การสังเคราะห์และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารยับยั้งไดไฮโดรโฟเลตรีดักเทสของเชื้อมาลาเรียชนิดขึ้นสมอง *Plasmodium falciparum*

นางสาวเนตรนภา เจริญเศรษฐกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-13-0973-2

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF DIHYDROFOLATE REDUCTASE INHIBITORS OF *Plasmodium falciparum*

Miss Netnapa Charoensetakul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Chemistry
Department of Chemistry
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2000

ISBN 974-13-0973-2

Thesis Title	Synthesis and Biological Activities of Dihydrofolate Reductase Inhibitors of *Plasmodium falciparum*
By	Miss Netnapa Charoensetakul
Field of Study	Chemistry
Thesis Advisor	Assistant Professor Tirayut Vilaivan, D. Phil

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

.....Dean of Faculty of Science

(Associate Professor Wanchai Phothiphichitr, Ph.D.)

Thesis Committee

..... Chairman

(Professor Udom Kokpol, Ph.D.)

..... Thesis Advisor

(Assistant Professor Tirayut Vilaivan, D. Phil)

..... Member

(Varawut Tangpasuthadol, Ph. D.)

..... Member

(Nattaya Ngamrojnavanich, Ph. D.)

เนตรนภา เจริญเศรษฐกุล : การสังเคราะห์และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารยับยั้งไดไฮโดรโฟ-เลตรีดักเทสของเชื้อมาลาเรียชนิดขึ้นสมอง *Plasmodium falciparum* (SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF DIHYDROFOLATE REDUCTASE INHIBITORS OF *Plasmodium falciparum*) อ.ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. ธีรยุทธ วิไลวัลย์ ; 244 หน้า.
ISBN 974-13-0973-2

ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ 4,6-ไดอะมิโน-1,2-ไดไฮโดรไตรอาซีน 137 ชนิด ที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง N-1 และ C-2 แตกต่างกัน และทดสอบค่าคงที่การยังยั้งเอนไซม์ (K_i) กับเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลตรีดักเทสจากเชื้อมาลาเรียชนิด *Plasmodium falciparum* ทั้งชนิดธรรมชาติและชนิดมิวแทนต์ที่ดื้อต่อยาไซโคลกัวนิล (A16V+S108T) ข้อมูลที่ได้ทำให้เข้าใจถึงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางชีวภาพ และนำไปสู่การออกแบบสารยับยั้งที่มีประสิทธิผลต่อทั้งเอนไซม์ชนิดธรรมชาติและชนิดมิวแทนต์ ได้พบสารหลายชนิดเป็นสารยับยั้งต้นแบบที่มีศักยภาพสูงในการพัฒนาต่อไปเป็นยาต้านมาลาเรีย

ภาควิชา.....เคมี.....ลายมือชื่อนิสิต...เนตรนภา เจริญเศรษฐกุล...
สาขาวิชา.....เคมี.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา...ธีรยุทธ วิไลวัลย์...
ปีการศึกษา.....2543.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4172332423 : MAJOR CHEMISTRY
KEY WORD : DIHYDROFOLATE REDUCTASE / 4,6-DIAMINO-1,2-DIHYDRO-1,3,5-TRIAZINE / *PLASMODIUM FALCIPARUM* : SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF DIHYDROFOLATE REDUCTASE INHIBITORS OF *Plasmodium falciparum*. THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR TIRAYUT VILAIVAN, D.Phil, 244 pp. ISBN 974-13-0973-2

One hundred and thirty-seven 4,6-diamino-1,2-dihydrotriazine derivatives bearing different N-1 and C-2 substituents have been synthesized and their inhibition constants (K_i) against wild-type and cycloguanil resistant (A16V+S108T) Dihydrofolate Reductase Enzyme from *Plasmodium falciparum*. The data revealed the structure-activity relationship and lead to the design of novel inhibitors, which are effetive to both wild-type and mutant enzyme. A number of compounds of 4,6-diamino-1,2-dihydrotriazine derivatives were found to be potential lead compound to be developed into antimalarial agents.

Department.....Chemistry.....Student's signature.....

Field of study .....Chemistry.....Advisor's signature.....Tirayut Vilaivan.....

Academic year.....2000.....Co-Advisor's signature.....

ACKNOWLEDGEMENT

I wish to sincerely thank and express my deepest gratitude to Assistant Professor Dr. Tirayut Vilaivan, my thesis advisor, for his kindness, guidance, suggestions and assistance throughout the course of this research. I am also grateful to thesis examiners: Professor Dr. Udom Kokpol, Dr. Varawut Tangpasuthadol and Dr. Nattaya Ngamrojnavanich for their valuable comments and suggestions.

I would like to thank The Thailand Research Funds and The Graduate School, Chulalongkorn University for financial support of this research work; Dr. Sumalee Kamchonwongpaisom and Ms. Duenpen Japroong of the National Science and Technology Development Agency (NSTDA) for analyses of Anti-DHFR (wild-type and mutant $A_{16}VS_{108}T$ type) activity of all samples; Mr. Panuwat Padungros for synthesis of some starting materials; Ms. Amporn Ungpakornkaew at Chulalongkorn Research Equipment Centre, for Elemental analysis; Assistant Professor Dr. Amon Petsom and Ms. Nanthiga Panchan at the Institute for Genetic Engineering and Biotechnology for MALDI-TOF mass spectrometry; Department of Chemistry, Chulalongkorn University for the use of facilities equiment, glassware, and chemicals. Special thanks to Dr. Roderick W. Bates, Assistant Professor Warinthorn Chavasiri and Assistant Professor Worawan Bhanthumnawin for chemicals and glassware.

Finally, I would like to thank my parents who had encouraged me with sincere, my family for their moral support throughout the research and my best friends for their love, understanding, encouragement and social support.

CONTENTS

page

LIST OF FIGURES

page

page

page

page

page

page

page

page

page

LIST OF TABLES

page

LIST OF SCHEMES

page

page

LIST OF ABBREVIATIONS

i) Nomenclature and abbreviations of amino acids, enzymes and other biochemicals

DHFR	dihydrofolate reductase
DHFR-TS	dihydrofolate reductase-thymidylate synthase
DNA	deoxyribonucleic acids
FH_4	tetrahydrofolate
GTP	guanosine triphosphate
pfDHFR	*Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase
A	alanine
S	serine
T	threonine
V	valine

ii) Miscellaneous

Anal.	Analytical
br	broad
°C	degree celcius
Calcd.	calculated
$CDCl_3$	deuterated chloroform
Cyc	cycloguanil
d	doublet
dd	doublet of doublet
dt	doublet of triplet
DMF	*N,N'*-dimethylformamide
$DMSO_{-d6}$	deuterated dimethyl sulfoxide
D_2O	deuterium oxide
eq	equivalents

Et_2O	diethyl ether
g	gram
h	hour
Hz	hertz
J	coupling constant
K_i	inhibition constant
m	multiplet
MALDI-TOF	matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight
MHz	megahertz
mg	milligram
min	minute
mL	milliliter
mmol	millimole
mp.	Melting point
mut.	Mutant
m/z	mass pre charge ration
nM	nanomolar
NMR	muclear magnetic resonance
ppm	part per million
Pyr	pyrimethamine
q	quartet
s	singlet
t	triplet
td	triplet of doublet
TLC	thin layer chromatography
ν_{max}	the eavelength at maximum absorption
wt.	wild-type
δ	chemical shift