



การหาสถานะที่เหมาะสมในการทดสอบการจับกันระหว่างสารต้านการอักเสบจากเหง้า
ไพลกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 โดยโปรแกรม ArgusLab

โดย
โกมารภักดิ์ ปิ่นทอง

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก
วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก

ปีการศึกษา 2566

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยรังสิต



**DETERMINATION OF OPTIMAL CONFORMATIONS FOR THE BINDING
BETWEEN ANTI-INFLAMMATORY COMPOUNDS FROM PLAI RHIZOME
AND CYCLOOXYGENASE 2 USING ARGUSLAB PROGRAM**

**BY
KOMARAPHAT PINTHONG**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN ORIENTAL MEDICINE
COLLAGE OF ORIENTAL MEDICINE**

**GRADUATE SCHOOL, RANGSIT UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2023**

วิทยานิพนธ์เรื่อง

การหาสถานะที่เหมาะสมในการทดสอบการจับกันระหว่างสารต้านการอักเสบจากเหง้าไพลกับ
เอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 โดยโปรแกรม ArgusLab

โดย

โกมารภักดิ์ ปิ่นทอง

ได้รับการพิจารณาให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก

มหาวิทยาลัยรังสิต

ปีการศึกษา 2566

ดร.ปิรัชฎ์ ปริญญางษ์ เจริญทรัพย์
ประธานกรรมการสอบ

รศ.ดร.สิริมา กิจวัฒน์ชัย
กรรมการ

ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผศ. ร.ต. หญิง ดร. วรณี สุขสาคร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

24 มกราคม 2567

Thesis entitled

**DETERMINATION OF OPTIMAL CONFORMATIONS FOR THE BINDING
BETWEEN ANTI-INFLAMMATORY COMPOUNDS FROM PLAI RHIZOME
AND CYCLOOXYGENASE 2 USING ARGUSLAB PROGRAM**

by

KOMARAPHAT PINTHONG

was submitted in partial fulfillment of the requirements
for the degree of Master of Science in Oriental Medicine

Rangsit University
Academic Year 2023

Piyarat Parinyapong Chareonsap, Ph.D.
Examination Committee Chairperson

Assoc.Prof.Sirima Kitvatanachai, Ph.D.
Member

Asst.Prof.Prasan Tangyuenyongwatana, Ph.D.
Member and Advisor

Approved by Graduate School

(Asst.Prof.Plt.Off. Vanee Sooksatra, D.Eng.)
Dean of Graduate School
January 24, 2024

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความช่วยเหลือต่างๆ คุณและเอาใจใส่เป็นอย่างดีจากหลายๆฝ่าย โดยเฉพาะอาจารย์ที่ปรึกษา คือ ผศ.ดร. ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา ในการแนะนำ ตรวจสอบแก้ไข ให้ข้อเสนอแนะต่างๆ และติดตามความก้าวหน้าของการทำงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของอาจารย์เป็นอย่างยิ่ง และขอขอบพระคุณไว้เป็นอย่างสูง ไว้ ณ โอกาสนี้

ขอบคุณเพื่อนนักศึกษาปริญญาโท ตลอดจนเพื่อนร่วมงานที่ให้กำลังใจ และความช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ

ขอขอบพระคุณ บิดามารดา น้องชาย ที่คอยสนับสนุนให้กำลังใจ และช่วยเหลือ ให้โอกาส ได้รับการศึกษาจนสำเร็จลุล่วง

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและความปรารถนาดีของทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณและขอบคุณไว้ในโอกาสนี้

โกมารกัจจ์ ปิ่นทอง

ผู้วิจัย

6106684 : โคมารักษ์ ปั่นทอง
 ชื่อวิทยานิพนธ์ : การหาสถานะที่เหมาะสมในการทดสอบการจับกันระหว่าง
 สารต้านการอักเสบจากเหง้าไพลกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2
 โดยโปรแกรม ArgusLab
 หลักสูตร : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก
 อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.ประสาน ตั้งยืนยงวัฒนา

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการหาสถานะที่เหมาะสมโดยวิธีการจำลองการจับกัน (Molecular Docking) ระหว่างสารต้านการอักเสบจากไพลกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 โดยใช้ 3 ไอโซฟอร์ม กับโปรแกรม ArgusLab 4.0.1 โดยจะแสดงด้วยค่าพลังการจับกัน และพิจารณาการจับกันของสารและเอนไซม์เพื่อหาสถานะที่เหมาะสมด้วยวิธี ArgusDock และ GADock วิธีการศึกษาเริ่มจากการสร้างโครงสร้าง 2 มิติ ของสารสกัดเหง้าไพล และเปลี่ยนเป็น โครงสร้าง 3 มิติโดยปรับระดับพลังงานให้อยู่ในสถานะต่ำสุด ทำการจำลองการจับกันบนโปรแกรม ArgusLab 4.0.1 โดยเลือกวิธี ArgusDock และ GADock ตามลำดับ นำค่าการจับกันของพลังงานที่ได้มาหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าพลังงานการจับกัน กับค่าความเข้มข้นของการยับยั้งเอนไซม์ (IC₅₀) ของสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิด ผลการศึกษาพบว่า เอนไซม์ 5JVZ กับลิแกนด์ 5 ชนิดโดยวิธีทั้ง 2 วิธี มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.5029 และ 0.6607 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าผลการทดลองในสถานะ GADock เป็นสถานะที่เหมาะสมในการจับกันของสารและเอนไซม์ ปฏิกริยาของกรดอะมิโนที่จับกันระหว่างเอนไซม์และลิแกนด์ พบว่าการซ้อนทับและสอดคล้องกันดี ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการหาสถานะการจำลองในแต่ละสถานะพบว่า เอนไซม์ 5JVZ เหมาะสมที่สุดในการนำมาจำลองการจับกันสถานะที่เหมาะสมนี้มีประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาการออกฤทธิ์และหาสถานะที่เหมาะสมของสารต่างๆในสมุนไพรชนิดอื่นๆ

(วิทยานิพนธ์มีจำนวนทั้งสิ้น 48 หน้า)

คำสำคัญ: การจำลองการจับกัน, ค่าพลังงานการจับกัน, เอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2, อากัส แลป

ลายมือชื่อนักศึกษา..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

6106684 : Komaraphat Pinthong
 Thesis Title : Determination of Optimal Conformations for The Binding between
 Anti-Inflammatory Compounds from Plai Rhizome and Cyclooxygenase
 2 Using Arguslab Program
 Program : Master of Science in Oriental Medicine
 Thesis Advisor : Asst.Prof. Prasan Tangyuenyongwatana, Ph.D

Abstract

This study was to find the optimal conformations for the binding (Molecular Docking) between anti-inflammatory substances from Plai (*Zingiber cassumunar* Roxb.) rhizome and the enzyme cyclooxygenase 2 using simulating the binding enzyme cyclooxygenase 2 using 3 isoforms with the ArgusLab 4.0.1 program. It was shown with the binding energy value. Additionally, the study considered the binding of substances and enzymes to find suitable conditions using ArgusDock and GADock methods. The study method began with creating a 2D structure of Plai rhizome extract and transforming into a 3D structure by adjusting the energy level to its lowest state. Binding simulation was performed on the ArgusLab 4.0.1 program by selecting the Argus Dock and GADock methods respectively. The obtained binding energy values were used to find the relationship between the cohesion energy values with the enzyme inhibition concentration (IC₅₀) values of extracts from 5 types of Plai rhizome. The results found that the 5JVZ enzyme and 5 types of ligands using both methods had correlation coefficients (r) equal to 0.5029 and 0.6607, respectively. The results indicated that GADock was the ideal condition, which revealed good overlap and consistency. Therefore, it was found that the 5JVZ enzyme was the most suitable for docking to obtain the optimal conformation. It can be concluded that this method is useful for application in studying the effects and finding the optimal conditions of various substances in other herbs.

(Total 48 pages)

Key Words: Molecular Docking, Binding Energy, Ligand, Cyclooxygenase 2, Arguslab

Student's Signature..... Thesis Advisor's Signature.....

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 สมมติฐานการวิจัย	3
1.4 ขอบเขตการวิจัย	3
1.5 นิยามศัพท์	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 การเกิดการอักเสบ	4
2.2 กลไกการยับยั้งการอักเสบของ COX-1 และ COX-2	6
2.3 ไซโตไคน์ และสารต้านการอักเสบ	7
2.4 เคมีสารสนเทศ (Cheminformatics)	8
2.5 เคมีคำนวณ หรือเคมีเชิงคอมพิวเตอร์	8
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย	12
3.1 ขอบเขตของการวิจัย	12
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	12

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 การเก็บรวบรวมข้อมูล	14
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล	17
บทที่ 4 ผลการวิจัย	19
4.1 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock กับเอนไซม์ 1CX2	20
4.2 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันของเอนไซม์ 1CX2 กับฤทธิ์ด้านการอักเสบจากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยรายงานผลการศึกษาเป็นค่า Binding Energy เปรียบเทียบกับค่า IC ₅₀ (Median Inhibitory Concentration)	21
4.3 ผลการวิเคราะห์ศึกษาการทำปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ 1CX2 กับสารสำคัญที่พบจากสารสกัดเหง้าไพล 5 ชนิด	22
4.4 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock กับเอนไซม์ 5W58	27
4.5 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันของเอนไซม์ 5W58 กับฤทธิ์ด้านการอักเสบจากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยรายงานผลการศึกษาเป็นค่า Binding Energy เปรียบเทียบกับค่า IC ₅₀ (Median Inhibitory Concentration)	28
4.6 ผลการวิเคราะห์ศึกษาการทำปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ 5W58 กับสารสำคัญที่พบจากสารสกัดเหง้าไพล 5 ชนิด	29
4.7 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock กับเอนไซม์ 5JVZ	35
4.8 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันของเอนไซม์ 5JVZ กับฤทธิ์ด้านการอักเสบจากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยรายงานผลการศึกษาเป็นค่า Binding Energy เปรียบเทียบกับค่า IC ₅₀ (Median Inhibitory Concentration)	36
4.9 ผลการวิเคราะห์ศึกษาการทำปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ 5JVZ กับสารสำคัญที่พบจากสารสกัดเหง้าไพล 5 ชนิด	37

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	43
5.1 สรุปผลการวิจัย	43
5.2 ข้อเสนอแนะ	44
บรรณานุกรม	45
ประวัติผู้วิจัย	48



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	การศึกษาเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมการจับกันด้วย วิธี ArgusDock และ GADock ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิด กับเอนไซม์ Cyclooxygenase 1CX2	20
4.2	การศึกษาเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมการจับกันด้วย วิธี ArgusDock และ GADock ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิด กับเอนไซม์ Cyclooxygenase 5W58	27
4.3	การศึกษาเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมการจับกันด้วย วิธี ArgusDock และ GADock ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิด กับเอนไซม์ Cyclooxygenase 5JVZ	35



สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดและเซลล์อักเสบในการอักเสบเฉียบพลัน	5
2.2	โครงสร้าง 3 มิติของ Cyclooxygenase-2 (COX-2)	6
2.3	เหง้าไพล	7
2.4	กระบวนการทางเคมีเชิงคอมพิวเตอร์	9
2.5	วิธีการของเทคนิค Genetic algorithm	10
3.1	โปรแกรมที่ใช้ในการวิจัย	13
3.2	แสดงโครงสร้าง DMPDB	14
3.3	แสดงโครงสร้าง Compound D	14
3.4	แสดงโครงสร้าง trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)3,4dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene	14
3.5	แสดงโครงสร้าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene	15
3.6	แสดงโครงสร้าง 4-(2, 4, 5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien	15
3.7	โปรแกรม ArgusLab และการแสดงผล	17
3.8	โปรแกรม Discovery Studio และการแสดงผล	18
4.1	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC ₅₀ ด้วยวิธี ArgusDock ของเอนไซม์ 1CX2	21
4.2	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC ₅₀ ด้วยวิธี GADock ของเอนไซม์ 1CX2	21
4.3	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4- dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Phe518, Leu352 และ Try355)	22

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.4	แสดงการซ้อนทับกันของ trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock	23
4.5	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Phe518, Ser353, Met522, Leu352 และ Try355)	23
4.6	แสดงการซ้อนทับกันของ trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock	24
4.7	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Arg120, Phe518, Met522 และ Try355)	24
4.8	แสดงการซ้อนทับกันของ 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock	25
4.9	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง Compound D กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Met522, Leu352 และ Try355)	25
4.10	แสดงการซ้อนทับกันของ Compound D กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock	26
4.11	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง DMPBD กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Met522, Leu352, Phe518 และ Try355)	27
4.12	แสดงการซ้อนทับกันของ DMPDB กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock	27

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.13	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC ₅₀ ด้วยวิธี ArgusDock ของเอนไซม์ 5W58	28
4.14	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC ₅₀ ด้วยวิธี GADock ของเอนไซม์ 5W58	29
4.15	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3,4dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl] cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385 เท่านั้น)	30
4.16	แสดงการซ้อนทับกันของระหว่าง trans-3-(3,4dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl] cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock	30
4.17	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2'',4'',5''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385, Met522 และPhe518)	31
4.18	แสดงการซ้อนทับกันของระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2'',4'',5''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock	31
4.19	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385 เท่านั้น)	32
4.20	แสดงการซ้อนทับกันของระหว่าง 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock	32
4.21	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง DMPDB กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385 เท่านั้น)	33

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.22	แสดงการซ้อนทับกันของระหว่าง DMPDB กับสารลิแกนด์ ใน Active Site ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock	33
4.23	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง Compound D กับกลุ่มกรดอะมิโน ในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385 และMet522)	34
4.24	แสดงการซ้อนทับกันของระหว่าง Compound D กับสารลิแกนด์ ใน Active Site ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock	34
4.25	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC ₅₀ ด้วยวิธี ArgusDock ของเอนไซม์ 5JVZ	36
4.26	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC ₅₀ ด้วยวิธี GADock ของเอนไซม์ 5JVZ	36
4.27	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl) -4-[(E)- 3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโน ในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Met523, Leu353, Try356 และTry386)	37
4.28	แสดงการซ้อนทับกันของระหว่าง trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl) -4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock	38
4.29	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl) -4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรด อะมิโนในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Leu353, Phe519 และTry356)	38
4.30	แสดงการซ้อนทับกันของระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl) -4-[(E)- 2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ ใน ActiveSite ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock	39
4.31	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Met523, Leu353, Phe519 และTry386)	39

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.32	แสดงการซ้อนทับกันของระหว่าง 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock	40
4.33	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ DMPDB กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Met523, Phe519, Leu353 และTyp386)	40
4.34	แสดงการซ้อนทับกันของ DMPDB กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock	41
4.35	แสดงการเกิดปฏิสัมพันธ์ Compound D กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Leu353เท่านั้น)	41
4.36	แสดงการซ้อนทับกันของระหว่าง Compound D กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock	42

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันความเจ็บป่วยต่างๆมีมากมาย ในกลุ่มคนวัยทำงานมักพบ พฤติกรรมของการนั่งทำงานในระยะเป็นเวลานานๆส่งผลทำให้เกิดอาการต่างๆตามมา เช่น โรคออฟฟิศซินโดรม (Office Syndrome) จัดอยู่ในกลุ่มอาการปวดกล้ามเนื้อและเยื่อพังผืด (Myofascial Pain Syndrome) ซึ่งมักเกิดจากการที่ต้องใช้กล้ามเนื้อมัดเดิมซ้ำไปมา เป็นระยะเวลานานและต่อเนื่อง โดยผลจะทำให้เกิดการอักเสบกล้ามเนื้อตามมา โดยการรักษาหลายวิธี เช่น การนวด การรับประทานยาคลายกล้ามเนื้อ เป็นต้น โดยเฉพาะการทานกลุ่มยาคลายกล้ามเนื้อบรรเทาอาการปวดซึ่งเป็นที่ยอมรับวิธีนี้ออกฤทธิ์ได้ค่อนข้างเร็ว แต่มักมีผลข้างเคียงที่พบบ่อย เช่น การระคายเคืองต่อกระเพาะอาหาร ภาวะการแข็งตัวของเลือดบกพร่อง โดยกลุ่มยาที่พบ มักจะเป็นยาในกลุ่มยาแก้อักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) เช่น ไอบูโพรเฟน ไพร็อกซิแคม ไดโคลฟีแนค เซเล็คอกสิบ เป็นต้น (Blanca-Lopez, Soriano, Garcia-Martin, Canto & Blanca, 2019)

ไซโคลออกซิจีเนส (Cyclooxygenase หรือ COX) โดยเอนไซม์ประกอบไปด้วย COX-1 และ COX-2 โดยเอนไซม์ที่มีบทบาทมากที่สุดที่ทำให้เกิดกระบวนการอักเสบ คือ เอนไซม์ชนิดค็อกซ์-2 (COX-2) โดยทำหน้าที่สร้างพรอสตาแกลนดิน (Prostaglandins) ที่ทำให้เกิดอาการปวด อาการอักเสบและไข้ (Salamat, 2018) ในขณะที่เอนไซม์ชนิดค็อกซ์-1 (COX-1) ทำหน้าที่สร้างพรอสตาแกลนดินที่ช่วยปกป้องผนังกระเพาะอาหารและทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ในกลุ่มสมุนไพรที่ช่วยในการลดการอักเสบ พบว่า สารสกัดสมุนไพรที่สนใจมาทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ พบว่า ไพล (Zingiber cassumunar Roxb.) มีสารที่ช่วยด้านการอักเสบได้ดี มีสารสำคัญหลายชนิดที่ช่วยด้านการอักเสบ (Pongsakorn, 1988) เช่น สารกลุ่ม Phenylbutanoids, Curcuminoids และ Sesquiterpenoids เป็นต้น

ในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการจับกันระหว่างสารด้านการอักเสบกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 นั้น ถ้ามีการทำในห้องปฏิบัติการ หรือทำในสัตว์ทดลองจะเป็นการทำให้เกิดความเสี่ยงทั้งทรัพยากร สารเคมี สิ้นเปลืองเวลา จำนวนชีวิตของสัตว์ทดลอง และมีค่าใช้จ่ายที่สูง ดังนั้นการใช้วิธีการทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการจับกันระหว่างสารด้านการอักเสบกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส ด้วยการใช้วิธีการทางคอมพิวเตอร์ก่อนการทดสอบจริงในห้องปฏิบัติการ ยังสามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายต่างๆ และระยะเวลาได้ ในปัจจุบันคอมพิวเตอร์มีบทบาท และความสำคัญเป็นอย่างมากในวงการวิทยาศาสตร์ ที่สามารถค้นคว้าและวิจัยกระบวนการทางเคมี โดยนำคอมพิวเตอร์มาคำนวณในการออกแบบโมเลกุล สภาวะ และเอนไซม์ต่างๆก่อนทำการทดลองจริง แล้วนำผลลัพธ์ที่ได้มาเป็นแนวทางการเปรียบเทียบกับไปสู่การปฏิบัติและทดลองจริง (Jacob, Wahr, Pfeiffer & Swenson, 2012)

การจำลองโมเลกุลได้กลายเป็นองค์ประกอบสำคัญของกระบวนการค้นพบยา นับตั้งแต่ได้รับการพัฒนาในช่วงปี 1980 ความก้าวหน้าในด้านประสิทธิภาพของฮาร์ดแวร์คอมพิวเตอร์ ตลอดจนจำนวนที่เพิ่มขึ้นและความง่ายในการเข้าถึงโครงสร้างของโมเลกุลและโปรตีนขนาดเล็ก มีส่วนช่วยในการพัฒนาปรับปรุงวิธีการที่ได้รับ ทำให้การใช้การจำลองโมเลกุลได้รับความนิยมมากขึ้นและแพร่หลายทั้งในภาคอุตสาหกรรมและในด้านเชิงวิชาการ

ArgusLab เป็นโปรแกรมจำลองโมเลกุลที่ถูกเขียน และพัฒนาขึ้น โดย Mark Tompson ในปี ค.ศ.2004 (Tompson, 2004) โดยเป็นโปรแกรมที่ติดตั้งและใช้งานได้โดยไม่มีค่าใช้จ่าย โดยมีวิธีการทำงานได้ 2 รูปแบบ คือ แบบ GADock จะทำงานโดยใช้ Genetic Algorithm และ ArgusDock จะทำงานโดยใช้ Shape-base search Algorithm งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบการจับกันระหว่างสารด้านการอักเสบจากเหง้าไพลกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 โดยใช้โปรแกรม ArgusLab และเปรียบเทียบค่าการจับกันกับฤทธิ์ด้านการอักเสบ (IC_{50}) ซึ่งคณะวิจัย พบว่าสารสำคัญกลุ่ม Phenylbutenoids ที่สกัดได้จากเหง้าไพลมีส่วนช่วยในการยับยั้งเอนไซม์ COX-2 (Han, Kim, Jeong, Lee & Seo, 2005)

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) ทดสอบการจับกันของเอนไซม์ Cyclooxygenase 3 ไอโซฟอร์ม (Isoforms) ได้แก่ COX-2 1CX2, COX-2 5JVZ และ COX-2 5W58 กับสารสำคัญที่พบในเหง้าไพล 5 ชนิด
- 2) เปรียบเทียบค่าการจับกัน (Binding Energy) ฤทธิ์ค่าการด้านการอักเสบ (IC_{50}) ได้จากสาร

สำคัญจากเหง้าไพล

3) เปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock

1.3 สมมติฐานการวิจัย

การหาสถานะที่เหมาะสมในการทดสอบการจับกันระหว่างสารด้านการอักเสบจากเหง้าไพลกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 เพื่อหาโครงสร้างที่เหมาะสมที่สอดคล้องกับการออกฤทธิ์ที่ดีสามารถจำลองการจับกันโดยใช้โปรแกรม ArgusLab และเปรียบเทียบสถานะ Docking ระหว่าง ArgusDock และ GADock ได้

1.4 ขอบเขตงานวิจัย

- 1) ศึกษาการจับกันของเอนไซม์ Cyclooxygenase 2 โดยใช้ไอโซฟอร์ม 3 ชนิดกับสารสำคัญที่พบสารจากเหง้าไพล 5 ชนิด
- 2) ศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันกับฤทธิ์ด้านการอักเสบจากสารสำคัญจากเหง้าไพล
- 3) ศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock

1.5 นิยามศัพท์

ArgusLab คือ โปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ใช้ในการจำลองโมเลกุลของสารเคมีกับเอนไซม์

ไซโคลออกซีจีเนส 2 คือ เอนไซม์ที่ก่อให้เกิด การอักเสบ ปวด บวม ที่เกิดจากการอักเสบของเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกาย

ไพล (*Zingiber cassumunar Roxb.*) คือ ไพล เป็นพืชล้มลุกสูง 0.7-1.5 เมตร มีเหง้าใต้ดิน เปลือกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีเหลืองถึงเหลืองแกมเขียว แทงหน่อหรือลำต้นเทียมขึ้นเป็นกอ ซึ่งประกอบด้วยกาบหรือโคนใบหุ้มซ้อนกัน ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปขอบขนานแกมใบหอก กว้าง 3.5-5.5 เซนติเมตร ยาว 18-35 เซนติเมตร ดอกช่อ แทงจากเหง้าใต้ดิน กลีบดอกสีขาว ใบประดับสีม่วง ผลเป็นผลแห้งรูปกลม

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่อง การหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบการจับกันระหว่างสารต้านการอักเสบจากเหง้าไพลกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส2 โดยโปรแกรม ArgusLab ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งมีเนื้อหาที่น่าสนใจดังนี้

- 2.1 การเกิดการอักเสบ
- 2.2 กลไกการยับยั้งการอักเสบของ COX-1 และ COX-2
- 2.3 ไพล และสารต้านการอักเสบ
- 2.4 เคมีสารสนเทศ (Cheminformatics)
- 2.5 เคมีคำนวณ หรือ เคมีเชิงคอมพิวเตอร์ (Computational Chemistry)

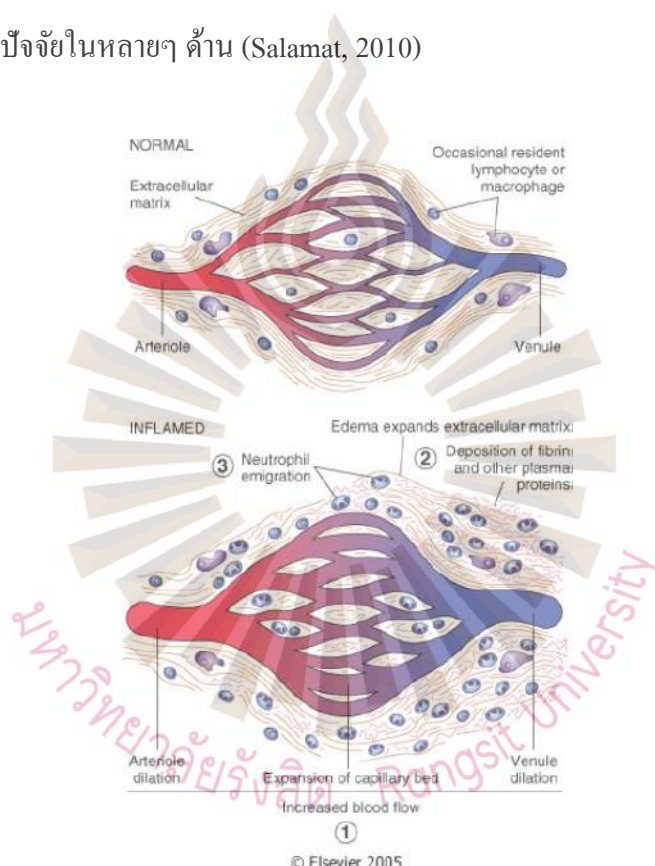
2.1 การเกิดการอักเสบ

การอักเสบ (Inflammation) คือ กระบวนการที่ร่างกายมีการตอบสนองต่อสิ่งที่ทำให้เนื้อเยื่อในร่างกายรับบาดเจ็บ บาดแผล เช่น การตายของเซลล์เนื้อเยื่อ การติดเชื้อโรคต่างๆ เป็นต้น กระบวนการอักเสบจัดเป็นกลไกที่สำคัญในการกำจัดสิ่งแปลกปลอม ผลของการอักเสบจะทำให้เกิดการกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกไป หากไม่เกิดกระบวนการอักเสบ ร่างกายจะไม่สามารถกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกไปได้ เนื้อเยื่อจะไม่สามารถซ่อมแซม ทำให้การทำงานของเนื้อเยื่อนั้นๆ ทำงานผิดปกติไปอย่างไรก็ตามกระบวนการอักเสบมีผลเสียเกิดขึ้นได้ด้วยเช่นกัน หากเกิดการอักเสบมากเกินไป หรือเกิดการอักเสบแบบเรื้อรังเป็นเวลานาน จะเกิดการทำลายของเนื้อเยื่อทำให้เกิดการทำงานของเนื้อเยื่อนั้นผิดปกติไปได้เช่นกัน

กระบวนการอักเสบประกอบด้วยปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อหลักๆ 2 ชนิด คือ การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด และการตอบสนองของเซลล์ชนิดต่างๆ ได้แก่ เซลล์อักเสบ และเซลล์ Fibroblasts ซึ่งพบได้ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน กระบวนการอักเสบสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ การ

อักเสบเฉียบพลัน (Acute Inflammation) และการอักเสบเรื้อรัง (Chronic Inflammation) การอักเสบแบบเฉียบพลันจะเกิดขึ้นรวดเร็ว ภายในระยะเวลาเป็นวินาทีหรือเป็นนาที หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้น และคงอยู่ประมาณ 2 ถึง 3 วัน แต่มักไม่เกิน 1 สัปดาห์

การอักเสบเฉียบพลัน คือ การบวมของเนื้อเยื่อ (Edema) มีสารน้ำซึ่งมีโปรตีน (Exudate) ภายในเนื้อเยื่อ และพบเซลล์อักเสบชนิด Neutrophils ส่วนการอักเสบแบบเรื้อรังนั้นจะเกิดนานกว่า อาจเกิดตามหลังการอักเสบแบบเฉียบพลัน หรือเกิดจากร่างกายตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมบางชนิดก็ได้ ขึ้นกับปัจจัยในหลายๆ ด้าน (Salamat, 2010)



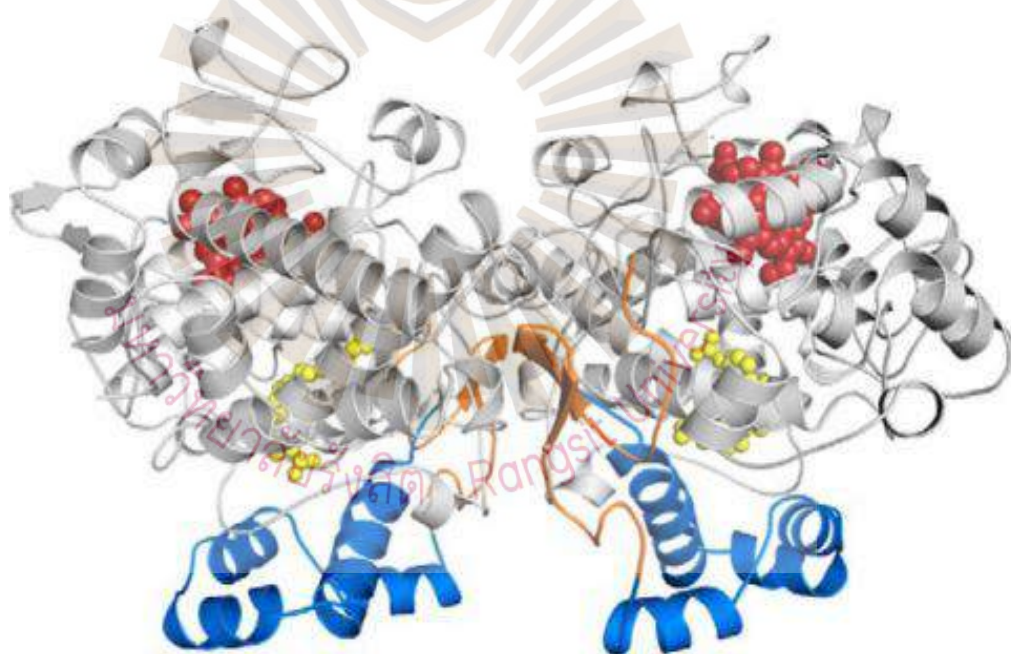
รูปที่ 2.1 ภาพการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดและเซลล์อักเสบในการอักเสบเฉียบพลัน
ที่มา : Salamat, 2010

การอักเสบเรื้อรัง คือ มีการสร้างเนื้อเยื่อพังผืดขึ้น (Fibrosis) มีการสร้างหลอดเลือดขึ้นจำนวนมากและพบเซลล์อักเสบชนิด Macrophages และ Lymphocytes การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดและเซลล์ที่พบในการอักเสบทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง เกิดจากการกระตุ้นจากสารเคมี ซึ่งสารเคมีเหล่านั้นอาจพบในกระแสเลือดอยู่แล้ว หรือจากเซลล์ต่างๆ ที่หลั่งออกมา หลังจากเกิด

กระบวนการอักเสบและกำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้นออกไปแล้ว ร่างกายจะมีกลไกยับยั้งเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการอักเสบมากเกินไป ซึ่งอาจจะเกิดทำอันตรายให้กับเนื้อเยื่อได้ (Salamat, 2010)

2.2 กลไกการยับยั้งการอักเสบของ COX-1 และ COX-2

ในร่างกายจะมีเอนไซม์ Cyclooxygenase (COX) อยู่ 2 ชนิด คือ COX-1 และ COX-2 เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดสร้างพรอสตาแกลนดิน พรอสตาแกลนดินเป็นสารเคมีคล้ายฮอร์โมนที่ทำให้เกิดกระบวนการอักเสบ ปวดบวมแดง และเป็นไข้ เอนไซม์ COX-1 เป็นเอนไซม์ที่สร้างพรอสตาแกลนดินที่ช่วยให้เลือดแข็งตัว และปกป้องเยื่อบุกระเพาะอาหารและลำไส้จากการครayoอาหาร แม้ว่าสารยับยั้ง COX-1 จะป้องกันการอักเสบ แต่ยังมีที่ส่วนที่ช่วยในกระบวนการอื่นๆ ได้อีก เช่น การป้องกันเยื่อบุกระเพาะอาหารและลำไส้ และการควบคุมการแข็งตัวของเลือด เป็นต้น



รูปที่ 2.2 โครงสร้าง 3 มิติของ Cyclooxygenase-2 (COX-2)

ที่มา : Smith & Malkowski, 2019

เอนไซม์ COX-2 เป็นเอนไซม์ที่สร้างพรอสตาแกลนดินซึ่งส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ สารยับยั้ง COX-2 ส่วนใหญ่จะยับยั้งการอักเสบ สารยับยั้ง COX-2 จะไม่ยับยั้งเอนไซม์ COX-1 ซึ่งหมายความว่า การป้องกันเยื่อบุกระเพาะอาหารและลำไส้และความสามารถในการแข็งตัวของเลือดของร่างกายจะไม่ได้รับผลกระทบอย่างรุนแรง (Smith & Malkowski, 2019)

2.3 ไพลและสารต้านการอักเสบ

จากการสกัดสารจากเหง้าไพลพบว่า สารสำคัญในเหง้าของไพล (*Z. cassumunar*) ประกอบด้วยสารกลุ่มฟีนิลบิวทีนอยด์ (Phenylbutenoids) หลายชนิด เช่น Curcuminoids, Sesquiterpenoids และสารประกอบบางชนิด พบว่ามีส่วนช่วยในการต้านการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระ และเป็นพิษกับเซลล์ เป็นต้น จากการศึกษาและวิจัย พบว่าสารฟีนิลบิวทีนอยด์ ที่แยกได้จากการสกัดด้วย CHCl_3 ของเหง้าไพล ได้รับการศึกษาฤทธิ์การยับยั้ง Cyclooxygenase2 (COX2) พร้อมกับแยกสารสำคัญชนิดใหม่ได้ 7 รูปแบบ จากการสกัดด้วย *n*-BuOH จากเหง้าไพล และเมื่อได้ทำการทดสอบการยับยั้ง COX2 โดยการวัดการผลิตของ Prostaglandin E_2 ในเซลล์ RAW 264.7 ของหนูเมาส์ที่ถูกกระตุ้น Lipopolysaccharide พบว่าสารฟีนิลบิวทีนอยด์ไคเมอร์สองตัว 1 และ 2 แสดงด้วยค่า IC_{50} ที่ 2.71 และ $3.64 \mu\text{M}$ สาร โมโนเมอร์ฟีนิลบิวทีนอยด์สองตัว 3 และ 4 แสดงฤทธิ์ได้ปานกลาง (IC_{50} 14.97, $20.68 \mu\text{M}$ ตามลำดับ) และพบฟีนิลบิวทีนอยด์อีกสามตัว คือ 5 - 7 ที่จะไม่ใช้งาน สารประกอบชนิดที่ 7 ถูกอธิบายว่าเป็นฟีนิลบิวทีนอยด์ไกลโคไซด์ชนิดใหม่ คือ (*E*)-4-(3,4-dimethoxy-phenyl)but-3-en-1-*O*- β -D-glucopyranoside ได้รับการวิเคราะห์สเปกตรัมรวมถึงการหามวลโมเลกุลโครงสร้างของ 1D และ 2D (Han et al., 2005)



รูปที่ 2.3 เหง้าไพล

ที่มา : Le et al., 2023

นอกจากนี้จากการศึกษาต่างๆ มีการนำสารสกัดจากเหง้าไพลไปพัฒนาในรูปแบบต่างๆ เพื่อใช้ในการต้านการอักเสบ เพื่อลดอาการฟกช้ำ ช้ำ และบรรเทาอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ โดยมักจะทำออกมาในรูปแบบ ครีม น้ำมันและยาขี้ผึ้ง ที่มีส่วนผสมจากสารสกัดที่ได้จากเหง้าไพล เช่น น้ำมันไพล ครีมไพล ขี้ผึ้งไพล ซึ่งให้ผลในการยับยั้ง Prostaglandins และทำการทดสอบความเป็นพิษพบว่าไม่มีพิษเฉียบพลันหรือกึ่งเฉียบพลัน ไม่ระคายเคือง และไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ต่อผิวหนัง (Koontongkaew et al., 2014) ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าว คือ ครีมไพลจิซาล ซึ่งนำมาพัฒนาต่อยอดเป็น

รูปแบบครีม ซึ่งในครีม 100 กรัม ประกอบไปด้วยสารสกัดจากเหง้าไพล 14 กรัม ซึ่งสามารถลดการอักเสบในสัตว์ทดลองได้ อีกทั้งยังมีการศึกษาความเป็นพิษจากสารสกัดเหง้าไพลพบว่า ไม่มีพิษต่อหนูทดลอง (Kiatiyingsulee et al., 1979, Panyathanya et al., 1989) หรือแม้แต่ผิวหนังของหนูทดลองโดยตรง (Mokkhasmit, Sawasdimongkol & Sartravaha, 1971) ในการศึกษาทางเภสัชจลศาสตร์พบว่า สารที่ได้จากการสกัดของเหง้าไพล สามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ดีสูงสุดที่ 1 ชั่วโมง (Pongsakorn, Koysukoo, Pinthong & Molasakul, 1988) และยังมีการพบว่าในน้ำมันไพล มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงที่สุด เมื่อนำสารสกัดจากเหง้าไพลมาพัฒนาในรูปแบบของนิโอไพลที่ความเข้มข้น 0.1% ซึ่งพบว่า สามารถช่วยทำให้อุณหภูมิและอัตราการไหลเวียนเลือดของการอักเสบมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

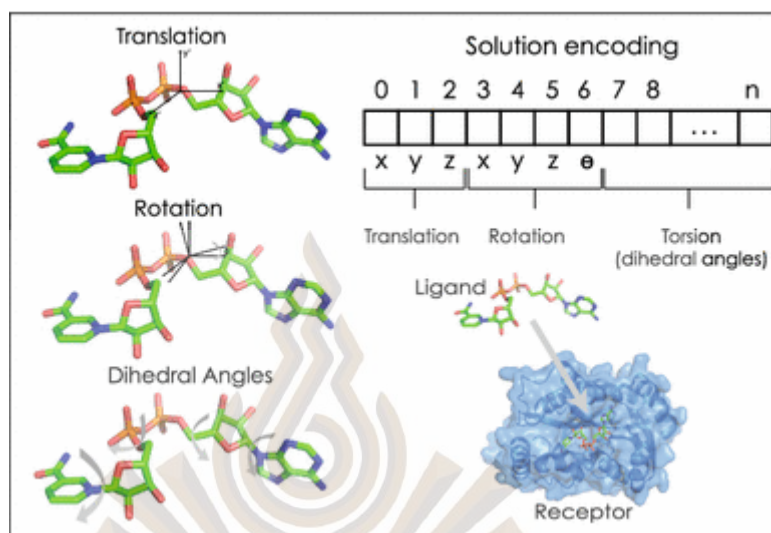
2.4 เคมีสารสนเทศ (Cheminformatics)

เคมีสารสนเทศ (Cheminformatics) คือ การใช้คอมพิวเตอร์และใช้ทักษะในการให้ข้อมูลที่ใช้ในด้านเคมี Cheminformatics ได้มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในวงการเคมีโดยเฉพาะด้านการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเทคนิคดังกล่าวได้นำมาใช้ในการออกแบบรูปแบบโมเลกุล และรูปแบบการออกแบบของยาโดยใช้การหาโมเลกุลที่มีคุณสมบัติเฉพาะทางชีวภาพที่เหมาะสมเฉพาะเจาะจงโดยเทคนิคดังกล่าวมักถูกนำมาใช้กันแพร่หลาย เช่น การพัฒนากระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ และผลิตภัณฑ์ยา เป็นต้น (Noordik, 2004)

2.5 เคมีคำนวณ หรือ เคมีเชิงคอมพิวเตอร์ (Computational Chemistry)

เคมีคำนวณ หรือ เคมีเชิงคอมพิวเตอร์ เป็นวิชาเคมีแขนงหนึ่งที่มีการนำเอาคอมพิวเตอร์มาใช้ในการศึกษาทางทฤษฎี ซึ่งใช้ในการคำนวณโครงสร้างและคุณสมบัติต่างๆของโมเลกุล โดยอาศัยหลักการที่ว่าคุณสมบัติที่คำนวณได้นี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้าง 3 มิติของโมเลกุล การศึกษานี้เรียกว่าแบบจำลองเชิงโมเลกุล (Molecular Modeling) ผลการคำนวณที่ได้จากการศึกษานี้ จะใช้ในการอธิบายผลการทดลองในห้องปฏิบัติการซึ่งเป็นการอธิบายในระดับโมเลกุล รวมถึงการทำนายผลการทดลองที่สามารถทำได้ยากในห้องปฏิบัติการ ผลลัพธ์เชิงโครงสร้างได้รับการวิเคราะห์ทางสถิติโดยได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีประสิทธิภาพ และเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการหาความสัมพันธ์ระหว่าง

โปรตีนและลิแกนด์ในการหาความสัมพันธ์ของโมเลกุล (Leonhart, Spieler, Ligabue-Braun & Dorm, 2018)



รูปที่ 2.4 กระบวนการทางเคมีเชิงคอมพิวเตอร์

ที่มา : Leonhart et al., 2018

2.5.1 กระบวนการจับกัน (Docking Algorithms)

2.5.1.1 Algorithm คือ กระบวนการแก้ปัญหาที่สามารถอธิบายออกมาเป็นขั้นตอนที่ชัดเจน กระบวนการประกอบด้วย วิธีเป็นขั้นๆและมีส่วนที่ต้องทำแบบวนซ้ำอีก จนกระทั่งเสร็จสิ้นการทำงาน Algorithm ไม่ใช่คำตอบแต่เป็นชุดคำสั่งที่ทำให้ได้มาซึ่งคำตอบ

2.5.1.2 Docking Algorithms คือ กระบวนการที่จะหาค่าจำลองการจับกันระหว่าง เอนไซม์ โปรตีน กับยา หรือลิแกนด์ เพื่อให้ได้ค่า Binding Energy ที่ต่ำที่สุด สามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ ดังนี้

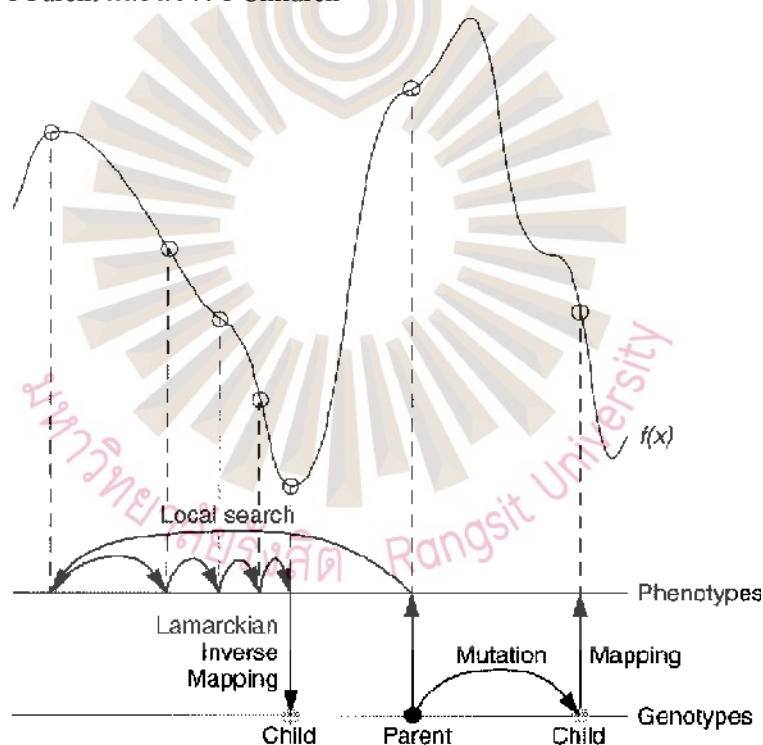
1) Deterministic Algorithm เป็นกระบวนการที่สามารถให้ผลการ Docking ที่เหมือนเดิมในทุกๆครั้งที่ทำการ Docking โปรตีน กับยา หรือลิแกนด์เดิม

2) Stochastic Approach เป็นกระบวนการที่เอา Random Factor มาคิดคำนวณ โดยสุ่มเอาโครงสร้าง หรือชิ้นส่วนโครงสร้างมาเริ่มทำการ Docking ดังนั้นผลที่ได้จะไม่เหมือนกันทุกครั้ง เนื่องจากโครงสร้างเริ่มต้นที่ไม่เหมือนกัน วิธีนี้ได้รับความนิยมมีโปรแกรม ArgusLab, AutoDock เป็นต้น

2.5.1.3 Incremental Construction Method เป็นวิธีที่โครงสร้างยา หรือลิแกนด์ ถูกแบ่งออกเป็นส่วนเล็กๆ ตรงพันธะที่หมุนได้จะเรียกว่า Rigid Fragment และถูกสุ่มนำเข้าสู่ Active

Site ที่ละชิ้น โดยโครงสร้างชิ้นแรกจะพยายามเข้าไปหาดำแหน่งการจัดเรียงตัวที่ดีที่สุด และเมื่อได้กลายเป็น Anchor Fragment หลังจากนั้นชิ้นส่วนถัดไปจะนำเข้าสู่ Active Site และจะพยายามเข้าไปหาดำแหน่งการจัดเรียงตัวที่ดีที่สุด ในระหว่างการจับกันโปรแกรมจะคำนวณค่าการจับกันเพื่อให้ได้ค่าที่ดีที่สุด ทำเช่นนี้ไปเรื่อยๆจนครบทั้งหมดของทุกโครงสร้าง

2.5.1.4 Genetic Algorithm (GA) เป็น กระบวนการ Docking ที่เลียนแบบกระบวนการวิวัฒนาการ เรียกแต่ละโครงสร้างว่า Chromosome ซึ่งถูกใส่รหัสไว้ โดยโปรแกรมจะมีการจัดการโครงสร้างให้อยู่ในรูปแบบของตัวแทนที่ถูกสุ่มขึ้นมา โครงสร้างเริ่มต้น เรียกว่า Parent Chromosome จากนั้นกระบวนการจะมีหลักการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง 2 จุดใหญ่ๆ คือ การทำ Crossing Over และการทำ Mutation ผลจากการทดลองจะได้โครงสร้างรุ่นต่อมา เรียกว่า Children Chromosome การ Crossing Over จะใช้ 2 Parent และ โครงสร้าง 1 Children ในขณะที่การทำ Mutation จะใช้ 1 Parent และสร้าง 1 Children



รูปที่ 2.5 วิธีการของเทคนิค Genetic algorithm

ที่มา : Ferreira, dos Santos, Oliva & Andricopulo, 2015

การทำ Crossing Over จะรวมส่วนประกอบของ 2 Chromosome ที่แตกต่างกัน ได้มาเป็น 1 โครงสร้าง ในขณะที่การ Mutation จะเกิดการเปลี่ยนแปลงบางส่วนของโครงสร้าง วิธีดังกล่าวจะเป็นการพัฒนาโครงสร้างโดยอาศัยหลักการเพิ่มแรงกดดันเข้าไปในกระบวนการ แล้วดูผลลัพธ์ที่ได้

ผลที่ไม่ดีจะถูกคัดออกไป แล้วเลือกผลที่ดีมาดำเนินการต่อ จนได้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุดตามค่าที่โปรแกรมกำหนดค่าไว้ (Ferreira et al., 2015)

ArgusLab เป็นโปรแกรมที่ใช้ Lamarckian Genetic Algorithm (Morris et al., 1998) โดยโปรแกรม ArgusLab จะเก็บโครงสร้างที่ดีที่สุดในแต่ละรุ่นซึ่งได้จากการคำนวณค่า Local Energy Minimum แล้วเก็บเป็นค่า Co-Ordinate ได้เป็น Chromosome ที่ถูกนำมาใช้แทน Parent ในการการหาวิวัฒนาการรุ่นลูกต่อไป

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) ซึ่งเลือกที่จะยับยั้ง COX2 โดยไม่ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ของ COX1 จะเป็นยาต้านการอักเสบในอุดมคติ ดังนั้นจึงมีความพยายามที่จะทำการศึกษาการจับของ NSAIDs กับเอนไซม์ COX1 และ COX2 โดยศึกษาพันธะไฮโดรเจนและพลังงานการจับยึดโดยใช้การจำลองโมเลกุล พบว่าการจับกัน 1-3 พันธะในกลุ่มยา NSAIDs เช่น Nabumetone, Meclofenamate, Niflumic, Indomethacin, Sulindac และ Flurbipofen ถูกจับกันกับเอนไซม์ COX2 กับกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับพันธะ เช่น Phe A518, Arg A120, Tyr A385, His A90, Tyr A355, Met A522, Ser A353, Gln A192, Leu A352 และ Arg A513 เป็นต้น (Akaho, Fujikawa, Runion, Hill & Nakano, 1999)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

การวิจัยเรื่อง การหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบการจับกันระหว่างสารต้านการอักเสบจากเหง้าไพลกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 โดยโปรแกรม ArgusLab การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามลำดับหัวข้อ ต่อไปนี้

- 3.1 ขอบเขตของการวิจัย
- 3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย
- 3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล
- 3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

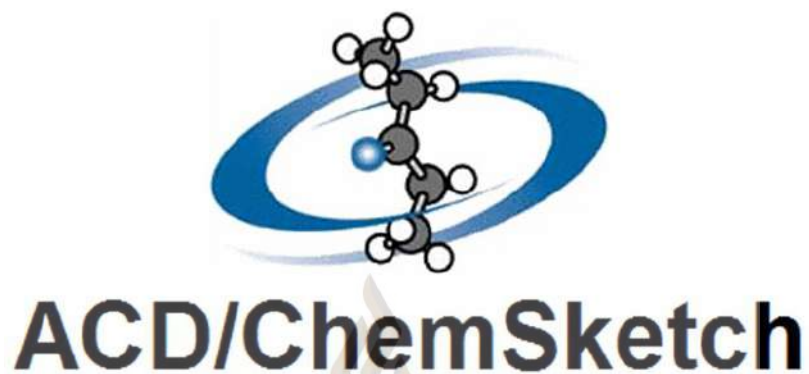
3.1 ขอบเขตของการวิจัย

- 3.1.1 ศึกษาการจับกันของเอนไซม์ Cyclooxygenase 3 ชนิดกับสารสำคัญที่พบจากสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิด
- 3.1.2 ศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันกับฤทธิ์ด้านการอักเสบจากสารสำคัญจากเหง้าไพล
- 3.1.3 ศึกษาเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock

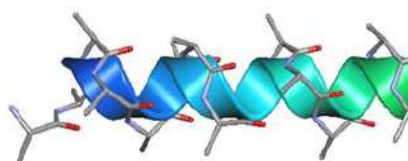
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- 3.2.1 คอมพิวเตอร์ Notebook
- 3.2.2 โปรแกรม
 - 3.2.2.1 ChemSketch
 - 3.2.2.2 Discovery Studio Visualiser
 - 3.2.2.3 Avogadro
 - 3.2.2.4 ArgusLab 4.0.1
 - 3.2.2.5 Microsoft Excel

3.2.3 เครื่องพิมพ์



ArgusLab



รูปที่ 3.1 โปรแกรมที่ใช้ในการวิจัย

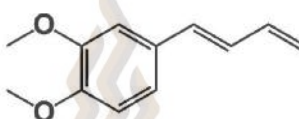
ที่มา : ผู้วิจัย, 2566

3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.3.1 ศึกษาการจับกันของ Cyclooxygenase 3 ชนิด กับสารสำคัญที่พบในสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิด (Han et al., 2005) โดยใช้โปรแกรม ArgusLab 4.0.1

สารสำคัญที่ทำการศึกษาจากเหง้าไพล มีดังนี้

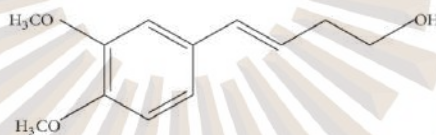
3.3.1.1 DMPDB



รูปที่ 3.2 แสดงโครงสร้าง DMPDB

ที่มา : Jitapunkul, Poachanukoon, Hannongbua, Toochinda & Lawtrakul, 2017

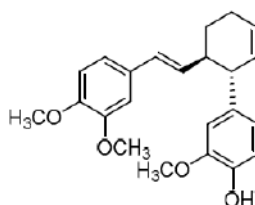
3.3.1.2 Compound D



รูปที่ 3.3 แสดงโครงสร้าง Compound D

ที่มา : Sittichai et.al., 2014

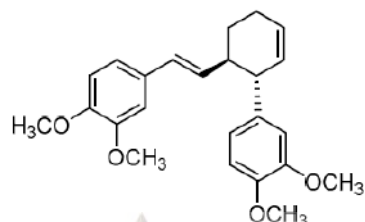
3.3.1.3 trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene



รูปที่ 3.4 แสดงโครงสร้าง trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene

ที่มา : Devkota et al., 2021

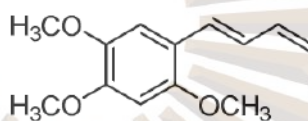
3.3.1.4 trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene



รูปที่ 3.5 แสดงโครงสร้าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene

ที่มา : Devkota et al., 2021

3.3.1.5 4-(2, 4, 5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien



รูปที่ 3.6 แสดงโครงสร้าง 4-(2, 4, 5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien

ที่มา : Devkota et al., 2021

3.3.1.6 เอนไซม์ Cyclooxygenase 1CX2

3.3.1.7 เอนไซม์ Cyclooxygenase 5JVZ

3.3.1.8 เอนไซม์ Cyclooxygenase 5W58

3.3.2 ศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันกับฤทธิ์ด้านการอักเสบจากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยนำค่าการจับกันในการทำปฏิกิริยายับยั้งเอนไซม์ COX2 โดยนำมาเปรียบเทียบกับค่าฤทธิ์ด้านการอักเสบจากเหง้าไพล (IC_{50})

3.3.3 ศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock

3.3.4 ผู้ศึกษาดำเนินการทดลองและเก็บรวบรวมข้อมูลตามขั้นตอน ดังต่อไปนี้

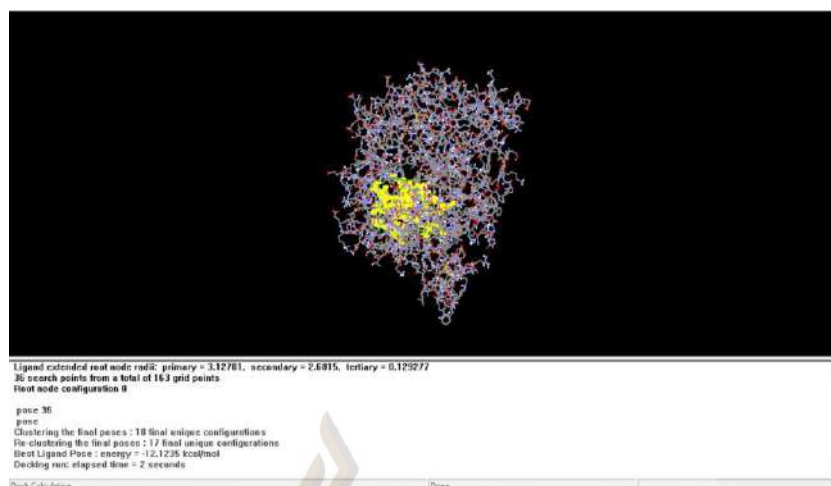
3.3.4.1 นำโครงสร้างของสารสกัดจากเหง้าไพลที่สนใจศึกษานำมาวาดโครงสร้างสองมิติ โดยใช้โปรแกรม ChemSketch

3.3.4.2 เปลี่ยนโครงสร้างสองมิติ เป็นโครงสร้างในรูปแบบสามมิติ (3 Dimension) โดยใช้โปรแกรม Avogadro

3.3.4.3 หาโครงสร้างสามมิติ ของเอนไซม์ Cyclooxygenase 3 ชนิด

3.3.4.4 โครงสร้างสามมิติของสารสกัดจากเหง้าไพลและเอนไซม์ Cyclooxygenase นำมาใช้ในการ Docking โดยใช้โปรแกรม ArgusLab มีขั้นตอน ดังนี้

- 1.) เตรียมโครงสร้างสามมิติของสารสกัดจากเหง้าไพลในแบบไฟล์ .pdb
 - 2.) เปิดโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ Cyclooxygenase โดยใช้โปรแกรม Arguslab 4.0.1 ดับเบิลคลิกที่ 1CX2 > Residues > Misc > 1CX2
 - 3.) คลิกขวาที่ 1CX2 เลือก Make a Ligand Group from this Residue แล้วดับเบิลคลิกที่ Group
 - 4.) เปิดโครงสร้างสามมิติของสารสกัดจากเหง้าไพล
 - 5.) คลิกขวาที่ เอนไซม์ 1CX2 > Make a Biding Site Group for this Group กดปุ่ม Set up a Dock Calculation > เลือกสารที่จะทำการทดสอบ > Docking engine เลือก GADock > Start
 - 6.) ดูผลการ Docking สารนั้น (ค่า Binding Energy ยิ่งมีค่าติดลบมากยิ่งดี)
 - 7.) คลิกขวาที่ เอนไซม์ 1CX2 > Make a Biding Site Group for this Group กดปุ่ม Set up a Dock Calculation > เลือกสารที่จะทำการทดสอบ > Docking engine เลือก ArgusDock > Start
 - 8.) ดูผลการ Docking สารนั้น (ค่า Binding Energy ยิ่งมีค่าติดลบมากยิ่งดี)
 - 9.) ทำซ้ำโดยเปลี่ยนเอนไซม์ Cyclooxygenase ตามลำดับ ทำซ้ำจนครบ
- 3.3.4.5 บันทึกผลการทำ Docking เป็นไฟล์ .pdb



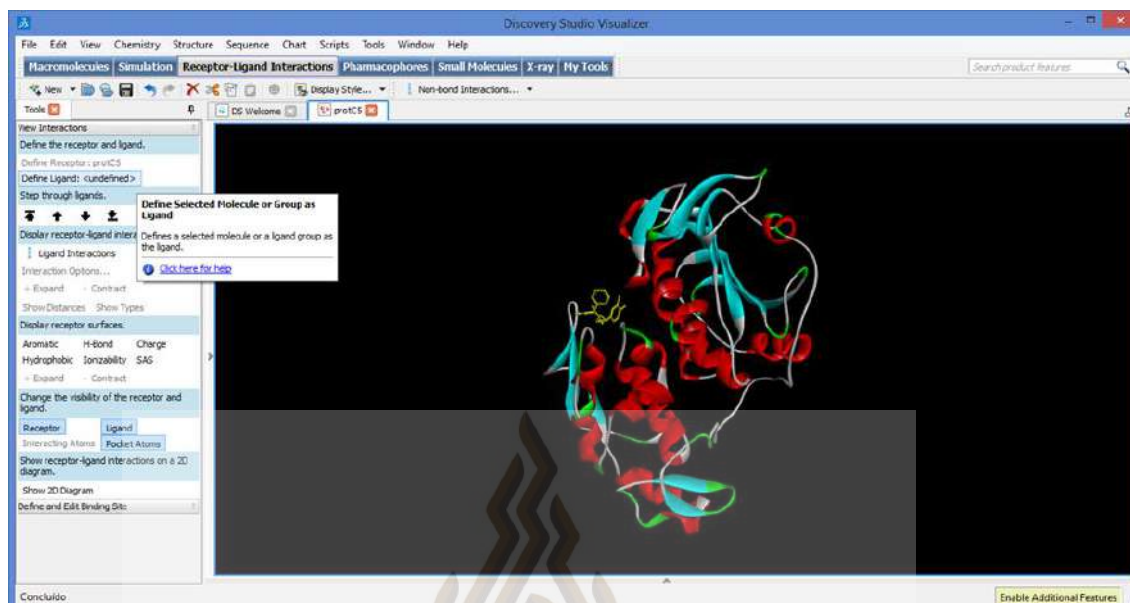
รูปที่ 3.7 โปรแกรม ArgusLab และการแสดงผล

ที่มา : ผู้วิจัย, 2566

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.4.1 ทำการวิเคราะห์ผลและรายงานผลการศึกษาร่วมกันโดยนำผล GADock และ ArgusDock มาพล็อตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy ของลิแกนด์ IC₅₀ ของสาร และดูความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงเพื่อเปรียบเทียบหาสถานะที่เหมาะสม

3.4.2 เลือกสถานะที่เหมาะสมที่สุดมาดูการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารกับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ โดยนำรูปแต่ละ Rank ของลิแกนด์ ที่ Save ไว้เป็นไฟล์ .pdb ไปเปิดในโปรแกรม Discovery Studio



รูปที่ 3.8 โปรแกรม Discovery Studio และการแสดงผล

ที่มา : ผู้วิจัย, 2566

3.4.3 สังเกตการณ์ซ้อนทับกัน หรือการเกิดปฏิสัมพันธ์ในลิแกนด์ กับ โครงสร้าง
สามมิติของเอนไซม์ Cyclooxygenase

มหาวิทยาลัยรังสิต Rangsit University

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การวิจัยเรื่อง การหาสถานะที่เหมาะสมในการทดสอบการจับกันระหว่างสารด้านการ
อักเสบจากเหง้าไพลกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 โดยโปรแกรม ArgusLab การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัย
ขอเสนอผลการวิเคราะห์ข้อมูลเป็นตาราง รูปภาพ และคำบรรยายประกอบตามลำดับ ดังต่อไปนี้

4.1 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ
GADock กับเอนไซม์ 1CX2

4.2 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันของเอนไซม์ 1CX2 กับฤทธิ์ด้านการอักเสบ
จากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยรายงานผลการศึกษาเป็นค่า Binding Energy เปรียบเทียบกับค่า IC_{50}
(Median Inhibitory Concentration)

4.3 ผลการวิเคราะห์ศึกษาการทำปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ 1CX2 กับสารสำคัญที่พบจาก
สารสกัดเหง้าไพล 5 ชนิด

4.4 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ
GADock กับเอนไซม์ 5W58

4.5 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันของเอนไซม์ 5W58 กับฤทธิ์ด้านการอักเสบ
จากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยรายงานผลการศึกษาเป็นค่า Binding Energy เปรียบเทียบกับค่า IC_{50}
(Median Inhibitory Concentration)

4.6 ผลการวิเคราะห์ศึกษาการทำปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ 5W58 กับสารสำคัญที่พบจาก
สารสกัดเหง้าไพล 5 ชนิด

4.7 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ
GADock กับเอนไซม์ 5JVZ

4.8 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันของเอนไซม์ 5JVZ กับฤทธิ์ด้านการอักเสบ
จากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยรายงานผลการศึกษาเป็นค่า Binding Energy เปรียบเทียบกับค่า IC_{50}
(Median Inhibitory Concentration)

4.9 ผลการวิเคราะห์ศึกษาการทำปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ 5JVZ กับสารสำคัญที่พบจากสารสกัดเหง้าไพล 5 ชนิด

4.1 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock กับเอนไซม์ 1CX2

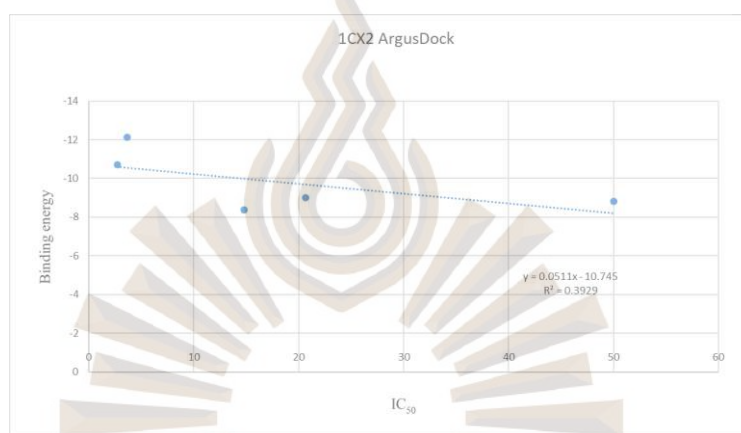
ตารางที่ 4.1 การศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิดกับเอนไซม์ Cyclooxygenase 1CX2

สาร	Binding Energy ด้วยวิธี ArgusDock	Binding Energy ด้วยวิธี GADock	IC ₅₀ (ไมโครโมลาร์)
1. trans-3-(3,4dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene	-10.70	-9.48	2.71
2. trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene	-12.12	-12.20	3.64
3. 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien	-8.36	-8.10	14.97
4. DMPDB	-9.01	-8.68	20.68
5. Compound D	-8.83	-8.33	50

หลังจากทำการ Docking ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล กับเอนไซม์ Cyclooxygenase 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock โดยมีค่า Binding Energy เท่ากับ -9.48, -12.20, -8.10, -8.68 และ -8.33 กิโลแคลอรี/โมล ตามลำดับ และเมื่อทำการ Docking ระหว่างสารสกัดจากไพล กับเอนไซม์ Cyclooxygenase 1CX2 ด้วยวิธี GADock

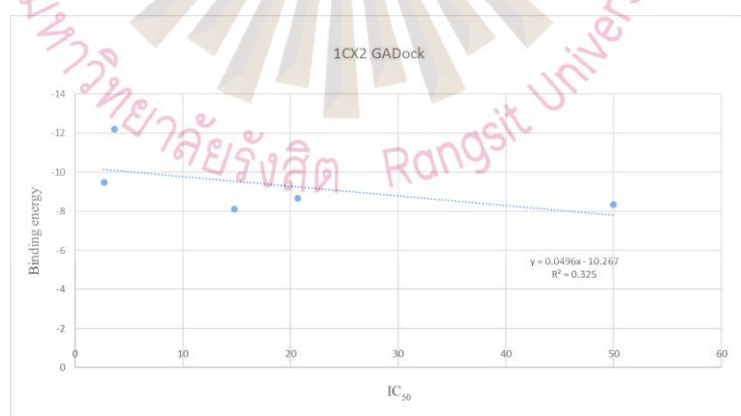
โดยมีค่า Binding Energy เท่ากับ -10.70, -12.12, -8.36, -9.01 และ -8.83 กิโลแคลอรี/โมล ตามลำดับ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.71, 3.64, 14.97, 20.68, 50 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

4.2 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันของเอนไซม์ 1CX2 กับฤทธิ์ต้านการอักเสบจากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยรายงานผลการศึกษาเป็นค่า Binding Energy เปรียบเทียบกับค่า IC_{50} (Median Inhibitory Concentration)



รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC_{50}

ด้วยวิธี ArgusDock ของเอนไซม์ 1CX2



รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC_{50}

ด้วยวิธี GADock ของเอนไซม์ 1CX2

จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.1 ได้นำมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับ IC_{50} ของสารสกัดจากเหง้าไพลทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี ArgusDock แสดงในรูป 4.1 จะพบว่า

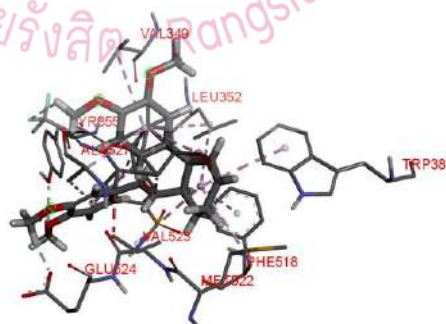
มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.3929 ซึ่งเป็นค่าที่แสดง ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.1 ได้นำมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับ IC_{50} ของสารสกัดจากเหง้าไพลทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี GADock แสดงในรูป 4.2 จะพบว่า มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.3250 ซึ่งเป็นค่าที่แสดง ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

เมื่อดูจากค่าที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของทั้งสองสถานะพบว่า ค่าความสัมพันธ์เชิง เส้นตรงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของทั้งสองสถานะทั้ง ArgusDock และ GADock ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกวิธีที่จะแสดงเพียง 1 สถานะ คือ ArgusDock เนื่องจากมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ที่ไม่แตกต่างกัน

4.3 ผลการวิเคราะห์ศึกษาการทำปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ 1CX2 กับสารสำคัญที่พบ จากสารสกัดเหง้าไพล 5 ชนิด

Trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-enเกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Phe518, Leu352 และ Try355 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 1CX2 (รูปที่ 4.3)และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันได้ดี (รูปที่ 4.4) ด้วยวิธี ArgusDock

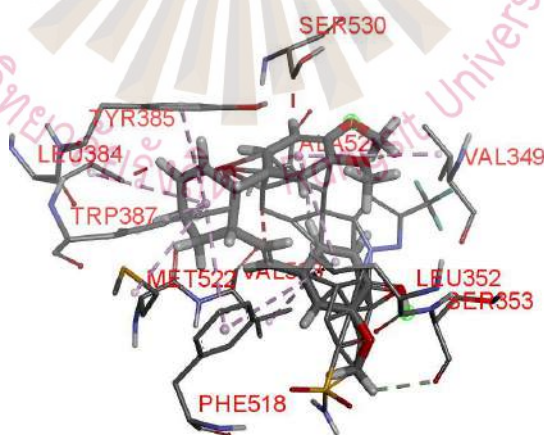


รูปที่ 4.3 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Phe518, Leu352 และTry355)

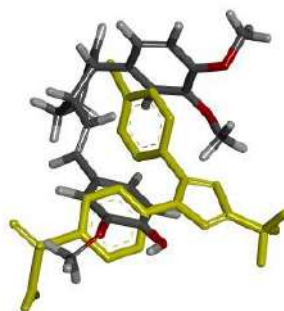


รูปที่ 4.4 การซ้อนทับกันของ trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock

Trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Phe518, Ser353, Leu352, Met522 และ Try355 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 1CX2 (รูปที่ 4.5) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์กับเอนไซม์พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันได้ดี (รูปที่ 4.6) ด้วยวิธี ArgusDock

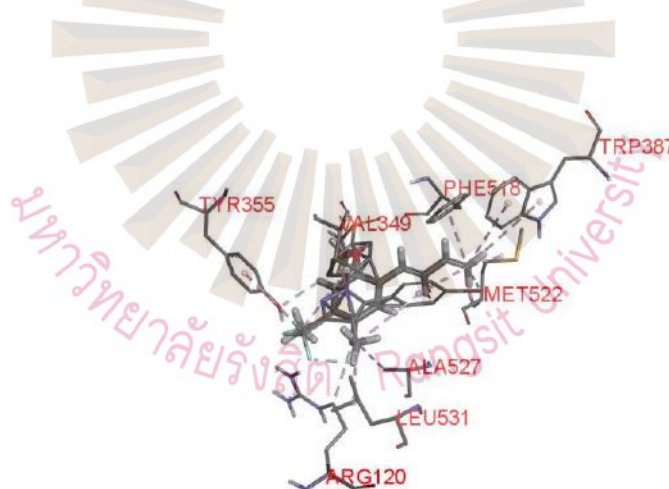


รูปที่ 4.5 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Phe518, Ser353, Met522, Leu352 และTry355)

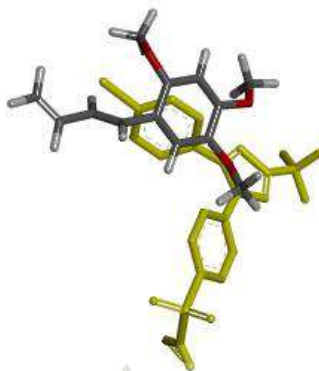


รูปที่ 4.6 การซ้อนทับกันของ trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2'',4'',5''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock

4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Arg120, Phe518, Met522 และ Try355 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 1CX2 (รูปที่ 4.7) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกัน (รูปที่ 4.8) ด้วยวิธี ArgusDock

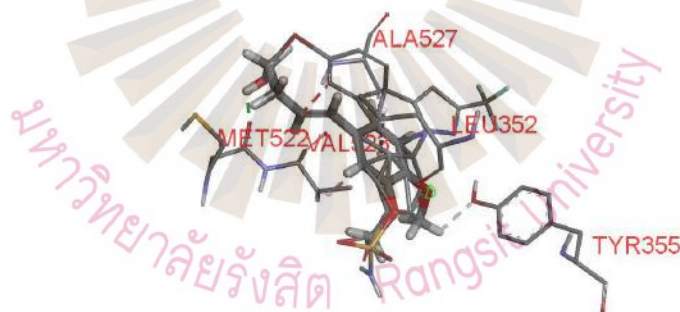


รูปที่ 4.7 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Arg120, Phe518, Met522 และTry355)



รูปที่ 4.8 การซ้อนทับกันของ 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock

Compound D เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Met522, Leu352 และ Try355 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 1CX2 (รูปที่ 4.9) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์กับเอนไซม์พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันได้ดี (รูปที่ 4.10) ด้วยวิธี ArgusDock

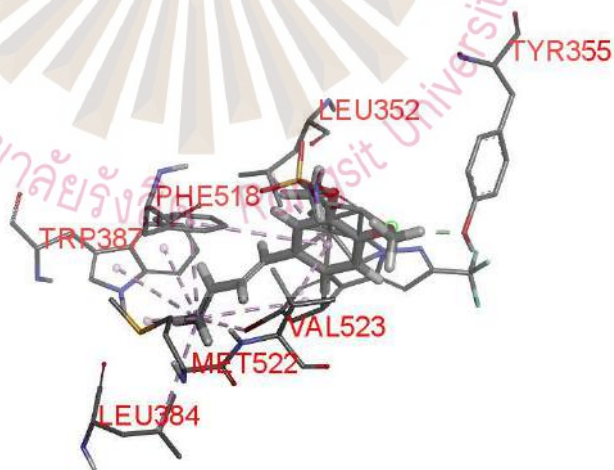


รูปที่ 4.9 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง Compound D กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Met522, Leu352 และTry355)



รูปที่ 4.10 การซ้อนทับกันของ Compound D กับสารลิแกนด์
ใน Active Site ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock

DMPDB เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Met522, Leu352, Phe518 และ Try355 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 1CX2 (รูปที่ 4.11) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์กับเอนไซม์พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันได้ดี (รูปที่ 4.12) ด้วยวิธี ArgusDock



รูปที่ 4.11 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง DMPBD กับกลุ่มกรดอะมิโนใน
เอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock (Met522, Leu352, Phe518 และ Try355)



รูปที่ 4.12 การซ้อนทับกันของ DMPDB กับสารลิแกนด์ใน Active Site
ของเอนไซม์ 1CX2 ด้วยวิธี ArgusDock

4.4 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock กับเอนไซม์ 5W58

ตารางที่ 4.2 การศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock
ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิดกับเอนไซม์ Cyclooxygenase 5W58

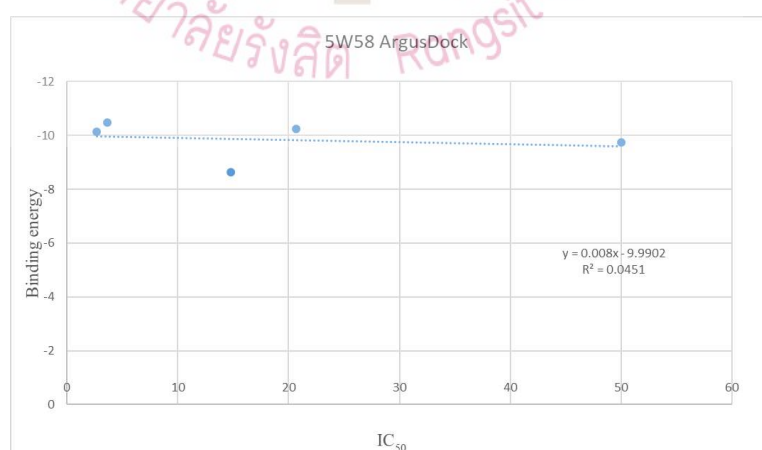
สาร	Binding Energy ด้วยวิธี ArgusDock	BindingEnergy ด้วยวิธี GADock	IC ₅₀ (ไมโครโมลาร์)
1. trans-3-(3,4dimethoxyphenyl)- 4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl] cyclohex-1-ene	-10.14	-11.16	2.71
2. trans-3-(3',4'- dimethoxyphenyl)-4-[(E)- 2''',4''',5'''-trimethoxystyryl] cyclohex-1-ene	-10.47	-10.31	3.64

ตารางที่ 4.2 การศึกษาเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิดกับเอนไซม์ Cyclooxygenase 5W58 (ต่อ)

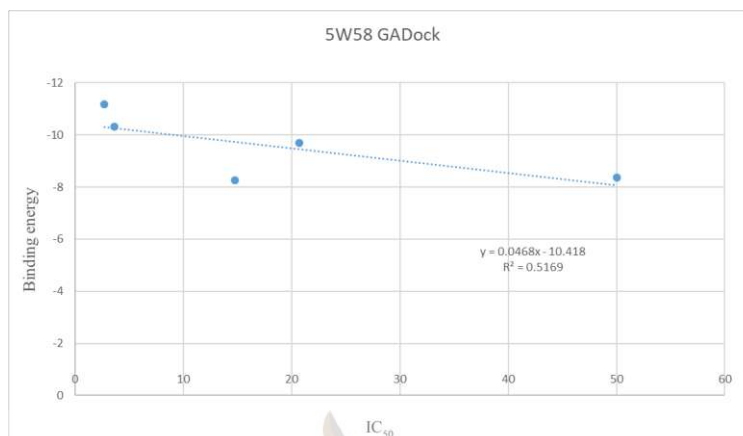
3.4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but 1,3-dien	-8.63	-8.27	14.97
4. DMPDB	-10.24	-9.69	20.68
5. Compound D	-9.74	-8.36	50

หลังจากทำการ Docking ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล กับเอนไซม์ Cyclooxygenase 5W58 ด้วยวิธี ArgusDock โดยมีค่า Binding Energy เท่ากับ -10.14, -10.47, -8.63, -10.24 และ -9.74 กิโลแคลอรี/โมล ตามลำดับ และเมื่อทำการ Docking ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล กับเอนไซม์ Cyclooxygenase 5W58 ด้วยวิธี GADock โดยมีค่า Binding Energy เท่ากับ -11.16, -10.31, -8.27, -9.69 และ -8.36 กิโลแคลอรี/โมล ตามลำดับ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.71, 3.64, 14.97, 20.68, 50 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

4.5 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันของเอนไซม์ 5W58 กับฤทธิ์ด้านการอักเสบจากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยรายงานผลการศึกษาเป็นค่า Binding Energy เปรียบเทียบกับค่า IC_{50} (Median Inhibitory Concentration)



รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC_{50} ด้วยวิธี ArgusDock ของเอนไซม์ 5W58



รูปที่ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC₅₀
ด้วยวิธี GADock ของเอนไซม์ 5W58

จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.2 ได้นำมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับ IC₅₀ ของสารสกัดจากเหง้าไพลทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี ArgusDock แสดงในรูป 4.13 จะพบว่า มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.0451 ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

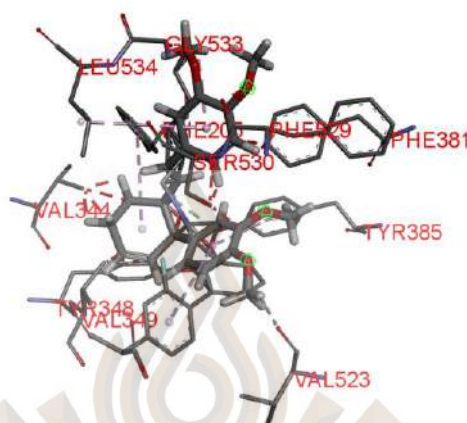
จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.2 ได้นำมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับ IC₅₀ ของสารสกัดจากเหง้าไพลทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี GADock แสดงในรูป 4.14 จะพบว่า มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.5169 ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

เมื่อดูจากค่าที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของทั้งสองสถานะพบว่า ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของ GADock เป็นสถานะที่เหมาะสมในการจับกันของสารและเอนไซม์มากกว่า ArgusDock

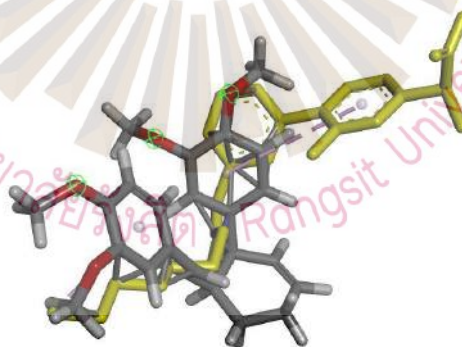
4.6 ผลการวิเคราะห์ศึกษาการทำปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ 5W58 ชนิดกับสารสำคัญที่พบจากสารสกัดเหง้าไพล 5 ชนิด

Trans-3 -(3 ,4 dimethoxyphenyl)-4 -(E)-3 ,4 -dimethoxystyryl cyclohex-1 -ene เกี ค ปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Tyr385 เท่านั้น ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 5W58 (รูปที่ 4.15)

และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันเพียงแค่ตำแหน่งเดียวเท่านั้น (รูปที่ 4.16) ด้วยวิธี GADock ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารดังกล่าวออกฤทธิ์ได้ไม่ดีกับเอนไซม์ 5W58



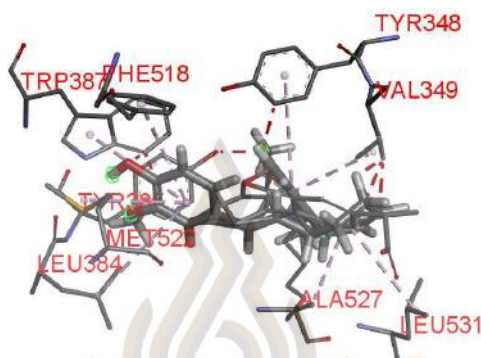
รูปที่ 4.15 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3,4dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl] cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385 เท่านั้น)



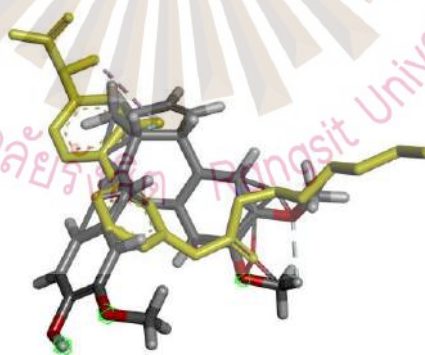
รูปที่ 4.16 การซ้อนทับกันของระหว่าง trans-3-(3,4dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl] cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock

Trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Tyr385, Met522 และ Phe518 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์

5W58 (รูปที่ 4.17) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันที่ดี (รูปที่ 4.18) ด้วยวิธี GADock ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารดังกล่าวออกฤทธิ์ได้ดีกับเอนไซม์ 5W58



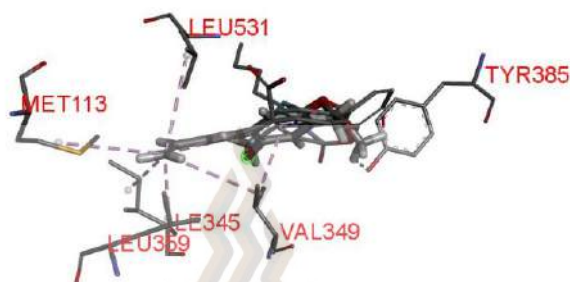
รูปที่ 4.17 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385, Met522 และ Phe518)



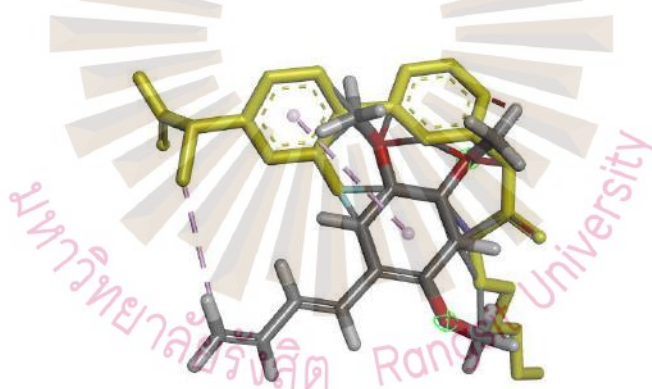
รูปที่ 4.18 การซ้อนทับกันของระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock

4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Tyr385 เท่านั้น ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 5W58 (รูปที่ 4.19) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับ

เอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับบริเวณ Active site ของเอนไซม์ แต่จับกรดอะมิโนเพียงตัวเดียว (รูปที่ 4.20) ด้วยวิธี GADock ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารดังกล่าวออกฤทธิ์ได้ไม่ดีกับเอนไซม์ 5W58

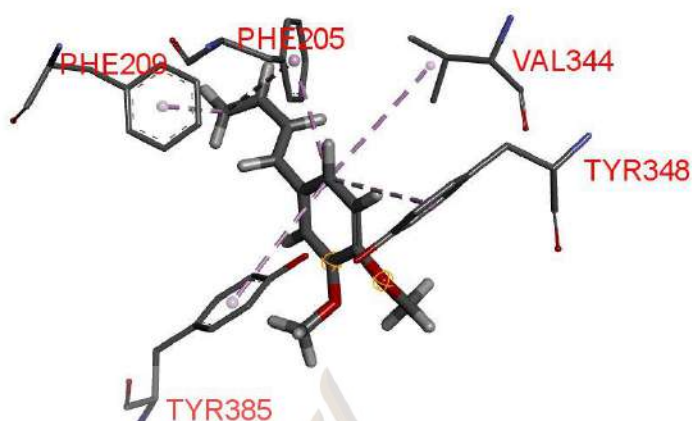


รูปที่ 4.19 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385 เท่านั้น)

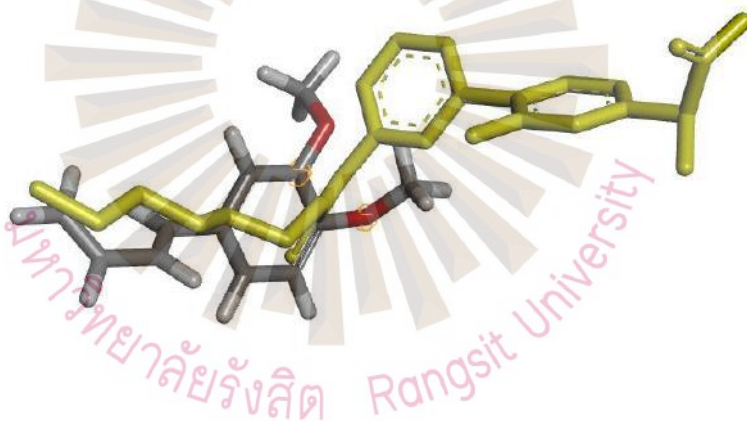


รูปที่ 4.20 การซ้อนทับกันของระหว่าง 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock

DMPDB เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Tyr385 เท่านั้น ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 5W58 (รูปที่ 4.21) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับบริเวณ Active site ของเอนไซม์ แต่จับกรดอะมิโนเพียงตัวเดียว (รูปที่ 4.22) ด้วยวิธี GADock ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารดังกล่าวออกฤทธิ์ได้ไม่ดีกับเอนไซม์ 5W58

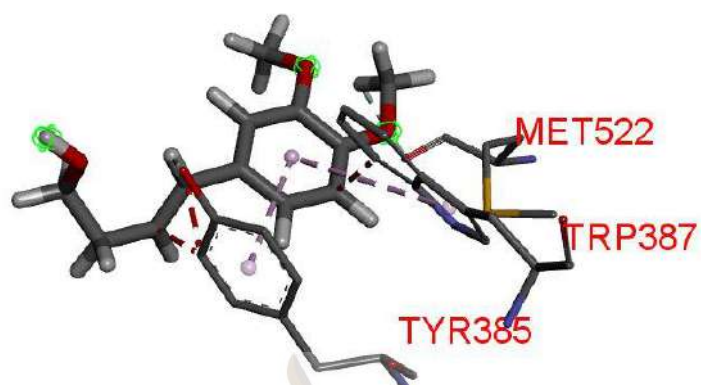


รูปที่ 4.21 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง DMPDB กับกลุ่มกรดอะมิโน
ในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385 เท่านั้น)

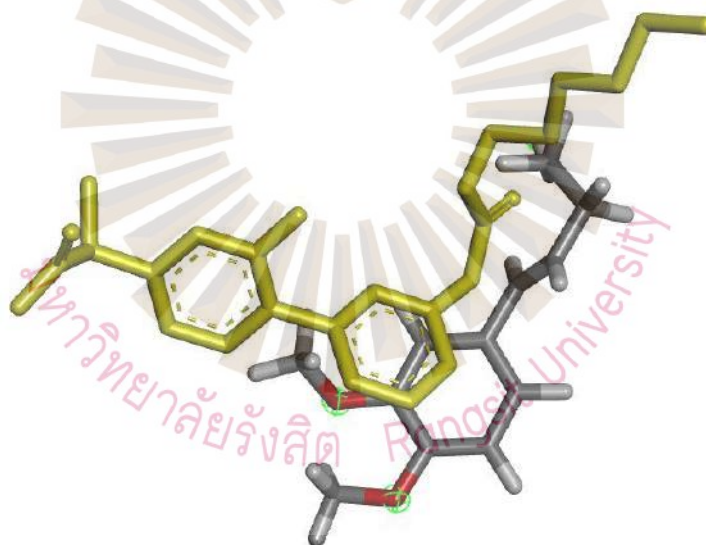


รูปที่ 4.22 การซ้อนทับกันของระหว่าง DMPDB กับสารลิแกนด์ใน Active Site
ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock

Compound D เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Tyr385 และMet522 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่
จับกับเอนไซม์ 5W58 (รูปที่ 4.23) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับ
กันและซ้อนทับบริเวณ Active site ของเอนไซม์ (รูปที่ 4.24) ด้วยวิธี GADock



รูปที่ 4.23 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง Compound D กับกลุ่มกรดอะมิโน
ในเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock (Try385 และ Met522)



รูปที่ 4.24 การซ้อนทับกันของระหว่าง Compound D กับสารลิแกนด์
ในActive Site ของเอนไซม์ 5W58 ด้วยวิธี GADock

4.7 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock กับเอนไซม์ 5JVZ

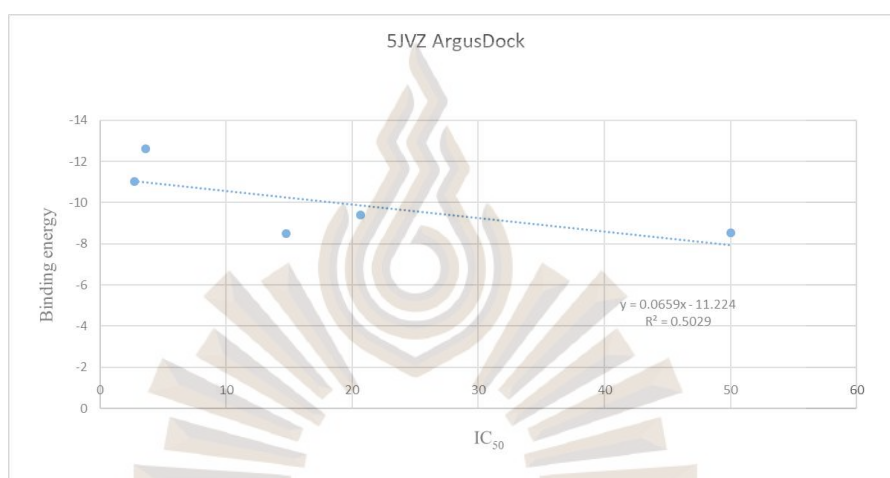
ตารางที่ 4.3 การศึกษาเปรียบเทียบสถานะที่เหมาะสมการจับกันด้วยวิธี ArgusDock และ GADock ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิดกับเอนไซม์ Cyclooxygenase 5JVZ

สาร	Binding Energy ด้วยวิธี ArgusDock	BindingEnergy ด้วยวิธี GADock	IC ₅₀ (ไมโครโมลาร์)
1.trans-3-(3,4dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene	-11.04	-10.44	2.71
2.trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene	-12.62	-11.01	3.64
3.4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1,3-dien	-8.48	-9.15	14.97
4. DMPDB	-9.41	-8.45	20.68
5.Compound D	-8.52	-8.34	50

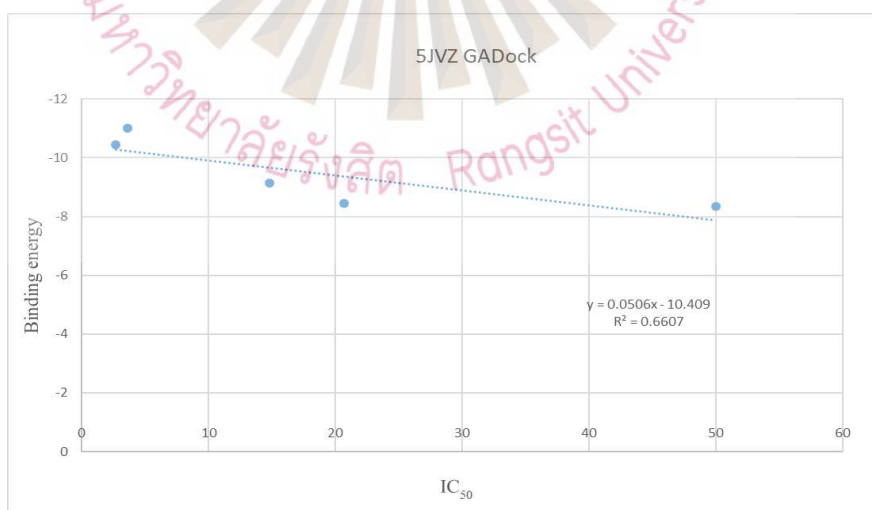
หลังจากทำการ Docking ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล กับเอนไซม์ Cyclooxygenase 5JVZ ด้วยวิธี ArgusDock โดยมีค่า Binding Energy เท่ากับ -11.04, -12.62, -8.48, -9.41 และ -8.52 กิโลแคลลอรี/โมล ตามลำดับ และเมื่อทำการ Docking ระหว่างสารสกัดจากเหง้าไพล กับเอนไซม์ Cyclooxygenase 5JVZ ด้วยวิธี GADock โดยมีค่า Binding Energy เท่ากับ -10.44, -11.01, -9.15, -8.45 และ -8.34 กิโลแคลลอรี/โมล ตามลำดับ และมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 2.71, 3.64, 14.97, 20.68, 50

ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ

4.8 ผลของการศึกษาเปรียบเทียบค่าการจับกันของเอนไซม์ 5JVZ กับฤทธิ์ด้านการ ออกเสบจากสารสำคัญจากเหง้าไพล โดยรายงานผลการศึกษาเป็นค่า Binding Energy เปรียบเทียบกับค่า IC_{50} (Median Inhibitory Concentration)



รูปที่ 4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC_{50} ด้วยวิธี ArgusDock
ของเอนไซม์ 5JVZ



รูปที่ 4.26 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับค่า IC_{50} ด้วยวิธี GADock
ของเอนไซม์ 5JVZ

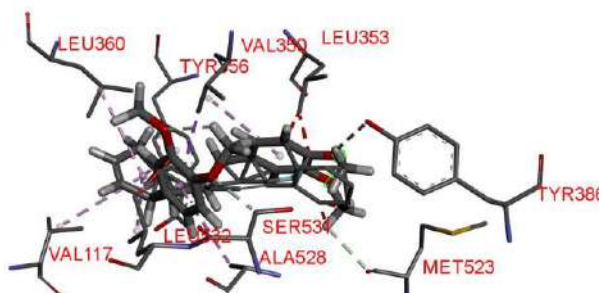
จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.3 ได้นำมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับ IC_{50} ของสารสกัดจากเหง้าไพลทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี ArgusDock แสดงในรูป 4.25 จะพบว่า มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.5029 ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.3 ได้นำมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างค่า Binding Energy กับ IC_{50} ของสารสกัดจากเหง้าไพลทั้ง 5 ชนิด โดยวิธี GADock แสดงในรูป 4.26 จะพบว่า มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.6607 ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

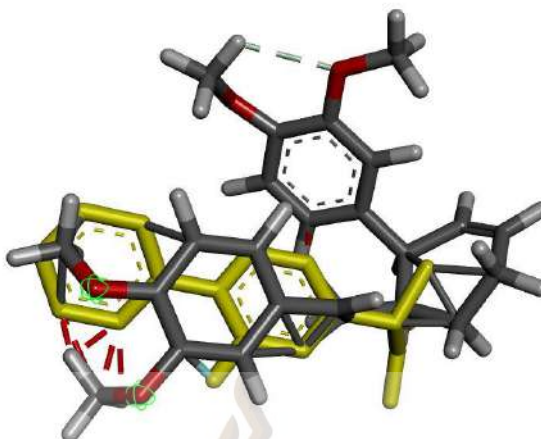
เมื่อดูจากค่าที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของทั้งสองสถานะพบว่า ค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงแสดงให้เห็นผลการทดลองในสถานะ GADock เป็นสถานะที่เหมาะสมในการจับกันของสารและเอนไซม์มากกว่าวิธี ArgusDock ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกสถานะที่ดีที่สุด คือสถานะ GADock มาแสดงผลดังรูป

4.9 ผลการวิเคราะห์ศึกษาการทำปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ 5JVZ กับสารสำคัญที่พบจากสารสกัดเหง้าไพล 5 ชนิด

Trans-3 -(3, 4 -dimethoxyphenyl)-4 -[(E)-3, 4 -dimethoxystyryl] cyclohex-1 -en เกิ ดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Met523, Leu353, Try356 และTry385 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 5JVZ (รูปที่ 4.27) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันได้ดี (รูปที่ 4.28) ด้วยวิธี GADock

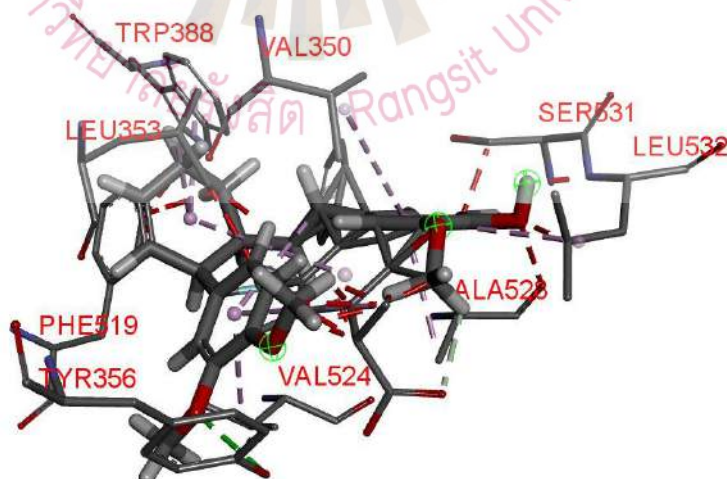


รูปที่ 4.27 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Met523, Leu353, Try356 และTry386)

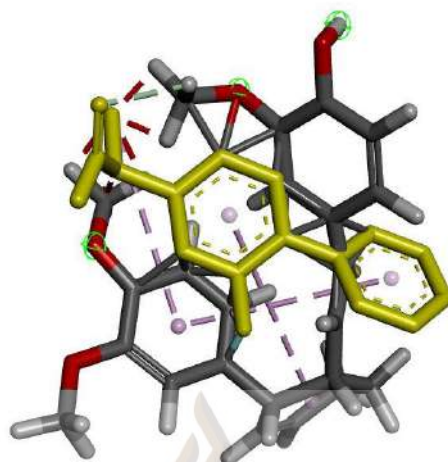


รูปที่ 4.28 การซ้อนทับกันของระหว่าง trans-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-3,4-dimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock

Trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Leu353, Phe519 และ Try356 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 5JVZ (รูปที่ 4.29) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันได้ดี (รูปที่ 4.30) ด้วยวิธี GADock

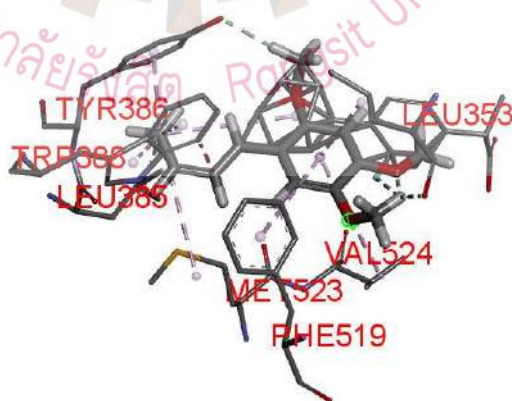


รูปที่ 4.29 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Leu353, Phe519 และ Try356)

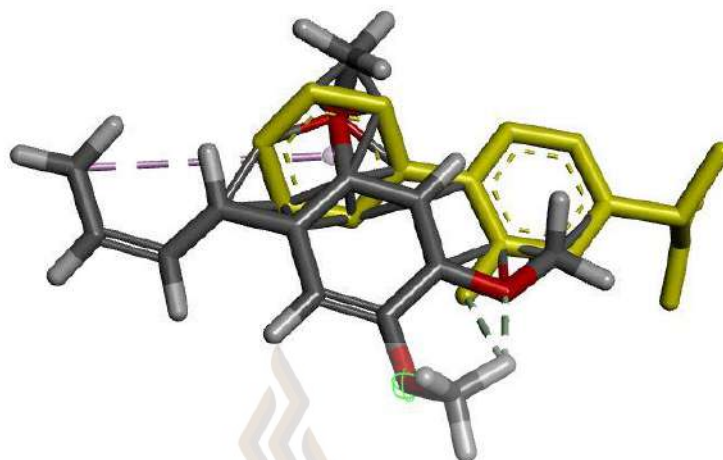


รูปที่ 4.30 การซ้อนทับกันของระหว่าง trans-3-(3',4'-dimethoxyphenyl)-4-[(E)-2''',4''',5'''-trimethoxystyryl]cyclohex-1-ene กับสารลิแกนด์ใน ActiveSite ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock

4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Met523, Leu353, Phe519 และTry386 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 5JVZ (รูปที่ 4.31) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันได้ดี (รูปที่ 4.32) ด้วยวิธี GADock

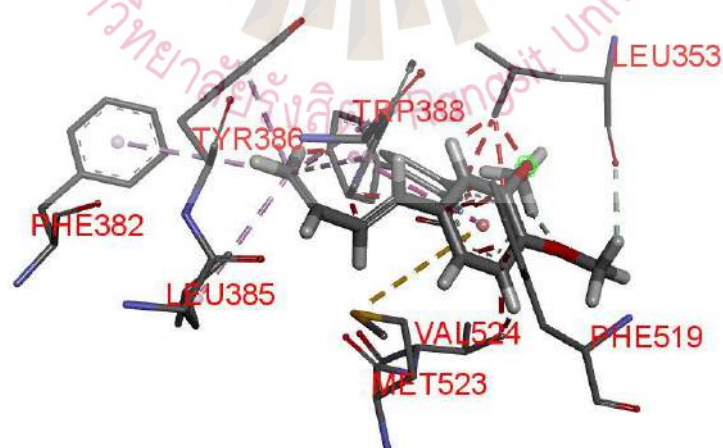


รูปที่ 4.31 ปฏิสัมพันธ์ 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Met523, Leu353, Phe519 และTry386)

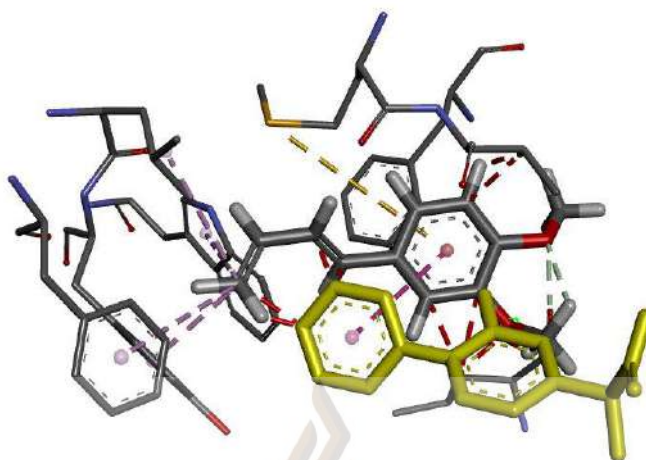


รูปที่ 4.32 การซ้อนทับกันของระหว่าง 4-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-but-1, 3-dien กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock

DMPDB เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Met523, Phe519, Leu353 และ Tyr386 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 5JVZ (รูปที่ 4.33) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์พบว่า มีการจับกันและมีการซ้อนทับกันได้ดี (รูปที่ 4.34) ด้วยวิธี GADock

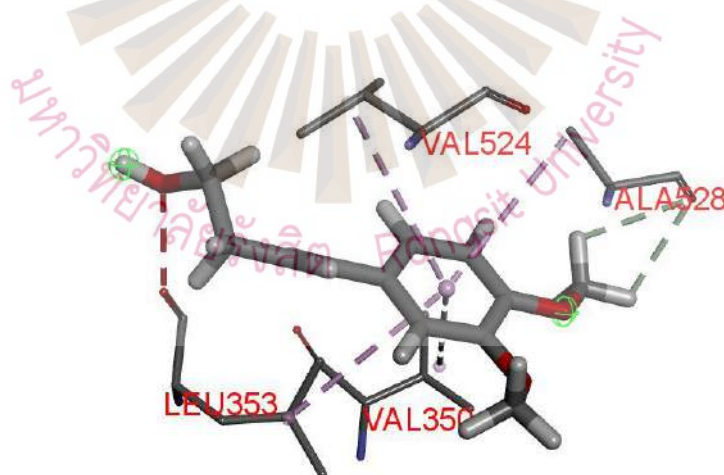


รูปที่ 4.33 ปฏิสัมพันธ์ DMPDB กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Met523, Phe519, Leu353 และ Tyr386)

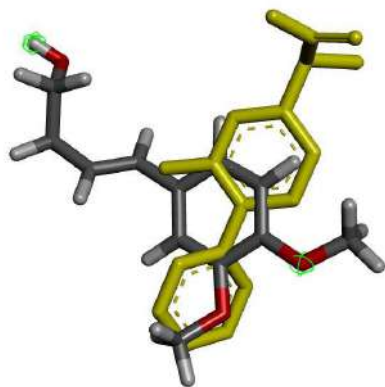


รูปที่ 4.34 การซ้อนทับกันของ DMPDB กับสารลิแกนด์ใน Active Site ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock

Compound D เกิดปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับ Leu353 เพียงตัวเดียวเท่านั้นซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จับกับเอนไซม์ 5JVZ (รูปที่ 4.35) และเมื่อดูการจับกันระหว่างลิแกนด์ กับเอนไซม์ พบว่า มีการจับกันและซ้อนทับกันได้ดี (รูปที่ 4.36) ด้วยวิธี GADock



รูปที่ 4.35 ปฏิสัมพันธ์ Compound D กับกลุ่มกรดอะมิโนในเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock (Leu353 เท่านั้น)



รูปที่ 4.36 การซ้อนทับกันของระหว่าง Compound D กับสารลิแกนด์
ใน Active Site ของเอนไซม์ 5JVZ ด้วยวิธี GADock



บทที่ 5

สรุปผลและอภิปรายผล

การวิจัยเรื่อง การหาสถานะที่เหมาะสมในการทดสอบการจับกันระหว่างสารต้านการอักเสบจากเหง้าไพลกับเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส 2 โดยโปรแกรม ArgusLab การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้สรุปผล ดังต่อไปนี้

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.2 อภิปรายผล

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิเคราะห์การจับกันระหว่าง สารสกัดจากเหง้าไพล 5 ชนิด (ลิแกนค์) พบว่า สารสำคัญทั้ง 5 ชนิดทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนที่สำคัญในการจับกันระหว่างเอนไซม์และลิแกนค์ ได้แก่ Phe518, Arg120, Tyr385, His90, Tyr355, Met522, Ser353, Gln192, Leu352 และ Arg513 เป็นต้น

ผลการศึกษาพบว่า เอนไซม์ 1CX2 กับลิแกนค์ 5 ชนิด โดยวิธี ArgusDock และ GADock มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.3929 และ 0.325 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าผลการทดลองของทั้งสองสถานะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้งปฏิกิริยาของกรดอะมิโนที่จับกันระหว่างเอนไซม์และลิแกนค์พบว่า มีการซ้อนทับกันและสอดคล้องกันดี เอนไซม์ 5JVZ กับลิแกนค์ 5 ชนิด โดยวิธี ArgusDock และ GADock มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.5029 และ 0.6607 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าผลการทดลองในสถานะ GADock เป็นสถานะที่เหมาะสมในการจับกันของสารและเอนไซม์มากกว่า ArgusDock ปฏิกิริยาของกรดอะมิโนที่จับกันระหว่างเอนไซม์และลิแกนค์พบว่ามีการซ้อนทับและสอดคล้องกันดี และเอนไซม์ 5W58 กับลิแกนค์ 5 ชนิด มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.0451 และ 0.5169 โดยวิธี ArgusDock และ GADock ตามลำดับ แสดงผลการทดลองในสถานะ GADock เป็นสถานะที่เหมาะสม พบว่ามีการซ้อนทับและสอดคล้อง

กันดี ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการหาสถานะการจำลองในแต่ละสถานะพบว่า เอนไซม์ 5JVZ เหมาะสมที่สุดในการนำมาจำลองการจับกันจะเห็นได้ว่าการหาสถานะที่เหมาะสมดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาการออกฤทธิ์และหาสถานะที่เหมาะสมของสารต่างๆในสมุนไพรชนิดอื่นๆต่อไป

5.2 อภิปรายผล

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า เอนไซม์ 5JVZ ที่นำมาใช้อาจจะมีการคลาดเคลื่อนของตำแหน่งของกรดอะมิโนอยู่บ้างเล็กน้อยเนื่องจาก เอนไซม์ COX2 เป็นเอนไซม์ที่พบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายๆชนิด เช่น มนุษย์ กบ ปลา หนู ลิง เป็นต้น ดังนั้นจึงทำให้มีกรดอะมิโนบางตัวมีตำแหน่งที่ต่างกันออกไป เนื่องจากการกลายพันธุ์ (Mutation) และเมื่อมาทำปฏิสัมพันธ์ (Interaction) กับเอนไซม์ COX2 ส่วนที่ยังเป็น Active Site ก็ยังคงสามารถสร้างตัวรับ (Receptor) ได้เช่นเดิม แต่ตัวเลขตำแหน่งของกรดอะมิโนจะคลาดเคลื่อนออกไปเล็กน้อย



บรรณานุกรม

- Akaho, E., Fujikawa, C.Y., Runion, H.I., Hill, C.R., & Nakano, H. (1999). A Study on Binding Modes of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs to COX1 and COX2 as Obtained by Dock4.0. *Journal of Chemical Software*, 5, 147-162.
- Blanca-Lopez, N., Soriano, V., Garcia-Martin, E., Canto, G., & Blanca, M. (2019). NSAID-induced reactions: classification, prevalence, impact, and management strategies. *Journal of asthma and allergy*, 12, 217–233. <https://doi.org/10.2147/JAA.S164806>.
- Devkota, H. P., Paudel, K. R., Hassan, Md. M., Dirar, A. I., Das, N., Adhikari-Devkota, A., Echeverría, J., Logesh, R., Jha, N. K., Singh, S. K., Hansbro, P. M., Chan, Y., Chellappan, D. K., & Dua, K. (2021). Bioactive Compounds from *Zingiber montanum* and Their Pharmacological Activities with Focus on Zerumbone. *Applied Sciences*, 11(21), 10205. <https://doi.org/10.3390/app112110205>
- Ferreira, L. G., dos Santos, R.N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking And structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384–13421. doi:10.3390/molecules200713384.
- Han, A. R., Kim, M. S., Jeong, Y. H., Lee, S. K., & Seo, E. K. (2005). Cyclooxygenase-2 Inhibitory phenylbutenoids from the rhizomes of *Zingiber cassumunar*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(11), 1466–1468. <https://doi.org/10.1248/cpb.53.1466>
- Jacob, T., John Wahr, J., Pfeffer, T., & Swenson, S. (2012). Recent contribution of glaciers and ice caps to sea level rise. *Nature*, 482(7386), p.514-58. doi:10.1038/nature10847.
- Jitapunkul, K., Poachanukoon, O., Hannongbua, S., Toochinda, P. & Lawtrakul, L. (2017). Simulation Study of Interactions Between Two Bioactive Components from *Zingiber cassumunar* and 5-Lipoxygenase. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 11(1), 77–89. <https://doi.org/10.1007/s12195-017-0515-6>
- Kiatyinggungsulee, N., Wangmad, M., Swasdimongkol, D., & Mekkhasmit, M. (1979). Some pharmacological studies of active constituent in Plai (*Zingiber cassumunar* Roxb.) *Bull Dep Med Sci*, 21(11), 13-24.

บรรณานุกรม(ต่อ)

- Koontongkaew, S., Poachanukoon, O., Sireeratawong, S., Dechatiwongse Na Ayudhya, T., Khonsung, P., Jaijoy, K., Soawakontha, R., & Chanchai, M. (2014). Safety Evaluation of *Zingiber cassumunar* Roxb. Rhizome Extract: Acute and Chronic Toxicity Studies in Rats. *International Scholarly Research Notices*, 2014, 1–14.
<https://doi.org/10.1155/2014/632608>
- Le, T.H., Dang, P.H., Truong, H.B., Dang, T.M., Guyen, H.X., Do, V., Nguyen, M.T. & Nguyen, N.T. (2023). A novel diphenylbutenoid-type compound from the rhizomes of *Zingiber montanum* (J.Koenig) Link ex A.Dietr. (Zingiberaceae). *Natural Product Research*, 38(2), 1–6. <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2230343>
- Leonhart, P. F., Spieler, E., Ligabue-Braun, R., & Dorn, M. (2018). A biased random key genetic algorithm for the protein–ligand docking problem. *Soft Computing*, 23(12), 4155–4176. <https://doi.org/10.1007/s00500-018-3065->
- Mokkhasmit, M., Sawasdimongkol, K. & Sartravaha, P. (1971). Toxicity study of some thai medicinal plant. *Bull Dep Med Sci*, 12(2), 36-65.
- Morris, G.M., Goodsell, D.S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W.E., Belaw, R.K. & Olsen, A.J. (1998). Automated docking using Lamarckian genetic algorithm and empirical binding energy fuction. *Journal of Computational Chemistry*, 19, 1639-1662.
- Morris, G.M. & Lim-Wilby, M. (2008) Molecular docking. *Method in Molecular Biology*, 433, 365-382. Doi: 10.1107/978-1-59745-177-2_19.
- Murphy, H.S., & Ward, P.A. (2005). Inflammation. In E. Rubin, F. Gorstein, R. Rubin, R. Schwarting & D. Strayer (Eds.), *Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine* (4th ed., pp. 40-83). Baltimore, MD : Lippincott Williams & Wilkins.
- Noordik, J. H. (2004). *Cheminformatics developments : history, reviews and current research*. Amsterdam : Fairfax Va.
- Panyathanya, R., Gnamwat, W., Chawalidthumrong, P., Permpipat, U., Lellakulthanit, O. & Chantachaya, C. (1986). *Study of acute and chronic toxicity of plai zingiber cassumunar roxb in rats*, 38(6), 413–416.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- Pongsakorn, S., Koysooko, R., Pinthong, T. & Morasakul, B. (1988). Pharmacokinetic studies of compound D isolated from Plai (*Zingiber cassumunar* Roxb.) in rat. *Vajira Med J*, 32(3), 101-104.
- Salamat, M. S. (2010). Robbins and Cotran: Pathologic Basis of Disease, 8th Edition. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 69(2), 214–214.
<https://doi.org/10.1097/nen.0b013e3181cd8dbc>
- Smith, W. L., & Malkowski, M. G. (2019). Interactions of fatty acids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and coxibs with the catalytic and allosteric subunits of cyclooxygenases-1 and -2. *Journal of Biological Chemistry*, 294(5), 1697–1705.
<https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.006295>
- Thompson, MA. (2004). *Molecular docking using arguslab, an efficient shape-based search algorithm and the ascore scoring function*. Retrieved from
<https://mybiosoftware.com/tag/arguslab>.
- Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., & Rangaswami, J. (2018). A Comprehensive Review of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Use in The Elderly. *Aging and Disease*, 9(1), 143.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	โกมารภักดิ์ ปั่นทอง
วัน เดือน ปีเกิด	24 สิงหาคม 2529
สถานที่เกิด	จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	มหาวิทยาลัยรังสิต ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนตะวันออก, 2556
ที่อยู่	128/64 หมู่บ้านอนาบุญธินาสาบิแทต ซ.4 หมู่ 3 ต.บางศรีเมือง อ.เมือง จ. นนทบุรี 11000

