



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanihydroxamic acid (SAHA) และอนุพันธ์
Synthetic development of suberanihydroxamic acid (SAHA) and derivatives

| | | | |
|------------|--------------------------|-------------|------------|
| ชื่อนิสิต | นางสาวประภัสสร อ่องจรรยา | เลขประจำตัว | 6033059223 |
| ภาควิชา | เคมี | | |
| ปีการศึกษา | 2563 | | |

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanihydroxamic acid (SAHA) และ
อนุพันธ์

Synthetic development of suberanihydroxamic acid (SAHA) and
derivatives

โดย
นางสาวประภัสสร อ่องจรรยา

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2563

โครงการ การพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanihydroxamic acid (SAHA) และอนุพันธ์

โดย นางสาวประภัสสร อ่องจรรยา

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

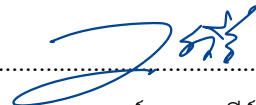
คณะกรรมการสอบโครงการ

- | | |
|---|------------------|
| 1. ศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ภูวไพโรศิริศาล | ประธานกรรมการ |
| 2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณศิริ ชิตางกูร | กรรมการ |
| 3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยงศักดิ์ ศรีธนาอนันต์ | อาจารย์ที่ปรึกษา |

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี



.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยงศักดิ์ ศรีธนาอนันต์)
อาจารย์ที่ปรึกษา



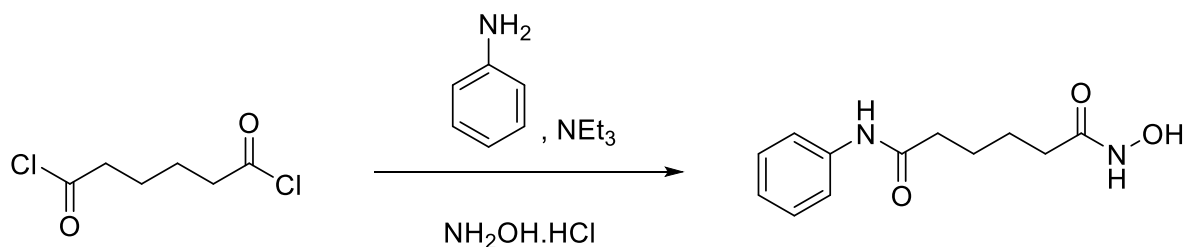
.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. วรวิทย์ โฮเว่น)
หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 27 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2564

ชื่อโครงการ การพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) และอนุพันธ์
 ชื่อนิติในโครงการ นางสาวประภัสสร อ่องจรรยา เลขประจำตัว 6033059223
 ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยงศักดิ์ ศรีธนาอนันต์
 ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2563

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) และอนุพันธ์ ซึ่ง SAHA นั้นเป็นสารในกลุ่ม histone deacetylase inhibitor (HDACi) ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ที่มีการแบ่งตัวผิดปกติหรือที่รู้จักกันทั่วไปว่า เซลล์มะเร็ง จากการศึกษาหลากหลายวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ที่ใกล้เคียงกับ suberanilohydroxamic acid (SAHA) ซึ่งก็คือ *N*¹-hydroxy-*N*⁶-phenyl-hexanediamide เป็นต้นแบบ ผลการศึกษาให้ข้อมูลที่สนับสนุนว่า สามารถสังเคราะห์สารต้นแบบนี้ได้ จากสารตั้งต้น adipoyl chloride ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitution ได้สารผลิตภัณฑ์ร่วมกับผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ซึ่งการสำรวจกระบวนการเพื่อปรับปรุงการเพิ่มสัดส่วนของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการจากปฏิกิริยานี้จะดำเนินการต่อไป



คำสำคัญ: Anticancer, Suberanilohydroxamic acid, SAHA, Histone Deacetylase Inhibitor, HDACi

Project Title Synthetic development of suberanilohydroxamic acid (SAHA) and derivatives

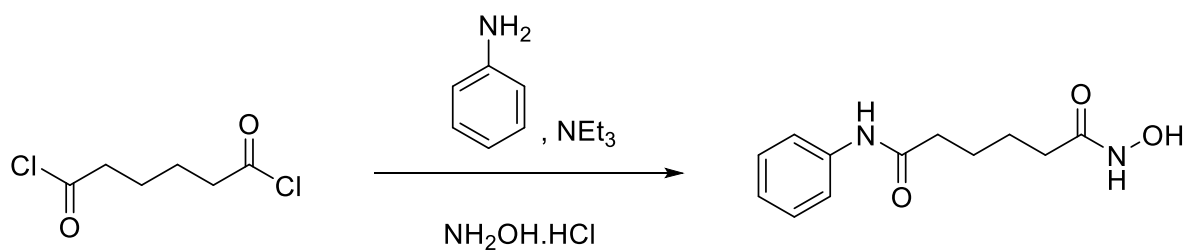
Student Name Miss Prapassorn Ongjaroon Student ID 6033059223

Advisor Name Assistant Professor Dr. Yongsak Sritana-anant

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2020

Abstract

This research focused on synthetic methodology development of suberanilohydroxamic acid (SAHA) and derivatives. SAHA is a histone deacetylase inhibitor (HDACi) that could inhibit the growth of abnormal living cells, generally known as cancer cells. From our studies on various synthetic methods of a close derivative of suberanilohydroxamic acid (SAHA), namely *N*¹-hydroxy-*N*⁶-phenylhexanediamide as the prototype, the results gave supporting information that we successfully synthesized the prototypical compound through nucleophilic substitution reactions from adipoyl chloride precursor. The desired product was obtained together with other by-products. Increasing the ratio of the desired product from the synthesis will be further explored.



Keywords: Anticancer, Suberanilohydroxamic acid, SAHA, Histone Deacetylase Inhibitor, HDACi

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่ได้ตั้งไว้ได้ด้วยความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยงศักดิ์ ศรีธนาอนันต์ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์นี้ ซึ่งได้รับคำแนะนำทางด้านวิชาการ คำปรึกษาต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ตลอดการทำวิจัย อีกทั้งความเอื้อเฟื้อทางด้านสถานที่ เครื่องมือ และวัสดุสำหรับการทำงานวิจัย รวมไปถึงการให้คำแนะนำในการเขียนรายงานฉบับนี้ทำให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ภูวไพโรศิรศาล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่า และให้เกียรติเป็นคณะกรรมการสอบในครั้งนี้ และขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้งภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องสถานที่และสารเคมีที่ใช้ทำการทดลอง ตลอดจนบุคลากรภาควิชาเคมีทุกท่านที่ให้การสนับสนุนให้งานวิจัยนี้สำเร็จไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณสมาชิกในกลุ่มวิจัยของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยงศักดิ์ ศรีธนาอนันต์ ที่คอยให้คำปรึกษา และคำแนะนำต่าง ๆ อันมีประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัย รวมทั้งคุณพ่อ คุณแม่ ครอบครัว และเพื่อน ๆ ทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ค |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ง |
| กิตติกรรมประกาศ | จ |
| สารบัญ | ฉ |
| สารบัญตาราง | ช |
| สารบัญรูปภาพ | ฌ |
| สัญลักษณ์และคำย่อ | ฎ |
| บทที่ 1 บทนำ | |
| 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย | 2 |
| 1.3 วิธีการดำเนินงาน | 2 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 3 |
| 1.5 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง | 4 |
| 1.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 4 |
| บทที่ 2 การทดลอง | |
| 2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง | 8 |
| 2.2 สารเคมี | 8 |
| 2.3 วิธีการทดลอง | |
| 2.3.1 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 1 | 8 |
| 2.3.2 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 2 | 9 |
| 2.3.3 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 3 | 10 |
| 2.3.4 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 4 | 10 |
| 2.3.5 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 5 | 11 |
| 2.3.6 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 6 | 11 |
| 2.3.7 สรุปรูปมาณสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 1 ถึง 6 | 12 |
| 2.3.8 การติดตาม adipoyl chloride ในปฏิกริยา | 12 |
| 2.3.9 การทดสอบหมู่ฟังก์ชันของ hydroxamic acid | 13 |

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|---|------|
| บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง | |
| 3.1 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 1 | 14 |
| 3.2 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 2 | 17 |
| 3.3 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 3 | 18 |
| 3.4 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 4 | 20 |
| 3.5 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 5 | 22 |
| 3.6 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 6 | 23 |
| | |
| บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง | |
| 4.1 สรุปผลการทดลอง | 26 |
| 4.2 ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับงานวิจัยในอนาคต | 27 |
| | |
| เอกสารอ้างอิง | 29 |
| ภาคผนวก | 31 |
| ประวัติผู้วิจัย | 36 |

สารบัญตาราง

| | หน้า |
|--|------|
| ตารางที่ 1.1 ตารางแสดงขั้นตอนและระยะเวลาในการดำเนินงาน | 3 |
| ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงปริมาณสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexane-diamide ปฏิกริยาที่ 1 ถึง 6 | 12 |
| ตารางที่ 4.1 ตารางสรุปผลการทดลอง โดยแสดงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกริยาที่ 1 ถึง 6 | 27 |

สารบัญรูปภาพ

| | หน้า |
|--|------|
| ภาพที่ 1.1 โครงสร้างของ suberanilohydroxamic acid (SAHA) | 2 |
| ภาพที่ 1.2 โครงสร้างของ adipoyl chloride และ suberoyl chloride | 2 |
| ภาพที่ 1.3 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide | 3 |
| ภาพที่ 1.4 Acid chloride | 4 |
| ภาพที่ 1.5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่บน acid chloride | 4 |
| ภาพที่ 1.6 การสังเคราะห์ SAHA โดยวิธีของ Richon และคณะ | 5 |
| ภาพที่ 1.7 การสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid ของ Breslow และคณะ | 5 |
| ภาพที่ 1.8 วิธีการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) โดย Stowell และคณะ | 6 |
| ภาพที่ 1.9 การสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) โดย Mai และคณะ | 6 |
| ภาพที่ 1.10 การสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) โดย Gediya และคณะ | 7 |
| ภาพที่ 2.1 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกิริยาที่ 1 | 8 |
| ภาพที่ 2.2 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกิริยาที่ 2 | 9 |
| ภาพที่ 2.3 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกิริยาที่ 3 | 10 |
| ภาพที่ 2.4 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกิริยาที่ 4 5 และ 6 | 10 |
| ภาพที่ 2.5 การตรวจสอบทางเคมีของหมู่ฟังก์ชันบน hydroxamic acid | 13 |
| ภาพที่ 3.1 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 1 | 14 |
| ภาพที่ 3.2 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 1 | 15 |
| ภาพที่ 3.3 ^1H NMR spectrum ของสาร N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 1 | 16 |
| ภาพที่ 3.4 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 2 | 17 |
| ภาพที่ 3.5 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 2 | 18 |
| ภาพที่ 3.6 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 3 | 18 |
| ภาพที่ 3.7 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 3 | 19 |
| ภาพที่ 3.8 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 4 | 20 |
| ภาพที่ 3.9 ภาพสารละลายสีน้ำตาล ของการทำปฏิกิริยาระหว่าง Fe(III) และ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide | 20 |

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

| | หน้า |
|---|------|
| ภาพที่ 3.10 ^1H NMR spectrum ของสาร N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 4 | 21 |
| ภาพที่ 3.11 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 5 | 22 |
| ภาพที่ 3.12 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 6 | 23 |
| ภาพที่ 3.13 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 6 | 23 |
| ภาพที่ 3.14 ภาพสารละลายสีน้ำตาล ของการทำปฏิกิริยาระหว่าง Fe(III) และ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide | 24 |
| ภาพที่ 3.15 ^1H NMR spectrum ของสาร N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 6 | 24 |

สัญลักษณ์และคำย่อ

หน่วย

| | | |
|------|---|--|
| °C | : | degree Celsius |
| g | : | gram |
| h | : | hour |
| min | : | minute |
| mL | : | milliliter |
| mmol | : | millimole |
| ppm | : | parts per million (unit of chemical shift) |

สารเคมี

| | | |
|---------------------------------------|---|-----------------------------|
| $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ | : | acetic anhydride |
| ClCO_2Et | : | ethyl chloroformate |
| DCC | : | dicyclohexylcarbodiimide |
| DCM | : | dichloromethane |
| DMF | : | dimethylformamide |
| EtOAc | : | ethyl acetate |
| HOBt | : | hydroxybenzotriazole |
| KOH | : | potassium hydroxide |
| MeOH | : | methanol |
| NaOMe | : | sodium methoxide |
| NEt_3 | : | triethylamine |
| NH_2OH | : | hydroxylamine |
| $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ | : | hydroxylamine hydrochloride |
| SAHA | : | suberanihydroxamic acid |
| THF | : | tetrahydrofuran |

สัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

สัญลักษณ์และคำย่อ

| | | |
|------------------|---|--|
| d | : | doublet (NMR) |
| ^1H NMR | : | proton nuclear magnetic resonance spectroscopy |
| m | : | multiplet (NMR) |
| Nu | : | nucleophile |
| R_f | : | retardation factor |
| room temp | : | room temperature |
| s | : | singlet (NMR) |
| t | : | triplet (NMR) |
| TLC | : | thin layer chromatography |
| δ | : | chemical shift |

บทที่ 1

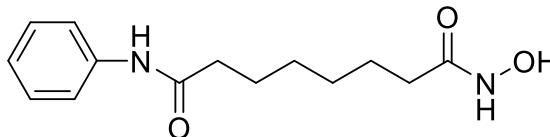
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เซลล์คือหน่วยที่เล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิต มีรูปร่าง ลักษณะ และขนาด ที่แตกต่างกันไปตามหน้าที่ของเซลล์เหล่านั้น ในสภาวะที่ปกติเซลล์จะมีการเพิ่มจำนวน เจริญเติบโต มีการสื่อสารระหว่างเซลล์ และตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมได้ การที่เซลล์สามารถดำเนินกิจกรรมต่างๆไปได้อย่างเป็นปกตินั้นเกิดจากการควบคุมด้วยสารพันธุกรรมที่อยู่ภายในเซลล์ หากเซลล์ได้รับการกระตุ้นจากสารกระตุ้น เช่น ควันบุหรี่ มลพิษทางอากาศ เชื้อไวรัสหรือแบคทีเรียบางชนิด แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) และรังสีต่างๆ รวมไปถึงวิธีการดำเนินชีวิตบางอย่าง เช่น การที่มีน้ำหนักตัวเกินเกณฑ์มาตรฐาน การทานอาหารที่มีการปรับแต่งทางพันธุกรรมหรืออาหารแปรรูป [1,2] สิ่งเหล่านี้หากได้รับและสะสมมาเป็นระยะเวลาหนึ่ง ล้วนส่งผลกระทบต่อสารพันธุกรรมภายในเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดความผิดปกติในการแบ่งตัวและเกิดการเจริญเติบโตของเซลล์ที่รวดเร็วกว่าปกติจนร่างกายไม่สามารถควบคุมได้หรือที่รู้จักในชื่อ “เซลล์มะเร็ง” ซึ่งการรักษาเมื่อนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การผ่าตัด การฉายรังสีและการใช้เคมีบำบัด การใช้เคมีบำบัดนั้นเป็นวิธีที่นิยมมากวิธีหนึ่งในการรักษาเมื่อนั้นในปัจจุบัน มีหลักการคือ การให้ยาเคมีบำบัดเพื่อไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่แบ่งตัวมากกว่าปกติจนร่างกายไม่สามารถควบคุมได้ ดังนั้นการพัฒนารักษาการสังเคราะห์ด้วยยาเคมีบำบัดขึ้นจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญต่อการรักษาเมื่อนั้นเป็นอย่างยิ่ง

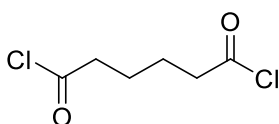
Histone deacetylase (HDAC) คือเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีน (gene expression) หากเกิดจากความผิดปกติของ HDAC ในการควบคุมการแสดงออกของยีน จะส่งผลต่อความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งได้ [3,4] โดยสารกลุ่ม histone deacetylase inhibitor (HDACi) ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้ง HDAC ซึ่งเป็นตัวเร่งสำคัญในการ transcription ของเซลล์ [5,6] จึงเข้ามามีบทบาทในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับตัวยาด้านมะเร็ง โดยได้มีงานวิจัยที่ได้ทำการสังเคราะห์สารกลุ่ม HDACi เชื่อมกับสารนำส่ง ที่ช่วยนำ HDACi เข้าไปในเซลล์ เพื่อลดการเกิด transcription ของเซลล์มะเร็ง [7] ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและความจำเพาะของตัวยาต่อเซลล์มะเร็งเป้าหมายมากยิ่งขึ้น โดย suberanilohydroxamic acid (SAHA) เป็นหนึ่งในสารกลุ่ม HDACi ที่ได้รับการยอมรับจาก U.S. food and drug administration (FDA) ให้เป็นยาที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งได้ นอกจากนั้นในงานวิจัยข้างต้นยังได้พัฒนารักษาการสังเคราะห์ SAHA โดยให้ผลได้ร้อยละโดยรวมทั้งหมดเพียง 79.8% เท่านั้น [8] จากข้อมูลข้างต้นจึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะพัฒนารักษาการสังเคราะห์

suberanilohydroxamic acid (SAHA) เพื่อให้มีวิธีการสังเคราะห์ที่ใหม่ เข้าถึงได้ง่ายและมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ที่สูงขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มตัวเลือกในการสังเคราะห์ SAHA เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการนำตัวยาต่อเข้ากับตัวนำส่งที่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเป้าหมาย และมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นต่อไปในอนาคต

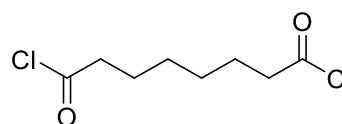


ภาพที่ 1.1 โครงสร้างของ suberanilohydroxamic acid (SAHA)

สำหรับโครงการนี้ ผู้วิจัยสนใจที่จะใช้ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide เป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์ SAHA จาก adipoyl chloride ผ่านกลไกปฏิกิริยาการแทนที่ เนื่องจาก adipoyl chloride มีราคาต่ำกว่า suberoyl chloride ที่ใช้ในการสังเคราะห์ SAHA ผ่านกลไกปฏิกิริยาการแทนที่ และนอกจากนั้น adipoyl chloride ยังมีโครงสร้างที่คล้ายกับ suberoyl chloride และสามารถนำไปใช้ต่อได้ทันทีอีกด้วย



adipoyl chloride



suberoyl chloride

ภาพที่ 1.2 โครงสร้างของ adipoyl chloride และ suberoyl chloride

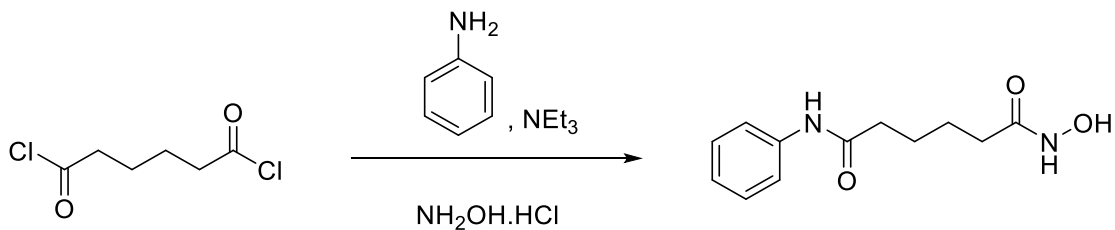
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide จาก adipoyl chloride เพื่อใช้เป็นแนวทางใหม่ในการสังเคราะห์ยาต้านมะเร็ง suberanilohydroxamic acid (SAHA)

1.3 วิธีการดำเนินงาน

ก. แผนการศึกษา

1. ค้นคว้า สืบค้นข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2. เตรียมอุปกรณ์และสารเคมี
3. ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide จาก adipoyl chloride



ภาพที่ 1.3 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide

4. แยกสารบริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี
5. พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR)
6. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผล และเขียนรายงาน

ข. ระยะเวลาที่ศึกษา

ตารางที่ 1.1 ตารางแสดงขั้นตอนและระยะเวลาในการดำเนินงาน

| ขั้นตอนการดำเนินงาน | ระยะเวลาดำเนินงาน | | | | | | | | |
|--|-------------------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|
| | ส.ค. | ก.ย. | ต.ค. | พ.ย. | ธ.ค. | ม.ค. | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. |
| | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 64 | 64 | 64 | 64 |
| 1. ค้นคว้า สืบค้นข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | | | | | | | | | |
| 2. เตรียมอุปกรณ์และสารเคมี | | | | | | | | | |
| 3. ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ N^1 -Hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide จาก adipoyl chloride | | | | | | | | | |
| 4. แยกสารบริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี | | | | | | | | | |
| 5. พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค NMR Spectroscopy | | | | | | | | | |
| 6. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผล และเขียนรายงาน | | | | | | | | | |

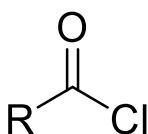
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีการสังเคราะห์สารที่มีสมบัติเป็นยาต้านมะเร็ง suberanilohydroxamic acid (SAHA)

1.5 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

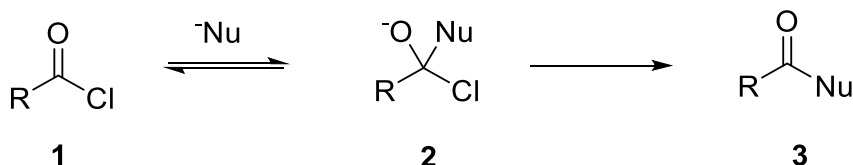
กลไกปฏิกิริยาการแทนที่บน acid chloride

Acyl halide นั้นเป็นอนุพันธ์ของ carboxylic acid ที่สามารถใช้สังเคราะห์สารประกอบ acyl ต่าง ๆ ได้ เช่น ester และ amide เป็นต้น ซึ่ง acyl halide ที่นิยมนำมาใช้ และเป็นที่ยอมรับกันเป็นอย่างดี คือ acyl chloride หรือ acid chloride โดยมีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 1.4



ภาพที่ 1.4 Acid chloride

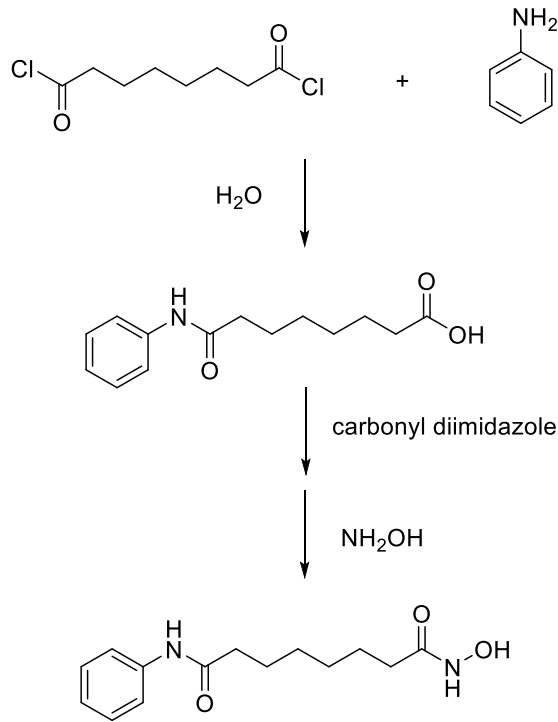
ในส่วนของกลไกการแทนที่บน acid chloride ในสภาวะที่เป็นเบสนั้น เกิดจากการที่อะตอมของคลอไรด์ที่มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอน เกิดการดึงอิเล็กตรอนจากหมู่คาร์บอนิล ส่งผลให้คาร์บอนของหมู่คาร์บอนิลเกิดเป็นบริเวณที่มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนต่ำ (partially positive charge, δ^+) ประกอบกับนิวคลีโอไฟล์ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีตำแหน่งที่มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสูง เกิดการชนกันที่ตำแหน่งคาร์บอนของหมู่คาร์บอนิล 1 เกิดเป็น tetrahedral alkoxide intermediate 2 จากนั้นจะเกิดการหลุดออกของ leaving group ได้ผลิตภัณฑ์ที่ถูกแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ 3 ดังแสดงในภาพที่ 1.5



ภาพที่ 1.5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่บน acid chloride

1.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

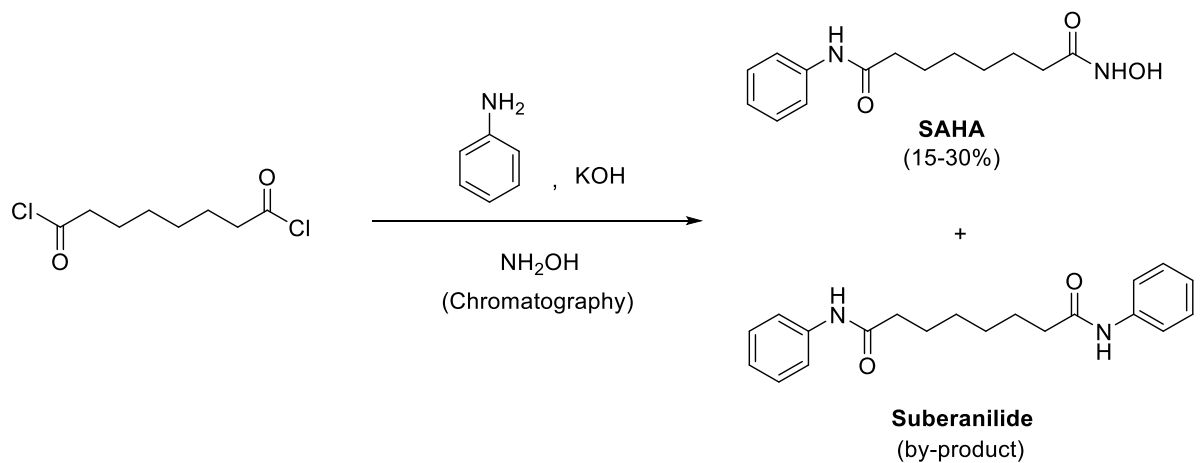
ในปี ค.ศ. 1996 Richon และคณะ [9] ได้สังเคราะห์ suberanylhydroxamic acid (SAHA) เพื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็น hybrid polar compounds ด้วยการนำ suberoyl dichloride มาทำปฏิกิริยากับ 1 สมมูลของ aniline จากนั้นตามด้วยไฮโดรไลซิส และทำปฏิกิริยาต่อ hydroxylamine ดังแสดงในภาพที่ 1.6



ภาพที่ 1.6 การสังเคราะห์ SAHA โดยวิธีของ Richon และคณะ

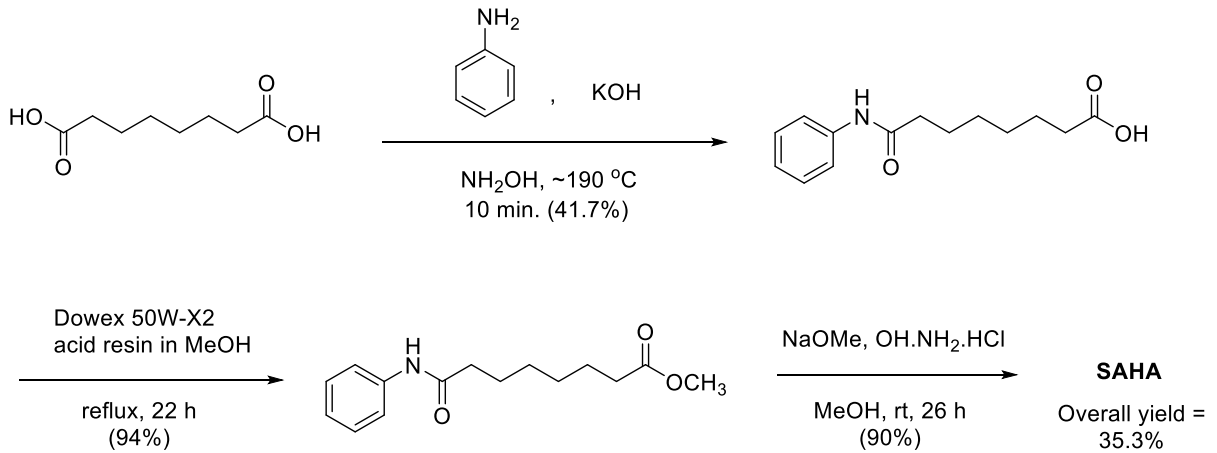
ในปี ค.ศ. 2000 Butler และคณะ [10] ได้ศึกษาการใช้ SAHA ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก พบว่า SAHA สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก และสามารถยับยั้งการกระจายตัวของเซลล์เนื้อร้ายในสัตว์ทดลองได้

ในส่วนของวิธีการสังเคราะห์ SAHA นั้น ได้มีการสังเคราะห์ SAHA ด้วยวิธีของ Breslow และคณะ [11] โดยการทำปฏิกิริยา one-pot ด้วยการผสม suberoyl chloride, aniline, hydroxylamine และสารละลาย KOH เข้าด้วยกัน ดังแสดงในภาพที่ 1.7 โดยได้ SAHA มีผลได้ร้อยละ 15-30% สาเหตุที่ได้ผลได้ร้อยละน้อย เกิดจากมีผลพลอยได้เป็น suberanilide ออกมาจากการสังเคราะห์ด้วย



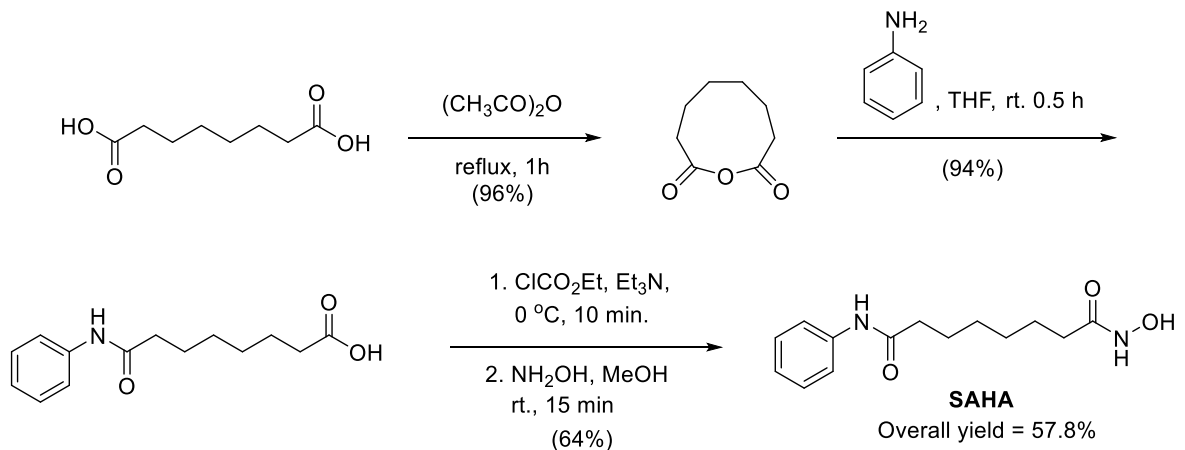
ภาพที่ 1.7 การสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid ของ Breslow และคณะ

ต่อมาในปี ค.ศ. 1995 Stowell และคณะ [12] ได้เสนอวิธีการสังเคราะห์ SAHA แบบใหม่ ผ่าน 3 ขั้นตอน โดยนำ suberic acid มาทำปฏิกิริยากับ 1.1 สมมูลของ aniline ที่ 185-190 °C เป็นเวลา 10 นาที จะได้ suberanilic acid มีผลได้ร้อยละ 41.7% จากนั้นทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ด้วยเมทานอลหรือเอทานอลที่มากเกินไป แล้วจึงทำปฏิกิริยาต่อกับ methanolic hydroxylamine และ sodium methoxide เพื่อเปลี่ยนหมู่ methoxy ให้เป็น hydroxamic acid ได้ SAHA ที่มีผลได้ร้อยละทั้งหมด 35.3% ดังแสดงในภาพที่ 1.8 ซึ่งวิธีนี้มีข้อเสียคือ ใช้เวลานาน ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง และได้ผลได้ร้อยละโดยรวมน้อย



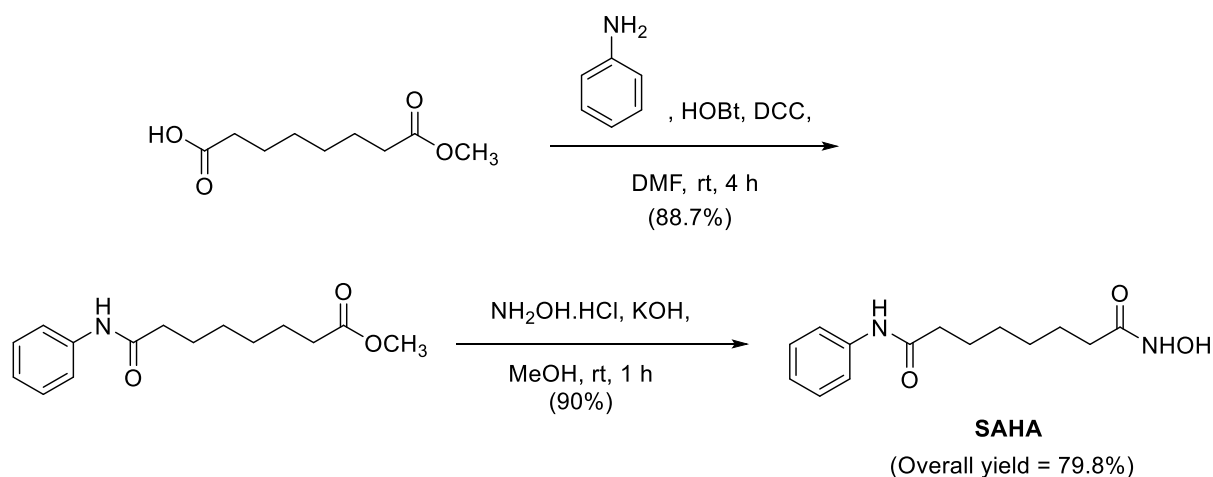
ภาพที่ 1.8 วิธีการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) โดย Stowell และคณะ

ในปี ค.ศ. 2001 Mai และคณะ [13] ได้ทำการสังเคราะห์ SAHA ผ่าน 3 ขั้นตอน ที่ลดความรุนแรงลง โดยนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแตกตัวของ suberic acid ใน acetic anhydride ไปทำปฏิกิริยากับ aniline ใน anhydrous tetrahydrofuran ตามด้วยทำปฏิกิริยากับ anhydrous tetrahydrofuran, ethyl chloroformate และ triethylamine สุดท้ายเปลี่ยนให้เป็น hydroxamic acid ด้วยการทำปฏิกิริยากับ hydroxylamine ใน methanol ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือ SAHA มีผลได้ร้อยละโดยรวมทั้งหมด 57.8% ซึ่งยังถือว่าไม่สูงมาก และผ่านหลายขั้นตอน ดังแสดงในภาพที่ 1.9



ภาพที่ 1.9 การสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) โดย Mai และคณะ

ต่อมาในปี ค.ศ. 2005 Gediya และคณะ [8] ได้เสนอวิธีการสังเคราะห์ SAHA ใหม่ที่ใช้เพียง 2 ขั้นตอน และให้ผลได้ร้อยละโดยรวมสูงถึง 79.8% โดยไม่ต้องผ่านการทำโครมาโทกราฟีในการทำสารสังเคราะห์บริสุทธิ์ โดยนำ suberic acid monomethyl ester, 1-hydroxybenzotriazole และ aniline ละลายใน DMF ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม dicyclohexylcarbodiimide (DCC) และคนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จะได้ตะกอนของ suberanilic acid methyl ester ซึ่งนำมาทำปฏิกิริยาต่อกับสารละลาย hydroxylamine hydrochloride และ KOH ใน methanol ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7 ด้วยการเติม acetic acid ทำการกรองตะกอนที่ได้และทำให้แห้งด้วยตู้อบสุญญากาศ ที่ 40 °C เป็นเวลา 1 คืน จะได้ SAHA ออกมาดังแสดงในภาพที่ 1.10



ภาพที่ 1.10 การสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) โดย Gediya และคณะ

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

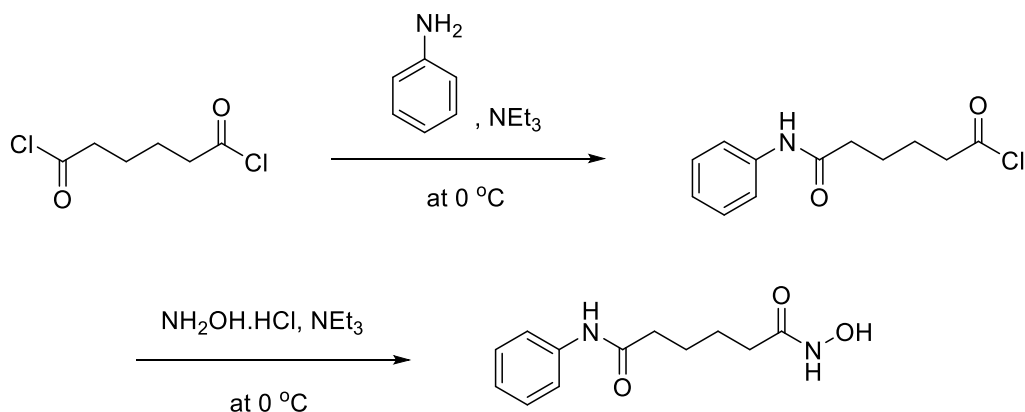
1. Rotary Evaporator (Heidolph Panel Hei-VAP Advantage HL)
2. เครื่องชั่งสารเคมีทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Mettler Toledo PB403-S Classic)
3. NMR Spectrometer (Bruker 400 MHz)

2.2 สารเคมี

1. Acetone
2. Adipoyl chloride
3. Aniline
4. Dichloromethane
5. Ethyl acetate
6. Ferric chloride
7. Hexane
8. Hydroxylamine hydrochloride
9. Magnesium sulfate
10. Methanol
11. Phenol
12. Potassium permanganate
13. Toluidine
14. Triethylamine

2.3 วิธีการทดลอง

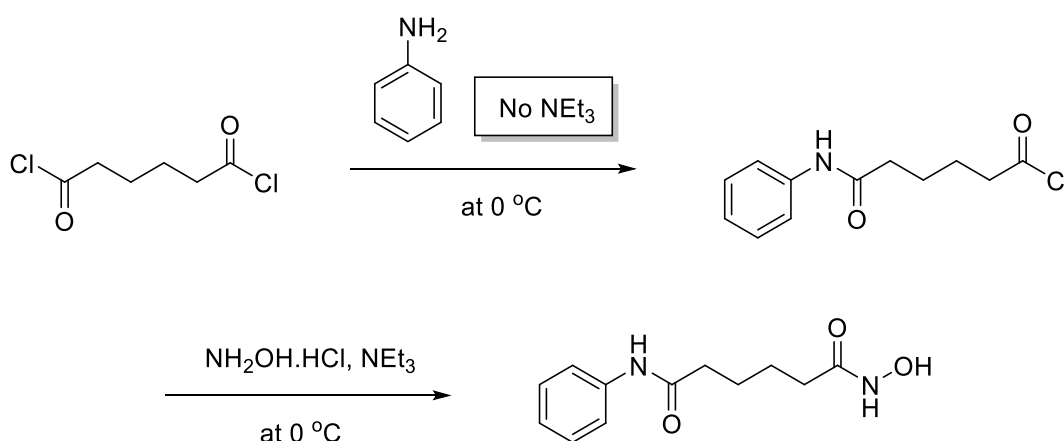
2.3.1 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิริยาที่ 1



ภาพที่ 2.1 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิริยาที่ 1

เตรียม adipoyl chloride (0.29 mL, 2 mmol) ใน dichloromethane ลงในขวดก้นกลมขนาด 50 mL แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง และเตรียม aniline (0.09 mL, 1 mmol) ใน triethylamine (0.14 mL, 1 mmol) และ dichloromethane ใส่ในกรวยหยดสาร จากนั้นนำขวดก้นกลมต่อเข้ากับกรวยหยดสาร แล้วทำการหยด aniline ช้า ๆ แบบ dropwise ระหว่างนั้นทำการชั่ง hydroxylamine hydrochloride (0.322 g, 5 mmol) และเตรียม triethylamine (0.14 mL, 1 mmol) ใน dichloromethane ใส่ในกรวยหยดสาร เมื่อ aniline หยดจนหมด ทำการเท hydroxylamine hydrochloride ที่เตรียมไว้ใส่ลงในขวดก้นกลม จากนั้นทำการหยด triethylamine จนหมด แล้วทำการตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตรวจสอบปฏิกิริยาเทียบกับสารตั้งต้นด้วยเทคนิค TLC (eluent = 1:1 hexane:EtOAc) จากนั้นนำสารที่ได้มาสกัดด้วย dichloromethane และล้างด้วยน้ำตามลำดับ นำขึ้น dichloromethane ไประเหยออก ทำสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography (eluent = 1:2 hexane:EtOAc) แล้วนำสารที่ได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค ^1H NMR spectroscopy

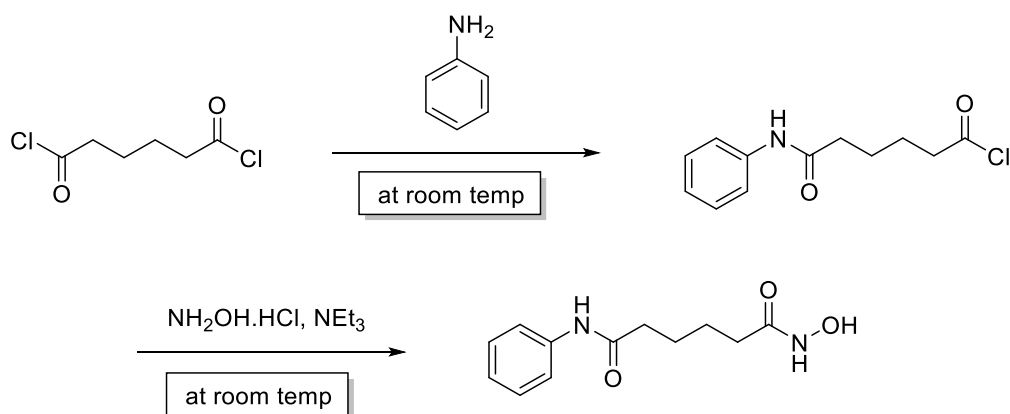
2.3.2 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 2



ภาพที่ 2.2 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 2

การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 2 นั้น มีขั้นตอน และปริมาณของสารที่ใช้ เช่นเดียวกับการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 1 (หัวข้อ 2.3.1) ทุกประการ แต่แตกต่างกันที่ทำการตัด triethylamine ออกในขั้นตอนที่ 1 กล่าวคือ ทำการเตรียม aniline (0.09 mL, 1 mmol) ใน dichloromethane ใส่ในกรวยหยดสารเท่านั้น

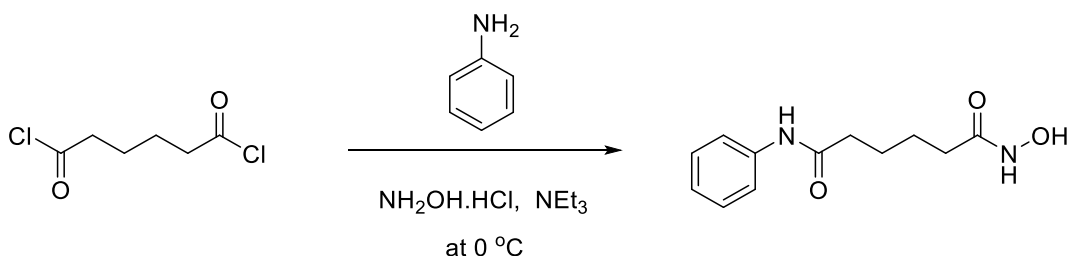
2.3.3 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 3



ภาพที่ 2.3 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 3

การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 3 นั้น มีขั้นตอน และปริมาณของสารที่ใช้ เช่นเดียวกับการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 2 (หัวข้อ 2.3.2) ทุกประการ แต่แตกต่างกันที่ทำการทดลองทั้งหมดที่อุณหภูมิห้อง

2.3.4 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 4



ภาพที่ 2.4 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 4 5 และ 6

ทำการเตรียมสาร โดยเริ่มจากการชั่ง hydroxylamine hydrochloride (0.193 g, 3 mmol) ใส่ในขวดก้นกลม จากนั้นทำการเติม aniline (0.09 mL, 1 mmol), triethylamine (0.98 mL, 7 mmol) และ dichloromethane (10 mL) ทำการแช่ขวดก้นกลมลงในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นทำการเตรียม adipoyl chloride (0.29 mL, 2 mmol) ใน dichloromethane (5 mL) ลงในกรวยหยดสาร ทำการต่อขวดก้นกลมเข้ากับกรวยหยดสาร แล้วทำการหยด adipoyl chloride ช้า ๆ แบบ แบบ dropwise จนหมด ตรวจสอบปฏิกริยาเทียบกับสารตั้งต้นด้วยเทคนิค TLC (eluent = 1:1 hexane:EtOAc) จากนั้นนำสารที่ได้มาสกัดด้วย dichloromethane และล้างด้วยน้ำตามลำดับ นำชั้น dichloromethane ไประเหยออก ทำสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography (eluent = EtOAc) แล้วนำสารที่ได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค ^1H NMR spectroscopy

2.3.5 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิริยาที่ 5

ชั่ง hydroxylamine hydrochloride (0.258 g, 4 mmol) ใส่ในขวดก้นกลม และ adipoyl chloride (0.29 mL, 2 mmol) ใน dichloromethane (10 mL) นำขวดก้นกลมแช่ในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นทำการเตรียม aniline (0.09 mL, 1 mmol) และ triethylamine (1.25 mL, 9 mmol) ใน dichloromethane (20 mL) ใส่ลงในกรวยหยดสาร ทำการต่อขวดก้นกลมเข้ากับกรวยหยดสาร แล้วทำการหยด aniline ให้หมดภายใน 10 นาที ทำการตรวจสอบปฏิริยาว่า adipoyl chloride (หัวข้อ 2.3.7) หมดแล้วหรือไม่ ด้วยเทคนิค TLC (eluent = 1:2 hexane :EtOAC) ทุก ๆ 5 นาทีตั้งแต่เริ่มหยดสาร เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารที่สังเคราะห์ได้มาสกัดด้วย dichloromethane และล้างด้วยน้ำตามลำดับ นำชั้น dichloromethane ไประเหยออก ทำสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography (eluent = 1:1 hexane:EtOAC) แล้วนำสารที่ได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค ^1H NMR spectroscopy

2.3.6 การสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิริยาที่ 6

ชั่ง hydroxylamine hydrochloride (0.193 g, 3 mmol) ใส่ในขวดก้นกลม 2 คอ จากนั้นทำการเติม dichloromethane (10 mL) นำขวดก้นกลมไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง ต่อมาทำการเตรียม aniline (0.09 mL, 1 mmol), triethylamine (0.42 mL, 3 mmol) และ dichloromethane (5 mL) ลงในกรวยหยดสาร และทำการเตรียม adipoyl chloride (0.29 mL, 2 mmol) ใน dichloromethane (5 mL) ใส่ลงในกรวยหยดสารอีกอันหนึ่ง ทำการต่อกรวยหยดสารทั้งสองอันเข้ากับขวดก้นกลม แล้วทำการหยดสารจากกรวยหยดสารทั้งสองอันพร้อม ๆ กันให้หมดภายใน 5–10 นาที จากนั้นทำการตรวจสอบปฏิริยาเทียบกับสารตั้งต้นด้วยเทคนิค TLC (eluent = 1:1 hexane:EtOAC) แล้วนำสารที่ได้มาสกัดด้วย dichloromethane และล้างด้วยน้ำตามลำดับ นำชั้น dichloromethane ไประเหยออก ทำสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography (eluent = 1:1 hexane:EtOAC) แล้วนำสารที่ได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค ^1H NMR spectroscopy

2.3.7 สรุปปริมาณสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 1 ถึง 6

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงปริมาณสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ปฏิกริยาที่ 1 ถึง 6

| ปฏิกริยาที่ | ปริมาณของสารที่ใช้ (mmol) | | | | | สภาวะที่ใช้ |
|-------------|---------------------------|---------|------------------|-----------|------------------------|-------------|
| | adipoyl chloride | aniline | NEt ₃ | | NH ₂ OH·HCl | |
| | | | ชั้นที่ 1 | ชั้นที่ 2 | | |
| 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 5 | 0 °C |
| 2 | 2 | 1 | - | 1 | 5 | 0 °C |
| 3 | 2 | 1 | - | 1 | 5 | room temp |
| 4 | 2 | 1 | 7 | | 3 | 0 °C |
| 5 | 2 | 1 | 9 | | 4 | 0 °C |
| 6 | 2 | 1 | 3 | | 3 | 0 °C |

2.3.8 การติดตาม adipoyl chloride ในปฏิกริยา

เนื่องจาก adipoyl chloride นั้นไม่สามารถทำการติดตามได้โดยตรงด้วยเทคนิค TLC จึงต้องทำการติดตาม adipoyl chloride ผ่านวิธีการดังต่อไปนี้ ในขั้นแรกจะต้องทำการเตรียม diphenyl adipate เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานการเทียบค่า R_f บน TLC โดยการผสม adipoyl chloride, phenol และ NEt₃ ใน DCM ใส่ลงใน eppendorf tube จากนั้นทำการติดตาม adipoyl chloride ในปฏิกริยาว่ายังคงมี adipoyl chloride เหลืออยู่หรือไม่ โดยการนำปฏิกริยาที่ต้องการทดสอบผสมกับ phenol และ NEt₃ ใน DCM ใส่ลงใน eppendorf tube อีกอันหนึ่ง ตรวจสอบปฏิกริยาดังกล่าวเทียบกับ phenol และ diphenyl adipate ที่ได้จากการเตรียมข้างต้น ด้วยเทคนิค TLC (eluent = 1:1 hexane:EtOAc) จะพบว่า phenol มีค่า R_f เท่ากับ 0.63 และ diphenyl adipate ซึ่งพบ 2 จุด มีค่า R_f เท่ากับ 0.62 และ 0.69 ในส่วนของปฏิกริยาที่ต้องการติดตามนั้น หากมีค่า R_f เท่ากับ 0.5 แสดงว่าไม่มี adipoyl chloride เหลืออยู่ในปฏิกริยา แต่ถ้าพบว่าบน TLC มี 2 จุด และมีค่า R_f เท่ากับ 0.62 และ 0.69 แสดงว่าในปฏิกริยายังมี adipoyl chloride เหลืออยู่ เพราะ adipoyl chloride ที่เหลืออยู่นั้นจะไปทำปฏิกริยากับ phenol ได้เป็น diphenyl adipate

2.3.9 การทดสอบหมู่ฟังก์ชันของ hydroxamic acid

เป็นการตรวจสอบทางเคมีของหมู่ฟังก์ชันบน hydroxamic acid ทำการตรวจสอบโดยการนำ hydroxamic acid หรือ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ที่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยา ซึ่งมีส่วนหนึ่งในโครงสร้างเหมือนกับ hydroxamic acid หยดลงใน ferric chloride ผลที่ได้จะพบว่าเกิดการเปลี่ยนสีจากปฏิกิริยาระหว่าง หมู่ -OH บน hydroxamic acid กับ Fe(III) โดยเกิดเปลี่ยนสีจากสารละลายสีเหลืองของ Fe(III) ไปเป็นสารละลายสีน้ำตาลของ $Fe(OH)_3$ ดังแสดงในภาพที่ 2.5 ซึ่งสามารถใช้ยืนยันหมู่ -OH บน hydroxamic acid ได้

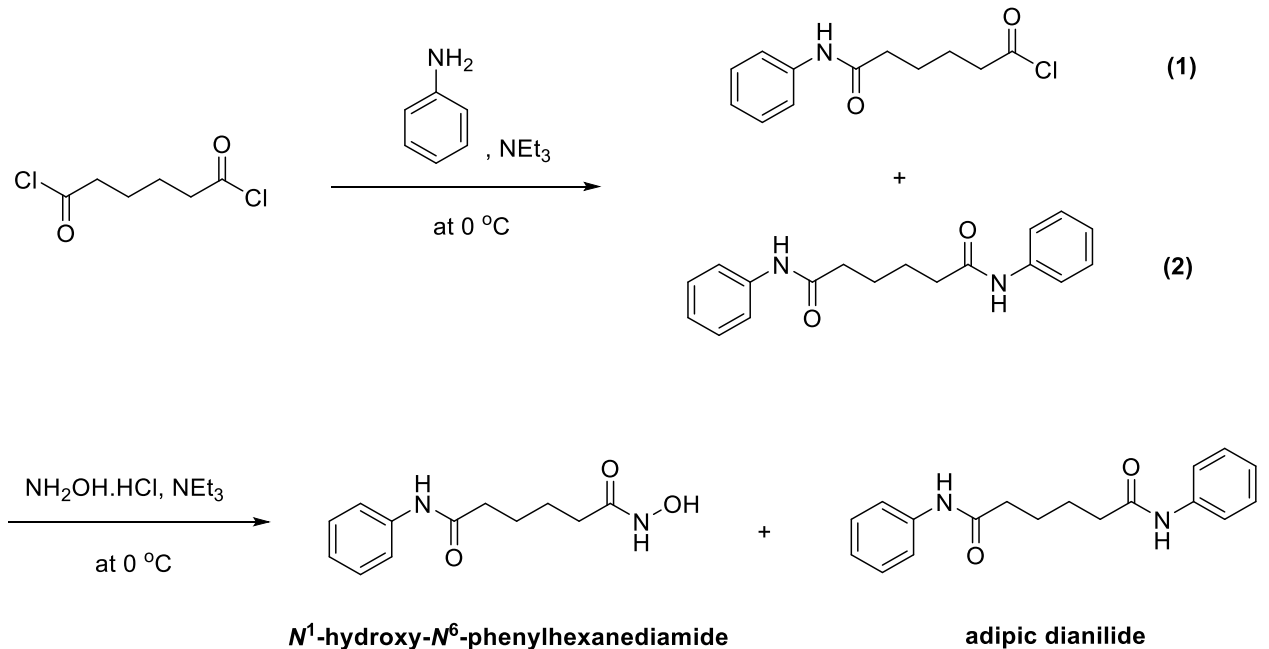


ภาพที่ 2.5 การตรวจสอบทางเคมีของหมู่ฟังก์ชันบน hydroxamic acid

บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

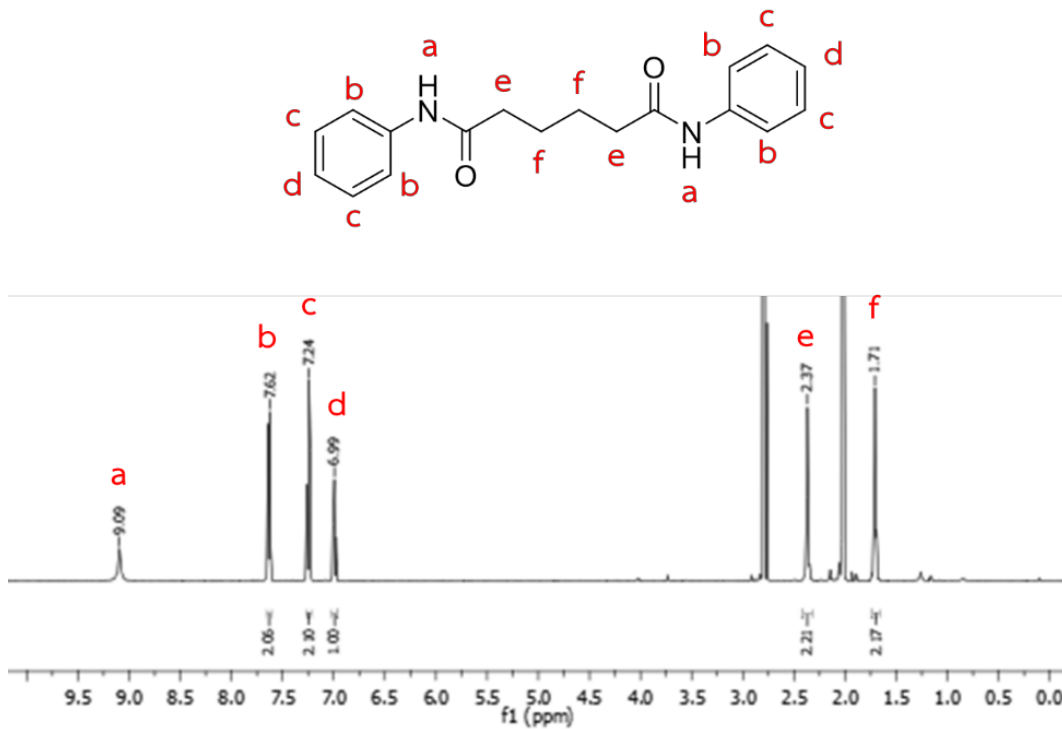
3.1 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 1



ภาพที่ 3.1 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 1

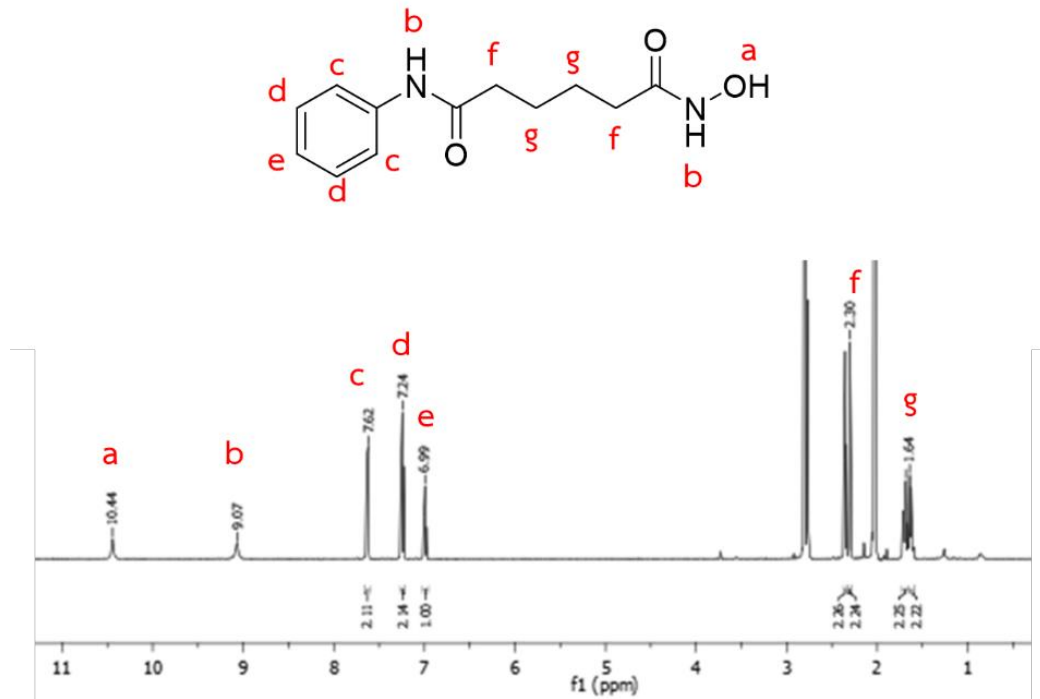
ในขั้นแรกที adipoyl chloride ทำปฏิกิริยากับ aniline ที่ 0 °C โดยความน่าจะเป็นทั้งหมดของผลิตภัณฑ์ที่ได้ในขั้นแรกคือ 1 และ 2 ดังแสดงในภาพที่ 3.1 จากนั้นทำปฏิกิริยาต่อด้วย hydroxylamine hydrochloride เมื่อได้ผลิตภัณฑ์ออกมาแล้ว ทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography พบว่าสามารถแยกสารได้ 2 ชนิด ทำการตรวจสอบสารที่แยกออกมาได้เบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ 1:4 hexane:EtOAc

สารชนิดที่หนึ่งมีค่า R_f เท่ากับ 0.49 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว และข้อมูลของ ^1H NMR spectrum (ภาคผนวก ภาพที่ ผ.1) พบสัญญาณของโปรตอนที่ตำแหน่ง δ 7.62 (d), 7.24 (t) และ 6.99 (t) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนที่ตำแหน่ง ortho, meta และ para ตามลำดับ พบสัญญาณของโปรตอนที่ตำแหน่ง δ 2.37 (m) และ 1.71 (m) ppm และพบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 9.09 (s) ppm เป็นโปรตอนของหมู่ $-\text{NH}$ ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของ adipic dianilide ดังแสดงในภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 1

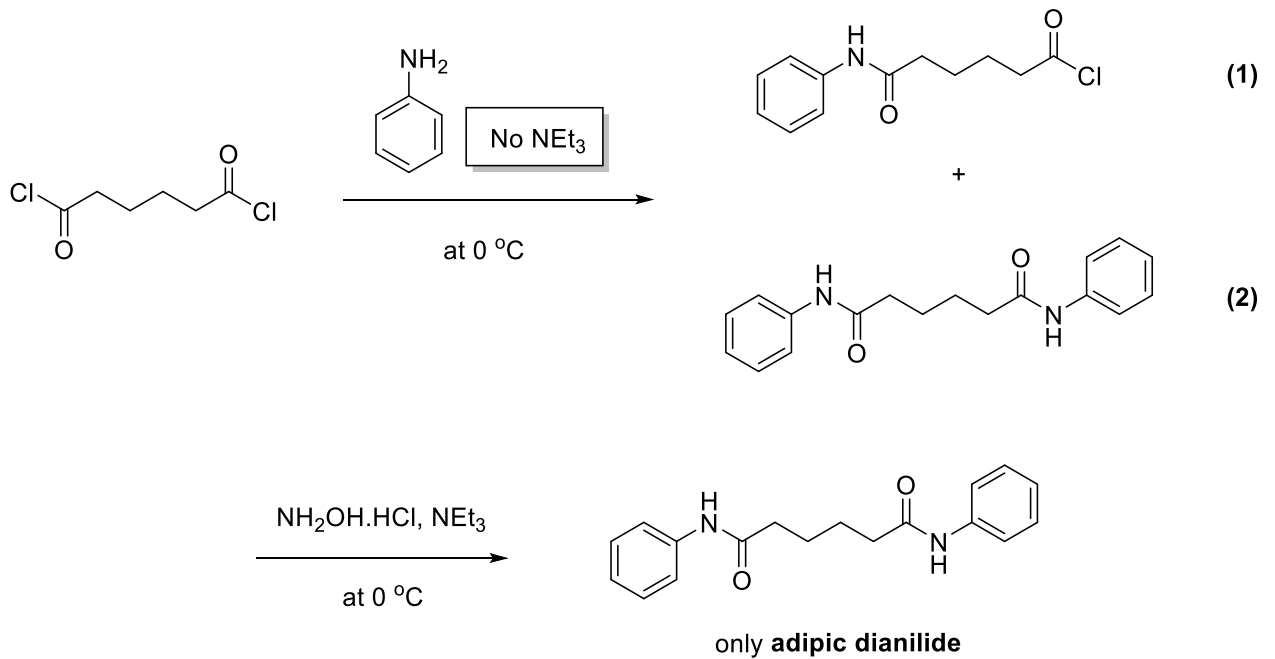
ในส่วนของสารชนิดที่สองมีค่า R_f เท่ากับ 0.27 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว และข้อมูลของ ^1H NMR spectrum (ภาคผนวก ภาพที่ ผ.2) พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 7.62 (d), 7.24 (t) และ 6.99 (t) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง ortho, meta และ para ตามลำดับ พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 2.30 (m) และ 1.64 (m) ppm เป็นโปรตอนของสายคาร์บอน นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 10.45 (s) ppm เป็นโปรตอนของหมู่ $-\text{OH}$ และ ตำแหน่ง δ 9.06 (s) ppm เป็นโปรตอนของหมู่ $-\text{NH}$ ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ดังแสดงใน ภาพที่ 3.3



ภาพที่ 3.3 ^1H NMR spectrum ของสาร N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 1

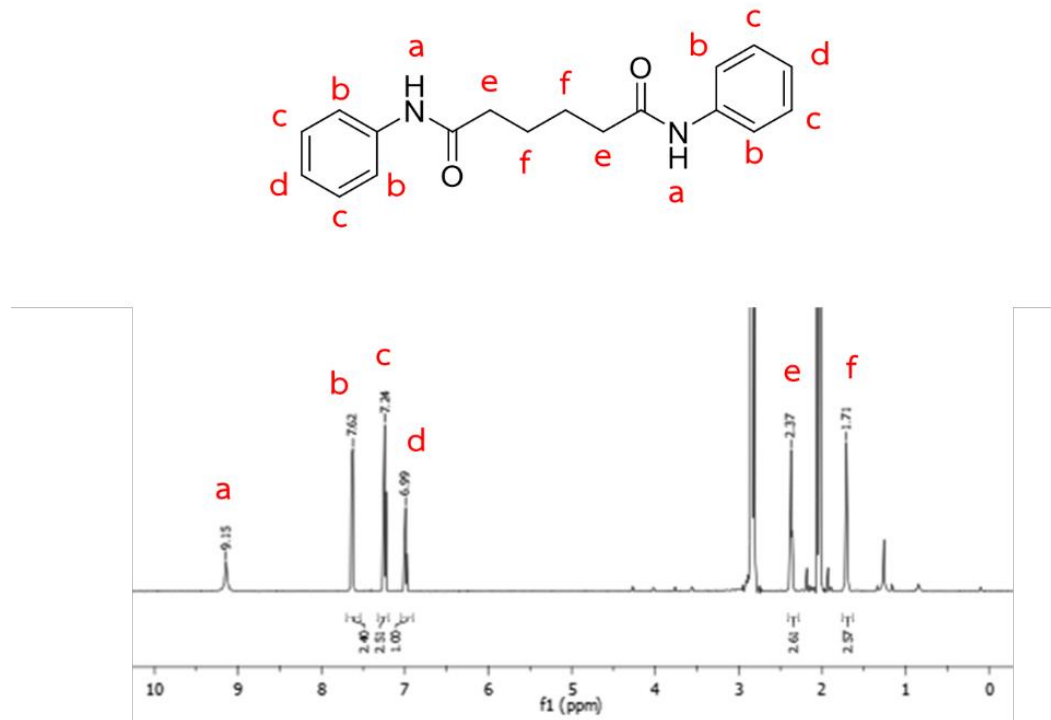
โดยสัดส่วนของผลิตภัณฑ์ทั้งสองที่ได้จากการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 1 นั้น ให้ adipic dianilide ในสัดส่วนที่มากกว่า N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ที่เป็นเป้าหมายหลักของการทดลอง ซึ่งอาจเกิดจากยังควบคุมการทำปฏิกิริยายังไม่ดีพอ กล่าวคือ ปล่อยให้ aniline หยดจนหมด และทิ้งไว้เป็นเวลานานก่อนที่จะให้ hydroxylamine เข้าทำปฏิกิริยา จึงทำให้ hydroxylamine แย่งเข้าทำปฏิกิริยากับ adipoyl chloride ไม่ทัน aniline จึงได้ adipic dianilide ออกมาในสัดส่วนที่มากกว่า N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide

3.2 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 2



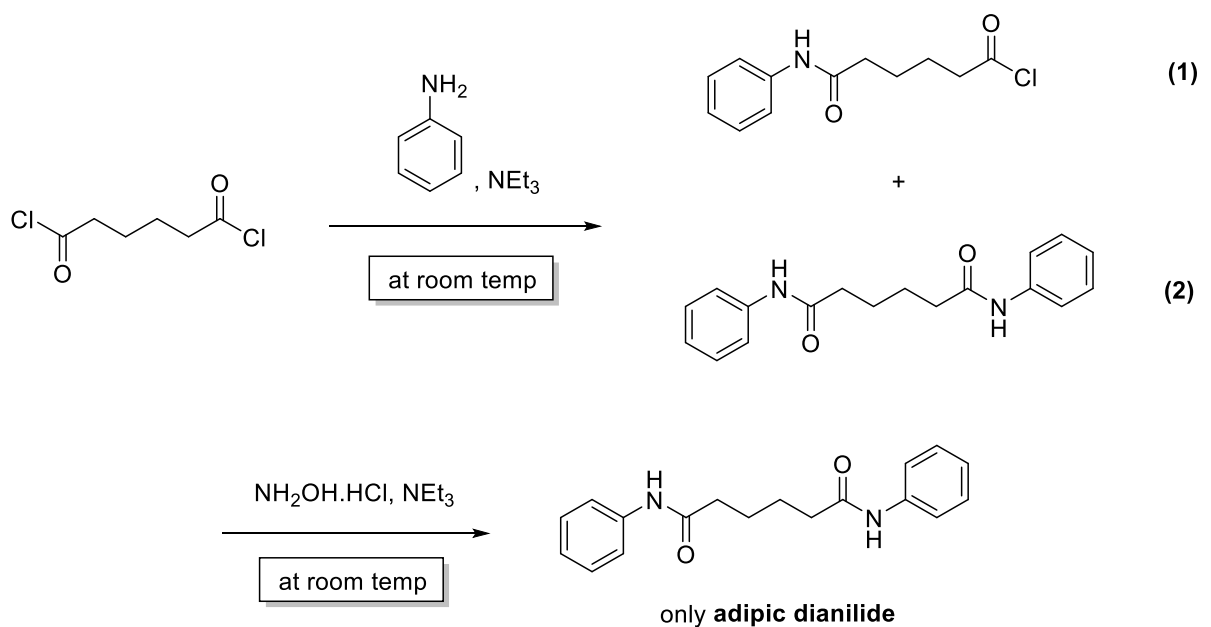
ภาพที่ 3.4 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 2

การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 2 เมื่อได้ผลิตภัณฑ์ออกมาแล้ว ทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ทำการตรวจสอบสารที่แยกออกมาได้เบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลาย คือ 1:2 hexane:EtOAc โดยสารชนิดที่หนึ่งมีค่า R_f เท่ากับ 0.41 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ข้อมูลของ ^1H NMR spectrum (ภาคผนวก ภาพที่ ผ.3) พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 7.62 (d), 7.24 (t) และ 6.99 (t) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง ortho, meta และ para ตามลำดับ พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 2.37 (m) และ 1.71 (m) ppm และพบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 9.08 (s) ppm เป็นโปรตอนของหมู่ $-\text{NH}$ ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของ adipic dianilide ดังแสดงในภาพที่ภาพที่ 3.5 โดยผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 2 คือ adipic dianilide ซึ่งไม่ใช่เป้าหมายหลักของการทดลอง อาจจะเป็นเพราะ ยังควบคุมความชื้นของปฏิกิริยาได้ไม่ดีพอ ทำให้สารตั้งต้นเสียไปและเกิดเป็น adipic acid เกิดขึ้น ซึ่งไม่สามารถตรวจสอบได้ด้วยเทคนิค TLC



ภาพที่ 3.5 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 2

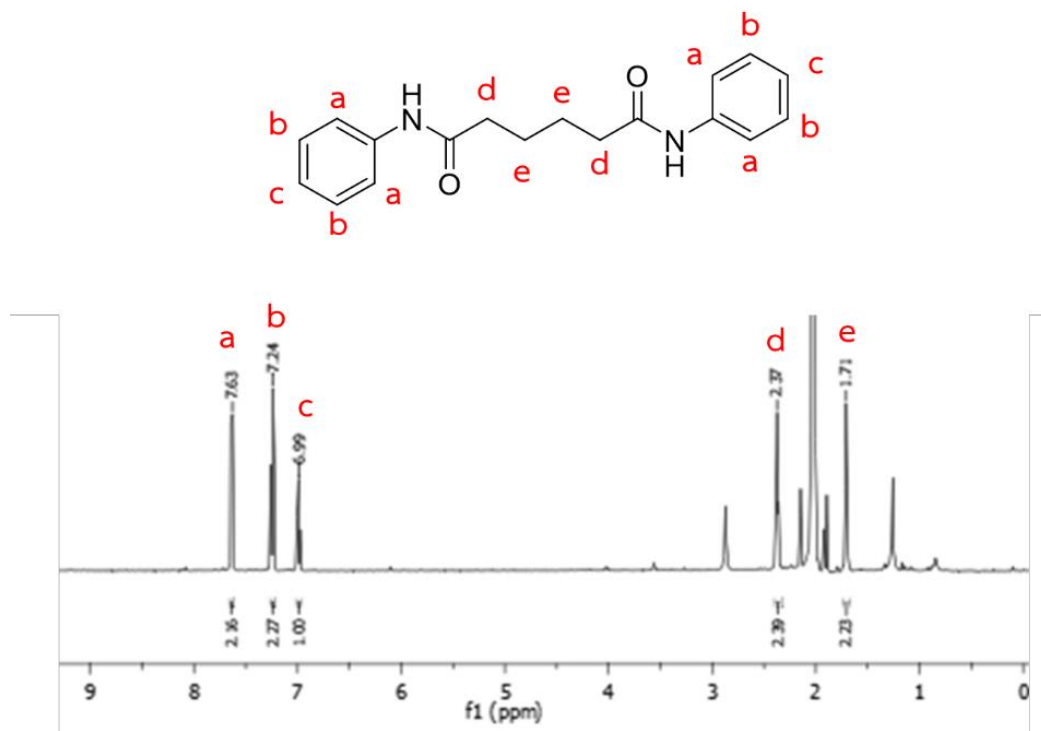
3.3 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 3



ภาพที่ 3.6 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 3

จากผลของการทดลองในปฏิกิริยาที่ 1 และปฏิกิริยาที่ 2 ทำให้ผู้วิจัยสนใจการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ ต่อมาเป็นปฏิกิริยาที่ 3 ซึ่งอ้างอิงขั้นตอนการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 1 (หัวข้อ 2.3.1) เป็นหลัก เพราะเป็นวิธีที่สามารถสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ได้ (หัวข้อ 3.1) แต่ทำปฏิกิริยาทั้งหมดที่ อุณหภูมิห้อง เนื่องจากในปฏิกิริยาที่ 2 (หัวข้อ 3.2) อาจมีผลของความชื้นเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งทำให้ไม่ได้ ผลลัพธ์หลักที่ต้องการ

ผลของการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 3 ทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ 1:2 hexane:EtOAc มีค่า R_f เท่ากับ 0.51 มี ลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ข้อมูลของ ^1H NMR spectrum (ภาคผนวก ภาพที่ ผ.4) พบสัญญาณของโปรตอน ที่ตำแหน่ง δ 7.63 (d), 7.24 (t) และ 6.99 (t) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนที่ตำแหน่ง ortho, meta และ para ตามลำดับ และพบสัญญาณของโปรตอนที่ตำแหน่ง δ 2.37 (t) และ 1.71 (t) ppm ซึ่งสอดคล้องกับ โครงสร้างของ adipic dianilide ดังแสดงในภาพที่ 3.7

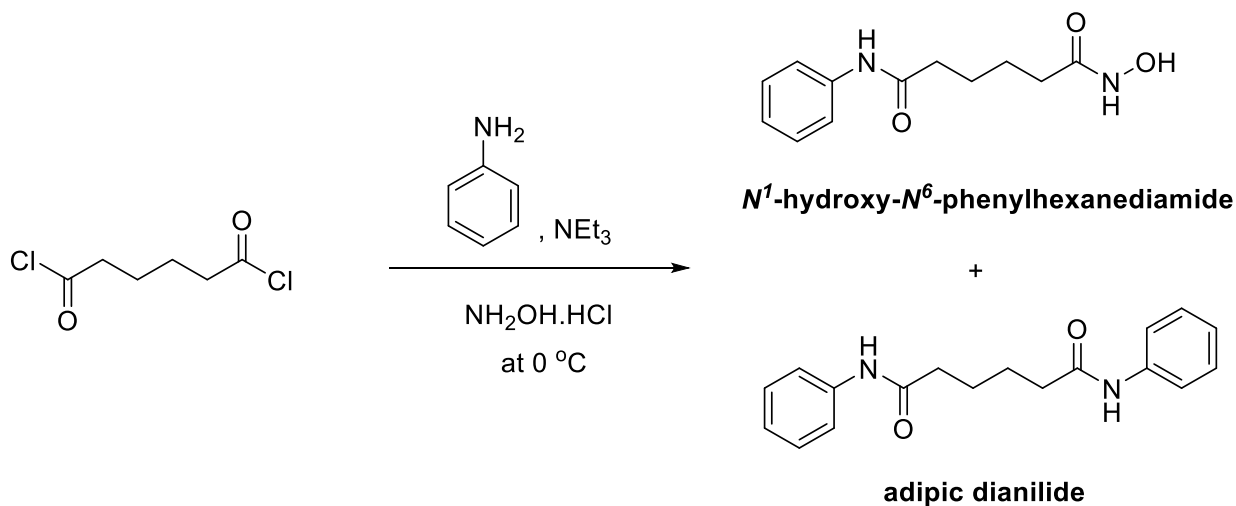


ภาพที่ 3.7 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 3

จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า aniline นั้นมีความไวมาก เมื่อเทียบกับ hydroxamic acid และยังทำ ปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องแล้ว ยิ่งทำให้ aniline เข้าทำปฏิกิริยากับ adipoyl chloride เกิดเป็น adipic dianilide มากยิ่งขึ้น ดังนั้นการทำปฏิกิริยาที่ $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ เช่นเดียวกับการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 1 (หัวข้อ 2.3.1) จึงเป็นสถานะที่เหมาะสมมากกว่า กล่าวคืออุณหภูมิที่ลดลงจะช่วยให้ปฏิกิริยาเกิดได้ช้าลง ส่งผลให้ aniline เข้า

ทำปฏิกิริยากับ adipoyl chloride ได้ช้าลง และยังเป็นโอกาสให้ hydroxamic acid เข้าทำปฏิกิริยาได้มากขึ้นอีกด้วย

3.4 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 4



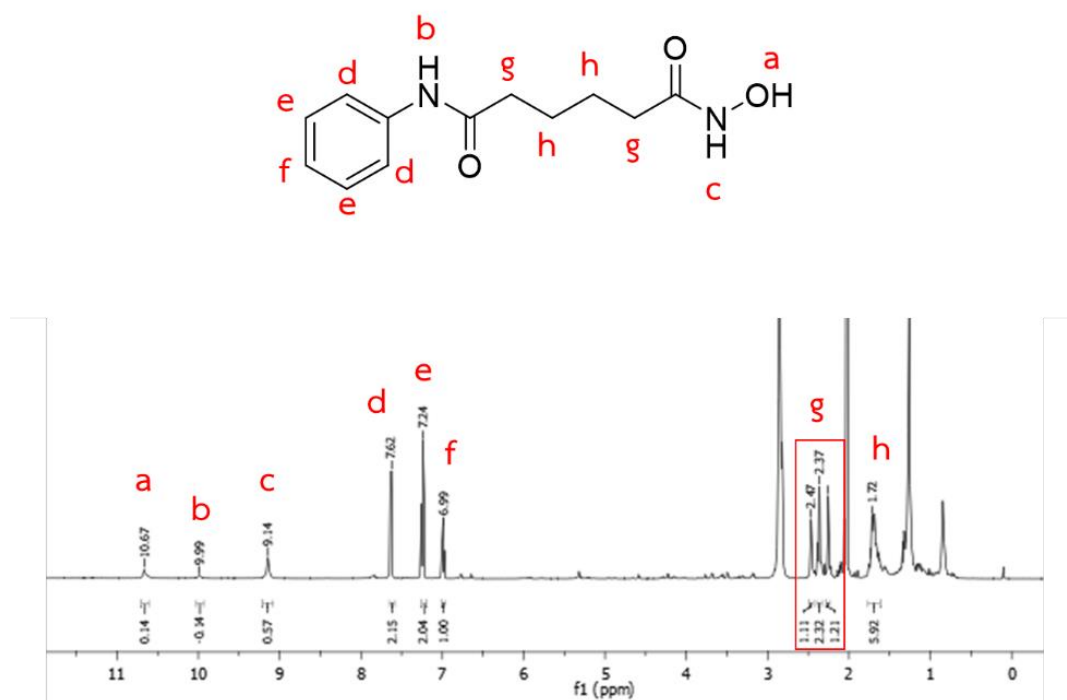
ภาพที่ 3.8 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 4

การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 3 ได้ผลิตภัณฑ์ออกมา 2 ชนิดหลัก ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ทำการตรวจสอบสารที่แยกออกมาได้เบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ EtOAc โดยสารชนิดที่หนึ่งมีค่า R_f เท่ากับ 0.55 มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน เมื่อทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC เทียบกับ adipic dianilide พบว่ามีค่า R_f เท่ากัน แต่มี impurity ที่ไม่ทราบชนิดปนออกมาด้วย ซึ่งไม่สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ด้วยเทคนิค column chromatography ในส่วนของสารชนิดที่สอง มีค่า R_f เท่ากับ 0.33 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว เมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับ Fe(III) พบว่า สารละลายสีเหลืองเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ดังแสดงในภาพที่ 3.9



ภาพที่ 3.9 ภาพสารละลายสีน้ำตาล ของการทำปฏิกิริยาระหว่าง Fe(III) และ *N*¹-hydroxy-*N*⁶-phenylhexanediamide

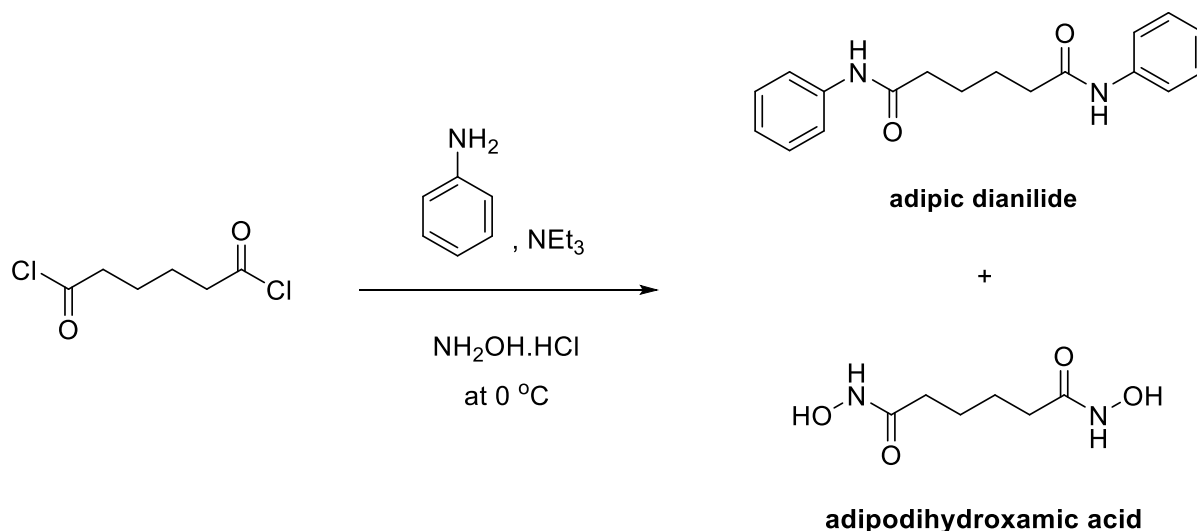
จากข้อมูลของ ^1H NMR spectrum ของสารชนิดที่สอง (ภาคผนวก **ภาพที่ ผ.5**) พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 7.62 (d), 7.24 (t) และ 6.99 (t) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง ortho, meta และ para ตามลำดับ พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 2.47 (s), 2.37 (s), 2.26 (s) และ 1.72 (m) ppm คาดว่าเป็นสัญญาณโปรตอนบนสายคาร์บอน ซึ่งผลที่ได้ของ ^1H NMR spectrum นี้ให้เห็นว่าสารที่ได้ยังไม่บริสุทธิ์ หรือมี impurity ปนออกมาด้วยอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนั้นยังพบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 9.99 (s) และ 9.14 (s) ppm ซึ่งคาดว่าเป็นโปรตอนของหมู่ $-\text{NH}$ และพบโปรตอนตำแหน่ง δ 10.67 (s) เป็นโปรตอนของหมู่ $-\text{OH}$ ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ดังแสดงใน**ภาพที่ 3.10**



ภาพที่ 3.10 ^1H NMR spectrum ของสาร N^1 -Hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 4

วิธีการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 4 ผู้วิจัยมุ่งหมายให้ aniline และ hydroxamic acid มีโอกาสที่จะทำปฏิกิริยากับ adipoyl chloride พร้อมกัน ๆ เพื่อลดข้อเสียที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาก่อนหน้า ที่ให้ aniline เข้าทำปฏิกิริยากับ adipoyl chloride ก่อน hydroxamic acid และ ทำปฏิกิริยาที่ $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (**หัวข้อ 3.1, 3.2 และ 3.3**) ผลการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 4 นั้นพบว่า ได้สัดส่วนของ adipic dianilide และ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ออกมาพอๆกัน แต่มีปริมาณที่น้อยมากๆ อีกทั้งยังมี impurity ที่ปนออกมาด้วยในสารทั้งสองชนิด ถึงแม้ว่าจะทำการทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แล้วก็ตาม ซึ่งถือว่าเป็นข้อจำกัดของการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ด้วยวิธีการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 4

3.5 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 5

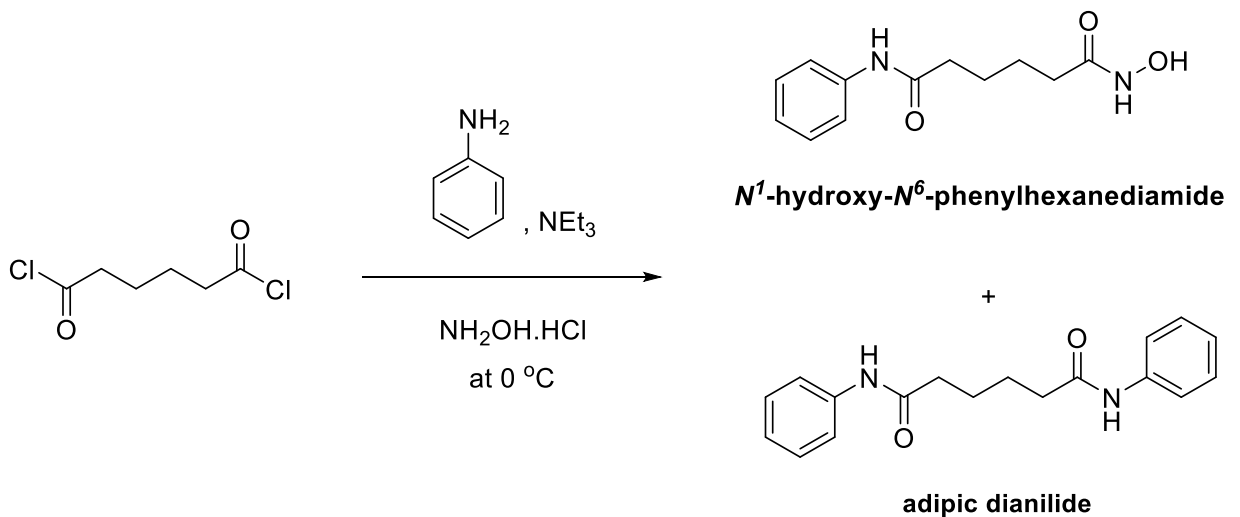


ภาพที่ 3.11 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 5

ในการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 5 ผู้วิจัยสนใจที่จะตรวจสอบ adipoyl chloride ด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ 1:2 hexane:EtOAc ทดสอบโดยการนำของผสมภายในขวดก้นกลม ในระหว่างทำปฏิกิริยาที่เวลา 5 นาทีแรก มาทำปฏิกิริยากับ phenol แล้วทำการเทียบค่า R_f (หัวข้อที่ 2.3.7) ผลการทดลองพบว่า adipoyl chloride หมุดตั้งแต่ 5 นาทีแรกของการทำปฏิกิริยา และจากการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ 1:2 hexane:EtOAc พบว่าได้ผลิตภัณฑ์คือ adipic dianilide และ adipodihydroxamic acid ดังแสดงในภาพที่ 3.11 โดย adipic dianilide มีค่า R_f เท่ากับ 0.21 และ adipodihydroxamic acid มีค่า R_f เท่ากับ 0 ทั้งนี้ด้วยข้อจำกัดด้านเวลา และสารทั้งสองชนิดไม่ใช่ผลิตภัณฑ์หลักที่ต้องการ ผู้วิจัยจึงไม่ได้ทำให้สารทั้งสองชนิดบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography และไม่ได้ทำการยืนยันโครงสร้างของสาร ดังเช่นปฏิกิริยาก่อนหน้า

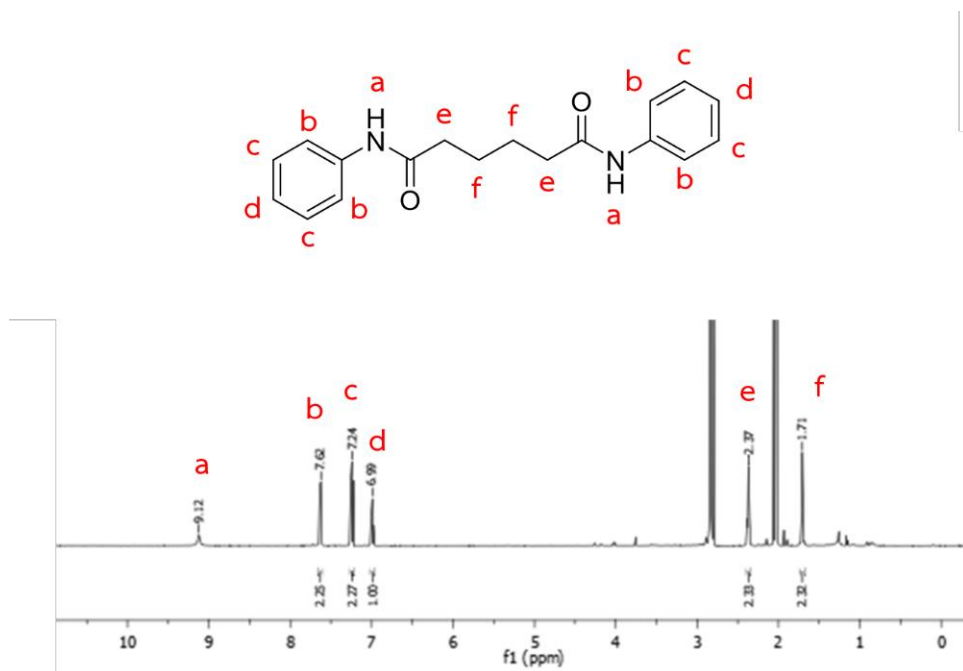
ทั้งนี้การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 5 ที่ผู้วิจัยตั้งใจให้ hydroxamic acid มีโอกาสเข้าทำปฏิกิริยากับ adipoyl chloride ก่อน aniline เพื่อหวังให้มีสัดส่วนของ adipic dianilide ที่ลดลง เมื่อเทียบกับ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ต้องการ แต่การทดลองในครั้งนี้พบว่า ไม่สามารถสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ได้ แต่ได้ adipodihydroxamic acid แทน ซึ่งผลการทดลองที่ได้ชี้ให้เห็นว่า hydroxamic acid นั้นมีความไวในการทำปฏิกิริยาเช่นเดียวกับ aniline ถึงจะแม้จะไม่ไวเท่า aniline ก็ตาม

3.6 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 6



ภาพที่ 3.12 การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 6

การสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 6 เมื่อทำการสังเคราะห์เสร็จเรียบร้อยแล้ว ทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ทำการตรวจสอบสารที่แยกออกมาได้เบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ EtOAc โดยสารชนิดที่หนึ่งมีค่า R_f เท่ากับ 0.58 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ข้อมูลของ ^1H NMR spectrum (ภาคผนวก ภาพที่ ผ.6) พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 7.62 (d), 7.24 (t) และ 6.99 (t) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง ortho, meta และ para ตามลำดับ พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 2.37 (m) และ 1.71 (m) ppm และพบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 9.12 (s) ppm เป็นโปรตอนของหมู่ $-\text{NH}$ ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของ adipic dianilide ดังแสดงในภาพที่ 3.13

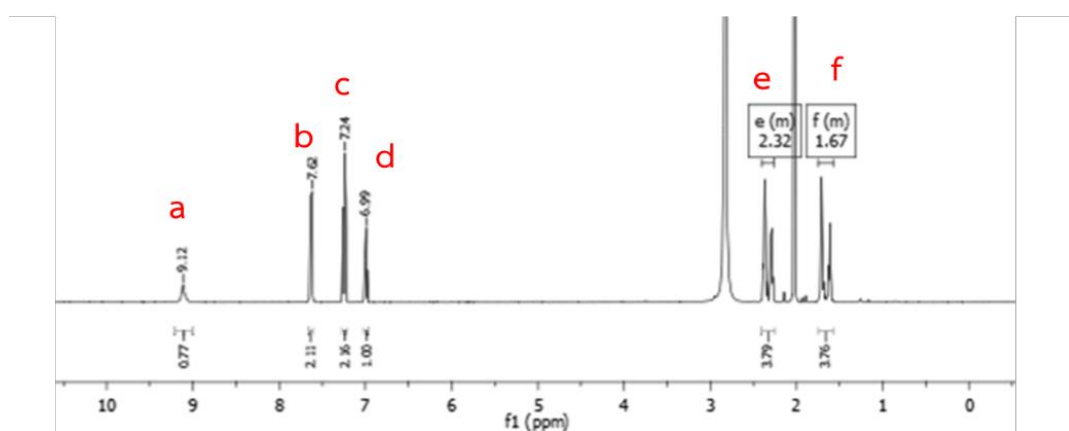
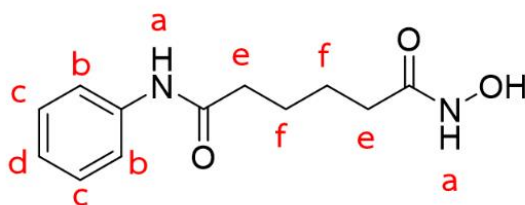


ภาพที่ 3.13 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 6

สารชนิดที่สองมีค่า R_f เท่ากับ 0.39 มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว เมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับ Fe(III) พบว่า สารละลายสีเหลืองเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ดังแสดงในภาพที่ 3.14 ประกอบกับข้อมูลของ ^1H NMR spectrum (ภาคผนวก ภาพที่ ผ.7) พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 7.62 (d), 7.24 (t) และ 6.99 (t) ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง ortho, meta และ para ตามลำดับ พบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 2.32 (m) และ 1.67 (m) ppm และพบสัญญาณของโปรตอนตำแหน่ง δ 9.12 (s) ppm เป็นโปรตอนของหมู่ $-\text{NH}$ ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างของ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ดังแสดงในภาพที่ 3.15



ภาพที่ 3.14 ภาพสารละลายสีน้ำตาล ของการทำปฏิกิริยาระหว่าง Fe(III) และ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide



ภาพที่ 3.15 ^1H NMR spectrum ของสาร N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 6

วิธีการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยาที่ 6 นั้น มีแนวคิดในการที่จะลดข้อบกพร่องของปฏิกิริยาที่ผ่านมา โดยการให้ aniline และ hydroxamic acid มีโอกาสเข้าทำปฏิกิริยากับ adipoyl chloride พร้อม ๆ กัน และจากผลการทดลองพบว่าได้ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ในสัดส่วนที่มากกว่า adipic dianilide ถึงแม้จะเสีย N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide บางส่วนไป เพราะไม่สามารถแยก N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ออกจาก adipic dianilide ได้แบบ 100% ซึ่งนับว่าเป็นสัญญาณที่ดีในการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) แต่เนื่องด้วยมีข้อจำกัดในการเข้ามาปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ อันเนื่องมาจากการประกาศปิดสถานที่ทำการของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากเหตุการณ์ระบาดของโรคโควิด-19 จึงจำเป็นต้องหยุดการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) และอนุพันธ์ไว้เพียงเท่านี้

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

4.1 สรุปผลการทดลอง

จากการสังเคราะห์โดย**ปฏิกิริยาที่ 1** *N*¹-hydroxy-*N*⁶-phenylhexanediamide สามารถสังเคราะห์ได้จาก adipoyl chloride ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitution ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ 1:4 hexane:EtOAc มีค่า R_f เท่ากับ 0.27 และยืนยันเอกลักษณ์ของสารได้จาก เทคนิค ¹H NMR ให้ผลสอดคล้องกับโครงสร้างของ *N*¹-hydroxy-*N*⁶-phenylhexanediamide นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์ adipic dianilide ได้เช่นกัน ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC มีค่า R_f เท่ากับ 0.49 และยืนยันเอกลักษณ์ของสารได้จาก เทคนิค ¹H NMR ให้ผลสอดคล้องกับโครงสร้างของ adipic dianilide

จากการสังเคราะห์โดย**ปฏิกิริยาที่ 2** adipic dianilide สามารถสังเคราะห์ได้จาก adipoyl chloride ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitution ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ 1:2 hexane:EtOAc มีค่า R_f เท่ากับ 0.41 และยืนยันเอกลักษณ์ของสารได้จาก เทคนิค ¹H NMR ให้ผลสอดคล้องกับโครงสร้างของ adipic dianilide

จากการสังเคราะห์โดย**ปฏิกิริยาที่ 3** adipic dianilide สามารถสังเคราะห์ได้จาก adipoyl chloride ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitution ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ 1:2 hexane:EtOAc มีค่า R_f เท่ากับ 0.51 และยืนยันเอกลักษณ์ของสารได้จาก เทคนิค ¹H NMR ให้ผลสอดคล้องกับโครงสร้างของ adipic dianilide

จากการสังเคราะห์โดย**ปฏิกิริยาที่ 4** *N*¹-hydroxy-*N*⁶-phenylhexanediamide สามารถสังเคราะห์ได้จาก adipoyl chloride ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitution ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ EtOAc มีค่า R_f เท่ากับ 0.33 และยืนยันเอกลักษณ์ของสารได้จาก เทคนิค ¹H NMR ให้ผลสอดคล้องกับโครงสร้างของ *N*¹-hydroxy-*N*⁶-phenylhexanediamide นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์ adipic dianilide ได้เช่นกัน ได้สารผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน ตรวจสอบผลิตภัณฑ์เบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่ามีค่า R_f เท่ากับ 0.55

จากการสังเคราะห์โดย**ปฏิกิริยาที่ 5** ผู้วิจัยคาดว่า adipic dianilide และ adipodihydroxamic acid สามารถสังเคราะห์ได้จาก adipoyl chloride ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitution ทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์เบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ 1:2 hexane:EtOAc มีค่า R_f เท่ากับ 0.21 และ 0 ตามลำดับ

จากการสังเคราะห์โดย**ปฏิกิริยาที่ 6** N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide สามารถสังเคราะห์ได้จาก adipoyl chloride ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitution ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายคือ EtOAc มีค่า R_f เท่ากับ 0.39 เมื่อนำของแข็งสีขาวไปทำปฏิกิริยากับ Fe(III) พบว่า สารละลายสีเหลืองเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และยืนยันเอกลักษณ์ด้วย เทคนิค $^1\text{H NMR}$ ให้ผลสอดคล้องกับโครงสร้างของ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์ adipic dianilide ได้เช่นกัน ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ตรวจสอบผลิตภัณฑ์เบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC พบว่ามีค่า R_f เท่ากับ 0.58 และยืนยันเอกลักษณ์ของสารได้จากเทคนิค $^1\text{H NMR}$ ให้ผลสอดคล้องกับโครงสร้างของ adipic dianilide

ตารางที่ 4.1 ตารางสรุปผลการทดลอง โดยแสดงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาที่ 1 ถึง 6

| ผลิตภัณฑ์ | ปฏิกิริยาที่ | | | | | |
|--|--------------|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide | ✓ | | | ✓ | | ✓ |
| adipic dianilide | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| adipodihydroxamic acid | | | | | ✓ | |

4.2 ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับงานวิจัยในอนาคต

1. การพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) และอนุพันธ์ ในบางปฏิกิริยานั้น ถึงแม้จะไม่ได้ผลิตภัณฑ์หลักที่ต้องการ หรือได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ แต่ได้ออกมาในสัดส่วนที่น้อยกว่าผลพลอยได้ ก็ต้องทำการบันทึกผลได้ร้อยละทั้งหมด เพื่อเก็บเป็นข้อมูลที่ใช้ในการเปรียบเทียบเชิงคำนวณ เพื่อให้เห็นผลการทดลองที่เป็นรูปธรรมมากยิ่งขึ้น ซึ่งในงานวิจัยนี้ไม่มีการรายงานผลได้ร้อยละทั้งหมด เนื่องจากเป็นความผิดพลาดของผู้วิจัยที่ไม่ได้ทำการบันทึกข้อมูลในส่วนนี้ ประกอบกับในงานชิ้นนี้ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อที่จะหาวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการสังเคราะห์ N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide ภายในระยะเวลาที่จำกัด จึงเกิดความเร่งรีบในการหาวิธีการที่เหมาะสม และทำให้พลาดในการบันทึกข้อมูลในส่วนนี้ของแต่ละปฏิกิริยา ซึ่งเป็นความผิดพลาดในการวางแผนการดำเนินงานของผู้วิจัยเอง ในโอกาสหน้าสำหรับงานวิจัยในลักษณะนี้หรืออื่นๆ อยากเสนอให้วางแผนการดำเนินงานให้รอบคอบและดีมากกว่านี้

2. การพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) และอนุพันธ์ ในบางปฏิกิริยา มีการได้ impurity ที่ไม่ทราบชนิดปนออกมาด้วย แต่เนื่องจากระยะเวลาที่จำกัด ประกอบกับสถานการณ์การระบาดของโรคโควิด-19 จึงทำให้ผู้วิจัยไม่ได้สนใจไปที่ impurity ที่เกิดขึ้นมาจากปฏิกิริยานั้น ๆ จึงอยากเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต ให้มีการตรวจสอบชนิดของ impurity ที่เกิดขึ้น เพราะ impurity ที่เกิดขึ้นนั้น สามารถบอกจุดอ่อนของปฏิกิริยานั้น ๆ ว่ามีข้อด้อยอย่างไร เพื่อนำไปปรับปรุงวิธีพัฒนาการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) และอนุพันธ์ ให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นต่อไปในอนาคต

3. การพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ suberanilohydroxamic acid (SAHA) และอนุพันธ์ ในบางปฏิกิริยานั้น ได้ผลิตภัณฑ์เป็น adipodihydroxamic acid ออกมา ซึ่งผู้วิจัยยังไม่สามารถทำการแยกออกมาจากการทำ column chromatography ได้ จึงอยากเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต ให้หาวิธีการแยกเอา adipodihydroxamic acid ออกมาจากการทำ column chromatography หรือหาวิธีการทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยวิธีอื่น ๆ เพื่อนำสารที่แยกออกมาได้ไปยืนยันเอกลักษณ์โครงสร้างของสารด้วยเทคนิค ^1H NMR spectroscopy ต่อไปในอนาคต

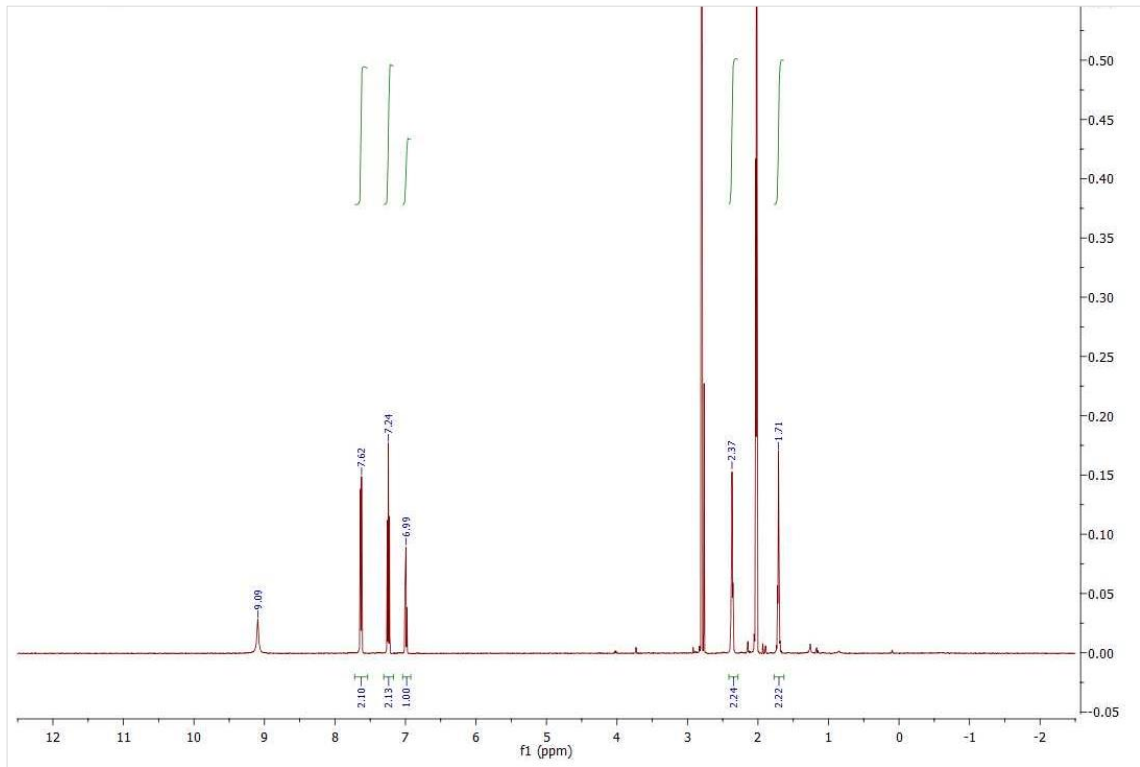
เอกสารอ้างอิง

1. Weiderpass, E., Lifestyle and cancer risk. *J Prev Med Public Health*. **2010**, *43*, 459–471.
2. Danaei, G.; Vander Hoorn, S.; Lopez, A. D.; Murray, C. J.; Ezzati, M.; group, C. R. A. c., Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *Lancet*. **2005**, *366*, 1784–1793.
3. Gallinari, P.; Di Marco, S.; Jones, P.; Pallaoro, M.; Steinkühler, C., HDACs, histone deacetylation and gene transcription: from molecular biology to cancer therapeutics. *Cell Res*. **2007**, *17*, 195–211.
4. Li, Y.; Seto, E., HDACs and HDAC inhibitors in cancer development and therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. **2016**, *6*, 1–34.
5. Lehrmann, H.; Pritchard, L. L.; Harel-Bellan, A., Histone acetyltransferases and deacetylases in the control of cell proliferation and differentiation. *Adv. Cancer Res*. **2002**, *86*, 41–65.
6. Marks, P. A.; Rifkind, R. A.; Richon, V. M.; Breslow, R.; Miller, T.; Kelly, W. K., Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nat. Rev. Cancer*. **2001**, *1*, 194–202.
7. Gryder, B. E.; Rood, M. K.; Johnson, K. A.; Patil, V.; Raftery, E. D.; Yao, L.-P. D.; Rice, M.; Azizi, B.; Doyle, D. F.; Oyelere, A. K., Histone deacetylase inhibitors equipped with estrogen receptor modulation activity. *J. Med. Chem*. **2013**, *56*, 5782–5796.
8. Gediya, L. K.; Chopra, P.; Purushottamachar, P.; Maheshwari, N.; Njar, V. C., A new simple and high-yield synthesis of suberoylanilide hydroxamic acid and its inhibitory effect alone or in combination with retinoids on proliferation of human prostate cancer cells. *J. Med. Chem*. **2005**, *48*, 5047–5051.

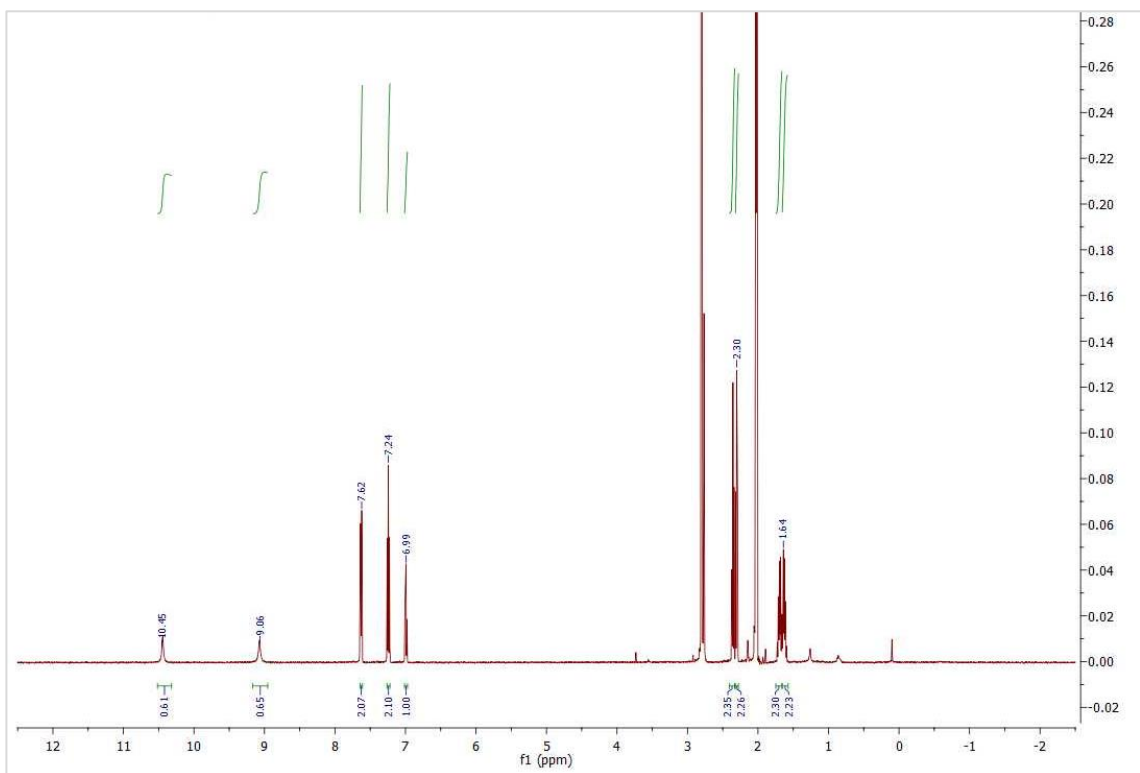
เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

9. Richon, V.; Webb, Y.; Merger, R.; Sheppard, T.; Jursic, B.; Ngo, L.; Civoli, F.; Breslow, R.; Rifkind, R.; Marks, P., Second generation hybrid polar compounds are potent inducers of transformed cell differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1996**, *93*, 5705–5708.
10. Butler, L. M.; Agus, D. B.; Scher, H. I.; Higgins, B.; Rose, A.; Cordon-Cardo, C.; Thaler, H. T.; Rifkind, R. A.; Marks, P. A.; Richon, V. M., Suberoylanilide hydroxamic acid, an inhibitor of histone deacetylase, suppresses the growth of prostate cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 5165–5170.
11. Breslow, R.; Marks, P. A.; Rifkind, R. A., Novel potent inducers of terminal differentiation and methods of use thereof. *US Patent.* **1993**, 007148.
12. Stowell, J. C.; Huot, R. I.; Van Voast, L., The synthesis of N-hydroxy-N'-phenyloctanediamide and its inhibitory effect on proliferation of AXC rat prostate cancer cells. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1411–1413.
13. Mai, A.; Esposito, M.; Sbardella, G.; Massa, S., A New Facile and Expeditious Synthesis of N-Hydroxy-N'-Phenyloctanediamide, a Potent Inducer of Terminal Cytodifferentiation. *Org Prep Proced Int.* **2001**, *33*, 391–394.

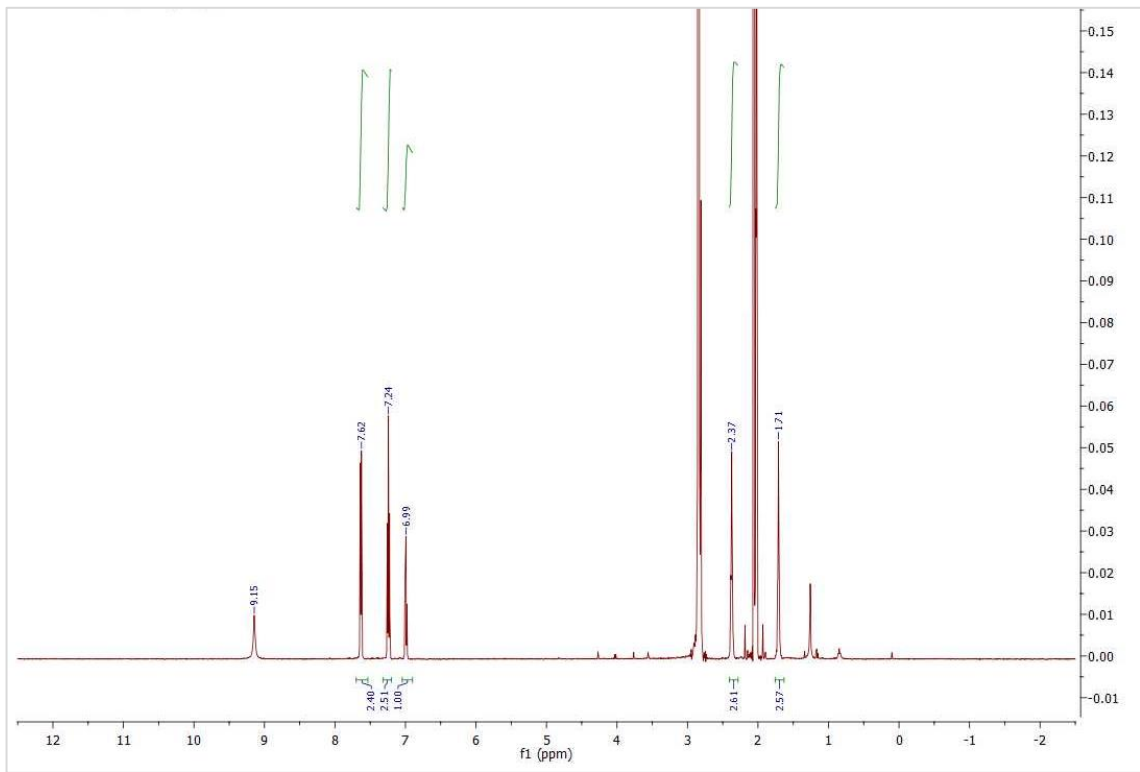
ภาคผนวก



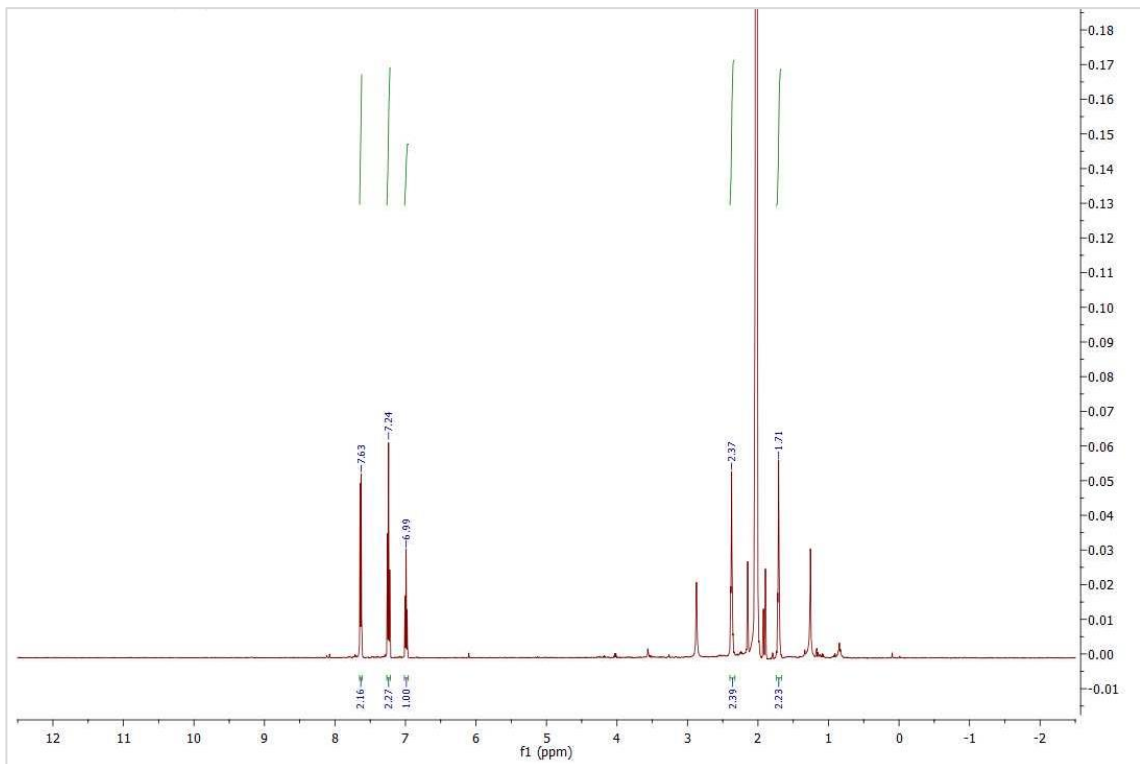
ภาพที่ ผ.1 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 1



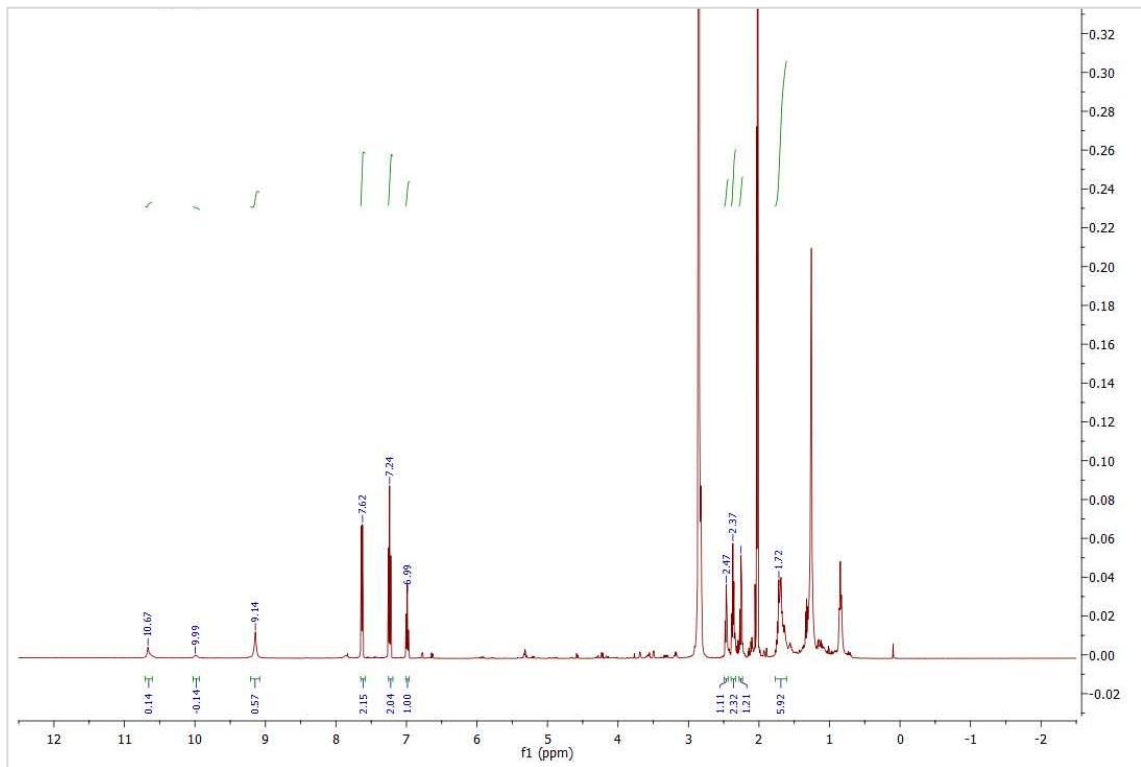
ภาพที่ ผ.2 ^1H NMR spectrum ของสาร N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 1



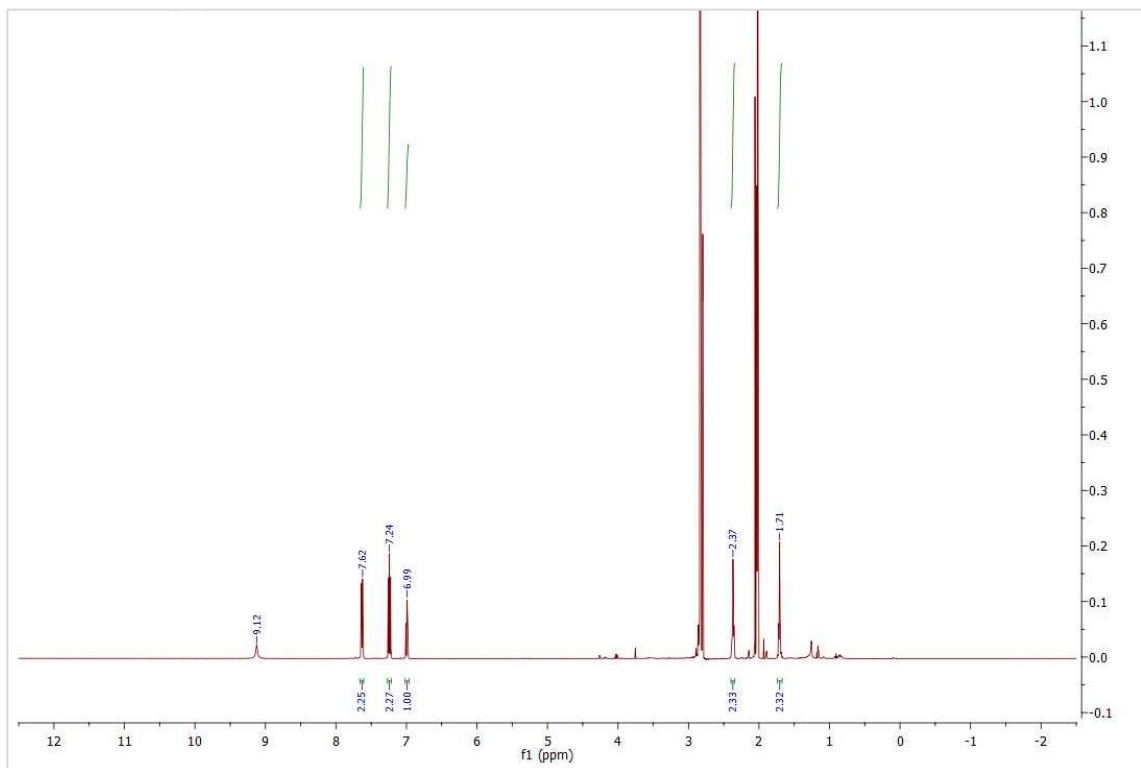
ภาพที่ ผ.3 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 2



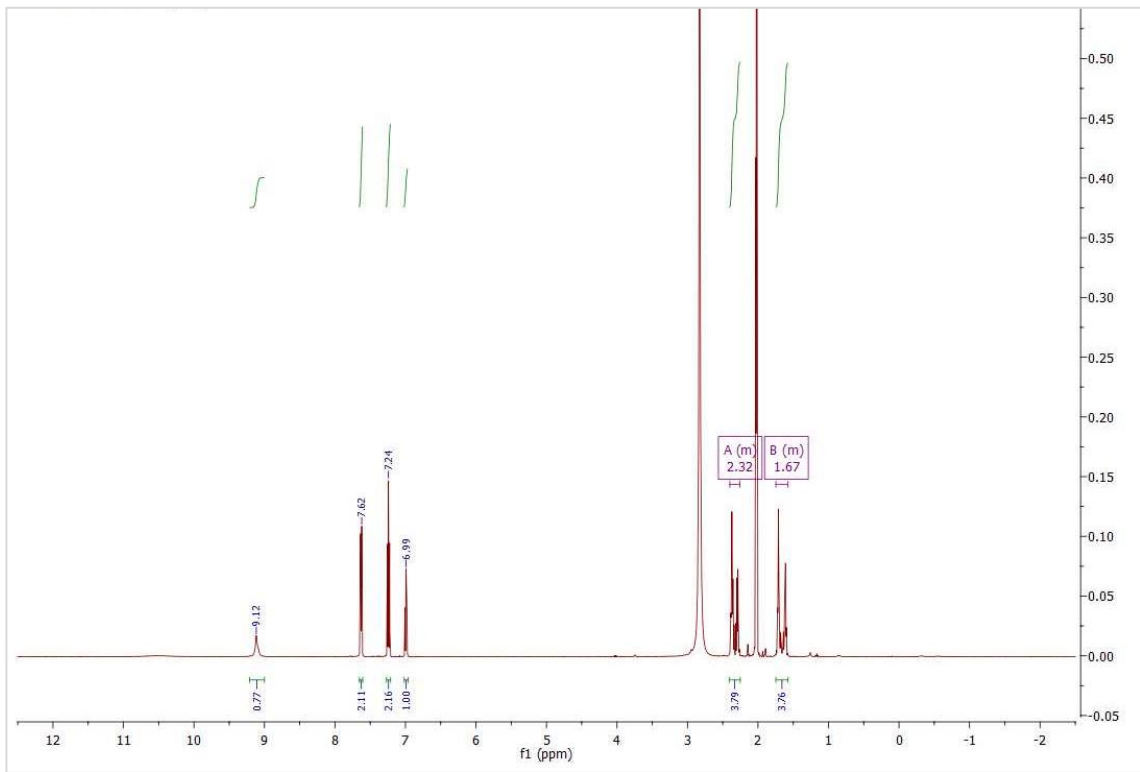
ภาพที่ ผ.4 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 3



ภาพที่ ๕.5 ^1H NMR spectrum ของสาร N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 4



ภาพที่ ๕.6 ^1H NMR spectrum ของสาร adipic dianilide (solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 6



ภาพที่ ๗.7 ^1H NMR spectrum ของสาร N^1 -hydroxy- N^6 -phenylhexanediamide
(solvent = acetone- d_6) จากปฏิกิริยาที่ 6

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวประภัสสร อ่องจรรยา เกิดเมื่อวันที่ 11 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2541 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบ้านฉางกาญจนกุลวิทยา จังหวัด ระยอง เมื่อปีการศึกษา 2559 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2560 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 195/11 หมู่ 3 ตำบลบ้านฉาง อำเภอบ้านฉาง จังหวัดระยอง รหัสไปรษณีย์ 21130 อีเมล Prapassorn.Ongjaroon@gmail.com