTIs Discovery. *ACS Med Chem Lett*, 9(4), 370-375.
- Kuno, M., et al. (2006). ONIOM-BSSE scheme for $H\cdots\pi$ system and applications on HIV-1 reverse transcriptase. *Chemical Physics Letters*, 424(1-3), 172-177.
- Lansdon, E. B., et al. (2010). Crystal structures of HIV-1 reverse transcriptase with etravirine (TMC125) and rilpivirine (TMC278): implications for drug design. *J Med Chem*, 53(10), 4295-4299.
- Li, D., et al. (2013). Synthesis and biological evaluation of pyridazine derivatives as novel HIV-1 NNRTIs. *Bioorg Med Chem*, 21(7), 2128-2134.
- Lu, X., et al. (2018). The discovery of novel diarylpyri(mi)dine derivatives with high level activity against a wide variety of HIV-1 strains as well as against HIV-2. *Bioorg Med Chem*, 26(8), 2051-2060.
- Mao, T. Q., et al. (2015). Anti-HIV diarylpyrimidine-quinolone hybrids and their mode of action. *Bioorg Med Chem*, 23(13), 3860-3868.
- Namasivayam, V., et al. (2019). The Journey of HIV-1 Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs) from Lab to Clinic. *J Med Chem*, 62(10), 4851-4883.
- Pandey, R. K., et al. (2018). Chemical system biology based molecular interactions to identify inhibitors against Q151M mutant of HIV-1 reverse transcriptase. *Infect Genet Evol*, 63, 5-12.
- Poongavanam, V., et al. (2014). Inhibitor ranking through QM based chelation calculations for virtual screening of HIV-1 RNase H inhibition. *PLoS One*, 9(6), e98659.
- Samanta, P. N., et al. (2017). Inhibition activities of catechol diether based non-nucleoside inhibitors against the HIV reverse transcriptase variants: Insights from molecular docking and ONIOM calculations. *J Mol Graph Model*, 75, 294-305.
- Sanusi, Z. K., et al. (2017). Investigation of the binding free energies of FDA approved drugs against subtype B and C-SA HIV PR: ONIOM approach. *J Mol Graph Model*, 76, 77-85.

- Tian, Y., et al. (2018). Targeting the entrance channel of NNIBP: Discovery of diarylnicotinamide 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles as novel HIV-1 NNRTIs with high potency against wild-type and E138K mutant virus. *Eur J Med Chem*, 151, 339-350.
- Wang, J., et al. (2014). Discovery of nitropyridine derivatives as potent HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors via a structure-based core refining approach. *Eur J Med Chem*, 76, 531-538.
- Xu, H., et al. (2018). DFT study of nanotubes as the drug delivery vehicles of Efavirenz. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1131, 57-68.
- Zeng, Z. S., et al. (2010). Hybrid diarylbenzopyrimidine non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors as promising new leads for improved anti-HIV-1 chemotherapy. *Bioorg Med Chem*, 18(14), 5039-5047.
- วิเศษฐ์ ลีลามานิตย์. (2550). เทคนิคชีวเคมีขั้นสูง: การวิจัยทางเภสัชศาสตร์และการพัฒนายาใหม่. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- โสภา วัชรคุปต์. (2551). เคมีของยา ฉบับ 1: *Medicinal Chemistry Volume I* (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพมหานคร: พี.เอส.พรินท์.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ร้อยตำรวจเอก พศวัต บุญเฟื่อง
วัน เดือน ปี เกิด	11 พฤษภาคม 2537
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลรามคำแหง กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2559 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ที่อยู่ปัจจุบัน	5/349 หมู่บ้านตะวันตก ซอย จตุโชติ12 ถนน สุขุมวิท5 แขวงออกเงิน เขตสายไหม กรุงเทพมหานคร

