



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการพัฒนาแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนัง
ของระบบนำส่งยาทางผิวหนังโดยการใช้วิธีจินตคณิตอรรถิทีม
ร่วมกับวิธีวิเคราะห์ตัวแปรหลายตัวเชิงพหุแบบเชิงส่วนและวิธี
เครือข่ายประสาทเทียม

โดย

สุชาดา พิริยะประสาธน์ (วรรณชนะ) และคณะ

มิถุนายน 2549

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการพัฒนาแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนัง
ของระบบนำส่งยาทางผิวหนังโดยการใช้วิธีจินิติกัลกอริทึม
ร่วมกับวิธีวิเคราะห์ตัวแปรหลายตัวเชิงพหุแบบเชิงส่วนและวิธี
เครือข่ายประสาทเทียม

คณะผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา พริยะประสาธน์ (วรรณชนะ)
ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

รองศาสตราจารย์ ดร. สานิต พุทธิพิพัฒนขจร
ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา
และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และสกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำวิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ซึ่งให้ทุนสนับสนุนนักวิจัยรุ่นใหม่ ปีงบประมาณ 2547 และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรซึ่งให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ในการทำการวิจัยครั้งนี้

คณะผู้ทำวิจัย

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG4780027

ชื่อโครงการ : การพัฒนาแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังของระบบนำส่งยาทางผิวหนังโดยการใช้วิธีจินตึกอัลกอริทึมร่วมกับวิธีวิเคราะห์ตัวแปรหลายตัวเชิงพหุแบบเชิงส่วนและวิธีเครือข่ายประสาทเทียม

ชื่อนักวิจัย : นางสาวชดา พิริยะประสาธน์ (วรรณชนะ)
ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

E-mail Address : suchada@email.pharm.su.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 1 ก.ค. 2547 – 30 มิ.ย. 2549

การพัฒนาแบบจำลอง quantitative structure/property relationship (QSPR) ของการซึมผ่านตัวแทนผิวหนังชนิดต่างๆ ของยาชนิด ทำโดยเก็บข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนู และคราบงูของยาจำนวน 14 ตัวจากการทบทวนวรรณกรรม คำนวณ topological descriptors ของยาแต่ละตัวจากสูตรโครงสร้างสองมิติโดยใช้ Molconn-Z software ได้ connectivity, shape และ atom-type E-state indices รวม 220 ตัว genetic algorithm (GA) ถูกนำมาใช้ในการคัดเลือก molecular descriptor ที่สำคัญของแต่ละกลุ่ม เพื่อนำไปใช้ในการสร้างแบบจำลอง QSPR และใช้ feed-forward back-propagation artificial neural networks (ANN) ในการหาความสัมพันธ์ระหว่าง molecular descriptors และการซึมผ่านผิวหนังของยา พบว่าสามารถใช้ ANN ในการสร้างแบบจำลองการซึมผ่านผิวหนังของคน หนูและคราบงูได้ดี โดยกลุ่ม molecular descriptor จากชุดข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังหนูที่เลือกโดย GA สามารถนำมาใช้ในการทำนายการซึมผ่านผิวหนังของหนูและมนุษย์ได้ ในขณะที่กลุ่ม molecular descriptor จากชุดข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์สามารถนำมาใช้ในการทำนายการซึมผ่านผิวหนังของหนู มนุษย์และคราบงูได้ โดยมีค่า predictive root mean square errors (RMSE) อยู่ในช่วง 0.111-0.782 เมื่อทำการประเมินความสามารถการทำนายของแบบจำลอง ANN โดยใช้วิธี Leave-one-out cross validation นอกจากนี้เมื่อนำข้อมูลที่ไม่ได้ใช้ในการสร้างแบบจำลองจำนวน 3 ข้อมูลมาทำการทดสอบแบบจำลอง ANN ที่สร้างขึ้นพบว่าค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายไปในทิศทางเดียวกัน นี่แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองที่สร้างขึ้นโดยใช้ Molconn-Z descriptors เป็น molecular descriptors สามารถใช้ทำนายการซึมผ่านผิวหนังของสารต่างๆ ได้ อย่างไรก็ตามกลุ่ม molecular descriptor จากชุดข้อมูลการซึมผ่านคราบงูไม่สามารถนำมาใช้ในการทำนายการซึมผ่านผิวหนังของหนูและมนุษย์ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างทางสายพันธุ์ นอกจากนี้พบว่าแบบจำลอง ANN ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังของระบบนำส่งยาทางผิวหนังของยา methimazole ได้

คำหลัก: QSPR, เครือข่ายประสาทเทียม, การซึมผ่านผิวหนัง, จินตึกอัลกอริทึม

Abstract

Project Code : MRG4780027

Project Title : Development of quantitative structure/property relationship model of skin permeation of transdermal drug delivery using genetic algorithm combined partial least squares and artificial neural network methods

Investigator : Mrs. Suchada Piriyaprasarth (Wanchana)
Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy,
Silpakorn University

E-mail Address : suchada@email.pharm.su.ac.th

Project Period : July 1, 2004 – June 30, 2006

This study was carried out to develop a quantitative structure property relationship (QSPR) model on permeation of various skin models. Human, rat and shed snake skin permeations of 14 structurally diverse drugs was collected from literature. The topological descriptors were automatically calculated by Molconn-Z software for each compound on the basis of their structures. A total of 220 connectivity, shape and atom-type E-state indices were calculated from the 2D-geometry. Genetic algorithm (GA) was used for selection of significant descriptors of each group and feed-forward back-propagation artificial neural networks (ANN) were used for QSPR modeling. It was found that ANN could be used for human, rat and shed snake skin permeation modeling. Molecular descriptor group obtained from rat skin permeation data using GA could be able to predict the permeation across rat and human skin while those obtained from human skin permeation data could be able to predict the permeation across all skin types. Leave-one-out" cross-validation revealed that the root mean square (RMS) errors were in the range of 0.111-0.782. The predictive ability of these models was validated by a set of 3 compounds that were not included in the training set. The predicted and experimental inhibitory activities were well correlated. The proposed model, where Molconn-Z descriptors were used as molecular descriptors, was able to predict the skin permeability of unknown compounds. However, molecular descriptor group obtained from shed snake skin permeation data could not be able to predict the permeation. This might be due to the species difference. Moreover, the ANN model could predict the skin permeation of the developed methimazole transdermal delivery with a reasonable degree of accuracy.

Keywords: QSPR, Artificial Neural Network, Permeation, Genetic algorithm

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	1
บทคัดย่อภาษาไทย	2
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	3
สารบัญเรื่อง	4
สารบัญตาราง	5
สารบัญภาพ	6
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	8
บทนำ	9
หลักการพื้นฐานของการสร้างแบบจำลองเครือข่ายประสาทเทียม	10
ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
วัตถุประสงค์	16
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	16
วิธีการทดลอง	17
ผลการทดลองและบทวิจารณ์	20
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	39
เอกสารอ้างอิง	40
Output จากโครงการวิจัย	42
ภาคผนวก	44

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	ค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนูและคราบงูของยาชนิดต่างๆ
20	
ตารางที่ 2	Molconn-Z descriptors ซึ่งถูกเลือกโดยวิธี genetic algorithm เมื่อใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์
21	
ตารางที่ 3	ผลการเปลี่ยนแปลงค่า learning rate ที่มีต่อค่า RMSE และ ค่า predictive RMSE สำหรับข้อมูล training และ LOO cross validation
23	
ตารางที่ 4	ผลการเปลี่ยนแปลงค่า momentum ที่มีต่อค่า RMSE และ ค่า predictive RMSE สำหรับข้อมูล training และ LOO cross validation
23	
ตารางที่ 5	ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวน hidden unit ที่มีต่อค่า RMSE และ ค่า predictive RMSE สำหรับข้อมูล training และ LOO cross validation
23	
ตารางที่ 6	Molconn-Z descriptors ซึ่งถูกเลือกโดยวิธี genetic algorithm เมื่อใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังหนู
27	
ตารางที่ 7	Molconn-Z descriptors ซึ่งถูกเลือกโดยวิธี genetic algorithm เมื่อใช้ข้อมูลการซึมผ่านคราบงู
29	

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 โครงสร้างเซลล์ประสาทในธรรมชาติ	10
รูปที่ 2 โครงสร้างเครือข่ายประสาทเทียม	11
รูปที่ 3 ขั้นตอนการเรียนรู้ด้วยหลัก back-propagation rule	14
รูปที่ 4 ขั้นตอนวิธี Leave-one-out cross validation โดย N คือจำนวนข้อมูลทั้งหมด ข้อมูลหนึ่งตัวจะถูกนำออกไปเพื่อใช้ทดสอบแบบจำลองที่สร้างขึ้นโดยข้อมูลที่เหลือ (N-1)	18
รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า log P ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้แบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี multiple linear regression (conventional) เมื่อใช้ข้อมูลยาทั้งหมด (A) และ การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างโดยวิธี LOO cross validation (B)	24
รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า log P ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้แบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี GA-PLS เมื่อใช้ข้อมูลยาทั้งหมด (A) และ การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้าง โดยวิธี LOO cross validation (B)	24
รูปที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า log P ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้แบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN เมื่อใช้ข้อมูลยาทั้งหมด (A) และการประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้าง โดยวิธี LOO cross validation (B)	25
รูปที่ 8 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN และ วิธี multiple linear regression โดยวิธี external validation	26
รูปที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า log P ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้แบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN เมื่อใช้ข้อมูลยาทั้งหมด	27
รูปที่ 10 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนัง โดยวิธี LOO cross validation	28
รูปที่ 11 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนัง	

	หนู โดยวิธี LOO cross validation	30
รูปที่ 12	การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนัง โดยวิธี external validation	30
รูปที่ 13	การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังหนูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี LOO cross validation	31
รูปที่ 14	การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังหนูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์โดยวิธี external validation	32
รูปที่ 15	การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังหนูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี LOO cross validation	32
รูปที่ 16	การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังหนูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี external validation	33
รูปที่ 17	การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านคราบงูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี LOO cross validation	34
รูปที่ 18	การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านคราบงูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์โดยวิธี external validation	34
รูปที่ 19	การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านคราบงูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี LOO cross validation	35
รูปที่ 20	การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านคราบงูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี external validation	35
รูปที่ 21	DSC thermograms ของยาเมธิมาโซล (M) แผ่นฟิล์มไคโตซาน (CH) และแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มียาเมธิมาโซล (CH-M)	36
รูปที่ 22	FTIR spectrum ของยาเมธิมาโซล (M) แผ่นฟิล์มไคโตซาน (CH) และแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มียาเมธิมาโซล (CH-M)	37
รูปที่ 23	การปลดปล่อยยา (ซ้าย) และเปอร์เซ็นต์การซึมผ่านของยาผ่านผิวหนังลูกหมูแรกคลอด (ขวา) โดยใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ กัน	38

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

QSAR/QSPR	quantitative structure activity/property relationship
MLR	multiple linear regression
LOO	LOO
ANN	artificial neural network
PE	processing element
RMSE	root mean square error
GA	genetic algorithm
cm/sec	centimetre per second
DSC	Differential Scanning Calorimetry
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy

บทนำ

ในปัจจุบันประเทศไทยมีแนวโน้มที่จะพัฒนายารูปแบบต่างๆ ขึ้นใช้เองภายในประเทศเพื่อลดค่าใช้จ่ายและต้นทุนการผลิต แต่อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบว่าการวิจัยและพัฒนายาเป็นกระบวนการที่ใช้เวลานานและจำเป็นต้องใช้งบประมาณเป็นจำนวนมากในการศึกษาวิจัยและค้นคว้าเพื่อพัฒนาให้ยาที่ผลิตได้มีคุณภาพทัดเทียมกับยาต้นแบบจากต่างประเทศ ปัจจุบันมีความสนใจนำความรู้ทางคอมพิวเตอร์มาใช้ในทางเภสัชกรรมมากขึ้น โดยการนำข้อมูลจากการทดลองหรือวรรณกรรมทางวิทยาศาสตร์มาอินทิเกรตรวมกันสร้างเป็นแบบจำลองที่สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ลักษณะของอวัยวะเป้าหมายของยาหรือใช้ในการคาดการณ์คุณสมบัติของสารที่จะนำมาพัฒนาเป็นยา โดยการนำคอมพิวเตอร์มาช่วยในการจัดการระบบข้อมูลประกอบการใช้เทคนิคทางสถิติและทางคณิตศาสตร์มาสร้างแบบจำลอง (model) การสร้างแบบจำลองโดยใช้วิธีทางคอมพิวเตอร์เป็นทางเลือกใหม่ที่ต่างจากเดิม ผู้วิจัยสามารถทำการวิจัยได้โดยอาศัยซอฟต์แวร์ที่มีอยู่ทั่วไปในท้องตลาดหรือสร้างเครื่องมือขึ้นเองโดยอ้างอิงจากทฤษฎีจึงทำให้สามารถลดเวลาและต้นทุนการผลิต (cost-effectiveness) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาและพัฒนายารูปแบบต่างๆ

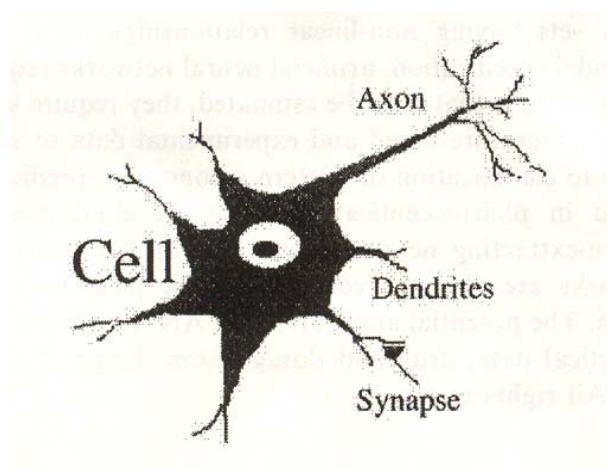
ระบบนำส่งยาทางผิวหนัง (Transdermal drug delivery systems) เป็นรูปแบบยาเตรียมที่พัฒนาขึ้นเพื่อเพิ่มความร่วมมือในการรับประทานยาของผู้ป่วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรณีผู้ป่วยมีปัญหาในการกลืนยาหรือกินยาก นอกจากนั้นยังสามารถลดผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการให้ยาโดยทางรับประทานหรือการฉีด ดังนั้นระบบนำส่งยาทางผิวหนังจึงเป็นระบบที่สำคัญอย่างยิ่งในทางเภสัชกรรม แม้ว่าผิวหนังจะเป็นอวัยวะที่สามารถป้องกันการบุกรุกของสารพิษหรือการสูญเสียน้ำออกจากร่างกายที่มีประสิทธิภาพสูง แต่กระนั้นการให้ยาผ่านทางผิวหนังเป็นระบบที่ประสบความสำเร็จอย่างสูงในการนำส่งยารูปแบบหนึ่ง ในปัจจุบันระบบนำส่งยาที่ให้ทางผิวหนังส่วนใหญ่จะเป็นการนำเข้าจากต่างประเทศ แต่ยังไม่มีการผลิตระบบนำส่งยาที่ให้ทางผิวหนังขึ้นใช้เองในประเทศ อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยจำนวนมากที่พยายามศึกษาและพัฒนาระบบนำส่งยาทางผิวหนังโดยมุ่งเน้นศึกษาความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังของยา (permeation ability) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่จำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการพัฒนาในรูปแบบที่ให้ทางผิวหนัง การศึกษาความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังของยามี 2 วิธี คือ in vivo และ in vitro อย่างไรก็ตามการทดลองในทาง in vivo นั้นมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก เสียเวลา มีค่าใช้จ่ายสูง รวมถึงการมีข้อจำกัดในเรื่องจำนวนตัวอย่างที่ใช้ที่มีปริมาณน้อยและไม่สามารถรายงานผลในรูปของข้อมูลทางสถิติได้ ในขณะที่การทดลองในทาง in vitro มีข้อจำกัดในเรื่องความหลากหลายในการใช้ตัวแทนผิวหนังที่นำมาศึกษา ได้แก่ ผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนู และคราบงู ซึ่งมีข้อจำกัดในเรื่องความแตกต่างของลักษณะโครงสร้างของผิวหนังที่ใช้ในการศึกษา ความแปรปรวนที่เกิดจากความแตกต่างระหว่างผิวหนังที่ทำการศึกษาและผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของยา ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของยากับคุณสมบัติการซึมผ่านของยาโดยวิธีทางคอมพิวเตอร์ เพื่อสร้างแบบจำลองเพื่อใช้ในการทำนายการซึมผ่านของยาผ่านผิวหนังจากโครงสร้างทางเคมี โดยหลักการสูตรโครงสร้าง

สร้างของสารจะมีรหัสข้อมูลในเรื่องคุณสมบัติทางกายภาพเคมีและชีวภาพของสารนั้นๆ ได้ ดังนั้นถ้าสามารถถอดรหัสข้อมูลเหล่านี้จากสูตรโครงสร้างทางเคมีได้ ย่อมเป็นประโยชน์อย่างมหาศาลสำหรับการพัฒนาตำรับยาใหม่ๆ เพื่อให้ทางผิวหนัง ดังนั้นจึงมีความสำคัญที่จะพัฒนาเทคนิควิธีที่จะนำมาใช้ในการหาข้อมูลจากสูตรโครงสร้างและการเลือกตัวแปรที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการสร้างแบบจำลองเพื่อหาความสัมพันธ์ดังกล่าว

อย่างไรก็ตามเทคนิควิธีการทางคอมพิวเตอร์ส่วนใหญ่เป็นงานของต่างประเทศและได้รับการคุ้มครองจากลิขสิทธิ์ทำให้การนำเอาเทคนิควิธีการมาใช้ต้องเสียค่าใช้จ่ายที่สูง การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีการทางคอมพิวเตอร์ได้แก่ วิธี genetic algorithm combined partial least squares (GA-PLS) และ artificial neural network (ANN) เพื่อใช้ในการพัฒนาแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังของยาโดยใช้ตัวแทนผิวหนังชนิดต่างๆ รวมถึงการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ด้วยวิธีดังกล่าวทั้งนี้เพื่อลดระยะเวลาและค่าใช้จ่ายในการศึกษาและพัฒนาระบบนำส่งยาโดยทางผิวหนัง

หลักการพื้นฐานของการสร้างแบบจำลองเครือข่ายประสาทเทียม

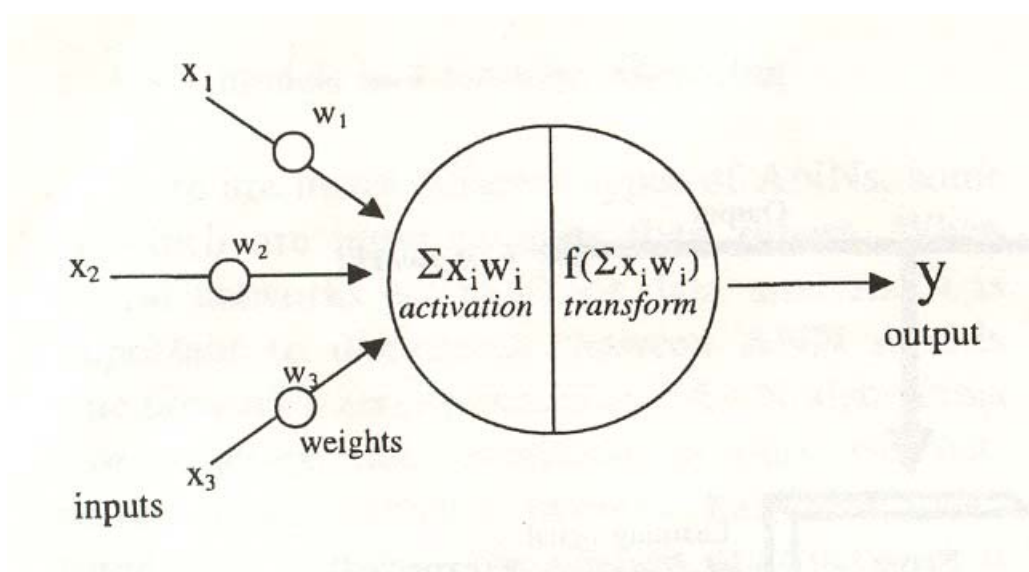
ANN เป็นโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ออกแบบขึ้นเพื่อจำลองขบวนการให้และรับข้อมูลของสมองมนุษย์ โดยรวบรวมความรู้จากการค้นพบรูปแบบและความสัมพันธ์ของข้อมูล และการเรียนรู้ (training) ผ่านประสบการณ์ โครงสร้างของเซลล์ประสาทในธรรมชาติประกอบด้วยเซลล์ประสาทที่มีนิวเคลียสทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของเซลล์ มีใยประสาทที่สำคัญสองชนิดคือ เดนไดรต์ (dendrite) ทำหน้าที่รับข้อมูลเข้าไปในเซลล์ และแอกซอน (axon) ทำหน้าที่ส่งสัญญาณประสาทออกนอกเซลล์ ดังรูปที่ 1 สัญญาณจะผ่านจากแอกซอน ไปที่ตัวเชื่อมระหว่างเซลล์ประสาท (synapse) ในขณะที่ ANN สร้างจากหน่วยประสาทเทียมย่อย (artificial neuron หรือ processing element, PE) นับร้อย เชื่อมต่อกับค่า



รูปที่ 1 โครงสร้างเซลล์ประสาทในธรรมชาติ

สัมประสิทธิ์หรือค่าน้ำหนัก (weight) โดยจะสร้างเป็นโครงสร้างของระบบประสาท และถูกจัดเรียงอย่างเป็นระบบเป็นชั้น ประสิทธิภาพการคำนวณของหน่วยประสาทมาจากการเชื่อมต่อกันของตัวหน่วยประสาทในเครือข่าย หน่วยประสาท PE แต่ละตัวจะทำหน้าที่เป็นตัวรับการป้อนข้อมูล (input) จากนั้นจะมีการคำนวณโดยฟังก์ชันการถ่ายโอน (transfer function) และให้ผลลัพธ์ (output) ดังแสดงในรูปที่ 2 พฤติกรรม ของ ANN จะถูกกำหนดโดยฟังก์ชันการถ่ายโอนของหน่วยประสาทภายใต้กฎของการเรียนรู้และโครงสร้างของเครือข่าย

ANN เป็นระบบที่ขึ้นกับค่าตัวแปร (parameterized system) เนื่องจากค่าน้ำหนักเป็นพารามิเตอร์ที่สามารถปรับค่าได้ในระหว่างการเรียนรู้ ผลรวมของค่าน้ำหนักของตัวรับการป้อนข้อมูลจะทำให้เกิดสัญญาณกระตุ้นระบบประสาทเทียม โดยสัญญาณการกระตุ้นจะถูกส่งผ่านฟังก์ชันการถ่ายโอน เพื่อสร้างผลลัพธ์ของหน่วยประสาทออกมาเพียงตัวเดียว ความสัมพันธ์ที่สร้างในเครือข่ายจะไม่เป็นเส้นตรง (nonlinear) การเชื่อมต่อระหว่างหน่วยประสาทจะถูกคำนวณเพื่อหาค่าที่เหมาะสมที่สุด (optimize) โดยดูจากค่าความผิดพลาดในการทำนายน้อยที่สุด และเครือข่ายมีระดับความถูกต้องตามค่าที่กำหนดไว้ เมื่อเครือข่ายได้รับการเรียนรู้ (train) และทดสอบ (test) จะสามารถรับการป้อนข้อมูลใหม่เพื่อการทำนายผลลัพธ์ได้



รูปที่ 2 โครงสร้างเครือข่ายประสาทเทียม

- **ค่าน้ำหนัก (weight)**

ค่าน้ำหนักเป็นค่าสัมประสิทธิ์ซึ่งสามารถปรับค่าได้ภายในเครือข่าย ใช้หาความเข้มของสัญญาณที่ส่งเข้ามา สัญญาณที่ส่งเข้ามาแต่ละตัวจะถูกให้ค่าน้ำหนักเริ่มต้น ซึ่งมีผลโดยตรงกับตัวสัญญาณที่ส่งเข้ามาในลักษณะเดียวกันกับความแรงในการส่งสัญญาณผ่านรอยต่อของเซลล์ประสาท

ในธรรมชาติ สัญญาณบางตัวอาจสำคัญมากกว่าตัวอื่นๆ จึงทำให้ค่าน้ำหนักของแต่ละสัญญาณที่ป้อนเข้ามามีค่าแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามค่าน้ำหนักเริ่มต้นอาจถูกปรับเปลี่ยนได้ เมื่อผ่านขบวนการเรียนรู้

ในขบวนการเรียนรู้ของเครือข่ายจะเริ่มต้นจากการสุ่มค่าน้ำหนักของแต่ละหน่วยประสาท จากนั้นจึงป้อนข้อมูลให้กับเครือข่าย เครือข่ายจะสร้างค่าผลลัพธ์จากค่าน้ำหนักเริ่มต้นที่กำหนดให้ จากนั้นค่าน้ำหนักใหม่จะถูกคำนวณเพื่อลดความผิดพลาดในการทำนายที่เกิดขึ้น การคำนวณจะทำให้ค่าในลักษณะเช่นนี้จนกระทั่งได้ค่าความผิดพลาดน้อยที่สุด

● หน่วยประสาทเทียม (artificial neural)

หน่วยประสาทเทียมเป็นหน่วยย่อยของเครือข่ายประสาทเทียมซึ่งออกแบบมาเพื่อจำลองการทำงานของหน่วยประสาทธรรมชาติ สัญญาณที่ส่งเข้ามาจะถูกนำมาคูณกับค่าน้ำหนักของสัญญาณนั้นและนำผลคูณมารวมกัน จากนั้นข้อมูลจะถูกส่งต่อเพื่อทำการคำนวณโดยฟังก์ชันการถ่ายโอนต่อไป อาจกล่าวได้ว่า ANN เป็นแบบจำลองที่อาศัยความเชื่อมโยง โดยน้ำหนักที่ใช้ในการเชื่อมโยงจะเป็นตัวแทนของความจำของระบบนั่นเอง

● Connection formula

การเชื่อมโยงของหน่วยประสาทแต่ละหน่วยมีผลต่อการทำงานของเครือข่ายประสาทเทียมในลักษณะเดียวกันกับเซลล์ประสาทจากธรรมชาติ โดยหน่วยประสาทเทียมสามารถรับได้ทั้งสัญญาณกระตุ้นและสัญญาณยับยั้ง สามารถแบ่งการเชื่อมโยงออกเป็น 2 รูปแบบโดยสังเกตจากการมีหรือไม่มี การป้อนกลับของข้อมูลในเครือข่ายดังนี้คือ การเชื่อมโยงแบบไปข้างหน้า (feedforward connection) เป็นการเชื่อมโยงที่ไม่มีการส่งผลลัพธ์กลับไปยังสัญญาณป้อนเข้า ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องบันทึกค่าผลลัพธ์ในครั้งก่อนหน้า ในทางตรงกันข้ามกับการเชื่อมโยงแบบป้อนกลับ (feedback connection) ซึ่งเป็นการเชื่อมโยงที่มีการส่งผลลัพธ์กลับไปยัง input ดังนั้นจะมีการเชื่อมโยงจากผลลัพธ์กลับมาที่สัญญาณที่ป้อนเข้า ทำให้แต่ละหน่วยประสาทมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น เป็นผลให้ค่าความเป็นอิสระ (degree of freedom) มีมากขึ้น เมื่อระบบพยายามจะให้ความผิดพลาดจากการเรียนรู้เกิดขึ้นน้อยที่สุด ดังนั้นเครือข่ายที่ใช้ระบบนี้มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องบันทึกค่าของผลลัพธ์ในครั้งก่อนหน้า เพราะการทำงานในครั้งต่อไปไม่เพียงต้องพึ่งพาข้อมูลจากสัญญาณที่นำเข้าเท่านั้นแต่ยังขึ้นกับผลลัพธ์ในครั้งก่อนหน้าด้วย สามารถคำนวณผลรวมของสัญญาณที่ส่งเข้าหน่วยประสาทโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\text{Net input to a node} = i[j] = \sum_i \{w[ji] \times x[i]\}$$

โดยที่ $w[ji]$ = weight factor

$x[i]$ = input (independent)

● ฟังก์ชันการถ่ายโอน (Transfer function)

ฟังก์ชันการถ่ายโอนจะทำหน้าที่หาผลลัพธ์ โดยจะหาจากค่าผลรวมทั้งหมดของข้อมูลที่ป้อนเข้าจากหน่วยประสาทในชั้น (layer) ก่อนหน้า สมการแสดงความสัมพันธ์ในฟังก์ชันการถ่ายโอนอาจมีได้หลายรูปแบบ แต่ส่วนใหญ่ใช้ฟังก์ชัน sigmoid ซึ่งแสดงได้ดังต่อไปนี้

$$Y_j = f(i)$$

$$O_j = 1 / \{1 + \exp(-i[j])\}$$

โดยที่ $i[j]$ = Net input to a node

$$O_j = \text{ผลลัพธ์}$$

จำนวนของ node ใน input layer จะเท่ากับจำนวนตัวแปรอิสระที่ต้องการศึกษา

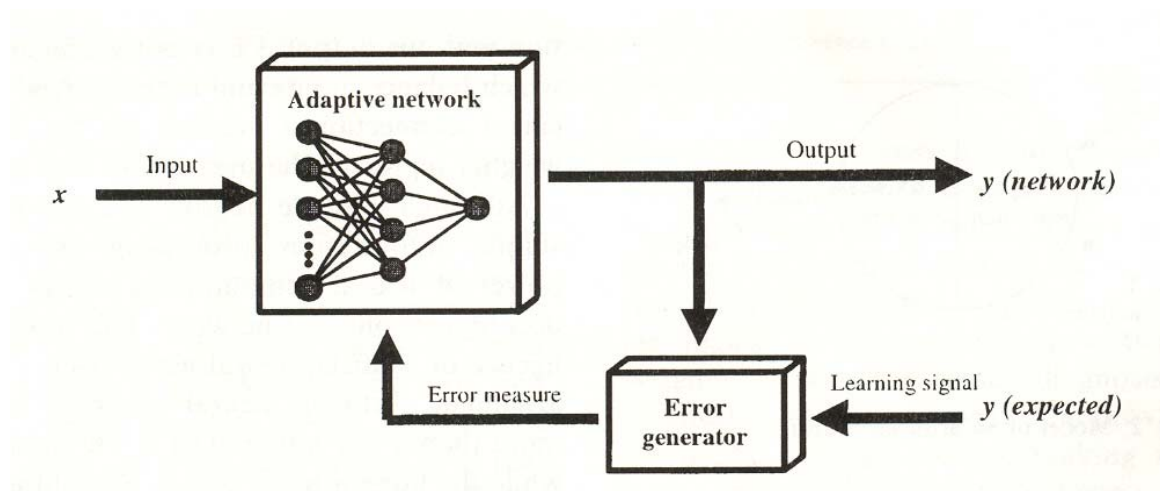
จำนวนของ node ใน output layer จะเท่ากับจำนวนตัวแปรตามที่ต้องการศึกษา

จำนวนของ layer และจำนวนของ node ในแต่ละ layer จะขึ้นกับความซับซ้อนของปัญหา ได้แก่จำนวนตัวแปรต้นและตัวแปรตาม จำนวนของกลุ่มข้อมูลที่ใช้ในการเรียนรู้ และระดับความถูกต้องของการทำนายที่ต้องการ จำนวน hidden node ที่เหมาะสมขึ้นกับปัจจัยดังต่อไปนี้

- จำนวนของ input และ output node
- จำนวน training data set
- ความซับซ้อนของสมการที่จะถูกเรียนรู้
- จำนวนของ noise ใน target
- Training algorithm ที่ใช้

ขั้นตอนวิธีการเรียนรู้ของเครือข่ายประสาทเทียม

การเรียนรู้ของเครือข่ายประสาทเทียมจะเรียนรู้จากประสบการณ์ผ่านการเรียนรู้ โดยใช้การปรับค่าน้ำหนักซึ่งเชื่อมแต่ละหน่วยประสาท ซึ่งวิธีที่ใช้ในการปรับค่าน้ำหนักนี้ เราเรียกว่า ขั้นตอนวิธีการเรียนรู้ (training algorithm) ในที่นี้จะเน้นถึง back-propagation rule ซึ่งใช้หลักการหาค่าความผิดพลาดย้อนกลับ โดยการเรียนรู้จะเริ่มจากการกำหนดค่าน้ำหนักเริ่มต้น ด้วยวิธีการสุ่ม จากนั้นจะเน้นขบวนการเรียนรู้ โดย 2 ขั้นตอน คือ feed forward กับ back propagation (รูปที่ 3) โดยการคำนวณไปข้างหน้า จะได้ค่าผลลัพธ์ออกมา ซึ่งจะนำมาเปรียบเทียบกับค่าผลลัพธ์ที่ควรจะเป็น (expected value) เพื่อคำนวณค่าความผิดพลาดที่เกิดขึ้น แล้วส่งข้อมูลกลับไปในเครือข่ายเพื่อคำนวณและปรับค่าน้ำหนักใหม่ การคำนวณจะทำซ้ำในลักษณะนี้จนกระทั่งได้ค่าความผิดพลาดต่ำที่สุด



รูปที่ 3 ขั้นตอนการเรียนรู้ด้วยหลัก back-propagation rule

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและคุณสมบัติของยา (quantitative structure activity/property relationship, QSAR/QSPR) เป็นวิธีที่นิยมใช้เพื่อที่จะหาคุณสมบัติที่เหมาะสมของสารต้นแบบที่จะนำไปพัฒนาเป็นยารูปแบบต่างๆ¹ โดยใช้การวิเคราะห์เชิงพหุ (multivariate data analysis) เช่น การวิเคราะห์ความถดถอยเชิงพหุ (multiple linear regression, MLR) เป็นเครื่องมือในการหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพ² ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะพัฒนาวิธี QSAR/QSPR ที่มีประสิทธิภาพเพื่อนำไปใช้ในการทำนายคุณสมบัติของสารที่มีโครงสร้างหลากหลาย

มีรายงานการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์และคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของยา เช่น Degim³ และคณะ (2003) ใช้คุณสมบัติความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) ของสารเป็น molecular descriptor หรือตัวแปรอิสระเพื่อช่วยในการทำนายการซึมผ่านผิวหนัง แต่ปัญหาสำคัญการใช้คุณสมบัติทางกายภาพเคมีของยาคือความยากของการได้มาซึ่งคุณสมบัติดังกล่าว และค่าที่แตกต่างกันระหว่างแต่ละแหล่งข้อมูล Lim⁴ และคณะ (2002) ใช้การคำนวณค่า molecular orbital ซึ่งเป็นตัวแปรที่ได้จากสูตรโครงสร้างโมเลกุลที่เป็นสามมิติเพื่อเป็นตัวแปรอิสระ อย่างไรก็ตามการคำนวณตัวแปรนี้ค่อนข้างยุ่งยากและเสียเวลามาก นอกจากนี้ปัญหาที่มักเกิดขึ้นคือความไม่เที่ยงตรงของแบบจำลองและความผิดพลาดจากค่าที่ได้จากการทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเก็บข้อมูลมาจากหลายๆ แหล่งข้อมูลทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองเนื่องจากมี protocol ที่แตกต่างกัน และยังไม่มีปรากฏว่ามีรายงานการศึกษาแบบจำลองโดยการศึกษาเปรียบเทียบและการหาความสัมพันธ์ของการใช้ตัวแทนผิวหนังชนิดต่างๆ

เมื่อเร็วๆ นี้มีการนำ topological indices⁵ ซึ่งเป็น molecular descriptor ที่สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างของสารมาใช้ มีรายงานความประสบความสำเร็จในการใช้ topological indices เป็น molecular descriptor ในการทำนายค่าจุดเดือด⁶ (Hall et al., 1996) ค่า partition coefficient⁷ (Huuskonen et al., 1999) molecular refractivity⁸ (Katritzky et al., 1993) เป็นต้น เนื่องจาก topological indices สามารถคำนวณได้ง่ายและรวดเร็วโดยใช้สูตรโครงสร้าง 2 มิติของสาร จึงอาจจะเป็น molecular descriptor ที่เหมาะสมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการคัดเลือกสารที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะพัฒนาต่อไป แต่ยังไม่มียางานการนำ topological indices มาใช้เป็น molecular descriptor ในการสร้างแบบจำลองสำหรับการซึมผ่านผิวหนังโดยใช้ตัวแทนผิวหนังชนิดต่างๆ

พิจารณาว่าวัตถุประสงค์ของการศึกษา QSAR/QSPR คือการค้นหาค่าตัวแปรอิสระที่มีประสิทธิภาพในการทำนายคุณสมบัติที่สนใจศึกษา อย่างไรก็ตามวิธีดั้งเดิมเช่น trial and error ทำให้การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์หรือคุณสมบัติของยาเป็นไปอย่างยากลำบากและเสียเวลาโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีตัวแปรอิสระจำนวนมากเข้ามาเกี่ยวข้อง Wanchana⁹ (2003) ได้ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการนำวิธีทางคอมพิวเตอร์มาประยุกต์ใช้ในการทำนายคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ พบว่ามีรายงานการนำวิธี Genetic algorithm¹⁰ ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการเลือกกลุ่มของตัวแปรอิสระที่เหมาะสมและจำเป็นต่อการสร้างแบบจำลอง¹¹⁻¹³ สำหรับทำนายคุณสมบัติการซึมผ่าน CaCO-2 cell ของสาร¹⁴ และการทำนายการเกิดปฏิกิริยาระหว่างยากับเอนไซม์ cytochrome P450 3A4¹⁵ เป็นต้น สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ที่ซับซ้อนและไม่เป็นเส้นตรงระหว่างปัจจัยที่เป็นเหตุและผล พบว่าวิธีเครือข่ายประสาทเทียม¹⁶ (Artificial Neural Network, ANN) จะเป็นวิธีที่มีความเหมาะสม โดย ANN เป็นวิธีทางคอมพิวเตอร์ที่สร้างจากความคิดของระบบเครือข่ายของเส้นประสาทในสมอง ซึ่งจะประกอบด้วยสามส่วนที่สำคัญคือส่วนของการนำข้อมูลเข้า (input layer) ส่วนของการทำงานวิเคราะห์ผลซึ่งเรียกว่า hidden layer และส่วนของการส่งข้อมูลออก (output layer) แต่ละส่วนจะขึ้นกับหน่วยประสาทของชั้นที่ติดกัน โดยระดับของอิทธิพลจะขึ้นกับค่าของการเชื่อมต่อ (connection) ในปัจจุบันมีการนำ ANN มาใช้ในทางเภสัชกรรมมากขึ้น เช่นใช้ทำนาย octanol/water partition coefficient¹⁷ ค่าชีวประสิทธิภาพของยา¹⁸ และการออกแบบตำรับ¹⁹⁻²⁰

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงพยายามที่จะสร้างแบบจำลองเพื่อทำนายคุณสมบัติการซึมผ่านผิวหนังของยาสำหรับตัวแทนผิวหนังชนิดต่างๆ ได้แก่ หนู และคราบงู โดยใช้วิธี GA ผสมผสานกับวิธี partial least squares²¹ และวิธีเครือข่ายประสาทเทียมและใช้ topological indices เป็นตัวแปรอิสระ เพื่อใช้ในการสร้างแบบจำลองเพื่อการทำนายคุณสมบัติการซึมผ่านของยาผ่านผิวหนังมนุษย์ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนายาในรูปแบบที่นำส่งทางผิวหนังที่มีประสิทธิภาพและลดผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นของยา นอกจากนี้ยังทดสอบแบบจำลองที่สร้างขึ้นโดยการพัฒนาเมธิมาโซล (methimazole) เพื่อนำส่งทางผิวหนัง เนื่องจากยาเมธิมาโซลเป็นยาด้านธัยรอยด์กลุ่มอนุพันธ์ของ thiomidazole ที่ใช้รักษาผู้ป่วยที่มีภาวะ hyperthyroidism ซึ่งเป็นภาวะที่ต่อมธัยรอยด์มีการทำงานมากเกินไปโดยมีการสร้างและการหลั่งธัยรอยด์ฮอร์โมนมากกว่าปกติมักเกิดร่วมกับการมีต่อมธัยรอยด์โต กลไกการออกฤทธิ์ของยานี้คือยับยั้งการสังเคราะห์ธัยรอยด์ฮอร์โมนและใช้เป็นยาที่ช่วยบรรเทาภาวะที่

มีการสังเคราะห์ฮอร์โมนมากกว่าปกติในผู้ป่วยที่ต้องรับการรักษาโดยวิธีการผ่าตัดต่อมธัยรอยด์หรือรักษาโดยใช้ไอโอดีนกัมมันตภาพรังสี²² ยาเมธิมาโซลมีค่าครึ่งชีวิตค่อนข้างสั้นคือประมาณ 5-7 ชั่วโมง และรูปแบบที่มีขายในท้องตลาดมีเพียงรูปแบบยาเม็ดเท่านั้น²³ จึงนำมาซึ่งปัญหาในการใช้ยาของผู้ป่วย hyperthyroidism ที่มีอาการคอปอกร่วมด้วยเนื่องจากผู้ป่วยกลุ่มนี้จะไม่สามารถกลืนยาได้อย่างสะดวกประกอบกับการที่ต้องบริหารยาบ่อยครั้งเนื่องจากค่าครึ่งชีวิตที่สั้นของยาทำให้ความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วยลดลงและนำมาซึ่งความล้มเหลวในการรักษา²⁴ ในปัจจุบันมีงานวิจัยที่กำลังพยายามจะพัฒนารูปแบบของยาที่เหมาะสม เพื่อให้ผู้ป่วยกลุ่มนี้ใช้ยาได้สะดวกขึ้น เช่น การทำเป็นยาเหน็บทวารหนัก แต่อย่างไรก็ตามพบว่า รูปแบบดังกล่าวให้การปลดปล่อยยาที่รวดเร็วและไม่คงที่ ทำให้ผลการรักษาไม่แน่นอน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาแบบจำลอง QSPR ที่สามารถทำนายผลการซึมผ่านผิวหนังของยาในตัวแทนผิวหนังชนิดต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลที่สำคัญต่อการวิจัยและการพัฒนาระบบนำส่งยาที่ให้ทางผิวหนัง
2. เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีทางคอมพิวเตอร์ ได้แก่ GA-PLS และ ANN ที่จะนำมาใช้ในการสร้างแบบจำลอง QSPR ของระบบนำส่งยาทางผิวหนังรวมถึงปัจจัยที่มีผลต่อขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี ดังกล่าว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถพัฒนาแบบจำลอง QSPR ที่สามารถทำนายการซึมผ่านผิวหนังของยาสำหรับแบบจำลองผิวหนังชนิดต่างๆ โดยเทคนิควิธี genetic algorithm combined partial least squares และ/หรือวิธี artificial neural network
2. สามารถนำวิธีทางคอมพิวเตอร์ซึ่งหาได้ง่ายหรือผลิตขึ้นเองภายในประเทศ มาใช้ในการทดลองแทนการทดลองทาง in vitro และ in vivo เพื่อให้ลดระยะเวลาและค่าใช้จ่ายในการพัฒนาระบบนำส่งยาที่ให้ทางผิวหนัง
3. สามารถพัฒนาการวิจัยระบบนำส่งยาที่ให้ทางผิวหนังที่มีศักยภาพได้ภายในประเทศ

วิธีการทดลอง

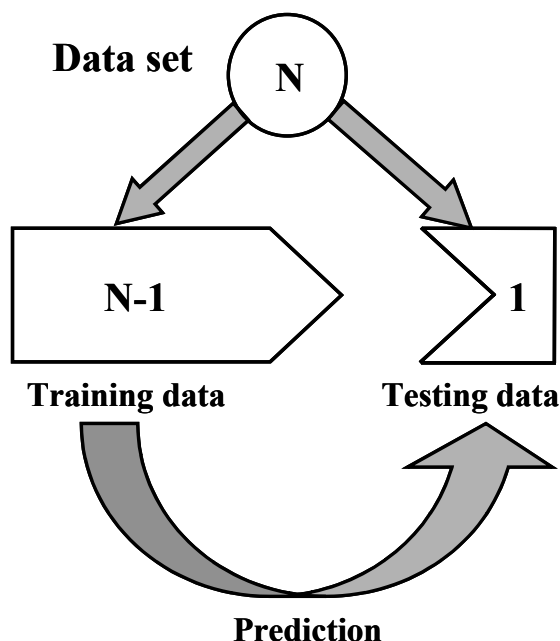
1. ศึกษาข้อมูลที่เกี่ยวข้องและเก็บรวบรวมข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนูและคราบงูของยาชนิดต่างๆ ได้แก่ aminopyrine, antipyrine, diclofenac sodium, dopamine, estradiol, indomethacin, isosorbide dinitrate, ketoprofen, morphine, lidocaine, levodopa, flurbiprofen, ibuprofen, 5-fluorouracil, cyclobarbitol, isoproterenol และ nicorandil
2. ศึกษาเพื่อค้นหาพารามิเตอร์ หรือ molecular descriptor ที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการสร้างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนูและคราบงูของยาและสร้างแบบจำลองด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่
 - 2.1. การค้นหาพารามิเตอร์และสร้างแบบจำลอง QSPR ด้วยวิธีดั้งเดิม
 - 2.2. การค้นหาพารามิเตอร์และสร้างแบบจำลอง QSPR ด้วยวิธี genetic algorithm combined partial least squares
 - 2.3. การค้นหาพารามิเตอร์และสร้างแบบจำลอง QSPR ด้วยวิธี artificial neural network โดยใช้โปรแกรม Trajan
3. ศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่
 - 3.1. วิธี genetic algorithm combined partial least squares เช่น ศึกษาอัตราการเกิด crossover มิวเตชันและจำนวน generation โดยการสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงของค่าผิดพลาดระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการทำนาย
 - 3.2. artificial neural network เช่น ศึกษาจำนวน hidden layer อัตราการเรียนรู้ (learning rate) ที่เหมาะสมโดยการสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงของค่าผิดพลาดระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการทำนาย คำนวณค่า root mean square error (RMSE) สำหรับการ train ข้อมูล และค่า predictive RMSE สำหรับการทำ Leave-one-out cross (LOO) validation
$$\text{predictive RMSE} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - y_{pred})^2}{n}}$$

โดย y_i = ค่า y ที่ได้จากการทดลอง

y_{pred} = ค่า y ที่ได้จากการทำนายหรือการคำนวณ (หรือ y_{cal} กรณีคำนวณค่า RMSE)

n = จำนวนข้อมูล
4. ประเมินความสามารถการทำนายของแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังที่เตรียมได้โดยใช้วิธี LOO cross validation กล่าวโดยย่อคือข้อมูลหนึ่งตัวจะถูกนำออกจากกลุ่มและนำมาใช้ทดสอบแบบจำลองที่สร้างขึ้นโดยกลุ่มข้อมูลที่เหลือ ดังรูปที่ 4 ทำการคำนวณซ้ำ

จนกระทั่งข้อมูลทุกตัวถูกใช้ในการทำนาย จากนั้นคำนวณค่า predictive RMSE เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนาย



รูปที่ 4 ขั้นตอนวิธี leave-one-out cross validation โดย N คือจำนวนข้อมูลทั้งหมด ข้อมูลหนึ่งตัวจะถูกนำออกไปเพื่อใช้ทดสอบแบบจำลองที่สร้างขึ้นโดยข้อมูลที่เหลือ (N-1)

5. ศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนู และคราบงูที่เตรียมได้
6. พัฒนารับยาที่ให้ทางระบบนำส่งยาทางผิวหนังขึ้นมาเพื่อทดสอบแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังที่ได้โดยขั้นตอนต่อไป

6.1 เตรียมระบบนำส่งยาทางผิวหนังของยา methimazole

- 6.1.1 การเตรียมฟิล์มเปล่า: เตรียมฟิล์มเปล่าไคโตแซน (H type, 80-85%DD, CH) โดยละลายไคโตแซน ความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักในสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1% โดยปริมาตร จากนั้นเทสารละลายไคโตแซนในจานแก้ว (petridish) อบแห้งที่อุณหภูมิ 60^oซ เป็นเวลา 2-3 ชม.
- 6.1.2 การเตรียมฟิล์มที่ผสมยา: เตรียมแผ่นฟิล์มของยาผสมกับไคโตแซน โดยละลายยาเมธิมาโซลในสารละลายไคโตแซนทั้งสองชนิดความเข้มข้น 1 %

โดยน้ำหนักในจานแก้ว จากนั้นนำไปอบแห้งเช่นเดียวกับการเตรียมฟิล์มเปล่าโคโตะแซน ปริมาณยาในแผ่นเท่ากับ 0.76 มก./ตร.ซม.

6.2 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้โดยใช้ Differential Scanning Calorimetry (DSC) และการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาและพอลิเมอร์โดยใช้ Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

6.3 การปลดปล่อยยาแบบภายนอกร่างกาย (in-vitro release study) โดยใช้เครื่องทดสอบการละลาย (dissolution apparatus) ตามวิธีในเภสัชตำรับของสหรัฐอเมริกา (Apparatus V, paddle over disk) และวิเคราะห์คำนวณปริมาณยาที่ถูกปลดปล่อย โดยเครื่องมือ UV-spectrophotometry ที่เวลาต่าง ๆ ภายใน 24 ชั่วโมง

6.4 ศึกษาการซึมผ่านของผิวหนังด้วยวิธีภายนอกร่างกาย (in-vitro permeation study) โดยใช้ผิวหนังลูกหมูแรกคลอดเป็นผิวหนังจำลอง เครื่องมือที่ใช้ทดสอบ คือ Franz diffusion cells วิเคราะห์ปริมาณยาที่ปลดปล่อยที่เวลาต่าง ๆ ภายใน 24 ชั่วโมง โดยวิธี UV-spectrophotometry และทำการทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังโดยใช้แบบจำลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

Ultraviolet spectrophotometer

Hot air oven

Desiccators

pH Meter

Microscope

Controlled temperature waterbath

Analytical balance

Diffusion cells

หลอดเก็บตัวอย่างจากการดูดซึมผ่านตัวยา

Venkel disk

Magnetic stirrer

Syringe แก้วสำหรับเก็บตัวอย่าง

โปรแกรมและซอฟต์แวร์ต่าง ๆ เช่น Molconn-Z software

ผลการทดลองและบทวิจารณ์

1. เก็บรวบรวมข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนูและคราบงูของยาชนิดต่าง ๆ ทั้งหมด 14 ตัว จากการทบทวนวรรณกรรม

ตารางที่ 1 ค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนูและคราบงูของยาชนิดต่าง ๆ²⁵

Drug name	log P (sec/cm)		
	rat	human	shed snake
cyclobarbitol	-5.939	-6.650	-6.298
diclofenac	-7.265	-7.265	-7.707
dopamine	-6.590	-7.696	-8.377
estradiol	-4.568	-5.479	-
flurbiprofen	-3.943	-3.532	-4.144
ibuprofen	-6.588	-8.064	-8.630
indomethacin	-4.373	-4.909	-4.967
isosorbide dinitrate	-5.306	-5.214	-5.107
isoproterenol	-3.991	-3.653	-3.912
ketoprofen	-4.618	-4.773	-5.191
levodopa	-7.066	-7.964	-7.969
lidocain	-5.192	-5.101	-5.312
morphine	-6.921	-7.061	-7.275
nicorandine	-7.295	-7.295	-7.392

2. ผลการศึกษาเพื่อค้นหาพารามิเตอร์ หรือ molecular descriptor ที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการสร้างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ของยา

คำนวณ molecular descriptor ของตัวยาแต่ละตัวจากโครงสร้าง 2 มิติ โดยใช้โปรแกรม Molconn-Z ได้ molecular descriptor 220 ตัว ซึ่งประกอบด้วย connectivity, shape และ atom-type E-state indices กรณีที่ molecular descriptor มีความสัมพันธ์กันสูงจะถูกคัดออก ผลเหลือ molecular descriptor 75 ตัว จึงพิจารณาใช้ genetic algorithms (GA) เพื่อช่วยเลือกกลุ่มตัวแปรที่สำคัญต่อการสร้างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ของยา GA¹⁰ ใช้หลักการของวิวัฒนาการ โดยการเลียนแบบหลักการใช่วิธีการคัดเลือกตามธรรมชาติ (natural selection) ในการแก้ปัญหาการเลือกกลุ่มตัวแปรที่เหมาะสมโดยให้ตัวแปรเปรียบเสมือนยีน วิธีการนี้ประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญสามขั้นตอน คือ การคัดเลือก การสับเปลี่ยนค่าตัวแปร (crossover) และการกลายพันธุ์

(mutation) โดยกลุ่มตัวแปรที่ใช้ในการทำนายผลได้ดีกว่าจะถูกคัดเลือกไว้ในประชากรรุ่น (generation) ถัดไป ในขณะที่กลุ่มตัวแปรที่ให้ผลในการทำนายไม่ดีจะถูกคัดทิ้ง การวิเคราะห์ด้วยวิธี GA จะเริ่มจากการสร้างประชากร (population) ของกลุ่มตัวแปรอิสระ แต่ละกลุ่มย่อยจะถูกใส่รหัสด้วยระบบตัวเลขสองตัวคือ “1” กับ “0” โดยที่ความยาวของรหัสจะเท่ากับจำนวนตัวแปรทั้งหมด ค่า “1” หมายความว่าตัวแปรอิสระนั้นมีความสำคัญ ในขณะที่ค่า “0” หมายความว่าตัวแปรอิสระนั้นไม่สำคัญไม่จำเป็นต้องนำมาใช้ในการสร้างแบบจำลอง จากนั้นกำหนดค่า fitness เพื่อใช้ในการแยกความแตกต่างของแต่ละกลุ่มย่อยว่ากลุ่มย่อยใดมีกลุ่มของตัวแปรที่เหมาะสมกว่า โดยใช้เทคนิควิธีการวิเคราะห์ความถดถอยเส้นตรงพหุคูณ โดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของค่าที่ทำนายได้ (predictive correlation coefficients, q^2) เพื่อใช้เป็นค่า fitness ในการคัดเลือกกลุ่มตัวแปรที่เหมาะสมด้วยเทคนิค GA ตัวอย่างเช่น ถ้ามีตัวแปรทั้งหมด 5 ตัว กลุ่มย่อยของตัวแปรทั้งหมดที่เป็นไปได้มีทั้งหมด 2^5 กลุ่มย่อย ได้แก่ 01110, 00010, 00110 เป็นต้น กลุ่มย่อยของตัวแปรสองกลุ่มจะถูกคัดเลือกขึ้นมาสุ่มโดยดูจากค่า fitness จากนั้นจะมีการสับเปลี่ยนค่าตัวแปรและทำการกลายพันธุ์ตามสภาวะที่กำหนด จะได้กลุ่มย่อยของตัวแปรรุ่นใหม่เกิดขึ้น ในแต่ละรุ่นจะทำการคำนวณซ้ำจนกระทั่งได้ประชากรครบตามที่กำหนดไว้ โดยใช้สภาวะดังนี้

Probability of crossover	= 0.8
Probability of mutation	= 0.01
Predefined number of population	= 100
The number of generations	= 500

พบว่า genetic algorithm ได้คัดเลือก 9 Molconn-Z descriptors (ตารางที่ 2) ดังนั้นจึงใช้ descriptors ทั้ง 9 ตัวนี้สำหรับการสร้างแบบจำลอง QSPR ต่อไป

ตารางที่ 2 Molconn-Z descriptors ซึ่งถูกเลือกโดยวิธี genetic algorithm เมื่อใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์

Molconn-Z descriptors
Chain 6 simple connectivity indices
Chain 6 valence connectivity indices
Sum of delta-I values
Flexibility index
Hydrogen atom type E-state index value for all groups except -OH, =NH, -SH, -NH ₂ , -NH-, $\equiv$ CH and -CH _n X
Atom type E-state index values for atom types (-NH-)
Atom type hydrogen E-state index values for atom types (CH ₂ =CH-)
Hydrogen atom type E-state index value for all groups except -OH, =NH, -SH, -NH ₂ , -

NH-, $\equiv\text{CH}$ and $-\text{CH}_n\text{X}$

Polarity index

3. ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธี **artificial neural network (ANN)** โดยใช้ **descriptor 9 ตัว**

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ขั้นตอนวิธีการเรียนรู้ (training algorithm) แบบ back-propagation rule โดยเริ่มจากการเปลี่ยนแปลงอัตราการเรียนรู้ (learning rate) ในช่วง 0.002-0.02 โดยกำหนดค่าคงที่ต่างๆ ดังนี้ momentum เท่ากับ 0.05 จำนวน hidden layer เท่ากับ 5 และ weight -3.75 ถึง 3.75 โดยทำการคำนวณ 10,000 รอบ ผลแสดงในตารางที่ 3 พบว่า learning rate เพิ่มขึ้นจะทำให้ค่า root mean square error (RMSE) ลดลงสำหรับการ train ข้อมูล และค่า predictive RMSE ลดลงสำหรับการทำ LOO cross validation แต่เมื่อเพิ่ม learning rate ถึง 0.05 ค่า predictive RMSE เพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงเลือกค่า learning rate ที่ 0.02

จากนั้นทำการเปลี่ยนแปลงค่า momentum ในช่วง 0.001-0.5 โดยกำหนดค่าคงที่ต่างๆ ดังนี้ learning rate เท่ากับ 0.02 จำนวน hidden layer เท่ากับ 5 และ weight -3.75 ถึง 3.75 โดยทำการคำนวณ 10,000 รอบ ผลแสดงในตารางที่ 4 พบว่าค่า momentum เท่ากับ 0.005 ให้ค่า RMSE และ predictive RMSE เหมาะสมที่สุดสำหรับการ train ข้อมูลและการทำ LOO cross validation ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกใช้ค่า momentum เท่ากับ 0.005 ตารางที่ 5 แสดงค่า RMSE และค่า predictive RMSE เมื่อเปลี่ยนแปลงจำนวน hidden unit สำหรับข้อมูล training กับการทำ LOO cross validation ตามลำดับ พบว่า จำนวน hidden layer เท่ากับ 5 ให้ค่า RMSE และ predictive RMSE เหมาะสมที่สุดสำหรับการ train ข้อมูล (RMSE=0.1912) และการทำ LOO cross validation (predictive RMSE =0.2194)

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธี ANN โดยใช้ descriptor 9 ตัว ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ learning rate เท่ากับ 0.02 momentum เท่ากับ 0.005 จำนวน hidden unit เท่ากับ 5 และ weight -3.75 ถึง 3.75 โดยทำการคำนวณ 10,000 รอบ

4. สร้างแบบจำลอง **QSPR** ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์และประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง **QSPR** ที่พัฒนาขึ้น

เปรียบเทียบผลการสร้างแบบจำลอง QSPR ด้วยวิธีดั้งเดิม วิธี GA-PLS และวิธี ANN โดยใช้โปรแกรม Trajan รูปที่ 5-7 (A) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่ได้จากการทดลอง (observed log P) กับค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่ได้จากการคำนวณ (calculated log P) โดยใช้วิธี multiple linear regression (MLR) วิธี GA-PLS และวิธี ANN ที่มี configuration 9-5-1 (สำหรับ input, hidden และ output layers) พบว่าได้ค่า root mean square errors (RMSE) ไม่แตกต่างกันมากนักสำหรับการ train ข้อมูลทั้งหมด โดยวิธี MLR และวิธี ANN (RMSE = 0.322 และ 0.453 ตามลำดับ) ในขณะที่วิธี GA-PLS ให้ค่า RMSE ค่อนข้างสูง (RMSE = 0.621) เมื่อทำการ

ตรวจสอบความถูกต้องของ ANN model ที่สร้างขึ้นโดยวิธี LOO prediction รูปที่ 5-7 (B) พบว่า ANN model นี้สามารถทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ได้ถูกต้องมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอีกสองวิธี

ตารางที่ 3 ผลการเปลี่ยนแปลงค่า learning rate ที่มีต่อค่า RMSE และ ค่า predictive RMSE สำหรับข้อมูล training และ LOO cross validation

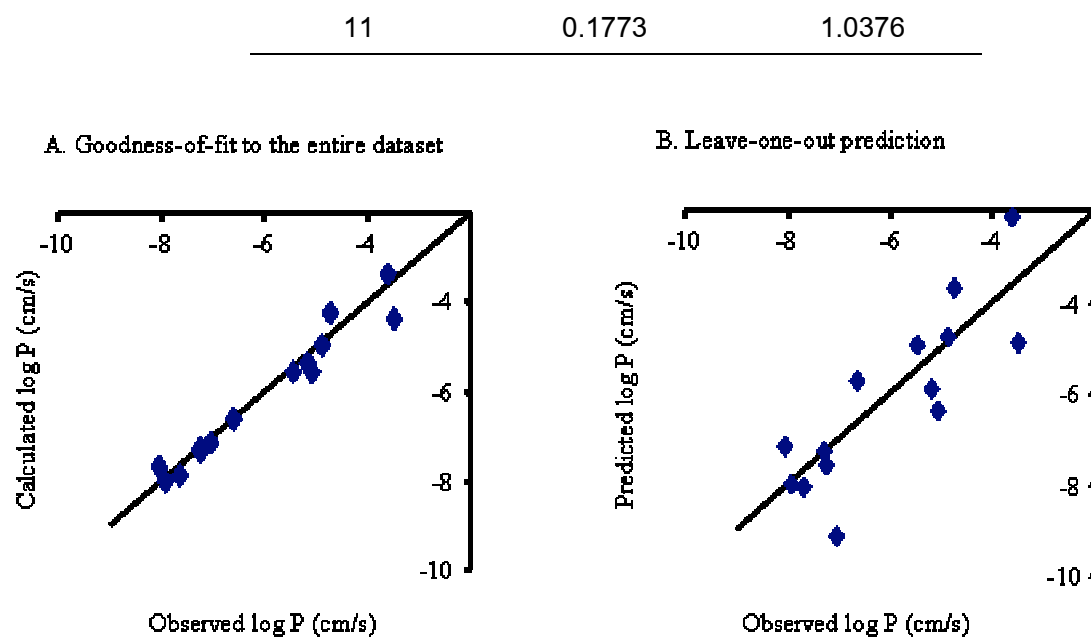
Learning rate	RMSE (Training data set)	predictive RMSE (LOO data set)
0.002	0.4573	0.6322
0.01	0.3378	0.8903
0.02	0.2901	0.5396
0.05	0.1245	0.5410
0.2	0.0045	0.4713

ตารางที่ 4 ผลการเปลี่ยนแปลงค่า momentum ที่มีต่อค่า RMSE และ ค่า predictive RMSE สำหรับข้อมูล training และ LOO cross validation

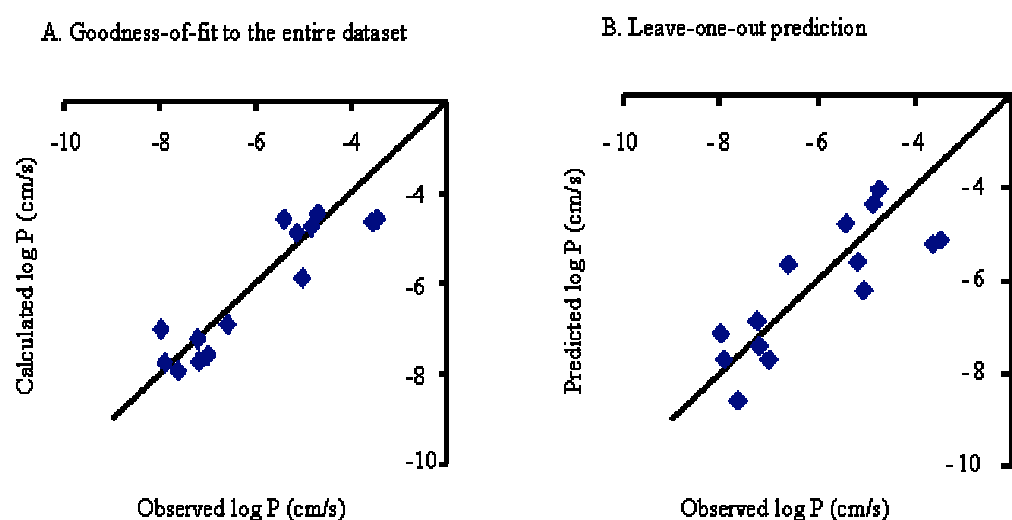
Momentum	RMSE (Training data set)	predictive RMSE (LOO data set)
0.001	0.1641	0.4231
0.002	0.2175	0.6119
0.003	0.2571	0.8864
0.005	0.1912	0.2194
0.05	0.2901	0.5396
0.5	0.0821	0.4386

ตารางที่ 5 ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวน hidden unit ที่มีต่อค่า RMSE และ ค่า predictive RMSE สำหรับข้อมูล training และ LOO cross validation

Number of hidden unit	RMSE (Training data set)	predictive RMSE (LOO data set)
4	0.1842	0.3668
5	0.1912	0.2194
6	0.1477	0.2538
7	0.2093	0.3038

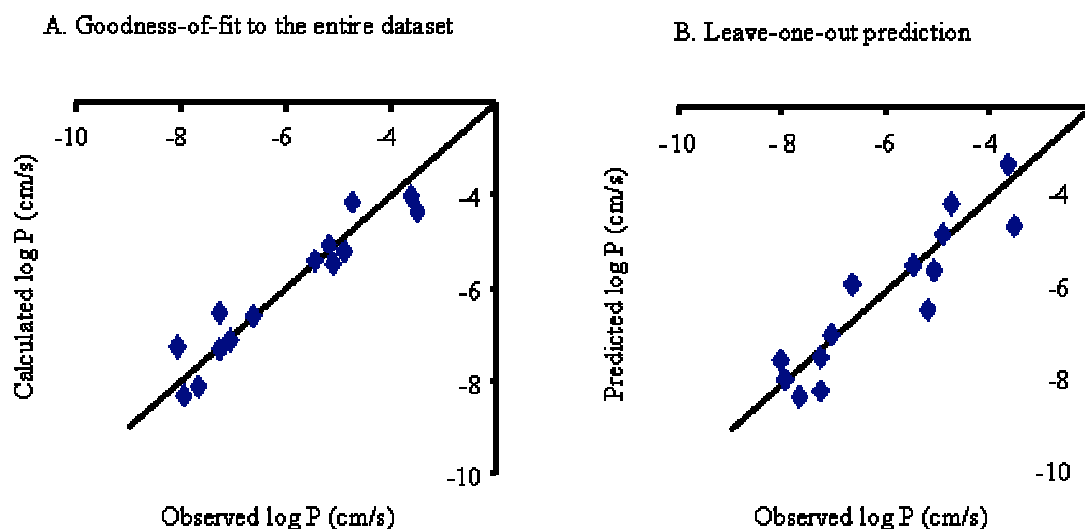


รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\log P$ ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้แบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี multiple linear regression (conventional) เมื่อใช้ข้อมูลยาทั้งหมด (A) และ การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้าง โดยวิธี LOO cross validation (B)



รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\log P$ ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้แบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี GA-PLS เมื่อใช้ข้อมูลยาทั้งหมด

(A) และ การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้าง โดยวิธี LOO cross validation (B)

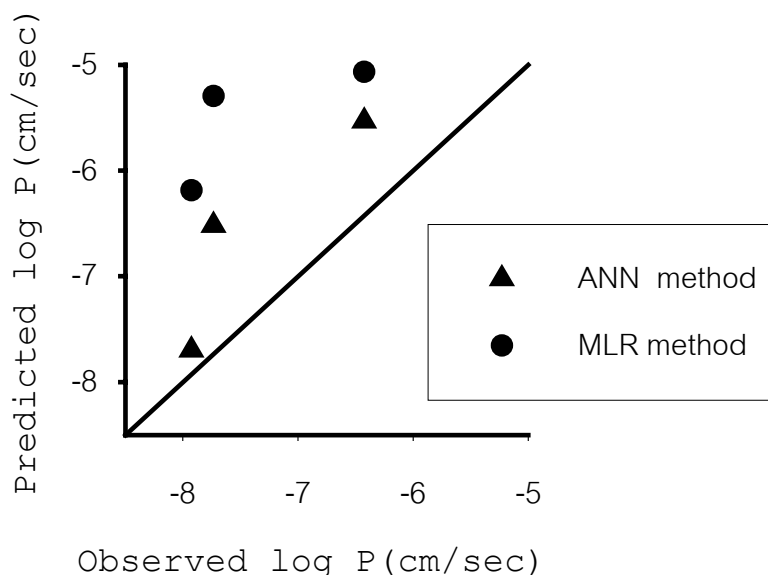


รูปที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\log P$ ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้แบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN เมื่อใช้ข้อมูลยาทั้งหมด (A) และ การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้าง โดยวิธี LOO cross validation (B)

โดยดูจากค่า predictive q^2 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.829 เมื่อใช้วิธี ANN และ มีค่าเท่ากับ 0.568 และ 0.659 เมื่อใช้วิธี MLR และ GA-PLS ตามลำดับ นอกจากนี้การใช้ ANN ยังให้ค่าวิธี RMSE ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับอีกสองวิธี (RMSE= 0.624, 0.990 และ 0.880 สำหรับวิธี ANN วิธี MLR และ GA-PLS ตามลำดับ)

นอกจากนี้เมื่อทดลองนำข้อมูลที่ไม่เคยใช้ในการสร้างแบบจำลองมาทดสอบความสามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น (external validation) ด้วยวิธี ANN และ MLR พบว่าแบบจำลองที่สร้างโดยวิธี ANN มี performance ที่ดีกว่า (รูปที่ 8) โดยให้ค่า predictive RMSE ต่ำกว่าแบบจำลองที่สร้างโดยวิธี MLR (predictive RMSE = 0.882 สำหรับวิธี ANN และ predictive RMSE = 1.90 สำหรับวิธี MLR) นี่แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองที่สร้างโดยวิธี ANN สามารถทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ได้ถูกต้องมากกว่าการใช้วิธีดั้งเดิมอย่างเช่นวิธี MLR ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ของยานั้นขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ทั้งปัจจัยในเรื่องของผิวหนังมนุษย์ และปัจจัยในเรื่องของคุณสมบัติของตัวยาเอง ได้แก่ความมีขั้ว ขนาดและรูปร่างของโมเลกุลยา เป็นต้น ทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ซับซ้อนเกินกว่าจะใช้ความ

สัมพันธ์เชิงเส้นตรงอย่างเช่น วิธี MLR ในการอธิบายได้ทั้งหมด ดังนั้น ANN ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้สำหรับการสร้างความสัมพันธ์ที่ซับซ้อนและไม่เป็นเส้นตรง จึงสามารถนำมาใช้ได้ดีในกรณีนี้



รูปที่ 8 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN และ วิธี multiple linear regression โดยวิธี external validation

5. ศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนูและคราบงูที่เตรียมได้

5.1 การสร้างแบบจำลองของการซึมผ่านผิวหนังหนู

คำนวณ molecular descriptor ของตัวยาแต่ละตัวจากโครงสร้าง 2 มิติ โดยใช้โปรแกรม Molconn-Z ได้ molecular descriptor 220 ตัว ซึ่งประกอบด้วย connectivity, shape และ atom-type E-state indices กรณีที่ molecular descriptor มีความสัมพันธ์กันสูงจะถูกคัดออก ผลเหลือ molecular descriptor 75 ตัว จึงพิจารณาใช้ genetic algorithms (GA) เพื่อช่วยเลือกกลุ่มตัวแปรที่สำคัญต่อการสร้างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังหนูของยา ได้ผลดังตารางที่ 6 พบว่า GA ได้คัดเลือก 9 Molconn-Z descriptors ดังนั้นจึงใช้ descriptors ทั้ง 9 ตัวนี้สำหรับการสร้างแบบจำลอง QSPR ต่อไป ในการสร้างแบบจำลอง QSPR โดยใช้ ANN รูปที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่ได้จากการทดลอง (observed log P) กับค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ที่ได้จากการคำนวณ (calculated log P) ของแบบจำลอง ANN ที่มี configuration 9-5-1 (สำหรับ input, hidden และ output layers) โดยมีค่า RMSE = 0.011 ซึ่งเมื่อทำการประเมินความ

สามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น ด้วยวิธี LOO cross validation ได้ค่า predictive RMSE = 0.218 (ดังแสดงในรูปที่ 10) ซึ่งแสดงว่าแบบจำลอง ANN นี้สามารถทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังได้ดี

ตารางที่ 6 Molconn-Z descriptors ซึ่งถูกเลือกโดยวิธี genetic algorithm เมื่อใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนัง

Molconn-Z descriptors

Path 3 simple connectivity index

Path 5 valence connectivity index

Sum of delta-I (intrinsic state) value

Total topoogical state index based on electrotopological state indices

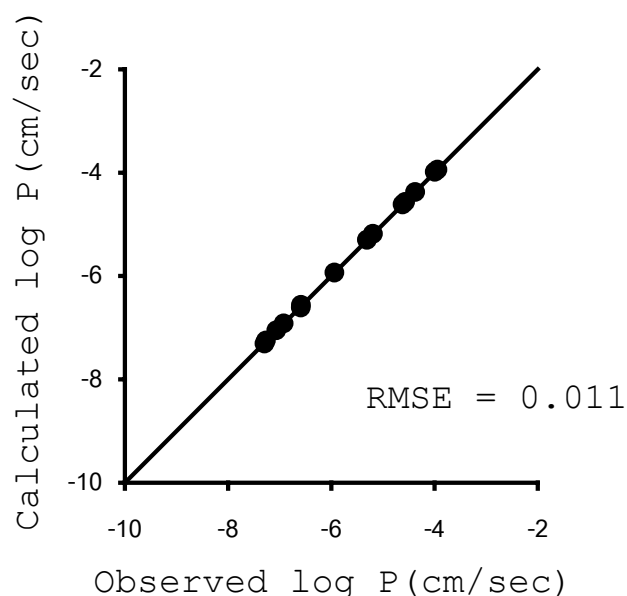
Hydrogen atom type E-state index value for all groups except -OH, =NH, -SH, -NH₂, -NH-, $\equiv$ CH and -CH_nX

Maximum hydrogen E-state value in molecules

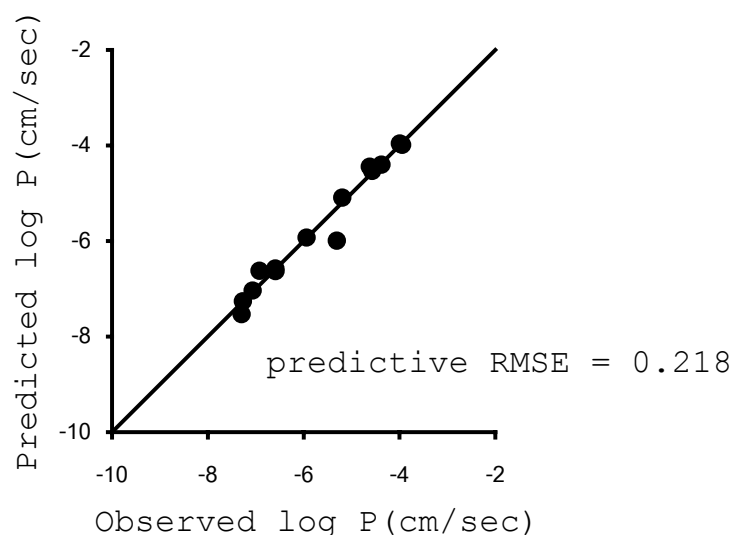
Maximum E-state value in molecules

Minimum E-state value in molecules

E-state of C sp³ bonded to other saturated C atoms



รูปที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า log P ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยใช้แบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังที่สร้างด้วยวิธี ANN เมื่อใช้ข้อมูลยาทั้งหมด



รูปที่ 10 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนัง มนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยวิธี LOO cross validation

5.2 การสร้างแบบจำลองของการซึมผ่านคราบงู

คำนวณ molecular descriptor ของตัวยาแต่ละตัวจากโครงสร้าง 2 มิติ โดยใช้โปรแกรม Molconn-Z ได้ molecular descriptor 220 ตัว ซึ่งประกอบด้วย connectivity, shape และ atom-type E-state indices กรณีที่ molecular descriptor มีความสัมพันธ์กันสูงจะถูกคัดออก ผลเหลือ molecular descriptor 75 ตัว จึงพิจารณาใช้ GA เพื่อช่วยเลือกกลุ่มตัวแปรที่สำคัญต่อการสร้างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังของยา ได้ผลดังตารางที่ 7 พบว่า GA ได้คัดเลือก 6 Molconn-Z descriptors ดังนั้นจึงใช้ descriptors ทั้ง 6 ตัวนี้สำหรับการสร้างแบบจำลอง QSPR อย่างไรก็ตามแบบจำลอง ANN ที่มี configuration 6–5–1 (สำหรับ input, hidden และ output layers) โดยมีค่า RMSE ค่อนข้างสูง (อยู่ในช่วง 2.027-2.349) เมื่อทำการประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น ด้วยวิธี LOO cross validation แม้ว่าจะเปลี่ยนแปลงสภาวะที่ใช้หลายสภาวะ เช่น สภาวะที่ 1 = 10000/0.02/0.005/0.0001/5 สภาวะที่ 2 = 10000/0.006/0.01/0.0001/5 และสภาวะที่ 3 = 10000/0.001/0.9/0.0001/5 (EPOCHs/learning

rate/momentum/noise/hidden) แสดงว่าแบบจำลอง ANN นี้สามารถทำนายค่าการซึมผ่านคราบงูได้ไม่ดีนัก

ตารางที่ 7 Molconn-Z descriptors ซึ่งถูกเลือกโดยวิธี genetic algorithm เมื่อใช้ข้อมูลการซึมผ่านคราบงู

Molconn-Z descriptors

Cluster 4 simple connectivity index

Kappa zero

Flexibility index

Minimum hydrogen E-state value in molecules

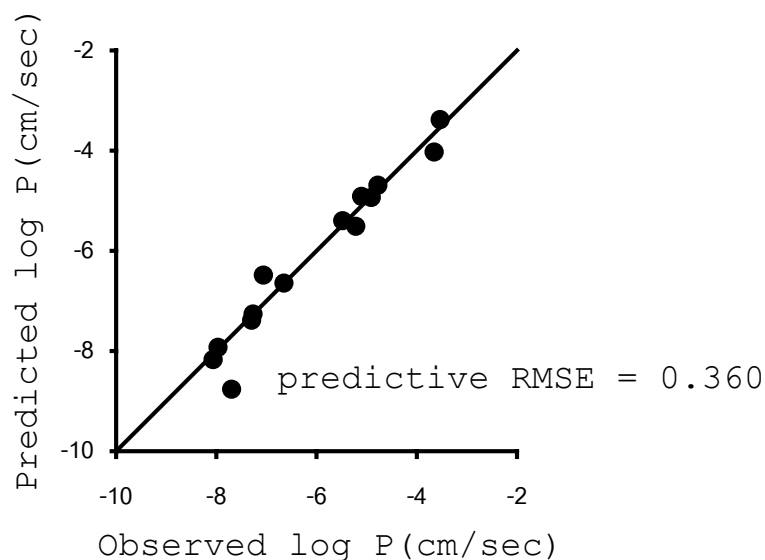
E-state index value for atom type >CH-

E-state index value for atom type -NH-

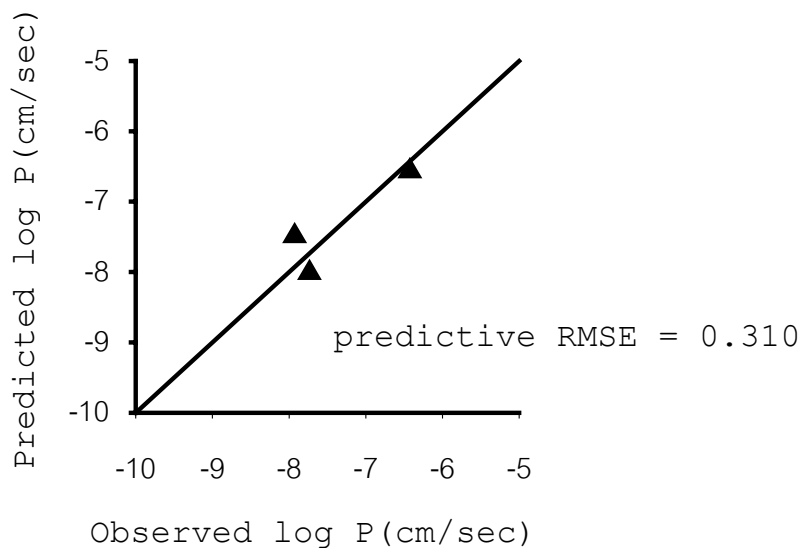
5.3 การนำพารามิเตอร์ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังหนูและคราบงูทำนายผลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์

เมื่อทดลองใช้ Molconn-Z descriptors 9 ตัว ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังหนู (ตารางที่ 6) สร้างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์โดยใช้ ANN ที่มี configuration 9-5-1 ซึ่งเมื่อทำการประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น ด้วยวิธี LOO cross validation ได้ค่า predictive RMSE = 0.360 (ดังแสดงในรูปที่ 11) แสดงว่าแบบจำลอง ANN นี้สามารถทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ได้ดี นอกจากนี้เมื่อทดลองนำข้อมูลที่ไม่เคยใช้ในการสร้างแบบจำลองมาทดสอบความสามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น (external validation) พบว่าค่า predictive RMSE = 0.310 (รูปที่ 12) นี้แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองที่สร้างโดยการนำพารามิเตอร์ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังหนู มาคำนวณโดยใช้วิธี ANN สามารถทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ได้

อย่างไรก็ตามเมื่อทดลองใช้ Molconn-Z descriptors 6 ตัว ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านคราบงู (ตารางที่ 7) สร้างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์โดยใช้ ANN ที่มี configuration 6-5-1 และทำการประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น ด้วยวิธี LOO cross validation และ วิธี external validation พบว่าได้ค่า predictive RMSE = 3.50 และ 1.26 ตามลำดับ นั้นแสดงว่าพารามิเตอร์ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านคราบงู อาจไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ได้ทั้งนี้เนื่องจากกลไกในการซึมผ่านที่แตกต่างกันระหว่างคราบงู และผิวหนังมนุษย์นั่นเอง



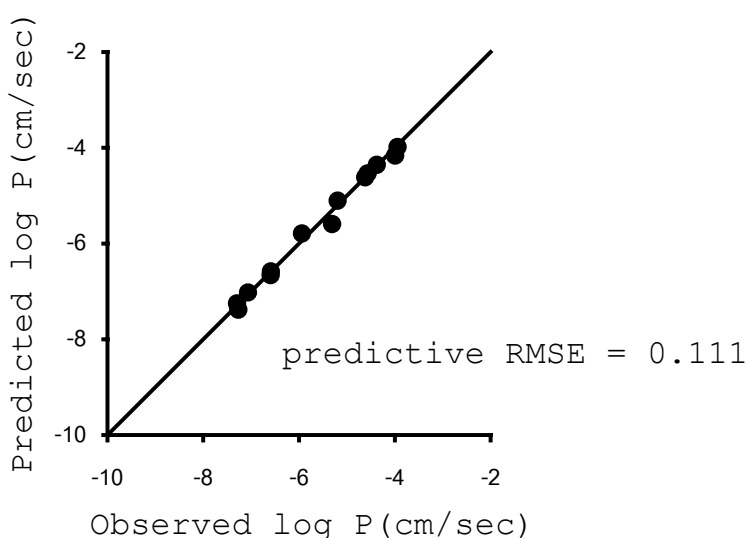
รูปที่ 11 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนัง มนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังหนู โดยวิธี LOO cross validation



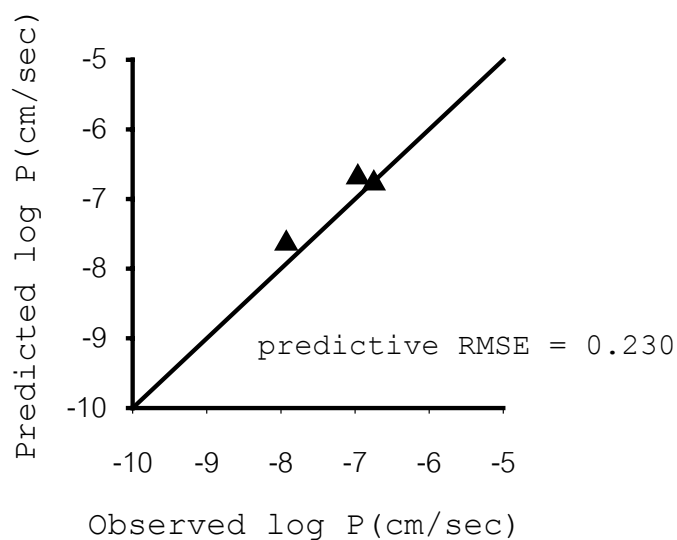
รูปที่ 12 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนัง มนุษย์ที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังหนู โดยวิธี external validation

5.4 การนำพารามิเตอร์ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ทำนายผลการซึมผ่านผิวหนังหนูและคราบงู

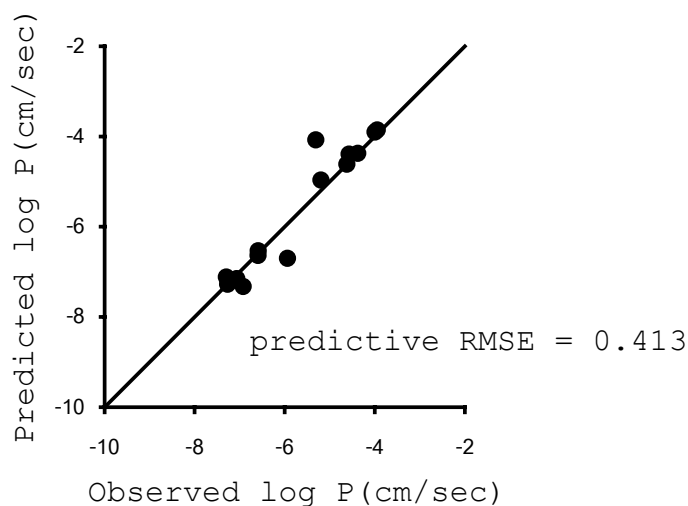
จากการใช้ Molconn-Z descriptors 9 ตัว ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ (ตารางที่ 2) สร้างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังหนูโดยใช้ ANN ที่มี configuration 9–5–1 ซึ่งเมื่อทำการประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น ด้วยวิธี LOO cross validation ได้ค่า predictive RMSE = 0.111 (ดังแสดงในรูปที่ 13) ซึ่งแสดงว่าแบบจำลอง ANN นี้สามารถทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังได้ดี เมื่อทดลองนำข้อมูลที่ไม่เคยใช้ในการสร้างแบบจำลองมาทดสอบความสามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น (external validation) พบว่าค่า predictive RMSE = 0.230 (รูปที่ 14) นอกจากนี้เพื่อเป็นการเปรียบเทียบได้ประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังหนูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี LOO cross validation และ external validation (n=3) ได้ค่า predictive RMSE = 0.413 และ 0.456 ตามลำดับ (รูปที่ 15-16) ซึ่งมากกว่าค่าที่ได้จากการใช้พารามิเตอร์ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ นี่แสดงให้เห็นประสิทธิภาพของแบบจำลองที่นำพารามิเตอร์ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์มาคำนวณโดยใช้วิธี ANN เพื่อทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนัง



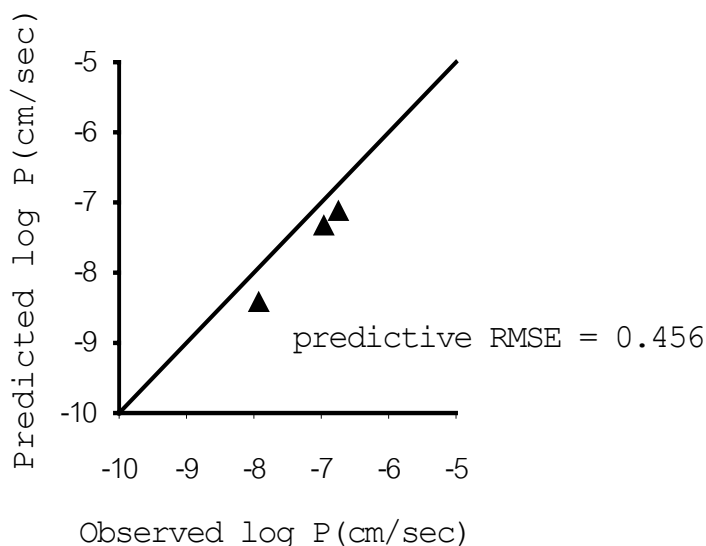
รูปที่ 13 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนังหนูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี LOO cross validation



รูปที่ 14 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนัง หนูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนัง มนุษย์โดยวิธี external validation

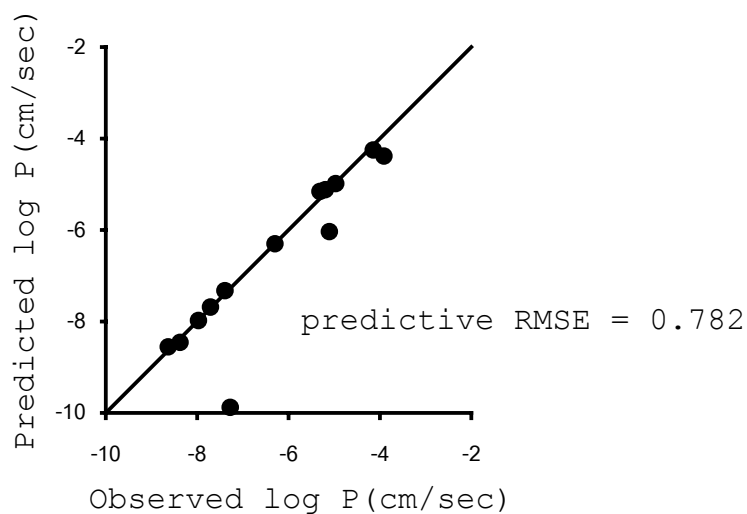


รูปที่ 15 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านผิวหนัง หนูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี LOO cross validation

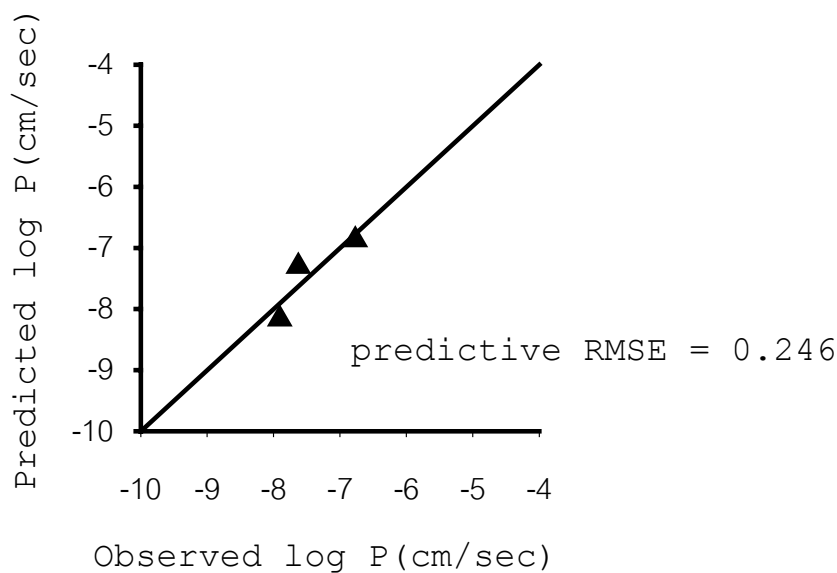


รูปที่ 16 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนัง หนูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนัง ทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี external validation

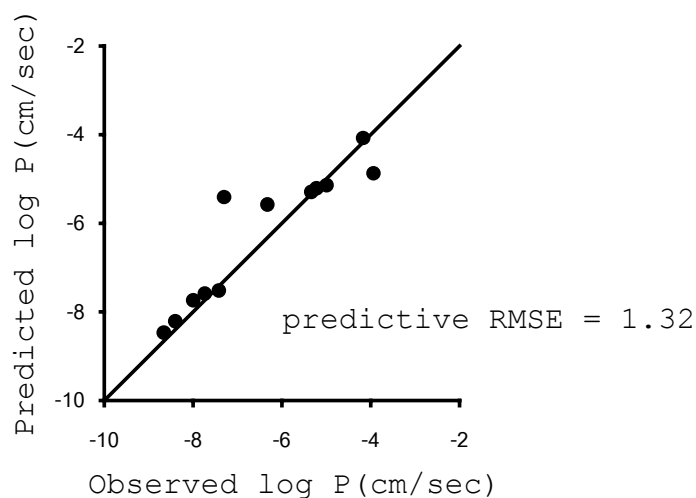
เมื่อทดลองใช้พารามิเตอร์ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ Molconn-Z descriptors 9 ตัว (ตารางที่ 2) สร้างแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านคราบงูโดยใช้ ANN ที่มี configuration 9-5-1 ซึ่งเมื่อทำการประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น ด้วยวิธี LOO cross validation ได้ค่า predictive RMSE = 0.782 (ดังแสดงในรูปที่ 17) ซึ่งแสดงว่าแบบจำลอง ANN นี้สามารถทำนายค่าการซึมผ่านคราบงูได้ดี เมื่อทดลองนำข้อมูลที่ไม่เคยใช้ในการสร้างแบบจำลองมาทดสอบความสามารถในการทำนายของแบบจำลองที่สร้างขึ้น (external validation) พบว่าค่า predictive RMSE = 0.246 (รูปที่ 18) นอกจากนี้เพื่อเป็นการเปรียบเทียบได้ประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านคราบงูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี LOO cross validation และ external validation (n=3) ได้ค่า predictive RMSE = 1.32 และ 0.663 ตามลำดับ (รูปที่ 19-20) ซึ่งมากกว่าค่าที่ได้จากการใช้พารามิเตอร์ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ นี่แสดงให้เห็นว่าสามารถสร้างแบบจำลองโดยการนำพารามิเตอร์ที่ได้จากการใช้ข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ มาคำนวณโดยใช้วิธี ANN เพื่อทำนายค่าการซึมผ่านคราบงูได้



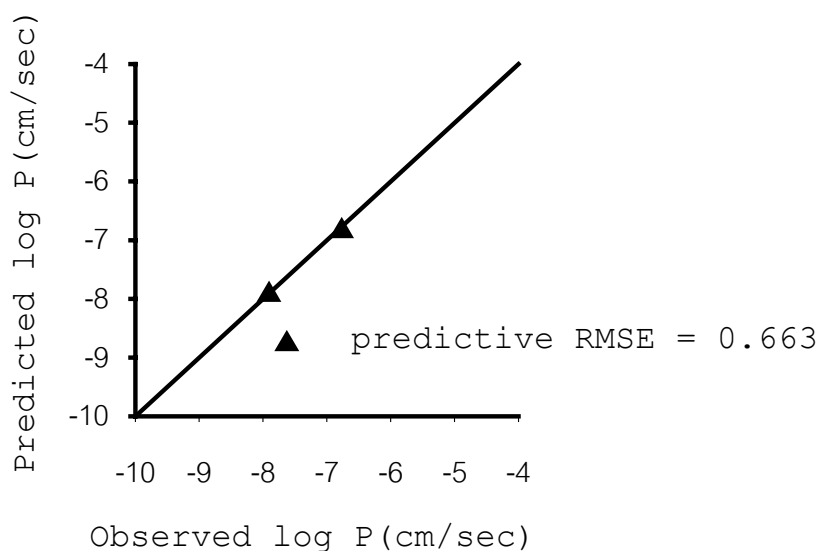
รูปที่ 17 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านคราบงูที่สร้างขึ้นด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ โดยวิธี LOO cross validation



รูปที่ 18 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านคราบงูที่สร้างขึ้นด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์โดยวิธี external validation



รูปที่ 19 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านคราบงูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี LOO cross validation

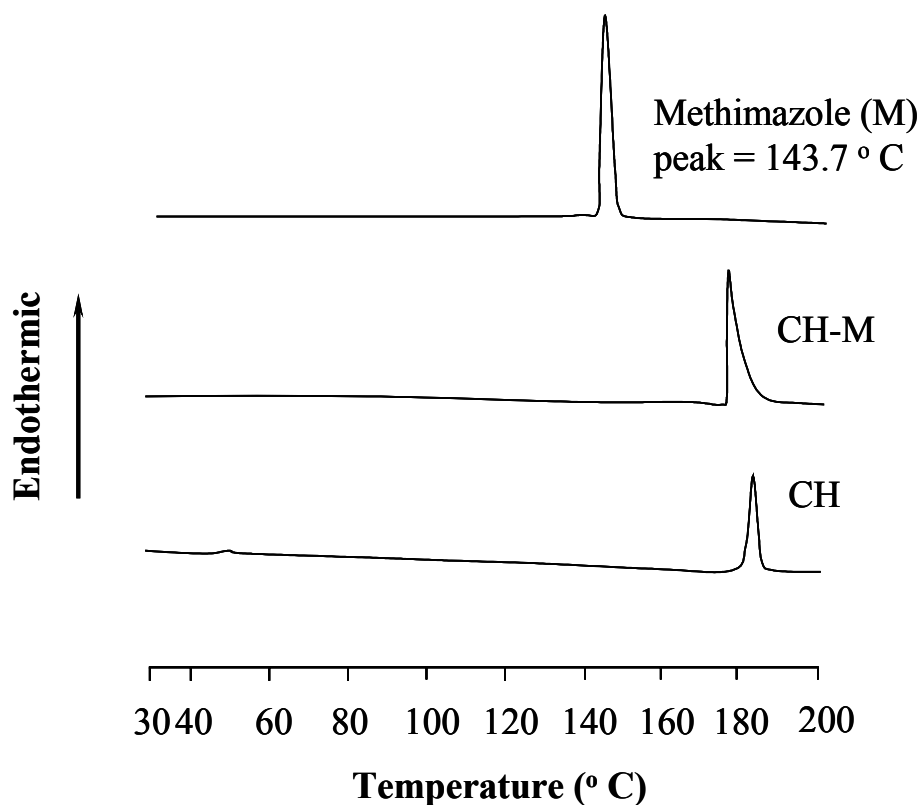


รูปที่ 20 การประเมินความสามารถในการทำนายของแบบจำลอง QSAR ของการซึมผ่านคราบงูที่สร้างด้วยวิธี ANN โดยใช้พารามิเตอร์จากข้อมูลการซึมผ่านผิวหนัง ทั้งหมด 75 ตัว โดยวิธี external validation

6. ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของแผ่นฟิล์ม

6.1 คุณสมบัติทางความร้อนโดยใช้ differential scanning calorimetry (DSC)

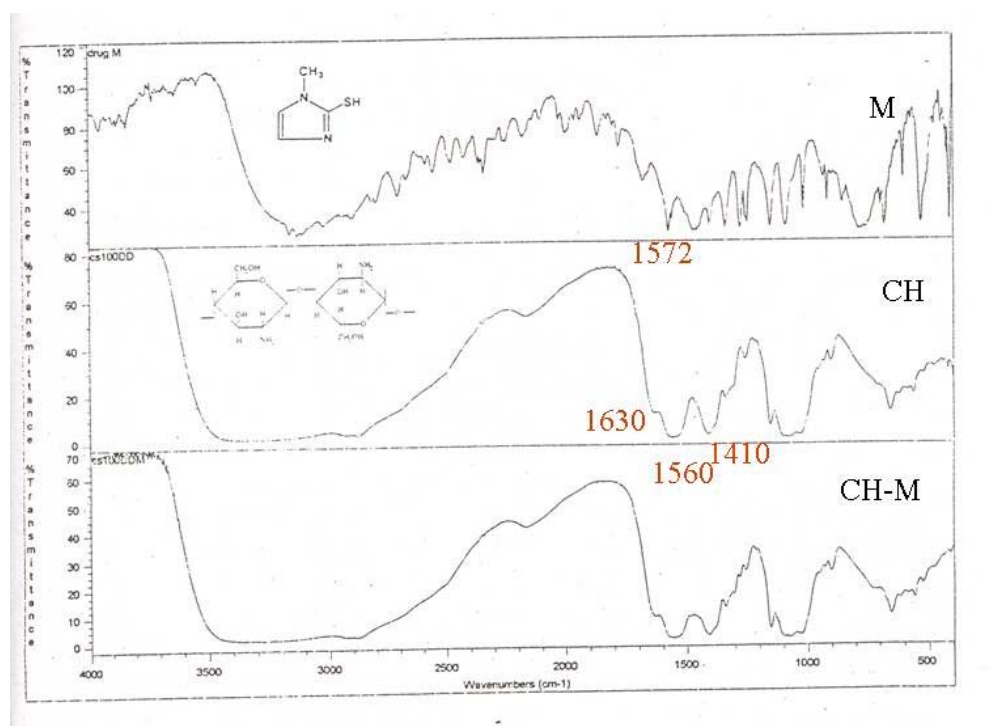
ใน DSC thermograms ของแผ่นฟิล์มเปล่าที่เตรียมจากไคโตแซน (รูปที่ 21) จะพบ peak ที่ onset 180 °ซ แสดงถึงการสลายตัวของฟิล์ม (thermal decomposition peak) และจาก DSC thermograms ของผงยาเมธิมาโซล (M) แผ่นฟิล์มเปล่าที่เตรียมจากไคโตแซนที่ผสมตัวยาเมธิมาโซลในปริมาณ 0.76 มก. ต่อ ตร.ซม. พบว่ายาเมธิมาโซลมีจุดหลอมเหลวที่ 143.7 °ซ และเมื่อผสมอยู่ในแผ่นฟิล์มจะไม่พบ peak ของยา แสดงว่ายามีการกระจายตัวในแผ่นฟิล์มในระดับโมเลกุล โดยอยู่ในรูปอสัณฐาน สำหรับแผ่นฟิล์มไคโตแซนที่ผสมยาจะพบ decomposition peak ของไคโตแซนที่ onset 175 °ซ



รูปที่ 21 DSC thermograms ของยาเมธิมาโซล (M) แผ่นฟิล์มไคโตซาน (CH) และแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มียาเมธิมาโซล (CH-M)

6.2 การเกิดอันตรกิริยาระหว่างพอลิเมอร์กับยาโดยใช้ FTIR

ในแถบสเปกตรัมของยาเมธิมาโซล รูปที่ 22 จะพบ peak ของอนุพันธ์ aromatic $-C=N$ stretching ที่ 1572 cm^{-1} ในแถบสเปกตรัมของฟิล์มเปล่าไคโตแซนจะพบ peak ของอนุพันธ์ N-H bending ที่ 1630 cm^{-1} และ peak ของอนุพันธ์ asymmetric และ symmetric COO^- stretching ที่ตำแหน่ง 1560 cm^{-1} และ 1410 cm^{-1} ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบ IR spectra ของฟิล์มเปล่าไคโตแซน จะพบ peak ของฟิล์มไคโตแซนที่ 1560 cm^{-1} ส่วนฟิล์มที่ผสมยาเมธิมาโซลไม่พบ peak ของยาในแถบสเปกตรัมดังกล่าวเนื่องจากถูกปกคลุมโดย peak ของพอลิเมอร์เช่นกัน จึงไม่พบการเกิดอันตรกิริยาใด ๆ ระหว่างพอลิเมอร์กับยา



รูปที่ 22 FTIR spectrum ของยาเมธิมาโซล (M) แผ่นฟิล์มไคโตซาน (CH) และแผ่นฟิล์มไคโตซานที่มียาเมธิมาโซล (CH-M)

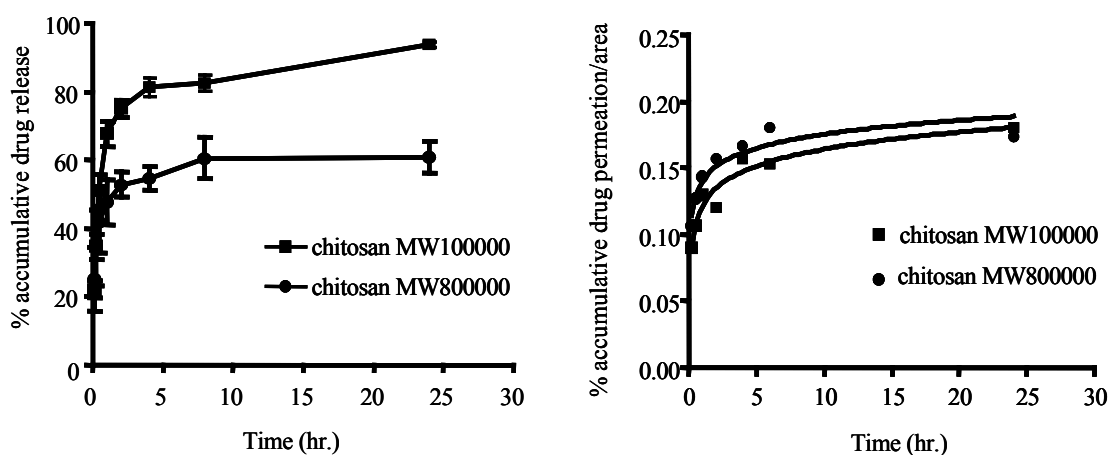
6.3 ผลการศึกษาการปลดปล่อยยาจากแผ่นฟิล์มที่เตรียมขึ้น

รูปที่ 23 ซ้าย แสดง % ยาเมธิมาโซลที่ปลดปล่อยจากแผ่นฟิล์มที่เตรียมจากไคโตแซน MW 100000 และ MW 800000 ที่เวลาต่าง ๆ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่ายาจะถูกปลดปล่อยออกมามากกว่า 50% ภายในเวลา 4 ชั่วโมง โดยยาจะถูกปลดปล่อยจากไคโตแซนที่มี MW ต่ำได้เร็วกว่าไคโตแซนที่มี MW สูง

6.4 ผลการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังของยาแบบภายนอกร่างกาย

การซึมผ่านของยาเมธิมาโซลจากฟิล์มไคโตแซนผ่านผิวหนังลูกหมูแรกคลอด ในตัวกลาง pH 7.4 phosphate buffer ที่เวลาต่าง ๆ (รูปที่ 23 ขวา) พบว่ายามีการซึมผ่านเพียง 0.1-0.2 % /ตร.ซม.) ภายใน 24 ชั่วโมง การที่ยาเมธิมาโซลซึมผ่านผิวหนังลูกหมูแรกคลอดในปริมาณที่ต่ำ อาจเนื่องมาจากยาสามารถละลายน้ำได้ดี ทำให้ยาสามารถซึมผ่านระหว่างเซลล์ (intercellular route) และผ่านเซลล์ (intracellular route) ของเนื้อเยื่อในชั้น epidermis ได้น้อยเนื่องจากค่าละลายในไขมันต่ำ จึงควรมีการศึกษาเพื่อเพิ่มการซึมผ่านของยาต่อไป นอกจากนี้การทดลองนี้ทำให้ทราบว่า การซึมผ่านทางผิวหนังเป็น rate limiting step ในการดูดซึมยาเมธิมาโซลจากแผ่นฟิล์มเข้าสู่ร่างกาย

เมื่อใช้แบบจำลอง ANN ทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์ของยาเมธิมาโซลพบว่าอยู่ในช่วง -1.47 ถึง 1.55 ทั้งนี้เนื่องจากเมธิมาโซลเป็นยาที่ละลายน้ำได้ดี ดังนั้นจึงมีค่าการซึมผ่านค่อนข้างสูง



รูปที่ 23 การปลดปล่อยยา (ซ้าย) และเปอร์เซ็นต์การซึมผ่านของยาผ่านผิวหนังลูกหมูแรกคลอด (ขวา) โดยใช้ไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ กัน

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาและพัฒนาแบบจำลอง QSPR เพื่อใช้ในการทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังของยาโดยใช้ตัวแทนผิวหนังชนิดต่างๆ ได้แก่ผิวหนังมนุษย์ ผิวหนังหนู และคราบงู โดยใช้เทคนิควิธีต่างๆ ได้แก่ genetic algorithm combined partial least squares และวิธี artificial neural network ในการสร้างแบบจำลองสำหรับการทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนัง จากนั้นทำการประเมินแบบจำลองที่เตรียมขึ้นด้วยวิธีการตรวจสอบความถูกต้องภายใน และทดสอบแบบจำลองการนำมาทำนายระบบนำส่งยาที่ให้ทางผิวหนังที่พัฒนาขึ้นโดยใช้ยาเมธิมาโซล พบว่าแบบจำลอง QSPR ของการซึมผ่านผิวหนังที่พัฒนาขึ้นโดยวิธี ANN และใช้ Molconn-Z descriptors เป็น molecular descriptors เมื่อทำการประเมินความสามารถการทำนายของแบบจำลองโดยใช้วิธี LOO cross validation และ external validation สามารถทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังของสารต่างๆ ได้ดี โดยเปรียบเทียบกับวิธี multiple linear regression จากการศึกษพบว่าสามารถนำ GA มาประยุกต์ใช้ในการในการคัดเลือก molecular descriptor ที่สำคัญที่จะนำไปใช้ในการสร้างแบบจำลอง QSPR ของคุณสมบัติและฤทธิ์ของยาได้ โดยกลุ่ม molecular descriptor จากชุดข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังหนูที่เลือกโดย GA สามารถนำมาใช้ในการทำนายการซึมผ่านผิวหนังของหนูและมนุษย์ได้ ในขณะที่กลุ่ม molecular descriptor จากชุดข้อมูลการซึมผ่านผิวหนังมนุษย์สามารถนำมาใช้ในการทำนายการซึมผ่านผิวหนังของหนู มนุษย์และคราบงูได้ และยังพบว่าแบบจำลอง ANN ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปทำนายค่าการซึมผ่านผิวหนังของระบบนำส่งยาทางผิวหนังของยา methimazole ได้ อย่างไรก็ตามกลุ่ม molecular descriptor จากชุดข้อมูลการซึมผ่านคราบงูไม่สามารถนำมาใช้ในการทำนายการซึมผ่านผิวหนังของหนูและมนุษย์ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างทางสายพันธุ์ ทั้งนี้ Molconn-Z descriptors สามารถคำนวณได้ง่ายและรวดเร็วโดยใช้สูตรโครงสร้าง 2 มิติของสาร จึงอาจเป็น molecular descriptor ที่เหมาะสมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการคัดเลือกสารที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะพัฒนาต่อไป อย่างไรก็ตามการใช้ข้อมูลจากสูตรโครงสร้าง 2 มิติของสารเพียงอย่างเดียวทำให้ขาดข้อมูลทาง stereochemistry จึงยากที่จะให้ข้อมูลที่นำไปใช้ในการออกแบบยาใหม่ ในทางตรงกันข้ามการใช้ข้อมูลจากสูตรโครงสร้าง 3 มิติจะให้ข้อมูลที่สำคัญที่สามารถนำไปใช้ในการออกแบบยาอย่างมีประสิทธิภาพได้ ดังนั้นการใช้ข้อมูลจากสูตรโครงสร้าง 2 มิตินี้จึงเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะช่วยในการค้นหายาใหม่ในช่วงต้นๆ ของการค้นคว้าและพัฒนาใหม่ซึ่งมีสารจำนวนมาก กล่าวโดยสรุปการเลือกใช้วิธีให้ถูกต้องในแต่ละขั้นตอนของการพัฒนายาจึงเป็นสิ่งสำคัญที่สมควรต้องคำนึง

เอกสารอ้างอิง

1. Van de Waterbeemd H, Smith DA, Beaumont K, Walker DK. Property-based design: Optimisation of drug absorption and pharmacokinetics. *J Med Chem* 2001; 44:1313–1333.
2. Hansch C, Fujita T. Rho-sigma-pi analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *J Am Chem Soc* 1964; 86:1616-1626.
3. Degim T, Hadgraft J, Ilbasimis S, Ozkan Y. Prediction of skin penetration using artificial neural network (ANN) modeling. *J Pharm Sci* 2003; 92(3):656-64.
4. Lim CW, Fujiwara S, Yamashita F, Hashida M. Prediction of Human Skin Permeability Using a Combination of Molecular Orbital Calculations and Artificial Neural Network. *Biol Pharm Bull* 2002; 25(3):361-366.
5. Kier LB, Hall LH. Topological information. In: Kier LB, Hall LH, eds. *Molecular connectivity in structure-activity analysis*. Hertfordshire: Research studies, 1986:43-68.
6. Hall LH, Story CT. Boiling point and critical temperature of a heterogeneous data set: QSAR with atom type electrotopological state indices using artificial neural networks. *J Chem Inf Comput Sci* 1996; 36:1004-1014.
7. Huuskonen JJ, Villa AE, Tetko IV. Prediction of partition coefficient based on atom-type electrotopological state indices. *J Pharm Sci* 1999; 88:229-33.
8. Katritzky AR, Gordeeva EV. Traditional topological indices vs electronic, geometrical, and combined molecular descriptors in QSAR/QSPR research. *J Chem Inf Comput Sci* 1993; 33:835-57.
9. Wanchana S. Application of in silico modeling in predicting pharmacokinetic properties in drug discovery. *Silpakorn University Journal* 2003; 23(2): 56-81.
10. Goldberg DE. *Genetic algorithms in search, optimization, and machine learning*. New York: Addison-Wesley, 1989.
11. Hasegawa K, Miyashita Y, Funatsu K. GA strategy for variable selection in QSAR studies: GA-based PLS analysis of calcium channel antagonists. *J Chem Inf Comput Sci* 1997; 37:306-10.
12. Hoffman B, Cho SJ, Zheng W. Quantitative structure-activity relationship modeling of dopamine D(1) antagonists using comparative molecular field analysis, genetic algorithms-partial least-squares, and K nearest neighbor methods. *J Med Chem* 1999; 42:3217-26.

13. Wanchana S, Yamashita F, Hashida M. Quantitative structure/property relationship analysis on aqueous solubility using genetic algorithm-combined partial least squares method. *Die Pharmazie* 2002; 57:127-9.
14. Yamashita F, Wanchana S, Hashida M. Quantitative structure/property relationship analysis of Caco-2 permeability using a genetic algorithm-based partial least squares method. *J Pharm Sci* 2002; 91:2230-9.
15. Wanchana S, Yamashita F, Hashida M. QSAR analysis of the inhibition of recombinant CYP 3A4 activity by structurally diverse compounds using a genetic algorithm-combined partial least squares method. *Pharm Res* 2003; 20(9):1401-8.
16. Agatonovic-Kustrin S, Beresford R. Basic concepts of artificial neural network (ANN) modeling and its application in pharmaceutical research. *J Pharm Biomed Anal* 2000, 22:717–727.
17. Tetko IV, Tanchuk VY, Villa AE. Prediction of n-octanol/water partition coefficients from PHYSPROP database using artificial neural networks and E-state indices. *J Chem Inf Comput Sci* 2001; 41(5):1407-21.
18. Brier ME, Zurada JM, Aronoff GR. Neural network predicted peak and trough gentamicin concentrations. *Pharm Res* 1995; 12:406-412.
19. Kesavan JG, Peck GE. Pharmaceutical granulation and tablet formulation using neural networks. *Pharm Dev Technol* 1996, 1:391-404.
20. Takayama K, Fujikawa M, Nagai T. Artificial neural network as a novel method to optimize pharmaceutical formulations. *Pharm Res* 1999; 16:1-6.
21. Geladi P, Kowalski BR. Partial least-squares regression: a tutorial. *Anal Chim Acta* 1986; 185:1-17.
22. Reynold EF. *Martindale the extra pharmacopoeia*. 30th ed. vol.I. Great Britain: Info Access&Distribution Pte Ltd., 1994: 531-535.
23. Arky R. *Physicians' desk reference*. 50th ed. Montvale: Medical Economics, 1992: 1477-1478.
24. Oosterhuis B and Jonkman JHG. Advantages and disadvantages of reformulation of older drugs. *Clin Pharmacokinet* 1993; 25 (3): 165-171.
25. Hatanaka T, Inuma M, Sugibayashi K, Morimoto Y. Prediction of skin permeability of drugs. I. Comparison with artificial membrane. *Chem Pharm Bull* 1990;38(12):3452-9.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกอ. และ สกว.

1. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ (ส่งเพื่อพิจารณาตีพิมพ์หรืออยู่ในระหว่างการเตรียม)

1. Piriyaprasarth S, Nunthanid J, Sriamornsak P, Opanasopit P and Puttipipatkachorn S. Study of in vitro release and skin permeation of chitosan films loaded with methimazole for transdermal delivery. (คาดว่าจะสามารถส่งเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสาร European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, impact factor 2004 = 1.778)
2. Piriyaprasarth S, Ngawhirunpat T, Panomsuk S and Puttipipatkachorn S. Prediction of human skin permeation using genetic algorithm combined with artificial neural network method. (คาดว่าจะสามารถส่งเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสาร Pharmazie, impact factor 2004 = 0.674)
3. Piriyaprasarth S, Ngawhirunpat T, Panomsuk S and Puttipipatkachorn S. Prediction of permeation across shed snake skin using genetic algorithm combined partial least squares and artificial neural network method. (คาดว่าจะสามารถส่งเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสาร International Journal of Pharmaceutics, impact factor 2004 = 1.691)

2. การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการระดับประเทศและนานาชาติ

1. Piriyaprasarth S, Ngawhirunpat T, Panomsuk S and Puttipipatkachorn S. QSPR analysis on human skin permeation using genetic algorithm combined with artificial neural network method. Proceeding of Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference 2005, 187. (ภาคผนวก ผลงานวิจัย 1)
2. Piriyaprasarth S, Ngawhirunpat T, Panomsuk S and Puttipipatkachorn S. Prediction of human skin permeation using genetic algorithm combined with artificial neural network method. Proceeding of Jabkrasaeyamai Conference 2005, P021. (ภาคผนวก ผลงานวิจัย 2)
3. Piriyaprasarth S, Nunthanid J, Daronkaisorn W, Sae-iao S, Yuttawat S, Santithanes S, Tangsombutpaiboon S, Sriamornsak P, Opanasopit P and Puttipipatkachorn S. Study of in vitro release and skin permeation of chitosan films loaded with methimazole for transdermal delivery. Proceeding

of The National Chitin-Chitosan Conference 2004, L829. (ภาคผนวก ผลงานวิจัย 3)

4. Piriyaprasarth S, Ngawhirunpat T, Panomsuk S and Puttipipatkachorn S. Prediction of permeation across shed snake skin using genetic algorithm combined partial least squares and artificial neural network method. การประชุมเสนอผลงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ประจำปี 2548 ครั้งที่ 22 คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (2 ธันวาคม 2548), P66. (ภาคผนวก ผลงานวิจัย 4)

ภาคผนวก : ผลงานวิจัย

ผลงานวิจัย 1

QSPR Modeling on Studies on Human Skin Permeation Using a Combination of Genetic Algorithms and Artificial Neural Network

Suchada Piriayaprasarth¹, Tanasait Ngawhirunpat¹, Suwannee Panomsuk¹ and Satit Puttipipatkachorn²

¹Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon-Pathom, Thailand. 73000. Phone 66-34-255-800, Fax. 66-34-255-801, E-Mail: suchada@email.pharm.su.ac.th

²Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, 447 Sri-Ayudhya Road, Bangkok, Thailand 10400.

Abstract

Human skin permeability (log P) data on 14 structurally diverse compounds were analyzed from their two-dimensional molecular structure using a combination of genetic algorithm (GA) and artificial neural network (ANN). The 9–5–1 neural network model was much superior to the conventional multiple linear regression model in terms of root mean square (RMS) errors (0.1912 vs. 0.322). A “leave-one-out” cross-validation revealed that the neural network model could predict skin permeability with a reasonable accuracy (standard error of prediction (s) of 0.2194). Even in an external validation, the predictions were in good agreement with experimental values ($s = 0.882$, $n=3$).

Introduction

In the pharmaceutical, cosmetic and agrochemical fields, it is important to predict the rate at which drug molecules penetrate the skin. To analyze the relationship between molecular properties and biological effects including skin permeability, linear equations have been used conventionally because of the simplicity of this approach. However, it is not absolutely certain that biological phenomena can be described by such linear equations. Recently, ANN has been proven to be suitable for processing data on the complicated relationship between causal factors and their results.¹ In this study, the correlation between the molecular descriptors and human skin permeation was examined using feed-forward back-propagation neural networks.

Experimental procedures and methods,

Human skin permeation of 14 structurally diverse drugs was collected from literature.² The topological descriptors were automatically calculated by Molconn-Z software for each compound on the basis of their structures. A total of 220 connectivity, shape and atom-type E-state indices were calculated from the 2D-geometry. Prior to application of GA, the descriptors exhibiting their highly skewed distribution were removed from the pool. This method reduced the entire descriptor pools to 75 members.

GA was used for selection of significant descriptors to predict human skin permeation. In genetic algorithm, two strings were selected randomly by a roulette wheel selection method according to fitness values. Two-point crossover of the “parent” strings was performed at a predefined probability (P) of 0.8. One of the new strings was taken, subjected to random mutation ($P=0.01$), and stored in the next generation. Top 5 strings with high fitness values were kept for the next generation (Elite=5). In each generation, a series of these steps were repeated until the predefined number (100) of population was obtained. After 500 generations, the best string that was generated by GA-driven optimization was taken. The QSPR model was optimized by considering goodness-of-fit and cross-validated predictability. The correlation between the molecular descriptors and inhibitory activity was examined using feed-forward back-propagation neural networks.

Results and discussion

The result showed that nine Molconn-Z descriptors were selected by GA and used for quantitative structure property relationship modeling by artificial neural network. The neural network model with a configuration of 9–5–1 for input, hidden, and output layers was much superior to the conventional multiple linear regression model in terms of root mean square (RMS) errors (0.1912 vs. 0.322). The predictability of the QSPR model for human skin permeability was investigated using leave-one-out cross-validation method. The result was shown in Figure 1. A “leave-one-out” cross-validation revealed that the neural network model could predict skin permeability with a reasonable accuracy (standard error of prediction (s) of 0.2194).

The predictive ability of these models was validated by a set of 3 compounds that were not included in the training set. The predicted and experimental inhibitory activities were well correlated ($s = 0.882$, $n=3$) as shown in Figure 2.

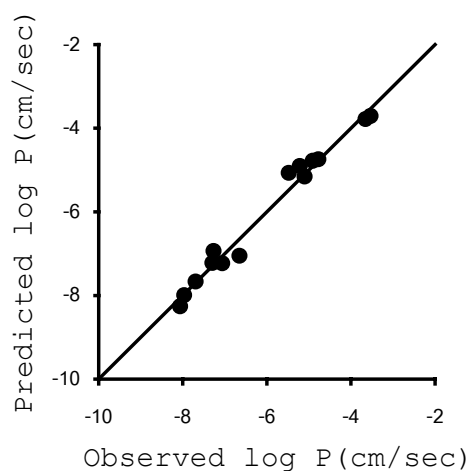


Figure 1. Leave-one-out cross-validated predictability of the QSPR model for human skin permeability using the neural network model with a configuration of 9–5–1.

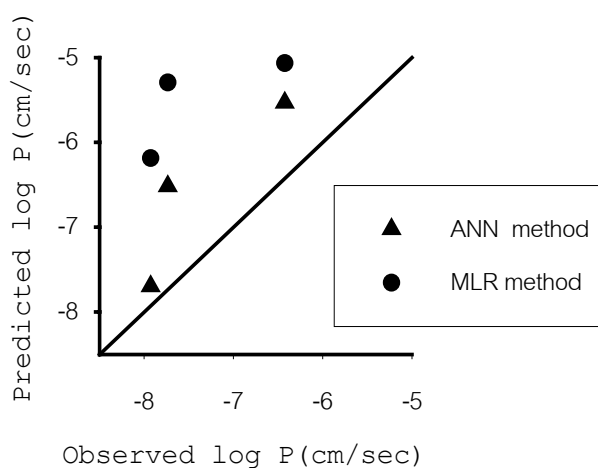


Figure 2. Predictability of the QSPR model for human skin permeability using external validation.

Conclusion

The proposed model, where Molconn-Z descriptors were used as molecular descriptors, was able to predict the human skin permeability of unknown compounds with a reasonable degree of accuracy.

Acknowledgment

This work is partly funded by The Commission on Higher Education and The Thailand Research Fund (TRF) under the Research Scholar Program, grant number MRG4780027.

References

1. J. E. Dayhoff. *Neural Network Architectures*, Van Nostrand Reinhold, NewYork, 1990.
2. Y. Morimoto, T. Hatanaka, K. Sugibayashi, H. Omiya. *Journal of Pharmaceutical Pharmacology*. **44**: 634-39 (1992).

ผลงานวิจัย 2

Prediction of human skin permeation using genetic algorithm combined with artificial neural network method

Suchada Piriaprasarth¹, Tanasait Ngawhirunpat¹, Suwannee Panomsuk¹ and Satit Puttipatkhachorn²

¹Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchand Palace Campus, Nakhon-Pathom 73000

²Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Sri-ayudhya Road, Bangkok 10400

E-mail address of presenting author: suchada@email.pharm.su.ac.th

ABSTRACT SUMMARY

Human skin permeability (log P) data on 14 structurally diverse compounds were analyzed from their two-dimensional molecular structure using a combination of genetic algorithm (GA) and artificial neural network (ANN). The neural network model with a configuration of 9–5–1 for input, hidden, and output layers gave the root mean square (RMS) errors of 0.453. A “leave-one-out” cross-validation revealed that the neural network model could predict skin permeability with a reasonable accuracy (predictive RMS error of 0.624).

Keywords: artificial neural network, permeation, human skin

INTRODUCTION

In the pharmaceutical, cosmetic and agrochemical fields, it is important to predict the rate at which drug molecules penetrate the skin. To analyze the relationship between molecular properties and biological effects including skin permeability, linear equations have been used conventionally because of the simplicity of this approach. However, it is not absolutely certain that biological phenomena can be described by such linear equations. Recently, ANN has been proven to be suitable for processing data on the complicated relationship between causal factors and their results.¹ To date, in the pharmaceutical field, a neural network approach has successfully predicted the octanol/water partition coefficient²

and oral bioavailability³ of drugs, and it has been used for the analysis of clinical pharmacokinetic data,⁴ and the design of pharmaceutical formulations.⁵

Three dimensional molecular descriptors such as the descriptors obtained from molecular orbital calculations were sophisticated tool⁶, but they required heavy computations. It may not necessarily be practical to use for the screening of a large size of virtual combinatorial libraries. Topological indices⁷ would be attractive descriptors since they could be calculated easily and rapidly from 2D-molecular structure. However, it is difficult to find the optimal subset of computed molecular structural descriptors that can effectively predict a targeted property from a large number of the descriptors. In this study GA method was used for selection of significant descriptors and the correlation between the molecular descriptors and human skin permeation was examined using feed-forward back-propagation neural networks.

EXPERIMENTAL METHODS

Dataset

Human skin permeation of 14 structurally diverse drugs was collected from literature.⁸

Data analysis

Calculated molecular descriptors

The topological descriptors were automatically calculated by Molconn-Z software for each compound on the basis of their structures. A total of 220 connectivity, shape and atom-type E-state indices were calculated from the 2D-geometry. Prior to application of GA, the descriptors exhibiting their highly skewed distribution were removed from the pool. This method reduced the entire descriptor pools to 75 members.

Quantitative structure property relationship (QSPR) modeling

GA were used for selection of significant descriptors to predict human skin permeation. In genetic algorithm, two strings were selected randomly by a roulette wheel selection method according to fitness values. Two-point crossover of the "parent" strings was performed at a predefined probability (P) of 0.8. One of the new strings was taken, subjected to random mutation (P=0.01), and stored in the next generation. Top 5 strings with high fitness values were kept for the next generation (Elite=5). In each generation, a series of these steps were repeated until the predefined number (100) of population was obtained. After 500 generations, the best string that was generated by GA-driven

optimization was taken. The QSPR model was optimized by considering goodness-of-fit and cross-validated predictability. The correlation between the molecular descriptors and inhibitory activity was examined using feed-forward back-propagation neural networks.

RESULTS AND DISCUSSION

For GA-driven optimization for QSPR modeling of human skin permeability based on Molconn-Z descriptors, the average of the fitness appeared to increase with increasing generation number and reach a plateau at approximately 150 generations. The best solution at the 500th generation was taken for modeling of the human skin permeability. Nine Molconn-Z descriptors were selected by GA and used for QSPR modeling by ANN. Fig. 1 shows the relationship between observed and calculated log P. When Leave-one-out prediction was conducted, the results revealed that the neural network model could predict skin permeability with a reasonable accuracy (predictive RMS error of 0.624) as seen in Fig.2.

CONCLUSIONS

The proposed model, where Molconn-Z descriptors were used as molecular descriptors, was able to predict the human skin permeability of unknown compounds with a reasonable degree of accuracy. The descriptors were derived from 2-D molecular structure without the need for complicated 3-D conformational analysis. Since the calculation of Molconn-Z descriptors is easy and fast, our prediction approach would be useful for the screening of a large size of virtual combinatorial libraries. The present study revealed that GA-ANN analysis was widely applicable to QSPR modeling of various physicochemical and biological activities.

ACKNOWLEDGEMENT

This work is partly funded by The Commission on Higher Education and The Thailand Research Fund (TRF) under the Research Scholar Program, grant number MRG4780027. Financial partly support by Faculty of Pharmacy, Silpakorn University is gratefully acknowledged. Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University are appreciated for research facilities.

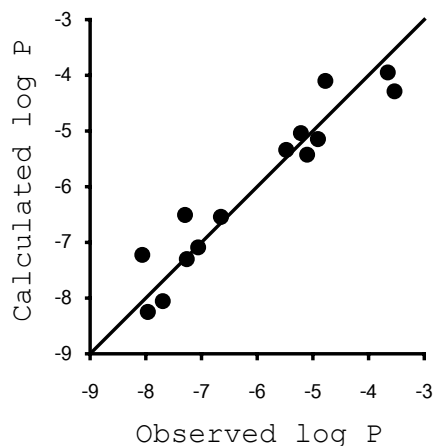


Fig. 1: Goodness-of-fit to the entire dataset of the QSPR model for human skin permeability.

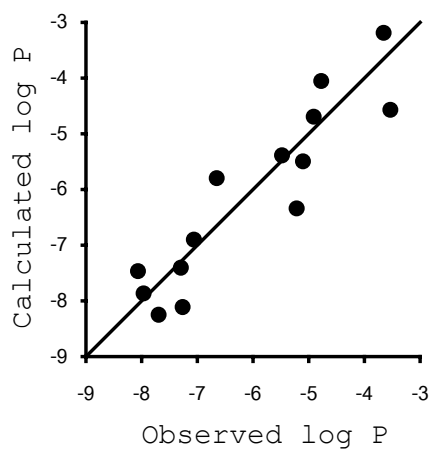


Fig. 2: Leave-one-out cross-validated predictability of the QSPR model for human skin permeability.

REFERENCES

3. Dayhoff J. E., "Neural Network Architectures," Van Nostrand Reinhold, NewYork, 1990.
4. Breindl A., Beck B., Clark T., Glen R. C., *J. Mol. Model.* 1997, **3**, 142-55.
5. Wessel M. D., Jurs P. C., Tolan J. W., Muscal S. M., *J. Chem. Inf. Comput.Sci.* 1998,

38, 726-735.

6. Brier M.E., Zurada J.M., Aronoff G.R., *Pharm. Res.* 1995, **12**, 406-412.
7. Kesavan J.G., Peck G.E., *Pharm. Dev. Technol.* 1996, **1**, 391-404.
8. Lim C.W., Fujiwara S., Yamashita F., Hashida M. *Biol. Pharm. Bull.* 2002, **25**(3), 361-366.
9. Kier L.B., Hall L.H. Molecular connectivity in structure- activity analysis, *Research Studies*, 43-68, 1986.
10. Morimoto Y., Hatanaka T., Sugibayashi K., Omiya H. *J Pharm Pharmacol.* 1992, **44**, 634-39.

ผลงานวิจัย 3

การศึกษาการปลดปล่อยและการซึมผ่านผิวหนังโดยวิธีภายนอกร่างกายของแผ่นฟิล์มไคโตแซนที่มียาเมธิมาโซลสำหรับการนำส่งทางผิวหนัง

STUDY OF *IN VITRO* RELEASE AND SKIN PERMEATION OF CHITOSAN FILMS LOADED WITH METHIMAZOLE FOR TRANSDERMAL DELIVERY

สุชาดา ปิริยะประสาธน์, จุไรรัตน์ นันทานิช, วรณวิไล ดรรชนีไธสง, ศศิธร แซ่เอี้ยว, สมิหลา ยุทธวัฒน์, สรรณชัย สันติธเนศ, สุวิภา ตั้งสมบัติไพบูลย์, พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์ และปราณีต โอปะณะโสภิต

Suchada Piriyaprasath, Jurairat Nunthanid, Wanwilai Daronkaisorn, Sasithorn Sae-iao, Sameela Yuttawat, Sanchai Santithanes, Suwipa Tangsombutpaiboon, Pomsak Sriamomsak and Praneet Opanasopit

Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchand Palace Campus, Nakorn-Pathom 73000, Thailand

E-mail address: suchada@email.pharm.su.ac.th

บทคัดย่อ: เพื่อศึกษาการปลดปล่อยและการซึมผ่านผิวหนังโดยวิธีภายนอกร่างกายของแผ่นฟิล์มไคโตแซนที่มียาเมธิมาโซลสำหรับการนำส่งทางผิวหนัง ยาเมธิมาโซลเป็นยาที่มีฤทธิ์ในการรักษาภาวะไทรอยด์เป็นพิษ ในปัจจุบันมีเพียงรูปแบบเดียวคือยาเม็ดซึ่งจากพยาธิสภาพของโรคทำให้ผู้ป่วยรับประทานยาไม่สะดวก จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะพัฒนายานี้ในรูปแบบที่ทำให้ผู้ป่วยสามารถใช้ได้สะดวกขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ไม่สามารถให้ยาแก่ผู้ป่วยโดยการรับประทานได้ในการศึกษาจึงพัฒนาเมธิมาโซลในรูปแบบที่ให้ทางผิวหนัง โดยผสมตัวยายาเข้าในแผ่นฟิล์มไคโตแซนซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ และมุ่งศึกษาการปลดปล่อยและการซึมผ่านผิวหนังโดยวิธีภายนอกร่างกายของยาจากแผ่นฟิล์มไคโตแซนที่มีมวลโมเลกุลต่าง ๆ พบว่ายานี้จะถูกปลดปล่อยอย่างรวดเร็วในกรณีที่ใช้แผ่นฟิล์มที่เตรียมจากไคโตแซนที่มีมวลโมเลกุลต่ำ และการปลดปล่อยยาจะช้าลงเมื่อใช้ฟิล์มที่เตรียมจากไคโตแซนที่มีมวลโมเลกุลสูงขึ้น อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณยาที่ซึมผ่านผิวหนังหลุมแรกคลอด และการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของฟิล์มที่เตรียมขึ้นโดยใช้ DSC พบว่าแผ่นฟิล์มอยู่ในรูปอสัณฐานและไม่พบอันตรกิริยาระหว่างยาและไคโตแซนเมื่อตรวจสอบโดยใช้ FTIR spectroscopy

Abstract: It is important to develop methimazole, antithyroid agent, for transdermal drug delivery system which is much convenient for patient compliance. Since methimazole is available only in an oral dosage form, the use in patients is limited, especially those who could

not take the drug by oral route. To investigate *in vitro* drug release and skin permeation which are important properties for development of transdermal delivery, methimazole was loaded into the films prepared from chitosan, a natural biopolymer, varying in molecular weight (MW). The drug was found existed in films as an amorphous state by using Differential Scanning Calorimetry (DSC). No drug-polymer interaction was found by using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. *In vitro* drug release study revealed that methimazole was released rapidly from low MW chitosan film. The increase in MW of chitosan resulted in slow release of drug; however, there was not significant different in permeation across new born pig skin.

Keyword: chitosan, methimazole, transdermal, *in vitro* release, permeation

Methodology: Chitosan films and drug-loaded chitosan films were prepared by solvent casting evaporation method varying in molecular weight of chitosan. The prepared films were characterized by DSC and FTIR spectroscopy. The release of methimazole from chitosan films was evaluated by using the USP dissolution apparatus V (paddle over disk) for transdermal drug delivery in phosphate buffer pH 7.4. The paddles were rotated at 50 rpm at $32 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. The drug was analyzed by using UV spectrophotometer. The analytical wavelength of methimazole was 250 nm in phosphate buffer pH 7.4. The permeation of drug through new born pig skin was performed by using franz diffusion cell. Temperature was set at $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ and the drug was analyzed by the same method as mentioned previous.

Results, Discussion and Conclusion: Methimazole matrix films were developed for transdermal delivery. The drug was loaded into the films prepared from chitosan, a natural biopolymer with MW 100000 and 800000. The drug was found existed in films as an amorphous state by using DSC. No drug-polymer interaction was found by using FTIR spectroscopy. *In vitro* drug release study revealed that methimazole was released rapidly in 1 hours following with slow release from low MW chitosan film. The drug was released more than 60% within 4 h. (Figure 1). It might be attributed to the swelling property of chitosan film following with cross-linking between chitosan and phosphate anions in the medium as well as the water-soluble property of the film. The drug permeation from the films across new born pig skin was about 0.17%/area within 24 hr. as shown in Figure 1. The increase in MW of chitosan resulted in slow release of drug; however drug permeation

across new born pig skin was not different between two types of chitosan film. This could be explained that membrane transfer would be rate limiting step for drug skin permeation since methimazole is hydrophilic drug. These results were useful for development of methimazole TDDS.

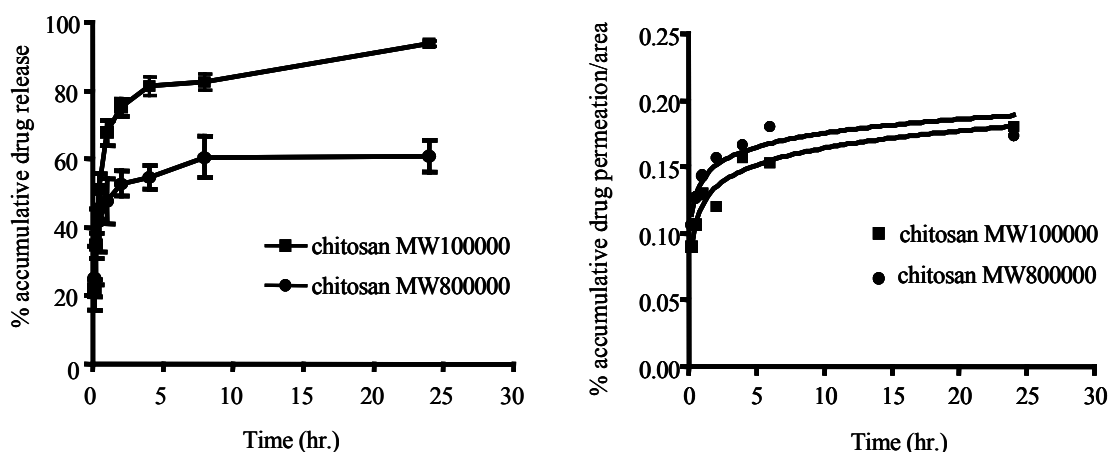


Figure 1. Drug release profile (left) and % drug permeation across new born pig skin (right) using chitosan varying in molecular weight.

Acknowledgement: This work is partly funded by the Thailand Research Fund (TRF) under the Research Scholar Program, grant number MRG4780027. Financial partly support by the institute of research and development, Silpakorn University is gratefully acknowledged. Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University and Professor Garnet E Peck Industrial Pharmacy Laboratory, Department of Industrial and Physical Pharmacy, Purdue University, West Lafayette, IN, USA are appreciated for research facilities.

- References:** [1]. Miyazake, S., Vamaguchi, H., Tokoda, M. *Acta. Pharm. Nord.* **1990**, 2 (6), 401-406.
- [2]. Lim, L. Y., Wan, L. S. C. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1995**, 21(7), 839-846.
- [3]. Valenta, C., Almasi-Szabo, I. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1995**, 21(15), 1799-1805.

- [4]. Jenquin, M. R., Sarabia, R. E., Liebowitz, S. M., McGinity, J. W. *J. Pharm. Sci.* **1992**, 81(10), 983-989.
- [5]. Vyas, S. P., Jain, C. P., Gupta, S., Uppadhyay, A. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1994**, 20(1), 101-110.
- [6]. Nunthanid, J., Puttipatkhachorn, S., Yamamoto, K., Peck, G. E. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2001**, 27(2), 143-57.

ผลงานวิจัย 4

PREDICTION OF PERMEATION ACROSS SHED SNAKE SKIN USING GENETIC ALGORITHM COMBINED PARTIAL LEAST SQUARES AND ARTIFICIAL NEURAL NETWORK METHOD

Suchada Piriaprasarth¹, Tanasait Ngawhirunpat¹, Suwannee Panomsuk¹ and Satit Puttipipatkachorn²

¹Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchand Palace Campus, Nakhon-Pathom 73000

²Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Sri-ayudhya Road, Bangkok 10400

Introduction: In the pharmaceutical, cosmetic and agrochemical fields, it has been of importance to predict the rate at which drug molecules penetrate the skin. Stratum corneum most frequently controls percutaneous absorption. Therefore, lipophilic membranes may provide useful in vitro model for permeation studies. Shed snake skin is of interest in this context. The objective of this study was to construct a quantitative structure/property relationship (QSPR) model for permeation across shed-snake skin, using genetic algorithm combined partial least squares (GA-PLS) and feed-forward back-propagation neural networks method.

Methods: Permeation across shed-snake skin of 14 drugs was taken from literature. The topological descriptors were automatically calculated by Molconn-Z software for each compound on the basis of their structures. A total of 220 connectivity, shape and atom-type E-state indices were calculated from the 2D-geometry. Using GA-PLS method, the desired descriptors were automatically selected to maximize the predictability and the correlation between the molecular descriptors and human skin permeation was examined using feed-forward back-propagation neural networks.

Results: Nine Molconn-Z descriptors were selected by GA-PLS and used for QSPR modeling by ANN. Interestingly, these descriptors reflected H-bonding, polarity, or molecular size of the compounds, which have been considered to be important factors in determining skin permeation. The neural network model with a configuration of 9–6–1 for input, hidden, and output layers gave the root mean square (RMS) errors of 0.234. A “leave-one-out” cross-validation revealed that the neural network model could predict skin permeability with a reasonable accuracy (predictive RMS error of 0.597).

Conclusion: The proposed model was able to predict the permeation across shed-snake skin of unknown compounds with a reasonable degree of accuracy.