



สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัย

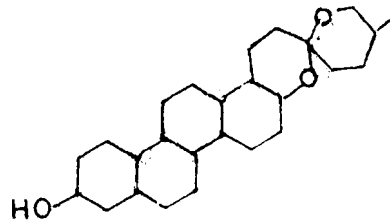
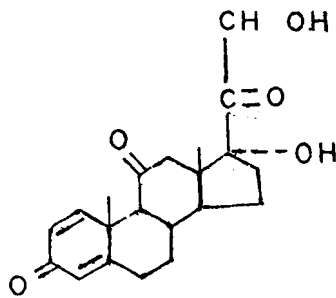
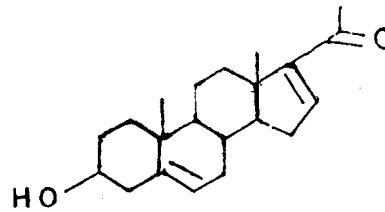
การใช้ประโยชน์และกำจัดวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร

โครงการย่อย

การสังเคราะห์สารตั้งต้นคอร์ติโคสเตอรอยด์จากเฮโคเจนิน

และทิกโคเจนิน โดยวิธีทางเคมี

Chemical Synthesis of Corticosteroid Hormone Precursor
from Hecogenin and Tigogenin



ภ. 31-06

รายงานปีที่ 5/2

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัย

การใช้ประโยชน์และกำจัดวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร

โครงการย่อย

การสังเคราะห์สารตั้งต้นคอร์ติโคสเตอรอยด์จากเฮโคเจนิน
และทิกอเจนิน โดยวิธีทางเคมี

Chemical Synthesis of Corticosteroid Hormone Precursor
from Hecogenin and Tigogenin

อนุมัติโดย



.....
(นายเฉลิมชัย ห่อนาค)

รองผู้อำนวยการ
รักษาการในตำแหน่งผู้อำนวยการ

วท. กรุงเทพฯ 2536

สงวนลิขสิทธิ์

บทคัดย่อ

การสังเคราะห์คอติโคสเตอรอยด์ในอุตสาหกรรมยา ได้เริ่มจากสารตั้งต้น (Precursor) คือ 16-dehydropregnenolone ซึ่งสารนี้จะได้จากการสังเคราะห์โดยใช้ นิวเคลียส คือ สเตอรอยด์ เช่น diosgenin, hecogenin, tigogenin ฯลฯ เป็นต้น งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์โดยพัฒนากรรมวิธีมาตรฐาน Wolff-Kishner reduction ให้สั้นลง และไม่ยุ่งยากในการจะผลิตในอุตสาหกรรม โดยเปลี่ยนจาก hecogenin เป็น tigogenin และจากสเตอรอยด์ทั้งสองชนิดนี้ สามารถเปลี่ยนเป็น 16-dehydro-12-ketopregnenolone ร้อยละ 38 และ 16-dehydropregnenolone acetate ร้อยละ 42 ตามลำดับ ซึ่งทั้งสอง สารนี้จะ เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาคอติโคสเตอรอยด์ในอุตสาหกรรมต่อไป

Abstract

Since corticosteroid drugs synthesis started with 16-dehydro-prenenolone precursor have been well known, this precursor come from steroids nucleus such as diosgenin, hecogenin, tigogenin, etc. This research work is being done by developed the standard Wolff-Kisher reduction method for short-cut way purpose and economic for industrial scale production. By this method hecogenin will be change to tigogenin .and synthesized to 16-dehydro-12-ketoprenenolone 38%, 16-dehydropregnenolone acetate 42%. This will be corticosteroid precursor for drug industry.

บทนำ

สเตอรอยด์จากแหล่งต่าง ๆ ทั้งพืชและสัตว์ ได้ถูกนำมาใช้เป็นนิเวศสังเคราะห์สารตั้งต้นของฮอร์โมนต่าง ๆ เช่น diosgenin, hecogenin, tigogenin, bile acid, stigmasterol, sarsasapogenin, ฯลฯ เป็นต้น วท. ได้ทำการสกัดสารสเตอรอยด์จากวัสดุเหลือทิ้งอุตสาหกรรมทำเชือกจากป่านศรนารายณ์ และปริมาณวัตถุดิบ การใช้ประโยชน์เส้นใย ปริมาณการใช้ฮอร์โมนในประเทศ มีศักยภาพเพียงพอที่ควรนำสเตอรอยด์มาศึกษาวิจัย เพื่อใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ เช่น สังเคราะห์เป็นคอร์ติโคสเตอรอยด์ใช้ในอุตสาหกรรมยา ซึ่ง วท. ได้ร่วมมือกับภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน รับผิดชอบด้านสังเคราะห์ทางเคมีจากสเตอรอยด์เป็นยา เพื่อให้เกิดอุตสาหกรรมทดแทนการนำเข้าต่อไป

วัตถุประสงค์

1. การเติมอะซีเตทของสารเฮโคเจนินและทีโกเจนิน
2. การเปลี่ยนเฮโคเจนินเป็นทีโกเจนิน โดยพัฒนาวิธีของ Wolff-Kishner
3. การเตรียม 16-dehydro-12-ketopregnenolone acetate จาก hecogenin
4. การสังเคราะห์ 16-dehydropregnenolone precursor จาก hecogenin และ tigogenin

ขอบเขตของการวิจัย

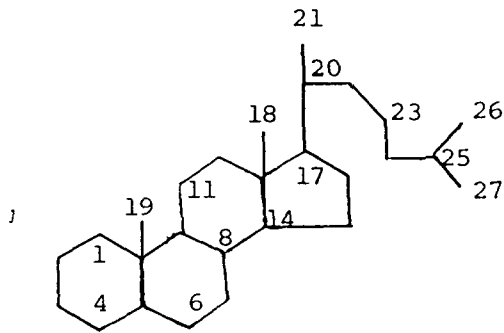
1. การเตรียมสารตั้งต้น 16-dehydropregnenolone สำหรับสังเคราะห์คอร์ติโคสเตอรอยด์
2. พัฒนาการวิธีสังเคราะห์เพื่อให้เหมาะแก่อุตสาหกรรม

หลักการและเหตุผลในการวิจัย

สเตอรอยด์เฮโดเจนนีและนิโกเจนนี สามารถสังเคราะห์ทางเคมีและชีวภาพผสมผสานกัน เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมยาได้ โดยเฉพาะกลุ่มคอติโคสเตอรอยด์ กลุ่มฮอร์โมน ต่าง ๆ ซึ่งแต่เดิมนั้น เฉพาะวิธีการทางเคมีอย่างเดียว มีหลายขั้นตอนยุ่งยากมาก ต่อมาได้ใช้วิธีการทางชีวภาพเข้าช่วย เช่น การเติมไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งคาร์บอน 11 ซึ่งจะลดขั้นตอนทางเคมีลง ส่วนการสังเคราะห์ทางเคมี คณะวิจัยทางเคมีจากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้พัฒนากรรมวิธีเดิมจนสามารถลดขั้นตอนลงได้มาก และมีลู่วางที่จะสู่อุตสาหกรรมได้

รายละเอียดและหลักการในการสังเคราะห์มีดังนี้

1. เคมีของสเตอรอยด์ฮอร์โมน



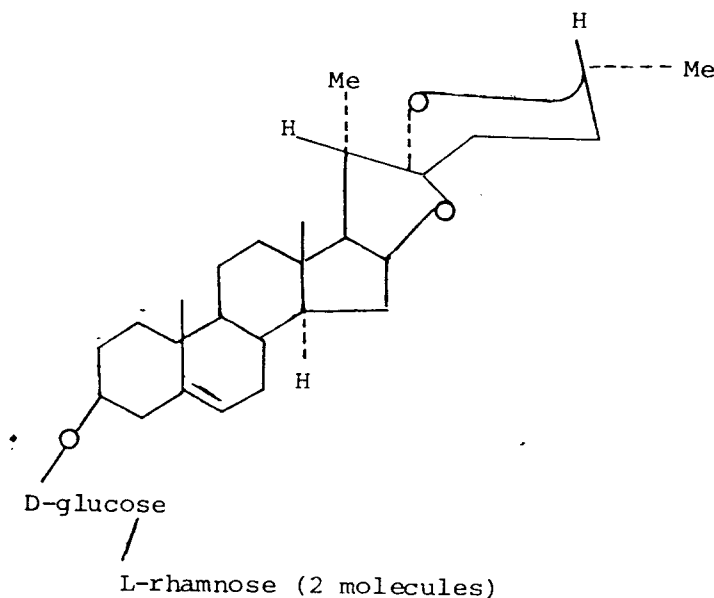
การเรียกชื่อสเตอรอยด์

สูตรโครงสร้างของนิวเคลียสสเตอรอยด์ เช่น ชื่อทั่วไป epitestosterone ชื่อเคมีคือ 17 β -hydroxy- Δ^4 -androsten-3-one หรือ cortisol ชื่อเคมีคือ 11 β , 17, 21-trihydroxy- Δ^4 -pregnene-3, 20-dione

สเตอรอยด์เป็นสารสีขาว และมีสถานะเป็นของแข็ง มีนิวเคลียสเป็นเตตราไซคลิก ไฮโดรคาร์บอน ประกอบด้วย ring A, B, C, D ติดกัน เรียกว่า perhydrocyclopentanophenanthrene nucleus ในธรรมชาติมักแปรเปลี่ยนมาจาก sterol แต่ต่างกันตรงที่ spiroketal ตรง C-16 และ C-17 และ double bond ที่ C-5-6 และมักมีไฮดรอกซิลที่ C-3 ในธรรมชาติ มักเกิดในรูป glycosides คือน้ำตาลเกาะ ทำให้เป็นสารละลายน้ำได้ และเกิดพองที่ค่อนข้างคงทน ส่วนในสัตว์ เช่น bile acid มักเป็น sterol ใน nonsaponifiable fraction ของไขมันสัตว์และพืช เช่น cholesterol, spinal cord, fish oil จากพืช เช่น stigmasterol, sitosterol หรือ ergosterol จากยีสต์ และจุลินทรีย์อื่น ๆ เป็นต้น

สเตอรอยด์ Diosgenin เป็นแหล่งสำคัญที่สุดในการผลิตเภสัชภัณฑ์ต่าง ๆ ของโลก สกัดจากหัวของ Dioscorea spp. เช่น Dioscorea composita. Hemsl., D. floribunda Mart. & Gal., D. spiculiflora Hemsl., D. mexicana Guill., D. deltoidea. Wall; D. prazeri Prain & Burk.

สูตรโครงสร้างของ diosgenin glycoside คือ



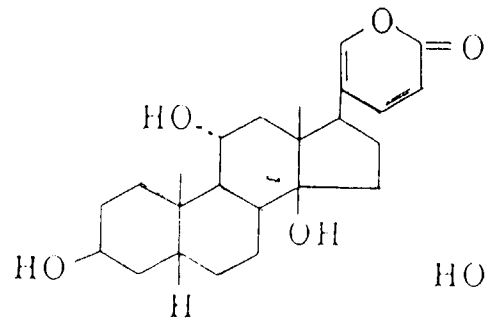
Hecogenin เป็น steroid ได้จาก Agave sisalana Perr. ใช้เป็นสารตั้งต้น (precursor) ของเภสัชภัณฑ์ที่สำคัญอีกแหล่งหนึ่ง โดยเฉพาะพวก corticosteroid drugs เนื่องจากมี Carbonyl group ที่ C-12

การเติมออกซิเจนที่ C-11 โดยวิธีทางเคมี

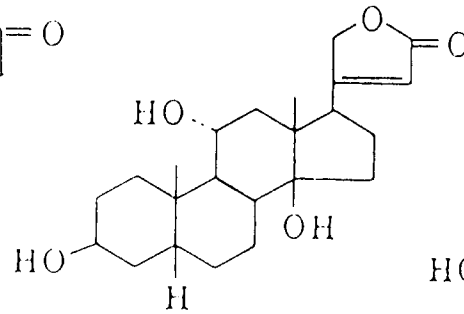
สารในกลุ่ม corticoids นั้น ออกซิเจนที่ตำแหน่ง C-11 มีความสำคัญมากในการเป็นสาร anti-inflammatory งานวิจัยได้พัฒนาาเรื่อยๆ ในการเติมออกซิเจนของ C-11 สเตอรอยด์ สารจากธรรมชาติไม่กี่ชนิด นอกจาก adrenal ฮอร์โมนที่มีออกซิเจนที่ตำแหน่งนี้ รูปที่ 1 เช่น สารที่มีพิษต่อหัวใจจากหนังกวางคอกอู่นุ่ สารจากพืชพวก Strophantus การเติมออกซิเจนที่ C-11 โดยวิธีทางเคมี สำหรับสเตอรอยด์ที่มีออกซิเจนที่ตำแหน่ง C-12

การใช้กรดน้ำดี เตรียม cortisone แต่ข้อจำกัดคือ ปริมาณวัตถุดิบน้อย หรือการย้ายออกซิเจนที่ C-12 ของ hecogenin มาที่ C-11 นอกจากนี้ ยังได้ศึกษาการจุลินทรีย์ในการเติมออกซิเจนที่ C-11 อย่างกว้างขวางด้วย

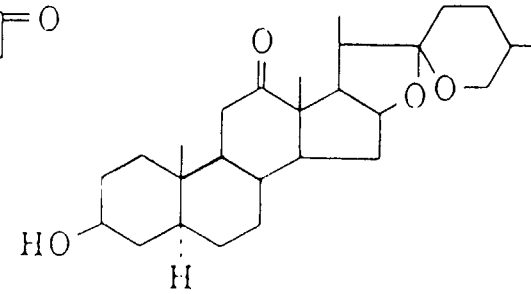
- 1) การสังเคราะห์จาก 7, 9(11) - Dienes
รูปที่ 2 อาจเริ่มจากสารที่ได้จากธรรมชาติ เช่น จาก diosgenin หรือ ergosterol จากนั้นเปลี่ยนเป็น 11-ketone
รูปที่ 3
- 2) การสังเคราะห์จาก 12-Ketones
คือการ transform จาก C-12 เป็น 11-ketosteroids โดยการ Bromination แล้ว hydrolysis รูปที่ 4
- 3) ปฏิกิริยาที่ Ring C
การเปลี่ยนจาก 21-acetate ของ epicortisol (I) มาเป็น cortisol (VII) รูปที่ 5



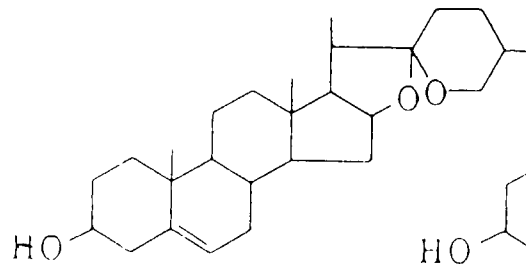
I
Gamabufogenin
from Japanese toad



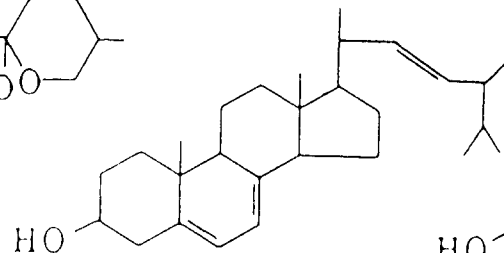
II
Sarmentogenin



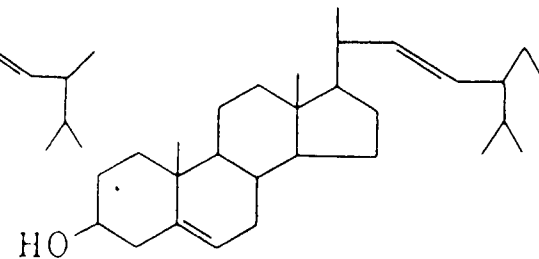
III
Hecogenin



IV
Diosgenin

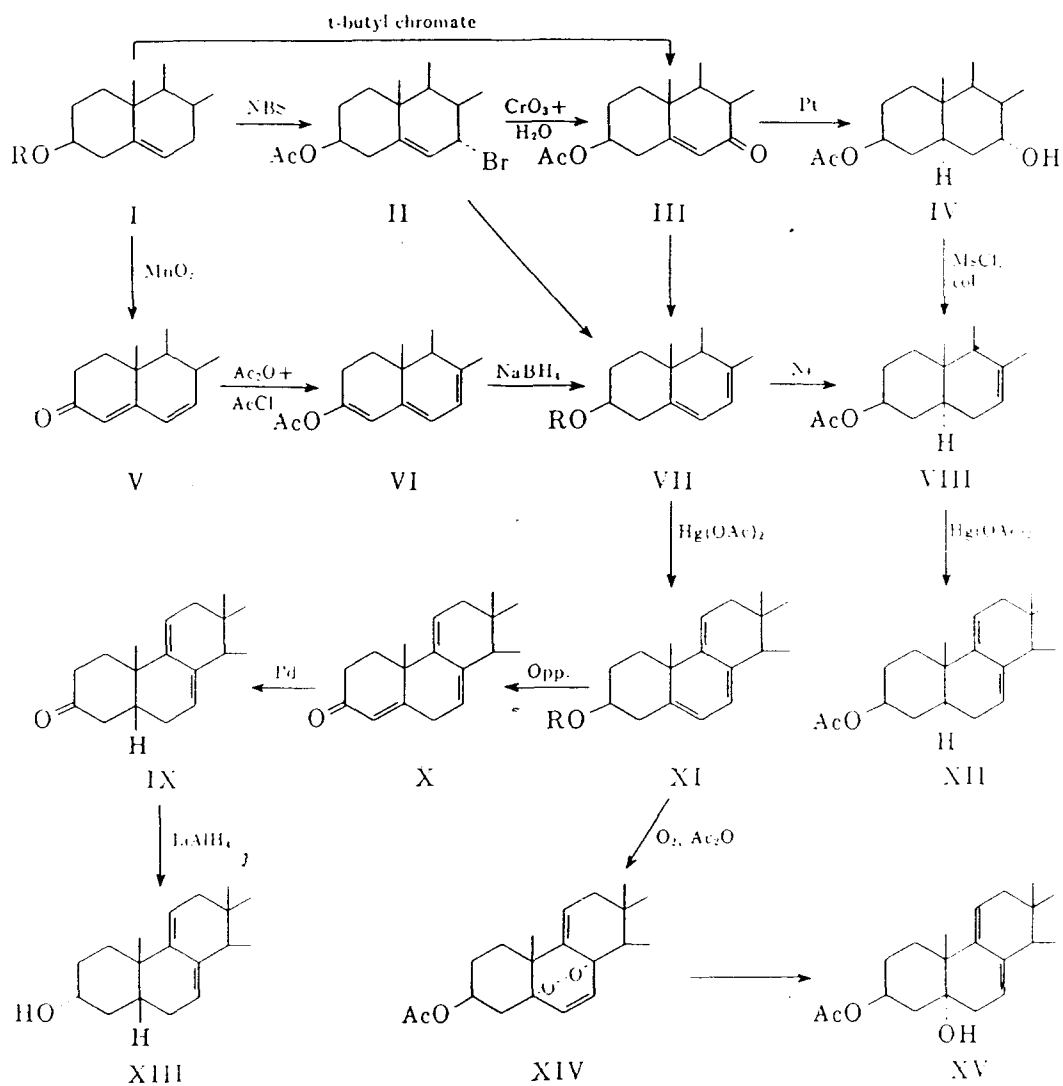


V
Ergosterol

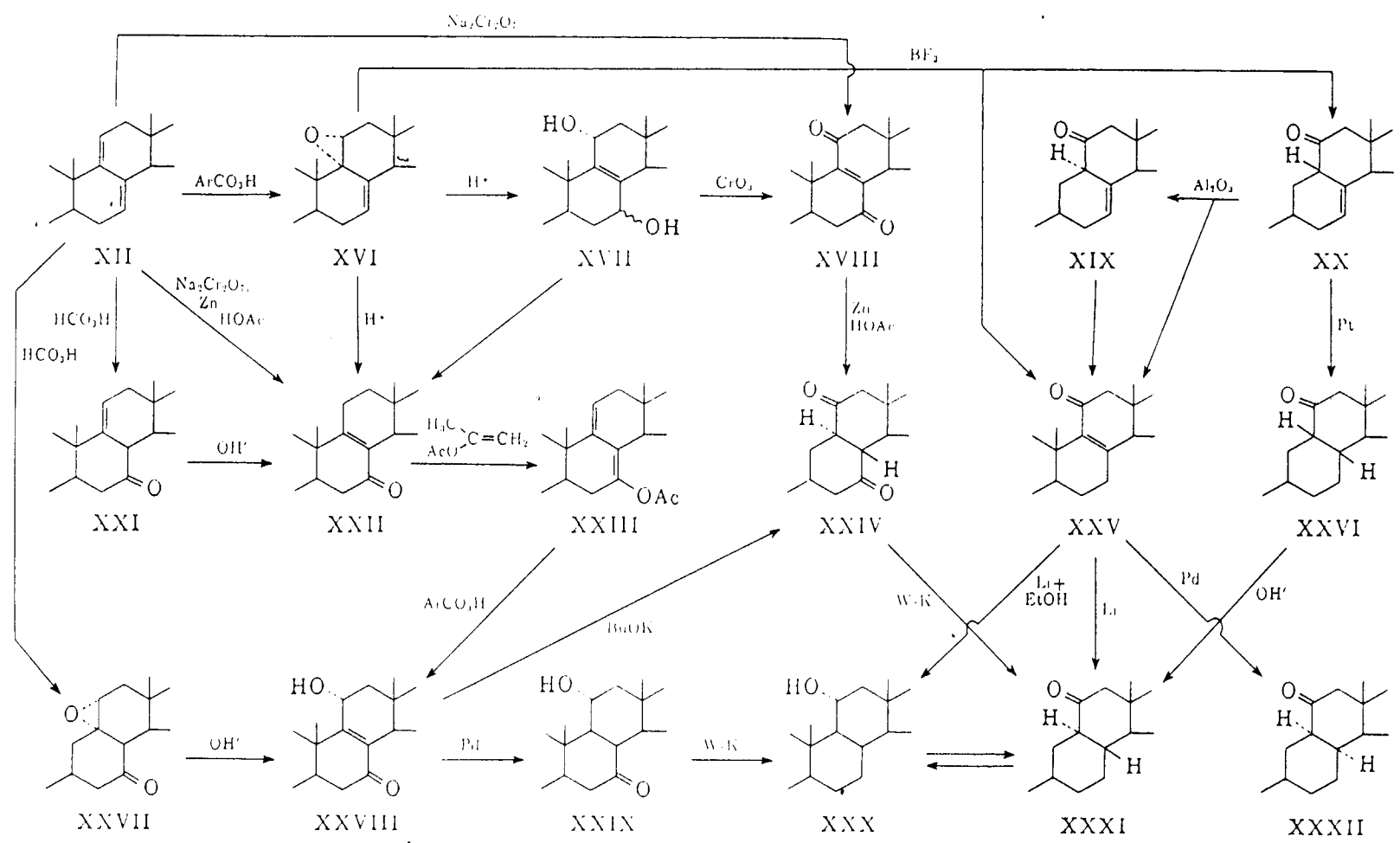


VI
Stigmasterol

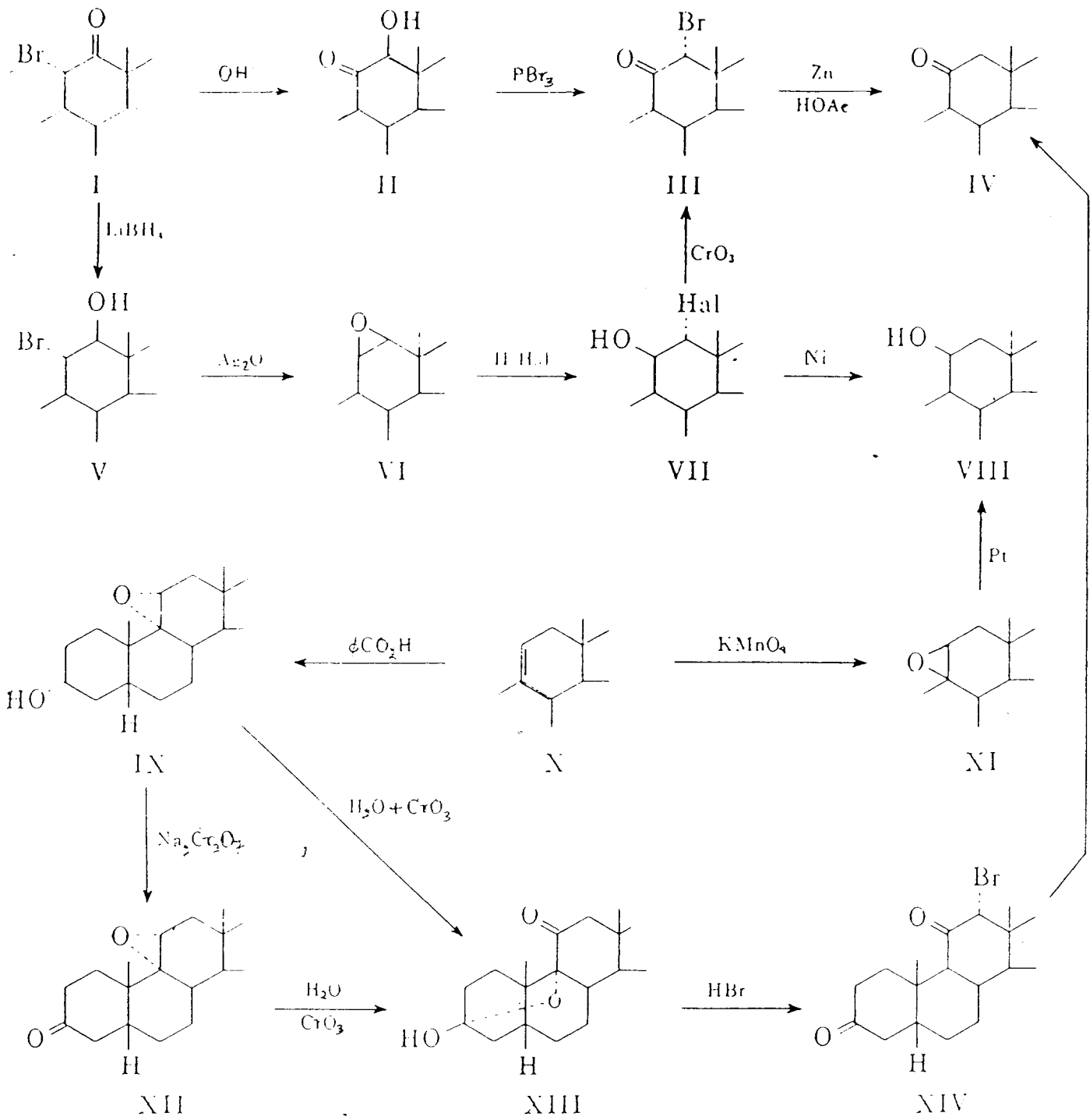
รูปที่ 1 สเตอรอยด์จากธรรมชาติ



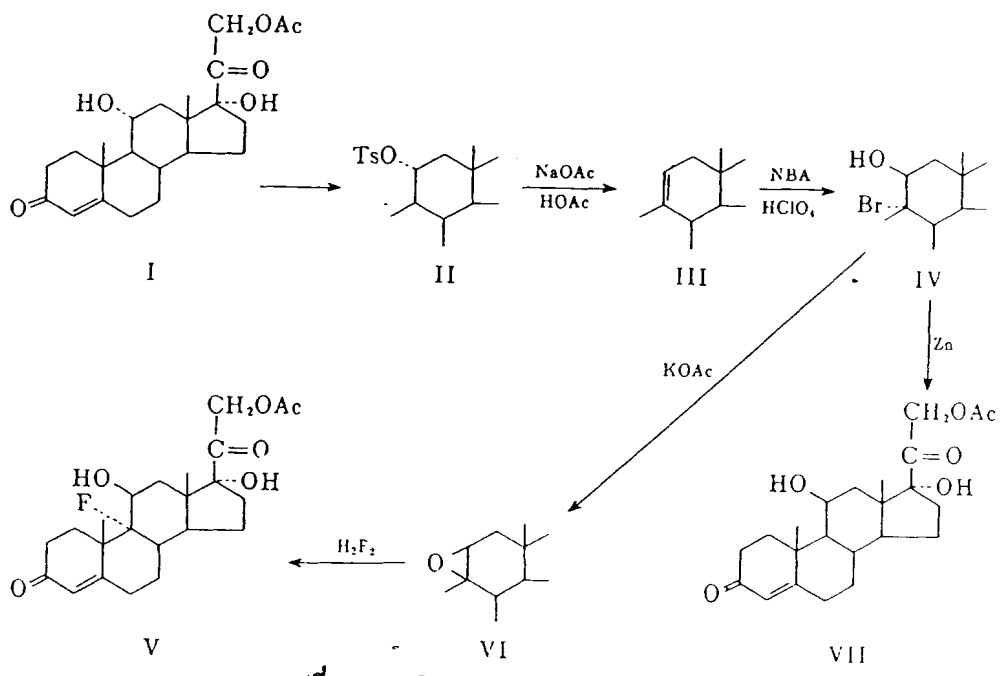
सूचक 2 Preparation of $\Delta^{7,9(11)}$ -dienes.



रूपक 3 11-ओक्सीजनेड स्टेरॉल्स से 5-अल्लो- $\Delta^{7,10}$ -डिएन्स का तैयार होना.



รูปที่ 4 11-Oxygenated steroids from 12-ketones.



รูปที่ 5 Cortisol from epicortisol.

2. ฮอร์โมนที่ได้จากสเตอรอยด์ของพืชและสัตว์

ฮอร์โมนที่ได้จากสเตอรอยด์ที่ใช้กันมาตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบันทั้งคนและสัตว์มีหลายชนิด เช่น corticosteroids, fertility control, sex hormones, anabolic agents, cardiotonic glycosides, fusidic acid (steroid antibiotic จาก Fusidium coccineum)

การสังเคราะห์ฮอร์โมนกลุ่มต่าง ๆ จากสเตอรอยด์

1. Diosgenin ---> Progesterone
(16-Dehydropregnenolone route)
2. Stigmasterol ---> Progesterone
3. Hecogenin ---> Hydrocortisone
4. Progesterone ---> Hydrocortisone
5. 16-Dehydropregnenolone ---> Hydrocortisone
6. 16-Dehydropregnenolone ---> Androgens and Anabolic Agents
7. 16-Dehydropregnenolone ---> 17 β -Acetoxyprogesterone
(Progestogens)
8. Diosgenin ---> 19-Norhormones
(Oestrogens and Progestogens)

กลุ่ม Corticosteroids

กลุ่มฮอร์โมนที่เกิดตามธรรมชาติในมนุษย์ คือ adrenocortical hormones

(corticoids) เช่น hydrocortisone และ corticosterone ทำหน้าที่ควบคุมการเผาผลาญของคาร์โบไฮเดรต ส่วน aldosterone ควบคุมการเผาผลาญพวก electrolyte (mineral corticoid) เป็นฮอร์โมนที่ควบคุมชีวิตประจำวันของมนุษย์ ส่วน cortisone (หรือ Kendall's Compound E) ได้สังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อใช้รักษาอาการ rheumatoid arthritis จึงเกิดการสังเคราะห์สเตอรอยด์ขึ้นใช้ในวงการเภสัชอุตสาหกรรมขึ้นแพร่หลาย จากนั้นได้สังเคราะห์ hydrocortisone, prednisolone การเติม 9 α -fluorine เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพทั้งด้าน anti-inflammatory และ mineral corticoid oral, จากนั้นมาเป็น 16 α (β) Dexamethasone จนได้สาร corticosteroids ที่มีประสิทธิภาพรักษาโรคได้หลายชนิด เช่น rheumatic fever, ulcerative colitis asthma และ allergies รวมถึงอาการอักเสบของผิวหนัง ตา และหู เป็นต้น

กลุ่มฮอร์โมนเพศ (androgens) และเสริมสร้างร่างกาย (protein anabolic agents)

ฮอร์โมนเพศชายที่สร้างจากถุงอัณฑะ คือ testosterone ทำหน้าที่ anabolic ใช้กับคนป่วยหรือคนผ่าตัด เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพให้ protein deposition ใช้เลี้ยงสัตว์ให้โตเร็ว นักกีฬาใช้เสริมสร้างกล้ามเนื้อ

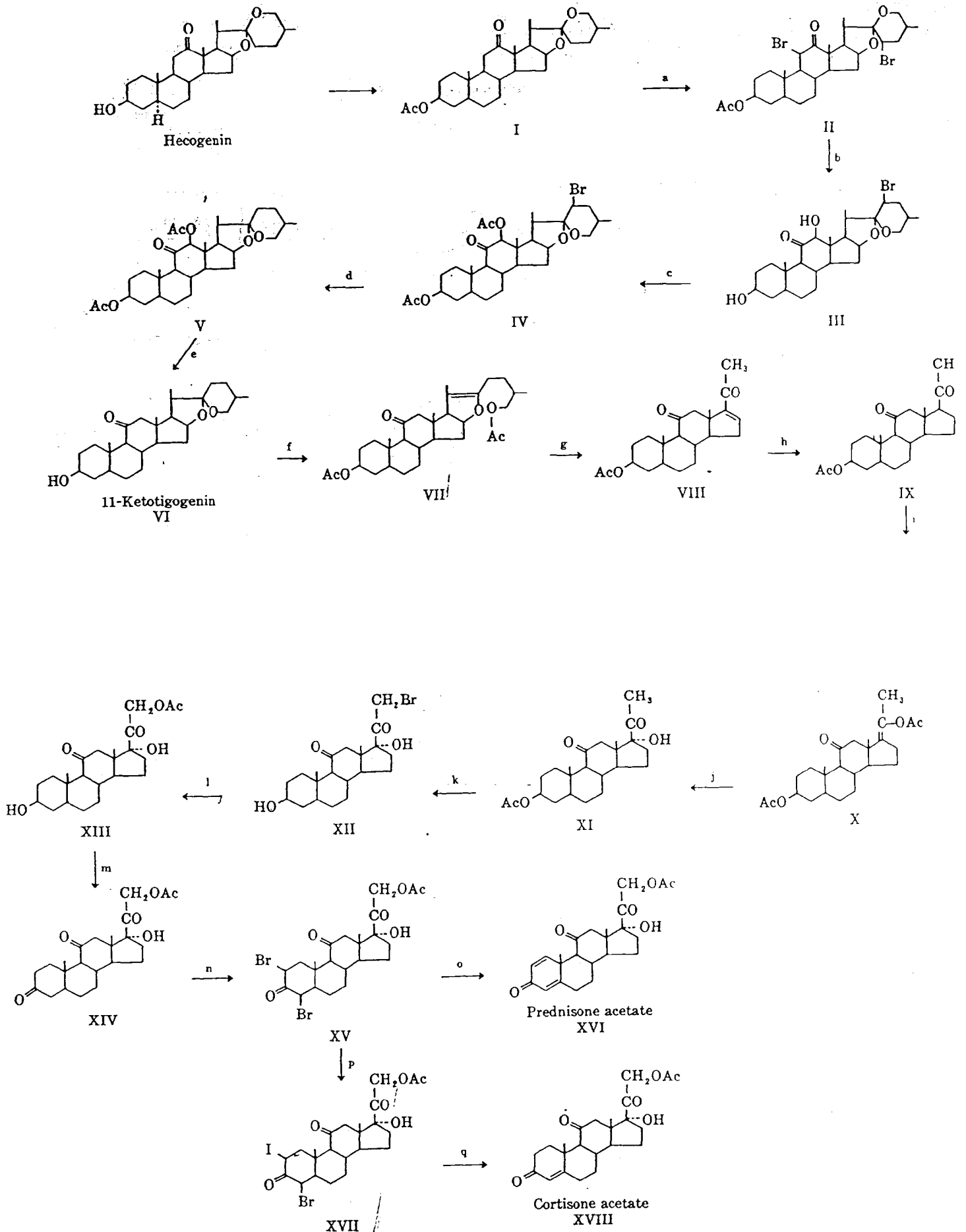
กลุ่มฮอร์โมนเพศหญิง (Oestrogens and progestogens) และยาคุมกำเนิด

ในรังไข่จะสร้าง 17 α -oestradiol ใช้ในการรักษาอาการประจำเดือนไม่ปกติ บางประเทศที่ไม่ห้ามใน cosmetic medicine จะใช้ในครีมและโลชั่นทาผิว เพื่อปรับปรุงสีผิว

3. การสังเคราะห์จาก Hecogenin 11 เป็น Cortisone และ Prednisone

โดยกลุ่ม Glaxo ดังนี้ รูปที่ 6

1) • โดยการ Bromination ด้วย bromine ใน dioxane หรือ carbon tetrachloride ให้ 11 α , 23 α -dibromohecogenin acetate (II)



3146. Cortisone and prednisone from hecogenin.

- 2) จาก II ทำปฏิกิริยากับต่างได้ III ได้ผลผลิตมากกว่า 80% คือ bromoketol
- 3) ทำปฏิกิริยากับ Acetic anhydride และ pyridine
- 4) ใช้ Zinc dust ทำ Debromination
- 5) ทำ Deacetoxylation ของสาร V พวก metals เพื่อให้เกิด reduction ที่กลุ่ม ketone
- 6-7) ทำ degradation ของ spirostane side chain ของ 11-ketotigogenin (VI) ได้ 11-keto-16-dehydro-pregnenolone acetate (VIII)
- 8) ทำ 2, -unsaturated ketone ให้ Saturation โดยทำปฏิกิริยากับ hydrogen ใน nickel หรือ palladium โดยมีคาร์บอนเป็นคะตะลิสต์
- 9) ทำ enol acetate ที่ตำแหน่ง 20-keto ได้ผลผลิต (X) ประมาณ 92%
- 10) จาก X เปลี่ยนเป็น $3\beta, 17\alpha$ -dihydroxy 11, 20-dioxo-pregnane โดยการ oxidation ด้วย perphthalic หรือ peracetic acid แล้ว treat ด้วย alcoholic sodium hydroxide
- 11-12) ทำ 21-acetoxy group โดย bromination และ potassium acetate ใน acetone
- 13) เปลี่ยน 3-hydroxyl group เป็น ketone โดยใช้ chromium trioxide ใน pyridine
- 14) สาร XV เตรียมโดยเติม Bromine ในกรด acetic
- 15) ทำ dehydrobromination ได้ prednisone-21-acetate (XVI)

16-17) reflux XV กับ sodium iodide ใน methanol ได้ XVII ได้ cortisone-21-acetate

4. การสังเคราะห์จาก Diosgenin ไปเป็น 16-Dehydropregnenolone

การเปลี่ยน Diosgenin ในอุตสาหกรรมไปเป็น pregnane derivatives จากนั้นเปลี่ยนเป็น Compound "S" และเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ยาอื่น ๆ ขั้นตอนดังนี้ รูปที่ 7

1) Pseudomerization stage

Diosgenin (I) ทำปฏิกิริยากับ acetic anhydride ในภาวะปิดสนิทที่อุณหภูมิ 190-200°ซ ใช้คะตะลิสต์ เช่น Friedl-Craft catalyst, lewis acid-type catalyst, หรือ pyridine hydrochloride ได้ pseudodiosgenin-diacetate (II)

2) Oxidation ในกรดอะซีติก และ chromium trioxide ได้สาร diosone (III)

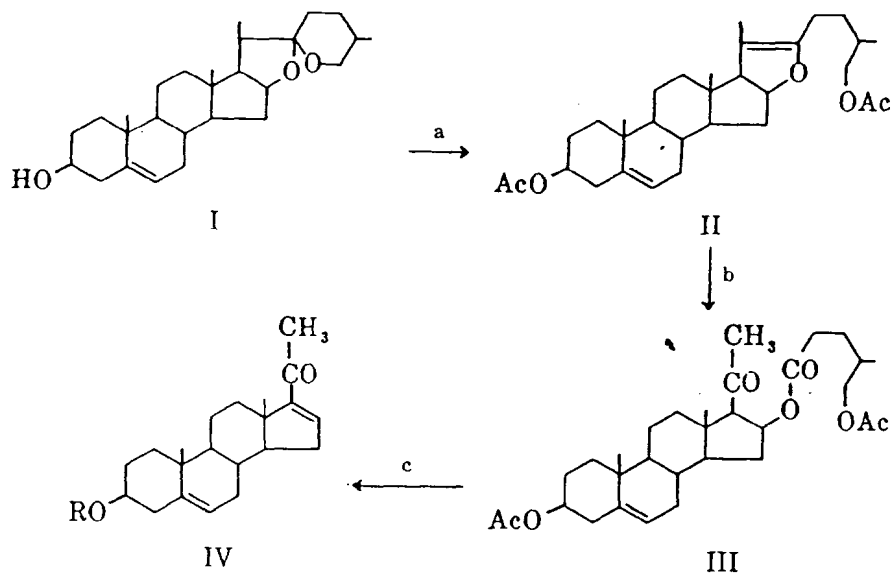
3) จาก diosone ester ทำปฏิกิริยาโดยใช้ความร้อนกับด่างโซเดียม หรือ โบแตสเซียมในแอลกอฮอล์ ได้ 16-dehydropregnenolone (IV)

5. การสังเคราะห์จาก 16-Dehydropregnenolone เป็น Compound "S"

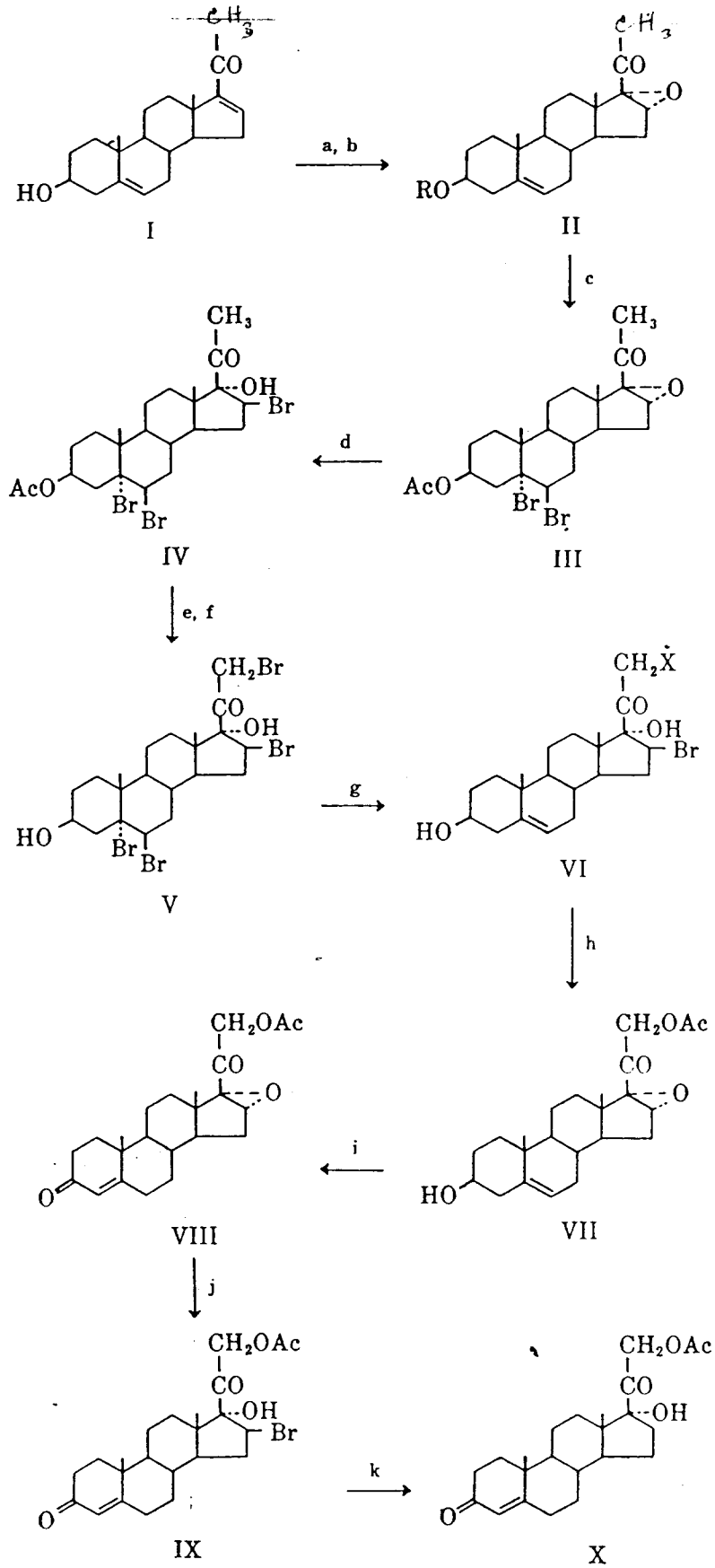
ขั้นตอนดังนี้ รูปที่ 8

1) สาร I ทำปฏิกิริยากับ Hydrogen peroxide ใน alcoholic sodium hydroxide ได้สาร 16 β , 17 β -epoxide (II) (R = H) ตกผลึกออกมา (b = acetic anhydride and pyridine)

2) สาร II ทำปฏิกิริยากับ Bromine ในกรดอะซีติก ได้สาร III



รูปที่ 7. 16-Dehydropregnenolone from diosgenin.



รูปที่ 8. Compound "S" from 16-dehydropregnenolone.

3) สาร III ทำปฏิกิริยากับ hydrobromic acid in acetic acid เปลี่ยน epoxide เป็น bromohydrin (IV)

4) เติม Bromine ลงในสาร IV ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ตำแหน่ง 3β -acetoxy group ถูกไฮโดรไลซ์ โดย hydrogen bromide in methanol ได้สาร V tetrabromide ตกตะกอนในน้ำ

5) สาร V ละลายใน methanol ที่มี sodium iodide ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ที่ C-21 โบรมีนถูกแทนที่ด้วยไอโอดีน ได้สาร VI

6) สาร VI ทำปฏิกิริยา reflux ใน acetone ที่มี potassium acetate อย่างน้อย 4 ชั่วโมง ได้สาร VII

7) สาร VII ทำ Oxidation ด้วย cyclohexanone เป็น hydrogen acceptor และใช้ aluminum isopropylate เป็นคะตะลิสต์ ได้สาร VIII ทำปฏิกิริยากับ hydrogen bromide ใน acetic acid ได้สาร IX

8) สาร IX ทำปฏิกิริยาใน methanol ใน deactivated Raney nickel ได้สาร S-monoacetate (X) ซึ่งทำให้บริสุทธิ์และตกผลึกใน acetone หรือทำไฮโดรไลซ์ให้ได้ Compound 'S' โดยทำปฏิกิริยากับ alkali metal bicarbonate

1

6. การตรวจเอกลักษณ์ของ transform product โดย TLC

1) TLC plate Silica gel G

2) Development มีหลายระบบ เช่น

Cyclohexane:Chloroform:acetic acid 80:10:10

Toluene:Petroleum ether (40-60°):methanol 40:40:20

Cyclohexane:acetone:chloroform 75:25:20

Ethylene chloride:acetone 80:20

Benzene:ethyl acetate:acetone 80:20:20

Chloroform:cyclohexane:iso propanol 50:100:20

Chloroform:ethyl acetate 80:20

Chloroform:acetic acid 90:10

3) Detection ใช้ color reagent เช่น

1-Aqueous iodine:0.2 N iodine solution ใน potassium
iodide

LB reagent

3-Vaniline-Perchloric acid:1% Solution of vaniline in 10%
aqueous solution of perchloric
acid

4-Chlorosulphonic acid:acetic acid (3:1)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ได้สารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์คอติโคสเตอรอยด์
- 2) ได้การประเมินผลสู่อุตสาหกรรมขั้นต้น

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

ดูภาคผนวก 1, 2, 3

ผลการวิจัย

- 1) ได้สาร Hecogenin acetate ปริมาณร้อยละ 91 โดยน้ำหนัก
- 2) ได้สาร Tigogenin acetate ปริมาณร้อยละ 87.5 โดยน้ำหนัก
- 3) การเปลี่ยนสาร Hecogenin เป็น Tigogenin ได้ร้อยละ 60

- 4) ใต้สาร 16-dehydropregnenolol จาก Hecogenin ร้อยละ 50
- 5) ใต้สาร 16-dehydro-12-ketopregnenolone acetate จาก Hecogenin ร้อยละ 38
- 6) ใต้สาร 16-dehydropregnenolone acetate ร้อยละ 42

วิจารณ์

- 1) การพัฒนาวิธีการ Wolff-Kishner โดย Nagata Itazaki ในการรีดิวส์ เฮโคเจนิน เป็น tigogenin และ 16-dehydro-12-keto pregnenolone acetate เป็น 16-dehydropregnenolol ซึ่งเป็นสารสำคัญในการเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ฮอร์โมน สามารถทำได้ที่อุณหภูมิสูงในภาชนะเปิดตามปกติ
- 2) สามารถลดขั้นตอนการเตรียม 16-dehydropregnenolol ลงได้หลายขั้นตอน
- 3) การเปลี่ยน hecogenin ที่มี 12-keto group ไปเป็น tigogenin จะสะดวกและประหยัดในการสังเคราะห์ รวมทั้งไม่ต้องแยกสารบริสุทธิ์ออกมาจากสารผสมของสเตอรอยด์ด้วย

สรุป

- 1) ผลการวิจัยนี้ อาจสรุปได้ว่า การสังเคราะห์ฮอร์โมนต่าง ๆ ใช้นวัตกรรมมียาของสเตอรอยด์จากวัสดุเหลือทิ้งอุตสาหกรรมทำเชือกป่านสรนารายณ์ มีู่ทางที่เป็นไปได้มาก
- 2) การวิจัยนี้ยังดำเนินต่อไป เพื่อปรับเปลี่ยนสภาวะต่าง ๆ ในการลดต้นทุนการผลิตและสภาวะที่เหมาะสมกับประเทศไทย

คณะวิจัย

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รศ. ดร. บุญส่ง คงคาทิพย์
รศ. ดร. งามพ่อน คงคงทิพย์
น.ส. ปิยะนุช มงคลศรีพัฒนา
น.ส. อนุช หัสคุณไพศาล

วท.

น.ส.พรสวรรค์ ดิษยบุตร	ประสานงานและเขียนรายงาน
นางสุขุมาลัย คุรุถนอม	พิมพ์รายงาน
นางละม่อม อินทรกำแหง	จัดทำรายงาน
นายศิริ คุรุถนอม	ทำปก

เอกสารอ้างอิง

1. Pincus, G; Thimann K.V. (1955). The Hormones V.III. Academic Press N.Y.
2. Sallam A.R., et al; (1969). TLC of some C₂₁, C₁₉ and C₁₈ Steroids, J. Gen. Appl. Microbiol, 15 309-315
3. Norman Applezweig (1962). Steroid Drugs V.1, McGraw-Hill Book Co., Inc. N.Y.
4. Blunden G, Miss C. Culling and K. Jewers (1975) Trop. Sci 17, 139
5. Roland Hardman, (1969), Trop. Sci., 11, 196
6. Srinivasulu C., Sree A., Mahapatra S.N. (1985); "Hecogenin from Agaves and scope for integrated develoment". Indian Drugs, 23(3) 129-32

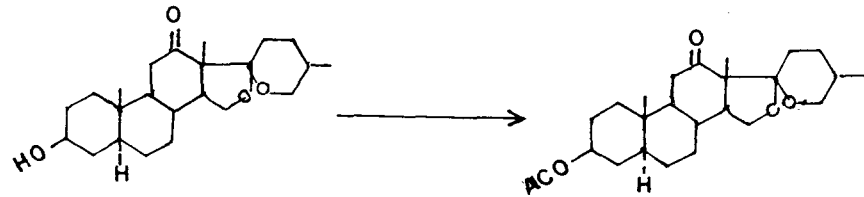
ภาคผนวกที่ 1

การเตรียมสารประกอบอะซีเตตของเฮโรดเงินและทิโรเงิน

โดย รศ. ดร. บุญส่ง คงคาทิพย์, รศ. ดร. งามพ่อง คงคาทิพย์
น.ส. ปิยะนุช มงคลศรีพัฒนา

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
บางเขน

1. การเตรียม Acetate ของ Hecogenin



สารเคมีที่ใช้

- 1) Hecogenin
- 2) Pyridine
- 3) Acetic anhydride
- 4) Water
- 5) Chloroform
- 6) Sodium Sulfate

วิธีทดลอง

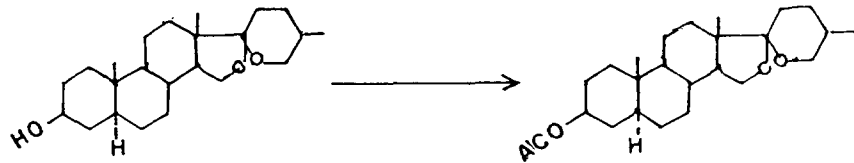
(1) Hecogenin 50 mg. ละลายใน Pyridine 1 ml. และใส่สาร Acetic anhydride 3 ml. คนไว้ 1 คืน แล้วใส่น้ำกลั่นเข้าจะได้ emulsion สีขาว extract ด้วย Chloroform แล้ว dry ด้วย Sodium Sulfate กรอง แล้วนำไป evaporate ให้แห้ง แล้วทำ TLC เทียบกับสารตั้งต้นโดย RUN ใน chloroform

• (2) จาก TLC คาดว่าคงเกิด Acetate ขึ้น จึงตกผลึกด้วย Methanol กับ Chloroform แล้วนำผลึกไปตรวจสอบอีกที โดยใช้ NMR

(3) จากการทดลองครั้งนี้ได้ผลึกออกมา 39 mg.

ทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง โดยเพิ่มปริมาณสาร โดยใช้ Hecogenin 2.1 g.
Puridine 40 ml. acetic anhydride 120 ml. และติดตามผลเช่นเดิมทุกอย่าง ปรากฏ
ว่าได้ผลึกออกมา 1.92 g.

2. การเตรียม Acetate ของ Tigogenin



สารเคมีที่ใช้

- 1) Tigogenin
- 2) Pyridine
- 3) Acetic Anhydride
- 4) Water
- 5) Chloroform
- 6) Sodium Sulfate

วิธีทดลอง

(1) Tigogenin 50 mg. ละลายใน Pyridine 1 ml. และใส่ acetic anhydride 3 ml. คน 1 คืน แล้วใส่น้ำกลั่นเขย่า จะได้ emulsion สีขาว extract ด้วย chloroform แล้ว dry ด้วย sodium sulfate แล้วกรอง แล้วนำสารที่ได้ไป evaporate ให้แห้ง แล้วทำ TLC เทียบกับสารตั้งต้น โดย run ใน chloroform

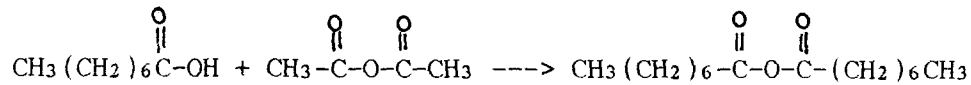
• (2) จาก TLC คาดว่าจะเกิด Acetate ขึ้น จึงนำมาตกผลึกใน Methanol และ Chloroform แล้วนำผลึกที่ได้ไปตรวจสอบ โดยใช้เครื่อง NMR

(3) จากการทดลองครั้งนี้ ได้ผลึกออกมา 38.5 mg.

ทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง โดยเพิ่มปริมาณสาร โดยใช้ Tigogenin 2 g. pyridine 40 ml. acetic anhydride 120 ml. แล้วติดตามผลเช่นเดิมทุกอย่าง ปรากฏว่าได้ผลึกออกมา 1.75 g.

ในการเตรียม Acetate ของ Tigogenin และ Hecogenin เพื่อที่จะนำมาเป็นสารตั้งต้นในการทำการทดลองขั้นต่อไป

3. เตรียม octanoic anhydride



สารเคมีที่ใช้

- octanoic acid
- acetic anhydride

วิธีทดลอง

(1) ใส่อctanoic acid จำนวน 3.1 ml. (2.792 กรัม) และใส่อcetic anhydride จำนวน 2.75 ml. (2.925 กรัม) ลงในขวดก้นกลม แล้วต่อเข้ากับ condenser แล้ว refluxed เป็นเวลา 18 ช.ม.

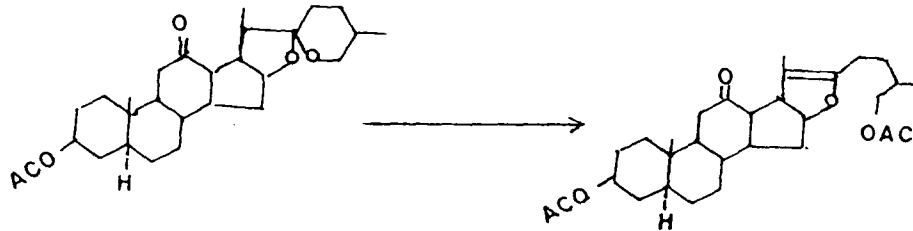
เมื่อครบ 18 ช.ม. แล้วนำไปกลั่น โดยใช้ Vigreux column สูง 6 ช.ม. ภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน และลดความดัน ผลผลิตที่ได้มีจุดเดือดที่ 183-186°C ที่ 16 มม. ของปรอท

(2) ในการทดลองครั้งนี้เมื่อกระทำเสร็จ ติดตามผลด้วย TLC ปรากฏว่าได้ 4 จุด แสดงว่าปฏิกิริยาอาจจะเกิดไม่สมบูรณ์ จึงได้ลองทำซ้ำอีกครั้ง โดยใส่อctanoic acid จำนวน 5.599 กรัม และ acetic anhydride จำนวน 5.938 กรัม และ refluxed เช่นเดิม แต่ครั้งนี้เพิ่มเวลานี้ขึ้นอีกประมาณ 6 ช.ม. แล้วระหว่างทำการทดลอง ทำการติดตามด้วย TLC เป็นระยะ จนแน่ใจว่าปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ หลังจากนั้น ทำการกลั่น ภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน และลดความดัน ได้สารออกมาค่อนข้างจะบริสุทธิ์ ที่จุดเดือด 108-113°C ที่ความดัน 0.3 มม. ของปรอท

การทดลองครั้งหลังได้สารออกมาจำนวน 5.76 g. และหลังจากติดตามด้วย TLC แล้ว เพื่อให้เกิดความแน่ใจยิ่งขึ้น จึงได้นำสารไปฉีด CC ต่อ

เมื่อได้ octanoic anhydride เรียบร้อยแล้ว จะนำ octanoic anhydride นี้ ไปใช้ในปฏิกิริยาการเปิด ring ของ Hecogenin acetate ในการทดลองต่อไป

4 ทำการเปิด ring ของ Hecogenin acetate ด้วย octanoic anhydride



สารเคมีที่ใช้

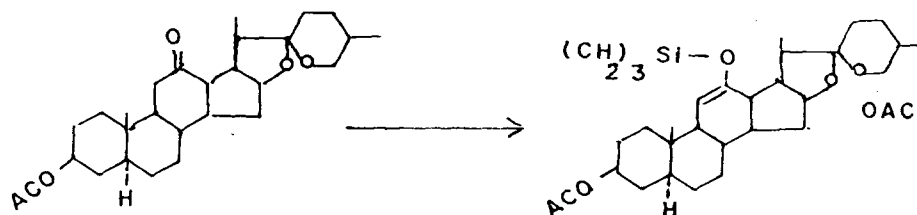
- 1) Hecogenin acetate
- 2) n-octanoic acid
- 3) n-octanoic anhydride
- 4) diethyl ether
- 5) Sodium hydroxide
- 6) Sodium sulfate

วิธีทดลอง

(1) ใส Hecogenin acetate จำนวน 0.5 กรัม octanoic acid จำนวน 0.66 ml. octanoic anhydride จำนวน 0.34 ml. ลงในขวดก้นกลม แล้ว refluxed เป็นเวลา 2 ชม. แล้วทำการกลั่นธรรมดา จนกระทั่งอุณหภูมิถึง 240°C เพื่อเอา fraction ที่มีจุดเดือดต่ำ ๆ ออกก่อน หลังจากนั้น ทำการ refluxed ต่ออีก 2 ชม. แล้วปล่อยให้ mixture เย็น ทำการสกัดด้วย diethyl ether ล้างด้วย 2 N-Sodium Hydroxide และ น้ำ แล้ว Dry ด้วย Sodium Sulfate หลังจากนั้น นำชั้นของ diethyl ether ไป evaporate จะได้ gum แล้วนำไปตกผลึกด้วย acetone และน้ำ โดยใส่น้ำแล้วตั้งไฟแล้วค่อยๆ หยด acetone จนละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ จะได้ผลึกตกออกมา ผลึกที่ได้มีสีเหลืองนวล นำผลึกไป Dry จนแห้ง

จากการทดลอง ได้ผลึกออกมาประมาณ 50 mg. จากนั้นจึงได้นำผลึกประมาณ 30 mg. มาเตรียมเป็น sample เพื่อนำไป RUN NMR

5. การเตรียม Enolsilyl ether ของ Hecogenin acetate



สารเคมีที่ใช้

- 1) Hecogenin acetate
- 2) anhydrous diisopropylamide
- 3) anhydrous THF
- 4) N-Butyllithium ใน Hexane
- 5) Trimethyl chlorosialane
- 6) Diethyl ether
- 7) Sodium sulfate

วิธีทดลอง

(1) การเตรียม lithium diisopropylamide (LDA) ผสม anhydrous diisopropylamide จำนวน 0.332 ml. และ THF จำนวน 4.8 ml. ลงในขวด 390 แล้วทำให้อุณหภูมิเย็นลงถึง 78°C แล้วค่อย ๆ หยด n-Butyllithium ใน Hexane จำนวน 1.32 ml. ด้วยหลอดฉีดยาภายในเวลา 10 นาที แล้วทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นมาที่ 0°C แล้ว stirred 30 นาที จะได้ Solution ของ LDA

(2) ทำให้ Solution ของ LDA เย็นลงถึง -78°C แล้วค่อย ๆ หยดสารละลาย Hecogenin acetate จำนวน 0.224 กรัม ใน THF 2 ml. ด้วยหลอดฉีดยา ภายในเวลา

10 นาที แล้ว stirred 1 ช.ม. ที่ -78°C แล้วค่อย ๆ หยด Trimethyl chlorosilane จำนวน 0.37 กรัม ที่ -78°C แล้ว Stirred ต่ออีก 1 ช.ม. ที่อุณหภูมิห้อง

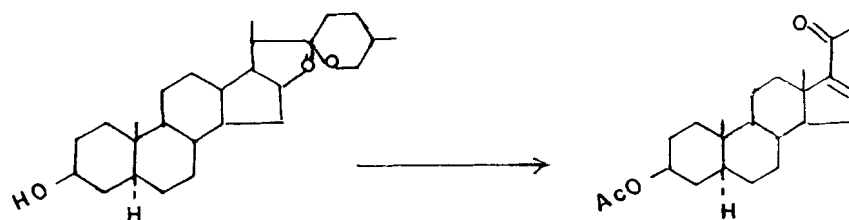
(3) นำไประเหยไล่เอา THF ออก แล้วใส่ diethyl ether เพื่อละลาย แล้วล้างด้วยน้ำ เพื่อละลายเกลือ LiCl Dry ด้วย Na_2SO_4 แล้ว evaporate ออก แล้วนำมาตกผลึกโดยใช้ ethanol กับ H_2O

ในการทำการทดลองนี้ ได้ผลึกออกมาน้อยมาก จึงได้ลองทำการทดลองใหม่อีกครั้ง โดยใช้ Hecogenin acetate เพิ่มเป็น 0.589 g. ทั้งสองครั้ง ผลของ TLC ออกมาปรากฏว่าไม่บริสุทธิ์ จึงได้นำสารของทั้งสองครั้งมารวมกัน ได้ประมาณ 0.200 กรัม จึงได้นำมาทำการแยก โดย CC และ RUN ด้วย chloroform ในการ RUN ครั้งแรก สารออกมาเร็วมาก จึงไม่สามารถแยกได้ จึงต้องทำใหม่อีกครั้งหนึ่ง ครั้งนี้แยกเป็น 24 Fraction และที่น่าสนใจ และได้เป็นผลึกออกมาคือ Fraction ที่ 6 และ Fraction ที่ 20 และจะนำไปตรวจสอบต่อไป

จากนั้น ได้ทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง โดยใช้ Hecogenin acetate 500 mg. และในการทำครั้งนี้ เพื่อให้แน่ใจว่าจะเกิดปฏิกิริยาแน่นอน จึงได้ทำการ Dry Diisopropylamine ก่อน โดยการใส่โลหะโซเดียม ตั้งทิ้งไว้แล้ววกกลับ ภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน

ผลการทดลองครั้งนี้ ได้ผลึกสีขาวออกมาจำนวนมาก ประมาณ 300 mg. และเมื่อติดตามด้วย TLC ปรากฏว่า จุดที่ออกมาได้ใกล้เคียงกับสารตั้งต้นมาก จึงต้องนำไปทดสอบอย่างอื่นต่อไป จะได้ทราบว่า การทดลองครั้งนี้เกิดหรือเปล่า และได้สารตัวใดขึ้นมา

6. การเตรียมผลิตภัณฑ์หมายเลข 1 จาก Tigogenin



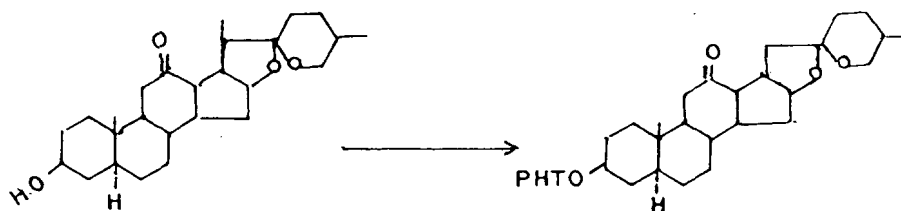
สารเคมี

- 1) Tigogenin
- 2) Pyridine
- 3) Ammonium chloride
- 4) Acetic anhydride
- 5) Acetic acid
- 6) 1, 2-dichloro ethane
- 7) Cromium trioxide
- 8) Methanol
- 9) Sodium acetate

วิธีทดลอง

- (1) ใส่ Pyridide และ Ammonium chloride ผสมกันในขวดลูกอมฟู่
- (2) ใส่สารในข้อที่ 1 ลงในขวดก้นกลมที่มี Tigogenin อยู่ แล้ว stirred แล้วให้ความร้อนที่ 125-135°C เป็นเวลา 8-9 ชั่วโมง

7. การ Protect Hecogenin ด้วย tetrahydropyran



สารเคมี

- 1) Hecogenin
- 2) Dihydropyran
- 3) P-toluene sulfonic
- 4) Anh. dichloromethane

วิธีทดลอง

(1) นำ Hecogenin, Dihydropyran, P-toluene sulfonic acid monohydrate มาผสมใน anh. methylene chloride แล้วใส่ลงในขวด 3 คอ จากนั้นก็ต่อ drying tube เข้ากับขวดที่กลมที่ใส่สารนั้น

(2) Stirred สารในข้อ 1 เป็นเวลา 6 ช.ม.

(3) นำสารในข้อ 2 มา work up โดยใช้ 10% NaHCO₃ และสารละลาย NaCl แล้ว Dry ด้วย Na₂SO₄

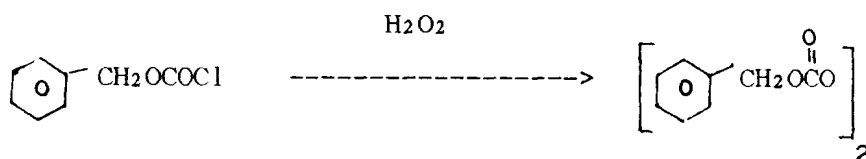
(4) นำสารที่ได้ในข้อ 3 ไปทำให้แห้ง แล้วนำไปตกผลึกต่อไป

- (3) ใส่ Acetic acid, 1, 2-dichloroethane และน้ำ แล้วทำให้ปฏิกิริยาเย็นลงที่ 0°C.
- (4) ผสมสารละลายของ Chromiumtrioxide ในน้ำ และ Acetic acid ใน flask แล้วทำให้เย็นที่ 0°C
- (5) ค่อยหยดสารในข้อ 4 ลงในข้อ 3 แล้ว stirred 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง
- (6) ใส่ Sodium chloride น้ำ และ methanol ในข้อ 5 แล้ว stirred 1 ชั่วโมง
- (7) สกัดด้วย 1, 2-dichloroethane แล้วล้างด้วยน้ำ
- (8) เอาชั้น organic phase มาใส่ Sodium Acetate แล้วกลั่น Azeotrop เพื่อนำน้ำออก
- (9) ทำให้ residue เย็น แล้วใส่น้ำ จะได้ Product ออกมาเป็นของแข็งสีขาว
- (10) กรอง แล้วนำมาตกผลึกอีกครั้ง ด้วย Methanol กับน้ำ

ในการทดลองครั้งนี้ ใช้ Tigogenin เริ่มต้น 500 mg. และจะได้ผลิตภัณฑ์ออกมาเป็นของแข็งสีขาว ประมาณ 100 mg. วิเคราะห์โดย NMR โดยใช้รหัส PM6 ผลที่ได้จากการ RUN ครั้งนี้ คาดว่าจะได้ผลิตภัณฑ์หมายเลข 1

ในการทดลองครั้งนี้ ใช้ Tigogenin ตั้งต้น 200 mg. และเมื่อทำปฏิกิริยาครบทุก
ขั้นตอนแล้ว ปรากฏว่า ได้ผลิตภัณฑ์ออกมาเป็น mixture จำนวน 140 mg. และจะนำไปทำให้
บริสุทธิ์ต่อไป

8. การเตรียม Dibenzyl Peroxydicarbonate



สารเคมี

- 1) Hydrogenperoxide
- 2) Sodiumhydroxide
- 3) benzyl chloroformate
- 4) Hexane
- 5) Chloroform

วิธีทดลอง

(1) แช่ของผสมระหว่าง Hydrogenperoxide และ Sodium hydroxide ที่ 0°C ,

(2) แช่ benzyl chloroformate ไว้ที่ 0°C แล้วใส่ลงไปนข้อ 1 และ Stirred ต่ออีก 15 นาที ที่ 0°C

(3) ใส่ Hexane แล้ว stirred 15 นาที จะได้ตะกอนออกมา

(4) กรองตะกอนแล้วล้างด้วย Hexane 3 ครั้ง

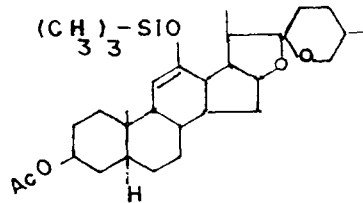
(5) ละลายตะกอนด้วย Chloroform และ Dry ด้วย MgSO₄

(6) ค่อย ๆ หยด Hexane จะได้ตะกอนออกมา

(7) กรองตะกอนแล้วล้างด้วย Hexane แล้วนำไปทำให้แห้ง

ในการเตรียม Dibenzyl Peroxydicarbonate นี้ เพื่อจะนำไปเป็น reagent ในการทำปฏิกิริยา S-Hydroxylation ของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาการเตรียม enol silyl ether จาก Hecogenin acetate แต่ในการทำการเตรียม enol silyl ether ผลที่ได้ ได้ส่งไป RUN NMR เพื่อให้ทราบว่าได้ผลิตภัณฑ์ A จริง และในขณะนี้ ผลยังไม่ส่งกลับคืนมา ดังนั้น จึงยังไม่สามารถทำปฏิกิริยาต่อได้

หมายเหตุ ผลิตภัณฑ์ A มีโครงสร้างดังนี้



ภาคผนวกที่ 2

ปฏิกิริยารีดักชันของ hecogenin และ 16-dehydro-12-ketopregnenolone
acetate : โดยการปรับปรุงปฏิกิริยา Wolf-Kishner

โดย รศ. ดร. บุญส่ง คงคาทิพย์, รศ. ดร. งามพ่อง คงคาทิพย์
น.ส. ปิยะนุช มงคลศรีพัฒนา

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
บางเขน

บทสรุป

สารประกอบ hecogenin ที่แยกได้จากบ้านศรนารายณ์ สามารถรีดิวส์ไปเป็น tigogenin โดยปฏิกิริยา Wolff-Kishner รีดักชันที่พัฒนาโดย Nagata-Itazaki ซึ่งจะได้ tigogenin ในปริมาณ 60%

ส่วนสาร 16-dehydro-12-ketopregnenolone acetate ซึ่งเตรียมมาจาก hecogenin สามารถรีดิวส์ไปเป็นสาร 16-dehydropregnenolol โดยวิธีเดียวกัน และได้ผลิตภัณฑ์ประมาณ 50%

คำนำ

ปฏิกิริยา Wolff-Kishner รีดักชัน เป็นวิธีที่สะดวก และมีการใช้กันอย่างกว้างขวางในการเปลี่ยนหมู่ ketone ไปเป็นหมู่ methylene อย่างไรก็ตาม ปฏิกิริยารีดักชันที่ใช้กันอย่างแพร่หลายนี้ พบว่าในบางครั้งค่อนข้างจะยุ่งยากและลำบาก ในการนำไปปฏิบัติจริง เช่น ถ้าต้องทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง (100°C ขึ้นไป) จะไม่สามารถทำได้ในภาชนะเปิด เพราะตัวทำละลายที่ใช้นั้น เช่น เอธิลแอลกอฮอล์ที่มีจุดเดือด 78°C ดังนั้น จึงต้องทำในหลอดแก้วปิด (sealed tube) จึงได้มีผู้พยายามปรับปรุงและพัฒนาปฏิกิริยานี้ ซึ่งบางวิธีพบว่า มีผลิตภัณฑ์ข้างเคียงเกิดขึ้นด้วย หรือไม่ก็ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการในปริมาณที่ต่ำ

การปรับปรุงและพัฒนาปฏิกิริยา Wolff-Kishner รีดักชันที่ประสบผลสำเร็จและเป็นที่ยอมรับ จะมีหลักการอยู่ 4 ประการ คือ

1. หลีกเลี่ยงปฏิกิริยาที่ต้องแยกสารมัธยันตร์ kydrazone ออกมา
2. ใช้ hydrazine hydrate ($\text{N}_2\text{H}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) แทน anhydrous hydrazine เพราะมีความเป็นพิษน้อยกว่า ถึงแม้ว่าจะว่องไวต่อปฏิกิริยาน้อยกว่า
3. ใช้ตัวทำละลายแอลกอฮอล์ที่มีจุดเดือดสูง เช่น ethylene glycol (EG), diethylene glycol (DEG), triethylene glycol (TEG) และ triethanol-amine (TEA) ซึ่งทำให้สามารถทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูงได้ในภาชนะเปิดตามปกติ

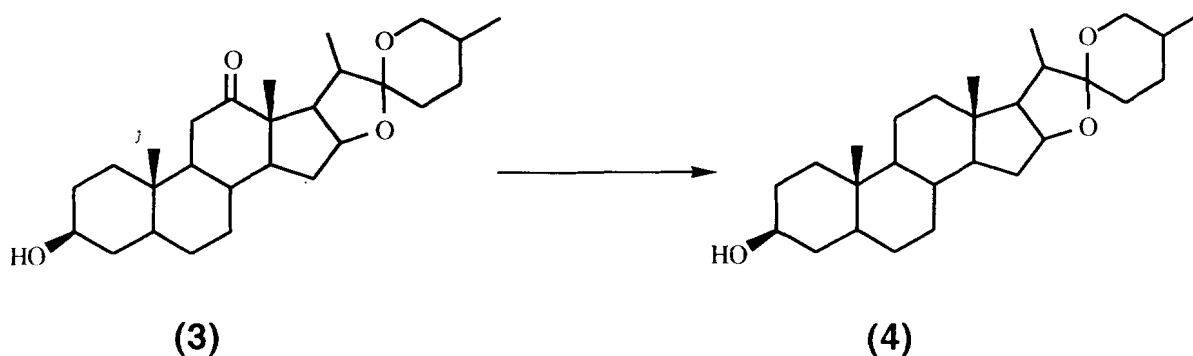
4. ใช้เบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งละลายได้ในตัวทำละลายที่ใช้

อย่างไรก็ตาม วิธีที่ปรับปรุงแล้วนี้ อาจจะใช้ได้กับสารตัวหนึ่ง แต่อาจจะไม่ได้ผลกับสารอีกตัวหนึ่งได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น การละลาย หรือความเกาะกันในโมเลกุลของสาร เป็นต้น

ในรายงานนี้ ได้นำวิธีที่ปรับปรุงโดย Nagata-Itazaki มาใช้ในการรีดิวส์ hecogenin (3) ไปเป็น tigogenin (4) และรีดิวส์สาร 16-dehydro-12-ketopregnenolone acetate (5) ไปเป็นสาร 16-dehydropregnenolol (6) ซึ่งปฏิกิริยานี้เป็นขั้นตอนที่สำคัญในการสังเคราะห์ยาสเตียรอยด์จากสารประกอบเหล่านี้

วิธีทำ

การรีดิวส์ Hecogenin



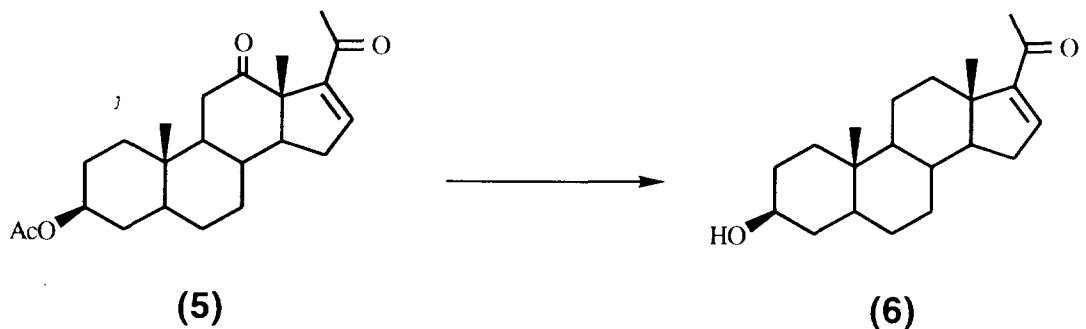
1. ผสม hecogenin (0.10 กรัม) hydrazine hydrate (0.85 กรัม) hydrazine dihydrochloride (0.2 กรัม) และ triethylene glycol (31.6 ml.) ลงในขวดกันกลม ซึ่งต่อกับเครื่องควบแน่น ให้ความร้อนพร้อมทั้งกวนที่อุณหภูมิ 130°C เป็นเวลา 2.5 ชม.

2. เติมเกล็ดของโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (0.28 กรัม) และจัดเครื่องมือในลักษณะเครื่องกลั่น เติมอุณหภูมิเป็น 210°C (เพื่อให้สารที่มีจุดเดือดต่ำกลั่นออกมา) เป็นเวลา 2-3 ชม.

3. นำสารละลายที่เหลือในขวดกันกลม จากการกลั่นมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และล้างด้วยน้ำ แยกชั้นของคลอโรฟอร์มรวมกัน แล้ว dry ด้วย anhydrous sodium sulphate ทำการกรองและระเหยตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดัน

4. นำไปวิเคราะห์ปริมาณด้วย แก๊สโครมาโตกราฟี และนำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยวิธี nuclear magnetic resonance และ mass spectroscopy

การรีดิวส์ 16-dehydro-12-ketopregnenolone



วิธีทำเหมือนกับการรีดิวส์ hecogenin โดยใช้สารตั้งต้น 16-dehydro-12-ketopregnenolone 0.50 กรัม ได้ผลิตภัณฑ์เป็น 16-dehydropregnenolol 0.25 กรัม

ผลการทดลอง

1. Hecogenin สามารถเปลี่ยนไปเป็น tigogenin ได้ จากการวิเคราะห์ปริมาณโดยใช้แก๊สโครมาโตกราฟีพบว่า ได้ tigogenin ในปริมาณ 60%
2. 16-dehydro-12-ketopregnenolone acetate สามารถเปลี่ยนไปเป็น 16-dehydropregnenolol ในปริมาณ 50%

ภาคผนวกที่ 3

การสังเคราะห์สารประกอบ

16-dehydropregnenolone : สารมัธยันตร์ของสเตียรอยด์ฮอร์โมน

โดย รศ. ดร. บุญส่ง คงคาทิพย์, รศ. ดร. งามพ่อง คงคาทิพย์
น.ส. อนุช หัสคุณไพศาล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
บางเขน

บทสรุป

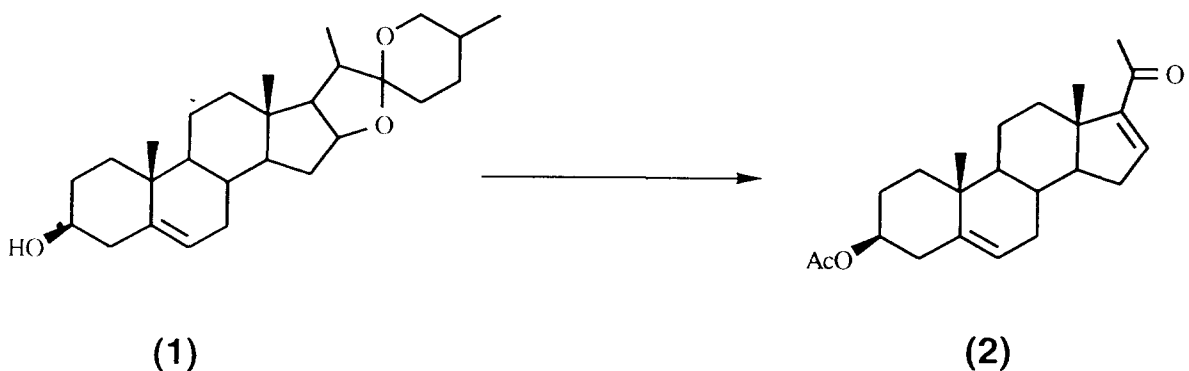
Hecogenin(3) ที่แยกได้จากป่านศรนารายณ์สามารถเปลี่ยนไปเป็น 16-dehydro-12-ketopregnenolone acetate (4) โดยใช้ปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียว ในสภาวะความกดดันปกติ และอุณหภูมิที่ไม่สูงมากนัก โดยได้ผลิตผลประมาณ 38%

ส่วน Tigogenin (5) ซึ่งแยกได้จากป่านศรนารายณ์เช่นกัน สามารถเปลี่ยนไปเป็น 16-dehydropregnenolone acetate (6) ในปริมาณ 42% โดยใช้วิธีการเดียวกัน

คำนำ

สาร 16-dehydropregnenolone acetate (3B-acetyloxypregnenolone-5, 16-dien-20-one, 2) ซึ่งเป็นสารมัธยันตร์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตยาสเตียรอยด์ ฮอร์โมนนั้น มักจะเตรียมมาจากสาร diosgenin (1) ที่แยกได้จากเอื้องหมายนา โดยใช้วิธีการ 3 ขั้นตอน คือ

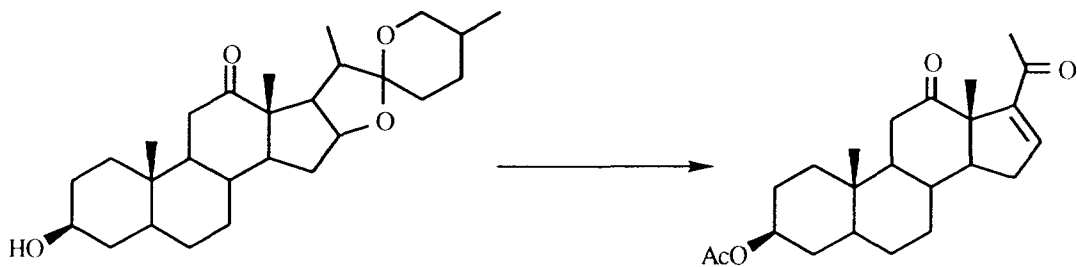
1. ทำการเปิดวง spiroketal โดยใช้ acetic anhydride ซึ่งต้องทำในภาชนะปิด (auto clave)
2. ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สาร pseudodiosgenin
3. ทำไฮดรอลิซิส ตามด้วยออกซิเดชัน จะได้สาร 16-dehydropregnenolone acetate (2)



รายงานนี้ได้แสดงวิธีการเปลี่ยน hecogenin (3) ซึ่งแยกได้จากป่านศรนารายณ์ไปเป็นสาร 16-dehydro-12-ketopregnenolone (4) และเปลี่ยนสาร tigogenin (5) ซึ่งแยกได้จากป่านศรนารายณ์เช่นกัน ไปเป็นสาร 16-dehydropregnenolone (6) ซึ่งสาร (4) และ (6) นี้ สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาสเตียรอยด์ในทางอุตสาหกรรมได้

วิธีทำ

การเปลี่ยน hecogenin ไปเป็น 16-dehydro-12-ketopregnenolone Acetate



1. เติม pyridine (0.95 มล.) กับแอมโมเนียมเนียมคลอไดรด์ (0.6182 กรัม) ในขวด 3 คอแก้วกลม ที่มีสารละลายของ hecogenin (5 กรัม) ใน acetic anhydride (25 มล.) ทำการกวนและให้ความร้อนของผสมนี้ที่อุณหภูมิ 125-135°C เป็นเวลา 8-9 ชม. และติดตามความสมบูรณ์ของปฏิกิริยาด้วยวิธี thin layer chromatography

2. เติมกรดอะซิติก (9.5 มล.) 1, 2-dichloro-ethane (9.5 มล.) และน้ำ (1.28 มล.) ลงในปฏิกิริยาข้อ 1 แล้วนำไปแช่เย็นอุณหภูมิ 0°C

3. ผสม chromium oxide (CrO₃) (2.1 กรัม) กับน้ำ (3 มล.) และกรดอะซิติก (1 มล.) แช่เย็นที่ 0°C

4. ค่อย ๆ หยดสารละลายในข้อ 3 ลงในสารละลายในข้อ 2 โดยรักษาอุณหภูมิไว้ที่ 7-10°C จนหมด จากนั้นจึงทำการกวนต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชม.

5. เติมสารละลายของโซเดียมคลอไรด์ (2.37 กรัม) ในน้ำ (35.67 มล.) และเอซิลแอลกอฮอล์ (0.38 มล.) ลงในของผสมข้อ 4 กวนต่อไปอีก 1 ชม.

6. ทำการสกัดผลที่ได้ด้วยตัวทำละลาย dichloromethane แล้วล้างตัวทำละลายด้วยน้ำ เพื่อขจัดเกลือโครเมียมที่เหลืออยู่

7. นำ dichloromethane ที่ได้มาเติมเกลือโซเดียมอะซิเตด (1.67 กรัม) แล้วทำการกลั่น azeotrop เพื่อขจัดน้ำออก

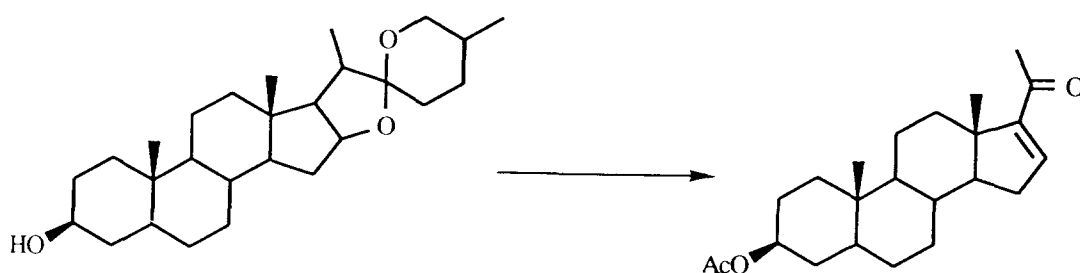
8. ทำการสกัดผลที่ได้จากข้อ 7 ด้วย dichloromethane (25 ml x 3) และล้างสารสกัดด้วยน้ำ จากนั้นจึงระเหยตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดัน ได้สารซึ่งจะทำให้บริสุทธิ์ต่อไป

9. ทำผลิตผลให้บริสุทธิ์โดยขั้นตอนดังนี้

9.1 ละลายสารที่ได้ใน chloroform แล้วผ่าน neutral alumina short column โดย eluted ด้วย chloroform/hexane (1:1), chloroform และ ethyl acetate ได้สารทั้งหมด 4.67 กรัม

9.2 นำสารที่ได้ในข้อ 9.1 มาทำให้บริสุทธิ์ โดยแยกด้วยเครื่องโครมาโตกราฟี โดยใช้ตัวทำละลาย hexane/ethyl acetate (2:1) ได้สารบริสุทธิ์ 1.7 กรัม จุดหลอมเหลว 175-178°C คิดเป็น 38.1%

การเปลี่ยน Tigogenin ไปเป็น 16-dehydropregnenolone acetate



วิธีการเหมือนกับการเปลี่ยน hecogenin ข้างต้น โดยเริ่มจาก tigogenin 0.5 กรัม ได้ 16-dehydropregnenolone 0.183 กรัม จุดหลอมเหลว 159-163°C คิดเป็น 42%

ผลการทดลอง

1. Hecogenin สามารถเปลี่ยนไปเป็น 16-dehydro-12-ketopregnenolone ในปริมาณ 38%
2. Tigegenin สามารถเปลี่ยนไปเป็น 16-dehydropregnenolone ในปริมาณ 42%