บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของหัวข้อการวิจัย

ปัจจุบันนี้วัณโรคยังคงเป็นโรคติดเชื้อในมนุษย์ที่เป็นสาเหตุหลักของการตายของประชากรโลกมากกว่าโรคติดเชื้อเดี่ยวอื่นๆ ทั้งยังมีการแพร่ระบาดของโรควัณโรคในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีอย่างรวดเร็ว ตลอดจนมีปัญหาวัณโรคดื้อยาหลายขนานและดื้อยารุนแรงเพิ่มมากขึ้น ทำให้ผู้ป่วยวัณโรคไม่ตอบสนองต่อยาหลักหลายรายการที่ใช้รักษาอยู่ ซึ่งเป็นปัญหาหลักทางด้านสุขภาพที่สำคัญต่อประชากรทั่วโลกโดยเฉพาะโดยเฉพาะในประเทศไทยมีผู้ป่วยวัณโรคชุกชุมสูงเป็นอันดับที่ 12 ของโลก ดังนั้นการศึกษาวิจัยเพื่อหาแนวทางในการพัฒนายาใหม่ที่ใช้ในการรักษาโรควัณโรคจึงมีความจำเป็นที่ต้องทำอย่างต่อเนื่อง วัณโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย Mycobacterium tuberculosis (M. tuberculosis) การรักษาโรควัณโรคแบ่งได้ตามเป้าหมายและกลไกการออกฤทธิ์ของยา กระบวนการการสังเคราะห์ทางชีวภาพของกรดไขมัน (Fatty acidbiosynthesis) ของเชื้อM. tuberculosis เป็นเป้าหมายสำคัญในยับยั้งเชื้อแบคทีเรียนี้ จึงทำให้มีการค้นคว้าและพัฒนายาที่ใช้ในการยับยั้งกระบวนการนี้อย่างกว้างขวาง ไอโซไนอาซิด (isoniazid หรือ INH) เป็นยาหลักในการรักษาวัณโรคมานานกว่า 50 ปี ไอโซไนอาซิดทำหน้าที่ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ของกรดไมโคลิก (biosynthesis of mycolic acids) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของเชื้อ M. tuberculosis ข้อดีของยาในกลุ่มนี้คือมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ดี มีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำและราคาถูก อย่างไรก็ตามการใช้ยาในการรักษา โรควัณโรคยังมีปัญหาเนื่องจากเกิดการดื้อยาหลายขนานของโรควัณโรค (multi-drug resistant, MDR) และการเกิดร่วมกันระหว่างโรคเอดส์และโรควัณโรค ในปัจจุบันนี้ยังมีปัญหาการดื้อยาที่รุนแรงมากคือ การดื้อยาแบบ extensively drug resistant (XRD) จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าเอนไซม์เป้าหมายของไอโซไนอาซิด คือ mycobacterium tuberculosisenoyl-acp reductase (InhA) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา beta-nicotinamide adeninedinucleotide (NADH)-specific reduction ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการขยายสายโซ่ของกรดไขมันใน FAS II pathway ในกระบวนการสังเคราะห์ของกรดไขมัน โดยในขั้นตอนแรกไอโซไนอาซิดต้องถูกกระตุ้นให้อยู่ในรูปอนุมูลอิสระโดยใช้เอนไซม์ mycobacterium tuberculosis catalase-peroxidase (KatG) หลังจากนั้นอนุมูลอิสระของไอโซไนอาซิดที่เกิดขึ้นนี้จะเข้าไปจับกับ NADH เกิดเป็นสารประกอบของไอโซไนอาซิดกับ NADH (INH-NAD adduct) สารประกอบ INH-NAD ที่เกิดขึ้นทำหน้าที่ยับยั้งเอนไซม์ InhA แต่ปัญหาสำคัญของการใช้ยาชนิดนี้คือเกิดการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ KatG ซึ่งนำไปสู่ปัญหาการดื้อยาต่อไอโซไนอาซิด เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ KatG จึงมีการพัฒนาสารยับยั้งกลุ่มใหม่ให้มีกลไกที่แตกต่างจาก ไอโซไนอาซิด ซึ่งสารกลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง (direct inhibitor) โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการกระตุ้นของเอนไซม์ KatG

ดังนั้นจึงมีการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรงและสารในกลุ่มนี้แสดงค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งสูง

สำหรับกลุ่มสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง พบว่ามีการศึกษาโครงสร้างผลึกของสารยับยั้งที่จับกับเอนไซม์ทั้งชนิดดั้งเดิมและชนิดกลายพันธุ์ แต่ข้อมูลในรายละเอียดของกลไกการออกฤทธิ์ของสารยับยั้งกลุ่มนี้ยังไม่สามารถอธิบายได้เช่นกัน ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญที่ต้องการหาคำตอบ ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องมีกระบวนการศึกษาอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงลึกเพิ่มเติมและเพื่อเข้าใจถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง ดังกล่าว รวมถึงศึกษาผลของการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ที่มีต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเพื่อที่จะใช้เป็นข้อมูลสำคัญในการพัฒนาเพื่อหายาตัวใหม่ที่มี กัมมันตภาพสูงในการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่มีการกลายพันธุ์เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยาของโรควัณโรค

สารอนุพันธ์เอริลเอไมด์ได้ถูกพัฒนาขึ้นมา เพื่อแก้ไขปัญหาการดื้อยาของไอโซไนอาซิด อันเนื่องมาจากการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ mycobacterial catalase-peroxidase (KatG) สารอนุพันธ์เอริลเอไมด์สามารถยับยั้งเอนไซม์ InhA ได้โดยตรง โดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นจากเอนไซม์ KatG ดังนั้นสารอนุพันธ์เอริลเอไมด์ จึงถูกเรียกว่าเป็น สารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง (direct InhA inhibitor) สารยับยั้งในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเอนไซม์ InhA แต่อย่างไรก็ตามสารในกลุ่มนี้ยังมีประสิทธิภาพต่ำในการฆ่าเซลล์ของแบคทีเรีย ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ในการศึกษาคุณสมบัติในระดับโมเลกุลของสารยับยั้งเหล่านี้ เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการออกแบบสารยับยั้งตัวใหม่ที่ประสิทธิภาพที่ดีขึ้น

จากการสืบค้นข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าการศึกษาวิจัยสมบัติทางโครงสร้างในระดับโมเลกุลของสารยับยั้ง ในกลุ่มสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง มีน้อยมาก ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาสมบัติทางโครงสร้างของสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง โดยอาศัยระเบียบวิธี Computer-Aided Molecular Design บนพื้นฐานของการคำนวนเคมีควอนตัม (Quantum chemistry) และ การจำลองแบบ (Molecular Modeling)

ดังนั้น ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษา สมบัติทางโครงสร้างสามมิติ สมบัติพลวัต พลังงานอันตรกิริยาพลังงานเสถียร และสมบัติต่างๆในระดับโมเลกุลของ และศึกษาอันตรกิริยาของสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง (Direct inhibitor) กับตัวจับด้วยระเบียบวิธีการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวน (Computer-Aided Molecular Design) บนพื้นฐานของการคำนวนเคมีควอนตัม (Quantum chemistry) และ การจำลองแบบ (Molecular Modeling) โดยจะทำการศึกษา ทางด้าน Structure-based drug design โดยใช้วิธี Molecular docking และ ligand-based drug design โดยใช้วิธี 2D-QSAR และ 3D-QSAR เพื่อศึกษาโครงสร้างสำคัญที่จำเป็นต่อการเกิดอันตรกิริยาระหว่าง สารยับยั้งที่มีต่อเอนไซม์ ร่วมกับการศึกษาพลศาสตร์เชิงโมเลกุล(Molecular Dynamic Simulations, MD) เพื่อหาสมบัติเชิงพลวัติของระบบ โดยคาดหวังว่าเมื่อนำเอาผลที่ได้จากการศึกษา โดยใช้ระเบียบวิธี Computer-Aided Molecular Design หลายวิธีมาวิเคราะห์ร่วมกันจะได้ข้อมูลทางโครงสร้างที่สำคัญ ทำนายการจับกันของ

สารยับยั้งและโมเลกุลเป้าหมาย สมบัติพลวัต พลังงานเสถียร และสมบัติต่าง ๆ ในระดับโมเลกุล ซึ่งเป็นเป็นพื้นฐานสำคัญต่อความเข้าใจในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งและเอนไซม์ได้ชัดเจนและสามารถเข้าใจกลไกการออกฤทธิ์ของยาไอโซไนอาซิดและสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรงมากขึ้น รวมทั้งอธิบายผลของเอนไซม์ที่มีการกลายพันธุ์ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงกัมมันตภาพยับยั้งของตัวยับยั้ง และสุดท้ายจะนำไปสู่การออกแบบโครงสร้าง (molecular design) ของสารยับยั้งชนิดใหม่ที่คาดว่าจะมีศักยภาพสูงขึ้นในการยับยั้งเอนไซม์ InhA ที่มีการกลายพันธุ์

2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและกัมมันตภาพในการยับยั้งเอนไซม์ Mycobacterium InhA ของสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง ในกลุ่มสารอนุพันธ์เอริลเอไมด์ สารอนุพันธ์ไตรโคซานและสารอนุพันธ์อัลคิลไดฟีนิลอีเทอร์ โดยใช้ระเบียบวิธี 2D-QSAR และ 3D-QSAR

2. ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างสารในกลุ่มอนุพันธ์เอริลเอไมด์ สารอนุพันธ์ไตรโคซานและสารอนุพันธ์อัลคิลไดฟีนิลอีเทอร์ และโพรงการจับของเอนไซม์ Mycobacterium InhA โดยการคำนวณโมเลคูลาร์ ด็อกกิ้ง (molecular docking calculations)

3. เพื่อคำนวณพลังงานอันตรกิริยาที่มีต่อกรดอะมิโนโพรงการจับของสารในกลุ่มอนุพันธ์เอริลเอไมด์ สารอนุพันธ์ไตรโคซานและสารอนุพันธ์อัลคิลไดฟีนิลอีเทอร์ กับเอนไซม์ Mycobacterium InhA ทั้งชนิดดั้งเดิมและชนิดกลายพันธุ์ ด้วยการคำนวณเคมีควอนตัม

4. ศึกษาสมบัติเชิงพลวัติระหว่างสารในกลุ่มอนุพันธ์เอริลเอไมด์ สารอนุพันธ์ไตรโคซานและสารอนุพันธ์อัลคิลไดฟีนิลอีเทอร์ และเอนไซม์ InhA ด้วยวิธี MD simulations

5. ผลจากการศึกษาที่ได้จะนำไปพิจารณาร่วมกันเพื่อใช้ในการออกแบบสารประกอบในกลุ่มสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง ให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นในการยับยั้งเอนไซม์ Mycobacterium InhA

3. ขอบเขตของการวิจัย

เป็นงานด้านการออกแบบโครงสร้างโดยวิธีทางคอมพิวเตอร์ (computer-aided molecular design) บนพื้นฐานการคำนวณทางเคมีควอนตัม และการจำลองแบบโมเลกุล ของสารยับยั้งโรควัณโรคในกลุ่มสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง กลุ่มอนุพันธ์เอริลเอไมด์ สารอนุพันธ์ไตรโคซานและสารอนุพันธ์อัลคิลไดฟีนิลอีเทอร์โดยวิธีการศึกษาที่ใช้คือ วิธี ligand–based drug design และ structure-based drug design สำหรับวิธีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและกัมมันตภาพในการยับยั้ง (Quantitative structure activity relationship, QSAR) ในโครงการวิจัยนี้ได้ใช้วิธี 3D – QSAR คือ วิธีวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบสนามโมเลกุล (Comparative Molecular Field Analysis, CoMFA) และวิธีการวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบดัชนีความเหมือนเชิงโมเลกุล (Comparative Similarity Index Analysis, CoMSIA) นอกจากนี้ยัง

ทำการศึกษารูปแบบการจับและอันตรกิริยาที่สำคัญ ของสารอนุพันธ์ไอโซไนอาซิดในการยับยั้งเอนไซม์ InhA ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณโมเลคิวลาร์ด็อกกิ้งและ วิธีMD simulations

ผลการวิจัยสำคัญที่ได้จากการวิเคราะห์ร่วมกันของผลงานที่ได้จากระเบียบวิธี Computer-Aided Molecular Design ในแต่ละส่วนทำให้ได้ข้อมูลทางโครงสร้างที่สำคัญในการทำนายการการเกิดอันตรกิริยาสำคัญของสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง กับเอนไซม์ InhA ในระดับโมเลกุลได้อย่างลึกซึ้ง รวมถึงได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ทางด้านสมบัติต่าง ๆ ในระดับโมเลกุลเป็นพื้นฐานสำคัญต่อความเข้าใจในกลไกการออกฤทธิ์ของสารยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยตรง ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางสำคัญในการออกแบบตัวยา (drug design) เพื่อหายาตัวใหม่ที่มีกัมมันตรภาพสูงในการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แบบดั้งเดิมและแบบกลายพันธุ์เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยาของโรควัณโรคต่อไป

4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วัณโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* ก่อให้เกิดปัญหาสาธารณสุขที่คุกคามประชากรทั่วโลกโดยเฉพาะประเทศกำลังพัฒนา โดยยาที่ใช้ในการรักษาโรควัณโรคแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม โดยยาในกลุ่มแรกคือ ยากลุ่ม first line ซึ่งได้แก่ isonizid rifampin rifapentine ethambutal และ pyrazinamide และยาในกลุ่มที่สองคือ ยากลุ่ม second line ได้แก่ ethionamide cycloserine capreomycin และ para-aminosalicylic acid และการรักษาโรควัณโรคทำได้โดยการใช้ยาหลายขนานร่วมกัน แต่อย่างไรก็ตามการใช้ยาในการรักษาโรควัณโรคยังมีปัญหาเนื่องจากเกิดการดื้อยาหลายขนานของโรควัณโรค (multidrug resistant, MDR) และการเกิดร่วมกันระหว่างโรคเอดส์และโรควัณโรค นอกจากนี้ในปัจจุบันนี้ยังเจอปัญหาการดื้อยาที่ถือว่ารุนแรงคือการดื้อยาแบบ extensively drug-resistant (XRD) ไอโซไนอาซิดถูกใช้เป็นยารักษาโรควัณโรคอย่างกว้างขวางและมีประสิทธิภาพสูง ดังนั้นกลไกการออกฤทธิ์และเอนไซม์เป้าหมายในการยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ของตัวยาไอโซไนอาซิดจึงได้รับความสนใจสูง เอนไซม์ enoyl-ACP reductase (InhA) ได้ถูกค้นพบว่าเป็นเอนไซม์เป้าหมายของตัวยาไอโซไนอาซิด ในปี 1994 Banerjee และคณะ พบว่าการกลายพันธุ์ของยีน InhA จะทำให้เกิดการดื้อยาของไอโซไนอาซิดและอีแธมบิวตอล ต่อมาในปี 1995 Dessen และคณะ ได้วิเคราะห์โครงสร้างของผลึกของเอนไซม์ InhA ชนิดดั้งเดิมและชนิดกลายพันธ์ได้เป็นครั้งแรก โดยวิธีผลึกเอกซ์เรย์ (X-ray Crystallography) โดยมีค่า resolution เป็น 2.2 และ 2.7 อังสตรอมตามลำดับ และจากโครงสร้างผลึกที่ได้พบว่าการดื้อยาของไอโซไนอาซิดเกี่ยวข้องโดยตรงกับการรบกวนพันธะไฮโดรเจนที่ช่วย stabilizes การจับของ NADH นอกจากการศึกษาทางโครงสร้างผลึกแล้วยังทำการศึกษาหน้าที่ของเอนไซม์ InhA ซึ่งพบว่าเอนไซม์นี้จะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา beta-nicotinamide adenine dinucleotide (NADH)-specific reduction ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการขยายสายโซ่ของกรดไขมัน เนื่องจากตัวยาไอโซไนอาซิดมีคุณสมบัติเป็น prodrug ซึ่งในการออกฤทธิ์ต้องอาศัยการกระตุ้นจากเอนไซม์ mycobacterial

catalaseperoxidase (KatG) และจากการศึกษาในเวลาต่อมาพบว่าการดื้อยาของไอโซไนอาซิดเกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ katG และ InhA protein [9-10] ในปี 1999 Rozwarski และคณะ ได้วิเคราะห์โครงสร้างผลึกของเอนไซม์ InhA ที่จับกับ NAD+ และซับสเตรต C16 fatty acyl จากโครงสร้างผลึกพบว่าซับสเตรตจะจับกับเอนไซม์ในลักษณะ U-shaped โดยพันธะคู่ของซับสเตรตจะอยู่ใกล้กับวงไนโคตินาไมด์ของ NAD+ และวงอะโรมาติกของ Tyr158 จะเกิดอันตรกิริยาโดยตรงกับไทโอเอสเทอร์คาบอร์นิลออกซิเจนของซับสเตรตซึ่งจะช่วยให้อินเตอร์มีเดียตมีความเสถียร หลังจากนั้นได้มีผู้ศึกษาโครงสร้างผลึกของเอนไซม์ InhA ทั้งชนิดดั้งเดิมและชนิดกลายพันธุ์ที่จับอยู่กับ NADH ที่เป็นโคเอนไซม์ และโครงสร้างผลึกของเอนไซม์ชนิดนี้ที่จับอยู่กับตัวยาไอโซไนอะซิดทั้งที่เป็นชนิดดั้งเดิมและชนิดกลายพันธุ์แบบ I21V และ S94A และจากข้อมูลทางโครงสร้างผลึกเหล่านี้ทำให้เข้าใจถึงกลไกการออกฤทธิ์และการดื้อยาของไอโซไนอาซิดในการยับยั้ง *Mycobacterium tuberculosis* ได้ดียิ่งขึ้น นอกจากการศึกษาโครงสร้างผลึกของเอนไซม์ InhA ด้วยเทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟคชั่นแล้วยังได้มีการศึกษาทางด้านการจำลองโครงสร้างโดยคอมพิวเตอร์ (Computer aided molecular design) ของเอนไซม์ชนิดนี้อีกด้วย ในปี 2002 Pantano และคณะ ได้ศึกษาการจับกันระหว่างเอนไซม์ InhA ชนิดดั้งเดิมและชนิดกลายพันธุ์ (S94A) และ isonicotinic acid hydrazide-NADH โดยใช้วิธี ab initio molecular dynamics จากการคำนวณพบว่าอันตรกิริยาของ Ser94 และ NADH ซึ่งพบในโครงสร้างผลึกของเอนไซม์ InhA แบบดั้งเดิมจะหายไป ซึ่งเกิดจากการจัดเรียงตัวของ Gly14 นอกจากนี้ยังพบว่าโครงสร้างที่ได้จากการคำนวณของเอนไซม์แบบดั้งเดิมค่อนข้างที่เหมือนกันกับโครงสร้างผลึกของเอนไซม์ชนิดกลายพันธุ์ S94A และในปี 2005 Schroeder และคณะ ศึกษาเปรียบเทียบ affinity ของ NADH ในการจับกับเอนไซม์ InhA ชนิดดั้งเดิมและชนิดกลายพันธุ์แบบ I21V และ I16T โดยใช้เทคนิค molecular dynamics simulation เมื่อเทียบคอนฟอร์เมชั่นของ NADH ที่จับอยู่กับเอนไซม์ InhA ชนิดดั้งเดิมและชนิดกลายพันธุ์ พบว่าคอนฟอร์เมชันของ NADH ในส่วน pyrophosphate ที่จับอยู่กับเอนไซม์ InhA ชนิดกลายพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งทำให้การเกิดอันตรกิริยากับกรดอะมิโนที่อยู่ล้อมรอบลดลง ส่งผลให้ affinity ของ NADHในการจับกับเอนไซม์ InhA ชนิดกลายพันธุ์ลดลง จากข้อมูลที่ได้เหล่านี้ทำให้เข้าถึงกลไกการดื้อยาซึ่งจะมีประโยชน์ต่อการออกแบบตัวยาที่มีศักยภาพสูงในการรักษาโรควัณโรคเพื่อพัฒนาตัวยับยั้งให้มีประสิทธิภาพและมีความจำเพาะต่อเอนไซม์ InhA ได้มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพการยับยั้งของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยในปี2004 Pasqualoto และคณะ ใช้เทคนิค 4D-QSAR ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพของสารในกลุ่ม hydrazides จำนวน 37 โมเลกุล โดยสารในกลุ่มนี้มีกลไกการออกฤทธิ์เหมือนกับไอโซไนอาซิด จากการศึกษาพบว่าโมเลกุลของสารที่มีหมู่แทนที่ที่ไม่มีขั้วในส่วนของ acyl moiety จะทำให้ค่าการยับยั้งลดลง นอกจากนี้การปรับเปลี่ยนโมเลกุลของสารในส่วน NAD moiety ให้มีหมู่แทนที่ที่ไม่มีขั้วและเป็นมีสมบัติเป็น hydrogen bond donor and acceptor จะช่วยปรับปรุงอันตรกิริยาของสารยับยั้งกับกรดอะมิโนใน active site ของเอนไซม์ InhA นอกจาก

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพของสารในกลุ่มนี้แล้วยังได้มีการศึกษาในกลุ่มของสารอนุพันธ์ benzoxazines และ phenylquinazoline และสารในกลุ่ม isonicotinic acid hydrazides เมื่อเร็วนี้เพื่อเป็นการพัฒนาตัวยาในกลุ่มสารอนุพันธ์ไอโซไนอาซิด ได้มีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพของสารอนุพันธ์ไอโซไนอาซิด

ตั้งแต่มีการรายงานการดื้อยาของไอโซไนอาซิด ที่เกี่ยวเนื่องกับการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ KatG ทำให้มีการสังเคราะห์สารกลุ่มใหม่ที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ InhA ได้โดยตรง โดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นจากเอนไซม์ KatG สารยับยั้งในกลุ่มสารอนุพันธ์เอริลเอไมด์ได้นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้ สารในกลุ่มนี้มีความสามารถสูงในการยับยั้งเอนไซม์ InhA สารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเอนไซม์ InhA ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.09 μM แต่อย่างไรก็ตามสารอนุพันธ์เอริลเอไมด์ยังให้ค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์แบคทีเรีย ที่ต่ำ โดยให้ค่า minimum inhibitory concentrations (MIC) มากกว่า 125 μM ดังนั้นการศึกษาเพื่อให้เข้าใจถึงพื้นฐานทางโครงสร้างของสารอนุพันธ์เอริลเอไมด์ ที่จำเป็นต่อค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์แบคทีเรีย จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ในปี 2006 He และคณะได้พัฒนาสารในกลุ่ม Pyrrolidine Carboxamides เพื่อเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ InhA ตัวใหม่ที่ไม่ต้องการการกระตุ้นจากเอนไซม์ KatG เพื่อแก้ปัญหาการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ KatG ที่ส่งผลต่อการดื้อยาของไอโซไนอาซิดด้วย ในปี 2008 Kumar และคณะได้ทำการศึกษา CoMFA ของสารในกลุ่มนี้เพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการออกแบบยาตัวใหม่ของสารกลุ่มนี้ นอกจากสารในกลุ่ม Pyrrolidine Carboxamides แล้วยังมีการพัฒนาสารกลุ่มอื่นที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ InhA โดยไม่ต้องการการกระตุ้นจากเอนไซม์ KatG ขึ้นมาอีก[35] จากนั้น Xin และคณะและBoyne และคณะ ได้พัฒนาสารในกลุ่ม arylamides และ diphenyl ethers ตามลำดับ ปี 2008 Ende และคณะได้ทำการสังเคราะห์และทดสอบ กัมมันตภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย M. tuberculosis ของสารในกลุ่ม B-ring modified diaryl ether และล่าสุดในปี 2009 Freundlich และคณะ ได้ทำสังเคราะห์สารในกลุ่ม triclosan และได้ทำการทดสอบค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งต่อเซลล์ M. tuberculosis ทั้งชนิดดั้งเดิมและชนิดที่มีการดื้อต่อตัวยา INH จากการทดลองพบว่าสารอนุพันธ์ของสาร triclosan มีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวยา INH ในการยับยั้งเซลล์ M. tuberculosis ชนิดที่มีการดื้อต่อตัวยา INH

ในปี 2010 Lu และคณะได้ทำการศึกษา 3D-QSAR ของสารยับยั้งในกลุ่ม arylamide เพื่อนำผลที่ได้ไปทำการคัดกรองสารยับยั้งตัวใหม่ของเอนไซม์ InhA นอกจากนี้คณะผู้วิจัย ได้ทำการศึกษาโมเลคิวลาร์ ด๊อกกิ้งของสารยับยั้งในกลุ่มเดียวกันนี้และทำการศึกษา QSAR โดยใช้ระเบียบ CoMFA CoMSIA และ HQSAR โดยแบบจำลอง QSAR ที่ได้ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของสนามสเตอริก สนามอิเล็กโตรสแตติก และสนามไฮโดรโฟบิก ที่ตำแหน่งต่างๆ ของโมเลกุลที่มีความสำคัญต่อค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งของสารยับยั้งนี้ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาพลศาสตร์เชิงโมเลกุลเพื่อหาสมบัติและพฤติกรรมเชิงพลวัติของสารยับยั้งในกลุ่มเอ

ริลเอไมด์ในบริเวณการจับของเอนไซม์ ผลการศึกษาพบว่าโพรงไฮโดรโฟบิกของเอนไซม์ InhA มีความยืดหยุ่นต่อการจับสารยับยั้ง

ในปีเดียวกันนี้คณะผู้วิจัยได้ประยุกต์ใช้ระเบียบการออกแบบโมเลกุลด้วยคำนวณ (Computer-Aided Molecular Design) บนพื้นฐานของการคำนวณเคมีควอนตัม (Quantum chemistry) และการจำลองแบบ (Molecular Modeling) เพื่ออธิบายอันตรกิริยาที่เฉพาะเจาะจงของสารอนุพันธ์ไอโซไนอาซิดในโพรงการจับของเอนไซม์ InhA จากการศึกษาพบว่าพันธะไฮโดรเจนเป็นอันตรกิริยาที่สำคัญของสารอนุพันธ์ INH-NAD adduct ในการจับกับเอนไซม์ InhA โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธะไฮโดรเจนของหมู่ไพโรฟอสเฟต แบบจำลองที่ได้จากการศึกษา Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) ได้บ่งชี้ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและค่ากัมมันตภาพของสารเหล่านี้ โดยสามารถชี้แนะโครงสร้างสำคัญของสารอนุพันธ์ที่ทำให้สารกลุ่มนี้มีค่ากัมมันตภาพที่สูงขึ้นได้[42] นอกจากนี้ Wahab และคณะ ได้ทำการศึกษาการดื้อยาของไอโซไนอาซิด โดยใช้ระเบียบวิธี MD Simulations จากการศึกษาทำให้เข้าใจถึงกลไกการยับยั้งของตัวยาไอโซไนอาซิดในเอนไซม์ InhA ชนิดดั้งเดิมและชนิดกลายพันธุ์ได้ โดยการกลายพันธุ์ของเอนไซม์ InhA ทำให้ประสิทธิภาพการจับของตัวยาไอโซไนอาซิดในโพรงการจับลดลง Muddassar และคณะ ได้ใช้ระเบียบวิธี hybrid virtual screening ในการคัดสรรสารยับยั้งเอนไซม์ InhA ตัวใหม่ สารยับยั้งจำนวน 2 โครงสร้าง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์ M. tuberculosis ได้ในระดับไมโครโมลาร์ ซึ่งสารยับยั้งใหม่ทั้งสองตัวนี้อาจนำไปใช้เป็นสารต้นแบบในการพัฒนาสารยับยั้งโรควัณโรคได้ Kumar และคณะ ได้ใช้แบบจำลองโมเลกุลจากวิธี CoMFA และ CoMSIA ในการทำ virtual screening ในการคัดสรรสารยับยั้งเอนไซม์ InhA จากการศึกษาพบว่าสารยับยั้งใหม่จำนวน 20 โครงสร้าง มีค่ากัมมันตภาพการยับยั้งที่ได้จากการทำนายสูง