การศึกษาโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งและความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ของสารเชิงปริมาณสามมิติ ของ 4-อะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีนสำหรับตัวยับยั้งเชื้อมาลาเรีย *Pf*-DHFR

MOLECULAR DOCKING & 3D-QSAR STUDY ON 4-AMINOQUINOLINE-PYRIMIDINE AS *Pf*-DHFR INHIBITORS

ชลิดา จินดาดวง

ธนัญญา คำชาลี

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MOLECULAR DOCKING & 3D-QSAR STUDY ON 4-AMINOQUINOLINE-PYRIMIDINE AS *Pf*-DHFR INHIBITORS

CHALIDA JINDADUANG
THANUNYA KHAMCHALEE

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งและความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ของสารเชิงปริมาณสามมิติ ของ 4-อะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน สำหรับตัวยับยั้งเชื้อมาลาเรีย *Pf*-DHFR MOLECULAR DOCKING & 3D-QSAR STUDY ON 4=AMINOQUINOLINE=PYRIMIDINE AS *Pf*=DHFR INHIBITORS
ชื่อนักศึกษา	นางสาวชลิดา จินดาดวง รหัสนักศึกษา 59050388 นางสาวธนัญญา คำชาลี รหัสนึกศึกษา 59050418
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.วรท โชติปฏิเวชกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจาปีการศึกษา 2562

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.รฐวรรธน์ แดงเงิน ประธานกรรมการ	
ดร.ณัฐธิดา นุ่มวงศ์ กรรมการ	
ดร.วรท โชติปฏิเวชกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งและความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ของสารเชิงปริมาณสามมิติ ของ 4-อะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน สำหรับตัวยับยั้งเชื้อมาลาเรีย *Pf*-DHFR
ชื่อนักศึกษา	นางสาวชลิดา จินดาดวง รหัสนักศึกษา 59050388 นางสาวธนัญญา คำชาลี รหัสนักศึกษา 59050418
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมี
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.วรท โชติปฏิเวชกุล

บทคัดย่อ

โรคมาลาเรีย เป็นโรคติดเชื้อที่เกิดจากปรสิตโปรโตซัวไนสกุล พลาสโมเดียม ซึ่งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญระดับโลกและยังเป็นอันตรายต่อมนุษย์มาเป็นเวลานาน โดยเชื้อมาลาเรียจะมีไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์ เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์สารพันธุกรรมดีเอ็นเอในเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม จึงถือเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการคิดค้นยาตัวใหม่ที่ใช้ต้านเชื้อมาลาเรีย ในปัจจุบันมีนักวิจัยให้ความสนใจเกี่ยวกับการศึกษาไฮบริด ดรัก เนื่องจากทำให้มีการออกฤทธิ์ยับยั้งที่ดีขึ้น เราจึงเน้นไปที่การศึกษาเกี่ยวกับไฮบริด ดรัก โดยจะใช้โครงสร้างของอะมิโนควิโนลีนนำมาต่อกับไพริมิดีน ซึ่งจะศึกษาเกี่ยวกับการยึดจับระหว่างโปรตีนและลิแกนด์ (Molecular docking) และศึกษาความสัมพันธ์เชิงโครงสร้างกับค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (QSAR) จากการ การศึกษาความสัมพันธ์เชิงโครงสร้างกับค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยใช้เทคนิค CoMFA และ CoMSIA เพื่อสร้างสมการเชิงเส้นของความสัมพันธ์ของค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน พบว่าโมเดล CoMFA สามารถทำนายได้ค่า q^2 = 0.506, r^2 = 0.875 และ $r^2_{test\ set}$ = 0.619 ส่วนโมเดล CoMSIA สามารถทำนายได้ค่า q^2 = 0.614, r^2 = 0.871 และ $r^2_{test\ set}$ = 0.394 การศึกษาการยึดจับระหว่างโปรตีนและลิแกนด์ พบว่าอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน – ไพริมิดีน สามารถเกิดการวางตัวได้ทั้งในโครงสร้างโปรตีนชนิด wild type และ mutant type ได้ดี เนื่องจากมีอันตรกิริยากับ key amino acid ที่สำคัญที่ใช้ในการยับยั้งมาลาเรีย ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะทำให้ทราบเกี่ยวกับข้อมูลเชิงลึกเพื่อใช้เป็นแนวทางสำหรับการออกแบบยาและเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งของสารก่อนที่จะทำการสังเคราะห์เป็นยาต้านเชื้อมาลาเรียต่อไป

คำสำคัญ : พลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม, ไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์, อะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	MOLECULAR DOCKING & 3D-QSAR STUDY ON 4-AMINOQUINOLINE-PYRIMIDINE AS *Pf*-DHFR INHIBITORS
Students	Miss Chalida Jindaduang Student ID 59050388
	Miss Thanunya Khamchalee Student ID 59050418
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2019
Advisor	Dr. Warot Chotpatiwetchkul

Abstract

Malaria is an infectious disease caused by the protozoan parasite Plasmodium, which is a world-class public health problem and is a danger to humans for a long time. Dihydrofolate Reductase enzyme, an important enzyme in the process of genetic synthesis in Plasmodium falciparum is an important target for invented a new drug that is used to fight malaria. Researchers are currently interested in hybrid drugs due to the improved inhibitory effect. We therefore focus on the study of hybrid drugs by using the structure of the aminoquinoline to connect with pyrimidine. The structure of aminoquinoline-pyrimidine will study the binding between proteins and ligands and study the structural relationship. In this study, quantitative structure-activity relationships using CoMFA and CoMSIA techniques to create linear equations in relation to the biological activity of the 4-aminoquinoline-pyrimidine derivatives. It was found that the CoMFA model predicted q^2 = 0.506, r^2 = 0.875 and $r^2_{\text{test set}}$ = 0.619, while CoMSIA model predicted q^2 = 0.614, r^2 = 0.871 and $r^2_{\text{test set}}$ = 0.394. Then, it was found that the 4-aminoquinoline-pyrimidine derivatives were able to perform both in the wild type and mutant type proteins due to their interaction with the key amino acid used to suppress malaria. with the bioactivity. It was used to be a guideline in creating a new drug. Therefore, the information obtained from this study will provide insight into the guideline for designing the antimalarial inhibitors of the aminoquinoline-pyrimidine along with the enhancement of the antimalarial inhibitors before synthesizing it as drugs.

Keywords: Plasmodium falciparum, Dihydrofolate Reductase enzyme, aminoquinoline-pyrimidine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก ดร.วรท โชติปฏิเวชกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษผู้ซึ่งเป็นทั้งผู้ให้ความรู้ คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ และแนวคิด ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆของโครงงานพิเศษเล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ จึงขอขอบพระคุณท่านอาจารย์เป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.รฐวรรธน์ แดงเจ็น ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ ดร.ณัฐธิดา นุ่มวงศ์ ที่กรุณาเป็นกรรมการการสอบโครงงานพิเศษ ตลอดจนให้คำแนะนำและแก้ไขรูปเล่มเป็นอย่างดี อันเป็นประโยชน์ต่อการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาให้ข้าพเจ้าสำเร็จการศึกษา

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือทางด้านเครื่องมือการวิเคราะห์ต่างๆ ทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องทุกท่านที่ช่วยเหลือสนับสนุนในด้านกำลังใจและกำลังทรัพย์ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณคุณเทย์เลอร์ สวิฟต์ และศิลปินวงบังทันโซยอนดัน ที่เป็นแรงบันดาลใจ และกำลังใจที่สำคัญสำหรับข้าพเจ้า ขอบคุณที่ทำให้เห็นถึงความเข้มแข็ง อดทน และเป็นแบบอย่างที่ดีในชีวิต

นอกจากนี้ยังมีผู้ที่ให้ความร่วมมือช่วยเหลืออีกหลายท่าน ซึ่งผู้ศึกษาไม่สามารถกล่าวนามในที่นี้ได้หมด จึงขอขอบคุณทุกท่านเหล่านั้นไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

สุดท้ายนี้ทางผู้ศึกษาหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ และหากมีความผิดพลาดประการใด คณะผู้ศึกษาขออภัยมา ณ โอกาสนี้

ชลิดา จินดาดวง
ธนัญญา คำชาลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ช
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขต 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 3
2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของโรคมาลาเรีย 3
2.1.2 Dihydrofolate Reductase Enzyme 5
2.1.3 Mutation of *Pf*-DHFR 7
2.1.4 Antifolate Antimalarial Inhibitors 7
2.1.5 รหัสโปรตีน 3QGT และ 3QG2 9
2.2 Computer Aided Drug Design 10
2.3 Molecular docking 11
2.4 Quantitative Structure Activity Relationships (QSAR) 12
2.4.1 ข้อมูลทั่วไปของ QSAR 12
2.4.2 QSAR Methods 13
2.4.3 Validation metrics for internal validation 14
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 21
3.1 การเตรียมโปรตีน 21
3.2 การเตรียมลิแกนด์ 22
3.3 QSAR 29
3.3.1 CoMFA 29
3.4 Molecular Docking 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....33
4.1 Quantitative Structure Activity Relationships (QSAR).....33
4.1.1 Statistical Analysis.....33
4.1.2 CoMFA Contour Analyse.....40
4.1.3 CoMSIA Contour Analyse.....49
4.2 Molecular Docking.....58
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....69
5.1 สรุปผลการวิจัย.....69
เอกสารอ้างอิง.....71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 การจำแนกประเภทของ 3D-QSAR สามารถจำแนกวิธี 3D-QSAR ได้ตามเกณฑ์ต่างๆ..... 13
3.1 ตารางแสดง R-group และค่า pIC_{50}..... 23
4.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย PLS แบบจำลอง CoMFA ของอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน -ไพริมิดีน..... 34
4.2 การทำ external validation..... 35
4.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย PLS แบบจำลอง CoMSIA ของอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน -ไพริมิดีน..... 36
4.4 ค่า pIC_{50} ที่ได้จากการทดลอง (Act) กับค่าที่ได้จากการทำนาย (Pred) และค่าผลต่าง (Δ) ของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน – ไพริมิดีน ในแบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA..... 37
4.5 ค่า fitness score ของสารประกอบเมื่อยึดจับกับโปรตีน 3QGT..... 58
4.6 ค่า fitness score ของสารประกอบเมื่อยึดจับกับโปรตีน 3QG2..... 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ความเสี่ยงของการติดเชื้อมาลาเรียสายพันธุ์ Plasmodium falciparum	4
2.2 วงจรชีวิตของเชื้อ Plasmodium	4
2.3 folate pathway	6
2.4 โครงสร้างของ proguanil และสารอนุพันธ์	7
2.5 โครงสร้างของ pyrimethamine	8
2.6 The quadruple mutant type	8
2.7 อนุพันธ์ของ cyc และ pyr	9
2.8 ก .โครงสร้างของ WT *Pf*-DHFR-TS ข .โครงสร้างของ QM *Pf*-DHFR-TS	10
2.9 การทำ Computer Aided Drug Design	11
2.10 โครงสร้างของ Tetraoxanes	15
2.11 โครงสร้างของ Chaclone general skelton	16
2.12 โครงสร้างของ pyr Analogues และ tmp Analogues	16
2.13 โครงสร้างของ 4-aminoquinoline-triazine derivatives	17
2.14 โครงสร้างของ aminoquinoline-purine hybrids	18
2.15 โครงสร้างของ naphthyl–triazole antimalarials	18
2.16 โครงสร้างของ triazine–pyrimidine hybrids	19
2.17 การสังเคราะห์สารอนุพันธ์ 4-aminoquinoline-pyrimidine hybrids	19
3.1 ก .โครงสร้างของ WT *Pf*-DHFR-TS (3QGT) ข .โครงสร้างของ QM *Pf*-DHFR-TS (3QG2)	21
3.2 Binding pocket ของ 3QGT และ 3QG2	22
3.3 ตัวอย่างโครงสร้างสารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน ด้วยโปรแกรม Discovery Studio 2017	22
3.4 การกำหนดระดับการคำนวณ M062X/6-31G*	23
3.5 โครงสร้างของอนุพันธ์ของสารอะมิโนควิโนลีน – ไพริมิดีน	29
3.6 โครงสร้างทั่วไปของอนุพันธ์ของสารอะมิโนควิโนลีน – ไพริมิดีน	29
3.7 โปรแกรม SyBYl X 2.0	30
3.8 โปรแกรม GOLD v.5.7.1	31
3.9 การกำหนด GA Runs ให้เป็น 100 conformations	32
4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pIC_{50} ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการทำนายของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน=ไพริมิดีนในแบบจำลอง CoMFA	39
4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pIC_{50} ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการทำนายของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน–ไพริมิดีนในแบบจำลอง CoMSIA	39
4.3 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับภาพรวมของ CoMFA contour map ของโครงสร้างที่ 57	40
4.4 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 3, 7, 22 และ 67	41
4.5 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 43, 57 และ 65	42
4.6 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 8, 34 และ 51	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 8, 29, 44, 51, 55 และ 58 44
4.8 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ electrostatic field ของโครงสร้างที่ 51, 55 และ 58 45
4.9 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 51, 96 และ 119 46
4.10 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 15, 36, 49 และ 52 47
4.11 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ electrostatic field ของโครงสร้างที่ 18 และ 39 48
4.12 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ electrostatic field ของโครงสร้างที่ 45 และ 83 48
4.13 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrophobic field ของโครงสร้างที่ 57 และ 65 50
4.14 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrophobic field ของโครงสร้างที่ 75, 51 และ 61 51
4.15 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrophobic field ของโครงสร้างที่ 45 และ 59 52
4.16 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrogen donor field ของโครงสร้างที่ 57, 58 และ 59 53
4.17 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrogen acceptor field ของโครงสร้างที่ 57, 58 และ 59 54
4.18 สรุปคุณสมบัติที่สำคัญของโครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 2 55
4.19 สรุปคุณสมบัติที่สำคัญของโครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 3 56
4.20 สรุปคุณสมบัติที่สำคัญของโครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 4 57
4.21 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับไพริเมทามีนที่บริเวณ active site 59
4.22 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับไพริเมทามีนที่บริเวณ active site 60
4.23 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 57 บริเวณ active site 61
4.24 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 57 บริเวณ active site 61
4.25 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 58 บริเวณ active site 62
4.26 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 58 บริเวณ active site 62
4.27 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 59 บริเวณ active site 63
4.28 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 59 บริเวณ active site 63
4.29 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับไพริเมทามีนที่บริเวณ active site 64
4.30 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับไพริเมทามีนที่บริเวณ active site 64
4.31 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 57 บริเวณ active site 65
4.32 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 57 บริเวณ active site 65
4.33 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 58 บริเวณ active site 66
4.34 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 58 บริเวณ active site 66
4.35 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 59 บริเวณ active site 67
4.36 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 59 บริเวณ active site 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
DHFR	Dihydrofolate Reductase enzyme
Pf-DHFR	Dihydrofolate Reductase ที่มีอยู่ในเชื้อ Plasmodium falciparum ในมาลาเรีย
QSAR	Quantitative Structure Activity Relationships
cyc	cycloguanil
pyr	pyrimethamine
r^2	Correlation coefficient
q^2	Cross-Validation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา [1,2]

โรคมาลาเรีย (malaria) เป็นโรคติดเชื้อที่เกิดจากปรสิตโปรโตซัวในสกุล พลาสโมเดียม (Plasmodium) และจะถูกส่งผ่านมาสู่มนุษย์โดยยุงก้นปล่องเพศเมีย ซึ่งถือเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญระดับโลกและยังเป็นภัยคุกคามต่อมนุษย์ที่มีมาอย่างยาวนาน โดย World Health Organization (WHO) ได้จัดทำข้อมูลเกี่ยวกับโรคมาลาเรียในปีพ.ศ 2561 พบว่ามีจำนวนผู้ป่วยมาลาเรียทั่วโลกประมาณ 228 ล้านคน โดยผู้ป่วยมาลาเรียส่วนใหญ่ในปีพ.ศ 2561 อยู่ในภูมิภาคแอฟริกา (213 ล้านคนหรือ 93%) ตามด้วยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้คิดเป็น 3.4% และภูมิภาคเมดิเตอร์เรเนียนตะวันออก 2.1% ในปีพ.ศ 2561 มีผู้เสียชีวิตจากมาลาเรียทั่วโลกประมาณ 405,000 คน และประมาณ 416,000 คน โดยเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี เป็นกลุ่มที่อ่อนแอที่สุดที่ได้รับผลกระทบจากมาลาเรีย ในปี 2018 คิดเป็น 67% (272,000) ของการเสียชีวิตจากโรคมาลาเรียทั่วโลก พลาสโมเดียมฟัลซิพารัมเป็นปรสิตมาลาเรียที่พบมากที่สุดในภูมิภาคแอฟริกา ตามด้วยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และภูมิภาคแปซิฟิกตะวันตก [1]

สถานการณ์มาลาเรียในประเทศไทยพบการระบาดของมาลาเรียในประเทศไทยมีลักษณะที่ไม่ต่อเนื่อง ทำให้คนส่วนใหญ่ไม่มีภูมิคุ้มกันจึงสามารถเกิดมาลาเรียได้ในประชากรทุกกลุ่มอายุ ในประเทศไทยจากรายงานของสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กองควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ข้อมูลเมื่อวันที่ 1 มกราคม – 15 มกราคม 2563 รายงานผู้ป่วยโรคไข้มาลาเรีย 71 ราย จังหวัดที่พบผู้ป่วยมากที่สุดได้แก่ จังหวัดตาก 22 ราย รองลงมา ได้แก่ จังหวัดยะลา 10 ราย และจังหวัดกาญจนบุรี 9 ราย ตามลำดับ ชนิดเชื้อส่วนใหญ่พลาสโมเดียม ไวแว็กซ์ (Plasmodium Vivax) ร้อยละ 95.7 และพลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม (Plasmodium Falciparum) ร้อยละ 4.2 ยังไม่พบผู้เสียชีวิต [2]

ในปัจจุบันการรักษาโรคมาลาเรียยังคงเป็นปัญหาสำคัญปัญหาหนึ่ง เนื่องจากยังไม่มีการค้นยาตัวใหม่ออกสู่ตลาด ซึ่งโดยปกติยาที่ใช้รักษาโรคมาลาเรียจะมีหลากหลายชนิด เช่น ไพริเมทามีน (Pyrimethamine), ไซโคลกวานิล (Cycloguanil), คลอโรควิน (Chloroquine), เมโควิน (Mefloquine), เอโมไดอาควิน (Amodiaquine), ไพเพอราควิน (Piperaquine), ซัลฟาดอกซิน (Sulfadoxine) เป็นต้น แต่ในปัจจุบันนี้เริ่มมีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับไฮบริด ดรัก (hybrid drugs) โดยได้ทำการนำยาที่ใช้ในการรักษามาลาเรียสองตัวยามาผสมผสานกัน (combination therapy) เช่น ไพริเมทามีน–ไซโคลกวานิล (Pyrimethamine - Cycloguanil), ไทรเอซีน-ไพริเมทามีน (Triazine - Pyrimethamine), อะมิโนควิโนลีน-เพียวรีน(Aminoquinoline - Purine) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์ (Dihydrofolate Reductase enzyme) หรือ DHFR เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในกระบวนการสร้างไทมิไดเลต ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการสังเคราะห์สารพันธุกรรมดีเอ็นเอในเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม (Plasmodium Falciparum) จึงถือเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการคิดค้นยาตัวใหม่ที่ใช้ยับยั้งเชื้อมาลาเรีย ดังนั้นในโครงงานวิจัยนี้ จึงมีความสนใจที่จะศึกษาเกี่ยวกับไฮบริด ดรัก (hybrid drugs) โดยจะใช้โครงสร้างของอะมิโนควิโนลีนนำมาต่อกับไพริมิดีนเพื่อเป็นแนวทางในการคิดค้นยาตัวใหม่ เนื่องด้วยโมเลกุลของอะมิโนควิโนลินจะเข้าไปหยุดการสร้างเม็ดเลือดแดง ในขณะที่ไพริมิดีนจะแสดงฤทธิ์ในการต้านมาลาเรียเนื่องจากความสามารถในการยับยั้งไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาการยึดจับระหว่างไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์กับอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน - ไพริมิดีน โดยใช้วิธีโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้ง (molecular docking)
2) เพื่อหาแบบจำลองทางสถิติ (Statistical Model) ที่เหมาะสม สำหรับการวิเคราะห์โครงสร้างอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีนที่มีฤทธิ์ต้านไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์
3) เพื่อให้ข้อมูลเชิงลึกใช้เป็นแนวทางสำหรับการออกแบบการยับยั้งมาลาเรียของสารอะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีนพร้อมกับการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งของสารก่อนที่จะทำการสังเคราะห์

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1) ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้ง (molecular docking) และการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ของสารเชิงปริมาณ (Quantitative Structure Activity Relationships, QSAR)
2) ศึกษา วิเคราะห์เชิงโครงสร้างเกี่ยวกับการยึดจับของตัวยับยั้งอะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน 182 โครงสร้าง กับไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์โดยใช้วิธีโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้ง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทำให้ทราบถึงการยึดจับระหว่างตัวยับยั้งอะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน กับ ไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์ในตำแหน่งกัมมันต์ (active site)
2) ทำให้ทราบถึง Pharmacophore ที่สำคัญที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งโรคมาลาเรียได้
3) ทำให้ทราบถึงข้อมูลเชิงลึกเพื่อใช้เป็นแนวทางในการออกแบบตัวยับยั้งอนุพันธ์ของอะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งก่อนที่จะทำการสังเคราะห์ยาตัวใหม่
4) สรุป Pharmacophore (โครงสร้างของโมเลกุลส่วนหนึ่งที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งได้) ที่สำคัญของตัวยับยั้งเพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาตัวยับยั้งตัวใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง [3-5]

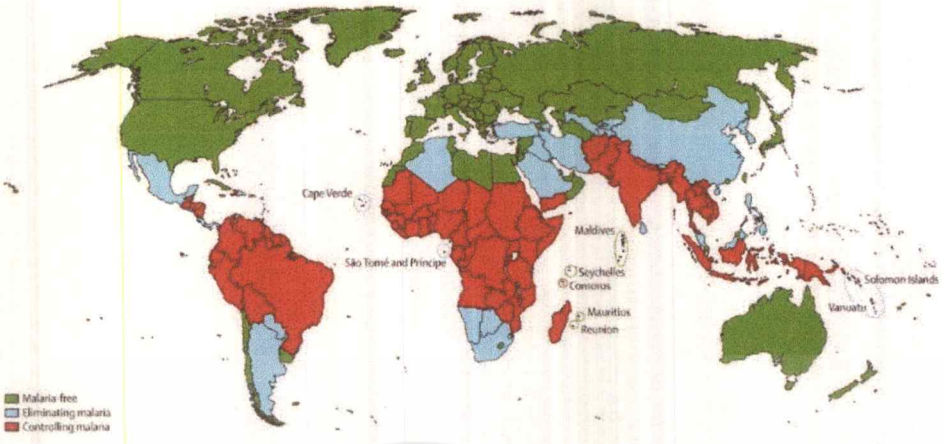
2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของโรคมาลาเรีย

มาลาเรีย (malaria) หรือไข้จับสั่น ไข้ป่า เป็นโรคติดเชื้อของมนุษย์และสัตว์อื่นที่มียุงเพศเมียในยุงก้นปล่อง (Anopheles) เป็นพาหะนำโรค มีสาเหตุจากปรสิตโปรโตซัว ในสกุลพลาสโมเดียม (Plasmodium) โดยเชื้อโปรโตซัวพลาสโมเดียมนี้มีทั้งหมด 172 สายพันธุ์ด้วยกันโดยมีทั้งที่ติดเชื้อในสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลานและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่ชนิดที่ทำให้เกิดโรคในคนมีอยู่ 5 ชนิด ได้แก่

1) พลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม (Plasmodium Falciparum) สายพันธุ์นี้พบได้ทั่วโลก แต่พบได้บ่ายในแอฟริกา เชื้อชนิดนี้นับว่า อันตรายมากที่สุดเพราะสามารถแบ่งตัวได้รวดเร็วและทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกเป็น จำนวนมาก เซลล์เม็ดเลือดแดงที่แตกจะเข้าไปอุดตันเส้นเลือดขนาดเล็ก รวมถึงเส้นเลือดในสมองอาจ กลายเป็นอันตรายถึงชีวิตได้
2) พลาสโมเดียม ไวแว็กซ์ (Plasmodium Vivax) สายพันธุ์นี้มักพบในเอเชีย ละตินอเมริกา และบางส่วนของ แอฟริกา สายพันธุ์นี้สามารถเข้าไปแฝงตัวอยู่ในตับได้นานถึง 2 ปี หลังจากการติดเชื้อครั้งแรก แล้วจึงออกมาทำลายเม็ดเลือดแดงอีกครั้ง
3) พลาสโมเดียม มาลาริอี่ (Plasmodium Malariae) สายพันธุ์นี้พบได้ทั่วโลกอาจทำให้เกิดการติดเชื้อเรื้อรัง หรือภาวะแทรกซ้อนรุนแรง เช่น เนโฟรติก ซินโดรม (Nephritic syndrome) ซึ่งเป็นกลุ่มอาการของโรคไตที่ทำให้ร่างกายขับโปรตีนออกทางปัสสาวะมาก ผู้ป่วยจะมีอาการบวมน้ำโดยเฉพาะบริเวณเท้าและข้อเท้า
4) พลาสโมเดียม โอวาเล่ (Plasmodium Ovale) ชื้อสายพันธุ์นี้พบได้มากในแอฟริกาตะวันตกและหมู่เกาะในทะเลแปซิฟิกตะวันตก สายพันธุ์นี้สามารถเข้าไปแฝงตัวอยู่ในตับได้นานถึง 4 ปี หลังจากการติดเชื้อครั้งแรก
5) พลาสโมเดียม โนว์ไซ (Plasmodium Knowlesi) สายพันธุ์นี้ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะประเทศมาเลเซีย พบได้ในลิงซึ่งสามารถติดต่อสู่คนได้ และมีการดำเนินโรคอย่างรวดเร็วจนเข้าสู่ภาวะติดเชื้อรุนแรง

ส่วนเชื้อที่พบได้บ่อยที่สุดในประเทศไทย คือ พลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม (Plasmodium Falciparum) และ พลาสโมเดียม ไวแว็กซ์ (Plasmodium Vivax) [3]

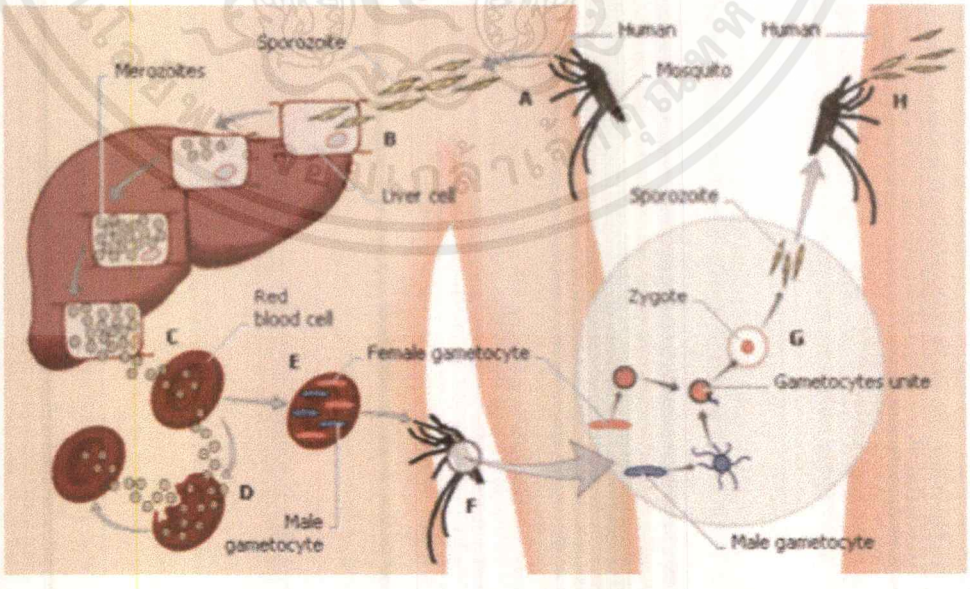
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 ความเสี่ยงของการติดเชื้อมาลาเรียสายพันธุ์ Plasmodium falciparum [5]

การเจริญเติบโตของพลาสโมเดียมในคน เกิดในเซลล์ตับและในเซลล์เม็ดเลือดแดง

1) การเจริญเติบโตของเชื้อในตับ การติดเชื้อมาลาเรียในคนนั้นเริ่มต้นจาก คนถูกยุงก้นปล่องตัวเมียที่มีเชื้อ พลาสโมเดียมระยะติดต่อที่เรียกว่า ระยะสปอโรซอยส์ (sporozoite) ที่อยู่ในต่อมน้ำลายเข้าไปในกระแสเลือดของคนระหว่างการดูดเลือดและมุ่งหน้าเข้าไปอยู่ในเซลล์ตับ จากนั้นเชื้อพลาสโมเดียมระยะสปอโรซอยส์ (sporozoite) จะเจริญเติบโตและแบ่งตัวเป็นเชื้อระยะใหม่ที่เรียกว่า เมอโรซอยส์ (merazoite) จำนวนนับพันนับหมื่น ในที่สุดเซลล์ตับจะแตกทำให้เมอโรซอยส์เข้าสู่กระแสเลือดแล้วรุกรามเข้าเม็ดเลือดแดงภายในเวลาไม่กี่นาที
2) การเจริญเติบโตของเชื้อในเม็ดเลือดแดง เมอโรซอยส์จะเจริญเติบโตภายในเม็ดเลือดแดงและแบ่งตัวเป็น เมอโรซอยส์ใหม่ เมื่อเม็ดเลือดแดงแตก เมอโรซอยส์จึงออกมาทำการรุกรานเม็ดเลือดแดงใหม่ต่อไป แล้วเติบโตแบ่งตัววนเวียนตามวงจรเช่นนี้หลายรอบ และเมื่อยุงตัวใหม่มากัดคนที่ได้รับเชื้อนี้ก็เอาเชื้อนี้ไปแพร่กระจายต่อไป ดังรูปที่ 2.2 [4]



รูปที่ 2.2 วงจรชีวิตของเชื้อ Plasmodium [4]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเชื้อแต่ละชนิดจะใช้เวลาในการแบ่งตัวและทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกแตกต่างกันไป เช่น

- เชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม ใช้เวลาในการแบ่งตัว 42-48 ชั่วโมง จึงทำให้เกิดไข้ทุกวันที่ 3
- เชื้อพลาสโมเดียมไวแวกซ์ และโอวัลเล่ ใช้เวลาในการแบ่งตัว 48 ชั่วโมง จึงทำให้เกิดไข้ทุกวันที่ 3
- เชื้อพลาสโมเดียม มาลาริอี ใช้เวลาในการแบ่งตัว 72 ชั่วโมง อาการไข้จึงเกิดทุกวันที่ 4
- เชื้อพลาสโมเดียม โนวไซ ใช้เวลาในการแบ่งตัว 24 ชั่วโมง อาการไข้จึงเกิดทุกวัน

เชื้อมาลาเรียสามารถแพร่ไปยังผู้อื่นได้จากยุงที่ไปกัดผู้ป่วยมาลาเรีย แต่ไม่สามารถติดต่อกันจากคนสู่คนได้ นอกจากจะเป็นการติดต่อจากแม่สู่ทารกในครรภ์ นอกจากนั้น ผู้ป่วยอาจติดเชื้อมาลาเรียได้จากการรับเลือดหรือการใช้เข็มฉีดยาร่วมกัน แต่จะเป็นกรณีที่พบได้น้อยมาก

อาการทั่วไปคือ มีไข้ อ่อนเพลีย อาเจียนและปวดศีรษะ และปกติอาการเริ่ม 10 ถึง 15 วันหลังถูกกัด หากไม่ได้รับการรักษาอย่างเหมาะสม ในรายที่รุนแรงอาจทำให้ตัวเหลือง ผอม ท้องป่อง เนื่องจากตับและม้ามโต ชัก โคม่าหรือเสียชีวิตได้

2.1.2 Dihydrofolate Reductase Enzyme [6,7,8]

Dihydrofolate Reductase (DHFR) เป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในเชื้อ Plasmodium falciparum ในมาลาเรีย หรือที่เรียกว่า *Pf*-DHFR จะใช้ในกระบวนการสร้างไทมิไดเลตซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการสังเคราะห์สารพันธุกรรมดีเอ็นเอในเชื้อ Plasmodium falciparum DHFR มีบทบาทในการเปลี่ยนแปลง 7,8-dihydrofolate (DHF) ให้เป็น 5,6,7,8-tetrahydrofolate (THF) โดยใช้นิโคตินอะไมดีนอะดรีนาลีนฟอสเฟต (NADPH) เป็นตัวให้อิเล็กตรอน

DHFR มีบทบาทในการสร้างกรดโฟลิกให้เป็น tetrahydrofolate ในรูปแบบที่ลดลงนั้นเป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับแบคทีเรียพลาสโมเดียมและเซลล์ของมนุษย์ปกติและเซลล์มะเร็ง สารยับยั้งของ DHFR มีคุณสมบัติเป็นยาปฏิชีวนะ, ยาต้านมาลาเรียและ antineoplastic [7]

สารยับยั้งของ DHFR จะต้องมีความจำเพาะที่เพียงพอสำหรับ DHFR ของจุลินทรีย์และเซลล์มะเร็งเพื่อไม่ให้เกิดผลข้างเคียงในมนุษย์มากเกินไป

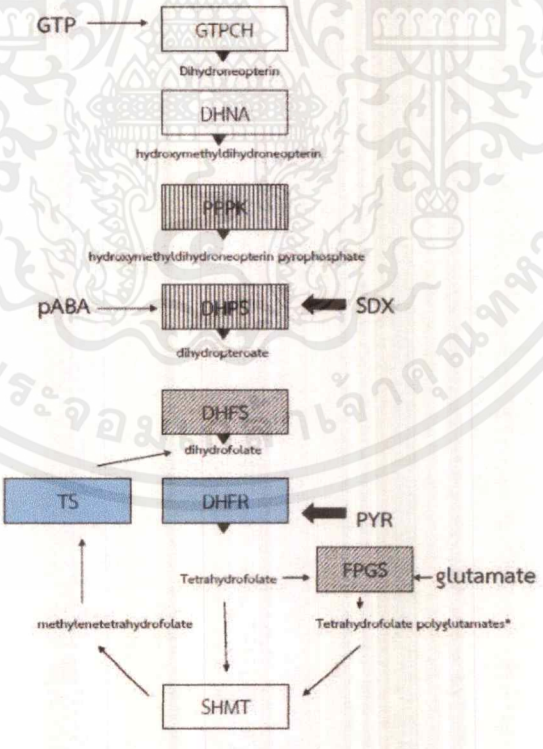
Dihydrofolate reductase (DHFR) inhibitors ตัวอื่นๆก็สามารถเป็นสารยับยั้งได้ อย่างเช่น [6]

1) Trimethoprim เป็นตัวยับยั้ง DHFR ของจุลินทรีย์ แต่ความต้านทานต่อการกระทำของมันพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อมันถูกใช้เพียงอย่างเดียวดังนั้นจึงมักจะรวมกับยาปฏิชีวนะอื่น
2) Pyrimethamine เป็นอนุพันธ์ของ diaminopyridine ซึ่งยับยั้ง DHFR ของ Plasmodium ยับยั้งนี้ขัดขวางการแบ่งเซลล์ของปรสิตในระยะ schizont
3) Chloroguanide or Proguanil ไม่มีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย แต่ cycloguanil ซึ่งมีโครงสร้าง triazine ยับยั้งค่อนข้างเฉพาะ DHFR ของ Plasmodia และป้องกันการแบ่งตัว และ proguanil ใช้ในระหว่างตั้งครรภ์ดูเหมือนจะไม่ทำให้เกิดความผิดปกติของทารกในครรภ์
4) Pentamidine เป็น diamine ที่ใช้ในการรักษาเชื้อแอฟริกา trypanosomiasis, leshmaniasis และ pneumocystis pneumonia มันมีกลไกหลายอย่างของการกระทำซึ่งการยับยั้ง dihydrofolate reductase ของปรสิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) Methotrexate ซึ่งเป็นแอนะล็อกของกรดโฟลิกเป็นยาตัวแรกที่ได้รับการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวและมีประสิทธิภาพในการรักษามะเร็ง เป็นรูปแบบซับซ้อนประกอบไปด้วย DHFR และ NADPH MTX เป็นสารยับยั้งของ DHFR ของแบคทีเรียและเซลล์มะเร็งรวมถึงเซลล์ปกติ
6) Trimetrexate เป็นสารยับยั้ง DHFR ของแบคทีเรียปรสิตและมนุษย์ liposoluble มากกว่า methotrexate มันถูกใช้สำหรับการรักษา Pneumocystis โรคปอดบวมในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เพื่อลดความเป็นพิษของมันจะใช้ร่วมกับกรด folinic ผลข้างเคียงของ trimetrexate นั้นเหมือนกับ methotrexate แต่อาจรุนแรงกว่า

Folate metabolism (รูปที่ 2.3) ใน Plasmodium falciparum จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการจำลองแบบของเซลล์และเป้าหมายของยาต้านมาลาเรียที่สำคัญ ในวัฏจักรจะประกอบไปด้วยชุดของเอนไซม์ที่แปลง GTP เป็นอนุพันธ์ของ tetrahydrofolate ซึ่งเป็นโคแฟคเตอร์ในปฏิกิริยาการถ่ายโอนหนึ่งคาร์บอน โดยศึกษาการแสดงออกของยีนห้ายีนที่เข้ารหัสเอนไซม์โดย quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) ใช้เทคนิคการตรวจหาจุดเริ่มต้น โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับ mRNA เมื่อปรสิตดำเนินไปตามวัฏจักรเซลล์เม็ดเลือดแดงภายใต้สภาวะความเครียดที่เกิดจากการกำจัดสารสำคัญโดยตัวยับยั้งเอนไซม์โฟเลตโดยรวมสองยีนที่เกี่ยวข้องในวงจร thymidylate (การเข้ารหัส dihydrofolate reductase – thymidylate synthase, DHFR-TS, และ serine hydroxymethyltransferase, SHMT) ให้มีความสมบูรณ์มากที่สุด อย่างไรก็ตามมีเพียง SHMT เท่านั้นที่เป็นการเปลี่ยนแปลงหลักในวัฏจักรเซลล์ [8]



รูปที่ 2.3 The folate pathway

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

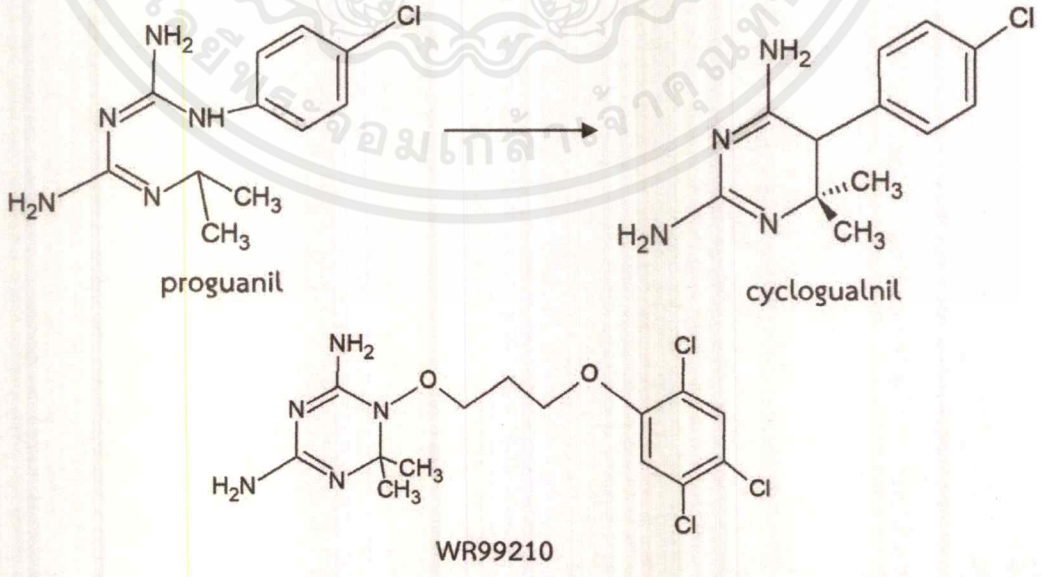
2.1.3 Mutation of *Pf*-DHFR [9-11]

เมื่อ pyrimethamine นั้นได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคไข้มาลาเรียที่เกิดจาก Plasmodium falciparum ต่อมาในปัจจุบันพบว่า pyrimethamine ได้ลดความสำคัญในการใช้ลงเนื่องจากการแพร่กระจายของเชื้อมาลาเรียที่สามารถดื้อยาในส่วนต่าง และยังพบว่าความดื้อยานั้นมีสาเหตุเกิดจากการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ *Pf*-DHFR ซึ่งการกลายพันธุ์นี้จะไปลดความสามารถในการจับกันระหว่างตัวยากับเอนไซม์ จึงทำให้ได้มีการศึกษากลไกการดื้อยาของเชื้อมาลาเรียต่อ pyrimethamine อย่างกว้างขวาง ผลของการศึกษาการกลายพันธุ์ของ *Pf*-DHFR มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ตำแหน่งที่ จาก 108Serine เป็น Asparagine

2.1.4 Antifolate Antimalarial Inhibitors [12-18]

ยาต้านเชื้อมาเลเรียตัวแรกซึ่งถูกสังเคราะห์โดย Imperial Chemical Industries โดยที่ proguanil เป็น prodrug ที่จะถูกเมแทบอไลต์ให้เป็น active molecule คือ cycloguanil (cyc) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งเชื้อ DHFR ที่สำคัญตัวหนึ่ง เราสามารถใช้ยาตัวนี้ตัวเดียวหรือใช้ร่วมกับ chloroquine, dapsone หรือ atovaquone ก็ได้ ถึงแม้ว่า proguanil นั้นจะเป็นตัวยับยั้งที่ดีสำหรับ *Pf*-DHFR ชนิดที่ไม่กลายพันธุ์ แต่มันออกฤทธิ์ได้ไม่ดีในเชื้อที่กลายพันธุ์ดังนั้นจึงเป็นการนำไปสู่การพัฒนาโครงสร้างยาใหม่ที่มีฤทธิ์เพิ่มขึ้น โดยเราจะทำการเติมหมู่คลอรีนลงบนวงฟีนิล และทำการเพิ่มความยาวของสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนระหว่างวงฟีนิล กับวง diaminopyrimidine โดยการศึกษาเหล่านี้นำไปสู่การค้นพบ chlorproguanil, clociguanil (BRL 50216) และ BRL 6231 (WR99210)

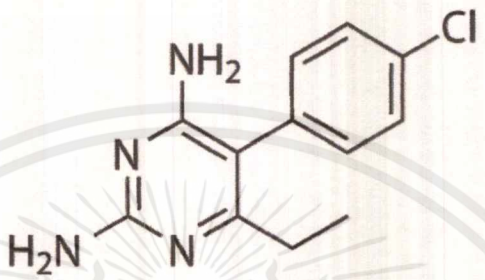
BRL 6231 (WR99210) (รูปที่ 2.4) นั้นเป็นสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง *Pf*-DHFR ชนิดที่ไม่กลายพันธุ์และมีการกลายพันธุ์ได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการทดลองในสัตว์นั้นยังไม่ค่อยดีนัก เนื่องจากค่าชีวปริมาณออกฤทธิ์ หรือ ชีวประสิทธิผล (bioavailability) ที่ต่ำของ WR99210 จึงทำให้ไม่ได้ถูกพัฒนาเป็นตัวยับยั้งเชื้อมาลาเรีย



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของ proguanil และสารอนุพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

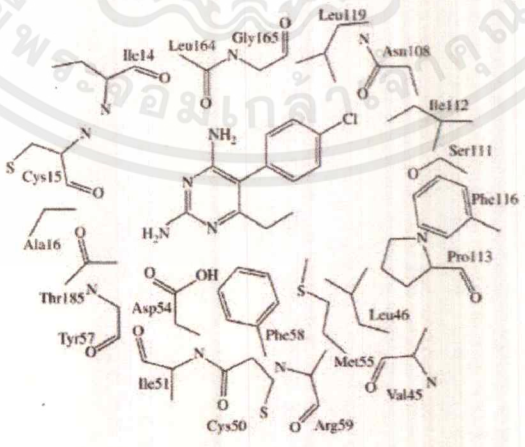
pyrimethamine (pyr) (รูปที่ 2.5) เป็นของอนุพันธ์ 2,4-diaminopyrimidine เนื่องจากโครงสร้างของ proguanil คล้ายคลึงกับ 2,4-diaminoprimidine จึงได้มีการคาดการณ์ว่าโครงสร้างของ 2,4-diaminopyridine อาจจะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรียได้ โดยการคัดกรองฤทธิ์ต้านเชื้อมาเลเรียของ 2,4-diaminopyrimidine นั้นได้นำไปสู่การค้นพบ pyr โดยที่ pyr เป็นยาต้านเชื้อมาลาเรียที่ใช้อย่างแพร่หลาย และส่วนใหญ่จะถูกใช้ร่วมกับ sulfadoxine หรือ sulfalene นอกจากนี้ ยังมีการนำมาใช้ในการรักษาด้วย monotherapy อีกด้วย



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของ pyrimethamine

โครงสร้างของ pyr หมู่แทนที่ X และ R ควรเป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่ ส่วนหมู่แทนที่ Y มีขนาดเล็ก และหมู่แทนที่ที่เป็นหมู่ให้อิเล็ตรอนกับวงเบนซีนจะเพิ่มค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อมาลาเรีย ซึ่งผลการศึกษานี้จะได้แบบจำลองโครงสร้างที่จะนำไปสู่การพัฒนาตัวยาที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียที่มีประสิทธิภาพในการใช้ยับยั้ง *Pf*-DHFRs ได้

แต่ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Pf*-DHFR ของยา cyc และ pyr ได้ลดลงอย่างรวดเร็ว และมีการรายงานว่าความสามารถในการยับยั้งนั้นมีความสอดคล้องกับการกลายพันธุ์ของ *Pf*-DHFR โดย Ser108 จะเปลี่ยนไปเป็น Asn108 และทำให้เกิดการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง, Cys59Arg Asn51Ile และ Ile164Leu ทำให้เกิดระดับความดื้อยาที่สูงขึ้น จึงมีความต้องการยาชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pf*-DHFR (รูปที่ 2.6)

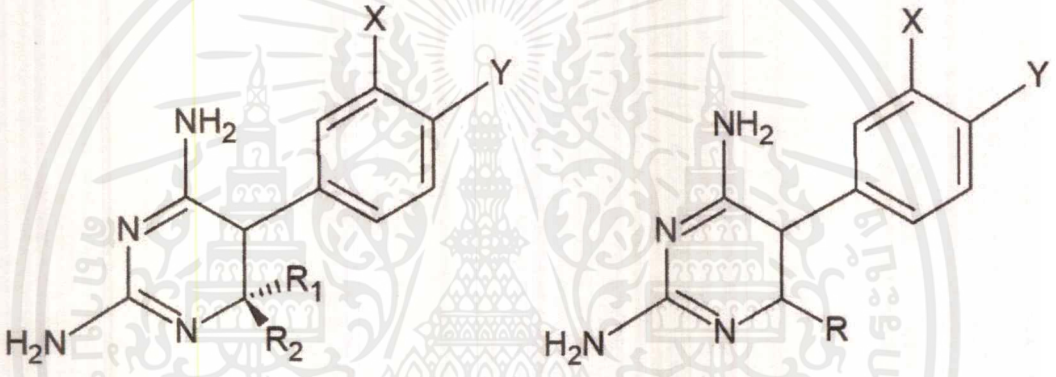


รูปที่ 2.6 The quadruple mutant type (Asn51Ile, Cys59Arg, Ser108Asn, Ile164Leu) of *Pf*-DHFR binding site

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาของ Phornphimon [19,20] พบว่าใน active site ของเอนไซม์ที่ไม่กลายพันธุ์ มีหมู่ Cl ที่แทนที่บนอนุพันธ์ของ cyc ในตำแหน่ง Y จะดีกว่าการแทนที่ด้วย H, ตำแหน่ง R2 ควรเป็นสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนที่มี O เชื่อมระหว่างวงอะโรมาติก ยาจะออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น และหมู่แทนที่ขนาดใหญ่จะไม่เหมาะกับ R_1 ในส่วนของโครงสร้างที่มีการกลายพันธุ์สี่ตำแหน่งนั้น เมื่อเปรียบเทียบกับโครงสร้างที่ไม่กลายพันธุ์จะพบว่า โครงสร้างของ cyc ที่มี Cl แทนที่ที่ตำแหน่ง Y นั้นจะทำให้ลดความสามารถในการจับระหว่างโปรตีนกับตัวยา ส่วนตำแหน่ง R_2 นั้นควรจะแทนที่ด้วยสายโซ่ไฮโดรคาร์บอน (รูปที่ 2.7)

โครงสร้างของ Pyr หมู่แทนที่ X และ R ควรเป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่ ส่วนหมู่แทนที่ Y มีขนาดเล็ก (รูปที่ 2.7) และหมู่แทนที่ที่เป็นหมู่ให้อิเล็กตรอนกับวงเบนซีนนั้นจะเพิ่มค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อมาลาเรีย ซึ่งผลการศึกษานี้จะนำไปสู่การพัฒนาตัวยาที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียที่มีประสิทธิภาพในการใช้ยับยั้ง *Pf*-DHFR



ก. ข.

รูปที่ 2.7 อนุพันธ์ของ ก. cycloguanil (cyc) และ ข. pyrimethamine (pyr)

การศึกษาการจับกันระหว่างอนุพันธ์ของ cyc และ pyr กับเอนไซม์ *Pf*-DHFR นั้นมีประโยชน์อย่างใน ออกแบบและพัฒนาหาโครงสร้างของตัวยับยั้งใหม่ที่มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น โดยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่มีการกลายพันธุ์สี่ตำแหน่งของ *Pf*-DHFR ที่เป็นเอนไซม์เป้าหมายสำคัญในการรักษาโรคมาลาเรีย

2.1.5 รหัสโปรตีน 3QGT และ 3QG2 [21,22]

3QGT เป็นโปรตีนที่เป็นโครงสร้างผลึกของ *Pf*-DHFR-TS wild-type ที่ถูกทับซ้อนด้วย NADPH, dUMP และ pyrimethamine จัดอยู่ในประเภท oxidoreductase transferase inhibitor ในสิ่งมีชีวิตจำพวก Plasmodium falciparum [21]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3QG2 เป็นโปรตีน DHFR-TS qradruple mutant-type (N51I C59R S108N I164L, V1S) pyrimethamine complex จัดอยู่ในประเภท oxidoreductase transferase inhibitor ในสิ่งมีชีวิตจำพวก Plasmodium falciparum [22]

ก. ข.

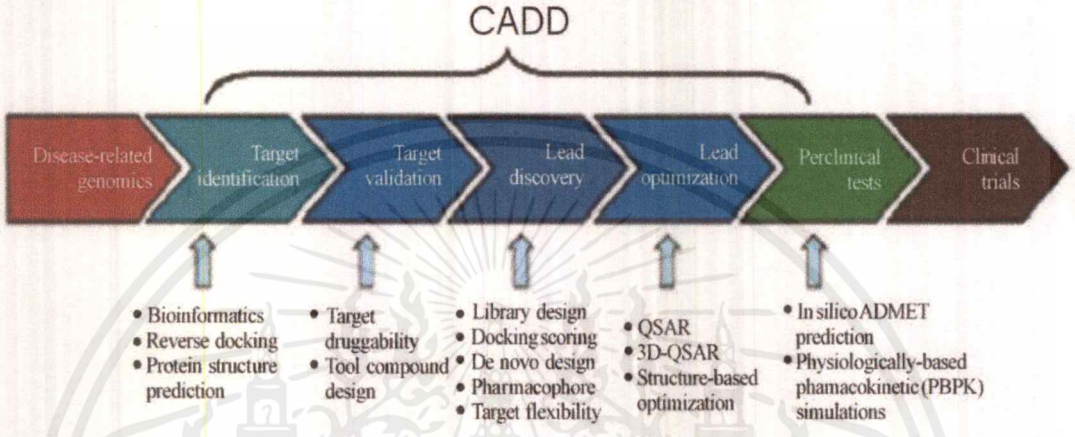
รูปที่ 2.8 ก. โครงสร้างของ WT *Pf*-DHFR-TS ข. โครงสร้างของ QM *Pf*-DHFR-TS [21,22]

2.2 Computer Aided Drug Design [23]

ในอดีตมนุษย์ค้นพบยาได้ด้วยความบังเอิญหรือเป็นการลองผิดลองถูก เช่น การนำสมุนไพรมาดูว่าสมุนไพรแต่ละชนิดนั้นมีฤทธิ์อย่างไร แล้วจึงนำมาถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่น ซึ่งจะใช้ระยะเวลานาน มีต้นทุนสูงและโอกาสที่จะประสบความสำเร็จนั้นมีน้อย หลังจากนั้นเมื่อเริ่มมีการเรียนรู้เกี่ยวกับชีวเคมี เคมี และฟิสิกส์ ทำให้มีการพัฒนาเกี่ยวกับการค้นพบยาใหม่ๆได้มากขึ้น การค้นพบยาจึงได้เริ่มเกิดจากความเป็นเหตุเป็นผล เป็นการค้นหายาที่เป็นตัวยับยั้งสารเป้าหมายบางอย่างโดยเฉพาะ เช่น การยับยั้งเอนไซม์ที่พบแต่ในเชื้อที่ก่อโรคปัจจุบันเมื่อการพัฒนาของคอมพิวเตอร์ได้มีการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น คอมพิวเตอร์เริ่มเข้ามามีบทบาทต่อมนุษย์เรามากขึ้นและเข้ามาอำนวยความสะดวกในการใช้ชีวิตในด้านต่างๆมากขึ้นจึงได้มีการนำเอาคอมพิวเตอร์มาใช้ในการคำนวณและออกแบบยา เรียกว่า คอมพิวเตอร์ช่วยออกแบบยา “Computer Aided Drug Design” โดยจะเริ่มจากการศึกษาถึงโครงสร้างของโมเลกุลเป้าหมาย ค้นหาลิแกนด์ที่สามารถจับกับโมเลกุลเป้าหมายได้ โดยต้องรู้ถึงบริเวณที่ยาจะไปออกฤทธิ์ มีอะไรเป็นตำแหน่งหลักที่เกิดปฏิกิริยากันระหว่างโมเลกุลเป้าหมายกับโมเลกุลตัวยับยั้ง ซึ่งข้อมูลในส่วนนี้อาจได้มากจากการศึกษาด้วยเทคนิคต่างๆเช่น X-ray crystallography หรือ NMR โดยถ้ามีข้อมูลโมเลกุลเป้าหมายก็สามารถที่จะออกแบบลิแกนด์ให้เข้ากับโมเลกุลเป้าหมายได้อย่างง่ายดาย จะเรียกการออกแบบยาแบบนี้ว่า Structure based drug design คือเอาข้อมูลโมเลกุลเป้าหมายมาออกแบบโมเลกุลของตัวยับยั้งได้เลย เช่น เทคนิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมเลกุลาร์ ด็อกกิ้ง เป็นการทดสอบการจับกันของโมเลกุลตัวยับยั้งกับโมเลกุลเป้าหมายในคอมพิวเตอร์ แต่ถ้าหากไม่มีโมเลกุลเป้าหมาย เราสามารถศึกษาจากการนำเอาโมเลกุลของตัวยับยั้งมาที่สามารถจับกับโมเลกุลเป้าหมาย แล้วนำมาพัฒนาให้ดียิ่งขึ้น วิธีการนี้เรียกว่า Ligand based drug design เช่น เทคนิคการหาความสัมพันธ์เชิงปริมาณระหว่างการออกฤทธิ์และโครงสร้างของยา (Quantitative Structure-Activity Relationship: QSAR)



รูปที่ 2.9 การทำ Computer Aided Drug Design [23]

2.3 Molecular docking [24]

เทคนิคโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้งมีจุดมุ่งหมายในการทำนายปฏิสัมพันธ์ที่เป็นไปได้ระหว่างสองโมเลกุล วิธีนี้ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีประโยชน์ในด้านเคมีของยาและการค้นพบยาโดยให้ข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับอะตอมในการจดจำโมเลกุล ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา เทคนิคโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้งได้รับการปรับปรุงให้ผลลัพธ์ที่แม่นยำในการทำนายผล อย่างไรก็ตามการเชื่อมต่อโมเลกุลหลาย ๆ ด้านจำเป็นต้องได้รับการแก้ไขเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงกระบวนทัศน์ของการค้นพบยา

เทคนิคโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้งเป็น computational method ที่ใช้ในการทำนายการทำงานร่วมกันของสองโมเลกุลที่สร้างแบบจำลองที่มีการจับกัน ในการประยุกต์ใช้ในการค้นพบยาหลายชนิดนั้น การ docking หรือการเชื่อมต่อทำได้ระหว่างโมเลกุลขนาดเล็กและโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น การเชื่อมต่อโปรตีน – ลิแกนด์ (protein-ligand docking) และเมื่อเร็วๆนี้ การด็อกกิ้งยังถูกนำไปใช้เพื่อทำนาย binding mode หรือแบบการจับยึดของโมเลกุลขนาดใหญ่ 2 โมเลกุล เช่น การเชื่อมต่อโปรตีนโปรตีน (protein-protein docking)

ทฤษฎีของโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้งกระบวนการในการด็อกกิ้งแบ่งออกเป็น 3 ส่วน

1. เตรียมลิแกนด์และโมเลกุลขนาดใหญ่ สิ่งนี้ทำขึ้นจาก force fields ให้มีการแสดงพื้นผิวและเป็นช่อง/โพรง เป็น ligand sites ที่มีประสิทธิภาพ
2. กำหนดประเภทของการด็อกกิ้งว่าเป็นแบบ แข็ง (rigid) หรือ แบบยืดหยุ่น (flexible)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การกำหนดกลยุทธ์การค้นหาเพื่อให้สอดคล้องกับลิแกนด์: เป็นระบบ (systematic) หรือสุ่ม (stochastic)

2.4 Quantitative Structure Activity Relationships (QSAR)

2.4.1 ข้อมูลทั่วไปของ QSAR [25,26]

ในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีเป็นจำนวนมาก และยังมีสารเคมีอีกหลายชนิดที่กำลังถูกสังเคราะห์ขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารเคมีมีความเกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันของมนุษย์อยู่ตลอดเวลา เพื่อควบคุมการผลิตและการใช้สารเคมี ดังนั้น QSAR (Quantitative structure-activity relationship) หรือ Computational Toxicity จึงเป็นเทคนิคหนึ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในการทำนายความเป็นพิษของสารเคมี

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและการออกฤทธิ์ของสารเชิงปริมาณ (Quantitative structure-activity relationships, QSAR) ได้ถูกนำมาใช้ในการพัฒนายาใหม่ ในปัจจุบันได้นำวิธีมามาใช้ในการหาสารต้นแบบ เพื่อช่วยในการเลือกสารให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมเพื่อที่จะนำมาพัฒนายาต่อไป ทำให้สามารถลดจำนวนของสารสังเคราะห์ลงได้ และมีความสำคัญในการค้นพบยาใหม่ สามารถคำนวณโมเลกุลได้ในหลายมิติ (multidimensional molecular) เช่น หนึ่งมิติ, สองมิติ และสามมิติ เทคนิคนี้ได้ถูกนำมาใช้เพื่อหาความสัมพันธ์กับค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activities) ดังนั้นเราจึงสามารถสร้างแบบจำลอง QSAR โดยใช้วิธีการทางสถิติ

จุดประสงค์ของวิธี QSAR ส่วนใหญ่จะเน้นไปที่เป้าหมายดังนี้

1) เพื่อให้มีความสัมพันธ์เชิงปริมาณและสรุปความสัมพันธ์ระหว่างแนวโน้มในการปรับเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีและการเปลี่ยนแปลงตามลำดับในจุดสิ้นสุดทางชีวภาพ เพื่อทำความเข้าใจว่าคุณสมบัติทางเคมีใดเป็นตัวกำหนดส่วนใหญ่สำหรับค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
2) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพตัวยาที่มีอยู่ เพื่อปรับปรุงค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
3) เพื่อทำนายค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบที่ยังไม่ได้ทดสอบและบางครั้งยังไม่สามารถใช้งานได้

ความก้าวหน้าของ 3D-QSAR คือ 3D-QSAR เป็นคำที่ครอบคลุมครอบคลุมวิธีการทั้งหมดของวิธี QSAR ซึ่งมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติเป้าหมายขนาดใหญ่ด้วย คำอธิบายจากอะตอมที่คำนวณได้ซึ่งได้มาจากการเป็นตัวแทนของโครงสร้างโมเลกุล วิธีการดังกล่าวได้กลายเป็นส่วนเสริมของวิธีการแบบดั้งเดิมของ QSAR ที่บุกเบิกโดย Hansch และ Free-Wilson ข้อเสียที่สำคัญของเทคนิค 3D-QSAR ก็คือทั้งหมดจะขึ้นอยู่กับสมมติฐานต่างๆที่อธิบายไว้ในส่วนต่อมา [25]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจำแนกประเภทของ 3D-QSAR สามารถจำแนกวิธี 3D-QSAR ได้ตามเกณฑ์ต่างๆ

ตารางที่ 2.1 ตารางการจำแนกประเภท 3D-QSAR

Classification of 3D-QSAR approaches	
Classification	Examples
Ligand-based 3D-QSAR	CoMFA, CoMSIA, COMPASS, GERM, CoMMA, SoMFA
Receptor-based 3D-QSAR	COMBINE, AFMoC, HIFA, CoRIA

QSAR อาศัยหลักการพื้นฐานทางเคมีที่ระบุว่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของลิแกนด์หรือสารประกอบใดๆ เกี่ยวข้องกับการจัดเรียงของอะตอมในโครงสร้างโมเลกุล โดยโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันจะมีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่คล้ายกัน โดยข้อมูลโครงสร้างนี้สามารถกำหนดได้ในรูปแบบของพารามิเตอร์ที่เรียกว่าตัวบ่งชี้ระดับโมเลกุลใน QSAR ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะถูกแสดงในสมการดังต่อไปนี้

Biological response or activity = f (molecular descriptors) ....

โดยแบบจำลองที่ถูกพัฒนาขึ้นบนพื้นฐานของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของลิแกนด์ที่รู้จักใช้เพื่อทำนายค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบใหม่

ประโยชน์และการประยุกต์ใช้ของเทคนิค QSAR อย่างเช่น toxicology, การศึกษาด้านนิเวศพิษวิทยา (ecotoxicology), การออกแบบและค้นพบยา (drug design and discovery), chemical data mining, combinatorial library design และอื่นๆ

ดังนั้นการศึกษา QSAR จึงเกี่ยวข้องกับการเลือกสารออกฤทธิ์และไม่ออกฤทธิ์ด้วยการวัดค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ, การคำนวณตัวบ่งชี้ระดับโมเลกุลโดยการเลือกคุณสมบัติที่เหมาะสมแล้วตามด้วยการสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์และการประเมินผล [27-36]

2.4.2 QSAR Methods [37-41]

Partial Least Squares (PLS) พัฒนาจากสมการการถดถอยขององค์ประกอบหลัก ซึ่งช่วยในการสร้างแบบจำลองการทำนายที่มีตัวแปรตามมากกว่าหนึ่ง โดยวิธีนี้จะใช้เมื่อจำนวนตัวแปรมากกว่าจำนวนสารประกอบในชุดข้อมูลและที่ตัวแปรที่พิจารณาสำหรับการศึกษามีความสัมพันธ์กัน ซึ่งวิธีการนี้ได้ถูกนำไปใช้ในเทคนิค 3D-QSAR เพื่อลดจำนวนของตัวบ่งชี้ โดยวิธีการ PLS ยังใช้ในการวัดการประมาณค่าของโมเดล ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบที่เหนือโมเดลการถดถอยอื่นๆ นอกจากนี้วิธีการ PLS ยังได้ถูกนำมาใช้ในการสร้างแบบจำลอง QSAR ที่ประสบความสำเร็จมากมาย ตัวอย่างเช่นการทำนายความสัมพันธ์ของสารประกอบ polycyclic aromatic กับตัวรับในตับหนู 2,3,7,8-tetrachlorodibenzene-p-dioxin (TCCD) นอกจากนี้ยังมีการใช้วิธีการ PLS ร่วมกับวิธีอื่นๆ เช่น Genetic Partial Least Squares (G/PLS), Factor analysis Partial Least Squares (FA-PLS) and Orthogonal SignalCorrection Partial Least Squares (OSC-PLS) สำหรับการศึกษา QSAR อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 Validation metrics for internal validation [42-43]

การตรวจสอบภายในของแบบจำลอง QSAR โดยการใช้ training set เพื่อทดสอบความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง โดยวิธีการทั่วไปที่นิยมใช้สำหรับการตรวจสอบความถูกต้องภายในของแบบจำลอง QSAR มีการอธิบายไว้ดังต่อไปนี้

Leave-One-Out (LOO) cross validation สารประกอบหนึ่งตัวถูกเอาออกมาจากชุดข้อมูลและทำการสร้างแบบจำลอง QSAR โดยใช้สารประกอบที่เหลือ โดยสารประกอบที่ถูกเอาออกดนั้นถูกใช้เป็นแบบทดสอบสำหรับแบบจำลองที่ทำนายไว้ ซึ่งกระบวนการนี้จะทำการนำเอาสารประกอบในชุดข้อมูลออกทีละหนึ่งตัวแบบซ้ำแล้วซ้ำอีกจนครบทุกตัว ผลลัพธ์ที่ได้จากสิ่งนี้จะถูกใช้สำหรับการประมาณค่าพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการตรวจสอบความถูกต้อง โดยการประเมินความสามารถในการทำนายของโมเดลได้โดยใช้ค่า Predicted Residual Sum of Squares (PRESS) และค่า cross-validated r^2 (q^2) เมื่อค่า Standard Deviation of Error of Prediction (SDEP) คำณวนได้จากค่า PRESS

$$q^2 = 1 - \frac{\sum_y \left(Y_{pred} - Y_{actual} \right)^2}{\sum_y \left(Y_{pred} - Y_{mean} \right)^2}$$

Y_{pred} = predicted activity

Y_{actual} = experimental activity

Y_{mean} = the best estimate of the mean.

เมทริกการตรวจสอบความถูกต้องที่ใช้ในการตรวจสอบภายนอกมีดังต่อไปนี้: [44-46]

a) Predictive r^2 หรือ q^2 คือความสัมพันธ์ของข้อมูลที่ได้จากการทดลองสังเกตและข้อมูลที่ได้จากการทำนาย โดยแบบจำลองที่มีความสามารถในการทำนายที่ดีควรมีค่าค่า q^2 มากกว่า 0.5

b) เกณฑ์ของ Golbraikh และ Tropsha ทำให้เกิดเงื่อนไขสำหรับการเลือกชุดข้อมูล test set และ training set สำหรับการมีพลังการทำนายที่ดีนั้นแบบจำลอง QSAR ควรเป็นไปตามเงื่อนไขต่อไปนี้

i. $q^2_{training} > 0.5$

ii. $r^2_{training} > 0.8$

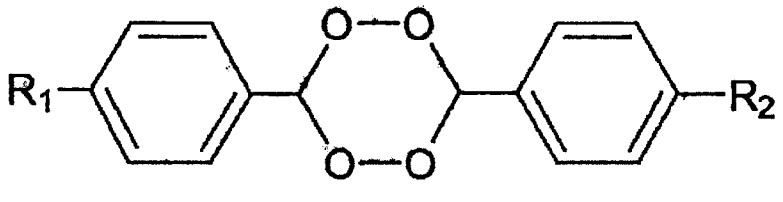
iii. $r^2_{test} > 0.6$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษาของ Niroshini Nirmalan ปี 2002 [7] ได้ความว่า Folate metabolism ใน P. falciparum จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการจำลองแบบของเซลล์และเป้าหมายของยาต้านมาลาเรียที่สำคัญ และ จากงานวิจัยของ John E. Hyde ปี 2005 [8] ได้ทำการสำรวจ folate pathway ใน Plasmodium falciparum พบว่า Folate metabolism มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อปรสิตมาลาเรียและมีการกำหนดเป้าหมายในการรักษาและป้องกันโรคมาลาเรีย ยาต้านมาลาเรียที่ใช้กันอย่างแพร่หลายประเภทนี้ ได้แก่ pyrimethamine (pyr), proguanil, sulfadoxine (sdx) และ dapsone เรายังขาดความเข้าใจอย่างละเอียดเกี่ยวกับเมแทบอลิซึมพื้นฐานในปรสิต ในสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ เส้นทางที่มีปัจจัยโฟเลตเกี่ยวข้อง ได้แก่ การผลิต purines และ pyrimidines สำหรับการจำลอง DNA รวมถึงการสังเคราะห์และ catabolism ของกรดอะมิโนหลายชนิด (Met, Gly, Ser, Glu, His)

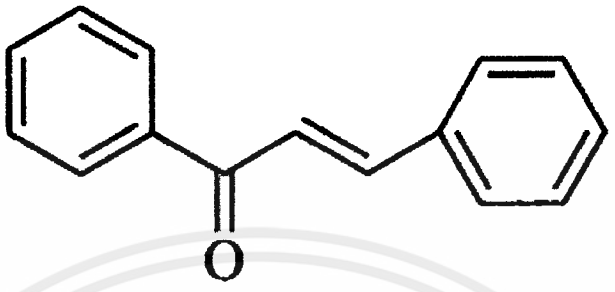
จากงานวิจัยปี 2002 [47] ของ Yongyuth Yuthavong ได้มีการพัฒนา 2,4-Diaminopyrimidines เป็นยาต้านมาลาเรียจากการยับยั้ง S108N และ C59R + S108N mutants ของ DHFR จาก pyr-Resistant ของ P.falciparum พบว่า สารประกอบเหล่านี้บางชนิดสามารถออกฤทธิ์การต้านเชื้อมาลาเรียที่ดีต่อ P. falciparum ที่ทนต่อ pyr ที่มี DHFR กลายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษต่ำต่อเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และ ในปี 2004 [48] ได้ทำการสังเคราะห์สาร derivative ของ 5-Benzyl-2,4-diaminopyrimidines พบว่า สารประกอบเหล่านี้มีความสามารถอย่างดีกับฤทธิ์การต่อต้านเชื้อมาลาเรียทั้ง wild type และ mutant type นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบที่มี 6-alkyl เป็นหมู่แทนที่มีค่า K_i ลดลงและมีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อมาลาเรียที่กลายพันธุ์ได้ดี ในงานวิจัยของ Nitin Kumar ปี 2009 [49] ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetraoxanes (รูปที่ 2.10) ถูกแทนที่ด้วยรูปแบบการแทนที่แตกต่างกันบนวงอะโรมาติก ถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อสำรวจประสิทธิภาพของสารสำคัญต่างๆ ในฤทธิ์การต้านมาลาเรีย โดยฤทธิ์การต้านมาลาเรียของสารเหล่านี้สามารถปรับปรุงด้วย กลุ่มของเอทิล, ไอโซโพรพิลหรือ n-โพรพิลในวงอะโรมาติก แต่การแทนที่ด้วย n-butyl หรือ t-butyl นำไปสู่การลดลงของฤทธิ์การต้านมาลาเรีย และพบว่าไม่มีสารประกอบใดที่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และ ในปี 2011 [50] ได้สังเคราะห์ derivative ของ tetraoxanes, tetraoxane-amine และ tetraoxane-amide conjugates พบว่ามีการค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อมาลาเรียในหลอดทดลองกับ chloroquine (CQ) D6 และ W2 strain ของ P. falciparum conjugates ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ต้านมาลาเรียได้ดีกว่า tetraoxanes และไม่พบสารประกอบใด ๆ ที่เป็นพิษต่อเซลล์เช่นกัน



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของ Tetraoxanes

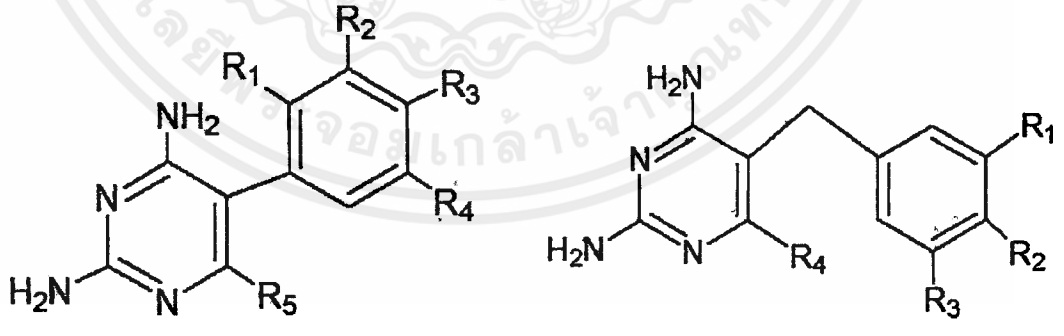
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในงานวิจัยปี 2013 ของ Narender Tadigoppula [51] ได้ทำการสังเคราะห์และทำการศึกษา Structure–Activity Relationships ของ Chalcones (รูปที่ 2.11) ที่เป็นตัวแทนการต้านมาลาเรีย พบว่าสามารถแสดงฤทธิ์ต้านมาลาเรียกับ P. falciparum ได้ และมีความเป็นพิษต่ำ



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของ Chaclone general skelton

จากงานวิจัยปี 2002 ของ Yongyuth Yuthavong [47] ได้มีการพัฒนา 2,4-Diaminopyrimidines เป็นยาต้านมาลาเรียจากการยับยั้ง S108N และ C59R + S108N mutants ของ DHFR จาก pyr-Resistant (รูปที่ 2.12) ของ P.falciparum พบว่า สารประกอบเหล่านี้บางชนิดสามารถออกฤทธิ์การต้านเชื้อมาลาเรียที่ดีต่อ P. falciparum ที่ทนต่อ pyr ที่มี DHFR กลายพันธุ์ที่มีความเป็นพิษต่ำต่อเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และ ในปี 2004 ได้ทำการสังเคราะห์สาร derivative ของ 5-Benzyl-2,4-diamonopyrimidines พบว่า สารประกอบเหล่านี้มีความสามารถอย่างดีกับฤทธิ์การต่อต้านเชื้อมาลาเรียทั้ง wild type และ mutant type นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบที่มี 6-alkyl เป็นหมู่แทนที่มีค่า K_i ลดลงและมีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อมาลาเรียที่กลายพันธุ์ได้ดี

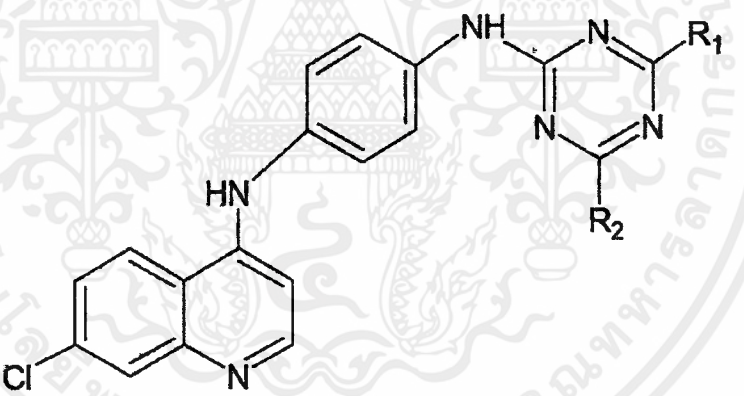


ก. ข.

รูปที่ 2.12 โครงสร้างของ ก. pyr Analogues และ ข. tmp Analogues

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

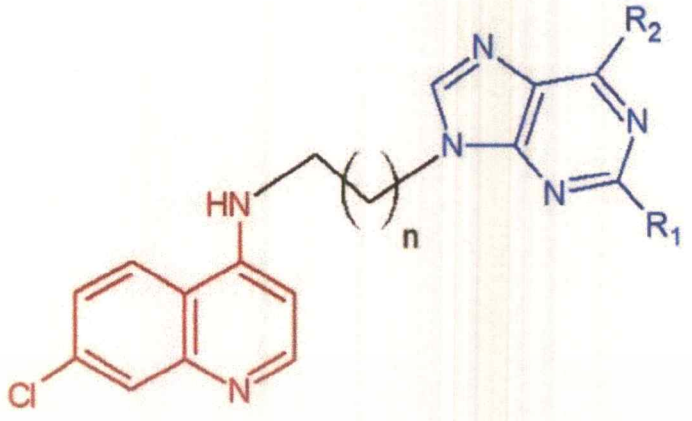
ในงานวิจัยปี 2010 ของ Sunny Manohar [52] ได้สังเคราะห์สารกลุ่ม 4-aminoquinoline – triazine conjugates (รูปที่ 2.13) พบว่าสามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อมาลาเรียในหลอดทดลองสายพันธุ์ D6 และ W2 ของ P. falciparum เมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่ามีพิษเพียงเล็กน้อย แต่ดัชนีการคัดเลือกสำหรับฤทธิ์การต่อต้านมาลาเรียนั้นมีค่าค่อนข้างสูง และในปี 2011 [53] ก็ได้ทำการสังเคราะห์สารกลุ่ม 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole และ 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole-1,3,5-triazine hybrids (รูปที่ 2.12) และทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อมาลาเรียกับ D6 และ W2 strain ของ P. falciparum และศึกษา structure–activity relationship ของ 4-aminoquinoline–based hybrids และสังเคราะห์ derivative ใหม่ เพื่อนำไปทดสอบการต้านเชื้อมาลาเรีย พบว่าสารประกอบบางชนิดสามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียโดยไม่เป็นพิษต่อเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และนอกจากนี้ ในงานวิจัยของ Hanine Hadni ปี 2019 [54] ได้ศึกษาการเชื่อมต่อโมเลกุล เพื่อสร้างแบบจำลอง QSAR และค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านเชื้อมาลาเรียของอนุพันธ์ 4-aminoquinoline-triazine hybrids กับ wild-type และ mutant receptor ของ *Pf*-DHFR พบว่าผลลัพธ์เหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการทำนายที่ดีของแบบจำลอง QSAR จากผลลัพธ์เหล่านี้เราจึงเชื่อมต่อไปยังบริเวณที่ทำงานของโปรตีนของเอนไซม์ *Pf*-DHFR ที่มีการใช้งานมากที่สุด และสารประกอบที่ใช้งานน้อยที่สุด ผลการเชื่อมต่อพบว่าโมเลกุลเหล่านี้มีปฏิกิริยาเฉพาะกับ SER108 และ ILE164 ใน binding pocket ของ *Pf*-DHFR ว่าเป็นสารออกฤทธิ์ที่ดีที่สุด



รูปที่ 2.13 โครงสร้างของ 4-aminoquinoline-triazine derivatives

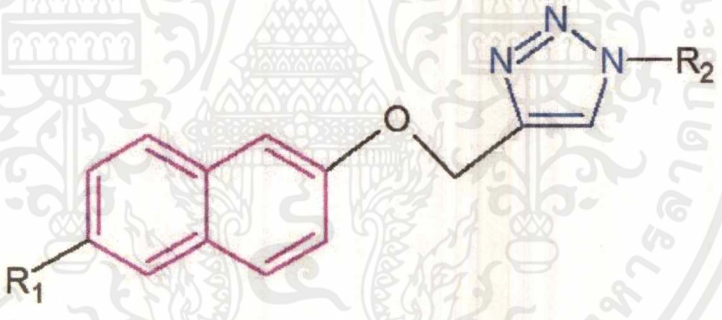
ในปี 2017 P. Linga Reddy [55] ได้ทำการออกแบบและสังเคราะห์สารอนุพันธ์ 4-aminoquinoline-purine hybrid (รูปที่ 2.14) ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมาลาเรีย D6 และ W2 strain ของ P. falciparum นอกจากนี้ยังพบว่าไม่เป็นพิษต่อเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในการศึกษา silico ADME ของสารกลุ่มนี้แสดงให้เห็นว่าสารประกอบเหล่านี้มีพฤติกรรมทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.14 โครงสร้างของ aminoquinoline-purine hybrids

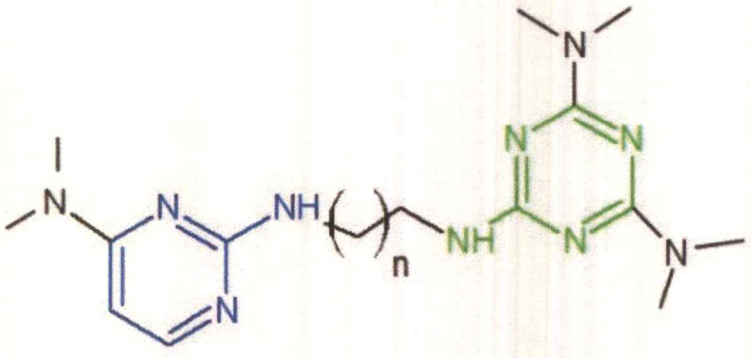
ในงานวิจัยปี 2017 Saikrishna Balabadra [56] ได้สังเคราะห์สารประกอบ naphthyl bearing 1,2,3-triazoles (รูปที่ 2.12) และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ กับเชื้อมาลาเรีย D6 และ W2 strain ของ P. falciparum พบว่ามีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อมาลาเรียอย่างมีนัยสำคัญ ในส่วนการทดสอบความเป็นพิษนั้นเป็นพิษต่อเซลล์ไตตัวอ่อนมนุษย์ แต่ไม่พบว่ามีพิษใดๆต่อเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม



รูปที่ 2.15 โครงสร้างของ Naphthyl–triazole antimalarials.

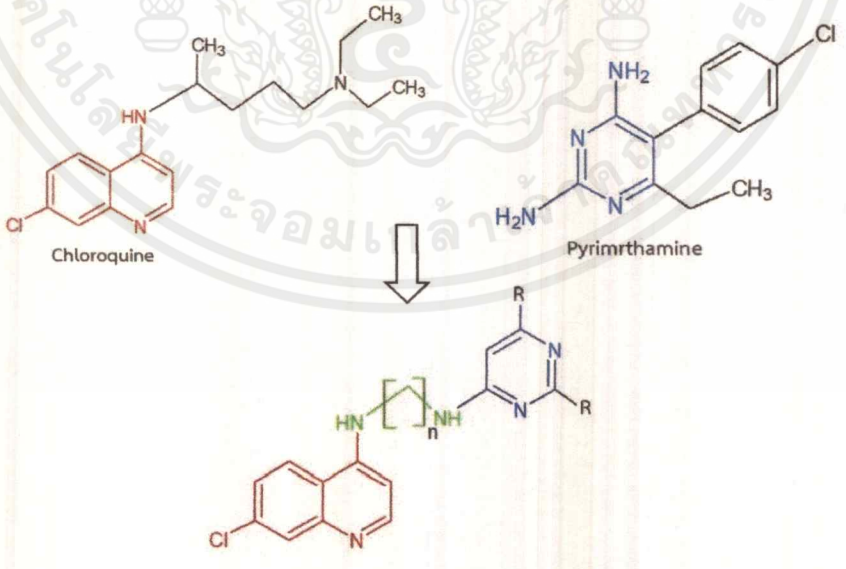
จากงานวิจัยปี 2014 Deepak Kumar [57] ได้ทำการสังเคราะห์สารกลุ่ม triazine = pyrimidine hybrid (รูปที่ 2.16) พบว่าสารประกอบบางชนิดแสดงฤทธิ์การต้านเชื้อมาลาเรีย D6 และ W2 strain และสารประกอบที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีกว่า ยามาตรฐานกลุ่ม pyrimethamine ผลการทดสอบของสารประกอบนี้ไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.16 โครงสร้างของ triazine–pyrimidine hybrids.

จากการสังเคราะห์และการศึกษาค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต่อต้านเชื้อมาลาเรีย CQ-sensitive D6 และ CQ-resistant W2 strain ของ P. falciparum ของสารประกอบในกลุ่ม 4-aminoquinoline-pyrimidine (รูปที่ 2.17) โดย Diwan S. Rawat และคณะ ในปี 2012, 2015, 2017 [58-64] พบว่ามีค่าการออกฤทธิ์การต้านเชื้อมาลาเรียที่ดีขึ้น และยังพบว่าสารประกอบหลายชนิดไม่ได้แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และการศึกษาทาง computational simulation ด้วยวิธี Molecular docking ของสารประกอบที่มีค่าการออกฤทธิ์มากที่สุด กับเชื้อมาลาเรียสายพันธุ์ wild type และการกลายพันธุ์สี่เท่า (quadruple mutant type) ของ *Pf*-DHFR-TS ผลการศึกษาพบว่าสารประกอบกลุ่มนี้มีการวางตัวและการยึดจับคล้ายกับสารยับยั้งโฟเลตทั่วไป ในส่วนของการทำนายทาง ADMET แสดงให้เห็นถึงพฤติกรรมทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ดี ซึ่งมีความเหมาะสมที่จะนำไปสู่การพัฒนายาต้านเชื้อมาลาเรียที่มีศักยภาพได้ นอกจากนี้ยังได้มีการการศึกษาแบบจำลอง QSAR เพื่อพัฒนาตัวยับยั้งใหม่ ที่จะสามารถแก้ปัญหาการดื้อยา เนื่องจากการแพร่กระจายของ W2 strain



รูปที่ 2.17 การสังเคราะห์สาร 4-aminoquinoline-pyrimidine hybrids.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ทำให้สรุปได้ว่าการศึกษาสารยับยั้งชนิดไฮบริดนั้นได้มีการออกแบบและสังเคราะห์ผ่านเส้นทางที่ง่าย ซึ่งตัวยับยั้งชนิดไฮบริดนั้น แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อมาลาเรีย D6 และ W2 strain ของ P. falciparum ที่ดี และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นในโครงงานพิเศษนี้จึงใช้การจำลองแบบโมเลกุลเข้ามาศึกษาตัวยับยั้งกลุ่ม 4-aminoquinoline-pyrimidine hybrids เพื่อสร้างแบบจำลองที่เป็นประโยชน์ในการพัฒนายาต้านเชื้อมาลาเรียชนิดใหม่ที่มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต่อ D6 และ W2 strain ของ P. falciparum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการ

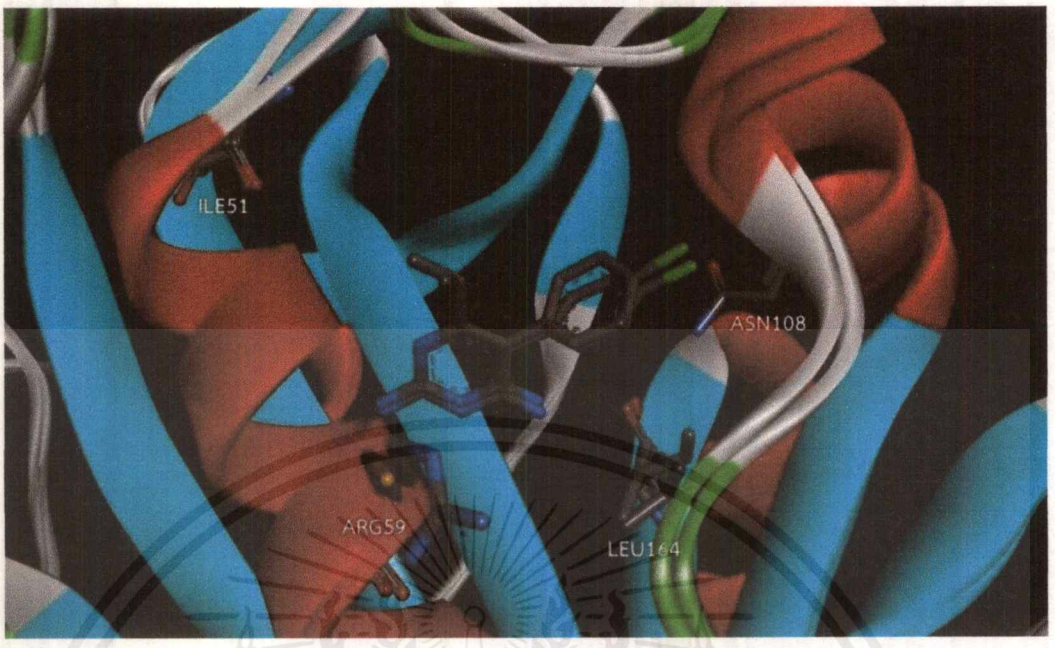
3.1 การเตรียมโปรตีน

Protein Data Bank (PDB) (RCSB PDB, http//:www.rcsb.org) เป็นศูนย์รับฝากข้อมูลโครงสร้างผลึกของโมเลกุลทางชีวภาพขนาดใหญ่ที่ได้จากจากทดลอง ในปัจจุบัน PDB มีข้อมูลผลึก X-ray มากกว่า 78,000 โครงสร้างผลึกรวมถึงมีการวิเคราะห์เชิงโครงสร้างในตำแหน่งยึดจับ โดยโครงสร้างผลึกของ Wild type และ Mutant type ของไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์ ที่มีอยู่ในเชื้อ Plasmodium falciparum ในมาลาเรีย ที่มีตัวยับยั้ง pyrimidine เป็นองค์ประกอบ (PDB ID 3QG2, 3QGT) ถูกเลือกจากฐานข้อมูลโดยมีค่าความละเอียด 2.30 Å และใช้วิธี X-ray diffraction โดยการเตรียมข้อมูลการยึดจับของโปรตีน 3QG2 กับ 3QGT (รูปที่ 3.1) กับ pyrimidine จะทำการศึกษาโดยใช้โปรแกรม Discovery Studio โดยข้อมูลโปรตีนที่ได้จะมีลักษณะเป็น dimer ดังนั้นโครงสร้างของโปรตีนที่ซ้ำกันและโมเลกุลของน้ำทั้งหมดจะถูกลบออกก่อนที่จะทำโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง (รูปที่ 3.2)

ก. ข.

รูปที่ 3.1 ก. โครงสร้างของ WT *Pf*-DHFR-TS (3QGT) ข. โครงสร้างของ QM *Pf*-DHFR-TS (3QG2)

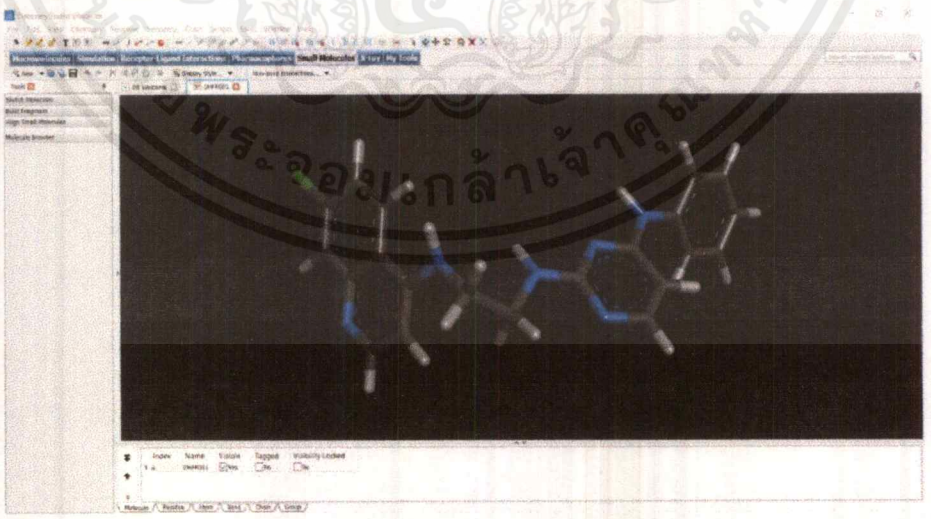
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 Binding pocket ของ 3QGT และ 3QG2

3.2 การเตรียมลิแกนด์

โครงสร้างสารประกอบของอะมิโนควิโนลีน – ไพริมิดีน จำนวน 162 โครงสร้างแบ่งเป็นชุดข้อมูลทดสอบ 32 โครงสร้าง และชุดข้อมูลทดลอง 130 โครงสร้าง ถูกสร้างขึ้นโดยใช้โปรแกรม Discovery Studio 2017 R2 Client (รูปที่ 3.3) โดยโครงสร้างทั้งหมดจะถูกกำหนดชนิดของอะตอมโดยใช้ Tripos force field และชนิดประจุแบบ Gasteiger-Hüeckel โดยใช้โปรแกรม SYBYL-X 2.0 นอกจากนี้ยังทำการปรับโครงสร้างให้เสถียรโดยใช้ Gaussian 09 Revision D.01 ด้วยระเบียบวิธี M062X/6-31G* (รูปที่ 3.4)



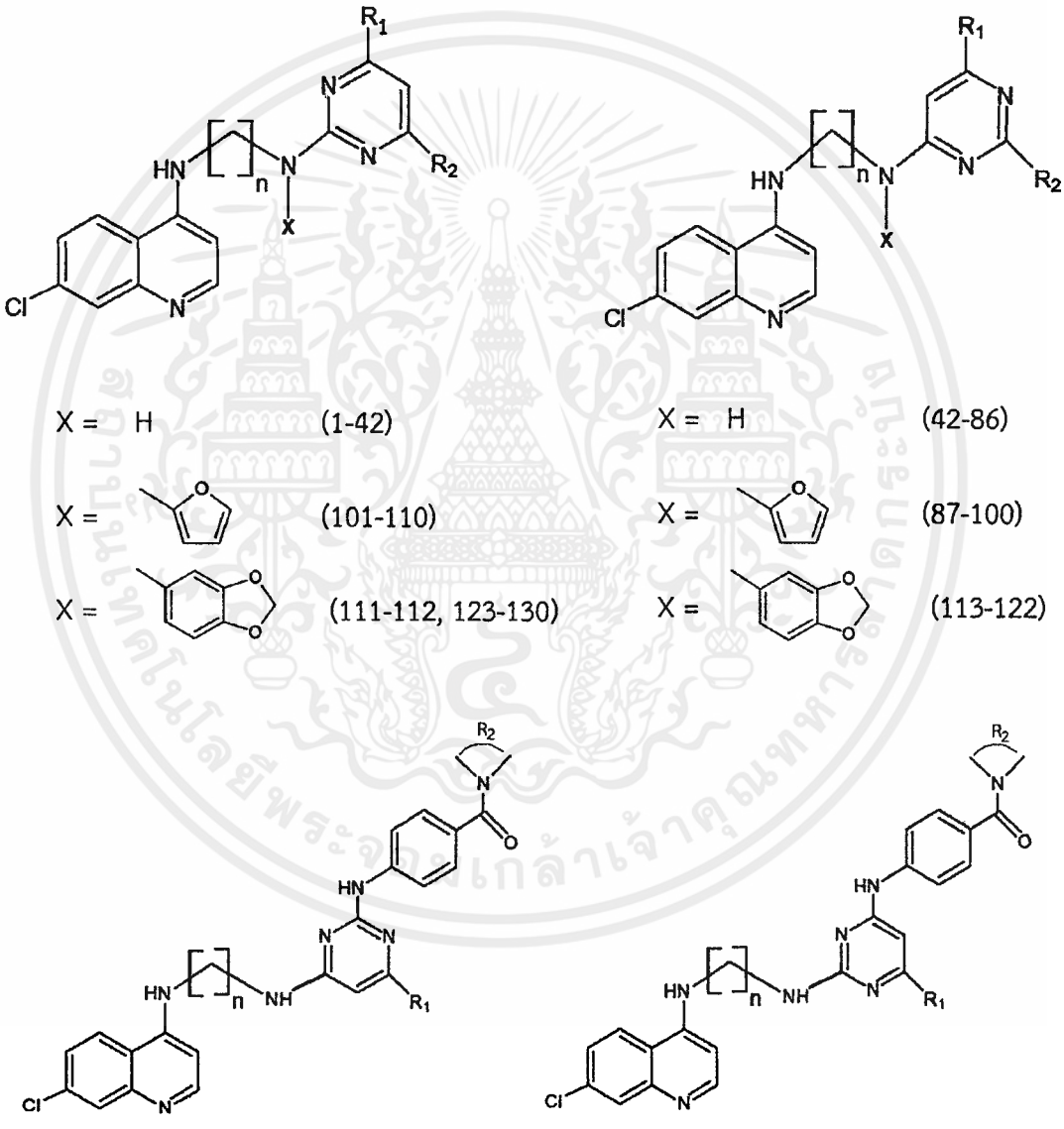
รูปที่ 3.3 ตัวอย่างโครงสร้างของสารอะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน
ที่วาดด้วยโปรแกรม Discovery Studio 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```
%nproc=4
%chk=DHFR001.chk
# opt M062X/6-31G* geom=connectivity
```

รูปที่ 3.4 การกำหนดระดับการคำนวณ M062X/6-31G*

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดง R-group และค่า pIC_{50}



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ID	n	R_1	R_2	D6	pIC_{50} (M)	W2	pIC_{50}(M)
1**	2	NH-Ph	H	1.509	5.821	1.529	5.816
2**	2	NH-4-F,Ph	H	6.022	5.220	9.994	5.000
3	2	NH-4-Cl,Ph	H	0.047	7.328	0.046	7.337
4	2	NH-4-Br,Ph	H	0.037	7.432	0.136	6.866
5	2	NH-4-CH_3,Ph	H	0.101	6.996	0.143	6.845
6	2	NH-4-OCH_3,Ph	H	0.040	7.398	0.241	6.618
7	2	NH-3,5-OCH_3,Ph	H	0.033	7.481	0.058	7.237
8	3	NH-Ph	H	0.019	7.721	0.144	6.842
9*	3	NH-4-F,Ph	H	0.028	7.553	0.094	7.027
10*	3	NH-4-Cl,Ph	H	0.047	7.328	0.445	6.352
11*	3	NH-4-Br,Ph	H	0.049	7.310	0.047	7.328
12*	3	NH-4-CH_3,Ph	H	0.153	6.815	0.346	6.461
13	3	NH-4-OCH_3,Ph	H	0.040	7.398	0.081	7.092
14	3	NH-3,5-OCH_3,Ph	H	0.038	7.420	0.107	6.971
15*	4	NH-Ph	H	0.044	7.357	0.403	6.395
16**	4	NH-4-F,Ph	H	3.196	5.495	5.831	5.234
17	4	NH-4-Cl,Ph	H	0.044	7.357	0.052	7.284
18	4	NH-4-Br,Ph	H	0.047	7.328	0.063	7.201
19	4	NH-4-CH_3,Ph	H	0.138	6.860	0.518	6.286
20	4	NH-4-OCH_3,Ph	H	0.050	7.301	0.067	7.174
21	4	NH-3,5-OCH_3,Ph	H	0.044	7.357	0.12	6.921
22	2	NH-Ph	Methyl	0.049	7.310	0.142	6.848
23	2	NH-4-F,Ph	Methyl	0.052	7.284	0.046	7.337
24	2	NH-4-Cl,Ph	Methyl	0.050	7.301	0.056	7.252
25*	2	NH-4-Br,Ph	Methyl	0.056	7.252	0.183	6.738
26**	2	NH-4-CH_3,Ph	Methyl	0.360	6.444	0.403	6.395
27	2	NH-4-OCH_3,Ph	Methyl	0.041	7.387	0.051	7.292
28	2	NH-3,5-OCH_3,Ph	Methyl	0.045	7.347	0.05	7.301
29	3	NH-Ph	Methyl	0.051	7.292	0.075	7.125
30*	3	NH-4-F,Ph	Methyl	0.058	7.237	0.107	6.971
31*	3	NH-4-Cl,Ph	Methyl	0.060	7.222	0.094	7.027
32	3	NH-4-Br,Ph	Methyl	0.043	7.367	0.048	7.319
33	3	NH-4-CH_3,Ph	Methyl	0.350	6.456	0.349	6.457
34	3	NH-4-OCH_3,Ph	Methyl	0.034	7.469	0.06	7.222
35	3	NH-3,5-OCH_3,Ph	Methyl	0.046	7.337	0.079	7.102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ID	n	R_1	R_2	D6	pIC_{50} (M)	W2	pIC_{50}(M)
36	4	NH-Ph	Methyl	0.074	7.131	0.07	7.155
37	4	NH-4-F,Ph	Methyl	0.047	7.328	0.047	7.328
38**	4	NH-4-Cl,Ph	Methyl	4.589	5.338	6.502	5.187
39	4	NH-4-Br,Ph	Methyl	0.045	7.347	0.126	6.900
40	4	NH-4-CH_3,Ph	Methyl	0.328	6.484	0.267	6.573
41	4	NH-4-OCH_3,Ph	Methyl	0.054	7.268	0.063	7.201
42	4	NH-3,5-OCH_3,Ph	Methyl	0.076	7.119	0.082	7.086
43	2	Methyl	Chloro	0.160	6.796	0.500	6.301
44*	3	Methyl	Chloro	0.330	6.481	0.700	6.155
45*	4	Methyl	Chloro	0.120	6.921	0.680	6.167
46**	6	Methyl	Chloro	0.440	6.357	0.540	6.268
47	2	Methyl	Chloro	0.210	6.678	0.810	6.092
48*	3	Methyl	Chloro	0.240	6.620	1.170	5.932
49	4	Methyl	Chloro	0.170	6.770	0.640	6.194
50*	6	Methyl	Chloro	0.140	6.854	0.580	6.237
51	3	Methyl	Piperidine	0.020	7.699	0.210	6.678
52	4	Methyl	Piperidine	0.020	7.699	0.090	7.046
53	6	Methyl	Piperidine	0.060	7.222	0.100	7.000
54	2	Methyl	Morpholine	0.020	7.699	0.140	6.854
55	3	Methyl	Morpholine	0.020	7.699	0.050	7.301
56	6	Methyl	Morpholine	0.030	7.523	0.140	6.854
57	2	Methyl	*N*-Me piperazine	0.005	8.301	0.030	7.523
58	3	Methyl	*N*-Me piperazine	0.007	8.155	0.060	7.222
59	4	Methyl	*N*-Me piperazine	0.020	7.699	0.020	7.699
60	6	Methyl	*N*-Me piperazine	0.007	8.155	0.016	7.796
61	3	Methyl	*N*-Et piperazine	0.006	8.222	0.060	7.222
62*	4	Methyl	*N*-Et piperazine	0.020	7.699	0.020	7.699
63**	2	Methyl	NH-$(CH2)_2OH$	3.370	5.472	2.220	5.654
64	2	Methyl	NH-$(CH2)_3OH$	0.130	6.886	0.470	6.328
65	2	Methyl	NH-$(CH2)_4OH$	0.120	6.921	0.340	6.469
66	2	Methyl	NH-$(CH2)_5OH$	0.120	6.921	0.410	6.387
67	2	Methyl	NH-$(CH2)_6OH$	0.050	7.301	0.630	6.201
68	3	H	NH-$(CH2)_2OH$	3.950	5.403	4.150	5.382
69	3	H	NH-$(CH2)_3OH$	1.870	5.728	2.600	5.585

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ID	n	R_1	R_2	D6	pIC_{50} (M)	W2	pIC_{50}(M)
70	3	H	NH-$(CH2)_4$OH	10.470	4.980	6.010	5.221
71*	3	H	NH-$(CH2)_5$OH	3.870	5.412	4.020	5.396
72	3	H	NH-$(CH2)_6$OH	3.350	5.475	2.620	5.582
73	3	Methyl	NH-$(CH2)_2$OH	3.720	5.429	2.710	5.567
74	3	Methyl	NH-$(CH2)_3$OH	3.230	5.491	3.460	5.461
75	3	Methyl	NH-$(CH2)_4$OH	3.080	5.511	1.900	5.721
76*	3	Methyl	NH-$(CH2)_5$OH	2.640	5.578	2.070	5.684
77	4	H	NH-$(CH2)_2$OH	1.660	5.780	1.920	5.717
78	4	H	NH-$(CH2)_3$OH	2.570	5.590	2.130	5.672
79	4	H	NH-$(CH2)_4$OH	2.740	5.562	2.140	5.670
80	4	H	NH-$(CH2)_5$OH	3.050	5.516	2.620	5.582
81*	4	H	NH-$(CH2)_6$OH	3.170	5.499	2.530	5.597
82	4	Methyl	NH-$(CH2)_2$OH	0.150	6.824	0.910	6.041
83	4	Methyl	NH-$(CH2)_3$OH	0.130	6.886	0.890	6.051
84*	4	Methyl	NH-$(CH2)_4$OH	0.130	6.886	0.630	6.201
85	4	Methyl	NH-$(CH2)_5$OH	1.540	5.812	1.540	5.812
86	4	Methyl	NH-$(CH2)_6$OH	1.430	5.845	1.190	5.924
87*	2	Methyl	Chloro	0.064	7.194	0.075	7.125
88**	3	Methyl	Chloro	0.108	6.967	0.454	6.343
89	2	Methyl	Chloro	0.080	7.097	0.062	7.208
90	3	Methyl	Chloro	0.337	6.472	0.506	6.296
91	2	Methyl	*N*-Me piperazine	0.041	7.387	0.041	7.387
92	2	Methyl	*N*-Et piperazine	0.038	7.420	0.040	7.398
93	2	Methyl	Pyrrolidine	0.050	7.301	0.163	6.788
94	2	Methyl	Piperidine	0.061	7.215	0.199	6.701
95	2	Methyl	Morpholine	0.055	7.260	0.122	6.914
96	3	Methyl	Piperidine	0.043	7.367	0.072	7.143
97	3	Methyl	Morpholine	0.046	7.337	0.257	6.590
98	3	Methyl	*N*-Me piperazine	0.045	7.347	0.047	7.328
99	3	Methyl	Pyrrolidine	0.044	7.357	0.076	7.119
100	3	Methyl	*N*-Et piperazine	0.044	7.357	0.043	7.367
101	2	Methyl	*N*-Me piperazine	0.042	7.377	0.042	7.377
102*	2	Methyl	*N*-Et piperazine	0.042	7.377	0.047	7.328
103*	2	Methyl	Pyrrolidine	0.060	7.222	0.194	6.712

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ID	n	R_1	R_2	D6	pIC_{50} (M)	W2	pIC_{50}(M)
104*	2	Methyl	Piperidine	0.044	7.357	0.204	6.690
105	2	Methyl	Morpholine	0.043	7.367	0.063	7.201
106	3	Methyl	Piperidine	0.059	7.229	0.197	6.706
107	3	Methyl	Pyrrolidine	0.051	7.292	0.162	6.790
108	3	Methyl	*N*-Me piperazine	0.049	7.31	0.048	7.319
109*	3	Methyl	Morpholine	0.053	7.276	0.167	6.777
110	3	Methyl	*N*-Et piperazine	0.040	7.398	0.039	7.409
111	2	Methyl	Chloro	0.480	6.319	1.010	5.996
112*	3	Methyl	Chloro	1.110	5.955	5.160	5.287
113	2	Methyl	Chloro	0.590	6.229	0.780	6.108
114	3	Methyl	Chloro	0.460	6.337	1.140	5.943
115	2	Methyl	Piperidine	0.050	7.301	0.290	6.538
116	2	Methyl	Pyrrolidine	0.040	7.398	0.10	7.000
117	2	Methyl	Morpholine	0.050	7.301	0.220	6.658
118*	2	Methyl	*N*-Et piperazine	0.020	7.699	0.050	7.301
119	3	Methyl	Piperidine	0.150	6.824	0.990	6.004
120	3	Methyl	Pyrrolidine	0.050	7.301	0.090	7.046
121**	3	Methyl	Morpholine	0.150	6.824	0.910	6.041
122*	3	Methyl	*N*-Et piperazine	0.040	7.398	0.170	6.770
123	2	Methyl	Piperidine	0.170	6.770	0.560	6.252
124	2	Methyl	Pyrrolidine	0.150	6.824	0.930	6.032
125	2	Methyl	Morpholine	0.130	6.886	0.810	6.092
126*	2	Methyl	*N*-Et piperazine	0.030	7.523	0.140	6.854
127	3	Methyl	Piperidine	0.150	6.824	0.360	6.444
128	3	Methyl	Pyrrolidine	0.120	6.921	0.560	6.252
129*	3	Methyl	Morpholine	0.130	6.886	0.930	6.032
130	3	Methyl	*N*-Et piperazine	0.120	6.921	0.220	6.658
131	3	Methyl	Pyrrolidine	0.113	6.947	0.049	7.310
132	3	Methyl	Piperidine	0.054	7.268	0.050	7.301
133	3	Methyl	Morpholine	0.135	6.870	0.098	7.009
134	3	Methyl	Thiomorpholine	0.065	7.187	0.047	7.328
135	3	Methyl	Pyrrolidine	0.063	7.201	0.076	7.119
136*	3	Methyl	Piperidine	0.051	7.292	0.058	7.237
137	3	Methyl	Morpholine	0.125	6.903	0.241	6.618

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ID	n	R_1	R_2	D6	pIC_{50} (M)	W2	pIC_{50}(M)
138	3	Methyl	Thiomorpholine	0.099	7.004	0.099	7.004
139*	3	H	Pyrrolidine	0.204	6.690	1.018	5.992
140	3	H	Piperidine	0.153	6.815	0.374	6.427
141	3	H	Morpholine	0.137	6.863	0.766	6.116
142	3	H	Thiomorpholine	0.131	6.883	0.510	6.292
143	4	Methyl	Pyrrolidine	0.049	7.310	0.038	7.420
144	4	Methyl	Piperidine	0.048	7.319	0.049	7.310
145	4	Methyl	Morpholine	0.032	7.495	0.033	7.481
146	4	Methyl	Thiomorpholine	0.038	7.42	0.052	7.284
147	4	Methyl	Pyrrolidine	0.089	7.051	0.077	7.114
148	4	Methyl	Piperidine	0.047	7.328	0.061	7.215
149	4	Methyl	Morpholine	0.092	7.036	0.111	6.955
150	4	Methyl	Thiomorpholine	0.056	7.252	0.070	7.155
151	4	H	Pyrrolidine	0.084	7.076	0.080	7.097
152	4	H	Piperidine	0.050	7.301	0.122	6.914
153*	4	H	Morpholine	0.038	7.420	0.0462	7.335
154	4	H	Thiomorpholine	0.060	7.222	0.256	6.592
155	2	Methyl	Pyrrolidine	0.067	7.174	0.343	6.465
156	2	Methyl	Piperidine	0.045	7.347	0.107	6.971
157	2	Methyl	Morpholine	0.046	7.337	0.159	6.799
158	2	Methyl	Thiomorpholine	0.044	7.357	0.083	7.081
159*	6	Methyl	Pyrrolidine	0.079	7.102	0.077	7.114
160*	6	Methyl	Piperidine	0.081	7.092	0.074	7.131
161	6	Methyl	Morpholine	0.038	7.420	0.046	7.337
162	6	Methyl	Thiomorpholine	0.052	7.284	0.044	7.357

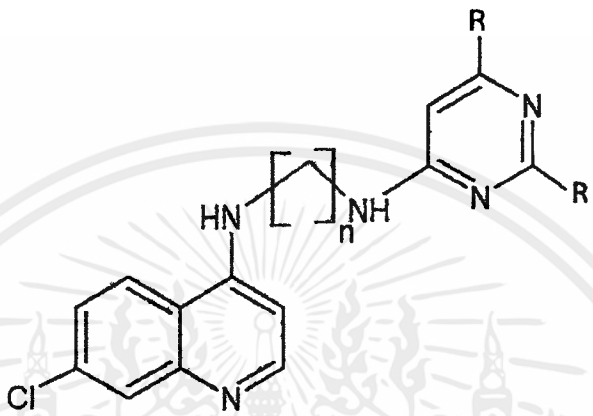
หมายเหตุ * คือ test set

** คือ outlier

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ของสารเชิงปริมาณ (QSAR)

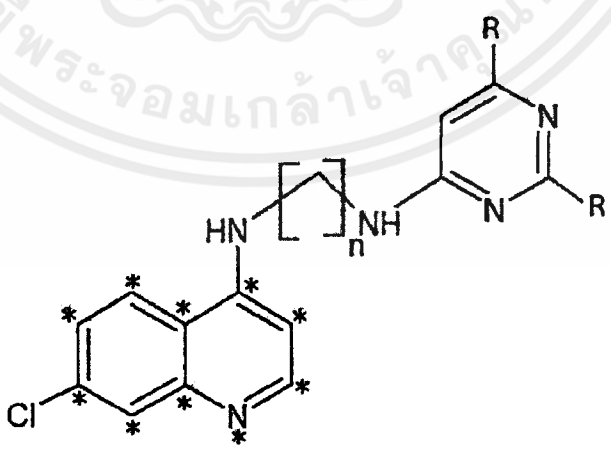
โครงสร้างสารประกอบของอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน 162 โครงสร้าง ที่ใช้สำหรับการศึกษา 3D-QSAR (CoMFA และ CoMSIA) ได้ใช้ข้อมูลจากงานวิจัยของ Diwan S. Rawat และคณะ จะมีหมู่แทนที่ที่ต่างกันอยู่ 2 ตำแหน่ง คือ R_1 และ R_2 ดังแสดงในตารางที่ 3.1 การพิจารณาโครงสร้างโมเลกุลอนุพันธ์ของอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน ดังแสดงในรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 โครงสร้างของอนุพันธ์ของสารอะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน

3.3.1 การวิเคราะห์สนามโมเลกุลเปรียบเทียบ (Comparative Molecular Field Analysis) หรือ CoMFA

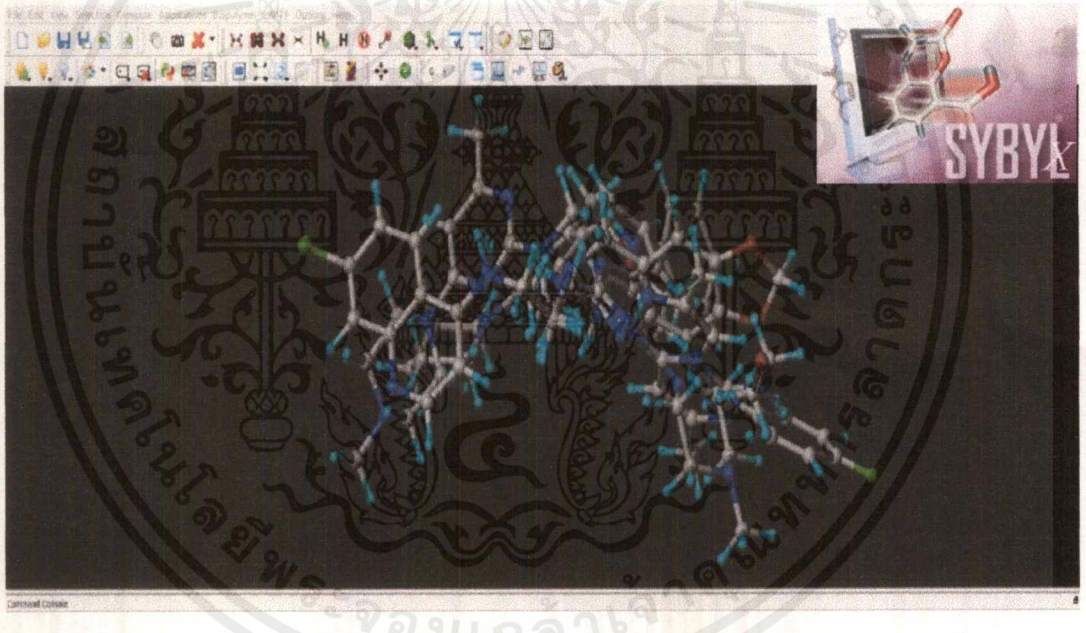
การจัดตำแหน่งการซ้อนทับกันของอะตอมเป็นขั้นตอนสำคัญในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ของสารเชิงปริมาณ โดยวิธีการ Fit Atom ถูกนำไปใช้กับสารประกอบของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน – ไพริมิดีน โดยมีโครงสร้างรูปที่ 3.5 เป็นโครงสร้างต้นแบบ โดยจะทำการซ้อนทับกันตามตำแหน่งตามเครื่องหมายดอกจันในรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 โครงสร้างทั่วไปของอนุพันธ์ของสารอะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน
หมายเหตุ - ดอกจันแสดงถึงการจัดตำแหน่งการซ้อนทับกันของอะตอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยลูกบาศก์สามมิติที่มีระยะห่างของกริด 2 Å จะถูกสร้างขึ้นรอบๆ สารประกอบที่ถูกซ้อนทับกันตามปริมาณโมเลกุลของโครงสร้าง ซึ่งถูกกำหนดโดยอัตโนมัติและถูกขยายอีก 4.0 Å ในทุกทิศทาง โดย Probe atom จะถูกวางที่จุดแลตทิช (Lattice) แต่ละจุดด้วยอะตอมของคาร์บอนชนิด sp^3 ที่มีประจุ +1 จากนั้นอันตรกริยาของ steric และ electrostatic fields กับอะตอมแต่ละอะตอมในโมเลกุลจะถูกคำนวณโดยใช้ CoMFA standard scaling โดยใช้ค่า 30 kcal/mol เป็นค่าสูงสุดของพลังงาน electrostatic และ steric โดยสนามพลัง CoMFA ถูกปรับโดยวิธี CoMFA-STD ใน SYBYL-X 2.0 (รูปที่ 3.7) จากนั้นใช้เทคนิคกำลังสองน้อยที่สุด (PLS) เพื่อหาแบบจำลอง CoMFA ที่แสดง ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติ steric และ electrostatic กับค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยตัวแปรแฝงมุมฉากจะถูกจำแนกโดย NIPALS อัลกอริธึม และทดสอบประสิทธิภาพของแบบจำลองโดยการวัดประสิทธิภาพด้วยวิธี Cross-validation แบบ leave-one-out (LOO) เพื่อเพิ่มความเร็วในการวิเคราะห์ข้อมูลและเป็นการลดปริมาณสัญญาณรบกวน โดยที่ค่า sigma ขั้นต่ำจะถูกตั้งไว้ที่ 2.0 kcal/mol โดยการวิเคราะห์ข้อมูลจะใช้องค์ประกอบสูงสุดจำนวนหกองค์ประกอบ จากนั้นใช้จำนวนขององค์ประกอบที่แตกต่างที่ได้จากค่า q^2 เพื่อเทียบกับค่าถัดไปโดยต้องมีค่าน้อยกว่าน้อยกว่า 0.05

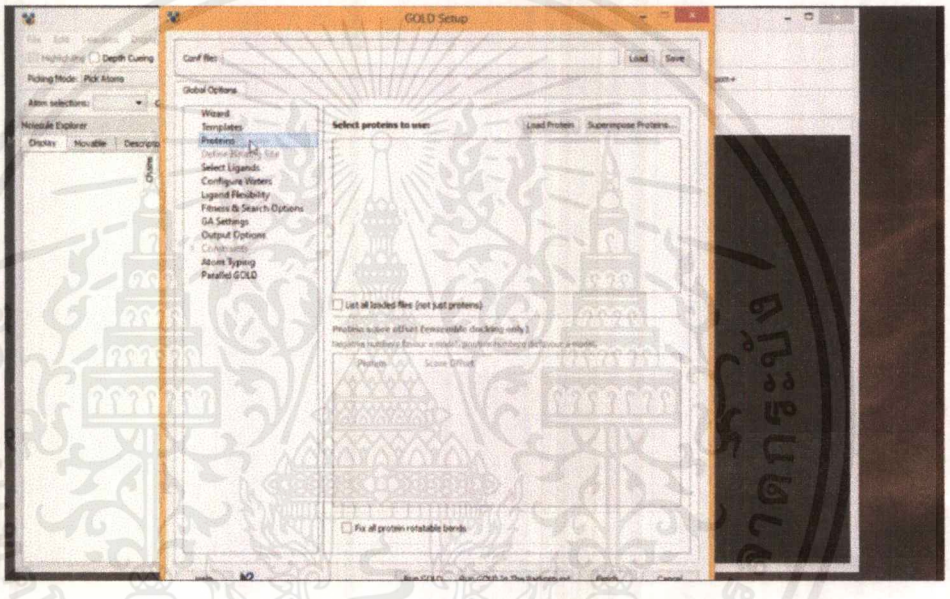


รูปที่ 3.7 โปรแกรม Sybyl x 2.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง (Molecular Docking)

โปรแกรม GOLD v.5.7.1 (รูปที่ 3.8) ใช้ genetic algorithm หรืออัลกอริธึมทางพันธุกรรม (GA) เพื่อสำรวจความยืดหยุ่นของโครงสร้างลิแกนด์เต็มรูปแบบและความยืดหยุ่นในการหมุนของตัวรับไฮโดรเจนที่เลือก กลไกสำหรับการจัดตำแหน่งลิแกนด์ขึ้นอยู่กับการเพิ่มจุดเชื่อมต่อไปยังกลุ่มพันธะไฮโดรเจนบนโปรตีนและลิแกนด์และลิแกนด์กับจุดตัวรับในลิแกนด์บนจุดตัวให้ในโปรตีน นอกจากนี้โปรแกรม GOLD ยังสามารถสร้างจุดเชื่อมต่อ hydrophobic ในช่องโปรตีนซึ่งถูกจับคู่กับกลุ่มลิแกนด์กลุ่ม CH โดยที่ GA จะกรับความยืดหยุ่นลิแกนด์ที่เป็น dihedrals, ligand ring geometries, dihedrals ของโปรตีนกลุ่ม OH และกลุ่ม NH_3 และ mappings ของจุดที่เหมาะสม วิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งได้ถูกพัฒนาตามฟังก์ชั่นกลศาสตร์โลเมกุล

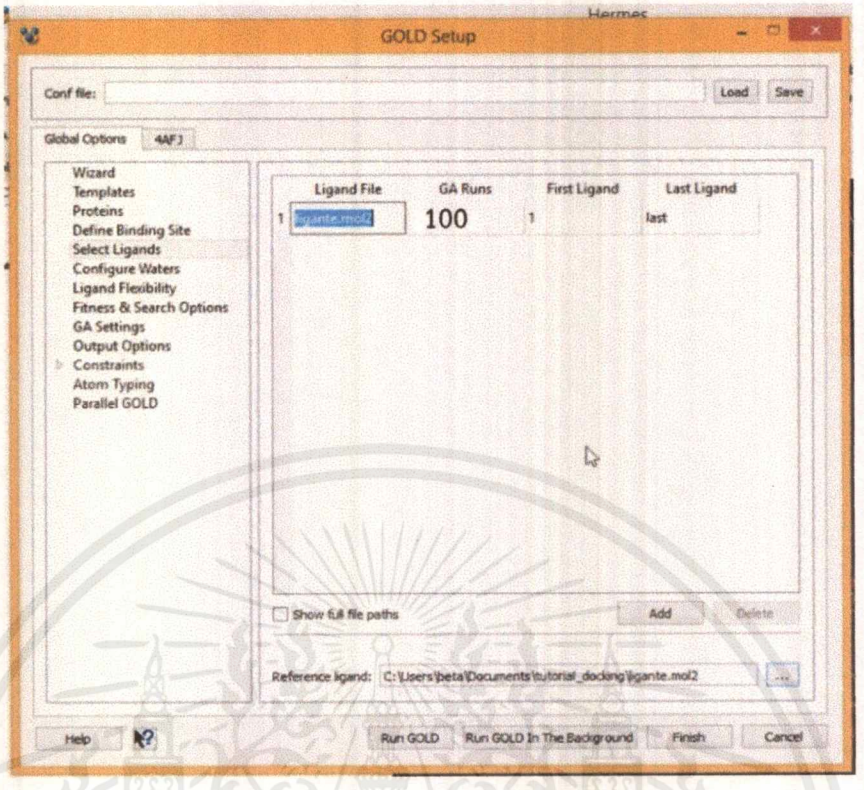


รูปที่ 3.8 โปรแกรม GOLD v.5.7.1

สำหรับ 100 independent GA runs ถูกดำเนินการแบบเดี่ยวจนครบ 100 ตัว (รูปที่ 3.9) โดยน้ำหนักสำหรับการครอสโอเวอร์ การกลายพันธ์ และการโยกย้าย ถูกกำหนดเป็นค่าเริ่มต้น เพื่อเพิ่มความเร็วในการคำนวณให้มากขึ้น GA ด็อกกิ้ง จะหยุดทำงานเมื่อโซลูชันสามอันดับแรกในระยะ 1.5 Å RMSD (Root Mean Squares Deviation) ซึ่งกันและกัน

ก่อนทำการคัดกรองสารประกอบอนุพันธ์ของสารอะมิโนควิโนลีน – ไพริมิดีน จำนวน 162 โครงสร้าง the docking protocol จะถูกทำให้สมบูรณ์หรือถูกต้อง โปรตีน 3QGT และ 3QG2 พร้อมกับลิแกนด์ถูกเชื่อมต่อแยกกันทีละตัว เข้าไปใน corresponding binding pockets เพื่อให้ได้ docked pose และ RMSD ของอะตอมทั้งหมด ระหว่างความสอดคล้องเหล่านี้ ในแต่ละกรณีคือ 1.00 Å ซึ่งบ่งชี้ว่าพารามิเตอร์สำหรับแบบจำลอง docking นั้นเพียงพอในการสร้างโครงสร้างผลึกรังสีเอ็กซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.9 การกำหนด GA Runs ให้เป็น 100 conformations

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 Quantitative Structure Activity Relationships (QSAR)

4.1.1 Statistical Analysis

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติเชิงโครงสร้างของ 162 อนุพันธ์ของสารอะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน และค่าการออกฤทธิ์ในการต่อต้านมาลาเรียของ *Pf*-DHFR ถูกนำเสนอโดยวิธี 3D-QSAR โดยใช้เทคนิค CoMFA และ CoMSIA ในการศึกษานี้มีแบบจำลอง CoMFA 10 รูปแบบของอนุพันธ์ของสารอะมิโนควิโนลีน – ไพริมิดีน ซึ่งถูกสังเคราะห์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเทียบกับ *Pf*-DHFR ชนิด D6 strain และ *Pf*-DHFR ชนิด W2 strain โดย Diwan S. Rawat และผู้ร่วมศึกษา [57-64] โดยผลลัพธ์จะแสดงในตารางที่ 4.1

โครงสร้างจำนวน 162 โครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน ถูกสร้างโดยใช้โปรแกรม Discovery Studio 2017 และทำการปรับโครงสร้างให้เหมาะสมโดยใช้โปรแกรม Gaussian 09 Revision D.01 และใช้โครงสร้างที่ 57 เป็นแม่แบบในการจัดตำแหน่ง ซึ่งวัตถุประสงค์หลักของการวิเคราะห์ CoMFA และ CoMSIA สำหรับอนุพันธ์เหล่านี้คือการหาแบบจำลองการทำนายที่ดีที่สุดเพื่อยืนยันว่าแบบจำลองใดที่แสดงความสามารถในการทำนายที่ดี

โดยแบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38, 46, 2, 121, 1, 88 ออกเป็นค่าผิดปกติ (Outlier) ให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของ PLS ของอนุพันธ์เหล่านี้ดีที่สุด แสดงแบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA ตามขนาดกำลังสองน้อยที่สุดที่แสดงในตารางที่ 4.1

จากการพิจารณาผลลัพธ์ทางสถิติในตารางที่ 4.1 พื้นฐานของแบบจำลอง 3 มิติที่มีนัยสำคัญทางสถิติในแง่ของความสามารถในการทำนาย (q^2) ซึ่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปที่ความสามารถในการทำนายสูงกว่าความแม่นยำ 50%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย PLS แบบจำลอง CoMFA ของอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน –ไพริมิดีน

CoMFA Parameters	Model 1	Model 2	Model 3	Model 4	Model 5	Model 6	Model 7	Model 8	Model 9	Model 10
NO of molecules in training set	130	129 (cpd.16)	128 (cpd.26)	127 (cpd.63)	126 (cpd.38)	125 (cpd.46)	124 (cpd.2)	123 (cpd.121)	122 (cpd.1)	121 (cpd.88)
q^2	0.310	0.323	0.340	0.362	0.391	0.420	0.455	0.470	0.495	0.506
SSE	0.353	0.333	0.329	0.319	0.288	0.281	0.252	0.248	0.228	0.227
NO of components	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
r^2	0.743	0.764	0.771	0.778	0.811	0.819	0.847	0.852	0.872	0.875
S_{press}	0.578	0.564	0.558	0.542	0.516	0.504	0.475	0.470	0.454	0.451
F value	59.260	65.648	67.974	69.944	84.954	89.177	107.546	111.587	130.965	133.007
Steric field contributions	0.575	0.580	0.578	0.587	0.583	0.591	0.601	0.598	0.597	0.598
Electrostatic field contributions	0.425	0.420	0.422	0.413	0.417	0.409	0.399	0.402	0.403	0.402
$r^2_{\text{test set}}$	0.596	0.583	0.577	0.590	0.608	0.575	0.589	0.596	0.599	0.619

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ - Model 1 ไม่มีการตัด outlier

- Model 2 มีการตัดโครงสร้างที่ 16 ออกเป็น outlier
- Model 3 มีการตัดโครงสร้างที่ 16 และ 26 ออกเป็น outlier
- Model 4 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26 และ 63 ออกเป็น outlier
- Model 5 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63 และ 38 ออกเป็น outlier
- Model 6 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38 และ 46 ออกเป็น outlier
- Model 7 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38, 46 และ 2 ออกเป็น outlier
- Model 8 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38, 46, 2 และ 121 ออกเป็น outlier
- Model 9 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38, 46, 2, 121 และ 1 ออกเป็น outlier
- Model 10 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38, 46, 2, 121, 1 และ 88 ออกเป็น outlier

จากการพิจารณาผลลัพธ์ของแบบจำลอง CoMFA พบว่าแบบจำลองที่ 10 ให้ความสามารถในการทำนายที่ดีที่สุด โดยมีค่า $q^2 = 0.506$ $r^2 = 0.875$, $r^2_{test\ set} = 0.619$, NO of components (NOC) = 6, $S_{press} = 0.451$, ข้อผิดพลาดมาตรฐานโดยประมาณ (SSE) = 0.227, F value = 133.007 และ steric field contributions = 59.8%, electrostatic field contributions = 40.2% เนื่องจากแบบจำลอง CoMFA ที่ศึกษานั้นมีค่า $q^2 < 0.6$ ดังนั้นจึงมีการทำ external validation เพิ่มเติม โดยแบบจำลองจะสามารถยอมรับได้ก็ต่อเมื่อ

1) $q^2 > 0.5$
2) $r^2 > 0.6$
3) $[(r^2 - r_0^2)/r^2] < 1$
4) $0.85 \leq k \geq 1.15$
5) $r_m^2 > 0.5$

ตารางที่ 4.2 การทำ external validation

Validation parameter	CoMFA
q^2	0.506
$r^2 > 0.6$	0.875
$0.85 \leq k \geq 1.15$	1.000
$(r^2-r_0^2)/r^2 < 0.1$	-0.143
$r_m^2 > 0.5$	0.646

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย PLS แบบจำลอง CoMSIA ของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน –ไพริมิดีน

CoMSIA Parameters	Model 1	Model 2	Model 3	Model 4	Model 5	Model 6	Model 7	Model 8	Model 9	Model 10
NO of molecules in training set	130	129 (cpd.16)	128 (cpd.26)	127 (cpd.63)	126 (cpd.38)	125 (cpd.46)	124 (cpd.2)	123 (cpd.121)	122 (cpd.1)	121 (cpd.88)
q^2	0.407	0.456	0.464	0.453	0.501	0.531	0.578	0.581	0.616	0.614
SSE	0.362	0.339	0.336	0.338	0.307	0.302	0.258	0.258	0.229	0.230
NO of components	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
r^2	0.730	0.756	0.761	0.750	0.784	0.792	0.838	0.840	0.871	0.871
S_{press}	0.536	0.506	0.503	0.500	0.467	0.453	0.418	0.418	0.396	0.398
F value	55.352	62.901	64.189	60.007	72.053	74.787	101.205	101.259	129.876	128.652
Steric field contributions	0.147	0.147	0.147	0.153	0.155	0.155	0.155	0.154	0.153	0.153
Electrostatic field contributions	0.222	0.221	0.220	0.194	0.193	0.191	0.188	0.187	0.185	0.185
Hydrogen acceptor contributions	0.242	0.241	0.240	0.238	0.240	0.244	0.244	0.244	0.242	0.242
Hydrogen donor contributions	0.190	0.194	0.195	0.205	2.206	0.204	0.213	0.213	0.221	0.221
Hydrophobic contributions	0.199	0.198	0.198	0.210	0.207	0.206	0.201	0.201	0.198	0.199
$r^2_{\text{test set}}$	0.335	0.333	0.338	0.403	0.408	0.370	0.376	0.392	0.394	0.394

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ - Model 1 ไม่มีการตัด outlier

- Model 2 มีการตัดโครงสร้างที่ 16 ออกเป็น outlier
- Model 3 มีการตัดโครงสร้างที่ 16 และ 26 ออกเป็น outlier
- Model 4 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26 และ 63 ออกเป็น outlier
- Model 5 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63 และ 38 ออกเป็น outlier
- Model 6 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38 และ 46 ออกเป็น outlier
- Model 7 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38, 46 และ 2 ออกเป็น outlier
- Model 8 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38, 46, 2 และ 121 ออกเป็น outlier
- Model 9 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38, 46, 2, 121 และ 1 ออกเป็น outlier
- Model 10 มีการตัดโครงสร้างที่ 16, 26, 63, 38, 46, 2, 121, 1 และ 88 ออกเป็น outlier

จากการพิจารณาผลลัพธ์ของแบบจำลอง CoMSIA พบว่าแบบจำลองที่ 10 ให้ความสามารถในการทำนายที่ดี มีค่า q^2 = 0.614 r^2 = 0.871, $r^2_{test\ set}$ = 0.394, NO of components (NOC) = 6, Spress = 0.398, ข้อผิดพลาดมาตรฐานโดยประมาณ (SSE) = 0.230, F value = 128.652

ผลลัพธ์ทางสถิติ CoMFA และ CoMSIA ที่ได้สามารถนำมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพในการทำนายค่า *p*IC50 ของ test set โดยผลต่างระหว่างค่า pIC_{50} ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการทำนายควรมีค่าไม่เกิน 0.8 ซึ่งผลลัพธ์เหล่านี้ถูกสรุปไว้ในตารางที่ 4.4 และ 4.5 มีการพล็อตกราฟเส้นตรงระหว่างค่า pIC_{50} ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากทำนายของอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีนโดยแบบจำลอง CoMFA จะมีแบบจำลองที่ 10 ซึ่งเป็นแบบจำลองได้รับเลือกสำหรับการทำ contour map และการทำนายค่าการยับยั้งใหม่

ตารางที่ 4.4 ค่า pIC_{50} ที่ได้จากการทดลอง (Act) กับค่าที่ได้จากการทำนาย (Pred) และค่าผลต่าง (Δ) ของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน ในแบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA

Comp	Act pIC50	CoMFA Model 10		CoMSIA Model 10	
		Pred pIC50	Δ	Pred pIC50	Δ
9	7.553	7.231	-0.382	7.255	-0.298
10	7.328	7.363	-0.072	7.275	-0.053
11	7.310	7.210	-0.149	7.235	-0.075
12	6.815	7.242	0.405	7.298	0.483
15	7.357	6.984	-0.541	7.179	-0.177
25	7.252	7.487	-0.043	7.323	0.071
30	7.237	7.116	-0.222	7.305	0.068
31	7.222	7.093	-0.190	7.279	0.057

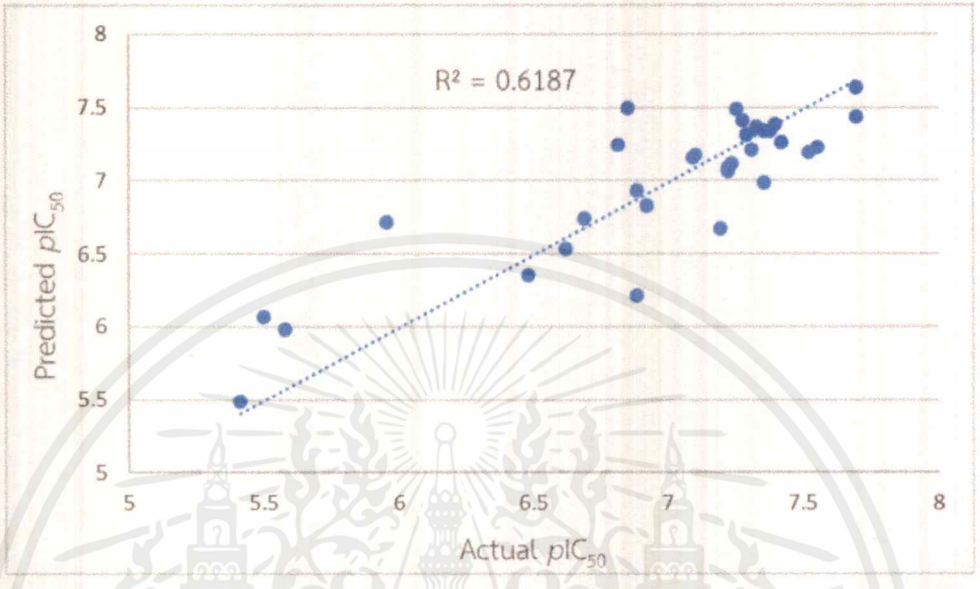
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

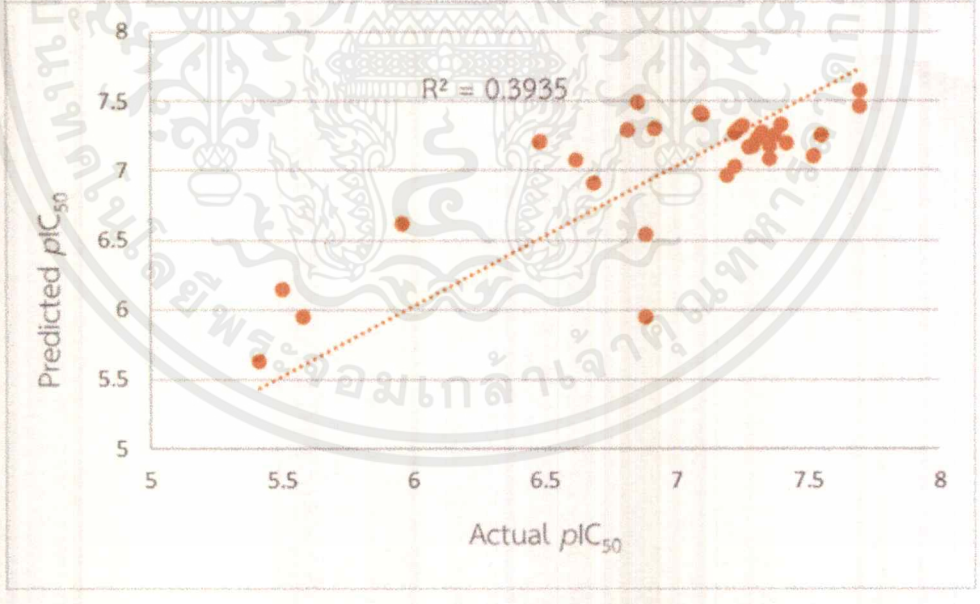
Comp	Act pIC50	CoMFA Model 10		CoMSIA Model 10	
		Pred pIC50	Δ	Pred pIC50	Δ
44	6.481	6.356	-0.031	7.208	0.726
45	6.921	6.827	-0.179	7.302	0.381
48	6.620	6.535	-0.065	7.083	0.463
50	6.854	7.496	0.429	7.494	0.640
62	7.699	7.639	0.070	7.578	-0.121
71	5.412	5.484	0.129	5.632	0.220
76	5.578	5.983	0.465	5.947	0.369
81	5.499	6.068	0.604	6.146	0.647
84	6.886	6.211	-0.650	5.948	-0.938
87	7.194	6.677	-0.535	6.967	-0.227
102	7.377	7.342	0.031	7.255	-0.122
103	7.222	7.067	-0.164	7.034	-0.188
104	7.357	7.343	0.017	7.086	-0.271
109	7.276	7.408	0.036	7.17	-0.105
112	5.955	6.721	0.744	6.62	0.665
118	7.699	7.435	-0.178	7.463	-0.236
122	7.398	7.388	-0.084	7.329	-0.069
126	7.523	7.191	-0.330	7.108	-0.415
129	6.886	6.936	0.042	6.54	-0.346
136	7.292	7.314	0.080	7.178	-0.115
139	6.690	6.745	-0.001	6.908	0.217
153	7.420	7.266	-0.159	7.196	-0.224
159	7.102	7.177	-0.032	7.409	0.307
160	7.092	7.161	-0.037	7.419	0.327

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.4 รูปที่ 4.1 และ 4.2 จะเห็นว่าค่า pIC_{50} ที่ได้จากการทำนายของอนุพันธ์เหล่านี้ใกล้เคียงกับค่า $pIC50$ จากการทดลอง จึงถือว่าวิธีนี้สามารถให้แนวทางที่เป็นประโยชน์ในการออกแบบและทำนายความสัมพันธ์ของตัวยับยั้งของอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีนตัวใหม่ที่มีค่าการออกฤทธิ์ยับยั้งมาลาเรียที่ดีเพื่อนำไปปรับปรุงโครงสร้างของสารก่อนการสังเคราะห์



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pIC_{50} ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการทำนายของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน–ไพริมิดีนในแบบจำลอง CoMFA

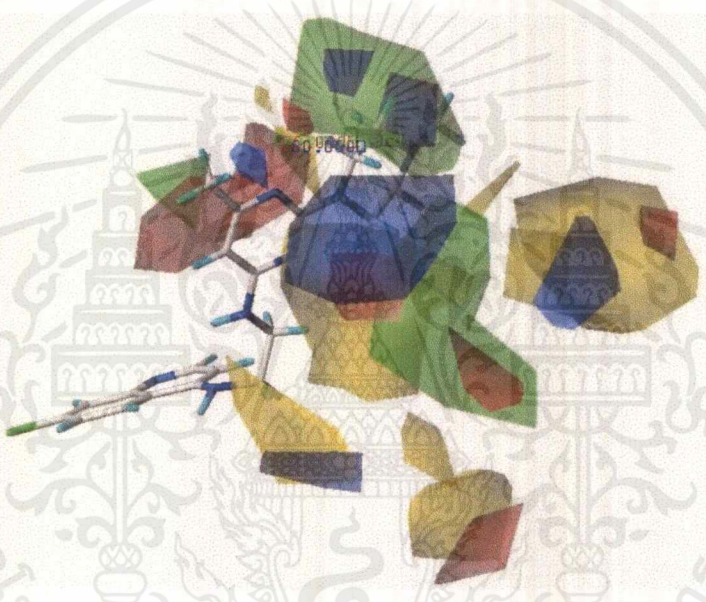


รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pIC_{50} ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการทำนายของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน–ไพริมิดีนในแบบจำลอง CoMSIA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 CoMFA Contour Analyses

การวิเคราะห์ CoMFA แสดงการมีส่วนร่วมของสนามพลังงานในแต่ละจุด lattice ที่มีหลายร้อยหลายพันจุด โดยปกติจะแสดงเป็นผลิตภัณฑ์สเกลาร์ของสัมประสิทธิ์ที่เกี่ยวข้องและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทั้งหมดในคอลัมน์ที่สอดคล้องกันของตารางข้อมูล (STDEV * COEFF) โครงร่างที่มีปฏิกิริยาเกี่ยวกับ steric และ electrostatic ยิ่งไปกว่านั้น contour map สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งการยึดจับของตัวยาเป้าหมาย ในการศึกษานี้ CoMFA contour map ของแบบจำลองที่ 10 ของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีน ถูกรวมเข้ากับ 4 Å ของ pocket binding เทมเพลตโครงสร้างที่ 57 จะแสดงเป็นตัวยับยั้งใน CoMFA contour map โดยใน CoMFA contour map จะมีการวิเคราะห์คุณสมบัติเกี่ยวกับ steric และ electrostatic ตามการจัดตำแหน่งของโครงสร้างที่บริเวณ binding conformation จะแสดงเป็น contour map ดังรูปที่ 4.3

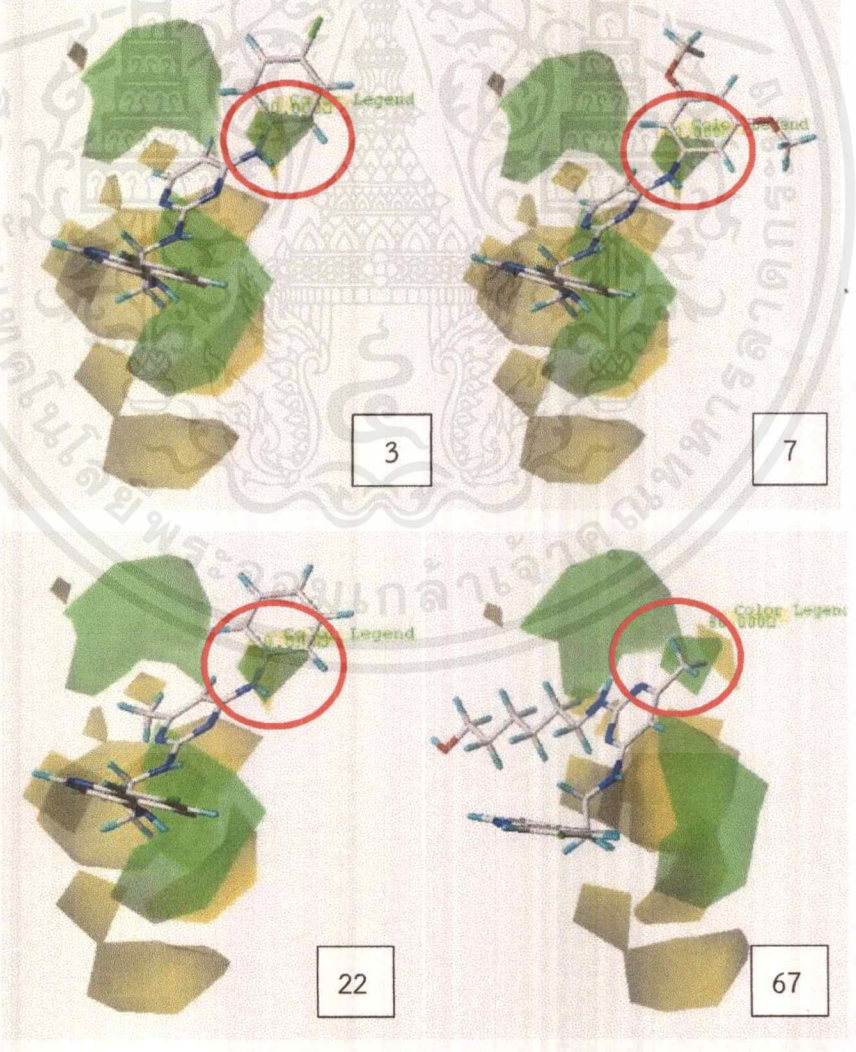


รูปที่ 4.3 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับภาพรวมของ CoMFA contour map ของโครงสร้างที่ 57

ในการอธิบายเกี่ยวกับ CoMFA contour map จะมีการอธิบายเกี่ยวกับคุณสมบัติของ steric และ electrostatic โดยในส่วนของการอธิบาย steric จะมีสัญลักษณ์สี 2 สีเกิดขึ้น ได้แก่ สีเขียว หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆจะต้องมีความเกะกะหรือเป็นหมู่ที่มีโครงสร้างใหญ่ และสีเหลือง หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆ จะต้องไม่มีความเกะกะหรือเป็นหมู่ที่มีโครงสร้างเล็ก และในส่วนของการอธิบาย electrostatic จะมีสัญลักษณ์สีเกิดขึ้น 2 สี ได้แก่ สีน้ำเงิน หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆจะต้องมีความเป็นบวก (positive charge) และสีแดง หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆจะต้องมีความเป็นลบ (negative charge) แสดงดังรูปที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

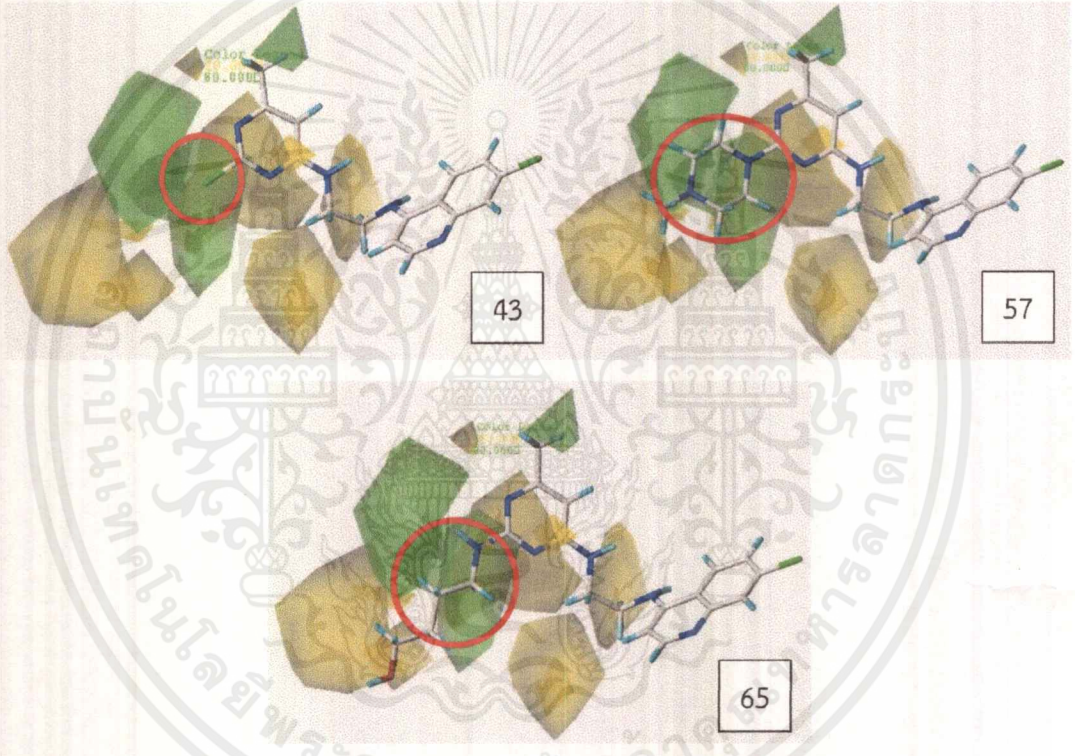
ในการศึกษาเกี่ยวกับ steric field ของโมเดล CoMFA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 2 จากรูปจะเห็นได้ว่ามีสัญลักษณ์สีเขียวเกิดขึ้นที่ตำแหน่งหมู่แทนที่ R_1 ซึ่งหมายความว่า R_1 ควรเป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่หรือมีความเกะกะ แต่จาก map ที่เกิดขึ้นและจากการดูภาพรวมของค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ของทุกโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 2 ทำให้เห็นว่าอิทธิพลของหมู่แทนที่ R_1 มีผลในการเปลี่ยนแปลงค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพค่อนข้างน้อย เมื่อเพิ่มความเกะกะของหมู่แทนที่ค่าจะทำให้การออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ยกตัวอย่างเช่นเมื่อดูจากรูปของโครงสร้างที่ 22 หมู่แทนที่ R_1 เป็น NH-Ph (pIC_{50} = 7.301) โครงสร้างที่ 67 หมู่แทนที่ R_1 เป็น methyl (pIC_{50} = 7.301) โครงสร้างที่ 3 หมู่แทนที่ R_1 เป็น NH-4-Cl,Ph (pIC_{50} = 7.328) และโครงสร้างที่ 7 หมู่แทนที่ R_1 เป็น NH-3,5-OCH_3,Ph (pIC_{50} = 7.481) จะเห็นได้ว่าค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโครงสร้างที่ 22 และ 67 ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าโครงสร้างทั้งหมดที่มี n=2 ควรจะมีการแทนที่ของ R_1 หมู่แทนที่ที่มีความเกะกะที่จะเข้ามาแทนที่ที่ตำแหน่งนี้โดยหมู่ที่เล็กที่สุดควรจะเป็นหมู่ methyl อาจเป็นเพราะผลของ steric หรือ electrostatic ของตำแหน่ง R_2 มีอิทธิพลมากกว่า (รูปที่ 4.4)



รูปที่ 4.4 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 3, 7, 22 และ 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

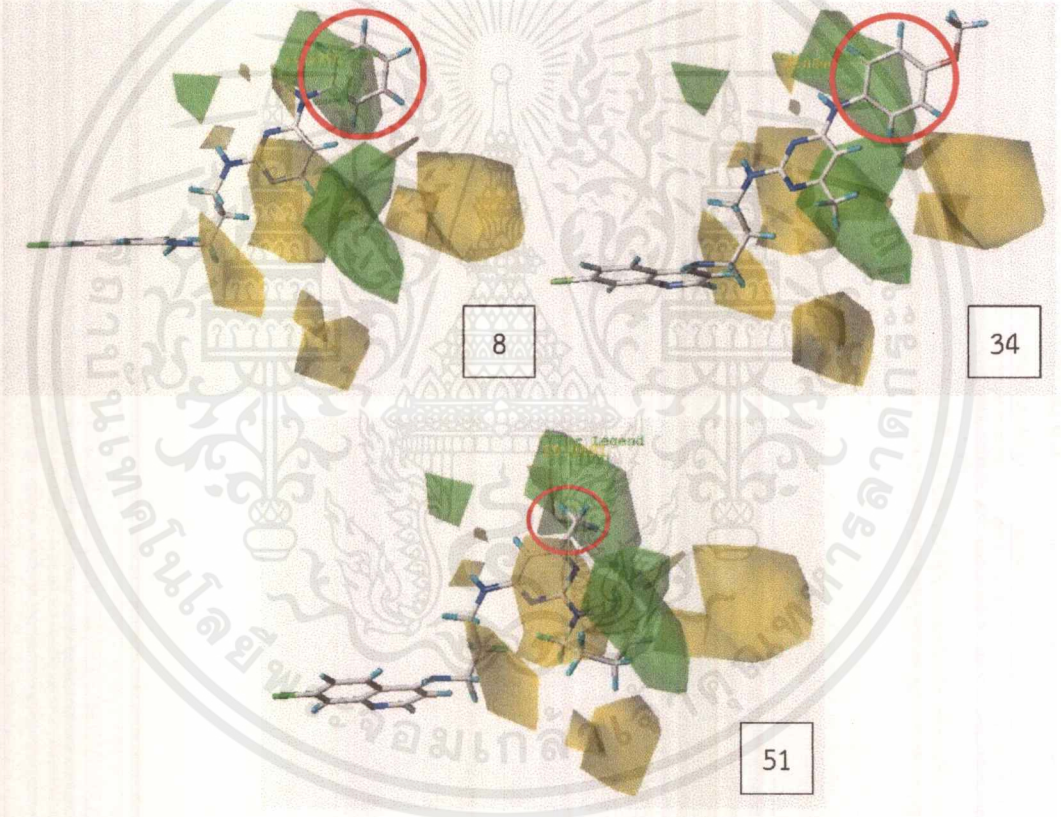
ในการศึกษาเกี่ยวกับ steric field ของโมเดล CoMFA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 2 พบว่า ณ ตำแหน่งหมู่แทนที่ R_2 มีสัญลักษณ์สีเขียวเกิดขึ้น หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่ ณ ตำแหน่งนั้นๆควรจะมีความเกะกะหรือเป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งจะเห็นได้ว่า โครงสร้างที่ 43 หมู่แทนที่ R_2 เป็น chloro (pIC_{50} = 6.796) โครงสร้างที่ 65 หมู่แทนที่ R_2 เป็น NH-$(CH_2)_4OH$ (pIC_{50} = 6.921) และโครงสร้างที่ 57 หมู่แทนที่ R_2 เป็น *N*-Me piperazine (pIC_{50} = 8.301) จึงส่งผลให้ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโครงสร้างที่ 57 มีค่าที่ดีที่สุด เนื่องจากหมู่แทนที่ R_2 ถือเป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่ ส่วนหมู่แทนที่ของโครงสร้างที่ 65 มีค่า การออกฤทธิ์ทางชีวภาพอยู่ในระดับปานกลาง และหมู่แทนที่ของโครงสร้างที่ 43 มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่ำที่สุด เนื่องจากหมู่แทนที่ R_2 ถือเป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดเล็ก (รูปที่ 4.5)



รูปที่ 4.5 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 43, 57 และ 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

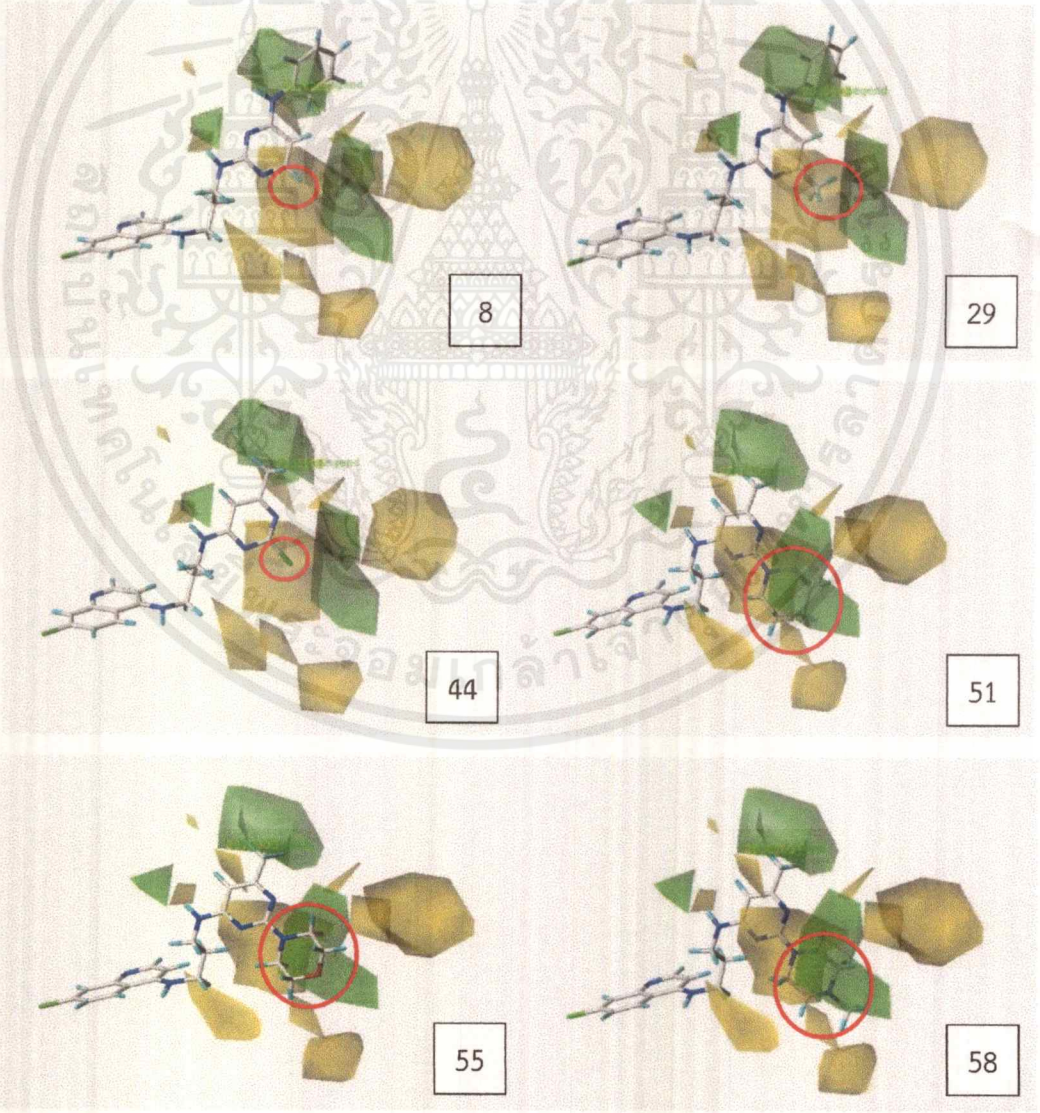
ในการพิจารณาเกี่ยวกับ steric field ของโมเดล CoMFA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 3 จากรูปจะเห็นได้ว่ามีสัญลักษณ์สีเขียวเกิดขึ้นที่ตำแหน่งหมู่แทนที่ R_1 ซึ่งหมายความว่า R_1 ควรเป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่หรือมีความเกะกะ แต่จาก map ที่เกิดขึ้นและจากการดูภาพรวมของค่า การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ของทุกโครงสร้างที่ n = 3 ทำให้เห็นว่าอิทธิพลของหมู่แทนที่ R_1 มีผลในการเปลี่ยนแปลงค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพค่อนข้างน้อย เมื่อดูจากรูปของโครงสร้างที่ 34 หมู่แทนที่ R_1 เป็น NH-4-OCH_3,Ph (pIC_{50} = 7.469) โครงสร้างที่ 51 หมู่แทนที่ R_1 เป็น methyl (pIC_{50} = 7.699) โครงสร้างที่ 8 หมู่แทนที่ R_1 เป็น NH-Ph (pIC_{50} = 7.721) จะเห็นได้ว่าค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มีค่าใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันมาก ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าโครงสร้างทั้งหมดที่มี N = 3 จะมีการแทนที่ของ R_1 หมู่แทนที่ที่มีความเกะกะที่จะเข้ามาแทนที่ที่ตำแหน่งนี้ขั้นต่ำควรจะเป็น methyl (รูปที่ 4.6)



รูปที่ 4.6 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 8, 34 และ 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

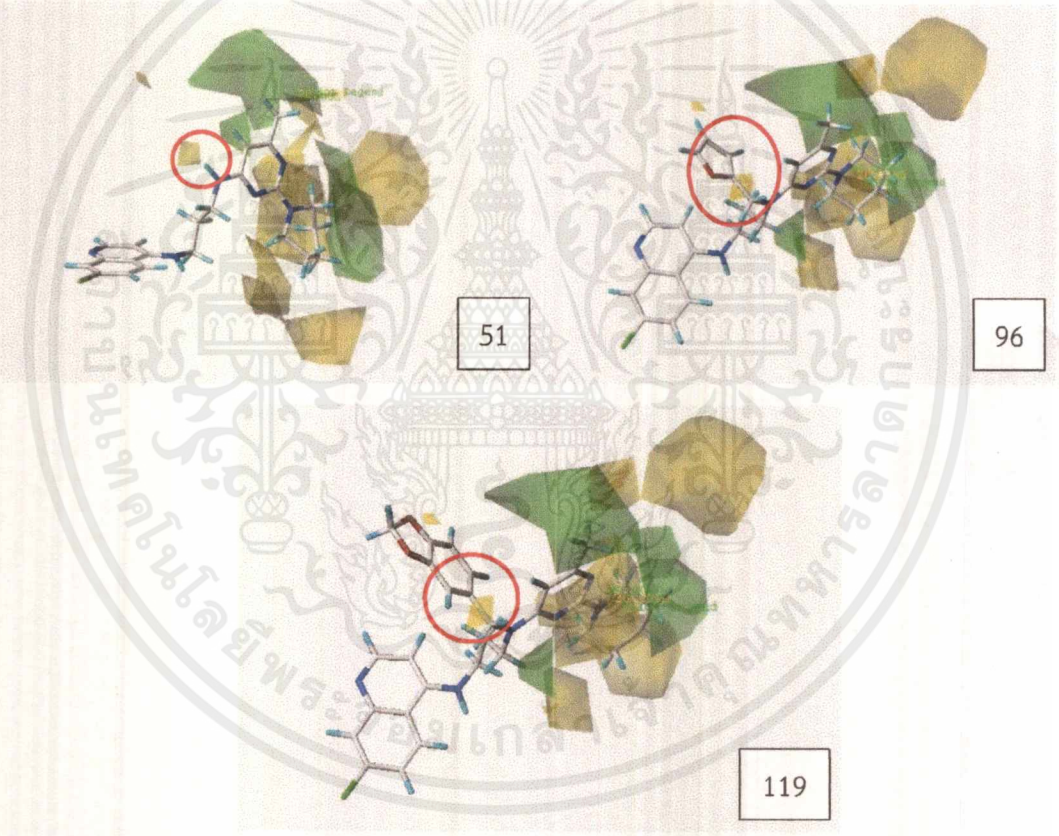
ในการพิจารณาเกี่ยวกับ steric field ของโมเดล CoMFA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 3 จากรูปจะเห็นได้ว่ามีสัญลักษณ์สีเขียวและสีเหลืองเกิดขึ้นที่ตำแหน่งหมู่แทนที่ R_2 ซึ่งหมายความว่า R_2 เป็นไปได้ทั้งหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่หรือมีความเกะกะ และเป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดเล็ก ไม่มีความเกะกะ โดยจะขึ้นอยู่กับตำแหน่งของ R_2 ถ้าหาก R_2 เป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดเล็กหรือไม่มีความเกะกะ ดังโครงสร้างที่ 44 หมู่แทนที่ R_2 เป็น chloro (pIC_{50} = 6.841) โครงสร้างที่ 29 หมู่แทนที่ R_2 เป็น methyl (pIC_{50} = 7.292) และโครงสร้างที่ 8 หมู่แทนที่ R_2 เป็น H (pIC_{50} = 7.721) จะทำให้ตำแหน่งของ R_2 อยู่ตรงบริเวณของสัญลักษณ์สีเหลือง ทำให้มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่สูงได้ เพราะสีเหลือง หมายความว่าไม่ชอบความเกะกะ แต่ถ้าหาก R_2 เป็นหมู่ที่มีขนาดใหญ่ มีการเพิ่มวงหรือเพิ่มกิ่งก้าน ทำให้โครงสร้างที่ความเกะกะมากขึ้น ดังโครงสร้างที่ 51 หมู่แทนที่ R_2 เป็น piperidine (pIC_{50} = 7.699), โครงสร้างที่ 55 หมู่แทนที่ R_2 เป็น morpholine (pIC_{50} = 7.699), โครงสร้างที่ 58 หมู่แทนที่ R_2 เป็น *N*-Me piperazine (pIC_{50} = 8.155) และโครงสร้างที่ 61 หมู่แทนที่ R_2 เป็น *N*-Et piperazine (pIC_{50} = 8.222) จะทำให้ตำแหน่งของ R_2 อยู่ตรงบริเวณของสัญลักษณ์สีเขียว ทำให้มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงได้เช่นกัน (รูปที่ 4.7)



รูปที่ 4.7 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 8, 29, 44, 51, 55 และ 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

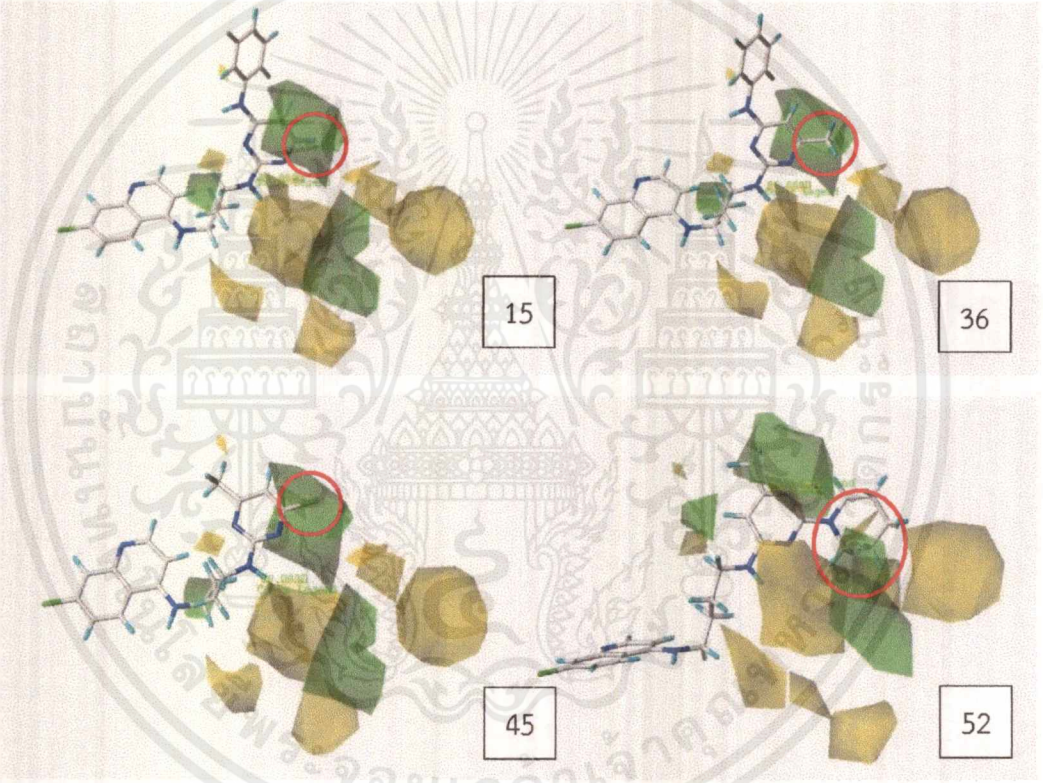
ในการศึกษาเกี่ยวกับ steric field ของโมเดล CoMFA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 3 พิจารณาตำแหน่งหมู่แทนที่ X มีสัญลักษณ์สีเหลืองเกิดขึ้น หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่ ณ ตำแหน่งนั้นๆควรเป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดเล็ก เป็นหมู่แทนที่ที่ไม่มีความเกะกะ ซึ่งจะเห็นได้ว่าโครงสร้างที่ 119 หมู่แทนที่ X เป็น N-furfural ring (*p*IC50 = 6.824) ส่วนโครงสร้างที่ 96 หมู่แทนที่ X เป็น N-piperonyl (*p*IC50 = 7.367) และโครงสร้างที่ 51 หมู่แทนที่ X เป็น H (*p*IC50 = 7.699) จากการเปรียบเทียบหมู่แทนที่ X ส่งผลให้ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโครงสร้างที่ 51 มีค่าที่ดีที่สุด เนื่องจากหมู่แทนที่ X บริเวณที่มีสีเหลืองเกิดขึ้น โครงสร้างของ H เป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดเล็กกว่า มีความเกะกะน้อยกว่า N-piperonyl และ N-furfural ring ส่วนหมู่แทนที่ ของโครงสร้างที่ 96 มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพอยู่ในระดับปานกลาง และหมู่แทนที่ของโครงสร้างที่ 119 มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่ำที่สุด เนื่องจากหมู่แทนที่ X เป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่กว่า มีความเกะกะมากกว่า (รูป 4.8)



รูปที่ 4.8 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 51, 96 และ 119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

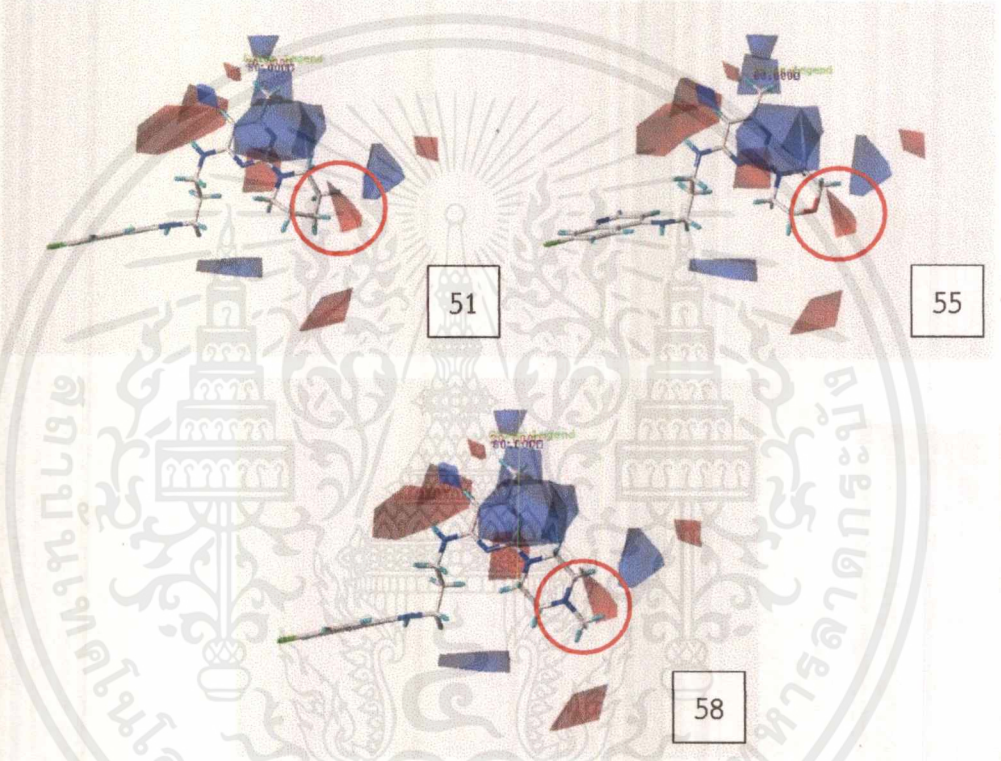
ในการศึกษาเกี่ยวกับ steric field ของโมเดล CoMFA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 4 พิจารณาตำแหน่งหมู่แทนที่ R_2 มีสัญลักษณ์สีเขียวเกิดขึ้นบน map หมายความว่าหมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่ ณ ตำแหน่งนั้นๆควรเป็นหมู่แทนที่ที่มีความเกะกะ เป็นหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่ แต่จากโครงสร้างที่ 45 หมู่แทนที่ R_2 เป็น chloro (pIC_{50} = 6.921) โครงสร้างที่ 36 หมู่แทนที่ R_2 เป็น methyl (pIC_{50} = 7.131) โครงสร้างที่ 15 หมู่แทนที่ R_2 เป็น H (pIC_{50} = 7.357) และโครงสร้างที่ 52 หมู่แทนที่ R_2 เป็น piperidine (pIC_{50} = 7.699) ทำให้ R_2 ไม่มีผลกับการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เนื่องจากไม่ว่า R_2 จะเป็น H, methyl หรือหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่กว่า ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีค่าไม่คงที่อาจเป็นเพราะผลของ electrostatic ส่งผลกับตำแหน่งนี้มากกว่า (รูปที่ 4.9)



รูปที่ 4.9 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ steric field ของโครงสร้างที่ 15, 36, 49 และ 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

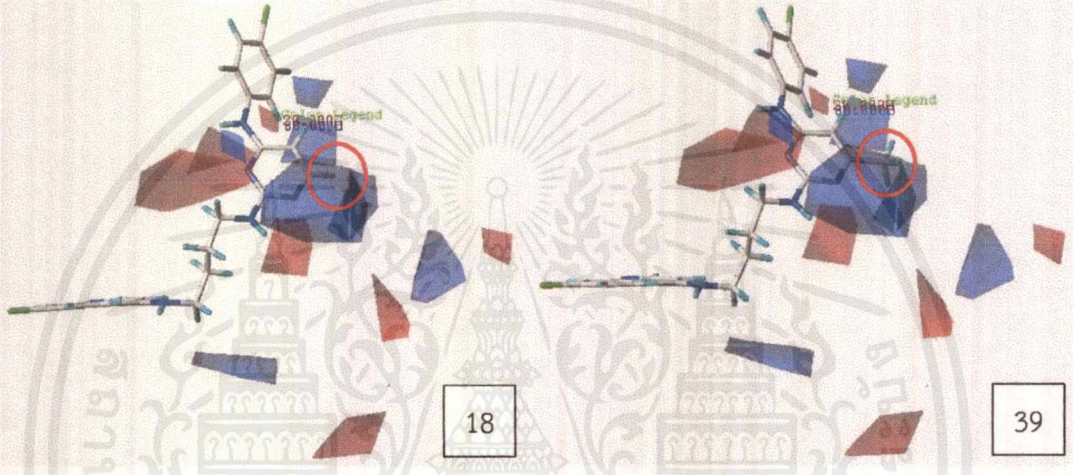
ในการศึกษาเกี่ยวกับ electrostatic field ของโมเดล CoMFA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 3 พิจารณาหมู่แทนที่ R_2 มีสัญลักษณ์สีแดงเกิดขึ้น หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่ ณ ตำแหน่งนั้นๆควรเป็นหมู่แทนที่ที่มีความเป็นลบ ดังโครงสร้างที่ 51 หมู่แทนที่ R_2 เป็น piperidine (pIC_{50} = 7.699) โครงสร้างที่ 55 หมู่แทนที่ R_2 เป็น morpholine (ค่า pIC_{50} = 7.699) และโครงสร้างที่ 58 หมู่แทนที่ R_2 เป็น *N*-Me piperazine (pIC_{50} = 8.155) โดยถ้าหากหมู่แทนที่ R_2 มีโครงสร้างเป็นหมู่ที่มีขนาดใหญ่หรือมีโครงสร้างเป็นวงควรจะมีออกซิเจนหรือไนโตรเจนอยู่ในวง จะทำให้ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงขึ้น



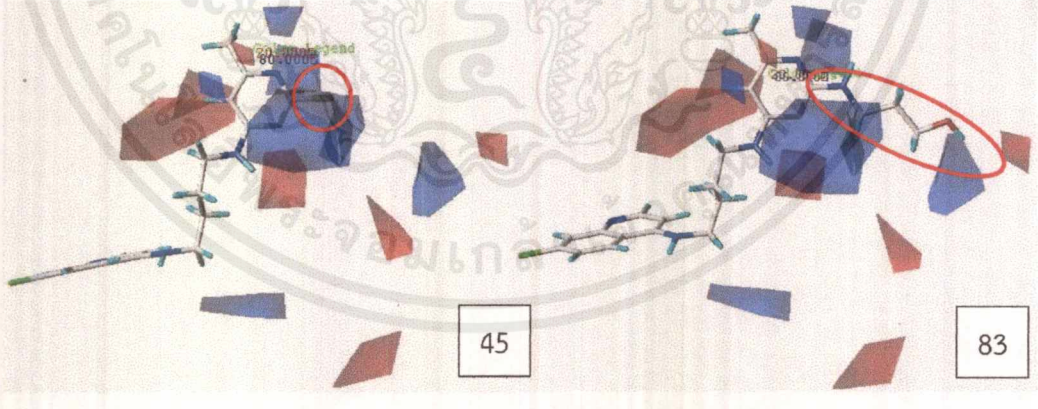
รูปที่ 4.10 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ electrostatic field ของโครงสร้างที่ 51, 55 และ 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการศึกษาเกี่ยวกับ electrostatic field ของโมเดล CoMFA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 4 พิจารณาตำแหน่งหมู่แทนที่ R_2 มีสัญลักษณ์สีน้ำเงินเกิดขึ้น หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่ ณ ตำแหน่งนั้นๆควรเป็นหมู่แทนที่ที่มีความเป็นบวก โดยเมื่อนำโครงสร้างที่ 83 หมู่แทนที่ R_2 เป็น $NH\text{-}(CH_2)_3OH$ (pIC_{50} = 6.770) โครงสร้างที่ 45 หมู่แทนที่ R_2 เป็น chloro (pIC_{50} = 6.921) โครงสร้างที่ 18 หมู่แทนที่ R_2 เป็น H (pIC_{50} = 7.328) และโครงสร้างที่ 39 หมู่แทนที่ R_2 เป็น methyl (pIC_{50} = 7.347) มาเปรียบเทียบกัน จะเห็นได้ว่าเมื่อโครงสร้างมีหมู่แทนที่ที่เป็น Chloro หรือ $NH\text{-}(CH_2)_3OH$ จะส่งผลให้โครงสร้างนั้นมีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง (รูปที่ 4.11 และ 4.12)



รูปที่ 4.11 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ electrostatic field ของโครงสร้างที่ 18 และ 39



รูปที่ 4.12 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ electrostatic field ของโครงสร้างที่ 45 และ 83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

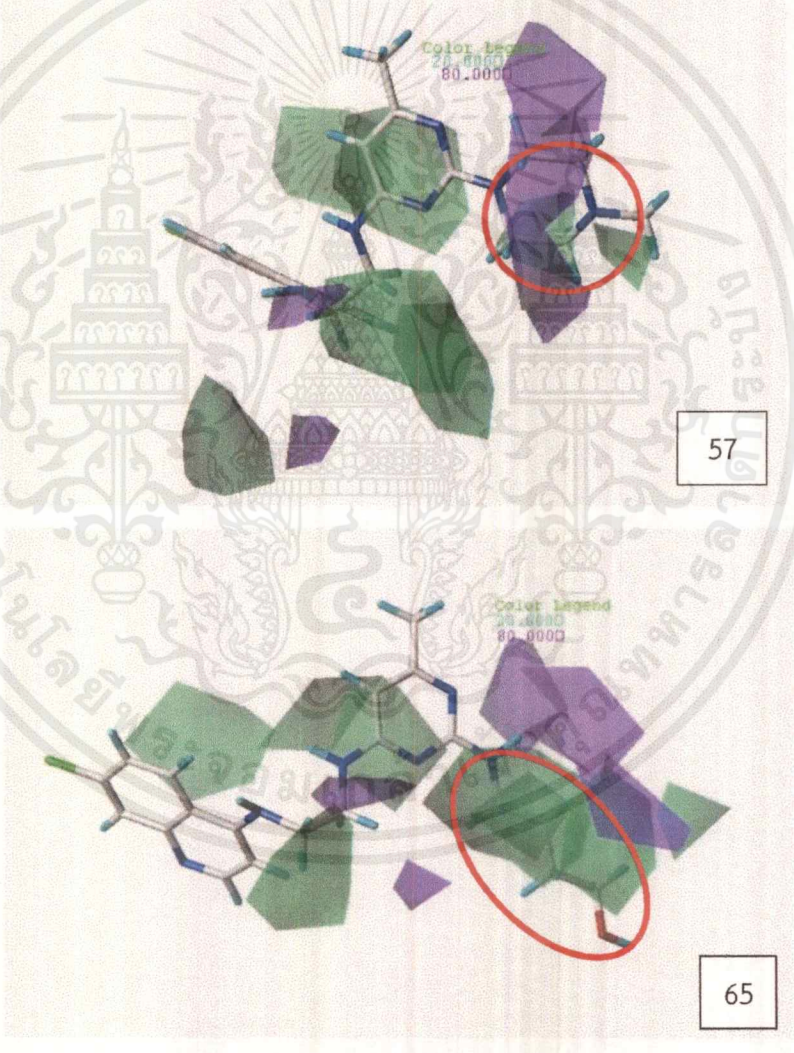
4.1.3 CoMSIA Contour Analyses

การวิเคราะห์ CoMSIA แสดงการมีส่วนร่วมของสนามพลังงานในแต่ละจุด lattice ที่มีหลายร้อยหลายพันจุด โดยปกติจะแสดงเป็นผลิตภัณฑ์สเกลาร์ของสัมประสิทธิ์ที่เกี่ยวข้องและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทั้งหมดในคอลัมน์ที่สอดคล้องกันของตารางข้อมูล (STDEV * COEFF) โครงร่างที่มีปฏิกิริยาเกี่ยวกับ steric, electrostatic, hydrogen acceptor, hydrogen donor และ hydrophobic ยิ่งไปกว่านั้น contour map สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งการยึดจับของตัวยาเป้าหมาย ในการศึกษานี้ CoMSIA contour map ของ แบบจำลองที่ 10 ของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีน ถูกรวมเข้ากับ 4 Å ของ pocket binding เทมเพลตโครงสร้างที่ 57 จะแสดงเป็นตัวยับยั้งใน CoMSIA contour map โดยใน CoMSIA contour map จะมีการวิเคราะห์คุณสมบัติเกี่ยวกับ steric, electrostatic, hydrogen acceptor, hydrogen donor และ hydrophobic ตามการจัดตำแหน่งของโครงสร้างที่บริเวณ binding conformation จะแสดงเป็น contour map

ในการอธิบายเกี่ยวกับ CoMSIA contour map จะมีการอธิบายเกี่ยวกับคุณสมบัติของ steric electrostatic เช่นเดียวกับ CoMFA contour map แต่จะมีการอธิบายเกี่ยวกับคุณสมบัติเพิ่มเติม 3 คุณสมบัติ ได้แก่ hydrogen acceptor, hydrogen donor และ hydrophobic โดยในส่วนของการอธิบาย hydrophobic จะมีสัญลักษณ์สี 2 สีเกิดขึ้น ได้แก่ สี green-blue หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆจะต้องมีความชอบน้ำ (hydrophilic) อยู่ในโครงสร้าง และสี violet หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆ จะต้องมีความไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) อยู่ในโครงสร้าง ในส่วนของการอธิบาย hydrogen donor จะมีสัญลักษณ์สีเกิดขึ้น 2 สี ได้แก่ สี cyan หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆ จะต้องมีความเป็น hydrogen bond donor และสี purple หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆ จะต้องไม่มีความเป็น hydrogen bond donor และในส่วนของการอธิบาย hydrogen acceptor จะมีสัญลักษณ์สีเกิดขึ้น 2 สี ได้แก่ สี magenta หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆ จะต้องมีความเป็น hydrogen bond acceptor และสี orange หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนั้นๆ จะต้องไม่มีความเป็น hydrogen bond acceptor

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

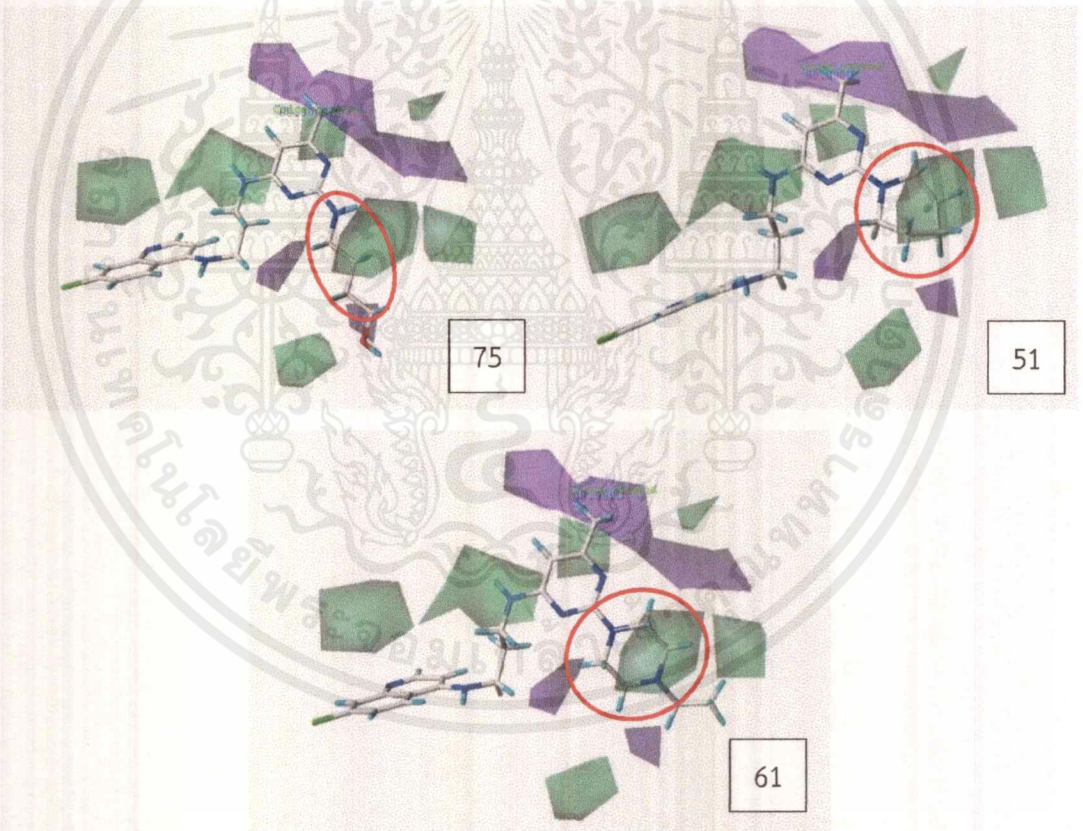
ในการศึกษาเกี่ยวกับ hydrophobic field ของโมเดล CoMSIA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 2 เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างที่ 57 หมู่แทนที่ R_2 เป็น *N*-Me piperazine (pIC_{50} = 8.301) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด เมื่ออ้างอิงจากโครงสร้างที่ 57 ณ ตำแหน่งหมู่แทนที่ R_2 มีสัญลักษณ์สีม่วงเกิดขึ้น จะเห็นได้ว่า หมู่แทนที่ R_2 ควรเป็นวงไฮโดรคาร์บอนที่เป็น hydrophobic นอกจากนั้นยังมีสัญลักษณ์สีเขียวเกิดขึ้นที่ตำแหน่งของ N ในวงของ *N*-Me piperazine เนื่องจากไนโตรเจนมีความมีขั้ว ทำให้แปลผลได้ว่า หมู่แทนที่ R_2 ควรมีธาตุที่มีความมีขั้วอยู่ในโครงสร้าง เมื่อเปรียบเทียบกับโครงสร้างที่ 65 หมู่แทนที่ R_2 เป็น NH-$(CH_2)_4$OH (pIC_{50} = 6.921) จะเห็นได้ว่าบริเวณหมู่แทนที่ R_2 เกิดสีเขียว ซึ่งเป็น hydrophilic จึงทำให้ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง เนื่องจากสายโซ่คาร์บอนจะมีความเป็น hydrophobic อยู่ในโครงสร้าง (รูปที่ 4.13)



รูปที่ 4.13 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrophobic field ของโครงสร้างที่ 57 และ 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

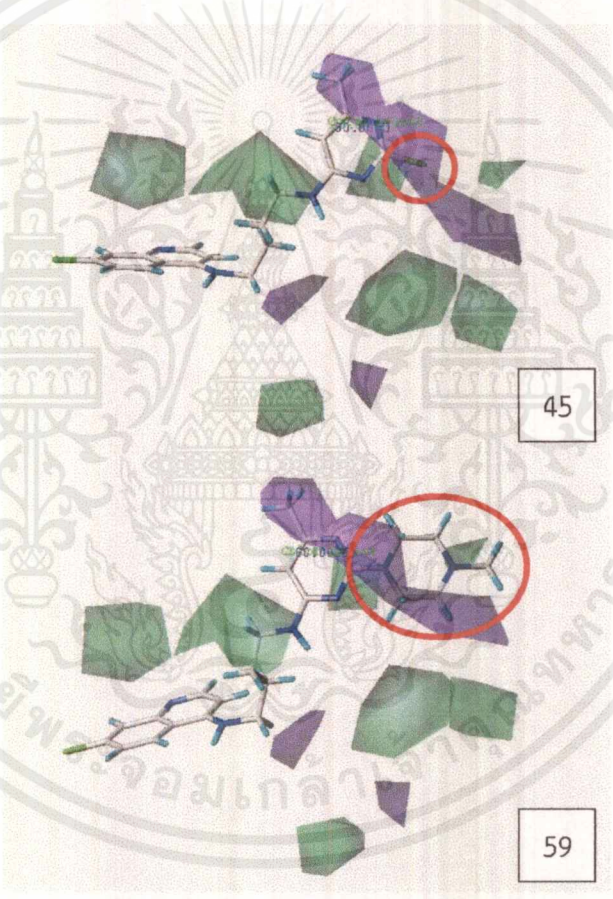
ในการศึกษาเกี่ยวกับ hydrophobic field ของโมเดล CoMSIA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 3 พิจารณาจากโครงสร้างที่ 61 หมู่แทนที่ R_1 เป็น methyl และมีหมู่แทนที่ R_2 เป็น *N*-Et piperazine (pIC_{50} = 8.222) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด เมื่ออ้างอิงจากโครงสร้างที่ 61 ณ ตำแหน่งหมู่แทนที่ R_1 มีสัญลักษณ์สีม่วงเกิดขึ้น ทำให้สามารถแปลผลได้ว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนี้ ควรจะเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีความเป็น hydrophobic ส่วนตำแหน่งหมู่แทนที่ R_2 มีสัญลักษณ์สีเขียวเกิดขึ้น แปลผลได้ว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนี้ ควรจะมีโครงสร้างเป็นวงที่มี N หรือ O อยู่ในโครงสร้างจะทำให้วงมีความเป็น hydrophilic และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับโครงสร้างที่ 75 หมู่แทนที่ R_2 เป็น NH-$(CH_2)_4$OH (pIC_{50} = 5.511) พบว่า หมู่แทนที่ R_2 มีสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนซึ่งมีความเป็น hydrophobic ทำให้ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง และเปรียบเทียบกับโครงสร้างที่ 51 หมู่แทนที่ R_2 เป็น piperidine (pIC_{50} = 7.699) หมู่แทนที่ R_2 ตรงบริเวณสีเขียว มีการแทนที่ด้วย N ในวงเพียง 1 ตำแหน่ง จึงอาจจะทำให้ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีค่าลดลง (รูป 4.14)



รูปที่ 4.14 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrophobic field ของโครงสร้างที่ 75, 51 และ 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

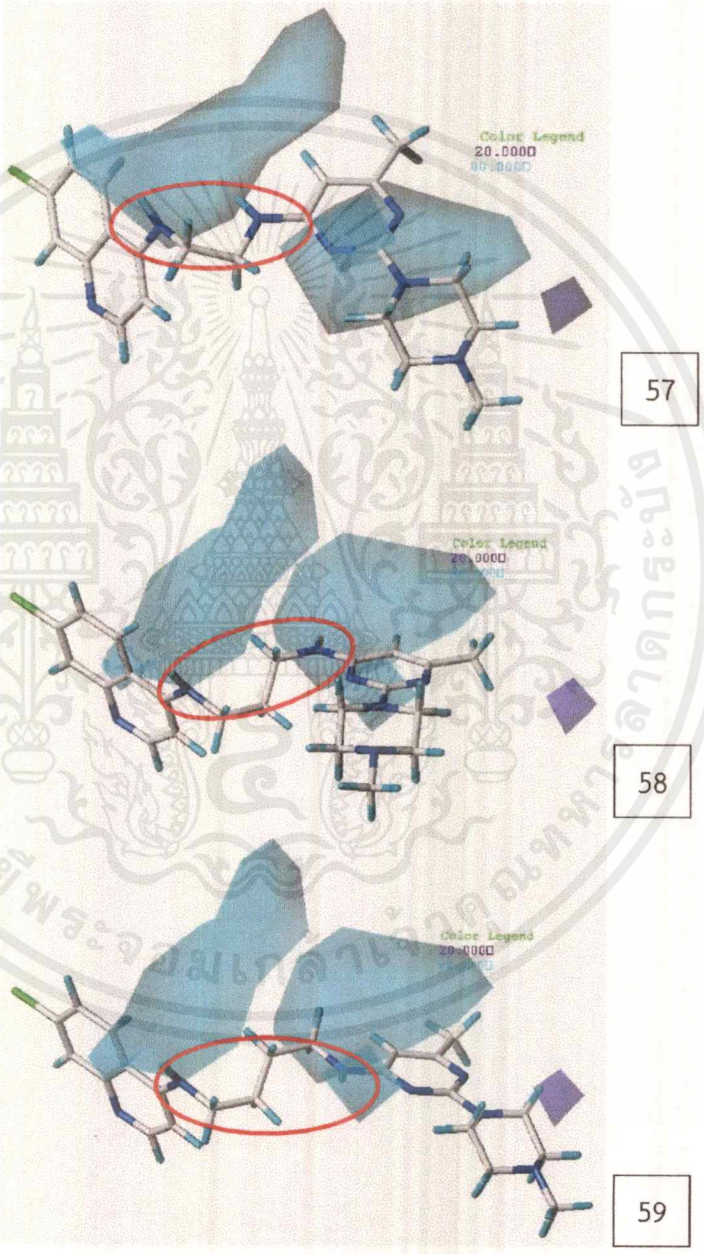
ในการศึกษาเกี่ยวกับ hydrophobic field ของโมเดล CoMSIA ของโครงสร้างที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 4 พิจารณาจากโครงสร้างที่ 59 หมู่แทนที่ R_1 เป็น methyl และมีหมู่แทนที่ R_2 เป็น *N*-Et piperazine (pIC_{50} = 7.699) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด เมื่ออ้างอิงจากโครงสร้างที่ 59 จะเกิดสัญลักษณ์สีม่วงพาดทั้งบริเวณ R_1 และ R_2 สามารถแปลผลได้ว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนี้ ควรจะเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีความเป็น hydrophobic แต่ ณ ตำแหน่งหมู่แทนที่ R_2 ก็จะมีสัญลักษณ์สีเขียวเกิดขึ้นเป็นบริเวณเล็กๆ ทำให้แปลผลได้ว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่บริเวณนี้ ควรจะเป็นวงไฮโดรคาร์บอนที่เป็น hydrophobic และมี N หรือ O อยู่ในโครงสร้างบริเวณที่เป็นสีเขียวทำให้โครงสร้างมีความเป็น hydrophilic เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับโครงสร้างที่ 45 หมู่แทนที่ R_2 เป็น chloro (pIC_{50} = 6.921) พบว่ามีสีม่วงเกิดขึ้นที่ตำแหน่งการแทนที่ของ chloro เนื่องจาก chloro มีความเป็น hydrophilic จึงทำให้ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีค่าลดลง (รูปที่ 4.15)



รูปที่ 4.15 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrophobic field ของโครงสร้างที่ 45 และ 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

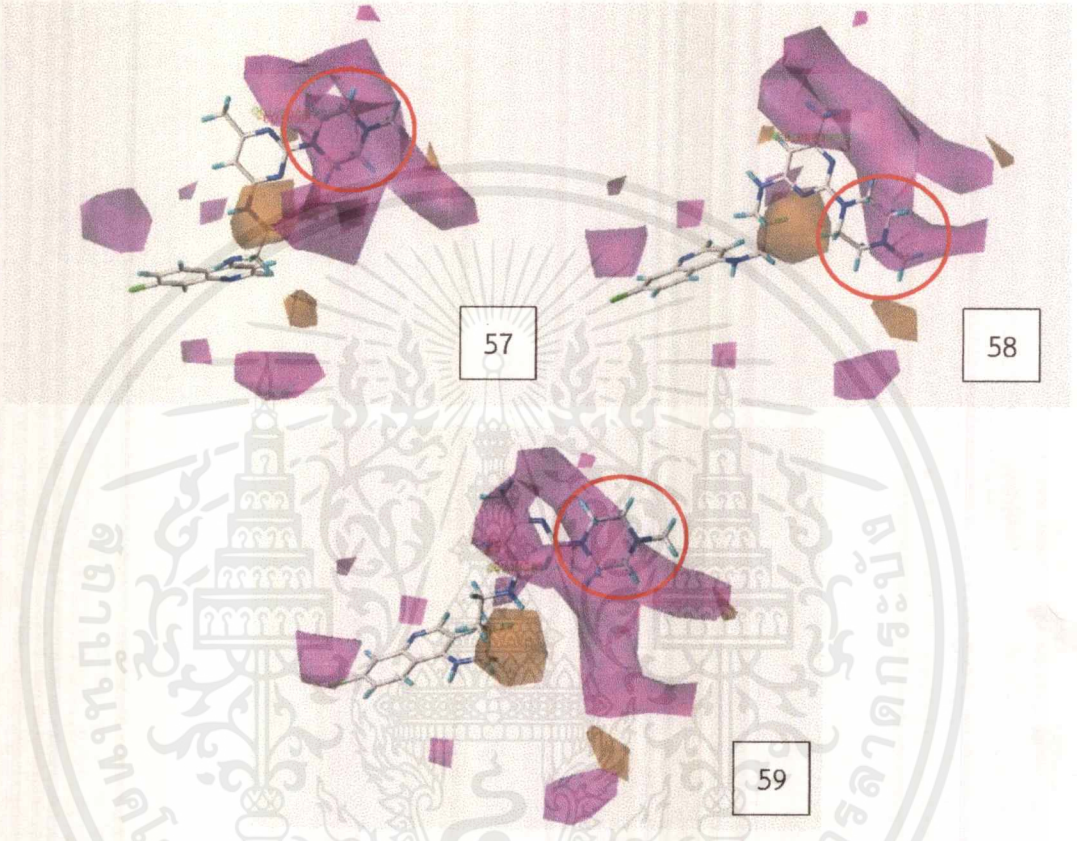
ในการศึกษาเกี่ยวกับ hydrogen donor field ของโมเดล CoMSIA ของโครงสร้างที่ 57 58 และ 59 พบว่าโครงสร้างจะมีจะมีสัญลักษณ์สี cyan เกิดขึ้น หมายความว่า หมู่แทนที่ที่จะเข้ามาแทนที่ ณ ตำแหน่งนั้นๆควรมีความเป็น hydrogen bond donor อยู่ในโครงสร้าง จากโครงสร้างที่ 57 58 และ 59 จะมีตำแหน่งที่เป็น hydrogen bond donor อยู่ 2 ตำแหน่งด้วยกันคือ บริเวณของ linker ที่ตำแหน่ง -NH ที่ปลายโครงสร้างของอะมิโนควิโนลีนและบริเวณปลายโครงสร้างของไพริมิดีน (รูปที่ 4.16)



รูปที่ 4.16 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrogen donor field ของโครงสร้างที่ 57, 58 และ 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการศึกษาเกี่ยวกับ hydrogen acceptor field ของโมเดล CoMSIA ของโครงสร้างที่ 57 58 และ 59 พบว่าโครงสร้างจะมีสัญลักษณ์สี purple เกิดขึ้น ที่ตำแหน่ง R_2 ซึ่งจะทำให้แปลผลได้ว่า ณ ตำแหน่ง R_2 หมู่แทนที่ควรจะเป็นวงที่มีโครงสร้างที่สามารถเกิด hydrogen bond acceptor ได้ เช่น การมี N หรือ O อยู่ในโครงสร้าง (รูปที่ 4.17)



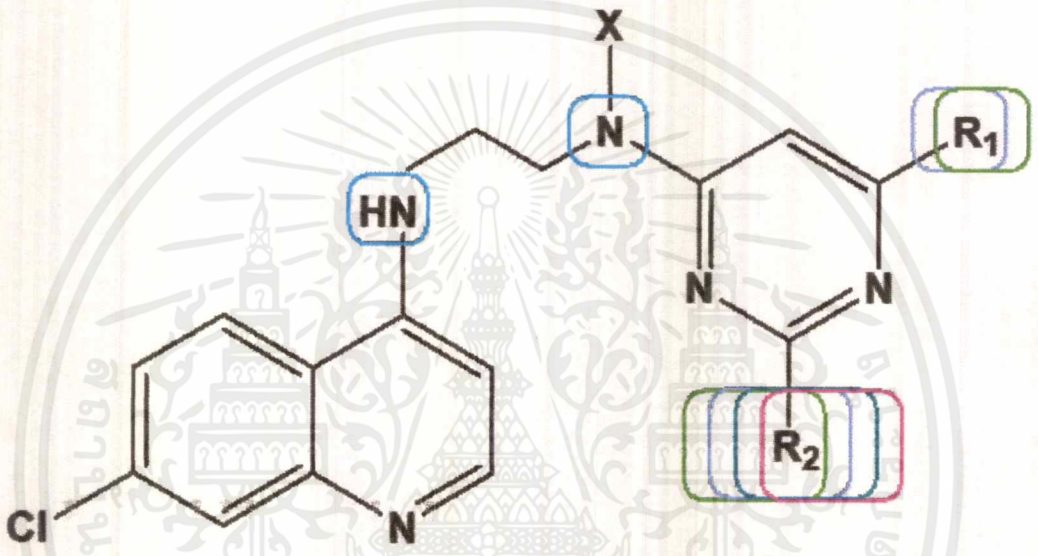
รูปที่ 4.17 แผนภาพอธิบายเกี่ยวกับ hydrogen acceptor field ของโครงสร้างที่ 57, 58 และ 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป pharmacophore ที่สำคัญของแต่ละโครงสร้างอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน (n) ที่แตกต่างกันได้ดังนี้ (รูปที่ 4.18 4.19 และ 4.20)

โครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 2

- ตำแหน่ง R_1 ควรเป็น steric และ hydrophobic
- ตำแหน่ง R_2 ควรเป็น steric, hydrophobic, hydrophilic และ hydrogen acceptor
- ตำแหน่ง -NH ที่ปลายโครงสร้างของอะมิโนควิโนลีนและบริเวณปลายโครงสร้างของไพริมิดีน ควรเป็น hydrogen donor

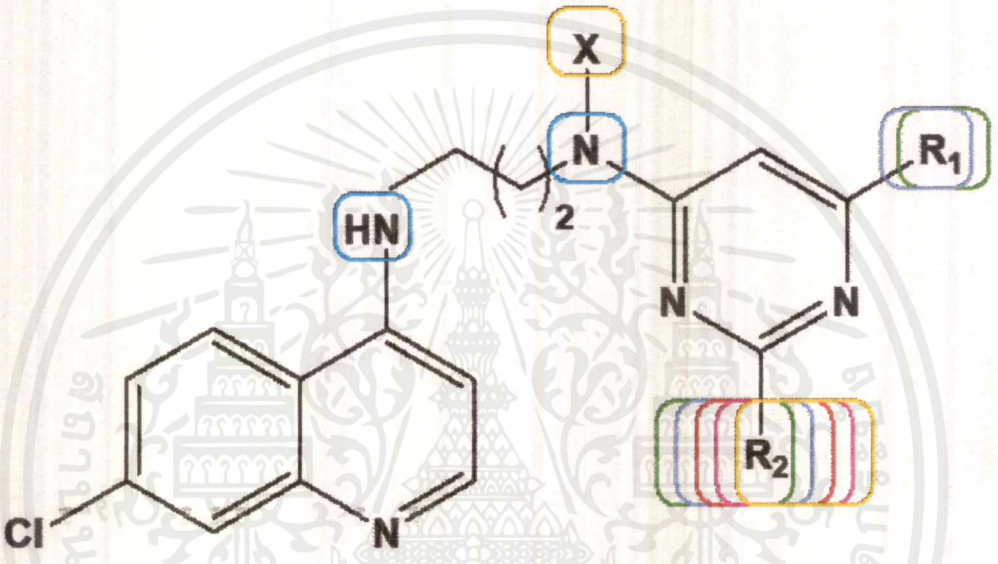


รูปที่ 4.18 สรุปคุณสมบัติที่สำคัญของโครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 3

- ตำแหน่ง R_1 ควรเป็น steric และ hydrophobic
- ตำแหน่ง R_2 ควรเป็น steric หรือไม่เป็น steric ก็ได้ มีความเป็น negative charge, hydrophobic และ hydrogen acceptor
- ตำแหน่ง X ไม่ควรเป็น steric
- ตำแหน่ง -NH ที่ปลายโครงสร้างของอะมิโนควิโนลีนและบริเวณปลายโครงสร้างของไพริมิดีน ควรเป็น hydrogen donor

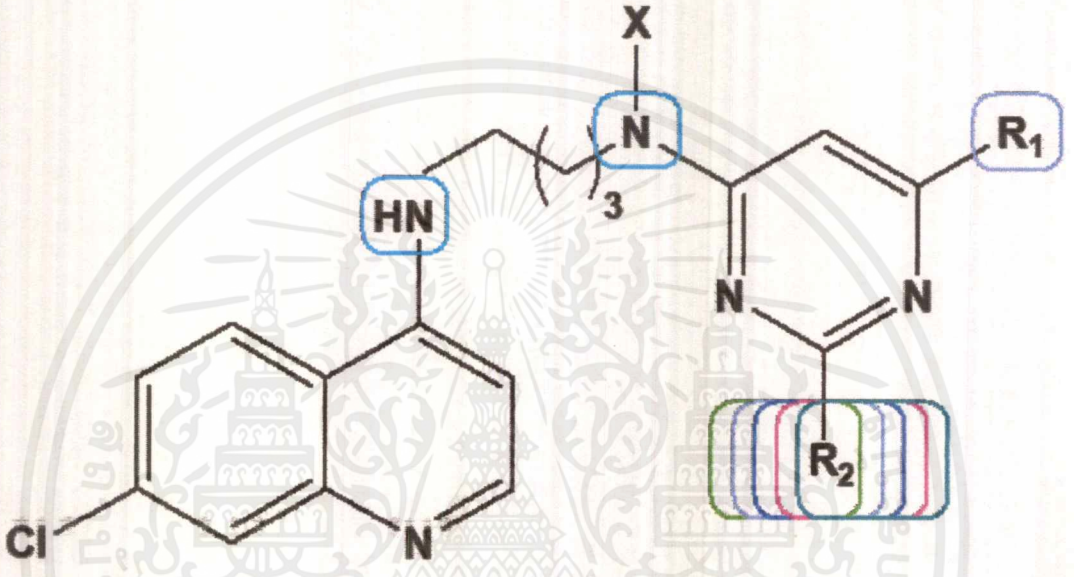


รูปที่ 4.19 สรุปคุณสมบัติที่สำคัญของโครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 4

- ตำแหน่ง R_1 ควรเป็น hydrophobic
- ตำแหน่ง R_2 ควรเป็น steric, positive charge, มีทั้งความเป็น hydrophobic และ hydrophilic อยู่ในโครงสร้าง และเป็น hydrogen acceptor
- ตำแหน่ง -NH ที่ปลายโครงสร้างของอะมิโนควิโนลีนและบริเวณปลายโครงสร้างของไพริมิดีน ควรเป็น hydrogen donor



รูปที่ 4.20 สรุปคุณสมบัติที่สำคัญของโครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 โมเลกุลาร์ ด็อกกิ้ง (Molecular Docking)

การศึกษาโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้ง เป็นการแสดงให้เห็นถึงการยึดจับที่เหมาะสมกันระหว่าง *Pf*-DHFR กับอนุพันธ์ของสารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีนที่จะนำมาเปรียบเทียบกับไพริเมทามีน ซึ่งเป็นลิแกนด์ที่เป็น co-crystallized ของ *Pf*-DHFR ดั้งเดิม

การวิเคราะห์การยึดจับของอนุพันธ์ของสารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน ทั้งหมด 162 โครงสร้าง กับโปรตีน 3QGT/3GQ2 โดยใช้ผลของค่า gold score ส่งผลให้โครงสร้างที่ดีที่สุดบางตัวได้รับการประเมินตามความเข้ากันได้ของการจับยึดกับตัวรับ การวิเคราะห์ด้วยค่า gold มีการสร้างปรับสมดุลของโครงสร้างสารแต่ละโมเลกุลทั้งหมด 100 conformations ในแต่ละโครงสร้างของสาร ถ้าหาก binding energies ของสารตัวใดที่มีค่ามากกว่าลิแกนด์ที่เป็น co-crystallized ของ *Pf*-DHFR ดั้งเดิม จะหมายความว่ามีการยึดจับกันระหว่าง *Pf*-DHFR กับโครงสร้างสารนั้นๆที่เหมาะสมกันมากที่สุด

ค่า gold fitness score ของ 162 โครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน ผลการวิเคราะห์ของ gold สามารถวิเคราะห์ได้ในรูป ค่า fitness score ตั้งแต่ 54.16 ถึง 85.01 สำหรับ *Pf*-DHFR ชนิด wild type และค่า fitness score ตั้งแต่ 59.00 ถึง 90.13 สำหรับ *Pf*-DHFR ชนิด mutant type ผลการด็อกกิ้งของตัวอย่างโครงสร้างกลุ่มที่มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สุดกับ *Pf*-DHFR ชนิด wild type/mutant type ถูกแสดงในตารางที่ 4.5 และ 4.6

ตารางที่ 4.5 ค่า fitness score ของสารประกอบเมื่อยึดจับกับโปรตีน 3QGT

Comp	Gold Fitness score (WT)
ไพริเมทามีน	60.76
57	68.00
58	73.26
59	71.48

ตารางที่ 4.6 ค่า fitness score ของสารประกอบเมื่อยึดจับกับโปรตีน 3QG2

Comp	Gold Fitness score (MT)
ไพริเมทามีน	65.09
57	66.68
58	77.77
59	73.05

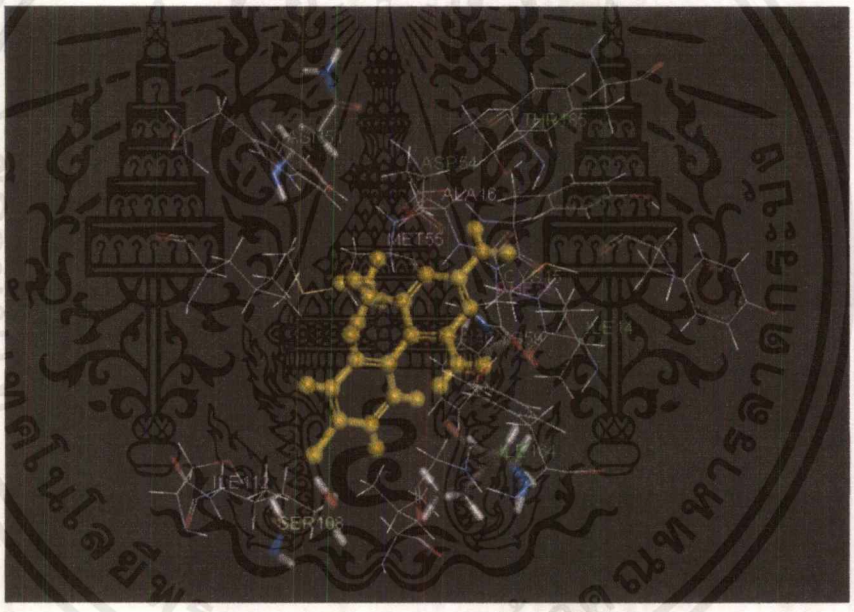
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในบริเวณ active site ของโปรตีน 3QGT/3QG2 จะมีตำแหน่งการยึดจับที่แตกต่างกัน ระหว่างโปรตีนกับลิแกนด์ที่จะเข้ามายึดจับ โดยโปรตีน 3QGT/3QG2 กับไพริเมทามีนที่บริเวณตำแหน่งการยึดจับจะเกิดอันตรกิริยากับโปรตีน ดังนี้

ไพริเมทามีนเกิดอันตรกิริยากับโปรตีน 3QGT โดยเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน ILE14, CYS15, ASP54, ILE164, THR185 และ SER108 เกิดอันตรกิริยา Pi-Pi stacking กับกรดอะมิโน PHE58 และเกิดอันตรกิริยา Pi-alkyl กับกรดอะมิโน ALA16

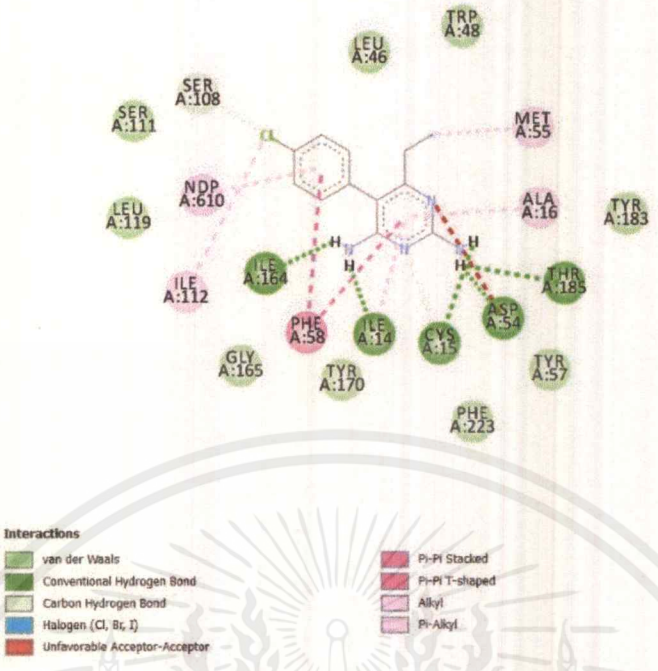
หมายเหตุ - อันตรกิริยา Pi-Pi stacking คือ การที่ไพอิเล็กตรอนของวงแหวนอะโรมาติกของอนุพันธ์อะมิโนควิลีน - ไพริมีดีนเกิดการยึดเหนี่ยวกับไพอิเล็กตรอนของวงแหวนอะโรมาติกของกรดอะมิโน

- อันตรกิริยา Pi-alkyl คือ การที่ไพอิเล็กตรอนของวงแหวนอะโรมาติกของอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน – ไพริมีดีนเกิดการยึดเหนี่ยวกับไพอิเล็กตรอนของวงแหวนอะโรมาติกของหมู่อัลคิล



รูปที่ 4.21 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับไพริเมทามีนที่บริเวณ active site

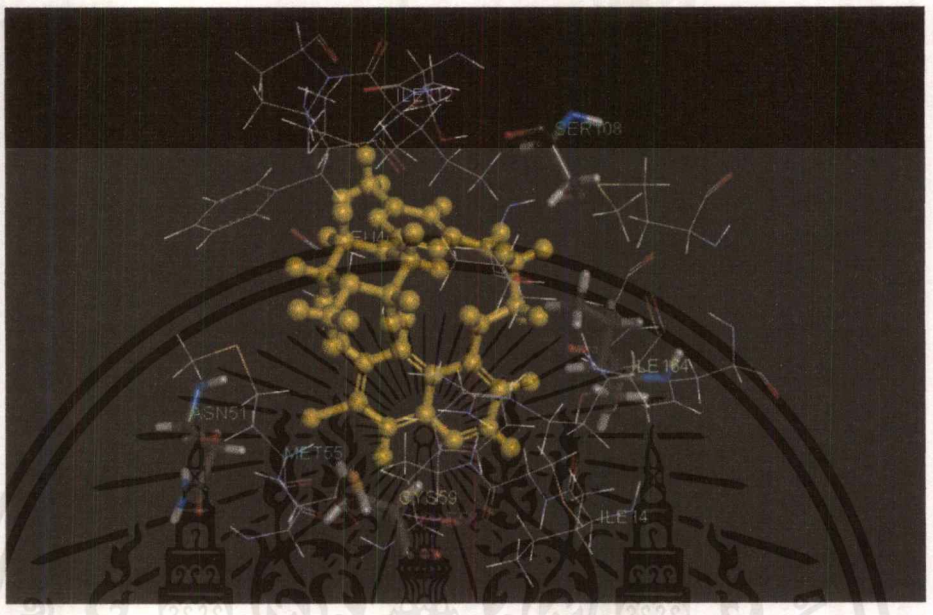
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



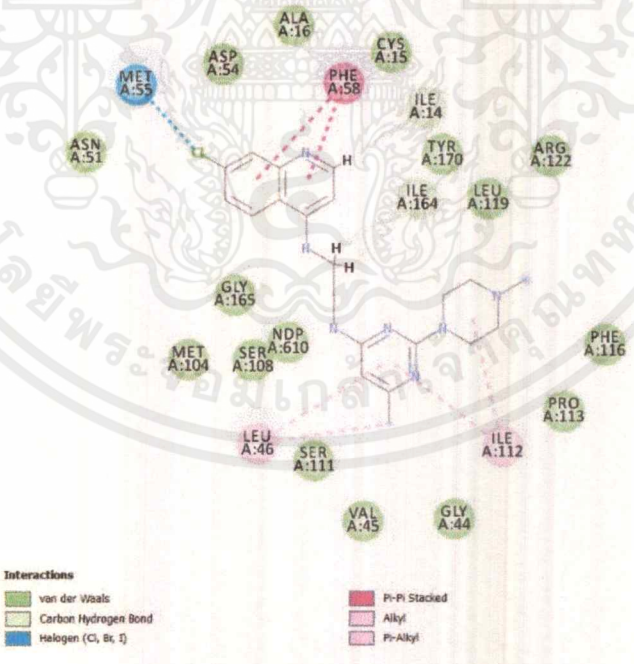
รูปที่ 4.22 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับไพริเมทามีนที่บริเวณ active site

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.23 และ 4.24 จะเห็นได้ว่า โครงสร้างที่ 57 เกิดอันตรกิริยากับโปรตีน 3QGT โดยเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน ILE14 และ ILE164 เกิดอันตรกิริยา Pi-Pi stacking กับกรดอะมิโน PHE58 เกิดอันตรกิริยา Pi-alkyl กับกรดอะมิโน LEU46 และ ILE112 และเกิดพันธะแฮโลเจนกับกรดอะมิโน MET55



รูปที่ 4.23 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 57 บริเวณ active site

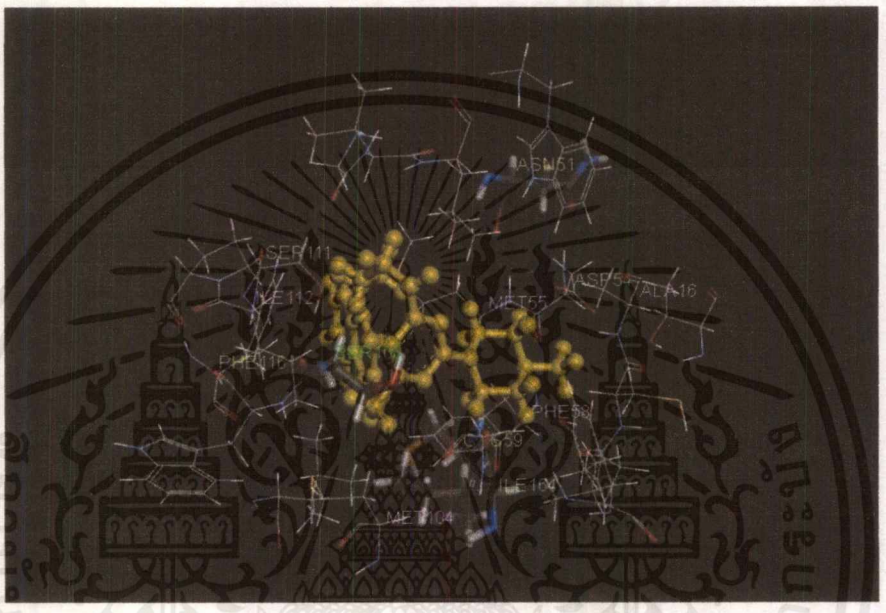


รูปที่ 4.24 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 57 บริเวณ active site

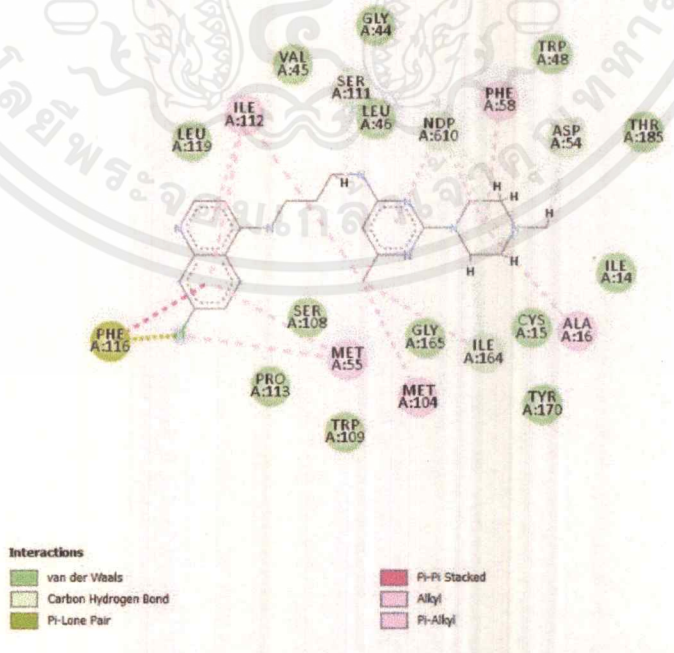
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.25 และ 4.26 จะเห็นได้ว่า โครงสร้างที่ 58 เกิดอันตรกิริยากับโปรตีน 3QGT โดยเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน ASP54, SER111, ILE164 และ NDP610 เกิดอันตรกิริยา Pi-alkyl กับกรดอะมิโน ALA16, MET55, PHE58, MET104 และ ILE112 และเกิดอันตรกิริยา Pi-lone pair กับกรดอะมิโน PHE116

หมายเหตุ - อันตรกิริยา Pi-lone pair คือ การที่ไพอิเล็กตรอนของวงแหวนอะโรมาติกของกรดอะมิโนเกิดการยึดเหนี่ยวกับอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของ อนุพันธ์อะมิโนควิลีน - ไพริมีดีน



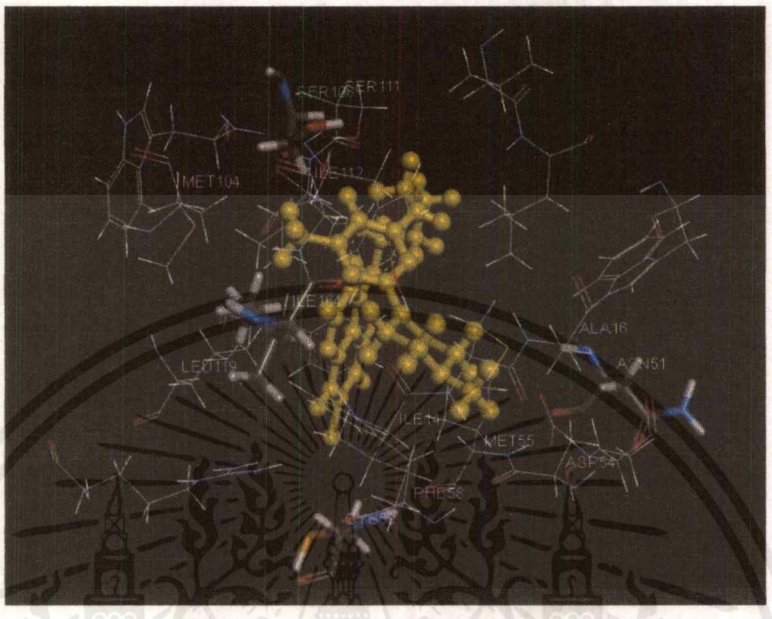
รูปที่ 4.25 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 58 บริเวณ active site



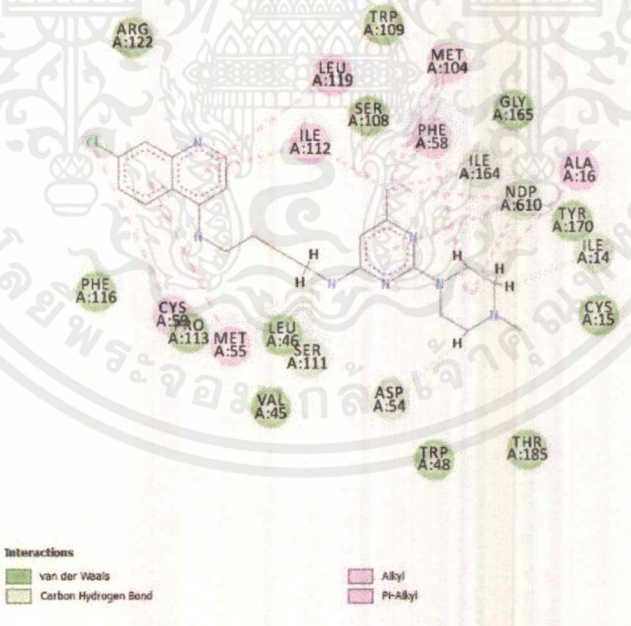
รูปที่ 4.26 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 58 บริเวณ active site

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.27 และ 4.28 จะเห็นได้ว่า โครงสร้างที่ 59 เกิดอันตรกิริยากับโปรตีน 3QGT โดยเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน ILE14, ASP54, SER111, ILE164 และ NDP610 เกิดอันตรกิริยา Pi-alkyl กับกรดอะมิโน ALA16, MET55, PHE58, CYS59, MET104, ILE112 และ LEU119



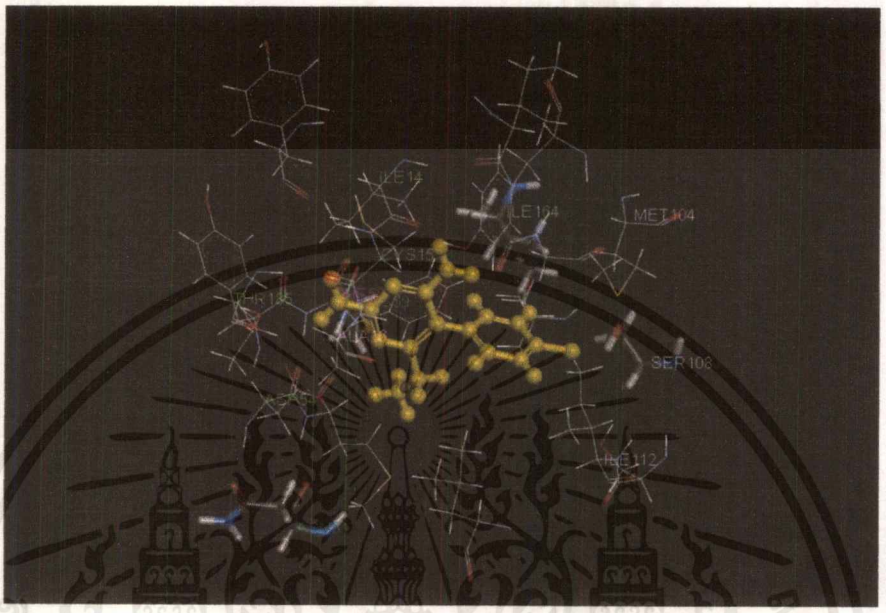
รูปที่ 4.27 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 59 บริเวณ active site



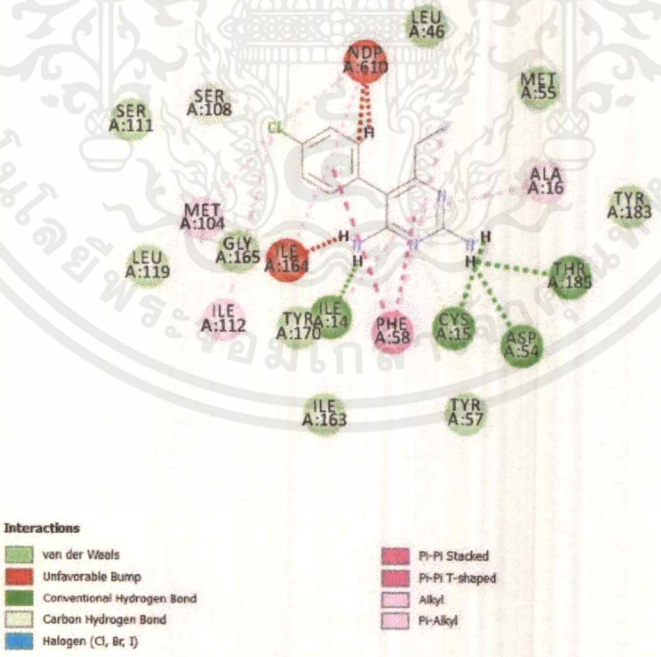
รูปที่ 4.28 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QGT กับโครงสร้างที่ 59 บริเวณ active site

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.29 และ 4.30 จะเห็นได้ว่า โครงสร้างไพริเมทามีนเกิดอันตรกิริยากับโปรตีน 3QG2 โดยเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน ILE14, CYS15, ASP54, SER108 และ THR185 เกิดอันตรกิริยา Pi-Pi stacking กับกรดอะมิโน PHE58 เกิดอันตรกิริยา Pi-alkyl กับกรดอะมิโนที่ ILE14, ALA16, PHE58, MET104 และ ILE112



รูปที่ 4.29 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับไพริเมทามีนที่บริเวณ active site

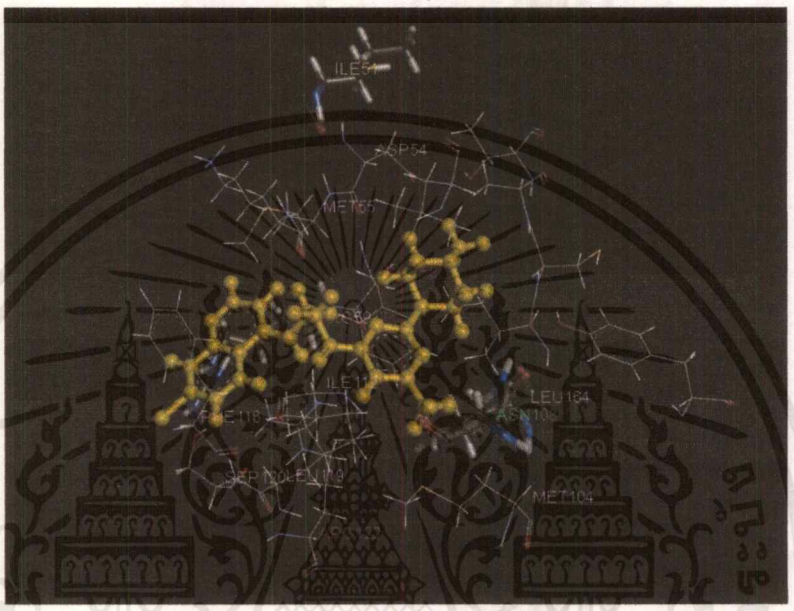


รูปที่ 4.30 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับไพริเมทามีนที่บริเวณ active site

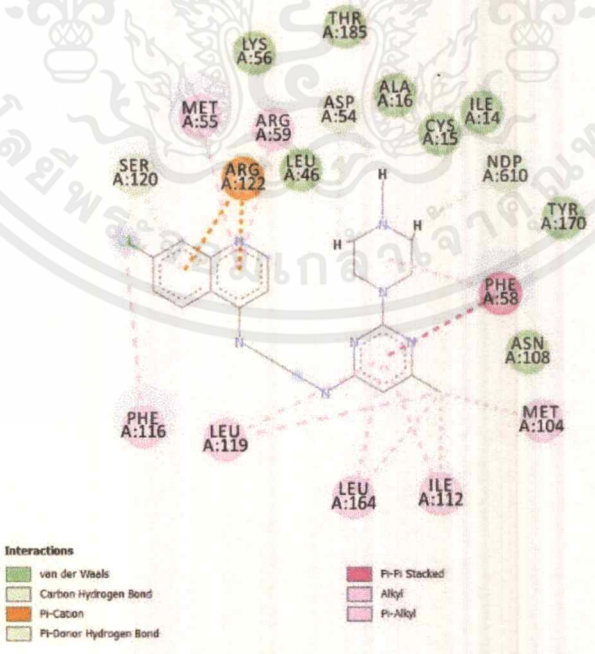
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.31 และ 4.32 จะเห็นได้ว่า โครงสร้างที่ 57 เกิดอันตรกิริยากับโปรตีน 3QG2 โดยเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน ASP54, SER120 และ NDP610 เกิดอันตรกิริยา Pi-Pi stacking กับกรดอะมิโน PHE58 เกิดอันตรกิริยา Pi-alkyl กับกรดอะมิโน MET55, PHE58, ARG59, MET104, ILE112, PHE116, LEU119 และ LEU164 และเกิดอันตรกิริยา Pi-cation กับกรดอะมิโน ARG122

หมายเหตุ - อันตรกิริยา Pi-Cation คือ การที่ไพอิเล็กตรอนของวงแหวนอะโรมาติกของอนุพันธ์อะมิโนควิลีน – ไพริมีดีนเกิดการยึดเหนี่ยวกับ cation ของกรดอะมิโน



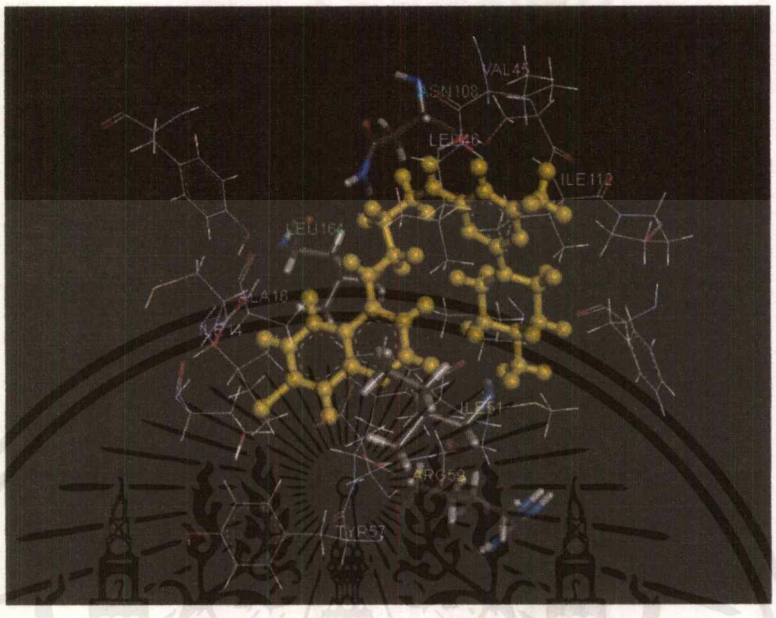
รูปที่ 4.31 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 57 บริเวณ active site



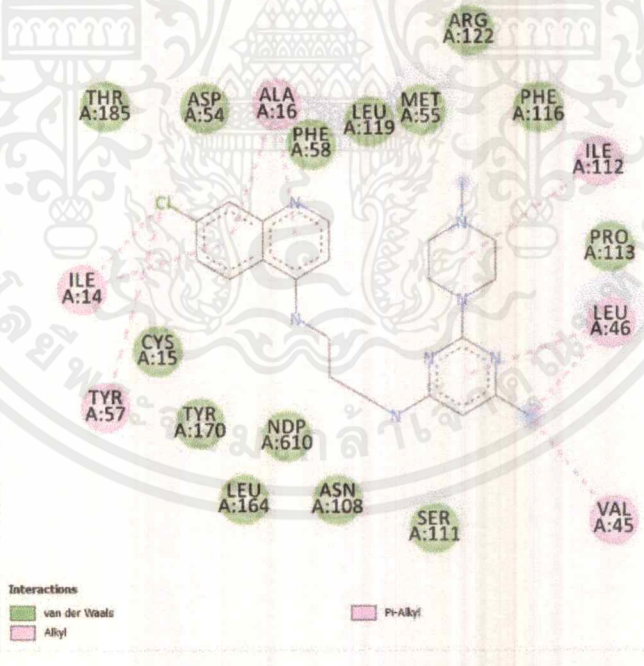
รูปที่ 4.32 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 57 บริเวณ active site

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.33 และ 4.34 จะเห็นได้ว่า โครงสร้างที่ 58 เกิดอันตรกิริยากับโปรตีน 3QG2 โดยเกิดอันตรกิริยา Pi-alkyl กับกรดอะมิโน ILE14, ALA16, VAL45, LEU46, TYR57 และ ILE112



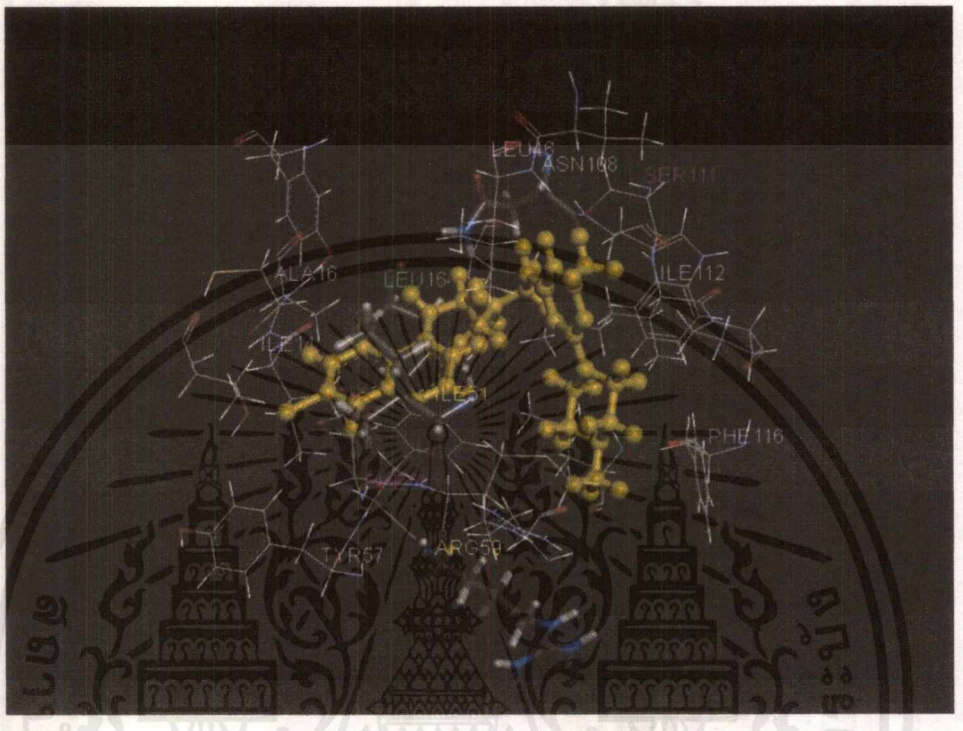
รูปที่ 4.33 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 58 บริเวณ active site



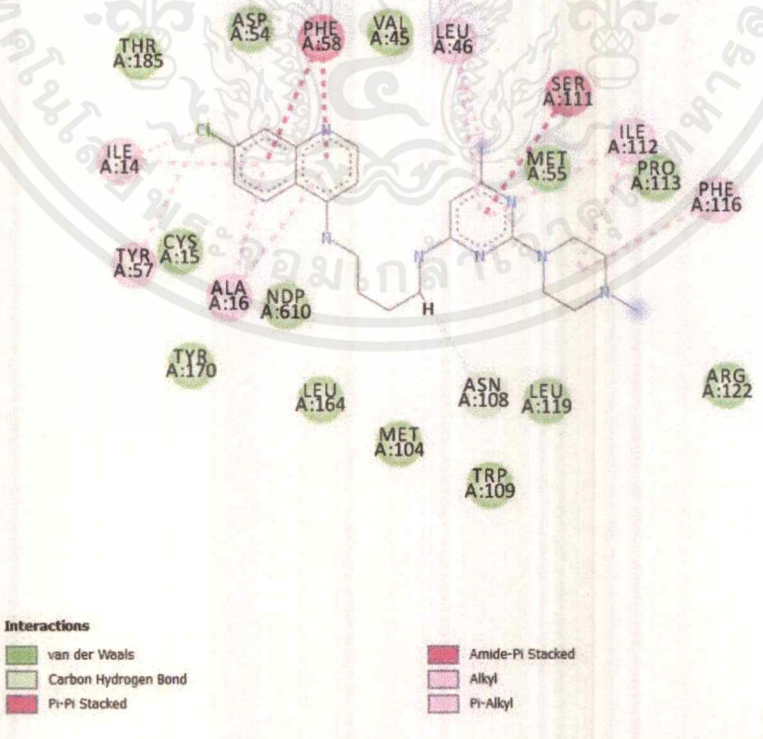
รูปที่ 4.34 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 58 บริเวณ active site

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.35 และ 4.36 จะเห็นได้ว่า โครงสร้างที่ 59 เกิดอันตรกิริยากับโปรตีน 3QG2 โดยเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโน ASN108 เกิดอันตรกิริยา Pi-Pi stacking กับกรดอะมิโน PHE58 และ SER111 และเกิดอันตรกิริยา Pi-alkyl กับกรดอะมิโน ILE14, ALA16, LEU46, TYR57, ILE112 และ PHE116



รูปที่ 4.35 ภาพสามมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 59 บริเวณ active site



รูปที่ 4.36 ภาพสองมิติการยึดจับระหว่างโปรตีน 3QG2 กับโครงสร้างที่ 59 บริเวณ active site

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาผลการด็อกกิ้งพบว่า ไพริเมทามีนมีการวางตัวที่ดีกับเอนไซม์ *Pf*-DHFR ชนิด wild type และมีการเกิด unfavorable bump กับเอนไซม์ *Pf*-DHFR ชนิด mutant type ทำให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้ได้ ส่วนตัวอย่างโครงสร้าง 57 58 และ 59 ซึ่งเป็นสารกลุ่มที่มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สุดนั้นให้ผลการวางตัวได้ค่อนข้างดีในทั้งเอนไซม์ *Pf*-DHFR ชนิด wild type และ mutant type เพราะมีการเกิด interaction กับ key amino acid ที่สำคัญ (CYS59 SER108 และ ILE164 สำหรับโครงสร้างโปรตีนชนิด wild type และ ARG59 ASN108 และ LEU164 สำหรับโครงสร้างโปรตีนชนิด mutant type) บริเวณ binding pocket ทำให้สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อมาลาเรียได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและการออกฤทธิ์ของสารเชิงปริมาณ (Quantitative structure activity relationships, QSAR) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการใช้ลิแกนด์ในการออกแบบยา ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้เทคนิค CoMFA และ CoMSIA เพื่อสร้างสมการเชิงเส้นของความสัมพันธ์ของค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีน ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อมาลาเรียทั้งชนิด wild type และ mutant type โดยเทคนิค CoMFA และ CoMSIA ได้ใช้โมเดลที่ 10 มาเป็นแบบในการพัฒนาและออกแบบโครงสร้างของสารในการยับยั้งเชื้อมาลาเรียตัวใหม่ โดยโมเดล CoMFA สามารถทำนายได้ค่า $q^2 = 0.506$, $r^2 = 0.875$ และ $r^2_{test\ set} = 0.619$ ส่วนโมเดล CoMSIA สามารถทำนายได้ค่า $q^2 = 0.614$, $r^2 = 0.871$ และ $r^2_{test\ set} = 0.394$ จากผลการวิจัยพบว่า ในการออกแบบโครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 2 ที่ตำแหน่ง R_1 ควรเป็นโครงสร้างที่มีความเกะกะ มีขนาดใหญ่ โครงสร้างขั้นต่ำสามารถเป็นได้คือ methyl และมีโครงสร้างเป็น hydrophobic ที่ตำแหน่ง R_2 ควรเป็นโครงสร้างที่มีความเกะกะ มีขนาดใหญ่ เป็นหมู่แทนที่ที่โครงสร้างเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีธาตุที่มีขั้วรวมอยู่ในโครงสร้างเดียวกัน และเป็นโครงสร้างที่สามารถเกิด hydrogen bond acceptor ได้ และมีความเป็น hydrogen bond donor บริเวณตำแหน่ง -NH ที่ปลายโครงสร้างของอะมิโนควิโนลีนและบริเวณปลายโครงสร้างของไพริมิดีน ส่วนในการออกแบบโครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 3 ที่ตำแหน่ง R_1 ควรเป็นโครงสร้างที่มีความเกะกะ มีขนาดใหญ่ โครงสร้างขั้นต่ำสามารถเป็นได้คือ methyl และมีโครงสร้างเป็น hydrophobic ที่ตำแหน่ง R_2 สามารถเป็นได้ทั้งโครงสร้างที่มีขนาดเล็กและมีขนาดใหญ่ แต่ถ้าหากเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่ ควรจะเป็นโครงสร้างเป็นวงขนาดใหญ่ที่มีความเกะกะสูงๆ เป็นโครงสร้างที่มีความเป็นลบ สามารถเกิด hydrogen bond acceptor ได้ และควรเป็นโครงสร้างที่มีความเป็น hydrophilic ที่ตำแหน่ง X ควรเป็นโครงสร้างที่ไม่มีความเกะกะ เป็นหมู่แทนที่ขนาดเล็ก และมีความเป็น hydrogen bond donor บริเวณ linker ที่ ตำแหน่ง -NH ที่ปลายโครงสร้างของอะมิโนควิโนลีนและบริเวณปลายโครงสร้างของไพริมิดีน และในการออกแบบโครงสร้างของอนุพันธ์สารอะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีนที่มีจำนวนสายโซ่คาร์บอน n = 4 ที่ตำแหน่ง R_1 ควรเป็นโครงสร้างที่มีความเป็น hydrophobic ที่ตำแหน่ง R_2 ควรเป็นโครงสร้างที่มีความเกะกะ มีขนาดใหญ่ มีความเป็นบวกอยู่ในโครงสร้าง เป็นหมู่แทนที่ที่มีโครงสร้างเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีธาตุที่มีขั้วรวมอยู่ในโครงสร้างเดียวกัน และเป็นโครงสร้างที่สามารถเกิด hydrogen bond acceptor ได้ และมีความเป็น hydrogen bond donor บริเวณตำแหน่ง -NH ที่ปลายโครงสร้างของอะมิโนควิโนลีนและบริเวณปลายโครงสร้างของไพริมิดีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาการยึดจับของตัวยับยั้งอะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีนกับไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์โดยใช้วิธีโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้ง จากการวิจัยพบว่า ไพริเมทามีนสามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง *Pf*-DHFR ชนิด wild type ได้ แต่มีการเกิด unfavorable bump ทำให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง *Pf*-DHFR ชนิด mutant type ได้ จึงมีการคิดค้นยาตัวใหม่จากการทำโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้ง โดยใช้สารในกลุ่ม hybrid drug ของอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน โครงสร้างที่ 57, 58 และ 59 ซึ่งสารทั้ง 3 ตัวนี้เป็นสารที่มีค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มที่มีค่าสูง สามารถเกิดการวางตัวได้ทั้งในโครงสร้างโปรตีนชนิด wild type และ mutant type ได้ดี เนื่องจากมีอันตรกิริยากับ key amino acid ที่สำคัญที่ใช้ในการยับยั้งมาลาเรีย คือ CYS59 SER108 และ ILE164 สำหรับโครงสร้างโปรตีนชนิด wild type และ ARG59 ASN108 และ LEU164 สำหรับโครงสร้างโปรตีนชนิด mutant type

การศึกษาการยึดจับระหว่างไดไฮโดรโฟเลตรีดักเตส เอนไซม์กับอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน-ไพริมิดีนโดยใช้วิธีโมเลกุลาร์ ด็อกกิ้ง และการศึกษาการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและการออกฤทธิ์ของสารเชิงปริมาณ (Quantitative structure activity relationships, QSAR) ด้วยเทคนิค CoMFA และ CoMSIA ให้แนวทางที่เป็นประโยชน์ในการออกแบบและทำนายความสัมพันธ์ของสารประกอบอนุพันธ์อะมิโนควิโนลีน–ไพริมิดีน เพื่อให้ได้ค่าการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีก่อนนำไปทำการสังเคราะห์ยาตัวใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] Tedros A.G. 2018. "Malaria 12 in World malaria report. Geneva : World health organization."

[2] นันทวดี เนียมนุ้ย. 2555. "โรคมาลาเรีย." วารสารเทคนิคการแพทย์. 40(3). 4295-4296.

[3] กองบรรณาธิการ HD. 2563. "มาลาเรียคืออะไร." [Online]. Available : https://www.honestdocs.co/what-is-malaria เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 ก.พ. 63.

[4] การเจริญเติบโตของพลาสโมเดียมในคน. 2557. [Online]. Available : http://www.tunroka.blogspot.com/2014_02_01_archive.html. เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 ก.พ. 63

[5] Kevin Loria. 2016. "Thinking of malaria as a 'tropical' disease is a huge misunderstanding." [Online]. Available : https://www.businessinsider.com/malaria-global-problem-eradication-possible-2016-10.

[6] Pharmacorama. "Dihydrofolate reductase (DHFR) inhibitors." [Online]. Available : https://www.pharmacorama.com/en/Sections/DNA-RNA-biosynthesis-5.php.

[7] Niroshini Nirmalan, Ping Wang, Paul F. G. Sims andJohn E. Hyde. 2002. "Transcriptional analysis of genes encoding enzymes of the folate pathway in the human malaria parasite Plasmodium falciparum." Manchester : Department of Biomolecular Sciences, University of Manchester Institute of Science and Technology (UMIST).

[8] John E. Hyde. 2005. "Exploring the folate pathway in Plasmodium falciparum." Manchester : Faculty of life Sciences, University of Manchester.

[9] Gregson A. and Plowe CV. 2005. "Mechanisms of resistance of malaria parasites to antifolates." *Pharmacol Rev.* 57:117-45.

[10] Uhlemann AC, Yuthavong Y and Fidock DA. 2005. "Mechanisms of Antimalarial Drug Action and Resistance. In: Molecular Approaches to Malaria." Sherman IW (Ed.). ASM Press, VA, USA ;429-61.

[11] Rastelli G, Sirawaraporn W, Sompornpisut P, Vilaivan T, Kamchonwongpaisan S and Quarrell R. 2000. "Interaction of pyrimethamine, cycloguanil, WR99210 and their analogues with Plasmodium falciparum dihydrofolate reductase: structural basis of antifolate resistance." *Bioorg Med Chem.* 8: 1117-28.

[12] Meshnick SR and Dobson MJ. 2001. "The history of antimalarial drugs." *Antimalarial Chemoth.* 15-25.

[13] Schlitzer M. 2007. "Malaria chemotherapeutics. Part I: History of antimalarial drug development, currently used therapeutics, and drugs in clinical development." *ChemMedChem.* 2(7): 944-86.

[14] Edstein MD, Yeo AE, Shanks GD and Rieckmann KH. 1997. "Ex vivo antimalarial activity of proguanil combined with dapsone against cycloguanil-resistant Plasmodium falciparum isolates." *Acta Tropica.* 66:127-35.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[15] Matsika-Claquin, MD, Menard D, Fontanet AL, Ngwhotue A, Sarda J, Talarmin A. Efficacy of chloroquine- proguanil malaria prophylaxis in a non-immune population in Bangui, Central African Republic: a case-control study. Trop Med Hyg 2006;100(4): 381-86.

[16] Nakato H, Vivancos R and Hunter PR. 2007. "A systematic review and meta-analysis of the effectiveness and safety of atovaquone- proguanil (Malarone) for chemoprophylaxis against malaria." *J Antimicrob Chemoth.* 60(5): 929-36.

[17] Rieckmann KH, Yeo AE and Edstein MD. 1996. "Activity of PS-15 and its metabolite, WR99210, against Plasmodium falciparum in an in vivo-in vitro model." *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 90: 568-71.

[18] Hekmat-Nejad M. and Rathod PK. 1997. "Plasmodium falciparum: kinetic interactions of WR99210 with pyrimethamine-sensitive and pyrimethamine-resistant dihydrofolate reductase." *Exp Parasitol.* 87: 222-8.

[19] Maitarad P., Saparpakorn P., Hannongbua S., Kamchonwongpaisan S., Tarnchompoo B. and Yuthavong Y. 2008. "Particular interaction between pyrimethamine derivatives and quadruple mutant type dihydrofolate reductase ofPlasmodium falciparum: CoMFA and quantum chemical calculations studies." *J Enzyme Inhib Med Chem.* 24(2): 471-9.

[20] Maitarad P, Kamchonwongpaisan S, Vanichtanankul J, Vilaivan T, Yuthavong Y and Hannongbua S. 2009. "Interactions between cycloguanil derivatives and wild type and resistance-associated mutant Plasmodium falciparum dihydrofolate reductases." *J Comput Aided Mol Des.* 23: 241-52.

[21]VanichtanankuU., Yuvaniyama J., Taweechai S., Chitnumsub P., Kamchonwongpaisan S. and Yuthavong Y. 2011. "Plasmodium falciparum DHFR-TS qradruple mutant (N51I+C59R+S108N+I164L, V1/S) pyrimethamine complex". [Online]. Available : https://www.rcsb.org/structure/3qg2. เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 ก.พ. 63.

[22] Chitnumsub P. and Yuthavong Y. 2011. "Crystal structure of Wild-type PfDHFR-TS COMPLEXED WITH NADPH, dUMP AND PYRIMETHAMINE" [Online]. Available : https://www.rcsb.org/structure/3QGT. เข้าถึงเมื่อวันที่ 1 ก.พ. 63.

[23] จิราภรณ์ ยงพิศาลภพ. 2555. "คอมพิวเตอร์ช่วยการค้นพบ การออกแบบ และการพัฒนาตัวยา: เครื่องมือสำคัญสำหรับงานวิจัยทางเภสัชกรรม".วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย. 48-50.

[24] Fernando D., Prieto-Martínez,Marcelino Arciniega and José L. Medina-Franco. 2018. "Molecular docking: current advances and challenges." México : Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

[25] Jitender Verma, Vijay M. Khedkar and Evans C. Coutinho. 2010. "3D-QSAR in Drug Design - A Review." *Current Topics in Medicinal Chemistry.* 10(1): 95-115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[26] Swathik Clarancia Peter and Jaspreet Kaur Dhanja. 2018. "Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR): Modeling Approaches to Biological Applications." Coimbatore : Tamil Nadu Agricultural University.

[27] Wang D.-D. Feng L.-L. He G.-Y. Chen and H.-Q. 2014. "QSAR studies for the acute toxicity of nitrobenzenes to the Tetrahymena pyriformis." Journal of the Serbian ChemicalSociety. 79: 1111–1125.

[28] Rochani A.K., Suma B., Kumar S., Jays J. and Madhavan, V. 2010. "QSAR, ADME AND QSTR Studies of Some Synthesized Anti-Cancer 2-Indolinone Derivatives." InternationalJournal of Pharma and Bio Sciences. 1: 208–218.

[29] Hermens J., Canton H., Janssen P. and De Jong, R. 1984. "Quantitative structure-activity relationships and toxicity studies of mixtures of chemicals with anaesthetic potency:Acute lethal and sublethal toxicity to Daphnia magna." Aquatic Toxicology. 5: 143–154.

[30] Van Gestel C., Ma and W.-C. 1990. "An approach to quantitative structure-activity relationships (QSARs) in earthworm toxicity studies." Chemosphere. 21: 1023–1033.

[31] Escher B.I., Bramaz N., Richter M. and Lienert, J. 2006." Comparative ecotoxicological hazard assessment of beta-blockers and their human metabolites using a mode-of-action-based test battery and a QSAR approach." Environmental Science & Technology. 40: 7402–7408.

[32] Zernov V.V., Balakin K.V., Ivaschenko A.A., Savchuk N.P. and Pletnev, I.V. 2003. "Drug discovery using support vector machines. The case studies of drug-likeness,agrochemical-likeness, and enzyme inhibition predictions." Journal of Chemical Information and Computer Sciences. 43: 2048–2056.

[33] Speck-Planche A., Kleandrova V.V., Luan F., Cordeiro and M.N.D. 2012. "Rational drug design for anti-cancer chemotherapy: Multi-target QSAR models for the in silico discoveryof anti-colorectal cancer agents." Bioorganic & Medicinal Chemistry. 20: 4848–4855.

[34] Buolamwini J.K., Assefa and H. 2002. "CoMFA and CoMSIA 3D QSAR and docking studies on conformationally-restrained cinnamoyl HIV-1 integrase inhibitors: Exploration of abinding mode at the active site." Journal of Medicinal Chemistry. 45: 841–852.

[35] Shen M., Béguin C. and Golbraikh A. 2004. "Application of predictive QSAR models to database mining: Identification and experimental validation of novel anti convulsant compounds." Journal of Medicinal Chemistry. 47: 2356–2364.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[36] Ghose A.K., Viswanadhan V.N. Wendoloski and J.J. 1999. "A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1.A qualitative and quantitative characterization of known drug databases." Journal of Combinatorial Chemistry. 1: 55–68.

[37] Lorber A., Wangen L.E. and Kowalski B.R.1987. "A theoretical foundation for the PLS algorithm." Journal of Chemometrics. 1: 19–31. Bioinformatics at Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore, India.

[38] Mota S.G., Barros T.F. and Castilho M.S. 2009. "2D QSAR studies on a series of bifonazole derivatives with antifungal activity." Journal of the Brazilian Chemical Society. 20: 451–459.

[39] Cramer R.D.1993. "Partial least squares (PLS): Its strengths and limitations." Perspectives in Drug Discovery and Design. 1: 269–278.

[40] Johnels D., Gillner M., Nordén B. Toftgård R. and Gustafsson J.Å. 1989. "Quantitative structure-activity relationship (QSAR) analysis using the partial least squares (PLS)method: The binding of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) to the rat liver 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-P-dioxin (TCDD) receptor." Molecular Informatics. 8: 83–89.

[41] Liu P. and Long W. 2009. "Current mathematical methods used in QSAR/QSPR studies." International Journal of Molecular Sciences. 10: 1978–1998.

[42] Roy K. and Kar S. 2015. "How to judge predictive quality of classification and regression based QSAR models." In: Haq, Z.U., Madura, J. (Eds.), Frontiers of ComputationalChemistry. Sharjah, UAE: Bentham Science, pp. 71–120.

[43] Roy K., Kar S. and Das R.N. 2015b. "Statistical methods in QSAR/QSPR. A Primer on QSAR/QSPR Modeling." 37–59.

[44] Roy K. Kar, S. and Das R.N. 2015b. "Statistical methods in QSAR/QSPR. A Primer on QSAR/QSPR Modeling." 37–59.

[45] Golbraikh A. and Tropsha A. 2002. "Beware of q 2!." Journal of Molecular Graphics and Modelling. 20: 269–276.

[46] Veerasamy R., Rajak H., Jain A. and etal. 2011. "Validation of QSAR models-strategies and importance." International Journal of Drug Design & Discovery. 3: 511–519.

[47] Yongyuth Yuthavong. 2002. "Development of 2,4-Diaminopyrimidines as Antimalarials Based on Inhibition of the S108N and C59R+S108N Mutants of Dihydrofolate Reductase from Pyrimethamine-Resistant *Plasmodium falciparum" J. Med. Chem. 45(1):* 1244-1252.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[48] Yongyuth Yuthavong. 2004. "Target Guided Synthesis of 5-Benzyl-2,4-diamonopyrimidines: Their Antimalarial Activities and Binding Affinities to Wild Type and Mutant Dihydrofolate Reductases from *Plasmodium falciparum*" *J. Med. Chem.* 47(1): 345-354.

[49] Nitin Kumar, Shabana I. Khan, Beena, G. Rajalakshmi, P. Kumaradhas and Diwan S. Rawat. 2009. "Synthesis, antimalarial activity and cytotoxicity of substituted 3,6-diphenyl-[1,2,4,5]tetraoxanes." *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(1): 5632–5638.

[50] Nitin Kumar, Shabana I. Khan, Himanshu Atheaya, Ritu Mamgain and Diwan S. Rawat. 2011. "Synthesis and in vitro antimalarial activity of tetraoxane-amine/amide conjugates," *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(1): 2816-2827.

[51] Narender Tadigoppula. 2013. "Synthesis and Insight into the Structure–Activity Relationships of Chalcones as Antimalarial Agents." *J. Med. Chem.* 56(1): 31–45.

[52] Sunny Manohar, Shabana I. Khan and Diwan S. Rawat. 2010. "Synthesis, antimalarial activity and cytotoxicity of 4-aminoquinoline–triazine Conjugates." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 20(1): 322–325.

[53] Sunny Manohar, Shabana I. Khan and Diwan S. Rawat. 2011. "Synthesis of 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole and 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole-1,3,5-triazine Hybrids as Potential Antimalarial Agents." *Heliyon*, 5(1): e02357.

[54] Hanine Hadni and Menana Elhallaoui. 2019. "Molecular docking and QSAR studies for modeling the antimalarial activity of hybrids 4-anilinoquinoline-triazines derivatives with the wild-type and mutant receptor pf-DHFR." *Heliyon.* 5: e02357

[55] P. Linga Reddy, Shabana I. Khan, Prija Ponnan, Mohit Tripathi and Diwan S. Rawat. 2017. "Design, synthesis and evaluation of 4-aminoquinoline-purine hybrids as potential antiplasmodial agents." *European Journal of Medicinal Chemistry*, 126: 675-686.

[56] Saikrishna Balabadra, MeenaKumari Kotni, Vijjulatha Manga, Aparna Devi Allanki, Rajesh Prasad and Puran Singh Sijwali. 2017. "Synthesis and evaluation of naphthyl bearing 1,2,3-triazole analogs as antiplasmodial agents, cytotoxicity and docking studies." *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 25: 221–232.

[57] Deepak Kumar, Shabana I. Khan, Prija Ponnan and Diwan S. Rawat. 2014. "Triazine–pyrimidine based molecular hybrids: synthesis, docking studies and evaluation of antimalarial activity." *NewJ. Chem.* 38: 5087.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[58] Deepak Kumar, Shabana I. Khan, Babu L. Tekwani, Prija Ponnan and Diwan S. Rawat. 2015. "4-Aminoquinoline-Pyrimidine hybrids: Synthesis, antimalarial activity, heme binding and docking studies." *European Journal of Medicinal Chemistry.* 89: 490-502.

[59] Shiv Shyam Maurya, Shabana I. Khan, Aparna Bahuguna, Deepak Kumar and Diwan S. Rawat. 2017. "Synthesis, antimalarial activity, heme binding and docking studies of N-substituted 4-aminoquinoline-pyrimidine molecular hybrids." *European Journal of Medicinal Chemistry.* 129: 175-185.

[60] Rohit Kholiya, Shabana I. Khan, Aparna Bahuguna, Mohit Tripathi and Diwan S. Rawat. 2017. "N-Piperonyl substitution on aminoquinoline-pyrimidine hybrids: Effect on the antiplasmodial potency." *European Journal of Medicinal Chemistry.* 131: 126-140.

[61] Mohit Tripathi, Shabana I. Khan, Prija Ponnan, Rohit Kholiya and Diwan S. Rawat. 2017. "Aminoquinoline-Pyrimidine-Modified Anilines: Synthesis, In Vitro Antiplasmodial Activity, Cytotoxicity, Mechanistic Studies and ADME Predictions." *ChemistrySelect.* 2: 9074 – 9083.

[62] K. Kranthi Raj, Sunny Manohar, Venkateswara Rao Talluri and Diwan S. Rawat. 2015. "Insights into activity enhancement of 4-aminoquinoline-based hybrids using atom-based and field-based QSAR studies." *Med Chem Res.* 24:1136–1154.

[63] Sunny Manohar, Chinna Rajesh, Shabana I. Khan, Babu L. Tekwani and Diwan S. Rawat. 2012. "Novel 4-Aminoquinoline-Pyrimidine Based Hybrids with Improved in Vitro and in Vivo Antimalarial Activity." *ACS Med. Chem. Lett.* 3: 555–559.

[64] Mohit Tripath, Shabana I. Khan, Anuj Thakur, Prija Ponnan and Diwan S. Rawat. 2015. "4-Aminoquinoline-pyrimidine-aminoalkanols: synthesis, in vitro antimalarial activity, docking studies and ADME predictions." *NewJ. Chem.* 39: 3474.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้