



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ อธิพจน์ของความแรงไอออนิกที่มีต่อโครงสร้างและสมบัติไฮเดรชันของกรดไฮยาลูโรนิก
: การศึกษาทางพลวัตเชิงโมเลกุล
Effect of ionic strength on the structure and hydration property of hyaluronic acid
: a molecular dynamic study

ชื่อนิสิต นายธนภุต พึ่งอ่อน เลขประจำตัวนิสิต 5833036223
ภาควิชา เคมี
ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the senior project authors' files submitted through the faculty.

อิทธิพลของความแรงไอออนิกที่มีต่อโครงสร้างและสมบัติไฮเดรชัน
ของกรดไฮยาลูโรนิก : การศึกษาทางพลวัตเชิงโมเลกุล

นายชนกฤต พึ่งอ่อน

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2561

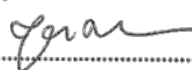
โครงการ อิทธิพลของความแรงไอออนิกที่มีต่อโครงสร้างและสมบัติไฮเดรชันของกรดไฮยาลูโรนิก: การศึกษา
ทางพลวัตเชิงโมเลกุล

โดย นายธนภุต พึ่งอ่อน

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

 ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร. ศุภคร วณิชเวหารุ่งเรือง)

 อาจารย์ที่ปรึกษา

(ศาสตราจารย์ ดร. พรเทพ สมพรพิสุทธิ)

 กรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร. วิทยา เรืองพรพิสุทธิ)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

 หัวหน้าภาควิชาเคมี

(รองศาสตราจารย์ ดร. วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ 14 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2562

ชื่อโครงการ อิทธิพลของความแรงไอออนิกที่มีต่อโครงสร้างและสมบัติไฮเดรชันของกรดไฮยาลูโรนิก: การศึกษาทางพลวัตเชิงโมเลกุล

ชื่อนิสิตในโครงการ นายชนกฤต พึ่งอ่อน เลขประจำตัว 5833036223

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร. พรเทพ สมพรพิสุทธิ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

ในการศึกษานี้ได้ทำการจำลองแบบจำลองพลวัตโมเลกุล (MD) ของกรดไฮยาลูโรนิก 5 หน่วยที่ความเข้มข้นต่างๆของสารละลายเกลือ จากการวิเคราะห์วิถี MD โครงสร้างและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิกถูกตีความในรูปของการเบี่ยงเบนของค่าเฉลี่ยรากกำลังสอง, รัศมีไจเรชัน, พันธะไฮโดรเจน, การล้อมรอบของน้ำ และมุมไดฮีดรัล ผลที่ได้ ปรากฏว่า ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละผลการทดลองเมื่อความเข้มข้นของเกลือแตกต่างกันซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่นำมาศึกษามีขนาดเล็กเกินไปที่จะสังเกตเห็นอิทธิพลของความแรงของไอออน แต่พบความแตกต่างของความแข็งแรงของพันธะของไฮโดรเจนที่ตำแหน่งพันธะไกลโคซิดิกเมื่อความเข้มข้นของเกลือแตกต่างกัน

คำสำคัญ: กรดไฮยาลูโรนิก, การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

Project Title Effect of ionic strength on the structure and hydration property of
hyaluronic acid: a molecular dynamic study

Student Name Mr. Thanakit Prungon Student ID 5833036223

Advisor Name Professor Dr.Pornthep Sompornpisut

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2018

Abstract

In this study, molecular dynamics (MD) simulations of 5 units hyaluronic acid have been carried out at various concentrations of salt solution. From an analysis of MD trajectory, structure and conformational dynamics of hyaluronic acid have been interpreted in terms of root-mean-square deviation, radius of gyration, hydrogen bonding, hydration shell and dihedral angle. No significant difference in term of root-mean-square deviation upon varying salt concentrations and the other terms showed the same results. It is possible that 5-unit-hyaluronic acid used in this work is too small to induce an effect of ionic strength. But, the result different in the strength of hydrogen bonding at glycosidic linkages.

Keywords: Hyaluronic Acid, Molecular Dynamic

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. พรเทพ สมพรพิสุทธิ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือ ตลอดจนคำปรึกษา ถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาในการทำงานวิจัยนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ศุภศร วณิชเวชารุ่งเรือง และ ศาสตราจารย์ ดร. วิทยา เรืองพรพิสุทธิ์ กรรมการสอบโครงการ ตลอดจนให้คำแนะนำและแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์และถูกต้อง

ขอขอบคุณพี่ๆในหน่วยปฏิบัติการวิจัยเคมีคอมพิวเตอร์ทุกคน ในการช่วยเหลือและให้คำแนะนำในระหว่างการทำวิจัย รวมทั้งการให้การสนับสนุนในด้านเครื่องมืออุปกรณ์และซอฟต์แวร์

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนโครงการภายใต้โครงการการเรียนการสอนเพื่อสร้างเสริมประสบการณ์ประจำปีการศึกษา 2561

สารบัญ

บทคัดย่อ	ง
Abstract	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญรูป	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจของโครงการ	1
1.2 กรดไฮยาลูโรนิก	1
1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.4 ขอบเขตการวิจัย	3
1.5 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1.6 ทฤษฎีและหลักการ	6
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	11
บทที่ 2 ขั้นตอนการศึกษา	12
2.1 วัสดุอุปกรณ์	12
2.1.1. Hardware	12
2.1.2. Software	12
2.2 วิธีการทดลอง	12
2.2.1. การเตรียมแบบจำลองของกรดไฮยาลูโรนิกและระบบสำหรับจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล	12
2.2.2. การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก	13
2.2.3. วิเคราะห์ข้อมูลและผลการคำนวณด้วยโปรแกรม VMD 1.9.3	14
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	17
3.1 ค่ารากที่สองของความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยกำลังสอง (Root-Mean-Square Deviation, RMSD)	17
3.2 ค่าการคลายและหดตัวของโมเลกุล: รัศมีจายเรชันของกรดไฮยาลูโรนิก (Radius of gyration, Rg)	18
3.3 ไอออนของโซเดียม คลอไรด์ และน้ำจับกับกรดไฮยาลูโรนิก	19

3.4 ค่าฟังก์ชันการกระจายเชิงรัศมี (Radial Distribution Function , RDF)	22
3.5ค่ามุมไดฮีดรัล (Dihedral Angle)	26
3.6 การวิเคราะห์หาตัวแทนโครงสร้างจากระบบที่เข้าสู่ภาวะสมดุล	28
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	30
ข้อเสนอแนะ	31
เอกสารอ้างอิง	32
ภาคผนวก	34
ประวัติผู้ทำการวิจัย	36

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 : ตารางแสดงค่าผลการคำนวณ ของการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกใน สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	25
ตารางที่ 2 : ตารางแสดงค่าผลการคำนวณของการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกใน สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน	25

สารบัญรูป

รูปที่ 1.1 โครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิก (Kaufmann และคณะ 1998)	2
รูปที่ 1.2 อัตราการซึมของกรดไฮยาลูโรนิกเข้าสู่ผิวหนังใบหูของหมู (ที่มา: Farwick และคณะ 2008)	4
รูปที่ 1.3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณรีวรอยบนผิวหนังที่ระยะเวลาต่างเมื่อได้รับกรดไฮยาลูโรนิก (ที่มา Farwick และคณะ 2008)	4
รูปที่ 1.4 รูปแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความหนืด (แกน y) และ ความเข้มข้นของสารละลายเกลือ (แกน x) ของสารตัวอย่างไฮยาลูเนตที่น้ำหนักมวลโมเลกุลต่างกัน	5
รูปที่ 1.5 รูปภาพแสดงกราฟแสดงค่าพลังงานของอันตรกิริยาแวนเดอร์วาลส์ที่ใช้การคำนวณโดยพลังงานศักย์แลนนาร์ด-โจนส์ และ ชุดพารามิเตอร์ที่ใช้ในการคำนวณ (ที่มา Biochemistry Online by Henry Jakubowski, 2016)	8
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของระบบที่ประกอบด้วยกรดไฮยาลูโรนิก น้ำ และโซเดียมคลอไรด์	13
รูปที่ 2.2 รูปภาพแสดงโครงสร้างหลักของโปรตีน (ที่มา: Peptide Torsion Angles by J.Cooper, 1995)	15
รูปที่ 2.3 คอนทัวร์พลอตแสดงตัวอย่างการกระจายตัวของมุม phi13 และ psi13 ของกรดไฮยาลูโรนิก	16
รูปที่ 2.4 ตัวอย่างโครงสร้าง 3 มิติของกรดไฮยาลูโรนิกที่มีโซเดียมไอออนมาเกาะโดยโซเดียมไอออนวาดด้วยโมเดล VDW น้ำวาดด้วยโมเดล line และกรดไฮยาลูโรนิกวาดด้วยโมเดล CPK (วาดด้วยโปรแกรม VMD 1.9.3)	16
รูปที่ 3.1 กราฟแสดงค่า RMSD ที่มีหน่วย Å เทียบกับเวลาในหน่วยนาโนวินาที ของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	18
รูปที่ 3.2 กราฟแสดงค่า R_g ที่มีหน่วย Å เทียบกับเวลาในหน่วยนาโนวินาที ของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	18
รูปที่ 3.3 กราฟแสดงจำนวนโซเดียมไอออนที่เข้ามาเกิดอันตรกิริยา (แกน Y) กับโมเลกุลไฮยาลูโรนิกของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (แกน X)	19
รูปที่ 3.4 กราฟแสดงจำนวนคลอไรด์ที่เข้ามาเกิดอันตรกิริยา (แกน Y) กับโมเลกุลไฮยาลูโรนิกของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (แกน X)	20
รูปที่ 3.5 กราฟแสดงจำนวนโมเลกุลของน้ำที่เข้ามาเกิดอันตรกิริยา (แกน Y) กับโมเลกุลไฮยาลูโรนิกของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (แกน X)	20
รูปที่ 3.6 กราฟแสดงจำนวนการเกิดพันธะไฮโดรเจนที่เกิดอันตรกิริยา (แกน Y) กับพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) ในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (แกน X)	21

รูปที่ 3.7	กราฟแสดงจำนวนการเกิดพันธะไฮโดรเจนที่เกิดอันตรกิริยา(แกน Y)กับพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,4)ในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (แกน X)	22
รูปที่ 3.8	กราฟแสดงค่า RDF ของโซเดียมไอออนในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	22
รูปที่ 3.9	กราฟแสดงค่า RDF ของคลอไรด์ในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	23
รูปที่ 3.10	กราฟแสดงค่า RDF ของน้ำในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน	24
รูปที่ 3.11	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างมุม phi และ มุม psi บริเวณพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) ของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายโซเดียมที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ	26
รูปที่ 3.12	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างมุม phi และ มุม psi บริเวณพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,4) ของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายโซเดียมที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ	27
รูปที่ 3.13	รูปภาพแสดงการเปรียบเทียบการจำลองโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกก่อนการจำลองพลวัต (ด้านซ้าย) และหลังทำการจำลองพลวัต (ด้านขวา) ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.1 M	28
รูปที่ 3.14	รูปภาพแสดงการเปรียบเทียบการจำลองโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกก่อนการจำลองพลวัต (ด้านซ้าย) และหลังทำการจำลองพลวัต (ด้านขวา) ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2.0 M	29

บทที่ 1

บทนำ

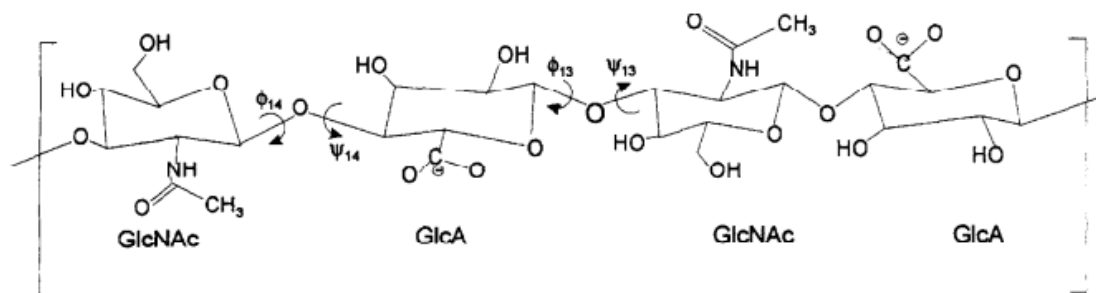
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจของโครงการ

ในโลกยุคสมัยใหม่ การดูแลสุขภาพของผู้คนได้รับความนิยมมากขึ้นในทุกเพศทุกวัย ก่อให้เกิดการวิจัยและนวัตกรรมในการดูแลสุขภาพและความงาม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการดูแลสุขภาพผิวให้ดูดีชะลอการเสื่อมสภาพของผิวพรรณที่อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงไปตามวัยที่เป็นผลมาจากพันธุกรรมและอายุ¹ การขาดการออกกำลังกาย เป็นต้น นอกจากสุขภาพผิวที่เสื่อมถอยแล้ว ปัญหาสุขภาพอื่น ๆ ของร่างกาย เช่น ความว่องไวในการรับรู้ การเจ็บป่วย การเคลื่อนไหวของร่างกายก็จะมีประสิทธิภาพลดลง เป็นต้น ปัจจุบัน กรดไฮยาลูโรนิก เป็นสารที่มีความสำคัญอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมทั้งในด้านเครื่องสำอางและด้านการแพทย์² มีการนำกรดไฮยาลูโรนิกมาใช้ในการเป็นสารตั้งต้นผสมกับเครื่องสำอางบำรุงผิวพรรณต่าง ๆ โดยใช้คุณสมบัติของกรดไฮยาลูโรนิกในการรักษาความชุ่มชื้นไม่ให้ผิวแห้งและเต่งตึง ในด้านการแพทย์ได้นำกรดไฮยาลูโรนิกมาใช้ในการรักษาโรคบางชนิด เช่น การรักษาโรคเยื่อตาอักเสบโดยนำมาเป็นส่วนผสมในการทำน้ำตาเทียม³ และนำมาเป็นส่วนประกอบในยาที่รักษาโรคที่เกี่ยวกับไขข้ออักเสบ เป็นต้น

งานวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับการศึกษาสมบัติเชิงโครงสร้าง พลวัต และไฮเดรชันของกรดไฮยาลูโรนิกขนาด 5 หน่วยซึ่งเป็นขนาดเล็ก มีการนำเอาความรู้ด้านเคมีเชิงคำนวณและความรู้ในเรื่องเคมีควอนตัมมาใช้ในเทคนิคการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล^{4,5} จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่ผ่านมา พบว่า การศึกษาในเรื่องของสมบัติเชิงโครงสร้าง พลวัต และไฮเดรชันมีไม่มากนัก เพราะมีข้อจำกัดหลายอย่างในการวิจัยทั้งประสิทธิภาพของเครื่องมือและข้อจำกัดบางอย่าง แต่ในปัจจุบันด้านเทคโนโลยีมีความทันสมัยและรวดเร็ว ทำให้ผู้วิจัยเกิดความสนใจที่จะศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในการทำวิจัยเกี่ยวกับเทคนิคการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของโครงสร้างและสมบัติไฮเดรชันของกรดไฮยาลูโรนิกในระดับโมเลกุล มีการเปลี่ยนแปลงอย่างไรภายในโครงสร้างเมื่อกรดไฮยาลูโรนิกอยู่ในสารละลายที่มีความแรงของไอออนิกต่างกัน

1.2 กรดไฮยาลูโรนิก

กรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) เป็นสารจำพวกพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทไกลโคสะมิโนไกลแคน (glycosaminoglycan) ที่เป็นสายยาวไม่มีการแตกแยกเป็นกิ่ง และมีบทบาทสำคัญในการรักษาความชุ่มชื้นให้กับผิวหนัง หน่วยย่อยของกรดไฮยาลูโรนิกคือน้ำตาลโมเลกุลคู่หรือไดแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาล 2 ชนิด คือ กรดกลูคูโรนิกและ *N*-acetylglucosamine มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก^{6,7} จึงมีอีกชื่อหนึ่งว่า [(1,3)-O-(2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1,4)-O-β-D-glucopyranuronosyl]_n ชนิดของพันธะไกลโคซิดิกที่เชื่อมกันคือ β(1,3) และ β(1,4) สลับกันไปมาและต่อกันเป็นสายยาวดังรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิก (Kaufmann และคณะ 1998)¹³

สูตรโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก คือ $(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$ โดยที่จำนวน n เป็นจำนวนเต็ม โดยทั่วไปจะพบความยาวของโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกประมาณ 100-640 นาโนเมตร ขึ้นอยู่กับแหล่งที่พบและวิธีการตรวจวัดสารและการสกัดแยกกรดไฮยาลูโรนิกชนิดนั้น ๆ ในส่วนของน้ำหนักโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกที่พบในธรรมชาติมักมีค่าสูงประมาณ 10^6 - 10^7 ดาลตัน⁸ เมื่อกรดไฮยาลูโรนิกอยู่ในน้ำจะเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนบริเวณหมู่กรดคาร์บอกซิลิกและบริเวณใกล้เคียงกับหมู่ *N*-Acetyl ซึ่ง กรดไฮยาลูโรนิกสามารถมีคอนฟอร์เมชันได้หลากหลายรูปแบบ โครงสร้างที่พบบ่อยคือโครงสร้างที่ขดเป็นเกลียวชนิด 4-fold helix และโครงสร้างที่ขดเป็นเกลียวแบบสุ่ม (random coil structure) ซึ่งอาจเกี่ยวพันกันเป็นร่างแห⁹

เมื่อมีน้ำมาล้อมรอบกรดไฮยาลูโรนิก จะทำให้โมเลกุลมีลักษณะเป็นเหมือนเจลที่มีความเหนียวและสามารถยืดหยุ่นได้ เมื่ออยู่ภายในเซลล์ร่างกายโมเลกุลก็จะมีประจุเป็นลบเพราะเกิดการแตกตัว โดยในส่วนของกลูคูโรนิกซึ่งมีประจุลบ (anionic) ทำให้มีกรดไฮยาลูโรนิกจับตัวกับไอออนที่เป็นประจุบวกได้ เช่น โพแทสเซียมไอออน (K^+) โซเดียมไอออน (Na^+) และแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) เป็นต้น กรดไฮยาลูโรนิกเป็นสารที่มีอยู่ในร่างกายของสัตว์มีกระดูกสันหลัง มักพบได้ตามเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่างๆ โดยเฉพาะบริเวณผิวหนังและกระดูกอ่อน¹⁰ มีคุณสมบัติที่สามารถโอสมโมเลกุลน้ำได้จำนวนมาก ทำให้น้ำเยื่อมีลักษณะเต่งตึงขึ้น และยืดหยุ่นในสภาวะปกติ ดังนั้นกรดไฮยาลูโรนิกจึงเป็นสารให้ความชุ่มชื้นและความยืดหยุ่นกับผิวหนังได้¹¹ แม้ว่าในร่างกายมนุษย์จะมี กรดไฮยาลูโรนิก แต่ก็สามารถเสื่อมสภาพและถูกกำจัดไปเองได้ ร่างกายของเราจึงสามารถรับกรดไฮยาลูโรนิกเข้าสู่ร่างกายโดยไม่เป็นอันตราย¹² ทำให้ปัจจุบันอุตสาหกรรมและธุรกิจความงาม รวมถึงวงการแพทย์ ได้มีการนำกรดไฮยาลูโรนิกมาใช้เพื่อช่วยให้ผิวพรรณมีความชุ่มชื้น เต่งตึง และลดความหย่อนคล้อย ริ้วรอยต่าง ๆ โดยนำมาสร้างเป็นฟิลเลอร์เพื่อถนอมผิวหนังบนใบหน้า

1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ

- จำลองโครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิกขนาด 5 หน่วยโดยใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ประกอบด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเทคนิคการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

- ศึกษาอิทธิพลของสารละลายไอออนิกที่มีต่อโครงสร้างและสมบัติไฮเดรชันของกรดไฮยาลูโรนิก ขนาด 5 หน่วย โดยใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

1.4 ขอบเขตการวิจัย

- 1) ระบบที่จะศึกษา คือ กรดไฮยาลูโรนิกที่อยู่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 M
- 2) สมบัติที่จะศึกษา คือ ผลของความแรงไอออนิกที่ต่างกันมีผลให้
 - คอนฟอร์เมชันและพันธะไฮโดรเจนของกรดไฮยาลูโรนิกเหมือนหรือต่างกันอย่างไร
 - สมบัติการดูดซับน้ำของกรดไฮยาลูโรนิกเหมือนหรือต่างกันอย่างไร

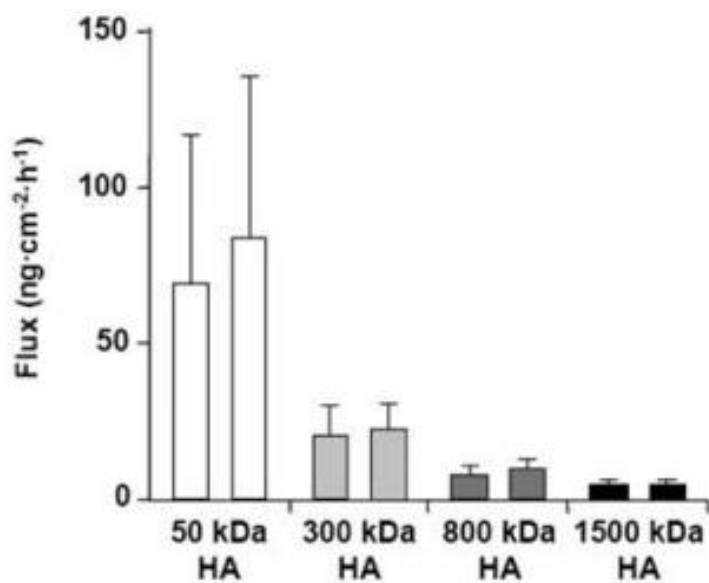
1.5 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

- การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกในน้ำ

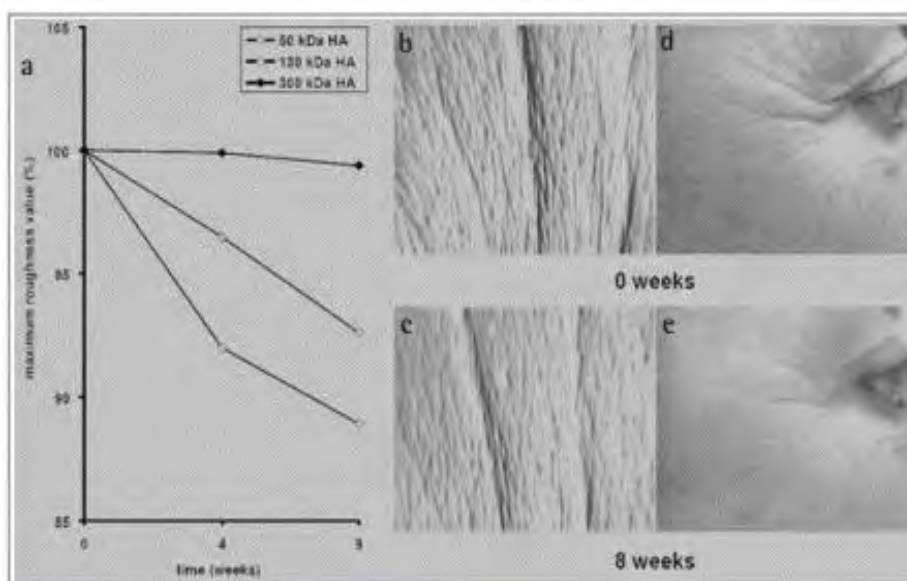
การศึกษาเกี่ยวกับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกในน้ำ เกิดในช่วงปลายทศวรรษที่ 1990 ซึ่งศึกษาโดย Jorn Kaufmann และคณะ¹³ ได้ศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ โดยใช้โปรแกรม GROMOS ในการจำลองสารชีวโมเลกุล พวกเขาใช้โครงสร้างที่เป็นไดเมอร์และไตรเมอร์ของกรดไฮยาลูโรนิกที่มาจากข้อมูล X-ray ใน Brookhaven Protein Data Bank สำหรับการจำลองพลวัตที่อุณหภูมิ 300 เคลวิน จากนั้นได้คำนวณพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่สำคัญ เช่น การใช้สมการแลนฮาร์ด-โจนส์ในการคำนวณพลังงานศักย์ เป็นต้น ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ คือ คุณสมบัติคอนฟอร์เมชันของกรดไฮยาลูโรนิก รวมถึงค่ามุมพันธะที่บริเวณพันธะไกลโคซิดิกทั้ง 2 พันธะของโมเลกุล ค่าฟังก์ชันการกระจายแบบคู่ของโมเลกุลในระบบ ค่าพลังงานพันธะไฮโดรเจนที่เกิดกับโมเลกุล และการเคลื่อนที่และการกระจายของโมเลกุลน้ำ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีส่วนช่วยขยายขอบเขตการศึกษาของกรดไฮยาลูโรนิก

- ผลกระทบต่อการแสดงของยีนอีพีเตอร์มอลและรีวรอยก่อนวัย

งานวิจัยนี้เป็นการนำความรู้ของกรดไฮยาลูโรนิกมาประยุกต์ใช้อุตสาหกรรมอื่น ๆ ซึ่งศึกษาโดย Farwick และคณะ¹⁴ พวกเขาศึกษาขนาดของโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกมีผลต่อความสามารถในการซึมลงเข้าสู่ผิวหนัง โดยผู้วิจัยและคณะได้ทำการใช้ผิวหนังไบโอของหมูในการทดลอง ผลปรากฏว่ากรดไฮยาลูโรนิกที่มีมวลโมเลกุลน้อยที่สุดจะมีอัตราการซึมลงเข้าสู่ผิวหนังได้ดีที่สุดเมื่อทำการเทียบกับมวลโมเลกุลที่มีน้ำหนักมากกว่าเมื่อพิจารณาจาก **รูปที่ 1.2** หลังจากนั้นก็ได้ทำการศึกษาผลของกรดไฮยาลูโรนิกแต่ละขนาดในการลดริ้วรอย โดยทำการทดลองกับผิวหนังของสตรี ผลการทดลองพบว่า ริ้วรอยบนใบหน้าของสตรีเมื่อเทียบระยะเวลาที่ได้ทำการทดลอง กรดไฮยาลูโรนิกที่มีขนาดที่มวลโมเลกุลน้อยที่สุดให้ผลในการลดริ้วรอยได้ดีที่สุดโดยแสดงผลใน **รูปที่ 1.3**



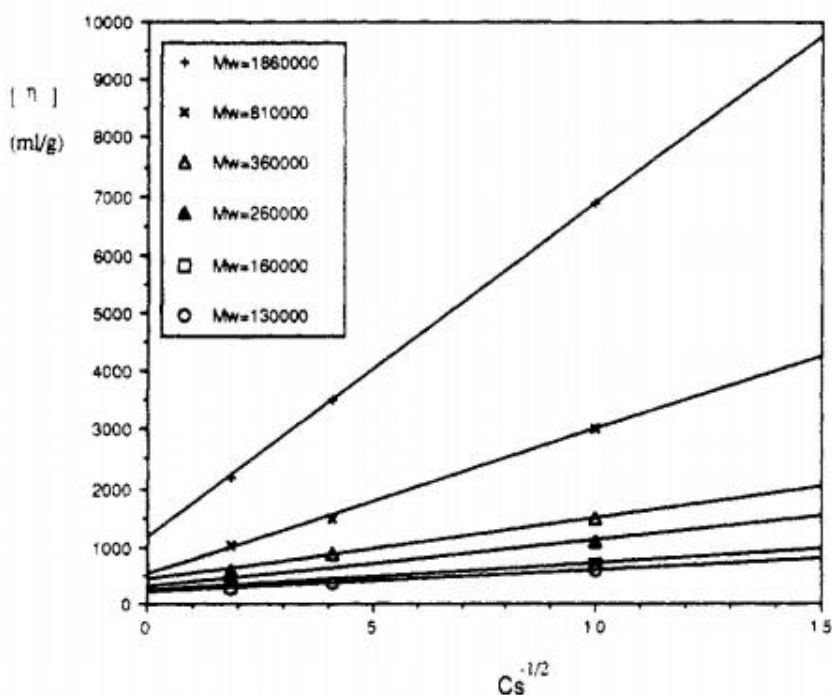
รูปที่ 1.2 อัตราการซึมของกรดไฮยาลูโรนิกเข้าสู่ผิวหนังใบหูของหนู (ที่มา: Farwick และคณะ 2008)¹⁴



รูปที่ 1.3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณริ้วรอยบนผิวหนังที่ระยะเวลาต่างเมื่อได้รับกรดไฮยาลูโรนิก (ที่มา Farwick และคณะ 2008)¹⁴

● ผลของความแรงไอออนิกต่อขนาดโซ่เดียมไฮยาลูเนต

จากงานวิจัยของ Fouissac และคณะ¹⁵ ได้ศึกษาและทำการทดลองเกี่ยวกับมิติและค่ารีซีมีไจเรชัน ระยะความแข็งแรง และความหนืดของมวลโมเลกุลที่แตกต่างกันของสารตัวอย่างไฮยาลูเนต ใช้เทคนิคการทดลองแบบการกระเจิงแสงและการวัดความหนืด ในงานวิจัยนี้จะศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นของสารละลายเกลือ โดยผลการทดลองพบว่า ความยาวของโมเลกุลมีอิทธิพลต่อความแข็งแรงของไอออนิกที่มีผลต่อการดูดซับน้ำ ค่าความยาวที่ดีที่สุดคือ ระยะ 80 Å และที่มวลโมเลกุลมากที่สุดจะมีค่ารีซีมีไจเรชันมาก ในขณะที่มวลโมเลกุลเท่ากันเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุดจะมีค่ารีซีมีไจเรชันมากที่สุด ซึ่งบ่งบอกว่าความแรงไอออนิกที่มากขึ้นจะทำให้รีซีมีไจเรชันของกรดไฮยาลูโรนิกลดลง และผลการทดลองความหนืดพบว่า มวลโมเลกุลของโซเดียมไฮยาลูเนตที่มากจะมีความหนาแน่นมากส่งผลให้มีความหนืดมากขึ้น ทำให้ปริมาณน้ำสามารถเข้าสู่โมเลกุลได้มากมีผลให้การดูดซับน้ำของโมเลกุลมากขึ้น ดังในรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.4 รูปแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความหนืด (แกน y) และความเข้มข้นของสารละลายเกลือ (แกน x) ของสารตัวอย่างไฮยาลูเนตที่น้ำหนักมวลโมเลกุลต่างกัน¹⁵

1.6 ทฤษฎีและหลักการ

- กลศาสตร์เชิงโมเลกุล (molecular mechanics)

1. ฟังก์ชันพลังงานศักย์

กลศาสตร์เชิงโมเลกุล (molecular mechanics) เป็นทฤษฎีที่ใช้อธิบายการเคลื่อนไหวหรือพลวัตของโมเลกุล โดยนิยามจากพลังงานชนิดต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับโมเลกุล ได้แก่ พลังงานศักย์ภายในโมเลกุลและพลังงานจากแรงกระทำระหว่างโมเลกุล ซึ่งคำนวณโดยอาศัยพื้นฐานของกลศาสตร์แบบดั้งเดิม เช่น การคำนวณพลังงานในการสั่นของพันธะ การหมุนและการบิดของพันธะของโมเลกุล การคำนวณหาแรงกระทำภายในโมเลกุล แรงระหว่างโมเลกุล เป็นต้น ทฤษฎีกลศาสตร์เชิงโมเลกุลจะใช้สมการที่ได้รับการพิสูจน์จนเป็นสมการที่สำเร็จรูป ทำให้สามารถคำนวณพลังงานศักย์ภายในระบบได้ โดยที่ค่าพลังงานศักย์ที่คำนวณได้จะเป็นฟังก์ชันของตำแหน่งของอนุภาคในโมเลกุลนั้น ๆ และขึ้นกับโครงสร้างของโมเลกุล

สำหรับพลังงานศักย์รวมภายในระบบกับฟังก์ชันของพลังงานศักย์ในพจน์ต่าง ๆ จะประกอบไปด้วยตัวแปรเชิงโครงสร้างหรือพารามิเตอร์ที่อยู่ในพจน์นั้น การคำนวณค่าพลังงานศักย์ภายในระบบนั้นจะต้องมีชุดตัวแปรเชิงโครงสร้างที่เป็นค่าคงที่เพื่อใช้ในการอ้างอิง ได้แก่ $V_n, r_i, q_i, q_j, \theta_i$ และ σ เป็นต้น และชุดตัวแปรเชิงโครงสร้างที่แปรผันตามโครงสร้าง ได้แก่ r_{ij}, r, τ, θ และ ϕ ซึ่งพลังงานศักย์ภายในระบบก็คือผลรวมของพลังงานที่เกิดพันธะของโมเลกุล (bonded interaction) และพลังงานที่ไม่ได้เกิดพันธะของโมเลกุล (non-bonded interaction) สำหรับฟังก์ชันพลังงานที่เกิดพันธะภายในโมเลกุลจะประกอบไปด้วย พลังงานพันธะ (U_{bonds}), พลังงานมุมพันธะ (U_{angles}) และพลังงานมุมไดฮีดรัล ($U_{\text{dihedrals}}$) ส่วนพลังงานที่เกิดระหว่างโมเลกุลจะมี 2 แบบด้วยกัน คือ แรงแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals force) และแรงระหว่างประจุ (electrostatic force)

สมการที่ (1) แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างพลังงานศักย์รวมของระบบกับฟังก์ชันพลังงานศักย์ในพจน์ต่าง ๆ โดยประกอบด้วยชุดตัวแปรเชิงโครงสร้างที่ใช้อ้างอิงและชุดตัวแปรเชิงโครงสร้างที่ผันแปรตามโครงสร้าง

$$U_{\text{potential}} = \sum_{\text{bonds}} k_b (r - r_i)^2 + \sum_{\text{angles}} k_\theta (\theta - \theta_i)^2 + \sum_{\text{dihedrals}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos[n\tau - \phi]) + \sum_{i < j}^{\text{atoms}} \left(\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} + \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right) + \sum_{i < j}^{\text{atoms}} \frac{q_i q_j}{Dr_{ij}} \quad (1)$$

สมการที่ (2) แสดงถึงประเภทของการคำนวณพลังงานศักย์ภายในระบบ

$$\text{Potential Energy (U)} = (U_{\text{bonds}} + U_{\text{angles}} + U_{\text{dihedrals}})_{\text{bonded}} + (U_{\text{electrostatic force}} + U_{\text{van der Waals force}})_{\text{non-bonded}} \quad (2)$$

สมการที่ (3) แสดงถึงฟังก์ชันพลังงานที่เกิดขึ้นภายในพันธะและพลังงานที่ระหว่างพันธะของโมเลกุล

$$U_{\text{potential}} = U_{\text{bonded interaction}} + U_{\text{non-bonded interaction}} \quad (3)$$

2. พารามิเตอร์สนามแรง (force field parameter)

Force field parameter เป็นชุดค่าพารามิเตอร์ในการคำนวณหาพลังงานศักย์ ซึ่งประกอบไปด้วย ความยาวพันธะ มุมพันธะ และค่าคงที่ของแรง (force constant)

3. พลังงานศักย์ของอันตรกิริยาที่เกิดพันธะ (potential energy of bonded interaction)

เป็นพลังงานศักย์ที่มาจากการเปลี่ยนแปลงของความยาวของพันธะ ซึ่งฟังก์ชันของพลังงานชนิดนี้จะอยู่ในรูปของสมการการเคลื่อนที่แบบซิมเพิลฮาร์โมนิกในสมการที่ (4) โดยที่ค่า k_b คือ ค่าคงที่ของแรงในการยืดพันธะ (bond stretching) โดยที่ r คือ ระยะระหว่างอะตอมที่มีการยืดหดของพันธะ และค่า r_0 คือ ค่าความยาวของพันธะ

$$U_{\text{bonds}} = \sum_{\text{bonds}} k_b (r - r_0)^2 \quad (4)$$

ค่าพลังงานที่มาจากการเปลี่ยนแปลงของมุมพันธะของโมเลกุล (angle bending) ดังสมการที่ (5) ค่า k_θ เป็นตัวแปรค่าคงที่ของแรงจากมุมพันธะที่เปลี่ยนไปซึ่งเกิดจากการบิดระหว่างพันธะของ θ_i คือมุมพันธะที่สมดุล

$$U_{\text{angle}} = \sum_{\text{angles}} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 \quad (5)$$

พลังงานที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของมุมไดฮีดรัล (dihedral angle) ในฟังก์ชันนี้จะจัดให้อยู่ในรูปของฟังก์ชันโคไซน์ (Cosine function) ในสมการที่ (6)

$$U_{\text{dihedral}} = \sum_{\text{dihedrals}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos[n\tau - \phi]) \quad (6)$$

โดยค่า V_n เป็นค่าของพลังงานศักย์สูงสุดของมุมไดฮีดรัล ค่า n คือ จำนวนคลื่นของฟังก์ชันโคไซน์ที่อยู่ในระหว่างมุม 0 ถึง 360 องศา ค่า τ เป็น ค่ามุมไดฮีดรัล และ ค่า ϕ คือเฟสของฟังก์ชันโคไซน์

4. พลังงานศักย์ของอันตรกิริยาที่ไม่เกิดพันธะ (potential energy of non-bonded interaction)

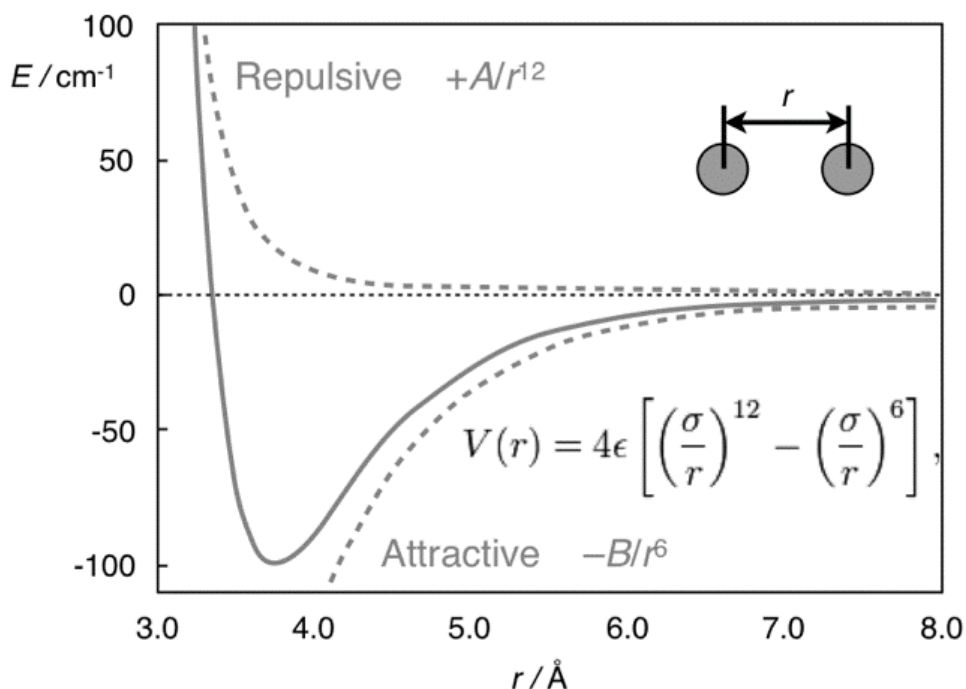
1.) อันตรกิริยาแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals interaction) เป็นแรงดึงดูดระหว่างอะตอมโดยจัดถูกจัดให้อยู่ในรูปของพลังงานศักย์แลนเนาร์ด-โจนส์ (Lennard-Jones) เป็นแบบจำลองพลังงานศักย์ของโมเลกุลที่เป็นทรงกลมเพื่อใช้แทนโมเลกุลของสารใด ๆ เขียนในรูปสมการดังนี้

$$U(r) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (7)$$

หรือ

$$U(r) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r^*} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r^*} \right)^6 \right] \quad (8)$$

จากสมการที่ (7) และ (8) เมื่อค่า σ คือขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคหรือค่าของระยะห่างระหว่างสองอนุภาค r ที่ทำให้ฟังก์ชัน $U(r)$ มีค่าเป็นศูนย์ ϵ เป็นค่าพลังงานต่ำสุดของระหว่างอนุภาคทั้งสองอนุภาค ใช้เป็นพลังงานที่ระดับของพลังงานที่อนุภาคได้เกิดอันตรกิริยาต่อกัน ค่า r^* เป็นปริมาณที่ไม่มีหน่วยคือระยะ r ที่วัดระดับด้วยขนาดของอนุภาค ดังรูปที่ 5



รูปที่ 1.5 รูปภาพแสดงกราฟแสดงค่าพลังงานของอันตรกิริยาแวนเดอร์วาลส์ที่ใช้การคำนวณโดยพลังงานศักย์แลนจาร์ต-โจนส์ และ ชุดพารามิเตอร์ที่ใช้ในการคำนวณ (ที่มา Biochemistry Online by Henry Jakubowski, 2016)

2.) แรงระหว่างประจุ (Electrostatic Interaction) แรงระหว่างประจุสุทธิของอะตอม ฟังก์ชันพลังงานศักย์ที่ได้มาจากการคำนวณที่อาศัยกฎของคูลอมบ์ โดย ค่า q_a และ q_b เป็นค่าประจุสุทธิของอะตอมแต่ละตัว (Net Atomic Charge) และ ϵ เป็นค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (Dielectric Constant) ดังในสมการที่ (9)

$$U_{\text{Electrostatic}} = \frac{1}{4\pi\epsilon} \sum_{a < b}^{\text{atoms}} \frac{q_a q_b}{r_{ab}} \quad (9)$$

- การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation)

1. ความหมาย

เคมีเชิงคอมพิวเตอร์ (Computational Chemistry) เป็นศาสตร์แขนงวิชาเคมีที่มีการนำเอาเทคโนโลยีมาใช้ในการศึกษาทางทฤษฎี นำมาใช้ในการคำนวณสมบัติต่าง ๆ และรูปร่างของโมเลกุลที่เราสนใจโดยใช้หลักการเอาสมบัติที่คำนวณได้ไปศึกษาผ่านโครงสร้าง 3 มิติของโมเลกุล เป็นการศึกษาที่เรียกว่า แบบจำลองเชิงโมเลกุล (Molecular Modeling) ผลการทดลองที่ได้จากการศึกษาเรื่องนี้จะช่วย

ใช้ในการอธิบายผลการจำลองต่าง ๆ ที่เป็นการอธิบายในระดับโมเลกุล ช่วยในการทำนายผลการทดลองที่เป็นไปได้ยากสำหรับการทดลองในห้องทดลอง และยังช่วยลดขอบเขตในการศึกษาและการทดลอง เทคนิคที่สำคัญในการนำมาใช้เพื่อการศึกษาคือ การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation) เป็นเทคนิคการจำลองแบบคอมพิวเตอร์ (Computer Simulation) ที่ใช้อธิบายพฤติกรรมและสมบัติพลวัตของโมเลกุลในระบบ อาศัยการแก้สมการของนิวตัน เทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาที่มีประสิทธิภาพมากในการศึกษาสมบัติต่าง ๆ ได้แก่ สมบัติเชิงโครงสร้าง, สมบัติพลวัต และสมบัติอุณหพลศาสตร์ (Thermodynamics) เป้าหมายหลักในการใช้เทคนิคคือการอธิบายภายในระบบที่ทำการวิเคราะห์ทั้งการเคลื่อนที่และอุณหพลศาสตร์เพื่อการวิเคราะห์และทำนายการทำงานของโมเลกุลที่สนใจ

2. กฎของนิวตัน

ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลเพื่อศึกษาการเคลื่อนที่ของโมเลกุลนั้นจะขึ้นอยู่กับเวลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่ซึ่งเป็นไปตามกฎของนิวตันในข้อที่สอง กล่าวถึงความเร่งของอนุภาคเป็นปฏิภาคโดยตรงกับแรงลัพธ์ที่กระทำต่ออนุภาค โดยมีทิศทางเดียวกันและแปรผกผันกับมวลของอนุภาค และอันตรปฏิบัติริยาระหว่างอะตอมภายในระบบหรือโมเลกุลที่ถูกสร้างขึ้นจากการใช้สนามแรง (Force field) ตามสมการที่ (10)

$$\vec{F}_i = m_i \vec{a} = m_i \frac{d\vec{v}}{dt} = m_i \frac{d^2\vec{r}}{dt^2}$$

(10)

โดย \vec{F}_i คือ แรงที่กระทำต่อเวลา (นิวตัน, N)

m_i คือ มวลของอะตอม

\vec{v} คือ ความเร็วของอะตอม

\vec{a} คือ ความเร่งของอะตอม

\vec{r} คือ ตำแหน่งของอะตอม

สำหรับค่าแรงที่กระทำต่อเวลาจะจัดให้อยู่ในของ Gradient of the potential energy ดังในสมการที่ (11)

$$\vec{F}_i = -\nabla V_i(\vec{R}) = \frac{dV}{d\vec{r}_i}$$

(11)

โดยที่ $\nabla V_i(\vec{R})$ คือ พลังงานศักย์ภายในระบบ

จากนั้นนำสมการที่ (10) และสมการที่ (11) มารวมเข้ากันได้สมการที่ (12) ดังนี้

$$-\frac{dV}{d\vec{r}_i} = m_i \frac{d^2\vec{r}}{dt^2}$$

(12)

จากสมการที่ (12) พลังงานศักย์ของการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งของอะตอมในระบบมีความสัมพันธ์กับสมการการเคลื่อนที่ในกฎข้อที่ 2

ปัจจัยสำคัญของการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลนี้ คือ แรงใด ๆ จะไม่มีขึ้นกับเวลาที่ใช้ แต่จะขึ้นกับความเร็วที่มากกระทำภายในระบบซึ่งจากคำนวณความเร็วได้จากความเร่ง

- **โปรแกรมสำหรับการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล**

1. **โปรแกรม NAMD**

โปรแกรม NAMD เป็นซอฟต์แวร์สำหรับใช้ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลอย่างมีประสิทธิภาพ โดยส่วนใหญ่จะใช้คู่กับซอฟต์แวร์อื่น ๆ เช่น โปรแกรม Visual Molecular Dynamics (VMD) โปรแกรม QwikMD การใช้งาน NAMD จะใช้ในการวิเคราะห์การจำลองที่เป็นระบบขนาดใหญ่หรือมีจำนวนอะตอมเป็นล้าน ๆ อะตอม

2. **โปรแกรม VMD 1.9.3.**

โปรแกรม Visual Molecular Dynamics (VMD) เป็นซอฟต์แวร์ที่ใช้สำหรับการจำลองโมเลกุลและสร้างภาพจำลองโมเลกุลเป็นภาพเสมือนสามมิติ ซอฟต์แวร์นี้ได้รับการพัฒนาเพื่อเป็นเครื่องในการดูภาพและวิเคราะห์ผลลัพธ์ของการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล นอกจากนี้ยังเป็นเครื่องมือสำหรับการทำงานข้อมูลที่เป็นปริมาณ ข้อมูลที่เป็นแบบลำดับและข้อมูลที่เป็นแบบภาพกราฟิก โดยผู้ใช้ซอฟต์แวร์ต้องเตรียมข้อมูลเพื่อใช้ในการป้อนค่าตัวแปรต่าง ๆ ในซิมมูลेशनและใช้การวิเคราะห์แบบทราเจคทอรี (Analysis of MD trajectory) เป็นไฟล์ข้อมูลที่บันทึกในระหว่างซิมมูลेशन โปรแกรม VMD จะทำการอ่านไฟล์และแสดงผลหลังจากการคำนวณเสร็จแล้ว โดยฟังก์ชันของซอฟต์แวร์จะสามารถแสดงผลในลักษณะหลากหลายรูปแบบ ทั้งการแสดงผลเป็นรูปร่าง โครงสร้าง และ ลักษณะต่าง ๆ เป็นต้น และที่สำคัญสำหรับโปรแกรม VMD คือ ใช้ในการตรวจสอบ แสดงผลการเคลื่อนที่ และวิเคราะห์ผลของการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

- **การคำนวณค่าความแรงของไอออนจากความเข้มข้นของสารละลาย**

เป็นการคำนวณค่าความแรงของไอออนในสารละลายไอออนิกได้จากสมการที่ (13)

$$I = \frac{1}{2} \sum [i] \times z_i^2 \quad (13)$$

โดยที่ ค่า z เป็นค่าประจุของไอออน โดยในสารละลายไอออนิกประกอบไปด้วย โซเดียมไอออน (Na^+) มีประจุ +1 ดังนั้นค่า $z = 1$ ค่า i เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลายไอออนิก และ ค่า I คือ ค่าความแรงไอออนของสารละลาย (Ionic Strength)

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ข้อมูลโครงสร้างและสมบัติไฮเดรชันของกรดไฮยาลูโรนิกในสภาวะสารละลายไอออนิกที่มีความเข้มข้นต่างกัน
2. วิธีการศึกษาการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลและการวิเคราะห์ข้อมูลของกรดไฮยาลูโรนิก และสามารถพัฒนาการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลให้สามารถนำไปประยุกต์กับระบบอื่น ๆ ที่ความซับซ้อนและขนาดใหญ่กว่า
3. ข้อมูลพื้นฐานในเรื่องกลไกการทำงานของของกรดไฮยาลูโรนิกที่ใช้เป็นข้อมูลที่ให้ประโยชน์ในทางในงานวิจัยในสาขาวิทยาศาสตร์อื่น ๆ ทั้งด้านเคมี เภสัชศาสตร์ เครื่องสำอางและทางการแพทย์

บทที่ 2

ขั้นตอนการศึกษา

2.1 วัสดุอุปกรณ์

2.1.1. Hardware

- คอมพิวเตอร์ส่วนตัว
- คอมพิวเตอร์แม่ข่าย (Phoenix Server) ที่บริเวณห้องคอมพิวเตอร์ ชั้น 11 ของ Center of Excellent in Computational Chemistry (CECC) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.1.2. Software

- Editplus
- MobaX Term
- JetBrains PyCharm Community Editor
- Microsoft Excel
- NAMD¹⁶
- OriginPro 8.5
- VMD 1.9.3¹⁷

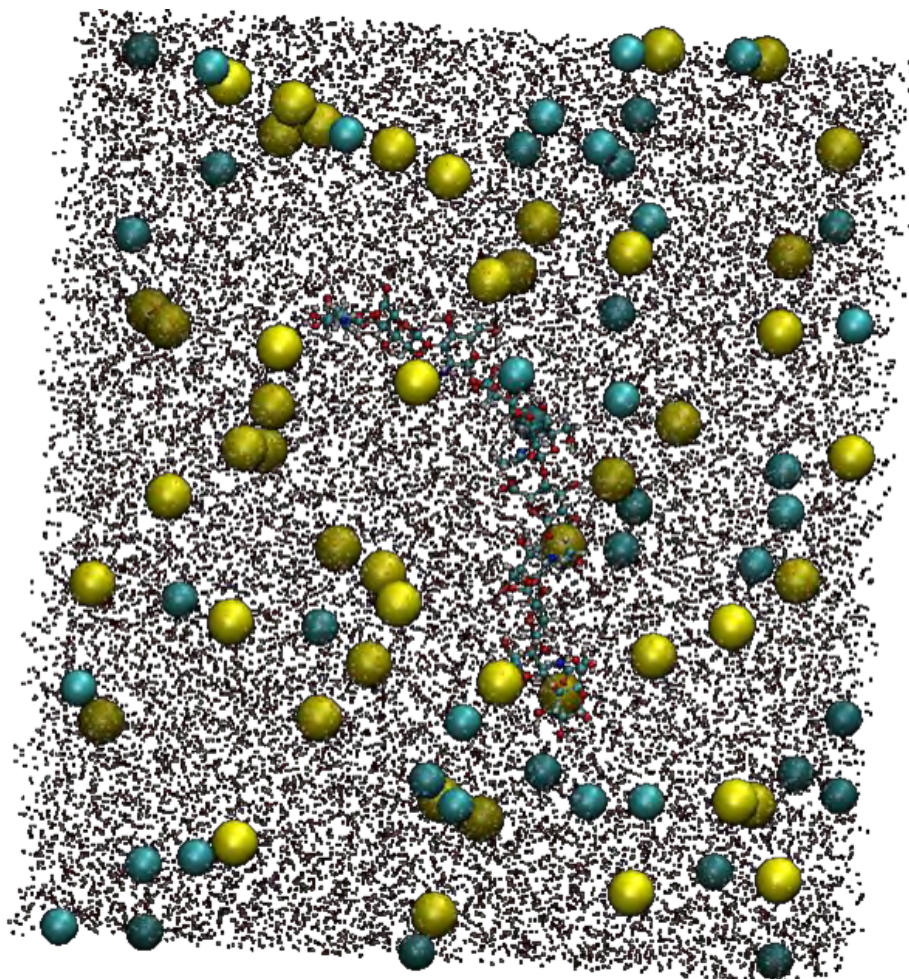
2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1. การเตรียมแบบจำลองของกรดไฮยาลูโรนิกและระบบสำหรับจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

1. ดาวน์โหลดโครงสร้างสามมิติของกรดไฮยาลูโรนิกจากฐานข้อมูลโครงสร้างโปรตีน (Protein Data Bank, PDB) ที่มีรหัสของไฟล์ PDB คือ 2BVK¹⁸ ซึ่งเป็นตัวแทนโครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิก ขนาด 4 หน่วย ในสภาวะสารละลายที่ดีที่สุด

2. ทำการเพิ่มจำนวนหน่วยของกรดไฮยาลูโรนิกให้ได้ขนาด 5 หน่วย ด้วยโปรแกรม CHARMM¹⁹

3. สร้างระบบสำหรับการจำลองพลวัตของกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ด้วยโปรแกรม Visual Molecular Dynamics (VMD)¹⁷ โดยมีโมเดลของโมเลกุลน้ำที่ใช้คือ TIP3P ขั้นตอนนี้จะทำให้เราได้ไฟล์ .pdb ซึ่งเป็นโครงสร้างของระบบที่ประกอบด้วยกรดไฮยาลูโรนิก น้ำ และโซเดียมคลอไรด์ดังรูปที่ 2.1 และไฟล์ .psf ซึ่งเป็นไฟล์ที่แสดงพารามิเตอร์ของแต่ละอะตอมที่ใช้สำหรับจำลอง



พลวัตเชิงโมเลกุล

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของระบบที่ประกอบด้วยกรดไฮยาลูโรนิก น้ำ และโซเดียมคลอไรด์

2.2.2. การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก

1. เตรียมไฟล์ .conf ซึ่งเป็นไฟล์สำหรับบรรยายละเอียดต่าง ๆ และสถานะที่ใช้สำหรับการจำลองพลวัต โดยขนาดระบบทุกระบบถูกล้อมรอบด้วยน้ำขนาด $66 \times 75 \times 59 \text{ \AA}^3$ ที่อุณหภูมิ 300 เคลวิน
2. สนามของแรง (force field) ที่ใช้อธิบายพลวัตของกรดไฮยาลูโรนิกคือ CHARMM36^{20,21} และโปรแกรมที่ใช้ดำเนินการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลคือ NAMD¹⁶

2.2.3. วิเคราะห์ข้อมูลและผลการคำนวณด้วยโปรแกรม VMD 1.9.3¹⁷

1. ค่ารากที่สองของความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยกำลังสอง (Root-Mean-Square Deviation, RMSD)

ค่า RMSD เป็นค่าที่บอกถึงความแตกต่างของโครงสร้างที่ได้จากการจำลองพลวัตเทียบกับโครงสร้างที่เป็นต้นแบบในการอ้างอิง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพและติดตามการเข้าสู่ภาวะสมดุลของระบบ โดยค่า RMSD สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (14)

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_i^2} \quad (14)$$

โดยที่ ค่า δ_i เป็นค่าระยะห่างของตำแหน่งของอะตอม i แต่ละอะตอมในโครงสร้างที่ได้จากวิถีโคจรหรือทราเจกทอรี (trajectory) เมื่อทำการเทียบโครงสร้างที่เป็นต้นแบบอ้างอิง

หน่วยความยาวของ ค่า RMSD จะใช้เป็น อังสตรอม (Angström, Å) มีค่าเท่ากับ 10^{-10} เมตร

2. ค่าการคลายและหดตัวของโมเลกุล: รัศมีจอยรัศมีของกรดไฮยาลูโรนิก (Radius of gyration, Rg)

ค่า Rg เป็นค่าที่ใช้การบอกถึงรูปร่างหรือสภาพการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างในระหว่างการดำเนินการจำลองพลวัต โดยค่า Rg เป็นการวัดค่าเฉลี่ยของผลต่างกำลังสองของระยะทางระหว่างอะตอมภายในระบบกับระยะห่างของศูนย์กลางมวล (center of mass) ดังในสมการที่ (15)

$$R_g = \frac{\sum_{i=1}^n m_i (r_i - r_{\text{center of mass}})^2}{\sum_{i=1}^n m_i} \quad (15)$$

ซึ่งค่า r_i เป็นจุดตำแหน่งอะตอม i ค่า $r_{\text{center of mass}}$ คือ ตำแหน่งของศูนย์กลางมวล m_i คือ มวลของอะตอม i

3. วัดปริมาณของไฮเดียมไอออน คลอไรด์ น้ำและพันธะไฮโดรเจนที่เกิดอันตรกิริยากับกรดไฮยาลูโรนิก (Number Atoms and Hydrogen Bond Occupancy)

ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งเป็นสารละลายไฮเดียมคลอไรด์ ทำให้ในระบบการจำลองพลวัตประกอบไปด้วย กรดไฮยาลูโรนิก โมเลกุลน้ำ ไฮเดียมไอออน และคลอไรด์ไอออน รวมถึงการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับกรดไฮยาลูโรนิก เพื่อศึกษาการเคลื่อนที่และการจับตัวกันระหว่างกรดไฮยาลูโรนิกและไอออนต่าง ๆ จำนวนโมเลกุลของน้ำที่ล้อมรอบกรดไฮยาลูโรนิก รวมถึงวิเคราะห์ผลการสร้างพันธะไฮโดรเจนที่บริเวณพันธะไกลโคซิดิกของกรดไฮยาลูโรนิก โดยในการวิเคราะห์นี้จะวัดจากกรดไฮยาลูโรนิกขนาด 5 หน่วยไปยังปริมาณไอออนด้วยระยะ 3 อังสตรอม ใช้ค่า cutoff เท่ากับ 12 ซึ่งเป็นค่าของระยะทางที่มากที่สุดระหว่างภาพ 2 เฟรมที่ถูกนำมาพิจารณา

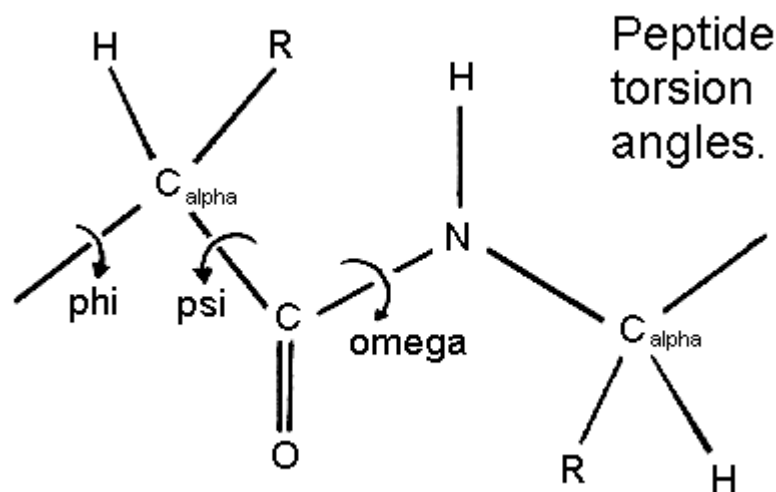
4. ค่าฟังก์ชันการกระจายเชิงรัศมี (Radial Distribution Function, RDF)

ค่า RDF เป็นค่าที่ทำให้เราทราบถึงความน่าจะเป็นของการพบเจอคู่ของอะตอมที่ระยะทางต่างๆ ซึ่งจะใช้ในการอธิบายถึงสมบัติเชิงโครงสร้าง โดยอยู่ในรูปเทอม สมการที่ (16)

$$g(r) = g(r_1, r_2) = \frac{N(N-1) \int \frac{dr_3 dr_4 \dots dr_n \exp(-V(r_1, r_2, \dots, r_n))}{k_b T}}{\rho^2 \int \frac{dr_1 dr_2 \dots dr_n \exp(-V(r_1, r_2, \dots, r_n))}{k_b T}} \quad (16)$$

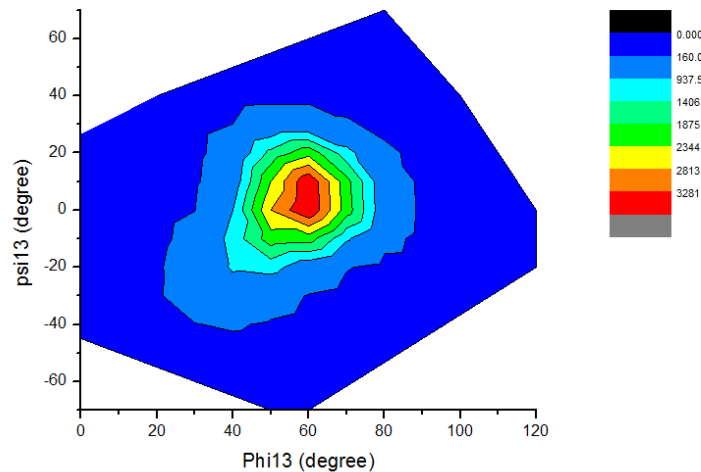
5. ค่ามุมไดฮีดรัล (Dihedral Angle)

เป็นค่ามุมระหว่างระนาบสองจุดที่ติดกัน ในการวิเคราะห์โครงสร้างกรดไฮยาลูโรนิกที่เป็นโครงสร้างสามมิตินี้ จะใช้การวิเคราะห์ความถูกต้องของโครงสร้างด้วยแผนภูมิ Ramachandran (Ramachandran plot หรือ Ramachandran diagram) ซึ่งถูกสร้างและพัฒนาโดย Gopalasamudram Narayana Iyer Ramachandran เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ความถูกต้องของโครงสร้างหลัก (backbone) โปรตีน มีลักษณะเป็น trans-conformer และมีคุณสมบัติ peptide planarity สำหรับการตรวจสอบโครงรูปของโครงสร้างหลักจะระบุด้วยมุมทอร์ชัน Φ (phi) และ Ψ (psi) ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 รูปภาพแสดงโครงสร้างหลักของโปรตีน (ที่มา: Peptide Torsion Angles by J.Cooper, 1995)²²

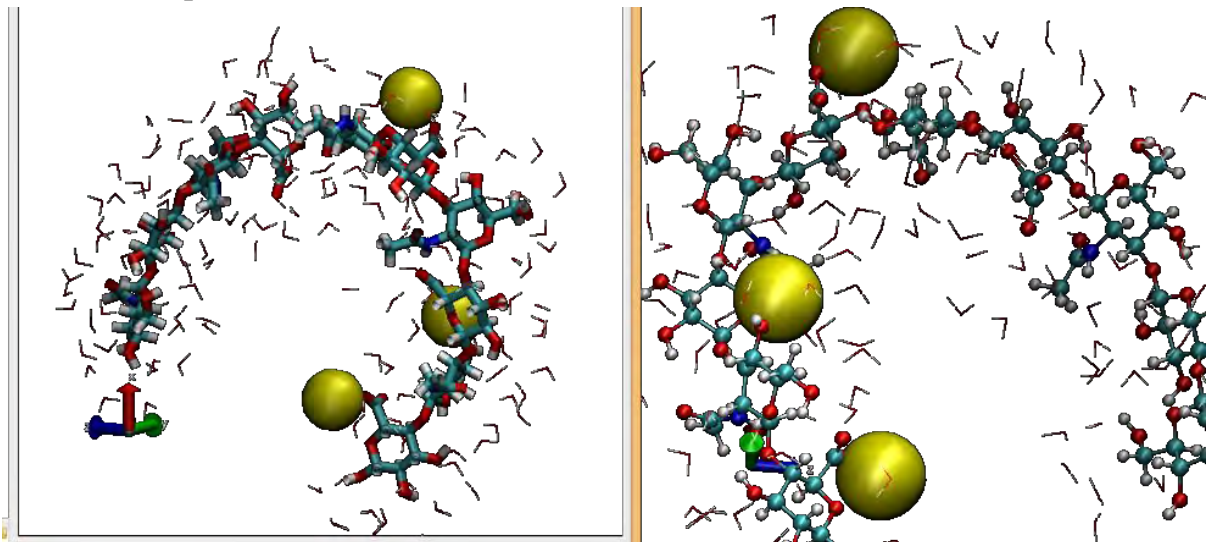
มุม phi เกิดจากการหมุนของ C_{α} -N ส่วนมุม psi เกิดจากการหมุนของ C_{α} -C ซึ่งทั้งพันธะทั้งคู่สามารถเกิดการหมุน (rotatable bond) มีค่า -180 องศา ถึง 180 องศา ความเกะกะของโครงสร้าง (steric effect) ของโปรตีนมีผลทำให้มุม phi และ มุม psi มีค่าจำเพาะและมีค่าเป็นช่วง ๆ โดยแกน x คือมุม phi และแกน y คือมุม psi รูปที่ 2.3 คือตัวอย่างการกระจายตัวของมุม phi₁₃ และ psi₁₃ บนพื้นระนาบไกลโคซิดิกชนิด $\beta(1,3)$



รูปที่ 2.3 คอนทัวร์พลอตแสดงตัวอย่างการกระจายตัวของมุม ϕ_{13} และ ψ_{13} ของกรดไฮยาลูโรนิก

6. การวิเคราะห์หาตัวแทนโครงสร้างจากระบบที่เข้าสู่ภาวะสมดุล (Representative Structure Analysis)

เป็นการวิเคราะห์เพื่อค้นหาโครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิกที่เสมือนเป็นตัวแทนของโครงสร้างทั้งหมดในระบบที่เข้าสู่ภาวะสมดุล โดยจะนำโครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิกช่วง 80-100 ns ไปหาโครงสร้างเฉลี่ย และคำนวณค่า Rg และ RMSD ของแต่ละ snap shot เทียบกับโครงสร้างเฉลี่ย หลังจากนั้นนำค่าการกระจายตัวของ Rg และ RMSD ไปหาจุดเซ็นทรอยด์ เพื่อค้นหา snap shot ที่เป็นตัวแทนของระบบทั้งหมดมาศึกษารูปร่างของกรดไฮยาลูโรนิกและลักษณะการเกิดอันตรกิริยากับโซเดียมไอออนว่าเป็นอย่างไร รูปที่ 2.4 แสดงตัวอย่างของโครงสร้างของระบบที่คัดเลือกมา



รูปที่ 2.4 ตัวอย่างโครงสร้าง 3 มิติของกรดไฮยาลูโรนิกที่มีโซเดียมไอออนมาเกาะโดยโซเดียมไอออน (อะตอมสีเหลือง) วาดด้วยโมเดล VDW น้ำวาดด้วยโมเดล line และกรดไฮยาลูโรนิกวาดด้วยโมเดล CPK (วาดด้วยโปรแกรม VMD 1.9.3)¹⁸

บทที่ 3

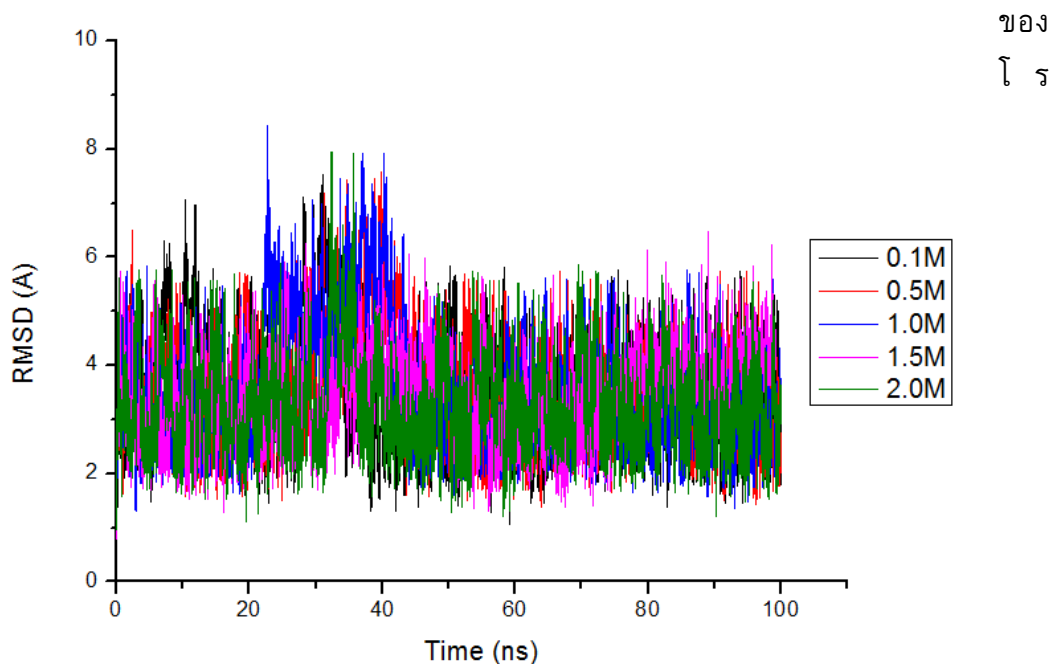
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

สมบัติทางโครงสร้างและพลวัตของกรดไฮยาลูโรนิก

3.1 ค่ารากที่สองของความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยกำลังสอง (Root-Mean-Square Deviation, RMSD)

ในการวิเคราะห์ค่า RMSD จะวิเคราะห์จากกราฟเทียบกับเวลาเพื่อศึกษาความแตกต่างของสมบัติทางโครงสร้างเมื่อเทียบกับโครงสร้างเริ่มต้นและพลวัตของกรดไฮยาลูโรนิกในระหว่างช่วงเวลา 100 นาโนวินาที เมื่อดูจากรูปที่ 3.1 ที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์แต่ละความเข้มข้นในช่วงระหว่าง 0 ถึง 100 นาโนวินาที ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีค่าเฉลี่ย $RMSD \pm SD$ ที่ประมาณ $3.49 \pm 0.04 \text{ \AA}$, $3.54 \pm 0.34 \text{ \AA}$, $3.57 \pm 0.37 \text{ \AA}$, $3.36 \pm 0.16 \text{ \AA}$ และ $3.27 \pm 0.01 \text{ \AA}$ ตามลำดับ จะเห็นว่าค่า RMSD มีค่าใกล้เคียงกันมาก การเพิ่มความแรงของไอออนิกไม่ได้ทำให้ค่า RMSD เพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับโครงสร้างเริ่มต้น แสดงว่า โครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิกไม่ได้เปลี่ยนแปลงไปจากโครงสร้างเริ่มต้นในขนาดที่ใกล้เคียงกัน อาจเป็นไปได้ว่า โมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกจำนวน 5 หน่วย มีขนาดเล็กเกินไป ทำให้ความแรงของไอออนิกไม่มีผลต่อโครงสร้าง

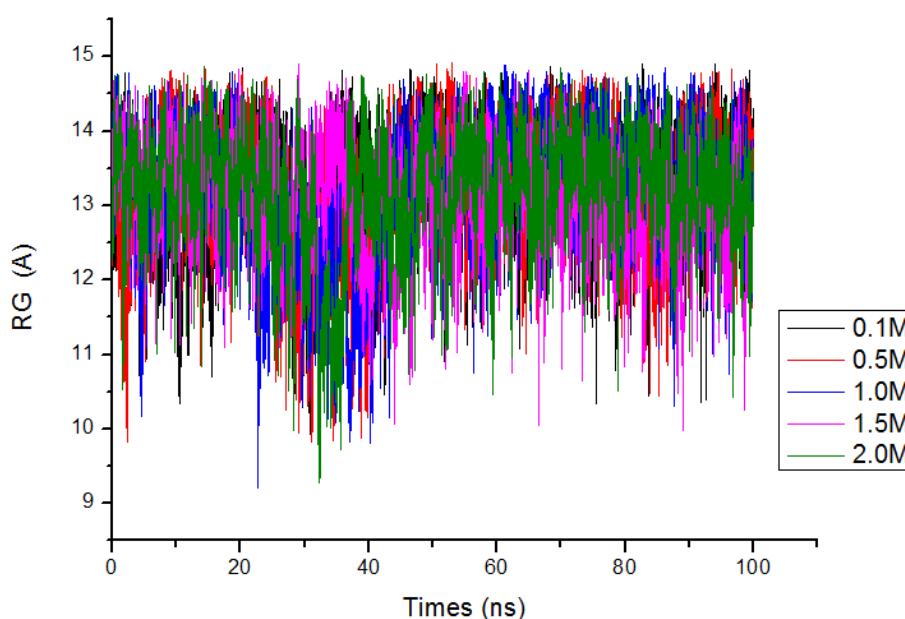
โมเลกุล
กรดไฮยาลู
โรนิก



รูปที่ 3.1 กราฟแสดงค่า RMSD ที่มีหน่วย Å เทียบกับเวลาในหน่วยนาโนวินาที ของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

3.2 ค่าการคลายและหดตัวของโมเลกุล: รัศมีจายเรชั่นของกรดไฮยาลูโรนิก (Radius of gyration, R_g)

ค่า R_g เป็นค่าที่ช่วยในการวิเคราะห์การคงสภาพของโครงสร้างกรดไฮยาลูโรนิก ว่ามีการ

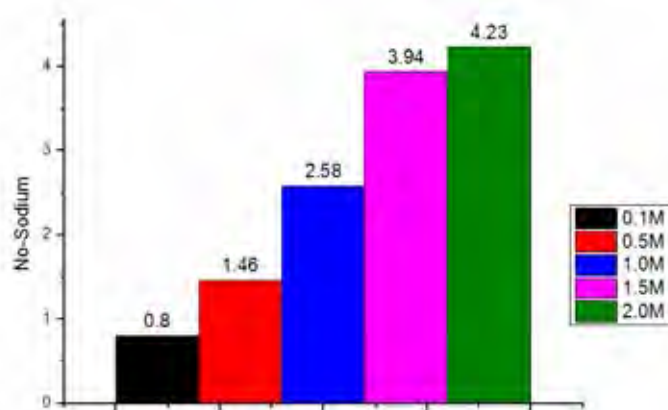


เปลี่ยนแปลงหรือคงสภาพของรูปร่าง ในระหว่างช่วงเวลา 1 นาโนวินาที เมื่อพิจารณา**รูปที่ 3.2** ที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์แต่ละความเข้มข้น ในช่วงระหว่าง 0 ถึง 100 นาโนวินาที ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีค่าเฉลี่ย $R_g \pm SD$ ที่ประมาณ $13.24 \pm 0.13 \text{ \AA}$, $13.29 \pm 0.11 \text{ \AA}$, $13.27 \pm 0.10 \text{ \AA}$, $13.18 \pm 0.10 \text{ \AA}$ และ $13.24 \pm 0.07 \text{ \AA}$ ตามลำดับ จะเห็นว่า ค่า R_g มีค่าใกล้เคียงกันมากแสดงว่า โมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกมีการเปลี่ยนแปลงที่น้อยไม่ยืดหรือหดตัวหรือคงสภาพของรูปร่างโครงสร้างไว้

รูปที่ 3.2 กราฟแสดงค่า R_g ที่มีหน่วย Å เทียบกับเวลาในหน่วยนาโนวินาที ของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

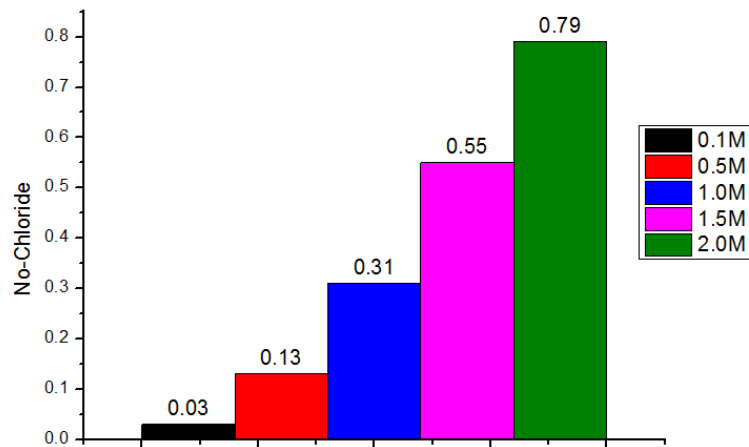
3.3 ไอออนของโซเดียม คลอไรด์ และน้ำจับกับกรดไฮยาลูโรนิก

ในการวิเคราะห์ปริมาณของโซเดียมไอออน คลอไรด์ น้ำและพันธะไฮโดรเจนที่เข้ายึดจับกับกรดไฮยาลูโรนิก เพื่อศึกษาว่า อันตรกิริยาระหว่างไอออน กับ กรดไฮยาลูโรนิกรวมทั้งโครงสร้างไฮเดรชันเมื่อพิจารณารูปที่ 3.3 ผลการวิเคราะห์จำนวนโซเดียมที่เข้ามาเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลไฮยาลูโรนิก ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีค่าเฉลี่ย จำนวนอะตอม ที่ประมาณ 0.81 ± 0.20 ไอออน, 1.46 ± 0.64 ไอออน, 2.58 ± 0.27 ไอออน, 3.94 ± 0.29 ไอออน และ 4.23 ± 0.41 ไอออน ตามลำดับ จะเห็นว่า จำนวนโซเดียมไอออนมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์มากขึ้น



รูปที่ 3.3 กราฟแสดงจำนวนโซเดียมไอออนที่เข้ามาเกิดอันตรกิริยา (แกน Y) กับโมเลกุลไฮยาลูโรนิกของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (แกน X)

เมื่อพิจารณารูปที่ 3.4 ผลการวิเคราะห์จำนวนคลอไรด์ที่เข้ามาเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลไฮยาลูโรนิก ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีค่าเฉลี่ย จำนวนอะตอม ที่ประมาณ 0.03 ± 0.00 ไอออน, 0.13 ± 0.01 ไอออน, 0.31 ± 0.04 ไอออน, 0.55 ± 0.04 ไอออน และ 0.79 ± 0.02 ไอออน ตามลำดับ จะเห็นว่าจำนวนคลอไรด์มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์มากขึ้น แต่จำนวนคลอไรด์เมื่อเทียบกับจำนวนโซเดียมไอออนแล้ว พบว่า จำนวนโซเดียมไอออนมีปริมาณมากกว่าจำนวนคลอไรด์ เพราะว่า โมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกเมื่อแตกตัวในน้ำแล้วหมู่คาร์บอกซิลิกเกิดประจุลบ ทำให้โซเดียมไอออนที่มีประจุบวกเข้ามาเกิดอันตรกิริยาได้ดีกว่าคลอไรด์ที่มีประจุเป็นลบ



รูปที่ 3.4 กราฟแสดงจำนวนคลอไรด์ที่เข้ามาเกิดอันตรกิริยา (แกน Y) กับโมเลกุลไฮยาลูโรนิกของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (แกน X)

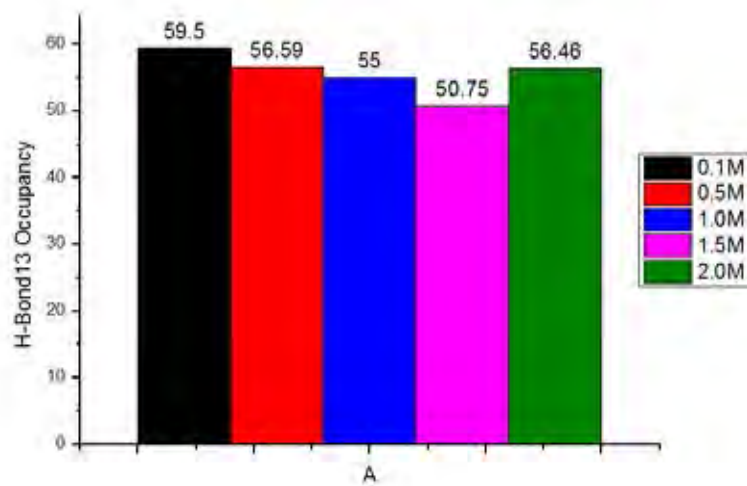
รูปที่ 3.5 แสดงผลการวิเคราะห์จำนวนโมเลกุลน้ำ ที่เข้ามาเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลไฮยาลูโรนิก ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีค่าเฉลี่ย จำนวนโมเลกุล ที่ประมาณ 24.45 ± 0.12 โมเลกุล, 24.23 ± 0.21 โมเลกุล, 24.05 ± 0.22 โมเลกุล, 23.68 ± 0.06 โมเลกุล และ 23.48 ± 0.19 โมเลกุล ตามลำดับจะเห็นว่า จำนวนโมเลกุลของน้ำที่มาอันตรกิริยากับโมเลกุลไฮยาลูโรนิก มีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์มากขึ้น เพราะว่า โมเลกุลของน้ำถูกแทนที่ด้วยโซเดียมไอออนที่มีปริมาณมากขึ้น



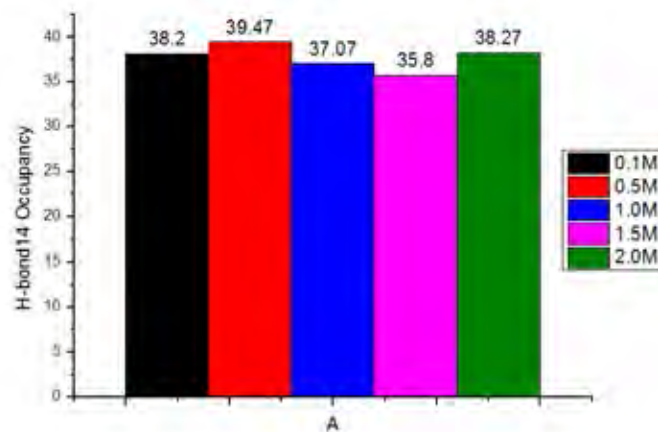
รูปที่ 3.5 กราฟแสดงจำนวนโมเลกุลของน้ำที่เข้ามาเกิดอันตรกิริยา (แกน Y) กับโมเลกุลไฮยาลูโรนิกของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (แกน X)

รูปที่ 3.6 แสดงผลการวิเคราะห์พันธะไฮโดรเจนที่เกิดอันตรกิริยากับกรดไฮยาลูโรนิกซึ่งจะเกิดอันตรกิริยาที่พันธะไกลซิดิกทั้ง 2 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งบีต้า (1,3) และ ตำแหน่งบีต้า (1,4) ที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิด

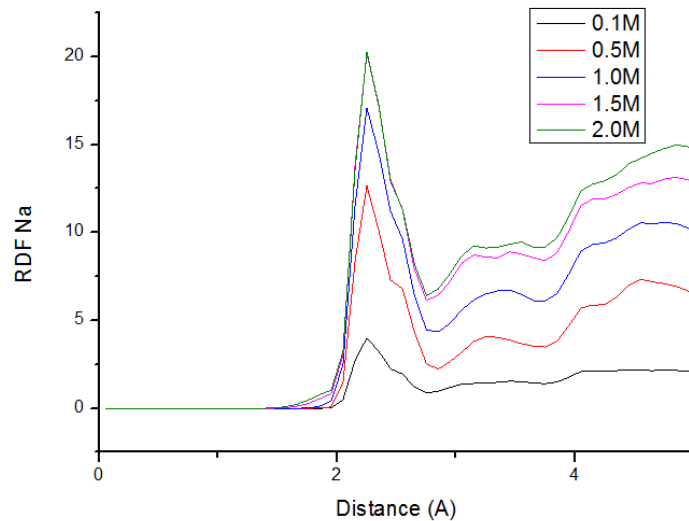
อันตรกิริยา ประมาณ 59.50 ± 2.13 , 56.59 ± 2.00 , 55.00 ± 1.64 , 50.75 ± 2.95 และ 56.46 ± 3.18 ตามลำดับ ส่วนที่ตำแหน่งบีต้า (1,4) ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีค่าเฉลี่ยจำนวนการเกิดอันตรกิริยา ประมาณ 38.20 ± 2.27 , 39.47 ± 4.76 , 37.007 ± 3.01 , 35.80 ± 3.83 และ 38.27 ± 3.06 ตามลำดับ ดังรูปที่ 3.7 จะเห็นว่าแนวโน้มที่พันธะไฮโดรเจนการเกิดอันตรกิริยากับพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) และ ตำแหน่งบีต้า (1,4) มีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น อาจเกิดจากโมเลกุลของน้ำที่ล้อมรอบโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกน้อยลง แต่ที่ความเข้มข้น 2.0 M มีจำนวนการเกิดอันตรกิริยามากขึ้นอาจเป็นเพราะจำนวนไฮดรอกซิลไอออนมีปริมาณขึ้นทำให้มีจำนวนการเกิดอันตรกิริยามากขึ้นแต่อาจเกิดการผลักระหว่างไฮดรอกซิลไอออนกันเอง ทำให้โมเลกุลของน้ำเข้าไปแทนที่แล้วเกิดอันตรกิริยาแทน เมื่อวิเคราะห์ระหว่างที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) และ ตำแหน่งบีต้า (1,4) พบว่าค่าของพันธะไฮโดรเจนที่เกิดอันตรกิริยาที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) มีค่ามากกว่าเพราะที่ตำแหน่งนี้มีผลของความเกาะเกาะโครงสร้างของโมเลกุลน้อยกว่าที่ ตำแหน่งบีต้า (1,4)



รูปที่ 3.6 กราฟแสดงจำนวนการเกิดพันธะไฮโดรเจนที่เกิดอันตรกิริยา (แกน Y) กับพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) ในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน (แกน X)



รูปที่ 3.7 กราฟ
การเกิดพันธะ
เกิดอันตรกิริยา
พันธะไกลโคซิดิกที่
(1,4)ในสารละลาย
เข้มข้นแตกต่างกัน

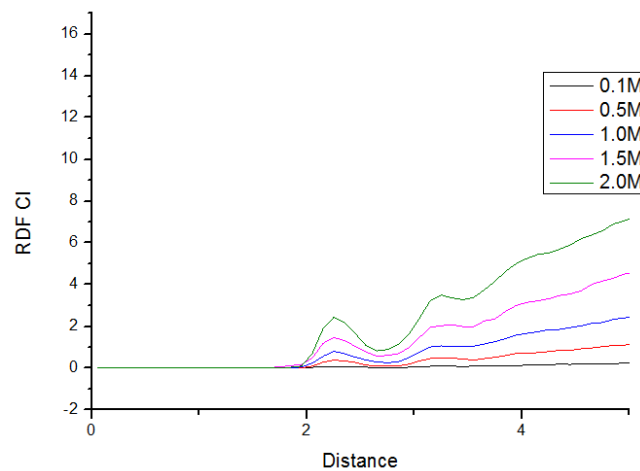


แสดงจำนวน
ไฮโดรเจนที่
(แกน Y)กับ
ตำแหน่งบีต้า
ที่มีความ
(แกน X)

3.4 ค่าฟังก์ชัน

เชิงรัศมี (Radial Distribution Function , RDF)

ในการวิเคราะห์ค่า RDF จะมีความสัมพันธ์กับจำนวนอะตอมหรือโมเลกุลที่เกิดอันตรกิริยา เพราะทำให้เราทราบถึงความน่าจะเป็นของการพบเจอคู่ของอะตอมต่อระยะทาง 1 \AA ในช่วงระยะทางระหว่าง 0 \AA ถึง 10 \AA เมื่อดูจากรูปที่ 3.8 ค่า RDF ของ โซเดียมไอออน ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีความสูงของพีคมากขึ้นตามความเข้มข้นของโซเดียมไอออน แสดงว่า ความน่าจะเป็นที่จะพบโซเดียมไอออนมีค่ามากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์มีค่ามากขึ้น

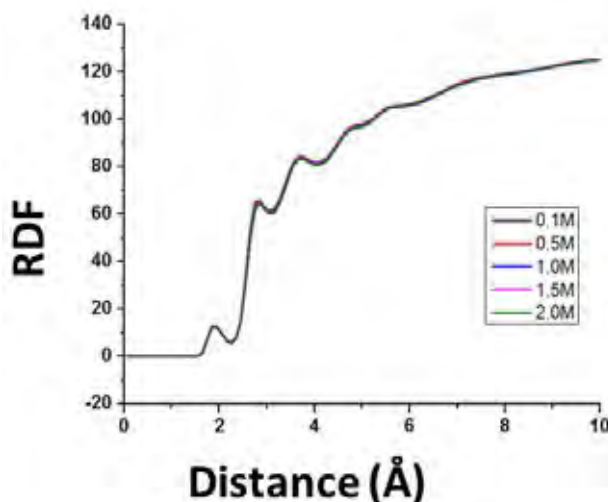


รูปที่ 3.8 กราฟแสดงค่า RDF ของโซเดียมไอออนในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

จากรูปที่ 3.9 ค่า RDF ของ คลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีความสูงของพีคมากขึ้นตามความเข้มข้นของคลอไรด์ไอออน แสดงว่า ความน่าจะเป็นที่จะพบคลอไรด์มีค่ามากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์มีค่ามากขึ้น

รูปที่ 3.9 กราฟแสดงค่า RDF ของคลอไรต์ในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

จากรูปที่ 3.10 ค่า RDF ของ น้ำ ที่ความเข้มข้น 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M และ 2.0 M มีความสูงของพีคเท่าไรเกือบทุกระบบ แสดงว่า ความน่าจะเป็นที่จะพบน้ำมีค่าเท่าเดิมแม้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรต์มีค่ามากขึ้น ซึ่งแม้ว่าปริมาณโมเลกุลของน้ำจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรต์มีค่ามากขึ้นแต่อยู่ในอัตราส่วนที่เปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยเท่านั้น เนื่องจากมีจำนวนโมเลกุลของน้ำอยู่ในระบบเป็นจำนวนมาก ดังนั้นจำนวนน้ำที่หายไปคิดเป็นอัตราส่วนที่น้อยมาก จึงไม่มีผลกระทบต่อกราฟ RDF และโมเลกุลของน้ำยังคงล้อมรอบโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน



รูปที่ 3.10 กราฟแสดงค่า RDF ของน้ำในสารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

Concentration	0.1 M NaCl	0.5 M NaCl	1.0 M NaCl	1.5 M NaCl	2.0 M NaCl
Number of Sodium	0.81±0.20	1.46±0.64	2.58±0.27	3.94±0.29	4.23±0.41
Number of Chloride	0.03±0.00	0.13±0.01	0.31±0.04	0.55±0.04	0.79±0.02
Number of Water	24.45±0.12	24.23±0.21	24.05±0.22	23.68±0.06	23.48±0.19
Occupancy of $\beta 13$ Hydrogen bond	59.50±2.13	56.59±2.00	55.00±1.64	50.75±2.95	56.46±3.18
Occupancy of $\beta 14$ Hydrogen bond	38.20±2.27	39.47±4.76	37.07±3.01	35.80±3.83	38.27±3.06

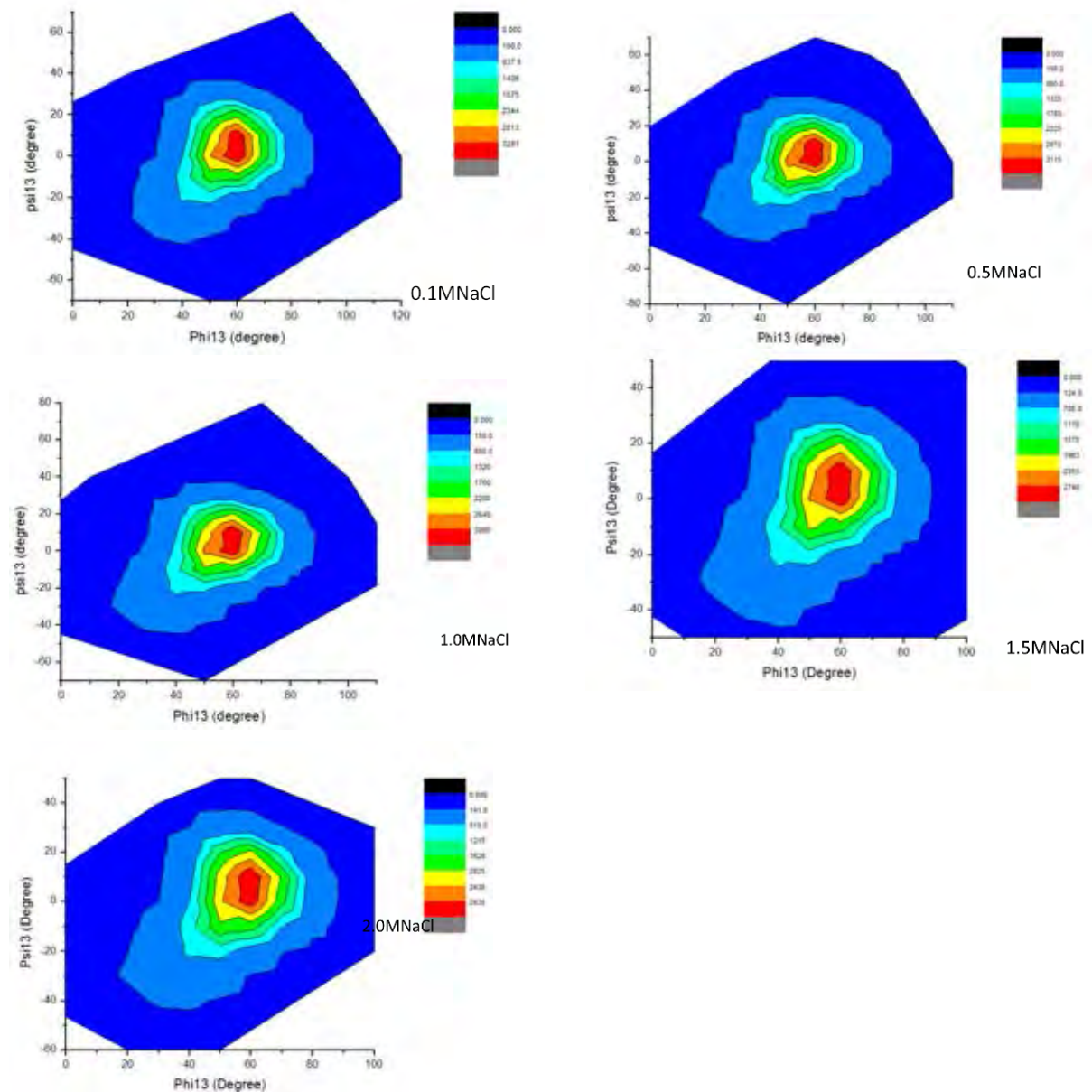
ตารางที่ 1 : ตารางแสดงค่าผลการคำนวณ ของการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

Concentration	0.1 M NaCl	0.5 M NaCl	1.0 M NaCl	1.5 M NaCl	2.0 M NaCl
RMSD	3.49±0.04Å	3.54±0.34Å	3.57±0.37Å	3.36±0.16Å	3.27±0.01Å
Rg	13.24±0.13Å	13.29±0.11Å	13.27±0.10Å	13.18±0.10Å	13.24±0.07Å
RDF-Sodium	1.82±0.29Å	3.84±0.45Å	7.39±0.29Å	10.04±0.26Å	12.36±0.69Å
RDF-Chloride	0.37±0.05Å	1.77±0.13Å	4.11±0.23Å	6.44±0.19Å	9.05±0.38Å
RDF-Water	0.72±0.00Å	0.72±0.00Å	0.72±0.00Å	0.72±0.00Å	0.72±0.00Å

ตารางที่ 2 : ตารางแสดงค่าผลการคำนวณของการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

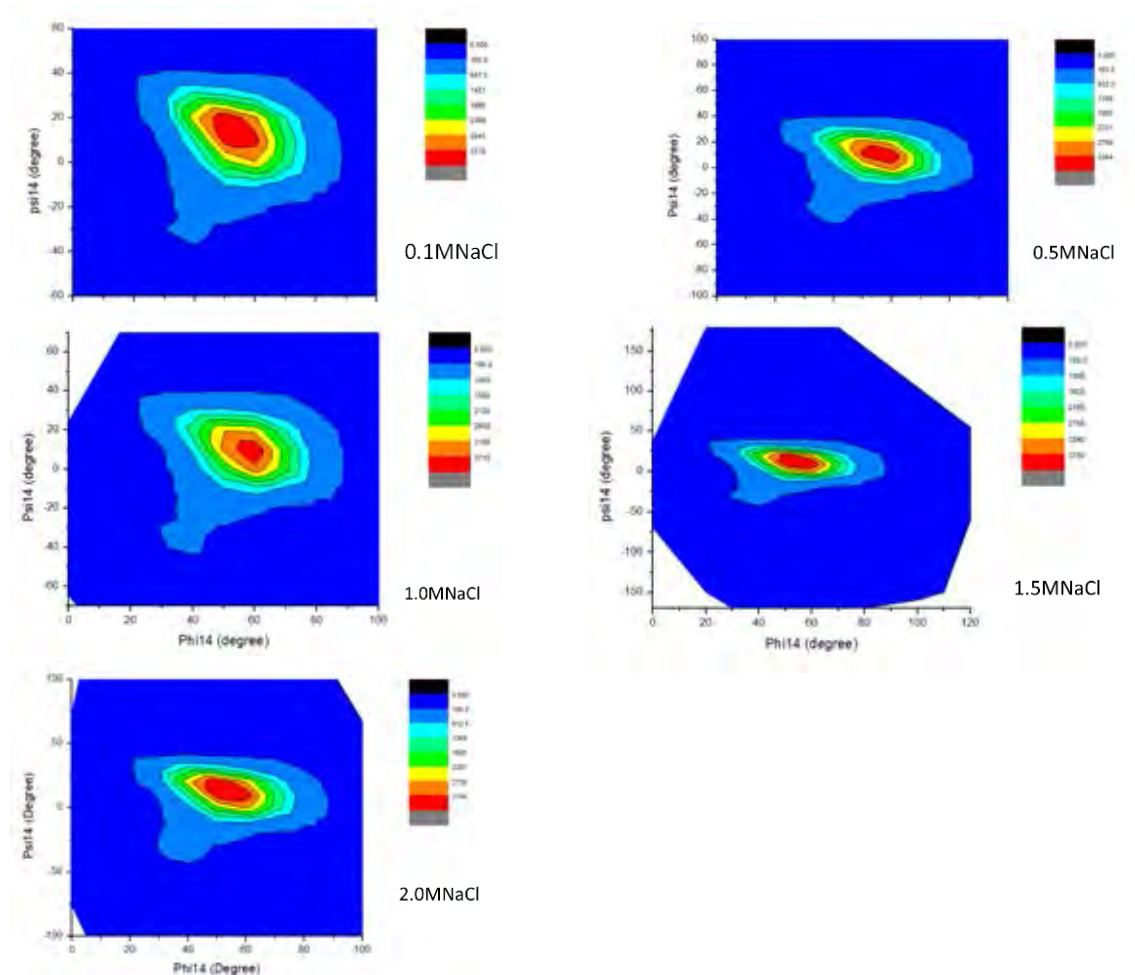
3.5 ค่ามุมไดฮีดรัล (Dihedral Angle)

ในการวิเคราะห์ค่ามุมไดฮีดรัล คือ การวิเคราะห์มุม ϕ และ มุม ψ บริเวณพื้นระนาบโกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) และ ตำแหน่งบีต้า (1,4) โดยวิเคราะห์จากกราฟคอนทัวร์ (Contour Graph) ระหว่างมุม ϕ และ มุม ψ ในรูปที่ 3.11 ที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) ที่ทุกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์จะพบว่าโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกมีค่ามุมเฉลี่ย ϕ และ ψ คือ มุม ϕ ประมาณ 60 องศา และมุม ψ ช่วงประมาณ 8 ถึง 10 องศา



รูปที่ 3.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างมุม ϕ และ มุม ψ บริเวณพื้นระนาบโกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) ของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายโซเดียมที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

ในรูปที่ 3.12 ที่ตำแหน่งบิต้า (1,4) ที่ทุกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์จะพบว่า โมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกมีค่ามุมเฉลี่ย phi และ psi คือ มุม phi ประมาณ 50 องศา และมุม psi ช่วงประมาณ 10 ถึง 20 องศา

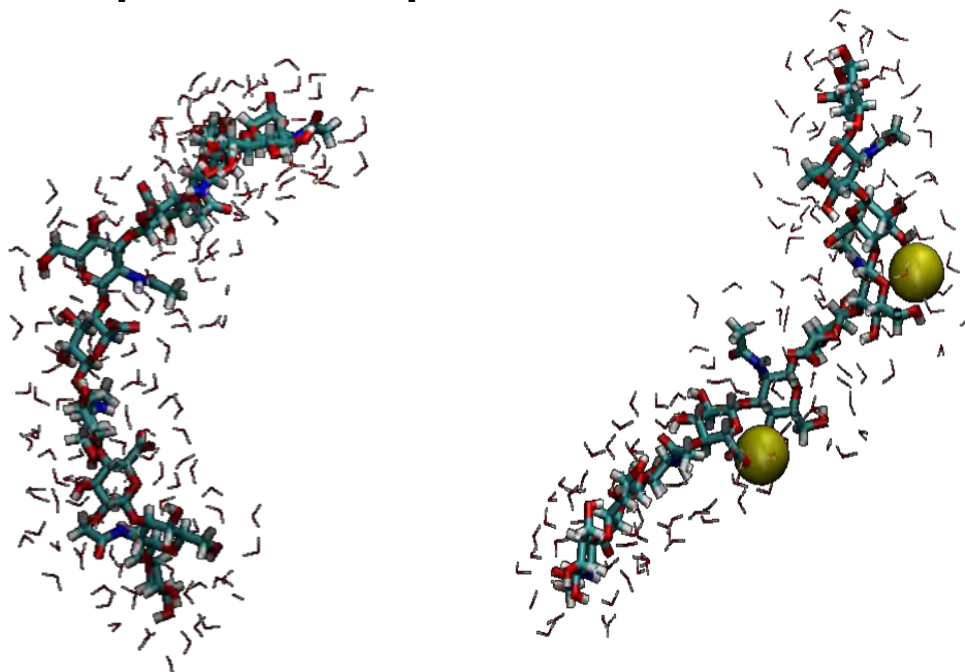


รูปที่ 3.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างมุม phi และ มุม psi บริเวณพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบิต้า (1,4) ของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกในสารละลายโซเดียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

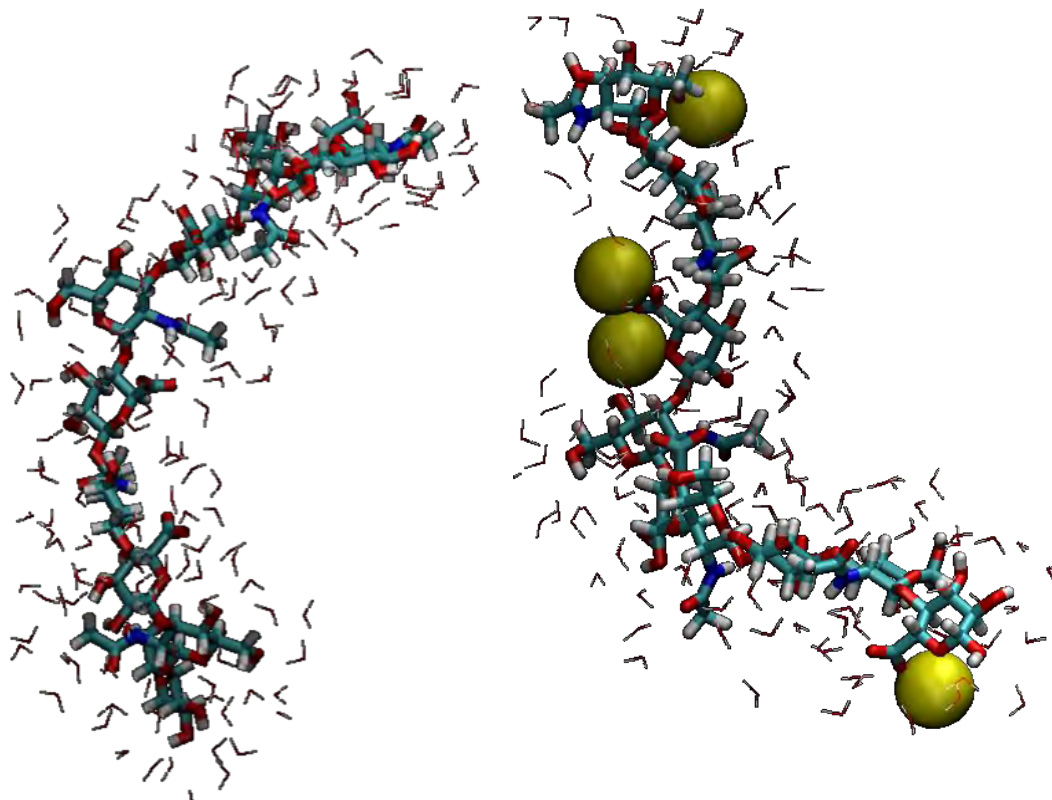
จากการวิเคราะห์มุม phi และ มุม psi บริเวณพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบิต้า (1,3) และ ตำแหน่งบิต้า (1,4) พบว่า มุม phi และ มุม psi มีค่าใกล้เคียงกันหรือแตกต่างกันไม่มาก แสดงว่า แม้จะเพิ่มความแรงของไอออนิกโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย การบิดหมุนของโครงสร้างไม่ได้มีค่าเปลี่ยนแปลงไปมาก

3.6 การวิเคราะห์หาตัวแทนโครงสร้างจากระบบที่เข้าสู่ภาวะสมดุล

หลังจากดำเนินการจำลองพลวัตสำเร็จและค้นหาตัวแทนของโครงสร้างของระบบที่เข้าสู่สมดุล จากการหาจุดเซนทรอยด์ของการกระจายตัวของ Rg และ RMSD แล้ว เมื่อใช้โปรแกรม VMD ตรวจสอบโครงสร้าง ดังรูปที่ 3.13 เพื่อเป็นการเปรียบเทียบโครงสร้างโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกระหว่างก่อนและหลังทำการจำลองพลวัต ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.1 M ซึ่งพบว่าหลังจากการจำลองพลวัตมีโซเดียมไอออนมาเกาะที่โมเลกุลของไฮยาลูโรนิก โดยมาเกาะที่บริเวณหมู่คาร์บอกซิลิก ซึ่งก็เป็นไปตามทฤษฎีที่ว่าบริเวณหมู่คาร์บอกซิลิกจะแตกตัวได้ประจุลบทำให้โซเดียมไอออนที่เป็นประจุบวก และพบว่าไม่มีคลอไรด์มาเกาะที่โมเลกุลของไฮยาลูโรนิก แสดงว่าคลอไรด์ไม่ชอบที่จะมาจับโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิก และในรูปที่ 3.14 เป็นการเปรียบเทียบโครงสร้างโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกระหว่างก่อนและหลังทำการจำลองพลวัต ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 2.0 M ซึ่งพบว่า ยิ่งเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย จำนวนโซเดียมไอออนก็จะมีปริมาณมากขึ้นและเข้ามาเกาะโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกมากขึ้นที่บริเวณหมู่คาร์บอกซิลิก เป็นไปตามทฤษฎีที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น



รูปที่ 3.13 รูปภาพแสดงการเปรียบเทียบการจำลองโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกก่อนการจำลองพลวัต (ด้านซ้าย) และหลังทำการจำลองพลวัต (ด้านขวา) ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.1 M โดยอะตอมสีเหลือง คือ อะตอมของโซเดียมไอออน



รูปที่ 3.14 รูปภาพแสดงการเปรียบเทียบการจำลองโมเลกุลของกรดไฮยาลูโรนิกก่อนการจำลองพลวัต (ด้านซ้าย) และหลังทำจำลองพลวัต (ด้านขวา) ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2.0 M โดยอะตอมสี เหลือง คือ อะตอมของโซเดียมไอออน

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของโมเลกุลของกรดไฮยาโลโรนิกที่มีขนาด 5 หน่วย โดยการศึกษาอิทธิพลของสารละลายไอออนิกที่มีต่อโครงสร้างและสมบัติไฮเดรชันของกรดไฮยาโลโรนิก โดยใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของกรดไฮยาโลโรนิก ได้มีการสร้างการจำลองโมเลกุลของกรดไฮยาโลโรนิกและทำการทดลองในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นต่างกัน 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 โมลาร์ การวิเคราะห์ผลใช้วิธีการคำนวณ ค่ารากที่สองของความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยกำลังสอง ค่าการคลายและหดตัวของโมเลกุล : รัศมีไจเรชันของกรดไฮยาโลโรนิก วัดปริมาณของโซเดียมไอออน คลอไรด์ น้ำและพันธะไฮโดรเจนที่เกิดอันตรกิริยากับกรดไฮยาโลโรนิก ค่าฟังก์ชันการกระจายเชิงรัศมี ค่ามุมไดฮีดรัล (Dihedral Angle) และ การวิเคราะห์หาตัวแทนโครงสร้างจากระบบที่เข้าสู่ภาวะสมดุลซึ่งผลการวิเคราะห์พบว่า ความแรงของไอออนิกไม่ได้ส่งผลต่อโครงสร้างและสมบัติไฮเดรชันของกรดไฮยาโลโรนิกที่มีขนาด 5 หน่วย แต่ส่งผลต่อพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล บริเวณพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) มีโครงสร้างที่แข็งแรงกว่า และมีความยืดหยุ่นน้อยกว่าที่ ตำแหน่งบีต้า (1,4) ทำให้พันธะไฮโดรเจนบริเวณพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่งบีต้า (1,3) มีความแข็งแรงกว่าที่ ตำแหน่งบีต้า (1,4)

ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองในลำดับต่อไป ได้แก่ มีเพิ่มการวิเคราะห์ขนาดของโมเลกุลกรดไฮยาลูโรนิกที่มีขนาด 5 โมเลกุลให้มีจำนวนเพิ่มขึ้น เพื่อเปรียบเทียบระหว่างโมเลกุลขนาดเล็กและขนาดใหญ่ว่าอิทธิพลของสารละลายไอออนิกส่งผลต่อโมเลกุลขนาดไหนมากกว่ากัน ซึ่งข้อเสียคือใช้เวลาในการทำวิจัยมากขึ้นกว่า มีการปรับอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองให้น้อยกว่าหรือมากกว่า อุณหภูมิ 300 เคลวิน ซึ่งเป็นค่าของอุณหภูมิห้อง สำหรับการวิเคราะห์สารชีวโมเลกุล ควรจะจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลที่มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต เพื่อให้งานวิจัยนี้สามารถนำข้อมูลไปใช้กับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ

เอกสารอ้างอิง

1. Makrantonaki, E; Adjaye, J; Herwig, R; Brink, T.C.; Growth, D; Hultschig, C. Age-specific hormonal decline is accompanied by transcriptional changes in human sebocytes in vitro. *Aging Cell*. **(2006)**, 5, pp.331-344
2. Chung, J.H.; Kang, S.; Varani, J.; Lin, J.; Fisher, G.J.; Voorhees, J.J. Decreased Extracellular-Signal-Regulated Kinase and increased stress-activated MAP Kinase Activities in Aged Human Skin in Vivo. *J Invest Dermatol*. **(2000)**, 115, pp.177-282
3. Weindl, G.; Schaller, M.; Schäfer-Korting, M.; Korting, H.C. Hyaluronic acid in the Treatment and Prevention of Skin Diseases: Molecular Biological, Pharmaceutical and Clinical Aspects. *Skin Pharmacol Physiol*. **(2004)**, 17, pp.207-213
4. Garima, J.; Arie, W. Exploring the Dependence of QM/MM Calculations of Enzyme Catalysis on the Size of the QM Region. *J Phys Chem B*. **(2016)**, 120(37), pp.9913–9921.
5. Karplus, M.; McCammon, J.A. Molecular dynamics simulations of biomolecules. *Nat. Struct. Biol*. (2002), 9, pp.646-652.
6. Fraser, J.R.E.; Laurent, T.C.; Laurent, U.B.G. Hyaluronan: Its Nature, Distribution, Functions and Turnover. *J Intern Med*. **(1997)**, 242, pp.27-33.
7. Marius, H.; Lei, L.; Hans-Joachim, G.; Roland, W. Effect of Hyaluronic Acid on Phospholipid Model Membranes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **(2019)**, 173, pp. 327-334
8. Cleland, R.L.; Wang, J.L. Ionic Polysaccharides.3. Dilute solution properties of hyaluronic acid fractions. *Biopolymers*. **(1970)**, 9, pp.799-810
9. Boone, A.; Luensmann, D.; Jones, L.; Sheardown, H. The Effects of Hyaluronic Acid Incorporated As a Wetting Agent on Lysozyme Denaturation in Model Contact Lens Materials. *J Biomater Appl*. **(2013)**, 28(3), pp.323-33.
10. Hamerman, D.; Schuster, H.; Hyaluronate in Normal Human Synovial Fluid. *J Clin Invest*. **(1958)**, 37, pp.57-64
11. Ragan, C.; Meyer, K. The Hyaluronic Acid of Synovial Fluid in Rheumatoid Arthritis. *J Clin Invest*. **(1949)**, 28, pp.56-59
12. Harry, M.S.; James, G.R.; Michael, R.W. Hyaluronic Acid Capsule and the Role of Streptococcal Entry into Keratinocytes in Invasive Skin Infection. *The Journal of Clinical Investigation*. **(1996)**, 98(9), pp.1954-1958.

13. Jijrn, K.; Kerstin, M.; Hans-Jiirg, H.; Klaus A. Molecular Dynamics Study of Hyaluronic Acid in Water. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*. (1998), 422, pp.109-121
14. Farwick, M.; Lersch, P.; Strutz, G. Low Molecular Weight Hyaluronic Acid: Its Effects on Epidermal Gene Expression & Skin Ageing. *SOFW-Journal*. (2008), 134, pp.11
15. Fouissac, E.; Milas, M.; Rinaudo, M.; Borsali, R. Influence of the Ionic Strength on the Dimensions of Sodium Hyaluronate. *Macromolecules*. (1992), 25, pp.5613-5617
16. Philips, J. C.; Braun, R.; Wang, W.; Gumbart, J.; Tajkhorshid, E.; Villa, E.; Chipot, C.; Skeel, R. D.; Kale, L.; Schulten, K. Scalable Molecular Dynamics with NAMD. *J. Comput. Chem.* (2005), 26, pp.1781-1802.
17. Humphrey, W.; Dalke, A.; Schulten, K. VMD: Visual Molecular Dynamics. *J. Mol. Graphics*. (1996), 14, pp.33-38.
18. Almond, A.; DeAngelis, P. L.; Blundell, C. D. Hyaluronan: The Local Solution Conformation Determined by NMR and Computer Modeling is Close to A Contracted Left-Handed 4-Fold Helix. *J. Mol. Biol.* (2006), 358, pp.1256-1269.
19. Brooks, B. R.; Brooks, C. L.; MacKerell Jr., A. D.; Nilsson, L.; Petrella, R. J.; et al. CHARMM: The Biomolecular Simulation Program. *J. Comput. Chem.* (2009), 30, pp.1545-1614.
20. Klauda, J. B.; Venable, R. M.; Freites, J. A.; O'Connor, J. W.; Tobias, D. J.; Mondragon-Ramirez, C.; Vorobyov, I.; MacKerell Jr., A. D.; Pastor, R. W. Update of the CHARMM All-Atom Additive Force Field for Lipids: Validation on Six Lipid Types. *J. Phys. Chem. B*. (2010), 114, pp.7830-7843.
21. Guvench, O.; Mallajosyula, S. S.; Raman, E. P.; EHatcher, E.; Vanommeslaeghe, K.; Foster, T. F.; Jamison, F. W.; MacKerell Jr., A. D. CHARMM Additive All-Atom Force Field for Carbohydrate Derivative and Utility in Polysaccharide and Carbohydrate-Protein Modeling. *J. Chem. Theory Comput.* (2011), 7, pp.3162-3180.
22. Barlow, D.J.; Thornton, J.M. Helix Geometry in Proteins. *Journal of Molecular Biology*. (1988), 3, pp.601-619

ภาคผนวก

การเขียนไฟล์ด้วยโปรแกรมด้วยโปรแกรม Editplus เพื่อจะทำการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล เอ้าท์พุทไฟล์ และ ผลการวิเคราะห์การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

4. สร้างไฟล์นามสกุล .conf ก่อนการทำการรันซิมูเลชัน เพื่อเป็นการตั้งค่าอะตอมไม่ให้เกิดการซ้อนทับและใกล้กันในช่วงตอนการสร้างอะตอมหรือแยกอะตอม เป็นการป้องกันไม่ให้ระบบเกิดข้อผิดพลาด โดยจะใช้ไฟล์ ionized.pdb และ ionized.psf เป็นไฟล์ในการทำงาน

5. ระบุค่าพารามิเตอร์ โดยแก้ไขโปรแกรม Editplus ของไฟล์นามสกุล .conf ในที่นี้จะใช้ชื่อไฟล์ว่า 0.1MNaCl-min-01.conf จากนั้นจะทำการแก้ไขข้อมูลให้ตรงกับเงื่อนไขที่ต้องการ เช่น อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองคือ 300 เคลวิน แก้ไขตรง Structure ให้เป็น ionized-0.1.psf และแก้ไขตรง coordinates ให้เป็น ionized-0.1.pdb จากให้ไปแก้ไขในหัวข้อ Input ตรง paraTypeCharm ให้เป็น on

6. ระบุค่าพารามิเตอร์ใน Periodic Boundary Conditions เพื่อทำการกำหนดขนาดของระบบในการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล โดยระบุค่าดังนี้

```
if {1} {
cellBasisVector1 66. 0. 0.
cellBasisVector2 0. 75. 0.
cellBasisVector3 0. 0. 59.
cellOrigin -0.0650252252817154 -10.414459228515625 0.5977898240089417
}
wrapWater on
wrapAll on
```

4. ระบุค่าพารามิเตอร์ใน Force-Field Parameters โดยระบุค่าดังนี้

```
exclude scaled1-4
1-4scaling 1.0
cutoff 12.
switching on
switchdist 10.
pairlistdist 13.5
```

5. ระบุค่าพารามิเตอร์ใน Integrator Parameters

```
timestep 2.0
rigidBonds all
nonbondedFreq 1
fullElectFrequency 2
```

```
stepspercycle    20
```

6. ระบุค่าพารามิเตอร์ใน PME

```
if {1} {
```

```
PME                yes
```

```
PMEGridSizeX      70
```

```
PMEGridSizeY      80
```

```
PMEGridSizeZ      65
```

```
}
```

7. ทำการรันซิมูเลชัน โดยไฟล์ 0.1MNaCl-min-01.conf ซึ่งจะได้ เอาท์พุทไฟล์ออกมา คือ 0.1MNaCl-pre-01.conf ให้ทำการแก้ไขในเอาท์พุทไฟล์ที่ ค่า minimize จาก 20,000 ให้เป็น 10,000 และแก้ไขชื่อเอาท์พุทไฟล์ให้เป็น 0.1MNaCl-pre-02.conf ซึ่งในไฟล์นี้ก็ให้ทำการแก้ไขเอาท์พุทไฟล์เช่นกัน ให้เป็น 0.1MNaCl-pre-03.conf

8. จากนั้นให้เตรียมไฟล์ Na0.1MNaCl.job เพื่อเตรียมไฟล์จะไปรันใน คอมพิวเตอร์แม่ข่าย (Phoenix Server) โดยใช้เขียนคำสั่งในไฟล์ Na0.1MNaCl.job ดังนี้

```
dir=/fs/export/apps/software/NAMD
```

```
$dir/charmrun +p16 $dir/namd2 0.1MNaCl-min-01.conf > 0.1MNaCl-min-01.out
```

```
$dir/charmrun +p16 $dir/namd2 0.1MNaCl-pre-01-01.conf > 0.1MNaCl-pre-01-01.out
```

```
$dir/charmrun +p16 $dir/namd2 0.1MNaCl-pre-02-01.conf > 0.1MNaCl-pre-02-01.out
```

```
$dir/charmrun +p16 $dir/namd2 0.1MNaCl-pre-03-01.conf > 0.1MNaCl-pre-03-01.out
```

```
for ((i=1; i<=55; i++))
```

```
do
```

```
if [ $i -lt 10 ]
```

```
then
```

```
$dir/charmrun +p16 $dir/namd2 0.1MNaCl-md-0$i-01.conf > 0.1MNaCl-md-0$i-01.out
```

```
else
```

```
$dir/charmrun +p16 $dir/namd2 0.1MNaCl-md-$i-01.conf > 0.1MNaCl-md-$i-01.out
```

```
fi
```

```
done
```

9. นำไฟล์ Na0.1MNaCl.job ไปทำการรันใน คอมพิวเตอร์แม่ข่าย (Phoenix Server) โดยป้อนคำสั่งในขั้นตอนแรกว่า `chmod +x Na0.1MNaCl.job` เพื่อตั้งค่าให้ไฟล์รันตามขั้นตอน แล้วหลังจากนั้นให้ใช้คำสั่งว่า `qsub Na0.1MNaCl.job` หลังจากนั้นการรันซิมูเลชันจะดำเนินการจนกว่าจะเสร็จแล้วได้เอาท์พุทไฟล์ตามที่ได้เขียนไว้ในโปรแกรม Editplus

ประวัติผู้ทำการวิจัย

นาย ธนกฤต พึ่งอ่อน เกิดเมื่อวันที่ 26 เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2539 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนหอวัง ปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี เมื่อปีการศึกษา 2557 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2558 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 26/910 หมู่ที่ 10 หมู่บ้านวรารัง กุลคลอง 3 ตำบล ลาดสวาย อำเภอ ลำลูกกา จังหวัด ปทุมธานี รหัสไปรษณีย์ 12150 อีเมลล์ forblackjack2639@gmail.com