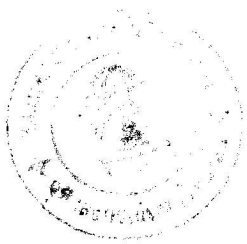
การสังเคราะห์เปปไทด์เพื่อยับยั้งโปรตีเอสในกระบวนการต่อต้านโรคไขข้อและโรคเอมฟีซีมา



นางสาว องกลณี องอร่ามเรือง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

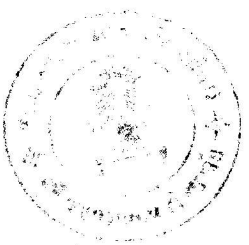
ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2538

ISBN-974-582-428-3

SYNTHESIS OF PEPTIDES AS POTENTIAL PROTEASE INHIBITORS FOR ANTIARTHRITIS AND ANTIEMPHYSEMA



MISS JONGKOLNEE JONGARAMRUONG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Chemistry
Graduate School
Chulalongkorn University
1993

ISBN-974-582-428-3

Thesis Title Synthesis of Peptides as Potential Protease Inhibitors for Antiarthritis and Antiemphysema

By Miss Jongkolnee Jongaramruong

Department Chemistry

Thesis Advisor Associate Professor Phichai Tovivich, Ph.d.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

.....Dean of Graduate School

(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

.....Chairman

(Associate Professor Pirawan Bhanthumnavin, Ph.D.)

.....Thesis advisor

(Associate Professor Phichai Tovivich, Ph.D.)

.....Member

(Associate Professor Sunibhond Pummangura, Ph.D.)

.....Member

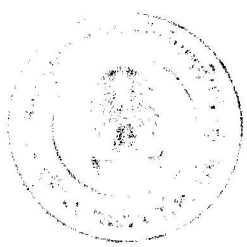
(Associate Professor Supawan Tantayanon, Ph.D.)

จงกลณี จงอร่ามเรือง : การสังเคราะห์เปปไตด์เพื่อยับยั้งโปรตีเอส ในกระบวนการต่อต้านโรคไขข้อและโรคเอมฟีซีมา (SYNTHESIS OF PEPTIDES AS POTENTIAL PROTEASE INHIBITORS FOR ANTIARTHRITIS AND ANTIEMPHYSEMA) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.พิชัย โตวิวิชญ์, 173 หน้า. ISBN 974-582-428-3

งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์เปปไตด์ หรืออนุพันธ์ของกรดอะมิโน จำนวน 13 ตัว ซึ่งทั้งหมดนี้เป็นสารใหม่ที่ยังไม่เคยมีผู้ใดสังเคราะห์มาก่อน เปปไตด์ที่สังเคราะห์ได้ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกหลายครั้ง และแยกโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารสังเคราะห์โดยวิธีทินแลร์โครมาโทกราฟี เอชพีแอลซี (HPLC) และการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของธาตุในสารประกอบ ทำการพิสูจน์สูตรโครงสร้างโดยวิธีอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี โปรตอน และคาร์บอน-13 นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี

จากการทดสอบสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์กลุ่มเซรีนโปรตีเอส ในสภาวะที่เหมาะสม พบว่าสารสังเคราะห์ทุกตัวเป็นตัวยับยั้งที่ดีสำหรับทริพซินและไคโมทริพซิน แต่สำหรับอิลาสเตสแสดงฤทธิ์ที่ต่ำมาก จนไม่สามารถทำการทดสอบกับตัวยับยั้งที่สังเคราะห์ได้

สรุปได้ว่าสารสังเคราะห์ทั้งหมดไม่สามารถออกฤทธิ์อย่างเฉพาะเจาะจง จึงไม่อาจนำมาใช้เป็นสารต่อต้านโรคไขข้อ และสารต่อต้านโรคเอมฟีซีมาในคนได้



ภาควิชา เคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เคมีอินทรีย์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

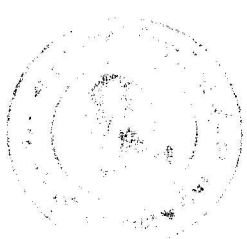
ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

##C125098 : MAJOR ORGANIC CHEMISTRY
KEY WORD: PEPTIDE/PROTEASE/ARTHRITIS/EMPHYSEMA
JONGKOLNEE JONGARAMRUONG : SYNTHESIS OF PEPTIDES AS POTENTIAL PROTEASE INHIBITORS FOR ANTIARTHRITIS AND ANTIEMPHYSEMA. THESIS ADVISOR : ASSO.PROF.PHICHAI TOVIVICH, Ph.D., 173 PP.
ISBN 974-582-428-3

In the course of this research work, a series of 13 peptides or amino acid derivatives were synthesized. All of the synthetic peptides were novel. These synthetic compounds were purified by fractional recrystallization and column chromatography. The purity of the final compounds was confirmed by thin-layer chromatography, high performance liquid chromatography and elemental analysis. The structure elucidation was performed by infrared spectroscopy, proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopies.

The enzyme inhibition activities of the synthetic compounds were tested with serine proteases in the optimum conditions. It was found that all the synthetic compounds were good inhibitors against trypsin and chymotrypsin. However, the elastase showed so low activity that it was impossible to be tested with the synthetic compounds.

In conclusion all the synthetic peptides were not specific inhibitors and they could not be used for further testing in treatment of antiarthritis and antiemphysema in human.



ภาควิชา เคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เคมีอินทรีย์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

ACKNOWLEDGEMENT

Firstly, I would like to express my sincere appreciation to Assoc. Prof. Dr. Phichai Tovivich, my thesis advisor who gave me valuable advice, assistance, and guidance of thoughtful suggestions throughout the entire period of this research. Also to Prof. Dr. Bela Ternai, my honourable advisor for his kindness in giving me valuable advice and also some chemicals including enzymes and substrates.

I am very grateful to Assoc. Prof. Dr. Amorn Petsom and Assist. Prof. Dr. Somchai Pengprecha for their helps in giving me suggestions about NMR. I am also grateful to Archan Ponwason Eamchan for his kindness advice on UV spectrophotometry. I wish to thank the thesis committee for their valuable comments. I also thank Miss Wanjana Wannaphahoun for her help to operate the NMR spectroscopy. Besides, I also thank Miss Siriwan Jirawattanapun for her help in typing some parts of my thesis.

Finally, I would like to express my greatest appreciation to my parents and brothers for their supports and encouragement throughout my study. Thanks are due to everyone who has contributed some suggestions and supports for my thesis.

CONTENTS

LIST OF FIGURES

LIST OF SCHEMES

LIST OF TABLES

LIST OF ABBREVIATIONS

Abs	absorbance
Ar	aromatic
BAPNA	N-benzoyl-DL-arginine-*p*-nitroanilide
BOC	tertiary butyloxycarbonyl
b.p.	boiling point
br.	broad
BZ	benzoyl
calc'd	calculated
°C	degree celcius
cm	centimeter
d	doublet
DMSO	dimethyl sulfoxide
Fig.	Figure
g	gram
HEPES	N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesulfonic acid
HLE	human leukocyte elastase
Lit	literature
m	multiplet
M	mole per liter or molar
mg	milligram
min	minute
mL	milliliter
mm	millimeter
mM	millimolar
mmole	millimole

m.p.	melting point
M_r	relative molecular weight
nm	nanometer
ppm	parts per million
P	phenylalanine
q	quartet
R_f	rate of flow in chromatography
s	singlet
Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-*p*NA	Succinyl-Alanine-Alanine-Proline-Phenylalanine-paranitroanilide
t	triplet
T	tyrosine
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography
V	valine
Z	carbobenzoxy