

การสังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ และทดสอบการออกฤทธิ์ของ
สารประกอบของลิโวฟลอกซาซิน

Synthesis Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of
Levofloxacin Complexation

โดย

ดร. สมหมาย ปะติตังโฆ
คณะวิทยาศาสตร์

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

พ.ศ. 2550

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 หลักการและเหตุผล	1
1.2 ระเบียบวิธีวิจัย	3
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 บทนำ	5
2.2 หลักการวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยวิธีอัลตราโอเลตและ วิธีเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี	5
2.3 Infrared spectrophotometry	10
2.4 ลักษณะทั่วไปของโรคมะเร็ง	13
2.5 ประวัติการค้นพบยารักษาโรคมะเร็ง	54
2.6 New class of anticancer agents	23
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	34
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	34
3.2 สารเคมี	34
3.3 การเตรียมสารละลาย	34
3.4 การสังเคราะห์สาร	35
3.5 การศึกษาทางสมบัติทางเคมีฟิสิกส์	36
3.6 การศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	36
บรรณานุกรม	37

สารบัญญรูป

หน้า

รูปที่

1.1 แสดงโครงสร้างหลัก และ nalidixic acid	1
1.2 แสดง quinolone-DNA cooperative binding model สำหรับการยับยั้ง DNA gyrase	3
2.1 แถบสเปกตรัมของแสงที่อยู่ในช่วงแสงวิสิเบิล	6
2.2 กระบวนการวัดการดูดกลืนแสง	8
2.3 การดูดกลืนแสงของสารละลาย	8
2.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง A, c และ %T	9
2.5 Anticancer compounds of natural origin	15
2.6 Mode of DNA acting drugs like mitomycin	19
2.7 New cisplatin analogs used as anticancer agents	21
2.8 The structural formulas of Au (I) complexes	22
2.9 Some active copper anticancer complexes	22
2.10 Some potent antitumor organotin complexes	23
2.11 Structure of Ciprofloxacin and Ofloxacin	24
2.12 Structures of fluorinated quinolones	25
2.13 The series of 6,7,2',3',4'-substituted-1,2,3,4- tetrahydro-2-phenyl-4-quinolones	25
2.14 The series of 3',6,7-substituted 2-phenyl-4-quinolones	26
2.15 General structure of 6,7-methylenedioxy-substituted of 2-phenyl-4-quinolone series	27
2.16 The structure of 3-aryl-2-quinolone derivatives	28
2.17 Structure of quinobenoxazine antitumor agents	29
2.18 Structures of the thieno [3',2':4,5] thieno [2,3-c]quinolone Derivatives	32

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่	
2.1 ความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงและสีที่ตามนุษย์มองเห็น	7
2.2 แสดงช่วงคลื่นอินฟราเรดทั้ง 3 ย่าน	10
2.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเลขคลื่นและหมู่ฟังก์ชันกับการดูดกลืนคลื่นแสงอินฟราเรด	12
2.4 Chronological sequence of introduction of some anticancer agents in clinical use	16

การสังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ และทดสอบการออกฤทธิ์ของ
สารประกอบของลิโวฟลอกซาซิน

Synthesis Physicochemical Characterization and Biological Evaluation of
Levofloxacin Complexation

โดย

ดร. สมหมาย ปะติตังโฆ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

พ.ศ. 2550

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณบุคคลและหน่วยงานต่างๆ เช่น ผศ. สุเทพ เทียนวรรณ ศูนย์เครื่องมือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ศูนย์ไอโอเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ช่วยเหลือ สนับสนุนให้ใช้เครื่องมือที่จำเป็น ช่วยตรวจวิเคราะห์ให้งานวิจัยนี้สำเร็จ

ขอขอบคุณ รศ. โกวิท เชื้อมกลาง อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ที่อนุญาตให้ใช้สถานที่และสิ่งอำนวยความสะดวกต่อกิจกรรมดำเนินการวิจัย และ ผศ. นรินทร์ กุลทานันท์ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา ที่สนับสนุนในด้านงบประมาณ

งานวิจัยนี้จะสำเร็จลงมิได้หากขาด ผศ. ดร. กิ่งแก้ว ปะติตั้งโช ที่เป็นกำลังหนุนที่สำคัญ ช่วยติดต่อ ประสาน เป็นกำลังใจตลอดเวลา

บทคัดย่อภาษาไทย

ผู้วิจัยได้สังเคราะห์ ศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ สารประกอบของลิโวฟลอกซาซินที่คอนจูเกตกับโลหะทองแดง โดยมีลิแกนด์ช่วยที่เป็น N-donor atom ในโมเลกุล ผลที่ได้พบว่า สารประกอบที่มีลิแกนด์ช่วยอยู่ด้วยจะมีฤทธิ์ต้านมะเร็งได้านมได้ดีกว่าลิโวฟลอกซาซินอย่างเดียว นอกจากนี้สารประกอบดังกล่าวยังมีความจำเพาะต่อเซลล์เป้าหมาย และเป็นพิษต่อเซลล์ข้างเคียงน้อยมาก สารประกอบเหล่านี้จึงมีความสำคัญและจำเป็นที่จะต้องได้รับการศึกษา พัฒนาเป็นยารักษาโรคมะเร็งต่อไป

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The present work deals with drug design strategies for human hormone breast cancer using copper complexes of Levofloxacin which is a new addition to the quinolone introduced into the clinical practice having potent activity against *Mycobacterium tuberculosis*. I have carried out synthesis characterization and evaluated the anticancer activities of copper conjugates of Levofloxacin against human breast cancer cell line. My results clearly indicated that copper conjugates having additional ancillary ligands exhibit enhanced anticancer activities useful for therapeutic exploitation.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	๗
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 หลักการและเหตุผล	1
1.2 ระเบียบวิธีวิจัย	3
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 บทนำ	5
2.2 หลักการวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยวิธีอัลตราโอเลตและ วิธีเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี	5
2.3 Infrared spectrophotometry	10
2.4 ลักษณะทั่วไปของโรคมะเร็ง	13
2.5 ประวัติการค้นพบยารักษาโรคมะเร็ง	54
2.6 New class of anticancer agents	23
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	34
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	34
3.2 สารเคมี	34
3.3 การเตรียมสารละลาย	34
3.4 การสังเคราะห์สาร	35
3.5 การศึกษาทางสมบัติทางเคมีฟิสิกส์	36
3.6 การศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	36
บรรณานุกรม	37

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่

1.1 แสดงโครงสร้างหลัก และ nalidixic acid	1
1.2 แสดง quinolone-DNA cooperative binding model สำหรับการยับยั้ง DNA gyrase	3
2.1 แถบสเปกตรัมของแสงที่อยู่ในช่วงแสงวิสิเบิล	6
2.2 กระบวนการวัดการดูดกลืนแสง	8
2.3 การดูดกลืนแสงของสารละลาย	8
2.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง A, c และ %T	9
2.5 Anticancer compounds of natural origin	15
2.6 Mode of DNA acting drugs like mitomycin	19
2.7 New cisplatin analogs used as anticancer agents	21
2.8 The structural formulas of Au (I) complexes	22
2.9 Some active copper anticancer complexes	22
2.10 Some potent antitumor organotin complexes	23
2.11 Structure of Ciprofloxacin and Ofloxacin	24
2.12 Structures of fluorinated quinolones	25
2.13 The series of 6,7,2',3',4'-substituted-1,2,3,4- tetrahydro-2-phenyl-4-quinolones	25
2.14 The series of 3',6,7-substituted 2-phenyl-4-quinolones	26
2.15 General structure of 6,7-methylenedioxy-substituted of 2-phenyl-4-quinolone series	27
2.16 The structure of 3-aryl-2-quinolone derivatives	28
2.17 Structure of quinobenoxazine antitumor agents	29
2.18 Structures of the thieno [3',2':4,5] thieno [2,3-c]quinolone Derivatives	32

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.1 Fingerprint infrared spectra of Levofloxacin (1) and their copper complexes (2-4)	39
4.2 Proposed square pyramidal structures for copper conjugates (2-4) of Levofloxacin	40
5.1 Schematic diagram showing the potential biochemical pathway of quinolone to inhibit cell growth and induce apoptosis.	44
5.2 Mode of DNA acting drug	45

สารบัญตาราง

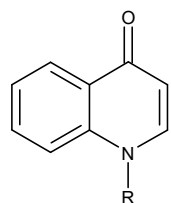
ตารางที่	หน้า
2.1 ความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงและสีที่ตามนุษย์มองเห็น	7
2.2 แสดงช่วงคลื่นอินฟราเรดทั้ง 3 ย่าน	10
2.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเลขคลื่นและหมู่ฟังก์ชันกับการดูดกลืนคลื่นแสงอินฟราเรด	12
2.4 Chronological sequence of introduction of some anticancer agents in clinical use	16
4.1 สูตรและสมบัติทางกายภาพของสารประกอบที่ได้จากการสังเคราะห์	37
4.2 สมบัติการนำไฟฟ้าและร้อยละของธาตุองค์ประกอบ	37
4.3 พีคของ IR ที่สำคัญของสารประกอบ levofloxacin copper complexes	40
4.4 การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบ levofloxacin copper complexes	41
4.5 ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytotoxicity against Vero cells)	41
4.6 ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (Anticancer: BC-Breast cancer)	42

บทที่ 1

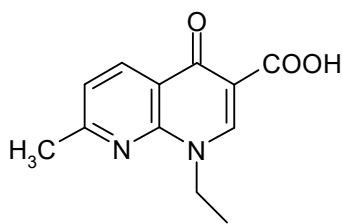
บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล

Quinolones เป็นคำทั่วไปที่ใช้เรียกรวมสารในกลุ่ม quinolonecarboxylic acid หรือ 4-Quinolones ซึ่งเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อเป็นยาต้านแบคทีเรีย (antibacterial agents) โดยมีโครงสร้างหลักคือ 4-oxo-1,4-dihydroquinoline (**รูปที่ 1.1**) นับตั้งแต่มีการนำเอา nalidixic acid (nalH) มาใช้ทางยา (clinical practice) ในปี 1960 เป็นต้นมา จำนวนสารในกลุ่มนี้ ตลอดจนประสิทธิภาพในการต่อต้านและทำลายแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น (potent broad-spectrum antibacterial agents) สำหรับการปรับปรุงโครงสร้าง (modifications) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของ nalH ได้ดำเนินการบนพื้นฐานของความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ (structure activity-relationships; SARs) โดยพบว่าเมื่อเติมตำแหน่งที่ 6 ด้วย อะตอมของฟลูออรีน (fluorine atom) และ ตำแหน่งที่ 7 เป็น piperazine ring ประสิทธิภาพทางยาจะเพิ่มขึ้นจากเดิมหลายเท่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งการออกฤทธิ์ต่อต้าน Gram-negative microorganisms แต่ฤทธิ์ต่อต้าน Gram-positive microorganisms ยังไม่มากพอ จึงต้องดำเนินการพัฒนามาเป็นลำดับ



quinolone nucleus



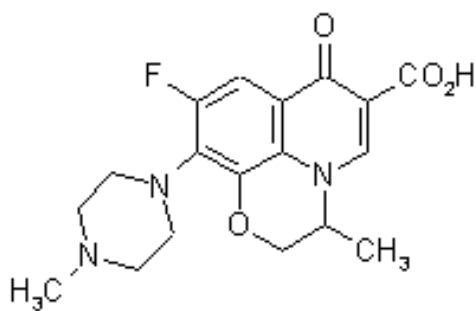
nalidixic acid

รูปที่ 1.1 แสดงโครงสร้างหลัก และ nalidixic acid

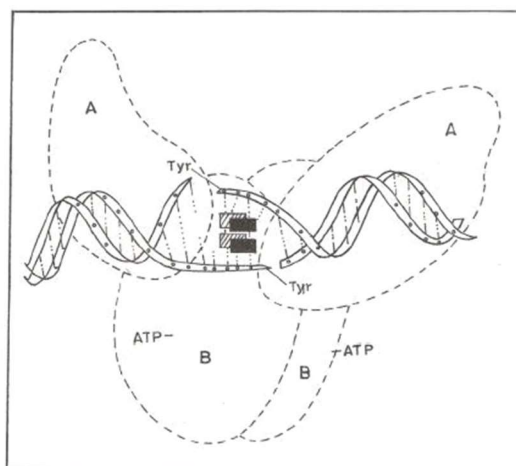
จึงทำให้ quinolones มีประสิทธิภาพสูงในการรักษาโรคจากการติดเชื้อต่างๆ อาทิเช่น urinary tract infections, soft tissue infections, respiratory infections, bone-joint infections, typhoid fever, sexually transmitted diseases, prostatitis, community acquired pneumonia, acute bronchitis และ sinusitis

จากกลไกในการออกฤทธิ์ของสารในกลุ่มนี้ที่ไปยับยั้ง DNA gyrases (รูปที่ 1.2) และ topoisomerase enzymes ของ prokaryotes ตลอดจนสามารถยับยั้ง topoisomerase II enzyme ของยีสต์ ซึ่งเป็นตัวเชื่อมโยง (interim) ระหว่าง prokaryotes และ eukaryotes จึงกระตุ้นให้นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าสารในกลุ่มนี้น่าจะมีผลต่อเอนไซม์ของ eukaryotes ด้วย

สำหรับประเทศไทยในขณะนี้ ประสบปัญหาด้านสุขภาพเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะอัตราการเสียชีวิตจากโรคมะเร็งยังเป็นอันดับหนึ่ง ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาหาแนวทางที่จะค้นคว้าหาสารต้านมะเร็งตัวใหม่ๆ ในกลุ่ม anticancer antibiotic โดยเลือกศึกษา Levofloxacin ซึ่งเป็น antibiotic ใน generation ที่ 3 มีครึ่งชีวิตที่ยาวขึ้น



Levofloxacin



รูปที่ 1.2 แสดง quinolone-DNA cooperative binding model สำหรับการยับยั้ง DNA gyrase

1.2 ระเบียบวิธีวิจัย

- 1.2.1 การสังเคราะห์สารประเหิงซ้อนของ metal conjugates ของ levofloxacin
- 1.2.2 สังเคราะห์สารประกอบ levofloxacin metal complex กับ acillary N-donor ligands
- 1.2.3 ศึกษาสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ ของสารประกอบที่ได้ในข้อ 2.1 และ 2.2 ด้วยเทคนิคทาง spectroscopy และ electrochemistry
- 1.2.4 ศึกษาสมบัติทาง biological activities

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.3.1 เพื่อศึกษาสมบัติเคมี-ฟิสิกส์ของสารประกอบ levofloxacin metal complexes

1.3.2 เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ของสารประกอบ levofloxacin metal complex กับ acillary N-donor ligands

1.3.3 เพื่อศึกษาสมบัติทาง biological activities ของสารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้น เปรียบเทียบกับ parent compound

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ทราบสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ของสารประกอบ levofloxacin metal complexes

1.4.2 ได้ทราบสมบัติทางเคมี-ฟิสิกส์ของสารประกอบ levofloxacin metal complexes กับ acillary N-donor ligands

1.4.3 ได้ทราบสมบัติทาง biological properties ของสารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้น เปรียบเทียบกับ parent compound

บทที่ 2

เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

ในบทนี้ผู้วิจัยได้นำเสนอหลักการของเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยในครั้งนี้บางชนิด ประวัติความเป็นมาของการค้นพบยารักษาโรคมะเร็งทั้งชนิด organic drugs, inorganic drugs นอกจากนี้ยังได้กล่าวถึงยารักษาโรคมะเร็งในกลุ่ม anticancer antibiotics โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาในกลุ่มควิโนโลน (quinolone) ที่ศึกษาวิจัยในครั้งนี้

2.2 หลักการวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยวิธีอัลตราไวโอเล็ตและวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี (Ultraviolet and Visible spectrophotometry)

สารเคมีที่มีการดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเล็ตและวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร (nm) ส่วนใหญ่ได้แก่สารอินทรีย์ (organic compound) หรือสารประกอบเชิงซ้อน (complex compound) หรือสารอนินทรีย์ (inorganic compound) ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้อย่างกว้างขวางทั้งในการวิเคราะห์เชิงปริมาณและคุณภาพ เนื่องจากวิธีนี้มีความถูกต้องแม่นยำ และมีสภาพไว (sensitivity) สูง สามารถทำการวิเคราะห์ในสภาพโมเลกุลหรืออะตอมก็ได้ แต่ในการที่จะนำไปพิสูจน์ว่าสารนั้นๆ เป็นสารอะไร มีโครงสร้างอย่างไร จะต้องอาศัยเทคนิคอื่นๆ ร่วมด้วย ทั้งนี้เพื่อความถูกต้อง เช่น IR, NMR, elemental analysis, magnetic susceptibility measurement เป็นต้น

2.2.1 การดูดกลืนแสงของสารในช่วงวิสิเบิล

เราสามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์และอนินทรีย์ได้โดยการวัดการดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล หลักการที่สำคัญคือ สารที่ต้องการวัดหาปริมาณจะต้องมีสีหรือสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นแล้วทำให้เกิดสารที่มีสี ในทางทฤษฎีสารละลายที่มีสีที่ใช้ในการวิเคราะห์ควรมีสมบัติดังนี้

ก. สีของสารควรมีความเข้มมากพอที่จะวัดการดูดกลืนของแสงได้ ถึงแม้ว่าสารนั้นจะประกอบด้วยสารที่ต้องการวิเคราะห์เป็นจำนวนเล็กน้อยก็ตาม

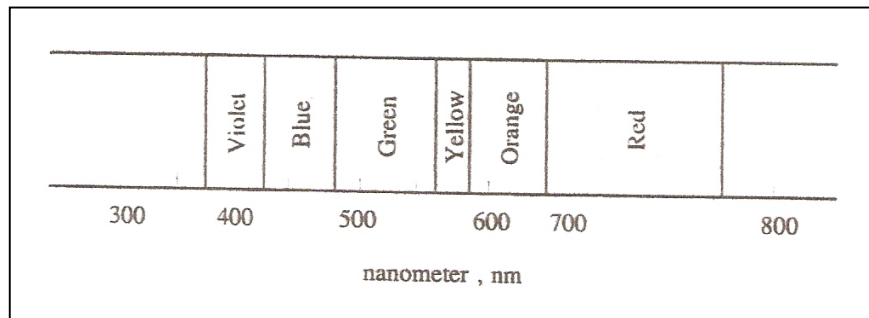
ข. สีของสารที่อยู่ในสารละลายจะต้องอยู่ตัวไม่จางลงอย่างรวดเร็ว

ค. สีของสารละลายจะต้องไม่เปลี่ยนแปลงหรือจางลงเมื่อ pH หรือ อุณหภูมิของสารละลายเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย

ง. รีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดสีกับสารที่เราต้องการวิเคราะห์จะต้องไม่มีสี หรือไม่
ดูดกลืนแสงที่มีช่วงคลื่นเดียวกับสารที่ต้องการวัด

จ. ปฏิกริยาของรีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดสารที่มีสีกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ จะต้อง
ให้สารที่มีสีชนิดเดียวกันนั้น

แสงวิสิเบิลประกอบด้วยช่วงคลื่นแคบๆ ของสเปกตรัม ช่วงแสงที่มีสมบัติเป็นคลื่น
แม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งแต่ละช่วงจะมีสีเฉพาะตัวสามารถมองเห็นด้วยตา ช่วงคลื่นของแสงที่กล่าวมานี้
จะมีช่วงคลื่นตั้งแต่ 380 nm (แสงสีม่วง) ถึง 780 nm (แสงสีแดง) ดัง **รูปที่ 2.1** แสดงถึงสเปกตรัม
ของแสงที่มีสีต่างๆ ที่อยู่ในช่วงแสงวิสิเบิล



รูปที่ 2.1 แถบสเปกตรัมของแสงที่อยู่ในช่วงแสงวิสิเบิล

แสงที่ประกอบด้วยแสงที่มีสีทุกสีในช่วงคลื่นของแสงที่มีสีทั้งหมด ตาจะมองเห็นแสงนั้น
เป็นแสงสีขาว (white light) แต่ถ้าแสงสีหนึ่งหรือหลายสีถูกนำออกไปจากแสงสีขาว ตามนุษย์จะ
มองเห็นแสงนั้นมีสีอื่นทันที เราแบ่งสมบัติของแสงตามที่ตามองเห็นได้ดังนี้ ชนิดของสี (hue หรือ
color) ความเข้มของสี (color intensity) และความสว่าง (brightness) แสงสีต่างๆ แบ่งตามช่วง
คลื่นตามตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงและสีที่ตามนุษย์มองเห็น

ช่วงคลื่นของแสงที่ถูกดูดกลืน โดยสาร (nm)	แสงส่วนที่ถูกดูดกลืนโดยสาร	สีที่ตามองเห็น
400-435	Violet	Yellow-green
435-480	Blue	Yellow
480-490	Green-blue	Orange
490-500	Blue-green	Red
500-560	Green	Purple
560-580	Yellow-green	Violet
580-595	Yellow	Blue
595-650	Orange	Green-blue
650-750	red	Blue-green

2.2.2 กฎของเบียร์และแลมเบิร์ต

การวิเคราะห์ปริมาณสารโดยอาศัยการดูดกลืนรังสีของสารนั้น เราอาศัยกฎของเบียร์และแลมเบิร์ตที่ใช้ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนรังสีของสารกับความเข้มข้นของสารนั้น ตามสมการดังต่อไปนี้

$$A = \epsilon bc$$

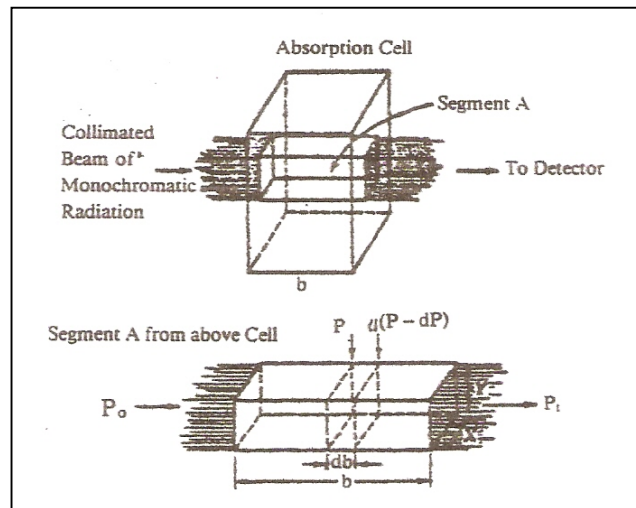
เมื่อ A=ค่าการดูดกลืนแสง

b=ค่าความยาวของเซลล์บรรจุสารที่ลำแสงผ่าน (cm)

c= ความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ (ppm หรือ molar)

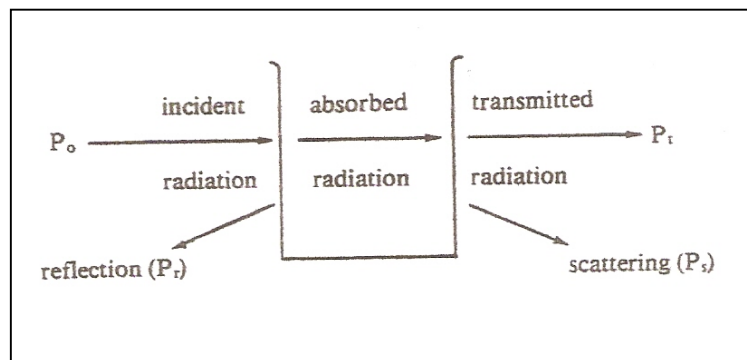
ϵ =molar absorptivity ($L\text{mole}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

ในการวัดปริมาณของแสง หรือ radiant ที่ถูกดูดกลืนด้วยสารตัวอย่างนั้น เราสามารถทำได้โดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในสารตัวอย่าง แล้ววัดปริมาณแสงที่ผ่านออกมาโดยเปรียบเทียบกับแสงที่ผ่านออกมาเมื่อไม่มีสารตัวอย่าง ดัง รูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 กระบวนการวัดการดูดกลืนแสง

เมื่อลำแสงผ่านเข้าไปในเซลล์ที่บรรจุสารละลาย สารละลายนั้นจะดูดกลืนแสงหรือพลังงานบางส่วนไว้ ดังรูปที่ 2.3 ซึ่งพลังงานจำนวนนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับโครงสร้างของโมเลกุลของสารนั้น และขึ้นอยู่กับช่วงคลื่นของแสงที่ผ่านด้วย



กำหนดให้ P_0 = พลังงานของลำแสงที่ตกกระทบเซลล์ของสารละลาย

P_t = พลังงานของลำแสงที่ออกจากเซลล์ที่บรรจุสารละลาย

รูปที่ 2.3 การดูดกลืนแสงของสารละลาย

พลังงานของลำแสงเป็นปริมาณที่วัดได้โดยให้แสงตกกระทบกับ photocell ในหน่วยตรรกวัตต์อัตราส่วนระหว่างพลังงานของแสงที่ตกกระทบและพลังงานของลำแสง หลังจากผ่านเซลล์ออกมาที่เรียกว่า transmittance (T) ที่บอกเป็น percent transmittance (%T)

$$T = P/P_0$$

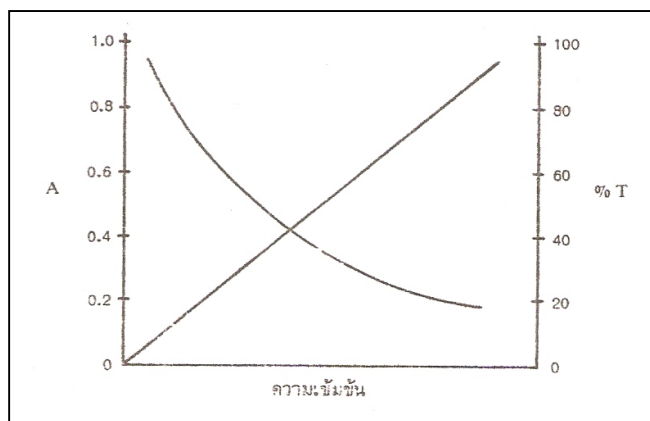
ค่าของลอการิทึมฐานสิบของ $1/T$ คือ ค่าแอบซอร์เบ้นซ์ (absorbance, A)

$$A = \log(1/T) = -\log T$$

ดังนั้น $A = \log P/P_0$

จากกฎของเบียร์ $A = \epsilon bc$ เรามีข้อกำหนดว่า

1. แสง หรือ radiant power ที่ผ่านสารละลายต้องเป็น monochromatic radiation
 2. กระบวนการดูดกลืนคลื่นแสงของแต่ละอนุภาคจะต้องเป็นอิสระแก่กันโดย สารละลายจะต้องเจือจาง
 3. สารละลายที่นำมาวัดจะต้องเป็นสารละลายเนื้อเดียว (homogeneity)
- ถ้าเขียนกราฟระหว่าง A, c และ %T จะเป็นดัง **รูปที่ 2.4**



รูปที่ 2.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง A, c และ %T

สำหรับการวิเคราะห์สารอินทรีย์ ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีสีและไม่ดูดกลืนแสงในช่วง UV region ดังนั้นจึงต้องเตรียมให้อยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน เพื่อให้ดูดกลืนแสงในช่วง Visible region สารที่จะใช้ในการทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน เพื่อให้ได้สารละลายที่มีสี จะต้องมิลักษณะดังต่อไปนี้

1. ปราศจากสารรบกวนหรือเป็นสารที่บริสุทธิ์
2. ไม่ควรจะมีสี แต่ถ้ามีสี สีที่เกิดขึ้นใหม่ควรจะต้องกลืนแสงที่ความยาวคลื่นห่างกันพอสมควร
3. ปฏิริยาควรเกิดเร็วพอสมควร
4. ปฏิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ต้องเป็นปฏิริยาที่มีปริมาณสัมพันธ์ที่แน่นอน และจำเพาะเจาะจง
5. สีที่เกิดขึ้นไม่ควรขึ้นอยู่กับปริมาณของสารที่เติมลงไป แต่จะต้องขึ้นอยู่กับ Analyte เป็นสำคัญ
6. มีค่า λ_{\max} เฉพาะตัว
7. จะต้องทราบถึงปฏิริยาที่เกิดขึ้นเป็นอย่างดี

2.3 Infrared spectrophotometry

ช่วงคลื่นอินฟราเรดอยู่ระหว่างช่วงคลื่นวิสิเบิล และช่วงคลื่นไมโครเวฟ ช่วงคลื่นอินฟราเรดแบ่งออกเป็น 3 ช่วงคลื่นย่อยดังนี้

ตารางที่ 2.2 แสดงช่วงคลื่นอินฟราเรดทั้ง 3 ย่าน

ช่วงคลื่น	ช่วงความยาวคลื่น (μm)	จำนวนคลื่น (cm^{-1})
อินฟราเรดย่านใกล้ (near IR)	0.78-2.5	12800-4000
อินฟราเรดย่านกลาง (mid or fundamental IR)	2.5-50	4000-200
อินฟราเรดย่านไกล (far IR)	50-1000	200-10

ช่วงคลื่นอินฟราเรดที่สามารถนำมาใช้ศึกษาสมบัติของสารตัวอย่างจะอยู่ในช่วง 4000-670 cm^{-1} ซึ่งช่วงคลื่นอินฟราเรดย่านกลางจะให้แถบการดูดกลืน (absorption bands) ที่เป็นประโยชน์ในการวิเคราะห์ทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพของหมู่ฟังก์ชัน ตลอดจนวิเคราะห์โครงสร้างของโมเลกุล แต่ช่วงคลื่นนี้ไม่สามารถทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลเกิดการวนขึ้นได้ แต่สามารถทำให้เกิดการสั่นของโมเลกุลที่สเปกตรัมมีลักษณะแคบหรือเกิดการซ้อนทับกันของสเปกตรัม เมื่อเกิดการทวนขึ้นระหว่างระดับพลังงานของการสั่นจะมีการเปลี่ยนแปลงระดับ

พลังงานของการหมุนด้วยเสมอ การดูดกลืนช่วงคลื่นอินฟราเรดของโมเลกุลมีลักษณะที่พึงสังเกตที่สำคัญดังนี้

1. โมเลกุลที่กำลังสั่นต้องเกิดการเปลี่ยนแปลงของโมเมนต์ขั้วคู่ (dipole moment) ภายในโมเลกุลนั้น สำหรับโมเลกุลที่เป็น diatomic molecule เช่น O_2 , N_2 และ Cl_2 จะไม่มีอินฟราเรดสเปกตรัม เพราะไม่มีการเปลี่ยนแปลงของโมเมนต์

2. พลังงานของคลื่นอินฟราเรดที่ให้กับโมเลกุลต้องมีค่าพอดีกับผลต่างของระดับพลังงานของการสั่นที่เกี่ยวกับการทรานซิชัน

ตำแหน่งของอะตอมต่างๆ ในโมเลกุลจะไม่อยู่นิ่ง แต่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปแบบต่อเนื่องตลอดเวลาเพราะโมเลกุลเกิดการสั่นเนื่องมาจากการยืดและการงอ โดยการสั่นแบบยืดและแบบงอของแต่ละพันธะจะมีค่าความถี่เฉพาะ เมื่อโมเลกุลได้รับพลังงานจากคลื่นอินฟราเรดด้วยค่าความถี่พอดีกับการสั่นของพันธะในโมเลกุลจะทำให้เกิดการทรานซิชัน เรียกว่า vibrational transition แล้วเกิดพีคแคบๆ ของการดูดกลืน สำหรับโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีหมู่ฟังก์ชันเหมือนกันจะให้เปกตรัมในช่วงเลขคลื่น $3500 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ เรียกว่า functional group area หรือ group frequency region แต่จะมีความแตกต่างกันในช่วงเลขคลื่น $1200 - 600 \text{ cm}^{-1}$ เรียกว่า fingerprint region หรือบริเวณลายนิ้วมือ สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างเลขคลื่นและหมู่ฟังก์ชันเป็นดัง ตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเลขคลื่นและหมู่ฟังก์ชันกับการดูดกลืนคลื่นแสง

อินฟราเรด

Bond	Type of compound	Frequency range (cm^{-1})	Intensity
C-H	alkanes	2850-2970	strong
		1340-1470	strong
C-H	alkenes	3010-3095	medium
		675-995	strong
C-H	alkynes	3300	strong
C-H	aromatic rings	3010-3100	medium
		690-900	strong
O-H	monomeric alcohols,phenols,	3590-3650	variable
	hydrogen-bonded alcohols,phenols	3200-3600	variable,sometime
			broad
	monomeric carboxylic acids	3500-3650	medium
	hydrogen-bonded carboxylic acids	2500-2700	broad
N-H	amines,amides	3300-3500	medium
C=C	alkenes	1610-1680	variable
C=C	aromatic rings	1500-1600	variable
$\text{C}\equiv\text{C}$	alkynes	2100-2260	variable
C-N	amines, amides	1180-1360	strong
$\text{C}\equiv\text{N}$	nitriles	2210-2280	strong
C-O	alcohols,ethers,carboxylic cids,esters	1050-1300	strong
C=O	aldehydes,ketones,carboxylic	1690-1760	strong
	acids,esters		
NO_2	nitro compounds	1500-1570	strong
		1300-1370	strong

สำหรับสารอินทรีย์ (สารประกอบไอออนิก) ส่วนที่เป็นไอออนลบจะดูดกลืนคลื่นอินฟราเรด แต่แถบการดูดกลืนจะมีน้อยกว่า และมีพีคกว้างกว่าสารอินทรีย์

2.4 ลักษณะทั่วไปของโรคมะเร็ง

โรคมะเร็ง (cancer) ไม่ใช่ single disease แต่เป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของกลุ่มเซลล์ (cellular disorders) โดยไม่สามารถควบคุมหรือจำกัดการแบ่งตัวของเซลล์ได้ จึงปล่อยให้มันเจริญเติบโตไปเรื่อยๆ (proliferative growth) และกระจายทำลายเซลล์ปกติที่อยู่ข้างเคียง ซึ่งเซลล์มะเร็งจะสูญเสียการสัมผัส (lost touch) กับสัญญาณใดๆ ที่อยู่รอบๆ เซลล์นั้น (environment) จะไม่ตอบสนองต่อการควบคุมของ controlling signals ดังที่เกิดกับเซลล์ปกติ (normal cell หรือ healthy tissue) โดยทั่วไปแล้วโอกาสในการเกิดโรคมะเร็งจะเพิ่มขึ้นตามอายุ (cancer aging) (Boyle, F., 1998: 251) และส่วนมากจะเกิดเฉพาะที่ (localized tissues) (ACS, 1997: 1) ซึ่งมีลักษณะเป็นก้อนที่เรียกว่า solid tumors เช่น colon, lung, prostate เป็นต้น ทำให้มีความแตกต่างจากโรคมะเร็งกลุ่มอื่น เช่น leukemias (blood) และ lymphomas สังเกตได้ว่าทำไมการรักษาด้วยการผ่าตัด (surgery) และการฉายรังสี (radiotherapy) จึงมีสมบัติที่โดดเด่นตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน แต่วิธีการรักษาอีกอย่างหนึ่งที่จำเป็น และขาดไม่ได้คือ การรักษาด้วยเคมีบำบัด (chemotherapy) ที่มีฤทธิ์อย่างกว้างขวางเพราะเป็นเสมือนอาวุธเล็กๆ ที่ทรงประสิทธิภาพที่ใช้ในการต่อสู้กับโรคมะเร็ง โดยเฉพาะกลุ่ม solid tumor diseases ในทางการแพทย์ โรคมะเร็งได้ถูกแบ่งออกเป็นชนิดต่างๆ ตามอวัยวะที่ก่อกำเนิดของการเกิดโรค หรือโครงสร้างที่มันอุบัติขึ้นเป็นครั้งแรก (originate) เช่น มะเร็งเต้านม (breast cancer), ลำไส้ (colon) และอื่นๆ จึงเป็นแรงผลักดันให้นักวิจัยค้นคว้าหาทางบำบัดรักษาต่อไป

การรักษาด้วยเคมีบำบัดที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ (Chabner, B., 1993: 225) คือ (1) cytotoxic agents (หรือ cell-killing activity) ยาในกลุ่มนี้จะทำลายเซลล์มะเร็งไม่ให้ทำลายเซลล์ปกติที่อยู่ข้างเคียงต่อไปอีก (2) anti-hormonal drugs เป็นยาที่ต่อต้านฮอร์โมนเพศที่จะมาเร่งการเติบโตของเซลล์มะเร็ง หรือเป็นการลด proliferative drive ของ tumor cells สารประกอบจำนวนมากที่ค้นพบ มีความสามารถในการทำลายเซลล์มะเร็งได้ดี (good tumor cell-killing activity) แต่มีประโยชน์น้อยมากทางการแพทย์ ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบเหล่านั้นขาดการจำแนกแยกแยะความแตกต่างระหว่างเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง หรือกล่าวได้ว่า ยาขาดความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง นอกจากนั้นวงจรชีวิตของเซลล์ (cell cycle) ยังขึ้นอยู่กับ cytotoxic drug หลายชนิด และบ่อยครั้งยังเกิดการดื้อยา (drug resistance)

ที่ใช้รักษาอีกด้วย ยาที่ใช้รักษาทาง cell-killing agent มีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างกันไป ยาเหล่านี้ได้แก่ alkylating agents, DNA intercalators, antifolates, tubulin binders และ topoisomerase inhibitors เป็นต้น ยาในกลุ่มนี้เป็นที่รู้จักกันดี และยังใช้รักษาอยู่ในปัจจุบัน คือ cisplatin, doxorubicin, methotrexate, paclitaxel และ etoposide ตามลำดับ

ในหัวข้อถัดไปเราจะกล่าวถึงประวัติโดยย่อของการศึกษาค้นคว้า หรือความเป็นมาของการค้นพบยารักษาโรคมะเร็ง (new development in the anticancer drug design) โดยเฉพาะยาในกลุ่มใหม่ที่ออกฤทธิ์แตกต่างกันไป (the anticancer action of a new class of compounds) ที่สำคัญคือกลุ่มควิโนโลน (quinolone) และควิโนโลนที่ทำปฏิกิริยากับโลหะ (quinolone conjugates) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้

2.5 ประวัติการค้นพบยารักษาโรคมะเร็ง (historical account of anticancer compounds)

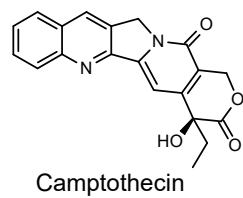
ในที่นี้เราจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

2.5.1 Organic compounds as anticancer agents

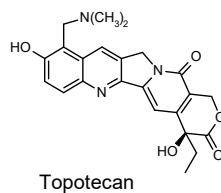
เริ่มตั้งแต่สมัยอียิปต์ (ancient Egyptian) ได้ทำการศึกษาค้นคว้าหายาเพื่อนำมารักษาโรค มีทั้งสารที่สกัดได้จากพืชและสัตว์ นอกจากนี้ยังรู้จักวิธีการรักษาโรคด้วยการผ่าตัด แต่สาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งยังไม่เป็นที่ทราบกันในขณะนั้น ข้อเสนอนี้สำคัญที่เกิดขึ้นในครั้งแรก (origins หรือ aetiology) ของโรคมะเร็งปรากฏขึ้นในปี ค.ศ. 1700 เมื่อหมอชาวอิตาลีชื่อ Bernadino Ramazzini (www.crystalinks.com, 2005) ได้ตีพิมพ์หนังสือของเขาชื่อ De morbis artificum diatribe ได้เสนอแนะอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งเต้านม (breast cancer) ของแม่ชีกับสตรีที่มีบุตรและเลี้ยงลูกด้วยตนเอง แต่ขณะนั้น Ramazzini ยังไม่ทราบว่าโรคมะเร็งเต้านมมีความสัมพันธ์กับฮอร์โมนเพศหญิง เขาเข้าใจว่าสาเหตุของการเกิดโรคน่าจะมาจากสาเหตุของการหายใจเอาฝุ่นที่มีขนาดเล็กๆ เข้าไป (inhalation of fine dust particles) ต่อมาหมอชาวอังกฤษชื่อ John Hill (1761) (www.library.adelaide.edu.au, 2005) ได้ค้นพบสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งของ nasal cancer คือ ยาสูบ (tobacco) ส่วน Yamagiwa และ Ichikawa (Huff, J., 1999: 56) ก็ได้ทำการทดลองเพื่อพิสูจน์ให้เห็นว่าสารเคมีบางชนิดมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็ง ซึ่งพวกเขาทดลองให้เกิด malignant epithelial tumors ด้วยการให้ coal tar ทาที่หูของกระต่าย ในทำนองเดียวกัน Passey ทาผิวของหนูด้วยสารสกัดจาก soot พบว่าทำให้เกิด malignant growth ได้ ในต่อมานักวิทยาศาสตร์พบว่าสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ชื่อ benzpyrene และสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นมาชื่อ dibenzanthracene สามารถทำให้เกิดโรคมะเร็ง (carcinogen) ได้ โดยเฉพาะ

polycyclic aromatic chemicals ที่เป็นองค์ประกอบของ soot , tars, tobacco smoke คาร์บอนจากเครื่องยนต์ดีเซล (diesel engines) และ ในอาหารประเภทเผา (burnt food) ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่ากว่า 60 ปีมาแล้วที่วงการวิทยาศาสตร์ทราบว่า benzpyrene ในยาสูบชักนำให้เซลล์ปกติกลายเป็นเซลล์มะเร็ง (www.ehealthmd.com,2005)

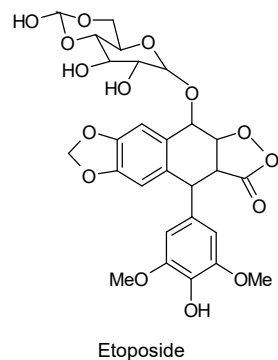
ยารักษาโรคมะเร็งที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ส่วนมากมาจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (natural products) เช่น พืช และ microorganisms เช่น Camptothecin, Irinotecan, Topotecan, Podophyllotoxin, Etoposide และ Teniposide **ดังรูปที่ 2.5**



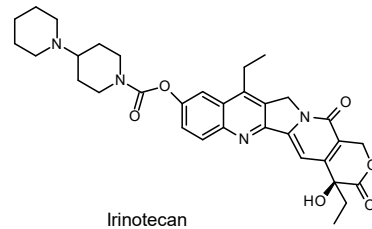
(1)



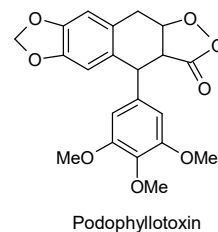
(3)



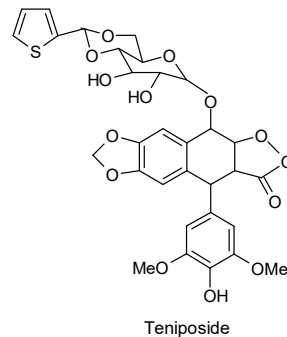
(5)



(2)



(4)



(6)

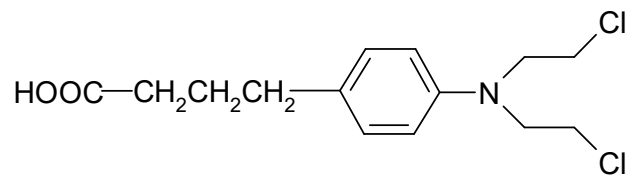
รูปที่ 2.5 Anticancer compounds of natural origin.

ในปี 1942 เป็นครั้งแรกที่ได้นำสารที่ได้จากการสังเคราะห์มาทดลองใช้รักษาโรค (clinical trials) จึงถือว่าเป็นจุดเริ่มต้นของยุค cancer chemotherapy หลังจากนั้นต่อมา anticancer agent มากมายหลายชนิดได้ถูกสังเคราะห์ขึ้นและนำมาทดสอบทางคลินิก รวมทั้งอนุพันธ์ของ folic acid และ pyrimidine/purine inhibitors ส่วนลำดับเหตุการณ์ของการนำยาชนิดต่างๆ มาใช้ทางคลินิก แสดงให้เห็นได้ตาม ตาราง 2.4

ตารางที่ 2.4 Chronological sequence of introduction of some anticancer agents in clinical use.

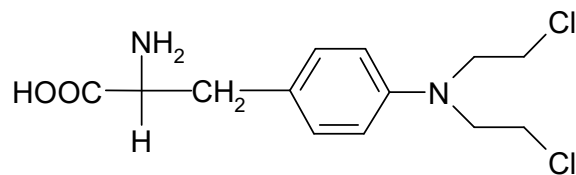
Agent or Class	Approximate year of introduction
Nitrogen Mustards	1942
Methotrexate	1948
Vinca Alkaloids	1958
Pyrimidine/Purine Synthesis Inhibitors	Early 1960
Antitumors Antibiotics	Early 1960
Hydroxyurea	1963
Hydrazines	1963
<i>cis</i> - Platin	Early 1970
Epipodophyllotoxins	Late 1970-early 1980
Antiestrogens	1990

โดยยาที่พัฒนาขึ้นมาและส่งผลดีในการรักษาโรคมะเร็งนั้นที่สำคัญคือ chlorambucil (Leukeran[®]) และ melphalan (Alkeran[®]) ซึ่งได้รับการพัฒนาขึ้นที่ห้องทดลอง Chester Beatty Laboratory (London) (www.google.com, 2005) ยาเหล่านี้ละลายน้ำได้ดีและสามารถให้ยาทางปากนอกจากการฉีด ยาเหล่านี้มีพิษน้อย (less toxic) ต่อเซลล์ไขกระดูก (bone-marrow cells) และใช้กันมาเป็นเวลานานเพื่อรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือด (leukemias) หลายชนิด ตลอดจนโรคมะเร็งอื่นๆ อีกด้วย



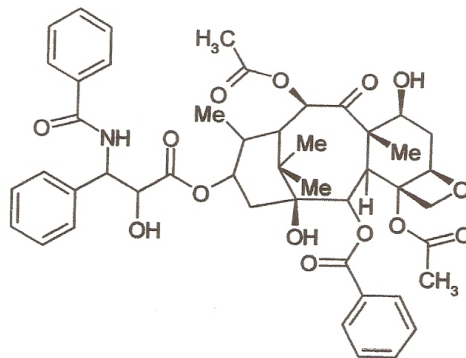
chlorambucil (Leukeran®)

(7)

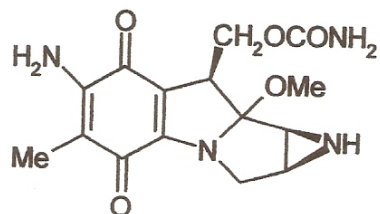


melphalan (Alkeran®)

(8)



(9)



(10)

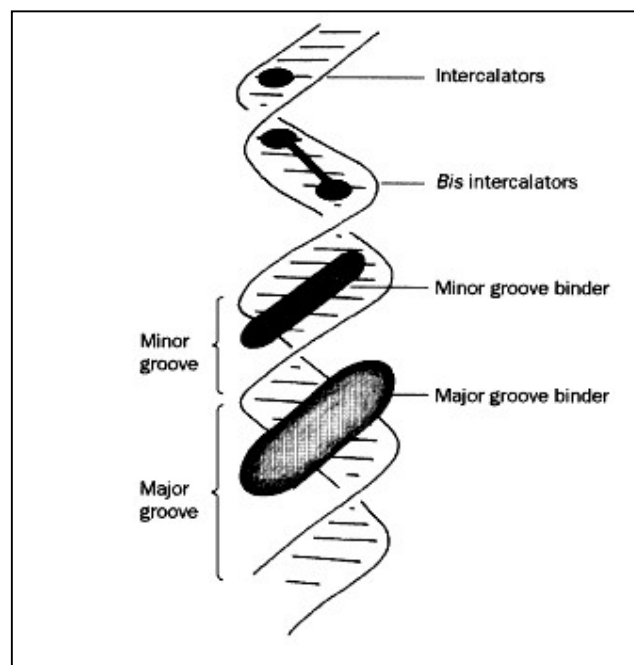
นอกจากนี้ยังมีวิธีการรักษาที่น่าสนใจอื่นอีก เช่น การนำเอาสารเคมีบางชนิดไปรวมกับฮอร์โมนเพศ เช่น estradiol กับ mechlorethamine ซึ่งได้ศึกษาทดลองอยู่ที่ประเทศโรมาเนีย ในปี 1966 ผลิตออกจำหน่ายในชื่อ Estracyst (estramustine) เพื่อรักษามะเร็งต่อมลูกหมาก (prostate cancer) ยาในกลุ่ม nitrogen mustard ที่ได้รับการพัฒนา เพื่อรักษาโรคมะเร็งที่

สำคัญที่สุดคือ cyclophosphamide (Endoxan, Cytoxan) ได้รับการพัฒนาขึ้นในประเทศเยอรมันนี้ โดยบริษัท Astra-Werke ซึ่งเป็น pro-drug เพราะไม่ออกฤทธิ์ (active) และไม่เป็นพิษ (non-toxic) จนกว่าจะถูก metabolized ที่ตับ และสมบัติในการรักษาโรคมะเร็งจะลดลงอย่างช้าๆ แล้วเหลือเพียงครึ่งหนึ่ง เมื่อเวลาผ่านไป 9 ชั่วโมง (half-life) จากนั้นจะลดลงจนเป็นศูนย์เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 24-48 ชั่วโมง

นอกจากนี้การค้นพบโดยบังเอิญ (serendipitous discovery) ยังถือว่าเป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญ ตัวอย่างเช่น การค้นพบ platinum anticancer agent ที่รู้จักกันทั่วไปในนาม cisplatin ที่ใช้รักษาโรคมะเร็งอยู่ในปัจจุบัน (Haiduc, I., 1990: 253) โดย Rosenberg (1965) ได้ตั้งคำถามว่า “Can the metal ions inhibit cell division in bacteria or cancer cells” ต่อมาในปี 1973 เขาพบข้อมูลเบื้องต้นว่า Cisplatin (Neoplatin) มีผลในการยับยั้งเซลล์มะเร็งในมนุษย์หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง testicular teratoma ในเพศชาย และมะเร็งของรังไข่ (ovarian cancer, adenocarcinoma) ในเพศหญิง แต่ข้อด้อยของยาชนิดนี้คือ มีความเป็นพิษต่อไตอย่างรุนแรง (very toxic to the kidneys) และเป็นสาเหตุให้อาเจียนอย่างรุนแรงอีกด้วย ตั้งแต่ปี 1966 เป็นต้นมาตำรับยาที่ได้จากการนำเอาหลายชนิดมารวมกัน ได้รับการศึกษาค้นคว้าและทดลองใช้รักษาทำให้ผู้ป่วยมีอายุยืนยาวขึ้น ตำรับยาเหล่านี้ได้รวมเอา nitrogen mustard เช่น vincristine, procarbazine (ที่เป็น a drug that causes breaks in the DNA stand) และ ยากลุ่มต้านการอักเสบประเภท steroid (anti-inflammatory steroid prednisone) โดย vincristine นี้เป็นยาที่ประสบความสำเร็จในการรักษาโรคมะเร็งบางชนิดที่เกิดในเด็ก และ ยานี้ยังใช้ได้ผลดีกับการรักษาโรค Hodgkin's lymphoma เมื่อใช้ร่วมกับ daunomycin, bleomycin และ dacarbazine

ในต้นปี 1970 ประสบความสำเร็จอย่างสูงในการใช้ vinblastine ร่วมกับ cisplatin และ bleomycin (ยาที่ทำลายโครงสร้างของ DNA) เพื่อรักษา testicular teratoma และนอกจากนี้ยังใช้รักษาโรค bladder cancer เมื่อนำยานี้มารวมกับ methotrexate, daunomycin, และ cyclophosphamide นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากพืช ซึ่งให้ผลการรักษาคล้ายคลึงกัน ยาในกลุ่มนี้คือ podophyllotoxin ที่ได้จากพืชในแถบแอฟริกาชื่อ may-apple จากการค้นพบยานี้ทำให้นักวิจัยเร่งศึกษาค้นคว้าวิจัยจนได้ยาต้านมะเร็งเพิ่มขึ้นมาอีกคือ etoposide และยังมีผลิตภัณฑ์จากพืชที่มีสมบัติทางยา (clinical activities) เช่น camptothecin และ taxol มีประสิทธิภาพดีพอสมควรในการรักษาโรคมะเร็ง สำหรับ mitomycin C เป็นผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติอีกตัวหนึ่งที่แยกได้จาก soil microorganism

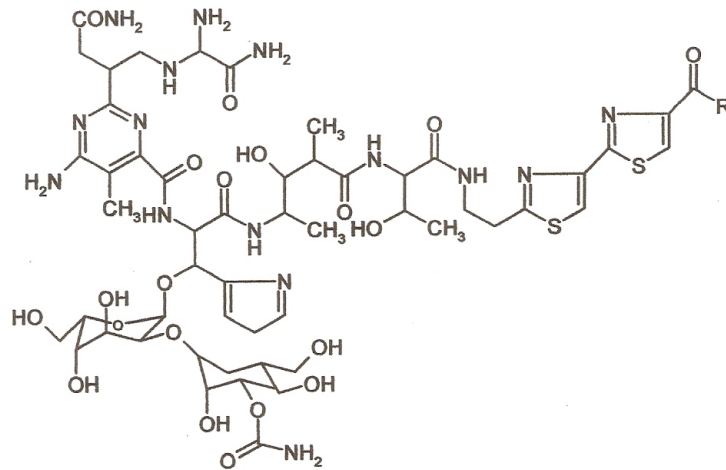
Streptomces caespitosus โดยนักวิจัยชาวอาทิത്യอุทัย ชื่อ Wakaki และคณะ ทำงานอยู่ที่ บริษัท Kyowa Fermentation Industry (Pai, V.B., 2000: 263) และยาชนิดเดียวกันนี้ยังแยกได้อีกโดยนักวิจัยชาวอเมริกาที่ Lederle Laboratories จาก microorganism ที่ชื่อ *Streptomyces verticillatus* เป็นที่สังเกตว่ายาจะออกฤทธิ์โดยการกระตุ้นด้วยกระบวนการที่เรียกว่า bioreduction ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหลายชนิด และมีความว่องไวอย่างมากต่อ DNA ทำให้ DNA ถูกทำลาย โดยการเกิด chemical linkages ในรูปแบบที่คล้ายคลึงกับตัวยาในกลุ่ม alkylating drugs ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 Mode of DNA acting drugs like mitomycin.

ในเวลาต่อมายาในกลุ่มอื่นๆ ได้รับการค้นพบและเป็นที่ยุ้จักกันดีคือ anthracyclins ยาในกลุ่มนี้หลายตัวเช่น daunorubicin (Daunomycin) และ doxorubicin (Adriamycin) แยกจาก *Streptomyces peucetius* โดยกลุ่มนักวิจัยชาวอิตาลีเลียนที่ Fermitalia Laboratories (Milan) (Kaur, P., 1998: 17933) ต่อมาได้มีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ anthracyclins นั้บร้อยสารรวมทั้ง marcellomycin, musettamycin และ rudolfomycin โดยเฉพาะยาที่มีความสำคัญทาง cancer chemotherapy ที่รู้จักกันดีคือ bleomycin (II) แยกได้ครั้งแรกในปี 1966 จาก

Streptomyces verticillus โดยชาวญี่ปุ่นชื่อ Hamao Umezawa (Umezawa, H., 1974: 2296)
ยานี้มีข้อดีเหนือ antitumor agents ตัวอื่นๆ ตรงที่มีผลต่อ bone-marrow cell population
น้อยมาก



Bleomycin A₂ R=NHCH₂CH₂SMe₂

Bleomycin B₂ R=NHCH₂CH₂CH₂CH₂NHC(NH₂)=NH

Bleomycin

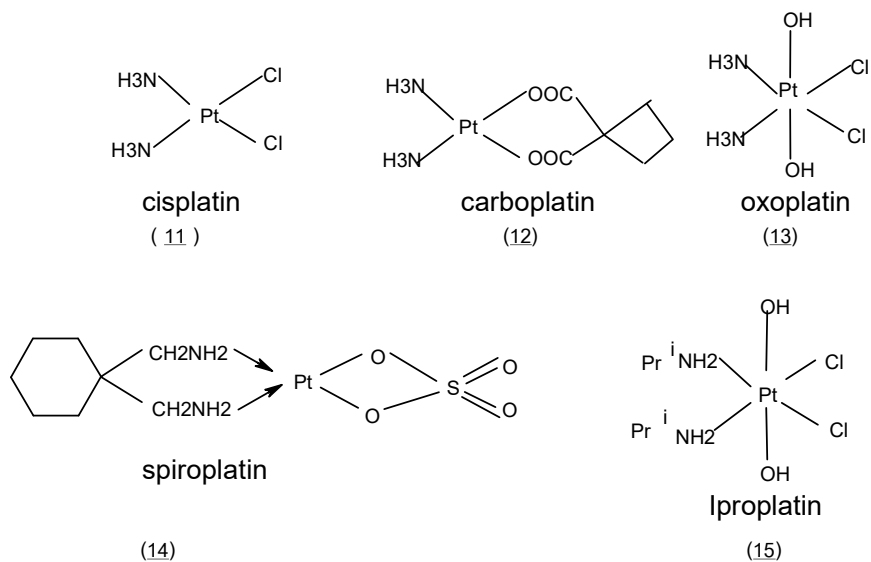
Mode of action ของสารนี้มีความแตกต่างและเกี่ยวข้องกับ การแตกของ DNA โดยการเกิด radicals ที่มีความสามารถในการทำลายสูง แต่ยานี้มีข้อด้อยคือ ทำให้เกิดผลข้างเคียงอื่นๆ (adverse effects) เช่น ทำให้เป็นไข้สูง ทำลายเนื้อเยื่อ (local tissue damage) และเป็นพิษต่อปอด (lung necrosis) เป็นที่น่าสนใจว่ายาในกลุ่มใหม่ที่ได้จาก soil microorganisms ที่เรียกว่า ene-diyne ได้ถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อกลางปี 1980 ต่อมาได้ค้นพบสารอีกเป็นจำนวนมากทั้งที่เป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) และมีโครงสร้างอื่นๆ แตกต่างกันไป (diverse structures) นอกจากนี้ยังมีความก้าวหน้าในการค้นคว้าทาง cancer chemotherapy อื่นอีก เช่น retinoid ได้จาก vitamin A และ retinoid หลายตัวยังได้นำมาใช้รักษาอยู่ในปัจจุบัน (Clark, A., 2002)

2.5.2 Metal complexes as anticancer agents

แนวคิดเกี่ยวกับการนำ metal conjugates มาใช้เป็น anticancer agents ได้จุดประกายขึ้นในปี 1969 เมื่อ Rosenberg และเพื่อนร่วมงานของเขาได้พบว่า platinum complexes สามารถแสดงสมบัติของ antitumor จากนั้นงานวิจัยในศาสตร์ทางด้านนี้จึงได้รับความสนใจจาก

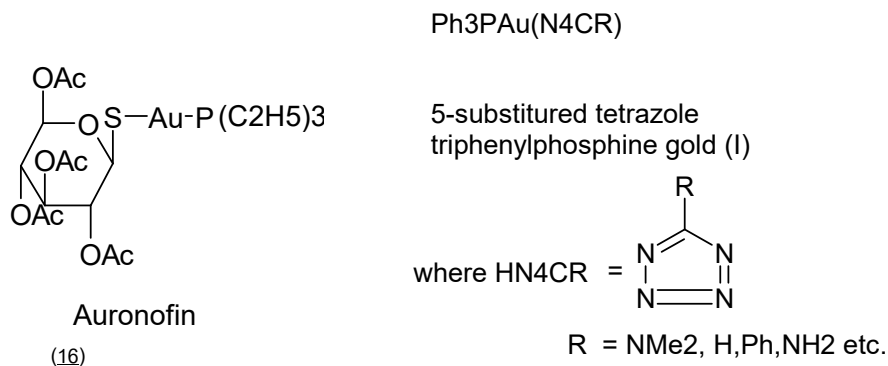
นักวิทยาศาสตร์โดยทั่วไปอย่างกว้างขวาง (Rosenberg, B., 1969: 385, Rosenberg, B., 1970: 1799) สารประกอบของ platinum ตัวแรกที่เกิดขึ้นคือ cis-diamine dichloroplatinum (II) [cis-[Pt(NH₃)₂Cl₂] ต่อมารู้จักกันทั่วไปในชื่อ "cisplatin" ซึ่งผ่านการทดสอบทุกระยะ (phases) และได้นำมาใช้รักษาทางคลินิก (clinical treatment) เพื่อรักษาโรคมะเร็งหลายชนิด ยาตัวนี้เป็นสารประกอบที่ปราศจากคาร์บอนในโมเลกุล ถือเป็นสมาชิกตัวแรกของกลุ่ม metal-based antitumor drugs ถึงแม้ว่าสารประกอบของ platinum ได้รับความสนใจ แต่นักวิทยาศาสตร์ก็ไม่ได้ละเลยโลหะตัวอื่นๆ ปัจจุบันสารในกลุ่ม pure inorganic compounds, coordination complexes และ organometallic compounds ได้รับความสนใจกันอย่างกว้างขวางและได้สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อคัดกรอง (screen) สำหรับรักษาโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ที่คุกคามชีวิตมวลมนุษยชาติในปัจจุบันนี้

สำหรับ generation ที่สองของอนุกรม platinum agents ที่ค้นพบเร็วๆ นี้ประกอบด้วย carboplatin (CBDCA, JM8, 13), siroplatin (TNO6, TNO, 14), oxoplatin (15) และ iproplatin (CHIP, JM9, 16) ตามลำดับ โดยสองสารประกอบ (14 & 16) เป็นอนุกรมที่ประกอบด้วย platinum (IV) ดังรูปที่ 2.7



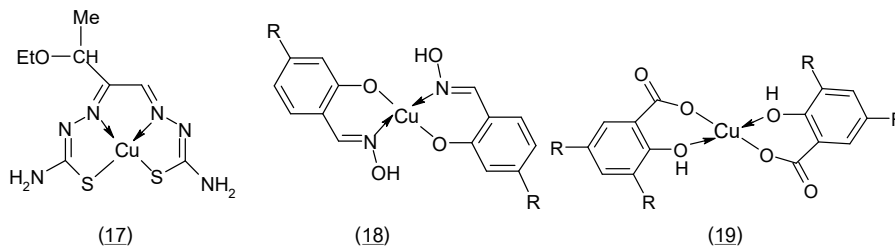
รูปที่ 2.7 New cisplatin analogs used as anticancer agents.

สารประกอบของทองคำ (gold compounds) เป็นที่รู้จักกันดีว่าสารประกอบในกลุ่มมีประโยชน์ในการรักษาโรค arthritis โดยสารประกอบของทองคำบางตัวแสดงสมบัติต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ดีด้วย เช่น 2,3,4,6-tetra-o-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosato-(S)-(ethylphosphino)gold (I) (Auronofin, **17**), 5-substituted tetrazole triphenylphosphine gold (I) complexes และ binuclear Au(I) complex ดังรูปที่ 2.8 สารประกอบเหล่านี้มีสมบัติเป็น anticancer ต่อเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น P388 leukemia ในหนูทดลอง B16 melanoma, L1210 leukemias และ M5056 reticulum cell sarcoma อีกด้วย (Das, A.K.,1990: 160)



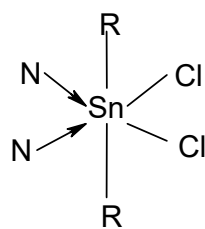
รูปที่ 2.8 The structural formulas of Au (I) complexes.

สารประกอบของทองแดง (ทั้ง inorganic copper compounds และ coordination complexes) จำนวนมากได้รับความสนใจจากนักวิจัยได้ทำการสังเคราะห์สารประกอบของธาตุนี้เพื่อทดสอบสมบัติในการต่อต้านเซลล์มะเร็ง ผลการวิจัยพบว่าสารประกอบที่มีลิแกนด์ต่อไปนี้ เช่น bithiosemicarbazones, monothiosemicarbazones, oximes, imines, hydrazones, salicylates, aminocarboxylates และสารประกอบอื่นๆ ที่มี N-donor ligands จะแสดงสมบัติ antitumor activities ที่ดี (Sadler, P.J., 1984: 290) สารประกอบของทองแดงบางชนิดที่ออกฤทธิ์ได้ดี แสดงให้เห็นดังรูปที่ 2.9

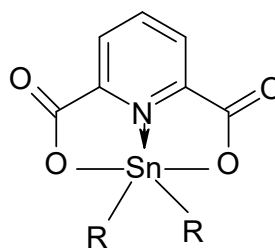


รูปที่ 2.9 Some active copper anticancer complexes.

ส่วนสารประกอบของดีบุก (organotin compounds) ก็ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง เช่นกัน เพื่อทราบสมบัติการเป็น anticancer properties ปัจจุบันมีสารประกอบในกลุ่มนี้ประมาณ 1,200 ชนิดที่กำลังคัดกรองอยู่ที่ NCI โดยเฉพาะพวกที่เป็น octahedral diorganotin dihalide complexes ที่มี N-donor ligand มีผลให้หนูทดลองที่เป็นมะเร็ง (P388 leukemia) มีชีวิตยืนยาวขึ้น นอกจากนี้ diorganotin(IV) derivatives ของ 2,6-pyridine dicarboxylic acid มีสมบัติทางยาดีเยี่ยม (very high activities) ในการทดลองทาง *In vitro* ต่อเซลล์มะเร็ง leukemia cell lines (P388, L1210, P815) สารประกอบในกลุ่มนี้บางชนิด (Sadler, P.J., 1984: 290) แสดงดังรูปที่ 2.10



(20)



(21)

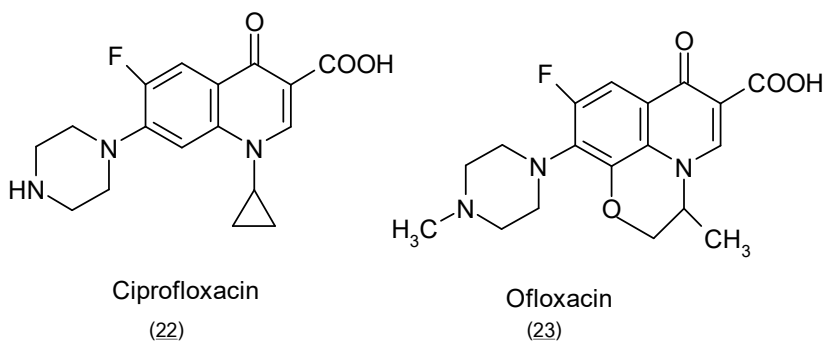
รูปที่ 2.10 Some potent antitumor organotin complexes

2.6 New class of anticancer agents

การพัฒนา new anticancer drugs ได้รับความสนใจจากนักวิจัยจากหลายประเทศและที่สำคัญได้ดำเนินการอยู่ที่ National Cancer Institute (NCI, United state) เริ่มตั้งแต่ปี 1955 เป็นต้นมา มีสารประกอบทั้งสิ้น 400,000 ตัว ได้มาจากหลายกลุ่ม นำมาคัดกรองเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ทาง antitumor activities ผลที่ได้พบว่ามีเพียงประมาณ 40 สารประกอบเท่านั้นที่ให้ผลการทดลองเป็นที่น่าพอใจและสมควรนำไปทดสอบในระยะต่างๆ (phases) ต่อไป (Sadler, P.J., 1984: 290) ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้ศึกษาค้นคว้าและนำเสนอสารประกอบกลุ่มใหม่ๆ อีกหลายกลุ่มที่น่าจะแสดงสมบัติทาง anticancer activity ที่ดี อย่างไรก็ตามในที่นี้เราจะนำเสนอสารต้านมะเร็งกลุ่มใหม่ที่น่าจะเป็น anticancer activity ที่ดีนั่นคือ ควิโนโลน (quinolone) เนื่องจากสารประกอบในกลุ่มนี้ไม่เป็นพิษ (relatively non-toxic antibiotic compounds) เป็นยาที่มีสมบัติ easily administered orally และสามารถแพร่กระจายและซึมผ่านเนื้อเยื่อไปสู่เป้าหมายได้ดี บางชนิดยังแสดงสมบัติเป็น high inhibitory activity ไม่เพียงแต่ต่อต้าน bacterial topoisomerases แต่ยังคงต่อต้าน eukaryotic topoisomerases อีกด้วย สารเหล่านี้ toxic ต่อ cultured mammalian

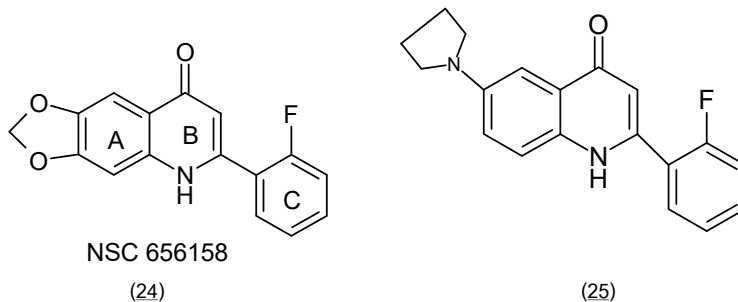
cells และ แสดงการออกฤทธิ์ที่ดีต่อ animal tumor models ดังนั้นสารประกอบเหล่านี้จึงถือว่าเป็น new anticancer agent ที่ควรให้ความสนใจพัฒนาศึกษาวิจัยอย่างจริงจัง (Sissi,C., 2003: 439)

Sear *et al.* (Sear, T.M., 1996: 757) ศึกษาผลของ ciprofloxacin และ ofloxacin ต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งบางชนิดดังนี้ bladder cancer, TCCSUP, T24 และ J82 cell lines โดยใช้เทคนิค MTT assay พบว่า quinolone ทั้งสองสามารถขัดขวางการเจริญ (proliferation) และการสังเคราะห์ DNA ในลักษณะของการตอบสนองแบบ concentration – และ time – dependent manner

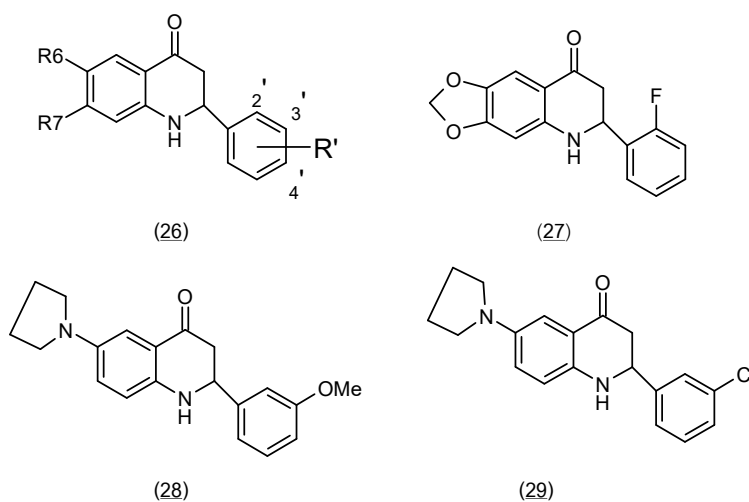


รูปที่ 2.11 Structure of Ciprofloxacin and Ofloxacin

Xia *et al.* (Xia,Y., 2001: 3932) ได้สังเคราะห์และประเมินประสิทธิภาพของ fluorinated 2-phenyl-4-quinolone derivatives ต่อ (against) human tumor cell lines (60 cell lines) ผลปรากฏว่าสารประกอบที่มีหมู่คีโตน (ketone) ต่ออยู่จะแสดง activity ที่ดี เช่น 2'-6-pyrrol-2-phenyl-4-quinolone (25) ดังรูปที่ 2.12 จะมี potent cytotoxic activities สูงสุดด้วยค่า $IC_{50} < 8.00 \mu M$ ต่อด้าน renal และ melama cell lines นอกจากนั้นสารประกอบนี้ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง tubulin polymerization ($IC_{50} 0.46 \mu M$) อีกด้วย ในเวลาใกล้เคียงกันนักวิจัยกลุ่มนี้ยังได้สังเคราะห์สารอนุกรมหนึ่งขึ้นมาคือ 6,7,2',3',4'-substituted-1,2,3,4-tetrahydro-2-phenyl-4-quinolones (Xia, Y., 1998: 1155) ดัง รูปที่ 2.13



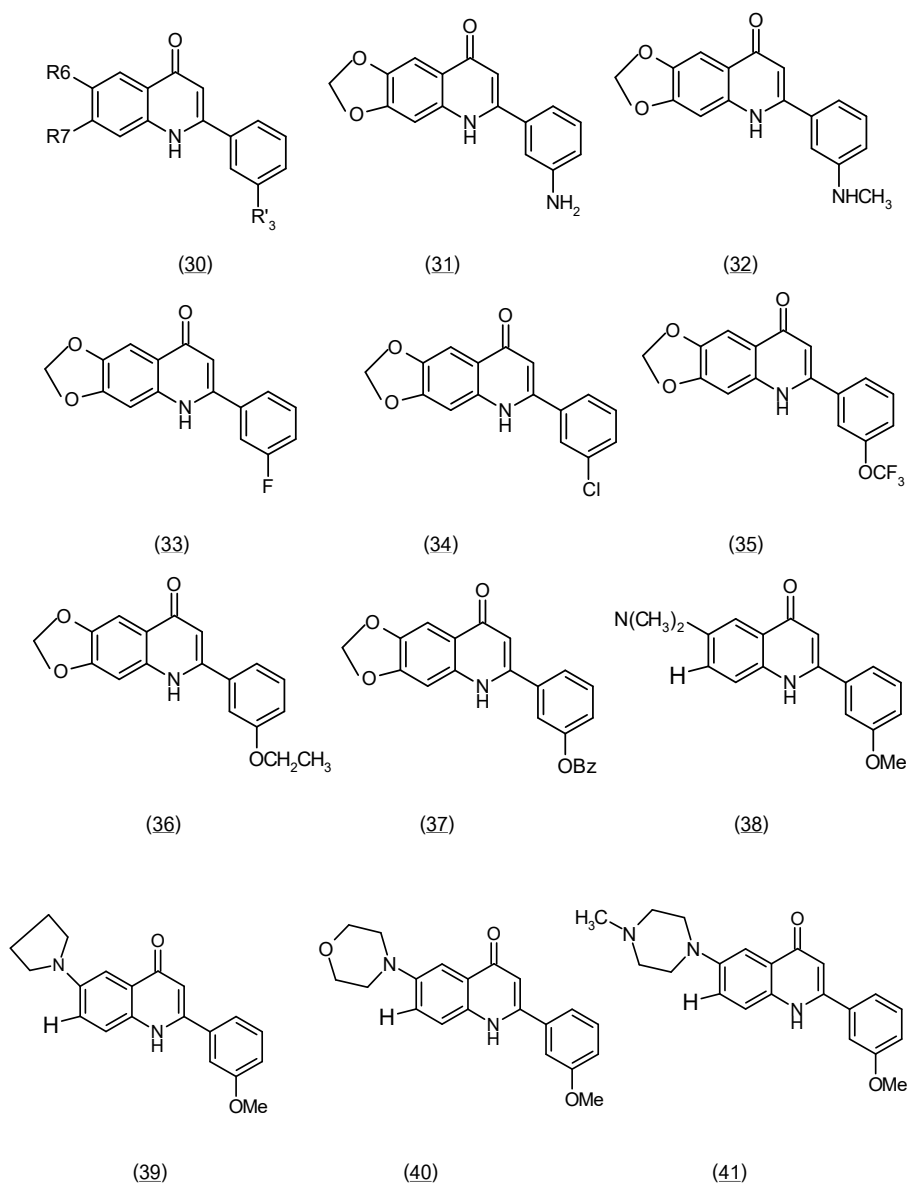
รูปที่ 2.12 Structures of fluorinated quinolones



รูปที่ 2.13 The series of 6,7,2',3',4'-substituted-1,2,3,4-tetrahydro-2-phenyl-4-quinolones.

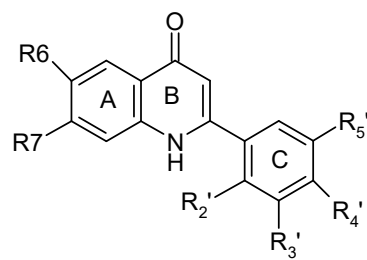
และประเมินสมบัติ cytotoxic activity ต่อ human tumor cell lines เช่น ileocecal carcinoma (HCT-8), breast cancer (MCF-7), lung carcinoma (A-549), epidermoid carcinoma ของ nasopharynx (KB), renal cancer (CAKI-1) และ melanoma cancer (SKMEL-2) นอกจากนี้ บางสารยังแสดงสมบัติ strong cytotoxic effects ด้วยค่า ED_{50} ในช่วง nanomolar หรือ subnanomolar ในทุก tumor cell lines โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวก pure (-)-isomers จะแสดงสมบัติทาง biological activity สูงกว่าพวก racemate หรือ (+)-isomers

Li *et al.* (Li, L., 1994: 1126) ได้ออกแบบและสังเคราะห์อนุกรมของ 3',6,7-substituted 2-phenyl-4-quinolones (รูปที่ 2.14) เพื่อทดสอบสมบัติทาง antimitotic antitumor agents ผลปรากฏว่าทุกสารแสดงสมบัติ cytotoxic effects ต่อ human tumor cell lines หลายชนิด เช่น non-small cell lung, colon, central nervous system (CNS), ovary, prostate และ breast cancer โดยแสดงสมบัติ strong cytotoxic effects ต่อ tumor cell lines ด้วยค่า IC_{50} ในระดับ micromolar หรือ nanomolar

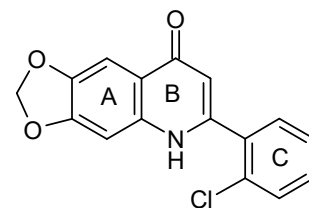


รูปที่ 2.14 The series of 3',6,7-substituted 2-phenyl-4-quinolones.

ต่อมานักวิทยาศาสตร์กลุ่มนี้ (Li, L., 1994: 3400) ยังได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางโครงสร้างต่อการออกฤทธิ์ (structure-activity relationship; SAR) ของอนุกรม 2-phenyl-4-quinolones และอนุกรมของ 6,7-methylenedioxy-substituted (รูปที่ 2.15) สารประกอบเหล่านี้ได้นำไปทดสอบกับ human tumor cell lines ประมาณ 60 cell lines ผลปรากฏว่าสารแสดง strong cytotoxic effects ต่อ breast cancer cell lines เช่น MCF-7/ADR-RES, MDA-MB-231/ATCC และ MDA-N ด้วยค่า $\log IC_{50}$ ในหน่วย μM



(42)

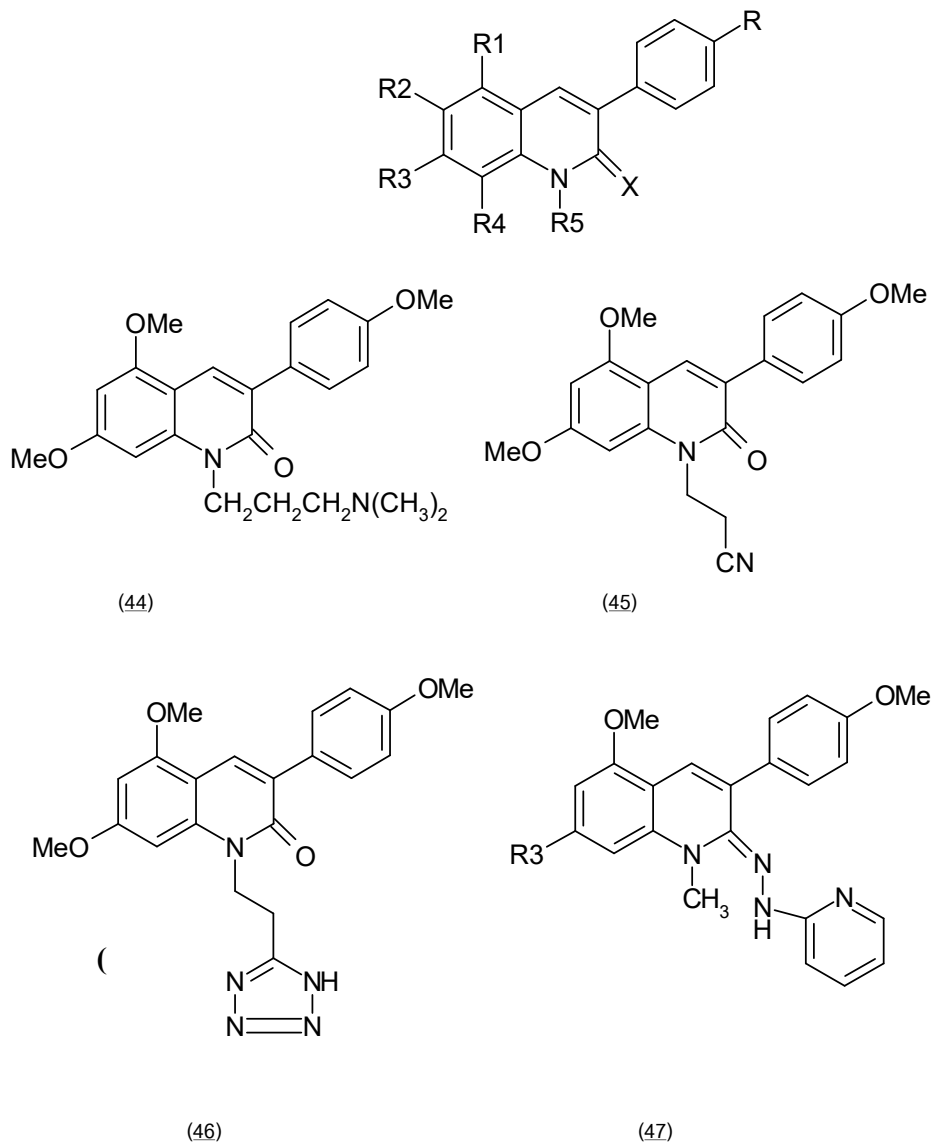


(43)

รูปที่ 2.15 General structure of 6,7-methylenedioxy-substituted of 2-phenyl-4-quinolone series.

และยังพบว่า methylenedioxy-substituted compounds แสดงสมบัติการออกฤทธิ์สูงกว่า dimethoxy- substituted หรือ unsubstituted compounds

Joseph *et al.* (Joseph, B., 2002: 2453) สังเคราะห์อนุพันธ์ของ 3-aryl-2-quinolone และประเมินค่าทางการออกฤทธิ์ทั้ง *in vitro* และ *in vivo* anticancer activity พบว่าผลทาง *in vitro* ต่อ human cancer cell lines 12 ชนิด สารประกอบเหล่านี้ไม่แสดง cytotoxic effect ส่วนสารประกอบ 44, 45, 46, 47 สามารถลดการ migration ของ breast cancer cell lines อย่างชัดเจนที่ความเข้มข้น 10^{-7} M และจากผลทาง *in vivo* แสดงว่าสารประกอบทั้งหมดไม่เป็นพิษ (non-toxic) ส่วนสารประกอบที่ 46 เมื่อนำไปรวมกับ doxorubicin หรือ etoposide จะเพิ่มสมบัติ antitumor action ขึ้น ดังนั้นอนุพันธ์ของ 2-quinolone สามารถเพิ่มประสิทธิภาพทางยาเพื่อต่อต้านโรคมะเร็งโดยการรวมกับ cytotoxic agents อื่นๆ

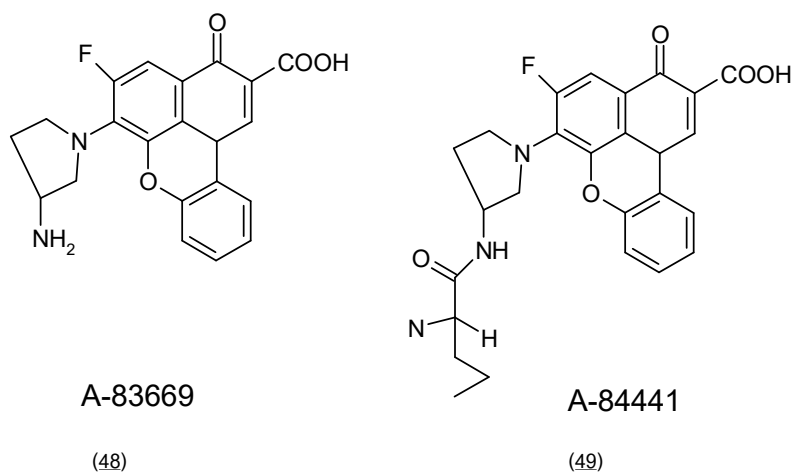


รูปที่ 2.16 The structure of 3-aryl-2-quinolone derivatives.

Jun *et al.* (Jun, Y.-T., 2003: 1161) ได้วิเคราะห์ผลของ ciprofloxacin และ roxithromycin (RXM) ต่อการมีชีวิต (viability) ของ activated Jurkat T cells และการปรากฏ (expression) ของตัวควบคุมกระบวนการตายตามธรรมชาติของเซลล์ (apoptosis) เช่น Fas, FasL, Bcl-2, Bax, caspase-3 และ caspase-8 ผลปรากฏว่ายาทั้งสองแสดง anti-CD3-activated Jurkat T cells มีชีวิตอยู่น้อยกว่า untreated cells นอกจากนี้ ciprofloxacin หรือ

RXM ยังกระตุ้นให้เกิดการตายของ activated Jurkat T cells ในลักษณะของ concentration-dependent manner โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีการใช้ ciprofloxacin จะเห็นผลที่ชัดเจน นอกจากนี้ ciprofloxacin ยังทำให้เกิดการแตกตัว (fragmentation) ที่ความเข้มข้นสูง และเมื่อเติม RXM ลงไปพบว่ามีการแตกตัวมีมากขึ้น แต่ไม่แสดงสมบัติ concentration dependency แต่อย่างใด สำหรับเปอร์เซ็นต์การแสดงออกของ Fas จะมีมากขึ้นใน control cell เมื่อเปรียบเทียบกับ uncontrolled cell ส่วนการแสดงออกของ FasL เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเติม ciprofloxacin ลงในเซลล์ มากกว่าเมื่อเติม RXM ลงในเซลล์ สำหรับอัตราส่วนระหว่าง Bcl-2/Bax ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของการใช้ยาทั้งสองชนิด ส่วน caspase-3 และ caspase-8 activities จะเพิ่มขึ้นใน control cells โดย ciprofloxacin จะเพิ่ม (up-regulated) ทั้ง caspase-3 และ caspase-8 ณ ที่ความเข้มข้นสูงๆ ส่วนกรณีของ RXM จะเพิ่มขึ้น เฉพาะ caspase-3 เท่านั้น

Clement *et al.* (Clement, J. J., 1995: 830) พบว่า quinolone A-84441 นี้ active ทั้งต่อ *in vitro* และ *in vivo* ใน murine และ human tumors เมื่อเปรียบเทียบกับ parent compound (A-83669) ด้วยค่า IC_{50} ในช่วง 0.03-0.49 μM และสาร A-84441 ออกฤทธิ์ต่อ solid tumors เช่น S.C. murine tumor xenografts และที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ A-84441 ออกฤทธิ์อย่างมากต่อ murine leukemia cells มากกว่า normal murine bone marrow cells



รูปที่ 2.17 Structure of quinobenzoxazine antitumor agents.

Yamashita *et al.* (Yamashita, Y., 1992: 2818) ได้ประเมินประสิทธิภาพของ quinolone 90 ตัว เพื่อการชักนำให้ mammalian topoisomerase II mediated DNA cleavage

และสมบัติทาง *in vivo* antitumor activity พบว่า quinolone 10 ตัวทำให้เกิด linear DNA มากกว่า 10 % ของ substrate supercoiled DNA cleavage assay และพบว่า quinolone ทุกตัวช่วยให้อายุของ murine leukemia p388 model เพิ่มขึ้น 20 % และเป็นที่น่าสังเกตว่า quinolone กลุ่มที่มีหมู่ halogen ที่ตำแหน่ง C-6 , C-8 และ มี cyclopropyl ที่ตำแหน่ง N-1 นั้น แสดงว่า quinolone กลุ่มนี้เป็น antitumor กลุ่มใหม่ที่มีเป้าหมาย (target) ของการออกฤทธิ์อยู่ที่ mammalian topoisomerase II

Aranha และ Sarkar (Aranha, O. and F. H. Sarkar , 2000: 891) ได้ศึกษาถึง chemotherapeutic effects ของ ciprofloxacin ต่อมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (bladder cancer) พบว่ายาชนิดนี้สามารถขัดขวาง (inhibited) bladder cancer cell growth และชักนำให้ S/G2 M หยุดการทำงานในวงซีพของเซลล์ โดยการควบคุมยีนที่สำคัญใน cell cycle และกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ที่ความเข้มข้นของยาในช่วง 50-400 μM นอกจากนั้นนักวิจัยในกลุ่มนี้ (Aranha, O., 2003: 787) ยังได้ศึกษาผลของยานี้ต่อ androgen independent prostate carcinoma PC-3 cells เปรียบเทียบกับ non-tumorigenic prostate epithelial cells ที่ความเข้มข้นระหว่าง 25-400 μM ผลปรากฏว่ายานี้แสดง dose- และ time-dependent inhibition ของการเจริญเติบโตของเซลล์ และยับยั้งวงซีพของเซลล์ ขณะเดียวกันก็ชักนำให้เกิด apoptosis นอกจากนั้นยังลดยีน p21^{WAF1} ในช่วงเวลา 12 ชั่วโมงที่ความเข้มข้น 100-200 μM และทำให้อัตราส่วนของ Bax/Bcl-2 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญด้วยการเคลื่อนที่ของ Bax ไปยัง mitochondria แล้วเกิดการกระตุ้น (activation) เอนไซม์ caspase-3 อีกด้วย

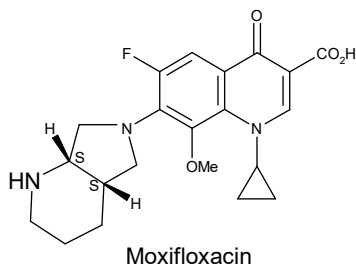
ต่อมากลุ่มของ Yamakuchi (Yamakuchi, M., 1997: 213) ได้แสดงให้เห็นว่า ofloxacin และไอโซเมอร์ของมัน (levofloxacin) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งชนิด transitional cell carcinoma cell lines (T24 และ BOY) ที่ความเข้มข้นมากกว่า 200 μM โดยที่ยาทั้งสองนี้อาจไปมีผลต่อเอนไซม์ telomerase ส่วนกลไกการออกฤทธิ์ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

Ebisuno (Ebisuno, S., 1997: 2263) แสดงให้เห็นว่า quinolone สองชนิดคือ fleroxacin และ ciprofloxacin ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ transitional carcinoma cell lines (T24 และ MBT-2) โดย ciprofloxacin มีความสามารถในการยับยั้งที่ชัดเจนกว่า fleroxacin ต่อเซลล์ MBT-2 cell lines ส่วนผลที่มีต่อ T24 cell lines ไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจน

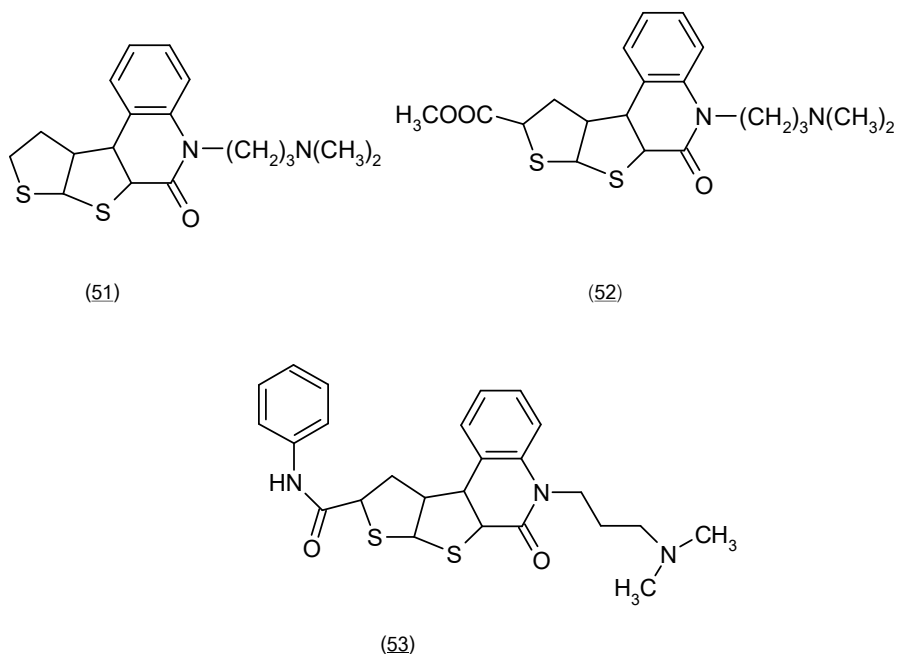
นักวิจัยกลุ่มของ Chu (Chu, D.T.W., 1992: 275) และ กลุ่มของ Yamashita (Yamashita, Y., 1992: 1818) ได้แสดงให้เห็นว่า quinolone ที่มีหมู่ halogen ที่ C-6, C-8 และมี cyclopropyl ที่ตำแหน่ง N-1 จะส่งผลให้ quinolone ออกฤทธิ์ต่อต้านเนื้องอก (antitumor) ในหนู

ทดลอง ตลอดจนมนุษย์ได้ดี ส่วนกลุ่มของ Forsgren (Forsgren, A., 1987: 774) ก็ได้แสดงให้เห็นว่า quinolone หลายชนิดสามารถออกฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของ mitogen-stimulated lymphocytes และยังแสดงให้เห็นว่า ciprofloxacin สามารถออกฤทธิ์ต้านเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 20 μM และให้ผลเช่นเดียวกับที่พบใน mouse fibroblast cell lines 3T3 และ human fibroblast cell line FS-2 อีกด้วย ส่วน Chinese hamster ovary cell line CHO-k1 และ mouse embryo fibroblast cell line 3T6 นั้นพบว่าจะดื้อต่อ ciprofloxacin นอกจากนี้ นักวิจัยกลุ่มนี้ยังแสดงให้เห็นว่า ciprofloxacin สามารถขัดขวางวงชีพของเซลล์ในระยะ S และ G2/M โดยชะลอการกลับคืนสู่ G1 (Forsgren, A., 1987: 768)

Choi *et al.* (Choi, J.-H., 2003: 3704) ได้แสดงให้เห็นถึงผลของ moxifloxacin ต่อการผลิต pro-inflammatory cytokines จาก human peripheral blood mononuclear cell (PBMCs) โดย moxifloxacin สามารถยับยั้งการผลิต tumor necrosis factor alpha (TNF- α) และ interleukin-6 (IL-6) โดย PBMCs ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS), lipoteichoic acid (LTA) และ heat-killed bacteria ด้วยการออกฤทธิ์ในลักษณะ concentration dependent manner ที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (non-cytotoxic effects) จากการทดลองทางเทคนิค western blot analysis พบว่า moxifloxacin สามารถลดการแตกตัวของ I κ B α และลดระดับของ pro-inflammatory cytokines ลง



Dogankoružnjak *et al.* (Dogankoružnjak, J., 2002: 656) พบว่า อนุพันธ์ของควิโนโลน (quinolone derivative) thieno[3',2':4,5] thieno[2,3-c] quinolones แสดงสมบัติ cytotoxic activities ต่อ malignant cell lines เช่น pancreatic carcinoma (MiaPaca-2), breast cancer (MCF-7), cervical carcinoma (HeLa), laryngeal carcinoma (Hep-2), colon carcinoma (CaCo-2), melanoma (HBL) และ Normal Human Fibroblasts (WI-38) สารประกอบทุกตัวของชุดนี้มีผลทาง antitumor activity ด้วยค่า IC₅₀ ในช่วง 0.1-51 μM



รูปที่ 2.18 Structures of the thieno [3',2':4,5] thieno [2,3-c]quinolone Derivatives

Nishijima *et al.* (Nishijima, C., 2002: 21) ศึกษาผลของควิโนโลนต่อการยับยั้ง human hepatocellular carcinoma cell line (HepG2) ในลักษณะของการออกฤทธิ์แบบ dose- และ time-dependent manner โดยในจำนวนควิโนโลนที่ใช้นั้น ciprofloxacin, sparfloxacin, norfloxacin และ enoxacin ชักนำ HepG2 cell ให้เกิดการตายตามธรรมชาติ (apoptosis) เนื่องจาก nuclei และ apoptotic bodies เกิดการรวมกัน ส่วนตัวยับยั้งเอนไซม์ (caspase) สามารถจะถูกรบกวนด้วยควิโนโลน นั้นแสดงว่า caspases จะถูกกระตุ้นเมื่อรักษาด้วยควิโนโลน

Shalit *et al.* (Shalit, I., 2001: 287) พบว่าควิโนโลนบางตัว เช่น moxifloxacin และ ciprofloxacin สามารถเปลี่ยน immune suppressive effects ได้ ส่วน Hussy *et al.* (Hussy, P., 1986: 1073) ได้ศึกษาอิทธิพลทาง *in vitro* ของ ciprofloxacin, nalidixic acid, norfloxacin , ofloxacin และ novobiocin ต่อ eukaryotic DNA replication พบว่าควิโนโลนที่ความเข้มข้นมากกว่า 100 μM สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ได้

Boya *et al.* (Boya, P., 2003: 1323) ได้ศึกษาสมบัติทาง cytotoxic action ของควิโนโลน 2 ชนิด คือ ciprofloxacin และ norfloxacin พบว่าสามารถชักนำ lysosomal membrane permeabilization (LMP) โดยตรวจวัดได้จากการปลดปล่อย cathepsins จาก lysosomes

Herold *et al.* (Herold, C., 2002: 443) ศึกษาผลของ ciprofloxacin ต่อ colon carcinoma lines เช่น CC-531, SW-403 และ HT-29 โดยใช้ HepG2 hepatoma เป็น control cells ผลการทดลองพบว่า ciprofloxacin สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ของทุก colon carcinoma cells โดยออกฤทธิ์ในลักษณะ dose- และ time-dependent manner ขณะที่ hepatoma cells ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

จากข้อมูลข้างต้นจะพบว่านักวิจัยได้ศึกษาค้นคว้า ออกแบบ สังเคราะห์ และทดสอบ ประสิทธิภาพของยามากมายหลายชนิด รวมทั้ง quinolone ligands ในการออกฤทธิ์รักษามะเร็งหลายชนิดในระยะต่างๆ แต่ผลที่ได้ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ และ quinolone หลายตัวยังอยู่ในระหว่างการทดลอง นอกจากนี้การศึกษาด้าน quinolone metal conjugates ยังมีน้อยมาก จึงกระตุ้นให้ผู้วิจัยมุ่งศึกษาค้นคว้าขยายกรอบความรู้ในด้านนี้

ในบทที่ 3 จะได้เสนอรายละเอียดเกี่ยวกับเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมีที่ใช้ที่ใช้ วิธีการเตรียมตัวทำละลาย การสังเคราะห์สารตัวอย่าง การศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (physicochemical properties) และการศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activities)

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. UV-Visible Spectrophotometer
2. Analytical balance
3. FTIR Spectrophotometer
4. Magnetic stirrer พร้อม magnetic bar
5. Condenser ชนิดไส้ตรง
6. Micropipet
7. UV- lamp, Gamag

3.2 สารเคมี

1. Levofloxacin
2. Copper (II) chloride dihydrate
3. Methanol
4. Benzene
5. Acetic acid
6. Ethyl acetate
7. Distillation water
8. Iodine
9. n-butanol
10. 2,2'-bipyridine
11. 1,10 -phenanthroline
12. Silica gel (Al plate)

3.3 การเตรียมสารละลาย

- 3.3.1 การเตรียมตัวทำละลายเพื่อตรวจสอบความสมบูรณ์ของปฏิกิริยาต่างๆ ด้วยเทคนิค Thinlayer chromatography (TLC)

- BAW เตรียมได้จาก n-butanol, acetic acid และ water ในอัตราส่วน 4:1:5 v/v

- Ethyl acetate benzene อัตราส่วนต่างๆ เช่น 7:3 และ 1:3 v/v

- water methanol อัตราส่วน 1:1 v/v

- propanol chloroform อัตราส่วน 8:2 v/v

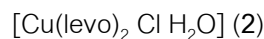
- acetonitrile water อัตราส่วน 1:1 v/v

- methanol chloroform อัตราส่วน 7:3 v/v

- chloroform methanol อัตราส่วน 7:3 v/v

3.4 การสังเคราะห์สาร

3.4.1 การสังเคราะห์ levofloxacin copper complexes



ละลายสารประกอบของ levofloxacin (1)(2 mmol) ในเมทานอล แล้วเติม CuCl_2 (1mmol) ในเมทานอล ปรับค่าความเป็นกรด เบส ประมาณ 6 (pH 6) ด้วย KOH (1 mmol) จากนั้นกวนสารละลายสีเขียวใส พร้อมกับให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาตามที่กำหนดแล้วจึงกรองสารนี้เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ambient temperature)

3.4.2 การสังเคราะห์ $[\text{Cu}(\text{levo})(\text{bipy})\text{Cl}] (3)$

สารละลายของ levofloxacin (0.05 g, 1 mmol) เติมลงในสารผสมของ CuCl_2 (0.0236 g, 1 mmol) และ bipyridine (0.0216 g, 1 mmol) ในเมทานอล (10 ml) จากนั้นกวนสารละลายนี้ต่อเนื่องไปเรื่อยๆ พร้อมกับอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วกรองและลดปริมาตรลงด้วยระบบสูญญากาศ (rotavapor) ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.4.3 การสังเคราะห์ $[\text{Cu}(\text{levo})(\text{phen})\text{Cl}] (4)$

สารละลายของ levofloxacin (0.05 g, 1 mmol) เติมลงในสารผสมของ CuCl_2 (0.0236 g, 1 mmol) และ 1,10-phenanthroline (0.0274 g, 1 mmol) ในเมทานอล (10 ml) จากนั้นกวนสารละลายสีเขียวใสต่อเนื่องไปเรื่อยๆ พร้อมกับอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วกรองและลดปริมาตรลงด้วยระบบสูญญากาศ (rotavapor) ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.5 การศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์

นำสารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดมาศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ (physicochemical properties) โดยใช้เทคนิคที่สำคัญต่างๆ ดังต่อไปนี้

3.5.1 IR spectroscopy

Infrared spectra วัดด้วยเทคนิคโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) ด้วยเครื่อง Perkin Elmer infrared spectrophotometer ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

3.5.2 การศึกษาธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารที่สังเคราะห์ได้ (compositional studies)

วิเคราะห์หาธาตุ carbon, hydrogen และ nitrogen ในลิแกนด์ และสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง CHNS Analyser (Perkin Elmer PE2400 Series II) ที่ Scientific and Technological Research Equipment Center จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

3.5.3 วัดสมบัติการนำไฟฟ้า (conductivity measurement)

เตรียมสารละลายที่ต้องการวัดค่าการนำไฟฟ้าที่ความเข้มข้น 0.001 M ใน dimethyl sulfoxide (DMSO) ด้วยเครื่อง Microprocessor Conductivity Meter LF 3000 WTW, Germany ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

3.6 การศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological activities)

3.6.1 การวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่สังเคราะห์ได้เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน Ascorbic acid และ อนุมูลอิสระมาตรฐาน DPPH

3.6.2 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติและการต้านเซลล์มะเร็งเต้านม

ผู้วิจัยได้ส่งทดสอบความสามารถในการต้านมะเร็งและความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติที่ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

3.6.3 ทดสอบการต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

1) นำอาหาร Brain Heart Infusion agar ที่เตรียมไว้ในจานเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปิเปตน้ำที่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 0.1 mL วางบนอาหาร นำเอาเชื้อแบคทีเรีย 1 loop ใส่ในน้ำ แล้วเขี่ยเชื้อให้เต็มจาน

เชื้อ

- 2) นำเอา Paper disc ที่ใส่สารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมาวางบนจานเลี้ยง
- 3) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัด Clear Zone

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ในบทนี้ผู้วิจัยได้นำเสนอผลที่ได้จากการศึกษาทั้งในด้านองค์ประกอบสมบัติทางเคมี ฟิสิกส์ และสมบัติของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพตามลำดับดังนี้

4.1 ผลที่ได้จากการสังเคราะห์

ปฏิกิริยาระหว่างเกลือของ copper กับ levofloxacin ligand ในสถานะที่เป็นกลาง ด้วยการให้ความร้อน (refluxed) พร้อมกับคนอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง ได้ผลึกสีเขียว (microcrystalline green product) ดังตารางที่ 4.1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีอัตราส่วนระหว่าง metal:ligand เป็น 1:1 ด้วยสูตรทั่วไปเป็น $[Cu(levo)(L)_n ClH_2O]Cl$ เมื่อ levo=levofloxacin, L=neutral acillary ligands และจากการวัดสมบัติการนำไฟฟ้า (molar conductivity data) ใน DMSO ซึ่งให้เห็นว่า สารประกอบเชิงซ้อนทั้งหมดมีสัดส่วนปริมาณสัมพันธ์เป็น 1:1 แสดงว่าสารละลายเป็นสารไอออนิก (ionic nature)

ตารางที่ 4.1 สูตรและสมบัติทางกายภาพของสารประกอบที่ได้จากการสังเคราะห์

สารประกอบ	Empirical Formula	MW	Color	Yield (%)
2	$[Cu(levo)(H_2O)Cl]Cl$	478.35	Green	75
3	$[Cu(levo)(bipy)Cl]Cl$	623.08	Green	83
4	$[Cu(levo)(phen)Cl]Cl$	581.04	Green	79

ตารางที่ 4.2 สมบัติการนำไฟฟ้าและร้อยละของธาตุองค์ประกอบ

สารประกอบ	$\Lambda_M^\#$	Elemental Analysis							
		C		H		N		Cu	
		Calc.	Found	Calc.	Found	Calc.	Found	Calc.	Found
2	45	42.5	42.9	3.9	4.0	8.4	8.2	20.7	20.5
3	50	51.6	51.5	4.8	4.8	12.0	11.8	10.9	10.8
4	50	33.2	33.4	3.8	3.9	6.0	6.1	10.2	10.4

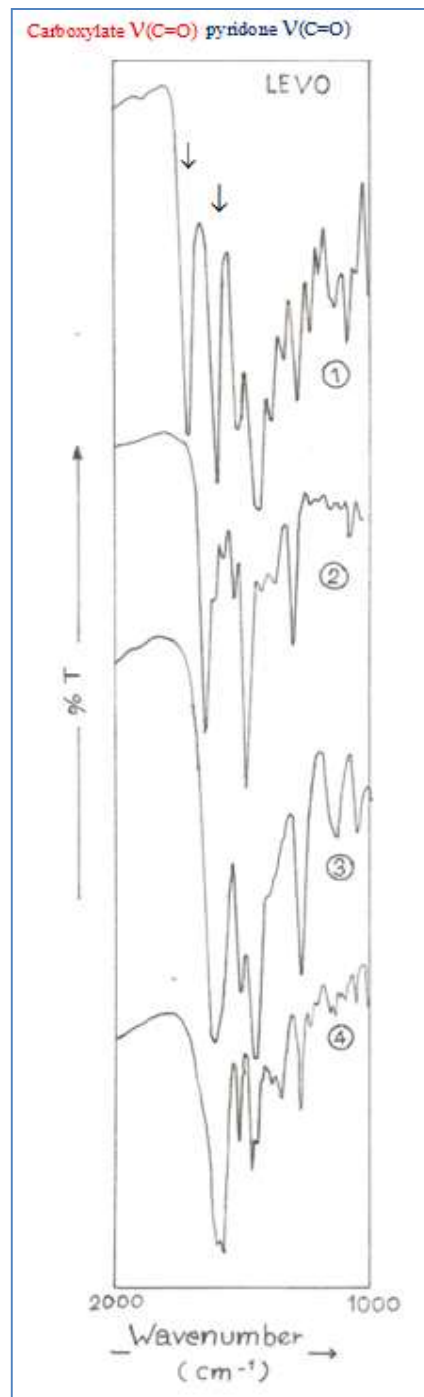
$\Omega^{-1}cm^2mol^{-1}$ ใน DMSO

4.2 ผลที่ได้จากการศึกษาสมบัติทางเคมีฟิสิกส์

4.2.1 Infrared Spectroscopy

จากสเปกตรัม IR ของ levofloxacin ligand แสดงให้เห็นแถบ (band) ที่แตกต่างกัน 2 แถบคือ ที่ 1700 cm^{-1} สอดคล้องกับสัญญาณการยืดหด (stretching mode) ของหมู่ฟังก์ชัน carboxylate $\nu(\text{C}=\text{O})$ และอีกค่าหนึ่งคือที่ 1620 cm^{-1} เป็นสมบัติทาง stretching vibration ของ pyridone $\nu(\text{C}=\text{O})$ เมื่อเกิด copper complexation (สารประกอบที่ 2) แถบที่ 1700 cm^{-1} หายไปในขณะที่ pyridine carbonyl absorption band จะปรากฏที่ความถี่ต่ำลง (low frequency) อยู่ในช่วงประมาณ 1614 cm^{-1} แสดงว่า metal coordination เกิดขึ้นโดยการใช้ donor group 2 กลุ่มนี้เข้าร่วมในปฏิกิริยา สำหรับสารประกอบที่ 3 แสดงแถบของความถี่เข้มซึ่งเป็นลักษณะของ bipyridyl moiety ที่เกี่ยวกับ out-of-plane bending ของ ring hydrogens ปรากฏที่ 771 cm^{-1} ในขณะที่ heterocyclic ring frequencies ของ bipyridyl moiety ปรากฏที่ 1452 cm^{-1} และ 1266 cm^{-1} ตามลำดับ สำหรับสารประกอบที่ 4 แสดงแถบความถี่เข้มที่ 730 cm^{-1} ในขณะเดียวกัน hydrogens บน carbocyclic ring ก็ปรากฏที่ 821 cm^{-1} ตามลำดับ

สารประกอบทั้งหมดแสดง broad band ในช่วง $3435 - 3416\text{ cm}^{-1}$ แสดงว่าในโมเลกุลของสารประกอบมี coordinated water molecules ซึ่งจะถูกแทนที่ด้วย ligand ที่มีค่า higher electronegativity ของ nitrogen atoms ดังเช่นในรายงานการวิจัยของกลุ่มเรา และกลุ่มอื่นๆ จากข้อมูลเหล่านี้เราสามารถกล่าวได้ว่า copper conjugates levofloxacin ligand

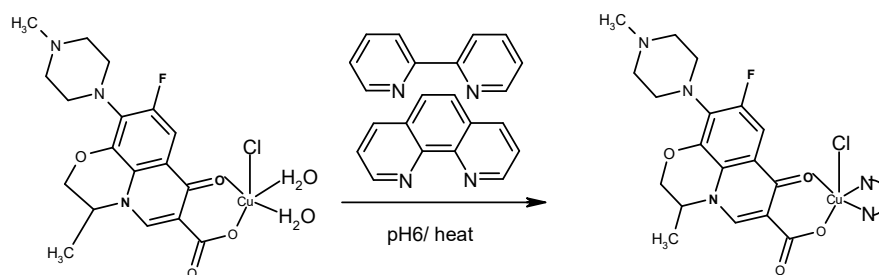


รูปที่ 4.1 Fingerprint infrared spectra of Levofloxacin (1) and their copper complexes (2-4).

ตารางที่ 4.3 พีคของ IR ที่สำคัญของสารประกอบ levofloxacin copper complexes[#]

สารประกอบ	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C=O})_c$	$\nu(\text{C=O})_p$	ν_{asym} (COO)	ν_{sym} (COO)	$\Delta\nu(\text{COO})$
1	-	1700	1620			
2	3435	-	1630	1520	1278	242
3	3416	-	1614	1519	1266	253
4	3435	-	1614	1509	1271	239

ค่าที่ได้ทั้งหมดอยู่ในหน่วย cm^{-1} วัดจากเทคนิค KBr



รูปที่ 4.2: Proposed square pyramidal structures for copper conjugates (2-4) of levofloxacin.

4.3 ผลที่ได้จากการศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.3.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

ผลการการศึกษาความสามารถของสารประกอบในการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซีเป็นดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบ levofloxacin copper complexes

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	Abs. Control	Abs. สาร 2	Abs. สาร 3	Abs. สาร 4
31.25	0.485	1.437	1.463	0.992
62.50	0.052	1.444	1.452	0.992
125.00	0.041	1.431	1.426	0.945
250.00	0.040	1.429	1.416	0.998
500.00	0.034	1.429	1.414	0.987
1000.00	0.029	1.422	1.306	0.990

ผลที่ได้พบว่าสารประกอบเหล่านี้มีออกฤทธิ์ทางชีวภาพต้านอนุมูลอิสระได้น้อย

4.3.2 สมบัติการเป็นพิษต่อเซลล์ปกติและการต้านมะเร็งเต้านม

ตารางที่ 4.5 ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytotoxicity against Vero cells)

สารประกอบ	Cytotoxicity activity	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
1	Non cytotoxic	-
2	Non cytotoxic	-
3	Non cytotoxic	-
4	cytotoxic	29.79

ตารางที่ 4.6 ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (Anticancer: BC-Breast cancer)

สารประกอบ	Activity	IC ₅₀ (µg/ml)
1	inactive	-
2	inactive	-
3	inactive	-
4	active	43.13

จากตารางที่ 4.5 และ 4.6 พบว่าสารประกอบในกลุ่มนี้ส่วนมากไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ และสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีคือสารประกอบหมายเลข 4 คือ สารประกอบของ copper levofloxacin ที่มีลิแกนด์ช่วยเป็น phenanthroline

จากผลนี้สามารถสรุปได้ตามบทที่ 5

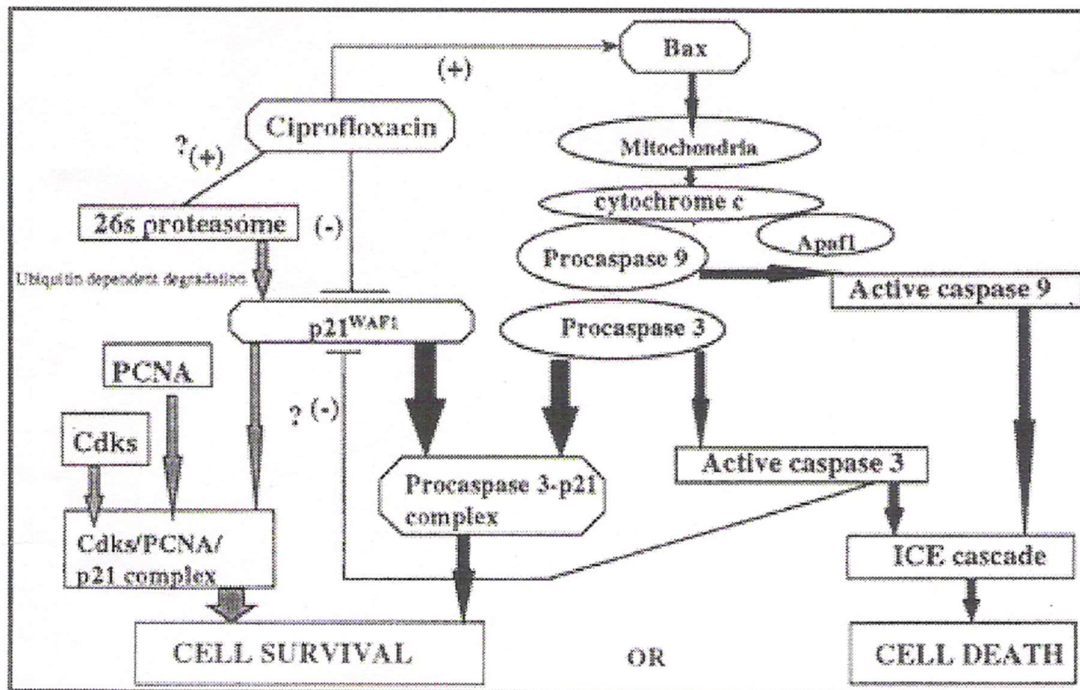
บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

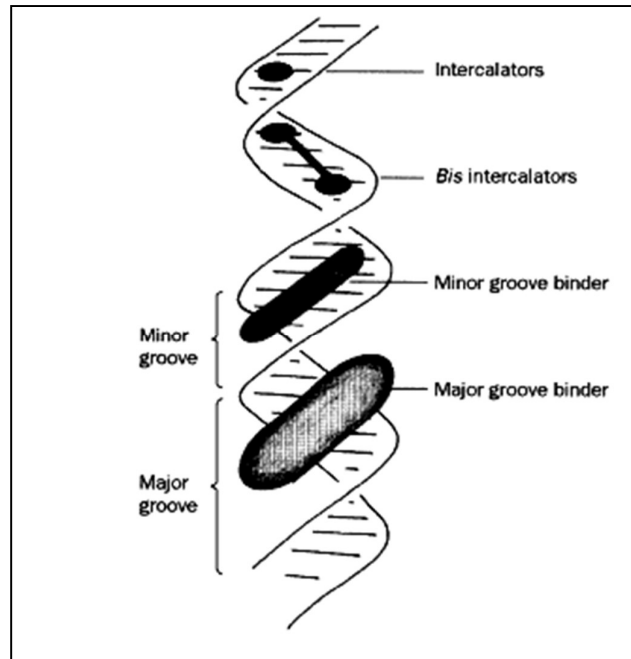
การวิจัยในครั้งนี้เราได้สังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างธาตุทรานซิชันของแดงกับ antibiotic levofloxacin ligand ที่มี neutral acillary ligands อยู่ด้วย สารประกอบที่ได้ทุกตัวมีอัตราส่วนระหว่าง metal:ligand เป็น 1:1 มีรูปทรงทางเรขาคณิตเป็น square pyramidal structures

สำหรับสมบัติของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพนั้นพบว่าสารประกอบทุกตัวไม่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ แต่สารประกอบสามารถออกฤทธิ์ต้านมะเร็งได้งามด้วยค่า IC_{50} ที่ต่ำ แสดงว่าสารในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งโดยผ่านทาง pathway ที่แตกต่างจากยาในกลุ่มที่ต้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งผ่านทาง การต้านอนุมูลอิสระ โดยกลไกการออกฤทธิ์ที่เป็นไปได้ดังที่กลุ่ม F. Sarkar เสนอไว้ดังรูปที่ 5.1 หรืออาจจะออกฤทธิ์รบกวนการทำงานของเอนไซม์ DNA topoisomerases หรือ เป็น DNA intercalators ดังรูปที่ 5.2 ผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้ยังเป็นการชี้ให้เห็นว่ายาในกลุ่ม antibiotic สามารถที่จะได้รับการพัฒนาให้เป็นยารักษาโรคมะเร็งได้ นอกจากนี้ยังมีข้อดีคือมีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งสูง จึงมีพิษต่อเซลล์ปกติน้อยมากดังผลที่ได้ตามตารางที่ 4.5 และ 4.6



รูปที่ 5.1: Schematic diagram showing the potential biochemical pathway

of quinolone to inhibit cell growth and induce apoptosis.



รูปที่ 5.2 Mode of DNA acting drug

5.2 ข้อเสนอแนะ

ผลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์เป็นอย่างยิ่งที่จะต้องนำไปทดสอบทาง clinical trial ต่อไป เพื่อจะได้ยารักษาโรคมะเร็งตัวใหม่ในการรักษาโรคมะเร็งเต้านมให้กับผู้ป่วยซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนมากทั่วโลก

นอกจากนี้ในการวิจัยครั้งต่อไปผู้วิจัยจะต้องทำการศึกษาเกี่ยวกับโรคมะเร็งชนิดอื่นๆ ตลอดจนทดสอบทางเทคนิค *in vivo* ต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- นิพนธ์ ตั้งคณานุกรณ์ และ คณิดา ตั้งคณานุกรณ์. (2547). สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์.
 กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- แม่น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม.(2535). Principles and Techniques of Instrumental Analysis. กรุงเทพฯ: ชวนพิมพ์.
- Aranha, O. and F. H. Sarkar (2000). *Clin. Cancer Res.*, **6**, 891.
- Aranha, O., R. Grignon, N. Fernandes, T.J. McDonnell, D.P. Wood Jr and F. H. Sarkar (2003). *Int. J. Oncology*, **22**, 787.
- Boya, P., D.M. Ojcius, M. Jäättelä and G. Kroenmer (2003).*J. Exp. Med.*, **197**, 1323.
- Boyle, F. T. and Gerad F. Costello(1998). *Chem. Soc. Rev.*, **27**,251.
- Cancer Facts and Figures, American Cancer Society, Atlanta, 1997, pp 1-17.
- Chabner, B., Cancer Principle and Practice in Oncology, V.T. Devita, S. Hellman, S.A. Rosenberg and J.B. Lippincott, Ed., Philadelphia, 1993, pp 225-417.
- Choi, J.-H., M.-J. Song, S.-H. Kim, S.-M. Choi, D.-G. Lee, J.-H. Yoo and W.-S. Shin(2003). *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47**, 3704.
- Chu, D.T.W., R. Hallas, J. Clement, J. Alder, E. McDonald and J.J. Platter (1992). *Drugs Exp.Clin. Res.*, **18**, 275.
- Clark, A. in Foye's Principles, 5th , David A. Williams & Thomas L. Lemke, Lippincott Williams & Wilkins (2002).
- Clement, J. J., N. Burres, K. Jarvis, D.T. Chu, J. Swinarski and J. Alder (1995).*Cancer Res.*, **55**, 830.
- Das, A.K., in A text book on Medicinal Aspects of Bio-inorganic Chemistry, CBS publishers and distributors, Delhi, India, 1990, pp. 160.
- D. K. Saha, S. Patitungkho, S. Padhye, D. N. Deobagkar, A. Ozarkar, M. M. Bhadbhade and R. G. Gonnade, *Trans. Med. Chem.*, **30**, 334 (2005).
- D. K. Saha, Ph.D. Thesis, University of Pune (India) 2002.
- Dogankoružnjak, J., N. Slade, B. Zamola, K. Pavelić and G. Karminski-Zamola(2002). *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 656.

- Ebisuno, S., T. Inagaki, Y. Kohjimoto and T. Ohkawa (1997). *Cancer*, **80**, 2263.
- E. Y. Bivián-Castro, F. Cervantes-Lee, G. Mendoza-Díaz, *Inorg. Chimica Acta*, **357**, 349 (2004).
- Forsgren, A., A. Bredberg, A.B. Pardee, S.F. Schlossman and T.F. Tedder(1987).
Antimicrob. Agents Chemother., **31**, 774.
- Forsgren, A., S.F. Schlossman and T.F. Tedder (1987).
Antimicrob. Agents Chemother., **31**, 768.
- Haiduc, I. (1990). *Coord. Chem. Rev.*, **99**, 253.
- Herold, C., M. Ocker, M. Ganslmayer, H. Gerauer, E. G. Hahn and D. Schuppan
(2002). *Br. J. Cancer*, **86**, 443.
- <http://www.crystalinks.com/egyptmedicine.html>, 25 October 2005.
- <http://www.library.adelaide.edu.au/ual/special/herbals.html>, 25 October 2005.
- <http://www.ehealthmd.com/library/smoking/SMO.cigarettes.html>, 25 October 2005.
- Huff, J. (1999). *Annals New York Acad. Sci.*, **895**, 56.
- Hussy, P., G. Maass, B. Tümmmler, F. Grosse and U. Schomburg (1986).
Antimicrob. Agents Chemother., **29**, 1073.
- Joseph, B., F. Darro, A. Behard, B. Lesur, F. Collignon, C. Decaestecker and R.
Kiss(2002). *J. Med. Chem.*, **45**, 2453.
- Jun, Y.-T., H.-J. Kim, M.-J. Song, J.-H. Lim, D.-G. Lee, K.-J. Han, S.-M. Choi, J.-H.
Yoo, W.-S. Shin, and J.-H. Choi (2003). *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47**, 1161.
- Kaur, P. and J. Russell(1998). *J. Biol. Chem.*, **273**, 17933.
- Li, L., H.-K. Wang, S.-C. Kuo, T.-S. Wu, A. Mauger, C. M. Lin, E. Hamel and K.-H.
Lee (1994). *J. Med. Chem.*, **37**, 3400.
- Li, L., H.-K. Wang, S.-C. Kuo, T.-S. Wu, D. Lednicer, C.M. Lin, E. Hamel and K.-H.
Lee (1994). *J. Med. Chem.*, **37**, 1126.
- Nishijima, C., K. Kawada, K. Ohara, T. Shinomiya, S. Fukuda, A. Nakamura, T. Sawai
and M. Ikekita (2002). *Res. Comm. Biochem. Cell & Mol. Biol.*, **6**, 21.
- Pai, V.B. and M.C. Nahata (2000). *Drug Safety*, **22**, 263.
- Rosenberg, B., L.V. Camp, J. Trosko and V.M. Mansour (1969). *Nature*, **222**, 385.

- Rosenberg, B. and L.V. Camp (1970). *Cancer Res.*, **30**, 1799.
- Sadler, P.J., M. Nasr and V.L. Narayanan, in M.P. Hacker, E.G. Douple and I.H. Krakoff (Eds.), *Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy (Developments in Oncology Series, Vol. 17)*, Martinus Nijhoff, Boston, MA, 1984, p.290.
- Sear, T.M., S.J. Peretsman and P.S. Dixon (1996). *J.Urol.*, **155**, 757.
- Shalit, I., Y. Kletter, D. Halperin, D. Waldman, E. Vasserman, A. Nagler and I. Fabian (2001). *Eur. J. Haematol*, **66**, 287.
- Sissi, C. and M. Palumbo (2003). *Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, **3**, 439.
- Umezawa, H. (1974). *Fed. Proc.*, **33**, 2296.
- www.google.com, *Cellular Cancer Therapy*, 25 October 2005.
- Xia, Y., Z.-Y. Yang, P. Xia, T. Hackl, E. Hamel, A. Mauger, J.-H. Wu and K.-H. Lee, (2001). *J. Med. Chem.*, **44**, 3932.
- Xia, Y., Z.-Y. Yang, P. Xia, K.F. Bastow, Y. Tachibana, S.-C. Kuo, E. Hamel, T. Hackl and K.-H. Lee (1998). *J. Med. Chem.*, **41**, 1155.
- Yamashita, Y., T. Ashizawa, M. Morimoto, J. Hosomi and H. Nakano (1992). *Cancer Res.*, **52**, 2818.
- Yamakuchi, M., M. Nakata, K.-I. Kawahara, I. Kitajima, I. Maruyama (1997). *Cancer Letters*, **119**, 213.