



โครงการ  
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ	การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างเอนไซม์กับสารยับยั้งที่ใช้ในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง Molecular Docking calculations of Angiotensin-converting enzyme (ACE) and Inhibitors for high pressure blood
ชื่อนิสิต	นางสาวชุตินฉนน์ ชีวาเกียรติยั้งยง
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างเอซีอีกับสารยับยั้งที่ใช้ในการรักษา  
โรคความดันโลหิตสูง

Molecular Docking calculations of Angiotensin-converting  
enzyme (ACE) and Inhibitors for high pressure blood

โดย  
นางสาวชุตติมณฑน์ ชีวาเกียรติยิ่งยง

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2560

โครงการ การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างเอซีอี กับ สารยับยั้งที่ใช้ในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง  
โดย นางสาวชุตินมณฑน์ ชีวาเกียรติยิ่งยง

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


คณะกรรมการสอบโครงการ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คณิศ วังษ์ระวี)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ เพ็ญรวณิช)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ภัสสรพล งามอุโฆษ)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ ..... เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้

ชื่อโครงการ                      การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างเอสอีกับสารยับยั้งที่ใช้ในการรักษาโรค  
ความดันโลหิตสูง

ชื่อนิสิตในโครงการ            นางสาวชุตินฉัตร ชีวาเกียรติยิ่งยง เลขประจำตัว 5733079123

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา           ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ เพ็ญรวณิช

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

### บทคัดย่อ

โรคความดันโลหิตสูงเป็นปัจจัยเสี่ยงอันดับสองที่ก่อให้เกิดการเสียชีวิตและความพิการทั่วโลก วิธีการหนึ่งในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง คือ การยับยั้งการทำงานของแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติงเอนไซม์ ในปัจจุบันมียารักษาโรคความดันโลหิตสูงที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ แองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติงเอนไซม์ อยู่หลายตัวซึ่งแต่ละตัวก็จะมีประสิทธิภาพในการใช้งานไม่เท่ากัน งานวิจัยนี้จึงศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลโครงสร้างเกี่ยวกับรูปแบบการเข้าจับและอันตรกิริยาระหว่างยาที่เป็นสารยับยั้งเหล่านี้จำนวน 24 ตัว กับ แองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติงเอนไซม์ โดยใช้เทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล ผลการคำนวณพบว่า ลักษณะการเข้าจับของตัวยับยั้งทุกตัวในตัวรับชนิดเดียวกันจะมีความใกล้เคียงกัน แต่ต่างกันที่ตำแหน่งการเกิดพันธะกับกรดอะมิโนบางกลุ่ม อันได้แก่ ALA1, SEP284 และ GLU 411 และในตัวรับที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำงานสูงจะเกิดพันธะไฮโดรเจนกับ HE22-GLY281, OE2-GLU376 และ HZ3-LYS511 และมีค่า  $IC_{50}$  ต่ำดังนั้นจึงทำให้เห็นว่า Utibapril เป็นยาที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในปัจจุบัน ซึ่งงานวิจัยนี้จะช่วยให้เข้าใจกลไกการออกฤทธิ์ของยากลุ่มนี้ได้ดียิ่งขึ้น รวมถึงจะเป็นประโยชน์ต่อการค้นคว้าพัฒนายารักษาโรคตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น


**คำสำคัญ:** การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล, ตัวยับยั้งแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์

Project Title           Molecular Docking calculations of Angiotensin-converting enzyme (ACE) and Inhibitors using various inhibitor structures for high pressure blood

Student Name           Miss Chutimon Cheewakiattiyong   Student ID 573 30791 23

Advisor Name           Assistant Professor Somsak Pianwanit, Ph.D

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017



### Abstract

Hypertension (High Blood Pressure, HT) is the second leading cause of death and disability worldwide. One choices to treat high blood pressure is to heal it by now, Angiotensin-converting enzyme (ACE). Currently, there are many high blood pressure medicines that inhibit the action of ACE. In fact, each drug they can not effective in using it. In this study, we compared structural data on 24 types of inhibition and interaction between these inhibitors with Receptor, Angiotensin-converting enzyme. The results of the calculation found similar amino acids are ALA1, SEP284, and GLU 411 with different in bonding positions, and in high-efficiency receivers, hydrogen bonds with HE22-GLY281, OE2-GLU376 and HZ3- LYS511 and low  $IC_{50}$ . Therefore, based on the observed analysis, Utibapril is the most effective drug currently available. This study reveals the action mechanism of this drug. It will also be useful to find new and more effective medicines

Keyword: Molecular Docking, ACE Inhibitors



## กิตติกรรมประกาศ

การที่โครงการวิจัยนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีได้นั้น ผู้ทำการวิจัยได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ เพ็ญรวณิช ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ท่านได้ให้คำแนะนำและความรู้มากมายในการทำวิจัยที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ให้คำปรึกษาที่ก่อให้เกิดประโยชน์เมื่อเกิดปัญหาต่าง ๆ ซึ่งเกิดขึ้นตลอดเวลาระหว่างการทำวิจัย ให้ความเอาใจใส่ ช่วยเหลือ จนทำให้การทำวิจัยและการเขียนรายงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คณศ วังษ์ระวี และ อาจารย์ ดร.ภัทสรพีล งามอุโฆษ ที่เสียสละเวลามาเป็นกรรมการในการสอบงานวิจัย รวมถึงให้คำแนะนำจนรายงานเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้มอบทุนสนับสนุนจากโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ในครั้งนี้ และได้รับความเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัยจากเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลอดจนความช่วยเหลือจากบุคลากรฝ่ายต่าง ๆ จึงกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

และขอขอบคุณเพื่อนร่วมคณะวิทยาศาสตร์ เพื่อนภาคเคมี รุ่นพี่ รุ่นน้อง และครอบครัว ที่คอยให้กำลังใจจนดำเนินโครงการสำเร็จลุล่วงด้วยดี สุดท้ายนี้ผู้วิจัยคาดหวังว่า ผู้ที่สนใจจะได้รับความรู้จากงานวิจัยฉบับนี้ ตลอดจนสามารถนำความรู้ที่มีในงานวิจัยฉบับนี้ ไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวันและพัฒนางานวิจัยให้เกิดประโยชน์ในลำดับต่อไป

## สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฌ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 มूलเหตุจูงใจและความสำคัญ	1
1.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	2
1.2.1 เคมีการคำนวณ	2
1.2.1.1 Molecular Mechanic	2
1.2.1.2 Ab-initio Method	3
1.2.1.3 Semi-Empirical Method	3
1.2.1.4 Density Functional Theory	3
1.2.2 เทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล (Molecular Docking)	4
1.2.3 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์	7
1.3 โรคความดันโลหิตสูง	8
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
1.5 วัตถุประสงค์	10
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	10
<b>บทที่ 2 การทดลอง</b>	<b>11</b>
2.1 อุปกรณ์ และ เครื่องมือที่เกี่ยวข้อง	11
2.2 ขั้นตอน และ วิธีการทดลอง	12

เรื่อง	หน้า
2.2.1 การเตรียมโครงสร้างของตัวยับยั้ง	12
2.2.2 Code ของตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัว	13
2.2.3 การเตรียมโครงสร้างของตัวรับ	13
2.2.4 การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล	14
2.2.5 การวิเคราะห์ผลการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล	15
<b>บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง</b>	<b>17</b>
3.1 ผลโครงสร้างการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่าง ACE และ ACE Inhibitors ทั้ง 24 ตัว	17
3.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า half maximal inhibitory concentration (IC <sub>50</sub> )	22
3.3 Amino Acid Residue ของตัวรับที่อยู่ในบริเวณใกล้กับตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัว	23
3.4 Hydrogen-Bond ที่เกิดขึ้นระหว่างตัวรับ (ACE) และตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัว	24
3.5 ผลกระทบจาก H-bond และ Amino Acid Residue ต่อประสิทธิภาพ	25
<b>บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง</b>	<b>30</b>
เอกสารอ้างอิง	31
ประวัติผู้วิจัย	35
ภาคผนวก	36





## สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 1 ค่า $IC_{50}$ ของตัวยับยั้งที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 24 ตัว	23
ตารางที่ 2 กรดอะมิโนของตัวรับ Angiotensin converting enzyme (ACE) ที่พบ บริเวณใกล้กับสารยับยั้งทั้ง 24 ตัวในรัศมี 6 Å	26
ตารางที่ 3 พันธะไฮโดรเจนของ Angiotensin converting enzyme (ACE) ที่เกิดขึ้น บริเวณใกล้กับสารยับยั้งทั้ง 24 ตัวในรัศมี 6 Å	29
ตารางที่ 4 ภาพโครงสร้างของตัวยับยั้ง ACE ที่ใช้ในการทดลองทั้ง 24 โครงสร้าง	37



## สารบัญรูป

รูป	หน้า
รูปที่ 1 การหาตำแหน่งที่เหมาะสมในการจำลองการเข้าจับระหว่างโปรตีน (ACE) กับ ลิแกนด์ (Pivalopril)	4
รูปที่ 2 การแลกเปลี่ยนยีนบนโครโมโซม (Crossing Over)	6
รูปที่ 3 ความแตกต่างของการยับยั้งทั้งสามรูปแบบ	8
รูปที่ 4 Renin angiotensin aldosterone system (RAAS)	9
รูปที่ 5 การเปลี่ยนนามสกุลไฟล์ด้วยโปรแกรม OpenBabel	12
รูปที่ 6 หน้า web ของคลังข้อมูลโปรตีน	13
รูปที่ 7 การเติมไฮโดรเจนอะตอมในโครงสร้าง	14
รูปที่ 8 การกำหนดขอบเขตของการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลให้ครอบคลุม บริเวณเข้าจับของโปรตีน	15
รูปที่ 9 โครงสร้างของตัวยับยั้งในที่ได้จากการคำนวณการเข้าจับ	15
รูปที่ 10 โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Alacepril (1i)	17
รูปที่ 11 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Benazepril (1f)	17
รูปที่ 12 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Captopril (1w)	17
รูปที่ 13 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Cilazapril (1g)	17
รูปที่ 14 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Delapril (1x)	18
รูปที่ 15 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Enalapril (1p)	18
รูปที่ 16 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Fosinopril (1u)	18
รูปที่ 17 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Gemopatrilat (1k)	18



รูป	หน้า
รูปที่ 18 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Imidapril (1d)	18
รูปที่ 19 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Linsinopril (1n)	18
รูปที่ 20 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Moexipril (1h)	19
รูปที่ 21 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Omapatrilat (1o)	19
รูปที่ 22 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Perindopril (1e)	19
รูปที่ 23 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Pivalopril (1v)	19
รูปที่ 24 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Quercetin (1l)	19
รูปที่ 25 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Quinapril (1s)	19
รูปที่ 26 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Ramipril (1m)	20
รูปที่ 27 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Rentiapril (1q)	20
รูปที่ 28 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Rescinamine (1r)	20
รูปที่ 29 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Spirapril (1b)	20
รูปที่ 30 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Temocapril (1j)	20
รูปที่ 31 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Trandolapril (1c)	20
รูปที่ 32 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Utibapril (1a)	21
รูปที่ 33 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Zofenopril (1t)	21
รูปที่ 34 – (สีเหลือง) Zn ที่มีอยู่ในตัวรับ(สีเทา) และบริเวณเข้าจับของสารยับยั้งทั้งหมด	21
รูปที่ 35 – ลักษณะการเข้าจับของตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัวใน ACE และ ตำแหน่ง Zn (สีเหลือง)	22
รูปที่ 36 – binding site ACE ที่กระทำต่อ (A) aginotensin I และ (B) Captopril สารยับยั้ง	24

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 มूलเหตุจูงใจและความสำคัญ

โรคความดันโลหิตสูง (High Blood Pressure/Hypertension หรือ HT) เป็นโรคอันตราย ที่มีความรุนแรงถึงชีวิต หากไม่ได้รับการวินิจฉัยแต่ต้น เพราะเป็นการนำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนหลายประการ โดยที่องค์การอนามัยโลกรายงานว่าทั่วโลกมีผู้ที่มีความดันโลหิตสูงมากกว่า 1 พันล้านคน [1] ซึ่งจำนวน 2 ใน 3 ของจำนวนนี้อยู่ในประเทศกำลังพัฒนา โดยประชากรวัยผู้ใหญ่ทั่วโลก 1 คน ใน 3 คนมีภาวะความดันโลหิตสูง ในประเทศไทยข้อมูลจากกระทรวงสาธารณสุขรายงานว่า จำนวนผู้ป่วยและอัตราการเสียชีวิตเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในพ.ศ.2550 พบอัตราผู้ป่วยและผู้เสียชีวิตในต่อประชากรแสนคนเพิ่มขึ้นจาก 3.64 เป็น 10.95 ซึ่งนับเป็น 3 เท่าตัว และเป็นปัจจัยเสี่ยงอันดับสองที่ก่อให้เกิดการเสียชีวิตรวมถึงพิการทั่วโลก [2] จึงมีการพัฒนาหลายตัวออกมาเพื่อรักษาอาการความดันโลหิตสูงนี้โดยตรง [3]

วิธีการหนึ่งในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง คือ การยับยั้งการทำงานของ Angiotensin-converting enzyme (ACE) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่สร้าง angiotensin II อันเป็นสารที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว ในปัจจุบันมียารักษาโรคความดันโลหิตสูงที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ แองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์อยู่หลายตัว [4] เช่น perindopril, enalapril, lisinopril, ramipril, benazepril, fosinopril, trandolapril, moexipril, telmisartan และอีก 17 ตัว [5] อ้างอิงจากการมีค่าความเข้มข้นที่สารมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ 50% ที่มีค่าต่ำที่สุด [6] จะสามารถทำให้พอทราบโดยคร่าวว่ายาตัวไหนที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้ง เนื่องจากเป็นค่ามาตรฐานในการวัดความเข้มข้นของสารที่ใช้ยับยั้งได้ ซึ่งการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับรูปแบบการเข้าจับและอันตรกิริยาระหว่างสารยับยั้งเหล่านี้กับแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์จะช่วยให้เข้าใจกลไกการออกฤทธิ์ของยากลุ่มนี้ได้ดียิ่งขึ้น โดยได้มีงานวิจัยที่ศึกษาคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล (molecular docking) ระหว่างสารยับยั้งกับแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์ [7] หลายงาน อย่างไรก็ตามยังคงมีสารยับยั้งอีกจำนวนหนึ่งที่ยังไม่ได้มีผู้ทำการศึกษาหารูปแบบการเข้าจับ

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงต้องการทดสอบการเข้าจับของเอนไซม์ Angiotensin-converting enzyme (ACE) ซึ่งนำมาจากฐานข้อมูล PDBbind และ สารยับยั้งทั้งหมดจำนวน 24 ตัว ซึ่งได้จากการสร้างและค้นหาโครงสร้างที่เสถียรผ่านโปรแกรม MOPAC 2016 โดยใช้โปรแกรม AutoDock Vina ในการศึกษาคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล และนำมาเปรียบเทียบรูปแบบของการเข้าจับของสารยับยั้งชนิดต่างๆ



## 1.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

### 1.2.1 เคมีการคำนวณ

เคมีการคำนวณ หรือเรียกได้อีกอย่างว่าเคมีคอมพิวเตอร์ (Computational Chemistry) เป็นหนึ่งสาขาย่อยของสาขาวิชาเคมี ที่มีความเกี่ยวข้องกับศาสตร์ด้านวิทยาการคอมพิวเตอร์ วิทยาศาสตร์ฟิสิกส์ และคณิตศาสตร์ โดยมีตัวกลางคือเครื่องคอมพิวเตอร์ ที่มีความสามารถ สมรรถนะสูง ช่วยในการคำนวณและแก้ไขปัญหา เนื่องจากระบบทางเคมีมีความซับซ้อน ยุ่งยาก ที่เกี่ยวพันทางสมการคณิตศาสตร์ รวมถึงอาจไม่สามารถทำการทดลอง หรือปฏิบัติได้จริงในห้องปฏิบัติการ [8] ในงานวิจัยนี้อาศัยเทคนิคทางเคมีคอมพิวเตอร์เพื่อจำลองการเข้าจับระหว่างโมเลกุลของโปรตีนที่มีบริเวณการเข้าจับ (Binding site) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวรับ (Receptor) จับกับโมเลกุลของตัวยับยั้ง (Inhibitor) โดยอาศัยอันตรกิริยาเคมีจำพวกนอนโควาเลนต์ (Non-Covalent Interaction) ระหว่างสองโมเลกุล เช่น พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen Bonds) แรงกระทำระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic Interaction) แรงกระทำระหว่างวงเบนซีน ( $\pi$  Interaction) [9] เป็นต้น อันตรกิริยาที่กล่าวมานี้ต้องอาศัยคอมพิวเตอร์ที่มีสมรรถนะสูงในการคำนวณ เนื่องจากมีจำนวนครั้งของการคำนวณเพื่อให้ใกล้เคียงกับค่าจริงมากที่สุดมหาศาล ผลจากการคำนวณการเข้าจับของโปรตีนและตัวยับยั้ง จะได้ตำแหน่งที่มีอันตรกิริยาเหมาะสมที่สุด อีกทั้งยังได้ค่า binding affinity ซึ่งสามารถบอกได้ว่าโมเลกุลสองชนิดนี้มีอันตรกิริยาต่อกันมากน้อยเพียงไหน ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางกระบวนการพัฒนายา หรือปรับปรุงสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับด้านการแพทย์ต่อไปได้ [10,11]

โดยเคมีคอมพิวเตอร์มีหลายทฤษฎีด้วยกัน แต่ทฤษฎีที่นิยมใช้ในการคำนวณทางด้านเคมีการคำนวณ/เคมีคอมพิวเตอร์ มีอยู่ด้วยกัน 4 ทฤษฎีหลัก ได้แก่

#### 1.2.1.1 Molecular Mechanic, MM

เป็นการจำลองระบบโมเลกุลโดยอาศัยหลักทางกลศาสตร์นิวตัน/ดั้งเดิม (Classical Mechanics) [12] โดยระบบ MM [13] จะทำการคำนวณพลังงานศักย์ของทุกระบบรวมกันผ่าน force field [14,15] โดยอาศัยสมการชุดหนึ่งในการคำนวณแรงกระทำระหว่างอะตอมต่างๆ ดังนั้นวิธี MM นี้จะเหมาะสมสำหรับการคำนวณโครงสร้างโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ มีความซับซ้อนมาก เพราะ วิธีนี้จะใช้เวลาในการคำนวณสั้น คำนวณได้อย่างรวดเร็ว แต่ความถูกต้องและแม่นยำก็จะไม่เทียบเท่ากับการใช้กลศาสตร์ควอนตัม (Quantum Mechanics) ในการคำนวณ

### 1.2.1.2 Ab initio method

เป็นทฤษฎีหนึ่ง [16] ของกลศาสตร์ควอนตัม (Quantum Mechanism, QM) [17] ที่ต้องใช้ความรู้พื้นฐานของเคมีฟิสิกส์ในเรื่องของสมการชโรดิงเจอร์ (Schrödinger Equation) [18] เพื่อให้ได้มาซึ่งพลังงานของระบบวิธีนี้นั้นอาศัยการคำนวณโดยตรงจากสมการ ไม่มีการนำค่าพารามิเตอร์จากการทดลองมาใช้พิจารณาด้วยกัน ซึ่งทำให้วิธีนี้มีการประมาณค่าน้อยมาก ส่งผลให้เกิดความแม่นยำของผลลัพธ์สูง แต่ก็มีข้อจำกัดเหมือนกัน คือเวลาที่ใช้ในการคำนวณนั้นจะใช้เวลานาน รวมถึงจะต้องใช้คอมพิวเตอร์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการคำนวณ นั้นแปลว่าวิธีนี้จะมีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูง

### 1.2.1.3 Semi-empirical method

เป็นวิธีการหนึ่งของการคำนวณเชิงโมเลกุล [19,20] โดยอาศัยหลักการพื้นฐานของกลศาสตร์ควอนตัม (QM) เหมือนกับวิธี Ab Initio ในข้อ 1.2.1.2 ข้างต้น แต่จะใช้ความรู้พื้นฐานของเคมีฟิสิกส์ในเรื่องของสมการ Hartree-Fock [21,22] แทนในการคำนวณ ซึ่งมีความต่างกับสมการชโรดิงเจอร์ตรงที่มี การตัดส่วนที่ยุ่งยากในการคำนวณออกไป แล้วนำค่าพารามิเตอร์การผลการทดลองมาช่วยประมาณค่า แทนที่ค่าในส่วนที่ตัดออกไปแทน ทำให้คำนวณได้ง่ายขึ้น สะดวกขึ้น แต่ก็ยังเป็นข้อด้อยที่หากไม่ทราบค่าจากการทดลองมาก่อนจะไม่สามารถใช้วิธีนี้ได้ แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นวิธีการนี้ก็เป็นหนึ่งในวิธีที่สำคัญในงานทางด้านเคมี การคำนวณที่มีความเหมาะสมสำหรับวิเคราะห์โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ มากกว่าวิธีอื่นแม้จะมีความแม่นยำน้อยกว่าจากพารามิเตอร์ในการทดลอง

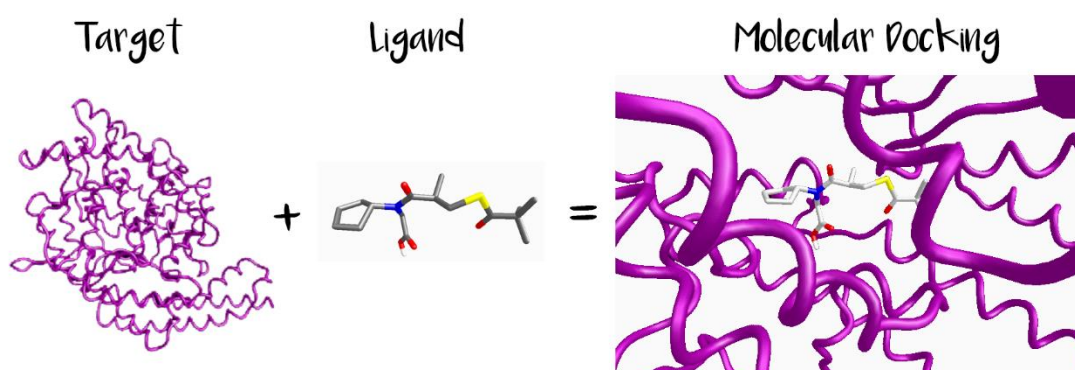
### 1.2.1.4 Density Functional Theory, DFT

เป็นอีกวิธีการหนึ่ง [23,24] ที่ใช้สำหรับวัดโครงสร้างทางอิเล็กทรอนิกส์ของโมเลกุล (Electronic Molecular Structure) โดยทั่วไปแล้วจะสังเกตได้ว่าวิธีการในการคำนวณโครงสร้างทางเคมีคอมพิวเตอร์ ส่วนใหญ่จำเป็นต้องใช้ข้อมูลบางส่วนจากการทดลอง หรือการคำนวณที่ซับซ้อน แต่ในการคำนวณแบบ DFT นี้จะแสดงพลังงานรวมในรูปของความหนาแน่นเพียงหนึ่งอิเล็กตรอน (One-Electron Density) มากกว่าในรูปแบบของฟังก์ชันคลื่น (Wave Function,  $\Psi$ ) ซึ่งถือว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่มีความแม่นยำมากสำหรับระบบที่มีขนาดเล็ก ในบางครั้งการคำนวณที่ต้องการความแม่นยำ และเที่ยงตรงมากยิ่งขึ้นจะใช้วิธีการนี้ ร่วมกับวิธีการ Hartree-Fock Method เพื่อเพิ่มศักยภาพในการคำนวณวิเคราะห์มากขึ้น เรียกการรวมสองวิธีนี้เข้าด้วยกันว่า Hybrid Function Method



## 1.2.2 เทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล

เทคนิคการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลเป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการศึกษาด้านการจำลองการเข้าจับกันของโมเลกุล (Molecular Docking) โดยเทคนิคนี้เหมาะสำหรับใช้ทำนายตำแหน่งที่เหมาะสมที่เป็นไปได้มากที่สุดของโมเลกุลหนึ่งในขณะที่กำลังเกิดอันตรกิริยากับสารประกอบเชิงซ้อนที่อีกโมเลกุลหนึ่งซึ่งเสถียร [25] แล้ว (รูปที่ 1) ซึ่งความรู้ในเรื่องของตำแหน่งที่เหมาะสมในการเข้าจับของทั้งสองโมเลกุล ซึ่งสามารถนำไปใช้ต่อในทางการแพทย์ได้ในการเข้าจับของยาและตัวยับยั้ง จากหลักการของปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนและตัวยับยั้ง โดยตัวยับยั้งที่ดีจะต้องสามารถเข้าจับกับโปรตีนได้อย่างจำเพาะเจาะจงทั้งปัจจัยทิศทาง และขนาด เพื่อให้ได้มาซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรที่สุด เพื่อที่จะนำตัวยับยั้งนั้นไปพัฒนาต่อเป็นยาที่รักษาในอนาคต เทคนิคการเข้าจับเชิงโมเลกุลจึงเป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในบริษัทพัฒนา ยา เนื่องด้วยปัจจุบันมีโครงสร้างสารเชิงซ้อนทางการทดลองน้อยเนื่องจากการทดลองสร้างสารเชิงซ้อนในห้องปฏิบัติการนั้นมีเงื่อนไข และข้อจำกัดอยู่มากเช่น งบประมาณ สถานที่ หรือ ระยะเวลาเป็นต้น ส่งผลให้การศึกษาโครงสร้างของการเข้าจับของโปรตีนและ ตัวยับยั้งในเชิงทฤษฎีที่อาศัยเพียงคอมพิวเตอร์ที่มีสมรรถภาพสูงทำการทดลองแทนนั้นได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น จนนิยมมากกว่าการทดลองจริงในห้องทดลอง



รูปที่ 1 – การหาตำแหน่งที่เหมาะสมในการจำลองการเข้าจับระหว่างโปรตีน(ACE)กับลิแกนด์(Pivalopril)

ปัจจุบันโปรแกรมที่ใช้สำหรับการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล มีอยู่หลากหลายโปรแกรมด้วยกัน ยกตัวอย่างเช่น YUCCA [26], SwissDock [27], GOLD [28], EADock [29], AADS [30], Glide [31], AutoDock Vina [32], DOCK [33], Surflex [34], GEMDOCK [35], FlexX [36], Zdock [37], VoteDock [38], HADDOCK [39], idTarget [40], AutoDock [41] ซึ่งแต่ละโปรแกรมจะใช้เทคนิค ขั้นตอน และวิธี (algorithm) ที่แตกต่างกัน ดังนั้นความเร็ว และความถูกต้องแม่นยำของผลลัพธ์ทั้งในทิศทาง และ ขนาดของการวางตัวลิแกนด์ก็จะขึ้นอยู่กับศักยภาพของแต่ละโปรแกรม โดยโปรแกรมการคำนวณทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นก็จะมีทั้งแบบเสียเงิน และไม่เสียเงิน โดยโปรแกรมการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลที่เป็นโปรแกรมฟรี

และได้รับความนิยมมากที่สุด คือ โปรแกรม AutoDock Vina ที่พัฒนาตัวล่าสุด ดังนั้นในการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงเลือกใช้โปรแกรม AutoDock Vina

AutoDock Vina เป็นโปรแกรมสำหรับคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล และการคัดกรองเสมือนจริง โดยทำการทำนายการเข้าจับกันระหว่างโครงสร้างของตัวรับและตัวยับยั้ง โดยใช้ genetic algorithm [42] สุ่มบริเวณช่องว่างภายในตัวรับ รวมถึงบริเวณที่ตัวยับยั้งเข้าจับกับตัวรับอยู่ตลอดเวลา เพื่อหาตำแหน่งและทิศทางที่เหมาะสมของตัวยับยั้งในการเข้าจับกับตัวรับ โดยโปรแกรมจะทำการหาโครงสร้างที่เสถียร (Optimization) และคำนวณพลังงานเพื่อให้ได้โครงสร้างที่มีค่าพลังงานต่ำที่สุด โดยใช้วิธีทางกลศาสตร์ควอนตัม ซึ่งเป็นวิธีที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง แต่อาจใช้เวลาสูง ดังนั้นจึงเหมาะกับการคำนวณระบบขนาดเล็ก โดยโปรแกรมนี้ใช้ scoring functions [43] ที่มีหน้าที่และพารามิเตอร์ที่หลากหลาย ซึ่งจะดูจากความเหมาะสมในการเข้าจับกันระหว่างตัวรับและตัวยับยั้งที่ใช้เหมาะสมในการเข้าจับกันระหว่างตัวรับและตัวยับยั้งที่ใช้ สามารถคำนวณค่าพลังงานการเข้าจับ (Binding energy) ได้จากระยะทางที่ขึ้นกับแรงกระทำระหว่างคู่อะตอมได้ ดังสมการต่อไปนี้

$E = \sum \text{pair} (d)$  โดยที่  $d$  คือ ระยะทางระหว่างพื้นผิวของสองอะตอม

$d = r - R_i - R_j$  โดยที่  $r$  คือ ระยะทางระหว่างสองอะตอม และ  $R_i$  และ  $j$  คือ รัศมีของอะตอมทั้งสอง

$E_{\text{pair}} (d) = [W_1 \times \text{Gauss1} (d)] + [W_2 \times \text{Gauss2} (d)] + [W_3 \times \text{Repulsion} (d)]$

$+ [W_4 \times \text{Hydrophobic} (d)] + [W_5 \times \text{H-Bond} (d)]$

โดยทั่วไปทุกๆแรงกระทำของคู่อะตอม จะมี 3 พจน์แรกเป็นองค์ประกอบ แต่บางชนิดอะตอมอาจมีผลของแรง Hydrophobic และผลของพันธะไฮโดรเจนด้วย

โดยหลักการทำงานของโปรแกรม AutoDock Vina ในการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลจะประกอบไปด้วยขั้นตอนสำคัญหลักแบ่งออกเป็น 2 ส่วนด้วยกัน ได้แก่

### 1. การสุ่มตำแหน่ง (Sampling)

โดยเป็นการสุ่มตำแหน่งระหว่างตัวยับยั้ง (Inhibitor) ภายในบริเวณเข้าจับ (Binding Site) ของตัวรับ เนื่องจากบริเวณการเข้าจับที่เป็นไปได้จำนวนมากมหาศาล ดังนั้นการคำนวณรูปแบบการเข้าจับให้ครบทุกรูปแบบนั้นไม่สามารถทำได้ทั้งหมด โปรแกรม AutoDock Vina จึงเลือกใช้ขั้นตอนวิธีการเชิงพันธุกรรมในการสุ่มรูปแบบการเข้าจับที่ต่างกัน

#### 1.1 ขั้นตอนวิธีการเชิงพันธุกรรม (Genetic Algorithm, GA) [44]

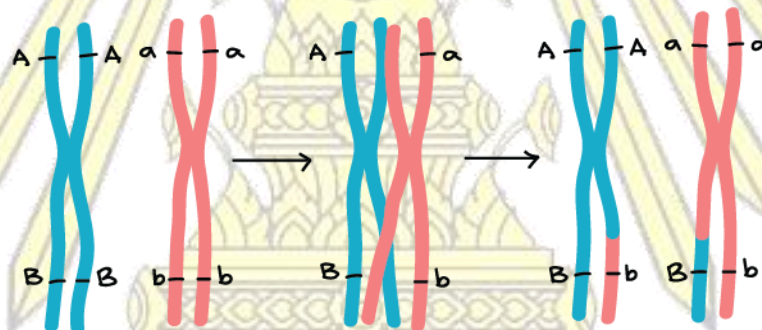
เป็นเทคนิคสำหรับหาผลเฉลย (Solutions) หรือคำตอบโดยประมาณ (Approximation Answers) ของปัญหา (Problems) โดยอาศัยหลักการจากทฤษฎีวิวัฒนาการจากชีววิทยา และการคัดเลือกโดยธรรมชาติ (Natural Selection/ Charles Darwin's Theory) นั่นคือ สิ่งมีชีวิตที่



เหมาะสมที่สุดเท่านั้นจึงอยู่รอด โดยกระบวนการคัดเลือกโดยธรรมชาติจะทำการคัดเลือกโดยการเปลี่ยนแปลงสิ่งมีชีวิตให้เหมาะสมยิ่งขึ้น ด้วยหลายวิธีด้วยกันยกตัวอย่าง การปฏิบัติการทางพันธุกรรม (Genetic Operator) เช่น การสืบพันธุ์ (Inheritance/ Reproduction), การกลายพันธุ์ (Mutation), การแลกเปลี่ยนยีน (Recombination) เป็นต้น

ขั้นตอนวิธีเชิงพันธุกรรมเป็นการจำลองการเข้าจับทางคอมพิวเตอร์ เพื่อแก้ปัญหาหาค่าที่เหมาะสม ใกล้เคียงค่าจริงมากที่สุด โดยการแทนที่คำตอบที่มีอยู่/รูปแบบการเข้าจับ ให้อยู่ในรูปแบบโครโมโซม (Chromosomes) แล้วปรับปรุงคำตอบแต่ละชุดทีละชุด แบบ Individual ด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการวิวัฒนาการ เช่น

1.1.1 การเปลี่ยนแปลงแบบสุ่ม ด้วยตัวปฏิบัติการทางพันธุกรรม (Evolutionary Operator) [45] การเปลี่ยนแปลงแบบนี้ทำเพื่อให้ได้คำตอบที่ดีขึ้น กล่าวคือจะมีการจับคู่กันของโครโมโซม แล้วเกิดการแลกเปลี่ยนยีน เพื่อให้ได้โครโมโซมที่มีความแตกต่างจากเดิม (Crossing Over, รูปที่ 2) ในกรณีการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลนั้น โครโมโซมก็คือรูปแบบการเข้าจับแต่ละแบบโปรแกรมจะทำการจับคู่รูปแบบการเข้าจับของโมเลกุลทั้งสองตัว (โปรตีน, ตัวยับยั้ง) แล้วแลกเปลี่ยนตำแหน่ง ทิศทางกัน เกิดเป็นรูปแบบในการเข้าจับรูปแบบใหม่ๆขึ้นที่มีความแตกต่างจากเดิม



รูปที่ 2 – แสดงการแลกเปลี่ยนยีนบนโครโมโซม (Crossing Over)

1.1.2 การพัฒนา/วิวัฒนาการ (Evolution)

การวิวัฒนาการเกิดขึ้นเพื่อหาคำตอบที่เหมาะสมที่สุด (The Fitness Solution) จะเริ่มจากประชากรที่ได้จากการสุ่มทั้งหมด และจำเป็นรุ่นๆ ในแต่ละรุ่นนั้นจะมีคำตอบอยู่หลายชุดด้วยกัน โดยคำตอบหลายชุดนั้นจะถูกสุ่มเลือกขึ้นมาเพื่อทำการเปลี่ยนแปลง ซึ่งระหว่างการพัฒนาเปลี่ยนแปลงนั้นอาจเกิดการกลายพันธุ์ หรือสลับเปลี่ยนยีนระหว่างกัน จนได้ประชากรรุ่นใหม่ ที่มีค่าความเหมาะสม (Suitable) มากขึ้น การวิวัฒนาการนี้จะทำไปเรื่อยๆ จนกระทั่งพบกับคำตอบที่มีค่าความเหมาะสมตามที่เรากำลังต้องการมากที่สุด (Suitable Solutions)

## 2. การตัดสินประเมินความเหมาะสมของรูปแบบการเข้าจับ

การเข้าจับจะมีหลายรูปแบบด้วยกัน ดังนั้นตำแหน่งของการเข้าจับจะมีมากกว่าหนึ่งรูปแบบซึ่งแต่ละแบบที่ได้มาในตอนแรกเป็นตำแหน่งรูปแบบการจับที่เกิดจากการสุ่มขึ้นมาในขั้นตอนแรก และการสุ่มแต่ละครั้งเราจำเป็นต้องมีหลักการ หรือเกณฑ์ในการให้คะแนนสำหรับคำนวณค่าคะแนน โดยใช้ฟังก์ชันในการให้คะแนน (Scoring Function) ในการประเมินและตัดสินว่าตำแหน่งรูปแบบไหนที่มีความเหมาะสมในการเข้าจับมากกว่ากัน ซึ่งโปรแกรมการคำนวณการเข้าจับแต่ละโปรแกรมจะมีหลักการคล้ายกันแต่จะมีหลักเกณฑ์การตัดสินให้คะแนนในฟังก์ชันการให้คะแนนที่ต่างกันออกไป แต่จุดร่วมที่ทุกโปรแกรมมีความคล้ายกันคือเกือบทุกโปรแกรมนั้นจะมีการให้เกณฑ์เรื่องอันตรกิริยา (Interaction) ระหว่างตัวรับ (Receptor) กับตัวยับยั้ง (Inhibitor) ซึ่งจะประกอบไปด้วยสองแรงที่เราควรให้ความสำคัญด้วยกัน ได้แก่ 1) แรงกระทำสเตอริก (Steric Interaction) และ 2) แรงกระทำไฟฟ้าสถิต (Electrostatic Interaction) ซึ่งแรงกระทำไฟฟ้าสถิตนั้นหากนำมาคำนวณจะต้องใช้ประจุของอะตอมทั้งตัวรับ และตัวยับยั้งในการคำนวณ ดังนั้นหากใช้ทฤษฎีที่แตกต่างกันออกไปเพื่อคำนวณประจุอะตอม ก็จะส่งผลให้คะแนนที่คำนวณได้นั้นออกมาแตกต่างกันเช่นกัน

### 1.2.3 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

การศึกษาตัวยับยั้งของเอนไซม์ [46] ทำให้เราทราบกลไกการออกฤทธิ์ของสารเคมีต่างๆต่อเซลล์และร่างกาย รวมทั้งยังเป็นเครื่องมือที่ดี ในการศึกษากลไกการทำงานของเอนไซม์ในรายละเอียด การยับยั้งแบ่งออกได้ตามบริเวณที่เข้าจับของสารตั้งต้นเรียกว่า การยับยั้งแบบแข่งขัน และ การเข้าจับกันคนละบริเวณกับสารตั้งต้นเรียกว่า การยับยั้งแบบไม่แข่งขัน มักจะเป็นความในการเปลี่ยนโครงสร้างของเอนไซม์ หรือกระทบต่อจลศาสตร์ของเอนไซม์ โดยสามารถอธิบายโดยละเอียดคือ

#### 1. การยับยั้งแบบแข่งขัน (Competitive Inhibition)

การยับยั้งแบบนี้ตัวยับยั้งจะมีโครงสร้างเหมือนหรือคล้ายโครงสร้างของสารตั้งต้น จึงสามารถเข้าจับบริเวณเร่ง (active site) บนเอนไซม์ได้ การยับยั้งแบบนี้สามารถผันกลับได้ (reversible) เพราะ ว่าตัวยับยั้งและสารตั้งต้นพยายามแข่งขันกันเข้าจับบริเวณเร่งของเอนไซม์ หากตัวใดมีความเข้มข้นมากกว่าหรือโครงสร้างการเข้าจับเหมาะสมกว่า ก็จะเข้าจับได้ดีกว่า โดยการยับยั้งแบบย้อนกลับจะเกิดขึ้นเมื่อกำจัดตัวยับยั้งออกจากสารละลาย หรือเพิ่มความเข้มข้นสารตั้งต้น

#### 2. การยับยั้งแบบไม่แข่งขัน

การยับยั้งแบบไม่แข่งขันนี้ ตัวยับยั้งจะไม่เข้าแข่งขันจับกับบริเวณเร่งโดยตรง แต่จะยับยั้งโดยการเข้ารบกวนการเกิดสารเชิงซ้อนเอนไซม์-สารตั้งต้น การยับยั้งแบบไม่แข่งขันนี้สามารถผันกลับได้โดยการกำจัดตัวยับยั้งออกไปจากสารละลาย แต่จะไม่ย้อนกลับหากเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของสาร



ตั้งต้น เพราะว่าตัวยับยั้งและสารตั้งต้นไม่ได้จับอยู่ในบริเวณเดียวกัน โดยจะแบ่งเป็น 2 แบบย่อยด้วยกันได้แก่

## 2.1 การยับยั้งแบบ Noncompetitive Inhibition

เป็นการยับยั้งที่ตัวยับยั้งเข้าจับที่อื่นที่ไม่ใช่บริเวณเร่ง(Binding Site) โดยเข้าจับกับสารเชิงซ้อนของเอนไซม์กับสารตั้งต้น และเอนไซม์อิสระ หรือกล่าวอีกอย่างว่าตัวยับยั้งแบบนี้เข้าจับ

### Enzyme Inhibition (Mechanism)

	▶ Competitive	■ Non-competitive	◀ Uncompetitive
Cartoon Guide	<p>Substrate Inhibitor Compete for active site</p>	<p>Different site</p>	
Equation and Description	$E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$ <p>+ I ↓↑ E/I</p> <p>[I] binds to free [E] only, and competes with [S]; increasing [S] overcomes inhibition by [I].</p>	$E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$ <p>+                    + I                    I ↓↑                ↓↑ E/I + S → E/I S</p> <p>[I] binds to free [E] or [ES] complex; Increasing [S] can not overcome [I] inhibition.</p>	$E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$ <p>+ I ↓↑ E/S</p> <p>[I] binds to [ES] complex only, increasing [S] favors the inhibition by [I].</p>

Dhirendra Kumar Chauhan M.Sc. Zoology DDUGU Gorakhpur

กับเอนไซม์ได้โดยไม่สนว่ามีสารตั้งต้นจับกับเอนไซม์หรือไม่ พบว่าตัวยับยั้งแบบนี้ไม่รบกวนการจับของสารตั้งต้นที่บริเวณเร่ง แต่ทำให้โครงสร้างของเอนไซม์เปลี่ยนไป ทำให้หมู่คະตะไลติกไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ จึงเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นผลิตภัณฑ์ได้น้อยลงหรือเปลี่ยนไม่ได้เลย

## 2.2 การยับยั้งแบบ Uncompetitive Inhibition

เป็นการยับยั้งที่ตัวยับยั้งเข้าจับเฉพาะกับสารประกอบเชิงซ้อนของเอนไซม์และสารตั้งต้น แต่ไม่จับกับเอนไซม์อิสระ ผลของการจับของตัวยับยั้งทำให้เอนไซม์เสียโครงรูปไป ทำให้ความสามารถในการเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์ลดลงหรือหมดไป

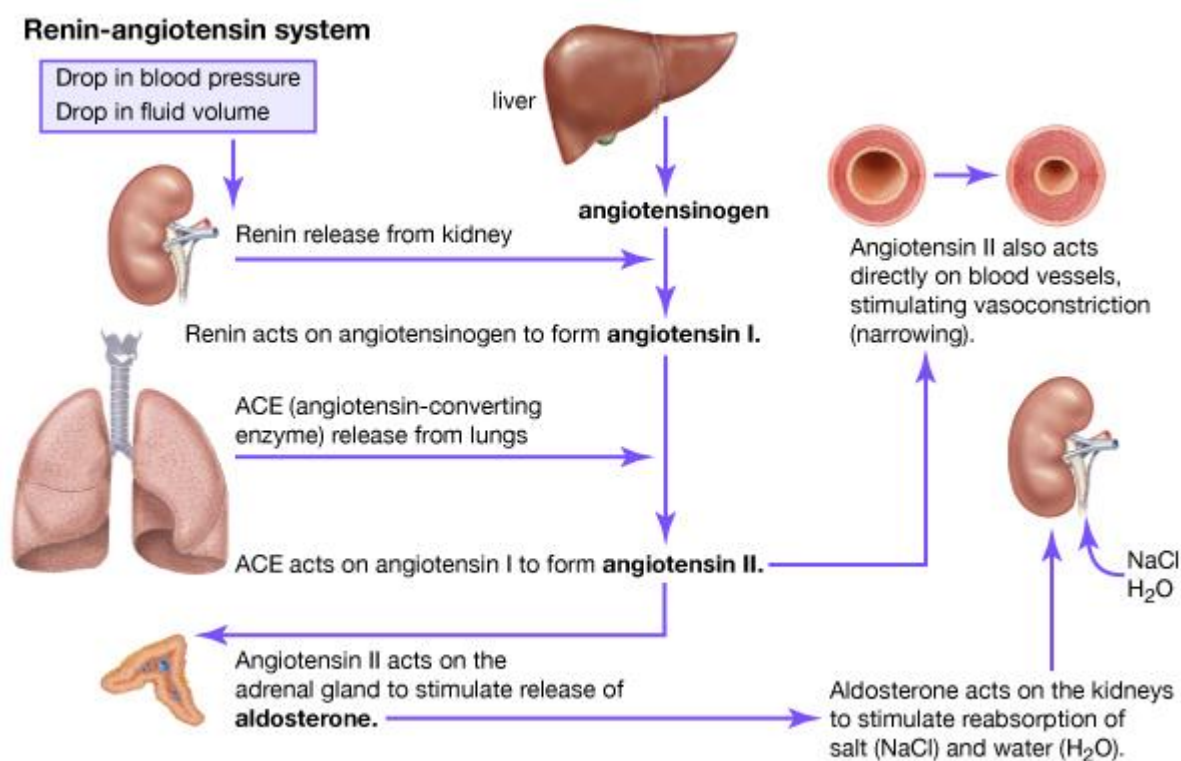
โดยสามารถอธิบายการยับยั้งทั้งสามรูปแบบที่ต่างกันได้อย่างง่ายด้วยภาพที่

รูปที่ 3 - แสดงความแตกต่างของการยับยั้งทั้งสามรูปแบบ

## 1.3 โรคความดันโลหิตสูง

โรคความดันโลหิตสูงมีสาเหตุหนึ่งมาจากการหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดจากฮอว์โมน แองจิโอเทนซิน (Angiotensin) ที่มีต้นกำเนิดมาจากฮอว์โมนแองจิโอเทนซิโนเจน (Angiotensinogen) ที่กำสร้างโดยบริเวณ

ดับ โดยฮอร์โมนแองจิโอเทนซินสามารถแบ่งได้หลายชนิดเช่น Angiotensin I, Angiotensin II, Angiotensin II และ Angiotensin IV เป็นต้นซึ่งแต่ละชนิดทำให้หดตัวของหลอดเลือดได้มากน้อยต่างกัน นอกจากนี้ยังควบคุมระดับเกลือในเลือด ซึ่งกระบวนการนี้จะทำงานร่วมกันระหว่างตับ ตไตและต่อมหมวกไตจากฮอร์โมนทั้ง 3 ตัวได้แก่ แองจิโอเทนซินจากตับ เรนินจากไต และ แอลโดสเตอโรน (Aldosterone) จากต่อมหมวกไต และเรียกระบวนการนี้ว่า Renin angiotensinsystem (RAS) หรือ Renin angiotensin aldosterone system (RAAS) ดังแสดงในรูปที่ 4 โดยกลไกการทำงานของเอนไซม์ แองจิโอเทนซิโนเจนคือการเปลี่ยนฮอร์โมนจากไตที่เรียกว่า เรนิน (Renin) ให้เป็น ฮอร์โมนแองจิโอเทนซิน I จากนั้นในส่งต่อไปยังปอดเพื่อเปลี่ยนเป็น ฮอร์โมนแองจิโนเทนซิน II และร่างกายจะเปลี่ยนเป็นชนิดที่ 3,4 ตามลำดับแต่ยังไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนในการสร้าง



© Encyclopædia Britannica, Inc. <https://www.britannica.com/science/renin-angiotensin-system>

รูปที่ - 4 Renin angiotensin aldosterone system (RAAS)

#### 1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ.2009 Pina และ Roque [47] ทำการวิจัยเกี่ยวกับโปรตีนในน้ำนมที่นำมาใช้ในการลดความดันโลหิตในแพทย์พื้นบ้าน สำหรับคนที่อาจจะเกิดอาการแพ้ในยาสังเคราะห์ทางเคมี ซึ่งจากการนำมาคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลแล้วพบว่าเปปไทด์จากธรรมชาติเหล่านี้สามารถยับยั้ง angiotensin-converting enzyme (ACE) ได้โดยพบว่ามีเกิดการเกิดปฏิสัมพันธ์กับ ACE คล้ายกับการเกิดปฏิสัมพันธ์กับยาที่สังเคราะห์จำพวก Lisinopril และ Captopril



ในปีเดียวกัน Kini, Chaudhary และ Arora [48] เริ่มศึกษาเกี่ยวกับการค้นหาสารยับยั้ง ACE ที่ไม่มีกลุ่มของซัลไฟไฮไดรล (Sulphydryl) ที่นำไปสู่การตรวจเจอฟอสฟอรัส(Phosphorus)อยู่ในสารประกอบด้วย เพราะจากการศึกษาพบว่าสารที่มีฟอสฟอรัสอยู่ในองค์ประกอบด้วยยังสามารถทำให้เกิดการรบกวนการเข้าจับได้ และเมื่อเขานำสารยับยั้งทั้ง 6 ตัวอย่างมาเทียบกันเพื่อหาคะแนนการเข้าจับเชิงโมเลกุลเพื่อหาตัวที่ประสิทธิภาพดีที่สุด โดยพบว่าสารประกอบ A2 ที่ไม่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบให้ประสิทธิภาพดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกันกับการตั้งสมมติฐานในการหาสารยับยั้งที่ไม่มีกลุ่มของซัลไฟไฮไดรลอยู่ด้วยจะส่งผลให้ยาเกิดประสิทธิภาพดีที่สุดในปีต่อมา

ในปี ค.ศ.2013 Victor และคณะ [49] ได้ทำการศึกษาการเข้าจับของสารประกอบ heterocyclic ที่มีความสัมพันธ์กับ angiotensin-converting enzyme (ACE) และแสดงว่าสารประกอบเหล่านั้นสามารถยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวได้ โดยใช้วิธีการทางคอมพิวเตอร์ และนำสารประกอบเชิงซ้อนเหล่านั้นมาเปรียบเทียบกับสารที่มีอยู่แล้วในการรักษาโรคความดันโลหิตสูง และพบว่าสารกลุ่มที่เขาทำการศึกษานั้นมีการตอบสนองที่เป็นไปในทางบวก ดังนั้นสามารถเสนอกิจกรรมของสารนี้เป็นหนึ่งในตัวช่วยในการรักษาอาการจากความดันโลหิตสูงได้ และสามารถยืนยันได้ว่าการสังเคราะห์สารประกอบ heterocyclic นี้ทำได้ง่ายและสามารถรักษาร่วมกันอาการของโรคหัวใจ กับหลอดเลือดไปในตัวได้ด้วย

จากงานวิจัยที่ผ่านมาสังเกตเห็นได้ว่า มีการศึกษาหาโครงสร้างของสารยับยั้ง แองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์ และการคิดค้นพัฒนายารักษาโรคความดันโลหิตสูงชนิดใหม่ๆ อย่างต่อเนื่อง ซึ่งการนำวิธีการทางเคมีคำนวณ และเทคโนโลยีทางคอมพิวเตอร์เข้ามาช่วยในการคำนวณหาโครงสร้างของยาที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อยับยั้ง แองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์แล้วจะสามารถช่วยงบประมาณในการทดลอง และสามารถลดระยะเวลาในขั้นตอนการคัดกรองหาสารยับยั้งก่อนนำไปทดสอบในห้องปฏิบัติการ

ดังนั้นงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาโครงสร้างการเข้าจับระหว่างแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์กับตัวยับยั้งแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์ทั้งหมด 24 ตัว(ดังตารางที่1) โดยใช้โปรแกรม AutoDock Vina เป็นโปรแกรม ในการคำนวณการเข้าจับระหว่างตัวรับกับตัวยับยั้ง

## 1.5 วัตถุประสงค์

ศึกษารูปแบบ อันตรกิริยา และตำแหน่งการเข้าจับระหว่างตัวรับ (Receptor, ACE) กับสารยับยั้งโดยใช้วิธีการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล

## 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลโครงสร้างการเข้าจับ และอัตรกิริยาระหว่างตัวรับ (Receptor, ACE) กับสารยับยั้งที่เหมาะสมสำหรับการเข้าจับเชิงโมเลกุลด้วยโปรแกรม AutoDock Vina

## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 อุปกรณ์ และ เครื่องมือที่เกี่ยวข้อง

##### 2.1.1 คอมพิวเตอร์

2.1.1.1 เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล (Personal Computer)

##### 2.1.2 โปรแกรมที่เกี่ยวข้อง

2.1.2.1 HyperChem เป็นโปรแกรมสำหรับสร้างโครงสร้างของลิแกนด์ต่างๆ

2.1.2.2 MOPAC 2016 เป็นโปรแกรมสำหรับคำนวณปรับโครงสร้างของตัวยับยั้ง

2.1.2.3 OpenBabel เป็นโปรแกรมสำหรับแปลงไฟล์

2.1.2.4 VEGA ZZ เป็นโปรแกรมสำหรับเตรียมไฟล์รูปแบบต่างๆ และคำนวณทางด้าน Molecular Docking และใช้กำหนดจุดกึ่งกลางของตัวยับยั้ง

2.1.2.5 AutoDock Tools 1.5.6

2.1.2.6 AutoDock Vina

##### 2.1.3 ฐานข้อมูลของโปรตีน (Protein Data Bank)

ใช้ข้อมูลจากคลังข้อมูลโปรตีน (protein data bank) ซึ่งมีสารเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนกับตัวยับยั้ง และ โปรตีนโดดเดี่ยว

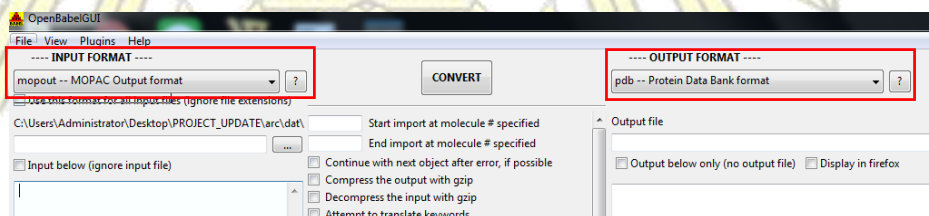




## 2.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

### 2.2.1 การเตรียมโครงสร้างของตัวยับยั้ง

- ใช้โปรแกรม HyperChem ในการวาดรูปโครงสร้าง 3 มิติของสารลิแกนด์ ดังตารางที่ 1 (ภาคผนวก) ทั้งหมดขึ้นมาก่อน
- ทำการคำนวณปรับโครงสร้าง (Geometry Optimize) ด้วยระบบ MM และ Semi-empirical AM1 ตามลำดับ
- บันทึกไฟล์เป็นนามสกุล .hin
- เปิดโครงสร้างที่ได้ในโปรแกรม VEGA ZZ และบันทึกไฟล์ใหม่เป็นนามสกุล .dat (Mopac Cartesian File Format)
- ใช้โปรแกรม Notepad เปิดไฟล์นามสกุล .dat แก้ไขข้อความบรรทัดแรกให้เป็น OPT PM7 PRECISE GEO-OK CHARGE=0
- ทำการ Optimize ลิแกนด์ด้วยโปรแกรม MOPAC 2016 เมื่อการคำนวณเสร็จสิ้นจะได้ไฟล์นามสกุล .arc และ .out
- เปิดไฟล์ .out ที่ได้จากขั้นตอนก่อนหน้าด้วยโปรแกรม OpenBabel เพื่อแปลงไฟล์เป็นไฟล์นามสกุล .pdb ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 5 แสดงการเปลี่ยนนามสกุลไฟล์ด้วยโปรแกรม OpenBabel

- ทำการผสมอะตอมไฮโดรเจนชนิดนอนโพลาร์ เข้ากับอะตอมที่มันต่ออยู่ พร้อมกับจัดเตรียมข้อมูลเกี่ยวกับพันธะที่หมุนได้ในโมเลกุล เพื่อทำ flexible docking
- ใช้โปรแกรม ADT ตั้งค่า parameters ต่างๆของตัวยับยั้ง เช่น ตรวจสอบตำแหน่งศูนย์กลางการหมุนส่วนต่างๆของโมเลกุลด้วยยับยั้ง พันธะที่สามารถหมุนได้ และ จำนวนพันธะที่ไม่สามารถหมุนได้
- บันทึกไฟล์ออกมาในนามสกุล .pdbqt



## 2.2.2 Code ของตัวยับยั้งทั้งหมด 24 ตัว

Inhibitor	Code	Inhibitor	Code	Inhibitor	Code
Utibapril	1a	Alacepril	1i	Rentiapril	1q
Spirapril	1b	Temocapril	1j	Rescinnamine	1r
Trandolapril	1c	Gemopatrilat	1k	Quinapri	1s
Imidapril	1d	Quercetin	1l	Zofenopril	1t
Perindopril	1e	Ramipril	1m	Fosinopril	1u
Benazepril	1f	Lisinopril	1n	Pivalopril	1v
Cilazapril	1g	Omapatrilat	1o	Captopril	1w
Moexipril	1h	Enapril	1p	Delapril	1x

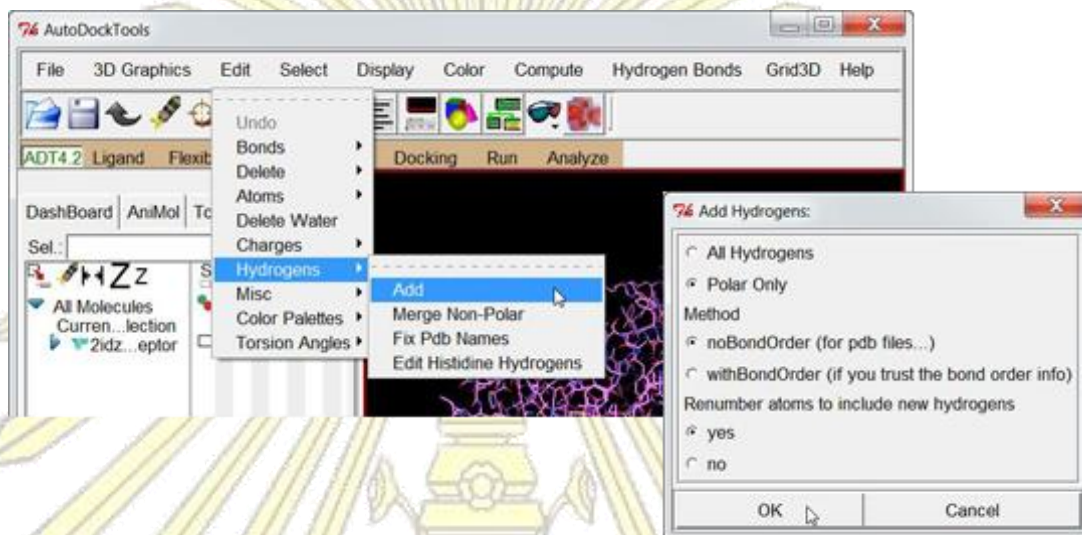
## 2.2.3 การเตรียมโครงสร้างของตัวรับ

- ค้นหาโครงสร้างของตัวรับ (Receptor) ในคลังข้อมูลโปรตีน (Protein Data Bank) ที่เว็บไซต์ <http://www.rcsb.org> และโหลดโครงสร้างออกมาในรูปแบบไฟล์ของ pdb ดังแสดงในรูปที่ 6

The screenshot shows the RCSB PDB website interface. At the top, there is a navigation bar with links for Deposit, Search, Visualize, Analyze, Download, Learn, and More. Below this is the PDB logo and a search bar. The main content area is divided into several sections: a 'Welcome' message, a 'A Structural View of Biology' section with introductory text, a 'New Video: What is a Protein?' section with a video thumbnail, and a 'April Molecule of the Month' section featuring a 3D model of Dehalogenases.

รูปที่ 6 แสดงหน้า web ของคลังข้อมูลโปรตีน

- ใช้โปรแกรม ADT ในการลบโมเลกุลของสารอื่นที่อยู่ในบริเวณที่เข้าจับ (Binding Site) เช่น ตัวทำละลายหรือสารยับยั้งที่อาจจะขัดขวางการเข้าจับของลิแกนด์ (สารที่เราต้องการคำนวณการเข้าจับ) ออกให้เหลือเพียงตัวรับที่เราต้องการ
- เปิดใช้โปรแกรม AutoDock Tools ในการเติมPolar Hydrogen atom เข้าไปในโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 7



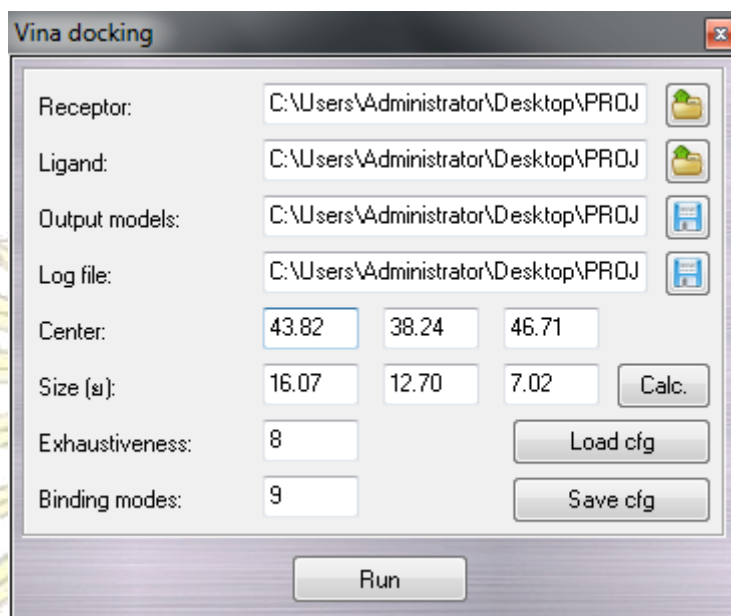
รูปที่ 7 แสดงการเติมไฮโดรเจนอะตอมในโครงสร้าง

- ใช้ ADT กำหนดชนิดของอะตอม (AD4) ให้ตรงตามที่โปรแกรม AutoDock Vina รู้จัก
- บันทึกไฟล์ในนามสกุล .pdbqt

## 2.2.4 การคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล

- เปิดไฟล์โครงสร้างตัวยับยั้ง เข้าด้วยกันด้วยโปรแกรม VEGA ZZ หากจุดศูนย์กลางโมเลกุล
- ระบุไฟล์โครงสร้างของตัวรับ และตัวยับยั้งที่เตรียมได้จากข้อ 2.2.1 และ 2.2.2 (โดยที่ไฟล์ที่ใช้เป็นไฟล์นามสกุล .pdbqt)
- ระบุขนาดของกล่องที่ใช้กำหนดบริเวณการคำนวณให้ครอบคลุมบริเวณเข้าจับ (บวกเพิ่มจากขนาดของโมเลกุลตามแนวแกน x,y,z ด้วย 21.5) และระบุตำแหน่งของกล่องที่ใช้กำหนดบริเวณการทำให้ครอบคลุม กำหนดอยู่ที่ (43.82,38.24,46.71) คือบริเวณของ Zn ในตัวรับบริเวณเข้าจับ (binding site) ของตัวรับเพื่อให้โปรแกรม AutoDock Vina ทำการคำนวณค้นหาตำแหน่งที่ของตัวยับยั้งเฉพาะภายในบริเวณกล่องนี้เท่านั้น

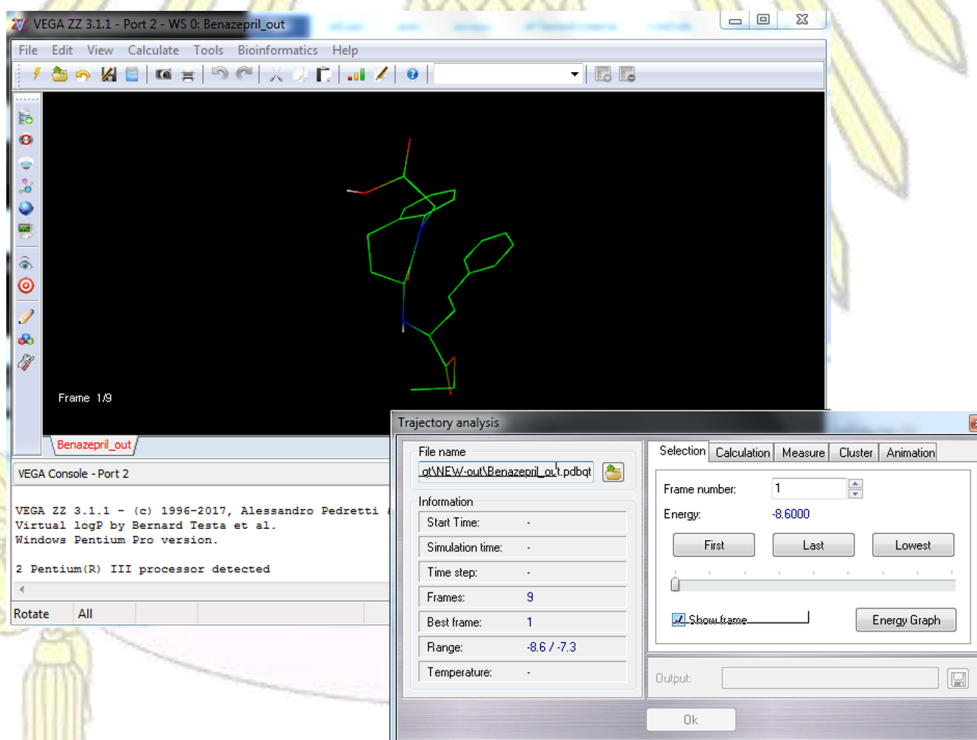
- ระบุ กด Run เพื่อเริ่มทำการคำนวณหาการเข้าจับเชิงโมเลกุล ดังแสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 8 แสดงการกำหนดขอบเขตของการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุลให้ครอบคลุมบริเวณเข้าจับของโปรตีน

## 2.2.5 การวิเคราะห์ผลการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล

- เปิดไฟล์ผลการคำนวณในนามสกุล .pdbqt ที่ได้จากการคำนวณในข้อ 2.2.3 ด้วยโปรแกรม VEGA ZZ โปรแกรมจะแสดงโครงสร้างการเข้าจับแต่ละโหมด ดังแสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 9 แสดงโครงสร้างของตัวยับยั้งในที่ได้จากการคำนวณการเข้าจับ



- บันทึกแคโทดแรก (โหมดที่ 1) ซึ่งมีพลังงานต่ำที่สุดเป็นไฟล์นามสกุล .mol
- รวมไฟล์ของตัวรับและตัวยับยั้ง เข้าด้วยกันด้วยโปรแกรม VEGA ZZ ให้ได้โครงสร้างที่มีลิแกนด์จับอยู่กับตัวรับ
- เลือกรศดอะมิโนที่อยู่รอบตัวยับยั้งในระยะ 6 Å และแสดงพันธะไฮโดรเจน
- ทำตารางบันทึกข้อมูลและเปรียบเทียบการเกิดของพันธะไฮโดรเจน

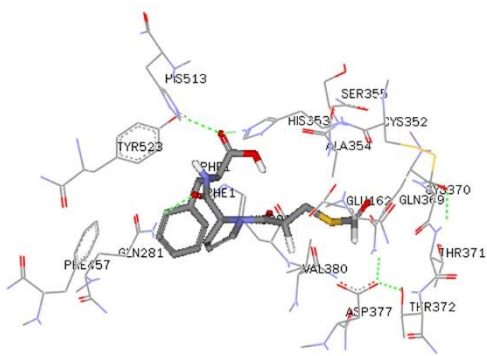


## บทที่ 3

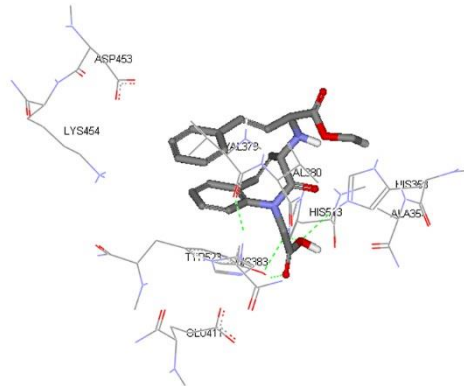
### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างสารยับยั้ง (ACE Inhibitors) ทั้ง 24 ตัว กับ เอนไซม์ angiotensin converting enzyme (ACE Native) จะพบว่ามี การเข้าจับคนละตำแหน่งกัน ทำให้ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการรักษาโรคความดันโลหิตสูงที่ไม่เท่ากันหลังจากคำนวณการเข้าจับโดยโปรแกรม AutoDock Vina แล้วผู้วิจัยจึงเลือกโครงสร้างที่มีค่าพลังงานต่ำที่สุดมาเพื่อวิเคราะห์ต่อ เปรียบเทียบระหว่างโครงสร้างของตัวยับยั้งที่แตกต่างกัน

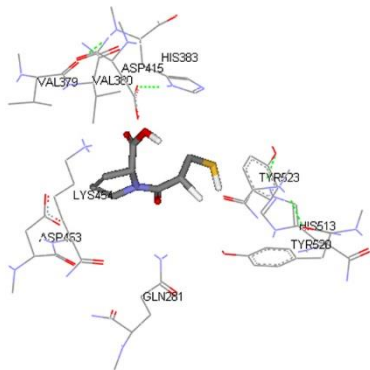
#### 3.1 ผลโครงสร้างการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่าง ACE และ ACE Inhibitors ทั้ง 24 ตัว



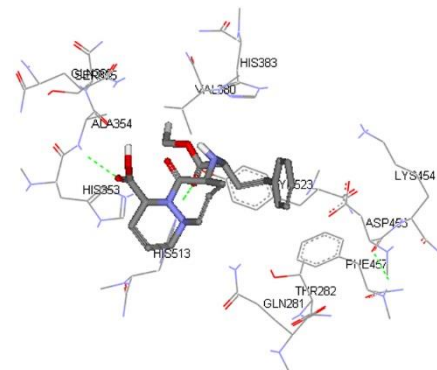
รูปที่ 10 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Alacepril (1i)



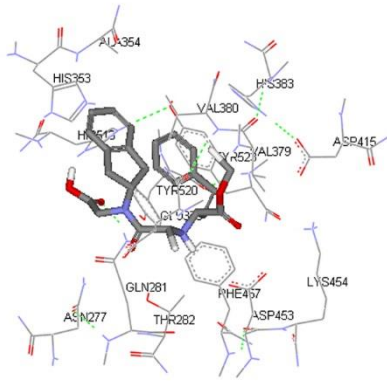
รูปที่ 11 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Benazepril (1f)



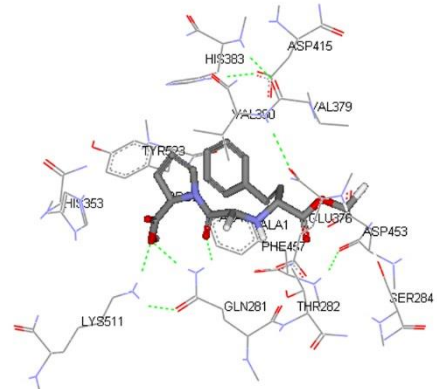
รูปที่ 12 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Captopril (1w)



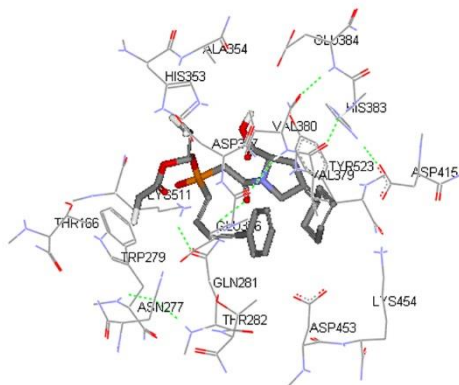
รูปที่ 13 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Cilazapril (1g)



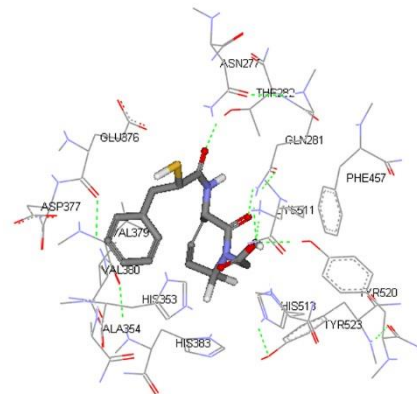
รูปที่ 14 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Delapril (1x)



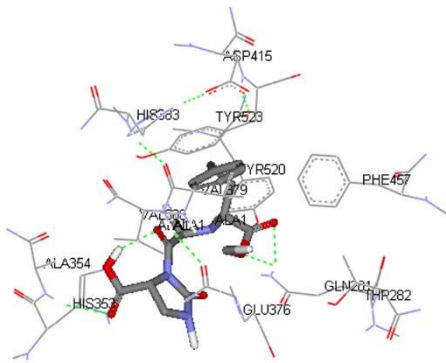
รูปที่ 15 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Enalapril (1p)



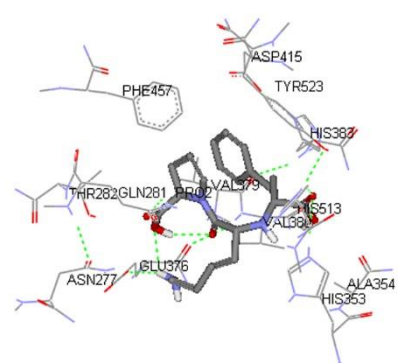
รูปที่ 16 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Fosinopril (1u)



รูปที่ 17 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Gemopatrilat (1k)

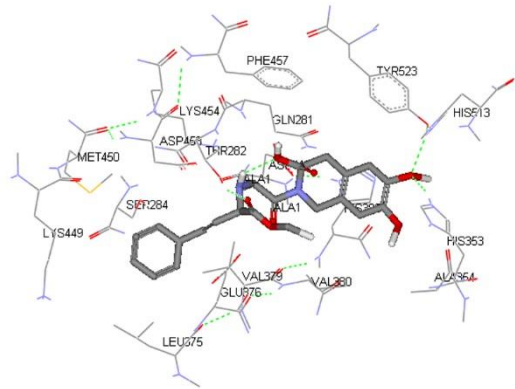


รูปที่ 18 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Imidapril (1d)

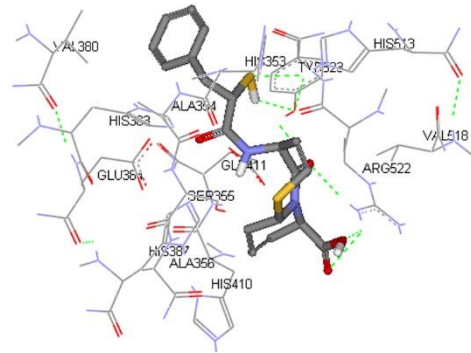


รูปที่ 19 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Linsinopril (1n)

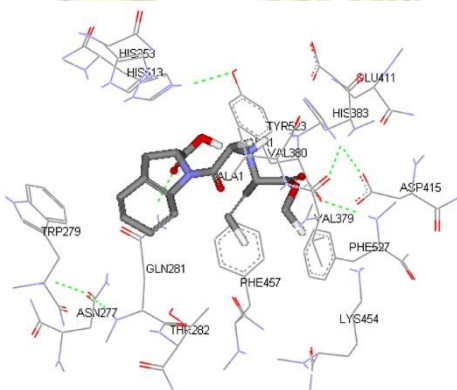




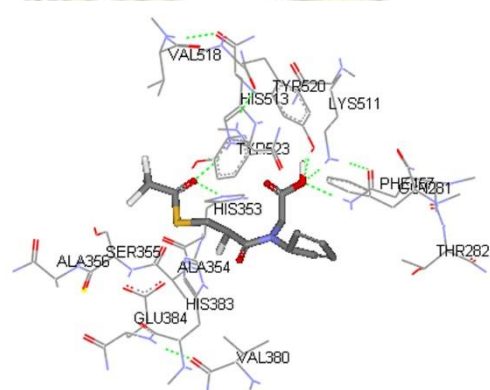
รูปที่ 20 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Moexipril (1h)



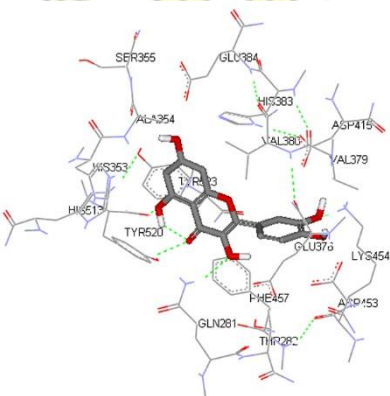
รูปที่ 21 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Omapatrilat (1o)



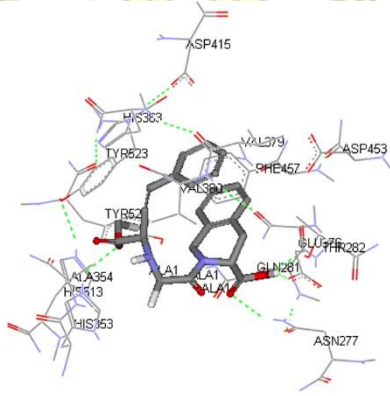
รูปที่ 22 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Perindopril (1e)



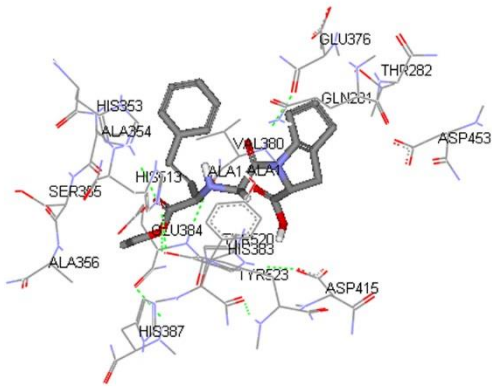
รูปที่ 23 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Pivalopril (1v)



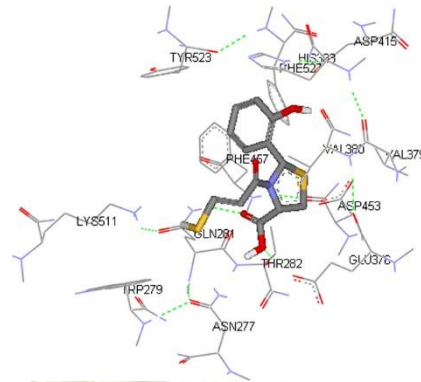
รูปที่ 24 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Quercetin (1l)



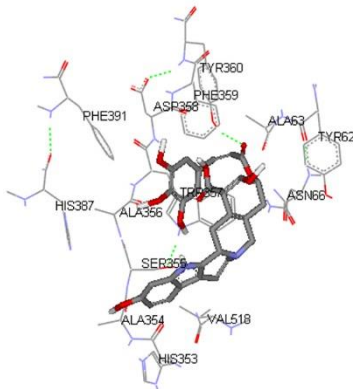
รูปที่ 25 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Quinapril (1s)



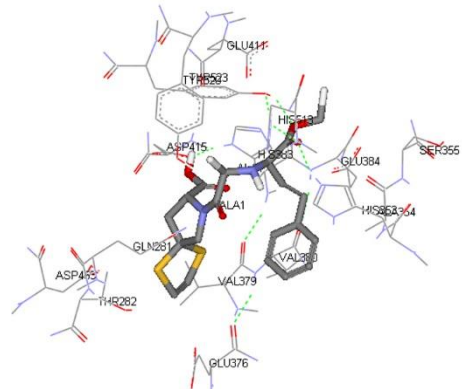
รูปที่ 26 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Ramipril (1m)



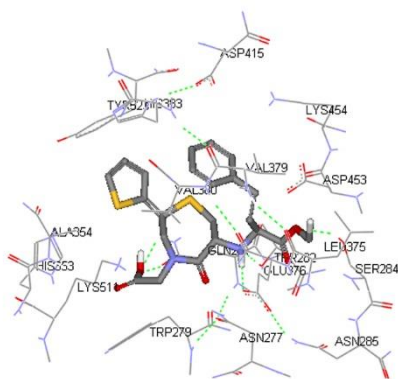
รูปที่ 27 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Rentiapril (1q)



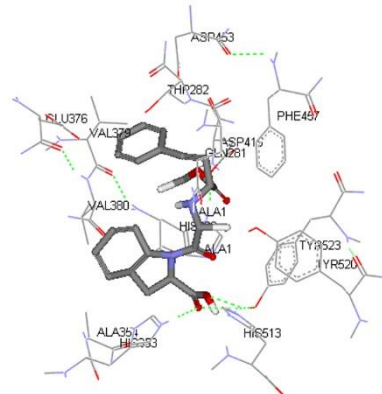
รูปที่ 28 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Rescinnamine (1r)



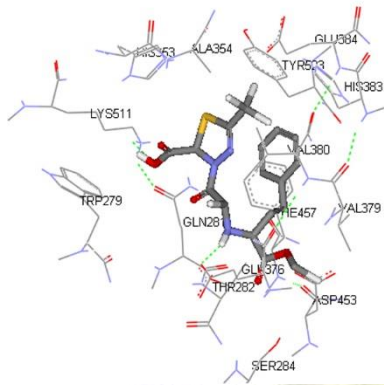
รูปที่ 29 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Spirapril (1b)



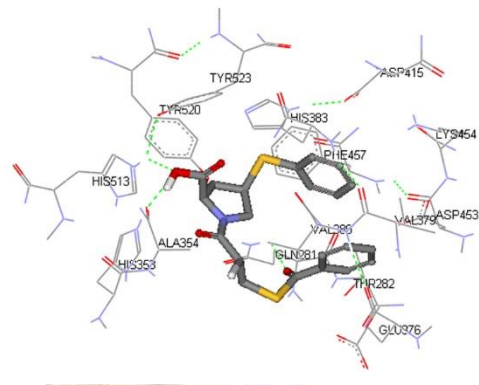
รูปที่ 30 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Temocapril (1j)



รูปที่ 31 - โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ  
ACE และตัวยับยั้ง Trandolapril (1c)

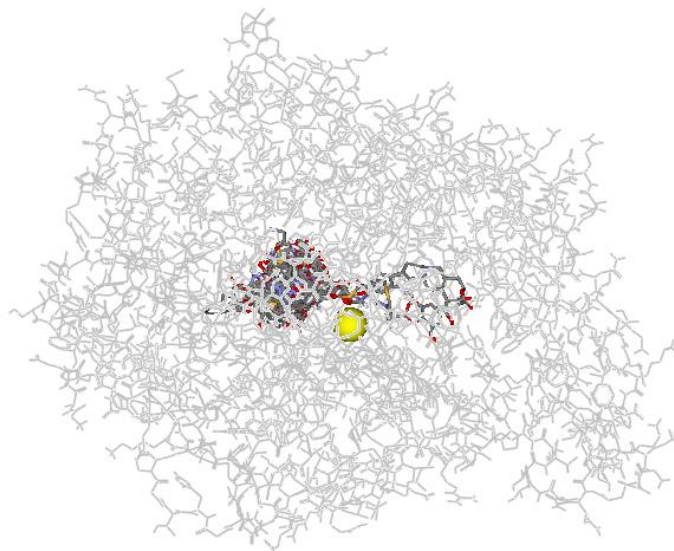


รูปที่ 32 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Utibapril (1a)



รูปที่ 33 – โครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ ACE และตัวยับยั้ง Zofenopril (1t)

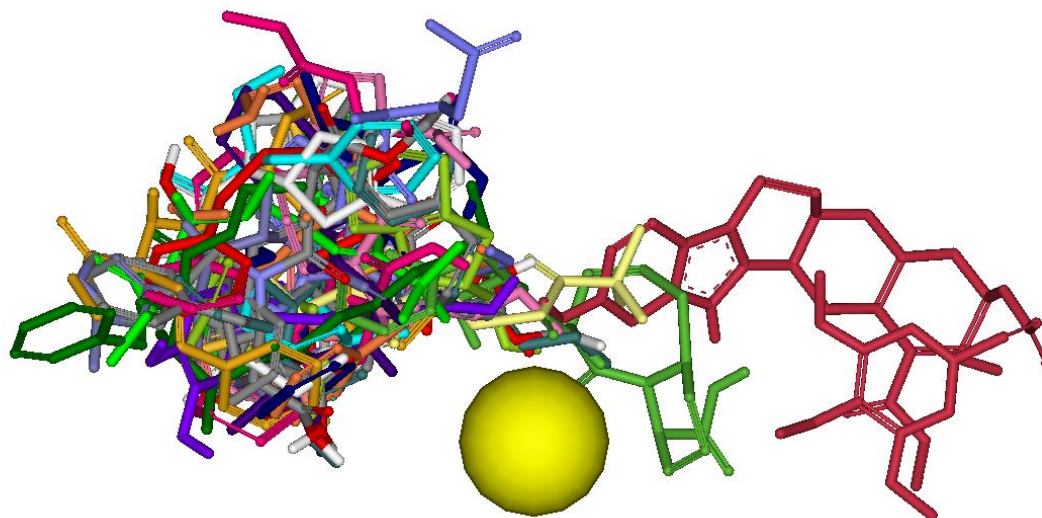
จากผลโครงสร้างการเข้าจับเชิงโมเลกุลระหว่างแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์ที่ส่งผลต่อโรคความดันโลหิตสูงกับตัวยับยั้งแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติง เอนไซม์ทั้ง 24 ตัวที่นำมาทำการทดลอง พบว่าลักษณะการเข้าจับของตัวยับยั้งจะอยู่ในบริเวณเดียวกันคือบริเวณที่มีสังกะสี ( $Zn^{2+}$ ) ของเอนไซม์ตัวรับอยู่ (รูปที่ 33) และ Zinc เป็นองค์ประกอบสำคัญของบริเวณเร่ง (catalytic binding site) เอนไซม์ ACE



รูปที่ 34 – (สีเหลือง) แสดงถึง Zn ที่มีอยู่ในเอนไซม์(สีเทา) และบริเวณเข้าจับของสารยับยั้งและตัวรับทั้ง 24 ตัว และเมื่อนำตัวยับยั้งทุกตัวที่ได้จากการคำนวณโดยเลือกเฉพาะตัวที่มีพลังงานต่ำที่สุด นั่นคือมีความเสถียรที่สุดมารวมกัน (รูปที่ 35) จะพบว่าตำแหน่งการเข้าจับของตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัวมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน ผู้วิจัยคิดว่าเป็นสาเหตุมาจากการที่ตัวยับยั้งทุกตัวมีวงแหวนและมีไนโตรเจนร่วมอยู่ด้วยในโครงสร้าง และ ซึ่งไนโตรเจนมีความต้องการจ่ายอิเล็กตรอนมากกว่าในสังกะสีเนื่องจาก สมบัติของสังกะสีในกลุ่มทรานซิชัน (transition elements) ทำให้มีการอยากรับอิเล็กตรอนมากกว่า และนอกจากนี้หากสังเกตอย่างชัดเจนจะพบว่าบริเวณของตัวยับยั้งที่เข้ามาเกิดปฏิกิริยาใกล้กับสังกะสีนั้นจะหันหมู่ฟีนิลเข้ามาหา และนำ



สายไปพันรอบกับกรดอะมิโนตัวอื่น และอาจเกิดพันธะระหว่างกรดอะมิโนและตัวยับยั้งในสิ่งที่จะกล่าวถึงในหัวข้อถัดไป



รูปที่ 35 – แสดงลักษณะการเข้าจับของตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัวใน ACE และ ตำแหน่ง Zn (สีเหลือง)

### 3.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า half maximal inhibitory concentration ( $IC_{50}$ )

เบื้องต้นค่า  $IC_{50}$  คือค่าความเข้มข้นของสารที่สารมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ 50% ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานกลาง (Median of the effectiveness) ที่สามารถดูและแปลผลได้ง่าย โดยที่ค่า  $IC_{50}$  สามารถบอกประสิทธิภาพของยา (ตัวยับยั้ง) ที่เรานำมาคำนวณหาโครงสร้างการเข้าจับได้ เพราะ หากตัวยับยั้งไหนมีค่า  $IC_{50}$  น้อยนั้นก็แปลว่าตัวยับยั้งนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอยู่สูง ก่อให้เกิดผลดี โดยในการทดลองเราจะแบ่งกลุ่มตัวยับยั้งทั้งหมด 24 ตัวของเราเป็น 3 กลุ่มย่อยได้แก่ H, M และ L Set โดยใช้เกณฑ์จากค่า  $IC_{50}$  อ้างอิงจากตารางที่ 2 ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่มีค่า activity สูงแทนด้วย “H Set” โดยกำหนดให้ตัวยับยั้งที่อยู่ในกลุ่มนี้มีค่า  $IC_{50}$  อยู่ในช่วงที่มีค่าน้อยกว่า 1 นาโนโมลาร์ ซึ่งประกอบไปด้วย Spirapril, Utibapril และ Trandolapril

กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่มีค่า activity ปานกลางแทนด้วย “M Set” โดยกำหนดให้ตัวยับยั้งที่อยู่ในกลุ่มนี้มีค่า  $IC_{50}$  อยู่ในช่วงที่มีค่ามากกว่า 1 และน้อยกว่า 10 นาโนโมลาร์ ได้แก่ Imidapril, Perindopril, Benazepril, Cilazapril, Moexipril, Alacepril, Temocapril, Gemopatrilat, Quercetin, Lisinopril, Omapatrilat, Enapril, Quinapril, Ramipril, Rentiapril, Rescinnamine และ Zofenopril

และกลุ่มสุดท้ายกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่มีค่า activity ต่ำแทนด้วย “L Set” โดยกำหนดให้ตัวยับยั้งที่อยู่ในกลุ่มนี้มีค่า IC<sub>50</sub> อยู่ในช่วงที่มีค่ามากกว่า 10 นาโนโมลาร์ ได้แก่ Fosinopril, Pivalopril, Captopril และ Delapril

ตารางที่ 1 แสดงค่า Ic50 ของตัวยับยั้งที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 24 ตัว

Inhibitor	Ic50 (nM)	Inhibitor	Ic50 (nM)	Inhibitor	Ic50 (nM)	
H-Set	Spirapril	0.8	M-Set	Alacepril	2.9	
	Utibapril	0.8		Temocapril	3.6	
	Trandolapril	0.93		Gemopatrilat	3.6	
M-Set	Imidapril	1		Quercetin	3.8	
	Perindopril	1.3		Ramipril	4	
	Benazepril	1.7		Lisinopril	4.7	
	Cilazapril	1.93		Omapatrilat	5	
	Moexipril	2.6		Enapril	5.5	
				M-Set	Rentiapril	6
					Rescinnamine	6.98
					Zofenopril	8
					Quinapril	8.3
				L-Set	Fosinopril	11
					Captopril	23
					Delapril	40

### 3.3 Amino Acid Residue ของตัวรับที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงกับตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัว

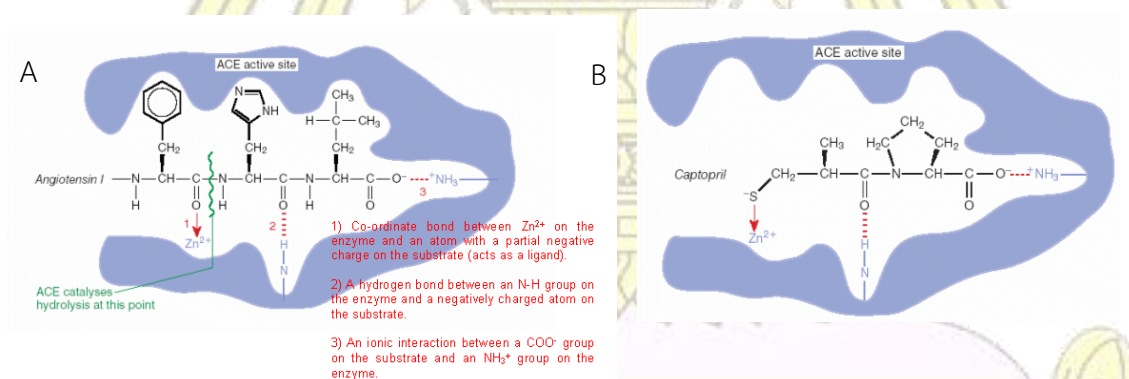
ผลของ Amino Acid Residue ของ Enzyme angiotensin converting enzyme (ACE) ที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงกับตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัวในระยระศมี 6 Å (ตารางที่ 2) ผู้วิจัยคิดว่า กรดอะมิโนที่ (Amino acid Residue) ที่แตกต่างกันของตัวยับยั้งทั้ง 3 ชุดนั้นส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานของยาในการเข้าจับกับเอนไซม์นั้นมีความแตกต่างกัน โดยจะสังเกตว่ากรดอะมิโนบางกลุ่มจะพบเจอเฉพาะใน H-Set แต่จะไม่พบใน L-Set เป็นต้นโดยที่ในกลุ่ม H-Set ที่มีประสิทธิภาพทางการยับยั้งสูงนั้นจะมี กรดอะมิโนบางตัวที่พิเศษแตกต่างจากในกลุ่ม M และ L-Set ทั้งหมด 3 ตัวอันได้แก่ ALA1, SER284 และ GLU411 โดยสังเกตได้ว่าจะไม่พบเจอกรดอะมิโนทั้งสามตัวนี้ใน L-Set เลยแต่จะพบได้ใน H-Set และกลุ่มของกรดอะมิโนที่สามารถพบเจอได้เฉพาะใน M-Set เท่านั้นจะมีอยู่ 22 ตัวอันได้แก่ PHE11, PRO2, GLU162, ASN285, TRP357, ASP358, PHE359, TYR360, GLN369, CYS370, THR371, THR372, LEU375, ASP377, HIS387, VAL390, PHE391, HIS410, LYS449, MET450, ARG522 และ PHE527 ส่วนกลุ่มสุดท้ายคือกลุ่มของกรดอะมิโนที่พบเจอใน L-Set แต่ไม่พบเจอใน H-Set จำนวน 4 ตัวประกอบไปด้วย THR166, ASN277, ALA356 และ VAL518 และมีกรดอะมิโนที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงกับตัวยับยั้งจำนวนมากแทบทุกตัวที่อยู่ในรัศมี 6 Å ทั้งหมด 12 ตัวด้วยกันได้แก่ GLN281, THR282, HIS353, ALA354, GLU376, VAL379, VAL380, HIS383, ASP453, PHE457, HIS513 และ TYR523 จากผลทดลองข้างต้น ผู้วิจัยจึงคาดคะเนว่า Amino Acid Residue ทั้ง 12 ชนิดที่กล่าวมาข้างต้น มีความจำเพาะกับสังกะสีในโมเลกุลของแองจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ตติ้งเอนไซม์ ส่วนกรดอะมิโนอื่นที่แตกต่างจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งของสารยับยั้งโดยกรดอะมิโนในกลุ่มที่



พบเจอใน H-Set ไม่พบเจอใน L-Set ทั้ง 3 ชนิดที่กล่าวถึงข้างต้นจะส่งผลในการสนับสนุนและเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้ง ส่วนในกลุ่มกรดอะมิโนอีก 4 ชนิดที่พบเจอใน L-Set แต่ไม่พบเจอใน H-Set จะส่งผลลดประสิทธิภาพในการยับยั้งลง

### 3.4 Hydrogen-Bond ที่เกิดขึ้นระหว่างตัวรับ (ACE) และตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัว

ผลของ Amino Acid Residue ของ Enzyme angiotensin converting enzyme (ACE) ที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงกับตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัวในระยะรัศมี 6 Å และเกิดพันธะไฮโดรเจน จากตารางที่ 3 จะพบพันธะไฮโดรเจนที่เกิดกับตัวยับยั้งและตัวรับในกลุ่มตัวยับยั้ง H-Set แต่ไม่พบใน L-Set แก่ HE22-GLN281, HH-ALA354, OE2-GLU376, HZ3-LYS511 และ HH-TRY523 และพันธะไฮโดรเจนที่พบใน M-Set เท่านั้นแต่ไม่พบใน H-Set และ L-Set ได้แก่ HG1-THR282, HG-SER284, HG1-THR284, HH-TRY360, HZ2-LYS454, OE2-GLU376, HH11-ARG522, H12-ARG522 และ OH-TYR523 สุดท้ายพันธะไฮโดรเจนที่พบใน L-Set แต่ไม่พบใน H-Set ได้แก่ HE21-GLN281, HZ1-LYS511 และ HH-TYR520 และผู้วิจัยคาดคะเนว่าการเกิดพันธะของไฮโดรเจนเหล่านี้มีผลกับประสิทธิภาพของตัวยับยั้งแต่ละกลุ่มด้วย ดังนั้นหากการที่มีตัวยับยั้งใหม่ที่มีการเกิดพันธะไฮโดรเจนเหมือนใน H-Set ก็คิดว่าจะมีประสิทธิภาพที่ดีเช่นกัน และ จากการทดลองจะสังเกตได้ว่าเกือบทุกโมเลกุลของตัวยับยั้งจะมีหมู่ฟังก์ชันของฟีนิล (phenyl group) เป็นส่วนประกอบ ซึ่งจะสังเกตจากภาพได้ว่าบริเวณของหมู่ฟังก์ชันฟีนิลจะเป็นส่วนที่ไปทำปฏิกริยากับบริเวณเร่งของเอนไซม์ ตามตำแหน่งโครงสร้างของ binding site ดังรูปที่ 36



<http://www.4college.co.uk/a/Md/medicine.php>

รูปที่ 36 – binding site ACE ที่กระทำต่อ (A) aginotensin I และ (B) Captopril สารยับยั้ง



### 3.5 ผลกระทบจาก H-bond และ Amino Acid Residue ต่อประสิทธิภาพ

จากโครงสร้างของโปรตีนเราจะพบว่าอะตอมที่เกิดอันตรกิริยากับตัวยับยั้งจะอยู่บริเวณอะตอม Zn ในโปรตีนดังนั้นเวลาคำนวณจึงทำการกำหนดระยะขอบเขตในการหาค่าของอะตอมของสังกะสี (Zn) ดังรูปที่ 8 ผู้วิจัยคิดว่าการที่เกิดอันตรกิริยาระหว่างไนโตรเจน (Nitrogen) ภายในตัวยับยั้งและ ซิงค์ (Zinc) ในตัวรับนั้น น่าจะเป็นผลมาจากค่าพลังงานไอออไนเซชัน (Ionization Energy, IE) ของธาตุทั้งสองตัว เพราะ Zn มี IE ที่ต่ำกว่า N ทำให้เกิดแรงดึงดูดที่ก่อให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างกัน

รวมทั้งเมื่อนำผลการทดลองทั้งสามปัจจัยข้างต้นมาวิเคราะห์รวมกันจะทำให้เห็นว่าสารยับยั้ง Spirapril (1b) ใน H-Set มีองค์ประกอบที่ควรจะเป็นยาที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด เพราะมีค่า  $IC_{50}$  ต่ำที่สุดที่ 0.8 nM นอกจากนี้ยังมี Amino Acid Residue ที่บริเวณใกล้เคียงในระยะรัศมี 6 Å ที่อยู่ในหมวดที่พบเจอได้ใน H-Set เท่านั้น ได้แก่ ALA1 และ GLU411 และเกิด Hydrogen Bond คือ OE2-GLU376 และ HZ3-LYS511 ที่สามารถพบได้ใน H-Set ไม่พบใน L-Set อีกด้วย ส่วนสารยับยั้งที่มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดถ้าวิเคราะห์ตามการเกิด พันธะไฮโดรเจน และกรดอะมิโนใกล้เคียงจะพบว่า สารยับยั้งที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำได้แก่ Captopril (1w) ซึ่งแม้จะขัดกับผลของ  $IC_{50}$  ที่ควรจะเป็น Dalapril ก็ตาม แต่เนื่องจาก Captopril นั้นมีการเกิด Hydrogen Bond และ กรดอะมิโนไม่อยู่ในหมวดของสารยับยั้งประสิทธิภาพสูง

ตารางที่ 2 แสดงกรดอะมิโนของตัวรับ Angiotensin converting enzyme (ACE) ที่พบบริเวณใกล้กับสารยับยั้งทั้ง 24 ตัวในรัศมี 6 Å

Amino Acid Residue	A Set				B Set																C Set			
	1a	1b	1c	1d	1e	1f	1g	1h	1i	1j	1k	1l	1m	1n	1o	1p	1q	1r	1s	1t	1u	1v	1w	1x
ALA1		✓	✓	✓	✓			✓					✓			✓			✓					
PHE1									✓															
PRO2														✓		✓								
TYR62																			✓					
ALA63																			✓					
ASN66																			✓					
GLU162									✓															
THR166																						✓		
ASN277					✓					✓	✓			✓			✓		✓		✓			✓
TRP279	✓				✓					✓							✓				✓			
GLN281	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓
THR282	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	✓	✓		✓
SEP284	✓							✓		✓						✓		✓						
ASN285										✓														
CYS352									✓															
HIS353	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓
ALA354	✓		✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓	✓		✓

Amino Acid Residue	A Set				B Set																C Set			
	1a	1b	1c	1d	1e	1f	1g	1h	1i	1j	1k	1l	1m	1n	1o	1p	1q	1r	1s	1t	1u	1v	1w	1x
SER355		✓					✓		✓			✓	✓		✓			✓				✓		
ALA356													✓		✓			✓				✓		
TRP357																		✓						
ASP358																		✓						
PHE359																		✓						
TYR360																		✓						
GLN369							✓		✓															
CYS370									✓															
THR371									✓															
THR372									✓															
LEU375								✓		✓														
GLU376	✓	✓	✓	✓				✓		✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	✓			✓
ASP377									✓		✓													
VAL379	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓			✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓		✓	✓
VAL380	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓
GLU384	✓	✓									✓	✓		✓								✓		
HIS383	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓
HIS387													✓		✓			✓						







## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาเปรียบเทียบโครงสร้างการเข้าจับระหว่างตัวรับ Angiotensin-converting enzyme (ACE) ที่นำโครงสร้างมาจากฐานข้อมูล Protein Data Bank รหัส 1o68 กับตัวยับยั้งทั้ง 24 ตัวที่สร้างและเพิ่มประสิทธิภาพผ่านโปรแกรม HyperChem และ MOPAC 2016 โดยใช้เทคนิควิธีการคำนวณการเข้าจับเชิงโมเลกุล สามารถสรุปได้ว่า ค่า  $IC_{50}$  มีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งของสารยับยั้งสามารถแบ่งสารยับยั้งทั้งหมด 24 ตัวได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ H-Set ( $IC_{50} < 1$ ), M-Set ( $10 > IC_{50} > 1$ ) และ L-Set ( $IC_{50} > 10$ ) รวมถึงสามารถสังเกตลักษณะของตัวยับยั้งที่มีประสิทธิภาพสูงได้จากชนิดของกรดอะมิโนที่จะมีในตัวยับยั้งที่มีประสิทธิภาพสูง ได้แก่ ALA, SEP และ GLU พันธะไฮโดรเจนที่จะเกิด ประกอบไปด้วย พันธะที่เกิดกับกรดอะมิโนของตัวรับต่อไปนี HE-GLN281, HH-ALA1, OE2-GLU376, HZ3-LYS511 และ HH-TRY523 และมีค่า  $IC_{50}$  ต่ำจากคุณสมบัติข้างต้นตัวยับยั้งที่มีคุณสมบัติเป็นตัวยับยั้งที่มีประสิทธิภาพสูงมากที่สุดคือ Spirapril และตัวยับยั้งที่ประสิทธิภาพต่ำที่สุดคือ Captopril สุดท้ายผู้วิจัยหวังว่าข้อมูลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อการค้นคว้าและพัฒนาการรักษาโรคความดันโลหิตสูงตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นในอนาคต



## เอกสารอ้างอิง

1. Moser, M.; World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension-Do These Differ From the U.S. Recommendations? Which Guidelines Should the Practicing Physician Follow. *Journal of Clinical hypertension (Greenwich, Conn.)* **1999**, 1(1), 48-54.
2. Campbell, N.R. et al. High Blood Pressure 2016: Why Prevention and Control Are Urgent and Important. The World Hypertension League, International Society of Hypertension, World Stroke Organization, International Diabetes Foundation, International Council of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, International Society of Nephrology. *The Journal of Clinical Hypertension* **2016**, 18(8), 714-717.
3. Broomfield, J.; Schieda, N.; Sullivan, SM. Recording blood pressure readings in elderly patients' charts. *Canadian family physician* **2008**, 54(2), 230-231.
4. Aronow, W.S. Treatment of systemic hypertension. *American Journal of Cardiovascular Disease*. **2012**, 2(3), 160-170.
5. Heran, BS.; Wong, MM.; Heran, IK.; Wright, JM. Blood pressure lowering efficacy of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors for primary hypertension. *The Cochrane database of systematic reviews* **2008**, 4
6. Joseph, A.; Wilber, M.D.; Gordon Barrow, M.D. Hypertension-A community problem. *The American Journal of Medicine* **1972**, 52(5), 653-663
7. Cheng, Y.C.; Prusoff, H.W. Relationship Between The Inhibitor Constant ( $K_i$ ) & The Concentration of Inhibitor which causes 50 Percent Inhibition ( $I_{50}$ ) of an enzymatic reaction. *Biochemical Pharmacology* **1973**, 22(23), 3099-3108.
8. Ke, Z.; Su, Z.; Zhang, X.; Cao, Z.; Ding, Y.; Cao, L.; Ding, G.; Wang, Z.; Liu, H.; Xiao, W. Discovery of a potent angiotensin converting enzyme inhibitor via virtual screening. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2017**, 27(16), 3688-3692.
9. Irwin, JJ.; Shoichet, BK.; Mysinger, MM.; Huang, N.; Colizzi, F.; Wassam. P.; Cao, Y. Automated docking screens: a feasibility study, *The Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, 52(18), 5712-5720.
10. Pieniazek, P.A.; Brandfort, S.E.; Krylov, A.I. Charge localization and Jahn-Teller distortions in the benzene dimer cation. *The Journal of Chemical Physics* **2008**, 129(7)

11. Tiwari, R.; Mahasenan, K.; Pavlovicz, R.; Li, C.; Tjarks, W. Carborane Clusters in Computational Drug Design: A Comparative Docking Evaluation Using AutoDock, FlexX, Glide, and Surflex. *J. Chem Inf Model*, **2009**, Vol.49, Issue6, pages 1581-1589
12. Zgarbová, M.; Otyepka, M.; Spöner, J.; Hobza, P.; Jurečka, P. Large-scale compensation of errors in pairwise-additive empirical force fields: comparison of AMBER intermolecular terms with rigorous DFT-SAPT calculations. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2010**, 12(35), 10476-10493.
13. Zhang, W.; Pei, J.; Lai, L. Computational Multi-target Drug Design. *J. Chem Inf Model* **2017**, 57(3), 403-412.
14. Kleppner, D., An Introduction to Mechanics, 2<sup>nd</sup> Edition, 2013, 49
15. Lomize, A.L.; Reibarkh, M.Y.; Pogozheva, I.D. Interatomic potentials and solvation parameters from protein engineering data for buried residues. *Protein Science* **2002**, 11( 8), 1984-2000.
16. Ponder, J.W.; Case, D.A. Force fields for protein simulations. *Advance Protein Chemistry* **2003**, 66, 27-85.
17. Levine, I.N., Quantum Chemistry. Prentice Hall, Englewood Cliffs, **1991**, 455-544
18. Zhang, Y.; Lin, H. Flexible-Boundary Quantum-Mechanical/Molecular-Mechanical Calculations: Partial Charge Transfer between the Quantum-Mechanical and Molecular-Mechanical Subsystems. *Journal of chemical theory and computation* **2008**, 4(3), 414-425.
19. Schrödinger, E. An Undulatory Theory of the Mechanics of Atoms and Molecules. *Physical Review* **1926**, 28, 1049-1070.
20. Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B. 2<sup>nd</sup> Reviews in Computational Chemistry, 1990
21. James, J.P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods V: Modification of NDDO Approximations and Application to 70 Elements. *Journal of Molecular Modeling* **2007**, 13, 1173-1213.
22. Levine, I.N., Quantum Chemistry. Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1991, 455-544
23. Fischer, C.F. General Hartree-Fock program. *Computer Physics Communications* **1987**, 43(3), 355-265.
24. Becke, A.D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics* **1993**, 98, 5648
25. Mourik, T.V.; Gdanitz, R.J. A critical note on density functional theory studies on rare-gas dimers. *The Journal of Chemical Physics* **2002**, 116, 9620.



26. Choi, V. YUCCA: An Efficient Algorithm for small-molecule docking. *Chemistry & Biodiversity* **2005**, 2(11), 1517-1524.
27. Grosdidier, A.; Zoete, V.; Michielin, O. SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS. *Nucleic Acids Research* **2011**, 39, 270-277.
28. Verdonk, ML.; Cole, JC.; Hartshorn, MJ.; Murray, CW.; Taylor, RD. Improved protein-ligand docking using GOLD. *Proteins* **2003**, 52(4), 609-623.
29. Grosdidier, A.; Zoete, V.; Michielin, O. EADock: docking of small molecules into protein active sites with a multiobjective evolutionary optimization. *Proteins* **2007**, 67(4), 1010-1025
30. Singh, T.; Biswas, D.; Jayaram, B. AADS—an automated active site identification, docking, and scoring protocol for protein targets based on physicochemical descriptors. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2011**, 51(10), 2515-2527
31. Friesner, RA.; Murpht, RB.; Repasky, MP. Extra precision glide: docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein-ligand complexes. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 49(21), 6177-6196.
32. Goodsell, DS.; Morris, GM.; Olson, AJ. Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock. *Journal of Molecular Recognition* **1996**, 9(1), 1-5.
33. Kuntz, ID.; Blaney, JM.; Oatley, SJ. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of Molecular Biology* **1982**, 161(2), 269-288
34. Jain, AN. Surflex-Dock 2.1: robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2007**, 21(5), 281-306.
35. Yang, JM.; Chen, CC. GEMDOCK: a generic evolutionary method for molecular docking. *Proteins* **2004**, 55(2), 288- 304.
36. Kramer, B.; Rarey, M.; Lengauer, T. Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein-ligand docking. *Proteins* **1999**, 37(2), 228-241.
37. Chen, R.; Li, L.; Weng, Z. ZDOCK: an initial-stage protein-docking algorithm. *Proteins* **2003**, 52(1), 80-87.
38. Plewczynski, D.; Łazniewski, M.; Grotthuss, M.; Rychlewski, L.; Ginalski, K. VoteDock: consensus docking method for prediction of protein-ligand interactions. *Journal of Computational Chemistry* **2011**, 32(4), 568-581.



39. Dominguez, C.; Boelens, R.; Bonvin, J.J. HADDOCK: a protein-protein docking approach based on biochemical or biophysical information. *Journal of American Chemical Society* **2003**, 125(7), 1731-1737.
40. Wang, J.C.; Chu, P.Y.; Chen, C.M.; Lin, J.H. idTarget: a web server for identifying protein targets of small chemical molecules with robust scoring functions and a divide-and-conquer docking approach. *Nucleic Acids Research* **2012**, 40, 393-399.
41. Goodsell, D.S.; Olson, A.J. Automated docking of substrates to protein by simulated annealing. *Proteins* **1990**, 8(3), 195-202.
42. Eiben, A.E.; et al. Genetic algorithms with multi-parent recombination PPSN III: Proceedings of the International Conference on Evolutionary Computation. *The Third Conference on Parallel Problem Solving from Nature* **1994**, 78-87
43. Jacob, Rb.; Accessible High-Throughput Virtual Screening Molecular Docking Software for Students and Educators. *PLOS Computational Biology* **2012**, 8(5)
44. Judson, R.; Jaeger, E.P.; Treasurywala, A.M. A genetic algorithm method for molecular docking molecules. *Journal of Molecular Structure THEOCHEM* **1994**, 308, 191-206.
45. Błazej, P.; et al. The role of crossover operator in evolutionary-based approach to the problem of genetic code optimization. *Bio Systems* **2016**, 150, 61-72.
46. Foster, R.J.; Niemann, C. Enzymes, Specific Substrates and Competitive Inhibitors as Multifunctional Entities. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1953**, 39(5), 371-376.
47. Pina, A.S.; Roque, A.C.A. Studies on the molecular recognition between bioactive peptides and angiotensin-converting enzyme. *Journal of Molecular Recognition* **2009**, 22(2), 162-168.
48. Kini, S.; Chaudhary, J.; Arora, S. In-vitro screening and docking study of fosinopril and its analogs. *2<sup>nd</sup> International Conference on Biomedical and Pharmaceutical Engineering* **2009**, Article number 5384099
49. Victor, H.; Abrego, V.H.; Martinez, P.A.; Torres, G. et al. Docking Studies of Methylthiomorpholin Phenols (LQM300 Series) with Angiotensin-Converting Enzyme (ACE). *The Open Medicinal Chemistry Journal* **2013**, 7, 30-38.

## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวชุตติมณฑน์ ชีวาเกียรติยิ่งยง เกิดเมื่อวันที่ 8 เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2539 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียน เซนต์ฟรังซิสเซเวียร์ จังหวัด นนทบุรี เมื่อปีการศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 จากโครงการรับตรง ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 21(111/13) ถนนรามอินทรา ซอย5แยก17 แขวง อนุสาวรีย์ เขต บางเขน จังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10220 อีเมล chutimon.che@student.chula.ac.th

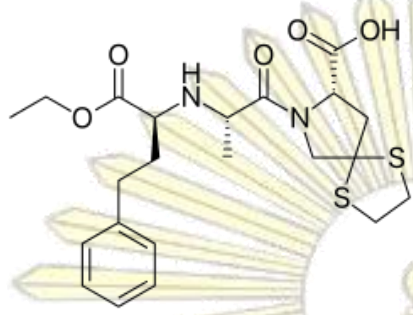
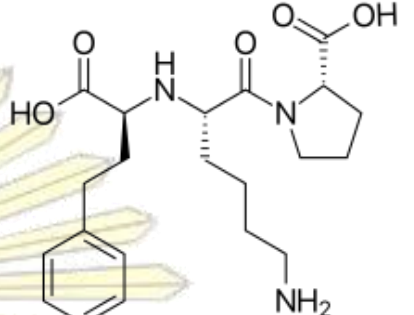
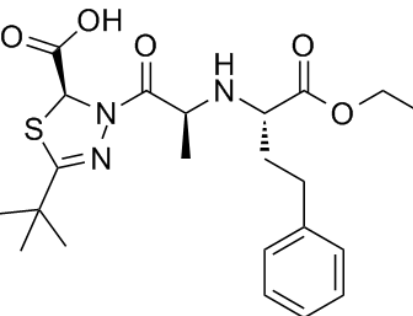
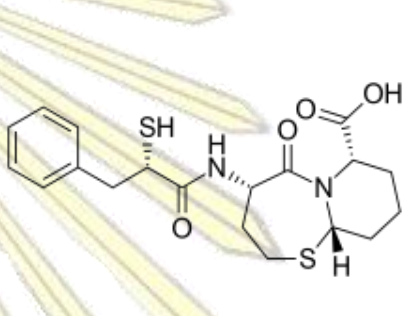
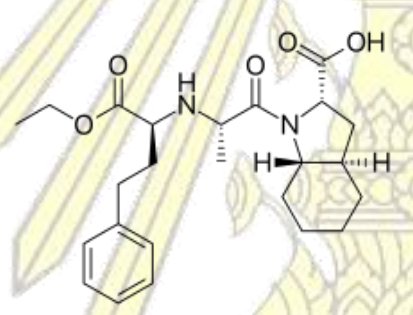
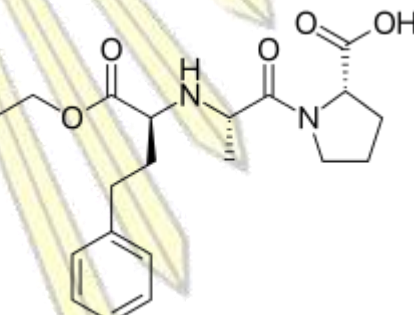
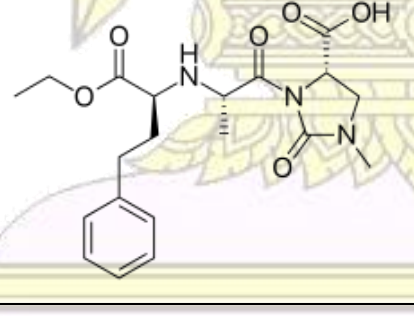
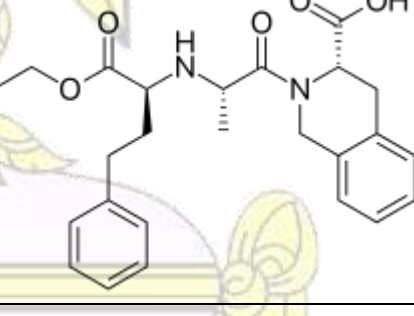


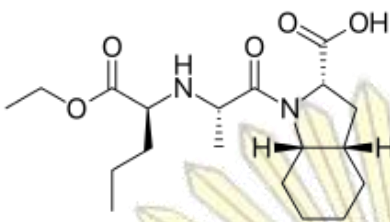
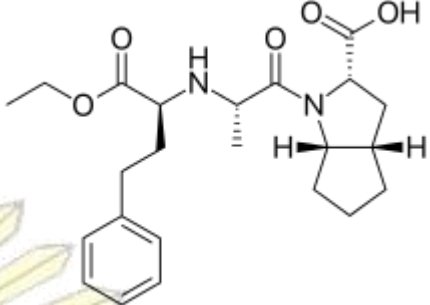
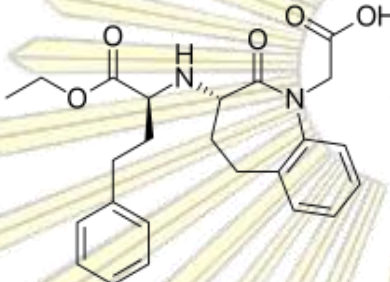
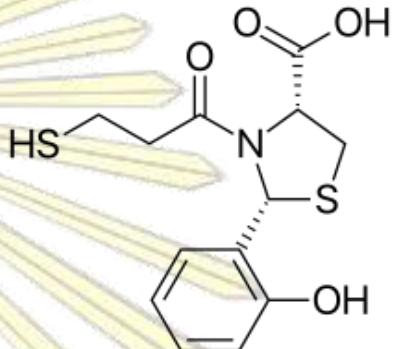
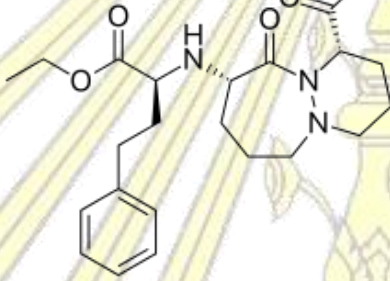
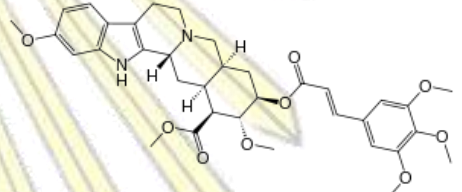
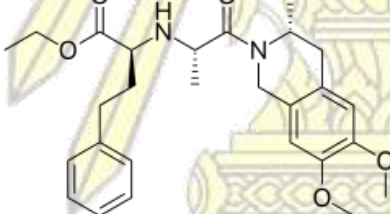
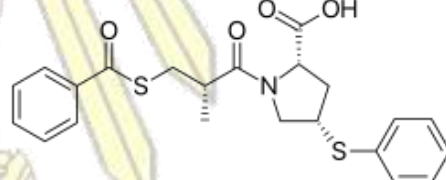
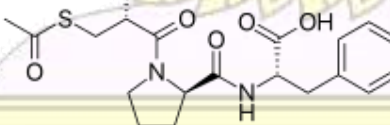
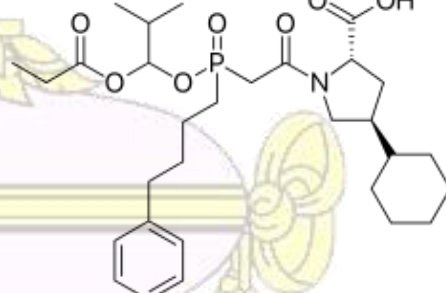


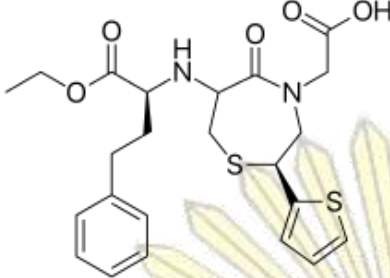
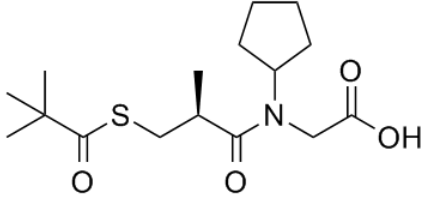
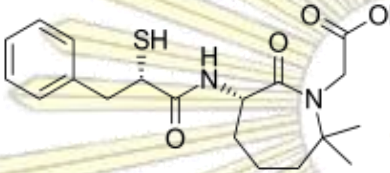
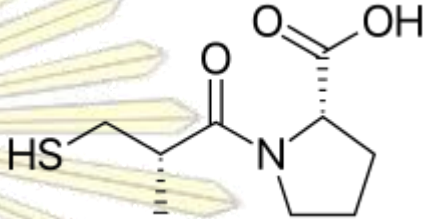
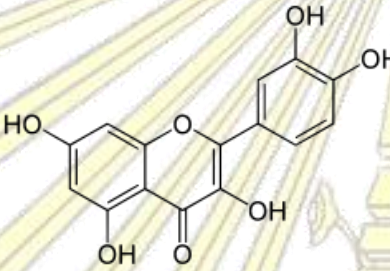
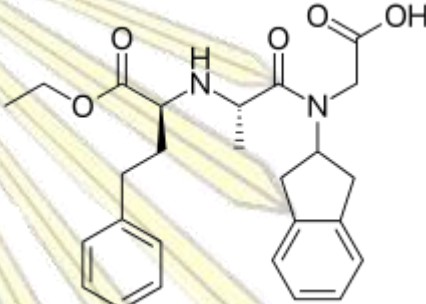
# ภาคผนวก



ตารางที่ 4 แสดงภาพโครงสร้างของตัวยับยั้ง ACE ที่ใช้ในการทดลองทั้ง 24 โครงสร้าง

Inhibitor	Structure	Inhibitor	Structure
Spirapril		Lisinopril	
Utibapril		Omapatrilat	
Trandolapril		Enapril	
Imidapril		Quinapril	

Perindopril		Ramipril	
Benazepril		Rentiapril	
Cilazapril		Rescinamine	
Moexipril		Zofenopril	
Alacepril		Fosinopril	

Temocapril	 <p>The chemical structure of Temocapril features a central seven-membered lactam ring containing a sulfur atom. It is substituted with a propyl ester group, a benzyl group, a thiazolidine ring, and a carboxylic acid group.</p>	Pivalopril	 <p>The chemical structure of Pivalopril consists of a pivaloyl group linked via a sulfur atom to a chiral carbon chain, which is further connected to a pyrrolidine ring and a carboxylic acid group.</p>
Gemopatrilat	 <p>The chemical structure of Gemopatrilat shows a seven-membered lactam ring with a tert-butyl group and a carboxylic acid group. It is linked via an amide bond to a chiral carbon chain that includes a thiol group and a benzyl group.</p>	Captopril	 <p>The chemical structure of Captopril features a pyrrolidine ring with a carboxylic acid group and a chiral carbon chain containing a thiol group and a benzyl group.</p>
Quercetin	 <p>The chemical structure of Quercetin is a flavonoid consisting of a chromone core with multiple hydroxyl groups at various positions on the rings.</p>	Delapril	 <p>The chemical structure of Delapril features a central lactam ring with a carboxylic acid group, a benzyl group, and a chiral carbon chain containing a propyl ester group and a benzyl group.</p>