



## รายงานฉบับสมบูรณ์

การจำลองแบบ การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ  
ของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนน  
ที่ต่ออยู่กับวงไรโอพีน

โดย

นางสาวนิภาวรรณ พองพรหมและคณะ

เมษายน 2560



### รายงานฉบับสมบูรณ์

การจำลองแบบ การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ  
ของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนน  
ที่ต่ออยู่กับวงไธโอฟิน

Molecular modeling, design, synthesis and biological evaluation  
of azanaphthoquinone annelated thiophene derivatives  
as cytostatic compounds

คณะผู้วิจัย

นางสาวนิภาวรรณ พองพรหม

นางสาวพรพรรณ พึ่งโพธิ์

สังกัด

คณะวิทยาศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์

โครงการนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก  
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี  
ประจำปีงบประมาณ 2558

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้สามารถดำเนินการจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากความอนุเคราะห์ของหน่วยงานและบุคคลหลายท่านด้วยกัน ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้าน จนสำเร็จ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย นอกจากนี้ยังขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้การสนับสนุนด้านสถานที่และอุปกรณ์ เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยในโครงการนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่อำนวยความสะดวกในการเบิกจ่ายสารเคมีและอุปกรณ์ในการทดลอง ตลอดจนเครื่องมือในกาพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร

ขอขอบคุณ ดร. บัญชา ยิ่งงาม อาจารย์ประจำคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์การทดสอบสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ขึ้น

ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาเอก ปริญญาโท และปริญญาตรี สาขาวิชาเคมีทุกคนที่มีส่วนในการทำโครงการวิจัยนี้ ทำให้การทำงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และสมาชิกทุกคนในครอบครัวที่ให้การสนับสนุนในการศึกษา และเป็นกำลังใจด้วยดีเสมอมา

ผศ. ดร. นิภาวรรณ พองพรหม

รศ. ดร. พรพรรณ พึ่งโพธิ์

คณะผู้วิจัย

## บทสรุปผู้บริหาร

**ชื่อเรื่อง** (ภาษาไทย) การจำลองแบบ การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไฮโอฟิน

(อังกฤษ) Molecular modeling, design, synthesis and biological evaluation of azanaphthoquinone annelated thiophene derivatives as cytostatic compounds

**ชื่อผู้วิจัย**

นางสาวนิภาวรรณ พงพรม

**ผู้ร่วมวิจัย**

นางสาวพรพรรณ พิงโพธิ์

**หน่วยงานที่สังกัด**

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

**หมายเลขโทรศัพท์**

045353400 ต่อ 4574 โทรสาร 045288379

**E-mail**

nipawan.p@ubu.ac.th

ได้รับอนุมัติงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

งบประมาณที่ได้รับ 299,200 บาท ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี (โครงการวิจัยต่อเนื่องปีงบประมาณ 57-58)

เริ่มทำการวิจัยเมื่อ ตุลาคม 2557 ถึง กันยายน 2559

### หลักการและเหตุผล

โรคมะเร็งเป็นปัญหาทางสุขภาพที่สำคัญของมนุษยชาติ จึงทำให้มีกลุ่มงานวิจัยมากมายที่ทำการศึกษาค้นคว้าเทคนิคและยาที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง ยาเคมีบำบัด คือยาที่ออกฤทธิ์ในช่วงเวลาที่เซลล์แตกตัวแล้วมีผลทำให้เซลล์ตายลง เซลล์มะเร็งมีลักษณะที่สามารถแตกตัวและเพิ่มจำนวนได้อย่างมากภายในระยะเวลาอันสั้นจึงนำเอาคุณลักษณะนี้มาใช้ในการฆ่าเซลล์มะเร็ง และทำให้เนื้องอกหดตัว แต่ในร่างกายของเราไม่ได้มีเซลล์มะเร็งที่แตกตัวและเพิ่มจำนวนเท่านั้น ยังมีเซลล์อื่นๆ ที่แตกตัวและผลัดเปลี่ยนเซลล์ตลอดเวลา เช่น เซลล์ผนังกระเพาะและลำไส้ เซลล์รากผมและเซลล์เม็ดเลือดขาว ดังนั้นเมื่อใช้ยาเคมีบำบัดจะทำให้เกิดผลข้างเคียงอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้เช่น ผมร่วง ภาวะกระเพาะ และลำไส้ไม่ดี เบื่ออาหาร ภูมิคุ้มกันลดลงทำให้ติดเชื้อได้ง่าย เป็นต้น ซึ่งผลเหล่านี้เกิดจากการที่ยาเคมีออกฤทธิ์ต่อเซลล์ปกติของร่างกายนั่นเอง ด้วยเหตุนี้จึงมีความพยายามอย่างไม่หยุดยั้งในการค้นคว้าวิจัยเพื่อให้ได้ยาตัวใหม่หรือปรับเปลี่ยนยาตัวเดิม มีกลุ่มวิจัยมากมายที่มุ่งสังเคราะห์สารที่สามารถยับยั้งการสร้างเซลล์มะเร็งโดยการขัดขวางการสังเคราะห์และถอดแบบดีเอ็นเอ ในกระบวนการแบ่งเซลล์ สารกลุ่มหนึ่งที่มีความสนใจอย่างมากและมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องคือ สารในกลุ่มอินเตอร์แคลลาติง (intercalating agents) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยวงอะโรเมติกต่อกันสามถึงสี่วง ดังนั้นโมเลกุลชนิดนี้จึงมีรูปร่างเป็นแบบแบนราบ และยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์โดยการแทรกสอดเข้าไปวางขวางอยู่ระหว่างคู่เบสของดีเอ็นเอ ในแนวตั้งฉากกับสายดีเอ็นเอ หลังจากการ

แทรกสอดยาจะเกิดอันตรกิริยาดัวยพันธะไฮโดรเจนหรือแรงแวลเตอร์วาล กับดีเอ็นเอ และส่งผลให้สายดีเอ็นเอ มีความกว้างมากกว่าปกติ ซึ่งส่งผลให้การถอดแบบดีเอ็นเอล้มเหลวและยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งในที่สุด เพื่อให้ได้ยารักษาโรคมะเร็งที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อเซลล์มะเร็ง และมีผลข้างเคียงต่ำ

งานวิจัยนี้โดยมุ่งที่จะสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพ-โทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไฮโอฟิน ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มอินเตอร์แคลลาติง (intercalating agents) เพื่อให้ได้โมเลกุลเป้าหมายชนิดใหม่ที่มีความแบนราบมากขึ้นเพื่อให้สามารถแทรกสอดเข้าไปในสายดีเอ็นเอได้ดีขึ้น จะส่งผลให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็งได้ดีขึ้นและมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยน้อยลง จากการสืบค้นข้อมูลของงานวิจัยที่ผ่านมาการศึกษาวิจัยสมบัติทางโครงสร้างของโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งในกลุ่มนี้ทางด้านโครงสร้างทางอิเล็กทรอนิกส์ยังมีไม่มากนัก จึงทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะเริ่มจากการใช้ระเบียบวิธีการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณ (Computer-Aided Molecular Design) บนพื้นฐานของเคมีควอนตัม (Quantum Chemistry) และ การจำลองแบบ (Molecular Modelling) เพื่อศึกษาสมบัติทางโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งของสารในกลุ่มนี้ โดยคาดหวังว่าผลของการศึกษาสมบัติของโมเลกุลของตัวยับยั้งในระดับโครงสร้างของอิเล็กทรอนิกส์และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งของโมเลกุลตัวยับยั้งซึ่งจะเป็นหนทางสำคัญที่ให้ข้อมูลพื้นฐานที่จะให้เกิดความเข้าใจและสามารถอธิบายอันตรกิริยาสำคัญของโมเลกุลของตัวยับยั้งที่มีผลต่อการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ รวมทั้งได้แนวทางในการออกแบบโครงสร้าง (molecular design) ของสารใหม่ที่มีให้มศึกษภาพสูงขึ้นในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ ดีเอ็นเอและลดผลข้างเคียงที่มีต่อเซลล์ จากนั้นในขั้นตอนต่อมาทำการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่ออกแบบขึ้นมาใหม่และศึกษาการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ขึ้น

### วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาสมบัติทางโครงสร้างทางอิเล็กทรอนิกส์และสมบัติของโมเลกุลของยารักษาโรคมะเร็งในกลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพ-โทควิโนน โดยการใช้ระเบียบวิธีการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณ
2. สร้างความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและกัมมันตภาพในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของสารอนุพันธ์ในกลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพ-โทควิโนน โดยใช้ระเบียบวิธี Ligand-based drug design และ Structure-based drug design เพื่อหาโครงสร้างสำคัญของโมเลกุลเป้าหมายในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ
3. วิเคราะห์ผลการศึกษาที่ได้จากข้อ 1 และ 2 เพื่อใช้ในการออกแบบสารประกอบในกลุ่มอนุพันธ์กลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพ-โทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไฮโอฟินที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ

4. สังเคราะห์และพัฒนากระบวนการสังเคราะห์สารประกอบในกลุ่มอนุพันธ์กลุ่มอินเทอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไรโอฟินที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ที่ได้ออกแบบ
5. วิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายชนิดใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี
6. ศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ขึ้นในการฆ่าเซลล์มะเร็งของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายที่มีหมู่แทนที่แตกต่างกัน

### วิธีการดำเนินงาน

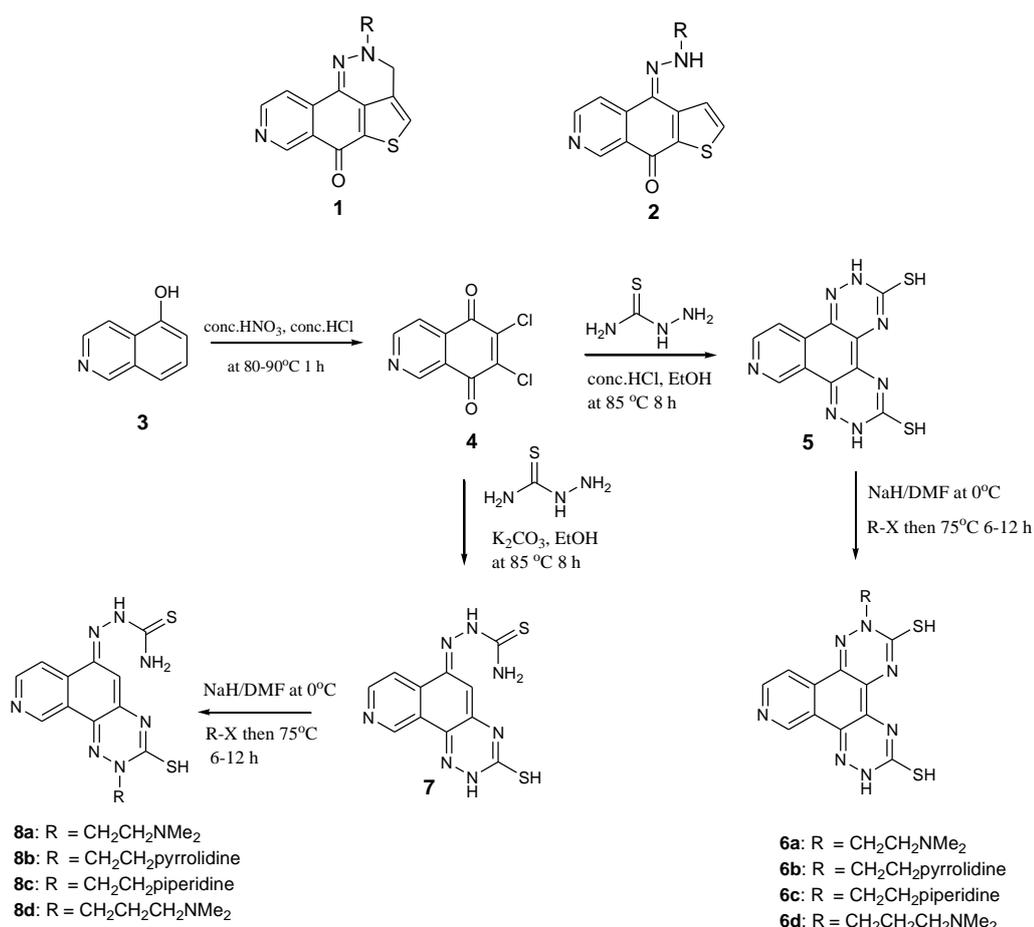
1. การศึกษาการออกแบบโมเลกุลโดยการคำนวณ
  - 1.1 รวบรวมข้อมูลทางโครงสร้างและค่ากัมมันตภาพของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งกลุ่มอินเทอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล จากการสืบค้นเอกสารบนฐานข้อมูลต่าง ๆ
  - 1.2 สร้างโครงสร้างในสามมิติและศึกษาสมบัติของโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายโดย molecular modelling software tools ด้วยโปรแกรม เช่น ALCHEMY 2000 และ HYPERCHEM V6
  - 1.3 ปรับโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของสารในกลุ่มเป้าหมายโดยระเบียบวิธีการคำนวณเคมีควอนตัม ab initio (3-21G) โดยโปรแกรมคำนวณทางเคมีควอนตัมโดยใช้โปรแกรม GAUSSIAN
  - 1.4 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในการยับยั้งของสารในกลุ่มเป้าหมายโดยวิธี Quantitative structure activity relationship (QSAR) โดยจะใช้วิธีการวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบสนามของโมเลกุล (Comparative Molecular Fields Analysis, CoMFA) และวิธีวิเคราะห์เปรียบเทียบดัชนีความเหมือนเชิงโมเลกุล (Comparative Similarity Index Analysis, CoMSIA)
  - 1.5 การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวจับ (receptor) และโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายและหาตำแหน่งการจัดวางตัวของโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายในตัวจับที่มีพลังงานต่ำ และได้หาค่าพลังงานในการจับ (binding energy) ระหว่างโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายและตัวจับ โดยการคำนวณ Molecular Docking และวิธี Molecular dynamic simulations
2. ออกแบบโครงสร้างสารตัวใหม่ของสารในกลุ่มเป้าหมายที่มีประสิทธิภาพสูง
3. การสังเคราะห์สารเป้าหมายกลุ่มอนุพันธ์ azanaphthoquinone annelated thiophene กลุ่มใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงในการออกฤทธิ์ยับยั้ง

ในข้อเสนองานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะสังเคราะห์สารเป้าหมายเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไรโอฟิน หมายเลข 1 และ 2 ดังแสดงในแผนภาพที่ 1 แต่อย่างไรก็ตามเกิดปัญหาในขั้นตอนการปิดวง ปฏิกิริยาไม่เกิดทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมาย 1 และ 2 ได้ ผู้ทำการวิจัยได้

ดัดแปลงขั้นตอนการสังเคราะห์ และในที่สามารถประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไฮเอซีน ไฮโอน หมายเลข 6 และ 8

3.1 การสังเคราะห์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไฮเอซีน ไฮโอน หมายเลข 6 และ 8 การสังเคราะห์เริ่มต้นด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 5-ไฮดรอกซีไอโซควิโนลีน (3) เพื่อให้ได้ 6,7-ไดคลอโรไอโซควิโนลีน-5,8-ไดโอน (4) หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาของสาร 4 กับไฮโอเอมิคาร์บาริไซด์ ในสภาวะกรด ทำให้เกิดปฏิกิริยาการปิดวงได้สารหมายเลข 5 ซึ่งทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชันด้วยสายโซ่ที่แตกต่างกันสี่ชนิด ได้สารเป้าหมายหมายเลข 6 ปฏิกิริยาของสาร 4 กับไฮโอเอมิคาร์บาริไซด์ ในสภาวะเบส ทำให้เกิดปฏิกิริยาการปิดวงได้สารหมายเลข 7 ซึ่งทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชันด้วยสายโซ่ที่แตกต่างกันสี่ชนิด ได้สารเป้าหมายหมายเลข 8 ดังแสดงในแผนภาพที่ 1 ได้โมเลกุลเป้าหมายหมายเลข 6 และ 8 ที่มีสายโซ่ขนาดสองถึงสามคาร์บอน และปลายสายโซ่เป็นหมู่เอมีนแบบวงปิดและแบบวงเปิด เพื่อให้ได้สารโมเลกุลที่มีความหลากหลายเชิงโครงสร้างเพื่อเปรียบเทียบสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

แผนภาพที่ 1



3.2 ศึกษาการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีและวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายในกลุ่มอนุพันธ์ azanaphthoquinone annelated triazine thiones กลุ่มใหม่ที่สังเคราะห์ได้ โดยใช้เครื่องมือ UV-Vis spectrometer, IR spectrometer และ NMR spectrometer

3.3 ศึกษาการออกฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็งของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายในกลุ่มอนุพันธ์ azanaphthoquinone annelated thiophene กลุ่มใหม่ที่สังเคราะห์ได้กับเซลล์มะเร็ง และเซลล์ปกติของมนุษย์ โดยเทียบกับยารักษาโรคมะเร็งที่ใช้ในปัจจุบัน

## บทคัดย่อ

**ชื่อเรื่อง** : การจำลองแบบ การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไรโอพีน

**โดย** : นางสาวนิภาวรรณ พองพรหม และคณะ

**คำสำคัญ** : เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไรโอพีน, สารอินเตอร์คาลาติง, สารต้านมะเร็ง

โครงการวิจัยนี้ศึกษาการการจำลองแบบ การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ของสารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนต่อกับวงไรโอพีน เป็นการพัฒนาต่อจากโครงสร้างพื้นฐานที่เป็นเอซาแนพโทควิโนนต่อกับวงพิวโรล ที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูกได้เป็นอย่างดี โดยศึกษาการจำลองแบบและการออกแบบโมเลกุลเป้าหมายด้วยระเบียบวิธีการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณ (Computer-Aided Molecular Design) บนพื้นฐานของเคมีควอนตัม (Quantum Chemistry) และการจำลองแบบ (Molecular Modelling) เพื่อศึกษาสมบัติทางโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งของสารในกลุ่มนี้ เพื่อให้ได้สารใหม่ที่มีให้ศักยภาพสูงขึ้นในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ ดีเอ็นเอและลดผลข้างเคียงที่มีต่อเซลล์ อย่างไรก็ตามในกระบวนการสังเคราะห์โครงสร้างหลักที่ต่อกับวงไรโอพีนไม่ประสบความสำเร็จ จึงเปลี่ยนแผนการสังเคราะห์เป็นโครงสร้างหลักที่ต่อกับวงไตรเอซีน ไรโอเนแทน โดยกระบวนการสังเคราะห์เริ่มต้นจากการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 5-ไฮดรอกซีไอโซควิโนลีน (3) กับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ที่มีกรดไนตริกเข้มข้นเป็นตัวออกซิไดซ์ ที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าได้ผลิตภัณฑ์ คือ 6,7-ไดคลอโรไอโซควิโนลีน-5,8-ไดโอน (4) ลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง จากนั้นทำปฏิกิริยาการปิดวงด้วยไฮโอเซมิคาร์บาไซด์ โดยมีกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและตัวทำละลายเป็นเอทานอล ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าเกิดการควบแน่นเข้าที่ตำแหน่งคาร์บอนิลทั้งสองตำแหน่ง ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารหมายเลข 5 ลักษณะเป็นของแข็งสีขาวอมน้ำตาล หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชันกับสายโซ่ที่มีความยาวสองและสามคาร์บอนโดยมีปลายสายโซ่เป็นหมู่เอมีน พบว่าได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารหมายเลข 6 ลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองส้ม ปฏิกิริยาการปิดวงด้วยไฮโอเซมิคาร์บาไซด์ โดยมีเบสโปแทสเซียมคาร์บอเนตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและตัวทำละลายเป็นเอทานอล พบว่าเกิดการควบแน่นเข้าที่ตำแหน่งคาร์บอนิลทั้งสองตำแหน่ง ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารหมายเลข 7 หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชันกับสายโซ่ที่มีความยาวสองและสามคาร์บอนโดยมีปลายสายโซ่เป็นหมู่เอมีน พบว่าได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารหมายเลข 8 ลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองส้ม สารทั้งหมดออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งในระดับปานกลางถึงดี

## ABSTRACT

**TITLE :** Molecular modeling, design, synthesis and biological evaluation of azanaphthoquinone annelated thiophene derivatives as cytostatic compounds

**RESEARCHER** Asst. Prof. Dr. Nipawan Pongprom

**KEYWORDS:** azanaphthoquinone annelated triazine thione, intercalating agents, anticancer compounds

In this work, we study molecular modeling, design, synthesis and biological evaluation of azanaphthoquinone annelated thiophene derivatives as cytostatic compounds. This is the continuous work after we have succeeded synthesizing azanaphthoquinone annelated pyrroles which exhibited remarkable inhibition on cervical carcinoma (HeLa cell). Molecular design was performed by using computer-aided molecular design on the basis of quantum chemistry. Molecular modelling was carried out to study quantitative structure activity relationship in order to obtain the potential target molecules. However, we was not successful building up the core structure with thiophene ring. Therefore, we synthesized azanaphthoquinone annelated triazine thione derivatives instead. The synthetic pathway was using 5-hydroxyisoquinoline (**3**) as a precursor which underwent oxidation reaction with hydrochloric acid using nitric acid as oxidize at 80-90°C for 1 hour to obtain 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (**4**) as yellow solid. In the next step, cyclization reaction under acid conditions by using 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione reacted with thiosemicarbazide. Ethanol was used as solvent and hydrochloric acid as catalyst at 85 °C for 5 hours. We obtained condensed products of thiosemicarbazide at both carbonyl carbons, compound **5** as green brown solid. Finally, alkylation reaction with two- and three-carbon side chains ending with amino group to furnish target molecules **6**. Cyclization reaction of compound **4** under basic conditions by using potassium carbonate as catalyst gave condensed product with both carbonyl carbons, compound **7**. Finally, alkylation reaction with two- and three-carbon side chains ending with amino group to furnish target molecules **8**. The synthesized compounds were evaluated on antiproliferative activity with colon cancer cell and human normal cell. They showed moderate to high antiproliferative activity.

## สารบัญ

| เรื่อง  | หน้า      |
|---|-----------|
| กิตติกรรมประกาศ   | III       |
| บทสรุปผู้บริหาร   | IV        |
| บทคัดย่อภาษาไทย   | IX        |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ  | X         |
| สารบัญเรื่อง  | 1         |
| สารบัญตาราง   | 4         |
| สารบัญภาพ   | 5         |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ   | 8         |
| <b>บทที่ 1 บทนำ</b>   | <b>9</b>  |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย  | 9         |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย   | 10        |
| 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย   | 10        |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ   | 12        |
| <b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>  | <b>14</b> |
| 2.1 โรคมะเร็ง   | 14        |
| 2.2 สาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง   | 15        |
| 2.3 ชนิดของโรคมะเร็ง  | 16        |
| 2.4 กระบวนการเกิดโรคมะเร็ง  | 17        |
| 2.5 การรักษาโรคมะเร็ง   | 21        |
| 2.6 การพัฒนายาในกลุ่มสารอินเทอร์คาเลติง   | 23        |
| 2.7 การจำลองแบบโมเลกุล (Molecular Modelling) และเคมีคอมพิวเตอร์ (Computational chemistry) | 29        |
| 2.7.1 วิธีการคำนวณทางกลศาสตร์ควอนตัม (Quantum Mechanics Calculation)                      | 29        |
| 2.7.2 วิธีจำลองกลศาสตร์เชิงโมเลกุล (Molecular Mechanics Modeling)                         | 30        |
| 2.7.3 วิธีจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ (Computer simulation)                                      | 31        |
| 2.7.4 วิธีการคำนวณโมเลกุลาร์ดีocking (Molecular Docking)                                  | 32        |
| 2.7.5 การจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุล (MD Simulations)                                       | 33        |
| 2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง   | 34        |

## สารบัญ

|   |    |
|---|----|
| <b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>  | 42 |
| 3.1 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้ง (QSAR) และการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (MD Simulations)      | 42 |
| 3.1.1 ข้อมูลทางชีวภาพ   | 42 |
| 3.1.2 ขั้นตอนในการศึกษา   | 46 |
| 3.1.3 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งแบบ 2D-QSAR   | 47 |
| 3.2 การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น<br>เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล               | 51 |
| 3.2.1 วิธีการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น<br>เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไรโอฟิน        | 53 |
| 1. การสังเคราะห์ <i>isoquinoline-5,8-dione</i> (40)   | 53 |
| 2. การสังเคราะห์ 7-mercaptoisoquinoline-5,8-dione (41)  | 53 |
| 3.2.2 วิธีการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น<br>เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไตรเอซีน ไรโอน | 54 |
| 1. การสังเคราะห์สาร 6,7-dichloro-5,8-isoquinolinedione (4)  | 54 |
| 2. การสังเคราะห์ <i>2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione</i> (42)<br>ในสภาวะเบส                                       | 55 |
| 3. การสังเคราะห์ <i>2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione</i> (42)<br>ในสภาวะกรด                                       | 55 |
| 4. ปฏิกิริยาการปิดวงกับไฮโอเคมีคาร์บาไซดีนในสภาวะกรด  | 56 |
| 5. ทำการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมาย 6a-d  | 56 |
| 6. ปฏิกิริยาการปิดวงกับไฮโอเคมีคาร์บาไซดีนในสภาวะเบส  | 57 |
| 7. ทำการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมาย 8a-d  | 58 |
| 8. การทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง  | 59 |

## สารบัญ

|  |     |
|--|-----|
| บทที่ 4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง   | 60  |
| 4.1 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งด้วย<br>ระเบียบวิธี CoMFA และ CoMSIA                                     | 60  |
| 4.2 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของสารอนุพันธ์เอซาแนพโควิโดนที่ต่ออยู่กับ<br>วงพิวโรลใน DNA  | 62  |
| 4.3 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งแบบ<br>2D-OSAR   | 65  |
| 4.4 การพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้ง<br>การพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้ง | 66  |
| 4.5 เสนอแนะในการออกแบบโมเลกุลของสารให้ออกฤทธิ์ทางยา  | 68  |
| 4.6 การสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายที่ได้รับการออกแบบ   | 70  |
| 4.6.1 การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอ<br>ซาแนพโควิโดนที่ต่ออยู่กับวงไพโรล                              | 70  |
| 4.6.2 การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอ<br>ซาแนพโควิโดนที่ต่ออยู่กับวงไตรเอซีน ไฮโอเน                    | 71  |
| 4.6.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ขึ้น  | 89  |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ  | 95  |
| เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย   | 98  |
| ภาคผนวก  | 102 |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ |  | หน้า |
|----------|--|------|
| 2.1      | ผลการทดลองความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสาร <b>21</b> และ <b>23</b>  | 36   |
| 2.2      | ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร <b>24</b> และสาร <b>25</b>  | 36   |
| 3.1      | โครงสร้างและค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล   | 42   |
| 3.2      | โครงสร้างของสารอนุพันธ์กลุ่มเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งแบบ 2D-QSAR | 48   |
| 3.3      | สารเคมีและตัวทำละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์ออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไฮเอซีน ไฮโอโน    | 52   |
| 3.4      | สารเคมีและตัวทำละลายที่ใช้ในการทดสอบ Cell proliferation  | 53   |
| 4.1      | แบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA ที่ใช้ในการศึกษา   | 60   |
| 4.2      | ค่าพลังงานของระบบซึ่งได้จากการคำนวณด้วยระเบียบวิธี MM-PBSA   | 63   |
| 4.3      | สถานะที่ใช้และเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ในการสังเคราะห์สารหมายเลข <b>4</b>   | 71   |
| 4.4      | การแปลผลจาก $^1\text{H-NMR}$ Spectrum ของสารหมายเลข <b>4</b>   | 73   |
| 4.5      | การแปลผลจาก $^{13}\text{C-NMR}$ Spectrum ของสารหมายเลข <b>4</b>  | 74   |
| 4.6      | การแปลผลจาก IR Spectrum ของสารหมายเลข <b>4</b>   | 75   |
| 4.7      | สถานะของปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione ในสถานะเบส   | 76   |
| 4.8      | การแปลผลจาก $^1\text{H-NMR}$ Spectrum ของสารหมายเลข <b>43</b>  | 78   |
| 4.9      | การแปลผลจาก $^{13}\text{C-NMR}$ Spectrum ของสารหมายเลข <b>43</b> ใน $\text{CD}_3\text{OD}$   | 80   |
| 4.10     | การแปลผลจาก IR spectrum ของสารหมายเลข <b>43</b>  | 81   |
| 4.11     | สถานะของการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์สารหมายเลข <b>5</b> ในสถานะกรด  | 82   |
| 4.12     | การแปลผลจาก $^1\text{H-NMR}$ Spectrum ของสารหมายเลข <b>5</b>   | 84   |
| 4.13     | การแปลผลจาก $^{13}\text{C-NMR}$ Spectrum ของสารหมายเลข <b>5</b>  | 85   |
| 4.14     | การแปลผลจาก IR Spectrum ของสารหมายเลข <b>5</b>   | 86   |
| 4.15     | การแปลผลจาก $^1\text{H-NMR}$ Spectrum ของสารหมายเลข <b>6b</b>  | 88   |
| 4.16     | ค่าการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ HT-29 ของสารทดสอบ 12 ชนิด  | 91   |

## สารบัญญภาพ

| รูปที่ |  | หน้า |
|--------|--|------|
| 2.1    | มะเร็งและการแบ่งเซลล์ของมะเร็ง   | 14   |
| 2.2    | มะเร็งที่มาจากเซลล์ผลิตเม็ดสี  | 17   |
| 2.3    | วงจรเซลล์ (Cell cycle) ของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง   | 18   |
| 2.4    | จุดตรวจ (Check point) ในกระบวนการแบ่งเซลล์   | 19   |
| 2.5    | การกระตุ้นกระบวนการ Apoptosis  | 20   |
| 2.6    | โครงสร้างของ Hematoporphyrin   | 22   |
| 2.7    | ยาในกลุ่มสารอัลคิลเลตติ้งที่ได้รับการพัฒนาในปัจจุบัน   | 24   |
| 2.8    | การแทรกสอดของยาเข้าวางขวางอยู่ระหว่างคู่เบสของสายดีเอ็นเอ  | 24   |
| 2.9    | ยาในกลุ่ม Anthracyclines   | 25   |
| 2.10   | การทำงานของเอนไซม์ Topo II ในกระบวนการถอดแบบของดีเอ็นเอ  | 26   |
| 2.11   | โครงสร้างของยาในกลุ่มแอนทราซีน   | 27   |
| 2.12   | โครงสร้างของยาในกลุ่มแอนทราไพราโซลและเอซา-แอนทราไพราโซล  | 28   |
| 2.13   | การคำนวณ QM/MM ของสารยับยั้งโรคมะเร็ง  | 30   |
| 2.14   | การศึกษากลศาสตร์เชิงโมเลกุลของสารยับยั้งโรคมะเร็งในกลุ่มเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล     | 31   |
| 2.15   | การศึกษาระบบยาที่แทรกเข้าไปในดีเอ็นเอด้วยวิธีจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ (Computer simulation)          | 32   |
| 2.16   | ตัวอย่างการคำนวณโมเลกุลาร์ไดอกกิ่ง   | 33   |
| 2.17   | ผลของการจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation)                                | 34   |
| 2.18   | โครงสร้างของสารเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล  | 35   |
| 2.19   | ยาที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Topo II  | 37   |
| 2.20   | โครงสร้างโมเลกุลของ Pixantrone (BBR 2778)  | 37   |
| 2.21   | โครงสร้างของสารที่เป็นอนุพันธ์ของ Anthrapyrazoles ที่ได้มาจากสาร Emodin                          | 38   |
| 2.22   | โครงสร้างของสารอนุพันธ์ที่เป็นออกซิมของเอซาแนพโทควิโนน   | 38   |
| 2.23   | โครงสร้างของ Indolinzoquinoline-5,12-dione derivatives (IQDs)                                    | 39   |
| 2.24   | โครงสร้างของสารอนุพันธ์ Pentacyclic  | 39   |
| 2.25   | โครงสร้างของสารอนุพันธ์ Mitoxantrone   | 39   |
| 2.26   | โครงสร้างของสาร Heterocyclic quinone ที่ประกอบด้วยไนโตรเจน                                       | 40   |
| 2.27   | โครงสร้างของสาร 1-hydroxybenz[ <i>g</i> ]isoquinoline-5,10-diones ที่มีหมู่แทนที่ใน ตำแหน่งที่ 3 | 40   |

## สารบัญภาพ

|      |  |    |
|------|--|----|
| 2.28 | โครงสร้าง Anti-tumoral diaza-anthraquinones <b>36</b> และ <b>37</b> ซึ่งเตรียมจาก <b>38</b>  | 41 |
| 2.29 | เจอนอร์เรซิ่นที่สองของ Isoxazolidinyl polycyclic aromatic hydrocarbons   | 41 |
| 4.1  | แบบจำลอง Pharmacophore   | 60 |
| 4.2  | ค่ากัมมันตภาพจากการทดลองและการทำนายจากแบบจำลอง CoMFA (a) และ CoMSIA (b)  | 61 |
| 4.3  | แผนภาพคอนทัวร์ CoMSIA  | 62 |
| 4.4  | ค่า RMSD ของสารหมายเลข <b>7</b> (a), <b>11</b> (b), <b>12</b> (c) , <b>15</b> (d) และ <b>22</b> (e)                                    | 62 |
| 4.5  | โครงสร้างการจับกันของสารอนุพันธ์ Azanaphthoquinone หมายเลข <b>12</b> ที่จับกับ DNA โดยระเบียบวิธี MD Simulations                       | 64 |
| 4.6  | โครงสร้างการจับกันของสารอนุพันธ์ Azanaphthoquinone หมายเลข <b>11</b> (a) และ <b>12</b> (b) ที่จับกับ DNA โดยระเบียบวิธี MD Simulations | 64 |
| 4.7  | โครงสร้างการจับกันของสารอนุพันธ์ Azanaphthoquinone หมายเลข <b>7</b> (a) และ <b>22</b> (b) ที่จับกับ DNA โดยระเบียบวิธี MD Simulations  | 65 |
| 4.8  | กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากการทดลองกับที่ได้จากการคำนวณ  | 68 |
| 4.9  | กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione ( <b>4</b> )  | 72 |
| 4.10 | <sup>1</sup> H-NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข <b>4</b>  | 73 |
| 4.11 | <sup>13</sup> C-NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณคาร์บอนของสารหมายเลข <b>4</b>  | 74 |
| 4.12 | IR Spectrum ของสารหมายเลข <b>4</b>   | 75 |
| 4.13 | สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione ( <b>42</b> ) และผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ <b>43</b>          | 76 |
| 4.14 | กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารหมายเลข <b>43</b>  | 77 |
| 4.15 | <sup>1</sup> H-NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข <b>43</b> ใน CDCl <sub>3</sub>  | 78 |
| 4.16 | <sup>13</sup> C-NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณคาร์บอนของสารหมายเลข <b>43</b> ใน CDCl <sub>3</sub>                                      | 79 |
| 4.17 | <sup>13</sup> C-NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณคาร์บอนของสารหมายเลข <b>43</b> ใน CD <sub>3</sub> OD                                     | 79 |
| 4.18 | IR Spectrum ของสารหมายเลข <b>43</b>  | 80 |
| 4.19 | สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione ( <b>42</b> ) ในสภาวะกรด                                      | 81 |

## สารบัญภาพ

|      |  |    |
|------|--|----|
| 4.20 | สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารหมายเลข 5 ในสภาวะกรด   | 82 |
| 4.21 | กลไกการเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นของสารผลิตภัณฑ์ 5 ที่สังเคราะห์ได้   | 83 |
| 4.22 | <sup>1</sup> H-NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข 5 ใน CD <sub>3</sub> OD                               | 84 |
| 4.23 | <sup>13</sup> C-NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข 5 ใน CD <sub>3</sub> OD                              | 85 |
| 4.24 | IR Spectrum ของสารหมายเลข 5  | 86 |
| 4.25 | สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารหมายเลข 6b   | 87 |
| 4.26 | กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารหมายเลข 6b ผ่านกลไกแบบ S <sub>N</sub> 2  | 87 |
| 4.27 | <sup>1</sup> H-NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข 6b  | 88 |
| 4.28 | สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารหมายเลข 8 ในสภาวะเบส   | 89 |
| 4.29 | ลักษณะของเซลล์มะเร็งลำไส้ HT-29 ที่ไม่ได้หยุดสาร และที่ทดสอบกับสาร NP11, NP12, NP16, NP18 และยามาตรฐาน Doxorubicin HCl | 90 |
| 4.30 | ลักษณะของเซลล์มะเร็งลำไส้ HT-29 ก่อนการทดสอบกับสารสังเคราะห์   | 91 |
| 5.1  | กระบวนการสังเคราะห์สารโมเลกุลเป้าหมายหมายเลข 6 และ 8   | 96 |

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

| คำย่อ               | คำเต็ม                                    |
|---------------------|---|
| $^1\text{H-NMR}$    | Proton Nuclear Magnetic Resonance         |
| $^{13}\text{C-NMR}$ | Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance      |
| IR                  | Infrared                                  |
| TLC                 | Thin Layer Chromatography                 |
| s                   | Singlet (for NMR Spectral data)           |
| d                   | Doublet (for NMR Spectral data)           |
| dd                  | Double of doublet (for NMR Spectral data) |
| br s                | Broad singlet (for NMR Spectral data)     |
| m                   | Multiplet (for NMR Spectral data)         |
| $J$                 | Coupling constant                         |
| Hz                  | Hertz                                     |
| $^{\circ}\text{C}$  | Degree Celsius                            |
| g                   | Gram                                      |
| ppm                 | Part per million                          |
| ml                  | Millimeter                                |
| mmol                | Millimol                                  |
| $\nu_{\text{max}}$  | Wave number at maximum absorption         |
| $\delta$            | Chemical Shift                            |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

โรคมะเร็งเป็นปัญหาทางสุขภาพที่สำคัญของมนุษยชาติ จึงทำให้มีกลุ่มงานวิจัยมากมายที่ทำการศึกษาค้นคว้าเทคนิคและยาที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง ยาเคมีบำบัด คือยาที่ออกฤทธิ์ในช่วงเวลาที่เซลล์แตกตัวแล้วมีผลทำให้เซลล์ตายลง เซลล์มะเร็งมีลักษณะที่สามารถแตกตัวและเพิ่มจำนวนได้อย่างมากภายในระยะเวลาอันสั้นจึงนำเอาคุณลักษณะนี้มาใช้ในการฆ่าเซลล์มะเร็ง และทำให้เนื้องอกหดตัว แต่ในร่างกายของเราไม่ได้มีเซลล์มะเร็งที่แตกตัวและเพิ่มจำนวนเท่านั้น ยังมีเซลล์อื่นๆ ที่แตกตัวและผลัดเปลี่ยนเซลล์ตลอดเวลา เช่น เซลล์ผนังกระเพาะและลำไส้ เซลล์รากผมและเซลล์เม็ดเลือดขาว ดังนั้นเมื่อใช้ยาเคมีบำบัดจะทำให้เกิดผลข้างเคียงอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้เช่น ผมร่วง กระเพาะ และลำไส้ไม่ดี เพื่อบำรุงอาหาร ภูมิคุ้มกันทานลดลงทำให้ติดเชื้อได้ง่าย เป็นต้น ซึ่งผลเหล่านี้เกิดจากการที่ยาเคมีออกฤทธิ์ต่อเซลล์ปกติของร่างกายนั่นเอง ด้วยเหตุนี้จึงมีความพยายามอย่างไม่หยุดยั้งในการค้นคว้าวิจัยเพื่อให้ได้ยาตัวใหม่หรือปรับเปลี่ยนยาตัวเดิม มีกลุ่มวิจัยมากมายที่มุ่งสังเคราะห์สารที่สามารถยับยั้งการสร้างเซลล์มะเร็งโดยการขัดขวางการสังเคราะห์และถอดแบบดีเอ็นเอ ในกระบวนการแบ่งเซลล์ สารกลุ่มหนึ่งที่ได้รับการสนใจอย่างมากและมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องคือ สารในกลุ่มอินเตอร์แคลาติง (intercalating agents) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยวงอะโรเมติกต่อกันสามถึงสี่วง ดังนั้นโมเลกุลชนิดนี้จึงมีรูปร่างเป็นแบบแบนราบ และยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์โดยการแทรกสอดเข้าไปวางขวางอยู่ระหว่างคู่เบสของดีเอ็นเอ ในแนวตั้งฉากกับสายดีเอ็นเอ หลังจากการแทรกสอดจะเกิดอันตรกิริยาด้วยพันธะไฮโดรเจนหรือแรงแรงแตรวาล กับดีเอ็นเอ และส่งผลให้สายดีเอ็นเอ มีความกว้างมากกว่าปกติ ซึ่งส่งผลให้การถอดแบบดีเอ็นเอ ล้มเหลวและยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งในที่สุด เพื่อให้ได้ยารักษาโรคมะเร็งที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อเซลล์มะเร็ง และมีผลข้างเคียงต่ำ

งานวิจัยนี้โดยมุ่งที่จะสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพ-โทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไรโอฟิน ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มอินเตอร์แคลาติง (intercalating agents) เพื่อให้ได้โมเลกุลเป้าหมายชนิดใหม่ที่มีความแบนราบมากขึ้นเพื่อให้สามารถแทรกสอดเข้าไปในสายดีเอ็นเอได้ดีขึ้น จะส่งผลให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็งได้ดีขึ้นและมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยน้อยลง จากการสืบค้นข้อมูลของงานวิจัยที่ผ่านมาการศึกษาวิจัยสมบัติทางโครงสร้างของโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งในกลุ่มนี้ทางด้านโครงสร้างทางอิเล็กทรอนิกส์ยังมีไม่มากนัก จึงทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะเริ่มจากการใช้ระเบียบวิธีการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณ (Computer-Aided Molecular Design) บนพื้นฐานของเคมีควอนตัม (Quantum Chemistry) และ การจำลองแบบ (Molecular Modelling) เพื่อศึกษาสมบัติทางโครงสร้างของสารออก

ฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งของสารในกลุ่มนี้ โดยคาดหวังว่าผลของการศึกษาสมบัติของโมเลกุลของตัวยับยั้งในระดับโครงสร้างของอิเล็กทรอนิกส์และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งของโมเลกุลตัวยับยั้งซึ่งจะเป็นหนทางสำคัญที่ให้ข้อมูลพื้นฐานที่จะให้เกิดความเข้าใจและสามารถอธิบายอันตรกิริยาสำคัญของโมเลกุลของตัวยับยั้งที่มีผลต่อการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ รวมทั้งได้แนวทางในการออกแบบโครงสร้าง (molecular design) ของสารใหม่ที่มีให้มีความสูงขั้นในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ ดีเอ็นเอและลดผลข้างเคียงที่มีต่อเซลล์ จากนั้นในขั้นตอนต่อมาทำการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่ออกแบบขึ้นมาใหม่และศึกษาการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ขึ้น

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาสมบัติทางโครงสร้างทางอิเล็กทรอนิกส์และสมบัติของโมเลกุลของยารักษาโรคมะเร็งในกลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนน โดยการใช้ระเบียบวิธีการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณ
2. สร้างความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและกัมมันตภาพในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของสารอนุพันธ์ในกลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนน โดยใช้ระเบียบวิธี Ligand-based drug design และ Structure-based drug design เพื่อหาโครงสร้างสำคัญของโมเลกุลเป้าหมายในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ
3. วิเคราะห์ผลการศึกษาที่ได้จากข้อ 1 และ 2 เพื่อใช้ในการออกแบบสารประกอบในกลุ่มอนุพันธ์กลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไทโอพีนที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ
4. สังเคราะห์และพัฒนากระบวนการสังเคราะห์สารประกอบในกลุ่มอนุพันธ์กลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไทโอพีนที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ที่ได้ออกแบบ
5. วิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายชนิดใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี
6. ศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ขึ้นในการฆ่าเซลล์มะเร็งของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายที่มีหมู่แทนที่แตกต่างกัน

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1. การศึกษาการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณ

1.1 รวบรวมข้อมูลทางโครงสร้างและค่ากัมมันตภาพของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งกลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล จากการสืบค้นเอกสารบนฐานข้อมูลต่าง ๆ

1.2 สร้างโครงสร้างในสามมิติและศึกษาสมบัติของโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายโดย molecular modelling software tools ด้วยโปรแกรม เช่น ALCHEMY 2000 และ HYPERCHEM V6

1.3 ปรับโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของสารในกลุ่มเป้าหมายโดยระเบียบวิธีการคำนวณเคมีควอนตัม ab initio (3-21G) โดยโปรแกรมคำนวณทางเคมีควอนตัมโดยใช้โปรแกรม GAUSSIAN

1.4 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในการยับยั้งของสารในกลุ่มเป้าหมายโดยวิธี Quantitative structure activity relationship (QSAR) โดยจะใช้วิธีการวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบสนามของโมเลกุล (Comparative Molecular Fields Analysis, CoMFA) และวิธีวิเคราะห์เปรียบเทียบดัชนีความเหมือนเชิงโมเลกุล (Comparative Similarity Index Analysis, CoMSIA)

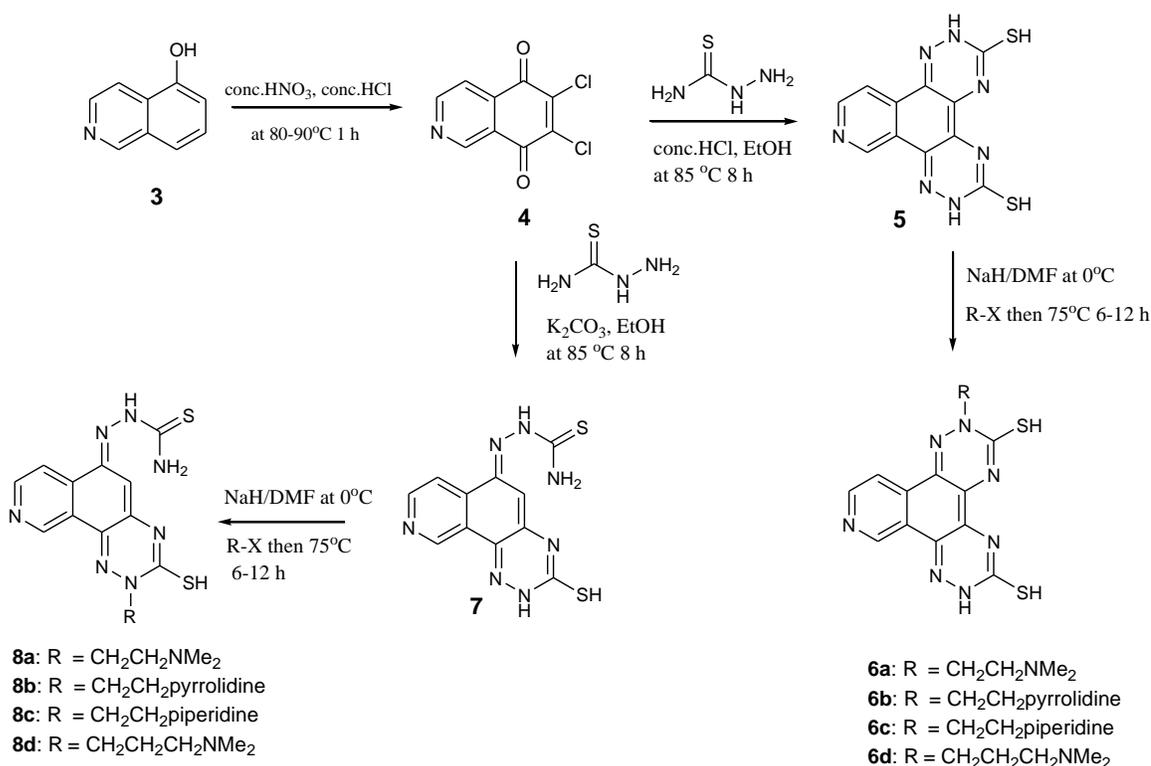
1.5 การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวจับ (receptor) และโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายและหาตำแหน่งการจัดวางตัวของโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายในตัวจับที่มีพลังงานต่ำ และได้หาค่าพลังงานในการจับ (binding energy) ระหว่างโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายและตัวจับ โดยการคำนวณ Molecular Docking และวิธี Molecular dynamic simulations

2. ออกแบบโครงสร้างสารตัวใหม่ของสารในกลุ่มเป้าหมายที่มีประสิทธิภาพสูง

3. การสังเคราะห์สารเป้าหมายกลุ่มอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไตรเอซีน ไธโอน (azanaphthoquinone annelated triiazine thiones) กลุ่มใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงในการออกฤทธิ์ยับยั้ง

3.1 การสังเคราะห์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไตรเอซีน ไธโอน หมายเลข 6 และ 8 การสังเคราะห์เริ่มต้นด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 5-ไฮดรอกซีไอโซควิโนลีน (3) เพื่อให้ได้ 6,7-ไดคลอโรไอโซควิโนลีน-5,8-ไดโอน (4) หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาของสาร 4 กับไฮโอเซมิดาร์บาร์ไซด์ ในสภาวะกรด ทำให้เกิดปฏิกิริยาการปิดวงได้สารหมายเลข 5 ซึ่งทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชันด้วยสายโซ่ที่แตกต่างกันสี่ชนิด ได้สารเป้าหมายหมายเลข 6 ปฏิกิริยาของสาร 4 กับไฮโอเซมิดาร์บาร์ไซด์ ในสภาวะเบส ทำให้เกิดปฏิกิริยาการปิดวงได้สารหมายเลข 7 ซึ่งทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชันด้วยสายโซ่ที่แตกต่างกันสี่ชนิด ได้สารเป้าหมายหมายเลข 8 ดังแสดงในแผนภาพที่ 1 ได้โมเลกุลเป้าหมายหมายเลข 6 และ 8 ที่มีสายโซ่ขนาดสองถึงสามคาร์บอน และปลายสายโซ่เป็นหมู่เอมีนแบบวงปิดและแบบวงเปิด เพื่อให้ได้สารโมเลกุลที่มีความหลากหลายเชิงโครงสร้างเพื่อเปรียบเทียบสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

## แผนภาพที่ 1



3.2 ศึกษาการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีและวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายในกลุ่มอนุพันธ์ azanaphthoquinone annelated thiophene กลุ่มใหม่ที่สังเคราะห์ได้ โดยใช้เครื่องมือ UV-Vis spectrometer, IR spectrometer และ NMR spectrometer

3.3 ศึกษาการออกฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็งของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายในกลุ่มอนุพันธ์ azanaphthoquinone annelated thiophene กลุ่มใหม่ที่สังเคราะห์ได้

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษาในโครงการวิจัยนี้ เป็นการฝึกปฏิบัติการที่ผู้วิจัยต้องวางแผนการทดลอง ดำเนินการทดลอง แก้ปัญหาและสรุปผลการทดลองด้วยตนเอง หากการศึกษาเป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ ผู้วิจัยจะได้รับประโยชน์ดังต่อไปนี้

1. เข้าใจสมบัติทางโครงสร้างทางอิเล็กทรอนิกส์และสมบัติของโมเลกุลของยารักษาโรคมะเร็งในกลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนน โดยการใช้ระเบียบวิธีการออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณ

2. ทราบถึงสร้างความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและกัมมันตภาพในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของสารอนุพันธ์ในกลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอ

ซาแนพโทควิโนน โดยใช้ระเบียบวิธี Ligand-based drug design และ Structure-based drug design เพื่อหาโครงสร้างสำคัญของโมเลกุลเป้าหมายในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ

3. สามารถวิเคราะห์ผลการศึกษาที่ได้จากข้อ 1 และ 2 เพื่อใช้ในการออกแบบสารประกอบในกลุ่มอนุพันธ์กลุ่มอินเตอร์แคลลาติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนน ที่ต่ออยู่กับวงไทโอพีนที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ

4. ผู้วิจัยมีความรู้และทักษะในการสังเคราะห์สารอินทรีย์

5. ผู้วิจัยมีความรู้และความเข้าใจในกลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารอินทรีย์

6. ผู้วิจัยมีทักษะในการใช้เทคนิคทางโครมาโตกราฟีเพื่อแยกสารอินทรีย์

7. ผู้วิจัยมีความรู้ ความเข้าใจและทักษะในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารอินทรีย์โดย

อาศัยเทคนิคทาง  $^1\text{H-NMR Spectroscopy}$ ,  $^{13}\text{C-NMR Spectroscopy}$ , UV-vis Spectroscopy, IR-Spectroscopy และ Mass Spectrometry

8. ผู้วิจัยมีทักษะเบื้องต้นในการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารที่สังเคราะห์ขึ้น

9. ได้สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ซึ่งสามารถปรับปรุงและพัฒนาให้ได้ยารักษาโรคมะเร็งชนิดใหม่ต่อไป

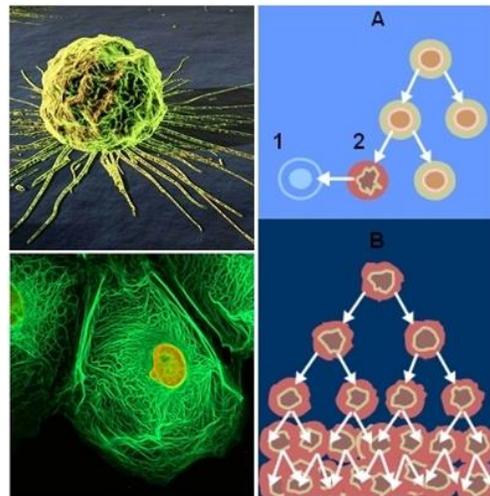
10. สามารถนำผลการวิจัยไปเผยแพร่โดยการนำเสนอในการประชุมวิชาการ และการตีพิมพ์ในเอกสารประกอบการประชุม ในวารสารระดับชาติและนานาชาติต่อไป

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 โรคมะเร็ง

มะเร็ง คือกลุ่มของโรคที่เกิดเนื่องจากเซลล์ของร่างกายมีความผิดปกติที่ ดีเอ็นเอ หรือสารพันธุกรรม ส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโต มีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วมากกว่าปกติ [4] ดังนั้นจึงอาจทำให้เกิดก้อนเนื้อผิดปกติ และในที่สุดก็จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ในก้อนเนื้อนั้น เนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยง ถ้าเซลล์พวกนี้เกิดอยู่ในอวัยวะใดก็จะเรียกชื่อมะเร็งตามอวัยวะนั้น เช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งผิวหนัง มะเร็งและการแบ่งเซลล์ของมะเร็งแสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 มะเร็งและการแบ่งเซลล์ของมะเร็ง

## 2.2 สาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง [5]

### 2.2.1 เหตุส่งเสริมหรือที่ขึ้นอยู่กับภาวะภายในร่างกาย

1. ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายของแต่ละบุคคล ซึ่งในแต่ละบุคคลจะมีมากน้อยแตกต่างกัน โดยปกติเซลล์มะเร็งสามารถจะสร้างสารต่างๆ ออกมาในรูปของโปรตีนและโพลีเปปไทด์ (polypeptides) หลายๆ ชนิด ซึ่งจะพบได้ที่พื้นผิวหรือผนังของเซลล์มะเร็ง เรียกว่า ทูเมอร์แอสโซซิเอตแอนติเจน (Tumour Associated Antigen, TAA) หรือทูเมอร์สเปซิฟิกรานสแพลนเตชันแอนติเจน (Tumour Specific Transplantation Antigen, TSTA) ตามปกติร่างกายของคนเราสามารถจะรับรู้แอนติเจนชนิดนี้ จึงสามารถสร้างภูมิคุ้มกัน หรือแอนติบอดีที่จะมาต้านแอนติเจนนี้ได้ ถ้าร่างกายไม่สามารถค้นพบ หรือไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต้านแอนติเจนนี้ได้ ก็จะเกิดเซลล์มะเร็งขึ้น

2. เชื้อชาติ ทุกชนชาติเป็นมะเร็งได้เหมือนกัน แต่มะเร็งบางชนิดจะพบมากเฉพาะบางเชื้อชาติ เช่น ชาวญี่ปุ่นเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารมาก ส่วนมะเร็งโพรงจมูกพบมากในชาวจีน เป็นต้น

3. เพศ มะเร็งบางชนิดจะพบมากในเพศชาย เช่น มะเร็งปอด มะเร็งกล่องเสียง มะเร็งตับ แต่มะเร็งบางชนิดจะพบมากในเพศหญิง เช่น มะเร็งของช่องปาก มะเร็งผิวหนัง เป็นต้น และมะเร็งบางชนิดก็จะพบได้เท่าๆ กันทั้งสองเพศ

4. อายุ มะเร็งบางชนิดพบมากในคนอายุน้อย เช่น มะเร็งของเนื้อเยื่อที่เรียกว่า ซาร์โคมา (Sarcoma) ในขณะที่มะเร็งของเยื่อที่เรียกว่า คาร์ซิโนมา (Carcinoma) จะพบมากในคนอายุมากและมะเร็งบางชนิดพบเฉพาะในเด็กเท่านั้น เช่น มะเร็งของลูกตาชนิดเรติโนบลาสโตมา (Retinoblastoma) มะเร็งของไตแบบวิลล์ม (Wilm's tumour) เป็นต้น

5. กรรมพันธุ์ (Genetics) มีมะเร็งหลายชนิดที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับกรรมพันธุ์ในสายเลือดเดียวกัน เช่น มะเร็งของมดลูก มะเร็งเต้านม มะเร็งลูกตาชนิดเรติโนบลาสโตมา ถ้ามีผู้หนึ่งผู้ใดเป็นมะเร็งเหล่านี้แล้ว พี่น้องหรือลูกหลานก็จะมีโอกาสเป็นมะเร็งนั้นๆ ได้มากขึ้น

6. ความผิดปกติต่างๆ เช่น ในกรณีที่เป็นไฟ หรือปานดำมีโอกาสกลายเป็นมะเร็งผิวหนังเมลาโนมาชนิดร้าย (Malignant melanoma) หรือเนื้องอกชนิดธรรมดาที่อาจจะกลายเป็นมะเร็งได้

### 2.2.2 เหตุส่งเสริมที่อยู่ภายนอกร่างกาย

1. สารกายภาพต่างๆ (Physical agents) ส่วนใหญ่เกิดจากการระคายเคืองหรือรัง เช่น ผู้ที่มีฟันเกเวลาเคี้ยวอาหารฟันจะไปครูดกับเยื่อภายในช่องปาก เช่น บริเวณกระพุ้งแก้ม หรือลิ้นนานๆไปทำให้เกิดมะเร็งของเยื่อในช่องปากหรือมะเร็งของลิ้นได้

2. สารเคมี (Chemical agents) องค์การอนามัยโลกได้รายงานถึงสารต่างๆ ที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งมากถึง 450 ชนิด โดยส่วนใหญ่สารต่างๆ เหล่านี้ แฝงตัวมาในธรรมชาติในรูปของอาหารพืช หรือสารเคมีต่างๆ เช่น เคมีวัตถุประเภทราน้ำมันดิน (Hydrocarbon) ที่ใช้ทำยาฆ่าโรค ใช้ในอุตสาหกรรมเคมี คิวโนไลนของเครื่องยนต์ เป็นต้น

3. ฮอรโมน (Hormones) มะเร็งบางชนิด เช่น มะเร็งเต้านมจะมีความสัมพันธ์กับระดับฮอรโมนเพศหญิง คือ เอสโตรเจนและโพรเจสเตอโรน หรือมะเร็งต่อมลูกหมาก จะมีความสัมพันธ์กับฮอรโมนเพศชาย (Androgen) ซึ่งฮอรโมนเหล่านี้มักจะถูกใช้ในยารักษาโรค

4. เชื้อไวรัส มีไวรัสหลายชนิดเป็นสาเหตุทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองได้ ไวรัสเหล่านี้เรียกว่า "ไวรัสที่ทำให้เกิดเนื้องอกหรือมะเร็ง" (Oncogenic viruses, Tumour viruses) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะของกรดนิวคลีอิก คือ ไวรัสดีเอ็นเอและไวรัสอาร์เอ็นเอ เมื่อไวรัสเข้าไปในเซลล์แล้วก็จะมีการเพิ่มจำนวน (Productive infection) หรืออาจจะไม่เพิ่มจำนวนก็ได้ แต่จะสามารถทำให้เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงในรูปร่างไป เนื่องจากการที่ยีนหรือดีเอ็นเอของไวรัสไปแทนที่ดีเอ็นเอของเซลล์

5. สารพิษ (Toxin) โดยเฉพาะสารอะฟลาท็อกซิน (Aflatoxin) จากเชื้อรา *Aspergillus flavus* ซึ่งชอบขึ้นในอาหารประเภทถั่วต่างๆ โดยเฉพาะถั่วลิสง อาหารประเภทข้าวต่างๆ มันสำปะหลัง นอกจากนี้ยังมีรายงานการตรวจพบสารอะฟลาท็อกซินในนมวัว มะพร้าวและน้ำมันถั่วลิสง สารพิษนี้ทำให้เกิดมะเร็งตับได้โดยตรง

6. พยาธิบางชนิด เช่น พยาธิใบไม้ในตับ ซึ่งพบมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมีส่วนทำให้เกิดมะเร็งตับบางชนิดได้

7. ภาวะขาดอาหาร โรคตับแข็งเกิดจากการขาดโปรตีน จะกลายเป็นมะเร็งตับได้ง่าย

### 2.3 ชนิดของโรคมะเร็ง

โรคมะเร็ง สามารถแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

**2.3.1 กลุ่ม Carcinoma** (80% ของผู้ป่วยอยู่ในกลุ่มนี้) หมายถึง มะเร็งซึ่งมาจากเซลล์เยื่อบุผิวของอวัยวะทั้งภายในและภายนอกในร่างกาย ซึ่งเยื่อบุผิวของร่างกายมี 4 ชนิด ได้แก่

- 1) Glandular คือ กลุ่มของเซลล์เยื่อบุผิวที่สร้างสารคัดหลั่ง
- 2) Squamous คือ กลุ่มของเซลล์เยื่อบุผิวที่มีลักษณะแบนบางหลายเหลี่ยม
- 3) Transitional คือ เซลล์เยื่อบุผิวที่เปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ตามการขยายและหดตัวของอวัยวะนั้นๆ จะพบตามอวัยวะ เช่น ท่อทางเดินปัสสาวะ
- 4) Pseudostratified คือ เซลล์เยื่อบุผิวที่เรียงตัวหลายชั้นเทียม จะพบในอวัยวะ เช่น ปอด

**2.3.2 กลุ่ม Sarcoma** หมายถึง มะเร็งที่เกิดจากเนื้อเยื่ออ่อน (Soft tissue) ของร่างกายหรือเนื้อเยื่อเสริม (Supportive tissue) ซึ่งได้แก่ ไขมัน กล้ามเนื้อ เส้นประสาทและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน นอกจากนี้ยังรวมถึงกระดูกและกระดูกอ่อนด้วย

**2.3.3 กลุ่ม Lymphoma** หมายถึง มะเร็งที่พัฒนามาจากต่อมน้ำเหลืองและเนื้อเยื่อของระบบภูมิคุ้มกัน

**2.3.4 กลุ่ม Leukemias** หมายถึง มะเร็งของระบบโลหิต เกิดจากความผิดปกติของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดที่อยู่ในไขกระดูก (Bone marrow)

**2.3.5 กลุ่ม Melanoma** หมายถึง มะเร็งที่มาจากเซลล์ผลิตเม็ดสี (Melanocytes) ซึ่งจะพบตามผิวหนัง ฝ้า (Mole) คือการเจริญเติบโตของเซลล์เม็ดสีประเภทไม่เป็นอันตราย มะเร็งที่มาจากเซลล์ผลิตเม็ดสีแสดงดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 มะเร็งที่มาจากเซลล์ผลิตเม็ดสี

## 2.4 กระบวนการเกิดโรคมะเร็ง (Cancer development) [6]

### 2.4.1 ความผิดปกติของยีนนำไปสู่การเกิดมะเร็ง (Genetic faults leading to cancer)

1) มีการกระตุ้น Pro-oncogene (Activation of Pro-oncogene) ปกติ Pro-oncogene จะทำหน้าที่ในการให้สัญญาณแก่โปรตีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการแบ่งเซลล์และแยกความแตกต่างของดีเอ็นเอซึ่งหากเกิดการกลายพันธุ์ของ Pro-oncogene ก็จะทำให้การทำงานผิดปกติไปและเกิดการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติที่นำไปสู่การเกิดเซลล์มะเร็งในที่สุด

2) การบกพร่องของ Tumour suppression gene (Inactivation of tumour suppression genes) โดยปกติยีนชนิดนี้ทำหน้าที่สั่งการทำงานของโปรตีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการตรวจสอบซ่อมแซมและกระบวนการฆ่าเซลล์ (Apoptosis) ตัวอย่างเช่น ยีนที่ชื่อ TP53 เป็นยีนที่สั่งให้โปรตีนชื่อ p53 ทำงานในการฆ่าตัวเอง หากพบความผิดปกติในเซลล์ ดังนั้นเมื่อยีนนี้ไม่ทำงานทำให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ที่ผิดปกติ นำไปสู่การเกิดเซลล์มะเร็ง

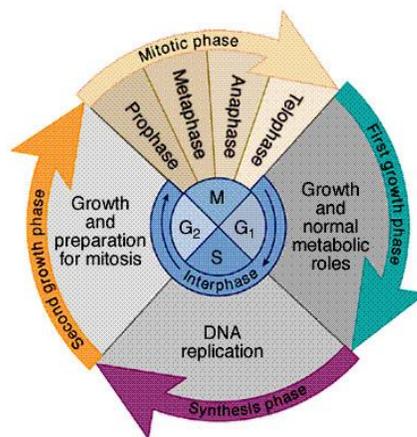
### 2.4.2 ยีนที่ผิดปกตินำไปสู่ความผิดปกติของเซลล์ (Genetic defects can lead to the cellular defects)

1) การส่งสัญญาณที่ผิดปกติ (Abnormal signaling pathways) ปกติในการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์นั้น จะขึ้นอยู่กับสัญญาณหลายชนิดจากเซลล์ข้างเคียง สัญญาณที่สำคัญที่สุดเป็นสัญญาณจากฮอร์โมน Growth factors กระบวนการส่งสัญญาณนั้นซับซ้อนและมีหลายจุดที่สามารถผิดพลาดได้ เซลล์มะเร็งหลายชนิดเป็นเซลล์ที่สามารถเติบโตและแบ่งเซลล์ได้โดยปราศจากสัญญาณจากเซลล์ข้างเคียง ซึ่งหากมีการพัฒนาไปถึงขั้นนั้นแล้ว ก็จะทำให้การควบคุมการแบ่งเซลล์ทำไม่ได้เลย จึงมีการแบ่งเซลล์มะเร็งโดยไม่จำกัด

2) การไม่ตอบสนองต่อสัญญาณสั่งให้เซลล์หยุดการเจริญเติบโต (Insensitivity to growth-inhibitory signals) ซึ่งอาจเกิดจากการถูกทำลายของยีนที่จะสั่งการไปยังรีเซพเตอร์ของฮอร์โมนที่จะสั่งให้เกิดการยับยั้งการแบ่งเซลล์

### 2.4.3 ความผิดปกติของกระบวนการตรวจสอบในวงจรเซลล์ (Abnormalities in Cell cycle regulation)

ในระบบวงจรเซลล์ (Cell cycle) ของสิ่งมีชีวิตชั้นสูงนั้น มีระบบการควบคุมที่เข้มงวด ซึ่งใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมงในการแบ่งเซลล์ 1 ครั้ง ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 เฟส ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 วงจรเซลล์ (Cell cycle) ของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง

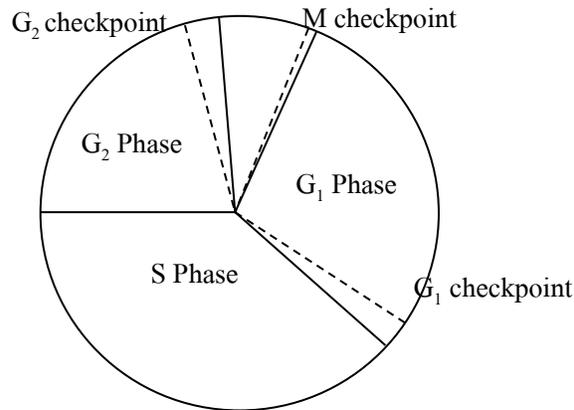
1. **Gap 1 (G<sub>1</sub>) phase** ใช้เวลาประมาณ 6-9 ชั่วโมง ในเฟสนี้จะยังไม่มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ เซลล์แม่จะเตรียมตัวที่จะเข้าสู่ S phase โดยจะรอสัญญาณว่าเซลล์แม่สมบูรณ์ดีจึงจะมีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ใน S phase ต่อไป

2. **Synthesis (S) phase** ใช้เวลาประมาณ 8-9 ชั่วโมง ในเฟสนี้จะมีการถอดแบบ DNA ให้ได้สายลูกอีก 2 สาย

3. **Gap 2 (G<sub>2</sub>) phase** ใช้เวลาประมาณ 5-6 ชั่วโมง ในเฟสนี้เป็นเฟสที่เสร็จสิ้นการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ตรวจสอบความถูกต้องของเซลล์ลูกซึ่งหากเซลล์มีความถูกต้องด้านพันธุกรรมก็จะเข้าสู่กระบวนการแบ่งเซลล์ใน M phase ต่อไป

4. **Mitosis (M) phase** ใช้เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง สายดีเอ็นเอที่ได้จากการถอดแบบจะขมวดรวมกันเป็นโครโมโซมและแยกออกจากเซลล์แม่ด้วยกระบวนการที่เรียกว่า Cytokinesis

กระบวนการแบ่งเซลล์ของมนุษย์นั้นมีการควบคุมที่เข้มงวดมาก ดังจะเห็นได้จากการที่ในกระบวนการแบ่งเซลล์จะมีจุดตรวจ (Check point) ทั้งหมด 3 จุด เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 จุดตรวจ (Check point) ในกระบวนการแบ่งเซลล์

**G<sub>1</sub> Checkpoint** : เป็นจุดที่เซลล์แม่จะต้องได้รับสัญญาณจากเซลล์ข้างเคียง (Mitogenic signal) ว่าเซลล์มีความสมบูรณ์และพร้อมต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ หากเซลล์แม่ไม่ได้รับสัญญาณดังกล่าว แสดงว่าเซลล์แม่นั้นมีดีเอ็นเอที่ผิดปกติ ก็จะถูกสั่งให้ฆ่าเซลล์โดยการส่งกลับไปเฟส G<sub>0</sub> คือไม่มีการแบ่งเซลล์เกิดขึ้น

**G<sub>2</sub> Checkpoint** : เซลล์จะทำการตรวจสอบว่าการถอดแบบดีเอ็นเอมีความสมบูรณ์ ไม่มีจุดผิดปกติ เช่น ลำดับของเบสถูกต้อง หากพบความผิดปกติของดีเอ็นเอที่จุดนี้ เซลล์จะสั่งให้มีการฆ่าตัวเองด้วยกระบวนการ Apoptosis

**M Checkpoint** : เป็นจุดตรวจสอบความถูกต้องของโครโมโซม มีการเรียงลำดับอย่างถูกต้อง หากพบความผิดปกติของโครโมโซมก็จะนำไปสู่กระบวนการ Apoptosis

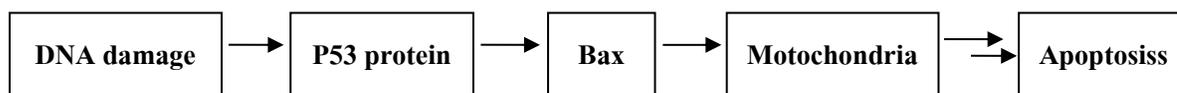
ดังนั้นจะเห็นได้ว่าในสภาวะปกตินั้นการแบ่งเซลล์จะได้รับการควบคุมอย่างถูกต้องและไม่ก่อให้เกิดเซลล์ที่ผิดปกติ แต่อย่างไรก็ตามหากมีสิ่งรบกวนการทำงานของกลไกที่ซับซ้อนนี้ จนทำให้การทำงานผิดปกติ มีความผิดพลาดในการควบคุมการแบ่งเซลล์จนทำให้เซลล์ที่ผิดปกติ และยังปล่อยให้เซลล์ผิดปกตินี้แบ่งตัวไปเรื่อยๆ นำไปสู่การก่อเกิดเซลล์มะเร็งนั่นเอง

#### 2.4.4 Apoptosis and the p53 protein

กระบวนการ Apoptosis เป็นกระบวนการทำลายตัวเองที่ฝังตัวอยู่ในเซลล์ เป็นระบบที่ร่างกายมีไว้เพื่อป้องกันตัวเองจากเซลล์ผิดปกติ ดังนั้นระบบนี้จะถูกกระตุ้นให้ทำงานเมื่อพบความผิดปกติภายในเซลล์ โดยมีกระบวนการแสดงดังรูปที่ 2.5 ซึ่งกระบวนการ Apoptosis เกิดได้ 2 แบบ

1) การกระตุ้นจากภายนอกเซลล์ (Extrinsic route) เกิดขึ้นเมื่อระดับของ Growth factor ต่ำกว่าปกติ หรือเมื่อมีการทำงานของโปรตีน p53

2) การกระตุ้นจากภายในเซลล์ (Intrinsic pathway) เกิดขึ้นเมื่อพบว่า DNA ที่ผิดปกติหรือถูกทำลาย



รูปที่ 2.5 การกระตุ้นกระบวนการ Apoptosis

#### 2.4.5 Telomerase

Telomerase มีหน้าที่หลักในการไม่จำกัดการแบ่งของเซลล์ แต่อย่างไรก็ตามในเซลล์ปกติจะมีกระบวนการที่ทำให้ Telomere สั้นลง ทั้งนี้ก็เพื่อป้องกันการเกิดมะเร็งนั่นเอง

Telomerase เป็นเอนไซม์ที่สร้าง Telomere โดยปกติเมื่อทารกคลอดแล้วยีนที่สั่งให้มีการสร้างเอนไซม์จะหยุดทำงาน นั่นคือไม่ให้สร้าง Telomere อีกต่อไป

เซลล์มะเร็ง มีกลไกในการกำจัดกระบวนการกีดการทำงานของยีนดังกล่าว ทำให้เซลล์มะเร็งจะมีการสร้าง Telomere ต่อไปเรื่อยๆ

#### 2.4.6 Angiogenesis

เซลล์เนื้องอก (Tumour cells) จะมีการหลั่ง Growth factors เช่น Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF), Fibroblast Growth Factors (FGF-2) ซึ่งจะไปจับกับรีเซพเตอร์บนเนื้อเยื่อ Endothelial ทำให้เกิดการแบ่งตัว เกิดการแตกแขนงและขยายตัวของหลอดเลือด กระบวนการนี้เรียกว่า Angiogenesis

Angiogenesis คือ กระบวนการสร้างเส้นเลือด(ฝอย)ใหม่ไปเลี้ยงเซลล์ เป็นกระบวนการพื้นฐานที่จำเป็นของสิ่งมีชีวิตในการมีชีวิตอยู่ เช่นกระบวนการซ่อมแซมตัวเองเมื่อมีบาดแผล แต่สำหรับผู้ป่วยมะเร็งในระยะแพร่กระจาย กระบวนการนี้ (เชื่อกันว่าเกิดการทำงานที่ผิดปกติ) เป็นการสร้างเส้นเลือดฝอยไปเลี้ยงเซลล์มะเร็งทำให้เซลล์มะเร็งเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว การแพทย์สมัยใหม่เชื่อว่าหากสามารถกำจัดกระบวนการนี้ได้ ก็จะสามารถชะลอการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ เนื่องจากไม่มีเส้นเลือดนำอาหารไปเลี้ยงเซลล์ มะเร็งยาสมัยใหม่ เช่น Avastin และ Erbitux ก็ใช้หลักการนี้

#### 2.4.7 ชั้นแพร่กระจาย (Tissue invasion and metastasis)

**Malignant cancer** เป็นเซลล์ที่มีลักษณะดังต่อไปนี้

- 1) แพร่กระจายจากเซลล์เนื้องอกดั้งเดิมได้
- 2) กระจายเข้าสู่ระบบกระแสเลือดและระบบน้ำเหลืองได้
- 3) สามารถกระจายและเคลื่อนที่ไปกับกระแสเลือดได้
- 4) ทำให้เกิดเซลล์มะเร็งในตำแหน่งอื่นๆ ของร่างกายได้

จะเห็นว่าเซลล์มะเร็งนั้นมีกระบวนการต่างๆ ในการหลบเลี่ยงและซ่อนเร้นอยู่ภายในร่างกาย โดยไม่แสดงอาการใดๆ เลยในระยะแรก จึงทำให้การตรวจวินิจฉัยทำได้ยากและมีค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นผู้ป่วย

ส่วนมากจึงดูแข็งแรงดี จนกระทั่งมะเร็งพัฒนามาถึงขั้นแพร่กระจาย จึงแสดงอาการเจ็บป่วยออกมา ทำให้การรักษาทำได้ยากหรือแทบจะไม่มีโอกาสหายเลย

## 2.5 การรักษาโรคมะเร็ง [5]

การรักษาโรคมะเร็งในปัจจุบันสามารถแบ่งออกเป็น 5 ประเภทดังต่อไปนี้

### 2.5.1 การผ่าตัด

การผ่าตัดเป็นวิธีการรักษาที่ได้ทั้งการมุ่งหวังให้โรครักษาหายขาด ในกรณีที่โรคมะเร็งยังเป็นก้อนและเพื่อเป็นการบรรเทาอาการชั่วคราวในกรณีที่โรคเป็นมาก

วิธีการผ่าตัดอาจจะทำเฉพาะก้อนมะเร็งออกเท่านั้น หรือเลาะเอาต่อมน้ำเหลืองและเนื้อเยื่อที่ติดบริเวณใกล้เคียงออกไปด้วย ในปัจจุบันยังได้มีวิวัฒนาการโดยการตัดด้วยมีดไฟฟ้า การผ่าตัดโดยใช้ความเย็นระหว่าง -20 ถึง -150 องศาเซลเซียส การผ่าตัดร่วมกับการใช้ยาทำให้ผิวหนังใหม่ในการรักษามะเร็งผิวหนังและการใช้แสงเลเซอร์แทนมีดผ่าตัด การผ่าตัดเหล่านี้ทำให้ศัลยแพทย์สามารถผ่าตัดเอาก้อนมะเร็งออกได้ง่ายขึ้น เสียเลือดน้อยลงด้วย นอกจากนี้ยังมีบทบาทในด้านการวินิจฉัยโดยเอาชิ้นเนื้อมาตรวจ เพื่อบริหารยาเข้าทางหลอดเลือดเฉพาะที่และในด้านการผ่าตัดเพื่อแก้ไขความพิการภายหลังการรักษาด้วย

การผ่าตัดนิยมใช้กับมะเร็งก้อนแข็ง (Solid tumor) เช่น มะเร็งทรวงอก มะเร็งปอดและมะเร็งลำไส้ นอกจากนี้ยังต้องใช้การให้เคมีบำบัดควบคู่ไปด้วย เพื่อกำจัดเซลล์มะเร็งที่อยู่รอบๆ บริเวณที่ผ่าตัด

### 2.5.2 รังสีรักษา

รังสีรักษา เป็นวิธีการรักษาที่ใช้ได้ทั้งการมุ่งหวังให้โรครักษาหายขาดและเพื่อการบรรเทาอาการชั่วคราว ผู้ป่วยชาวไทยส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 60-80 ของผู้ป่วยมะเร็งทั้งหมดมักจะได้รับรักษาด้วยรังสี เพราะอยู่ในระยะที่เป็นมากแล้วและการรักษาด้วยรังสีเพื่อบรรเทาอาการจะสะดวกสบายมากกว่าการผ่าตัด ในประเทศไทยมีประวัติการรักษาโรคมะเร็งในโรงพยาบาลศิริราชตั้งแต่ พ.ศ. 2478

**รังสีที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งมีอยู่ 2 ประเภทคือ**

1) **รังสีโฟตอน** ซึ่งมีพลังงานทะลุทะลวง 1.24 กิโลโวลต์- 12.4 เมกะโวลต์ มีขนาดของคลื่นรังสีระหว่าง 10<sup>-10</sup> ถึง 10<sup>-8</sup> เมตร เช่น รังสีเอกซ์ รังสีแกมมาจากสารกัมมันตรังสีต่างๆ ทั้งที่เกิดโดยธรรมชาติ เช่น จากแร่เรเดียม-226 หรือที่มนุษย์ประดิษฐ์ขึ้นมา เช่น โคบอลต์-60, ซีเซียม-137, ทอง-198 เป็นต้น

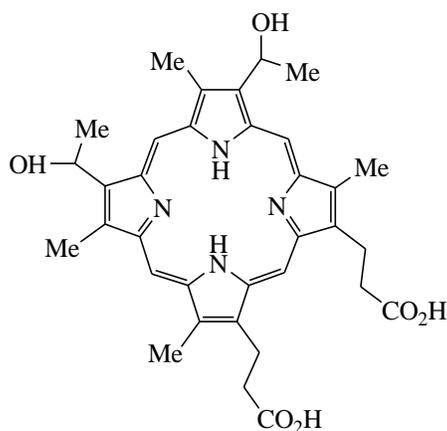
2) **รังสีอนุภาค** ส่วนใหญ่ได้จากการสลายตัวของสารกัมมันตรังสี หรือจากเตาปฏิกรณ์ปรมาณู รังสีพวกนี้มีพลังงานทะลุทะลวงน้อยกว่ารังสีโฟตอน เช่น อนุภาคแอลฟาจากแร่เรเดียม, ก๊าซเรดอนจากแร่ทอรอนเซียม-90 และอนุภาคเบต้าจากฟอสฟอรัส-32 เป็นต้น

### 2.5.3 การใช้ยาร่วมกับแสงจำเพาะ (Photodynamic Therapy, PDT) [7]

การรักษาโดยวิธี Photodynamic เป็นวิธีการพิเศษสำหรับรักษามะเร็ง ซึ่งเป็นการใช้ยาที่เรียกว่า “Photosensitizer” หรือ “Photosensitizing” ร่วมกับแสงประเภทที่จำเพาะต่อการฆ่าเซลล์มะเร็ง วิธีการนี้เป็นวิธีการที่ทำให้ผู้ป่วยมีการบาดเจ็บน้อยที่สุด เริ่มมีการนำมาใช้ตั้งแต่ศตวรรษที่ 21

การรักษาด้วยวิธี PDT เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างแสงที่ไม่ให้ความร้อนกับสารเคมี โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนั้นต้องการออกซิเจน สารตั้งต้นที่ไวต่อแสง (Photo-sensitizer) และแสงเลเซอร์ กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา Photo-sensitizer จะถูกกักเก็บเนื่องจากการดูดซับเอาไว้และสะสมไว้ในเซลล์เป็นเวลานาน เมื่อ Photo-sensitizer ถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นที่เหมาะสม ก็จะทำให้ปฏิกิริยากับออกซิเจนและสารเคมีตั้งต้นที่ไวต่อแสงซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ ทำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์มะเร็งทั้งแบบ Apoptosis และ Necrosis วิธีการนี้สามารถมีผลต่อเส้นเลือดที่อยู่เฉพาะของมะเร็งนั้นและสามารถทำให้มะเร็งนั้นขาดเลือดและเน่าตาย นอกจากนี้ยังกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อมาทำลายมะเร็งนั้นด้วย เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงเลเซอร์จากนั้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจนและสารเคมีตั้งต้นที่เป็นพิษ

จากการวิจัยพบว่า วิธีการ PDT ให้ผลดีเยี่ยมในกลุ่มมะเร็งหลอดอาหารชนิด Barrett esophagus ที่มีการแบ่งเซลล์แบบรวดเร็วและในกลุ่มมะเร็งหลอดอาหารและจากรายงานในชั้นคลินิกพบว่า วิธีการนี้มีประโยชน์ในมะเร็งช่องปาก มะเร็งของลำคอ เนื้องอกในสมอง มะเร็งในช่องปอดและช่องท้อง เนื้องอกของกล้ามเนื้อ เนื้องอกของลูกตา มะเร็งปอด มะเร็งทางสูตินารีเวช มะเร็งทวารหนัก ในระยะเริ่มต้น สาร Photosensitizer ที่นิยมใช้ได้แก่ Hematoporphyrin ซึ่งมีโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของ Hematoporphyrin

### 2.5.4 การรักษามะเร็งโดยผ่านระบบภูมิคุ้มกัน (Immunotherapy and vaccines) [8]

การรักษาด้วยภูมิคุ้มกัน คือ การที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายและจำกัดผลข้างเคียงของมะเร็งและอาการร่วมของมะเร็ง ซึ่งการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายประกอบด้วย

- Cytokine Induced killer Cells (CIK)
- Dendritic Cells (DC)
- Traditional Chinese Medicines (TCM)
- Mixed Vaccines

ทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้ง 4 ตัวที่กล่าวมาข้างต้นนี้ สามารถยับยั้งผลของมะเร็งได้เป็นอย่างดีและยังป้องกันการแพร่กระจาย การเป็นซ้ำและการเติบโตของมะเร็ง เพิ่มความแข็งแรงของร่างกายและเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันหลังจากผ่านการรักษาด้วยเคมีบำบัดได้อีกด้วย

การรักษาด้วยภูมิคุ้มกัน บางครั้งเรียกว่า Combined Immunotherapy for Cancer (CIC) เริ่มมีการศึกษาและเข้าใจมากขึ้นเกี่ยวกับกลไกในการทำลายมะเร็ง นำไปสู่การค้นคว้าใหม่ ๆ เพื่อที่จะต่อต้านกับมะเร็ง เช่น การรักษาด้วยภูมิคุ้มกัน ซึ่งเน้นในการเพิ่มภูมิคุ้มกันโดยธรรมชาติของมนุษย์ การกระตุ้นนี้ได้ผลสำเร็จเป็นอย่างดี

#### วิธีการ

การใช้ความเย็นในการผ่าตัดเอาก้อนมะเร็งออก (Cryosurgery) ร่วมกับกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ให้แก่ร่างกาย ซึ่งเป็นการรักษาเฉพาะที่ร่วมกับการรักษาทั้งร่างกายผู้ป่วยผ่านทางระบบภูมิคุ้มกัน จะให้ผลการรักษาที่ดีกว่าการรักษาด้วยเคมีบำบัดเพียงอย่างเดียว

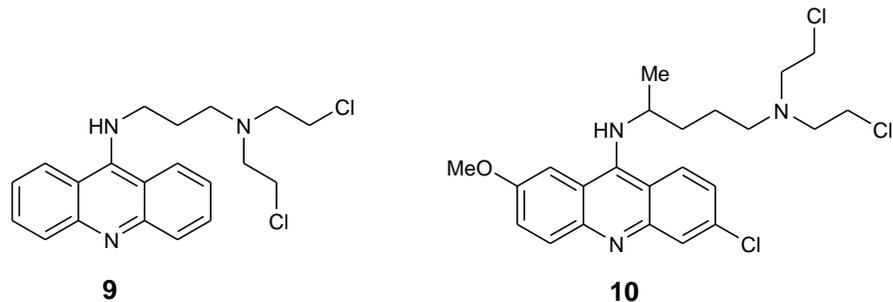
#### 2.5.5 การใช้สารเคมีบำบัด [6, 9]

การใช้เคมีบำบัด หมายถึง การรักษาด้วยยาเพื่อควบคุมหรือทำลายเซลล์มะเร็ง โดยการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งและทำลายเซลล์มะเร็งโดยตรง ยาในกลุ่มนี้สามารถแบ่งตามกระบวนการออกฤทธิ์ของยาได้ 6 ประเภท ได้แก่

1. Alkylating agent
2. Intercalating agent
3. Antimetabolites
4. Antitubulin agent
5. Anti-homonal agent
6. Tumor-activated prodrugs

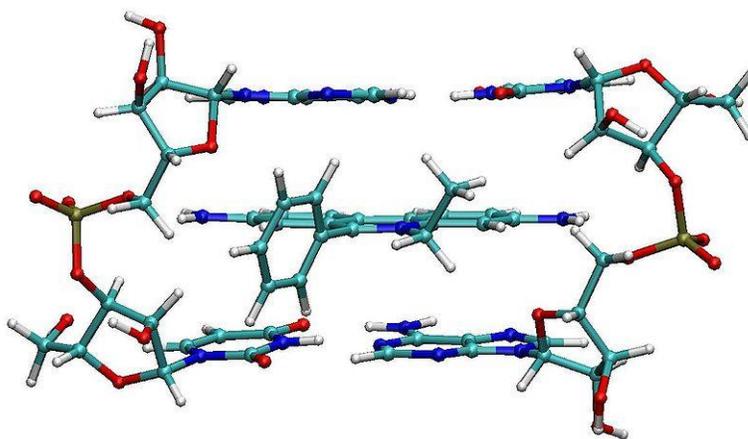
#### 2.6 การพัฒนายาในกลุ่มสารอินเทอร์คาลิง

การพัฒนายาในกลุ่มนี้ก็เพื่อให้ยาที่มีความจำเพาะมากขึ้นและลดผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติ โดยการสังเคราะห์ยาที่มีสารอัลคิลเลตติ้งเป็นสายโซ่ต่อกันอยู่กับโครงสร้างหลักที่เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่สามารถแทรกสอดเข้าไปที่ Minor groove ของสาย DNA ได้ดี จากนั้นสารอัลคิลเลตติ้งจึงเกิดปฏิกิริยากับดีเอ็นเอ ในบริเวณนั้น ตัวอย่างยาที่ได้รับการพัฒนาได้แก่ Acridine mustard (9) และ Quinacrine mustards (10) ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ยาในกลุ่มสารอัลคิลเลตติ้งที่ได้รับการพัฒนาในปัจจุบัน

ยาในกลุ่มอินเตอร์คาลเลตติ้ง (Intercalating agents) ออกฤทธิ์ต่อดีเอ็นเอ เช่นเดียวกับยาในกลุ่มอัลคิลเลตติ้ง แตกต่างกันไปเพียงกลไกการออกฤทธิ์ โครงสร้างพื้นฐานของยาในกลุ่มนี้มักจะประกอบด้วยวงอะโรมาติกที่ต่อกันสามถึงสี่วง ดังนั้นสารในกลุ่มนี้จึงมีโครงสร้างเป็นแบบแบนราบและออกฤทธิ์โดยการแทรกสอดเข้าไปขวางระหว่างคู่เบสในสายดีเอ็นเอ ในลักษณะตั้งฉากกับแนวแกนของสายดีเอ็นเอ ดังแสดงในรูปที่ 2.8 เมื่อยาแทรกสอดเข้าไปแล้วจึงเกิดอันตรกิริยาระหว่างคู่เบสในสายดีเอ็นเอ โดยเป็นแรงระหว่างโมเลกุลชนิดพันธะไฮโดรเจน หรือแรง Van der Waal's ทำให้สามารถแทรกสอดอยู่ในสายดีเอ็นเอได้นานและการที่มีสารแทรกสอดอยู่ระหว่างสายดีเอ็นเอ ส่งผลให้สายดีเอ็นเอ บิดเบี้ยวไปจากปกติซึ่งจะทำให้ถูกจัดว่าเป็นดีเอ็นเอเสียและไม่เกิดการแบ่งเซลล์ต่อไป



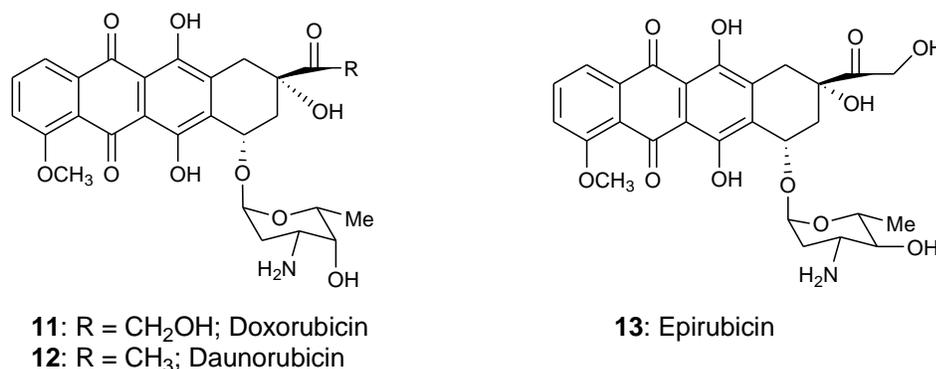
รูปที่ 2.8 การแทรกสอดของยาเข้าวางขวางอยู่ระหว่างคู่เบสของสายดีเอ็นเอ

ยาในกลุ่มอินเตอร์คาลเลตติ้งสามารถจำแนกตามโครงสร้างได้เป็น 3 กลุ่มดังนี้ [10-11]

### 2.6.1 Anthracyclines

ยาในกลุ่มแอนทราไซคลิน ได้รับการค้นครั้งแรกจากเชื้อราในสปีชีส์ *Streptomyces* และมีการใช้ครั้งแรกเป็นยาที่ยั้งแบคทีเรีย (Antibiotic agents) ต่อมาจึงมีการนำมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง ยาที่รู้จักอย่างกว้างขวางคือ Doxorubicin และ Daunorubicin ดังแสดงในรูปที่ 2.9 รวมถึงอนุพันธ์ที่ได้รับ

การสังเคราะห์ขึ้นมาอย่าง Epirubicin [12] ปัญหาของการใช้ยาในกลุ่มนี้คือ ผลข้างเคียงต่อกล้ามเนื้อหัวใจ (Cardiotoxicity) ทำให้สามารถใช้นี้กับคนไข้ได้ในปริมาณจำกัด ซึ่งมีผู้อธิบายผลข้างเคียงดังกล่าวว่า อาจเกิดจากการที่ยาถูกรีดิวซ์ในร่างกายในวงควิโนน แล้วเกิดเป็นอินเทอร์มิเดียลแบบเรดิคัลแอนไอออนขึ้น [13] ซึ่งสามารถทำลายกล้ามเนื้อหัวใจ ด้วยปัญหานี้ส่งผลให้มีกลุ่มวิจัยมากมายที่พยายามที่จะพัฒนายาที่ออกฤทธิ์ได้ดีเทียบเท่า Doxorubicin และ Daunorubicin แต่มีผลข้างเคียงต่ำ ทั้งพัฒนายาใหม่ที่มีโครงสร้างพื้นฐานแบบอื่นๆ ดังจะได้กล่าวต่อไป



รูปที่ 2.9 ยาในกลุ่ม Anthracyclines

**Doxorubicin (11)** เป็นยาที่รู้จักกันเป็นอย่างดี ใช้ในการรักษามะเร็งเต้านม มะเร็งเม็ดเลือดขาว และเซลล์มะเร็งปอดขนาดเล็ก

**Daunorubicin (12)** เป็นยาที่สำคัญที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวขั้นรุนแรง Lymphocytic leukaemias และ Myelocytic leukaemias

**Epirubicin (13)** เป็นอนุพันธ์ที่ได้จากการสังเคราะห์เพื่อดัดแปลงโครงสร้างของ Doxorubicin ใช้เป็นยาป้องกันการติดเชื้อในการรักษามะเร็งเต้านม

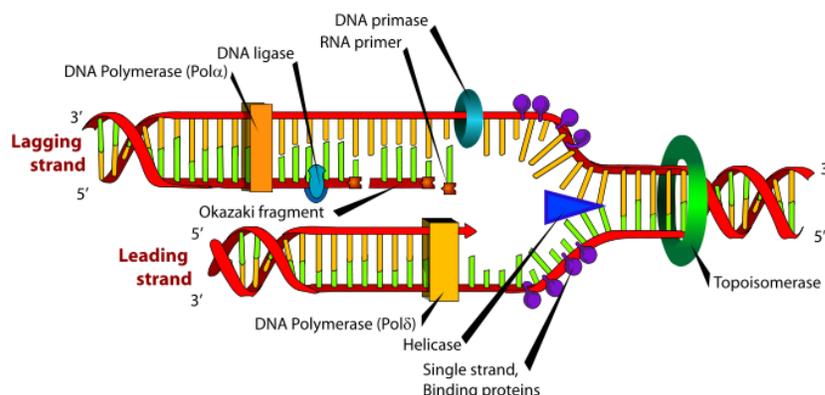
### กลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม Anthracyclines

การออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มนี้มีกลไกที่ไม่แน่นอนนัก บางครั้งจะออกฤทธิ์หลายกลไกเสริมกัน สามารถรวบรวมกลไกการออกฤทธิ์ได้ 4 แบบ ดังนี้

1) DNA-RNA Binding คือยาที่มีโครงสร้างแบนราบจึงสามารถแทรกเข้าไปอยู่ระหว่างคู่เบสของสาย DNA และเกิดอันตรกิริยากับเบสในสาย DNA เป็นผลทำให้สาย DNA บิดเบี้ยว ซึ่งทำให้ระบบป้องกันตนเองของร่างกายจำแนกได้ว่าเป็นดีเอ็นเอเสียและสั่งให้ฆ่าตนเอง หรือไม่ยอมให้เกิดการแบ่งเซลล์อีกต่อไป

2) การสร้างคอมเพล็กซ์กับเอนไซม์ Topoisomerase type 2 (Topo II) นำไปสู่การขาดของสายดีเอ็นเอ เอนไซม์ Topo II หรือ โนโปรติกเซลล์ เรียกว่า DNA gyrase ทำหน้าที่คลายเกลียวซูเปอร์คอยด์ของดีเอ็นเอ มีหน่วยย่อย (Subunit) 2 คู่ คือ A และ B ที่ถูกสร้างขึ้นโดยกระบวนการถอดแบบของดีเอ็นเอ

เอ ดังในรูปภาพที่ 2.10 ดังนั้นหากมียาไปจับกับเอนไซม์ Topo II ทำให้เอนไซม์ Topo II ไม่สามารถทำงานได้ปกติ ก็จะทำให้ไม่เกิดการคลายเกลียวซูเปอร์คอยด์ ทำให้สายดีเอ็นเอเป็นเกลียวกันแน่นเกินไป หรือสายดีเอ็นเอขาดในที่สุด



รูปที่ 2.10 การทำงานของเอนไซม์ Topo II ในกระบวนการถอดแบบของดีเอ็นเอ

### 3) การที่ยาจับกับเมมเบรน (Binding of Anthracyclines to cell )

ยาแอนทราไซคลินมักไปจับการเซลล์เมมเบรนได้ดี ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี และสมบัติทางกายภาพ เช่น ความหนืด การกระจายไอออนในเซลล์เมมเบรน ซึ่งในกระบวนการแบ่งเซลล์ นั้น เซลล์แม่ต้องได้รับสัญญาณจากภายนอกว่ามีสภาวะเหมาะกับการแบ่งเซลล์ ซึ่งหากมีความผิดปกติของ เซลล์เมมเบรนก็จะทำให้ไม่ได้รับสัญญาณดังกล่าว ดังนั้นกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ก็จะไม่เกิดขึ้น และเป็นการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งนั่นเอง

### 4) การเกิด Semiquinones ซึ่งนำไปสู่การเกิดอนุมูลอิสระ

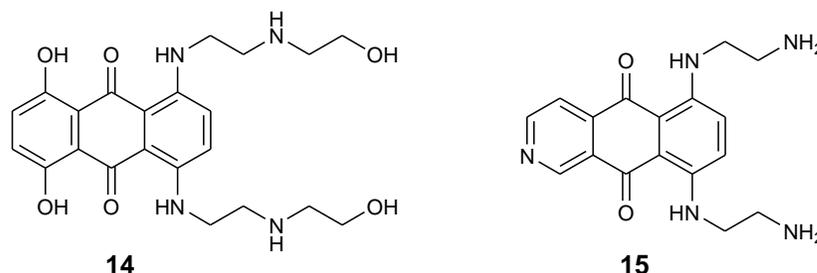
ยาในกลุ่มแอนทราไซคลินเป็นสารออกซิไดซ์อ่อนๆ เมื่อเข้าไปอยู่ในร่างกายก็จะเกิด ปฏิกิริยา รีดักชันโดยการรับอิเล็กตรอนเดี่ยวและให้อินเตอร์มีเดียตเป็น Semiquinone radical ซึ่ง Semiquinone radical ที่เกิดขึ้นจะถูกเปลี่ยนเป็น Superoxide radical ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีพิษและไปจับสาร DNA และทำให้สาย DNA แตกออกได้ จึงเป็นการฆ่าเซลล์มะเร็ง

ปัญหาของการใช้ยาในกลุ่มแอนทราไซคลิน เกิดจากกลไกการออกฤทธิ์ที่เกิดผ่าน Hydroxyl radical ซึ่งมีผลข้างเคียงในการทำลายกล้ามเนื้อหัวใจ (Cardiotoxicity) ทำให้เกิดอาการหัวใจวายในผู้ป่วยส่งผลให้ไม่สามารถใช้ยาเหล่านี้ได้ในปริมาณสูง ทำให้มีกลุ่มวิจัยมากมายที่ศึกษาค้นคว้ายาชนิดใหม่เพื่อลดผลข้างเคียงดังกล่าวและนำมาซึ่งการค้นพบสาร Intercalating agent ชนิดใหม่

## 2.6.2 Anthracenes

ยาชนิดนี้มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นแอนทราซิน ซึ่งประกอบด้วยวงอะโรมาติกสามวงแทนที่จะเป็นสี่วงแบบยาในกลุ่มแอนทราไซคลิน ยาในกลุ่มนี้ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายได้แก่ Mitoxantrone (14) [14] ดัง

แสดงในรูปที่ 2.11 ซึ่งใช้ ในการรักษามะเร็งเต้านม (Breast cancer) มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดรุนแรง (Acute leukaemia) มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด Lymphoma มะเร็งรังไข่ (Cervix carcinoma) และมะเร็งตับ (Liver cell cancer)



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของยาในกลุ่มแอนทราซิน

Mitoxantrone ออกฤทธิ์โดยจับกับสายดีเอ็นเอ แบบผันกลับได้ (Reversible binding) โดยการแทรกเข้าไปวางขวางอยู่ระหว่างสายดีเอ็นเอและหมู่แทนที่แทรกเข้าไปบริเวณ Major groove ในสายดีเอ็นเอ อย่างไรก็ตามกลไกการออกฤทธิ์หลักๆ ของ Mitoxantrone ก็ยังเป็นการยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ Topo II

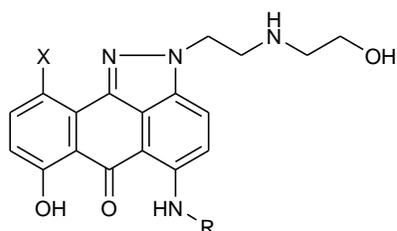
เนื่องจากการใช้ยา Mitoxantrone ยังคงพบปัญหาผลข้างเคียงต่อกล้ามเนื้อหัวใจ แม้ว่าจะลดลงไปบ้างเมื่อเทียบกับยาในกลุ่มแอนทราไซคลิน ดังนั้นจึงมีกลุ่มงานวิจัยที่พยายามพัฒนายาที่มีโครงสร้างใกล้เคียง แต่ส่งผลกระทบต่อกล้ามเนื้อหัวใจลดลง โดยกลุ่มงานของ A.P.Krapcho ได้พัฒนา Isosteric chemotype ของ Mitoxantrone โดยการกำหนดหมู่ไฮดรอกซีในตำแหน่งที่ 2 และ 5 และมีการเพิ่มไนโตรเจนเข้าไปในวงแทน ซึ่งคาดว่ายาที่ได้เกิดไปโอรีดักชัน (Bioreduction) ผ่านสารตัวกลางที่เป็น Semiquinone radical ได้น้อยลง ซึ่งจะทำให้ยาไม่มีความเป็นพิษต่อกล้ามเนื้อหัวใจต่ำลงและจากการทดลองพบว่ายาที่ให้ผลในการรักษาได้ดี คือ BBR 2778 (15) [15] และมีผลข้างเคียงต่อกล้ามเนื้อหัวใจลดลงเมื่อเทียบกับ Mitoxantrone

### 2.6.3 Anthrapyrazoles and Aza-Anthrapyrazoles

ยาด้านมะเร็งในกลุ่มแอนทราไพราโซล ได้รับการพัฒนาขึ้นมาโดยการต่อวงไพราโซลเพิ่มเข้าไปในโครงสร้างของยาในกลุ่มแอนทราซิน-9,10-ไดโอน ทั้งนี้เพื่อเพิ่มศักยภาพในการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งและลดผลข้างเคียงต่อกล้ามเนื้อหัวใจ ซึ่งเกิดจากการมีโครงสร้างแบบควิโนนในโมเลกุล โดยที่เชื่อว่าในสารกลุ่มนี้จะเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ในร่างกาย (Biological reduction) ให้ได้อินเตอร์มีเดียตแบบเรดิคัลแอนไอออนน้อยกว่าควิโนน ดังนั้นจึงน่าจะลดผลข้างเคียงดังกล่าวได้ จากผลการทดลองการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งพบว่าสาร 3 ชนิดในกลุ่มนี้คือ Teloxantrone, Losoxantrone และ Piroxantrone ให้ผลการทดลองดีมากและได้นำไปใช้ในคลินิกและสารที่ออกฤทธิ์ดีที่สุดคือ Losoxantrone ซึ่งออกฤทธิ์

ดีมากต่อเซลล์มะเร็งเต้านม แม้ว่ายังคงพบผลข้างเคียงต่อกล้ามเนื้อหัวใจ ขณะนี้ยานี้กำลังอยู่ในการทดลองคลินิกเฟสที่ 3 [16]

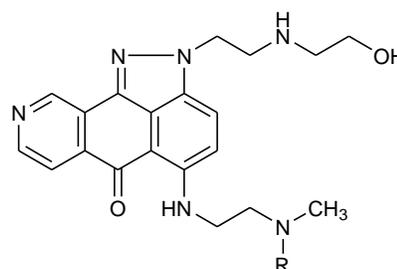
ต่อมา A.P. Krapcho ได้พัฒนาเจเนอเรชันที่สองของยาในกลุ่มนี้เพื่อลดผลข้างเคียงและเพิ่มศักยภาพในการออกฤทธิ์ โดยการเติมไนโตรเจนอะตอมเข้าไปในวงแอนทราไพราโซลและกำจัดการหมู่แทนที่ไฮดรอกซิล จากการทดลองพบว่า เอซา-แอนทราไพราโซลที่มีไนโตรเจนอะตอมอยู่ในตำแหน่ง ที่ 9 สารหมายเลข 17 ให้ผลการทดลองที่ดีที่สุดและไม่พบผลข้างเคียงต่อกล้ามเนื้อหัวใจอีกด้วย ซึ่งในกลุ่มนี้มีสารที่ออกฤทธิ์ได้ดีและถูกนำไปศึกษาในการทดลองกับผู้ป่วย คือ BBR 3409 และ BBR 3438 [17]



**16a:** X = OH, R = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHCH<sub>3</sub>, Teloxantrone

**16b:** X = H, R = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH, Losoxantrone

**16c:** X = OH, R = (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, Piroxantrone



**17a:** R = CH<sub>3</sub>, BBR 3409

**17b:** R = H, BBR 3438

รูปที่ 2.12 โครงสร้างของยาในกลุ่มแอนทราไพราโซลและเอซา-แอนทราไพราโซล

## 2.7 การจำลองแบบโมเลกุล (Molecular Modelling) และเคมีคอมพิวเตอร์ (Computational chemistry)

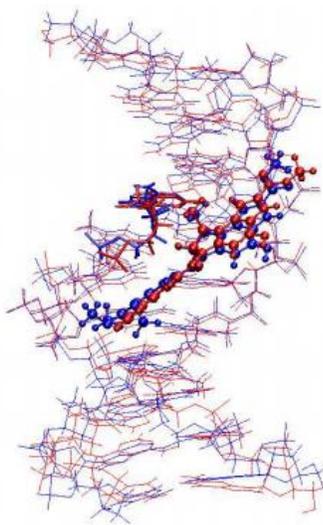
แนวโน้มของงานวิจัยในห้องปฏิบัติการสามารถลดขนาดลงไปจัดการกับอะตอมหรือโมเลกุล แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการยังคงต้องใช้เครื่องมือที่มีความซับซ้อนมากและมีราคาสูงมาก ดังนั้นงานวิจัยทางเคมีคอมพิวเตอร์ ซึ่งสามารถให้ข้อมูลในระดับอะตอมหรือระดับโมเลกุลได้โดยตรงจึงเป็นศาสตร์หรือเครื่องมือวิจัยหลักในยุคของนาโนเทคโนโลยี เคมีคอมพิวเตอร์เป็นสาขาหนึ่งของเคมี ที่นำเอาทฤษฎีกลศาสตร์ควอนตัม (quantum mechanics) และกลศาสตร์เชิงสถิติ (statistical mechanics) มาใช้อธิบายสิ่งที่เกิดขึ้นในระบบโมเลกุลทางเคมี จึงทำให้เกิดการคำนวณหลายวิธีในลักษณะต่างๆ ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อจำกัดที่ต่างกันออกไปและมีความแตกต่างในความถูกต้องของข้อมูลที่ได้จากการคำนวณขึ้นอยู่กับการประมาณค่าในแต่ละวิธี โดยทั่วไปวิธีที่ให้ค่าถูกต้องกว่าจะใช้เวลาในการคำนวณนานกว่าโดยใช้คอมพิวเตอร์เป็นเครื่องมือในการคำนวณ

ผลที่ได้จากการคำนวณโดยใช้คอมพิวเตอร์ในการคำนวณจะถูกนำมาประมวลผล และวิเคราะห์ผลเพื่อให้ได้มาซึ่งคุณสมบัติทางเคมี การคำนวณนี้สามารถกระทำได้ตั้งแต่ระบบเล็กๆ ในระดับอิเล็กทรอนิกส์ ระดับอะตอม ไปจนถึงระดับโมเลกุลที่มีระบบใหญ่ขึ้น และในสถานะที่ไม่สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการ การวิจัยทางเคมีคอมพิวเตอร์จึงเข้ามามีบทบาทกับงานวิจัยในยุคปัจจุบัน เคมีคอมพิวเตอร์เปรียบเสมือนห้องทดลองราคาถูกลง เพราะสามารถทำการทดลองได้โดยอาศัยเพียงเครื่องคอมพิวเตอร์เครื่องหนึ่งเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับทำการทดลองในห้องปฏิบัติการจริงที่ต้องใช้งบประมาณในการซื้อสารเคมีและเครื่องมือเป็นจำนวนมากนอกจากนี้การวิจัยทางเคมีคอมพิวเตอร์ยังช่วยในการประหยัดเวลา และมีความปลอดภัยต่อผู้ทำการทดลองและสิ่งแวดล้อม เช่น ในการศึกษาวิจัยทางด้านเภสัชกรรมและการค้นหาตัวยาที่จะใช้ในการรักษาโรคร้ายบางชนิด ที่ต้องเริ่มต้นจากการทดสอบสารที่คาดว่าจะมีฤทธิ์ทางยาซึ่งมีจำนวนมากมายากหลายกลุ่ม ในการทดลองในห้องปฏิบัติการต้องใช้สารเคมี เครื่องมือ งบประมาณ รวมทั้งบุคลากรเป็นจำนวนมาก แม้กระทั่งในการทดลองที่ต้องสัมผัสกับสารที่เป็นอันตรายสูงหรือเชื้อโรคร้ายแรงบางชนิด การศึกษาการออกแบบการดูดซับและตัวเร่งปฏิกิริยาของโครงสร้างซีโอไลต์ การศึกษาระบบซีโอไลต์ และอนุภาคโลหะบางชนิด ซึ่งใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาหลักในอุตสาหกรรมปิโตรเลียมเคมี เคมีคอมพิวเตอร์สามารถช่วยลดความเสี่ยงในส่วนนี้ได้ การวิจัยทางเคมีคอมพิวเตอร์เป็นสาขาที่มีบทบาทกับงานวิจัยในยุคปัจจุบันเป็นอย่างมาก การศึกษาในทางเคมีคอมพิวเตอร์สามารถใช้ตรวจสอบประสิทธิภาพและความเป็นไปได้ของการใช้ศึกษาคุณสมบัติและการทดลองที่ไม่สามารถเกิดขึ้นหรือเกิดขึ้นได้ยาก และใช้เพื่ออธิบายข้อมูลของการทดลอง ถึงแม้ว่าเคมีคอมพิวเตอร์จะได้รับการยอมรับและมีบทบาทอย่างกว้างขวางในด้านต่างๆ แต่เคมีคอมพิวเตอร์ไม่สามารถเข้ามาทดแทนการทดลองในห้องปฏิบัติการได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากบทสรุปของการค้นพบใดๆ ต้องพิสูจน์และจบลงด้วยการทดลองในห้องปฏิบัติการเสมอ นั่นก็คือ การศึกษาระบบต่างๆ ในทางวิทยาศาสตร์ การได้มาซึ่งความน่าเชื่อถือถูกต้องแม่นยำ และพร้อมจะสามารถนำไปขยายผลการประยุกต์นำไปใช้ได้จริง ควรเป็นการศึกษาที่ได้รับผลการศึกษาทางทฤษฎีคำนวณสอดคล้องกับผลจากการปฏิบัติการทางเคมี

### 2.7.1 วิธีการคำนวณทางกลศาสตร์ควอนตัม (Quantum Mechanics Calculations)

วิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัม คือ การคำนวณหาพลังงานของระบบอะตอมและโมเลกุลจากการแก้สมการคลื่น (Schrödinger equation) ที่พิจารณาระบบทั้งหลายเป็นคลื่น การแก้สมการคลื่นสำหรับระบบที่ใหญ่ต้องการคอมพิวเตอร์สมรรถนะสูง วิธีการคำนวณทางควอนตัมมีระเบียบวิธีที่หลากหลาย ซึ่งให้ผลที่มีความถูกต้อง (accuracy) แตกต่างกันไป ตลอดจนมีความต้องการสมรรถนะของคอมพิวเตอร์ที่แตกต่างกัน แม้แต่ในวิธีการเดียวกันก็ยังมีรายละเอียดย่อยๆ ที่ขึ้นกับระบบและความ

ต้องการ ถึงแม้จะมีซอฟต์แวร์สำเร็จรูปที่ไม่ต้องการการดัดแปลงแก้ไขใดๆ แต่ก็ยังต้องการความรู้ทางทฤษฎีควอนตัมในระดับหนึ่ง ประโยชน์ของวิธีการคำนวณทางเคมีควอนตัมส่วนใหญ่เป็นการประยุกต์เอาความรู้ทางพลังงานและสมบัติอื่นๆ เช่น ค่าประจุและแรงกระทำ เป็นต้น ไปใช้ร่วมกับวิธีการอื่น เช่น ค่าออร์บิทัลสามารถถูกนำไปแสดงผลด้วยวิธีโมเลกุลาร์ กราฟฟิกส์ และวิซัวไลเซชัน ค่าพลังงานสามารถนำไปสร้างพื้นผิวพลังงานศักย์ (potential-energy surface) เพื่อนำไปใช้กับการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ นอกจากนี้สมบัติทางไฟฟ้าที่ได้จากการวิเคราะห์ออร์บิทัล ยังสามารถนำไปออกแบบโพลีเมอร์และวัสดุพวกตัวนำไฟฟ้าได้

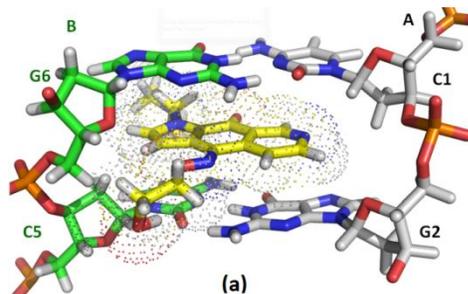


รูปที่ 2.13 การคำนวณ QM/MM ของสารยับยั้งโรคมะเร็ง

### 2.7.2 วิธีจำลองกลศาสตร์เชิงโมเลกุล (Molecular Mechanics Modeling)

วิธีการออกแบบโมเลกุลที่ได้รับความนิยมสูงสุดของนักชีวเคมี นักเทคโนโลยีชีวภาพ และนักวิศวกรรมโปรตีน โดยใช้หลักการกำหนดให้โมเลกุลมีลักษณะเป็น mechanical model ที่สมมุติให้อะตอมเป็นก้อนมวลที่ยึดติดกันด้วยสปริง แรงกระทำระหว่างอะตอมต่างๆ สามารถคำนวณได้จากสมการชุดหนึ่ง ซึ่งจะกำหนดรูปแบบการเคลื่อนที่ของอะตอมต่างๆ ในโมเลกุลขึ้นมา เช่น stretching, bending, torsional-angle เป็นต้น โดยมีค่าพารามิเตอร์แต่ละชุดสำหรับเซตของอะตอมที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ในสมการ ตลอดจนค่าพารามิเตอร์ที่เรียกว่า “force-field parameters” ซึ่งได้มาจากการรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลจากการทดลอง และจากการคำนวณ ทางทฤษฎีจำนวนมาก โดยทั่วไปวิธีการโมเดลกลศาสตร์เชิงโมเลกุลจะถูกนำมาทำให้อยู่ในรูปของ software package ที่ใช้งานง่ายขึ้น ด้วยการรวมความสามารถทางกราฟฟิกส์เข้าไป เพื่อความสะดวกที่เกิดขึ้น คือ สามารถสร้างและแก้ไขโครงสร้างของโมเลกุลแบบ interactive พร้อมทั้งให้โปรแกรมคำนวณหาโครงสร้างที่

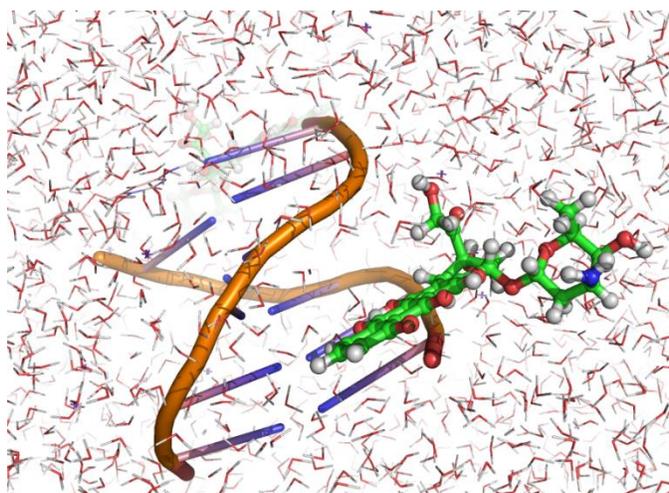
เสถียรทางพลังงาน (equilibrium structure) ซอฟต์แวร์ระดับมืออาชีพบางตัวยังเพิ่มขีดความสามารถขึ้นไปอีก ได้แก่ ความสามารถในการค้นหาคอนฟอร์เมชันที่เกิดขึ้นได้ (energy-accessible conformation) เช่น โปรแกรมไฮเปอร์เคมี (HyperChem 6.03), โปรแกรม DS Visualizer 1.7 เป็นต้น



รูปที่ 2.14 การศึกษากลศาสตร์เชิงโมเลกุลของสารยับยั้งโรคมะเร็งในกลุ่มเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล

### 2.7.3 วิธีจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ (Computer simulation)

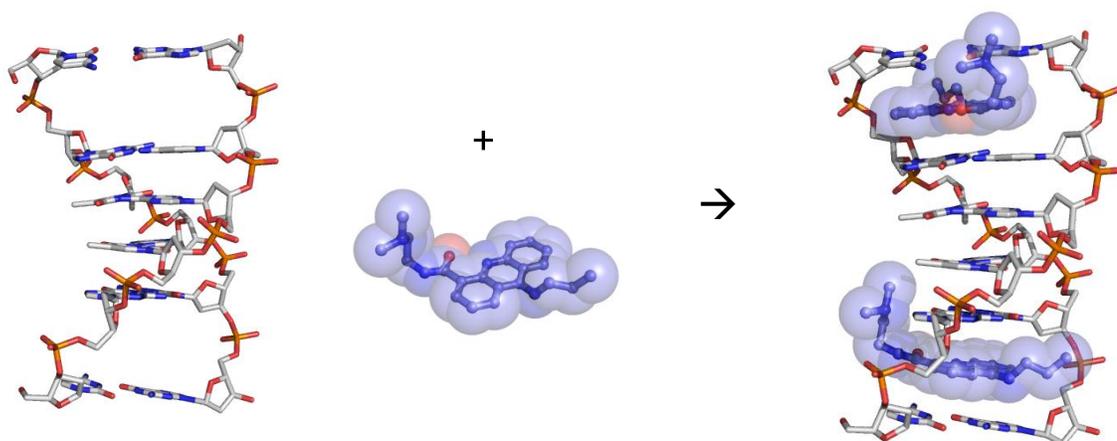
วิธีการจำลองเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นจริงของอะตอมและโมเลกุลบนคอมพิวเตอร์ เพื่อศึกษาพฤติกรรมของอะตอมแต่ละตัว ซึ่งจะนำไปสู่ความเข้าใจสมบัติในระดับที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ด้วยหลักการ คือ พลังงานที่ควบคุมความเป็นอยู่ (ตำแหน่งและความเร็ว) ของอะตอมต่างๆ ที่เรียกว่า “Potential-energy surface” หลักการทางกลศาสตร์สถิติได้ถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากเหตุการณ์จำลองจะได้โครงสร้างของระบบสมบัติทางพลศาสตร์และสมบัติทางสเปกโตรสโคปี วิธีการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ต้องการความรู้ทางฟิสิกส์ ถึงแม้จะมีซอฟต์แวร์สำเร็จรูป แต่ก็ยังต้องการความสามารถในการเข้าใจข้อมูลทางสถิติของผลที่ได้ รวมถึงความรู้ในเรื่องภาษาของโปรแกรม เพราะชุดของโปรแกรมที่มีอยู่อาจไม่ลงตัวกับปัญหาที่ศึกษาอยู่ ข้อดีที่เห็นชัดเจนของ การจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ คือ เป็นวิธีที่ตรงไปตรงมาในการที่จะได้สมบัติระดับมหภาค ซึ่งต่างจากวิธีการทดลองที่บางครั้งต้องนำผลที่ได้จากการวัดมาทำการสร้างแบบจำลองก่อน เช่น โครงสร้างผลึกทางเอ็กซ์เรย์ของสารละลายสามารถหาได้ด้วยวิธีการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ แต่ลำบากสำหรับการทดลอง ซึ่งในบางกรณีอาจทำไม่ได้ วิธีการจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ได้รับการยอมรับอย่างดี เพื่อนำมาใช้แทนการทดลอง โดยเฉพาะกับของเหลวหรือสารละลาย และการออกแบบเอ็นไซม์ การศึกษาระบบเมมเบรน เป็นต้น



รูปที่ 2.15 การศึกษาระบบยาที่แทรกเข้าไปในดีเอ็นเอด้วยวิธีจำลองด้วยคอมพิวเตอร์ (Computer simulation)

#### 2.7.4 วิธีการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ้ง (Molecular Docking)

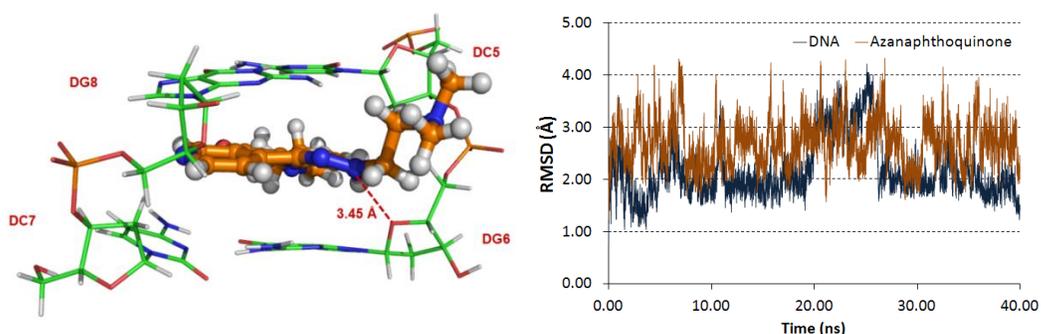
การคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ้งเป็นวิธีการที่ใช้ในการทำนายทิศทางและตำแหน่งในการจับของโมเลกุลขนาดเล็กเช่น ตัวยา ในโปรตีนที่เป็นเป้าหมายของตัวยา ซึ่งผลการศึกษาที่ได้ยังช่วยทำนายประสิทธิภาพการทำงานของโมเลกุลขนาดเล็กได้ ดังนั้นการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ้งจึงมีความสำคัญในการออกแบบยาในเชิงทฤษฎี การคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ้งจะใช้สมมุติของ lock-and-key โดยโปรตีนเป้าหมายจะเปรียบเสมือนแม่กุญแจ ในขณะที่ตัวยาหรือโมเลกุลขนาดเล็กเปรียบเสมือนเป็นลูกกุญแจ โดยวัตถุประสงค์ของการคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ้งคือ การคำนวณหาคอนฟอร์เมชันที่เหมาะสมที่สุดของตัวยาในโปรตีนเป้าหมาย (best-fit) การคำนวณโมเลกุลาร์ดีอกกิ้งยังสามารถนำไปใช้ในการค้นหาจากฐานข้อมูลที่มีอยู่แล้วหรือจากโมเลกุลหรือสารเคมีที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ซึ่งเหมือนการนำยาหรือโมเลกุลใดๆที่ทราบโครงสร้างสามมิติแล้วมาหาความเป็นไปได้ในการเคลื่อนที่เข้าไปยึดเกาะในบริเวณเร่งหรือ ในบริเวณการจับของเอนไซม์ ซึ่งหากเห็นว่าสารที่นำมาทดสอบนั้นมีโครงสร้างเหมาะสมกับแม่แบบก็สามารถตั้งข้อสมมติฐานได้ว่าน่าจะมีกัมมันตภาพที่ดี นอกจากนี้โมเลกุลาร์ดีอกกิ้งสามารถทำนายค่าความสัมพันธ์โครงสร้างของสารยับยั้งเอนไซม์และการออกฤทธิ์จากการประมวลผลทำให้ทราบว่าสารออกฤทธิ์นั้นจับกับเอนไซม์ของเชื้อโรคได้ดีมากน้อยเพียงใดหรือควรออกแบบโมเลกุลให้มีลักษณะอย่างไรจึงจะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้



รูปที่ 2.16 ตัวอย่างการคำนวณโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง

### 2.7.5 การจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation)

การจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุล หรือ Molecular Dynamics Simulations (MD) เป็นการจำลองแบบโมเลกุลโดยใช้คอมพิวเตอร์ เพื่อจำลองการเคลื่อนที่ของโมเลกุลที่ขึ้นอยู่กับเวลา ซึ่งการจำลองแบบดังกล่าวใช้พื้นฐานความรู้ทางด้านฟิสิกส์ เคมี และสถิติเข้ามาช่วย ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุลทำให้เข้าใจถึงคุณสมบัติของระบบที่ต้องการศึกษาในระดับโมเลกุล ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ของการจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุล เช่น การศึกษาความเสถียรของโปรตีน การ folding ของโปรตีน การเคลื่อนย้ายไอออนภายในเซลล์ การออกแบบยา และ การศึกษาเทอร์โมไดนามิกส์ของระบบ เป็นต้น ซึ่งการศึกษาโดยใช้วิธีการจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุลจะทำได้ง่ายกว่าการทดลองในระบบจริง ปัจจุบันการศึกษาคุณสมบัติของโมเลกุลขนาดใหญ่ทางชีวภาพโดยใช้การจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุลมีอย่างแพร่หลายเนื่องจากความสามารถของโปรแกรมและสมรรถภาพของคอมพิวเตอร์ที่เพิ่มขึ้น โปรแกรมในการจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุลที่ใช้แพร่หลายในปัจจุบัน ได้แก่ CHARMM AMBER และ GROMACS



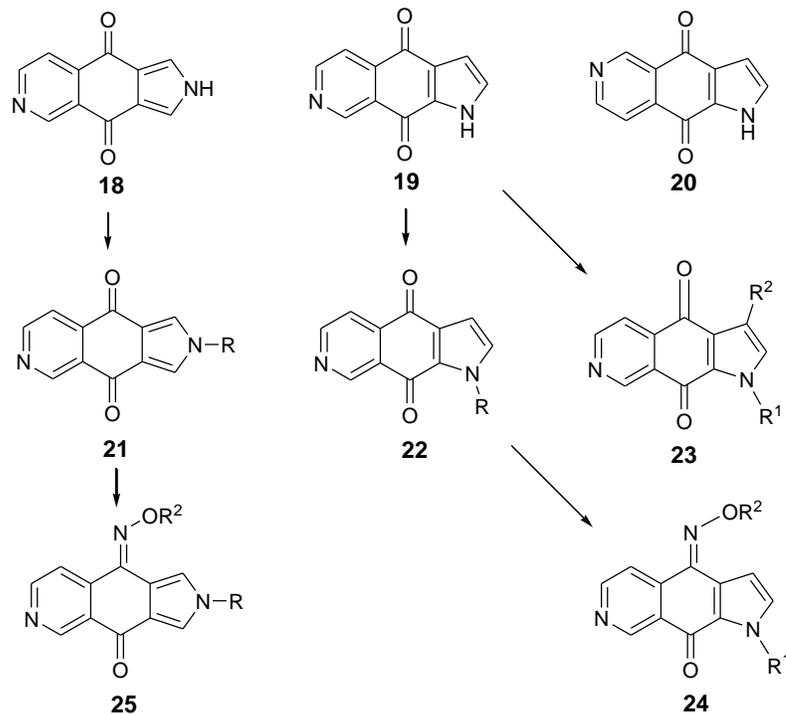
รูปที่ 2.17 ผลของการจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุล (Molecular Dynamics Simulation)

การออกแบบโมเลกุลด้วยการคำนวณ (Computer-Aided Molecular Design) บนพื้นฐานของการจำลองแบบ (Molecular Modelling) และ เคมีควอนตัม (Quantum Chemistry) โดยจะทำการศึกษาด้าน Structure-based drug design โดยใช้วิธีโมเลกุลาร์ด็อกกิ้ง (Molecular docking) ร่วมกับการจำลองพลศาสตร์ระดับโมเลกุล (Molecular Dynamic Simulations, MD) เพื่อทำการความเป็นไปได้ในการวางตัวของสารประกอบต่างๆ ในเอนไซม์/ดีเอ็นเอที่เป็นตัวจับเป้าหมายในการออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ศึกษาโครงสร้างสำคัญที่จำเป็นต่อการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารดังกล่าวที่มีต่อดีเอ็นเอ หาสมบัติเชิงพลวัตของระบบและนำโครงสร้างที่ได้มาศึกษาพลังงานอันตรกิริยาของระบบด้วยการคำนวณกลศาสตร์ควอนตัม/กลศาสตร์เชิงโมเลกุล

## 2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.8.1 Aza-naphthoquinone annelated pyrroles

สารอินเตอร์คาเลติงที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น เอซานแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล (Aza-naphthoquinone annelated pyrroles) [6] เป็นโครงสร้างพื้นฐานชนิดใหม่ที่ได้รับการพัฒนาขึ้นโดยกลุ่มวิจัยที่มหาวิทยาลัยเวียนนา ซึ่งได้มีการสังเคราะห์โครงสร้างพื้นฐานที่มีไนโตรเจนอะตอมแทรกอยู่ในตำแหน่งที่ต่างกันได้ ได้โครงสร้างแบบ 18, 19 และ 20 ดังแสดงในรูปภาพที่ 2.18 จากนั้นจึงเติมสายโซ่หลากหลายชนิดเข้าไปที่โครงสร้างหลักเพื่อเพิ่มความหลากหลายในเชิงการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ



รูปที่ 2.18 โครงสร้างของสารเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล

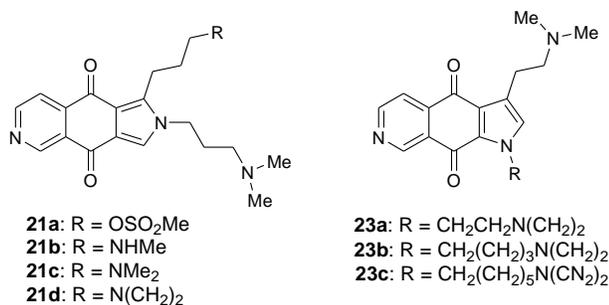
### การทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological Testing)

สารใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้นได้ผ่านการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับเซลล์มะเร็งของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจำนวน 5 ชนิดดังนี้

1. KB/HeLa: Cervical carcinoma
2. SKOV-3: Ovarian carcinoma
3. SF-268: CNS, Glioma
4. RKOp27: Colon adenocarcinoma
5. NCI-H460: Large-cell lung cancer

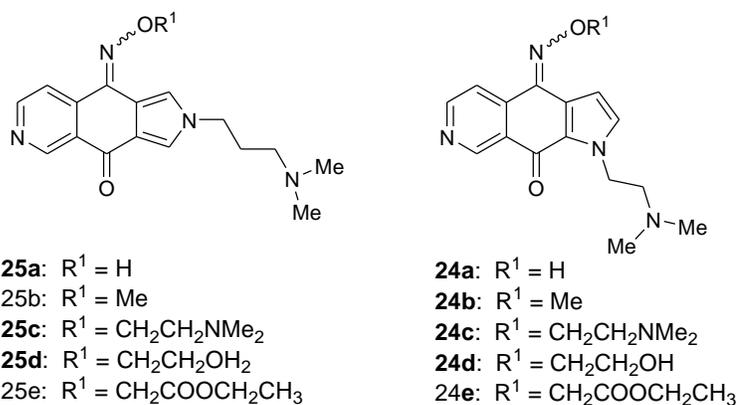
โดยในขั้นแรกจะทดสอบที่ความเข้มข้นคงที่ 3.16  $\mu\text{g/ml}$  ซึ่งหากสารใดสามารถแสดงการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จึงนำไปปรับความเข้มข้นเพื่อหาค่า IC<sub>50</sub> ต่อไป ผลการทดลองของสารในกลุ่มนี้แสดงในตารางที่ 2.1 นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาเปรียบเทียบอนุพันธ์ที่มีตำแหน่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันในวงพิวโรลระหว่างสาร 24 และสาร 25 ซึ่งพบว่าสาร 24 ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีมากในขณะที่สาร 25 ไม่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพเลย ดังแสดงในตารางที่ 2.2 ดังนั้นจึงพอมิเหตุผลให้เชื่อได้ว่าตำแหน่งของไนโตรเจนบนโครงสร้างหลักมีความสำคัญอย่างมากต่อสมบัติทางชีวภาพของสาร

ตารางที่ 2.1 ผลการทดลองความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสาร 21 และ 23



| Compound | IC <sub>50</sub> (μM) KB | IC <sub>50</sub> (μM) SKOV3 | IC <sub>50</sub> (μM) SF268 | IC <sub>50</sub> (μM) NCI-H460 |
|----------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| 21d      | 3.727                    | > 12                        | > 12                        | 0.808 <sup>a</sup>             |
| 23a      | 2.872                    | 8.094                       | 7.125                       | > 12                           |
| 23b      | 1.294                    | 4.342                       | 4.683                       | 1.280                          |
| 23c      | > 12                     | > 12                        | > 12                        | > 12                           |

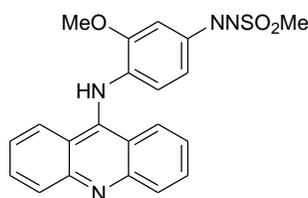
ตารางที่ 2.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร 24 และสาร 25



| Compound | IC <sub>50</sub> (μM) KB | IC <sub>50</sub> (μM) SKOV3 | IC <sub>50</sub> (μM) SF268 | IC <sub>50</sub> (μM) NCI-H460 |
|----------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| 24a      | > 12                     | > 12                        | > 12                        | > 12                           |
| 24b      | 1.212                    | 2.237                       | 2.430                       | 0.793                          |
| 24c      | 0.670                    | 0.936                       | > 12                        | 0.232                          |
| 24d      | 0.665                    | 0.477                       | 1.389                       | 0.129                          |
| 24e      | > 12                     | > 12                        | > 12                        | > 12                           |

## 2.8.2 Topoisomerase inhibitor

ยากลุ่มนี้ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Topo II ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่คลายเกลียวและทำให้เกิดเกลียวของสายดีเอ็นเอเพื่อควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนและช่วยในการเพิ่มจำนวนของสายดีเอ็นเอ ยาที่ยับยั้งเอนไซม์นี้จึงทำให้เซลล์มะเร็งไม่สามารถแบ่งตัวได้และทำให้เซลล์มะเร็งตายไป ยาในกลุ่มนี้ได้แก่ Amsacrine (26) และ Asulacrine มีโครงสร้างดังแสดงดังรูปที่ 2.19

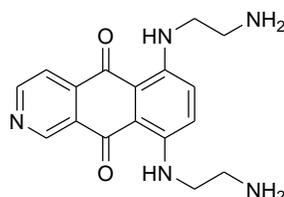


26: Amsacrine

รูปที่ 2.19 ยาที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Topo II

ดร.กิลเลียน ริฟส์ [18] จากมหาวิทยาลัยออกซ์ฟอร์ด ศึกษาพบว่าผู้หญิงวัยกลางคนในอังกฤษ ราว 6,000 คน เป็นมะเร็งมากขึ้นทุกปี สาเหตุมาจากความอ้วน โดยงานวิจัยพบความเชื่อมโยงระหว่างน้ำหนักกับโอกาสเสี่ยงที่เป็นมะเร็งนั้น ขึ้นอยู่กับช่วงอายุของผู้หญิงด้วยและทางกองทุนวิจัยมะเร็งโลก ผู้ประกาศเตือนว่า ความอ้วนเป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคมะเร็ง ดังต่อไปนี้ คือ มะเร็งมดลูก มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งลำไส้ มะเร็งที่ไต มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งทรวงอก มะเร็งไขกระดูก มะเร็งที่ตับอ่อน มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดนอน-ฮอดจ์กินและมะเร็งรังไข่ มีงานวิจัยหลายชิ้นที่พบว่า อัตราการเป็นมะเร็งทรวงอกและมะเร็งต่อมลูกหมาก มีมากในกลุ่มคนที่ทำงานตอนกลางคืน

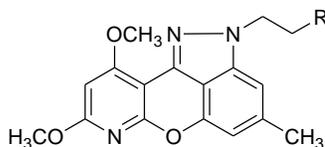
Ennio Cavalletti และคณะ[19] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารกลุ่ม Anthracyclines และ Anthracenediones ซึ่งมีความสำคัญทางยาในการรักษาเกี่ยวกับโรคมะเร็ง แต่ยังมีความเป็นพิษต่อกล้ามเนื้อหัวใจและศึกษาเกี่ยวกับการรักษาที่สามารถลดผลข้างเคียงต่อกล้ามเนื้อหัวใจ โดยทำการศึกษา Pixantrone (ชื่อเดิม BBR 2778; 15) เปรียบเทียบกับ Doxorubicin และ Mitroxastrone ในหนูเพศเมีย พบว่าหนูที่รักษาด้วย กับ Doxorubicin หรือ Mitroxastrone ได้ผลน้อยกว่า คือยังมีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้หัวใจเสื่อมลง สืบเนื่องจากการตายที่มีจำนวนสูงกว่ากลุ่มที่รักษาด้วย Pixantrone จึงมีการนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งหลังจากที่รักษาด้วย Anthracyclines ในเวลาต่อมา



BBR 2778 (15)

รูปที่ 2.20 โครงสร้างโมเลกุลของ Pixantrone (BBR 2778)

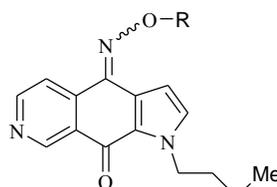
J.-H. Tan และคณะ [20] ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Anthrapyrazoles ที่ได้มาจากสาร Emodin โดยมีหมู่อะมิโนเป็นสายโซ่ที่แตกต่างกันบนวง Pyrazole ซึ่งสารที่สังเคราะห์ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสาร Emodin พบว่า มีการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งได้มากกว่าสาร Emodin และจะเกิดอันตรกริยากับดีเอ็นเอได้ดีในต่อมไทมัสของลูกวัว โมเลกุลเป้าหมายที่สังเคราะห์ขึ้น ได้แก่สารหมายเลข 27 ดังแสดงในรูปที่ 2.21



27

**รูปที่ 2.21** โครงสร้างของสารที่เป็นอนุพันธ์ของ Anthrapyrazoles ที่ได้มาจากสาร Emodin

K. Shanab และคณะ[21] ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ที่เป็นออกซิมีของเอซาแนพโทควิโนน (Oxime derivative of azanaphthoquinone) จากการศึกษาผลการยับยั้งเซลล์มะเร็งมนุษย์ 4 ชนิด ได้แก่ KB, SKOV3, SF268, และ NCI-H460 พบว่าสาร 28c และ 28d ให้ผลการออกฤทธิ์ทางชีวภาพดี มาก และยังพบการยับยั้ง Cell cycle ในขั้น G2/M เฟส อย่างไรก็ตามพบว่าสารประกอบหมายเลข 28 ไม่แสดงคุณสมบัติที่ทำให้เซลล์เกิดกระบวนการ Apoptosis

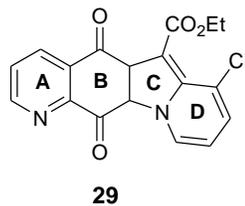


**28c:** R = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NMe<sub>2</sub>

**28d:** R = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH

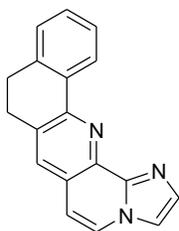
**รูปที่ 2.22** โครงสร้างของสารอนุพันธ์ที่เป็นออกซิมีของเอซาแนพโทควิโนน

Y. Cheng และคณะ[22] สังเคราะห์ Indolinzoquinoline-5,12-dione derivatives (IQDs) (22) การศึกษาประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ (GLC-82), มะเร็งปอดขนาดใหญ่ (NCI-H460), มะเร็งเม็ดเลือดขาว (HL-60) และเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) โดยวิธี MTT พบว่าสารอนุพันธ์ IQDs ส่วนมากสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดี โดยพบว่าการมีหมู่ดึงอิเล็กตรอนแทนที่บนวง C และ D จะช่วยเพิ่มศักยภาพในการออกฤทธิ์ นอกจากนี้ยังตรวจพบการยับยั้งเอนไซม์ Topoisomerase Type 1 (Topo I) ของสารในกลุ่มนี้ด้วย

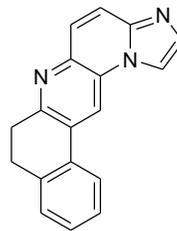


รูปที่ 2.23 โครงสร้างของ Indolinzoquinoline-5,12-dione derivatives (IQDs)

M. Andatoussi และคณะ[23] สังเคราะห์สารตัวใหม่ Imidazo[1,2-a]naphthyridine จากปฏิกิริยา Friedländer's ของ Imidazo[1,2-a]pyridine การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเนื้องอกของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้กับเซลล์ของมนุษย์พบว่า อนุพันธ์ Pentacyclic **30** และ **31** สามารถออกฤทธิ์ได้ดีเทียบเท่ากับยาต้านมะเร็งที่ใช้ในปัจจุบันคือ Amsacrine อย่างไรก็ตามการออกฤทธิ์ของสารทั้งสองนี้ไม่ใช่เป็นการยับยั้งเอนไซม์ Topo I แต่เป็นการแทรกสอดเข้าไปในสาย DNA โดยตรง

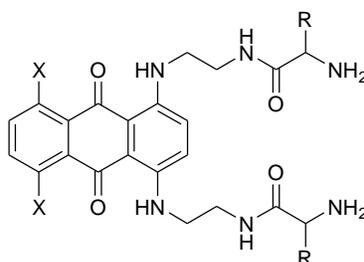


**30**



**31**

รูปที่ 2.24 โครงสร้างของสารอนุพันธ์ Pentacyclic



**32a:** Ametantron-Amino acid Conjugate (AAC): X=H

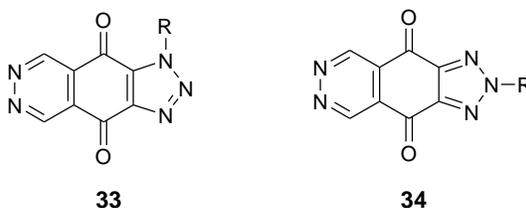
**32b:** Mitoxantrone Amino acid Conjugate (MAC): X=OH

**32c:** MAC16; R= L-methioninyl (2TFA)

รูปที่ 2.25 โครงสร้างของสารอนุพันธ์ Mitoxantrone

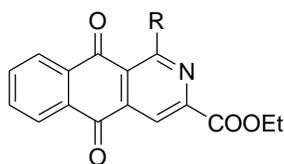
L.-W. Hsin และคณะ [24] ได้สังเคราะห์ 1,4-Bis(2-Amino-ethy aminoanthraquinone-amino acid Conjugate (BACs), Ametantron-Amino acid Conjugate (AACs) และ Mitoxantrone Amino acid Conjugate (MACs) การศึกษาการจับกับ DNA และการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งพบว่า สาร MAC **32b** ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งเอนไซม์ Topo II ดังแสดงในรูปที่ 2.25

J.S. Kim และคณะ[25] ศึกษาการออกฤทธิ์ยับยั้งเนื้องอกของสาร Heterocyclic quinone ที่ประกอบด้วยไนโตรเจน ตามหมายเลข **33**, **34** และตำแหน่งไนโตรเจนบนวงแหวน Heterocyclic มีความสำคัญต่อการมีพิษต่อเซลล์ของ Quinone คณะวิจัยจึงทำการออกแบบโมเลกุลโดยการเพิ่ม Triazolophthalazine ไปในวง Heterocyclic quinone การทดสอบการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งด้วยเทคนิค Sulforhodamine B (SRB) บนเซลล์มะเร็ง 9 ชนิด พบว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้นออกฤทธิ์ได้ดีกว่า Doxorubicin และสามารถยับยั้งเอนไซม์ Topo II ได้ดีกว่า Etoposide โดยมีค่า  $IC_{50}$  อยู่ในช่วง 19.4-64.4  $\mu$ M



รูปที่ 2.26 โครงสร้างของสาร Heterocyclic quinone ที่ประกอบด้วยไนโตรเจน

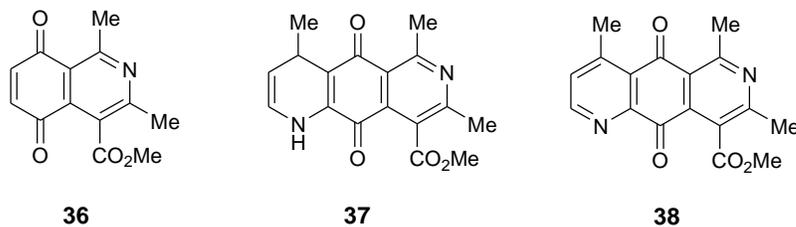
J. Jacobs และคณะ [26] ได้ทำการพัฒนาเทคนิคในการสังเคราะห์สาร 1-hydroxybenz[*g*]-isoquinoline-5,10-diones ที่มีหมู่แทนที่ตรงตำแหน่งที่ 3 ซึ่งเป็นสารที่มีศักยภาพที่จะพัฒนาเพื่อใช้เป็นยารักษาโรคมะเร็งในกลุ่มอินเตอร์คาเลติงต่อไป โดยใช้ปฏิกิริยาของ 2-methoxycarbonyl-1,4-naphthoquinone กับเกลือ Pyridinium ชนิดต่างๆ ด้วย Krohnke condition โดยที่ปฏิกิริยาเป็นปฏิกิริยาการแทนที่ของอิเล็กโตรไฟล์บนวงอะโรมาติกด้วยเกลือพริดิเนียมแล้วได้โมเลกุลเป้าหมาย หมายเลข **35**



**35:** R = aryl group

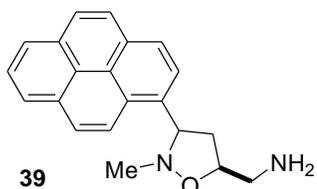
รูปที่ 2.27 โครงสร้างของสาร 1-hydroxybenz[*g*]-isoquinoline-5,10-diones ที่มีหมู่แทนที่ใน ตำแหน่งที่ 3

Jaime A. Valderrama[27] และคณะ ได้ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งชนิดใหม่ที่เป็นอนุพันธ์ของควิโนน ในกลุ่ม 7-aminoisoquinoline-5,8-quinone ดังแสดงในรูปที่ 2.28 โดยทำการทดสอบกับเซลล์มะเร็ง ซึ่งผู้วิจัยได้ทำการสังเคราะห์สาร 7-aryamino และ 7-alkylaminoisoquinoline-5,8-quinone ที่มี yield ที่สูง โดยใช้กรดเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาแทนที่บน Isoquinolinequinone และได้ทำการทดสอบความเป็นพิษหรือ ความสามารถในการฆ่าเซลล์มะเร็งปอด Fibroblast, มะเร็งทางเดินอาหาร Adienocarcinoma, มะเร็งปอดและเซลล์มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ ซึ่งให้ค่า IC<sub>50</sub> ในระดับ  $\mu\text{M}$  นอกจากนี้ยังได้ศึกษาคุณสมบัติรีดอกซ์ของสารที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยเทคนิค Cyclic voltammetry ในตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์ พบว่าสมบัติในการฆ่าเซลล์มะเร็งและสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งของสารในกลุ่มนี้มีความสอดคล้องกับค่าศักย์ครึ่งคลื่นและสมบัติในการละลายในไขมันของสาร



รูปที่ 2.28 โครงสร้าง Anti-tumoral diaza-anthraquinones 36 และ 37 ซึ่งเตรียมจาก 38

Antonio Rescifina และคณะ[28] ได้ทำการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งในกลุ่ม DNA-intercalating ที่เป็นเจอเนอเรชันที่สองของ Isoxazolidinyl polycyclic aromatic hydrocarbons ซึ่งถูกออกแบบให้สามารถแทรกตัวเข้าไปในร่องได้ดี การทดลองนี้สามารถสังเคราะห์ได้ Yield ที่ดี ตามวิธี 1,3-dipolar cycloaddition โครงสร้างของสารได้รับการตรวจสอบจากการทดลอง NOE และได้รับการสนับสนุนจากการคำนวณด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ในระดับ PM3 การสังเคราะห์โครงสร้างถูกออกแบบมาเพื่อใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติ Intercalative ของมันซึ่งได้รับการทดสอบความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ (A-549) ซึ่งสาร 39 (รูปที่ 2.29) ให้ค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ 9 mM และค่าคงที่ Binding สำหรับ Intercalation กับ DNA ในต่อมไทมัสของลูกวัวเท่ากับ  $9.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  จากผลการศึกษาทางชีววิทยาพบว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้นมีความจำเพาะเจาะจงกับคู่เบสของ DNA โดยเฉพาะกับ คู่เบส AT หรือ GC



รูปที่ 2.29 เจอเนอเรชันที่สองของ Isoxazolidinyl polycyclic aromatic hydrocarbons

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

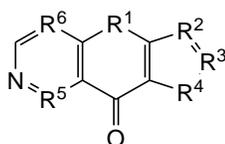
#### 3.1 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้ง (QSAR) และการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (MD Simulations)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งและการจำลองแบบของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรลซึ่งเป็นสารยับยั้งโรคมะเร็งได้ถูกสังเคราะห์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพแล้ว

##### 3.1.1. ข้อมูลทางชีวภาพ

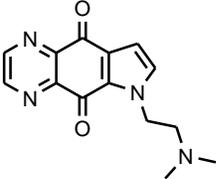
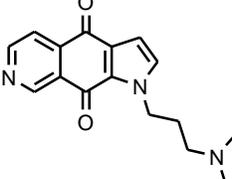
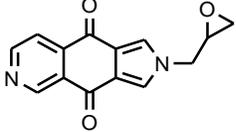
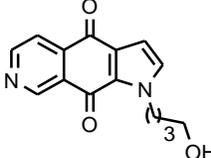
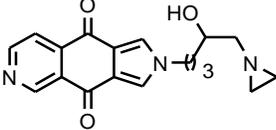
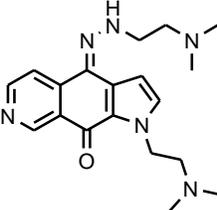
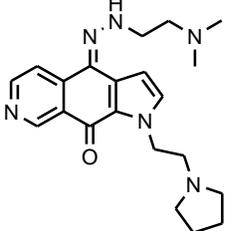
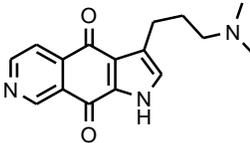
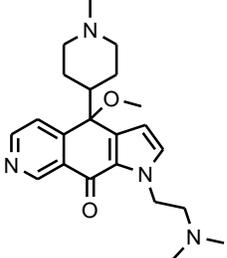
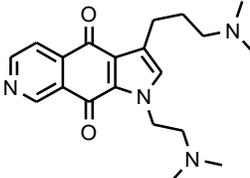
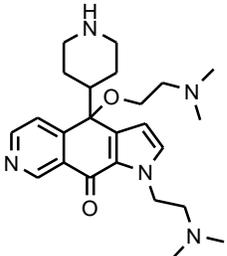
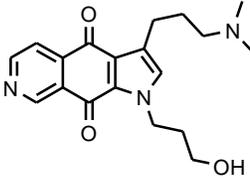
ข้อมูลทางการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งจำนวน 53 โมเลกุลถูกรวบรวมไว้ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 โครงสร้างและค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารอนุพันธ์ เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล



| Cpd. | Structure | log(1/IC <sub>50</sub> ) | Cpd. | Structure | log(1/IC <sub>50</sub> ) |
|------|-----------|--------------------------|------|-----------|--------------------------|
| 1    |           | 4.96                     | 5    |           | 4.92                     |
| 2    |           | 6.17                     | 6    |           | 4.92                     |

| Cpd. | Structure | log(1/IC <sub>50</sub> ) | Cpd. | Structure | log(1/IC <sub>50</sub> ) |
|------|-----------|--------------------------|------|-----------|--------------------------|
| 3    |           | 6.18                     | 7    |           | 5.73                     |
| 4    |           | 5.92                     | 8    |           | 6.61                     |
| 9    |           | 5.60                     | 17   |           | 5.55                     |
| 10   |           | 5.54                     | 18   |           | 5.68                     |
| 11   |           | 5.85                     | 19   |           | 5.55                     |
| 12   |           | 6.19                     | 20   |           | 5.56                     |
| 13   |           | 6.01                     | 21   |           | 8.10                     |

| Cpd. | Structure   | log(1/IC <sub>50</sub> ) | Cpd. | Structure  | log(1/IC <sub>50</sub> ) |
|------|---|--------------------------|------|--|--------------------------|
| 14   |    | 5.30                     | 22   |    | 6.85                     |
| 15   |    | 5.49                     | 23   |    | 5.13                     |
| 16   |    | 5.66                     | 24   |    | 6.55                     |
| 25   |   | 4.58                     | 31   |  | 4.95                     |
| 26   |  | 4.45                     | 32   |  | 5.05                     |
| 27   |  | 5.05                     | 33   |  | 5.03                     |

| Cpd. | Structure | log(1/IC <sub>50</sub> ) | Cpd. | Structure | log(1/IC <sub>50</sub> ) |
|------|-----------|--------------------------|------|-----------|--------------------------|
| 28   |           | 4.75                     | 34   |           | 5.07                     |
| 29   |           | 4.67                     | 35   |           | 5.10                     |
| 30   |           | 4.94                     | 36   |           | 5.13                     |
| 37   |           | 5.08                     | 46   |           | 6.20                     |
| 38   |           | 5.11                     | 47   |           | 6.11                     |
| 39   |           | 4.96                     | 48   |           | 5.71                     |

| Cpd. | Structure | log(1/IC <sub>50</sub> ) | Cpd. | Structure | log(1/IC <sub>50</sub> ) |
|------|-----------|--------------------------|------|-----------|--------------------------|
| 40   |           | 5.00                     | 49   |           | 5.02                     |
| 41   |           | 5.15                     | 50   |           | 5.96                     |
| 42   |           | 5.15                     | 51   |           | 5.95                     |
| 43   |           | 4.97                     | 52   |           | 5.94                     |
| 44   |           | 5.29                     | 53   |           | 5.98                     |
| 45   |           | 5.07                     |      |           |                          |

### 3.1.2. ขั้นตอนในการศึกษา

1. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งด้วยระเบียบวิธี CoMFA และ CoMSIA

1.1 สร้างโครงสร้างแล้วปรับเสถียรโดยระเบียบวิธีทางเคมีควอนตัม HF/3-21G

1.2 นำโครงสร้างที่เสถียรมาวางตัวเพื่อที่จะสร้างแบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA โดยใช้วิธีในการวางโมเลกุลด้วยระเบียบวิธี Pharmacophore

1.3 สร้างแบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA

1.4 วิเคราะห์แบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA

2. การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของสารอนุพันธ์ Azanaphthoquinone annelatd pyrrole ใน DNA

2.1 สร้างโครงสร้างแล้วปรับเสถียรโดยระเบียบวิธีทางเคมีควอนตัม HF/3-21G

2.2 สร้างโครงสร้างการจับกันของสารอนุพันธ์ Azanaphthoquinone annelatd pyrrole ใน DNA โดยใช้ระเบียบวิธีการคำนวณโมเลกุลาร์ต็อกกิ้ง

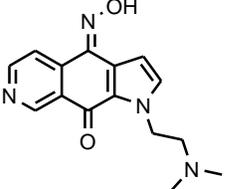
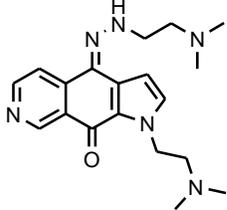
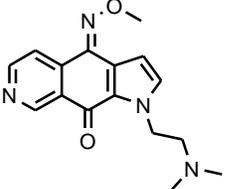
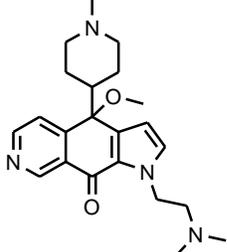
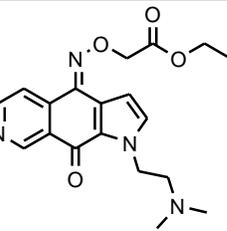
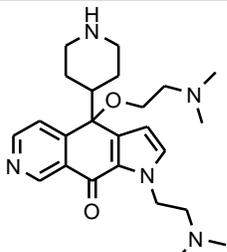
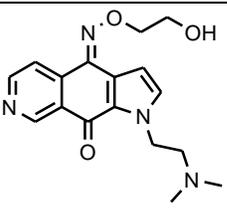
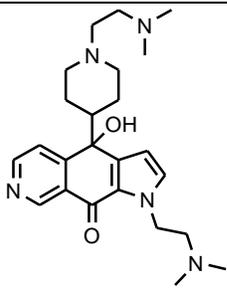
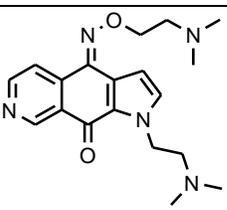
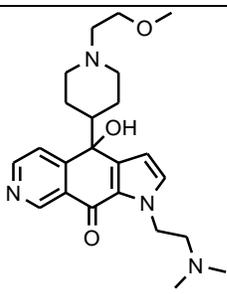
2.3 ศึกษาการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลโดยใช้ระเบียบวิธี MD simulations โดยใช้ Amber ff99 ในการสร้างพารามิเตอร์สำหรับ DNA และ Gaff force field สำหรับสารยับยั้ง ใช้ TIP3P water ในการ solvated ระบบ

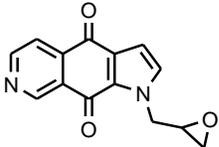
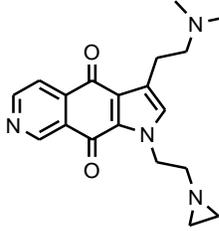
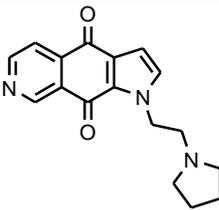
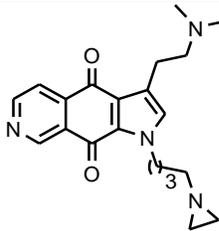
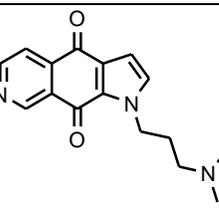
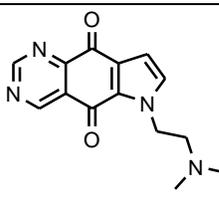
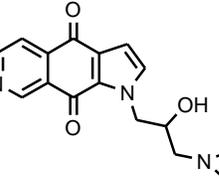
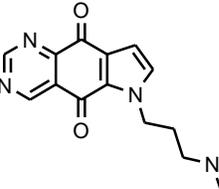
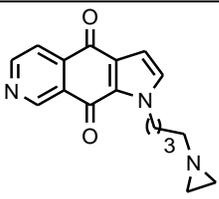
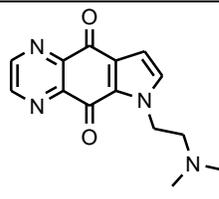
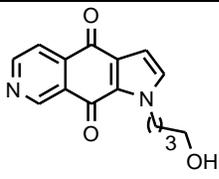
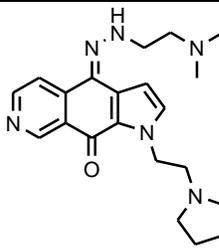
ในการศึกษาการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลโครงสร้างของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่อกับวงพิวโรลที่จับกับ DNA ถูกสร้างโดยใช้ระเบียบวิธีการคำนวณโมเลกุลาร์ต็อกกิ้ง ด้วยโปรแกรม Autodock 4.02 และศึกษาแบบพลวัตเชิงโมเลกุลโดยใช้โปรแกรม AMBER12 โดยใช้ ff99 สำหรับพารามิเตอร์ที่อธิบาย DNA และ GAFF สำหรับพารามิเตอร์ที่อธิบายโครงสร้างของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่อกับวงพิวโรลโดยประจุของ สารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่อกับวงพิวโรลใช้ RESP จากการคำนวณโดยวิธี HF/6-31G\* โดยการจำลองพลวัตทั้งหมด 20 ns ค่าพลังงานในการจับของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่อกับวงพิวโรลที่จับกับ DNA คำนวณโดยระเบียบวิธี MM-PBSA โดยตารางที่ 8 แสดงโครงสร้างและค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งและตารางที่ 9 แสดงจำนวนของอะตอมในระบบที่ศึกษาพลวัตเชิงโมเลกุลของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่อกับวงพิวโรล

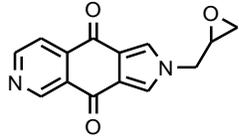
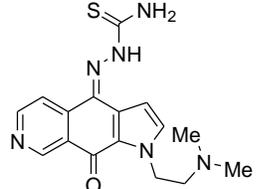
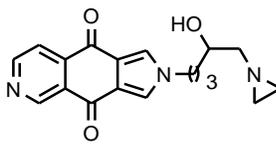
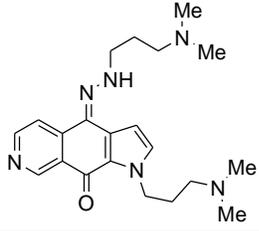
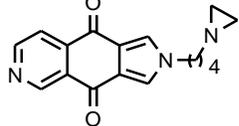
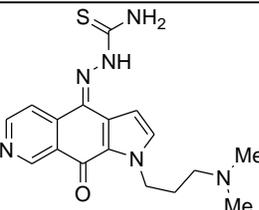
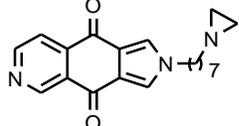
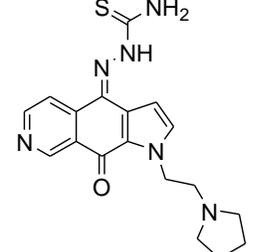
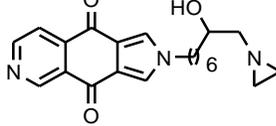
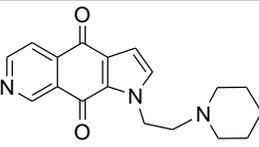
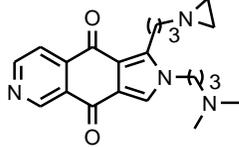
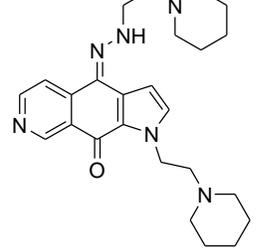
### 3.1.3 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งแบบ 2D-QSAR

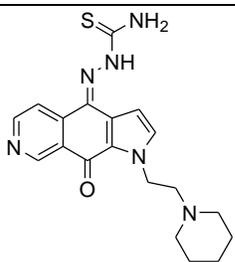
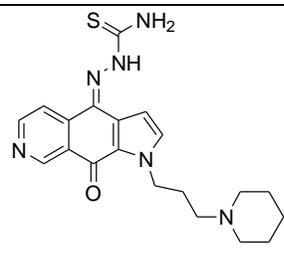
1. รวบรวมข้อมูลทางโครงสร้างของสารอนุพันธ์กลุ่มเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล จำนวน 36 โครงสร้าง ดังแสดงในตาราง ที่ 3.2
2. สร้างโครงสร้างในโปรแกรม GaussView 3.07 และปรับเสถียรโครงสร้างด้วยวิธีทางเคมีควอนตัม (HF/6-31G\*)
3. คำนวณคุณสมบัติของโมเลกุลที่ได้จากการสร้างสมการ QSAR ซึ่งจะใช้โปรแกรม SPSS ในการวิเคราะห์เชิงสถิติ โดยใช้การวิเคราะห์แบบถดถอยเชิงเส้นตรง (Multiple Linear Regression : MLR)
4. พิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร (Correlation) เพื่อหาสมการที่ดีที่สุด โดยพิจารณาค่า Correlation > 0.4 จะต้องทำการตัดความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตัวใดตัวหนึ่งออกจากสมการ
5. นำสมการที่ดีที่สุดมาวิเคราะห์ผลและเสนอแนะความต้องการเชิงโครงสร้างของโมเลกุลยาตัวใหม่

ตารางที่ 3.2 โครงสร้างของสารอนุพันธ์กลุ่มเอซาแนพโทควิโนนที่ต่อกับวงพิวโรล ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งแบบ 2D-QSAR

| cpd | โครงสร้าง   | Log (1/IC <sub>50</sub> ) | cpd | โครงสร้าง   | Log (1/IC <sub>50</sub> ) |
|-----|---|---------------------------|-----|---|---------------------------|
| 1   |    | 4.92                      | 6   |    | 6.55                      |
| 2   |    | 5.92                      | 7   |    | 4.45                      |
| 3   |  | 4.92                      | 8   |  | 5.05                      |
| 4   |  | 6.18                      | 9   |  | 4.75                      |
| 5   |  | 6.17                      | 10  |  | 4.67                      |

| cpd | โครงสร้าง   | Log<br>(1/IC <sub>50</sub> ) | cpd | โครงสร้าง   | Log<br>(1/IC <sub>50</sub> ) |
|-----|---|------------------------------|-----|---|------------------------------|
| 11  |    | 6.61                         | 17  |    | 5.54                         |
| 12  |    | 8.10                         | 18  |    | 5.85                         |
| 13  |   | 6.85                         | 19  |   | 6.19                         |
| 14  |  | 5.60                         | 20  |  | 6.01                         |
| 15  |  | 5.73                         | 21  |  | 5.30                         |
| 16  |  | 5.13                         | 22  |  | 4.58                         |

| cpd | โครงสร้าง   | Log<br>(1/IC <sub>50</sub> ) | cpd | โครงสร้าง   | Log<br>(1/IC <sub>50</sub> ) |
|-----|---|------------------------------|-----|---|------------------------------|
| 23  |    | 5.49                         | 29  |    | 4.84                         |
| 24  |    | 5.66                         | 30  |    | 2.60                         |
| 25  |    | 5.68                         | 31  |   | 2.67                         |
| 26  |  | 5.55                         | 32  |  | 4.96                         |
| 27  |  | 5.55                         | 33  |  | 4.38                         |
| 28  |  | 5.56                         | 34  |  | 2.68                         |

| cpd | โครงสร้าง   | Log<br>(1/IC <sub>50</sub> ) | cpd | โครงสร้าง  | Log<br>(1/IC <sub>50</sub> ) |
|-----|---|------------------------------|-----|--|------------------------------|
| 35  |  | 4.28                         | 36  |  | 2.26                         |

### 3.2 การสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมาย

<sup>1</sup>H-NMR และ <sup>13</sup>C-NMR Spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 MHz Spectrometer และค่า Chemical shift ( $\delta$ ) รายงานในหน่วยของ part per million (ppm) ใช้ Chloroform-D เป็นตัวทำละลาย ตัวอย่างที่ใช้ในการอธิบายสเปกตรัมประกอบด้วย s (singlet), d (doublet), dd (double doublet), m (multiplet) และ *J* (coupling constant) ในหน่วยของ Hertz (Hz)

Infrared Spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin-Elmer FT-IR Spectroscopy Spectrum RXI โดยใช้เทคนิคอัดเม็ด KBr ในกรณีที่สารตัวอย่างแข็ง ค่า Absorption maxima รายงานในหน่วยของ Wave number (cm<sup>-1</sup>)

UV-Spectra รายงานในหน่วยความยาวคลื่น (nm)

การตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาและการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารสามารถตรวจสอบด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) โดย TLC ที่ใช้คือ Merck TLC Silica sheets (silica gel 60 F<sub>254</sub>) ในการแยกสารให้บริสุทธิ์จะใช้เทคนิคคอลัมน์ โครมาโตกราฟีโดยใช้ Silica gel หรือ Alumina oxide เป็น Stationary phase และใช้สารละลายที่มีขั้วเหมาะสมเป็น Mobile phase เช่นสารละลายผสมระหว่าง EtOAc กับ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ในอัตราส่วนปริมาตรต่อปริมาตรและสารที่ถูกชะออกจากคอลัมน์จะถูกเก็บในขวดรูปชมพู่ กำจัดตัวทำละลายโดยใช้ Rotary evaporator และใช้ปั๊มสุญญากาศในการกำจัดตัวทำละลายที่เหลือปริมาณน้อย

ตารางที่ 3.3 สารเคมีและตัวทำละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์ออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไตรเอซีน ไฮโอน

| สารเคมี  | สูตรเคมี                      | ความบริสุทธิ์ (%) / grade | บริษัท          |
|--|-------------------------------|---------------------------|-----------------|
| Acetaldehyde diethylacetal                     | $C_6H_{14}O_2$                | 95.0                      | Fluka           |
| Acetonitrile                                   | $CH_3CN$                      | 99.0                      | Merck           |
| Aluminium oxide 60 Activated                   | $Al_2O_3$                     | -                         | ACROS Organics  |
| Bis(trifluoroacetoxy)iodo benzene              | $C_{10}H_5F_6IO_4$            | 95.0                      | Fluka           |
| Chloroform                                     | $CHCl_3$                      | Analysis grade            | CARLO ERBA      |
| Deuterated chloroform                          | $CDCl_3$                      | 99.8                      | Wilmad Lab      |
| Dichloromethane                                | $CH_2Cl_2$                    | 99.5                      | CARLO ERBA      |
| Ethyl acetate                                  | $C_4H_8O_2$                   | Commercial                | อิตัลมาร์       |
| Ethyl alcohol                                  | $C_2H_6O$                     | Commercial                | อิตัลมาร์       |
| Glacial acetic acid                            | $CH_3COOH$                    | 99.9                      | CARLO ERBA      |
| Hydrazine                                      | $N_2H_4$                      | 35.0                      | ACROS Organics  |
| Hydrochloric acid                              | HCl                           | 37.0                      | CARLO ERBA      |
| 5-Hydroxyisoquinoline                          | $C_9H_7NO$                    | 90.0                      | ACROS Organics  |
| Manganese(III)acetatedihydrate                 | $(C_2H_3O_2)_3Mn \cdot 2H_2O$ | 97.0                      | Aldrich         |
| Magnesiumsulfate anhydrous                     | $MgSO_4$                      | -                         | Panreac Quinica |
| 1-(2-chloroethyl)piperdine hydrochloride       | $C_7H_{14}NCl \cdot HCl$      | -                         |                 |
| Silica gel 60                                  | $SiO_2$                       | -                         | Merck           |
| Sodium azide                                   | $NaN_3$                       | 99.0                      | Fluka           |
| Sodium hydride                                 | NaH                           | 60.0                      | ACROS Organics  |
| Tetrahydrofuran                                | $C_4H_8O$                     | 99.5                      | CARLO ERBA      |
| Triethylamine (TEA)                            | $C_6H_{15}N$                  | -                         | Fluka           |
| TLC Silica/Aluminium oxide 60 F <sub>254</sub> | -                             | -                         | Merck           |

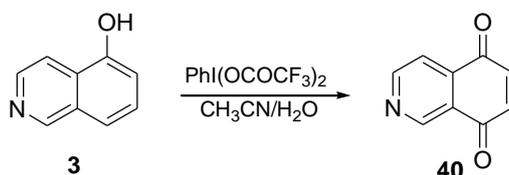
ตารางที่ 3.4 สารเคมีและตัวทำละลายที่ใช้ในการทดสอบ Cell proliferation

| สารเคมี                                 | สูตรเคมี   | บริษัท            |
|---|--|-------------------|
| FBS ; Fetal Bovine Serum10270           | -  | Invitrogen GIBCO® |
| DMEM ; Dulbecco's Modified Eagle Medium | -  | Invitrogen GIBCO® |
| DMSO ; Dimethyl sulfoxide               | -  | Invitrogen GIBCO® |
| Penicillin                              | R-C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S | Invitrogen GIBCO® |
| Streptomycin                            | C <sub>21</sub> H <sub>39</sub> N <sub>7</sub> O <sub>12</sub>   | Invitrogen GIBCO® |
| Sodium chloride                         | NaCl   | CARLO ERBA        |
| Potassium chloride                      | KCl  | Sigma-Aldrich     |
| Disodium hydrogen phosphate             | Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                                 | Sigma-Aldrich     |
| potassium dihydrogen phosphate          | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                                  | CARLO ERBA        |

### 3.2.1 วิธีการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโควิโนนที่ต่อกับวงไรโอพีน

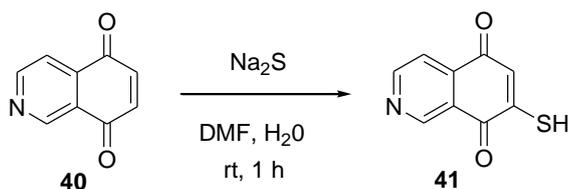
#### 1. การสังเคราะห์ isoquinoline-5,8-dione (40)

การสังเคราะห์เริ่มด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 5-hydroxyisoquinoline (33) เพื่อให้ได้สารผลิตภัณฑ์ที่เป็นหมายเลข (40) ดังแสดงในสมการต่อไปนี้



ขั้นตอนการสังเคราะห์เริ่มจากซังสาร [bis(trifluoroacetoxy)iodo]benzene (4.7334 g, 11.0 mmol) ละลายด้วย CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O; 2/1 (10 ml) ในขวดก้นกลมแบบสองคอ ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิ 0 °C ในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นซังสาร 5-hydroxyisoquinoline (0.7255 g, 5 mmol) ละลายด้วย CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O; 2/1 (20 ml) ค่อยๆ หยดสารละลายลงในขวดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 0 °C ทำการปั่นกวนอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการเจือจางของผสมด้วยน้ำกลั่น และสกัดด้วย EtOAc ( ครั้งละ 100 ml) จนสารละลายซังสารอินทรีย์ใส กำจัดน้ำออกจากซังสารอินทรีย์ด้วย anh. MgSO<sub>4</sub> นำสารที่ได้กรองด้วยสำลี แล้วนำสารที่กรองแล้วไปกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C ตามด้วยปั๊มสุญญากาศ จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น isoquinoline-5,8-dione (39) เป็นของแข็งสีน้ำตาลเหลือง (quantitative yield) และเก็บสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ไว้ในขั้นตอนต่อไป

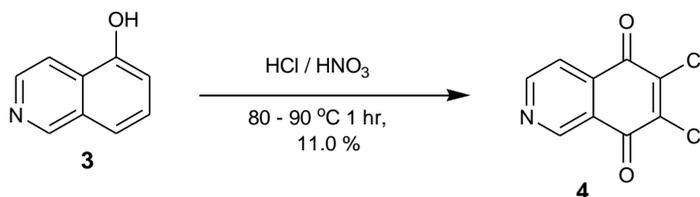
## 2. การสังเคราะห์ 7-mercaptoisoquinoline-5,8-dione (41)



เป็นปฏิกิริยาการเติมหมู่ไทออล โดยการนำสารหมายเลข **40** (1.2162 g, 5 mmol) ละลายด้วย DMF (16 ml) ที่อุณหภูมิห้อง แล้วค่อยๆ เติมสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ (0.46 g, 5.5 mmol) ที่ละลายในน้ำกลั่น (2.5 ml) ลงในขวดปฏิกิริยา ทำการปั่นกวานที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมน้ำ และสกัดด้วย เอทิลอะซิเตต ทำการกำจัดตัวทำละลายออกจากสารที่ได้โดยใช้เครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C แล้วทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ silica gel เป็นเฟสคงที่ และใช้ EtOAc:MeOH เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาและได้สารตั้งต้นกลับคืนมาบางส่วน

### 3.2.2 วิธีการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโควิโนนที่ต่อกับวงไตรเอซีน ไฮโออิน

#### 1. การสังเคราะห์สาร 6,7-dichloro-5,8-isoquinolinedione (4)



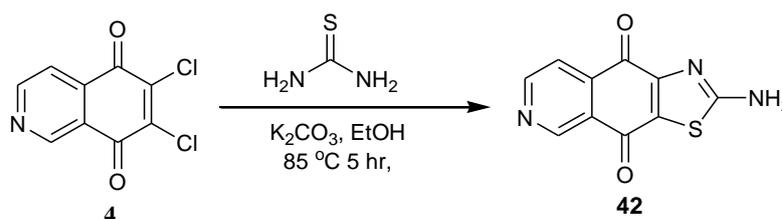
เริ่มต้นการสังเคราะห์โดยการซัง 5-hydroxyisoquinoline (**3**, 1.1116 g, 7.66 mmol) ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (17 ml) โดยมีกรดไนตริกเข้มข้น (3 ml) เป็นตัวออกซิไดซ์ ทำการปั่นกวานอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 80–90 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะบรรยากาศแก๊สไนโตรเจน ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วย TLC หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการเจือจางของผสมด้วยน้ำกลั่นเย็น (200 ml) และสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (ครั้งละ 50 ml 5 ครั้ง) แล้วล้างชั้นสารอินทรีย์ที่ได้ด้วยน้ำกลั่น (50 ml) กำจัดน้ำออกจากชั้นสารอินทรีย์ด้วย anhydrous  $\text{MgSO}_4$  และกรองผ่านสำลี จากนั้นนำสารที่กรองแล้วไปกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 °C และแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่และใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับเอทิลอะซิเตต ในอัตราส่วน 3:7 เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน นำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วย  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  Spectroscopy และ IR Spectroscopy พบว่า ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (**4**, 0.3581 g, 20.37 %) เก็บสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ไว้ในขั้นตอนต่อไป

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$  = 9.42 (s, 1H, H-1), 9.12 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 1H, H-3), 7.97 (d,  $J$  = 4.8 Hz, 1H, H-4) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): $\delta$  = 175.5 (C-5), 175.3 (C-8), 156.0 (C-3), 149.5 (C-1), 144.0 (C-6), 143.5 (C-7), 136.0 (C-4a), 124.0 (C-8a), 119.5 (C-4) ppm.

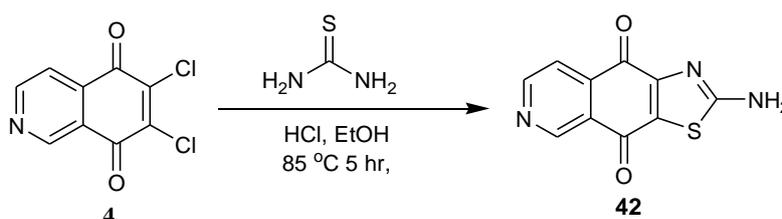
IR (Neat): $\nu_{\text{max}}$  = 2919, 1675, 1224, 670  $\text{cm}^{-1}$ .

## 2. การสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-*g*]isoquinoline-4,9-dione (42) ในสถานะเบส



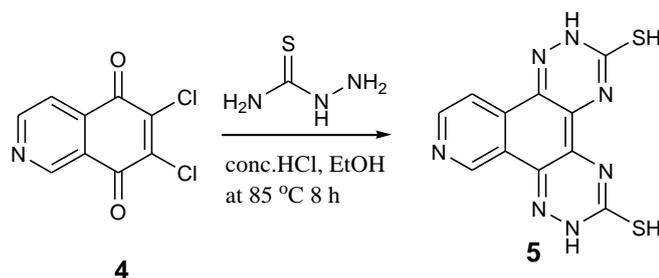
กวนของผสมระหว่าง 6,7-dichloro-5,8-isoquinolinedione (4) 1 equivalent, thiourea 1.2 equivalent,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  1 equivalent ในเอทานอล 5 mL ที่อุณหภูมิ  $85^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 5 h หลังจากนั้นปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบความก้าวหน้าของปฏิกิริยาด้วย Thin Layer Chromatography (TLC) เมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์แล้วจึงกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotatory evaporator. แล้วทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ silica gel เป็นเฟสคงที่ และใช้ EtOAc:MeOH เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าไม่ได้สารหมายเลข 42 ตามที่ต้องการ และไม่ได้สารตั้งต้นกลับคืนมา

## 3. การสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-*g*]isoquinoline-4,9-dione (42) ในสถานะกรด



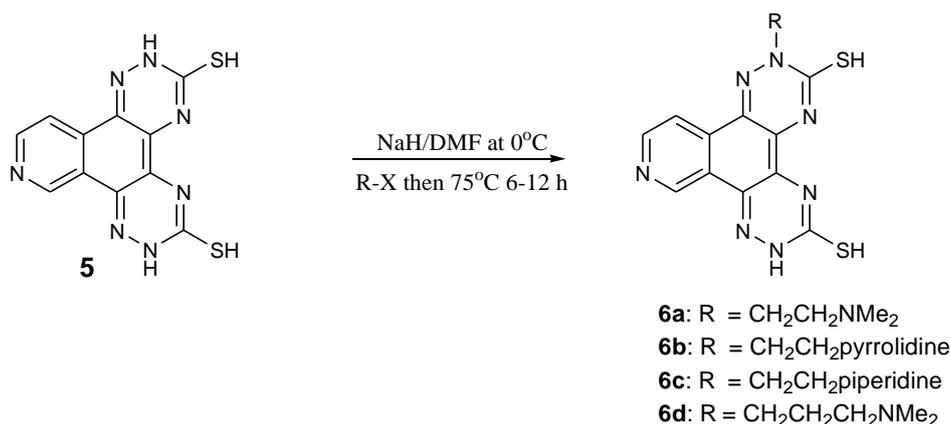
กวนของผสมระหว่าง 6,7-dichloro-5,8-isoquinolinedione (4) 1 equivalent, thiourea 1.2 equivalent, HCl 5 หยด ในเอทานอล 15 mL ที่อุณหภูมิ  $85^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 5 h หลังจากนั้นปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบความก้าวหน้าของปฏิกิริยาด้วย Thin Layer Chromatography (TLC) เมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์แล้วจึงกำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotatory evaporator. แล้วทำการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ silica gel เป็นเฟสคงที่ และใช้ EtOAc:MeOH เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าไม่ได้สารหมายเลข 42 ตามที่ต้องการ และไม่ได้สารตั้งต้นกลับคืนมา

#### 4. ปฏิกิริยาการปิดวงกับไฮโอเอมิคาร์บาไซดีในสภาวะกรด



ซึ่ง 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (**4**) (0.2416 g, 1.06 mmol) เติมไฮโอเอมิคาร์บาไซดี (0.1158 g, 1.27 mmol) ละลายด้วยเอทานอล 15 ml จากนั้นค่อย ๆ หยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 หยด ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารผสมที่ได้ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจน ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วย TLC จากนั้นปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วจากนั้นระเหยตัวทำละลายออกแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีเฟส (silica gel) เคลื่อนที่ เป็น Ethyl acetate /Methanol; 8:2 ได้ผลิตภัณฑ์หมายเลข **5** (0.1283 g, 40 %), มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้ม  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, MeOD):  $\delta$  = 9.98 (s, 1H, H-1), 8.59 (d,  $J$  = 5.4 Hz, 1H, H-3), 8.34 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 1H, H-4) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$ ):  $\delta$  = 180.0 (C=S), 180.0 (C=S), 162.5 (C=N), 162.0 (C=N), 155.5 (C-7), 147.0 (C-6), 146.5 (C-6), 143.0 (C-1), 134.5 (C-4a), 122.5 (C-8a), 119.0 (C-4) ppm. IR (Neat):  $V_{\text{max}}$  = 3307, 2920, 1608, 1558, 1289, 1242  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5. ทำการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมาย 6a-d



##### ขั้นตอนการสังเคราะห์ทั่วไป

ซึ่ง 60% NaH (2.6 equiv.) ละลายด้วย DMF ทำการปั่นกวบนภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 0 °C จากนั้นค่อย ๆ เติมสารประกอบหมายเลข **3** (1 equiv.) ที่ละลายด้วย DMF และทำการปั่นกวบนต่อเป็นเวลา 30 นาทีภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจน จากนั้นเติมสายโซ่ **a-d** (1.5 equiv.) ที่ละลายด้วย DMF ลงไป ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำ 5

ml ระเหยตัวทำละลายออกแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีเฟส (silica gel) เคลื่อนที่เป็น Ethyl acetate /Methanol; 7:3 ได้ผลิตภัณฑ์ที่เติมหมู่อัลคิล

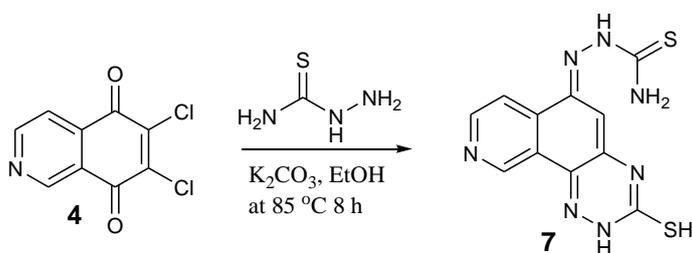
**5.1 Compound 6a;** ของแข็งสีเหลืองส้ม (0.0298 g, 17 %),  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 9.92 (s, 1H, H-1), 8.98 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 1H, H-3), 8.19 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 1H, H-4), 4.65 (s, 2H, H-1'), 2.96 (s, 2H, H-2'), 2.33 (s, 6H, H-3') ppm.

**5.2 Compound 6b;** ของแข็งสีเหลืองส้ม (0.0690 g, 56.84 %),  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 9.90 (s, 1H, H-1), 8.91 (d,  $J$  = 5.4 Hz, 1H, H-3), 8.25 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 1H, H-4), 4.50-4.90 (m, 2H, H-1'), 2.55-2.70 (m, 4H, H-4'), 2.31 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H, H-2'), 1.50-1.65 (m, 4H, H-5') ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 166, 154, 147, 140, 135, 133, 128, 124, 120, 114, 110, 60, 56, 54, 24 ppm.

**5.3 Compound 6c;** ของแข็งสีเหลืองส้ม (0.0422 g, 19.17 %),  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 9.90 (s, 1H, H-1), 8.91 (d,  $J$  = 5.4 Hz, 1H, H-3), 8.25 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 1H, H-4), 4.60-4.9 (m,  $J$  = 6.6, 2H, 1'), 2.40-2.65 (m,  $J$  = 4.8, 2H, 4'), 2.25-2.40 (m,  $J$  = 6.6, 2H, 2'), 1.50-1.75 (m, 2H, 5'), 1.35-1.50 (m, 2H, 6') ppm.

**5.4 Compound 6d;** ของแข็งสีเหลืองส้ม (0.0304 g, 22 %),  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 10.63 (s, 1H, H-1), 8.87 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H, H-3), 8.07 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 1H, H-4), 4.72 (t,  $J$  = 6.3 Hz, 2H, H-1'), 3.65 (s, 2H, H-2'), 2.33 (s, 6H, H-3') ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 163, 143, 140, 135, 133, 126, 123, 60, 54, 44, 31 ppm.

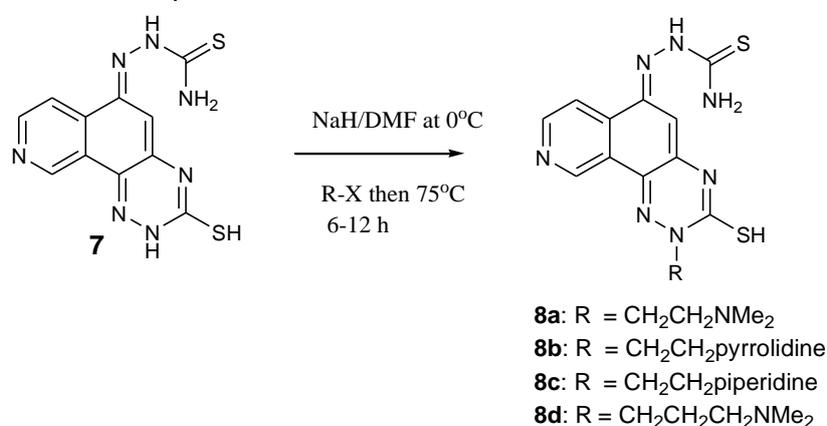
## 6. ปฏิกิริยาการปิดวงกับไฮโอเซมิคาร์บาไซด์ในสถานะเบส



ซึ่ 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (**4**) (0.2034 g, 0.0892 mmol) เติมไฮโอเซมิคาร์บาไซด์ (0.0976 g, 0.1070 mmol) เติมโพแทสเซียมคาร์บอเนต (0.1479 g, 0.1070 mmol) ละลายด้วยเอทานอล 15

ml ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารผสมที่ได้ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจน ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วย TLC จากนั้นปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วจากนั้นระเหยตัวทำละลายออกแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีเฟส (silica gel) เคลื่อนที่ เป็น Ethyl acetate /Methanol; 8:2 ได้ผลิตภัณฑ์หมายเลข 7 (0.1284 g, 47.44 %), มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้ม  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-D}_6$ ):  $\delta$  = 9.97 (s, 1H, H-1), 9.51 (s, 1H, H-7), 8.76 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 1H, H-3), 8.23 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 1H, H-4) ppm.,  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{DMSO-D}_6$ ):  $\delta$  = 191.0, 156.0, 155.5, 148.0, 147.0, 133.5, 130.5, 127.0, 123.5 ppm. IR (Neat):  $V_{\text{max}}$  = 3358, 3067, 2923, 2853, 1579, 1454, 1220  $\text{cm}^{-1}$ .

### 7. ทำการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมาย 8a-c



#### ขั้นตอนการสังเคราะห์ทั่วไป

ซึ่ง 60% NaH (2.6 equiv.) ละลายด้วย DMF ทำการปั่นกวนภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 0 °C จากนั้นค่อย ๆ เติมสารประกอบหมายเลข 5 (1 equiv.) ที่ละลายด้วย DMF และทำการปั่นกวนต่อเป็นเวลา 30 นาทีภายใต้สภาวะแก๊สไนโตรเจน จากนั้นเติมสายโซ่ a-b (1.5 equiv.) ที่ละลายด้วย DMF ลงไป ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำ 5 ml ระเหยตัวทำละลายออกแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีเฟส (silica gel) เคลื่อนที่ เป็น Ethyl acetate /Methanol; 7:3 ได้ผลิตภัณฑ์ที่เติมหมู่อัลคิล

**7.1 Compound 8a;** ของแข็งสีแดง  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 9.48 (s, 1H, H-1), 8.74 (d, 1H, H-3,  $J$  = 5.7 Hz), 8.58 (s, 1H, H-7), 7.98 (d, 1H, H-4,  $J$  = 5.7 Hz), 4.43 (s, 2H, H-1'), 2.61 (s, 2H, H-2'), 2.27 (s, 6H, H-3') ppm.,  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 155.0, 149.0, 142.0, 133.0, 125.0, 59.2, 45.0, 29.6 ppm.

**7.2 Compound 8b;** ของแข็งสีแดง  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 9.65 (s, 1H, H-1), 8.90 (d, 1H, H-3,  $J$  = 5.1 Hz), 8.65 (s, 1H, H-7), 7.90 (d, 1H, H-4,  $J$  = 5.7 Hz), 4.75 (s, 2H, H-1'),

3.0 (s, 6H, H-2'), 2.5 (s, 4H, H-3') ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 154, 150, 149, 146, 144, 132, 129, 123, 116, 73, 59, 28, 26 ppm.

**7.3 Compound 8d;** ของแข็งสีแดง  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 10.13 (s, 1H, H-1), 9.16 (s, 1H, H-7), 8.75 (d, 1H, H-3,  $J$  = 5.7 Hz), 8.20 (d, 1H, H-4,  $J$  = 5.7 Hz), 4.34 (t, 2H, H-1',  $J$  = 5.1 Hz), 2.93 (t, 2H, H-2',  $J$  = 5.1 Hz), 2.55 (s, 4H, H-3'), 1.63 (d, 4H, H-4',  $J$  = 4.8 Hz) 1.47 (s, 2H, H-6') ppm.,  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 188.0, 155.0, 149.0, 145.0, 132.0, 123.0, 72.0, 59.0, 55.0, 27.0, 25.0 ppm.

**7.4 Compound 84;** ของแข็งสีแดง  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 9.48 (s, 1H, H-1), 8.74 (d, 1H, H-3,  $J$  = 5.7 Hz), 8.58 (s, 1H, H-7), 7.98 (d, 1H, H-4,  $J$  = 5.7 Hz), 4.43 (s, 2H, H-1'), 2.61 (s, 2H, H-3'), 2.27 (s, 6H, H-4'), 1.55-1.50 (m, 2H, H-2') ppm,  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 155.0, 149.0, 142.0, 133.0, 125.0, 59.2, 45.0, 29.6 ppm.

## 8. การทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง

การทดสอบสมบัติทางชีวภาพในการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์ของสารที่สังเคราะห์ขึ้นได้ส่งสารทั้งหมด 12 สารไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โดยทดสอบกับเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) และเซลล์ปกติของมนุษย์ (HNDF) และเทียบกับยามาตรฐาน Doxorubicin โดยวัดผลของการออกฤทธิ์หลังจาก incubation เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

## บทที่ 4

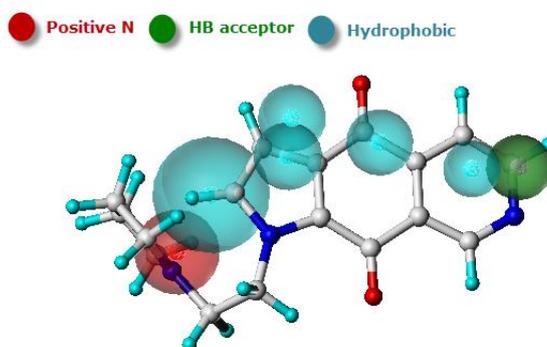
### ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

#### 4.1 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งด้วยระเบียบวิธี CoMFA และ CoMSIA

1. แบบจำลอง Pharmacophore ที่ใช้ในการวางโมเลกุล

รูปที่ 4.1 แสดงแบบจำลอง Pharmacophore ที่ดีที่สุดที่ใช้ในการวางโมเลกุลของสารอนุพันธ์ เอซานาแฟโรโคควิโนนที่ต่อยุ่กับวงพิวโรล ซึ่งประกอบไปด้วยลักษณะเด่นของ Pharmacophore ดังนี้

- สีเขียวซึ่งแสดงถึงส่วนที่แสดงลักษณะเด่นเป็น Hydrogen bond acceptor
- สีแดงซึ่งแสดงถึงส่วนที่แสดงลักษณะเด่นเป็น Positive Nitrogen atom
- สีฟ้าแสดงในส่วนของ Hydrophobic



รูปที่ 4.1 แบบจำลอง Pharmacophore

2. แบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA

แบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA ที่ได้จากการศึกษาได้แบบจำลองที่มีค่าทางสถิติที่สูงมากกว่า 0.6 ดังตารางที่ 4.1

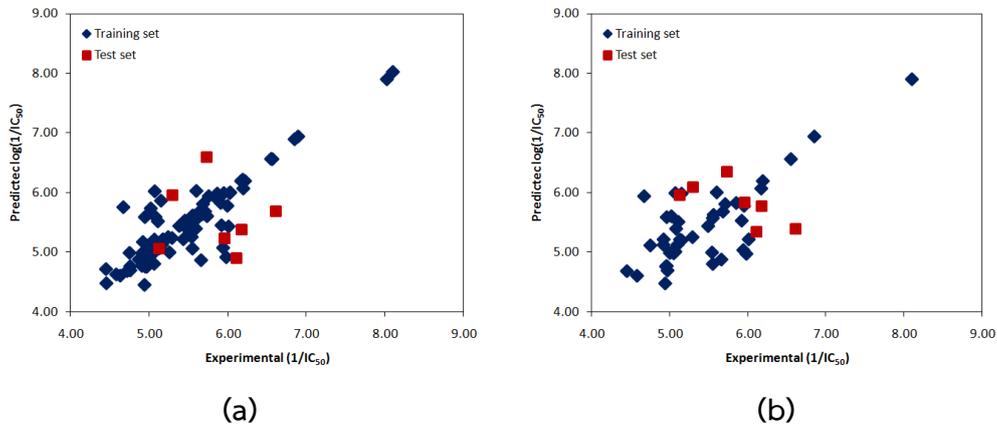
ตารางที่ 4.1 แบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA ที่ใช้ในการศึกษา

| Model   | $q^2$ | $r^2$ | S     | SEE   | F       | N | Fraction            |
|---------|-------|-------|-------|-------|---------|---|---------------------|
| CoMFA   |       |       |       |       |         |   |                     |
| S/E     | 0.609 | 0.974 | 0.448 | 0.115 | 247.197 | 6 | 79.3/20.7           |
| CoMSIA  |       |       |       |       |         |   |                     |
| S/E/H/A | 0.622 | 0.962 | 0.440 | 0.140 | 158.507 | 6 | 22.1/13.2/40.2/24.6 |

S, Steric field; E, Electrostatic field; H, Hydrophobic field; A, Hydrogen bond acceptor ;  $q^2$ , Cross-validated correlation coefficient;  $r^2$ , Non-cross-validated correlation coefficient; N, Optimal number of components; s, standard error of prediction; SEE, standard error of estimate; F, F-test

### 3. การทำนายค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งของแบบจำลอง

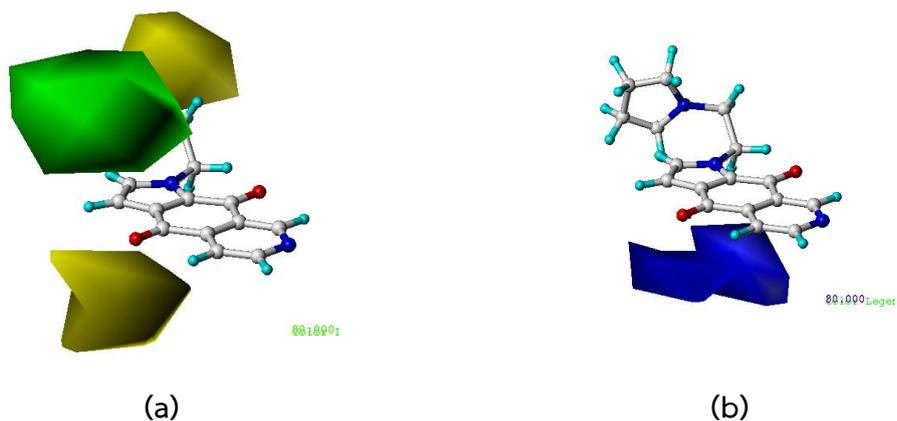
จากแบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA เมื่อนำมาทำนายค่ากัมมันตภาพในการยับยั้ง ซึ่งเมื่อนำเอามาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.2 พบว่าได้แบบจำลองที่มีความถูกต้องสูง

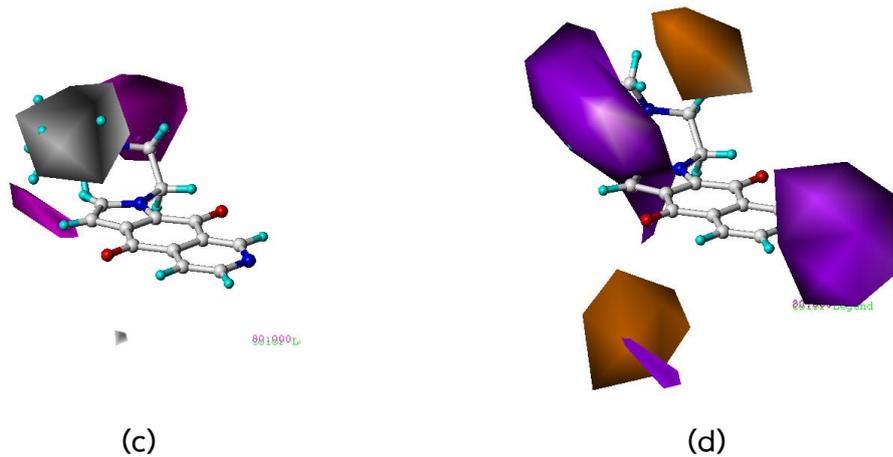


รูปที่ 4.2 ค่ากัมมันตภาพจากการทดลองและการทำนายจากแบบจำลอง CoMFA (a) และ CoMSIA (b)

### 4. แผนภาพคอนทัวร์

แผนภาพคอนทัวร์ที่ได้จากวิธี CoMSIA สามารถชี้แนะถึงความต้องการทางโครงสร้างที่สำคัญของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรลได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.3 จากแผนภาพคอนทัวร์เหล่านี้ชี้แนะความต้องการทางโครงสร้างของหมู่แทนที่ที่สามารถช่วยชี้แนะแนวทางในการปรับปรุงโครงสร้างของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงโรโอฟิน ให้มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้นในการรักษาโรคมะเร็งได้



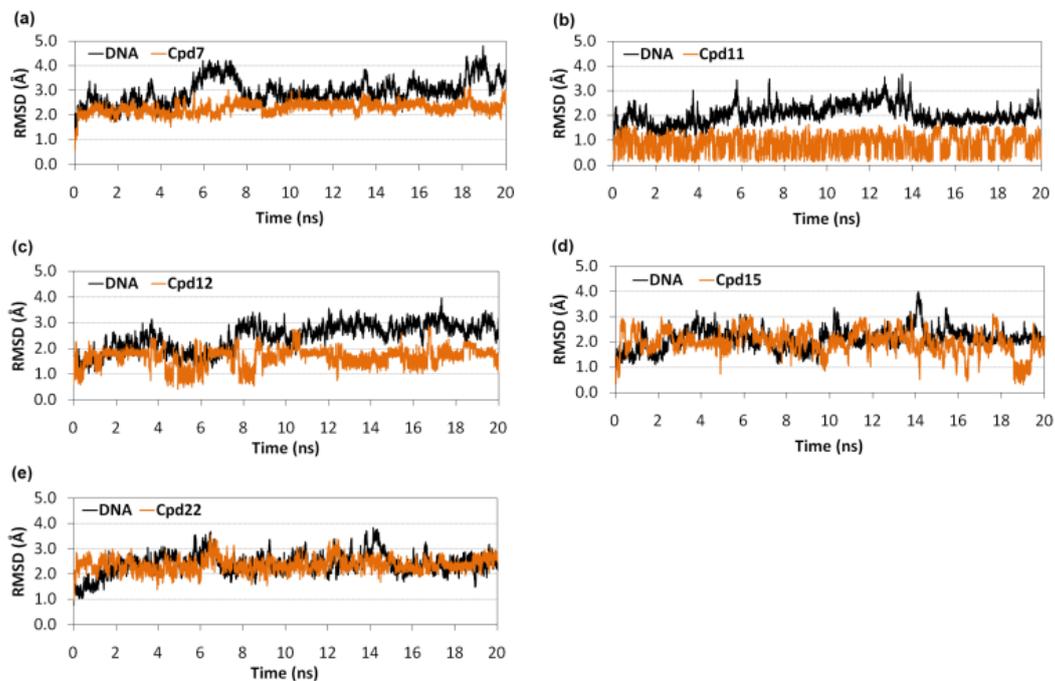


รูปที่ 4.3 แผนภาพคอนทัวร์ CoMSIA

#### 4.2 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของสารอนุพันธ์เฮซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรลใน DNA

##### 1. ความเสถียรเชิงโครงสร้าง (Structural Stability)

การเข้าสู่สมดุลในการจำลองพลวัตของระบบที่ทำการศึกษา ค่า RMSD ซึ่งเปรียบเทียบระหว่างโครงสร้างเริ่มต้นและโครงสร้างจากการจำลองเทียบกับเวลาซึ่งแสดงดังรูปที่ 4.4 สารหมายเลข 7, 11, 12, 15 และ 22 เข้าสู่สมดุลในการจำลองพลวัตที่ 8 ns, 2 ns, 8 ns, 4 ns และ 6 ns ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสามารถที่จะนำเอาข้อมูลที่ได้จากการจำลองพลวัตไปวิเคราะห์ห้ข้อมูลที่ต้องการศึกษาได้



รูปที่ 4.4 ค่า RMSD ของสารหมายเลข 7 (a), 11 (b), 12 (c) , 15 (d) และ 22 (e)

## 2. พลังงานของระบบ

ค่าพลังงานของระบบถูกคำนวณด้วยระเบียบวิธี MM-PBSA ที่เวลา 10 ns สุดท้ายของการจำลองพลวัต ซึ่งได้ค่าพลังงานต่างๆ ของระบบดังตารางที่ 4.2 โดยที่สามารถนำมาหาค่าพลังงานของระบบได้ดังสมการที่ 2

$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta H - T\Delta S \quad (2)$$

โดยที่  $\Delta H$     คำนวณจากระเบียบวิธี MM-PBSA  
 $-T\Delta S$     คำนวณจากระเบียบวิธี Nmode

ตารางที่ 4.2 ค่าพลังงานของระบบซึ่งได้จากการคำนวณด้วยระเบียบวิธี MM-PBSA

| Compound | IC <sub>50</sub> (μM) | ΔH    | -TΔS | ΔG <sub>cat</sub> | ΔG <sup>a</sup> <sub>exp</sub> |
|----------|-----------------------|-------|------|-------------------|--------------------------------|
| 7        | 35.481                | -20.0 | 16.5 | -3.5              | -6.1                           |
| 11       | 0.245                 | -22.9 | 15.5 | -7.4              | -9.0                           |
| 12       | 0.008                 | -25.0 | 16.3 | -8.7              | -11.1                          |
| 15       | 1.862                 | -22.3 | 15.9 | -6.4              | -7.8                           |
| 22       | 26.282                | -25.8 | 20.4 | -5.4              | -6.3                           |

<sup>a</sup> ค่าจากการทดลองคำนวณจาก  $\Delta G = RT \ln[\text{Activity}]$

โดยที่ Activity คือค่า IC<sub>50</sub> ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง cervical carcinoma expressed

R คือค่าคงที่ของแก๊ส (1.988 cal/mol K)

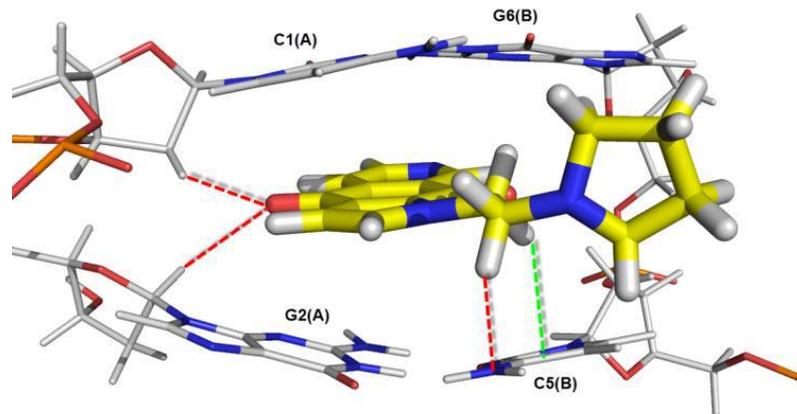
T คืออุณหภูมิ (K)

ผลที่แสดงในตารางที่ 4.2 พบว่าพลังงานที่ต่ำที่สุดในการจับกันของสารหมายเลข 12 และ 22 มีค่าสอดคล้องกันกับค่าจากการทดลอง

3. ลักษณะในการวางตัวและอันตรกิริยาของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรลจากการศึกษาพลวัตเชิงโมเลกุลของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรลที่จับกับ DNA โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้

### อันตรกิริยาของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนในกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง

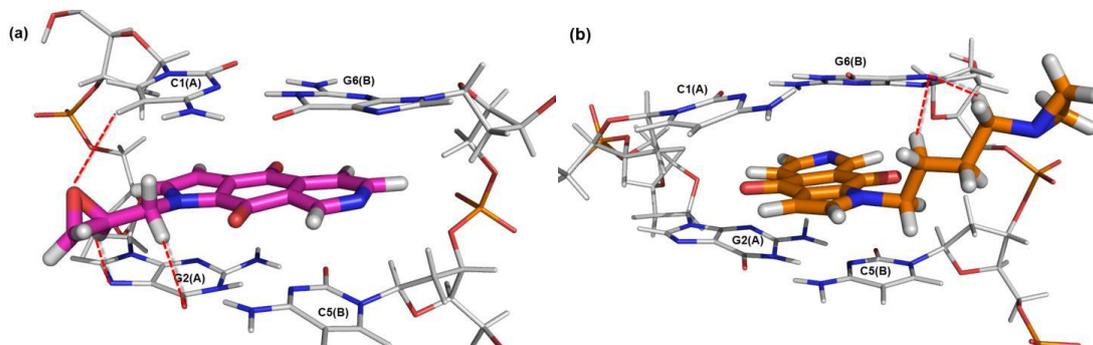
พบว่าโครงสร้างหลักของเอซาแนพโทควิโนนจะแทรกเข้าไปในคูเบสของ DNA โดยที่สารหมายเลข 12 จะแทรกเข้าไปตั้งฉากกับโครงสร้างของ DNA เกิดอันตรกิริยาที่สำคัญ คือ ไพ-ไพ ระหว่างโครงสร้างของสารยับยั้งกับคูเบสที่เกิดการแทรกสอดเข้าไป ส่วนหมู่แทนที่นั้นเกิดอันตรกิริยาชนิดไฮโดรโฟบิกกับเบสในบริเวณร่องขนาดใหญ่ (Major groove) โดยเกิดอันตรกิริยาชนิด พันธะไฮโดรเจน (เส้นสีแดง) และไฮโดรเจน-ไพ (เส้นสีเขียว) ระหว่างหมู่แทนที่กับดีเอ็นเอ ซึ่งแสดงดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 โครงสร้างการจับกันของสารอนุพันธ์เอซาแนฟโทควิโนนหมายเลข 12 ที่จับกับ DNA โดยระเบียบวิธี MD Simulations

#### อันตรกิริยาของสารอนุพันธ์เอซาแนฟโทควิโนนในกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง

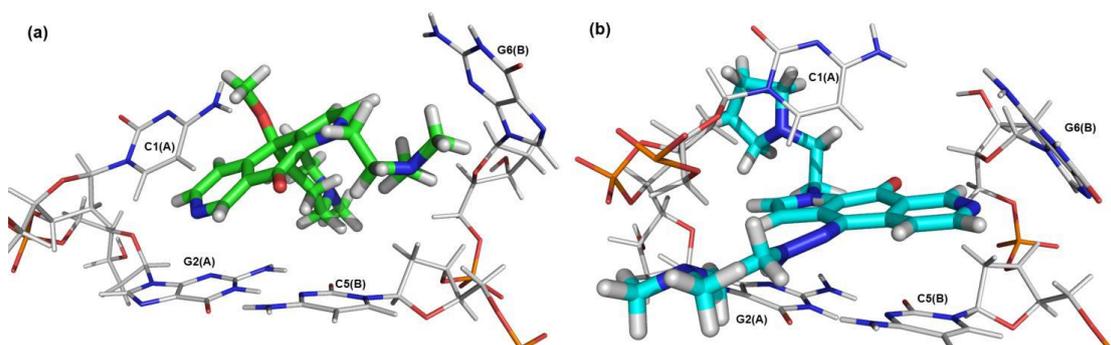
พบว่าโครงสร้างหลักของเอซาแนฟโทควิโนนจะแทรกเข้าไปในคู่เบสของ DNA โดยที่สารหมายเลข 11 และ 15 จะแทรกเข้าไปขนานและตั้งฉากกับโครงสร้างของ DNA ตามลำดับ โดยเกิดอันตรกิริยาที่สำคัญคือ ไพอ-ไพ ระหว่างโครงสร้างของสารยับยั้งกับคู่เบสที่เกิดการแทรกสอดเข้าไป ส่วนหมู่แทนที่นั้นเกิดอันตรกิริยาชนิดไฮโดรโฟบิกกับเบสในบริเวณร่องขนาดใหญ่ (Major groove) โดยเกิดอันตรกิริยาชนิด พันธะไฮโดรเจน (เส้นสีแดง) ระหว่างหมู่แทนที่กับดีเอ็นเอ ซึ่งแสดงดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 โครงสร้างการจับกันของสารอนุพันธ์ Azanaphthoquinone หมายเลข 11 (a) และ 12 (b) ที่จับกับ DNA โดยระเบียบวิธี MD Simulations

#### อันตรกิริยาของสารอนุพันธ์เอซาแนฟโทควิโนนในกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ

ส่วนสารหมายเลข 7 และ 22 โครงสร้างหลักจะแทรกเข้าไปในคู่เบสในลักษณะที่ขนานกันกับคู่เบส โดยเกิดอันตรกิริยาชนิด ไพอ-ไพ ส่วนหมู่แทนที่ที่เกิดอันตรกิริยาชนิดไฮโดรโฟบิกกับเบส DNA ในร่องขนาดใหญ่ (Major groove) และร่องขนาดเล็ก (Minor groove) แต่อย่างไรก็ตามสารหมายเลข 7 และ 22 นั้นทำให้ DNA แตกออกจากกันซึ่งเป็นผลที่มาจากกัน ซึ่งทำให้ส่งผลต่อค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งของสารอนุพันธ์เอซาแนฟโทควิโนน ดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 โครงสร้างการจับกันของสารอนุพันธ์ Azanaphthoquinone หมายเลข 7(a) และ 22 (b) ที่จับกับ DNA โดยระเบียบวิธี MD Simulations

ซึ่งจากผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งและการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของสารอนุพันธ์เอซาแนพโทควิโนนนำไปสู่ความเข้าใจถึงความต้องการทางโครงสร้างและอันตรกิริยาที่มีความสำคัญในการจับกับ DNA และการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารอนุพันธ์ เอซาแนพโทควิโนน

#### 4.3 ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งแบบ 2D-QSAR

จากคุณสมบัติของสารที่ได้ นำไปสร้างสมการ QSAR ที่ใช้ในการหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลเชิงโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพ โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ (Multiple Linear Regression : MLR) ในโปรแกรม SPSS ซึ่งจะคำนวณแบบ step enter ( คำนวณทีละตัวแปรจนกว่าจะได้สมการที่มีค่า  $q^2$  สูงที่สุด และควรจะมีค่าสูงกว่า 0.6 ) เมื่อทำการคำนวณพบว่าได้สมการดังต่อไปนี้  
สมการที่ดีที่สุด 1 ตัวแปร

##### 1. POL

$$\text{Log } 1/IC_{50} = -0.102(\pm 0.025)\text{POL} + 8.949(\pm 0.940)$$

$$R = 0.566 \quad R^2 = 0.320 \quad \text{Std. error} = 1.00912 \quad \text{F Change} = 16.477 \quad \text{SPRESS} = 0.994$$

สมการที่ดีที่สุด 2 ตัวแปร

##### 2. Vol

$$\text{Log } 1/IC_{50} = -0.370(\pm 0.117)\text{POL} + 0.011(\pm 0.005)\text{Vol} + 7.940(\pm 0.986)$$

$$R = 0.643 \quad R^2 = 0.414 \quad \text{Std. error} = 0.95073 \quad \text{F Change} = 11.997 \quad \text{SPRESS} = 0.937$$

สมการที่ดีที่สุด 3 ตัวแปร

##### 3. SA

$$\text{Log } 1/IC_{50} = -0.405(\pm 0.121)\text{POL} + 0.020(\pm 0.009)\text{Vol} - 0.014(\pm 0.013)\text{SA} + 8.664(\pm 1.181)$$

$$R = 0.659 \quad R^2 = 0.435 \quad \text{Std. error} = 0.94771 \quad \text{F Change} = 8.455 \quad \text{SPRESS} = 0.933$$

สมการที่ดีที่สุด 4 ตัวแปร

##### 4. logP

$$\text{Log}1/IC_{50} = -0.375(\pm 0.12)\text{POL} + 0.019(\pm 0.009)\text{Vol} - 0.013(\pm 0.013)\text{SA} - 0.264(\pm 0.301)\text{logP} + 8.580(\pm 1.189)$$

$$R = 0.669 \quad R^2 = 0.448 \quad \text{Std. error} = 0.95101 \quad \text{F Change} = 6.490 \quad \text{SPRESS} = 0.935$$

สมการที่ดีที่สุด 5 ตัวแปร

#### 5. C2

$$\text{Log}1/IC_{50} = -0.340(\pm 0.130)\text{POL} + 0.019(\pm 0.009)\text{Vol} - 0.015(\pm 0.013)\text{SA} - 0.401(\pm 0.326)\text{logP} - 2.209(\pm 2.044)\text{C2} + 8.580(\pm 1.189)$$

$$R = 0.684 \quad R^2 = 0.468 \quad \text{Std. error} = 0.94852 \quad \text{F Change} = 5.453 \quad \text{SPRESS} = 0.928$$

สมการที่ดีที่สุด 6 ตัวแปร

#### 6. C1

$$\text{Log}1/IC_{50} = -0.319(\pm 0.134)\text{POL} + 0.019(\pm 0.009)\text{Vol} - 0.016(\pm 0.013)\text{SA} - 0.362(\pm 0.332)\text{logP} - 3.748(\pm 2.872)\text{C2} + 3.458(\pm 3.458)\text{C1} + 8.201(\pm 1.288)$$

$$R = 0.692 \quad R^2 = 0.478 \quad \text{Std. error} = 0.95487 \quad \text{F Change} = 4.582 \quad \text{SPRESS} = 0.933$$

สมการที่ดีที่สุดคือ สมการ 6 ตัวแปร จากสมการดังกล่าวจะต้องทำการพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรด้วยโดยพิจารณาจาก Correlations ซึ่งจะตัด Correlations ที่มีค่ามากกว่า 0.4 (ค่าความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรมากกว่า 40 %) ทิ้งเนื่องจากสมการที่ได้จะเกิดการ bias ของข้อมูล

#### 4.4 การพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้ง

จากตาราง Correlations ถ้าค่า Pearson Correlation มีค่ามากกว่า 0.4 แสดงว่าตัวแปรไม่มีความสัมพันธ์กัน จำเป็นจะต้องตัดตัวใดตัวหนึ่งออกจากสมการ 6 ตัวแปร ประกอบไปด้วย Polarizability, Volume, Surface Area (Grid), logP, C2 และ C1 จากทั้งสมการพิจารณาแล้วมีดังนี้

|              |   |       |
|--------------|---|-------|
| Vol และ SA   | = | 0.989 |
| POL และ Vol  | = | 0.979 |
| POL และ SA   | = | 0.960 |
| C1 และ C2    | = | 0.677 |
| POL และ logP | = | 0.526 |
| Vol และ logP | = | 0.490 |
| SA และ logP  | = | 0.486 |

##### 1. Vol และ SA = 0.989

กรณี นำตัวแปร Volume ออกจากสมการ  $R^2 = 0.409$

กรณี นำตัวแปร Surface Area ออกจากสมการ  $R^2 = 0.451$

สรุป นำตัวแปร Surface Area ออกจากสมการค่า  $R^2$  มากกว่านำตัวแปร Volume ออกจากสมการ ดังนั้นจึงตัดตัวแปร Surface Are ออกจากสมการ

## 2. POL และ Vol = 0.979

กรณี นำตัวแปร Volume ออกจากสมการ  $R^2 = 0.398$

กรณี นำตัวแปร Polarizability ออกจากสมการ  $R^2 = 0.369$

สรุป นำตัวแปร Volume ออกจากสมการค่า  $R^2$  มากกว่านำตัวแปร Polarizability ออกจากสมการ ดังนั้นจึงตัดตัวแปร Volume ออกจากสมการ

## 3. POL และ SA = 0.958

ไม่จำเป็นต้องพิจารณา เนื่องจากตัดตัวแปร Surface Are ออกจากสมการแล้ว

## 4. C1 และ C2 = 0.677

กรณี นำตัวแปร C1 ออกจากสมการ  $R^2 = 0.381$

กรณี นำตัวแปร C2 ออกจากสมการ  $R^2 = 0.350$

สรุป นำตัวแปร C1 ออกจากสมการค่า  $R^2$  มากกว่านำตัวแปร C2 ออกจากสมการ ดังนั้นจึงตัดตัวแปร C1 ออกจากสมการ

## 5. POL และ logP = 0.526

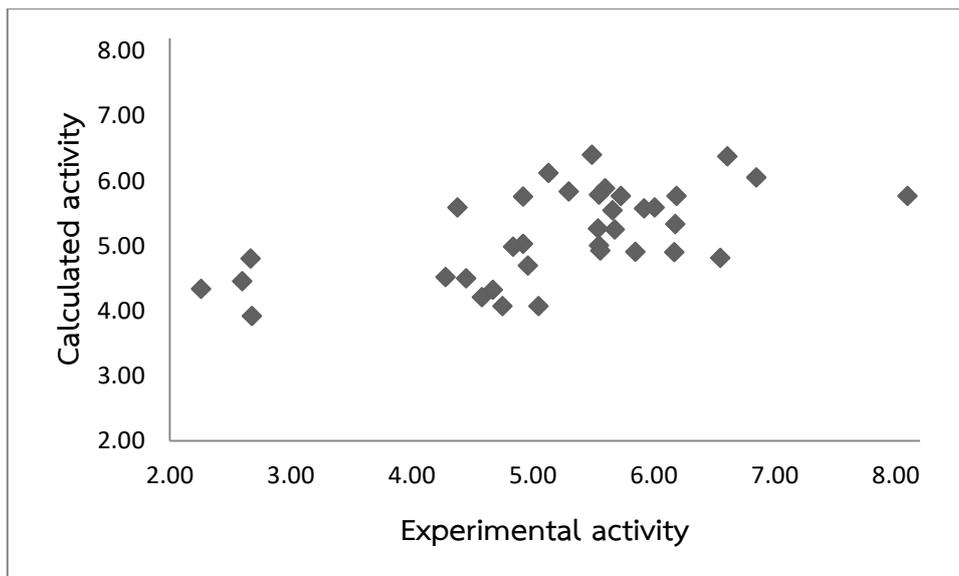
กรณี นำตัวแปร Polarizability ออกจากสมการ  $R^2 = 0.293$

กรณี นำตัวแปร logP ออกจากสมการ  $R^2 = 0.331$

สรุป นำตัวแปร logP ออกจากสมการค่า  $R^2$  มากกว่านำตัวแปร Polarizability ออกจากสมการ ดังนั้นจึงตัดตัวแปร logP ออกจากสมการ

**สรุป** สมการที่ผ่านการ Correlations มีตัวแปรที่เหลืออยู่คือ Polarizability และ C2 จะได้สมการคือ  
 $\text{Log } 1/IC_{50} = -0.098(\pm 0.026)\text{POL} - 1.475(\pm 1.977)\text{C2} + 8.853(\pm 0.955)$   
 $R = 0.575 \quad R^2 = 0.331 \quad \text{Std. error} = 1.01558 \quad F \text{ Change} = 8.412 \quad \text{SPRESS} = 0.998$

จากสมการที่ดีที่สุดเมื่อนำค่าฤทธิ์ทางชีวภาพ (activity) มาพล็อตกราฟระหว่างค่าที่ได้จากการทดลอง (Experimental activity) กับค่าที่ได้จากการคำนวณ (Calculated activity) พบว่ากราฟอยู่ในลักษณะเฉียงเป็น  $45^\circ$  แสดงว่าสมการหรือ model นั้นมีความน่าเชื่อถือ สามารถนำไปทำนายโมเลกุลยาเพื่อปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพ แสดงได้ดังข้อมูลต่อไปนี้



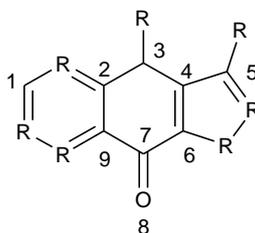
รูปที่ 4.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากการทดลองกับที่ได้จากการคำนวณ

#### 4.5 เสนอแนะในการออกแบบโมเลกุลของสารให้ออกฤทธิ์ทางยา

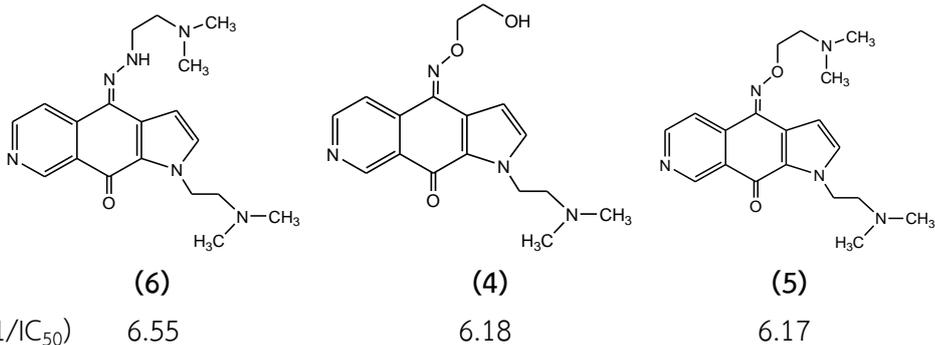
จากสมการที่ดีที่สุดสามารถนำมาทำนายโครงสร้างของสารอนุพันธ์กลุ่มเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรลเพื่อให้ค่า Activity ดีที่สุด โดยเสนอแนะความต้องการทางโครงสร้างของหมู่แทนที่ได้ดังนี้

$$\text{Log } 1/IC_{50} = -0.098(\pm 0.026)\text{POL} - 1.475(\pm 1.977)\text{C2} + 8.853(\pm 0.955)$$

$$R = 0.575 \quad R^2 = 0.331 \quad \text{Std. error} = 1.01558 \quad \text{F Change} = 8.412 \quad \text{SPRESS} = 0.998$$



- สัมประสิทธิ์ของ POL มีค่าเป็นลบ สามารถทำนายได้ว่า ต้องการโครงสร้างที่มีความเป็นขั้วน้อย แต่ไม่น้อยมากเกินไปจากสัมประสิทธิ์หน้า POL จึงจะทำให้ค่า activity ของโมเลกุลสูงขึ้น
- สัมประสิทธิ์ของ C2 มีค่าเป็นลบ แสดงว่า R1 และ R2 ต้องการหมู่ให้อิเล็กตรอน (Electron donating group) ได้แก่ หมู่เอมีน (NHR, NH<sub>2</sub>) หมู่ OR OH หมู่ NHCOCH<sub>3</sub> เป็นต้น แต่เนื่องจากผลของ Molecular descriptor POL ทำให้ต้องเลือกหมู่ R ที่เป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน และยังเป็นขั้วเล็กน้อย จึงจะสามารถทำให้ค่า activity ของโมเลกุลสูงขึ้น เช่น หมู่ 2° 3° เอมีน ที่มีหมู่ alkyl group หรือหมู่ OR OH เช่น ของโมเลกุล ที่ 6, 4 และ 5



จะเห็นได้ว่า หมู่ที่ที่บริเวณ C2 หรือหมู่ R2 ของสารประกอบหมายเลข 6, 4 และ 5 ซึ่งเป็นหมู่ที่เป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน และยังมีความเป็นขั้วเล็กน้อย และสารประกอบหมายเลข 6, 4 และ 5 เป็นสารประกอบที่มีค่า activity สูงเป็นอันดับต้นๆ ของกลุ่มสารที่สามารถสังเคราะห์ได้ใน series นี้อีกด้วย

ทำการศึกษาคูณสมบัติของโมเลกุลทาง Electronic property แบบ RESP charges

- สัมประสิทธิ์ของ C5 มีค่าเป็นบวก แสดงว่า R3 ต้องการหมู่ดึงอิเล็กตรอน (Electron withdrawing group) ได้แก่ ฮาโลเจน (F, Cl, Br) หมู่อะมิโน หมู่ฟีนิล หมู่แอมโมเนีย หมู่ไนโตร หมู่คาร์บอนิล หมู่ไฮดรอกซิล เป็นต้น
- สัมประสิทธิ์ของ C6 มีค่าเป็นบวก แสดงว่า R4 หรือ R5 ต้องการหมู่ดึงอิเล็กตรอน (Electron withdrawing group) ได้แก่ ฮาโลเจน (F, Cl, Br) หมู่อะมิโน หมู่ฟีนิล หมู่แอมโมเนีย หมู่ไนโตร หมู่คาร์บอนิล หมู่ไฮดรอกซิล เป็นต้น

จะเห็นได้ว่า หมู่ที่ที่บริเวณ C5 และ C6 ของกลุ่มสารที่สามารถสังเคราะห์ได้ในกลุ่มนี้ยังไม่มีมีการสังเคราะห์ ที่บริเวณ R3, R4 และ R5 ที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอน พร้อมทั้งมีคุณสมบัติความเป็นขั้วน้อย จึงสามารถแนะนำได้ว่า หากสามารถสังเคราะห์ดังกล่าว บริเวณ R3, R4 และ R5 ที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอน ที่มีคุณสมบัติความเป็นขั้วน้อยอาจจะเป็น COR ที่มีหมู่ alkyl ยาวๆ หรือหมู่ฮาโลเจน (F, Cl, Br) เป็นต้น อาจจะทำให้สารประกอบที่มีค่า activity สูงขึ้นได้ สมควรนำไปศึกษาอีกต่อไป

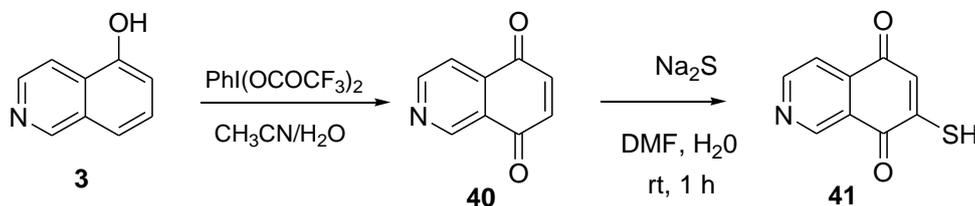
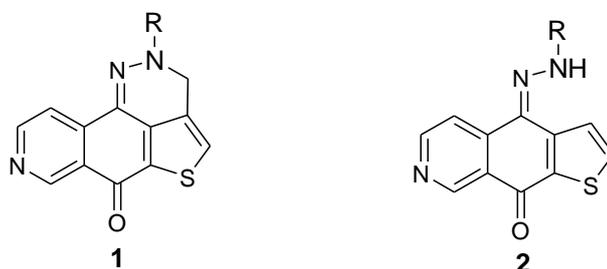
จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้ง (Quantitative structure-activity relationship, QSAR) โดยวิธี 2D-QSAR ของสารอนุพันธ์กลุ่ม เอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรลที่ใช้ในการยับยั้งมะเร็งปากมดลูก ซึ่งสมการที่ได้จาก QSAR สามารถทำนายโครงสร้างของโมเลกุลยาได้ว่า สมบัติต่างๆ จะมีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างไร และจะทำการปรับปรุงสมบัติต่างๆ ใดๆ เพื่อให้ฤทธิ์ทางชีวภาพของโมเลกุลยาสูงขึ้น โดยวิธีการทำนายคือ สร้างโครงสร้างของสารตัวใหม่โดยใช้โปรแกรมทาง molecular modeling จากนั้นคำนวณสมบัติต่างๆ ที่มีอยู่ในสมการแล้วแทนค่าลงไป ในสมการก็จะได้ค่าฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังสามารถทำการคำนวณทำนายฤทธิ์ทางชีวภาพของสารตัวใหม่ได้โดยไม่ต้องทำการสังเคราะห์และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารนั้น ซึ่งก็จะช่วยให้ประหยัดเวลาและต้นทุนได้มาก

#### 4.6 การสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายที่ได้รับการออกแบบ

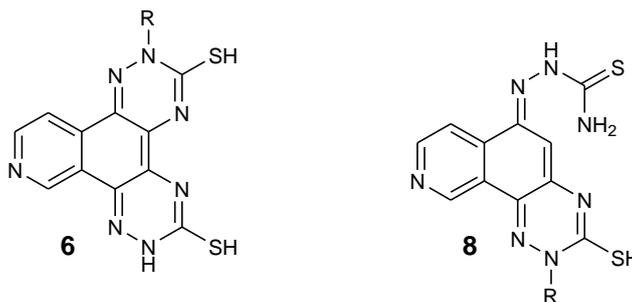
##### 4.6.1 การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไรโอฟิน

###### 1. การสังเคราะห์สาร 7-mercaptoisoquinoline-5,8-dione (41)

ในการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายหมายเลข 1 และ 2 นั้นต้องสังเคราะห์ผ่านสารตัวกลาง 7-mercaptoisoquinoline-5,8-dione (41) โดยได้ทดลองสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายโดยเริ่มจาก 5-hydroxyisoquinonoline (3) ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้ bis(trifluoroacetoxy)iodo benzene เป็นสารออกซิไดส์ สามารถสังเคราะห์หมายเลข 40 ได้ หลังจากนั้นได้ทำการทดลองเติมหมู่ไทออล โดยทำปฏิกิริยาระหว่างสาร 40 กับโซเดียมซัลไฟด์ ในสภาวะเบสและใช้ DMF เป็นตัวทำละลาย แต่ปรากฏว่าไม่เกิดสาร 41 ตามที่วางแผนเอาไว้ และได้ทดลองโดยเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเอทานอล แต่ก็ยังไม่เกิดปฏิกิริยาที่ต้องการ



จากการทดลองหลายครั้งแต่ไม่ประสบความสำเร็จทำให้ผู้วิจัยตัดสินใจ เปลี่ยนแปลงกระบวนการสังเคราะห์เพื่อให้ได้โครงสร้างพื้นฐานคล้ายๆ เดิม และยังมีหมู่ฟังก์ชันและหมู่แทนที่ที่จะสามารถแทรกเข้าไปเกิดอันตรกิริยากับ DNA เช่นเดียวกับอนุพันธ์ชนิดเอซาแนพโควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรลดังที่ได้ออกแบบด้วยเทคนิคทางเคมีคอมพิวเตอร์ จึงได้เป็นสารโมเลกุลเป้าหมายเป็นอนุพันธ์ชนิดเอซาแนพโควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไทรเอซีน ไรโออิน หมายเลข 6 และ 8 ซึ่งจะได้แสดงวิธีการสังเคราะห์ดังจะได้อธิบายด้านล่างต่อไป

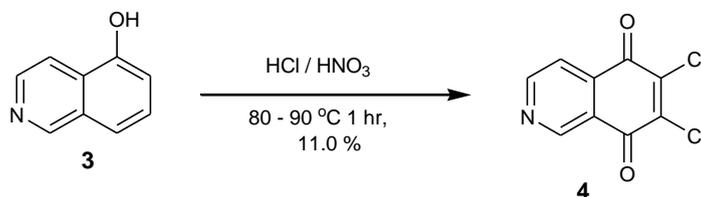


#### 4.6.2 การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพควิโนนที่ต่อยู่กับวงไตรเอซีน ไฮโออิน

##### 1. การสังเคราะห์ 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (4)

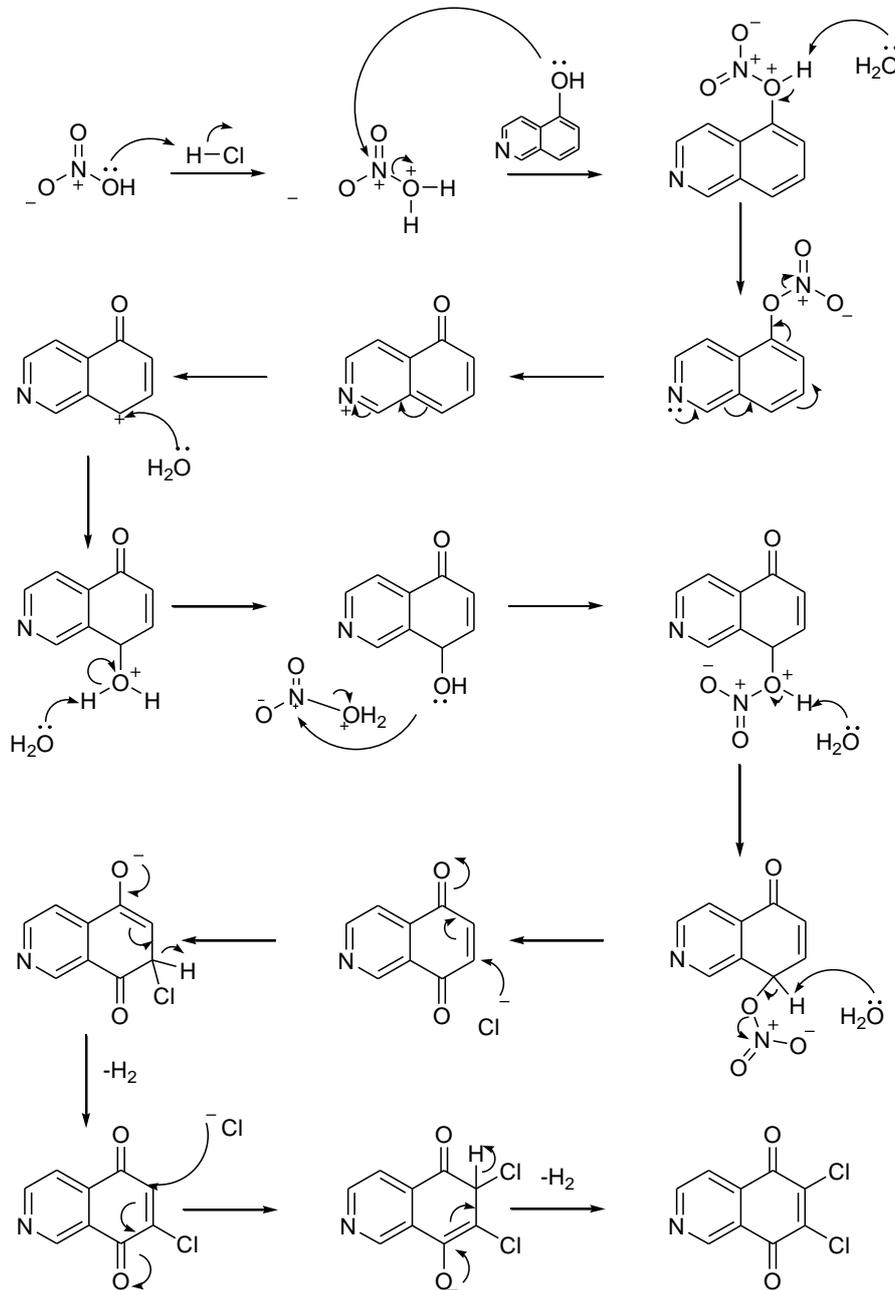
ดังนั้นจึงเปลี่ยนวิธีการสังเคราะห์โดยเริ่มจากสาร 5-hydroxyisoquinoline (3) ทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น และเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดไนตริกเข้มข้น ได้สาร 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (4) โดยได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ที่ดีที่สุดดังแสดงในตารางที่ 4.3 โดยมีการปรับขนาดของปฏิกิริยา เลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาและสัดส่วนกรดที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาผลการทดลองพบว่าขนาดของปฏิกิริยาไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ที่ได้ เมื่อใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ลดลง เวลาที่ดีที่สุดคือ ใช้เวลา 1 ชั่วโมง และสัดส่วนของกรดที่ดีที่สุดที่ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์มากที่สุดคือ อัตราส่วนระหว่างกรดไฮโดรคลอริกและกรดไนตริกในสัดส่วน 17:3 มิลลิลิตร จึงใช้สภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะที่ดีที่สุดในการสังเคราะห์สารเป้าหมายหมายเลข 4 ต่อไป

##### ตารางที่ 4.3 สภาวะที่ใช้และเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ในการสังเคราะห์สารหมายเลข 4



| ครั้งที่ | 5-hydroxyisoquinoline (g) | เวลา (h) | สัดส่วน HCl:HNO <sub>3</sub> (ml) | % yield |
|----------|---------------------------|----------|-----------------------------------|---------|
| 1        | 1.10                      | 1        | 19:1                              | 2.2     |
| 2        | 1.11                      | 1        | 19:1                              | 5.3     |
| 3        | 3.00                      | 2        | 19:1                              | 2.7     |
| 4        | 15.40                     | 1        | 19:1                              | 7.7     |
| 5        | 1.11                      | 1        | 17:3                              | 20.4    |

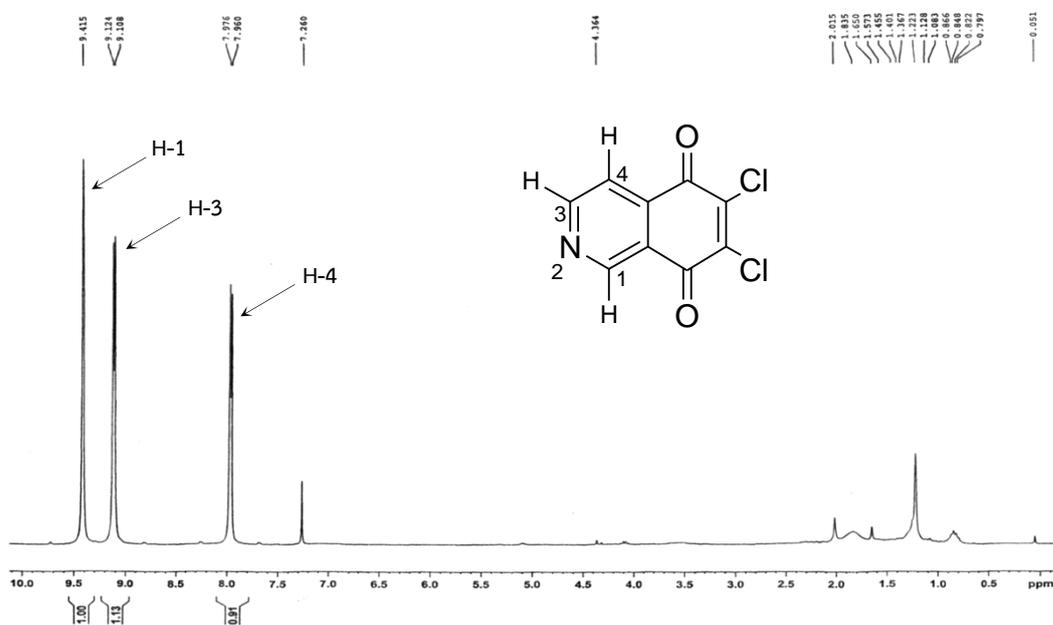
โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาจะเกิดผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารหมายเลข 3 มีกรดไนตริกเป็นตัวออกซิไดซ์ ได้ isoquinoline-5,8-dione จากนั้นคลอไรด์ไอออนทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าทำปฏิกิริยา 1,4-addition ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และคาร์บอนตำแหน่งที่ 7 ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (4) ดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (4)

เมื่อนำ 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (4) พิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR Spectroscopy}$  พบว่า มีสัญญาณของโปรตอนปรากฏ 3 สัญญาณ ที่ตำแหน่งเคมีคัลชิฟท์ที่ 9.41, 9.12 และ 7.97 ppm เป็นสัญญาณโปรตอนของวงไอโซควิโนลีน ยืนยันได้ว่าการเติม

คลอไรด์อะตอมเข้าไปในโมเลกุล เห็นได้จากสัญญาณโปรตอนที่ปรากฏจากเดิมมีจำนวนโปรตอน 6 โปรตอน หลังจากทำปฏิกิริยาออกซิเดชันจำนวนโปรตอนลดน้อยลงสามโปรตอน ดังรูปที่ 4.10 และสามารถแปลผลจากสเปกตรัมดังตารางที่ 4.4

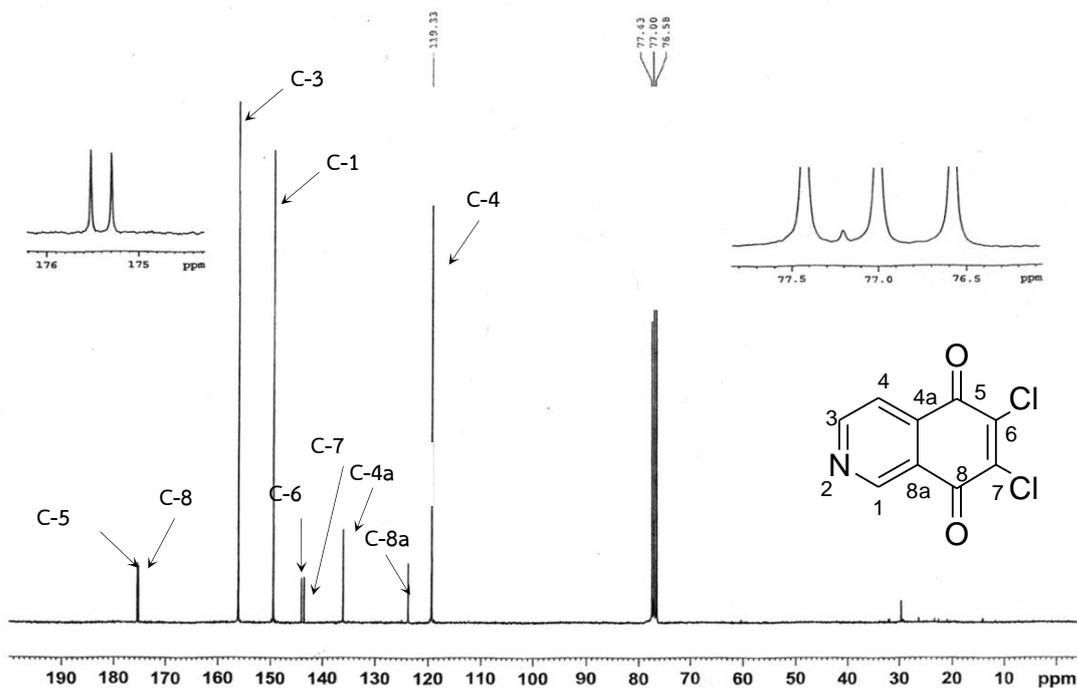


รูปที่ 4.10  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข 4

ตารางที่ 4.4 การแปลผลจาก  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ของสารหมายเลข 4

| Chemical shift (ppm) | Multiplicity | Coupling constant; $J$ (Hz) | Identification |
|----------------------|--------------|-----------------------------|----------------|
| 9.41                 | s            | -                           | H-1            |
| 9.12                 | d            | 4.8                         | H-3            |
| 7.97                 | d            | 4.8                         | H-4            |

จากนั้นทำการพิสูจน์สารหมายเลข 4 ด้วยเทคนิค  $^{13}\text{C-NMR}$  Spectroscopy เพื่อทราบจำนวนอะตอมคาร์บอนที่แน่นอนของโมเลกุลหมายเลข 4 จากรูปที่ 4.11 พบสัญญาณของหมู่คาร์บอนิล 2 สัญญาณที่ตำแหน่ง 175.5, 175.3 ppm และสัญญาณของ C-Cl ปรากฏ 2 สัญญาณที่ตำแหน่ง 144.0, 143.5 ppm จึงยืนยันการเกิดปฏิกิริยาให้ได้สาร 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (3) ดังรูปที่ 4.6 และสามารถแปลผลสเปกตรัมได้ดังตารางที่ 4.5

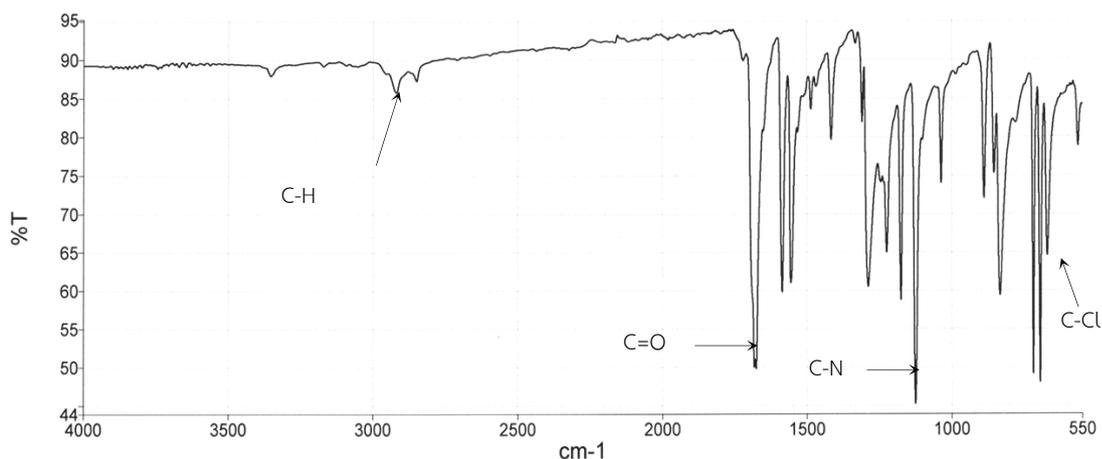


รูปที่ 4.11  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณคาร์บอนของสารหมายเลข 4

ตารางที่ 4.5 การแปลผลจาก  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectrum ของสารหมายเลข 4

| Chemical shift (ppm) | Identification |
|----------------------|----------------|
| 175.5                | C-5            |
| 175.3                | C-8            |
| 156.0                | C-3            |
| 149.5                | C-1            |
| 144.0                | C-6            |
| 143.5                | C-7            |
| 136.0                | C-4a           |
| 124.0                | C-8a           |
| 119.5                | C-4            |

นอกจากนี้ยังได้มีการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์หมายเลข 4 ด้วยเทคนิค IR Spectroscopy เพื่อวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันในการยืนยันโครงสร้างทางเคมี ได้สเปกตรัมดังรูปที่ 4.12 และสามารถแปลผลได้ดังแสดงในตารางที่ 4.6 จากข้อมูลทางสเปกโตรสโคปีทั้งหมดสามารถยืนยันได้ว่าเป็นสารสังเคราะห์สาร 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (4) ได้จริง



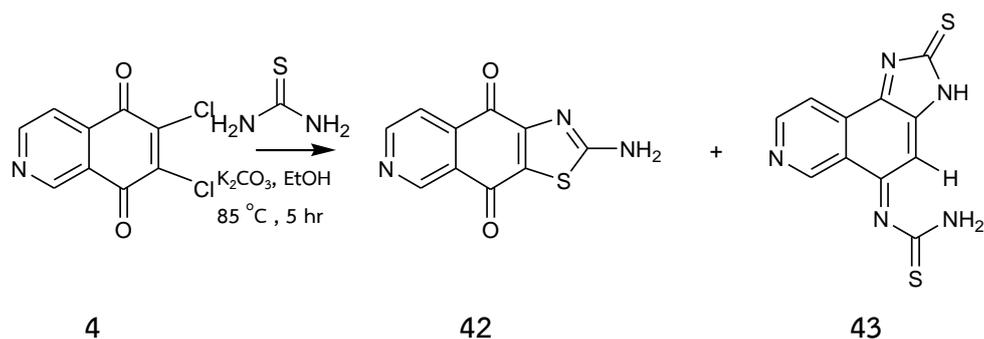
รูปที่ 4.12 IR Spectrum ของสารหมายเลข 4

ตารางที่ 4.6 การแปลผลจาก IR Spectrum ของสารหมายเลข 4

| Wave number ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Intensity | Identification                            |
|----------------------------------|-----------|---|
| 2919                             | weak      | $\text{CH}_2$ stretching                  |
| 1675                             | strong    | $\text{C}=\text{O}$ stretching            |
| 1224                             | medium    | $\text{C}-\text{N}$ stretching (aromatic) |
| 670                              | medium    | $\text{C}-\text{Cl}$ stretching           |

## 2. การสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione (42) ในสถานะเบส

เมื่อทำการสังเคราะห์สารตั้งต้นที่เป็น 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (4) แล้ว นำมาทำปฏิกิริยา Nucleophilic aromatic substitution กับไฮโอยูเรีย โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยา เป็นโพแทสเซียมคาร์บอเนต ที่อุณหภูมิ  $85\text{ }^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ได้ของแข็งสีเหลืองส้ม นำสารที่ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วย  $^1\text{H-NMR}$  และ  $^{13}\text{C-NMR}$  Spectroscopy พบว่า ไม่ได้สารผลิตภัณฑ์ 42 แต่ได้ผลิตภัณฑ์ 43 ที่เกิดจากปฏิกิริยาการควบแน่นของไฮโอยูเรียเข้ากับหมู่คาร์บอนิลของวงไอโซควิโนลีนหนึ่งตำแหน่งและเกิดการปิดวงเป็นวงห้าเหลี่ยม เรียกว่า Imidazole ดังรูปที่ 4.13 หลังจากนั้นทำการทดลองซ้ำ ดังตารางที่ 4.13 พบว่า ไม่เกิดการควบแน่นเข้ากับหมู่คาร์บอนิล จึงทำการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อไป

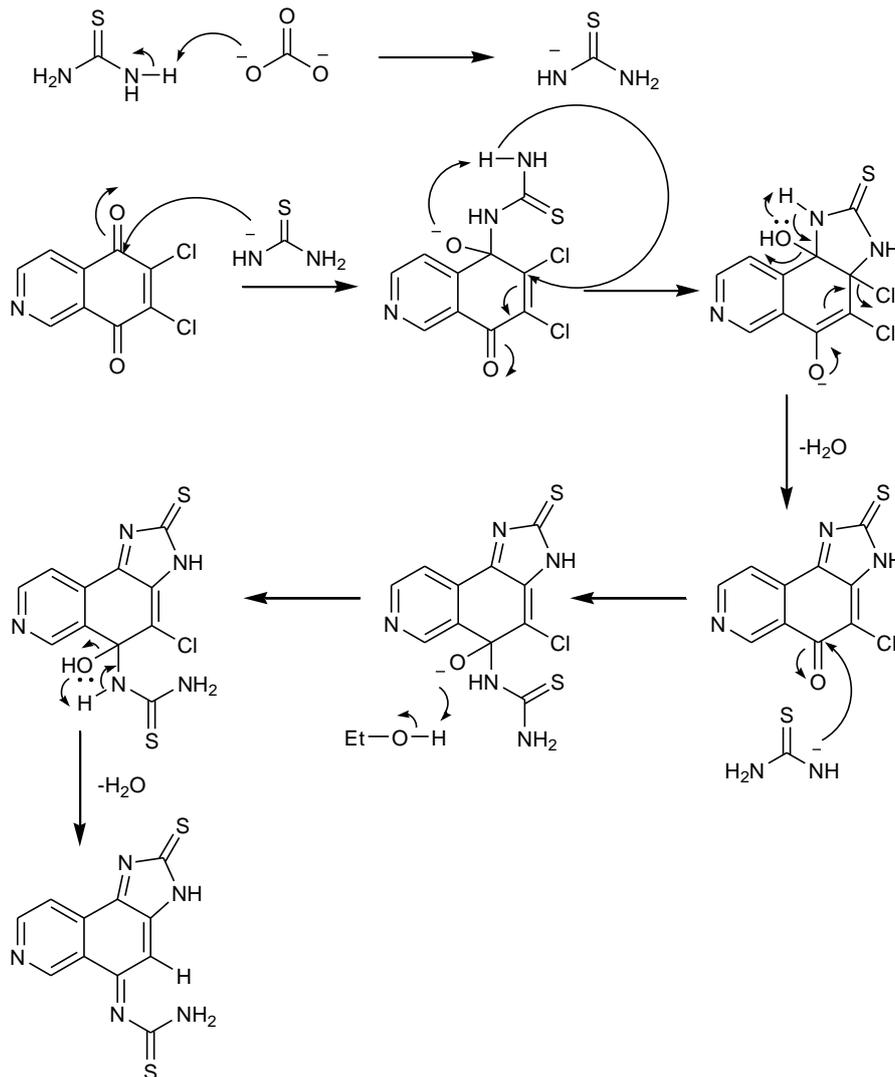


รูปที่ 4.13 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione (42) และผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ 43

ตารางที่ 4.7 สภาวะของปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione ในสภาวะเบส

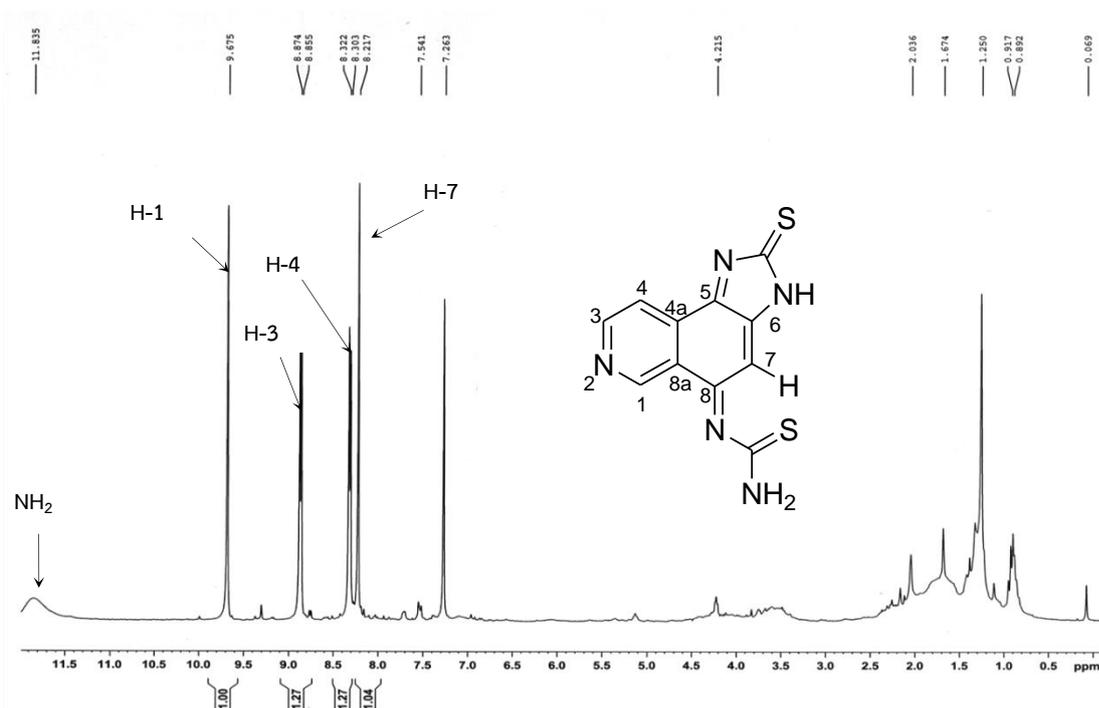
| ครั้งที่ | 6,7-dichloro isoquinoline-5,8-dione (g) | Thiourea (g)    | เวลา (ชั่วโมง) | ผลิตภัณฑ์หมายเลข 43       |        |         |
|----------|---|-----------------|----------------|---------------------------|--------|---------|
|          |   |                 |                | mg                        | mmol   | % yield |
| 1        | 0.1079                                  | 0.1261          | 5              | ไม่ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ |        |         |
| 2        | 1.4000                                  | 0.5610          | 5              | 177.6                     | 0.6497 | 10.58   |
| 3        | 0.0918                                  | 0.0367          | 5              | ไม่ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ |        |         |
| 4        | 0.1274                                  | 0.1279 (3 eqv.) | 5              | ไม่ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ |        |         |

โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารผลิตภัณฑ์คาดว่าเกิดผ่านปฏิกิริยาการควบแน่นโดยมีโพแทสเซียมคาร์บอเนตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและไฮโอยูเรียที่เป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าทำปฏิกิริยากับสารหมายเลข 3 ที่หมู่คาร์บอนิลของวงไอโซควิโนลีนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 เกิดเป็นวงห้าเหลี่ยมเรียกว่า Imidazole และเกิดการควบแน่นเข้าที่หมู่คาร์บอนิลของคาร์บอนตำแหน่งที่ 8 แต่ไม่เกิดการปิดวง ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารหมายเลข 43 ดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารหมายเลข 43

เมื่อนำสารหมายเลข 43 พิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของสารด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy เทียบกับสารหมายเลข 4 พบว่า มีสัญญาณโปรตอนของหมู่อะมิโนที่ตำแหน่ง 11.84 ppm และมีสัญญาณโปรตอนเพิ่มขึ้น 1 สัญญาณ ที่ตำแหน่ง 8.21 ppm ในตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม ดังรูปที่ 4.10 และในตัวทำละลายเมทานอล ดังรูปที่ 4.15 สามารถแปลผลจากสเปกตรัมของสัญญาณโปรตอนดังกล่าวได้ตามตารางที่ 4.8 จึงยืนยันได้ว่ามีไฮโอยูเรียเข้าทำปฏิกิริยาโดยการควบแน่นที่หมู่คาร์บอนิลของวงโซควิโนลีน

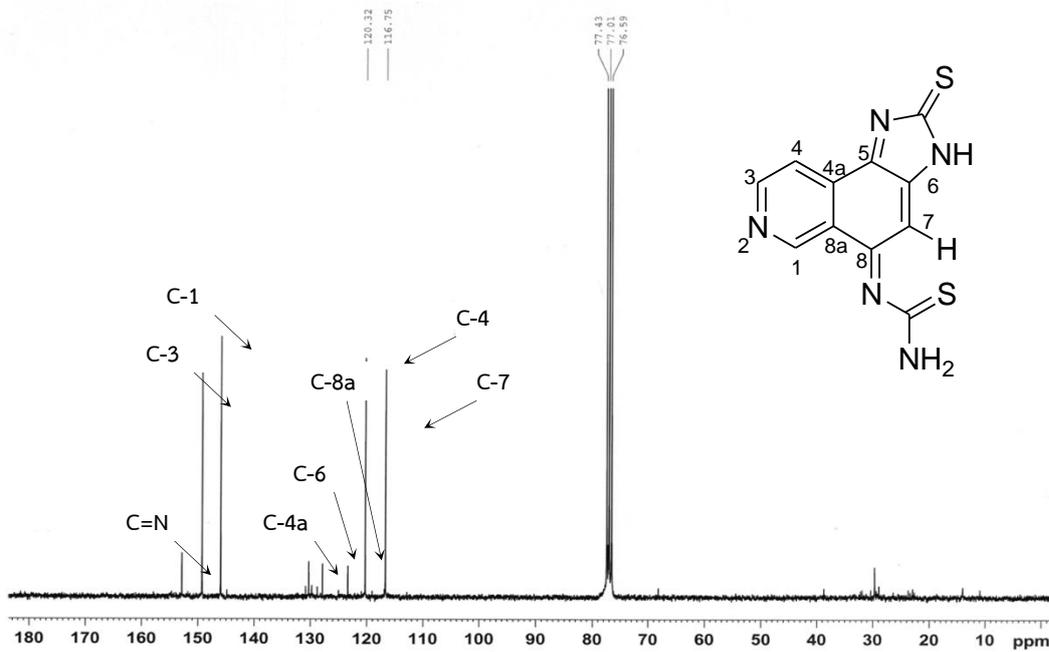


รูปที่ 4.15  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข 43 ใน  $\text{CDCl}_3$

ตารางที่ 4.8 การแปลผลจาก  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ของสารหมายเลข 43

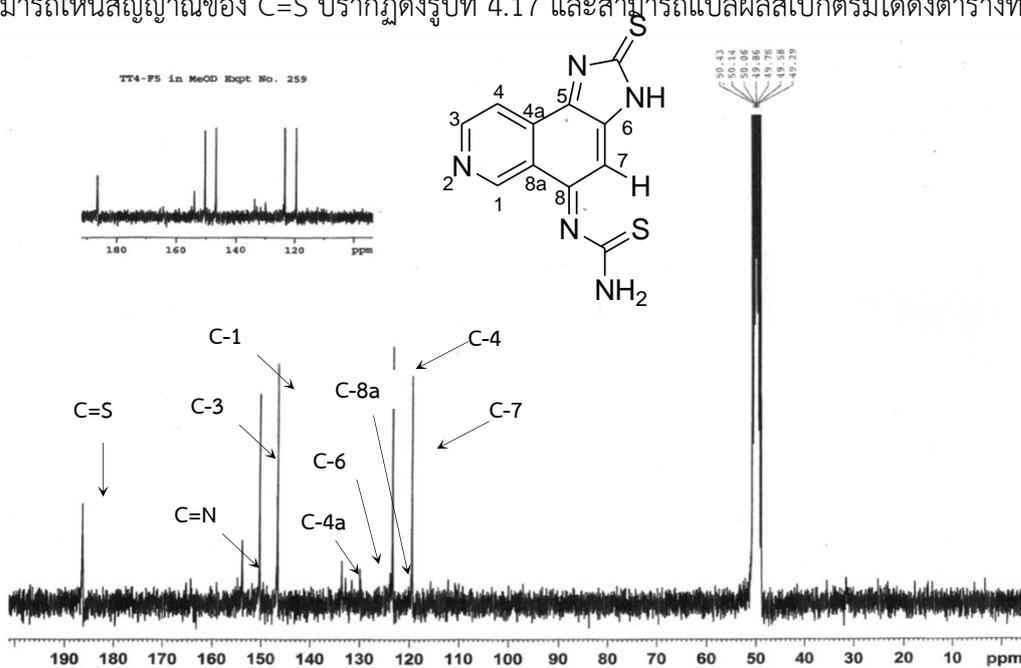
| Chemical shift (ppm) | Multiplicity | Coupling constant; $J$ (Hz) | Identification |
|----------------------|--------------|-----------------------------|----------------|
| 11.84                | br s         | -                           | NH             |
| 9.68                 | s            | -                           | H-1            |
| 8.86                 | d            | 5.7                         | H-3            |
| 8.31                 | d            | 5.7                         | H-4            |
| 8.21                 | s            | -                           | H-7            |

จากนั้นทำการพิสูจน์สารหมายเลข 43 ด้วยเทคนิค  $^{13}\text{C-NMR}$  Spectroscopy เพื่อทราบจำนวนอะตอมคาร์บอนที่แน่นอนของสารหมายเลข 43 พบว่า สัญญาณของหมู่คาร์บอนิล 2 สัญญาณที่ตำแหน่ง 175.5, 175.3 ppm หายไป และเกิดสัญญาณเพิ่มที่ 154.0 ppm ซึ่งเป็นของ  $\text{C=N}$  จึงยืนยันได้ว่าเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นที่หมู่คาร์บอนิลของวงไอโซควิโนลีนทั้งสองตำแหน่ง ดังรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณคาร์บอนของสารหมายเลข 43 ใน  $\text{CDCl}_3$

จากรูปที่ 4.16 ใช้ตัวทำละลายเป็นคลอโรฟอร์ม ไม่พบสัญญาณของ  $\text{C}=\text{S}$  ใน  $^{13}\text{C}$ -NMR จึงทดลองใช้ตัวทำละลายเป็นเมทานอล พบว่า มีสัญญาณคาร์บอนของ  $\text{C}=\text{S}$  ปรากฏที่ตำแหน่ง 186.5 ppm อาจเกิดจากสารผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นขั้วสูงเกิดการละลายได้มากขึ้นเมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วเพิ่มขึ้น จึงสามารถเห็นสัญญาณของ  $\text{C}=\text{S}$  ปรากฏดังรูปที่ 4.17 และสามารถแปลผลสเปกตรัมได้ดังตารางที่ 4.10

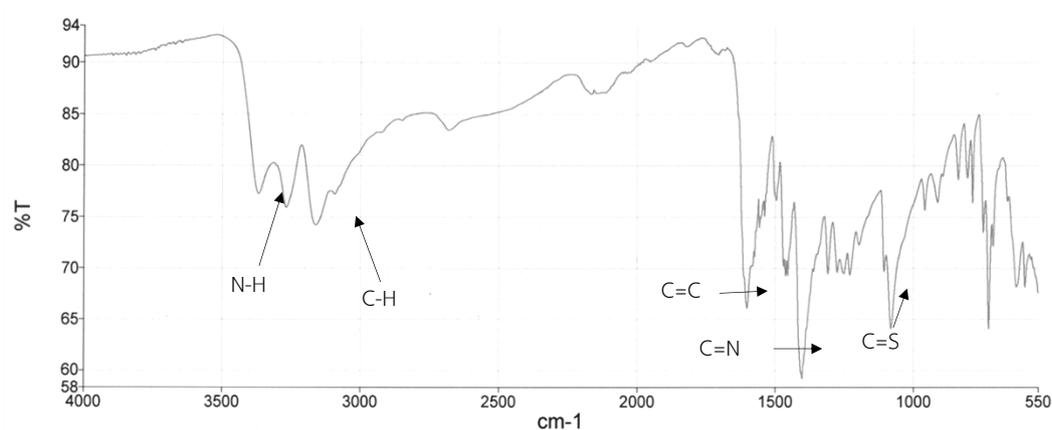


รูปที่ 4.17  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณคาร์บอนของสารหมายเลข 43 ใน  $\text{CD}_3\text{OD}$

ตารางที่ 4.9 การแปลผลจาก  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectrum ของสารหมายเลข 43 ใน  $\text{CD}_3\text{OD}$

| Chemical shift (ppm) | Identification |
|----------------------|----------------|
| 186.5                | C=S            |
| 186.5                | C=S            |
| 154.0                | C=N            |
| 154.0                | C=N            |
| 150.5                | C-3            |
| 147.0                | C-1            |
| 134.5                | C-4a           |
| 128.0                | C-6            |
| 123.5                | C-8a           |
| 120.3                | C-4            |
| 116.8                | C-7            |

นอกจากนี้ยังได้มีการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์หมายเลข 43 ด้วยเทคนิค IR Spectroscopy เพื่อวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันในการยืนยันโครงสร้างทางเคมีเพิ่มเติมจากเทคนิค  $^1\text{H}$ -NMR และ  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectroscopy ดังรูปที่ 4.18 และสามารถแปลผลสเปกตรัมได้ดังตารางที่ 4.17



รูปที่ 4.18 IR Spectrum ของสารหมายเลข 43

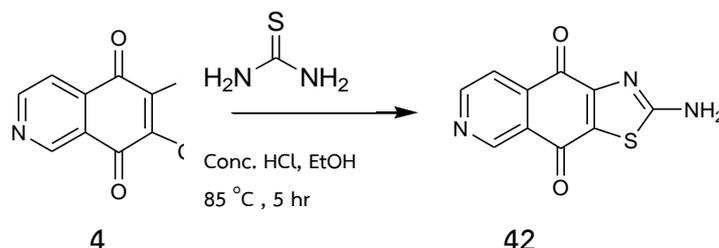
ตารางที่ 4.10 การแปลผลจาก IR spectrum ของสารหมายเลข 43

| Wave number (cm <sup>-1</sup> ) | Intensity | Identification |
|---------------------------------|-----------|----------------|
| 3370                            | medium    | NH-imidazole   |
| 3163                            | medium    | CH-stretching  |
| 1602                            | strong    | C=C (aromatic) |
| 1404                            | medium    | C=N            |
| 1081                            | medium    | C=S            |

### 3. การสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione (42) ในสภาวะกรด

จากการสังเคราะห์สารหมายเลข 42 ในสภาวะเบส เมื่อทำการทดลองซ้ำ พบว่า ไม่ได้สารผลิตภัณฑ์ 4 แต่ได้สารหมายเลข 43 จึงทำการเปลี่ยนสภาวะเป็นสภาวะกรดโดยมีขั้นตอนการสังเคราะห์ต่อไปนี้

เริ่มต้นการสังเคราะห์จากการทำปฏิกิริยา Nucleophilic aromatic substitution ของ 6,7-dichloroisoquinoline-5,8-dione (4) (0.1589 g, 0.70 mmol, 1 equivalent) กับ ไฮโอยูเรีย (0.0636 g, 0.84 mmol, 1.2 equivalent) โดยมีกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ดังสมการรูปที่ 4.19 ได้สารลักษณะของแข็งสีเหลืองส้ม นำสารที่ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วย <sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy พบว่า ไม่ได้สารผลิตภัณฑ์ 4 แต่ได้สารตั้งต้นกลับคืนมา ดังนั้น จึงทำการเปลี่ยนโมเลกุลเป้าหมาย โดยการสังเคราะห์สารหมายเลข 45



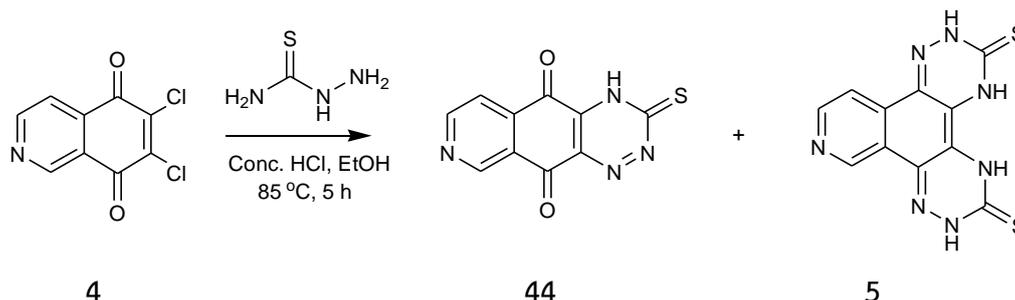
รูปที่ 4.19 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 2-aminothiazolo[4,5-g]isoquinoline-4,9-dione (42) ในสภาวะกรด

### 4. การสังเคราะห์สารหมายเลข 6

เนื่องจากทำการทดลองการปิดวงด้วยไฮโอยูเรียทั้งในสภาวะเบสและสภาวะกรด พบว่าในสภาวะเบส ไม่ได้สารผลิตภัณฑ์ 42 แต่ได้ผลิตภัณฑ์หมายเลข 43 เมื่อทำการทดลองซ้ำ ไม่ได้ผลิตภัณฑ์เดิม 43 จึงเปลี่ยนสภาวะในการสังเคราะห์เป็นสภาวะกรด พบว่าได้สารตั้งต้นกลับคืนมา จากผลการทดลองดังกล่าว จึงนำมาสู่การสังเคราะห์ในสภาวะใหม่และเปลี่ยนโมเลกุลเป้าหมายเป็นสารหมายเลข 5 ที่เป็นการสังเคราะห์จากการปิดวงด้วยไฮโอเซมิคาร์บาไซด์ให้ได้วงหกเหลี่ยม ดังต่อไปนี้

#### 4.1 การสังเคราะห์สารหมายเลข 5 ในสภาวะกรด

นำสารหมายเลข 4 มาทำปฏิกิริยา Nucleophilic aromatic substitution กับ ไฮโอเซมิคาร์บาไซด์ โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเป็นกรดไฮโดรคลอริกและใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล ที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ได้สารเป็นของแข็งสีเหลืองส้ม นำสารที่ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วย <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy และ IR Spectroscopy พบว่าไม่ได้ผลิตภัณฑ์ 5 แต่ได้ผลิตภัณฑ์หมายเลข 44 ที่เกิดจากการควบแน่นของไฮโอเซมิคาร์บาไซด์เข้ากับหมู่คาร์บอนิลของวงไอโซควิโนลีนทั้งสองหมู่คาร์บอนิล เกิดเป็นวงหกเหลี่ยมที่เรียกว่า ไตรเอซีน (Triazine) ดังรูปที่ 4.20 โดยมีการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง ดังตารางที่ 4.11

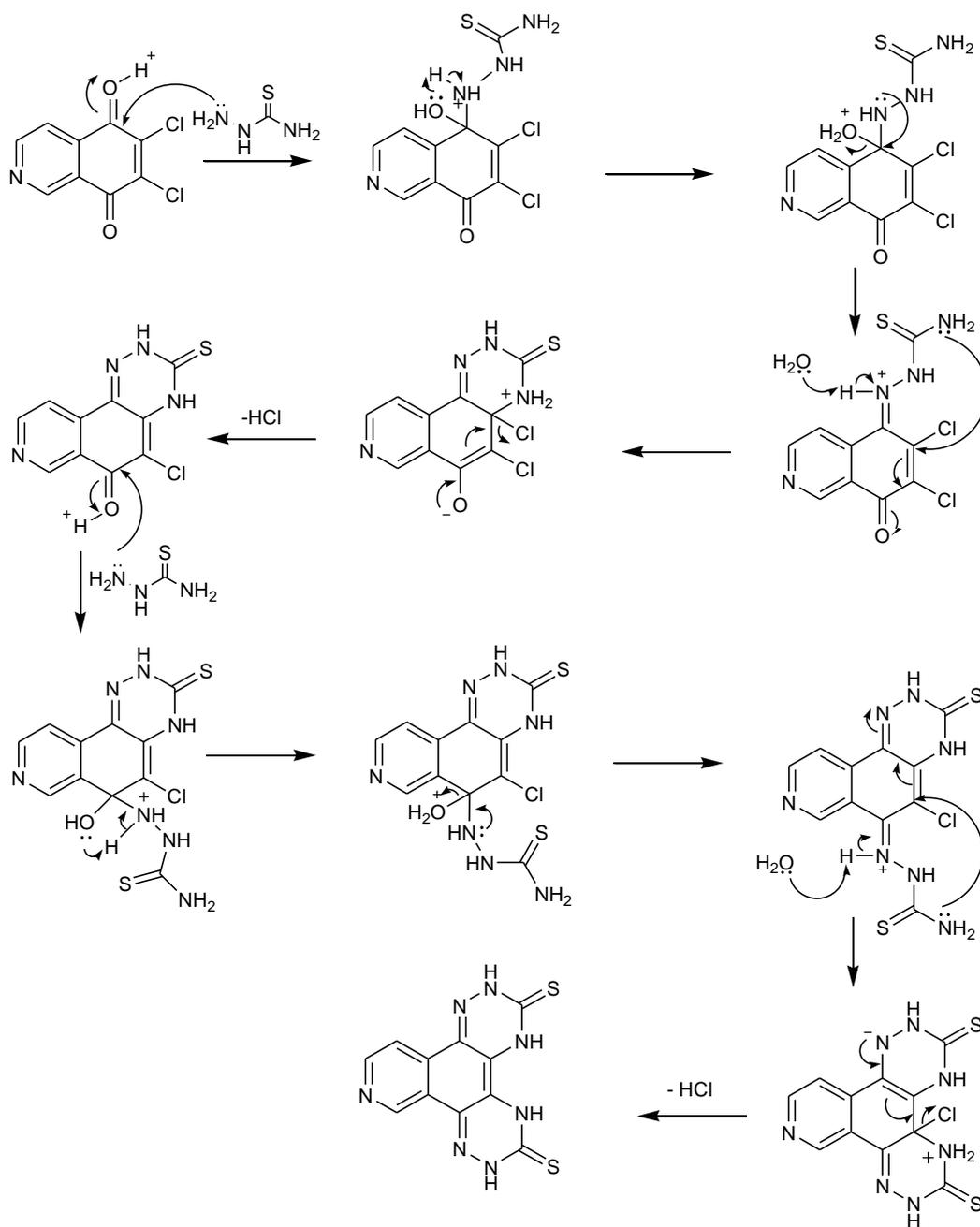


รูปที่ 4.20 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารหมายเลข 5 ในสภาวะกรด

ตารางที่ 4.11 สภาวะของการเกิดปฏิกิริยาในการสังเคราะห์สารหมายเลข 5 ในสภาวะกรด

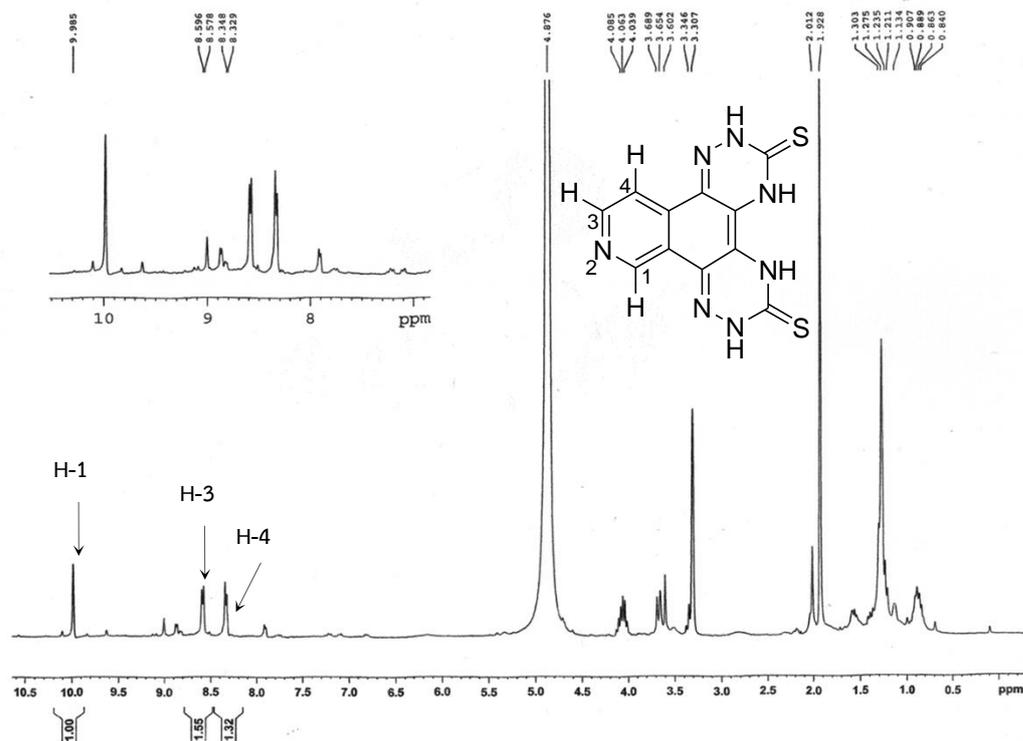
| ครั้งที่ | 6,7-dichloro isoquinoline-5,8-dione (g) | Thiosemicarbazide (g) | เวลา (h) | ผลิตภัณฑ์ หมายเลข 5 (mg) | mmol | % yield |
|----------|---|-----------------------|----------|--------------------------|------|---------|
| 1        | 0.1474                                  | 0.0707                | 5        | 36.9                     | 0.12 | 12.1    |
| 2        | 0.1529                                  | 0.0734                | 8        | 39.7                     | 0.13 | 12.5    |
| 3        | 0.2274                                  | 0.1097                | 8        | 144.8                    | 0.48 | 48.2    |
| 4        | 0.2408                                  | 0.1158                | 8        | 283.4                    | 0.94 | 89.1    |
| 5        | 0.2540                                  | 0.1218                | 8        | 328.5                    | 1.09 | 97.9    |

กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารผลิตภัณฑ์ 5 เกิดจากหมู่คาร์บอนิลของสารหมายเลข 3 เกิดการ protonate กับกรดไฮโดรคลอริกได้เป็นหมู่ไฮดรอกซิล หลังจากนั้นไฮโอเซมิคาร์บาไซด์ที่เป็น นิวคลีโอไฟล์จะเข้าทำเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นที่คาร์บอนตำแหน่ง 5 และ 8 เกิดการหลุดหมู่ aqua ออก แล้วหมู่อะมิโนของไฮโอเซมิคาร์บาไซด์จะเข้าปฏิกิริยาการแทนที่ที่คาร์บอนตำแหน่ง 6 และ 7 คลอไรด์ไอออน หลุดออก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารหมายเลข 5 ดังรูปที่ 4.21



รูปที่ 4.21 กลไกการเกิดปฏิกิริยาการควบแน่นของสารผลิตภัณฑ์ 5 ที่สังเคราะห์ได้

เมื่อนำสารหมายเลข 5 พิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy เทียบกับสารหมายเลข 4 พบว่า มีสัญญาณโปรตอนของวงอะโรมาติกยังคงปรากฏ 3 สัญญาณ แต่มีการเลื่อนสูงขึ้นจากเดิมเล็กน้อย ที่ตำแหน่ง 9.98, 8.59 และ 8.34 ppm ดังรูปที่ 4.22 และสามารถแปลผลของสเปกตรัมได้ดังตารางที่ 4.12

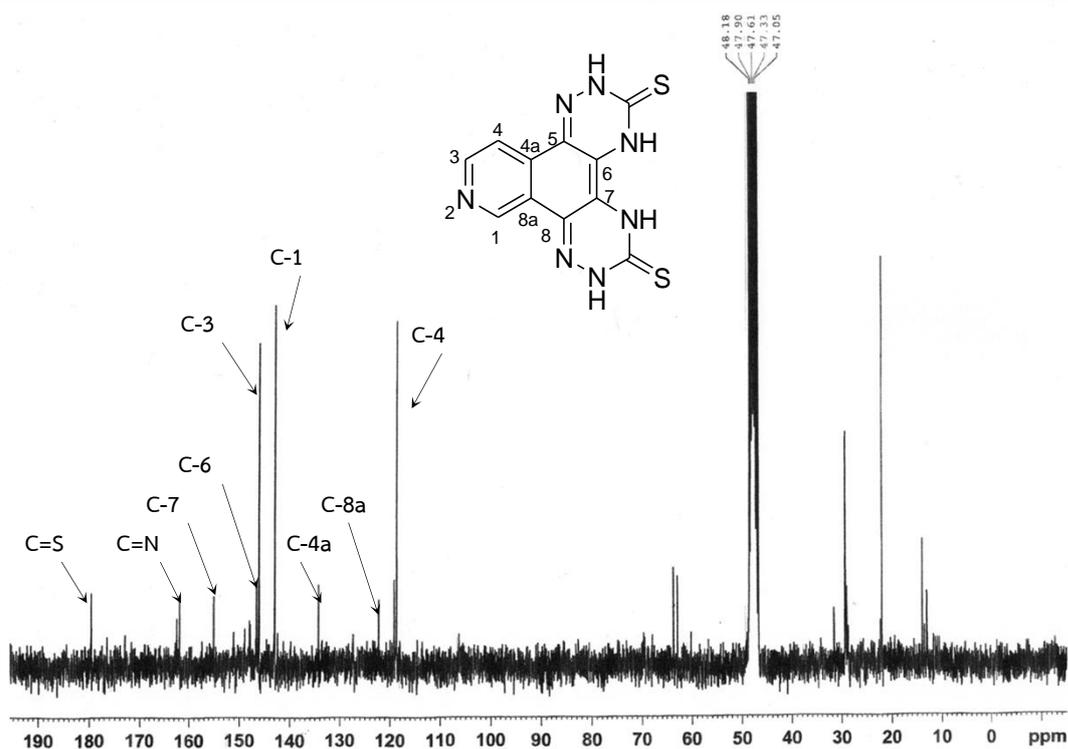


รูปที่ 4.22  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข 5 ใน  $\text{CD}_3\text{OD}$

ตารางที่ 4.12 การแปลผลจาก  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ของสารหมายเลข 5

| Chemical shift (ppm) | Multiplicity | Coupling constant;<br>$J$ (Hz) | Identification |
|----------------------|--------------|--------------------------------|----------------|
| 9.98                 | s            | -                              | H-1            |
| 8.59                 | d            | 5.4                            | H-3            |
| 8.34                 | d            | 5.7                            | H-4            |

จากนั้นทำการพิสูจน์สารหมายเลข 5 ด้วยเทคนิค  $^{13}\text{C-NMR}$  Spectroscopy เพื่อทราบจำนวนอะตอมคาร์บอนที่แน่นอนของโมเลกุลหมายเลข 5 แสดงผลของสเปกตรัมที่ได้จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีเพิ่มเติมดังรูปที่ 4.23 และสามารถแปลผลสเปกตรัมได้ดังตารางที่ 4.13 พบว่า มีสัญญาณของ  $\text{C}=\text{S}$  ที่ 180.0 ppm เมื่อเทียบกับสารหมายเลข 4 จะเห็นได้ว่าสัญญาณคาร์บอนของหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่ง 175.5, 175.3 ppm หายไป และมีสัญญาณของ  $\text{C}=\text{N}$  ปรากฏที่ตำแหน่ง 162.5, 162.0 ppm นั่นคือหมู่อะมิโนของไฮโอเซมิคาร์บาไซด์เข้าทำปฏิกิริยาการควบแน่นที่ตำแหน่งคาร์บอนิลของวงไฮโซควิโนลีนทั้งสองตำแหน่งและทำการปิดวงหกเหลี่ยมเป็นวงไตรเอซีน

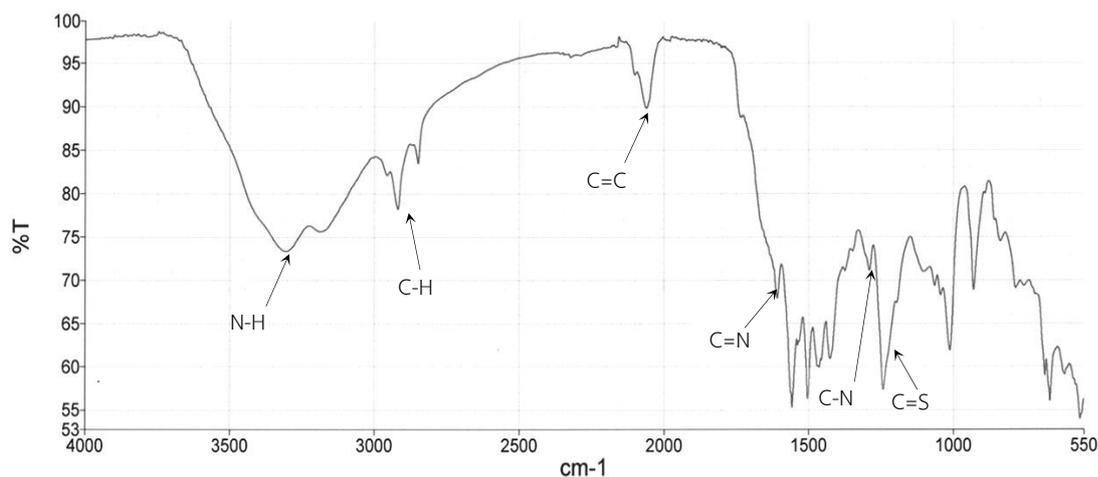


รูปที่ 4.23  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข 5 ใน  $\text{CD}_3\text{OD}$

ตารางที่ 4.13 การแปลผลจาก  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectrum ของสารหมายเลข 5

| Chemical shift (ppm) | Identification | Chemical shift (ppm) | Identification |
|----------------------|----------------|----------------------|----------------|
| 180.0                | C=S            | 146.5                | C-3            |
| 180.0                | C=S            | 143.0                | C-1            |
| 162.5                | C=N            | 134.5                | C-4a           |
| 162.0                | C=N            | 122.5                | C-8a           |
| 155.5                | C-7            | 119.0                | C-4            |
| 147.0                | C-6            |                      |                |

นอกจากนี้ยังได้มีการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์หมายเลข 5 ด้วยเทคนิค IR Spectroscopy เพื่อวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันในการยืนยันโครงสร้างทางเคมีเพิ่มเติมจากเทคนิค  $^1\text{H}$ -NMR และ  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectroscopy ได้สเปกตรัมดังรูปที่ 4.24 และสามารถแปลผลสเปกตรัมดังตารางที่ 4.14



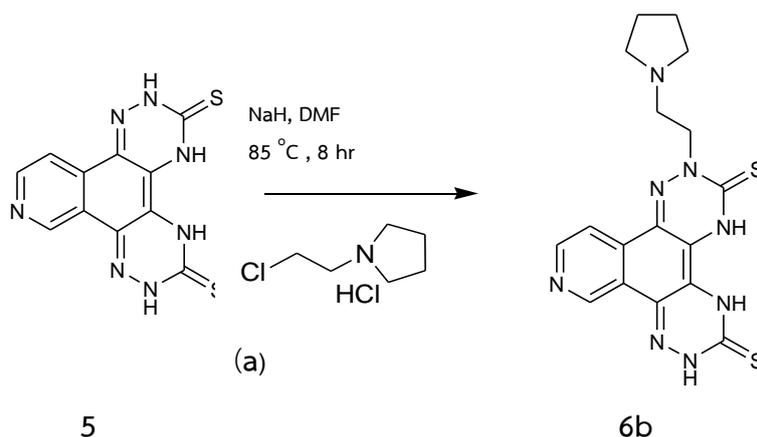
รูปที่ 4.24 IR Spectrum ของสารหมายเลข 5

ตารางที่ 4.14 การแปลผลจาก IR Spectrum ของสารหมายเลข 5

| Wave number (cm <sup>-1</sup> ) | Intensity | Identification |
|---------------------------------|-----------|----------------|
| 3307                            | medium    | NH-imidazole   |
| 2920                            | medium    | CH-stretching  |
| 1608                            | strong    | C=C (aromatic) |
| 1558                            | medium    | C=N            |
| 1289                            | medium    | C-N            |
| 1242                            | Medium    | C=S            |

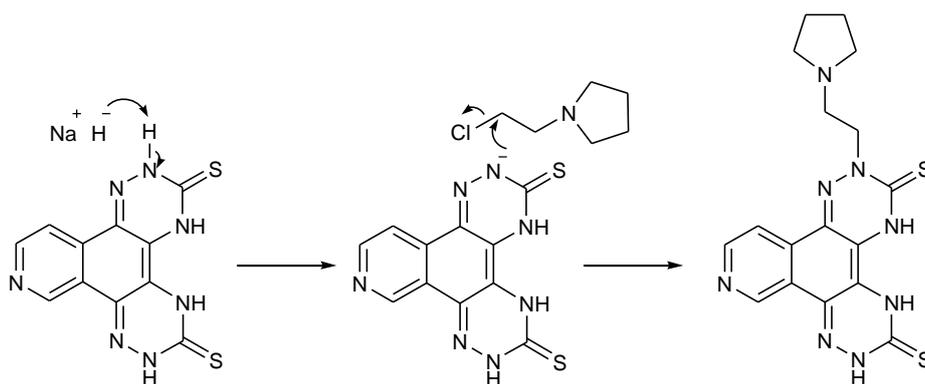
#### 4.2 การสังเคราะห์สารหมายเลข 6

จากการสังเคราะห์สารหมายเลข 5 ที่ได้จากการควบแน่นของไฮโอเซมิคาร์บาไซด์ที่ตำแหน่งคาร์บอนิลของวงไอโซควิโนลีนทั้งสองตำแหน่งแล้ว จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชันที่ตำแหน่งไนโตรเจนของวงไตรเอซีน เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซานพโรควิโนนที่ต่อกับวงไตรเอซีนที่มีหมู่แทนที่เป็นสายโซ่สองคาร์บอนและปลายสายเป็นไฟโรรีดีน จากผลิตภัณฑ์ 5 (0.0918 g, 0.30 mmol, 1 equivalent) กับสายโซ่ที่เป็น *N*-(2-chloroethyl)pyrrolidine hydrochloride (**a**) (0.1038 g, 0.61 mmol, 2 equivalent) และใช้เบสเป็นโซเดียมไฮไดรด์ในตัวทำละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ดังรูปที่ 4.25 ได้ผลิตภัณฑ์หมายเลข 6b (56.84 %) มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองส้ม



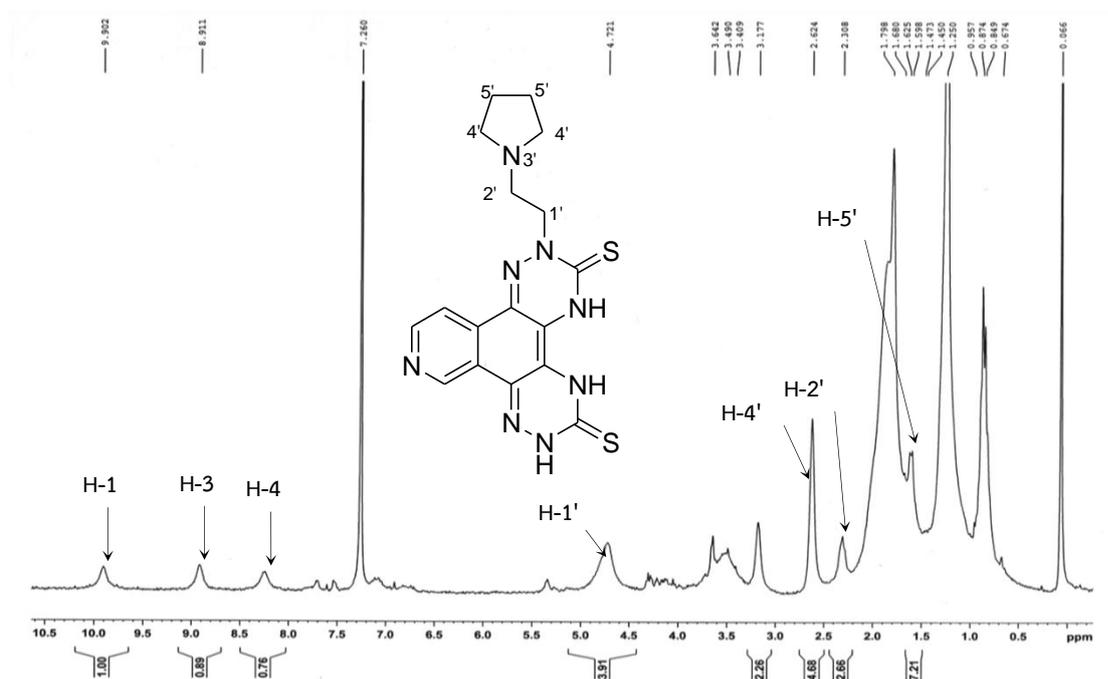
รูปที่ 4.25 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารหมายเลข 6b

กลไกการเกิดปฏิกิริยาอัลคิลเลชันคาดว่าเกิดจากการหลุดออกของคลอไรด์ที่ผ่านกลไกแบบ Nucleophilic substitution bimolecular ( $S_N2$ ) เนื่องด้วยสายโซ่ (a) เป็นอัลคิลเฮไลด์ชนิดปฐมภูมิแอนไอออนบนไนโตรเจนอะตอมจึงเข้าทำปฏิกิริยาที่คาร์บอนที่ติดกับคลอไรด์ ในขณะที่เกิดการแตกพันธะระหว่างคาร์บอนกับคลอไรด์ในขั้นตอนเดียวกัน ดังรูปที่ 4.26



รูปที่ 4.26 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารหมายเลข 6b ผ่านกลไกแบบ  $S_N2$

นำผลิตภัณฑ์หมายเลข 6b พิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy พบว่า เมื่อนำมาเทียบกับผลิตภัณฑ์หมายเลข 5 สัญญาณโปรตอนของวงอะโรมาติกยังคงปรากฏที่ตำแหน่ง 9.90, 8.91, 8.25 ppm แต่มีการเลื่อนต่ำลงจากเดิมเล็กน้อย และมีสัญญาณของวงไพโรรีดีนปรากฏ 4 สัญญาณ ที่ตำแหน่ง 4.72, 2.62, 2.31, 1.51 ppm จึงยืนยันได้ว่าเกิดปฏิกิริยาอัลคิลเลชันเข้าที่ตำแหน่งไนโตรเจนอะตอมของวงไพโรรีดีนตำแหน่งเดียว สังเกตได้จากพื้นที่ใต้สัญญาณของ  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ดังรูปที่ 4.27 และสามารถแปลผลสเปกตรัมได้ดังตารางที่ 4.15



รูปที่ 4.27  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ระบุตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของสารหมายเลข 6b

ตารางที่ 4.15 การแปลผลจาก  $^1\text{H-NMR}$  Spectrum ของสารหมายเลข 6b

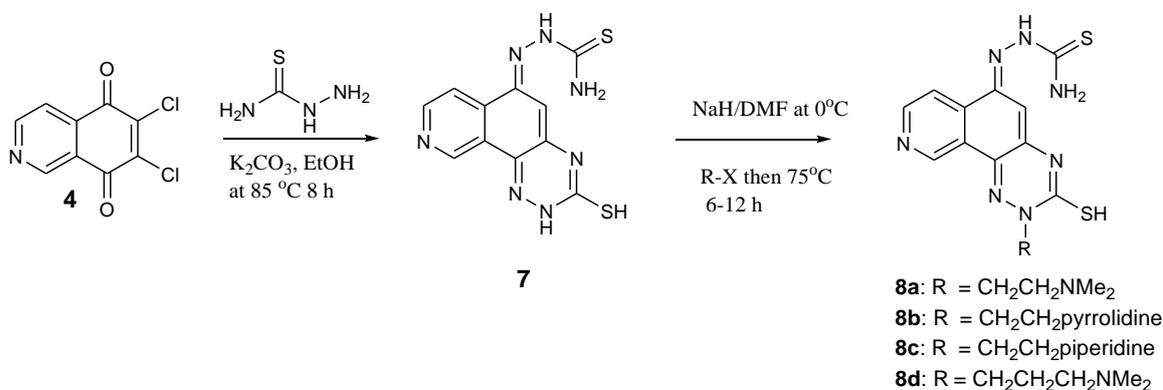
| Chemical shift (ppm) | Multiplicity | Coupling constant; $J$ (Hz) | Identification |
|----------------------|--------------|-----------------------------|----------------|
| 9.90                 | s            | -                           | H-1            |
| 8.91                 | d            | 5.4                         | H-3            |
| 8.25                 | d            | 5.7                         | H-4            |
| 4.50-4.90            | m            | -                           | H-1'           |
| 2.55-2.70            | m            | -                           | H-4'           |
| 2.31                 | t            | 6.6                         | H-2'           |
| 1.50-1.65            | m            | -                           | H-5'           |

## 5. การสังเคราะห์สารหมายเลข 8

### 5.1 การสังเคราะห์สารหมายเลข 7 ในสถานะเบส

ขั้นตอนในการสังเคราะห์เริ่มจากการทำปฏิกิริยา Nucleophilic aromatic substitution ของสารหมายเลข 4 (0.1363 g, 0.60 mmol, 1 equivalent) กับไฮโอเอซิมาคาร์บาไซด์ (0.0658 g, 0.72 mmol, 1.2 equivalent) โดยมีไตรเอธิลลามีนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่อุณหภูมิ  $85^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ดังรูปที่ 4.24 ได้ของแข็งสีเหลืองส้ม นำสารที่ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วย

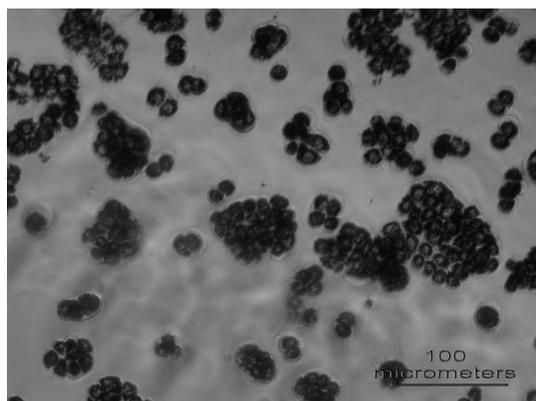
$^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy พบว่า ได้สารผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ 7 และนำไปทำปฏิกิริยากับสายโซ่ชนิดต่างๆ 4 ชนิด ได้โทมเลขคู่เป้าหมายหมายเลข 8a-8d ดังแสดงในรูปที่ 4.28



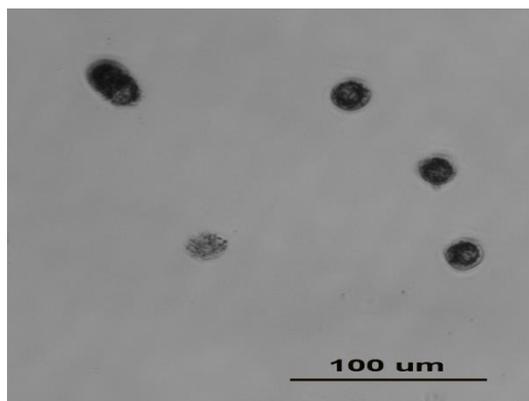
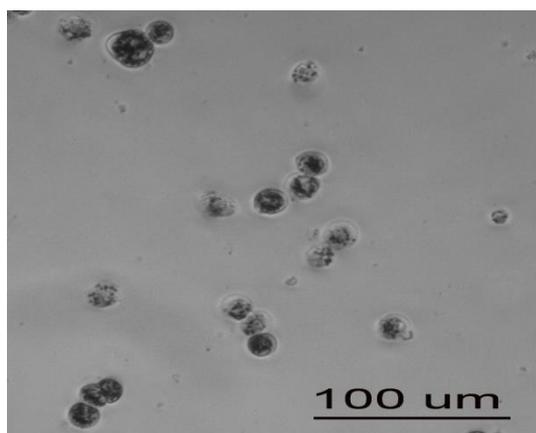
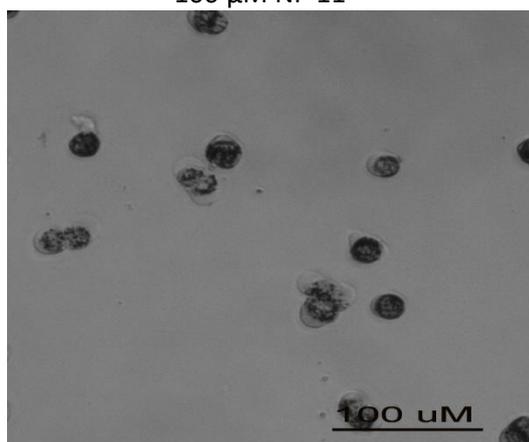
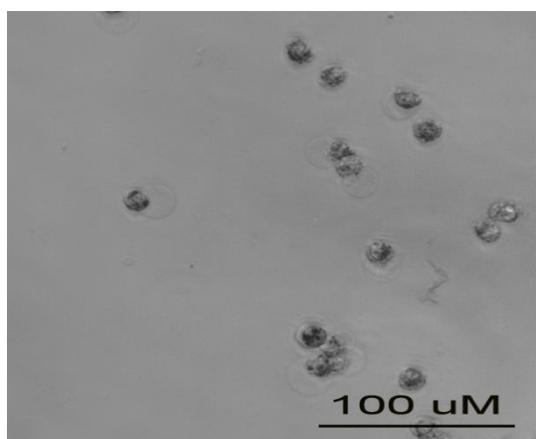
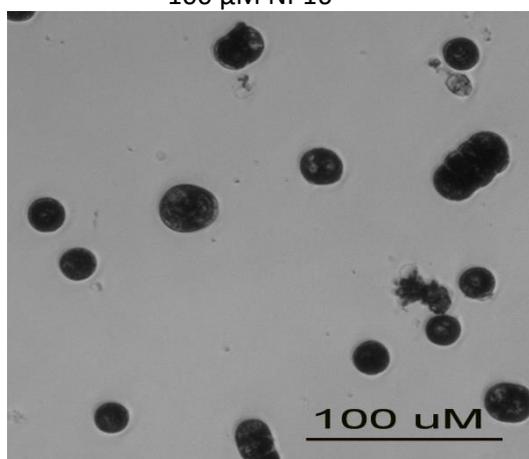
รูปที่ 4.28 สมการปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารหมายเลข 8 ในสถานะเบส

#### 4.6.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สังเคราะห์ขึ้น

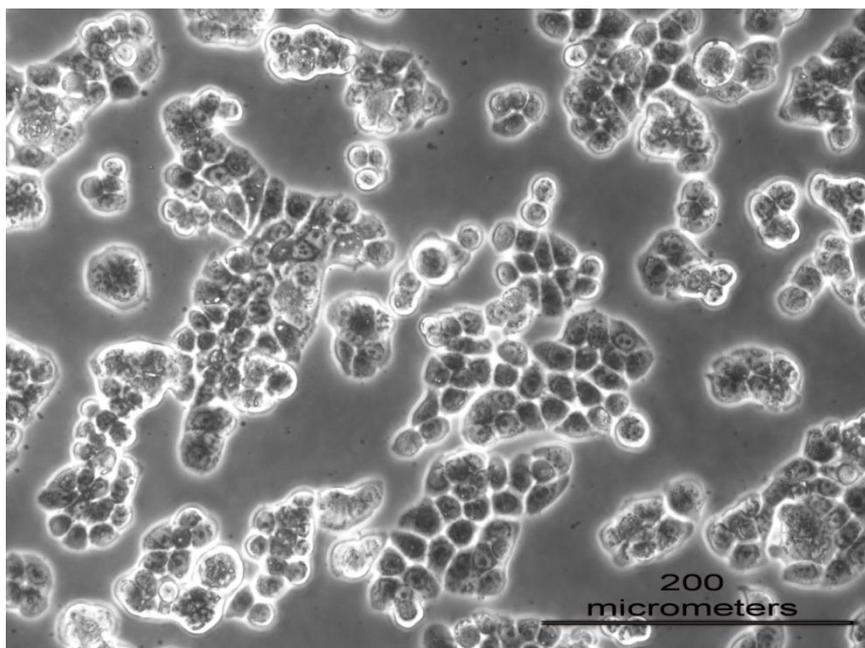
ผลการทดสอบสมบัติทางชีวภาพในการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์ของสารที่สังเคราะห์ขึ้นได้ส่งสารทั้งหมด 12 สารไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โดยทดสอบกับเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) และเซลล์ปกติของมนุษย์ (HNDF) และเทียบกับยามาตรฐาน Doxorubicin โดยวัดผลของการออกฤทธิ์หลังจาก incubation เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภาพถ่ายของเซลล์มะเร็งลำไส้ก่อนการทดสอบกับสาร แสดงในรูปที่ 4.30 และภาพถ่ายของเซลล์หลังจากทดสอบกับสารเอชานพโซควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไตรเอซีน ไฮโอโน และกับยามาตรฐาน Doxorubicin แสดงในรูปที่ 4.29 และค่าการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งแสดงด้วยค่า IC<sub>50</sub> .ในหน่วยไมโครโมลาร์ ของสารทดสอบทั้งหมด 12 ชนิดแสดงในตารางที่ 4.16



Negative control

100  $\mu$ M NP 11100  $\mu$ M NP12100  $\mu$ M NP16100  $\mu$ M NP1810  $\mu$ M Doxorubicin HCl

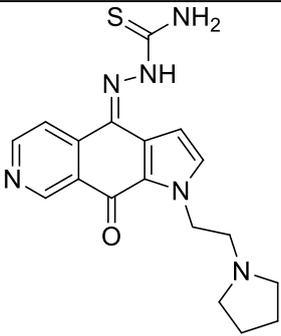
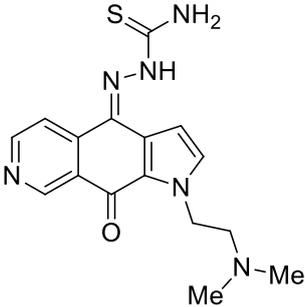
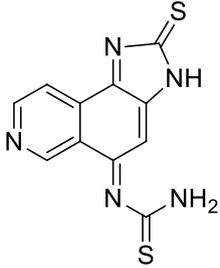
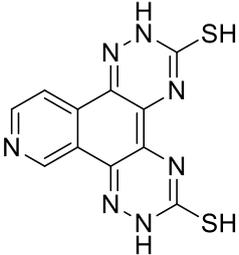
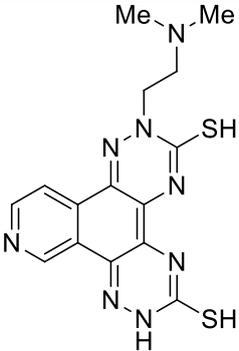
รูปที่ 4.29 ลักษณะของเซลล์มะเร็งลำไส้ HT-29 ที่ไม่ได้หยดสาร และที่ทดสอบกับสาร NP11, NP12, NP16, NP18 และ ยามาตรฐาน Doxorubicin HCl

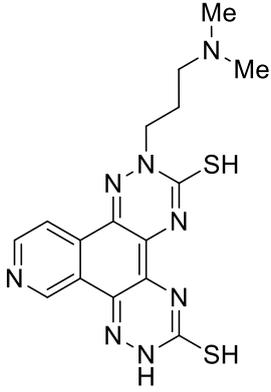
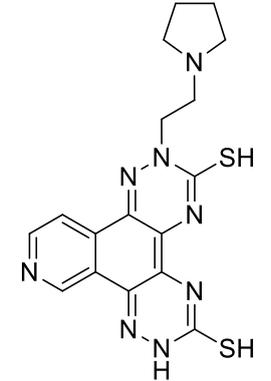
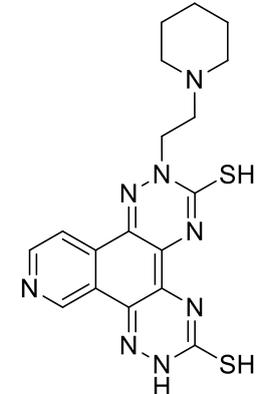
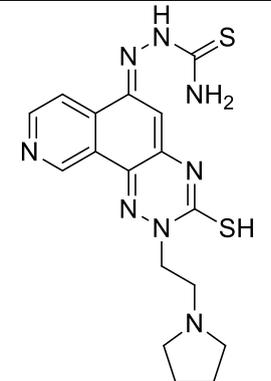


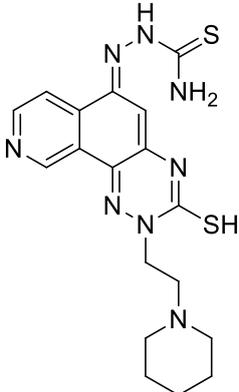
รูปที่ 4.30 ลักษณะของเซลล์มะเร็งลำไส้ HT-29 ก่อนการทดสอบกับสารสังเคราะห์

ตารางที่ 4.16 ค่าการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ HT-29 ของสารทดสอบ 12 ชนิด

| สาร  | โครงสร้าง | IC <sub>50</sub> (μM)<br>HeLa | IC <sub>50</sub> (μM)<br>HT-29 |
|------|-----------|-------------------------------|--------------------------------|
| NP11 |           | 2110                          | 45.02 ± 1.14                   |
| NP12 |           | 42.000                        | 3.53 ± 0.42                    |

| สาร  | โครงสร้าง   | IC <sub>50</sub> (μM)<br>HeLa | IC <sub>50</sub> (μM)<br>HT-29 |
|------|---|-------------------------------|--------------------------------|
| NP16 |    | 10.850                        | 41.61 ± 2.22                   |
| NP18 |    | 14.600                        | 6.45 ± 0.78                    |
| NP24 |   | -                             | 46.85 ± 1.11                   |
| NP25 |  | -                             | >100                           |
| NP26 |  | -                             | >100                           |

| สาร  | โครงสร้าง   | IC <sub>50</sub> (μM)<br>HeLa | IC <sub>50</sub> (μM)<br>HT-29 |
|------|---|-------------------------------|--------------------------------|
| NP27 |    | -                             | >100                           |
| NP28 |   | -                             | >100                           |
| NP29 |  | -                             | 74.88 ± 3.47                   |
| NP30 |  | -                             | 51.40 ± 0.78                   |

| สาร  | โครงสร้าง   | IC <sub>50</sub> (μM)<br>HeLa | IC <sub>50</sub> (μM)<br>HT-29 |
|------|---|-------------------------------|--------------------------------|
| NP31 |  | -                             | 62.02 ± 1.61                   |

จากผลการทดลองพบว่าสารที่ได้จากการปดวลงในสภาวะเบสแสดงค่าการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าสารที่ได้จากการปดวลงในสภาวะที่เป็นกรด ซึ่งอาจเกิดจากการปดวให้เป็นสิ่งต่อกันอาจทำให้เกิดความเกาะกเกาะในการเข้าไปทำอันตรกริยากับ DNA ซึ่งการเข้าใจสมบัติการออกฤทธิ์ดังกล่าวยังต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

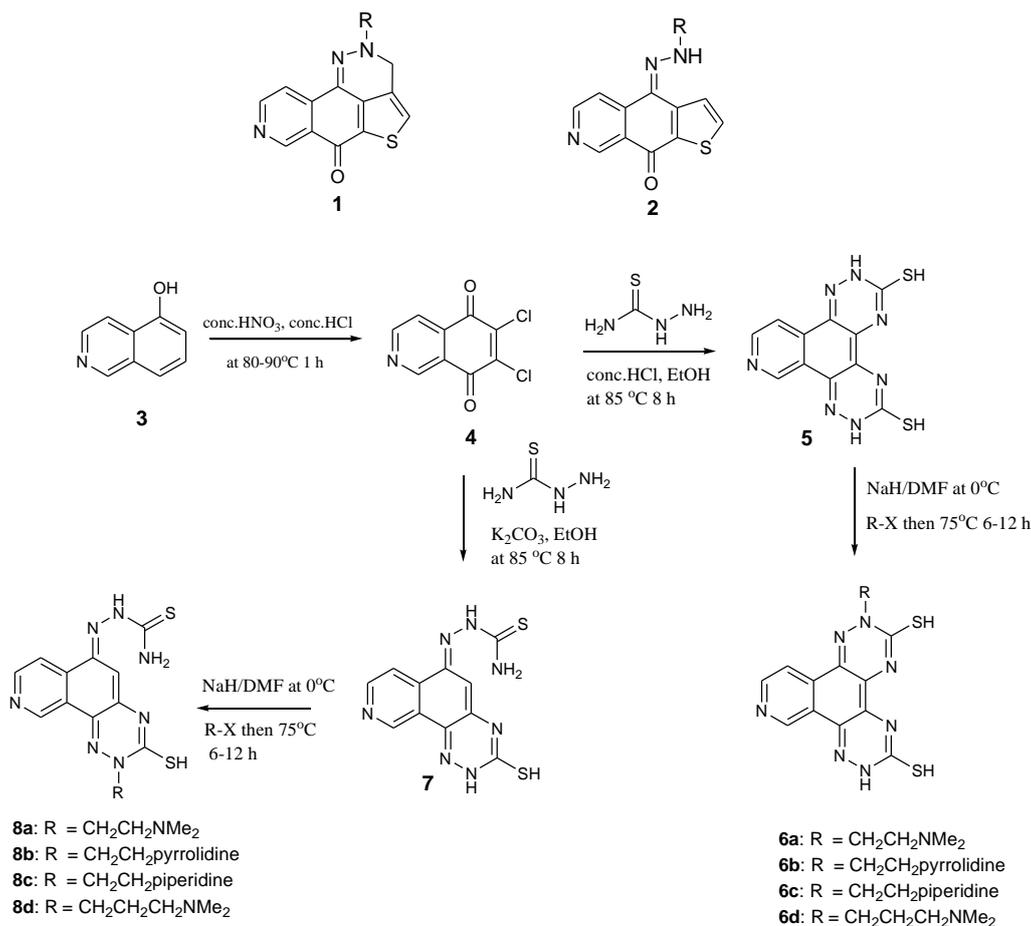
## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการจำลองแบบ การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งในกลุ่มอนุพันธ์ของเฮกซาแนฟโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไรโอเฟน โดยการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในการยับยั้งของสารในกลุ่มเป้าหมายโดยวิธี Quantitative structure activity relationship (QSAR) โดยจะใช้วิธีการวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบสนามของโมเลกุล (Comparative Molecular Fields Analysis, CoMFA) และวิธีวิเคราะห์เปรียบเทียบดัชนีความเหมือนเชิงโมเลกุล (Comparative Similarity Index Analysis, CoMSIA) และการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวจับ (receptor) และโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายและหาตำแหน่งการจัดวางตัวของโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายในตัวจับที่มีพลังงานต่ำ และได้หาค่าพลังงานในการจับ (binding energy) ระหว่างโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายและตัวจับ โดยการคำนวณ Molecular Docking และวิธี Molecular dynamic simulations จากผลการศึกษาสามารถออกแบบโครงสร้างสารตัวใหม่ของสารในกลุ่มเป้าหมายที่มีประสิทธิภาพสูง โดยให้หมู่ที่ตำแหน่ง R3, R4 และ R5 ที่เป็นหมู่ตั้งอิเล็กตรอน พร้อมทั้งมีคุณสมบัติความเป็นขั้วน้อย จึงสามารถแนะนำได้ว่า หากสามารถสังเคราะห์ดังกล่าว บริเวณ R3, R4 และ R5 ที่เป็นหมู่ตั้งอิเล็กตรอน ที่มีคุณสมบัติความเป็นขั้วน้อยอาจจะเป็น COR ที่มีหมู่ alkyl ยาวๆ หรือหมู่ฮาโลเจน (F, Cl, Br) เป็นต้น อาจจะทำให้สารประกอบที่มีค่า activity สูงขึ้นได้ สมควรนำไปศึกษาอีกต่อไป

ในข้อเสนอของงานวิจัยนั้นมีจุดมุ่งหมายที่จะสังเคราะห์สารเป้าหมายเป็นเฮกซาแนฟโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไรโอเฟน หมายเลข 1 และ 2 ดังแสดงในรูปที่ 5.1 แต่อย่างไรก็ตามเกิดปัญหาในขั้นตอนการปิดวงปฏิกิริยาไม่เกิดทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมาย 1 และ 2 ได้ ผู้ทำการวิจัยได้ดัดแปลงขั้นตอนการสังเคราะห์ และในที่สามารถประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายเป็นเฮกซาแนฟโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไฮเอซีน ไรโอโน หมายเลข 6 และ 8

ในส่วนของการสังเคราะห์เฮกซาแนฟโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไฮเอซีน ไรโอโน หมายเลข 6 และ 8 การสังเคราะห์เริ่มต้นด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 5-ไฮดรอกซีไอโซควิโนลีน (3) เพื่อให้ได้ 6,7-ไดคลอโรไอโซควิโนลีน-5,8-ไดโอน (4) หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาของสาร 4 กับไรโอเอมิคาร์บาร์ไซด์ ในสภาวะกรด ทำให้เกิดปฏิกิริยาการปิดวงได้สารหมายเลข 5 ซึ่งทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชันด้วยสายโซ่ที่แตกต่างกันสี่ชนิด ได้สารเป้าหมายหมายเลข 6 ปฏิกิริยาของสาร 4 กับไรโอเอมิคาร์บาร์ไซด์ ในสภาวะเบส ทำให้เกิดปฏิกิริยาการปิดวงได้สารหมายเลข 7 ซึ่งทำปฏิกิริยาอัลคิลเลชันด้วยสายโซ่ที่แตกต่างกันสี่ชนิด ได้สารเป้าหมายหมายเลข 8 ดังแสดงในรูปที่ 5.1 ได้โมเลกุลเป้าหมายหมายเลข 6 และ 8 ที่มีสายโซ่ขนาดสองถึงสามคาร์บอน และปลายสายโซ่เป็นหมู่เอมีนแบบวงปิดและแบบวงเปิด เพื่อให้ได้สารโมเลกุลที่มีความหลากหลายเชิงโครงสร้างเพื่อเปรียบเทียบสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ



รูปที่ 5.1 กระบวนการสังเคราะห์โหมเลกุลเป้าหมายหมายเลข 6 และ 8

สารที่สังเคราะห์ขึ้นได้ถูกพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปีด้วยเทคนิค โพรตอน และ คาร์บอน นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเทโรสโคปี อินฟราเรด สเปกโตรสโคปี และแมส สเปกโตรเมตรี และ ทดสอบสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) จากผลการทดลองพบว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ได้ในระดับปานกลางถึงดี พบว่าสารที่มีความเคอะกะจะให้ฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต่ำกว่าสารที่มีหมู่แทนที่ขนาดเล็ก ซึ่งการศึกษาเรื่องสมบัติการออกฤทธิ์ของสารให้เข้าใจในเชิงโครงสร้างต้องใช้เทคนิคทางเคมีคอมพิวเตอร์เข้ามาช่วย ซึ่งหากเข้าใจในเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพก็จะทำให้ออกแบบโมเลกุลที่สามารถออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น

### ข้อเสนอแนะงานวิจัย

ตามที่ได้มีที่เดียววางแผนการทดลองเพื่อสังเคราะห์สารเป้าหมายหมายเลข 1 และ 2 แต่ไม่สามารถสังเคราะห์สารดังกล่าวได้ จึงเปลี่ยนแผนการทดลองเพื่อสังเคราะห์สารเป้าหมาย 6 และ 8 แทน อย่างไรก็ตามสารทั้งสองกลุ่มมีซิลเฟอร์เข้าไปในโมเลกุล ดังนั้นจะเห็นว่าไฮโอเซมิคาร์บาริไซด์เป็นนิวคลีโอไฟล์ที่แรงจึงมักจะเข้าทำปฏิกิริยาโดยเกิดการควมแน่นที่หมู่คาร์บอนิล โดยหากเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดจะปิดให้สารที่มีสีม่วง แต่หากเร่งปฏิกิริยาด้วยเบสพบว่าปิดวงให้สารสามารถ กลไกการเกิดปฏิกิริยายังไม่แน่นอนชัด และการหาสภาวะเพื่อให้เกิดการแทนที่คลอไรด์และเกิดการปิดวงเข้าไปด้านข้างยังคงต้องศึกษาต่อไป

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งพบว่า สารที่มีซิลเฟอร์ในที่เป็นอนุพันธ์ชนิดไฮโอเซมิคาร์บาริไซด์หมายเลข NP16 และ NP18 ให้ผลการออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa cell) และเซลล์มะเร็งลำไส้ (HT-29) ได้ดี แต่เมื่อปิดวงให้ได้สารเป้าหมายหมายเลข 6 พบว่าสารออกฤทธิ์ได้ลดลง และสารเป้าหมาย 8 ที่ได้จากการปิดวงด้วยเบสให้การออกฤทธิ์ที่ดีกว่าสาร 6 การเข้าใจเรื่องการออกฤทธิ์ของสาร จะทำให้สามารถออกแบบโมเลกุลเป้าหมายได้ดีขึ้นในอนาคต

### เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

1. W. H. Elliott and D. C. Elliott, *Biochemistry and Molecular Biology*, Oxford University Press, New York 2005, p 524.
2. D. E. Thuston and S. G. M. J. Lobo: "The Chemotherapy of Cancer" in H. J. Smith (eds), *Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design and Action*, Harwood academic publishers, Amsterdam 1998, p 331.
3. W. A. Denny: "Synthetic DNA-Targeted Chemotherapeutic Agents and Related Tumor-Activated Prodrugs" in D. J. Abraham (eds), *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Vol 5*, John Wiley & sons, Inc, New Jersey 2003, p 51.
4. A. P. Krapcho, S. N. Haydar, S. Truong-Chiott, M. P. Hacjer, E. Menta, G. Beggionlin, Synthesis and antitumor activities of 5-methyl-1- and 2-[[2-dimethylaminoethyl]amino]-aza-thiopyranoindazoles, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **10** (2000) 305-308.
5. S. J. Hopkins, *Drugs of the Future* **8** (1983) 402.
6. C. Erba, *Drugs of the Future* **9** (1984) 371.
7. C. Erba, *Drugs of the Future* **10** (1985) 420.
8. R. B. Weiss, The anthracyclines: will we ever find a better doxorubicin?, *Semin. Oncol.* **19** (1992) 670-686.
9. M. E. Fox and P. J. Smith, Long-term inhibition of DNA synthesis and the persistence of trapped topoisomerase II complexes in determining the toxicity of the antitumor DNA intercalators mAMSA and mitoxantrone. *Cancer Res.* **50** (1990) 5813-5818.
10. A. P. Krapcho, M. E. Petry, Z. Getahun, J. J. Jun. Landi, J. Stallman, J. F. Polsenberg, C. E. Gallagher, M. J. Maresch, M. P. Hacker, F. C. Giuliani, G. Beggolin, G. Pezzoni, E. Menta, C. Manzotti, A. Oliva, S. Spinelli, S. Tognella, 6,9-Bis((aminoalkyl)amino)benzo(g)isoquinoline-5,10-diones. A Novel Class of Chromophore-Modified Antitumor Anthracene-9,10-diones: Synthesis and Antitumor Evaluations, *J. Med. Chem.* **37**(6) (1994) 828-837.
11. H. Spreitzer, W. Holzer, C. Puschmann, A. Pichler, A. Kogard, K. Tschetschkowitsch, T. Heinze, S. Bauer, N. Shabaz, Synthesis and NMR-Investigation of Annelated Pyrrole Derivatives, *Heterocycles* **45** (1997) 1989-1997.
12. H. Spreitzer, A. Pichler, W. Holzer, M. Kratzel, R. Slanz, A. Koulouri, P. Krenn, U. Parrer, P. Szieber, Synthesis of azanaphthoquinone annelated pyrroles, *Heterocycles* **54**(1) (2001) 111-121.

13. E. Wulz, Synthese von Azanaphthochinon-Anellierten Pyrrolen mit DNA-interkalierenden und Alkylierenden Eigenschaften, Doctoral Thesis, Institute of Pharmaceutical Chemistry, University of Vienna, Vienna 2004.
14. K. Shanab, N. Pongprom, E. Wulz, W. Holzer, H. Spreitzer, P. Schmidt, B. Aicher, G. Mueller, E. Guenther, Synthesis and biological evaluation of novel cytotoxic azanaphthoquinone annelated pyrrolo oximes, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17** (2007) 6091-6095.
15. N. Pongprom, G. Mueller, P. Schmidt, W. Holzer and H. Spreitzer, Synthesis of anticancer compounds, III (Bioorg Med Chem Lett 17, 6091, 2007), carbinol derivatives of azanaphthoquinone annelated pyrroles, *Monatsh. Chem.* **140** (2009) 309-313.
16. N. Pongprom, H. Bachitsch, A. Bauchinger, H. Ettefagh, T. Haider, M. Hofer, H. Knafl, R. Slanz, M. Waismeyer, F. Wieser and H. Spreitzer. Synthesis of new Benzo[*f*]isoindole-4,9-diones as anticancer compounds. *Monatsh. Chem.* **141** (2010) 53-62.
17. จีรพร สมตา ภาวนา พนมเขต และนิภาวรรณ พองพรหม, การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแอนทราไอโซซาไซโคลน วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 13(3) (2554) 63-70.
18. N. Pongprom and P. Pungpo, Synthesis and cytotoxic activities of azanaphoquinone annelated pyrrolo hydrazone derivatives, *KKU. Res. J.* **17** (2012) 195-202.
19. Yu. B. Sinkevich, A. E. Shchekotikhin, Yu. N. Luzikov, V. N. Buyanov, L. V. Kovalenko, Synthesis of thiophenoquinizarine derivatives, *Chem. Heterocycl. Compd.* 2007, **43**(12), 1252-1259.
20. L. Dalla Via, A. M. Marini, S. Salerno, C. La Motta, M. Condello, G. Arancia, E. Agostinelli, A. Toninello. Synthesis and biological activity of 1,4-dihydrobenzothiopyrano[4,3-*c*]pyrazole derivatives, novel pro-apoptotic mitochondrial targeted agents, *Bioorg. Med. Chem.* **17** (2009) 326-336.
21. A. E. Shchekotikhin, V. A. Glazunova, L. G. Dezhenkova, Yu. N. Luzikov, Yu. B. Sinkevich, L. V. Kovalenko, V. N. Buyanov, J. Balzarini, Fong-Chun Huang, Jing-Jer Lin, Hsu-Shan Huang, A. A. Shtil and M. N. Preobrazhenskaya, Synthesis and cytotoxic properties of 4,11-bis[(aminoethyl)amino]anthra-[2,3-*b*]thiophene-5,10-diones, novel analogues of antitumor anthracene-9,10-diones. *Bioorg. Med. Chem.* **17** (2009) 1861-1869.
22. S. Hannongbua, P. Pungpo, J. Limtrakul, P. Wolschann, Quantitative structure-activity relationships and comparative molecular field analysis of TIBO derivatised HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *J. Comp-Aided. Mol. Des.* **13** (1999) 563-577.

23. P. Pungpo, S. Hannongbua, Three-dimensional quantitative structure–activity relationships study on HIV-1 reverse transcriptase inhibitors in the class of dipyrindodiazepinone derivatives, using comparative molecular field analysis, *J. Mol. Graph. Mod.*, **18** (2000), 581-590.
24. S. Hannongbua, K. Nivesanond, L. Lawtrakul, P. Pungpo, P. Wolschann, 3D-Quantitative Structure–Activity Relationships of HEPT Derivatives as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors, Based on *Ab Initio* Calculations, *J. Chem. Inf. Comp. Sci.*, **41** (2001) 848-855.
25. P. Pungpo, P. Wolschann, S. Hannongbua, Hologram Quantitative Structure-Activity Relationships Investigations of Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors, *Curr. Med. Chem.* **10** (2003) 1661-1667.
26. L. Lawtrakul, S. Hannongbua, A. Beyer, P. Wolschann, Conformational study of the HIV-1 reverse transcriptase inhibitor 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT), *Bio. Chem.*, **380** (1999) 265-267.
27. C.A. Sotriffer, H. Ni, A. McCammon, HIV-1 Integrase Inhibitor Interactions at the Active Site: Prediction of Binding Modes Unaffected by Crystal Packing, *J. Med. Chem.* **43** (2000) 4109-4117.
28. 28.C. A. Sotriffer, G. Klebe, Docking into Knowledge-Based Potential Fields: A Comparative Evaluation of DrugScore, *J. Med. Chem.* **45** (2002) 1967-1970.
29. A. A. Adesokan, V. A. Robert, J. M. Briggs, Prediction of HIV-1 Integrase/Viral DNA Interactions in the Catalytic Domain by Fast Molecular Docking, *J. Med. Chem.* **47** (2004) 821-828.
30. F. Daeyaert, M. de Jonge, J. Heeres, L. Koymans, P. Lewi, M. H. Vinkers, P. A. J. Janssen, A pharmacophore docking algorithm and its application to the cross-docking of 18 HIV-NNRTI's in their binding pockets, *Prot. Struc. Func. Bioinf.* **54** (2004) 526 -533.
31. S. Hannongbua, Structural information and drug-enzyme interaction of the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors based on computational chemistry approaches *Top. Heterocycl. Chem.* **4** (2006) 55-84.
32. P. Saparpakorn, S. Hannongbua, D. Rognan, Design of nevirapine derivatives insensitive to the K103N and Y181C HIV -1 reverse transcriptase mutants, *SAR QSAR Environ. Res.* **17**, (2006) 183-194.

33. P. Pungpo, P. Saparpakorn, P. Wolschann, S. Hannongbua, Computer-aided Inhibitor Design of Highly Potent HIV-1 RT Inhibitors: 3D QSAR and Molecular Docking Studies of Efavirenz Derivatives, *SAR QSAR Environ. Res.* 17(4) (2006) 353-370.
34. A. Punkvang, P. Pungpo, P. Kamsri, D. Kasamsri, A. Srisupan, P. Saparpakorn, S. Hannongbua, P. Wolschann, S. Prueksaaron, N. Pongprom, Molecular Dynamics simulations of azanaphthoquinone annelated pyrrole derivatives as anticancer agent in DNA duplex, *Int. J. Quantum Chem.* (2012) DOI: 10.1002/qua.24120.

ภาคผนวก

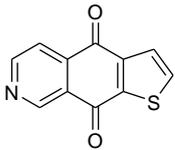
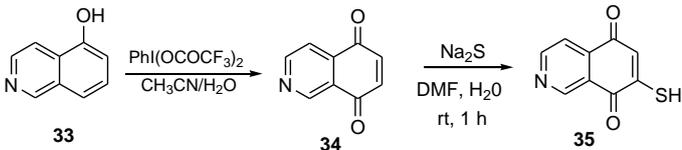
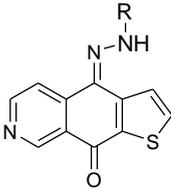
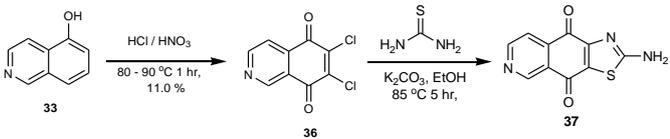
### บทความสำหรับการเผยแพร่

1. J. Somta, P. Panomket, N. Pongprom, The Synthesis of Thiosemicarbazone Derivatives of Aza-naphthoquinone Annelated Pyrrole as Cytostatic Compounds, *Proceeding of Pure and Applied Chemistry International Conference 2014 (PACCON2014)*, January 8-10, **2014**, KhonKaen, Thailand, page 132-136.
2. P. Tumtong, P. Kamsri, A. Pungkvang, P. Suparpakorn, S. Hannongbua, P. Pungpo and N. Pongprom, Structure Requirement of Azanaphthoquinone Pyrrolo-annelated Derivatives against Hela Cancer Derived from 2D and 3D-QSAR Studies, *Proceeding of The 19<sup>th</sup> International Annual Symposium on Computational Science and Engineering (ANSCSE19)* June 17-18, 2015, Ubon Ratchathani, Thailand, page 249-255.
3. P. Tumtong, A. Chansook, S. Chaladdee, T. Srilawan and N. Pongprom, The Synthesis of Azanaphthoquinone Annelated Triazine Thiones as Antiproliferative Agents, *Proceeding of Pure and Applied Chemistry International Conference 2016 (PACCON2016)*, February 9-11, **2016**, Bangkok, Thailand, page 1532-1535.
4. J. Somta, P. Tumtong, P. Panomket, P. Pungpo and N. Pongprom\*, Synthesis and cytotoxic activity of azanaphoquinone annelated pyrrole derivatives. *Journal of Science and Technology Ubon Ratchathani University* : Special Issue September **2017**, 158-166.

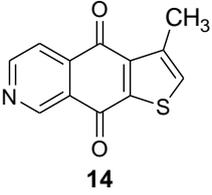
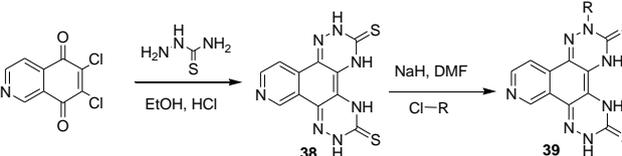
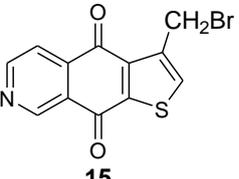
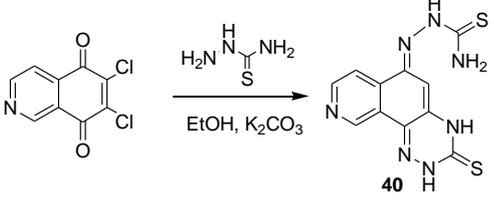
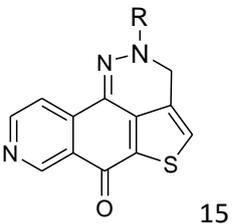
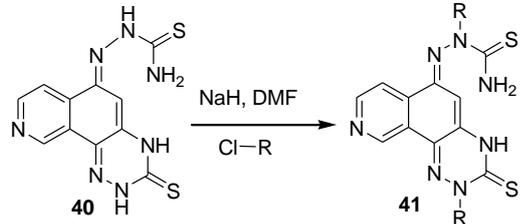
**ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ กิจกรรมที่ดำเนินการมา  
และผลที่ได้รับตลอดโครงการ**

**ปีงบประมาณ 2557**

| แผนการดำเนินงานวิจัยที่ได้เสนอไว้  | ผลการดำเนินการจริง   |
|--|--|
| 1. รวบรวมข้อมูลทางโครงสร้างและค่ากัมมันตภาพของสาร จากการสืบค้นเอกสารบนฐานข้อมูลต่าง ๆ  | 1. ได้ดำเนินการสืบค้นข้อมูลทางโครงสร้างและสมบัติการออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งของสาร จากงานตีพิมพ์ในฐานข้อมูลต่างๆ ได้จำนวน 53 โครงสร้าง  |
| 2. สร้างโครงสร้างในสามมิติและศึกษาสมบัติของโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายโดย molecular modelling software tools และปรับโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของสารในกลุ่มเป้าหมายโดยระเบียบวิธีการคำนวณเคมีควอนตัม <i>ab initio</i> (3-21G) โดยโปรแกรมคำนวณทางเคมีควอนตัม   | 2. สร้างโครงสร้างในสามมิติและศึกษาสมบัติของโมเลกุลของสาร 53 โครงสร้าง โดย molecular modelling software tools และปรับโครงสร้างที่เสถียรที่สุดของสารในกลุ่มเป้าหมายโดยระเบียบวิธีการคำนวณเคมีควอนตัม <i>ab initio</i> (3-21G) โดยโปรแกรมคำนวณทางเคมีควอนตัม            |
| 3. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในการยับยั้งของสารในกลุ่มเป้าหมายโดยวิธี Quantitative structure activity relationship (QSAR) โดยจะใช้วิธีการวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบสนามของโมเลกุล (Comparative Molecular Fields Analysis, CoMFA) และวิธีวิเคราะห์เปรียบเทียบดัชนีความเหมือนเชิงโมเลกุล (Comparative Similarity Index Analysis, CoMSIA) | 3. ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับค่ากัมมันตภาพในการยับยั้งด้วยระเบียบวิธี CoMFA และ CoMSIA จากแบบจำลอง CoMFA และ CoMSIA เมื่อนำมาทำนายค่ากัมมันตภาพในการยับยั้ง ซึ่งเมื่อนำเอามาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทดลอง พบว่าได้แบบจำลองที่มีความถูกต้องสูง |
| 4. การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างตัวจับ (receptor) และโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายและหาตำแหน่งการจัดวางตัวของโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายในตัวจับที่มีพลังงานต่ำ และได้หาค่าพลังงานในการจับ (binding energy) ระหว่างโมเลกุลของสารในกลุ่มเป้าหมายและตัวจับ โดยการคำนวณ  | 4. การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลของสารอนุพันธ์ Azanaphthoquinone annelatd pyrrole ใน DNA ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสามารถที่จะนำเอาข้อมูลที่ได้จากการจำลองพลวัตไปวิเคราะห์ข้อมูลที่ต้องการศึกษาได้  |

|  |   |
|--|---|
| Molecular Docking และวิธี Molecular Dynamic Simulations  |   |
| 5. ออกแบบโครงสร้างสารเป้าหมายใหม่ของสารในกลุ่มที่มีศักยภาพในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง  | <p>5. อันตรกิริยาของสารอนุพันธ์ Azanaphthoquinone ในกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง</p> <p>พบว่าโครงสร้างหลักของ azanaphthoquinone จะแทรกเข้าไปในคูเบสของ DNA โดยจะแทรกเข้าไปตั้งฉากกับโครงสร้างของ DNA เกิดอันตรกิริยาที่สำคัญ คือ ไพ-ไพระหว่างโครงสร้างของสารยับยั้งกับคูเบสที่เกิดการแทรกสอดเข้าไป ส่วนหมู่แทนที่นั้นเกิดอันตรกิริยาชนิดไฮโดรโฟบิกกับเบสในบริเวณร่องขนาดใหญ่ (Major groove) โดยเกิดอันตรกิริยาชนิด พันธะไฮโดรเจน (เส้นสีแดง) และไฮโดรเจน-ไพ(เส้นสีเขียว) ระหว่างหมู่แทนที่กับดีเอ็นเอ</p> |
| <p>6. การสังเคราะห์สารเป้าหมายที่ได้จากการออกแบบในกลุ่มอนุพันธ์ azanaphthoquinone annelated thiophene <b>12</b></p>  <p style="text-align: center;"><b>12</b></p> | <p>6. แผนการทดลองที่วางเอาไว้คือต้องสังเคราะห์สาร <b>35</b> ไม่สามารถสังเคราะห์สาร <b>35</b> ได้ จึงเปลี่ยนแผนการทดลองเป็นสังเคราะห์สาร <b>37</b> แทน</p>  <p style="text-align: center;"><b>33</b>                      <b>34</b>                      <b>35</b></p>   |
| <p>7. ปฏิกิริยาการควบแน่นของสาร <b>12</b> กับเฮตราซีนชนิดต่างๆ ให้ได้สารเป้าหมาย <b>7</b></p>  <p style="text-align: center;"><b>7</b></p>                        | <p>การสังเคราะห์สารเป้าหมาย <b>37</b> โดยพบว่าสามารถเตรียมสาร <b>36</b> จาก 5-hydroxyisoquinoline (<b>33</b>) ได้ แต่ไม่สามารถปิดวงให้ได้สาร <b>37</b> ได้</p>  <p style="text-align: center;"><b>33</b>                      <b>36</b>                      <b>37</b></p>  |

## ปีงบประมาณ 2558

| แผนการดำเนินงานวิจัยที่ได้เสนอไว้  | ผลการดำเนินการจริง   |
|--|--|
| <p>1. สังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายหมายเลข 14</p>  <p style="text-align: center;"><b>14</b></p>                                     | <p>1. ได้ดำเนินการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมาย 38 โดยการควบแน่นกับไฮโอเซมิคาร์บาร์ไซด์ในสภาวะกรด และปฏิกิริยาอัลคิเลชันให้ได้สาร 39 ตามลำดับ</p>  |
| <p>2. ปฏิกิริยาโบรมิเนชันของสารหมายเลข 14 ให้ได้ผลิตภัณฑ์ 15</p>  <p style="text-align: center;"><b>15</b></p>                  | <p>ได้ดำเนินการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมาย 40 โดยการควบแน่นกับไฮโอเซมิคาร์บาร์ไซด์ในสภาวะเบส</p>   |
| <p>3. ปฏิกิริยาการควบแน่นของสาร 15 กับไฮดราซีนชนิดต่างๆ ให้ได้สารเป้าหมาย 8</p>  <p style="text-align: center;"><b>15</b></p> | <p>● ปฏิกิริยาอัลคิเลชันของสาร 40 ให้ได้สารเป้าหมาย 41</p>   |
| <p>4. การพิสูจน์เอกลักษณ์เชิงโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ขึ้นทั้งหมดด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี</p>  | <p>● ศึกษาการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีและวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีของสารผลิตภัณฑ์ ด้วยเทคนิค NMR, IR, UV และ MS</p>  |
| <p>5. ศึกษาการออกฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็งของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายในกลุ่มอนุพันธ์ azanaphthoquinone annelated thiophene กลุ่มใหม่ที่สังเคราะห์</p>   | <p>● ศึกษาการออกฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็งของสารผลิตภัณฑ์เป้าหมาย 2 ชนิดกับเซลล์มะเร็งลำไส้ (HeLa Cell line), เซลล์มะเร็งเต้านม และเซลล์ปกติ</p>   |
| <p>6. รวบรวมข้อมูลเพื่อเขียนรายงาน</p>   | <p>6. ดำเนินการตามแผนที่วางไว้</p>   |

## รายงานการเงิน

รายงานการใช้จ่ายงบประมาณของแผนงานวิจัย จำแนกตามงบประมาณต่างๆ

งบประมาณ 2557

| รายการ   | งบประมาณที่เสนอขอ | งบประมาณที่เสนอขอ |
|--|-------------------|-------------------|
| <b>1. งบบุคคลากร</b>   |                   |                   |
| <b>1.1 ผู้ช่วยนักวิจัย</b>   |                   |                   |
| - ค่าจ้างชั่วคราว ปริญาตรี จำนวน ..1... คน (1 คน x 7,000 บาท = ...84,000. บาท/ปี)  | 84,000            | 36,000            |
| <b>2. งบดำเนินงาน (ให้เขียนเฉพาะรายการที่มี)</b>   |                   |                   |
| <b>2.1 ค่าตอบแทน</b>   |                   |                   |
| 2.1.1 ค่าตอบแทนนักวิจัย  | 10,000            | 0                 |
| <b>2.2. ค่าใช้สอย</b>  |                   |                   |
| 2.2.1 ค่าเดินทางเพื่อการเผยแพร่ผลงานในงานประชุมวิชาการ   | 10,000            | 13,608.60         |
| 2.2.2 ค่าวิเคราะห์ Mass spectrometry   | 7,000             | 0                 |
| 2.2.3 ค่าทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ   | 10,000            | 0                 |
| 2.2.4 ค่าติดต่อสื่อสารภายในและต่างประเทศเพื่อการดำเนินการวิจัย   | 5,000             | 0                 |
| <b>2.3 ค่าวัสดุ</b>  |                   |                   |
| 2.3.1 ค่าวัสดุคอมพิวเตอร์ ใช้เพื่อเพิ่มศักยภาพในการประมวลผลงานวิจัยทางเคมีคำนวณ สำหรับเครื่องคอมพิวเตอร์ หมายเลข 6 เครื่อง โดยมีเลขครุภัณฑ์ดังนี้สกว.วท.48/01, สกว.วท.48/02,สกว.วท.48/03, สกว.วท.51/01,สกว.วท.51/02,สกว.วท.51/03,<br>รายการวัสดุ<br>- หน่วยสำรองข้อมูล (Hard drive) ความจุไม่น้อยกว่า 2 T (5000 บาทx 2ชิ้น = 10,000 บาท)<br>- เครื่องสำรองไฟ ความจุไม่น้อยกว่า UPS 1000 VA (4500 บาท x 2 ชิ้น = 9,000 บาท) | 19,000            | 47,026.88         |

| รายการ  | งบประมาณที่เสนอขอ | งบประมาณที่เสนอขอ |
|---|-------------------|-------------------|
| 2.3.2 วัสดุคอมพิวเตอร์สิ้นเปลือง<br>- หมึกพิมพ์สำหรับเครื่องเลเซอร์<br>(2500 บาท/ชุด x 2 ชุด = 5000 บาท<br>- แผ่นซีดี ดีวีดี ในการเก็บข้อมูล = 1000 บาท<br>- USB flash drive (500 บาท/อัน x 2 อัน = 1000 บาท) | 6,000             | 42,051.70         |
| 2.3.3 ค่าสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย  | 80,000            | 88,364.01         |
| 2.3.4 ค่าวัสดุ เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย  | 20,000            | 29,832.45         |
| 2.3.5 ค่าวัสดุ ก๊าซไนโตรเจนเหลว สำหรับเครื่อง NMR   | 6,000             | 0                 |
| 2.3.6 ค่าวัสดุสำนักงาน  | 5,000             | 0                 |
| 2.3.7 ค่าถ่ายเอกสาร   | 5,000             | 12,811.00         |
| 2.3.8 ค่าหนังสือประกอบการวิจัย  | 5,000             | 2,800             |
| <b>3. งบลงทุน</b>   |                   |                   |
| 3.1 ค่าครุภัณฑ์   | -                 |                   |
| <b>4. ค่าสาธารณูปโภค (ร้อยละ 10 ของงบรวมค่าตอบแทน ใช้สอย วัสดุ และครุภัณฑ์)</b>   | 27,200            | 27,200            |
| 4.1 ค่าสาธารณูปโภคสำหรับมหาวิทยาลัย ร้อยละ 5  | 13,600            | 13,600            |
| 4.2 ค่าสาธารณูปโภคสำหรับมหาวิทยาลัย ร้อยละ 5  | 13,600            | 13,600            |
| <b>รวมงบประมาณที่เสนอขอ</b>   | 299,200           | 299,694.64        |

## งบประมาณ 2558

| รายการ   | งบประมาณที่เสนอขอ | งบประมาณที่เสนอขอ |
|--|-------------------|-------------------|
| <b>1. งบบุคคลากร</b>   |                   |                   |
| <b>1.1 ผู้ช่วยนักวิจัย</b>   |                   |                   |
| - ค่าจ้างชั่วคราว ปริญาตรี จำนวน ..1... คน (1 คน x 7,000 บาท = ...84,000. บาท/ปี)  | 84,000            | 54,000            |
| <b>2. งบดำเนินงาน (ให้เขียนเฉพาะรายการที่มี)</b>   |                   |                   |
| <b>2.1 ค่าตอบแทน</b>   |                   |                   |
| 2.1.1 ค่าตอบแทนนักวิจัย  | 10,000            | 0                 |
| <b>2.2.ค่าใช้สอย</b>   |                   |                   |
| 2.2.1 ค่าเดินทางเพื่อการเผยแพร่ผลงานในงานประชุมวิชาการ   | 10,000            | 0                 |
| 2.2.2 ค่าวิเคราะห์ Mass spectrometry   | 7,000             | 1,000             |
| 2.2.3 ค่าทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ   | 10,000            | 0                 |
| 2.2.4 ค่าติดต่อสื่อสารภายในและต่างประเทศเพื่อการดำเนินการวิจัย   | 5,000             | 0                 |
| <b>2.3 ค่าวัสดุ</b>  |                   |                   |
| 2.3.1 ค่าวัสดุคอมพิวเตอร์ ใช้เพื่อเพิ่มศักยภาพในการประมวลผลงานวิจัยทางเคมีคำนวณ สำหรับเครื่องคอมพิวเตอร์ หมาย จำนวน 6 เครื่อง โดยมีเลขครุภัณฑ์ดังนี้สกว.วท.48/01, สกว.วท.48/02,สกว.วท.48/03, สกว.วท.51/01,สกว.วท.51/02,สกว.วท.51/03, รายการวัสดุ<br>- หน่วยสำรองข้อมูล (Hard drive) ความจุไม่น้อยกว่า 2 T (5000 บาทx 2ชิ้น = 10,000 บาท)<br>- เครื่องสำรองไฟ ความจุไม่น้อยกว่า UPS 1000 VA (4500 บาท x 2 ชิ้น = 9,000 บาท) | 19,000            | 56,312.87         |
| 2.3.2 วัสดุคอมพิวเตอร์สิ้นเปลือง<br>- หมึกพิมพ์สำหรับเครื่องเลเซอร์  | 6,000             | 14,857.00         |

| รายการ  | งบประมาณที่เสนอขอ | งบประมาณที่เสนอขอ |
|---|-------------------|-------------------|
| (2500 บาท/ชุด x 2 ชุด = 5000 บาท<br>- แผ่นซีดี ดีวีดี ในการเก็บข้อมูล = 1000 บาท<br>- USB flash drive (500 บาท/อัน x 2 อัน= 1000 บาท) |                   |                   |
| 2.3.3 ค่าสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย  | 80,000            | 96,886.16         |
| 2.3.4 ค่าวัสดุ เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย  | 20,000            | 31,678.32         |
| 2.3.5 ค่าวัสดุ ก๊าซไนโตรเจนเหลว สำหรับเครื่อง NMR   | 6,000             | 0                 |
| 2.3.6 ค่าวัสดุสำนักงาน  | 5,000             | 5,755.00          |
| 2.3.7 ค่าถ่ายเอกสาร   | 5,000             | 11,598.00         |
| 2.3.8 ค่าหนังสือประกอบการวิจัย  | 5,000             | 0                 |
| <b>3. งบลงทุน</b>   |                   |                   |
| 3.1 ค่าครุภัณฑ์   | -                 |                   |
| <b>4. ค่าสาธารณูปโภค (ร้อยละ 10 ของงบรวมค่าตอบแทน ใช้สอย วัสดุ และครุภัณฑ์)</b>   | 27,200            | 27,200            |
| 4.1 ค่าสาธารณูปโภคสำหรับมหาวิทยาลัย ร้อยละ 5  | 13,600            | 13,600            |
| 4.2 ค่าสาธารณูปโภคสำหรับมหาวิทยาลัย ร้อยละ 5  | 13,600            | 13,600            |
| <b>รวมงบประมาณที่เสนอขอ</b>   | 299,200           | 299,287.35        |

## ประวัติคณะผู้วิจัย

### ประวัติของหัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวนิภาวรรณ พงษ์พรหม,  
(ภาษาอังกฤษ) Miss Nipawan Pongprom
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน: .....
3. ตำแหน่งปัจจุบัน  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี  
อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190  
โทรศัพท์ (045) 353400 ต่อ 4574 โทรสาร (045) 288379
5. ประวัติการศึกษา
 

|                      |                    |      |
|----------------------|--------------------|------|
| Dr. rer. nat.        | มหาวิทยาลัยเวียงนา | 2007 |
| วท.ม. (เคมีอินทรีย์) | มหาวิทยาลัยมหิดล   | 2001 |
| วท.บ. (เคมี)         | มหาวิทยาลัยขอนแก่น | 1998 |
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ  
Synthesis of anticancer compounds, N-heterocycles, radionuclear medicine
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุ  
สถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือ ผู้  
ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

7.1 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี พ.ศ. 2551-2551

เรื่อง การออกแบบและสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น เอซาแนพ  
โควรีโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล

สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

## 7.2 สำนักงานส่งเสริมการวิจัยแห่งชาติ (วช) พ.ศ. 2552-2553

เรื่อง การจำลองแบบ การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล

สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ร่วมวิจัย

## 7.3 สำนักงานส่งเสริมการวิจัยแห่งชาติ (วช) พ.ศ. 2553

เรื่อง การออกแบบ สังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแอนทราไอโซซาโซโลน

สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

## 7.4 สำนักงานส่งเสริมการวิจัยแห่งชาติ (วช) พ.ศ. 2554-2555

เรื่อง : การศึกษาทางทฤษฎี การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล

สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ร่วมวิจัย

## 7.5 กองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว) พ.ศ. 2554-2555

เรื่อง การใช้น้ำหนักชีวภาพเป็นสารจับตัวยางต่อสมบัติของยางดิบและยางวัลคาไนซ์

สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย โครงการย่อยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

## 7.6 สำนักงานส่งเสริมการวิจัยแห่งชาติ (วช) พ.ศ. 2557-2558

เรื่อง : การจำลองแบบ การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงไฮโอพิน

สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

## 7.7 ASEA-Uninet Duration 18 October to 17 November 2009

Duration 19 September to 21 October 2010

งานวิจัยด้านเคมีสังเคราะห์ของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล ณ มหาวิทยาลัยเวียนนา (University of Vienna) ประเทศออสเตรีย

สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ศึกษาวิจัยระยะสั้น

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ การนำเสนอผลงาน และการนำผลงานวิจัยไปใช้ (ย้อนหลัง 5 ปี)

1. P. Kamsri, A. Punkvang, N. Pongprom, A. Srisupan ,P. Saparpakorn, S. Hannongbua, P. Wolschann, and P. Pungpo *Key Structural Features of Azanaphthoquinone Annelated*

*Pyrrole Derivative as Anticancer Agents Based on the Rational Drug Design Approaches*, *Mol. Inf.* **2013**, 32, 541 – 554.

2. P. Panomket, S. Wanrama, T. Srivorasmasa and N. Pongprom, Bioactivity of plant extracts against *Burkholderia pseudomalli*, *Asian Biomedicine* Vol. 6 No. 4 August **2012**; 619 - 623
3. A. Punkvang, P. Pungpo, P. Kamsri, D. Kasamsri, A. Srisupan, P. Saparpakorn, S. Hannongbua, P. Wolschann, S. Prueksaaron and N. Pongprom, Molecular Dynamics simulations of azanaphthoquinone annelated pyrrole derivatives as anticancer agent in DNA duplex, *International Journal of Quantum Chemistry*, **2013**; 113(4): 555-562.
4. N. Pongprom, Doxorubicin and thousand efforts to get the better drugs, *Sci. J. UBU*. **2011**; 2(1): 60-65.
5. N. Pongprom and P. Pungpo, Synthesis and cytotoxic activities of azanaphoquinone annelated pyrrolo hydrazone derivatives, *KKU. Res. J.* **2012**; 17(2): 195-202.
6. จิรพร สมตา ภาวณา พนมเขต และ **นิภาวรรณ พงษ์พรหม** การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแอนทราไอโซซาไซโลน, *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี* **2554**, 13(3), 63-70.
7. N. Pongprom, H. Bachitsch, A. Bauchinger, H. Ettefagh, T. Haider, M. Hofer, H. Knafel, R. Slanz, M. Waismeyer, F. Wieser and H. Spreitzer, Synthesis of new Benzo[f]isoindole-4,9-diones as anticancer compounds, *Monatsh. Chem.* (**2010**) 141:53-62.
8. N. Pongprom, G. Mueller, P. Schmidt, W. Holzer and H. Spreitzer, Synthesis of anticancer compounds, III (Bioorg Med Chem Lett 17, 6091, 2007), carbinol derivatives of azanaphthoquinone annelated pyrroles, *Monatsh. Chem.* (**2009**) 140: 309-313.
9. K. Shanab, N. Pongprom, E. Wulz, W. Holzer, H. Spreitzer, P. Schmidt, B. Aicher, G. Mueller, E. Guenther, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Cytotoxic Azanaphthoquinone Annelated Pyrrolo Oximes, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (**2007**) 6091-6095.

#### Conference Proceeding:

1. N. Pongprom Antioxidant activities and chemical constituents from leaves of *Dodonaea Vicosia*, Proceeding of International conference on Fundamental and Applied Science, March 22-24, 2015, Osaka, Japan
2. J. Somta, P. Panomket, N. Pongprom, The Synthesis of Thiosemicarbazone Derivatives of Aza-naphthoquinone Annelated Pyrrole as Cytostatic Compounds, *Proceeding of PACCON 2014*, January 8-10, **2014**, KhonKaen, Thailand.
3. N. Singjam, A. Chalee, N. Mangnall, S. Kohlbacher and N. Pongprom, Chemical Constituents and Antioxidant Activities of Methanol and Water Extract from Leaves of *Dodonaea viscosa*, *Proceeding of PACCON 2014*, January 8-10, **2014**, KhonKaen, Thailand.



2. **Nipawan Pongprom** and Sanpech Boonbuamat, Utilization of bio-organic liquid as a rubber coagulant affecting on raw rubber and vulcanized rubber properties, *Proceeding of International Conference The Inter-University Cooperation Program*, July 8-12, **2012**, Seoul, Republic Korea. (Oral Presentation)
2. **Nipawan Pongprom** and Pornpan Pungpo, Design and synthesis of azanaphthoquinone annelated pyrrolo hydrazones as anticancer compounds, *Proceeding of International Conference on medical and Pharmaceutical Sciences (ICMPS'2012)* June 16-17, **2012**, Bangkok, Thailand, (Oral presentation)
3. ภาวดี พินโย และ**นิภาวรรณ พงพรหม**, การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง 4-(2-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)hydrazono)-1-(2-(pyrrolodoloin-1-yl)ethyl)-1H-pyrrolo[3,2-g]isoquinolin-9(4H)-one , *North Eastern Science and Technology Conference (NEST 2012)*, 17 Feb **2012**, Ubon Ratchathani Thailand. (Poster Presentation)
4. สุรไกร จำปานาม และ**นิภาวรรณ พงพรหม**, การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง 4-(2-(3-(N,N-dimethylamino) propyl)hydrazono)-1-(3-(N,N-dimethylamino)-1H-pyrrolo[3,2-g]isoquinolin-9(4H)-one, *North Eastern Science and Technology Conference (NEST 2012)*, 17 Feb **2012**, Ubon Ratchathani Thailand. (Oral Presentation)
5. อุไรลักษณ์ นวลผ่อง และ**นิภาวรรณ พงพรหม**, การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง 4-(2-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)hydrazono)-1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1H-pyrrolo[3,2-g]isoquinolin-9(4H)-one, *North Eastern Science and Technology Conference (NEST 2012)*, 17 Feb **2012**, Ubon Ratchathani Thailand. (Poster Presentation)
6. กาญจนา สายแก้ว และ**นิภาวรรณ พงพรหม**, การสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง 4-(2-(3-(piperidin-1-yl)propyl) hydrazono)-1-(3-(piperidin-1-yl)propyl)-1H-pyrrolo[3,2-g]isoquinolin-9(4H)-one, *North Eastern Science and Technology Conference (NEST 2012)*, 17 Feb **2012**, Ubon Ratchathani Thailand. (Poster Presentation)
7. สรรเพชร บุญบัวมาศ และ**นิภาวรรณ พงพรหม**, การใช้น้ำหมักชีวภาพเป็นสารจับตัวยางต่อสมบัติของยางดิบและยางวัลคาไนซ์, *North Eastern Science and Technology Conference (NEST 2012)*, 17 Feb **2012**, Ubon Ratchathani Thailand. (Poster Presentation)
8. **N. Pongprom**, J. Somta, S. Somporn, P. Pungpo and H. Spreitzer, The synthesis of aza-anthraisoaxolone derivatives as cytostatic compounds, *The 14<sup>th</sup> Asian Chemical Congress*, 5-8 Sept **2011**, Bangkok, Thailand. (poster presentation)
9. J. Somta, S. Somporn, P. Pungpo and **N. Pongprom**, The synthesis of azanaphthoquinone annelated pyrrolo hydrazones as cytostatic compounds, *The 14<sup>th</sup> Asian Chemical Congress*, 5-8 Sept **2011**, Bangkok, Thailand. (poster presentation)

- 10.Short visit under ASEA-Uninet scholarship at Department of Drug and Natural Product Synthesis, Faculty of Life Science, University of Vienna, Vienna, Austria, under supervision of Ao.Uni. Prof. Helmut Spreitzer, 19 September to 21 October **2010**.
- 11.Short visit under ASEA-Uninet scholarship at Department of Physical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Vienna, Vienna, Austria, undersupervision of Ao.Uni. Prof. Harald F. Kauffmann, 18 October to 17 November **2009**.
- 12.**N. Pongprom**, R. Khanthong, P. Woralert, W. Nhuachot and P. Pungpo, The Design and Synthesis of Azanaphthoquinone Annelated Pyrrolo Hydrazones as Cytostatic Compounds, *MipTec 2010 – the Leading European Event for Drug Discovery*, 20-24 September **2010**, Basel, Switzerland. (poster presentation)
- 13.**N. Pongprom**, R. Khanthong, P. Woralert, W. Nhuachot and P. Pungpo, The Design and Synthesis of Azanaphthoquinone Annelated Pyrrolo Hydrazones as Cytostatic Compounds, *The 4<sup>th</sup> UBU research conference (UBRC 4)*, 9-10 August **2010**, Ubon Ratchathani, Thailand (oral presentation)
- 14.**N. Pongprom**, W. Eonpadcha, P. Paraweck, P. Woralert, W. Neuchot, R. Kanthong and P. Pugpo, The design and synthesis of azanaphthoquinone annelated pyrrole derivatives as cytostatic compounds, *Pure and Applied Chemistry Conference 2010 (PACCON 2010)*, 21-23 Jan **2010**, Ubon Ratchathani, Thailand. (poster presentation)

#### ประวัติของผู้ร่วมโครงการ

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวพรพรรณ พึ่งโพธิ์  
(ภาษาอังกฤษ) Miss Pornpan Pungpo
2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน .....
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์
4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์และโทรสาร  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี  
อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190  
โทรศัพท์ (045) 288400-3 ต่อ 4124,4114  
โทรสาร (045) 288379

E-mail: [pornpan\\_ubu@yahoo.com](mailto:pornpan_ubu@yahoo.com)

5. ประวัติการศึกษา

|              |                        |      |
|--------------|------------------------|------|
| ปร.ด. (เคมี) | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ | 2001 |
| วท.ม. (เคมี) | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ | 1997 |
| วท.บ. (เคมี) | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ | 1990 |

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (ซึ่งอาจแตกต่างจากวุฒิการศึกษาก็ได้)

สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ Computational Chemistry, Quantum Chemistry Calculations, Computer Aided Molecular Design, Wastewater treatment

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานะภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

7.1 สำนักงานส่งเสริมการวิจัย พ.ศ. 2545-2546

เรื่อง การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพของโมเลกุลด้วยบั้งเอนไซม์การถ่ายแบบเอช ไอ วี – 1 ในกลุ่มของสารอนุพันธ์ อีฟาวิเร็นซ์ บนพื้นฐานของการจำลองโครงสร้างโดยคอมพิวเตอร์

สถานะภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

7.2 The North South Dialogue Scholarship programme, Department of Development Cooperation, Federal Ministry of Foreign Affairs ประเทศออสเตรีย พ.ศ. 2546

เรื่อง Quantitative structure activity relationship study of HIV-1 RT inhibitors in the class of efavirenz derivatives

สถานะภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

7.3 สำนักงานส่งเสริมการวิจัย พ.ศ. 2548-2549

เรื่อง การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพของโมเลกุลด้วยบั้งเอนไซม์การถ่ายแบบเอช ไอ วี-1 ในกลุ่มของสารอนุพันธ์ อีฟาวิเร็นซ์ บนพื้นฐานของการจำลองโครงสร้างโดยคอมพิวเตอร์

สถานะภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

7.4 สำนักงานส่งเสริมการวิจัย พ.ศ. 2551-2552

เรื่อง การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างสารยับยั้งและเอนไซม์ของยาไอโซไนอาซิดและกลุ่มสารอนุพันธ์ ซึ่งเป็นยาที่มีความจำเพาะสูงในการรักษาโรควัณโรคและเอนไซม์ *Mycobacterium tuberculosis* InhA ด้วยวิธีการออกแบบโมเลกุลโดยใช้คอมพิวเตอร์และการคำนวณเคมีควอนตัม

สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

7.5 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ พ.ศ. 2552-2553

เรื่อง การจำลองแบบ การออกแบบ การสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล

สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

7.6- สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ พ.ศ. 2552-2553

เรื่อง การลดปริมาณอาร์ซีนิกที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำใต้ดินในเขตจังหวัดอุบลราชธานี ด้วยขบวนการบำบัดทางเคมีโดยใช้วัสดุดูดซับธรรมชาติ

สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัยย่อย

7.7 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ พ.ศ. 2554

เรื่อง การศึกษาสารออกฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็งที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอซาแนพโทควิโนนที่ต่ออยู่กับวงพิวโรล ในระเบียบวิธีผสมผสานกลศาสตร์ควอนตัมและกลศาสตร์เชิงโมเลกุล

สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ร่วมวิจัย

8. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่ การนำเสนอผลงาน และการนำผลงานวิจัยไปใช้

1. การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน (ระบุชื่อบทความ/ผลงาน ชื่อวารสาร ปีที่พิมพ์ ฉบับที่ หน้าที่)

1.1 Punkvang, A., Kamsri, P., Kan-asa, K., Saparpakorn, P., Hannongbua, S., Wolschann, P., **Pungpo, P.** The Structural Requirement of Direct InhA Inhibitors for High Potency Against *M. Tuberculosis* Based on Computer Aided Molecular Design, Microbiology Book Series: *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, In press.

1.2 Saparpakorn, P., Wolschann, P., Karpfen, A., **Pungpo, P.**, Hannongbua, S. Systematic investigation on the binding of GW420867X as HIV-1 reverse transcriptase inhibitor, Monatsh Chem, (2011) DOI 10.1007/s00706-011-0497-3.

1.3 Punkvang, A., Saparpakorn, P., Hannongbua, S., Wolschann, Beyer, A., Pungpo, P. Investigating the structural basis of arylamides to improve potency against *M. tuberculosis*

strain through molecular dynamics simulations, European Journal of Medicinal Chemistry, (2010) 45, 5585-5593.

1.4 Punkvang, A., Saparpakorn, P., Hannongbua, S., Wolschann, P., Berner, H., **Pungpo, P.** Insight into crucial inhibitor–enzyme interaction of arylamides as novel direct inhibitors of the enoyl ACP reductase (InhA) from *Mycobacterium tuberculosis*: computer-aided molecular design, Monatsh Chem (2010) 141, 1029–1041.

1.5 Punkvang, A., Saparpakorn, P., Hannongbua, S., Wolschann, P., **Pungpo, P.** Elucidating Drug-Enzyme Interactions and Their Structural Basis for Improving the Affinity and Potency of Isoniazid and Its Derivatives Based on Computer Modeling Approaches Molecules (2010) 15 ,52791-813.

1.6 **Pungpo, P.**, Punkvang, A. Saparpakorn, P. and Hannongbua, S. Understanding the interaction and the structure activity correlation of HIV-1 RT inhibitors of efavirenz derivatives and WT and K103N HIV-1 RT by molecular docking and 3D-QSAR, INFECTION GENETICS AND EVOLUTION , (2008) 8, 543.

1.7 **Pungpo P.**, Punkvang A, Saparpakorn P, Hannongbua S. Chapter VIII - Understanding the Interaction and the Structure-Activity Correlation of HIV-1 RT Inhibitors of Efavirenz Derivatives and WT and K103N HIV-1 RT using Molecular Docking, 3D-QSAR Approaches and Quantum Chemical Calculations, chapter VIII in Drug Design Research Perspectives, Nova Science Publishers, Inc. (2007) 213.

1.8 Beyer,A. Lawtrakul,L. **Pungpo, P.**, Wolschann,P. Structural Aspects of Non-Nucleoside HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibition, Current Computer-Aided Drug Design (2007) 3, 341.

1.9 Khunnawutmanotham N, Chimnoi N, Saparpakorn P, **Pungpo P**, Louisirirothanakul S, Hannongbua S, Techasakul S. Novel 2-chloro-8-arylthiomethyldipyridodiazepi-nine derivatives with activity against HIV-1 reverse transcriptase. Molecules (2007)12, 218.

1.10 **Pungpo, P.**, Wolschann, P. and Hannongbua, S. Applicability of hologram quantitative structure-activity relationships (HQSAR) in the structure-activity relationships of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, Curr.Med.Chem. (2003) 10, 1661.

1.11 **Pungpo, P.**, Saparpakorn, P., Wolschann, P., Hannongbua, S., Computer-aided molecular design of highly potent HIV-1 RT inhibitors: 3D QSAR and molecular docking studies of efavirenz derivatives, SAR and QSAR in Environmental Research. (2006) 17,353.

2. การนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ (ระบุชื่อการประชุม ชื่อผลงานที่นำเสนอ รูปแบบการนำเสนอ สถานที่และหน่วยงานผู้จัด)

2.1 การนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการระดับประเทศ

2.1.1 Pornpan Pungpo and Supa Hannongbua. Three-dimensional quantitative structure-activity relationships study on HIV –1 reverse transcriptase inhibitors in the large set of dipyrindodiazepinone analogues by using comparative molecular field analysis (CoMFA) and comparative similarity index analysis (CoMSIA), *The Fifth Annual National Symposium on Computational Science and Engineering*, 19-20 June 2001, Bangkok Convention Center, Central Plaza, Bangkok, Thailand. หน่วยงานผู้จัด NECTEC

2.1.2 พรพรรณ พึ่งโพธิ์ สมชาย จันทะเกษ และ โฉมสอางค์ วาจาดี, การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในเชิงสองมิติของตัวยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบเอชไอวี-1 ใน กลุ่มของสารอนุพันธ์อีฟาเวียร์เนส, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 29*, ขอนแก่น, 2546, 140

2.1.3 พรพรรณ พึ่งโพธิ์ ปณิตา วชิกรมล และ ปิยะพร จึงสถิตย์กุล, การวิเคราะห์คอนฟอร์เมชันของตัวยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบของเอชไอวี-1 (s)-6-chloro-4-(cyclopropylethynyl)-1,4 -dihydro-4-(trifluoromethyl)-2H-3,1-benzoxazin-2-one(Efavirenz) โดยการคำนวณเคมีควอนตัม, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 29*, ขอนแก่น, 2546, 141

2.1.4 พรพรรณ พึ่งโพธิ์ และ สุภา ทารหนองบัว, การศึกษาโครงสร้างสำคัญในการยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบ เอชไอวี-1 ของสารยับยั้งนอโนนิวคลีโอไซด์ในกลุ่มสารประกอบอีฟาเวียร์เนส โดยวิธีวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบดัชนีความเหมือนเชิงโมเลกุล, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 29*, ขอนแก่น, 2546, 141

2.1.5 Pornpan Pungpo and Supa Hannongbua, An Analysis of Structure-activity Relationships of HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor in the Class of Efavirenz Derivatives, using Comparative Molecular Field Analysis and Comparative Similarity Index Analysis, *The 8th Annual National Symposium on Computational Science and Engineering*, 21-23 July 2004, Suranaree University of Technology, Nakornratchasima, Thailand.

2.1.6 พรพรรณ พึ่งโพธิ์ วรางคณา สุขสม อาลักษณ์ สุวรรณวิสุทธิ ปทุมทิพย์ เสมอภาค พัชรินทร์ โมค-ทิพย์, การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพในเชิงสองมิติของสารในกลุ่มอีฟาเวียร์เนส ที่แสดงกัมมันตภาพยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบเอชไอวี-1 ชนิดดั้งเดิม และชนิดกลายพันธุ์ (K103N) โดยใช้วิธีศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับกัมมันตภาพแบบดั้งเดิมและแบบโฮโลแกรม, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 30*, กรุงเทพฯ, 2547

2.1.7 มาลี ประจวบสุข พรพรรณ พึ่งโพธิ์ วุฒิศักดิ์ ประชามอญ อนุสรณ์ นิยมพันธุ์ และ อุษา อันทอง, การวิเคราะห์โครงสร้างของซีโวลต์ธรรมชาติด้วยเทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรคชันและเอ็กซ์เรย์ ฟลูออเรสเซนซ์

และการประยุกต์ใช้ในการบำบัดแอมโมเนียในน้ำที่จากโรงงานอุตสาหกรรม, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 30*, กรุงเทพฯ, 2547

2.1.8 **Pungpo, P.**, Saparpakorn, P., Wolschann, P. and Hannongbua, P. Inhibitory models of efavirenz derivatives active against K103N HIV-1 RT by molecular modelling and 3D-QSAR analyses, *The 10<sup>th</sup> Annual National Symposium on Computational Science and Engineering(ANSCSE10)*, 22-24 March 2006, Chaingmai University, Chaingmai, Thailand.

2.1.9 **พรพรรณ พึ่งโพธิ์** มัทธนา กะชา เขียมชัย บัวลอย วิชัย ลาธิ กมลทิพย์ บริบูรณ์ ชาญ อินทร์ ตัม และ อุษา อ้นทอง, การประยุกต์ใช้ซีไอไลด์ธรรมชาติในการกำจัดแคดเมียมออกจากน้ำ: แบบจำลองในระดับห้องปฏิบัติการ, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 32*, กรุงเทพฯ, 2549

2.1.10 **พรพรรณ พึ่งโพธิ์** ทรงวุฒิ สุรมิตร และศิริพร จึงสุทธิวงษ์, การศึกษาทางทฤษฎีของสมบัติเชิงโครงสร้างและสมบัติเชิงอิเล็กทรอนิกส์ของสารเรืองแสงสีน้ำเงินที่มีสมบัติเป็นสารส่งผ่านประจุบวกที่ปิดท้ายด้วยคาร์บาโซลโดยใช้การคำนวณทางเคมีควอนตัม, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 32*, กรุงเทพฯ, 2549

2.1.11 อุษา อ้นทอง อรสา อนันต์ กนิษฐา ดวงจิตต์ ปารีชาติ ข้ามสาม และ **พรพรรณ พึ่งโพธิ์**, การดูดซับคอปเปอร์ไอออนในน้ำด้วยซีไอไลด์ธรรมชาติ, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 32*, กรุงเทพฯ, 2549

2.1.12 อุษา อ้นทอง อรสา อนันต์ วิภารัตน์ กังแฮ เรณู คำหอม อิศรา รักคำ และ **พรพรรณ พึ่งโพธิ์**, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 32*, กรุงเทพฯ, 2549

2.1.13 อรดี พันธุ์กว้าง, พัชรินารถ ทรัพย์อากาศ, สุภา ทารหนองบัว และ **พรพรรณ พึ่งโพธิ์**, การวิเคราะห์คอนฟอร์เมชันของสารยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบเอชไอวี-1 (s)-6-chloro-4-(cyclopropylethynyl)-1,4-dihydro-4-(trifluoromethyl)-2H-3,1-benzoxazin-2-one (Efavirenz) และสารอนุพันธ์โดยการคำนวณทางเคมีควอนตัม, *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 32*, กรุงเทพฯ, 2549

2.1.14 อรดี พันธุ์กว้าง สุภา ทารหนองบัว และ **พรพรรณ พึ่งโพธิ์**, การศึกษาทางทฤษฎีของสารยับยั้งเอนไซม์การถ่ายแบบเอชไอวี-1 ที่ออกฤทธิ์สูงในกลุ่มของสารอีฟาเวเรนซ์และสารอนุพันธ์อีฟาเวเรนซ์ โดยการวิเคราะห์คอนฟอร์เมชันและโมเลกุลาร์ดีอกกิ่ง, *การประชุมเสนาผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ (Grad-Research) ครั้งที่ 6*, 13-14 ตุลาคม 2549 ณ อาคารมหามกุฏ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ.

2.1.15 **Pornpan Pungpo**, Oradee Pankwang, Patchreenart Saparpakorn and Supa Hannongbua, IDENTIFICATION OF BINDING AND INTERACTION FOR HIV-1 RT INHIBITORS IN THE CLASS OF EFAVIRENZ DERIVATIVES IN THE BINDING POCKET OF WT AND K103N HIV-1 RT BY USING MOLECULAR DOCKING STUDIES, *The first annual symposium of Protein*

*Research Society of THAILAND “Challenges in Protein Research in Thailand”, 24-25 ตุลาคม 2549 ณ. ห้องประชุมใหญ่ ศูนย์การประชุมสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ กรุงเทพฯ.*

## 2.2 การนำเสนอผลงานในประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

2.2.1 **Pungpo, P.,** Punkvang, A., Khamkong, A., Kamsri, P., Saparpakorn, P., Pongprom, N., Wolschann, P., Hannongbua, S. Study on the Binding Mode of Azanaphthoquinone Annelated Pyrrole Derivatives as Anti-Cancer Agent in DNA Strains Using MD simulations, *The Pure and Applied Chemistry International Conference 2011 (PACCON2011)*, 2011,pp.979-981.

2.2.2 **P. Pungpo,** M. Puengpan, C. Kortprom, S, Pakapol, U. Traklang, P. Kamsri, T. Siriream, S. Lumlong, C. Kanapan, M. Kacha, D. Sattayakul, M. Projuabsuk, T. Panyathanmaporn and U. Onthong, Structural Characterization and Environmental Application of Natural Zeolites in Removal of Arsenic Ions from Aqueous Solution, *The Pure and Applied Chemistry International Conference 2010 (PACCON2010)*, 2010, pp. 1005-1007.

2.2.3 **Pungpo, P.,** Lugsanangarm, K., Punkvang, A., Saparpakorn, P., Hannongbua, S. Theoretical Investigation of Interactions of NNRTIs and Its HIV-1 RT Binding Pocket at the Molecular Level of Diarylpyrimidine Derivatives Using the Molecular Docking Simulations. *Pure and Applied Chemistry International Conference, January 30-February 1, 2008, Bangkok, Thailand*

2.2.4 **Pungpo, P.,** Punkvang, A., Saparpakorn, P., Hannongbua, S. Insights into the structural requirements of efavirenz derivatives as highly potential anti-HIV-1 agents based on molecular docking, 3D-QSAR studies and quantum chemical calculations. *German-Thai Symposium on Nanoscience and Nanotechnology. September 27-28, 2007, Chonburi, Thailand.*

2.2.5 **Pungpo, P.** Wolschann, P. and Hannongbua, P. Molecular modelling and inhibitor-enzyme interaction study of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *The International Conference on Bioinformatics 2002: North – South Networking*, 6-8 February 2002, Le Royal Meridien, Bangkok, Thailand.

2.2.6 **Pungpo, P.,** Wolschann, P. Hannongbua, S. Drug- receptor interaction study of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors based on computer aided molecular design, *The 33<sup>rd</sup> crystallographic course-From Gene to Drugs via Crystallography*, The E.Majorana centre, Erice, Italy, May 23-June 2, 2002

2.2.7 **Pungpo, P.**, Wolschann, P. and Hannongbua, S. Comparative quantitative structure-activity relationship study of HIV-1 RT inhibitor in the class of efavirenz compound, *The 14<sup>th</sup> european symposium on quantitative structure-activity relationship (Euro QSAR 2002)*, 8-13 September 2002, Bournemouth, England

2.2.8 **Pungpo P.** and Hannongbua, S. Investigation of Structural Requirements for Inhibition of HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors in the Class of Efavirenz Derivatives, using Comparative Molecular Field Analysis and Comparative Similarity Indices Analysis, *The 15<sup>th</sup> European Symposium on Quantitative Structure-activity Relationship (Euro QSAR 2004)*, 5-10 September 2004, Istanbul, Turkey

2.2.9 **Pungpo P.** and Hannongbua, S. Structural requirements of efavirenz derivatives as potent HIV-1 reverse transcriptase Inhibitors active against wild type and mutant enzyme (K103N) by QSAR studies, *The 17<sup>th</sup> FAOBMB Symposium " Genomics and health in the 21<sup>st</sup> Century ,* 22-26 November 2004, Bangkok, Thailand

2.2.10 **Pungpo P.** and Hannongbua, S. Elucidating inhibitory models of efavirenz analogues as potent HIV-1 RT inhibitors by 3D QSAR and docking studies, *The 2<sup>nd</sup> Asian Pacific Conference for Theoretical and Computational chemistry*, 2-6 May 2005, Bangkok, Thailand

2.2.11 **Pungpo P.**, Saparpakorn, P., Wolschann, P. and Hannongbua, S. , Computer-aided inhibitor design of highly potent HIV-1 RT inhibitors: 3D QSAR studies and molecular docking studies of efavirenz derivatives, *The 3<sup>rd</sup> International Symposium Computational Methods in Toxicology and Pharmacology Integrating Internet Resources*, 29 October-1 November 2005, Shanghai, China

2.2.12 **Pornpan Pungpo**, Oradee Pankwang, Patchreenart Saparpakorn, Peter Wolschann and Supa Hannongbua, Theoretical Investigations on potent HIV-1 reverse transcriptase inhibitors of efavirenz analogues by using conformational analysis, molecular docking and 3D-QSAR studies, *The XII<sup>th</sup> International Congress of Quantum Chemistry*, May 21-26, 2006, Kyoto, Japan.

2.2.13 **Pornpan Pungpo** and Alfred Karpfen, Hydrogen bonding in ammonia-borane complexes: A theoretical characterization, *The XII<sup>th</sup> International Congress of Quantum Chemistry*, May 21-26, 2006, Kyoto, Japan.

2.2.14 **Pornpan Pungpo**, Oradee Pankwang, Patchreenart Saparpakorn and Supa Hannongbua, The investigation on the interactions between HIV-1 RT inhibitors of efavirenz analogues and HIV-1 RT, based on molecular docking calculations, *International*

*Conference on Modeling in Chemical and Biological Engineering Sciences*, October 25 – 27,  
2006 , Bangkok, Thaila