

ชื่อเรื่อง การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอนุพันธ์ของพารา-อะมิโนเบนโซอิกแอซิดต่อฤทธิ์ในการยับยั้งอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส

คณะผู้ดำเนินการวิจัย นายบดินทร์ ไชบาล
 นายศิรยุทธ พัฒนโสภณ
 นางสาวอภิญา บุญเป็ง

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นันทกา โกรธนา
 อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. กรรณก อังคนินันท์

ภาควิชา เภสัชเคมีและเภสัชเวท

ปีการศึกษา 2550

บทคัดย่อ

โรคอัลไซเมอร์เป็นสภาวะความจำเสื่อมที่พบมากในผู้สูงอายุซึ่งมีการลุกลามของการเสื่อมของเซลล์ประสาท ชนิดต่างๆในสมอง จากการสำรวจของกระทรวงสาธารณสุขพบว่า ในปัจจุบันมีคนไทยป่วยเป็นโรคอัลไซเมอร์ประมาณ 218,000 คนและได้มีการคาดการณ์ว่าในอนาคตจะมีผู้สูงอายุที่มีปัญหาจากกลุ่มอาการสมองเสื่อมเพิ่มขึ้นในอัตราประมาณ 3.4 % ยาคีได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาให้ใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ในระดับอ่อนถึงปานกลาง คือ ยากลุ่มที่มีผลในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (AChEIs) ได้แก่ ทาคริน โดเนเพซิล ไรวาสติกมีน และกาแลนตามีน แต่ยากลุ่ม AChEIs ยังมีข้อจำกัดในการนำมารักษาผู้ป่วยอัลไซเมอร์ เช่น ทาครินมีความเป็นพิษสูง ส่วนไรวาสติกมีนมีค่าครึ่งชีวิตสั้น และโดเนเพซิลมีราคาแพง เป็นต้น จึงควรมีการศึกษาถึงสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสที่มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น รวมทั้งมีความเป็นพิษต่ำและราคาไม่แพง จากการศึกษาของ José Correa-Basurto และคณะพบว่าสารอนุพันธ์ในกลุ่มของอะมิโนเบนโซอิกแอซิดมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) สูง ยังเป็นกลุ่มสารที่มีความเป็นพิษต่ำ ราคาถูก และมีโครงสร้างที่ไม่ซับซ้อน ดังนั้นในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำให้เกิดความเข้าใจถึงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของอนุพันธ์อะมิโนเบนโซอิกแอซิดในการยับยั้ง AChE โดยใช้พารา-อะมิโนเบนโซอิกแอซิด (พามา) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เนื่องจากเป็นสารที่มีราคาถูก จากนั้นทำการศึกษาถึงผลของการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่งเอมีนต่อความสามารถในการยับยั้ง AChE โดยในการวิจัยครั้งนี้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของพามาในรูปของอนุพันธ์เอมีน เอไมด์และอิมไมด์ ปฏิบัติการในการสังเคราะห์ของอนุพันธ์เอมีนและเอไมด์สามารถทำได้โดยการใช้ปฏิกิริยาอัลคิลเลชันและเอไมด์ฟอร์มเมชันส่วนปฏิบัติการในการสังเคราะห์กลุ่มอิมไมด์นั้นได้ทำตามขั้นตอนของ Jose Correa-Basurto และคณะ หลังจากทำการสังเคราะห์แล้วทำการแยกสารให้บริสุทธิ์โดยวิธีการสกัดคอลัมน์โคมาโตกราฟี และการตกผลึก จากนั้นทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารโดยใช้เครื่อง $^1\text{H-NMR}$ พร้อมทั้งหาจุดหลอมเหลวของสารที่สังเคราะห์ได้ถูกนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้ง AChE โดยใช้วิธีที่มีการประยุกต์มาจากวิธีของ Ellman อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้พบว่าสารกลุ่มอนุพันธ์ของ พามาที่สังเคราะห์ได้ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง AChE ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวิธีที่ใช้ในการทดสอบมีการใช้เอนไซม์ในสายพันธ์ที่แตกต่างไปจากการศึกษาของ Jose Correa-Basurto และคณะทำให้ฤทธิ์ของอนุพันธ์ของพามาต่ำ และจากรายงานได้กล่าวหาฤทธิ์ในการยับยั้งของสารในกลุ่มนี้มีความไวต่อชนิดของบัฟเฟอร์ และความเป็นกรด-ด่างในการทดลองสูง จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้วิธีการทดสอบฤทธิ์อื่นๆ เพื่อยืนยันผลการศึกษาต่อไป

Title: Study of the relationship between p-aminobenzoic acid derivatives and AChE inhibition

By: Bordin Jaibarn

Sirayut Phattanasobhon

Apinya Boonpeng

Advisor: Assistance Professor Dr. Nantaka Khorana

Co-advisor: Associate Professor Dr. Kornkanok Ingkaninan

Department: Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy

Academic Year: 2007

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia in the elderly by progressive deterioration of the neuron cells. From the survey by the Ministry of Public Health, it was found that AD afflicts approximately 218,000 people in Thailand and the increasing rate was expected about 3.4% in the near future. Acetylcholinesterase inhibitors (AChEIs); i.e. tacrine, donepezil, rivastigmine and galantamine, have been approved by the US Food & Drug Administration (FDA) for treatment of mild-moderated AD. However, the therapeutic applications of the most common AChEIs have been restricted due to the highly toxicity of tacrine, short half-life of rivastigmine, and high-cost of donepezil etc. The development of more potent AChEIs, low toxicity and low cost are still in needed. José Correa-Basurto et al. have revealed that some aminobenzoic acid derivatives showed high acetylcholinesterase inhibitory activities. The tested compounds exhibited low toxic, low cost and simple-structure. Hence, this study aimed to improve the understanding in the structure-affinity relationship of aminobenzoic derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. In this work, p-aminobenzoic acid (PABA) was used as a starting material for synthesis because of its low price. The variation at the amine functional group to substituted amine, amide and imide derivatives of PABA has been observed for the in vitro AChE inhibitory activity. Amine and amide derivatives of PABA was synthesized by alkylation reaction and amide formation, respectively. The imide derivatives were produced following the method of José Correa-Basurto et al. All synthesized compounds were purified by extraction, column chromatography and recrystallization. Then, the compound structures were confirmed by using ^1H nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$) and measuring the melting point. After that, they were tested for acetylcholinesterase inhibitory activity by modified Ellman's method. However, there was no compounds showed the good acetylcholinesterase inhibitory activity. The species difference of the AChE from the previous study might be one of the factors which affected the low AChE inhibitory activity for PABA derivatives in this study. From the previous study of Jose Correa-Basurto et al., it was mentioned that the tested method for AChE inhibitory activity of PABA derivatives displayed high sensitivity for the type of buffer and pH used in the activity testing. It requires others method for testing the acetylcholinesterase inhibitory activity to confirm the result of the study. Showed less than 50% inhibition at concentration 10^{-4} M for both TcAChE and HuAChE. Our result of 1a 1b 2a and 2b was different from the previous report. The possible factors might be the species difference and the type of buffers and pH of the activity testing Choice of the suitable solvent was needed to validate. Co-solvent might required to solved the solubility problem. The others testing method for AChE inhibitory activity were required to confirm the result of the study.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอนุพันธ์ของพารา-อะมิโนเบนโซอิกแอซิดต่อฤทธิ์ในการยับยั้งอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณา และความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก ผศ.ดร.นันทกา โกรานา อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยและ ผศ.ดร.กรรณก อิงคนินันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขข้อบกพร่องทุกขั้นตอนการทำโครงการวิจัยดังกล่าว ผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการทุกห้องที่ให้ความช่วยเหลือในด้านสารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาของการวิจัย

อภิัญญา บุญเป็ง
ศิริยุทธ พัฒนโสภณ
บดินทร์ ใจบาล

