



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การหาค่าพลังงานยึดเหนี่ยวระหว่างเอนไซม์นิวรามินิเดสกับทามิฟลูด้วย
วิธีโมเลกุลาร์แฟรกเมนต์
Molecular fragment approach for determining binding energy
of neuraminidase enzyme with Tamiflu

ชื่อนิสิต นางสาวอัญมณี งามวัฒน์

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การหาค่าพลังงานยึดเหนี่ยวระหว่างเอนไซม์นิวรามินิเดสกับทามิฟลูด้วย
วิธีโมเลกุลาร์แฟรกเมนต์

Molecular fragment approach for determining binding energy
of neuraminidase enzyme with Tamiflu

โดย

นางสาวอัญมณี งามวัฒน์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ปีการศึกษา 2560

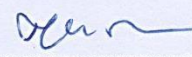
โครงการ การหาค่าพลังงานยึดเหนี่ยวระหว่างเอนไซม์นิวรามินิเดสกับทามิฟลูด้วยวิธีโมเลคิวลาร์แฟรกเมนต์
โดย นางสาวอัญมณี งามวัฒน์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

 ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ เพ็ญรวณิช)

 อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

 กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.ศุภคร วณิชเวหารุ่งเรือง)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

Project Title Molecular fragment approach for determining binding energy of neuraminidase enzyme with Tamiflu
Student Name Miss Aunyamanee Ngamwatana Student ID 5733185023
Advisor Name Associate Professor Vudhichai Parasuk, Ph.D.
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

Abstract

Molecular fragment (MF) energies approach was used to calculate the binding energy of neuraminidase enzyme, which is an important enzyme of the influenza virus, and oseltamivir, which is the neuraminidase inhibitor that has been used as the anti-influenza drug. In the MF approach, the large molecule was made into small fragments to save calculation time. Once the binding energy was obtained, It was compared to that computed using full molecular system. From MF approach, energy of system is calculated from the summation of fragment or monomer energies (E_i), 2-body interactions (Δ_{ij}) and 3-body interactions (Γ_{ijk}). The results showed the binding energies from full system and MF are -125.51 kcal/mol and 4760.05 kcal/mol, respectively. Thus, there is the percentage error of 3892.529% which caused by the error in the determination of 3-body interactions.

Keywords: binding energy, oseltamivir, neuraminidase, Influenza virus

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือและเอาใจใส่เป็นอย่างสูงจากรองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ได้ให้ความรู้และคำชี้แนะต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ทำให้การดำเนินงานเป็นไปอย่างราบรื่น

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ เพ็ชรวิช และศาสตราจารย์ ดร.ศุภสร วนิชเวหารุ่งเรือง ที่เสียสละเวลามาปฏิบัติหน้าที่กรรมการสอบงานวิจัย รวมถึงให้คำแนะนำจนรายงานเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการเคมีคอมพิวเตอร์ (Computational Chemistry Unit Cell; CCUC) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์คอมพิวเตอร์แม่ข่ายสำหรับการคำนวณ และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้มอบทุนสนับสนุนโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนภาคเคมี รุ่นพี่ รุ่นน้อง และครอบครัว ที่คอยให้กำลังใจจนโครงการสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี สุดท้ายนี้สืตผู้จัดทำโครงการคาดหวังว่าความรู้ที่ได้รับจากงานวิจัยฉบับนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ และก่อให้เกิดแนวคิดในการพัฒนางานวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องต่อไป



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	2
1.4.1 เคมีควอนตัมและการหาค่าพลังงานของอิเล็กทรอนิกส์	2
1.4.2 ระเบียบวิธีทฤษฎีฟังก์ชันนัลความหนาแน่น (Density Functional Theory)	3
1.4.3 ระเบียบวิธีพลังงานส่วนย่อยของโมเลกุล (Molecular fragment energies)	4
1.4.4 เบซิสเซต (Basis set)	5
1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 2 การทดลอง	8
2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่เกี่ยวข้อง	8
2.1.1 เครื่องคอมพิวเตอร์	8
2.1.2 ระบบปฏิบัติการ	8
2.1.3 โปรแกรมที่เกี่ยวข้อง	8
2.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	8
2.3 รูปแบบการคำนวณ	10
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	12
3.1 พลังงานสารเชิงซ้อน นิวรามินิเดส-โอเซลทามิเวียร์ และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) โดยวิธี M06-L/6-31g	12
3.2 พลังงานคำนวณด้วยวิธีการคำนวณโมเลกุลส่วนย่อย (Molecular fragment energies)	13
3.2.1 พลังงานมอนอเมอร์ (E_i)	13
3.2.2 แรงแกระทำสองวัตถุ (2-body interaction, Δ_{ij})	14
3.2.3 แรงแกระทำสามวัตถุ (3-body interaction, Γ_{ijk})	20
3.2.4 พลังงานสารเชิงซ้อนที่คำนวณด้วยวิธีโมเลกุลส่วนย่อย (E_{cpx}) และพลังงาน ยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$)	25
3.3 ผลการคำนวณ $E_{\text{cut-off}}$	26

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง

ภาคผนวก

เอกสารอ้างอิง

ประวัติผู้วิจัย

หน้า

28

29

36

38



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงกรดอะมิโนที่ใช้ในการคำนวณ	10
ตารางที่ 2 แสดงพลังงานระบบสารเชิงซ้อน นิเวรามินิเดส-โอเซลทามิเวียร์ และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) โดยวิธี M06-L/6-31g หน่วยเป็น Hartree	12
ตารางที่ 3 แสดงพลังงานมอนอเมอร์ (E_i) และผลรวมพลังงานมอนอเมอร์ ($\sum_i E_i$) หน่วยเป็น Hartree	13
ตารางที่ 4 แสดงพลังงานไดเมอร์, พลังงานมอนอเมอร์ และแรงกระทำสองวัตถุ (Δ_{ij}) หน่วยเป็น Hartree	14
ตารางที่ 5 แสดงพลังงานไตรเมอร์, พลังงานไดเมอร์, พลังงานมอนอเมอร์ และแรงกระทำระหว่างสามโมเลกุล (Γ_{ijk}) หน่วยเป็น Hartree	20
ตารางที่ 6 แสดงผลการคำนวณพลังงานสารเชิงซ้อน (E_{cpx}) และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) โดยวิธีการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อย (Molecular fragment)	25
ตารางที่ 7 แสดงค่าความคลาดเคลื่อนพลังงานสารเชิงซ้อน (E_{cpx}) และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) ที่คำนวณด้วยวิธีการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อยเทียบกับพลังงานที่ได้จากการคำนวณโมเลกุลแบบเต็ม	25
ตารางที่ 8 แสดงผลการคำนวณพลังงานมอนอเมอร์ (E_i'), แรงกระทำระหว่างสองโมเลกุล (Δ_{ij}'), แรงกระทำระหว่างสามโมเลกุล (Γ_{ijk}'), พลังงานสารเชิงซ้อน (E_{cpx}') ในหน่วย Hartree และพลังงานยึดจับ (E_{binding}') ในหน่วย kcal/mol เมื่อกำหนด cut-off ที่ 5.5 Å	26
ตารางที่ 9 แสดงค่าความคลาดเคลื่อนพลังงานสารเชิงซ้อน และพลังงานยึดจับ เมื่อเทียบระหว่างการคำนวณที่ใช้และไม่ใช้ cut-off	27

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 ตำแหน่ง 150-cavity และตำแหน่ง Linker H	5
รูปที่ 2 อนุพันธ์ของโอเซลทามิเวียร์และสมบัติต่าง ๆ	6
รูปที่ 3 ผลการทดลองประสิทธิภาพของสารในการยึดจับ H1, N1 และ H1N1	6
รูปที่ 4 โครงสร้างของ MY21	7
รูปที่ 5 ตัวอย่างไฟล์นำเข้าที่แสดงผลโดยโปรแกรม Gaussview	9
รูปที่ 6 โครงสร้าง OTV ล้อมรอบด้วยกรดอะมิโน 19 ชนิด	10
รูปที่ 7 แรงดึงดูดระหว่างประจุ (Electrostatic Interaction) ระหว่างหมู่ $-NH_3^+$ และ $-COO^-$ ใน OTV และ GLU344	19
รูปที่ 8 GLU195 และ GLU196	20
รูปที่ 9 SER98 และ TRP97	20
รูปที่ 10 แรงดึงดูดระหว่างประจุ (Electrostatic Interaction) และพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen Bond) ใน ARG290, OTV และ ASP70	24
รูปที่ 11 ASP70 เชื่อมต่อกับ ARG71 และ OTV	25
รูปที่ 12 GLU195 เชื่อมต่อกับ GLU196 และ OTV	25
รูปที่ 13 กลไกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Neuraminidase	30
รูปที่ 14 โครงสร้าง Oseltamivir	31
รูปที่ 15 โครงสร้าง Oseltamivir ใน H2N2	31
รูปที่ 16-34 โครงสร้างกรดอะมิโน 19 ตำแหน่งใน Neuraminidase	32

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันมีความกังวลว่าไวรัสไข้หวัดใหญ่หรือ Influenza Virus จะมีการแพร่ระบาดครั้งใหญ่ อย่างที่เคยเกิดขึ้นมาแล้ว เช่นในปีค.ศ.1957 มีการแพร่ระบาดของไข้หวัดใหญ่เอเซีย (Asian flu) จากแถบเอเซียตะวันออกเฉียงใต้ไปทั่วโลก มีผู้เสียชีวิตกว่า 14,000 คนในประเทศอังกฤษ¹ ซึ่งในปัจจุบันเชื้อไวรัสนี้ได้มีการกลายพันธุ์ไปจากเดิม² ทำให้ยารักษาไข้หวัดใหญ่ที่ใช้อยู่ปัจจุบันใช้ไม่ได้ผลดี จำเป็นต้องพัฒนาตัวยารักษาใหม่ที่มีประสิทธิภาพเพื่อรับมือจากการแพร่ระบาดของไข้หวัดใหญ่ที่อาจเกิดขึ้น การคิดค้นยารักษาไวรัสไข้หวัดใหญ่มุ่งเน้นไปที่การยับยั้งขั้นตอนการแพร่พันธุ์ของไวรัส โดยมีเอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องได้แก่เอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase) ซึ่งเป็นเป้าหมายของสารยับยั้ง เนื่องจากเอนไซม์นี้สามารถพบได้ทั้งในไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอและบี อีกทั้งยังมีแหล่งกัมมันต์ (Active site) คงที่ในไวรัสไข้หวัดใหญ่ทุกสายพันธุ์ แม้ไวรัสจะมีการกลายพันธุ์แล้ว โดยตัวยับยั้งเอนไซม์จะมีผลทำให้ไวรัสไข้หวัดใหญ่หยุดการแพร่กระจายไปยังเซลล์ข้างเคียง³ ปัจจุบันสารยับยั้งหรือยาต้านไวรัสที่นิยมใช้ได้แก่ ทามิฟลู (Tamiflu) หรืออนุพันธ์ของโอเซลทามิเวียร์ (Oseltamivir)⁴ โดยการที่สารยับยั้งจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ตินั้น จำต้องสามารถยึดจับกับแหล่งกัมมันต์ได้ดี ด้วยเหตุนี้โครงการวิจัยนี้จึงสนใจที่จะคำนวณพลังงานยึดจับ (Binding energy) ระหว่างยาต้านไวรัสชนิดทามิฟลูและเอนไซม์นิวรามินิเดส⁵ ซึ่งปัญหาของการคำนวณพลังงานยึดจับคือ เอนไซม์นิวรามินิเดส มีขนาดใหญ่ทำให้ใช้เวลาในการคำนวณนานมาก งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้วิธีคำนวณโมเลกุลส่วนย่อย (Molecular fragment) ซึ่งเป็นการแตกโมเลกุลขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง เพื่อลดระยะเวลาในการคำนวณระบบโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่มาก เช่น เอนไซม์ ด้วยความแม่นยำสูง⁶ โดยพลังงานยึดเหนี่ยวของโมเลกุลจะคำนวณจากพลังงานระบบ (System energy) ซึ่งเป็นผลลัพธ์จากพลังงานส่วนย่อยของโมเลกุลเดี่ยว (monomer, E_i) รวมกับแรงกระทำระหว่างสองโมเลกุล (2-body interaction, Δ_{ij}) และสามโมเลกุล (3-body interaction, Γ_{ijk}) จนถึงแรงกระทำระหว่าง m โมเลกุล (m-body interaction, $\Delta_{ij\dots}$)

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อคำนวณหาพลังงานยึดจับ (Binding energy) ระหว่างโอเซลทามิเวียร์ (Oseltamivir) และเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase) ด้วยวิธีคำนวณส่วนย่อยของโมเลกุล (Molecular fragment)
2. เพื่อเปรียบเทียบพลังงานยึดจับ (Binding energy) ระหว่างวิธีการคำนวณพลังงานโมเลกุลแบบเต็ม (Full system) และการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อย (Molecular fragment)

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบค่าพลังงานยึดจับ (Binding energy) ระหว่างโอเซลทามิเวียร์ (Oseltamivir) และเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase) ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการออกแบบยาต้านไวรัสไข้หวัดใหญ่ที่มีประสิทธิภาพต่อไป

1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

กลศาสตร์ควอนตัมสามารถใช้ทำนายพฤติกรรมของสารเคมี ไม่ว่าจะเป็น โมเลกุล อะตอม และ ไอออน วิธีการทางการคำนวณทางเคมีควอนตัม (quantum chemical calculation) จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาและวิจัยทางเคมี เพื่ออธิบายปรากฏการณ์ต่างๆ และให้ภาพเชิงลึก (insight) ของปรากฏการณ์นั้นๆ นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ช่วยในการออกแบบสารเคมี ที่มีคุณสมบัติตามต้องการ หนึ่งในนั้นคือการออกแบบยา ตัวอย่างเช่นการคำนวณพลังงานยึดจับระหว่างเอนไซม์และตัวยับยั้งเพื่อหายาที่มีประสิทธิภาพสูง อย่างไรก็ตามการศึกษาโดยวิธีการทางเคมีคอมพิวเตอร์นั้นยังมีข้อจำกัด เนื่องจากมีความซับซ้อนของระบบการคำนวณมาก ดังนั้นในการศึกษาโดยวิธีการทางเคมีคอมพิวเตอร์จำเป็นต้องใช้คอมพิวเตอร์ที่มีสมรรถภาพสูงในการคำนวณ

1. เคมีควอนตัมและการหาค่าพลังงานของโมเลกุล⁷

โมเลกุลประกอบด้วยอิเล็กตรอนและนิวเคลียส องค์ประกอบระหว่างอิเล็กตรอนและนิวเคลียสที่แตกต่างในโมเลกุล มีผลต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของโมเลกุลนั้น

กลศาสตร์ควอนตัม (Quantum mechanics) ถูกนำมาใช้การอธิบายพฤติกรรมของอิเล็กตรอนในโมเลกุล และสมบัติของอิเล็กตรอนนี้สามารถทำนายได้โดยสมการชเรอดิงเงอร์ (Schrödinger equation) ดังนี้

$$\hat{H}\psi = E\psi$$

โดยที่

\hat{H} คือ ตัวดำเนินการแฮมิลโทเนียน (Hamiltonian operator) ซึ่งเป็นตัวดำเนินการสำหรับการวัดค่าพลังงานในระบบกลศาสตร์แบบแฮมิลตัน (Hamilton mechanics) โดยตัวดำเนินการดังกล่าวจะแสดงถึงค่าพลังงานรวมของระบบ ซึ่งเป็นผลรวมของพลังงานจลน์ และพลังงานศักย์

E คือ ค่าไอเกน (Eigenvalue) ซึ่งเป็นค่าพลังงานรวมของระบบ

ψ คือ ฟังก์ชันคลื่น (Wave function) รวมของระบบหรือฟังก์ชันไอเกน (Eigen function)

สมการดังกล่าวสามารถแก้หาผลเฉลยได้เฉพาะกับระบบที่มีหนึ่งอิเล็กตรอน เช่น อะตอมของไฮโดรเจน แต่สำหรับระบบที่มีอิเล็กตรอนมากกว่าหนึ่งไม่สามารถแก้สมการเพื่อหาผลเฉลยได้

แฮมิลโทเนียนของระบบโมเลกุลประกอบด้วยพจน์ต่าง ๆ ดังนี้

$$\hat{H}_{\text{tot}} = T_e + T_n + V_{en} + V_{ee} + V_{nn}$$

T_e คือ ผลรวมของพลังงานจลน์ของอิเล็กตรอนในระบบ

T_n คือ ผลรวมของพลังงานจลน์ของนิวเคลียสในระบบ

V_{en} คือ ผลรวมของพลังงานศักย์ที่เกิดจากแรงดึงดูดระหว่างอิเล็กตรอนและนิวเคลียส

V_{ee} คือ ผลรวมของพลังงานศักย์ที่เกิดจากแรงผลักระหว่างอิเล็กตรอนและอิเล็กตรอน

V_{nn} คือ ผลรวมของพลังงานศักย์ที่เกิดจากแรงผลักระหว่างนิวเคลียสและนิวเคลียส

เนื่องจากพจน์หรือตัวแปรของผลรวมของพลังงานศักย์ที่เกิดระหว่างอิเล็กตรอนกับอิเล็กตรอน และอิเล็กตรอนกับนิวเคลียสนั้นจะทวีคูณตามจำนวนอิเล็กตรอนที่เพิ่มขึ้น เพื่อลดความซับซ้อนในการคำนวณจะแยกตัวแปรที่ขึ้นกับอิเล็กตรอนและนิวเคลียสออก โดยใช้หลักการการประมาณค่าของบอร์นและโอเพนไฮเมอร์

(Born–Oppenheimer approximation) จึงสามารถเขียนฟังก์ชันคลื่นของระบบในรูปผลคูณระหว่างฟังก์ชันคลื่นของอิเล็กตรอนและฟังก์ชันคลื่นของนิวเคลียส จึงสามารถแก้ปัญหาของระบบอิเล็กตรอนแยกจากระบบรวมได้ และจากการประมาณการดังกล่าวเมื่อใช้ร่วมกับวิธีการของฮาร์ตรี-ฟอคก (Hartree–Fock method) ซึ่งไม่สนใจอันตรกิริยาตรงระหว่างอิเล็กตรอนด้วยกัน และเขียนฟังก์ชันคลื่นของอิเล็กตรอนให้อยู่ในรูปของดีเทอร์มิแนนท์ที่เรียกว่าดีเทอร์มิแนนท์ของสเลเตอร์ (Slater determinant) ทำให้สามารถประมาณค่าของระบบโมเลกุลได้

อย่างไรก็ตามพบว่าพลังงานที่ได้จากวิธีการฮาร์ตรีและฟอคก (Hartree–Fock method) นั้นมีค่าสูงกว่าพลังงานจริง (exact energy) ที่เป็นค่าไอเกนของสมการชเรอดิงเงอร์ ค่าพลังงานส่วนที่ต่างระหว่างพลังงานฮาร์ตรีฟอคกและพลังงานจริงเรียกว่า ค่าพลังงานสหสัมพันธ์ทางอิเล็กตรอน (Electron correlation energy) ความแตกต่างนี้มีผลต่อการทำนายด้วยทฤษฎีทางเคมีควอนตัม จึงจำเป็นที่จะหาค่าพลังงานสหสัมพันธ์ทางอิเล็กตรอน เนื่องจากเราไม่สามารถหาผลเฉลยของสมการชเรอดิงเงอร์ได้ ทำให้ไม่สามารถหาค่าพลังงานสหสัมพันธ์ทางอิเล็กตรอนที่แท้จริง จึงต้องประมาณหาค่าดังกล่าว

ดังนั้นจึงมีการคิดค้นทฤษฎีที่พยายามประมาณค่าพลังงานสหสัมพันธ์ทางอิเล็กตรอน ทฤษฎีที่โดดเด่นเนื่องจากใช้เวลาในการคำนวณ รวมถึงทรัพยากรทางคอมพิวเตอร์น้อยคือ ทฤษฎีฟังก์ชันนัลความหนาแน่น (Density Functional Theory)

2. ระเบียบวิธีทฤษฎีฟังก์ชันนัลความหนาแน่น (Density Functional Theory)⁸⁻¹¹

ระเบียบวิธีทฤษฎีฟังก์ชันนัลความหนาแน่น (Density Functional Theory) หาผลเฉลยในรูปฟังก์ชันนัลของความหนาแน่น แทนในรูปของฟังก์ชันคลื่น ดังสมการ

$$E[\rho] = T[\rho] + V_{\text{ext}}[\rho] + V_{\text{ee}}[\rho]$$

โดยที่

$T[\rho]$ คือ พลังงานจลน์

$V_{\text{ext}}[\rho]$ คือ พลังงานศักย์ภายนอก

$V_{\text{ee}}[\rho]$ คือ แรงแผลกระหว่างอิเล็กตรอน

จากทฤษฎีดังกล่าว และอาศัยสมการโคห์น-แชม (Kohn-Sham equations)

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + v_{\text{eff}}(\mathbf{r}) \right] \psi_i(\mathbf{r}) = \epsilon_i \psi_i(\mathbf{r}) \quad (1)$$

โดยที่ V_{eff} คือ ศักย์ยังผล และ $\Psi_i(\mathbf{r})$ คือ โคห์น-แชมออบิตัล (Kohn-Sham orbital) อย่างไรก็ตามความหนาแน่นของอิเล็กตรอน ณ ตำแหน่ง \mathbf{r} หาได้จากความสัมพันธ์ในสมการที่ 2

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^N |\Psi_i(r)|^2 \quad (2)$$

โดยที่

ρ คือ ความหนาแน่นอิเล็กตรอน

N คือ จำนวนออร์บิทัลที่ถูกครอบครอง (occupied orbital)

เราสามารถประมาณค่าผลเฉลยได้ กระบวนการหาคำตอบของสมการโคห์น-แฮมทำได้โดยการสุ่มโคห์น-แฮมออร์บิทัลขึ้นมา 1 ชุดภายใต้ชุดเซตฟังก์ชันที่เลือกใช้ จากสมการที่ 2 จะได้ความหนาแน่นเริ่มต้น และได้ความต่างศักย์ตามมา จากนั้นจึงแก้สมการโคห์น-แฮมออกมา ได้ผลเฉลยเป็นพลังงานและโคห์น-แฮมออร์บิทัลชุดใหม่ หลังจากนั้นนำคำตอบชุดใหม่หาค่าพลังงานเทียบกับข้อมูลชุดเดิมว่ามีการลู่เข้าตามที่กำหนดไว้หรือไม่ หากคำตอบยังไม่ลู่เข้าตามที่กำหนด จะนำชุดโคห์น-แฮมออร์บิทัลมารวมกันใหม่และได้ความหนาแน่นที่เปลี่ยนไป จากนั้นจึงเริ่มกระบวนการแบบเดิมจนกว่าจะให้ค่าพลังงานของระบบต่ำสุดตามที่ต้องการ

ทั้งนี้ทฤษฎีฟังก์ชันความหนาแน่น สามารถพัฒนา exchange-correlation functional ซึ่งทำให้ผลการทำนายมีความถูกต้องมากขึ้น ฟังก์ชันที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายในการเริ่มต้นศึกษาด้วยทฤษฎีฟังก์ชันความหนาแน่น เริ่มจาก Local Density Approximation (LDA) แต่เนื่องจากผลการคำนวณมีความคลาดเคลื่อนสูง จึงพัฒนาต่อมาเป็น Generalized Gradient Approximation (GGA) และไฮบริดฟังก์ชัน (Hybrid functional)

3. ระเบียบวิธีพลังงานส่วนย่อยของโมเลกุล (Molecular fragment energies)¹²⁻¹³

ระเบียบวิธีดังกล่าวใช้หลักการแตกโมเลกุลขนาดใหญ่เป็นส่วนย่อย โดยมีหลักการที่คล้ายคลึงกับระเบียบวิธี Fragment molecular orbital (FMO) แต่วิธีคำนวณมีความซับซ้อนน้อยกว่า ซึ่งพลังงานของโมเลกุลจะคำนวณจากพลังงานส่วนย่อยของโมเลกุล (E_i) บวกกับแรงกระทำระหว่างสองโมเลกุล (2-body interaction, Δ_{ij}) และสามโมเลกุล (3-body interaction, Δ_{ijk}) จนถึงแรงกระทำระหว่าง m โมเลกุล (m -body interaction, $\Delta_{ij\dots}$) ดังสมการที่ 3

$$E = \sum_i E_i + \sum_{i<j} \Delta_{ij} + \sum_{i<j<k} \Gamma_{ijk} + \dots \quad (3)$$

$$\Delta_{ij} = E_{ij} - E_i - E_j \quad (4)$$

$$\Gamma_{ijk} = E_{ijk} - E_i - E_j - E_k - \Delta_{ij} - \Delta_{ik} - \Delta_{jk} \quad (5)$$

$$\Delta_{ijkl} = E_{ijkl} - E_i - E_j - E_k - E_l - \Delta_{ij} - \Delta_{ik} - \Delta_{il} - \Delta_{jk} - \Delta_{jl} - \Delta_{kl} - \Delta_{ijk} - \Delta_{ijl} - \Delta_{ikl} - \Delta_{jkl} \quad (6)$$

E_i = พลังงานส่วนย่อยแต่ละโมเลกุล

E_{ij} = พลังงานรวมของสองโมเลกุล

E_{ijk} = พลังงานรวมของสามโมเลกุล

โดยทั่วไปจะไม่รวมพจน์ถึง n-body interaction ทำให้เวลาที่ใช้ในการคำนวณ ลดลงจาก N^4 เหลือเพียง Amn^4 โดยที่ m คือจำนวน fragment, n คือขนาดของ fragment และ A คือ arbitrary parameter ซึ่งในงานวิจัยนี้ พลังงานยึดเหนี่ยวของโมเลกุลจะคำนวณจากพลังงานส่วนย่อยของโมเลกุล (E_i) บวกกับแรงกระทำระหว่างสองโมเลกุล (2-body interaction, Δ_{ij}) และสามโมเลกุล (3-body interaction, Γ_{ijk}) เท่านั้น

4. เบซิสเซต (Basis set)^{9,14}

ฟังก์ชันคลื่นของโมเลกุลสามารถเขียนได้ในรูปของผลรวมเชิงเส้นของฟังก์ชันพื้นฐาน (Basis function) ที่นิยมใช้ได้แก่ Slatore-type orbital (STO) และ Gaussian-type orbitals (GTOs)

เซตของฟังก์ชันพื้นฐาน เรียกว่าเบซิสเซต (Basis set) สามารถแบ่งเป็นประเภทต่าง ๆ ดังนี้

4.1 Minimal STO-3G: ฟังก์ชันพื้นฐานประกอบด้วย occupied atomic orbital ของอะตอมนั้น ๆ เช่น

H \rightarrow H-1s

He \rightarrow He-1s

C \rightarrow C-1s, C-2s, C-2p_x, C-2p_y, C-2p_z

4.2 Split Valence: ใช้มากกว่าหนึ่งฟังก์ชันคลื่นมากกว่าหนึ่งชุดสำหรับวาเลนซ์อิเล็กตรอน เช่น 6-31G

C \rightarrow C-1s, C-2s, C-2p_x, C-2p_y, C-2p_z, C-2's, C-2'p_x, C-2'p_y, C-2'p_z

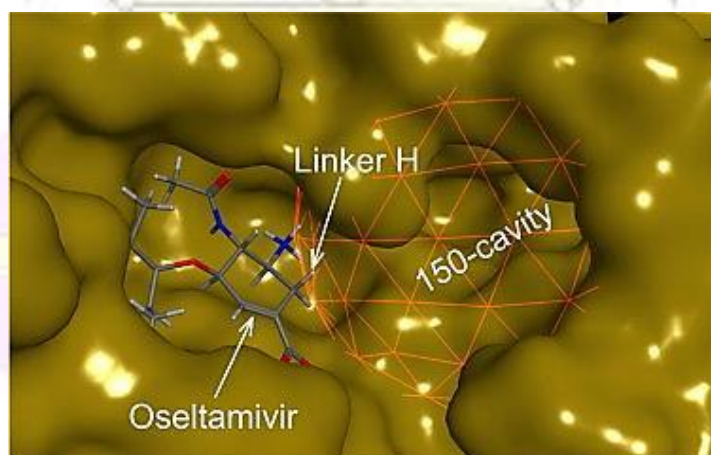
4.3 Polarized basis set: เพิ่ม basis set ในเซลล์ย่อยถัดไปให้กับวาเลนซ์ เช่น 6-31G(d,p)

C \rightarrow C-1s, C-2s, C-2p_x, C-2p_y, C-2p_z, C-2d_{xy}, C-2d_{yz}, C-2d_{zx}, C-2d_{x²-y²}, C-2d_{z²}

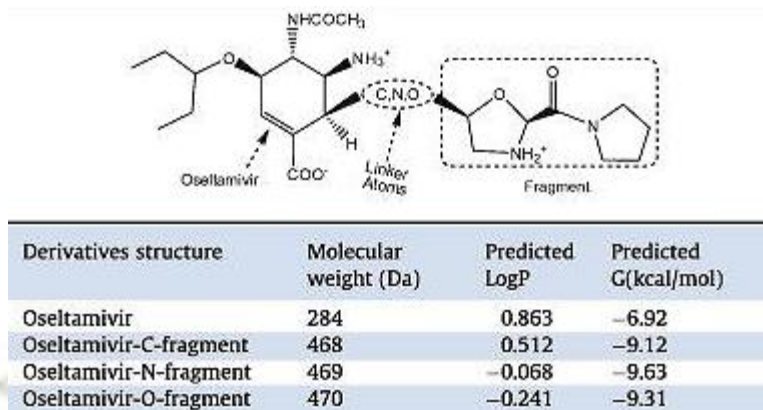
4.4 Diffuse basis set: เพิ่ม diffuse function ให้กับในวาเลนซ์ออร์บิทัล เพื่อให้ออร์บิทัลมีพื้นที่กว้างขึ้น สำหรับไอออนลบ อิเล็กตรอนที่สถานะทรานซิชั่น และในพันธะไฮโดรเจน

1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ. 2010 Shu-QingWang และคณะ¹⁵ ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของโอเซลทามิเวียร์ (Oseltamivir derivatives) 3 ชนิด โดยการเพิ่มโมเลกุลส่วนย่อยไปที่โอเซลทามิเวียร์ ในตำแหน่ง Linker H เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยึดจับกับเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase) ชนิด N1 ในตำแหน่ง 150-cavity ดังรูปที่ 1 โดยแต่ละอนุพันธ์จะมี linker atom ที่แตกต่างกันออกไป ดังรูปที่ 2



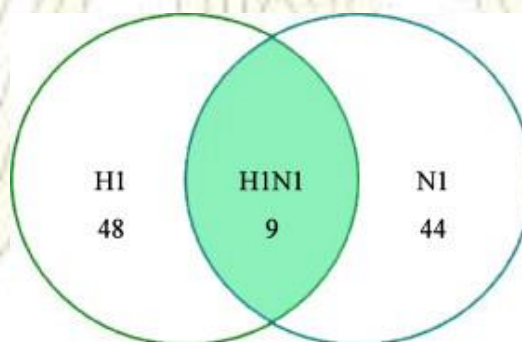
รูปที่ 1 ตำแหน่ง 150-cavity และตำแหน่ง Linker H¹⁵



รูปที่ 2 อนุพันธ์ของโอเซลตามิเวียร์และสมบัติต่าง ๆ ¹⁵

ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้คืออนุพันธ์ของโอเซลตามิเวียร์ที่สังเคราะห์ได้ มีขนาด รูปร่าง และประจุที่เหมาะสมต่อการยึดจับในตำแหน่ง 150-cavity ทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์นิวรามิเนเดสมากกว่าโอเซลตามิเวียร์แบบเดิม โดยเฉพาะอนุพันธ์ที่เป็น N-Linker atom มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากที่สุด

ในปีเดียวกัน Chien-Yu Chen และคณะ¹⁶ ได้ทำการศึกษาตัวยับยั้งไวรัสไข้หวัดใหญ่ H1N1 โดยนำสารประกอบมาจาก NCI database ทั้งหมด 365,602 ตัว นำมาทำ Molecular docking กับ H1 และ N1 รวมทั้งนำโอเซลตามิเวียร์ และซานามิเวียร์ (Zanamivir) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย มาร่วมทำการทดลองด้วย ผลการทดลองบ่งชี้ว่ามีสารประกอบ 48 และ 44 ตัวที่มีประสิทธิภาพยึดจับกับ H1 และ N1 ตามลำดับ แต่มีสารเพียง 9 ตัวเท่านั้นที่มีประสิทธิภาพในการยึดจับทั้งใน H1 และ N1 ดังรูปที่ 3



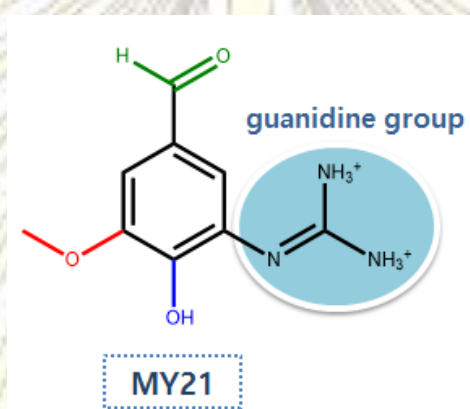
รูปที่ 3 ผลการทดลองประสิทธิภาพของสารในการยึดจับ H1, N1 และ H1N1 ¹⁶

ประเด็นที่น่าสนใจคือโอเซลตามิเวียร์มีประสิทธิภาพในการยึดจับกับ N1 ได้น้อยกว่าสารประกอบทั้ง 9 ตัว เนื่องจากสารประกอบทั้ง 9 มีรูปแบบโมเลกุลที่ใหญ่กว่า ซึ่งมีผลต่อการดึงดูดทางประจุ และการทำพันธะไฮโดรเจนกับเอนไซม์นิวรามิเนเดส

ต่อมาในปี ค.ศ. 2006 Wenzhen Li และคณะ¹⁷ ได้ทำการศึกษาการประมาณค่าพลังงานระบบโมเลกุลใหญ่ โดยพลังงานส่วนย่อยของโมเลกุล (Molecular fragment energies) เพื่อลดขนาดระบบและเวลาในการคำนวณ โดยเริ่มจากการแบ่งโมเลกุลใหญ่ให้เป็นโมเลกุลย่อย ๆ ในขนาดที่เหมาะสม จากนั้นจึงทำการคำนวณ

พลังงานส่วนย่อยโดยวิธีการคำนวณแบบ Hatree fock และรวมพลังงานในทุกะบย่อยจนได้เป็นพลังงานระบบโมเลกุลใหญ่ ผลจากการทดลองบ่งชี้ว่าค่าพลังงานระบบที่คำนวณได้ เป็นที่น่าพอใจ

และในปี ค.ศ. 2016 Maywan Hariono และคณะ¹⁸ ได้ทำการสังเคราะห์ตัวยับยั้งเอนไซม์นิวรามินิเดสชนิดใหม่จาก Ferulic acid และ Vanillin ในการออกแบบสารประกอบนั้น มีการเติมหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ที่คิดว่ามีผลต่อประสิทธิภาพในการยึดจับกับเอนไซม์ ไม่ว่าจะเป็นผลทางประจุ หรือการทำพันธะ โดยทำ Molecular docking เป็นการทดสอบประสิทธิภาพขั้นต้น และทำการทดลองกับเอนไซม์จริงในห้องทดลอง โดยผลการทดลองพบว่า MY21 ซึ่งเป็น guanidine vanillin มีประสิทธิภาพในการยึดจับกับเอนไซม์ได้ดีที่สุด แม้จะไม่มีประสิทธิภาพเท่าโอเซลทามิเวียร์ แต่ก็มีความสามารถในการยึดจับกับเอนไซม์ โดยมีค่า $IC_{50} = 50 \mu M$ และมีค่า ΔG_{bind} เท่ากับ -5.6 kcal/mol เนื่องจาก guanidine group มีหมู่ที่เป็นเบสซึ่งจะไปยึดจับกับบริเวณที่เป็น acidic ในเอนไซม์นิวรามินิเดสได้ดี ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 โครงสร้างของสารยับยั้ง MY21¹⁸

จากงานวิจัยที่ผ่านมา จะเห็นได้ว่าผู้วิจัยได้ทำการปรับปรุงโครงสร้างของตัวยับยั้งเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase Inhibitor) ให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น รวมทั้งการปรับปรุงวิธีการการคำนวณพลังงานระบบของโมเลกุลใหญ่ ให้มีความรวดเร็วและแม่นยำ ความสามารถในการยึดจับกับเอนไซม์ของสารยับยั้ง บ่งบอกถึงการออกฤทธิ์ของสารนั้น แต่ทว่าจากขนาดของระบบทำให้การคำนวณพลังงานยึดจับที่แม่นยำทำได้ยาก ดังนั้นงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงสนใจคำนวณหาพลังงานยึดเหนี่ยวระหว่าง โอเซลทามิเวียร์ และเอนไซม์นิวรามินิเดส โดยการคำนวณพลังงานจากโมเลกุลส่วนย่อย เพื่อเปรียบเทียบกับพลังงานยึดเหนี่ยวจากระบบโมเลกุลใหญ่ รวมถึงเพื่อให้ได้แนวคิดใหม่ ๆ ในการปรับปรุงโครงสร้างของตัวยับยั้ง จากการดูแนวโน้มพลังงานยึดเหนี่ยวของแต่ละโมเลกุลย่อย

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 เครื่องคอมพิวเตอร์

1. เครื่องคอมพิวเตอร์แม่ข่าย (server computer) ของหน่วยปฏิบัติการเคมีคอมพิวเตอร์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล (personal computer) เพื่อเข้าถึง ส่งคำสั่ง และรับข้อมูลจากเครื่องคอมพิวเตอร์แม่ข่าย

2.1.2 ระบบปฏิบัติการ

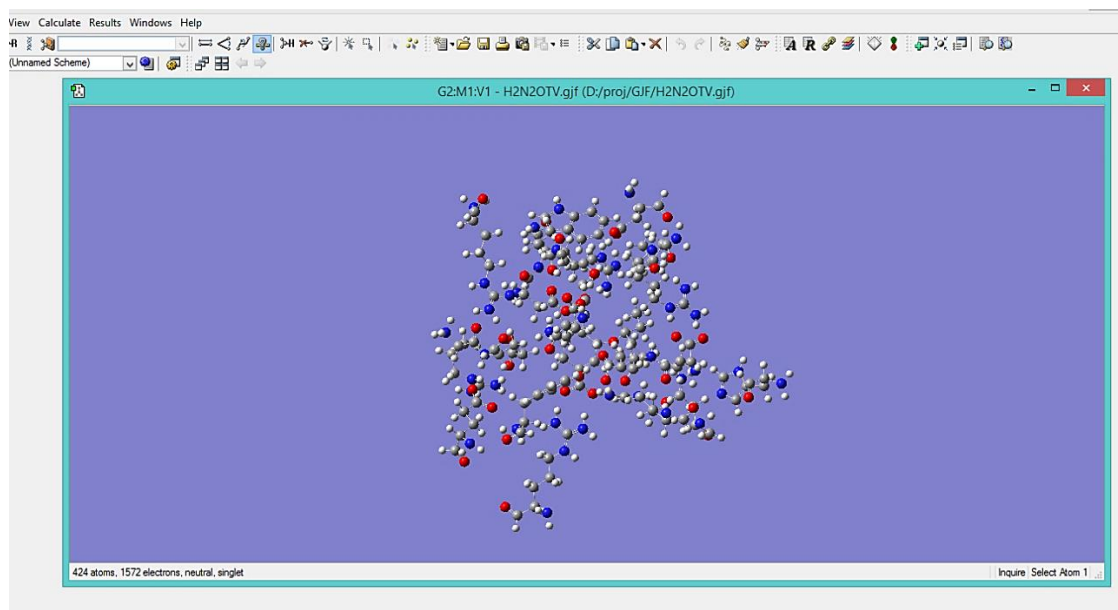
1. เครื่องคอมพิวเตอร์แม่ข่าย: ระบบปฏิบัติการ CentOS รุ่นที่ 6.5
2. เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล: ระบบปฏิบัติการ Windows 8.1

2.1.3 โปรแกรมที่เกี่ยวข้อง

1. SSH Secure Shell Client เป็นโปรแกรมสำหรับเข้าสู่ระบบ (log in) และส่งคำสั่งควบคุม (command line) สำหรับระบบปฏิบัติการที่มี Unix เป็นพื้นฐาน
2. Discovery Studio 4.1 Visualzer: เป็นโปรแกรมที่ใช้เตรียมโครงสร้างโมเลกุลที่ต้องการศึกษา โดยเลือกเฉพาะส่วนที่สนใจอยู่ในระบบ
3. Visualization Software: GaussView เป็นโปรแกรมที่ใช้ในการกำหนดโครงสร้างเริ่มต้นของโมเลกุลที่จะใช้เป็นข้อมูล Input เพื่อสร้างไฟล์อินพุต (input file) ของ Gaussian input Files (*.gjf*.com)
4. Gaussian 09 เป็นโปรแกรมสำหรับใช้คำนวณด้านเคมีในระดับควอนตัม เกี่ยวกับ พลังงาน รูปร่างโมเลกุล โดยใช้เบสซิสเซต (basis set) โดยในงานวิจัยนี้ใช้เป็นโปรแกรมหลักในการหาค่าพลังงานของแต่ละโครงสร้าง รวมถึงใช้ในการหารูปร่างที่เสถียรที่สุดของโครงสร้างต่าง ๆ

2.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

- 2.2.1 เข้าใช้งานเครื่องคอมพิวเตอร์แม่ข่าย ผ่านทางเครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล โดยใช้โปรโตคอล SSH (Secure Shell) ผ่านโปรแกรม Terminal
- 2.2.2 เตรียมโปรแกรม Discovery Studio 4.1 Visualzer และ Gaussview เพื่อสร้างไฟล์อินพุต (input file) ของ Gaussian input Files (*.gjf*.com)s ของโครงสร้างโมเลกุลส่วนย่อย (เลือกเฉพาะโมเลกุลที่ต้องการคำนวณ) ตัวอย่างไฟล์นำเข้าที่แสดงผลโดยโปรแกรม Gaussview เป็นดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 ตัวอย่างไฟล์นำเข้าที่แสดงผลโดยโปรแกรม Gaussview

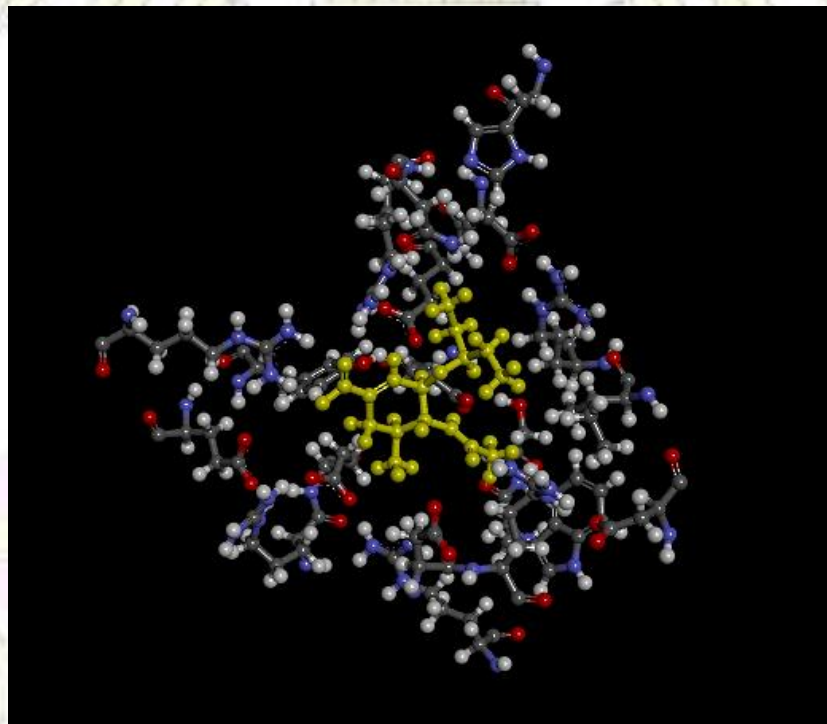
- 2.2.3 กำหนดขอบเขตของสิ่งที่ต้องการคำนวณ เช่น เขียนไฟล์สคริปต์สำหรับสั่งงานการคำนวณ โดยกำหนดประเภทของหน่วยประมวลผล (หน่วยประมวลผลกลาง; CPU หรือ หน่วยประมวลผลกราฟิก; GPU) จำนวนของหน่วยประมวลผลที่ต้องการใช้ ตำแหน่งของไฟล์โปรแกรม Gaussian ชื่อไฟล์นำเข้า และชื่อของไฟล์ที่ได้จากการคำนวณโดยใช้โปรแกรม
- 2.2.4 เตรียมไฟล์นำเข้าสำหรับโปรแกรม Gaussian 09 ส่งไฟล์อินพุตเข้าเครื่อง server และทำการคำนวณพลังงานด้วยโปรแกรม Gaussian 09 ได้ไฟล์เอาต์พุต (output file) ที่แสดงผลการคำนวณพลังงาน
- 2.2.5 ส่งคำสั่งผ่านไฟล์สคริปต์สำหรับสั่งงานการคำนวณ เพื่อให้เครื่องคอมพิวเตอร์แม่ข่ายคำนวณตามคำสั่ง
- 2.2.6 รวบรวมผลการคำนวณ โดยสามารถตรวจสอบสถานะการคำนวณได้จากไฟล์เอาต์พุต (output file)
- 2.2.7 หากการคำนวณประสบความสำเร็จ จะรายงานค่าพลังงาน และพิกัดคาร์ทีเซียนสามมิติสุดท้ายออกมาในไฟล์ที่ได้จากการคำนวณ
- 2.2.8 หากมีข้อผิดพลาด ระบบจะส่งข้อผิดพลาดเข้ามาในไฟล์แสดงปัญหา หากไม่มีข้อผิดพลาด ไฟล์แสดงปัญหาจะไม่มีข้อมูลใด ๆ
- 2.2.9 นำไฟล์เอาต์พุต (output file) ย้ายมาเครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล และเปิดไฟล์ด้วยโปรแกรม Gaussview เพื่อเก็บค่าพลังงานของโครงสร้าง
- 2.2.10 ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 2.2.3-2.2.10
- 2.2.11 คำนวณโครงสร้างกรดอะมิโน (amino acid) ของเอนไซม์นิวรามินิเดส ชนิด N2 (N2-Neuraminidase) และโอเซลตามิเวียร์ (Oseltamivir) โดยใช้ทฤษฎีฟังก์ชันัลความหนาแน่น (Density Functional Theory) ด้วยระเบียบวิธี M06-L และระเบียบวิธี Molecular fragment energies โดยใช้เบสซิสเซต 6-31g ในการคำนวณ

2.3 รูปแบบการคำนวณ

2.3.1 กรดอะมิโนที่ใช้ในการคำนวณ

ตารางที่ 1 กรดอะมิโนที่ใช้ในการคำนวณ

กรดอะมิโน	ตำแหน่งในสายโพลีเปปไทด์	ชื่อย่อ	หมู่ R	ประจุ
Aspartate (Asp)	70,117	Asp70, ASP117	-CH ₂ COOH	negative
Glutamate (Glu)	38, 146, 195, 196, 344	Glu38, Glu146, Glu195, Glu196, Glu344	-CH ₂ CH ₂ COOH	negative
Isoleucine (Ile)	141	Ile141	-CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	-
Asparagine (Asn)	213	Asn213	-CH ₂ CONH ₂	-
Arginine (Arg)	37, 71, 75, 143, 211, 290	Arg37, Arg71, Arg75, Arg143, Arg211, Arg290	-(CH ₂) ₃ NH-C(NH)NH ₂	positive
Serine (Ser)	98	Ser98	-CH ₂ OH	-
Tryptophan (Trp)	97	Trp97	-CH ₂ C ₈ H ₅ N	-
Tyrosine (Tyr)	325	Tyr325	-CH ₂ -C ₆ H ₄ OH	-
Histidine (Hid)	193	Hid193	-CH ₂ -C ₃ H ₃ N ₂	-



รูปที่ 6 โครงสร้าง OTV ล้อมรอบด้วยกรดอะมิโน 19 ชนิด

2.3.2 จำนวนส่วนย่อยโมเลกุลที่สร้างขึ้นจะแบ่งเป็น 1, 2 และ 3 โมเลกุล เพื่อนำไปคำนวณพลังงานรวมระบบ (System Energy) และพลังงานยึดเหนี่ยว (Binding Energy)

คำนวณโมเลกุลเดี่ยว มีดังนี้

1. โอเซลทามิเวียร์ (Oseltamivir) จำนวน 1 โครงสร้าง
2. เอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase) ประกอบไปด้วยกรดอะมิโน (amino acid) 19 ตำแหน่ง จำนวน 1 โครงสร้าง
3. กรดอะมิโน (amino acid) จำนวน 19 โครงสร้าง

คำนวณ 2-body interaction มีดังนี้

1. สารเชิงซ้อนระหว่างกรดอะมิโน (amino acid) 2 ตัว จำนวน 171 โครงสร้าง
2. สารเชิงซ้อนระหว่างกรดอะมิโน (amino acid) และโอเซลทามิเวียร์ (Oseltamivir) จำนวน 19 โครงสร้าง

คำนวณ 3-body interaction มีดังนี้

สารเชิงซ้อนกรดอะมิโน (amino acid) 2 ตัว และโอเซลทามิเวียร์ (Oseltamivir) จำนวน 171 แบบ (เนื่องจากโครงสร้างที่ต้องคำนวณมีจำนวนมาก จึงเลือกเฉพาะ 3-body ที่เกี่ยวข้องกับยา เพราะเป็น interaction ที่สำคัญเท่านั้น)

โดยการคำนวณพลังงานยึดจับ (Binding Energy) เป็นไปตามสมการ

$$\Delta E_{\text{binding}} = E_{\text{cpx}} - E_{\text{drug}} - E_{\text{enzyme}}$$

เมื่อ $\Delta E_{\text{binding}}$ คือ พลังงานยึดจับ (Binding Energy)

E_{drug} คือ พลังงานของโมเลกุลโอเซลทามิเวียร์ (Oseltamivir)

E_{cpx} คือ พลังงานสารประกอบเชิงซ้อนโอเซลทามิเวียร์-นิวรามินิเดส

E_{enzyme} คือ พลังงานของเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase)

บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

การคำนวณด้วยระเบียบวิธีพลังงานส่วนย่อยของโมเลกุล (Molecular fragment energies) โดยพลังงานยึดจับของโมเลกุลจะคำนวณจากพลังงานส่วนย่อยแต่ละโมเลกุล (E_i) บวกกับแรงกระทำระหว่างสองโมเลกุล (2-body interaction, Δ_{ij}) และสามโมเลกุล (3-body interaction, Δ_{ijk})

3.1 พลังงานสารเชิงซ้อน นิวรามินิเดส-โอเซลทามิเวียร์ และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) โดยวิธี

M06-L/6-31g

จากการคำนวณพลังงานโมเลกุลแบบเต็ม เมื่อ $\Delta E_{\text{binding}} = E_{\text{cpx}} - E_{\text{enzyme}} - E_{\text{drug}}$ ได้ค่าพลังงานสารเชิงซ้อน นิวรามินิเดส-โอเซลทามิเวียร์ และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 พลังงานสารเชิงซ้อน นิวรามินิเดส-โอเซลทามิเวียร์ และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) โดยวิธี M06-L/6-31g

System	Energy (Hartree)
Oseltamivir (OTV)	-957.76678
Neuraminidase	-9181.28387
Complex of Neuraminidase and Oseltamivir	-10139.25067
$\Delta E_{\text{binding}}$ (kcal/mol)	-125.51

3.2 พลังงานคำนวณด้วยวิธีการคำนวณโมเลกุลส่วนย่อย (Molecular fragment energies)

3.2.1 พลังงานมอนอเมอร์ (E_i)

จากการคำนวณพลังงานมอนอเมอร์ ค่าพลังงานโอเซลทามิเวียร์ และกรดอะมิโนแต่ละตำแหน่งใน นิวรามินิเดส เป็นดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 พลังงานมอนอเมอร์ (E_i) และผลรวมพลังงานมอนอเมอร์ ($\sum_i E_i$)

i	E_i (Hartree)
ARG37	-531.69060
GLU38	-475.55466
ASP70	-436.29298
ARG71	-531.42522
ARG75	-531.41219
TRP97	-610.82702
SER98	-323.52606
ASP117	-436.26648
ILE141	-366.24264
ARG143	-531.42833
GLU146	-475.55152
HID193	-473.25915
GLU195	-475.56731
GLU196	-475.54157
ARG211	-531.41262
ASN213	-416.98163
ARG290	-531.41797
TYR325	-554.49575
GLU344	-475.56285
Osetamivir (OTV)	-957.76678
ผลรวมพลังงานมอนอเมอร์ ($\sum_i E_i$)	-10142.22333

3.2.2 แรงกระทำสองวัตถุ (2-body interaction, Δ_{ij})

จากการคำนวณแรงกระทำสองวัตถุ ค่าพลังงานระบบไดเมอร์ (E_{ij}), พลังงานมอนอเมอร์ (E_i, E_j) และแรงกระทำสองวัตถุ (Δ_{ij}) เมื่อ $\Delta_{ij} = E_{ij} - E_i - E_j$ เป็นดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงพลังงานไดเมอร์, พลังงานมอนอเมอร์ และแรงกระทำสองวัตถุ (Δ_{ij}) หน่วยเป็น Hartree

i	j	E_{ij}	E_i	E_j	Δ_{ij}
GLU344	OTV	-1433.78334	-475.56285	-957.76678	-0.45371
ARG37	GLU344	-1007.49957	-531.69060	-475.56285	-0.24612
ARG143	GLU195	-1007.18262	-531.42833	-475.56731	-0.18698
GLU196	ARG211	-1007.12723	-475.54157	-531.41262	-0.17304
ARG71	ASP117	-967.85653	-531.42522	-436.26648	-0.16483
GLU38	ARG75	-1007.12104	-475.55466	-531.41219	-0.15419
ARG37	GLU38	-1006.37439	-531.69060	-475.55466	-0.13274
ASP70	ARG75	-967.80926	-436.29298	-531.41219	-0.10409
ARG37	ASP70	-968.08477	-531.69060	-436.29298	-0.10119
ARG37	GLU196	-1007.32706	-531.69060	-475.54157	-0.09488
ARG37	GLU146	-1007.33135	-531.69060	-475.55152	-0.08922
GLU195	ARG211	-1007.06409	-475.56731	-531.41262	-0.08416
ARG290	OTV	-1489.26740	-531.41797	-957.76678	-0.08265
GLU196	ARG290	-1007.03536	-475.54157	-531.41797	-0.07582
ARG143	GLU196	-1007.04460	-531.42833	-475.54157	-0.07469
ARG290	GLU344	-1007.04638	-531.41797	-475.56285	-0.06556
ARG143	GLU146	-1007.04448	-531.42833	-475.55152	-0.06463
GLU38	ARG290	-1007.03719	-475.55466	-531.41797	-0.06457
GLU38	OTV	-1433.38199	-475.55466	-957.76678	-0.06055
ARG75	GLU344	-1007.03550	-531.41219	-475.56285	-0.06046
ARG37	ASP117	-968.01691	-531.69060	-436.26648	-0.05983
ARG211	OTV	-1489.23838	-531.41262	-957.76678	-0.05898
ARG37	GLU195	-1007.31477	-531.69060	-475.56731	-0.05686
ARG75	GLU146	-1007.02029	-531.41219	-475.55152	-0.05658
GLU196	TYR325	-1030.09253	-475.54157	-554.49575	-0.05521
GLU146	ARG211	-1007.01906	-475.55152	-531.41262	-0.05493
GLU38	ARG211	-1007.01954	-475.55466	-531.41262	-0.05227
SER98	GLU146	-799.12808	-323.52606	-475.55152	-0.05050
ARG71	GLU146	-1007.02465	-531.42522	-475.55152	-0.04790
ASP117	ARG143	-967.74268	-436.26648	-531.42833	-0.04786
GLU38	ARG71	-1007.02766	-475.55466	-531.42522	-0.04778
ARG211	GLU344	-1007.02208	-531.41262	-475.56285	-0.04662

ARG75	GLU196	-1007.00023	-531.41219	-475.54157	-0.04647
ASP70	ARG211	-967.75039	-436.29298	-531.41262	-0.04479
ARG211	ASN213	-948.43785	-531.41262	-416.98163	-0.04360
ASP70	ARG290	-967.75453	-436.29298	-531.41797	-0.04358
ASP70	ARG143	-967.76436	-436.29298	-531.42833	-0.04304
GLU146	ARG290	-1007.01211	-475.55152	-531.41797	-0.04262
ARG71	GLU195	-1007.03444	-531.42522	-475.56731	-0.04191
ARG75	ASP117	-967.71992	-531.41219	-436.26648	-0.04126
GLU195	ARG290	-1007.02539	-475.56731	-531.41797	-0.04012
GLU38	ARG143	-1007.02094	-475.55466	-531.42833	-0.03795
ASP117	ARG211	-967.71313	-436.26648	-531.41262	-0.03404
GLU196	OTV	-1433.34174	-475.54157	-957.76678	-0.03338
GLU146	OTV	-1433.35056	-475.55152	-957.76678	-0.03225
ARG71	GLU196	-1006.99874	-531.42522	-475.54157	-0.03195
ARG75	GLU195	-1007.01135	-531.41219	-475.56731	-0.03185
ARG143	GLU344	-1007.02183	-531.42833	-475.56285	-0.03064
ASP117	ARG290	-967.71381	-436.26648	-531.41797	-0.02936
ILE141	ARG143	-897.70012	-366.24264	-531.42833	-0.02914
ARG71	TRP97	-1142.27346	-531.42522	-610.82702	-0.02122
ARG71	GLU344	-1007.00851	-531.42522	-475.56285	-0.02044
HID193	GLU195	-948.84285	-473.25915	-475.56731	-0.01639
ARG71	OTV	-1489.20616	-531.42522	-957.76678	-0.01416
ASP70	OTV	-1394.07375	-436.29298	-957.76678	-0.01398
GLU195	ASN213	-892.56056	-475.56731	-416.98163	-0.01162
SER98	GLU196	-799.07886	-323.52606	-475.54157	-0.01123
ARG211	TYR325	-1085.91932	-531.41262	-554.49575	-0.01096
TYR325	GLU344	-1030.06920	-554.49575	-475.56285	-0.01061
GLU195	OTV	-1433.34332	-475.56731	-957.76678	-0.00923
TRP97	OTV	-1568.60176	-610.82702	-957.76678	-0.00796
SER98	ARG143	-854.96175	-323.52606	-531.42833	-0.00735
HID193	ASN213	-890.24720	-473.25915	-416.98163	-0.00641
ARG75	TRP97	-1142.24556	-531.41219	-610.82702	-0.00635
ARG290	TYR325	-1085.92005	-531.41797	-554.49575	-0.00634
ASN213	ARG290	-948.40571	-416.98163	-531.41797	-0.00611
ARG71	ILE141	-897.67382	-531.42522	-366.24264	-0.00595
ILE141	GLU196	-841.78998	-366.24264	-475.54157	-0.00577
HID193	ARG211	-1004.67727	-473.25915	-531.41262	-0.00550
GLU146	TYR325	-1030.05266	-475.55152	-554.49575	-0.00539
ARG37	TYR325	-1086.19151	-531.69060	-554.49575	-0.00516

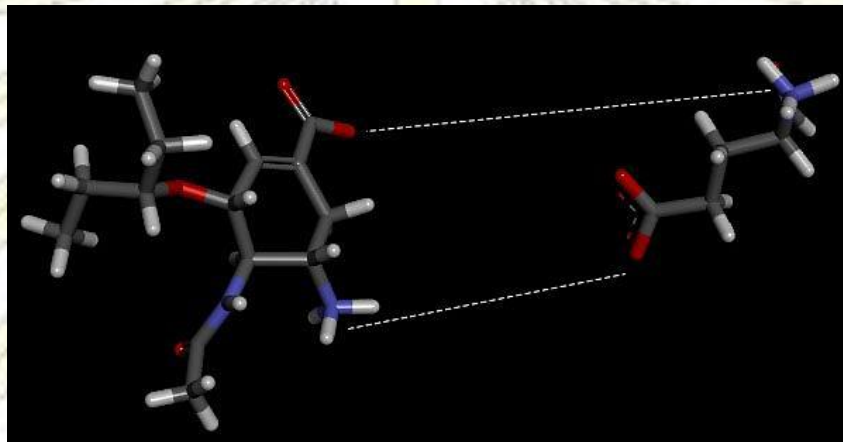
HID193	GLU196	-948.80572	-473.25915	-475.54157	-0.00499
TRP97	GLU196	-1086.37247	-610.82702	-475.54157	-0.00388
ARG37	TRP97	-1142.52126	-531.69060	-610.82702	-0.00364
TYR325	OTV	-1512.26592	-554.49575	-957.76678	-0.00339
GLU196	ASN213	-892.52643	-475.54157	-416.98163	-0.00322
GLU38	SER98	-799.08353	-475.55466	-323.52606	-0.00282
ARG37	ASN213	-948.67499	-531.69060	-416.98163	-0.00275
ASP117	OTV	-1394.03581	-436.26648	-957.76678	-0.00255
TRP97	ARG211	-1142.24198	-610.82702	-531.41262	-0.00234
HID193	ARG290	-1004.67944	-473.25915	-531.41797	-0.00232
ASP117	ILE141	-802.51138	-436.26648	-366.24264	-0.00226
TRP97	ARG143	-1142.25758	-610.82702	-531.42833	-0.00223
GLU195	TYR325	-1030.06505	-475.56731	-554.49575	-0.00200
SER98	GLU344	-799.09085	-323.52606	-475.56285	-0.00194
TRP97	ARG290	-1142.24677	-610.82702	-531.41797	-0.00179
ILE141	OTV	-1324.01107	-366.24264	-957.76678	-0.00165
ARG75	TYR325	-1085.90952	-531.41219	-554.49575	-0.00159
ARG37	HID193	-1004.95118	-531.69060	-473.25915	-0.00142
ILE141	ARG211	-897.65664	-366.24264	-531.41262	-0.00139
TRP97	ILE141	-977.07090	-610.82702	-366.24264	-0.00124
ARG75	ASN213	-948.39474	-531.41219	-416.98163	-0.00091
ARG71	SER98	-854.95214	-531.42522	-323.52606	-0.00087
ASP117	HID193	-909.52637	-436.26648	-473.25915	-0.00074
ILE141	ARG290	-897.66123	-366.24264	-531.41797	-0.00062
ARG37	ILE141	-897.93382	-531.69060	-366.24264	-0.00058
ASP117	ASN213	-853.24862	-436.26648	-416.98163	-0.00050
GLU38	TYR325	-1030.05082	-475.55466	-554.49575	-0.00042
ARG75	HID193	-1004.67175	-531.41219	-473.25915	-0.00041
ARG75	ILE141	-897.65507	-531.41219	-366.24264	-0.00025
ILE141	ASN213	-783.22449	-366.24264	-416.98163	-0.00021
ASP70	ILE141	-802.53578	-436.29298	-366.24264	-0.00015
ASP70	SER98	-759.81918	-436.29298	-323.52606	-0.00014
SER98	ASN213	-740.50783	-323.52606	-416.98163	-0.00014
SER98	GLU195	-799.09347	-323.52606	-475.56731	-0.00011
TRP97	ASP117	-1047.09357	-610.82702	-436.26648	-0.00008
SER98	HID193	-796.78525	-323.52606	-473.25915	-0.00004
TRP97	ASN213	-1027.80867	-610.82702	-416.98163	-0.00002
ILE141	HID193	-839.50180	-366.24264	-473.25915	-0.00001
TRP97	HID193	-1084.08614	-610.82702	-473.25915	0.00003

ILE141	TYR325	-920.73831	-366.24264	-554.49575	0.00007
ASP117	TYR325	-990.76213	-436.26648	-554.49575	0.00009
SER98	ILE141	-689.76860	-323.52606	-366.24264	0.00010
ASP70	HID193	-909.55202	-436.29298	-473.25915	0.00011
HID193	TYR325	-1027.75477	-473.25915	-554.49575	0.00013
TRP97	TYR325	-1165.32260	-610.82702	-554.49575	0.00016
SER98	TYR325	-878.02160	-323.52606	-554.49575	0.00020
ARG71	HID193	-1004.68406	-531.42522	-473.25915	0.00031
ASN213	TYR325	-971.47706	-416.98163	-554.49575	0.00031
ILE141	GLU344	-841.80516	-366.24264	-475.56285	0.00033
GLU146	HID193	-948.81032	-475.55152	-473.25915	0.00036
GLU146	ASN213	-892.53270	-475.55152	-416.98163	0.00046
SER98	ASP117	-759.79204	-323.52606	-436.26648	0.00050
ASP70	ASN213	-853.27389	-436.29298	-416.98163	0.00073
GLU38	ILE141	-841.79646	-475.55466	-366.24264	0.00083
ILE141	GLU146	-841.79329	-366.24264	-475.55152	0.00088
HID193	OTV	-1431.02498	-473.25915	-957.76678	0.00096
ASP70	TYR325	-990.78774	-436.29298	-554.49575	0.00099
HID193	GLU344	-948.82094	-473.25915	-475.56285	0.00106
ARG143	TYR325	-1085.92292	-531.42833	-554.49575	0.00116
SER98	ARG290	-854.94278	-323.52606	-531.41797	0.00125
GLU38	HID193	-948.81249	-475.55466	-473.25915	0.00132
TRP97	GLU195	-1086.39298	-610.82702	-475.56731	0.00134
SER98	OTV	-1281.29140	-323.52606	-957.76678	0.00145
SER98	ARG211	-854.93718	-323.52606	-531.41262	0.00150
TRP97	GLU344	-1086.38825	-610.82702	-475.56285	0.00162
ASP70	TRP97	-1047.11835	-436.29298	-610.82702	0.00165
ASN213	GLU344	-892.54275	-416.98163	-475.56285	0.00173
ARG143	OTV	-1489.19335	-531.42833	-957.76678	0.00177
GLU38	ASN213	-892.53410	-475.55466	-416.98163	0.00219
ARG37	SER98	-855.21386	-531.69060	-323.52606	0.00280
ASN213	OTV	-1374.74528	-416.98163	-957.76678	0.00314
ILE141	GLU195	-841.80616	-366.24264	-475.56731	0.00378
GLU38	TRP97	-1086.37769	-475.55466	-610.82702	0.00398
ARG143	HID193	-1004.68304	-531.42833	-473.25915	0.00445
TRP97	GLU146	-1086.37325	-610.82702	-475.55152	0.00529
ARG75	SER98	-854.93215	-531.41219	-323.52606	0.00609
ARG143	ASN213	-948.40374	-531.42833	-416.98163	0.00622
ARG37	OTV	-1489.44528	-531.69060	-957.76678	0.01211

ARG71	TYR325	-1085.90797	-531.42522	-554.49575	0.01299
ARG71	ASN213	-948.39324	-531.42522	-416.98163	0.01361
ASP117	GLU344	-911.80258	-436.26648	-475.56285	0.02675
ASP117	GLU196	-911.78083	-436.26648	-475.54157	0.02723
GLU195	GLU344	-951.09930	-475.56731	-475.56285	0.03086
ASP70	ARG71	-966.68194	-436.29298	-531.42522	0.03265
GLU38	ASP117	-911.78574	-475.55466	-436.26648	0.03539
ARG75	OTV	-1489.14334	-531.41219	-957.76678	0.03563
ASP117	GLU146	-911.78203	-436.26648	-475.55152	0.03597
ARG75	ARG143	-1062.80431	-531.41219	-531.42833	0.03621
GLU38	GLU195	-951.08570	-475.55466	-475.56731	0.03626
ASP70	GLU195	-911.82401	-436.29298	-475.56731	0.03628
ASP117	GLU195	-911.79723	-436.26648	-475.56731	0.03655
ARG143	ARG290	-1062.80901	-531.42833	-531.41797	0.03730
ASP70	GLU196	-911.79639	-436.29298	-475.54157	0.03817
ARG75	ARG211	-1062.78530	-531.41219	-531.41262	0.03950
ASP70	GLU344	-911.81490	-436.29298	-475.56285	0.04093
ARG75	ARG290	-1062.78899	-531.41219	-531.41797	0.04116
GLU196	GLU344	-951.05995	-475.54157	-475.56285	0.04448
ASP70	GLU146	-911.79886	-436.29298	-475.55152	0.04565
GLU146	GLU344	-951.06662	-475.55152	-475.56285	0.04776
GLU146	GLU195	-951.06824	-475.55152	-475.56731	0.05058
ARG71	ARG290	-1062.79186	-531.42522	-531.41797	0.05133
ARG71	ARG143	-1062.80057	-531.42522	-531.42833	0.05298
GLU38	GLU196	-951.04270	-475.55466	-475.54157	0.05353
ARG71	ARG75	-1062.78059	-531.42522	-531.41219	0.05681
ARG71	ARG211	-1062.78046	-531.42522	-531.41262	0.05737
ARG143	ARG211	-1062.78293	-531.42833	-531.41262	0.05802
ARG37	ARG143	-1063.05939	-531.69060	-531.42833	0.05954
GLU38	GLU146	-951.04138	-475.55466	-475.55152	0.06480
ASP70	ASP117	-872.49259	-436.29298	-436.26648	0.06687
GLU146	GLU196	-951.02054	-475.55152	-475.54157	0.07256
ARG37	ARG71	-1063.04020	-531.69060	-531.42522	0.07562
ARG37	ARG211	-1063.02342	-531.69060	-531.41262	0.07980
ARG211	ARG290	-1062.74551	-531.41262	-531.41797	0.08507
GLU38	GLU344	-951.02777	-475.55466	-475.56285	0.08973
GLU38	ASP70	-911.74384	-475.55466	-436.29298	0.10380
ARG37	ARG290	-1063.00396	-531.69060	-531.41797	0.10461
TRP97	SER98	-933.20761	-610.82702	-323.52606	0.14185

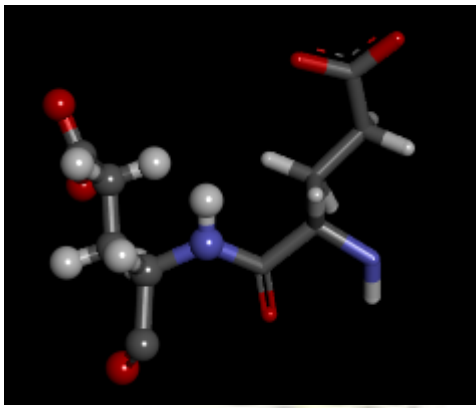
ARG37	ARG75	-1062.93972	-531.69060	-531.41219	0.16307
GLU195	GLU196	-949.90801	-475.56731	-475.54157	0.19725
ผลรวมแรงกระทำสองวัตถุ ($\sum_{i<j} \Delta_{ij}$)					-1.62103

จากตารางที่ 4 พบแรงกระทำสองโมเลกุล (2-body interaction, Δ_{ij}) ระหว่าง GLU344 และ OTV (Oseltamivir) มีค่ามากที่สุดคือ -284.702 kcal/mol (มีค่าเป็นลบมากที่สุด) และมีระยะห่างระหว่างโมเลกุล 6.6 Å เนื่องจากเกิดแรงดึงดูดระหว่างประจุ (Electrostatic Interaction) ระหว่างหมู่ $-\text{NH}_3^+$ และ $-\text{COO}^-$ ใน GLU344 และ OTV ดังรูปที่ 6

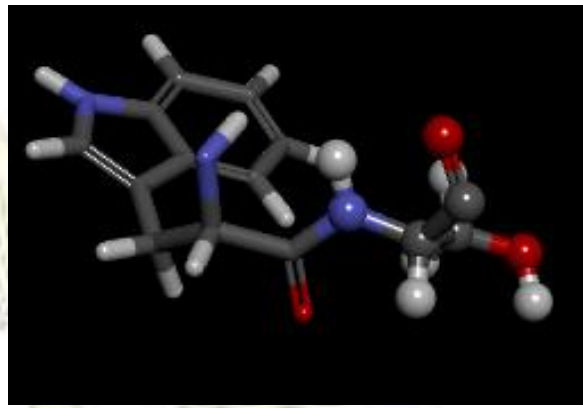


รูปที่ 7 แรงดึงดูดระหว่างประจุ (Electrostatic Interaction) ระหว่างหมู่ $-\text{NH}_3^+$ และ $-\text{COO}^-$ ใน OTV (ซ้าย) และ GLU344 (ขวา)

ลำดับต่อมาคือ -154.440 (ARG37, GLU344), -117.333 (ARG143, GLU195) และ -108.584 (GLU196, ARG211) kcal/mol พบว่าในกลุ่มนี้ โมเลกุลแต่ละคู่มีระยะห่างระหว่างโมเลกุลอยู่ในช่วง $\sim 1.7\text{-}2.9$ Å ซึ่งเป็นระยะที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) ได้ดี โดยผลรวมของแรงกระทำสองวัตถุมีค่าเป็นลบแสดงว่า ผลของแรงกระทำดังกล่าวทำให้โมเลกุลเสถียรขึ้น ในขณะที่โมเลกุลบางคู่มีแรงกระทำสองโมเลกุลที่มีค่าเป็นบวกมาก เช่น 123.78 (GLU195, GLU196) และ 89.01 (TRP97, SER98) kcal/mol เนื่องจากกรดอะมิโนทั้งสองโมเลกุลเชื่อมต่อกัน การอยู่ในรูปแบบสองโมเลกุล อาจมีความเสถียรน้อยกว่าแบบสารเชิงซ้อน ซึ่งมีกรดอะมิโนตัวอื่น ๆ อยู่ในระบบ อีกทั้งอาจส่งผลทำให้เกิดความเกะกะภายในโมเลกุล (Steric effects) ได้อีกด้วย



รูปที่ 8 โครงสร้างของ GLU195 และ GLU196



รูปที่ 9 โครงสร้างของ SER98 และ TRP97

3.2.3 แรงกระทำสามวัตถุ (3-body interaction, Γ_{ijk})

จากการคำนวณแรงกระทำสามวัตถุ ค่าพลังงานระบบไตรเมอร์ (E_{ijk}), พลังงานไดเมอร์ (Δ_{ij} , Δ_{ik} , Δ_{jk}), พลังงานมอนอเมอร์ (E_i , E_j , E_k) และแรงกระทำสามวัตถุ (Γ_{ijk}) เมื่อ $\Gamma_{ijk} = E_{ijk} - \Delta_{ij} - \Delta_{ik} - \Delta_{jk} - E_i - E_j - E_k$ เป็นดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงพลังงานไตรเมอร์, พลังงานไดเมอร์, พลังงานมอนอเมอร์ และแรงกระทำระหว่างสามโมเลกุล (Γ_{ijk}) หน่วยเป็น Hartree

i	j	k	E_{ijk}	Δ_{ij}	Δ_{ik}	Δ_{jk}	E_i	E_j	E_k	Γ_{ijk}
ARG37	GLU38	OTV	-1963.48096	-0.13274	0.01211	-0.06055	-531.69060	-475.55466	-957.76678	1.71227
ARG37	ASP70	OTV	-1925.85376	-0.10119	0.01211	-0.01398	-531.69060	-436.29298	-957.76678	-0.00034
ARG37	ARG71	OTV	-2020.80703	0.07562	0.01211	-0.01416	-531.69060	-531.42522	-957.76678	0.00201
ARG37	ARG75	OTV	-2020.68706	0.16307	-0.01211	0.03563	-531.69060	-531.41219	-957.76678	-0.02829
ARG37	TRP97	OTV	-2100.28472	-0.00364	0.01211	-0.00796	-531.69060	-610.82702	-957.76678	-0.00083
ARG37	SER98	OTV	-1812.96758	0.00280	0.01211	0.00145	-531.69060	-323.52606	-957.76678	-0.00049
ARG37	ASP117	OTV	-1925.77486	-0.05983	0.01211	-0.00255	-531.69060	-436.26648	-957.76678	-0.00073
ARG37	ILE141	OTV	-1855.69038	-0.00058	0.01211	-0.00165	-531.69060	-366.24264	-957.76678	-0.00023
ARG37	ARG143	OTV	-2020.80942	0.05954	0.01211	0.00177	-531.69060	-531.42833	-957.76678	0.00288
ARG37	GLU146	OTV	-1965.11838	-0.08922	0.01211	-0.03225	-531.69060	-475.55152	-957.76678	-0.00011
ARG37	HID193	OTV	-1962.70479	-0.00142	0.01211	0.00096	-531.69060	-473.25915	-957.76678	0.00010
ARG37	GLU195	OTV	-1965.08230	-0.05686	0.01211	-0.00923	-531.69060	-475.56731	-957.76678	-0.00363
ARG37	GLU196	OTV	-1965.10995	-0.09488	0.01211	-0.03338	-531.69060	-475.54157	-957.76678	0.00516
ARG37	ARG211	OTV	-2020.83207	0.07980	0.01211	-0.05898	-531.69060	-531.41262	-957.76678	0.00500
ARG37	ASN213	OTV	-1906.42628	-0.00275	0.01211	0.00314	-531.69060	-416.98163	-957.76678	0.00024
ARG37	ARG290	OTV	-2020.84261	0.10461	0.01211	-0.08265	-531.69060	-531.41797	-957.76678	-0.00132
ARG37	TYR325	OTV	-2043.94917	-0.00516	0.01211	-0.00339	-531.69060	-554.49575	-957.76678	0.00040
ARG37	GLU344	OTV	-1965.25385	-0.24612	0.01211	-0.45371	-531.69060	-475.56285	-957.76678	0.45410
GLU38	ASP70	OTV	-1869.62119	0.10380	-0.06055	-0.01398	-475.55466	-436.29298	-957.76678	-0.03604
GLU38	ARG71	OTV	-1964.87461	-0.04778	-0.06055	-0.01416	-475.55466	-531.42522	-957.76678	-0.00546
GLU38	ARG75	OTV	-1964.90404	-0.15419	-0.06055	0.03563	-475.55466	-531.41219	-957.76678	0.00870
GLU38	TRP97	OTV	-2044.21205	0.00398	-0.06055	-0.00796	-475.55466	-610.82702	-957.76678	0.00093
GLU38	SER98	OTV	-1756.90938	-0.00282	-0.06055	0.00145	-475.55466	-323.52606	-957.76678	0.00004

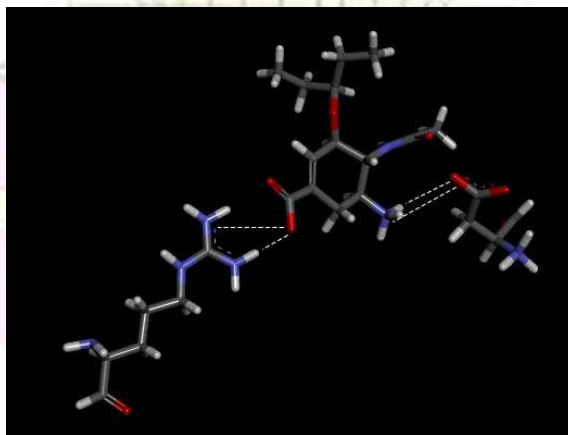
GLU38	ASP117	OTV	-1869.61305	0.03539	-0.06055	-0.00255	-475.55466	-436.26648	-957.76678	0.00257
GLU38	ILE141	OTV	-1799.62571	0.00083	-0.06055	-0.00165	-475.55466	-366.24264	-957.76678	-0.00026
GLU38	ARG143	OTV	-1964.85179	-0.03795	-0.06055	0.00177	-475.55466	-531.42833	-957.76678	-0.00529
GLU38	GLU146	OTV	-1908.90019	0.06480	-0.06055	-0.03225	-475.55466	-475.55152	-957.76678	0.00078
GLU38	HID193	OTV	-1906.63928	0.00132	-0.06055	0.00096	-475.55466	-473.25915	-957.76678	-0.00042
GLU38	GLU195	OTV	-1908.91860	0.03626	-0.06055	-0.00923	-475.55466	-475.56731	-957.76678	0.00367
GLU38	GLU196	OTV	-1908.89274	0.05353	-0.06055	-0.03338	-475.55466	-475.54157	-957.76678	0.01067
GLU38	ARG211	OTV	-1964.91360	-0.05227	-0.06055	-0.05898	-475.55466	-531.41262	-957.76678	-0.00775
GLU38	ASN213	OTV	-1850.35922	0.00219	-0.06055	0.00314	-475.55466	-416.98163	-957.76678	-0.00093
GLU38	ARG290	OTV	-1964.94911	-0.06457	-0.06055	-0.08265	-475.55466	-531.41797	-957.76678	-0.00194
GLU38	TYR325	OTV	-1987.88222	-0.00042	-0.06055	-0.00339	-475.55466	-554.49575	-957.76678	-0.00067
GLU38	GLU344	OTV	-1908.86922	0.08973	-0.06055	-0.45371	-475.55466	-475.56285	-957.76678	0.43959
ASP70	ARG71	OTV	-1924.47238	0.03265	-0.01398	-0.01416	-436.29298	-531.42522	-957.76678	1.00810
ASP70	ARG75	OTV	-1925.55322	-0.10409	-0.01398	0.03563	-436.29298	-531.41219	-957.76678	0.00118
ASP70	TRP97	OTV	-2004.90608	0.00165	-0.01398	-0.00796	-436.29298	-610.82702	-957.76678	0.00100
ASP70	SER98	OTV	-1717.59853	-0.00014	-0.01398	0.00145	-436.29298	-323.52606	-957.76678	-0.00003
ASP70	ASP117	OTV	-1830.27818	0.06687	-0.01398	-0.00255	-436.29298	-436.26648	-957.76678	-0.00228
ASP70	ILE141	OTV	-1760.31806	-0.00015	-0.01398	-0.00165	-436.29298	-366.24264	-957.76678	0.00013
ASP70	ARG143	OTV	-1925.54546	-0.04304	-0.01398	0.00177	-436.29298	-531.42833	-957.76678	-0.00210
ASP70	GLU146	OTV	-1869.60867	0.04565	-0.01398	-0.03225	-436.29298	-475.55152	-957.76678	0.00320
ASP70	HID193	OTV	-1867.33176	0.00011	-0.01398	0.00096	-436.29298	-473.25915	-957.76678	0.00007
ASP70	GLU195	OTV	-1869.61141	0.03628	-0.01398	-0.00923	-436.29298	-475.56731	-957.76678	0.00260
ASP70	GLU196	OTV	-1869.59822	0.03817	-0.01398	-0.03338	-436.29298	-475.54157	-957.76678	0.01232
ASP70	ARG211	OTV	-1925.59573	-0.04479	-0.01398	-0.05898	-436.29298	-531.41262	-957.76678	-0.00560
ASP70	ASN213	OTV	-1811.05198	0.00073	-0.01398	0.00314	-436.29298	-416.98163	-957.76678	-0.00047
ASP70	ARG290	OTV	-1926.14959	-0.04358	-0.01398	-0.08265	-436.29298	-531.41797	-957.76678	-0.53164
ASP70	TYR325	OTV	-1948.57180	0.00099	-0.01398	-0.00339	-436.29298	-554.49575	-957.76678	0.00009
ASP70	GLU344	OTV	-1869.59884	0.04093	-0.01398	-0.45371	-436.29298	-475.56285	-957.76678	0.45053
ARG71	ARG75	OTV	-2020.52615	0.05681	-0.01416	0.03563	-531.42522	-531.41219	-957.76678	-0.00024
ARG71	TRP97	OTV	-2100.06291	-0.02122	-0.01416	-0.00796	-531.42522	-610.82702	-957.76678	-0.00054
ARG71	SER98	OTV	-1812.73136	-0.00087	-0.01416	0.00145	-531.42522	-323.52606	-957.76678	0.00028
ARG71	ASP117	OTV	-1925.63505	-0.16483	-0.01416	-0.00255	-531.42522	-436.26648	-957.76678	0.00497
ARG71	ILE141	OTV	-1855.45629	-0.00595	-0.01416	-0.00165	-531.42522	-366.24264	-957.76678	0.00012
ARG71	ARG143	OTV	-2020.57981	0.05298	-0.01416	0.00177	-531.42522	-531.42833	-957.76678	-0.00006
ARG71	GLU146	OTV	-1964.84072	-0.04790	-0.01416	-0.03225	-531.42522	-475.55152	-957.76678	-0.00288
ARG71	HID193	OTV	-1962.46410	0.00031	-0.01416	0.00096	-531.42522	-473.25915	-957.76678	-0.00006
ARG71	GLU195	OTV	-1964.82688	-0.04191	-0.01416	-0.00923	-531.42522	-475.56731	-957.76678	-0.00227
ARG71	GLU196	OTV	-1964.83324	-0.03195	-0.01416	-0.03338	-531.42522	-475.54157	-957.76678	-0.02017
ARG71	ARG211	OTV	-2020.62909	0.05737	-0.01416	-0.05898	-531.42522	-531.41262	-957.76678	-0.00870
ARG71	ASN213	OTV	-1906.18489	0.01361	-0.01416	0.00314	-531.42522	-416.98163	-957.76678	-0.01385
ARG71	ARG290	OTV	-2020.66375	0.05133	-0.01416	-0.08265	-531.42522	-531.41797	-957.76678	-0.00830
ARG71	TYR325	OTV	-2043.70619	0.01299	-0.01416	-0.00339	-531.42522	-554.49575	-957.76678	-0.01388
ARG71	GLU344	OTV	-1964.80867	-0.02044	-0.01416	-0.45371	-531.42522	-475.56285	-957.76678	0.43449
ARG75	TRP97	OTV	-2099.98566	-0.00635	0.03563	-0.00796	-531.41219	-610.82702	-957.76678	-0.00099

ARG75	SER98	OTV	-1812.66707	0.00609	0.03563	0.00145	-531.41219	-323.52606	-957.76678	-0.00521
ARG75	ASP117	OTV	-1925.45447	-0.04126	0.03563	-0.00255	-531.41219	-436.26648	-957.76678	-0.00084
ARG75	ILE141	OTV	-1855.38800	-0.00025	0.03563	-0.00165	-531.41219	-366.24264	-957.76678	-0.00012
ARG75	ARG143	OTV	-2020.53342	0.03621	0.03563	0.00177	-531.41219	-531.42833	-957.76678	0.00028
ARG75	GLU146	OTV	-1964.78091	-0.05658	0.03563	-0.03225	-531.41219	-475.55152	-957.76678	0.00278
ARG75	HID193	OTV	-1962.40417	-0.00041	0.03563	0.00096	-531.41219	-473.25915	-957.76678	-0.00223
ARG75	GLU195	OTV	-1964.75817	-0.03185	0.03563	-0.00923	-531.41219	-475.56731	-957.76678	-0.00644
ARG75	GLU196	OTV	-1964.77449	-0.04647	0.03563	-0.03338	-531.41219	-475.54157	-957.76678	-0.00972
ARG75	ARG211	OTV	-2020.56852	0.03950	0.03563	-0.05898	-531.41219	-531.41262	-957.76678	0.00691
ARG75	ASN213	OTV	-1906.12659	-0.00091	0.03563	0.00314	-531.41219	-416.98163	-957.76678	-0.00384
ARG75	ARG290	OTV	-2020.59726	0.04116	0.03563	-0.08265	-531.41219	-531.41797	-957.76678	0.00554
ARG75	TYR325	OTV	-2043.64815	-0.00159	0.03563	-0.00339	-531.41219	-554.49575	-957.76678	-0.00408
ARG75	GLU344	OTV	-1964.76926	-0.06046	0.03563	-0.45371	-531.41219	-475.56285	-957.76678	0.45110
TRP97	SER98	OTV	-1890.98179	0.14185	-0.00796	0.00145	-610.82702	-323.52606	-957.76678	1.00274
TRP97	ASP117	OTV	-2004.87126	-0.00008	-0.00796	-0.00255	-610.82702	-436.26648	-957.76678	-0.00040
TRP97	ILE141	OTV	-1934.84716	-0.00124	-0.00796	-0.00165	-610.82702	-366.24264	-957.76678	0.00013
TRP97	ARG143	OTV	-2100.03107	-0.00223	-0.00796	0.00177	-610.82702	-531.42833	-957.76678	-0.00051
TRP97	GLU146	OTV	-2044.17898	0.00529	-0.00796	-0.03225	-610.82702	-475.55152	-957.76678	0.00126
TRP97	HID193	OTV	-2041.85982	0.00003	-0.00796	0.00096	-610.82702	-473.25915	-957.76678	0.00011
TRP97	GLU195	OTV	-2044.17640	0.00134	-0.00796	-0.00923	-610.82702	-475.56731	-957.76678	0.00056
TRP97	GLU196	OTV	-2044.17275	-0.00388	-0.00796	-0.03338	-610.82702	-475.54157	-957.76678	0.00784
TRP97	ARG211	OTV	-2100.07687	-0.00234	-0.00796	-0.05898	-610.82702	-531.41262	-957.76678	-0.00117
TRP97	ASN213	OTV	-1985.58021	-0.00002	-0.00796	0.00314	-610.82702	-416.98163	-957.76678	0.00007
TRP97	ARG290	OTV	-2100.10534	-0.00179	-0.00796	-0.08265	-610.82702	-531.41797	-957.76678	-0.00117
TRP97	TYR325	OTV	-2123.10066	0.00016	-0.00796	-0.00339	-610.82702	-554.49575	-957.76678	0.00008
TRP97	GLU344	OTV	-2044.16656	0.00162	-0.00796	-0.45371	-610.82702	-475.56285	-957.76678	0.45014
SER98	ASP117	OTV	-1717.56004	0.00050	0.00145	-0.00255	-323.52606	-436.26648	-957.76678	-0.00012
SER98	ILE141	OTV	-1647.53555	0.00010	0.00145	-0.00165	-323.52606	-366.24264	-957.76678	0.00004
SER98	ARG143	OTV	-1812.72515	-0.00735	0.00145	0.00177	-323.52606	-531.42833	-957.76678	0.00017
SER98	GLU146	OTV	-1756.92492	-0.05050	0.00145	-0.03225	-323.52606	-475.55152	-957.76678	0.00076
SER98	HID193	OTV	-1754.54968	-0.00004	0.00145	0.00096	-323.52606	-473.25915	-957.76678	-0.00005
SER98	GLU195	OTV	-1756.86801	-0.00011	0.00145	-0.00923	-323.52606	-475.56731	-957.76678	0.00002
SER98	GLU196	OTV	-1756.86961	-0.01123	0.00145	-0.03338	-323.52606	-475.54157	-957.76678	0.00797
SER98	ARG211	OTV	-1812.76163	0.00150	0.00145	-0.05898	-323.52606	-531.41262	-957.76678	-0.00013
SER98	ASN213	OTV	-1698.27013	-0.00014	0.00145	0.00314	-323.52606	-416.98163	-957.76678	-0.00010
SER98	ARG290	OTV	-1812.79113	0.00125	0.00145	-0.08265	-323.52606	-531.41797	-957.76678	-0.00036
SER98	TYR325	OTV	-1835.79054	0.00020	0.00145	-0.00339	-323.52606	-554.49575	-957.76678	-0.00021
SER98	GLU344	OTV	-1756.86007	-0.00194	0.00145	-0.45371	-323.52606	-475.56285	-957.76678	0.44982
ASP117	ILE141	OTV	-1760.28239	-0.00226	-0.00255	-0.00165	-436.26648	-366.24264	-957.76678	-0.00003
ASP117	ARG143	OTV	-1925.50959	-0.04786	-0.00255	0.00177	-436.26648	-531.42833	-957.76678	0.00066
ASP117	GLU146	OTV	-1869.58217	0.03597	-0.00255	-0.03225	-436.26648	-475.55152	-957.76678	0.00145
ASP117	HID193	OTV	-1867.29466	-0.00074	-0.00255	0.00096	-436.26648	-473.25915	-957.76678	0.00008
ASP117	GLU195	OTV	-1869.57539	0.03655	-0.00255	-0.00923	-436.26648	-475.56731	-957.76678	0.00040
ASP117	GLU196	OTV	-1869.57348	0.02723	-0.00255	-0.03338	-436.26648	-475.54157	-957.76678	0.01006

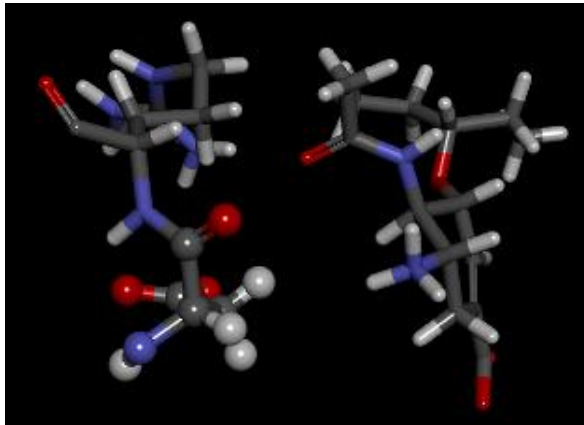
ASP117	ARG211	OTV	-1925.54321	-0.03404	-0.00255	-0.05898	-436.26648	-531.41262	-957.76678	-0.00176
ASP117	ASN213	OTV	-1811.01480	-0.00050	-0.00255	0.00314	-436.26648	-416.98163	-957.76678	0.00001
ASP117	ARG290	OTV	-1925.56829	-0.02936	-0.00255	-0.08265	-436.26648	-531.41797	-957.76678	-0.00251
ASP117	TYR325	OTV	-1948.53445	0.00009	-0.00255	-0.00339	-436.26648	-554.49575	-957.76678	0.00041
ASP117	GLU344	OTV	-1869.57534	0.02675	-0.00255	-0.45371	-436.26648	-475.56285	-957.76678	0.45027
ILE141	ARG143	OTV	-1855.46704	-0.02914	-0.00165	0.00177	-366.24264	-531.42833	-957.76678	-0.00026
ILE141	GLU146	OTV	-1799.59362	0.00088	-0.00165	-0.03225	-366.24264	-475.55152	-957.76678	0.00035
ILE141	HID193	OTV	-1797.26927	-0.00001	-0.00165	0.00096	-366.24264	-473.25915	-957.76678	0.00000
ILE141	GLU195	OTV	-1799.58380	0.00378	-0.00165	-0.00923	-366.24264	-475.56731	-957.76678	0.00002
ILE141	GLU196	OTV	-1799.58445	-0.00577	-0.00165	-0.03338	-366.24264	-475.54157	-957.76678	0.00735
ILE141	ARG211	OTV	-1855.48406	-0.00139	-0.00165	-0.05898	-366.24264	-531.41262	-957.76678	0.00000
ILE141	ASN213	OTV	-1740.98962	-0.00021	-0.00165	0.00314	-366.24264	-416.98163	-957.76678	0.00016
ILE141	ARG290	OTV	-1855.51236	-0.00062	-0.00165	-0.08265	-366.24264	-531.41797	-957.76678	-0.00005
ILE141	TYR325	OTV	-1878.51015	0.00007	-0.00165	-0.00339	-366.24264	-554.49575	-957.76678	-0.00001
ILE141	GLU344	OTV	-1799.57751	0.00033	-0.00165	-0.45371	-366.24264	-475.56285	-957.76678	0.44979
ARG143	GLU146	OTV	-1964.84049	-0.06463	0.00177	-0.03225	-531.42833	-475.55152	-957.76678	0.00126
ARG143	HID193	OTV	-1962.44724	0.00445	0.00177	0.00096	-531.42833	-473.25915	-957.76678	-0.00015
ARG143	GLU195	OTV	-1964.95275	-0.18698	0.00177	-0.00923	-531.42833	-475.56731	-957.76678	0.00412
ARG143	GLU196	OTV	-1964.83718	-0.07469	0.00177	-0.03338	-531.42833	-475.54157	-957.76678	0.00582
ARG143	ARG211	OTV	-2020.60581	0.05802	0.00177	-0.05898	-531.42833	-531.41262	-957.76678	0.00111
ARG143	ASN213	OTV	-1906.16680	0.00622	0.00177	0.00314	-531.42833	-416.98163	-957.76678	-0.00118
ARG143	ARG290	OTV	-2020.65168	0.03730	0.00177	-0.08265	-531.42833	-531.41797	-957.76678	0.00500
ARG143	TYR325	OTV	-2043.69189	0.00116	0.00177	-0.00339	-531.42833	-554.49575	-957.76678	-0.00056
ARG143	GLU344	OTV	-1964.79258	-0.03064	0.00177	-0.45371	-531.42833	-475.56285	-957.76678	0.44797
GLU146	HID193	OTV	-1906.60831	0.00036	-0.03225	0.00096	-475.55152	-473.25915	-957.76678	0.00008
GLU146	GLU195	OTV	-1908.87622	0.05058	-0.03225	-0.00923	-475.55152	-475.56731	-957.76678	0.00028
GLU146	GLU196	OTV	-1908.84805	0.07256	-0.03225	-0.03338	-475.55152	-475.54157	-957.76678	0.00491
GLU146	ARG211	OTV	-1964.87919	-0.05493	-0.03225	-0.05898	-475.55152	-531.41262	-957.76678	-0.00211
GLU146	ASN213	OTV	-1850.32887	0.00046	-0.03225	0.00314	-475.55152	-416.98163	-957.76678	-0.00028
GLU146	ARG290	OTV	-1964.89748	-0.04262	-0.03225	-0.08265	-475.55152	-531.41797	-957.76678	-0.00369
GLU146	TYR325	OTV	-1987.85324	-0.00539	-0.03225	-0.00339	-475.55152	-554.49575	-957.76678	0.00185
GLU146	GLU344	OTV	-1908.86973	0.04776	-0.03225	-0.45371	-475.55152	-475.56285	-957.76678	0.44963
HID193	GLU195	OTV	-1906.61753	-0.01639	0.00096	-0.00923	-473.25915	-475.56731	-957.76678	0.00037
HID193	GLU196	OTV	-1906.59814	-0.00499	0.00096	-0.03338	-473.25915	-475.54157	-957.76678	0.00678
HID193	ARG211	OTV	-1962.50090	-0.00550	0.00096	-0.05898	-473.25915	-531.41262	-957.76678	0.00118
HID193	ASN213	OTV	-1848.00973	-0.00641	0.00096	0.00314	-473.25915	-416.98163	-957.76678	0.00015
HID193	ARG290	OTV	-1962.52757	-0.00232	0.00096	-0.08265	-473.25915	-531.41797	-957.76678	0.00035
HID193	TYR325	OTV	-1985.52395	0.00013	0.00096	-0.00339	-473.25915	-554.49575	-957.76678	0.00004
HID193	GLU344	OTV	-1906.59101	0.00106	0.00096	-0.45371	-473.25915	-475.56285	-957.76678	0.44946
GLU195	GLU196	OTV	-1907.70847	0.19725	-0.00923	-0.03338	-475.56731	-475.54157	-957.76678	1.01255
GLU195	ARG211	OTV	-1964.89678	-0.08416	-0.00923	-0.05898	-475.56731	-531.41262	-957.76678	0.00230
GLU195	ASN213	OTV	-1850.33205	-0.01162	-0.00923	0.00314	-475.56731	-416.98163	-957.76678	0.00138
GLU195	ARG290	OTV	-1964.88791	-0.04012	-0.00923	-0.08265	-475.56731	-531.41797	-957.76678	-0.00385
GLU195	TYR325	OTV	-1987.84400	-0.00200	-0.00923	-0.00339	-475.56731	-554.49575	-957.76678	0.00045

GLU195	GLU344	OTV	-1908.87805	0.03086	-0.00923	-0.45371	-475.56731	-475.56285	-957.76678	0.45097
GLU196	ARG211	OTV	-1964.96145	-0.17304	-0.03338	-0.05898	-475.54157	-531.41262	-957.76678	0.02493
GLU196	ASN213	OTV	-1850.31812	-0.00322	-0.03338	0.00314	-475.54157	-416.98163	-957.76678	0.00534
GLU196	ARG290	OTV	-1964.91367	-0.07582	-0.03338	-0.08265	-475.54157	-531.41797	-957.76678	0.00450
GLU196	TYR325	OTV	-1987.88330	-0.05521	-0.03338	-0.00339	-475.54157	-554.49575	-957.76678	0.01279
GLU196	GLU344	OTV	-1908.85769	0.04448	-0.03338	-0.45371	-475.54157	-475.56285	-957.76678	0.45613
ARG211	ASN213	OTV	-1906.25635	-0.04360	-0.05898	0.00314	-531.41262	-416.98163	-957.76678	0.00413
ARG211	ARG290	OTV	-2020.64992	0.08507	-0.05898	-0.08265	-531.41262	-531.41797	-957.76678	0.00401
ARG211	TYR325	OTV	-2043.74567	-0.01096	-0.05898	-0.00339	-531.41262	-554.49575	-957.76678	0.00281
ARG211	GLU344	OTV	-1964.85297	-0.04662	-0.05898	-0.45371	-531.41262	-475.56285	-957.76678	0.44858
ASN213	ARG290	OTV	-1906.25103	-0.00611	0.00314	-0.08265	-416.98163	-531.41797	-957.76678	0.00098
ASN213	TYR325	OTV	-1929.24435	0.00031	0.00314	-0.00339	-416.98163	-554.49575	-957.76678	-0.00024
ASN213	GLU344	OTV	-1850.31093	0.00173	0.00314	-0.45371	-416.98163	-475.56285	-957.76678	0.44917
ARG290	TYR325	OTV	-2043.77040	-0.00634	-0.08265	-0.00339	-531.41797	-554.49575	-957.76678	0.00248
ARG290	GLU344	OTV	-1964.89703	-0.06556	-0.08265	-0.45371	-531.41797	-475.56285	-957.76678	0.45249
TYR325	GLU344	OTV	-1987.74545	-0.01061	-0.00339	-0.45371	-554.49575	-475.56285	-957.76678	0.54763
ผลรวมแรงกระทำระหว่างสามโมเลกุล ($\sum_{i<j<k} \Gamma_{ijk}$)										12.37941

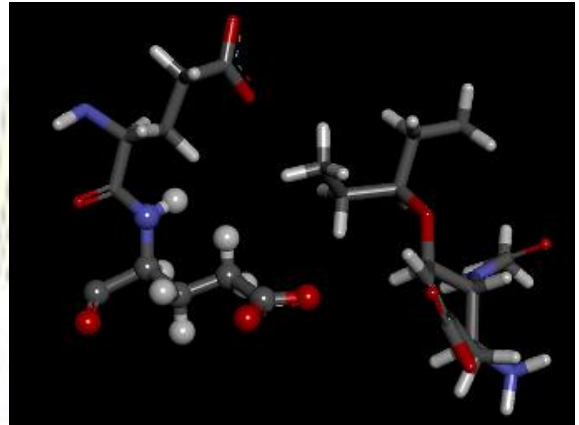
จากตารางที่ 5 แรงกระทำสามโมเลกุล (3-body interaction, Γ_{ijk}) ที่มากที่สุดคือ -333.609 kcal/mol (มีค่าเป็นค่าลบมากที่สุด) เกิดระหว่างโมเลกุลของ ASP70, ARG290 และ OTV โดย ARG290 และ ASP70 มีระยะห่างจาก OTV เท่ากับ 2.1 และ 3.7 Å ตามลำดับ โดยเกิดแรงดึงดูดระหว่างประจุ (Electrostatic interaction) ระหว่างหมู่ $-NH_3^+$ และ $-COO^-$ ใน ASP70, ARG290 และ OTV อีกทั้งยังมีระยะห่างระหว่างโมเลกุล ที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) ได้ดี ในขณะที่โมเลกุลบางกลุ่มมีแรงกระทำสามโมเลกุลที่มีค่าเป็นบวกมาก เช่น 632.59 (ASP70, ARG71, OTV) และ 635.38 (GLU195, GLU196, OTV) เนื่องจากเป็นโมเลกุลที่มีการเชื่อมต่อกันของกรดอะมิโนทั้งสองด้วยพันธะเปปไทด์ (Peptide bond) จึงอาจเกิดพันธะไฮโดรเจนและแรงดึงดูดระหว่างประจุกับ OTV ได้ไม่ดีเท่าที่ควร ค่าแรงกระทำสามโมเลกุลจึงมีค่าเป็นบวกมาก และจากผลรวมแรงกระทำสามโมเลกุลมีค่าเป็นบวกแสดงว่าแรงกระทำนี้ทำให้โมเลกุลขาดเสถียรภาพ แต่ทั้งนี้เนื่องจากในการศึกษานี้ไม่ได้รวมแรงกระทำสามโมเลกุลทั้งหมด โดยทำการคำนวณเฉพาะแรงที่เกี่ยวข้องกับ OTV ดังนั้นค่าที่ได้อาจจะสูงเกินจริง



รูปที่ 10 แรงดึงดูดระหว่างประจุ (Electrostatic interaction) และพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) ใน ARG290 (ซ้าย), OTV (กลาง) และ ASP70 (ขวา)



รูปที่ 11 ASP70 และ ARG71 (ซ้าย), OTV (ขวา)



รูปที่ 12 GLU195 และ GLU196 (ซ้าย), OTV (ขวา)

3.2.4 พลังงานสารเชิงซ้อนที่คำนวณด้วยวิธีโมเลกุลส่วนย่อย และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$)

จากการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อย โดย $\Delta E_{\text{binding}} = E_{\text{cpx}} - E_{\text{enzyme}} - E_{\text{drug}}$

เมื่อ $E_{\text{cpx}} = \Sigma E_i + \Sigma \Delta_{ij} + \Sigma \Gamma_{ijk}$ ได้ค่าพลังงานระบบสารเชิงซ้อน นิเวรามินิเดส-โอเซลทามิเวียร์ และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) เป็นดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงผลการคำนวณพลังงานสารเชิงซ้อน (E_{cpx}) และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) โดยวิธีการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อย (Molecular fragment)

	E_{cpx} (Hartree)	$\Delta E_{\text{binding}}$ (kcal/mol)
$E = \Sigma E_i$	-10142.22333	-1990.869
$E = \Sigma E_i + \Sigma \Delta_{ij}$	-10143.84436	-3008.069
$E = \Sigma E_i + \Sigma \Delta_{ij} + \Sigma \Gamma_{ijk}$	-10131.46495	4760.048

Full molecular system $E_{\text{cpx}} = -10139.25067$ Hartree

ตารางที่ 7 แสดงค่าความคลาดเคลื่อนพลังงานสารเชิงซ้อน (E_{cpx}) และพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$) ที่คำนวณด้วยวิธีการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อยเทียบกับพลังงานที่ได้จากการคำนวณโมเลกุลแบบเต็ม

	E_{cpx} (Hartree)		$\Delta E_{\text{binding}}$ (kcal/mol)	
	Error*	%error**	Error*	%error**
$E = \Sigma E_i$	-2.97267	-0.029%	-1865.358	-1486.208%
$E = \Sigma E_i + \Sigma \Delta_{ij}$	-4.59370	-0.045%	-2882.558	-2296.654%
$E = \Sigma E_i + \Sigma \Delta_{ij} + \Sigma \Gamma_{ijk}$	7.78571	0.077%	4885.559	3892.529%

เมื่อ $E(\text{MF}) - E(\text{Full})$ แทนด้วย *

$(\text{Error}/E(\text{Full})) \times 100$ แทนด้วย **

จากตารางที่ 7 ผลการคำนวณความคลาดเคลื่อนพลังงานระหว่างการคำนวณด้วยวิธีการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อยเทียบกับพลังงานที่ได้จากการคำนวณโมเลกุลแบบเต็ม พบว่าผลการคำนวณ $\Delta E_{\text{binding}}$ จากวิธีการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อยทั้ง 3 วิธี ได้แก่ ΣE_i , $\Sigma E_i + \Sigma \Delta_{ij}$ และ $\Sigma E_i + \Sigma \Delta_{ij} + \Sigma \Gamma_{ijk}$ มีความคลาดเคลื่อนสูงเมื่อเทียบกับผลการคำนวณจากการคำนวณโมเลกุลแบบเต็ม ในขณะที่ ΣE_i และ $\Sigma E_i + \Sigma \Delta_{ij}$ มีการประเมินค่า E_{cpx} และ $\Delta E_{\text{binding}}$ ต่ำเกินจริง $\Sigma E_i + \Sigma \Delta_{ij} + \Sigma \Gamma_{ijk}$ ประเมินค่าทั้งสองสูงเกินจริง แต่เนื่องจากการศึกษานี้ แรงกระทำระหว่างสามโมเลกุลรวมเฉพาะแรงที่มีผลต่อ OTV เท่านั้น พลังงานที่ได้จึงไม่สมบูรณ์และอาจทำให้ค่าดังกล่าวสูงเกินจริง โดยหากมีการรวมทุกพจน์แล้วอาจได้พลังงานใกล้เคียงค่าจริงมากขึ้น โดยในการศึกษานี้ขาดผลการคำนวณในพจน์ที่เป็นกรดอะมิโนสามชนิด เช่น (ARG37, GLU38, ASP70), (GLU38, ASP70, ARG71) และ (ASP70, ARG75, TRP97) เป็นต้น รวมถึงขาดการคำนวณของแรงกระทำที่มากกว่าสามโมเลกุล ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลกระทบต่อพลังงานในระบบ (E_{cpx}) และมีผลต่อเนื่องมายังพลังงานยึดจับ ($\Delta E_{\text{binding}}$)

จากตารางที่ 4 และ 5 การคำนวณแรงกระทำสองวัตถุ (Δ_{ij}) พบว่าแรงกระทำระหว่างโมเลกุลที่อยู่ห่างกันมากกว่า 5.5 Å เช่น แรงระหว่างคู่กรดอะมิโน (TRP97, ASP117), (TRP97, HID193), (TRP97, ASN213), (SER98, ILE141), (SER98, HID193), (ASP117, TYR325), (ILE141, HID193), และ (ILE141, TYR325) และ ในกรณีแรงกระทำสามวัตถุ (Γ_{ijk}) ของ (ARG37, HID193, OTV), (GLU38, SER98, OTV), (ASP70, SER98, OTV), (ASP70, HID193, OTV), (ASP70, TYR325, OTV), (ARG71, ARG143, OTV), (ARG71, HID193, OTV), (TRP97, ASN213, OTV), (TRP97, TYR325, OTV), (SER98, HID193, OTV), (SER98, GLU195, OTV), (SER98, ASN213, OTV), (ASP117, ILE141, OTV), (ASP117, HID193, OTV), (ASP117, ASN213, OTV), (ILE141, HID193, OTV), (ILE141, GLU195, OTV), (ILE141, ARG211, OTV), (ILE141, ARG290, OTV), (ILE141, TYR325, OTV), (GLU146, HID193, OTV) และ (HID193, TYR325, OTV) มีค่าน้อยกว่า 10^{-4} Hartree หรือ 0.063 kcal/mol ทำให้เกิดการตั้งสมมติฐานว่าแรงกระทำเหล่านี้มีผลต่อ E_{cpx} และ $\Delta E_{\text{binding}}$ น้อยมาก และสามารถตัดทอนค่าดังกล่าวออกไป เพื่อลดเวลาคำนวณและยังคงความแม่นยำของผลการคำนวณไว้ได้ ดังนั้นจึงกำหนดค่า cut-off ไว้ที่ระยะ 5.5 Å และพลังงานที่คำนวณได้จากการตัดทอนการคำนวณโครงสร้างที่มีระยะห่างมากกว่า 5.5 Å ทั้งหมด 76 โครงสร้าง คือ $E_{\text{cut-off}}$

3.3 ผลการคำนวณ $E_{\text{cut-off}}$

ตารางที่ 8 แสดงผลการคำนวณพลังงานมอโนเมอร์ (E_i'), แรงกระทำระหว่างสองโมเลกุล (Δ_{ij}'), แรงกระทำระหว่างสามโมเลกุล (Γ_{ijk}'), พลังงานสารเชิงซ้อน (E_{cpx}') ในหน่วย Hartree และพลังงานยึดจับ (E_{binding}') ในหน่วย kcal/mol เมื่อกำหนด cut-off ที่ 5.5 Å

$\Sigma_i E_i'$	$\Sigma_{i<j} \Delta_{ij}'$	$\Sigma_{i<j<k} \Gamma_{ijk}'$	E_{cpx}'	E_{binding}'
-10142.22333	-1.09710	11.92877	-10131.39167	4806.03530

ตารางที่ 9 แสดงค่าความคลาดเคลื่อนพลังงานสารเชิงซ้อน และพลังงานยึดจับ เมื่อเทียบระหว่างการคำนวณที่ใช้และไม่ใช้ cut-off

	E_{cpx} (Hartree)		$\Delta E_{\text{binding}}$ (kcal/mol)	
	Error*	%error**	Error*	%error**
$E = \sum_i E_i'$	0.00000	0.000%	0.00000	0.000%
$E = \sum_i E_i' + \sum_{i<j} \Delta_{ij}'$	0.52393	0.005%	328.76837	10.930%
$E = \sum_i E_i' + \sum_{i<j} \Delta_{ij}' + \sum_{i<j<k} \Gamma_{ijk}'$	0.07329	0.001%	45.98728	0.966%

เมื่อ $E' = E(\text{MF})$ แทนด้วย *

$(\text{Error}/E(\text{MF})) \times 100$ แทนด้วย **

จากตารางที่ 9 ผลการคำนวณความคลาดเคลื่อนพลังงานสารเชิงซ้อน และพลังงานยึดจับจากการคำนวณที่ใช้และไม่ใช้ cut-off พบว่าผลการคำนวณพลังงานยึดจับ หรือ $\Delta E_{\text{binding}}$ จากการคำนวณที่ใช้ cut-off ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับผลการคำนวณที่ไม่ใช้ cut-off แสดงให้เห็นว่าการใช้ cut-off ในการคำนวณพลังงานสามารถลดระยะเวลาในการคำนวณ และให้ผลลัพธ์ที่ยอมรับได้

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการหาคำนวณพลังงานการยึดจับ (Binding energy) ระหว่างเอนไซม์นิวรามินิเดส (Neuraminidase) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สำคัญของไวรัสไข้หวัดใหญ่ กับโอเซลทามิเวียร์ (Oseltamivir) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของโปรตีนนิวรามินิเดส โดยนำโครงสร้างกรดอะมิโนในเอนไซม์ 19 ตำแหน่ง และโอเซลทามิเวียร์จากฐานข้อมูล PDB มาคำนวณพลังงานโมเลกุลแบบเต็ม (Full system) โดยวิธี M06-L/6-31g และวิธีการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อย (Molecular fragment) โดยในการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อยประกอบไปด้วย การคำนวณโมเลกุลมอนอเมอร์ (monomer, E_i), การคำนวณแรงกระทำสองวัตถุ (2-body interaction, Δ_{ij}) และการคำนวณแรงกระทำสามวัตถุ (3-body interaction, Γ_{ijk}) ผลการคำนวณพลังงานจากโมเลกุลแบบเต็ม ได้ค่าพลังงานยึดจับเท่ากับ -125.51 kcal/mol เมื่อเปรียบเทียบกับผลจากการคำนวณโมเลกุลส่วนย่อย ซึ่งมีค่าพลังงานยึดจับเท่ากับ 4760.05 kcal/mol มีเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน 3892.529% จากนั้นกำหนดค่า cut-off ระยะห่างระหว่างโมเลกุลไว้ที่ระยะ 5.5 Å และคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อยอีกครั้ง ได้ค่าพลังงานยึดจับเท่ากับ 4806.03530 kcal/mol เมื่อเทียบกับผลการคำนวณจากพลังงานโมเลกุลส่วนย่อยที่ไม่ใช้ค่า cut-off มีเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน 0.966% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับผลการคำนวณที่ไม่ใช้ cut-off โดยปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อพลังงานยึดจับระหว่างโมเลกุลคือ แรงดึงดูดระหว่างประจุ (Electrostatic Interaction) และระยะห่างระหว่างโมเลกุล ซึ่งส่งผลต่อพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen Bond) และแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals force) จากงานวิจัยนี้สรุปได้ว่าการคำนวณพลังงานโมเลกุลส่วนย่อย สามารถลดระยะเวลาในการคำนวณพลังงานโครงสร้างเชิงซ้อนที่มีขนาดใหญ่ และทำให้ทราบแนวโน้มและปัจจัยที่มีผลต่อพลังงานยึดจับ แต่หากต้องการนำผลมาเปรียบเทียบกับการคำนวณพลังงานโมเลกุลแบบเต็ม ควรคำนวณแรงกระทำระหว่างโมเลกุลให้ครบทุกค่า เพื่อให้ผลการคำนวณมีความแม่นยำมากขึ้น



ภาคผนวก

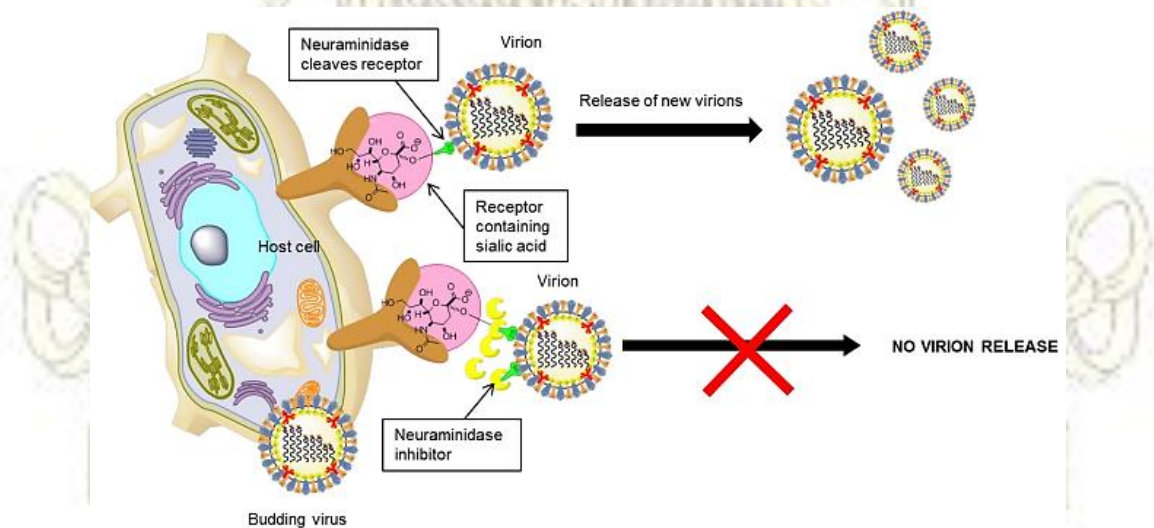
ไวรัสไข้หวัดใหญ่¹⁹

ไวรัสไข้หวัดใหญ่ (Influenza virus) คืออาร์เอ็นเอไวรัส (RNA virus) ในตระกูล Orthomyxo viridae โดยอนุภาคไวรัสมีรูปร่างกลม (spherical) ไวรัสไข้หวัดใหญ่แบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ ไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ, บี และซี ข้อแตกต่างที่สำคัญของไวรัสไข้หวัดใหญ่ทั้ง 3 ชนิดคือลักษณะของโปรตีน (surface glycoprotein) ที่แทรกตัวอยู่ในชั้นไขมัน ทำหน้าที่เป็นเปลือกหุ้มล้อมรอบอนุภาคไวรัส ได้แก่ hemagglutinin (HA) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการเข้าสู่เซลล์ของไวรัสและ neuraminidase (NA) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการออกจากเซลล์ของไวรัส โดยไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ จะมีหลายสายพันธุ์ตามชนิดของ hemagglutinin และ neuraminidase ที่หลากหลาย ไวรัสชนิดนี้ยังสามารถเกิดการแพร่ระบาดได้ทั้งในคนและสัตว์หลายชนิด ได้แก่ นก ไก่ เป็ด สุกร เป็นต้น

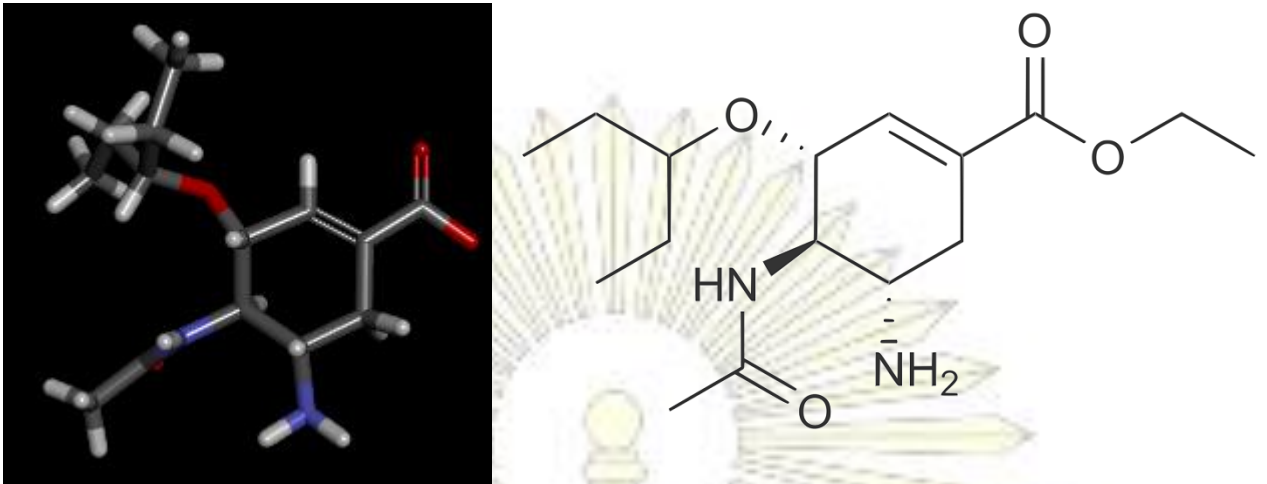
ยาด้านไวรัสไข้หวัดใหญ่²⁰⁻²¹

ปัจจุบันมีสารเคมีหลายชนิดที่ได้รับการคิดค้นและพัฒนาจนสามารถใช้เป็นยาในการรักษาโรคไข้หวัดใหญ่ ได้แก่ amantadine, rimantadine, ribavirin, zanamivir และ oseltamivir เป็นต้น โดยมีทั้งยาที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ M2 protein ซึ่งทำหน้าที่รักษาความเป็นกรดให้สมดุลในอนุภาคของไวรัส, ยาที่ใช้ในการยับยั้งการทำงานของ inosine 5'-monophosphate (Imp) dehydrogenase ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของสารพันธุกรรมในอนุภาคของอาร์เอ็นเอไวรัส และยาที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ neuraminidase ซึ่งทำหน้าที่ตัดพันธะ glycoside linkage ที่เชื่อมระหว่าง sialic acid ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่พบได้ในเนื้อเยื่อระบบทางเดินหายใจส่วนต้นของเซลล์เจ้าบ้านกับโปรตีนที่บริเวณผิวของเปลือกหุ้มไวรัส ทำให้ไวรัสเคลื่อนที่ออกจากเซลล์เจ้าบ้านไปแพร่กระจายสู่เซลล์ข้างเคียงได้

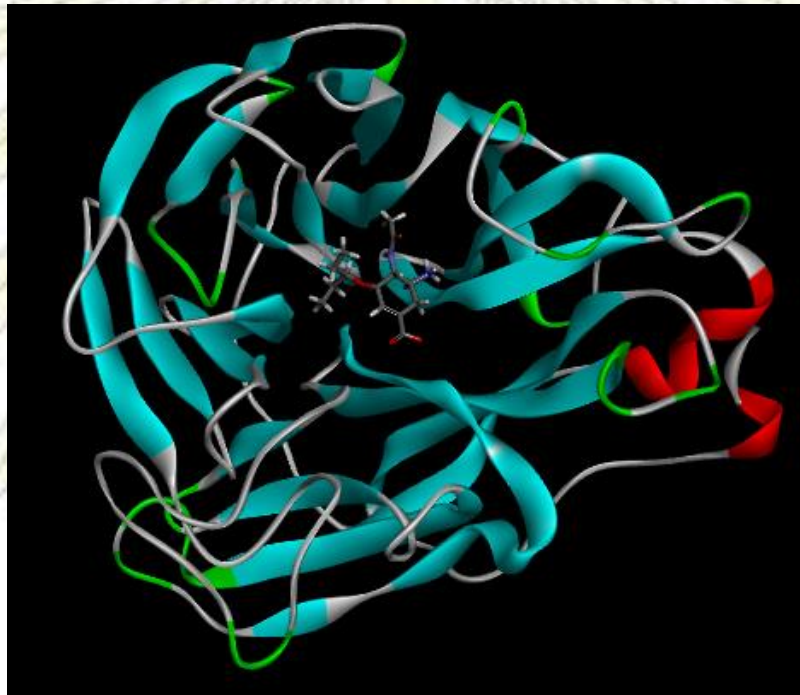
ปัจจุบันเอนไซม์ neuraminidase ถือเป็นเป้าหมายสำคัญในการพัฒนายาเพื่อรักษาและควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ เนื่องจากเอนไซม์ชนิดนี้สามารถพบได้ทั้งในไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอและบี โดยเอนไซม์ neuraminidase ของไวรัสไข้หวัดใหญ่ทุกสายพันธุ์จะมี active site ที่เหมือนกัน ทำให้สามารถใช้ยาประเภทนี้ในการรักษาไข้หวัดใหญ่ที่เกิดจากไวรัสได้ทุกสายพันธุ์ รวมถึงสายพันธุ์ที่เกิดการกลายและสายพันธุ์ที่พบการดื้อยา ปัจจุบันยาด้านไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดยับยั้งเอนไซม์ neuraminidase ที่ได้รับการอนุมัติจากองค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แก่ zanamivir และ oseltamivir



รูปที่ 13 กลไกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Neuraminidase

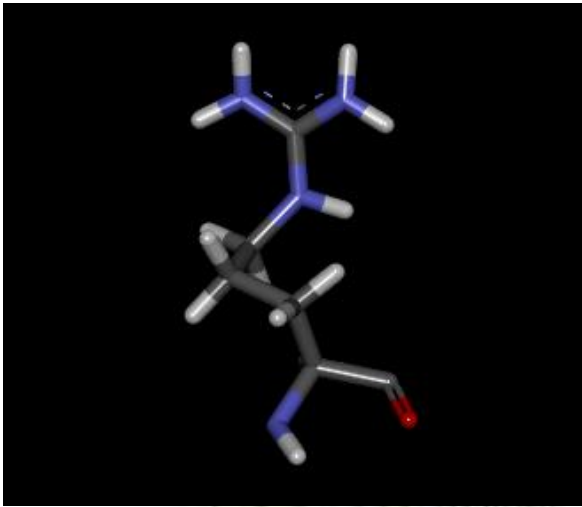


รูปที่ 14 โครงสร้าง Oseltamivir

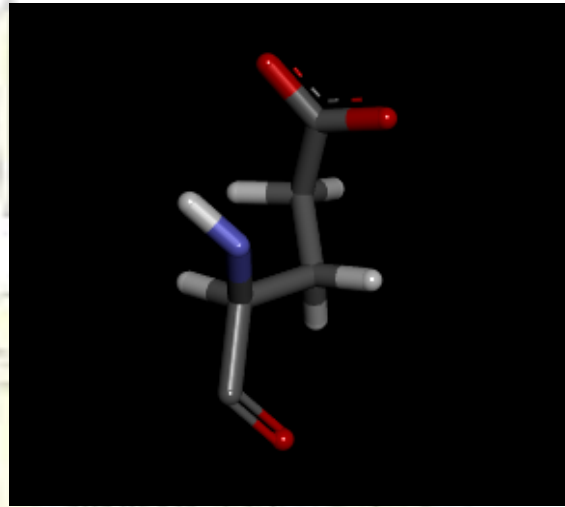


รูปที่ 15 โครงสร้าง Oseltamivir ใน H2N2

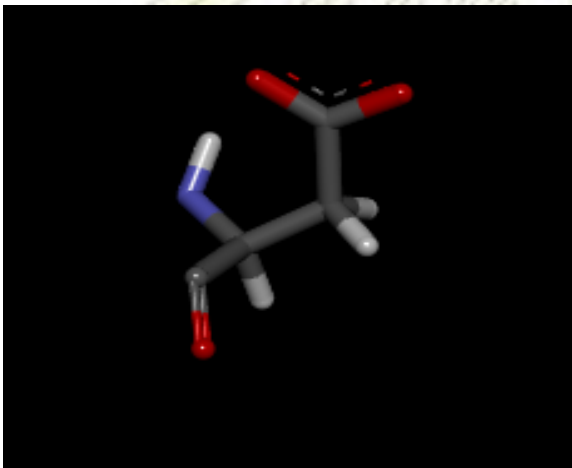
รูปที่ 16-34 โครงสร้างกรดอะมิโน 19 ตำแหน่งใน Neuraminidase



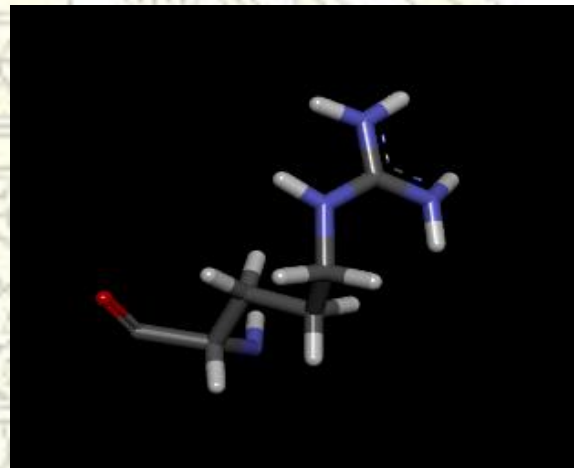
รูปที่ 16 โครงสร้าง ARG37



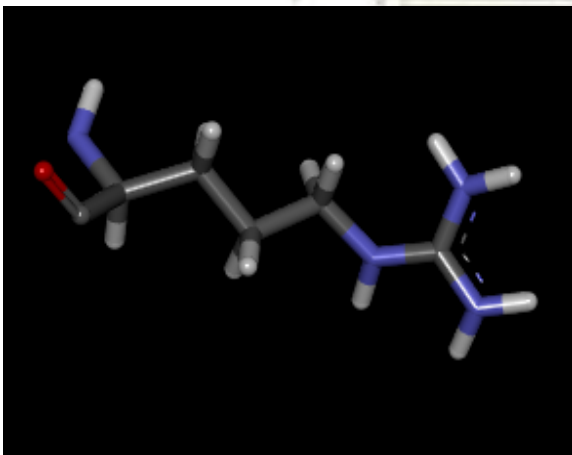
รูปที่ 17 โครงสร้าง GLU38



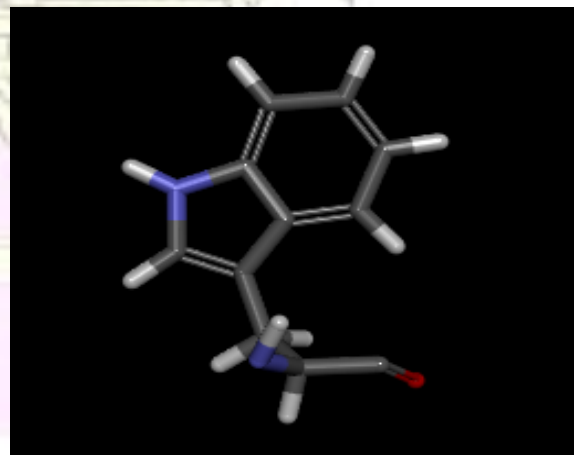
รูปที่ 18 โครงสร้าง ASP70



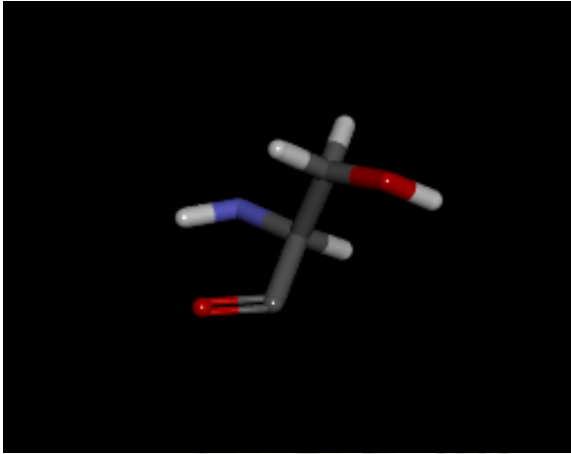
รูปที่ 19 โครงสร้าง ARG71



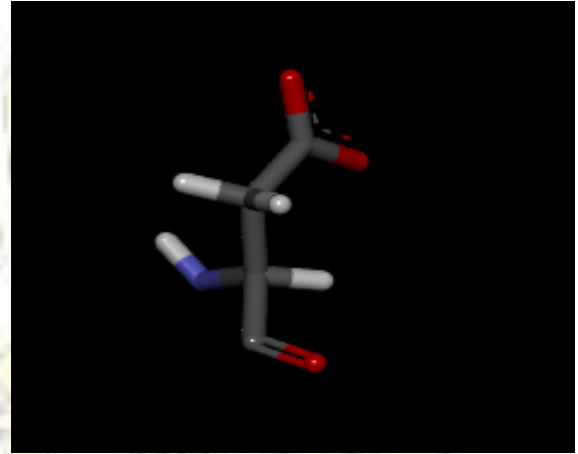
รูปที่ 20 โครงสร้าง ARG75



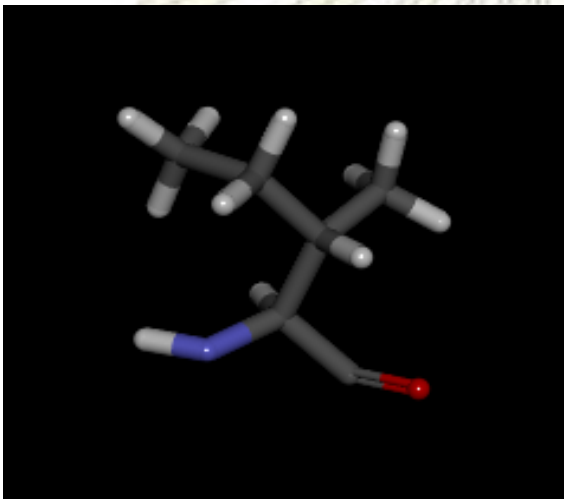
รูปที่ 21 โครงสร้าง TRP97



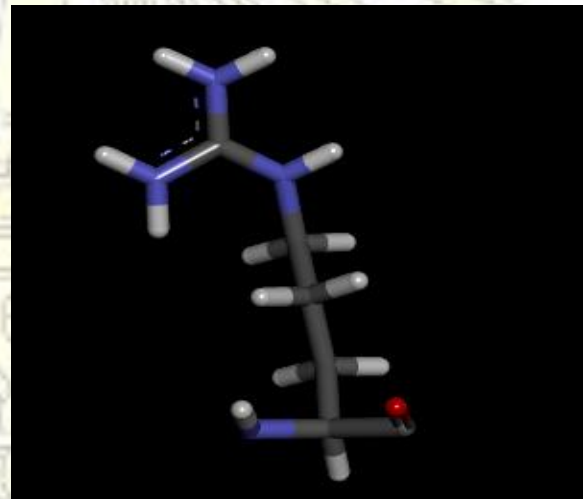
รูปที่ 22 โครงสร้าง SER98



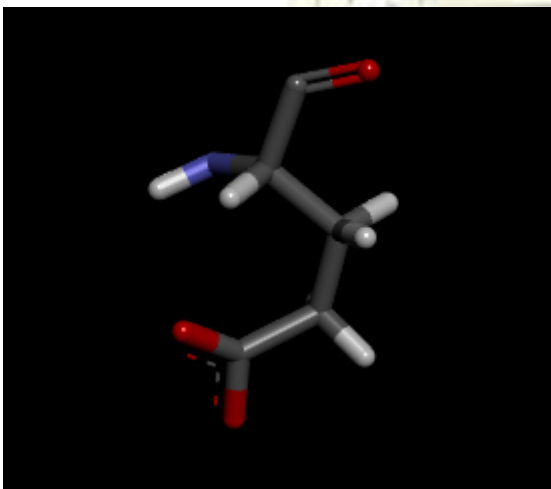
รูปที่ 23 โครงสร้าง ASP117



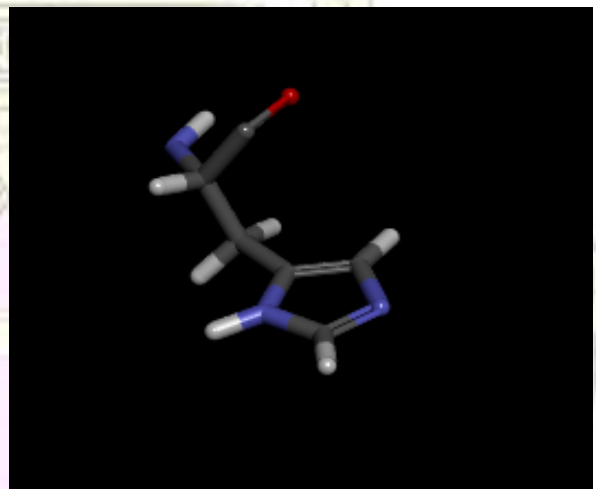
รูปที่ 24 โครงสร้าง ILE141



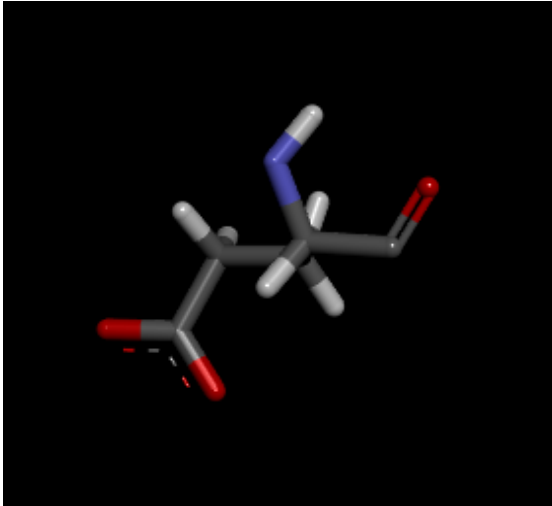
รูปที่ 25 โครงสร้าง ARG143



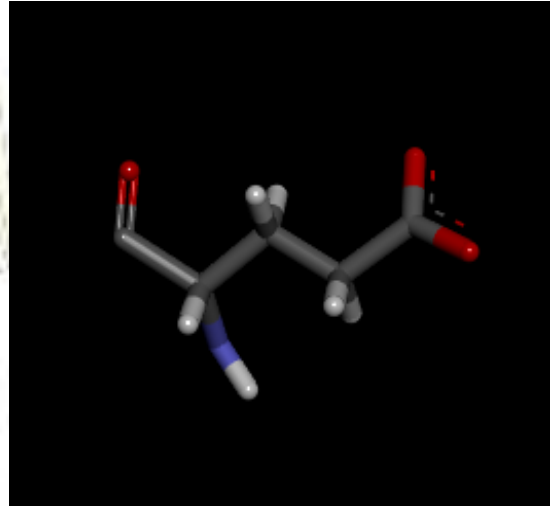
รูปที่ 26 โครงสร้าง GLU146



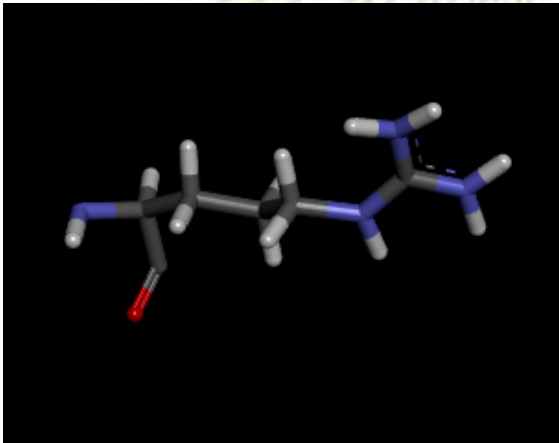
รูปที่ 27 โครงสร้าง HID193



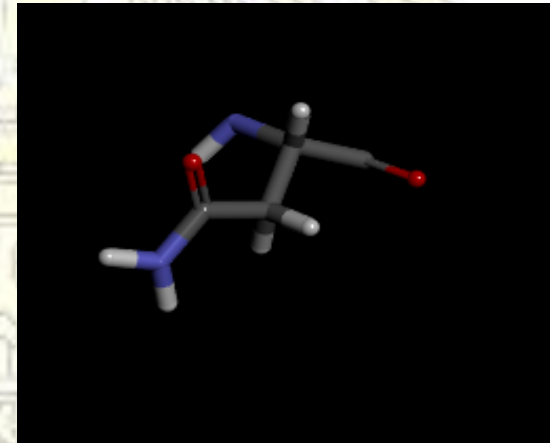
รูปที่ 28 โครงสร้าง GLU195



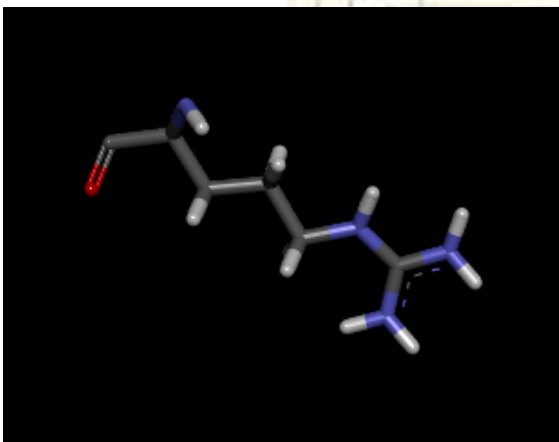
รูปที่ 29 โครงสร้าง GLU196



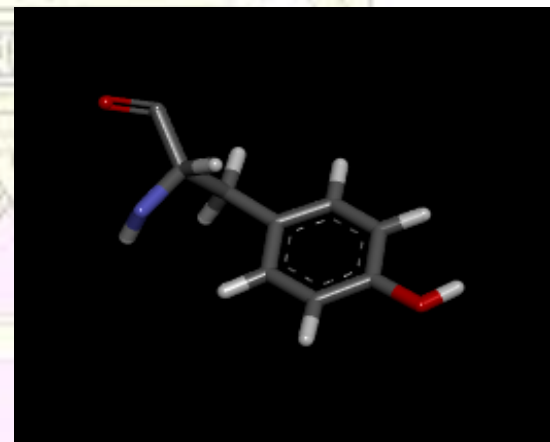
รูปที่ 30 โครงสร้าง ARG211



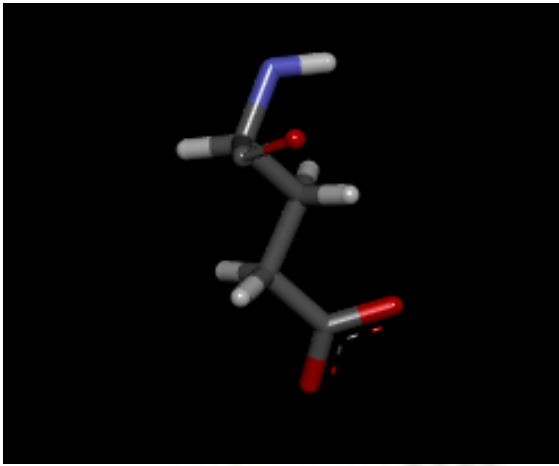
รูปที่ 31 โครงสร้าง ASN213



รูปที่ 32 โครงสร้าง ARG290



รูปที่ 33 โครงสร้าง TYR325



รูปที่ 34 โครงสร้าง GLU344



เอกสารอ้างอิง

1. Jackson, C. History lessons: the Asian Flu pandemic. *The British Journal of General Practice*. **2009**, 565, 622-623.
2. Lindstrom, E. S.; Cox, J. N.; Klimov, A. Genetic analysis of human H2N2 and early H3N2 influenza viruses, 1957–1972: evidence for genetic divergence and multiple reassortment events. *Virology*. **2004**, 328, 101-119.
3. Aoki, Y. F.; Boivin, G.; Roberts, N.; Influenza virus susceptibility and resistance to oseltamivir. *Antiviral Therapy*. **2007**, 12, 603-616.
4. Kim, K. H.; Park, J. K. A new efficient synthesis of oseltamivir phosphate (Tamiflu) from (-)-shikimic acid. *Tetrahedron Letters*. **2012**, 53, 1561-1563.
5. Aruksakunwong, O.; Malaisree, M.; Decha, P.; Sompornpisut, P.; Parasuk, V.; Pianwanit, S.; Hannongbua, S. On the Lower Susceptibility of Oseltamivir to Influenza Neuraminidase Subtype N1 than Those in N2 and N9. *Biophysical Journal*. **2007**, 92, 798-807.
6. Suárez, E.; Díaz, N.; Suárez, D. Thermochemical Fragment Energy Method for Biomolecules: Application to a Collagen Model Peptide. *Journal of Chemical Theory and Computation*. **2009**, 5, 1667-1679.
7. Gillbert, A. Introduction to Computational Quantum Chemistry: Theory. **2007**. [Course Lecture]
8. Hohenberg, P.; Kohn, W. Inhomogeneous electron gas. *Physical Review Journals*. **1964**, 136, 864-871.
9. Parasuk, V. Quantum Mechanical Calculations and Applications in Chemistry.
10. Sholl, D. S.; Steckel, J.A. Density Functional Theory. *John Wiley & Sons*. **2009**, Hoboken, New Jersey, 253.
11. Kohn, W.; Sham, L.J. Self-consistent equations including exchange and correlation effect. *Physical Review Journals*. **1965**, 140, 1133-1138.
12. Fedorov, D.; Kitaura, K. The Fragment Molecular Orbital Method: Practical Applications to Large Molecular Systems. *CRC Press*. **2009**.
13. Fedorov, D.; Kitaura, K. The importance of three-body terms in the fragment molecular orbital method. *The Journal of Chemical Physics*. **2004**, 120, 6832-6840.
14. Boekfa, B. Basis Sets. **2010**. [Course Lecture]
15. Wang, S. Q.; Cheng, X. C.; Dong, W. L.; Wang, R. L.; Chou, K. C.; Three new powerful oseltamivir derivatives for inhibiting the neuraminidase of influenza virus. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **2010**, 401, 188-191.

16. Chen, C. Y.; Huang, H. J.; Tsai, F. J.; Chen, C. Y. C. Drug design for Influenza A virus subtype H1N1. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. **2010**, 41, 8-15.
17. Li, W.; Fang, T.; Li, S. A fragment energy assembler method for Hartree-Fock calculations of large molecules. *The Journal of Chemical Physics*. **2006**, 124, 154102.
18. Hariono, M.; Abdullah, N.; Damodaran, K.V.; Kamarulzaman, E.; Mohamed, N.; Hassan, S.; Shamsuddin, S.; Wahab, H.; Potential New H1N1 Neuraminidase Inhibitors from Ferulic Acid and Vanillin: Molecular Modelling, Synthesis and in Vitro Assay. *Scientific Report*. **2016**, 6, 38692.
19. Weitz, M.; Naglieri, C.; Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. *McGraw-Hill*. **2013**, 26th Ed, New York.
20. Moscona, A. Neuraminidase inhibitors for Influenza A. New. *The New England Journal of Medicine*. **2005**, 353, 1363-1373.
21. Barik, S. New treatments for influenza. *BMC Medicine*. **2012**, 10, 104-119.



ประวัติผู้วิจัย

นางสาวอัญมณี งามวัฒน์ เกิดเมื่อวันที่ 8 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2538 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสตรีนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี เมื่อปีการศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 99/63 ชั้น 10 อาคารปิ่นเกล้า เอ็กซ์คลูซีฟ ถนนบรมราชชนนี แขวง อรุณอมรินทร์ เขตบางกอกน้อย จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10700 อีเมล aunyamanee.ng@gmail.com

