

โครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์
การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C

สารนิพนธ์
ของ
วันเพ็ญ นิลห้อย

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ตุลาคม 2551

โครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์
การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C

สารนิพนธ์
ของ
วันเพ็ญ นิลห้อย

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ตุลาคม 2551
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

โครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์
การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C

บทคัดย่อ
ของ
วันเพ็ญ นิลห้อย

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ตุลาคม 2551

วันเพ็ญ นิลห้อย. (2551). โครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C สารนิพนธ์ กศ.ม. (เคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยุไซชะ กูโน.

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัม โดยทำการศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นด้วยระเบียบวิธี HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) เพื่ออธิบายการกระจายของพลังงานที่เกิดขึ้นในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 กับตัวยับยั้ง TMC 278 ซึ่งพบพันธะไฮโดรเจน ระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบน Lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่อะมิโนของตัวยับยั้ง TMC 278 โดยมีความยาวพันธะเฉลี่ย 1.75 อังสตรอม ส่วนความยาวพันธะระหว่างอะตอมออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบนเฉลี่ย Pro236 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เบนโซไนล์ไทรล์ของตัวยับยั้ง TMC 278 มีความยาวพันธะเฉลี่ย 2.55 อังสตรอม อันตรกิริยาดังกล่าวเป็นอันตรกิริยาแบบดึงดูด ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพของตัวยับยั้ง TMC 278 ในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 และเพื่อให้การคำนวณของอันตรกิริยามีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น จึงได้ทำการแก้ไขพลังงานทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีคำนวณแบบ BSSE ซึ่งพบว่าผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับข้อมูลที่มีการศึกษาก่อนหน้านี้ จากผลการศึกษาจะเป็นแนวทางในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่หรือพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นและมีกัมมันตภาพที่ดีกว่าเดิม

STRUCTURE AND ENERGETIC ANALYSIS FOR DOUBLE MUTANT K103N/Y181C
AND HIV-1 REVERSE TRANSCRIPTASE BINDING SITE IN THE COMPLEX
WITH TMC 278 INHIBITOR

AN ABSTRACT
BY
WANPEN NILHOY

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Education Degree in Science Education
at Srinakharinwirot University
October 2008

Wanpen Nilhoy (2008). *Structure and Energetic Analysis for Double Mutant K103N/Y181C and HIV-1 Reverse Transcriptase Binding Site in the Complex with TMC 278 Inhibitor*. Master's Project, M.Ed. (Chemistry). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Project Advisor: Mayuso Kuno.

The purpose of this project was to study the structure and energetic analysis for double mutant K103N/Y181C and HIV-1 reverse transcriptase binding site in the complex with TMC 278 inhibitor based on quantum chemical calculation. 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 indicated that there were hydrogen bonding interactions between the oxygen atom on carbonyl group of backbone of Lys101 and the hydrogen atom on amino group of TMC 278 inhibitor, estimated average distance of $1.75 \text{ \AA}$. The oxygen atom on carbonyl group of backbone of Pro236 and the hydrogen atom on benzonitrile group of TMC 278 inhibitor showed estimated average distance of $2.55 \text{ \AA}$. These attractive interactions increased efficiency of TMC 278 inhibitor for HIV-1 reverse transcriptase inhibition. All of interaction energies corrected by Basis set super position error calculation (BSSE) that the result accorded with studied information. The obtained results can be used to get more understanding of drug – enzyme interactions which will be helpful for the develop and design of new higher potent inhibitor active against mutant HIV-1 reverse transcriptase.

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตร และคณะกรรมการสอบ
ได้พิจารณาสารนิพนธ์เรื่อง โครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับ
บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ
K103N/Y181C ของวันเพ็ญ นิลห้อย ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยุไซะ ภูโน)

ประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตร

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชารัตน์ ศุภศิริ)

คณะกรรมการสอบ

..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยุไซะ ภูโน)

..... กรรมการสอบสารนิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชารัตน์ ศุภศิริ)

..... กรรมการสอบสารนิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ภาณี วัฒนโอพาร)

อนุมัติให้รับสารนิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. วิเชียร มากตุ่น)
วันที่ เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2551

ประกาศคุณูปการ

สารนิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เพราะผู้วิจัยได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มะยูโซ๊ะ ฎูโน ประธานกรรมการที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ท่านได้เสียสละเวลาอันมีค่าเพื่อให้คำปรึกษาแนะนำในการดำเนินการวิจัยทุกขั้นตอน ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ อย่างดียิ่ง อีกทั้งทำให้ผู้วิจัยได้รับประสบการณ์ในการทำงานวิจัย ได้รู้และเห็นคุณค่าของงานวิจัย และพร้อมทั้งเป็นแบบอย่างของอาจารย์ที่ทุ่มเทให้กับศิษย์ในงานด้านการวิจัยและพัฒนาอย่างไม่เหน็ดเหนื่อย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้ง และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ชารารัตน์ ศุภศิริ และรองศาสตราจารย์ภาณี วัฒนโอพาร ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการสอบสารนิพนธ์นี้

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้แก่ผู้วิจัยในการศึกษาตามหลักสูตร การศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ซึ่งทำให้ผู้วิจัยได้รับความรู้อย่างเต็มเปี่ยม สามารถนำความรู้ไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ กศ.ม.เคมี (ภาคพิเศษ) รุ่นที่ 1 ที่เป็นกำลังใจและคอยช่วยเหลือมาโดยตลอด

ขอขอบคุณผู้อำนวยการกัญพินา เชื้อมชิต โรงเรียนจุฬาภรณราชวิทยาลัย เพชรบุรี รองผู้อำนวยการโรงเรียน กลุ่มบริหารงานวิชาการ กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ และคณะครูโรงเรียนจุฬาภรณราชวิทยาลัย เพชรบุรี ที่สนับสนุนโอกาสให้ผู้วิจัยได้พัฒนาชีวิตให้เจริญก้าวหน้า ทั้งคอยสนับสนุน ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของสารนิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณต่อครอบครัว “นิลห้อย” ที่มอบความรัก คอยเอาใจใส่ และสนับสนุนในทุกๆด้าน ทำให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในครั้งนี้

วันเพ็ญ นิลห้อย

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	5
ความสำคัญของการวิจัย.....	5
ขอบเขตของการวิจัย.....	5
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	5
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
โรคเอดส์.....	6
การออกแบบตัวยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์.....	11
ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์.....	17
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	19
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
การเตรียมโครงสร้างระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับ เอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์ สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C.....	23
การคำนวณอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ กรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่ง แบบ K103N/Y181C...	27
การแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE...	28
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	29
อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณ การจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์ สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C.....	29
ผลการแก้ไขอันตรกิริยาดัวยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE.....	42
5 สรุปผลการวิจัย อภิปราย และข้อเสนอแนะ.....	45

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
บรรณานุกรม.....	46
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	52

บัญชีตาราง

ตาราง

หน้า

1	พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนเรซิดิวส์แต่ละชนิด ภายในโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์ สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 1.....	30
2	พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนเรซิดิวส์แต่ละชนิด ภายในโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์ สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 2.1.....	36
3	พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 และ Pro236 ภายในโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์ สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 2.2.....	39
4	พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิด ภายในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์ สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) ของ โครงสร้างแบบที่ 1 2.1 และ 2.2.....	41
5	การแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE ของโครงสร้างแบบที่ 1 2.1 และ 2.2	43

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 โครงสร้างของตัวยับยั้งในกลุ่มนิวคลีโอไซด์.....	1
2 โครงสร้างของตัวยับยั้งในกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์.....	2
3 โครงสร้างของตัวยับยั้งในชั้นตอนเอนไซม์โปรตีเอส	2
4 โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 รหัส 3bgr.pdb.....	4
5 วงจรชีวิตของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี.....	9
6 แนวโน้มของผู้ป่วยเอดส์และผู้ป่วยเอดส์ที่เสียชีวิต จำแนกตามรายปี.....	10
7 ผังระเบียบวิธีใช้ในงานด้านเคมีคอมพิวเตอร์.....	18
8 โครงสร้าง X-ray จากฐานข้อมูลของโปรตีน รหัส 3bgr.pdb.....	23
9 บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 โดยกำหนดให้ ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลาง แล้วเลือกกรดอะมิโนที่อยู่รอบๆ ในรัศมี 7 อังสตรอม	24
10 (a) 22 กรดอะมิโน บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 โดยกำหนดให้ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลาง แล้วเลือกกรดอะมิโน ที่อยู่รอบๆ ในรัศมี 7 อังสตรอม (b) ชนิดของหมู่ที่ใช้ cap ปลาย ของกรดอะมิโน.....	25
11 บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 กับตัวยับยั้ง TMC 278 โดยการเติมไฮโดรเจนอะตอมเพื่อให้โครงสร้างสมบูรณ์.....	26
12 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 1 ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ HF และ B3LP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p).....	31
13 พันธะไฮโดรเจนระหว่างพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจน ของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบน Pro236 กับอะตอมของไฮโดรเจนของ หมู่เบนโซไนไทรล์ของตัวยับยั้ง TMC 278.....	32
14 พันธะไฮโดรเจนระหว่างพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจน ของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบน Lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนของ หมู่อะมิโนของตัวยับยั้ง TMC 278	33
15 a) พันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 (b) พันธะไฮโดรเจน ระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Pro236.....	35

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

16 กราฟแห่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 2.1 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p).....	36
17 พันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101.....	38
18 กราฟแห่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 2.2 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p).....	40
19 กราฟแห่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 1 โครงสร้างแบบที่ 2.1 และโครงสร้างแบบที่ 2.2 ด้วยระเบียบวิธี การคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p).....	42

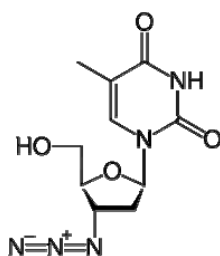
บทที่ 1

บทนำ

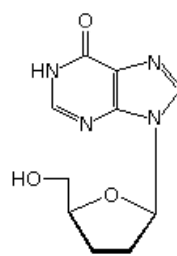
ภูมิหลัง

โรคเอดส์ หรือ Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) เป็นโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องและมีสาเหตุเนื่องมาจากการติดเชื้อไวรัส เอช ไอ วี หรือ Human Immunodeficiency Virus (HIV) ซึ่งมีสายพันธุ์ที่สำคัญ คือ เอช ไอ วี-1 (HIV-1) ปัจจุบันมีผู้ติดเชื้อไวรัส เอช ไอ วี-1 จำนวนมากกว่า 300 ล้านคน ซึ่งแพร่กระจายทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย การรักษาในปัจจุบันนั้นใช้การรับประทานยาเพื่อยับยั้งการแพร่กระจายของไวรัสในคนไข้ และมีการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันไวรัสชนิดนี้แต่ยังไม่ประสบผลสำเร็จและอาจต้องใช้ระยะเวลาในการพัฒนาอีกนานหลายปี (สุภา หารหนองบัว; และคนอื่นๆ. 2549: 1)

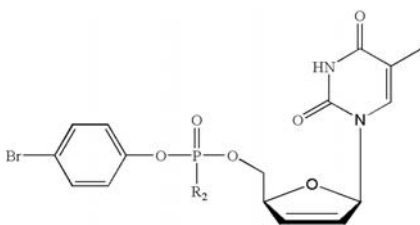
ตัวยับยั้งที่ใช้รักษาผู้ป่วยเอดส์ ซึ่งได้รับการยอมรับและสามารถนำมาใช้รักษาผู้ป่วยเอดส์ในปัจจุบันมีอยู่ 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือตัวยับยั้งที่ออกฤทธิ์ในขั้นตอนของการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ (Reverse Transcriptase) ซึ่งตัวยับยั้งในกลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย กลุ่มย่อยแรกคือ กลุ่มนิวคลีโอไซด์ (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors, NRTIs) เช่น เอแซดที (AZT) ดีดีไอ (ddI) ดี4ที (d4T) และ 3ทีซี (3TC) ดังภาพประกอบ 1



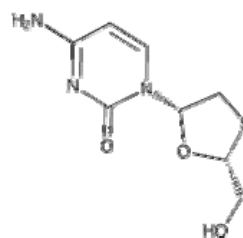
เอแซดที



ดีดีไอ



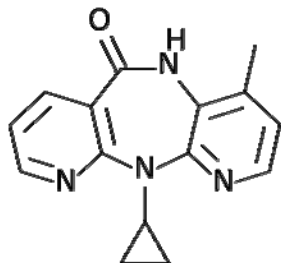
ดี4ที



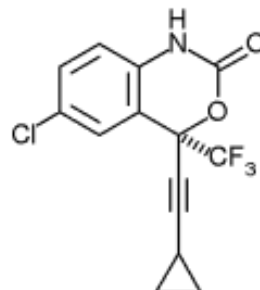
3ทีซี

ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของตัวยับยั้งในกลุ่มนิวคลีโอไซด์

ส่วนกลุ่มย่อยที่สองคือ กลุ่มนอมนิวคลีโอไซด์ (Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors, NNRTIs) เช่น เนวีราพีน (Nevirapine) เอฟาเวเรนซ์ (Efavirenz) ดังภาพประกอบ 2



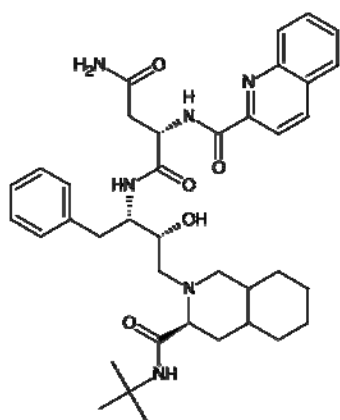
เนวีราพีน



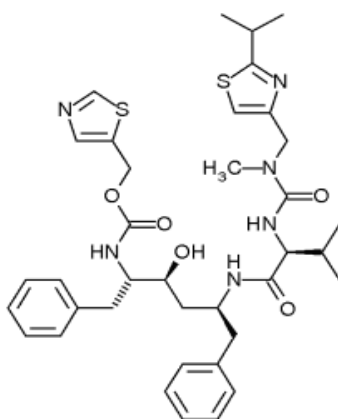
เอฟาเวเรนซ์

ภาพประกอบ 2 โครงสร้างของตัวยับยั้งในกลุ่มนอมนิวคลีโอไซด์

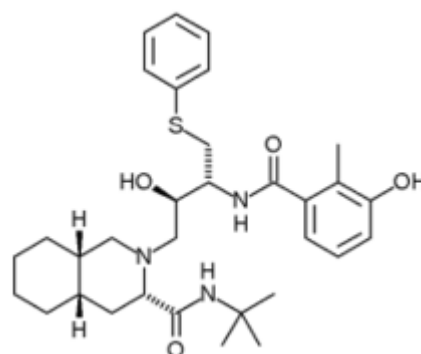
ตัวยับยั้งในกลุ่มที่สองคือ ตัวยับยั้งที่สามารถยับยั้งในขั้นตอนเอนไซม์โปรตีเอส ซึ่งเรียกว่า ตัวยับยั้งโปรตีเอส (Protease Inhibitors, PIs) เช่น ซาควินาเวียร์ (Saquinavir) ริโทนาเวียร์ (Ritonavir) และ เนลฟินาเวียร์ (Nelfinavir) โดยตัวยับยั้งในกลุ่มที่สองนี้มีราคาแพงและมีผลข้างเคียงในระยะยาวมากกว่าตัวยับยั้งในกลุ่มแรก แสดงดังภาพประกอบ 3



ซาควินาเวียร์



ริโทนาเวียร์



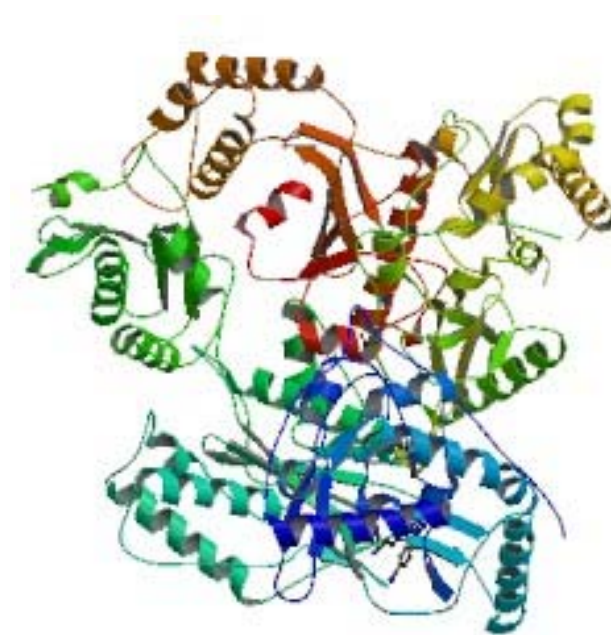
เนลฟินาเวียร์

ภาพประกอบ 3 โครงสร้างของตัวยับยั้งในขั้นตอนเอนไซม์โปรตีเอส

ตัวยับยั้งในกลุ่ม NRTIs จะมีลักษณะโครงสร้างพื้นฐานที่ใกล้เคียงกันกับเอนไซม์การถ่ายแบบ ดังนั้นตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะไปยับยั้งและทำลายเชื้อไวรัสเอชไอวีในขั้นตอนของการใช้เอนไซม์การถ่ายแบบ โดยตัวยับยั้งในกลุ่มนี้มีกัมมันตภาพในการยับยั้งไม่เฉพาะเซลล์ของเชื้อไวรัสเอชไอวีเท่านั้น แต่ยังทำลายเซลล์ที่ดีในร่างกายด้วย ซึ่งทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยเอชไอวี อย่างไรก็ตามตัวยับยั้งในกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสเอชไอวีในระดับหนึ่งเท่านั้น แต่ยังพบว่าเชื้อไวรัสเอชไอวีมีฤทธิ์ต้านทานต่อยาในกลุ่มนี้อีกด้วย ซึ่งทำให้เกิดการดื้อยาได้ ในปัจจุบันตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ยังใช้รักษาผู้ป่วยเอชไอวีอยู่ แต่จะใช้ในรูปแบบของยาผสม ซึ่งได้รับการพัฒนาโดยนักวิจัยไทย

ส่วนตัวยับยั้งในกลุ่ม NNRTIs ที่ได้รับการยอมรับจาก FDA (The American Food and Drug Administration) และนำมาใช้รักษาผู้ป่วยเอชไอวีในปัจจุบันอย่างแพร่หลาย โดยตัวยับยั้งตัวแรกคือ เนวิราพิน ซึ่งได้รับการจดทะเบียนเมื่อปี ค.ศ. 1996 และถือว่าเป็นตัวยับยั้งในรุ่นที่หนึ่ง (Generation I) ส่วนตัวยับยั้งในรุ่นที่สอง (Generation II) ได้รับการจดทะเบียนเมื่อปี ค.ศ. 1998 คือ เอฟาเวเรนซ์ ซึ่งตัวยับยั้งนี้ ถือว่าประสบความสำเร็จมากที่สุดในปัจจุบันที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยเอชไอวี และเป็นตัวยับยั้งที่ได้พัฒนาขึ้นมาในระยะหลัง เพื่อแก้ปัญหาอาการดื้อยาของผู้ป่วยเอชไอวี หลังจากใช้ตัวยับยั้งเอฟาเวเรนซ์ในระยะหนึ่ง ลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะมีโครงสร้างที่หลากหลาย แต่มีลักษณะที่สำคัญก็คือมีกัมมันตภาพในการยับยั้งที่จำเพาะต่อเอนไซม์การถ่ายแบบเท่านั้น และมีกัมมันตภาพในการยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำ จึงไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติของผู้ป่วยได้ นอกจากนี้ จากผลการศึกษาในปัจจุบันยังพบว่าตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ ถึงแม้จะมีโครงสร้างที่หลากหลายแต่พบว่ากลไกการออกฤทธิ์และการจับกับเอนไซม์มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก คือ โครงสร้างของตัวยับยั้งที่เข้าไปจับกับเอนไซม์ในบริเวณที่เป็นไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) ซึ่งทำให้โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบสูญเสียสภาพและไม่สามารถกระตุ้นกระบวนการจำลองแบบของ Proviral DNA ได้ แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นหลังจากที่ใช้ยาในกลุ่มนี้ระยะหนึ่งพบว่า เชื้อไวรัสเอชไอวีเกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพลดลง

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



ภาพประกอบ 4 โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 รหัส 3bgr.pdb

อย่างไรก็ตามกลไกการยับยั้งและการกลายพันธุ์ของเอนไซม์การถ่ายแบบ หลังจากที่ใช้ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด และยังพบว่าการกลายพันธุ์ของเอนไซม์การถ่ายแบบมีการกลายพันธุ์มากกว่าหนึ่งตำแหน่งหลังจากใช้ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ระยะหนึ่ง ซึ่งทำให้กัมมันตภาพของตัวยับยั้งมีประสิทธิภาพลดลงมาก ในปัจจุบันยังขาดข้อมูลและยังต้องการข้อมูลเพื่อใช้ในการอธิบายกลไกเพื่อแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นหลังจากใช้ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ และนอกจากนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลในการออกแบบตัวยับยั้งใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าเดิมและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ที่ดีของผู้ป่วยเอ็ดส์อีกด้วย จากการสืบค้นข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าการศึกษาวิจัยทางด้านโครงสร้างของโมเลกุลและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งในกลุ่มนี้กับบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบที่มีการกลายพันธุ์ยังมีน้อย ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ซึ่งเป็นตัวยับยั้งตัวใหม่ในกลุ่มนอวนิวคลีโอไซด์ รุ่นที่สอง ที่คาดว่าจะได้รับการจดทะเบียนจาก FDA ในปี ค.ศ. 2009 จากการสืบค้นข้อมูลตัวยับยั้ง TMC 278 (Rilpivirine) พบว่า เป็นตัวยับยั้งที่มีกัมมันตภาพสูง ครึ่งชีวิต (Half life) ยาวนาน และช่วยลดผลข้างเคียง (Side effect) ได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวยับยั้งในกลุ่มนอวนิวคลีโอไซด์ เช่น เอฟาเวเรนซ์ ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยเอ็ดส์ในเร็ว ๆ นี้ โดยการศึกษาในครั้งนี้จะใช้ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัม เพื่อนำข้อมูลที่ได้ออกมาเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญที่จะใช้ในการอธิบาย และทำให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกในการยับยั้งของเอนไซม์การถ่ายแบบของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการวิจัยจะเป็นข้อมูลที่สำคัญในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่หรือพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นต่อไป

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาโครงสร้างการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C
2. เพื่อคำนวณอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบโครงสร้างการเกิดอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C
2. ทำให้ทราบค่าการกระจายของพลังงานการจับ (Binding energy) ระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C โดยการคำนวณทางเคมีควอนตัม
3. เป็นแนวทางในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่หรือพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นและมีกัมมันตภาพที่ดีกว่าเดิม

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ semi empirical PM3 HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p)

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. โรคเอดส์ หมายถึง โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องเนื่องจากการติดเชื้อไวรัส เอช ไอ วี ซึ่งปัจจุบันพบ 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ เอช ไอ วี-1 (Human Immunodeficiency Virus Type 1) และสายพันธุ์ เอช ไอ วี-2 (Human Immunodeficiency Virus Type 2)
2. เชื้อไวรัส เอช ไอ วี-1 หมายถึง สายพันธุ์ชนิดที่ 1 ของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี ซึ่งเป็นอาร์เอ็นเอไวรัส (RNA Virus) ชนิดสายเดี่ยว จีโนม (Genome) มีความยาว 9 กิโลเบส ประกอบไปด้วยยีน 9 ชนิดในการควบคุมการสร้างโปรตีน มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของยีน จึงทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในไวรัสในรุ่นต่อไป ซึ่งมีมากขึ้นตามจำนวนของไวรัส ตามระยะเวลาของการระบาดและตามระยะเวลาของการติดเชื้อ ซึ่งถือได้ว่าเป็นเชื้อไวรัสชนิดที่มีความรุนแรงมากกว่าเชื้อไวรัส เอช ไอ วี-2 นับเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคเอดส์

3. ตัวยับยั้งโรคเอดส์ หมายถึง สารสกัดจากธรรมชาติหรือสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อหยุดยั้งหรือออกฤทธิ์ต้านการแบ่งตัวหรือการยับยั้งขบวนการในขั้นตอนวงจรการเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรัสเอดส์ เช่น ยับยั้งในขั้นตอนการใช้เอนไซม์การถ่ายแบบ เป็นต้น ตัวยับยั้งโรคเอดส์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีอยู่ 2 กลุ่ม คือ

3.1 กลุ่มตัวยับยั้งที่ออกฤทธิ์ในขั้นตอนของการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ ซึ่งตัวยับยั้งในกลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย

3.1.1 กลุ่มนิวคลีโอไซด์ เช่น เอแซดที ดีดีไอ ดี4ที หรือ 3ทีซี ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะไปยับยั้งและทำลายเชื้อไวรัสเอดส์ในขั้นตอนของการใช้เอนไซม์การถ่ายแบบโดยมีกัมมันตภาพในการยับยั้งไม่เฉพาะเซลล์ของเชื้อไวรัสเอดส์เท่านั้น แต่ยังทำลายเซลล์ที่ดีในร่างกายด้วย ซึ่งทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยเอดส์ อย่างไรก็ตามตัวยับยั้งในกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสเอดส์ได้ในระดับหนึ่งเท่านั้น แต่ยังคงพบว่ามีฤทธิ์ต้านทานต่อยาในกลุ่มนี้อีกด้วย ซึ่งทำให้เกิดการดื้อยาได้

3.1.2 กลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์ เช่น เนวिरาพีน และเอฟาไวเรนซ์ เป็นตัวยับยั้งที่ได้พัฒนาขึ้นมาตอนหลัง เพื่อแก้การดื้อยาของผู้ป่วยเอดส์หลังจากใช้ยาไประยะหนึ่งลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะมีโครงสร้างที่หลากหลาย แต่มีลักษณะที่สำคัญก็คือมีกัมมันตภาพในการยับยั้งที่จำเพาะต่อเอนไซม์การถ่ายแบบเท่านั้น และมีกัมมันตภาพในการยับยั้งที่ความเข้มข้นต่ำ จึงไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติของผู้ป่วยได้ นอกจากนั้นยังพบว่ากลไกการออกฤทธิ์และการจับกับเอนไซม์มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก ซึ่งทำให้โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบสูญเสียสภาพ และไม่สามารถกระตุ้นกระบวนการจำลองแบบของ Proviral DNA ได้ แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นหลังจากที่ใช้ยาในกลุ่มนี้ระยะหนึ่งพบว่าเชื้อไวรัสเอดส์จะเกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ของตัวยับยั้งมีประสิทธิภาพลดลง

3.2 กลุ่มตัวยับยั้งที่ออกฤทธิ์ในขั้นตอนเอนไซม์โปรตีเอส เช่น ซาควินาเวียร์ ริโทนาเวียร์ หรือ เนลฟินาเวียร์ โดยตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะมีราคาแพงและมีผลข้างเคียงในระยะยาวมากกว่าตัวยับยั้งในกลุ่มแรก

4. ตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 หมายถึง ตัวยับยั้งโรคเอดส์ตัวใหม่ในกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์ รุ่นที่สอง ที่คาดว่าจะได้รับการจดทะเบียนจาก FDA ในปี ค.ศ. 2009 มีกัมมันตภาพสูง ครึ่งชีวิตยาวนาน ช่วยลดผลข้างเคียงได้มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวยับยั้งในกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์ เช่น เอฟาไวเรนซ์ และที่น่าสนใจ คือ ไม่เหนี่ยวนำให้ไวรัสเปลี่ยนจีโนไทป์ (Genotype) หรือฟีโนไทป์ (Phenotype) ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำมาใช้และสามารถแก้ปัญหาการใช้ตัวยับยั้งกับเอนไซม์ที่เกิดการกลายพันธุ์ได้

5. เอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 หมายถึง เอนไซม์ในวงจรการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี-1 ทำหน้าที่จำลองแบบการเปลี่ยน Single-strand RNA เป็น Double-strand DNA ก่อนที่จะรวมเข้าไปใน Host genome เพื่อขยายพันธุ์เชื้อไวรัส เอช ไอ วี-1 ที่สมบูรณ์ ถือว่าเป็น

เอนไซม์เป้าหมายที่ใช้ในการค้นหาตัวยับยั้งใหม่ๆ หรือพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นเพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยเอดส์

6. เอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์ หมายถึงเอนไซม์ในวงจรการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 103 เปลี่ยนจากกรดอะมิโนไลซีนเป็นกรดอะมิโนแอสพาราจีน (K103N) และที่ตำแหน่ง 181 เปลี่ยนจากกรดอะมิโนไทโรซีนเป็นกรดอะมิโนซิสเทอีน (Y181C)

7. ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์ หมายถึง วิธีการคำนวณทางคอมพิวเตอร์ที่เกิดจากวิชาพื้นฐานของทฤษฎีกลศาสตร์ควอนตัม และทฤษฎีกลศาสตร์สถิติ สามารถใช้วัดสมบัติของสารได้ถึงระดับอะตอมหรือโมเลกุล เช่น ระเบียบวิธีการคำนวณ Semi empirical PM3 HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) และคำนวณพลังงานให้มีความถูกต้องยิ่งขึ้นด้วยระเบียบวิธี BSSE (Basis set super position error)

8. โครงสร้างแบบที่ 1 หมายถึง โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการปรับโครงสร้างของไฮโดรเจนอะตอมทั้งหมด ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ Semi empirical PM3 แต่ยังคงรักษาตำแหน่งของกรดอะมิโนทุกอะตอมที่ได้จากโครงสร้างของ X-ray

9. โครงสร้างแบบที่ 2 หมายถึง โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการปรับโครงสร้างของไฮโดรเจนอะตอม และ TMC 278 ทุกอะตอม ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ Semi empirical PM3 แต่ยังคงรักษาตำแหน่งของกรดอะมิโนทุกอะตอมที่ได้จากโครงสร้างของ X-ray

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

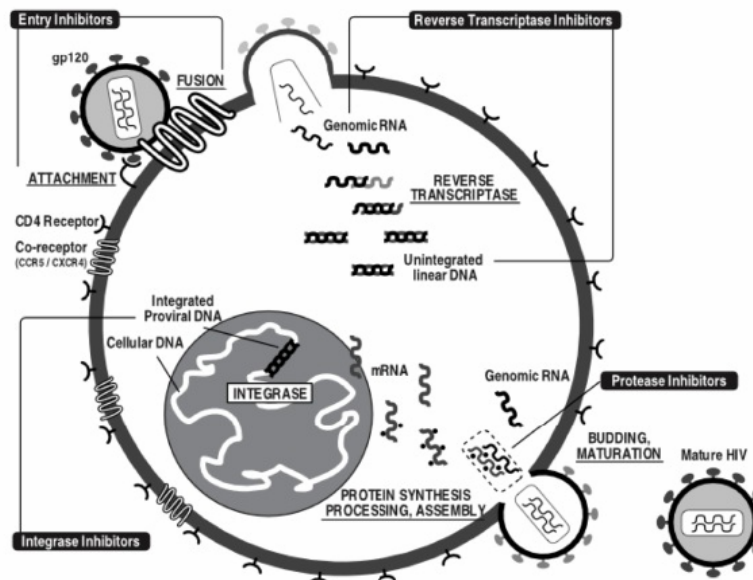
1. โรคเอดส์
2. การออกแบบตัวยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์
3. ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์
4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. โรคเอดส์

เอดส์ หรือ AIDS เป็นกลุ่มอาการเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นเพราะร่างกายได้รับเชื้อไวรัสเอดส์ เอช ไอ วี ซึ่งจะเข้าไปทำลายเม็ดเลือดขาว ที่เป็นแหล่งสร้างภูมิคุ้มกันโรค ทำให้ภูมิคุ้มกันโรคลดน้อยลง จึงทำให้ติดเชื้อโรคฉวยโอกาสแทรกซ้อนเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายขึ้น เช่น วัณโรคในปอด หรือต่อมน้ำเหลือง เยื่อหุ้มสมองอักเสบจากเชื้อรา โรคผิวหนังบางชนิด หรือเป็นมะเร็งบางชนิดได้ง่ายกว่าคนปกติ ซึ่งสาเหตุของการเสียชีวิตมักเกิดขึ้นจากโรคติดเชื้อฉวยโอกาสต่างๆ เหล่านี้ ทำให้อาการจะรุนแรง และเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว (กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. 2551: ออนไลน์); ในปัจจุบันพบเชื้อ เอช ไอ วี สองชนิดคือ เอช ไอ วี-1 และ เอช ไอ วี-2 (ประวัติความเป็นมาของโรคเอดส์เป็นอย่างไร. 2538: ออนไลน์)

เชื้อไวรัส เอช ไอ วี-1 เริ่มติดต่อสู่คนครั้งแรก เมื่อประมาณปี ค.ศ. 1930 เป็นอาร์เอ็นเอไวรัส ชนิดสายเดี่ยว จีโนม มีความยาว 9 กิโลเบส ประกอบไปด้วยยีน 9 ชนิดในการควบคุมการสร้างโปรตีน (ชาวไวรัสวิทยา. 2549: ออนไลน์); ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสของยีน จึงทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในไวรัสในรุ่นต่อไป และมีมากขึ้นตามจำนวนของไวรัส ตามระยะเวลาของการระบาดและตามระยะเวลาของการติดเชื้อ ถือได้ว่าเป็นเชื้อไวรัสชนิดที่มีความรุนแรงมากกว่าเชื้อไวรัส เอช ไอ วี-2 (วิภา เทียมชัย. 2549: ออนไลน์); นับเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคเอดส์

1.1 วงจรชีวิตของเชื้อไวรัส HIV



ภาพประกอบ 5 วงจรชีวิตของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี

ที่มา: รัชณู เจริญพัทตร์. (2551). *Tenofovir Disoproxil Fumarate : ยาท้านเชื้อไวรัส HIV ชนิดใหม่*. (ออนไลน์).

จากภาพประกอบ 5 เมื่อไวรัสผ่านเข้าสู่ร่างกายเข้าสู่กระแสเลือด ไวรัสจะเคลื่อนที่ไปจับกับเซลล์ที่มี CD4 receptor ที่ผิวเซลล์ เช่น T lymphocyte , Monocytes/Macrophage, Follicular cell ของต่อมน้ำเหลือง Langerhans cells ที่ผิวหนัง นอกจากนี้ยังมีเซลล์ในอวัยวะอื่น ๆ อีกที่มี 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 และสร้างเป็นโปรตีนต่าง ๆ ของไวรัสจาก mRNA ด้วย Ribosome ของเซลล์เป้าหมาย เกิดการรวมระหว่าง Genomic RNA ของไวรัสกับโปรตีนต่าง ๆ เพื่อสร้างเป็นไวรัสใหม่ จากนั้นจะมีการสร้าง Envelope จากเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมายและแตกหน่อ (Budding)

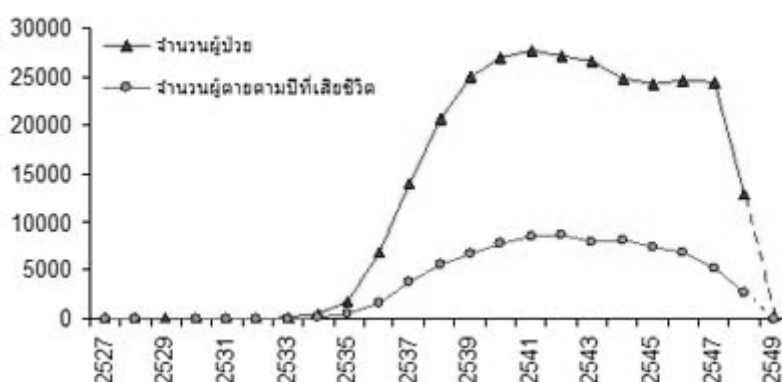
ออกจากเซลล์ ปล่อยไวรัสออกมามากมายโดยอาศัยเอนไซม์โปรตีเอสและเอนไซม์อื่น ๆ ของไวรัส ซึ่งความรู้ที่ได้จากการศึกษาวงจรชีวิตของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี จะนำไปสู่การสร้างออกแบบยาหรือพัฒนายาต้านไวรัสโดยอาศัยกลไกการออกฤทธิ์ต่าง ๆ เพื่อยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสต่อไป (รัชну เจริญพัทตร์. 2551: 2-3)

1.2 กลไกการก่อโรคของเชื้อไวรัสเอดส์

เมื่อเชื้อไวรัสเอดส์ผ่านเข้าสู่กระแสเลือด ร่างกายจะตอบสนองโดยการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานต่อเชื้อเอดส์หรือแอนติบอดีภายในร่างกาย ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเชื้อเอดส์บางส่วนได้ การตรวจหาการติดเชื้อเอดส์จะใช้วิธีตรวจแอนติบอดีแทนการตรวจเชื้อเอดส์ เพราะเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกมากกว่าเชื้อเอดส์จะเข้าเกาะติดกับเม็ดเลือดบางชนิด CD4 ซึ่งปกติทำหน้าที่เป็นภูมิคุ้มกันเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมอื่น และจะเจาะผ่านเข้าอยู่ภายในเซลล์ เชื้อเอดส์จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นจนเซลล์ CD4 แตกออก เชื้อเอดส์จะเข้าสู่กระแสเลือดไปเกาะเซลล์ CD4 ตัวอื่นๆ ต่อไป ภูมิคุ้มกันร่างกายไม่สามารถทำลายเฉพาะเชื้อเอดส์ที่มีอยู่ในเซลล์ CD4 แต่เซลล์ CD4 ที่มีเชื้อเอดส์จะถูกทำลายไปด้วย เพราะภูมิคุ้มกันไม่สามารถเลือกทำลายเฉพาะเชื้อเอดส์ได้ เมื่อเซลล์ CD4 ลดลงเรื่อยๆ ภูมิคุ้มกันร่างกายจึงเสื่อมลงจนไม่สามารถป้องกันเชื้อโรคต่างๆ ได้ (โรคเอดส์. 2551: ออนไลน์)

1.3 สถานการณ์โรคเอดส์ในประเทศไทย

จากรายงานสถานการณ์ผู้ป่วยเอดส์และผู้ติดเชื้อที่มีอาการในประเทศไทยล่าสุด สำนักระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข พบจำนวนผู้ป่วยเอดส์ทั้งสิ้นจำนวน 288,672 ราย โดยเสียชีวิตแล้วจำนวน 81,584 ราย แนวโน้มของการเจ็บป่วยและตายด้วยโรคเอดส์ลดลงกว่าอดีตเมื่อ 7 ปีที่ผ่านมา (พ.ศ.2538-2544) ดังภาพประกอบ 6



ภาพประกอบ 6 แนวโน้มของผู้ป่วยเอดส์และผู้ป่วยเอดส์ที่เสียชีวิต จำแนกตามรายปี

ที่มา: แอนท์ แอนตี้ เอดส์ [Ant Anti Aids]. (2551). สถานการณ์โรคเอดส์. (ออนไลน์).

ผู้ป่วยเอดส์ส่วนใหญ่พบมากในวัยทำงานที่มีอายุระหว่าง 20-39 ปี ในกลุ่มอายุ 15-19 ปี พบว่า เพศหญิงมีอัตราการป่วยสูงกว่าเพศชายที่อยู่ในกลุ่มอายุเดียวกัน ในขณะที่อัตราส่วนของผู้ป่วยเอดส์ในภาพรวมพบในเพศชายสูงกว่าเพศหญิง เท่ากับ 2 : 1 ราย ซึ่งผู้ป่วยเอดส์ส่วนใหญ่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์และวัยแรงงาน ประกอบอาชีพการใช้แรงงาน รับจ้างทั่วไป ลูกจ้างโรงงาน ขับรถรับจ้าง กรรมกร ร้อยละ 46 และอาชีพเกษตรกรรม ร้อยละ 21 (สถาบันเอดส์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2551: ออนไลน์)

2. การออกแบบตัวยาหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์

2.1 การออกแบบและพัฒนาตัวยา

การพัฒนาและค้นคว้าหายาในอดีต กระทำกันในลักษณะลองผิดลองถูก (Trial and error) นั่นคือ นำสารมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ถ้าสารมีฤทธิ์ที่ดีก็ทำการพัฒนาต่อไป แต่ถ้าสารไม่มีฤทธิ์หรือมีฤทธิ์ต่ำก็ไม่เหมาะกับการพัฒนายา จึงต้องตัดสารนี้ทิ้ง แล้วเปลี่ยนนำสารอื่นๆมาทดสอบใหม่ กระบวนการเช่นนี้จะกระทำวนไปเรื่อยๆ จนกระทั่งพบสารที่มีฤทธิ์สูง จะเห็นได้ว่าวิธีการเช่นนี้ทำให้สิ้นเปลืองเวลาและเงินทุนเป็นอย่างมาก

ในปัจจุบันเทคโนโลยีทางคอมพิวเตอร์มีความก้าวหน้ามากประกอบกับประสิทธิภาพของคอมพิวเตอร์ที่สูงขึ้นเรื่อยๆ ในขณะที่ราคาคอมพิวเตอร์ลดลงไปอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์นำเอาความรู้ทางเคมีเข้ามาช่วยในการออกแบบยาโดยอาศัยเทคโนโลยีทางคอมพิวเตอร์เป็นเครื่องมือ ด้วยวิธีการนี้สามารถช่วยลดขอบเขตของการสุ่มและช่วยให้จำนวนในการลองผิดลองถูกลดลง เช่น จากปกติต้องนำสารมาทดสอบถึง 50 ชนิด จึงจะพบสารที่มีฤทธิ์ 1 ชนิด แต่ถ้าใช้วิธีการทางคอมพิวเตอร์เข้าช่วย อาจจะลดจำนวนสารเหลือเพียงแค่ 5 ชนิดก็พบสารที่มีฤทธิ์แล้วทำให้ประหยัดเวลาและเงินทุนได้อย่างมากรวมทั้งไม่สิ้นเปลืองสัตว์ทดลองอีกด้วย

2.1.1 ขั้นตอนการค้นคว้าและพัฒนา

ในการพัฒนาตัวยา 1 ชนิด จะต้องใช้เวลาและทุนทรัพย์สูงมาก ต้องผ่านขั้นตอนต่างๆมากมาย ซึ่งพอจะสรุปได้ ดังนี้

2.1.1.1 ขั้นตอนการเสาะแสวงหาสาร ในการเสาะหาสารที่คาดว่าจะมีฤทธิ์สามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดสารจากพืชสมุนไพรหรือจากสัตว์ หรือ การสังเคราะห์สารขึ้นมาเองในห้องปฏิบัติการ

2.1.1.2 ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ในหลอดทดลอง ขั้นตอนนี้จะเป็นการนำสารที่ได้จากขั้นตอนแรกมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับเชื้อโรคในหลอดทดลอง ถ้าสารนั้นไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพกับเชื้อโรคในหลอดทดลอง ถ้าสารนั้นไม่มีฤทธิ์หรือมีฤทธิ์น้อยไม่เหมาะสมที่จะทำการพัฒนาต่อไป ก็จะต้องย้อนกลับไปสู่การขั้นตอนแรก คือ ทำการหาสารตัวอื่นๆมาใหม่ จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพตามขั้นตอนที่ 2.1.1.2 ใหม่ ทำวนเป็นรอบๆ เช่นนี้ไปเรื่อยๆ จนกว่าจะพบสารที่มีฤทธิ์สูงพอที่จะพัฒนาเป็นยาต่อไปได้

2.1.1.3 ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ในสัตว์ทดลอง ขั้นตอนนี้ก็จะเหมือนกับขั้นตอนที่ 2.1.1.2 เพียงแต่เปลี่ยนเป็นนำสารมาทดสอบกับสัตว์ทดลอง เนื่องจากสภาพแวดล้อมในการออกฤทธิ์ของสารในหลอดทดลองกับในสัตว์ทดลองมีความแตกต่างกันมาก สารที่มีฤทธิ์สูงตามขั้นตอนที่ 2.1.1.2 อาจจะไม่มีการแสดงฤทธิ์ในสัตว์ทดลองเลยก็ได้

2.1.1.4 ขั้นตอนทดสอบความเป็นพิษ สารที่ได้ผ่านมาจากขั้นตอนที่ 2.1.1.3 จะต้องถูกนำมาทดสอบเพื่อศึกษาหาระดับความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง ถ้าสารนั้นมีพิษก็ต้องหยุด แล้วกลับไปเริ่มใหม่ (ขั้นตอนที่ 2.1.1.1) แต่ถ้าสารนั้นไม่เป็นพิษก็สามารถผ่านเข้าไปยังขั้นตอนต่อไปได้

2.1.1.5 ขั้นตอนการศึกษาทางเภสัชจลนพลศาสตร์ (Pharmacokinetics) และเภสัชพลศาสตร์ (Pharmacodynamics) ในขั้นตอนนี้ จะทำการศึกษาความเป็นไปของสารในร่างกาย เช่น ดูว่าสารเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะเปลี่ยนรูปเป็นอะไร ไปสะสมอยู่ที่อวัยวะใด สารจะอยู่ในร่างกายนานเท่าใดก่อนถูกขับถ่าย จะต้องทำการทดสอบสารกับสัตว์ทดลองจนมั่นใจก่อนจึงจะสามารถเข้าสู่ขั้นตอนการทดสอบในคน โดยทั่วไปขั้นตอนนี้จะใช้เวลาประมาณ 3-5 ปี

2.1.1.6 ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ขั้นตอนนี้ทดสอบความเป็นพิษ และขั้นตอนการศึกษาทางเภสัชจลนพลศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ในคน ทั้งสามขั้นตอนจะดำเนินการควบคู่กันกับสัตว์ทดลอง แต่ต้องศึกษาละเอียดกว่า รวมทั้งต้องศึกษาผลข้างเคียงของสารในระยะยาวด้วย ขั้นตอนนี้จึงใช้เวลานาน โดยทั่วไปจะใช้เวลาประมาณ 5-10 ปี

2.1.1.7 ขั้นตอนการทดสอบกับคนจำนวนมากระยะที่ผ่านขั้นตอนที่ 2.1.1.6 มาแล้ว อาจจะใช้ได้ดีกับเฉพาะคนบางกลุ่มเท่านั้น เนื่องจากคนแต่ละคนและแต่ละเชื้อชาติ ย่อมมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม ยาที่ใช้ได้ดีกับคนในประเทศหนึ่ง อาจจะใช้ได้ไม่ดีกับคนในอีกประเทศหนึ่ง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาว่าสารที่พัฒนาขึ้นมาใช้ได้ผลดีกับคนทั่วโลกหรือใช้ได้ดีกับเฉพาะคนบางกลุ่ม นอกจากนั้น ในขั้นตอนนี้ยังสามารถหาผลกระทบของสารที่มีต่อผู้ป่วยที่เป็นโรคอื่นๆ หรือที่มีต่อยารักษาโรคอื่นๆ เช่น โรคหัวใจ โรคตับ ดังนั้นขั้นตอนนี้จะต้องใช้เงินทุนที่สูงมาก

2.1.1.8 ขั้นตอนขออนุญาตผลิตออกจำหน่าย เมื่อสารผ่านขั้นตอนที่ 2.1.1.7 มาแล้วก็ต้องยื่นผลการทดสอบทั้งหมดให้หน่วยงานที่รับผิดชอบ เช่น องค์การอาหารและยา เพื่อพิจารณาอนุญาตให้ผลิตออกจำหน่าย โดยทั่วไปแล้วขั้นตอนนี้ก็ต้องใช้เวลาค่อนข้างนาน (สมศักดิ์ ตนหมั่นเพียร. 2545: 69-72)

2.1.2 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของยา

ยาทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง โดยการทำงานทั่วไปเป็นไปได้สองแนวทางคือ โมเลกุลยาเข้าไปอยู่บริเวณเร่ง และกันไม่ให้สายเปปไทด์หรือโมเลกุลซับสเตรตเข้าไปในบริเวณนั้นได้ หรือโมเลกุลยาไปฝังตัวอยู่ที่บริเวณอื่นแล้วไปมีผลกระทบต่อการสร้างบริเวณเร่งทำให้โครงสร้างผิดไปจากเดิม จนเอนไซม์ไม่สามารถเปลี่ยนซับสเตรตให้เป็นผลิตภัณฑ์และสามารถหยุดยั้งการทำงานของเอนไซม์ของเชื้อไวรัสได้ อย่างไรก็ตามการที่จะหาโมเลกุลที่มีความจำเพาะสูงมากๆ ที่จะเข้าไปยึดบริเวณเร่งหรือบริเวณยึดจับได้นั้น จำเป็นต้องเข้าใจสมบัติพื้นฐานของเอนไซม์ ทั้งนี้โมเลกุลยาที่จะสามารถทำหน้าที่ได้นั้น อย่างน้อยควรมีสสมบัติพื้นฐาน คือ ขนาดและโครงสร้างของโมเลกุลพอเหมาะ บริเวณเร่งหรือบริเวณยึดจับซึ่งมีลักษณะเป็นช่องว่างเหมือนเข้าไปในถ้ำซึ่งมีซอกหรือโพรงทั้งด้านที่เป็นผนังถ้ำ พื้น และเพดานของถ้ำ โมเลกุลจะต้องมีขนาดที่สามารถผ่านปากถ้ำเข้าไปได้ เข้าไปแล้วต้องวางตัวหรือสอดบางส่วนของโมเลกุลตามซอกหรือโพรงตามผนังพื้น หรือบนเพดานถ้ำให้ได้ นอกจากนี้ถ้ายึดได้แล้วจะต้องยึดได้แน่นกว่าซับสเตรต จึงจะสามารถป้องกันไม่ให้ซับสเตรตสามารถเข้าไปเกิดปฏิกิริยาได้

จากข้อมูลที่กำลังมาพอจะสรุปได้ว่าการออกแบบหรือการค้นหายาก็คือ การสร้างหรือการค้นหามอเลกุลที่มีขนาด โครงสร้าง และมีความเป็นขั้วที่เหมาะสม ที่สามารถเคลื่อนที่เข้าไปยึดเกาะที่บริเวณยึดแล้วทำให้โครงสร้างหรือสมบัติอื่นๆของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงจนทำให้บริเวณเร่งของเอนไซม์ทำงานไม่ได้ ดังนั้นข้อมูลเบื้องต้นที่จำเป็นต้องทราบ มีดังนี้

2.1.2.1 จำนวนและการเรียงตัวของกรดอะมิโนสำหรับเอนไซม์เป้าหมาย

ก่อนจะเริ่มขั้นตอนของการค้นหาและออกแบบยา ข้อมูลเบื้องต้นที่จำเป็นต้องทราบคือ เอนไซม์เป้าหมายที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับวงจรชีวิตของเชื้อไวรัสนั้นๆ ประกอบด้วยเอนไซม์อะไรบ้าง เช่น วงจรชีวิตของเชื้อไวรัสเอดส์ จะเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ รีเวอร์ส ทรานสคริปเตส อินทิเกรส และโปรตีเอส ซึ่งเอนไซม์ทั้งสามชนิดทำหน้าที่ต่างกัน จากนั้นจึงกำหนดเป้าหมายว่าจะออกแบบและค้นหายาที่จะไปตัดวงจรชีวิตของเชื้อไวรัสในขั้นตอนใด ขั้นตอนต่อไป คือ การค้นหาข้อมูลว่าเอนไซม์ที่ใช้เป็นเป้าหมายนั้นประกอบด้วยลำดับกรดอะมิโนและเรียงตัวกันอย่างไร มีโครงสร้างสามมิติหรือไม่ ข้อมูลดังกล่าวสามารถศึกษาได้จากฐานข้อมูล Protein Data Bank จาก www.rcsb.org หรือฐานข้อมูล Gen Bank ใน www.ncbi.nlm.nih.gov เป็นต้น ซึ่งสามารถเข้าไปอัดสำเนา (Copy) มาใช้ได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

2.1.2.2 โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ (Three dimensional structure)

โครงสร้างสามมิติที่มีอยู่ในฐานข้อมูล Protein Data Bank ในปัจจุบันส่วนใหญ่ได้จากเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction) ของโครงผลึกเดี่ยวของเอนไซม์ ความยุ่งยากของการหาโครงสร้างสามมิติอยู่ที่การเตรียมผลึกเพื่อให้ได้ผลึกเดี่ยว (Single crystal) ที่เหมาะสม นอกจากนี้ในฐานข้อมูลยังมีโครงสร้างสามมิติที่ได้จากเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ เทคนิคทางสเปกโตรสโกปีอื่นๆ รวมทั้งการจำลองที่ได้จากวิธีทางทฤษฎี ส่วนในกรณี

ที่ไม่มีโครงสร้างสามมิติตามที่ต้องการ จำเป็นต้องทำนายโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ขึ้น ซึ่งในปัจจุบันเทคนิคที่นิยมใช้การทำนายโครงสร้างสามมิติของโปรตีน ได้แก่ เทคนิคโฮโมโลยี โมเดลลิง (Homology modeling) หรือ คอมพาราทีฟ โมเดลลิง (Comparative modeling) เป็นต้นจากโครงสร้างสามมิติ สามารถใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์หาขนาดและรูปร่างของโพรงทั้งบริเวณเร่ง บริเวณยึดเกาะ และโพรงตามส่วนต่างๆ ทั้งภายในและโดยรอบโมเลกุลเอนไซม์ได้

2.1.2.3 สมบัติของพลวัตของหน่วยอะมิโนในสายเอนไซม์

ข้อมูลด้านโครงสร้างสามมิติที่ได้จากโครงสร้างผลึกจะเหมือนภาพนิ่งซึ่งจะคลาดเคลื่อนไปจากสภาพในร่างกายซึ่งอยู่ในสสารละลาย ดังนั้นวิธีการที่นิยมใช้เพื่อปรับให้ได้โครงสร้างที่ใกล้เคียงกับสภาพจริงให้มากที่สุด คือ การศึกษาทางทฤษฎีโดยวิธีโมเลคิวลาร์ ไดนามิกส์ ซึ่งสามารถจำลองโดยรวมอิทธิพลของตัวทำละลายเข้าไปได้ ผลก็คือจะได้โครงสร้างสามมิติที่มีสมบัติทางพลวัต (Dynamic property) ซึ่งสามารถบอกข้อมูลการเคลื่อนไหวและการยืดหยุ่นในระดับอะตอมไปจนถึงแสดงความยืดหยุ่นระดับหน่วยอะมิโนแต่ละหน่วย ซึ่งจะช่วยให้เข้าใจการทำงานของเอนไซม์ในระดับโมเลกุล และช่วยในการออกแบบโมเลกุลของยาอีกด้วย

ข้อมูลข้างต้นจะนำไปสร้างเป็นแม่แบบเพื่อนำไปใช้ในการออกแบบยาใหม่หรือค้นหาจากฐานข้อมูลหรือจากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ทราบโครงสร้างสามมิติแล้ว ดังนี้

2.1.3 การออกแบบโมเลกุลยา

การออกแบบโมเลกุลยาเป็นการออกแบบและสร้างโมเลกุลยาขึ้นใหม่ ซึ่งเป็นการพัฒนาโครงสร้างจากตัวที่ยังมีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น หรือเป็นการค้นหาตัวยังมีจากฐานข้อมูลที่มีอยู่แล้ว ซึ่งถ้าเป็นการออกแบบและสร้างโมเลกุลยาขึ้นใหม่จะอาศัยโครงสร้างสามมิติ และลักษณะของโพรงต่างๆ ในโครงสร้างเอนไซม์ ดังนั้นโมเลกุลยาที่ออกแบบและสร้างขึ้นจะต้องสามารถบรรจุลงไปในแม่แบบนั้นได้พอดี และมีหมู่ฟังก์ชัน (Functional group) ที่สามารถเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนในบริเวณผนังด้านในของแม่แบบได้พอเหมาะ ซึ่งการออกแบบเพื่อหาโมเลกุลยาที่มีขนาดพอเหมาะและเกิดอันตรกิริยาได้ดี ต้องอาศัยวิธีการทางเคมีควอนตัม เช่น วิธีการกลศาสตร์ควอนตัม (Quantum mechanics) วิธีการทางโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ (Molecular dynamics) หรือวิธีการทางโมเลคิวลาร์ดocking เป็นต้น

การค้นหาจากฐานข้อมูลที่มีอยู่แล้วหรือจากโมเลกุลหรือสารเคมีที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยทั่วไปจะใช้ระเบียบวิธีโมเลคิวลาร์ดocking ซึ่งเสมือนการนำยาหรือโมเลกุลใดๆ ที่ทราบโครงสร้างสามมิติแล้วมาหาความเป็นไปได้ในการเคลื่อนที่เข้าไปยึดเกาะในโพรงบริเวณเร่ง หรือในโพรงบริเวณยึดเกาะของเอนไซม์ ซึ่งหากเห็นว่าสารที่นำมาทดสอบนั้นมีโครงสร้างเหมาะสมกับแม่แบบก็สามารถตั้งข้อสมมติฐานได้ว่าน่าจะมีกัมมันตภาพที่ดีและสามารถนำไปทดสอบด้วยระเบียบวิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ที่มีความถูกต้องมากขึ้น

การออกแบบยาใหม่หรือการค้นหาจากฐานข้อมูลที่มีอยู่แล้ว เป็นขั้นตอนเริ่มต้นของกระบวนการผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาทั่วไป ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ

มากในการกำหนดทิศทาง หรือการลดขอบเขตของการค้นหามันพื้นฐานของทฤษฎีที่มีอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งลดขอบเขตของการค้นหาลงได้มหาศาล แทนที่จะต้องสังเคราะห์ยาขึ้นใหม่โดยการสุ่มแบบไม่มีทิศทาง อย่างไรก็ตามหลังจากการออกแบบหรือการค้นหาในคอมพิวเตอร์แล้วยังจะต้องผ่านกระบวนการสังเคราะห์ ทดสอบการออกฤทธิ์ ทดสอบผลข้างเคียง และทดสอบการใช้งานจริงอีกหลายขั้นตอน (สุพจน์ หารหนองบัว; และคนอื่นๆ. 2546: 140-142)

2.2 ยาต้านไวรัสเอดส์หรือตัวยับยั้งโรคเอดส์

ยาต้านไวรัสเอดส์ หมายถึง ยาที่ทำหน้าที่เพื่อหยุดยั้งหรือออกฤทธิ์ต้านการแบ่งตัว การยับยั้งการเกาะจับและเข้าเซลล์ (Interference with attachment and entry) ยาต้านไวรัสเอดส์ที่มีใช้ทางคลินิกในปัจจุบัน (Current Antiretroviral Drug in Clinical Use) ในปัจจุบัน ยาต้านไวรัสเอดส์ที่ได้รับการจดทะเบียนโดย U.S.FDA มีทั้งหมด 11 ชนิด ประกอบด้วยยา 3 กลุ่ม คือ

2.2.1 กลุ่มนิวคลีโอไซด์

เป็นตัวยับยั้งที่สังเคราะห์ขึ้นโดยการเปลี่ยนแปลง Side chain ของนิวคลีโอไซด์ (ไทมิดีน อะดีโนซีน และไซติดีน) การออกฤทธิ์ของยากลุ่มนี้ต้องผ่านกระบวนการฟอสโฟริเลชัน(Phosphorylation) ภายในเซลล์ให้กลายเป็นสารประกอบที่มีหมู่ฟอสเฟต 1 2 หรือ 3 หมู่ในที่สุดจึงจะออกฤทธิ์ได้ กลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ การแย่งจับกับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 (Inhibitory competitor) และการหยุดยั้งการเรียงตัวของลำดับเบสของ DNA (Chain terminator) ในกรณีที่ใช้ยากลุ่มนี้เป็นยาเดี่ยวในการรักษา (Monotherapy) จะสามารถลดจำนวนเชื้อในพลาสมาลงได้เพียง 0.3-0.7 log10 หรือน้อยกว่า 10 เท่า ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ เอแซดที ดีดีซี ดีดีไอ ดีดีเอ ดี4ที และ 3ทีซี

2.2.2 กลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์

เป็นตัวยับยั้งที่มีโครงสร้างและสูตรทางเคมีที่แตกต่างกัน แต่มีฤทธิ์แรง (Potent) ในการยับยั้งอย่างจำเพาะต่อเอนไซม์การถ่ายแบบของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี-1 เท่านั้น ไม่มีผลยับยั้งเอนไซม์ของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี-2 และเอนไซม์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแต่อย่างใด และกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างจากยาในกลุ่ม NRTIs หลายประการ เช่น เป็น Active compounds ที่ออกฤทธิ์ได้เลยโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการฟอสโฟริเลชัน หรือเมตาบอลิซึมอื่นใดอีก การออกฤทธิ์เป็นแบบ Noncompetitive คือไม่มีการแย่งจับแข่งกับ Native nucleotides แต่เป็นการจับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ตรงบริเวณล่างลงมา (Downstream) จากบริเวณเร่ง ยาในกลุ่มนี้จะถูกเมตาบอลิซึมที่ตับเกือบทั้งสิ้น

ข้อดีของยาในกลุ่ม NNRTIs ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ยาวสามารถรับประทานเพียงวันละ 1-2 ครั้ง แต่ข้อเสียคือเกิดการดื้อยารวดเร็วมากโดยเฉพาะเมื่อใช้เดี่ยวๆ หรือร่วมกับยาในสูตรที่อ่อนหรือล้มเหลวในการรักษามาก่อน และเมื่อเกิดเชื้อดื้อยาจะเกิดการดื้อต่อยาอื่น ๆ ในกลุ่มนี้ด้วย ทั้งนี้เนื่องจากยาในกลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันจริงแต่ตำแหน่งที่จับ (Binding pocket) กับเอนไซม์การถ่ายแบบเป็นตำแหน่งเดียวกันหมดนั่นเอง ความน่าสนใจของกลุ่มนี้ คือ

นอกจากจะใช้เป็นยาตัวหนึ่งในสูตรยาร่วม 3 ชนิด (Triple therapy) โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ยังไม่มีอาการมาก (Not advanced) (เพื่อเก็บ Protease inhibitors ไว้ใช้ทีหลัง) แล้ว ยา NNRTIs กลุ่มนี้ เช่น เนวิราพิน และ เอฟาเวเรนซ์ ยานี้อาจมีประโยชน์ในสูตรรักษาแบบระยะสั้น (Short course) ในการป้องกันการติดเชื้อไวรัส เอช ไอ วี จากแม่ไปสู่ลูกได้

2.2.3 กลุ่มยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส (HIV-1 Protease inhibitors)

เอนไซม์โปรตีเอส เป็นเอนไซม์ของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี-1 ประกอบด้วยโปรตีน 2 สายที่เหมือนกัน (Symmetrical isomer) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 99 กรดอะมิโน มีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการตัดย่อย Gagpol polypeptide precursor เพื่อให้ Immature HIV-1 กลายเป็น Mature infectious ภายหลังการประกอบรูปร่างไวรัสแล้ว หลายปีที่ผ่านมาจึงมีการพยายามคิดค้นยาเพื่อยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อไวรัส เอช ไอ วี โดยออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส เรียกยากกลุ่มนี้ว่า Protease inhibitors โดยอาศัยความรู้เกี่ยวกับโครงสร้าง 3 มิติ (3-dimensional structure) ของตัวยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส และการออกแบบโครงสร้างของตัวยับยั้ง ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (Computer modeling) ทำให้มียากกลุ่มนี้เกิดขึ้นหลายตัว อย่างไรก็ตามยารุ่นแรก ๆ ส่วนใหญ่เป็น Peptide-based compounds ทำให้มีปัญหาเรื่องการดูดซึม (Oral absorption) Rapid biliary clearance Poor stability และค่าใช้จ่ายสูงในการผลิต ปัจจุบันยาในกลุ่มนี้ รุ่นที่ 2 จะเน้นโครงสร้างเป็น Partially peptidic หรือ Nonpeptidic ทั้งนี้เพื่อเพิ่มการดูดซึม (Bioavailability) ยาในกลุ่มยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส ได้แก่ ริโทนาเวียร์ เนลฟินาเวียร์ ซาควินาเวียร์ และอินดินาเวียร์ (กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. 2551: ออนไลน์)

จากการศึกษาข้อมูลพบว่าตัวยับยั้งที่ใช้รักษาผู้ป่วยเอดส์ในกลุ่มแรก คือ ตัวยับยั้งกลุ่มนิวคลีโอไซด์ เช่น เอแซดที ดีดีไอ และดีดีซี มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยสูง ดังนั้นการพัฒนาการรักษาโรคเอดส์จึงสนใจกลุ่มนอวนิวคลีโอไซด์ เพราะว่าตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะมีคุณสมบัติจำเพาะในการยับยั้งเซลล์ที่เป็นเชื้อโรคเท่านั้นโดยไม่ทำลายเซลล์ที่ดีของร่างกาย และมีการใช้ยาในปริมาณที่ต่ำกว่าตัวยาในกลุ่มแรก ดังนั้นจึงมีผลข้างเคียงต่อคนใช้น้อยกว่า (สุภา หารหนองบัว. ม.ป.ป. :ออนไลน์); ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ที่ได้รับการรับรองจาก FDA มีอยู่ 3 ชนิด ชนิดแรกคือ เนวิราพิน ยับยั้งในรุ่นที่หนึ่งของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ ชนิดที่ 2 คือ เดลาเวียร์ดีน (Delavirdine) ส่วนชนิดสุดท้ายคือเอฟาเวเรนซ์ ซึ่งเป็นตัวยับยั้งในรุ่นที่สอง ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่ทำการศึกษ ตัวยับยั้งในกลุ่มนอวนิวคลีโอไซด์ (NNRTIs)

การกลายพันธุ์ของเชื้อโรคเอดส์หลังจากผู้ป่วยเอดส์ได้รับการรักษาพบว่าตัวยับยั้งแต่ละชนิดจะทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในบริเวณที่แตกต่างกัน และส่วนใหญ่พบว่าการกลายพันธุ์จะเกิดขึ้นที่ตำแหน่งต่อไปนี้เป็น Leu100Ile, Lys103Asn, Val106Ala, Val108Ile, Tyr181Cys, Tyr188Leu, Gly190Ala และ Gly190Ser นอกจากนั้นยังพบว่าการเกิดการกลายพันธุ์มีมากกว่าหนึ่งตำแหน่งโดยเฉพาะการเกิดการกลายพันธุ์พร้อมกันที่ตำแหน่ง Lys103Asn และ Tyr181Cys ซึ่งพบมากที่สุดสำหรับผู้ป่วยที่ใช้ตัวยับยั้งในกลุ่ม NNRTIs สำหรับการใช้อย่างสมรักษผู้ป่วยเอดส์ก็เช่นกัน คือ ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อโรคเอดส์เพียงตำแหน่งเดียวหรือสองตำแหน่ง

พร้อมกันก็ได้ ประสิทธิภาพของตัวยับยั้งแต่ละชนิดมีผลต่อการกลายพันธุ์ของเชื้อโรคเอดส์แตกต่างกัน เช่น เอฟาไวเรนซ์ มีประสิทธิภาพลดลงอย่างมากต่อการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Lys103Asn ส่วนเนวิราพีน มีผลต่อการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Tyr181Cys และ เดลาเวียร์ดินมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อมีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งคือ Lys103Asn/Tyr181Cys จะ เห็นได้ว่า การกลายพันธุ์ของเชื้อโรคเอดส์จะมีผลต่อตัวยับยั้งทุกตัวที่ได้รับการรับรองจาก FDA ที่มีอยู่ในปัจจุบัน โดยเฉพาะการเกิดการกลายพันธุ์ที่สองตำแหน่งดังกล่าว

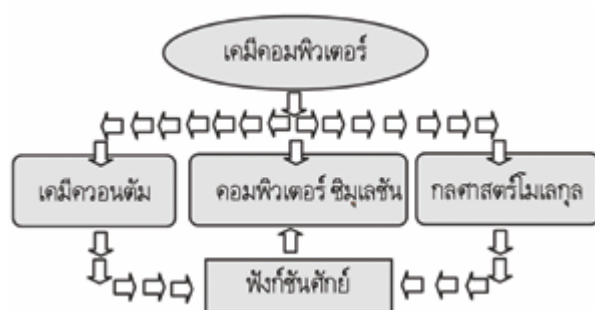
ดังนั้นทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ซึ่ง TMC 278 เป็นตัวยับยั้งที่มีกัมมันตภาพสูงครึ่งชีวิตยาวนาน ช่วยลดผลข้างเคียง ได้มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวยับยั้งในกลุ่ม NNRTIs เช่น เอฟาไวเรนซ์ และที่น่าสนใจ คือ TMC 278 ไม่เหนียวทำให้ไวรัสเปลี่ยนจีโนไทป์หรือฟีโนไทป์ (Drugs of the Future: Rilpivirine. 2550: Online); ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำมาใช้และสามารถแก้ปัญหาการใช้ตัวยับยั้งกับเอนไซม์ที่เกิดการกลายพันธุ์ได้

3. ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์

เคมีคอมพิวเตอร์ เป็นศาสตร์ใหม่ที่เพิ่งจะถูกนำมาใช้ในการวิจัยอย่างจริงจังเมื่อประมาณ 15 ปีที่ผ่านมา ซึ่งศาสตร์ที่เป็นพื้นฐานของวิชาทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์ คือ ทฤษฎีกลศาสตร์ควอนตัม และกลศาสตร์เชิงสถิติ (Statistical mechanics) เป็นทฤษฎีเก่าที่มีความสมบูรณ์ในตัวเองมาหลายทศวรรษ เนื่องจากทฤษฎีดังกล่าวมีความยุ่งยากและซับซ้อนมาก แม้กระทั่งคอมพิวเตอร์ที่มีประสิทธิภาพสูงในปัจจุบันก็ยังไม่สามารถประมวลผลให้ครบถ้วนตามหลักทฤษฎีได้ ดังนั้นความก้าวหน้าและคุณภาพของงานทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์จึงถูกกำหนดและก้าวไปพร้อมๆ กับการพัฒนาเทคโนโลยีทางด้านคอมพิวเตอร์ สิ่งที่เกิดขึ้นในระยะหลายทศวรรษที่ผ่านมาและคาดว่าจะต้องเกิดต่อไปอีกหลายทศวรรษก็คือ นักทฤษฎีต้องปรับ ลด หรือเพิ่มสมมติฐานที่มีอยู่ให้เหมาะสมกับศักยภาพของเครื่องคอมพิวเตอร์ในแต่ละยุค (สุพจน์ หารหนองบัว. ม.ป.ป.: ออนไลน์) เคมีคอมพิวเตอร์ ถูกเรียกว่าเป็นเครื่องมือวิจัยแห่งอนาคต เพราะมันสามารถใช้วัดสมบัติของสารด้วยวิธีการคำนวณได้ถึงในระดับของแต่ละอะตอม หรือโมเลกุลทีเดียว สิ่งนี้สำคัญมาก เพราะการทดลองทางเคมีบางอย่าง การวัดสมบัติของสาร มีความซับซ้อนเกินกว่าที่จะทำได้ในห้องปฏิบัติการจริง ดังนั้นเคมีคอมพิวเตอร์ จึงเป็นทางเลือกใหม่ของการพัฒนาวิจัย รวมถึงการออกแบบ และการทำนายโครงสร้างของสารเคมีหรือวัสดุขั้นสูง และสมบัติเฉพาะตัว (อภิตยา ศิริภิญญานนท์; และศิวพร มีจุ. 2546: ออนไลน์)

จากภาพประกอบ 7 ระเบียบวิธีที่ใช้ในงานทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์พอจะแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มคือ วิธีการทางเคมีควอนตัม (Quantum chemistry) วิธีการกลศาสตร์โมเลกุล (Molecular mechanics) และวิธีการทางคอมพิวเตอร์ ซิมูเลชัน (Computer simulation) ซึ่งวิธีการแรกนั้น

จะให้ผลการคำนวณที่มีความแม่นยำสูงแต่มีความซับซ้อนมาก สามารถปฏิบัติได้กับเฉพาะระบบที่ประกอบด้วยโมเลกุลขนาดเล็กจำนวนประมาณไม่กี่สิบโมเลกุลเท่านั้น สำหรับวิธีการคอมพิวเตอร์ซิมูเลชันนั้น วิธีที่รู้จักทั่วไป ตัวอย่างเช่น วิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ สามารถใช้ศึกษาหาระบบขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วยหลายหมื่นหรือหลายแสนอะตอม สามารถปรับความเข้มข้น ความดันและอุณหภูมิ หรือสมบัติใด ๆ ให้สอดคล้องกับการทดลองได้ แต่ข้อจำกัดคือการคำนวณแรงกระทำระหว่างโมเลกุล ซึ่งงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโมเลกุลขนาดใหญ่เกือบทั้งหมดในปัจจุบันต้องพัฒนาฟังก์ชันศักย์ (Potential function) ขึ้นโดยใช้ระเบียบวิธีทางกลศาสตร์โมเลกุลแทบทั้งสิ้น ซึ่งเป็นที่ทราบทั่วไปว่าเป็นวิธีที่มีความคลาดเคลื่อนสูงมาก



ภาพประกอบ 7 ผังระเบียบวิธีใช้ในงานด้านเคมีคอมพิวเตอร์

ที่มา: สุพจน์ หารหนองบัว. (2551). การพัฒนาระเบียบวิธีทางเคมีคอมพิวเตอร์และการนำไปใช้ในการออกแบบยาและการศึกษาการใช้ประโยชน์จากชีโอไลต์. (ออนไลน์).

ปัญหาสำคัญของการศึกษาวิจัยทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์ คือ ข้อจำกัดของคอมพิวเตอร์ ทั้งในเรื่องของความเร็ว ขนาดของหน่วยความจำ และขนาดของพื้นที่ที่ใช้ในการเก็บข้อมูล ดังนั้นงานวิจัยสำคัญส่วนหนึ่งจึงมุ่งไปที่การพัฒนาหรือดัดแปลงระเบียบวิธีวิจัยซึ่งตั้งอยู่บนเงื่อนไขว่า จะต้องให้ผลการศึกษาที่มีความถูกต้องมากขึ้นหรือลดระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษาให้สั้นลง และถึงแม้ว่าเคมีคอมพิวเตอร์จะได้รับการยอมรับและมีบทบาทอย่างกว้างขวางในด้านต่างๆ แต่เคมีคอมพิวเตอร์ไม่สามารถเข้ามาทดแทนการทดลองห้องปฏิบัติการได้ (มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2546: ออนไลน์)

การออกแบบโมเลกุลยาและการค้นหาด้วยวิธีการเคมีคอมพิวเตอร์

การออกแบบและการค้นหาด้วยวิธีการทางเคมีคอมพิวเตอร์เป็นวิธีที่ใช้อยู่ทั่วไปในอุตสาหกรรมยา โดยอาศัยข้อมูลจำเป็นพื้นฐาน คือ โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ที่เลือกเป็นเป้าหมาย ซึ่งจะต้องนำมาใช้ในการเป็นแม่แบบ จากนั้นจึงออกแบบหรือค้นหาโมเลกุลที่มีขนาดโครงสร้างและมีความเป็นขั้วที่เหมาะสมที่สามารถเคลื่อนที่เข้าไปยึดเกาะที่บริเวณที่จำเพาะ แล้วทำให้โครงสร้างหรือสมบัติอื่นๆ ของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไปจนทำให้เอนไซม์ทำงานไม่ได้ ซึ่งจะส่งผลทำให้วงจรการขยายพันธุ์ การเจริญเติบโตหรือการแพร่ขยายของเชื้อโรคเอ็ดส์หยุดไป จากแนวคิดดังกล่าวผู้วิจัยจึงสนใจจะศึกษาถึงโครงสร้างและอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นในบริเวณการจับ เพื่อนำข้อมูลที่เป็นพื้นฐาน มาใช้ในการอธิบายการทำงานของตัวยับยั้งที่ศึกษาและเป็นแนวทางในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่หรือพัฒนาตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นกว่าเดิม

ปัจจุบันได้มีการศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งในกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับกับตัวยับยั้งเนวิราพิน และ เอฟาเวเรนซ์ โดยใช้ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์ได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะใช้ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์มาเป็นแนวทางในการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C โดยการคำนวณค่าพลังงานการจับในบริเวณที่แตกต่างกัน

4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สมิธ และคณะ (Smith M.; et al. 2007: 969-972) ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าพลังงานอิสระ (Free energy: $\Delta\Delta G$) ของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่มีการกลายพันธุ์ของกรดอะมิโน Lys100 Val106 และ Tyr181 แบบอิสระและแบบที่จับกับตัวยับยั้งเนวิราพินและเอฟาเวเรนซ์ ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ MC/FEP (Monte Carlo/free energy perturbation) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงค่า $\Delta\Delta G$ ในผู้ป่วยที่ได้รับตัวยับยั้งเนวิราพินหรือเอฟาเวเรนซ์อย่างใดอย่างหนึ่ง

มอร์ดานต์ และคณะ (Mordant C.; et al. 2006: 567-579) ทำการสังเคราะห์ไดเอริลไพริมิดีน (Diarylpyrimidines: DAPY) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของตัวยับยั้ง TMC 278 เพื่อศึกษาผลของการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ชนิดที่มีการกลายพันธุ์และไม่มีการกลายพันธุ์ ไดเอริลไพริมิดีน ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยการเปลี่ยนตำแหน่งที่ 2 และตำแหน่งที่ 6 ของวงแหวนเบนซีนในโครงสร้างตัวยับยั้ง TMC 278 พบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ทั้งชนิดที่มีการกลายพันธุ์และไม่มีการกลายพันธุ์

กูโน, หงษ์เกรียงไกร และ หารหนองบัว (Kuno M.; Hongkrenkai R.; & Hannongbua S. 2006: 172-177) ศึกษาอันตรกิริยาแบบ $H\cdots\pi$ โดยใช้โมเลกุลของเอธานอลกับเอธีลีนด้วยระเบียบวิธี B3YLP MP2 และ ONIOM ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) แล้วทำการปรับพลังงานให้ถูกต้องด้วยวิธี Counterpoise (CP) ของ Boys-Bernardi จากนั้นใช้ระเบียบวิธี ONOM-BSSE ในการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาแบบ $H\cdots\pi$ โดยใช้โมเลกุลของเอธานอลกับเอธีลีน ซึ่งจากผลการวิจัย สามารถใช้ระเบียบวิธี B3YLP MP2 และ ONIOM มาใช้ในการศึกษาบริเวณดังกล่าวได้

นันเรียม และคณะ (Nunriam P.; et al. 2005: 198-202) ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์เอฟาเวเรนซ์ กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ B3YLP/6-31G(d,p) และ ONIOM2 (Two layered ONIOM) พบว่าเอฟาไวเรนซ์ มีอันตรกิริยากับ Lys101 มากที่สุด โดยมีค่าพลังงานอันตรกิริยาประมาณ -11.29 kcal/mol และอันตรกิริยาที่มีต่อโพรงการจับมีค่าประมาณ -22.66 kcal/mol นอกจากนั้นแล้วยังพบพันธะไฮโดรเจนระหว่าง benzoxazin-2-one และอะตอมออกซิเจนของแบคโบน Lys101 ด้วย

มี และคณะ (Mei Y.; et al. 2005: 489-495) ศึกษาผลของการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง K103N และ Y181C ในเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ซึ่งมีตัวยับยั้งเอนไซม์คือ เอฟาไวเรนซ์ เข้าจับบริเวณโพรงการจับ โดยใช้ระเบียบวิธี MFCC (Molecular Fractionation with Conjugate Caps) และคำนวณค่าพลังงานในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเอฟาไวเรนซ์กับกรดอะมิโนจำนวน 22 กรดอะมิโน โดยใช้ระเบียบวิธีคำนวณ HF/3-21G B3LYP/6-31G(d) และ MP2/6-31G(d) จากการคำนวณบ่งชี้ว่าการเข้าจับระหว่างเอฟาไวเรนซ์ กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ส่งผลให้เกิดอันตรกิริยาแบบดึงดูดด้วยแรงอิเล็คโตรสแตติก (Electrostatic force) กับอะมิโนไลซีนตำแหน่ง 101 สูง สำหรับการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง K103N แสดงการสูญเสียความสามารถในการจับของเอฟาไวเรนซ์ที่มีต่อ K103N ทำให้เกิดอันตรกิริยาแบบดึงดูดอย่างอ่อนๆระหว่างเอฟาไวเรนซ์ และ Lys101 เนื่องจากการปรับเปลี่ยนคอนฟอร์เมชัน (Conformation) ของการกลายพันธุ์ และการสูญเสียความสามารถในการจับของเอฟาไวเรนซ์ ที่ตำแหน่งการกลายพันธุ์ Y181C เนื่องจากค่าพลังงานแบบผลึกที่เพิ่มขึ้น จะเหนี่ยวนำให้ Glu698 เคลื่อนที่เข้าใกล้ตัวยับยั้งเอฟาไวเรนซ์มากขึ้น จากนั้นนำ DPC961 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของตัวยับยั้งเอฟาไวเรนซ์เข้าจับกับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 พบว่าสามารถเพิ่มอันตรกิริยาแบบดึงดูดของ His235 และลดแรงผลึกของ Glu698 ส่งผลให้ค่าพลังงานการจับเพิ่มขึ้นประมาณ 4 kcal/mol

ฮี และคณะ (He X.; et al. 2005: 423-432) ศึกษาการตื้อยาระหว่างตัวยับยั้งเนวิราพีนกับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 ที่ตำแหน่งการกลายพันธุ์ K103N และ Y181C โดยใช้ระเบียบวิธีคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์ พบว่าโครงสร้างเชิงซ้อนระหว่างตัวยับยั้งเนวิราพีนกับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 มีจำนวนอะตอมมากกว่า 5,000 อะตอมด้วยระเบียบวิธีคำนวณ MFCC จากนั้นทำการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาโดยใช้ระเบียบวิธี HF (Hartree Fock) และ DFT (Density Functional Theory) จากผลการคำนวณค่าพลังงานในการเกิดอันตรกิริยาระหว่าง

เนเวราฟีนกับกรดอะมิโนจำนวน 22 กรดอะมิโน จะให้การตอบสนองต่อการดื้อยาที่ตำแหน่งการกลายพันธุ์ K103 และ Y181C ซึ่งจะสัมพันธ์กับโครงสร้างผลึกของสารประกอบเชิงซ้อน จากผลการศึกษาจะเป็นแนวทางในการออกแบบและปรับปรุงตัวยับยั้งตัวใหม่ให้มีประสิทธิภาพการยับยั้งที่ดีกว่าเดิม

แสนอ่อน, ภูโน และ หารหนองบัว (Saen-oon S.; Kuno M.; & Hannongbua S. 2005: 859-869) ศึกษาเปรียบเทียบค่าพลังงานการจับบริเวณโพรงการจับระหว่างตัวยับยั้ง 8-Cl *TIBO* กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 แบบปกติ และแบบกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Y181C โดยใช้ระเบียบวิธีการคำนวณ ONIOM ซึ่งเอนไซม์การถ่ายแบบทั้งสองชนิด ประกอบด้วยกรดอะมิโน 20 กรดอะมิโน ซึ่งอยู่ในรัศมี 15 อังสตรอม ระเบียบวิธีการคำนวณ ONIOM2 และ ONIOM3 (Three layered ONIOM) รวมถึงมีการใช้ระเบียบวิธีคำนวณ MP2/6-31G(d) B3LYP/6-31G(d,p) และ PM3 ร่วมด้วย พบว่าค่าที่ตำแหน่งการกลายพันธุ์ Y181C สูญเสียค่ากัมมันตภาพการจับและเสถียรภาพของตัวยับยั้ง 8-Cl *TIBO* ประมาณ 8-9 kcal/mol ซึ่งแตกต่างจากการคำนวณด้วยวิธี MO:MO (Molecular Orbital Molecular Methods)

ศรีวิบ และคณะ (Srivub P.; et al. 2005: 609-616) ศึกษาเชิงทฤษฎีของค่าพลังงานการจับระหว่างตัวยับยั้งเอฟาไวเรนซ์กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 แบบปกติ และแบบกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Y181C โดยใช้ระเบียบวิธีคำนวณ ONIOM2 และ ONIOM3 ซึ่งบริเวณโพรงการจับประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 22 กรดอะมิโนซึ่งอยู่ในรัศมี 7 อังสตรอม นอกจากระเบียบวิธีคำนวณ ONIOM แล้วยังใช้ระเบียบวิธี MP2/6-31G(d), B3LYP/6-31G(d), HF/6-31G(d) และ PM3 จากการคำนวณแสดงค่าพลังงานการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 แบบปกติ และแบบกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Y181C แตกต่างกันไม่น้อยกว่า 2 kcal/mol นอกจากนั้นคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งเอฟาไวเรนซ์กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่บริเวณโพรงการจับด้วยระเบียบวิธี MP2/6-31G(d) และ B3LYP/6-31G(d)

เมดินา-แฟรงโก และคณะ (Medina-franco.; et al. 2004: 6085-6095) ศึกษาอิทธิพลของอนุพันธ์ของไพริดีโนน (Pyridinone derivatives) ในตัวยับยั้งกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์ต่อเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 โดยวิธีคำนวณทางโมเลกูลาร์ ด็อกกิง (Molecular docking) แบบเฟล็กซิบิล ด็อกกิง (Flexible docking) พบว่าเมื่อทำการด็อกกิงอนุพันธ์ของไพริดีโนนในตัวยับยั้งกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์ โครงสร้างและการจับภายในโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้อ่อนุพันธ์ของไพริดีโนนยังแสดงลักษณะไฮโดรโฟบิก ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีต่อฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 อีกด้วย

ภูโน, หารหนองบัว และ โมโรคุมา (Kuno M.; Hannongbua S.; & Morokuma K. 2003: 456-463) ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งเนเวราฟีนกับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 พบว่าโครงสร้างของตัวยับยั้งเนเวราฟีนตรงตำแหน่งวงแหวนไพริดีน เกิดการซ้อนทับกับตำแหน่งเมทิลฟีนอลของ Tyr181 คำนวณพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ 8.8 kcal/mol ด้วยระเบียบวิธี MP2/6-31+G(d) หลังจากนั้นทำการปรับโครงสร้างของตัวยับยั้งเนเวราฟีนและ Tyr181

ภายในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ให้เสถียรที่สุด ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ ONIOM3 (MP2/6-31G(d):HF/3-21G:PM3) ให้โครงสร้างเชิงซ้อนที่มีพันธะไฮโดรเจนอย่างอ่อน แต่ไม่มีการซ้อนทับกันของโครงสร้างดังกล่าว ค่าพลังงานการจับมีค่า 8.9 kcal/mol ซึ่งเป็นค่าพลังงานจากอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งเนวราฟีนกับกรดอะมิโนตัวอื่นๆ มากกว่าอันตรกิริยาเฉพาะกับ Tyr181 เท่านั้น

จากงานวิจัยดังกล่าวสามารถสรุปส่วนที่เกี่ยวข้อง ได้ดังนี้

1. ตำแหน่งที่ทำการศึกษาคือตำแหน่งที่มีการกลายพันธุ์ของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 คือ K103N และ Y181C
2. จากการคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งเอนไซม์กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ พบว่าตำแหน่งที่น่าสนใจ คือ Lys101 เนื่องจากมีค่าพลังงานอันตรกิริยาสูง คาดว่าเป็นตำแหน่งที่จะมีการกลายพันธุ์ต่อไป
3. สามารถใช้ระเบียบวิธีคำนวณ HF/6-31G(d,p), B3LYP/6-31G(d,p) และ PM3 ในการศึกษาบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ได้

บทที่ 3

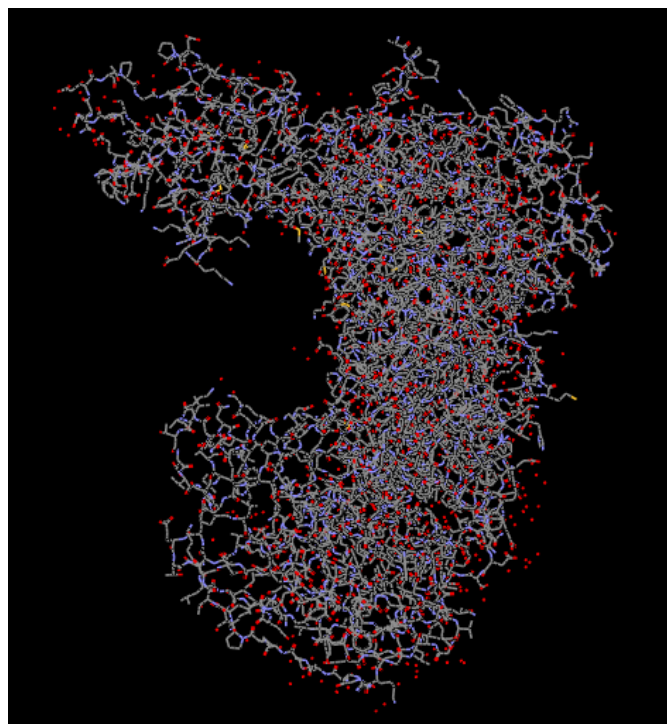
วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอน ดังนี้

1. การเตรียมโครงสร้างระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C
2. การคำนวณอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p)
3. การแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE

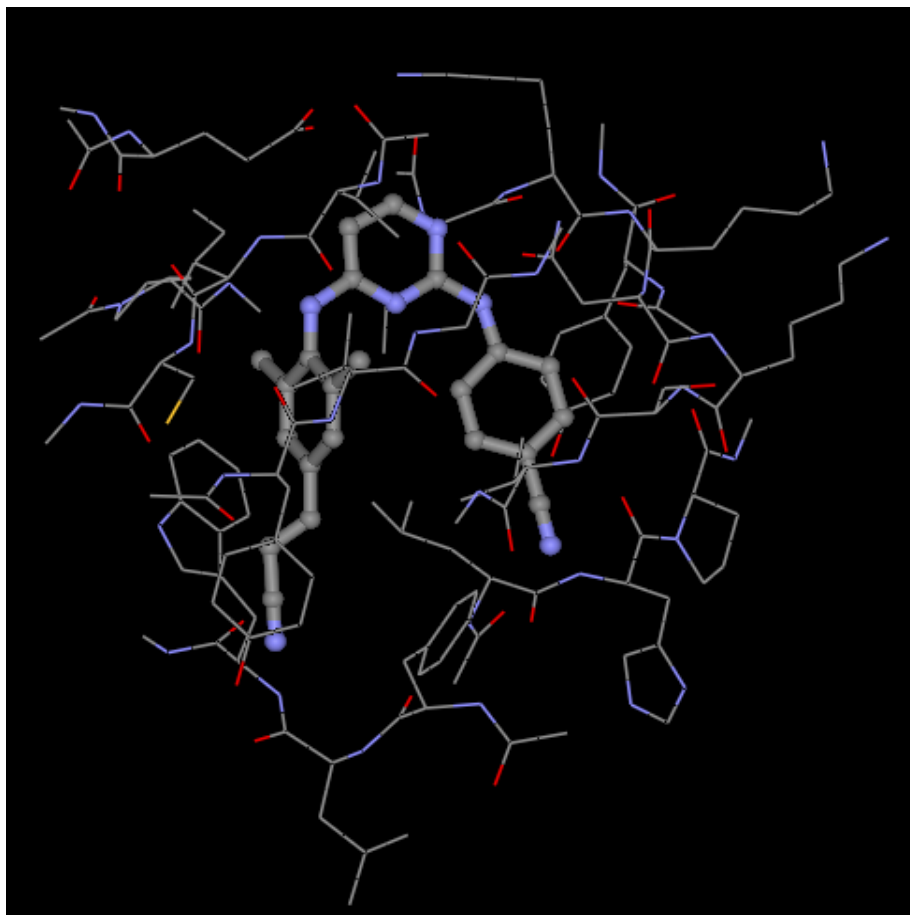
1. การเตรียมโครงสร้างระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C

1.1 นำโครงสร้าง X-ray จากฐานข้อมูลของโปรตีน (Protein Data Bank) รหัส 3bgr.pdb ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีตัวยับยั้ง TMC 278 อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ดังภาพประกอบ 8



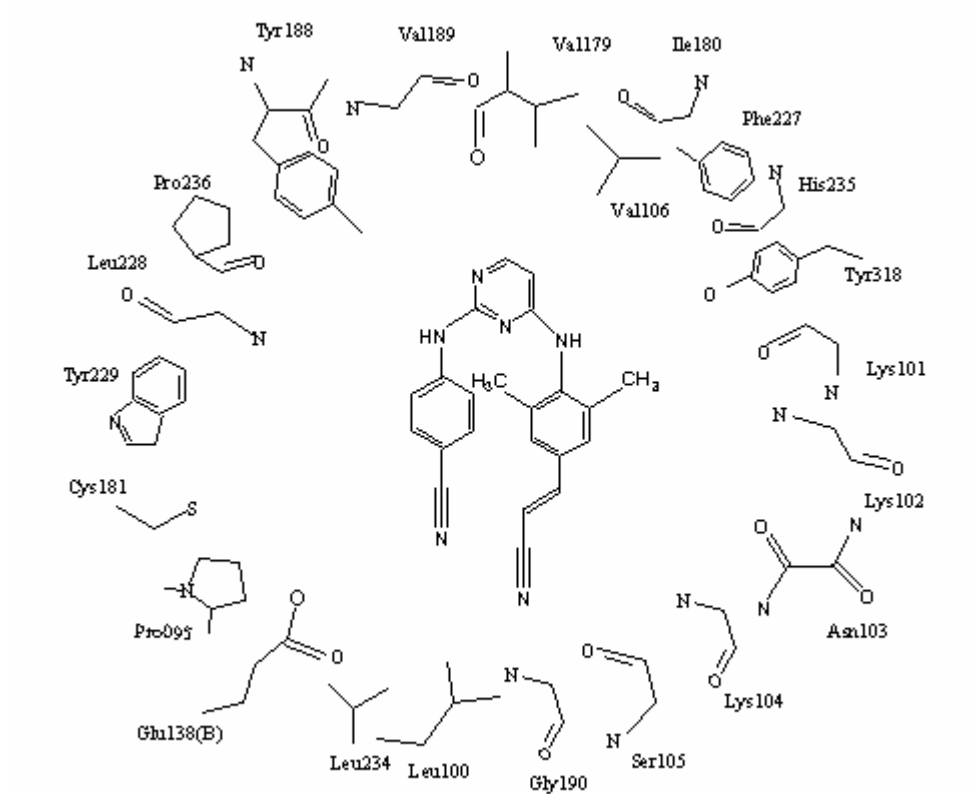
ภาพประกอบ 8 โครงสร้าง X-ray จากฐานข้อมูลของโปรตีน รหัส 3bgr.pdb

1.2 สร้างโครงสร้างบริเวณการจับ จากข้อที่ 1.1 โดยกำหนดให้ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลาง แล้วเลือกกรดอะมิโนที่อยู่รอบ ๆ ในรัศมี 7 อังสตรอม

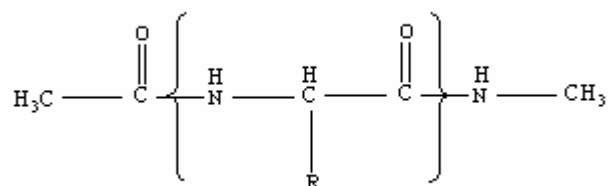


ภาพประกอบ 9 บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 โดยกำหนดให้ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลาง แล้วเลือกกรดอะมิโนที่อยู่รอบ ๆ ในรัศมี 7 อังสตรอม

จากภาพประกอบ 9 บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 จะประกอบด้วยกรดอะมิโนทั้งหมด 22 กรดอะมิโน ดังนี้ Pro95, Lys100, Lys101, Lys102, Lys103(Asn), Lys104, Ser105, Val106, Val179, Ile180, Tyr181(Cys), Tyr188, Val189, Gly190, Phe227, Leu228, Tyr229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 และ Glu138 โดยกำหนดให้กรดอะมิโนทั้งหมดอยู่ในสถานะที่เป็นกลาง ซึ่งการตัดปลายของกรดอะมิโนนั้น ให้ด้านปลาย N- cap ด้วยหมู่อะซิทิล ($\text{CH}_3\text{CO}-$) และปลาย C- cap ด้วยหมู่เมทิลอะมิโน (NHCH_3-) แสดงดังภาพประกอบ 10



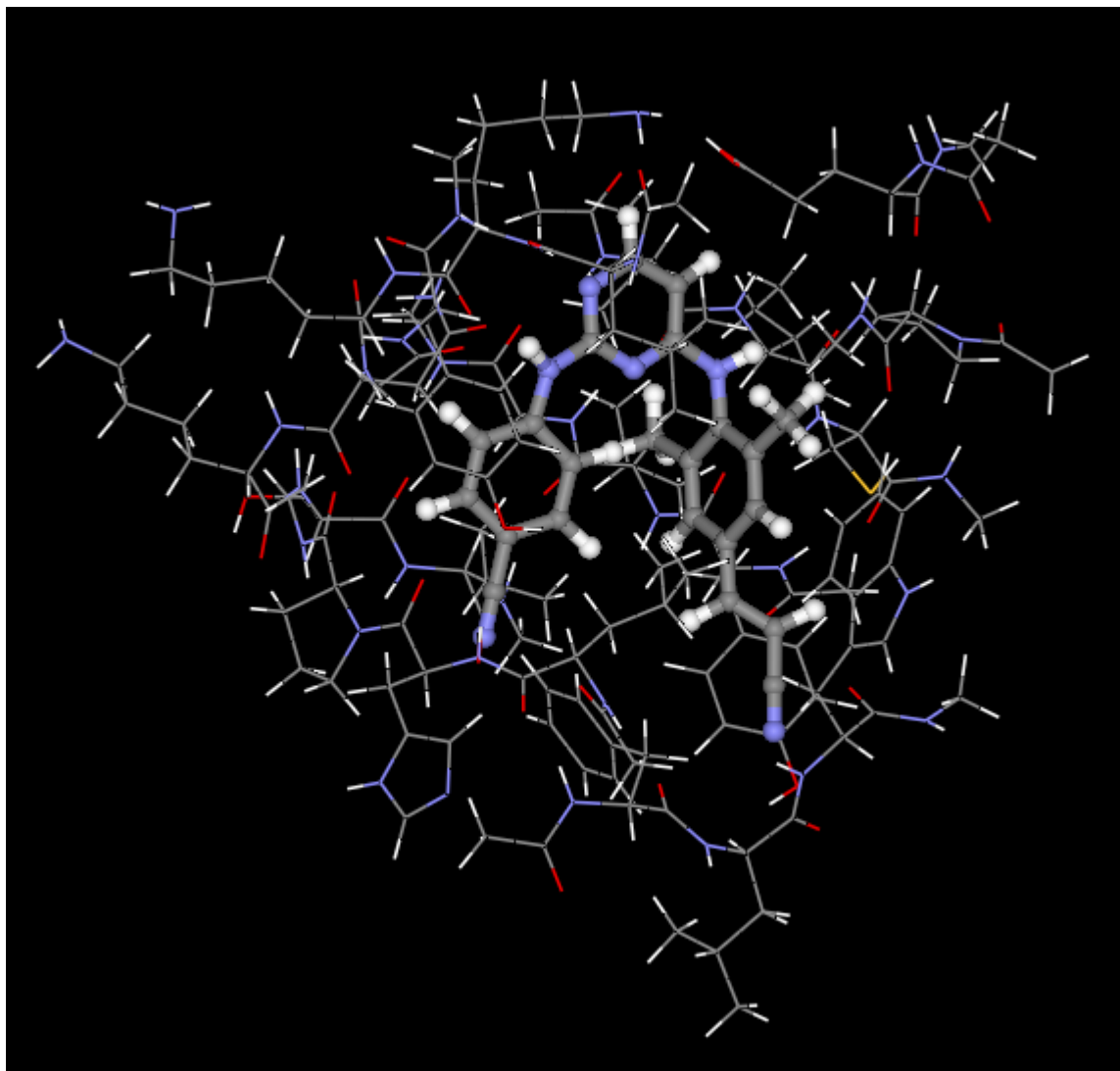
(a)



(b)

ภาพประกอบ 10 (a) 22 กรดอะมิโน ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีตัวยับยั้ง TMC 278 อยู่ตรงกลาง ในรัศมี 7 อังสตรอม (b) ชนิดของหมู่ที่ใช้ cap ปลายของกรดอะมิโน

1.3 สร้างโครงสร้างที่ได้ในข้อที่ 1.2 ให้สมบูรณ์โดยการเติมไฮโดรเจนอะตอม เนื่องจากโครงสร้าง X-ray ส่วนใหญ่จะไม่มีไฮโดรเจนอะตอม แสดงดังภาพประกอบ 11



ภาพประกอบ 11 บริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 กับตัวยับยั้ง TMC 278 โดยการเติมไฮโดรเจนอะตอมเพื่อให้โครงสร้างสมบูรณ์ โครงสร้างแบบ Ball and stick แสดงตัวยับยั้ง TMC 278 ที่อยู่ในโพรงการจับ (โดยมีชนิดของอะตอมแสดงโดยสีดังนี้: คาร์บอนแทนด้วยสีเทา ไนโตรเจนแทนด้วยสีน้ำเงิน ไฮโดรเจนแทนด้วยสีขาว) กรดอะมิโนที่อยู่ภายในโพรงการจับแสดงด้วยโครงสร้างแบบเส้น และแสดงสีในทำนองเดียวกับตัวยับยั้ง TMC 278 แต่มีชนิดของอะตอมเพิ่มเติม คือ ออกซิเจนแทนด้วยสีแดง และซัลเฟอร์แทนด้วยสีเหลือง

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

โครงสร้างแบบที่ 1 คือ โครงสร้างที่มีการปรับโครงสร้างของไฮโดรเจนอะตอมทั้งหมด แต่ยังคงรักษาตำแหน่งของกรดอะมิโนทุกอะตอมที่ได้จากโครงสร้างของ X-ray

โครงสร้างแบบที่ 2 คือ โครงสร้างที่มีการปรับโครงสร้างของไฮโดรเจนอะตอมและโครงสร้างของตัวยับยั้ง TMC 278 ทุกอะตอม แต่ยังคงรักษาตำแหน่งของกรดอะมิโนทุกอะตอมที่ได้จากโครงสร้างของ X-ray สามารถแบ่งโครงสร้างย่อยได้ ดังนี้

โครงสร้างแบบที่ 2.1 โครงสร้างที่มีการ cap ด้วยหมู่อะซิทิลและหมู่เมทิลอะมิโน

โครงสร้างแบบที่ 2.2 โครงสร้างที่มีการ cap ด้วยไฮโดรเจนอะตอม

2. การคำนวณอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบเอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) แสดงดังสมการที่ 1

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

E_{INT} แทน พลังงานอันตรกิริยา

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

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

$E_{[X_i]}$ แทน พลังงานอันตรกิริยาของกรดอะมิโนแต่ละชนิด

2.1 คำนวณอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 1 และโครงสร้างแบบที่ 2 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p)

2.2 เปรียบเทียบอันตรกิริยาระหว่างโครงสร้างแบบที่ 1 และโครงสร้างแบบที่ 2

3. การแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ 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

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

3.1 แก้ไขอันตรกิริยาที่ได้ทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE ของโครงสร้างแบบที่ 1 และโครงสร้างแบบที่ 2 เพื่อให้พลังงานที่ได้มีความถูกต้องมากขึ้น

3.2 เปรียบเทียบอันตรกิริยาที่ทำการแก้ไขของโครงสร้างแบบที่ 1 และโครงสร้างแบบที่ 2

4. ประมวลผลข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทั้งหมด เพื่อนำไปอธิบายการกระจายของพลังงานที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C

5. สรุปผลการศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัม ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นด้วยระเบียบวิธี HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) เพื่ออธิบายการกระจายของพลังงานที่เกิดขึ้นในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 กับตัวยับยั้ง TMC 278 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลมีดังนี้

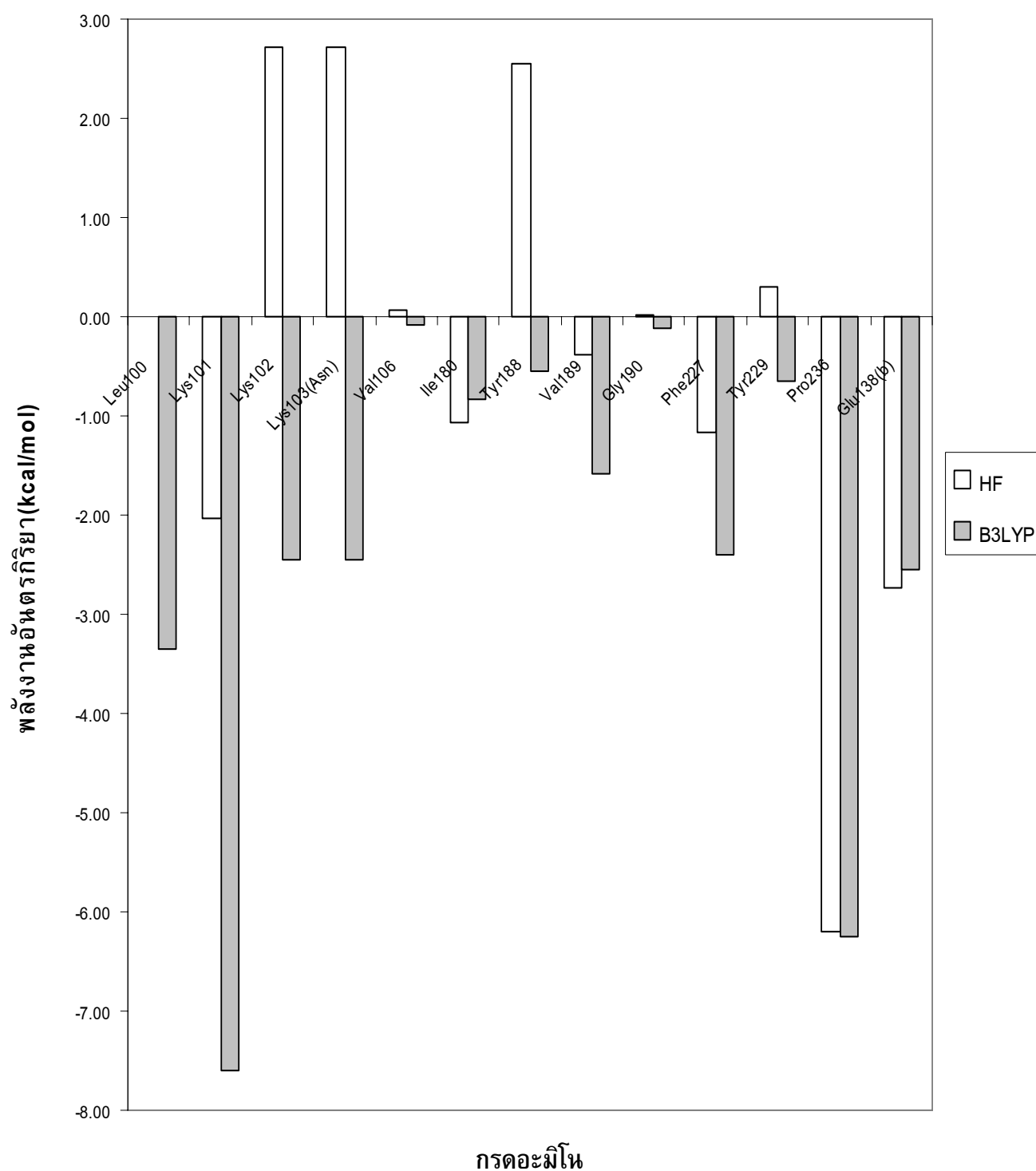
4.1 อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบเอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p)

4.1.1 การคำนวณอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบเอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 1

จากการคำนวณค่าพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ของโครงสร้างแบบที่ 1 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) พบว่า อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Pro236 มีค่าพลังงานสูงที่สุด คือ -6.20 kcal/mol และผลการคำนวณด้วยระเบียบวิธี B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) พบว่า อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 มีค่าสูงที่สุด รองลงมาเป็น Pro236 มีค่าพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ -7.60 kcal/mol และ -6.25 kcal/mol ตามลำดับ ผลการคำนวณได้แสดงไว้ในตาราง 1 และภาพประกอบ 12

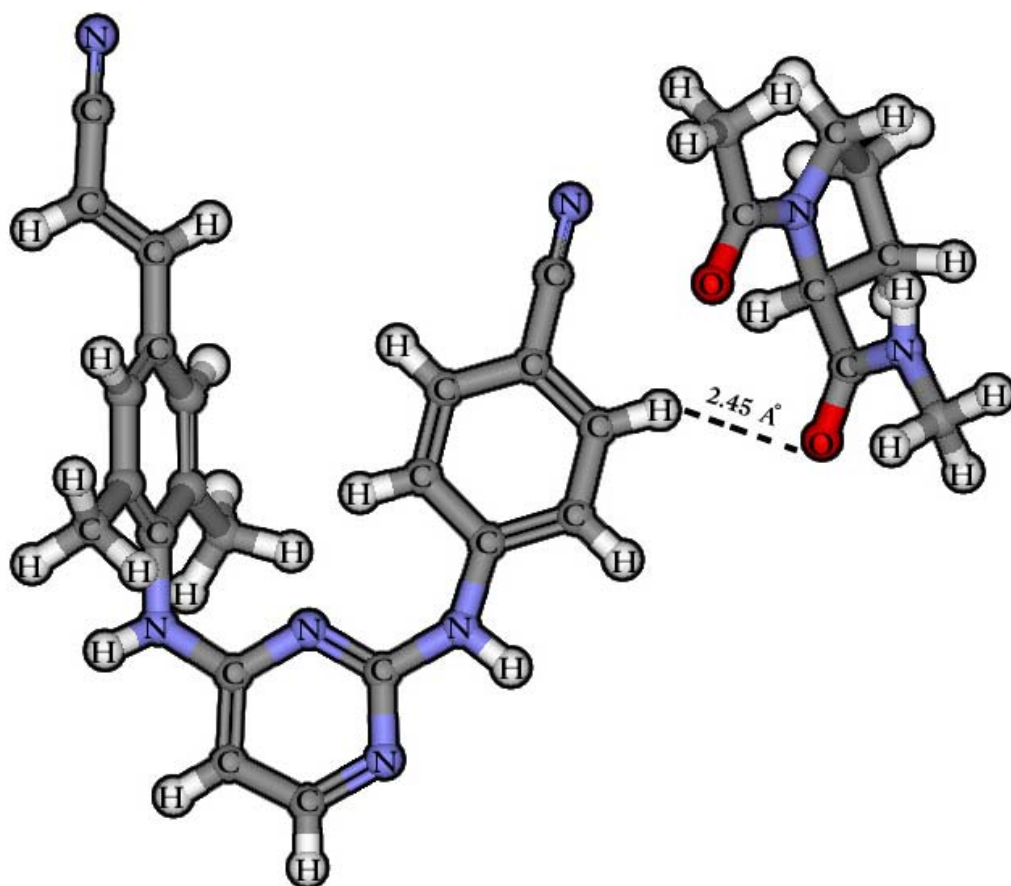
ตาราง 1 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณ
การจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ
K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) ของ
โครงสร้างแบบที่ 1

กรดอะมิโน	พลังงานอันตรกิริยา (kcal/mol)	
	HF	B3LYP
Pro095	0.60	0.49
Leu100	0.00	-3.35
Lys101	-2.04	-7.60
Lys102	2.72	-2.45
Lys103(Asn)	2.72	-2.45
Lys104	1.36	1.37
Ser105	0.49	0.46
Val106	0.06	-0.08
Val179	5.24	2.93
Ile180	-1.06	-0.84
Tyr181(Cys)	2.87	1.65
Tyr188	2.55	-0.55
Val189	-0.39	-1.59
Gly190	0.02	-0.11
Phe227	-1.17	-2.40
Leu228	0.40	0.78
Tyr229	0.30	-0.65
Leu234	2.71	1.59
His235	1.78	0.38
Pro236	-6.20	-6.25
Tyr318	1.23	0.44
Glu138(b)	-2.74	-2.55

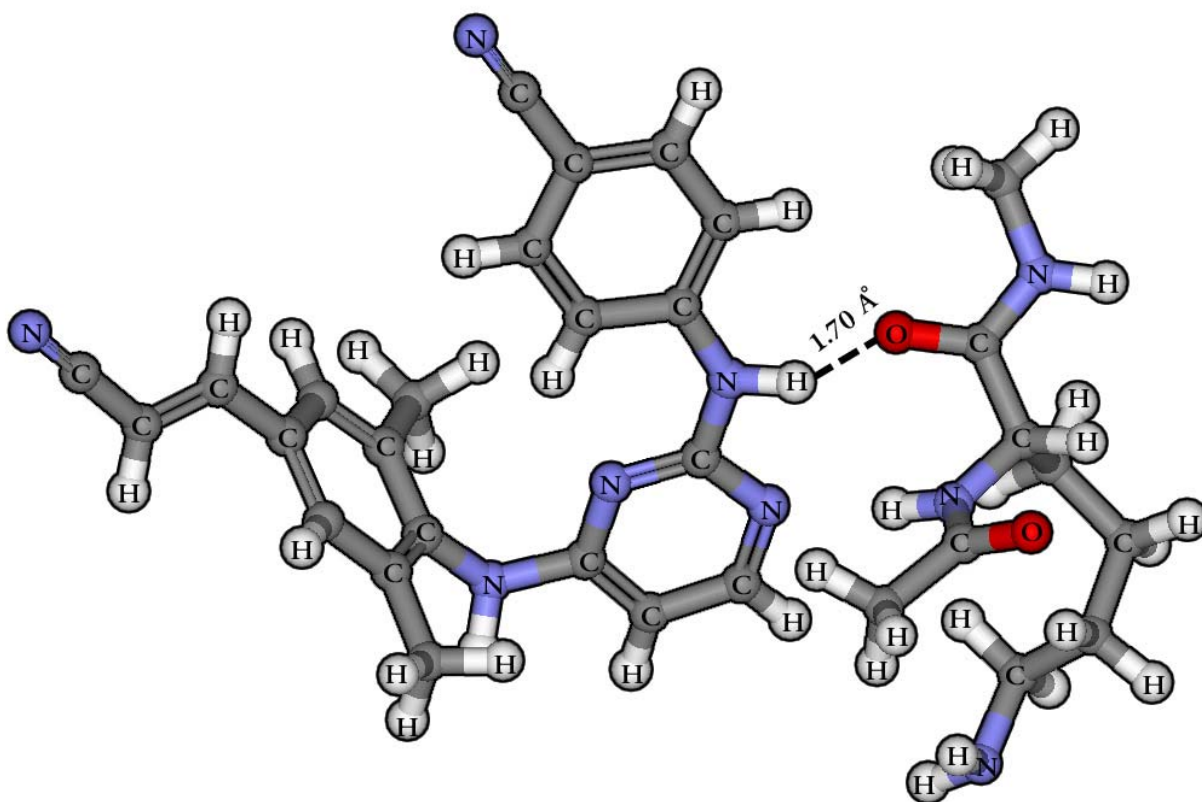


ภาพประกอบ 12 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 1 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p)

อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Pro236 จากทั้งสองระเบียบวิธี พบพันธะไฮโดรเจน ระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบน Pro236 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เบนโซไนไทรล์ของตัวยับยั้ง TMC 278 โดยมีความยาวพันธะเท่ากับ 2.45 อังสตรอม ดังภาพประกอบ 13 นอกจากนี้ยังพบพันธะไฮโดรเจน ระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบน Lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่อะมิโนของตัวยับยั้ง TMC 278 มีความยาวพันธะเท่ากับ 1.70 อังสตรอม ดังภาพประกอบ 14 อันตรกิริยาดังกล่าวเป็นอันตรกิริยาแบบดึงดูด (Attractive interactions) ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการจับระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1



ภาพประกอบ 13 พันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบน Pro236 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เบนโซไนไทรล์ ของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะ 2.45 อังสตรอม



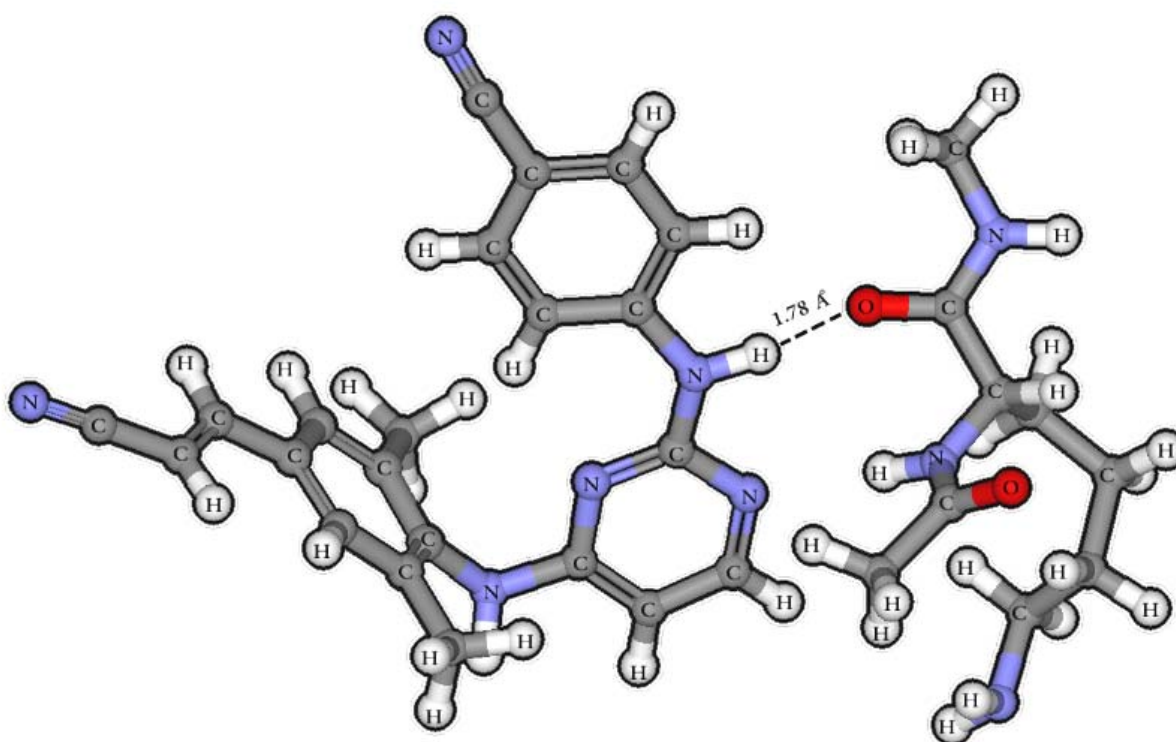
ภาพประกอบ 14 พันธะไฮโดรเจน ระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบน Lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เอมิโนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะ 1.70 อังสตรอม

4.1.2 อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 2.1

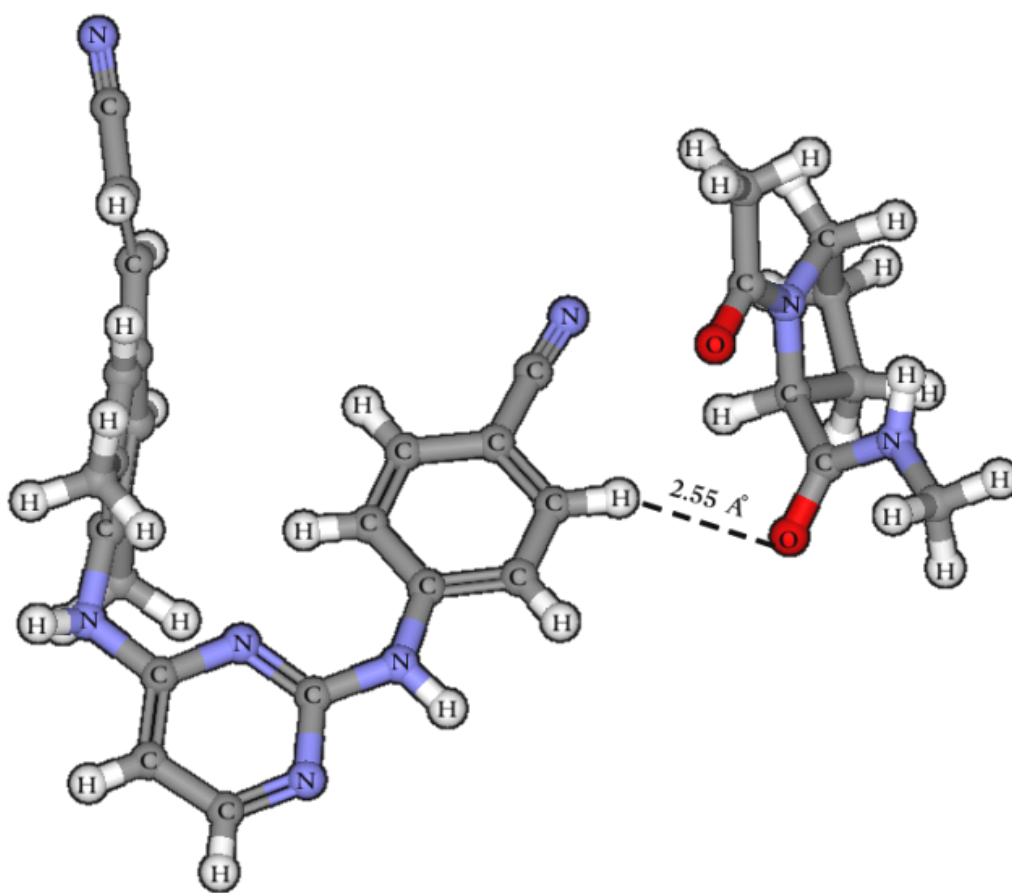
จากการคำนวณอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 2.1 ทั้งสองระเบียบวิธี พบว่าอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 มีค่าสูงที่สุด มีค่าพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ -10.32 kcal/mol และ -12.78 kcal/mol ตามลำดับ รองลงมาเป็น Pro236 มีค่าพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ -6.98 kcal/mol และ -7.02 kcal/mol ตามลำดับ ผลการคำนวณแสดงไว้ในตาราง 2 และภาพประกอบ 16

อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 และ Pro236 ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ HF พบพันธะไฮโดรเจน ซึ่งมีความยาวพันธะเท่ากับ 1.70 อังสตรอม และ 2.45 อังสตรอม ตามลำดับ เช่นเดียวกับโครงสร้างแบบที่ 1 และอันตรกิริยาจากระเบียบวิธี B3LYP ความยาวพันธะเท่ากับ 1.78 และ 2.55 อังสตรอม ตามลำดับ ดังภาพประกอบ 15

สรุปได้ว่าอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 2.1 จากระเบียบวิธีคำนวณทั้งสอง ได้ผลที่สอดคล้องกัน คือ พบพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 และ Pro236 เช่นเดียวกับโครงสร้างแบบที่ 1 แต่พบอันตรกิริยาแบบผลึกที่มีค่าสูงจากการคำนวณด้วยระเบียบวิธี HF ระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Tyr188 ซึ่งมีค่าพลังงานเท่ากับ 5.46 kcal/mol อันตรกิริยาแบบผลึกนี้จะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ลดลง



a)

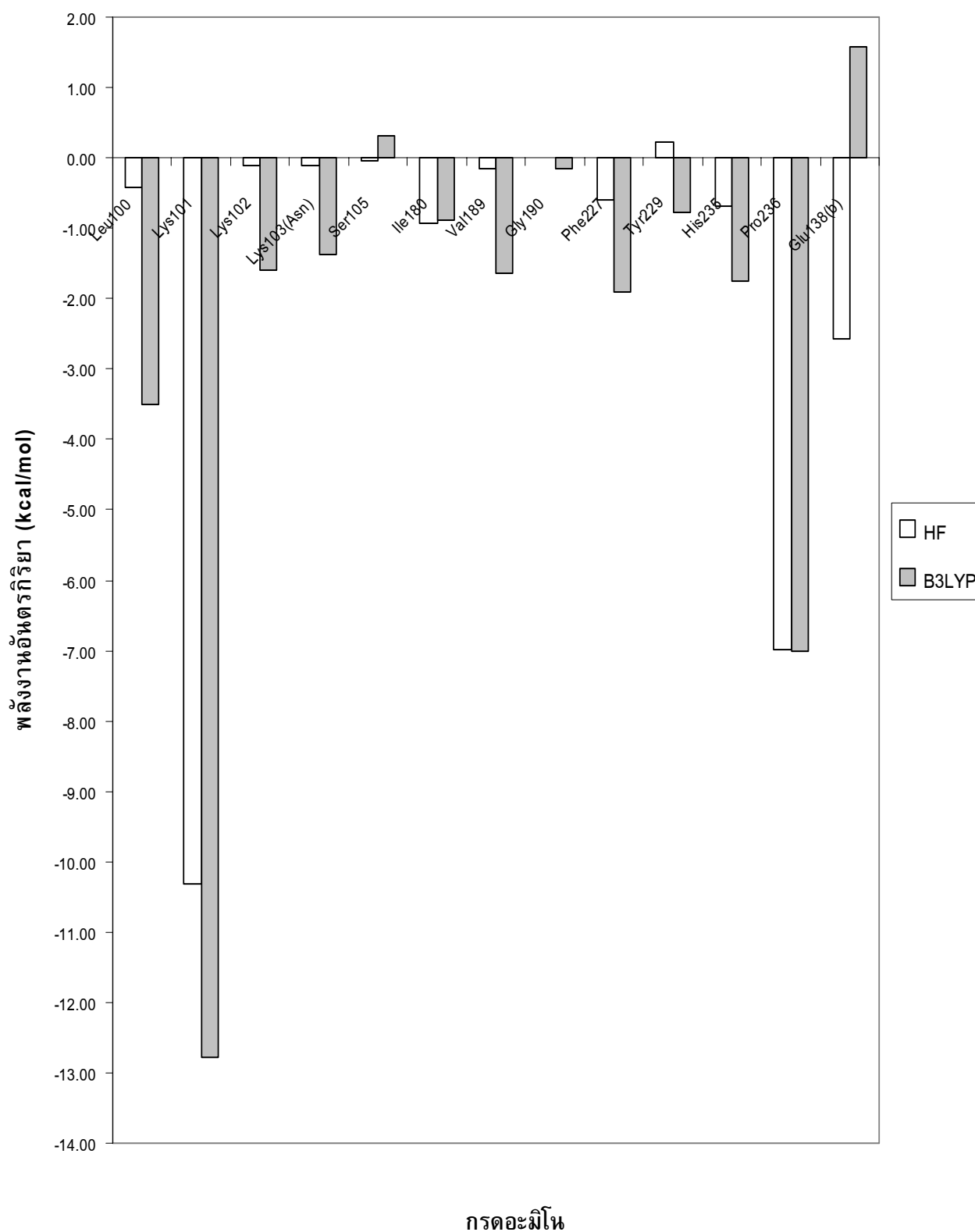


b)

ภาพประกอบ 15 (a) พันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 ความยาวพันธะ 1.78 อังสตรอม (b) พันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Pro236 ความยาวพันธะ 2.55 อังสตรอม

ตาราง 2 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณ
การจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/
Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบสซิสเซต 6-31G(d,p) ของ
โครงสร้างแบบที่ 2.1

กรดอะมิโน	พลังงานอันตรกิริยา (kcal/mol)	
	HF	B3LYP
Pro095	0.46	0.41
Leu100	-0.42	-3.50
Lys101	-10.32	-12.78
Lys102	-0.11	-1.60
Lys103(Asn)	-0.11	-1.38
Lys104	0.90	0.96
Ser105	-0.05	0.32
Val106	2.75	1.58
Val179	3.61	1.65
Ile180	-0.94	-0.88
Tyr181(Cys)	2.38	1.02
Tyr188	5.46	0.70
Val189	-0.16	-1.65
Gly190	0.01	-0.15
Phe227	-0.59	-1.91
Leu228	0.57	0.88
Tyr229	0.23	-0.78
Leu234	1.46	0.97
His235	-0.69	-1.74
Pro236	-6.98	-7.02
Tyr318	0.34	0.02
Glu138(b)	-2.58	1.58

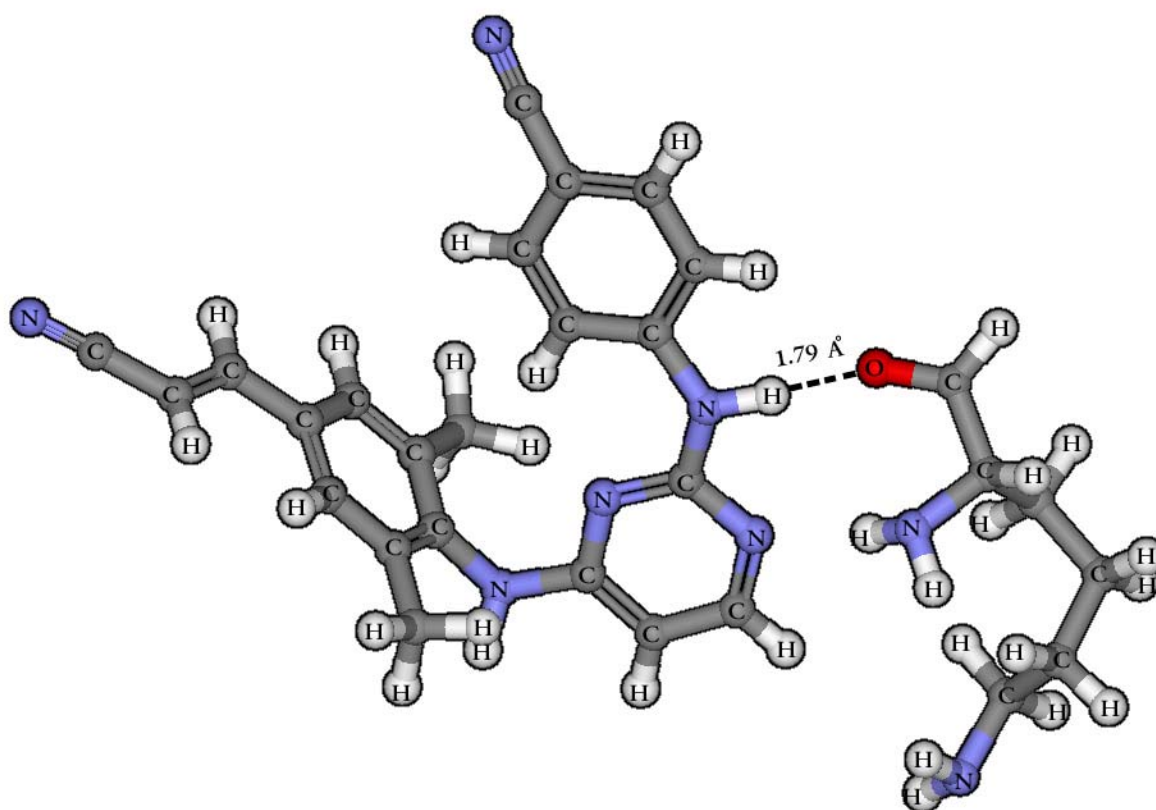


ภาพประกอบ 16 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 2.1 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p)

4.1.3 อันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบเอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 2.2

จากการคำนวณค่าพลังงานอันตรกิริยาดัวยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP พบอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 มีค่าสูงที่สุด มีค่าพลังงานอันตรกิริยาเท่ากับ -6.35 kcal/mol และ -9.31 kcal/mol ตามลำดับ ผลการคำนวณได้แสดงไว้ในตาราง 3 และภาพประกอบ 18 นอกจากนี้ยังพบอันตรกิริยาแบบผลักระหว่าง TMC 278 กับ Tyr188 เช่นเดียวกับโครงสร้างแบบที่ 2.1 มีค่าพลังงานเท่ากับ 5.14 kcal/mol ซึ่งคำนวณด้วยระเบียบวิธี HF เบซิสเซต 6-31G(d,p)

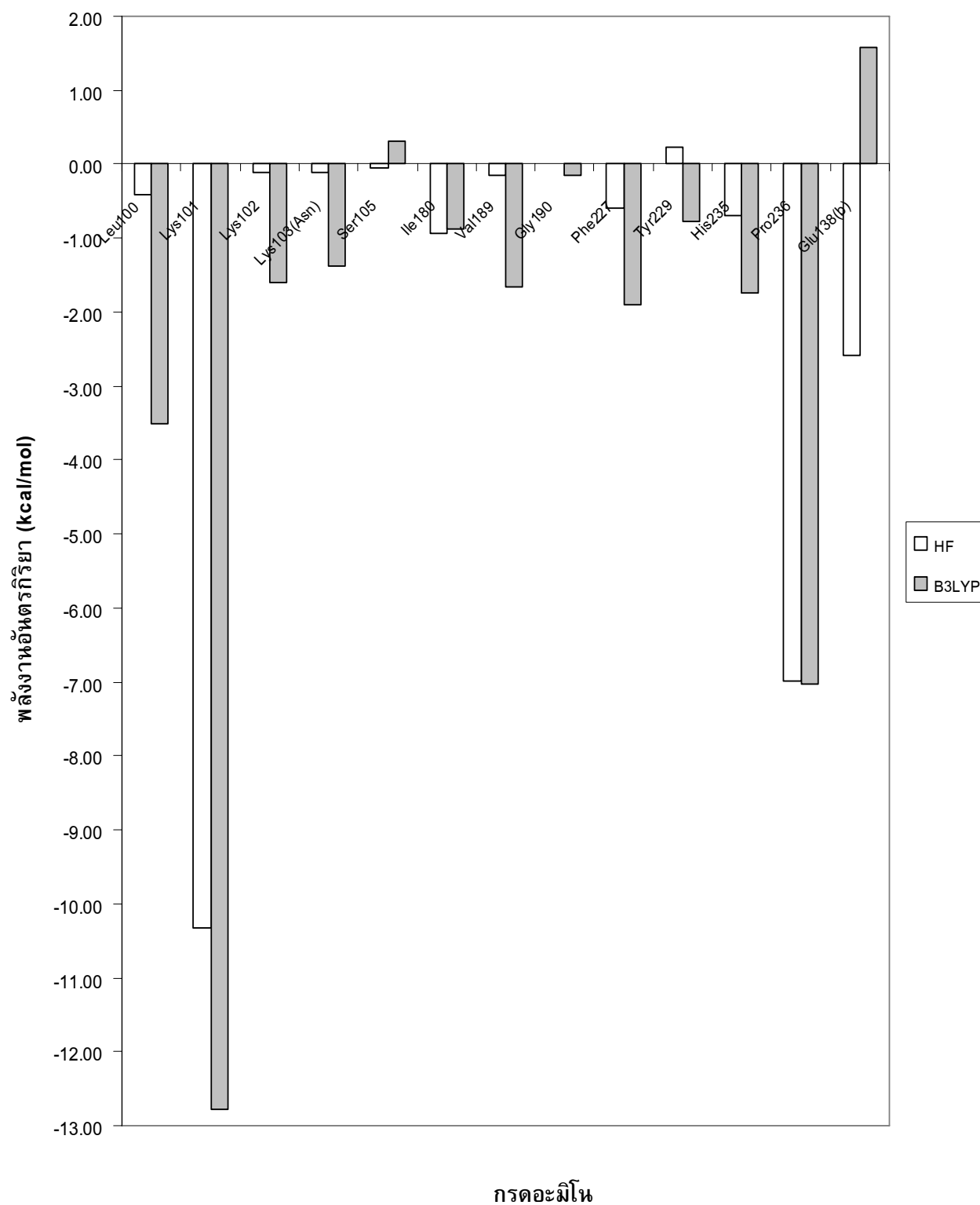
อันตรกิริยาที่พบโดยระเบียบวิธีคำนวณทั้งสอง ระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 คือ พันธะไฮโดรเจน ซึ่งมีความยาวพันธะ 1.79 อังสตรอม แสดงดังภาพประกอบ 17



ภาพประกอบ 17 พันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 ความยาวพันธะ 1.79 อังสตรอม

ตาราง 3 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณ
การจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/
Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบสเซ็ต 6-31G(d,p) ของโครงสร้าง
แบบที่ 2.2

กรดอะมิโน	พลังงานอันตรกิริยา (kcal/mol)	
	HF	B3LYP
Pro095	0.21	0.19
Leu100	2.26	0.48
Lys101	-6.35	-9.31
Lys102	0.07	-1.10
Lys103(Asn)	0.07	-1.10
Lys104	0.39	0.30
Ser105	-0.54	0.40
Val106	2.95	1.67
Val179	3.25	1.46
Ile180	-0.47	-0.38
Tyr181(Cys)	3.11	1.48
Tyr188	5.14	1.26
Val189	-0.24	-0.24
Gly190	-0.81	-0.84
Phe227	0.07	-1.27
Leu228	1.75	-3.06
Tyr229	-2.39	-3.06
Leu234	2.18	1.36
His235	-3.80	-3.53
Pro236	-1.21	-2.11
Tyr318	0.32	-0.03
Glu138(b)	-2.21	-2.31



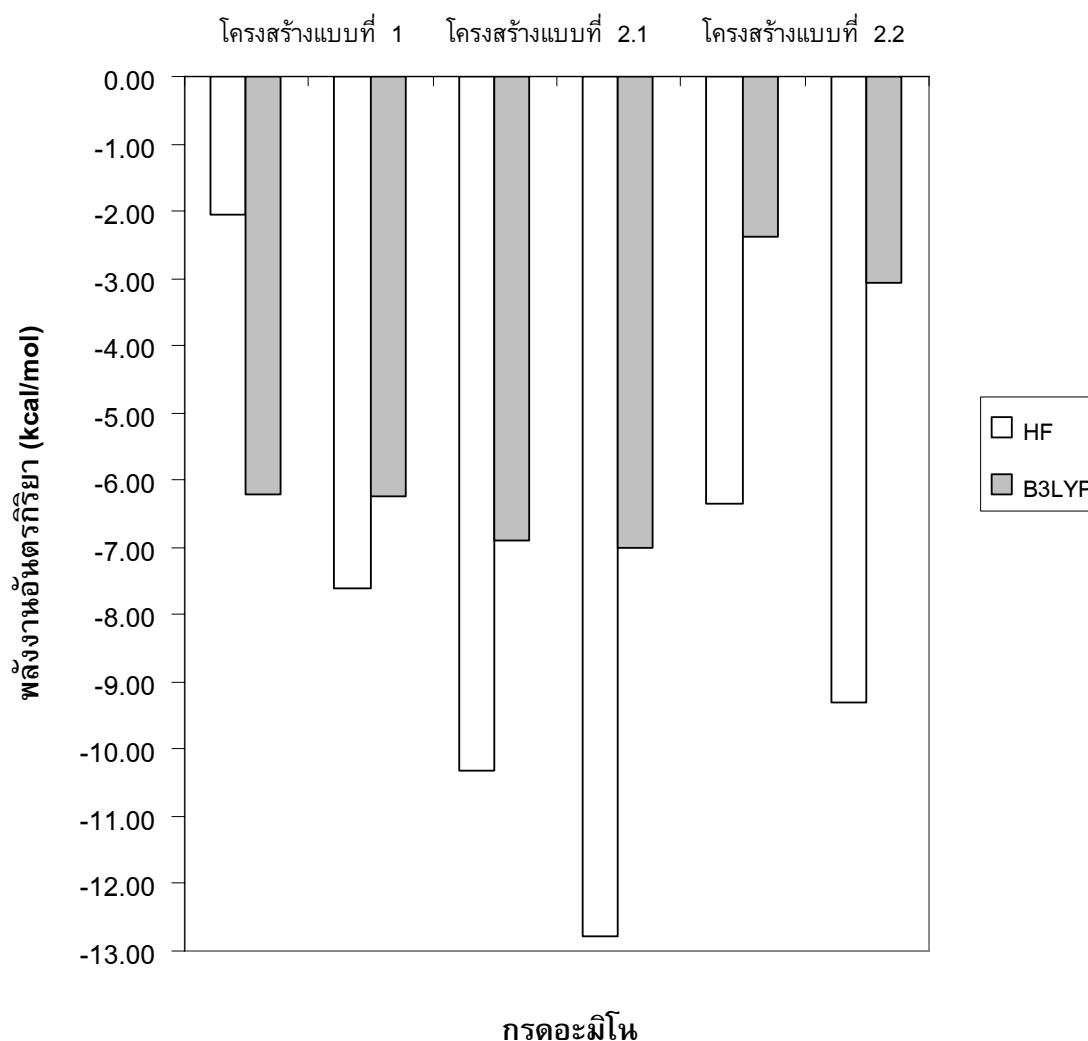
ภาพประกอบ 18 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 2.2 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p)

4.1.4 การเปรียบเทียบโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C

ผลของการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่าง Lys101 และ Pro236 กับตัวยับยั้ง TMC 278 ในระยะที่ใกล้ที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ส่งผลให้เกิดอันตรกิริยาแบบดึงดูดที่มีค่าสูง ซึ่งแสดงดังตาราง 4 และภาพประกอบ 19 จะเห็นว่าอันตรกิริยาของกรดอะมิโนทั้งสองของโครงสร้างแบบที่ 2.1 มีค่าสูงกว่าโครงสร้างแบบอื่นๆ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับโครงสร้างแบบที่ 1 พบว่าอันตรกิริยาของ Lys101 ของโครงสร้างทั้งสองแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด แต่อันตรกิริยาของ Pro236 มีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย เนื่องจากโครงสร้างแบบที่ 2.1 เป็นโครงสร้างที่มีการปรับโครงสร้างของไฮโดรเจนอะตอมและโครงสร้างของตัวยับยั้ง TMC 278 ทุกอะตอม และ cap ด้วยหมู่อะซิทิลและหมู่เมทิลอะมิโน แต่โครงสร้างแบบที่ 1 มีการปรับโครงสร้างเฉพาะไฮโดรเจนอะตอมเท่านั้น และเมื่อเปรียบเทียบกับโครงสร้างแบบที่ 2.2 ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ cap ด้วยไฮโดรเจนอะตอมเท่านั้น มีความแตกต่างของพลังงานอย่างชัดเจนเช่นเดียวกัน เนื่องจากไม่มีอิทธิพลจากทั้งสองหมู่ดังกล่าวในการเกิดพันธะไฮโดรเจน

ตาราง 4 พลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิดภายในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) ของโครงสร้างแบบที่ 1 โครงสร้างแบบที่ 2.1 และโครงสร้างแบบที่ 2.2

กรดอะมิโน	พลังงานอันตรกิริยา (kcal/mol)					
	โครงสร้างแบบที่ 1		โครงสร้างแบบที่ 2.1		โครงสร้างแบบที่ 2.2	
	HF	B3LYP	HF	B3LYP	HF	B3LYP
Leu101	-2.04	-7.60	-10.32	-12.78	-6.35	-9.31
Pro236	-6.20	-6.25	-6.90	-7.02	-2.39	-3.06



ภาพประกอบ 19 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบพลังงานอันตรกิริยาของโครงสร้างแบบที่ 1 โครงสร้างแบบที่ 2.1 และโครงสร้างแบบที่ 2.2 ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p)

4.2 ผลการแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE

หลังจากทำการคำนวณอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิด ภายในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) จากนั้นทำการแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE ของโครงสร้างแบบที่ 1 โครงสร้างแบบที่ 2.1 และโครงสร้างแบบที่ 2.2 เพื่อให้ค่าพลังงานมีความถูกต้องมากขึ้น แสดงดังตาราง 5

ตาราง 5 การแก้ไขอันตรกิริยาทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีการคำนวณแบบ BSSE ของโครงสร้างแบบที่ 1 โครงสร้างแบบที่ 2.1 และโครงสร้างแบบที่ 2.2

กรดอะมิโน	พลังงานอันตรกิริยา (kcal/mol)					
	โครงสร้างแบบที่ 1		โครงสร้างแบบที่ 2.1		โครงสร้างแบบที่ 2.2	
	HF	B3LYP	HF	B3LYP	HF	B3LYP
Pro095	0.72	0.66	0.53	0.52	0.28	0.32
Leu100	2.60	0.52	1.95	-0.18	4.09	3.04
Lys101	1.28	-2.39	-7.73	-8.59	-4.27	-5.64
Lys102	5.41	1.84	1.83	1.05	1.93	1.47
Lys103(Asn)	5.42	1.84	1.84	1.24	1.93	1.47
Lys104	3.30	3.49	1.34	1.31	0.38	0.30
Ser105	0.87	0.76	-0.03	0.32	-0.54	-1.41
Val106	0.57	0.62	3.53	2.66	3.74	2.72
Val179	6.38	4.53	4.84	3.31	4.45	3.05
Ile180	-0.50	-0.20	-0.28	0.04	-0.32	-0.13
Tyr181(Cys)	4.20	3.32	3.58	2.79	4.39	3.32
Tyr188	5.08	2.76	8.20	4.44	7.80	4.71
Val189	0.39	-0.17	0.82	-0.07	-0.05	0.03
Gly190	0.39	0.41	0.34	0.32	-0.43	-0.29
Phe227	0.59	-0.06	0.99	0.12	1.63	1.45
Leu228	0.87	1.19	1.06	1.31	1.91	-1.30
Tyr229	2.03	1.48	1.77	1.11	-0.93	-1.30
Leu234	4.82	4.24	2.64	2.32	3.15	2.50
His235	4.28	3.71	0.83	0.35	-2.69	-2.06
Pro236	-3.95	-3.23	-5.00	-4.28	0.22	-0.11
Tyr318	2.39	1.73	1.11	0.83	1.10	0.80
Glu138(b)	-1.76	-1.32	-1.55	2.66	-1.18	-0.96

จากค่าพลังงานอันตรกิริยาหลังจากแก้ไขพลังงานทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีคำนวณแบบ BSSE พบว่า Lys101 ของโครงสร้างแบบที่ 2.1 มีค่าพลังงานอันตรกิริยามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับโครงสร้างแบบอื่นๆ รองลงมา คือ Pro236 ซึ่งเป็นอันตรกิริยาแบบดึงดูด ส่วนกรดอะมิโนอีกกลุ่มหนึ่ง ได้แก่ Val179 และ Tyr188 พบอันตรกิริยาแบบผลักสูงในทุกโครงสร้าง ซึ่งผลจากการแก้ไขพลังงานทั้งหมดด้วยระเบียบวิธีคำนวณแบบ BSSE พบว่าผลการศึกษาสอดคล้องกับข้อมูลที่มีการศึกษาก่อนหน้านี้

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การดำเนินการวิจัยศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C โดยวิธีคำนวณทางเคมีควอนตัม ได้ทำการศึกษาโครงสร้างการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 เฉพาะบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C โดยนำโครงสร้าง X-ray จากฐานข้อมูลของโปรตีน รหัส 3bgr.pdb ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีตัวยับยั้ง TMC 278 อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C จากนั้นกำหนดให้ตัวยับยั้ง TMC 278 เป็นศูนย์กลางเลือกกรดอะมิโนที่อยู่รอบๆ ในรัศมี 7 อังสตรอม ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 22 กรดอะมิโนดังนี้ Pro95, Lys100, Lys101, Lys102, Lys103(Asn), Lys104, Ser105, Val106, Val179, Ile180, Tyr181(Cys), Tyr188, Val189, Gly190, Phe227, Leu228, Tyr229, Leu234, His235, Pro236, Tyr318 และ Glu138(b) จากนั้นทำการปรับโครงสร้างให้เหมาะสมด้วยระเบียบวิธีคำนวณแบบ semi empirical PM3

เมื่อคำนวณพลังงานอันตรกิริยาระหว่าง TMC 278 กับกรดอะมิโนแต่ละชนิด ด้วยระเบียบวิธี HF และ B3LYP ด้วยเบซิสเซต 6-31G(d,p) และทำการแก้ไขพลังงานทั้งหมด ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ BSSE เพื่อให้ค่าพลังงานมีความถูกต้องมากขึ้น ผลการคำนวณที่ได้มีความสอดคล้องกัน คือบริเวณการจับระหว่างตัวยับยั้ง TMC 278 กับ Lys101 และ Pro236 แสดงอันตรกิริยาแบบดึงดูดด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบน Lys101 กับอะตอมของไฮโดรเจนบนหมู่อะมิโนของตัวยับยั้ง TMC 278 ความยาวพันธะโดยเฉลี่ย 1.75 อังสตรอม และระหว่างอะตอมของออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลของแบคโบน Pro236 กับอะตอมของไฮโดรเจนของหมู่เบนโซไนโตรล์ของตัวยับยั้ง TMC 278 โดยมีความยาวพันธะเฉลี่ย 2.55 อังสตรอม ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพและกัมมันตภาพที่ดีในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1

ข้อมูลทางโครงสร้างและอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์สองตำแหน่งแบบ K103N/Y181C ดังกล่าวนี้นี้ จึงมีประโยชน์ในการที่จะนำไปสู่การพัฒนาหรือออกแบบโครงสร้างตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมหรือตัวยับยั้งโรคเอดส์ตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการจับกับเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่มีการกลายพันธุ์ต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- กระทรวงศึกษาธิการ (2549, พฤศจิกายน). จัปตานักวิจัยวัยโจ๋ใช้คอมพิวเตอร์ศึกษาโครงสร้างยาต้านเอดส์. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก http://www.moe.go.th/jarawporn/genius/hiv_sriboonyanon_29112549.htm
- ข่าวเกษตรศาสตร์. (2549, กันยายน). นักวิจัย มก. ใช้เคมีคอมพิวเตอร์ออกแบบโครงสร้างสารยับยั้งเชื้อ HIV-1. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก <http://www.ku.ac.th/kunews/HIV-1.html>
- ประวัติความเป็นมาของโรคเอดส์เป็นอย่างไร. (2538). สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 20. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก <http://kanchanapisek.or.th/kp6/BOOK20/chapter9/t20-9-l1.htm#sect1>
- พรพรรณ พิงโพธิ์, และคนอื่นๆ. (2551). การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและกัมมันตภาพของตัวยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบเอชไอวี – 1 ในกลุ่มของ pyrimidine thioether โดยแบบจำลองทางคอมพิวเตอร์. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก http://www.scisoc.or.th/stt/28/web/content/D_04/d09.htm
- มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2549, สิงหาคม) รศ.ดร. สุภา นาวีวิธีการเคมีคอมพิวเตอร์หาสารยับยั้ง HIV-1. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก <http://www.ku.ac.th/e-magazine/aug49/it/hiv.htm>
- _____. (2551) การจำลองโครงสร้างโดยคอมพิวเตอร์ของตัวยับยั้งเอนไซม์ การถ่ายแบบเอชไอวี-1 และการออกแบบโมเลกุล. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก <http://web.ku.ac.th/nk40/supa.htm>
- มหาวิทยาลัยขอนแก่น. (2546, มีนาคม) *The 1st Thai Summer School of Computational Chemistry, TS₂C₂*. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก <http://192.207.64.1/1TS2C2/thaipage.htm>
- รัชฎา เจริญพัทตร์. (2551). *Tenofovir Disoproxil Fumarate : ยาด้านเชื้อไวรัส HIV ชนิดใหม่*. สืบค้นเมื่อ 23 เมษายน 2551, จาก http://www.holysix.com/TDF_BR.pdf
- โรคเอดส์. (2551). *กลไกการเกิดโรคของเชื้อเอดส์*. สืบค้นเมื่อ 26 เมษายน 2551, จาก <http://www.panyathai.or.th/wiki/index.php/%E0%B9%82%E0%B8%A3%E0%B8%84%E0%B9%80%E0%B8%AD%E0%B8%94%E0%B8%AA%E0%B9%8C>
- วิภา เทียมชัย. (2549, กรกฎาคม). *เอดส์สายพันธุ์ใหม่*. สืบค้นเมื่อ 26 เมษายน 2551, จาก <http://pha.narak.com/topic.php?No=08818>

- ศุภรินทร์ หาญวงศ์. (2548). ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยคัดสรร ความรู้เกี่ยวกับการใช้ยาต้านไวรัสและความเชื่อด้านสุขภาพกับการรับประทานยาต้านไวรัสอย่างสม่ำเสมอของผู้ติดเชื้อ เอช ไอ วี/เอดส์. วิทยานิพนธ์ พย.ม. (การพยาบาลผู้ใหญ่). ชลบุรี: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา. อัดสำเนา.
- ศูนย์การเรียนรู้ TLCenter. (2549, ตุลาคม) “วิจัยไร้ห้องแล็บ” ทดลองเสมือนจริงผ่านคอมพิวเตอร์ สมรรถนะสูง. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก http://www.tlcthai.com/webboard/view_topic.php?mode=quote&comment=1&index=0&table_id=1&cate_id=20&post_id=5124
- สถาบันเอดส์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. (2551, กุมภาพันธ์). สถานการณ์โรคเอดส์ในประเทศไทย. สืบค้นเมื่อ 26 เมษายน 2551, จาก <http://aidskku.kku.ac.th/2008/postdetail.php?contentsid=432>
- สมศักดิ์ ตนหมั่นเพียร. (2545, มกราคม-มิถุนายน). บทบาทของเคมีคอมพิวเตอร์ในการออกแบบและพัฒนา ยา. 5(10): 69-72.
- สุพจน์ หารหนองบัว; และคนอื่นๆ. (2546, พฤษภาคม-มิถุนายน). จากโครงสร้างของเอนไซม์สู่การวิจัยเพื่อออกแบบและค้นหาการรักษาโรค โดยวิธีการทางเคมีคอมพิวเตอร์: กรณีตัวอย่างโรคเอดส์ และซาร์ส. 57(3): 140-142.
- _____. (2551). การพัฒนาระเบียบวิธีทางเคมีคอมพิวเตอร์และการนำไปใช้ในการออกแบบยาและการศึกษาการใช้ประโยชน์จากซีโอไลต์. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก <http://www.forensic2.go.th/fpd21/KMEE.htm>
- สุภา หารหนองบัว. (2547). เทคนิคขั้นสูงโดยวิธีเคมีคอมพิวเตอร์ในการออกแบบยา : ตัวยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอชไอ วี-1. (เอกสารประกอบคำสอน). กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ถ่ายเอกสาร.
- _____; และคนอื่นๆ. (2549). การศึกษากลไกยับยั้งการถ่ายแบบของเอนไซม์ เอช ไอ วี-1 ที่มี การกลายพันธุ์และมากลายพันธุ์ของตัวยับยั้งในกลุ่มนอนนิวคลีโอไซด์โดยวิธีเคมีคอมพิวเตอร์ กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. ถ่ายเอกสาร.
- _____. (2551). การออกแบบโมเลกุลตัวยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 โดยวิธีเคมีคอมพิวเตอร์. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก <http://www.ku.ac.th/kaset60/Theme04/theme-04-37/index-04-37.html>
- _____. (2551). การศึกษากลไกในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 บนพื้นฐานของเคมีคอมพิวเตอร์ และการออกแบบโมเลกุลด้วยตัวยับยั้งโดยโครงสร้างเอนไซม์. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก http://www.tkc.go.th/thesis/abstract_res.asp?item_id=44
- อติตยา ศิริวิญญานนท์; และ ศิวพร มีจุ (2546, กันยายน) เคมี : ศาสตร์แห่งสสาร. สืบค้นเมื่อ 18 เมษายน 2551, จาก <http://update.se-ed.com/192/chemistry.htm>

- แอนท์ แอนตี้ เอ็ดส์ [Ant Anti Aids]. (2551). สถานการณ์โรคเอดส์ในประเทศไทย. สืบค้นเมื่อ 26 เมษายน 2551, จาก http://www.aidsthai.org/el_contest/aids_project_el/template02.php?url=0201.php
- ฤทธิ์ วัฒนชัยยิ่งเจริญ. (2548). ยาด้านไวรัส. (เอกสารประกอบคำสอน). กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์. ถ่ายเอกสาร.
- 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
- He, X.; et al. (2005, August). Quantum computational analysis for drug resistance of HIV-1 reverse transcriptase to nevirapine through point mutations. *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics*. 61: 423-432.
- 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.
- Kuno M., Hongkengkai R.; & Hannongbua S. (2006, April). ONIOM-BSSE scheme for $H\cdots\pi$ system and applications on HIV-1 reverse transcriptase. *Chemical Physics Letters*. 424: 172-177.
- 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 & Medicinal Chemistry*. 12: 6085-6095.
- Mei, Y.; et al. (2005, March). Quantum study of mutational effect in binding of efavirenz to HIV-1 RT. *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics*. 59: 489-495.
- 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.
- Nunriem 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.
- Rilpivirine. (2008, March). *Wikipedia: the Free Encyclopedia*. Retrieved April 18, 2008, from <http://en.wikipedia.org/wiki/Rilpivirine>
- Rilpivirine (TMC-278). (2007, March). Retrieved April 18, 2008, from http://www.aidsmeds.com/archive/TMC-278_1619.shtml

- Smith M.; et al (2007, December). Energetic effect for observed and unobserved HIV-1 reverse transcriptase mutations of residues L100, V106, and Y181 in the presence of nevirapine and efavirenz. *Bioorganic & Medicininal Chemistry Letters*. 18: 969-972.
- Srivub P.; et al (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.
- 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.

ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์

ประวัติย่อผู้ทำสารนิพนธ์

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาววันเพ็ญ นิลห้อย
วันเดือนปีเกิด	8 มิถุนายน 2522
สถานที่เกิด	อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	41 หมู่ที่ 3 ต.ห้วยลึก อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี 76150
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ครู อันดับ คศ.1
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนจุฬาภรณราชวิทยาลัย เพชรบุรี อ.ชะอำ จ. เพชรบุรี สำนักงานเขตพื้นที่การศึกษาเพชรบุรี เขต 2
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2541	ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนบ้านลาดวิทยา
พ.ศ. 2545	วท.บ.เคมี จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
พ.ศ. 2546	ป.บัณฑิต สาขาการสอนวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
พ.ศ. 2551	กศ.ม.เคมี จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ