

การศึกษาสารยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส
จากแอคติโนมัซีสทางทะเล รหัส CH-17

นายปิยรัฐ ว่องไวเวโรจน์
นายกัมพล มุสิกะเจริญ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2553

ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITOR
FROM MARINE ACTINOMYCETE ISOLATED CH-17

MR. PIYARAT WONGWAIWAROTE
MR. KAMPON MUSIKACHAROEN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

โครงการพิเศษ

เรื่อง การศึกษาสารยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส
จากแอคติโนมายซีสทางทะเล รหัส CH-17

.....
(นายปิยรัฐ ว่องไวเวโรจน์)

.....
(นายกัมพล มุสิกะเจริญ)

.....
(ดร.วีณา นุกุลการ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(ดร.จตุรงค์ ประเทืองเดชกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....
(กฤษณ์ ธิรพันธุ์เมธี)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ
การศึกษาสารยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส
จากแอกติโนมัซีสทางทะเล รหัส CH-17

ปิยรัฐ ว่องไวเวโรจน์, กัมพล มุสิกะเจริญ

อาจารย์ที่ปรึกษา : วิณา นุกุลการ*, จตุรงค์ ประเทืองเดชกุล**, กฤษณ์ ธิรพันธุ์เมธี**

*ภาควิชาเภสัชวินิฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

**ภาควิชาเภสัชจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : แอกติโนมัซีส, สารยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส, geldanamycin

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส ของสารสำคัญจากธรรมชาติทางทะเลซึ่งสกัดแยกได้จากเชื้อจุลินทรีย์แอกติโนมัซีสทางทะเล รหัส CH-17 จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นด้วยวิธี TLC combining bioassay พบว่าสารสำคัญบนที่แอลซีทีค่า Rf 0.58 เมื่อใช้ระบบนำพา คือ ไดคลอโรมีเทน : เมทานอล ในอัตราส่วน 9 : 1 โดยปริมาตร แสดงฤทธิ์ต้านเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสได้ จากนั้นทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อแอกติโนมัซีสทางทะเล รหัส CH-17 แล้วสกัดด้วยเอธิลอะซิเตต แยกสารสำคัญด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟีที่ควบคู่กับการทดสอบฤทธิ์ สามารถแยกสารบริสุทธิ์ 1 ชนิด โดยทำการพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ทำโดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี UV, IR และ NMR ร่วมกับการเทียบกับข้อมูลที่เคยมีรายงานมาแล้ว พบว่าสารที่แยกได้คือ geldanamycin จากนั้นได้ทำการทดสอบฤทธิ์ของ geldanamycin ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสด้วยวิธี microplate assay พบว่าสาร geldanamycin ที่ความเข้มข้น 260 µg/mL สามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสได้ร้อยละ 7.02 โดยเทียบกับยามาตรฐาน galantamine นอกจากนี้ศึกษาการจับกันในระดับโมเลกุลของ geldanamycin กับอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสด้วยโปรแกรม Flexible Docking ใน Accelrys Discovery Studio 2.5 โดยเปรียบเทียบผลกับการจับกันของยาที่ยับยั้งเอนไซม์ ได้แก่ galantamine, rivastigmine และ donepezil ผลการศึกษาของสารเชิงซ้อนที่มีค่า LibDock score ที่ดีที่สุด พบว่า geldanamycin สามารถจับกับ binding site ได้เพียงบางส่วน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบการออกฤทธิ์ของสาร geldanamycin ซึ่งยับยั้งอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับยามาตรฐาน

Abstract

Acetylcholinesterase inhibitor from marine

Actinomycete isolated CH-17

Piyarat Wongwaiwarote, Kampon Musikacharoen

Project advisors : Veena Nukoolkarn*, Jaturong Pratuangdejkul**, Krit Thirapanmethee**

* Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

** Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keywords : Actinomycete, acetylcholinesterase inhibitor, geldanamycin

Present investigation aimed to search for acetylcholinesterase inhibitor from natural marine substance, separated from Actinomycete isolated CH-17. The preliminary result showed that fermentation broth of this strain possessed inhibitory effect on AChE by using TLC combining bioassay. The active zone was presented at the Rf value of 0.58, using dichloromethane : methanol in 9:1 ratio as mobile phase. The Actinomycete isolated CH-17 was further cultured in fermentation broth and extracted with ethyl acetate. The bioassay-guided fraction was used to afford one yellow compound. The structure elucidation was determined based on UV, IR and NMR data, and comparison with the previous literatures. The structure of this compound, thus, was identified as geldanamycin. The anticholinesterase activity of geldanamycin was tested by microplate assay method. The result showed that geldanamycin at concentration of 260 µg/mL exhibited percent inhibition of 7.02 in comparison with galantamine as a referenced standard. Moreover, the study of molecular binding interaction between geldanamycin and acetylcholinesterase was performed using Flexible Docking protocol implemented in Accelrys Discovery Studio 2.5. In comparison with the binding of reference compounds including galantamine, rivastigmine and donepezil, the complex with the highest of LibDock score indicated that the geldanamycin partially binds to the binding region of acetylcholinesterase. This data was relevant to the less inhibitory activity of geldanamycin when compared with the reference drug.