

20 JUN 2003



**STOICHIOMETRIC AND FORMATION CONSTANT STUDY OF  
REACTION BETWEEN FERROPROTOPORPHYRIN IX  
(REDUCED HEMIN) AND ARTEMISININ BY CONTINUOUS  
VARIATION METHOD**

**MAN THEERASILP**

**With compliments  
of**

**บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
(PHYSICAL CHEMISTRY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2003**

**ISBN 974-04-3165-8**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH

M266A

2003

C.2

**STOICHIOMETRIC AND FORMATION CONSTANT STUDY OF REACTION BETWEEN FERROPROTOPORPHYRIN IX (REDUCED HEMIN) AND ARTEMISININ BY CONTINUOUS VARIATION METHOD**

MAN THEERASILP 4236045 SCPC/M

M.Sc. (PHYSICAL CHEMISTRY)

THESIS ADVISORS : PRAPIN WILAIRAT, Ph.D., PRAPON WILAIRAT, Ph.D., PALANGPON KONGSAEREE, Ph.D., EKASITH SOMSOOK, Ph.D.

**ABSTRACT**

Artemisinin is an antimalarial agent effective against drug-resistant strains of malaria. Its antimalarial activity is mediated by an interaction of endoperoxide bridge with heme. UV-visible spectrophotometry has been employed to investigate the initial complexation of ferroprotoporphyrin IX with artemisinin and its derivatives.

The reaction of ferroprotoporphyrin IX (reduced hemin) in 2% SDS, 10% MeOH and 200 mM phosphate buffer pH 7.2 rapidly yielded a reaction intermediate complex after addition of artemisinin. The intermediate complex formation was monitored by absorbance measurements at  $\lambda = 470$  nm. Continuous-variation plots (Job's plots) suggested that the heme-drug complex forms a 1:2 complex for artemisinin and artemisitene, and a 1:1 complex with dihydroartemisinin, artemether and arteether.

Non-linear curve fitting of Job's curve was used to determine the formation constant and molar absorptivity of the 1:1 complex. The formation constants of ferroprotoporphyrin IX complex with dihydroartemisinin, artemether and arteether were  $1.5 \pm 0.3$ ,  $5.0 \pm 1.5$ ,  $2.0 \pm 0.33 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ , respectively and their molar extinction coefficients were  $1.7 \pm 0.1$ ,  $0.9 \pm 0.4$  and  $1.2 \pm 0.1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , respectively. The major final product of the reaction was deoxyartemisinin for artemisinin and hydroxyartemisinin for dihydroartemisinin, as established by  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR and X-ray crystallographic analysis.

**KEY WORDS : ARTEMISININ / HEMIN / CONTINUOUS VARIATION  
METHOD / STOICHIOMETRY/ FORMATION CONSTANT**

102 P. ISBN 974-04-3165-8

ศึกษาปริมาณสัมพัทธ์และค่าคงที่การเกิดสารเชิงซ้อนของปฏิกิริยาระหว่าง ferroprotoporphyrin IX (reduced hemin) และ อาร์เทอร์มิสซินิน โดยวิธีการแปรต่อเนื่อง (STOICHIOMETRIC AND FORMATION CONSTANT STUDY OF REACTION BETWEEN FERROPROTOPORPHYRIN IX (REDUCED HEMIN) AND ARTEMISININ BY CONTINUOUS VARIATION METHOD)

แมน วีระศิลป์ 4236045 SCPC/M

วท.ม. (เคมีเชิงฟิสิกส์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ประพิน วิไลรัตน์, Ph.D., ประพนธ์ วิไลรัตน์, Ph.D., พลังพล คงเสรี, Ph.D., เอกสิทธิ์ สมสุข, Ph.D.

#### บทคัดย่อ

อาร์เทอร์มิสซินินเป็นสารที่ใช้เป็นยาในการต้านเชื้อมาลาเรีย ฤทธิ์ในการต้านเชื้อของยาตัวนี้เกิดขึ้นจากอันตรกิริยาของบริเวณที่เป็นเฮนโดเฟอร์ออกไซด์กับฮีม ซึ่งสามารถใช้เครื่องอัลตราไวโอเลต-วิซิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในการติดตามการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ ferroprotoporphyrin IX กับอาร์เทอร์มิสซินิน และอนุพันธ์ของอาร์เทอร์มิสซินิน

ปฏิกิริยาของ ferroprotoporphyrin IX ซึ่งอยู่ในรูปของรีดิวซ์ฮีมใน 2 เปอร์เซ็นต์โซเดียมโกลด์ซัลเฟตและ 10 เปอร์เซ็นต์เมทานอลใน 200 มิลลิโมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.2 จะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนตัวกลางอย่างรวดเร็ว หลังจากเติมอาร์เทอร์มิสซินินลงไป สารละลายของ ferroprotoporphyrin IX จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนตัวกลางสามารถตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ปริมาณสารสัมพัทธ์ของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างฮีมกับยาจากอาร์เทอร์มิสซินินหรืออาร์เทอร์มิสซินิน คือ 1 ต่อ 2 แต่ถ้ายาจากไดไฮโดรอาร์เทอร์มิสซินิน อาร์ทีมีเซอร์และอาร์ทีเซอร์ จะมีอัตราส่วนเป็น 1 ต่อ 1

การหาค่าคงที่ของการเกิดสารเชิงซ้อน และค่าสภาพการดูดกลืนโมลาร์ (molar absorptivity) ในระบบของการเกิดสารเชิงซ้อน ที่มีอัตราส่วนเป็น 1 ต่อ 1 โดยใช้วิธีฟิตติง ของเส้นโค้ง (nonlinear curve fitting) ของ จอบเคิร์ฟ (Job's curve) จะได้ค่าคงที่ของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ระหว่าง ferroprotoporphyrin IX กับ ไดไฮโดรอาร์เทอร์มิสซินิน อาร์ทีมีเซอร์ และ อาร์ทีเซอร์ คือ  $1.5 \pm 0.3$ ,  $5.0 \pm 1.5$  และ  $2.0 \pm 0.33 \times 10^3$  ต่อ โมลาร์ ตามลำดับ และ ค่าสภาพการดูดกลืนโมลาร์ (molar absorptivity) เป็น  $1.7 \pm 0.1$ ,  $0.9 \pm 0.4$  และ  $1.2 \pm 0.1 \times 10^5$  ต่อ โมลาร์ต่อเซนติเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์หลักจากปฏิกิริยาของสารเชิงซ้อน อาร์เทอร์มิสซินิน คือ ไดออกซีอาร์เทอร์มิสซินิน และ ไดไฮโดรอาร์เทอร์มิสซินิน คือ ไดออกซีไดไฮโดรอาร์เทอร์มิสซินิน โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ของ เอกซเรย์ คริสตัลโลกราฟี, ไฮโครเจน-1 และคาร์บอน-13 นิวคลีียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์เพื่อหาโครงสร้างของสารที่เกิดขึ้น