

การออกแบบและสังเคราะห์โปรตีน
เพื่อเพิ่มการผ่านเข้าสู่สมองโดยอาศัยโปรตีนขนส่ง
Large amino acid transporter 1 (LAT1)

นางสาวกชวรรณ สวัสดิ์มงคล
นางสาววาสน์วลี จุลเสน

โครงการพิเศษนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2556

การออกแบบและสังเคราะห์โปรตีน
เพื่อเพิ่มการผ่านเข้าสู่สมองโดยอาศัยโปรตีนขนส่ง
Large amino acid transporter 1 (LAT1)

นางสาวกชวรรณ สวัสดิ์มงคล
นางสาววาสน์วลี จุลเสน

โครงการพิเศษนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2556

DESIGN AND SYNTHESIS OF NOVEL PRODRUGS
FOR IMPROVED LAT1-MEDIATED
CNS-PERMEATION

MISS KOTCHAWAN SAWATDIMONGKHON
MISS WASWALEE JUNLASEN

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

2013

โครงการพิเศษ

เรื่อง การออกแบบและสังเคราะห์โปรตีน เพื่อเพิ่มการผ่านเข้าสู่สมองโดย
อาศัยโปรตีนขนส่ง large amino acid transporter 1 (LAT1)

.....
(นางสาวกชวรรณ สวัสดิ์มงคล)

.....
(นางสาววาสน์วิไล จุลเสนา)

.....
(อ.ดร.จุฑารัตน์ พิมพ์ทนต์)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(ศ.ดร.โอภา วัชรคุปต์)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....
(อ.ดร.จิระพรรณ จิตติคุณ)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การออกแบบและสังเคราะห์โปรดรั๊กส์ เพื่อเพิ่มการผ่านเข้าสู่สมองโดย อาศัยโปรตีนขนส่ง large amino acid transporter 1 (LAT1)

กชวรรณ สวัสดิ์มงคล, วาสน์วลี จุลเสน

อาจารย์ที่ปรึกษา : จุฑารัตน์ พิมพ์พันธ์*, โอบา วัชรคุปต์*, จิระพรรณ จิตติคุณ **

* ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

** ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ : โปรตีนขนส่ง, blood-brain barrier, prodrug, large amino acid transporter 1, LAT1

ความสามารถของยาในการผ่าน Blood-Brain Barrier (BBB) เข้าสู่สมองถือเป็นอุปสรรคสำคัญในการรักษาโรคทางสมอง เป็นผลให้นักวิจัยให้ความสำคัญกับกระบวนการที่จะเพิ่มการผ่านเข้าสู่สมองของยาโดยอาศัยโปรตีนขนส่ง ซึ่งโปรตีนขนส่งที่พบมากที่บริเวณ BBB และได้รับความสนใจเป็นอันมาก คือ โปรตีนขนส่งชนิด large amino acid transporter 1 (LAT1) จากเหตุผลที่ว่าโปรตีนขนส่งชนิด LAT1 แสดงศักยภาพในการขนส่งกรดอะมิโนที่มีโครงสร้างหลากหลาย รวมทั้งอนุญาตให้สารที่มีโครงสร้างคล้ายกับกรดอะมิโนสามารถลำเลียงผ่านโปรตีนขนส่งชนิด LAT1 ได้ ซึ่งจะรบกวนการขนส่งกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อสมองเพียงชั่วคราวเท่านั้น จึงไม่เกิดความเสียหายต่อสมองอย่างถาวร ดังนั้นการพัฒนาระบบนำส่งยา (drug delivery system) ที่จำเพาะต่อโปรตีนขนส่งชนิด LAT1 จะช่วยเพิ่มการผ่านเข้าสู่สมองของตัวยาได้อย่างจำเพาะและไม่รบกวนกระบวนการที่เกิดขึ้นโดยปกติตามธรรมชาติของร่างกาย ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะออกแบบยาในรูปแบบโปรดรั๊กส์ (carrier-linked prodrugs) เพื่อเพิ่มการผ่านเข้าสู่สมองของยาอย่างมีประสิทธิภาพ โดยการสังเคราะห์เชื่อมต่อยาตัวกับตัวนำส่ง (carrier) ที่แสดงความชอบจับกับโปรตีนขนส่งชนิด LAT1 ผ่านตัวเชื่อมที่จะปลดปล่อยตัวยาออกมาหลังจากยาผ่านเข้าสู่สมองแล้ว จากการประมวลผลรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ร่วมกับการตรวจสอบลักษณะการจับของกรดอะมิโนที่เป็นซับสเตรตตามธรรมชาติกับโปรตีนขนส่งชนิด LAT1 โดยวิธีโมเลกุลาร์ดีคกิง (molecular docking) ทำให้เลือกกรดอะมิโนไทโรซีนที่ถูกดัดแปลงโครงสร้าง (modified tyrosine) เป็นตัวนำส่งยา ในการศึกษาครั้งนี้ จากนั้นทำการสังเคราะห์เชื่อมต่อกับยาต้นแบบโดยอาศัย ethylene diamine เป็นตัวเชื่อม (linker) ผ่านพันธะเอไมด์ (amide bond) สำหรับยาต้นแบบที่ใช้เป็นสารเรืองแสง calcein และ calcein blue เพื่อให้ง่ายต่อการตรวจฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioassay) ในการวิจัยครั้งนี้ทำสำเร็จถึงขั้นตอนการเชื่อมต่อยาต้นแบบกับตัวเชื่อม แต่ยังไม่สามารถตรวจสอบเอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์ได้ หากงานวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จ คาดว่า สามารถนำระเบียบวิธีวิจัยที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มการผ่าน BBB โดยอาศัยโปรตีนขนส่งชนิด LAT1 ในการนำยาเข้าสู่สมองได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Abstract

Design and synthesis of novel prodrugs for improved LAT1-mediated CNS-permeation

Kotchawan Sawatdimongkhon, Waswalee Junlasen

Project advisor : Jutarat Pimthon*, Opa Vajragupta*, Jiraphun Jittikoon**

* Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

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

Keyword : Blood-Brain Barrier, Prodrug, Large Amino acid Transporter 1, LAT1

The ability of drugs across the blood-brain barrier (BBB) is a huge obstacle in the treatment of brain disease. Researchers, therefore, focus on the role of specific transporter system that can improve the ability of the therapeutic agents to penetrate through the BBB. One of most important transporter proteins that present in the BBB is a large amino acid transporter 1 (LAT1). LAT1 has a major role in transporting large neutral amino acids, including amino acid-related agents. Although it exhibits broad substrate selectivity, the LAT1-mediated transport of essential amino acids is only temporarily interrupted. Hence, the development of brain drug delivery system through LAT1 can effectively enhance therapeutic compounds entry into the brain without interfering in the natural physiological process. The purpose of this study is to design carrier-linked prodrugs for brain site-specific delivery by conjugation of model drug to the carrier that has high specificity and binding affinity to LAT1. Linker was chosen that allows the release of the active free drug once it entered into the brain. According to the previous relevant studies and the present investigation of amino acids and LAT1 interactions using molecular docking, the modified tyrosine residue was chosen as a drug carrier in this study. The benzene carboxylic acids group of modified tyrosine was then chemically linked to the carboxylic group of model drug via an ethylene diamine spacer. To be simple to interpret and easy to detect in bioassay, calcein and calcein blue were used as model drugs. Unfortunately, in the present study model drug was only successfully conjugate to the linker and structural elucidation was partially determined. If this study would have been accomplished, the outcome of the study could be potential useful for enhancing delivery of therapeutic agents to the brain via the BBB large neutral amino acid transporter.