บทที่ 4
การออกฤทธิ์ของยา
DRUG ACTION

จุดประสงค์ : หลังจากที่ได้ศึกษาบทเรียนนี้แล้ว นักศึกษาควรจะสามารถ

1. จำแนกลักษณะพันธะเคมี อธิบายบทบาทของพันธะเคมีในการออกฤทธิ์ และยกตัวอย่าง
2. อธิบายลักษณะการออกฤทธิ์ของยาที่เกิดผ่านการรวมตัวกับตัวจับยาพอเป็นสังเขป
3. ใช้หลักเบื้องต้นในการออกฤทธิ์ของยาหาความสัมพันธ์เพื่อนำไปใช้ในการหาค่า affinity และ intrinsic activity
4. วิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัวและผลการออกฤทธิ์ของยาแต่ละชนิด และหาค่า KD, Ka, pD_2, E_{max} และ k_3 จากกราฟแบบต่างๆ
5. สามารถให้ความหมายของ agonist, competitive antagonist, non-competitive antagonist และ partial agonist และอธิบายปฏิกิริยาต่อกันระหว่างยาที่เป็น agonist และ antagonist
6. อธิบายลักษณะการออกฤทธิ์แบบอื่นๆ นอกเหนือไปจากการออกฤทธิ์โดยการรวมตัวกับตัวจับยา

CM 473 133

บทนำ

4.1 พันธะเคมีที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของยา 135
4.1.1 พันธะโคเวเลนต์ 136
4.1.2 พันธะไอออนิก 137
4.1.3 Dipole-Dipole Interaction 138
4.1.4 พันธะไฮโดรเจน 139
4.1.5 Ion-Dipole Interaction 140
4.1.6 Ion-Induced Dipole Interaction 140
4.1.7 แรงแวนเดอร์วาลส์ 140
4.1.8 Charge Transfer Interaction 141
4.1.9 แรงไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction) 142
4.2 การออกฤทธิ์ของยา 143
4.2.1 การออกฤทธิ์โดยการรวมตัวกับตัวจับยา 143
4.2.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับการรวมตัวกับตัวจับยา 147
4.2.3 การศึกษาเรื่องตัวจับยา 155
4.3 การออกฤทธิ์ของยาที่ไม่ผ่านการรวมกับตัวจับยาโดยตรง 164
4.3.1 การออกฤทธิ์ต่อเยื่อ 165
4.3.2 การออกฤทธิ์แบบอื่นๆ 165
สรุป 167
แบบฝึกหัด 168

บทนำ

ในความหมายกว้างๆ ยาเป็นสารเคมีที่สามารถทำปฏิกิริยาต่อกันกับสิ่งมีชีวิต แล้วทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของร่างกาย หรือสิ่งมีชีวิตอื่น เพื่อป้องกันหรือรักษาโรคที่เกิดกับคนหรือสัตว์ได้ ปฏิกิริยาต่อกันระหว่างยากับบริเวณออกฤทธิ์จัดอยู่ใน pharmacodynamic phase บริเวณที่ยาจะไปออกฤทธิ์มีหลายแห่ง ได้แก่ บริเวณออกฤทธิ์ภายในเซลล์ ยาหลายชนิดมีผลกับลูกโซ่การหายใจและปฏิกิริยาการสร้าง ATP ซึ่งเกิดควบคู่กันในไมโตคอนเดรีย ยา หรือสารเคมีเหล่านี้ได้แก่ ยาระงับประสาทประเภทบาร์บิทูเรท (barbiturates) สารฆ่าแมลง และสารพิษจากสัตว์บางชนิด นอกจากนี้ยาต้านจุลชีพบางชนิด เช่น ยาซัลฟาก็ออกฤทธิ์ภายในเซลล์โดยไปรบกวนการสังเคราะห์สารที่จำเป็นเพื่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

บริเวณอื่นที่ยาออกฤทธิ์ ได้แก่ เยื่อเซลล์ โดยยาส่วนใหญ่จะมีการรวมตัวได้กับโมเลกุลทางชีวภาพที่เรียกว่าตัวจับยา หรือ receptor ซึ่งอยู่ที่เยื่อชีวภาพ โดยอาศัยการเกิดพันธะเคมีระหว่างหมู่ฟังก์ชันของยาและตัวจับยาซึ่งจะได้กล่าวต่อไป ยาอีกหลายชนิดมีจุดออกฤทธิ์อยู่ภายนอกเยื่อเซลล์ ตำแหน่งเหล่านี้ได้แก่ ผิวหนัง ช่องท้อง การออกฤทธิ์มักอาศัยคุณสมบัติเชิงเคมี-กายภาพของยามากกว่าจะออกฤทธิ์โดยการรวมกับตัวจับยา

4.1 พันธะเคมีที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของยา

ยา เป็นสารเคมีที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเชิงชีวภาพในร่างกาย การออกฤทธิ์เป็นการอธิบายปฏิกิริยาเชิงเคมีที่เกิดขึ้น ซึ่งเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่อกันระหว่างโมเลกุลยา กับไอออน บริเวณที่แตกตัวเป็นประจุ หรือชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น ตัวจับยา โปรตีน และกรดนิวคลีอิก โดยมีการสลายพันธะเคมีและการสร้างขึ้นใหม่ ดังแรงหรือพันธะที่มีส่วนในการออกฤทธิ์ของยาซึ่งเป็นที่รู้จักกันทั่วไป (ตาราง 4.1) ยาส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ และ

มักจะเป็นกรด หรือเบส ซึ่งอยู่ในรูปเกลือเป็นส่วนใหญ่ เมื่อเข้าไปในร่างกายจะเกิดปฏิกิริยาต่อกันกับบริเวณออกฤทธิ์ ผลที่เกิดจากการที่ยารวมตัวกับตัวจับยาจะหมดไปเมื่อพันธะที่เกิดขึ้นสลายออกจากกัน โดยปกติยาส่วนใหญ่รวมกับตัวจับยาในลักษณะทวนกลับได้ อาศัยพันธะที่มีความแข็งแรงไม่มาก ส่วนใหญ่เป็นแรงระหว่างประจุ แต่มีบ้างที่เป็นพันธะโคเวเลนต์

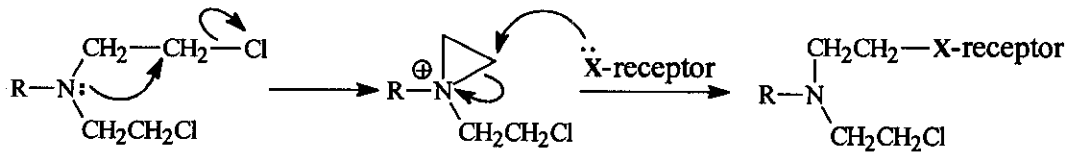
ตารางที่ 4.1 แรงระหว่างพันธะชนิดต่างๆ

Covalent	40-110
Electrostatic	
Ion-ion	10-20
Ion-dipole	3-7
Dipole-dipole	1-5
Hydrogen bond	1-7 (โดยทั่วไป 3-5)
Charge redistribution	
Polarization	1-3
Charge transfer	1-7
van der Waals	0.5-1
Entropy-based	
Hydrophobic interaction	0.7 ต่อ CH_2 1 หมู่

4.1.1 พันธะโคเวเลนต์

พันธะโคเวเลนต์ เป็นพันธะที่มีการใช้คู่อิเล็กตรอนร่วมกัน พลังงานพันธะสูงกว่าแรงกระทำประเภทอื่นๆ มาก ความแข็งแรงของพันธะมีค่าระหว่าง 40-110 kcal/mole การรวมตัวกับบริเวณออกฤทธิ์โดยพันธะชนิดนี้จึงเป็นปฏิกิริยาระหว่างกันชนิดไม่ย้อนกลับ พันธะโคเวเลนต์ที่เกิดระหว่างโมเลกุลยากับตัวจับยาจะหลุดจากกันที่อุณหภูมิ และ pH ของร่างกายได้ยาก อาจแตกหักได้แต่ต้องใช้เวลา เอนไซม์ หรือปฏิกิริยาเฉพาะ การเกิดพันธะโคเวเลนต์ระหว่างโมเลกุลยากับตัวจับยา ได้แก่ ปฏิกิริยา alkylation, acylation และ phosphorylation ดังนี้

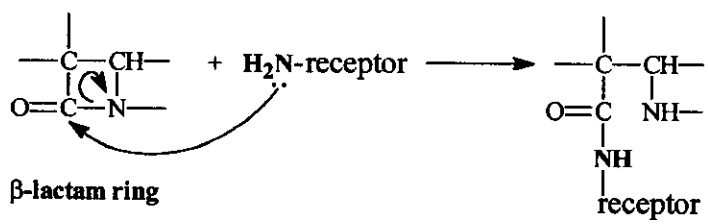
- **ปฏิกิริยา alkylation**



Nitrogen mustard **Immonium ion**

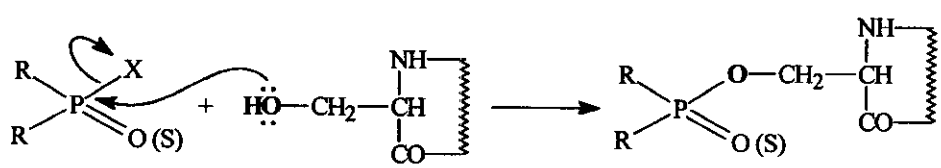
ไนโตรเจนมัสตาร์ดจะเกิดพันธะโคเวเลนต์กับชีวโมเลกุลได้ง่าย โดยจะทำปฏิกิริยากับตัวจับยา โปรตีน กรดนิวคลีอิก รวมทั้งน้ำได้ ให้ immonium ion เป็นอินเตอร์มีเดียต ในปฏิกิริยาจะเกิดพันธะโคเวเลนต์ได้อย่างรวดเร็ว กับหมู่ X ซึ่งได้แก่ S^-, COO^-, ฟอสเฟต แอนไอออน และอะตอมของ S, N และ O ในชีวโมเลกุล

- **ปฏิกิริยา acylation** เช่น ปฏิกิริยาที่เกิดในสารปฏิชีวนะบางชนิด



β-lactam ring

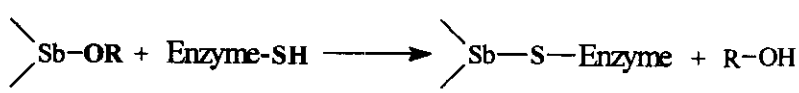
- **ปฏิกิริยา phosphorylation**



Organic phosphate
X = leaving group

Serine enzyme

- **ปฏิกิริยาระหว่างอะตอมของโลหะหนักกับหมู่ SH ในเอนไซม์**

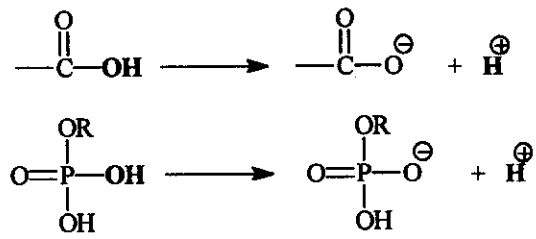


4.1.2 พันธะไอออนิก

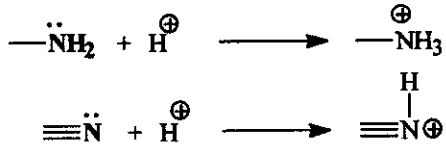
พันธะชนิดนี้เป็นแรงดึงดูดแบบไฟฟ้าสถิตระหว่างไอออนที่มีประจุตรงกันข้าม พันธะไอออนิกที่เกิดระหว่างโมเลกุลยากับตัวจับยาหรือชีวโมเลกุลอื่นๆ เกิดจากส่วนที่เป็น

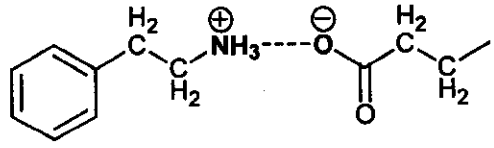
ประจุของยาและบริเวณรวมตัว ยาส่วนใหญ่อยู่ในรูปเกลือ อาจจะเป็นเกลือของกรดอ่อนและด่างอ่อน ซึ่งแตกตัวได้บางส่วนให้ประจุลบหรือประจุบวก ความสามารถในการแตกตัวดูได้จากค่า pKa ของยา และ pH ของตัวทำละลายที่บริเวณนั้นๆ ประจุที่บริเวณรวมตัวมาจากการแตกตัวของหมู่อะตอมในชีวโมเลกุล ได้แก่ หมู่คาร์บอกซิล, ฟอสฟอริล, อะมิโน และ อิมิโน เช่น

หมู่อะตอมที่เป็นประจุลบ



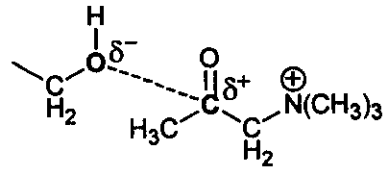
หมู่อะตอมที่เป็นประจุบวก





4.1.3 Dipole-Dipole Interaction

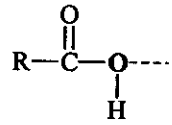
แรงระหว่างไดโพล (dipole-dipole interaction) เกิดระหว่างส่วนของโมเลกุลที่มีสภาพขั้วคู่ หรือไดโพล ซึ่งเกิดจากการสร้างพันธะโคเวเลนต์ระหว่างอะตอมที่มีสภาพไฟฟ้าลบ (electronegativity) ต่างกัน เช่น

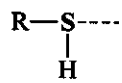


4.1.4 พันธะไฮโดรเจน

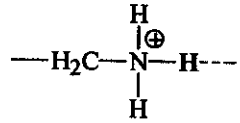
พันธะไฮโดรเจน เป็นแรงระหว่างไดโพลแบบพิเศษ เป็นแรงดึงดูดแบบไฟฟ้าสถิตระหว่างอะตอมของไฮโดรเจนที่สร้างพันธะโคเวเลนต์กับอะตอมที่มีสภาพไฟฟ้าลบสูง (เช่น H ใน O-H, N-H และ S-H) ทำให้มีการกระจายอิเล็กตรอนในพันธะเหล่านี้ไม่เท่ากัน อะตอมของไฮโดรเจนจึงขาดอิเล็กตรอนและมีสภาพขั้วบวกเล็กน้อย ซึ่งสามารถเกิดแรงดึงดูดกับคู่อิเล็กตรอนของอะตอมที่มีสภาพไฟฟ้าลบสูง เช่น O, N หรือ S จากบริเวณอื่นๆ เนื่องจากพันธะ O-H และ N-H พบทั่วไปในชีวโมเลกุล และโมเลกุลยาจะมีอะตอมที่มีสภาพไฟฟ้าลบสูง พันธะไฮโดรเจนจึงมีส่วนสำคัญในการรวมตัวกับบริเวณออกฤทธิ์อย่างยิ่ง ตัวอย่าง เช่น กรดอะมิโนชนิดต่างๆในชีวโมเลกุล ซึ่งมีตัวรับโปรตอนและให้โปรตอน ได้แก่

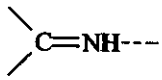
ตัวรับโปรตอน

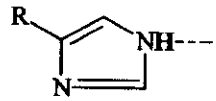

เช่น หมู่คาร์บอกซิลของกรด aspartic, glutamic

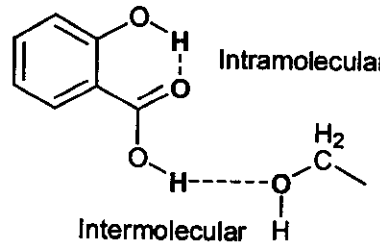

เช่น หมู่ซัลไฟด์ของ methionine, cystine

ตัวให้โปรตอน


เช่น หมู่แอมโมเนียมของ lysine

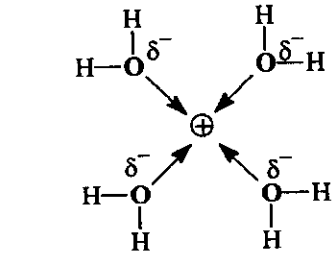

เช่น หมู่ guanidinium ของ arginine

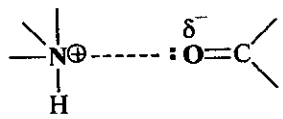

เช่น วง imidazole ของ histidine



4.1.5 Ion-Dipole Interaction

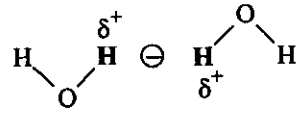
แรงประเภทนี้เป็นแรงระหว่างไอออน และไดโพล เช่น การเกิด solvation หรือแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของตัวทำละลายกับไอออนของตัวละลาย ซึ่งเป็นแรงไฟฟ้าสถิต เกิดจากการจัดโมเลกุลโดยเอาด้านที่มีประจุตรงข้ามกับไอออนเข้าหาไอออนนั้นๆ ถ้าน้ำเป็นตัวทำละลายจะเป็น hydration ตัวอย่างอื่น ได้แก่ แรงระหว่างหมู่แอมโมเนียมกับหมู่คาร์บอนีล (ก) และหมู่คาร์บอกซิล กับประจุบวกในเอสเทอร์-O ซึ่งเนื่องมาจาก inductive effect (ข)

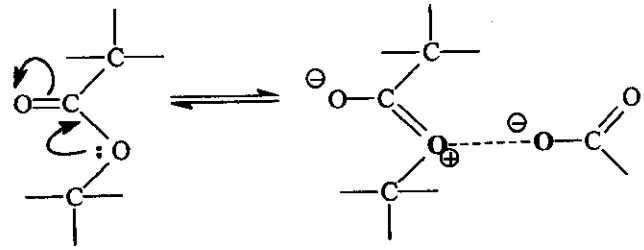




(ก)

และ





(ข)

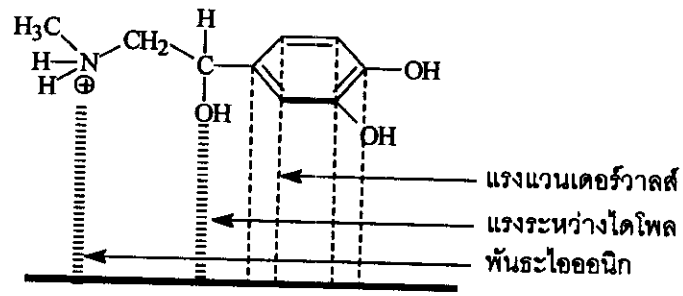
4.1.6 Ion-Induced Dipole Interaction

นอกจากแรงระหว่างไอออนและไดโพลแล้ว โมเลกุลที่มีประจุอาจเหนี่ยวนำให้เกิดสภาพขั้วคู่ หรือไดโพลในโมเลกุลที่ไม่มีขั้วได้ ทำให้มีแรงดึงดูดอย่างอ่อนๆ เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลที่มีประจุกับโมเลกุลที่ไม่มีขั้วได้ แรงที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า Ion-induced dipole interaction

4.1.7 แรงแวนเดอร์วาลส์

แรงแวนเดอร์วาลส์ เกิดขึ้นได้กับโมเลกุลทุกประเภท เป็นแรงระหว่างประจุอย่างอ่อนที่เกิดจากสภาพขั้วคู่ชั่วขณะซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้น โดยที่ขณะใดขณะหนึ่งอิเล็กตรอนรอบๆนิวเคลียสอาจถูกรบกวนโดยแรงดึง หรือแรงผลัก ทำให้การกระจายอิเล็กตรอนเบี่ยงเบนไป ไม่สมมาตร มีความหนาแน่นที่ด้านใดด้านหนึ่งมากกว่า อิเล็กตรอนในอะตอมอื่นหรือบริเวณใกล้เคียงจึงเบี่ยงเบนไปด้วย เกิดสภาพขั้วคู่อ่อนๆ ด้านที่เป็นบวกของไดโพลที่เนื่อง

มาจากโปรตอนในนิวเคลียสจะเกิดแรงดึงดูดกับประจุตรงข้ามของอะตอมข้างๆในโมเลกุลเดียวกันหรือโมเลกุลใกล้ๆ เป็นแรงดึงดูดชั่วคราวโดยมีระยะห่างระหว่างอะตอมประมาณ 0.4-0.6 nm ปกติแล้วแรงลักษณะนี้เกิดช่วงสั้นมาก ประมาณ 10^{-6} วินาที :ซึ่งแม้ว่าจะมีพลังงานต่ำ แต่เมื่อรวมเข้าด้วยกันทำให้มีค่าพลังงานสูงขึ้นมาก และมีความสำคัญต่อการรวมตัวอย่างยิ่ง ความแข็งแรงขึ้นกับความสามารถในการเป็นขั้ว ถ้ามีหมู่แทนที่ชนิดมีขั้วอยู่ด้วยจะช่วยให้ความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น



รูปที่ 4.1 การเกิดพันธะระหว่างโมเลกุลของ (-)-นอร์อีพิเนฟริน และจุดออกฤทธิ์

โมเลกุลของยาหรือสารเคมีมีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว พันธะที่เกิดขึ้นระหว่างส่วนที่ไม่มีขั้วของยากับชีวโมเลกุล มักจะเป็นแรงแวนเดอร์วาลส์ เช่น แรงระหว่างวงเบนซีน สภาพขั้วที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นจะมาจากการเคลื่อนที่ของ π-อิเล็กตรอน วงอะโรเมติกในยาจะเกิดแรงดึงดูดกับส่วนที่เป็นอะโรเมติกของชีวโมเลกุล ไม่เกิดกับส่วนที่เป็นอะลิเฟติก ในทำนองเดียวกันส่วนที่เป็นอะลิเฟติกของยาก็เกิดแรงดึงดูดกับส่วนของชีวโมเลกุลที่มีลักษณะเดียวกัน

4.1.8 Charge Transfer Interaction

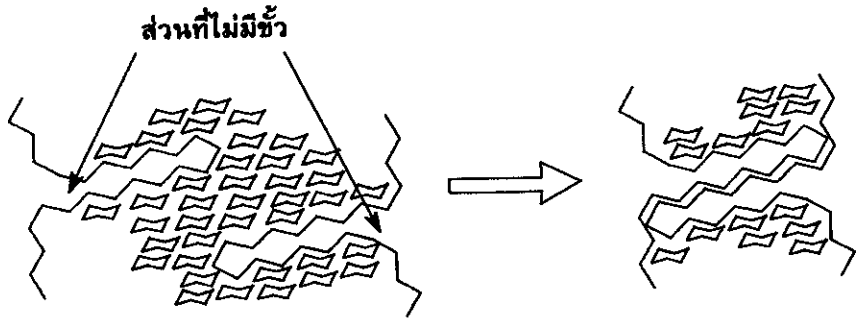
การถ่ายโอนประจุ หรือ *charge transfer* เป็นแรงกระทำระหว่างกันของโมเลกุล 2 โมเลกุล ซึ่งเป็นตัวให้อิเล็กตรอน (electron donor) และตัวรับอิเล็กตรอน (electron acceptor) เมื่ออยู่ในระยะประชิดกันมากพอที่จะเกิดปฏิกิริยาต่อกันอย่างอ่อนๆ ไปจนถึงการเกิด ion pair ซึ่งขึ้นกับความสามารถในการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน การถ่ายโอนประจุเกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลตัวให้ที่มีอิเล็กตรอนมาก กับตัวรับที่ขาดอิเล็กตรอน ตัวให้อิเล็กตรอนมักจะเป็นวงเฮเทอโรไซคลิกที่มี π-อิเล็กตรอนหนาแน่น (เช่น furan, pyrrol, thiophene) วงอะโรเมติกที่มีหมู่แทนที่ชนิดให้อิเล็กตรอน และสารประกอบที่มีคู่อิเล็กตรอนอิสระ ส่วนตัวรับมักจะเป็นระบบที่ขาดอิเล็กตรอน เช่น purines, pyrimidines วงอะโรเมติกที่มีหมู่แทนที่ชนิดดึงอิเล็กตรอน และ

tetracyanoethylene

ปฏิกิริยาต่อกันระหว่างยาและตัวจับยาอาจเกิดการถ่ายโอนประจุ เช่น ปฏิกิริยาของสารปฏิชีวนะบางชนิดที่เข้าไปแทรกจับคู่เบสใน DNA การเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างสารส่งกระแสประสาท norepinephrine และ seretonin กับ ATP ในถุงเก็บสะสม และปฏิกิริยาระหว่างฟีนอลกับพันธะเพปไทด์ (หัวข้อ 1.8.1)

4.1.9 แรงไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction)

แรงไฮโดรโฟบิก เป็นแรงโดยอ้อมที่อธิบายสาเหตุที่ไฮโดรคาร์บอนไม่ละลายน้ำ โมเลกุลที่ไม่มีขั้วของไฮโดรคาร์บอนจะไม่ถูกล้อมรอบ (solvate) ด้วยโมเลกุลของน้ำ เนื่องจากไฮโดรคาร์บอนไม่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้ น้ำจึงจัดตัวอย่างเป็นระเบียบมากยิ่งขึ้นเป็นแนวเขตรอบๆไฮโดรคาร์บอน เชื่อว่าน้ำแต่ละโมเลกุลสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลได้ถึง 4 พันธะ โดยเกาะกันเป็นรูป hexagonal แบบเก้าอี้ เป็นชั้นๆโดยอาศัยพันธะไฮโดรเจน เมื่อมีสารไม่มีขั้วอยู่ในน้ำ ส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะพยายามอยู่ร่วมกันเพื่อให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของน้ำลดลงน้อยที่สุด และผิวสัมผัสระหว่างกลุ่มไม่ชอบน้ำกับน้ำจะต้องลดลงเพื่อให้เกิดแรงระหว่างกันน้อยที่สุดด้วย



รูปที่ 4.2 แรงไฮโดรโฟบิกที่เกิดจากน้ำ และส่วนของโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ

เมื่อโครงสร้างที่เป็นไฮโดรคาร์บอน 2 ส่วน เช่น เฮกเซน ซึ่งอยู่กระจายแยกจากกันในน้ำเคลื่อนเข้าใกล้กัน จะไล่โมเลกุลน้ำตามแนวเขตที่จัดเป็นระเบียบให้ทะลายลง ทำให้มีเอนโทรปี (entropy) เพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงพลังงานอิสระในระบบทำให้เกิดแรงขับ ซึ่งคือแรงไฮโดรโฟบิก ทำให้โมเลกุลที่ไม่มีขั้ววิ่งเข้าหากัน เมื่อเข้ามาใกล้ในระยะพอเหมาะก็จะเกิดแรงแวนเดอร์วาลส์ระหว่างกันขึ้น

4.2 การออกฤทธิ์ของยา

การออกฤทธิ์ของยาอาจเกิดจากการรวมตัวกับชีวโมเลกุลเฉพาะ หรือไม่ผ่านการรวมกับตัวจับสารก็ได้ เยื่อชีวภาพมีส่วนประกอบสำคัญ คือ โปรตีน ลิพิด และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีอัตราส่วนสัมพันธ์กันและต่างกันไปตามหน้าที่ของเซลล์ โดยทั่วไปยาออกฤทธิ์ผ่านปฏิกิริยาต่อกันกับชีวโมเลกุล เช่น เอนไซม์ โปรตีนตัวพา โปรตีนควบคุมช่องผ่านไอออน และโปรตีนเฉพาะที่เป็นตัวจับยา

4.2.1 การออกฤทธิ์โดยการรวมตัวกับตัวจับยา

แนวคิดเรื่องตัวจับยา

แนวคิดเรื่องตัวจับยาถูกเสนอโดย *John N. Langley* ซึ่งศึกษาผลของ pilocarpine ต่อการต้านฤทธิ์อะโทรปีน (atropine) ที่มีต่อการหลั่งน้ำลาย ต่อมา *Paul Ehrlich* ได้นำผลการศึกษาที่ได้จากการย้อมติดสีของเนื้อเยื่อ การรวมตัวระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี และผลของสารเคมีที่มีต่อจุลชีพ มาเสนอแนวคิดของโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ยาไปรวมตัวอย่างถาวร (irreversible combination) หรือรวมตัวอย่างทวนกลับ (reversible combination) โดยใช้คำ **"receptor" (ตัวจับสาร หรือ ตัวจับยา)** โดยมีความหมายเป็นตัวจับสารเฉพาะ ซึ่งเป็นชีวโมเลกุลที่ยาไปมีปฏิกิริยาด้วย และให้ผลตอบสนองเกิดขึ้น เช่น ทำให้เกิดการหลั่งสารบางชนิด กล้ามเนื้อหดตัวหรือคลายตัว เป็นต้น

โดยนัยของการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการเชิงชีวภาพที่เกิดในร่างกาย การที่สารที่มีโครงสร้างเฉพาะ ออกฤทธิ์ได้ที่ความเข้มข้นต่ำมากๆ เมื่อรวมกับชีวโมเลกุลขนาดใหญ่เฉพาะตัว และให้ผลออกมามากมาย (trigger action) นั้น จะเป็นการรวมตัวที่มีการเปลี่ยนแปลงเชิงชีวเคมีเป็นลำดับอย่างต่อเนื่องจนมีผลปรากฏขึ้น เชื่อว่าสารสื่อปฏิกิริยาหลายชนิดมีความสำคัญในการสื่อสารระหว่างเซลล์ ผ่านปฏิกิริยาต่อกันกับโปรตีนที่เป็นตัวจับสาร ซึ่งเป็นโมเลกุลเฉพาะที่มีลักษณะ 3 อย่าง ดังนี้

i) มีจำนวนตัวจับสารแน่นอนในเซลล์ เกิดการอิ่มตัวได้เมื่อมีการรวมตัว (saturability)

ii) มีความเฉพาะเจาะจงต่อลักษณะทางเคมีของโมเลกุลยา (specificity)

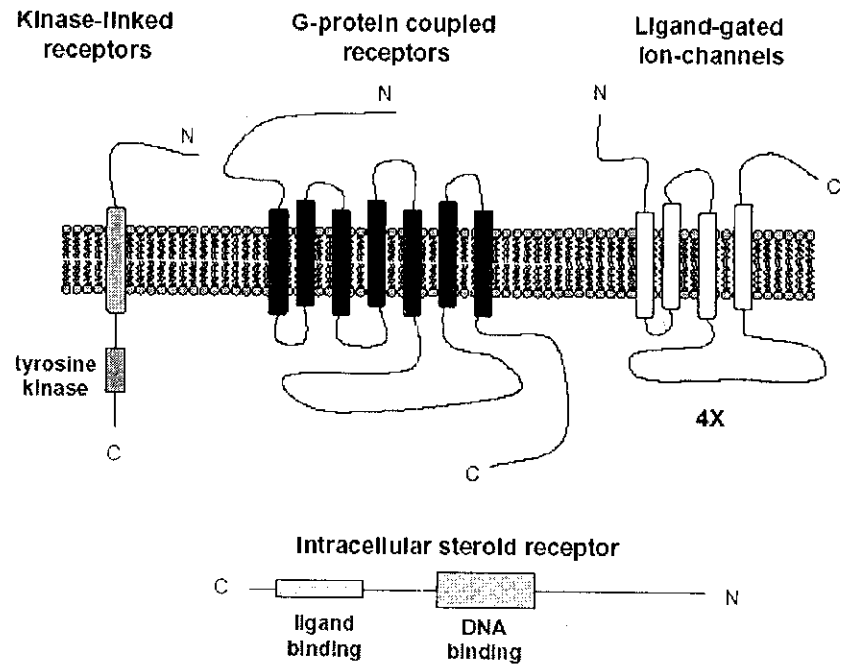
iii) การรวมตัวกับโมเลกุลยาควรเป็นแบบทวนกลับได้ (reversibility) และโมเลกุลยาจะอยู่ในรูปเดิมไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อหลุดออกจากการรวมตัว

โดยทั่วไปโมเลกุลที่รวมได้กับตัวจับสารเฉพาะ เรียก ***ลิแกนด์*** (ligand) ซึ่งหมายรวมถึงทั้ง ยา สารส่งกระแสประสาท ฮอร์โมน และสารที่มีหน้าที่พิเศษต่างๆ ที่ร่างกายหลั่งออกจากต่อมหรือเซลล์เฉพาะ (autocoids) เป็นต้น ตัวจับยาอาจเป็นไกลโคโปรตีน และไกลโคลิพิดซึ่งอยู่ที่ผิวเยื่อเซลล์ องค์ประกอบในเซลล์ หรือในไซโทพลาซึม แต่ในบางกรณีอาจเป็นกรดนิวคลีอิกได้ โดยรวมตัวกับชีวโมเลกุลเฉพาะ ที่บริเวณต่างๆได้ ดังนี้

- บริเวณเฉพาะภายนอกเซลล์
- บริเวณเฉพาะเฉพาะภายในเซลล์
- รวมตัวที่ช่องผ่านไอออนและควบคุมการเปิดช่องผ่านไอออนโดยตรง
- บริเวณเฉพาะที่เยื่อเซลล์

โปรตีนที่เป็นตัวจับสารเฉพาะอาจจัดเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ (รูปที่ 4.3)

1) *Ligand-gated ion channel* เป็นตัวจับสารที่ผิวเยื่อ ประกอบด้วยหน่วยย่อย 4-8 หน่วย ควบคุมช่องผ่านไอออน เช่น ตัวจับสารของนิโคตีน, acetylcholine และ $GABA_A$
2) *G-protein coupled receptor* เป็นตัวจับสารที่ผิวเยื่อ ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีนิวคลีโอไทด์กัวนีน (guanine) ร่วมอยู่ด้วย จี-โปรตีนเป็นพอลิเพ็ปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 300-600 หน่วย ขดขวางผ่านเยื่อพลาสมา 7 ครั้ง คาดว่าทำให้เกิดหลุมที่เยื่อพลาสมาซึ่งเป็นบริเวณที่ลิแกนด์เข้าไปรวมตัว ซึ่งอาจทำให้เกิดการกระตุ้นหรือยับยั้งการสร้างสารสื่อปฏิกิริยา ได้แก่ ตัวจับสารประเภทฝิ่น (opioid receptors) ตัวจับสารชนิดมัสคารีน (muscarinic receptor) และตัวจับสารคาทีคอลอะมีน (catecholamine receptors) เป็นต้น
3) *Tyrosine kinase-linked receptor* เป็นตัวจับสารที่ผิวเยื่อ มีการทำงานผ่านการกระตุ้นส่วนของเอนไซม์ tyrosine kinase ที่อยู่ในตัวจับสาร เช่น ตัวจับสารสำหรับอินซูลิน
4) *Intracellular receptor* เป็นตัวจับสารภายในเซลล์ ซึ่งอาจเป็นเอนไซม์ หรือตัวควบคุม gene transcription มีบริเวณที่รวมกับ DNA และลิแกนด์ ผลที่เกิดขึ้นมักจะมาจากการเปลี่ยนแปลง gene transcription เช่น ตัวจับสารของ วิตามิน-D และฮอร์โมนจากต่อมไทรอยด์ เป็นต้น



รูปที่ 4.3 แบบจำลองลักษณะโปรตีนที่เป็นตัวจับสารเฉพาะ

การรวมตัวระหว่างลิแกนด์กับโปรตีนที่เป็นตัวจับสารเหล่านี้ อาจมีการเปลี่ยนแปลงเชิงชีวเคมีเป็นลำดับอย่างต่อเนื่องจนเกิดผลในลักษณะใดลักษณะหนึ่ง ดังนี้

- ช่องผ่านไอออน เปิดหรือปิด
- สารสื่อปฏิกิริยา (messenger) เช่น cAMP, cGMP Ca^{2+}, inositol phosphate ถูกกระตุ้น ทำให้เกิดปฏิกิริยาเชิงชีวเคมีต่อเนื่องภายในเซลล์ ซึ่งเป็นสัญญาณที่ถูกกระตุ้นเพราะยา
- การทำงานตามปกติของเซลล์ถูกขัดขวาง เช่น การสร้าง DNA การสังเคราะห์โปรตีน และการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

อย่างไรก็ดีสารพิเศษในร่างกายหรือสารจากภายนอก ซึ่งมีคุณสมบัติเชิงเคมี และสามารถมีปฏิกิริยาต่อกันอย่างเฉพาะเจาะจงกับบริเวณรวมตัวของโมเลกุลเฉพาะ อาจไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่อง และให้ผลออกมาอย่างมากมายก็ได้ ดังนั้นจึงมีความแตกต่างระหว่างบริเวณออกฤทธิ์ที่เป็นตัวจับสารแท้ (true receptor) กับบริเวณรวมตัวที่เป็นที่ไม่แสดงผล (silent receptor)

ปฏิกิริยาต่อกัน ระหว่างยากับตัวจับยาสามารถเขียนได้ ดังนี้

เมื่อ ยา (Drug) = D

ตัวจับยา (Receptor) = R

คอมเพล็กซ์ระหว่างยากับตัวจับยา = D-R

$$\text{DRUG (D)} + \text{RECEPTOR (R)} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \text{D-R} \xrightarrow{k_2} \text{D} + \text{R} + \text{EFFECT} \qquad (1)$$

โดยมีแนวคิดคล้ายปฏิกิริยาต่อกันระหว่างเอนไซม์กับสับสเตรท (สมการ 2)

$$\text{ENZYME (E)} + \text{SUBSTRATE (S)} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \text{ES} \xrightarrow{k_2} \text{E} + \text{PRODUCT} \qquad (2)$$

ความแตกต่างอยู่ที่เอนไซม์มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยา ซึ่งสามารถวัดปริมาณสารตั้งต้น ผลิตผล และหาอัตราปฏิกิริยาได้ แต่กรณีของตัวจับยา ไม่สามารถวัดผลตอบสนอง หรือ effect ได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากปฏิกิริยาต่อกันระหว่างยาและตัวจับยาจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ต่อเนื่องเป็นลำดับๆ จนการตอบสนองทางชีวภาพเกิดภายหลังต่อมา

$$\text{D} + \text{R} \longrightarrow \text{D-R} \longrightarrow \longrightarrow \longrightarrow \text{ผลการตอบสนอง}$$

ความแตกต่างอีกประการก็คือการแพร่ของยามาที่ตัวจับสารอาจจำกัด ดังนั้นความเข้มข้นของยาที่บริเวณใกล้ตัวจับยาอาจจะไม่ถึงค่าสมดุลอย่างรวดเร็วดังที่ต้องการในเชิงคณิตศาสตร์ การที่ยาหลายชนิดออกฤทธิ์ได้สูงและแสดงผลเฉพาะได้ เนื่องจากเกิดพันธะเคมีกับตัวจับยา *agonist (A) เป็นยาที่ให้ผลการตอบสนองเมื่อรวมกับตัวจับยา* สำหรับยาที่ *รวมกับตัวจับยาได้ แต่ขัดขวาง หรือยับยั้งการตอบสนองของยาที่เป็น agonist ที่ตัวจับยาเดียวกัน เรียก antagonist (B)*

$$\text{A} + \text{R} \longrightarrow \text{A-R} \longrightarrow \longrightarrow \longrightarrow \text{ผลการตอบสนอง}$$

$$\text{B} + \text{R} \longrightarrow \text{B-R} \not\longrightarrow$$

การตอบสนองของเซลล์ต่อยาที่เป็นอะโกนิสต์ชนิดต่างๆ ที่ตัวจับยาชนิดเดียวกันมักจะแสดงผลเหมือนกัน ขึ้นกับสมบัติของเซลล์นั้นๆ นอกจากนี้ผลที่เกิดขึ้นเกิดจากการที่โมเลกุลยาและบริเวณรวมตัว มีหมู่ฟังก์ชัน การจัดเรียงหมู่อะตอม ประจุ ที่มีความคล้ายกันหรือสัมพันธ์กัน ซึ่งอาจทำให้ออปติกัลไอโซเมอร์และสารในอนุกรมโฮโมโลกัสเดียวกัน มี

การตอบสนองลดลงหรือหายไปได้ ซึ่งแสดงว่าตัวจับยาอาจมีการเลือกชนิดหมู่อะตอมและหมู่ฟังก์ชันของยาที่เหมาะสมในปฏิกิริยาการรวมตัวด้วย

4.2.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับการรวมตัวกับตัวจับยา

1) Occupancy Theory

Occupancy theory อยู่บนข้อสมมติฐานที่ว่า ยาเกิดปฏิกิริยาต่อกันกับบริเวณรวมตัวที่คล้ายกัน ไม่ขึ้นแก่กัน และกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางชีวภาพ ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณคอมเพล็กซ์ระหว่างยากับตัวจับยาที่เกิดขึ้น การตอบสนองจะหายไปเมื่อคอมเพล็กซ์แตกตัว ซึ่งอาศัยหลักเบื้องต้น ดังนี้

- การรวมตัวระหว่างยาและตัวจับยาเป็นปฏิกิริยาแบบทวนกลับ
- การรวมตัวเป็นแบบ bimolecular ส่วนการแตกตัวของคอมเพล็กซ์เป็น unimolecular
- ตัวจับยาชนิดใดชนิดหนึ่งจะเหมือนกัน และทำปฏิกิริยาโดยไม่ขึ้นแก่กัน
- เมื่อเกิดการรวมตัว ตัวจับยาไม่ทำให้ยาเปลี่ยนแปลง และการรวมตัวของยากับตัวจับยาไม่มีผลต่อความเข้มข้นของยาที่อยู่ในรูปอิสระ
- การตอบสนองแปรผันตามปริมาณของตัวจับยาที่เกิดการรวมตัว และการตอบสนองเชิงชีวภาพขึ้นกับสมดุลระหว่างยากับตัวจับยา

ซึ่งรูปแบบที่เกี่ยวข้องมี 2 ขั้นตอน คือ

1. **สัมพรรคภาพ** (affinity) ซึ่งเป็นความสามารถของตัวจับยาที่จะรวมตัวกับยา
2. **Intrinsic activity** หรือ **Efficacy** เป็นความสามารถของคอมเพล็กซ์ระหว่างยากับตัวจับยา ในการแสดงผลการตอบสนอง

$$D + R \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} DR \xrightarrow{k_3} R + E \qquad (3)$$

เมื่อ k_1 และ k_2 เป็นอัตราการรวมตัวและอัตราการแตกตัวตามลำดับ
E คือ ผลการตอบสนอง

ดังนั้นที่สมดุล: $k_1[D][R] = k_2[DR]$

$$\frac{[D][R]}{[DR]} = \frac{k_2}{k_1} = K_D \qquad (4)$$

เมื่อ K_D เป็นค่าแตกตัวคงที่ของ DR ส่วนกลับของ K_D คือ K_A จะบอกความสามารถของยาใดยาหนึ่งในการรวมตัวกับตัวจับยา หรือ *สัมพรรคภาพ* ของตัวจับยา

$$\frac{[DR]}{[D][R]} = \frac{k_1}{k_2} = K_A \qquad (5)$$

เนื่องจาก occupancy theory มีสมมติฐานว่าผลการออกฤทธิ์ขึ้นกับจำนวนตัวจับยาที่เกิดการรวมตัว ดังนั้น

$$E = k_3[DR] \qquad (6)$$

เมื่อ k_3 คือค่าคงที่ของอัตราปฏิกิริยา ซึ่งเกี่ยวข้องระหว่างผลการออกฤทธิ์ของยา D และ DR ถ้า R_T = ตัวจับยาทั้งหมด ซึ่งเป็นผลรวมของตัวจับยาที่อยู่ในรูปอิสระ และคอมเพล็กซ์

$$[R_T] = [R] + [DR] \qquad (7)$$

แทนค่า [R] จากสมการ (7) ลงในสมการ (4) จะได้

$$K_D = \frac{[R_T - DR][D]}{[DR]} \qquad (8)$$

เนื่องจากการตอบสนองทางชีวภาพ ขึ้นกับคอมเพล็กซ์ระหว่างยากับตัวจับยา ดังนั้นผลการตอบสนองสูงสุดจะเกิดขึ้นเมื่อ [DR] ในสมการที่ (4) = $[R_T]$

$$E_{max} = k_3[R_T] \qquad (9)$$

ถ้าจำนวนตัวจับยาที่รวมตัวกับยาเป็นสัดส่วนโดยตรงกับผลการออกฤทธิ์ จากสมการ (6) และสมการ (9) จะได้

$$\frac{E}{E_{max}} = \frac{[DR]}{[R_T]} \qquad (10)$$

หา R_T จากสมการ (8) และแทนลงในสมการ (10) จะได้ผลการออกฤทธิ์ตามสมการ (11)

$$\frac{E}{E_{max}} = \frac{[D]}{[D] + K_D} \qquad (11)$$

ข้อจำกัดของทฤษฎีนี้คือ ไม่สามารถระบุความเข้มข้นสัมพัทธ์ของทั้งตัวจับยาที่อยู่ในรูปอิสระและรูปคอมเพล็กซ์ และอธิบาย partial agonist ไม่ได้ จึงเกิดแนวคิดในเรื่อง intrinsic acitivity ซึ่งเป็นสิ่งเร้าที่เกิดเมื่อตัวจับยามีปฏิกิริยาต่อกันกับโมเลกุลยา โดยเป็นสัดส่วนของผลการตอบสนองสูงสุด

$$\text{Effect} = \text{intrinsic activity} \times [DR]$$

ค่าความสามารถในการเปลี่ยนแปลงให้เกิดผลทางชีวภาพอยู่ในช่วง 0 (antagonist) ถึง 1 (full agonist) สำหรับ partial agonist จะมีค่ามากกว่า 0 แต่น้อยกว่า 1

สมการซึ่งให้ผลตอบสนองที่เป็นฟังก์ชันของสิ่งเร้า "intrinsic activity" หรือ k_3 จะหาได้เมื่อนำค่า [DR] จากสมการ (4) แทนลงในสมการ (6)

$$E = k_3 \frac{[D][R]}{K_D} \qquad (12)$$

ค่า [R] หาได้ดังนี้ จากสมการ (7) หาค่า [DR] และแทนลงในสมการ (4) จะได้

$$KD = \frac{[D][R]}{[R_T] - [R]}$$

$$[R_T] - [R] = \frac{[D][R]}{K_D}$$

เอา [R] หารตลอด

$$\frac{[R_T]}{[R]} - 1 = \frac{[D]}{K_D}$$

$$\frac{[R_T]}{[R]} = \frac{[D]}{K_D} + 1$$

$$[R] = \frac{[R_T]}{\frac{[D]}{K_D} + 1} \qquad (13)$$

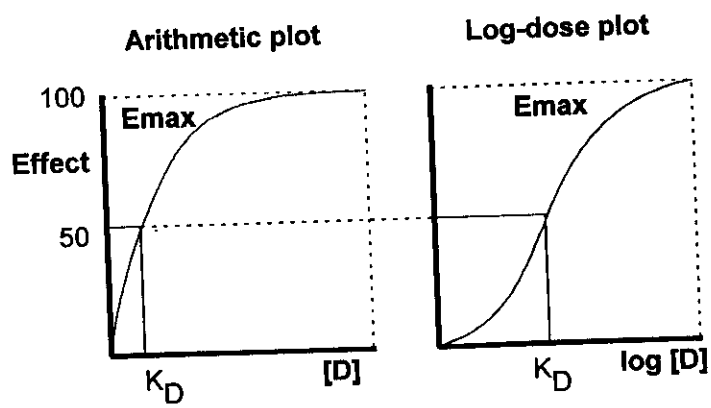
แทนค่า [R] ลงในสมการ (12) จะได้สมการซึ่งให้ผลการตอบสนองที่เป็นฟังก์ชันของสิ่งเร้า

$$E = \frac{k_3[R_T]}{1 + \frac{K_D}{[D]}} \qquad (14)$$

ผลตอบสนองขั้นสุดท้ายจึงเป็นฟังก์ชันของสิ่งเร้าที่เกิดขึ้น ดังนั้นการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อยาจึงขึ้นกับปัจจัย 4 ประการ คือ

- ความหนาแน่นของตัวจับยา
- ประสิทธิภาพของเนื้อเยื่อในการแปลงสัญญาณการรวมตัวให้ได้ผลทางเภสัชวิทยา
- ค่าคงที่การแตกตัวของคอมเพล็กซ์ระหว่างยากับตัวจับยา
- ประสิทธิภาพภายในของปฏิกิริยาการรวมตัวระหว่างยากับตัวจับยา

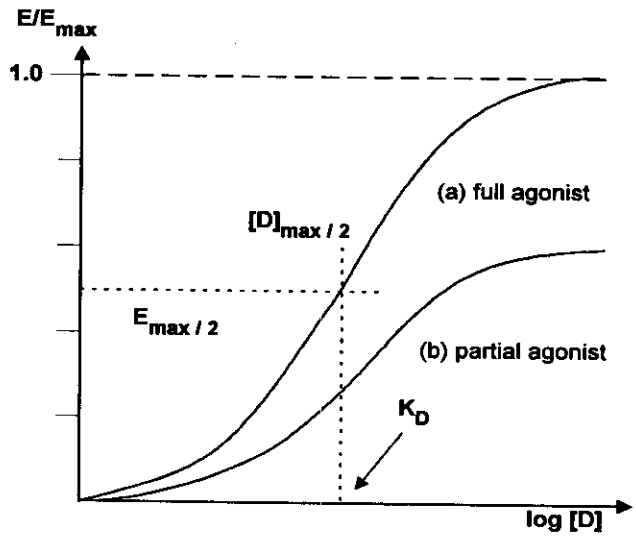
จากสมการ (11) และ (14) จะมีค่าที่เป็นตัวแปรเพียง 2 ตัว คือผลการออกฤทธิ์ (E) ที่ได้จากยาเข้มข้น [D] เมื่อเขียนกราฟระหว่างอัตราส่วนของผลการออกฤทธิ์ (E/E_{max}) กับ [D] ตามสเกลปกติ จะได้กราฟรูปไฮเพอร์โบลิกจากจุดเริ่มต้นโค้งเข้าสู่ผลการออกฤทธิ์สูงสุด แต่ถ้าแกนความเข้มข้นอยู่ในสเกล log จะได้กราฟรูป S (Sigmoid curve) ค่า intrinsic activity (k_3) จะได้จากส่วนสูงสุดของกราฟที่ไปตัดแกนตั้ง



จากสมการ (11) จะเห็นว่าเมื่อ [D] = 0 จะไม่มีผลการออกฤทธิ์ และเมื่อ [D] = K_D ผลการออกฤทธิ์จะเป็นครึ่งหนึ่งของผลการออกฤทธิ์สูงสุด นั่นคือเท่ากับ $E_{max}/2$ ดังนั้นค่า K_D ของยาและตัวจับยาที่เป็นอะโกนิสต์ จะหาได้จากกราฟด้วย กล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือ *ค่าแตกตัวคงที่ของคอมเพล็กซ์ระหว่างยาที่เป็นอะโกนิสต์กับตัวจับยาจะได้จาก ความเข้มข้นของยานั้นที่ทำให้เกิดผลการออกฤทธิ์ที่เป็นครึ่งหนึ่งของผลการออกฤทธิ์สูงสุด* หรือ $[D]_{max\ /2}$

ค่า $[D]_{max/2}$ จะออกมาในหน่วยความเข้มข้น ซึ่งไม่สะดวกเมื่อใช้แสดงความสามารถในการที่ยาจับกับตัวจับยา หรือ สัมพรรคภาพ ดังนั้นจึงใช้แทนด้วยค่า pD_2

$$pD_2 = -\log[D]_{max/2}$$
$$= -\log K_D$$
$$= \log \frac{1}{K_D}$$
$$= \log K_A$$

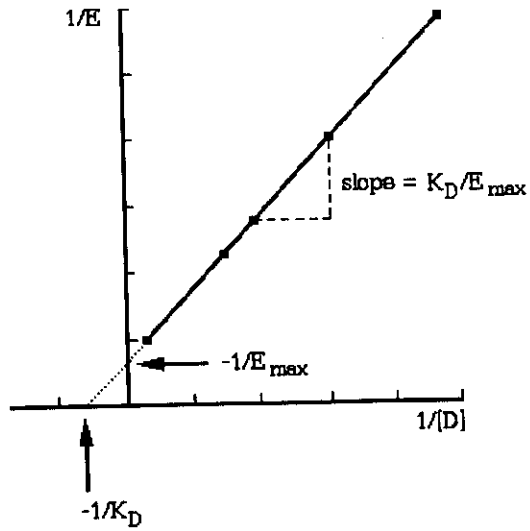


รูปที่ 4.3 กราฟระหว่างความเข้มข้นในสเกล log และผลตอบสนองของยาที่เป็นสัดส่วนกับผลตอบสนองสูงสุด (E/E_{max}) ซึ่งสามารถหาค่า K_D และ k_3 จากกราฟได้

เมื่อปรับสมการ (11) จะให้สมการ (15)

$$\frac{E_{max}}{E} = \frac{K_D + [D]}{[D]}$$
$$= \frac{K_D}{[D]} + 1$$
$$\frac{1}{E} = \frac{K_D}{E_{max}[D]} + \frac{1}{E_{max}} \qquad (15)$$

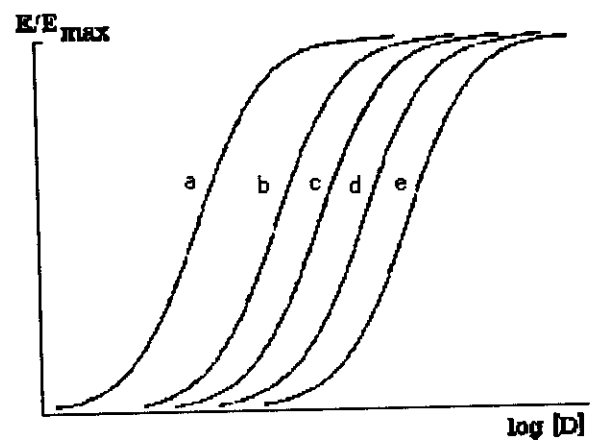
การเขียนกราฟระหว่าง 1/[E] กับ 1/[D] จะให้กราฟเส้นตรงซึ่งจะตัดแกนตั้งที่ $1/E_{max}$ และมีความชัน = K_D/E_{max} และถ้าต่อเส้นกราฟไปตัดแกนนอนจะให้ค่า intercept = $1/K_D$ กราฟเส้นตรงที่ได้จะให้ข้อมูลเป็นค่า K_A และค่า E_{max} ง่ายกว่าแบบที่กล่าวมา



รูปที่ 4.4 กราฟจากสมการ (15) ซึ่งได้จากการเขียนกราฟระหว่าง 1/E กับ 1/[D]

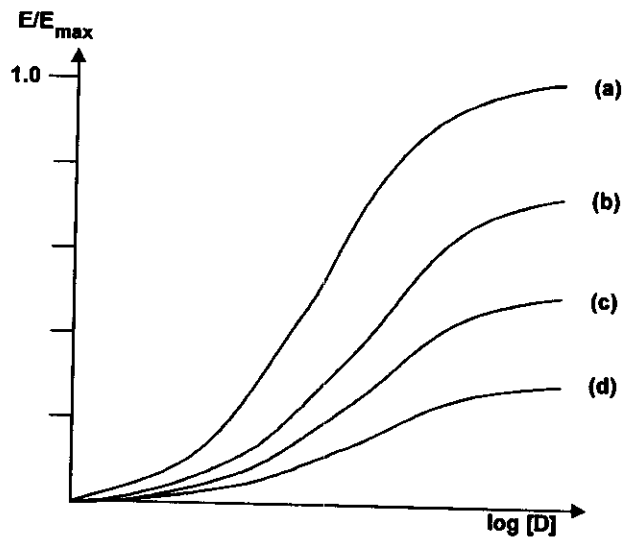
- **ปฏิกิริยาต่อกันระหว่างอะโกนิสต์และแอนทาโกนิสต์**

1. **Competitive antagonist** เป็นยาที่แย่งจับตัวจับยาแบบทวนกลับ ตรงบริเวณรวมตัวที่เดียวกับอะโกนิสต์ แต่คอมเพล็กซ์ไม่มี intrinsic activity การยับยั้งที่เกิดขึ้นทำให้ผลของอะโกนิสต์ลดลง แต่ถ้าเพิ่มปริมาณของอะโกนิสต์ก็จะให้ผลเท่าเดิม (กราฟ a เปรียบเทียบกับ b-e) ถ้ามีแอนทาโกนิสต์ประเภทนี้อยู่ด้วย เส้นกราฟจะเลื่อนไปทางขวา เมื่อปริมาณแอนทาโกนิสต์เพิ่มขึ้น (b-e) รูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 กราฟระหว่างผลตอบสนอง กับ log [D] เมื่อไม่มี competitive antagonist (a) และมีแอนทาโกนิสต์ประเภทนี้อยู่ด้วยที่ปริมาณต่างๆ (b-e)

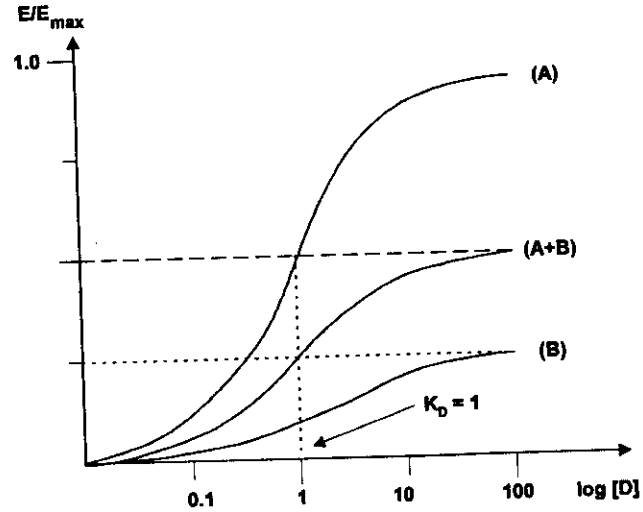
2. **Noncompetitive antagonist** กรณีนี้แอนทาโกนิสต์อาจรวมตัวที่เดียวกับอะโกนิสต์ แต่การรวมตัวเป็นแบบถาวร ทำให้ผลการออกฤทธิ์สูงสุดลดลง หรือแอนทาโกนิสต์อาจจะรวมตัวกับตัวจับยาบริเวณอื่น แต่ส่งผลให้คอมเพล็กซ์มี intrinsic activity ลดลง โดยที่ความสามารถในการรวมตัวกับตัวจับยาไม่เปลี่ยน (รูปที่ 4.6)



รูปที่ 4.6 กราฟการตอบสนองกับความเข้มข้นของอะโกนิสต์เมื่อมี irreversible antagonist อยู่ด้วยในความเข้มข้นจากน้อยไปมาก b, c และ d ตามลำดับ เปรียบเทียบกับในกรณีที่ไม่มี irreversible antagonist (a)

3. **Dualist หรือ partial agonist** สารประเภทนี้มีผลการออกฤทธิ์ที่เป็นอะโกนิสต์และแอนทาโกนิสต์ ในการตอบสนองแบบหลัง สารพวกนี้จะลดการตอบสนองของอะโกนิสต์ตัวที่แอกทีฟกว่า ซึ่งมีค่า intrinsic activity มากกว่า (รูป 4.7)

อย่างไรก็ดีแม้ว่าจะมีผลการทดลองมากมายเกี่ยวกับการรวมตัว ซึ่งสนับสนุนหลักการออกฤทธิ์ของยาที่ดัดแปลงจาก occupancy theory แต่ยังมีหลายสิ่งที่อธิบายไม่ได้ เช่น ยาบางชนิดที่ออกฤทธิ์กระตุ้นในตอนแรกแต่ต่อมายับยั้ง, ผลการออกฤทธิ์ของอะโกนิสต์ลดลงเมื่อได้รับแอนทาโกนิสต์ซ้ำหลายครั้ง และ แนวคิดเรื่อง spare receptor จึงได้มีคำอธิบายแนวอื่นๆอีกที่นอกเหนือไปจาก occupancy theory เช่น rate theory, induced-fit theory และ macromolecular perturbation theory เป็นต้น



รูปที่ 4.7 เป็นกราฟเปรียบเทียบระหว่างผลการออกฤทธิ์ของ full agonist (A), partial agonist (B) และเมื่อมี A กับ B อยู่ด้วยกัน ทั้ง A และ B มีสัมพรรคภาพเท่ากัน

2) Rate Theory

กรณีนี้ความแรงในการตอบสนองเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนการเข้ารวมตัวของยาที่ตัวจับยาต่อหน่วยเวลา โดยที่ผลทางชีวภาพไม่จำเป็นต้องเกิดจากคอมเพล็กซ์ที่เสถียร แต่จะขึ้นกับความเร็วในการรวมตัวและการแตกตัวของยาที่ตัวจับยา ซึ่งอธิบายโดยสมการ

$$E = \theta V_{eq}$$

เมื่อ E คือผลตอบสนอง

θ หมายถึงกระบวนการเกิดคอมเพล็กซ์ระหว่างยากับตัวจับยา

V คือความเร็วในการตอบสนอง

ยาที่เป็นอะโกนิสต์จะมีอัตราเร็วทั้งการรวมตัวและการแตกตัว ส่วนแอนทาโกนิสต์จะมีอัตราเร็วเฉพาะการรวมตัว ส่วนการแตกตัวช้า ดังนั้นแอกติวิตีของยาที่เป็นอะโกนิสต์ไปยังแอนทาโกนิสต์ จึงอธิบายด้วยการลดลงของอัตราการแตกตัวของคอมเพล็กซ์ระหว่างยากับตัวจับยา แต่ข้อจำกัดของทฤษฎีนี้คือไม่สามารถอธิบายความแตกต่างของผลเชิงชีวภาพระหว่างสารที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายกันได้ และไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างความแข็งแรงของการรวมตัว กับผลเชิงชีวภาพ

3) Induced-fit Theory

รูปแบบ induced-fit theory ซึ่งเดิมเสนอขึ้นมาสำหรับเอนไซม์นั้น อธิบายถึงรูปร่างลักษณะของบริเวณรวมตัวไม่จำเป็นต้องไปด้วยกันกับคอนฟอร์เมชันของยา แต่จะมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงรูปที่บริเวณรวมตัวของตัวจับยา ที่ทำให้การรวมตัวเข้ากันได้เหมาะเจาะ การเปลี่ยนแปลงทางโครงรูปที่เกิดขึ้น จะถูกแปลออกมาเป็นผลทางชีวภาพ ในกรณีนี้อะโกนิสต์จะรวมตัวและเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงรูปที่ถูกต้อง ส่วนแอนทาโกนิสต์จะรวมตัว แต่ไม่เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงรูปที่ถูกต้อง

4) Macromolecular Perturbation Theory

ทฤษฎีนี้ซึ่งอธิบายใกล้เคียงกับ induced-fit theory จะไม่คำนึงถึงแนวคิดที่เกี่ยวกับสัมพรรคภาพและ intrinsic activity ของยาและตัวจับยา แต่เสนอว่าเมื่อรวมตัวกับตัวจับยา อะโกนิสต์จะเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวที่เป็นขั้นเป็นตอนโดยเฉพาะ และทำให้เกิดการรบกวนโครงรูปของโมเลกุลตัวจับยาอย่างเฉพาะเจาะจง ส่วนแอนทาโกนิสต์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่มีความเฉพาะ ไม่เป็นระเบียบ

4.2.3 การศึกษาเรื่องตัวจับยา

การศึกษาเรื่องตัวจับยามีหลายแนวทาง เป็นการศึกษาทั้งโดยตรงและโดยอ้อม เช่น ศึกษาเรื่องบริเวณรวมตัว การรวมตัวและจลนศาสตร์ระหว่างยากับชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ พิสูจน์ความเฉพาะเจาะจงของการรวมตัว การแยกชีวโมเลกุลที่เป็นตัวจับยาโดยวิธีทางชีวเคมีและศึกษาคุณสมบัติเฉพาะ โดยอาจมีการพิสูจน์หาบริเวณที่เป็นตัวจับยาโดยวิธีต่างๆ การสกัดแยกออกมาโดยวิธีทางชีวเคมีเพื่อศึกษาสมบัติต่างๆ เช่น ขนาด รูปร่าง ความหนาแน่น โครงสร้างทุติยภูมิ ตติยภูมิ และปฏิกิริยาต่อกันกับยา ดังเทคนิคบางอย่างต่อไปนี้

1. Affinity labelling

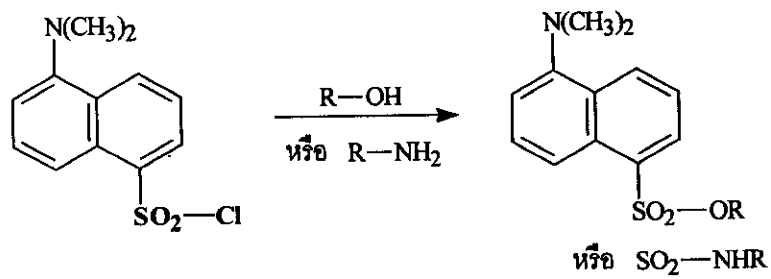
Affinity labelling เป็นวิธีที่มีความเฉพาะเจาะจง การระบุตำแหน่งบริเวณรวมตัวเป็นแบบถาวร เช่น เอนไซม์ ตัวจับยา ตัวจับสารส่งกระแสประสาท แอนติบอดี หรือตัวจับฮอร์โมน การพิสูจน์หาบริเวณที่เป็นตัวจับยาด้วยวิธีนี้ ใช้ตรวจสอบบริเวณที่คาดว่าน่าจะเป็นชีวโมเลกุลเป้าหมาย โดยใช้สารที่มีความเฉพาะตัวกับบริเวณนั้นๆ นำมาเปลี่ยนแปลงให้มีหมู่ฟังก์ชันที่สามารถรวมตัวแบบโคเวเลนต์กับหมู่ -OH, -SH ของชีวโมเลกุล ความเฉพาะเจาะจงของการรวมตัวจะชี้นำไปยังบริเวณรับรู้ของตัวจับยา

2. Radioisotopic methods

วิธีทางไอโซโทปกัมมันตรังสี เป็นการใช้เทคนิคตามรอยกัมมันตรังสี อาศัยวิธีการสังเคราะห์สารโดยให้มีธาตุไอโซโทปที่เสถียร เช่น ^{3}H, ^{14}C, ^{32}P, ^{35}S หรือธาตุที่ให้รังสีแกมมา (^{125}I, ^{131}I) เข้าแทนอะตอมปกติที่มีอยู่ในโมเลกุลยา และตรวจนับกัมมันตรังสีภายหลังจากเกิดการรวมตัวให้คอมเพล็กซ์ระหว่างสารกับเนื้อเยื่อ โดยมีวิธีทดลองที่สามารถให้ความแตกต่างในการรวมตัวที่เป็นบริเวณเฉพาะเจาะจงได้

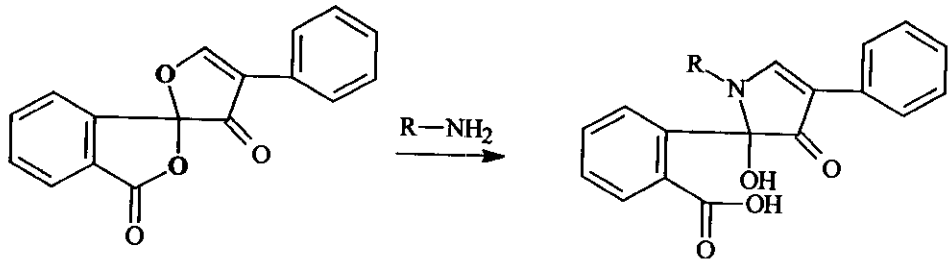
3. Fluoresence methods

วิธีทางฟลูออเรสเซนซ์ ใช้อธิบายลักษณะของตัวจับสารได้ ชีวโมเลกุลหลายชนิดรวมทั้งยาแสดงสมบัติวาวแสง สารสังเคราะห์หลายชนิดถูกใช้เป็นตัวชี้ ทำหน้าที่เป็นเครื่องหมายที่แสดงโดยการวาวแสงให้เห็นต่างไปจากบริเวณรอบๆ เช่น dansyl chloride และ fluorescamine ซึ่งใช้ในปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ที่มาจากชีวโมเลกุล



Dansyl-chloride **Dansyl-label**

การวาวแสงเกิดเมื่อโมเลกุลที่มีสมบัติวาวแสงดูดกลืนคลื่นแสงที่ตรงกับความยาวคลื่นกระตุ้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอนในสารประกอบ อิเล็กตรอนถูกกระตุ้นขึ้นไปอยู่ที่สภาวะเร้า ซึ่งอาจมีการถ่ายเทพลังงานในรูปอื่นให้โมเลกุลอื่น หรือส่วนอื่นของโมเลกุลเดียวกัน (quenching) เมื่อมีการเปลี่ยนระดับกลับมาสภาวะพื้นตามเดิม จะมีการคายพลังงานออกมาในรูปคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นที่ยาวขึ้น หรือเกิดฟลูออเรสเซนซ์ การวาวแสงของโมเลกุลขึ้นกับสภาพแวดล้อมด้วย สารหลายชนิดวาวแสงได้เฉพาะในตัวกลางที่ไม่มีขั้ว เช่น fluorescamine ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงทางคอนฟอร์เมชัน หรือมีปฏิกิริยาต่อกันกับสารวาวแสงให้อยู่ในสภาพที่ชอบน้ำมากขึ้น การวาวแสงก็จะเปลี่ยนไปเช่นกัน



Fluorescamine (nonflurescence) **Fluorescent derivative**

4. Magnetic resonance methods

การเปลี่ยนระดับพลังงานในนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี เป็นการเปลี่ยนระดับพลังงานระหว่างสภาวะสปินของนิวเคลียสที่มีแมกเนติกโมเมนต์ไม่เป็นศูนย์ นิวเคลียสที่โปรตอนเป็นเลขคี่จะมีประจุ เมื่อสปิน (spin) จึงมีสมบัติแม่เหล็ก ทิศทางการสปินจะไม่เป็นระเบียบ นิวเคลียสของอะตอมจะมีโมเมนตัมเชิงมุมภายในตัวเองเป็น $I(h/2\pi)$ เมื่อ I คือ เลขสปินของนิวเคลียส นิวเคลียสที่มีค่า I = 0 เช่น ^{12}C และ ^{16}O จะไม่แสดงทรานสิชันแบบ NMR โมเลกุลที่มีนิวเคลียสที่มีเลขสปิน 1/2 จะให้สเปกตราที่มีการแยกสูง เช่น ^{1}H, ^{13}C, ^{19}F และ ^{31}P นิวเคลียสที่มีเลขสปินเป็น 1 หรือมากกว่า จะให้สเปกตราที่มีแถบสัญญาณกว้าง เนื่องจากมี electric quadrupole moment

ถ้านิวเคลียสที่มีสมบัติเป็นแม่เหล็กถูกวางอยู่ในสนามแม่เหล็กจากภายนอก จะมีการจัดตัวเป็น 2I + 1 ทิศทาง ขึ้นกับสนามแม่เหล็กภายนอก เช่น ^{1}H จะมี 2 ทิศทาง (I = 1/2) คือ ตามสนามแม่เหล็กภายนอก (พลังงานต่ำ) และตรงข้ามสนามแม่เหล็ก (พลังงานสูง) จึงมีนิวเคลียส 2 กลุ่ม ที่ความแตกต่างของระดับพลังงาน $(\Delta E) = h\nu$

เมื่อ ν คือความถี่ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า $= \gamma H_o/2\pi$

H_o = ความเข้มสนามแม่เหล็กภายนอกที่นิวเคลียส

γ = ค่าคงที่ magnrtogyric ratio

ตัวอย่าง เช่น ^{1}H ถ้าสนามแม่เหล็กภายนอกมีความเข้ม 14092 เกาส์ (gauss) ใช้ความถี่ประมาณ 60 MHz ซึ่งอยู่ในช่วงคลื่นวิทยุ เมื่อได้รับสัญญาณที่เหมาะสม อะตอมที่มีพลังงานต่ำจะดูดกลืนพลังงานช่วงคลื่นวิทยุ และเลื่อนไปที่ระดับพลังงานสูง บางตัวเมื่อถูกกระตุ้นให้คายพลังงานออกมา จะกลับลงมาอยู่ที่ระดับพลังงานต่ำ และจัดตัวตามสนามแม่เหล็ก มีการเปลี่ยนระดับพลังงาน และเกิดเรโซแนนซ์ขึ้น พลังงานที่ถูกดูดกลืนวัดได้ด้วย

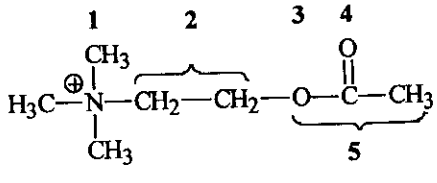
เครื่องรับสัญญาณ แสดงออกในรูปสเปกตรัมการดูดกลืนเทียบกับความถี่ที่ได้รับ ซึ่ง ^1H แต่ละอะตอมจะแตกต่างกันตามสภาพแวดล้อม จึงสามารถบอกความแตกต่างได้

ปฏิกิริยาต่อกันระหว่างโมเลกุลขนาดเล็กกับโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น การรวมตัวระหว่างยากับตัวจับยา สามารถศึกษาโดยใช้นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ โดยอาศัยหลักที่ว่าสัญญาณเรโซแนนซ์ของโมเลกุลเล็กติดตามง่าย ถ้าไม่ถูกเหลื่อมซ้อนโดยสัญญาณที่ซับซ้อนและแถบสัญญานกว้างจากโมเลกุลขนาดใหญ่ที่อยู่ในสารละลายเดียวกัน เช่น การศึกษาการรวมตัวของยากับแอลบูมินในซีรัม และการใช้ relaxation rate ที่เพิ่มขึ้นของโปรตอนบางตัวในการศึกษาบริเวณรวมตัวของโมเลกุลเล็กๆ เป็นต้น

5. ข้อมูลจากความสัมพันธ์ระหว่างสูตรโครงสร้างและผลการออกฤทธิ์

การศึกษาลักษณะตัวจับยาอาจอาศัยข้อมูลจากความสัมพันธ์ระหว่างสูตรโครงสร้างและผลการออกฤทธิ์ ซึ่งได้จากการทดลองกับเนื้อเยื่อโดยมียาหลักซึ่งแสดงผลการออกฤทธิ์ที่เด่นชัด กับสารอื่นๆที่มีลักษณะโครงสร้างคล้ายยาต้นแบบ โดยอาศัยวิธีการออกแบบสูตรโครงสร้างและการสังเคราะห์ทางเคมีอินทรีย์ ความสามารถในการออกฤทธิ์ที่ได้อาจนำมาอนุมานลักษณะและปฏิกิริยาที่ตัวจับยาเฉพาะมีต่อยาได้ เช่น การศึกษาลักษณะตัวจับยาสำหรับ acetylcholine โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสูตรโครงสร้างและผลการออกฤทธิ์

สูตรโครงสร้างของ ACh ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้



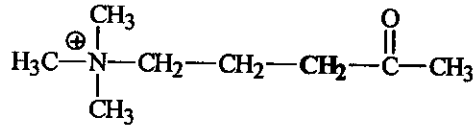
(1)

Acetylcholine (ACh)

1. 4°-N ซึ่งมีประจุบวกและมีหมู่เมทิลเกาะ 3 หมู่
2. หมู่เมทิลีน 2 หมู่ ($-CH_2-CH_2-$)
3. อะตอมของเอสเทอร์ -O
4. อะตอมของ O ที่หมู่คาร์บอนิล
5. คาร์บอน 2 อะตอมในหมู่ acyl

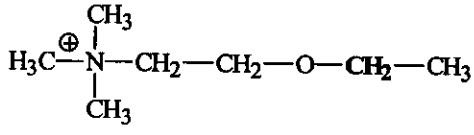
การศึกษาลักษณะนี้เป็นการหาความแรงในการออกฤทธิ์สัมพัทธ์ โดยกำหนดให้ความแรงในการออกฤทธิ์ของ ACh เป็น 100 เปรียบเทียบกับข้อมูลของสารที่ได้จากการดัดแปลงสูตรโครงสร้างของ ACh ดังนี้

1) เอสเทอร์ -O ถูกแทนด้วย $-CH_2-$ สารมีโครงสร้างคล้ายคีโตน *ความแรงการออกฤทธิ์ 8.3*



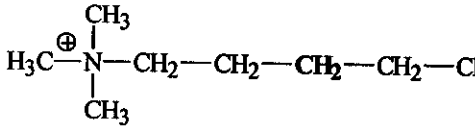
(2)

2) หมู่คาร์บอนีลเปลี่ยนเป็น $-CH_2-$ สารมีโครงสร้างเป็นอีเทอร์ *ความแรงการออกฤทธิ์ 1.5*



(3)

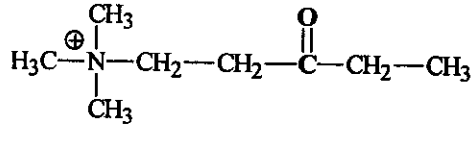
3) เมื่อออกซิเจนในสาร (3) เปลี่ยนเป็นหมู่ $-CH_2-$ *ความแรงการออกฤทธิ์ 1.4*



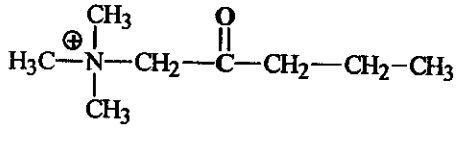
(4)

เมื่อเปรียบเทียบความแรงของการออกฤทธิ์ จะเห็นว่าสาร (3) และ (4) ใกล้เคียงกัน แต่น้อยกว่าสาร (2) ดังนั้นในจำนวนคาร์บอนที่เท่าๆ กันเมื่อนับจาก N *ส่วนสำคัญของโครงสร้าง คือส่วนที่เป็นเอสเทอร์ และ O ของหมู่คาร์บอนีลสำคัญกว่า O ในแกนโซ่หลัก*

4) เนื่องจากหมู่คาร์บอนีลมีความสำคัญ การเปลี่ยนตำแหน่งของหมู่คาร์บอนีลจากสาร (2) ไปตำแหน่งอื่น ได้ผลดังนี้



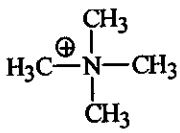
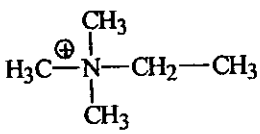
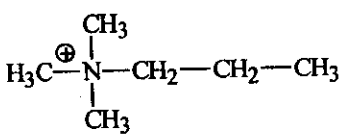
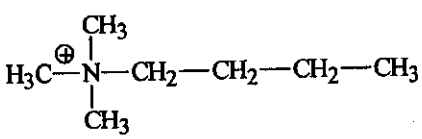
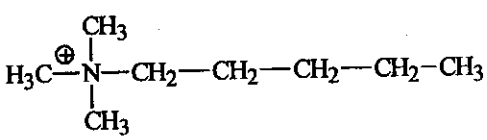
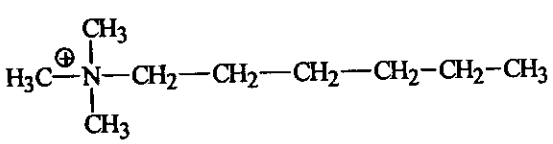
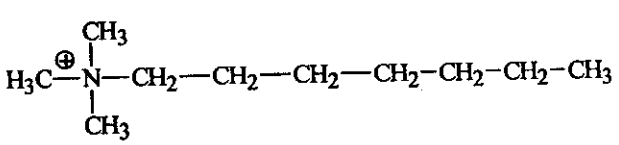
(5) *ความแรงการออกฤทธิ์ 0.62*



(6) *ความแรงการออกฤทธิ์ 0.16*

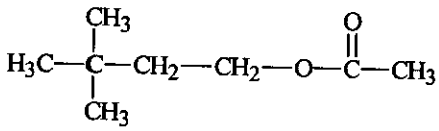
จากความแรงในการออกฤทธิ์ของสาร (5) และ (6) แสดงให้เห็นว่า *หมู่คาร์บอนีล ควรอยู่ห่างจาก N (5 A) โดยคั่นด้วยคาร์บอน 2 อะตอม และออกซิเจน 1 อะตอม*

5) การเปลี่ยนแปลงความยาวของโซ่อัลคิลจากสาร (4) จะได้ผลดังเช่น

		ความแรงการออกฤทธิ์
	(7)	*0.005*
	(8)	*0.007*
	(9)	*0.3*
	**(4)***	*0.43*
	(10)	*1.4*
	(11)	*0.29*
	(12)	*0.005*

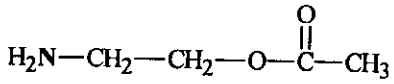
เมื่อเปรียบเทียบกับสาร (4) แล้ว จะเห็นว่า *ความยาวของโซ่ที่เหมาะ เมื่อนับจาก N ควรมีอะตอมอื่นไปอีก 5 อะตอม*

6) เปลี่ยน N ให้เป็น C *ความแรงการออกฤทธิ์ 0*



(13)

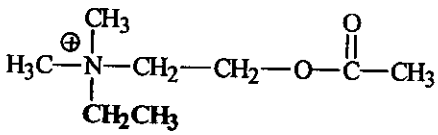
7) เปลี่ยน 4°-N ให้เป็น 1°-อะมิโน *ความแรงการออกฤทธิ์ 0*



(14)

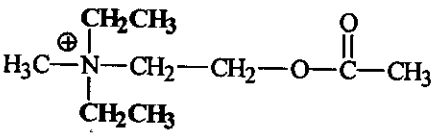
จะเห็นได้ว่าสาร (13) และ (14) จะไม่มีประจุบวกอยู่ในโมเลกุล และไม่มีความแรงในการออกฤทธิ์ *ดังนั้นส่วนที่เป็นประจุบวกจึงเป็นส่วนที่สำคัญมาก*

8) เปลี่ยนขนาดหมู่เมทิลให้เป็นหมู่อัลคิลที่มีขนาดใหญ่กว่าเดิม



(15)

ความแรงการออกฤทธิ์น้อยกว่า Ach



(16)

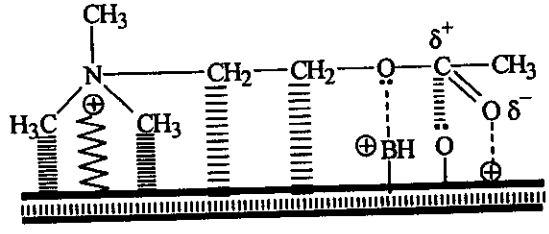
ความแรงการออกฤทธิ์น้อยกว่า ACh มาก

ในการเปลี่ยนแปลงนี้ สาร (15) มีความแรงการออกฤทธิ์ใกล้เคียง ACh และต่างจากสาร (16) มาก น่าจะเป็นเพราะการหมุนรอบพันธะเดี่ยวระหว่าง N กับคาร์บอนส่วนที่เหลือในโมเลกุล ทำให้มีจังหวะที่ $-CH_3$ อีก 2 หมู่ในสาร (15) เข้าไปเกิดปฏิกิริยากับตัวจับยาได้ สำหรับสาร (16) นั้น ความเกะกะของหมู่อัลคิลที่ใหญ่ขึ้นทำให้การรวมตัวเกิดได้ไม่ดี

จากความสัมพันธ์ระหว่างสูตรโครงสร้างและผลการออกฤทธิ์ ทำให้ทราบลักษณะเบื้องต้นของตัวจับยาเฉพาะของ ACh ดังนี้ (รูป 4.8)

1. บริเวณรวมตัวของตัวจับยาต้องมีบริเวณที่เป็นประจุลบ (anionic site) ที่จะเกิดปฏิกิริยาต่อกันกับประจุบวกของ 4°-N โดยแรงดึงดูดแบบไฟฟ้าสถิต

2. บริเวณที่เป็นประจุลบ จะมีขนาดที่พอดีกับหมู่ $-CH_3$ 2 ที่ หมู่เมทิลทั้งสองช่วยให้คอมเพล็กซ์เสถียรขึ้นโดยอาศัยแรงแวนเดอร์วาลส์
3. ตัวจับยามีบริเวณราบสำหรับเกิดแรงแวนเดอร์วาลส์กับหมู่ $-CH_2-$ ทั้ง 2 หมู่
4. มีบริเวณที่เกิดพันธะไฮโดรเจน กับ O ที่หมู่คาร์บอนิล บริเวณนี้จะอยู่ห่างจากบริเวณที่เป็นประจุลบของตัวจับยาประมาณ 5 A
5. ที่ใกล้บริเวณที่เกิดพันธะไฮโดรเจนในตัวจับยา อาจมีหมู่อะตอมที่ให้อิเล็กตรอนซึ่งเกิดแรงดึงดูดกับคาร์บอนของหมู่คาร์บอนิลได้



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะการรวมตัวของ ACh กับตัวจับยา

6. การสกัดแยกตัวจับยา

ปัญหาอย่างหนึ่งในการสกัดแยกตัวจับยาจากเนื้อเยื่อ คือการระบุ และแยกโปรตีนพิเศษเหล่านี้จากโปรตีนอื่น และส่วนสำคัญอื่นๆของเยื่อ ที่โมเลกุลเหล่านี้มีปฏิกิริยาต่อกันอยู่ด้วย การสกัดแยกอาจมีผลต่อลักษณะทางโครงรูป และความสามารถในการรวมกับยาภายหลังการแยก ถ้าโปรตีนเกาะกับเยื่ออย่างหลวมๆ อาจดึงแคทไอออน เช่น Ca^{2+} และ Mg^{2+} ออกโดยการล้าง หรือใช้วิธี chelate ทำให้โปรตีนหลุดเป็นอิสระออกมาจากลิพิด บางกรณีอาจใช้สภาวะที่แรงขึ้น ใช้ดีเทอร์เจนต์ เช่น triton X-100, lubrol, ยูเรีย, sodium thiocyanate และแอลกอฮอล์โซ่ยาวขนาดกลาง ทำลายเยื่อและให้โปรตีนเป้าหมายออกมา ในการทำให้บริสุทธิ์ใช้วิธี affinity chromatography โดยอาศัยหลักที่ว่าตัวจับสารจะรวมกับลิแกนด์ (ligand) อย่างแข็งแรงกว่าโปรตีนอื่นๆ ลิแกนด์ดังกล่าวจะสร้างพันธะโคเวเลนต์อยู่กับสาร support ในคอลัมน์ เมื่อผ่านสารละลายลงไป โปรตีนที่เป็นตัวจับสารจะถูกลิแกนด์ยึดไว้ในขณะที่โปรตีนอื่นๆถูกล้างออกไป และตัวจับสารจะถูกชะออกภายหลังด้วยสารละลายที่เข้มข้นของลิแกนด์นั้นๆ

เช่น การแยกตัวจับยาประเภท β-adrenergic จากเยื่อปอดของ guinea pig

- แยกตัวจับสารที่เป็นโปรตีนในส่วน soluble fraction จากเซลล์เยื่อปอดของ guinea pig ใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง โดยมี digitonin อยู่ด้วย
- ใช้วิธี affinity chromatography ด้วยคอลัมน์ที่มี sepharose เป็นสารค้ำจุน ที่สร้างพันธะโคเวเลนต์กับ alprenolol ซึ่งเป็นลิแกนด์ที่ดึงตัวจับสารไว้ โปรตีนอื่นจะถูกล้างออกไปจากคอลัมน์ เหลือตัวจับสารซึ่งถูกชะออกด้วยสารละลายของ alprenolol
- การทำให้ตัวจับสารบริสุทธิ์ยิ่งขึ้นโดยใช้ DEAE ion exchange chromatography, size exclusion HPLC และ preparative SDS-PAGE.

การพิสูจน์ตัวจับยาที่แยกได้ ทำได้โดยดูความสามารถในการรวมตัวกับสารลิแกนด์หรือใช้วิธี photoaffinity label เข้าที่ตัวจับยา โดยเตรียมลิแกนด์ที่มีส่วนที่เป็นกัมมันตรังสีให้มีหมู่ฟังก์ชันซึ่งเมื่อได้รับแสง จะให้อนุมูลที่ไวต่อปฏิกิริยาอย่าง nitrene หรือ carbene ซึ่งจะทำปฏิกิริยาอย่างถาวรกับตัวจับยาได้ เช่น ตัวจับสารประเภท β-adrenergic ใช้ iodocyanopindolol diazine และตัวจับสารประเภท dopamine ใช้ azido-*N*-methylpiperone เมื่อใช้สารเหล่านี้กับเนื้อเยื่อแล้วตามด้วยการกระตุ้นด้วยแสง จะทำให้ตัวจับยาถูกทำเครื่องหมายอย่างถาวร ด้วยลิแกนด์ที่มีส่วนที่เป็นกัมมันตรังสี ทำให้สามารถติดตามตรวจสอบได้อย่างรวดเร็วในขั้นต่อๆมา

ตัวอย่างของ ตัวจับยาประเภท adrenergic ที่สกัดได้จากเนื้อเยื่อบางชนิด

1) *ตัวจับสารชนิดแอลฟา* เป็นส่วนของไลโพโปรตีน แยกจากกล้ามเนื้อเรียบของม้าม มีความสามารถในการรวมกับ norepinephrine สูง คอมเพล็กซ์ที่รวมกับ epinephrine มีค่าแตกตัวคงที่ 2 ค่า คือ $1x10^{-7}$ และ $1x10^{-5}$ mol/l
2) *ตัวจับสารชนิดบีตา* เป็นส่วนของโปรตีนที่สามารถรวมได้ดีกับ isoproterenol และ norepinephrine แยกได้จากเซลล์ของหัวใจและตับ น้ำหนักโมเลกุลต่อ 1 หน่วย ประมาณ 40,000 ดาลตัน ค่าแตกตัวคงที่ของการรวมกับ norepinephrine ของตัวจับยาจากเซลล์หัวใจ คือ $1x10^{-7}$ และ $1x10^{-6}$ สำหรับเซลล์ตับ คือ $1x10^{-7}$ และ $1x10^{-5}$

4.3 การออกฤทธิ์ของยาที่ไม่ผ่านการรวมกับตัวจับยาโดยตรง

ยาจำนวนมากเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างเฉพาะ ผลทางเภสัชวิทยาที่ได้จะสัมพันธ์กับค่า thermodynamic activity โดยให้ผลที่ความเข้มข้นซึ่งให้ค่านี้ต่ำ โดยทั่วไปจะต่ำกว่า 0.001 กลุ่มยาที่ให้ผลทางเภสัชวิทยาแบบเดียวกันโดยกลไกที่เหมือนกันจะมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกัน การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงเคมีกายภาพจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเภสัชวิทยา กลุ่มยาที่มีโครงสร้างเฉพาะเช่นนี้ยังเลือกมีปฏิกริยาต่อกันกับตัวจับยาเฉพาะด้วย โดยทั่วไปใช้ปริมาณยาไม่มากในการรวมกับตัวจับยา ซึ่งความหนาแน่นของตัวจับยาต่อ 1 หน่วยพื้นที่ของเนื้อเยื่อมีค่าต่ำ จาก 10 ถึง 1,000 จุดต่อตารางไมโครเมตร ในขณะที่ยาที่ออกฤทธิ์ไม่เฉพาะเจาะจงจะใช้ยาจำนวนเป็นล้านโมเลกุลเข้าไปรวมที่บริเวณรวมตัวในพื้นที่ที่เท่ากัน

ค่า thermodynamic activity (μ) เป็นค่าที่อาศัยแนวคิดของค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย มาอธิบายความสามารถในการออกฤทธิ์ของยาสลบ ในทางปฏิบัติเป็นค่าเชิงเปรียบเทียบกับค่าความดันไออิ่มตัวที่สมดุล ดังนั้นความสัมพันธ์สำหรับก๊าซจะเป็น

$$\mu = \frac{P_t}{P_s}$$

เมื่อ P_t คือ ความดันย่อยของสารที่สมดุล

P_s คือความดันไออิ่มตัวของสารนั้น

ในกรณีที่สารนั้นๆละลายในของเหลว จะได้สมการที่คล้ายกันคือ

$$\mu = \frac{S_t}{S_o}$$

เมื่อ S_t คือ ความเข้มข้นเป็นโมลาร์ของยาที่จำเป็นในการที่ทำให้เกิดผลเชิงชีวภาพ

S_o คือ ความสามารถในการละลายของยานั้นๆ มีหน่วยเป็นโมลาร์

ค่า thermodynamic activity สูงสุดมีค่าเป็น 1 ค่านี้เป็นค่าที่บอกความแตกต่างระหว่างกลุ่มยาที่มีโครงสร้างเฉพาะ กับพวกที่ไม่มีโครงสร้างเฉพาะเจาะจงได้ ยาประเภทหลังจะมีค่านี้สูง ระหว่าง 0.01 ถึง 1 นั่นก็คือสารเหล่านี้จะแสดงปฏิกิริยาก็ต่อเมื่ออยู่ที่ความเข้มข้นสูงๆ ผลเชิงชีวภาพไม่ขึ้นกับลักษณะโครงสร้างทางเคมี ซึ่งจะเห็นได้จากการที่สารประกอบที่มีโครงสร้างแตกต่างกันคนละแนวแต่ให้ผลทางชีวภาพเหมือนกัน

4.3.1 การออกฤทธิ์ต่อเยื่อ

เยื่อชีวภาพเป็นส่วนสำคัญของเซลล์ทุกชนิด สารที่ทำลายเยื่อหรือมีผลกับเยื่อจะมีผลต่อเซลล์ด้วย สารที่เป็นตัวพาไอออน ยาระงับเชื้อ และสารปฏิชีวนะหลายชนิดออกฤทธิ์โดยมีปฏิกิริยาต่อผิวเยื่อ ผลต่อเยื่อชีวภาพในลักษณะต่างๆ ได้แก่

1) ผลต่อแรงดึงผิว (surface activity) ทำให้ความสามารถของสารในการผ่านเยื่อเซลล์เปลี่ยนแปลง เซลล์จะเสียองค์ประกอบภายในไซโทพลาซึม ตัวอย่าง เช่น ดีเทอร์เจนต์ชนิดประจุบวก (เช่น cetyl trimethylammonium chloride) มีผลการออกฤทธิ์ดีกว่าดีเทอร์เจนต์ชนิดประจุลบ (เช่น สบู่) และดีเทอร์เจนต์ชนิดไม่มีประจุ (เช่น triton X-100) จะมีฤทธิ์อ่อนมาก

2) สารปฏิชีวนะที่มีโครงสร้างเป็นวงขนาดใหญ่ มีพันธะคู่ 3-7 พันธะ และหมู่ -OH หลายหมู่ เช่น ยาต้านเชื้อรา amphotericin-B และสารที่มีโครงสร้างคล้ายกันจะทำปฏิกิริยากับ sterol ที่เยื่อเซลล์ของจุลชีพ โดยที่สาร 5-10 โมเลกุลจะเกาะกันเป็นช่อง ด้านในช่องเป็นส่วนที่หมู่ -OH หันเข้าหากัน ขณะที่พันธะคู่จะมีปฏิกิริยาต่อกันกับ streol ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำของเยื่อเซลล์ ทำให้ K^+, น้ำตาล และโปรตีน ผ่านผนังเซลล์จุลชีพออกมาภายนอกได้

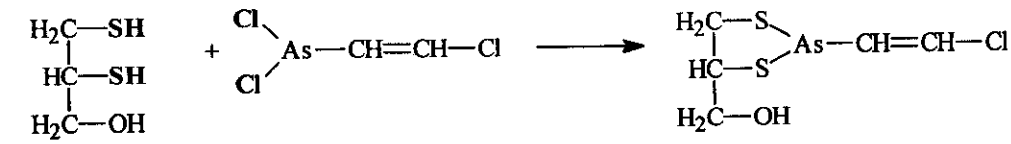
3) สารบางชนิดเป็นสารขนส่งไอออน (ionophores หรือ ion-carrier) ทำหน้าที่คล้ายกรงหุ้มพาไอออนผ่านเยื่อออกไปปล่อยอีกด้านหนึ่ง หรือทำให้เกิดช่องที่มีขั้วช่วยให้ไอออนผ่านชั้นลิพิดไปได้ง่าย เช่น valinomycin ซึ่งเป็น cyclic peptide lactone ออกซิเจนจากหมู่คาร์บอนิลของ lactone จะหันเรียงอยู่ด้านในของวง ขณะที่หมู่อัลคิลซึ่งไม่มีขั้วจะอยู่ด้านนอก ดังนั้นความเป็นขั้วทางด้านในจึงล้อมรอบไอออน เช่น K^+ ช่วยพาผ่านเยื่อออกมาได้

4.3.2 การออกฤทธิ์แบบอื่นๆ ได้แก่

1) *การออกฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับชีวโมเลกุลขนาดใหญ่* สารทำลายจุลชีพหลายชนิดออกฤทธิ์โดยทำให้โปรตีนเปลี่ยนสภาพและตกตะกอน เช่น สารประเภทฟีนอล อะลิเฟติกแอลกอฮอล์ และเกลือของโลหะหนัก

2) *Chelating agents* เช่น calcium disodium adetate ใช้แก้พิษสารตะกั่ว สารนี้จะดึง Pb^{2+} จากเลือดและเนื้อเยื่อ ได้สารเชิงซ้อนที่ละลายน้ำและถูกขับถ่ายจาก

ร่างกายได้, dimercaprol ทำปฏิกิริยาให้สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะหนักบางชนิด เช่น อาร์เซนิก ปรอท ทอง พลวง และบิสมัท ทั้งที่อยู่ในรูปไอออนหรือเป็นโมเลกุล เช่น lewisite ให้สารที่ละลายน้ำได้



Dimercaprol **Lewisite** **Mercaptide complex**

3) *ออกฤทธิ์โดยอาศัยแรงดันออสโมติก* เช่น $MgSO_4$ (epsom salt) เป็นยาระบาย เพราะไอออนจากเกลือชนิดนี้ทำให้ความเข้มข้นของสารละลายในทางเดินอาหารสูง จึงมีการดึงน้ำเข้ามายังทางเดินอาหาร การเคลื่อนไหวของกระเพาะลำไส้เพิ่มขึ้น ทำให้การขับถ่ายอุจจาระง่ายขึ้น นอกจากนี้ พลาสมาเทียม เช่น polyvinylpyrrolidone และยาขับปัสสาวะบางชนิด เช่น ยูเรีย และ mannitol ก็ออกฤทธิ์โดยอาศัยแรงดันออสโมติกเช่นเดียวกัน

4) *ออกฤทธิ์โดยอาศัยสมบัติกรด-เบส* เช่น ยาลดกรดจะเกิดปฏิกิริยากรด-เบส กับน้ำย่อยในกระเพาะ นอกจากนี้สารบางอย่าง เช่น NH_4Cl ทำให้ปัสสาวะเป็นกรด แอมโมเนียมไอออนจะสลายตัวให้แอมโมเนีย และ H^+ ซึ่งจะถูกปล่อยออกมายังของเหลวในท่อไตย่อยและทำให้ปัสสาวะมีฤทธิ์เป็นกรดได้

สรุป

พันธะที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของยาได้แก่ พันธะโคเวเลนต์ พันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์ แรงระหว่างประจุและแรงระหว่างไฟฟ้าสถิตแบบต่างๆ แรงแวนเดอวาลส์ การถ่ายโอนประจุ รวมทั้งแรงไฮโดรโฟบิก โดยทั่วไปปฏิกิริยาระหว่างยากับจุดออกฤทธิ์เป็นปฏิกิริยาชนิดทวนกลับ ดังนั้นพันธะที่เกี่ยวข้องจึงมักจะไม่ใช่ชนิดที่มีพลังงานพันธะสูง ตามแนวคิดเรื่องตัวจับยา ยาจะมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีเฉพาะ และสามารถออกฤทธิ์ได้ที่ความเข้มข้นต่ำมากๆ โดยรวมกับโครงสร้างทางชีวภาพขนาดใหญ่เฉพาะตัว เช่น ไกลโคโปรตีนและไกลโคลิพิดที่ผิวเยื่อ และมีการเปลี่ยนแปลงเชิงชีวเคมีอย่างต่อเนื่องจนได้ผลการตอบสนองเกิดขึ้น

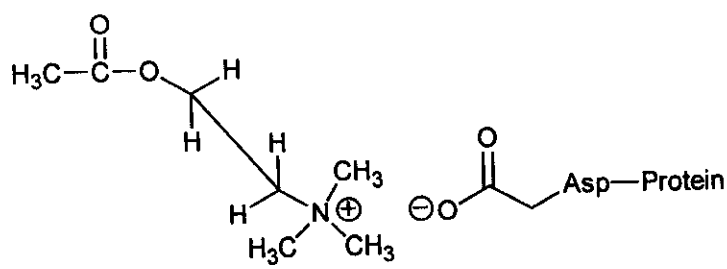
ยาที่รวมกับตัวจับยาและให้ผลตอบสนองได้ เรียกว่า อะโกนิสต์ (agonist) ส่วนยาที่รวมกับตัวจับยาชนิดเดียวกับตัวจับยาของอะโกนิสต์ แต่ไม่แสดงผลการออกฤทธิ์ และยังสามารถยับยั้งผลของอะโกนิสต์ได้ เรียก แอนทาโกนิสต์ (antagonist) ยาหลายชนิดออกฤทธิ์ได้ที่ตัวจับยาชนิดเดียวกัน แต่ความแรงในการออกฤทธิ์ต่างกันเนื่องจากสมบัติ 2 อย่างที่ไม่ขึ้นแก่กัน คือ ความสามารถในการรวมกับตัวจับยา หรือ affinity (K_A) และ intrinsic activity หรือ efficacy (k_3) ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการตอบสนองของคอมเพล็กซ์ระหว่างยากับตัวจับยา (full agonist, $k_3 = 1$; antagonist = 0 และ partial agonist $0<k_3<1$)

Thermodynamic activity แสดงความสัมพันธ์กับลักษณะการออกฤทธิ์ได้ ยาที่รวมกับตัวจับยาจะมีค่านี้ต่ำ ในขณะที่ยาที่ไม่ผ่านการรวมกับตัวจับยาจะมีค่านี้สูง การออกฤทธิ์ที่ไม่ผ่านการรวมกับตัวจับยามีหลายแบบ ได้แก่ การออกฤทธิ์ที่ผิวเยื่อในลักษณะต่างๆ การลดแรงดึงผิว เป็นตัวพาไอออน การทำให้โปรตีนเปลี่ยนสภาพ การเข้าไปเป็นส่วนหนึ่งในโมเลกุลขนาดใหญ่ การออกฤทธิ์โดยอาศัยแรงดันออสโมติก และการเกิดปฏิกิริยากรด-เบส เป็นต้น

แบบฝึกหัด

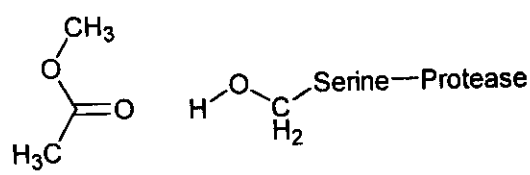
1. เลือกคำตอบที่ถูก

1.1 ปฏิกิริยาระหว่าง acetylcholine กับส่วนของกรด aspartic ในโปรตีน อาศัยแรงชนิดใด



1) Dipole-dipole interaction
2) Hydrophobic interaction
3) Ionic interaction
4) Ion-induced dipole interaction

1.2 แรงระหว่างสารต่อไปนี้ กับเอนไซม์ protease เป็นแรงชนิดใด



1) Dipole-dipole interaction
2) Hydrophobic interaction
3) Ion-induced dipole interaction
4) Induced dipole-induced dipole interaction

1.3 Receptor คือ

1) ลักษณะของโมเลกุลยา
2) การวัดผลเชิงชีวภาพ
3) ส่วนหนึ่งในชีวโมเลกุลที่ยาไปรวมตัวด้วย
4) ความสามารถในการออกฤทธิ์

1.4 Ion channel receptor

1) ประกอบด้วยหน่วยย่อย 4-8 หน่วย ควบคุมช่องผ่านไอออน เช่น ตัวจับสารชนิดนิโคตีน
2) มีการทำงานผ่านการกระตุ้นส่วนของเอนไซม์ tyrosine kinase ที่อยู่ในตัวจับสาร เช่น ตัวจับสารสำหรับอินซูลิน
3) เป็นโปรตีนที่มีนิวคลีโอไทด์กัวนีนอยู่ด้วย ประกอบด้วยกรดอะมิโน 300-600 หน่วย เช่น ตัวจับสารประเภทฝิ่น
4) อยู่ภายในเซลล์ อาจเป็นเอนไซม์ หรือตัวควบคุม gene transcription เช่น ตัวจับสารของฮอร์โมนจากต่อมไทรอยด์

<u>โจทย์ และตัวเลือกสำหรับข้อ 1.5-1.7</u>

สาร A, B และ C รวมตัวกับตัวจับสารชนิดนิโคตีน โดยมีค่า intrinsic activity (k_3) 0, 1.0 และ 0.6 ตามลำดับ

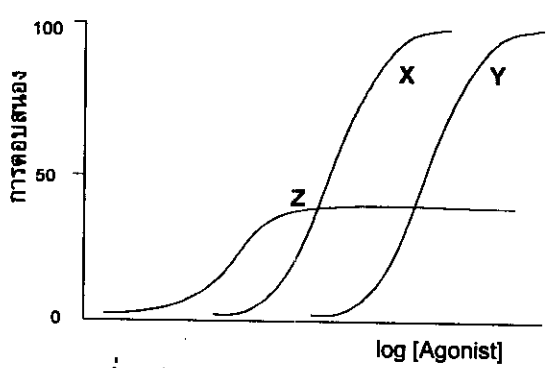
1) เป็น full agonist
2) เป็น partial agonist
3) เป็น antagonist
4) ออกฤทธิ์โดยไม่ผ่านการรวมตัวกับตัวจับยา

1.5 สาร A น่าจะอยู่ในลักษณะใด

1.6 สาร B น่าจะอยู่ในลักษณะใด

1.7 สาร C น่าจะอยู่ในลักษณะใด

1.8 จากกราฟต่อไปนี้ แสดงว่า X

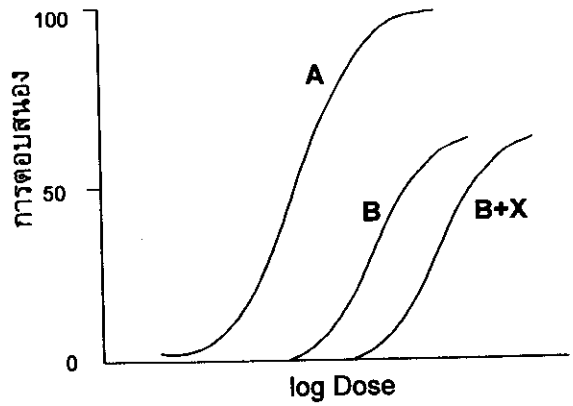


1) มี intrinsic activity ต่ำกว่า Z
2) มีสัมพรรคภาพต่อตัวจับยาชนิดเดียวกับ Z แต่น้อยกว่า

3) มีความแรงในการออกฤทธิ์ต่ำกว่า Y

4) มี efficacy เท่ากับ Y

1.9 ยา A และ B เป็นอะโกนิสต์ที่ตัวจับยาชนิดเดียวกัน ในรูปต่อไปนี้เป็นกราฟแสดงการตอบสนองเฉพาะยา A, เฉพาะยา B และการตอบสนองของยา B ร่วมกับยา X จากข้อมูลข้างต้นนี้ น่าจะเป็นไปได้ว่าการต้านฤทธิ์ของ X น่าจะเป็นแบบ



1) Reversible

2) Irreversible

3) Non-competitive

4) ทั้ง 1, 2 และ 3

2. ปฏิกิริยาระหว่างยากับจุดออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับพันธะเคมีชนิดใดบ้าง

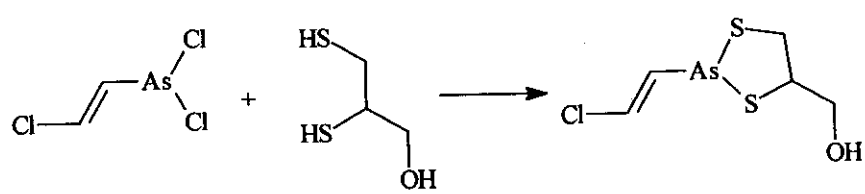
3. บอกลักษณะการรวมตัวของ cholinergic receptor และแรงที่เกี่ยวข้องในการรวมตัวกับตัวจับยา

4. จงให้ความหมายของคำต่อไปนี้

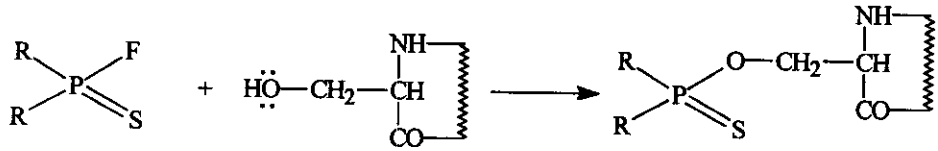
affinity, intrinsic activity, agonist, competitive antagonist, non-competitive antagonist, และ partial agonist

5. ปฏิกิริยาระหว่างกันต่อไปนี้อาศัยพันธะเคมีชนิดใด

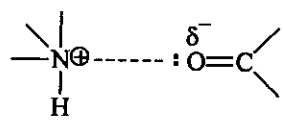
5.1



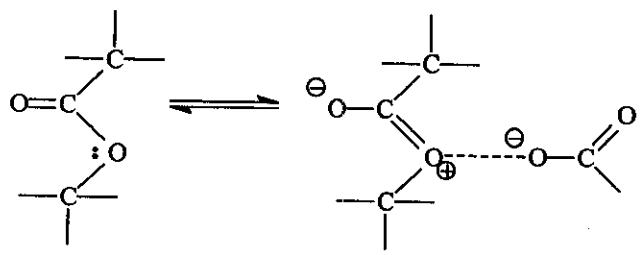
5.2



5.3

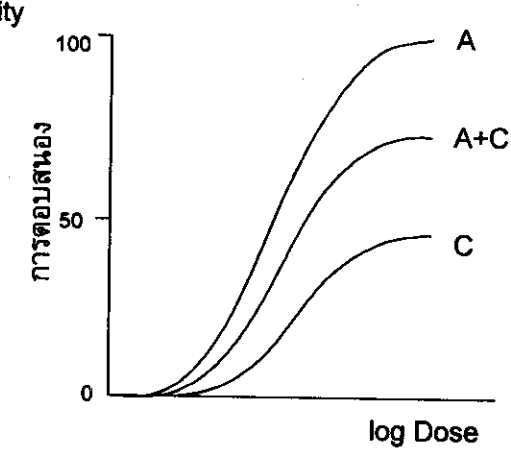


5.4

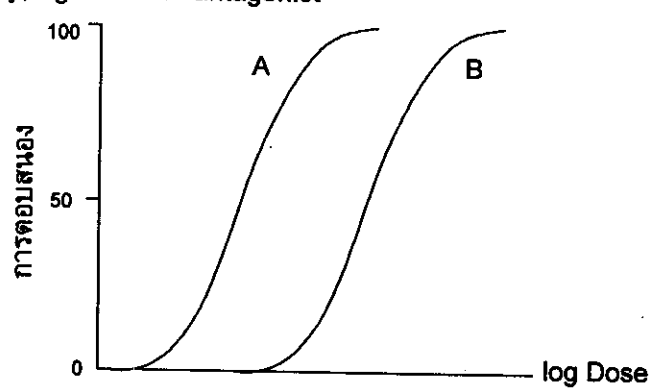


6. จากกราฟต่อไปนี้ จงเปรียบเทียบยาแต่ละชนิดตามหัวข้อที่กำหนดให้

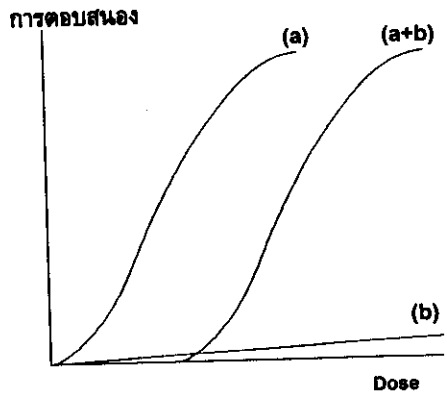
6.1 affinity และ intrinsic activity



6.2 affinity, intrinsic activity, agonist และ antagonist



6.3 affinity, intrinsic activity, agonist และ antagonist



7. ถ้าการรวมตัวระหว่างยาและตัวจับยาเป็นปฏิกิริยาชนิดทวนกลับ โดยที่ยา 1 โมเลกุล จับตัวจับยา 1 โมเลกุล และผลตอบสนองขึ้นกับคอมเพล็กซ์ระหว่างยาและตัวจับยา จงแสดงว่า

$$E = \frac{E_{max}[D]}{[D] + K_D}$$

จากสมการในข้อ 7 มีค่าใดที่คงที่ และถ้าเขียนกราฟระหว่าง E/E_{max} กับ log [D] จะได้กราฟแบบใด