



## โครงการ

# การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

**ชื่อโครงการ** การทำนายโครงรูปการเข้าจับทางเอกซเรย์ของเอชไอวีอินทีเกรสกับสารยับยั้งด้วยเทคนิคการเข้าจับเชิงโมเลกุล  
Predicting X-ray bound conformation of HIV-1 integrase and inhibitors using molecular docking technique

**ชื่อนิติ** นางสาวเบญจวรรณ ธนัชชัย เลขประจำตัว 6033054023  
**ภาควิชา** เคมี  
**ปีการศึกษา** 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทำนายโครงสร้างการเข้าจับทางเอกซเรย์ของเอชไอวีวันอินทีเกรสกับสาร  
ยับยั้งด้วยเทคนิคการเข้าจับเชิงโมเลกุล

Predicting X-ray bound conformation of HIV-1 integrase and  
inhibitors using molecular docking technique

โดย

นางสาวเบญจวรรณ ธนนชัย

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2563

โครงการ                      การทำนายโครงรูปการเข้าจับทางเอกซเรย์ของเอชไอวีวันอินทีเกรสกับสารยับยั้งด้วย  
เทคนิคการเข้าจับเชิงโมเลกุล


โดย                              นางสาวเบญจวรรณ ธนันชัย


ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

- |  |                  |
|--|------------------|
| 1. ศาสตราจารย์ ดร.ธวัชชัย ต้นทุลानी          | ประธานกรรมการ    |
| 2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สกุลสุข อุ่นอรุณทัย | กรรมการ          |
| 3. รองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ เพ็ญรวณิช      | อาจารย์ที่ปรึกษา |

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

  
.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ เพ็ญรวณิช)  
อาจารย์ที่ปรึกษา

  
.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โฮვნ)                      หัวหน้าภาควิชาเคมี  
วันที่ 27 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2564



Project Title                    Predicting X-ray bound conformation of HIV-1 integrase and inhibitors using molecular docking technique

Student Name                    Miss Benjawan Thananchai                    Student ID 6033054023

Advisor Name                    Associate Professor Somsak Pianwanit

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2020

### **Abstract**

AIDS and HIV infection are still serious health problem worldwide. One reason is mutations of HIV which cause drug resistance. Therefore, research for development of new effective inhibitors is necessary. Information about enzyme-inhibitor complex structure is very helpful for a development of new drug. Researchers can use molecular docking calculation technique to predict binding structures. However, performance of such prediction depends on software and other factors. In this study, performance of molecular docking calculation software was evaluated. First, 24 X-ray complex structures between HIV-1 integrase and its inhibitors were selected. Then, the structure of each inhibitor was pulled out and docked back to the enzymes using different methods and software. Results showed that rigid docking calculations using AutoDock Vina starting from the X-ray structure of inhibitor can reproduce experimental binding structures whereas flexible docking calculations have lower prediction performance. Calculations using SwissDock gave various results, which are similar to and different from the experimental structures. However, structure with the best binding energy is different from the experimental structure so it is not yet possible to find suitable criteria for selection of the docking solution.

Keywords: HIV-1 integrase, inhibitors, molecular docking technique

## กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ได้อย่างสมบูรณ์เป็นเพราะได้รับคำแนะนำทางด้านวิชาการ ความเอื้อเฟื้อทางด้านสถานที่และเครื่องมือ สำหรับการทำงานวิจัย อีกทั้งได้รับความช่วยเหลือและการแนะแนวทางในการทำวิจัยจากผู้ทรงคุณวุฒิในด้านต่าง ๆ เป็นอย่างดี

ข้าพเจ้าจึงใคร่ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ เพียรวิช อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ให้คำปรึกษาในการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นและแนะแนวทางในการทำรายงาน รวมถึงการจัดทำรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ญาติพี่น้อง และมิตรสหายทุกท่านที่ให้การสนับสนุนและให้กำลังใจในการทำรายงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี อีกทั้งครูบาอาจารย์ ทุกท่านที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทวิชาการทั้งหลายให้แก่ข้าพเจ้าจนสามารถทำรายงานวิจัยฉบับนี้ได้สำเร็จตามที่มุ่งหวังไว้

## สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย .....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ง
กิตติกรรมประกาศ .....	จ
สารบัญ .....	ฉ
สารบัญตาราง .....	ช
สารบัญรูปภาพ .....	ฌ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการทำโครงการ .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ .....	2
1.3 ขอบเขตโครงการ.....	2
1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ .....	2
1.5 ทฤษฎีและความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้อง .....	2
1.5.1 เอกสารความรู้เกี่ยวกับโรคเอดส์.....	2
1.5.2 ยาหรือสารยับยั้งโรคเอดส์.....	5
1.5.3 การออกแบบตัวยาหรือสารยับยั้งโรคเอดส์ .....	7
1.5.4 โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์.....	7
1.5.5 ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์.....	7
1.6 การคำนวณพลังงานการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์อินทีเกรสและสารยับยั้งด้วยวิธีการคำนวณ การเข้าจับเชิงโมเลกุล (molecular docking) .....	9
1.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	9
บทที่ 2 อุปกรณ์และการทดลอง .....	11
2.1 โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ในงานวิจัย .....	11
2.2 การเตรียมโครงสร้างของอินทีเกรสและสารยับยั้ง.....	12
2.3 การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม AutoDock Vina.....	13
2.4 การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม SwissDock.....	13
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง .....	14
3.1 ผลการคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 1.....	14
3.2 ผลการคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 2.....	21
3.3 ผลการคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 3 .....	27
3.4 การเปรียบเทียบผลการคำนวณการเข้าจับจากโปรแกรม AutoDock Vina .....	34
3.5 ผลการคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 4.....	41

## สารบัญ (ต่อ)

3.6 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 4 กับโครงสร้างจากการทดลอง .....	44
3.7 การเปรียบเทียบโครงสร้างสารยับยั้งที่ได้จากการคำนวณการเข้าจับด้วยโปรแกรม AutoDock Vina และ SwissDock.....	47
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง .....	50
4.1 สรุปผลการทดลอง .....	50
4.2 ข้อเสนอแนะ .....	51
4.3 ประโยชน์ในการประยุกต์ผลการวิจัย.....	51
บรรณานุกรม .....	52
ประวัติผู้วิจัย .....	53



## สารบัญตาราง

ตารางที่ 3.1 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 1 กับโครงสร้างจากการทดลอง .....	14
ตารางที่ 3.2 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 2 กับโครงสร้างจากการทดลอง .....	21
ตารางที่ 3.3 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 3 กับโครงสร้างจากการทดลอง .....	28
ตารางที่ 3.4 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณทั้ง 3 รูปแบบกับโครงสร้างจากการทดลอง .....	35
ตารางที่ 3.5 ผลการคำนวณการเข้าจับด้วย SwissDock.....	42
ตารางที่ 3.6 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 4 กับโครงสร้างจากการทดลอง .....	44
ตารางที่ 3.7 แสดงการเปรียบเทียบโครงสร้างสารยับยั้งที่ได้จากการคำนวณการเข้าจับด้วยโปรแกรม AutoDock Vina และ SwissDock.....	47

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1.1 วงจรชีวิตของไวรัส HIV-1 .....	4
--	---

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการทำโครงการ

HIV (human immunodeficiency virus) เป็นไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคเอดส์โดยไวรัสจะไปทำลายเม็ดเลือดขาว ทำให้มีภูมิคุ้มกันร่างกายบกพร่องจนไม่สามารถต่อสู้หรือจัดการกับเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกายได้ทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยจนนำไปสู่การเสียชีวิต [1] ในปัจจุบันมียาที่ใช้ในการรักษาโรคเอดส์ที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นในวงจรชีวิตของเชื้อไวรัส HIV เอนไซม์หนึ่งในนั้นคืออินทีเกรส เอนไซม์นี้มีบทบาทช่วยเร่งปฏิกิริยาการแทรกสายดีเอ็นเอของไวรัสเข้าไปในสายดีเอ็นเอของคนทำให้สามารถเพิ่มจำนวนสายดีเอ็นเอของไวรัส เกิดเป็นไวรัสตัวใหม่ได้ ดังนั้นการหาสารยับยั้งการทำงานของอินทีเกรสจึงช่วยหยุดการแพร่พันธุ์เพิ่มจำนวนของไวรัสในร่างกายได้ อย่างไรก็ตามเชื้อไวรัสมีการกลายพันธุ์ที่รวดเร็วและเกิดสายพันธุ์ที่มีการดื้อต่อยาเกิดขึ้น จึงจำเป็นที่จะต้องมีการค้นคว้าเพื่อพัฒนาหาสารยับยั้งที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น การทราบโครงสร้างการเข้าจับระหว่างอินทีเกรสกับสารยับยั้งจะช่วยให้ข้อมูลเกี่ยวกับอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์กับสารยับยั้ง ซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญและจำเป็นต่อกระบวนการพัฒนาค้นคว้าหาใหม่ แต่การทดลองเพื่อหาโครงสร้างการเข้าจับมีข้อจำกัดหลายประการ ต้องใช้เครื่องมือราคาแพง และใช้เวลาในการทดลองนาน ทำให้ข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบันจึงยังมีไม่เพียงพอ

ปัจจุบันเทคโนโลยีด้านคอมพิวเตอร์มีพัฒนาการอย่างรวดเร็วและได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในวงการวิทยาศาสตร์แทบทุกสาขา ในการศึกษาและการวิจัยทางเคมีนั้นเราสามารถใช้นวัตกรรมทางเคมีคอมพิวเตอร์ในการคำนวณและจำลองแบบก่อนการทำการทดลองจริงโดยใช้ผลจากการศึกษาคอมพิวเตอร์เป็นแนวโน้มในการชี้แนวทางไปสู่วิธีการทดลองจริง รวมถึงการใช้คอมพิวเตอร์ในการคำนวณหาโครงสร้างของสาร เนื่องจากการทำการทดลองจริงในบางครั้งไม่สามารถดำเนินการได้โดยสะดวกเพราะสาเหตุหลายประการ เช่น ข้อจำกัดทางด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีราคาแพง รวมทั้งอันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับผู้ทดลองในการทดลองบางอย่าง ในสถานการณ์เหล่านี้การใช้คอมพิวเตอร์เป็นอีกทางเลือกที่นำมาแก้ปัญหาต่าง ๆ เหล่านี้ ซึ่งหนึ่งในเทคนิคที่นิยมในการวิเคราะห์การเข้าจับของโครงสร้างสารคือ เทคนิคการเข้าจับเชิงโมเลกุล (molecular docking) โดยเทคนิคนี้สามารถคำนวณโครงสร้างการเข้าจับระหว่างเอนไซม์กับสารยับยั้งและในการคำนวณจะต้องมีการเลือกใช้พารามิเตอร์ที่เหมาะสม [3] ในงานวิจัยนี้จะศึกษาหาโปรแกรมและพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทำนายโครงสร้างการเข้าจับระหว่าง HIV-1 อินทีเกรสกับสารยับยั้งโดยจะพิจารณาเปรียบเทียบกับโครงสร้างการเข้าจับทางการทดลอง [2-5]

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อคำนวณหาโครงสร้างการเข้าจับระหว่างเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรสกับสารยับยั้ง
2. เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพของโปรแกรมคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล

## 1.3 ขอบเขตโครงการ

ศึกษาโครงสร้างและอันตรกิริยาในการเข้าจับระหว่างสารยับยั้งและเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรส โดยวิธีการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม AutoDock Vina และ SwissDock

## 1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. สารยับยั้ง (โรคเอดส์): สารสกัดจากธรรมชาติหรือสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อหยุดยั้งหรือออกฤทธิ์ต้านการแบ่งตัวหรือการยับยั้งกระบวนการในขั้นตอนวงจรการเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรัส HIV
2. เอนไซม์อินทีเกรส: เอนไซม์ในวงจรการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส HIV-1 ทำหน้าที่จำลองการเปลี่ยน single-strand RNA เป็น double-strand DNA ก่อนที่จะรวมเข้าไปใน host genome เพื่อขยายพันธุ์เชื้อไวรัส HIV-1 ที่สมบูรณ์ ถือว่าเป็นเอนไซม์เป้าหมายที่จะใช้ในการค้นหาสารยับยั้งใหม่ ๆ หรือพัฒนาสารยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นเพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยเอดส์
3. การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล: การคำนวณเพื่อทำนายโครงสร้างการเข้าจับกันของสารยับยั้งและเอนไซม์เป้าหมายในคอมพิวเตอร์ ซึ่งวัตถุประสงค์ของการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลคือ การทำนายลักษณะการวางตัวของสารยับยั้งเมื่อจับกับเอนไซม์เป้าหมาย แล้วคำนวณค่าพลังงานจากทุกอันตรกิริยาที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ van der Waals, hydrogen bonding, electrostatic และ hydrophobic interaction จากนั้นนำค่าพลังงานการเข้าจับที่ต่ำที่สุดมาเรียงลำดับ โดยค่าพลังงานที่ต่ำที่สุดจะเป็นค่าการเข้าจับระหว่างสารยับยั้งกับเอนไซม์ที่เสถียรที่สุด

## 1.5 ทฤษฎีและความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้อง

### 1.5.1 เอกสารความรู้เกี่ยวกับโรคเอดส์

#### 1.5.1.1 ความหมายของโรคเอดส์

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

A = Acquired หมายถึง สภาวะที่เกิดขึ้นมาภายหลัง ไม่ได้มีมาแต่กำเนิด

I = Immune หมายถึง ส่วนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน หรือภูมิคุ้มกันของร่างกาย

D = Deficiency หมายถึง ความเสื่อมลง

S = Syndrome หมายถึง กลุ่มอาการ หรืออาการหลาย ๆ อย่างไม่เฉพาะระบบใดระบบหนึ่ง

เอดส์ หมายถึง กลุ่มอาการของโรคที่เกิดจากภูมิคุ้มกันในร่างกายเสื่อมหรือบกพร่อง เกิดจากเชื้อไวรัส Lentivirus spp. หรือเชื้อ HIV-1 เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะเข้าไปทำลายเม็ดเลือดขาว ซึ่งเป็นแหล่งสร้าง

ภูมิคุ้มกันโรค ทำให้ภูมิคุ้มกันลดลง เป็นผลให้ติดเชื้อโรคชนิดฉวยโอกาส เช่น ปอดบวม วัณโรค หรือเป็นมะเร็งบางชนิดได้ง่ายกว่าคนปกติ เช่น มะเร็งหลอดเลือด อาการจะรุนแรงและเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว

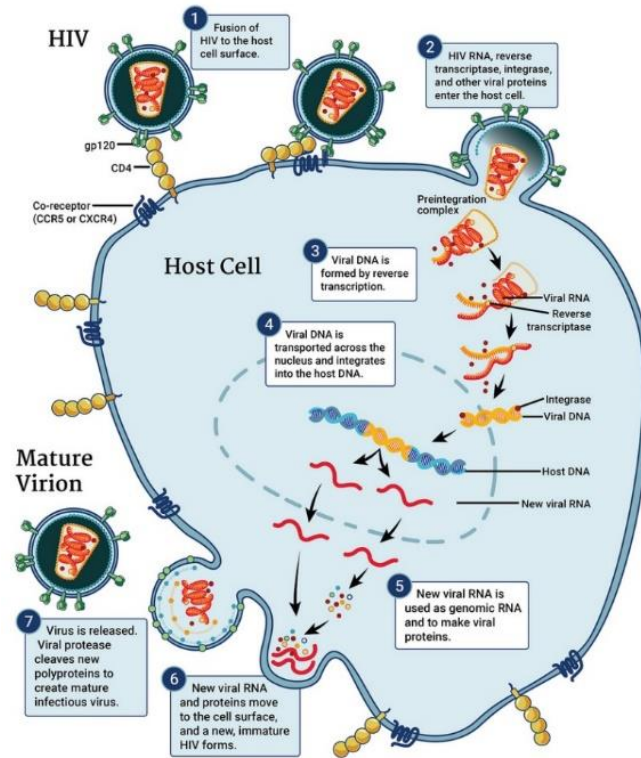
### 1.5.1.2 เชื้อไวรัส HIV-1

ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัส HIV-1 เป็นอาร์เอ็นเอไวรัสชนิดสายเดี่ยว จีโนมมีความยาว 9 กิโลเบส ประกอบไปด้วยยีน 9 ชนิดสำหรับควบคุมการสร้างโปรตีน โปรตีนที่สำคัญของเชื้อไวรัส HIV ได้แก่ โปรตีนโครงสร้าง หรือที่เรียกว่า structural proteins ได้แก่ Gag, Pol, และ Env โปรตีนควบคุมการทำงานของไวรัสเรียกว่า regulatory proteins ได้แก่ Tat, Rev โปรตีนที่ทำหน้าที่เสริมหรือ accessory proteins ได้แก่ Vpu, Vpr, Vif, และ Nef

ชนิดหลัก ๆ ของเชื้อ HIV-1 ได้แก่ M (main), N (new), และ O (outlier) ในกลุ่ม M group ซึ่งพบได้มากถึงกว่าร้อยละ 90 ทั่วโลก แบ่งเป็น 9 ชนิดย่อยเรียกว่า clades กำหนดให้เรียกเป็นลำดับตัวอักษร A-D, F-H, J, และ K ในสหรัฐอเมริกาและทางยุโรปตะวันตก พบชนิด clade B มากที่สุดแตกต่างจากที่พบในเอเชียและแอฟริกา ความหนาแน่นของไวรัสพบมากที่สุดในทวีปแอฟริกาบริเวณส่วนที่อยู่ใต้ทะเลทรายซาฮารา ยาด้านไวรัสที่ผลิตในปัจจุบันส่วนใหญ่ได้ผลดีในการทำลายเชื้อ HIV-1 ชนิด clade B เมื่อนำยาด้านไวรัสไปใช้ในบริเวณอื่น ๆ การตอบสนองต่อการรักษาอาจแตกต่างกันไปบ้าง รวมทั้งกลไกการดื้อยาที่เกิดจากการกลายพันธุ์ ความแตกต่างและความหลากหลายของสายพันธุ์ เชื้อไวรัส HIV-1 มีความสำคัญในการพัฒนาวัคซีนเป็นอย่างมาก แอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อต่อต้านไวรัส และปฏิกิริยาจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte จะมีความจำเพาะเจาะจงสูง [6]

### 1.5.1.3 วงจรชีวิตของเชื้อไวรัส HIV-1

เมื่อไวรัสผ่านเข้าสู่ร่างกายเข้าสู่กระแสเลือดไวรัสดังรูปที่ 1.1 จะเคลื่อนที่ไปจับกับเซลล์ที่มี 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 transcribe เป็น single stranded DNA และต่อมาเป็น double stranded circular DNA โดยใช้เอนไซม์ในการถ่ายแบบ แล้วเข้าร่วมตัวกับ DNA ของเซลล์เป้าหมาย โดยอาศัยเอนไซม์อินทีเกรสของไวรัส 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) ออกจากเซลล์ปล่อยไวรัสออกมามากมาย โดยอาศัยเอนไซม์ protease และเอนไซม์อื่น ๆ ของไวรัส ซึ่งความรู้ที่ได้จากการศึกษาวงจรชีวิตของเชื้อไวรัส HIV-1 จะนำไปสู่การสร้างออกแบบยาหรือพัฒนายาด้านไวรัสโดยอาศัยกลไกการออกฤทธิ์ต่าง ๆ เพื่อยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสต่อไป [7]



รูปที่ 1.1 วงจรชีวิตของไวรัส HIV-1 [7]

#### 1.5.1.4 กลไกการก่อโรคของเชื้อไวรัส HIV-1

เมื่อเชื้อไวรัส HIV ผ่านเข้าสู่กระแสเลือดร่างกายจะตอบสนองโดยการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานต่อเชื้อไวรัสหรือแอนติบอดีภายในร่างกาย ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเชื้อไวรัส HIV บางส่วนได้ การตรวจหาการติดเชื้อไวรัส HIV จะใช้วิธีตรวจแอนติบอดีแทนการตรวจเชื้อไวรัส HIV เพราะเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกมากกว่า เชื้อไวรัส HIV จะเข้าเกาะติดกับเม็ดเลือดบางชนิด CD4 ซึ่งปกติทำหน้าที่เป็นภูมิคุ้มกันต้านทานเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมอื่น และจะเจาะผ่านเข้าอยู่ภายในเซลล์ เชื้อไวรัส HIV จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นจนเซลล์ CD4 แตกออก เชื้อไวรัสจะเข้าสู่กระแสเลือดไปเกาะเซลล์ CD4 ตัวอื่น ๆ ต่อไป ภูมิคุ้มกันร่างกายไม่สามารถทำลายเฉพาะเชื้อไวรัสที่มีอยู่ในเซลล์ CD4 แต่เซลล์ CD4 ที่มีเชื้อไวรัสจะถูกทำลายไปด้วยเพราะภูมิคุ้มกันไม่สามารถเลือกทำลายเฉพาะเชื้อไวรัส HIV ได้ เมื่อเซลล์ CD4 ลดลงเรื่อย ๆ ภูมิคุ้มกันร่างกายจึงเสื่อมลงจนไม่สามารถป้องกันเชื้อโรคต่าง ๆ ได้ [8]

#### 1.5.1.5 แนวทางการรักษาโรคเอดส์

ปัจจุบันยังไม่มียารักษาโรคเอดส์ให้หายขาดได้ การรักษาจึงเป็นการรักษาโรคติดเชื้ออื่น ๆ ที่แทรกซ้อนซึ่งไม่ค่อยได้ผลนัก เพราะผู้ป่วยขาดภูมิคุ้มกัน และมักเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อ ซึ่งในขณะนี้ยังไม่มียาที่สามารถรักษาโรคเอดส์ให้หายได้ เป็นเพียงการยับยั้งไม่ให้ไวรัส HIV เพิ่มจำนวนมากขึ้นในร่างกายผู้ป่วยจะมีอายุยืนยาวไปอีกระยะหนึ่งเท่านั้น การดูแลสุขภาพด้วยวิธีการทางการแพทย์แผนปัจจุบัน ยาที่ใช้ในการรักษาผู้ติดเชื้อ/ผู้ป่วยเอดส์มี 2 ลักษณะคือ

### 1. ยาด้านไวรัสเอดส์ในปัจจุบันมี 4 ประเภท ได้แก่

- nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) เช่น AZT, ddI, ddC, d4T, 3TC และ ABC
- non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) เช่น NVP และ EFV
- protease inhibitors (PIs) ได้แก่ IDV, RTV, Q4V และ NFV ยาเหล่านี้มีฤทธิ์เพื่อยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส HIV แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อไวรัส HIV ให้หมดไปจากร่างกายได้ และมีผลข้างเคียง ได้แก่ โลหิตจาง คลื่นไส้ อาเจียน ผื่นตามผิวหนัง ดังนั้นการใช้ยาดังกล่าวต้องอยู่ในการดูแลของแพทย์อย่างใกล้ชิด
- integrase inhibitors (INIs) ได้แก่ raltegravir, dolutegravir, elvitegravir, bictegravir, cabotegravir โดยในปัจจุบันมักจะใช้ยารักษาโรคหลายกลุ่มร่วมกัน เพื่อป้องกันการดื้อยา

2. ยาป้องกันโรคติดเชื้อฉวยโอกาสหากผู้ป่วยเอดส์มีภูมิคุ้มกันต่ำลงมาก (ค่าเม็ดเลือดขาวชนิด CD4 ต่ำกว่า 200 เซลล์ในเลือด 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร) จะมีโอกาสติดเชื้อฉวยโอกาสเพิ่มมากขึ้นจึงจำเป็นต้องได้รับยาป้องกัน เช่น

- INH ใช้ป้องกันวัณโรค
- cotrimoxazole dapsone aerosolized pentamidine ใช้ป้องกันโรคปอดบวม
- itraconazole fluconazole amphotericin B ใช้ป้องกันโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ
- ketoconazole itraconazole fluconazole ใช้ป้องกันเชื้อรา

ในขณะนี้ยังไม่มีวัคซีนชนิดใดที่สามารถป้องกันหรือรักษาโรคเอดส์ได้ ยังอยู่ในระหว่างการศึกษาวินิจฉัย คาดว่าต้องใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 5 ปี จึงจะทราบผลว่าสำเร็จหรือไม่ [6]

#### 1.5.2 ยาหรือสารยับยั้งโรคเอดส์

ยาหรือสารยับยั้งโรคเอดส์ หมายถึง ยาที่สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อยุติยั้ง หรือออกฤทธิ์ต้านการแบ่งตัว การยับยั้ง การเกาะจับและเข้าเซลล์ (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. การยับยั้งกระบวนการ post-translation

ยาด้านไวรัส HIV ที่มีใช้ทางคลินิกในปัจจุบัน ที่ได้รับการจดทะเบียนโดย US FDA มีทั้งหมด 11 ชนิดประกอบด้วยยา 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่ม nucleoside analogues reverse transcriptase inhibitors ได้แก่ AZT, ddC, ddI, d4T และ 3TC เป็นยาที่สร้างด้วยการทดแทนหรือเปลี่ยนแปลง side chain ของ nucleosides (thymidine, adenosine และ cytidine) การออกฤทธิ์ของยากลุ่มนี้ต้องผ่านขบวนการ phosphorylation ภายในเซลล์ให้กลายเป็น mono-, di-, และ triphosphate compound ในที่สุดจึงจะออกฤทธิ์ได้ กลไกการออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ การแย่งจับกับ HIV-RT (inhibitory competitor) และการหยุดยั้งการเรียงต่อของลำดับเบสของ

DNA (chain terminator) ในกรณีที่ใช้ยาในกลุ่มนี้เป็นยาเดี่ยวในการรักษา (monotherapy) จะสามารถลดจำนวนเชื้อในพลาสมาลงได้เพียง 0.3-0.7 log<sub>10</sub> หรือ น้อยกว่า 10 เท่า ยกตัวอย่างเช่น หากผู้ป่วยมีเชื้อ 100,000 ตัวต่อลูกบาศก์เซนติเมตร การรักษาด้วย nucleoside RTI monotherapy (เช่น AZT หรือ ddI) ที่ประสิทธิภาพสูงสุดของยา ผู้ป่วยรายนี้ก็ยังคงมีจำนวนเชื้ออยู่ในระดับที่มากกว่า 10,000 ตัวต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และประกอบกับปัญหาการดื้อยาที่จะเกิดขึ้นในที่สุด จึงไม่สามารถลดอัตราการเกิดเอ็ดส์และอัตราการตายได้

2. กลุ่ม nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors ได้แก่ nevirapine, และ efavirenz ยาในกลุ่มนี้เป็นยาที่มีโครงสร้างและสูตรทางเคมีที่แตกต่างกัน แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอย่างจำเพาะต่อ 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 โดยไม่ต้องผ่านขบวนการ phosphorylation หรือ metabolism อื่นใดอีก การออกฤทธิ์ของ NNRTIs เป็นแบบ noncompetitive คือ ไม่มีการแย่งจับแข่งกับ native nucleotides แต่เป็นการจับ HIV-1 RT ตรงบริเวณล่างลงมา (downstream) จาก catalytic site ยาในกลุ่ม NNRTIs นี้จะถูก metabolize เกือบทั้งสิ้นที่ตับ ข้อดีของยาในกลุ่ม NNRTIs ส่วนใหญ่ออกฤทธิ์นาน สามารถรับประทานเพียงวันละ 1-2 ครั้ง ทำให้สะดวก (favorable adherence) แต่ข้อเสียคือเกิดการดื้อยารวดเร็วมากโดยเฉพาะเมื่อใช้เดี่ยว ๆ หรือร่วมกับยาในสูตรที่อ่อนหรือล้มเหลวในการรักษามาก่อน และเมื่อเกิดเชื้อดื้อยาจะเกิดการดื้อต่อยาอื่น ๆ ในกลุ่มนี้ด้วย ทั้งนี้เนื่องจากยาในกลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันจริง แต่ตำแหน่งที่จับ (binding pocket) กับเอนไซม์ RT เป็นตำแหน่งเดียวกันหมดนั่นเอง ความน่าสนใจของกลุ่มนี้นอกจากจะใช้เป็นยาตัวหนึ่งในสูตรยาร่วม 3 ชนิด (triple therapy) โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ยังไม่มีอาการมาก เพื่อเก็บ protease inhibitors ไว้ใช้ทีหลัง แล้วยา NNRTIs กลุ่มนี้ เช่น Nevirapine และ DMP-226 ยานี้ อาจมีประโยชน์ในสูตรรักษาแบบระยะสั้น ในการป้องกันการติดเชื้อไวรัส HIV จากแม่ไปสู่ลูกได้ ซึ่งต้องรอผลการศึกษาที่กำลังดำเนินในต่างประเทศต่อไป

3. กลุ่ม HIV-1 protease inhibitors : สารยับยั้งเอนไซม์ 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 99 ตัว มีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการตัดย่อย Gag-pol polypeptide precursor เพื่อให้ immature HIV-1 กลายเป็น mature infectious ภายหลังการประกอบรูปร่างไวรัสแล้ว หลายปีที่ผ่านมาจึงมีการพยายามคิดค้นยาเพื่อยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อ HIV โดยออกฤทธิ์ยับยั้ง HIV-1 protease เรียกยาในกลุ่มนี้ว่า protease inhibitors ทั้งโดยอาศัยความรู้เกี่ยวกับโครงสร้าง 3 มิติของ HIV-1 protease และการออกแบบโครงสร้าง inhibitor ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ทำให้มียา protease inhibitors เกิดขึ้นหลายตัว อย่างไรก็ตามยารุ่นแรก ๆ ส่วนใหญ่เป็น peptide-based compounds ทำให้มีปัญหาเรื่องการดูดซึม, การกำจัดออกจากร่างกาย, ความไม่เสถียรและค่าใช้จ่ายสูงในการผลิต ปัจจุบันยา protease



inhibitors รุ่นที่ 2 (second-generation) จะเน้นโครงสร้างเป็น partially peptidic หรือ nonpeptidic ทั้งนี้เพื่อเพิ่มการดูดซึม (bioavailability) [6]

### 1.5.3 การออกแบบตัวยาหรือสารยับยั้งโรคเอดส์

การออกแบบและการพัฒนาขึ้นมาเป็นกระบวนการที่ใช้เวลานานและใช้เงินทุนสูงมาก เพราะยาชนิดใหม่นอกจากต้องไม่มีผลข้างเคียงหรือมีผลข้างเคียงน้อยที่สุดแล้วยังต้องออกฤทธิ์ ในการรักษาโรคได้ดีขึ้นด้วย กระบวนการพัฒนาจะเกี่ยวข้องกับขั้นตอนของการสังเคราะห์สารจำนวนมาก และการทดสอบในหลอดแก้วเพื่อประเมินฤทธิ์ชีวภาพก่อน ถ้าได้ผลจึงจะทำการทดสอบในสัตว์ทดลองต่อไป และต้องทำการทดสอบหาความเป็นพิษและผลข้างเคียง นอกจากนี้ ยังต้องทำการศึกษาในมนุษย์อย่างละเอียด ก่อนที่จะนำออกสู่ตลาดได้ กระบวนการทั้งหมดนี้ใช้เวลาโดยเฉลี่ยประมาณ 10-12 ปีและใช้เงินทุนมากกว่า 200 ล้านดอลลาร์ต่อการได้ยาที่ใช้รักษาโรคได้ [9]

ในปัจจุบันเทคโนโลยีทางคอมพิวเตอร์มีความก้าวหน้ามาก ประกอบกับประสิทธิภาพของระบบคอมพิวเตอร์ที่สูงขึ้นเรื่อย ๆ ในขณะที่ราคาคอมพิวเตอร์ลดลงไปอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์นำเอาความรู้ทางเคมีเข้ามาช่วยในการออกแบบยาโดยอาศัยเทคโนโลยีทางคอมพิวเตอร์เป็นเครื่องมือ ด้วยวิธีการนี้สามารถช่วยลดจำนวนยาที่ต้องสังเคราะห์ให้น้อยลงทำให้ประหยัดเวลาและเงินทุนได้อย่างมาก รวมทั้งไม่สิ้นเปลืองสัตว์ทดลองอีกด้วย ในการนำวิธีการทางเคมีคอมพิวเตอร์มาใช้ออกแบบยานั้น เป็นการศึกษาในระดับที่เล็กมาก คือ ระดับโมเลกุล เช่น ในการออกแบบยารักษาโรค โดยต้องเข้าใจถึงโครงสร้างของโมเลกุลเอนไซม์ก่อน จึงจะสามารถออกแบบยาให้ไปยึดจับกับเอนไซม์ เพื่อไม่ให้สามารถทำงานได้ โดยจะนำคอมพิวเตอร์เข้ามาใช้ในการสร้างโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์และยาที่ออกแบบ [10]

### 1.5.4 โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์

โครงสร้างสามมิติที่มีอยู่ในฐานข้อมูล protein data bank ในปัจจุบันส่วนใหญ่ได้จากเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (x-ray diffraction) ของโครงผลึกเดี่ยวของเอนไซม์ ความยุ่งยากของการหาโครงสร้างสามมิติอยู่ที่การเตรียมผลึกเพื่อให้ได้ผลึกเดี่ยว (single crystal) ที่เหมาะสม นอกจากนี้ในฐานข้อมูลยังมีโครงสร้างสามมิติที่ได้จากเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ เทคนิคทางสเปกโทรสโกปีอื่น ๆ รวมทั้งการจำลองที่ได้จากวิธีทางทฤษฎี ส่วนในกรณีที่ไม่มีโครงสร้างสามมิติตามที่ต้องการจำเป็นต้องทำนายโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ ในปัจจุบันเทคนิคที่นิยมในการทำนายโครงสร้างสามมิติของโปรตีน ได้แก่ เทคนิคโฮโมโลยีโมเดลลิง (homology modeling) หรือ คอมพาราทีฟโมเดลลิง (comparative modeling) เป็นต้น จากโครงสร้างสามมิติ สามารถใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์หาขนาดและรูปร่างของโพรงบริเวณเร่ง บริเวณยึดเกาะ และโพรงตามส่วนต่าง ๆ ทั้งภายในและโดยรอบโมเลกุลเอนไซม์ได้

### 1.5.5 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” หรือถ้าแปลเป็นไทยก็คือศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับสสารว่าสสารนั้น ๆ ทำมาจากอะไร สามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ ได้อย่างไร สามารถรวมหรือแยกสารนั้น ๆ กับหรือจากสารอื่น ๆ ได้อย่างไร ในปัจจุบันได้นำเคมีมาเชื่อมโยงกับสาขาคอมพิวเตอร์ เกิดเป็นศาสตร์ใหม่ที่เรียกว่าเป็นเคมีคอมพิวเตอร์ [11]

เคมีคอมพิวเตอร์ จึงเป็นศาสตร์ที่เพิ่งจะถูกนำมาใช้ในการวิจัยอย่างจริงจังเมื่อไม่นาน ทั้งที่ในความเป็นจริงแล้ว ศาสตร์ที่เป็นพื้นฐานของวิชาทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์คือทฤษฎีกลศาสตร์ควอนตัม (quantum mechanics) และกลศาสตร์เชิงสถิติ (statistical mechanics) ซึ่งเป็นทฤษฎีเก่าที่มีความสมบูรณ์ในตัวเองมาหลายทศวรรษ ที่เป็นเช่นนี้เพราะทฤษฎีทางคณิตศาสตร์ดังกล่าวมีความยุ่งยากและซับซ้อนมาก แม้กระทั่งคอมพิวเตอร์ที่มีประสิทธิภาพสูงในปัจจุบันก็ยังไม่สามารถประมวลผลให้ครบถ้วนตามหลักทฤษฎีได้ ดังนั้นความก้าวหน้าและคุณภาพของงานทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์จึงถูกกำหนดและก้าวไปพร้อม ๆ กับการพัฒนาเทคโนโลยีทางด้านคอมพิวเตอร์ [12] ดังนั้นเคมีคอมพิวเตอร์ จึงเป็นทางเลือกใหม่ของการพัฒนาวิจัย รวมถึงการออกแบบและทำนายโครงสร้างของสารเคมีหรือวัสดุขั้นสูงและสมบัติเฉพาะ [11] กลุ่มนักวิจัยเคมีคอมพิวเตอร์จึงนำความรู้ทางเคมีคอมพิวเตอร์มาศึกษาถึงเอนไซม์ของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ให้เข้าใจโครงสร้างโมเลกุลเพื่อนำมาใช้ในการออกแบบยา [10]

ระเบียบวิธีที่ใช้ในงานทางด้านเคมีคอมพิวเตอร์แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ วิธีการทางเคมีควอนตัม (quantum chemistry) วิธีการศาสตร์โมเลกุล (molecular mechanics) และวิธีการทางคอมพิวเตอร์ซิมูเลชัน (computer simulation) ซึ่งวิธีการแรกนั้น จะให้ผลการคำนวณที่มีความแม่นยำสูงแต่มีความซับซ้อนมากสามารถปฏิบัติได้จริงกับเฉพาะระบบที่ประกอบด้วยโมเลกุลขนาดเล็กจำนวนประมาณไม่กี่สิบบโมเลกุลเท่านั้น เพราะขีดจำกัดของคอมพิวเตอร์ยุคปัจจุบัน

สำหรับวิธีการคอมพิวเตอร์ซิมูเลชันนั้น วิธีที่รู้จักทั่วไปตัวอย่างเช่น วิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์ (molecular dynamics) สามารถใช้ศึกษาหาระบบขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วยหลายหมื่นหรือหลายแสนอะตอมสามารถปรับความเข้มข้น ความดันและอุณหภูมิ หรือสมบัติใด ๆ ให้สอดคล้องกับการทดลองได้ แต่ข้อจำกัดคือการคำนวณแรงกระทำระหว่างโมเลกุล ซึ่งงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโมเลกุลขนาดใหญ่เกือบทั้งหมดในปัจจุบันต้องพัฒนาฟังก์ชันศักย์ (potential function) ขึ้นโดยใช้ระเบียบวิธีทางกลศาสตร์โมเลกุลแทบทั้งสิ้น ซึ่งเป็นที่ทราบทั่วไปว่าเป็นวิธีที่มีความคลาดเคลื่อนสูงมาก และวิธีการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล (molecular docking) ก็เป็นหนึ่งในคอมพิวเตอร์ซิมูเลชัน ปัจจุบันเทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล มีโปรแกรมอยู่เป็นจำนวนมาก แต่ละโปรแกรมก็จะใช้อัลกอริธึมที่แตกต่างกัน ความเร็วความถูกต้องของการวางตัวของโครงสร้างที่ได้ก็จะแตกต่างกัน ดังนั้นผู้ใช้ต้องเลือกโปรแกรมให้เหมาะสมกับโครงสร้างและชนิดของโมเลกุลเป้าหมายที่ต้องการศึกษาด้วย

## 1.6 การคำนวณพลังงานการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์อินทีเกรสและสารยับยั้งด้วยวิธีการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล (molecular docking)

นำโครงสร้างของสารยับยั้งที่วางตัวอยู่ในโพรงการเข้าจับของเอนไซม์อินทีเกรส มาคำนวณหาค่าพลังงานอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์อินทีเกรสกับสารยับยั้งแต่ละตัวที่อยู่ในโพรงการเข้าจับด้วยระเบียบวิธีการคำนวณเคมีควอนตัม โดยค่าพลังงานในการเกิดอันตรกิริยาคำนวณได้ดังสมการ

$$E = E_{\text{complex}} - (E_{\text{enzyme integrase}} + E_{\text{inhibitor}})$$

เมื่อ	E	= ค่าพลังงานในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเอนไซม์อินทีเกรสและสารยับยั้ง
	$E_{\text{complex}}$	= พลังงานระหว่างเอนไซม์อินทีเกรสและสารยับยั้ง
	$E_{\text{enzyme integrase}}$	= พลังงานของเอนไซม์อินทีเกรส
	$E_{\text{inhibitor}}$	= พลังงานของสารยับยั้ง

## 1.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

David K. Chalmers [2] การศึกษาการจำลองการเข้าจับกันระหว่าง HIV-1 อินทีเกรส กับ LEDGF (lens epithelium growth factor) บนพื้นฐานของเคมีคอมพิวเตอร์ โดยได้ทำการจำลองโครงสร้างโมเลกุลสารยับยั้งให้คล้าย LEDGF และเข้าจับกับ HIV-1 อินทีเกรส โดยวิเคราะห์ binding affinity จากค่าการแตกตัวที่ได้จากเทคนิค HSQC NMR และ SPR จากผลการทดลองพบว่าค่า binding affinity อยู่ในช่วงที่ไม่ดี จึงนำโครงสร้างตัวที่มีค่าการแตกตัวมากที่สุดคือ cyclo[PKINDG] (pbd code: 3WNE) มาทำการวิเคราะห์ค่าการแตกตัวด้วยการคำนวณด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ โดยใช้วิธี Monte Carlo simulation เพื่อหาความแตกต่างของคอนฟอร์เมชันระหว่างโครงสร้างที่เป็นคอมเพล็กซ์กับโครงสร้างที่เป็นฟรีลิแกนด์ วิธี Umbrella sampling, steer meta dynamic simulation เพื่อหาพลังงานในการเปลี่ยนจากโครงสร้างที่เป็นคอมเพล็กซ์เป็นโครงสร้างที่เป็นฟรีลิแกนด์ และวิธี meta dynamic simulation เพื่อคำนวณหาค่าพลังงานคอนฟอร์เมชัน จากการคำนวณก็พบว่าโครงสร้างของ cyclo[PKINDG] ขณะที่เป็นฟรีลิแกนด์มีพลังงานต่ำกว่าโครงสร้างขณะที่เป็นคอมเพล็กซ์ และโครงสร้างต้องใช้พลังงานในการเปลี่ยนคอนฟอร์เมชันจากฟรีลิแกนด์เป็นคอมเพล็กซ์สูง จึงทำให้ค่า binding affinity อยู่ในช่วงที่ไม่ดี ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการออกแบบสารยับยั้งให้มีโครงสร้างคล้ายกับ LEDGF นั้นไม่เพียงพอที่จะทำให้สารยับยั้งเข้าจับกับ HIV-1 อินทีเกรส ได้ดี จำเป็นที่จะต้องศึกษาปัจจัยอื่นร่วมด้วย

สุภา หารหนองบัว [10] ศึกษากลไกในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ HIV-1 บนพื้นฐานของเคมีคอมพิวเตอร์ และการออกแบบโมเลกุลด้วยสารยับยั้งโดยโครงสร้างเอนไซม์ ผลการศึกษาทำให้มีความเข้าใจถึงโครงสร้างของโมเลกุลสารยับยั้งที่มีความยืดหยุ่นสูง โดยศึกษาในกลุ่มของ TIBO ซึ่งพบว่าความยืดหยุ่นของโมเลกุลมีผลต่อการเปลี่ยนโครงสร้าง และฟังก์ชันของเอนไซม์ในขณะที่มีการจับ ผลการศึกษาโครงสร้างคอนฟอร์เมชัน โดยพื้นผิวพลังงานศักย์สามารถอธิบายกลไกที่แตกต่างกันของสารยับยั้ง 8-Cl และ 9-Cl TIBO

ที่มีต่อกัมมันตภาพในการยับยั้งเอนไซม์ด้วย นอกจากนี้แล้ว ได้ทำการคำนวณโดยวิธีออนเนียม เพื่อศึกษาอันตรกิริยาที่มีความจำเพาะของเนวิราพีนกับโพรงการจับของเอนไซม์และสามารถอธิบายอันตรกิริยาที่มีความสำคัญระหว่างสารยับยั้งกับเรซิดิวส์ภายในโพรงการจับของเอนไซม์ โครงการวิจัยนี้ยังได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในการยับยั้ง โดยวิธี HQSAR ของสารยับยั้งและอนุพันธ์ TIBO จำนวน 70 โมเลกุล HEPT จำนวน 101 โมเลกุล และ dipyrindodiazepinone จำนวน 125 โมเลกุล ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวิธี HQSAR สามารถให้ผลการทำนายของสารยับยั้งที่ดีเมื่อเทียบกับวิธี 2D-QSAR

## บทที่ 2

### อุปกรณ์และการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาทดสอบประสิทธิภาพของโปรแกรมคำนวณการเข้าจับในการทำนายโครงสร้างการเข้าจับว่ามีความใกล้เคียงกับโครงสร้างที่ได้จากการทดลองมากน้อยเพียงใด ดังนั้นจึงได้เลือกใช้โปรแกรมคำนวณการเข้าจับจำนวน 2 โปรแกรม คือ AutoDock Vina และ SwissDock ในส่วนของโปรแกรม AutoDock Vina ได้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการคำนวณ 3 รูปแบบ ทำให้ได้การคำนวณที่มีความแตกต่างกันรวมทั้งสิ้น 4 รูปแบบ ดังนี้

1. คำนวณการเข้าจับแบบ rigid ด้วยโปรแกรม AutoDock Vina โดยใช้โครงสร้างสารยับยั้งจากการทดลอง
2. คำนวณการเข้าจับแบบ flexible ด้วยโปรแกรม AutoDock Vina โดยใช้โครงสร้างสารยับยั้งจากการทดลอง
3. คำนวณการเข้าจับแบบ optimize flexible ด้วยโปรแกรม AutoDock Vina โดยใช้โครงสร้างสารยับยั้งจากการคำนวณปรับโครงสร้าง
4. คำนวณการเข้าจับแบบ flexible ด้วยโปรแกรม SwissDock ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ จะถูกกำหนดโดยอัตโนมัติด้วยโปรแกรม

วิธีการทดลองจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก คือ การจัดเตรียมโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ในงานวิจัย การเตรียมโครงสร้างของอินทีเกรสและสารยับยั้ง และการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล

#### 2.1 โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้ในงานวิจัย

2.1.1 โปรแกรม BIOVIA Discovery Studio Visualizer ใช้ในการจัดเตรียมโครงสร้างของอินทีเกรส และการวิเคราะห์ข้อมูลอันตรกิริยาระหว่างอินทีเกรสกับสารยับยั้ง

2.1.2 โปรแกรม AutoDock Tools (ADT) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในชุดโปรแกรม MGL Tools ใช้ช่วยเตรียมข้อมูลพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของโครงสร้างอินทีเกรสและสารยับยั้ง เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม AutoDock Vina ต่อไป

2.1.3 โปรแกรม VEGA ZZ เป็นโปรแกรมทาง molecular modeling ที่ช่วยในการเตรียมไฟล์รูปแบบต่าง ๆ และใช้เป็น GUI ของ AutoDock Vina ทำให้สามารถเตรียมโครงสร้างและสั่งคำนวณงาน AutoDock Vina ได้อย่างสะดวก

2.1.4 โปรแกรม HyperChem ใช้สำหรับวาดรูปโครงสร้างสามมิติและคำนวณปรับโครงสร้าง

2.1.5 โปรแกรม Open Babel เป็นโปรแกรมสำหรับแปลงข้อมูลโครงสร้างจากรูปแบบหนึ่งไปยังอีกรูปแบบหนึ่งซึ่งสนับสนุนรูปแบบไฟล์ประเภทต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก

2.1.6 โปรแกรม UCSF Chimera ใช้ในการเตรียมโครงสร้างของอินทีเกรสและสารยับยั้งเพื่อนำไปคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลด้วย SwissDock และใช้ในการวิเคราะห์ผลการคำนวณที่ได้จาก SwissDock

## 2.2 การเตรียมโครงสร้างของอินทีเกรสและสารยับยั้ง

2.2.1 ค้นหาโครงสร้างเชิงซ้อนระหว่างอินทีเกรสกับสารยับยั้งจากคลังข้อมูลโปรตีน (protein data bank) ที่เว็บไซต์ <https://www.rcsb.org/> จากนั้นทำการดาวน์โหลดโครงสร้างเชิงซ้อนเหล่านี้ จำนวนทั้งหมด 24 โครงสร้าง

### 2.2.2 การเตรียมโครงสร้างสามมิติของอินทีเกรส

- เปิดไฟล์โครงสร้างจากข้อ 2.2.1 ทำการลบโครงสร้างของสารยับยั้งและสารช่วยตกผลึกอื่น ๆ ออกจากนั้นทำการเติมอะตอมไฮโดรเจน และคำนวณประจุ บนทิกไฟล์

### 2.2.2 การเตรียมโครงสร้างของสารยับยั้งสำหรับการคำนวณในรูปแบบที่ 1

- เปิดไฟล์โครงสร้างจากข้อ 2.2.1 ทำการลบโครงสร้างของเอนไซม์และสารอื่น ๆ ให้เหลือเฉพาะโครงสร้างของสารยับยั้ง
- นำโครงสร้างสารยับยั้งมาคำนวณประจุ และพารามิเตอร์ต่าง ๆ ด้วยโปรแกรม ADT

### 2.2.3 การเตรียมโครงสร้างของสารยับยั้งสำหรับการคำนวณในรูปแบบที่ 2

- เปิดไฟล์โครงสร้างจากข้อ 2.2.1 ทำการลบโครงสร้างของเอนไซม์และสารอื่น ๆ ให้เหลือเฉพาะโครงสร้างของสารยับยั้ง
- นำโครงสร้างสารยับยั้งมาคำนวณประจุ กำหนดพันธะที่จะทำการหมุนระหว่างการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล และพารามิเตอร์ต่าง ๆ ด้วยโปรแกรม ADT

### 2.2.5 การเตรียมโครงสร้างของสารยับยั้งสำหรับการคำนวณในรูปแบบที่ 3

- เปิดไฟล์โครงสร้างจากข้อ 2.2.1 ทำการลบโครงสร้างของเอนไซม์และสารอื่น ๆ ให้เหลือเฉพาะโครงสร้างของสารยับยั้ง
- นำโครงสร้างของสารยับยั้งมาเติมอะตอมไฮโดรเจนและปรับโครงสร้างแบบคร่าว ๆ โดยใช้เมนู add hydrogen and model build ด้วยโปรแกรม HyperChem
- คำนวณปรับโครงสร้างด้วยวิธี semiempirical AM1
- นำโครงสร้างสารยับยั้งมาคำนวณประจุ กำหนดพันธะที่จะทำการหมุนระหว่างการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล และพารามิเตอร์ต่าง ๆ ด้วยโปรแกรม ADT

### 2.2.6 การเตรียมโครงสร้างของสารยับยั้งสำหรับการคำนวณในรูปแบบที่ 4 (SwissDock)

- เปิดไฟล์โครงสร้างจากข้อ 2.2.1 ทำการลบโครงสร้างของเอนไซม์และสารอื่น ๆ ให้เหลือเฉพาะโครงสร้างของสารยับยั้ง
- นำโครงสร้างของสารยับยั้งมาเติมอะตอมไฮโดรเจน ด้วยโปรแกรม UCSF Chimera จากนั้นบันทึกไฟล์ในรูปแบบ mol2

### 2.3 การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม AutoDock Vina

ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลในรูปแบบที่ 1, 2 และ 3 ด้วยโปรแกรม AutoDock Vina มีวิธีการดังนี้

- สร้างกล่องที่ใช้กำหนดขอบเขตการค้นหา (grid box) โดยกำหนดจุดกึ่งกลางของกล่องเป็นตำแหน่งศูนย์กลางของโมเลกุลสารยับยั้งที่อยู่ในโครงสร้างจากการทดลอง
- กำหนดขนาดของกล่องให้มีค่าเป็น 2 เท่าของขนาดโมเลกุลสารยับยั้งที่อยู่ในโครงสร้างจากการทดลอง
- เลือกไฟล์โครงสร้างของอินทีเกรส (จากข้อ 2.2.2) และไฟล์โครงสร้างของสารยับยั้ง (จากข้อ 2.2.3, 2.2.4, 2.2.5)
- ใช้ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการคำนวณเป็นค่าปริยาย (default) ของโปรแกรม

### 2.4 การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม SwissDock

ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลในรูปแบบที่ 4 ด้วยโปรแกรม SwissDock จะเป็นการคำนวณแบบ flexible docking ในเครื่องแม่ข่ายของผู้ให้บริการ และมีวิธีการดังนี้

- เข้าสู่เครื่องแม่ข่ายที่ใช้ในการคำนวณที่เว็บไซต์ <http://www.swissdock.ch/>
- เลือกไฟล์โครงสร้างของอินทีเกรส (จากข้อ 2.2.2) และไฟล์โครงสร้างของสารยับยั้ง (จากข้อ 2.2.6)
- ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการคำนวณจะถูกกำหนดโดยอัตโนมัติด้วยโปรแกรม
- กรอกที่อยู่อีเมล และกดส่งงาน
- เมื่อเครื่องแม่ข่ายทำการคำนวณเสร็จสิ้น ระบบจะส่งอีเมลมาแจ้งให้ทราบ


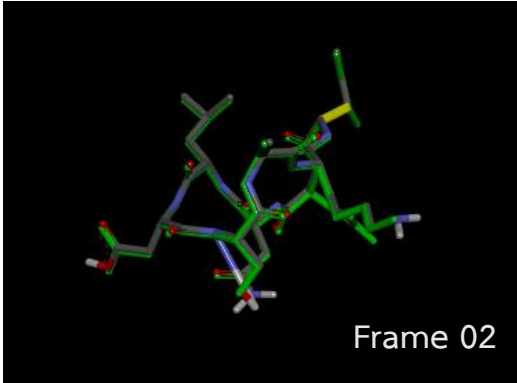

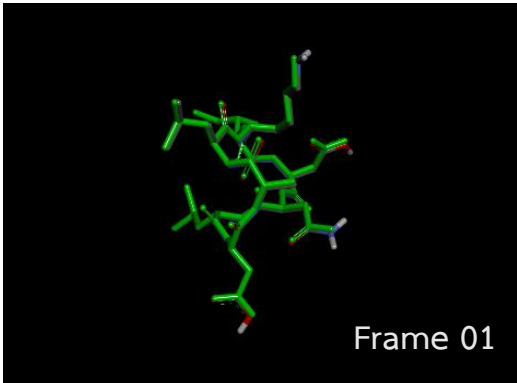
### บทที่ 3

#### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง


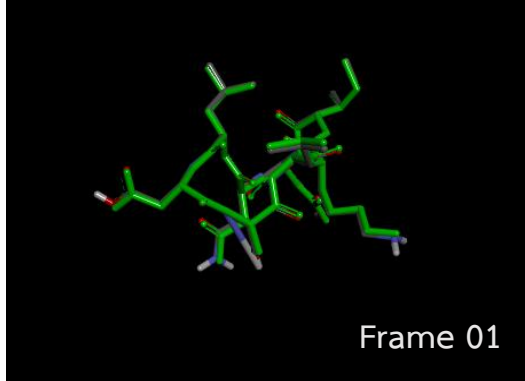
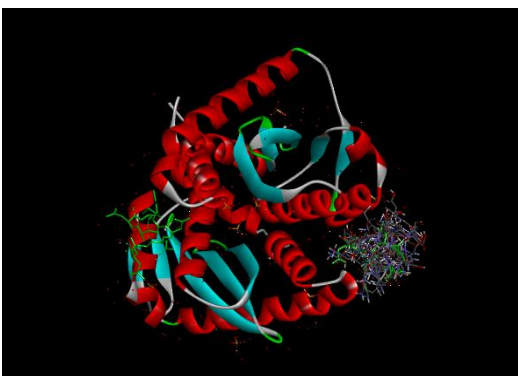
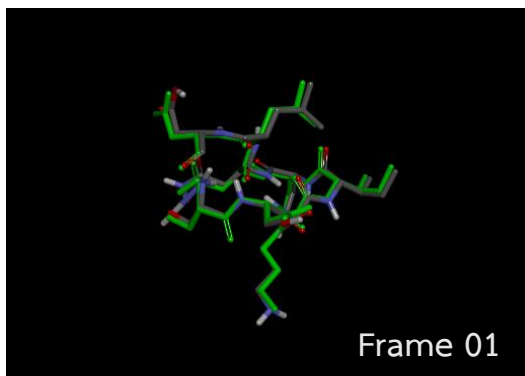

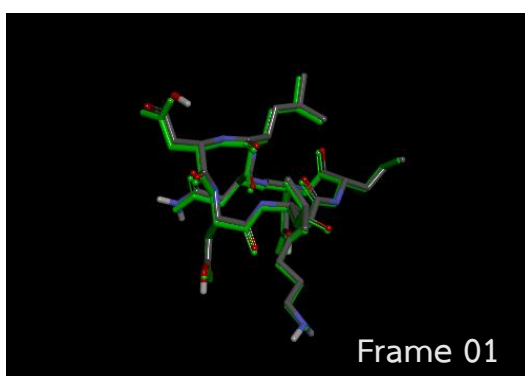

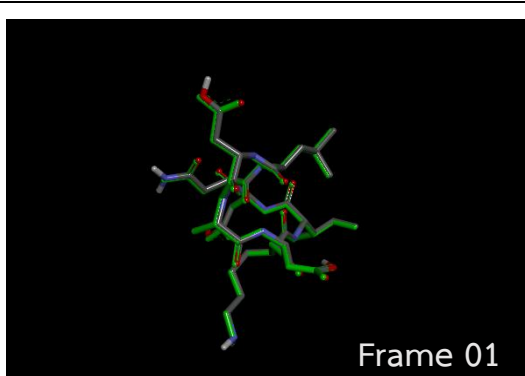
##### 3.1 ผลการคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 1

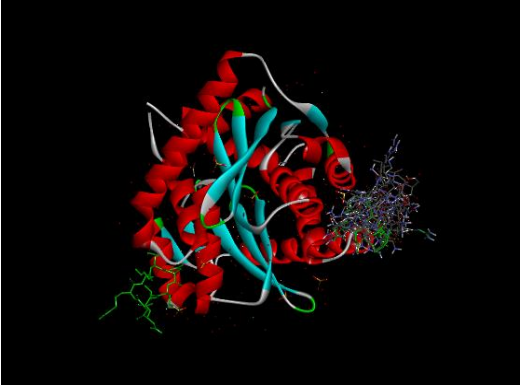
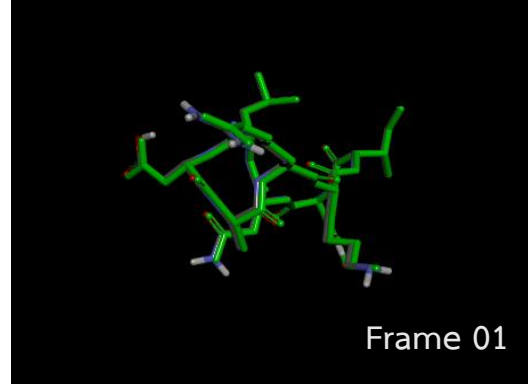

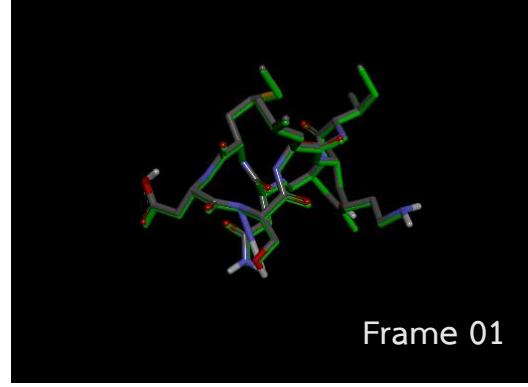

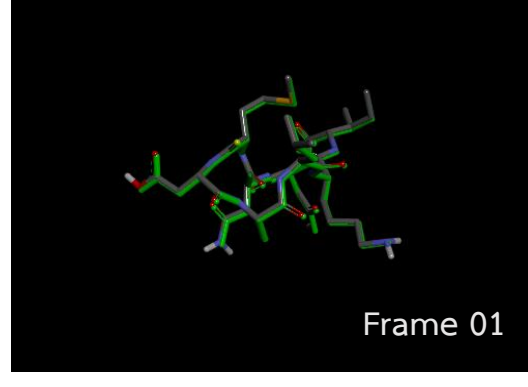
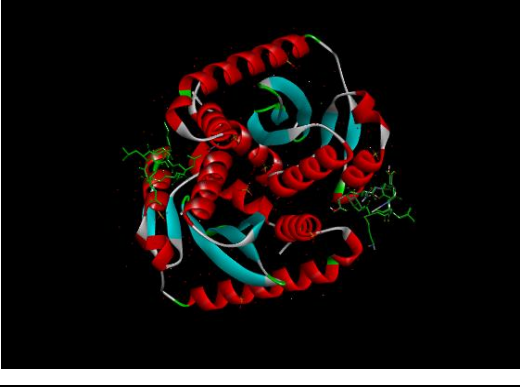
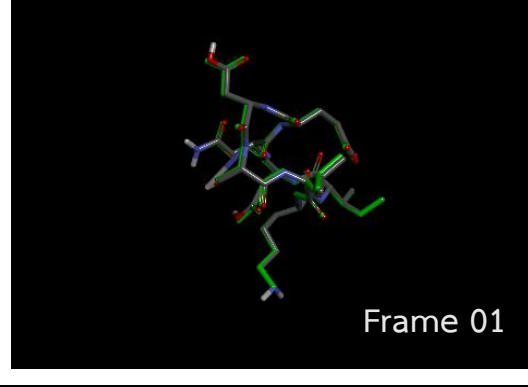
การคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 1 เป็นการคำนวณด้วยโปรแกรม AutoDock Vina โดยใช้โครงสร้างสารยับยั้งจากการทดลอง และโครงสร้างสารยับยั้งจะไม่มี การเปลี่ยนโครงรูป (conformation) ระหว่างการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล จะมีแค่เพียงการเปลี่ยนตำแหน่งและทิศทาง (orientation) ภายในบริเวณการเข้าจับของอินทีเกรสเท่านั้น ในการพิจารณาประสิทธิภาพของการคำนวณในรูปแบบนี้ จะทำการเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณกับโครงสร้างการเข้าจับจากการทดลอง (x-ray) ผลการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 3.1

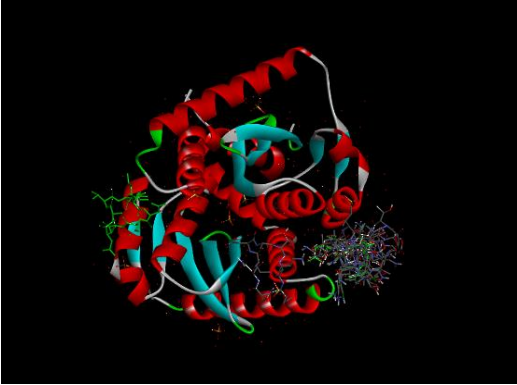
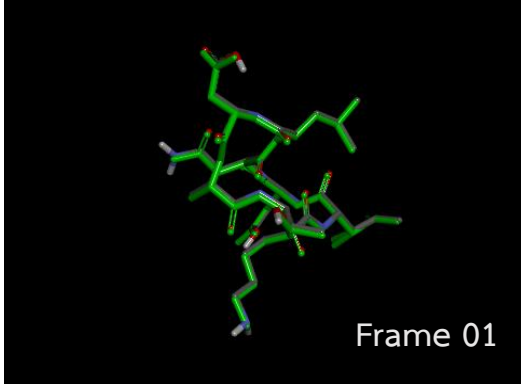

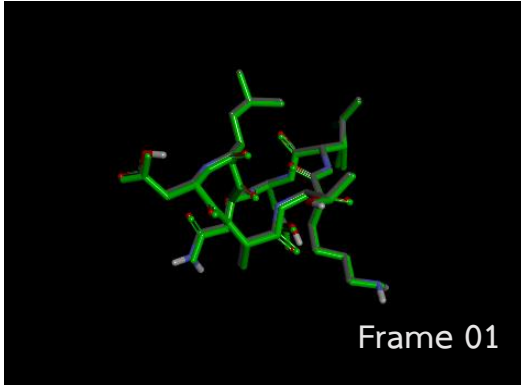

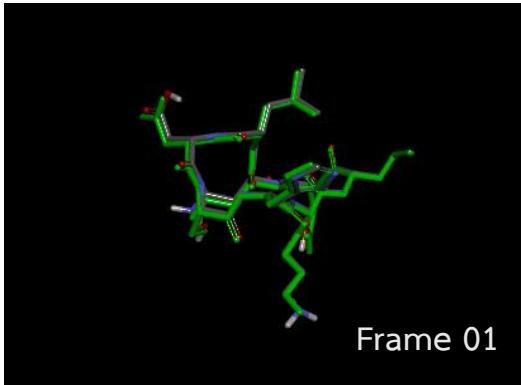
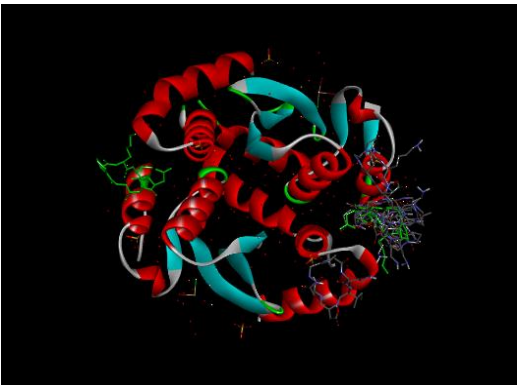
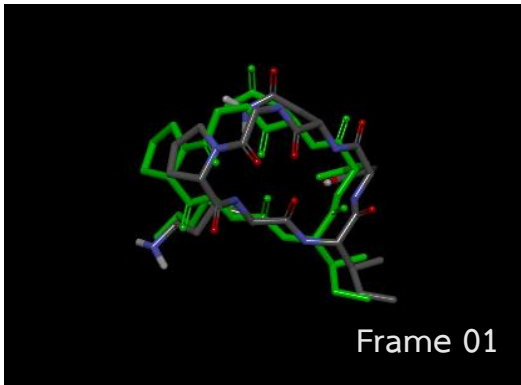
ตารางที่ 3.1 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 1 กับโครงสร้างจากการทดลอง

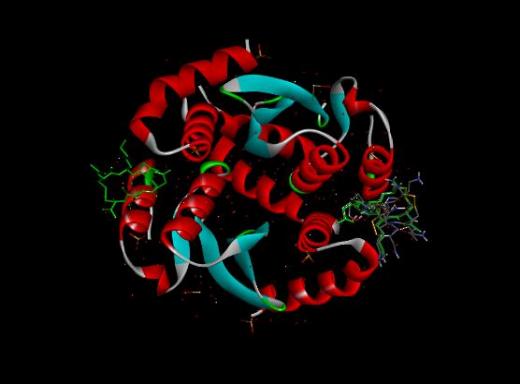
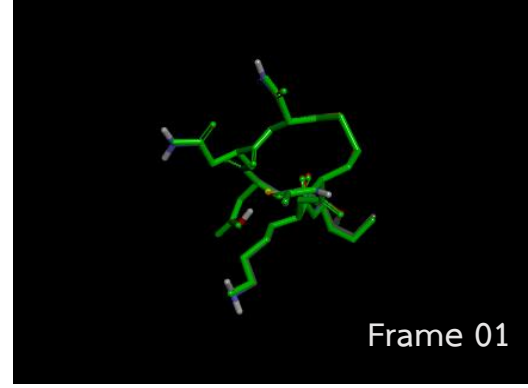
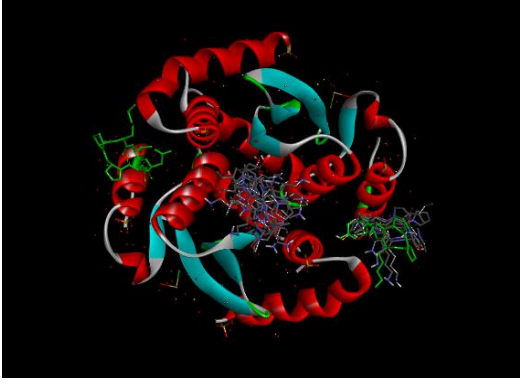
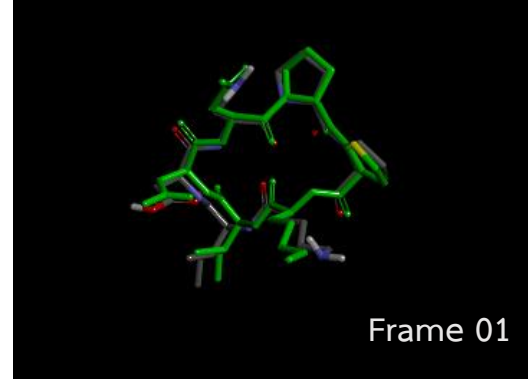

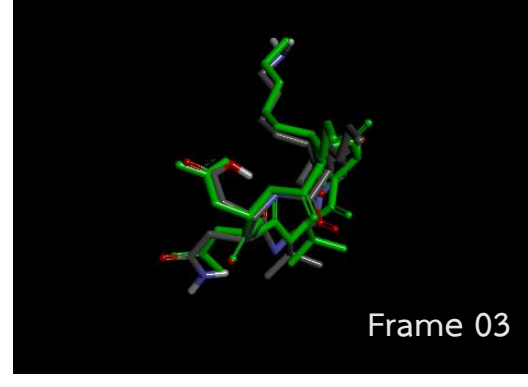

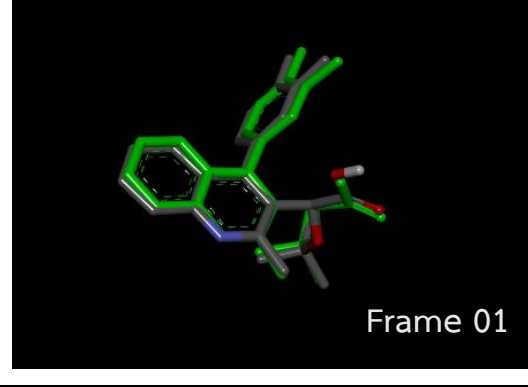
PDB code	โครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณเทียบกับโครงสร้างจากการทดลอง	โครงสร้างการเข้าจับจากการคำนวณที่ใกล้เคียงกับการทดลอง (สีเขียว) มากที่สุด
3av9		
3ava		


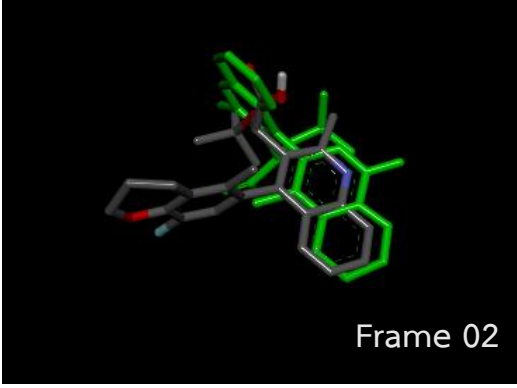
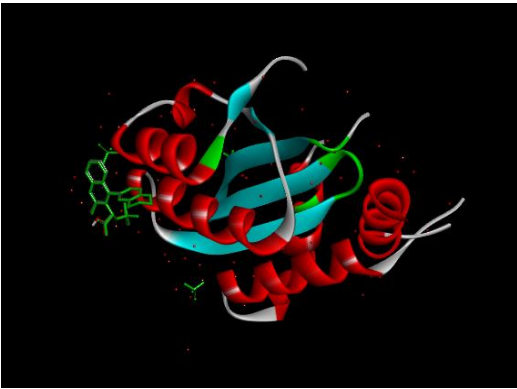
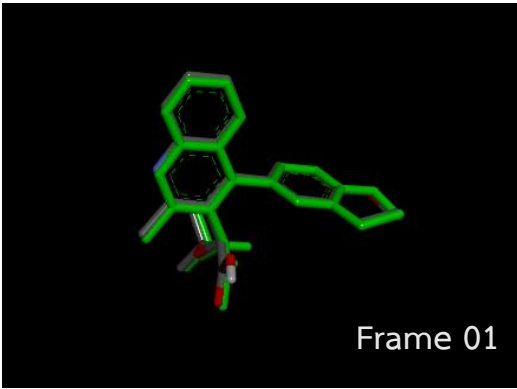

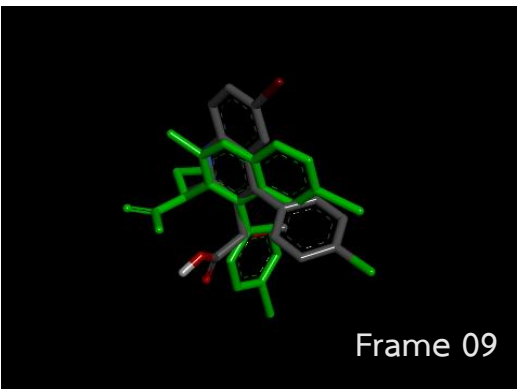

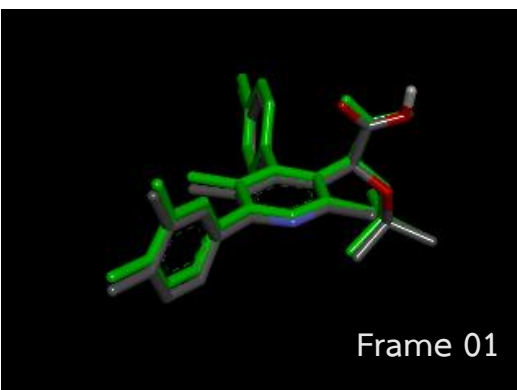


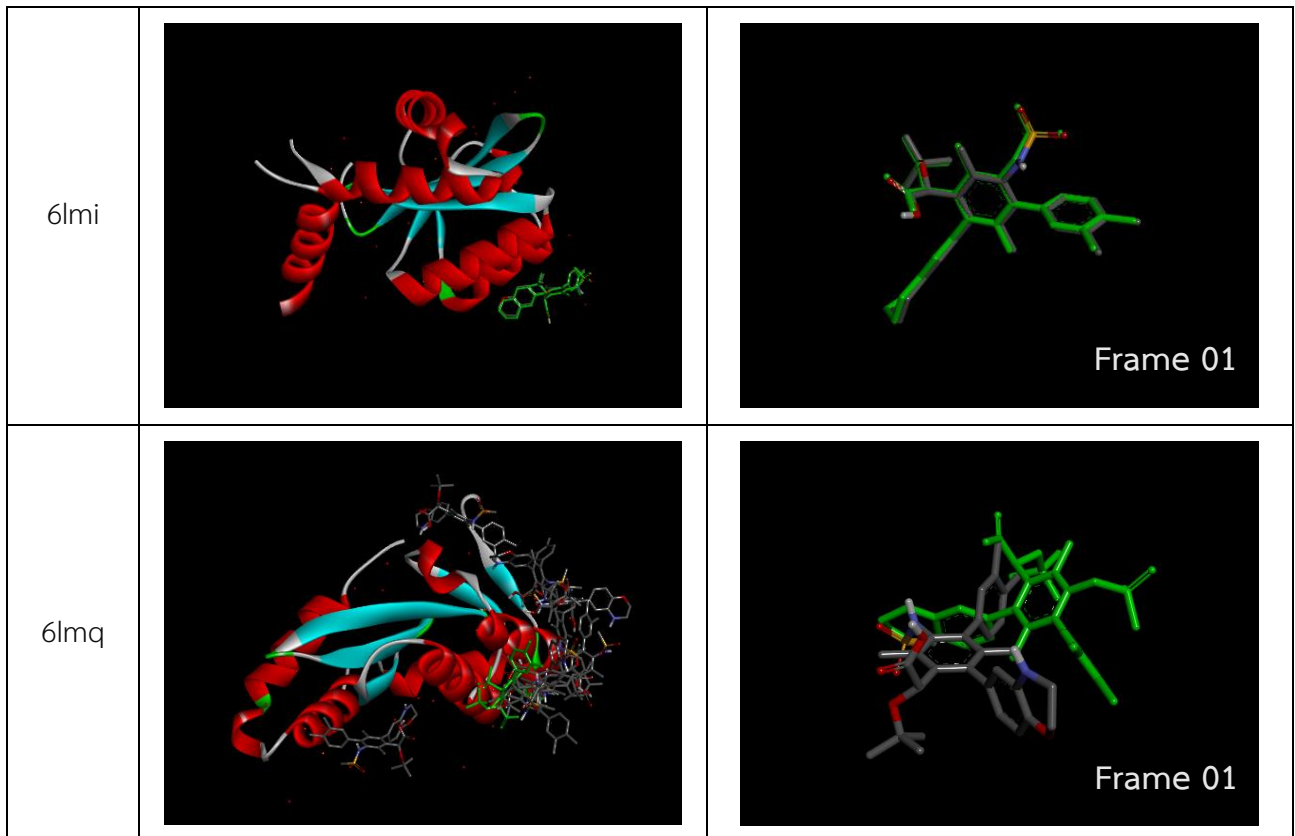
3avb	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, labeled 3avb. The protein is shown in red and cyan, with a green ligand bound to it. The structure is complex and multi-domain.	 A 3D stick model of the protein structure 3avb, showing the green ligand and the protein backbone in green and cyan. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3avc	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, labeled 3avc. The protein is shown in red and cyan, with a green ligand bound to it. The structure is complex and multi-domain.	 A 3D stick model of the protein structure 3avc, showing the green ligand and the protein backbone in green and cyan. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3avf	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, labeled 3avf. The protein is shown in red and cyan, with a green ligand bound to it. The structure is complex and multi-domain.	 A 3D stick model of the protein structure 3avf, showing the green ligand and the protein backbone in green and cyan. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3avg	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, labeled 3avg. The protein is shown in red and cyan, with a green ligand bound to it. The structure is complex and multi-domain.	 A 3D stick model of the protein structure 3avg, showing the green ligand and the protein backbone in green and cyan. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.

3avh	 A ribbon diagram of protein 3avh. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices in cyan and white. A small, dark, branched structure is attached to the right side.	 A stick model of protein 3avh, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3avi	 A ribbon diagram of protein 3avi. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices in cyan and white. A small, dark, branched structure is attached to the right side.	 A stick model of protein 3avi, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3avj	 A ribbon diagram of protein 3avj. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices in cyan and white. A small, dark, branched structure is attached to the right side.	 A stick model of protein 3avj, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3avk	 A ribbon diagram of protein 3avk. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices in cyan and white. A small, dark, branched structure is attached to the right side.	 A stick model of protein 3avk, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.

3avl	 A ribbon diagram of the protein structure 3avl. The protein is shown in a complex, folded conformation. The main body of the protein is colored in red and cyan, with some regions in white. A small, dark, branched structure is visible on the right side of the protein.	 A stick model of the protein structure 3avl, colored in green. The model shows the detailed atomic structure of the protein. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3avm	 A ribbon diagram of the protein structure 3avm. The protein is shown in a complex, folded conformation. The main body of the protein is colored in red and cyan, with some regions in white. A small, dark, branched structure is visible on the right side of the protein.	 A stick model of the protein structure 3avm, colored in green. The model shows the detailed atomic structure of the protein. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3avn	 A ribbon diagram of the protein structure 3avn. The protein is shown in a complex, folded conformation. The main body of the protein is colored in red and cyan, with some regions in white. A small, dark, branched structure is visible on the right side of the protein.	 A stick model of the protein structure 3avn, colored in green. The model shows the detailed atomic structure of the protein. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3wne	 A ribbon diagram of the protein structure 3wne. The protein is shown in a complex, folded conformation. The main body of the protein is colored in red and cyan, with some regions in white. A small, dark, branched structure is visible on the right side of the protein.	 A stick model of the protein structure 3wne, colored in green. The model shows the detailed atomic structure of the protein. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.

3wnf	 A 3D ribbon diagram of protein 3wnf. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface overlaid. The structure is a compact, globular fold.	 A 3D stick model of protein 3wnf, colored green. The structure is shown in a similar orientation to the ribbon diagram. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3wng	 A 3D ribbon diagram of protein 3wng. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface overlaid. The structure is a compact, globular fold.	 A 3D stick model of protein 3wng, colored green. The structure is shown in a similar orientation to the ribbon diagram. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
3wnh	 A 3D ribbon diagram of protein 3wnh. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface overlaid. The structure is a compact, globular fold.	 A 3D stick model of protein 3wnh, colored green. The structure is shown in a similar orientation to the ribbon diagram. The text "Frame 03" is visible in the bottom right corner.
4e1m	 A 3D ribbon diagram of protein 4e1m. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface overlaid. The structure is a compact, globular fold.	 A 3D stick model of protein 4e1m, colored green. The structure is shown in a similar orientation to the ribbon diagram. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.

4e1n	 A 3D ribbon diagram of protein 4e1n. The protein backbone is shown in red and cyan, with a green ligand molecule bound in the center. The structure is compact and globular.	 A 3D stick model of protein 4e1n, showing the protein backbone in grey and the green ligand molecule in green. The text "Frame 02" is visible in the bottom right corner.
4id1	 A 3D ribbon diagram of protein 4id1. The protein backbone is shown in red and cyan, with a green ligand molecule bound in the center. The structure is more elongated than 4e1n.	 A 3D stick model of protein 4id1, showing the protein backbone in grey and the green ligand molecule in green. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.
4jlh	 A 3D ribbon diagram of protein 4jlh. The protein backbone is shown in red and cyan, with a green ligand molecule bound in the center. The structure is elongated and has a different fold.	 A 3D stick model of protein 4jlh, showing the protein backbone in grey and the green ligand molecule in green. The text "Frame 09" is visible in the bottom right corner.
4o0j	 A 3D ribbon diagram of protein 4o0j. The protein backbone is shown in red and cyan, with a green ligand molecule bound in the center. The structure is similar to 4e1n.	 A 3D stick model of protein 4o0j, showing the protein backbone in grey and the green ligand molecule in green. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.



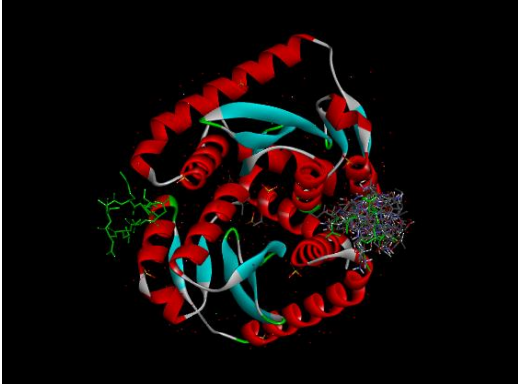
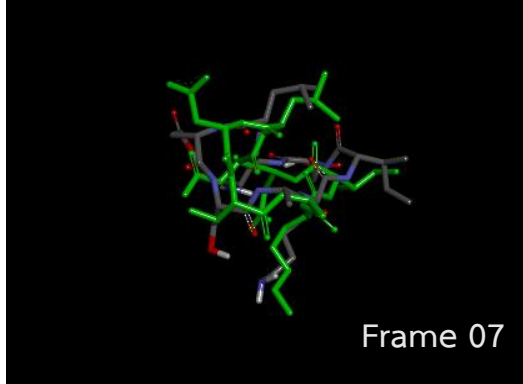

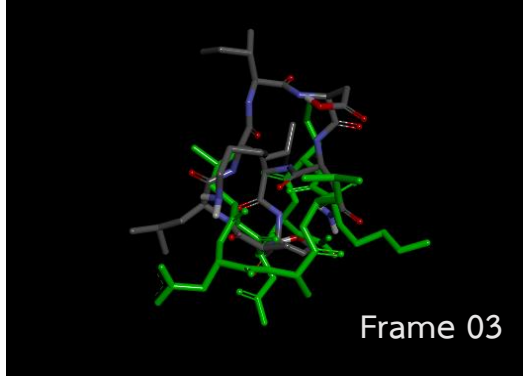
งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาและวิเคราะห์ประสิทธิภาพของโปรแกรมในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล โดยศึกษาจากรูปแบบการเข้าจับกันระหว่างเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรสกับสารยับยั้ง และพลังงานที่ใช้ในการเข้าจับ ด้วยวิธีการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล ในการศึกษาได้นำโครงสร้างเอกซเรย์ของโครงสร้างเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรส กับสารยับยั้งมาจากรฐานข้อมูลจำนวน 24 โครงสร้างที่มี PDB code ดังนี้ 3av9, 3ava, 3avb, 3avc, 3avf, 3avg, 3avh, 3avi, 3avj, 3avk, 3avl, 3avm, 3avn, 3wne, 3wnf, 3wng, 3wnh, 4e1m, 4e1n, 4id1, 4jlh, 4o0j, 6lmi และ 6lmq ซึ่งเป็นโครงสร้างเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรสกับสารยับยั้งที่จับกันอยู่ จากนั้นจึงได้ทำการแยกโครงสร้างเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรสและสารยับยั้งออกจากกัน ซึ่งจะวิเคราะห์ประสิทธิภาพของโปรแกรมในการคำนวณการเข้าจับโมเลกุลด้วยการนำโครงสร้างของสารยับยั้ง docking กลับเข้าไปจับกับเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรสด้วยโปรแกรม AutoDock Vina


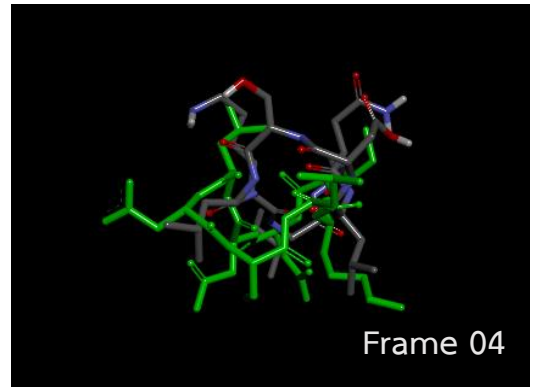

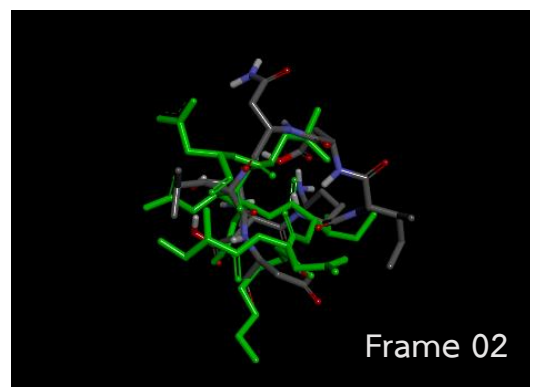

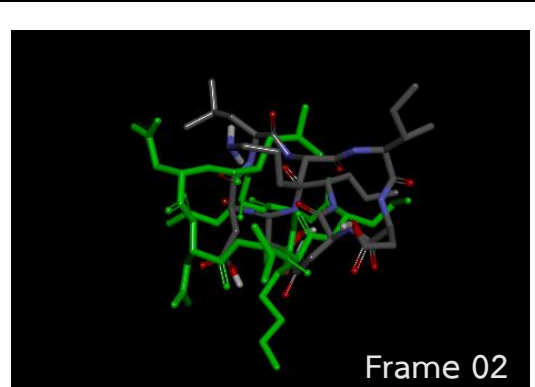

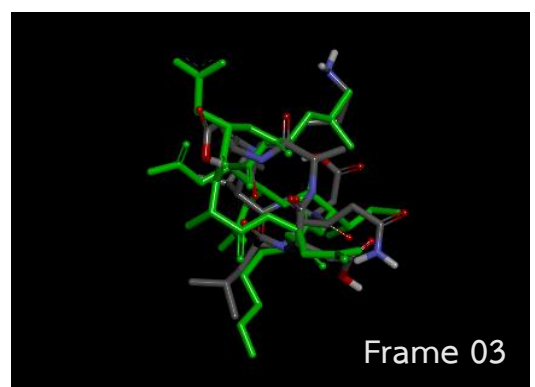
ผลจากการคำนวณในรูปแบบที่ 1 พบว่าโครงสร้างสารยับยั้งจากการคำนวณมีตำแหน่งการเข้าจับตรงกันกับโครงสร้างจากการทดลองถึง 18 ตัว คือ 3av9, 3ava, 3avb, 3avc, 3avf, 3avg, 3avh, 3avi, 3avj, 3avk, 3avl, 3avm, 3avn, 3wnf, 4e1m, 4id1, 4o0j และ 6lmi ส่วนโครงสร้างที่เหลืออีก 6 ตัวมีการเข้าจับในตำแหน่งที่เปลี่ยนไปเพียงเล็กน้อย โดยโครงสร้างที่ใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองส่วนใหญ่จะเป็นโครงสร้างที่เป็น Frame01 คือ โครงสร้างที่มีพลังงานการเข้าจับดีที่สุด

### 3.2 ผลการคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 2

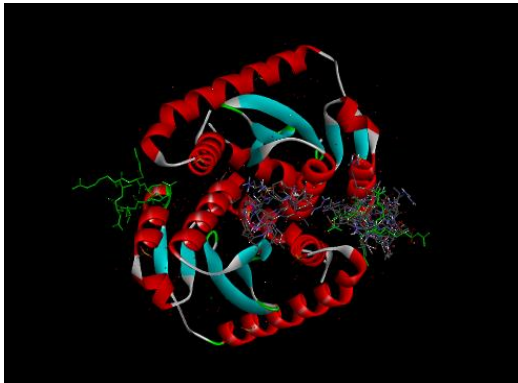
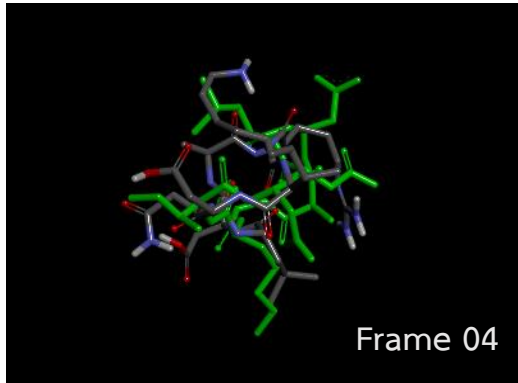

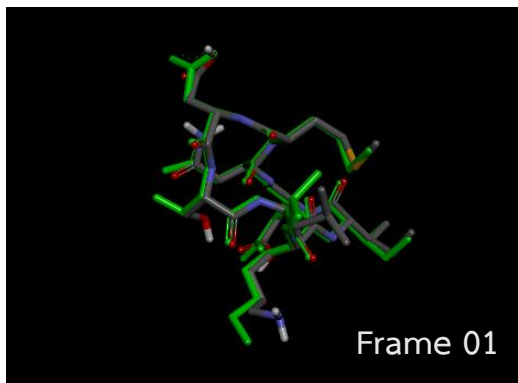
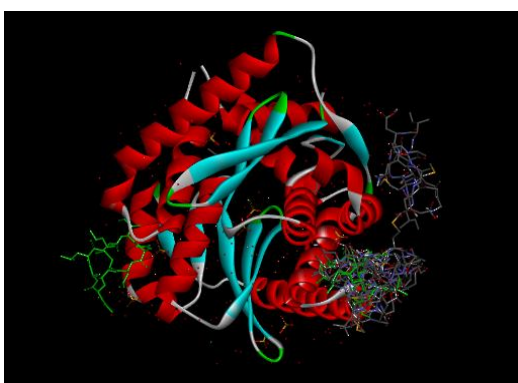
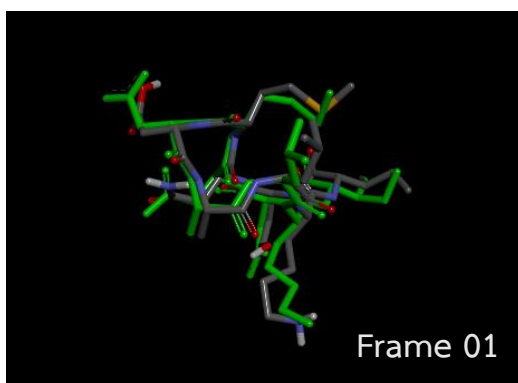
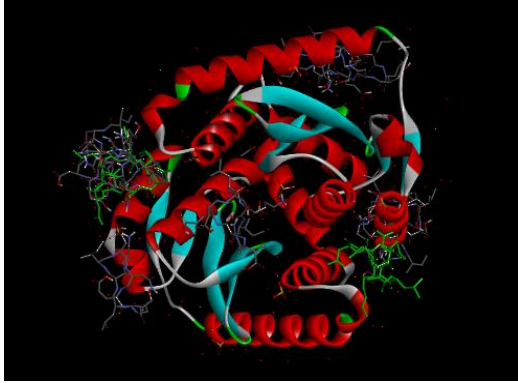
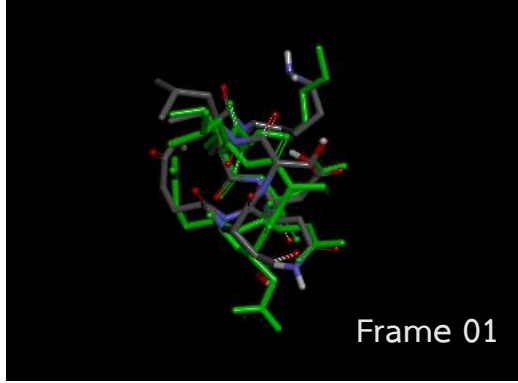
การคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 2 เป็นการคำนวณด้วยโปรแกรม AutoDock Vina โดยใช้โครงสร้างสารยับยั้งจากการทดลอง และโครงสร้างสารยับยั้งจะมีการเปลี่ยนโครงรูป (conformation) ระหว่างการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล ทำให้มีความซับซ้อนในการคำนวณเพิ่มมากยิ่งขึ้น โครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณจึงอาจจะมีโครงรูปและตำแหน่งแตกต่างจากโครงสร้างจากการทดลองได้ นับเป็นการทดสอบประสิทธิภาพของโปรแกรมได้เป็นอย่างดี ในการพิจารณาประสิทธิภาพของการคำนวณในรูปแบบนี้ จะทำการเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณกับโครงสร้างการเข้าจับจากการทดลอง (x-ray) ผลการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 3.2


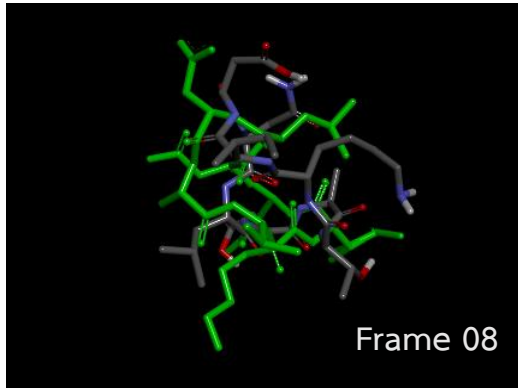
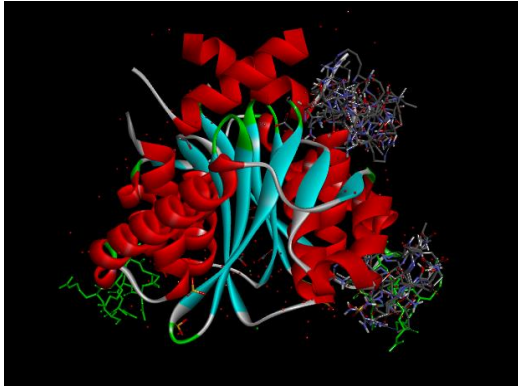
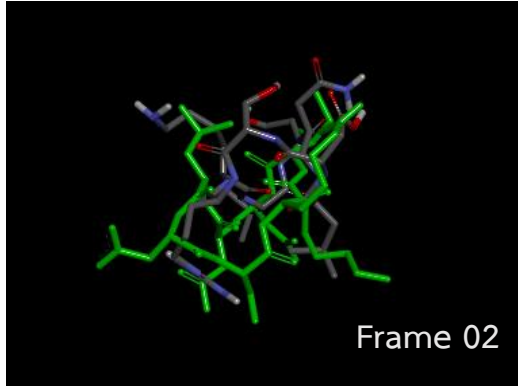
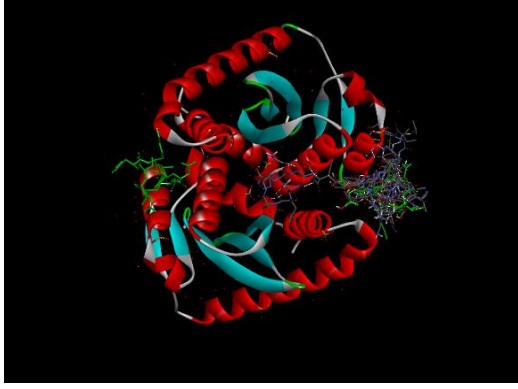
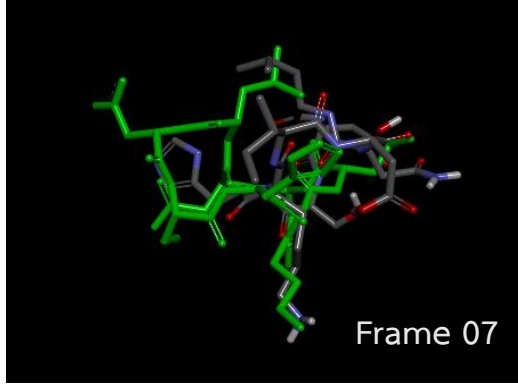
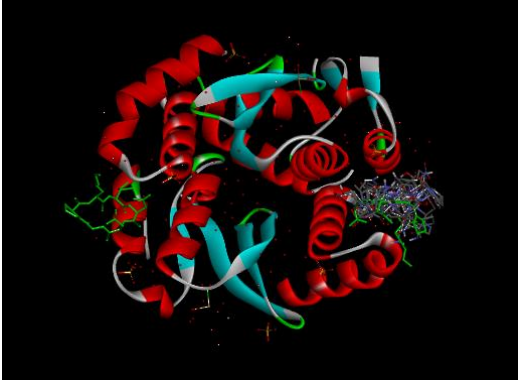
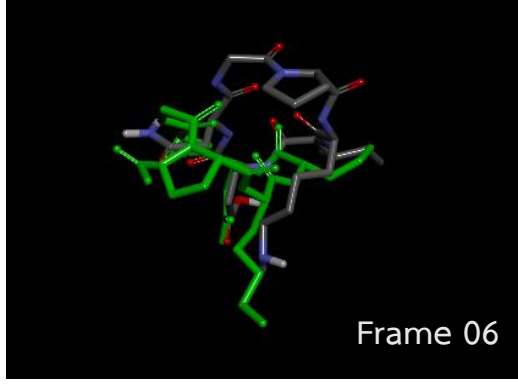
ตารางที่ 3.2 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 2 กับโครงสร้างจากการทดลอง

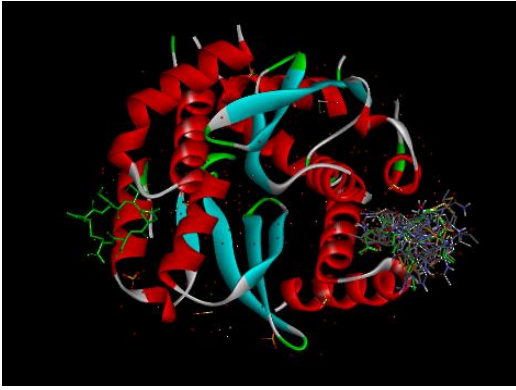
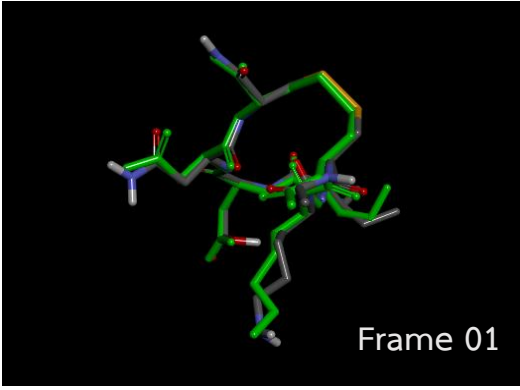
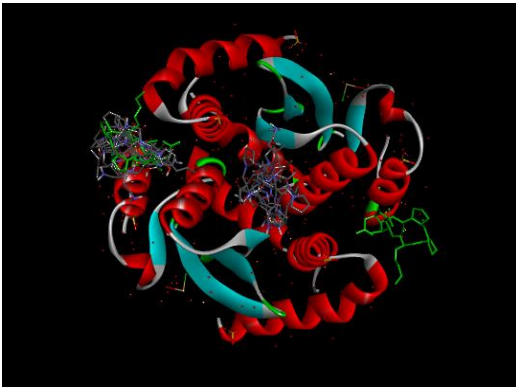
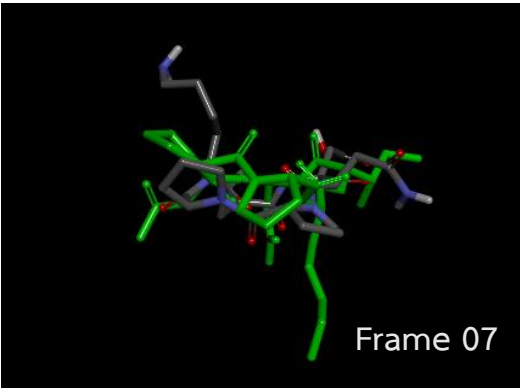

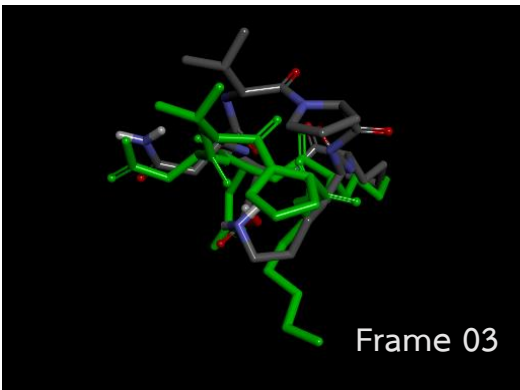
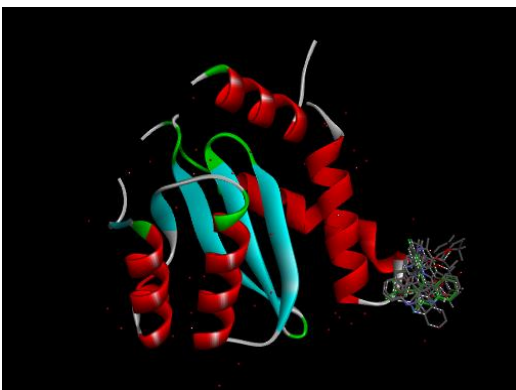
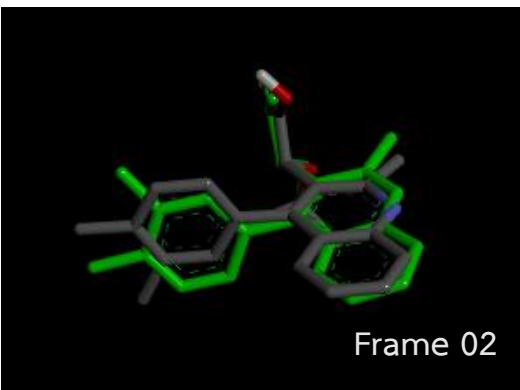
PDB code	โครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณเทียบกับโครงสร้างจากการทดลอง	โครงสร้างการเข้าจับจากการคำนวณที่ใกล้เคียงกับการทดลอง (สีเขียว) มากที่สุด
3av9		
3ava		


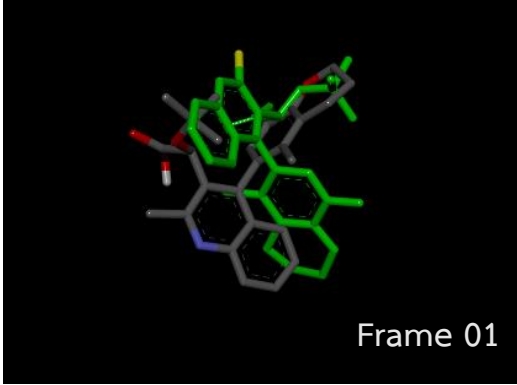

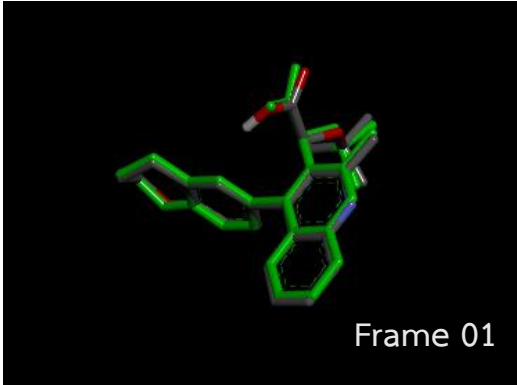

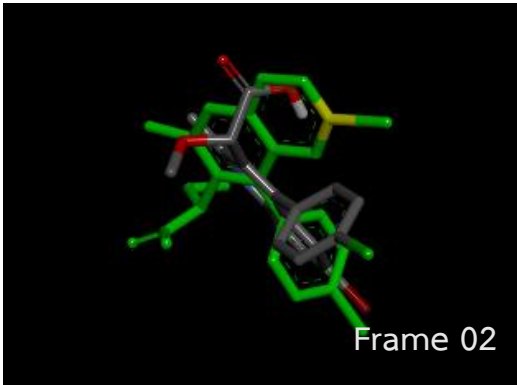
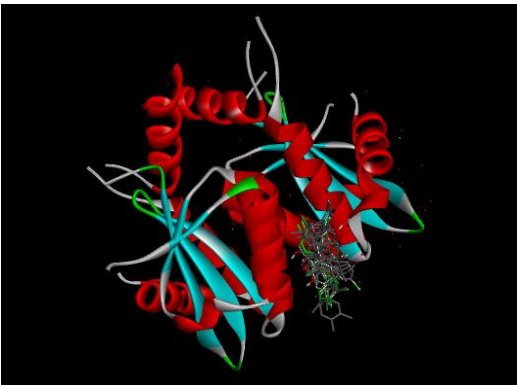
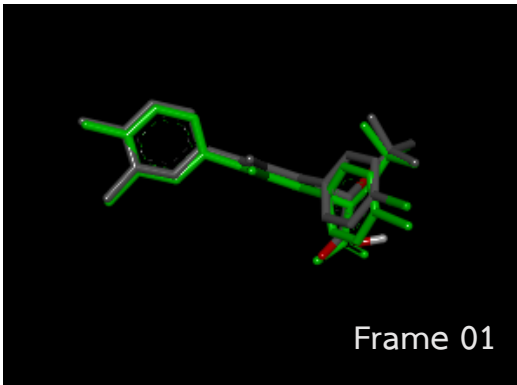
3avb	 A ribbon diagram of protein 3avb. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. One domain is colored red, another is cyan, and a third is white. The structure is set against a black background.	 A stick model of protein 3avb, labeled "Frame 04". The atoms are colored by element: carbon is green, oxygen is red, and nitrogen is blue. The structure is shown against a black background.
3avc	 A ribbon diagram of protein 3avc. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. One domain is colored red, another is cyan, and a third is white. The structure is set against a black background.	 A stick model of protein 3avc, labeled "Frame 02". The atoms are colored by element: carbon is green, oxygen is red, and nitrogen is blue. The structure is shown against a black background.
3avf	 A ribbon diagram of protein 3avf. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. One domain is colored red, another is cyan, and a third is white. The structure is set against a black background.	 A stick model of protein 3avf, labeled "Frame 02". The atoms are colored by element: carbon is green, oxygen is red, and nitrogen is blue. The structure is shown against a black background.
3avg	 A ribbon diagram of protein 3avg. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. One domain is colored red, another is cyan, and a third is white. The structure is set against a black background.	 A stick model of protein 3avg, labeled "Frame 03". The atoms are colored by element: carbon is green, oxygen is red, and nitrogen is blue. The structure is shown against a black background.

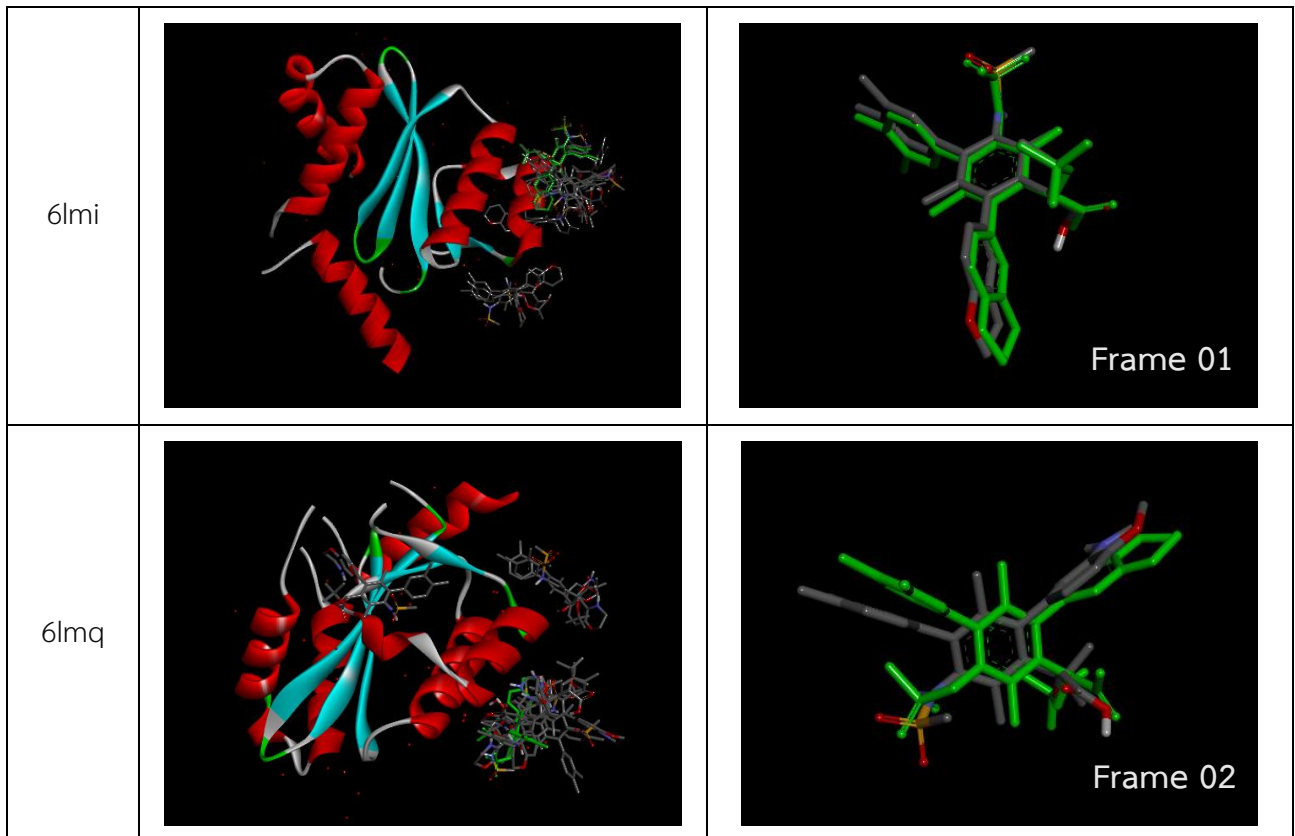


3avh	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a smaller cyan-colored subunit. The protein is shown in a compact, globular fold. A small, grey stick model of a ligand is bound to the protein's surface.	 A stick model of the protein structure, colored in green, cyan, and grey. The model shows the detailed atomic structure of the protein and its bound ligand. The text "Frame 04" is located in the bottom right corner.
3avi	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a smaller cyan-colored subunit. The protein is shown in a compact, globular fold. A small, grey stick model of a ligand is bound to the protein's surface.	 A stick model of the protein structure, colored in green, cyan, and grey. The model shows the detailed atomic structure of the protein and its bound ligand. The text "Frame 01" is located in the bottom right corner.
3avj	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a smaller cyan-colored subunit. The protein is shown in a compact, globular fold. A small, grey stick model of a ligand is bound to the protein's surface.	 A stick model of the protein structure, colored in green, cyan, and grey. The model shows the detailed atomic structure of the protein and its bound ligand. The text "Frame 01" is located in the bottom right corner.
3avk	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a smaller cyan-colored subunit. The protein is shown in a compact, globular fold. A small, grey stick model of a ligand is bound to the protein's surface.	 A stick model of the protein structure, colored in green, cyan, and grey. The model shows the detailed atomic structure of the protein and its bound ligand. The text "Frame 01" is located in the bottom right corner.

<p>3avl</p>	 A ribbon diagram of protein 3avl. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices in cyan and white. A small, dark, multi-colored structure is attached to the right side.	 A stick model of protein 3avl, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 08" is located in the bottom right corner.
<p>3avm</p>	 A ribbon diagram of protein 3avm. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices in cyan and white. A small, dark, multi-colored structure is attached to the right side.	 A stick model of protein 3avm, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 02" is located in the bottom right corner.
<p>3avn</p>	 A ribbon diagram of protein 3avn. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices in cyan and white. A small, dark, multi-colored structure is attached to the right side.	 A stick model of protein 3avn, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 07" is located in the bottom right corner.
<p>3wne</p>	 A ribbon diagram of protein 3wne. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices in cyan and white. A small, dark, multi-colored structure is attached to the right side.	 A stick model of protein 3wne, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 06" is located in the bottom right corner.

3wnf	 A ribbon diagram of the protein structure 3wnf. The protein is shown in a red and cyan color scheme, with a complex of green and grey atoms bound to it.
 A stick model of the protein structure 3wnf, showing the green and grey atoms in detail. The text "Frame 01" is visible in the bottom right corner.	
3wng	 A ribbon diagram of the protein structure 3wng, showing a different conformation of the protein and its bound atoms.
 A stick model of the protein structure 3wng, showing the green and grey atoms in detail. The text "Frame 07" is visible in the bottom right corner.	
3wnh	 A ribbon diagram of the protein structure 3wnh, showing another conformation of the protein and its bound atoms.
 A stick model of the protein structure 3wnh, showing the green and grey atoms in detail. The text "Frame 03" is visible in the bottom right corner.	
4e1m	 A ribbon diagram of the protein structure 4e1m, showing a different conformation of the protein and its bound atoms.
 A stick model of the protein structure 4e1m, showing the green and grey atoms in detail. The text "Frame 02" is visible in the bottom right corner.	

4e1n	 A ribbon diagram of protein 4e1n. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices. A cyan-colored ribbon structure is visible, likely representing a different part of the protein or a bound ligand. The background is black.	 A stick model of protein 4e1n, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 01" is in the bottom right corner.
4id1	 A ribbon diagram of protein 4id1. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices. A cyan-colored ribbon structure is visible, likely representing a different part of the protein or a bound ligand. The background is black.	 A stick model of protein 4id1, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 01" is in the bottom right corner.
4jlh	 A ribbon diagram of protein 4jlh. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices. A cyan-colored ribbon structure is visible, likely representing a different part of the protein or a bound ligand. The background is black.	 A stick model of protein 4jlh, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 02" is in the bottom right corner.
4o0j	 A ribbon diagram of protein 4o0j. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. The main body is colored red, with several loops and helices. A cyan-colored ribbon structure is visible, likely representing a different part of the protein or a bound ligand. The background is black.	 A stick model of protein 4o0j, showing the atomic structure. The atoms are colored by element: carbon in green, oxygen in red, and nitrogen in blue. The structure is complex and multi-domain. The text "Frame 01" is in the bottom right corner.



ผลการคำนวณในรูปแบบที่ 2 พบว่าโครงสร้างสารยับยั้งจากการคำนวณมีตำแหน่งในการเข้าจับที่ใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลอง 4 โครงสร้าง คือ 3avi, 4id1, 4o0j และ 6lmi ส่วนโครงสร้างสารยับยั้งอื่น ๆ มีตำแหน่งการเข้าจับที่แตกต่างออกไป บางโครงสร้างมีตำแหน่งที่เหมือนโครงสร้างจากการทดลอง แต่มีการบิดหมุนของพันธะที่แตกต่างไปจากโครงสร้างจากการทดลอง ในขณะที่บางโครงสร้างจะมีตำแหน่งและโครงสร้างที่แตกต่างไปจากโครงสร้างจากการทดลอง


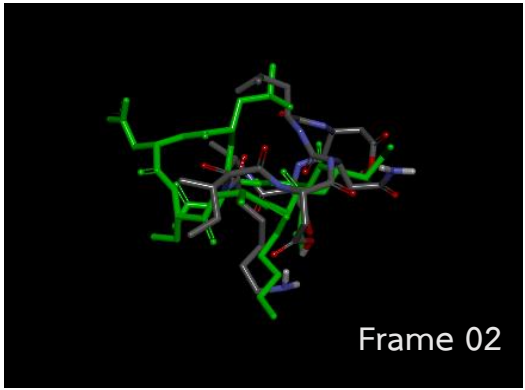
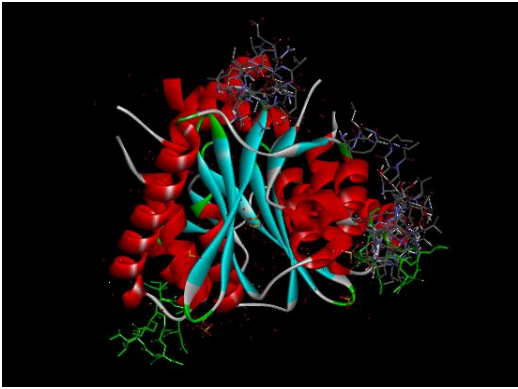
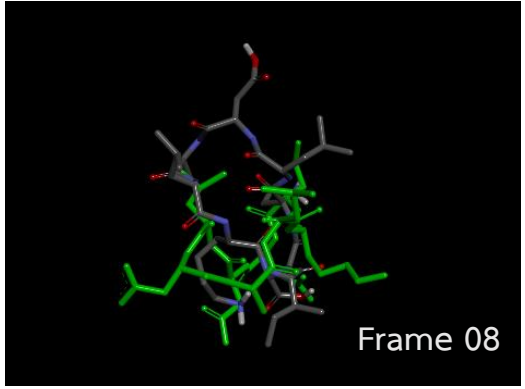

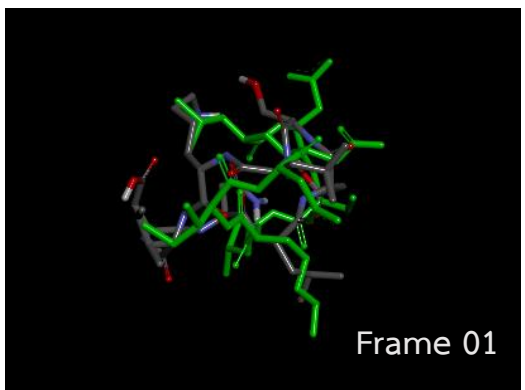
โครงสร้างสารยับยั้งจากการคำนวณในรูปแบบที่ 2 ที่มีความใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองมากที่สุด ส่วนใหญ่จะไม่ใช้โครงสร้างที่มีพลังงานต่ำที่สุด (ไม่ใช่ Frame01) สาเหตุเกิดจากการที่มีการอนุญาตให้มีการปรับโครงสร้างของสารยับยั้งระหว่างการคำนวณการเข้าจับ ทำให้โปรแกรมค้นพบโครงสร้างอื่นที่จับกับเอนไซม์ได้ดียิ่งขึ้น และมีความแตกต่างจากโครงสร้างจากการทดลอง เพราะการเข้าจับในธรรมชาติมีปัจจัยที่ควบคุมหลายอย่าง เช่น สภาพแวดล้อมในบริเวณการเข้าจับ โมเลกุลของน้ำ แต่ในการคำนวณการเข้าจับไม่สามารถรวมปัจจัยเหล่านี้เข้ามาได้ จึงทำให้โครงสร้างที่มีพลังงานต่ำสุดอาจจะสอดคล้องกับโครงสร้างทางการทดลอง

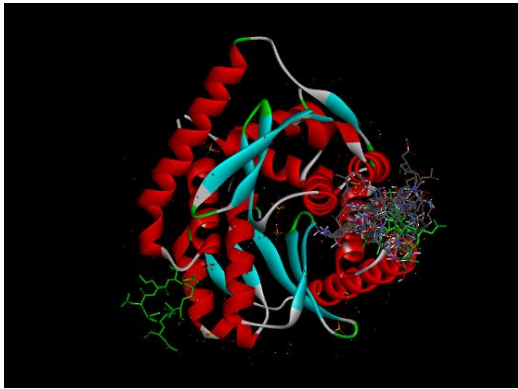
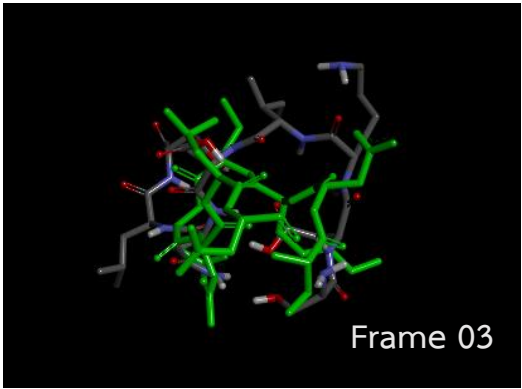
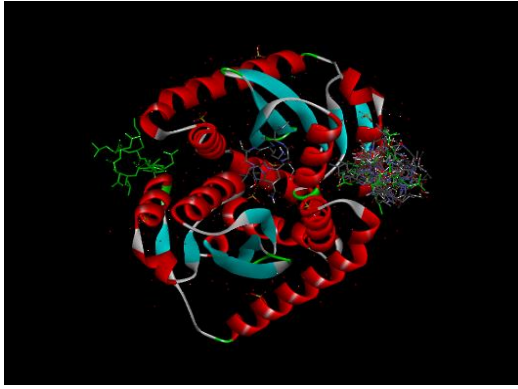
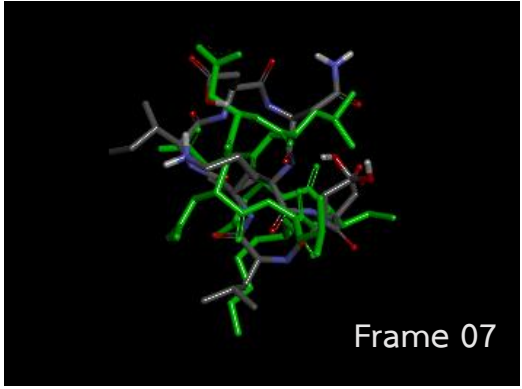

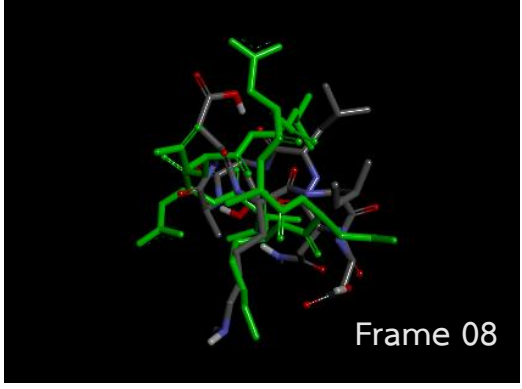

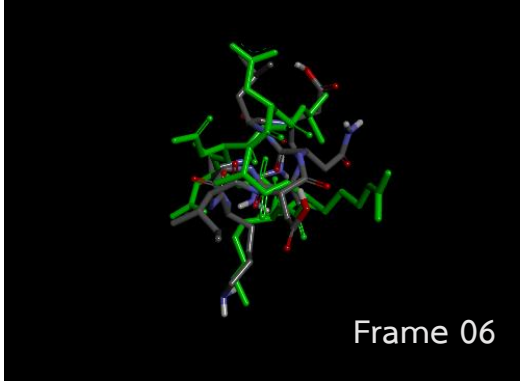
### 3.3 ผลการคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 3

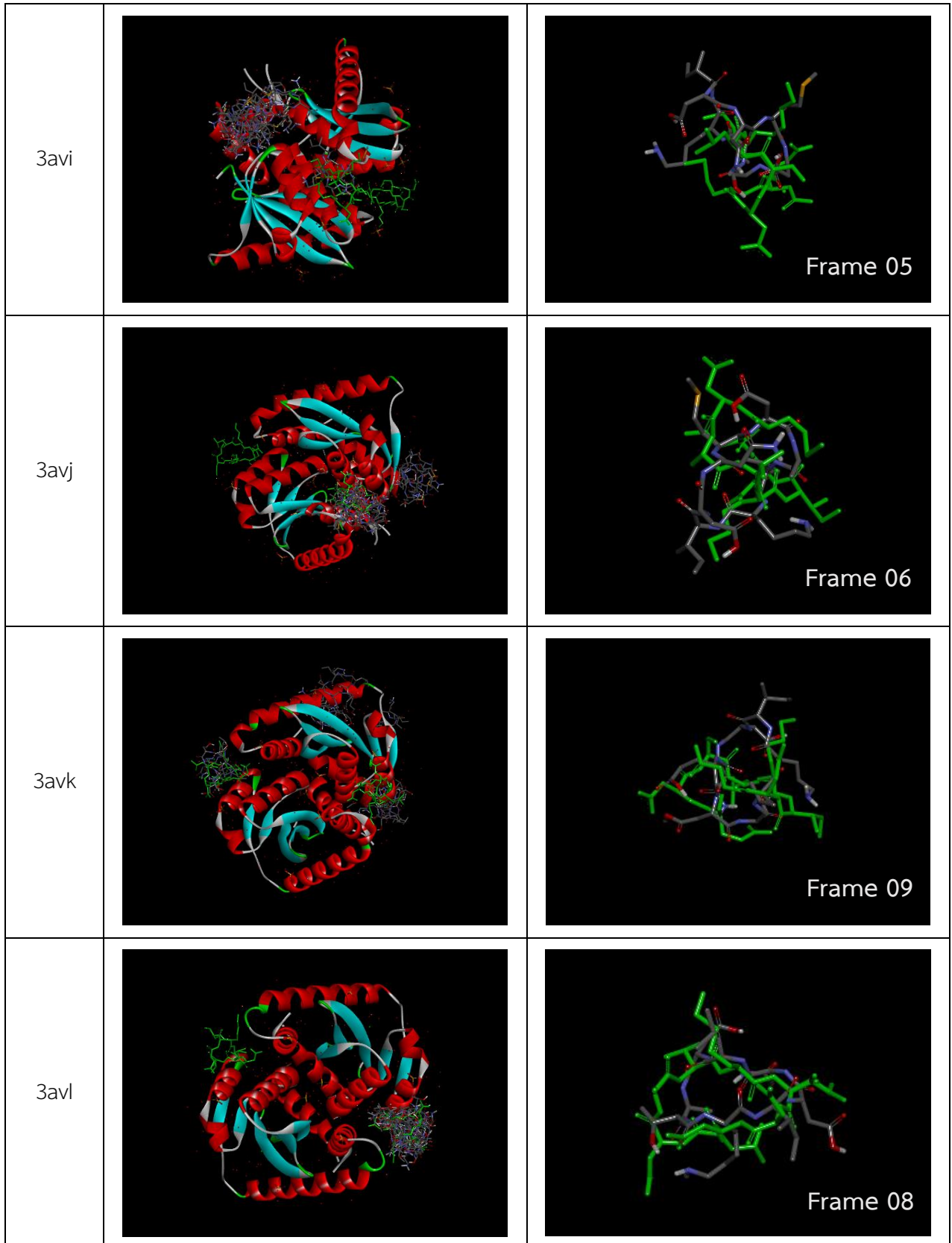
การคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 3 เป็นการคำนวณด้วยโปรแกรม AutoDock Vina โดยใช้โครงสร้างสารยับยั้งจากการคำนวณปรับโครงสร้าง และโครงสร้างสารยับยั้งจะมีการเปลี่ยนโครงสร้างระหว่างการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล โครงสร้างสารยับยั้งจากการคำนวณปรับโครงสร้างอาจจะมีความยาวพันธะ มุมระหว่าง

พันธะ ที่แตกต่างจากโครงสร้างจากการทดลอง ดังนั้นจึงเป็นการทดสอบประสิทธิภาพของโปรแกรมการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลที่สอดคล้องกับความเป็นจริงได้เป็นอย่างดี เพราะส่วนใหญ่ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล โครงสร้างของสารที่นำมาศึกษาจะไม่มีโครงสร้างสามมิติจากการทดลอง ดังนั้นนักวิจัยจึงต้องทำการสร้างโครงสร้างสามมิติและคำนวณปรับโครงสร้าง แล้วจึงนำมาใช้ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล ในการพิจารณาประสิทธิภาพของการคำนวณในรูปแบบนี้ จะทำการเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณกับโครงสร้างการเข้าจับจากการทดลอง (x-ray) ผลการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 3.3


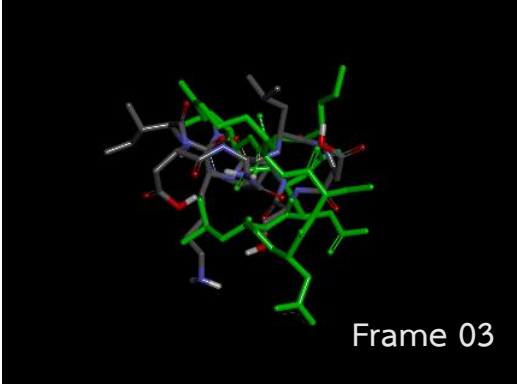

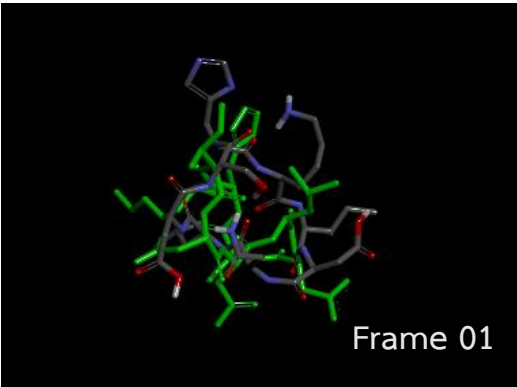
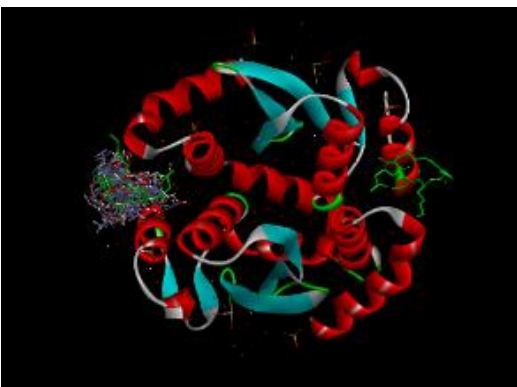
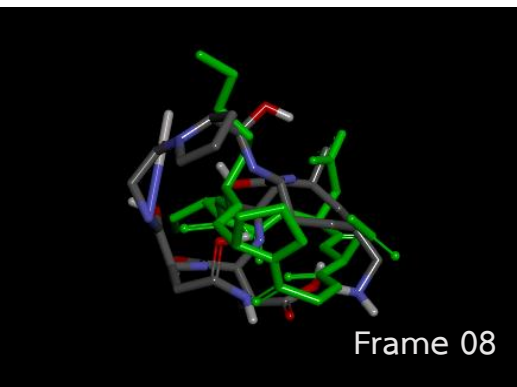

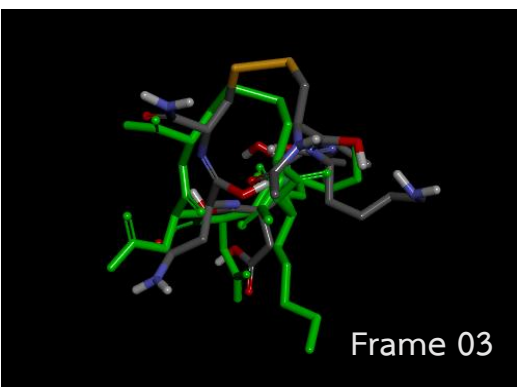
ตารางที่ 3.3 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 3 กับโครงสร้างจากการทดลอง

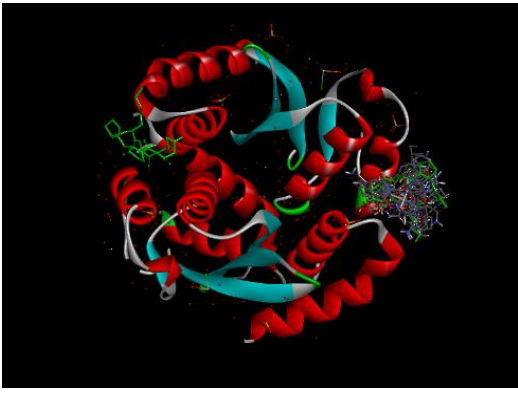
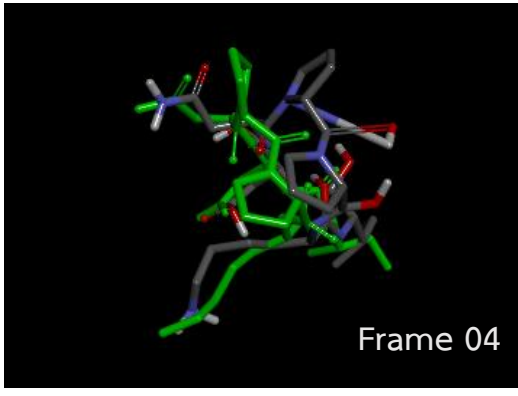

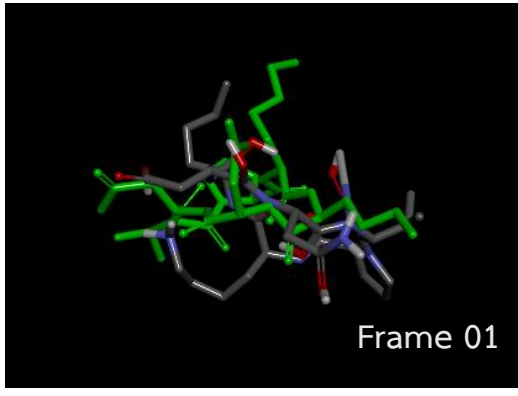
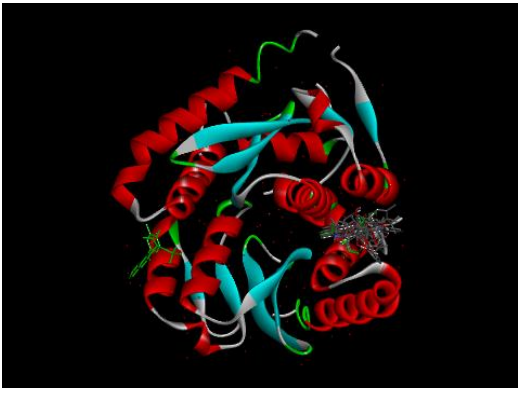
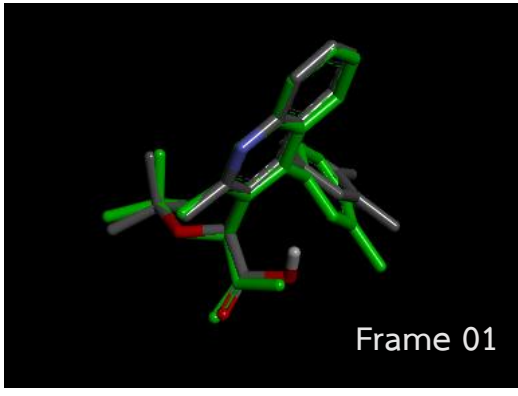

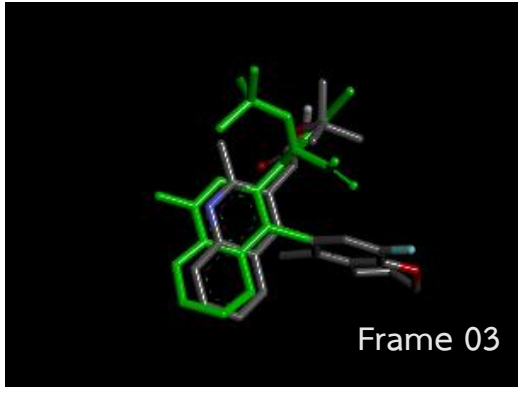
PDB code	โครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณเทียบกับโครงสร้างจากการทดลอง	โครงสร้างการเข้าจับจากการคำนวณที่ใกล้เคียงกับการทดลอง (สีเขียว) มากที่สุด
3av9		
3ava		
3avb		


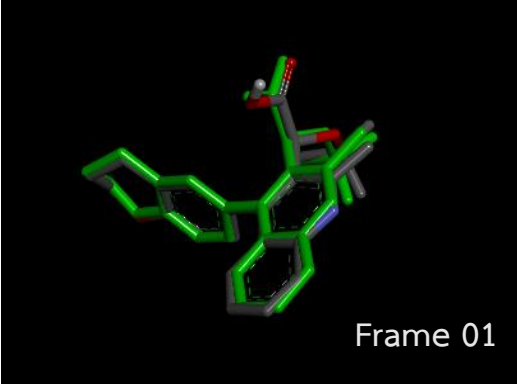

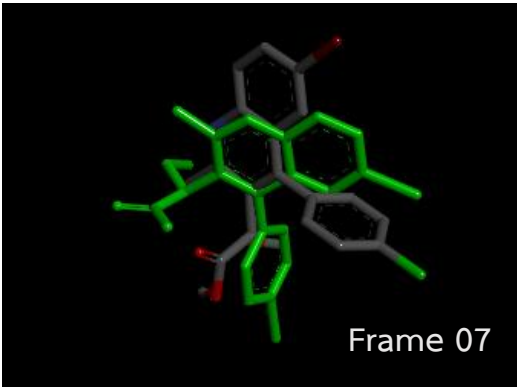

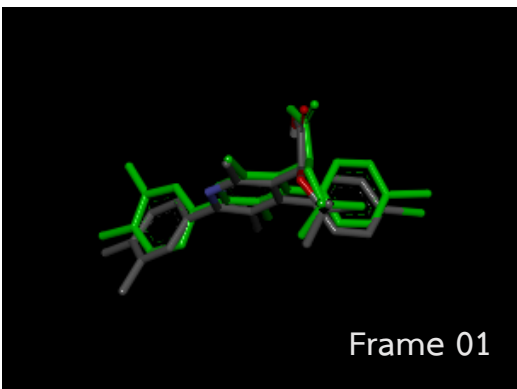

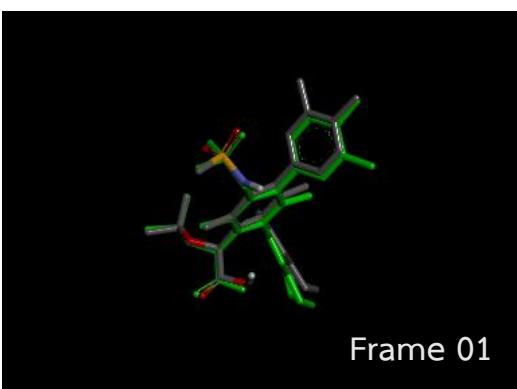
<p>3avc</p>	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a smaller green structure attached to the right side.	 A stick model of the protein structure, colored in green and cyan, with a smaller green structure attached to the right side. The text "Frame 03" is located in the bottom right corner.
<p>3avf</p>	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a smaller green structure attached to the right side.	 A stick model of the protein structure, colored in green and cyan, with a smaller green structure attached to the right side. The text "Frame 07" is located in the bottom right corner.
<p>3avg</p>	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a smaller green structure attached to the right side.	 A stick model of the protein structure, colored in green and cyan, with a smaller green structure attached to the right side. The text "Frame 08" is located in the bottom right corner.
<p>3avh</p>	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a smaller green structure attached to the right side.	 A stick model of the protein structure, colored in green and cyan, with a smaller green structure attached to the right side. The text "Frame 06" is located in the bottom right corner.

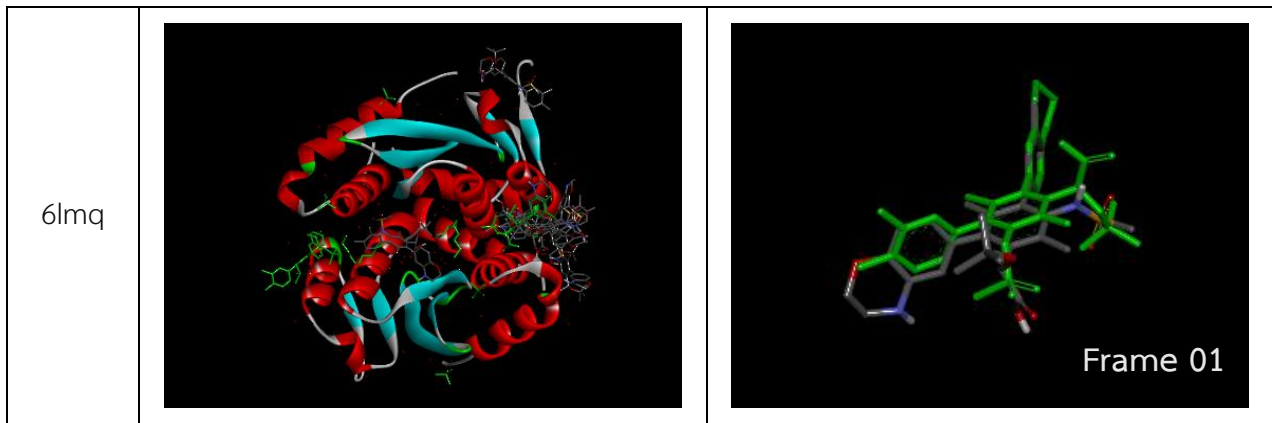




3avm	 A ribbon diagram of protein 3avm. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface overlaid. The structure is compact and globular.	 A stick model of protein 3avm. The atoms are colored by element: carbon in green, nitrogen in blue, and oxygen in red. The structure is shown in a similar orientation to the ribbon model. The text "Frame 03" is located in the bottom right corner.
3avn	 A ribbon diagram of protein 3avn. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface overlaid. The structure is compact and globular.	 A stick model of protein 3avn. The atoms are colored by element: carbon in green, nitrogen in blue, and oxygen in red. The structure is shown in a similar orientation to the ribbon model. The text "Frame 01" is located in the bottom right corner.
3wne	 A ribbon diagram of protein 3wne. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface overlaid. The structure is compact and globular.	 A stick model of protein 3wne. The atoms are colored by element: carbon in green, nitrogen in blue, and oxygen in red. The structure is shown in a similar orientation to the ribbon model. The text "Frame 08" is located in the bottom right corner.
3wnf	 A ribbon diagram of protein 3wnf. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface overlaid. The structure is compact and globular.	 A stick model of protein 3wnf. The atoms are colored by element: carbon in green, nitrogen in blue, and oxygen in red. The structure is shown in a similar orientation to the ribbon model. The text "Frame 03" is located in the bottom right corner.

3wng	 A ribbon diagram of protein 3wng. The protein is shown in a compact, globular structure. The main body is colored red, with several loops and helices colored cyan. A small, complex molecule is bound to the protein, shown in a stick representation with various atoms colored (green, blue, red, grey).
 A stick model of protein 3wng, showing the protein backbone and side chains in green and grey. The bound molecule is shown in a stick representation with various atoms colored (green, blue, red, grey). <p data-bbox="1252 504 1396 537">Frame 04</p>	
3wnh	 A ribbon diagram of protein 3wnh. The protein is shown in a compact, globular structure. The main body is colored red, with several loops and helices colored cyan. A small, complex molecule is bound to the protein, shown in a stick representation with various atoms colored (green, blue, red, grey).
 A stick model of protein 3wnh, showing the protein backbone and side chains in green and grey. The bound molecule is shown in a stick representation with various atoms colored (green, blue, red, grey). <p data-bbox="1252 918 1396 952">Frame 01</p>	
4e1m	 A ribbon diagram of protein 4e1m. The protein is shown in a compact, globular structure. The main body is colored red, with several loops and helices colored cyan. A small, complex molecule is bound to the protein, shown in a stick representation with various atoms colored (green, blue, red, grey).
 A stick model of protein 4e1m, showing the protein backbone and side chains in green and grey. The bound molecule is shown in a stick representation with various atoms colored (green, blue, red, grey). <p data-bbox="1252 1332 1396 1366">Frame 01</p>	
4e1n	 A ribbon diagram of protein 4e1n. The protein is shown in a compact, globular structure. The main body is colored red, with several loops and helices colored cyan. A small, complex molecule is bound to the protein, shown in a stick representation with various atoms colored (green, blue, red, grey).
 A stick model of protein 4e1n, showing the protein backbone and side chains in green and grey. The bound molecule is shown in a stick representation with various atoms colored (green, blue, red, grey). <p data-bbox="1252 1747 1396 1780">Frame 03</p>	





4id1	 A ribbon diagram of protein 4id1. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface representing the electron density map. A ligand molecule is visible in the binding pocket, shown in green and grey.	 A stick model of the ligand molecule for protein 4id1, shown in green and grey. The text "Frame 01" is located in the bottom right corner.
4j1h	 A ribbon diagram of protein 4j1h. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface representing the electron density map. A ligand molecule is visible in the binding pocket, shown in green and grey.	 A stick model of the ligand molecule for protein 4j1h, shown in green and grey. The text "Frame 07" is located in the bottom right corner.
4o0j	 A ribbon diagram of protein 4o0j. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface representing the electron density map. A ligand molecule is visible in the binding pocket, shown in green and grey.	 A stick model of the ligand molecule for protein 4o0j, shown in green and grey. The text "Frame 01" is located in the bottom right corner.
6lmi	 A ribbon diagram of protein 6lmi. The protein backbone is shown in red and cyan, with a grey mesh surface representing the electron density map. A ligand molecule is visible in the binding pocket, shown in green and grey.	 A stick model of the ligand molecule for protein 6lmi, shown in green and grey. The text "Frame 01" is located in the bottom right corner.



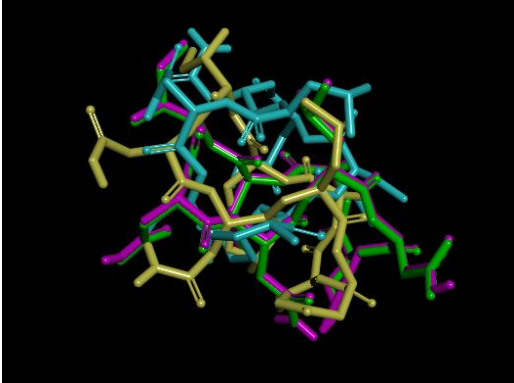
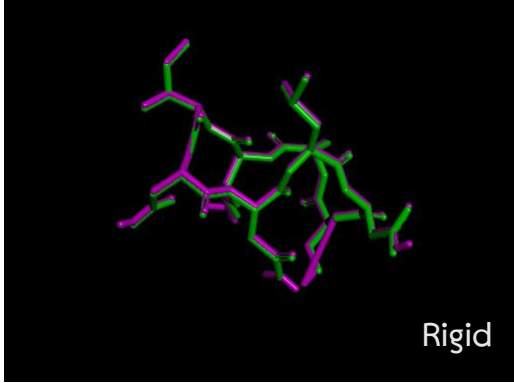
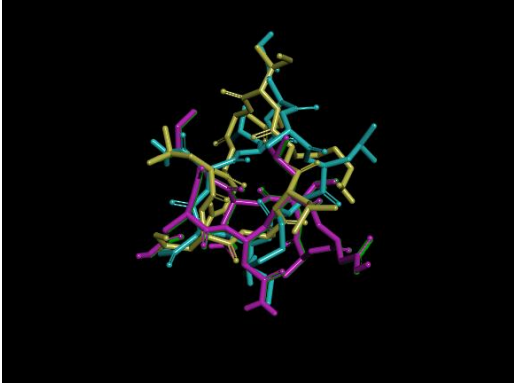
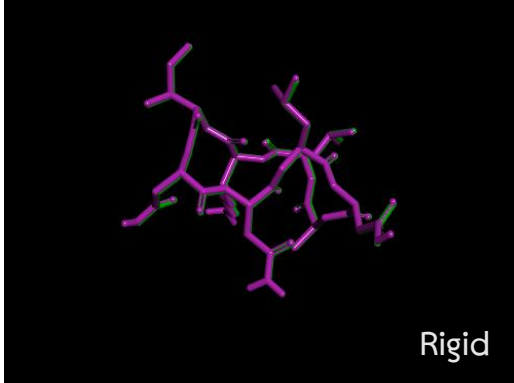
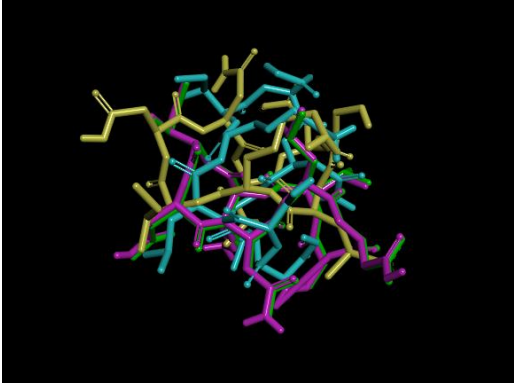
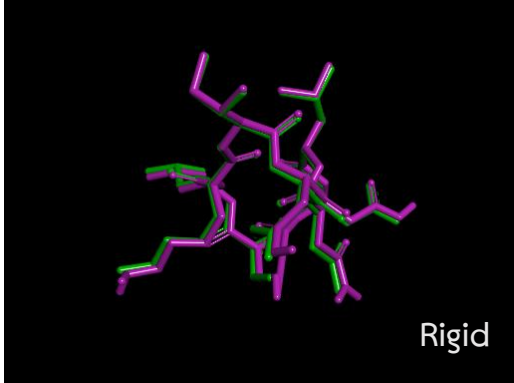
ผลการคำนวณในรูปแบบที่ 3 พบว่าตำแหน่งในการเข้าจับของสารยับยั้งมีการกระจายตัวเป็นอย่างมาก มีโครงสร้างที่เข้าจับกับอินทีเกรสที่มีตำแหน่งและการหมุนใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองอยู่เพียง 3 ตัว คือ 4e1m, 4id1 และ 6lmi ส่วนโครงสร้างอื่น ๆ มีการปรับโครงสร้างและตำแหน่งในการเข้าจับ ทำให้เห็นความแตกต่างของโครงสร้างที่เปลี่ยนไปได้อย่างชัดเจน ส่วนโครงสร้างที่เข้าจับตำแหน่งใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองส่วนใหญ่ก็จะไม่ใช่โครงสร้างที่พลังงานต่ำที่สุดเพราะส่วนใหญ่จะเป็นโครงสร้างที่ไม่ใช่ Frame01 เช่นเดียวกับการคำนวณในรูปแบบที่ 2

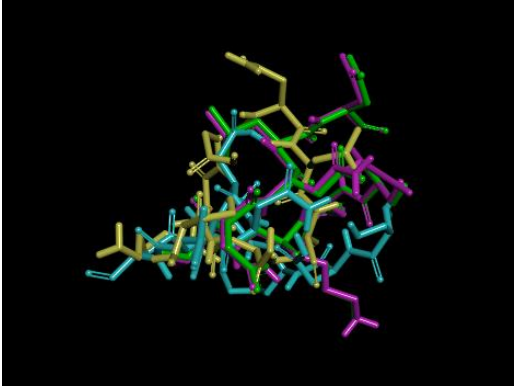
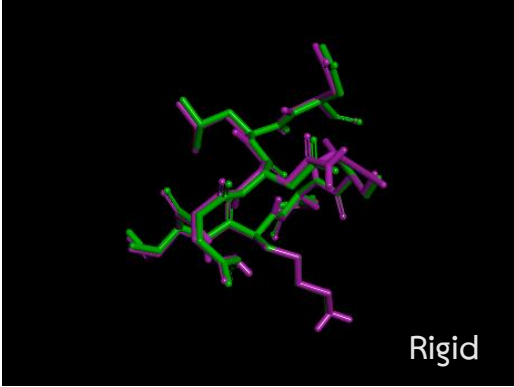
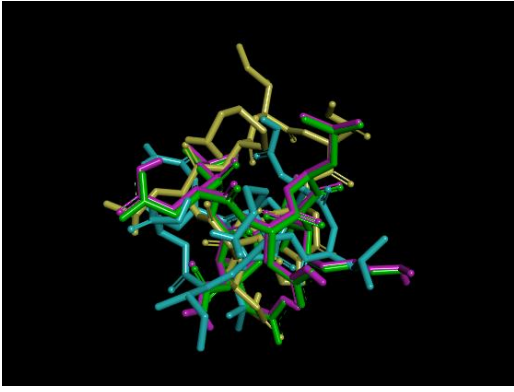
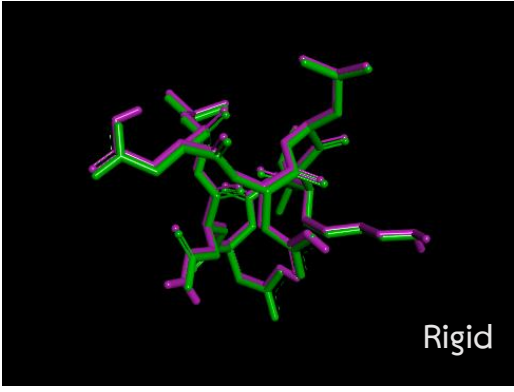
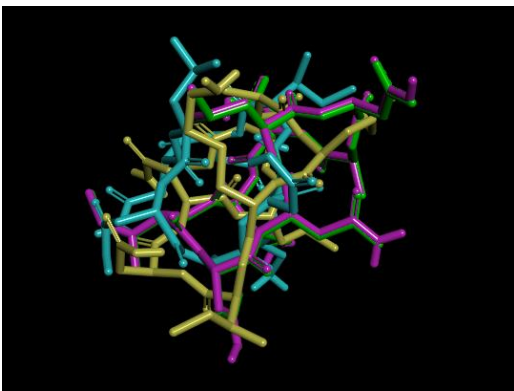
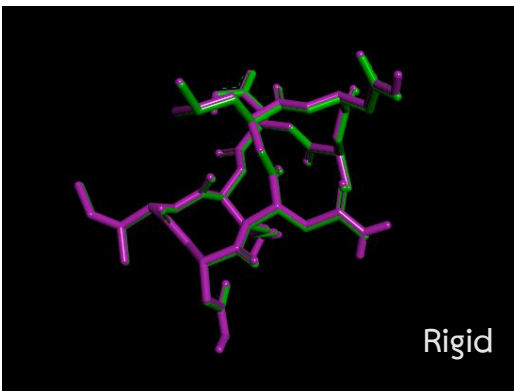

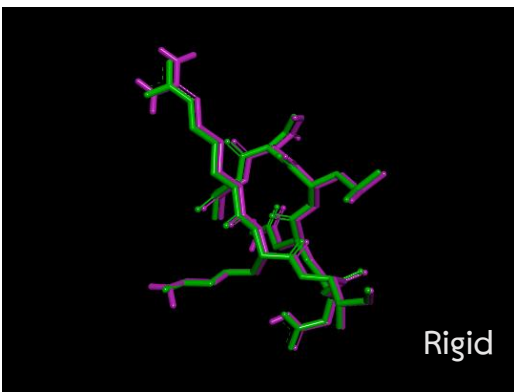
### 3.4 การเปรียบเทียบผลการคำนวณการเข้าจับจากโปรแกรม AutoDock Vina

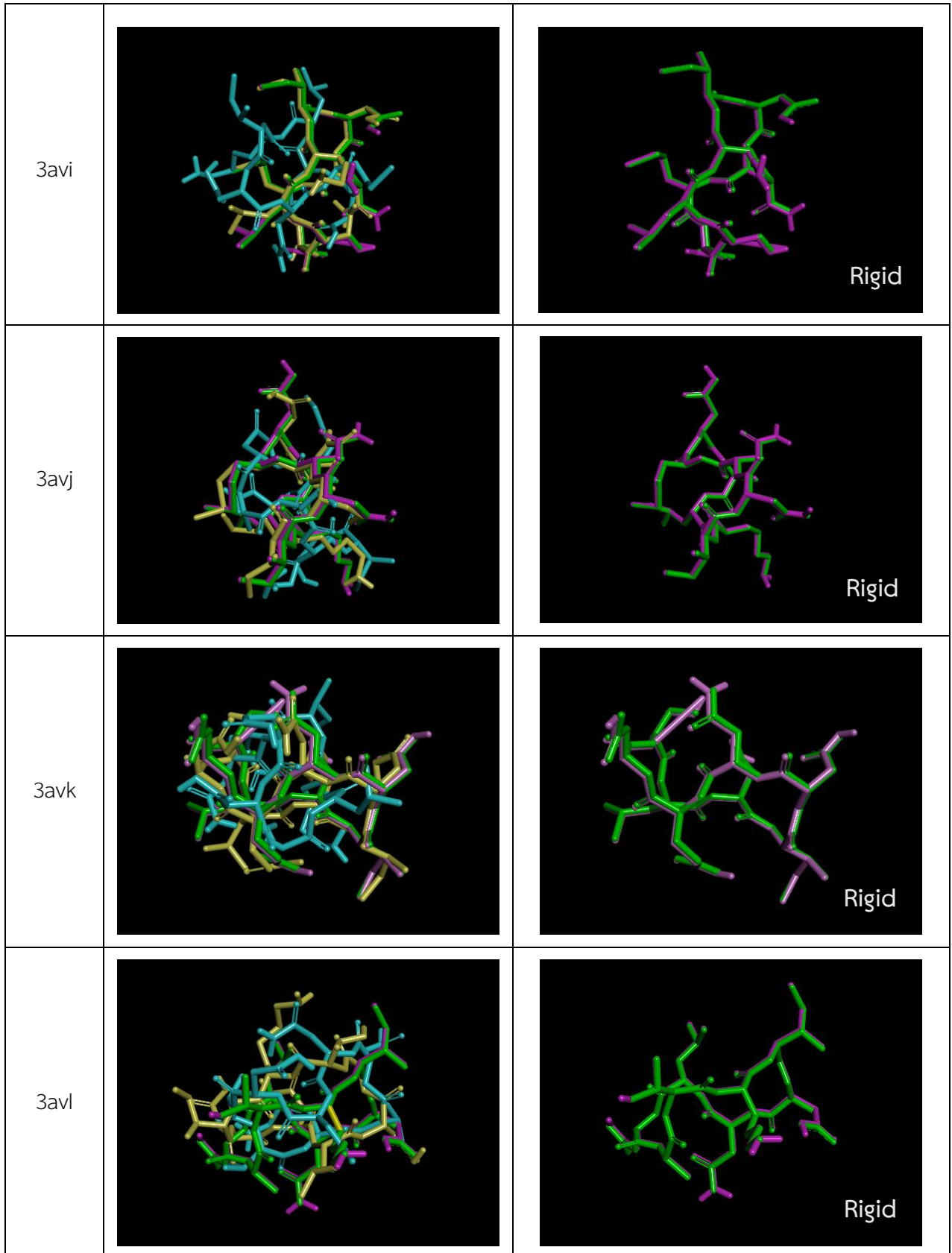
นำโครงสร้างการเข้าจับจากรูปแบบที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งคำนวณด้วยโปรแกรม AutoDock Vina มาทำการเปรียบเทียบ เพื่อหาว่ารูปแบบใดให้ผลการคำนวณโครงสร้างการเข้าจับได้ใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองมากที่สุด ผลการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 3.4

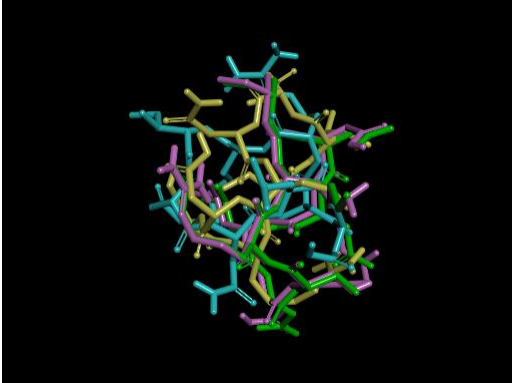
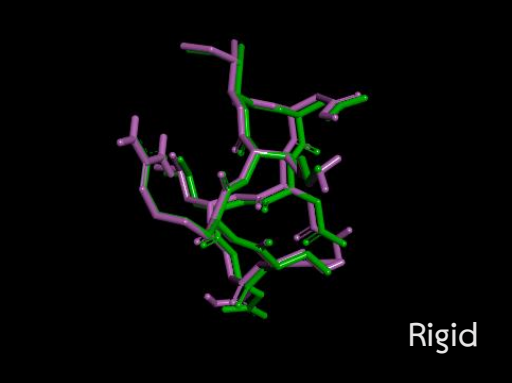
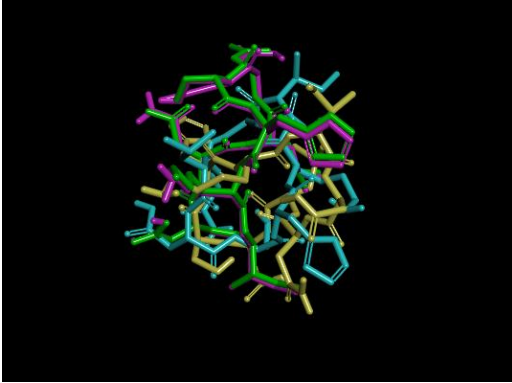
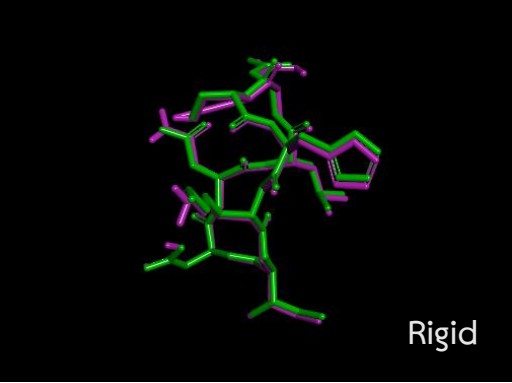
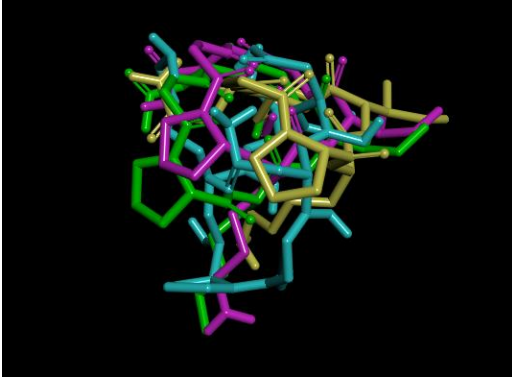
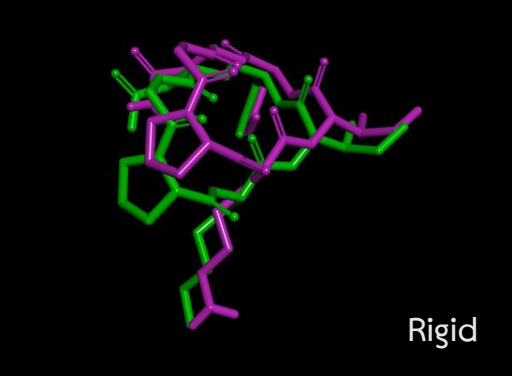
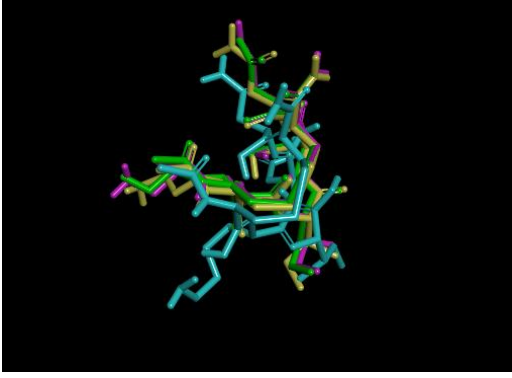
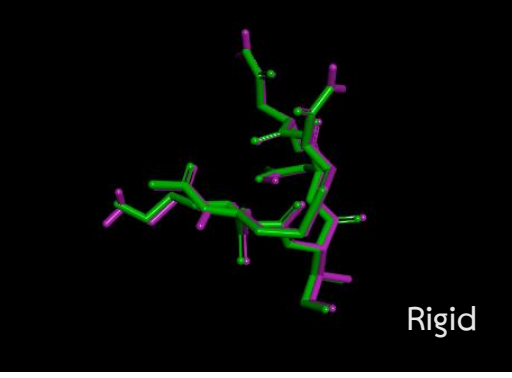
-  โครงสร้างสารยับยั้งจากการทดลอง
-  โครงสร้างสารยับยั้งจากการคำนวณในรูปแบบที่ 1
-  โครงสร้างสารยับยั้งจากการคำนวณในรูปแบบที่ 2
-  โครงสร้างสารยับยั้งจากการคำนวณในรูปแบบที่ 3

ตารางที่ 3.4 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณทั้ง 3 รูปแบบกับโครงสร้างจากการทดลอง

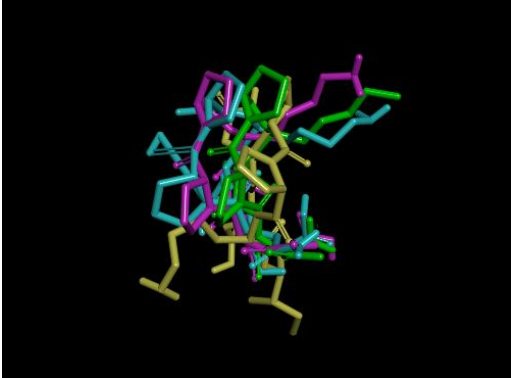
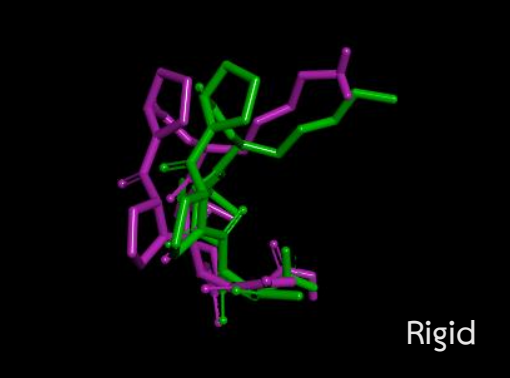
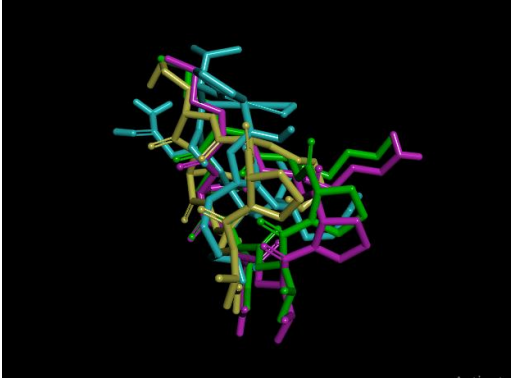
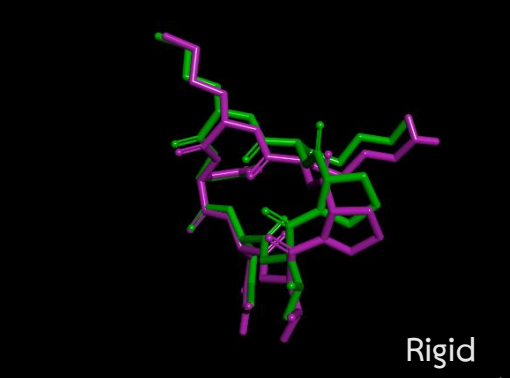
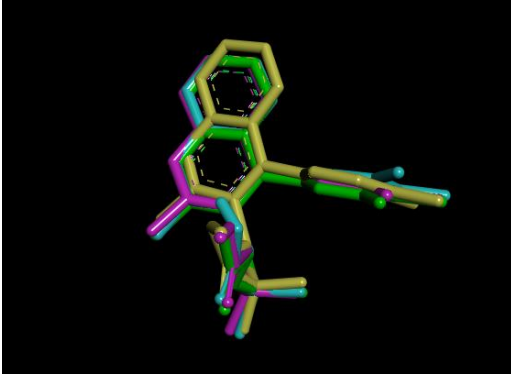
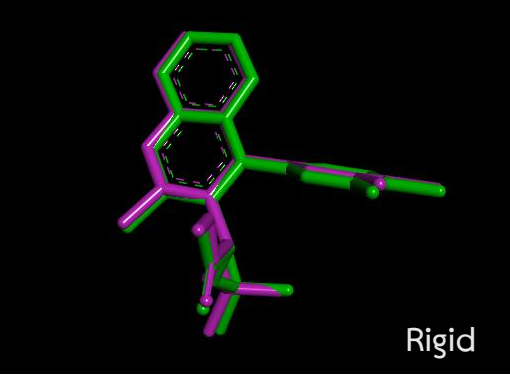
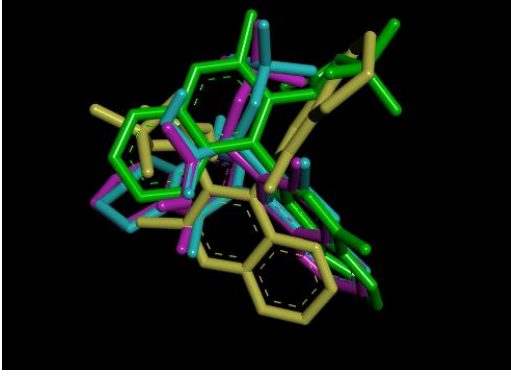
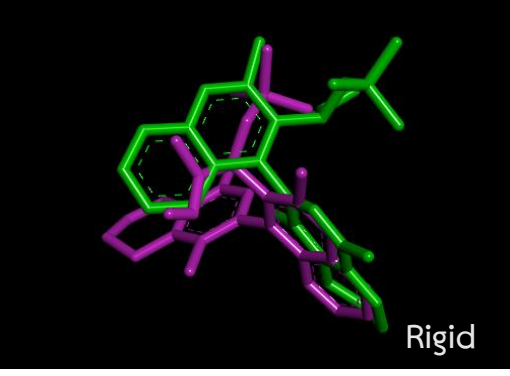
PDB Code	โครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณทั้ง 3 รูปแบบเทียบกับโครงสร้างจากการทดลอง	โครงสร้างการเข้าจับจากการคำนวณที่ใกล้เคียงกับการทดลองมากที่สุด
3av9		 <p>Rigid</p>
3ava		 <p>Rigid</p>
3avb		 <p>Rigid</p>

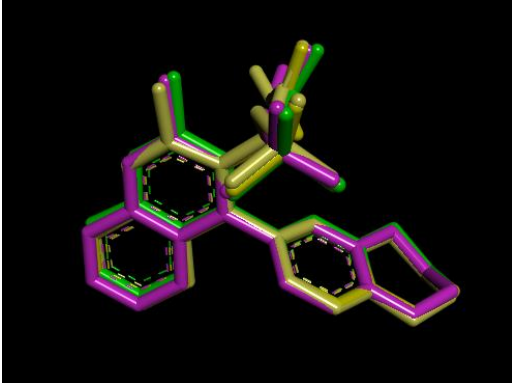
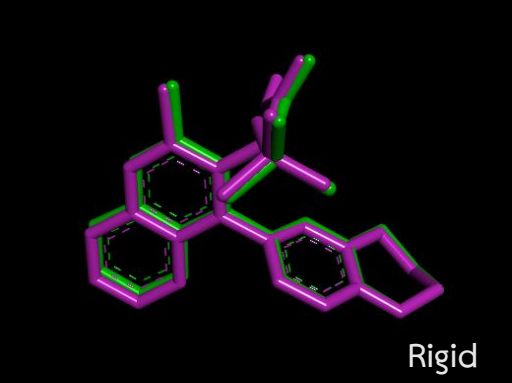
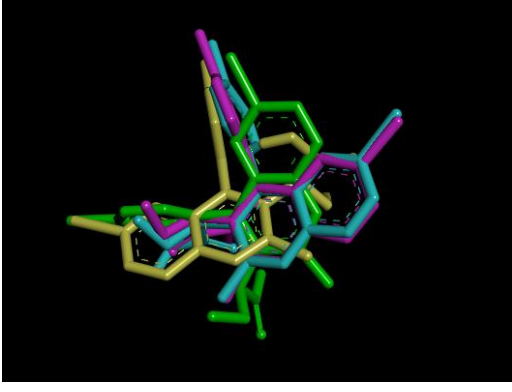
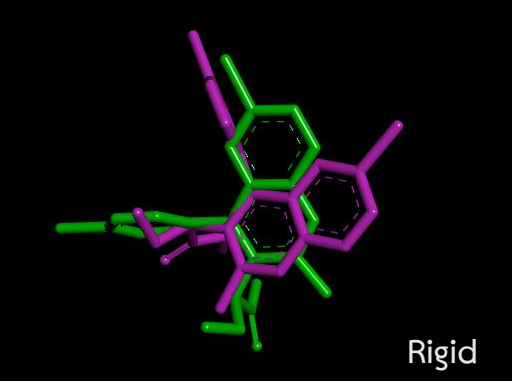
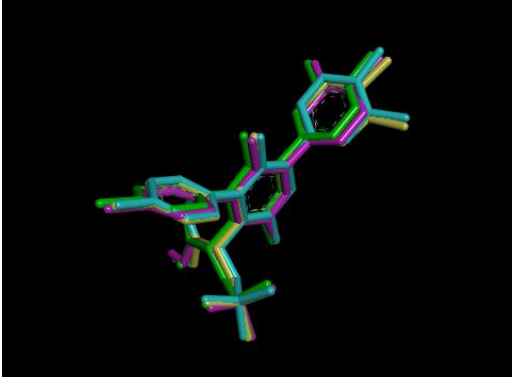
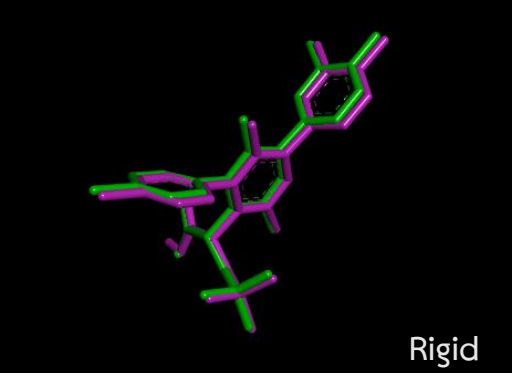
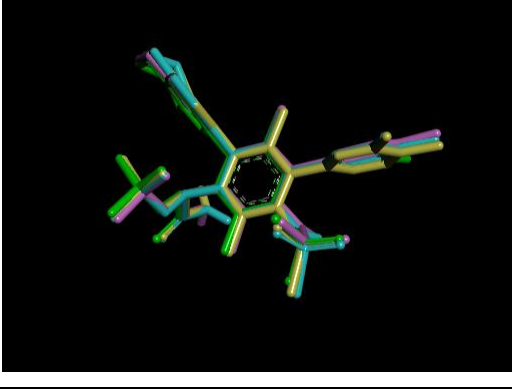
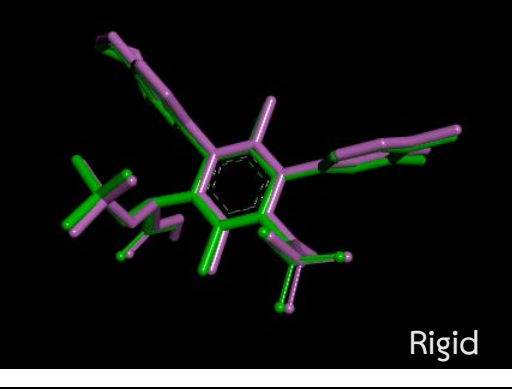
3avc		 <p>Rigid</p>
3avf		 <p>Rigid</p>
3avg		 <p>Rigid</p>
3avh		 <p>Rigid</p>

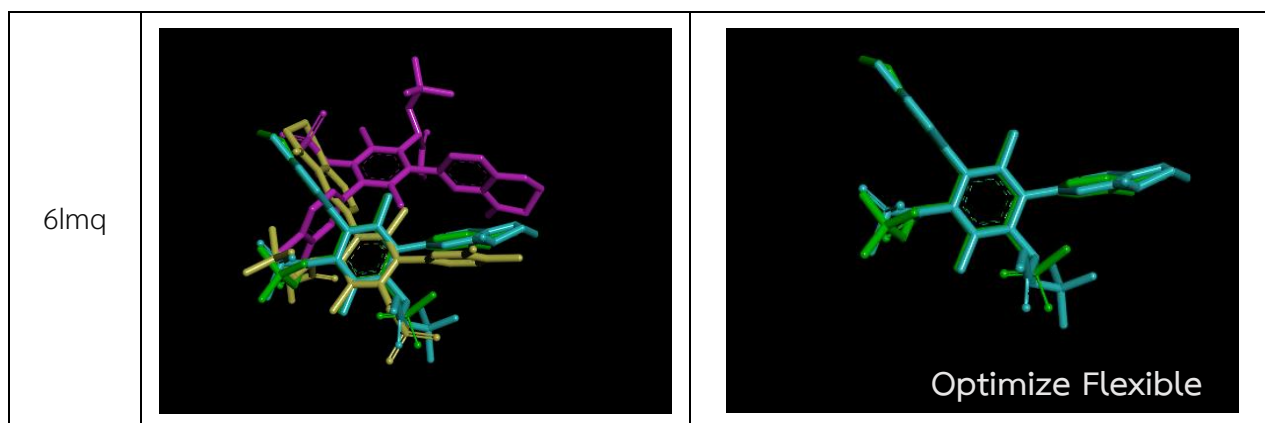


3avm		 <p>Rigid</p>
3avn		 <p>Rigid</p>
3wne		 <p>Rigid</p>
3wnf		 <p>Rigid</p>



3wng		 <p>Rigid</p>
3wnh		 <p>Rigid</p>
4e1m		 <p>Rigid</p>
4e1n		 <p>Rigid</p>

4id1		 <p>Rigid</p>
4jlh		 <p>Rigid</p>
4o0j		 <p>Rigid</p>
6lmi		 <p>Rigid</p>



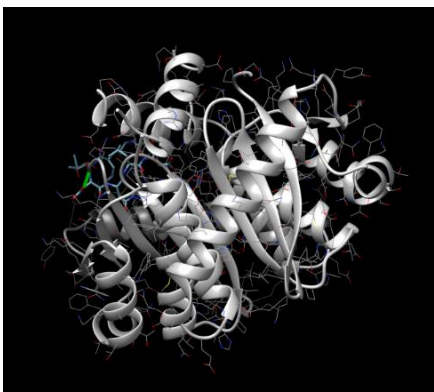
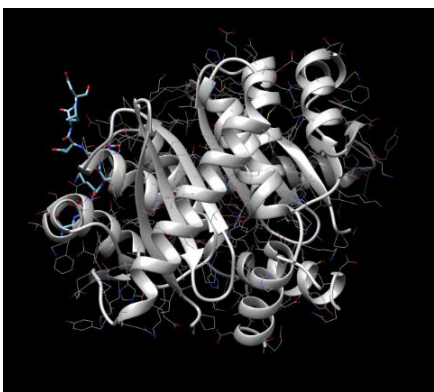
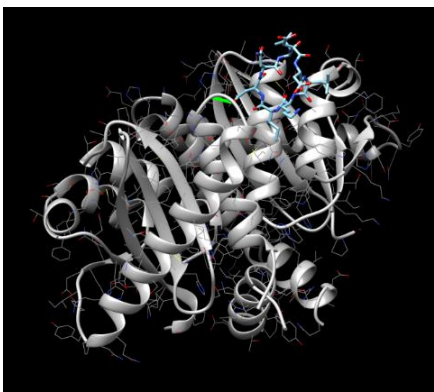
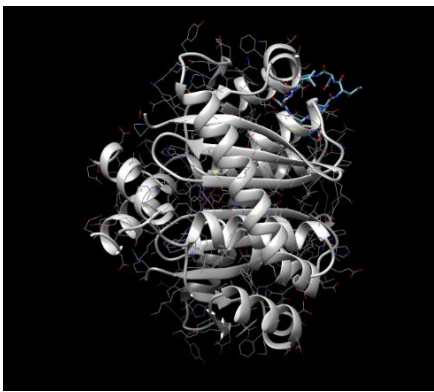
ผลการเปรียบเทียบของโครงสร้างสารทั้งหมด 24 ตัว พบว่าโครงสร้างที่มีความใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองมากที่สุด เป็นโครงสร้างที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 1 (rigid docking) ถึง 23 ตัว และเป็นโครงสร้างที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 3 จำนวน 1 ตัว นั่นคือการคำนวณการเข้าจับแบบ rigid โดยเริ่มจากโครงสร้างจากการทดลอง เป็นการคำนวณที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุด ซึ่งก็เป็นผลที่คาดเดาได้ เพราะการคำนวณการเข้าจับแบบ rigid มีความซับซ้อนน้อยที่สุด คือ มีแค่การหาตำแหน่งและทิศทางในการเข้าจับเท่านั้น ไม่ได้มีการบิดหรือหมุนของพันธะต่าง ๆ ทำให้มีโอกาสสูงที่จะพบการเข้าจับในตำแหน่งเดิม อีกทั้งโครงสร้างสารยับยั้งแบบ rigid ไม่ได้มีการปรับเปลี่ยนโครงสร้างทำให้ลักษณะโครงสร้างจึงเหมือนเดิมกับโครงสร้างจากการทดลอง

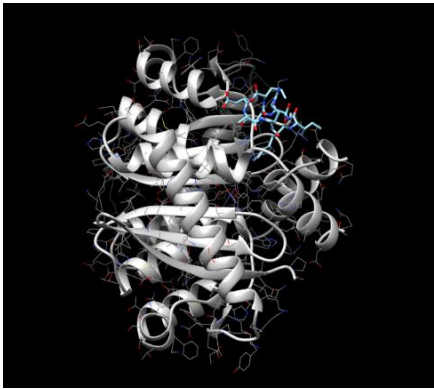
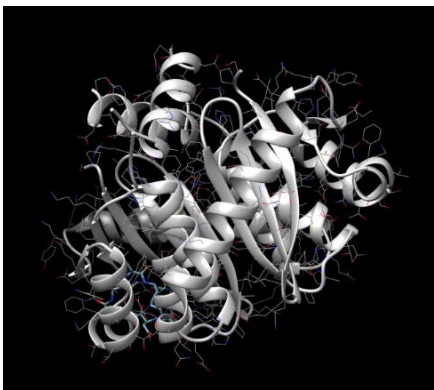
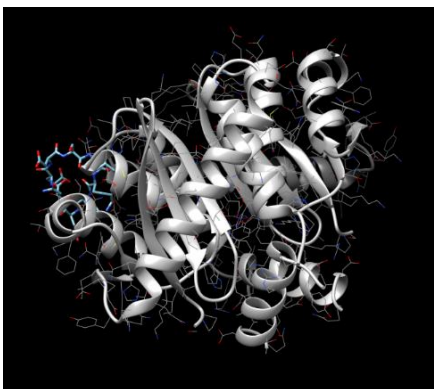
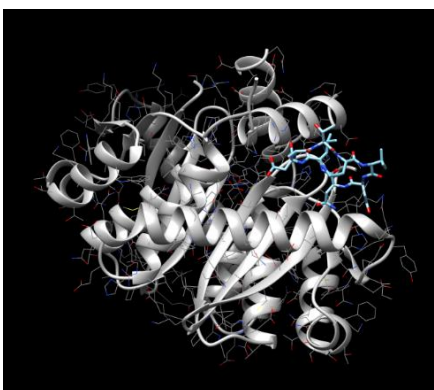
ส่วนโครงสร้างจากการคำนวณแบบ flexible มีการกำหนดให้พันธะในโมเลกุลสามารถหมุนได้อย่างอิสระ ทำให้การเข้าจับมีรูปแบบที่หลากหลายลักษณะมากขึ้น ตำแหน่งที่โมเลกุลจะเข้าไปจับก็มีเพิ่มขึ้น โอกาสของโครงสร้างจากการคำนวณจะใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองก็น้อยลง ส่วนการคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 3 โครงสร้างสารยับยั้งมีการคำนวณปรับโครงสร้างทำให้มีความยาวพันธะ มุมระหว่างพันธะที่แตกต่างจากโครงสร้างจากการทดลอง และมีการกำหนดให้พันธะในโมเลกุลสามารถหมุนได้อีก จึงทำให้โอกาสที่จะพบโครงสร้างการเข้าจับที่เหมือนโครงสร้างจากการทดลองมีน้อยลง

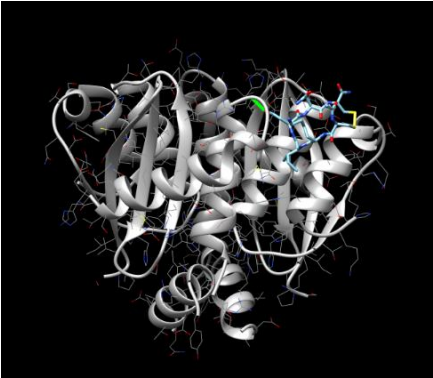
### 3.5 ผลการคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 4

การคำนวณการเข้าจับในรูปแบบที่ 4 เป็นการคำนวณด้วยโปรแกรม SwissDock โดยใช้โครงสร้างสารยับยั้งจากการทดลอง และโครงสร้างสารยับยั้งจะมีการเปลี่ยนโครงสร้างระหว่างกระบวนการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล เนื่องด้วยข้อจำกัดเรื่องการปิดสถานที่และเงื่อนไขเวลา ทำให้คำนวณโครงสร้างได้เพียง 9 โครงสร้าง และยังไม่สามารถเปรียบเทียบโครงสร้างจากการคำนวณกับโครงสร้างจากการทดลองได้เสร็จสิ้น ผลการคำนวณแสดงในตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 ผลการคำนวณการเข้าจับด้วย SwissDock

PDB code	structure	lowest full fitness (kcal/mol)	lowest $\Delta G$ (kcal/mol)
3av9		-1716.00	-9.84
3avc		-1905.87	-9.34
3avf		-1856.54	-9.59
3avg		-1882.17	-8.61

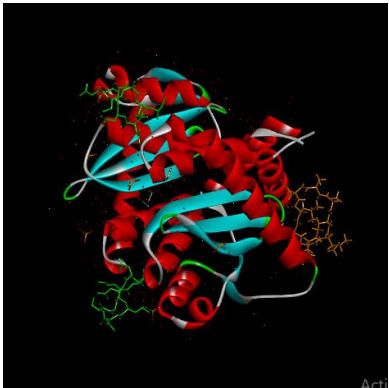
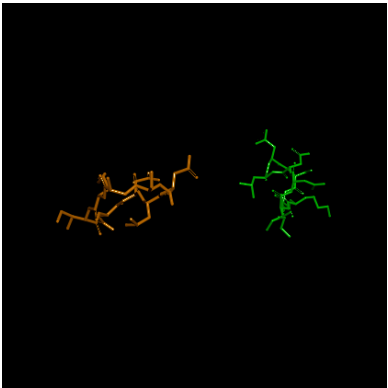
3avh	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, labeled 3avh. The protein is shown in a light gray color, with a complex, multi-domain structure. A small molecule, possibly a ligand, is bound to the protein, shown in a stick representation with red, blue, and white atoms. The background is black.	-1976.54	-8.99
3avi	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, labeled 3avi. The protein is shown in a light gray color, with a complex, multi-domain structure. A small molecule, possibly a ligand, is bound to the protein, shown in a stick representation with red, blue, and white atoms. The background is black.	-1851.67	-7.75
3avk	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, labeled 3avk. The protein is shown in a light gray color, with a complex, multi-domain structure. A small molecule, possibly a ligand, is bound to the protein, shown in a stick representation with red, blue, and white atoms. The background is black.	-1818.68	-7.09
3avl	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, labeled 3avl. The protein is shown in a light gray color, with a complex, multi-domain structure. A small molecule, possibly a ligand, is bound to the protein, shown in a stick representation with red, blue, and white atoms. The background is black.	-1796.90	-10.39


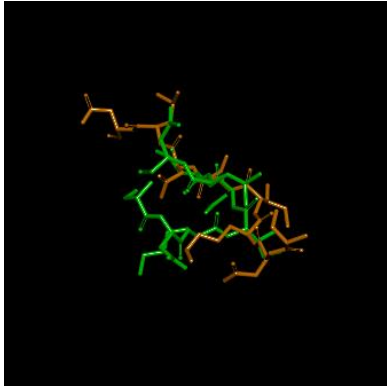
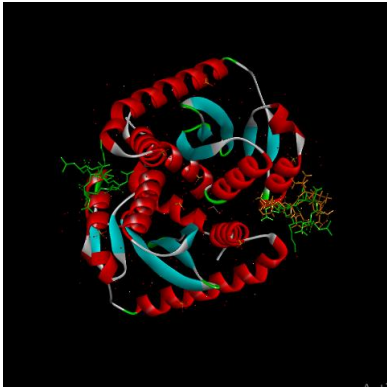
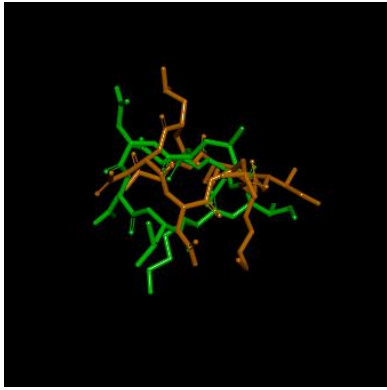
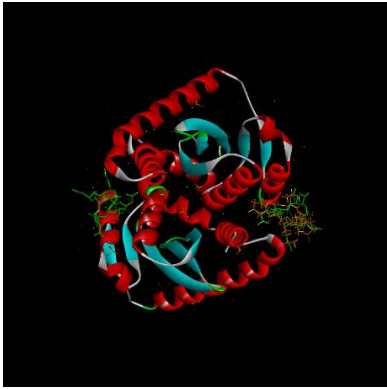
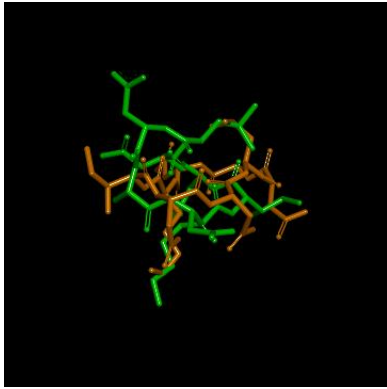

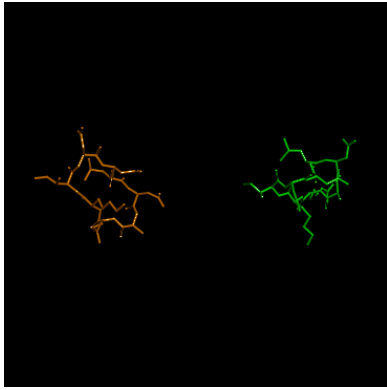
3wnf		-2097.91	-10.01
------	---	----------	--------

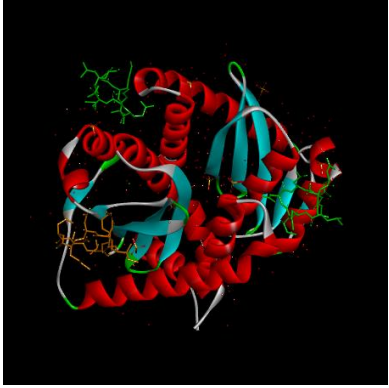
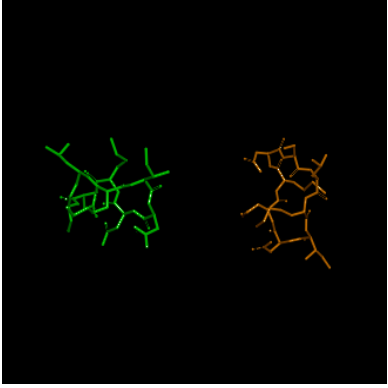
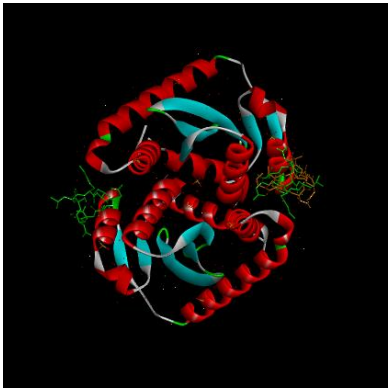
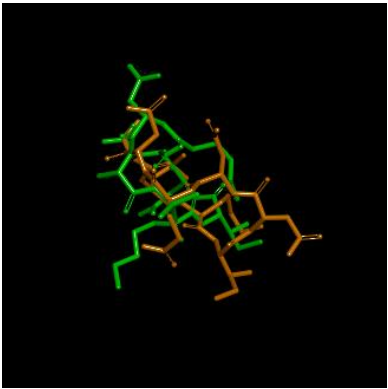
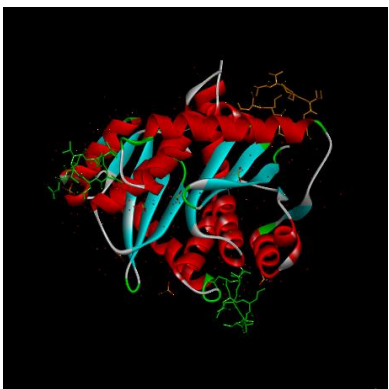
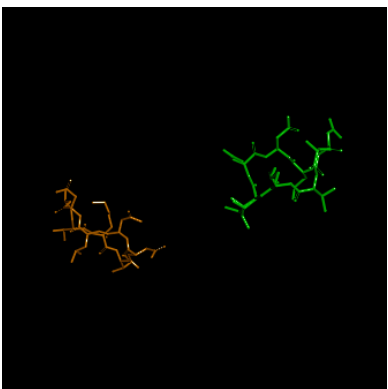
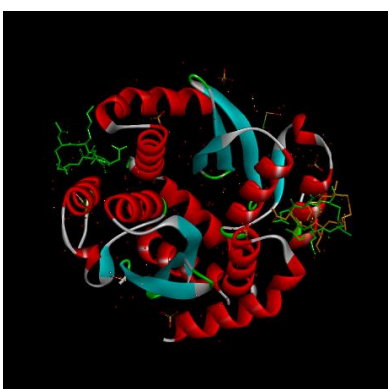
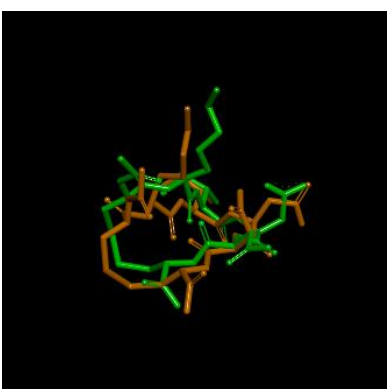
### 3.6 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 4 กับโครงสร้างจากการทดลอง

ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลในรูปแบบที่ 4 ด้วยโปรแกรม SwissDock โดยใช้โครงสร้างสารยับยั้งจากการทดลอง และโครงสร้างสารยับยั้งจะมีการเปลี่ยนโครงรูป (conformation) ระหว่างการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล โดยที่ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการคำนวณจะถูกกำหนดโดยอัตโนมัติด้วยโปรแกรม ทำให้มีความซับซ้อนในการคำนวณเพิ่มมากยิ่งขึ้น ในการพิจารณาประสิทธิภาพของการคำนวณในรูปแบบนี้ จะทำการเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณกับโครงสร้างการเข้าจับจากการทดลอง (x-ray) ผลการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 3.6

### ตารางที่ 3.6 การเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับที่ได้จากการคำนวณในรูปแบบที่ 4 กับโครงสร้างจากการทดลอง

PDB code	structure	โครงสร้างการเข้าจับจากการคำนวณที่ค่าพลังงาน full fitness และ estimated $\Delta G$ ต่ำที่สุด (สีส้ม) กับ โครงสร้างการทดลอง (สีเขียว)
3av9		

3avc	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a small green and orange molecular model bound to its surface.
	 A molecular model of the protein structure, showing the protein backbone in green and orange, with a small green and orange molecular model bound to its surface.
3avf	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a small green and orange molecular model bound to its surface.
	 A molecular model of the protein structure, showing the protein backbone in green and orange, with a small green and orange molecular model bound to its surface.
3avg	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a small green and orange molecular model bound to its surface.
	 A molecular model of the protein structure, showing the protein backbone in green and orange, with a small green and orange molecular model bound to its surface.
3avh	 A ribbon diagram of a protein structure, primarily colored in red and cyan, with a small green and orange molecular model bound to its surface.
	 A molecular model of the protein structure, showing the protein backbone in green and orange, with a small green and orange molecular model bound to its surface.

3avi	 A 3D ribbon diagram of protein 3avi. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. One domain is colored red, another is cyan, and a third is white. Several green and orange stick models are attached to the protein surface, representing ligands or substrates.	 Two separate stick models of ligands. The one on the left is green, and the one on the right is orange. They are positioned against a black background.
3avk	 A 3D ribbon diagram of protein 3avk. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. One domain is colored red, another is cyan, and a third is white. Several green and orange stick models are attached to the protein surface.	 A single, large stick model of a ligand, colored green and orange, positioned against a black background.
3avl	 A 3D ribbon diagram of protein 3avl. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. One domain is colored red, another is cyan, and a third is white. Several green and orange stick models are attached to the protein surface.	 Two separate stick models of ligands. The one on the left is orange, and the one on the right is green. They are positioned against a black background.
3wnf	 A 3D ribbon diagram of protein 3wnf. The protein is shown in a complex, multi-domain structure. One domain is colored red, another is cyan, and a third is white. Several green and orange stick models are attached to the protein surface.	 A single, large stick model of a ligand, colored green and orange, positioned against a black background.



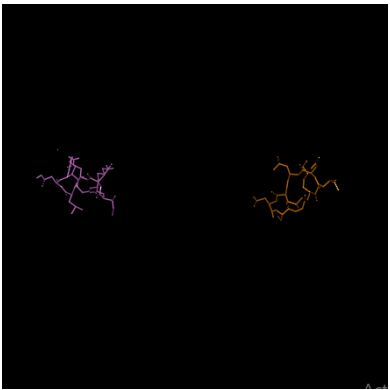
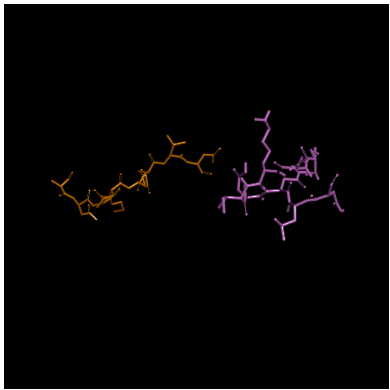
ผลการคำนวณในรูปแบบที่ 4 พบว่าตำแหน่งในการเข้าจับของสารยับยั้งมีการกระจายตัวเป็นอย่างมาก ลักษณะโครงสร้างและตำแหน่งในการเข้าจับมีจำนวนมาก จึงได้เลือกโครงสร้างการเข้าจับจากการคำนวณที่ค่าพลังงาน full fitness และ estimated  $\Delta G$  ต่ำที่สุดมาเปรียบเทียบกับโครงสร้างการทดลอง พบว่าไม่มีโครงสร้างการคำนวณที่เข้าจับกับอินทีเกรสที่มีตำแหน่งและการหมุนใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลอง ถึงแม้ว่าค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการคำนวณจะถูกกำหนดโดยอัตโนมัติ ก็มีการปรับโครงสร้างและตำแหน่งในการเข้าจับทำให้เห็นความแตกต่างของโครงสร้างที่เปลี่ยนไปได้อย่างชัดเจน

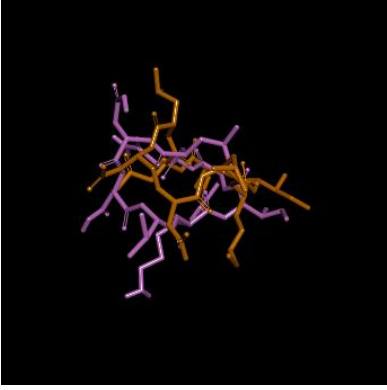
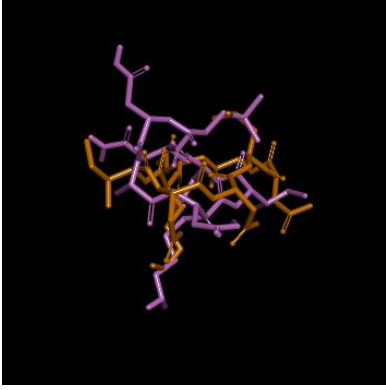
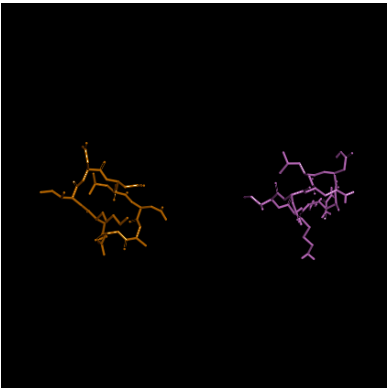
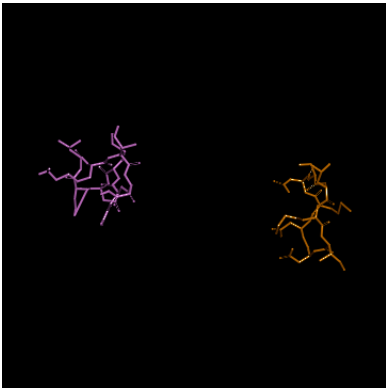
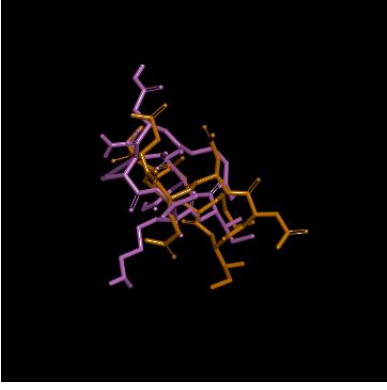
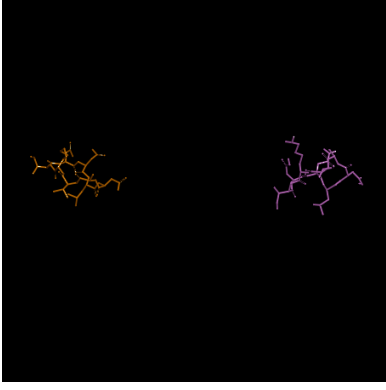
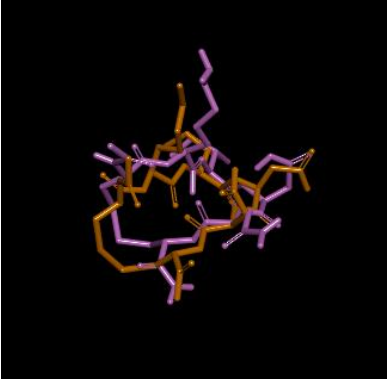
### 3.7 การเปรียบเทียบโครงสร้างสารยับยั้งที่ได้จากการคำนวณการเข้าจับด้วยโปรแกรม AutoDock Vina และ SwissDock

จากผลการเปรียบเทียบในข้อ 3.4 ที่พบว่าโครงสร้างจากการคำนวณแบบ rigid เป็นรูปแบบที่มีการเข้าจับที่ใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองมากที่สุด และโครงสร้างนั้นก็จะเป็นโครงสร้างที่มีพลังงานต่ำที่สุด จากนั้นจึงได้นำโครงสร้างจากการคำนวณแบบ rigid จำนวน 9 ตัว คือ 3av9, 3avc, 3avf, 3avg, 3avh, 3avi, 3avk, 3avl และ 3wnf ที่คำนวณด้วยโปรแกรม AutoDock Vina มาเปรียบเทียบกับโครงสร้างจากการคำนวณด้วยโปรแกรม SwissDock ซึ่งเป็นการคำนวณบนเครื่องแม่ข่ายของผู้ให้บริการ

เนื่องจากการคำนวณด้วยโปรแกรม SwissDock จะให้ผลการคำนวณจำนวนมากที่มีความหลากหลาย ดังนั้นจึงได้เลือกโครงสร้างที่มีค่าพลังงาน full fitness และ estimated  $\Delta G$  ต่ำที่สุดเพื่อนำมาเปรียบเทียบกับโครงสร้างจากการคำนวณด้วยโปรแกรม AutoDock Vina ผลการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 3.7

#### ตารางที่ 3.7 แสดงการเปรียบเทียบโครงสร้างสารยับยั้งที่ได้จากการคำนวณการเข้าจับด้วยโปรแกรม AutoDock Vina และ SwissDock

PDB code	structure	PDB code	structure
3av9		3avc	

3avf		3avg	
3avh		3avi	
3avk		3avl	
3wnf			

ผลการเปรียบเทียบพบว่าตำแหน่งในการเข้าจับและลักษณะโครงสร้างสารยับยั้งในการเข้าจับมีความแตกต่างกัน เนื่องมาจากในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลเป็นการทำนายการเข้าจับของโมเลกุล ซึ่งในการทำนายการเข้าจับแต่ละครั้งจะได้ลักษณะโครงสร้างเป็นจำนวนมาก แล้วระบบจะทำการสุ่มลักษณะโครงสร้างในครั้งนั้นมาจำนวนหนึ่ง ทำการแบ่งกลุ่มตามระดับพลังงาน แล้วจึงแสดงผลออกมา ในการสุ่มของระบบแต่ละครั้งจึงได้ลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกัน และกระบวนการในการสุ่มของทั้งสองระบบก็มีความแตกต่างกันในการเลือกลักษณะ ทำให้โครงสร้างของสารยับยั้งที่มาจากคำนวณทั้ง 2 วิธีการจึงแตกต่างกัน ด้วยสาเหตุนี้ทำให้ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าโปรแกรมหรือวิธีการไหนจาก 2 วิธีนี้จะมีประสิทธิภาพในการคำนวณการเข้าจับของสารยับยั้งกับเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรสได้ดีกว่ากัน

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

#### 4.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นงานที่ศึกษาการคำนวณหาโครงสร้างการเข้าจับระหว่างเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรสกับสารยับยั้งเพื่อนำมาวิเคราะห์ประสิทธิภาพของโปรแกรมคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล ซึ่งโปรแกรมที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นโปรแกรมที่สามารถดาวน์โหลดมาใช้ได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย โดยโปรแกรมที่ใช้ในการคำนวณคือ โปรแกรม AutoDock Vina และ SwissDock ที่สามารถใช้งานบนอินเทอร์เน็ตได้ โดยวิธีการศึกษาคือ นำโครงสร้างเอกซเรย์ของเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรสกับสารยับยั้งที่มาจากฐานข้อมูล นำมาแยกออกจากกัน หลังจากนั้นนำโครงสร้างของสารยับยั้งกับเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรส เข้ามาจับกันอีกครั้งด้วยวิธีคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพของโปรแกรมว่าจะสามารถทำให้สารยับยั้งสามารถเข้าจับกับเอนไซม์ได้เหมือนเดิมหรือไม่ ซึ่งก่อนที่จะนำไปคำนวณได้ทำการกำหนดรูปแบบของสารยับยั้งออกเป็น 3 แบบคือ rigid, flexible และ optimize flexible และเพิ่มบริเวณในการเข้าจับ 2 เท่า ผลจากการคำนวณพบว่า โปรแกรม AutoDock Vina สามารถคำนวณการจับของสารยับยั้งแบบ rigid ได้ดีมากกว่าแบบ flexible และ optimize flexible เนื่องจากโครงสร้างจากการคำนวณแบบ rigid มีความใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองมากที่สุด โครงสร้างสารยับยั้งแบบ flexible กับ optimize flexible มีการกำหนด torsion ให้โมเลกุลสามารถหมุนได้อย่างอิสระในการเข้าจับทำให้มีรูปแบบในการเข้าจับเพิ่มมากขึ้น โอกาสในการเข้าจับที่โครงสร้างจะเหมือนโครงสร้างทางการทดลองจึงลดลง และ optimize flexible มีการบิดหรือปรับโครงสร้างทำให้โครงสร้างเปลี่ยนไปจากเดิม ทำให้โครงสร้างสารยับยั้งเมื่อเข้าจับกับเอนไซม์ จึงยากที่โครงสร้างจะกลับเข้ามาจับในตำแหน่งและโครงสร้างเดิม หลังจากนั้นได้นำสารยับยั้งที่มีโครงสร้างจากการคำนวณที่ใกล้เคียงกับโครงสร้างจากการทดลองมากที่สุดนั้นก็คือโครงสร้างสารยับยั้งแบบ rigid ไปเปรียบเทียบกับโครงสร้างสารยับยั้งที่ทำการคำนวณด้วย SwissDock พบว่าโครงสร้างของสารยับยั้งทั้งสองวิธี มีลักษณะโครงสร้างและตำแหน่งการเข้าจับที่แตกต่างกัน เนื่องมาจากในการ docking เป็นการทำนายการเข้าจับของโมเลกุล ซึ่งในการทำนายการเข้าจับแต่ละครั้งจะได้ลักษณะโครงสร้างเป็นจำนวนมาก แล้วระบบจะทำการสุ่มลักษณะโครงสร้างในครั้งนั้นมาจำนวนหนึ่ง ทำการแบ่งกลุ่มตามระดับพลังงาน แล้วจึงแสดงผลออกมา ในการสุ่มของระบบแต่ละครั้งจึงได้ลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกัน ทำให้โครงสร้างของสารยับยั้งที่มาจาก docking ทั้ง 2 วิธีการแตกต่างกัน ด้วยสาเหตุนี้ทำให้ไม่สามารถสรุปได้ว่าโปรแกรมหรือวิธีการไหนจาก 2 วิธีนี้มีประสิทธิภาพในการคำนวณการเข้าจับของสารยับยั้งกับเอนไซม์ HIV-1 อินทีเกรสได้ดี

#### 4.2 ข้อเสนอแนะ

ในการทดสอบประสิทธิภาพของโปรแกรมการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล หากมีการใช้โปรแกรมที่ใช้อัลกอริทึมที่แตกต่างกัน จะช่วยให้ผลการทดสอบเปรียบเทียบสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงควรเพิ่มการคำนวณการเข้าจับด้วยโปรแกรมอื่น ๆ ให้มากยิ่งขึ้น เพื่อจะได้สามารถบอกแนวโน้มของประสิทธิภาพของโปรแกรมในการคำนวณการเข้าจับที่จะนำไปประยุกต์ใช้ต่อไปในอนาคต

#### 4.3 ประโยชน์ในการประยุกต์ผลการวิจัย

เชื้อไวรัส HIV ในปัจจุบันมีการกลายพันธุ์อย่างรวดเร็ว การพัฒนายาเพื่อยับยั้งไวรัสนี้จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาที่รวดเร็วตามไปด้วย การทราบข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับอันตรกิริยา เช่น การเข้าจับ เป็นหนึ่งในข้อมูลที่สำคัญในการพัฒนายาหรือสารยับยั้งเพื่อที่จะนำไปรักษาผู้ป่วยได้ ดังนั้นการที่เรามีโปรแกรมที่สามารถคำนวณการเข้าจับของโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพและแม่นยำ จะสามารถช่วยให้การพัฒนายามีความรวดเร็วและประหยัดทรัพยากรในการทำการทดลองจริงมากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถนำไปปรับใช้ในการคำนวณการเข้าจับของโมเลกุลในโรคอื่น ๆ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการรักษาต่อไป

## บรรณานุกรม

- [1] รพีพรรณ รัตนวงศันรา มอร์ด, ทำความรู้จักโรคติดเชื้อ HIV เอชไอวี, *Health Station*, 2021, 39.
- [2] David K. Chalmers, Cyclic Hexapeptide Mimics of the LEDGF Integrase Recognition Loop in Complex with HIV-1 Integrase, *Chem Med Chem*, 2018, 15(13), 1555-1565.
- [3] จิราภรณ์ ยงพิศาลภพ, Computer-aided Drug Discovery, Design and Development: The Crucial Tool for Pharmaceutical Research, *EAU Heritage*, 2012, 2(6), 47-57.
- [4] L. Krishnan, A. Engelman, Retroviral Proteins and HIV-1 DNA Integration, *JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, 2012, 49(287), 40858-40866.
- [5] M.K. Lewinski, F.D. Bushman, Retroviral DNA integration - Mechanism and consequences, *JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, 2012, 1(55), 147-181.
- [6] นวทรัพย์ พิชัยสามารถ, โครงสร้างและพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งโรคเอดส์ TMC 278 กับบริเวณการจับของเอนไซม์ การถ่ายแบบ เอช ไอ วี-1 ที่ไม่มีการกลายพันธุ์, วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย, 2554.
- [7] National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), HIV Replication Cycle, Retrieved from. <https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/hiv-replication-cycle>. (accessed 21.01.02)
- [8] กรมการปกครองและสำนักโรคระบาดวิทยา, สถานการณ์โรคเอดส์ในประเทศไทย, Retrieved from [http://www.plkhealthpcm.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=70&Itemid=94](http://www.plkhealthpcm.org/index.php?option=com_content&view=article&id=70&Itemid=94). (accessed 21.01.05)
- [9] ศิริรัตน์ กักผล, การออกแบบตัวยา, Retrieved from [http://192.207.64/field\\_research/con\\_drug.doc](http://192.207.64/field_research/con_drug.doc). (accessed 21.01.21)
- [10] สุพจน์ ทารหนองบัว, จากโครงสร้างของเอนไซม์สู่การวิจัยเพื่อออกแบบและค้นหายารักษาโรค โดยวิธีการทางเคมีคอมพิวเตอร์: กรณี ตัวอย่างโรคเอดส์ และซาร์ส, 2546, 57(3),140-142.
- [11] อติทยา ศิริปัญญานนท์, ศิวพร มีจู, เคมี: ศาสตร์แห่งสสาร, Retrieved from <http://update.se-ed.com/192/chemistry.htm>. (accessed 21.02.03)
- [12] สุพจน์ ทารหนองบัว, การพัฒนาระเบียบวิธีทางเคมีคอมพิวเตอร์และการนำไปใช้ในการออกแบบยา และการศึกษาการใช้ประโยชน์จากซีไอไลต์, Retrieved from <http://www.forensic2.go.th/fpd21/KMEE.htm>. (accessed 21.02.03)

## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวเบญจวรรณ ธนันชัย เกิดเมื่อวันที่ 12 เดือนมกราคม พ.ศ. 2541 ที่จังหวัดลำพูน สำเร็จการศึกษา  
ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนจักรคำคณาทร จังหวัดลำพูน เมื่อปีการศึกษา 2559 เข้าศึกษาต่อใน  
หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
เมื่อปีการศึกษา 2560 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 43 หมู่ที่ 11 ตำบล แม่ตื่น อำเภอฝาง จังหวัดลำพูน  
รหัสไปรษณีย์ 51110 อีเมล benjawanthananchai@gmail.com