

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RSA59800057

ชื่อโครงการ : นวัตกรรมการค้นหาสารต้านวัณโรคที่มีประสิทธิภาพสูงด้วยการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณ

ชื่อนักวิจัยและสถาบัน : รศ.ดร.พรพรรณ พิงโพธิ์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

E-mail address: pompan\_ubu@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 16 มิถุนายน 2559-15 มิถุนายน 2562

วัณโรคยังเป็นปัญหาหลักทางด้านสุขภาพที่เป็นสาเหตุหลักของการเสียชีวิตของประชากรโลก เนื่องจากการแพร่ระบาดของวัณโรคที่ื้อยอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วนเพื่อพัฒนาวิธีการรักษาแบบใหม่ในการรักษาโรควัณโรค เอนไซม์ Enoyl-acyl reductase (InhA) ทำหน้าที่เป็นเป้าหมายที่น่าสนใจอย่างยิ่งสำหรับการพัฒนายารักษาโรควัณโรค ในการศึกษาครั้งนี้วิธีการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณโดยอาศัยการออกแบบโมเลกุลเชิงโครงสร้าง โดยการใช้พื้นฐานทางโครงสร้างและการคัดสรรเสมือนจริง รวมทั้งการทดสอบ whole cell assay ของไมโครแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* ถูกใช้เพื่อค้นหาสารยับยั้ง InhA ซึ่งเป็นสารยับยั้งโรควัณโรคตัวใหม่และมีประสิทธิภาพสูงขึ้น สารยับยั้งตัวใหม่ที่ได้ถูกศึกษาด้วยระเบียบวิธีการคำนวณโมเลกุลด้วย docking และการศึกษาพลวัตเชิงโมเลกุล เพื่อให้ได้แนวคิดเชิงโครงสร้างสำหรับการปรับเปลี่ยนสารยับยั้งเอนไซม์ InhA ตัวใหม่ จากนั้นได้ทำการออกแบบและสังเคราะห์สารที่มีความคล้ายคลึงกัน นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาความต้องการทางโครงสร้างต่อการเพิ่มค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งโดยใช้ระเบียบวิธี 3D-QSAR CoMSIA เพื่อศึกษาการวางตัวและอันตรกิริยาที่สำคัญในโพรงการจับ โดยใช้การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลและการคำนวณค่าพลังงานอิสระในการจับ ข้อมูลที่ได้ถูกใช้เป็นแนวทางสำคัญในการออกแบบโครงสร้างของสารยับยั้งเอนไซม์ InhA ตัวใหม่ที่มีค่ากัมมันตภาพในการยับยั้ง สูงกว่าสารต้นแบบจำนวน 16 ตัว จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ InhA และเชื้อวัณโรคก่อโรคพบว่าสารตัวใหม่ 2 โครงสร้างมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีเทียบเท่ากับสารยับยั้งเอนไซม์ InhA มาตรฐานไตรโคซาน โดยนำเอาสารที่ยับยั้งเอนไซม์ InhA และเชื้อวัณโรคได้ดีที่สุดมาศึกษาโครงสร้างผลึกเพื่อศึกษาการวางตัวและอันตรกิริยาที่สำคัญ โดยทำการออกแบบสารยับยั้งตัวใหม่ สังเคราะห์ พิสูจน์เอกลักษณ์ โดยผลจากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าสารที่ออกแบบใหม่มีค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งเอนไซม์ InhA และเชื้อวัณโรคได้ดีกว่าสารต้นแบบ การค้นหาสารยับยั้งเอนไซม์ PknG ตัวใหม่เพื่อเป็นสารต้านวัณโรคพบว่าได้โครงสร้างตัวใหม่ทั้งหมด 53 โครงสร้างที่มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับการเป็นยาและได้เลือกโครงสร้างมาวิเคราะห์ลักษณะการวางตัวของสารตัวใหม่ที่ได้จากคัดสรรเสมือนจริงและมีค่าพลังงานอิสระในการจับมากที่สุด พบอันตรกิริยาที่สำคัญคือเกิดพันธะไฮโดรเจน 2 ตำแหน่งระหว่างโครงสร้างของ 4-[(1,1-Dioxo-2,3-dihydro-1-benzothiophen-6-yl) amino]-2-(pyrrolidin-3-ylamino)-6H-pyrido[4,3-d] pyrimidin-5-one กับกรดอะมิโน Glu233 และ Val235 นอกจากนี้ยังเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างวง pyrrolidine (NH) กับกรดอะมิโน Glu280 และ Asn281 อะตอมออกซิเจนของหมู่ sulfone เกิดพันธะไฮโดรเจนกับ NH ของกรดอะมิโน Ser239 อันตรกิริยาชนิดซิกมา-ไพระหว่างกรดอะมิโน Val179 กับวง pyrido[4,3-d]pyrimidin-5(6H)-one และมีอันตรกิริยาชนิด

ไฮโดรโฟบิกที่เกิดขึ้นกับโพรแกรมจับของเอนไซม์ PknG การค้นหาสารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ PknB ได้ศึกษาอันตรกิริยาที่สำคัญของสารอนุพันธ์ 4-oxocrotonic acid และ quinazoline และใช้ระเบียบวิธีการคัดสรรเสมือนจริงเชิงโครงสร้างในการค้นหาสารยับยั้งเอนไซม์ PknB ตัวใหม่ และทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งต่อเซลล์ (MIC) ซึ่งได้สารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรคจำนวน 2 โครงสร้าง สารที่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์ที่สูงจะถูกนำมาใช้เป็นแนวทางสำคัญในการออกแบบโครงสร้างของสารยับยั้งเอนไซม์ PknB ตัวใหม่ พบว่าได้สารยับยั้งตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าสารต้นแบบ จำนวน 10 โครงสร้าง ซึ่งนับว่าเป็นประโยชน์ต่อกระบวนการพัฒนาให้ได้สารต้นแบบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงขึ้นและมีศักยภาพสูงในการพัฒนาต่อเป็นยาใหม่สำหรับการรักษาโรควัณโรคต่อไป

**คำหลัก:** โรควัณโรค สารยับยั้งเอนไซม์ InhA สารยับยั้งเอนไซม์ PknG สารยับยั้งเอนไซม์ PknB การออกแบบโมเลกุลเพื่อการคำนวณ การคัดสรรเสมือนจริง

---

## Abstract

---

**Project Code :** RSA59800057

**Project Title:** Innovative discovery of highly effective anti-tuberculosis agents: Molecular modeling and computer aided molecular design

**Investigator :** Assoc.Prof.Dr. Pornpan Pungpo, Department of Chemistry,  
Faculty of Science, Ubonratchathani University

**E-mail address :** pornpan\_ubu@yahoo.com

**Project Period:** 16 June 2016- 15 June 2019

Tuberculosis is still a major health problem that is the main cause of death of the world population due to the ongoing epidemic of drug-resistant tuberculosis. Therefore, there is an urgent need to develop new treatment methods for the treatment of tuberculosis. Enoyl-acyl reductase (InhA) enzymes serve as an interesting target for the development of tuberculosis. In this study, computer aided molecular design methods were performed using structure-based drug design virtual screening and the testing of the whole cell assay was used to find highly and more potent InhA inhibitors. The molecular modeling approaches were applied to obtain a structural concept for changing the new InhA inhibitors. In addition, structural requirements have been conducted to improving biological activity of inhibitors using the 3D-QSAR CoMSIA method. To study the binding mode and important interactions in the binding pocket molecular dynamics simulation and free energy calculation were studied. The obtained has been used as an important guideline for the design of new InhA inhibitor. Novel sixteen inhibitors show more effective than known inhibitor. Based on InhA and mycobacterial assays, two compounds were found as novel inhibitors comparable to the reference drug, triclosan. Most effective compound on InhA enzyme and bacterial was subject to investigate the binding mode and binding interaction by X-ray crystallography technique. In addition, novel derivative of InhA inhibitors was designed, synthesized, characterized and biological evaluated. The obtained results showed that new designed compounds were effective than lead compounds. Virtual screenings of protein serine threonine kinase G (PknG) inhibitors as anti-tuberculosis agents were investigated. Fifty-three leads are suitable for drug and have chosen a structure to analyze the binding modes and binding interactions. The result indicating that two hydrogen bond interactions were found between the structure of 4 - [(1,1-dioxo-2,3-dihydro-1-benzothiophen-6-yl) amino] -2- (pyrrolidin-3-ylamino) -6H-pyrido [4,3-d] pyrimidin-5 -one with Glu233 and Val235 residues. In addition, the pyrrolidine (NH) formed hydrogen bond interaction with Glu280 and Asn281 residues. The oxygen atoms of the sulfone group formed hydrogen bonds interaction with NH of Ser239. Sigma-pi interaction between

Val179 and pyrido band [4,3-*d*] pyrimidin-5 (6*H*) -one was found. Moreover, the hydrophobic interaction in the binding pocket of PknG was found. Structure based drug design of 4-oxocrotonic acid and quinazoline derivatives as PknB inhibitors were evaluated to understanding the structural basis for design new and more potent PknB inhibitors. Structure based virtual screening of PknB inhibitors were performed. The discovery of protein serine threonine kinase B (PknB) inhibitors was investigated. The whole cell assay (MIC), which has 2 active compounds inhibiting tuberculosis. The obtained result was used as an important guideline for the structural design of the new PknB inhibitor. Ten compounds show more effective than the known compound. The integrated results provided the fruitful information for developing novel and highly potent for anti-tuberculosis agents.

**KEYWORDS:** Tuberculosis, InhA inhibitors, PknG inhibitors, PknB inhibitors, computer aided molecular design and virtual screening

---