การสังเคราะห์และศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารประกอบ
โบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมันบางชนิด

ปริญญานิพนธ์

ของ

ฉลอง ทุ่มพุ่ม

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ

กรกฎาคม 2543

ลิขสิทธิ์เป็นของ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การสังเคราะห์และศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารประกอบ
โบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมันบางชนิด

บทคัดย่อ

ของ

ฉลอง ทุ่มพุ่ม

26 [illegible] 2544

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ
กรกฎาคม 2543

ฉลอง ทุ่มพุ่ม. (2543). *การสังเคราะห์และศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมันบางชนิด*. ปริญญานิพนธ์ วท.ม. (เคมีชีวภาพ). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม: ดร. จินดา แต้มบรรจง, รองศาตราจารย์ ดร. สุภาลักษณ์ ปรัชชญาสิทธิกุล, ดร. พรทิพา พิชา.

สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมัน 6 ชนิด (Stearyl carboranate, Oleyl carboranate, Elaidyl carboranate, Palmitoleyl carboranate, Linoleyl carboranate, Linoelaidyl carboranate) สังเคราะห์โดยปฏิกิริยา esterification ระหว่าง fatty alcohol กับ o-carboranyl chloride โดยใช้ DMAP เป็นตัวเร่ง ร้อยละผลผลิตที่ได้เรียงตามลำดับดังนี้ 60.3 58.2, 55.5, 65.7, 48.2, 42.3 ความบริสุทธิ์และสูตรโครงสร้างของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้วิเคราะห์โดยเทคนิคทาง IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, GC-MS ความเป็นพิษต่อเซลล์ HeLa มีค่า IC_{50} 83.1, 64.5, 63.5, 36.7, 45.3 และ 56.5 µg/cm^{3} ตามลำดับ การศึกษาพบว่า cis-isomer มีประสิทธิภาพยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีกว่า trans-isomer

SYNTHESIS AND STUDY OF CYTOTOXICITY ON CANCER CELLS OF SOME BORONATED FATTY ACID DERIVATIVES

AN ABSTRACT

BY

CHALONG THUMPUM

Presented in partial fulfillment of the requirements
for the Master of Science degree in Biological Chemistry
at Srinakharinwirot University
July 2000

Chalong Thumpum. (2000). *Synthesis and Study of Cytotoxicity on Cancer Cells of Some Boronated Fatty Acid Derivatives.* Master thesis, M. Sc. (Biological Chemistry). Bangkok : Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Dr. Chinda Tambunchong, Assoc. Prof. Dr. Supaluk Prachayasittikul, Dr. Porntipa Picha.

Six Boronated fatty acid derivatives, stearyl carboranate, oleyl carboranate, elaidyl carboranate, palmitoleyl carboranate, linoleyl carboranate and linoelaidyl carboranate were synthesised by esterification of the corresponding fatty alcohols with o-carboranyl chloride using dimethylaminopyridine (DMAP) as a catalyst. The percent yields were 60.3, 58.2, 55.5, 65.7, 48.2 and 42.3 respectively. Purity analyses and structural determinations were carried out by IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR and GC-MS techniques. The toxicities of the synthetic compounds were determined by using HeLa cells. For each compound, the IC_{50} values are in parentheses : stearyl carboranate(83.1 $\mu g/cm^3$), oleyl carboranate(64.5 $\mu g/cm^3$), elaidyl carboranate(63.5 $\mu g/cm^3$), palmitoleyl carboranate(36.7 $\mu g/cm^3$), linoleyl carboranate(45.3 $\mu g/cm^3$) and linoelaidyl carboranate(56.5 $\mu g/cm^3$) respectively. The compounds with cis-configuration show higher potential for inhibiting HeLa cells than trans-isomer.

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง

การสังเคราะห์และศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารประกอบ
โบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมันบางชนิด

ของ
นางสาวฉลอง ทุ่มพุ่ม

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิชาเอกเคมีชีวภาพ
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาตราจารย์ ดร. เสริมศักดิ์ วิศาลาภรณ์)
วันที่ 13 กรกฎาคม พ.ศ. 2543

คณะกรรมการสอบปริญญานิพนธ์

.... ประธาน
(อาจารย์ ดร. จินดา แต้มบรรจง)

.... กรรมการ
(รองศาตราจารย์ ดร. สุภาลักษณ์ ปรัชชญาสิทธกุล)

.... กรรมการ
(ดร. พรทิพา พิชา)

.... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร. สุนันท์ ชัยนะกุล)

.... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(ผู้ช่วยศาตราจารย์ ดร. อนันต์ พู่พิทยาสถาพร)

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร. จินดา แต้มบรรจง ประธานกรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ รศ.ดร. สุภาลักษณ์ ปรัชญาสิทธิกุล และ ดร. พรทิพา พิชา กรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้เวลาเพื่อให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในทุกขั้นตอนของการวิจัย และการเขียนปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุนันท์ ชัยนะกุล และ ผศ.ดร. อนันต์ พู่พิทยาสถาพร ที่ได้สละเวลาอันมีค่า ในการร่วมเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำต่างๆ ที่ทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ งานวิจัยสารบำบัดมะเร็งกลุ่มงานวิจัยสารบำบัดมะเร็ง สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการทำวิจัยและถ่ายทอดเทคนิคการวิจัยด้านเซลล์มะเร็ง ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือ มหาวิทยาลัยมหิดล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ และ กรมสรรพสามิต ที่ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ พี่ๆ และ เพื่อนๆ นักศึกษาปริญญาโททุกท่านที่ให้ความช่วยหลือและอำนวยความสะดวกในทุกๆเรื่อง อีกทั้งสนับสนุนและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอด ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ฉลอง ทุ่มพุ่ม

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	บทนำ	1
	ภูมิหลัง	1
	ความมุ่งหมายของการวิจัย	11
	ความสำคัญของการวิจัย	11
	ขอบเขตของการวิจัย	12
	นิยามศัพท์เฉพาะ	13
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
	มะเร็งและการรักษา	14
	กรดไขมัน	20
	งานวิจัยที่เกี่ยวกับ BNCT	22
3	วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า	33
	อุปกรณ์/ เครื่องมือ	33
	สารเคมี	34
	การสังเคราะห์สาร	35
	การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง	38
4	ผลการวิจัย	43
5	สรุป และอภิปรายผล	53
	ข้อเสนอแนะ	67
	บรรณานุกรม	68
	ภาคผนวก	74
	อภิธานศัพท์	140
	ประวัติย่อผู้วิจัย	142

บัญชีตาราง

ตาราง หน้า

1 ร้อยละของผู้ป่วยมะเร็งจำแนกตามอายุและเพศ ปี พ.ศ. 2539..........................2

2 ชนิดของมะเร็งที่พบมากในเพศชายปี พ.ศ. 2541 4

3 ชนิดของมะเร็งที่พบมากในเพศหญิงปี พ.ศ. 2541..........................6

4 สถิติของวิธีการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง ปี พ.ศ. 2539 8

5 นิวไคลด์ที่มีศักยภาพในการดูดกลืนนิวตรอนสูง..........................10

6 ค่า LET ของรังสีชนิดต่างๆ..........................17

7 ค่า IC_{50} ของสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ Uridine..........................24

8 อัตราการสะสมโบรอน-10 จาก boric aid p-BPA และ BSH
ในเซลล์ชนิดต่างๆ 28

9 ค่า IC_{50} ของ MACB 30

10 ค่าความสามารถในการละลายน้ำและค่า IC_{50} ของ
สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ Azulene 31

11 ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการหาปริมาณโปรตีน 41

12 ลักษณะทางกายภาพของสารประกอบ carboranic esters..........................44

13 ข้อมูลทาง Mass spectroscopy ของสารประกอบ carboranic esters..........................51

14 ค่า IC_{50} ของ carboranic ester ต่อเซลล์ HeLa 52

15 เปรียบเทียบสัญญาณ ^{1}H NMR ของ Oleyl carboranate
กับ Ethyl carboranate..........................56

16 ค่า % growth ของ Stearyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa..........................126

17 ค่า % growth ของ Oleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa..........................127

18 ค่า % growth ของ Elaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa..........................128

19 ค่า % growth ของ Palmitoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa 129

20 ค่า % growth ของ Linoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa 130

21 ค่า % growth ของ Linoelaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa 131

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ หน้า

1 ร้อยละของผู้ป่วยจำแนกตามอายุและเพศ.....3
2 ชนิดของมะเร็งที่พบในเพศชาย.....5
3 ชนิดของมะเร็งที่พบในเพศหญิง.....7
4 สูตรโครงสร้างของ $[B_{10}Cl_8(SH)_2]^{2-}$ และ $[B_{12}H_{11}SH]^{2-}$.....22
5 สูตรโครงสร้างของ 5-(dihydroxylboryl)-2'-deoxyuridine (DBDU).....23
6 สูตรโครงสร้างของสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ uridine.....25
7 สูตรโครงสร้างของ 2-phenyl-6-hydroxy-7-methyl-2-boradihydroxypurine.....25
8 สูตรโครงสร้างของ 2′-O-(o-carborane-1-yl-methyl) uridine (CBU-2).....26
9 สูตรโครงสร้างของ p-boronophenylalanine (p-BPA).....26
10 แสดงสูตรโครงสร้างของ D-isomer และ L-isomer ของ p-BPA.....27
11 สูตรโครงสร้างอนุพันธ์ของ hydroxylamide ของ p-BPA.....27
12 สูตรโครงสร้างของ 2-(1'-hydroxy-1'-o-carboranyl) ethanylpromazine.....29
13 สูตรโครงสร้างของ 2, 4-bis- (α, β-dihydroxyethyl)-deuteroporphyrin IX.....30
14 สูตรโครงสร้างของ 1-carboranyl-3-(2-aziridino-2-propanol ; MACB).....31
15 สูตรโครงสร้างของสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ Azulene.....32
16 สูตรโครงสร้างของ Ethyl carboranate.....55
17 เปรียบเทียบค่า IC_{50} ของ Stearyl carboranate, Oleyl carboranate, Elaidyl carboranate, Palmitoleyl carboranate, Linoleyl carboranate และ Linoelaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa.....66
18 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ o-carboranyl chloride.....75
19 ^1H NMR สเปกตรัมของ o-carboranic acid (200 MHz, $CDCl_3$).....76
20 ^1H NMR สเปกตรัมของ Stearyl alchohol (60 MHz, $CDCl_3$).....77
21 ^1H NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl alchohol (200 MHz, $CDCl_3$).....78
22 ^1H NMR สเปกตรัมของ Elaidyl alchohol (200 MHz, $CDCl_3$).....79

บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

ภาพประกอบ หน้า

23 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Stearyl carboranate (KBr)..........................80

24 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Stearyl carboranate (400 MHz, $CDCl_3$)..81

25 ขยายสัญญาณ ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Stearyl carboranate...................82

26 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Stearyl carboranate 83

27 ขยายสัญญาน ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Stearyl carboranate..................84

28 Dept 135, 90 องศา ของ Stearyl carboranate 85

29 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Stearyl carboranate 86

30 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Oleyl carboranate (film) 87

31 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Oleyl carboranate (400 MHz, $CDCl_3$)..............88

32 ขยายสัญญาณ ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Oleyl carboranate 89

33 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Oleyl carboranate 90

34 ขยายสัญญาน ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Oleyl carboranate 91

35 Dept 135, 90 องศา ของ Oleyl carboranate.......................................92

36 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Oleyl carboranate...93

37 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Elaidyl carboranate (film).........................94

38 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate (400 MHz, $CDCl_3$)............95

39 ขยายสัญญาณ ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate 96

40 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate 97

41 ขยายสัญญาน ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate 98

42 Dept 135, 90 องศา ของ Elaidyl carboranate 99

43 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate 100

44 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Palmitoleyl carboranate (film)..................101

45 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl carboranate (400 MHz, $CDCl_3$)...102

46 ขยายสัญญาณ ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl carboranate.............103

บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

ภาพประกอบ หน้า

47 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl carboranate 104

48 ขยายสัญญาน ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl carboranate...........105

49 Dept 135, 90 องศา ของ Palmitoleyl carboranate 106

50 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Palmitoleyl carboranate..107

51 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Linoleyl carboranate (film) 108

52 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate (300 MHz, $CDCl_3$)..109

53 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate 110

54 Dept 135, 90 องศา ของ Linoleyl carboranate 111

55 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate 112

56 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์ (400 MHz, $CDCl_3$)...........................113

57 ขยายสัญญาณ ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์................................ 114

58 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์...............................115

59 Dept 135, 90 องศา ของ Linoleyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์ 116

60 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Linoelaidyl carboranate (film) 117

61 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate (300 MHz, $CDCl_3$)..118

62 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate 119

63 Dept 135, 90 องศา ของ Linoelaidyl carboranate 120

64 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate 121

บัญชีภาพประกอบ(ต่อ)

ภาพประกอบ หน้า

65 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์ (400 MHz,$CDCl_3$)..........................122

66 ขยายสัญญาณ ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์ 123

67 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์..........................124

68 Dept 135, 90 องศา ของ Linoelaidyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์..........................125

69 IC_{50} ของ Stearyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa..........................126

70 IC_{50} ของ Oleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa..........................127

71 IC_{50} ของ Elaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa..........................128

72 IC_{50} ของ Palmitoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa..........................129

73 IC_{50} ของ Linoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa..........................130

74 IC_{50} ของ Linoelaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa..........................131

75 Negative Control ต่อเซลล์ HeLa..........................132

76 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Stearyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 90 $\mu g/cm^3$ 132

77 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Oleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 80 $\mu g/cm^3$ 133

78 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Elaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 80 $\mu g/cm^3$ 133

79 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Palmitoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 50 $\mu g/cm^3$ 134

80 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Linoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 60 $\mu g/cm^3$ 134

81 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Linoelaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 80 $\mu g/cm^3$ 135

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

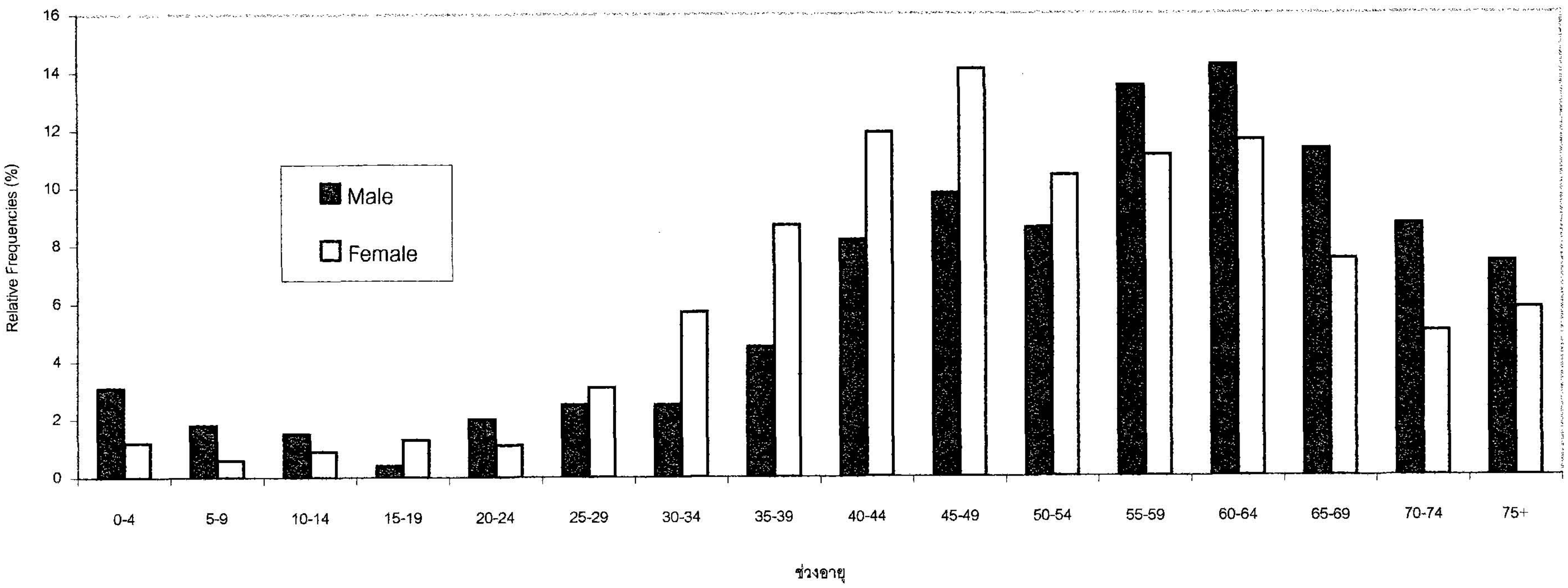
ปัจจุบันโรคมะเร็งเป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้เกิดการตายของประชากรเกือบทุกประเทศ โรคมะเร็งเป็นปัญหาสาธารณสุขของทุกประเทศเพราะมีความรุนแรงสูงก่อให้เกิดการตายสูง เพราะผู้ป่วยมะเร็งต้องใช้เวลาในการรักษานาน และมีค่าใช้จ่ายสูงกว่าผู้ป่วยทั่วไปประมาณ 4-10 เท่า สถาบันมะเร็งแห่งชาติของสหรัฐอเมริการายงานว่าจากการสำรวจในปี ค.ศ.1995 ในสหรัฐอเมริกา พบว่ามีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งจำนวนมากกว่า 6 ล้านคน และในจำนวนนี้มากกว่าร้อยละ 50 ที่ต้องทุกข์ทรมานกับอาการของโรคนานกว่า 5 ปี นอกจากนี้ยังคาดว่าในศตวรรษที่ 21 ทั่วโลกจะมีจำนวนผู้ป่วยมะเร็งสูงขึ้นกว่าเดิมร้อยละ 65 (Riddell. 1997 : 1775)

ในประเทศไทย มะเร็งคือสาเหตุของการเสียชีวิตเป็นอันดับสอง รองจากโรคหัวใจ (ไม่รวมอุบัติเหตุ) คนไทยเป็นโรคมะเร็ง 80,000 คน และเสียชีวิต 18,000 คนต่อปี เฉลี่ยแล้วเสียชีวิต 50 คนต่อวัน (มนฑา แห่งทรัพย์เจริญ. 2539 : 1) ในปี พ.ศ.2539 จากสถิติของสถาบันมะเร็งแห่งชาติพบว่า ผู้ป่วยมะเร็งในเพศชายจะพบมากที่สุดในช่วงอายุ 60-64 ปี คิดเป็นร้อยละ 14.2 รองลงมาอยู่ในช่วงอายุ 55-59 ปี ร้อยละ 13.5 และในช่วงอายุ 65-69 ปี ร้อยละ 11.3 ส่วน ผู้ป่วยมะเร็งเพศหญิงจะพบมากที่สุดในช่วงอายุ 45-49 ปี พบร้อยละ 14.1 ช่วงอายุ 40-44 ปี พบร้อยละ 11.9 และช่วงอายุ 60-64 ปี พบร้อยละ 11.6 ดังแสดงในตาราง 1 (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2539) และจากการสำรวจผู้ป่วยมะเร็งโดยแบ่งตามเพศในปี 2541 พบว่ามะเร็งที่เพศชายเป็นกันมากที่สุดในจำนวนผู้ป่วย 780 คน คือ มะเร็งปอด (lung) มะเร็งตับ (liver) มะเร็งช่องปาก (oral cavity) และมะเร็งลำไส้ (colorectum) คิดเป็นร้อยละ 17.8 14 10.5 และ 6.6 ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 2 และในเพศหญิงจำนวน 1,440 คน พบว่า มะเร็งที่พบมากเป็นอันดับหนึ่ง คือ มะเร็งปากมดลูก (cervix uteri) มะเร็งเต้านม (breast) มะเร็งช่องปาก (oral cavity) มะเร็งปอด (lung) คิดเป็นร้อยละ 33.1 31.5 4 และ 3.3 ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 3 (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2541)

ตาราง 1 ร้อยละของผู้ป่วยมะเร็งจำแนกตามอายุและเพศ

ช่วงอายุ	ชาย		หญิง		รวม	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
ทุกช่วงอายุ	1,342	100	1,589	100	2,931	100
0 – 4	41	3.1	19	1.2	60	2
5 – 9	24	1.8	10	0.6	34	1.2
10 – 14	20	1.5	15	0.9	35	1.2
15 – 19	6	0.4	20	1.3	26	0.9
20 – 24	27	2	17	1.1	44	1.5
25 – 29	34	2.5	49	3.1	83	2.8
30 – 34	33	2.5	91	5.7	124	4.2
35 – 39	61	4.5	139	8.7	200	6.8
40 – 44	110	8.2	189	11.9	299	10.2
45 – 49	132	9.8	224	14.1	356	12.1
50 – 54	115	8.6	165	10.4	280	9.6
55 – 59	181	13.5	176	11.1	357	12.2
60 – 64	191	14.2	184	11.6	375	12.8
65 – 69	151	11.3	119	7.5	270	9.2
70 – 74	117	8.7	80	5	197	6.7
75+	99	7.4	92	5.8	191	6.6

ที่มา : ฝ่ายแผนงานและสถิติสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พ.ศ. 2539

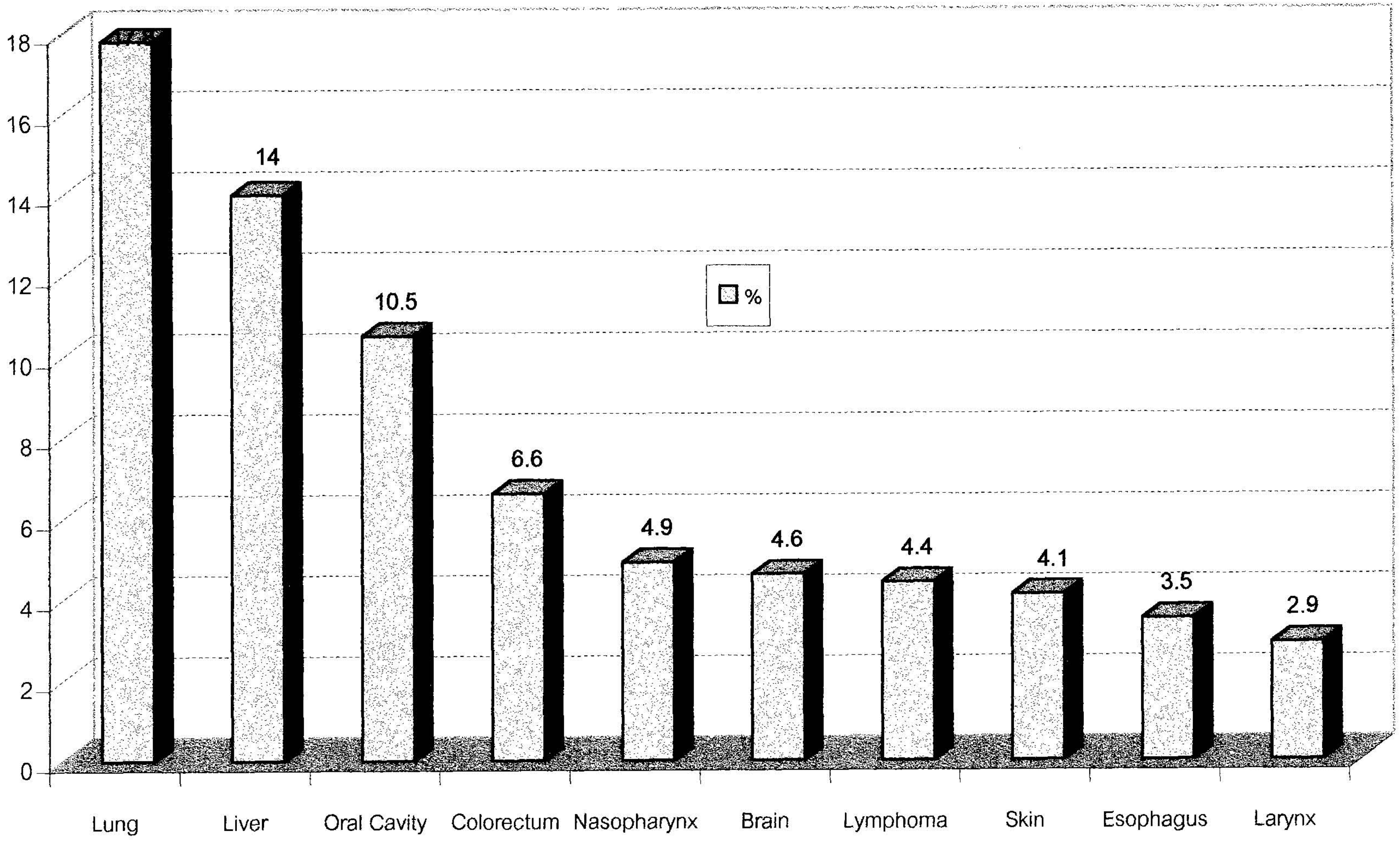


ภาพประกอบ 1 ร้อยละของผู้ป่วยมะเร็งจำแนกตามอายุและเพศ

ตาราง 2 ชนิดของมะเร็งที่พบมากในเพศชาย

ชนิด	จำนวน(คน)	ร้อยละ
ทุกชนิด	780	100
Lung	139	17.8
Liver	109	14
Oral Cavity	82	10.5
Colorectum	52	6.6
Nasopharynx	38	4.9
Brain	36	4.6
Lymphoma	34	4.4
Skin	32	4.1
Esophagus	27	3.5
Larynx	23	2.9

ที่มา : ฝ่ายแผนงานและสถิติสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พ.ศ. 2541



ภาพประกอบ 2 ชนิดของมะเร็งที่พบในเพศชาย

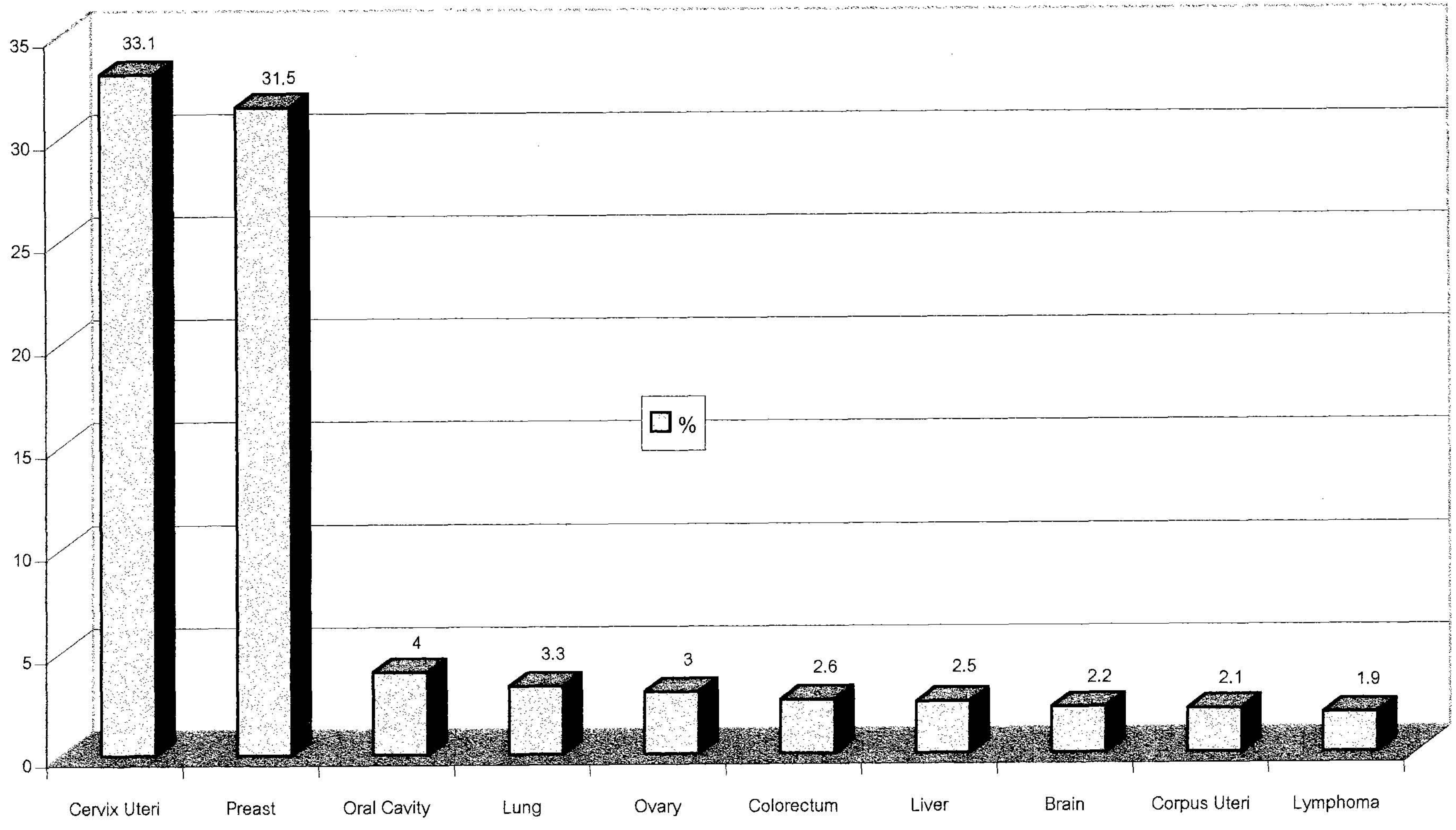
ตาราง 3 ชนิดของมะเร็งที่พบมากในเพศหญิง

ชนิด	จำนวน(คน)	ร้อยละ
ทุกชนิด	1,440	100
Cervix Uteri	477	33.1
Breast	453	31.5
Oral Cavity	58	4
Lung	47	3.3
Ovary	43	3
Colorectum	38	2.6
Liver	36	2.5
Brain	32	2.2
Corpus Uteri	30	2.1
Lymphoma	28	1.9

ที่มา : ฝ่ายแผนงานและสถิติสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พ.ศ. 2541

ในประเทศไทยผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาโรคมะเร็งพบว่าเป็นผู้ป่วยที่อยู่ในระยะเริ่มแรกนั้น ไม่เกินร้อยละ 20 ของผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคมะเร็ง อีกประมาณร้อยละ 80 ที่เหลือจะเสียชีวิตภายใน 5 ปี (สถาพร สีลานันทกิจ. 2539 : 119)

จากการสำรวจผู้ป่วยที่ได้รับการรักษามะเร็งในปี พ.ศ.2539 ของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ จำนวน 2,931 ราย พบว่า รักษาโดยการผ่าตัด (surgery) อย่างเดียว ร้อยละ 10.1 รักษาโดยรังสีบำบัด (radiotherapy) อย่างเดียว ร้อยละ 26.2 และ เคมีบำบัด (chemotherapy) อย่างเดียว ร้อยละ 15.5 ส่วนอีกร้อยละ 41.3 นั้น รักษาโดยที่ไม่ทราบวิธี นอกนั้นก็จะเป็นการรักษาโดยใช้หลายวิธีร่วมกัน (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2539) ดังแสดงในตาราง 4



ภาพประกอบ 3 ชนิดของมะเร็งที่พบในเพศหญิง

ตาราง 4 สถิติของวิธีการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง

วิธีการรักษา	จำนวน(คน)	ร้อยละ
Surgery	295	10.1
Radiotherapy	767	26.2
Chemotherapy	454	15.5
Hormone	3	0.1
Surgery + Radiotherapy	38	1.3
Surgery + Chemotherapy	80	2.7
Surgery + Hormone	2	0.1
Radio + Chemo	39	1.3
Radio + Chemo + Hormone	10	0.3
Surg + Radio + Chemo + Hormone	24	0.8
Unknown	1,211	41.3
Total	2,931	100

ที่มา : ฝ่ายแผนงานและสถิติสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พ.ศ. 2539

การรักษามะเร็งด้วยวิธีการต่างๆ มักจะมีข้อจำกัดอยู่มาก เพราะเป็นการรักษาแบบ non– selective คือ ไม่ได้เป็นการทำลายเซลล์มะเร็งอย่างจำเพาะเจาะจงที่ตัวเซลล์มะเร็งเท่านั้น ผลข้างเคียงจากการรักษาจึงมีค่อนข้างมาก การคิดค้นวิธีใหม่ๆในการรักษาโรคมะเร็งในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นไปที่การทำลายเซลล์มะเร็งแบบ selective treatment เป็นหลัก เพื่อที่จะให้ได้ผลดีมีประสิทธิภาพสูงสุดและมีผลข้างเคียงจากการรักษาให้น้อยลง (กระทรวงกลาโหม. 2543 : 1)

สารประกอบโบรอนเป็นสารกลุ่มหนึ่ง ที่นักวิทยาศาสตร์และทางการแพทย์สนใจที่จะนำมาใช้สำหรับการรักษามะเร็งแบบ selective treatment เนื่องจากโบรอน-10 เมื่อทำปฏิกิริยากับนิวตรอนพลังงานต่ำ จะได้อนุภาคอัลฟ่า (α) ดังแสดงในสมการเคมี (1) ซึ่งสามารถทำลายเซลล์ได้ การทำลายเซลล์มะเร็งโดยกระบวนการดูดกลืนนิวตรอนพลังงานต่ำนี้เรียกว่า Neutron Capture Therapy (NCT) หากสารที่เกี่ยวข้องในกระบวนการดูดกลืนนิวตรอน เป็นสารประกอบโบรอนจะเรียกว่า Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)

$$^{10}_{5}B + ^{1}_{0}n \longrightarrow (^{11}_{5}B) \longrightarrow ^{7}_{3}Li + \alpha + 2.4\ \text{MeV} \quad \text{สมการ (1)}$$

เหตุผลที่ใช้โบรอน-10 เป็นสารดูดกลืนนิวตรอนในกระบวนการนี้ คือ (Barth. 1990 : 1061-1070)

1. โบรอน-10 ไม่เป็นธาตุกัมมันตรังสี และมีปริมาณมากพอในธรรมชาติ (ร้อยละ 20 โดยมวลของโบรอนในธรรมชาติ)

2. พลังงานที่ปล่อยออกมาจากปฏิกิริยา มี Linear Energy Transfer (LET) สูง อนุภาคอัลฟามีอำนาจในการทะลุทะลวงต่ำ อยู่ในรัศมีประมาณ 5-14 ไมครอน ดังนั้นอำนาจในการทำลายเซลล์จะเกิดขึ้นในบริเวณจำกัด หรือเป็นการทำลายเฉพาะที่ (local treatment) หากมีโบรอน-10 อยู่บริเวณเซลล์มะเร็งเท่านั้น การทำลายเซลล์มะเร็งโดยกระบวนการ BNCT จะสามารถลดผลข้างเคียงซึ่งเกิดจากการทำลายเซลล์ปกติได้

3. สารประกอบโบรอน-10 ที่มีโครงสร้างต่างๆ กัน อาจมีความสามารถในการเข้าสู่เซลล์มะเร็งได้ต่างกัน

ธาตุอื่นๆ ที่สามารถดูดกลืนนิวตรอนได้ดีนั้น ดังแสดงในตาราง 5 ส่วนใหญ่ไม่เหมาะสมสำหรับ NCT เพราะธาตุเหล่านี้บางธาตุเป็นธาตุกัมมันตรังสี เมื่อทำปฏิกิริยากับนิวตรอนเกิดปฏิกิริยานิวเคลียร์ฟิชชั่น (Nuclear fission reaction) ได้นิวเคลียสของธาตุโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูง บางธาตุเมื่อเกิดปฏิกิริยานิวเคลียร์ให้รังสีแกมมาที่มีอำนาจในการทะลุทะลวงสูง ยังผลให้เซลล์ปกติที่อยู่ข้างเคียงถูกทำลาย และบางธาตุมีความว่องไวสูงและเสถียรภาพต่ำ เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะปกติของร่างกาย (Soloway. 1986 : 207-214)

ตาราง 5 นิวไคลด์ที่มีศักยภาพในการดูดกลืนนิวตรอนสูง

นิวไคลด์	ภาคตัดขวางในการจับนิวตรอน(barns)	นิวไคลด์	ภาคตัดขวางในการจับนิวตรอน(barns)
^{6}Li	953	^{157}Gd	240,000
^{10}B	3,837	^{174}Hf	400
^{113}Cd	20,000	^{199}Hg	2,000
^{135}Xe*	2,720,000	^{235}U*	678
^{149}Sm	41,500	^{241}Pu*	1,375
^{151}Eu	5,900	^{242}Am*	8,000
^{156}Gd	58,000		

1 barns = 10^{-24} cm^{2} , * ธาตุกัมมันตรังสี

การรักษามะเร็งโดยกระบวนการ BNCT ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดนั้นจะต้องมีการผสมผสานที่เหมาะสมระหว่างปริมาณโบรอน-10 และอนุภาคนิวตรอนที่ใช้ ณ ตำแหน่งที่ต้องการทำลายเซลล์มะเร็งซึ่งจะต้องมีปริมาณโบรอน-10 ประมาณ 20-30 ไมโครกรัมต่อกรัมของเซลล์มะเร็ง และเซลล์ปกติจะต้องมีน้อยกว่า 5 ไมโครกรัมต่อกรัมของเซลล์ปกติ (Fairchild. 1985 : 831-840) หรือปริมาณโบรอน-10 ในเซลล์มะเร็งต้องมีเป็น 10 เท่าของเซลล์ปกติ (Soloway. 1988 : 118-120) นอกจากนี้เพื่อให้การทำลายเซลล์มะเร็งมีประสิทธิภาพ และกำจัดผลการทำลายเซลล์ข้างเคียง จำเป็นต้องหาวิธีการที่จะนำโบรอน-10 เข้าไปยังเซลล์มะเร็งอย่างเพียงพอ และสารประกอบนั้นจะต้องมีความจำเพาะที่บริเวณเซลล์มะเร็งและอยู่ในบริเวณนั้นในช่วงเวลาที่เหมาะสม

วิธีการนำโบรอน-10 เข้าสู่ร่างกายและไปสู่เซลล์มะเร็งที่น่าจะได้ผลวิธีการหนึ่งคือ การใช้สารประกอบโบรอนที่เป็นอนุพันธ์ของสารชีวโมเลกุล เพื่อที่จะให้ร่างกายยอมรับสารได้ สารประกอบโบรอนที่เป็นอนุพันธ์ของสารชีวโมเลกุลที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อการศึกษาด้าน BNCTได้แก่ อนุพันธ์ของ amino acid (Witting. 2000, Capala. 1996, Nemato. 1995, Synder. 1958), nucleoside (Yamamoto. 1989), nucleotide (Spielvoge. 1991), porphyrin (Kahl. 1990), sugar (Tjark. 1992), polyamine (Zhuo. 1999) เป็นต้น

สำหรับงานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมันในรูปเอสเทอร์ เพราะเซลล์มะเร็งเกือบทุกชนิดในคนมีการสังเคราะห์และใช้กรดไขมันในอัตราสูงกว่าเซลล์ปกติมาก ทั้งนี้เพื่อนำไปใช้ในการสร้าง phospholipid membrane สำหรับการเจริญเติบโต (Pizer. 1996: 745-751) และกรดไขมันที่สังเคราะห์ขึ้นภายในร่างกายส่วนใหญ่ไม่ได้อยู่ในรูปกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) แต่จะอยู่ในรูปของเอสเทอร์ของกรดไขมัน (fatty ester) และที่พบมากมีจำนวนคาร์บอน 16-18 อะตอม (Voet. 1995 : 278-279) กรดไขมันที่มีพันธะคู่มีโครงสร้างเป็นได้ทั้งแบบ cis และแบบ trans กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบในธรรมชาติและในร่างกายส่วนใหญ่อยู่ในรูป cis มากกว่า trans ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงได้สังเคราะห์สารประกอบโบรอนที่เป็นอนุพันธ์เอสเทอร์ของกรดไขมัน ที่มีจำนวนคาร์บอนอยู่ในช่ว16-18 อะตอม จำนวน 6 ชนิด ซึ่งมีโครงสร้างที่เป็นทั้ง cis และ trans และศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa cells) เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน สำหรับการนำสารประกอบที่สังเคราะห์ได้ไปใช้ในกระบวนการ BNCT และอาจใช้เป็นสารตั้งต้นในการรวมกับไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (Low Density Lipoprotein : LDL) ซึ่งเป็นสารที่มีการสะสมมากที่เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Kahl. 1989 : 137-139) แล้วนำไปศึกษาในกระบวน BNCT ต่อไป

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อสังเคราะห์สารประกอบโบรอนอนุพันธุ์ของกรดไขมัน 6 ชนิด ได้แก่
    1. Stearyl carboranate
    2. Palmitoleyl carboranate
    3. Oleyl carboranate
    4. Elaidyl carboranate
    5. Linoleyl carboranate
    6. Linoelaidyl carboranate
2. ศึกษาประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งปากมดลูก ของสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมันที่สังเคราะห์ขึ้น เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาด้าน BNCT ต่อไป

ประโยชน์ของงานวิจัย

1. ได้วิธีการสังเคราะห์สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมัน 6 ชนิด ซึ่งจะเป็นแนวทางในการสังเคราะห์สารประกอบประเภทนี้ต่อไป

2. ทำให้ทราบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกของสารที่สังเคราะห์ขึ้น ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสารสังเคราะห์เพื่อใช้เป็นยารักษามะเร็ง และ/หรือ ใช้ร่วมกับ neutron ในกระบวนการ BNCT เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ในอนาคต

3. สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมันที่สังเคราะห์ได้ อาจมีความเหมาะสมที่จะเป็นสารตั้งต้นในการรวมตัวกับ LDL เพื่อเป็นประโยชน์ในการศึกษาด้าน BNCT ต่อไป

ขอบเขตของการวิจัย

1. สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมันเป็นสารประเภทเอสเทอร์ที่สังเคราะห์จากปฏิกิริยาระหว่างแอลกอฮอล์ของกรดไขมัน 6 ชนิด และ o-carboranic acid

แอลกอฮอล์ของกรดไขมัน 6 ชนิด ได้แก่

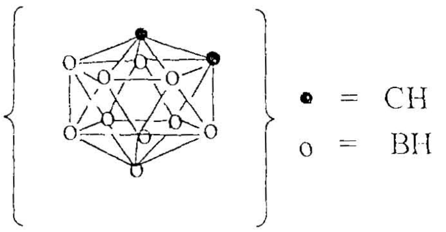
1. Stearyl alcohol ($C_{18}H_{37}OH$)
2. Palmitoleyl alcohol ($C_{16}H_{31}OH$: cis)
3. Oleyl alcohol ($C_{18}H_{35}OH$: cis)
4. Elaidyl alcohol ($C_{18}H_{35}OH$: trans)
5. Linoleyl alcohol ($C_{18}H_{33}OH$: cis)
6. Linoelaidyl alcohol ($C_{18}H_{33}OH$: trans)

2. การศึกษาประสิทธิภาพการทำลายเซลล์มะเร็งของสารที่สังเคราะห์ได้ ใช้เซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa cells) งานวิจัยส่วนนี้ทำการวิจัยร่วมกับสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. IC_{50} (Fifty percent inhibitory concentration) คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์ได้ 50% เมื่อเทียบกับการเจริญของเซลล์ในหลอดควบคุม (Negative control) โดยยึดตามเกณฑ์มาตรฐานของสถาบันมะเร็งแห่งชาติของสหรัฐอเมริกา (Geran. 1972 : 7-17)

2. สัญลักษณ์ของ o-carborane ($C_2B_{10}H_{12}$) ที่ใช้ คือ



=

สูตรโครงสร้างของ o -carborane　　　สัญลักษณ์ o -carborane

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะเร็งและการรักษา

มะเร็งเกิดขึ้นในเซลล์ทุกชนิดของร่างกาย การแยกประเภทของมะเร็งนั้นขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อและชนิดของเซลล์ที่เกิด ซึ่งสามารถแบ่งเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้ดังนี้ (ประคอง รังคสิริ. 2523 : 16)

1. Sarcoma เป็นมะเร็งที่มีจุดกำเนิดจากเนื้อเยื่อชั้นกลาง (mesodermal origin) เช่น เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เนื้อเยื่อที่เชื่อมต่อและค้ำจุน (supporting tissue) เช่นที่กระดูก กระดูกอ่อน ประสาท เนื้อเยื่อพังผืด และ บริเวณส่วนที่เป็นไขมันของร่างกาย

2. Carcinoma เป็นมะเร็งที่มีจุดกำเนิดจากเนื้อเยื่อบุผิว (epithelium origin) ได้แก่ เยื่อบุผิวชั้นนอก (ectoderm) และเยื่อบุผิวชั้นใน (endoderm) เช่น เยื่อบุผนังลำไส้ เยื่อบุผนังมดลูก เป็นต้น

3. Leukemia เป็นมะเร็งที่เกิดกับเนื้อเยื่อที่สร้างเม็ดเลือด (blood-forming tissue) มีการผลิตเม็ดเลือดขาวเกินความต้องการ

ปัจจัยการเกิดโรคมะเร็งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ (วรรณี โรจนโพธิ์. 2532 : 21)

1. ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมได้แก่ สารเคมี หรือสารก่อมะเร็ง ซึ่งปะปนหรือแพร่กระจายอยู่ในสิ่งแวดล้อม เช่น ในอาหาร เครื่องดื่ม อากาศ ยารักษาโรค เครื่องสำอาง ควันบุหรี่ หมาก นอกจากนี้การได้รับรังสีบางชนิด เช่น รังสีเอกซ์ รังสีอุลตราไวโอเลต การติดเชื้อไวรัส และพยาธิบางชนิด ก็อาจเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคมะเร็งบางชนิดเช่นกัน

2. ปัจจัยภายในร่างกายได้แก่ กรรมพันธุ์ ความผิดปกติทางพันธุกรรม ความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน และความไม่สมดุลทางสภาวะโภชนาการ เป็นต้น

จากผลการศึกษาด้านระบาดวิทยาของโรคมะเร็งในหลาย ๆ ประเทศ สรุปได้ว่าโรคมะเร็งในคนส่วนใหญ่นั้น (อาจสูงถึง 80%) มีสาเหตุมาจากการได้รับปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอกร่างกายมากกว่าจะมีสาเหตุมาจากปัจจัยภายในร่างกาย

การแบ่งระยะของโรคมะเร็งทางคลินิกทั่ว ๆ ไป จะแบ่งเป็นระยะ ๆ ดังนี้ (UICC. 1987)

Stage I : มะเร็งอยู่เฉพาะบริเวณที่กำเนิด (primary site)

Stage II : มะเร็งมีการกระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง (regional lymph node)

Stage III , IV : มะเร็งมีการกระจายไปยังบริเวณที่ไกลออกไปหรือไปยังอวัยวะอื่น ๆ

การจัดแบ่งระยะของโรคมะเร็งที่อวัยวะต่าง ๆนี้มีข้อปลีกย่อยที่ต่างกันออกไปมากแม้ในโรคมะเร็งชนิดเดียวกันบางแห่งก็จัดแตกต่างกันออกไป ทำให้ยากต่อการเปรียบเทียบผลการรักษา ดังนั้นเพื่อให้การแบ่งระยะของโรคได้มาตรฐานเดียวกัน UICC (Union International Center Cancrum) จึงได้จัดทำระบบ TNM ขึ้นโดยที่

T แทน tumor size เป็นการกำหนดขนาดของก้อนมะเร็งหรือความลึกของเนื้อมะเร็งที่มีเกณฑ์มาตรฐานสำหรับมะเร็งแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป คือ T_1 , T_2 , T_3 , T_4

N แทน regional lymph node เป็นการบอกให้รู้ถึงการกระจายของเซลล์มะเร็งไปยังต่อมน้ำเหลืองโดย N_0 แสดงว่ายังไม่มีการกระจาย และ N_1 แสดงว่ามีการกระจายไปที่ต่อมน้ำเหลืองแล้ว

M แทน metastasis เป็นการแสดงการกระจายของเซลล์มะเร็งไปยังอวัยวะอื่นๆ โดย M_0 หมายความว่ายังไม่มีการกระจายไปยังอวัยวะอื่นๆ และ M_1 หมายถึงมีการกระจายไปยังอวัยวะอื่นๆแล้ว

โดยทั่วไปเส้นทางการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งมี 5 แบบ คือ (Bouchard. 1976 : 14)

1. เซลล์มะเร็งแพร่โดยตรงเข้าสู่เนื้อเยื่อใกล้เคียง ซึ่งจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของมะเร็ง
2. เซลล์มะเร็งแทรกซึมเข้าไปตามหลอดน้ำเหลือง
3. ก้อนเซลล์มะเร็งผ่านทางหลอดน้ำเหลืองเข้าไปอยู่ในต่อมน้ำเหลือง
4. ก้อนเซลล์มะเร็งแพร่ผ่านทางหลอดเลือด
5. เซลล์มะเร็งแพร่กระจายเข้าไปในช่องว่างของร่างกาย

แม้ว่ามะเร็งจะเป็นโรคร้าย แต่ถ้าเป็นในระยะแรก ๆ มะเร็งบางชนิดก็สามารถรักษาให้หายขาดได้ เช่น มะเร็งรังไข่ มะเร็งที่อัณฑะ มะเร็งเต้านม เป็นต้น (อาคม วิเชียรศิลป์. 2531 : 23-26)

โดยทั่วไปการรักษามะเร็งในปัจจุบันมี 4 วิธี คือ (สุมิตรา ทองประเสริฐ. 2536 : 116) การผ่าตัด (surgury) การใช้รังสี (radiation) การใช้ยา (chemotherapy) และอิมมูโนบำบัด (immunotherapy)

1. **การรักษาโดยการผ่าตัด** (Surgieal Treatment) (Rosenberg. 1993 : 238-247)

วัตถุประสงค์หลักในการรักษาโดยการผ่าตัดก็เพื่อที่จะลดปริมาณของเซลล์มะเร็งลงให้มากที่สุด การผ่าตัดที่มีโอกาสรักษาหายได้ ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มผู้ป่วยที่เซลล์มะเร็งยังอยู่เฉพาะที่ตำแหน่งเริ่มต้น หรือมีการกระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองเท่านั้น การผ่าตัดโรคมะเร็งเพื่อหวังผลให้หายนั้น โอกาสดีที่สุด คือ การผ่าตัดครั้งแรก ซึ่งจะต้องถูกตำแหน่ง สามารถเอาส่วนของเซลล์มะเร็งออกไปได้หมด

2. **รังสีบำบัด** (Radiotherapy) (Hellman. 1993 : 248-275)

รังสีบำบัดเป็นการนำเอารังสีมาใช้ในการรักษาโรค ซึ่งอาศัยคุณสมบัติของรังสีที่ว่ารังสีเป็นพลังงานรูปหนึ่ง เมื่อถูกปล่อยออกมาจากแหล่งกำเนิดและผ่านไปในตัวกลางก็จะทำให้เกิดการแตกตัว (ionization) ถ้าตัวกลางนั้นเป็นเนื้อเยื่อก็จะนำไปสู่การทำลายเนื้อเยื่อในส่วนนั้นได้

หลักการสำคัญในการรักษาโรคมะเร็งโดยรังสีบำบัดคือการทำลายเซลล์มะเร็งให้มากที่สุด โดยให้มีผลข้างเคียงต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อปกติน้อยที่สุด การที่จะทำได้ดังกล่าวจำเป็นที่จะต้องอาศัยปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับตัวผู้ป่วย ภูมิคุ้มกันโรคของผู้ป่วย รวมทั้งเครื่องมือและปริมาณของรังสีที่ใช้ ดังนั้นผู้ที่เกี่ยวข้องในการรักษาจะต้องเข้าใจในหลักการสำคัญของรังสีบำบัด เพื่อที่จะได้วางแผนในการรักษาผู้ป่วยให้ถูกต้องเหมาะสม

ผลการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อรังสีจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เนื้อเยื่อในอวัยวะปกติหรือที่เป็นโรคมะเร็งก็ตาม จะตอบสนองต่อรังสีได้ไม่เท่ากัน มะเร็งที่ประกอบด้วยเซลล์อ่อน หรือเซลล์ที่กำลังมีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวก็จะเป็นมะเร็งที่ไวต่อรังสี ตรงกันข้ามกับเซลล์มะเร็งที่เป็นเซลล์แก่หรือเซลล์ที่ไม่มีการแบ่งตัวอีกแล้ว จะไม่ไวต่อรังสี อย่างไรก็ตามสิ่งจำเป็นที่จะต้องคำนึงถึงในการรักษามะเร็งโดยรังสีบำบัด คือ ปริมาณของรังสีที่ใช้ เนื่องจากหากปริมาณรังสีมากเกินไปอาจจะทำให้เกิดอันตรายได้ เช่น การเป็นหมัน การหยุดการเจริญเติบโตของเซลล์บริเวณที่ฉายรังสี เป็นต้น

ชนิดของรังสีที่ใช้ในการรักษา (พรศรี คิดชอบ. 2536 : 89-92) ชนิดของรังสีที่ใช้ในการรักษามะเร็ง ในทางการแพทย์สามารถแบ่งได้เป็น

1. รังสีคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Electromagnetic radiation)

ได้แก่รังสีเอกซ์ (x-ray) และ รังสีแกมมา (γ-ray) รังสีทั้ง 2 ชนิดจะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพต่อเนื้อเยื่อเหมือนกันทุกประการ รวมเรียกรังสีทั้ง 2 ชนิด นี้ว่า โฟตอน (photon) แต่ความแตกต่างของรังสี 2 ชนิดนี้อยู่ที่แหล่งกำเนิด โดยรังสีเอกซ์ จะเกิดจากเครื่องผลิตรังสีเอกซ์ที่มนุษย์ประดิษฐ์ขึ้น ส่วนรังสีแกมมา จะเกิดจากการสลายตัวของสารกัมมันตรังสีที่มีอยู่ในธรรมชาติ เช่น Cobalt (Co-60), Radium (Ra -226), Cesium (Cs-137)

2. รังสีอนุภาค (Particles radiation) แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

2.1 อนุภาคที่มีประจุ (Charged particles) ได้แก่ อิเลคตรอน (electron) โปรตอน (proton) และ อิออนที่มีประจุ (heavy charge ions) ได้แก่ ฮีเลียม (He)

2.2 อนุภาคที่ไม่มีประจุ (Uncharged particles)ได้แก่ นิวตรอน (neutron)

ผลจากรังสีต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

1. Linear Energy Transfer (LET)

Linear energy transfer (LET) เป็นอัตราการสูญเสียพลังงานของรังสีต่อหนึ่งหน่วยระยะทางที่รังสีผ่านไปในตัวกลางนั้น LET มีหน่วยเป็นพลังงานต่อหน่วยระยะทาง คือ KeV per micron (KeV/μ)

ตาราง 6 ค่าของ LET ของรังสีชนิดต่างๆ

ชนิดของรังสี	LET (KeV/μ)
250 KV x-ray	2.0
γ-ray จาก Cobalt-60	0.3
14 MeV neutrons	12
heavy charged particles	100 - 200

1 eV = 1.602×10^{-9} จูล

ความแตกต่างของค่า LET นี้เกิดจากการสูญเสียพลังงานให้แก่ตัวกลางที่รังสีผ่านไปไม่เท่ากัน โฟตอน อัตราการสูญเสียพลังงานในตัวกลางต่ำ การไอออไนซ์ น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับพวกรังสีอนุภาค และเมื่อเปรียบเทียบรังสีอนุภาคด้วยกัน พบว่าไอออนที่มีประจุนั้นจะถ่ายทอดพลังงานแก่ตัวกลางที่ผ่านไปได้มากที่สุด การไอออไนซ์จึงเกิดได้มากที่สุด ส่วนนิวตรอนจะสูญเสียพลังงานขณะผ่านตัวกลางน้อยที่สุด จึงทำให้เกิดการไอออไนซ์ตัวกลางหรือเนื้อเยื่อที่รังสีผ่านได้น้อยที่สุดด้วย (พวงทอง ไกรพิบูลย์. 2536 : 10) จากคุณสมบัติที่แตกต่างกันนี้ จึงมีผลต่อการพิจารณาเลือกใช้ชนิดของรังสีที่จะให้มีผลต่อตัวกลางที่ผ่านไปให้ได้มากที่สุด นอกจากนี้จะต้องพิจารณาปัจจัยอื่น ๆ ประกอบด้วย

2. Relative Biologic Efficiency (RBE)

รังสีต่างชนิดกัน แม้ว่าจะใช้ปริมาณรังสีเท่ากันผ่านไปยังตัวกลางหรือเนื้อเยื่อชนิดเดียวกัน จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพแตกต่างกัน ทั้งนี้เป็นเพราะอัตราการสูญเสียพลังงานในตัวกลางไม่เท่ากัน จึงได้มีการเปรียบเทียบผลทางด้านชีวภาพของรังสีใดๆ กับรังสีที่กำหนดเป็นมาตรฐาน ซึ่งกำหนดรังสีเอกซ์ขนาดพลังงาน 250 KeV เป็นมาตรฐาน โดย RBE คือ อัตราส่วนระหว่างปริมาณของรังสีเอกซ์ ขนาดพลังงาน 250 KeV กับ ปริมาณของรังสีชนิดอื่นที่ให้ผลทางชีวภาพเท่ากัน

3. Beam Penetrability

เป็นความสามารถในการทะลุทะลวงของรังสีเมื่อผ่านตัวกลาง โฟตอน ซึ่งเป็นรังสีคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า มีพลังงานมาก จะมีอำนาจในการทะลุทะลวงสูงกว่าพวกรังสีอนุภาค

3. เคมีบำบัด (Chemotherapy) (De Vita. 1993 : 276- 292)

การรักษาด้วยเคมีบำบัดจะต้องมีความระมัดระวังอย่างยิ่งในทุกขั้นตอน เริ่มจากผู้ใช้ต้องมีความรู้เรื่องโรคมะเร็งนั้น ๆ ลักษณะการแพร่กระจาย ผลของการรักษาโดยวิธีการต่าง ๆ เช่น การผ่าตัด รังสีรักษา หรือเคมีบำบัด ในกรณีเลือกรักษาโดยเคมีบำบัดจะต้องมีความรู้เกี่ยวกับยาทั้งในแง่ชนิดของยา วิธีการใช้ยา จำนวนยาที่ใช้ในแต่ละครั้ง การประเมินผล และการติดตามผลการรักษา เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำยามาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งมากขึ้น ยาเคมีบำบัดส่วนใหญ่มีสมบัติเด่น คือ ไปขัดขวาง ทำลายการทำงานของเอนไซม์หรือสารที่เป็นองค์ประกอบในการสร้าง DNA ของเซลล์ เซลล์มะเร็งมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วจึงมีกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ที่สูงกว่าเซลล์ปกติ การสังเคราะห์ DNA เกิดขึ้นเกือบตลอดเวลา ดังนั้นเซลล์มะเร็งสามารถที่จะรับยาได้มากกว่าเซลล์ปกติ จึงถูกทำลายได้ง่ายกว่าเซลล์ปกติในร่างกาย การรักษาด้วยเคมีบำบัดมีข้อจำกัดที่สำคัญ คือ การดื้อยาของเซลล์มะเร็ง การดื้อยานี้เกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ เช่นการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของยา การขัดขวางการเข้าเซลล์ เป็นต้น นอกจากนี้มักมีผลข้างเคียงของยา โดยทั่วไปแล้ว ยาที่มีประสิทธิภาพสูงและไม่มีผลข้างเคียงนั้นเป็นยาที่ดีที่สุด แต่ทว่าโอกาสที่จะได้ยาชนิดนี้มีน้อยมาก ดังนั้น จึงจำเป็นที่

จะต้องคำนึงถึงผลข้างเคียงของยาด้วย ผลข้างเคียงที่พบได้บ่อย เช่น การมีแผลในกระเพาะอาหาร ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ ภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ เป็นต้น

ในปัจจุบันพบว่า การใช้ยาหลายชนิดร่วมกันสามารถทำลายเซลล์มะเร็ง และให้ผลการรักษาดีขึ้น ทั้งนี้เพราะเมื่อใช้ยาเพียงตัวเดียวระหว่างการรักษามักมีการต่อต้านยาเกิดขึ้นได้ ง่าย การใช้ยาหลายตัวรวมกันจึงสามารถลดการต้านยาได้

การรักษาด้วยเคมีบำบัด จะใช้ใน 3 กรณี คือ

กรณีแรก ใช้ในการรักษามะเร็งในระยะแพร่กระจาย การใช้ยาในกรณีนี้จะได้ผลมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับชนิดของมะเร็ง มะเร็งบางชนิดตอบสนองต่อการรักษาดีมาก แม้จะเป็นระยะแพร่กระจายแล้วก็มีโอกาสหายได้ มะเร็งบางชนิดเมื่อแพร่กระจายแล้ว การรักษาด้วยเคมีบำบัดจะให้ผลเพียงบรรเทาอาการ ส่วนมะเร็งบางชนิด การรักษาด้วยเคมีบำบัดได้ผลไม่ดี

กรณีที่สอง ใช้ในการรักษามะเร็งร่วมกับการรักษาโดยวิธีอื่น ๆ โดยทั่วไปใช้ได้ผลในกรณีที่ก้อนมะเร็งถูกตัดออกแล้ว แต่มีโอกาสเกิดมะเร็งขึ้นใหม่ได้ เชื่อว่าการให้ยาในกรณีนี้จะเป็นการควบคุมและทำลายเซลล์มะเร็งที่เหลืออยู่

กรณีที่สาม ใช้ในการลดขนาดของก้อนมะเร็งลงก่อนที่จะให้การรักษาโดยวิธีอื่น ๆ เช่น การผ่าตัด หรือ รังสีรักษา ทำให้ทำได้ง่ายและได้ผลดียิ่งขึ้น

โดยทั่วไปพบว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ได้รับการรักษา โดยวิธีการผ่าตัดประมาณ 40% และ 40% ของการผ่าตัดเป็นการรักษาโดยการผ่าตัดอย่างเดียว ขณะที่ใช้รังสีบำบัด 34% 16% ของรังสีบำบัดเป็นการรักษาโดยใช้รังสีอย่างเดียว และได้รับการรักษาด้วยเคมีบำบัดอย่างเดียว หรือร่วมกับวิธีอื่นๆ 22% ในแต่ละปีผู้ป่วยโรคมะเร็งที่สามารถรักษาให้หายได้นั้นหายได้โดยการผ่าตัด 60% รังสีบำบัด 25% และเคมีบำบัดเพียง 15% (Rosenberg. 1993 : 238-247)

4. การรักษาโดยใช้วิธีอิมมูโนบำบัด (immunotherapy) (ประคอง รังคสิริ. 2523 : 20-21)

เซลล์มะเร็งเป็นโปรตีนที่แปลกปลอมของร่างกาย ร่างกายจะสร้างภูมิต้านทานขึ้นเพื่อกำจัดหรือระงับการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง แต่ภูมิต้านทานนี้ต่ำมาก จนเมื่อเกิดเป็นมะเร็งขึ้นแล้ว ภูมิต้านทานไม่สามารถระงับการเจริญเติบโตของมะเร็งได้ จึงมีการศึกษาเพื่อพยายามกระตุ้นหรือเร่งให้ร่างกายสร้างภูมิต้านทานนี้มากขึ้น อย่างเช่น การนำวัคซีน B.C.G. (Bacille Calmette Guerin) มาใช้รักษามะเร็งผิวหนัง (melanoma) ผลจากการรักษาพบว่าก้อนมะเร็งฝ่อหายไปถึง 90 % (สมชาย สมบูรณ์เจริญ. 2526 : 123-124) หรือ I.F. (Interferon) ซึ่งการรักษาโดยวิธีนี้ส่วนใหญ่แล้วมักจะใช้ร่วมกับการรักษาโดยวิธีอื่น เช่น

ร่วมกับการรักษาด้วยเคมีบำบัด เพื่อที่จะกำจัดผลข้างเคียงของยาเคมีบำบัด หรือหวังผลในแง่สามารถเพิ่มขนาดยาเคมีบำบัดให้สูงขึ้น เพื่อให้ผลการรักษาดีขึ้น

การที่จะเลือกรักษามะเร็งแต่ละชนิดด้วยวิธีใดนั้น ขึ้นอยู่กับระยะที่พบ อวัยวะที่เป็นและสภาพความสมบูรณ์ของผู้ป่วย โดยอาจใช้หลายวิธีร่วมกัน เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือทำลายเซลล์มะเร็งให้มากที่สุด ซึ่งผลที่ได้บางครั้งยังไม่น่าพอใจ เช่น ในการรักษาด้วยเคมีบำบัดเกือบทุกชนิด พบว่านอกจากจะมีผลต่อเซลล์มะเร็งแล้ว ยังมีผลต่อเซลล์ปกติบางชนิด เช่น เซลล์ไขกระดูก เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร เซลล์รากผม ทำให้เกิดผลข้างเคียงในผู้ป่วยมะเร็งเกือบทุกระยะที่รับการรักษา

กรดไขมัน

กรดไขมันเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่คาร์บอกซิล แบ่งได้เป็น (นันทยา ชนะรัตน์. 2532 : 3-5)

1. กรดไขมันอิ่มตัว มีสูตรโครงสร้างทั่วไป $C_nH_{2n+1}COOH$ ที่มีมากในร่างกายได้แก่ Palmitic acid ($C_{15}H_{31}COOH$) Stearic acid ($C_{17}H_{35}COOH$)

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว แบ่งเป็น

2.1 กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนพันธะคู่ = 1 มีสูตรโครงสร้างทั่วไปเป็น ($C_nH_{2n-1}COOH$) เช่น Palmitoleic acid (C 16 ; Δ 9)

2.2 กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนพันธะคู่ = 2 มีสูตรโครงสร้างทั่วไปเป็น ($C_nH_{2n-3}COOH$) เช่น Linoleic acid (C 18 ; Δ 9, 12)

2.3 กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนพันธะคู่ = 3 มีสูตรโครงสร้างทั่วไปเป็น ($C_nH_{2n-5}COOH$) เช่น Linolenic acid (C 18 ; Δ 9, 12 , 15)

2.4 กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนพันธะคู่ = 4 มีสูตรโครงสร้างทั่วไปเป็น ($C_nH_{2n-7}COOH$) เช่น Arachidonic acid (C 20 ; Δ 5, 8, 11, 14)

2.5 กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนพันธะคู่ = 5 มีสูตรโครงสร้างทั่วไปเป็น ($C_nH_{2n-9}COOH$) เช่น Eicosapentanoic acid (C 20 ; Δ 5, 8, 11, 14 , 17)

หมายเหตุ Δ แสดงถึงตำแหน่งของพันธะคู่ นับจากปลายหมู่คาร์บอกซิล

กรดไขมันอิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนมากขึ้นจะมีผลทำให้จุดหลอมเหลวเพิ่มมากขึ้นด้วย ทั้งนี้มีผลเนื่องจากแรงวัลเดอร์วาลที่เพิ่มมากขึ้นนั่นเอง เช่น Palmitic acid มีจุดหลอมเหลว 63.1 ^{o}C Stearic acid มีจุดหลอมเหลว 69.2 ^{o}C

ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวพบว่าจำนวนพันธะคู่ยิ่งมากขึ้นจุดหลอมเหลวยิ่งต่ำ เช่น

Oleic acid ; C 18 : Δ 9 จุดหลอมเหลว 13.4 ^{o}C

Linoleic acid ; C 18 : Δ 9, 12 จุดหลอมเหลว - 9 ^{o}C

Linolenic acid ; C 18 : Δ 9, 12 , 15 จุดหลอมเหลว -17 ^{o}C

Arachidonic acid ; C 20 : Δ 5, 8, 11, 14 จุดหลอมเหลว - 49.5 ^{o}C

Eicosapentanoic acid ; C 20 : Δ 5, 8, 11, 14 , 17 จุดหลอมเหลว - 54 ^{o}C

กรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย แต่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเอง จะต้องได้รับจากอาหาร หรือแหล่งอื่น ๆ เรียกว่า กรดไขมันที่จำเป็น (Essential Fatty Acid : EFA) เช่น Linoleic acid Linolenic acid Arachidonic acid โดยเฉพาะ Linoleic acid นั้นสำคัญที่สุด เพราะเป็นตัวป้องกันการขาดกรดไขมันที่จำเป็น เนื่องจากร่างกายสามารถที่จะเปลี่ยน Linoleic acid ให้เป็นกรดไขมันอื่นได้ ส่วนกรดไขมันอิ่มตัว หรือไม่อิ่มตัวแต่มีจำนวนหนึ่งพันธะคู่อื่นๆ ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้เอง จากผลการวิจัยของแบร์ลี (Bailey. 1973 : 1240) พบว่าเซลล์ fibroblast ของหนู hamster นั้น สามารถรับกรดไขมันอื่นๆจากภายนอกเซลล์ได้พอๆกับกรดไขมันที่สามารถสังเคราะห์ได้เองในเซลล์ และ มาแซร์ (Maziere. 1982 : 712-715) ยังพบว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวนั้นสามารถ incorporate เข้าไปในเซลล์ fibroblast ของหนู hamster ได้เร็วกว่ากรดไขมันที่อิ่มตัว ไพเซอร์ (Pizer. 1996 : 745-751) พบว่าเมื่อเติม cerulenin (2, 3-epoxy-4-oxo-7,10-dodecadienamide : $C_{12}H_{17}NO_3$) ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการสังเคราะห์กรดไขมันลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวพบว่าเซลล์มะเร็งมีอัตราการเจริญลดลง

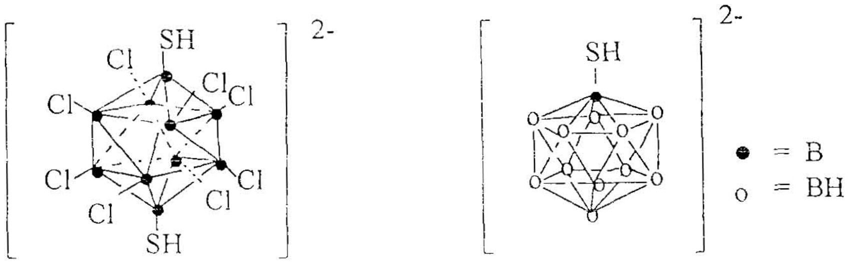
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ BNCT

การศึกษาที่เกี่ยวกับสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ hydroborane

สวีท (Sweet. 1952 : 200-209) ร่วมกับสถาบัน Brook Haven National Laboratory ได้นำ Borax ; $Na_2B_4O_7$ .10 H_2O และ sodium pentaborate ; $Na_2B_{10}O_{16}$.10 H_2O ใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งสมอง (glioblastoma multiforum) ที่โรงพยาบาลแมสซาชูเสท (Massachusetts General Hospital) ในสหรัฐอเมริกาโดยกระบวนการ BNCT แต่ปรากฏว่าผลการทดลองล้มเหลว เพราะสารประกอบดังกล่าวมีความเป็นพิษสูงและขาดความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง

ต่อมาได้ทดลองใช้สารประกอบพวก p-carboxybenzene boronic acid และ sodium decahydrodecaborate ($Na_2B_{10}H_{10}$) ฉีดเข้าใต้ผิวหนังของหนู (mice) ที่มีการปลูกเซลล์มะเร็งสมอง พบว่ามีการสะสมของโบรอนที่เซลล์มะเร็งสมองสูงกว่าเซลล์สมองปกติ 5-8 เท่า และคงอยู่นาน 2-3 ชั่วโมง (Sweet. 1955 : 601-615)

โซโลเวย์ (Soloway. 1967 : 714) ร่วมกับ E. I . DuPont. de. Nemouse Co. ได้ทดลองใช้ sodium mercaptoundecahydrododecaborate ($Na_2B_{12}H_{11}SH$; BSH) และ sodium mercaptooctachloro decaborate [($Na_2B_{10}Cl_8$ $(SH)_2$] ซึ่งมีสูตรโครงสร้าง ดังแสดงในภาพประกอบ 4 ทดสอบกับผู้ป่วยมะเร็งสมอง ปรากฏว่ามีเพียง BSH เท่านั้น ที่สะสมที่เซลล์มะเร็งได้สูง

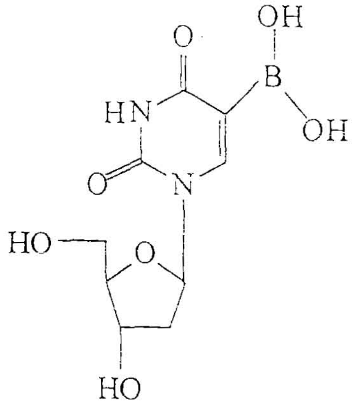


ภาพประกอบ 4 สูตรโครงสร้างของ $[B_{10}Cl_8(SH)_2]^{2-}$ และ $[B_{12}H_{11}SH]^{2-}$

ฮาทานากะ (Hatanaka. 1975 : 81-94) นำ BSH มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งสมองในญี่ปุ่น โดยรักษาร่วมกับการผ่าตัดในผู้ป่วยจำนวน 57 ราย ให้ผู้ป่วยได้รับโบรอน-10 ในปริมาณ 30-80 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว โดยการฉีดเข้าทางเส้นเลือดดำ หลังจาก 12 ชั่วโมง พบว่ามีโบรอน-10 สะสมประมาณ 26.3 ไมโครกรัม/กรัมของเซลล์มะเร็ง และในเลือดมีการสะสม 18.2 ไมโครกรัม/กรัมของเลือด และพบว่าสารประกอบนี้มีความเป็นพิษน้อย

การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ nucleic acid

เรมอนด์ (Ramond. 1978 : 4981-4984) ได้สังเคราะห์ 5-(dihydroxylboryl)-2' -deoxyuridine (DBDU) สูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 5 ซึ่งเป็นสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ nucleoside เมื่อทดสอบ *in vitro* กับเซลล์ malignant gliomas ร่วมกับการฉายนิวตรอน พบว่ามีผลทำให้เซลล์ตายที่ความเข้มข้นของโบรอน-10 ประมาณ 6 ไมโครกรัม/กรัมของเซลล์มะเร็ง แต่เมื่อนำไปทดลองกับลิงอัฟริกันที่ปลูกเซลล์มะเร็ง malignant gliomas พบว่าไม่มีผลยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ระดับความเข้มข้น 1.6 มิลลิโมลของสาร/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว



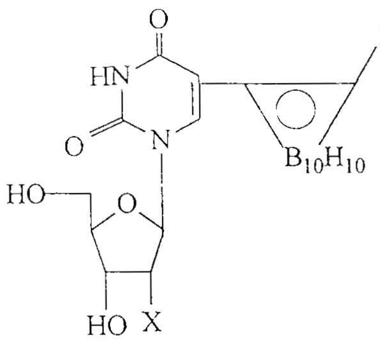
ภาพประกอบ 5 สูตรโครงสร้างของ 5-(dihydroxylboryl)-2'-deoxyuridine (DBDU)

ยามาโมโตะ (Yamamoto. 1989 :7191-7194) ได้สังเคราะห์ 5-carboranyl-2'-deoxyuridine (CDU) สูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 6 พบว่าเป็นสารประกอบที่มีประสิทธิภาพมากเพราะ CDU สามารถเข้าไป incorporate ในกระบวนการ phosphorylation ได้ เนื่องจากประจุลบของหมู่ฟอสเฟตสามารถจับกับ CDU ได้ดี แต่ละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อย ต่อมาจึงเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของ CDU ให้มีขั้วมากขึ้นเพื่อเพิ่มสมบัติในการละลายน้ำโดยสังเคราะห์สารที่มีสูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 6 (Yamamoto. 1992 : 157-158) เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ ค่า IC_{50} ดังแสดงในตาราง 7

ตาราง 7 ค่า IC_{50} ของสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ Uridine

Cell line	IC_{50} (10^{-5} mol dm^{-3})			
	CDU	5-B_{10}U1	5-B_{10}U3	5-B_1U7
P-388	1.99	2.20	5.60	>30
L1210	2.98	.98	>30	>30
B-16	2.82	3.16	10	>30
MBL-2	2.23	3.09	11.9	>30
MethA	3.16	3.98	>30	>30

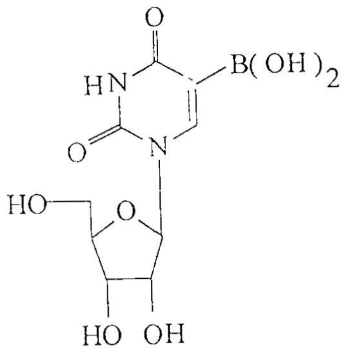
พบว่า 5-B_{10}U1 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ใช้ทดสอบทุกชนิด (P-388, L1210, B-16, MBL-2 และ MethA) มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 10^{-5} mol dm^{-3} และมีฤทธิ์ยับยั้ง P-388 ได้ 100% ที่ความเข้มข้น $1x10^{-4}$ mol dm^{-3} ภายในระยะเวลา 5 วันที่ทำการทดลอง ส่วน 5-B_{10}U3 และ 5-B_1U7 มีความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งต่ำกว่าโดยเฉพาะ 5-B_1U7 นั้น มีค่า IC_{50} มากกว่า $3x10^{-4}$ mol dm^{-3} กับเซลล์มะเร็งทุกชนิดที่ทดสอบ จากการทดลองในครั้งนี้พบว่า เซลล์มะเร็งแต่ละชนิดมีความสามารถในการยอมรับสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ uridine แต่ละชนิดได้ไม่เหมือนกัน



CDU ; X = H, R = H

5 – B_{10} U1 ; X = OH, R = H

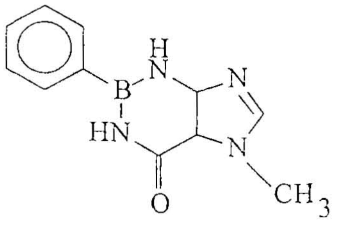
5 – B_{10} U3 ; X = OH, R = CH_2OH



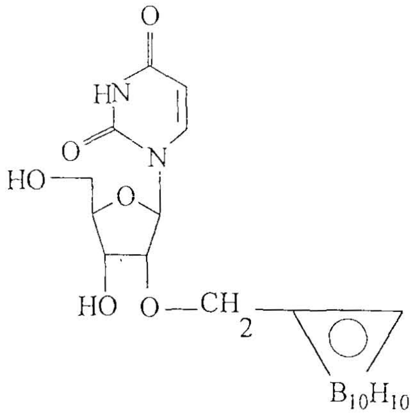
5 – B_1 U7

ภาพประกอบ 6 สูตรโครงสร้างของสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ uridine

ทาร์ค (Tjarks. 1992 : 1628 -1633) ได้สังเคราะห์ 2-phenyl-6-hydroxy-7- methyl-2-boradihydroxypurine เพื่อให้มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับกรดนิวคลีอิค (nucleic acid) ดังแสดงในภาพประกอบ 7 พบว่าสารนี้ไม่เสถียรเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูก hydrolyse ได้ง่าย และร่างกายยังไม่ยอมรับ ทำให้ผลการทดลองล้มเหลว ต่อมาได้สังเคราะห์ 2' O-(o-carborane-1-yl-methyl) uridine (CBU-2) สูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 8 พบว่ามีประสิทธิภาพในการสะสมในเซลล์ F-98 ของหนู (rat) และพบว่ามีการสะสมของโบรอน-10 ที่เซลล์มะเร็งได้สูงกว่า 103 ไมโครกรัม/กรัมของเซลล์มะเร็ง ขณะที่ BSH สะสมเพียง 2 ไมโครกรัม/กรัมของเซลล์มะเร็งเท่านั้น



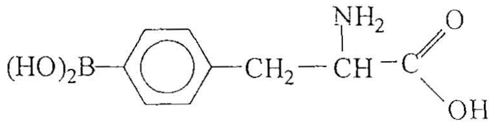
ภาพประกอบ 7 สูตรโครงสร้างของ 2-phenyl-6-hydroxy-7-methyl-2- boradihydroxypurine



ภาพประกอบ 8 สูตรโครงสร้างของ 2′-O-(o-carborane-1-yl-methyl) uridine (CBU-2)

การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ amino acid

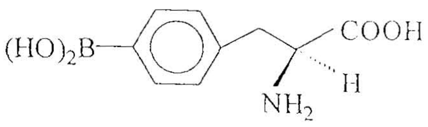
ซินเดอร์ (Synder. 1958 : 835-838) ได้สังเคราะห์ p-boronophenylalanine (p-BPA) สูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 9 เมื่อทดสอบ *in vitro* กับเซลล์มะเร็ง melanoma พบว่าสามารถสะสมที่เซลล์มะเร็งได้เร็ว



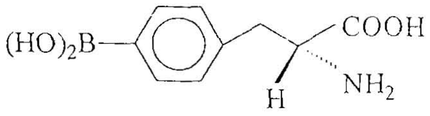
ภาพประกอบ 9 สูตรโครงสร้างของ p-boronophenylalanine (p-BPA)

ต่อมา มิชิมา (Mishima. 1973 : 215-231) ได้นำ p-BPA มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็ง melanoma ในประเทศญี่ปุ่น พบว่ามีประสิทธิภาพในการรักษาได้ ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์มะเร็งมีความต้องการ phenylalanine ในปริมาณที่สูง เพื่อใช้ในการผลิต pigment melanin

คอเดียร์ (Coderre. 1990 : 138-141) ได้สังเคราะห์และเปรียบเทียบความสามารถในการสะสมของ p-BPA ในรูปของ D-isomer และ L-isomer สูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 10 ทั้งในหนูที่มีการปลูกเซลล์มะเร็ง melanoma (*in vivo*) และกับเซลล์มะเร็ง (*in vitro*) พบว่า p-BPA ในรูป L-isomer สามารถสะสมได้ในปริมาณที่มากกว่า D -isomer



D - isomer

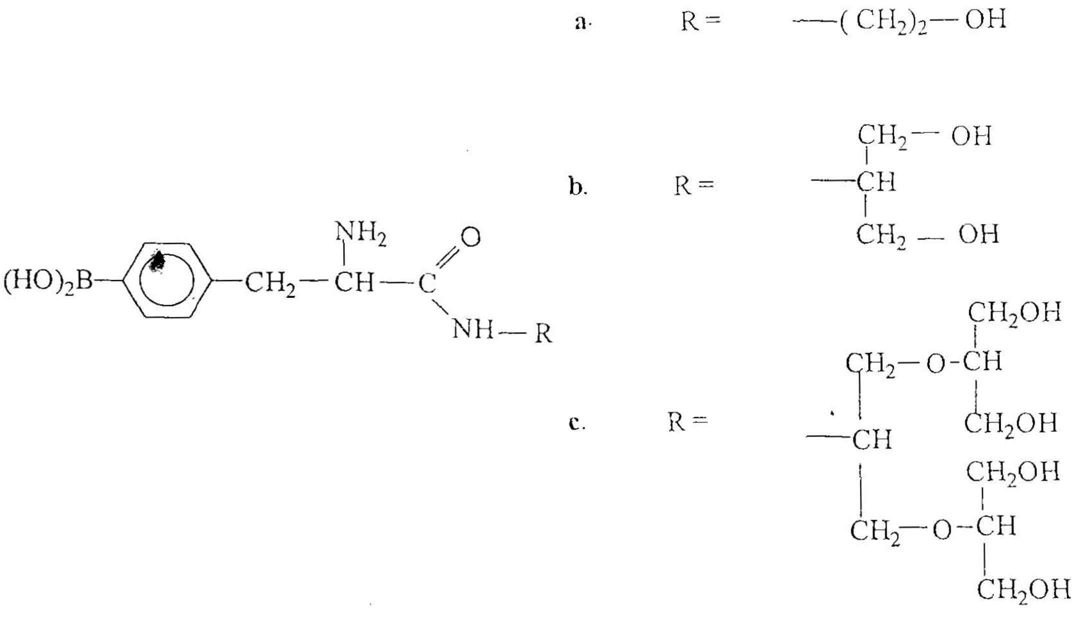


L - isomer

ภาพประกอบ 10 สูตรโครงสร้างของ D-isomer และ L-isomer ของ p-BPA

มาทาลกะ (Matalka. 1993 : 3308-3313) ได้ปลูกเซลล์มะเร็ง melanoma ในหนู แล้วฉีด p-BPA ในรูปของ L-isomer ในปริมาณ 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว เข้าทางช่องท้องของหนูอีก 6 ชั่วโมงต่อมา พบการสะสมของโบรอน-10 ที่เซลล์มะเร็ง 23.7ไมโครกรัม/กรัมของเซลล์มะเร็ง ในเลือด 9.4 ไมโครกรัม/กรัมของเลือด และเซลล์สมอง 8.4 ไมโครกรัม/กรัมของเซลล์สมอง ตามลำดับ

นีมาโตะ (Nemato. 1995 : 1673-1678) ได้พยายามปรับปรุงสมบัติการละลายน้ำของ p-BPA โดยสังเคราะห์ให้อยู่ในรูป hydroxylamide สูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 11 พบว่าประสิทธิภาพในการละลายน้ำเพิ่มขึ้นตามจำนวนของหมู่ hydroxy แต่เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการทำลายเซลล์ B-16 melanoma พบว่าสาร ประกอบ **b** มีการสะสมที่เซลล์มะเร็งมากที่สุด และมีค่า IC_{50} เกือบครึ่งหนึ่งของ IC_{50} ของ p-BPA



ภาพประกอบ 11 สูตรโครงสร้างอนุพันธ์ของ hydroxylamide ของ p-BPA

คาปาลา (Capala. 1996 : 554-560) ได้เปรียบเทียบอัตราส่วนของการสะสมของโบรอน-10 ของสารประกอบ p-BPA, BSH และ boric acid ในเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ คือ GS-9L (rat gliosarcoma), U-343 Mga (human malignant glioma), B-16 (mouse melanoma) เทียบกับเซลล์ปกติคือ Bovine aortic endothelial cells และ GM-489 fibroblasts พบว่า p-BPA มีการสะสมได้มากที่สุดในเซลล์มะเร็งทุกชนิด และขณะเดียวกันก็สะสมที่เซลล์ปกติน้อยที่สุดด้วย ดังแสดงในตาราง 8

ตาราง 8 อัตราการสะสมโบรอน-10 จาก Boric Acid p-BPA และ BSH ในเซลล์ชนิดต่างๆ (ng ^{10}B / 10^{6} cells)

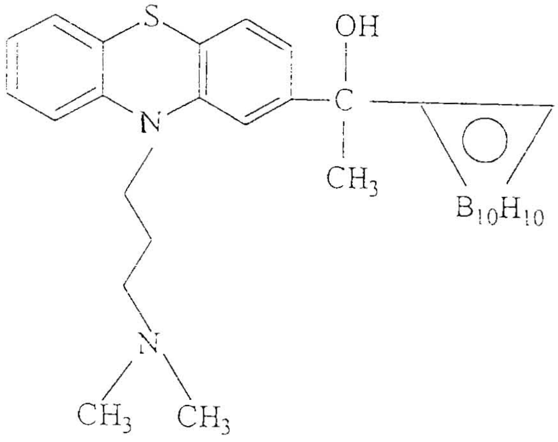
ชนิดของเซลล์	Boric Acid	p-BPA	BSH
GS-9L	0.96 ± 0.08	3.2 ± 0.39	0.9 ± 0.22
U343-Mga	1.3 ± 0.07	1.5 ± 0.11	0.9 ± 0.07
B-16	1.6 ± 0.22	1.8 ± 0.16	1.6 ± 0.04
Bovine aortic Endothelial cells	2.8 ± 0.08	1.0 ± 0.07	1.7 ± 0.08
Gm-489 fibroblasts	3.2 ± 0.11	0.6 ± 0.03	1.1 ± 0.04

คอเดียร์ (Coderre. 1999 : 113-118) นำ p-BPA ทดลองรักษามะเร็งในช่องปากโดยใช้หนูเพศผู้ (Fisher 344 rat) ที่มีการปลูกเซลล์มะเร็งที่ลิ้น จากนั้นฉีดสารประกอบเข้าทางช่องท้องในปริมาณ 700 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม อีก 3 ชั่วโมงพบว่า มีการสะสมของโบรอน-10 ที่ลิ้นในปริมาณ 23 ไมโครกรัมต่อกรัมของเซลล์ และในเลือด มีการสะสม 21 ไมโครกรัมต่อกรัมของเลือด ต่อมาวิทติง (Witting. 2000 : 173-180) พบว่า p-BPA จะมีการสะสมที่เซลล์ Rat 9L gliosarcoma และ Chinese V79 ได้มากขึ้นกว่าเดิม ถ้าได้มีการ incubate เซลล์ด้วย L-tyrosine หรือ L-dihydroxy-phynylalanine 1 ชั่วโมงก่อนที่จะ incubate ด้วย p-BPA

ปัจจุบันในประเทศญี่ปุ่นได้นำ BSH และ p-BPA มาใช้ในการรักษามะเร็ง โดยใช้ BSH รักษามะเร็งสมอง (malignant brain tumors) ส่วน p-BPA รักษามะเร็ง melanoma และ malignant glioma

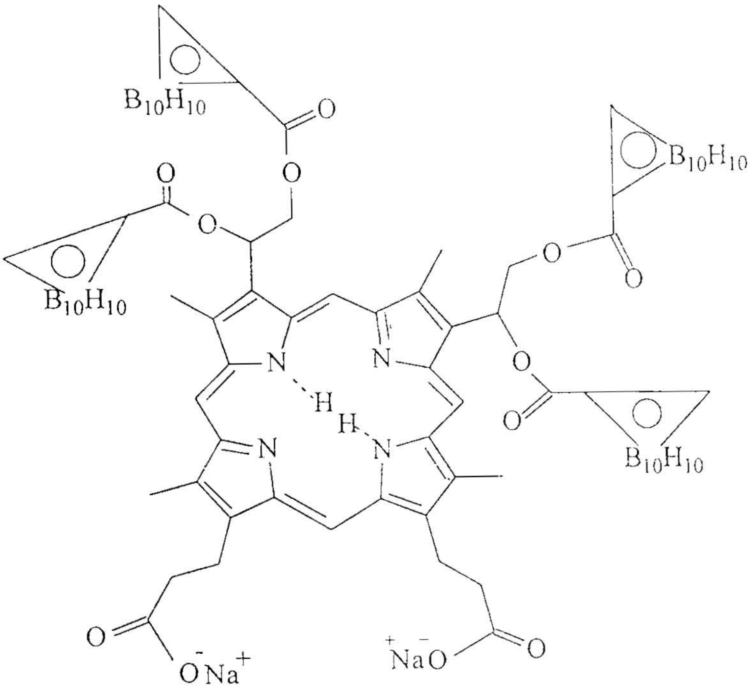
การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบโบรอนอื่น ๆ

แฟร์ชายด์ (Fairechild. 1982 : 556-561)ได้ศึกษาการสะสมของ chlorpromazine ; CPZ ในหนู (mice) ที่ปลูกเซลล์มะเร็ง melanoma โดยให้หนูได้รับ CPZ ในปริมาณ 5 - 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักหนู ปรากฏว่ามีการสะสม CPZ ที่เซลล์มะเร็งมากกว่า 100 ไมโครกรัม/กรัมของเซลล์มะเร็ง ซึ่งมากกว่าเซลล์ปกติ 15 เท่า เมื่อ มิชิมา (Mishima. 1987 : 15-17) ทดลองใช้สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ CPZ คือ 2-(1'-hydroxy-1'-o-carboranyl) ethanylpromazine สูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 12 กับหนู (mice) ที่มีการปลูกเซลล์มะเร็ง melanoma พบว่าสารประกอบนี้สะสมที่เซลล์มะเร็งได้ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติจากตับ



ภาพประกอบ 12 สูตรโครงสร้างของ 2-(1'-hydroxy-1'-o-carboranyl) ethanylpromazine

คาร์ล (Kahl. 1990 : 1769-1771) ได้สังเคราะห์ 2, 4-bis-(α, β-dihydroxyethyl)-deuteroporphyrin IX ซึ่งเป็นสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ porphyrin สูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 13 เพื่อนำมาใช้รักษามะเร็งด้วยกระบวนการ photodynamic เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพกับหนูที่เป็นมะเร็งสมอง พบว่ามีความเป็นพิษมากเกินไปที่ระดับความเข้มข้นของโบรอนที่จะใช้รักษา



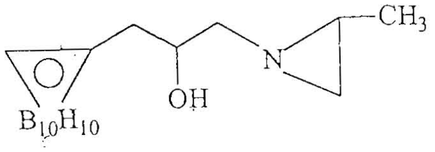
ภาพประกอบ 13 สูตรโครงสร้างของ 2, 4-bis- (α, β-dihydroxyethyl) deuteroporphyrin IX

ยามาโมโตะ (Yamamoto. 1993 : 2232-2234) ได้สังเคราะห์ 1-carboranyl-3 -(2-aziridino-2-propanol) ; MACB สูตรโครงสร้างแสดงในภาพประกอบ 14 ซึ่งเป็นสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ aziridine แล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็ง B-16 melanoma โดยเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติจากตับของมนุษย์ (TIG-1-20) และเปรียบเทียบกับ p-BPA ค่า IC_{50} ที่ได้จากการ แสดงไว้ในตาราง 9

ตาราง 9 ค่า IC_{50} ของ MACB

Compound	Cell line	IC_{50}	
		10^{-6} g dm^{-3}	mol dm^{-3}
MACB	B-16	1.40	5.45×10^{-6}
	TIG-1-20	4.70	1.83×10^{-5}
p-BPA	B-16	2100	8.55×10^{-3}
	TIG-1-20	2050	8.35×10^{-3}

ผลจากตารางแสดงว่า MACB มีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ B-16 melanoma ได้ดีกว่า p-BPA และทำลายเซลล์ปกติน้อยกว่าเซลล์มะเร็ง และยังพบว่า MACB สามารถยับยั้ง B-16 melanomaได้ 100% ที่ความเข้มข้น 1.17×10^{-5} mol dm^{-3} ภายในระยะเวลา 5 วัน

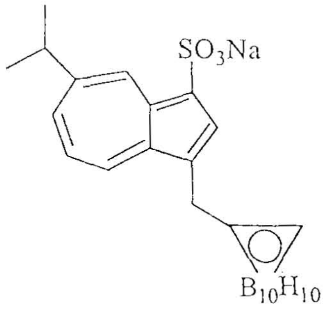


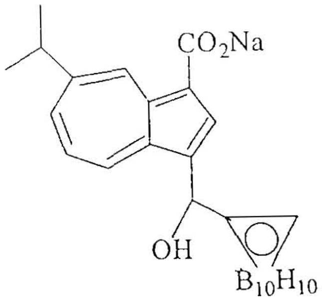
ภาพประกอบ 14 สูตรโครงสร้างของ 1-carboranyl-3-(2-aziridino-2- propanol) ; MACB

นาคามูระ (Nakamura. 1997 : 2825-2830) ได้สังเคราะห์สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ azulene สูตรโครงสร้างดังแสดงในภาพประกอบ 15 และเมื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็ง B-16 melanoma พบว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ และ มีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ อีกทั้งมีสมบัติในการละลายน้ำได้ดี เมื่อเปรียบเทียบค่า IC_{50} กับ p-BPA ผลดังแสดงในตาราง 10 จึงคาดว่าสารประกอบดังกล่าวเหมาะสมสำหรับนำไปใช้เป็นตัวพาโบรอน-10 ไปยังเซลล์มะเร็งในการรักษามะเร็งด้วยกระบวนการ BNCT ต่อไป

ตาราง 10 ค่าความสามารถในการละลายน้ำและค่า IC_{50} ของสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ Azulene

Compound	Water solubility (M)	Cytotoxicity IC_{50} (M)
1	2.39×10^{-6}	2.6×10^{-5}
2	$>2.30 \times 10^{-3}$	1.6×10^{-4}
p-BPA	--	8.6×10^{-3}





(1) (2)

ภาพประกอบ 15 สูตรโครงสร้างของสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของ Azulene

แต้มบรรจง (Tambunchong. 1997 : 1231-1235) พบว่าสารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมันบางชนิด สามารถรวมตัวกับ LDLได้ จึงคาดว่า หลังจากสารประกอบนี้รวมตัวกับ LDL แล้ว น่าจะเป็นตัวพาโบรอน-10 ไปยังตำแหน่งเซลล์มะเร็งปากมดลูก และใช้ในกระบวนการ BNCT ได้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

วิธีดำเนินการวิจัยประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ

1. การสังเคราะห์สาร
2. การทดสอบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก

อุปกรณ์ /เครื่องมือ

1. **อุปกรณ์ /เครื่องมือที่ใช้ในขั้นตอนการสังเคราะห์สาร**

   คอลัมน์ขนาด 2.5x35 cm

   Hot plate & Magnetic stirrer

   Rotary evaporator

   Infrared Spectrophotometer (IR, Jusco IR 700)

   Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS)

   Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR, 60 MHz, 200 MHz, 300 MHz , 400 MHz)

2. **อุปกรณ์/เครื่องมือที่ใช้ในขั้นตอนทดสอบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์มะเร็ง**

   Aseptic flasks ขนาด 40 cm^3x25 cm^2

   Cover slide

   Haemacytometer

   Pipette ขนาดต่าง ๆ

   Centrifuge (Kubota-KC-70)

   UV-Visible spectrophotometer (Spectronic Genesys 5, Milton Roy)

   Vortex mixing (Genie Model K.550-GE)

   กล้องจุลทรรศน์ (Olympus Tokyo)

   เครื่องชั่ง (Metler AE 240)

สารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการสังเคราะห์สาร

o-Carboranic acid

Dichloromethane (CH_2Cl_2 ; AR grade)

4-N, N-Dimethylaminopyrimidine (DMAP), (Sigma ; AR grade)

Ethyl acetate (Sigma ; AR grade)

Hexane (dist.)

Magnesium sulphate (anh. $MgSO_4$; AR grade)

Phosphorus pentachloride (PCl_5 ; AR grade)

Toluene (dry ; AR grade)

Silica gel (Merck ; AR grade)

Sodium hydrogen carbonate ($NaHCO_3$)

Elaidyl alcohol (Sigma ; AR grade)

Linoleyl alcohol (Sigma ; AR grade)

Linoelaidyl alcohol (Sigma ; AR grade)

Oleyl alcohol (Sigma ; AR grade)

Palmitoleyl alcohol (Sigma ; AR grade)

Stearyl alcohol (Sigma ; AR grade)

2. สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนทดสอบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์มะเร็ง

Bovine serum albumin (BSA)

Dimethylsulfoxide (DMSO, AR grade)

Eagle′s Minimum Essential Medium (10 % NCS ใน EMEM)

5-Fluorouracil (5-FU)

Folin-ciocalteau reagent (F-C)

Hanks′balanced salt solution (HBSS)

Phosphate buffer saline solution (PBS)

0.4 % Trypan blue dye

0.25 % Trypsin in HEPES-Buffered Saline (HBS)

สารละลาย C (การเตรียมในภาคผนวก)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสังเคราะห์สาร

1. ละลาย o-carboranic acid 1 มิลลิโมล (188 มิลลิกรัม, มวลโมเลกุล 188 ใน toluene 10 cm^3 ค่อย ๆ เติม PCl_5 1.1 มิลลิโมล (229 มิลลิกรัม, มวลโมเลกุล 208.24) จนหมดที่อุณหภูมิห้องในบรรยากาศที่ปราศจากความชื้น คนต่อที่อุณหภูมิ 150 ^{o}C ตรวจสอบ o-carboranyl chloride ที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิคทาง TLC และ IR เมื่อเกิด o-carboranyl chloride หมดแล้ว กำจัดตัวทำละลายออกในบรรยากาศ N_2 และตรวจสอบผลิตภัณฑ์ ที่ได้ด้วยเทคนิค IR

2. เติม DMAP 0.03 มิลลิโมล (3.7 มิลลิกรัม, มวลโมเลกุล 122.2) คนให้เข้ากัน ค่อยๆ เติมแอลกอฮอล์ของกรดไขมัน* ปริมาณ 1 มิลลิโมล ที่ละลายใน toluene ที่แห้ง ประมาณ 10 cm^3 ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบสารที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิคทาง TLC และ IR เมื่อสารตั้งต้นเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์แล้วระเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ปรับสารละลายที่ได้ให้เป็นกลางโดยใช้สารละลาย $NaHCO_3$ 10% ที่อุณหภูมิ ประมาณ 5 ^{o}C

3. สกัดสารที่ได้ด้วย CH_2Cl_2 2 ครั้ง ล้างชั้นของ CH_2Cl_2 ด้วยน้ำ 1 ครั้ง เติม anh. $MgSO_4$ ลงในชั้นของ CH_2Cl_2 ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที กรองและระเหย CH_2Cl_2 โดยใช้เครื่อง rotary evaporator

4. แยกสารที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยใช้ column chromatography (silica gel เป็นตัวดูดซับ และใช้ hexane เป็นตัวชะ) หาร้อยละของผลผลิตและวิเคราะห์โครงสร้างของสารที่ได้ด้วยเทคนิค IR, NMR, GC-MS

หมายเหตุ

1. ขั้นตอนข้อ 1 และ 2 ต้องทำภายใต้บรรยากาศของ N_2 และปราศจากความชื้น

2. TLC ใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ โดยใช้ hexane : ethylacetate (5 :1) เป็นตัวชะ

3. จุดหลอมเหลว o-carboranic acid 140 –145 ^{o}C

4. * Stearyl alcohol (270.5 มิลลิกรัม , มวลโมเลกุล 270.5)
Oleyl alcohol (268.5 มิลลิกรัม , มวลโมเลกุล 268.5)
Elaidyl alcohol (268.5 มิลลิกรัม , มวลโมเลกุล 268.5)
Palmitoleyl alcohol (240.4 มิลลิกรัม , มวลโมเลกุล 240.4)
Linoleyl alcohol (266.5 มิลลิกรัม , มวลโมเลกุล 266.5)
Linoelaidyl alcohol (266.5 มิลลิกรัม , มวลโมเลกุล 266. 5)

แผนผังแสดงขั้นตอนการสังเคราะห์

o-carboranic acid 1 mmol + PCl_5 1.1 mmol + toluene

↓ flow N_2 15 seconds
150 °C ≥ 3 hrs.

o-carboranyl chloride (TLC, IR)

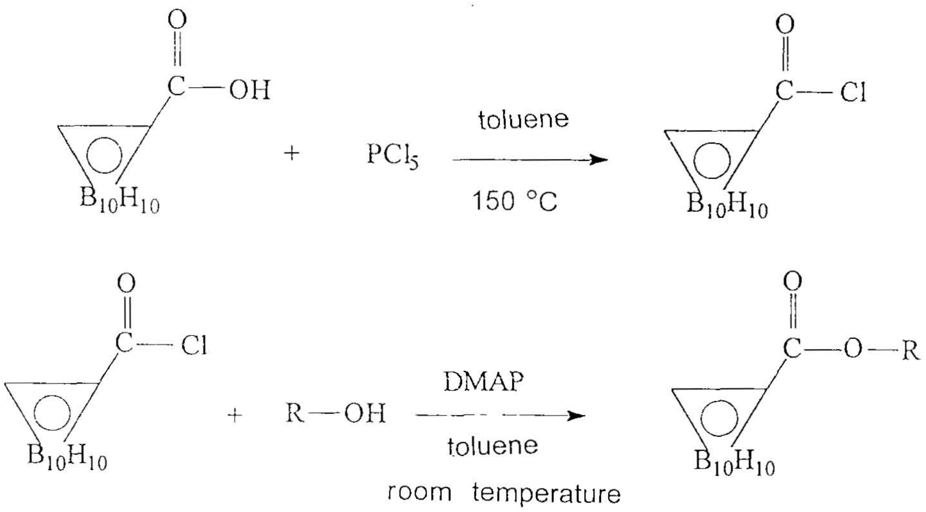
↓ fatty alcohol 1 mmol
DMAP 0.03 mmol
room temperature ≥ 20 hrs.

o-carboranic ester (TLC, IR)

↓ evaporation
$NaHCO_3$ (pH 7.0)
extract with CH_2Cl_2 2 times
wash with H_2O, $MgSO_4$ (anh.)
evaporation
column chromatography
(elute with hexane)

pure o-carboranic ester (TLC, IR, NMR, GC-MS)

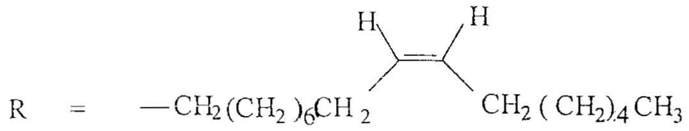
ปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์สารประกอบโบรอนอนุพันธ์ของกรดไขมัน



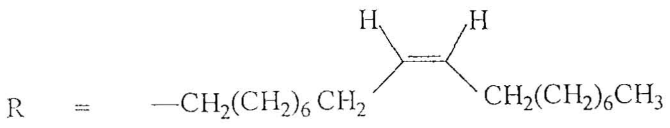
1. Stearyl carboranate

R = $—CH_2(CH_2)_{16}CH_3$

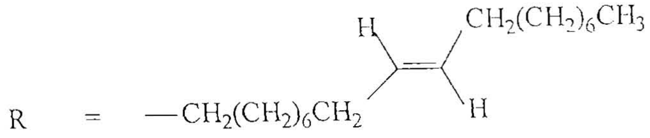
2. Palmitoleyl carboranate



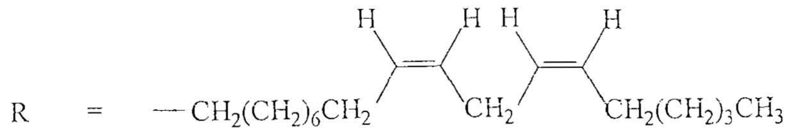
3. Oleyl carboranate



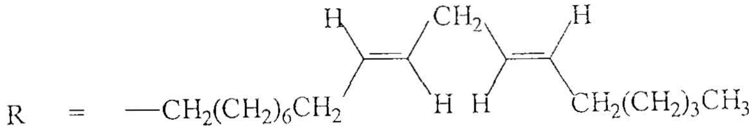
4. Elaidyl carboranate



5. Linoleyl carboranate



6. Linoelaidyl carboranate



2. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

เซลล์มะเร็งที่ใช้ทดสอบเป็นเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa cells) การเจริญของเซลล์จะเกาะติดกันเป็นแผ่นชั้นเดียว (monolayer) การเพาะเลี้ยงเซลล์ในขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 40 cm^3 พื้นที่ผิว 25 cm^2 อาหารที่ใช้เลี้ยงคือ Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) ผสมกับ Newborn Calf Serum (NCS) 10% pH 7.0-7.2 ที่อุณหภูมิ 37 ^{o}C ในบรรยากาศที่มีก๊าซ CO_2 5% (CO_2 incubator) และ subculture 2 ครั้ง/สัปดาห์

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง มีขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

1. การเตรียมเซลล์ นำเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไว้อายุประมาณ 4 วันมาเปลี่ยนอาหารใหม่ เพื่อใช้ในการเตรียมเป็น cell suspension สำหรับการทดลอง ดังนี้

1.1 ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกจนหมด

1.2 ล้างเซลล์ด้วย HBSS 5 cm^3

1.3 ย่อยเซลล์ให้หลุดเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ ด้วย 0.25% trypsin ใน HEPES-buffer solution จำนวน 4-5 cm^3 ทิ้งไว้ประมาณ 1-2 นาที จนสังเกตเห็นว่าเซลล์เริ่มจะหลุดออกจากผิวขวดเลี้ยงเซลล์

1.4 ดูด trypsin ทิ้ง แล้วเติม 10% NCS ใน EMEM จำนวน 3 cm^3 ใช้ Pasteur pipette ดูดขึ้นลงหลาย ๆ ครั้งเพื่อชะเซลล์ให้หลุดออกจากผิวขวดเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เติมอาหารลงไปอีกประมาณ 7 cm^3 เขย่าเพื่อให้เซลล์กระจายสม่ำเสมอ

1.5 จากนั้นนำ cell suspension เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์จนได้จำนวนเซลล์เป็น $4x10^4$ เซลล์/cm^3 ตามวิธีการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (viable cell count) ดังนี้

1.5. 1 ดูด cell suspension 0.2 cm^3 ผสมกับ 0.4% trypan blue 0.2 cm^3 ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Pasteur pipette ดูดขึ้นลงเบา ๆ

1.5. 2 นำ cell suspension ที่ย้อมสีแล้วไปหยดบน haemacytometer

1.5. 3 นำไปนับจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ (เซลล์ตายจะติดสีน้ำเงินของสี trypan blue) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า คำนวณจำนวนเซลล์ต่อปริมาตร (cm^3) ดังตัวอย่าง

ตัวอย่างการคำนวณ

สมมุติให้จำนวนเซลล์เฉลี่ยที่นับได้	=	100 เซลล์/chamber
(1 chamber = 5 ช่องเล็ก)		
ปริมาตร 1 ช่องเล็ก	=	พื้นที่ x ความลึก
	=	1 x 1 x 0.1 mm^3
	=	0.1 x 0.1 x 0.01 cm^3
	=	0.0001 cm^3
	=	10^{-4} cm^3

เนื่องจากเซลล์ที่นับได้ถูกเจือจางด้วยสี trypan blue เป็น 2 เท่า

ดังนั้นจำนวนเซลล์ใน 1 chamber	=	100 x 2 เซลล์
ดังนั้นจำนวนเซลล์ใน 1 ช่องเล็ก	=	100 x 2/5 เซลล์
ปริมาตรใน 1 ช่องเล็ก	=	10^{-4} cm^3
ปริมาตร 10^{-4} cm^3 มีเซลล์	=	100 x 2/5 เซลล์
ปริมาตร 1 cm^3 มีเซลล์	=	100 x 2/5 x 10^4 เซลล์
	=	4×10^5 เซลล์/cm^3
ถ้าต้องการเตรียมเซลล์ให้ได้ปริมาณ		4×10^4 เซลล์/cm^3
dilution number (D.N.)	=	$4 \times 10^5 / 4 \times 10^4 = 10$

นั่นคือจะต้องเจือจาง cell suspension ที่เตรียมไว้ 10 เท่า ดังนั้นถ้าต้องการใช้เซลล์ปริมาณ 4×10^4 เซลล์/cm^3 จะต้องใช้ cell suspension 1 cm^3 ต่ออาหารเลี้ยงเซลล์ 9 cm^3 ก็จะได้ cell suspension ที่มีจำนวนเซลล์ตามต้องการ

2. การเตรียมสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง มีดังนี้

2.1 สารละลาย Negative Control Day 0 (NC-0) เตรียมโดยใส่ cell suspension ที่เตรียมไว้ (4 x 10^4 เซลล์/cm^3) จำนวน 3 cm^3 ในหลอด centrifuge นำไปปั่นด้วยความเร็ว 1,500 g นาน 5 นาที เซลล์จะตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอด ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง ล้างเซลล์ ด้วยสารละลาย PBS นำไปปั่นอีกครั้งด้วยความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม ดูดสารละลาย PBS ทิ้ง นำเซลล์ไปเก็บที่ 0 °C

2.2 สารละลาย Negative Control Day 4 (NC-4) เตรียมโดยใส่ cell suspension ที่เตรียมไว้ จำนวน 3 cm^3 ลงในขวดเลี้ยงเซลล์ที่มี 2.5% DMSO ใน 10% NCS ใน EMEM 1 cm^3 นำไปบ่มที่ 37 °C ใน 5% CO_2 incubator เป็นเวลา 4 วัน

2.3 สารละลาย Positive Control Day 4 (PC-4) เตรียมโดยใช้ micropipette ดูดสารละลาย 5-FU 5 ไมโครลิตร ซึ่งมีเนื้อสารเท่ากับ 250 ไมโครกรัม ใส่หลอดทดลอง เติม 2.5% DMSO ใน 10% NCSใน EMEM จำนวน 5 cm^3 จะได้ความเข้มข้นเป็น 50 ไมโครกรัม/cm^3 เจือจางต่อไปจนได้ความเข้มข้น 4 ไมโครกรัม/cm^3 นำสารละลายนี้มา 1 cm^3 ใส่ในขวดเลี้ยงเซลล์ที่มี cell suspension (4 x 10^4 เซลล์/cm^3) จำนวน 3 cm^3 นำไปบ่มที่ 37 °C ใน 5% CO_2 incubator เป็นเวลา 4 วัน

2.4 สารละลาย Test Solution Day 4 (TS-4) เตรียมโดยใส่ cell suspension จำนวน 3 cm^3 ลงในขวดเลี้ยงเซลล์ที่มีสารตัวอย่างที่จะใช้ทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ 2.5% DMSO ใน 10% NCS ใน EMEM เป็นตัวเจือจาง ขวดละ 1 cm^3 นำไปบ่มที่ 37 °C 5% CO_2 incubator เป็นเวลา 4 วัน

หมายเหตุ 1. ในแต่ละกลุ่มทำซ้ำ 2 ครั้ง

2. การทำ NC-0 และ NC-4 เพื่อตรวจสอบว่าเซลล์มะเร็งที่ใช้มีการเจริญเติบโตตามปกติ

3. การทำ PC-4 เพื่อตรวจสอบว่าเซลล์มะเร็งที่ทดสอบไม่มีสมบัติดื้อยา

3. การวัดปริมาณเซลล์มะเร็ง

ปริมาณเซลล์มะเร็งวัดโดยหาปริมาณโปรตีน โดยอาศัยหลักที่ว่าถ้าโปรตีนมากย่อมหมายถึง จำนวนเซลล์มะเร็งมากด้วย การหาปริมาณโปรตีนใช้วิธีของ โอยามา และ อีเกิล (Oyama and Eagle. 1956 : 305-307) โดยประยุกต์ใช้ร่วมกับวิธีคัลเลอริเมตริกของ เลารี และคนอื่นๆ (Lowry and others. 1951 : 265-275) ซึ่งใช้ Folin reagent เป็นตัวทำให้เกิดสี

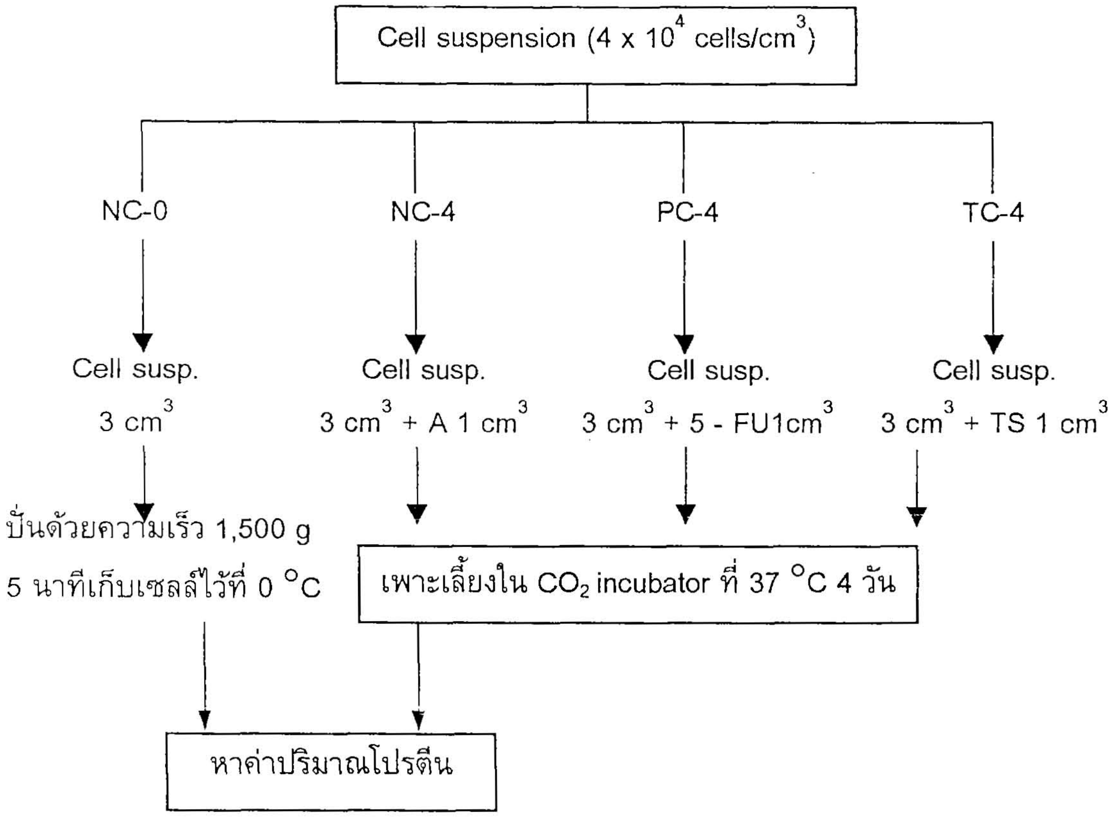
ขั้นตอนการหาปริมาณโปรตีน

1. นำ NC-4 PC-4 และ TS-4 มาเทอาหารเลี้ยงเซลล์ออกให้หมด
2. ล้างเซลล์ในขวดทดลองที่ต้องการหาโปรตีนด้วยสารละลาย PBS 2 ครั้ง
3. นำ NC-0 (ที่เก็บไว้ 0 ^{o}C) NC-4 PC-4 และTS-4 มาเติม Solution C ขวดละ 5 cm^3 เพื่อละลายโปรตีนออกจากเซลล์ นำไปเขย่าด้วย vortex mixer ได้เป็น cell solution
4. เติม cell solution 1 cm^3 ลงในหลอดที่มี Solution C อยู่หลอดละ 4 cm^3 น้ำกลั่น 1 cm^3 และสารละลาย F-C : น้ำ (อัตราส่วน 5 : 7) ปริมาตร 0.5 cm^3 ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว
5. ทำกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบ 3 หลอด โดยใช้สารละลายโปรตีนมาตรฐาน (BSA) เข้มข้น 50 ไมโครกรัม/cm^3 1 cm^3 Solution C 5 cm^3 และสารละลาย F-C 0.5 cm^3
6. เตรียม blank โดยใช้น้ำกลั่น 1 cm^3 Solution C 5 cm^3 และ สารละลาย F-C 0.5 cm^3
7. หลังจากผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer จะมีสีน้ำเงินเกิดขึ้น ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที นำสารละลายทั้งหมดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร และต้องวัดให้เสร็จภายใน 2 ชั่วโมง

ตาราง 11 ปริมาตรของสารละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการหาปริมาณโปรตีน

สารละลาย	ปริมาตร reagent (cm^3)				
	Cell sol.	BSA	Sol. C	น้ำกลั่น	Sol. F-C
Blank	--	--	5	1	0.5
กลุ่มควบคุม	--	1	5	--	0.5
NC-0	1	--	4	1	0.5
NC-4	1	--	4	1	0.5
PC-4	1	--	4	1	0.5
TS-4	1	--	4	1	0.5

แผนผังแสดงขั้นตอนการหาปริมาณโปรตีน



หมายเหตุ - susp. = suspension

- A = 2.5% DMSO ใน 10% NCS ใน EMEM

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. หาร้อยละผลผลิต และตรวจสอบโครงสร้างสารที่สังเคราะห์ได้โดยใช้ข้อมูลจาก IR NMR และ GC-MS

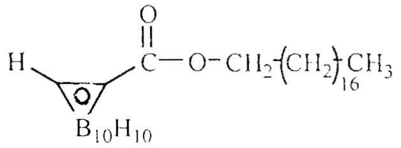
2. เปรียบเทียบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกของสารที่สังเคราะห์ได้ โดยเปรียบเทียบจากค่า IC_{50} ซึ่งหาได้จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ที่ได้ระหว่างอัตราการเจริญของเซลล์มะเร็ง (เทียบมาจากค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร) กับความเข้มข้นของสาร

โดยค่า IC_{50} = ความเข้มข้นของสารที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์ HeLa ได้ 50% เมื่อเทียบกับการเจริญของ Negative Control Day 4 (NC-4)

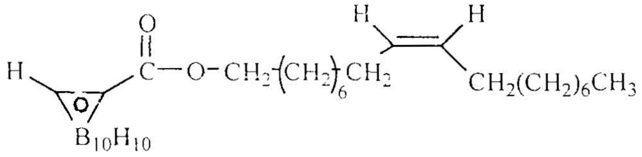
บทที่ 4
ผลการวิจัย

สารประกอบ carboranic esters ที่สังเคราะห์ได้ 6 ชนิด มีโครงสร้างดังแสดง และร้อยละของผลิตภัณฑ์แสดงในตาราง 12

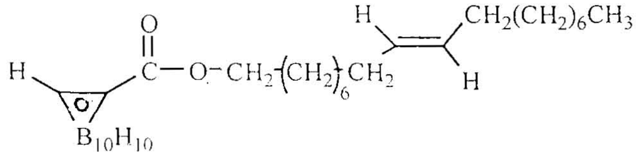
Stearyl carboranate ($C_{21}H_{48}O_2B_{10}$) : **SR**



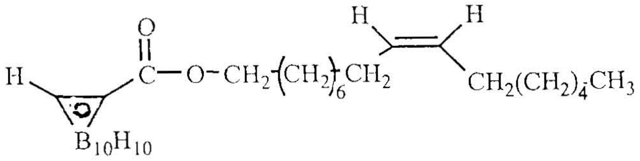
Oleyl carboranate -cis ($C_{21}H_{46}O_2B_{10}$) : **OE**



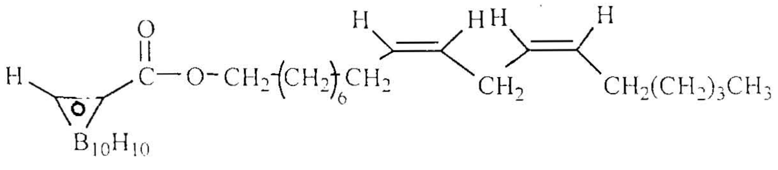
Elaidyl carboranate -*trans* ($C_{21}H_{46}O_2B_{10}$) : **ED**



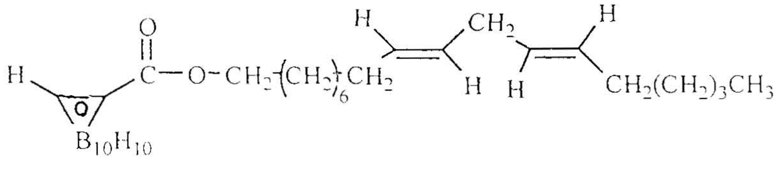
Palmitoleyl carboranate -cis ($C_{19}H_{42}O_2B_{10}$) : **PE**



Linoleyl carboranate -cis,cis ($C_{21}H_{44}O_2B_{10}$) : **LE**



Linoelaidyl carboranate -trans,trans ($C_{21}H_{44}O_2B_{10}$) : **LNE**



ตาราง 12 ลักษณะทางกายภาพของสารประกอบ carboranic esters

สารประกอบ	ลักษณะของผลิตภัณฑ์	ปริมาณของผลิตภัณฑ์ (%)
SR	ของแข็งสีขาว*	60.3
OE	ของเหลวใส	58.2
ED	ของเหลวใส	55.5
PE	ของเหลวใส	65.7
LE	ของเหลวใส	48.2
LNE	ของเหลวใส	42.3

* จุดหลอมเหลว 42.0 - 42.5 $^{\circ}C$

ข้อมูลทาง Spectroscopy ของ SR (ภาพประกอบ 24 – 29)

IR (cm^{-1}) (KBr)	2924, 2852		C-H
	2606		B-H
	1745		C=O
	1278		C-O
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)	0.81	*t*	3H, CH_3, J = 6.81 Hz
	1.13-1.61	*m*	42H, 16 (CH_2), 10 B-H
	4.01	*br s*	1H, C-H-carborane
	4.16	*t*	2H, O-CH_2, J = 6.56 Hz
^{13}C NMR ($CDCl_3$)	161.11		C=O
	68.92		CH_2-O
	56.87		C-H-carborane
	31.91, 29.68, 29.58, 29.47, 29.38, 29.35, 28.99, 28.15, 25.51, 22.68		16 (CH_2)
	14.11		CH_3
GC-MS (EI)	RT (retention time)		24.66 min
	Calculated mass		440.7
	Measured mass		ไม่เห็น M^+

ข้อมูลทาง Spectroscopy ของ OE (ภาพประกอบ 30 – 36)

IR (cm^{-1}) film	2924, 2854		C-H
	2608		B-H
	1744		C=O
	1278		C-O
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)	0.88	*t*	3H, CH_3, *J* = 6.87 Hz
	1.27-3.20	*m*	38H, 14 (CH_2), 10 B-H
	4.08	*br s*	1H, C-H-carborane
	4.22	*t*	2H, O-CH_2, *J* = 6.57 Hz
	5.34-5.37	*m*	2H, HC=CH
^{13}C NMR ($CDCl_3$)	161.10		C=O
	130.03, 129.68		HC=CH
	68.88		CH_2-O
	56.88		C-H-carborane
	31.89, 29.75, 29.66, 29.51, 29.30, 29.27, 29.09, 28.97, 28.15, 27.21, 27.15, 25.51, 22.67		14 (CH_2)
	14.09		CH_3
GC-MS (EI)	RT (retention time)		24.39 min
	Calculated mass		438.7
	Measured mass		(M^+) 438

ข้อมูลทาง Spectroscopy ของ **ED** (ภาพประกอบ 37 – 43)

IR (cm^{-1}) (film)	2922, 2852		C-H
	2604		B-H
	1745		C=O
	1278		C-O
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)	0.88	*t*	3H, CH_3, *J* = 6.85 Hz
	1.26-3.10	*m*	38H, 14 (CH_2), 10 B-H
	4.08	*br s*	1H, C-H-carborane
	4.22	*t*	2H, O-CH_2, *J* = 6.56 Hz
	5.38	*dd*	2H, HC=CH, *J* = 4.95
	^{13}C NMR ($CDCl_3$)		161.11 C=O
	130.52, 130.16		HC=CH
	68.89		CH_2-O
	56.87		C-H-carborane
	32.60, 32.55, 31.90, 29.64, 29.54, 29.49, 29.31, 29.24, 29.17, 28.96, 28.15, 25.51, 22.68		14 (CH_2)
	14.11		CH_3
GC-MS (EI)	RT (retention time)		24.48 min
	Calculated mass		438.7
	Measured mass		(M^+) 438

ข้อมูลทาง Spectroscopy ของ **PE** (ภาพประกอบ 44 – 50)

IR (cm^{-1}) (film)	2924, 2854		C-H
	2604		B-H
	1744		C=O
	1277		C-O
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)	0.88	*t*	3H, CH_3, J = 6.86 Hz
	1.28-3.20	*m*	34H, 12 (CH_2), 10 B-H
	4.08	*br s*	1H, C-H-carborane
	4.23	*t*	2H, O-CH_2, J = 6.57 Hz
	5.34-5.37	*m*	2H, HC=CH
^{13}C NMR ($CDCl_3$)	161.11		C=O
	130.03, 129.69		HC=CH
	68.89		CH_2-O
	56.88		C-H-carborane
	31.77, 29.71, 29.66, 29.27, 29.09, 28.97, 28.15, 27.21, 27.15, 25.51, 22.65		12 (CH_2)
	14.09		CH_3
GC-MS (EI)	RT (retention time)		23.07 min
	Calculated mass		410.6
	Measured mass		(M^+) 410

ข้อมูลทาง Spectroscopy ของ **LE** (ภาพประกอบ 51 – 55)

IR (cm-1) (film)	2924, 2854		C-H
	2606		B-H
	1745		C=O
	1278		C-O
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz)	0.8	*t*	3H, CH_3, *J* = 6.8 Hz
	1.2-3.0	*m*	34H, 12 (CH_2), 10 B-H
	4.08	*br s*	1H, C-H-carborane
	4.22	*t*	2H, O-CH_2, *J* = 6.5 Hz
	*5.25-5.35	*m*	4H, 2 (HC=CH)
^{13}C NMR ($CDCl_3$)	161.0		C=O
	129.0,129.5,130.0,130.5		2 (HC=CH)
	68.8		CH_2-O
	56.8		C-H-carborane
	22.8,25.5,28.0,29.0,29.5,30.0,30.5,		
	32.0,32.5,33.0		12 (CH_2)
	14.1		CH_3
GC-MS (EI)	RT (retention time)		24.75 min
	Calculated mass		436.6
	Measured mass		(M^+) 436

หมายเหตุ * ไม่ได้ขยาย spectrum

ข้อมูลทาง Spectroscopy ของ **LNE** (ภาพประกอบ 60 – 64)

IR (cm^{-1}) (film)	2920, 2852		C-H
	2604		B-H
	1749		C=O
	1277		C-O
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz)	0.8	*t*	3H, CH_3, J = 6.8 Hz
	1.2-2.2	*m*	34H, 12 (CH_2), 10 B-H
	4.08	*br s*	1H, C-H-carborane
	4.22	*t*	2H, O-CH_2, J = 6.5 Hz
	*5.30-5.42	*m*	4H, 2 (HC=CH)
^{13}C NMR ($CDCl_3$)	161.0		C=O
	129.0,129.8,130.0,130.5		2 (HC=CH)
	68.9		CH_2-O
	56.8		C-H-carborane
	22.8,25.7,27.0,27.5,28.5,29.0,29.5		
	29.8,30.0,32.0		12 (CH_2)
	14.10		CH_3
GC-MS (Ei)	RT (retention time)		24.44 min
	Calculated mass		436.6
	Measured mass		(M^+) 436

หมายเหตุ * ไม่ได้ขยาย spectrum

ตาราง **13** ข้อมูลทาง Mass spectroscopy

สารประกอบ	m/z (%Relative Abundance : **RA)**
SR	252(3), 224(7), 127(5), 125(32), 111(57), 97(89) 83(86), 71(46), 69(78), 57(100), 55(92)
OE	438(M^+,1), 99(1), 97(41), 83 (51), 69(64), 67(51), 55(100)
ED	438(M^+,1), 99(1), 97(44), 83 (53), 69(66), 67(36), 55(100)
PE	410(M^+,1), 85(3), 83(41), 69(63), 67(49), 55(100)
LE	436(M^+,4), 97(13), 95(65), 83(14), 81(80), 69(28), 67(100), 55 (58)
LNE	436(M^+,4), 97(32), 95 (51), 83(11), 81(70), 69(26), 67(100), 55(60)

ตาราง **14** แสดงค่า IC_{50} ของ carboranic esters ต่อเซลล์ HeLa

สารประกอบ	* IC_{50} ($\mu g/cm^3$)
SR	83.1
OE	64.5
ED	63.5
PE	36.7
LE	45.3
LNE	56.5

* หมายเหตุ สารประกอบ SR แสดงในตาราง 16, ภาพประกอบ 69
สารประกอบ OE แสดงในตาราง 17, ภาพประกอบ 70
สารประกอบ ED แสดงในตาราง 18, ภาพประกอบ 71
สารประกอบ PE แสดงในตาราง 19, ภาพประกอบ 72
สารประกอบ LE แสดงในตาราง 20, ภาพประกอบ 73
สารประกอบ LNE แสดงในตาราง 21, ภาพประกอบ 74

บทที่ 5
สรุป และอภิปรายผล

การสังเคราะห์สารประกอบ carboranic esters ทำโดยใช้ปฏิกิริยาต่อเนื่อง 2 ขั้นตอน เริ่มต้นจากเปลี่ยน o-carboranic acid ให้เป็น o-carboranyl chloride โดยให้ทำปฏิกิริยากับ PCl_5 ที่อุณหภูมิ 150^{o}C ติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ และ hexane : ethyl acetate (5:1) เป็นตัวชะ (R_f o-carboranyl chloride = 0.5, R_f o-carboranic acid = 0.2) ร่วมกับเทคนิค Infrared Spectrosccopy พบการดูดกลืนแสงของหมู่ –C=O ของ o-carboranyl chloride ที่ 1770 cm^{-1} (ภาพประกอบ 18) (-C=O ของ o-carboranic acid =1745 cm^{-1}, -C-O =1250 cm^{-1}) นำ o-carboranyl chloride ที่ได้ไปทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ของกรดไขมัน (fatty alcohol) ที่อุณหภูมิห้อง โดยมี DMAP เป็น catalyst ได้สารประกอบ carboranic ester ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค TLC (hexane : ethyl acetate 5:1) โดยเปรียบเทียบกับ o-carboranic acid และ แอลกอฮอล์ของกรดไขมันที่ใช้ทำปฏิกิริยา (R_f o-carboranic ester = 0.9, R_f แอลกอฮอล์ของกรดไขมัน = 0.6, R_f o-carboranic acid = 0.2) ปฏิกิริยาทั้ง 2 ขั้นตอนจะต้องทำอย่างต่อเนื่องโดยไม่ได้แยก o-carboranyl chloride ออกมา เนื่องจากในระหว่างการทำปฏิกิริยาหากมีความชื้น จะ hydrolyzed o-carboranyl chloride เป็น carboxylic acid จากนั้นแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ silica gel เป็นตัวดูดซับ และ hexane เป็นตัวชะ

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ พบว่าสารประกอบ **PE** มีค่ามากที่สุด รองลงมาก็เป็น สารประกอบ **SR** ส่วนสารประกอบ **LNE** มีค่าน้อยที่สุด

จากลักษณะทางกายภาพของสารประกอบ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** พบว่าทุกตัวเป็นของเหลวใส ยกเว้นสารประกอบ **SR** ซึ่งมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว จุดหลอมเหลว 42.0-42.5 ^{o}C (จุดหลอม เหลวของ stearyl alcohol เท่ากับ 60-61 ^{o}C. (Aldrich. 1994-1995 : 1067) จุดหลอมเหลว ของ o -carboranic acid 140-145 ^{o}C (150.0-150.5 ^{o}C. Heying. 1963 : 1097)

ข้อมูลทาง Infrared spectroscopy ของสารประกอบ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** พบว่ามีการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ 1774-1745 cm^{-1} และที่ 1277-1278 cm^{-1} ซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงอินฟราเรด ของหมู่ C=O และ C-O ตามลำดับ ส่วนหมู่ B-H ของ carborane จะดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่ 2604-2608 cm^{-1} (2608, 2581 cm^{-1}. Nakamura. 1997. 2825-2830, 2605 cm^{-1}. Scobie. 1994. 2059-2063, 2600 cm^{-1}. Yamamoto. 1993 : 2232-2234)

ข้อมูลทาง nuclear magnetic resonance spectroscopy (^{1}H NMR : 60, 200, 300, 400 MHz) ที่ได้ดังนี้

สัญญาณเรโซแนนท์ของ o-carboranic acid แสดงในภาพประกอบ 19 ปรากฏที่ 10.15 ppm เป็นสัญญาณของ COOH ที่ 1.0-4.1 ppm เป็นสัญญาณของ C-H-carboraneและ 10-B-H และสัญญาณเรโซแนนซ์ของ อัลกอฮอล์ของกรดไขมัน (fatty alcohol) ทุกชนิดที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการทดลองจะปรากฏที่ 1.8-3.9 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของ -CH_3 และ -CH_2 ลักษณะสัญญาณเป็น multiplet (*m*) ส่วนสัญญาณของพันธะคู่ HC=CH มีลักษณะเป็น multiplet เนื่องจากเกิด long range coupling กับโปรตอนข้างเคียง ปรากฏที่ 5.2-5.4 ppm

จะเห็นว่าสัญญาณ ^{1}H NMR 10-B-H ของ o-carboranic acid และ -CH_2 ของ fatty alcohol จะปรากฏในช่วงเดียวกันและเป็นแบบ multiplet

สารประกอบ **SR** สัญญาณเรโซแนนซ์ปรากฏที่ 0.81 ppm เป็นสัญญาณของ –CH_3 ลักษณะเป็น triplet (*t*) ค่า coupling constant (*J*) เท่ากับ 6.81 Hz ที่ 1.13-1.61 ppm เป็น multiplet เป็นสัญญาณของ 16 (CH_2) และ 10-B-H ที่ 4.01 ppm ลักษณะเป็น broad singlet เป็นสัญญาณของ C-H-carborane และที่ 4.16 ppm เป็นสัญญาณของ O-CH_2 เป็น triplet ค่า *J* เท่ากับ 6.56 Hz (ภาพประกอบ 24, 25)

สารประกอบ **OE** สัญญาณเรโซแนนซ์ปรากฏเป็นแบบ triplet ที่ 0.88 ppm เป็นสัญญาณของ –CH_3 ค่า *J* เท่ากับ 6.87 Hz ที่ 1.27-3.20 ppm ลักษณะเป็น multiplet เป็นสัญญาณของ 14 (CH_2) และ 10-B-H ที่ 4.08 ppm เป็นสัญญาณ broad singlet ของ C-H-carborane ที่ 4.22 ppm เป็นสัญญาณของ O-CH_2 มีลักษณะเป็น triplet ค่า *J* เท่ากับ 6.57 Hz และที่ 5.34-5.37 ppm แสดง integration ของ 2H ของหมู่ HC=CH มีลักษณะเป็น multiplet จะเห็นได้ว่า olefinic proton ทั้งสอง เกิด long range coupling กับโปรตอนข้างเคียง (ภาพประกอบ 31, 32)

สารประกอบ **ED** สัญญาณเรโซแนนซ์ปรากฏที่ 0.88 ppm เป็นสัญญาณของ –CH_3 มีลักษณะเป็น triplet ค่า *J* เท่ากับ 6.85 Hz ที่ 1.26-3.10 ppm ลักษณะเป็น multiplet เป็นสัญญาณของ 14 (CH_2) และ 10-B-H ที่ 4.08 ppm ลักษณะเป็น broad singlet เป็นสัญญาณของ C-H-carborane ที่ 4.22 ppm เป็น triplet เป็นสัญญาณของ O-CH_2 ค่า *J* เท่ากับ 6.56 Hz ส่วนสัญญาณของ HC=CH แสดง 2H โดยดูจาก integration ลักษณะเป็น doublet of doublet (*dd*) ปรากฏที่ตำแหน่งเดียวกันคือ 5.38 ppm โดยมีค่า *J* 2 ค่า เท่ากันคือ 4.95 Hz (ภาพประกอบ 38, 39)

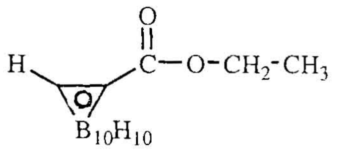
สารประกอบ **PE** สัญญาณเรโซแนนซ์ลักษณะ triplet ปรากฏที่ 0.88 ppm เป็นสัญญาณของ $-CH_3$ ค่า *J* เท่ากับ 6.86 Hz ที่ 1.28-3.2 ppm ลักษณะ multiplet เป็นสัญญาณของ 12 (CH_2) และ 10-B-H ที่ 4.08 ppm เป็นสัญญาณ broad singlet ของ C-H-carborane ที่ 4.23 ppm เป็นสัญญาณของ O-CH_2 ลักษณะ triplet ค่า *J* เท่ากับ 6.57 Hz ในทำนองเดียวกันกับสาร **OE** และ **ED** ที่ 5.34-5.37 ppm เป็นสัญญาณของ HC=CH ลักษณะเป็น multiplet แสดง integration ของ 2H ทั้งนี้เนื่องจาก olefinic proton ทั้งสอง เกิด long range coupling กับโปรตอนข้างเคียง (ภาพประกอบ 45, 46)

สิ่งที่น่าสังเกตสำหรับสารประกอบ **ED** ซึ่งเป็น trans- alkene ค่า *J* ประมาณ 4.95 Hz ซึ่งเป็นค่าที่น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับ trans- alkene ทั่วไป

สารประกอบ **LE** สัญญาณเรโซแนนซ์ปรากฏเป็น triplet ที่ 0.8 ppm เป็นสัญญาณของ $-CH_3$ ค่า *J* เท่ากับ 6.8 Hz ที่ 1.2-3.0 ppm เป็นสัญญาณของ 12 (CH_2) และ 10-B-H มีลักษณะเป็น multiplet ที่ 4.08 ppm ลักษณะ broad singlet เป็นสัญญาณของ C-H-carborane และที่ 4.22 ppm เป็นสัญญาณของ O-CH_2 มีลักษณะ triplet ค่า *J* เท่ากับ 6.5 Hz และที่ 5.25-5.35 ppm เป็นสัญญาณของ 4H ของ 2 (HC=CH) ลักษณะเป็น multiplet (ภาพประกอบ 52)

สารประกอบ **LNE** สัญญาณเรโซแนนซ์ปรากฏที่ 0.8 ppm มีลักษณะเป็น triplet แสดงหมู่ $-CH_3$ ค่า *J* เท่ากับ 6.8 Hz ที่ 1.2-2.2 ppm ลักษณะ multiplet เป็นสัญญาณของ 12 (CH_2) และ 10-B-H ที่ 4.08 ppm เป็น broad singlet ของ C-H-carborane ที่ 4.22 ppm เป็นสัญญาณของ O-CH_2 มีลักษณะ triplet ค่า *J* เท่ากับ 6.5 Hz และที่ 5.30-5.42 ppm มีลักษณะสัญญาณเป็น multiplet แสดง 4H ของ 2 (HC=CH) (ภาพประกอบ 61)

จากการศึกษานี้เมื่อเปรียบเทียบสัญญาณ ^{1}H NMR ของสารประกอบ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** กับ ethyl carboranate (ethyl 1,2-dicarba-class-dodecarborane-1-carboxylate) ลักษณะโครงสร้าง ดังแสดงในภาพประกอบ 16 (Scobie. 1994 : 2059-2063) และพบว่าสัญญานของหมู่ต่าง ๆขึ้นที่ตำแหน่งช่วงเดียวกันดังแสดงในตาราง 1C



ภาพประกอบ 16 สูตรโครงสร้างของ Ethyl carboranate

ตาราง 15 เปรียบเทียบสัญญาณ [1]H NMR ของสารประกอบ **OE** กับ ethyl carboranate

หมู่	สารประกอบ **OE**	ethyl carboranate
10-B-H	1.27- 3.20 ppm, *m*	1.30-3.00 ppm, *br m*
C-H-carborane	4.08 ppm, *br s*	4.08 ppm, *br s*
$O\text{-}CH_2$	4.22 ppm, *t*, J = 6.57 Hz	4.29 ppm ,*q*, J = 7.2 Hz

พบว่าข้อมูล ^{13}C NMR ของสารประกอบ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** แสดงหมู่ $-CH_3$ ที่ 13.09-14.1 ppm ส่วนสัญญาณของหมู่ C=O ปรากฏที่ 161.04-161.11 ppm หมู่ $CH_2\text{-}O$ ปรากฏที่ 68.80-68.91 ppm , 68.0 ppm (Tjarks. 1992 : 1628-1633) สัญญาณของหมู่ C-H ในวง carborane ปรากฏที่ 56.87 ppm (57.6 ppm, Tjarkl. 1992 : 1628-1633) สำหรับสัญญาณของหมู่ HC=CH ปรากฏที่ตำแหน่งดังนี้

สารประกอบ **OE** ปรากฏที่ 130.03 ppm และ 129.68 ppm (ภาพประกอบ 33)

สารประกอบ **ED** ปรากฏที่ 130.52 ppm และ 130.16 ppm (ภาพประกอบ 40)

สารประกอบ **PE** ปรากฏที่ 130.03 ppm และ 129.69 ppm (ภาพประกอบ 47)

สารประกอบ **LE** ปรากฏที่ 129.0, 129.5, 130.0 และ 130.5 ppm (ภาพประกอบ 53)

สารประกอบ **LNE** ปรากฏที่ 129.0, 129.8, 130.0 และ 135.5 ppm (ภาพประกอบ 62)

สัญญาณของหมู่ $-CH_2$ ในสารประกอบ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** ปรากฏที่ตำแหน่งต่างกันดังนี้

สารประกอบ **SR** ปรากฏที่ 31.91, 29.68, 29.58, 29.47, 29.38, 29.35, 28.99, 28.15, 25.51 และ 22.68 ppm ซึ่งเป็นของหมู่ $-CH_2$ 16 หมู่ (ภาพประกอบ 26, 27)

สารประกอบ **OE** ปรากฏที่ 31.89, 29.75, 29.66, 29.51, 29.30, 29.27, 29.09, 28.97, 28.15, 27.21, 27.15, 25.51 และ 22.67 ppm ซึ่งเป็นของหมู่ $-CH_2$ 14 หมู่ (ภาพประกอบ 33, 34)

สารประกอบ **ED** ปรากฏที่ 32.60, 32.55, 31.90, 29.64, 29.54, 29.49, 29.31, 29.24, 29.17, 28.96, 28.15, 25.51 และ 22.68 ppm ซึ่งเป็นของหมู่ $-CH_2$ 14 หมู่ (ภาพประกอบ 40, 41)

สารประกอบ **PE** ปรากฏที่ 31.77, 29.71, 29.66, 29.27, 29.09, 28.97, 28.15, 27.21, 27.15, 25.51 และ 22.65 ppm ซึ่งเป็นของหมู่ $-CH_2$ 12 หมู่ (ภาพประกอบ 47, 48)

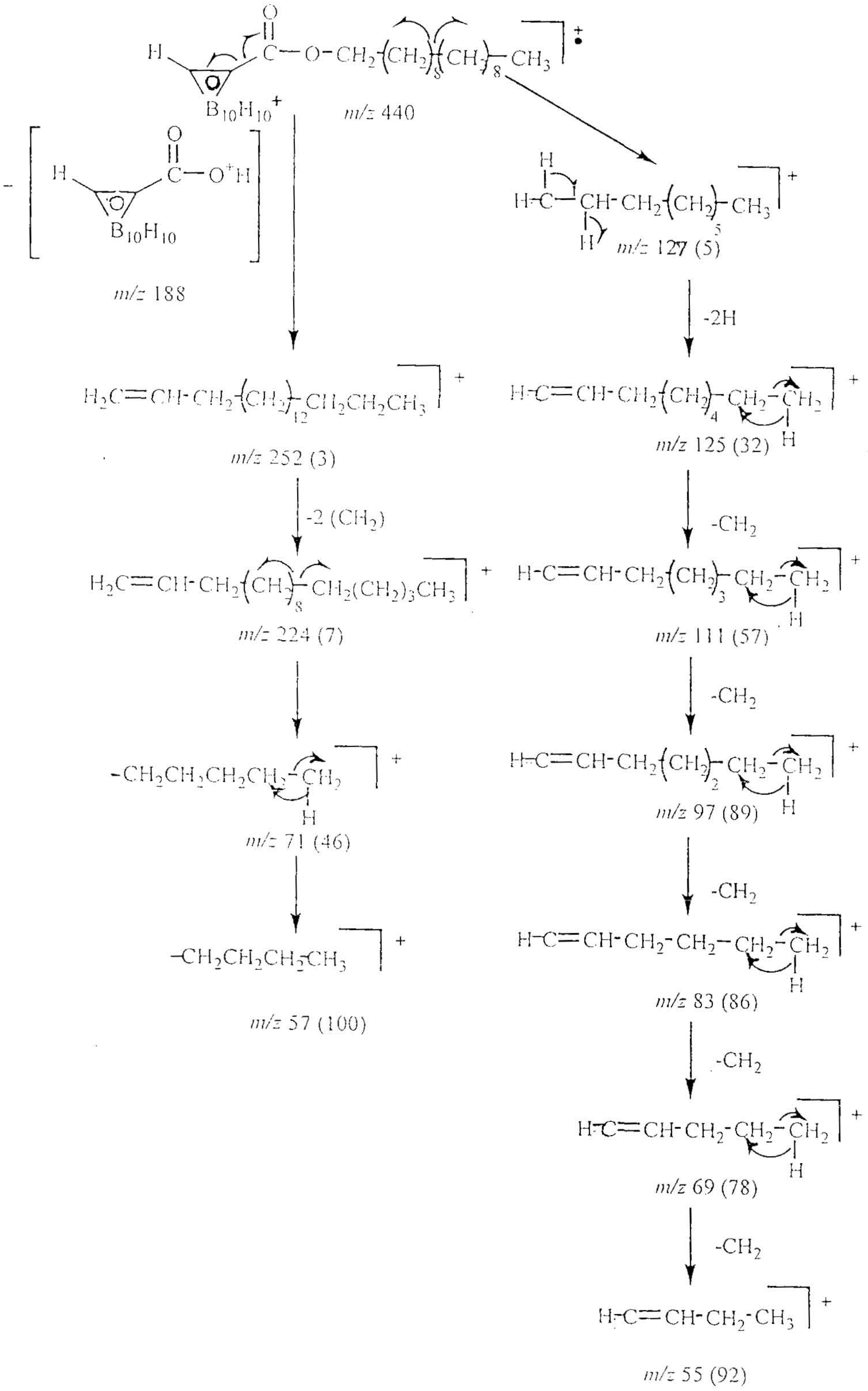
สารประกอบ **LE** ปรากฏที่ 33.0, 32.5, 32.0,30.5, 30.0, 29.5, 29.0, 28.0, 25.5 และ 22.8 ppm ซึ่งเป็นของหมู่ $-CH_2$ 12 หมู่ (ภาพประกอบ 53)

สารประกอบ **LNE** ปรากฏที่ 32.0, 30.0, 29.8, 29.5, 29.0, 28.5, 27.5, 27.0, 25.7 และ 22.8 ppm ซึ่งเป็นของหมู่ $-CH_2$ 12 หมู่ (ภาพประกอบ 62)

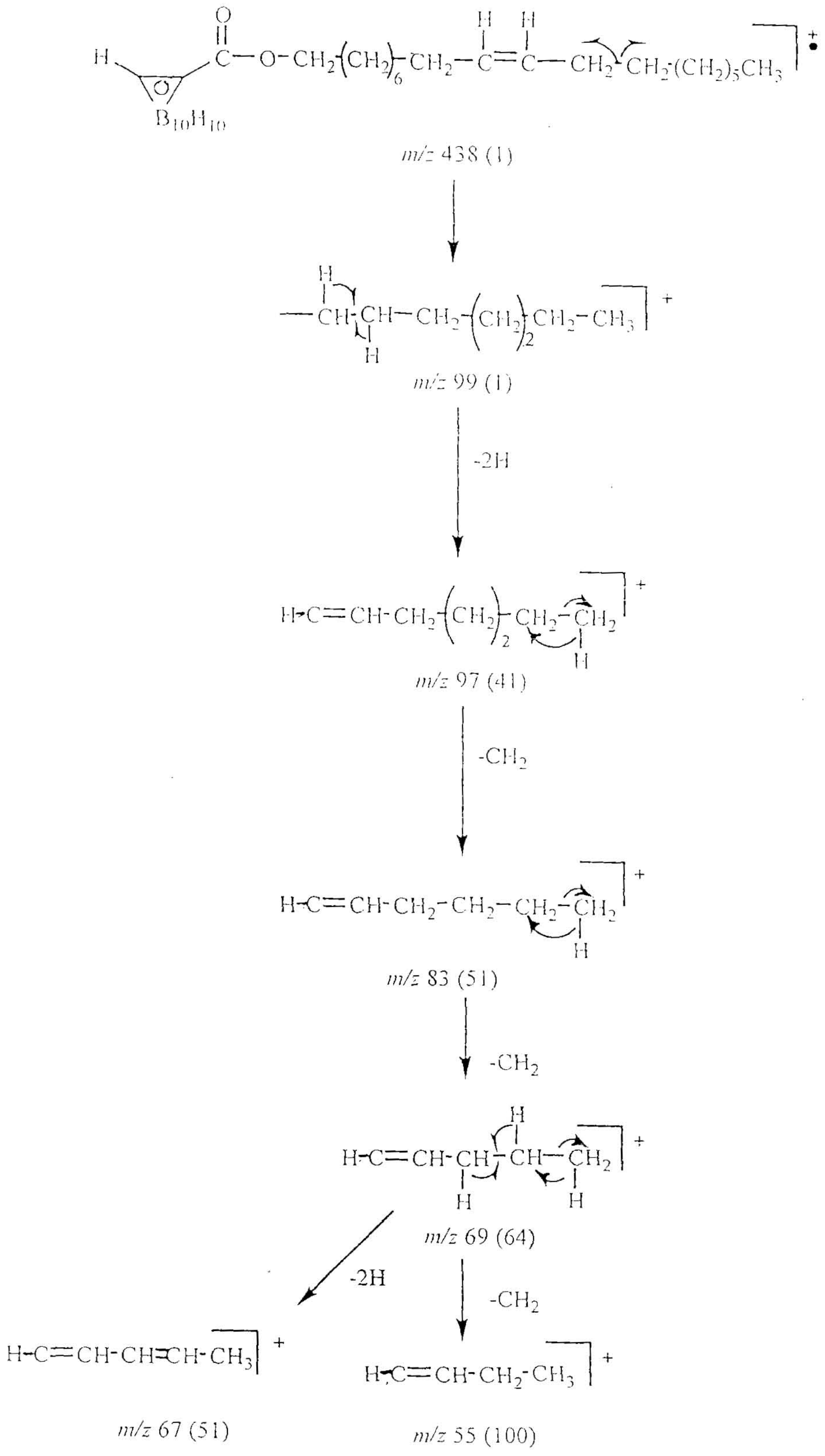
จากข้อมูล ^{13}C NMR จะเห็นว่าหมู่ $-CH_2$ ของสารประกอบ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** แสดงสัญญาณของคาร์บอนไม่ครบตามจำนวนอะตอมของคาร์บอน เนื่องจากจะมีบางสัญญาณซ้อนทับกัน

ผลจากการสังเคราะห์พบว่าสารประกอบ **SR, OE, ED, PE** มีโครงสร้างเสถียร ส่วนสารประกอบ **LE** และ **LNE** นั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างได้ง่าย โดยสามารถตรวจสอบได้จากสัญญาณของ ^{1}H NMR และ ^{13}C NMR หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์ พบว่าสัญญาณพันธะคู่ของ 2 (HC=CH) นั้น ไม่ปรากฏที่ตำแหน่งประมาณ 5.2-5.4 ppm (ภาพประกอบ 56-59, 65-68)

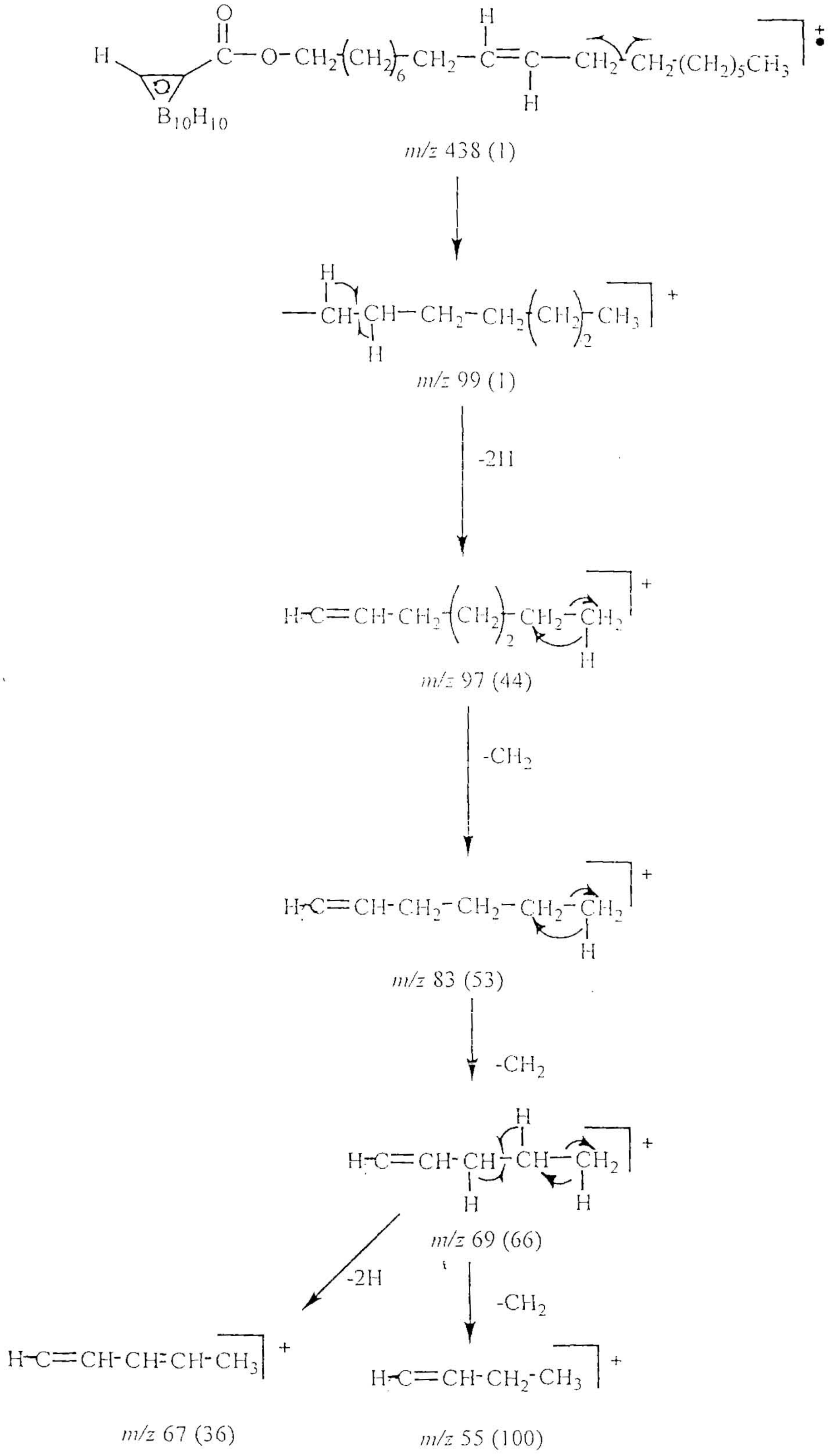
สาร **SR** ข้อมูล Gas-Chromatography Mass Spectroscopy (GC-MS) ที่ได้มีค่า RT เท่ากับ 24.66 นาที ไม่เห็น molecular ion : M^+ การแตกพันธะของ **SR** เป็นดังนี้ (ภาพประกอบ 29)



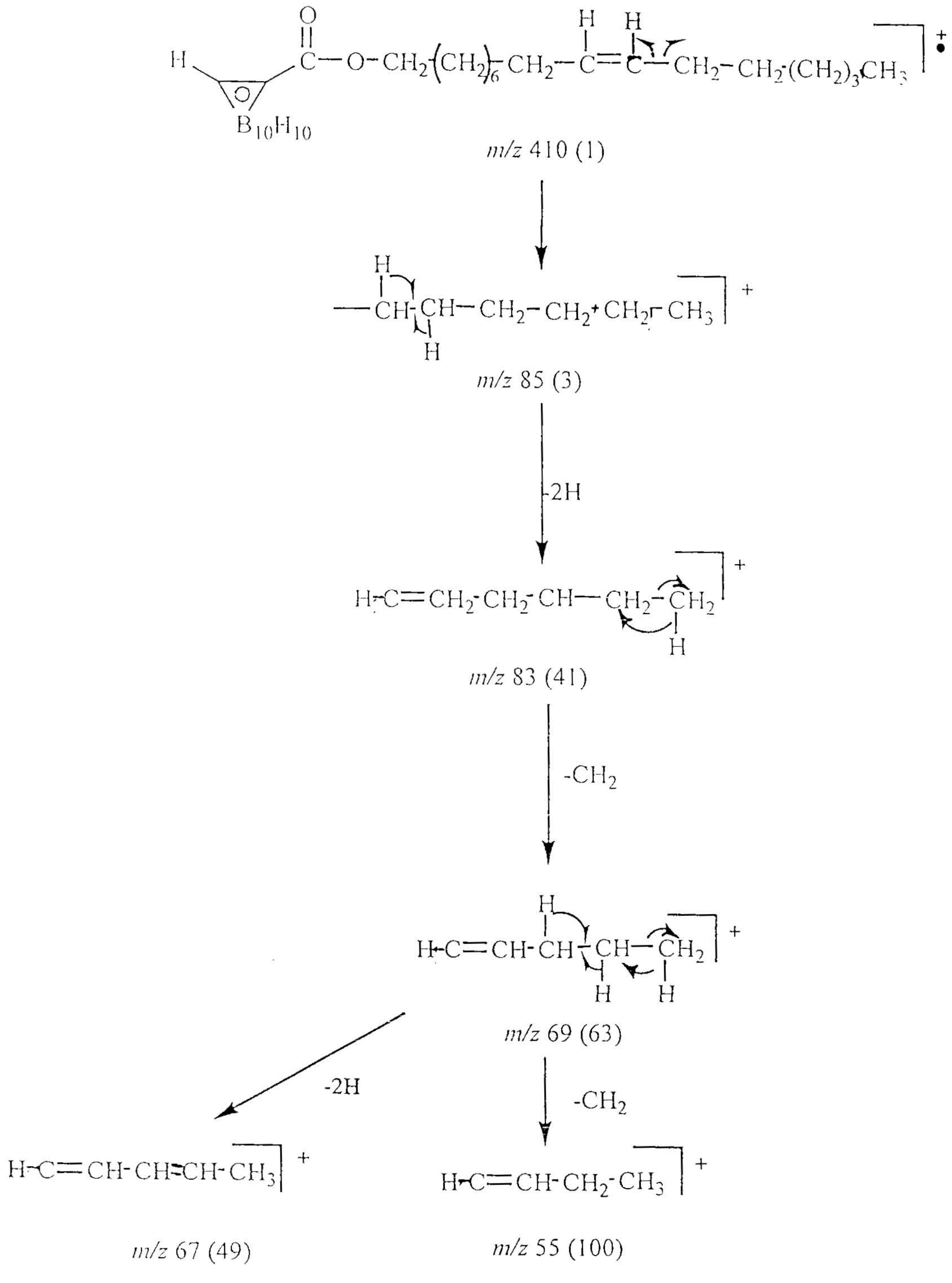
สาร **OE** ข้อมูล GC-MS ที่ได้มีค่า RT เท่ากับ 24.39 นาที มวลโมเลกุลที่ได้จากการวัด(M^+) เท่ากับ 438 การแตกพันธะของ **OE** เป็นดังนี้ (ภาพประกอบ 36)



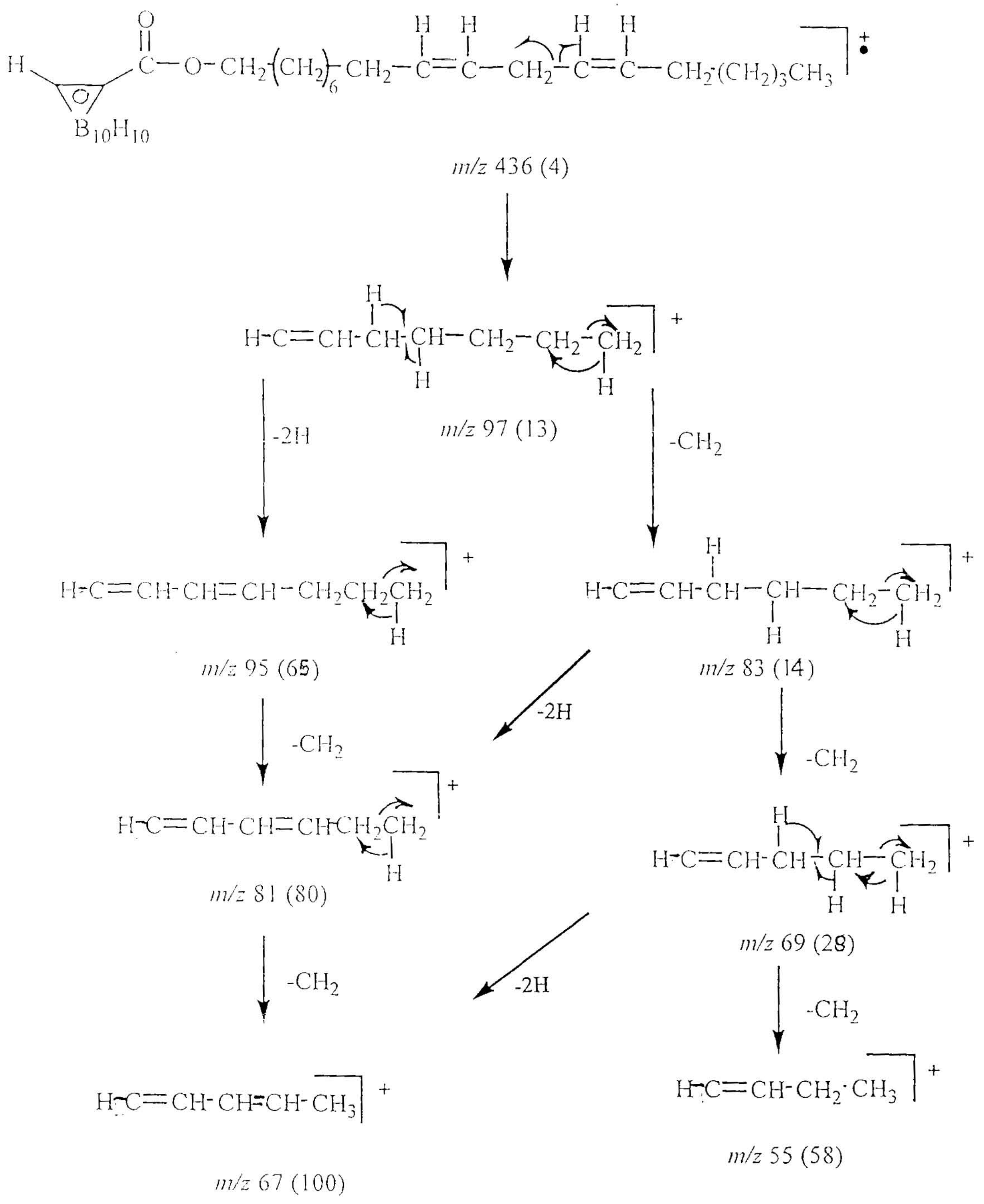
สาร **ED** ข้อมูล GC-MS มีค่า RT เท่ากับ 24.48 นาที มวลโมเลกุลที่ได้จากการวัด (M^+) เท่ากับ 438 การแตกพันธะของ **ED** เป็นดังนี้ (ภาพประกอบ 43)



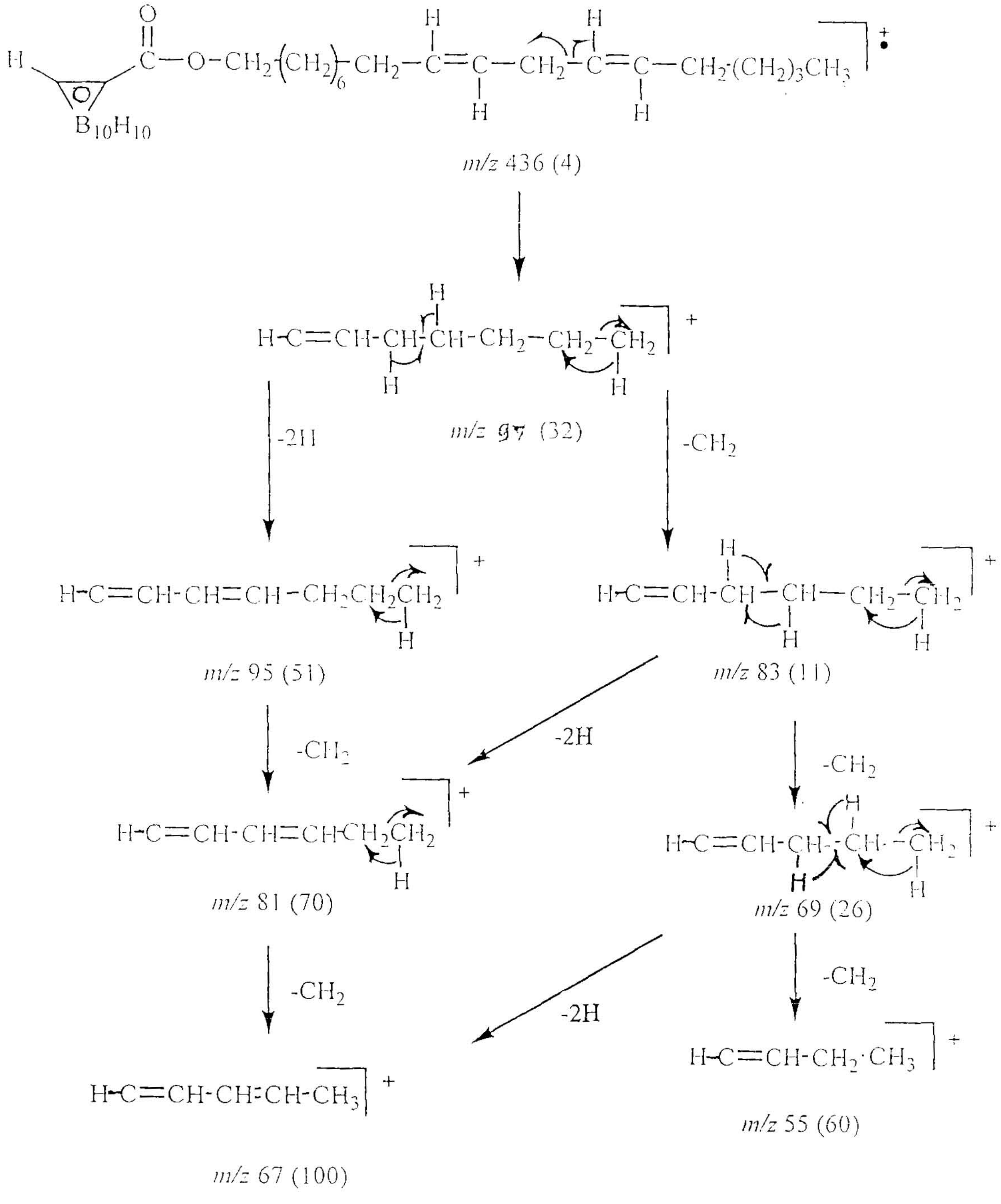
สาร PE ข้อมูล GC-MS มีค่า RT เท่ากับ 23.07 นาที มวลโมเลกุลที่ได้จากการวัด (M^+) เท่ากับ 410 การแตกพันธะของ PE เป็นดังนี้ (ภาพประกอบ 50)



สาร **LE** ข้อมูล GC-MS มีค่า RT เท่ากับ 24.75 นาที มวลโมเลกุลที่ได้จากการวัด (M^+) เท่ากับ 436 การแตกพันธะของ **LE** เป็นดังนี้ (ภาพประกอบ 55)



สาร **LNE** ข้อมูล GC-MS มีค่า RT เท่ากับ 24.44 นาที มวลโมเลกุลที่ได้จากการวัด (M^+) เท่ากับ 436 การแตกพันธะของ **LNE** เป็นดังนี้ (ภาพประกอบ 64)



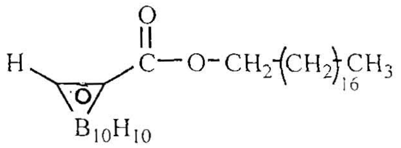
จากการสืบค้นข้อมูลของ GC-MS พบว่าสารประกอบ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** ทุกตัวมีค่า retention time ที่อยู่ในช่วงของสารประกอบ ester และพบว่าสารประกอบที่สังเคราะห์และแยกได้ทุกชนิดมีความบริสุทธิ์ ซึ่งพิจารณาได้จาก chromatogram ซึ่งมีเพียง peak เดียว

สารประกอบ **SR** fragment m/z 252 เกิดจาก M^+- o-carbanic acid (440 -188) หลังจากนั้น m/z 252 แตกตัวต่อไปจนได้ base peak ที่ m/z 57

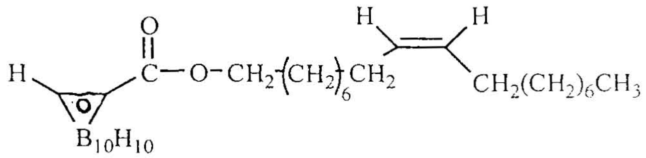
สารประกอบ **OE** และ **ED** แสดง molecular ion (M^+) 438 และ base peak เท่ากับ 55 (Tambunchong. 1997 : 123-125) การแตกพันธะของสารประกอบ **OE** และ **ED** จะเป็นแบบเดียวกันเนื่องจากโครงสร้างมีลักษณะคล้ายกัน แต่ในสัญญาณ ^1H NMR จะแตกต่างกันตรงตำแหน่งพันธะคู่และลักษณะสัญญาณ โดยที่ **OE** ลักษณะสัญญาณเป็น multiplet ส่วน **ED** ลักษณะสัญญาณเป็น doublet of doublet (*dd*) (*ภาพประกอบ 32, 39*) สารประกอบ **PE** แสดง molecular ion (M^+) ที่ 410, base peak เท่ากับ 55 (*ภาพประกอบ 50*) สารประกอบ **LE** และ **LNE** แสดง molecular ion (M^+) ที่ 436, base peak เท่ากับ 67 (*ภาพประกอบ 55, 64*)

จากการพิจารณาข้อมูลทาง spectroscopy ของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้ คือ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** ทำให้สรุปได้ว่าสารเหล่านี้มีสูตรโครงสร้างถูกต้องและมีความบริสุทธิ์สูงทั้ง 6 ตัว

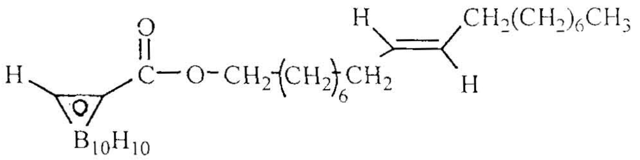
สาร **SR** (Stearyl carboranate)



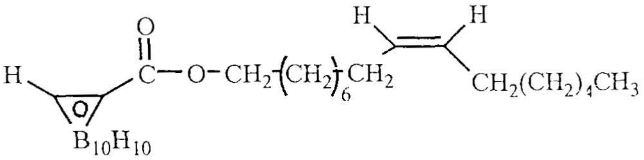
สาร **OE** (Oleyl carboranate)



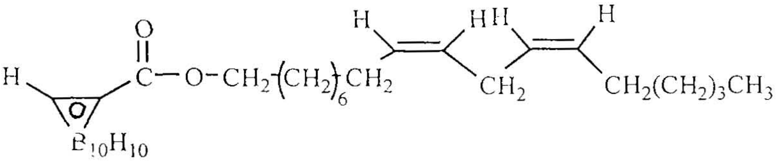
สาร **ED** (Elaidyl carboranate)



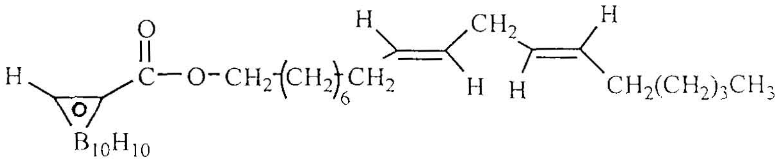
สาร **PE** (Palmitoleyl carboranate)



สาร **LE** (Linoleyl carboranate)



สาร **LNE** (Linoelaidyl carboranate)



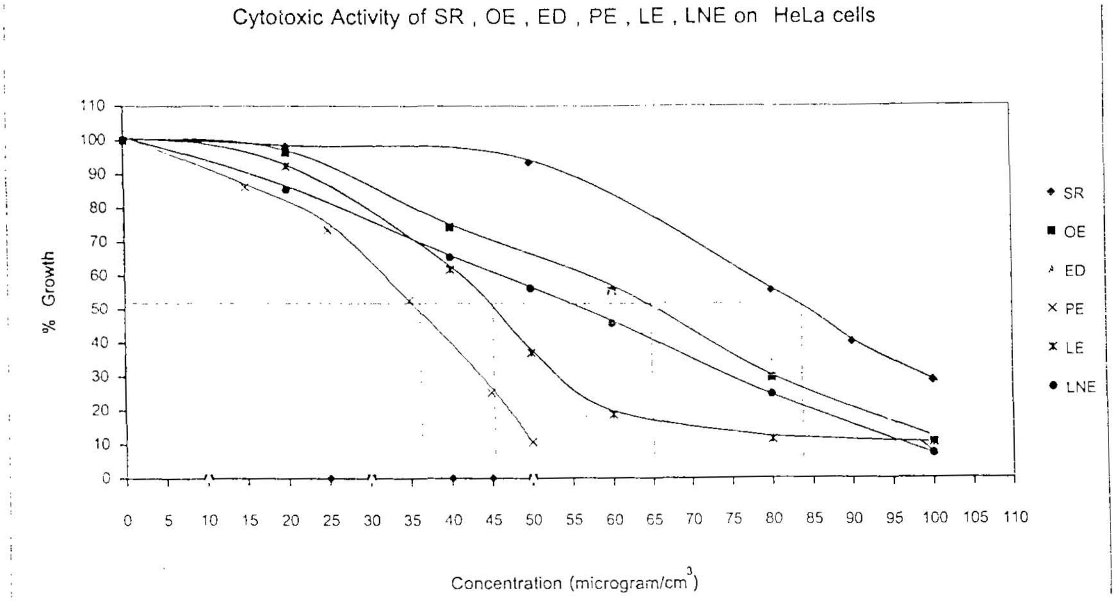
การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งในหลอดทดลอง เลือกใช้วิธีของสถาบันมะเร็งแห่งชาติซึ่งได้แปลงมาจากวิธีของสถาบันมะเร็งแห่งชาติของสหรัฐอเมริกา (Geran. 1972 : 7-17) ในการศึกษานี้เลือกใช้เซลล์ HeLa สำหรับทดสอบเซลล์ที่ยังมีชีวิตจะเจริญเกาะติดกับผิวของภาชนะที่ใช้เลี้ยงเซลล์ ส่วนเซลล์ตายจะลอยอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ เมื่อนำไปวัดหาปริมาณโปรตีน เซลล์ตายก็จะถูกล้างออกไปพร้อมกับอาหารเลี้ยงเซลล์ จึงไม่มีผลรบกวนต่อการวัดหาปริมาณโปรตีนของเซลล์ที่มีชีวิต

การวัดปริมาณโปรตีนของเซลล์ จะใช้ผลในวันที่ 4 (NC- 4) นับจากวันที่เริ่มทดลอง (NC-0) เพราะในช่วงเวลานั้นเซลล์มะเร็งเจริญได้มากพอที่จะสังเกตเห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมกับเซลล์ที่ได้รับสารที่นำมาทดสอบได้ชัดเจน เนื่องจากโปรตีนเป็นส่วนประกอบที่มีมากที่สุดในเซลล์ และเราสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนกับปริมาณเซลล์ที่มีอยู่ได้ ในการวัดปริมาณโปรตีนนี้ใช้วิธีของ โอยามา และ อีเกิล (Oyama. 1956 : 305-307) โดยนำไปใช้ร่วมกับวิธีคัลเลอริเมตริ ของ เลารี และคณะ (Lowry. 1951 : 265-275) ซึ่งใช้ Folin reagent ทำปฏิกิริยากับโปรตีนทำให้เกิดสี แล้วนำไปหาปริมาณโปรตีนโดยใช้ Spectrophotometer ข้อดีของ Folin reagent คือ สีที่เกิดขึ้นจะมีความเข้มเต็มที่ในเวลา 30 นาที และคงที่อยู่ตลอด 2 ชั่วโมง (กัลยา ปรีชานุกูล. 2533 : 60-61) วิธีนี้ทำให้การวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงมีข้อผิดพลาดเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสีน้อยมาก และกรณีที่มีปัญหาเกิดขึ้นภายในระยะเวลาไม่เกิน 2 ชั่วโมง ก็สามารถอ่านผลการทดลองซ้ำได้ทันที

จากการศึกษาเบื้องต้นของสารประกอบ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** ในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้ง (Inhibitory concentration : IC_{50}) เซลล์มะเร็งชนิด HeLa ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งปากมดลูก และจัดเป็นเซลล์ติดแก้วชนิดหนึ่งในหลอดทดลอง พบว่าค่า IC_{50} ที่ได้เป็น 83.1, 64.5, 63.5, 36.7, 45.3, 56.5 $\mu g/cm^3$ ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 17 ผลจากการศึกษานี้เป็นข้อมูลพื้นฐานทำให้ทราบว่า สารประกอบทุกชนิดที่สังเคราะห์และแยกให้บริสุทธิ์แล้ว มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ เพราะจากเกณฑ์มาตรฐานของสถาบันมะเร็งแห่งชาติของสหรัฐอเมริกา กำหนดไว้ว่า สารสังเคราะห์บริสุทธิ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ติดแก้วนั้น จะต้องมีค่า $IC_{50} \leq 4$ $\mu g/cm^3$ (Geran. 1972 : 7-17) การที่สารทุกตัวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำก็อาจจะเป็นผลดี เพราะแสดงว่าสารสังเคราะห์ก็น่าจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติต่ำด้วย ดังนั้นถ้าใช้สารประกอบดังกล่าวในกระบวนการ BNCT จะสามารถใช้สารได้ปริมาณมากและเพียงพอ เพื่อให้ได้การทำลายเซลล์มะเร็งสูงสุด

ในการทดลองนี้ใช้ 5-FU เป็น positive control เพื่อยืนยันว่าเซลล์มะเร็งที่ใช้ทดสอบนี้สามารถตอบสนองต่อสารต้านมะเร็งได้ เนื่องจากปัจจุบันสถาบันมะเร็งแห่งชาติได้ใช้ 5-FU ในการรักษาโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ในผู้ป่วยจำนวนมาก จึงสามารถหา 5-FU ในการทดลองได้ง่าย และจากการทดลองเกี่ยวกับสารต้านมะเร็งของสถาบันมะเร็งแห่งชาติโดยใช้ 5-FU เป็น positive control ก็ได้ผลดีมาตลอด (Chulasiri. 1984 : 177-180)



ภาพประกอบ 17 เปรียบเทียบค่า IC_{50} ของสารประกอบ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** ต่อเซลล์ HeLa

สรุปผลการทดลอง

สารประกอบ caboranic esters ทั้ง 6 ชนิดที่สังเคราะห์ได้ คือ **SR, OE,ED, PE, LE** และ **LNE** ร้อยละของสารประกอบบริสุทธิ์ที่แยกได้เรียงตามลำดับคือ 60.3, 58.2 55.5, 65.7, 48.2, 42.3 ลักษณะทางกายภาพของ **SR** เป็นของแข็งสีขาว มีจุดหลอมเหลว 42-42.5 ^{o}C ส่วน. **OE, ED, PE, LE** และ **LNE** มีลักษณะเป็นของเหลวใสไม่มีสี ไม่มีกลิ่น เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งชนิด HeLa ในหลอดทดลอง พบว่าค่า IC_{50} ของ **SR, OE, ED, PE, LE** และ **LNE** มีความเข้มข้นเรียงตามลำดับดังนี้ 83.1, 64.5, 63.5, 36.7, 45.3, 56.5 $\mu g/cm^3$ สารสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเซลล์ HeLa ได้น้อยที่สุดคือ **SR** และสารสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเซลล์ HeLa ได้มากที่สุด คือ **PE** แนวโน้มของสารประกอบที่มีโครงสร้างต่างกันต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเซลล์ HeLa นั้นพบว่า สารประกอบที่มีโครงสร้างเป็น cis จะมีแนวโน้มมีประสิทธิภาพ ในการยับยั้งมากกว่าพวกที่มีโครงสร้างเป็น trans

ข้อเสนอแนะ

1. ในการทดสอบหาค่า IC_{50} กับ HeLa cells ของสารประกอบ **LE** และ **LNE** จะต้องใช้สารที่สังเคราะห์ไว้ไม่เกิน 2 สัปดาห์ เพราะสารเสียสภาพได้ง่าย ทั้งนี้เพื่อที่จะให้ผลการทดลองมีความถูกต้องมากที่สุด

2. การที่สารสังเคราะห์มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง (IC_{50}) ต่อ HeLa cells ต่ำนั้น อาจจะมีสาเหตุมาจากคุณสมบัติเฉพาะตัวของสาร หรืออาจจะเป็นเพราะว่าสารประกอบเหล่านี้เข้าไปในเซลล์ได้น้อย หรืออาจจะเนื่องมาจากสาเหตุอื่น ดังนั้นจึงน่าจะมีการศึกษาในขั้นตอนนี้ต่อไป

3. ควรนำสารสังเคราะห์ทุกตัวไปทดสอบหาค่า IC_{50} กับเซลล์ปกติ เพื่อเป็นข้อมูลเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารในการยับยั้งระหว่างเซลล์มะเร็งกับเซลล์ปกติ

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กระทรวงกลาโหม. (2543). *โครงการวิจัยรักษามะเร็งด้วยเลเซอร์ (Photodynamic Therapy ,PDT).* กรุงเทพฯ : ศูนย์วิจัยทางการแพทย์โรงพยาบาลสมเด็จพระปิ่นเกล้า กรมการแพทย์ ทหารเรือ.

กัลยา ปรีชานุกูล. (2533). *การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในหลอดทดลองจากดิน in vitro study of Antitumor Antibiofics Produced by selected Actinomycetes from soil.* วิทยานิพนธ์ วท.ม.(จุลชีววิทยา). กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาลัยเกษตรศาสตร์. ถ่ายเอกสาร.

นันทยา ชนะรัตน์. (2532). *สารไขมันในเลือด.* กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.

ประคอง รังคสิริ และคนอื่น ๆ. (2523). *คู่มือทางการพยาบาล.* กรุงเทพฯ : กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

พรศรี คิดชอบ. (2536). *มะเร็งวิทยา (Principle of radiation oncolygy).* กรุงเทพฯ : สหมิตร เมดิเพรส.

พวงทอง ไกรพิบูลย์, วิภา บุญกิตติเจริญ และ จีรภา ตันนานนท์. (2536). *รังสีรักษา ฟิสิกส์ชีวรังสี, การรักษาผู้ป่วย.* กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.

มณฑา แห่งทรัพย์เจริญ. (2539). *การศึกษาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยมะเร็งรังไข่ที่ได้รับเคมีบำบัด.* ปริญญานิพนธ์ พยาบาลมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล. ถ่ายเอกสาร.

วรรณี โรจนโพธิ์. (2532). *เอกสารการประชุมเชิงปฏิบัติการ.* กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ ประสานมิตร.

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. (2539). *ฝ่ายแผนงานและกองสถิติสถาบันมะเร็งแห่งชาติ.* กรุงเทพฯ : สถาบัน.

--------------. (2541). *ฝ่ายแผนงานและกองสถิติสถาบันมะเร็งแห่งชาติ.* กรุงเทพฯ : สถาบัน.

สถาพร สีลานันทกิจ. (2539). *วิธีบำบัดความปวดและความปวดจากมะเร็ง.* กรุงเทพฯ : ไทยพิมพ์.

สุมิตรา ทองประเสริฐ. (2536). *การรักษามะเร็งด้วยยาเคมีบำบัด.* เชียงใหม่ : ภาควิชาอายุรศาสต คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมชาย สมบูรณ์เจริญ. (2526). *หลักการรักษาโรคมะเร็ง.* กรุงเทพฯ : สถาบันมะเร็งแห่งชาติ.

อาคม วิเชียรศิลป์. (2531). *มะเร็งก้าวใหม่ของการรักษา.* กรุงเทพฯ : สถาบันมะเร็งแห่งชาติ.

Aldrich. (1994-1995). *Catalog Handbook of Fine Chamicals.* United States of America.

Bailey, S . F.H. (1973). "Lipid Metabolism in Culture Cells," *J. Biol. Chem.* 248 : 1240 -1244.

Barth, R. F. and others. (1990). "Boron Neutron Capture Therapy of Cancer, " *Cancer Res.* 50 (15) : 1061-1070.

Bouchard and Owens. (1976). " Cancer : What is it ?," *Nursing Care of The Cancer Patient.* 3rd ed. Newyork : Wiley.

Chulasiri, M . U . and others. (1984). "The cytotoxic effect of petroleum ether and chloroform extracts from ceylon cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum Nees*) on tumor cells," *Int. J. Crude Drug Res.* 22(4) : 177-180.

Capala, J . and others. (1996) " Accumulation of Boron in Malignant and Normal Cells incubated *In vitro* with Boronophenylalanine, Mercaptoborane or Boric Acid," *Radiat Res.* 146 : 554-560.

Coderre, A. J. and others. (1990). " Selective Delivery of Boron by the Melanin Precursor Analogue p–Boronophenylalanine to Tumors other than Melanoma, " *Cancer Res.* 50 : 138-141.

------------(1999). "The Effects of Boron Neutron Capture Irradiation on Oral Mucosa : Evaluation using a Rat Tongue Model, " *Radiat Res.* 152 : 113-118.

De Vita, V. T. (1993). " Principles of chemotherapy," *In Principle of Oncology.* Philadelphia.

Fairchild, R. G. and others. (1982). " Chropromazine distribution in Hamsters and Mice Bearing Transplantable Melanoma, " *Cancer Res.* 42 : 556-562.

------------.(1985). " Current status of ^{10}B Neutron Capture Therapy : Enhancement of tumor dose via beam filtration and dose rate, and the effect of these parameter on minimum boron content : A theoretical evaluation," *Int. J. Radiat. Oncol. Biol., Phys.* 11 : 831-840.

Geran, R. I. and others. (1972). " Protocols for screening chemical agents and Natural products Against animal tumors and other biological system, " *Cancer chemother. Rep.* 3 : 7-17.

Hatanaka, H. (1975). " A Revised Boron Neutron Capture Therapy for Malignant Brain Tumors II : in Clinical Result with the Patient Excluding Previous Treatment, " *J. Neurol.* 209 : 81-94.

Hellman, A. (1993). " Principles of Radiation Therapy, " *In Principle of Oncology.* Philadelphia.

Heying, T. L. and others. (1963). *Inor. Chem.* 2 : 1097.

Kahl, S. B. and others. (1989). " New Tumor Localizers : Advance in the Use of Low Density Lipoprotein (LDL), " *Strhlenther. Onkol.* 165 : 137- 139.

------------ . (1990). " Synthesis of Tetrakis- carborane- carboxylate Esters of 2,4 - Bis-(α ,β dihydroxyethyl) – deuteroporphyrin IX ," *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1769 -1771.

Lowry, O. H. and others. (1951). " Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, " *J. Bio. Chem.* 195 : 265-275.

Matalka, Z. and others. (1993). " Boron Neutron Capture Therapy of Intracerebral Melanoma Using Boronophenylalanine as a Capture Agent., " *Cancer Res.* 53 (15) : 3308-3313.

Maziere, C. and others. (1982). " Incorporation of Exogenous Fatty Acids into Phospholipids by Cultured Hamster Fibroblasts , " *Biochim. Biophy. Acta.* :712-715.

Mishima, Y. and others. (1973). " New Thermal Neutron Capture Therapy for Malignant Melanoma : Melanogenesis - Seeking ^{10}B Molecule - Melanoma Cell Interaction Form *in vitro* to First Clinical Trial, " *Pigm Cell Res.* 2 : 215-231.

-----------. (1987). " First human clinical trial of Melanoma neutron capture diagnosis and Therapy, " *Third Internation Symposium on NCT.* : 15-17.

Nakamura, H. and others. (1997). " Synthesis of Carboranes Containing an Azulene Framework and *in vitro* Evaluation as Boron Carriers, " *J. Med Chem.* 40 : 2825-2830.

Nemato, H. and others. (1995). " Synthesis and Biological Properties of Water-soluble p-Boronophenylalanine Derivatives Relationship between Water Solubility , Cytotoxicity , and Cellular Uptake, " *J. Med Chem.* 38 :1673-1678.

Oyama, V. and . Eagle, H. (1956). " Measurement of Cell Growth in Tissue Culture with a Phenol Reagent (Folin – Ciocalteau), " *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 91 : 305 - 307.

Pizer, S . E . and others. (1996). " Fatty Acid Synthase (FAS) : A Target for Cytotoxic Antimetabolites In HL 60 Promyelocytic Leukemia Cells, " *Cancer Res.* 56(15) : 745 - 751.

Raymond, F. and others. (1978). " Synthesis and Properties of Boron and Silicon Substituted Uracil or 2' - Deoxyuridine, " *Tetrahedron Letters.* 50 : 4981-4984.

Riddell, A. and Fitch, M. I. (1997). " Patients' knowledge and attitudees toward the management of cancer pain. " *Oncology Nursing Forum.* 24. (10) : 1775-1784.

Rosenberg, S. A. (1993). " Principles of Surigial Oncology, " *In principles of Oncology.* Philadephia.

Scobie, M. and Threadgill, D. M. (1994). " Tomur- targetted Boranes. Part 3 Synthesis of Cabamate-lingd Nitroimidazolyl Carborane Designed for Boron Neutron Capture Therapy of Cancer, " *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1 : 2059-2063.

Soloway, A. H. and others. (1967). " Penetration of Brain and Brain Tumor. VII. Tumor Binding Sulfhydryl Boron Compounds, " *J. Med. Chem.* 10 : 714-717.

----------. (1986). *Proc. 2nd Int. Symp. On Neutron Capture Therapy.* Nishimura : Japan.

----------. (1988). *Prroc. 3rd Int. Symp. On Neutron Capture Therapy.* Bremen.

Spielvoge, B. F. and others. (1991). " From Boron Analogues of Amino Acids to Boronated DNA : Potential New Phamaceuticals and Neutron Capture Agent," *Pure & Appl. Chem.* 63 (3) : 415 - 418.

Sweet, W. H. and others. (1952). " The Possible Use of Neutron Capturing Isotopes Such a Boron- 10 in the Treatment of Neoplasms I. Intracranial Tumors, " *J. Neurosurg.* 9 : 200-209.

-----------. (1955). " Pathological Study of Eigth Patients with Glioblastoma Multiforme Treated by Neutron Capture Therapy using Boron-10, " *Cancer.* 8 : 601-615.

Synder, H. R. and others. (1958). " Synthesis of Aromatic Boronic Acid and a Boronic Acid Analog of Tyrosine, " *J. Am. Chem. Soc.* 80 : 835-838.

Tambunchong, C. and others. (1997). " Synthesis of Boronated Low - density Lipoprotein for BNCT of Cervical Carcinoma , " *Advance in Neutron Capture Therapy.Volume II , Chemistry and Biology* , Borje Larsson , John Crawford and Regin Weinreich, ed. , Amsterdam : Elseiser.

Tjarks, W. and others. (1992). " Synthesis and *in vitro* Evaluation of Boronated Uridine and Glucose Derivatives for Boron Neutron Capture Therapy, " *Med. Chem.* 35 :1628 -1633.

UICC. (1987). *TNM Classification of malignant tomur.* 4^{th} ed. Berlin : Springer-Verlag.

Voet, D. and Voet, J. G. (1995). *Biochemistry.* United States of America : Wiley.

Witting, A. and others. (2000). " Mechanisums of Transport of p-Borono - phynylalanine Through the Cell Membrane *In vitro,*" *Radiat. Res.* 153 : 173-180.

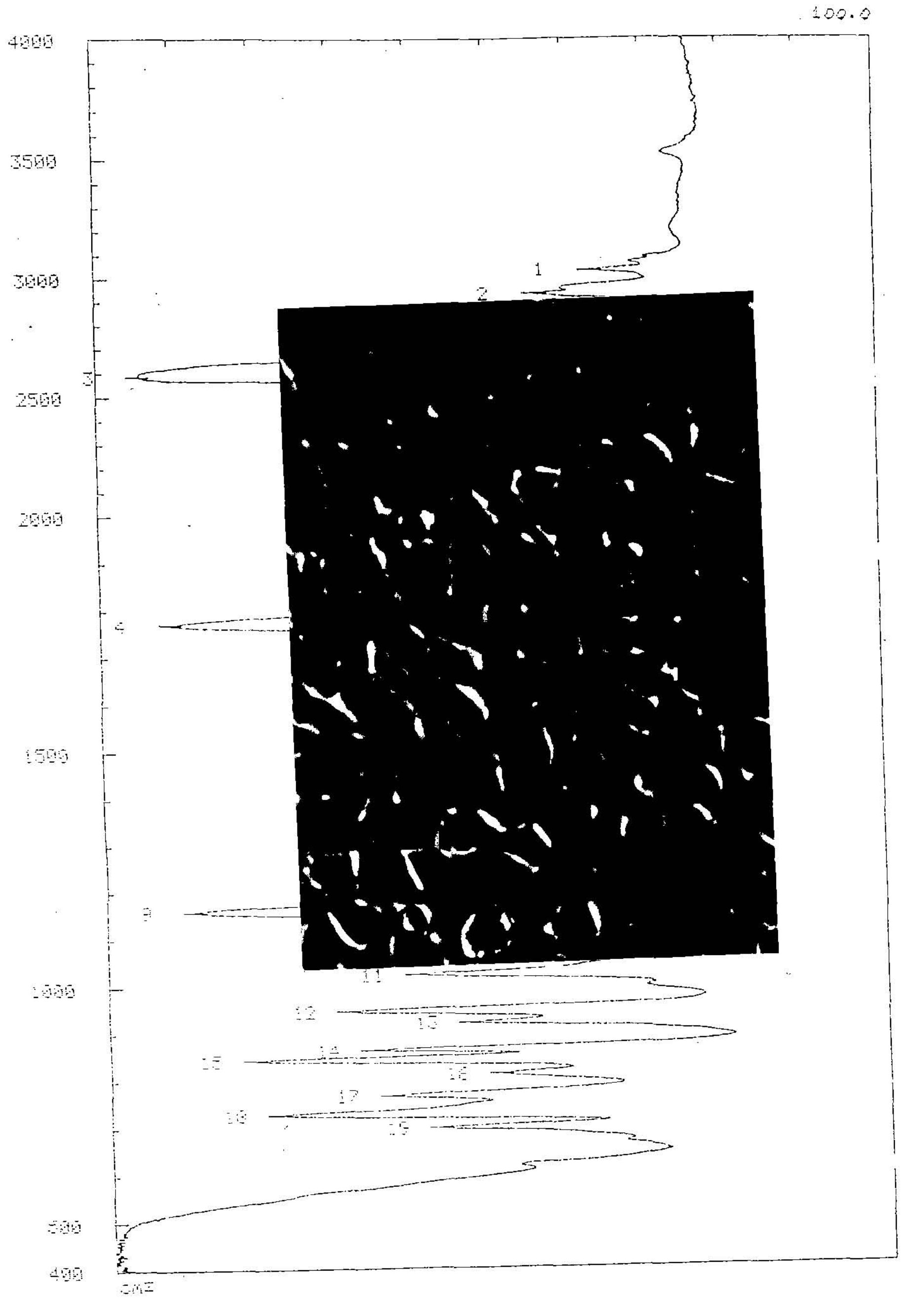
Yamamoto, Y. and others. (1989). " Boron-10 Carriers for NCT a New Synthesis Method via Condensation with Aldehydes Having Boronic Moiety, " *Tetrahedron Letters.* 30 (51) : 7191-7194.

------------. (1992). " Synthesis of Carboranes Containing Nucleoside Bases Unexpectedly High Cytostatic and Cytocidal Toxicity towards Cancer cells, " *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, : 157-158.

------------ . (1993). " 1-Carboranyl - 3 - (2-methylaziridino) - 2 - propanol . Synthesis, Selective Uptake by B-16 Melanoma, and Selective Cytotoxicity toward Cancer cell, " *Med. Chem.* 36 : 2232-2234.

Zhuo, J. C. and others. (1999). " Synthesis and Biological Evaluation of Boron Containing Polyamine as Potential Agent for Neutron Capture Therapy of Brain Tumors," *J. Med. Chem.* 42 : 1282-1292.

ภาคผนวก

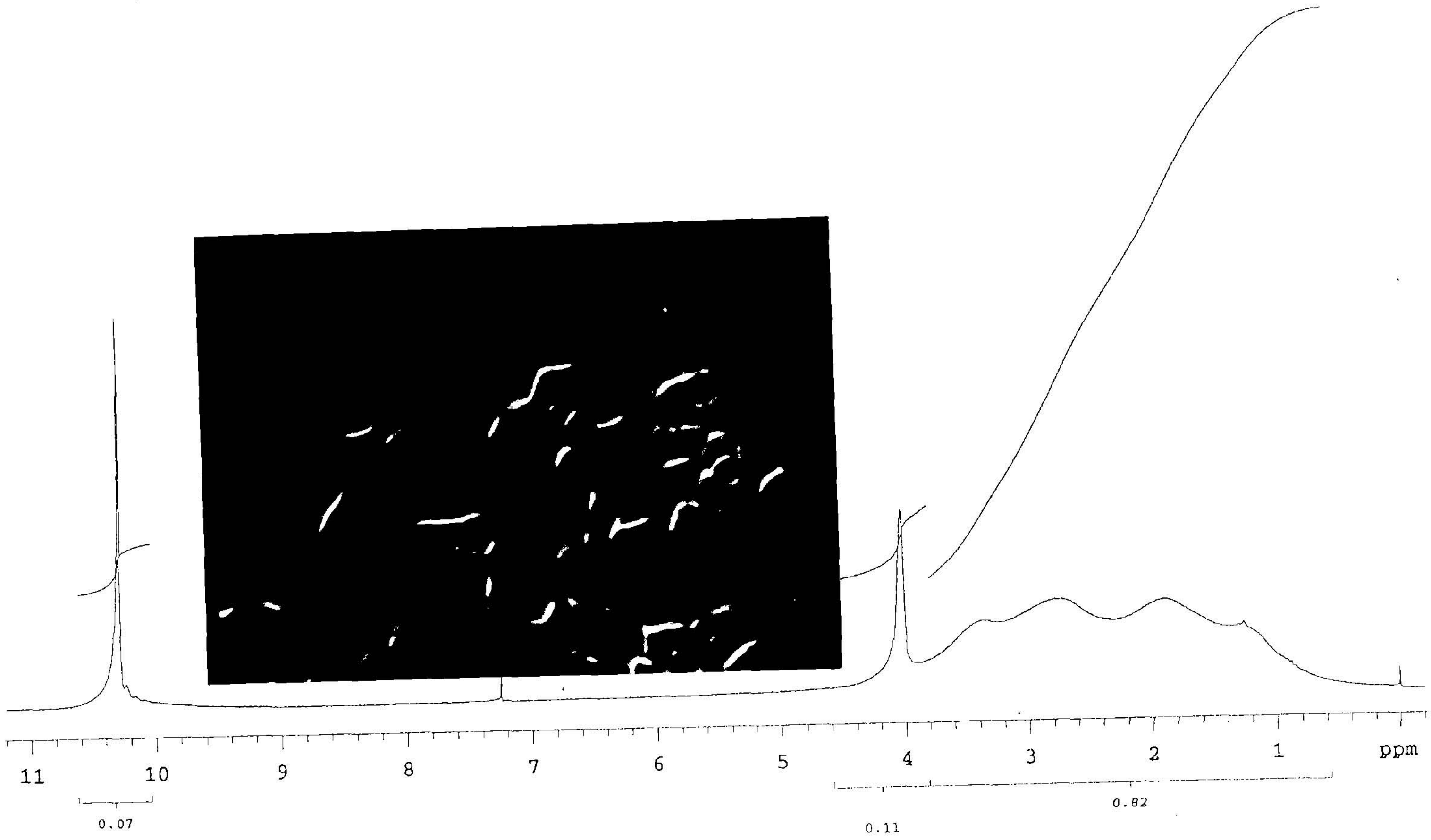


ภาพประกอบ 18 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ o-carboranyl chloride (film)

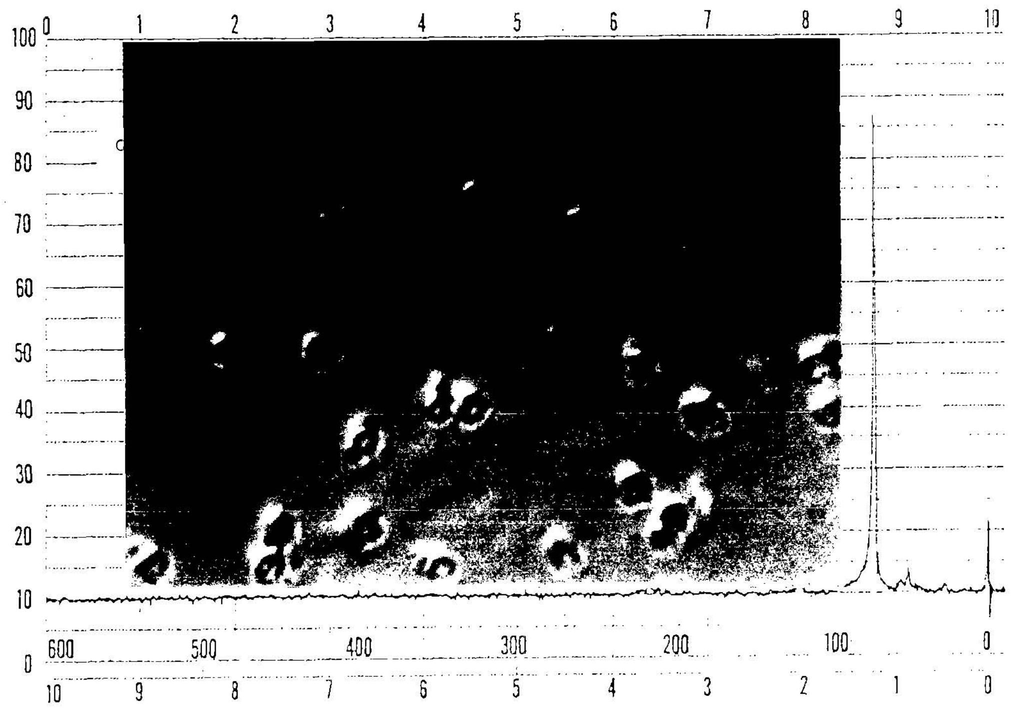
Peak table

Upper : 100.0 Lower : 0.0 Depth : 5.0

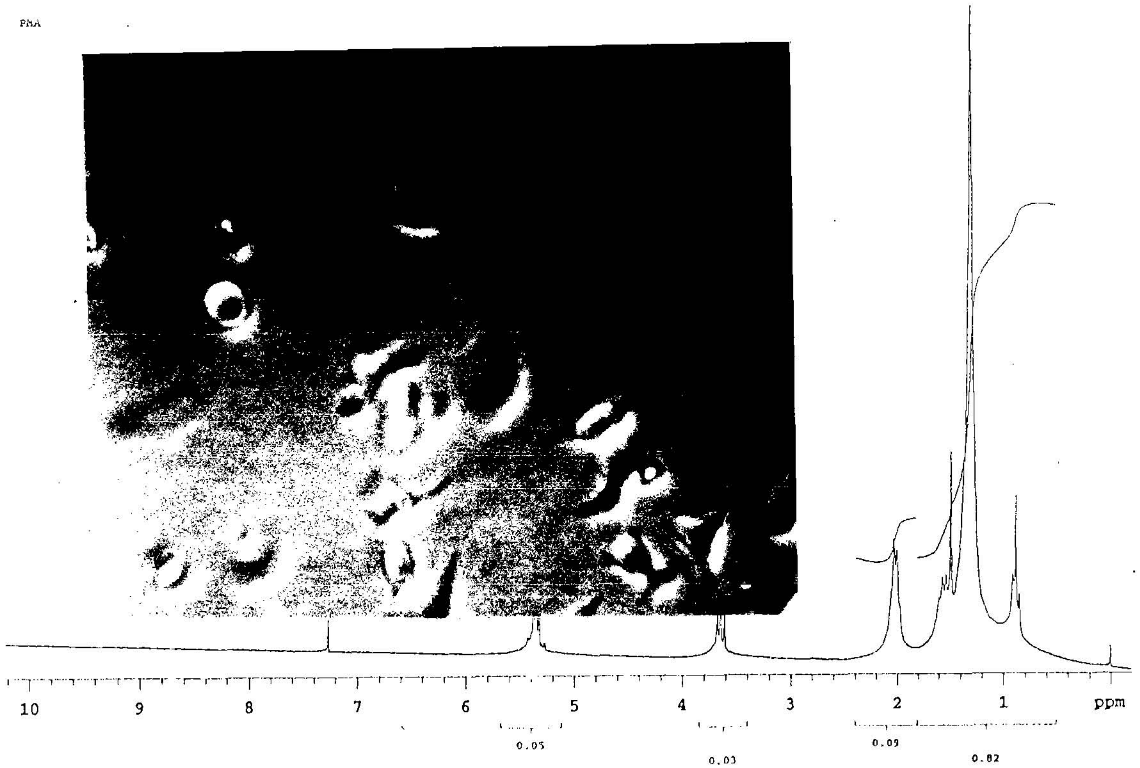
No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T
1	3028.0	63.6	2	2924.0	56.4	3	2584.0	5.7
4	1770.0	9.1	5	1494.0	64.8	6	1445.0	50.1
7	1389.0	55.4	8	1260.0	57.4	9	1158.0	11.5
10	1083.0	39.6	11	1024.0	39.5	12	946.0	30.7
13	921.0	46.3	14	864.0	33.7	15	843.0	18.6
16	812.0	50.1	17	767.0	36.0	18	728.0	21.6
19	698.0	42.2						



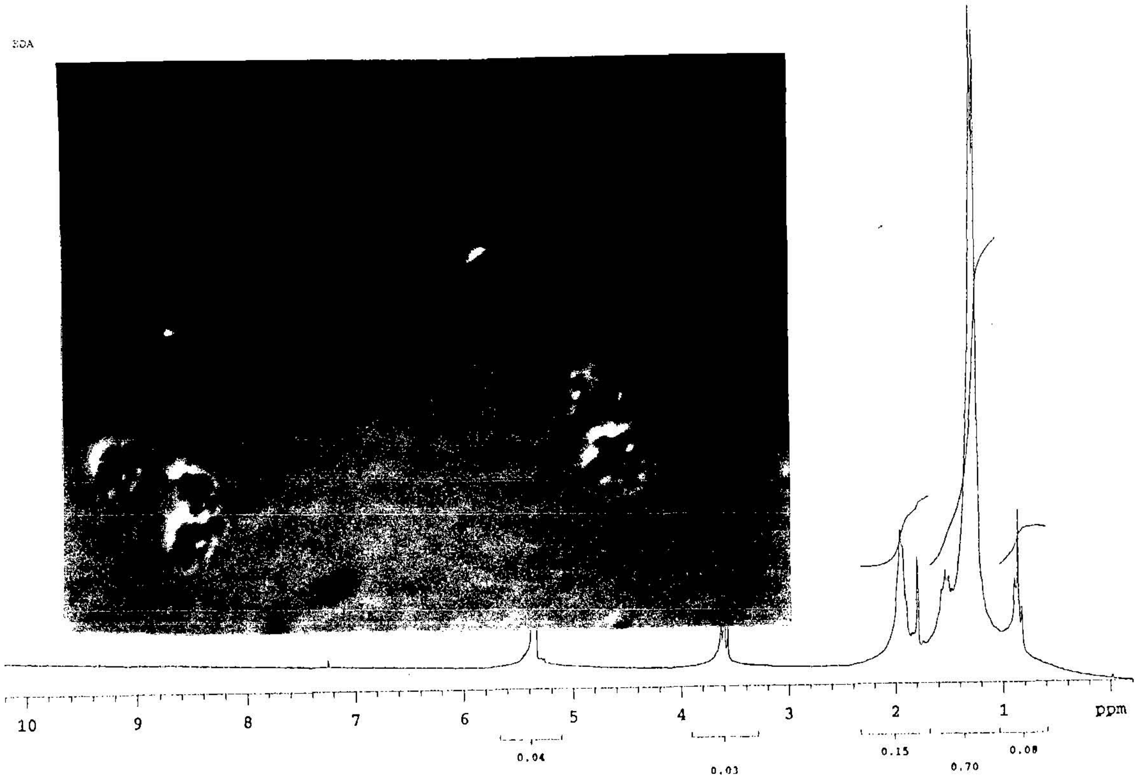
ภาพประกอบ 19 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ o-carboranic acid (200 MHz, $CDCl_3$)



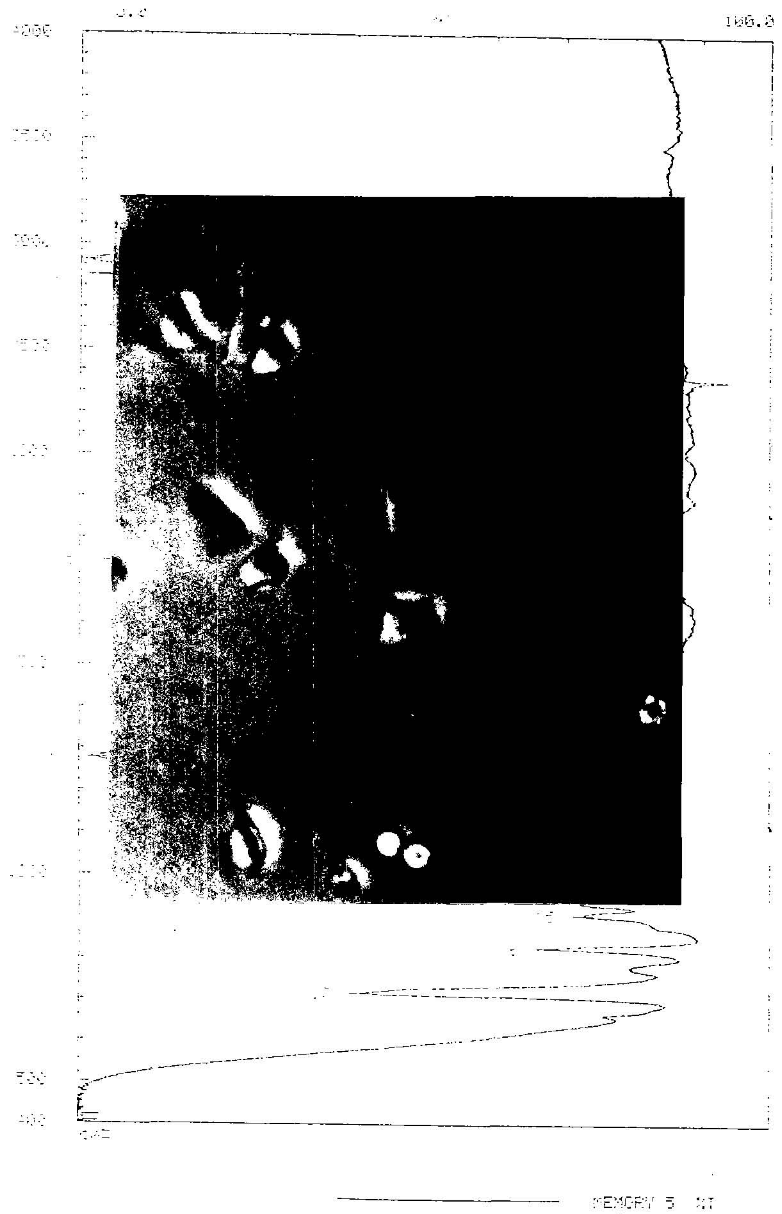
ภาพประกอบ 20 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Stearyl alchohol (60 MHz, $CDCl_3$)



ภาพประกอบ 21 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl alchohol (200 MHz, $CDCl_3$)



ภาพประกอบ 22 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Elaidyl alchohol (200 MHz, $CDCl_3$)

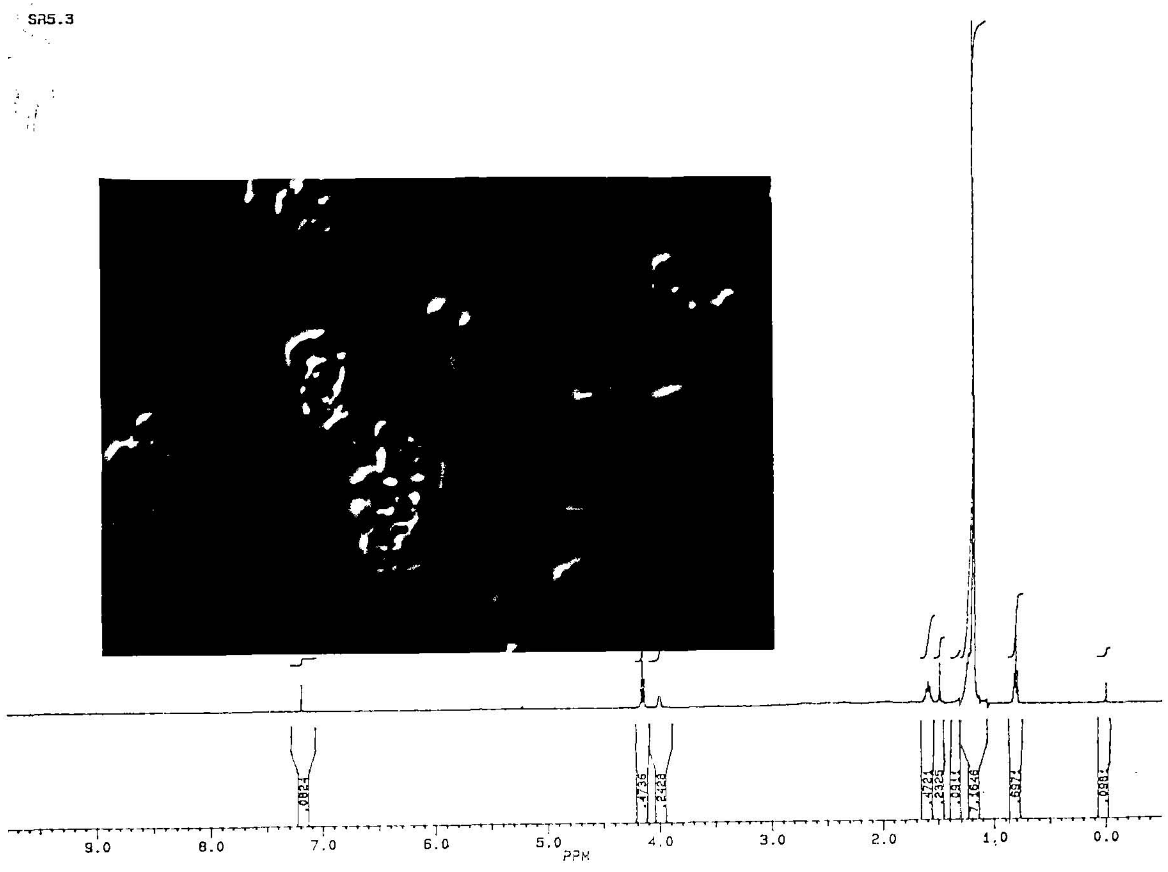


ภาพประกอบ 23 การดูดกลืนแสงอินฟาเรดของ Stearyl carboranate (KBr)

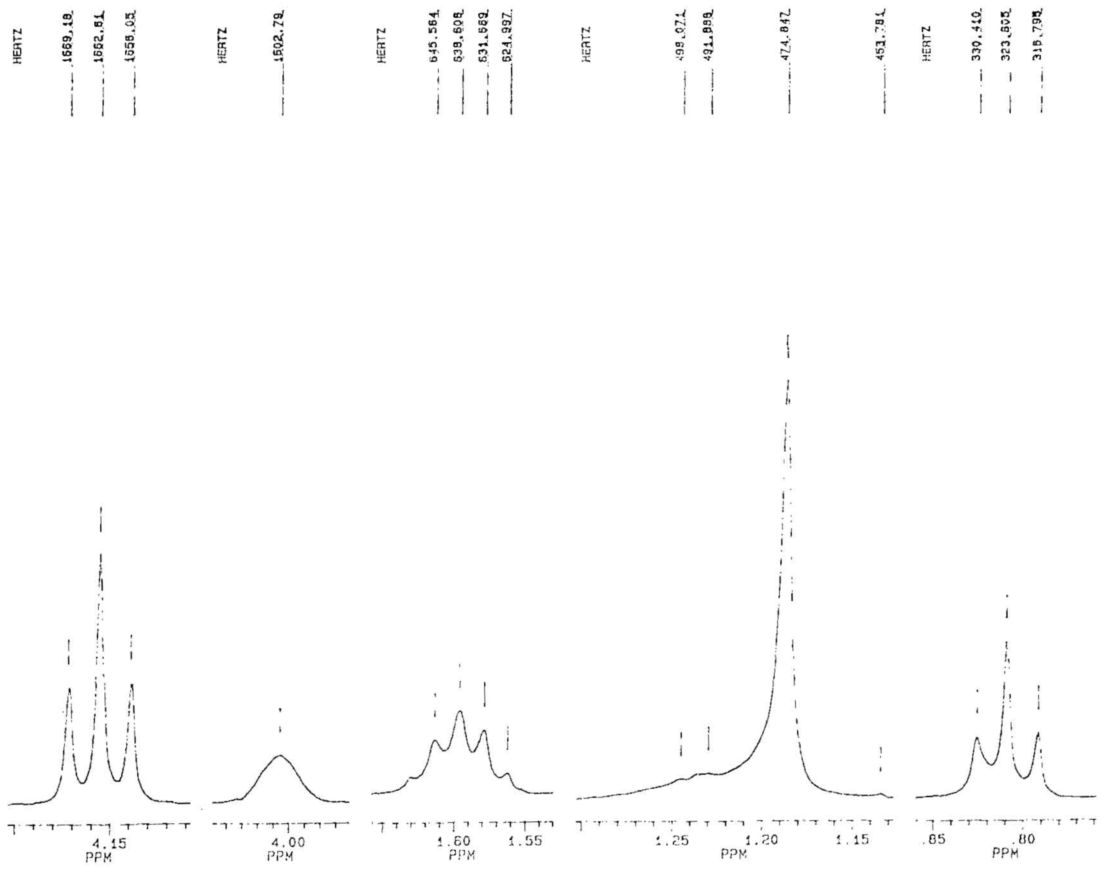
Peak table

Upper : 100.0 Lower : 0.0 Depth : 5.0

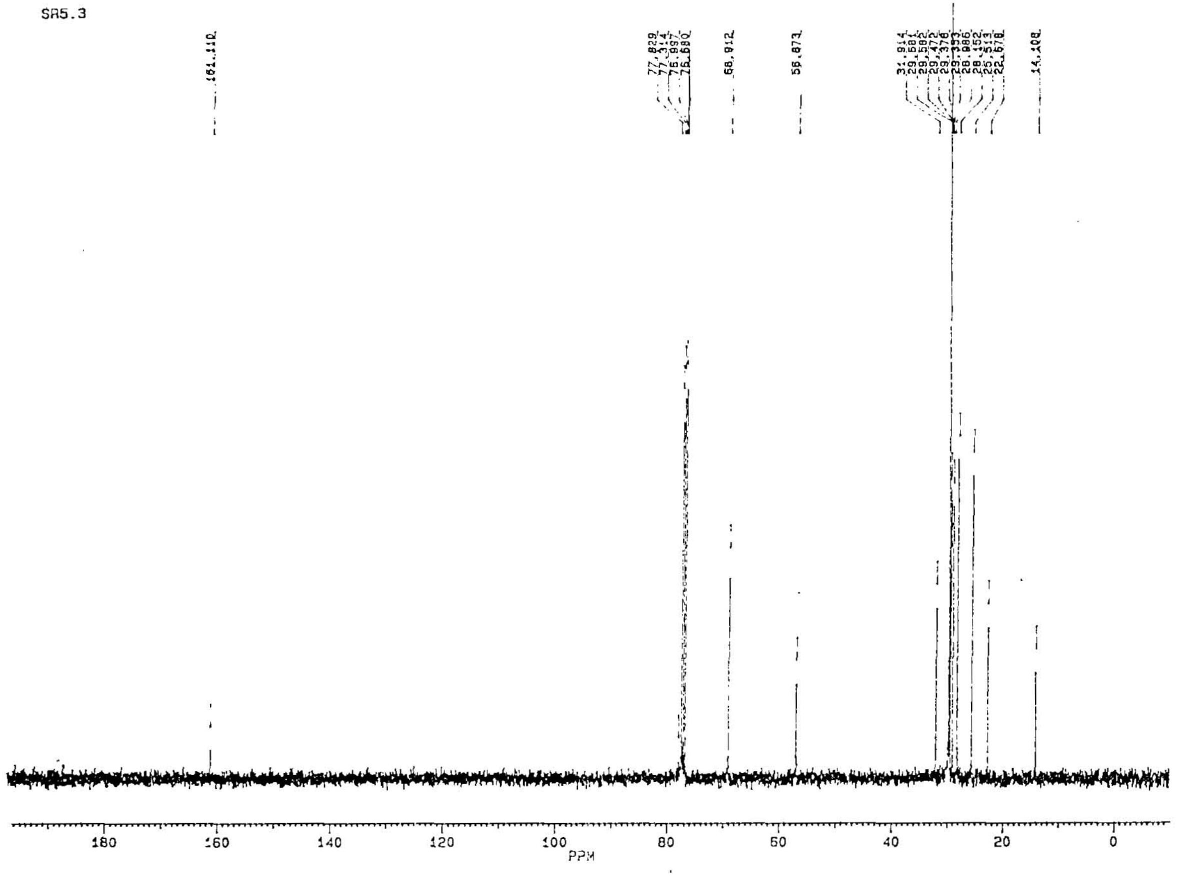
No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T
1	3272.0	47.1	2	2924.0	1.6	3	2852.0	2.8
4	2588.0	5.8	5	1745.0	5.1	6	1463.0	22.4
7	1285.0	56.1	8	1278.0	2.7	9	1181.0	27.8
10	1126.0	71.5	11	1093.0	68.1	12	1059.0	45.4
13	[illegible]	33.5	14	954.0	65.3	15	908.0	73.0
16	919.2	67.7	17	718.0	48.9			



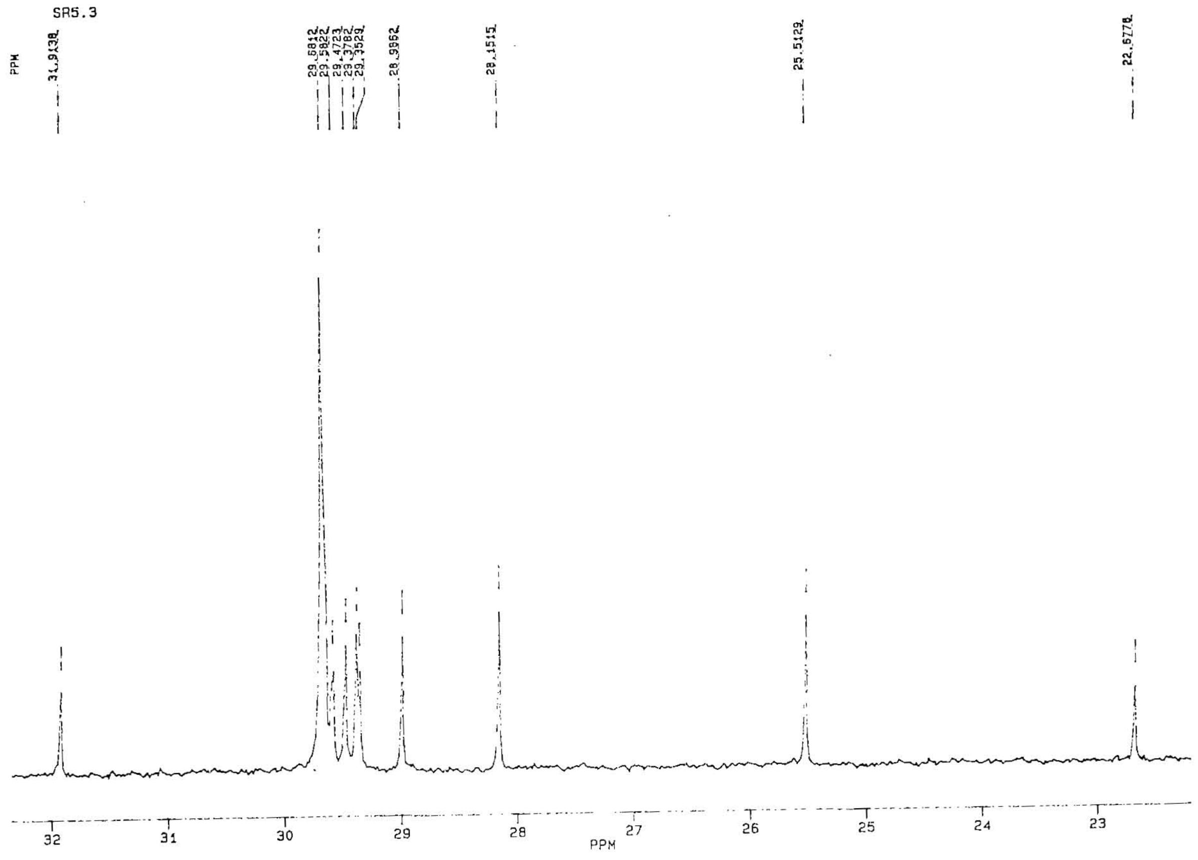
ภาพประกอบ 24 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Stearyl carboranate (400 Mz, $CDCl_3$)



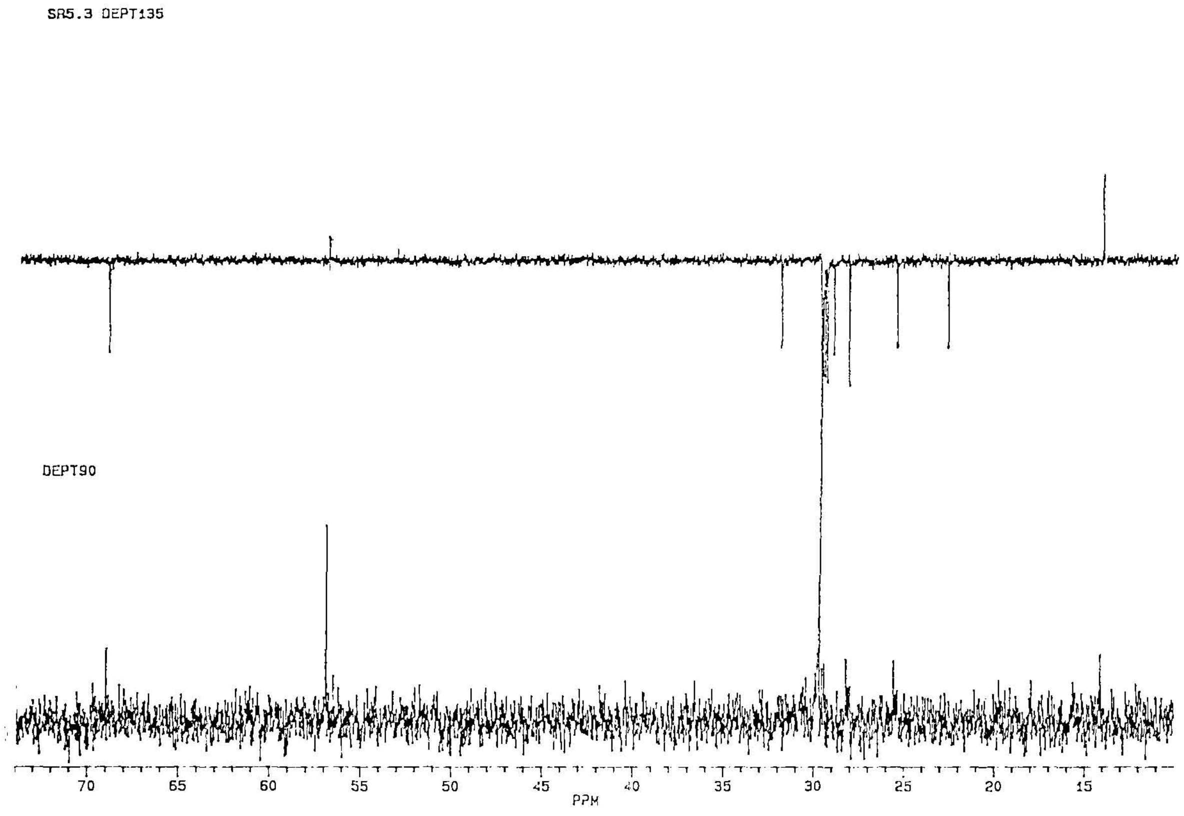
ภาพประกอบ 25 ขยายสัญญาณ ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Stearyl carboranate



ภาพประกอบ 26 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Stearyl carboranate

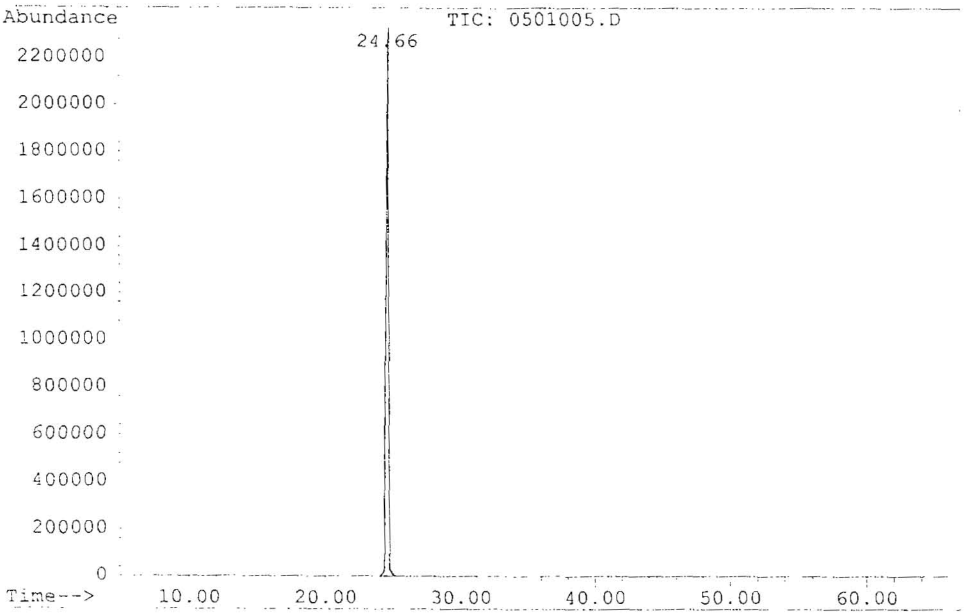


ภาพประกอบ 27 ขยายสัญญาณ ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Stearyl carboranate

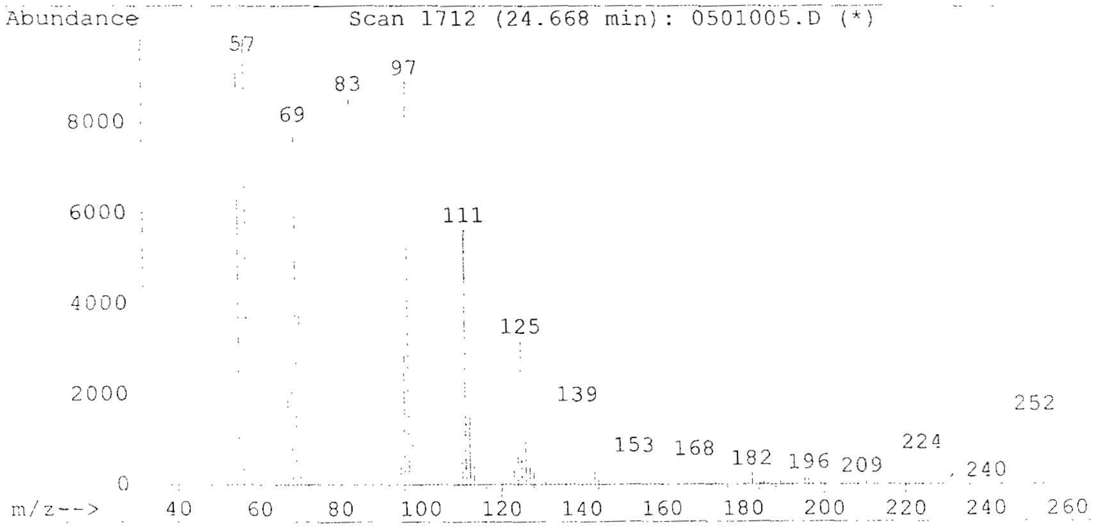


ภาพประกอบ 28 Dept 135, 90 องศา ของ Stearyl carboranate

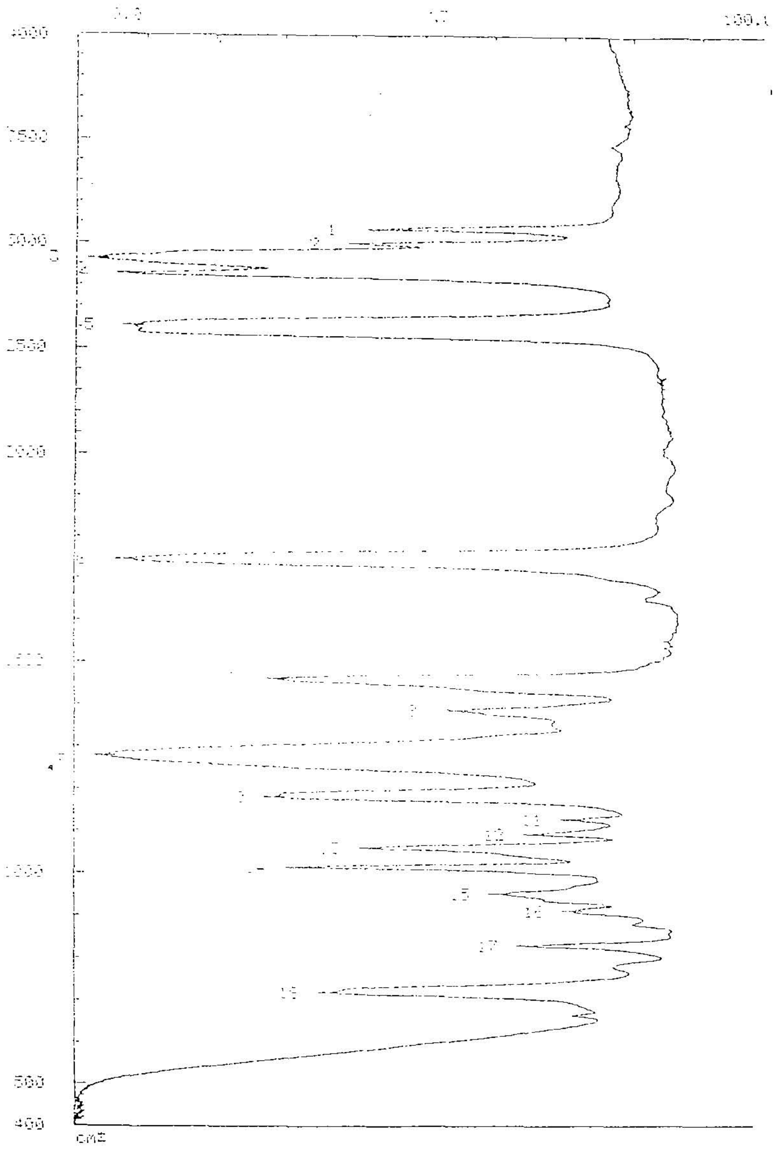
```
File        : C:\DATA_MSD\17MAY99\0501005.D
Operator    : kat
Acquired    : 17 May 99   9:46 pm using AcqMethod SAM
Instrument  :    5972 - In
Sample Name: sample SR 2
Misc Info   :
Vial Number: 5
```




```
Library Searched : C:\DATABASE\WILEY138.L
Quality          : 76
ID               : Phosphonic acid, dioctadecyl ester
```



ภาพประกอบ 29 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Stearyl carboranate



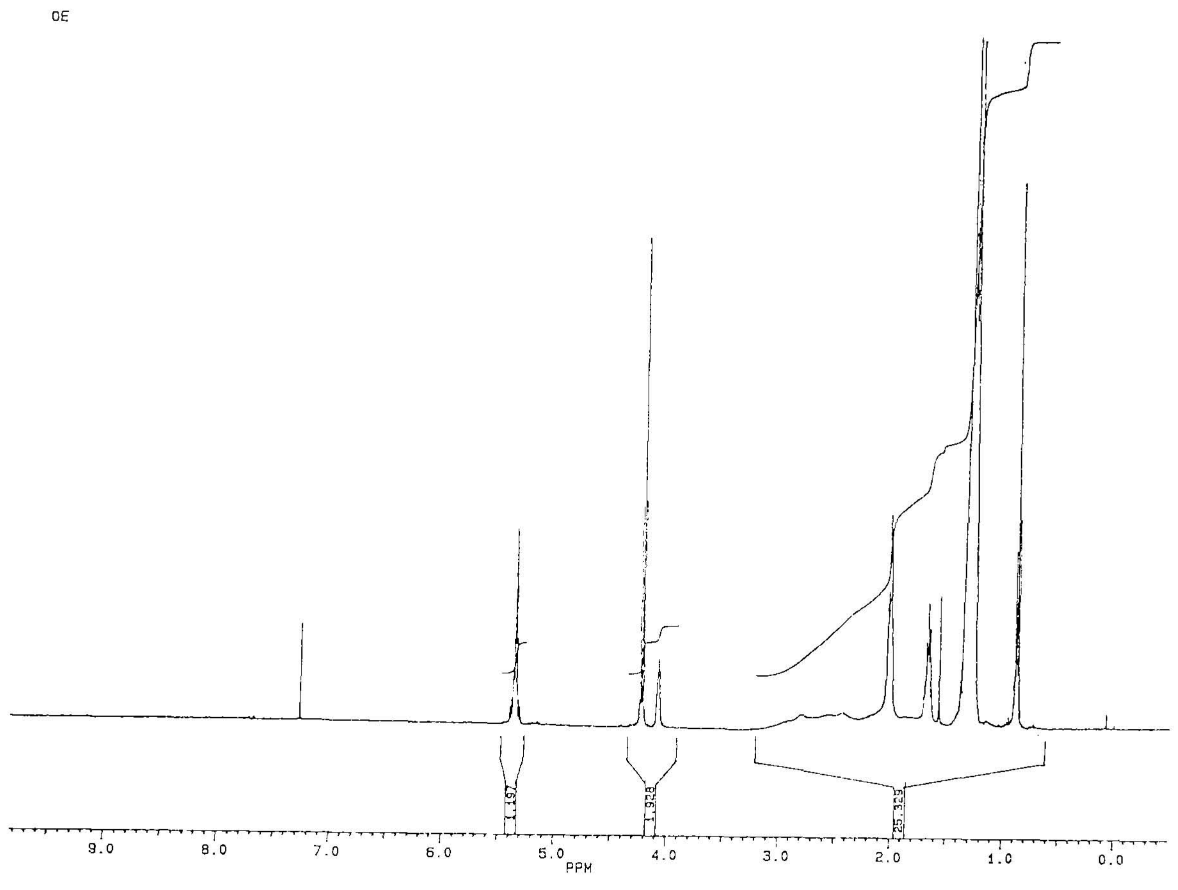
ภาพประกอบ 30 การดูดกลืนแสงอินฟาเรดของ Oleyl carboranate (film)

MEMORY 3 %T

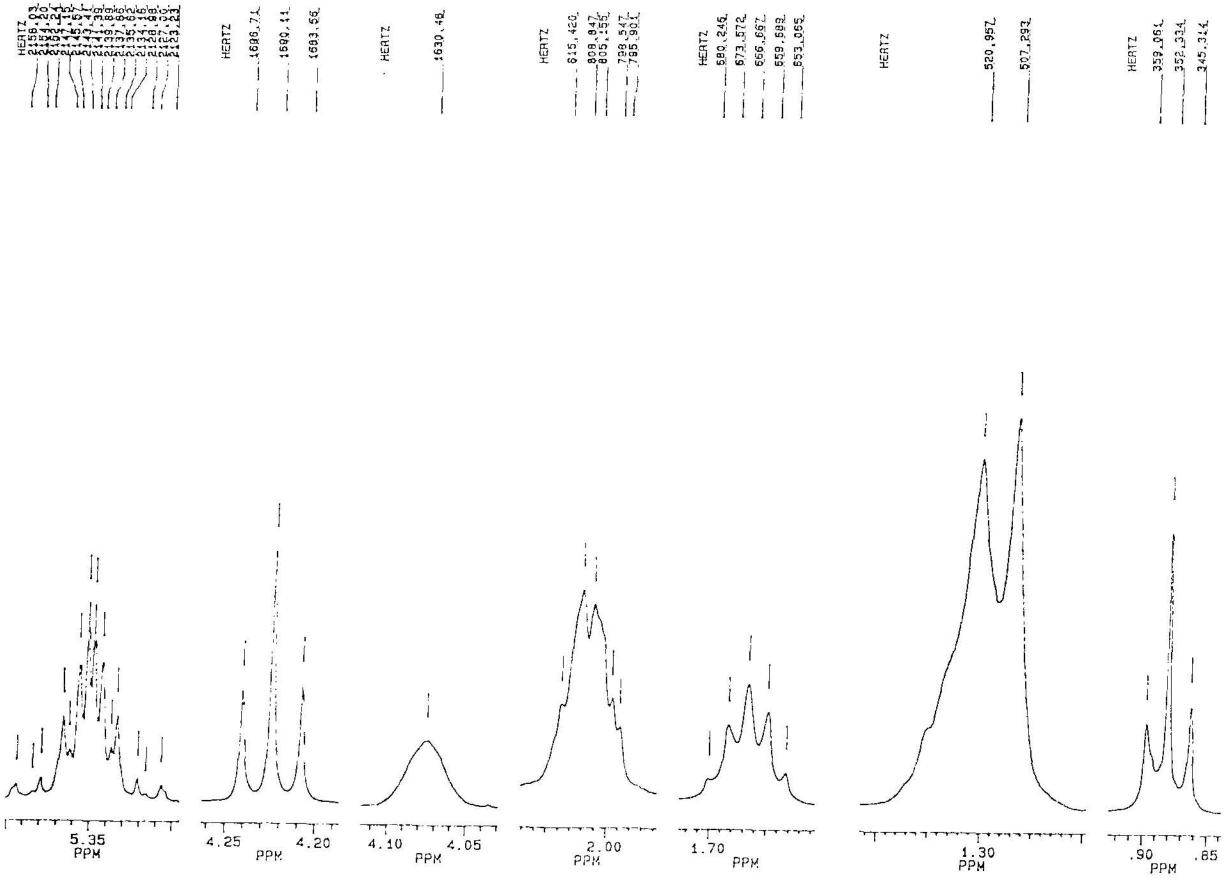
Peak table

Upper : 100.0 Lower : 0.0 Depth : 5.0

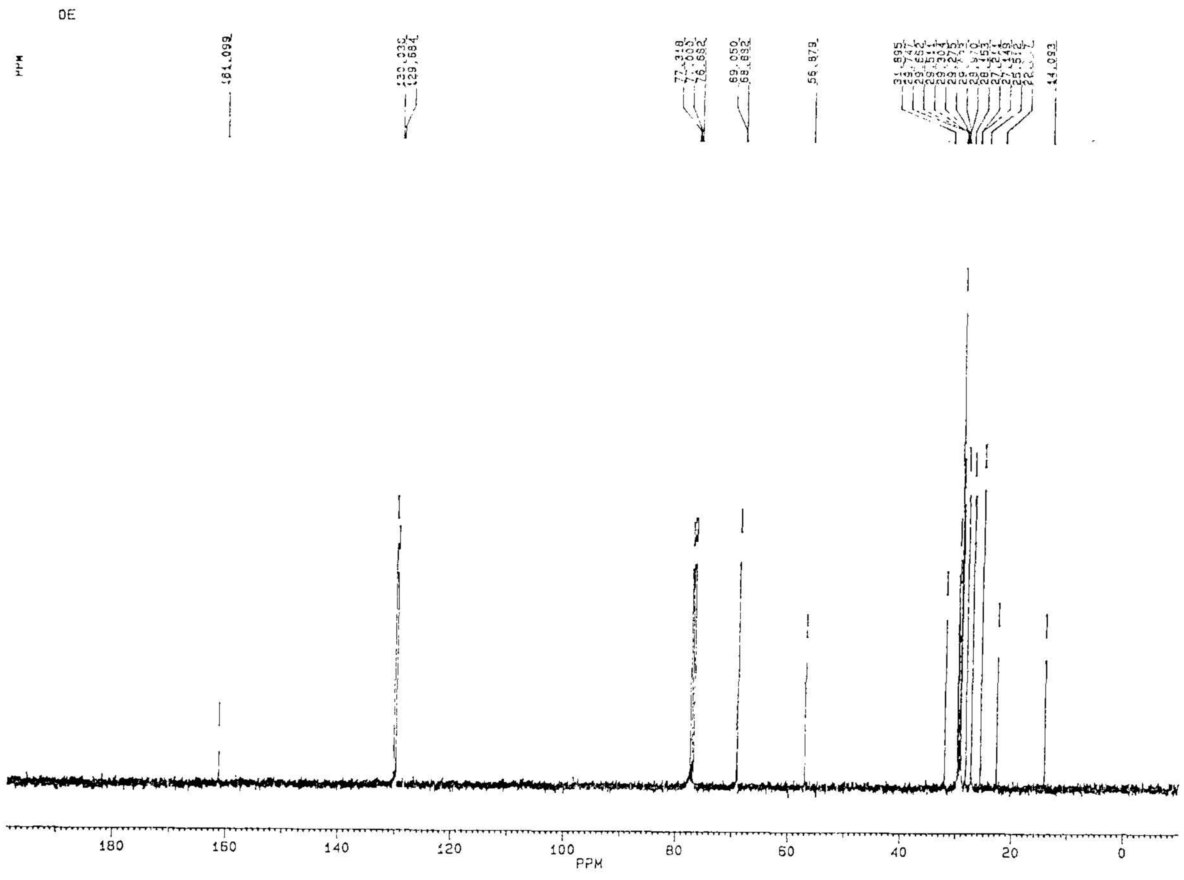
No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T
1	3072.0	43.1	2	3000.0	40.8	3	2924.0	3.1
4	2854.0	7.5	5	2608.0	8.3	6	1744.0	7.6
7	1461.0	29.3	8	1387.0	55.3	9	1278.0	4.6
10	1180.0	29.1	11	1127.0	71.7	12	1092.0	66.2
13	1059.0	42.6	14	1013.0	32.0	15	952.0	61.4
16	912.0	71.9	17	829.0	65.3	18	719.0	36.8



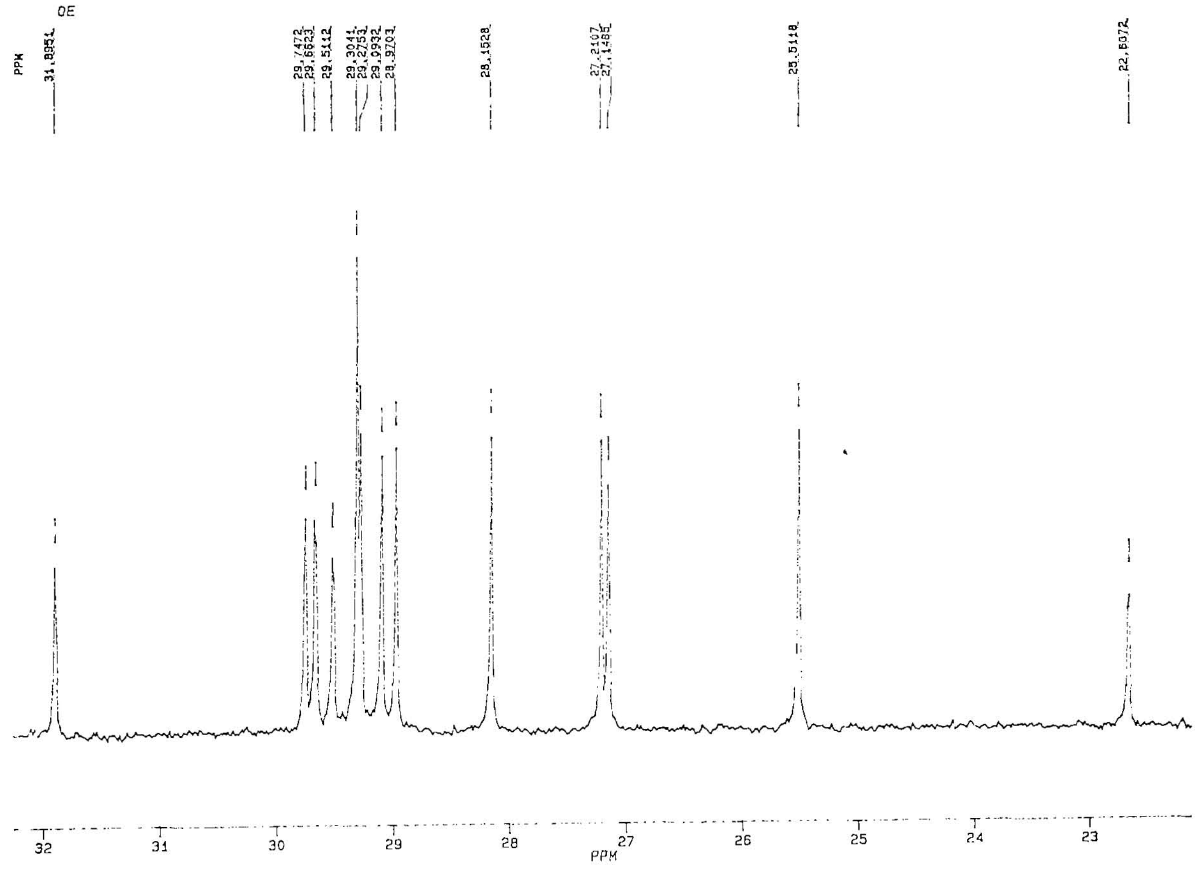
ภาพประกอบ 31 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Oleyl carboranate (400 Mz, $CDCl_3$)



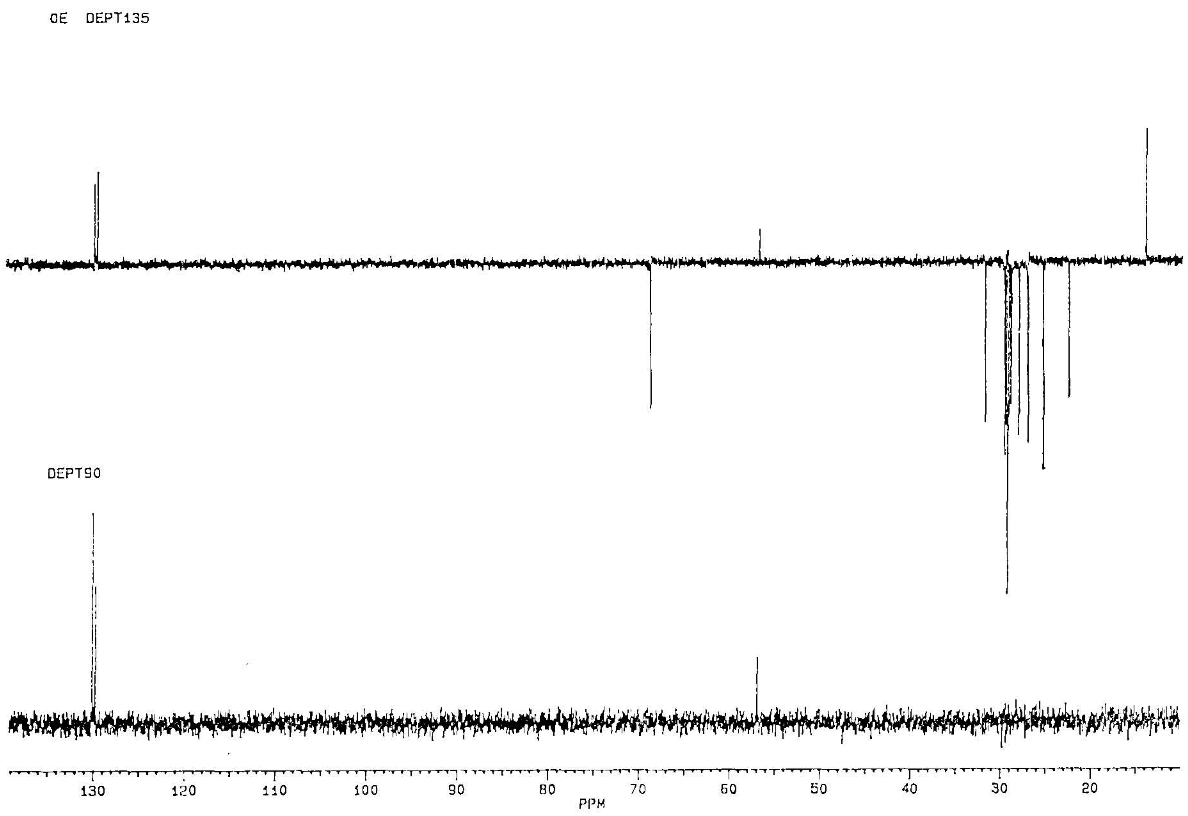
ภาพประกอบ 32 ขยายสัญญาณ ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Oleyl carboranate



ภาพประกอบ 33 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Oleyl carboranate

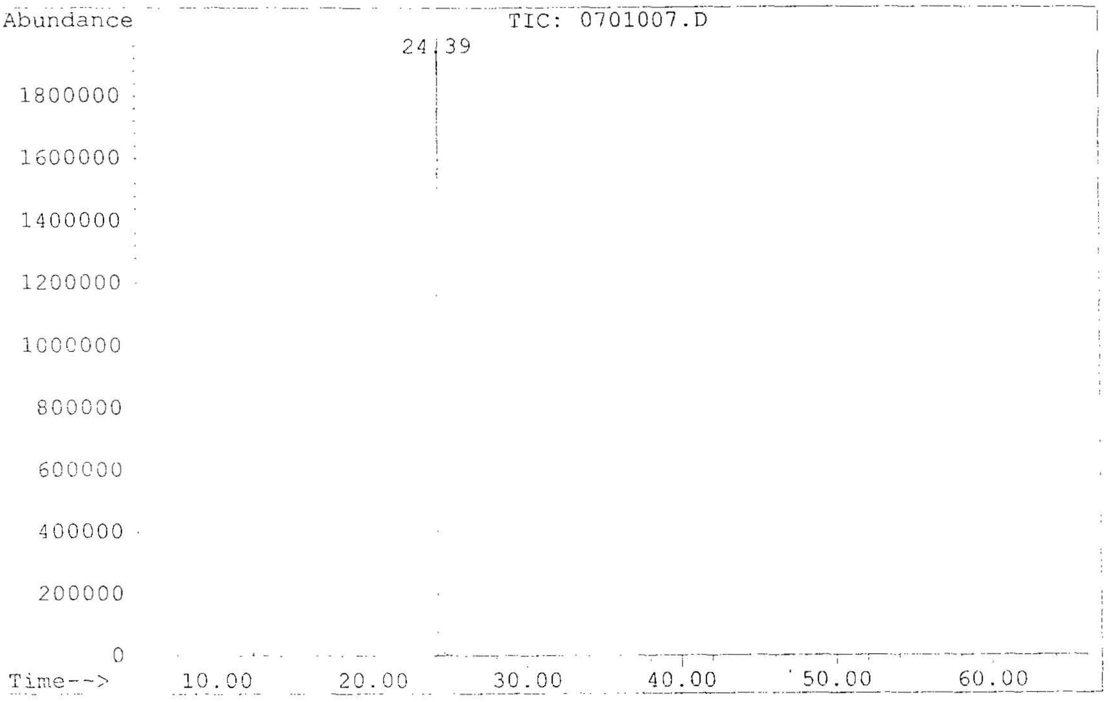


ภาพประกอบ 34 ขยายสัญญาณ ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Oleyl carboranate

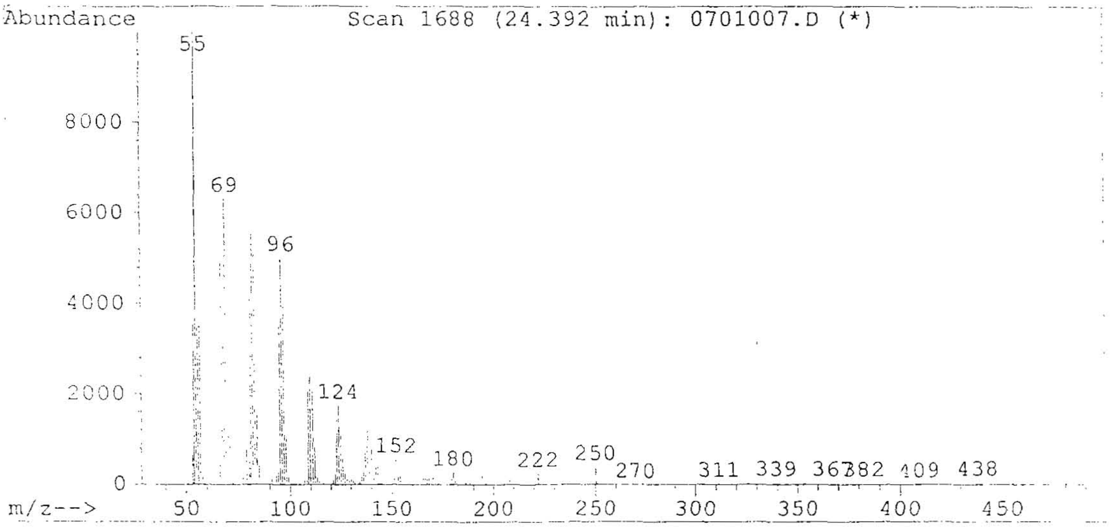


ภาพประกอบ 35 Dept 135, 90 องศา ของ Oleyl carboranate

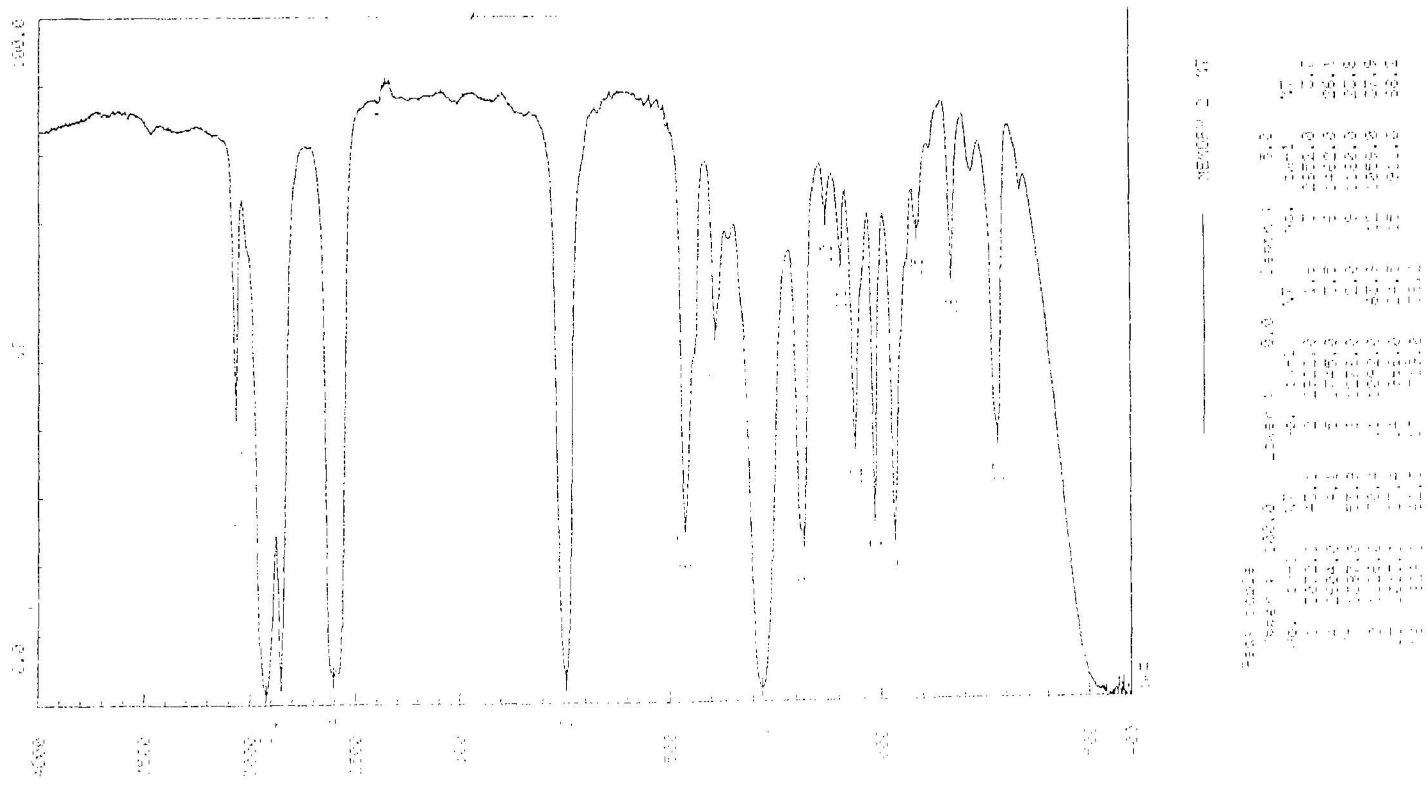
```
File        : C:\DATA_MSD\17MAY99\0701007.D
Operator    : kat
Acquired    : 18 May 99  12:27 am using AcqMethod SAM
Instrument  :    5972 - In
Sample Name: sample OE
Misc Info   :
Vial Number: 7
```



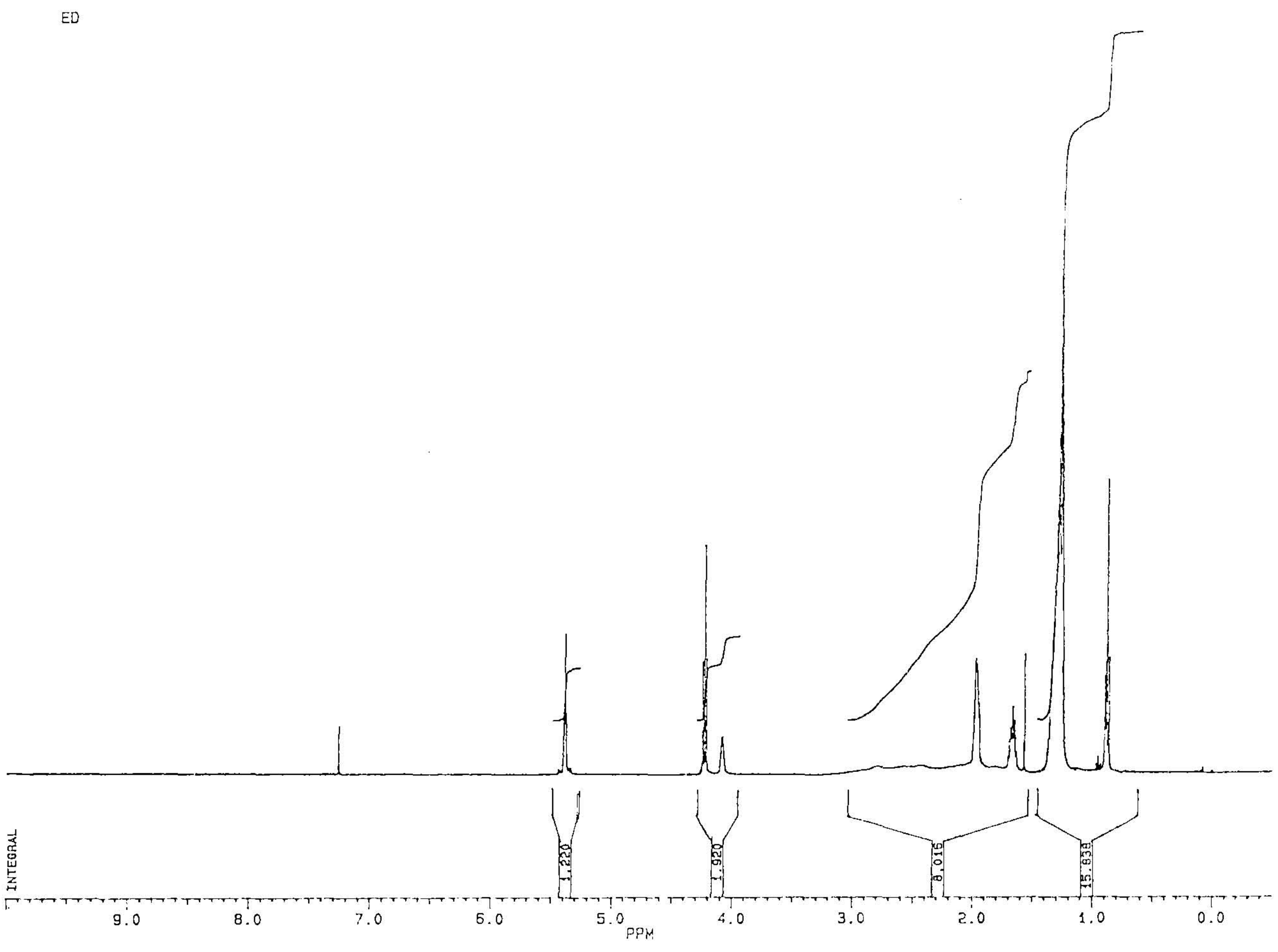

```
Library Searched : C:\DATABASE\WILEY138.L
Quality          : 91
ID               : Myristic acid, 9-octadecenyl ester, (Z)-
```



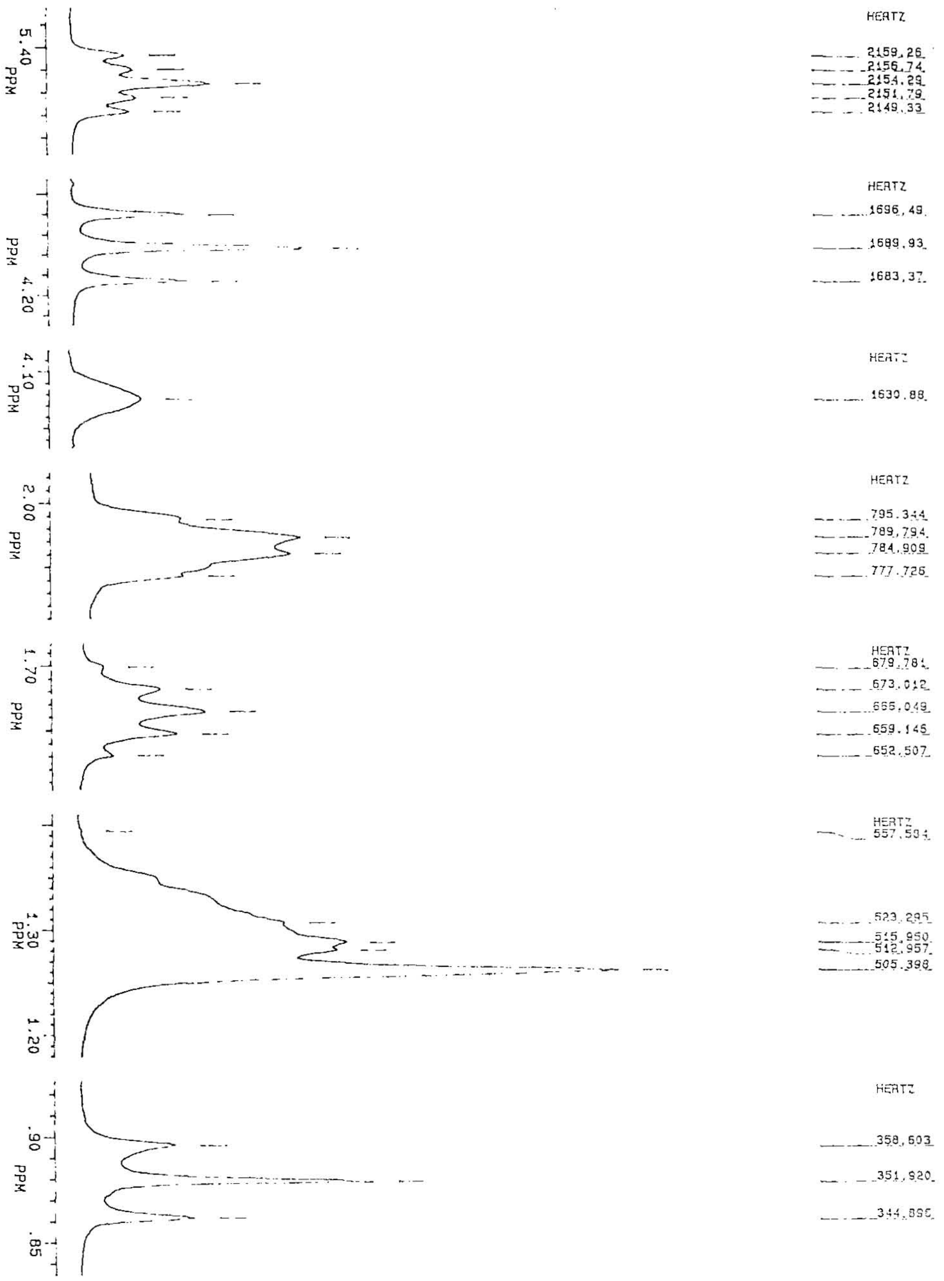
ภาพประกอบ 36 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Oleyl carboranate



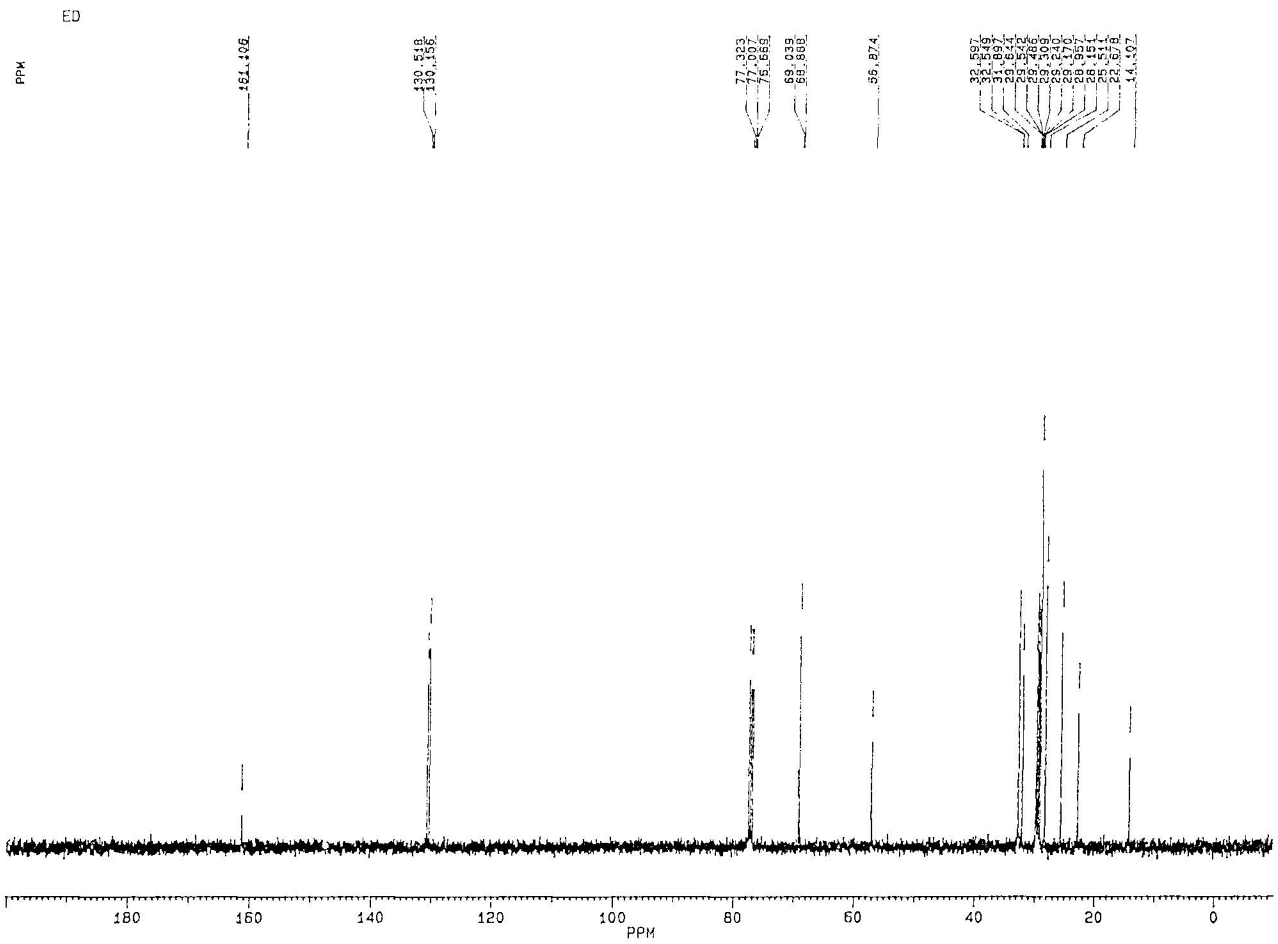
ภาพประกอบ 37 การดูดกลืนแสงอินฟาเรดของ Elaidyl carboranate (film)



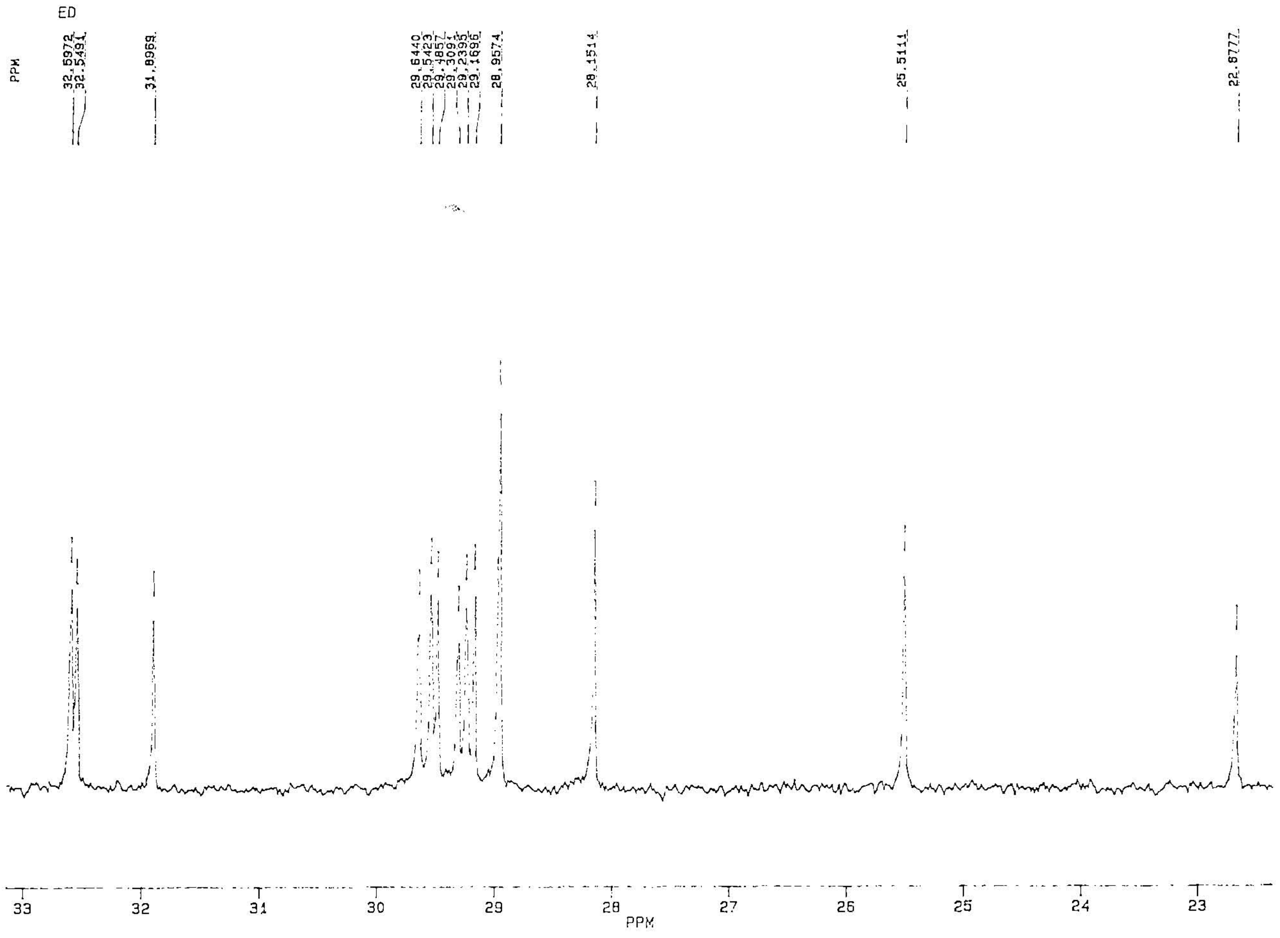
ภาพประกอบ 38 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate (400 Mz, $CDCl_3$)



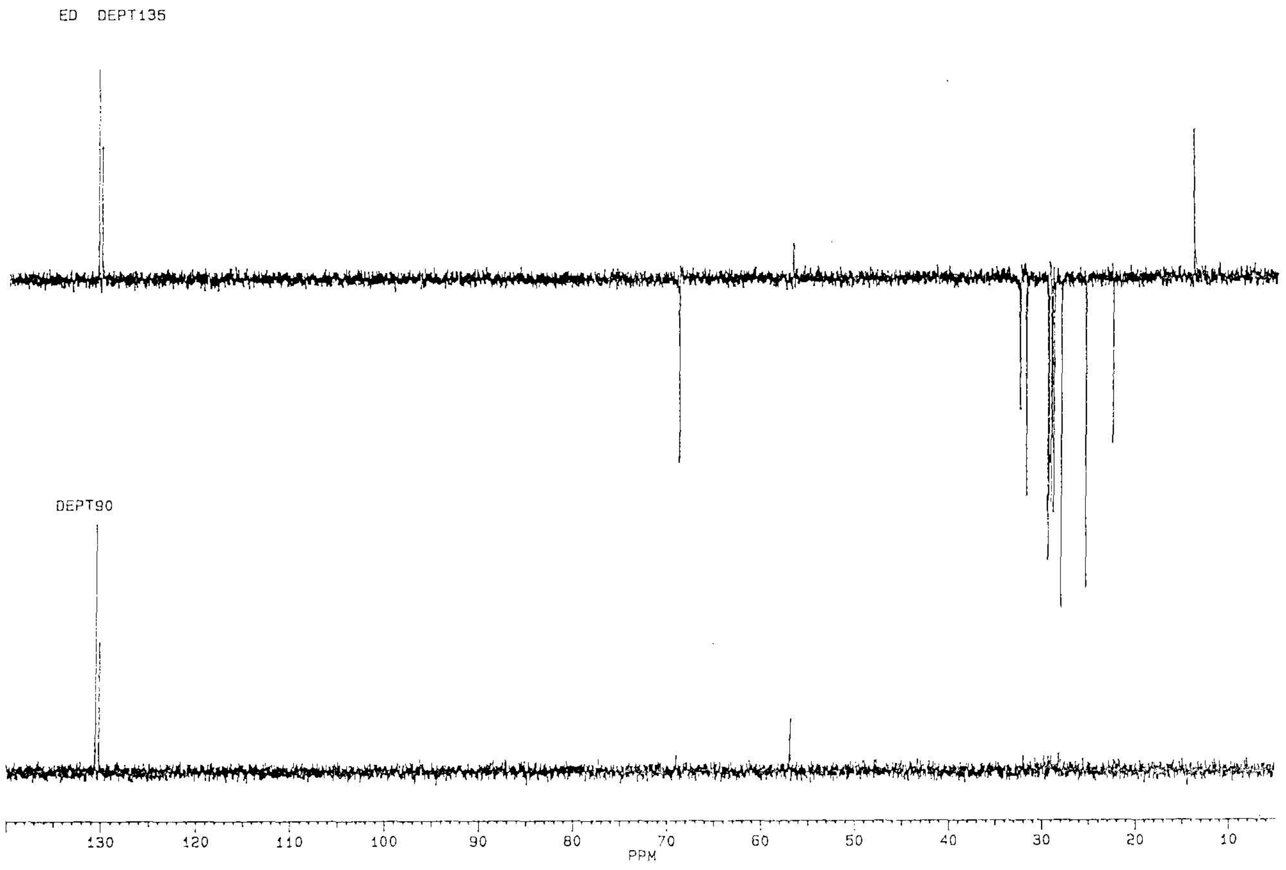
ภาพประกอบ 39 ขยายสัญญาณ ¹H NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate



ภาพประกอบ 40 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate

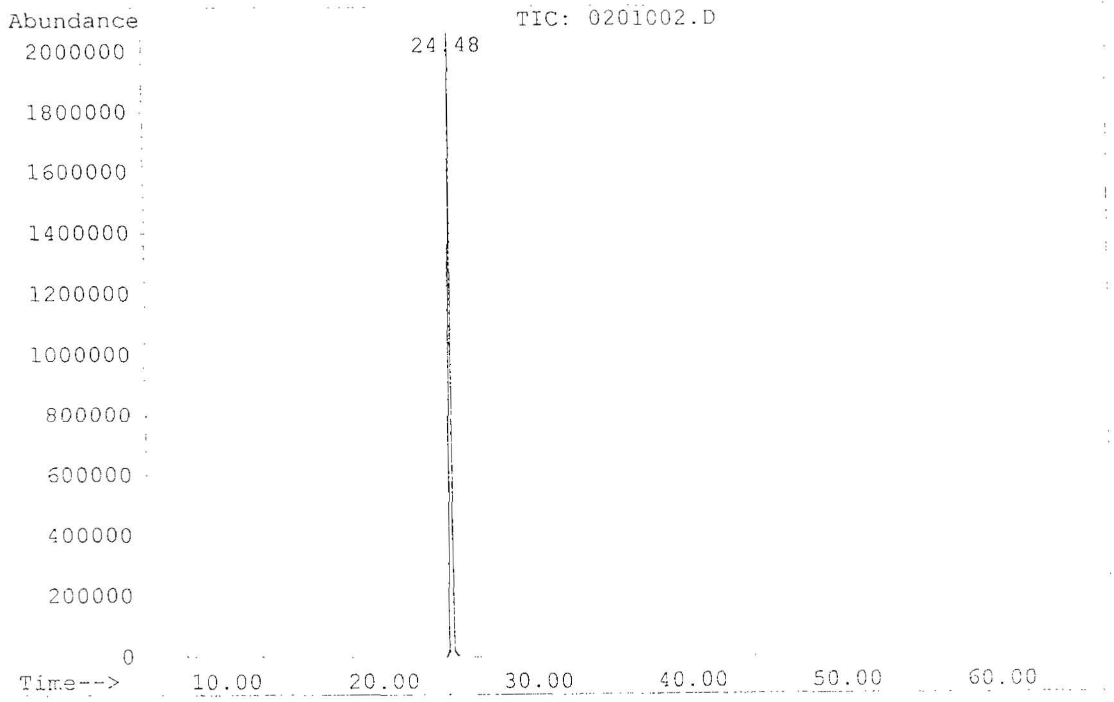


ภาพประกอบ 41 ขยายสัญญาณ ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate

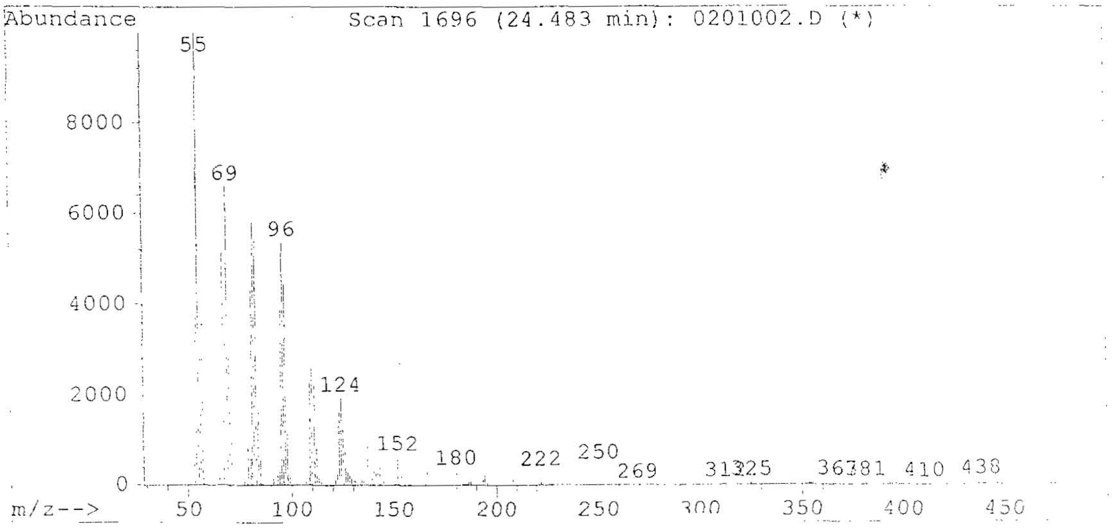


ภาพประกอบ 42 Dept 135, 90 องศา ของ Elaidyl carboranate

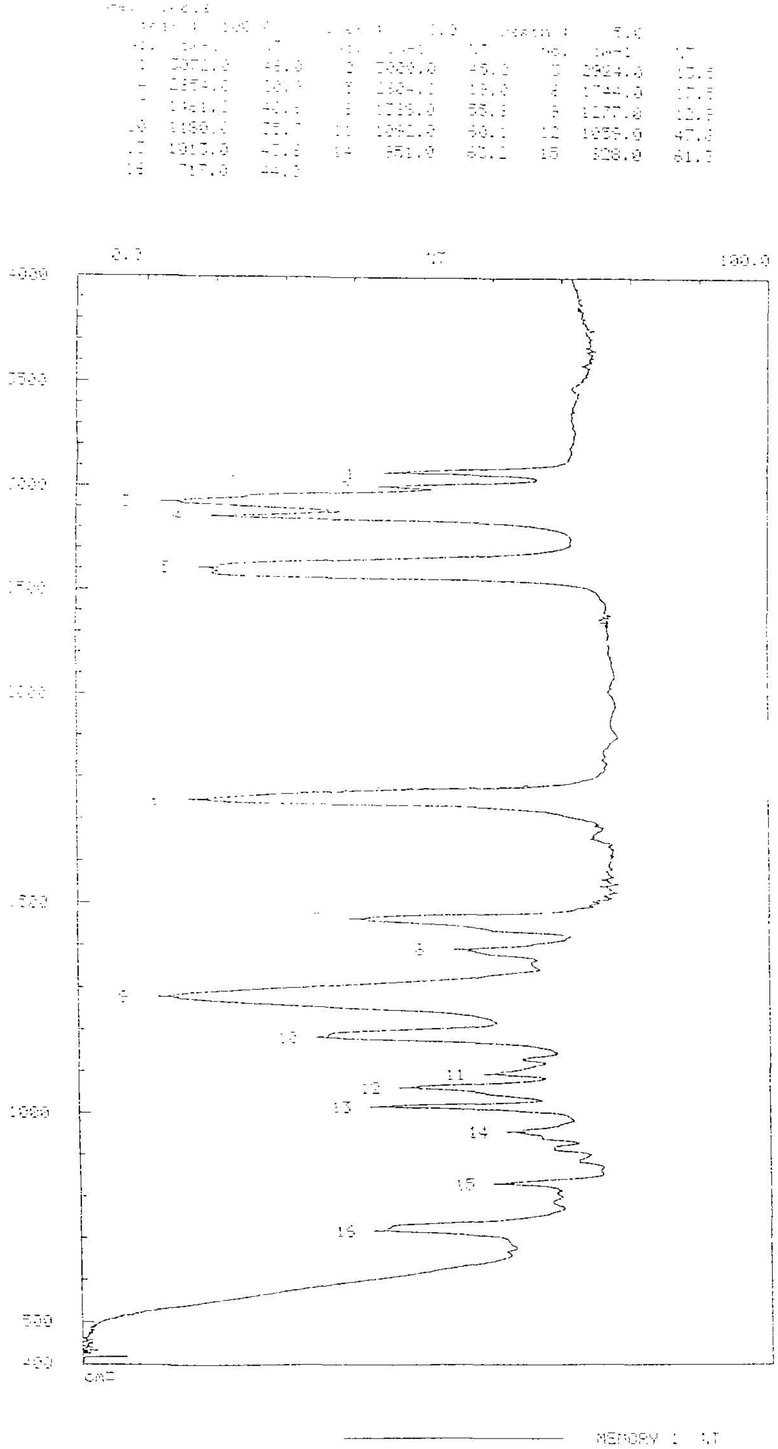
File : C:\DATA_MSD\17MAY99\0201002.D
Operator : kat
Acquired : 17 May 99 5:44 pm using AcqMethod SAM
Instrument : 5972 - In
Sample Name: sample ED
Misc Info :
Vial Number: 2



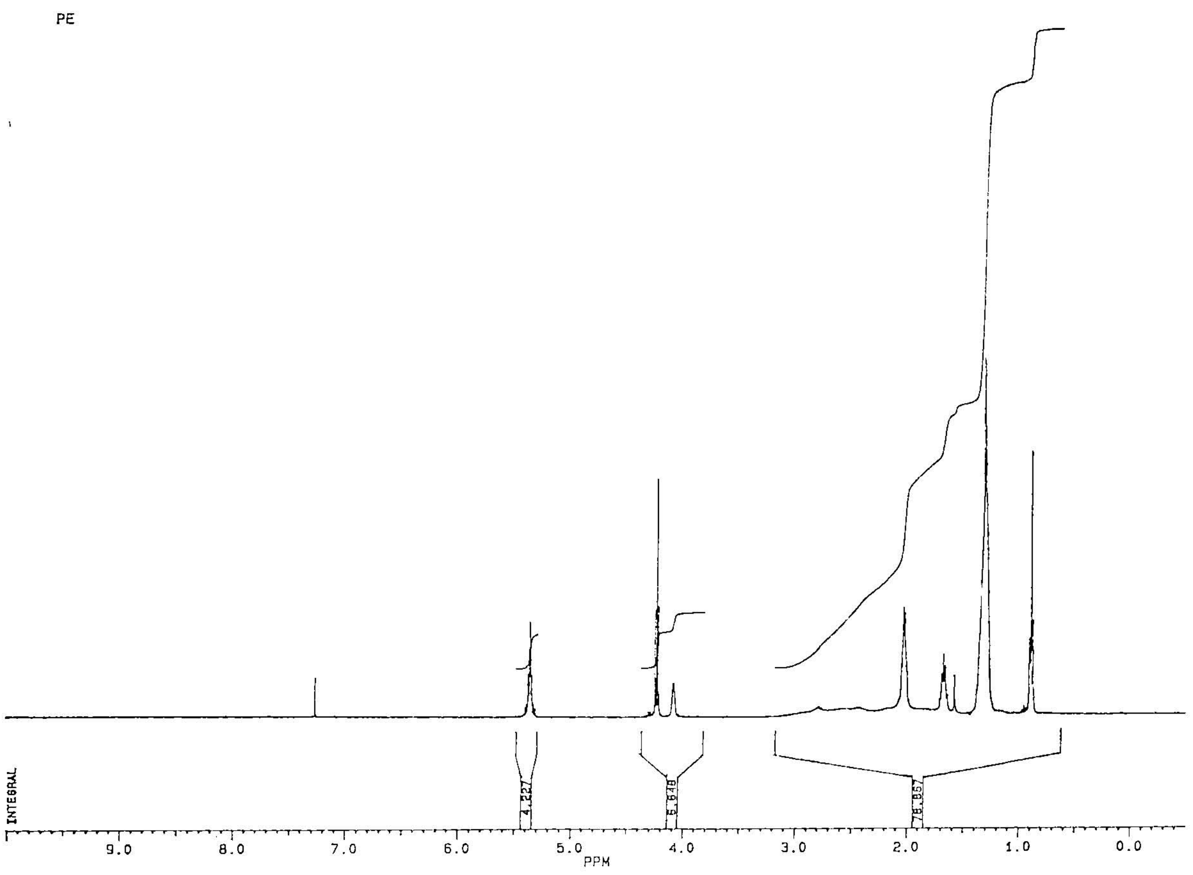
Library Searched : C:\DATABASE\WILEY138.L
Quality : 90
ID : Myristic acid, 9-octadecenyl ester, (Z)-



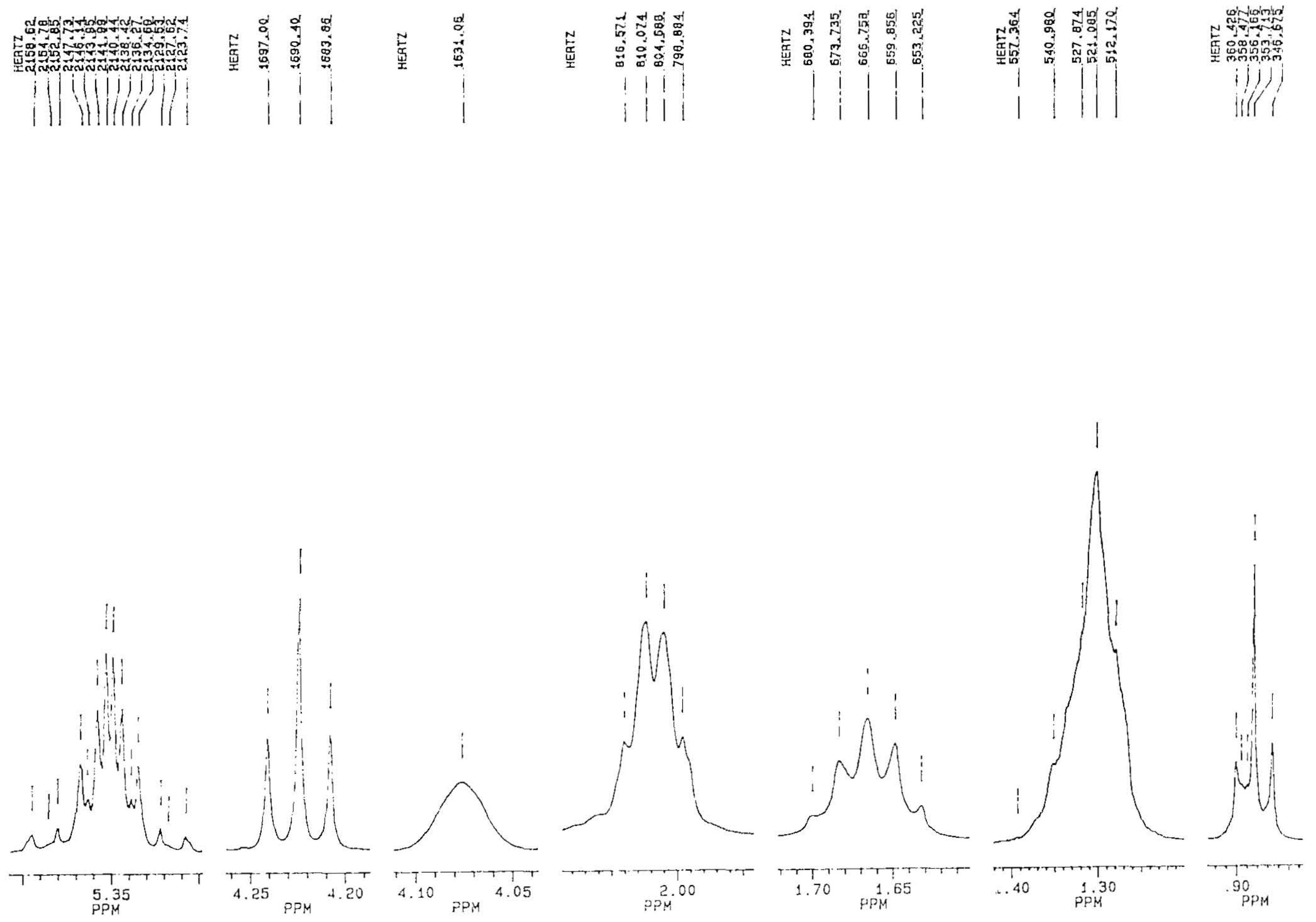
ภาพประกอบ 43 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Elaidyl carboranate



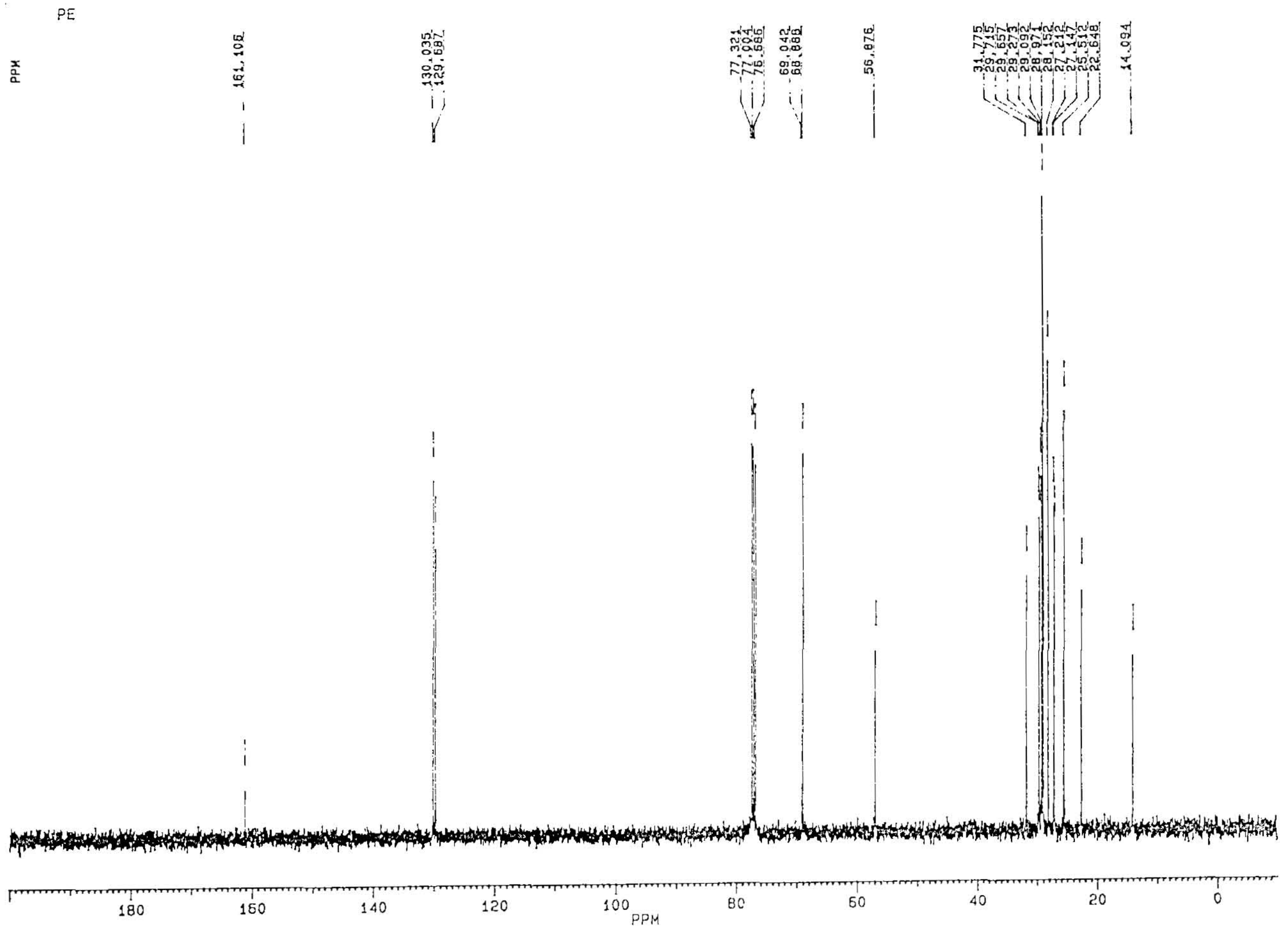
ภาพประกอบ 44 การดูดกลืนแสงอินฟราเรดของ Palmitoleyl carboranate (film)



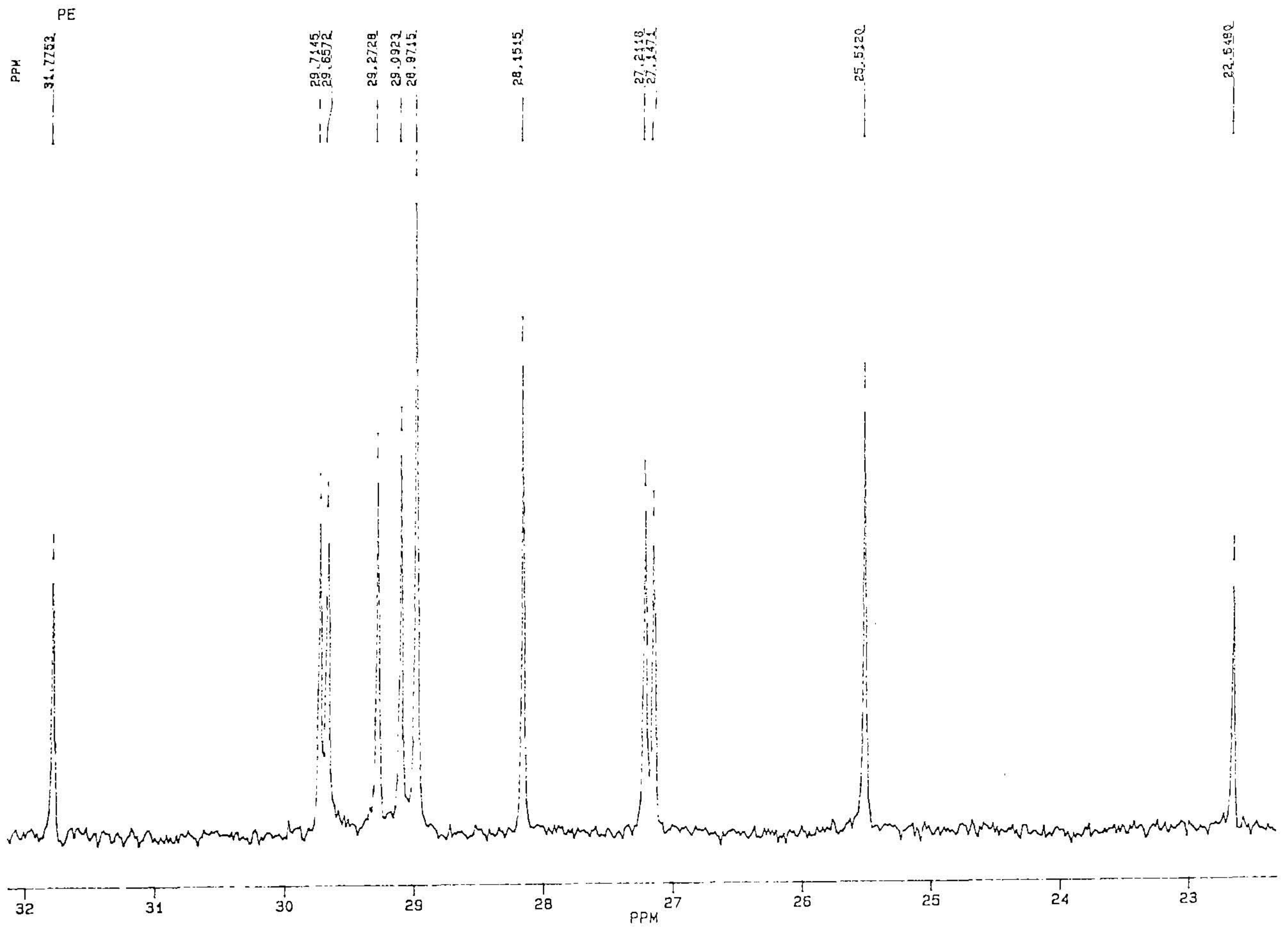
ภาพประกอบ 45 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl carboranate (400 Mz, $CDCl_3$)



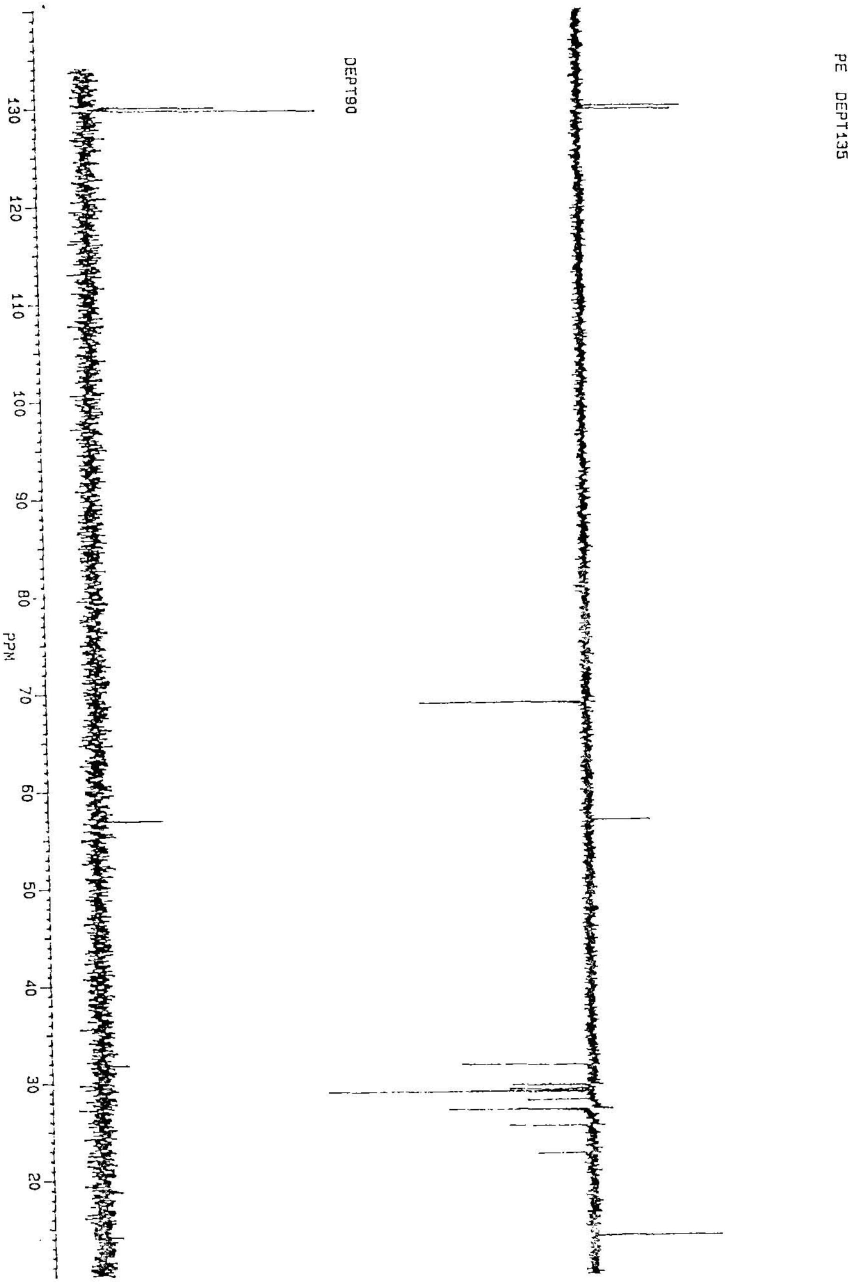
ภาพประกอบ 46 ขยายสัญญาณ ¹H NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl carboranate



ภาพประกอบ 47 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl carboranate

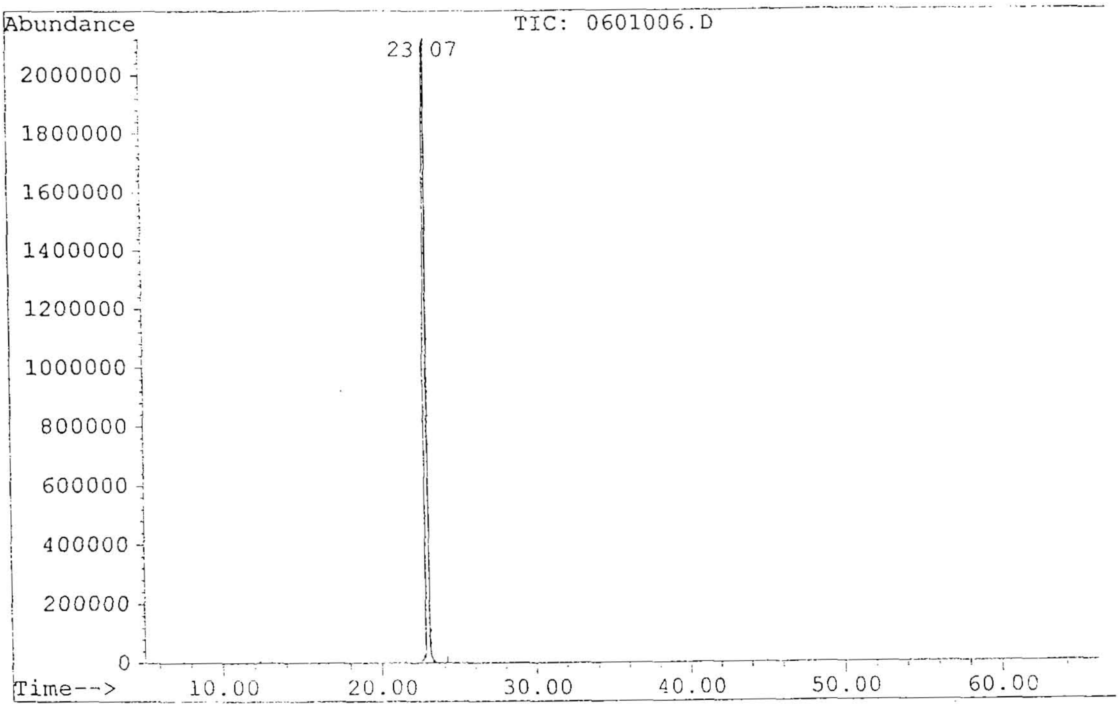


ภาพประกอบ 48 ขยายสัญญาณ ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Palmitoleyl carboranate

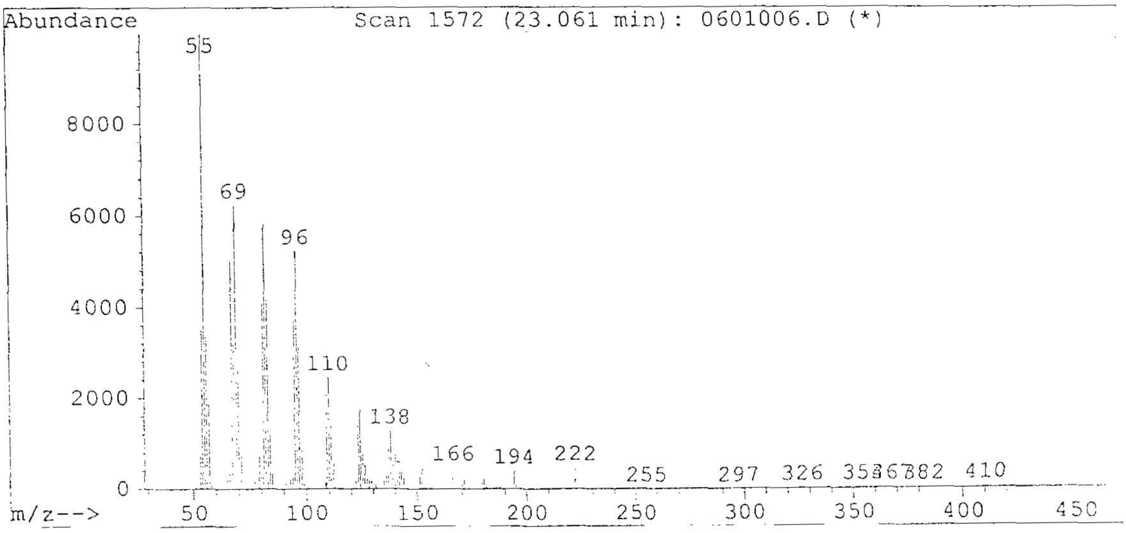


ภาพประกอบ 49 Dept 135, 90 ของ Palmitoley carboranate

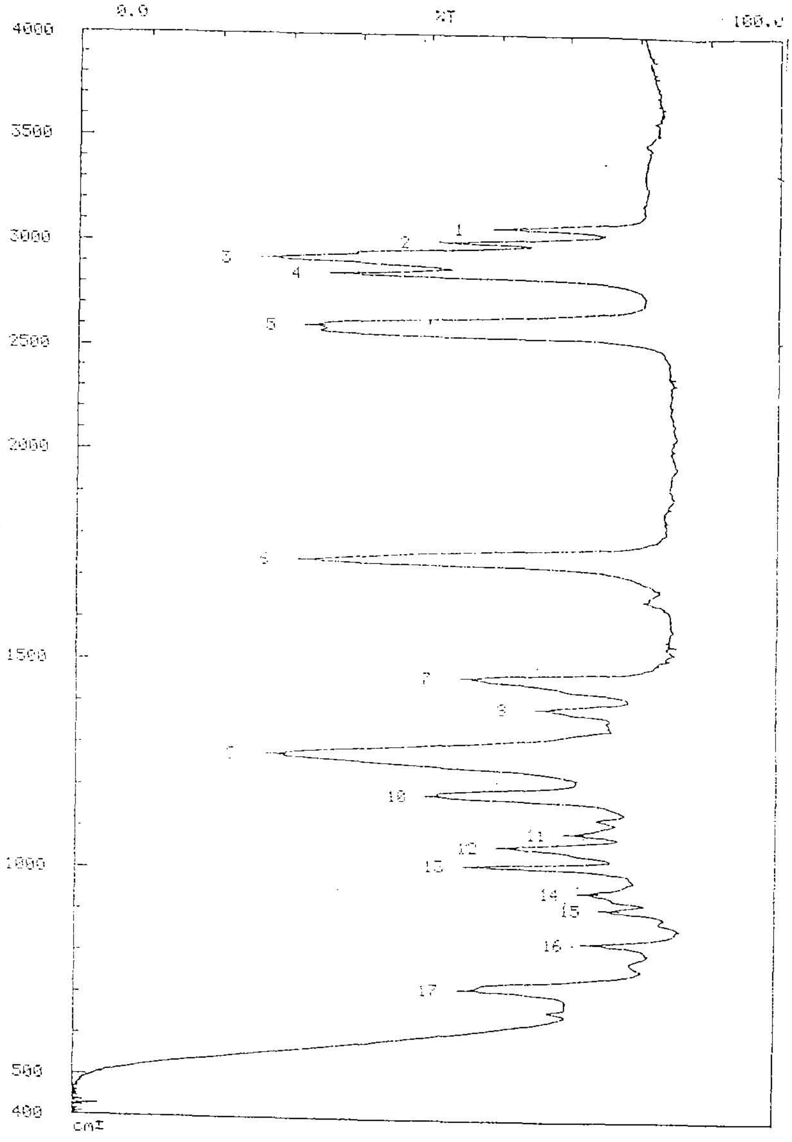
File : C:\DATA_MSD\17MAY99\0601006.D
Operator : kat
Acquired : 17 May 99 11:07 pm using AcqMethod SAM
Instrument : 5972 - In
Sample Name: sample PE
Misc Info :
Vial Number: 6



Quality : 90
ID : Myristic acid, 9-hexadecenyl ester, (Z)-



ภาพประกอบ 50 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Palmitoley carboranate



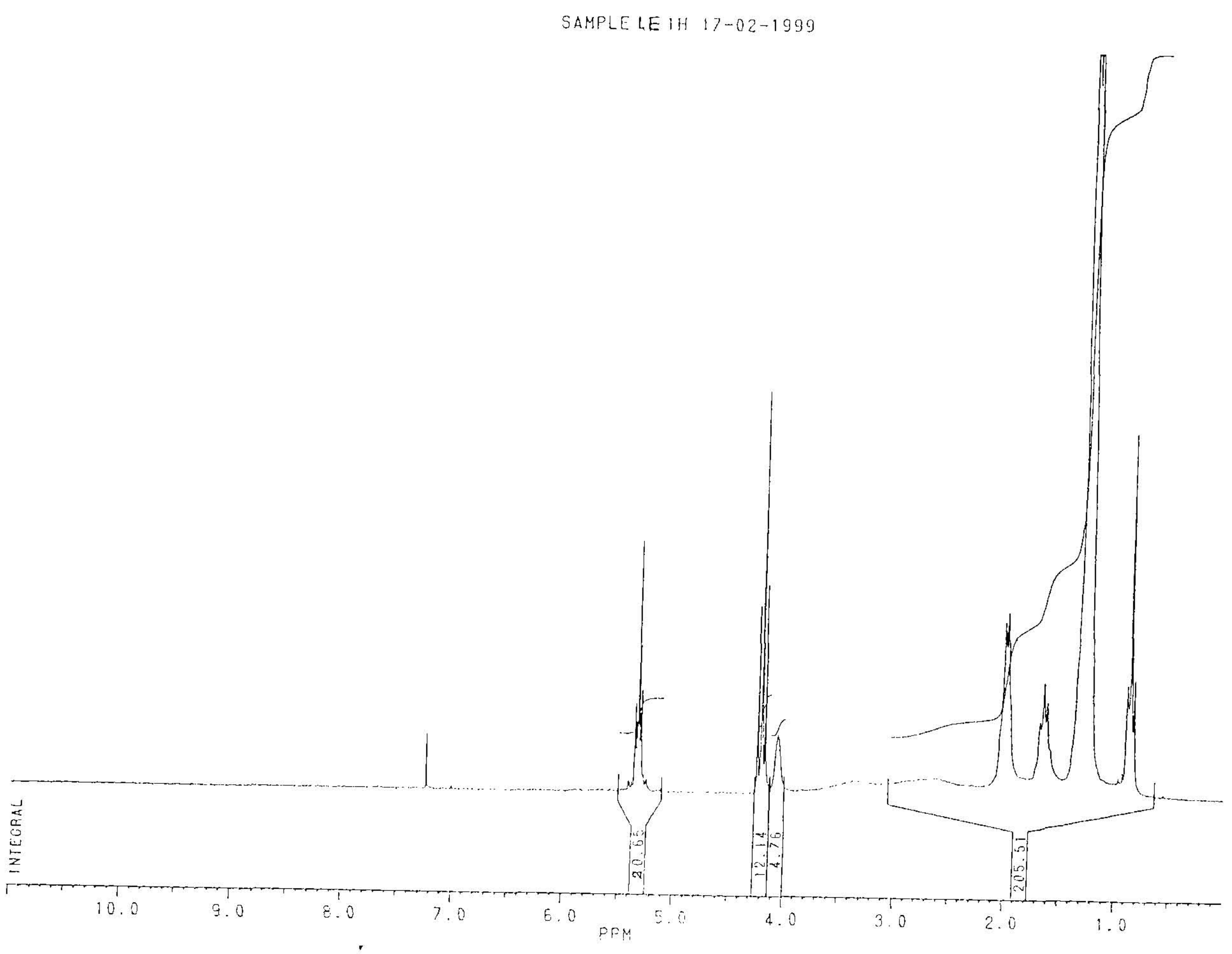
ภาพประกอบ 51 การดูดกลืนแสงอินฟาเรดของ Linoleyl carboranate (film)

MEMORY 4 %T

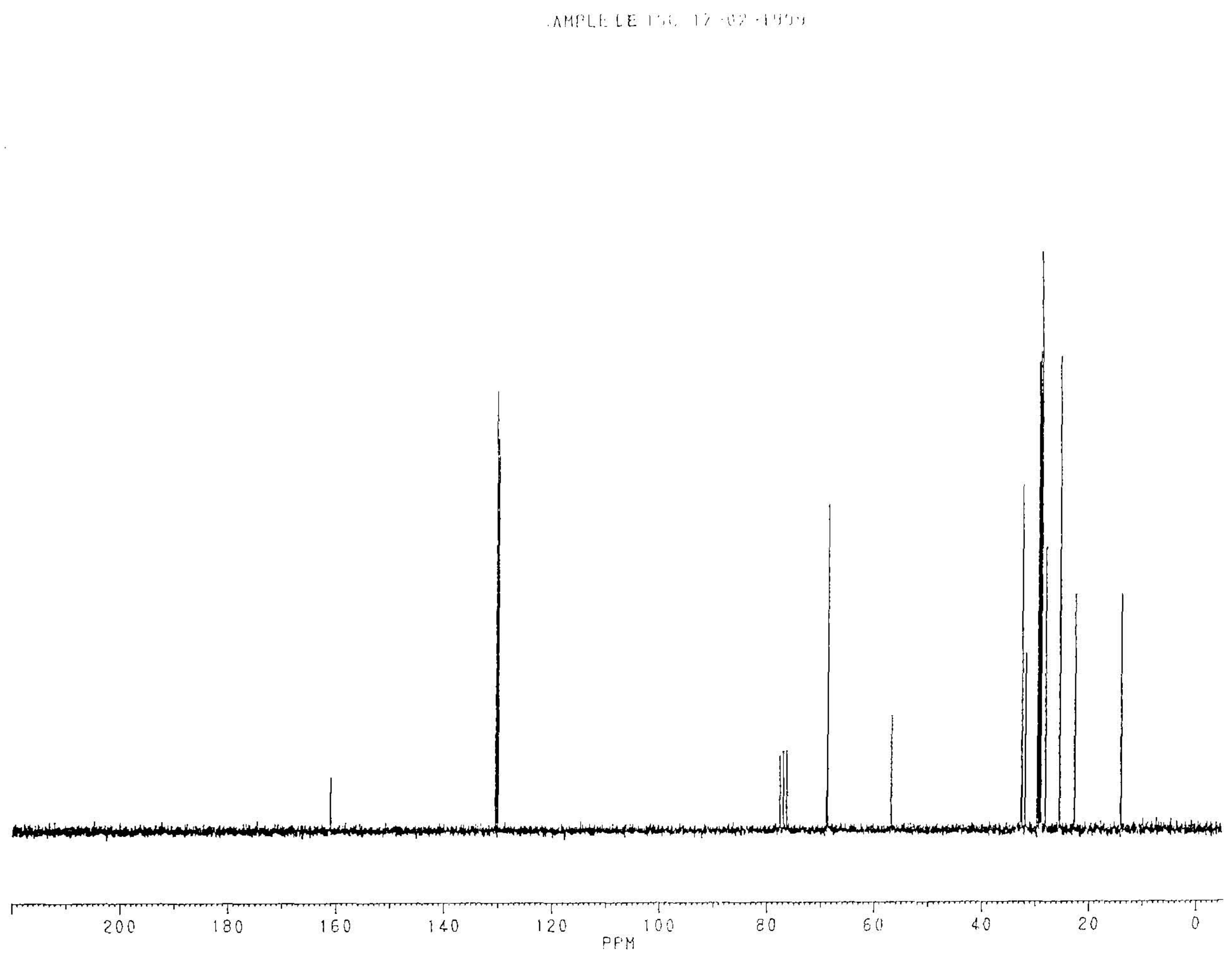
Peak table

Upper : 100.0 Lower : 0.0 Depth : 3.0

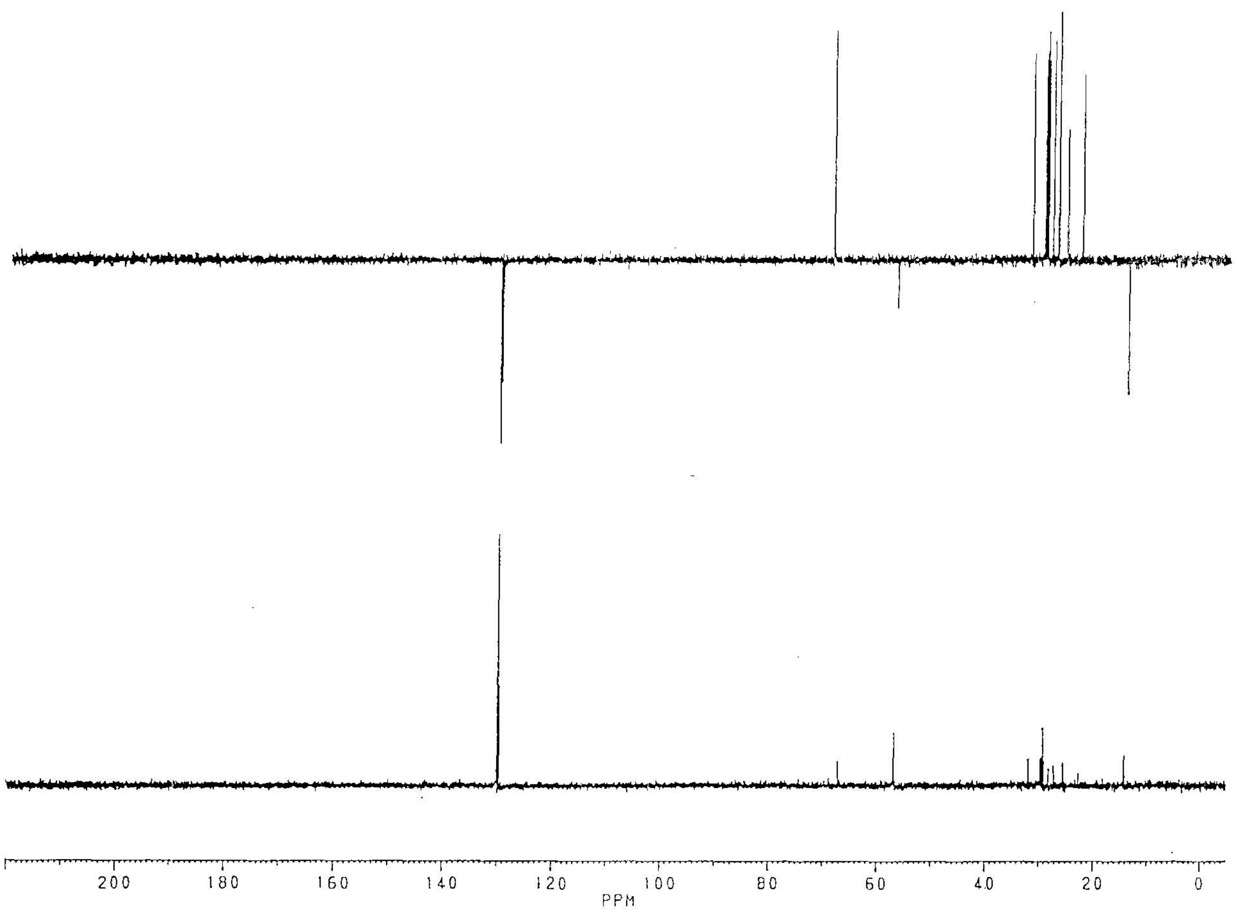
No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T
1	3072.0	60.5	2	3006.0	52.7	3	2924.0	26.9
4	2854.0	37.0	5	2606.0	33.4	6	1745.0	32.7
7	1462.0	56.4	8	1389.0	67.1	9	1278.0	28.2
10	1181.0	51.4	11	1093.0	71.6	12	1060.0	61.6
13	1014.0	56.9	14	952.0	73.6	15	912.0	76.6
[illegible]	[illegible]	[illegible]	17	717.0	56.4			



ภาพประกอบ 52 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate (300 Mz, $CDCl_3$)

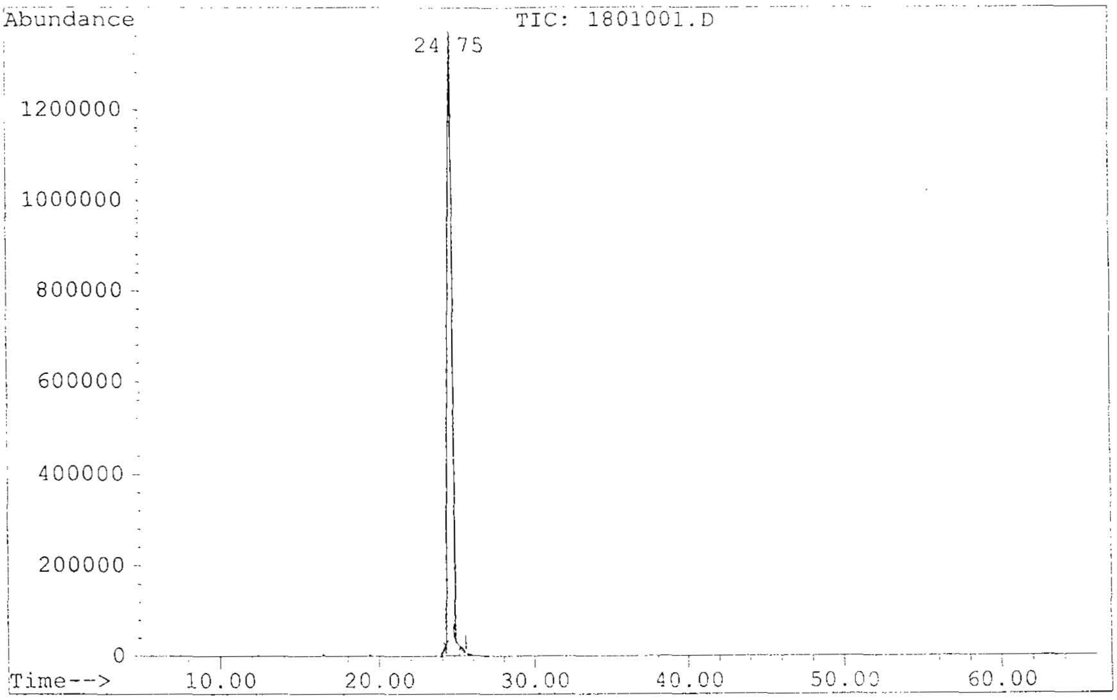


ภาพประกอบ 53 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate

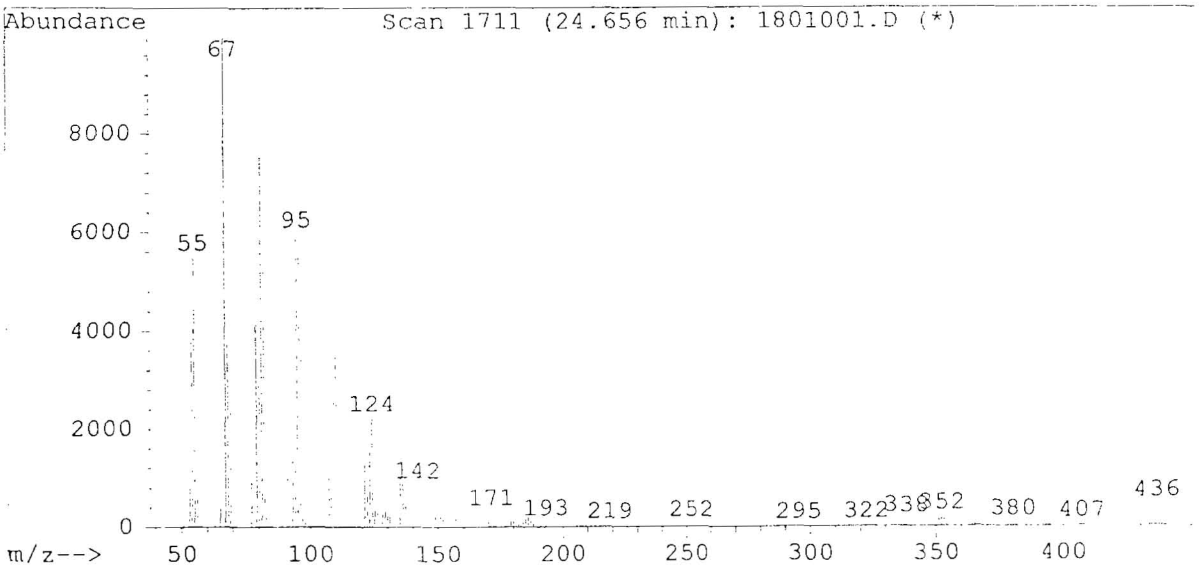


ภาพประกอบ 54 Dept 135, 90 องศา ของ Linoleyl carboranate

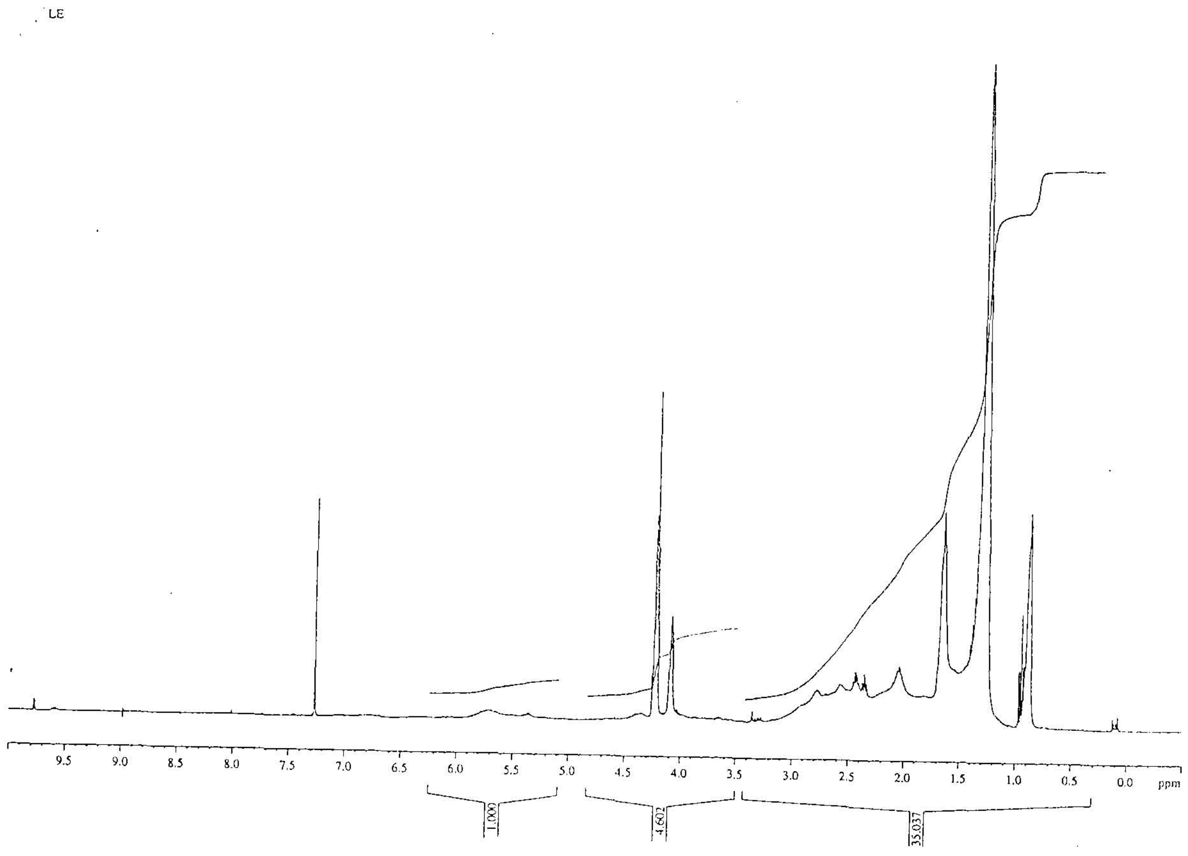
```
File         : C:\DATA_MSD\12APR99\1801001.D
Operator     : kat
Acquired     : 14 May 99  12:02 pm using AcqMethod SAM
Instrument   :    5972 - In
Sample Name: sample LE
Misc Info    :
Vial Number: 18
```



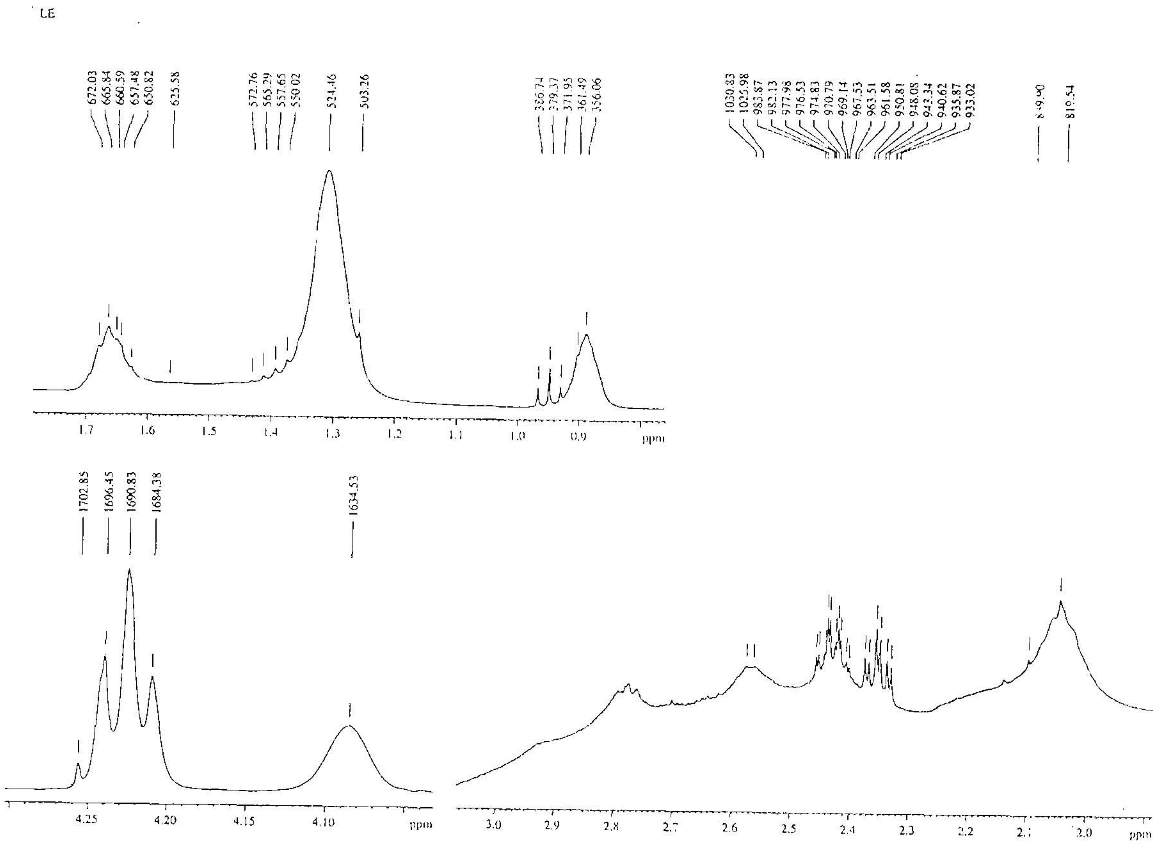

```
Library Searched : C:\DATABASE\WILEY138.L
Quality          : 87
ID               : 11,13-Eicosadienoic acid, methyl ester
```



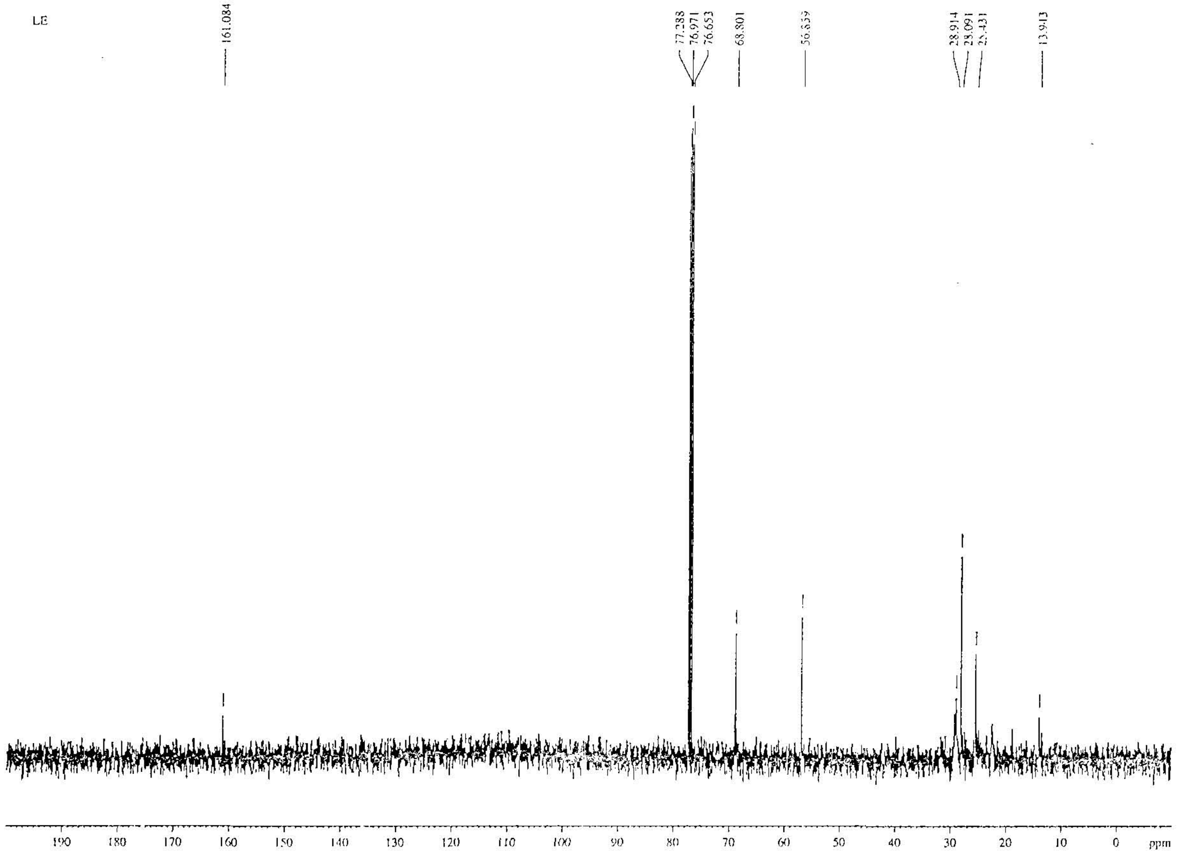
ภาพประกอบ 55 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate



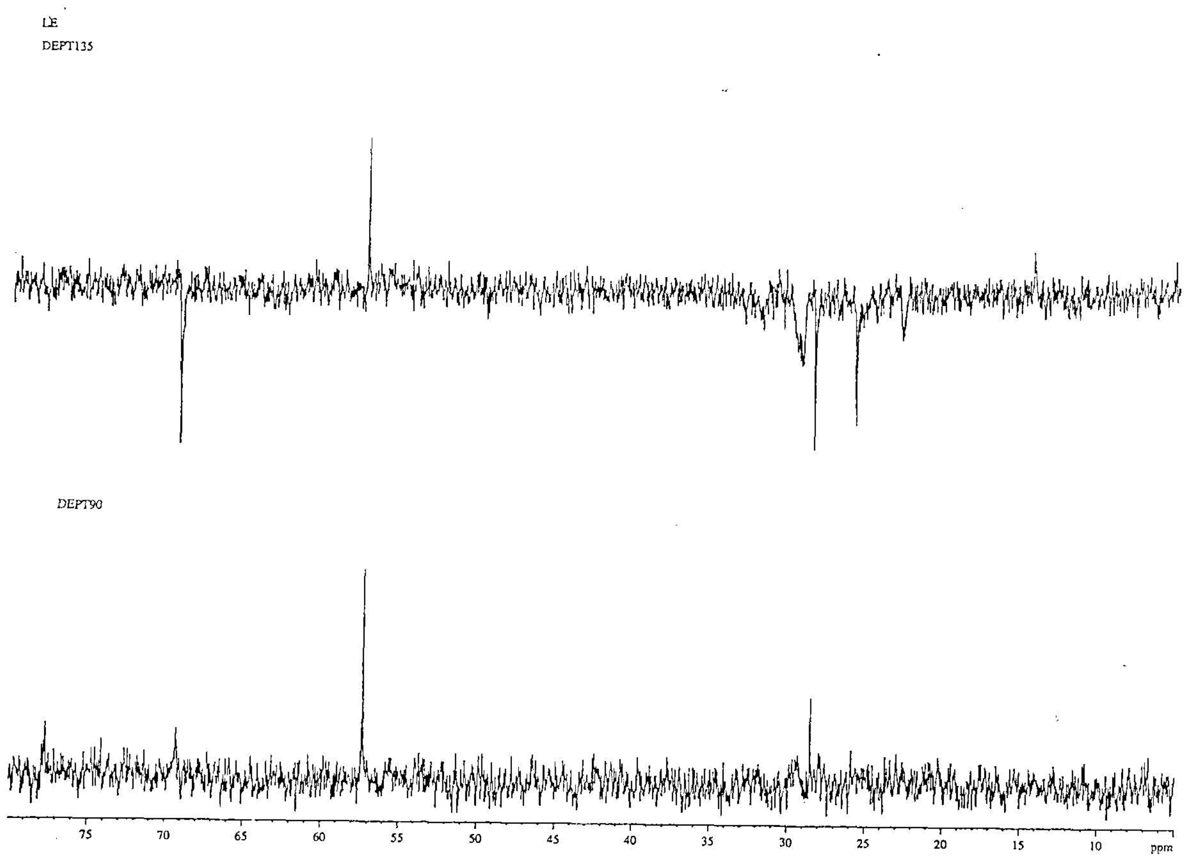
ภาพประกอบ 56 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์ (400 Mz, $CDCl_3$)



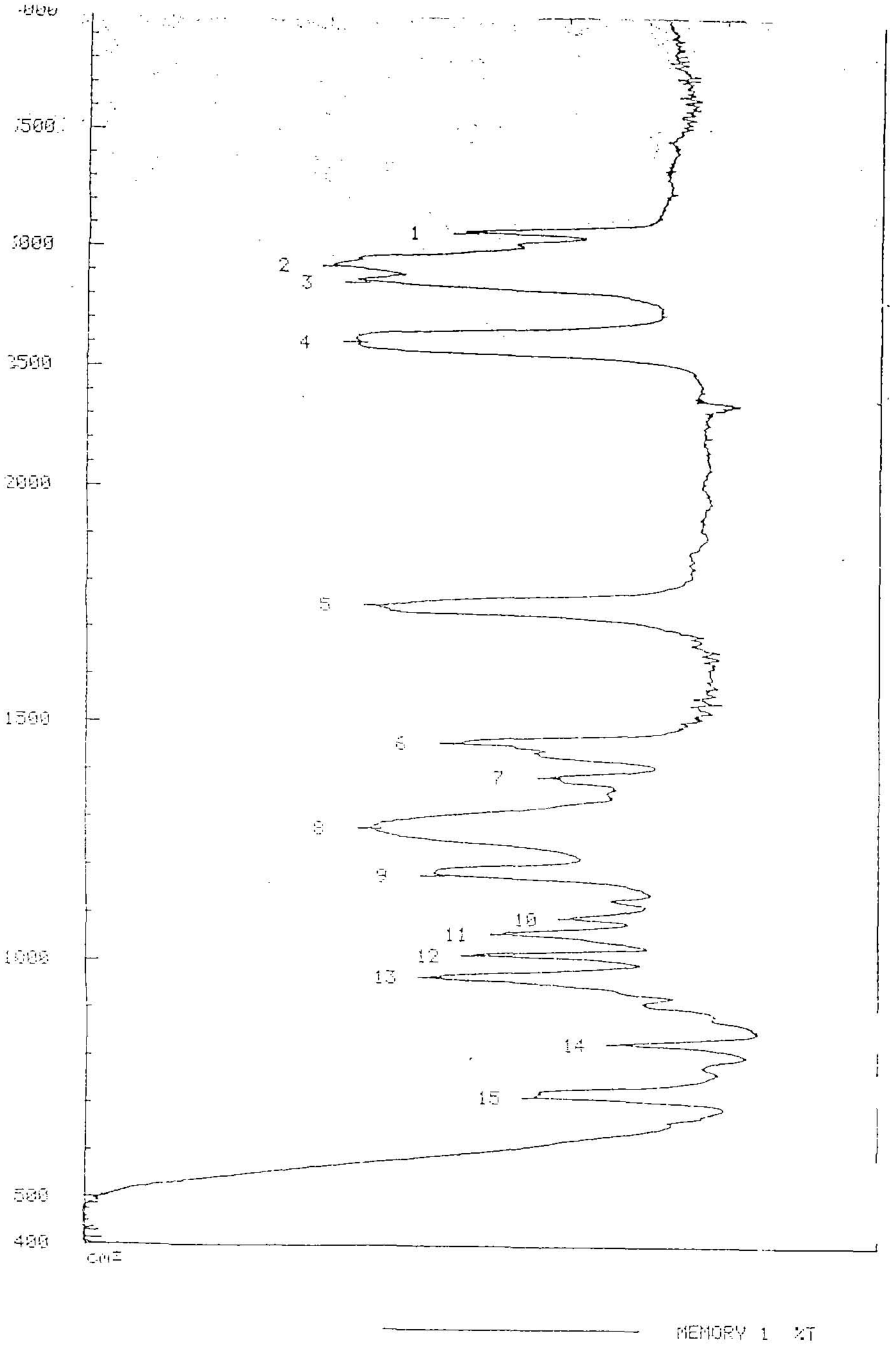
ภาพประกอบ 57 ขยาย ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์



ภาพประกอบ 58 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Linoleyl carboranate หลังจากสังเคราะห์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์



ภาพประกอบ 59 Dept 135, 90 องศา ของ Linoleyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์

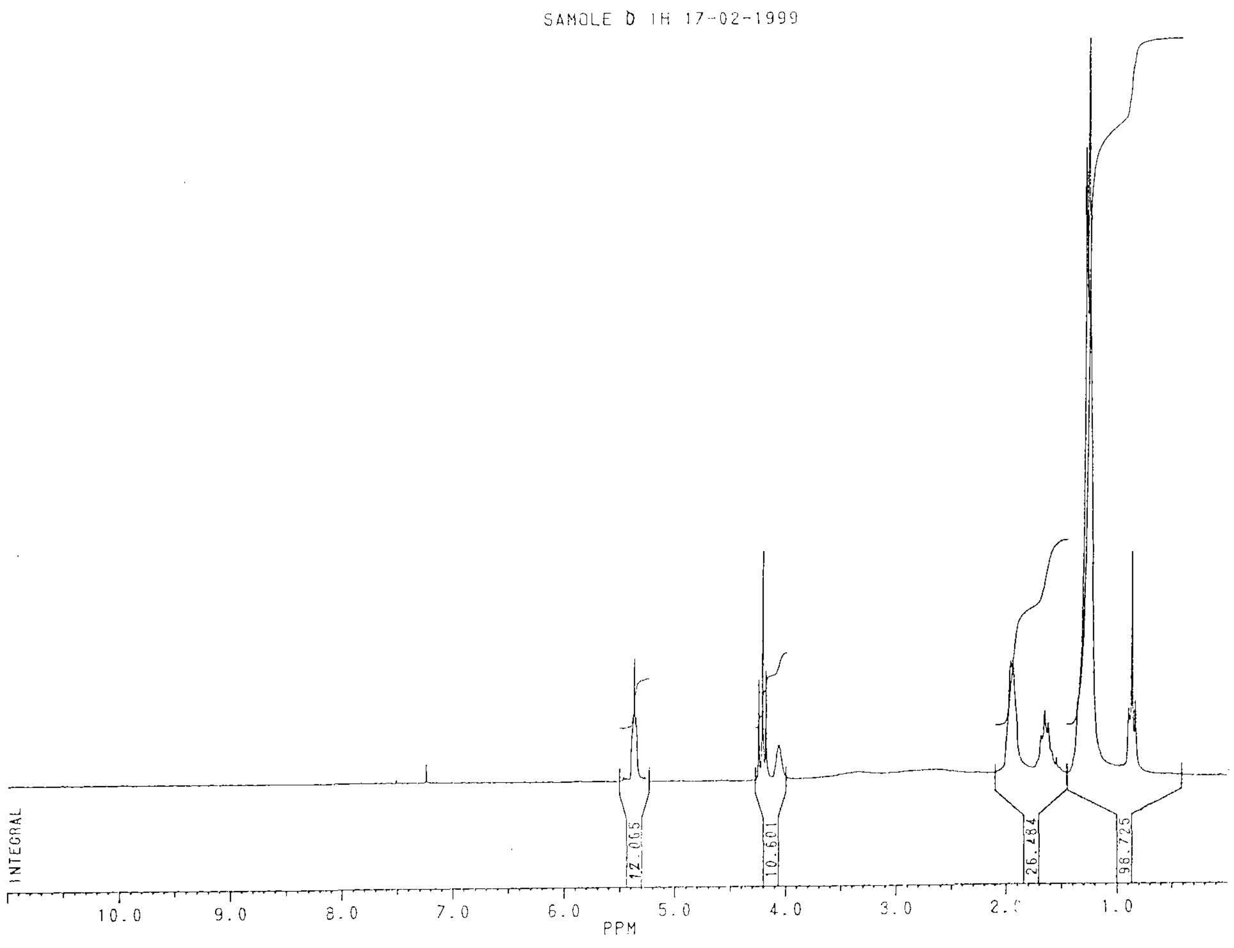


ภาพประกอบ 60 การดูดกลืนแสงอินฟาเรดของ Linoelaidyl carboranate (film)

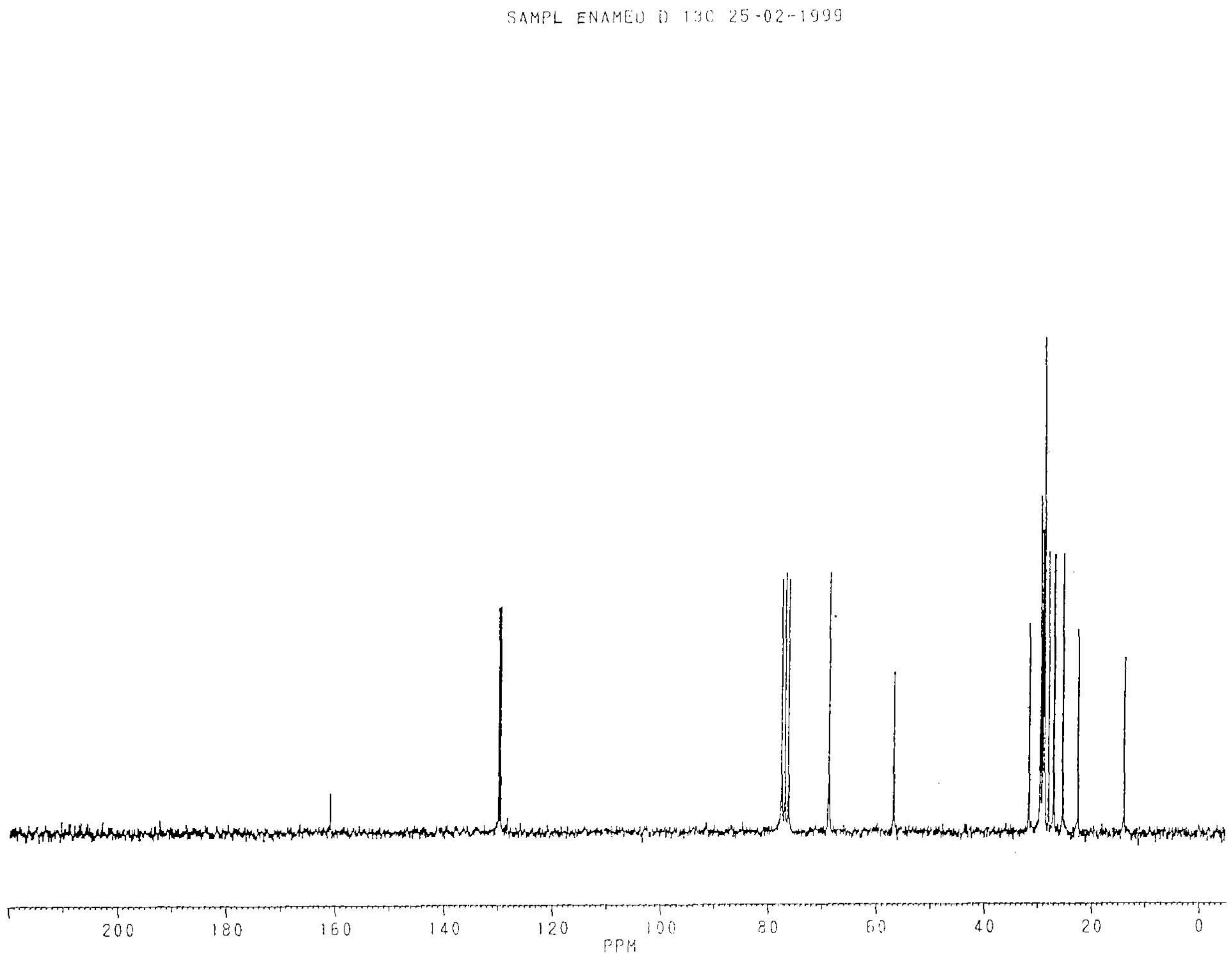
Peak table

Upper : 100.0 Lower : 0.0 Depth : 5.0

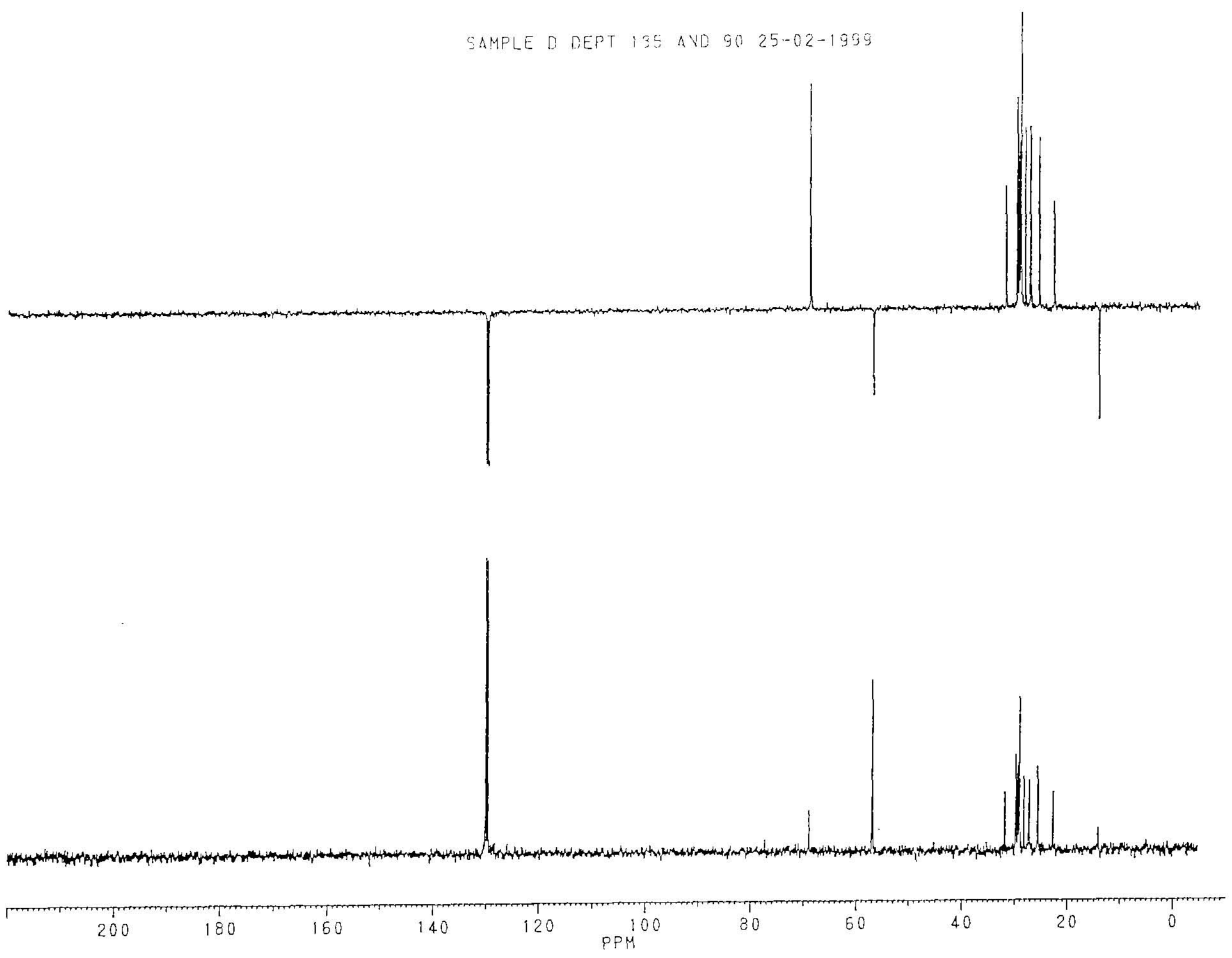
No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T	No.	cm-1	%T
1	3070.0	47.3	2	2920.0	30.9	3	2852.0	33.9
4	2604.0	33.6	5	1749.0	36.5	6	1457.0	46.1
7	1386.0	58.3	8	1277.0	35.8	9	1180.0	43.7
10	1091.0	60.9	11	1058.0	52.4	12	1013.0	48.6
13	967.0	43.4	14	828.0	67.2	15	717.0	56.4



ภาพประกอบ 61 ^1H NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate (300 Mz, $CDCl_3$)

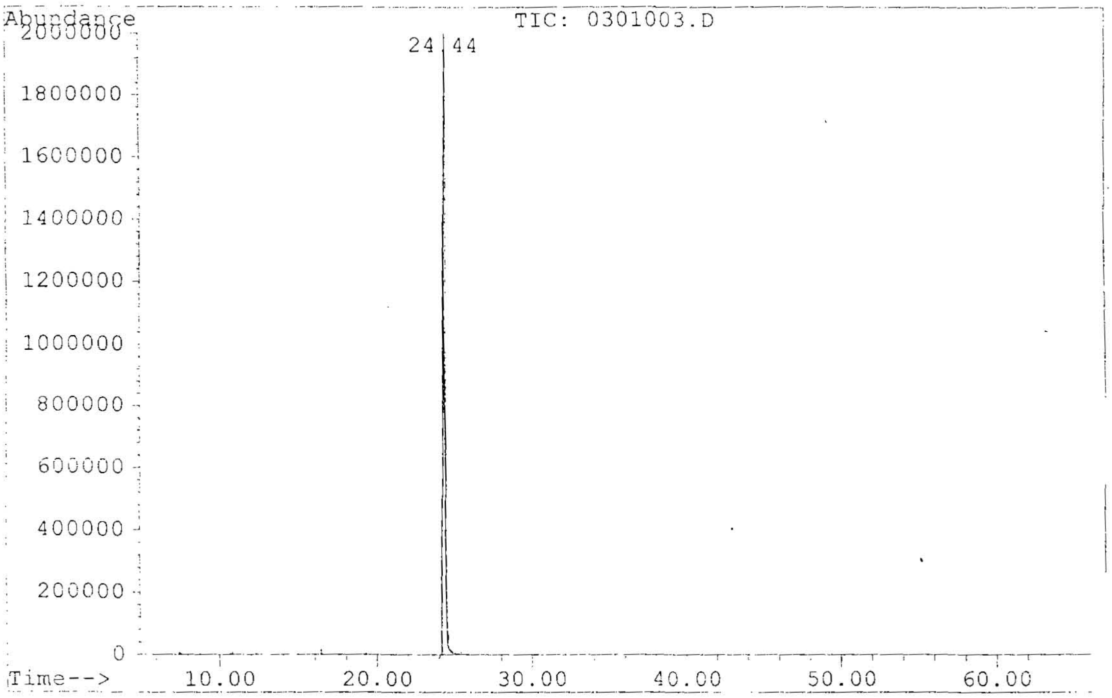


ภาพประกอบ 62 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate

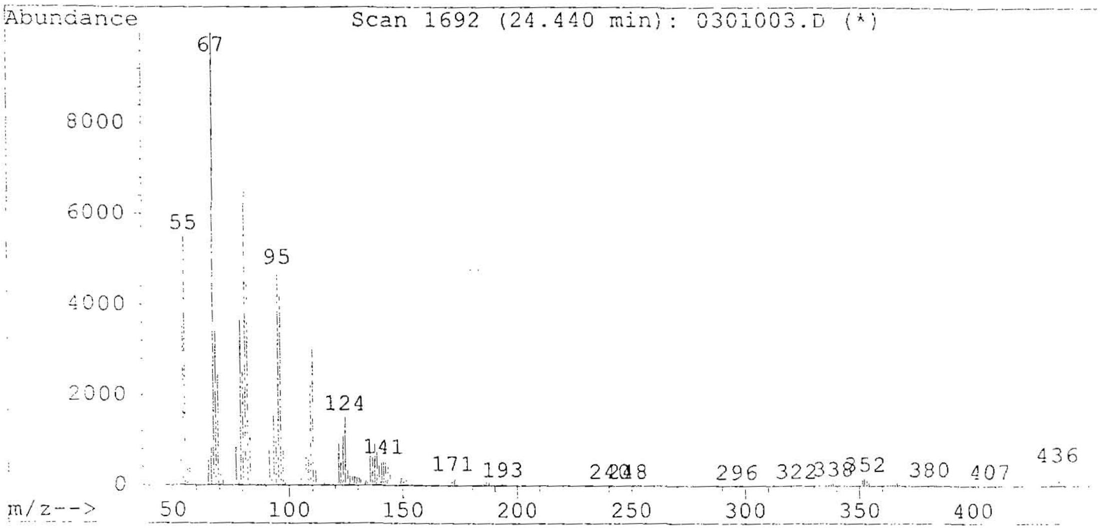


ภาพประกอบ 63 Dept 135, 90 องศา ของ Linoelaidyl carboranate

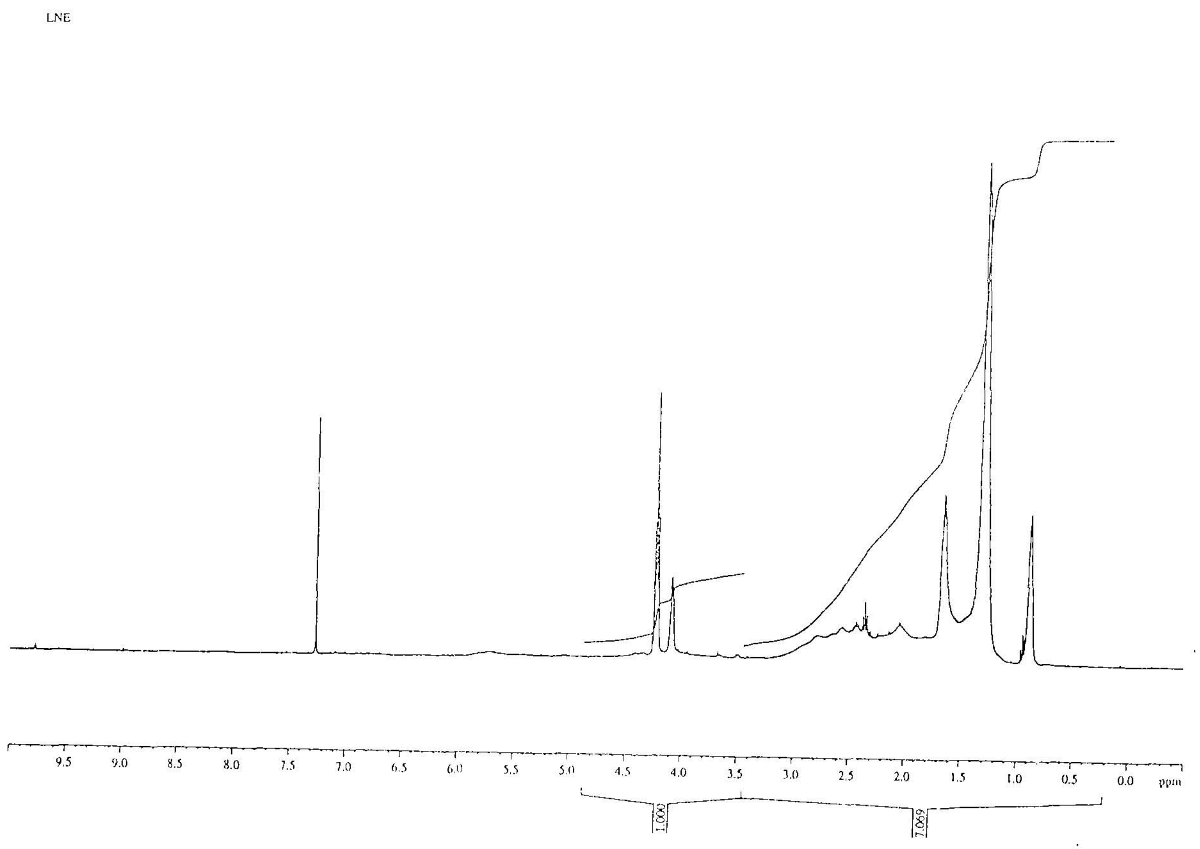
```
File          : C:\DATA_MSD\17MAY99\0301003.D
Operator      : kat
Acquired      : 17 May 99   7:05 pm using AcqMethod SAM
Instrument :     5972 - In
Sample Name: sample LNF
Misc Info   :
Vial Number: 3
```



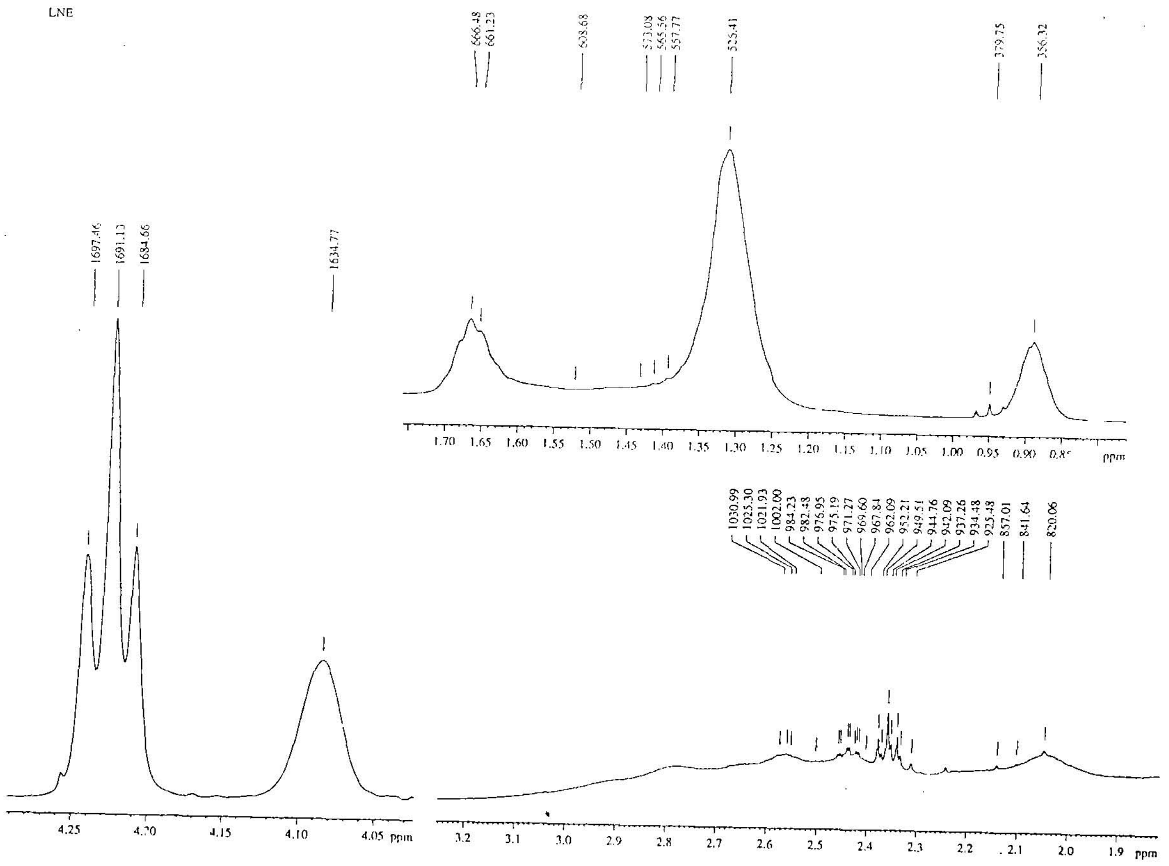

```
Library Searched : C:\DATABASE\WILEY138.L
Quality          : 80
ID               : 11,13-Eicosadienoic acid, methyl ester
```



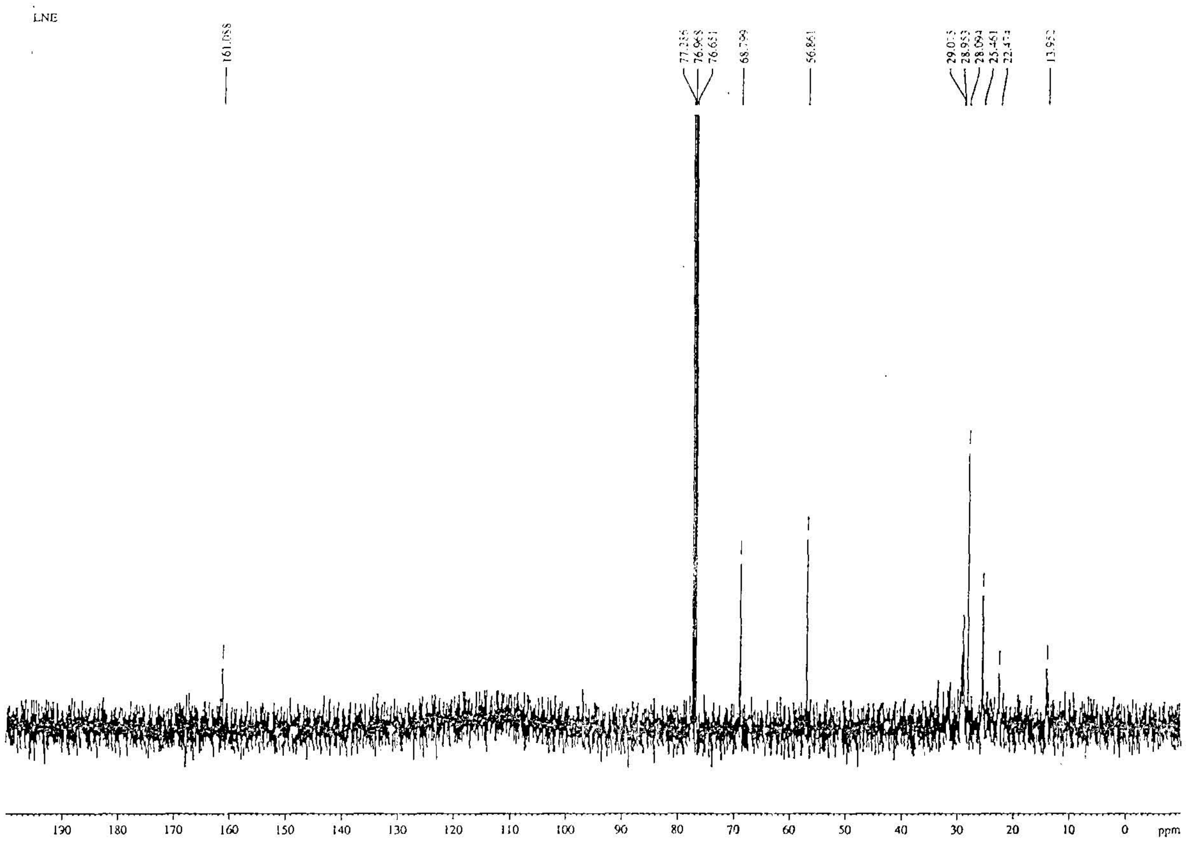
ภาพประกอบ 64 Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate



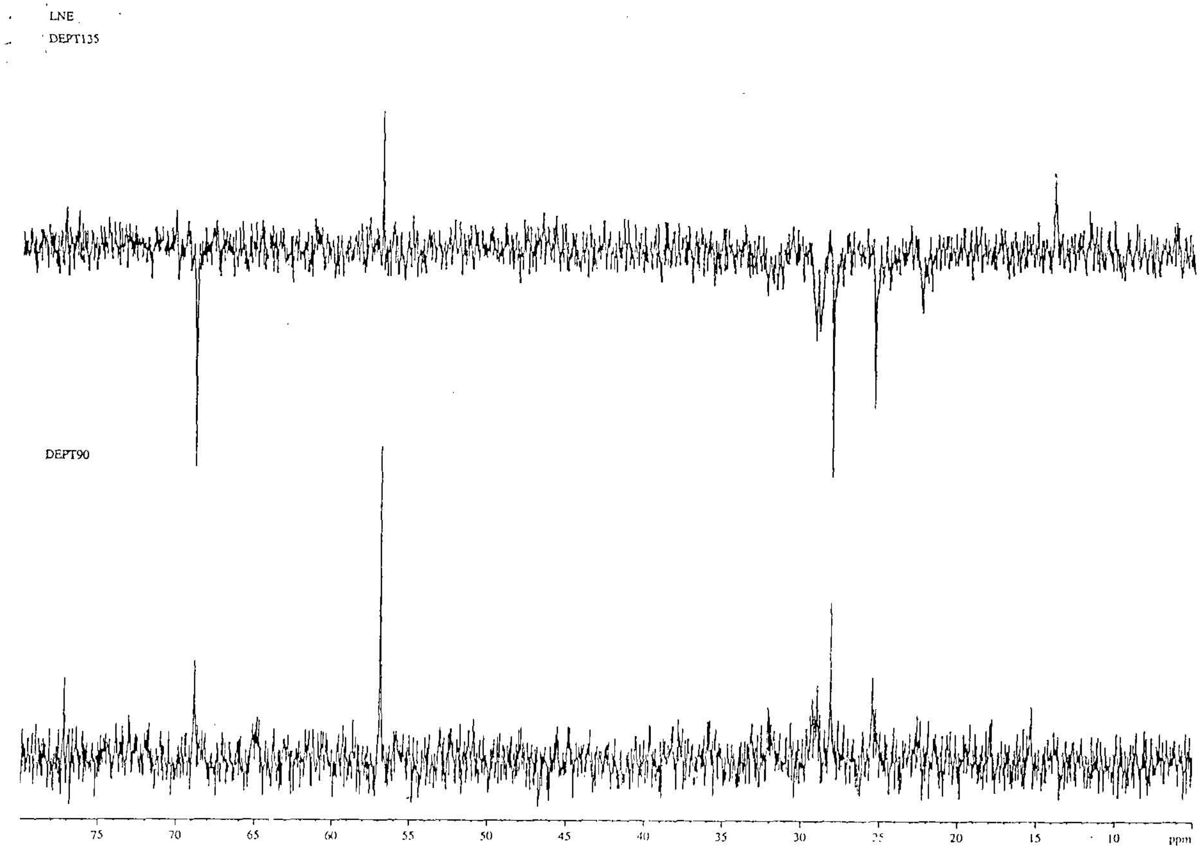
ภาพประกอบ 65 ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์ (400 Mz, $CDCl_3$)



ภาพประกอบ 66 ขยาย ^{1}H NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์



ภาพประกอบ 67 ^{13}C NMR สเปกตรัมของ Linoelaidyl carboranate หลังจากสังเคราะห์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์



ภาพประกอบ 68 Dept 135, 90 องศา ของ Linoelaidyl carboranate หลังจากสังเคราะห์เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์

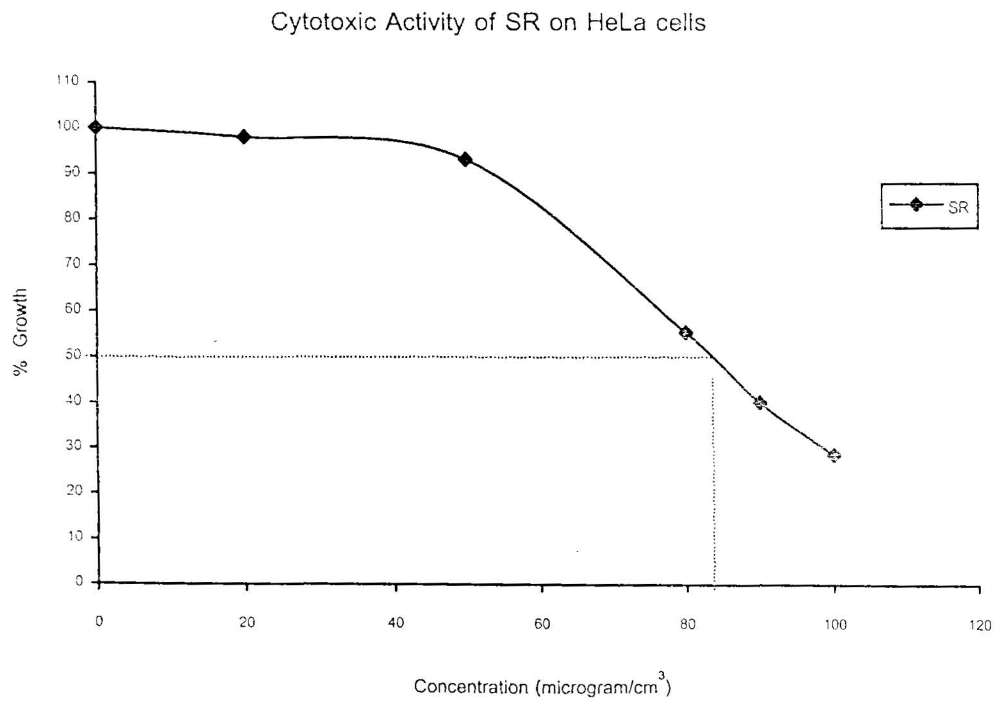
ตาราง 16 ค่า % growth ของ Stearyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa

ความเข้มข้น $\mu g/cm^3$	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3		เฉลี่ย
	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	Mean ± S.D.
20	0.176	97.0	0.178	98.1	0.180	99.2	98.1 ± 0.89
50	0.164	90.6	0.170	93.8	0.173	95.5	93.3 ± 2.03
60	0.166	91.8	0.158	87.4	0.168	92.9	90.7 ± 2.37
80	0.102	56.3	0.095	52.7	0.104	57.5	55.5 ± 2.03
90	0.073	40.4	0.077	42.5	0.068	37.7	40.2 ± 1.96
100	0.052	28.8	0.049	26.9	0.055	30.4	28.7 ± 1.43

O.D. Day 4 / O.D. Day 0 = 0.181 / 0.043

= 4.2 เท่า

ภาพประกอบ 69 IC_{50} ของ Stearyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa



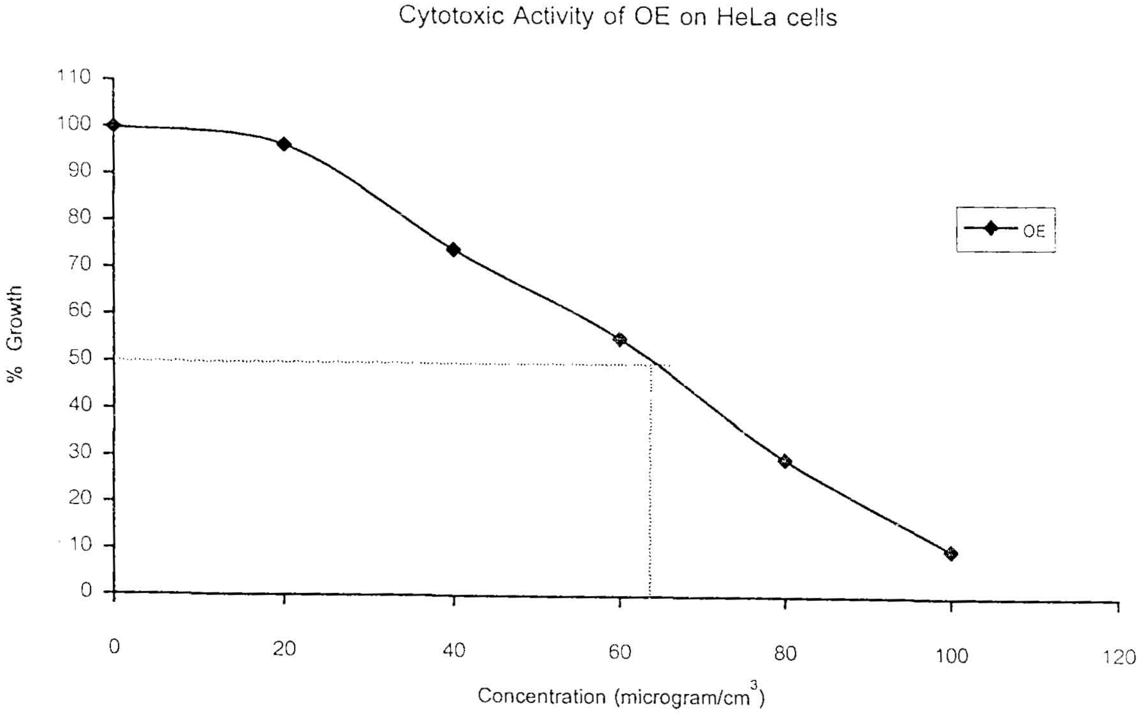
ตาราง 17 ค่า % growth ของ Oleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa

วามเข้มข้น	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3		เฉลี่ย
μg/cm^3	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	Mean ± S.D.
20	0.164	93.4	0.173	98.3	0.171	97.2	96.3 ± 2.09
40	0.132	75.1	0.125	71.2	0.134	76.3	74.2 ± 2.17
60	0.096	54.3	0.094	53.2	0.103	58.4	55.3 ± 2.23
80	0.054	30.5	0.046	26.3	0.057	32.3	29.7 ± 2.51
100	0.015	8.4	0.018	10.2	0.021	12.3	10.3 ± 1.59

O.D. Day 4 / O.D. Day 0 = 0.176 / 0.044

= 4.0 เท่า

ภาพประกอบ 70 IC_{50} ของ Oleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa



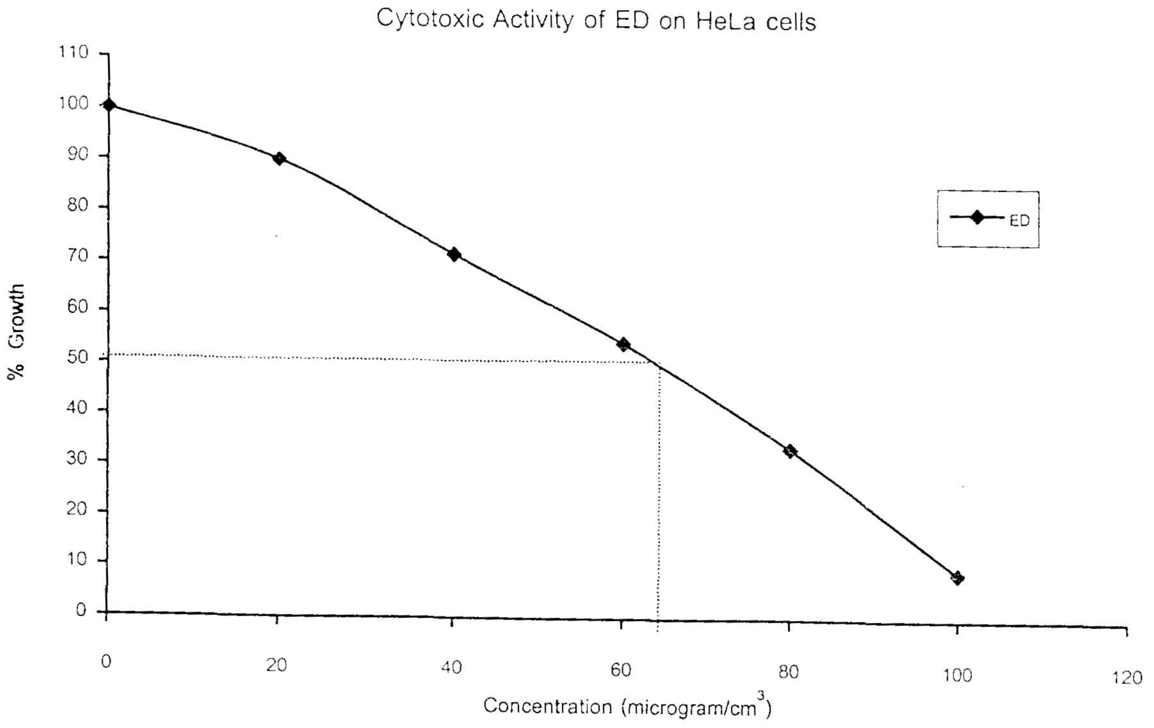
ตาราง 18 ค่า % growth ของ Elaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa

ความเข้มข้น	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3		เฉลี่ย
μg/cm^3	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	Mean ± S.D.
20	0.158	86.8	0.163	89.6	0.171	93.9	90.1 ± 2.92
40	0.132	72.8	0.125	68.6	0.134	73.7	71.7 ± 2.22
60	0.100	54.9	0.093	51.3	0.103	56.7	54.3 ± 2.24
80	0.066	36.6	0.055	30.4	0.062	34.1	33.7 ± 2.54
100	0.015	8.4	0.014	7.7	0.021	11.5	9.2 ± 1.65

O.D. Day 4 / O.D. Day 0 = 0.182 / 0.048

= 3.8 เท่า

ภาพประกอบ 71 IC_{50} ของ Elaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa



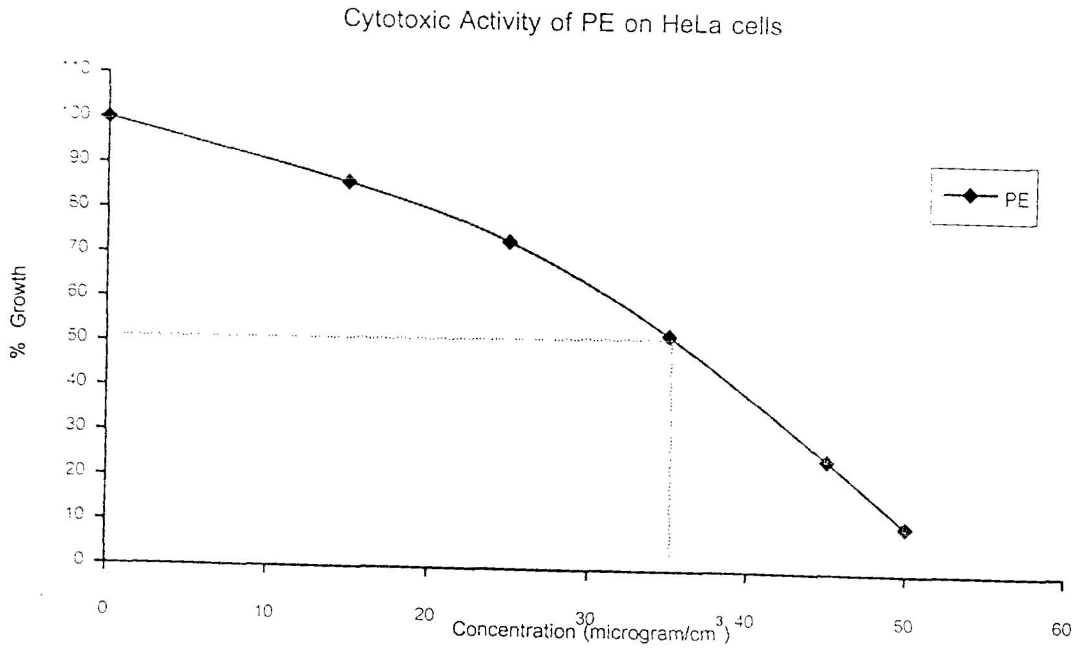
ตาราง 19 ค่า % growth ของ Palmitoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa

ความเข้มข้น	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3		เฉลี่ย
μg/cm^3	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	Mean ± S.D.
15	0.152	85.4	0.159	89.3	0.149	83.9	86.2 ± 2.27
25	0.133	74.6	0.125	70.2	0.135	75.7	73.5 ± 2.37
35	0.094	52.7	0.089	50.3	0.098	55.1	52.7 ± 1.96
45	0.049	27.5	0.042	23.7	0.044	24.7	25.3 ± 1.60
50	0.015	8.4	0.020	11.2	0.022	12.5	10.7 ± 1.71

O.D. Day 4 / O.D. Day 0 = 0.178 / 0.048

= 3.7 เท่า

ภาพประกอบ 72 IC_{50} ของ Palmitoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa



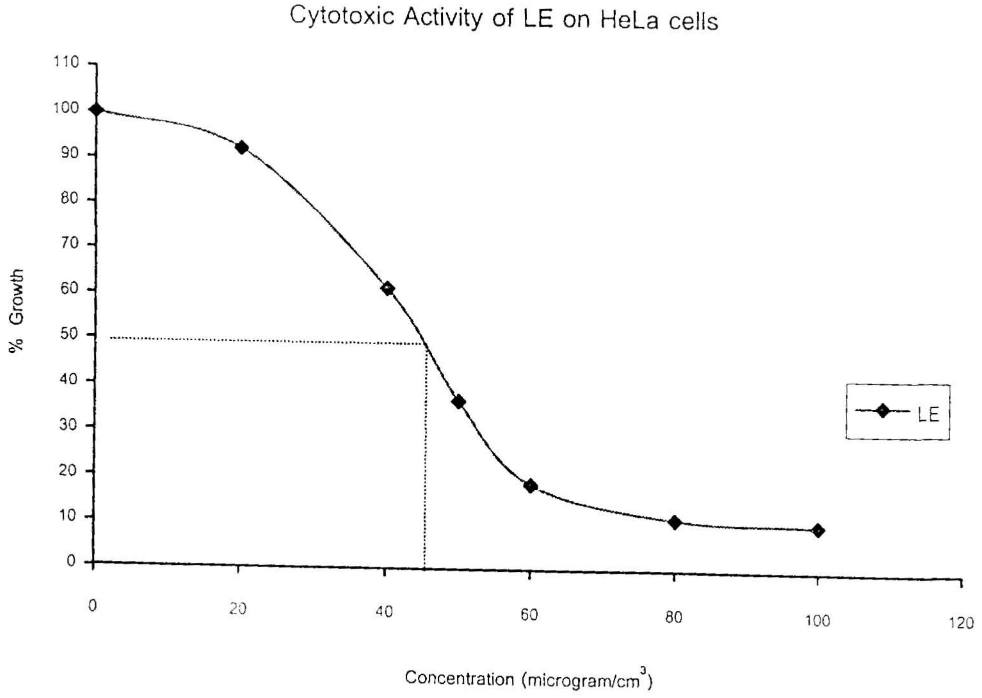
ตาราง 20 ค่า % growth ของ Lainoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa

ความเข้มข้น	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3		เฉลี่ย
$\mu g/cm^3$	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	Mean ± S.D.
20	0.177	90.2	0.188	95.4	0.180	91.3	92.3 ± 2.23
40	0.117	59.4	0.119	60.6	0.128	65.1	61.7 ± 2.45
50	0.079	40.3	0.071	36.2	0.068	34.5	37.7 ± 2.43
60	0.038	19.2	0.032	16.4	0.040	20.5	18.7 ± 1.71
80	0.018	9.4	0.025	12.6	0.024	12.2	11.4 ± 1.42
100	0.016	8.5	0.024	12.5	0.018	8.9	10.3 ± 1.79

O.D. Day 4 / O.D. Day 0 = 0.197 / 0.048

= 4.1 เท่า

ภาพประกอบ 73 IC_{50} ของ Lainoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa



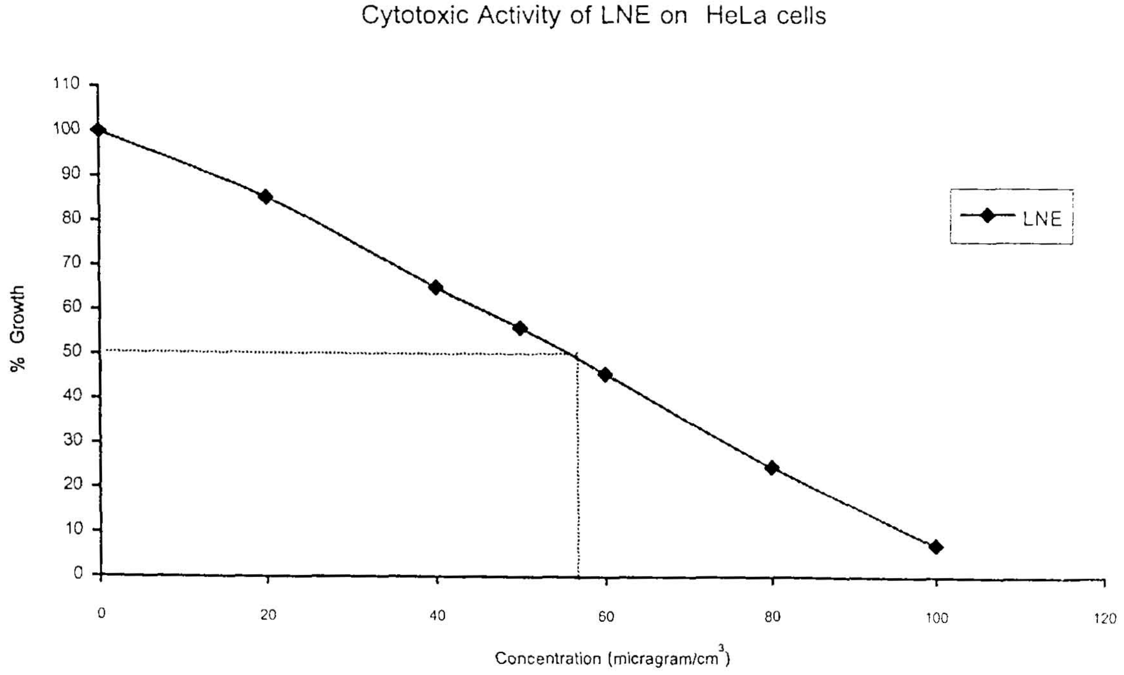
ตาราง 21 ค่า % growth ของ Lainoelaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa

ความเข้มข้น $\mu g/cm^3$	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3		เฉลี่ย
	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	O.D.	% Growth	Mean ± S.D.
20	0.138	82.5	0.144	86.6	0.145	87.1	85.4 ± 2.06
40	0.107	63.9	0.112	67.2	0.108	64.8	65.3 ± 1.39
50	0.092	55.3	0.100	60.2	0.088	52.8	56.1 ± 3.07
60	0.077	46.4	0.073	43.6	0.079	47.1	45.7 ± 1.51
80	0.038	22.7	0.042	25.5	0.044	26.2	24.8 ± 1.51
100	0.015	8.9	0.011	6.6	0.010	6.1	7.2 ± 1.21

O.D. Day 4 / O.D. Day 0 = 0.167 / 0.045

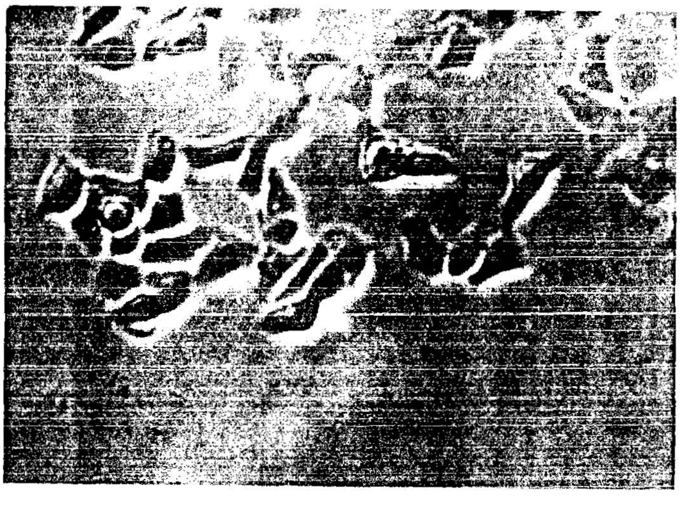
= 3.7 เท่า

ภาพประกอบ 74 IC_{50} ของ Lainoelaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa

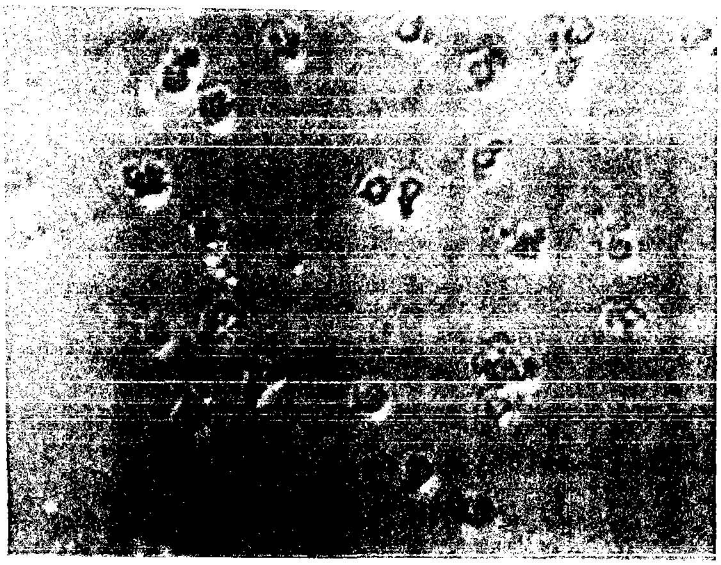


ภาพประกอบ 75 Negative Control ต่อเซลล์ HeLa

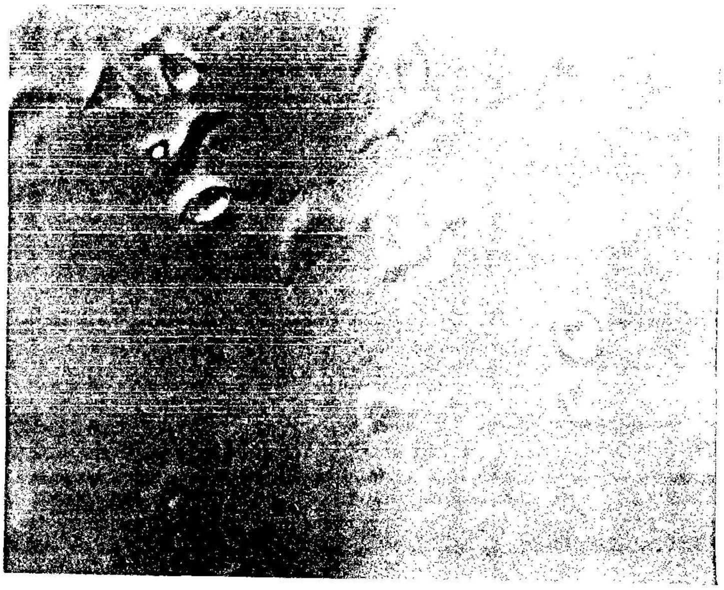
ภาพประกอบ 76 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Stearyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 90 $\mu g/cm^3$



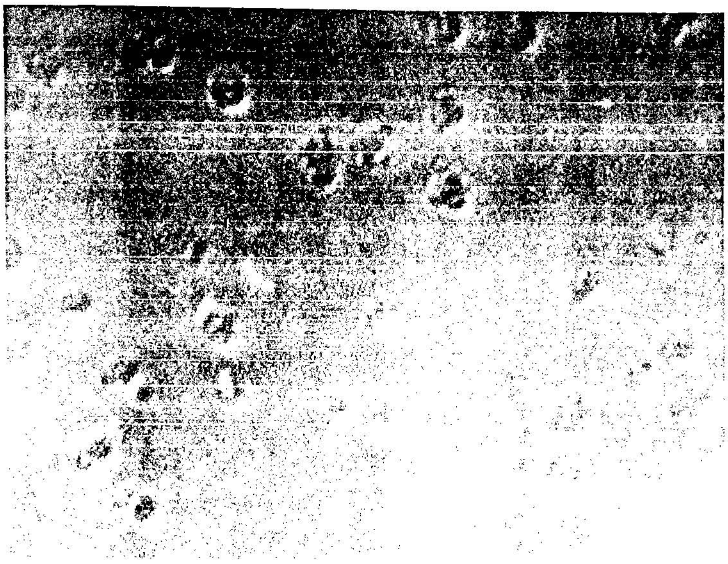
ภาพประกอบ 77 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Oleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 80 $\mu g/cm^3$



ภาพประกอบ 78 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Elaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 80 $\mu g/cm^3$

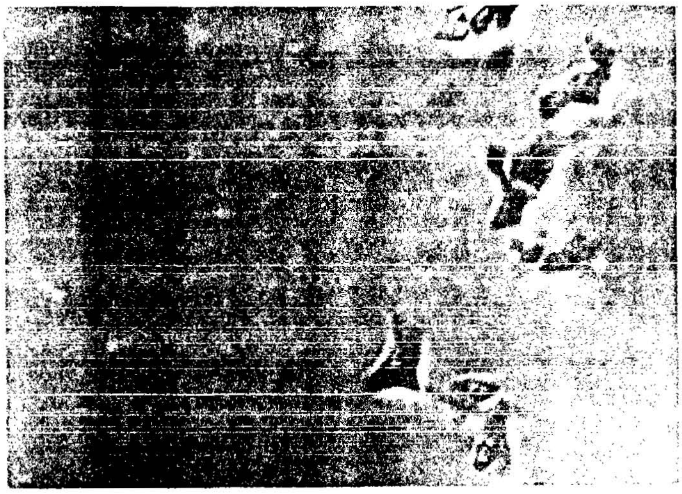


ภาพประกอบ 79 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Palmitoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 50 $\mu g/cm^3$



ภาพประกอบ 80 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Linoleyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 60 $\mu g/cm^3$

ภาพประกอบ 81 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Linoelaidyl carboranate ต่อเซลล์ HeLa ที่ความเข้มข้น 80 $\mu g/cm^3$



การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์

Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) ละลาย EMEM powder 19.0 กรัมในน้ำกลั่น 2 ลิตร ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7.0-7.2 โดยการเติม $NaHCO_3$ และ HEPES นำไปกรองผ่าน millipore filter เพื่อทำให้ปราศจากเชื้อ เติม Penicilin G และ Stereptomycin เข้มข้น 0.1% เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และเติม 10% FCS ก่อนนำไปใช้เลี้ยงเซลล์

2. การเตรียมน้ำยาเคมี

2.1 Hanks'balanced salt solution (HBSS)

เตรียมสารละลายแยกเป็น 2 ชนิดดังนี้

สารละลาย 1

NaCl	80.0	กรัม
KCl	4.0	กรัม
$CaCl_2.2H_2O$	1.9	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	2.0	กรัม

สารละลาย 2

$Na_2HPO_4.12\ H_2O$	1.52	กรัม
KH_2PO_4	0.06	กรัม
Glucose	10.00	กรัม
Phenol red 1%	16.00	cm^3

ค่อยๆ เทสารละลาย 2 ลงในสารละลาย 1 ให้มีปริมาตรรวมไม่เกิน 500 cm^3 คนสารละลายด้วยแท่งคนแม่เหล็ก ปรับปริมาตรเป็น 1,000 cm^3 ด้วยน้ำกลั่น กรองด้วย millipore filter และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที และปรับ pH ให้ได้ 7.0 -7.2 ด้วย 2.8% Na_2CO_3

2.2 สารละลาย PBS(-) (Phosphate buffer saline solution) ประกอบด้วย

NaCl	8.0	กรัม
KCl	0.20	กรัม
Na_2HPO_4	1.15	กรัม
KH_2PO_4	0.02	กรัม
น้ำกลั่น 2 ครั้ง	1,000.0	cm^3

ละลายส่วนประกอบข้างต้นในน้ำกลั่น นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.3 0.25% Trypsin in HEPES-Buffered Saline (HBS)

HEPES-Buffered Saline ประกอบด้วย

NaCl	8.0	กรัม
KCl	0.40	กรัม
Na_2HPO_4	0.10	กรัม
Dextrose	1.00	กรัม
HEPES	2.38	กรัม
น้ำกลั่น	1,000.0	cm^3

ละลายTrypsin 2.5 กรัม ใน HBS 1,000 cm^3 คนด้วยแท่งคนแม่เหล็กเป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ปรับ pH เป็น 7.4 กรองด้วย milipore filter

2.4 0.4% Trypan blue dye ส่วนประกอบต่างๆ ดังนี้

สี Trypan blue	0.04	กรัม
NaCl	0.81	กรัม
K_2HPO_4	0.06	กรัม
Methyl-p-hydroxybenzoate	0.05	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	cm^3

ละลายส่วนประกอบข้างต้นในน้ำกลั่น 90 cm^3 นำไปต้มให้เดือดคนตลอดเวลา เมื่อละลายดีแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ปรับ pH เป็น 7.2-7.3 ด้วย 1 N NaOH เติมน้ำกลั่นจนเป็น 100 cm^3

2.5 Bovine serum albumin (50 ไมโครกรัม/ cm^3)

ชั่ง crystal bovine albumin 0.005 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 cm^3 เก็บไว้ที่ 0 ^0C

2.6 Solution C เตรียมจากส่วนผสมระหว่าง Solution A และ Solution B ในอัตราส่วน 50:1 โดยปริมาตร

Solution A ประกอบด้วย

Na_2CO_3	40.0	กรัม
NaOH	8.0	กรัม
Sodium potassium tartrate	0.4	กรัม
น้ำกลั่น	2,000.0	cm^3

Solution B ประกอบด้วย

$CuSO_4.5H_2O$	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	cm^3

อภิธานศัพท์

อภิธานศัพท์

คำศัพท์

br s	=	broad singlet
$CDCl_3$	=	deuterochloroform
dd	=	doublet of doublet
Hz	=	Herze
IC_{50}	=	Fifty percent inhibitory concentration
m	=	multiplet
MHz	=	Mega Herze
min	=	นาที
O.D.	=	Optical Density
q	=	quarted
RT	=	Retention time
t	=	triplet

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นางสาว ฉลอง ทุ่มพุ่ม
วันเดือนปีเกิด	5 ธันวาคม 2513
สถานที่เกิด	อำเภอควนขนุน จังหวัดพัทลุง
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	269/1 หมู่ 6 ต. มะกอกเหนือ อ. ควนขนุน จ. พัทลุง
ตำแหน่งหน้าที่การงานในปัจจุบัน	อาจารย์ 1 ระดับ 4 โรงเรียนป่าพะยอมพิทยาคม
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงเรียนป่าพะยอมพิทยาคม อ. ป่าพะยอม จ. พัทลุง 93000

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2529	มัธยมศึกษาปีที่ 3 โรงเรียนพัทลุง จังหวัดพัทลุง
พ.ศ. 2532	มัธยมศึกษาปีที่ 6 (แผนกวิทยาศาสตร์) โรงเรียนพัทลุง จังหวัดพัทลุง
พ.ศ. 2536	วท.บ.(ศึกษาศาสตร์) (เคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
พ.ศ. 2543	วท.ม. (เคมีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร