

การเปลี่ยนสแต็ยรอยด์อินเตอร์มีเต็ยตาให้ เป็นสแต็ยรอยด์ฮอร์โมนโดยวิธีทางเคมี



นางสาว นาดยา ชัยรังษีเลิศ

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่ง ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2534

ISBN 974-579-666-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

017900

14 ๑๑ ๑๑ ๑๑

THE CHEMICAL CONVERSION OF STEROID INTERMEDIATES TO STEROID HORMONES

MISS NATTAYA CHAIRUNGSRILERT

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Program Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

1991

ISBN 974-579-666-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การเปลี่ยนสเต็มเซลล์ด้วยอินเตอร์มีเดียทำให้เป็นสเต็มเซลล์ฮอว์โมเนโดยวิธีทางเคมี

โดย นางสาว นาดยา ชัยรังษีเลิศ

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัย) คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธีเนียนันท์) ประธานกรรมการ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.โสภณ เริงสำราญ) กรรมการ

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชานาญ กัทรพานิช) กรรมการ

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม) กรรมการ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปันพานิชการ) กรรมการ

นาคยา ชัยรังษีเลิศ : การเปลี่ยนสเตียรอยด์อินเตอร์มีเดียตให้เป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนโดย
วิธีทางเคมี (THE CHEMICAL CONVERSION OF STEROID INTERMEDIATES TO STEROID
HORMONES) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. อมร เพชรสม, รศ.ดร. ไพเราะ ปันพานิชการ,
106 หน้า. ISBN 974-579-666-2

4-แอนโดรสตี-3,17-ไดโอน (AD) เป็นสเตียรอยด์อินเตอร์มีเดียตที่ได้จากพืชถูกเปลี่ยนแปลง
ไปเป็น 3-(เอน-17-โพรลิดิล)-3,5-แอนโดรสตาไดโอน-17-โอน ด้วยผลผลิตเกือบสมบูรณ์จากนั้นหาปฏิกิริยา
เอทาธิลเลชันด้วยเอทาธิลแมกนีเซียมโบรไมด์ และไฮดรอลิซิสด้วยสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่อุณหภูมิ
ก็จะได้อีเอสเตอรินานผลผลิตที่สูง หมู่ออกันเอน-17-โพรลิดิลที่ใช้นั้นดีกว่าหมู่ออกันอื่น ดังที่ได้มีการ
อธิบายไว้แล้วสำหรับระบบนี้ การเติมหมู่อเอทาธิลเข้าไปที่ตำแหน่ง 17 ของ AD โดยใช้อเอทาธิลแมกนี-
เซียมโบรไมด์เป็นวิธีการใหม่สำหรับระบบนี้เช่นกัน วิธีการนี้ให้ผลผลิตปานกลาง แต่ก็ทำได้ง่ายกว่าวิธีอื่น
ซึ่งใช้โพแทสเซียมอะเซทิลไลต์ และหากรีดิวซ์ 3-(เอน-17-โพรลิดิล)-3,5-แอนโดรสตาไดโอน-17-โอน ด้วย
ลิเทียมอลูมิเนียมไฮไดรด์ จะได้เทสโทสเตอรอนซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศชายที่ใช้นในการบำบัดทดแทน



ภาควิชา
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2534

ลายมือชื่อนิสิต นาคยา ชัยรังษีเลิศ
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อ.อมร
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อ.ไพเราะ

NATTAYA CHAIRUNGSRILERT : THE CHEMICAL CONVERSION OF STEROID INTER-
MEDIATES TO STEROID HORMONES. THESIS ADVISOR : ASSIST.PROF.AMORN
PETSOM, Ph.D., ASSO.PROF.PAIROH PINPANICHKARN, Ph.D. 106 pp.
ISBN 974-579-666-2

4-androstene-3,17-dione (AD), a steroid intermediate obtained from
phytosterol, was converted to 3-(N-pyrrolidyl)-3,5-androstadiene-17-one in
almost quantitative yield. Subsequence alkynylation with ethynyl magnesium
bromide and hydrolysis with saturated ammonium chloride furnished ethisterone
in good yield. The N-pyrrolidyl protecting group was superior than other
protecting groups previously described for this system. The introduction of
ethynyl moiety into the 17 position of AD by using ethynyl magnesium bromide
was also a novel process for this system. This process gave moderate yield
but it was easier to handle than those using potassium acetylide. Reduction
of 3-(N-pyrrolidyl)-3,5-androstadiene-17-one with lithium aluminium hydride
gave testosterone which is a male sex hormone used in substitutional therapy.

ภาควิชา
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2534

ลายมือชื่อผู้คิด นาดานา ชัยวงษ์สวัสดิ์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Mrs. Vant

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม และรองศาสตราจารย์ ดร.โสมณ เรืองสาราญ ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลืออย่างดีในทุกๆด้านตลอดเวลาที่ทำการวิจัย และให้คำปรึกษาแนะนำรวมทั้งกำลังใจในการแก้ปัญหาในงานวิจัย และการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จโดยสมบูรณ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชานาญ กัทรพานิช ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธีนิยวัน และรองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปันพานิชการ ที่ได้กรุณาตรวจและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ดร.สมใจ เพ็งปรีชา ที่ได้กรุณาวิเคราะห์สารและให้ความรู้ในเรื่อง เอนเอมอาร์

การวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนอุดหนุนบางส่วนจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและนอกจากนี้ผู้เขียนขอขอบคุณเพื่อนนิสิตปริญญาโทภาควิชาเคมี ปีโตรเคมีและเทคโนโลยีชีวภาพรวมทั้งรุ่นพี่ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดมา

ผู้เขียนขอรำลึกในความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวนามมาข้างต้น รวมทั้งบิดา มารดาที่ให้พลังกายและพลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย





สารบัญ

| | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | จ |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ฉ |
| รายการตารางประกอบ..... | ฅ |
| รายการรูปประกอบ..... | ฉ |
| คำย่อและสัญลักษณ์ที่ใช้..... | ณ |
| | |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ..... | 1 |
| 2 การทดลองและผลการทดลอง..... | 21 |
| 2.1 สารเคมีและ เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง..... | 21 |
| 2.2 วิธีทดลอง..... | 23 |
| 2.2.1 การสังเคราะห์สารประกอบ 1-เอทิลโธนิลไซโคลเฮกซานอล..... | 23 |
| 2.2.2 การสังเคราะห์สารประกอบ 3-(เอทิลโธนิลไซโคล)-3,5-แอนโดรสตา- ไดอิน-17-โอิน..... | 24 |
| 2.2.3 การสังเคราะห์สารประกอบเอทิลสเตอริน โดยใช้ 1-เอทิลโธนิลแมก- นีเซียมโบรไมด์ เป็นตัวรีดิวซ์..... | 26 |
| 2.2.4 การสังเคราะห์สารประกอบเอทิลสเตอริน โดยใช้ลิเทียมอะเซทิลด์ เป็นตัวรีดิวซ์..... | 27 |
| 2.2.5 การสังเคราะห์สารประกอบเทสโทสเตอริน..... | 28 |
| 3 บทวิจารณ์..... | 59 |
| 4 สรุปผล..... | 81 |
| เอกสารอ้างอิง..... | 83 |

| | |
|----------------------|----|
| ภาคผนวก..... | 87 |
| ประวัติผู้เขียน..... | 88 |

รายการตารางประกอบ

หน้า

ตารางที่

| | | |
|-----|---|----|
| 2.1 | สารเคมีที่ใช้ในการทดลองที่แสดงถึงรายละเอียด, ชนิด, สูตรโมเลกุลและบริษัทผู้ผลิต..... | 21 |
| 2.2 | ข้อมูลค่า m/e และ relative intensity ของสารประกอบ 3-(เอโนไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอีน-17-โอน..... | 37 |
| 2.3 | ข้อมูลค่า m/e และ relative intensity ของสารประกอบเอทิสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้อัลคินิลกรีนยารีเอเจนต์..... | 44 |
| 2.4 | ข้อมูลค่า m/e และ relative intensity ของสารประกอบเอทิสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้ลิเทียมอะเซทิลไลต์..... | 51 |
| 2.5 | ข้อมูลค่า m/e และ relative intensity ของสารประกอบเทสโทสเตอโรน..... | 58 |
| 3.1 | IR absorption band assignments of 3-(N-pyrrolidyl)-3,5 androstadiene-17-one..... | 61 |
| 3.2 | H ¹ -NMR chemical shift assignments of 3-(N-pyrrolidyl)-3,5-androstadiene-17-one | 62 |
| 3.3 | C ¹³ -NMR chemical shift assignments of 3-(N-pyrrolidyl) 3,5-androstadiene-17-one | 63 |
| 3.4 | IR absorption band assignments of ethisterone..... | 69 |
| 3.5 | H ¹ -NMR chemical shift assignments of ethisterone..... | 71 |
| 3.6 | C ¹³ -NMR chemical shift assignments of ethisterone..... | 72 |
| 3.7 | IR absorption band assignments of testosterone..... | 76 |

| | | |
|-----|---|----|
| 3.8 | H ¹ -NMR chemical shift assignments of testosterone..... | 79 |
| 3.9 | C ¹³ -NMR chemical shift assignments of testosterone.... | 80 |

รายการรูปประกอบ

หน้า

รูปที่

| | | |
|------|--|----|
| 1.1 | สเตียรอยด์นิวาเคลียส..... | 1 |
| 1.2 | แผนผังแสดงการสังเคราะห์ Adrenalcortical steroids..... | 2 |
| 1.3 | การแบ่งสเตียรอยด์ตามโครงสร้างทางเคมี..... | 4 |
| 1.4 | สารที่มีลักษณะพื้นฐานเหมือนกับสเตียรอยด์..... | 6 |
| 1.5 | การเปลี่ยนไดออกสเตอโรเจนไปเป็น 16-DPA..... | 7 |
| 1.6 | การเปลี่ยนแปลงจากไดออกสเตอโรเจนไปเป็นกลุ่มคอร์ติโคสเตียรอยด์..... | 8 |
| 1.7 | การเปลี่ยนแปลงจาก 16-DPA ไปเป็นสารกลุ่ม 9 α -ฟลูออโรคอร์ติโคสเตียรอยด์..... | 9 |
| 1.8 | การเปลี่ยนแปลงจาก 16-DPA ไปเป็นพวกเพรกแนนและแอนโดรสทีน..... | 10 |
| 1.9 | 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอน..... | 12 |
| 1.10 | การเปลี่ยน 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอนไปเป็นเอทิสเตอโรน..... | 12 |
| 1.11 | การเปลี่ยน 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอนไปเป็นเทสโทสเตอโรน..... | 12 |
| 1.12 | เอทิสเตอโรน..... | 13 |
| 1.13 | การสังเคราะห์เอทิสเตอโรนจากดีไฮโดรเอพิแอนโดรสเตอโรนโดยโพแทสเซียมอะเซทิลไลต์..... | 14 |
| 1.14 | การสังเคราะห์เอทิสเตอโรนจากดีไฮโดรเอพิแอนโดรสเตอโรน อะซีเตท..... | 14 |
| 1.15 | การสังเคราะห์เอทิสเตอโรนจาก 3-เอทอกซี-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอิน..... | 15 |
| 1.16 | โครงสร้างเทสโทสเตอโรน..... | 16 |
| 1.17 | การสังเคราะห์ดีไฮโดรเอพิแอนโดรสเตอโรนจากคลอเรสเตอรอล..... | 17 |
| 1.18 | การสังเคราะห์เทสโทสเตอโรนจากดีไฮโดรเอพิแอนโดรสเตอโรน โดยใช้เร็นนิกเกิล..... | 17 |

| | |
|---|----|
| 1.19 การสังเคราะห์เทสโทสเตอโรนจาก 4-แอนโดรสตีน-3,17-ไดโอน โดยวิธีซ- | |
| เดียมเป็นตัวรีดิวซ์..... | 18 |
| 1.20 การสังเคราะห์เทสโทสเตอโรนจาก 4-แอนโดรสตีน-3,17-ไดโอนโดยวิธีเร- | |
| นิกเกิล เป็นตัวรีดิวซ์..... | 18 |
| 1.21 การสังเคราะห์เทสโทสเตอโรนจาก 4-แอนโดรสตีน-3,17-ไดโอน โดยวิธีทาง | |
| จุลชีววิทยา..... | 19 |
| 2.1ก Gas chromatograph ของสารประกอบ 1-เอทไธนิลไซโคลเฮกซานอล.... | 30 |
| 2.1ข IR spectrum ของสารประกอบ 1-เอทไธนิลไซโคลเฮกซานอล..... | 30 |
| 2.2 IR spectrum ของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีน)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน | |
| -17-โอิน..... | 31 |
| 2.3 H^1 -NMR spectrum ของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีน)-3,5-แอนโดรสตา | |
| ไดอิน-17-โอิน..... | 32 |
| 2.4 C^{13} -NMR spectrum แบบ complete decoupling spectrum ของสาร- | |
| ประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีน)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอิน..... | 33 |
| 2.5 C^{13} -NMR spectrum แบบ DEPT 135 ของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีน) | |
| -3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอิน..... | 34 |
| 2.6 C^{13} -NMR spectrum แบบ DEPT 90 ของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีน) | |
| -3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอิน..... | 35 |
| 2.7 Mass spectrum ของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีน)-3,5-แอนโดรสตาได | |
| อิน-17-โอิน..... | 36 |
| 2.8 IR spectrum ของสารประกอบเอทิสเตอโรนที่สังเคราะห์โดยวิธีอัลคินิลกริน- | |
| ยารีเอเจนต์..... | 38 |
| 2.9 H^1 -NMR spectrum ของสารประกอบเอทิสเตอโรนที่สังเคราะห์โดยวิธีอัลคินิล | |
| กรินยารีเอเจนต์..... | 39 |

| | | |
|------|---|----|
| 2.10 | C^{13} -NMR spectrum แบบ complete decoupling spectrum ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้อัลคิลกรีนยารีเอเจนต์..... | 40 |
| 2.11 | C^{13} -NMR spectrum แบบ DEPT 135 ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้อัลคิลกรีนยารีเอเจนต์..... | 41 |
| 2.12 | C^{13} -NMR spectrum แบบ DEPT 90 ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้อัลคิลกรีนยารีเอเจนต์..... | 42 |
| 2.13 | Mass spectrum ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้อัลคิลกรีนยารีเอเจนต์..... | 43 |
| 2.14 | IR spectrum ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้ลิเทียมอะเซทิไลด์..... | 45 |
| 2.15 | H^1 -NMR spectrum ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้ลิเทียมอะเซทิไลด์..... | 46 |
| 2.16 | C^{13} -NMR spectrum แบบ complete decoupling spectrum ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้ลิเทียมอะเซทิไลด์..... | 47 |
| 2.17 | C^{13} -NMR spectrum แบบ DEPT 135 ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้ลิเทียมอะเซทิไลด์..... | 48 |
| 2.18 | C^{13} -NMR spectrum แบบ DEPT 90 ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้ลิเทียมอะเซทิไลด์..... | 49 |
| 2.19 | Mass spectrum ของสารประกอบเอทิลสเตอรินที่สังเคราะห์โดยใช้ลิเทียมอะเซทิไลด์..... | 50 |
| 2.20 | IR spectrum ของสารประกอบเทสโทสเตอริน..... | 52 |
| 2.21 | H^1 -NMR spectrum ของสารประกอบเทสโทสเตอริน..... | 53 |
| 2.22 | C^{13} -NMR spectrum แบบ complete decoupling spectrum ของสารประกอบเทสโทสเตอริน..... | 54 |

| | | |
|------|---|----|
| 2.23 | C^{13} -NMR spectrum แบบ DEPT 135 ของสารประกอบเทสโทสเตอโรน.. | 55 |
| 2.24 | C^{13} -NMR spectrum แบบ DEPT 90 ของสารประกอบเทสโทสเตอโรน... | 56 |
| 2.25 | Mass spectrum ของสารประกอบเทสโทสเตอโรน..... | 57 |
| 3.1 | การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปอีเธอร์..... | 59 |
| 3.2 | กลไกของปฏิกิริยาการป้องกันหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 ในรูปอีเธอร์..... | 60 |
| 3.3 | การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 338.. | 61 |
| 3.4 | การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 324.. | 62 |
| 3.5 | การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปเบนซิลไฮดรอกซีอีเธอร์..... | 65 |
| 3.6 | การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปไดออกซิเรน..... | 65 |
| 3.7 | การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูป 3-อีเธอร์..... | 65 |
| 3.8 | แผนผังแสดงขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์อะเซทิลีนิล แมกนีเซียมโบรไมด์..... | 66 |
| 3.9 | สมการการสังเคราะห์ 1-บิวทิลแมกนีเซียมโบรไมด์..... | 67 |
| 3.10 | แผนผังแสดงการสังเคราะห์ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจาก สารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีน)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอน โดยใช้อะเซทิลีนิล แมกนีเซียมโบรไมด์ เป็นตัวรีดิวซ์..... | 68 |
| 3.11 | การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 124.. | 70 |
| 3.12 | การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 227.. | 70 |
| 3.13 | การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 245.. | 71 |
| 3.14 | สมการแสดงการสังเคราะห์ลิเทียมอะเซทิลด์..... | 73 |
| 3.15 | แผนผังแสดงการสังเคราะห์เทสโทสเตอโรนจากสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีน)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอน โดยใช้อะเซทิลีนิลแมกนีเซียมโบรไมด์เป็นตัวรีดิวซ์..... | 74 |
| 3.16 | แผนผังแสดงการสังเคราะห์เทสโทสเตอโรน..... | 75 |

- 3.17 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 124.. 77
- 3.18 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 246.. 78
- 3.19 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 203.. 78

คำย่อและสัญลักษณ์ที่่าใช้

| | |
|------------------|---|
| °ซ. | องศาเซลเซียส |
| B | Broad (IR) |
| cm ⁻¹ | unit of wavenumber |
| d | doublet (NMR) |
| DEPT | distortionless enhancement by polarization transfer |
| Hz | Hertz |
| m | multiplet (NMR) |
| m/e | mass to charge ratio |
| M | Medium (IR) |
| M ⁺ | molecular ion in mass spectrum |
| ppm. | part per million |
| s | singlet (NMR) |
| strech. | stretching (IR) |
| S | Strong (IR) |
| t | triplet |
| δ | chemical shift |