

**เปรียบเทียบการกระจายของพลังงานอันตรกิริยาระหว่าง
ตัวยับยั้งในรุ่นที่หนึ่งและรุ่นที่สองในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์
การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 โดยวิธีเคมีควอนตัม**

**Comparing the interaction energy contribution between first and second
generation inhibitor on the binding site of HIV-1 reverse transcriptase
based on quantum chemical calculations**

บทนำ

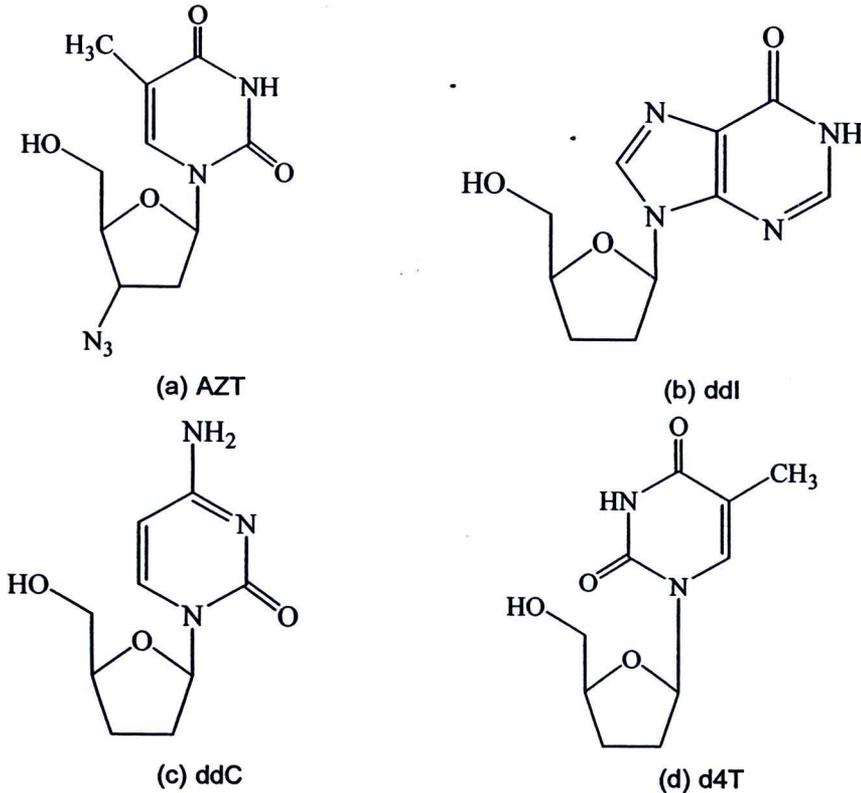
1. คำนำ

ปัจจุบันเป็นที่ทราบดีแล้วว่า เชื้อไวรัส HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus Type 1) เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคเอดส์ และมียารักษาที่ใช้อยู่ในปัจจุบันอยู่หลายชนิด ถึงแม้ว่ายาเหล่านั้นไม่สามารถรักษาให้ผู้ป่วยเอดส์หายขาดได้ แต่สามารถชะลอหรือยืดอายุผู้ป่วยเอดส์ได้ ทำให้ผู้ป่วยเอดส์สามารถอยู่ในสังคมได้อย่างปกติ และในประเทศไทย รัฐบาลได้นำยารักษาโรคเอดส์ให้อยู่ในกลุ่มสามสิบบาทรักษาทุกโรคตามโครงการของรัฐบาล อย่างไรก็ตามนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกก็ยังพยายามทำการศึกษา วิจัย เพื่อพัฒนาและค้นหายารักษาโรคเอดส์ตัวใหม่ๆ หรือพัฒนายาที่มีอยู่ในปัจจุบันให้มีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น เพื่อแก้ปัญหาการดื้อยาและการรักษาที่มีประสิทธิผลมากยิ่งขึ้น

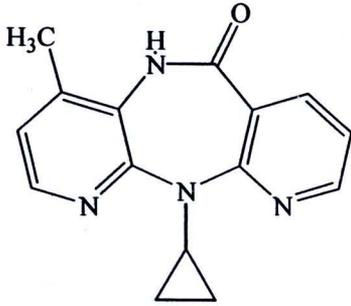
เอนไซม์การถ่ายแบบ (reverse transcriptase) เป็นเอนไซม์สำคัญในวงจรชีวิตของการเจริญเติบโตของโรคเอดส์ ซึ่งเป็นขั้นตอนหนึ่งที่ใช้ในการจำลองแบบโดยการเปลี่ยน single-strand RNA เป็น double-strand DNA ก่อนที่จะรวมเข้าไปใน host genome ดังนั้นเอนไซม์การถ่ายแบบจึงเป็นเอนไซม์ที่สำคัญ ที่เป็นเป้าหมายในการค้นหาหรือพัฒนาตัวยับยั้งเพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยเอดส์ ซึ่งตัวยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบได้ถูกพัฒนาและนำไปใช้รักษาผู้ป่วยเอดส์ในปัจจุบัน และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสชนิดนี้ได้ ซึ่งตัวยับยั้งในกลุ่มนี้สามารถแบ่งได้ 2 กลุ่มคือตัวยับยั้งในกลุ่ม nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) และ non- nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI)

ตัวยับยั้งในกลุ่ม NRTI จะมีลักษณะโครงสร้างพื้นฐานที่ใกล้เคียงกันและจะไปยับยั้งและทำลายเชื้อไวรัสเอดส์ในขั้นตอนของการใช้เอนไซม์การถ่ายแบบ ซึ่งตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะยับยั้งไม่เฉพาะเซลล์ของเชื้อไวรัสเอดส์เท่านั้น ยังทำลายเซลล์ที่ดีในร่างกายด้วยซึ่งเป็นของเสียของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยเอดส์ในปัจจุบัน ตัวอย่างเช่น AZT, ddI, d4T และ ddC อย่างไรก็ตาม ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสเอดส์ได้ในระดับหนึ่งเท่านั้น แต่ยังคงพบว่าไวรัสเอดส์มีฤทธิ์ต้านทานต่อยาในกลุ่มนี้ นอกจากนั้นยังมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยเอดส์อีกด้วย

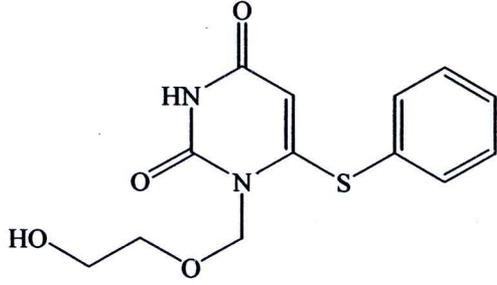
ส่วนตัวอย่างของตัวยับยั้งในกลุ่ม non-nucleoside ดังแสดงในรูปที่ 1 สามารถแบ่งออกเป็นสอง generation โดยตัวยับยั้งใน generation แรก เป็นตัวยับยั้งที่ได้ถูกพัฒนาและนำไปใช้รักษาผู้ป่วยเอดส์ในช่วงแรกและจนถึงปัจจุบัน เช่น nevirapine ส่วนตัวยับยั้งใน generation ที่สอง เป็นตัวยับยั้งที่ได้พัฒนาขึ้นมาตอนหลังเพื่อแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นกับตัวยับยั้งใน generation แรก ตัวยับยั้งใน generation ที่สองนี้คือ efavirenz ลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะมีโครงสร้างที่หลากหลาย และที่สำคัญก็คือมีกัมมันตภาพในการยับยั้งจำเพาะต่อเอนไซม์ชนิด HIV-1 RT เท่านั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีกัมมันตภาพในการยับยั้งได้ที่มีความเข้มข้นต่ำจึงไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติของผู้ป่วย จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่า ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ ถึงแม้จะมีโครงสร้างที่หลากหลายแต่พบว่ากลไกการออกฤทธิ์และการจับกับเอนไซม์มีลักษณะที่เหมือนคล้ายคลึงกันมาก คือ โครงสร้างของตัวยับยั้งที่เข้าไปจับกับเอนไซม์จะเข้าไปจับในบริเวณที่เป็น hydrophobic ซึ่งทำให้โครงสร้างของเอนไซม์การถ่ายแบบสูญเสียสภาพ และไม่สามารถกระตุ้นกระบวนการจำลองแบบของ proviral DNA ได้ แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นหลังจากที่ใช้ยาในกลุ่มนี้ระยะหนึ่งพบว่า เชื้อไวรัสเอดส์จะเกิดการกลายพันธุ์ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ของตัวยาลดลง



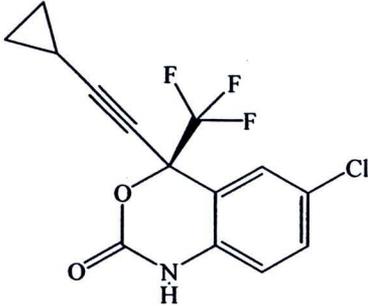
รูปที่ 1-1 NRTIs analogues. (a) AZT, (b) ddl, (c) ddC and (d) d4T.



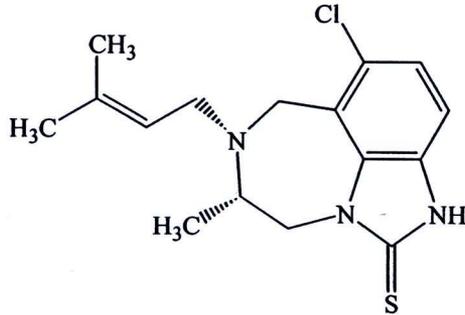
(a) Nevirapine



(b) HEPT



(c) Efavirenz



(d) TIBO

รูปที่ 1-2 NNRTIs analogues. (a) Nevirapine, (b) HEPT, (c) Efavirenz and (d) TIBO.

อย่างไรก็ตามกลไกการยับยั้งและการกลายพันธุ์ของเอนไซม์การถ่ายแบบ หลังจากที่ใช้ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้แล้วยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด และยังเป็นปัญหาที่ยังต้องการข้อมูลในการอธิบายกลไกหรือปัญหาที่เกิดขึ้นในการใช้ตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ และนอกจากนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลในการออกแบบตัวยับยั้งใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าเดิมและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ที่ดีของผู้ป่วยเอดส์ จากการสืบค้นข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการศึกษาวิจัยทางด้านโครงสร้างของโมเลกุล และอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งในกลุ่มนี้กับบริเวณการจับของเอนไซม์ยังมีน้อยมาก ดังนั้นผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาเพื่อเปรียบเทียบอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งในรุ่นที่หนึ่งและรุ่นที่สองในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 โดยวิธีเคมีควอนตัม โดยใช้วิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมหรือเคมีคอมพิวเตอร์ การศึกษาดังกล่าวนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญที่จะใช้ในการอธิบายและทำให้เกิดความเข้าใจถึงกลไกในการยับยั้งของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ ซึ่งตัวยับยั้งในกลุ่มนี้มีลักษณะพิเศษคือถึงแม้จะมีโครงสร้างที่แตกต่างกัน แต่จะเข้าไปจับกับเอนไซม์ในบริเวณเดียวกัน นอก จากนี้ ข้อมูลที่ได้ยังเป็นข้อมูลที่สำคัญในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงต่อไป

2. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันพบว่ายารักษาโรคเอดส์มีหลากหลายชนิดและหลายกลุ่ม ซึ่งมีกลไกการยับยั้งที่แตกต่างกัน โดยนักวิทยาศาสตร์พยายามค้นหาการรักษาโรคเอดส์ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด หรือสามารถยับยั้งผู้ป่วยเอดส์ให้หายขาด แต่พบว่ายังไม่มียากกลุ่มใดที่สามารถรักษาโรคเอดส์ให้หายขาดได้ ยารักษาผู้ป่วยเอดส์ในปัจจุบันเป็นเพียงการรักษาที่ยับยั้งไม่ให้เชื้อแพร่กระจายมากยิ่งขึ้น หรือรักษาตามอาการ ซึ่งทำให้ผู้ที่เป็นโรคเอดส์มีอายุยืนยาวยิ่งขึ้นและสามารถอยู่ในสังคมเหมือนคนทั่วไปได้อย่างปกติ นอกจากนี้พบว่าผู้ป่วยเอดส์ที่รับประทานยาอย่างไม่มีวินัย หรือไม่ปฏิบัติตามคำสั่งของแพทย์จะมีปัญหาการดื้อยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาลดลงและมีค่าใช้จ่ายเพิ่มมากขึ้น เพราะต้องใช้ยารักษาชนิดใหม่ที่มีราคาแพง

จากปัญหาการดื้อยาของผู้ป่วยเอดส์ในปัจจุบันและคาดว่าจะเกิดขึ้นต่อไปในอนาคต โดยยังไม่สามารถป้องกันหรือยับยั้งการกลายพันธุ์ของเชื้อเอดส์ ซึ่งมีความจำเป็นที่ต้องมีข้อมูลเพื่อทำความเข้าใจในปัญหาดังกล่าว เพื่ออธิบายหรือหาแนวทางในการแก้ปัญหาในการรักษาในอนาคต จึงมีความจำเป็นที่จะต้องเข้าใจกลไกการยับยั้งของยาที่ใช้ในปัจจุบันว่าตัวยับยั้งในแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างอย่างไร เนื่องจากในรับประทานยาแต่ละชนิดของผู้ป่วยเอดส์ จะทำให้เกิดการกลายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ดังนั้นในรายงานฉบับนี้ ได้ทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการกระจายของพลังงานอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งในรุ่นที่หนึ่งและรุ่นที่สองในบริเวณโพรงการจับของเอนไซม์การถ่ายแบบ เอช ไอ วี -1 โดยวิธีเคมีควอนตัม โดยคาดว่าจะการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญที่จะใช้ในการอธิบายเพื่อทำให้เกิดเกิดความเข้าใจถึงกลไกและความแตกต่างในการยับยั้งของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ระหว่างตัวยับยั้งในรุ่นที่หนึ่งและรุ่นที่สอง ซึ่งตัวยับยั้งในกลุ่มนี้มีลักษณะพิเศษคือมีโครงสร้างที่แตกต่าง แต่มีโครงสร้างในการเข้าจับกับเอนไซม์ในบริเวณเดียวกัน นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังเป็นข้อมูลที่สำคัญในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่หรือปรับปรุงตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถยับยั้งต่อเอนไซม์ที่มีการกลายพันธุ์หรือทำให้สามารถรักษาผู้ป่วยเอดส์ให้หายขาดได้

3. วัตถุประสงค์

- 3.1 เพื่อศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง nevirapine และ efavirenz กับบริเวณโพรงการจับของ HIV-1 reverse transcriptase ที่ไม่มีการกลายพันธุ์และที่มีการกลายพันธุ์ของโครงสร้างที่ได้จาก x-ray โดยวิธีคำนวณทางเคมีควอนตัม
- 3.2 เพื่อเปรียบเทียบอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้ง nevirapine และ efavirenz กับบริเวณโพรงการจับของ HIV-1 reverse transcriptase ที่ไม่มีการกลายพันธุ์และที่มีการกลายพันธุ์ของโครงสร้างที่ได้จาก x-ray โดยวิธีคำนวณทางเคมีควอนตัม
- 3.3 นำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาไปใช้เป็นแนวทางในการอธิบายอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นและเป็นแนวทางในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่ที่คาดว่าจะมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าเดิม

4. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบัน การพัฒนายารักษาโรคเอดส์ได้พัฒนาไปมาก แต่เป้าหมายหลักของการพัฒนายังอยู่ที่ เอนไซม์ที่สำคัญในวงจรของการขยายพันธุ์ การเจริญเติบโตหรือการแพร่ขยายของเชื้อโรคเอดส์ซึ่งมี เอนไซม์ที่สำคัญ 3 ชนิด ซึ่งเอนไซม์เหล่านั้นได้แก่ เอนไซม์ protease เอนไซม์ integrase และเอนไซม์ Reverse transcriptase แต่ในปัจจุบันพบว่าเอนไซม์ที่สำคัญและเป็นเป้าหมายหลักในการพัฒนายารักษาโรคเอดส์คือ เอนไซม์ Reverse transcriptase ซึ่งยาในกลุ่มนี้พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสเอดส์โดยการยับยั้งการสังเคราะห์ proviral DNA ระหว่างที่เกิดการจำลองแบบของ viral RNA [1-3] ในปัจจุบันพบว่ายาที่ใช้รักษาผู้ป่วยเอดส์ในกลุ่มนี้มีอยู่ 2 กลุ่ม [4-7] กลุ่มแรกคือ nucleoside inhibitor อย่างเช่น AZT, ddI และ ddC แต่ยาในกลุ่มแรกนี้พบว่ามีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย [8-10] ทำให้การพัฒนายารักษาโรคเอดส์มุ่งไปยังกลุ่มที่ 2 คือ nonnucleoside inhibitor เพราะว่ายาในกลุ่มนี้จะมีคุณสมบัติจำเพาะในการยับยั้งเซลล์ที่เป็นเชื้อโรคเท่านั้นโดยไม่ทำลายเซลล์ที่ดีของร่างกาย ยารักษาโรคเอดส์ในกลุ่ม nonnucleoside inhibitor และใช้รักษาผู้ป่วยในปัจจุบัน อย่างเช่น nevirapine [11,22] ซึ่งเป็นยาใน generation แรกของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ ส่วนใน generation ที่สองก็คือ efavirenz [12, 24]

ในปัจจุบันข้อมูลทางโครงสร้างผลึกระหว่างเอนไซม์การถ่ายแบบกับตัวยับยั้ง nonnucleoside inhibitor ซึ่งมีโครงสร้างที่แตกต่างกัน อย่างเช่น nevirapine, HEPT, TIBO และ efavirenz พบโครงสร้างของตัวยับยั้งในกลุ่มนี้จะเข้าไปจับในบริเวณที่เป็น hydrophobic และมีลักษณะการจับที่คล้ายกันมาก [13-14] อย่างไรก็ตามการเกินอันตรกิริยาระหว่างตัวยับยั้งกับบริเวณการจับของเอนไซม์มีลักษณะที่แตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของโครงสร้างของตัวยับยั้ง กับส่วนปลายของกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับของเอนไซม์ชนิดนี้ ส่วนกลไกการยับยั้งของตัวยับยั้งต่อเอนไซม์ชนิดนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด เนื่องจากผลของความแตกต่างของการกระจายในการจับระหว่างตัวยับยั้งกับส่วนปลายของกรดอะมิโน ที่อยู่ในบริเวณการจับแต่มีผลในการยับยั้งได้เหมือนกัน จากข้อมูลทางโครงสร้างของผลึกทำให้ทราบถึงกรดอะมิโนภายในโครงสร้างของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับบริเวณการจับที่เรียกว่า hydrophobic binding pocket ซึ่งเป็นส่วนที่เกิดการจับหรือเกิดอันตรกิริยากับตัวยับยั้งของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ [3] ซึ่งพบว่าส่วนของกรดอะมิโนที่ที่เกี่ยวข้องในบริเวณนี้คือ Leu100, Lys101, Lys103, Val106, Val179, Tyr181, Tyr188, Gly190, Phe227, Trp229, Leu234, His235, Pro236 และ Tyr318 [10] แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นหลังจากที่ใช้ยาในกลุ่มนี้รักษาผู้ป่วยเอดส์ไประยะหนึ่งพบว่ากรดอะมิโนบางตัวในบริเวณการจับนี้เกิดการ mutation ทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาลดลง [15-17]

การเกิดการ mutation ขึ้นหลังจากที่ใช้ยาในกลุ่มนี้รักษาผู้ป่วยเอดส์ ซึ่งพบว่าตัวยับยั้งแต่ละชนิดจะทำให้เกิดการ mutation ในบริเวณที่แตกต่างกัน [18-19] ตัวอย่างของการใช้ยาแล้วทำให้เกิดการ mutation ในบริเวณที่แตกต่างกัน เช่น ถ้าใช้ยา nevirapine ไประยะหนึ่งพบว่าเอนไซม์จะเกิดการ mutation ที่ตำแหน่ง 181 จะเปลี่ยนจาก Tyr ไปเป็น Cys ทำให้การใช้ยา nevirapine รักษาผู้ป่วยต้องใช้ในปริมาณที่มากขึ้น แต่ยาในกลุ่มนี้บางชนิดยังสามารถรักษาผู้ป่วยที่มีเอนไซม์เกิดการ mutation ที่ตำแหน่ง 181 จาก Tyr เป็น Cys ยังใช้ได้อยู่ เช่น efavirenz [20] ดังนั้นทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการกระจายพลังงานในบริเวณการจับของเอนไซม์ที่มีต่อตัวยับยั้งของ

เอนไซม์ในกลุ่มนี้ เพื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างตัวยับยั้งในกลุ่มนี้ที่เป็น generation แรกกับ generation ที่สองมีลักษณะการกระจายตัวของพลังงานอย่างไร และมีลักษณะโครงสร้างการจับแตกต่างกันหรือไม่ เพื่อเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการออกแบบตัวยับยั้งตัวใหม่หรือปรับปรุงตัวยับยั้งที่มีอยู่เดิมให้มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าเดิม และสามารถแก้ปัญหาในการใช้ตัวยับยั้งกับเอนไซม์ที่เกิดการ mutation ได้

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งในกลุ่ม NNRTIs กับกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณการจับ กับตัวยับยั้ง nevirapine และ efavirenz โดยใช้ระเบียบวิธีการคำนวณ ONIOM ซึ่งเป็นระเบียบวิธี multilayer integration method พบว่าสามารถประยุกต์ใช้ระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมมาใช้ในการศึกษาอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างตัวยับยั้งในกลุ่ม nonnucleoside inhibitor กับบริเวณการจับและบริเวณ active site ของเอนไซม์ HIV-1 revers transcriptase ได้ [21-25] ซึ่งทำให้สามารถนำระเบียบวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมมาเป็นแนวทางในการศึกษาการกระจายตัวของพลังงานในบริเวณนี้ได้ แต่จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาพบว่าข้อมูลของพลังงานที่ได้ยังไม่ได้ทำการ correction ด้วย BSSE ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการนำการคำนวณด้วยระเบียบวิธี ONIOM โดยในระดับความแม่นยำหรือในระดับ High layer จะใช้การคำนวณด้วยระเบียบวิธี MP2 ซึ่งจะให้ข้อมูลทางด้านการคำนวณที่ถูกต้องมากยิ่งขึ้น โดยในงานวิจัยที่ผ่านมายังไม่ได้นำระเบียบวิธีนี้มาศึกษาอย่างแพร่หลาย และยังไม่มีความรู้ที่ได้เคยทำการศึกษามาก่อน [24-25] ผู้วิจัยเชื่อว่าโครงการวิจัยโครงการนี้จะเป็นแนวทางหนึ่งซึ่งสามารถนำความรู้ที่ได้ไปออกแบบตัวยับยั้งที่มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าเดิม