

## บทคัดย่อ

### การศึกษายาที่มีฤทธิ์ในการต้านเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส

#### จากแหล่งธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์

กรรณก อิงคินันท์<sup>1</sup> นันทกา โกรานา<sup>1</sup> สุทธาทิพย์ มากมี<sup>1</sup> กนกวรรณ ช่างวิจิตร<sup>1</sup> วัชรินทร์ พัวพันธ์<sup>1</sup>

อนุชิต พลบูรณ์<sup>2</sup> อัครวิทย์ กาญจนโอภาส<sup>3</sup> และ คณิต สุวรรณบริรักษ์<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ อ. เมือง พิชญ์โลก 65000

<sup>2</sup>ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90112

<sup>3</sup>ภาควิชาภาคิวิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90112

<sup>4</sup>ศูนย์ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ชีวภาพจากสิ่งมีชีวิตในทะเลและเอนโดไฟท์ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's) เป็นโรคที่เกิดจากความเสื่อมทางประสาท ซึ่งมีผลต่อความจำและพฤติกรรม จากข้อมูลทางระบาดวิทยาคาดการณ์ว่า ในช่วง 2 ทศวรรษข้างหน้าอุบัติการณ์ของโรคจะเพิ่มขึ้นอีกมาก แนวทางการรักษาของโรคที่ได้รับการยอมรับในขณะนี้ คือ การทำให้สารสื่อประสาทอะเซทิลโคลีน (acetylcholine) เพิ่มขึ้นโดยใช้สารต้านอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (acetylcholinesterase; AChE) ในสมอง การวิจัยนี้ มีจุดประสงค์ที่จะหาสารต้าน AChE ใหม่ ๆ โดยทำการสำรวจพืช สิ่งมีชีวิตและจุลินทรีย์ในทะเล โดยใช้วิธีของ Ellman's ในภาค 96 หลุม

จากการตรวจสอบฤทธิ์ต้าน AChE ในสารสกัดจากพืช พบว่าสารสกัดต้นทุ่งฟ้า (*Alstonia macrophylla*) มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ที่สูงโดยแสดงค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ร้อยละ 50 (IC<sub>50</sub>) เท่ากับ 6.76 ± 1.74 mg/ml ผู้วิจัยได้ทำการแยกได้สารกลุ่ม Bisindole alkaloids อันประกอบด้วย macroline 2 units และได้ทำการพิสูจน์โครงสร้างสารด้วยวิธีทางสเปกโตรสโคปี และวัดฤทธิ์ต้าน AChE โดยเทียบกับ galanthamine โดยสารตัวหนึ่งที่แยกได้ เป็นสารใหม่ที่ไม่เคยมีผู้รายงานมาก่อน

จากการศึกษาพบว่าสิ่งมีชีวิตในทะเลเป็นแหล่งที่ดีของสารต้าน AChE คณะผู้วิจัยได้แยก steroidal alkaloid กลุ่ม stigmastane ชื่อ 4-acetoxy-plakinamine B จากฟองน้ำชื่อ *Corticium* sp. และ แยกสาร alkaloids ชื่อ marinoquinoline A จาก marine gliding bacteria strain TISTR 1741 ซึ่งสารทั้งสองตัวนี้แสดง IC<sub>50</sub> ในช่วงไมโครโมลาร์

จากการศึกษาที่ผ่านมา คณะผู้วิจัยพบว่าสารกลุ่ม isoquinoline เป็นสารต้าน AChE ที่มีศักยภาพสำหรับที่จะพัฒนาต่อ ในการวิจัยครั้งนี้ คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของ isoquinoline กับการเกิดฤทธิ์ต้าน AChE โดยทำการศึกษาอนุพันธ์ reduced form ของ 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxyisoquinoline, อนุพันธ์ที่เกิดจากการเปิดวงแหวน และอนุพันธ์อื่นๆ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า dihydroisoquinoline ring และ quaternary isoquinoline ที่มีกลุ่มแทนที่ที่ตำแหน่ง 1 สามารถยับยั้ง AChE จากปลาไหลไฟฟ้าและจากมนุษย์ได้ด้วย IC<sub>50</sub> ในช่วง 10<sup>-6</sup> M และ 10<sup>-5</sup> M ตามลำดับ

## Exploration of cholinesterase inhibitors from natural resources and synthetic compounds

Kornkanok Ingkaninan<sup>1</sup>, Nantaka Khorana<sup>1</sup>, Suthatip Makmee<sup>1</sup>, Kanokwan Changwijit<sup>1</sup>, Watcharin Puapan<sup>1</sup>, Anuchit Plubrukarn<sup>2</sup>, Akkharawit Kanjana-opas<sup>3</sup>, and Khanit Suwanborirux<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok 65000

<sup>2</sup> Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Songkhla 90112

<sup>3</sup> Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkla University, Songkhla 90112

<sup>4</sup> Center for Bioactive Natural Products from Marine Organisms and Endophytic Fungi (BNPME), Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

### Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a progressive degenerative neurologic disorder resulting in impaired memory and behavior. Epidemiological data indicate a potentially considerable increase in the prevalence of the disease over the next two decades. One of the most promising approaches for treating this disease is to enhance the acetylcholine level in the brain using acetylcholinesterase (AChE) inhibitors. In order to search for new AChE inhibitors, plants along with marine organisms and micro-organisms in Thailand were explored for AChE inhibitory activity using Ellman's colorimetric method in 96-welled microplates.

From the screening of plant extracts, *Alstonia macrophylla* stem extract showed the highest inhibitory activity expressed by the concentration that inhibited 50% of AChE activity ( $IC_{50}$  value) of  $6.76 \pm 1.74$  mg/ml. Bisindole alkaloids consisted of two macroline units were obtained from alkaloidal fraction of *A. macrophylla* stem. Their structures were elucidated using spectroscopic methods. The activities on AChE were investigated in comparison with a reference standard, galanthamine. One novel compound was obtained from this study.

The screening of marine organisms and microorganisms collected from Thailand revealed some interesting sources of AChE inhibitors. A new stigmastane-type steroidal alkaloid, 4-acetoxylakinamine B isolated from a sponge, *Corticium* sp. and marinoquinoline A isolated from a marine gliding bacteria strain TISTR 1741 showed a high activity with  $IC_{50}$  value in a micromolar range.

Previous studies from our laboratory have shown a few isoquinoline analogs to be potential acetylcholinesterase inhibitors. In the present study we have extended analysis of the structure–activity relationship (SAR) of the isoquinoline ring system as an AChEI. The corresponding reduced form of 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxyisoquinoline, ring-opened analog, and related analogs were evaluated for AChE inhibitory activity. Our results showed that the dihydroisoquinoline ring and quaternary isoquinoline with substitution at 1-position displayed  $IC_{50}$  in  $10^{-6}$  M range and  $10^{-5}$  M range on AChEs from electric eel and from human recombinant, respectively.