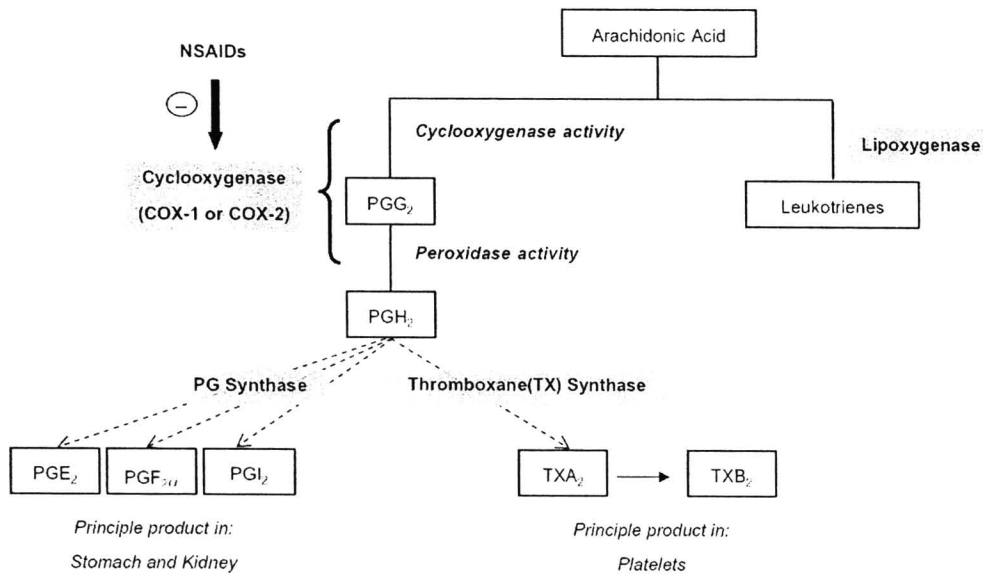


บทที่ 1

บทนำ

หลักการและเหตุผล

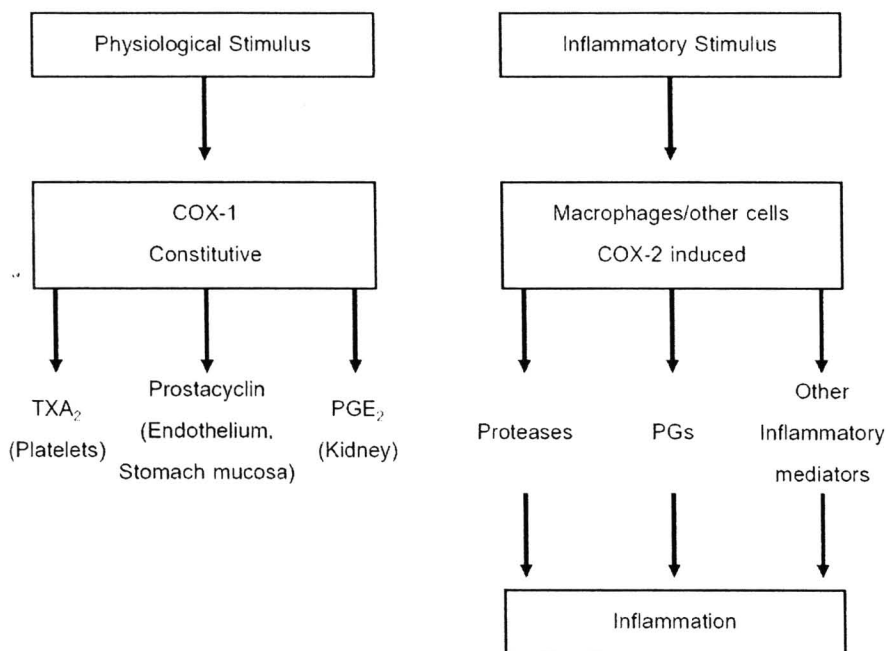
Cyclooxygenases (COX) เป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการชีวสังเคราะห์ของ Prostaglandin (PGs) จาก Arachidonic Acid¹⁸ (รูปที่ 1) จากการศึกษพบว่าเอนไซม์ Cyclooxygenase ที่พบอยู่ในร่างกายมีอยู่ 2 Isoforms คือ Cyclooxygenase-1 (COX-1) และ Cyclooxygenase-2 (COX-2)⁸



รูปที่ 1 แผนผังแสดงชีวสังเคราะห์ของ Prostaglandins

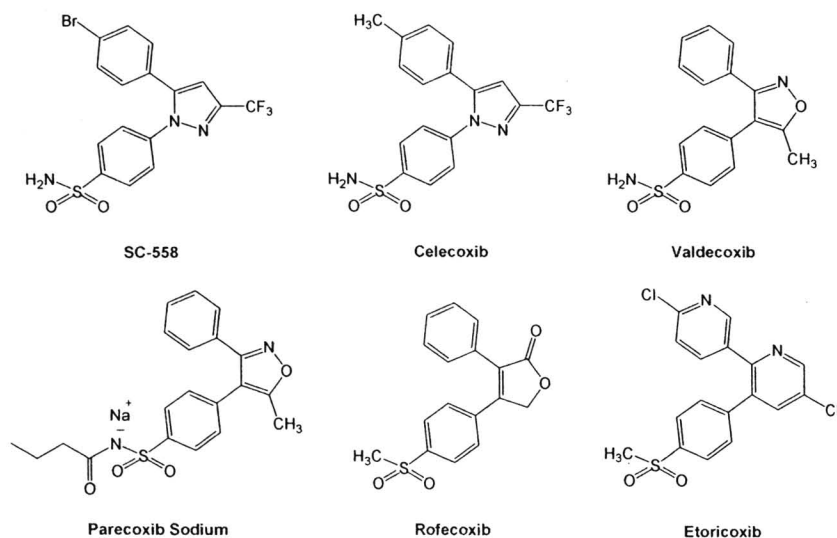
COX-1 เป็นเอนไซม์ที่พบมากในไตและระบบทางเดินอาหาร มีหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์ Prostaglandins ที่มีบทบาทในกลไกการป้องกันผนังกระเพาะอาหารและลำไส้ และยังมีผลต่อการทำงานของเกร็ดเลือด ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของ COX-1 จึงก่อให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ และกระบวนการเกาะกลุ่มแข็งตัวของเกร็ดเลือดทำให้ระยะเวลาการไหลออกของเลือดจากบาดแผลนานขึ้น

ส่วน COX-2 เป็นเอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้นเป็นจำนวนมากในเนื้อเยื่อได้รับบาดเจ็บและกำลังเข้าสู่ภาวะอักเสบ มีหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์ Prostaglandins ที่มีบทบาทในกระบวนการอักเสบ (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 บทบาทหน้าที่ของ COX-1 และ COX-2

ยาด้านการอักเสบที่ไม่ใช่ Steroid หรือ NSAIDs ที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันส่วนใหญ่ เช่น Aspirin, Ibuprofen, Diclofenac, Indomethacin และ Mefenamic Acid ยับยั้งการทำงานของทั้ง COX-1 และ COX-2 ซึ่งจะส่งผลยับยั้งการสังเคราะห์ Prostaglandins ใน Cell และเนื้อเยื่อแทบทุกชนิด จึงก่อให้เกิดทั้งฤทธิ์ด้านการอักเสบตลอดจนอาการข้างเคียงต่าง ๆ ทางระบบทางเดินอาหารและระบบเลือด ในขณะที่ Selective COX-2 Inhibitor เช่น Celecoxib²⁰, Rofecoxib²¹, Valdecoxib²⁵, Etericoxib¹⁰ และ Parecoxib Sodium²⁶ (รูปที่ 3) ซึ่งถูกค้นพบและพัฒนาขึ้นมาในภายหลัง มีข้อดีกว่าคือเป็นยาด้านการอักเสบที่มีอาการข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหารและระบบเลือดน้อย



รูปที่ 3 Selective COX-2 Inhibitors

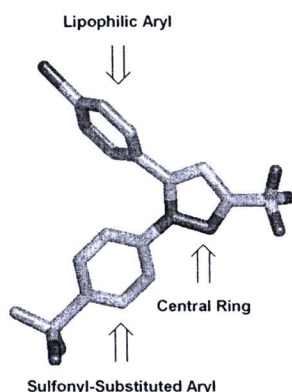
แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า การใช้ Selective COX-2 Inhibitor ทำให้ผู้ใช้ยาเกิดภาวะเสี่ยงต่อการเกิด Myocardial Infarction⁹ ซึ่งจากสาเหตุดังกล่าวทำให้ยา Rofecoxib และ Valdecoxib ถูกยกเลิกการนำมาใช้ประโยชน์ทางคลินิก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการพัฒนายาใหม่ที่มีประสิทธิภาพ

และความปลอดภัยมากกว่า Selective COX-2 Inhibitor ที่มีอยู่ในปัจจุบัน

โครงการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงสร้างของ Selective COX-2 Inhibitor ที่มีอยู่ในปัจจุบันมีโครงสร้างหลักเป็น Sulfonyl-Substituted Diarylheterocycles ซึ่งประกอบด้วยโครงสร้าง 3 ส่วน¹² (ดังแสดงในรูปที่ 4) ได้แก่

1. Lipophilic Aryl Ring ซึ่งอาจเป็น Non-substituted หรือ Substituted Aryl (หรือ Heteroaryl)
2. Sulfonyl-Substituted Aryl Ring ซึ่งอาจเป็น *p*-Methylsulfonylphenyl หรือ *p*-Sulfamidophenyl Ring
3. Central Ring ซึ่งมีลักษณะเป็น Polar Heterocyclic หรือ Heteroaromatic Ring ที่เชื่อมโครงสร้างส่วนที่ 1 และส่วนที่ 2 เข้าด้วยกัน



รูปที่ 4 Three-Dimensional X-Ray Crystallographic Structure ของ SC-558 ใน Bound Conformation ที่มี COX-2 Binding Site¹⁶

การพัฒนาเพื่อคัดค้น Selective COX-2 Inhibitor ตัวใหม่ ๆ พบว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างส่วน Lipophilic Aryl Ring และ Sulfonyl-Substituted Aryl Ring นั้นส่วนใหญ่จะทำให้ได้สารที่มีฤทธิ์ลดลง การพัฒนาโดยส่วนใหญ่จึงเป็นการเปลี่ยนแปลงที่โครงสร้างส่วนที่เป็น Central Ring ซึ่งอาจเป็นโครงสร้างที่เป็น Acyclic, Heterocyclic หรือ Heteroaromatic ใด ๆ ที่สามารถทำให้ Lipophilic Aryl Ring และ Sulfonyl-Substituted Aryl Ring มีการจัดเรียงตัวอยู่ใน Conformation ที่เหมาะสม^{7, 12, 22, 23} (รูปที่ 5)



$R_1 = 2\text{-F}$ $R_2 = \text{H}$

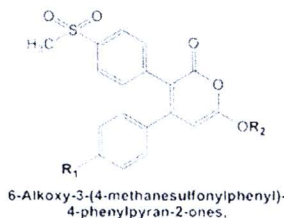
COX-1 IC_{50} : 27.9 μM

COX-2 IC_{50} : 2.2 μM

$R_1 = 4\text{-CF}_3$ $R_2 = \text{H}$

COX-1 IC_{50} : >100 μM

COX-2 IC_{50} : 2.0 μM



$R_1 = \text{F}$ $R_2 = \text{Et}$

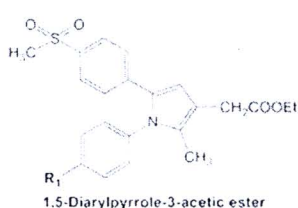
COX-1 IC_{50} : 288.0 μM

COX-2 IC_{50} : 0.1 μM

$R_1 = \text{H}$ $R_2 = t\text{-Bt}$

COX-1 IC_{50} : >100 μM

COX-2 IC_{50} : 2.7 μM



$R_1 = \text{H}$

COX-1 IC_{50} : >100 μM

COX-2 IC_{50} : 0.04 μM

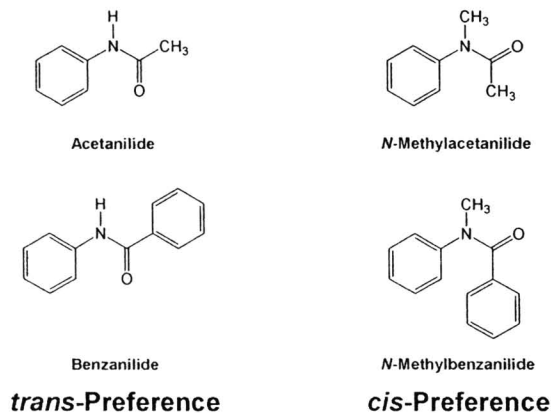
$R_1 = \text{CF}_3$

COX-1 IC_{50} : >100 μM

COX-2 IC_{50} : 0.06 μM

รูปที่ 5 ตัวอย่างของสารที่มีการรายงานว่าเป็น Selective COX-2 Inhibitors

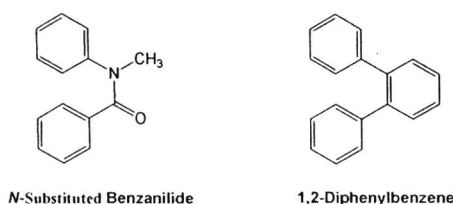
ผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะเปลี่ยนโครงสร้างส่วน Central Ring ของ Selective COX-2 Inhibitor จากเดิมให้เป็น *N*-Substituted Amide เนื่องจากการศึกษาและพบว่าสำหรับสารกลุ่ม Aromatic Amides นั้น อนุพันธ์ที่เป็น Primary Amides (เช่น Acetanilide และ Benzanilide) ชอบที่จะจัดตัวอยู่ใน *trans*-Conformation ในขณะที่ Secondary Amide (เช่น *N*-methylacetanilide และ *N*-methylbenzanilide) ชอบที่จะจัดตัวอยู่ใน *cis*-Conformation (รูปที่ 6) ทั้งในสภาวะที่เป็นสารละลายและสภาวะที่เป็นของแข็ง เมื่อศึกษาด้วย NMR, X-Ray Crystallography^{13, 14} หรือการคำนวณโดยใช้ทฤษฎี *ab initio* Molecular Orbital (MO) Calculation²⁴



รูปที่ 6 Conformation ของ Secondary Amides (*trans*-Conformation) และ Tertiary Amides (*cis*-Conformation)

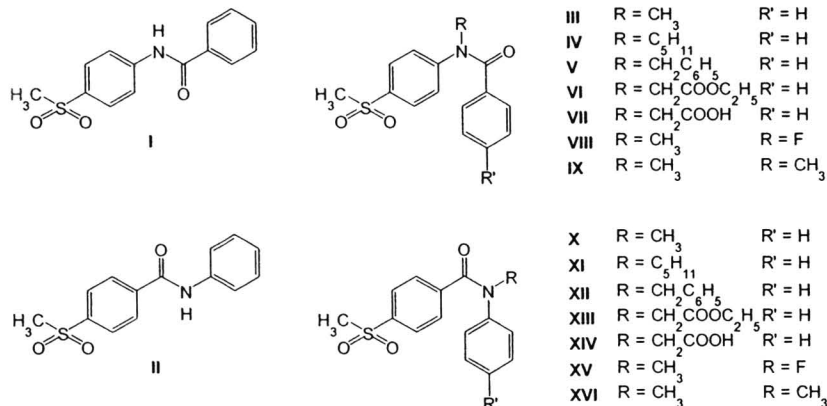
จากการศึกษาโครงสร้างของ *N*-Substituted Benzanilides อื่น ๆ เพิ่มเติมพบว่า *N*-Substituted Benzanilides ไม่ว่าจะเป็นอนุพันธ์ที่มีหมู่ *N*-Substituent เป็น Alkyl หรือ Heteroatom-Containing Functional Groups ชอบที่จะจัดตัวอยู่ใน *cis*-Conformation ในขณะที่ *N*-H Analogs ของสารเหล่านั้นชอบที่จะจัดตัวอยู่ใน *trans*-Conformation ทั้งในสภาวะที่เป็นสารละลายและสภาวะที่เป็นของแข็ง^{3, 4, 5, 6, 29}

เมื่อพิจารณาถึงโครงสร้างของ *N*-Substituted Benzanilides พบว่าหมู่ Phenyl ทั้งสองหมู่นั้นมีการจัดเรียงตัวคล้ายคลึงกับในโครงสร้างของ 1,2-Diphenylbenzene (รูปที่ 7) ดังนั้นการใช้ *N*-Substituted Amide แทนที่ Central Ring ในโครงสร้างของ Selective COX-2 Inhibitor นั้นควรให้สารที่มีการจัดเรียงตัวของ Lipophilic Aryl Ring และ *p*-Sulfonyl-Substituted Aryl Ring คล้ายคลึงกับสาร Selective COX-2 Inhibitor ต้นแบบและสามารถออกฤทธิ์เป็น Selective COX-2 Inhibitor ได้เช่นเดียวกัน



รูปที่ 7 โครงสร้างของ *N*-Substituted Benzanilide เปรียบเทียบกับ 1,2-Diphenylbenzene
ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะสังเคราะห์และศึกษาฤทธิ์ต่อเอนไซม์ Cyclooxygenase ของ *N*-

Substituted Benzanilides (รูปที่ 8) ซึ่งมี *N*-Substituent เป็น Alkyl หรือ Aralkyl ที่มี/ไม่มีส่วนของโครงสร้างที่มีความสามารถในการเกิด H-bond เพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต่อเอนไซม์ Cyclooxygenase และนำข้อมูลที่ได้มาใช้ประโยชน์ในการพัฒนา Selective COX-2 Inhibitor ต่อไป



รูปที่ 8 อนุพันธ์ *N*-Substituted Benzanilides ที่ต้องการสังเคราะห์

วัตถุประสงค์

1. สังเคราะห์ *N*-Substituted Benzanilides ซึ่งมี *N*-Substituent เป็น Alkyl หรือ Aralkyl ตลอดจน Intermediate ที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์
2. ศึกษาวิธีการและสภาวะในการสังเคราะห์ *N*-Substituted Benzanilides เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงทางเคมีสังเคราะห์สำหรับการสังเคราะห์สารกลุ่มนี้
3. ศึกษาข้อมูลคุณสมบัติทางกายภาพและข้อมูลทาง Spectroscopy ของสารกลุ่ม *N*-Substituted Benzanilides เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงของสารกลุ่มนี้
4. ศึกษาถึง Structure-Activity Relationship ต่อฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Cyclooxygenase ของสารกลุ่ม *N*-Substituted Benzanilides และนำข้อมูลที่ได้มาใช้ประโยชน์ในการพัฒนา Selective COX-2 Inhibitor ต่อไป

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สารกลุ่ม *N*-Substituted Benzanilides ซึ่งยังไม่เคยมีการสังเคราะห์มาก่อนประมาณ 15 สาร
2. ทราบวิธีการและสภาวะในการสังเคราะห์ *N*-Substituted Benzanilides เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงทางเคมีสังเคราะห์สำหรับการสังเคราะห์สารกลุ่มนี้
3. ทราบข้อมูลคุณสมบัติทางกายภาพและข้อมูลทาง Spectroscopy ของสารกลุ่ม *N*-Substituted Benzanilides เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงของสารกลุ่มนี้
4. ทราบข้อมูล Structure-Activity Relationship ต่อฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Cyclooxygenase ของสารกลุ่ม *N*-Substituted Benzanilides และนำข้อมูลที่ได้มาใช้ประโยชน์ในการพัฒนา Selective COX-2 Inhibitor ต่อไป