



การสำรวจกระบวนการทางชีวภาพระดับโมเลกุลของสารแคนนาบินอยด์ โดยการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันนัลโมดูล

A Survey on Molecular Biological Processes of Cannabinoids by Functional Module-Based Network Analysis

ธนบูลย์ ใจดี และ พิทักษ์ สุตรอนันต์

Tanaboon Jaidee and Pitak Sootanan*

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Biochemistry Department, Faculty of Science, Burapha University

Received : 4 April 2021

Revised : 26 May 2021

Accepted : 25 July 2021

บทคัดย่อ

แคนนาบินอยด์ (Cannabinoids) เป็นกลุ่มสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่หลายชนิดในพืชสกุลแคนนาบิส (Cannabis) สารออกฤทธิ์ที่สำคัญและศึกษากันมากในทางการแพทย์มีสองชนิด ได้แก่ ซีบีดี (Cannabidiol, CBD) และ ทีเอชซี (Δ^9 -Tetrahydrocannabinol, THC) การศึกษากลไกการทำงานระดับโมเลกุลของสารแคนนาบินอยด์โดยอาศัยข้อมูลที่ได้มีการศึกษามาก่อนหน้านี้เป็นการช่วยลดเวลาและรายจ่าย วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายเพื่อทำการสำรวจกระบวนการทางชีวภาพระดับโมเลกุลของสาร CBD และ THC โดยการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันนัลโมดูล ภายในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนที่ได้จากฐานข้อมูลสาธารณะ โดยอาศัยเครื่องมือและกระบวนการทางชีวสารสนเทศที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์เครือข่ายทางชีวภาพ ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนของสาร CBD และ THC มีคุณสมบัติของการเป็นเครือข่ายทางชีวภาพที่สามารถใช้ในการวิเคราะห์ฟังก์ชันนัลโมดูลได้ เมื่อทำการแปลผลทางชีวภาพของฟังก์ชันนัลโมดูล พบว่า 5 โมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ผ่านวิถีสัญญาณ การเปลี่ยนแปลงของระดับแคลเซียมภายในเซลล์ โปรตีนโครงสร้างของผิวหนัง และเมแทบอลิซึมของยา สำหรับ 8 โมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายของสาร THC เกี่ยวข้องกับการสร้างเซลล์ประสาท ระบบประสาท การทำงานของสมอง การรับรู้ อารมณ์ การกระตุ้นความอยากอาหาร เมแทบอลิซึมของยา การตายของเซลล์ และการควบคุมเชิงบวกต่อการถอดรหัสของยีน ซึ่งการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันนัลโมดูลจากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนของสาร CBD และ THC ได้แสดงข้อมูลโปรตีนเป้าหมายและเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนที่เกี่ยวข้องซึ่งสามารถนำมาใช้ทดสอบเพื่อยืนยันผลในระดับห้องปฏิบัติการต่อไป

คำสำคัญ : การวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันนัลโมดูล ; แคนนาบินอยด์ ; ซีบีดี ; ทีเอชซี ; แคนนาบิส



Abstract

Cannabinoids are a group of bioactive compounds found in the genus cannabis. There are two important and well-studied bioactive compounds in medicine: CBD (Cannabidiol) and THC (Δ^9 -Tetrahydrocannabinol). Using available data of the molecular mechanisms studies of cannabinoids can reduce time and costs, further *in silico* analysis of these compounds. The objective of this research was to explore the molecular biological processes of CBD and THC with functional module-based network analysis within the protein interaction network obtained from public databases by relying on bioinformatics tools and processes involved in the analysis of biological networks. The results showed that both CBD and THC networks are biological networks that can be analyzed by functional modules. When interpreting the biological effects of functional modules, 5 modules containing the CBD-targeting proteins which were involved in the mechanism of action via signal pathways, affecting the changes in calcium levels, relating to the structural proteins of the skin and drug metabolism. Functional interpretation for 8 modules containing THC-targeting proteins include the neuron formation involved in the nervous system, brain function, perception, emotion, endocrine, including stimulating appetite, response to psychoactive, drug metabolism, cell death and positive regulation of gene transcription. In summary, functional module-based network analysis of the protein interaction network of CBD and THC, the target proteins and associated protein interaction networks can be conducted, which can lead to further selection and testing for validating by *in vitro* laboratory.

Keywords : functional module-based network analysis ; cannabinoids ; CBD ; THC ; cannabis



บทนำ

แคนนาบิส (Cannabis) เป็นพืชในวงศ์แคนนาบิเดเชีย (Cannabidaceae) ที่ประกอบไปด้วย 3 สายพันธุ์ที่พบบ่อย ได้แก่ *Cannabis sativa* Linnaeus, *Cannabis indica* Lamarck และ *Cannabis ruderalis* Janisch พืชสกุลแคนนาบิสจัดเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางการแพทย์ จึงถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอดีต (Bridgeman and Abazia, 2017; Izzo *et al.*, 2009) และในปัจจุบันได้เปิดโอกาสให้ประชาชนใช้กัญชาเพื่อประโยชน์ในการรักษาโรค และประโยชน์ในการศึกษาวิจัยทางการแพทย์ได้ ภายใต้คำแนะนำของแพทย์ผู้ได้รับอนุญาตเพื่อให้ถูกต้องตามหลักวิชาการ และเพื่อสร้างความมั่นคงทางด้านยาของประเทศ และป้องกันไม่ให้เกิดการผูกขาดทางด้านยา จึงทำให้พืชสกุลแคนนาบิส หรือกัญชากลับมาอยู่ในความสนใจเพื่อเป็นความหวังใหม่ของการประยุกต์ทางการแพทย์อีกครั้ง สำหรับนำมาใช้เป็นยาบำบัด และรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท กล้ามเนื้อ การอักเสบ และมะเร็ง เป็นต้น (Pellati *et al.*, 2018; Bridgeman and Abazia, 2017; Śledziński *et al.*, 2017; Izzo *et al.*, 2009)

กัญชา หรือ *C. sativa* L. เป็นพืชที่ผลิตสารประกอบธรรมชาติมากกว่า 750 ชนิด จัดอยู่ในกลุ่มโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ได้แก่ เทอร์พีน (Terpene), คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate), กรดไขมัน (Fatty acid), เอสเทอร์ (Ester), เอมีน (Amine), เอไมด์ (Amide), ไฟโตสเตอรอล (Phytosterols), สารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) เป็นต้น และสารออกฤทธิ์สำคัญที่พบได้เฉพาะในกัญชาหรือพืชสกุลแคนนาบิส คือ สารประกอบแคนนาบินอยด์ (Cannabinoid) ที่ถูกจำแนกได้มากกว่า 100 ชนิด โดยสารแคนนาบินอยด์ที่สำคัญ ใช้ในการวิจัยและพัฒนา การรักษาทางการแพทย์จะมีอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ แคนนาบิไดโอด หรือซีบีดี (Cannabidiol, CBD) (Pellati *et al.*, 2018; Hartsel *et al.*, 2016) และ เตลต้าไนน์-เตตราไฮโดรแคนนาบินอล หรือทีเอชซี (Δ^9 -Tetrahydrocannabinol, THC) (Śledziński *et al.*, 2017)

CBD เป็นสารแคนนาบินอยด์ที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท (Nonpsychoactive cannabinoid) โดยอาศัยการเข้าจับกับโปรตีนตัวรับในระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ Cannabinoids receptor 2 (CNR2), Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1) และ Orphan G-protein coupled receptor 55 (GPR55) เป็นต้น ที่ส่งผลต่อการผลิต พรอสตาแกลนดิน (Prostaglandins) อนุมูลอิสระออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และไซโตไคน์ (Cytokines) สาร CBD จึงเป็นเป้าหมายของการศึกษาและวิจัยทางการแพทย์ในบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการลดและยับยั้งภาวะความเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress), การอักเสบ (Inflammation) และ มะเร็ง (Cancer) (Pellati *et al.*, 2018; Śledziński *et al.*, 2017; Izzo *et al.*, 2009) สำหรับ THC เป็นสารแคนนาบินอยด์ที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท (Psychoactive cannabinoid) โดยออกฤทธิ์ด้วยการเข้าจับกับตัวรับแคนนาบินอยด์ (Cannabinoid receptor) ที่พบอยู่ 2 กลุ่มหลักคือ (Cannabinoids receptor 1) CNR1 ที่พบมากในระบบประสาทส่วนกลาง (Central nervous system) และ CNR2 ที่พบในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Zou and Kumar, 2018; Thomas, 2017) การใช้สารสกัดหรือน้ำมันกัญชาในการบำบัดรักษาโรค จึงต้องคำนึงถึงผลข้างเคียงที่สามารถเกิดขึ้นได้จากสาร THC ที่เป็นองค์ประกอบร่วมและมีสัดส่วนที่สูงกว่าสาร CBD (Volkow *et al.*, 2014; Izzo *et al.*, 2009)

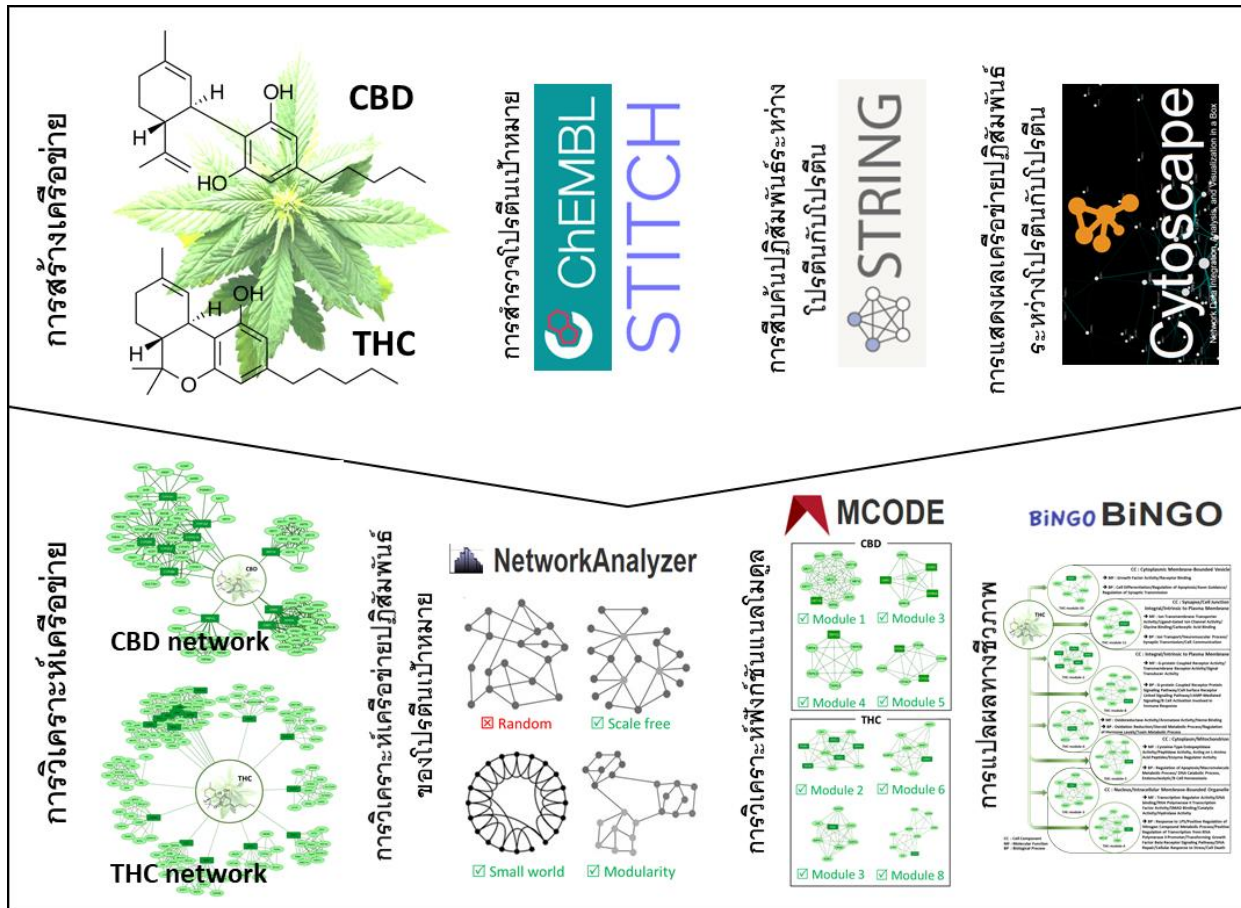


การตรวจสอบกระบวนการทางชีวภาพในระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของสารแคนนาบินอยด์จากัญชานอกจากการตรวจสอบจากการอ่านบทความวิจัยหรือบทความปริทัศน์ (Sulcova, 2019) ยังสามารถวิเคราะห์ได้จากข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารออกฤทธิ์กับโปรตีนเป้าหมาย (Chemical-protein interactions) และข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีน (Protein-protein interactions) โดยอาศัยการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันนัลโมดูล (Functional module-based network analysis) จากตัวอย่างการศึกษาการออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบของสารเคอร์คิวมิน (Curcumin) ของขมิ้นชัน (Gan *et al.*, 2015) การศึกษากลไกทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการอักเสบของสารฟูโคแซนทีน (Fucoxanthine) และซาร์กาโคมินอล (Sargachomenol) จากสาหร่ายสีน้ำตาล (Sornsiri *et al.*, 2018) และ การสำรวจกลไกการยับยั้งการอักเสบของสารออกฤทธิ์ 5 ชนิด ได้แก่ อาพิจีนิน (Apigenin), ไฟเซทิน (Fisetin), แคมพ์เฟอร์อล (Kaempferol), เควอเซทิน (Quercetin) และ ไอโซรามาเนทิน (Isorhamnetin) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญจากหัวหอม (Sornsiri and Sootanan, 2020) เป็นต้น โดยตัวอย่างของผลการศึกษาข้างต้นจะทำให้เห็นข้อมูลและรายละเอียดของความสัมพันธ์ของการออกฤทธิ์ในรูปแบบของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนที่มีกับสารออกฤทธิ์แคนนาบินอยด์ ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการประยุกต์สำหรับการศึกษาในระดับถัดไป

ในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาระบบการทางชีวภาพในระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของสาร CBD และ THC ซึ่งเป็นสารสำคัญของสารแคนนาบินอยด์ที่พบเป็นปริมาณมากจากพืชัญชาและนิยมนำมาประยุกต์ทางการแพทย์ มาสืบค้นข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนที่เก็บและรวบรวมไว้ในฐานข้อมูลออนไลน์ ได้แก่ STITCH (Szklarczyk, *et al.*, 2016), ChEMBL (Davies, *et al.*, 2015) และ STRING (Szklarczyk, 2019) มาใช้ในการสร้างและวิเคราะห์เครือข่ายทางชีวภาพด้วยโปรแกรม Cytoscape (Shannon, *et al.*, 2003) แล้วนำมาวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันนัลโมดูล ซึ่งจะช่วยให้ทราบถึงกระบวนการทางชีวภาพระดับโมเลกุลของสาร CBD และ THC ที่ช่วยให้ผู้วิจัยได้มีโอกาสตรวจสอบ และช่วยในการตัดสินใจเพื่อการศึกษาหรือการวิจัยทางห้องปฏิบัติการในระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องต่อไปได้

วิธีดำเนินการวิจัย

การสร้างเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของสารออกฤทธิ์ CBD และ THC ซึ่งเป็นสารสำคัญในกลุ่มสารแคนนาบินอยด์จากัญชา เพื่อทำนายบทบาทและกระบวนการทางชีวภาพระดับโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ โดยการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันนัลโมดูล ภาพรวมของวิธีการทดลองแสดงดังภาพที่ 1 และรายละเอียดของวิธีการทดลองในแต่ละขั้นตอนจะแสดงในเนื้อหาต่อไป



ภาพที่ 1 ภาพรวมวิธีการทดลองการสำรวจกระบวนการทางชีวภาพระดับโมเลกุลของสารแคนนาบินอยด์จากพืชกัญชาโดยการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันโมดูล

1. การสำรวจโปรตีนเป้าหมาย

การสำรวจโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC จะอาศัยข้อมูลโครงสร้างของสารในรูปแบบไฟล์ SMILES (Simplified molecular-input line-entry system) โดยมีรายละเอียดของไฟล์ SMILES ดังนี้

CBD : (C=C(C)[C@@H]1CCC(C)=C[C@H]1c1c(O)cc(CCCC)cc1O)

THC : (CCCCc1cc(O)c2c(c1)OC(C)(C)[C@@H]1CCC(C)=C[C@H]21)

ไฟล์ SMILES ของสาร CBD และ THC ข้างต้น เป็นข้อมูลโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ที่จะนำมาใช้ในการสืบค้นข้อมูลโปรตีนเป้าหมายจากฐานข้อมูลสารธรรมชาติสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับสารออกฤทธิ์ โดยในการวิจัยนี้จะสืบค้นข้อมูลจากฐานข้อมูล ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>, Davies *et al.*, 2015) และ STITCH (<http://stitch.embl.de/>, Szklarczyk *et al.*, 2016) ซึ่งเป็นฐานข้อมูลที่รวบรวมข้อมูลสารออกฤทธิ์ และมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเป้าหมายที่รวบรวมได้

จากบทความวิจัย และข้อมูลจากห้องปฏิบัติการ จากนั้นจะคัดเลือกให้เหลือเฉพาะโปรตีนเป้าหมายที่พบในมนุษย์ (*Homo sapiens*) แล้วจัดเก็บข้อมูล Protein symbol และลำดับกรดอะมิโนเพื่อนำไปใช้ในการสืบค้นข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีนของโปรตีนเป้าหมายในขั้นตอนต่อไป

2. การสืบค้นปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีน

จากข้อมูลลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC จะนำมาสืบค้นข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีนด้วยฐานข้อมูลสาธารณะ STRING (<http://stitch.embl.de/>, Szklarczyk *et al.*, 2019) ซึ่งเป็นฐานข้อมูลที่มีการจัดเก็บข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีนจากบทความวิจัย ข้อมูลจากการทำปฏิบัติการ และการแปลผลความสัมพันธ์ระดับจีโนม โดยจะคัดเลือกข้อมูลทุกรูปแบบของข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีนที่ประกอบไปด้วยการตรวจสอบระดับจีโนม ผลการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ และข้อมูลจากการทำ data mining ของบทความวิจัย เป็นต้น กำหนดสิ่งมีชีวิตภายใต้การสืบค้นเป็น *Homo sapiens* พร้อมกำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ระดับ 0.7 ซึ่งเป็นค่า cut-off ในระดับ High confidence สำหรับการกำหนดค่าความเชื่อมั่นเพื่อให้สามารถตรวจพบข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่เหมาะสม (Sornsiri and Sootanan, 2020; Sornsiri *et al.*, 2018) ทำการจัดเก็บข้อมูลและรวบรวมข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีน ก่อนจะนำไปแสดงผลเครือข่ายและวิเคราะห์เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC ในขั้นตอนต่อไป

3. การวิเคราะห์เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC

จากข้อมูลปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC จะนำมาแสดงผลเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมายด้วยโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) ซึ่งเป็นโปรแกรมที่ใช้สำหรับการแสดงผลเครือข่ายทางชีวภาพ แล้วทำการ Import ข้อมูลโปรตีนเป้าหมายและโปรตีนที่มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเป้าหมายเพื่อเป็นการระบุข้อมูลลงในเครือข่าย ก่อนทำการคัดกรองและรวมข้อมูลปฏิสัมพันธ์ด้วย Advanced network merge แล้วทำการวิเคราะห์พฤติกรรมเครือข่ายด้วย Network Analyzer ที่มีอยู่ในโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) ซึ่งจะทำการทดสอบแบบ Treat the network as undirected ซึ่งจะทำได้ผลคุณสมบัติแบบ Topological ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสารออกฤทธิ์ CBD และ THC เพื่อใช้ในการทำความเข้าใจลักษณะการเป็นเครือข่ายทางชีวภาพ

4. การวิเคราะห์ฟังก์ชันโมดูลจากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC

ข้อมูลเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC จะถูกนำมาวิเคราะห์ฟังก์ชันโมดูลเพื่อค้นหาโมดูลหรือเครือข่ายย่อยที่มีการเชื่อมต่อกันอย่างหนาแน่นภายในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนที่อาจเป็นตัวแทนของโมดูลเชิงซ้อนหรือเป็นส่วนหนึ่งของวิถีทางเมแทบอลิซึมที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวภาพระดับโมเลกุล โดยอาศัยโปรแกรม MCODE (Molecular Complex Detection, Bader and Hogue, 2003) ซึ่งเป็นโปรแกรม plugin ภายในโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) โดยจะกำหนดค่า Degree เท่ากับ 3 ซึ่งเป็นค่า Cut-off สำหรับใช้เป็นค่าต่ำสุดของจำนวนการเชื่อมต่อของโหนด (Node) หรือโปรตีนภายในเครือข่าย โดยค่าที่น้อยกว่าระดับค่าต่ำสุดของจำนวนการเชื่อมต่อที่จำเป็น เพื่อให้สามารถตรวจวัดระดับคะแนนของโหนดและปฏิสัมพันธ์ที่ต้องการคัดเลือกได้ และคัดเลือกโมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC เป็นสมาชิกภายในโมดูล สำหรับนำไปใช้ในการแปลผลทางชีวภาพในขั้นตอนต่อไป

5. การแปลผลทางชีวภาพ

จากโมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC จะนำมาแปลผลทางชีวภาพด้วยโปรแกรม BiNGO (Maere, *et al.*, 2005) ซึ่งเป็นโปรแกรม plugin ภายในโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) ที่จะทำการพิจารณาของกลุ่มของยีนหรือเครือข่ายย่อยตามค่าทางสถิติที่เหมาะสมว่าควรจะเลือกประเภทของ gene ontology เป็นแบบใด โดยการแปลผลทางชีวภาพของโมดูลสามารถทำได้โดยการเลือกโหนดที่เป็นสมาชิกทั้งหมดภายในโมดูล แล้วเลือกการวิเคราะห์และแปลผล gene ontology (Ashburner *et al.*, 2000; The Gene Ontology Consortium, 2019) 3 แบบ คือ กระบวนการทางชีวภาพ (Biological Process, BP), ฟังก์ชันระดับโมเลกุล (Molecular Function, MF) และ องค์ประกอบของเซลล์ (Cellular Component) โดยเลือก Organism เป็นมนุษย์ *Homo sapiens* ซึ่งทำให้ได้ผลของกระบวนการทางชีวภาพระดับโมเลกุลของโมดูลที่คัดเลือก

ผลการวิจัย

1. ข้อมูลและการวิเคราะห์เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC

จากการสำรวจโปรตีนเป้าหมาย การสืบค้นปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีน และการวิเคราะห์ฟังก์ชันโมดูล ทำให้ได้ข้อมูลรายชื่อโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC ซึ่งได้มีการแสดงแหล่งที่มาของข้อมูลโปรตีนเป้าหมาย รวมถึงการพบในฟังก์ชันโมดูลที่ถูกคัดเลือก รายละเอียดดังตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ โดยจำนวนโปรตีนที่ได้ในแต่ละขั้นตอน ได้แก่ จำนวนโปรตีนเป้าหมายของ CBD มีจำนวน 11 ชนิด และของ THC มี 16 ชนิด ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD ที่มีขนาด 81 โปรตีน 313 ปฏิสัมพันธ์ (ภาพที่ 2A) และ THC ที่มีขนาด 140 โปรตีน 599 ปฏิสัมพันธ์ (ภาพที่ 3A) รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 3 เมื่อวิเคราะห์พฤติกรรมของเครือข่ายด้วย Network analyzer ที่เป็นโปรแกรม plugin ภายในโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) จะทำให้ได้ผลคุณสมบัติ Topological ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนของสาร CBD (CBD network, ภาพที่ 2B) และเครือข่าย THC (THC network, ภาพที่ 3B) และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD แบบสุ่ม (CBD random network, ภาพที่ 2C) และเครือข่าย THC แบบสุ่ม (THC random network, ภาพที่ 3C) จากภาพแสดงกราฟ Degree distribution (บน) และ Shortest path length distribution (ล่าง) ของแต่ละเครือข่าย ซึ่งเครือข่ายแบบสุ่มคือเครือข่ายที่ถูกสร้างขึ้นจากจำนวนโปรตีนที่เป็นสมาชิกในแต่ละเครือข่ายขึ้นมาโดยมีปฏิสัมพันธ์แบบสุ่มเพื่อนำมาทำการเปรียบเทียบและใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติความเป็นเครือข่ายทางชีวภาพของเครือข่าย CBD และ THC

จากกราฟ Degree distribution ของเครือข่ายของโปรตีนเป้าหมายของที่แสดงค่าการกระจายของจำนวนการเชื่อมต่อระหว่างโปรตีนของเครือข่าย มีสมการที่พบของเครือข่าย CBD (CBD network) คือ $y = 9.175x^{-0.533}$ (ภาพที่ 2B (บน)) และเครือข่าย THC (THC network) คือ $y = 14.584x^{-0.580}$ (ภาพที่ 3B (บน)) และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD แบบสุ่ม (CBD random network) มีสมการในกราฟคือ $y = 1.625x^{0.658}$ (ภาพที่ 2C (บน)) และเครือข่าย THC แบบสุ่ม (THC random network) คือ $y = 2.540x^{0.462}$ (ภาพที่ 3C (บน)) จึงเข้าเงื่อนไขของการเป็นเครือข่ายทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติ Scale-free จากกราฟ Shortest path length distribution ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC ที่แสดงความถี่ของความยาวเส้นทางภายในเครือข่าย พบว่า มีความถี่มากในระยะที่ 1-3 (ภาพที่ 2B (ล่าง)) และ

1-2 (ภาพที่ 3B (ล่าง)) ตามลำดับ และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของของโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC แบบสุ่ม มีความถี่มากในระยะทางที่ 2-3 ทั้งสองเครือข่าย (ภาพที่ 2C (ล่าง)) และ 1-2 (ภาพที่ 3C (ล่าง)) และจากค่า Characteristic path length ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยความยาวเส้นทางที่สั้นที่สุดระหว่างสองโปรตีนภายในเครือข่าย พบว่าเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC มีค่าเท่ากับ 1.978 (ตารางที่ 4) และ 1.697 (ตารางที่ 5) ตามลำดับ และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของของโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC แบบสุ่ม มีค่าเท่ากับ 2.343 (ตารางที่ 4) และ 2.525 (ตารางที่ 5) ตามลำดับ โดยค่าที่เกี่ยวข้องกับ Path length distribution ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมาย มีค่าน้อยกว่าเครือข่ายแบบสุ่ม ซึ่งไม่เข้าเงื่อนไขของการมีคุณสมบัติ Small world ของเครือข่าย (Watts and Strogatz, 1998)

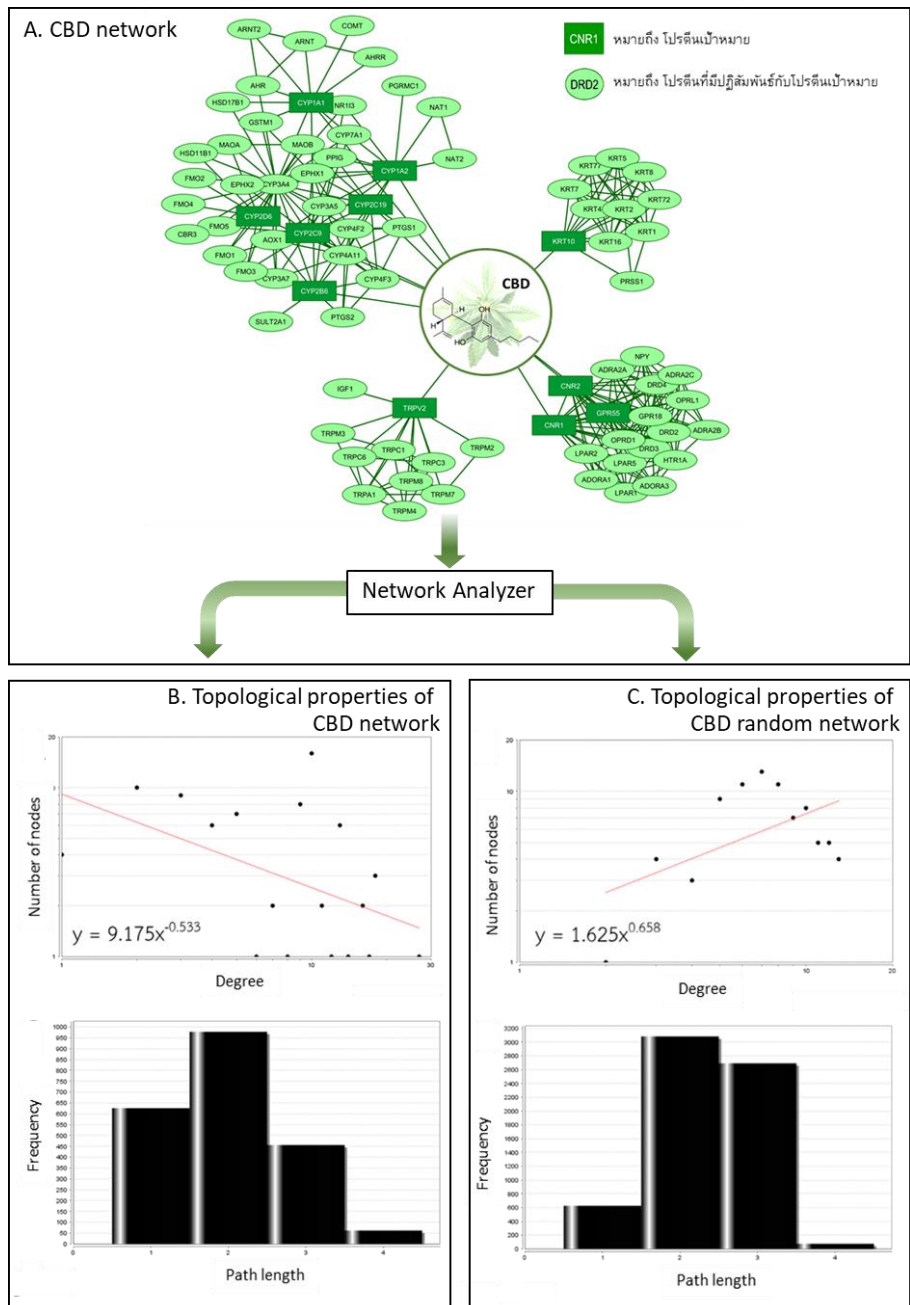
จากตารางที่ 4 และ 5 ที่แสดงผลของคุณสมบัติ Topological พารามิเตอร์ Clustering coefficient ซึ่งเป็นค่าความหนาแน่นของโหนดหรือโปรตีนใกล้เคียง พบว่าในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมายของ CBD และ THC มีค่า 0.780 (ตารางที่ 4) และ 0.792 (ตารางที่ 5) ตามลำดับ และมีค่า Clustering coefficient ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของของโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC แบบสุ่ม คือ 0.103 (ตารางที่ 4) และ 0.058 (ตารางที่ 5) ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่า Clustering coefficient ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมาย มีค่ามากกว่าเครือข่ายปฏิสัมพันธ์แบบสุ่ม ซึ่งเข้าเงื่อนไขของการเป็นเครือข่ายทางชีวภาพตามคุณสมบัติ Scale-free (Albert, 2005) และ Modularity (Qi and Ge, 2006)

ตารางที่ 1 รายชื่อโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD แหล่งที่มาของข้อมูล และการพบในฟังก์ชันโมดูลที่ถูกคัดเลือก

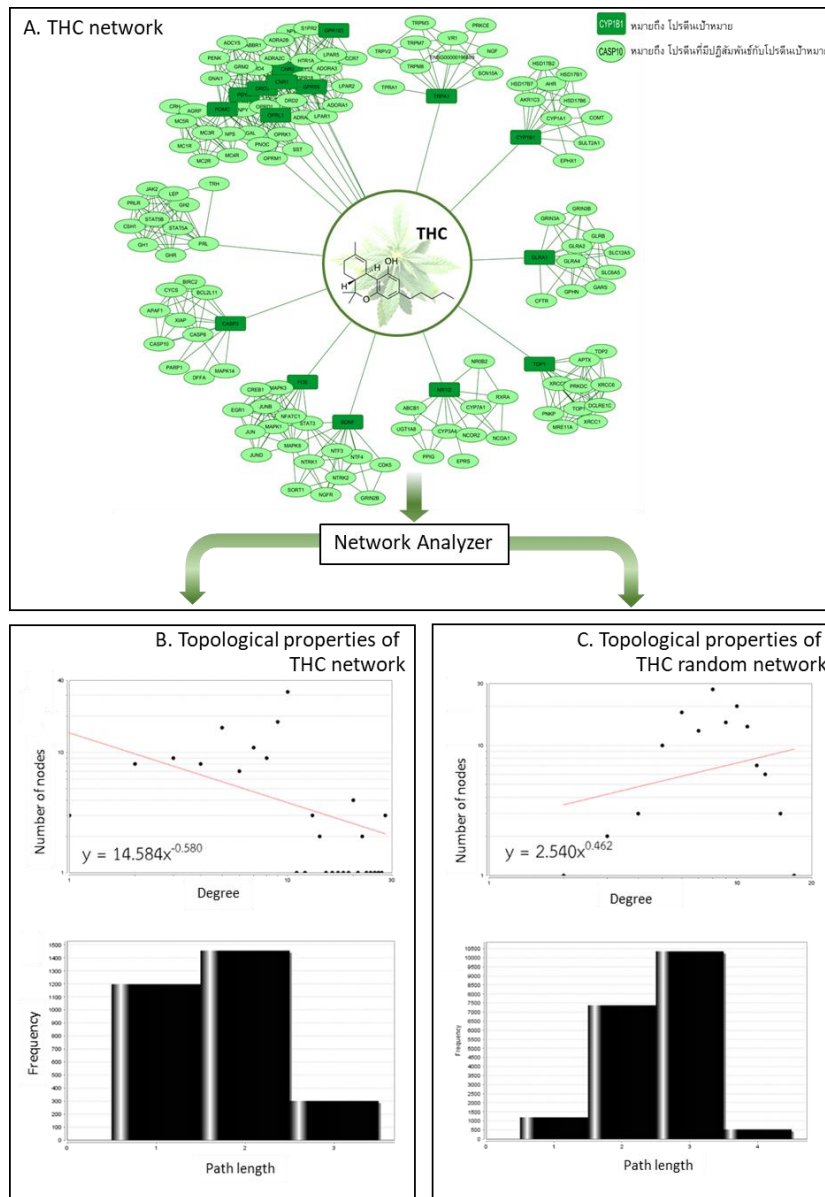
Protein Symbol	Uniprot ID	Source	Functional Module	Protein Symbol	Uniprot ID	Source	Functional Module
KRT10	P13645	STITCH	Module-1	CYP2C9	P11712	STITCH	Module-5
CNR1	P21554	STITCH and ChEMBL	Module-3	CYP2C19	P33261	STITCH	
CNR2	P34972	STITCH and ChEMBL		CYP2B6	P20813	STITCH	Module-8
GPR55	Q9Y2T6	ChEMBL		CYP2D6	P10635	STITCH	-
TRPV2	Q9Y5S1	STITCH	Module-4	CYP1A1	P04798	STITCH and ChEMBL	-
				CYP1A2	P05177	STITCH	-

ตารางที่ 2 รายชื่อโปรตีนเป้าหมายของสาร THC แหล่งที่มาของข้อมูล และการพบในฟังก์ชันโมดูลที่ถูกคัดเลือก

Protein Symbol	Uniprot ID	Source	Functional Module	Protein Symbol	Uniprot ID	Source	Functional Module
GLRA1	P23415	ChEMBL	Module-11	BDNF	P23560	STITCH	Module-10
DRD3	P35462	ChEMBL	Module-2	CASP3	P42574	STITCH	Module-5
GPR55	Q9Y2T6	STITCH and ChEMBL		FOS	P01100	STITCH	Module-3
OPRL1	P01236	STITCH		TDP1	Q9NUW8	ChEMBL	Module-4
PDYN	P01213	STITCH		CNR1	P21554	STITCH and ChEMBL	-
POMC	P01189	STITCH		CNR2	P34972	STITCH and ChEMBL	-
GPR183	Q14330	ChEMBL	Module-8	NR1I2	O75469	ChEMBL	-
CYP1B1	Q16678	STITCH	Module-6	TRPA1	O75762	ChEMBL	-



ภาพที่ 2 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD (A) และผลการวิเคราะห์พฤติกรรมเครือข่ายด้วย Network Analyzer ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD (CBD network, B) และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD แบบสุ่ม (CBD random network, C) จากภาพแสดงกราฟ Degree distribution (บน) และ Shortest path length distribution (ล่าง) ของแต่ละเครือข่าย



ภาพที่ 3 เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร THC (A) และผลการวิเคราะห์พฤติกรรมเครือข่ายด้วย Network Analyzer ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร THC (THC network, B) และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร THC แบบสุ่ม (THC random network, C) จากภาพแสดงกราฟ Degree distribution (บน) และ Shortest path length distribution (ล่าง) ของแต่ละเครือข่าย

**ตารางที่ 3** จำนวนโปรตีนที่ได้ในแต่ละขั้นตอน และจำนวนฟังก์ชันโมดูล

การวิเคราะห์	เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD (CBD network)	เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร THC (THC network)
จำนวนโปรตีนเป้าหมายจากฐานข้อมูล ChEMBL และ STITCH	11	16
จำนวนโปรตีนที่สามารถสืบค้นได้ภายในฐานข้อมูล STRING	11	16
จำนวนโปรตีนทั้งหมดที่พบในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์	81	140
จำนวนปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนภายในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์	313	599
จำนวนฟังก์ชันโมดูลที่วิเคราะห์ได้ด้วย MCODE	8	13
จำนวนฟังก์ชันโมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมาย	5	8

ตารางที่ 4 ตารางแสดงคุณสมบัติ Topological ที่ได้จากการวิเคราะห์พฤติกรรมของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของสาร CBD

พารามิเตอร์	เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD (CBD network)	เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD แบบสุ่ม (CBD random network)
Clustering coefficient	0.780	0.103
Connected component	4	1
Network diameter	4	4
Network centralization	0.247	0.068
Shortest path	2,122	6,480
Characteristic path length	1.978	2.343
Network heterogeneity	0.659	0.346

ตารางที่ 5 ตารางแสดงคุณสมบัติ Topological ที่ได้จากการวิเคราะห์พฤติกรรมของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของสาร THC

พารามิเตอร์	เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร THC (THC network)	เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร THC แบบสุ่ม (THC random network)
Clustering coefficient	0.792	0.058
Connected component	9	1
Network diameter	3	4
Network centralization	0.142	0.062
Shortest path	2,956	19,460
Characteristic path length	1.697	2.525
Network heterogeneity	0.634	0.309

2. การวิเคราะห์และการแปลผลทางชีวภาพฟังก์ชันนัลโมดูลของสาร CBD และ THC

เมื่อนำเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC มาวิเคราะห์ฟังก์ชันนัลโมดูลด้วยโปรแกรม MCODE (Bader and Hogue, 2003) ที่มีอยู่ในโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) พบฟังก์ชันนัลโมดูลจากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของสาร CBD และ THC จำนวน 8 และ 13 โมดูล ตามลำดับ โดยจะพบฟังก์ชันนัลโมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC จำนวน 5 และ 8 โมดูล ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งโปรตีนที่เป็นสมาชิกทั้งหมดภายในโมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายเหล่านี้จะถูกนำไปแปลผลทางชีวภาพด้วยโปรแกรม plugin BiNGO (Maere *et al.*, 2005) ที่อยู่ในโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) เพื่อแปลผล gene ontology (Ashburner *et al.*, 2000; The Gene Ontology Consortium, 2019) ทั้ง 3 รูปแบบ ได้แก่ กระบวนการทางชีวภาพ ฟังก์ชันระดับโมเลกุล และองค์ประกอบของเซลล์ แสดงรายละเอียดการแปลผลทางชีวภาพของโมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของสาร CBD และ THC ดังภาพที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

วิจารณ์ผลการวิจัย

1. ข้อมูลเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC

จากการสืบค้นข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับสารออกฤทธิ์โดยใช้ข้อมูลไฟล์ SMILES ของสาร CBD และ THC จากฐานข้อมูล ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>, Davies *et al.*, 2015) และ STITCH (<http://stitch.embl.de/>, Szklarczyk *et al.*, 2016) ทำให้ได้ข้อมูลโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD 11 ชนิด และ THC 16 ชนิด และเมื่อนำโปรตีนเป้าหมายทั้งหมดมาสืบค้นข้อมูลปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนกับโปรตีนในฐานข้อมูล STRING (<http://stitch.embl.de/>, Szklarczyk *et al.*, 2019) ก่อนนำข้อมูลปฏิสัมพันธ์ที่ได้ทั้งหมดมาแสดงผลเครือข่าย ด้วยโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) และใช้ Advanced Network Merge เพื่อนำปฏิสัมพันธ์ที่ซ้ำกันออก ทำให้ได้เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD มีขนาด 81 โปรตีน 313 ปฏิสัมพันธ์ และ THC มีขนาด 140 โปรตีน 599 ปฏิสัมพันธ์ โดยขนาดของเครือข่ายที่ได้ของ THC มีขนาดใหญ่กว่าของ CBD (ตารางที่ 3 และภาพที่ 2 และ 3) นอกจากปริมาณข้อมูลที่มีการศึกษาเป็นจำนวนมากแล้ว ก็อาจจะเนื่องมาจาก THC มีความหลากหลายของการออกฤทธิ์ในกระบวนการทางชีวภาพเป็นจำนวนมากและมีความจำเพาะน้อยกว่า CBD จึงทำให้การบำบัดผู้ป่วยด้วยสารสกัดกัญชาที่มีสาร THC ในสัดส่วนที่สูง ก็จะส่งผลเสียจากอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นได้ (Volkow *et al.*, 2014; Izzo *et al.*, 2009)

2. การวิเคราะห์เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC

จากการวิเคราะห์พฤติกรรมของเครือข่ายด้วยโปรแกรม plugin Network Analyzer ภายในโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) ซึ่งแสดงผล Topological ที่จะช่วยให้เข้าใจโครงสร้างของเครือข่ายที่ซับซ้อนและมีคุณสมบัติของความเป็นเครือข่ายทางชีวภาพเพื่อวิเคราะห์โมดูลต่อไป พบว่าสมการที่ได้จากกราฟ Degree distribution ที่เป็นค่าระดับการกระจายจากการนับจำนวนการเชื่อมต่อระหว่างโปรตีน ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD คือ $y = 9.175x^{-0.533}$ (ภาพที่ 2B (บน)) และเครือข่าย THC คือ $y = 14.584x^{-0.580}$ (ภาพที่ 3B (บน)) ซึ่งเป็นไปตามกฎของการกระจาย

แบบกำลัง (Power law distribution) คือ $P(k) \sim k^{-(\gamma)}$, ($\gamma > 3$) โดยมีค่า γ น้อยกว่า 3 และกราฟอยู่ในลักษณะที่โหนดหรือโปรตีนที่มีจำนวนน้อยจะมีดีกรีหรือระดับของการมีปฏิสัมพันธ์มาก เมื่อเปรียบเทียบกับเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD แบบสุ่ม (CBD random network) มีสมการในกราฟคือ $y=1.625x^{0.658}$ (ภาพที่ 2C (บน)) และเครือข่าย THC แบบสุ่ม (THC random network) คือ $y=2.540x^{0.462}$ (ภาพที่ 3C (บน)) ซึ่งค่าที่ได้ไม่สอดคล้องตามกฎของการกระจายแบบกำลังเพราะค่า γ มีค่าติดลบ และกราฟอยู่ในลักษณะที่โหนดหรือโปรตีนส่วนใหญ่กระจายอยู่ตรงกลางระหว่างค่าดีกรีน้อยและดีกรีมาก เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC จึงแสดงคุณสมบัติเป็น Scale-free (Albert, 2005) ตามลักษณะหนึ่งของการเป็นเครือข่ายทางชีวภาพเพื่อการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันโมดูลต่อไปได้

และจากค่า Shortest length distribution ซึ่งเป็นค่าความยาวเส้นทางที่สั้นที่สุดระหว่างสองโปรตีนในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ พบว่าเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD (CBD network) เท่ากับ 2,122 (ตารางที่ 4) และสาร THC (THC network) เท่ากับ 2,956 (ตารางที่ 5) ตามลำดับ และเครือข่ายของปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมายแบบสุ่มของสาร CBD (CBD random network) มีค่าเท่ากับ 6,480 (ตารางที่ 4) และสาร THC (THC random network) มีค่าเท่ากับ 19,460 (ตารางที่ 5) ตามลำดับ และจากภาพที่ 2B (ล่าง), 2C (ล่าง), 3B (ล่าง) และ 3C (ล่าง) พบว่าเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC และ เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายแบบสุ่ม มีความถี่ของระยะ Path length ในระยะที่ใกล้เคียงกันคือ 1-3 ทำให้คุณสมบัติของความเป็น Small world ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC ยังไม่ชัดเจน (Watts and Strogatz, 1998) อันเนื่องมาจากลักษณะของเครือข่ายของโปรตีนเป้าหมายของสารทั้งสองชนิดมีการกระจายตัวเป็นเครือข่ายย่อยมาก ซึ่งจะไม่เหมือนกับเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมายของสารออกฤทธิ์ชนิดอื่น ตัวอย่างเช่น เครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสารฟูโคแซนทีน (Fucoxanthine) (Sornsiri *et al.*, 2018) ซึ่งเป็นเครือข่ายขนาดใหญ่ที่มีขนาด 217 โปรตีน 725 ปฏิสัมพันธ์ และโปรตีนสมาชิกส่วนใหญ่อยู่รวมเป็นเครือข่ายเดียว มีเครือข่ายย่อยที่แยกออกไปไม่มาก ความถี่ที่มากของระยะ Path length ของเครือข่ายมีค่าอยู่ในช่วง 2-5 หรือค่า Characteristic path length เท่ากับ 4.097 ในขณะที่เครือข่ายแบบสุ่มของมีค่า 3.034 ทำให้เครือข่ายดังกล่าวแสดงคุณสมบัติของความเป็น Small world ได้อย่างชัดเจนกว่าเมื่อเทียบกับผลจากการวิจัยนี้

สำหรับค่า Clustering coefficient ของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC ซึ่งเป็นค่าความหนาแน่นเฉลี่ยของโหนดหรือโปรตีนใกล้เคียงพบว่าในเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD (CBD network) เท่ากับ 0.780 (ตารางที่ 4) และสาร THC (THC network) เท่ากับ 0.792 (ตารางที่ 5) และมีค่า Clustering coefficient ของเครือข่ายแบบสุ่มของสาร CBD (CBD random network) เท่ากับ 0.103 (ตารางที่ 4) และสาร THC (THC random network) 0.058 (ตารางที่ 5) โดยค่า Clustering coefficient ในเครือข่าย CBD network และ THC network มีค่าสูงกว่าเครือข่ายแบบสุ่ม หมายความว่าเครือข่ายมีคุณสมบัติของ Modularity หรือมีปฏิสัมพันธ์ของโหนดหรือโปรตีนภายในเครือข่ายที่สามารถนำมาค้นหาโมดูลหรือกลุ่มของโปรตีนที่มีบทบาทหรือหน้าที่จำเพาะได้ ดังนั้นจากผลข้างต้นจึงแสดงให้เห็นว่าเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC มีคุณสมบัติเป็น Scale-free (Albert, 2005) และ Modularity (Qi and Ge, 2006) ถึงแม้คุณสมบัติ Small world จะไม่ชัดเจนอันเนื่องมาจากเครือข่ายรวมมีการกระจายออกเป็นเครือข่ายย่อยที่มี



ขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก (Watts and Strogatz, 1998) แต่ก็มีคุณสมบัติที่เพียงพอสำหรับการเป็นเครือข่ายทางชีวภาพที่สามารถนำไปวิเคราะห์โมดูลในขั้นตอนต่อไปได้ (Somsiri and Sootanan, 2020; Somsiri *et al.*, 2018)

3. การวิเคราะห์ฟังก์ชันนัลโมดูลของเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC

จากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC จะนำมาวิเคราะห์ฟังก์ชันนัลโมดูลด้วยเครื่องมือ MCODE (Bader and Hogue, 2003) ซึ่งเป็นโปรแกรม plugin ภายในโปรแกรม Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) ซึ่งพบฟังก์ชันนัลโมดูลของ CBD และ THC ทั้งหมดจำนวน 8 และ 13 โมดูล ตามลำดับ (ตารางที่ 3) จากโปรตีนเป้าหมายของ CBD และ THC ที่พบทั้งสิ้น 11 และ 16 ชนิด ตามลำดับ แต่มีโปรตีนเป้าหมายที่พบภายในฟังก์ชันนัลโมดูลของเครือข่าย CBD และ THC เท่ากับ 8 และ 12 ชนิด (ตารางที่ 1 และ 2) จึงทำให้จำนวนฟังก์ชันนัลโมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD จึงเหลือจำนวน 5 โมดูล (ภาพที่ 6) และสาร THC จำนวน 8 โมดูล (ภาพที่ 7) ซึ่งจะเป็นฟังก์ชันนัลโมดูลที่ถูกนำไปแปลผลทางชีวภาพด้วย gene ontology (Ashburner *et al.*, 2000; The Gene Ontology Consortium, 2019) ทั้ง 3 รูปแบบ ได้แก่ กระบวนการทางชีวภาพ ฟังก์ชันระดับโมเลกุล และองค์ประกอบของเซลล์ ของโปรตีนที่เป็นสมาชิกฟังก์ชันนัลโมดูลเพื่อแปลผลการออกฤทธิ์ของสาร CBD และ THC ดังภาพที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

4. การแปลผลทางชีวภาพฟังก์ชันนัลโมดูลของสาร CBD

จากภาพที่ 6 กลไกการออกฤทธิ์ของสาร CBD เริ่มต้นจากการเกิดปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนเป้าหมายที่อยู่ในเยื่อหุ้มพลาสมาของเซลล์ (CC : Integral/Intrinsic to Plasma Membrane) โดยมีกลุ่มโปรตีนเป้าหมายของโมดูล-3 (CBD-module-3) ได้แก่ CNR1, CNR2 และ GPR55 โดย CBD ออกฤทธิ์ยับยั้งวิถีสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับ Cannabinoid receptor และ G-protein couple receptor ที่ส่งผ่านสัญญาณไปยังสารสื่อสัญญาณลำดับที่สอง (Secondary messenger) และโปรตีนเป้าหมายของโมดูล-4 (CBD-module-4) ได้แก่ TRPV2 ซึ่ง CBD ออกฤทธิ์กระตุ้น Transient receptor potential cation channel subfamily V ที่ส่งผลกระทบต่อเพิ่มขึ้นของระดับแคลเซียมภายในเซลล์ (<https://www.genecards.org>, Stelzer, *et al.*, 2016) ซึ่งโปรตีนเป้าหมายของ CBD ทั้งหมดข้างต้นเกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ผ่านวิถีสัญญาณของการยับยั้งการอักเสบ (Anti-inflammation) และการยับยั้งมะเร็ง (Anti-cancer) (Pellati *et al.*, 2018) และยังมีเกี่ยวข้องข้องกับอีกหลากหลายกลไกที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ในการบำบัดรักษาโรค ได้แก่ ฤทธิ์คลายกังวล (Anxiolytic) ฤทธิ์ต้านอาการทางจิต (Antipsychotic) การออกฤทธิ์กันชัก (Antiepileptic) ฤทธิ์ปกป้องระบบประสาท (Neuroprotective) และฤทธิ์แก้ปวด (Analgesic) เป็นต้น (Izzo *et al.*, 2009)

นอกจากนี้ยังพบกลุ่มโปรตีนเป้าหมายจากโมดูล-1 (CBD-module-1) ได้แก่ KRT10 ซึ่งมีเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ร่วมกับโปรตีนในกลุ่มเคราติน (Keratin) ที่เป็นโปรตีนเส้นใยซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับกลุ่มโปรตีนโครงสร้าง Actin microfilament และ Microtubule ซึ่งได้มีการศึกษาการออกฤทธิ์ของ CBD ว่ามีผลในการเหนี่ยวนำวิถีการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation pathways) ของเซลล์หนังกำพร้าเคราตินไนไซต์ (Keratinocytes) โดยมีเป้าหมายอยู่ที่โปรตีน BACH1 (Transcription factor BTB And CNC Homology 1) ที่แสดงให้เห็นถึงโอกาสของการใช้ CBD ในการบำบัดรักษาโรคผิวหนังเช่น โรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง (Atopic dermatitis) และความผิดปกติของเคราติน (Keratin disorders) (Casares *et al.*, 2020) และสำหรับโปรตีนเป้าหมาย



จากโมดูล-5 (CBD-module-5) ได้แก่ โปรตีน CYP2C9 และ CYP2C19 ที่เป็นโปรตีนในกลุ่ม Cytochrome P450 Family 2 Subfamily C และโมดูล-8 (CBD-module-8) ได้แก่ โปรตีน CYP2B6 ซึ่งเป็นโปรตีนในกลุ่ม Cytochrome P450 Family 2 Subfamily B ซึ่งทำหน้าที่บริเวณเยื่อเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (Endoplasmic reticulum membrane) ในการเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของยา และการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล สเตอรอยด์ และลิปิด (<https://www.genecards.org>, Stelzer *et al.*, 2016) สารออกฤทธิ์กลุ่มไฟโตแคนนาบินอยด์ จะถูกเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพผ่านวิถีเมแทบอลิซึมที่เร่งปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันโดยเอนไซม์กลุ่ม CYPs ได้แก่ CYP2C9, CYP2C19 และ CYP3A4 โดยผลการทดลองระดับหลอดทดลอง (*In vitro*) แสดงให้เห็นว่า CBD เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์กลุ่ม CYPs และมีผลต่อการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ ผ่านระบบเอนโดแคนนาบินอยด์ (Endocannabinoid system) ซึ่งเป็นระบบของฮอร์โมนที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ และ CBD (Zendulka *et al.*, 2016)

5. การแปลผลทางชีวภาพฟังก์ชันโมดูลของสาร THC

จากผลการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันโมดูล เพื่อตรวจสอบกลไกการออกฤทธิ์ของ THC ดังภาพที่ 7 พบว่าโปรตีนเป้าหมายจากโมดูล-10 (THC-module-10) ได้แก่ BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) ซึ่งเป็นโปรตีนสำคัญต่อการสร้างเซลล์ประสาทในกระบวนการที่เรียกว่านิวโรเจเนซิส (Neurogenesis) โดยอาศัยการสื่อสารสัญญาณของแคนนาบินอยด์ในกระบวนการซ่อมแซมสมอง (Ferreira *et al.*, 2018) ซึ่งการแสดงออกของยีน BDNF มีผลช่วยบรรเทาอาการป่วยของผู้ป่วยโรค Alzheimer's, Parkinson's, และ Huntington's ซึ่งเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของระบบประสาท และความผิดปกติทางอารมณ์ (<https://www.genecards.org>, Stelzer *et al.*, 2016) สำหรับโมดูล-11 (THC-module-11) เป็นโมดูลของกลุ่มโปรตีนที่มีบทบาทเกี่ยวกับการขนส่งไอออนเข้า-ออกเซลล์ เพื่อการสื่อสารและการส่งผ่านสัญญาณระหว่างเซลล์ โดยมีโปรตีนเป้าหมายของสาร THC ได้แก่ GLRA1 (Glycine Receptor Alpha 1) โดยสาร THC จะส่งผลกระทบต่อเพิ่มเติมบทบาทการทำงานของ GLAR1 โดยอาศัยการศึกษาด้วยเทคนิค Mutagenesis และการวิเคราะห์ NMR ที่ทำให้ทราบกลไกของ THC ที่มีต่อ GLAR1 ต่อการบรรเทาอาการปวด (Xiong *et al.*, 2011) ซึ่งสารประกอบในกลุ่มแคนนาบินอยด์โดยเฉพาะ Δ^9 -THC ซึ่งมีประสิทธิภาพในการระงับปวด โดยมีผลการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ และมีผลการใช้งานในระดับคลินิกรับรอง (Elikottil *et al.*, 2009)

ในส่วนของโมดูล-2 (THC-module-2) และ โมดูล-8 (THC-module-8) จะเป็นโมดูลของกลุ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนในกลุ่ม G-protein coupled receptor ได้แก่ GPR55 และ GPR183 ตามลำดับ ซึ่งมีส่วนสำคัญในการส่งผ่านสัญญาณของสารสื่อสัญญาณลำดับที่สอง เช่น cAMP และเกี่ยวข้องกับกลไกในระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีโปรตีน GPR55 ทำหน้าที่เป็นตัวรับสัญญาณแคนนาบินอยด์ (Cannabinoid receptor) ในการเพิ่มระดับแคลเซียมภายในเซลล์ประสาท ผ่านกลไกและการส่งสัญญาณที่แตกต่างจากของ CNR1 และ CNR2 (Lauckner *et al.*, 2008) แต่บทบาทของโปรตีน GPR183 ที่เกี่ยวข้องกับสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ และหน้าที่การทำงานของยีน GPR183 ยังไม่ชัดเจน (<https://www.genecards.org>, Stelzer *et al.*, 2016) สำหรับโปรตีน OPRL1 (Opioid Related Nociceptin Receptor 1) เป็นโปรตีนสมาชิกในกลุ่ม G-protein coupled receptor ที่เกี่ยวข้องกับการปรับเปลี่ยนการทำงานทางชีววิทยาและพฤติกรรมของระบบประสาทที่หลากหลาย รวมถึงการ



ตอบสนองต่อความเครียด และพฤติกรรมความวิตกกังวล การเรียนรู้และความจำ การเคลื่อนไหว และการตอบสนองต่อการอักเสบและภูมิคุ้มกัน (<https://www.genecards.org>, Stelzer *et al.*, 2016) ซึ่งได้มีการศึกษาผลความแตกต่างหลากหลายของยีน OPRL1 ที่มีจำนวน 5 วาเรียนท์ (Variant) ของกลุ่มอาสาสมัครจำนวน 447 คน ที่เป็นอดีตผู้ติดเฮโรอีนขั้นรุนแรง 271 คน และผู้ที่มีสุขภาพดี 176 คน พบว่ามีจำนวน 2 วาเรียนท์ มีผลต่อพฤติกรรมการศึกษาเสพติด (Briant, *et al.*, 2013) โปรตีน DRD3 (Dopamine Receptor D3) เป็นหนึ่งจาก 5 ซับไทป์ (Subtype) ของตัวรับสัญญาณโดปามีนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสมองในบทบาทของ การรับรู้ อารมณ์ และต่อมไร้ท่อ (<https://www.genecards.org>, Stelzer *et al.*, 2016) และได้มีการศึกษาในหนู 2 สายพันธุ์ที่มีความเสี่ยงต่อการเสพติด (Roman high-avoidance rat, RHA) และทนต่อการเสพติด (Roman low-avoidance rat, RLA) ที่ขึ้นอยู่กับความสามารถในการตอบสนองต่อการพัฒนาความไวต่อสารเคมีที่มีผลต่อระบบประสาทในระดับที่สูงและต่ำ ตามลำดับ ซึ่งเป็นการศึกษาผลกระทบที่แตกต่างกันของการให้ THC ต่อการตอบสนองของระบบประสาทผ่านสัญญาณสื่อกลางตัวรับโดปามีน D2/3 (DRD2/3) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหากให้ THC อย่างต่อเนื่องจะส่งผลต่อการตอบสนองของระบบประสาทที่เพิ่มมากขึ้นในหนู RLA เมื่อเทียบกับหนู RHA หรือเป็นเป้าหมายของการพัฒนายาจิตเวชที่แสดงให้เห็นได้ในหนู RLA เมื่อเทียบกับหนู RHA (Tournier *et al.*, 2018) THC มีส่วนช่วยเพิ่มการแสดงออกของ POMC (Proopiomelanocortin) ในนิวเคลียสของเซลล์ประสาทในไฮโปทาลามัส (Hypothalamus) (Corchero, Fuentes *et al.*, 1997) โดยโปรตีน POMC ซึ่งอยู่ในโมดูล-2 จะถูกสังเคราะห์เป็นหลักที่เซลล์คอร์ติโคโทรฟ (Corticotroph cells) ของ anterior pituitary เกี่ยวข้องกับ adrenocorticotrophin ซึ่งจำเป็นสำหรับการสร้างสเตียรอยด์และการรักษาน้ำหนักของต่อมหมวกไต โดยมีไลโปโทรปินเบต้า (Lipotropin beta) เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่สำคัญ ในเนื้อเยื่ออื่น ประกอบไปด้วย ไฮโปทาลามัสรก (Placenta) และ เยื่อบุผิว (Epithelium) มีบทบาทในการสร้างสมดุลของความเจ็บปวดและพลังงาน (Pain and energy homeostasis) การกระตุ้นเมลาโนไซต์ (Melanocyte stimulation) และการปรับภูมิคุ้มกัน (Immune modulation) (<https://www.genecards.org>, Stelzer *et al.*, 2016) และโปรตีน POMC จากเซลล์ประสาทไฮโปทาลามัส มีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นความอยากอาหาร (Koch *et al.*, 2015) เช่นเดียวกัน THC ก็มีส่วนช่วยเพิ่มการแสดงออกของยีน Prodynorphin (PDYN) และ Proenkephalin (PENK) ในไขสันหลัง (Spinal cord) ของหนูตัวผู้ ที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของ Opioid activity (Corchero, Avila *et al.*, 1997) โปรตีน PDYN ที่ถูกสร้างขึ้นเป็นพรีโพรตีน (Preproprotein) ที่จะถูกตัดได้เป็นโอปิออยด์เปปไทด์ เบตา-นีโอเอนดอร์ฟิน (Opioid peptide beta-neoendorphin) ไดนอร์ฟิน (Dynorphin) ลิวเอนเคฟาลิน (Leu-enkephalin) รีมอร์ฟิน (Rimorphin) และ ลิวมอร์ฟิน (Leumorphin) เปปไทด์เหล่านี้เป็นลิแกนด์สำหรับตัวรับโอปิออยด์ชนิดคัปปา (Kappa-type of opioid receptor) ไดนอร์ฟิน มีส่วนเกี่ยวข้องในการปรับการตอบสนองต่อสารออกฤทธิ์ทางจิตประสาทหลายชนิดรวมทั้งโคเคน (Cocaine) (<https://www.genecards.org>, Stelzer *et al.*, 2016)

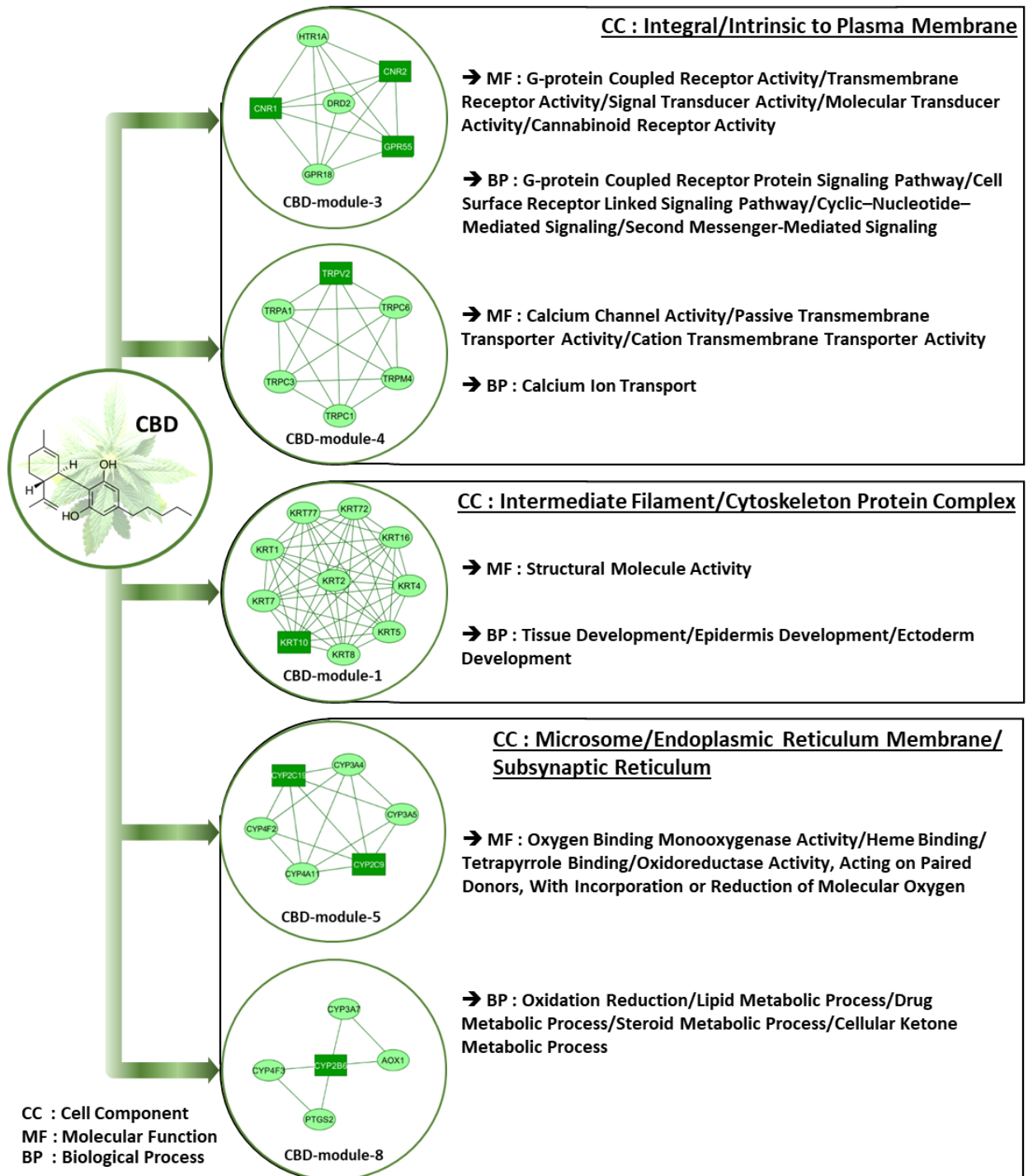
สำหรับโปรตีน CYP1B1 (Cytochrome P450 Family 1 Subfamily B Member 1) ซึ่งเป็นโปรตีนเป้าหมายของ THC ในโมดูล-6 (THC-module-6) เป็นโปรตีนในกลุ่มโมโนออกซีจีเนส (Monooxygenase) ที่เร่งปฏิกิริยาในเมแทบอลิซึมของยา และการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล (Cholesterol) สเตียรอยด์ (Steroid) และลิพิด (Lipid) (<https://www.genecards.org>, Stelzer *et al.*, 2016) โดย อรรถสิทธิ์ ศรีสุบัติ และ สมชาย ธนะสิทธิชัย. (2562) ได้รายงานถึงอันตรกิริยา (Drug interaction)



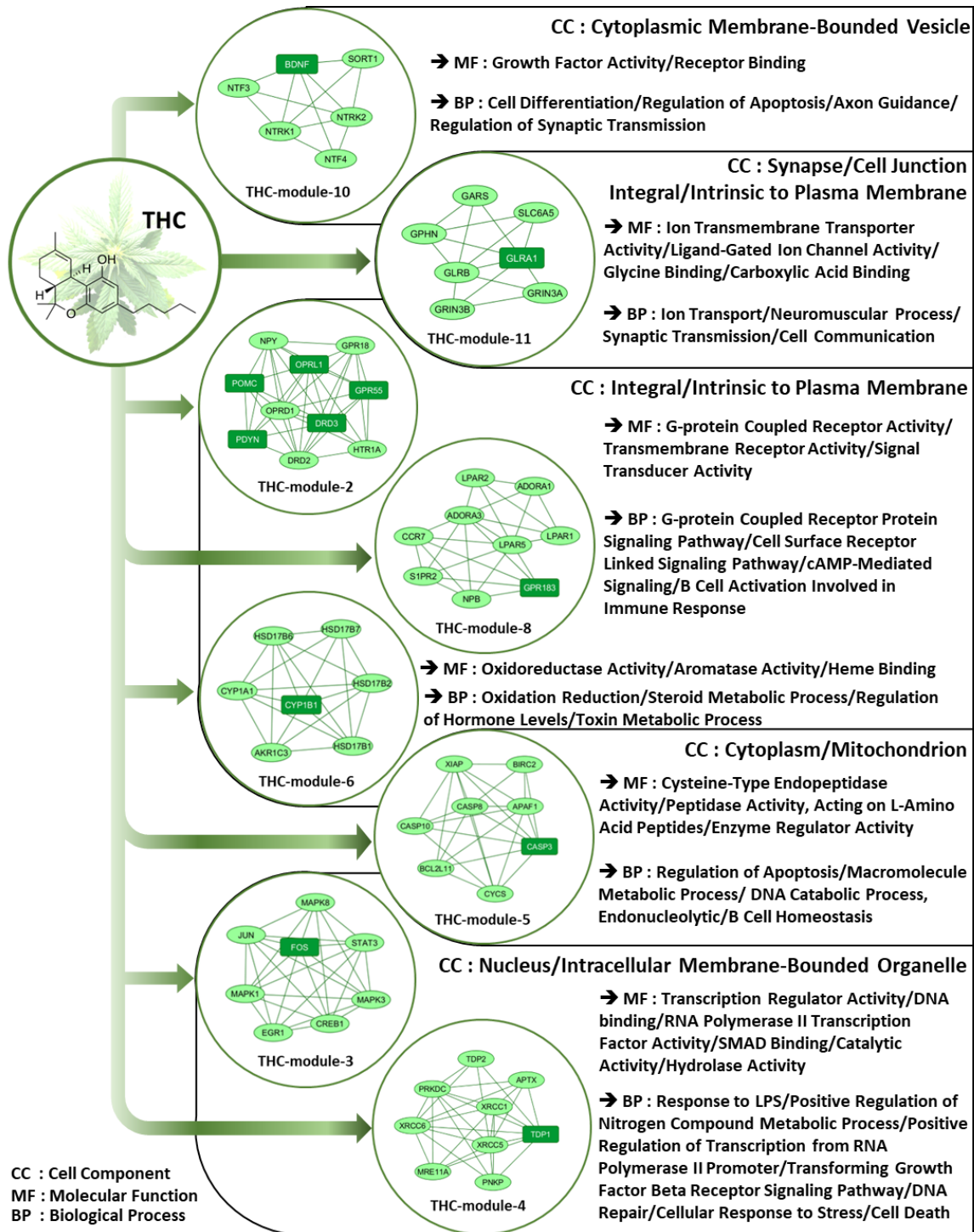
ระหว่างสารสกัดจากกัญชากับยาอื่น ที่ต้องพึงระวังการใช้ THC และ CBD ร่วมกับยาอื่น เนื่องจากจะเข้าไปมีผลยับยั้งไอโซฟอรัมของเอนไซม์ไซโตโครม P450 (Cytochrome P450 isoform) ที่อาจส่งผลให้ยาที่ถูกสลายหรือเมแทบอลิซ์ด้วยไอโซฟอรัมของเอนไซม์กลุ่มนี้ไม่สามารถทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ ทำให้เกิดการตกค้างและระดับยาที่สูงขึ้น ที่สามารถทำให้เกิดผลข้างเคียงตามมาได้ (Srisubat and Thanasittichai, 2019)

ผลของ THC ที่มีต่อการตายของเซลล์แบบ Apoptosis ในบริเวณไซโตพลาสซึมและไมโทคอนเดรียของเซลล์แสดงออกในโมดูล-5 (THC-module-5) ซึ่งมีโปรตีนเป้าหมายคือ CASP3 (Caspase 3) โดยการศึกษาของ Lukhele and Motadi (2016) แสดงให้เห็นผลจากการใช้สารสกัดจากกัญชาที่มีต่อการตายของเซลล์ไลน์จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เซลล์ไลน์ aggressive HeLa เซลล์ไลน์ metastatic ME-180 และเซลล์ไลน์ primary SiHa ของเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Cervical cancer cells) ที่การเหนี่ยวนำการตายของเซลล์ไลน์ของเซลล์มะเร็งปากมดลูกทั้งสามชนิดขึ้นอยู่กับ การแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นของโปรตีน p53 (protein 53), CASP3 และ BAX (Bcl2-associated X protein)

สำหรับโมดูล-3 (THC-module-3) กับโมดูล-4 (THC-module-4) มีผลจาก THC ในนิวเคลียส กับโปรตีนเป้าหมาย FOS (Fos Proto-Oncogene) และ TDP1 (Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 1) ตามลำดับ เกี่ยวข้องกับกลไกควบคุมการถอดรหัส (Transcription regulator activity) การจับดีเอ็นเอ (DNA binding) และการควบคุมเชิงบวกการถอดรหัสของยีนจากโปรโมเตอร์ของอาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส (Positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter) เป็นต้น โดย THC ส่งผลต่อการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของโปรตีน FOS (Allen *et al.*, 2003) ซึ่งจะรวมกลุ่มกับโปรตีนอื่นเป็นโปรตีนเชิงซ้อนทรานสคริปชันแฟกเตอร์ ที่จะควบคุมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Cell proliferation) การสร้างความแตกต่าง (Cell differentiation) และการเปลี่ยนแปลง (Cell transformation) และการแสดงออกของยีน FOS ก็เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์แบบ apoptosis (<https://www.genecards.org>, Stelzer *et al.*, 2016) โดย CBD จะส่งผลต่อปรับการกระทำทางเภสัชวิทยาของ THC ผ่านการควบคุมการแสดงออกของโปรตีน FOS และให้ข้อมูลใหม่ที่เกี่ยวข้องกับปฏิสัมพันธ์ระหว่าง CBD และ THC เพื่อการรักษาโรค (Todd and Arnold, 2016) จากการแปลผลกระบวนการทางชีวภาพและโปรตีนเป้าหมายจากเครือข่ายระหว่างโปรตีนของสารออกฤทธิ์ทั้ง CBD และ THC ข้างต้น (ภาพที่ 6 และ 7 ตามลำดับ) ก็สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางเพื่อการคัดเลือกโปรตีนเป้าหมายของกระบวนการทางชีวภาพที่สนใจ ตัวอย่างเช่น โปรตีนในกลุ่ม CYPs ได้แก่ CYP2C9, CYP2C19, CYP2B6, CYP2D6, CYP1A1, และ CYP1A2 ซึ่งเป็นโปรตีนเป้าหมายของ CBD ในโมดูล-1 โมดูล-3 และ โมดูล-4 ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของยาและเมแทบอลิซึมที่เกี่ยวข้อง และโปรตีน FOS กับ TDP1 ซึ่งเป็นโปรตีนเป้าหมายของ THC ในโมดูล-3 และ โมดูล-4 ตามลำดับ ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมกลไกการแสดงออกของยีนในระดับการถอดรหัส เป็นต้น สำหรับการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องต่อไป



ภาพที่ 6 ฟังก์ชันเน็ตเวิร์กโมดูลของสาร CBD และการแปลผลทางชีวภาพระดับโมเลกุลด้วย gene ontology



ภาพที่ 7 ฟังก์ชันโมดูลของสาร THC และการแปลผลทางชีวภาพระดับโมเลกุลด้วย gene ontology



สรุปผลการวิจัย

จากการสืบค้นข้อมูลเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมายของสาร CBD มีขนาด 81 โปรตีน 313 ปฏิสัมพันธ์ และเครือข่ายปฏิสัมพันธ์ของโปรตีนเป้าหมายของสาร THC มีขนาด 140 โปรตีน 599 ปฏิสัมพันธ์ เมื่อนำไปวิเคราะห์พฤติกรรมของเครือข่ายทั้งสอง พบว่ามีคุณสมบัติเป็น Scale-free และ Modularity ถึงแม้คุณสมบัติ Small world จะไม่ชัดเจนอันเนื่องมาจากเครือข่ายรวมมีการกระจายออกเป็นเครือข่ายย่อยที่มีขนาดเล็ก แต่เครือข่ายทั้งสองก็มีคุณสมบัติสำหรับการเป็นเครือข่ายทางชีวภาพที่สามารถนำไปวิเคราะห์โมดูลได้ จากการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันนัลโมดูลจากเครือข่ายปฏิสัมพันธ์โปรตีนเป้าหมายของสาร CBD และ THC พบจำนวนทั้งสิ้น 8 และ 13 โมดูล ตามลำดับ โดยฟังก์ชันนัลโมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายอยู่ในโมดูลของสาร CBD พบจำนวน 5 โมดูล (ภาพที่ 6) โดย CBD-module-3 และ CBD-module-4 เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ผ่านวิถีสัญญาณของ Cannabinoid receptor และ G-protein couple receptor ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับแคลเซียมภายในเซลล์ และวิถีสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการอักเสบ และการยับยั้งมะเร็ง เป็นต้น สำหรับ CBD-module-1 เกี่ยวข้องกับโปรตีนในกลุ่มเคราตินซึ่งเป็นโปรตีนโครงสร้างของผิวหนัง ในขณะที่ CBD-module-5 และ CBD-module-8 เกี่ยวข้องกับกลุ่มโปรตีน CYP ในการเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของยา รวมถึงสารในกลุ่มไฟโตแคนนาบินอยด์ ได้แก่ CBD ในส่วนฟังก์ชันนัลโมดูลที่มีโปรตีนเป้าหมายของสาร THC พบจำนวน 8 โมดูล ได้แก่ THC-module-10 และ THC-module-11 ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเซลล์ประสาทในกระบวนการ Neurogenesis และการบรรเทาอาการปวด ตามลำดับ ส่วน THC-module-2 และ THC-module-8 เชื่อมโยงกับการส่งผ่านสัญญาณผ่าน G-protein coupled receptor ที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมของระบบประสาทที่หลากหลาย การทำงานของสมอง การรับรู้ อารมณ์ และต่อมไร้ท่อ รวมถึงการกระตุ้นความอยากอาหารและการตอบสนองต่อสารออกฤทธิ์ทางจิตประสาท ในส่วนของ THC-module-6 เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของยาโดยโปรตีน CYP1B1 สำหรับ THC-module-5 มีความเกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์แบบ apoptosis นอกจากนี้ THC-module-3 และ THC-module-4 จะเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ภายในนิวเคลียสในการควบคุมเชิงบวกต่อการถอดรหัสของยีนที่ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวน การสร้างความแตกต่าง และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ จากการวิเคราะห์เครือข่ายฟังก์ชันนัลโมดูลของสารแคนนาบินอยด์จากพืชกัญชา ได้แก่ CBD และ THC ทำให้ทราบกระบวนการทางชีวภาพระดับโมเลกุล และโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้อง ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการตัดสินใจในการเลือกกระบวนการทางชีวภาพและโปรตีนเป้าหมายที่สนใจ ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุลของสาร CBD และ THC เพื่อลดเวลาและต้นทุนในการทำวิจัยก่อนที่ จะยืนยันผลในระดับห้องปฏิบัติการและต่อยอดงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่อไป แต่เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาจากข้อมูลปฏิสัมพันธ์ของสาร CBD และ THC กับโปรตีน ซึ่งจะไม่ครอบคลุมการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพที่เกิดขึ้นได้โดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในกลุ่ม CYPs ที่เปลี่ยนแปลงสาร CBD และ THC ให้กลายเป็นสารประกอบอีกหลากหลายชนิด จึงต้องมีการรวบรวมและศึกษาข้อมูลการออกฤทธิ์ของสารประกอบที่เกิดขึ้นเหล่านี้เพิ่มเติมด้วย



กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางสาวจิตาภา สอนศิริ ที่คอยช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการสร้างและวิเคราะห์เครือข่าย รวมถึงการเตรียมภาพเครือข่ายภายใต้โปรแกรม Cytoscape และขอขอบคุณนางสาวจารินี คงทรัพย์ ที่คอยสนับสนุนและชี้แนะสำหรับการสร้างและตกแต่งภาพที่ใช้ในบทความวิจัยนี้ และขอขอบคุณ รศ.ดร.เกียรติทิพย์ ชูวงศ์โกมล และ Prof. Dr. Ronald Beckett ที่ช่วยตรวจทานไวยากรณ์ในส่วนขอของบทความภาษาอังกฤษ

เอกสารอ้างอิง

Albert, R. (2005). Scale-free networks in cell biology. *Journal of Cell Science*, 118, 4947-4957,

<https://doi.org/10.1242/jcs.02714>.

Allen, K., McGregor, I., Hunt, G., Singh, M., and Mallet, P. (2003). Regional differences in naloxone modulation of Δ^9 -THC induced Fos expression in rat brain. *Neuropharmacology*, 44, 264–274.

[https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(02\)00364-7](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(02)00364-7).

Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., Davis, A. P., Dolinski, K., Dwight, S. S., Eppig, J. T., Harris, M. A., Hill, D. P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J. C., Richardson, J. E., Ringwald, M., Rubin, G. M. and Sherlock, G. (2000). Gene ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 25(1), 25-29. <https://doi.org/10.1038/75556>.

<https://doi.org/10.1038/75556>.

Bader, G. D. and Hogue C. W. (2003). An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks. *BMC Bioinformatics*, 4, 2. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-4-2>.

Briant, J. A., Nielsen, D. A., Proudnikov, D., Londono, D., Ho, A., Ott, J., and Kreeka, M. J. (2013). Evidence for association of two variants of the nociceptin/orphanin FQ receptor gene OPRL1 with vulnerability to develop opiate addiction in Caucasians. *Psychiatric Genetics*, 20(2),

<https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e328363f631>.

Bridgeman, M. B. and Abazia, D. T. (2017). Medicinal cannabis: history, pharmacology, and implications for the acute care setting. *Pharmacology and Therapeutics*, 42(3), 180-188.



- Casares, L., Garcia, V., Garrido-Rodriguez, M., Millán, E., Collado, J. A., García-Martín, A., Peñarando, J., Calzado, M. A., de la Vega, L., and Muñoz, E. (2020). Cannabidiol induces antioxidant pathways in keratinocytes by targeting BACH1. *Redox Biology*, 28, 2213-2317. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101321>.
- Corchero, J., Avila, M. A., Fuentes, J. A., Manzanares, J. (1997). delta-9-Tetrahydrocannabinol increases prodynorphin and proenkephalin gene expression in the spinal cord of the rat. *Life Sciences*, 61(4), 39-43. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(97\)00405-0](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(97)00405-0).
- Corchero, J., Fuentes, J. A., and Manzanares, J. (1997). Δ^9 -Tetrahydrocannabinol increases proopiomelanocortin gene expression in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus. *European Journal of Pharmacology*, 323, 193-195. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(97\)00144-1](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(97)00144-1).
- Davies, M., Nowotka, M., Papadatos, G., Dedman, N., Gaulton, A., Atkinson, F., Bellis, L. and Overington, J. P. (2015). ChEMBL web services: streamlining access to drug discovery data and utilities. *Nucleic Acids Research*, 43, W612-W620. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv352>.
- Elikottil, J., MBBS, Gupta, P., and Gupta, K. (2009). The analgesic potential of cannabinoids. *Journal of Opioid Management*, 5(6), 341–357.
- Ferreira, F. F., Ribeiro, F. F., Rodrigues, R. S., Sebastião, A. M., and Xapelli, S. (2018). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) role in cannabinoid-mediated neurogenesis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12, 441. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00441>.
- Gan, Y., Zheng, S., Baak, J.P., Zhao, S., Zheng, Y., Luo, N., Liao, W. and Fu, C. (2015). Prediction of the anti-inflammatory mechanisms of curcumin by module-Based protein interaction network analysis. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(6), 590-595. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.09.005>.
- Hartsel, J. A., Eades, J., Hickory, B. and Makriyannis A. (2016). *Cannabis sativa* and Hemp. In *Nutraceutical: Efficacy, Safety and Toxicity*. (pp. 735-754). Elsevier Inc.



- Izzo, A. A., Borrelli, F., Capasso, R., di Marzo, V. and Mechonulam, R. (2009). Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(10), 515-527. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.07.006>.
- Koch, M., Varela, L., Kim, J. G., Kim, J. D., Hernandez, F., Simonds, S. E., Castorena, C. M., Vianna, C. R., Elmquist, J. K., Morozov, Y. M., Rakic, P., Bechmann, I., Cowley, M. A. Szigeti-Buck, K., Dietrich, M. O. Gao, X.-B., Diano, S., and Horvath, T. L. (2015). Hypothalamic POMC neurons promote cannabinoid-induced feeding. *Nature*, 519(7541), 45–50. <https://doi.org/10.1038/nature14260>.
- Lauckner, J. E., Jensen, J. B., Chen, H-Y, Lu, H-C, Hille, B. and Mackie, K. (2008). GPR55 is a cannabinoid receptor that increases intracellular calcium and inhibits M current. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 105(7), 2699-2704. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711278105>.
- Lukhele, S. T., and Motadi, L. R. (2016). Cannabidiol rather than *Cannabis sativa* extracts inhibit cell growth and induce apoptosis in cervical cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(335), 1-16, <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1280-0>.
- Maere, S., Heymans, K. and Kuiper, M. (2005). BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks. *Bioinformatics*, 21(16), 3448-3449. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti551>.
- Pellati, F., Borgonetti, V., Brighenti, V., Biagi, M., Benvenuti, S. and Corsi, L. (2018). *Cannabis sativa* L. and nonpsychoactive cannabinoids: their chemistry and role against oxidative stress, inflammation, and cancer. *BioMed Research International*, 15 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/1691428>.
- Qi, Y. and Ge, H. (2006). Modularity and dynamics of cellular networks. *PLoS Computational Biology* 2(12), e174, <https://doi:10.1371/journal.pcbi.0020174>.



Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B. and Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13(11), 2498-2504. <http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.1239303>.

Śledziński, P., Zeyland, J., Słomski, R. and Nowak, A. (2017). The current state and future perspectives of cannabinoids in cancer biology. *Cancer Medicine*, 7(3), 765-775. <https://doi.org/10.1002/cam4.1312>.

Sornsiri, J. and Sootanan, P. (2020). Exploring anti-inflammatory mechanisms of onion bioactive compounds with module-based protein interaction network analysis. *Burapha Science Journal*, 25(2). 416-436. (in Thai).

Sornsiri, J., Srisook, K., Pornngam, P. and Sootanan, P. (2018). Prediction of biochemical mechanism of anti-inflammation explained from two marine-derived bioactive compounds. *Agriculture and Natural Resources*, 52(6), 588-595. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.11.016>.

Srisubat, A and Thanasittichai, S. (2019). Marijuana and modern medicine. *Journal of Medical Department*, 44(6), 5-8. (in Thai).

Stelzer, G., Rosen, R., Plaschkes, I., Zimmerman, S., Twik, M., Fishilevich, S., Iny Stein, T., Nudel, R., Lieder, I., Mazor, Y., Kaplan, S., Dahary, D., Warshawsky, D., Guan – Golan, Y., Kohn, A., Rappaport, N., Safran, M. and Lancet, D. (2016). The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analysis. *Current Protocols in Bioinformatics*, 54, 1.30.1-1.30.33. <https://doi.org/10.1002/cpbi.5>.

Sulcova, A. (2019). Pharmacodynamics of cannabinoids. *Archives of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 011-018. <https://doi.org/10.29328/journal.apps.1001013>.

Szklarczyk, D, Gable, A. L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., Simonovic, M., Doncheva, N. T., Morris, J. H., Bork, P., Jensen, L. J., and von Mering, C. (2019). STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Research*, 47, D607-D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>.



Szklarczyk, D., Santos, A., von Mering, C., Jensen, L. J., Bork, P. and Kuhn, M. (2016). STITCH 5: augmenting protein-chemical interaction networks with tissue and affinity data. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D380–D384. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1277>.

The Gene Ontology Consortium. (2019) The gene ontology resource: 20 years and still GOing strong. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D330-D338. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1055>.

Thomas, B. F. (2017). Interactions of cannabinoids with biochemical substrates. *Substance Abuse: Research and Treatment*, 11, 1-9. <https://doi.org/10.1177/1178221817711418>.

Todd, S. M., and Arnold, J. C. (2016). Neural correlates of interactions between cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol in mice: implications for medical cannabis. *British Journal of Pharmacology*, 173, 53-65. <https://doi.org/10.1111/bph.13333>.

Tournier, B. B., Dimiziani, A., Tsartsalis, S., Millet, P., and Ginovart, N. (2018). Different effects of chronic THC on the neuroadaptive response of dopamine D2/3 receptor-mediated signaling in roman high- and roman low-avoidance rats. *Synapse*, 72(4). <https://doi.org/10.1002/syn.22023>.

Volkow, N. D., Baler, R. D., Compton, W. M. and Weiss, S. R. B. (2014). Adverse health effects of marijuana use. *The New England Journal of Medicine*, 370(23), 2219-2227. <https://doi:10.1056/NEJMra1402309>.

Watts, D. J. and Strogatz, S. H. (1998). Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature*, 393, 440-442. <https://doi.org/10.1038/30918>.

Xiong, W., Cheng, K. J., Cui, T., Godlewski, G., Rice, K., Xu, Y. and Zhang, L. (2011). Cannabinoid potentiation of glycine receptors contributes to cannabis-induced analgesia. *Nature Chemical Biology*, 7(5), 296–303. <https://doi.org/10.1038/nchembio.552>.



Zendulka, O., Dovrtělová, G., Nosková, K., Turjap, M., Šulcová, A., Hanuš, L., and Juřica, J., (2016).

Cannabinoids and cytochrome P450 interactions. *Current Drug Metabolism*, 17(3), 206-226.

<https://doi:10.2174/1389200217666151210142051>.

Zou, S. and Kumar, U. (2018). Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: signaling and function in

the central nervous system. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(833), 23 pages,

<https://doi.org/10.3390/ijms19030833>.