

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับการค้นพบยาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสำหรับโรคผู้สูงอายุ โดยเฉพาะโรคการอักเสบ โรคมะเร็ง โรคเกี่ยวกับหลอดเลือด และโรคการเสื่อมของเซลล์ประสาท งานวิจัยนี้ทำร่วมกับศาสตราจารย์ Guolin Zhang และผู้ร่วมงานจาก Chengdu Institute of Biology, Chengdu, ประเทศจีน ซึ่งได้รับทุนวิจัยจาก National Natural Science Foundation of China (NSFC) วัตถุประสงค์สำคัญของโครงการนี้ คือ ผลิตผลงานวิจัยระดับนานาชาติอย่างน้อย 20 เรื่อง สิทธิบัตรอย่างน้อย 1 เรื่อง และ structure leads (lead compounds) อย่างน้อย 5 เรื่อง โครงการวิจัยนี้ประกอบด้วย 5 โครงการ และแต่ละโครงการมีโครงการย่อยอีกหลายโครงการ ชื่อเรื่องของแต่ละโครงการแสดงถึงผลที่ได้จากการศึกษาของโครงการย่อย โครงการแรกได้แก่ Discovery and Chemical Biology Study of Anti-inflammatory Natural Products โครงการนี้ประกอบด้วย 6 โครงการย่อย ซึ่งได้แก่ Screening of Anti-inflammatory Constituents from Plants, Dinorditerpenoid Trigonoreidon B from *Trigonostemon reidiodes* Alleviates Inflammation in LPS-activated Murine Macrophages and Fulminant Hepatitis in Mice, Discovery of Diarylheptanoids as Novel $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonists for the Treatment of Inflammatory Diseases, Chemical Modification of Cucurbitacins from *Trichosanthes cucumerina* and Anti-inflammatory Evaluation of Cucurbitacins and Analogues against STAT3 Activation, 2',4-Dihydroxy-3',4',6'-trimethoxychalcone from *Chromolaena odorata* Possesses Anti-inflammatory Effects via Inhibition of NF- κ B and p38 MAPK in Lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 Macrophages และ Ethyl Rosmarinate Inhibits Lipopolysaccharide-induced Nitric Oxide and Prostaglandin E2 Production in Alveolar Macrophages ผลงานเด่นที่ได้จากโครงการย่อยที่ 3 คือสาร diarylheptanoid analogue ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบดีมาก ได้นำสารนี้มาศึกษาในสัตว์ทดลอง โดยทำการศึกษาสมบัติด้าน pharmacokinetics และศึกษาความเป็นพิษ ผลลัพธ์ที่ดีที่ได้ทำให้คาดว่าสารนี้จะเป็น drug candidate ที่ดีในอนาคต ผลที่ได้จากโครงการย่อยนี้ได้ยื่นจดสิทธิบัตรจำนวน 2 เรื่อง โครงการที่สองคือ Natural Products with Cytotoxic Properties. Search for Anti-cancer Agents. โครงการนี้ประกอบด้วย 8 โครงการย่อย คือ Screening of Cytotoxic Constituents from Plants, Potent Cytotoxicity against Human Small Cell Lung Cancer Cells of the Heptenes from the Stem Bark of *Xylopiya pierrei* Hance, Carbazole Alkaloids from *Murraya koenigii* Trigger Apoptosis and Autophagic Flux Inhibition in Human Oral Squamous Cell Carcinoma Cells, Isomahanine Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Simultaneously Triggers p38 MAPK-mediated Apoptosis and Autophagy in Multidrug-resistant Human Oral Squamous Cell Carcinoma Cells, Synthesis and Cytotoxic Activity of 14-Deoxy-12-hydroxyandrographolide Analogues, Structural Modification of Andrographolide

to Analogues with Isoandrographolide Skeleton and Cytotoxic Activity Evaluation, 6-Hydroxy-3-O-methyl-kaempferol 6-O-Glucopyranoside Potentiates the Anti-proliferative Effect of Interferon α/β by Promoting Activation of the JAK/STAT Signaling by Inhibiting SOCS3 in Hepatocellular Carcinoma Cells และ Cytotoxic Alkaloids against Human Colon Adenocarcinoma Cell Line (HT-29) from the Seed Embryos of *Nelumbo nucifera* ผลที่ได้จากโครงการนี้ คือได้ structure leads อย่างน้อย 3 structure leads โครงการที่สามได้แก่ Natural Product-based Therapeutic Agents for Vascular Diseases โดยมี 4 โครงการย่อย คือ Screening of Vasorelaxant Activity of the Crude Extracts and Pure Compounds from Plants, Natural Product Exerts Beneficial Effects of Anti-arterosclerotic Drug, Effects of the Anthocyanin Cyanidin-3-glucoside on Attenuation Angiotensin II-induced Oxidative Stress and Inflammation in Vascular Endothelial Cells และ Synergistic Effect of Atorvastatin and Cyanidin-3-glucoside against Angiotensin II-mediated Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration through MAPK and PI3K/Akt Pathways ในโครงการนี้ได้ให้ความสนใจเป็นพิเศษที่ cyanidin-3-glucoside ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชัน ผลการค้นพบในโครงการนี้ ทำให้ได้ structure lead ที่มีผลในการปกป้องเซลล์ของหลอดเลือด

โครงการที่สี่ ได้แก่ Search for Therapeutic Agents for Neurodegenerative Diseases ซึ่งมี 5 โครงการย่อย คือ Screening of Neuroprotective Activity of the Crude Extracts and Pure Compounds from Plants, Neuroprotective Effects of Cyanidin against $A\beta$ -induced Oxidative and ER Stress in SK-N-SH Cells, Hexahydrocurcumin Protects against Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury, Attenuates Inflammation, and Improves Antioxidant Defenses in a Rat Stroke Model, Dihydrocapsaicin Attenuates Blood Brain Barrier and Cerebral Damage in Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion via Oxidative Stress and Inflammation และ Cyanidin Attenuates $A\beta_{25-35}$ -induced Neuroinflammation by Suppressing NF-KB Activity Downstream of TLR4/NOX4 in Human Neuroblastoma Cells โครงการนี้ ได้ผลการวิจัยที่แสดงการปกป้องเซลล์ประสาทของ cyanidin-3-glucoside โครงการที่สี่นี้ได้ค้นพบ structure lead อีก 2 ชนิดคือ hexahydrocurcumin และ dihydrocapsaicin ซึ่งมีฤทธิ์ป้องกันความเสียหายจาก cerebral ischemia/reperfusion injury ในหนูทดลอง structure lead ทั้งสองชนิดนี้อาจเป็น drug candidate ที่มีศักยภาพสูงต่อไป

โครงการที่ห้า ได้แก่ Natural Product-based Therapeutic Agents for Diseases of the Elderly ประกอบด้วย 6 โครงการย่อย ได้แก่ Diarylheptanoid from *Curcuma comosa* Roxb. Suppresses RANKL-induced Osteoclast Differentiation by Decreasing NFATc1 and c-Fos Expression via MAPK Pathway, Bioactive Terpenoids from *Trigonostemon reidioides* Roots, Selective Estrogen Receptor Modulator (SERM)-Like Activities of Diarylheptanoid, a Phytoestrogen

from *Curcuma comosa*, in Breast Cancer Cells, Pre-osteoblast Cells, and Rat Uterine Tissues, Mahanine Enhances the Glucose-lowering Mechanisms in Skeletal Muscle and Adipocyte Cells, *Curcuma comosa* Reduces Visceral Adipose Tissue and Improves Dyslipidemia in Ovariectomized Rats และ Determination of the Marker Diarylheptanoid Phytoestrogens in *Curcuma comosa* Rhizomes and Selected Herbal Medicinal Products by HPLC-DAD ผลจากโครงการนี้ทำให้ทราบผลดีของ diarylheptanoids และสารอัลคาลอยด์ ที่มีฤทธิ์อื่น นอกจากที่ได้กล่าวมาแล้วในสี่โครงการแรก เช่น สามารถลดปริมาณไขมันและน้ำตาลในหนูได้

โดยสรุป โครงการวิจัยนี้ได้ค้นพบสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและแอนาลอกที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และสารบางชนิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่ามาตรฐาน งานวิจัยนี้ นอกจากจะได้ยื่นจดสิทธิบัตรจำนวน 2 เรื่อง และยังได้ตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารระดับนานาชาติจำนวน 23 เรื่อง ได้มีการค้นพบ structure leads อย่างน้อย 6 ชนิด ซึ่งสารดังกล่าวนี้จะเลือกไปใช้ในการศึกษาต่อไปให้ได้ drug candidate

Keywords : ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, การค้นพบยา, โรคเกี่ยวข้องกับผู้สูงอายุ, การปรับเปลี่ยนโครงสร้างสาร, structure lead, การอักเสบ, มะเร็ง, โรคเกี่ยวกับหลอดเลือด, โรคการเสื่อมของเซลล์ประสาท

ABSTRACT

The project deals with natural product drug discovery for diseases of the elderly, particularly inflammation, cancers, vascular diseases and neurodegenerative diseases. The work has been conducted in collaboration with Professor Guolin Zhang and colleagues, Chengdu Institute of Biology, Chengdu, China, who received a grant from the National Natural Science Foundation of China (NSFC). The main objectives of the project were to produce at least 20 international publications, one patent application and 5 structure leads (lead compounds). The project consists of five projects and each project contained a number of subprojects and the title of each subproject reflects the results of the study. The first project is Discovery and Chemical Biology Study of Anti-inflammatory Natural Products and this project consists of six subprojects which are Screening of Anti-inflammatory Constituents from Plants, Dinorditerpenoid Trigonoreidon B from *Trigonostemon reidiodes* Alleviates Inflammation in LPS-activated Murine Macrophages and Fulminant Hepatitis in Mice, Discovery of Diarylheptanoids as Novel $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonists for the Treatment of Inflammatory Diseases, Chemical Modification of Cucurbitacins from *Trichosanthes cucumerina* and Anti-inflammatory Evaluation of Cucurbitacins and Analogues against STAT3 Activation, 2',4-Dihydroxy-3',4',6'-trimethoxychalcone from *Chromolaena odorata* Possesses Anti-inflammatory Effects via Inhibition of NF- κ B and p38 MAPK in Lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 Macrophages, and Ethyl Rosmarinate Inhibits Lipopolysaccharide-induced Nitric Oxide and Prostaglandin E2 Production in Alveolar Macrophages. One potent anti-inflammatory diarylheptanoid analogue was obtained as a potent structure lead from the third subproject. This compound has been studied in vivo and pharmacokinetic property and toxicity have also been evaluated. This structure lead is expected to be a drug candidate in the near future. Two patent applications were obtained from this subproject. The second project is Natural Products with Cytotoxic Properties. Search for Anti-cancer Agents. This project consists of eight subprojects which are Screening of Cytotoxic Constituents from Plants, Potent Cytotoxicity against Human Small Cell Lung Cancer Cells of the Heptenes from the Stem Bark of *Xylopiia pierrei* Hance, Carbazole Alkaloids from *Murraya koenigii* Trigger Apoptosis and Autophagic Flux Inhibition in Human Oral Squamous Cell Carcinoma Cells, Isomahanine Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Simultaneously Triggers p38 MAPK-mediated Apoptosis and Autophagy in Multidrug-resistant Human

Oral Squamous Cell Carcinoma Cells, Synthesis and Cytotoxic Activity of 14-Deoxy-12-hydroxyandrographolide Analogues, Structural Modification of Andrographolide to Analogues with Isoandrographolide Skeleton and Cytotoxic Activity Evaluation, 6-Hydroxy-3-O-methyl-kaempferol 6-O-Glucopyranoside Potentiates the Anti-proliferative Effect of Interferon α/β by Promoting Activation of the JAK/STAT Signaling by Inhibiting SOCS3 in Hepatocellular Carcinoma Cells, and Cytotoxic Alkaloids against Human Colon Adenocarcinoma Cell Line (HT-29) from the Seed Embryos of *Nelumbo nucifera*. In this project, at least 3 structure leads were obtained. The third project deals with Natural Product-based Therapeutic Agents for Vascular Diseases. There are four subprojects in this project : Screening of Vasorelaxant Activity of the Crude Extracts and Pure Compounds from Plants, Natural Product Exerts Beneficial Effects of Anti-arterosclerotic Drug, Effects of the Anthocyanin Cyanidin-3-glucoside on Attenuation Angiotensin II-induced Oxidative Stress and Inflammation in Vascular Endothelial Cells, and Synergistic Effect of Atorvastatin and Cyanidin-3-glucoside against Angiotensin II-mediated Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration through MAPK and PI3K/Akt Pathways. In this project, special interest has been paid to cyanidin-3-glucoside, the potent antioxidant anthocyanin. The findings in this study revealed beneficial effects of this structure lead to vascular cells.

The fourth project is Search for Therapeutic Agents for Neurodegenerative Diseases. This project consists of five subprojects : Screening of Neuroprotective Activity of the Crude Extracts and Pure Compounds from Plants, Neuroprotective Effects of Cyanidin against $A\beta$ -induced Oxidative and ER Stress in SK-N-SH Cells, Hexahydrocurcumin Protects against Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury, Attenuates Inflammation, and Improves Antioxidant Defenses in a Rat Stroke Model, Dihydrocapsaicin Attenuates Blood Brain Barrier and Cerebral Damage in Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion via Oxidative Stress and Inflammation, and Cyanidin Attenuates $A\beta_{25-35}$ -induced Neuroinflammation by Suppressing NF- κ B Activity Downstream of TLR4/NOX4 in Human Neuroblastoma Cells. In this project, the neuroprotective effects of cyanidin-3-glucoside were noted. Two structure leads, hexahydrocurcumin and dihydrocapsaicin, were found to protect against damage from cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. These two structure leads could possibly be developed into potential drug candidates.

The fifth project is Natural Product-based Therapeutic Agents for Diseases of the Elderly. This project consists of six subprojects which are Diarylheptanoid from *Curcuma*

comosa Roxb. Suppresses RANKL-induced Osteoclast Differentiation by Decreasing NFATc1 and c-Fos Expression via MAPK Pathway, Bioactive Terpenoids from *Trigonostemon reidioides* Roots, Selective Estrogen Receptor Modulator (SERM)-Like Activities of Diarylheptanoid, a Phytoestrogen from *Curcuma comosa*, in Breast Cancer Cells, Pre-osteoblast Cells, and Rat Uterine Tissues, Mahanine Enhances the Glucose-lowering Mechanisms in Skeletal Muscle and Adipocyte Cells, *Curcuma comosa* Reduces Visceral Adipose Tissue and Improves Dyslipidemia in Ovariectomized Rats, and Determination of the Marker Diarylheptanoid Phytoestrogens in *Curcuma comosa* Rhizomes and Selected Herbal Medicinal Products by HPLC-DAD. This project revealed mainly beneficial effects of diarylheptanoids and some alkaloid on diseases other than those mentioned in the first four projects, for example, they exerted lipid and sugar lowering effects in rats.

In conclusion, several bioactive natural products and analogues have been discovered in this project and some of them exhibited higher biological activities than the reference drugs. In this work, apart from 2 patent applications, 23 international publications have been achieved. At least 6 structure leads have been identified. In the future research, these structure leads will be selected for further study in order to obtain drug candidates.

Keywords : Natural products, drug discovery, diseases of the elderly, structural modification, structure lead, inflammation, cancer, vascular diseases, neurodegenerative diseases