



รายงานฉบับสมบูรณ์

รายงานการวิจัยเรื่อง

ฟีนอลิกลิปิดที่ยับยั้งไวรัสเดงกีโดยแบบจำลองคอมพิวเตอร์กับโปรตีนของไวรัสควบคู่กับการศึกษากลไก
การออกฤทธิ์ในระดับเซลล์ (ปีที่ ๑)

Phenolic lipids as anti-dengue inhibitor using computational silulation to dengue
proteins coupled with cell-based mechanism of action studies (year 1)

คณะผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แพทย์หญิงศิวะพร บุญยทรัพย์ากร

Assistant Professor Siwaporn Boonyasuppayakorn, M.D., Ph.D.

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ชวาสิริ

Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัญญดา รุ่งโรจน์มงคล

Assistant Professor Thanyada Rungrotmongkol, Ph.D.

หน่วยงาน

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กันยายน พ.ศ. 2561



รายงานฉบับสมบูรณ์

รายงานการวิจัยเรื่อง

ฟีนอลิกลิปิดที่ยับยั้งไวรัสเดงกีโดยแบบจำลองคอมพิวเตอร์กับโปรตีนของไวรัสควบคู่กับการศึกษากลไกการ
ออกฤทธิ์ในระดับเซลล์ (ปีที่ ๑)

Phenolic lipids as anti-dengue inhibitor using computational simulation to dengue proteins
coupled with cell-based mechanism of action studies (year 1)

คณะผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.แพทย์หญิงศิวัชพร บุญยทรัพย์ยากร

Assistant Professor Siwaporn Boonyasuppayakorn, M.D., Ph.D.

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ชวศิริ

Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัญญดา รุ่งโรจน์มงคล

Assistant Professor Thanyada Rungrotmongkol, Ph.D.

หน่วยงาน

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กันยายน พ.ศ. 2561

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (This research is funded by Chulalongkorn University)

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)

ไวรัสเดงกีเป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญของโลกที่ยังไม่มียารักษา การศึกษาก่อนหน้านี้ระบุว่า anacardic acid สามารถยับยั้งไวรัส hepatitis C ได้ การศึกษานี้ได้ค้นหาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและการยับยั้งไวรัสระดับเซลล์ของ anacardic acid, cardanol, และ cardol homologues พบว่า Cardol triene มีค่า therapeutic index สูงที่สุดอยู่ที่ 29.07 โดยมี CC_{50} และ EC_{50} อยู่ที่ 207.30 ± 5.24 และ $7.13 \pm 0.72 \mu\text{M}$, ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มขึ้นของพันธะคู่ที่ทางสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของค่า CC_{50} s ในทุกกลุ่มสารประกอบ ค่า CC_{50} s ของ cardol triene ต่อเซลล์ HepG-2, THP-1, และ HEK-293 อยู่ที่ 140.27 ± 8.44 , 129.77 ± 12.08 , and $92.80 \pm 3.93 \mu\text{M}$, ตามลำดับ และพบว่า cardol triene ยับยั้งไวรัสเดงกีทุกชนิด มีค่า EC_{50} s อยู่ที่ 5.35 to 8.89 μM การศึกษานี้เป็นครั้งแรกที่แสดงให้เห็นว่า cardol triene มีศักยภาพที่จะพัฒนาต่อไปเป็นยาด้านไวรัสเดงกี

คำสำคัญ

การค้นหายาด้านฟลาวิไวรัส, ฟีนอลิกลิปิด, โพรตีนเอนเวลอป, ไวรัสเดงกี

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)

Dengue virus causes a global burden that specific chemotherapy has not been established. A previous report suggested that anacardic acid inhibited hepatitis C virus infection. Here, we explored structure activity relationship of anacardic acid, cardanol, and cardol homologues with anti-DENV cellular infectivities. Cardol triene showed the highest therapeutic index at 29.07 with the CC_{50} and EC_{50} of 207.30 ± 5.24 and 7.13 ± 0.72 μM , respectively. Moreover, we observed that the more unsaturated the hydrocarbon tail, the higher the CC_{50} s in all head groups. High CC_{50} s were also found in HepG-2, THP-1, and HEK-293 cell lines where cardol triene CC_{50} s were 140.27 ± 8.44 , 129.77 ± 12.08 , and 92.80 ± 3.93 μM , respectively. Cardol triene expressed pan-dengue inhibition with the EC_{50} s of 5.35 to 8.89 μM . This study showed for the first time that cardol triene had a potential for further development as anti-dengue inhibitors

Key words

flaviviral drug discovery, phenolic lipid, envelope protein, dengue virus

สารบัญเรื่อง

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	3
บทคัดย่อภาษาไทย	4
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	5
สารบัญ	6
สารบัญตาราง	7
สารบัญรูป	8
บทนำ	9
เนื้อเรื่อง	11
วิธีดำเนินการวิจัย	11
ผลการทดลอง	13
อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง	20
สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป	21
บรรณานุกรม	22
ประวัตินักวิจัยและคณะ พร้อมหน่วยงานสังกัด	23

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 Effective concentrations (EC_{50}), Cytotoxic concentrations (CC_{50}),
และ Therapeutic Indices (TI) (means \pm S.D.) ของสารประกอบกลุ่ม phenolic lipids
ต่อไวรัสแดงกึ่งชนิดที่ 2

17

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 โครงสร้างของสารกลุ่มฟีนอลิกลิปิด ประกอบด้วยส่วนหัว a) anacardic acid, b) cardol, c) cardanol และส่วนหาง R ₁ C15:0, R ₂ C15:1, R ₃ C15:2, R ₄ C15:3	15
รูปที่ 2 ภาพรวมของการค้นหาเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มฟีนอลิกลิปิดด้วยวิธี Molecular docking ร่วมกับระเบียบวิธี HomoPharma ระหว่างสารประกอบ กับโปรตีนต่าง ๆ	16
รูปที่ 3 CC ₅₀ และ EC ₅₀ ของสารประกอบ Cardol triene (C15:3) ต่อเซลล์ A) HepG2, B) THP-1, C) HEK-293 และไวรัสแดงที่ D) DENV2 E) DENV1 F) DENV3 G) DENV4 H) ZIKV ตามลำดับ	18
รูปที่ 4 Time of drug addition assay ของสารประกอบ Cardol triene (C15:3) ต่อไวรัสแดงที่ชนิดที่ 2 โดยวัดปริมาณ (A) สารพันธุกรรมของไวรัสในเซลล์ และ (B) ตัวไวรัสที่ติดเชื้อได้ (infectious virion) ที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์	19

บทนำ

ไวรัสเดงกีทำให้มีผู้ติดเชื้อทั่วโลกประมาณ 395 ล้านคนต่อปี[1] โดยมีคนไข้อาการรุนแรงประมาณ 1% ของผู้ติดเชื้อทั้งหมดและอาจนำไปสู่การตายได้ นับได้ว่าเป็นโรคติดเชื้อที่เป็นปัญหาสาธารณสุขของทั่วโลก โดยเริ่มรายงานอาการรุนแรงจากโรคนี้ครั้งแรกที่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้เมื่อประมาณ 60 ปีที่ผ่านมา ต่อมาได้กระจายตัวไปสู่เขตร้อนทั่วโลกผ่านทางยุงลายพาหะ ซึ่งมีรายงานการเพิ่มขึ้นของอุบัติการณ์ทั่วโลกถึง 30 เท่า ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา[2] และมีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการดำเนินโรคและกลุ่มอายุที่ได้รับผลกระทบ สำหรับประเทศไทยมีรายงานจากกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขว่ามีผู้ติดเชื้อโดยเฉลี่ยประมาณหนึ่งแสนคนต่อปี ไวรัสเดงกีเป็นสมาชิกของ Family Flaviviridae, Genus Flavivirus ประกอบด้วย 4 serotypes ที่มีความคล้ายกันระดับกรดอะมิโนที่ 60-65% ดังนั้น ภูมิคุ้มกันที่ถูกพัฒนาจากการติดเชื้อไวรัสชนิดหนึ่งจึงป้องกันการติดเชื้อไวรัสอีกสามชนิดไม่ได้อย่างสมบูรณ์ โดยพยาธิกำเนิดของอาการรุนแรงมักเกิดกับการติดเชื้อไวรัสครั้งที่สองที่ต่างชนิดกับครั้งแรก โดยพบการตอบสนองผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันทั้งระบบ humoral และ cell-mediated เพิ่มความรุนแรงของการติดเชื้อทั่วร่าง นำไปสู่การทำงานของระบบอวัยวะล้มเหลว ภาวะช็อกจากการเสียเลือดและน้ำเหลืองออกจากระบบไหลเวียนโลหิต และอาจเสียชีวิตได้ [3] ในปัจจุบันการรักษายังคงมุ่งเน้นที่การประคับประคองให้พ้นระยะวิกฤตไปได้ ถึงแม้ว่าจะมีวัคซีนออกสู่ตลาดแล้ว แต่ยังคงไม่สามารถป้องกันไวรัสเดงกีทุกกลุ่มได้อย่างมีประสิทธิภาพ [4] และในปัจจุบันยังไม่มียาจำเพาะสำหรับการรักษา

เป้าหมายของการพัฒนายารักษาโรคติดเชื้อไวรัสเดงกีมุ่งเน้นที่การลดโอกาสการเพิ่มปริมาณไวรัส และลดโอกาสการดำเนินโรคไปสู่ภาวะรุนแรง (severe dengue) [5] เพราะมีงานวิจัยพบว่าปริมาณไวรัสที่ตรวจพบในร่างกายมีความสัมพันธ์กับโอกาสที่โรคจะพัฒนาไปสู่ภาวะรุนแรง [6, 7] และเนื่องจากการวินิจฉัยปัจจุบันเร็วขึ้น ทำให้มีโอกาสดังกล่าวได้ใช้ยาต้านไวรัสได้ทันเวลามากขึ้น และคาดหวังว่ายาต้านไวรัสที่จำเพาะกับไวรัสจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษาคนไข้ได้ การค้นหาและพัฒนาสารประกอบโมเลกุลเล็กอย่างเป็นระบบ (rational drug discovery) เป็นการใช้ทั้งการทดสอบกับเป้าหมาย (target-based screening) และทดสอบผลการต่อต้านไวรัส (phenotype-based screening) โดยเน้นการศึกษาร่วมกันเพื่อปรับโครงสร้างของสารประกอบที่สนใจให้มีประสิทธิภาพสูงสุด ตัวอย่างการคัดกรองที่ใช้ เช่น การคัดกรองเสมือน (in silico virtual screening) การคัดกรองโดยปฏิกิริยาเคมี (in vitro biochemical assay) ร่วมกับการทดสอบโดยใช้ไวรัสจริง (live virus assay) หรือระบบเสมือนการติดเชื้อไวรัส (artificial systems mimicking viral infection) รวบรวมข้อมูลเข้าด้วยกัน วิเคราะห์ และเพื่อการปรับปรุงโครงสร้างสารประกอบรุ่นถัดไปให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นและเป็นพิษลดลง จากนั้นกลุ่มยาที่ผ่านตรวจคัดกรองจะถูกนำไปทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยระดับพรีคลินิกและคลินิกต่อไป โดยในปัจจุบันมีกลุ่มยาด้านไวรัสเดงกีอยู่ในระดับ clinical trials

ทั้งสิ้น 12 โครงการที่ขึ้นทะเบียนกับ ClinicalTrials.gov และนอกจากนี้ยังมีสารประกอบอีกบางส่วนที่กำลังอยู่ในระหว่างการทดสอบระดับพรีคลินิก

โครงสร้างสารประกอบจากธรรมชาติมีบทบาทสำคัญกับการพัฒนายาต้านจุลชีพ โดยพบว่าโครงสร้างแก่น (core structure) ของยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่มีที่มาจากธรรมชาติ เช่น penicillin ถูกค้นพบจากรา Penicillium ต่อมาพบว่า มีการพัฒนาดัดแปลงโครงสร้างให้เหมาะสมที่สุดทั้งด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัย สำหรับการทดสอบคุณสมบัติต้านไวรัสแดงกีของสารประกอบจากธรรมชาติ กลุ่มวิจัยได้ทำการทดสอบสารประกอบ secondary metabolites จากพืชหลายกลุ่ม โดยการคัดกรองแบบ cell-based antiviral assay และอ่านผลด้วย plaque titration [8] และพบว่าสารประกอบกลุ่ม phenolic lipids มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสแดงกีมากกว่า 95% ในระดับเซลล์ที่ 10 micromolar โดยไม่มีผลเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่รายงานผลการยับยั้งไวรัสตับอักเสบบี C ที่เป็นสมาชิกใน family เดียวกัน [9] ทำให้สารประกอบกลุ่มนี้มีความน่าสนใจที่จะศึกษาเพิ่มเติมในเชิงลึกเพื่อที่จะพัฒนาเป็นยาต้านไวรัสต่อไป โดยจะศึกษาครอบคลุมทั้งการศึกษาการยับยั้งโปรตีนของไวรัสแดงกีในระดับแบบจำลองคอมพิวเตอร์ และประสิทธิภาพการต้านไวรัสแดงกีทั้ง 4 ชนิดในเซลล์เพาะเลี้ยง กลไกการยับยั้งวงจรชีวิตไวรัสในเซลล์ และความเป็นพิษต่อเซลล์ เพื่อเป็นพื้นฐานสำหรับการพัฒนาโครงสร้างโครงสร้างที่เหมาะสมที่มีประสิทธิภาพสูงสุดและความเป็นพิษต่ำที่สุด เพื่อให้เป็นพื้นฐานสำหรับการทดสอบพรีคลินิกในระดับสัตว์ทดลองต่อไป และการวิจัยในคนเป็นลำดับ เป้าหมายสูงสุดอยู่ที่ประเทศไทยสามารถพัฒนายาต้านไวรัสแดงกีชนิดใหม่ที่ตรงตามพยาธิกำเนิดนั้นคือการลดปริมาณไวรัสในร่างกาย เป็นนวัตกรรมที่สามารถผลิตใช้เองได้ในประเทศและเหมาะสมกับประชาชนไทย รวมทั้งระหว่างการทดสอบสามารถพัฒนาแนวทางและระเบียบวิธีสำหรับการศึกษาและพัฒนายาต้านไวรัสชนิดอื่นๆ เพิ่มเติมได้ และได้มีโอกาสผลิตบุคลากรวิจัยรุ่นใหม่เพื่อเป็นกำลังสำคัญในการพัฒนาประเทศต่อไป

เนื้อเรื่อง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การแยกฟีนอลิกลิปิดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่แยกได้ (Separation and purification)

ผสมของเหลวที่ได้จากเปลือกเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ (CNSL) จำนวน 50 กรัม ใน 5% aqueous MeOH 300 mL และ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 50 กรัม คนให้เข้ากัน ให้ความร้อนที่ 50 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง กรอง calcium anacardate ที่ตกตะกอนออก ล้างด้วย MeOH และทำให้แห้ง ปรับสารแขวนลอยของ calcium anacardate ในน้ำด้วยกรด HCl เข้มข้น สกัดของผสมด้วย EtOAc ล้างชั้นสารอินทรีย์ด้วยน้ำ ทำให้แห้งด้วย anhydrous Na_2SO_4 และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจะได้ anacardic acids (42 g, 84% yield) ระเหยส่วนที่เหลือจากการกรอง calcium anacardate และสกัดด้วย EtOAc ล้างชั้นสารอินทรีย์ด้วยน้ำ ทำให้แห้งด้วย anhydrous Na_2SO_4 ระเหยตัวทำละลาย จะได้ของผสม แยกของผสมดังกล่าวด้วย silica gel column ชะด้วย hexane/EtOAc จะได้ (1.1 g, 2.2% yield) และ cardols (319 mg, 0.6% yield) นำสารผสม anacardic acids, cardanols และ cardols มาแยกด้วย semipreparative HPLC

การทำปฏิกิริยา hydrogenation เพื่อเตรียมอนุพันธ์อิ่มตัวของ cardanol และ cardol ทำการทดลองโดยนำ CNSL ทำปฏิกิริยากับ H_2 โดยมี 10% Pd/C เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แยกสิ่งที่ได้จากปฏิกิริยาด้วย silica gel column และตกผลึก

2. การค้นหาโปรตีนเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่ม ฟีนอลิกลิปิดด้วยวิธี Molecular docking

นำโครงสร้างสารกลุ่ม ฟีนอลิกลิปิด ที่ได้รับการยืนยันผลการยับยั้งต่อเซลล์ทั้ง 3 โครงสร้าง มาทำการค้นหาสารกลุ่ม ฟีนอลิกลิปิดในฐานข้อมูล โดยใช้การเทียบเคียงความเหมือน 95% (Similar search based on Tanimoto score) กับโครงสร้างสารเริ่มต้น จากนั้นทำการคัดเลือกเฉพาะโครงสร้างที่มีผล Bioactivity ต่อโปรตีน และคัดเลือกเฉพาะโปรตีนที่มีโครงสร้าง ในฐานข้อมูล PDB จากนั้นทำการคำนวณเพื่อทำนายโครงสร้างโปรตีนที่มีความสามารถในการเป็นเป้าหมายของสารกลุ่ม ฟีนอลิกลิปิด ดังกล่าว

3. การศึกษา effective concentrations (EC_{50}) ของสารประกอบต่อต้านไวรัสแดงกึ่งสี่ชนิด

เพาะเลี้ยงเซลล์ Vero ปริมาณ 5×10^4 เซลล์ต่อหลุมใน 24-well plate ด้วยมีเดียเพื่อการเจริญเติบโตข้ามคืน จากนั้นบ่มกับไวรัส DENV 2 ในการทดสอบประสิทธิภาพกับสารประกอบทั้งหมด (ตารางที่ 1) และกับ DENV 1-4 ในการทดสอบกับสารประกอบที่มีค่า TI สูงสุด (ตารางที่ 2) ในอัตราส่วน multiplicity of infection 0.1 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ภายนี้เติมยาในความเข้มข้นที่ต่างกัน จำนวน 8-12 ความเข้มข้นที่ได้เตรียมไว้ล่วงหน้าลงในแต่ละหลุม หลังครบกำหนดเวลา ล้างเซลล์ด้วย phosphate buffer saline แล้วเติมมีเดียเพื่อการรักษาสภาพและเติมสารประกอบในความเข้มข้นเดียวกับขณะที่ติดเชื้อไวรัส บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 3 วัน แล้วจึงเก็บสารน้ำจากการทดสอบ นำมาหาปริมาณไวรัสที่ผลิตได้จากเซลล์ติดเชื้อที่ได้รับอิทธิพลจากสารประกอบต่อไปด้วย plaque assay จากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณหา EC_{50} โดยใช้ nonlinear regression analysis

4. ทดสอบความเข้มข้นของสารประกอบที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ cytotoxic concentrations (CC_{50})

เพาะเลี้ยงเซลล์ Vero ปริมาณ 10^4 เซลล์ต่อหลุม ใน 96-well plate แล้วจึงใส่สารประกอบในความเข้มข้นต่างๆ กัน 6-8 ความเข้มข้น บ่มที่ 37°C ไว้ 48 ชั่วโมง ทำซ้ำสามครั้งในแต่ละความเข้มข้นของสารประกอบ จากนั้นอ่านผลโดยใช้ MTS reagent (Promega®, Madison, WI) ค่าที่ได้นำไปคำนวณโดยใช้ nonlinear regression analysis และคำนวณ therapeutic indices ($\text{CC}_{50}/\text{EC}_{50}$)

5. ศึกษา time of drug addition ที่ยับยั้ง viral replication ด้วย cell-based antiviral assay และ RT-qPCR.

เพาะเลี้ยงเซลล์ Vero ปริมาณ 5×10^4 เซลล์ต่อหลุมใน 24-well plate ด้วยมีเดียเพื่อการเจริญเติบโตข้ามคืน จากนั้นบ่มกับไวรัส DENV 2 ที่ MOI 0.1 และ cardol triene (C15:3) ในช่วงเวลาระหว่างการติดเชื้อ (0 h) และหลังการติดเชื้อ 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 36, และ 48, 60, และ 72 h บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 3 วัน หลังครบกำหนดเวลา แล้วจึงเก็บสารน้ำจากการทดสอบ นำมาหาปริมาณไวรัสที่ผลิตได้จากเซลล์ติดเชื้อที่ได้รับอิทธิพลจากสารประกอบต่อไปด้วย plaque assay และเก็บเซลล์มาทดสอบหาปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสในเซลล์ด้วยวิธี RT-qPCR ทำการทดสอบซ้ำสามครั้ง

ผลการทดลอง

1. การแยกฟีนอลิกลิปิดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่แยกได้ (Separation and purification)

สารประกอบฟีนอลิกลิปิดทั้งหมดที่ได้จากการสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์

Anacardic acid C15:0 (6-pentadecylsalicylic acid): white solid (9.0 mg, 18 %yield) ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 11.01 (1H, s), 7.36 (1H, t, $J = 7.9$ Hz), 6.87 (1H, dd, $J = 8.3, 1.2$ Hz), 6.78 (1H, dd, $J = 7.5, 1.2$ Hz), 2.98 (2H, t, $J = 8.0$ Hz), 1.59 (2H, m), 1.26 (19H, m), and 0.88 (3H, t, $J = 6.8$ Hz).

Anacardic acid C15:1 (6-[8(Z)-pentadecenyl]salicylic acid): yellow liquid (15.7 mg, 31 %yield) ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 11.04 (1H, s), 7.35 (1H, t, $J = 7.9$ Hz), 6.86 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.77 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 5.35 (2H, m, $J = 4.8$ Hz), 2.97 (2H, t, $J = 7.9$ Hz), 2.01 (4H, m), 1.60 (2H, m), 1.29 (16H, m), and 0.88 (3H, t, $J = 6.5$ Hz).

Anacardic acid C15:2 (6-[8(Z), 11(Z)-pentadecadienyl]salicylic acid): yellow liquid (12.8 mg, 26 %yield) ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 11.07 (1H, s), 7.35 (1H, t, $J = 7.9$ Hz), 6.86 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.77 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 5.37 (4H, m), 2.97 (2H, t, $J = 7.9$ Hz), 2.77 (2H, t, $J = 6.3$ Hz), 2.01 (4H, m), 1.33 (12H, m), and 0.90 (3H, t, $J = 7.4$ Hz).

Anacardic acid C15:3 (6-[8(Z), 11(Z), 14-pentadecatrienyl]salicylic acid): yellow liquid (12.3 mg, 25 %yield) ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 11.09 (1H, s), 7.35 (1H, t, $J = 7.9$ Hz), 6.86 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.76 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 5.81 (1H, m), 5.39 (4H, m), 5.01 (2H, m), 2.97 (3H, t, $J = 7.9$ Hz), 2.79 (4H, dd, $J = 13.7, 7.5$ Hz), 2.05 (2H, m), 1.59 (2H, m), and 1.34 (8H, m).

Cardanol C15:1 (3-[8(Z)-pentadecenyl]phenol): yellow liquid (15.4 mg, 31% yield) ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 7.14 (1H, t, $J = 7.7$ Hz), 6.75 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 6.65 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 5.35 (2H, m), 2.55 (2H, t, $J = 7.8$ Hz), 2.01 (4H, m), 1.59 (2H, m), 1.29 (16H, m), and 0.89 (3H, t, $J = 6.5$ Hz).

Cardanol C15:2 (3-[8(Z), 11(Z)-pentadecadienyl]phenol): yellow liquid (22.8 mg, 46 %yield) ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 7.14 (1H, t, $J = 7.7$ Hz), 6.75 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 6.65 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 5.36 (4H, m), 2.78 (2H, t, $J = 6.3$ Hz), 2.55 (2H, t, $J = 7.8$ Hz), 2.04 (4H, m), 1.58 (12H, m), and 0.91 (3H, t, $J = 7.4$ Hz).

Cardanol C15:3 (3-[8(Z), 11(Z), 14-pentadecatrienyl]phenol): yellow liquid (11.4 mg, 23%yield) ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 7.14 (1H, t, $J = 7.6$ Hz), 6.76 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 6.65 (2H, d, $J = 7.9$ Hz), 5.83 (1H, m), 5.40 (4H, m), 5.03 (2H, m), 2.82 (4H, dt, $J = 16.1, 6.1$ Hz), 2.56 (2H, t, $J = 7.7$ Hz), 2.04 (2H, m), 1.60 (2H, m), and 1.29 (8H, m).

Cardol C15:2 (5-[8(Z), 11(Z)-pentadecadienyl]resorcinol): brown liquid (36.5 mg, 73 %yield) ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 6.24 (2H,s),6.17 (1H, s),5.36 (4H,m, $J = 8.1, 4.8$ Hz), 2.78 (2H, t, $J = 6.3$ Hz), 2.48 (2H, t, $J = 7.8\text{Hz}$), 2.04 (4H, m), 1.56 (2H, m), 1.33 (8H, m), and 0.91 (3H, t, $J = 7.4$ Hz).

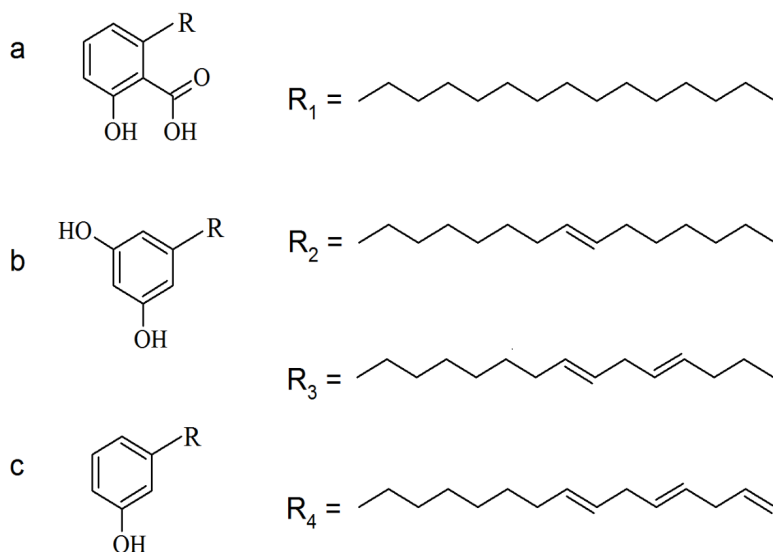
Cardol C15:3 (5-[8(Z), 11(Z), 14-pentadecatrienyl]resorcinol): brown liquid (13.4 mg, 27 %yield) ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 6.25 (2H, s), 6.17 (1H, s), 5.82 (1H, m), 5.39 (4H, m), 5.02 (2H, m), 2.80 (4H, dt, $J = 14.1, 7.9$ Hz), 2.46 (2H, t, $J = 7.7\text{Hz}$), 2.04 (2H, m), 1.55 (2H, m), and 1.28 (8H, m).

สารประกอบที่ได้จากการทำปฏิกิริยา hydrogenation มีดังนี้

Cardanol C15:0 (3-pentadecylphenol) (14.9 g, 75% yield) ได้จากการทำปฏิกิริยาของของผสม cardanols (20 g), และ cardol C15:0 (5-pentadecylresorcinol) (16.1 mg, 83% yield) ได้จากได้จากการทำปฏิกิริยาของของผสม cardols (50 mg).

Cardanol C15:0: ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 7.15 (1H, t, $J = 7.7$ Hz), 6.77 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 6.68 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 5.91 (1H, s), 2.56 (2H, t, $J = 7.9$ Hz), 1.60 (2H, t, $J = 7.6$ Hz), 1.30 (24H, m), 0.91 (3H, t, $J = 6.6$ Hz).

Cardol C15:0: ^1H NMR (CDCl_3) δ_{H} (ppm): 6.24 (2H, s), 6.18 (1H, s), 2.47 (2H, t, $J = 7.8$ Hz), 1.55 (2H, m), 1.25 (24H, m), 0.87 (3H, t, $J = 6.6$ Hz).

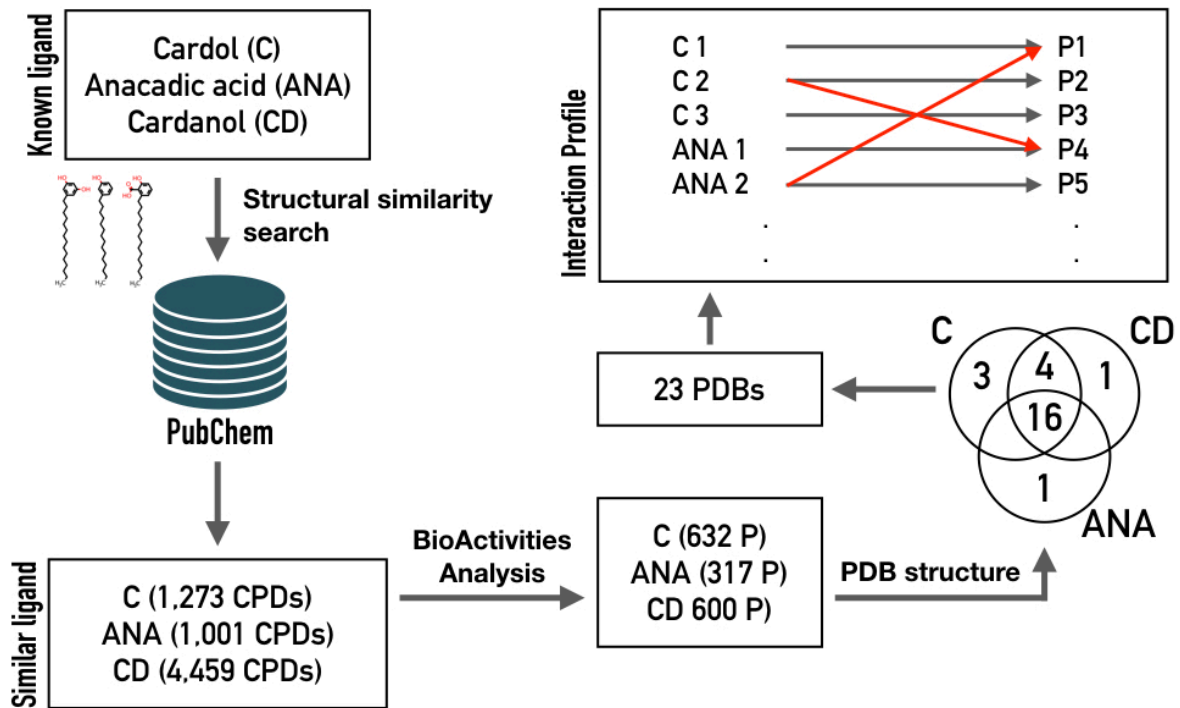


รูปที่ 1 โครงสร้างของสารกลุ่มฟีนอลิกลิปิด ประกอบด้วยส่วนหัว a) anacardic acid, b) cardol, c) cardanol และส่วนหาง R_1 C15:0, R_2 C15:1, R_3 C15:2, R_4 C15:3

สารประกอบทั้งหมดถูกเก็บในรูปของแข็งที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะเริ่มทำการทดสอบ ใช้ dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็นตัวทำละลาย ให้ได้ความเข้มข้นของสารประกอบใน stock solution อยู่ที่ 50 mM และเก็บ aliquot ที่ $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ จนกว่าจะใช้งาน

2. การค้นหาโปรตีนเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่ม ฟีนอลิกลิปิดด้วยวิธี Molecular docking

จากผลการนำโครงสร้างสารกลุ่ม ฟีนอลิกลิปิด เริ่มต้น 3 สาร มาเป็นโครงสร้างเริ่มต้นเพื่อหาสารที่ทราบ Bioactivity จากฐานข้อมูล PubChem พบว่า จากสารเริ่มต้น คือ cardol กรด anacardic และ cardanol มีสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับสารตั้งต้น 95% อยู่ 1,273 1,001 และ 4,459 โครงสร้างตามลำดับ ซึ่งสารทั้งหมดนั้นมีรายงาน Bioactivity ต่อโปรตีนเพียง 632 317 และ 600 โปรตีนจากจำนวนทั้งหมด เป็นโปรตีนที่มีโครงสร้าง 3D ที่สามารถใช้สำหรับคำนวณและศึกษาทางคอมพิวเตอร์ได้ 23 โปรตีน และในจำนวนนี้มีทั้งโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับทั้ง กิจกรรมในเซลล์ และโปรตีนจากไวรัสต่าง ๆ รวมไปถึงไวรัสเด็งกีด้วย



รูปที่ 2 ภาพรวมของการค้นหาเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มฟีนอลิกลิปิดด้วยวิธี Molecular docking ร่วมกับระเบียบวิธี HomoPharma ระหว่างสารประกอบ กับโปรตีนต่าง ๆ

3. การศึกษา effective concentrations (EC_{50}) ของสารประกอบต่อต้านไวรัสแดงกึ่งที่สี่ชนิด

สารประกอบ phenolic lipid ให้ค่าการยับยั้งการติดเชื้อไวรัส DENV2 ในเซลล์ Vero แตกต่าง กันดังนี้ (ตารางที่ 1) สารประกอบกลุ่ม anacardic acid ที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกันคือ ของผสม และ Anacardic acid saturated ถึงแม้ว่า สาร Anacardic acid saturated จะมีสัดส่วนอยู่ในของผสมเพียง แค่ 18% สารประกอบกลุ่ม cardanol มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับอีกสองกลุ่ม และยังพบปัญหา การละลายใน cardanol triene ในขณะที่สารประกอบที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ cardol mixture (73% diene and 27% triene) โดยที่ EC_{50} อยู่ที่ $3.24 \pm 0.51 \mu\text{M}$ อย่างไรก็ตาม เมื่อทดสอบควบคู่กับ ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่า cardol triene มีประสิทธิภาพดีที่สุด การทดสอบประสิทธิภาพของ cardol triene การยับยั้งการติดเชื้อไวรัสแดงกึ่งชนิดที่ 1-4 (DENV1-4) และไวรัสซิกา (ZIKV) ในเซลล์ Vero (รูปที่ 3D-H) แสดงให้เห็นว่า cardol triene ยับยั้งการติดเชื้อไวรัส DENV1-4 ได้แตกต่างกัน เล็กน้อย แต่ไม่มีผลยับยั้งไวรัส ZIKV

4. ทดสอบความเข้มข้นของสารประกอบที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ cytotoxic concentrations (CC_{50})

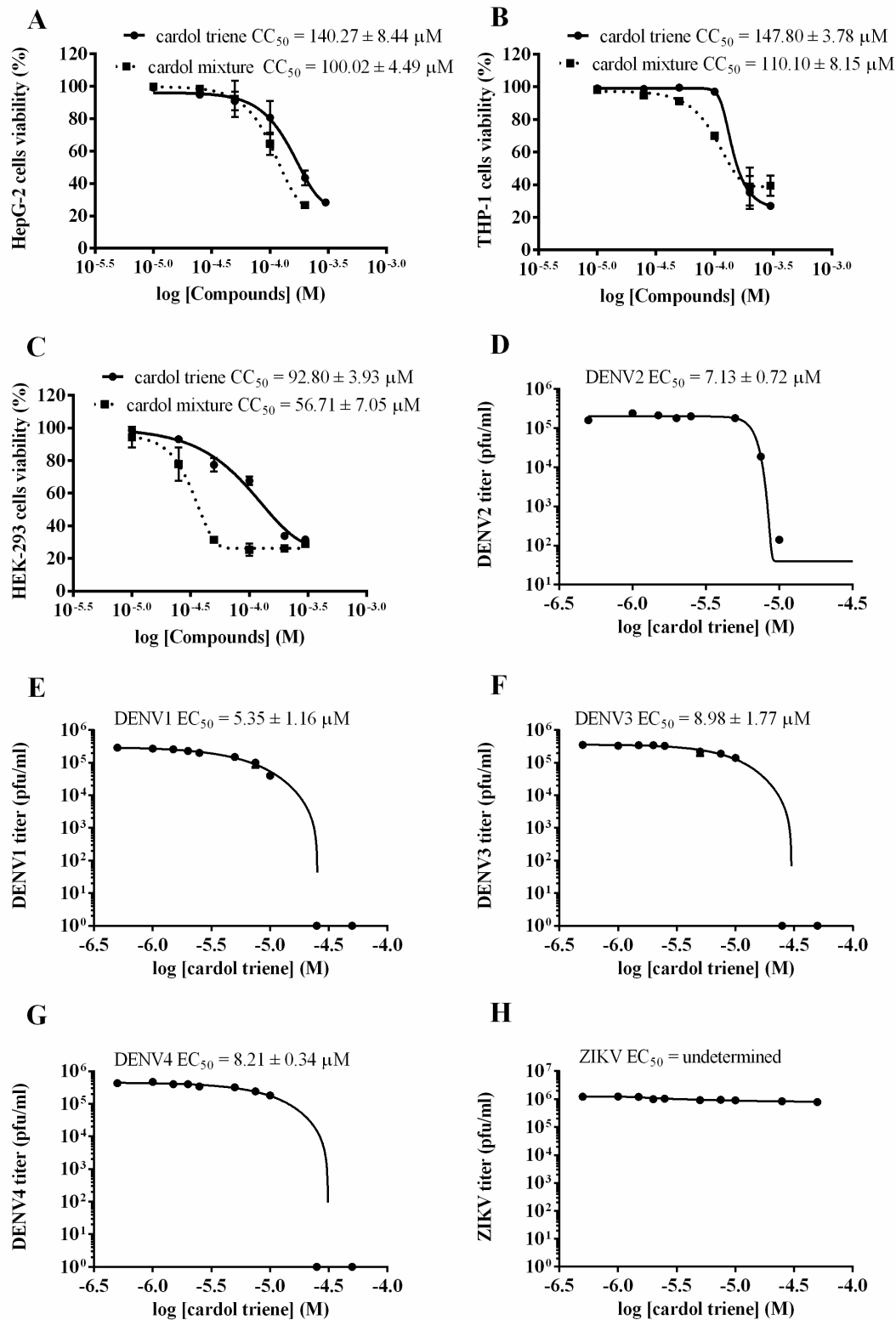
ค่าความเป็นพิษถูกทดสอบในเซลล์ Vero (ตารางที่ 1) พบว่า สารประกอบ triene ทั้ง anacardic acid, cardol, และ cardanol มีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยที่สุด โดย cardol triene มี

ค่าสูงสุด นอกจากนี้ ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ HepG2, THP-1, และ HEK-293 (รูปที่ 3A-C) แสดงให้เห็นว่า cardol triene มีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำในเซลล์ทั้งสามชนิด

ตารางที่ 1 Effective concentrations (EC₅₀), Cytotoxic concentrations (CC₅₀), และ Therapeutic Indices (TI) (means ±S.D.) ของสารประกอบกลุ่ม phenolic lipids ต่อไวรัสเดงกีชนิดที่ 2

สารประกอบ	EC ₅₀ (µM)	CC ₅₀ (µM)	TI
Anacardic mixture	4.82 ± 1.71	58.80 ± 2.91	12.19
Anacardic acid saturated	4.31 ± 1.17	66.33 ± 1.58	15.39
Anacardic acid monoene	12.59 ± 0.84	74.00 ± 0.85	5.88
Anacardic acid diene	No inhibition	-	-
Anacardic acid triene	7.48 ± 2.14	115.13 ± 14.12	15.38
Cardanol mixture	11.06 ± 0.40	46.86 ± 2.94	4.23
Cardanol saturated	5.89 ± 2.83	43.51 ± 1.10	7.39
Cardanol monoene	7.65 ± 2.58	98.70 ± 3.16	12.9
Cardanol diene	No inhibition	-	-
Cardanol triene*	No inhibition	-	-
Cardol mixture	3.24 ± 0.51	60.51 ± 4.94	18.63
Cardol saturated	12.72 ± 0.67	58.75 ± 0.43	4.62
Cardol diene	11.90 ± 0.82	71.66 ± 5.27	6.02
Cardol triene	7.13 ± 0.72	207.3 ± 5.24	29.07

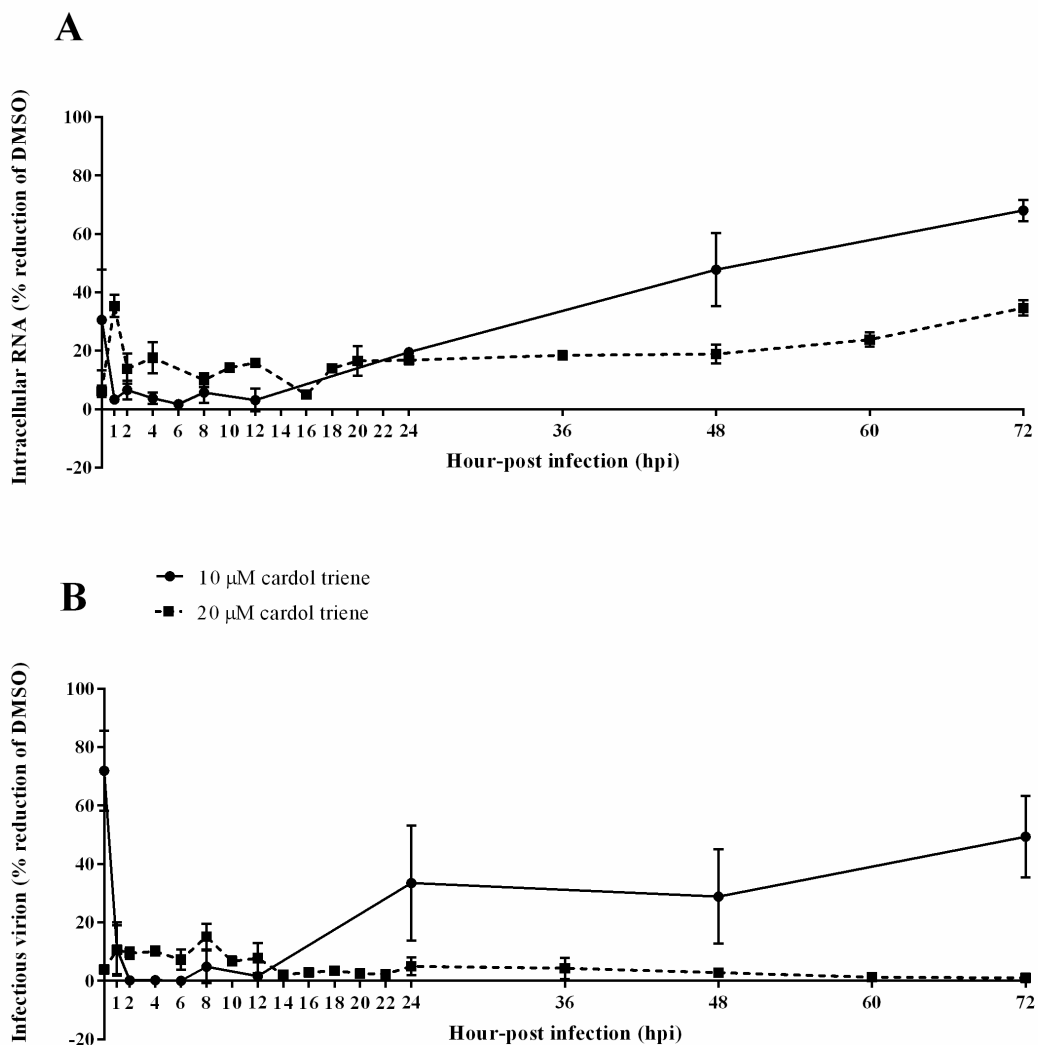
* insoluble



รูปที่ 3 CC_{50} และ EC_{50} ของสารประกอบ Cardol triene (C15:3) ต่อเซลล์ A) HepG2, B) THP-1, C) HEK-293 และไวรัสเดงกี D) DENV2 E) DENV1 F) DENV3 G) DENV4 H) ZIKV ตามลำดับ

5. ศึกษา time of drug addition ที่ยับยั้ง viral replication ด้วย cell-based antiviral assay และ RT-qPCR.

ผู้วิจัยใช้ cardol triene ซึ่งผ่านการทดสอบประสิทธิภาพและความเป็นพิษต่อเซลล์แล้ว ได้ผลดีที่สุดจากสารประกอบทั้งหมด ใช้ความเข้มข้น 10 μM และ 20 μM ในเซลล์ที่กำลังติดเชื้อไวรัสในเวลาแตกต่างกัน พบว่า cardol triene 20 μM มีประสิทธิภาพยับยั้ง RNA ในเซลล์ (intracellular RNA) และตัวไวรัสนอกเซลล์ (infectious virion) ได้ดีในทุกช่วงเวลา ในขณะที่ความเข้มข้น 10 μM ยับยั้งได้ดีใน 12-24 ชั่วโมงแรกเท่านั้น



รูปที่ 4 Time of drug addition assay ของสารประกอบ Cardol triene (C15:3) ต่อไวรัสแดงกีชนิดที่ 2 โดยวัดปริมาณ (A) สารพันธุกรรมของไวรัสในเซลล์ และ (B) ตัวไวรัสที่ติดเชื้อได้ (infectious virion) ที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์

อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่า anacardic acid mixture ที่สกัดจากใบแปะก๊วย *Ginkgo biloba* ยับยั้ง hepatitis C virus replication [9] แต่ส่วนประกอบของสารเคมีในพืชแต่ละชนิดมีไม่เท่ากันและแตกต่างกันในแต่ละฤดูกาล จึงเป็นอุปสรรคต่อการศึกษา structure-activity relationship เพื่อให้ได้สารประกอบออกฤทธิ์ที่ดีที่สุด ในการศึกษาครั้งนี้ สารประกอบ phenolic lipids ถูกสกัดจาก cashew nut shell liquid (CNSL) และทำให้บริสุทธิ์ รวมทั้งสังเคราะห์เพิ่มเติมเพื่อให้ได้จำนวนโครงสร้างครบถ้วนเพียงพอกับการศึกษา structure-activity relationship และผ่านการทดสอบคัดกรองทางคอมพิวเตอร์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารประกอบกลุ่มนี้มีความเป็นไปได้ที่จะยับยั้งโปรตีนของไวรัสเดงกี

การทดสอบประสิทธิภาพและความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าสารประกอบ cardol triene มีความเป็นพิษต่อเซลล์ทุกชนิดที่ทดสอบน้อยที่สุด ซึ่งเกิดจากความเป็นไปได้ว่า ส่วนหัว cardol มีโครงสร้างเป็น rod-like และส่วนหางมีพันธะคู่มากที่สุด ทำให้สามารถแทรกเข้า phospholipid bilayer และทำให้โครงสร้างเสถียรได้ดีที่สุด การทดสอบประสิทธิภาพ พบว่า cardol triene มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้ง DENV1-4 แต่ไม่ยับยั้ง ZIKV ซึ่งเป็นข้อมูลที่น่าสนใจเนื่องจากไวรัสทั้งสองชนิดเป็นสมาชิกใน family *Flaviviridae* และมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันมาก การค้นหาความแตกต่างระหว่างโปรตีนของไวรัสทั้งสองชนิดนี้ จะเป็นจุดเริ่มต้นที่ดีในการค้นหาโปรตีนเป้าหมายของสารประกอบต่อไป

ผลการทดสอบ time-of-addition ทำให้ประเมินได้ว่าสารประกอบ cardol triene น่าจะมีหลายเป้าหมายและใช้หลายกระบวนการในการยับยั้งไวรัสได้ ซึ่งทำให้เห็นผลรวม (additive effect) ไปแล้วจากผลการทดสอบประสิทธิภาพในระดับเซลล์ โดยมีประสิทธิภาพสูงในช่วง 12-24 ชั่วโมงแรก ซึ่งคล้ายกับการศึกษาก่อนหน้านี้

สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป

จากการศึกษา structure-activity relationship ของสารประกอบ phenolic lipids ที่ทำให้ไวรัสฤทธิ์แล้ว มีที่มาจาก cashew nut shell liquid (CNSL) และการสังเคราะห์ด้วยวิธี hydrogenation พบว่า สารประกอบ cardol triene มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งไวรัสแดงกึ่งสี่ชนิดและมีค่าความเป็นพิษต่ำต่อเซลล์ไลน์สี่ชนิด สารประกอบนี้ไม่ยับยั้งไวรัสชิก้า นอกจากนี้ยังคาดว่าสารประกอบ cardol triene น่าจะใช้หลายกระบวนการในการยับยั้งไวรัสได้โดยมีหลายโปรตีนเป้าหมาย

การทดสอบในลำดับถัดไป จะมุ่งเน้นที่การค้นหาโปรตีนเป้าหมายของไวรัส เริ่มจากการศึกษา structural similarity ระหว่างโปรตีนของไวรัสแดงกึ่งและชิก้า มองหาความแตกต่างที่น่าจะเป็นไปได้ ด้วยวิธี pattern similarity search จากนั้น ทดสอบยืนยันโดยนำโปรตีนชนิดนั้นมาวิเคราะห์ร่วมกับ cardol triene คำนวณหาการจับกันด้วย molecular docking และ simulation และทดสอบยืนยันด้วย functional assay ในระดับเซลล์ เช่น fusion inhibition assay หรือ attachment inhibition assay เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. Bhatt, S., et al., The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 2013. 496(7446): p. 504-7.
2. WHO Dengue and severe dengue, Fact Sheet No117. 2012. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.html>.
3. WHO, Dengue Guideline for Diagnosis, Treatment, Prevention, and Control. 2009, WHO: Geneva, Switzerland.
4. WHO Dengue Vaccine Research. 2016.
5. Lim, S.P., et al., Ten years of dengue drug discovery: progress and prospects. *Antiviral Res*, 2013. 100(2): p. 500-19.
6. Wang, W.K., et al., High levels of plasma dengue viral load during defervescence in patients with dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *Virology*, 2003. 305(2): p. 330-8.
7. Libraty, D.H., et al., Differing influences of virus burden and immune activation on disease severity in secondary dengue-3 virus infections. *J Infect Dis*, 2002. 185(9): p. 1213-21.
8. Boonyasuppayakorn, S., et al., Simplified dengue virus microwell plaque assay using an automated quantification program. *J Virol Methods*, 2016. 237: p. 25-31.
9. Hundt, J., Z. Li, and Q. Liu, The inhibitory effects of anacardic acid on hepatitis C virus life cycle. *PLoS One*, 2015. 10(2): p. e0117514.

ประวัติผู้วิจัยและคณะ

- ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว ศิวะพร บุญยทรัพย์ากร
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Siwaporn Boonyasuppayakorn
- เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3100203443253
- ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
- หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรศัพท์มือถือ โทรสาร และ e-mail

หน่วยงาน ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ติดต่อ 1873 ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กทม 10330

โทรศัพท์ 02-2564132 ต่อ 610 มือถือ 0830087457 โทรสาร 02-2525952

E-mail siwaporn.b@chula.ac.th

- ประวัติการศึกษาต้องระบุสถาบันการศึกษา สาขาวิชาและปีที่จบการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ พ.ศ.
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ตรี	แพทยศาสตร์ (เกียรตินิยม)	2550
Georgetown University	เอก	Microbiology and Immunology	2556

- สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) Anti-dengue drug discovery
- ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ (โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย)

- 7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย : ชื่อโครงการวิจัย

- โครงการวิจัยเรื่อง “Molecular and Demographic Analysis of Respiratory Syncytial Virus Infection in King Chulalongkorn Memorial Hospital Admitted Patients, Thailand, 2007” ระยะเวลาโครงการ 1 ปี (พ.ศ. 2550-2551) เป็นผู้ร่วมวิจัย (รศ.ดร. ภาวพันธ์ ภัทรโกศล เป็นผู้วิจัยหลัก)

- โครงการวิจัยเรื่อง “Repurposing Antimalarial Drugs as Inhibitors of Flavivirus Infectivity” ระยะเวลาโครงการ 5 ปี (พ.ศ. 2552-2557) เป็นผู้ร่วมวิจัย (Professor Radhakrishnan Padmamabhan เป็นผู้วิจัยหลัก) งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาเอก
- โครงการวิจัยเรื่อง “Functional Analysis of Flaviviral NS5 in 5’Capping: characterization of methyltransferase, guanylyltransferase, and guanosinetriphosphatase activities” ระยะเวลาโครงการ 4 ปี (พ.ศ. 2553-2557) เป็นผู้ร่วมวิจัย (Professor Radhakrishnan Padmamabhan เป็นผู้วิจัยหลัก) งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาเอก
- โครงการวิจัยเรื่อง “Screening for Potential Flaviviral Inhibitors using in vitro protease and cell-based dengue virus type II replicon assays” ระยะเวลาโครงการ 1 ปี (พ.ศ. 2552-2553) เป็นผู้ร่วมวิจัย (Professor Radhakrishnan Padmamabhan เป็นผู้วิจัยหลัก)
- โครงการวิจัยเรื่อง “Substitution of NS5 N-terminal domain of dengue virus type 2 RNA with type 4 domain caused impaired replication and emergence of adaptive mutants with enhanced fitness” ระยะเวลาโครงการ 2 ปี เป็นผู้ร่วมวิจัย (พ.ศ. 2555-2557) (Professor Radhakrishnan Padmamabhan เป็นผู้วิจัยหลัก)
- โครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาวิธีการตรวจคัดกรองการเป็นพิษต่อเซลล์และการต่อต้านไวรัสเดงกีซีโรไทป์ (1-4) ในเซลล์ เพื่อค้นหาต้านไวรัสและทดสอบกับสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอย” ระยะเวลาโครงการ 1 ปี (พ.ศ. 2557-2558) เป็นผู้วิจัยหลัก
- โครงการวิจัยเรื่อง “การค้นหาต้านไวรัสเดงกีโดยการตรวจคัดกรองด้วยไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงจากกลุ่มสารประกอบต้านอนุมูลอิสระ” ระยะเวลาโครงการ 2 ปี (พ.ศ. 2557-2559) เป็นผู้วิจัยหลัก

7.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องและทำเสร็จแล้ว : (ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุนย้อนหลังไม่เกิน 5 ปี)

บทความวิชาการ จำนวน 3 เรื่อง

- พ.ศ. 2557: Teramoto T, Boonyasuppayakorn S, Handley M, Choi KH, Padmanabhan R. Substitution of NS5 N-terminal domain of dengue virus type 2 RNA with type 4 domain caused impaired replication and emergence of adaptive mutants with enhanced fitness. J Biol Chem. 2014 Aug 8;289(32): p22385-400.
- พ.ศ. 2557: Boonyasuppayakorn S, Reichert E, Manzano M, Nagarajan K, Padmanabhan R. Amodiaquine, an antimalarial drug, inhibits dengue virus type 2 replication and infectivity. Antiviral Res. 2014 Jun; 106: p125-34.

- พ.ศ. 2553: Boonyasuppayakorn S, Kowitdamrong E, Bhattarakosol P. Molecular and demographic analysis of respiratory syncytial virus infection in patients admitted to King Chulalongkorn Memorial Hospital, Thailand, 2007. Influenza Other Respi Viruses. 2010 Sep;4(5): p313-23.

ตำรา (บทในหนังสือ) จำนวน 2 เรื่อง

- พ.ศ. 2557: Boonyasuppayakorn S. “Current Advances in Flavivirus drug screening” in เวชศาสตร์ร่วมสมัย 2557: King Chulalongkorn Memorial Hospital : 100 Year-Experiences towards Excellence. p163-70. ISBN 978-616-551-795-9
- พ.ศ. 2557: Boonyasuppayakorn S and Padmanabhan R. “Chapter 22: Construction of plasmid, bacterial expression, purification, and assay of dengue virus type 2 NS5 methyltransferase” in Padmanabhan R. and Vasudevan S.G. Editors. Dengue Methods and Protocols. Methods Mol Biol: Springer Protocols. 2014;1138: p361-73. ISBN 978-1-4939-0347-4

สิทธิบัตร จำนวน 1 เรื่อง

- พ.ศ. 2558: International Application no. PCT/US15/014578 Filed by Georgetown University on 02/05/2015 "Treating Flavivirus Infections with Amodiaquine and Derivatives Thereof" by Radhakrishnan Padmanabhan, Kuppuswamy Nagarajan, and Siwaporn Boonyasuppayakorn

7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ : (ชื่อโครงการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัย (ผู้บริหารโครงการ หัวหน้าโครงการ และ/หรือผู้ร่วมวิจัย) ระบุเดือน และปีที่เริ่มต้นและสิ้นสุด) ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน

โครงการ “การค้นหายาต้านไวรัสเดงกีโดยการตรวจคัดกรองด้วยไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงจากกลุ่มสารประกอบต้านอนุมูลอิสระ”

แหล่งทุน ทุนรัชดาภิเษกสมโภช โครงการพิเศษสำหรับอาจารย์ใหม่ ปี 2558

สถานภาพในการทำวิจัย ได้ทำการวิจัยลุล่วงไปแล้ว 80% ขณะนี้กำลังอยู่ระหว่างการเรียบเรียงเนื้อหาเพื่อร่างต้นฉบับสำหรับตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นายวรินทร์ ชวศิริ
ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Warinthorn Chavasiri
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3101501726254
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรศัพท์มือถือ โทรสาร และ E-mail

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-218-7625 มือถือ 086-655-3375 โทรสาร 02-218-7598

e-mail: warinthorn.c@chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษาต่อระดับสถาบันการศึกษา สาขาวิชาและปีที่จบการศึกษา

สถาบันการศึกษา	สาขาวิชา	ปีที่จบการศึกษา
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เคมี	2528
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เคมีอินทรีย์	2528
Texas A&M University	เคมี	2533

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระดับสาขาวิชาการ
เคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เคมีการเกษตร เคมีสังเคราะห์ เคมีของตัวเร่งปฏิกิริยา
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการ
ทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

ผลงานวิจัยย้อนหลัง 5 ปี (2012-2016)

1. Kijrungphaiboon, W.; Chantarasriwong, O.; Chavasiri, W. "Cl₃CCN/PPh₃ and CBr₄/PPh₃: Two Efficient Reagent Systems for the Preparation of N-Heteroaromatic Halides" *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53*, 674-677.
2. Tangjitjaroenkun, J.; Supabphol, R.; Chavasiri, W. "Antioxidant effect of Zanthoxylum limonella" *J. Med. Plants Res.*, **2012**, *6*, 1407-1414.

3. Sunphorka, S.; Chavasiri, W.; Oshima, Y.; Ngamprasertsith, S. "Kinetic Studies on Rice Bran Protein Hydrolysis in Subcritical Water" *J. Supercritical Fluids*, **2012**, *65*, 54-60.
4. Tangjitjaroenkun, J.; Chavasiri, W.; Thunyaharn, S.; Yompakdee, C.; Bactericidal effects and Time-kill Studies of the Essential Oil from the Fruits of *Zanthoxylum limonella* on Multi-drug Resistant Bacteria. *J. Essential Oil Res.*, **2012**, *24*, 363-370.
5. Tangjitjaroenkun, J.; Chantarasriwong, O.; Chavasiri, W. Chemical Constituents of the Stems of *Zanthoxylum limonella* Alston *Phytochem. Lett.*, **2012**, *5*, 443-445.
6. Sunphorka, S.; Chavasiri, W.; Oshima, Y.; Ngamprasertsith, S. "Protein and Sugar Extraction from Rice Bran and De-Oiled Rice Bran using Subcritical Water in a Semi-Continuous Reactor: Optimization by Response Surface Methodology" *Int. J. Food Eng.*, **2012**, *8*, 3-22.
7. Pluemanupat, S.; Kumrungsee, N.; Pluemanupat, W.; Ngamkitpinyo, K.; Chavasiri, W.; Bullangpoti, V.; Koul, O. "Laboratory Evaluation of *Dalbergia oliveri* (Fabaceae: Fabales) Extracts and Isolated Isoflavonoids on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Mosquitoes" *Ind. Crops Prod.*, **2013**, *44*, 653-658.
8. Seentrakoon, B.; Junhasavasdikul, B.; Chavasiri, W. "Enhanced UV-protection and Antibacterial Properties of Natural Rubber/Rutile-TiO₂ Nanocomposites" *Polymer Degrad. Stab.*, **2013**, 1-13.
9. Trikitiwong, P.; Sukpirom, N.; Chavasiri, W. "Regioselective Epoxide Ring Opening Mediated by Iron Oxide-Pillared Clay" *J. Mol. Cat. A: Chemical*, **2013**, *378*, 76-81.
10. Petnapapun, K.; Chavasiri, W.; Sompornpisut, P. "Structure-activity relationships of 3,3'-phenylmethylene-bis-4-hydroxycoumarins: Selective and potent inhibitors of gram-positive bacteria" *The Scientific World Journal*, 2013, 2013, Article number 178649.
11. Boonkerd, S.; Yompakdee, C.; Miyakawa, T.; Chavasiri, W. "A flavonoid, 5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone, from *Kaempferia parviflora* Wall. Ex. Baker as an inhibitor of Ca²⁺ signal-mediated cell-cycle regulation in yeast" *Ann. Microbibio.*, **2014**, *64*, 1049-1054.
12. Pluemanupat, W.; Temyarasitp, P.; Widhalm, M.; Chavasiri, W. "Camphorquinone: a new and efficient oxidant for the preparation of 2-thio-substituted benzothiazoles from alcohols by oxidation-reduction condensation" *J. Sulfur Chem.*, **2014**, *35*, 418-430.
13. Trikitiwong, P.; Sukpirom, N.; Shimazu, S.; Chavasiri, W. "Iron Oxide-pillared Clay Catalyzed the Synthesis of Acetonides from Epoxides" *Cat. Commun.*, **2014**, *54*, 104-107.
14. Phoonan, W.; Deowanish, S.; Chavasiri, W. "Food Attractant from Mulberry Leaf Tea and Its Main Volatile Compounds for the Biocontrol of *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae)" *J. Stored Prod.*, **2014**, *59*, 299-305.

15. Mongkol, R.; Chavasiri, W.; Ishida, M.; Matsuda, K.; Morimoto, M. “Phytotoxic and Antiphytopathogenic Compounds from Thai *Alpinia galanga* (L.) Willd. Rhizomes” *Weed Bio. Manage.*, **2015**, *15*, 87-93.
16. Fujita, K.-I.; Chavasiri, W.; Kubo, I. “Anti-Salmonella Activity of Volatile Compounds of Vietnam Coriander” *Phytother. Res.*, **2015**, *29*, 1081-1087.
17. Pongkittiphan, V.; Chavasiri, W.; Supabphol, R. “Antioxidant Effect of Berberine and Its Phenolic Derivatives against the Human Fibrosarcoma Cells” *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, **2015**, *16*, 5371-5376.
18. Duonga, T.-H.; Chavasiri, W.; Boustiec, J.; Nguyen, K.-P.-P. “New meta-Depsidones and Diphenyl Ethers from the Lichen *Parmotrema tsavoense* (Krog & Swinscow) Krog & Swinscow, Parmeliaceae” *Tetrahedron*, **2015**, *71*, 9684-9691.
19. Miyazawa, M.; Nakahashi, Y.; Nakashima, H.; Hara, N.; Nakagawa, H.; Usami, A.; Chavasiri, W. “Volatile Compounds with Characteristic Odor of Essential Oil from in *Magnolia obovate* Leaves by Hydrodistillation and Solvent-Assisted Flavor Evaporation” *J. Oleo. Science*, **2015**, *64*, 999-1007.
20. Kicuntod, J.; Khuntawee, W.; Wolschann, P.; Pongsawasdi, P.; Chavasiri, W.; Kungwan, N.; Rungrotmongkol, T. “Inclusion Complexation of Pinostrobin with Various Cyclodextrin Derivatives” *J. Mol. Graphics Model.*, **2016**, *63*, 91-98.

งานวิจัยที่กำลังทำ :

ชื่อแผนงานวิจัย The Thailand-China Joint Project: Thai-plant and fungal resources based anti-T2DM/AD drug lead compound discovery and pharmacological mechanism investigation

แหล่งทุน สกว

สถานภาพในการทำวิจัย หัวหน้าโครงการย่อย

ระบุเดือนและปีที่เริ่มต้นและสิ้นสุด ธันวาคม 2558 – พฤศจิกายน 2561 (3 ปี)

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว ธัญญดา รุ่งโรจน์มงคล

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Thanyada Rungrotmongkol

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-7-098 -00128 -16-4

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์มหาวิทยาลัย

เงินเดือน (บาท) 37,150

เวลาที่ใช้ทำวิจัย (ชั่วโมง : สัปดาห์) 25 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

254 เขตวังใหม่ แขวงปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทร 02-218-5426

อีเมล thanyada.r@chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

2011-present	University Lecturer	Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand
2009-2011	Researcher	Center of Innovative Nanotechnology, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand
2008-2009	International expert and Consultant	International Centre for Science and High Technology, United Nations Industrial Development Organization (ICS-UNIDO), Trieste, Italy
2006-2011	Postdoctoral fellow	Computational Chemistry Unit Cell, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

2006	Ph.D. in Physical Chemistry	Department of chemistry, Faculty of Sciences, Kasetsart University, Bangkok, Thailand
2001	B.Sc. in Chemistry (with First Class Honors)	Department of chemistry, Faculty of Sciences, Kasetsart University, Bangkok, Thailand

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

Molecular modeling on biological systems; drug design and discovery

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

รางวัลที่ได้รับ

2559 รางวัลนักวิจัยที่มีผลงานที่ได้รับการอ้างอิงสูงสุดของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปี 2559 สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

2558 รางวัลคุษฎีบัณฑิตโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.) ดีเด่น ครั้งที่ 2 ประจำปี 2558 สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ

2558 ทุนช่วยเหลือทางด้านวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 22 พ.ศ. 2558 มูลนิธิโทรเพื่อการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ ประเทศไทย (TTSF)

2556 รางวัลนักวิจัยรุ่นกลางดีเด่น (รางวัลจุลมงกุฎ:เกียรติภูมิวิทยา) สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ประจำปี 2556 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2556)

2556 UK Southeast Asia Knowledge Partnership (Collaboration Development Award) from British High Commission, Singapore

หัวหน้าโครงการวิจัย

2016 ทุนพัฒนานักวิจัย เมธีวิจัย สกว. ประจำปี 2559 (3 years: 2016-2019)

2016 โครงการพัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติ ประจำปี 2559 (1 year: 2016-2017)

2016 โครงการวิจัยงบประมาณประจำปี 2559 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (1 year: 2015-2016)

2015 โครงการเพิ่มศักยภาพในด้านการวิจัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช (1 year: 2015-2016)

2015 World Class University funding (1 year: 2015-2016)

2015 Asia Research Center, Chulalongkorn University, Thailand (1 year: 2015- 2016)

2014 World Class University funding (1 year: 2014)

2013 The Asahi Glass Foundation, Thailand (2 years: 2013-2014)

2012 Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund, Chulalongkorn University, Thailand (Grants for the development of new faculty staff, 2 year: 2012-present)

2012 TRF-CHE Research Grant for New Scholar, Thailand Research Fund and Commission on Higher Education, Thailand (2 years: 2012-present)

2012 Asia Research Center, Chulalongkorn University, Thailand (1 year: 2012-2013)

2012 Chulalongkorn University Centenary Academic Development Project under the Center of Innovative Nanotechnology, Chulalongkorn University, Thailand (1 year: 2012-2013)

2009 TRF Grant for New Researcher, Thailand Research Fund, Thailand (2 years: March 2009-March 2011)

ผลงานตีพิมพ์ (ย้อนหลัง 5 ปี)

1. N. Kaiyawet, **T. Rungrotmongkol*** and S. Hannongbua, Probable polybasic residues inserted into the cleavage site of the highly pathogenic avian influenza A/H5N1 hemagglutinin: speculation of the next outbreak in humans, *International Journal of Quantum Chemistry* **2013**; 113, 569–573. (50%)
2. C. Runnim, **T. Rungrotmongkol**, S. Hannongbua*, H. Okumura, Replica exchange molecular dynamics simulation of chitosan for drug delivery system based on carbon nanotube, *Journal of molecular graphics and modeling* **2013**; 39: 183-192.
3. N. Nunthaboot^a, **T Rungrotmongkol^a**, O. Aruksakunwong^a, S. Hannongbua*, Effects of protonation state of catalytic residues and ligands upon binding and recognition in targeted proteins of HIV-1 and influenza viruses, *Current Pharmaceutical Design* **2013**; 19(42). (review article)
4. P. Maitarad, D. Zhang*, R. Gao, L. Shi*, H. Li, L. Huang, **T. Rungrotmongkol**, J. Zhang, Combination of experimental and theoretical investigations of $MnO_x/Ce_{0.9}Zr_{0.1}O_2$ nanorods for selective catalytic reduction of NO with ammonia, *The Journal of Physical Chemistry C*, **2013**; 117: 9999–10006.
5. R. Gao, D. Zhang*, P. Maitarad, L. Shi*, **T. Rungrotmongkol**, H. Li, J. Zhang, W. Cao, Morphology-dependent properties of MnO_x/ZrO_2-CeO_2 nanostructures for the selective catalytic reduction of NO with NH_3 , *The Journal of Physical Chemistry C*, **2013**; 117 (20), 10502–10511
6. N. Kaiyawet, **T. Rungrotmongkol**, S. Hannongbua*, Effect of halogen substitutions on dUMP to stability of thymidylate synthase/dUMP/mTHF ternary complex using molecular

- dynamics simulation, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **2013**; 53 (6), 1315–1323
7. Meeprasert, **T. Rungrotmongkol**, M.S. Li*, S Hannongbua*, *In silico* for potent inhibitors against NS3/4A protease of hepatitis C virus, *Current Pharmaceutical Design*, **2014**; 20, 3465-3477. (review article)
 8. T. Udommaneethanakit, **T. Rungrotmongkol**, V. Frecer, M. Stanislav, U. Bren*, Drugs against Avian Influenza A Virus: Design of Novel Sulfonate Inhibitors of Neuraminidase N1, *Current Pharmaceutical Design*, **2014**; 20(21):3478-87.
 9. **T. Rungrotmongkol**, A.J. Mulholland, S. Hannongbua*, QM/MM simulations indicate that Asp185 is the likely catalytic base in the enzymatic reaction of HIV-1 reverse transcriptase, *Medicinal Chemistry Communications*, **2014**; 5: 593-596
 10. Meeprasert, S. Hannongbua, **T. Rungrotmongkol***, Key Binding and Susceptibility of NS3/4A Serine Protease Inhibitors against Hepatitis C Virus, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2014, 54(4): 1208-17. (50)
 11. W. Sangpheak, W. Khuntawee, P. Wolschann, P. Pongsawasdi, **T. Rungrotmongkol***, Enhanced stability of naringenin/2,6-dimethyl β -cyclodextrin inclusion complex: Molecular dynamics and free energy calculations based on MM- and QMPBSA/GBSA, *Journal of molecular graphics and modeling*, **2014**; 50: 10–15
 12. P. Maitarad, J. Han, D. Zhanga*, S. Namuangruk, **T. Rungrotmongkol**, L. Shi, Structure-Activity Relationships of NiO on CeO₂ Nanorods for Selective Catalytic Reduction of NO with NH₃: Experimental and DFT Studies, *The Journal of Physical Chemistry C*, **2014**; 118 (18), 9612–9620
 13. B. Nutho, W. Khuntawee, C. Rungnim, P. Pongsawasdi, P. Wolschann, A. Karpfen, N. Kungwan, **T. Rungrotmongkol***, Binding mode and free energy prediction of fisetin/ β -cyclodextrin inclusion complex, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, **2014**; 10, 2789–2799.
 14. N. Kaiyawet, R. Lonsdale, **T. Rungrotmongkol**, A. Mulholland, S. Hannongbua*, High-Level QM/MM Calculations Support the Concerted Mechanism for Michael Addition and

- Covalent Complex Formation in Thymidylate Synthase, *Journal of Chemical Theory and Computation*, **2015**; 11 (2), 713–72
15. Suksuwan, L. Lomlim, T. Rungrotmongkol, T. Nakpheng, F.L. Dickert, S. Roongnapa*, The Composite Nanomaterials containing (R)-Thalidomide-Molecularly Imprinted Polymers as a Recognition System for Enantioselective-Controlled Release and Targeted Drug Delivery, *Journal of Applied Polymer Science*, 2015; 132 (18): no.41930
 16. M. Ratanasak, **T. Rungrotmongkol**, O. Saengsawang, S. Hannongbua, V. Parasuk, Towards the design of new electron donors for Ziegler-Natta catalyzed propylene polymerization using QSPR modeling. *Polymer (United Kingdom)* **2015**; 56, 340-345.
 17. P. Yotmanee, **T. Rungrotmongkol**, K. Wichapong, S.B. Choi, H.A. Wahab*, N. Kungwan, S. Hannongbua*, Binding specificity of polypeptide substrates in NS2B/NS3pro serine protease of dengue virus type 2: A molecular dynamics Study, *Journal of Molecular Graphics and Modeling* **2015**; 60, 24-33
 18. J. Phanich, **T. Rungrotmongkol***, D. Sindhikara, S. Phongphanphanee, N. Yoshida, F. Hirata,* N. Kungwan, S. Hannongbua, A 3D-RISM/RISM study of the oseltamivir binding efficiency with the wild-type and resistance-associated mutant forms of the viral influenza B neuraminidase, *Protein Science*, **2016**; 25, 147-158
 19. S. Kongkaew, P. Yotmanee, **T. Rungrotmongkol**, N. Kaiyawet, A. Meeprasert, T. Kaburaki, H. Noguchi, F. Takeuchi, N. Kungwan, S. Hannongbua*, Molecular Dynamics Simulation Reveals the Selective Binding of Human Leukocyte Antigen Alleles Associated with Behçet's Disease, *PLoS One*, **2015**; 10(9):e0135575
 20. W. Khuntawee, P. Wolschann, **T. Rungrotmongkol***, J. Wong-ekkabut*, S. Hannongbua, Molecular dynamics simulations of the interaction of beta cyclodextrin with a lipid bilayer, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **2015**, 55(9): 1894-1902
 21. C. Rungnim, S. Phunpee, M. Kunaseth, S. Namuangruk, K. Rungsardthong, **T. Rungrotmongkol***, U. Ruktanonchai*, Co-solvation effect on the binding mode of the α -mangostin/ β -cyclodextrin inclusion complex, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, **2015**; 11, 2306–2317
 22. W. Sangpheak, J. Kicuntod, R. Schuster, **T. Rungrotmongkol**, P. Wolschann, N. Kuawan, H. Viernstein, M. Mueller*, P. Pongsawasdi*, Physical properties and biological activities of

- hesperetin and naringenin in complex with methylated β -cyclodextrin, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, **2015**; 11, 2763–2773
23. C. Runnim, **T. Rungrotmongkol***, N. Kungwan, S. Hannongbua, Protein-protein interactions between SWCNT/chitosan/EGF and EGF receptor: A model of drug delivery system, *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, **2016**, DOI: 10.1080/07391102.2015.1095114
24. W. Khuntawee, **T. Rungrotmongkol**, P. Wolschann, P. Pongsawasdi, N. Kungwan, H. Okumura*, S. Hannongbua*, Conformation Study of ϵ -Cyclodextrin: Replica Exchange Molecular Dynamics Simulations, *Carbohydrate Polymer*, **2016**, 141; 99–105
25. J. Kicuntod, W. Khuntawee, P. Wolschann, P. Pongsawasdi, N. Kuawan, **T. Rungrotmongkol*** Inclusion complexation of pinostrobin with various cyclodextrin derivatives, *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, **2016**; 63, 91–98
26. W. Karnsomwan, **T. Rungrotmongkol**, S. Chamni*, W. De-Eknamkul, In silico structural prediction of human steroid 5 α -reductase Type II, *Med. Chem. Res.* **2016**; 25(6), 1049-1056
27. C. Runnim, R. Chanajaree, T. Rungrotmongkol, S. Hannongbua, N. Kungwan, P. Wolschann, A. Karpfen*, V. Parasuk*, How strong is the edge effect for anti-cancer drugs adsorption over graphene cluster? *Journal of Molecular Modeling*, **2016**; 22(4), 85
28. N. Schaduangrat, J. Phanich, **T. Rungrotmongkol**, H. Lerdsamran, P. Puthavathana, S. Ubol*, The significance of naturally occurring neuraminidase quasispecies of H5N1 avian influenza virus on resistance to oseltamivir: a point of concern, *Journal of General Virology*, **2016**; DOI: 10.1099/jgv.0.000444.
29. B. Nutho, A. Meeprasert, M. Chulapa, N. Kungwan, **T. Rungrotmongkol***, Screening of Hepatitis C NS5B polymerase Inhibitors Containing Benzothiadiazine Core: A Steered Molecular Dynamics, *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, **2016**; DOI: 10.1080/07391102.2016.1193444
30. R. Daengngern, C. Prommin; T. Rungrotmongkol, V. Promarak, P. Wolschann, N. Kungwan*, Theoretical investigation of 2-(iminomethyl)phenol in the gas phase as a prototype of ultrafast excited-state intramolecular proton transfer, *Chemical Physics Letters*, **2016**; 657, 113-118.

31. V.T. Phuong, T. Chokbunpiam*, S. Fritzsche, T. Remsungnen, **T. Rungrotmongkol**, C. Chmelik, J. Caro, S. Hannongbua*, Methane in Zeolitic Imidazolate Framework ZIF-90: Adsorption and Diffusion by Molecular Dynamics and Gibbs Ensemble Monte Carlo, *Microporous & Mesoporous Materials*, **2016**, in press
32. F.N. Sabri, H. Monajemi, S.M. Zain, P.S. Wai, **T. Rungrotmongkol**, V.S. Lee, Molecular conformation and UV-visible absorption spectrum of emeraldine salt polyaniline as a hydrazine sensor, *Integrated Ferroelectrics*, **2016**; 175: 1-9