โครงสร้างและพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

สารนิพนธ์

ของ

นวทรัพย์ พิชัยสามารถ

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
มีนาคม 2554

โครงสร้างและพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์ การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

สารนิพนธ์

ของ

นวทรัพย์ พิชัยสามารถ

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

มีนาคม 2554

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โครงสร้างและพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

บทคัดย่อ

ของ

นวทรัพย์ พิชัยสามารถ

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
มีนาคม 2554

นวทรัพย์ พิชัยสามารถ. (2554). *โครงสร้างและพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์.* สารนิพนธ์ กศ.ม. (เคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มะยูโซะ กูโน.

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาโครงสร้างและพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์ โดยทำการศึกษาพลังงานอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นด้วยระเบียบวิธี HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G (d,p) เพื่ออธิบายการกระจายของพลังงานที่เกิดขึ้นในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 กับตัวยับยั้ง TMC 278 ซึ่งพบแรงผลักที่เกิดจาก Lys103 ของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-11 กับตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะ 2.95 อังสรอม ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพของตัวยับยั้งลดลงและแรงดึงดูดแบบพันธะไฮโดรเจน 2 พันธะ คือ ระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิล Lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนบนเอมีนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะประมาณ 2.36 อังสตรอม และระหว่างอะตอมของไฮโดรเจนบนหมู่อะมิโนของ Lys101 กับอะตอมของไนโตรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะประมาณ 2.62 อังสตรอม พลังงานอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นอันตรกิริยาแบบดึงดูดจะทำให้การยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 มีประสิทธิภาพ และเพื่อให้เกิดความถูกต้องของพลังงานพลังงานอันตรกิริยามากยิ่งขึ้น จึงได้ทำการแก้ไขพลังงานทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีคำนวณแบบ BSSE ผลการศึกษาสอดคล้องกับข้อมูลข้างต้น จึงมีประโยชน์ในการที่จะนำไปสู่การพัฒนาหรือออกแบบโครงสร้างตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์ตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการจับกับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ต่อไป

STRUCTURE AND ENERGETIC ANALYSIS FOR WILD TYPE HIV - 1 REVERSE TRANSCRIPTASE BINDING SITE IN THE COMPLEX WITH TMC 278

AN ABSTRACT

BY

NAWASUP PICHAISAMART

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Master of Education Degree in Science Education

at Srinakharinwirot University

March 2011

Nawasup Pichaisamart. (2011). *Structure and energetic analysis for wild type Reverse Transcriptase Binding Site in the Complex with TMC278.* Master's Project, M.Ed. (Chemistry).Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Project Advisor: Asst. Prof. Dr Mayuso Kuno.

The purpose of this project was to study the structure and energetic analysis for not having mutant and HIV-1 reverse transcriptase binding site in the complex with TMC 278 inhibitor based on quantum chemical calculation or computational chemistry. Investigation was made by HF/6-31G(d,p) basis set and B3LYP/6-31G(d,p) basis set for explanation of binding energies of HIV-1 reverse transcriptase binding site. The results indicate that there were pushing force which caused from Lys103 of binging energies of HIV-1 reverse transcriptase binding site in complex with TMC278 inhibitor showed estimated average distanse of 2.95 ^{o}A . These interactions are attractive interaction which decrease efficiency for inhibited HIV-1 and attractive interaction Lys101 which are two hydrogen bonding interactions between the oxygen atom on carbonyl group of Lys101 and the hydrogen atom on amine group of TMC 278 inhibitor showed estimated average distance of 2.36 A$^{\circ}$. and between hydrogen atom on amino group of Lys101 Nitrogen atom group of TMC278 inhibitor showed average distance of 2.62 ^{o}A .These interactions are attractive interactions which is efficiency for inhibited HIV-1 reverse transcriptase and all of interaction energies corrected by Basis set super position error calculation (BSSE) that the same result. The obtained results can be used to get more understanding of drug – enzyme interactions which will be helpful for the development and design of new higher potent inhibitor active against not having mutant HIV-1 reverse transcriptase.

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตร และคณะกรรมการสอบได้พิจารณาสารนิพนธ์เรื่อง โครงสร้างและพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ของ นวทรัพย์ พิชัยสามารถ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มะยูโซ๊ะ กูโน)

ประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตร

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.จินดา แต้มบรรจง)

คณะกรรมการสอบ

..... ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มะยูโซ๊ะ กูโน)

..... กรรมการสอบสารนิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธารารัตน์ ศุภศิริ)

..... กรรมการสอบสารนิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัตนา สัมพันธชิต)

อนุมัติให้รับสารนิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิเชียร มากตุ่น)

วันที่ เดือน มกราคม พ.ศ. 2554

ประกาศคุณูปการ

สารนิพนธ์เล่มนี้ประสบความสำเร็จได้ด้วยดี เพราะผู้วิจัยได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มะยูโซ๊ะ กูโน ประธานกรรมการที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ท่านได้แนะนำ ชี้แนะ และเสียสละเวลาเพื่อให้คำปรึกษาแนะนำในการดำเนินการวิจัยทุกขั้นตอน ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ อย่างดียิ่ง อีกทั้งทำให้ผู้วิจัยได้รับประสบการณ์ในการทำงานวิจัย ได้รู้และเห็นคุณค่าของงานวิจัย และพร้อมทั้งเป็นแบบอย่างของอาจารย์ที่ทุ่มเทให้กับศิษย์ในงานด้านการวิจัยและพัฒนาอย่างไม่เหน็ดเหนื่อย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้ง และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ธารารัตน์ ศุภศิริ ที่ช่วยชี้แนะทุกอย่างที่เกี่ยวกับด้านชีวโมเลกุลทำให้ผู้วิจัยมีความเข้าใจมากยิ่งขึ้น

และผู้ช่วยรองศาสตราจารย์รัตนา สัมพันธชิต ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการสอบสารนิพนธ์นี้

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาความรู้แก่ผู้วิจัยในการศึกษาตามหลักสูตร การศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ซึ่งทำให้ผู้วิจัยไดรับความรู้อย่างเต็มเปี่ยม สามารถนำความรู้ไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

ขอขอบใจน้องๆ กศ.ม.เคมี (ภาคพิเศษ) รุ่นที่ 1 ที่เป็นกำลังใจและคอยช่วยเหลือมาโดยตลอด

คุณค่าและประโยชน์ของสารนิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณต่อครอบครัว “ วงศ์สามารถ ” ที่มอบความเพียร ความไม่ย่อท้อ ต่อชีวิตของข้าพเจ้า

นวทรัพย์ พิชัยสามารถ

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	**บทนำ**	1
	ภูมิหลัง	1
	ความมุ่งหมายของการวิจัย	5
	ความสำคัญของการวิจัย	6
	ขอบเขตของการวิจัย	6
	นิยามศัพท์เฉพาะ	6
2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	8
	เอกสารความรู้เกี่ยวกับโรคเอดส์	8
	ยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์	15
	การออกแบบตัวยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์	16
	ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์	20
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	22
3	**วิธีดำเนินการวิจัย**	26
	การเตรียมโครงสร้างระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับ เอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์	26
	การคำนวณอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ กรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์	30
	การแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE	30
4	**ผลการวิเคราะห์ข้อมูล**	32
	พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโน ที่อยู่ในบริเวณการจับ ของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์	32
	ผลการแก้ไขอันตรกิริยาด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE	47
5	**สรุปผลการวิจัย อภิปราย และข้อเสนอแนะ**	50

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
บรรณานุกรม	51
ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์	55

บัญชีตาราง

ตาราง **หน้า**

1 รายการยาต้านไวรัส กลุ่ม Nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) ที่ใช้ในปัจจุบัน 4

2 รายการยาต้านไวรัส กลุ่ม Non-nucleoside reverse transcriptase Inhibitor (NNRTI) 5

3 จำนวนผู้ป่วยต่างชาติในไทย 11

4 การคาดประมาณจำนวนผู้ติดเชื้อผู้ป่วยเอดส์ในประเทศไทยในอนาคต 12

5 การคาดประมาณจำนวนผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ในประเทศไทย 13

6 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G (d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 1 33

7 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G (d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 2 40

8 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G (d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 1 และโครงสร้างแบบที่ 2 46

9 การแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE ของโครงสร้างแบบที่ 1 และโครงสร้างแบบที่ 2 48

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ		หน้า
1	โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 2zd1.pdb	3
2	วงจรชีวิตของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี	9
3	ผังระเบียบวิธีใช้ในงานด้านเคมีคอมพิวเตอร์	21
4	โครงสร้าง X – ray จากฐานข้อมูลของโปรตีน รหัส 2zd1.pdb	26
5	บริเวณการจับของเอนไซม์ถ่ายแบบ HIV-1 โดยกำหนดให้ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลาง แล้วเลือกกรดอะมิโนที่อยู่รอบๆ ในรัศมี 7 อะตอม	27
6	(a) 22 กรดอะมิโน บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 โดยกำหนดให้ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลาง แล้วเลือกกรดอะมิโนที่อยู่รอบๆ ในรัศมี 7 อะตอม (b) ชนิดของหมู่ที่ใช้ cap ปลายของกรดอะมิโน	28
7	บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 กับตัวยับยั้ง TMC278 โดยการเติมไฮโดรเจนอะตอมเพื่อให้โครงสร้างสมบูรณ์	29
8	กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 1 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G (d,p)	34
9	พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของ Lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.62 , 2.46 และ 2.36 อังสตรอม	35
10	พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของ Lys102 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.46 อังสตรอม	36
11	พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของ Pro236 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 3.08 อังสตรอม	37
12	แรงผลักอะตอมไฮโดรเจนของ Lys103 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.95 อังสตรอม	38
13	กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 2 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p)	41
14	พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของ Lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เอมีน ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.62 และ 2.36 อังสตรอม	42

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

15 พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมไฮโดรเจนของ Typ229 กับอะตอมของไนโตรเจนไฮโดรเจนของหมู่ benzonitrile ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.36 อังสตรอม 43

16 พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมไฮโดรเจนของ His235 กับอะตอมของไนโตรเจนของหมู่ benzonitrile ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 3.51 อังสตรอม 43

17 แรงผลักอะตอมไฮโดรเจนของ Leu100 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เอมีนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.52 อังสตรอม 44

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

โรคเอดส์มีสาเหตุจากเชื้อไวรัส ที่มีชื่อว่า Human Immunodeficiency Virus (HIV) โดยเชื้อที่เป็นปัญหาก่อโรครุนแรงและแพร่กระจายทั่วโลก คือ HIV-1 ซึ่ง HIV-1 เป็น RNA Virusมีลักษณะเป็นทรงกลม เปลือกนอกมีปุ่มยื่นออกมา เชื้อ HIV จะใช้ปุ่มนี้เกาะเม็ดเลือดขาวในร่างกายและแทรกเข้าไปอยู่ในเม็ดเลือดขาวเพื่ออยู่อาศัยแบ่งตัวและขยายพันธุ์ทำให้เม็ดเลือดขาวที่ติดเชื้อ HIV ถูกทำลายไม่สามารถทำหน้าที่จัดการกับเชื้อโรคต่างๆ ที่อยู่ในร่างกายได้ เมื่อเชื้อ HIV มีปริมาณมากขึ้นเม็ดเลือดขาวก็ถูกทำลายลงไปเรื่อยๆ จนถึงระดับที่ไม่สามารถจัดการกับเชื้อโรคต่างๆได้ เรียกภาวะนี้ว่า ภูมิคุ้มกันบกพร่อง ซึ่งในภาษาอังกฤษเรียกว่า เอดส์ (Acquired Immune Deficiency Syndrome หรือ Acquired Immunodeficiency Syndrome; AIDS) ในภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องนี้ทำให้ติดเชื้อโรคอื่นๆ ได้ง่ายขึ้น เช่น วัณโรค ปอดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ หรือเป็นมะเร็งบางชนิดได้ง่ายกว่าคนปกติ อาการจะรุนแรงและเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิต (วินัส บุญโสม. 2551)

ปัจจุบันโรคเอดส์มีการตรวจพบทั่วโลก และประมาณการว่ามีผู้เสียชีวิตเนื่องจากโรคเอดส์อย่างน้อย 25 ล้านคน ตั้งแต่ถูกค้นพบในปี พ.ศ. 2524 (ค.ศ. 1981) นับเป็นโรคที่มีอันตรายสูงโรคหนึ่งของประวัติศาสตร์มนุษยชาติ ในปี พ.ศ. 2548 ประมาณการว่ามีผู้ติดโรคเอดส์ประมาณ 3.1 ล้านคน (ระหว่าง 2.8-3.6 ล้าน) ซึ่ง 570,000 คนของผู้ป่วยโรคเอดส์เป็นเด็ก (กรมควบคุมโรคกระทรวงสาธารณสุข. 2551) การรักษาในปัจจุบันนั้นมีการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันไวรัสชนิดนี้ เช่นAIDSVAX ซึ่งเป็นวัคซีนที่สร้างโดย Brisbane ของบริษัท VaxGen, Inc ในแคลิฟอร์เนีย แต่ประสบความล้มเหลวในทดลองกับอาสาสมัคร 5,400 คนในอเมริกาเหนือ และล้มเหลวอีกครั้งในการทดลองกับอาสาสมัคร 2,400 คนในประเทศไทย จึงพบว่าไม่ประสบผลสำเร็จและอาจต้องใช้ระยะเวลาในการพัฒนาอีกนานหลายปี (ประสิทธิ. 2551) นอกจากนี้การรักษาในปัจจุบันยังรักษาด้วยยาต้านไวรัสเอดส์ ซึ่งเป็นยาที่มีความแรงสูง และสามารถกดการแบ่งตัวของไวรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้โรคติดเชื้ อเอชไอวี/เอดส์ ซึ่งเดิมมีความรุนแรง กลายเป็นโรคติดเชื้อเรื้อรัง สามารถยืดชีวิตของผู้ติดเชื้อได้นานขึ้น (ธนกร ศิริสมุทร. 2549)

ยาหรือตัวยับยั้งที่ใช้รักษาผู้ป่วยโรคเอดส์ในปัจจุบัน แบ่งตามตำแหน่งที่ออกฤทธิ์ของยา 3 กลุ่ม กลุ่มแรก คือ ตัวยับยั้งเอนไซม์ Reverse transcriptase (Reverse transcriptase inhibitor) โดยเอนไซม์ Reverse transcriptase ของไวรัสจำเป็นต้อง ใช้ในการสร้าง Proviral dsDNA ในระยะที่ไวรัสเข้าสู่เซลล์ ยาจึงยับยั้งไวรัสในการเข้าติดเชื้อเซลล์ใหม่ที่ยังไม่ติดเชื้อมาก่อน แต่มีผลกับเซลล์ที่ติดเชื้อและไวรัสเพิ่มจำนวนแล้ว (Proviral dsDNA เข้ารวมกับโครโมโซมของเซลล์เรียบร้อยแล้ว) ยากลุ่มนี้ ได้แก่ Nucleoside Reverse transcriptase inhibitor (NRTI) และ Non-Nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI)

NRTI ออกฤทธิ์เป็น Competitive inhibitor ต่อ Nucleoside substrate ของเอนไซม์Reverse transcriptase โดยโครงสร้างของตัวยับยั้งเป็น 2',3'-dideoxy-nucleoside analogues มีสูตรโครงสร้างคล้าย Nucleoside ของร่างกาย ได้แก่ Guanosine, Adrenosine, Cytidine, Uridine,Thymidine และ Deoxynucleoside ทั้งหลาย เมื่อน้ำตาล เป็น Deoxyribose แต่ต่างกันที่ยาไม่มี 3-hydroxyl group ทำให้สร้าง 3',5' - phosphodiester bond กับ Nucleoside ตัวอื่นไม่ได้ ทำให้การสร้างสาย DNA ของไวรัสสิ้นสุดลง ยายังจับกับเอนไซม์ Reverse transcriptase (RNA-dependent DNA polymerase) ของไวรัส HIV ได้ดีกว่าเอนไซม์ DNA polymerase (alpha) ของคนมาก (ประมาณ 100 เท่า) ยาจึงมีฤทธิ์ต่อเซลล์ของคนน้อยกว่า(ยกเว้น DNA polymerase gamma ของ mitochondria ซึ่งจับกับยาได้ดีเช่นกัน จึงทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ของยาต่อเซลล์กล้ามเนื้อและตับ) ยากลุ่มนี้เป็น Prodrug ต้องถูก Phosphorylase เป็น dideoxynucleoside 5' triphosphate โดยเอนไซม์ Kinases จึงออกฤทธิ์ได้

NNRTI เป็น Non–competitive inhibitor ซึ่งไม่ได้แย่งกับ Nucleoside substrate ที่ตำแหน่ง Active site ของเอนไซม์และไม่ต้องถูกเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ก่อนที่จะออกฤทธิ์เมื่อจับกับเอนไซม์ Reverse transcriptase ของ HIV-1 ทำให้เอนไซม์เปลี่ยนแปลงรูปร่างแล้วสูญเสียหน้าที่ทำให้ไม่สามารถสร้าง dsDNA ขึ้นมา ซึ่งส่งผลทำให้เกิดการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส และตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะมีลักษณะพิเศษคือนอกจากตัวยับยั้งมีความแรงสูงแล้ว ยังมีความจำเพาะต่อ HIV-1 ของไวรัสเอดส์แต่ตัวยับยั้งไม่มีผลต่อ HIV-2 หรือ RNA ไวรัสอื่นๆ

ตัวยับยั้งในกลุ่มที่ 2 คือ ตัวยับยั้งเอนไซม์ Protease (Protease inhibitor (PI) ยากลุ่มนี้ยับยั้งเอนไซม์ aspartyl protease ของไวรัส HIV-1 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อย Gag และ Gag-Pol Polypeptides precursors หลังกระบวนการ Translation ของไวรัส ซึ่งการย่อย Polypeptides เหล่านี้จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตเต็มที่ของไวรัส การประกอบการสร้างไวรัสตัวใหม่ และการแตกหน่อเพื่อหลุดเป็นไวรัสตัวใหม่ออกมาจากเซลล์ที่มีการติดเชื้อเรียบร้อยแล้ว ทำให้ได้ไวรัสที่ไม่สมบูรณ์และเติบโตไม่เต็มที่แตกออกมา และไม่สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อต่อไป ยากลุ่มนี้ไม่จำเป็นต้องถูกเปลี่ยนแปลงในเซลล์ก่อน นอกจากนี้ยาอาจมีผลในระยะแรกด้วยตั้งแต่ย่อยNuclecapsid ปล่อย RNA ของไวรัสออกมาด้วย ทำให้ผลการยับยั้งการเพิ่มจำนวนไวรัสทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง

ตัวยับยั้งในกลุ่มสุดท้าย คือ ตัวยับยั้งการรวมตัวของเชื้อไวรัสกับเซลล์ (Fusion protein inhibitor) ยานี้จะเข้าจับกับ First heptad-repeat (HR1) ใน gp41 subunit ของ Viral envelope glycoprotein โดยยับยั้งการรวมตัวของ HIV-1 กับ CD4 cell ซึ่งป้องกันโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง gp41 ที่ใช้ในการรวมตัวกับ Cell membrane เพื่อผ่านเข้าสู่ CD4 cell เป็นตัวยา peptide ที่มี 36 amino acid ได้จาก gp41 Transmembrane protein ectodomain ของไวรัส HIV จึงต้องใช้วิธีฉีดเข้าสู่ผิวหนังหรือหยดเข้าหลอดเลือด (รัชนู เจริญพักตร์. 2551)

เป้าหมายในการยับยั้งเชื้อไวรัส HIV ปัจจุบันมี 4 เป้าหมาย คือ เป้าหมายในการยับยั้งการหลอมตัวของไวรัส HIV (Fusion inhibitors) เป้าหมายในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบของไวรัส HIV เป้าหมายในการยับยั้งเอนไซม์อินทิเกรส (Integrase) และเป้าหมายในการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส ซึ่งเป้าหมายที่สำคัญในการยับยั้งเชื้อไวรัส HIV คือ การยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบของไวรัส HIV-1 เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในวงจรชีวิตของไวรัส HIV-1 (กระทรวงศึกษาธิการ 2549: ออนไลน์) ในขั้นตอนการจำลองแบบของการเปลี่ยน Single-strand RNA เป็น Double-strand DNA ก่อนที่จะรวมเข้าไปใน Host genome เพื่อการขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณของเชื้อโรคเอดส์ที่สมบูรณ์ต่อไป แสดงโครงสร้างดังภาพประกอบ 1

ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 รหัส 2zd1.pdb

อย่างไรก็ตามกลไกการยับยั้งและการกลายพันธุ์ของเอนไซม์การถ่ายแบบ หลังจากที่ใช้ตัวยับยั้งในกลุ่ม NRTI และ NNRTI ทำให้เกิดอาการข้างเคียงและอาการไม่พึงประสงค์ ดังมีรายการดังต่อไปนี้ (รัชนู เจริญพักตร์. 2551)

ตาราง 1 แสดงรายการยาต้านไวรัส กลุ่ม Nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) ที่ใช้ในปัจจุบัน

ชื่อยา	ขนาดยาที่แนะนำในผู้ใหญ่	อาการที่ไม่พึงประสงค์
Zidovudine (AZT)	200-300 mg ทุก 12 ชม.	คลื่นไส้ อาเจียน กดไขกระดูก ซีด เม็ดเลือดขาวต่ำ ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย
Didanosine (DDI)	>60 กก. 400 mg (EC) ทุก 24 ชม. หรือ 200 mg ทุก 12 ชม. <60 กก. 250 mg (EC) ทุก 24 ชม. หรือ 125 mg ทุก 12 ชม.	คลื่นไส้ อาเจียน ตับอ่อน อักเสบ มีพิษต่อเส้นประสาทส่วนปลาย
Zalcitabine (DDC)	0.375-0.75 mg ทุก 12 ชม.	ปากอักเสบ มีพิษต่อเส้นประสาทส่วนปลาย
Stavudine (D4T)	>60 กก. 40 mg ทุก 12 ชม. <60 กก. 30 mg ทุก 12 ชม.	ตับอ่อนอักเสบ ชาปลายมือปลายเท้า lipodystory lactic acidosis
Lamivudine (3TC)	150 mg ทุก 12 ชม. หรือ 300 mg ทุก 24 ชม.	มีพิษต่ำ
Abacavir (ABC)	300 mg ทุก 12 ชม. หรือ 600 mg ทุก 24 ชม	ไข้ ผื่น คลื่นไส้ อาเจียน อ่อนเพลีย hypersensitivity reaction
Emtrictabine (FTC)	200 mg ทุก 24 ชม.	ปวดศีรษะ มึนศีรษะ ท้องเสีย hyperpigmentation

ตาราง 2 แสดงรายการยาต้านไวรัส กลุ่ม Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI)

ชื่อยา	ขนาดยาที่แนะนำในผู้ใหญ่	อาการที่ไม่พึงประสงค์
Nevirapine(NVP)	200 mg ทุก 24 ชม.	ผื่นแพ้ยา ตับอักเสบ
Efavirenz (EFV)	600 mg ทุก 24 ชม.	อาการทางระบบประสาทส่วนกลาง เช่น มึนงง วิงเวียน เป็นต้น ผื่นแพ้ยา ตับอักเสบ
Delavirdine	400 mg ทุก 8 ชม.	ผื่นแพ้ยา ปวดศีรษะ

TMC 278 เป็นตัวยับยั้งโรคเอดส์ตัวใหม่ในกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์รุ่นที่สอง เป็นตัวยับยั้งที่มีกัมมันตภาพสูง ครึ่งชีวิต (Half life) ยาวนาน และช่วยลดผลข้างเคียง (Side effect) ได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวยับยั้งในกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์ เช่น เอฟาไวเรนซ์ ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยเอดส์ในเร็วๆนี้

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแ บบ HIV-1 โดยการวิจัยในครั้งนี้จะใช้ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์ เพื่อนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญที่จะใช้ในการอธิบาย และทำให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกในการยับยั้งของเอนไซม์การถ่ายแบบของตัวยับยั้งใน กลุ่มนี้ ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการวิจัยจะเป็นข้อมูลที่สำคัญในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่หรือพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นต่อไป

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาโครงสร้างการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

2. เพื่อคำนวณอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับบริเวณการจับขอ ง เอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบโครงสร้างการเกิดอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

2. ทำให้ทราบค่า การกระจายของ พลังงานการจับ (Binding energy) ระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ โดยการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์

3. เป็นแนวทางในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่หรือพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นและมีกัมมันตภาพที่ดีกว่าเดิม

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยั้ง ยับ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ Semi empirical PM3 HF/ 6-31G (d,p) และ B3LYP/6-31G (d,p)

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. ตัวยับยั้งโรคเอดส์ หมายถึง สารสกัดจากธรรมชาติหรือ สารที่สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่ อหยุดยั้งหรือออกฤทธิ์ต้านการแบ่งตัวหรือการยับยั้งกระบวนการในขั้นตอนวงจรการเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรัสเอดส์ เช่น ยับยั้งในขั้นตอนการใช้เอนไซม์การถ่ายแบบ เป็นต้น ตัวยับยั้งโรคเอดส์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีอยู่ 3 กลุ่ม คือ

1.1 กลุ่มตัวยับยั้งที่ออกฤทธิ์ในขั้นตอนของการยับยั้งเอนไ ซม์การถ่ายแบบ ซึ่งตัวยับยั้งในกลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย

1.1.1 กลุ่มนิวคลีโอไซด์ เช่น เอแซดที ดีดีไอ ดี 4ที หรือ 3ทีซี ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะไปยับยั้งและทำลายเชื้อไวรัสเอดส์ในขั้นตอนของการใช้เอนไซม์การถ่ายแบบโดยมีกัมมันตภาพในการยับยั้งไม่เฉพาะเซลล์ของเชื้อไวรัสเอดส์เท่านั้น แต่ยังทำลายเซลล์ที่ดีในร่างกายด้วย ซึ่งทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยเอดส์ อย่างไรก็ตามตัวยับยั้งในกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสเอดส์ได้ในระดับหนึ่งเท่านั้น แต่ยังพบว่าเชื้อไวรัสเอดส์มีฤทธิ์ต้านทานต่อยาในกลุ่มนี้อีกด้วย ซึ่งทำให้เกิดการดื้อยาได้

1.1.2 กลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์ เช่น เนวิราพีน และเอฟาไวเรนซ์ เป็นตัวยับยั้งที่ได้พัฒนาขึ้นมาตอนหลัง เพื่อแก้อาการดื้อยาของผู้ป่วยเอดส์หลังจากใช้ยาไประยะหนึ่งลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะมีโครงสร้างที่หลากหลาย แต่มีลักษณะที่สำคัญก็คือ มีกัมมันตภาพในการยับยั้งที่จำเพาะต่อเอนไซม์การถ่ายแบบเท่านั้น และมีกัมมันตภาพในการยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำจึงไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติของผู้ป่วยได้ นอกจากนั้นยังพบว่ากลไกการออกฤทธิ์และการจับกับเอนไซม์มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก ซึ่งทำให้โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบสูญเสียสภาพ

และไม่สามารถกระตุ้นกระบวนการจำลองแบบของ Proviral DNA ได้ แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นหลังจากที่ใช้ยาในกลุ่มนี้ระยะหนึ่งพบว่าเชื้อไวรัสเอดส์จะเกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ของตัวยับยั้งมีประสิทธิภาพลดลง

1.2 กลุ่มตัวยับยั้งที่ออกฤทธิ์ขั้นตอนเอนไซม์โปรตีเอส เช่น ซาควินาเวียร์ ริโทนาเวียร์ หรือ เนลฟินาเวียร์ โดยตัวยับยั้งในกลุ่มที่สองนี้มีราคาแพงและมีผลข้างเคียงในระยะยาว มากกว่าตัวยับยั้งในกลุ่มแรก

1.3 กลุ่มยับยั้งการรวมตัวของเชื้อไวรัสกับเซลล์(Fusion protein inhibitor) เช่น Enfuvitide ใช้วิธีฉีดเข้าใต้ผิวหนังหรือหยดเข้าหลอดเลือด ส่งผลทำให้เกิดการระคายเคืองบริเวณที่ฉีด

2. ตัวยับยั้งโรคเอดส์TMC 278 หมายถึง ตัวยับยั้งโรคเอดส์ตัวใหม่ในกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์รุ่นที่สอง ที่คาดว่าจะได้รับการจดทะเบียนจากFDA ในปี ค.ศ. 2009 มีกัมมันตภาพสูง ครึ่งชีวิตยาวนาน ช่วยลดผลข้างเคียงได้มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวยับยั้งในกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์ เช่น เอฟาไวเรนซ์ และที่น่าสนใจ คือ ไม่เหนี่ยวนำให้ไวรัสเปลี่ยนจีโนไทป์ (Genotype) หรือฟีโนไทป์ (Phenotype) ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำมาใช้และสามารถแก้ปัญหาการใช้ตัวยับยั้งกับไวรัสที่เกิดการกลายพันธุ์ได้

3. เอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 หมายถึง เอนไซม์ในวงจรการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส HIV-1ทำหน้าที่จำลองแบบการเปลี่ยน Single-strand RNA เป็น Double-strand DNA ก่อนที่จะรวมเข้าไปใน Host genome เพื่อขยายพันธุ์เชื้อไวรัส HIV-1ที่สมบูรณ์ ถือว่าเป็นเอนไซม์เป้าหมายที่ใช้ในการค้นหาตัวยับยั้งใหม่ๆ หรือพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นเพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยเอดส์

4. ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมี ควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์ หมายถึง วิธีการคำนวณทางคอมพิวเตอร์ที่เกิดจากวิชาพื้นฐานของทฤษฎีกลศาสตร์ควอนตัม และทฤษฎีกลศาสตร์สถิติ สามารถใช้วัดสมบัติของสารได้ถึงระดับอะตอมหรือโมเลกุล เช่น ระเบียบวิธีการคำนวณ Semi empirical PM3 HF/6-31G (d,p) และ B3LYP/6-31G (d,p) และคำนวณพลังงานให้มีความถูกต้องยิ่งขึ้นด้วยระเบียบวิธี BSSE (Basis set super position error) เฉพาะระเบียบวิธีการคำนวณ HF/6-31G (d,p) และ B3LYP/6-31G (d,p)

5. โครงสร้างแบบที่ 1 หมายถึง โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่มีการปรับโครงสร้างของไฮโดรเจนอะตอมและ TMC 278 ทุกอะตอม ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ Semi empiricalPM3 แต่ยังรักษาตำแหน่งของกรดอะมิโนทุกอะตอมที่ได้จากโครงสร้างของ X-ray โดยมีการ cap ด้วยหมู่อะซิทิลและหมู่เมทิลอะมิโน

6. โครงสร้างแบบที่ 2 หมายถึง โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่มีการปรับโครงสร้างของไฮโดรเจนอะตอม และ TMC 278 ทุกอะตอม ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ Semi empirical PM3 แต่ยังรักษาตำแหน่งของกรดอะมิโนทุกอะตอมที่ได้จากโครงสร้างของ X-ray โดยมีการ cap ด้วยไฮโดรเจนอะตอม

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. เอกสารความรู้เกี่ยวกับโรคเอดส์
2. ยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์
3. การออกแบบตัวยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์
4. ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์
5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. เอกสารความรู้เกี่ยวกับโรคเอดส์

1.1 ความหมายของโรคเอดส์

โรคเอดส์ (AIDS หรือ Acquired Immune Deficiency Syndromes) คือ โรคที่ทำให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายบกพร่องจนไม่สามารถต่อสู้เชื้อโรค หรือสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ ที่เข้าสู่ร่างกาย ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ที่เป็นอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ง่ายกว่าคนปกติ

A = Acquired หมายถึง สภาวะที่เกิดขึ้นมาภายหลัง ไม่ได้มีมาแต่กำเนิด

I = Immune หมายถึง ส่วนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน หรือภูมิต้านทานของร่างกาย

D = Deficiency หมายถึง ความเสื่อมลง

S = Syndrome หมายถึง กลุ่มอาการ หรืออาการหลายอย่างไม่เฉพาะระบบใดระบบหนึ่ง (ศูนย์ข้อมูลโรคติดเชื้อและพาหะนำโรค. 2551)

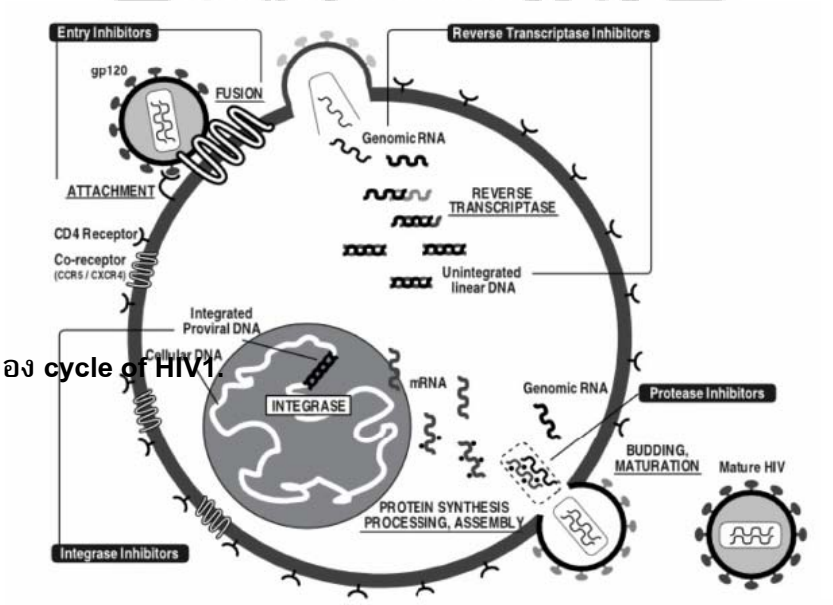
เอดส์ หมายถึง กลุ่มอาการของโรคที่เกิดจากภูมิคุ้มกันในร่างกายเสื่อม หรือบกพร่อง เกิดจากเชื้อไวรัส Lentivirus spp. หรือเชื้อ HIV-1 (นิพรรณพร วรมงคล. 2545); เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะเข้าไปทำลายเม็ดเลือดขาว ซึ่งเป็นแหล่งสร้างภูมิคุ้มกันโรค ทำให้ภูมิต้านทานลดลง เป็นผลให้ติดเชื้อโรคชนิดฉวยโอกาส เช่น ปอดบวม วัณโรค หรือเป็นมะเร็งบางชนิดได้ง่ายกว่าคนปกติ เช่น มะเร็ง ของหลอดเลือด อาการจะรุนแรงและเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว (โรคเอดส์และยาเสพติด. 2551: ออนไลน์)

1.2 เชื้อไวรัส HIV

ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสHIV เชื้อ HIV-1 เป็นอาร์เอ็นเอไวรัส ชนิดสายเดี่ยว จีโนมมีความยาว 9 กิโลเบส ประกอบไปด้วยยีน 9 ชนิดควบคุมการสร้างโปรตีน โปรตีนที่สำคัญของเชื้อไวรัส HIV ได้แก่ โปรตีนโครงสร้าง หรือที่เรียกว่า Structural proteins ได้แก่ Gag, Pol, และ Env โปรตีนควบคุมการทำงานของไวรัสเรียกว่า Regulatory proteins ได้แก่ Tat, Rev โปรตีนที่ทำหน้าที่เสริม

หรือ Accessory proteins ได้แก่ Vpu, Vpr, Vif, และ Nef ชนิดหลักๆ ของเชื้อ HIV-1 ได้แก่ M (main), N (new), และ O (outlier) ในกลุ่ม M group ซึ่งพบได้มากถึงกว่าร้อยละ 90 ทั่วโลก แบ่งเป็น 9 ชนิดย่อย เรียกว่า Clades กำหนดให้เรียกเป็นลำดับตัวอักษร A-D, F-H, J, และ K ในสหรัฐอเมริกาและทางยุโรปตะวันตก พบชนิดClade B มากที่สุด แตกต่างจากที่พบในเอเชียและแอฟริกา ความหนาแน่นของไวรัสพบมากที่สุดในทวีปแอฟริกา บริเวณส่วนที่อยู่ใต้ทะเลทรายซาฮารา ยาต้านไวรัสที่ผลิตในปัจจุบันส่วนใหญ่ได้ผลดีในการทำลายเชื้อ HIV ชนิด Clade B เมื่อนำยาต้านไวรัสไปใช้ในบริเวณอื่นๆ การตอบสนองต่อการรักษาอาจแตกต่างไปได้บ้าง รวมทั้งกลไกการดื้อยาที่เกิดจากมิวเตชัน ความแตกต่างและความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อไวรัส HIV มีความสำคัญในการพัฒนาวัคซีนเป็นอย่างมาก แอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นเมื่อต่อต้านไวรัส และปฏิกิริยาจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte จะมีความจำเพาะเจาะจงสูง (โรงเรียนพัทธยาอรุโณทัย ชลบุรี. 2549)

1.3 วงจรชีวิตของเชื้อไวรัส HIV



วงจรชีวิตของ cycle of HIV1

ภาพประกอบ 2 วงจรชีวิตของเชื้อไวรัส HIV

ที่มา: รัชนู เจริญพักตร์. (2551). *Tenofovir Disoproxil Fumarate : ยาต้านเชื้อไวรัส HIV ชนิดใหม่.* ออนไลน์.

จากภาพประกอบ 2 เมื่อไวรัสผ่านเข้าสู่ร่างกายเข้าสู่กระแสเลือด ไวรัสจะเคลื่อนที่ไปจับกับเซลล์ที่มี CD4 receptor ที่ผิวเซลล์ เช่น T lymphocyte, Monocytes/Macrophage, Follicular cell ของต่อมน้ำเหลืองLangerhans cells ที่ผิวหนัง นอกจากนี้ยังมีเซลล์ในอวัยวะอื่นๆอีกที่มี CD4 receptor

ที่ไวรัสจะสามารถไปติดได้ แต่ตัวที่สำคัญที่สุดคือ T lymphocyte เมื่อไวรัสมาจับที่ผิวเซลล์ที่มี CD4 receptor จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดการรวมตัวระหว่างไวรัสกับเซลล์เป้าหมาย แกนของไวรัสจะเข้าไปใน Cytoplasm ของเซลล์ แล้ว Genomic RNA ถูก Transcribed เป็น Single stranded DNA และต่อมาเป็น Double stranded circular DNA โดยใช้เอนไซม์การถ่ายแบบ แล้วเข้ารวมตัวกับ DNA ของเซลล์เป้าหมาย โดยอาศัยเอนไซม์อินทิเกรสของไวรัส และทำให้เกิดการเพิ่มจำนวน ซึ่งประกอบด้วยการสร้าง mRNA และ Genomic RNA จาก Proviral dsDNA ของไวรัส และสร้างเป็นโปรตีนต่างๆ ของไวรัสจาก mRNA ด้วย Ribosome ของเซลล์เป้าหมาย เกิดการรวมระหว่าง Genomic RNA ของไวรัสกับโปรตีนต่าง ๆ เพื่อสร้างเป็นไวรัสใหม่ จากนั้นจะมีการสร้าง Envelope จากเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมายและแตกหน่อ (Budding) ออกจากเซลล์ ปล่อยไวรัสออกมามากมายโดยอาศัยเอนไซม์โปรตีเอสและเอนไซม์อื่นๆ ของไวรัส ซึ่งความรู้ที่ได้จากการศึกษาวงจรชีวิตของเชื้อไวรัส HIV จะนำไปสู่การสร้างออกแบบยาหรือ พัฒนายาต้านไวรัสโดยอาศัยกลไกการออกฤทธิ์ต่างๆ เพื่อยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสต่อไป (รัชนู เจริญพักตร์. 2551: 2-3)

1.4 กลไกการก่อโรคของเชื้อไวรัสเอดส์

เมื่อเชื้อไวรัสเอดส์ผ่านเข้าสู่กระแสเลือดร่างกายจะตอบสนองโดยการสร้างภูมิต้านทานต่อเชื้อเอดส์หรือแอนติบอดีภายในร่างกาย ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเชื้อเอดส์บางส่วนได้ การตรวจหาการติดเชื้อเอดส์จะใช้วิธีตรวจแอนติบอดีแทนการตรวจเชื้อเอดส์ เพราะเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกมากกว่าเชื้อเอดส์จะเข้าเกาะติดกับเม็ดเลือดบางชนิด CD4 ซึ่งปกติทำหน้าที่เป็นภูมิต้านทานเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมอื่น และจะเจาะผ่านเข้าอยู่ภายในเซลล์ เชื้อเอดส์จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นจนเซลล์ CD4 แตกออก เชื้อเอดส์จะเข้าสู่กระแสเลือดไปเกาะเซลล์ CD4 ตัวอื่นๆ ต่อไป ภูมิคุ้มกันร่างกายไม่สามารถทำลายเฉพาะเชื้อเอดส์ที่มีอยู่ในเซลล์CD4 แต่เซลล์ CD4 ที่มีเชื้อเอดส์จะถูกทำลายไปด้วย เพราะภูมิคุ้มกันไม่สามารถเลือกทำลายเฉพาะเชื้อเอดส์ได้ เมื่อเซลล์ CD4 ลดลงเรื่อยๆ ภูมิคุ้มกันร่างกายจึงเสื่อมลงจนไม่สามารถป้องกันเชื้อโรคต่างๆ ได้ (โรคเอดส์. 2551: ออนไลน์)

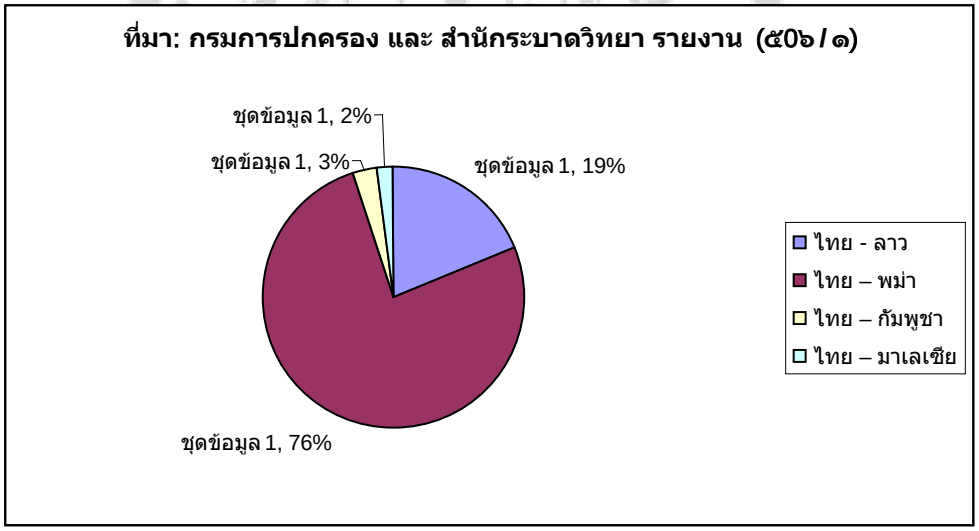
1.5 สถานการณ์โรคเอดส์ในประเทศไทย

จำนวนผู้ป่วยเอดส์ชาวต่างชาติ ในประเทศไทย

จากรายงานของกรมการปกครอง และสำนักระบาดวิทยา พบว่ามีรายงานผู้ป่วยเอดส์ชาวต่างชาติ ในประเทศไทย ในเขตแดนที่ประเทศไทยติดกับประเทศพม่ามากที่สุด คือ 76.1% รองลงมา คือ ชายแดน ไทย-ลาว ชายแดนไทย - กัมพูชา และชายแดนไทย - มาเลเซีย ตามลำดับ

ตาราง 3 จำนวนผู้ป่วยต่างชาติในไทย

ชายแดน	อำเภอ(แห่ง)	จังหวัด(แห่ง)	จำนวนผู้ป่วยเอดส์ต่างชาติ (คน/ร้อยละ)
ไทย - ลาว	48	11	729(19.0 %)
ไทย – พม่า	41	10	2,915(76.1 %)
ไทย – กัมพูชา	21	7	113 (2.95 %)
ไทย – มาเลเซีย	14	4	70 (1.82 %)
รวม	124	32	3,827(100 %)



ที่มา: กรมการปกครอง และสำนักระบาดวิทยา (รายงาน ๕๐๖/๑)

การคาดประมาณจำนวนผู้ติดเชื้อผู้ป่วยเอดส์ในประเทศไทยในอนาคต

สำหรับการคาดประมาณผู้ติดเชื้อเอดส์และผู้ป่วยเอดส์ในประเทศไทย โดยคณะผู้เชี่ยวชาญ (The Thai Working Group) ได้คาดประมาณตัวเลขผู้ติดเชื้อเอชไอวีและผู้ป่วยเอดส์ ในปี พ.ศ.2553 ว่าจะ

- มีผู้ติดเชื้อเอดส์สะสมประมาณ 1,161,694 ราย
- มีผู้เสียชีวิตสะสม ประมาณ 791,859 ราย

- เหลือผู้ติดเชื้อเอดส์ที่ยังมีชีวิตอยู่ และต้องการดูแลรักษา จำนวน 369,834 ราย
- และในจำนวนนี้ เป็นผู้ติดเชื้อเอดส์รายใหม่ ประมาณ11,685 ราย หรือคิดเป็นเฉลี่ยวันละ 32 ราย

ตาราง 4 การคาดประมาณจำนวนผู้ติดเชื้อผู้ป่วยเอดส์ในประเทศไทยในอนาคต

Summary of number of people living with HIV and AIDS,annual new AIDS Cases and cumulative HIV infection,AIDS cases and AIDS-related deaths in the baseline scenario

* Scenarios based on data as of year 2000 (PMTCT implemented in 2000, Access to ARV in 2003)

Year	Living with HIV and AIDS	Annual new HIV	Annual new AIDS	Cumulateive HIV	Cumulateive AIDS	Cumulateive AIDS death
1985	56	56	0	56	0	0
1990	294.144	136,962	1,946	294,840	2,517	697
1995	736,992	60.749	36,183	796.318	101,189	59,326
2000	**694.564**	**29,396**	**54,963**	**983,958**	**358,071**	**289,394**
2005	540,822	18,172	48,932	1,092,327	611,997	551,505
2010	**369,834**	**11,685**	**698**	**1,161,694**	**846,568**	**791,859**
2015	230,878	8,669		1,209,459	1,011,953	978,580
020	157,568	7,919	1	9,950	1,112,955	1,092,382

ติดเชื้อรายใหม่เฉลี่ยวันละ 32 คน

ที่มา: The Thai Working Group on HIV/AIDS Projection, (March 2001, C-3; C-6)

จากการคาดประมาณแนวโน้มของการติดเชื้อเอชไอวีในกลุ่มอายุ 15-24 ปี ในอีก 3 ปีข้างหน้า

- อัตราการติดเชื้อเอชไอวีมีแนวโน้มลดลง การติดเชื้อในกลุ่มอายุ30-34 ปี จะมีการติดเชื้อสูงกว่ากลุ่มอายุอื่นๆ ที่สุด
- ในทางตรงกันข้ามอายุตั้งแต่ 35-39 ปี ขึ้นไปมีแนวโน้มของการติดเชื้อเอชไอวีเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งอาจมีปัจจัยเงื่อนไขอื่นๆ เข้ามาเกี่ยวข้องกับปัญหาในเชิงพฤติกรรมที่จะต้องนำมาอธิบายควบคู่กับการ แก้ไขปัญหาเอดส์ในเชิงความสัมพันธ์ของการติดเชื้อเอชไอวีเพิ่มขึ้นต่อไป

การคาดประมาณจำนวนผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ในประเทศไทย

สำหรับการคาดประมาณผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ในประเทศไทย โดยสำนักโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค ได้คาดประมาณตัวเลขผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ ในปี พ.ศ.2553 ว่าหากประชาชนยังมีพฤติกรรมความเสี่ยงเท่าเดิม เช่น ในผู้เสพยาเสพติดใช้เข็มฉีดยาร่วมกันในระดับสูง ใช้ถุงยางอนามัยในการมีเพศสัมพันธ์ในระดับที่ต่ำ จะมีผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ในปี 2553 ประมาณ 10,853 คน

แต่หากมีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมความเสี่ยงให้ลดลง เช่น ในผู้เสพยาเสพติดใช้เข็มฉีดยาร่วมกันในระดับต่ำ ใช้ถุงยางอนามัยในการมีเพศสัมพันธ์ในระดับที่สูงขึ้นจนเกือบ 100% จะมีผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ในปี 2553 ลดลงเหลือประมาณ 5,261 คน หรือลดลงไปราว 50% ของพฤติกรรมปกติ

ตาราง 5 การคาดประมาณจำนวนผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ในประเทศไทย

ช่องทางการแพร่ระบาด	พฤติกรรมเดิม	การติดเชื้อใหม่ในปี 2010	พฤติกรรมใหม่	การติดเชื้อใหม่ในปี 2010
ผู้เสพยาเสพติด	ใช้เข็มร่วมกัน 36%	941	ใช้เข็มร่วมกัน 18%	467
ชายรักชาย	ใช้ถุงยาง 70%	3,577	ใช้ถุงยาง 90%	1,106
ชายติดจากหญิงบริการ	ใช้ถุงยาง 82%	1,048	ใช้ถุงยาง 95%	248
ชายติดเชื้อจากภรรยา	ใช้ถุงยาง 2%	1,083	ใช้ถุงยาง 30%	768
หญิงบริการ	ใช้ถุงยาง 82%	399	ใช้ถุงยาง 95%	115
ภรรยาติดเชื้อจากสามี	ใช้ถุงยาง 2%	3,034	ใช้ถุงยาง 30%	2087
ติดเชื้อจากเพศสัมพันธ์ชั่วคราว	ใช้ถุงยาง 36%	769	ใช้ถุงยาง 60%	469
รวม		10.853		5,261

ที่มา: สำนักโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

ดังนั้นการรณรงค์ให้ประชาชนทั่วไปและประชาชนกลุ่มเสี่ยงใช้ถุงยางอนามัยในการมีเพศสัมพันธ์กับผู้ที่มิใช่สามีหรือภรรยาของตนเอง จึงมีจำเป็นอย่างมากต่อการลดการแพร่ระบาดของโรคเอดส์ องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นทุกแห่งทั่วประเทศควรจัดงบประมาณประจำปีดังต่อไปนี้

- จัดทำโครงการอบรมเยาวชนให้มีความรู้ความเข้าใจและตระหนักในความร้ายแรงของโรคเอดส์ จากพฤติกรรมเสี่ยงที่เกี่ยวเนื่องต่างๆ เช่น จากสุรา ยาเสพติด บุหรี่ ฯลฯ

- จัดทำโครงการจัดซื้อถุงยางอนามัย เพื่อแจกให้กับประชาชนในชุมชนของ ตนเอง เช่น กลุ่มเยาวชน กลุ่มชายรักชาย กลุ่มผู้มีเพศสัมพันธ์แบบฉาบฉวย กลุ่มผู้ใช้แรงงาน เนื่องจากประชาชนกลุ่มนี้ไม่ได้อยู่ในเป้าหมายการกระจายถุงยางอนามัยของกระทรวงสาธารณสุข (กระทรวงสาธารณสุขสนับสนุนถุงยางอนามัย โดยความเห็นชอบของสำนักงบประมาณ ในกลุ่มหญิงอาชีพบริการทางเพศกลุ่มเดี่ยวเท่านั้น)

1.6 แนวทางการรักษาโรคเอดส์

ปัจจุบันยังไม่มียารักษาโรคเอดส์ให้หายข าดได้ การรักษาจึงเป็นการรักษาโรคติดเชื้ออื่นๆ ที่แทรกซ้อนซึ่งไม่ค่อยได้ผลนัก เพราะผู้ป่วยขาดภูมิต้านทาน และมักเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อ ซึ่งในขณะนี้ยังไม่มียาที่สามารถรักษาโรคเอดส์ให้หายได้ เป็นเพียงยับยั้ง ไม่ให้ไวรัสเอดส์เพิ่มจำนวนมากขึ้นในร่างกาย ผู้ป่วยจะมีอายุยืนยาวไปอีกระยะหนึ่งเท่านั้น

การดูแลสุขภาพด้วยวิธีการทางการแพทย์แผนปัจจุบัน ยาที่ใช้ในการรักษาผู้ติดเชื้อ / ผู้ป่วยเอดส์มี2ลักษณะคือยาต้านไวรัสเอดส์ในปัจจุบัน มี 3 ประเภท คือ

- Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTIs) เช่น AZT, ddl, ddC, d4T, 3TC และ ABC
- Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs) เช่น NVP และEFV
- Protease Inhibitors (PIs) ได้แก่ IDV, RTV, Q4V และ NFV ยาเหล่านี้มีฤทธิ์เพียงยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสเอดส์แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อเอดส์ให้หมดไป จากร่างกายได้และมีผลข้างเคียง ได้แก่ โลหิตจาง คลื่นไส้ อาเจียน ผื่นตามผิวหนัง ฯลฯ ดังนั้นการใช้ยาดังกล่าวต้องอยู่ในการดูแลของแพทย์อย่างใกล้ชิด

ยาป้องกันโรคติดเชื้อฉวยโอกาสหากผู้ป่วยเอดส์มีภูมิต้านทานลดลงมาก (ค่าเม็ดเลือดขาว ชนิด CD4 ต่ำกว่า 200 เซลล์ในเลือก 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร) จะมีโอกาสติดโรคฉวยโอกาสเพิ่มมากขึ้นจึงจำเป็นต้องได้รับยาป้องกัน เช่น

- INH ใช้ป้องกันวัณโรค
- Cotrimoxazole Dapsone Aerozolized pentamidine ใช้ป้องกันโรคปอดบวม
- Itraconazole Fluconazole Amphotericin B ใช้ป้องกันโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ
- Ketoconazole Itraconazole Fluconazole ใช้ป้องกันเชื้อราในขณะนี้ยังไม่มีวัคซีนชนิดใดที่สามารถป้องกันหรือรักษาโรคเอดส์ได้ยังอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัย คาดว่าต้องใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 5 ปี จึงจะทราบผลว่าสำเร็จหรือไม่ (ศูนย์ข้อมูลโรคติดเชื้อและพาหะนำโรค. 2551)

2. ยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์

ยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์ หมายถึง ยาที่สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อหยุดยั้งหรือออกฤทธิ์ด้านการแบ่งตัว การยับยั้งการเกาะจับและเข้าเซลล์ (Interference with attachment and entry) ซึ่งแบ่งขบวนการยับยั้ง ดังนี้

1. การยับยั้งกระบวนการ Reverse Transcription (Inhibition of Reverse Transcription)
2. การยับยั้งกระบวนการ Integration (Inhibition of Proviral Integration)
3. การยับยั้ง Transcription
4. การยับยั้ง Post-translation processing

ยาต้านไวรัสเอดส์ที่มีใช้ทางคลินิกในปัจจุบัน ที่ได้รับการจดทะเบียนโดย US FDA มีทั้งหมด 11 ชนิด ประกอบด้วยยา 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่ม Nucleoside analongues Reverse Transcriptase Inhibitors ได้แก่ AZT, ddC, ddl, d4T และ 3TC เป็นยาที่สร้างด้วยการทดแทนหรือเปลี่ยนแปลง Side chain ของ Nucleosides (Thymidine, Adenosine และ Cytidine) การออกฤทธิ์ของยากลุ่มนี้ต้องผ่านขบวนการPhosphorylation ภายในเซลล์ให้กลายเป็น mono-, di-, และ triphosphate compound ในที่สุดจึงจะออกฤทธิ์ได้ กลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ การแย่งจับกับ HIV-RT (Inhibitory competitor) และการหยุดยั้งการเรียงต่อของลำดับเบสของ DNA (Chain terminator) ในกรณีที่ใช้ยากลุ่มนี้เป็นยาเดี่ยวในการรักษา (Monotherapy) จะสามารถลดจำนวนเชื้อในพลาสมาลงได้เพียง 0.3-0.7 log10 หรือน้อยกว่า 10 เท่า ยกตัวอย่างเช่น หากผู้ป่วยมีเชื้อ100,000 ตัวต่อลบ.ซม. การรักษาด้วย Nucleoside RTI Monontherapy (เช่น AZT หรือ ddl) ณ ประสิทธิภาพสูงสุดของยา ผู้ป่วยรายนี้ก็ยังคงมีจำนวนเชื้ออยู่ในระดับที่มากกว่า 10,000 ตัวต่อลบ.ซมและประกอบกับปัญหาการดื้อยาที่จะเกิดขึ้นในที่สุด จึงไม่สามารถลดอัตราการเกิดเอดส์และอัตราตายได้

2. กลุ่ม Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors ได้แก่ Nevirapine, และ Efavirenz ยาในกลุ่มนี้เป็นยาที่มีโครงสร้างและสูตรทางเคมีที่แตกต่างกัน แต่มีฤทธิ์แรง (Potent) ในการยับยั้งอย่างจำเพาะต่อ Reverse transcriptase (RT) ของ HIV-1 เท่านั้น ไม่มีผลยับยั้งเอนไซม์ของ HIV-2 Hepatitis, Herpes vir และเอนไซม์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแต่อย่างใด และกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างจากยาในกลุ่ม Nucleoside analogue RT inhibitors (NRTIs) หลายประการ เช่น NNRTIs เป็น Active compounds ที่ออกฤทธิ์ได้เลย โดยไม่ต้องผ่านขบ วนการ Phosphorylation หรือ Metabolism อื่นใดอีก การออกฤทธิ์ของ NNRTIs เป็นแบบ Noncompetitive คือไม่มีการแย่งจับแข่งกับ Native nucleotides แต่เป็นการจับ HIV-1 RT ตรงบริเวณล่างลงมา (Downsteam) จาก Catalytic site ยาในกลุ่ม NNRTIs นี้จะถูก Metabolize เกือบทั้งสิ้นที่ตับ ข้อดีของยาในกลุ่ม NNRTIs ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ยาวสามารถรับประทานเพียงวันละ 1-2 ครั้ง ได้เป็นการง่าย (Favorable adherence) แต่ข้อเสียคือเกิดการดื้อยารวดเร็วมากโดยเฉพาะเมื่อใช้เดี่ยว ๆ หรือร่วมกับยาในสูตรที่อ่อนหรือล้มเหลวในการรักษามาก่อน แล ะเมื่อเกิดเชื้อดื้อยาจะเกิดการดื้อต่อยาอื่น ๆ ในกลุ่มนี้ด้วย

ทั้งนี้เนื่องจากยาในกลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันจริงแต่ตำแหน่งที่จับ(Binding pocket) กับเอนไซม์ RT เป็นตำแหน่งเดียวกันหมดนั้นเองความน่าสนใจของกลุ่มนี้นอกจากจะใช้เป็นยาตัวหนึ่งในสูตรยาร่วม 3 ชนิด (Triple therapy) โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ยังไม่มีอาการมาก (Not advanced) (เพื่อเก็บ Protease inhibitors ไว้ใช้ทีหลัง) แล้วยา NNRTIs กลุ่มนี้ เช่น Nevirapine และ DMP-226 ยานี้ อาจมีประโยชน์ในสูตรรักษาแบบระยะสั้น (Short course) ในการป้องกันการติดเชื้อ HIV จากแม่ไปสู่ลูกได้ซึ่งต้องรอผลการศึกษาที่กำลังดำเนินในต่างประเทศต่อไป

3. กลุ่ม HIV-1 Protease Inhibitors : ตัวยับยั้งเอนไซม์ protease ของไวรัส ได้แก่ Saquinavir (Hard capsule, Soft gel capsule), Indinavir, Ritonavir และ Nelfinavir HIV-1 protease Inhibitors เป็น Enzyme ของเชื้อ HIV-1 ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน 2 สายที่เหมือนกัน (Symmetrical isomer) ประกอบด้วยกรดอะมิโน (Amino acids) 99 ตัว มีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการตัดย่อย Gag-pol polypeptide precursor เพื่อทำให้ Immature HIV-1 กลายเป็น Mature infectious ภายหลังกา ร ประกอบรูปร่างไวรัสแล้ว หลายปีที่ผ่านมาจึงมีการพยายามคิดค้นยาเพื่อยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อ HIV โดยออกฤทธิ์ยับยั้ง HIV-1 protease เรียกยากลุ่มนี้ว่า Protease inhibitors ทั้งโดยอาศัยความรู้เกี่ยวกับโครงสร้าง 3 มิติ (3-dimensional structure) ของ HIV-1 protease และการออกแบบโครงสร้าง inhibitor ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (Computer modeling) ทำให้มียา Protease inhibitors เกิดขึ้นหลายตัว อย่างไรก็ตามยารุ่นแรกๆ ส่วนใหญ่เป็น Peptide-based compounds ทำให้มีปัญหาเรื่องการดูดซึม (Oral absorption), Rapid biliary clearance, poor stability และค่าใช้จ่ายสูงในการผลิต ปัจจุบันยา Protease inhibitors รุ่นที่ 2 (Second-generation) จะเน้นโครงสร้างเป็น Partially peptidic หรือ Nonpeptidic ทั้งนี้เพื่อเพิ่มการดูดซึม (Bioavailability) นั่นเอง (กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. 2551: ออนไลน์)

3. การออกแบบตัวยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์

3.1 การออกแบบและพัฒนายา

การออกแบบและการพัฒนายาตัวใหม่ๆ ขึ้นมาเป็นกระบวนการที่ใช้เวลานานและใช้เงินทุนสูงมาก เพราะยาชนิดใหม่นอกจากต้องไม่มีผลข้างเคียงหรือมีผลข้างเคียงน้อยที่สุดแล้ว ยังต้องออกฤทธิ์ ในการรักษาโรคได้ดีขึ้นด้วย กระบวนการพัฒนาจะเกี่ยวข้องกับขั้นตอนของการสังเคราะห์สารจำนวนมาก และการทดสอบในหลอดแก้วเพื่อประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพก่อน ถ้าได้ผลจึงจะทำการทดสอบในสัตว์ทดลองต่อไป และต้องทำการทดสอบหาความเป็นพิษและผลข้างเคียง นอกจากนี้ ยังต้องทำการศึกษาในมนุษย์อย่างละเอียด ก่อนที่จะนำออกสู่ตลาดได้ กระบวนการทั้งหมดนี้ใช้เวลาโดยเฉลี่ยประมาณ 10-12 ปี และใช้เงินทุนมากกว่า 200 ล้านดอลลาร์ต่อการได้ยาที่ใช้รักษาโรคได้ 1 ตัว (ศิริรัตน์ ก๊กผล. 2551)

ในปัจจุบันเทคโนโลยีทางคอมพิวเตอร์มีความก้าว หน้ามากประกอบกับประสิทธิภาพของคอมพิวเตอร์ที่สูงขึ้นเรื่อยๆ ในขณะที่ราคาคอมพิวเตอร์ลดลงไปอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์นำเอาความรู้ทางเคมีเข้ามาช่วยในการออกแบบยาโดยอาศัยเทคโนโลยีทางคอมพิวเตอร์เป็นเครื่องมือ ด้วยวิธีการนี้สามารถช่วยลดจำนวนยาที่ต้องสัง เคราะห์ให้น้อยลงทำให้ประหยัดเวลาและเงินทุนได้อย่างมากรวมทั้งไม่สิ้นเปลืองสัตว์ทดลองอีกด้วย ในการนำเคมีคอมพิวเตอร์มาใช้ออกแบบยานั้น เคมีคอมพิวเตอร์จัดว่าเป็นเรื่องใหม่พอสมควร เป็นการศึกษาในระดับที่เล็กมาก คือ ระดับโมเลกุล เช่น ในการออกแบบยารักษาโรค โดยต้องเข้าใจถึงโครงสร้างของโมเลกุลเอนไซม์ก่อน จึงจะสามารถออกแบบยาให้ไปยึดจับกับเอนไซม์ เพื่อไม่ให้สามารถทำงานได้ โดยจะนำคอมพิวเตอร์เข้ามาใช้ในการสร้างโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์และยาที่ออกแบบ (สุพจน์ หารหนองบัว. 2546)

3.1.1 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Reverse transciptase ของ HIV -1

ยาทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง โดยการทำงานทั่วไปเป็นไปได้สองแนวทาง คือ โมเลกุลยาเข้าไปอยู่บริเวณเร่ง และกันไม่ให้สายเปปไทด์หรือโมเลกุลสับสเตรตเข้าไปในบริเวณนั้นได้ หรือโมเลกุลยาไปฝังตัวอยู่ที่บริเวณอื่นแล้วไปมีผลกระทบต่อโครงสร้างบริเวณเร่งทำให้โครงสร้างผิดไปจากเดิม จนเอนไซม์ไม่สามารถเปลี่ยน สับสเตรตเป็นผลิตภัณฑ์และสามารถหยุดยั้งการทำงานของเอนไซม์ของเชื้อไวรัสได้ อย่างไรก็ตามการที่จะหาโมเลกุลที่มีความจำเพาะสูงมากๆ ที่จะเข้าไปยึดบริเวณเร่งหรือบริเวณยึดจับได้นั้น จำเป็นต้องเข้าใจสมบัติพื้ นฐานของเอนไซม์ ทั้งนี้โมเลกุลยาที่จะสามารถทำหน้าที่ได้นั้น อย่างน้อยควรมีสมบัติพื้นฐาน คือ ขนาดและโครงสร้างของโมเลกุลพอเหมาะ บริเวณเร่งหรือบริเวณยึดจับซึ่งมีลักษณะเป็นช่องว่างเสมือนเข้าไปในถ้ำซึ่งมีซอกหรือโพรงทั้งด้านที่เป็นผนังถ้ำ พื้น และเพดานของถ้ำ โมเลกุลจะต้องมีขนาดที่สามารถผ่านปากถ้ำเข้าไปได้ เข้าไปแล้วต้องวางตัวหรือสอดบางส่วนของโมเลกุลตามซอกหรือโพรงตามผนัง พื้น หรือบนเพดานถ้ำให้ได้ นอกจากนี้ถ้ายึดได้แล้วจะต้องยึดได้แน่นกว่า สับสเตรต จึงจะสามารถป้องกันไม่ให้สับสเตรตสามารถเข้าไปเกิดปฏิกิริยาได้

จากข้อมูลที่กล่าวมาพอจะสรุปได้ว่าการออกแบบหรือการค้นหายาก็คือ การสร้างหรือการค้นหาโมเลกุลที่มีขนาด โครงสร้าง และมีความเป็นขั้วที่เหมาะสม ที่สามารถเคลื่อนที่เข้าไปยึดเกาะที่บริเวณยึดแล้วทำให้โครงสร้างหรือสมบัติอื่นๆ ของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงจนทำให้บริเวณเร่งของเอนไซม์ทำงานไม่ได้ ดังนั้นข้อมูลเบื้องต้นที่จำเป็นต้องทราบ มีดังนี้

3.1.1.1 จำนวนและการเรียงตัวของกรดอะมิโนสำหรับเอนไซม์เป้าหมาย

ก่อนจะเริ่มขั้นตอนของการค้นหาและออกแบบยา ข้อมูลเบื้องต้นที่จำเป็นต้องทราบคือ เอนไซม์เป้าหมายที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับวงจรชีวิตของเชื้อไวรัสนั้นๆ ประกอบด้วยเอนไซม์อะไรบ้าง เช่น วงจรชีวิตของเชื้อไวรัสเอดส์ จะเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ รีเวอร์สทรานสคริปเตส อินทิเกรส และโปรติเอส ซึ่งเอนไซม์ทั้งสามชนิดทำหน้าที่ต่างกัน จากนั้นจึงกำหนดเป้าหมายว่าจะออกแบบและค้น หายาที่จะไปตัดวงจรชีวิตของเชื้อไวรัสในขั้นตอนใด ขั้นตอนต่อไปคือ การค้นหาข้อมูลว่าเอนไซม์ที่ใช้เป็นเป้าหมายนั้นประกอบด้วยลำดับกรดอะมิโนและเรียงตัวกัน

อย่างไร มีโครงสร้างสามมิติหรือไม่ ข้อมูลดังกล่าวสามารถศึกษาได้จากฐานข้อมูลProtein Data Bank จาก www.rcsb.org หรือฐานข้อมูล Gen Bank ใน www.ncbi.nlm.nih.gov เป็นต้น ซึ่งสามารถเข้าไปคัดลอกมาใช้ได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

3.1.1.2 โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ (Three dimensional structure)

โครงสร้างสามมิติที่มีอยู่ในฐานข้อมูล Protein Data Bank ในปัจจุบันส่วนใหญ่ได้จากเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction) ของโครงผลึกเดี่ยวของเอนไซม์ ความยุ่งยากของการหาโครงสร้างสามมิติอยู่ที่การเตรียมผลึกเพื่อให้ได้ผลึกเดี่ยว (Single crystal) ที่เหมาะสม นอกจากนี้ในฐานข้อมูลยังมีโครงสร้างสามมิติที่ได้จากเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกซ์เรโซแนนซ์ เทคนิคทางสเปกโตรสโคปีอื่นๆ รวมทั้งการจำลองที่ได้จากวิธีทางทฤษฎี ส่วนในกรณีที่ไม่มีโครงสร้างสามมิติตามที่ต้องการ จำเป็นต้องทำนายโครงสร้างสามมิติขอ งเอนไซม์ ในปัจจุบันเทคนิคที่นิยมในการใช้ทำนายโครงสร้างสามมิติของโปรตีน ได้แก่ เทคนิคโฮโมโลยี โมเดลลิง (Homology modeling) หรือ คอมพาราทีฟ โมเดลลิง (Comparative modeling) เป็นต้น จากโครงสร้างสามมิติ สามารถใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์หาขนาดและรูปร่างข องโพรงทั้งบริเวณเร่ง บริเวณยึดเกาะ และโพรงตามส่วนต่างๆ ทั้งภายในและโดยรอบโมเลกุลเอนไซม์ได้

3.1.1.3 สมบัติของพลวัติของหน่วยอะมิโนในสายเอนไซม์

ข้อมูลด้านโครงสร้างสามมิติที่ได้จากโครงสร้างผลึกจะเหมือนภาพนิ่ง ซึ่งจะคลาดเคลื่อนไปจากสภาพในร่างกาย ซึ่งอยู่ในสารละลาย ดังนั้นวิธีการที่นิยมใช้เพื่อปรับให้ได้โครงสร้างที่ใกล้เคียงกับสภาพจริงให้มากที่สุด คือ การศึกษาทางทฤษฎีโดยวิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ ซึ่งสามารถจำลองโดยรวมอิทธิพลของตัวทำละลายเข้าไป ผลก็คือจะได้โครงสร้างสามมิติที่มีสมบัติทางพลวัติ (Dynamic property) ซึ่งสามารถบอกข้อมูลการเคลื่อนไหวและการยืดหยุ่นในระดับอะตอมไปจนถึงแสดงความยืดหยุ่นระดับหน่วยอะมิโนแต่ละหน่วย ซึ่งจะช่วยให้เข้าใจการทำงานของเอนไซม์ในระดับโมเลกุลและช่วยในการออกแบบโมเลกุลของยาอีกด้วย ข้อมูลข้างต้นจะนำไปสร้างเป็นแม่แบบเพื่อนำไปใช้ ในการออกแบบยาใหม่หรือค้นหายาจา กฐานข้อมูลหรือจากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ทราบโครงสร้างสามมิติแล้ว

3.1.2 การออกแบโมเลกุลยา

การออกแบบโมเลกุลยาเป็นการออกแบบและสร้างโมเลกุลยาขึ้นใหม่ ซึ่งเป็นการพัฒนาโครงสร้างจากตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น หรือเป็นการค้นหาตัวยับยั้งจากฐานข้อมูลที่มีอยู่แล้ว ซึ่งถ้าเป็นการออกแบบและสร้างโมเลกุลยาขึ้นใหม่จะอาศัยโครงสร้างสามมิติและลักษณะของ โพรงต่างๆ ในโครงสร้างเอนไซม์ ดังนั้นโมเลกุลยาที่ออกแบบและสร้างขึ้นจะต้องสามารถบรรจุลงไปในแม่แบบนั้นได้พอดี และมีหมู่ฟังก์ชัน (Functional group) ที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนในบริเวณผนังด้านในของแม่แบบได้พอเหมาะ ซึ่งการออกแบบเพื่อหาโมเลกุลยาที่มีขนาดพอเหมาะและ เกิดอันตรกิริยา ได้ดี ต้องอาศัยวิธีการทางเคมี ควอนตัม เช่น วิธีการกลศาสตร์ควอนตัม (Quantum mechanics) วิธีการทางโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ (Molecular dynamics) หรือวิธีการทางโมเลคิวลาร์ดอกกิ้ง (Molecular docking) เป็นต้น

การค้นหายาจากฐานข้อมูลที่มีอยู่แล้วหรือจาก โมเลกุลหรือสารเคมีที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยทั่วไปจะใช้ระเบียบวิธีโมเลคิวลาร์ดอกกิ้ง ซึ่งเสมือนการนำยาหรือโมเลกุลใดๆ ที่ทราบโครงสร้างสามมิติแล้วมาหาความเป็นไปได้ในการเคลื่อนที่เข้าไปยึดเกาะในโพรงบริเวณเร่ง หรือในโพรงบริเวณยึดเกาะของเอนไซม์ ซึ่งหากเห็นว่าสารที่นำมาทดสอบนั้นมีโครงสร้างเหมาะสมกับแม่แบบ ก็สามารถตั้งข้อสมมติฐานได้ว่าน่าจะมี กัมมันตภาพที่ดีและสามารถนำไปทดสอบด้วยระเบียบวิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ที่มีความถูกต้องมากขึ้น

การออกแบบยาใหม่หรือการค้นหายาจากฐานข้อมูลที่มีอยู่แล้ว เป็นขั้นตอนเริ่มต้นของกระบวนการผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาที่ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมากในการกำหนดทิศทาง หรือการลดขอบเขตของการค้นหาบนพื้นฐานของทฤษฎีที่มีอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งลดขอบเขตของการค้นหายาลงได้มหาศาล แทนที่จะต้องสังเคราะห์ยาขึ้นใหม่โดยการสุ่มแบบไม่มีทิศทาง อย่างไรก็ตามหลังจากการออกแบบหรือการค้นหาในคอมพิวเตอร์แล้วยังจะต้องผ่านกระบวนการสังเคราะห์ ทดสอบการออกฤทธิ์ ทดสอบผลข้างเคียง และทดสอบการใช้งานจริงอีกหลายขั้นตอน (สุพจน์ หารหนองบัว; และคนอื่นๆ. 2546: 140-142)

จากการศึกษาข้อมูลพบว่าตัวยับยั้งที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคเอดส์ในกลุ่มแรก คือ ตัวยับยั้งกลุ่มนิวคลีโอไซด์ เช่น เอแซดที ดี ดีไอ และ ดีดีซี มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยสูง ดังนั้นการพัฒนายารักษาโรคเอดส์จึงสนใจกลุ่มนอนนิวคลีโอโซด์ เพราะว่าตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะมีคุณสมบัติจำเพาะในการยับยั้งเซลล์ที่เป็นเชื้อโรคเท่านั้น โดยไม่ทำลายเซลล์ที่ดีของร่างกาย และมีการใช้ยาในปริมาณต่ำกว่าในกลุ่มแรก ดังนั้นจึงมีผลข้างเคียงต่อคนไข้น้อยกว่า (สุภา หารหนองบัว. ม.ป.ป: ออนไลน์) แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นหลังจากการใช้ยากลุ่มนี้ระยะหนึ่งพบว่า เชื้อไวรัสเอดส์จะเกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพลดลง

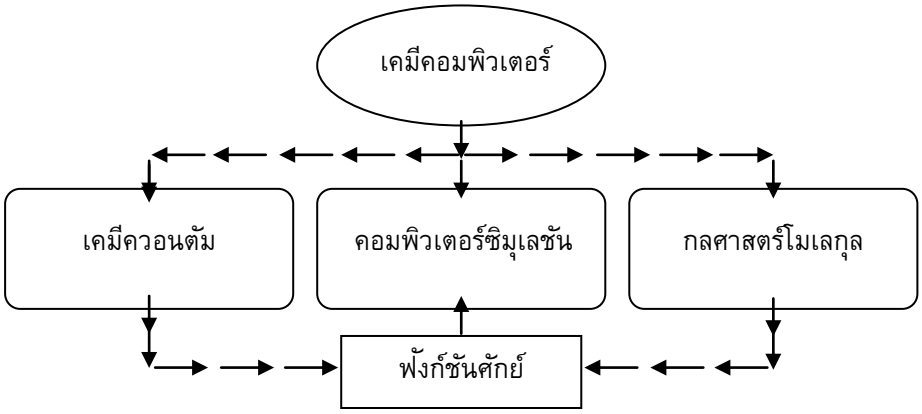
ดังนั้น ทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV -1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ซึ่ง TMC 278 เป็นตัวยับยั้งที่มีกัมมันตภาพสูง ครึ่งชีวิตยาวนานช่วยลดผลข้างเคีย งได้มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวยับยั้งในกลุ่ม NNRTIs เช่น เอฟาไวเรนซ์ และที่น่าสนใจ คือ TMC 278 ไม่เหนี่ยวนำให้ไวรัสเปลี่ยนจีโนไทป์หรือฟีโนไทป์ (Drugs of the Future: Rilpivirine. 2550: Online); ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำมาใช้ และสามารถแก้ปัญหาการใช้ตัวยับยั้ งกับเอนไซม์ที่เกิดการกลายพันธุ์ได้

4. ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์

เคมี (Chemistry) มีรากศัพท์มาจากภาษากรีก ที่ว่า “Khemeia” ซึ่งถูกดัดแปลงมาจากคำว่า “Khumos” โดยมีความหมายว่า “Juice of plant” สำหรับพจนานุกรม Webster’s New World Dictionary ได้ให้ความหมายของคำ “Chemistry” ไว้ดังนี้ “The science in which substances are examined to find out what they are made of, how they act under different conditions, and how they are combined or separated to/from other substances” หรือถ้าแปล เป็นไทย ก็คือ ศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับสสาร ว่าสสารนั้นๆ ทำมาจากอะไร สามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ ได้อย่างไร สามารถรวมหรือแยกสารนั้นๆ กับหรือจากสารอื่นๆ ได้อย่างไร ในปัจจุบันได้นำเคมีมาเชื่อมโยงกับสาขาคอมพิวเตอร์ เกิดเป็นศาสตร์ใหม่ ที่เรียกว่าเป็นเคมีคอมพิวเ ตอร์ (อทิตยา ศิริภิญญานนท์ ; และศิวพร มีจู. 2546: ออนไลน์)

เคมีคอมพิวเตอร์ จึงเป็นศาสตร์ใหม่ที่เพิ่งจะถูกนำมาใช้ในการวิจัยอย่างจริงจังเมื่อประมาณ 15 ปีที่ผ่านมา ทั้งที่ในความเป็นจริงแล้ว ศาสตร์ที่เป็นพื้นฐานของวิชาทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์คือ ทฤษฎีกลศาสตร์ควอน ตัม (Quantum mechanics) และกลศาสตร์เชิงสถิติ (Statistical mechanics) เป็นทฤษฎีเก่าที่มีความสมบูรณ์ในตัวเองมาหลายทศวรรษ ที่เป็นเช่นนี้เพราะ ทฤษฎีทางคณิตศาสตร์ดังกล่าวมีความยุ่งยากและซับซ้อนมาก แม้กระทั่งคอมพิวเตอร์ที่มีประสิทธิภาพสูงในปัจจุบันก็ยังไม่สามาร ถประมวลผลให้ครบถ้วนตามหลักทฤษฎีได้ ดังนั้น ความก้าวหน้าและคุณภาพของงานทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์จึงถูกำหนดและก้าวไปพร้อมๆ กับการพัฒนาเทคโนโลยีทางด้านคอมพิวเตอร์ (สุพจน์ หารหนองบัว. ม.ป.ป.: ออนไลน์) ดังนั้นเคมีคอมพิวเตอร์ จึงเป็นทางเลือกใหม่ของการพัฒนาวิจัย รวมถึงการออกแบบและทำนายโครงสร้างของสารเคมีหรือวัสดุชั้นสูงและสมบัติเฉพาะตัว (อทิตยา ศิริภิญญานนท์; และศิวพร มีจู. 2546: ออนไลน์) กลุ่มนักวิจัยเคมีคอมพิวเตอร์จึงนำความรู้ทางเคมีคอมพิวเตอร์มาศึกษาถึงเอนไซม์ของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ ให้เข้าใจโครงสร้างโมเลกุลเพื่อนำมาใช้ในการออกแบบยา (สุพจน์ หารหนองบัว. 2546: ออนไลน์)

ระเบียบวิธีที่ใช้ในงานทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์ ดังภาพประกอบ 4 แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ วิธีการทางเคมีควอนตัม (Quantum chemistry) วิธีกลศาสตร์โมเลกุล (Molecular mechanics) และวิธีการทางคอมพิวเ ตอร์ ซิมุเลชัน (Computer simulation) ซึ่งวิธีการแรกนั้น จะให้ผลการคำนวณที่มีความแม่นยำสูงแต่มีความซับซ้อนมากสามารถปฏิบัติได้จริง (เพราะขีดจำกัดของคอมพิวเตอร์ยุคปัจจุบัน) กับเฉพาะระบบที่ประกอบด้วยโมเลกุลขนาดเล็กจำนวนประมาณไม่กี่สิบโมเลกุลเท่านั้น สำหรับวิธี การคอมพิวเตอร์ซิมุเลชันนั้น วิธีที่รู้จักทั่วไป ตัวอย่างเช่น วิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ (Molecular dynamics) สามารถใช้ศึกษาหาระบบขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วยหลายหมื่นหรือหลายแสนอะตอม สามารถปรับความเข้มข้น ความดันและอุณหภูมิ หรือสมบัติใดๆ ให้สอดคล้องกับการทดลองได้ แต่ข้อจำกัดคือการคำนวณแรงกระทำระหว่างโมเลกุล ซึ่งงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโมเลกุลขนาดใหญ่เกือบทั้งหมดในปัจจุบันต้องพัฒนาฟังก์ชันศักย์ (Potential function) ขึ้นโดยใช้ระเบียบวิธีทางกลศาสตร์โมเลกุลแทบทั้งสิ้น ซึ่งเป็นที่ทราบทั่วไปว่าเป็นวิธีที่มีความคลาดเคลื่อนสูงมาก



ภาพประกอบ 3 ผังแสดงระเบียบวิธีใช้ในงานด้านเคมีคอมพิวเตอร์

4.1 การพัฒนาระเบียบวิธีที่ใช้ในการศึกษาวิจัย (Methodological development)

ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น หนึ่งในปัญหาสำคัญของการศึกษาวิ จัยทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์ คือ ข้อจำกัดของคอมพิวเตอร์ทั้งในเรื่องของความเร็ว ขนาดของหน่วยความจำ และขนาดของพื้นที่ที่ใช้ในการเก็บข้อมูล ดังนั้นงานวิจัยสำคัญส่วนหนึ่งจึงมุ่งไปที่การพัฒนาหรือดัดแปลงระเบียบวิธีวิจัยซึ่งตั้งอยู่บนเงื่อนไขว่า จะต้องให้ผลการศึกษาที่ มีความถูกต้องมากขึ้นหรือลดระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษาให้สั้นลง การศึกษาในระยะที่ผ่านมา มุ่งเน้นในการเพิ่มความถูกต้องของการคำนวณด้วยระเบียบวิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ ดังนั้น พัฒนาสมการแทนแรงกระทำระหว่างโมเลกุลจากการคำนวณทางเคมีควอนตัม : เพื่อเพิ่มความถูกต้องให้ กับการวิจัยโดยวิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ ซึ่งงานที่ตีพิมพ์ในปัจจุบันส่วนใหญ่ยังคงคำนวณแรงกระทำระหว่างโมเลกุล โดยอาศัยพลังงานจากระเบียบวิธีกลศาสตร์โมเลกุล การวิจัยนี้จึงมุ่งแก้ไขข้อผิดพลาดดังกล่าว โดยการคำนวณแรงกระทำจำนวนหลายร้อยค่าด้วยวิธีการทางเคมีควอนตัมที่ มีความถูกต้องสูง และนำไปฟิตเข้ากับสมการทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า ฟังก์ชันศักย์ เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาโดยวิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์

4.2 การออกแบบโมเลกุลยาและการค้นหายาด้วยวิธีการเคมีคอมพิวเตอร์

การออกแบบและการค้นหายาด้วยวิธีการทางเคมีคอมพิวเตอร์เป็นวิธีที่ใช้อยู่ทั่วไปในอุตสาหกรรมยา โดยอาศัยข้อมูลจำเป็นพื้นฐาน คือ โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ที่เลือกเป็นเป้าหมาย ซึ่งจะต้องนำมาใช้ในการเป็นแม่แบบ จากนั้นจึงออกแบบหรือค้นหาโมเลกุลที่มีขนาดโครงสร้างและมีความเป็นขั้วที่เหมาะสมที่สามารถเคลื่อนที่เข้าไปยึดเกาะที่บริเวณเร่ง (Catalytic site) เพื่อแทนที่สับสเตรต หรืออาจจะไปเกาะที่บริเวณยึดเหนี่ยว (Binding site) แล้วทำให้โครงสร้างหรือสมบัติอื่นๆ ของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไปจนทำให้บริเวณเร่งของเอนไซม์ทำงานไม่ได้ (สุพจน์ หารหนองบัว ม.ป.ป.: ออนไลน์) ซึ่งจะส่งผลทำให้วงจรการขยายพันธุ์ การเจริญเติบโตหรือการแพร่ขยายของเชื้อ

โรคเอดส์หยุดไป จากแนวคิดดังกล่าวผู้วิจัยจึงสนใจจะศึกษาถึงโครงสร้างและอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นในบริเวณการจับ เพื่อนำข้อมูลที่จำเป็นพื้นฐานมาใช้ในการอธิบายการทำงานของตัวยับยั้งที่ศึกษาและเป็นแนวทางในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่หรือพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นกว่าเดิม

ปัจจุบันได้มีการศึกษากลไกในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 บนพื้นฐานทางเคมีคอมพิวเตอร์และการออกแบบโมเลกุลด้วยตัวยับยั้งเอนไซม์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะใช้ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์มาเป็นแนวทางในการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1

4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มอร์แดนท์ และคนอื่นๆ (Mordant C.; et al. 2006: 567-579) ทำการสังเคราะห์ไดเอริลไพริมิดีน (Diarylpyrimidines: DAPY) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของตัวยับยั้ง TMC 278 เพื่อศึกษาผลของการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ชนิดที่มีการกลายพันธุ์และไม่มีการกลายพันธุ์ ไดเอริลไพริมิดีนถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยการเปลี่ยนตำแหน่ง ที่ 2 และตำแหน่งที่ 6 ของวงแหวนเบนซีนในโครงสร้างตัวยับยั้ง TMC 278 พบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ทั้งชนิดที่มีการกลายพันธุ์และไม่มีการกลายพันธุ์

มะยูโซ๊ะ กูโน (Kuno M. 2006: บทคัดย่อ) ศึกษาการกระจายพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งเนวิราพีนในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ด้วยระเบียบวิธีทางเคมีควอนตัม ซึ่งได้แบ่งการศึกษาออกเป็นสองส่วน คือ การศึกษาอันตรกิริยาแบบ H? โดยใช้โมเลกุลของแอลกอฮอลล์กับเอธีลีนในการศึกษา ด้วยระเบียบวิธี MP2 เพื่อศึกษาลักษณะเฉพาะของอันตรกิริยาแบบ H? ซึ่งเกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งกับเอนไซม์หลายชนิด ส่วนที่สองเป็นการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งเนวิราฟินกับบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ด้วยระเบียบวิธี ONIOM แล้วทำการปรับพลังงานให้ถูกต้องด้วย ONOM-BSSE และได้ประยุกต์ใช้ในการศึกษาอันตรกิริ ยาแบบ H? ด้วย จากการศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างแอลกอฮอลล์กับเอธีลีนพบว่าอันตรกิริยาแบบ H? ที่เกิดขึ้นมีอันตรกิริยาประมาณ -2.12 ถึง -2.23 กิโลแคลอรีต่อโมล ส่วนการศึกษาในส่วนที่สองพบว่าอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างวงไพรีดีนของเนวิราพีนกับไทโรซีนจากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นแบบ H? มีความสำคัญมากเนื่องจากอันตรกิริยาแบบนี้เกิดขึ้นและพบเห็นได้ระหว่างตัวยับยั้งหลายชนิด

ศรีวับ และคนอื่นๆ (Srivub P.; et al. 2005: 609-616) ศึกษาเชิงทฤษฎีของค่าพลังงานการจับระหว่างตัวยับยั้งเอฟาไวเรนซ์กับเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 แบบปกติ และแบบกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Y181C โดยใช้ระเบียบวิธีคำนวณ ONIOM2 และ ONIOM3 ซึ่งบริเวณโพรงการจับประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 22 กรดอะมิโนซึ่งอยู่ในรัศมี 7 อังสตรอม นอกจากระเบียบวิธีการคำนวณ ONIOM

แล้วยังใช้ระเบียบวิธี MP2/6-31G (d) B3LYP/6-31G (d) HF/6-31G (d) และ PM3 จากการคำนวณแสดงค่าพลังงานการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 แบบปกติ และแบบกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Y181C แตกต่างกันไม่น้อยกว่า 2 kcal/mol นอกจากนั้นคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งเอฟาไวเรนซ์กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่ บริเวณโพรงการจับด้วยระเบียบวิธี MP2/6-31G (d) และ B3LYP/6-31G (d)

แสนอุ่น, กูโน และหารหนองบัว (Saen-oon S.; Kuno M.; & Hannongbua S. 2005: 859-869) ศึกษาเปรียบเทียบค่าพลังงานการจับบริเวณโพร งการจับระหว่างตัวยับยั้ง 8-Cl *TIBO* กับเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 แบบไม่กลายพันธุ์ (Wild type) และแบบกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Y181C โดยใช้ระเบียบวิธีการคำนวณ ONIOM ซึ่งเอนไซม์การถ่ายแบบทั้งสองชนิด ประกอบด้วยกรดอะมิโนเรซิดิวซ์ 20 กรดอะมิโน ซึ่งอยู่ ในรัศมี 15 อังสตรอม ระเบียบวิธีการคำนวณ ONIOM2 (Two layered ONIOM) และ ONIOM3 (Three layered ONIOM) รวมถึงมีการใช้ระเบียบวิธีคำนวณ MP2/6-31G (d) B3LYP/6-31G (d,p) และ PM3 ร่วมด้วย พบว่าค่าที่ตำแหน่งการกลายพันธุ์ Y181C สูญเสียค่าสัมพรรคภาพการจับและเสถียรภาพของตั วยับยั้ง 8-Cl *TIBO* ประมาณ 8-9 kcal/mol ซึ่งแตกต่างจากการคำนวณด้วยวิธี MO:MO (Molecular Orbital Molecular Methods)

เมดินา-แฟรงโก และคนอื่นๆ (Medina-franco.; et al. 2004: 6085-6095) ศึกษาอิทธิพลของอนุพันธ์ของไพริดิโนน (Pyridinone derivatives) ในตัวยับยั้งกลุ่มนอนนิวคลีโอไซ ด์ต่อเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 โดยวิธีคำนวณทางโมเลคูลาร์ ด็ อกกิ้ง (Molecular docking) แบบเฟลกซิเบิลด็อกกิ้ง (Flexible docking) พบว่าเมื่อทำการด็อกกิ้งอนุพันธุ์ของไพริดิโนนในตัวยับยั้งกลุ่มนอนนิวคลีโอไซต์โครงสร้างและการจับภายในโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบไม่เปลี่ยนแปลงนอกจากนี้อนุพันธ์ของไพริดิโนนยังแสดงลักษณะ ไฮโดรโฟบิก ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีต่อฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 อีกด้วย

กูโน, หารหนองบัว และโมโรคูมา(Kuno M.; Hannongbua S.; & MoroKuma K. 2003: 456-463) ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งเนวิราพีนกับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 พบว่าโค รงสร้างของตัวยับยั้งเนวิราพีนตรงตำแหน่งวงแหวนไพริดีน เกิดการซ้อนทับกับตำแหน่งเมทิลฟีนอลของ Tyr181 คำนวณพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ 8.8 kcal/mol ด้วยระเบียบวิธี MP2/6-31+G (d) หลังจากนั้นทำการปรับโครงสร้างของตัวยับยั้งเนวิราพีนและ Tyr181ภายในบริเวณโพรงการจับข องเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ให้เสถียรที่สุด ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ ONIOM3 (MP2/6-31G (d):HF/3-21G:PM3) ให้โครงสร้างเชิงซ้อนที่มีพันธะไฮโดรเจนอย่างอ่อนแต่ไม่มีการซ้อนทับกันของโครงสร้างดังกล่าว ค่าพลังงานการจับมีค่า8.9 kcal/mol ซึ่งเป็นค่าพลังงานจากอันตรกิริ ยาระหว่างตัวยับยั้งเนวิราพีนกับกรดอะมิโนตัวอื่นๆ มากกว่าอันตรกิริยาเฉพาะกับ Tyr181 เท่านั้น

สุภา หารหนองบัว (Hannongbua S.2003: บทคัดย่อ) การศึกษากลไกในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 บนพื้นฐานของเคมีคอมพิวเตอร์ และการออกแบบโมเลกุลด้วยตัวยับยั้งโดยโครงสร้างเอนไซม์ผลการศึกษาทำให้มีความเข้าใจถึงโครงสร้างของโมเลกุลตัวยับยั้งที่มีความยืดหยุ่นสูง โดยศึกษาในกลุ่มของทีโบซึ่งพบว่าความยืดหยุ่นของโมเลกุลมีผลต่อการเปลี่ยนโครงสร้าง และฟังก์ชันของเอนไซม์ในขณะที่มีการจับ ผลการศึกษาโครงสร้างคอนฟอร์เมชัน โดยพื้นผิวพลังงานศักย์สามารถอธิบายกลไกที่แตกต่างกันของตัวยับยั้ง 8-Cl และ 9-Cl *TIBO* ที่มีต่อกัมมันตภาพในการยับยั้งเอนไซม์ด้วย นอกจากนี้แล้ว ได้ทำการคำนวณโดยวิธีออนเนียมเพื่อศึกษาอันตรกิริยาที่มีความจำเพาะของเนวิราพีนกับโพรงการจับของเอนไซม์ และสามารถอธิบายอันตรกิริยาที่มีความสำคัญระหว่างตัวยับยั้งกับเรซิดิวซ์ภายในโพรงการจับของเอนไซม์ โครงการวิจัยนี้ยังได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในการยับยั้งโดยวิธี HQSAR ของสารยับยั้งและอนุพันธ์คือ *TIBO* จำนวน 70 โมเลกุล HEPT จำนวน 101 โมเลกุล และ Dipyridodiazepinone จำนวน 125 โมเลกุล ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวิธี HQSAR สามารถให้ผลการทำนายกัมมัน ตภาพของตัวยับยั้งที่ดีเมื่อเทียบกับวิธี 2D-QSAR

โครเมอร์ (G Kroemer. 2004: บทคัดย่อ)ได้ทำการศึกษา ส่วนประกอบของการเจริญเติบโตภายในกระดูก (Cytoskeltal) มีบทบาทในภูมิคุ้มกันบกพร่องของมนุษย์ที่ติดเชื้อไวรัส HIV-1 โมเลกุลที่มีหลากกลายเป็นระบบของ Microfilament รวมทั้ง Actin filament และ actin ที่มีอยู่ในโปรตีนเช่นเดียวกันกับ Microtubules ซึ่งมีบทบาทที่สำคัญในการควบคุมทั้งเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ที่ตายแล้ว การาบำรุงรักษารูปร่างของเซล ความแตกต่างของเซลล์และการเคลื่อนไหวของโมเลกุลของเซลล์เช่นเดียวกันกับ Cytoplasmic ที่มีการเคลื่อนไหวของโมเลกุลที่กำหนดอนาคตของเซลล์ รวมทั้ง Apoptosis เป็นความจริงที่ได้ชี้แจงโดยส่วนประกอบของ Cytoskeltal การติดเชื้อ HIV และการผลิตอนุภาคเล็กของเชื้อไวรัส ดูเหมือนว่าจะได้รับการควบคุมโดย Cytoskeltal ด้วยยิ่งไปกว่านั้น มีความเชื่อมโยงกับความล้อมเหลวของ apoptosis ซึ่งได้รับการควบคุมโดยองค์ประกอบเครือข่ายของ actin ตามเป็นจริงแล้วโปรตีน HIV CD95/Fas-mediatก กับ apoptosis ระบบ microfilament ดูเหมือนที่จะเป็นรูปแบบของผู้ควบคุมดูแล Cytoplasmic ของอนุภาคไวรัส เซลล์ที่เป็นเจ้าของและผู้นำเสนออนาคตของเซลล์

เพรท (Pratt. 2010: บทคัดย่อ) ได้ทำการศึกษาคนชราจำนวนหนึ่งที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องจากเชื้อไวรัส (HIV) ในประเทศสหราชอาณาจักร (อังกฤษ) เพิ่มขึ้น คนชรามีความเสี่ยงในการได้รับการติดเชื้อ HIVด้วยเหตุผลที่หลากหลายสิ่งนี้ได้เชื่อมโยงกับการรักษาเชื้อ HIVที่มีประสิทธิผลซึ่งความสำคัญมาเป็นระยะเวลานานกับการวินิจฉัยและความสำคัญของการทำในระยะต้นๆ ข้อแนะนำแนวทางสำหรับการทดสอบHIV และการบำบัดที่ทันสมัยของการต่อต้านไวรัสรวมทั้งยาที่มีปฏิสัมพันธ์และมีผลข้างเคียง

ราช (Rauch. 2008: บทคัดย่อ) ได้ทำศึกษาการเปลี่ยนแปลงการเป็นผู้รับของ T-cell บ่งบอกสัญญาณโดยมนุษย์ที่ขาดภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยชนิดของไวรัสแบบที่ 1 (HIV-1) Nef ได้เข้ามาเกี่ยวข้องในการเชื่อมโยงกันส่วนหนึ่งของประชากรที่กระฉับกระเฉง ของ p21 ที่กระตุ้น kinase 2 (PAK2) Dynamic signalosome ที่เข้ามารวมตัวกันในสารที่ไม่ละลายของ detergent membrane micromembrane Nef-PAK2 ที่มีความซับซ้อนบรรจุ GT pases Rac และ CDC 42 เช่นเดียวกับองค์ประกอบของการจัดเตรียม quaninne nucleotide ที่มีการแลกเปลี่ยนองค์ประกอบ (GEF) การกระทำสำหรับ RAC/Cdc 42 อย่างไรก็ตาม ลักษณะเฉพาะของ GEF นี้ยังคงเป็นสิ่งที่ขัดแย้งกันมาก การศึกษาก่อนหน้านี้ได้มีการแนะนำเกี่ยวกับการเชื่อมโยงของ Nef พร้อมทั้งอย่างน้อยที่สุดของ GEF ที่เป็นอิสระ 3 อย่าง,Vav,DOCK 2/ELMO 1, และ βPix ในที่นี้เราได้ใช้แนวที่กว้างของวิธีการต่าง ๆ ที่จะอ้างถึง GEF ที่ได้เข้าไปเกี่ยวข้องในรูปแบบของการมีปฏิสัมพันธ์ของ Nef กับ PAK 2 องค์ประกอบทางชีวเคมีที่เป็นเศษส่วน ที่เปิดเผยว่า Nef ได้รับเอา Vav 1 เข้ามา แต่ไม่ใช่ DOCK 2 / ELMO 1, และ βPix ไปที่ membrane microdomains transient RNAi ถูกทำลายลง การวิเคราะห์แนวของเซลล์ที่มีความบกพร่องสำหรับการแสดงออกของ Vav 1 และ DOCK 2 เช่นเดียวกันกับการใช้ของ βPix ที่เป็นความเชื่อมโยงกับการกระทำของ PAK2 Nef –mediated microdomain ที่รับเข้ามาใหม่ของ Vav 1 เกิดขึ้นอย่างเป็นอิสระ ของ Src homology 3 domain ที่เชื่อมโยงกับ Pxxp motif ซึ่งได้เป็นที่รู้จักที่จะเชื่อมโยงกับ Nef ไปสู่ระบบข องเซลล์จำนวนมากที่เป็นกระบวนการ แทนที่จะเป็นอย่างนั้น ได้มีการบรรยายเกี่ยวกับปฏิกิริยาพื้นผิวของโปรตีนที่ล้อมรอบที่อยู่ของ Nef F195 เมื่อไม่นานมานี้ว่าได้ถูกจำแนกเป็นสิ่งสำคัญสำหรับ Nef-mediated raft ที่ได้รับเข้ามาใหม่ของ Vav 1 ผลลัพธ์ของการจำแนก Vav 1 ในระดับที่เป็นส่วนประกอบของ Nef-PAK 2 ที่เป็นเครื่องบอกและจัดเตรียมพื้นฐานของโมเลกุลสำหรับบทบาทของF 195 ในรูปแบบของ catalyticall active Nef –PAK 2 ที่มีความซับซ้อน

จากงานวิจัยดังกล่าวสามารถสรุปส่วนที่เกี่ยวข้อง ได้ดังนี้

1. จากการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งเอนไซม์กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ พบว่าตำแหน่งที่น่าสนใจ คือ Lys101 เนื่องจากมีค่าพลังงานอันตรกิริยาสูง

2. สามารถใช้ระเบียบวิธี คำนวณ HF/6-31G (d,p), B3LYP/6-31G (d,p) และ PM3 ในการศึกษาบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ได้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอน ดังนี้

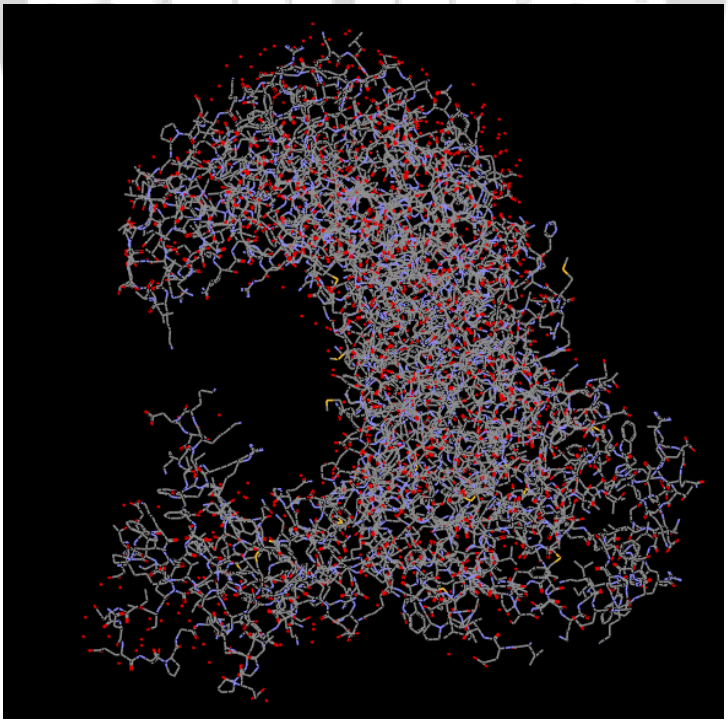
1. การเตรียมโครงสร้างระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

2. การคำนวณอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G (d,p)

3. การแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE

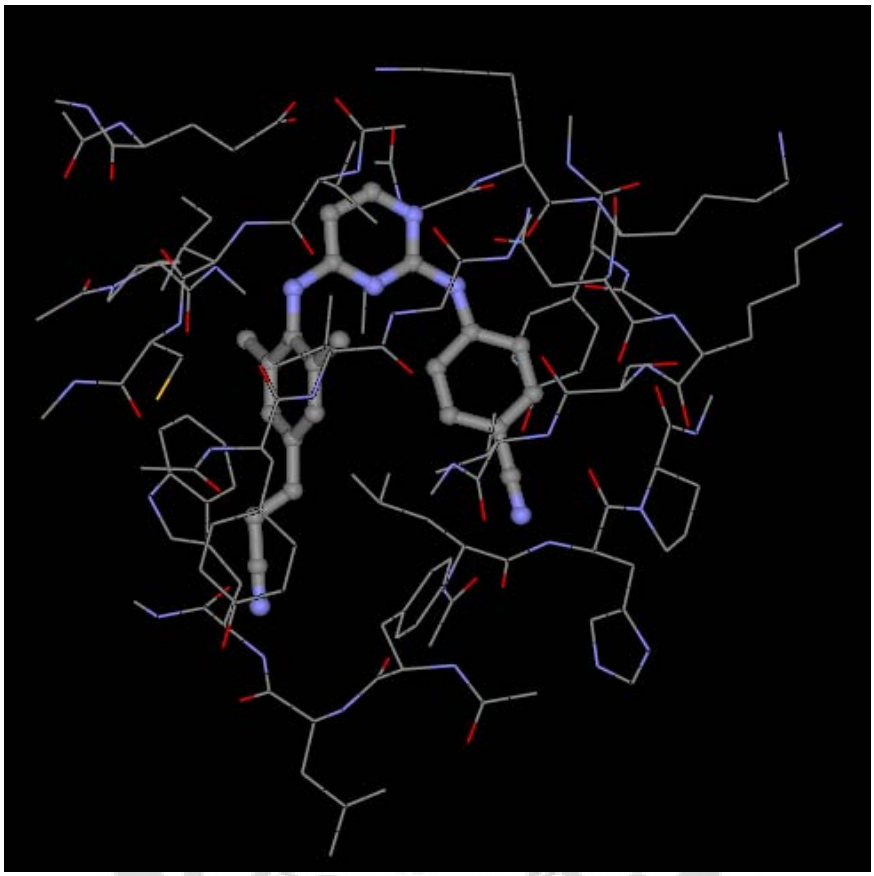
1. การเตรียมโครงสร้างระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์TMC 278 กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

1.1 นำโครงสร้าง X-ray จากฐานข้อมูลของโปรตีน รหัส 2zd1.pdb ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีตัวยับยั้ง TMC 278 อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์



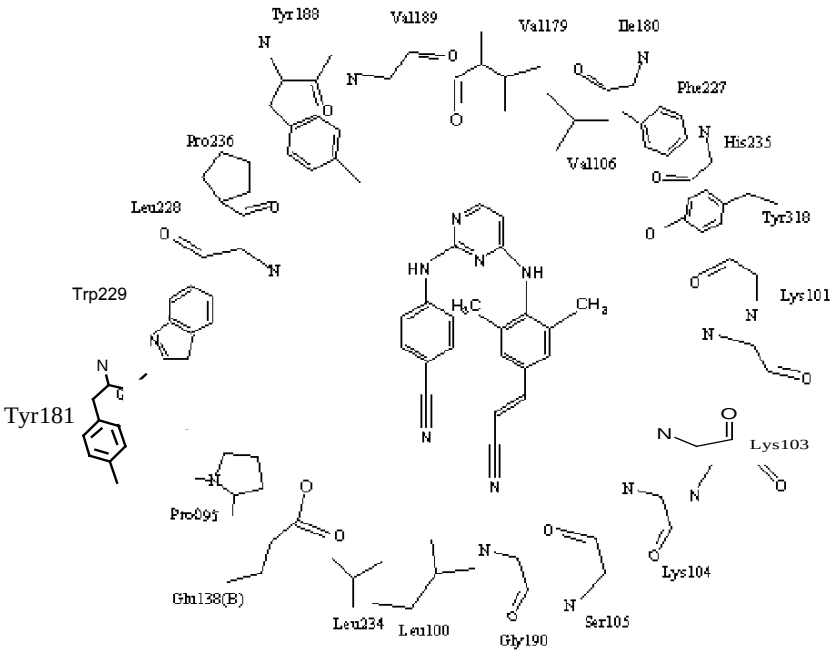
ภาพประกอบ 4 โครงสร้าง X-ray จากฐานข้อมูลของโปรตีน รหัส 2zd1.pdb

1.2 สร้างโครงสร้างบริเวณการจับ จากข้อที่ 1.1 โดยการกำหนดให้ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลาง แล้วเลือกกรดอะมิโนที่อยู่รอบๆ ในรัศมี 7 อังสตรอม

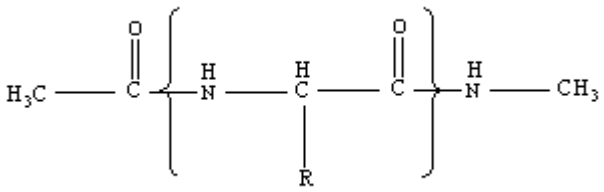


ภาพประกอบ 5 บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 โดยกำหนดให้ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลาง แล้วเลือกกรดอะมิโนที่อยู่รอบๆ ในรัศมี 7 อังสตรอม

จากภาพประกอบ6 บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบHIV-1 จะประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งหมด 22 กรดอะมิโน ดังนี้ Pro95, Lys100, Lys101, Lys102, Lys103, Lys104, Ser105, Val106, Val179, Ile180, Tyr181, Tyr188, Val189, Gly190, Phe227, Leu228, Tyr229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 และ Glu138 โดยกำหนดให้กรดอะมิโนทั้งหมดอยู่ในสภาวะที่เป็นกลาง ซึ่งการตัดปลายของกรดอะมิโนนั้น ให้เติมหมู่อะซิทิล(CH_3CO-) ที่ปลาย N และเติมหมู่เมทิลอะมิโน ($NHCH_3$-) ที่ปลาย C แสดงดังภาพประกอบ 7

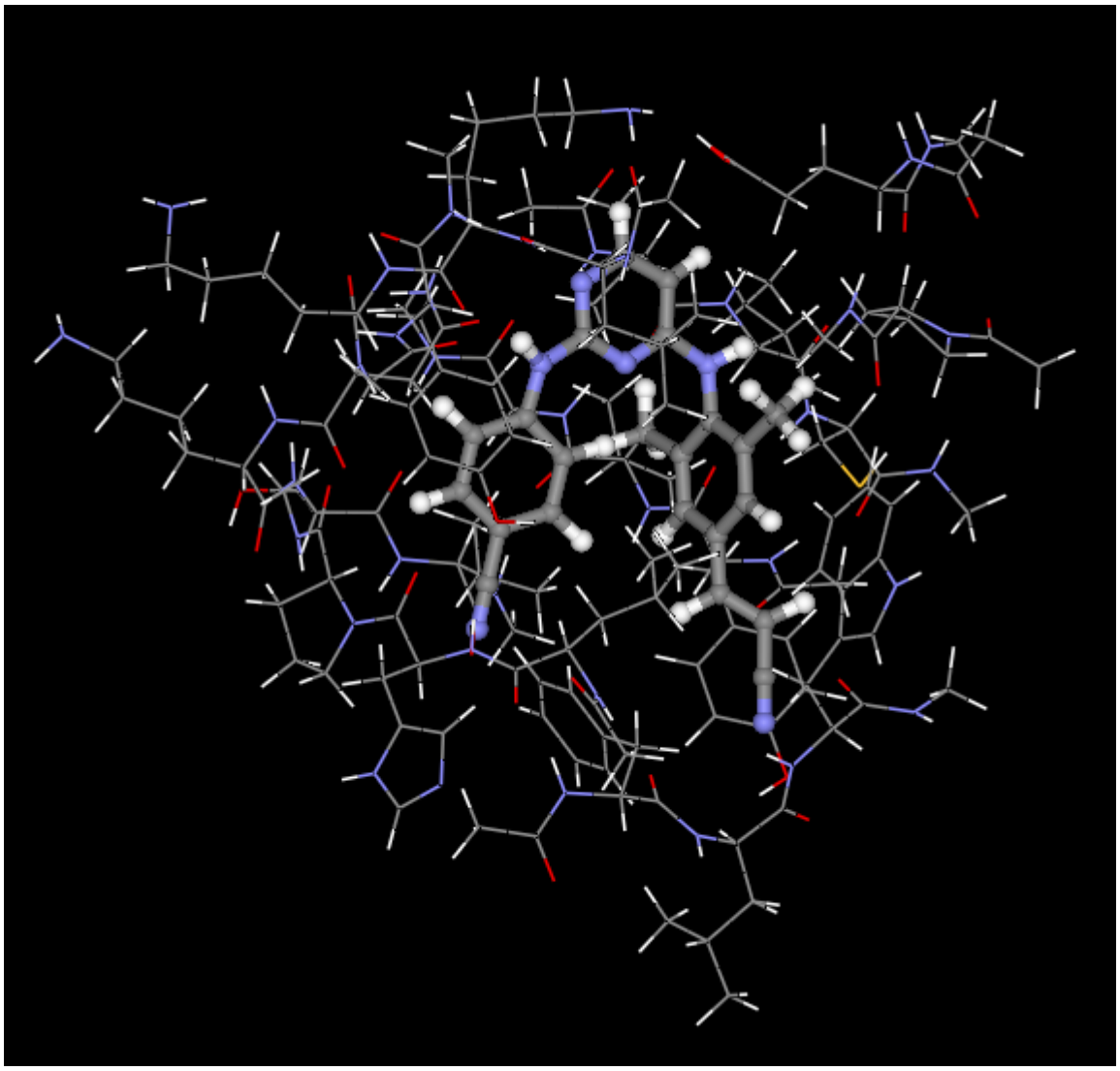


(b)



ภาพประกอบ 6 (a) 22 กรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่มีตัวยับยั้ง TMC 278 อยู่ตรงกลาง ในรัศมี 7 อังสตรอม (b) ชนิดของหมู่ที่ใช้ cap ปลายของกรดอะมิโน

1.3 สร้างโครงสร้างที่ได้ในข้อที่ 1.2 ให้สมบูรณ์โดยการเติมไฮโดรเจนอะตอม เนื่องจากโครงสร้าง X-ray ส่วนใหญ่จะไม่มีไฮโดรเจนอะตอม แสดงดังภาพประกอบ 8



ภาพประกอบ 7 บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 กับตัวยับยั้ง TMC 278 โดยการเติมไฮโดรเจนอะตอมเพื่อให้โครงสร้างสมบูรณ์ โครงสร้างแบบ Ball and stick แสดงตัวยับยั้ง TMC 278 ที่อยู่ในโพรงการจับ

1.4 ปรับโครงสร้างเพื่อหาตำแหน่งที่เหมาะสมของไฮโดรเจน (Optimize hydrogen atom) ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ Semi empirical PM3 โดยทำการคำนวณโครงสร้าง 2 แบบ

โครงสร้างแบบที่ 1 โครงสร้างที่มีการ cap ด้วยหมู่อะซิทิลและหมู่เมทิลอะมิโน

โครงสร้างแบบที่ 2 โครงสร้างที่มีการ cap ด้วยไฮโดรเจนอะตอม

2. การคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G (d,p) แสดงดังสมการที่ 1

$$E_{INT} = E_{[TMC278+X_i]} - E_{[TMC278]} - E_{[Xi]} \quad (1)$$

E_{INT} แทน พลังงานอันตรกิริยา

$E_{[TMC278+X_i]}$ แทน พลังงานอันตรกิริยาแต่ละคู่ระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิด

$E_{[TMC278]}$ แทน พลังงานอันตรกิริยาของตัวยับยั้ง TMC 278

$E_{[Xi]}$ แทน พลังงานอันตรกิริยาของกรดอะมิโนแต่ละชนิด

3. การแก้ไขพลังงานอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE ดังสมการที่ 2

$$E_{INT}^{BSSE} = E_{[TMC278+X_I]}^{BSSE} - E_{[TMC278]}^{BSSE} - E_{X_i}^{BSSE} \quad (2)$$

E_{INT}^{BSSE} แทน พลังงานอันตรกิริยาที่ทำการแก้ไขพลังงานทั้งหมด

$E_{[TMC278+X_i]}^{BSSE}$ แทน พลังงานอันตรกิริยาแต่ละคู่ระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่ทำการแก้ไขพลังงานทั้งหมด

$E_{[TMC278]}^{BSSE}$ แทน พลังงานอันตรกิริยาของตัวยับยั้ง TMC 278 ที่ทำการแก้ไขพลังงานทั้งหมด

$E_{[Xi]}^{BSSE}$ แทน พลังงานอันตรกิริยาของกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่ทำการแก้ไขพลังงานทั้งหมด

ซึ่งการแก้ไขอันตรกิริยาที่ได้ทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE ของโครงสร้างทั้งสองแบบ เพื่อให้พลังงานที่ได้มีความถูกต้องมากขึ้น

4. ประมวลผลข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทั้งหมด เพื่อนำไปอธิบายการกระจายของพลังงานที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของ เอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

5. สรุปผลการศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาพลังงานอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์ ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทำศึกษา พลังงานอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นด้วยระเบียบวิธี HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ข้อมูลมีดังนี้

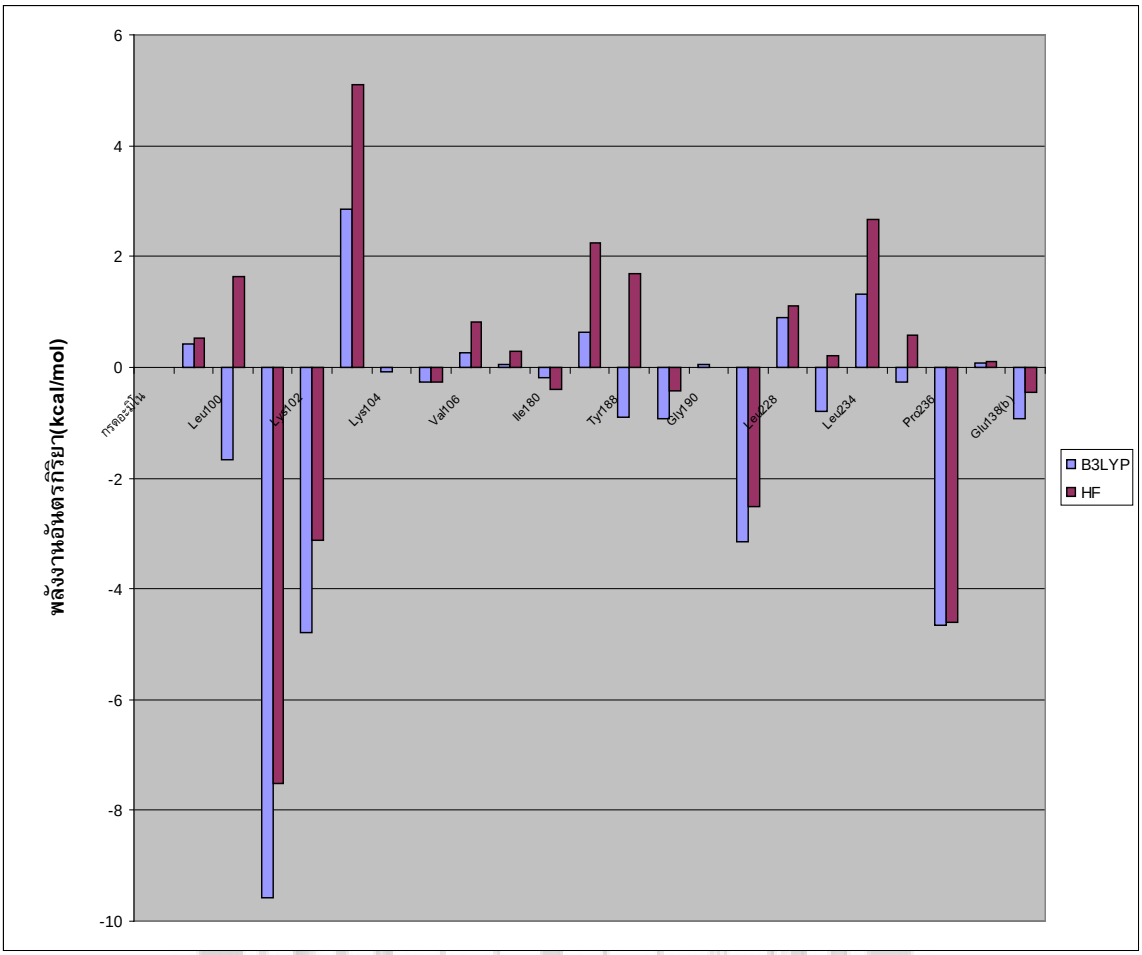
1. พลังงานอันตรกิริยา ระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบเอช ไอ วี-1

1.1 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 1 ที่มีการ cap ด้วยหมู่อะซิทิลและหมู่เมทิลอะมิโน

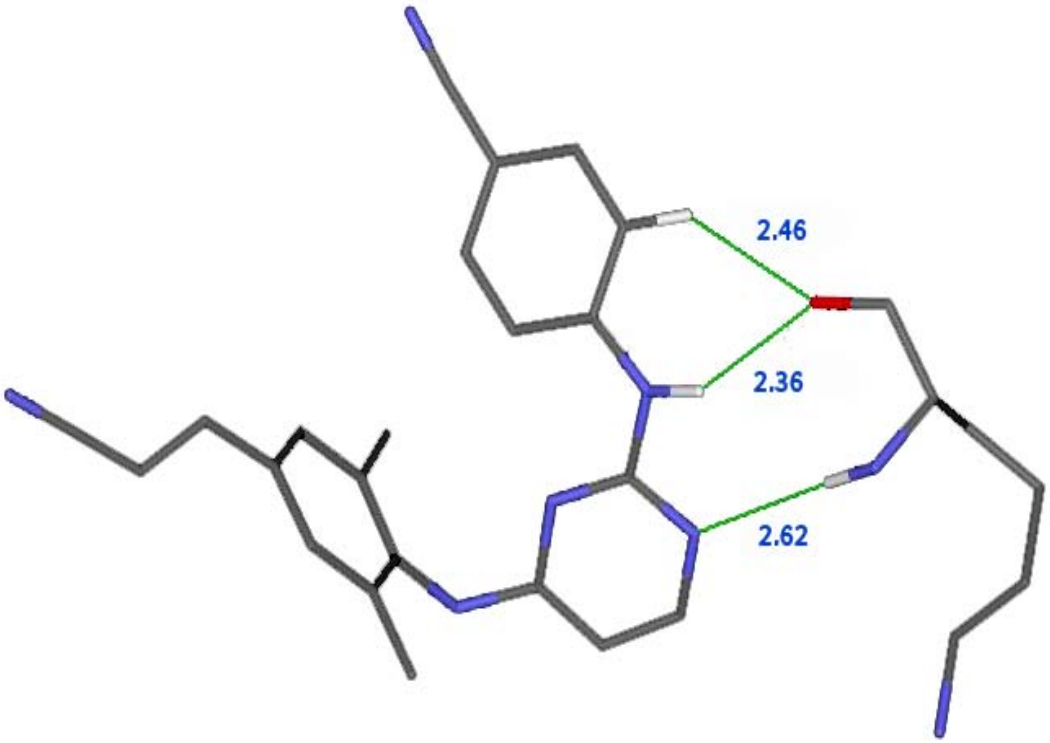
จากการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 1 ทั้งสอง ระเบียบวิธีพบว่า พลังงานอันตรกิริยา ระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 มีค่าสูงที่สุด มีค่าพลังงานพลังงานอันตรกิริยา เท่ากับ Lys102 มีค่าพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ -3.12 kcal/mol Pro236 มีค่าพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ -4.65 kcal/mol และ -4.60 kcal/mol ตามลำดับ ผลการคำนวณแสดงไว้ในตาราง 3 และภาพประกอบ 9 ,10 , 11 , 12 และ 13

ตาราง 6 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p)

พลังงานพลังงานอันตรกิริยา (kcal/mol) โครงสร้างที่ 1		
กรดอะมิโน	B3LYP	HF
Pro095	0.43	0.53
Leu100	-1.66	1.65
Lys101	**-9.57**	**-7.52**
Lys102	**-4.80**	**-3.12**
Lys103	2.84	5.11
Lys104	-0.09	-0.01
Ser105	-0.26	-0.26
Val106	0.27	0.80
Val179	0.05	0.29
Ile180	-0.19	-0.40
Tyr181	0.63	2.24
Tyr188	-0.91	1.70
Val189	-0.94	-0.44
Gly190	0.05	0.00
Phe227	-3.16	-2.51
Leu228	0.90	1.11
Typ229	-0.78	0.21
Leu234	1.32	2.68
His235	-0.27	0.59
Pro236	**-4.65**	**-4.60**
Tyr318	0.09	0.10
Glu138(b)	-0.93	-0.44

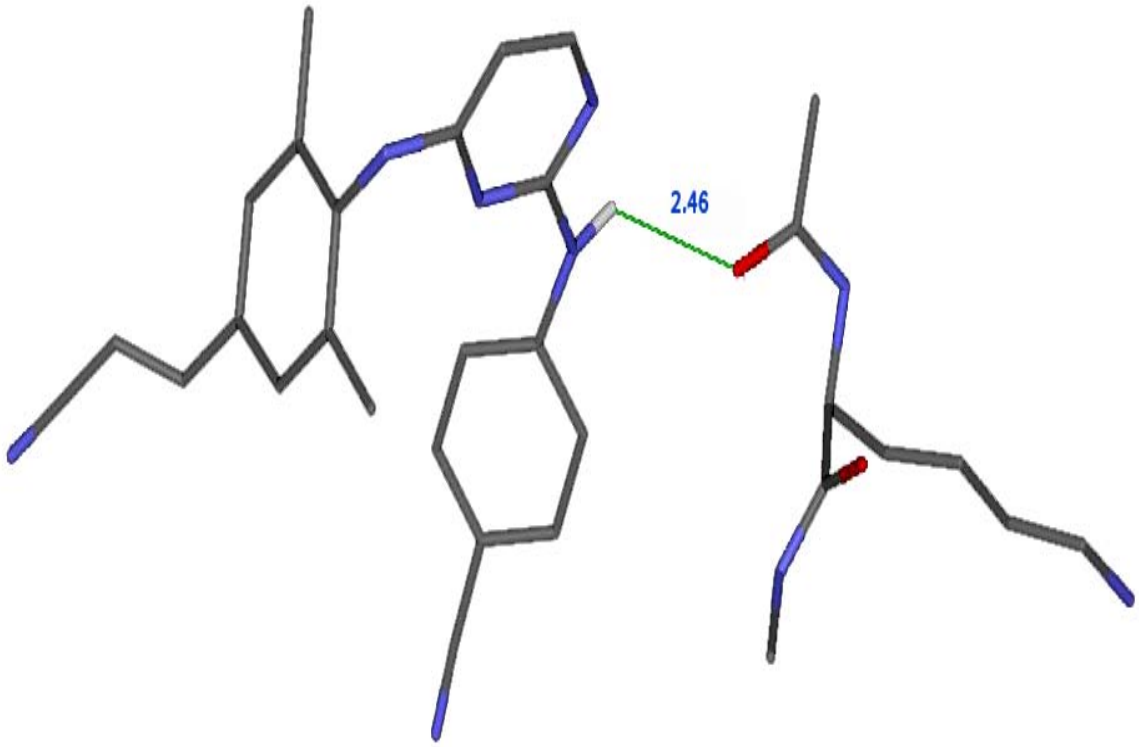


ภาพประกอบ 8 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 1 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p)



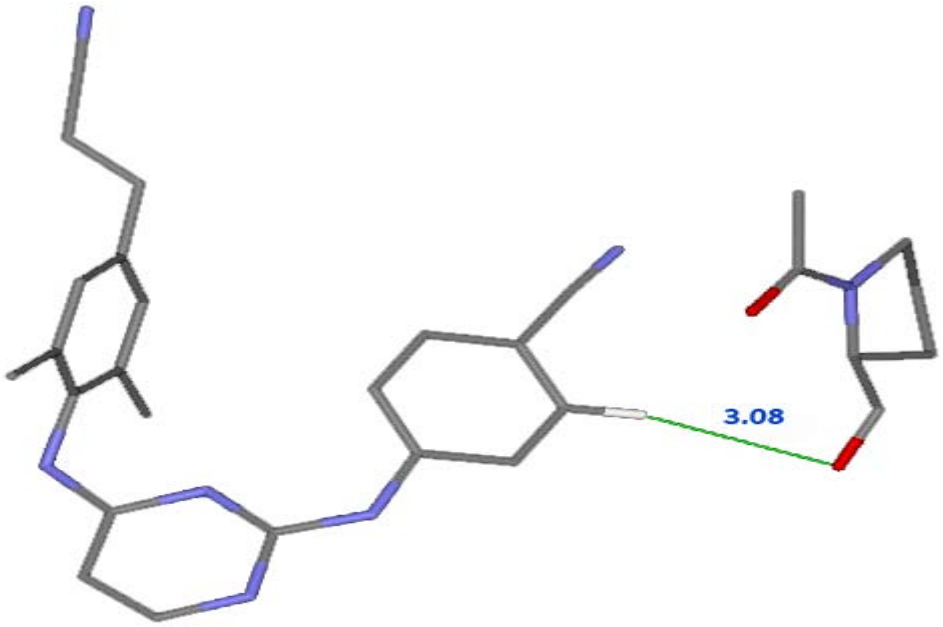
ภาพประกอบ 9 พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของ Lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.62 , 2.46 และ 2.36 อังสตรอม ตามลำดับ

พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 จากทั้งสองระเบียบวิธี พบพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิล Lys101 ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.63 , 2.46 และ 2.36 อังสตรอม ดังภาพประกอบ 10 พลังงานอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นพลังงานอันตรกิริยาแบบดึงดูด ซึ่งจะทำให้ตัวยับยั้ง TMC 278 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงขึ้น



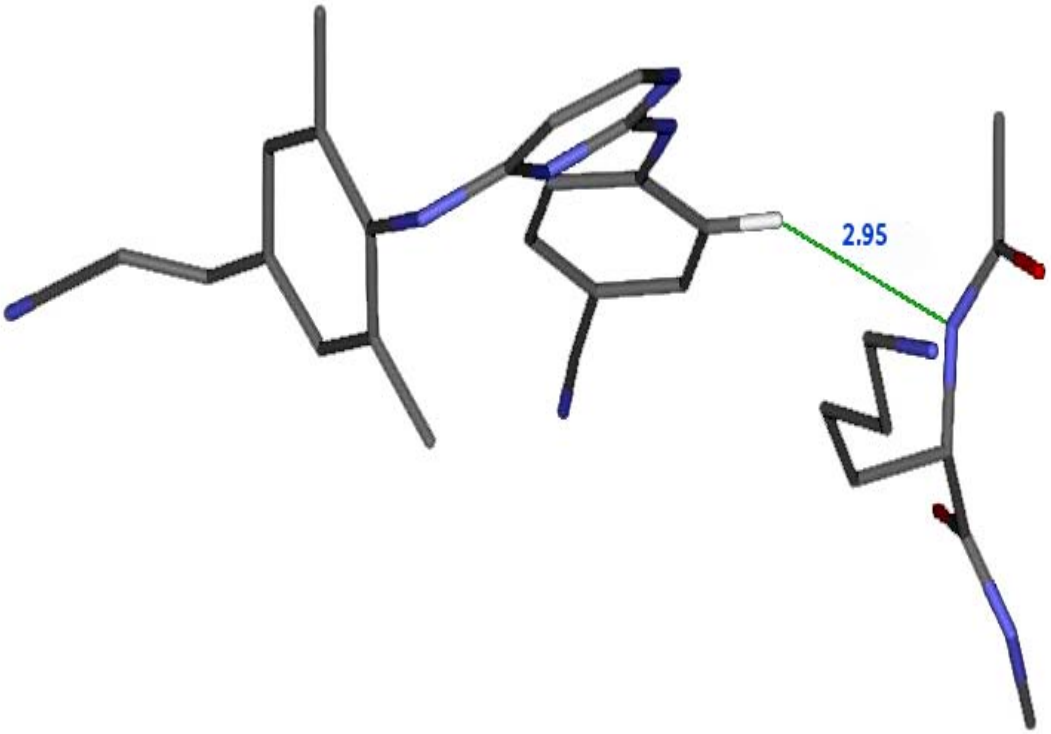
ภาพประกอบ 10 พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของ Lys102 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.46 อังสตรอม ตามลำดับ

พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys102 จากทั้งสองระเบียบวิธี พบพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิล Lys102 ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.46 อังสตรอม ดังภาพประกอบ 11 พลังงานอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นพลังงานอันตรกิริยาแบบดึงดูด ซึ่งจะทำให้ตัวยับยั้ง TMC 278 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงขึ้น



ภาพประกอบ 11 พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของ Pro236 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 3.08 อังสตรอม ตามลำดับ

พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Pro236 จากทั้งสองระเบียบวิธี พบพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิล Pro236 ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 3.08 อังสตรอม ดังภาพประกอบ 12 พลังงานอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นพลังงานอันตรกิริยาแบบดึงดูด ซึ่งจะทำให้ตัวยับยั้ง TMC 278 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงขึ้น



ภาพประกอบ 12 แรงผลักอะตอมไฮโดรเจนของ Lys103 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.95 อังสตรอม

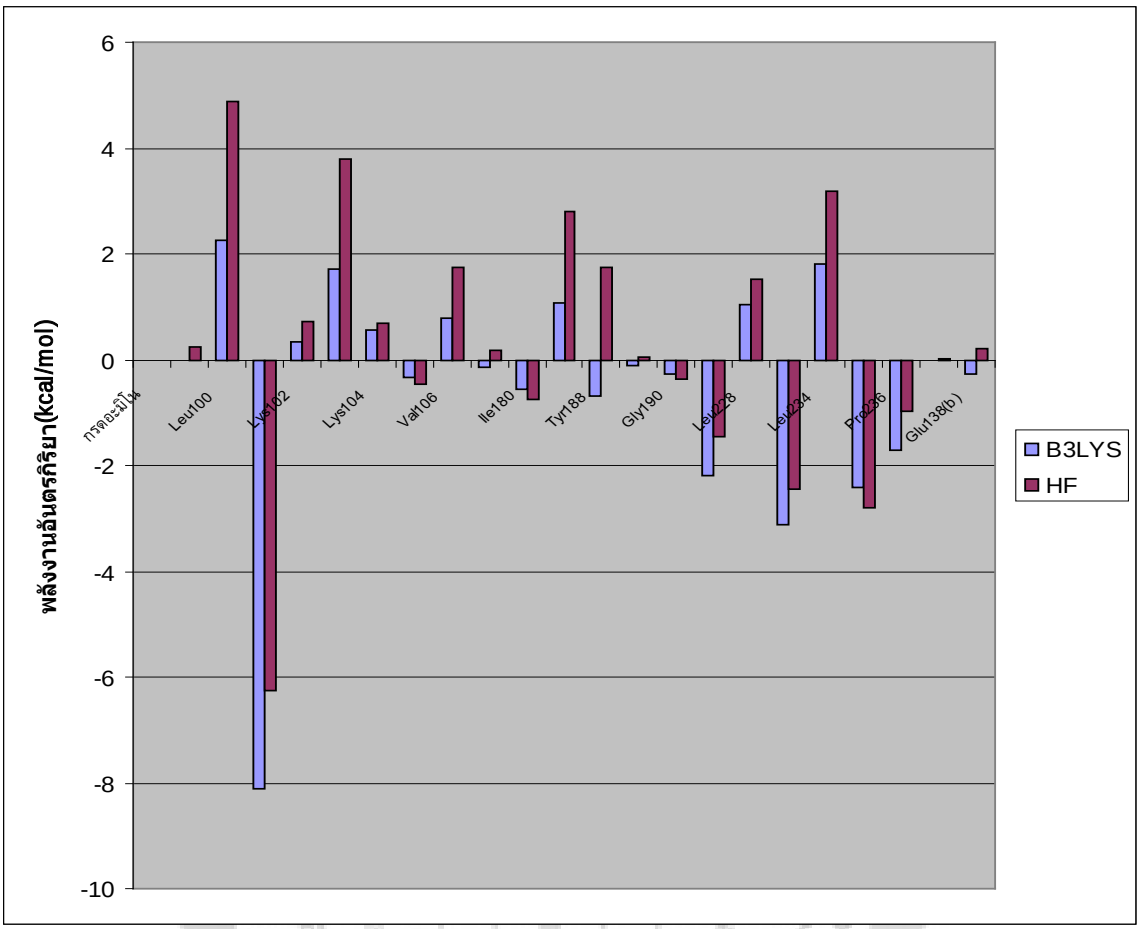
พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys103 จากทั้งสองระเบียบวิธี พบอันตรกิริยาแบบแรงผลักระหว่างอะตอมไฮโดรเจนของ Lys103 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ซึ่งมีค่าพลังงานเท่ากับ 5.11 และ 2.84 kcal/mol ตามลำดับ ความยาวพันธะเท่ากับ 2.95 อังสตรอม พลังงานอันตรกิริยา แบบผลักนี้จะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ลดลง

1.2 การคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับ ของเอนไซม์การถ่ายแบบเอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 2 ที่มีการ cap ด้วยไฮโดรเจนอะตอม

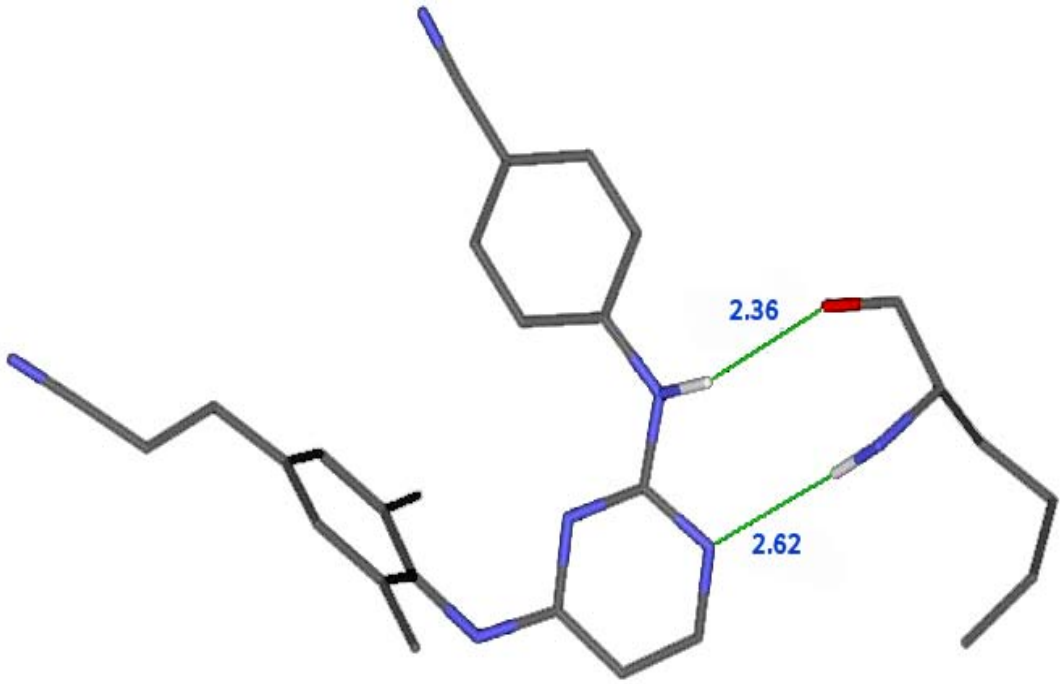
จากการคำนวณค่าพลังงานพลังงานอันตรกิริยาระหว่าง ตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p) พบว่า พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 มีค่าพลังงานสูงที่สุดคือ -6.25 kcal/mol และผลการคำนวณด้วยระเบียบวิธี B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p) พบว่า พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 มีค่าสูงที่สุด มีค่าพลังงานพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ -8.12 kcal/mol รองลงมาเป็น Typ229 มีค่าพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ -2.45 kcal/mol และ -3.11 kcal/mol อันดับสามคือ His235 มีค่าพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ -2.81 kcal/mol และ -2.43 kcal/mol ตามลำดับ ผลการคำนวณแสดงไว้ในตาราง 3 และภาพประกอบ 14 , 15 , 16 , 17 และ 18 ผลการคำนวณได้แสดงไว้ในตาราง 4

ตาราง 7 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p)

พลังงานพลังงานอันตรกิริยา (kcal/mol) โครงสร้างที่ 2		
กรดอะมิโน	B3LYP	HF
Pro095	0.19	0.23
Leu100	2.24	4.89
Lys101	**-8.12**	**-6.25**
Lys102	0.34	0.72
Lys103	1.71	3.80
Lys104	0.57	0.68
Ser105	-0.34	-0.47
Val106	0.79	1.73
Val179	-0.15	0.18
Ile180	-0.56	-0.74
Tyr181	1.08	2.80
Tyr188	-0.69	1.75
Val189	-0.11	0.04
Gly190	-0.28	-0.37
Phe227	-2.20	-1.45
Leu228	1.05	1.53
Typ229	**-3.11**	**-2.45**
Leu234	1.80	3.19
His235	**-2.43**	**-2.81**
Pro236	-1.71	-0.97
Tyr318	-0.01	0.00
Glu138(b)	-0.29	0.20

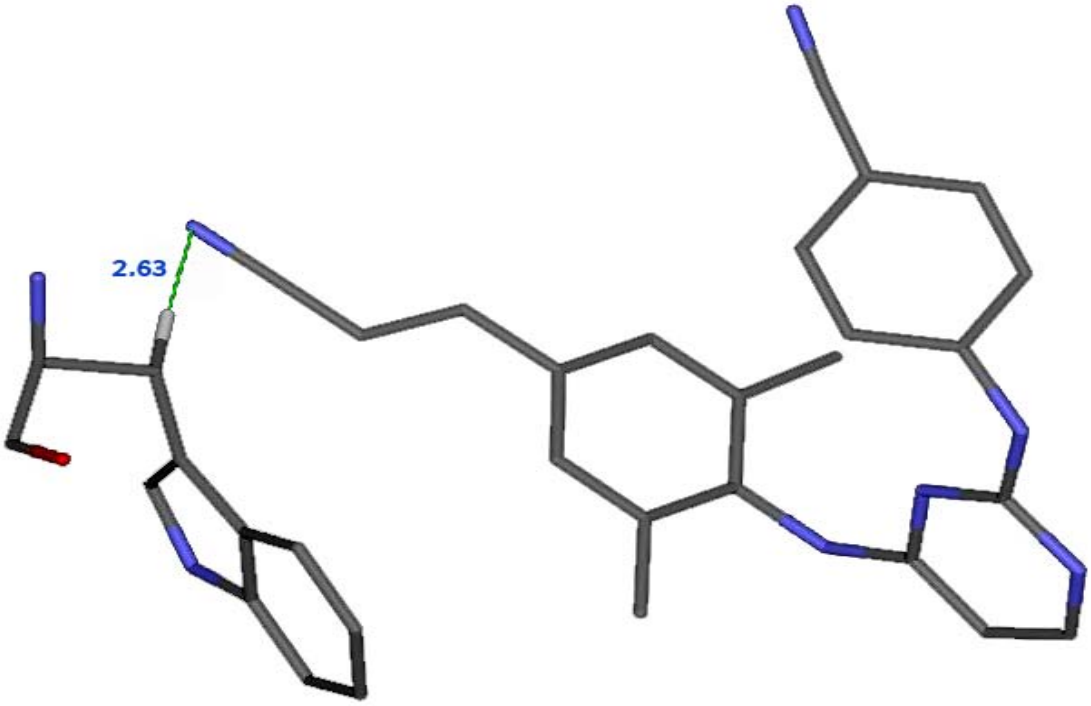


ภาพประกอบ 13 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 2 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p)

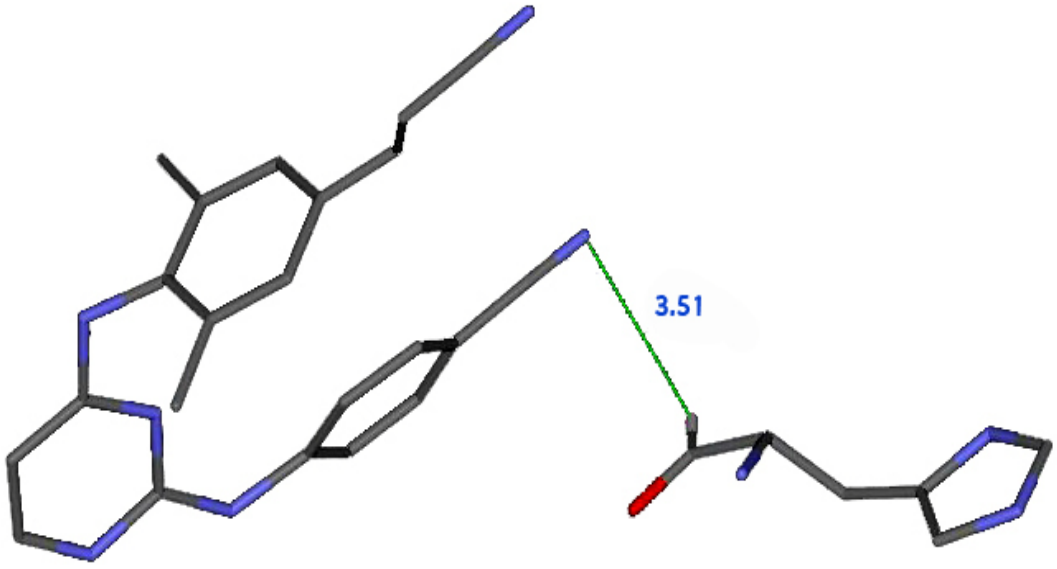


ภาพประกอบ 14 พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของLys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เอมีน ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.62 และ 2.36 อังสตรอม ตามลำดับ

พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 จากทั้งสองระเบียบวิธี พบพันธะไฮโดรเจน ระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของ lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เอมีนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.62 และ 2.36 อังสตรอม ดังภาพประกอบ 15



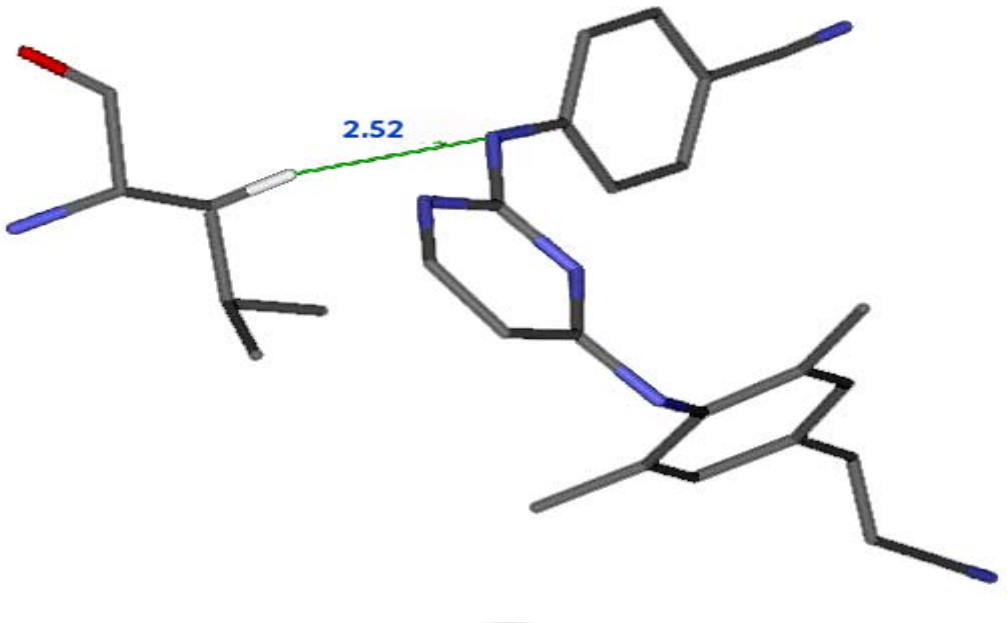
ภาพประกอบ 15 พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมไฮโดรเจนของ Typ229 กับอะตอมของไนโตรเจน ไฮโดรเจนของหมู่benzonitrile ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.63 อังสตรอม



ภาพประกอบ 16 พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมไฮโดรเจนของ His235 กับอะตอมของไนโตรเจน ของหมู่ benzonitrile ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 3.51 อังสตรอม

พบพันธะไฮโดรเจน ระหว่างอะตอมของไฮโดรเจน Typ229 กับอะตอมไนโตรเจน ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.63 อังสตรอม และ His235 กับอะตอมของไนโตรเจนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 3.51 อังสตรอม ภาพประกอบ 16 และ 17 พลังงานอันตรกิริยาดังกล่าวเป็นพลังงานอันตรกิริยาแบบดึงดูด (Attractive interactions) ซึ่งจะทำให้ตัวยับยั้ง TMC 278 กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 มีประสิทธิภาพมากขึ้น

นอกจากนี้ยังพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Leu100 จากทั้งสองระเบียบวิธี พบอันตรกิริยาแบบ แรงผลักระหว่างอะตอมไฮโดรเจนของ Leu100 กับอะตอมของไฮโดรเจนของตัวยับยั้ ง TMC 278 ซึ่งมีค่าพลังงานเท่ากับ 4.89 และ 2.24 kcal/mol ตามลำดับ ความยาวพันธะเท่ากับ 2.52 อังสตรอม พลังงานอันตรกิริยา แบบผลักนี้จะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ลดลง ดังภาพประกอบ 18



ภาพประกอบ 17 แรงผลักอะตอมไฮโดรเจนของ Leu100 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เอมีนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะเท่ากับ 2.52 อังสตรอม

สรุปได้ว่าพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 1 จากระเบียบวิธีคำนวณทั้งสองได้ผลที่สอดคล้องกันเรียงลำดับพลังงานอันตรกิริยาระหว่างกรดอะมิโนของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี – 1 กับ ตัวยับยั้ง TMC 278 3 อันดับแรกจากมากไปน้อยคือ Lys101 , Lys102 และ Pro236 แต่กับโครงสร้างแบบที่ 2 พบว่า Lys101 สอดคล้องกับโครงสร้างแบบที่ 1 แต่ Lys102 และ Pro236 ไม่สอดคล้องแต่กลายเป็น Typ229 และ His235 ที่มีพลังงานอันตรกิริยาเป็นอันดับ 2 และ 3 ตามลำดับ

ทั้งนี้เพราะการเปลี่ยนหมู่จาก Acetyl และ N-Methyl ของ Lys102 และ Pro236 ซึ่งเป็นหมู่ที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนบอนด์ได้ดีกับตัวยับยั้ง TMC 278 เปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนการเกิดพันธะไฮโดรเจนจะเกิดยาก แต่ Typ229 และ His235 มีโครงสร้างที่เป็นอะโรมาติ กเป็นองค์ประกอบเมื่อเปลี่ยน Acetyl และ N-Methyl เป็นไฮโดรเจนอะตอม Steric ในโมเลกุลจะลดลงทำให้เกิดอันตรกิริยากับตัวยับยั้ง TMC278 ได้ดี

ตาราง 8 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 1 และ โครงสร้างแบบที่ 2

พลังงานอันตรกิริยา (kcal/mol)				
	โครงสร้างที่ 1		โครงสร้างที่ 2	
กรดอะมิโน	B3LYP	HF	B3LYS	HF
Pro095	0.43	0.53	0.19	0.23
Leu100	-1.66	1.65	2.24	4.89
Lys101	**-9.57**	**-7.52**	**-8.12**	**-6.25**
Lys102	-4.80	-3.12	0.34	0.72
Lys103	2.84	5.11	1.71	3.80
Lys104	-0.09	-0.01	0.57	0.68
Ser105	-0.26	-0.26	-0.34	-0.47
Val106	0.27	0.80	0.79	1.73
Val179	0.05	0.29	-0.15	0.18
Ile180	-0.19	-0.40	-0.56	-0.74
Tyr181	0.63	2.24	1.08	2.80
Tyr188	-0.91	1.70	-0.69	1.75
Val189	-0.94	-0.44	-0.11	0.04
Gly190	0.05	0.00	-0.28	-0.37
Phe227	-3.16	-2.51	-2.20	-1.45
Leu228	0.90	1.11	1.05	1.53
Typ229	-0.78	0.21	-3.11	-2.45
Leu234	1.32	2.68	1.80	3.19
His235	-0.27	0.59	-2.43	-2.81
Pro236	**-4.65**	**-4.60**	**-1.71**	**-0.97**
Tyr318	0.09	0.10	-0.01	0.00
Glu138(b)	-0.93	-0.44	-0.29	0.20

2. ผลการแก้ไขพลังงานอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบBSSE

หลังจากทำการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณการจับ ของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p) จากนั้นทำการแก้ไข พลังงานอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE ของโครงสร้างโครงสร้างแบบที่ 1 และโครงสร้างแบบที่ 2 เพื่อให้ค่าพลังงานมีความถูกต้องมากขึ้น แสดงดังตาราง 6

ตาราง 9 การแก้ไขพลังงานอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE ของโครงสร้างแบบที่ 1 และโครงสร้างแบบที่ 2

พลังงานอันตรกิริยา (kcal/mol)				
	โครงสร้างที่ 1		โครงสร้างที่ 2	
กรดอะมิโน	B3LYP	HF	B3LYS	HF
Pro095	0.61	0.64	0.39	0.35
Leu100	2.04	4.13	5.08	6.90
Lys101	**-5.51**	**-5.05**	**-4.67**	**-4.24**
Lys102	-1.93	-1.32	0.69	0.95
Lys103	**4.85**	**6.63**	**3.87**	**5.40**
Lys104	0.27	0.26	0.58	0.69
Ser105	-0.24	-0.24	-0.34	-0.47
Val106	1.27	1.54	1.97	2.58
Val179	0.83	0.90	0.61	0.78
Ile180	0.04	-0.21	-0.53	-0.71
Tyr181	3.02	4.26	3.45	4.82
Tyr188	2.49	4.40	2.52	4.38
Val189	0.01	0.29	0.32	0.37
Gly190	0.25	0.15	-0.05	-0.19
Phe227	-0.88	-0.67	0.01	0.35
Leu228	1.24	1.41	1.20	1.66
Typ229	1.40	2.03	-1.00	-0.68
Leu234	3.31	4.25	3.54	4.57
His235	1.51	2.06	-1.31	-1.87
Pro236	-2.63	-3.01	-0.20	0.19
Tyr318	0.45	0.47	0.35	0.37
Glu138(b)	0.07	0.29	0.72	0.95

สรุปได้ว่า โครงสร้างที่ทำการ cap ด้วยไฮโดรเจนอะตอมและมีการ ปรับโครงสร้าง ของไฮโดรเจนอะตอมและโครงสร้างของตัวยับยั้ง TMC 278 ทุกอะตอม แต่ยังรักษาตำแหน่งของกรดอะมิโนทุกอะตอมที่ได้จากโครงสร้างของ X-ray คำนวณพลังงานอันตรกิริยา ด้วยระเบียบวิธี B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p) จากนั้นทำการแก้ไขพลังงานให้ถูกต้องยิ่งขึ้น ด้วยระเบียบวิธี BSSE ซึ่งทำให้พลังงานอันตรกิริยาที่ได้คาดว่าใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด เนื่องจากได้ลบผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากอิทธิพลของเบซิสเซ็ต เข้ามา พิจารณาจากการคำนวณพบว่าพลังงานอันตรกิริยาแบบดึงดูดที่พบ คือ พันธะไฮโดรเจน พลังงานอันตรกิริยา แบบผลักที่พบ คือ แรงผลักระหว่างไฮโดรเจนอะตอม ผลที่ได้จากการวิจัยนี้ น่าจะเป็นแนวทางในการอธิบายโครงสร้างและ พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมหรือออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่ที่มีประ สิทธิภาพในการจับกับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ที่ดีกว่าเดิม

บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การศึกษาอันตรกิริยาของตัวยับยั้ง TMC 278 กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 โดยนำโครงสร้าง X-ray จากฐานข้อมูลของโปรตีนรหัส 3bgr.pdb ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีตัวยับยั้ง TMC 278 อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เ อช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ จากนั้นกำหนดให้ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลาง เลือกกรดอะมิโนที่อยู่รอบๆ ในรัศมี 7 อังสตรอม ซึ่งมีกรดอะมิโนที่อยู่รอบๆ 22 ตัวดังนี้

Pro95, Lys100, Lys101, Lys102, Lys103, Lys104, Ser105, Val106, Val179, Ile180, Tyr181, Tyr188, Val189, Gly190, Phe227, Leu228, Typ229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 และ Glu138(b) จากนั้นทำการปรับโครงสร้างให้ เหมาะสมด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ semi empirical PM3

เมื่อคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่าง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิด ด้วยระเบียบวิธี HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซ็ต 6-31G(d,p) และทำการแก้ไขพลังงานทั้งหมด ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ BSSE ความสอดคล้องกันทั้งสองโครงสร้าง คือกรดอะมิโนที่มีอันตรกิริยามากที่สุด คือ Lys101 แต่ในโครงสร้างที่ 1 กรดอะมิโนที่มีอันตรกิริยารองลงมาเมื่อทำการแก้ไขพลังงานทั้งหมดคือ Pro236 ซึ่งแสดงอันตรกิริยาแบบดึงดูดด้วยแรงระหว่างขั้ว ระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนหมู่คาร์บอนิลของ Lys101 กับอะตอมไฮโดรเจนบน ตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะโดยเฉลี่ย 3.08 อังสตรอม และโครงสร้างที่ 2 His235 แสดงอันตรกิริยาแบบดึงดูดด้วยแรงระหว่างขั้วร ะหว่างอะตอมของไฮโดรเจนบริเวณที่ติดกับหมู่คาร์บอนิลของ His235 กับอะตอมของไนโตรเจนของหมู่ benzonitrile ตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะโดยเฉลี่ย 3.51 อังสตรอมซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพและกัมมันตภาพที่ดีในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบเอช ไอวี-1

จากข้อมูลทางโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์ ดังกล่าวนี้ จึงมีประโยชน์ในการที่จะนำไปสู่การ พัฒนาหรือออกแบบโครงสร้างตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์ตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการจับกับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กรมการปกครองและสำนักระบาดวิทยา. (2553). *สถานการณ์โรคเอดส์ในประเทศไทย*. สืบค้นเมื่อ 18 ตุลาคม 2553, จาก http://www.plkhealthpcm.org/index.php?option=com_content&view=article&id=70&Itemid=94

กรมควบคุมโรค และกระทรวงสาธารณสุข. (2551). *วัยรุ่นรู้ทันป้องกันได้...โรคเอดส์ เอดส์...หยุดได้ถ้าทุกคนร่วมใจหยุดเสียว*. สืบค้นเมื่อ 22 ตุลาคม 2551, จาก http://www.thaiall.com/aids/index.html

----------. (2551). *ยาต้านไวรัสเอดส์*. สืบค้นเมื่อ 4 พฤศจิกายน 2551, จาก http://library.uru.ac.th/webdb/image/bagkokbiznewslb.htm

ประสิทธิ์. (2551). *การทดลองวัคซีนโรคเอดส์ในเมืองไทยจะล้มเหลว นักวิจัยกล่าว*. สืบค้นเมื่อ 24 ตุลาคม 2551, จาก http://www.thaianewyork.com/

มะยูโซ๊ะ กูโน. (2549). *การศึกษาการกระจายพลังงานอันตรกิริยาระหว่างเนวิราพีนในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 โดยวิธีเคมีควอนตัมและโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ซิมูเลชัน*. สืบค้นเมื่อ 7 พฤศจิกายน 2551, จาก http://www.trf.or.th/reserch/abstract.asp?PROJECTID=MRG4780167

วินัย บุญสม. (2551). *โรคเอดส์และวัคซีน*. สถาบันบำราสนราดูร. สืบค้นเมื่อ 22 ตุลาคม 2551, จาก http://www.leaner.in.th/profile/boongong

สุพจน์ หารหนองบัว; และคนอื่นๆ. (2546, พฤษภาคม-มิถุนายน). *จากโครงสร้างของเอนไซม์สู่การวิจัยเพื่อออกแบบและค้นหายารักษาโรค โดยวิธีการทางเคมีคอมพิวเตอร์ : กรณีตัวอย่างโรคเอดส์ และซาร์ส*. 57(3): 140-142.

----------. (2551). *การพัฒนาระเบียบวิธีทางเคมีคอมพิวเตอร์และการนำไปใช้ในการออกแบบยาและการศึกษาการใช้ประโยชน์จากซีโอไลต์*. สืบค้นเมื่อ 24 ตุลาคม 2551, จาก http://www.forensic2.go.th/fpd21/KMEE.htm

สุภา หารหนองบัว. (2546). *การศึกษากลไกในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 บนพื้นฐานของเคมีคอมพิวเตอร์ และการออกแบบโมเลกุลด้วยตัวยับยั้งโดยโครงสร้างเอนไซม์*. สืบค้นเมื่อ 7 พฤศจิกายน 2551, จาก http://www.tkc.go.th/thesis/abstract_res.asp?item_id=44

ศิริรัตน์ ก๊กผล. (2551). *การออกแบบตัวยา*. สืบค้นเมื่อ 4 พฤศจิกายน 2551, จาก http://192.207.64/field_reserch/con_drug.doc.

อทิตยา ศิริภิญญานนท์; และศิวพร มีจู. (2546, กันยายน). *เคมี : ศาสตร์แห่งสสาร*. สืบค้นเมื่อ 6 พฤษภาคม 2551, จาก http://update.se-ed.com/192/chemistry.htm

Drug of the Future : Rilpivirine. (2007). *Journal on the Web*. Retrieved April 18, 2008, from http://journals.prous.com/journals/servlet/xmlxsl/pk_journals.xml_summary_pr?p_JournalId=2&p_RefId=1159663&p_IsPs=N

Gary Pratt; et al. (2010). *Human Immunodeficiency Virus (HIV) in older People.* Retrieved October 23, 2010, from http://www.medscape.com/viewarticle/720886

G.Kroemer. (2004). *Human immunodeficiency virus (HIV)-1 protein and cytoskeleton :partners in viral life and host cell death*. Retrieved October 23, 2010, from http:/www.nature.com/cdd/journal/v12/n1s/abs/4401582a.html.

Kuno M., Hannongbua S.; & Morokuma K. (2003, October). Theoretical investigation on nevirapine and HIV-1 reverse transcriptase binding site interaction, base on ONIOM method. *Chemical Physics Letters.* 380: 456-463.

Liu,Y.p.,Haasnoot,J.,ter Brake,O.,Berkhout,B.,Konstantinova,P. (2008). Inhibitor of HIV-1 by multiple siRNAs expressed from a single microRNA polycistron. Retrieved October 23, 2010, from *http://nar.oxfordjournals.org/content/36/9/2811.abstract.*

Medina-franco J.; et al. (2004, October). Flexible docking of pyridinone derivatives into the non-nucleoside inhibitor binding site of HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorganic & Medicininal Chemistry.* 12: 6085-6095.

Monette,A,Ajamain,L,Lopez-Lastra,M.,Mouland,A.J.(2009). Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Induces the Cytoplasmic Retention of Hetergenous Nuclear Ribonucleoprotein A1 by Disrupting Nuclear Import IMPliCATION FOR HIV-1 GENE EXPRESSION. Retrieved October 23, 2010, from http://www.jbc.org/content/284/45/31350.abstract.

Mordant C.; et al. (2006, December). Synthesis of diarylpyrimidine analogues of TMC278 and their antiviral activity against HIV-1 wild-type and mutant strains. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 42: 567-579.

Nunrium P.; Kuno M.; Saen-oon S.; & Hannongbua S. (2005, February). Particular interaction between efavirenz and the HIV-1 reverse transcriptase binding site as explained by the ONIOM2 method. *Chemical Physics Letters.* 405: 198-202.

Rauch,S,Pulkkinen,K.,Saksela,K.,Fackler,O.T.(2008). Human Immunodeficiency Virus Type 1 Nef Recruits the quinine Exchange Factor Vav 1 via an Unexpected interface into plasma Membrane Microdomain for Association with p21-Activativated Kinase 2 Activity. Retrieved October 23, 2010, from http://www.jvi.asm.org/cgi//abstract/82/6/2918

Saen-oon S.; Kuno M.; & Hannongbua S. Proteins. (2005, October). Binding energy analysis for wild-type and Y181C mutant HIV-1 RT/8-C1 *TIBO* complex structures : Quantum chemical calculations based on the ONIOM method. *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics.* 61: 859-869.

Srivub P.; et a.l (2005, March). Theoretical Investigation on Binding Energy for Wild Type and Y181C Mutant HIV-1 RT/Efavirenz Complex,Based on ONIOM Method. *ANSCSE9*. 609-616.

ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์

ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์

ชื่อ ชื่อสกุล	นายนวทรพย์ พิชัยสามารถ
วันเดือนปีเกิด	28 สิงหาคม 2515
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลศูนย์อนามัยแม่และเด็ก อ.เมือง จ.ขอนแก่น
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	464/43 ถ.ปัญญาอินทรา สามวาตะวันตก คลองสามวา กรุงเทพมหานคร 10150
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	อาจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนสาธิต ประสานมิตร ฝ่ายมัธยม มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 176 ซ สุขุมวิท 23 ถ.สุขุมวิท คลองเตยเหนือ วัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2533	ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนแก่นนครวิทยาลัย จ.ขอนแก่น
พ.ศ. 2542	วท.บ. เคมี จากมหาวิทยาลัยรามคำแหง
พ.ศ. 2554	กศ.ม. เคมี จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ