

**CYCLOOXYGENASE-2 INHIBITORY ACTIVITY AND  
ANTIMALARIAL ACTIVITY OF CHROMONE DERIVATIVES**



**CHIRATTIKAN MAICHEEN**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY  
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2018**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

## CYCLOOXYGENASE-2 INHIBITORY ACTIVITY AND ANTIMALARIAL ACTIVITY OF CHROMONE DERIVATIVES

CHIRATTIKAN MAICHEEN 5736673 PYPP/ D

Ph.D. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: JIRAPORN UNGWITAYATORN, Ph.D., JIRAPHUN JITTIKOON, Ph.D., WEERASAK SAMEE, Ph.D.

## ABSTRACT

A series of chromone derivatives were evaluated as cyclooxygenase 2 (COX-2) inhibitors and antimalarial agents. For COX-2 inhibition, the ten most potent compounds (**25**, **29**, **31**, **34**, **35**, **38**, **39**, **41**, **48** and **49**) and celecoxib were further determined for the selectivity index (SI). Compounds **35** and **38** showed higher selectivity for COX-2 (SI = 7.48 and 5.46, respectively) than celecoxib (SI = 4.17). Compounds **35**, **39**, **41**, **48** and **49**, were evaluated for IC<sub>50</sub> values against COX-2. Compound **48** was found to be the most potent in this study with IC<sub>50</sub> = 3.30 μM. The molecular volumes of the higher selective COX-2 inhibitors, i.e., compounds **35** (312.84 Å<sup>3</sup>) and **38** (314.18 Å<sup>3</sup>), were close to the volume of celecoxib (299.28 Å<sup>3</sup>) and larger than the volume of ibuprofen (211.83 Å<sup>3</sup>). Docking results supported the experimental data. Compounds **35**, **38** and **39**, the three most selective COX-2 inhibitor, had higher binding affinity for COX-2 than COX-1. The docked conformations of these three compounds in COX-2 pocket were in the orientations similar to celecoxib. For antimalarial activity, the *in vitro* antimalarial activity was evaluated using two assay methods, the microculture radioisotope assay and inhibition of β-hematin formation assay. In microculture radioisotope assay, the three most potent compounds were **34**, **36** and **39** with IC<sub>50</sub> = 3.82, 0.95 and 4.87 μM, respectively. Compound **36**, the most active, showed higher potency than primaquine and tafenoquine. For β-hematin formation inhibitory activity assay, the top six most potent compounds, **23-28** (IC<sub>50</sub> = 1.41, 1.76, 2.30, 2.54, 4.60 and 3.69 μM, respectively) were more potent than chloroquine, dihydroartemisinin, and mefloquine. The ability of chromone compounds to interact and form complex with heme was investigated by the continuous variation technique (Job's plot). Compounds **28**, **38** and **42** interacted with heme with stoichiometric ratio of chromone:heme = 1:1, same ratio as dihydroartemisinin. Compounds **3**, **4**, **23**, **24**, **27** and **43** showed the stoichiometric ratio = 1:2, same as chloroquine and mefloquine, and compound **36** showed stoichiometric ratio = 1:3. Docking studies against plasmepsin II (PM II) and falcipain-2 (FP-2) were performed. Compounds which showed highly potent antimalarial and β-hematin formation inhibitory activities also showed high binding affinities with both PM II and FP-2.

KEY WORDS: CHROMONE DERIVATIVES / COX-2 INHIBITORS / ANTIMALARIAL / β-HEMATIN FORMATION INHIBITORS

ฤทธิ์ยับยั้งไซโคลออกซีจีเนส-2 และฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ของอนุพันธ์ของโครโมน

CYCLOOXYGENASE-2 INHIBITORY ACTIVITY AND ANTIMALARIAL ACTIVITY OF CHROMONE DERIVATIVES

จิรัฐติกา ไม้จัน 5736673 PYP/D

ปร.ค. (เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: จิรกรณ์ อังวิยาธร, Ph.D., จิระพรรณ จิตติคุณ, Ph.D., วีระศักดิ์ สามิ, Ph.D

บทคัดย่อ

การประเมินฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-2 และฤทธิ์ต้านมาลาเรียของอนุพันธ์โครโมน ใน การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งไซโคลออกซีจีเนส-2 นำสารที่ออกฤทธิ์แรงที่สุดสิบตัว (สาร 25, 29, 31, 34, 35, 38, 39, 41, 48 และ 49) และเซเลคทีอิกซิบ มาหาค่า selectivity index (SI) พบว่าสาร 35 และ 38 มีความเฉพาะเจาะจงต่อไซโคลออกซี- จีเนส-2 (มีค่า SI เท่ากับ 7.48 และ 5.46 ตามลำดับ) มากกว่าเซเลคทีอิกซิบ (SI เท่ากับ 4.17) จากนั้นหาค่า  $IC_{50}$  ของสาร 35, 39, 41, 48 และ 49 สาร 48 ออกฤทธิ์แรงที่สุด ( $IC_{50}$  เท่ากับ 3.30 ไมโครโมลาร์) นำสารที่มีความเฉพาะเจาะจงกับ ไซโคลออกซีจีเนส-2 สูง มาหาค่าปริมาตรของโมเลกุล สาร 35 (ปริมาตรโมเลกุลเท่ากับ  $312.84 \text{ \AA}^3$ ) และ 38 ( $314.18 \text{ \AA}^3$ ) มีปริมาตรใกล้เคียงกับเซเลคทีอิกซิบ ( $299.28 \text{ \AA}^3$ ) และมีปริมาตรใหญ่กว่าไอบูโพรเฟน ( $211.83 \text{ \AA}^3$ ) ผลที่ได้จาก การศึกษาต่อกิ่งสนับสนุนผลการทดสอบฤทธิ์ในห้องทดลอง พบว่าสารที่มีความเฉพาะเจาะจงมากที่สุดสามตัว คือ สาร 35, 38 และ 39 จับกับไซโคลออกซีจีเนส-2 ได้แน่นหนากว่าไซโคลออกซี-จีเนส-1 และมีการจัดวางตัวในการจับ กับเอนไซม์เหมือนกับเซเลคทีอิกซิบ การศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรียในหลอดทดลองทำโดยวิธี microculture radioisotope assay และศึกษาการยับยั้งการเกิดเบต้า-ฮีมาติน ในส่วนของ microculture radioisotope assay พบว่าสารที่ออกฤทธิ์แรง ที่สุดสามตัว คือ สาร 34, 36 and 39 โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 3.82, 0.95 และ 4.87 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ สาร 36 ออก ฤทธิ์แรงที่สุดและมีฤทธิ์สูงกว่าพริมาควินและทาฟิโนควิน การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดเบต้า-ฮีมาติน สารที่มี ฤทธิ์แรงที่สุดหกตัว คือ สาร 23-28 (ค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.41, 1.76, 2.30, 2.54, 4.60 และ 3.69 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ) ซึ่ง มีฤทธิ์สูงกว่าคลอโรควิน ไดไฮโดรอาร์ทิมีสินินและเมบโฟลควิน ศึกษาการจับกันระหว่างสารโครโมนและฮีมาโดยใช้ เทคนิค continuous variation (Job's plot) พบว่าสาร 28, 38 และ 42 มีค่า stoichiometric ratio เท่ากับ 1:1 เหมือนกับได- ไฮโดรอาร์ทิมีสินิน สาร 3, 4, 23, 24, 27 และ 43 มีค่า stoichiometric ratio เท่ากับ 1:2 เหมือนกับคลอโรควินและเมบ- โฟลควิน และสาร 36 มีค่า stoichiometric ratio เท่ากับ 1:3 นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาการจับกับเอนไซม์ฟลาสเมบ- ซิน II และฟาวซิฟาอิน-2 โดยวิธีต่อกิ่ง สารที่ออกฤทธิ์ต้านมาลาเรียและยับยั้งการเกิดเบต้า-ฮีมาตินได้ดี สามารถจับ กับเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้ดีเช่นกัน