

Received: September 6, 2025

Revised: November 7, 2025

Accepted: November 17, 2025

Published: December 26, 2025

การประเมินศักยภาพของเทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์
เพื่อทำนายและเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากชาเลือดมังกร
Evaluation of In Silico Screening Techniques for Predicting and Comparing
Bioactivities of Compounds from Dragon's Blood Tea

ภัทราวดี ศิริอำนวยลาภ¹ เตือนเต็ม ทองเผือก¹ รุจิเรข ปราชญากุล¹

อนันต์ พิริยะภัทรกิจ² ปราโมทย์ ไตรบุญ² และ วชิร วรจรรย์กุล^{1*}

Pattharavadee Siriamnuaylap¹ Dueantem Thongphueak¹ Ruchirake Prachayakul¹

Anan Phiriyaphattharakit² Pramote Triboun² and Watcharee Waratchareeyakul^{1*}

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

² ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ (ศนก.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

¹ Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University

² InnoAG : Expert Centre of Innovative Agriculture, Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR)

* watcharee.w@rbru.ac.th

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินศักยภาพของเทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ (*in silico* screening) ในการทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสำคัญที่พบในต้นชาเลือดมังกร (*Peristrophe roxburghiana*) และเพื่อเปรียบเทียบผลการทำนายกับข้อมูลการทดลองเบื้องต้น เพื่อพิจารณาความสอดคล้องของเทคนิคดังกล่าวกับผลจริงในห้องปฏิบัติการ ข้อมูลโครงสร้างของสารอินทรีย์ที่เคยรายงานในงานวิจัยที่ตีพิมพ์แล้วจำนวน 19 ชนิด ถูกนำมาสร้างเป็นแบบจำลองโครงสร้างสามมิติ และนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมและฐานข้อมูลออนไลน์ฟรี ได้แก่ SEA server, PharmMapper server และ PASS online เพื่อทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นไปได้ จากนั้นผลการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ถูกเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์เชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยใช้การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากใบชาเลือดมังกร และใบของต้นชาเลือดมังกร ผลการศึกษาพบว่าสารในกลุ่ม Anthocyanidin Glycosides จากสารสกัดเมทานอล มีแนวโน้มแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ และต้านมะเร็ง ส่วนสารในกลุ่ม Alkaloids จากสารสกัดน้ำ มีแนวโน้มต้านเนื้องอกและลดการอักเสบ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวัดปริมาณสารฟีนอลิกรวมที่พบว่ามีค่าสูงในสารสกัดน้ำ ผลลัพธ์ดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์สามารถช่วยคัดเลือกสารที่มีศักยภาพทางชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพและสนับสนุนการวิจัยด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้ดีในระดับหนึ่ง นอกจากนี้ โปรแกรมและฐานข้อมูลที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นแหล่งข้อมูลแบบเปิด (Open Access) ซึ่งมีประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ในงานวิจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำนายฤทธิ์ของสารจากธรรมชาติ

คำสำคัญ: ชาเลือดมังกร, การคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์, ต้นชาเลือดมังกร

Abstract

This study aimed to evaluate the potential of *in silico* screening techniques for predicting the bioactivities of compounds found in *Peristrophe roxburghiana* (Dragon's Blood Tea) and to compare the computational predictions with preliminary experimental data to assess their consistency. Nineteen organic compounds previously reported in published studies were selected and modeled into three-dimensional (3D) structures. These structures were analyzed using freely available online platforms, including the SEA server, PharmMapper server, and PASS online, to predict their possible biological activities. The *in silico* results were then compared with in vitro findings obtained from the determination of total phenolic content (TPC) of extracts from Dragon's Blood Tea leaves and fresh leaves of *P. roxburghiana*. The results revealed that anthocyanidin glycosides from the methanolic extract exhibited potential antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities, while alkaloid compounds from the aqueous extract showed antineoplastic and anti-inflammatory potentials. These findings were consistent with the high TPC values observed in the aqueous extracts. The outcomes suggest that *in silico* screening can effectively identify bioactive compounds and serve as a supportive tool for natural product research. Moreover, the freely accessible databases and software used in this study provide a cost-effective and practical approach for researchers investigating bioactivity prediction of natural compounds.

Keywords: Dragon's Blood Tea, *In Silico* Screening, *Peristrophe roxburghiana*

บทนำ

ชาเลือดมังกร (Dragon's Blood Tea) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากต้นชาเลือดมังกร หรือที่รู้จักกันในชื่อ Magenta Plant มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Peristrophe roxburghiana* จัดอยู่ในวงศ์ Acanthaceae และมีชื่อพ้องทางพฤกษศาสตร์หลายชื่อ ได้แก่ *Justicia tinctoria* Roxb., *P. bivalvis* (L.) Merr. และ *P. tinctoria* (Roxb.) Nees. พืชชนิดนี้พบกระจายพันธุ์อย่างกว้างขวางในหลายภูมิภาคของโลก เช่น จีน กัมพูชา อินเดีย มาเลเซีย เวียดนาม ไนจีเรีย และประเทศไทย (Aluko et al., 2019: 1; Oguzie et al., 2021: 69) งานวิจัยทางเคมีและชีวเคมีก่อนหน้านี้รายงานว่าพืชชนิดนี้มีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายกลุ่ม โดยเฉพาะแอนโธไซยานิน (Anthocyanins) โพลีฟีนอลิก (Polyphenolic compounds) และ แอลคาลอยด์ (Alkaloids) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง และต้านจุลชีพ จุลินทรีย์ (Khue et al., 2014: 1; Yang et al., 2012: 1279; Thuy et al., 2012: 205)



รูปที่ 1 ต้นชาเลือดมังกร (ก) ใบ (ข) ดอก (ค) แปลงปลูก

สารสกัดจากใบต้นชาเลือดมังกรได้รับการศึกษาว่าสามารถลดความดันโลหิต ไชมันในเส้นเลือด และระดับครีเอตินิน พร้อมทั้งเพิ่มระดับกลูตาไธโอน เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดในหนูทดลอง (Aluko et al., 2019: 1) โดยสารสกัดหยาดน้ำและเมทานอลแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแบบดีฟิฟิเอซ สารสกัดเมทานอลมีประสิทธิภาพสูงกว่า (Quan et al., 2016: 14) นอกจากนี้สารสกัดเอทานอลจากใบและลำต้นสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิด เช่น *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* (Tanavade et al., 2012: 106; สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง, 2565) รวมทั้งสารสกัดจากใบชาเลือดมังกรยังช่วยลดความหนืดของเลือดและป้องกันการเกิดลิ่มเลือดอุดตัน (Thuy et al., 2012: 1) อีกทั้งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูทดลอง (Yang et al., 2012: 1279) โดยฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้ครอบคลุมถึงการชะลอความเสื่อมโทรมของร่างกาย ป้องกันหลอดเลือดอักเสบ ลดระดับคอเลสเตอรอล กระตุ้นการไหลเวียนโลหิต ลดความเสี่ยงโรคหัวใจและหลอดเลือด รวมทั้งป้องกันโรคมะเร็งและมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งลำไส้ ตับ เม็ดเลือดขาว ระบบสืบพันธุ์ และต้านไวรัสได้ (สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง, 2565) ชาเลือดมังกรยังถูกนำมาใช้ในยาแผนโบราณสำหรับรักษาวัณโรคปอด ไอเป็นเลือด โรคหลอดลมอักเสบ บำรุงกำลังและไต รวมถึงช่วยยับยั้งพิษงูเห่าและงูเขียวหางไหม้ เนื่องจากสารสกัดมีสีแดงอมม่วง จึงนิยมนำมาสกัดเป็นสีย้อมอาหาร สีย้อมผ้า และตากแห้งขบเคี้ยวเพื่อบำรุงสุขภาพ ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ชาเลือดมังกร

Khue et al. (2014: 5) รายงานว่าในส่วนสกัดหยาดเมทานอลของต้นชาเลือดมังกรพบสารในกลุ่ม anthocyanidin glycosides หลายชนิด ได้แก่ Afzelechin(4-8) pelargonidyl glucoside (1), Pelargonidine-3-O-gentiobiose (2), Pelargonidine-3-O-sambabiose (3), 4'-Maloyl-3-rhamnozyl-

(4H,5H)pyranocyanidin (4), 4'-Oxaloyl-3-rhamnosyl-(4H,5H)pyranopeonidin (5), 4'-Sinpoyl-3-glucosyl-(4H,5H)pyranopeonidin (6) และ ขณะที่ส่วนสกัดหยาดน้ำมีสารสำคัญคือ Peristrophine (7) และ Perisbivalvine A (8) (Thuy et al., 2012: 205) นอกจากนี้ยังตรวจพบสารอินทรีย์รองอื่น ๆ ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น 1-Octadecanol, 3-Acetyl oleanolic acid, Allantoin, Apigenin, Catechin, Coumarin, Cyanidin-3 -O- β -D-glucoside, Gallic acid, Isoquercetin, Kaempferol, Lupeol, Oleanolic acid, Quercetin, Rutin และ Tannic acid รวมทั้งสเตอรอลพื้นฐาน ได้แก่ Beta-sitosterol และ Beta-sitosterol glucoside (Daucosterol) (Yang et al., 2012: 1279; สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง, 2565)

รายงานการวิจัยทางเคมีของชาเลื่อมังกรหลายฉบับแสดงให้เห็นว่า พืชสมุนไพรชนิดนี้มีศักยภาพสูงในการเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อย่างไรก็ตาม งานวิจัยส่วนใหญ่ที่ผ่านมาเน้นการวิเคราะห์เชิงเคมีและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในห้องปฏิบัติการแบบดั้งเดิม (ทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง) โดยยังไม่มีมีการประยุกต์ใช้เทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์เพื่อทำนายฤทธิ์ของสารในพืชชนิดนี้อย่างเป็นระบบ หรือเปรียบเทียบความสอดคล้องระหว่างผลการทำนายเชิงคอมพิวเตอร์กับผลการทดลองจริง ซึ่งถือเป็นช่องว่างขององค์ความรู้ที่คณะผู้วิจัยมุ่งศึกษาต่อเพื่อเติมเต็ม

เทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ (*In silico* screening) เป็นแนวทางการวิเคราะห์เชิงโมเลกุลที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในงานวิจัยด้านเคมี ชีวเคมี และเภสัชศาสตร์ เนื่องจากสามารถทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารอินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว มีความแม่นยำสูง และช่วยลดข้อจำกัดด้านเวลา ทรัพยากร และค่าใช้จ่ายในกระบวนการวิจัยหรือพัฒนายา รวมถึงผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Benfenati et al., 2010: 153; Akram et al., 2019: 11; วัชรวิ วัชรจริยกุล และคณะ, 2564: 586) โดยเทคนิคนี้อาศัยหลักการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างโมเลกุลและฤทธิ์ทางชีวภาพ (Structure-activity relationship: SAR) เพื่อระบุสารที่มีศักยภาพสูงในการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ก่อนนำไปทดสอบในขั้นตอนเชิงทดลองจริง

อย่างไรก็ตาม การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธีในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*) หรือในสัตว์ทดลอง (*In vivo*) ส่วนใหญ่ประสบกับข้อจำกัดหลายประการ ทั้งด้านเวลา ทรัพยากร และต้นทุนการดำเนินงานที่สูง (Tani, 2013: 133) นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดทางจริยธรรมในการใช้สัตว์ทดลอง ทำให้เทคโนโลยีการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากสามารถจำลองกลไกการออกฤทธิ์ของสารอินทรีย์ในระดับโมเลกุล และช่วยทำนายเป้าหมายทางชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพและแม่นยำ โดยเฉพาะเมื่อผสมผสานกับฐานข้อมูลขนาดใหญ่และแบบจำลองฟาร์มาโคฟอร์ (Pharmacophore modeling) ซึ่งเป็นหัวใจสำคัญของการออกแบบยาเชิงคอมพิวเตอร์ในปัจจุบัน (Liu et al., 2010: 609; Wang et al., 2017: 356; Akram et al., 2017: 1)

ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา มีการพัฒนาแพลตฟอร์มออนไลน์และฐานข้อมูลแบบเปิด (Open-access Databases) สำหรับการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ที่ใช้งานได้ฟรี เช่น SEA Server, PharmMapper server และ PASS online ซึ่งสามารถประมวลผลและทำนายเป้าหมายทางชีวภาพของสารประกอบได้อย่างหลากหลาย (Keiser et al., 2007: 197; Liu et al., 2010: 609; Wang et al., 2016: 1175; Wang et al., 2017: 256; Lagunin et al., 2000: 747; Rudik et al., 2025: 1) เครื่องมือเหล่านี้ช่วยให้นักวิจัยสามารถคัดเลือกสารที่มีแนวโน้มออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงได้โดยไม่ต้องดำเนินการทดลองทุกขั้นตอนใน

ห้องปฏิบัติการ ส่งผลให้เทคนิคดังกล่าวถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในการศึกษาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (วัชร วรรณฤกุล และคณะ, 2564: 586)

SEA (Similarity Ensemble Approach) ใช้วิธีเปรียบเทียบโครงสร้างทางเคมีของสารกับฐานข้อมูล ลิแกนด์มากกว่า 65,000 ชนิด เพื่อทำนายความสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลของสารกับโปรตีนเป้าหมาย โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ทานิโมโต้ (Tanimoto coefficient) ในการวัดความคล้ายคลึงของโครงสร้าง และค่าความน่าจะเป็นเชิงสถิติ (P-value) เพื่อยืนยันความสัมพันธ์ระหว่างสารกับโปรตีน โปรแกรมนี้ช่วยระบุได้ว่าสารนั้นมีแนวโน้มจับกับโปรตีนชนิดใด และมีศักยภาพในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับใด (Keiser et al., 2007: 197-206)

สำหรับ PharmMapper server เป็นแพลตฟอร์มออนไลน์ที่ทำหน้าที่ทำนายโปรตีนหรือเอนไซม์เป้าหมายที่มีแนวโน้มจับกับโมเลกุลของสาร โดยอาศัยหลักการ “ฟาร์มาโคฟออร์แมปปิง” (Pharmacophore mapping) ซึ่งวิเคราะห์รูปแบบเชิงพื้นที่ของหมู่ฟังก์ชันที่จำเป็นต่อการจับกับรีเซพเตอร์ โปรแกรมนี้มีแบบจำลองฟาร์มาโคฟออร์ (Pharmacophore models) มากกว่า 50,000 โมเดลจากฐานข้อมูลขนาดใหญ่ เช่น DrugBank และ Protein Data Bank ผลลัพธ์จาก PharmMapper แสดงในรูปค่าความเหมาะสม (Fit score) ซึ่งใช้จัดลำดับความน่าจะเป็นของการจับระหว่างโมเลกุลและโปรตีนเป้าหมาย (Liu et al., 2010: 609-614; Wang et al., 2016: 1175; Wang et al., 2017: 356)

ส่วน PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) เป็นซอฟต์แวร์ที่ใช้ทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นไปได้ของสารอินทรีย์มากกว่า 300 ประเภท เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ หรือยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง โดยอาศัยหลักการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างทางเคมีกับฤทธิ์ทางชีวภาพ (Structure-Activity Relationship; SAR) โปรแกรมนี้ให้ผลลัพธ์ในรูปค่าความน่าจะเป็นของการเกิดฤทธิ์ (Probable Activity: Pa) และค่าความเป็นไปได้อันจะไม่เกิดฤทธิ์ (Probable Inactivity: Pi) ซึ่งหากค่า Pa มากกว่า 0.7 จะบ่งชี้ว่าสารนั้นมีโอกาสสูงที่จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพตามที่ทำนายไว้ (Lagunin et al., 2000: 747-748; Rudik et al., 2025: 1-2)

โดยสรุป โปรแกรมทั้งสามระบบนี้มีหลักการทำงานแตกต่างกันแต่เสริมกันอย่างลงตัว SEA ใช้การเปรียบเทียบโครงสร้างเพื่อระบุโปรตีนเป้าหมายหลัก PharmMapper ช่วยระบุเอนไซม์หรือโปรตีนที่อาจเกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ ส่วน PASS ใช้ยืนยันแนวโน้มของฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นไปได้ ผลการวิเคราะห์ร่วมกันจากทั้งสามระบบจึงช่วยให้สามารถคัดเลือกสารที่มีศักยภาพสูงทางชีวภาพจากขบวนการได้อย่างมีประสิทธิภาพและเชื่อถือได้ ก่อนการนำไปทดสอบยืนยันในห้องปฏิบัติการ

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งใช้เทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์เพื่อทำนายและประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่รายงานพบในต้นชาเล็ดมังกร พร้อมทั้งเปรียบเทียบผลการทำนายกับข้อมูลการทดลองในห้องปฏิบัติการ เพื่อประเมินความสอดคล้องและศักยภาพของเทคนิค *In silico* ในการสนับสนุนการวิจัยด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ อีกทั้งยังแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการใช้ฐานข้อมูลแบบเปิด ซึ่งช่วยลดต้นทุนและเพิ่มโอกาสในการเข้าถึงเครื่องมือวิจัยสำหรับนักวิทยาศาสตร์ทุกสาขา

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อประเมินศักยภาพของเทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ในการทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสำคัญที่พบในต้นชาเล็ดมังกร

2. เพื่อเปรียบเทียบผลการทำนายเชิงคอมพิวเตอร์กับผลการทดลองทางเคมีเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ เพื่อประเมินความสอดคล้องของผลลัพธ์ระหว่างข้อมูลเชิงทำนายและข้อมูลเชิงทดลอง

3. เพื่อระบุสารสำคัญที่มีศักยภาพสูงทางชีวภาพในชาเลือดมังกร ซึ่งอาจนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหรือสารนำต้นแบบทางเภสัชกรรมในอนาคต

4. เพื่อแสดงให้เห็นถึงความเหมาะสมและประโยชน์ของการใช้ฐานข้อมูลและโปรแกรมแบบเปิด (Open-access) ในการสนับสนุนงานวิจัยด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติอย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาลักษณะเชิงวิเคราะห์โดยผสานระหว่างการทดลองทางเคมีและเทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ เพื่อประเมินและทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสำคัญในต้นชาเลือดมังกร โดยมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

1. การเก็บตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างพืชชาเลือดมังกรจาก บ้านห้วยน้ำกิน บ้านเลขที่ 101 หมู่ที่ 13 ตำบลแม่เจดีย์ อำเภอยางป่าเป้า จังหวัดเชียงราย และเก็บใบของต้นชาเลือดมังกรจาก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) บ้านเลขที่ 35 หมู่ที่ 3 เทคโนธานี ตำบลคลองห้า อำเภอลองหลวง จังหวัดปทุมธานี เพื่อใช้เป็นวัสดุต้นแบบในการสกัดและวิเคราะห์

2. การเตรียมและสกัดสารจากชาเลือดมังกร

ตัวอย่างพืชที่เก็บได้ถูกทำให้แห้งในที่ร่มและบดให้ละเอียด จากนั้นนำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน (Hexane), ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane), เมทานอล (Methanol) และ น้ำตามลำดับ เพื่อแยกสารออกตามข้อของตัวทำละลาย จะได้สารสกัดหยาบทั้งหมด 8 ส่วน (ประกอบด้วยส่วนสกัดจากชาชาเลือดมังกรและใบชาเลือดมังกรอย่างละ 4 ส่วน) สารสกัดที่ได้ถูกกรองและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้ในการทดสอบทางเคมีและวิเคราะห์เชิงคอมพิวเตอร์ต่อไป

3. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดใช้ วิธี Folin-Ciocalteu ตามรายงานของ Wairata et al. (2022) โดยใช้ กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น 0–200 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารสกัดทั้ง 8 ส่วน (ที่ความเข้มข้น 1000 ppm) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันและพักไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 5% ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer รุ่น T60 UNNIS โดยใช้เมทานอลเป็นสารบลังก์ (Blank) และคำนวณค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่าต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract)

4. การรวบรวมข้อมูลสารประกอบทางเคมี

ทำการสืบค้นข้อมูลสารประกอบที่แยกได้จากต้นชาเลือดมังกรจากแหล่งข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ เช่น ฐานข้อมูล PubChem, DrugBank และบทความวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ จากนั้นคัดเลือกเฉพาะสารประกอบที่มีการรายงานโครงสร้างทางเคมีอย่างสมบูรณ์ เช่น ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ หรือเทอร์ปีนอยด์ พร้อมจัดเก็บข้อมูลในรูปแบบไฟล์โครงสร้างสามมิติ (SDF หรือ MOL2) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

5. การวิเคราะห์และทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเทคนิคเชิงคอมพิวเตอร์

ดำเนินการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมและฐานข้อมูล 3 ระบบหลัก ได้แก่ SEA เพื่อประเมินความคล้ายคลึงของโครงสร้างทางเคมีกับลิแกนด์ของโปรตีนเป้าหมาย ส่วน PharmMapper Server เพื่อทำนายโปรตีนหรือเอนไซม์เป้าหมายของสารแต่ละชนิดโดยอาศัยแบบจำลองฟาร์มาโคฟอร์ และ PASS Online เพื่อทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารอินทรีย์ในรูปแบบความน่าจะเป็นของการมีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Pa) และไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Pi)

6. การวิเคราะห์และเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้

ผลการทำนายจากแต่ละโปรแกรมจะถูกนำมาเปรียบเทียบเพื่อระบุสารที่มีศักยภาพสูงทางชีวภาพ โดยพิจารณาจากความสอดคล้องของโปรตีนเป้าหมายและชนิดของฤทธิ์ที่ทำนายได้ หากสารใดมีผลการทำนายตรงกันจากหลายโปรแกรม จะถือว่ามีความน่าเชื่อถือสูง จากนั้นจัดทำตารางสรุปผลการคัดกรอง พร้อมแปลผลในเชิงชีวภาพเพื่อชี้แนะแนวทางในการศึกษาต่อเชิงทดลอง

7. การตรวจสอบและตีความผลลัพธ์

ข้อมูลที่ได้จากการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์จะถูกวิเคราะห์เชิงสถิติและตีความในเชิงชีวเคมี เพื่อระบุประเภทของฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีแนวโน้มเกิดขึ้นมากที่สุด เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ หรือยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเรื้อรัง ผลลัพธ์ที่ได้จะนำไปเปรียบเทียบกับรายงานการวิจัยเดิมเพื่อประเมินความสอดคล้องของผลการทำนาย

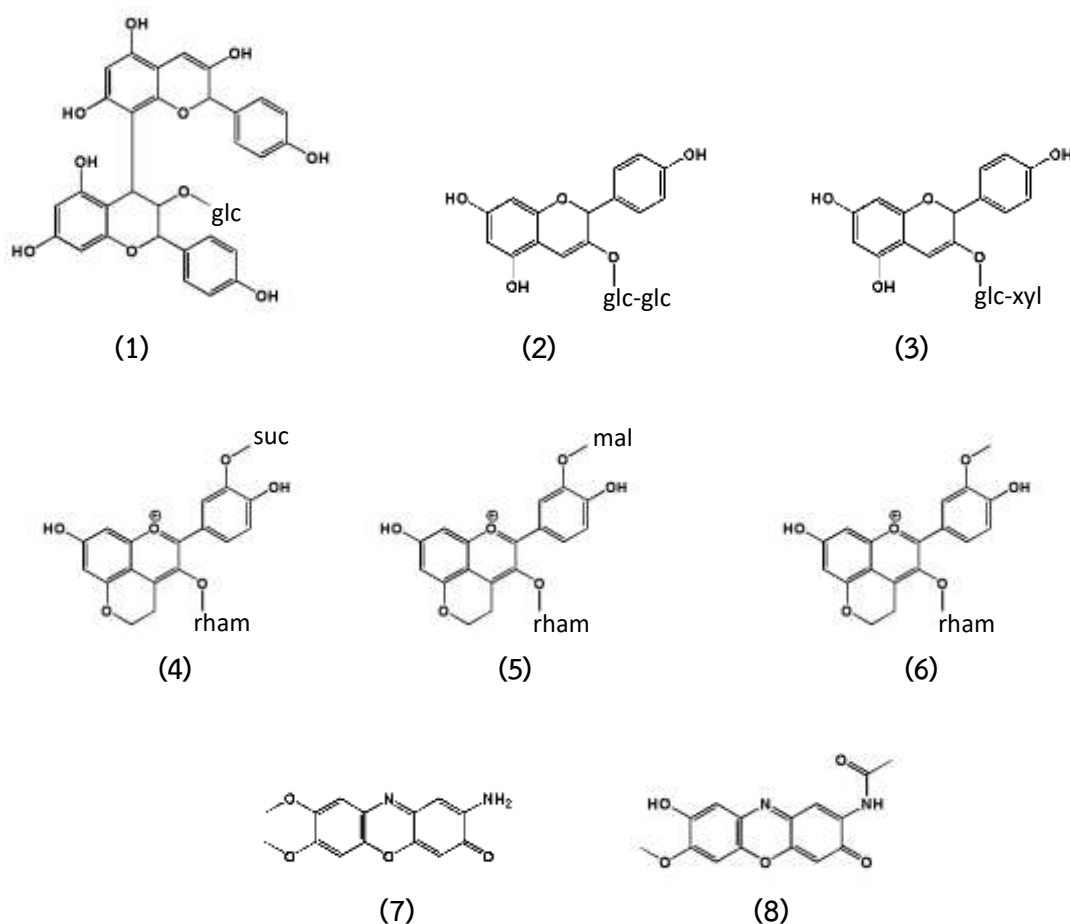
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

สารประกอบอินทรีย์ที่ถูกนำมาวิเคราะห์การทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพโดยใช้การคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์เป็นสารที่มีปริมาณมากในส่วนสกัดหยาบเมทานอลของต้นชาเล็ดมังกร จำนวน 6 ชนิด คือ Afzelechin (4-8) pelargonidyl glucoside (1), Pelargonidine-3-O-gentiobiose (2), Pelargonidine-3-O-sambabiose (3), 4'-Maloyl-3-rhamnozyl-(4H,5H) pyranocyanidin (4), 4'-Oxaloyl-3-rhamnozyl-(4H,5H) pyranopeonidin (5) และ 4'-Sinpoyl-3-glucozyl-(4H, 5H) pyranopeonidin (6) (Khue et al., 2014: 5) นอกจากนี้ยังใช้โครงสร้างสารที่มีปริมาณมากในส่วนสกัดหยาบน้ำ จำนวน 2 ชนิด คือ Peristrophine (7) และ Perisbivalvine A (8) (Thuy et al., 2012: 205) ดังรูปที่ 3

หลังจากทดสอบด้วย SEA พบว่าสารประกอบอินทรีย์หมายเลข 1-8 ที่สกัดได้จากชาเล็ดมังกรมีค่าสัมประสิทธิ์ทานิโมโต้ (Tanimoto coefficient, TC) อยู่ในช่วง 0.30-0.39 ซึ่งจัดอยู่ในระดับความคล้ายคลึงปานกลางเมื่อเทียบกับสารอ้างอิงในฐานข้อมูลของ SEA ค่า TC ยิ่งสูงหมายถึงโครงสร้างของลิแกนด์มีความคล้ายคลึงกับสารอ้างอิงมาก ซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับความน่าจะเป็นที่สารนั้นจะจับกับโปรตีนเป้าหมายเดียวกัน (Keiser et al., 2007: 198) โดยค่า MaxTC ที่ปรากฏในผลการวิเคราะห์ของแต่ละสารแสดงถึงค่าความคล้ายคลึงสูงสุด ที่โมเลกุลนั้นมีต่อสารอ้างอิงที่ถูกใช้ในการทำนาย ดังนั้นค่า MaxTC ที่อยู่ในช่วง 0.30-0.39 จึงบ่งชี้ว่าสารเหล่านี้มีโครงสร้างบางส่วนที่สอดคล้องกับสารที่ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพแล้วเพียงพอให้สามารถทำนายแนวโน้มการออกฤทธิ์ได้ แม้ไม่เหมือนกันทั้งหมดก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะของสารจากธรรมชาติที่มักมีหมู่ฟังก์ชันหลายชนิดและอาจออกฤทธิ์ผ่านกลไกหลายเส้นทาง (Multimodal bioactivity)

สำหรับค่า P-value ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย SEA นั้นเป็นตัวบ่งชี้ระดับความเชื่อมั่นเชิงสถิติของความสัมพันธ์ระหว่างลิแกนด์และโปรตีนเป้าหมาย ค่า P-value ที่มีค่าน้อย (เช่น $< 10^{-15}$ ตามที่ปรากฏในตารางที่ 1 หมายความว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวเกิดขึ้นโดยบังเอิญได้ยากมากหรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ การทำนาย

ความสัมพันธ์ระหว่างสารกับโปรตีนเป้าหมายนั้นมีนัยสำคัญทางสถิติสูง ดังนั้น ค่า P-value ระดับ 10^{-16} จึงถือว่าเป็นหลักฐานเชิงคำนวณที่น่าเชื่อถือว่ามีความสัมพันธ์ที่แท้จริงระหว่างโมเลกุลของสารกับโปรตีนที่ระบบทำนายไว้ เช่น VEGFA, ESR1, LOX5, ESR2 และ CREB1 **ตารางที่ 1**



รูปที่ 3 สารประกอบอินทรีย์ที่ถูกนำมาวิเคราะห์การทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพ
 ที่มา: Khue et al. (2014: 5) และ Thuy et al. (2012: 205)

ตารางที่ 1 ผลการทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาดเมฆานอลและน้ำโดยใช้เซิร์ฟเวอร์ซี

P-Value	MaxTC	กลุ่มเป้าหมาย	สาร	ฤทธิ์ทางชีวภาพ
6.66×10^{-16}	0.30	CREB1_HUMAN	8	ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านมะเร็ง และป้องกันโรคสมองเสื่อม
5.55×10^{-16}	0.36	ESR1_RAT	2-3	ต้านอนุมูลอิสระ และต้านมะเร็งเต้านม
4.44×10^{-16}	0.36	LOX5_RAT	7	ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านอักเสบ, ลดความดัน และต้านมะเร็ง
2.22×10^{-16}	0.35	VEGFA_HUMAN	1	ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านมะเร็ง และโรคจอตาเสื่อมจากหลอดเลือดผิดปกติ
4.57×10^{-17}	0.39	ESR2_HUMAN	4-6	ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านอักเสบ และต้านมะเร็ง

ผลการทำนายของ SEA แสดงให้เห็นว่าสารในกลุ่มแอนโทไซยานิดินไกลโคไซด์ (Anthocyanidin glycosides) ซึ่งพบมากในส่วนสกัดหยาดเมฆานอลของชาเล็ดมังกร (สาร 1-6) แสดงศักยภาพในการต้าน

อนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ด้านมะเร็ง และยับยั้งการสร้างเส้นเลือดใหม่ (Anti-angiogenic effect) โดยการเชื่อมโยงกับโปรตีน VEGFA_HUMAN ซึ่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมการสร้างหลอดเลือด กลไกนี้สอดคล้องกับรายงานที่ระบุว่าสาร Anthocyanidin สามารถยับยั้งการส่งสัญญาณของ VEGFA และ NF- κ B ซึ่งเป็นเส้นทางหลักในการกระตุ้นการอักเสบและการเจริญของหลอดเลือดผิดปกติ (Karlsen et al., 2007: 1951; Ma et al., 2021: 6)

นอกจากนี้ สาร Pelargonidine-3-O-gentiobiose (2) และ Pelargonidine-3-O-sambabiose (3) แสดงความสัมพันธ์กับโปรตีน ESR1_RAT ซึ่งเป็นตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนชนิด α (Estrogen Receptor α ; ER α) ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเต้านม โดยมีค่า MaxTC ประมาณ 0.36 และค่า P-value 5.55×10^{-16} ซึ่งอยู่ในช่วงนัยสำคัญสูง ผลนี้ชี้ว่าสารในกลุ่มนี้อาจมีฤทธิ์ยับยั้งการจับของเอสโตรเจนกับ ER α ทำให้ลดการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านม สอดคล้องกับรายงานที่พบว่า Anthocyanidin บางชนิดสามารถยับยั้งการแสดงออกของ ER α และลดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเต้านมได้ (Kowalczyk et al., 2024: 1) ส่วนสาร 4-6 ที่สัมพันธ์กับโปรตีน ESR2_HUMAN หรือ Estrogen Receptor β (ER β) มีแนวโน้มออกฤทธิ์คล้ายกันแต่เกี่ยวข้องกับการด้านการอักเสบและการควบคุมภูมิคุ้มกันมากกว่า ซึ่งสะท้อนถึงศักยภาพของกลุ่มสารนี้ในการปรับสมดุลระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย

ในขณะที่สารในกลุ่มแอลคาลอยด์จากส่วนสกัดน้ำ (สาร 7-8) แสดงแนวโน้มการจับกับโปรตีน LOX5_RAT และ CREB1_HUMAN ตามลำดับ โดยเฉพาะ Perisbivalvine A (8) ซึ่งให้ค่า P-value 6.66×10^{-16} และค่า MaxTC 0.30 บ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญสูงกับโปรตีน CREB1 ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสมอง การสร้างความจำ และการควบคุมการอยู่รอดของเซลล์ประสาท การทำนายนี้สอดคล้องกับคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระและสารปกป้องระบบประสาท (Neuroprotective agents) ที่สามารถกระตุ้นการทำงานของยีน CREB และลดความเสียหายของเซลล์สมองได้ ส่วน Peristrophine (7) มีค่า P-value 4.44×10^{-16} และ MaxTC 0.36 สัมพันธ์กับเอนไซม์ LOX5 ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ลิพิดโคไตรอิน (Leukotrienes) ตัวกระตุ้นสำคัญของการอักเสบ แสดงถึงความเป็นไปได้ที่สารนี้จะออกฤทธิ์ลดการอักเสบ ลดความดันโลหิต และยับยั้งการเกิดมะเร็งผ่านกลไกการยับยั้ง LOX5 (Lipoxygenase inhibition)

โดยสรุป ผลการทำนายจาก SEA แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากชาเลือดมังกรทั้งในส่วนของเมทานอลและน้ำ มีแนวโน้มออกฤทธิ์ต่อโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันความเสียหายของเซลล์ การควบคุมการอักเสบ ระบบหลอดเลือด และระบบประสาท โดยมีค่าทางสถิติ (P-value) และค่าความคล้ายคลึงเชิงโครงสร้าง (MaxTC) อยู่ในระดับที่เชื่อถือได้ ซึ่งสะท้อนถึงความเป็นไปได้สูงในการออกฤทธิ์จริงในระบบชีวภาพ ผลการทำนายนี้จึงเป็นข้อมูลสำคัญในการชี้นำทิศทางการศึกษาต่อในระดับ Molecular docking และการทดสอบ *In vitro* เพื่อยืนยันกลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในชาเลือดมังกรอย่างเป็นระบบในอนาคต

ผลการทำนายเป้าหมายด้วย PharmMapper server พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลของต้นชาเลือดมังกร (ประกอบด้วย Anthocyanidin glycosides 1-6) มีแนวโน้มออกฤทธิ์สำคัญ ได้แก่ ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสัมพันธ์กับการป้องกันการอักเสบ โรคหัวใจและหลอดเลือด ตลอดจนโรคมะเร็ง โดยเฉพาะสาร 4-6 ยังแสดงศักยภาพด้านจุลินทรีย์เพิ่มเติม ขณะที่สารสกัดหยาบน้ำซึ่งประกอบด้วยแอลคาลอยด์ 7-8 แสดงศักยภาพด้านการอักเสบ ยับยั้งการรุกรานของเซลล์มะเร็ง ปกป้องเนื้อเยื่อ รวมถึงต้านมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับ T-cell อีกทั้งยังเสริมฤทธิ์ด้านเชื้อแบคทีเรีย ด้านพังผืด และขยายหลอดเลือด **ดังตารางที่ 2**

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารด้วยเซิร์ฟเวอร์ทำนายเป้าหมายเภสัชโมเดล (PharmMapper) พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลของชาเลือดมังกร ซึ่งประกอบด้วยสารกลุ่มแอนโธไซยานินไกลโคไซด์

(anthocyanidin glycosides; สารที่ 1-6) แสดงแนวโน้มการออกฤทธิ์ในหลายเส้นทางชีวภาพ โดยเฉพาะการจับกับโปรตีน Borealin, Adenosylhomocysteinase และ Nonaheme cytochrome C ซึ่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมวัฏจักรเซลล์ การสังเคราะห์โปรตีน และกระบวนการถอดรหัสในเซลล์ การจับกับโปรตีนเหล่านี้สะท้อนศักยภาพของสารในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง ซึ่งสอดคล้องกับกลไกที่ทำนายจาก SEA ที่พบว่าสารในกลุ่มนี้มีความสัมพันธ์กับโปรตีน VEGFA และ ESR (ตารางที่ 1) ผลลัพธ์จาก PharmMapper ยังแสดงว่า สารที่ 4-6 มีแนวโน้มออกฤทธิ์ต้านจุลชีพและไวรัสผ่านการจับกับเอนไซม์ Probable threonine synthase, Gag-Pol polyprotein และ NADP-dependent alcohol dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนและการคงสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ในสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้อาจส่งผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและไวรัส จึงสนับสนุนแนวคิดที่ว่าสารกลุ่มนี้มีศักยภาพต้านจุลชีพในระดับเซลล์อย่างแท้จริง

ตารางที่ 2 การทำนายเป้าหมายเภสัชโมเดลและฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบเมทานอลและน้ำ

สาร	เป้าหมาย	ฤทธิ์ทางชีวภาพ
1	Borealin	ต้านมะเร็งและควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์
	Adenosylhomocysteinase	ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านมะเร็ง และโรคหัวใจ
2-3	Nonaheme cytochrome C	ต้านแบคทีเรียบางชนิด
4-6	Probable threonine synthase	ต้านแบคทีเรียและต้านรา
	Gag-Pol polyprotein	ต้านไวรัส
	NADP-dependent alcohol dehydrogenase	ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์
	FK506-binding protein 4 (FKBP4)	ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านการอักเสบ และต้านมะเร็ง
7	Hyaluronate lyase	ต้านการอักเสบ, ต้านการรุกรานมะเร็ง, ปกป้องเนื้อเยื่อ
	Protein unc-45 homolog A	ต้านมะเร็ง, ต้านการแพร่กระจายของเซลล์, ควบคุมการเคลื่อนที่ของเซลล์
8	Thymocyte selection-TOX	ต้านมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับ T-cell
	Protein translocase subunit SecA	ต้านเชื้อแบคทีเรีย
	Rho-associated protein kinase 2	ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านการอักเสบ, ต้านพังผืด, ขยายหลอดเลือด

ขณะที่สารจากส่วนสกัดน้ำ (สาร 7-8) ซึ่งอยู่ในกลุ่มแอลคาลอยด์ แสดงแนวโน้มออกฤทธิ์ที่สอดคล้องกับผลการคัดกรองจาก SEA เช่นเดียวกัน โดย PharmMapper ทำนายว่ามีความสัมพันธ์กับโปรตีน Hyaluronate lyase, Protein unc-45 homolog A และ Rho-associated protein kinase 2 ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ และการควบคุมการเคลื่อนที่ของเซลล์ ผลนี้ชี้ว่ากลุ่มสารแอลคาลอยด์จากชาเล็ดม้งกรอาจช่วยลดการอักเสบ ยับยั้งการรุกรานของเซลล์มะเร็ง และป้องกันการเกิดพังผืดในร่างกายได้ นอกจากนี้ การจับกับโปรตีน Thymocyte selection-TOX และ Protein translocase subunit Sec A ยังสะท้อนถึงความสามารถของสาร Perisbivalvine A (สารที่ 8) ในการยับยั้งกระบวนการคัดเลือกเซลล์ T และกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่พบจากการทำนายของ SEA ที่แสดงแนวโน้มการยับยั้งโปรตีน LOX5 และ CREB1 ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและการควบคุมระบบประสาท

ค่าความเหมาะสม (Fit score) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย PharmMapper แสดงถึงระดับการเข้ากันของโครงสร้างโมเลกุลของสารกับโมเดลฟาร์มาโคฟอร์ในฐานข้อมูล โดยค่า Fit score ที่สูงสะท้อนถึงความน่าจะเป็นมากที่โมเลกุลจะจับกับโปรตีนเป้าหมายที่คาดการณ์ไว้ ในการศึกษาพบว่าสารกลุ่มแอนโธไซยานินดินและแอลคาลอยด์มีค่า Fit score อยู่ในระดับสูงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งยืนยันว่าการทำนายด้วย SEA และ PharmMapper มีความสอดคล้องกันในเชิงโครงสร้างและกลไกการออกฤทธิ์

ตารางที่ 3 การทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาดเมฆทานอลและน้ำโดยใช้พาส

สาร	Pa	คำอธิบาย	ฤทธิ์ทางชีวภาพ
1	0.929	Membrane integrity agonist	การต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ
	0.920	Free radical scavenger	ต้านอนุมูลอิสระ
2-3	0.962	Membrane integrity agonist	การต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ
	0.931	HIF1A expression inhibitor	การต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็ง
4-6	0.923	Membrane integrity agonist	การต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ
	0.903	Histidine kinase inhibitor	ต้านแบคทีเรีย
7	0.803	Antineoplastic	ต้านมะเร็ง ต้านเนื้องอก
	0.780	Gluconate 2-dehydrogenase (acceptor) inhibitor	ต้านเนื้องอก
8	0.798	Membrane integrity agonist	การต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ
	0.729	Histamine release inhibitor	ต้านการอักเสบและลดอาการแพ้

เมื่อเปรียบเทียบผลการคัดกรองด้วย PASS (ตารางที่ 3) พบว่าสารกลุ่มแอนโธไซยานินดิน (1-6) ให้ค่าความน่าจะเป็นของการออกฤทธิ์ (Pa) สูงกว่า 0.90 ซึ่งอยู่ในระดับที่มีแนวโน้มเกิดฤทธิ์ทางชีวภาพสูง โดยเฉพาะกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการคงสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ การกำจัดอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์ Histidine kinase ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและการติดเชื้อแบคทีเรีย ผลนี้สอดคล้องกับค่าการจับของโปรตีนเป้าหมายจาก PharmMapper ที่แสดงแนวโน้มต้านแบคทีเรียและต้านอักเสบเช่นเดียวกัน นอกจากนี้สารบางชนิดในกลุ่มนี้ยังมีค่า Pa สูงต่อการยับยั้งการแสดงออกของ HIF-1 α ซึ่งสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยการยับยั้งการสร้างหลอดเลือดในเนื้องอกอีกด้วย

สำหรับสารกลุ่มแอลคาลอยด์ (7-8) ที่พบในส่วนสกัดน้ำ ให้ค่า Pa อยู่ในช่วง 0.78–0.80 สำหรับฤทธิ์ Antineoplastic และการยับยั้งเอนไซม์ Gluconate 2-dehydrogenase (Acceptor) รวมถึงฤทธิ์ป้องกันเยื่อเมือกและยับยั้งการปล่อยฮิสตามีนซึ่งแปลว่ามีแนวโน้มสูงในการลดการอักเสบและบรรเทาอาการแพ้ ผลเหล่านี้สนับสนุนกลไกที่ทำนายจาก SEA ว่าสารกลุ่มแอลคาลอยด์อาจทำหน้าที่ปกป้องระบบประสาทและลดการอักเสบในระดับเซลล์ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของ CREB1 และ LOX5 ที่พบจากการทำนายก่อนหน้านี้

จากผลการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ทั้งสามระบบ ได้แก่ SEA, PharmMapper และ PASS สามารถสรุปได้ว่าสารสำคัญจากชาเล็ดม้งมีแนวโน้มสูงที่จะออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง และลดความเสี่ยงโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือด ซึ่งกลไกหลักที่คาดการณ์ได้จากแบบจำลองคอมพิวเตอร์นั้นเกี่ยวข้องกับการยับยั้งโปรตีนกลุ่ม VEGFA, LOX5 และ ESR รวมถึงการกระตุ้นโปรตีน CREB1 ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันความเสียหายของเซลล์ประสาท อย่างไรก็ตาม ผลการทำนายเชิงคอมพิวเตอร์จำเป็นต้องได้รับการสนับสนุนด้วยข้อมูลเชิงทดลองที่สามารถยืนยันศักยภาพในการออกฤทธิ์จริงของสารในพืชชนิดนี้ การวัด

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจึงมีบทบาทสำคัญในฐานะการทดสอบเบื้องต้นที่ช่วยยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นกลุ่มของสารธรรมชาติที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) เชื่อมกับวงแหวนเบนซีน ซึ่งสามารถบริจาคอิเล็กตรอนให้แก่อนุมูลอิสระได้โดยตรง จึงทำหน้าที่เป็นตัวลดที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำให้อนุมูลอิสระที่มีพลังงานสูงกลายเป็นโมเลกุลที่มีเสถียรภาพ ป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระเหล่านั้นเข้าไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีน หรือกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์ กลไกนี้สอดคล้องกับการทำนายจาก SEA และ PASS ที่ระบุว่าสารกลุ่ม Anthocyanidin glycosides และ Polyphenolic compounds จากส่วนสกัดเมทานอลมีแนวโน้มออกฤทธิ์เป็น Free radical scavenger และ Membrane protector ซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin–Ciocalteu จึงถือเป็นขั้นตอนสำคัญในการตรวจสอบศักยภาพทางเคมีของสารสกัด เนื่องจากปริมาณสารฟีนอลิกมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกหลักที่ช่วยลดความเสี่ยงการเกิดโรคเรื้อรัง โดยเฉพาะโรคหัวใจและหลอดเลือด และโรคมะเร็ง สารฟีนอลิกสามารถยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุของการแข็งตัวของหลอดเลือด รวมถึงยับยั้งการแสดงออกของเอนไซม์ที่ก่อการอักเสบ เช่น COX-2 และ LOX5 ซึ่งเป็นกลไกที่พบในการทำนายจาก SEA และ PharmMapper เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ สารฟีนอลิกยังมีบทบาทในการยับยั้งการส่งสัญญาณของยีน VEGFA และ HIF-1 α ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ในเนื้องอก การยับยั้งกระบวนการนี้จึงมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงในการพัฒนาและแพร่กระจายของมะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดชนิดต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ส่วนสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)
ใบชาเล็ดม้งกร	เฮกเซน	0.31 $\pm$ 0.02
	ไดคลอโรมีเทน	50.77 $\pm$ 2.56
	เมทานอล	29.00 $\pm$ 4.36
	น้ำ	58.98 $\pm$ 19.73
ใบสดของต้นชาเล็ดม้งกร	เฮกเซน	0.31 $\pm$ 0.02
	ไดคลอโรมีเทน	28.66 $\pm$ 4.13
	เมทานอล	17.50 $\pm$ 7.83
	น้ำ	50.23 $\pm$ 4.41

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด (ตารางที่ 4) ตามวิธีของ Wairata et al. (2022: 2) แสดงว่าสารสกัดหยาบน้ำของใบชาเล็ดม้งกรและใบของต้นชาเล็ดม้งกรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 58.98 $\pm$ 19.73 และ 50.23 $\pm$ 4.41 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารประกอบที่ละลายน้ำได้มีบทบาทสำคัญต่อการสะสมของสารในกลุ่มฟีนอลิกในพืชชนิดนี้ ขณะที่สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนของใบของต้นชาเล็ดม้งกรมีค่าปริมาณฟีนอลิกรวมใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบน้ำ ส่วนสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนของใบชาเล็ดม้งกรให้ค่าปริมาณใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบเมทานอลของทั้งสองชนิด โดยสารสกัดหยาบเฮกเซนจากใบชาเล็ดม้งกรและใบของต้นชาเล็ดม้งกรให้ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุดเท่ากันที่ 0.31 $\pm$ 0.02 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งสะท้อนว่า

สารออกฤทธิ์ส่วนใหญ่ในพืชชนิดนี้เป็นสารที่มีขั้ว (Polar compounds) เช่น ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากกว่าสารไม่มีขั้ว

ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของผลการวิเคราะห์พบว่ามีความแตกต่างค่อนข้างมากในบางตัวอย่าง โดยเฉพาะในสารสกัดหยาบน้ำของใบชาเล็ดมังกร ซึ่งอาจเกิดจากลักษณะทางธรรมชาติของตัวอย่างและความแปรผันในการชั่งน้ำหนักและการวิเคราะห์ในระดับมิลลิกรัม ซึ่งเป็นหน่วยที่มีความละเอียดสูง จึงมีโอกาสเกิดความคลาดเคลื่อนระหว่างซ้ำได้ง่าย โดยเฉพาะเมื่อสารสกัดมีความหนืดหรือดูดความชื้นได้ง่าย การเก็บตัวอย่างและขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างอาจส่งผลต่อค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ ส่งผลให้ SD มีค่าค่อนข้างกว้าง อย่างไรก็ตาม แม้จะมีความแปรปรวนในระดับตัวเลข แต่แนวโน้มของข้อมูลยังคงแสดงผลที่ชัดเจนว่าสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายขั้วสูงให้ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมมากกว่าสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายไม่มีขั้ว

สรุปผลการวิจัย

การทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบที่พบในส่วนสกัดหยาบเมทานอลและน้ำจากใบชาเล็ดมังกรและใบของต้นชาเล็ดมังกรโดยใช้เทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ พบว่าสารในกลุ่ม Anthocyanidin glycosides จากส่วนสกัดเมทานอลมีศักยภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ด้านมะเร็ง และด้านจุลชีพ ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติของสารในกลุ่มโพลีฟีนอลิกที่มีรายงานว่าสามารถให้อิเล็กตรอนและยับยั้งกระบวนการเกิดออกซิเดชันในระดับเซลล์ได้ ขณะที่สารในกลุ่ม Alkaloids จากส่วนสกัดน้ำแสดงแนวโน้มฤทธิ์ Antineoplastic (ต้านมะเร็ง), ด้านการอักเสบ, ปกป้องเยื่อเมือก, ลดอาการแพ้ และต้านแบคทีเรีย อีกทั้งยังพบความเป็นไปได้ของการออกฤทธิ์ปกป้องระบบประสาท (Neuroprotective activity) ผ่านการจับกับโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณของเซลล์ประสาท เช่น CREB1 ผลการวิเคราะห์ด้วยเซิร์ฟเวอร์ PharmMapper และ PASS แสดงความสอดคล้องกับการคาดการณ์จาก SEA โดยชี้ว่าสารบางชนิดสามารถยับยั้งการทำงานของโปรตีน HIF-1 α , เอนไซม์ Histidine kinase และเอนไซม์ Gluconate 2-dehydrogenase (Acceptor) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกลไกการสร้างหลอดเลือด การอักเสบ และการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง แสดงถึงศักยภาพของสารเหล่านี้ในฐานะสารต้านมะเร็ง ด้านจุลชีพ และต้านอนุมูลอิสระ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมสนับสนุนแนวโน้มดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าสารสกัดหยาบน้ำและเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายไม่มีขั้วอย่างเฮกเซนหรือไดคลอโรมีเทน ซึ่งบ่งชี้ว่าสารออกฤทธิ์หลักของชาเล็ดมังกรเป็นสารที่มีขั้ว เช่น โพลีฟีนอลและแอนโธไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการต่อต้านกระบวนการเกิดออกซิเดชันของไขมันและโปรตีนในร่างกาย ลดการสะสมของอนุมูลอิสระ และชะลอความเสื่อมของเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด รวมถึงโรคมะเร็ง การที่สารสกัดที่ให้ค่าฟีนอลิกสูงยังเป็นสารที่ระบบคอมพิวเตอร์ทำนายว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านอักเสบสูง จึงสะท้อนถึงความสอดคล้องระหว่างข้อมูลเชิงเคมีและข้อมูลเชิงทำนายทางชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเชื่อมโยงผลการวิเคราะห์ทางเคมีกับผลการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ จะเห็นได้ว่าการใช้เทคนิคการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์ร่วมกับการทดสอบเชิงเคมี เป็นแนวทางที่มีศักยภาพสูงในการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชสมุนไพรอย่างมีประสิทธิภาพ เทคนิคนี้ช่วยให้สามารถทำนายเป้าหมายทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ได้อย่างแม่นยำก่อนการทดสอบทางชีวภาพจริง ซึ่งช่วยลดเวลาและค่าใช้จ่ายในการวิจัย พร้อมทั้งขึ้นการออกแบบการทดลองในลำดับต่อไป เช่น การจำลองการจับระดับโมเลกุล (molecular docking) หรือการทดสอบฤทธิ์ *in vitro* เพื่อยืนยันผลที่ทำนายไว้ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าชาเล็ดมังกรเป็นแหล่งของสาร

ธรรมชาติที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านอนุมูลอิสระและด้านมะเร็งในอนาคต อีกทั้งยังแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการบูรณาการระหว่างวิธีการคัดกรองเชิงคอมพิวเตอร์และการวิเคราะห์เชิงเคมีในการวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพและน่าเชื่อถือ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566

เอกสารอ้างอิง

- วัชร วัชรจริยกุล, พิมใจ สุวรรณวงศ์, อุดม เครือวัลย์, เตือนเต็ม ทองเผือก และจุริเชช ปราชญากุล. (2564). การทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่ได้จากกล้วยไม้สกุลสิงโตโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์. *การประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 4 พ.ศ. 2564 (NIRC IV 2021)* (น. 584-591). บุรีรัมย์: มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.
- สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน). (2565). *ชาเลื้อดมังกรสีส้มพรรณพฤษชา*. สืบค้น 12 สิงหาคม 2568, จาก <https://www.hrdi.or.th/articles/Detail/1530>
- Akram, M., Patt, M., Kaserer, T., Temml, V., Waratchareeyakul, W., Kratschmar, D. V., ... Schuster, D. (2019). Identification of the fungicide epoxiconazole by virtual screening and biological assessment as inhibitor of human 11 β -hydroxylase and aldosterone synthase. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 192, 1-13. (Article 105358). doi: 10.1016/j.jsbmb. 2019.04.007
- Akram, M., Waratchareeyakul, W., Hauptenthal, J., Hartmann, R. W., & Schuster D. (2017). Pharmacophore modeling and *in silico/in vitro* screening for human cytochrome P450 11B1 & cytochrome P450 11B2 inhibitors. *Frontiers in Chemistry*, 5, 1-14. (Article 104) doi: 10.3389/fchem.2017.00104
- Aluko, E. O., Adejumobi, O. A., & Fasanmade, A. A. (2019). *Peristrophe roxburghiana* leaf extracts exhibited anti-hypertensive and anti-lipidemic properties in L-NAME hypertensive rats. *Life Sciences*, 234, 1-17. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116753
- Benfenati, E., Gini, G., Hoffmann, S., & Luttik, R. (2010). Comparing *in vivo*, *in vitro* and *in silico* methods and integrated strategies for chemical assessment: problems and prospects. *Alternatives to laboratory animals*, 38(2), 153-166. doi: 10.1177/026119291003800201
- Karlsen, A., Retterstøl, L., Laake, P., Paur, I., Kjølrsrud-Bøhn, S., Sandvik, L., & Blomhoff, R. (2007). Anthocyanins inhibit nuclear Factor- κ B activation in monocytes and reduce plasma concentrations of Pro-Inflammatory mediators in healthy adults, 3. *The Journal of nutrition*, 137(8), 1951-1954. doi: 10.1093/jn/137.8.1951

- Keiser, M. J., Roth, B. L., Armbruster, B. N., Ernsberger, P., Irwin, J. J. & Shoichet, B. K. (2007). Relating protein pharmacology by ligand chemistry. *Nature biotechnology*, 25(2), 197-206.
- Khue, D. B., Mai, D. S., Tuan, P. M., Oanh, D. T. B., & Van, L. T. H. (2014). *Peristrophe roxburghiana*-a review. *Ann. Food Sci. Technol*, 15, 1-9.
- Kowalczyk, T., Muskała, M., Merecz-Sadowska, A., Sikora, J., Picot, L., & Sitarek, P. (2024). Anti-inflammatory and anticancer effects of anthocyanins in *in vitro* and *in vivo* studies. *Antioxidants*, 13(9), 1-35 (Article 1143) doi: 10.3390/antiox13091143
- Lagunin, A., Stepanchikova, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. (2000). PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics*, 16(8), 747-748. doi: 10.1093/bioinformatics/16.8.747
- Liu, X., Ouyang, S., Yu, B., Liu, Y., Huang, K., Gong, J., ... Jiang, H. (2010). PharmMapper server: a web server for potential drug target identification using pharmacophore mapping approach. *Nucleic acids research*, 38, W609-W614. doi: 10.1093/nar/gkq300
- Ma, Z., Du, B., Li, J., Yang, Y., & Zhu, F. (2021). An insight into anti-inflammatory activities and inflammation related diseases of anthocyanins: A review of both *in vivo* and *in vitro* investigations. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 1-17. (Article 11076) doi: 10.3390/ijms222011076
- Oguzie, C. K., Ichetaonye, S. I., Ajekwene, K. K., Yibowei, M. E., Ulaeto, S. B., Khan, I., ... Asiri, A. M. (2021). *Vegetable Fiber Composites and their Technological Applications*. Singapore: Springer.
- Quan, N. V., Khang, D. T., Dep, L. T., Minh, T. N., Nobukazu, N., & Xuan, T. D. (2016). The potential use of a food-dyeing plant *Peristrophe bivalvis* (L.) Merr. Northern Vietnam. *Int.J. Pharm. Phytopharmacol. Eth*, 4, 14-26. doi: 10.18052/www.scipress.com/IJPPE.4.14
- Rudik, A. V., Pogodin, P. V., Lagunin, A. A., Filimonov, D. A., & Poroikov, V. V. (2025). MetaPASS 2024: visualization of biological activity spectra of organic compounds taking into account their biotransformation. *Biomedical Chemistry: Research and Methods*, 8(2), 1-8. (Article e00243) doi: 10.18097/BMCRM00243
- Tanavade, S. S., Naikwade, N. S., & Chougule, D. D. (2012). Antimicrobial activity of ethanolic extracts of leaves and stems of *Peristrophe bivalvis* Merrill. *International Journal of Biomedical Research*, 2, 106-108.
- Tani, N. (2013). *Cytochrome P450-selective prodrugs and inhibitors*. Kuopio: University of Eastern Finland.
- Thuy, T. T., Lam, T. H., Thanh Huong, N. T., Hong Nhung, L. T., Ninh, P. T., Hoang Anh, N. T., ... Sung, T. V. (2012). Natural phenoxazine alkaloids from *Peristrophe bivalvis* (L.) Merr. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44, 205-207. doi: 10.1016/j.bse.2012.05.009

- Wairata, J., Fadlan, A., Purnomo, A. S., Taher, M., & Ersam, T. (2022). Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant, antidiabetic and antiplasmodial activities of *Garcinia forbesii* King: A correlation study. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(2), 103541. doi: 10.1016/j.arabjc.2021.103541
- Wang, X., Pan, C., Gong, J., Liu, X., & Li, H. (2016). Enhancing the enrichment of pharmacophore-based target prediction for the polypharmacological profiles of drugs. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 56(6), 1175-1183. doi: 10.1021/acs.jcim.5b00690
- Wang, X., Shen, Y., Wang, S., Li, S., Zhang, W., Liu, X., ... Li, H. (2017). PharmMapper 2017 update: a web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database. *Nucleic acids research*, 45, W356-W360. doi: 10.1093/nar/gkx374
- Yang, Z., Zhang, Y. H., Yao, X. Q., Gao, W. Y., & Jin, X. H. (2012). Anti-inflammatory activity of chemical constituents isolated from *Peristrophe roxburghiana*. *Lat Am J Pharm*, 31(9), 1279-1284.