สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษานี้สารอนุพันธ์ใหม่คูมารินถูกออกแบบขึ้นด้วยการเชื่อมองค์ความรู้ระหว่างการเลือกใช้โครงสร้างคูมารินที่เหมาะสม และการเลือก spacer lengths ของ methylene unit ที่เหมาะสม ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสาร 2f และ 2g ที่มี spacer lengths เป็น 7 และ 8 methylene unit แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE และ BuChE ได้แรงมากในขณะที่สาร 2h ที่มี spacer lengths เป็น 9 methylene unit ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ทั้งสองแบบ non selective ผลการศึกษายังแสดงให้เห็นอีกว่าโครงสร้างคูมาริน และหมู่ amine ของสาร 2f และ 2g สามารถเกิดปฏิกริยาที่ PAS และ MGS binding site ของเอนไซม์ทั้งสอง อันเป็นผลสืบเนื่องจากการมีระยะห่างระหว่างโครงสร้างคูมาริน และ basic nitrogen ประมาณ 16-17 Å ซึ่งเป็นระยะห่างพอๆกับระยะห่างระหว่าง amino acids ของPAS และ MGS binding site ของเอนไซม์ AChE และ BuChE

สาร 2f–2h ถูกเลือกเป็นสารต้นแบบในการออกแบบอนุพันธ์ใหม่คูมาริน โดยผู้วิจัยได้แทนที่โครงสร้าง piperidine ด้วยหมู่ amines ต่างๆ เช่น pyrrolidine (3a–c), diethylamine (4a–c), morpholine (5a–c), N-methylpiperazine (6a–c), 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (7a–c), และ 6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8a–c) ซึ่งพบว่า pyrrolidine derivative 3a มีความแรงสูงที่สุดในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE และ BuChE โดยมีค่า IC50 ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองเป็น 0.3 μM และ 8.4 μM ตามลำดับ ผลของการแทนที่ด้วยหมู่ amines ต่างๆยังแสดงให้เห็นว่า binding pocket site ที่ MGS ของเอนไซม์ AChE และBuChE น่าจะมีลักษณะเป็น shallow- broad และ deep-narrow shape ดังแสดงในรูปที่ 3-9 ดังนั้นหมู่ amines เช่น pyrrolidine และ piperidine น่าจะสามารถใช้ในการพัฒนาต่อเพื่อให้ได้สารที่มีความแรง และออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE และ BuChE แบบ non selective ได้ และถึงแม้ว่าอนุพันธ์ของ tetrahydroisoquinoline และ dimethoxy tetrahydroisoquinoline จะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE และ BuChE แบบ non selective แต่กลับพบว่ามีความแรงตในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองต่ำ

ในการศึกษานี้พบว่าความแรงของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE และ BuChE ของสาร 2g (IC_{50} = 0.7 μM สำหรับ AChE และ 6.8 μM สำหรับ BuChE) และสาร 3a (IC_{50} = 0.3 μM สำหรับ AChE และ 8.4 μM สำหรับBuChE) สูงกว่าความแรงในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองของยา 2 ตัวที่มีใช้ในทางคลินิก คือ neostigmine (IC_{50} = 0.8 μM สำหรับ AChE และ 35.1 μM สำหรับ BuChE) และ galantamine (IC_{50} = 0.4 μM สำหรับ AChE และ 18.6 μM สำหรับ BuChE) ดังแสดงในตารางที่ 3-1 ดังนั้นสาร 2g และ 3a จึงเป็นสารอนุพันธ์ใหม่ที่มีฤทธิ์แรงในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ AChE และ BuChE และเกิดปฏิกริยากับ PAS binding site

นอกจากนี้การแทนที่ที่ตำแหน่ง 3 ของ 7-hydroxycoumarin ด้วยโครงสร้าง ester หรือ amide 10 และ 11 ตามลำดับ ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสาร 7-hydroxycoumarin แสดงดังตารางที่ 7-2 ซึ่งผลการศึกษาทั้งหมดนำไปสู่แนวคิดในการพัฒนาต่อโดยการแทนที่ 7-hydroxycoumarin core structure ด้วย ethyl 7-hydroxy-2-oxo-2H-chromene-3-carboxylate (10) หรือ 7-hydroxy-3-(4-methylpiperazine-1-carbonyl)-2H-chromen-2-one (11) ต่อไป