

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสังเคราะห์และประเมินอนุพันธ์ 2-(2-oxo-2*H*-chromen-4-yl)acetamide

ในการเป็นสารยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส

Synthesis and evaluation of 2-(2-oxo-2*H*-chromen-4-yl)acetamide derivatives
as acetylcholinesterase inhibitor

คณะนักวิจัย

ผศ.ดร.ลือลักษณ์ ล้อมลิ้ม (หัวหน้าโครงการ)

ผศ.ดร.ฉัตรชัย วัฒนาภิรมย์สกุล

Associate Professor Dr. Vannajan Sanghirun Lee

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2557

รหัสโครงการ PHA570404S

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์และประเมินอนุพันธ์ 2-(2-oxo-2H-chromen-4-yl)acetamide
ในการเป็นสารยับยั้งเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส

คณะนักวิจัย และหน่วยงานต้นสังกัด

หัวหน้าโครงการ ผศ.ดร.ลือลักษณ์ ล้อมลิ้ม
ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผู้ร่วมโครงการ

(1) ผศ.ดร.ฉัตรชัย วัฒนาภิรมย์สกุล
ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

(2) Associate Professor Dr. Vannajan Sanghirun Lee
Department of Chemistry Faculty of Science
University of Malaya MALAYSIA

สารบัญ

	หน้า
รายการตาราง	iii
รายการภาพประกอบ	iv
กิตติกรรมประกาศ	v
บทคัดย่อ	vi
ABSTRACT	vii
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	3
วิธีการทดลอง	4
การสังเคราะห์และพิสูจน์โครงสร้างอนุพันธ์ 2-(2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-4-yl)acetamide	4
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเทอเรสและบิวไทริลโคลีนเอสเทอเรส	40
การศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเทอเรส	41
การศึกษาลักษณะการเกิดอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ coumarin กับเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยวิธีทางคอมพิวเตอร์	42
ผลการทดลองและวิจารณ์	43
การสังเคราะห์สารมัธยันต์และผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ	43
การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเทอเรส	45
เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเทอเรสและบิวไทริลโคลีนเอสเทอเรส	45
การหาค่า half maximal inhibitory concentration (IC ₅₀)	47
การศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์	49
การศึกษาลักษณะการเกิดอันตรกิริยาระหว่างอนุพันธ์ coumarin กับเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยวิธีทางคอมพิวเตอร์	49
สรุปผลการทดลอง	51
เอกสารอ้างอิง	52
ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป	53
ภาคผนวก	54
สิทธิบัตรที่ได้จากงานวิจัยนี้	54
Manuscript ที่ได้จากงานวิจัยนี้	56
ข้อคิดเห็น/ข้อเสนอแนะในส่วนที่ไม่สามารถดำเนินการวิจัยได้ตามวัตถุประสงค์	57

รายการตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ลักษณะ คุณสมบัติทางกายภาพ และ % yield ของสารที่สังเคราะห์ได้ในงานวิจัยนี้	44
ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสของอนุพันธ์ 2-(2-oxo-2H-chromen-4-yl)acetamide	46
ตารางที่ 3 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรสและบิวทิลโคลีนเอสเทอเรสของอนุพันธ์ 2-(2-oxo-2H-chromen-4-yl)acetamide	48
ตารางที่ 4 ค่า Affinity ในการจับกับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส	50

รายการภาพประกอบ

	หน้า
รูปที่ 1 โครงสร้างของวงแหวน coumarin และ indanone	2
รูปที่ 2 สารประกอบ coumarin ที่มีฤทธิ์เป็น acetylcholinesterase inhibitor	2
รูปที่ 3 การออกแบบโครงสร้างของอนุพันธ์ของ 2-(2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-4-yl)acetamide	3
รูปที่ 4 กระบวนการสังเคราะห์อนุพันธ์ 2-(2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-4-yl)acetamide ในงานวิจัยนี้	5
รูปที่ 5 Lineweaver-Burk Plot	49
รูปที่ 6 อันตรกิริยาระหว่าง compound XIV และเอนไซม์ TcAChE	50
รูปที่ 7 อันตรกิริยาระหว่าง Donepezil และเอนไซม์ TcAChE	51

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปีงบประมาณ 2557
รหัสโครงการ PHA570404S

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ เป็นการออกแบบและสังเคราะห์อนุพันธ์ 2-(2-oxo-2*H*-chromen-4-yl)acetamide ชนิดใหม่จำนวน 14 ชนิด (สารหมายเลข I, VII – XVIII) และทำการประเมินฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส สารทุกสารแสดงฤทธิ์ที่แรงในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส สารที่มีฤทธิ์ดีที่สุด ได้แก่ สารหมายเลข XIV ($IC_{50} = 1.20 \pm 0.03 \mu M$) ซึ่งแสดงฤทธิ์ใกล้เคียงกับยา galantamine ($IC_{50} = 0.75 \pm 0.03 \mu M$) แต่ยังมีฤทธิ์ต่ำกว่ายา tacrine ($IC_{50} = 0.10 \pm 0.003 \mu M$) และ donepezil ($IC_{50} = 0.004 \pm 0.0001 \mu M$) จากการศึกษาจลนศาสตร์ในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส พบว่า สารหมายเลข XIV ยับยั้งเอนไซม์แบบไม่แข่งขันและจากการศึกษา molecular docking พบว่า สารนี้เกิดอันตรกิริยากับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสทั้งในส่วน catalytic anionic site และ peripheral anionic site แต่ด้วย affinity ที่ต่ำกว่ายา donepezil

ABSTRACT

This research dealt with a design, synthesis and evaluation of acetylcholinesterase inhibitory activity of fourteen synthetic 2-(2-oxo-2H-chromen-4-yl)acetamides (**I and VII – XVIII**). All of the synthesized compounds showed potent acetylcholinesterase inhibitory activity. The most potent compound was **XIV** ($IC_{50} = 1.20 \pm 0.03 \mu M$), which was comparable with the drug galantamine ($0.75 \pm 0.03 \mu M$) but lower than tacrine ($IC_{50} = 0.10 \pm 0.003 \mu M$) and donepezil ($IC_{50} = 0.004 \pm 0.0001 \mu M$). Enzyme kinetic study revealed that **XIV** was non-competitive inhibitor. Molecular docking study revealed that **XIV** interacted with both catalytic and peripheral anionic sites of acetylcholinesterase but with lower affinity than donepezil.