

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทฤษฎี

ประเภทของสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในพืช

สารอินทรีย์ที่แยกได้ในพืช (Phytochemistry) ถูกแบ่งออกเป็น 2 ประเภท นั่นคือ เมแทบอไลต์ปฐมภูมิ (Primary metabolite) และเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolite) โดยเมแทบอไลต์ปฐมภูมิ เป็นสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชได้มาจากกระบวนการสังเคราะห์แสง ได้แก่ สารจำพวกคาร์โบไฮเดรต ไขมัน กรดอะมิโน โปรตีน เพียวรีน และ ไพริมิดีน ส่วนเมแทบอไลต์ทุติยภูมิเป็นสารที่ไม่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต แต่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิต เช่น สารต้านเชื้อรา สารต้านปฏิกริยาออกซิเดชัน สารเหล่านี้ได้มาจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ของสารเมแทบอไลต์ปฐมภูมิ สารเหล่านี้ ได้แก่ สารกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaloids) ฟีนอลิก (Phenolics) อะซีโทจีนิน (Acetogenins) และเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids)

กล้วยไม้

กล้วยไม้เป็นพืชในวงศ์ Orchidaceae มีมากกว่า 25,000 ชนิด (de Silva et al., 1999 : P.31) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้จัดให้กล้วยไม้เป็นพืชหนึ่งในสี่พืชที่ทำรายได้สูงและทำรายได้เพิ่มขึ้นทุกปี จึงทำให้อุตสาหกรรมกล้วยไม้เจริญก้าวหน้า นอกจากกล้วยไม้จะเป็นไม้ประดับที่สวยงามแล้ว ยังมีประโยชน์ด้านอื่นด้วย เช่น ชาวจีนนิยมนำกล้วยไม้เอื้องลำต่อมาทำอาหารและรักษาอาการหอบหืด ชาวอินเดียนำกล้วยไม้สกุลกระแจะร้อนมาปรุงอาหาร และ ชาวอีสานของไทยนิยมรับประทานเอื้องแปรงสีฟัน และเอื้องครึ่งแสดเป็นผักเคียงน้ำพริก (ศิริกาญจน์ กอบเกียรติถวิล, 2554 : หน้า 9) นอกจากนี้พืชในวงศ์กล้วยไม้ถูกนำมาใช้เป็นยาแผนโบราณเพื่อใช้ในการรักษาโรคได้หลากหลาย เช่น โรคไขข้อ วัณโรคซิฟิลิส โรคตีชาน อหิวาตกโรค ท้องร่วง โรคภาวะกรด-ด่างเกิน ความดันโลหิตสูง การเจ็บหน้าอก อัมพาต กลากโรคต่างขา ริดสีดวงทวาร เนื้องอก ฝี โรคเกี่ยวกับกระเพาะอาหารโรคที่เกิดจากการอักเสบ ความผิดปกติของประจำเดือน หมดสมรรถภาพทางเพศโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ โรคมะเร็ง ตับอักเสบ ปวดกล้ามเนื้อ โรคบิด อาหารไม่ย่อย กระตุกหัก การปวดหู รักษาแผลเรื้อรัง และ ความเจ็บปวดทั่วไป นอกจากนี้ยังใช้พืชในวงศ์กล้วยไม้ยังถูกใช้ในการเตรียมเป็นยาสำหรับ ยาที่ทำให้อาเจียน ยาสำหรับถ่ายท้อง ยาเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ ยากระตุ้นกำหนด ยาคุมกำเนิด ยาถ่ายพยาธิ ยาพ่นขยายหลอดลม สารให้ความเย็นเพื่อใช้ในการรักษาพิษแมงป่องและงู (Hossain, 2011 : P.102)

กล้วยไม้สกุลสิงโต







กล้วยไม้สกุลสิงโตหรือบูลโบฟิลลัม (*Bulbophyllum*) อยู่ในเผ่าย่อย (Subtribe) บูลโบฟิลลินเน่ (*Bulbophyllinae*) ซึ่งอยู่ในเผ่า (Tribe) อีพิเดนดรีอี (*Epidendreae*) ของวงศ์ย่อย (Subfamily) อีพิเดนโดรอี (*Epidendroideae*) ของวงศ์กล้วยไม้ (*Orchidaceae* family) ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วยไม้ประมาณ 2,032 ชนิด (Hosseini, Dadkhah and Go, 2016 : P.40) ในประเทศไทยพบกล้วยไม้สกุลสิงโตมากกว่า 130 ชนิด (ศิริภาณจน์ กอบกียรติถวิล, 2554 : หน้า 11) จากฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์ (BGO plant database) พบกล้วยไม้ในสกุลสิงโต 57 ชนิด (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2561) ลักษณะของกล้วยไม้สกุลนี้โดยทั่วไปมีขนาดกลางถึงขนาดค่อนข้างเล็ก หัวเจริญอยู่บนเหง้า แต่ละหัวเปลี่ยนแปลงมาจากการขยายขนาดปล้องเพียงหนึ่งปล้อง ปลายสุดมีใบจำนวนหนึ่งถึงสองใบ ลักษณะเฉพาะของกล้วยไม้สกุลนี้ คือ กลีบปากติดกับส่วนปลายคางของเส้าเกสรที่ยึดตัวออกไปในลักษณะคล้ายบานพับ (ศิริภาณจน์ กอบกียรติถวิล, 2554 : หน้า 11-12) โดยตัวอย่างของชื่อวิทยาศาสตร์ของกล้วยไม้ในวงศ์สิงโตมีดังนี้

<i>B. acuminatum</i> (Ridl.) Ridl.	<i>B. caudatisepalum</i> Ames & C. Schweinf.
<i>B. affine</i> Wall. ex Lindl.	<i>B. caudatisepalum</i> Ames & C. Schweinf.
<i>B. albibracteum</i> Seidenf.	<i>B. cheiri</i>
<i>B. alcicorne</i> Parish & Rchb. f.	<i>B. cheiropetalum</i> Ridl.
<i>B. angustifolium</i> (Blume) Lindl.	<i>B. ciluliae</i> Bianch. & J. A. N. Bat.,
<i>B. apodum</i> Hook. f.	Sitientibus 2004
<i>B. armeniacum</i> J. J. Sm.	<i>B. comosum</i> Collett & Hamsl.
<i>B. auratum</i> (Lindl.) Rchb. f.	<i>B. concinnum</i> Hook. f.
<i>B. auricomum</i> Lindl.	<i>B. coniferum</i> Ridl.
<i>B. ayuthayense</i> J. J. Verm, Schuit. & de	<i>B. corolliferum</i> J. J. Sm.
Vogel.	<i>B. crabro</i> (C. S. P. Parish & Rchb. f.) J. J.
<i>B. baileyi</i>	Verm.
<i>B. bakhuizenii</i> van Steenis	<i>B. crassipes</i> Hook. f.
<i>B. barbigerum</i>	<i>B. crassulifolium</i>
<i>B. beccarii</i>	<i>B. dayanum</i> Rchb. f.
<i>B. bifarium</i>	<i>B. dearei</i> (Hort.) Rchb. f.
<i>B. biflorum</i> Teijsm. & Binn.	<i>B. dentiferum</i> Ridl.
<i>B. bittnerianum</i> Schltr.	<i>B. echinulus</i> Seidenf.
<i>B. blepharistes</i> Rchb. f.	<i>B. emarginatum</i>
<i>B. cariniflorum</i> Rchb. f.	<i>B. falcatum</i>
<i>B. capillipes</i> C. S. P. Parish & Rchb. f.	<i>B. farinulentum</i> J. J. Sm.


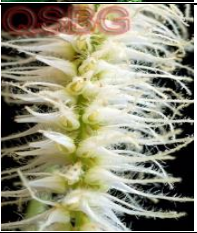




- B. fascinator* (Rolfe) Rolfe
B. filiforme
B. flabellum veneris (J. Koenig) Seidenf.
 & Ormerod ex Aver.
B. flabellum-veneris
B. flabellum-veneris (J. König) Aver.
B. flavescens (Blume) Lindl.
B. flaviflorum
B. fletcherianum
B. fuscopurpureum Wight
B. globuliforme
B. gracillimum (Rolfe) Rolfe
B. gravidum
B. guttulatam (Hook. F.) Balakrishnan
B. gymnopus
B. haniffii Carr.
B. hirtulum Ridl.
B. hirtum (J. E. Sm.) Lindl.
B. inunctum J. J. Sm.
B. involutum
B. ipanemense
B. jaapii
B. kanburiense Seidenf.
B. khasyanum Griff.
B. kupense
B. kwangtungense Schltr.
B. lasianthum Lindl.
B. lasiochilum C. S. P. Parish & Rchb. f.
B. laxiflorum (Blume) Lindl.
B. lemniscatoides Rolfe
B. leopardium
B. lilacinum Ridl.
B. limbatum Lindl.
- B. lindleyanum* Griff.
B. linearifolium King & Pantl.
B. lobbii Lindl.
B. longissimum (Ridl.) Ridl.
B. luanii Tixier
B. macphersonii
B. macraei
B. macranthum Lindl.
B. macranthum Lindl.
B. maximum
B. medusa
B. medusae (Lindl.) Rchb. f.
B. membranaceum Teijsm. & Binn
B. membranifolium Hook. f.
B. microtepalum Rchb. f.
B. mobiliflorum Carr
B. modicum
B. moniliforme C. S. P. Parish & Rchb. f.
B. morphologorum Kraenzl.
B. muscarirubrum Seidenf.
B. mutabile (Blume) Lindl.
B. nasutum Rchb. f.
B. neilgherrense Wight
B. nigericum
B. nigrescens Rolfe
B. nipondii Seidenf.
B. nocturnum
B. obtusum (Blume) Lindl.
B. odoratissimum (Sm.) Lindl. ex Hook. f.
B. odoratum (Blume) Lindl.
B. orezii Sath. Kumar 2004
B. orientale Seidenf.
B. ovalifolium (Blume) Lindl.

<i>B. pachyrachis</i>	<i>B. singaporeanum</i> Schltr.
<i>B. pandanetorum</i>	<i>B. skeatianum</i> Ridl.
<i>B. patens</i> King ex Hook. f.	<i>B. smitinandii</i> Seidenf. & Thorut
<i>B. picturatum</i> (Lodd.) Rchb. f.	<i>B. sp1</i>
<i>B. pileatum</i> Lindl.	<i>B. sp2</i>
<i>B. planibulbe</i> (Ridl.) Ridl.	<i>B. sp3</i>
<i>B. polyrrhizum</i> Lindl.	<i>B. sp4</i>
<i>B. polystictum</i> Ridl.	<i>B. sp5</i>
<i>B. porphyrostachy</i>	<i>B. sp6</i>
<i>B. protractum</i> Hook. f.	<i>B. sp7</i>
<i>B. psittacoglossum</i> Rchb. f.	<i>B. sp8</i>
<i>B. pteroglossum</i> Schltr.	<i>B. sp9</i>
<i>B. purpurascens</i> Teijsm. & Binn.	<i>B. stormii</i> J. J. Sm
<i>B. purpurea</i>	<i>B. striatum</i> (Griff.) Rchb. f.
<i>B. putidum</i> (Teijsm. & Binn.) J. J. Sm.	<i>B. suavissimum</i> Rolfe
<i>B. reclusum</i> Seidenf.	<i>B. sulcatum</i> (Blume) Lindl.
<i>B. repens</i> Griff.	<i>B. sutepense</i> (Rolfe) Seidenf. & Smitinand
<i>B. reptans</i> (Lindl.) Lindl.	<i>B. tenuifolium</i> (Blume) Lindl
<i>B. restrepia</i> (Ridl.) Ridl.	<i>B. tenuifolium</i> (Blume) Lindl.
<i>B. retusiusculum</i> Rchb. f.	<i>B. tokioi</i>
<i>B. rubrolabellum</i>	<i>B. transarisanense</i>
<i>B. rufinum</i> Rchb. f.	<i>B. translucidum</i> Kindler, Bustamante & Ferreras 2016
<i>B. sagemuelleri</i> Bustamante & Kindler 2015	<i>B. triste</i> Rchb.f.
<i>B. santosii</i>	<i>B. triste</i> Rolfe
<i>B. scaberulum</i>	<i>B. uniflorum</i> (Blume) Hassk.
<i>B. scaphiforme</i> J. J. Verm.	<i>B. vaginatum</i> (Lindl.) Rchb. f.
<i>B. secundum</i> Hook. f.	<i>B. wangkaense</i> Seidenf.
<i>B. secundums</i> Hook. f.	<i>B. weddellii</i>
<i>B. sessile</i> (Koen) J. J. Sm.	<i>B. wendlandianum</i> (F. Kränzl.) Dammer
<i>B. sichyobulbon</i> Parish & Rchb. f.	<i>B. xylophyllum</i> Par. & Rchb. f.
<i>B. sichyobulbon</i> Par. & Rchb. f.	







ตารางที่ 2.1 กล้ายไม้สกุลสิงโตในประเทศไทย

ชื่อ	รูป
<p><i>B. albibracteum</i> Seidenf. สิงโตเชียงดาว</p>	
<p><i>B. alcicorne</i> Parish & Rchb. f. สิงโตกลีบใส</p>	
<p><i>B. auricomum</i> Lindl. สิงโตโคมขาว</p>	
<p><i>B. ayuthayense</i> J. J. Verm, Schuit. & de Vogel เอื้องทับทิมสยาม (เอื้องแควระ)</p>	
<p><i>B. bittnerianum</i> Schltr. สิงโตกลอกตา</p>	
<p><i>B. blepharistes</i> Rchb. f. สิงโตสมอหินหรือสิงโตกลอกตา</p>	







ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อ	รูป
<p><i>B. capillipes</i> C. S. P. Parish & Rchb. f. สิงโตก้านหลอด</p>	
<p><i>B. comosum</i> Collett & Hamsl. สิงโตขนตาขาว</p>	
<p><i>B. corolliferum</i> J. J. Sm. พัดโบก</p>	
<p><i>B. crabro</i> (C. S. P. Parish & Rchb. f.) J. J. Verm. กำมบูม่า</p>	
<p><i>B. crassipes</i> Hook. f. สิงโตรวงข้าวฟ่าง</p>	
<p><i>B. fascinator</i> (Rolfe) Rolfe สิงโตนกเหยี่ยว หรือ สิงโตนกเหยี่ยวใหญ่</p>	








ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อ	รูป
<p><i>B. flabellum-veneris</i> (J. König) Aver. พัดแดง</p>	
<p><i>B. gracillimum</i> (Rolfe) Rolfe สิงโตเคราแดง สิงโตฟูร์ซี่มี หรือ สิงโตขนตาแดง</p>	
<p><i>B. hirtum</i> (J. E. Sm.) Lindl. เอื้องกีบม้าขาว (เอื้องขาทาสิงโต)</p>	
<p><i>B. kanburiense</i> Seidenf. สิงโตเมืองกาญจน หรือ เอื้องพายทอง</p>	
<p><i>B. lasiochilum</i> C. S. P. Parish & Rchb. f. สิงโตนักกล้ำม หรือ สิงโตปากเปิด</p>	
<p><i>B. laxiflorum</i> (Blume) Lindl. สิงโตดาว</p>	







ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อ	รูป
<p><i>B. lemniscatoides</i> Rolfe สิงโตขนตาแดง</p>	
<p><i>B. lindleyanum</i> Griff. สิงโตลินเลย์ หรือ สิงโตขนปุย</p>	
<p><i>B. lobbii</i> Lindl. สิงโตสยาม</p>	
<p><i>B. longissimum</i> (Ridl.) Ridl. สิงโตเครายาว</p>	
<p><i>B. macranthum</i> Lindl. สิงโตกำมพูใหญ่</p>	
<p><i>B. medusae</i> (Lindl.) Rchb. f. สิงโตดอกไม้ไฟ</p>	







ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อ	รูป
<p><i>B. microtepalum</i> Rchb. f. สิงโตร้องแทน</p>	
<p><i>B. moniliforme</i> C. S. P. Parish & Rchb. f. เอื้องหัวเข็มหมุด</p>	
<p><i>B. morphologorum</i> Kraenzl. สิงโตรวงขาว</p>	
<p><i>B. muscarirubrum</i> Seidenf. สิงโตตาแดง</p>	
<p><i>B. nasutum</i> Rchb. f. เอื้องนกกระจิบ</p>	
<p><i>B. nigrescens</i> Rolfe สิงโตดำ</p>	
<p><i>B. odoratissimum</i> (Sm.) Lindl. ex Hook. f. สิงโตหลอดไฟหรือสิงโตโคมไฟ</p>	

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อ	รูป
<p><i>B. patens</i> King ex Hook. f. สิงโตกำมปูแดง</p>	
<p><i>B. picturatum</i> (Lodd.) Rchb. f. สิงโตร่มใหญ่</p>	
<p><i>B. planibulbe</i> (Ridl.) Ridl. สิงโตปากเป็ด</p>	
<p><i>B. polyrhizum</i> Lindl. สิงโตหัววงแหวน</p>	
<p><i>B. polystictum</i> Ridl. พญาสิงโตหรือสิงโตกลีบปิด</p>	
<p><i>B. pteroglossum</i> Schltr. สิงโตนางรำ</p>	







ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อ	รูป
<i>B. purpurascens</i> Teijsm. & Binn.	
<i>B. putidum</i> (Teijsm. & Binn.) J. J. Sm. สิงโตนกเหยี่ยว	
<i>B. reclusum</i> Seidenf. กีบม้าหลวง	
<i>B. repens</i> Griff. สิงโตพุ่ม	
<i>B. retusiusculum</i> Rchb. f. สิงโตพัดเหลือง	
<i>B. rufinum</i> Rchb. f. เอื้องกีบม้าใหญ่	

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อ	รูป
<i>B. scaphiforme</i> J. J. Verm. สิงโตรวงข้าวกล้า	
<i>B. secundums</i> Hook. f. สิงโตลิ้นดำหรือสิงโตสันแดง	
<i>B. sessile</i> (Koen) J. J. Sm. สิงโตสายสร้อย	
<i>B. sichyobulbon</i> Par. & Rchb. f. สิงโตรวงข้าวลาย	
<i>B. skateianum</i> Ridl. สิงโตพัดสีทองหรือสิงโตพัดเหลือง	
<i>B. smitinandii</i> Seidenf. & Thorut สิงโตอาจารย์เต็ม	

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อ	รูป
<i>B. suavissimum</i> Rolfe เอื้องสีเทียง	
<i>B. sutepense</i> (Rolfe) Seidenf. & Smitinand สิงโตสุเทพ	
<i>B. tenuifolium</i> (Blume) Lindl. สิงโตลั่นเหลือง	
<i>B. triste</i> Rchb. f. สิงโตช่อทับทิม	
<i>B. vaginatum</i> (Lindl.) Rchb. f. สิงโตหนวดยาว	
<i>B. wangkaense</i> Seidenf. สิงโตวังกะ	

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

ชื่อ	รูป
<i>B. wendlandianum</i> (F. Kränzl.) Dammer สิงโตเล็บเหยี่ยวใหญ่	
<i>B. xylophyllum</i> Par. & Rchb. f. หัวใจสิงโต	

ที่มา : (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2561)

กระบวนการในการค้นพบยาชนิดใหม่

กระบวนการในการหายาชนิดใหม่นั้นแบ่งออกเป็น 3 ช่วง นั่นคือ การค้นคว้ายาชนิดใหม่ (Drug discovery) การทดลองก่อนการทดสอบในมนุษย์ (Pre-clinical phase) และการทดลองในมนุษย์ (Clinical trials) โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. การค้นคว้ายาชนิดใหม่

การค้นคว้ายาชนิดใหม่ (Drug discovery) เป็นขั้นตอนแรกสุดที่ใช้เวลายาวนาน เพื่อให้ได้มาซึ่งสารที่น่าจะใช้เป็นยาได้ (Lead compounds) นั่นคือเป็นสารที่มีฤทธิ์มากที่สุด จำเพาะเจาะจง และมีความเป็นพิษน้อยที่สุด การได้มาซึ่งสารที่น่าจะสามารถเป็นยาทำได้หลายวิธี เช่น

1.1 การหายาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เป็นการรวบรวมข้อมูลความรู้ที่สะสมมายาวนาน อาจได้จากภูมิปัญญาของคนรุ่นก่อนหรือผลงานตีพิมพ์ทางวิชาการ ว่ามีพืช สัตว์ หรือ จุลชีพชนิดใดที่สามารถรักษาโรคนั้น ๆ ได้ นำสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นมาสกัดให้ได้สารสกัดหยาบ (Crude extracted) และแยกสารอินทรีย์ที่มีในสารสกัดหยาบให้บริสุทธิ์ (Pure compound) แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ อาจมีดัดแปลงหมู่แทนที่หรือหมู่ฟังก์ชัน (Functional group) ของสารอินทรีย์เหล่านั้นเพื่อตรวจสอบว่าอนุพันธ์ของสารกลุ่มนี้ตัวใดมีฤทธิ์ดีที่สุดและมีฤทธิ์มากพอที่จะเป็นยาได้

1.2 การออกแบบยาจากการสังเคราะห์ วิธีนี้จะรวบรวมข้อมูลจากงานวิจัยหรืองานตีพิมพ์ทางวิชาการว่าสารโครงสร้างใดบ้างมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต้องการ แล้วทำการสังเคราะห์สารชนิดนั้นรวมถึงอนุพันธ์ของสารนั้นเพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพว่าสารตัวใดมีฤทธิ์ดีที่สุดและมีฤทธิ์มากพอที่จะเป็นยาได้หรือไม่

1.3 การออกแบบยาอาศัยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (*In silico*) โดยทำแบบจำลองภาพสามมิติของสารอินทรีย์ (ลิแกนด์หรือ Ligand) ที่จะเชื่อมกับรีเซปเตอร์ (Receptor) กับโปรตีนที่ก่อโรค อาจทำได้ 2 วิธี คือ การเอาข้อมูลโปรตีนที่ก่อโรคมารวมกับแบบลิแกนด์ที่เหมาะสมกับโปรตีนนั้น (Structure-based modeling perspective) กับการรวบรวมข้อมูลจากงานวิจัยหรืองานตีพิมพ์ทางวิชาการว่ามี ลิแกนด์โครงสร้างใดบ้างมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต้องการแล้วนำคอมพิวเตอร์มาช่วยในการวิเคราะห์เอกลักษณ์ของลิแกนด์ (Ligand-based modeling perspective) โดยทั้งสองวิธีข้างต้นจะทำให้ได้โครงสร้างของสารที่มีเอกลักษณ์ที่น่าสนใจ (Hits) ทั้งนี้อาจพิจารณาจากฟาร์มาโคฟออร์ (Pharmacophore) ซึ่งทำให้ทราบอันตรกิริยา ระหว่างลิแกนด์กับรีเซปเตอร์ เพื่อให้ได้มาซึ่งสารที่คาดว่าจะเป็ยยา ที่เป็นสารที่มีฤทธิ์มากที่สุด จำเพาะเจาะจงมากที่สุด และมีความเป็นพิษน้อยที่สุด

2. การทดลองก่อนการทดสอบในมนุษย์

ยาใหม่หรือชีววัตถุใหม่จะต้องผ่านการศึกษเบื้องต้นก่อนนำไปทดลองในมนุษย์ (Pre-clinical phase) โดยทดสอบในหลอดทดลองหรือในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*) และ การทดสอบในสัตว์ทดลอง (*In vivo*) เพื่อให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพ ความเป็นพิษ เภสัชจลนศาสตร์ และ เภสัชพลศาสตร์ เพื่อใช้ในการตัดสินใจว่าควรนำไปทดลองต่อในมนุษย์หรือไม่ และ ควรใช้ยาปริมาณเท่าใด

หมายเหตุ เภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetic) คือ การศึกษาถึงกระบวนการของร่างกายที่กระทำกับยาเปรียบเทียบกับเวลา หรือ ศึกษาความเข้มข้นของยาในร่างกาย ณ เวลาต่าง ๆ โดยศึกษาทั้งการดูดซึมของยาเข้าสู่ร่างกาย การกระจายตัวของยา การเปลี่ยนแปลงของยาในร่างกาย และ การขับถ่ายยาออกจากร่างกาย

เภสัชพลศาสตร์ (Pharmacodynamic) คือ การศึกษาผลของยาต่อร่างกายทั้งผลทางด้านชีวเคมีและสรีรวิทยา โดยจะทำการศึกษาฤทธิ์ของยา อาการข้างเคียงหรือพิษที่เกิดขึ้น

3. การทดลองในมนุษย์

การทดลองในมนุษย์ (Clinical trials) จะใช้เวลาประมาณ 7-10 ปี สามารถแบ่งเป็น 4 ระยะ
ระยะที่ 1 เป็นการศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดีประมาณ 10-20 ราย เพื่อศึกษาว่ายานั้นมีความปลอดภัยในมนุษย์และอาจทำให้ทราบถึงปริมาณที่เหมาะสมในมนุษย์

ระยะที่ 2 เป็นการศึกษาในอาสาสมัครที่ป่วยเป็นโรคประมาณ 80-100 ราย เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของยาและอาการข้างเคียงระยะสั้นที่อาจเกิดขึ้น

ระยะที่ 3 เป็นการศึกษาในอาสาสมัครที่ป่วยเป็นโรคจำนวนมากประมาณ 1,000-2,000 ราย เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของยาชนิดใหม่เปรียบเทียบกับยาชนิดเดิมและอาการข้างเคียง

ระยะที่ 4 เป็นการเฝ้าระวังหลังยาออกสู่ตลาด เพื่อหาอุบัติการณ์ของอาการที่ไม่พึงประสงค์ซึ่งยังไม่พบในระหว่างการศึกษาวิจัย

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้อสาร โครงสร้าง และ ฤทธิ์ทางชีวภาพ

กล้วยไม้สกุลสิงโตเป็นสกุลที่ใหญ่ที่สุดใน Pantropical subtribe Bulbophyllinae ซึ่งประกอบไปด้วยกล้วยไม้ประมาณ 2,032 ชนิด (Hosseini, Dadkhah and Go, 2016 : P.102) การค้นพบขององค์ประกอบทางเคมีในกล้วยไม้สกุลสิงโตพบว่ามียาสารอินทรีย์ในกลุ่มฟีนแอนทริน (Phenanthrene) สติลบิน (Stilbene) ฟลาโวน (flavone) อนุพันธ์ของฟีนอลิกไกลโคไซด์ (Phenolic glycoside) และไบเบนซิล (Bibenzyl) (Chen et al., 2008 : P.169-173) สารประกอบในกลุ่มฟีนแอนทรินได้จากแนวชีวสังเคราะห์ที่มีสติลบิน (Stilbenoid) เป็นสารตั้งต้น จึงทำให้จะพบสารในกลุ่มสติลบินในกล้วยไม้ด้วย สารอินทรีย์ที่พบในกล้วยไม้สกุลสิงโตมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์การบีบเกร็งของเนื้อเยื่อและหลอดเลือด (Estrada et al., 1999 : P.1175-1178) ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์การต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์การลดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด และ ฤทธิ์ในการต้านทานโรคมะเร็ง (Kovács et al., 2008 : P.1084-1110) นอกจากนี้สารอินทรีย์ในกลุ่มสติลบินยังเป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลายว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Nopo-Olazabal et al., 2013 : P.11744)

Biswas และคณะ (2016 : P.1419-1427) ได้รายงานการค้นพบของฤทธิ์การต้านเนื้องอกที่เป็นไปได้และการตายของเซลล์ (Apoptosis) ในสารสกัดหยาบเมทานอล (Methanol) ปีโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) และ เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate) ของหัวและรากของกล้วยไม้สกุลสิงโตที่ชื่อ *B. sterile* พบว่าสารสกัดหยาบปีโตรเลียมอีเทอร์ของหัวและรากของกล้วยไม้ชนิด *B. sterile* มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีที่สุดใน HCT-116 cell line ด้วยค่า IC_{50} 94.2 ± 6.0 และ 75.7 ± 9.8 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ โดยฤทธิ์การต้านมะเร็งคล้ายกับการทำให้เกิดโปรแกรมเซลล์ตาย (Apoptosis) ผ่าน Phosphor-p53 depend pathway อย่างไรก็ตาม คุณ Biswas และคณะไม่ได้รายงานโครงสร้างของสารอินทรีย์ใด ๆ ที่มีฤทธิ์ดังกล่าว

Chen และคณะ (2008 : P.1271-1274) รายงานว่ามีสารอินทรีย์ 9 ชนิด ถูกแยกได้จากกล้วยไม้สกุลสิงโตชนิดสิงโตหลอดไฟหรือสิงโตโคมไฟ (*B. odoratissimum*) ดังนี้ โมสคาทิน (Moscatin, 1) 7-ไฮดรอกซี-2,3,4-ไตรเมทอกซี-9,10-ไดไฮโดรฟีนแอนทริน (7-Hydroxy-2,3,4-trimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene, 2), โคโลนิน (Coelonin, 3) เดนซิฟลอโรลบี (Densiflorol B, 4) จิเกนทอล (Gigantol, 5) บาทาทาซิน 3 (Batatasin III, 6) ทริสทิน (Tristin, 7) กรดวานิลลิก (Vanillic acid, 8) และ ซิงาลดีไฮด์ (Syringaldehyde, 9) โดยสารเดนซิฟลอโรลบีเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงสุด ด้วยค่ายับยั้งร้อยละห้าสิบ (IC_{50}) 0.08-3.52 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม ในการต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในมนุษย์ชนิด K562 และ HL-60 (Human leukaemia cell lines K562 and HL-60) เซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ชนิด A549 (Human lung adenocarcinoma A549 cell line) เซลล์มะเร็งตับชนิด BEL-7402 (human hepatoma BEL-7402 cell line) และเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารชนิด SGC-7901 (Human stomach cancer SGC-7901 cell line)

Chinsamy และคณะ (2014 : P.88-98) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์การต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านเอ็นไซม์โคสิโนเอสเทอร์เลส และ การก่อกลายพันธ์ของกล้วยไม้ที่มีฤทธิ์เป็นยาของแอฟริกาใต้ พบว่า สารสกัดหยาบจากรากของกล้วยไม้สกุลสิงโตชนิด *B. scaberrulum* มีฤทธิ์ต้านการอักเสบชนิด COX-2 และส่วนสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนจากรากของพืชชนิดนี้ยังมีฤทธิ์ต้านเอ็นไซม์โคสิโนเอสเทอร์เลส และ ให้ผลดีกว่ายา Galanthamine อย่างไรก็ตาม คุณ Chinsamy และคณะไม่ได้รายงานโครงสร้างของสารอินทรีย์ใด ๆ

da Silva และคณะ (1999 : P.31-34) ระบุว่าน้ำมันหอมระเหยทั้ง 28 ชนิดถูกแยกได้จากกล้วยไม้สามชนิดที่ไม่มีชื่อไทย นั่นคือ *B. involutum*, *B. ipanemense* และ *B. weddellii* โดยใช้เครื่อง GC/MS และไม่มีรายงานฤทธิ์ชีวภาพใด ๆ ของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 28 ชนิด ดังนี้ เฮกซานัล (Hexanal, 10) ฟอร์ฟูแรล (Furfural, 11) 2-ฟูราโนเมทานอล (2-Furanomethanol, 12) 5-เมทิล-2(3เฮกซ์)-ฟูราโนน (5-Methyl-2(3H)-furanone, 13) 5-เมทิลฟูราโรล (5-Methyl-furfural, 14) 2-เพนทิลฟูแรน (2-Pentyl-furan, 15) 2,3-ไดไฮโดร-4-ไฮดรอกซีล-2,5-ไดเมทิล-3-ฟูราโนน (2,3-Dihydro-4-hydroxy-2,5-dimethyl-3-furanone, 16) 2-เมทอกซีฟีนอล (2-Methoxy-phenol, 17) มัลทอล (Maltol, 18) 2,3-ไดไฮโดร-3,5-ไดไฮดรอกซี-6-เมทิล-4H-ไพรีน-4-โอน (2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyrene-4-one, 19) 1,2-เบนซีนไดออล (1,2-Benzenediol, 20) (อี,แซด)-2,4-เดคาไดอีนัล ((E,Z)-2,4-decadienal, 21) 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-ฟูแรนคาร์บอกซัลดีไฮด์ (5-Hydroxymethyl-2-furan-carboxyaldehyde, 22) 2,3,5,6-เตตระเมทิลฟีนอล (2,3,5,6-Tetramethylphenol, 23) ไตรดีคานอล (Tridecanol, 24) (อี,อี)-2,4-ดีคาไดอีนัล ((E,E)-2,4-decadienal, 25) 2,6-ไดเมทอกซีฟีนอล (2,6-Dimethoxyphenol, 26) 4-ไฮดรอกซี เมทิลเบนโซเอท (4-Hydroxy methyl benzoate, 27) ไตรดีคานอน (Tridecanone, 28) 4-ไฮดรอกซี-3-เมทอกซีเมทิลเบนโซเอท (4-Hydroxy-3-methoxy methyl benzoate, 29) 2,6-ไดเมทิล-3-เมทอกซีเมทิล-พารา-เบนโซควิโนน (2,6-Dimethyl-3-methoxymethyl-*p*-benzoquinone, 30) เมทิลเตตระเดคาโนเอท (Methyl tetradecanoate, 31) กรดเตตระเดคาโนอิก (Tetradecanoic acid, 32) กรดเพนตะเดคาโนอิก (Pentadecanoic acid, 33) 14-เมทิลเมทิลเพนตะเดคาโนเอท (14-Methyl methylpentadecanoate, 34) กรด 9-เฮกซาดีซีนอิก (9-Hexadecenoic acid, 35) กรดเฮกซาดีซีนอิก (Hexadecanoic acid, 36) และเอทิลเฮกซาดีคาโนเอท (Ethyl hexadecanoate, 37)

Hossain (2011 : P.102-140) ได้รายงานการใช้กล้วยไม้เป็นยาแผนโบราณโดยระบุว่ากล้วยไม้สกุลสิงโตชนิดที่ไม่มีในไทยชื่อ *B. cariniflorum* Rchb. f. ใช้ในการทำแท้งสำหรับผู้ที่อายุครรภ์ 2-3 เดือน ส่วนกล้วยไม้สกุลสิงโตที่ไม่มีในไทยชนิด *B. lilacinum* Ridl ใช้แก้เมื่อยล้าและทำให้ร่างกายสดชื่น กล้วยไม้ชนิด *B. neilgherrense* Wight ใช้เป็นยาชูกำลัง *B. maximum* ใช้ป้องกันเวทมนต์ กล้วยไม้ชนิดสิงโตหนวดยาว (*B. vaginatum*) ใช้ดื่มกับน้ำผลไม้แก้อาการปวดหู นอกจากนี้กล้วยไม้ชนิดสิงโตหลอดไฟ (*B. odoratissimum* (Sm.) Lindl.) พบบูลโบไฟทรินเอ (Bulbophythrins A, 38) และบูลโบไฟทรินบี (Bulbophythrins B, 39) ส่วนกล้วยไม้ชนิด *B. kwangtungense* Schltr. พบ คิวมูลาทิน (Cumulatin,

40) และเดนซิฟลอโรล (Densiflorol A, 41) กล้วยไม้ชนิดสิงโตหลอดไฟพบ 3,7-ไดไฮดรอกซี-2,4,6-ไตรเมท็อกซีฟีแนนทริน (3,7-Dihydroxy-2,4,6-trimethoxyphenanthrene, 42) กล้วยไม้ *B. gymopus* Hook. f. พบยิมโนพูซิน (Gymnopusin, 43) และกล้วยไม้สิงโตข้อทับทิม (*B. triste* Rchb. f.) พบทริสทิน (Tristin, 44)

Irwin และคณะ (2014 : P.7335-7344) ได้รายงานว่ากล้วยไม้สกุลสิงโตที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้โดยไม่ระบุชื่อกล้วยไม้ ว่ากล้วยไม้กลุ่มนี้สามารถดึงดูดแมลงผสมเกสรของผลไม่ได้โดยกล้วยไม้มีสารฟีนอลโพรโอนอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ ซิงเจอโรน (Zingerone, 45) และ เมทิลยูจีนอล (Methyleugenol, 46) โดยแมลงเพศชายจะไม่สามารถห้ามตัวเองได้เพราะโครงสร้างสารเหล่านี้มีโครงสร้างเหมือนกับฟีโรโมน

Kovács และคณะ (2008 : P.1084-1110) ได้รายงานว่พบสารประกอบในกลุ่มฟีแนนทีน (Phenanthrenes) ในกล้วยไม้สกุลสิงโต ดังนี้ ยิมโนพูซิน (*B. gymopus*) พบสารประกอบในกลุ่มฟีแนนทีน 4 ชนิด นั่นคือสาร (47) (48) คอนฟูซาริน (Confusarin, 49) และ ยิมโนพูซิน (Gymnopusin, 50) ส่วนต้นปัสีโอพาเดียม (*B. leopardium*) พบสารประกอบในกลุ่มฟีแนนทีน 1 ชนิด นั่นคือ บลูโบฟีวเลนทริน (Bulbophyllanthrin, 51) นอกจากนี้ต้นบรีเพนส์ (*B. reptans*) พบสารประกอบในกลุ่มฟีแนนทีน 10 ชนิด นั่นคือ โคโลนิน (Coelonin, 3) (47) (48) คอนฟูซาริน (Confusarin, 49) ยิมโนพูซิน (Gymnopusin, 50) ฟลาวานทรินิน (Flavanthrinin, 52) ฟลาวานทริน (Flavanthrin, 53) เซอร์โรพีทาลันทริน (Cirrhopetalanthrin, 54) เรปทันทริน (Reptanthrin, 55) และไอโซเรปทันทริน (Isoreptanthrin, 56) ส่วนต้นสิงโตหนวดยาว (*B. vaginatum*) พบสารประกอบในกลุ่มฟีแนนทีน 18 ชนิด นั่นคือ โคโลนิน (Coelonin, 3) (47) (48) ฟลาวานทรินิน (Flavanthrinin, 52) 6-เมท็อกซีโคโลนิน (6-Methoxycoelonin, 57) (58) อีรานทริดิน (Erianthridin, 59) นูดอล (Nudol, 60), (61) (62) ฟิมบริโอล บี (Fimbriol B, 63) (64) (65) (66) (67) (68) (69) และ (70)

Leong และคณะ (1997 : P.157-165) ได้รายงานว่สามารถแยกสารกลุ่มไบเบนซิล ฟีแนนทริน และอนุพันธ์ของ 9,10-ไดไฮโดรฟีแนนทริน (9,10-dihydrophenanthrene) จากส่วนสกัดหยาบเฮกเซน ดังนี้ เฟรดดีลิน (Friedelin, 71) 3,4'-ไดไฮดร็อกซี-5,5'-ไดเมท็อกซีไบเบนซิล (3,4'-Dihydroxy-5,5'-dimethoxy bibenzyl, 72) 3,3'-ไดไฮดร็อกซี-5-เมท็อกซีไบเบนซิลหรือบาทาฮาซิน 3 (3,3'-Dihydroxy-5-methoxybibenzyl หรือ Batatasin III, 6) 3,4,6-ไตรเมทอกซีฟีแนนทริน-2,7-ไดออล (3,4,6-Trimethoxyphenanthrene-2,7-diol, 73) 3,4-ไดเมท็อกซีฟีแนนทริน-2,7-ไดออลหรือนูดอล (3,4-Dimethoxyphenanthrene-2,7-diol หรือ Nudol, 60) 2,4-ไดเมท็อกซีฟีแนนทริน (2,4-Dimethoxyphenanthrene-3,7-diol, 74) 3,5-ไดเมท็อกซีฟีแนนทริน (3,5-Dimethoxyphenanthrene-2,7-diol, 75) 4-เมท็อกซีฟีแนนทริน-2,3,5-ไตรออลหรือฟิมบริโอล บี (4-Methoxyphenanthrene-2,3,5-triol หรือ Fimbriol B, 63) 4-เมท็อกซีฟีแนนทริน-2,7-ไดออล (4-Methoxyphenanthrene-2,7-diol หรือ Flavanthrinin, 52) 3,4,6-ไตรเมท็อกซี-9,10-ไดไฮโดรฟีแนนทริน-2,7-ไดออล (3,4,6-Trimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,7-diol, 76) 4-เมท็อกซี-9,10-ไดไฮโดรฟีแนนทริน-2,7-ไดออลหรือโคโลนิน

(4-Methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,7-diol หรือ Coelonin, **3**) 3,5-ไดเมท็อกซี-9,10-ไดไฮโดรฟิแนนทริน-2,7-ไดออล หรือ 6-เมท็อกซีโคโลนิน (3,5-Dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,7-diol หรือ 6-methoxycoelonin, **57**) 3,4-ไดเมท็อกซี-9,10-ไดไฮโดรฟิแนนทริน-2,7-ไดออลหรืออีรานทริน (3,4-Dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,7-diol หรือ Erianthridin, **59**) 4,9-เมท็อกซีฟิแนนทริน-2,5-ไดออล (4,9-dimethoxyphenanthrene-2,5-diol, **77**) 4-เมท็อกซี-9,10-ไดไฮโดรฟิแนนทริน-2,3,7-ไตรออล (4-Methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,3,7-triol, **78**) 2,3,4,7-เตตระเมท็อกซีไดไฮโดรฟิแนนทริน-9,10- (2,3,4,7-tetramethoxy-9,10-dihydrophenanthrene, **79**) 4,6-ไดเมท็อกซี-9,10-ไดไฮโดรฟิแนนทริน-2,3,7-ไตรออล (4,6-Dimethoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,3,7-triol, **80**) 2,3,4,6,7-เพนตะเมท็อกซี-9,10-ไดไฮโดรฟิแนนทริน (2,3,4,6,7-pentamethoxy-9,10-dihydrophenanthrene, **81**) 4,6-ไดเมท็อกซีฟิแนนทริน-2,3,7-ไตรออล (4,6-Dimethoxyphenanthrene-2,3,7-triol, **82**) 2,3,4,6,7-เพนตะเมท็อกซีฟิแนนทริน (2,3,4,6,7-pentamethoxyphenanthrene, **83**)

Leong และ Harrison (2004 : P.1601-1603) พบสารในกลุ่มไบฟิแนนทริน (Biphenanthrene) และสารที่เป็นอนุพันธ์ของฟิแนนโท[4,3-b] ฟิวเรน (Phenanthro[4,3-b]furan derivative) จากต้นกล้วยไม้สิงโตหนวดยาว (*B. vaginatum*) นั่นคือ 4,4',6,6'-เตตระเมท็อกซี-[1,1'-ไบฟิแนนทริน]-2,2',3,3',7,7'-เฮกซอล (4,4',6,6'-Tetramethoxy-[1,1'-biphenanthrene]-2,2',3,3',7,7'-hexol, **84**) และ (2อาร์*,3เอส*)-3-ไฮดร็อกซีเมทิล-9-เมท็อกซี-2-(4'-ไฮดร็อกซี-3',5'-ไดเมท็อกซีฟีนิล)-2,3,6,7-เตตระไฮดร็อกซีฟิแนนโท [4,3-บี] ฟิวเรน-5,11-ไดออล ((2R*,3S*)-3-hydroxymethyl-9-methoxy-2-(4'-hydroxy-3',5'-dimethoxyphenyl)-2,3,6,7-tetrahydrophenanthro[4,3-b]furan-5,11-diol, **85**) ส่วนสารที่ **86** เป็นสารที่ได้จากการสังเคราะห์โดยการนำสาร **85** มาทำปฏิกิริยาเมทิลเลชัน (Methylation)

Tan และ Nishida (2007 : P.334-341) รายงานว่ามีสารอินทรีย์ในกลุ่มฟีนอลิกถูกแยกจากดอกกล้วยไม้สกุลสิงโตที่ไม่มีในไทยชื่อปีไบลีย์อิ (*B. baileyi*) นั่นคือ ซิงเจอร์น (Zingerone, **87**) และซิงเจอร์นอล (Zingerol, **88**) โดยแมลงผลไม้ตัวผู้ (Male fruit flies) ชนิดแบคโทรซีรา (*Bactrocera*) ถูกดึงดูดด้วยสารซิงเจอร์นที่ถูกสร้างในพืชชนิดนี้ ทั้งนี้เพื่อให้แมลงมาผสมเกสร

Xu และคณะ (2009 : P.381-384) ได้รายงานว่าพบสารในกลุ่มไดเมอร์ฟิแนนทริน (Dimeric phenanthrenes) ชื่อ Bulbophythin A (**38**) และ B (**39**) จากกล้วยไม้ชนิดสิงโตหลอดไฟ (*B. odoratissimum*) และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเซลล์ลูคีเมียในมนุษย์ (Human leukemia cell lines K562 และ HL-60) เซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ (Human lung adenocarcinoma A549) เซลล์มะเร็งตับ (Human hepatoma BEL-7402) และเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (Human stomach cancer SGC-7901) ในห้องปฏิบัติการสารทั้ง 2 ชนิด ให้ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ดีโดยบูลโไฟพทรินเอย์บียังเซลล์ลูคีเมียในมนุษย์ (HL-60 และ BEL-7402) ที่ค่ายับยั้งครึ่งหนึ่ง (IC₅₀) 1.27×10^{-3}

และ 1.22×10^{-3} ไมโครโมล/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนโดยบูลโบไฟทรินบียับยังเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ (A549) ด้วยค่ายับยั้งครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) 1.18×10^{-3} ไมโครโมล/มิลลิลิตร

Yang และคณะ (2006 : P.230-237) ได้หาวิธีการตรวจสอบสารอินทรีย์กลุ่มฟีนอล (Phenol) 11 สาร ซึ่งประกอบไปด้วยสารที่อยู่ในกลุ่มไบเบนซิล (Bibenzyl) 5 สาร ฟีนานทริน 3 สาร และฟลูออรีโนน (Fluorenone) 3 สาร ด้วยเครื่องแฮชพีแอลซี (High-performance liquid chromatography, HPLC) โดยใช้พืช 3 สกุล (*Pholidota*, *Flickingeria* and *Bulbophyllum*) จากการตรวจสอบพบว่ากล้วยไม้บีแรพแทน (*B. reptans*) พบสารอินทรีย์กลุ่มฟีนอลเพียงชนิดเดียวที่มีชื่อว่าจิกแทนทอล (Gigantol, 5)

Zhao และคณะ (2015 : P.285-287) ได้รายงานถึงสารอินทรีย์ 11 สาร ที่ถูกแยกจากสารสกัดหยาดเมฆทานอลของกล้วยไม้สกุลสิงโตที่ไม่มีในประเทศไทยที่ชื่อปีอีมาร์จินาทุม (*B. emarginatum*) ดังนี้ มอนบาร์บาเทน (Monbarbatin A, 89) โฟชินนิน (Phochinenin B, 90) ฟลาวานทรินิน (Flavanthrinin, 52) โคโลนิน (Coelonin, 3) โคโลจิน (Coelogenin, 91) แพลคซิดิน (Flaccidin, 92) ฟลาวิดิน (Flavidin, 93) บาตาทาสิน 3 (Batatasin III, 6) 3,4'-ไดไฮดรอกซี-5-เมทอกซีไบเบนซิล (3,4'-dihydroxy-5-methoxybibenzyl, 94) จิกแทนทอล (Gigantol, 5) และอะโลยฟอล 1 (Aloifol I, 95) โดยไม่มีการรายงานฤทธิ์ชีวภาพใด ๆ

การสังเคราะห์

Carreras และคณะ (2013 : P.18815-18823) รายงานวิธีการสังเคราะห์สารบูลโบไฟเลนทริน (Bulbophyllantrin, 96) ซึ่งเป็นสารที่สามารถแยกได้จากกล้วยไม้สกุลสิงโตชนิดที่ไม่มีอยู่ในประเทศไทยที่ชื่อปีลีโอพาเดียม (*B. leopardium*) นอกจากนี้ยังได้แสดงวิธีสังเคราะห์ของสารกลุ่มนี้โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นทอง (Au) และลิแกนด์ที่มีประจุ

Trosien และ Waldvogel (2012 : P. 2976-2979) รายงานว่า สารบูลโบไฟเลนทริน (2-Hydroxy-3,4,7-trimethoxy-9,10-phenanthrenequinone หรือ Bulbophyllanthrone, 97) พบในกล้วยไม้ชนิดสิงโตหลอดไฟ (*B. odoratissimum*) เป็นสารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเป็นอย่างมาก (P388 murine leukemia และ BSC cell lines) นอกจากนี้เข้ายังเสนอวิธีการสังเคราะห์สารในกลุ่ม 9,10-ฟีนานทรินควิโนน (9,10-Phenanthrenequinones) โดยใช้โมลิบดีนัมเพนตะคลอไรด์ (Molybdenum pentachloride) โดยปฏิกิริยานี้ให้ร้อยละผลผลิตสูงจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการสังเคราะห์ 9,10-ฟีนานทรินควิโนน โดยไม่ต้องทำการแยกสารกลุ่มนี้จากกล้วยไม้สิงโตหลอดไฟ เช่นเดียวกับคุณ Majumder และคณะ (1991 : P.2092-2094) ที่ได้ทำการแยกองค์ประกอบทางเคมี 3 สารนั้นคือ สารบูลโบไฟเลนทริน (2-Hydroxy-3,4,7-trimethoxy-9,10-phenanthrenequinone หรือ Bulbophyllanthrone, 97) สารคริสซิน (Chrysin, 98) และพินอบังคซิน (Pinobanksin, 99) แล้วนสารที่ได้ทั้งสามมายืนยันโครงสร้างด้วยปฏิกิริยาอะเซททิลเลชัน (Acetylation) จึงทำให้ได้อนุพันธ์ 100-102 ต่อมาในปี 1999 คุณ Majumder และคณะ (1999 : P.891-897) ได้ทำการแยกสารไดเมอร์ริกฟีนานทรินอีก 2 ชนิด และสารในกลุ่มสตีลปินอยด์อีก 9 ชนิด รวมถึงเสนอวิธีเปลี่ยนโครงสร้างสารยิมโนปูซิน

(Gymnopusin, 43) ไปเป็นเรปแทนทริน (reptanthrin, 55) และไอโซเรปแทนทริน (Isoreptanthrin, 56) จากต้นกล้วยไม้บีแพรแทน

เครื่องมือที่ใช้ในการทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพ

การออกแบบยาด้วยคอมพิวเตอร์เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงและรวดเร็วในการค้นพบยาชนิดใหม่ ๆ จึงทำให้ลดเวลาในการทดลองในห้องปฏิบัติการและเวลาที่ใช้ในการทดลองทางคลินิก (Tani, 2013 : P.133) สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเป็นสารมีโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันที่หลากหลาย จึงทำให้มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายเช่นกัน จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคโดยใช้คอมพิวเตอร์ออกแบบโครงสร้างยา (Rollinger et al., 2009 : P.196)

ทั้งนี้ Ehrlich (1909) ได้ให้คำจำกัดความของรูปแบบที่น่าจะเป็นของโครงสร้างยาที่ออกแบบด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์หรือฟาร์มาโคฟอร์ว่าเป็นกลุ่มของสารเคมีที่แสดงการตอบสนองต่อความเป็นพิษและการจับตัว (Binding) ฟาร์มาโคฟอร์โมเดลสามารถใช้ในการทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยอธิบายอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของยากับรีเซปเตอร์ สามารถใช้สารอินทรีย์โครงสร้างที่เคยมีการรายงานในวารสารวิชาการหรือโครงสร้างที่ไม่เคยรายงานมาก่อนในการทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพได้ วิธีการนี้ถือเป็นวิธีที่มีความสำคัญและประสบความสำเร็จอย่างสูงในการวิจัยเพื่อหาชนิดใหม่ ๆ กลายเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการอธิบายโมเลกุลและระบบที่ซับซ้อนในสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้สิ่งที่ใช้อธิบายอันตรกิริยาของยาที่ใช้ฟาร์มาโคฟอร์โมเดลแสดงความสัมพันธ์กับลักษณะเฉพาะลิแกนด์ (Chemical ligand features) กลายเป็นเทคนิคที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายและถูกใช้ในการออกแบบยาโดยใช้คอมพิวเตอร์ทำนายความเป็นไปได้

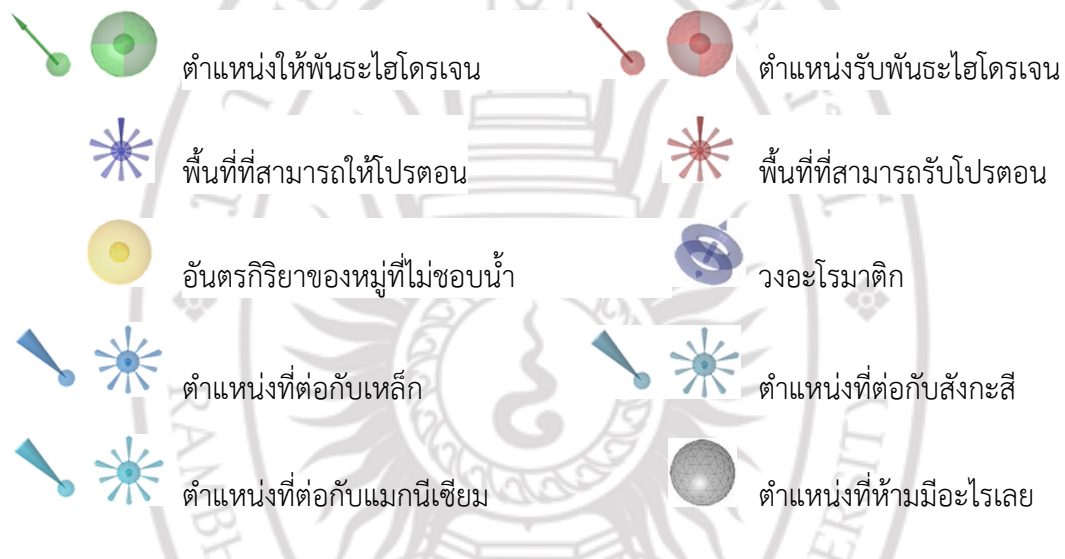
มีงานตีพิมพ์หลายงานตีพิมพ์ที่รายงานว่าได้ใช้คอมพิวเตอร์เป็นเครื่องมือเพื่อช่วยในการออกแบบยา เช่น การคัดสรรสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Virtual screening) ที่เพิ่มประสิทธิภาพและประสิทธิผลในขั้นแรก ๆ ของการค้นพบยาชนิดใหม่ ๆ โดยพิจารณาจากโครงสร้างของสารอินทรีย์และสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ โดยเครื่องมือที่ถูกเลือกใช้ในงานวิจัยนี้ คือ ลิแกนด์สเก๊าท์ (LigandScout) ซี (SEA) ฟาร์มแมปเปอร์ (PharmMapper) พาส (PASS-Online) เอนโดคราน ดิสรัปโทม (Endocrine disruptome) และสวิสทาร์เกตพรีดิคชัน (SwissTargetPrediction) เป็นเครื่องมือที่ถูกนำมาใช้ในงานวิจัยขั้นนี้

1 ลิแกนด์สเก๊าท์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ลิแกนด์สเก๊าท์ (LigandScout) เป็นซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์ (Computer software) ที่ใช้สำหรับการใช้โครงสร้างโปรตีนหรือโครงสร้างของลิแกนด์เป็นตัวสร้างฟาร์มาโคฟอร์โมเดลด้วยวิธีการคำนวณบนคอมพิวเตอร์ที่ซับซ้อน หลายขั้นตอน แต่ก็มีประสิทธิภาพในการแก้ปัญหายาก ๆ

ลิแกนด์สเก๊าท์จะทำให้เน้นไปที่การจัดตำแหน่งและการเชื่อมต่อที่ไม่ได้เชื่อมต่อกันจริง ๆ (Binding) ระหว่างรีเซปเตอร์บนโปรตีนกับลิแกนด์ ทั้งนี้โปรแกรมลิแกนด์สเก๊าท์จะเอาข้อมูลโปรตีนมาจากฐานข้อมูลที่ชื่อว่า Protein Data Bank ในรูปของ PDB ไฟล์ซึ่งจะสร้างฟาร์มาโคฟอร์โมเดลสามมิติ

(3D Pharmacophore models) ซึ่งแสดงหลาย ๆ ข้อมูลสำคัญ (Features) เช่น ตำแหน่งให้พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond donor) ตำแหน่งรับพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond acceptor) พื้นที่ที่สามารถให้โปรตอน (Positive ionizable area) พื้นที่ที่สามารถรับโปรตอน (Negative ionizable area) อันตรกิริยาของหมู่ที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic interactions) วงอะโรมาติก (Aromatic ring) ตำแหน่งที่ต่อกับเหล็ก (Iron binding location) ตำแหน่งที่ต่อกับสังกะสี (Zinc binding location) ตำแหน่งที่ต่อกับแมกนีเซียม (Magnesium binding location) ตำแหน่งที่ห้ามมีอะไรเลย (Excluded volume) (Wolber and Langer, 2005 : P.160-169) โดยมีสัญลักษณ์ดังนี้



ภาพที่ 2.1 ข้อมูลสำคัญของฟาร์มาโคฟอร์ในลิแกนด์สเก๊าท์

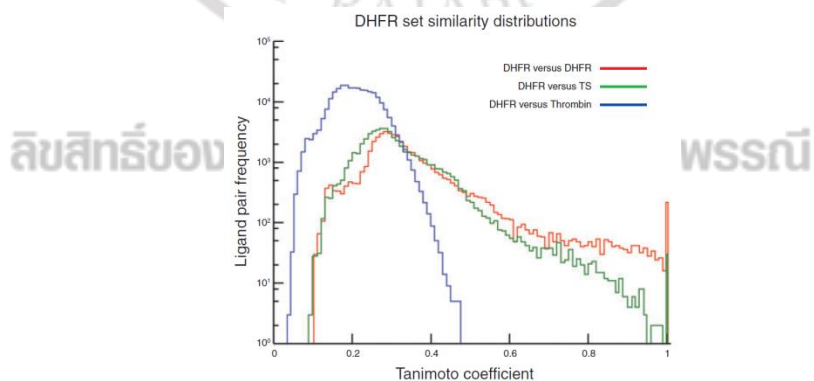
สรุปให้เข้าใจง่าย คือ ลิแกนด์สเก๊าท์เอาข้อมูลโปรตีนจาก PDB มาสร้างเป็นแบบจำลอง ซึ่งเราสามารถสร้างฟาร์มาโคฟอร์โมเดลเพื่อดูว่ามันจะจับกับรีเซปเตอร์เป็นอย่างไร ขนาดของโมเดลพอกับช่องว่างของโปรตีนหรือไม่

2 ซี

ซี (Similarity Ensemble Approach, SEA) เป็นเซิร์ฟเวอร์ที่คำนวณหาความสัมพันธ์ของรีเซปเตอร์บนโปรตีนและหน้าที่ของรีเซปเตอร์นั้นโดยอาศัยโครงสร้างของลิแกนด์ ซีมีลิแกนด์ที่เป็นยา 65,000 ลิแกนด์ ซึ่งจะเปรียบเทียบขนาดและองค์ประกอบของลิแกนด์โดยไม่มีอคติ ความคล้ายคลึงกันจะถูกคำนวณโดยใช้ปริภูมิทอพอโลยีของลิแกนด์ (Ligand topology) โมเดลทางสถิติถูกพัฒนาอย่างมีนัยสำคัญเพื่อวัดค่าความเหมือน เป็นเทคนิคที่ทดสอบความเหมือนกันของโครงสร้างทางเคมีระหว่างกลุ่มของลิแกนด์แบบสุ่มโดยใช้แบบจำลอง BLAST ซึ่งเชื่อมต่อกับลิแกนด์เป็นร้อย ๆ กลุ่ม กับผลที่เกิดขึ้นของโปรตีนเป้าหมายสร้างเป็นแผนภูมิต้นไม้อย่างง่ายหลาย ๆ อัน (Minimal spanning trees) โดยแผนภูมิเหล่านี้จะ

คำนวณความเหมือนของโครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนกลุ่มต่าง ๆ แล้วจึงจัดกลุ่มลิแกนด์และโปรตีน

เนื่องจากลิแกนด์แต่ละโครงสร้างกระทำต่อรีเซปเตอร์แตกต่างกันและรีเซปเตอร์แต่ละตัวนั้นมีหน้าที่แตกต่างกัน ดังนั้นค่าความเหมือนระหว่างกลุ่มลิแกนด์จึงสำคัญ กลุ่มผู้พัฒนาใช้ 246 รีเซปเตอร์ที่รายงานบน MDL Drug Data Report (MDDR) กับกลุ่มของลิแกนด์ 246 กลุ่ม จาก 65,421 ลิแกนด์ นั้นหมายถึง 5.07×10^9 คู่ลิแกนด์ แล้วจึงใช้ค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ (Tanimoto coefficients, Tc) มาคำนวณค่าความเหมือนของแต่ละคู่ลิแกนด์ (ค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ มีตั้งแต่ 0 ถึง +1 ทั้งนี้ $Tc = +1$ เป็นความคล้ายคลึงกันสูงสุด) ถ้าคู่ลิแกนด์ส่วนใหญ่มีค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ต่ำ (0.2-0.3) ถึงว่ายังไม่แยء เพราะเมื่อกลุ่มผู้พัฒนาทดสอบ 216 ลิแกนด์ที่เป็นยาต้านโฟเลทโดยจับกับเอนไซม์ DHFR โดยซี พบว่าร้อยละ 80.4 ของคู่ลิแกนด์มีค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ 0.1-0.4 และมีเพียงร้อยละ 4.7 ของคู่ลิแกนด์มีค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ 0.6-1.0 อีกทั้งมีเพียงร้อยละ 0.5 ของคู่ลิแกนด์มีค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ 1.0 ทั้งนี้จะพบลักษณะแบบเดียวกันเมื่อทำการเปรียบเทียบ 253 ลิแกนด์ที่เป็นยาต้านโฟเลทโดยจับกับเอนไซม์ TS กับลิแกนด์ของยาต้านโฟเลทโดยจับกับเอนไซม์ DHFR พบว่ามีเพียงร้อยละ 0.06 ของคู่ลิแกนด์ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ 1.0 และคู่ลิแกนด์ร้อยละ 1.6 มีค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ 0.6-1.0 นอกจากนี้มีคู่ลิแกนด์มากถึงร้อยละ 85.5 มีค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ 0.1-0.4 และเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มลิแกนด์ 1,226 ลิแกนด์สำหรับต้านเอนไซม์ทรอมบิน (Thrombin) เปรียบเทียบกับต้านเอนไซม์ DHFR พบว่าคู่ลิแกนด์ร้อยละ 97.1 มีค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ 0.1-0.4 และไม่มีลิแกนด์คู่ใดเลยที่มีค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้มากกว่า 0.5 (ดังภาพ 2.2) จากข้อมูลข้างต้นพบว่าค่าสัมประสิทธิ์ของทานิโมโต้ที่มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.57 ($Tc \geq 0.57$) ของกลุ่มคู่ลิแกนด์ระหว่างฤทธิ์ต้าน DHFR กับทรอมบินเป็น 0 และกลุ่มคู่ลิแกนด์ระหว่างฤทธิ์ต้าน DHFR กับ TS เป็น 772.25 และเมื่อเทียบกับกลุ่ม DHFR มีค่าเป็น 1,931.60 จะเห็นได้ว่าลิแกนด์สำหรับต้าน DHFR กับทรอมบินเป็นยาคนละกลุ่ม เลยไม่มีความเหมือน แต่ลิแกนด์สำหรับฤทธิ์ต้าน DHFR กับ TS เป็นยาคนละกลุ่มต้านโฟเลทเหมือนกันจึงมีความเหมือนกันของโครงสร้างลิแกนด์



ภาพที่ 2.2 กราฟเปรียบเทียบความเหมือนและไม่เหมือนของกลุ่มลิแกนด์คำนวณโดยซี
ที่มา : (Keiser et al., 2007 : P.198)

นอกจากนี้กลุ่มผู้พัฒนาซีได้สร้างโมเดลทางสถิติ โดยหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่าข้อมูลดิบ (Raw score) กับจำนวนลิแกนด์บนกลุ่มถูกใช้สถิติคำนวณค่า Z-scores ถึงขนาด ความพอดี และ ค่าการกระจายตัว ของลิแกนด์แต่ละตัวโดยไม่มีอคติ แล้วผลของโมเดลก็เป็นดังที่คาดหวัง ร้อยละ 95.2 ของกลุ่มแต่ละกลุ่มที่เปรียบเทียบมีค่าความคาดหวังมากกว่า 1 โดยกลุ่มลิแกนด์ของยาต้านโฟเลท โดยจับกับเอนไซม์ DHFR เทียบกับลิแกนด์กลุ่มเดียวกันเองมีค่า Z-scores เท่ากับ 333.4 ค่าความคาดหวัง (E-value) 7.07×10^{-182} นั้นหมายความว่าลิแกนด์กลุ่มนี้มีความคล้ายกันมาก เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มลิแกนด์ของยาต้านโฟเลทโดยจับกับเอนไซม์ TS กับ DHFR มีค่า Z-scores = 117.6 และ E-value = 1.11×10^{-61} จะเห็นได้ว่าลิแกนด์นี้มีความคล้ายกันน้อยกว่ากลุ่มแรก และเมื่อเทียบลิแกนด์กลุ่มต้านทรอมบินกับกลุ่มต้าน DHFR เนื่องจากค่าข้อมูลดิบเป็น 0 จึงทำให้ไม่มีค่า Z-scores และคำนวณ E-value ไม่ได้

เมื่อนำมาคำนวณต่อกับรีเซปเตอร์ โดยเฉลี่ยแล้วรีเซปเตอร์มีความเหมือนกันเพียง 5.8 ด้วยค่า E-value $< 10^{-10}$ แต่ถ้ารีเซปเตอร์เหมือนกันจะมีค่า E-value ที่สูง ตัวอย่างเช่นเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มของ α -Amino-5-hydroxy-3-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) receptor กับกลุ่มลิแกนด์ที่เหมือนกันมาก 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม Kainic acid กับ กลุ่ม NMDA มีค่า E-value 5.28×10^{-80} กับ 3.08×10^{-63} ตามลำดับ แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีความเหมือนน้อยจะได้ค่า E-value น้อย ดังตารางที่ 2.2 มีเพียงไม่กี่กลุ่มเป้าหมายไม่มีความสัมพันธ์กับกลุ่มอื่นเลย Keiser และคณะ พบเพียง 18 orphan และมีเพียงไม่กี่เป้าหมายที่ไม่มีความจำเพาะเจาะจง นั่นคือ 14 ลิแกนด์ที่สามารถจับกับเป้าหมายมากกว่า 10 เป้าหมายด้วยค่า E-value $< 10^{-50}$

ตารางที่ 2.2 กลุ่มรีเซปเตอร์ที่รายงานบน MDDR 3 กลุ่ม ที่คำนวณโดยซี

Query	Rank	Size	Similar activity classes	E-value	Tc 1.0	Max Tc
AMPA receptor Antagonist	1	569	AMPA receptor antagonist	2.45×10^{-219}	577	1.00
	2	75	Kainic acid receptor antagonist	5.28×10^{-80}	74	1.00
	3	1485	NMDA receptor antagonist	3.08×10^{-63}	181	1.00
	4	22	Anaphylatoxin receptor antagonist	3.81×10^{-4}	0	0.70
	5	130	μ agonist	1.69×10^{-3}	0	0.83
	6	99	Ribonucleotide reductase inhibitor	1.00×10^{-1}	0	0.73
Carbacephem	1	98	Carbacephem	$< \times 10^{-320}$	106	1.00
	2	1614	Cephalosporin	1.11×10^{-222}	14	1.00
	3	35	Isocephem	2.30×10^{-17}	0	0.64
	4	257	Penem	2.43×10^{-4}	0	0.68
	5	13	Oxacephem	8.38×10^{-3}	0	0.69
	6	39	Lactam (β) antibiotic	2.62×10^{-2}	0	0.62
	7	223	Lactamase (β) inhibitor	6.58×10^{-1}	1	1.00
	8	116	Monocyclic β -lactam	3.18×10^2	0	0.61
Androgen	1	50	Androgen	$< \times 10^{-320}$	138	1.00
	2	577	Aromatase inhibitor	6.87×10^{-307}	0	0.88
	3	43	Antiglucocorticoid	2.30×10^{-102}	0	0.89
	4	6	Cytochrome P450 oxidase inhibitor	4.01×10^{-93}	0	0.92
	5	179	Estrogen	9.97×10^{-89}	0	0.91
	6	86	Antiandrogen	2.18×10^{-76}	0	0.84
	7	936	Steroid (5α) reductase inhibitor	1.58×10^{-72}	0	0.80
	8	103	Antiandrogen	1.14×10^{-70}	0	0.99
	9	86	17α -hydroxylase/C17-20 lyase inhibitor	7.88×10^{-66}	0	0.76
	10	164	Progesterone antagonist	3.26×10^{-44}	0	0.89
	11	62	Prostaglandin	1.93×10^{-38}	0	0.75

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

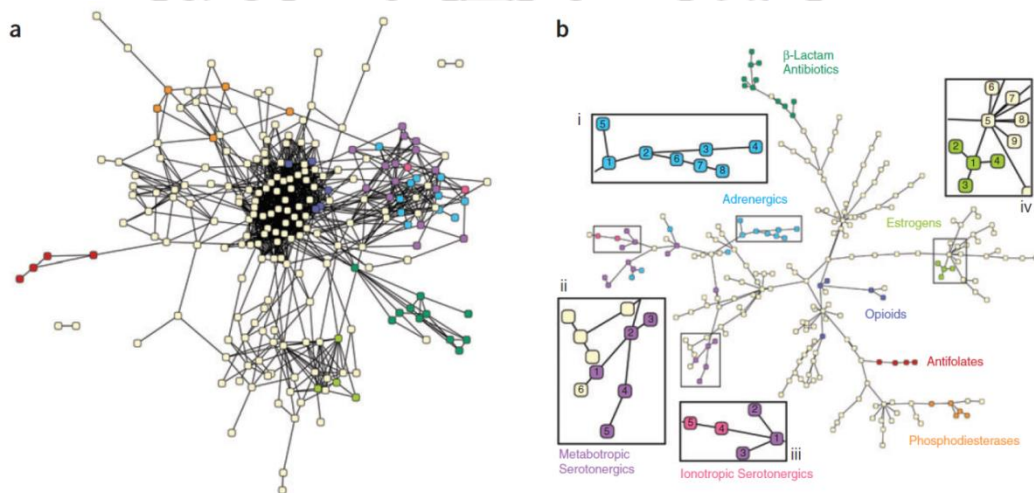
ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

Query	Rank	Size	Similar activity classes	E-value	Tc 1.0	Max Tc
5 HT1F Agonist	1	111	5 HT1F agonist	6.72×10^{-187}	113	1.00
	2	621	5 HT1D agonist	8.08×10^{-38}	0	0.95
	3	51	5 HT1B agonist	2.96×10^{-10}	0	0.95
	4	65	5 HT1 agonist	3.03×10^{-8}	0	0.81
	5	670	Dopamine (D4) antagonist	1.90×10^{-6}	0	0.79
	6	565	5 HT1A antagonist	8.64×10^{-1}	0	0.71
	7	33	5 HT2 antagonist 8.78	8.78×10^{-1}	0	0.65
	8	705	5 HT2A antagonist	1.47	0	0.73
Adrenergic (β 1) Agonist	1	8	Adrenergic (β 1) agonist	3.85×10^{-241}	10	1.00
	2	305	Adrenergic (β) agonist	9.50×10^{-34}	0	0.81
	3	67	Adrenergic (β 1) blocker	4.99×10^{-32}	0	0.64
	4	563	Adrenoceptor (β 3) agonist	2.98×10^{-24}	0	0.72
	5	212	Adrenergic (β) blocker	3.96×10^{-13}	0	0.78
	6	13	Adrenergic, ophthalmic	2.77×10^{-7}	0	0.70
	7	518	Adrenergic (α 1) blocker	6.84×10^{-5}	0	0.73
	8	124	Melatonin agonist	1.04×10^{-1}	0	0.63
	9	76	Dopamine (D1) agonist	2.18×10^{-1}	0	0.71
	10	102	Adrenergic (α 2) agonist	4.72×10^{-1}	0	0.66

ที่มา : (Keiser et al., 2007 : P.199)

หลังจากนั้นเอาข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบความเหมือนของ 246 เอนไซม์กับรีเซปเตอร์ พบเครือข่ายฤทธิ์ทางเภสัช (Network view of pharmacological space) ดังภาพที่ 2.3 (a) โดยสีแต่ละสีแสดงเป้าหมายดังนี้ สีแดงหมายถึง Antifolates สีส้มหมายถึง Phosphodiesterases สีฟ้าหมายถึง Opioids สีเขียวแก่หมายถึง β -Lactam antibiotics สีเทาหมายถึง Adrenergics สีเขียวอ่อนหมายถึง Estrogen modulators สีม่วงหมายถึง Metabotropic serotonergics สีชมพูหมายถึง Ionotropic serotonergics แผนภูมิต้นไม้เป็นแผนภูมิทางเภสัชศาสตร์ ภาพที่ 2.3 (b) ซึ่งเป็นข้อมูลชุดเดียวกับ a แต่แสดงผลในรูปแบบที่ต่างกัน โดยแต่ละจุดแต่ละตำแหน่งนั้นหมายถึงโปรตีนเป้าหมาย ซึ่งจะแสดงเฉพาะส่วนที่มีความเกี่ยวข้องกันอย่างมีนัยสำคัญ สีของแต่ละตำแหน่งมีความหมายเหมือนกับ a ทั้งนี้ i เป็นข้อมูลของ Adrenergics: 1 หมายถึง β Adrenergic agonists, 2 หมายถึง β 1 Adrenergic agonists, 3 หมายถึง β 1 Adrenergic blockers, 4 หมายถึง β Adrenergic blockers, 5 หมายถึง β 3 Adrenoceptor agonists, 6 หมายถึง Ophthalmic adrenergics, 7 หมายถึง α 2 Adrenergic agonists และ 8 หมายถึง α 1 Adrenoceptor agonists ส่วน ii เป็นข้อมูลของ Metabotropic serotonergics subset: 1 หมายถึง

5-HT_{1F} agonists, 2 หมายถึง 5-HT_{1D} agonists, 3 หมายถึง 5-HT₁ agonists, 4 หมายถึง 5-HT_{1B} agonists และ 5 หมายถึง 5-HT_{1D} antagonists ส่วน iii เป็นข้อมูลของ Ionotropic (5-HT₃) serotonergics: 1 หมายถึง 5-HT₄ agonists, 2 หมายถึง 5-HT₄ antagonists, 3 หมายถึง 5-HT₂ antagonists, 4 หมายถึง 5-HT₃ antagonists และ 5 หมายถึง 5-HT₃ agonists ส่วน iv เป็นข้อมูลของ Steroids: 1 หมายถึง Estrogens, 2 หมายถึง Antiestrogens, 3 หมายถึง Estrone sulfatase inhibitors, 4 หมายถึง Estrogen receptor modulators, 5 หมายถึง Androgens, 6 หมายถึง HMG-CoA reductase β -inhibitors, 7 หมายถึง Antiandrogens, 8 หมายถึง Aromatase inhibitors และ 9 หมายถึง Glucocorticoids



ภาพที่ 2.3 แผนที่เปรียบเทียบความเหมือนของ 246 เอนไซม์กับรีเซปเตอร์ที่มา : (Keiser et al., 2007 : P.200)

ข้อมูลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าโปรตีนเป้าหมายมีความสัมพันธ์มากมายกับลิแกนด์ของมัน SEA สามารถทำให้เห็นถึงความเหมือนที่คาดหวังและไม่คาดหวังซึ่งถูกทดสอบด้วย Off-target activity ของลิแกนด์ สิ่งที่ถูกค้นพบ คือ ถึงลิแกนด์จะมีจำนวนมากแต่มีเพียงบางลิแกนด์เท่านั้นที่ความสัมพันธ์กันเมื่อเชื่อมความเหมือนของลิแกนด์เข้าด้วยกันจะพบความสอดคล้องกันทางเภสัชวิทยา และโปรตีนเป้าหมายมีความสัมพันธ์เหมือนแผนที่

สรุปให้เข้าใจง่าย คือ เซิร์ฟเวอร์ที่ทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารอินทรีย์ โดยการเปรียบเทียบโครงสร้างของสารนั้นกับลิแกนด์ตัวอื่น ๆ เพื่อทำนายว่าควรมีผลต่อรีเซปเตอร์ไหน

3 ฟาร์แมปเปอร์

ฟาร์แมปเปอร์ (PharmMapper server) เป็นเซิร์ฟเวอร์ที่ทำนายยีนหรือโปรตีนเป้าหมายโดยการสร้างฟาร์มาโครฟอรัของลิแกนด์แล้วหาว่ามันจะจับกับเป้าหมายไหนได้ดีที่สุดโดยใช้เทคนิคโมเลกุลาร์ดอกกิง (Molecular docking) วิธีนี้จะเริ่มจากการใส่ Smile code ของโมเลกุล อาจเป็นยา สารอินทรีย์

จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ หรือสารที่คิดค้นขึ้นมาใหม่แต่ไม่รู้ว่ามันจะเชื่อมกับยีนหรือโปรตีนตัวไหน ฟาร์แมปเปอร์จะทำการสร้างฟาร์มาโครฟอรัลของลิแกนด์แล้วทำการเชื่อมโยงฟาร์มาโครฟอรัลกับรีเซปเตอร์ โดยฐานข้อมูลของฟาร์แมปเปอร์ชื่อว่า PharmTargetDB ซึ่งที่มีข้อมูลของยีนหรือโปรตีนเป้าหมาย จากฐานข้อมูลทาเกตแบงก์ (TargetBank) ข้อมูลการจับของรีเซปเตอร์กับลิแกนด์ที่อธิบายดีทีบี (BindingDB) ข้อมูลยารักษาโรคชื่อดักแบงก์ (DrugBank) และ ข้อมูลเป้าหมายของยาชื่อโพเทนเชียลดักทาเกตเดต้าเบส (Potential drug target database) ซึ่งมีฟาร์มาโครฟอรัลที่สร้างจากรีเซปเตอร์ (Receptor-based pharmacophore models) ซึ่งทั้งหมดนี้มีข้อมูลของรีเซปเตอร์ที่สามารถนำมาสร้างฟาร์มาโครฟอรัลมากกว่า 7000 โมเดล รวมถึงข้อมูลส่วนที่เป็นเป้าหมายของยามากกว่า 1500 เป้าหมาย ฟาร์แมปเปอร์จะหาวิธีการเชื่อมโยงที่ดีที่สุดของฟาร์มาโครฟอรัลโมเดลใน PharmTargetDB รายการของค่าที่เหมาะสมที่สุด (Lists the top N best-fitted hits) และ Robust triangle ทั้งนี้ฟาร์แมปเปอร์ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงในการตรวจสอบทั้งฐานข้อมูล โดยวิธีการนี้ถือว่าเป็นวิธีการที่ดีเพราะสามารถหาฟาร์มาโครฟอรัลโมเดลที่ดีที่สุด 300 ตัวแรกสำหรับทดสอบหายารักษา มะเร็งเต้านมชนิดแพร่กระจายกลุ่มทาม็อกซิเฟน (Retrospective benchmarking test of tamoxifen) (Liu et al., 2010 : P.w609-w614)

4 พาส

พาส (Prediction of Activity Spectra for Substances, PASS) เป็นซอฟต์แวร์ที่ออกแบบเป็นเครื่องมือสำหรับประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารอินทรีย์โดยทำนายผลทางเภสัชวิทยาของฟาร์มาโครฟอรัลได้มากกว่า 300 ผลที่เป็นไปได้ และกลไกทางชีวภาพบนพื้นฐานของลักษณะโครงสร้างของซับสเตรด (Substance) ซึ่งอาจก่อให้เกิดฤทธิ์ทางชีวภาพกับโมเลกุลเป้าหมาย โดยเน้นไปที่กลไกการเกิดปฏิกิริยาสำหรับลิแกนด์ เพื่อเผยให้เห็นถึงลิแกนด์ใหม่สำหรับโมเลกุลเป้าหมายที่เราต้องการให้เกิดฤทธิ์ทางชีวภาพ

ชีวสารสนเทศกำลังก้าวหน้าจากการวิเคราะห์เพียงแค่อันดับของกรดนิวคลีอิกและกรดอะมิโนไปยังการค้นหาเป้าหมายใหม่และลิแกนด์ที่นำไปสู่การพัฒนาชนิดใหม่ ๆ กรณีที่ลิแกนด์ต่ออยู่กับโปรตีนหรือต่อกับโฮโมโลกัสโปรตีน (Homologous protein) ด้วยความคล้ายคลึงกันของโมเลกุลเป้าหมายทำให้ทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพได้ รวมถึงสามารถหาลิแกนด์ตัวใหม่ ๆ ได้โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพ (Structure-activity relationships)

ผลลัพธ์การคาดคะเนจะถูกนำเสนอในรูปแบบของตาราง โดยมีรายการฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากการทำนาย (มีค่าความน่าจะเป็นสูง) เช่น โอกาสสำหรับฤทธิ์ทางชีวภาพที่กำหนด จะเปิดเผยอย่างไรอย่างหนึ่ง (Pa) หรือไม่เปิดเผย (Pi) เป็นประมาณการของครั้งแรกและครั้งที่สองของความน่าจะเป็นของข้อผิดพลาด

การทำนายโดยโปรแกรมพาสแบบออนไลน์จะใช้ 31,000 ซับสเตรด (Biologically active substances) ในกลุ่มทำนาย (Training set) เพื่อทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพ 319 ผลที่อาจเกิดขึ้นได้ กลไกการเกิดฤทธิ์ทางชีวภาพ และความเป็นพิษที่จำเพาะเจาะจง

โปรแกรมพาสแบบออนไลน์จะให้ผลทำนายที่เป็นจำนวนตัวบ่งชี้ทางเคมีทั้งหมดของซับสเตรด (Chemical descriptors of the substance) และบอกจำนวนของตัวบ่งชี้ (Descriptors)

ถ้า $Pa > 0.7$ แสดงว่า สารโครงสร้างนั้น (Substance) มีแนวโน้มที่จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ทดสอบสูง และมีโอกาสที่สารนั้นจะเป็นยาที่ถูกใช้ในปัจจุบันแล้วสูงด้วย

ถ้า $0.5 < Pa < 0.7$ แสดงว่า สารโครงสร้างนั้นมีแนวโน้มที่จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ทดสอบ แต่มีโอกาสที่สารนั้นจะเป็นยาที่ถูกใช้ในปัจจุบัน

ถ้า $Pa < 0.5$ แสดงว่า สารโครงสร้างนั้นมีแนวโน้มที่จะไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ทดสอบ อย่างไรก็ตามถ้ามีการทดลองยืนยันว่าสารนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพนั้น ก็อาจเป็นตัวยาคู่ใหม่หรือยาที่มีกลไกใหม่ได้ (Lagunin et al., 2000 : P.747-748)

5 เอนโดคราน ดิสรัปโทม

เอนโดคราน ดิสรัปโทม (Endocrine disruptome) เป็นเครื่องมือที่ใช้ทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับ Assessing endocrine disruption potential ผ่าน Nuclear receptor binding การทำนาย endocrine disruption potential ของสารอินทรีย์ยังคงเป็นสิ่งที่ยากลำบาก (daunting) แต่มันก็เป็นสิ่งที่ขาดไม่ได้ (essential task) มันจะถูกวิเคราะห์บนวิถีสถิติ (platform) ที่เรียกว่า docking interface สำหรับ target systems หรือ DoTS นั้นเองโมเลกุลของสารอินทรีย์ทั้งหมดจะถูก docked ด้วย 18 integrated และ Well-validated crystal structures ของ 14 different human nuclear receptors ผ่าน AutoDock Vina (Košek et al., 2014 : P.1254)

6 สวิสทาร์เกตพรีดิคชัน

สวิสทาร์เกตพรีดิคชัน (SwissTargetPrediction) เป็นฐานข้อมูลสำหรับทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่มีขนาดเล็ก โดยเปรียบเทียบภาพ 2 มิติ และ 3 มิติ กับสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้มีการรายงานไว้แล้ว เช่น ยา หรือ สารเมตาบอไลต์ (Metabolites) อีกทั้งยังทำนายการจับกับโปรตีนหรือโมเลกุลเป้าหมายที่มีขนาดใหญ่ (Macro-molecular targets) เพื่อทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพและผลข้างเคียง ในการทำนายจะใช้โมเดลของสิ่งมีชีวิต 5 ชนิด นั่นคือ คน (*Homo sapiens*) หนูหริ่งบ้าน (*Mus musculus*) หนูบ้าน (*Rattus norvegicus*) โคสายพันธุ์ยุโรป (*Bos Taurus*) และ ม้า (*Equus caballus*) (Gfeller et al., 2014 : P.w32)