

การยับยั้งการทำงานของฮีแมกกลูตินินของไข้หวัดใหญ่ H1N1
ด้วยสารแอนโดรกราโฟไลด์และอนุพันธ์
Inhibition of Influenza A Hemagglutinin H1N1
with Andrographolide and Derivatives

พนิตา กังซุ่น^{1*} ซ้ำซีเยห์ มะลี² และปาตีมาะ ดอลเฮะ²
Panita Kongsune^{1*}, Sumseeyah Malee² and Patimoh Doloh²

บทคัดย่อ

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งระหว่างโปรตีนฮีแมกกลูตินินของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H1N1 กับสารแอนโดรกราโฟไลด์และอนุพันธ์ที่พบในฟ้าทะลายโจร ด้วยวิธีโมเลกุลาร์ดอกกิ้ง ผลการคำนวณพบว่าตัวยับยั้ง 1,4 - deoxyandrographolide_1 สามารถจับกับโปรตีนฮีแมกกลูตินินได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกสารดังกล่าวมาทำการศึกษาดัวยระเบียบวิธีโมเลกุลาร์ไดนามิกส์ซิมูเลชัน โดยพบว่าตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 สามารถเกิดพันธะกับกรดอะมิโน Y95, H183, D190, E227 และ G228 ของโปรตีนฮีแมกกลูตินิน และพบว่าค่าพลังงานยึดจับระหว่างสารดังกล่าวเท่ากับ -72.33 kcal/mol แสดงให้เห็นว่าการยึดจับมีความแข็งแรงเป็นการยืนยันว่าตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 มีโอกาสที่จะพัฒนาเป็นยาเพื่อยับยั้งการทำงานของโปรตีนฮีแมกกลูตินินได้

คำสำคัญ : ฮีแมกกลูตินิน สารแอนโดรกราโฟไลด์และอนุพันธ์ โมเลกุลาร์ดอกกิ้ง ไข้หวัดใหญ่

¹ อ.ดร., สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

² นิสิตสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

* Corresponding author: e-mail: panita487@hotmail.com Tel 0-7460-9600 ext 2362

Abstract

To investigate the binding affinity of the inhibitors, molecular docking was performed on hemagglutinin H1N1 complexed with andrographolide and derivatives from *Andrographis paniculata*. The result revealed that the 1,4 – deoxyandrographolide_1 led to the strongest binding to hemagglutinin active site. Therefore, 1,4 – deoxyandrographolide_1 was selected to study H-bond and free energy using molecular dynamics simulation. The result showed that 1,4 - deoxy andrographolide_1 inhibitor can be bound to the key positions of HA amino acid (Y95, H183, D190, E227 and G228) with high percentage of interaction. The binding free energy result founded that this complex can be well bound together of -72.33 kcal/mol. Therefore, 1,4 – deoxyandrographolide_1 is a good choice for developing the inhibitor of hemagglutinin.

Keywords : Hemagglutinin, Andrographolide and Derivatives, Molecular Docking, Influenza Virus

บทนำ

การระบาดของเชื้อไวรัสไข้หวัดสายพันธุ์ใหม่หรือไข้หวัด 2009 H1N1 หรือ สายพันธุ์ H7N9 ได้สร้างความตื่นตระหนกอีกครั้ง องค์การอนามัยโลกได้พยากรณ์ว่าการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสไข้หวัดสายพันธุ์ใหม่นี้อาจมีระดับความรุนแรงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในอนาคต เนื่องจากเชื้อไวรัสมีการกลายพันธุ์สูงและมีวิวัฒนาการการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ดังนั้นจึงเป็นเรื่องสำคัญอย่างยิ่งที่จะต้องทำความเข้าใจถึงกลไกหรือกระบวนการแพร่พันธุ์ของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ รวมถึงการศึกษาพัฒนาหรือคิดค้นยาชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาไข้หวัดใหญ่ต่อไป

โรคไข้หวัดเกิดจากเชื้อ influenza virus A ซึ่งอยู่ในตระกูล Orthomyxoviridae genus [1] ที่บริเวณเปลือกผิวชั้นนอกของอนุภาคไวรัสประกอบด้วยไกลโคโปรตีน 2 ชนิด ได้แก่ฮีแมกกลูตินิน (Hemagglutinin, HA) ซึ่งมี 16 ชนิด และนิวรามินิเดส (Neuraminidase, NA) ซึ่งมี 9 ชนิด [2] กระบวนการแพร่พันธุ์ของเชื้อไข้หวัดนั้น เริ่มต้นจากฮีแมกกลูตินินของอนุภาคไวรัสยึดเกาะกับตัวรับของโฮสต์ซึ่งประกอบด้วยกรดไซแอลิก (sialic acid, SA) เชื่อมต่อกับน้ำตาล กาแลคโตส (galactose, Gal) หากโปรตีนฮีแมกกลูตินินจับกับตัวรับบนผิวของโฮสต์ได้ดี เชื้อจะแพร่เข้าสู่ร่างกายโฮสต์ได้ง่าย มีการกระจายของเชื้ออย่างรวดเร็ว ในทางตรงกันข้ามหากโปรตีนฮีแมกกลูตินินไม่สามารถยึดเกาะกับตัวรับบนผิวของโฮสต์ได้ การแพร่เข้าสู่เซลล์ของเชื้อไวรัสก็จะไม่เกิดขึ้น นอกจากฮีแมกกลูตินิน แล้ว นิวรามินิเดส และเมมเบรนโปรตีนไอออนแชนแนลหรือ M2 channel ยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเชื้อไวรัส โดยนิวรามินิเดสมีหน้าที่ตัดหมู่กรดไซแอลิกของตัวรับที่ยึดเกาะไวรัสไว้ เพื่อปลดปล่อยอนุภาคไวรัสตัวใหม่ออกจากเซลล์เริ่มต้น และแพร่กระจายไปสู่เซลล์อื่นๆ ต่อไป ส่วน M2 ทำหน้าที่บล็อกเยื่อหุ้มเมมเบรนของไวรัสโดยการลำเลียงโปรตอนผ่านแชนแนลเข้าสู่เซลล์ไวรัส [1]

ในปัจจุบันมียารักษาไข้หวัดใหญ่เพียง 4 ชนิด ที่ผ่านการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ได้แก่ อะแมนตาดีน ไรแมนตาดีน โอเซลตามิเวียร์ และซานามิเวียร์ สำหรับยา 2 ชนิดแรกนั้นถูกพัฒนาขึ้นเพื่อป้องกันการรบกวนการทำงานของโปรตีน M2 ในขณะที่ยาอีก 2 ชนิดถูกคิดค้นขึ้นเพื่อใช้ขัดขวางการทำงานของโปรตีนนิวรามินิเดส อย่างไรก็ตามการใช้ยาดังกล่าวได้ก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาสูง โดยเฉพาะอะแมนตาดีนและไรแมนตาดีน พบว่ามีอัตราการดื้อยาสูงถึง 90 % ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการพัฒนายาที่ออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อเป้าหมายใหม่

ด้วยบทบาทที่สำคัญของโปรตีนฮีแมกกลูตินินทำให้เป็นเป้าหมายในการผลิตหรือคิดค้นยาสำหรับรักษาเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีรายงานว่ามียาที่ผ่านการรับรองจากองค์การอาหารและยาสหรัฐอเมริกาว่าสามารถออกฤทธิ์ขัดขวางหรือยับยั้งการทำงานของโปรตีนฮีแมกกลูตินินได้ ความก้าวหน้าในการคิดค้นหรือพัฒนายาที่ออกฤทธิ์ต้านโปรตีนฮีแมกกลูตินินนั้น มีเพียงกลุ่มอนุพันธ์ที่ช่วยยับยั้งการทำงานในขั้นตอนการพิวส์ชันของโปรตีนฮีแมกกลูตินินเท่านั้น เช่น tert-butyl hydroquinone หรือ TBHQ [3] อนุพันธ์ของคาร์บอกซาไมด์ [4] และสารกลุ่ม Neo6 [5]

จากรายงานของกระทรวงสาธารณสุขที่ระบุว่า สมุนไพรไทยหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านไข้หวัดใหญ่ได้ โดยเฉพาะ “ฟ้าทะลายโจร” นั้นมีสรรพคุณดีเยี่ยม สารสำคัญหลักพบในฟ้าทะลายโจร คือแอนโดรกราโฟไลด์เป็นสารในกลุ่ม Diterpenoid lactone นอกจากนี้ยังพบอนุพันธ์อื่นๆ ของแอนโดรกราโฟไลด์ เช่น 1,4 - deoxy andrographolide และ neoandrographolide งานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาเชิงลึกในระดับโมเลกุลโดยใช้เทคนิคโมเลกุลาร์ดอกกิง (molecular docking) และเทคนิคโมเลกุลาร์ไดนามิกส์ซิมูเลชัน (molecular dynamic simulations) ศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยึดจับระหว่างโปรตีนฮีแมกกลูตินินของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่กับ สารอนุพันธ์แอนโดรกราโฟไลด์ ในฟ้าทะลายโจร เพื่อให้เกิดความรู้ความเข้าใจในการขัดขวางการทำงานของฮีแมกกลูตินินอันจะเป็นโอกาสในการค้นพบหรือพัฒนายาที่สามารถยับยั้งการทำงานของฮีแมกกลูตินินอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีการวิจัย

1. เตรียมไฟล์โครงสร้างสามมิติของฮีแมกกลูตินิน

สามารถดาวน์โหลดโครงสร้างสามมิติของโปรตีนฮีแมกกลูตินินที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนอยู่กับ SIA 2,6 GAL ได้จากเว็บไซต์ Protein Data Bank PDB ID ของโปรตีนตัวนี้ คือ 3UBE

2. เตรียมไฟล์โครงสร้างสามมิติของสารแอนโดรกราโฟไลด์และอนุพันธ์ดังแสดงในตารางที่ 1

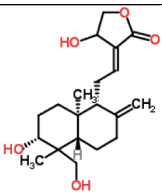
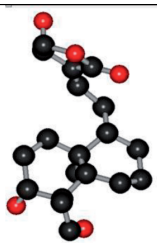
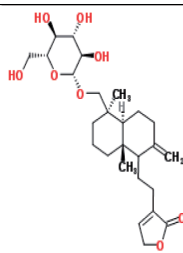
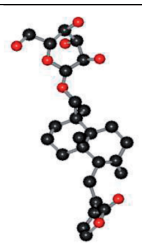
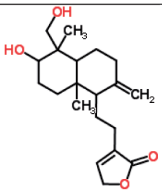
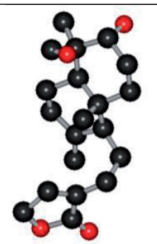
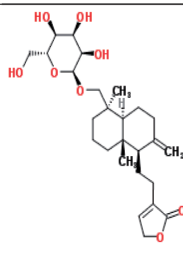
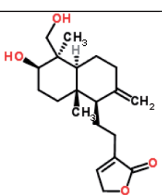
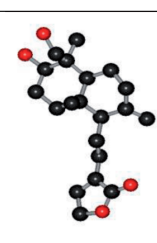
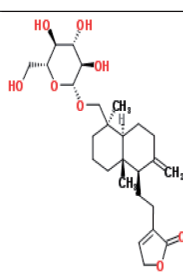
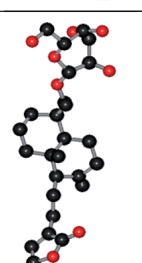
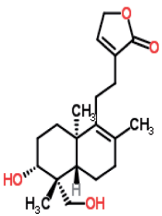
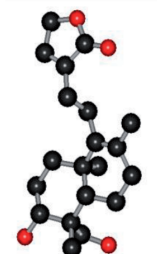
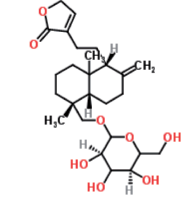
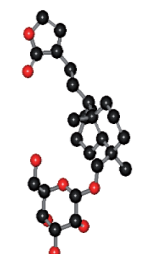
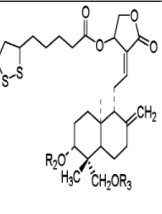
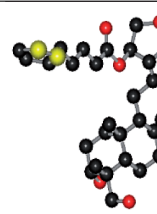
3. โมเลกุลาร์ดอกกิงระหว่างฮีแมกกลูตินินกับสารแอนโดรกราโฟไลด์และอนุพันธ์

หาตำแหน่งกึ่งกลางของ binding site ในกรณีนี้จะใช้ตำแหน่งกึ่งกลางของโมเลกุลตัวรับ SIA 2,6 GAL จากนั้นทำการเติมประจุ และ solvation term ให้กับ โปรตีนด้วยโปรแกรม AutoDockTool กำหนดขอบเขตของ Grid box เพื่อกำหนดขอบเขตในการคำนวณค่า binding energy โดย Grid box นี้มีลักษณะเป็นกล่องสี่เหลี่ยม ในแต่ละ dimension (ในแนวแกน x, y และ z) ประกอบไปด้วยจุดเสมือน (virtual points) หลายจุด สารยับยั้งที่เราสนใจจะถูกโปรแกรม AutoDock4 จับใส่ลงไปในกล่องนี้ และเคลื่อนโครงสร้างสารยับยั้งไปรอบๆ binding site โดย สารยับยั้ง จะไม่สามารถเคลื่อนออกนอกกล่องได้ เมื่อ สารยับยั้ง ถูกเคลื่อนไปแต่ละตำแหน่ง ก็จะมีการคำนวณค่าพลังงานระหว่าง สารยับยั้ง กับโปรตีนทุกครั้ง ทำการคำนวณ docking เพื่อหาตำแหน่งที่เหมาะสมในการจับตัวกันของโมเลกุลทั้งสอง และรูปร่างโมเลกุลที่เหมาะสมที่สุด ในการทดลองครั้งนี้จะสั่งการดำเนินการทั้งหมด 100 ครั้ง โดยโปรแกรม AutoDock และโปรแกรมจะทำการจัดโครงสร้างของลิแกนด์ที่อยู่ในลักษณะเดียวกันให้อยู่ในกลุ่ม (Cluster) เดียวกันโดยใช้ค่าทางสถิติ (RMSD) เป็นเกณฑ์ในการจัดกลุ่ม

4. โมเลกุลาร์ไดนามิกส์ซิมูเลชันระหว่างฮีแมกกลูตินินกับสารอนุพันธ์แอนโดรกราโฟไลด์

เมื่อได้โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างตัวรับกับฮีแมกกลูตินินที่คัดเลือกแล้วได้แก่ HA-1,4 - deoxy andrographolide_1 จากนั้นทำการเติมโมเลกุลไฮโดรเจนให้กับโปรตีนฮีแมกกลูตินิน เติมน้ำในลักษณะ cubic box และเติมไอออนเพื่อปรับระบบให้ระบบเป็นศูนย์ จากนั้นทำการ minimization ระบบเพื่อปรับโครงสร้างเสถียรของ ไฮโดรเจน และ น้ำ ที่เติมลงในระบบ สุดท้ายก็ทำการจำลองการทำงานของสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าวด้วยวิธีโมเลกุลาร์ไดนามิกส์ซิมูเลชัน โดยใช้โปรแกรม AMBER 10 package (Case, Darden et al. 2008) เป็นเวลา 12 ns หรือ 12000 ps เริ่มต้นโดยการให้ความร้อนกับระบบซึ่งเดิม มีอุณหภูมิ 0 K เป็น 310 K ในช่วงเวลา 0 – 100 ps โดยให้ปริมาตรคงที่ จากนั้นคำนวณไปถึง 1200 ps โดยกำหนดให้ความดันคงที่ และอุณหภูมิคงที่ ๆ 310 K เก็บ snapshot ทุก ๆ 0.2 ps และใช้ snapshot ในช่วง 2.5 ns – 12 ns เก็บมาจำนวน 100 snapshots เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ตารางที่ 1 แสดงโครงสร้าง 2 มิติ และ 3 มิติของสารกลุ่ม สารกลุ่มแอนโดรกราโฟไลด์และอนุพันธ์

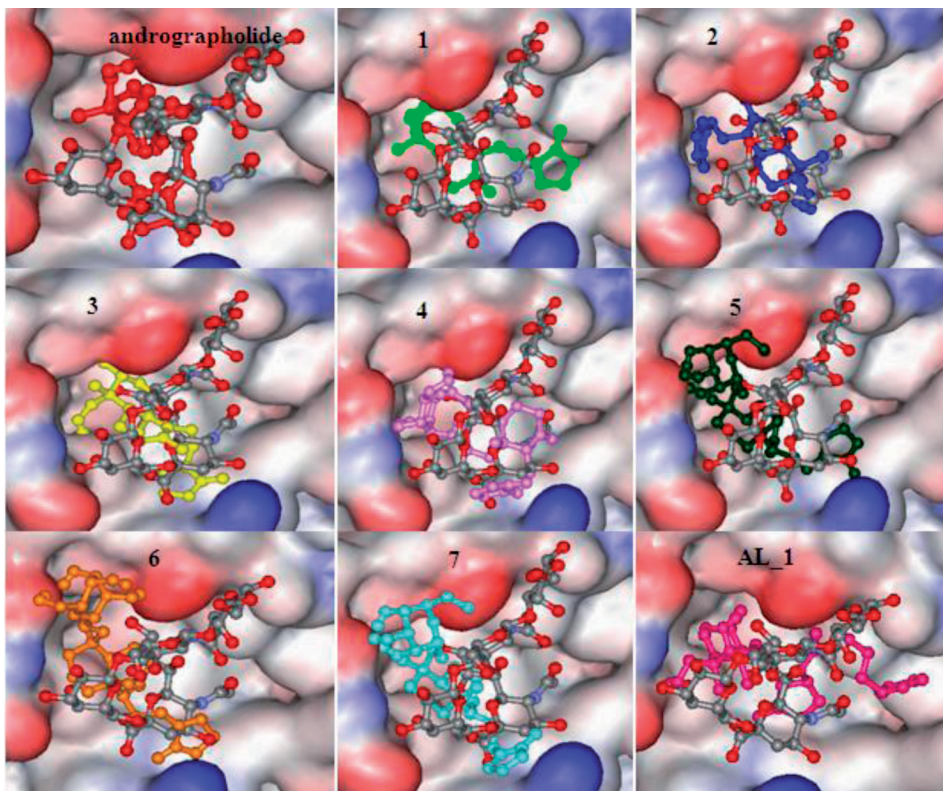
ชื่อ	โครงสร้าง 2 มิติ	โครงสร้าง 3 มิติ	ชื่อ	โครงสร้าง 2 มิติ	โครงสร้าง 3 มิติ
Andrographolide			Neoandrographolide_1		
1,4-deoxy Andrographolide_1			Neoandrographolide_2		
1,4-deoxy Andrographolide_2			Neoandrographolide_3		
1,4-deoxy Andrographolide_3			Neoandrographolide_4		
14-alpha-lipoyl andrographolide					

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

1. โมเลกุลาร์ด็อกกิ้งระหว่างฮีแมกกลูตินินกับสารแอนโดรกราโฟไลด์และอนุพันธ์

1.1. พลังงานในการยึดจับระหว่างโปรตีนกับสารยับยั้ง

การเปรียบเทียบการเข้าจับกันของสาร andrographolide และอนุพันธ์ กับตัวรับหรือซับสเตรท SIA 2,6 GAL ที่ยึดจับกับโปรตีนฮีแมกกลูตินิน (3UBE) ซึ่งในโปรตีนฮีแมกกลูตินิน จะมีตำแหน่งที่มีลักษณะโพรงเรียกว่าบริเวณยึดจับ (Binding site) ที่ทำให้สาร andrographolide และอนุพันธ์ สามารถเข้าจับกับกับโปรตีนฮีแมกกลูตินินในโพรงได้ ถ้าตัวยับยั้งสามารถเข้าไปจับกับโปรตีนตรงตำแหน่งของตัวรับ SIA 2,6 GAL ตรงบริเวณยึดจับได้ดี แสดงว่าจับกับโปรตีนฮีแมกกลูตินินได้ดี สารดังกล่าวมีโอกาที่จะยับยั้งการทำงานของโปรตีนฮีแมกกลูตินินได้ โครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของสารยับยั้งทั้ง 9 ในบริเวณยึดจับของโปรตีนฮีแมกกลูตินินที่ได้จากการทำโมเลกุลาร์ด็อกกิ้งแสดงดังภาพที่ 1 และจากการดำเนินการทั้งหมด 100 ครั้งพบว่าเปอร์เซ็นต์กลุ่มสารที่มีโครงสร้างเดียวกัน (% conformational cluster) ซึ่งเป็นค่าที่โปรแกรม AutoDock จะทำการจัดโครงสร้างของตัวยับยั้งที่อยู่ในลักษณะเดียวกันให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยใช้ค่าทางสถิติเป็นเกณฑ์ในการจัดกลุ่มแสดงดังตารางที่ 2



ภาพที่ 1 แสดงผลการด็อกกิ้งระหว่าง สาร andrographolide และ อนุพันธ์ กับโปรตีนฮีแมกกลูตินินสายพันธุ์ดั้งเดิม โดยหมายเลข 1 ถึง 3 คือ 1,4 – deoxy Andrographolide ตัวที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ในขณะที่ หมายเลข 4 ถึง 7 คือ Neoandrographolide ตัวที่ 1 2 3 และ 4 ตามลำดับ และ AL-1 คือ 1,4-alpha-lipoyl andrographolide

ตารางที่ 2 พลังงานการยึดจับต่ำสุด และเปอร์เซ็นต์กลุ่มสารที่มีโครงสร้างเดียวกันที่ได้จากการทำโมเลกุลาร์ดอกกิ้ง

ตัวยับยั้ง	Lowest Binding Energy (Kcal/mol)	% conformational cluster	ตัวยับยั้ง	Lowest Binding Energy (Kcal/mol)	% conformational cluster
Andrographolide	-6.90	32	Neoandrographolide_1	-6.67	18
1,4 - deoxy andrographolide_1	-7.61	31	Neoandrographolide_2	-7.53	22
1,4 - deoxy andrographolide_2	-6.69	33	Neoandrographolide_3	-6.49	8
1,4 - deoxy andrographolide_3	-6.77	31	Neoandrographolide_4	-6.93	7
14-alpha-lipoyl andrographolide	-6.78	4			

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จากผลการทำโมเลกุลาร์ดอกกิ้งระหว่างฮีแมกกลูตินินกับสารแอนโดรกราโฟไลด์และอนุพันธ์จึงเลือกสาร 1,4 - deoxyandrographolide_1 มาทำการศึกษาด้วยระเบียบวิธีโมเลกุลาร์ไดนามิกส์ซิมูเลชันเพื่ออธิบายถึงความเหมือน/ความแตกต่างทางด้านโครงสร้างการเคลื่อนที่ของโปรตีนและตัว รวมถึง คำนวณพลังงานเสรีกิบส์เปรียบเทียบผลการคำนวณที่ได้กับผลการทดลองหรือผลการคำนวณจากงานวิจัยอื่นๆ

2. โมเลกุลาร์ไดนามิกส์ซิมูเลชันระหว่างฮีแมกกลูตินินกับสารแอนโดรกราโฟไลด์และอนุพันธ์

2.1. พันธะไฮโดรเจนระหว่างสารยับยั้งกับโปรตีนฮีแมกกลูตินิน

เพื่อดูอันตรกิริยาระหว่างไกลโคโปรตีนฮีแมกกลูตินินและตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 ที่ได้จากการทำโมเลกุลาร์ดอกกิ้งในบริเวณยึดจับของฮีแมกกลูตินิน (HA binding pocket) จึงทำการคำนวณ % Hydrogen bond occupation ระหว่างกรดอะมิโนของโปรตีนฮีแมกกลูตินินกับตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 จากผลของการคำนวณการเกิดพันธะไฮโดรเจนด้วยเทคนิคโมเลกุลาร์ไดนามิกส์ซิมูเลชันดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 สามารถเกิดพันธะกับกรดอะมิโนของโปรตีนฮีแมกกลูตินินในตำแหน่งที่สำคัญและมีเปอร์เซ็นต์การเกิดพันธะที่ค่อนข้างสูงใกล้เคียงกับการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างกรดอะมิโนของโปรตีนฮีแมกกลูตินินกับตัวรับหรือซัสเซปเตอร์ SIA 2,6 GAL [6] นั่นคือการเกิดพันธะมีความแข็งแรงและเกิดตลอดเวลาของการทำซิมูเลชันแสดงให้เห็นว่าตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 มีโอกาสที่จะยับยั้งการทำงานของโปรตีนฮีแมกกลูตินินได้

ตารางที่ 3 ผลของการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างฮีแมกกลูตินินกับตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 และเปอร์เซ็นต์การเกิดพันธะไฮโดรเจน (% Hydrogen bond occupation) ที่ได้จากการทำไดนามิกส์โมเลชัน

ตัวยับยั้ง	การเกิดพันธะไฮโดรเจน (ฮีแมกกลูตินิน_ตัวยับยั้ง)	เปอร์เซ็นต์การเกิดพันธะไฮโดรเจน (% Hydrogen bond occupation)
1,4-deoxy andrographolide_1	-H183_O1	96%
	-Y95_O1	88%
	-E227_O4	76%
	-G228_O4	75%
	-G228_H12	75%
	D190_H30	21%

2.2 พลังงานในการยึดจับระหว่างสารยับยั้งกับโปรตีนฮีแมกกลูตินิน

ข้อมูลทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่นิยมใช้ในการบอกอันตรกิริยา (interaction) คือพลังงานเสรีของการยึดจับ (binding energy) ซึ่งถ้าค่าพลังงานเสรีของการยึดจับระหว่างฮีแมกกลูตินินกับตัวยับยั้งมีค่าเป็นลบแสดงว่าฮีแมกกลูตินินสามารถเข้าไปยึดจับกับตัวยับยั้งได้ดีและมีความเสถียรส่วนค่าพลังงานเสรีของการยึดจับถ้ามีค่าเป็นบวกแสดงว่าฮีแมกกลูตินินไม่สามารถเข้าไปยึดจับกับตัวยับยั้งได้ซึ่ง ผลการคำนวณค่าพลังงานเสรีของการยึดจับและเทอมพลังงานย่อยอื่นๆ ระหว่างฮีแมกกลูตินินกับยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 แสดงในตารางที่ 4 พบว่าการยึดจับระหว่างฮีแมกกลูตินินกับตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 สามารถยึดจับกันได้ดีและมีความเสถียรเนื่องจากมีค่าเป็นลบโดยมีค่าพลังงานการยึดจับเท่ากับ -72.33 kcal/mol ซึ่งพลังงานที่คำนวณได้ก็สอดคล้องกับผลของพันธะไฮโดรเจนระหว่างฮีแมกกลูตินิน และ ยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 เป็นการยืนยันว่าตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 มีโอกาสที่จะยับยั้งการทำงานของโปรตีนฮีแมกกลูตินินได้

ตารางที่ 4 ผลของค่าพลังงานเสรีของการยึดจับและเทอมพลังงานย่อยอื่นๆ ระหว่างฮีแมกกลูตินินกับยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 ที่ได้จากการทำไดนามิกส์โมเลชัน

ชนิดพลังงาน	พลังงาน (Kcal/mol)
พลังงานประจุ (ΔE_{ele})	-49.04 $\pm$ 12.66
พลังงานแวนเดอร์วาลส์ (ΔE_{vdw})	-33.96 $\pm$ 3.51
พลังงานสถานะแก๊ส (ΔE_{MM})	-82.68 $\pm$ 13.18
พลังงานรวมสารละลาย (ΔE_{sol})	10.35 $\pm$ 2.35
พลังงานเสรีของการยึดจับ ($\Delta G_{binding}$)	-72.33 $\pm$ 11.06

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาโมเลกุลาร์ดอกกึ่งระหว่างโปรตีนฮีแมกกลูตินินของเชื้อไวรัสสายพันธุ์ H1N1 ที่ระบาดในปี 2009 กับตัวยับยั้ง andrographolide และ อนุพันธ์ ทั้งหมด 9 ตัว ผลการคำนวณพบว่า ตัวยับยั้ง 1,4 - deoxyandrographolide_1 สามารถจับกับโปรตีนฮีแมกกลูตินินได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกสาร 1,4 - deoxyandrographolide_1 มาทำการศึกษาด้วยระเบียบวิธีโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์เชิงโมเลกุล จากผลของการคำนวณการเกิดพันธะไฮโดรเจนด้วยเทคนิคโมเลคิวลาร์ไดนามิกส์เชิงโมเลกุลพบว่าตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 สามารถเกิดพันธะกับกรดอะมิโนของโปรตีนฮีแมกกลูตินินในตำแหน่งที่สำคัญและมีเปอร์เซ็นต์การเกิดพันธะที่ค่อนข้างสูงนั่นคือการเกิดพันธะมีความแข็งแรงและเกิดตลอดเวลาของการทำเชิงโมเลกุลาร์ โดย เกิด 1 พันธะกับ Y95, H183, D190, E227 มีค่า % Hydrogen bond occupation เท่ากับ 88%, 96%, 21% และ 76% ตามลำดับ และเกิด 2 พันธะกับ G228 โดยมีค่า % Hydrogen bond occupation เท่ากับ 75% และ 75% ตามลำดับ และผลการคำนวณค่า binding energy พบว่าการยึดจับระหว่างฮีแมกกลูตินินกับตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 สามารถยึดจับกันได้ดีและมีความเสถียรเนื่องจากมีค่าเป็นลบโดยมีค่าพลังงานการยึดจับเท่ากับ -72.33 kcal/mol แสดงให้เห็นว่าการยึดจับระหว่างฮีแมกกลูตินินกับตัวยับยั้ง มีความแข็งแรงซึ่งพลังงานที่คำนวณได้ก็สอดคล้องกับผลของพันธะไฮโดรเจนระหว่างฮีแมกกลูตินินและ ตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 เป็นการยืนยันว่าตัวยับยั้ง 1,4 - deoxy andrographolide_1 มีโอกาสที่จะพัฒนาเป็นยาเพื่อยับยั้งการทำงานของโปรตีนฮีแมกกลูตินินได้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากงบรายได้ กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ 2555 ในโครงการ ความเข้าใจระดับโมเลกุลของสารยับยั้งโปรตีนฮีแมกกลูตินินของไข้หวัดใหญ่เพื่อเป็นความรู้พื้นฐานในการพัฒนายาและขอขอบคุณคอมพิวเตอร์แม่ข่ายและโปรแกรมสำเร็จรูปจากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] Cross, K.J., Burleigh, L.M. and Steinhauer, D. (2001). “Mechanisms of cell entry by influenza virus”, **Expert. Rev. Mol. Med.** 6, 1-18.
- [2] Tobita, K. (1997). “Classification and nomenclature of influenza viruses”, **Nihon. Rinsho.** 55, 2512-2514.
- [3] Li, X.B., et al. (2011). “Novel inhibitor design for hemagglutinin against H1N1 influenza virus by core hopping Method”, **PLoS ONE.** 6(11), 1-6
- [4] Russell, R. J., et al. (2008). “Structure of influenza hemagglutinin in complex with an inhibitor of membrane fusion”, **Proc. Natl. Acad. Sci.** 105, 17736-17741.
- [5] Vanderlinden, E., et al. (2010). “Novel inhibitors of influenza virus fusion: structure activity Relationship and interaction with the viral hemagglutinin”, **J. Virol.** 84, 4277-4288.
- [6] บวรวัฒน์ ไตรวิเวก และพินิตา กังซุ่น. (2556). “สาเหตุของความจำเพาะเจาะจงของไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในมนุษย์ : ทำไมฮีแมกกลูตินิน H1 ยึดเกาะกับตัวรับแบบ S26G ดีกว่าแบบ S23G”, **วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ ฉบับพิเศษ จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 23.** 3, 102-110.