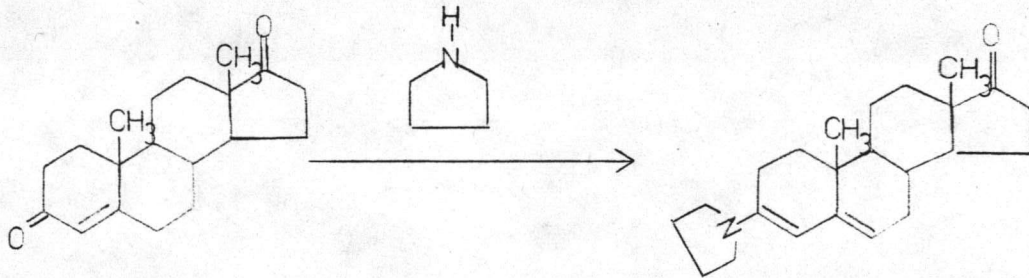




บทที่ 3

บทวิจารณ์

จากการศึกษาได้ทำการสังเคราะห์เอทิลสเตอรินและเทสโทสเตอรินโดยใช้ 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอนเป็นสารตั้งต้น ซึ่งเป็นสเตอรอยด์อินเตอร์มีเดียตที่ประกอบด้วยคาร์บอน 19 อะตอม จากสูตรโครงสร้างของ 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอน พบว่ามีหมู่คาร์บอนิล 2 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งที่ 3 และ 17 ดังที่กล่าวมาแล้วในบทข้างต้นนี้ ซึ่งการเปลี่ยน 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอนให้เป็นเอทิลสเตอรินและเทสโทสเตอรินโดยวิธีทางเคมีนั้น ต้องทำการป้องกันหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 ก่อน ซึ่งในการศึกษานี้ป้องกันหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 โดยใช้วิธีทำให้อยู่ในรูปอิมะมิน โดยใช้ไพโรลิดีนทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิล (24) แสดงในรูปที่ 3.1

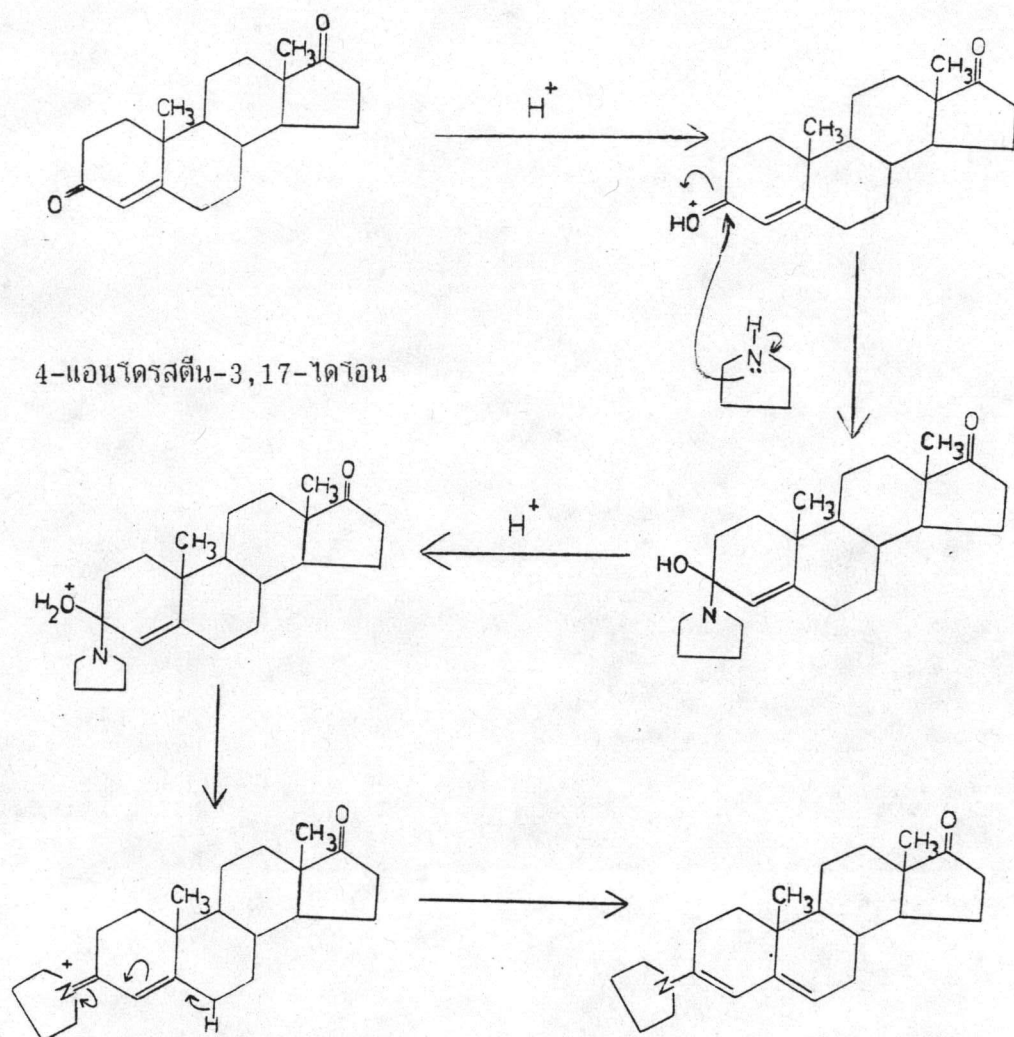


4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอน

3-(เอน-ไพโรลิดิล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-เอน

รูปที่ 3.1 การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปอิมะมิน

การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปอิมะมินเตรียมได้โดยใช้ secondary amine ทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิล งานที่ใช้ไพโรลิดีนทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 ของ 4-แอนโดรสทีน 3,17-ไดโอน เพื่อให้เกิดเป็น 3-(เอน-ไพโรลิดิล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-เอน ซึ่งมีกลไกของปฏิกิริยาดังแสดงในรูปที่ 3.2 ไพโรลิดีนจะเลือกทำปฏิกิริยาเฉพาะหมู่คาร์บอนิลตำแหน่งที่ 3 และไม่ทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิลตำแหน่งที่ 17 ดังนั้นจึงได้อิมะมินที่ตำแหน่งที่ 3 ในปริมาณสูงและหมู่เอน-ไพโรลิดิลกำจัดออกได้ง่ายเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา



รูปที่ 3.2 กลไกของปฏิกิริยาการป้องกันหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 ในรูปอีเนมิน

การป้องกันหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 ของ 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอน จะได้อีเนมิน ปริมาณที่สูง เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี (spectroscopy) จะได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้ คือ

อินฟราเรดสเปกตรัมของ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอิน

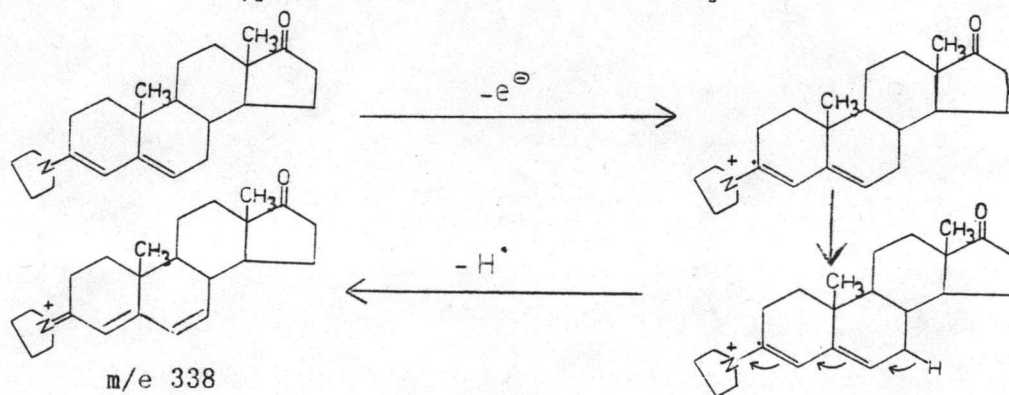
อินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอิน แสดงในรูปที่ 2.2 แสดงลักษณะของการดูดกลืนแสง (absorption) ดังนี้คือ stretching ที่ประมาณ 1730 cm^{-1} แสดงลักษณะของหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 17, stretching ที่ประมาณ $1650, 1600\text{ cm}^{-1}$ แสดงลักษณะ C=C ที่คอนจูเกตที่ตำแหน่งที่ 3 และ 5 รายละเอียดของลักษณะการดูดกลืนแสงแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 IR absorption band assignments of 3-(N-pyrrolidyl)-3,5-androstadiene-17-one

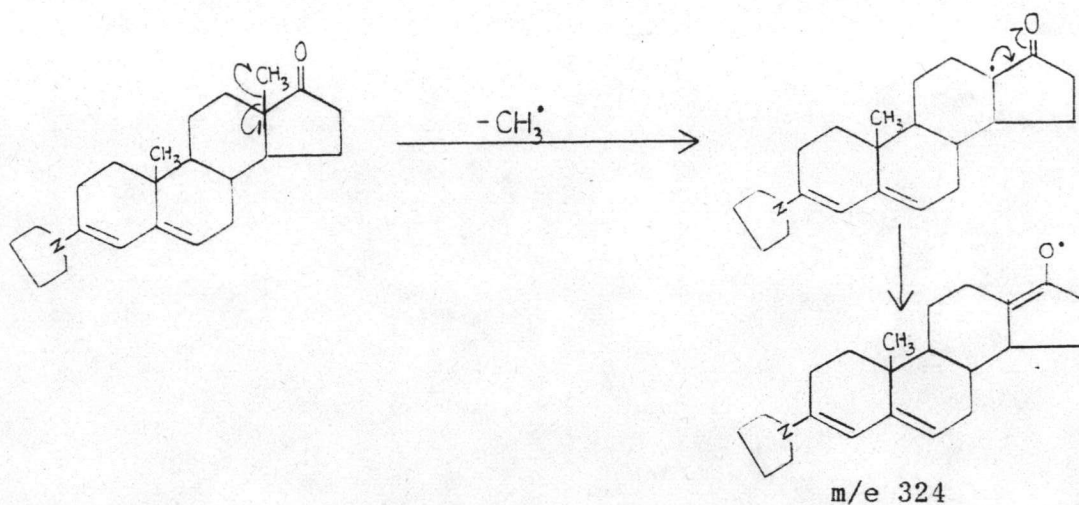
frequency (cm ⁻¹)	band type	tentative assignments
2940	S	C-H stretch. of CH ₃
2860	S	C-H stretch. of -CH ₂ -
1400	S	C-H bend of CH ₃ -, -CH ₂ -
1650, 1600	S	C=C stretch. vibration
1730	S	C=O stretch. of ketone

แมสสเปคตรัมของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอน

แมสสเปคตรัมของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอน แสดงในรูปที่ 2.7 ข้อมูลค่า m/e ที่สำคัญและ relative intensity แสดงไว้ในตารางที่ 2.1 สารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอน มีสูตรโมเลกุล คือ C₂₃H₃₃NO จากแมสสเปคตรัมแสดง molecular ion peak ที่ m/e 339 และพีคที่มีความเข้มสูงสุด (base peak) ที่ 339 เช่นเดียวกัน ส่วนพีคของ ion ที่มีค่า m/e 338 เกิดจากการกำจัดอนุมูลไฮโดรเจน (hydrogen radicle) ดังแสดงไว้ในรูปที่ 3.3 พีคของ ion ที่มีค่า m/e 324 เกิดจากการกำจัดอนุมูลเมทิล ที่ตำแหน่งที่ 18 ดังแสดงในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.3 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 338



รูปที่ 3.4 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 324
 โพรตอน-เอนเอมอาร์สเปกตรัม (H^1 -NMR spectrum) ของ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอน-
 โดรสตาไดอิน-17-โอน

โพรตอน-เอนเอมอาร์สเปกตรัมของ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-
 โอนแสดงไว้ในรูปที่ 2.3 และตารางที่ 3.2 พบว่าแสดงสัญญาณโพรตอนที่สำคัญดังนี้ คือ δ (H)
 0.91 ppm. แสดงสัญญาณของโพรตอนของหมู่เมทิลที่ตำแหน่งที่ 18, 1.29 ppm. แสดงสัญญาณของ
 โพรตอนของหมู่เมทิล ที่ตำแหน่งที่ 19, 2.80 และ 3.10 ppm. แสดงสัญญาณของโพรตอน
 ของหมู่เมทิลีนใน pyrrolidine ring, 5.13 ppm. และ 5.86 ppm. แสดงโอเลฟินิคโพรตอน
 ตารางที่ 3.2 H^1 -NMR chemical shift assignments of 3-(N-pyrrolidyl)-3,5-
 androstadiene-17-one ($CDCl_3$)

chemical shift (ppm)	type and number of protons	tentative assignment
0.91	S, 3H	CH_3-C
1.29	S, 3H	CH_3-C
2.80	S, 4H	$-CH_2-N-CH_2-$
3.10	S, 4H	$-CH_2-CH_2-$
5.13	br. S, 1H	$-C=CH-C$
5.86	S, 1H	$-C=CH-C$

คาร์บอน-13 เอนเอมอาร์สเปคตรัม (C^{13} -NMR spectrum) ของ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอีน-17-โอน

คาร์บอนเอนเอมอาร์สเปคตรัมของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอีน-17-โอน แบบ complete decoupling spectrum แสดงในรูปที่ 2.4, แบบ DEPT 135 แสดงในรูปที่ 2.5 และแบบ DEPT 90 แสดงในรูปที่ 2.6 จากคาร์บอนเอนเอมอาร์สเปคตรัมจะแสดงสัญญาณของคาร์บอนที่สำคัญดังนี้ คือ 6 (C) 124.08 ppm. แสดงสัญญาณของ =C ตำแหน่งที่ 4, 138.12 ppm. แสดงสัญญาณของ =C ตำแหน่งที่ 5, 112.07 ppm. แสดงสัญญาณของ =C ตำแหน่งที่ 6, 210.35 ppm. แสดงสัญญาณของ C=O ตำแหน่งที่ 17, 48.43, 47.04, 25.05, 24.90 ppm. แสดงสัญญาณของ $-CH_2-$ ใน pyrrolidine ring รายละเอียดของ C^{13} -NMR spectrum ของสารประกอบ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอีน-17-โอน แสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 C^{13} -NMR chemical shift assignments of 3-(N-pyrrolidyl)-3,5-androstadiene-17-one ($CDCl_3$)

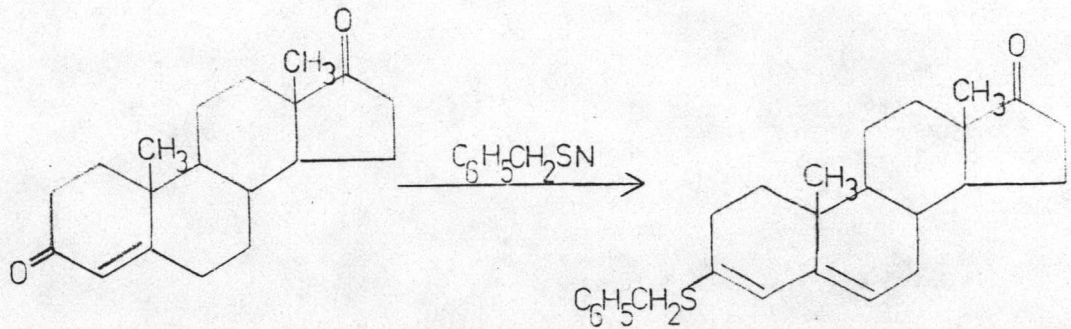
carbon position	chemical shift (ppm.)
1	35.09
2	33.85
3	165.15
4	124.08
5	138.12
6	112.08
7	31.22
8	34.09
9	53.75

ตารางที่ 3.3 (ต่อ)

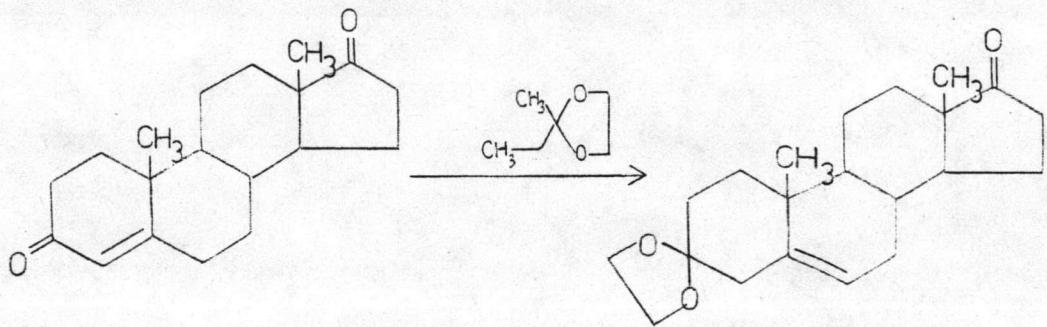
carbon position	chemical shift (ppm.)
10	35.87
11	20.44
12	30.69
13	46.12
14	52.00
15	21.78
16	35.63
17	210.35
18	13.64
19	17.31
20	48.43
21	25.05
22	24.90
23	47.04

การป้องกันหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 สามารถทำได้หลายวิธีนอกเหนือไปจากการป้องกันในรูปอีเธอร์ เช่น ป้องกันในรูปแบบเบนซิลไธโออีเธอร์ (benzylthioenol ether) โดยใช้เบนซิลเมอแคปแทน (benzylmercaptan) ทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิล, ในรูปไดออกซิเรน โดยใช้บิวทาโนไดออกซิเรนทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิล และในรูปแบบ 3-อีโนลอีเธอร์ โดยใช้เอทิลลอปโทเฟอร์เมตทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิล (25,21,20) แสดงในรูปแบบที่ 3.5, 3.6, 3.7 ตามลำดับ การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปแบบเหล่านี้ได้ทำการทดลองมาแล้วพบว่าบางปฏิกิริยาสามารถทำได้ แต่ได้ในปริมาณที่น้อยมากและบางปฏิกิริยาไม่สามารถทำได้เลย และเมื่อเปรียบเทียบการ

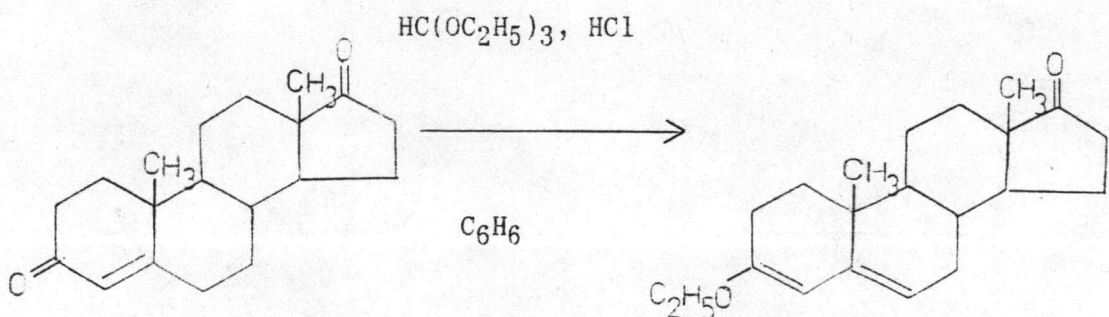
ป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปอื่นะ มินกับรูปอื่นๆ แล้วพบว่าการป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปอื่นะ มินสามารถเกิดได้ง่ายและผลผลิตในปริมาณที่สูง ที่สำคัญ คือ เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาแล้วสามารถกำจัดหมู่ไพโรลิ- ดิลออกได้ง่าย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึง เลือกป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปอื่นะ มิน



รูปที่ 3.5 การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปเบนซิลไธโอเอ็็นอลอีเธอร์



รูปที่ 3.6 การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูปไดออกซีเรน



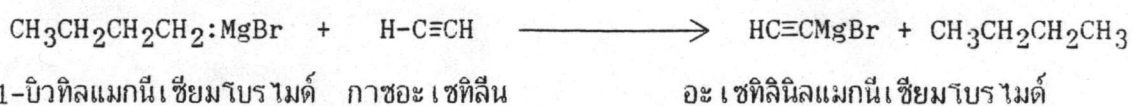
รูปที่ 3.7 การป้องกันหมู่คาร์บอนิลในรูป 3-อีโนลอีเธอร์

การเปลี่ยนหมู่คาร์บอนที่ตำแหน่งที่ 17 ของ 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-เอน ให้เป็นหมู่เอทไธนิลคาร์บินอล เพื่อสังเคราะห์ฮอร์โมนเอทิสเตอโรนนั้น อาศัยปฏิกิริยาเอทไธนิเลชัน (ethynylation reaction) ซึ่งเป็นการเพิ่มจำนวนคาร์บอนเข้าไปบนโมเลกุลของ 4-แอนโดรสตาไดอิน-17-เอน เอทิสเตอโรนนอกจากจะเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนที่สำคัญ แล้วยังเป็นสารตัวกลางที่สำคัญในการเปลี่ยนเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนที่สำคัญอื่นๆ ปฏิกิริยาเอทไธนิเลชันสามารถทำได้โดยการนำอะเซทิลไนด์ไอออน (acetylide ion, $\text{HC}\equiv\text{C}^-$) ที่ได้จากกรดตั้งโปรตอนจากกาซอะเซทิลีนเข้าไปทำปฏิกิริยาตรงหมู่คาร์บอนิล การตั้งโปรตอนจากกาซอะเซทิลีนสามารถทำได้โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นเบสที่แรง เช่น สารประกอบโลหะ, กรินยารีเอเจนต์ เข้าทำปฏิกิริยากับกาซอะเซทิลีนที่สภาวะที่เหมาะสม สารประกอบโลหะที่มีคุณสมบัติเป็นเบสที่แรง เช่น โพแทสเซียม(K), โซเดียม(Na), ลิเทียม(Li) เป็นต้น ที่นิยมใช้มากคือโพแทสเซียมซึ่งจะตั้งโปรตอนจากกาซอะเซทิลีน แล้วอยู่ในรูปโพแทสเซียมอะเซทิลไนด์ (potassium acetylide, $\text{HC}\equiv\text{CK}$) (16,17,18,26) โพแทสเซียมมีคุณสมบัติเป็นเบสที่แรงมากที่สุด จำนวนสารประกอบโลหะ แต่การนำมาใช้ค่อนข้างจะอันตราย เนื่องจากเป็นสารที่ไวต่อความชื้นได้ง่ายเมื่อโดนความชื้นสามารถติดไฟได้ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้สารประกอบโลหะที่มีความเป็นเบสต่ำกว่าโพแทสเซียม แต่ไวต่อความชื้นน้อยกว่าโพแทสเซียมซึ่งก็คือ โลหะลิเทียมและเลือกใช้กรินยารีเอเจนต์ เป็นเบสตั้งโปรตอนจากกาซอะเซทิลีน

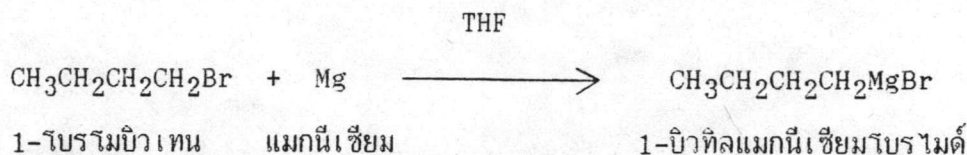
การสังเคราะห์ฮอร์โมนเอทิสเตอโรน จาก 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-เอน โดยใช้อัลไคนิลกรินยารีเอเจนต์

อัลไคนิลกรินยารีเอเจนต์เตรียมจากกรินยารีเอเจนต์ ทำปฏิกิริยากับกาซอะเซทิลีน โดยกรินยารีเอเจนต์จะทำตนเสมือนเป็นเบสตั้งโปรตอนจากกาซอะเซทิลีน ซึ่งทำตนเสมือนเป็นกรด แล้วอยู่ในรูปอัลไคนิลกรินยารีเอเจนต์ ดังแสดงในรูปที่ 3.8

กรินยารีเอเจนต์ เตรียมได้จากปฏิกิริยาของโลหะแมกนีเซียมกับสารประกอบออร์กาโนฮาโลเจน (organohalogen) ซึ่งในที่นี้คือ 1-โบรมิวเทน โดยใช้เตตระไฮโดรฟิวแรนเป็นตัวทำละลายดังแสดงในรูปที่ 3.9



รูปที่ 3.8 แผนผังแสดงขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์อะเซทิลไนด์แมกนีเซียมโบรไมด์

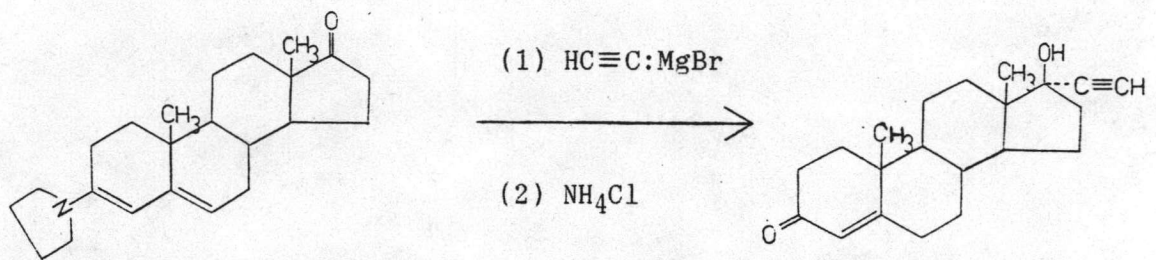


รูปที่ 3.9 สมการการสังเคราะห์ 1-บิวทิลแมกนีเซียมโบรมายด์

อัลคิลกรีนยารีเอเจนต์ที่เตรียมได้จะมีคุณสมบัติเป็นเบส เช่นเดียวกับกรีนยารีเอเจนต์ ดังนั้นเมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิล จะพบว่านิวคลีโอฟิลิคคาร์บอน (nucleophilic carbon) ของอะเซทิลีนิลแมกนีเซียมโบรมายด์ จะเข้าทำปฏิกิริยาตรงตำแหน่งคาร์บอนที่เป็นบวกของหมู่คาร์บอนิล เกิดเป็นอัลคอกไซด์ (alkoxide) หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยใช้กรด จากหลักการนี้จึงนำมาใช้สังเคราะห์ 1-เอทิลีนิลไซโคลเฮกซานอลจากไซโคลเฮกซานีน เนื่องจากไซโคลเฮกซานีนมีหมู่คาร์บอนิลเช่นเดียวกับ 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอน ดังนั้นจึงใช้ไซโคลเฮกซานีนเป็นตัวต้นแบบ ถ้าปฏิกิริยาเอทิลีนิลสามารถเกิดกับหมู่คาร์บอนิลในไซโคลเฮกซานีนได้ ก็อาจเกิดกับ 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอนได้ สาเหตุที่ต้องทดลองทำในไซโคลเฮกซานีนก่อน เนื่องจาก 4-แอนโดรสทีน-3,17-ไดโอนเป็นสารที่มีราคาแพง เมื่อนำไซโคลเฮกซานีนทำปฏิกิริยากับอะเซทิลีนิลแมกนีเซียมโบรมายด์และหยุดปฏิกิริยาโดยใช้สารละลายอิมตัวแอมโมเนียมคลอไรด์ โดยหยุดปฏิกิริยาเมื่อเวลาผ่านไป 2, 3, 5 และ 6 ชั่วโมง เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาที่ดีที่สุด พบว่าหลังจากเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมงแล้ว จะได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณคงที่ วิเคราะห์โดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟีและอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี จากแก๊สโครมาโทกราฟี รูปที่ 2.1ก. พบว่า 1-เอทิลีนิลไซโคลเฮกซานอล แสดงรีเทนชันไทม์ 5.113 นาที และอินฟราเรดสเปกตรัมของ 1-เอทิลีนิลไซโคลเฮกซานอล แสดงในรูปที่ 2.1ข. ซึ่งจะแสดงค่าการดูดกลืนที่สำคัญ คือ OH-stretching ที่ประมาณ 3450 cm^{-1} , $\equiv \text{C-H}$ stretching ที่ประมาณ 3300 cm^{-1} และ $\text{C}\equiv\text{C}$ stretching ที่ประมาณ 2110 cm^{-1} ซึ่งจากอินฟราเรดสเปกตรัม แสดงว่าปฏิกิริยาเอทิลีนิลกับหมู่คาร์บอนิล โดยใช้อัลคิล กรีนยารีเอเจนต์สามารถเกิดได้ ดังนั้นจึงนำอัลคิล กรีนยารีเอเจนต์มาทำปฏิกิริยากับ 3-(เอน-1-พโรลิดิล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-ไอออน เพื่อสังเคราะห์ฮอร์โมนเอทิสเตอรอน

เมื่อนำอะเซทิลีนิล แมกนีเซียมโบรมายด์ มาทำปฏิกิริยากับ 3-(เอน-1-พโรลิดิล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-ไอออน พบว่านิวคลีโอฟิลิคคาร์บอนของอะเซทิลีนิล แมกนีเซียมโบรมายด์

($\text{HC}\equiv\text{CMgBr}$) จะเข้าทำปฏิกิริยาตรงตำแหน่งคาร์บอนที่เป็นบวกของหมู่คาร์บอนิล เกิดเป็นสารประกอบอัลคอกไซด์ ซึ่งเมื่อเติมสารละลายอัมโมเนียมไฮดรอกไซด์เพื่อหยุดปฏิกิริยา อัลคอกไซด์มีสมบัติเป็นเบสแก่จะดึงโปรตอน(H^+) จากแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4^+) เกิดเป็นหมู่เอทไธนิลคาร์บีนอล ดังแสดงในรูปที่ 3.10 นอกจากนี้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่เติมลงไปนั้น เติมนลงไปปริมาณที่มากเกินไป และมีคุณสมบัติเป็นกรดจึงสามารถไฮโดรไลซ์ (hydrolyze) อีเธอร์ที่ป้องกันหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 ให้หลุดออกไปเป็นหมู่คาร์บอนิลที่คอนจูเกตกับพันธะคู่เช่นเดิม



3-(เอน-10-ฟีนิลฟีนิล)-3,5-แอนโดรสตาไดเอน-17-โอน

เอทิสเตอริน

รูปที่ 3.10 แผนผังการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอทิสเตอรินจาก 3-(เอน-10-ฟีนิลฟีนิล)-3,5-แอนโดรสตาไดเอน-17-โอน โดยใช้อะเซทิลีนแมกนีเซียมโบรไมด์เป็นตัวรีดิวซ์

การสังเคราะห์เอทิสเตอริน โดยวิธีนี้จะได้ผลผลิต 48% ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์แล้วพบว่าการใช้อะเซทิลีนแมกนีเซียมโบรไมด์จะได้อัตราผลผลิตที่ต่ำกว่า แต่วิธีนี้เป็นวิธีที่เตรียมได้ง่าย ขั้นตอนในการทำปฏิกิริยาไม่ยุ่งยาก และไม่รุนแรง เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ สารประกอบเอทิสเตอรินที่สังเคราะห์ได้เมื่อนำไปวิเคราะห์โดยวิธีทางสเปกโตรสโกปี ให้ผลการวิเคราะห์ดังนี้ คือ

อินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบเอทิสเตอริน

อินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบเอทิสเตอริน แสดงในรูปที่ 2.8 ซึ่งแสดงลักษณะการดูดกลืนแสงที่สำคัญ ดังนี้คือ stretching ที่ประมาณ 3400 cm^{-1} แสดงหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 17, $\equiv\text{C-H}$ stretching ที่ประมาณ 3250 cm^{-1} และ $\text{C}\equiv\text{C}$ stretching ที่ประมาณ 2190 cm^{-1} แสดงหมู่เอทไธนิลที่ตำแหน่งที่ 17, C=O stretching ที่ประมาณ 1650 cm^{-1} แสดงหมู่คาร์บอนิลที่คอนจูเกตกับพันธะคู่ที่ตำแหน่งที่ 3, C=C stretching ที่ประมาณ 1600 cm^{-1} แสดงพันธะคู่ที่ตำแหน่งที่ 4 รายละเอียดของลักษณะการดูดกลืนแสงของสารประกอบเอทิสเตอริน

แสดงในตารางที่ 3.4 เมื่อเปรียบเทียบอินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบเอทิสเตอรินกับ 3-(เอน-1ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอิน พบว่า C=O stretching ที่ประมาณ 1730 cm^{-1} ซึ่งแสดงหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 17 จะหายไป ซึ่งแสดงว่าปฏิกิริยาเอทอซิเลชันที่เกิดขึ้นนั้นเกิดสมบูรณ์ แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณน้อยลง เนื่องจากการสูญหายในขั้นตอนของการสกัดสารและการตกผลึกสาร

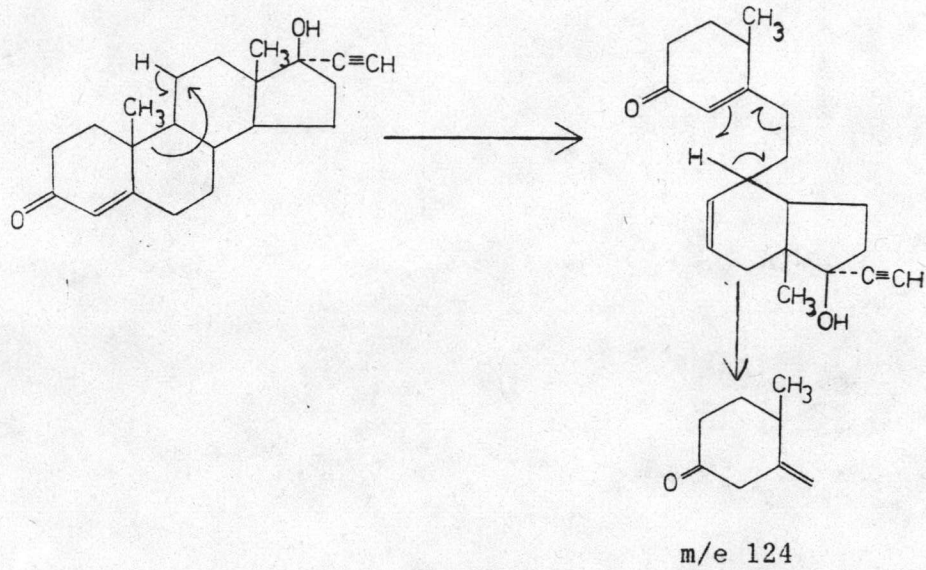
ตารางที่ 3.4 IR absorption band assignments of ethisterone

frequency (cm^{-1})	band type	tentative assignment
3400	S	O-H strech. vibration
3250	S	C-H strech. of $\text{-C}\equiv\text{C-H}$
2980,2800	S	C-H strech. of $\text{CH}_3\text{-},\text{-CH}_2\text{-}$
1460	M	C-H bend of $\text{CH}_3\text{-},\text{-CH}_2\text{-}$
1220	S	C-O strech. of alcohol
1360	M	O-H bend vibration
1650	S	-C=O strech. of ketone conjugate with C=C
1600	S	C=C strech. mode of unconjugate.

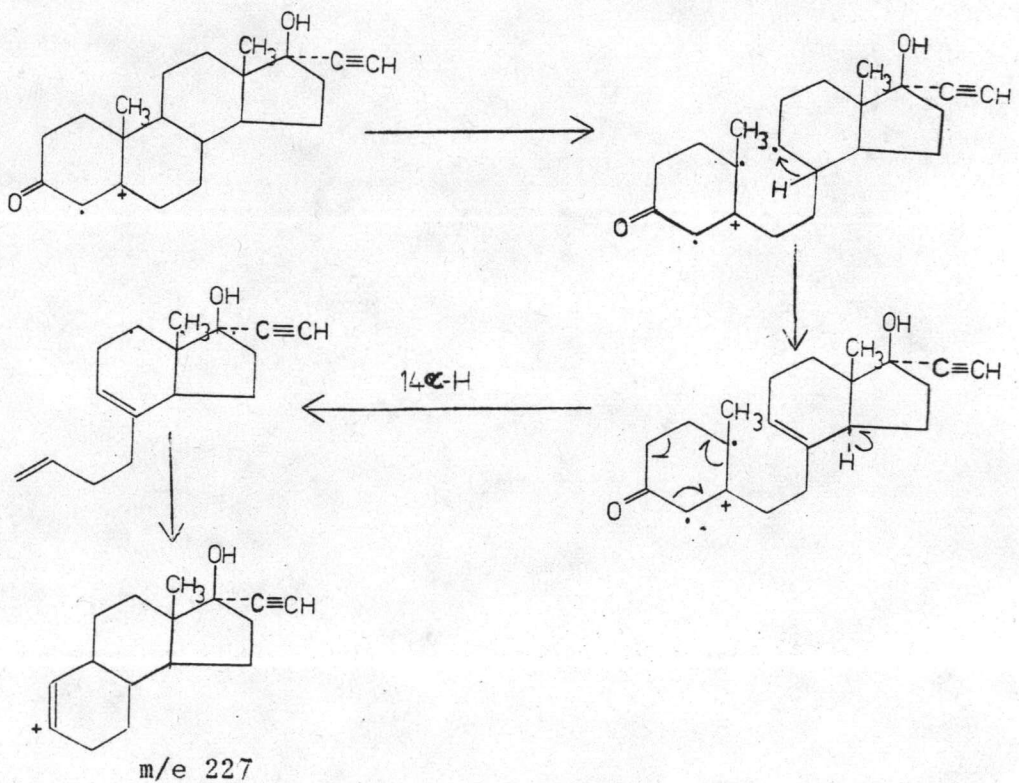
แมสสเปกตรัมของสารประกอบเอทิสเตอริน

แมสสเปกตรัมของสารประกอบเอทิสเตอริน แสดงในรูปที่ 2.13 ข้อมูลค่า m/e ที่สำคัญ และค่า relative intensity แสดงในตารางที่ 2.2 สารประกอบเอทิสเตอรินมีสูตรโมเลกุล $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_2$ จากแมสสเปกตรัมพบ molecular ion peak ที่ m/e 312 พีคที่มีความเข้มสูงสุด คือ พีคของไอออนที่มีค่า m/e 124 ซึ่งเกิดจากการเคลื่อนย้ายของไฮโดรเจนอะตอมจากตำแหน่งที่ 8 และ 11 ไปยังวงแหวน A ดังแสดงในรูปที่ 3.11 นอกจากนี้ยังมี fragment ion อื่นๆ

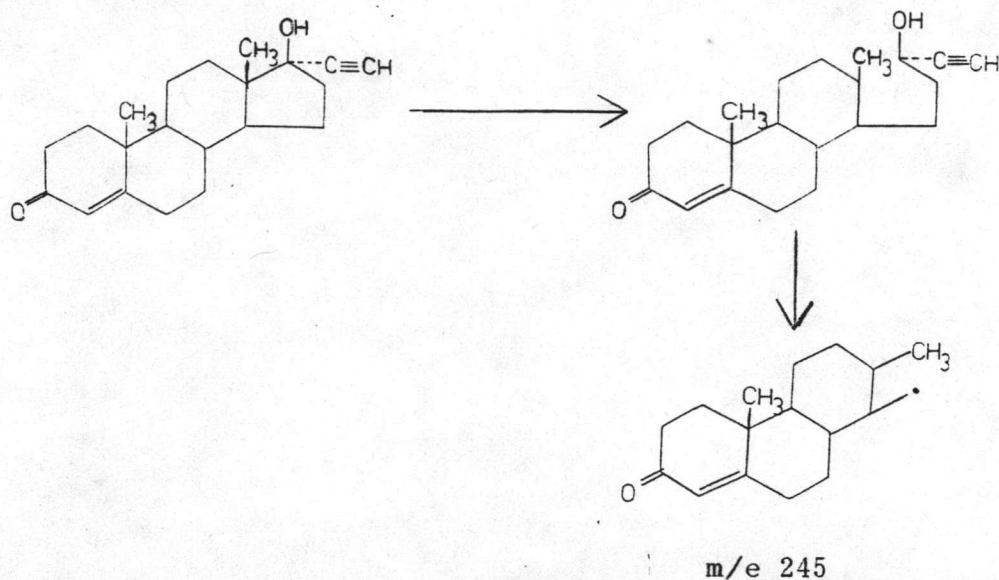
เช่นพีคของไอออนที่มีค่า m/e 227 เกิดจากการเคลื่อนย้ายของไฮโดรเจนอะตอมจากตำแหน่งที่ 8 และ 14 ดังแสดงในรูปที่ 3.12, พีคของไอออนที่มีค่า m/e 245 เกิดจากการกำจัดอิเล็กตรอนทำให้เกิดการแตกของพันธะที่ตำแหน่งที่ 15 และ 16 ดังแสดงในรูปที่ 3.13



รูปที่ 3.11 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 124



รูปที่ 3.12 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 227



รูปที่ 3.13 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 245
โปรตอน-เอนเอมอาร์สเปกตรัม ของสารประกอบเอทิสเตอโรน

โปรตอนเอนเอมอาร์สเปกตรัมของสารประกอบเอทิสเตอโรน แสดงในรูปที่ 2.9 และ ตารางที่ 3.5 พบว่าแสดงสัญญาณโปรตอนที่สำคัญ ดังนี้คือ δ (H) 0.87 ppm. แสดง methyl proton ตำแหน่งที่ 18, 1.18 ppm. แสดง methyl proton ตำแหน่งที่ 19, 2.55 ppm. แสดง acetylnic proton ตำแหน่งที่ 21, 5.71 ppm. แสดง ethylenic proton ตำแหน่งที่ 4

ตารางที่ 3.5 $^1\text{H-NMR}$ chemical shift assignments of ethistersone (CDCl_3)

chemical shift (ppm)	type and number of protons	tentative assignments
0.87	S, 3H	CH_3-C
1.18	S, 3H	CH_3-C
1.93	S, 1H	$-\text{C}-\text{OH}$
2.55	S, 1H	$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$
5.71	S, 1H	$-\text{C}=\text{C}-\text{H}$

คาร์บอน-13 เอนเอมอาร์สเปคตรัม ของสารประกอบเอทิสเตอโรน

คาร์บอน-13 เอนเอมอาร์สเปคตรัมของสารประกอบเอทิสเตอโรนแบบ complete decoupling spectra แสดงในรูปที่ 2.10, แบบ DEPT 135 แสดงในรูปที่ 2.11 และแบบ DEPT 90 แสดงในรูปที่ 2.13 จะแสดงสัญญาณของคาร์บอนที่สำคัญ ดังนี้คือ δ (C) 199.46 ppm. แสดงสัญญาณของ C=O ตำแหน่งที่ 3, 171.03 ppm. แสดงสัญญาณของ =C ตำแหน่งที่ 5, 123.90 ppm. แสดงสัญญาณของ =C-H ตำแหน่งที่ 4, 79.65 ppm. แสดงสัญญาณของ \equiv C-H ตำแหน่งที่ 21, 17.43 ppm. แสดงสัญญาณของ CH₃ ตำแหน่งที่ 19 และ 12.66 ppm. แสดงสัญญาณของ CH₃ ตำแหน่งที่ 18 รายละเอียดของ C¹³-NMR spectrum ของสารประกอบเอทิสเตอโรน แสดงในตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 C¹³-NMR chemical shift assignments of ethisterone (CDCl₃)

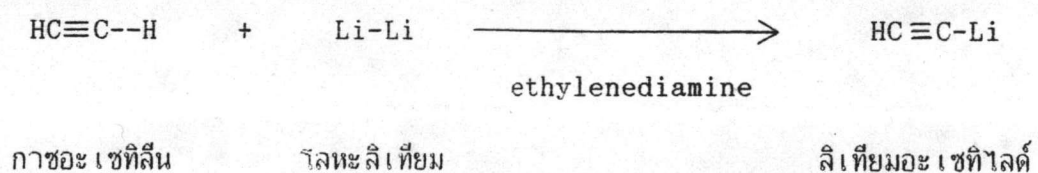
carbon position	chemical shift (ppm)
1	35.71
2	33.95
3	199.46
4	123.90
5	171.03
6	32.76
7	32.43
8	36.23
9	53.41
10	38.86
11	20.72
12	38.62

ตารางที่ 3.6 (ต่อ)

carbon position	chemical shift (ppm)
13	46.65
14	49.64
15	23.04
16	31.48
17	75.00
18	12.66
19	17.43
20	77.63
21	79.65

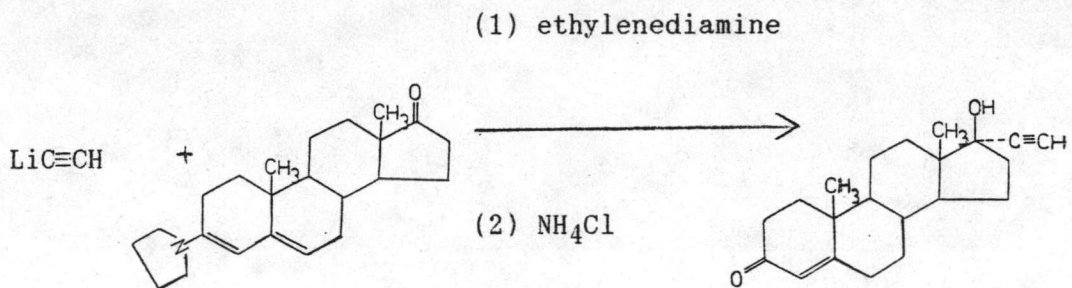
การสังเคราะห์สารประกอบเอทิลสเตอโรน จาก 3-(เอทิล-ไพโรลิดีน)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอน โดยใช้ลิเทียมอะเซทิลด์เป็นตัวรีดิวซ์

ลิเทียมอะเซทิลด์เตรียมได้จากโลหะลิเทียมทำปฏิกิริยากับกาซอะเซทิลีนในตัวละลายเอทิลอะซิโตน โดยโลหะลิเทียมจะละลายในเอทิลอะซิโตนอยู่ในรูปลิเทียมไอออน ซึ่งมีสมบัติเป็นเบสที่แรง สามารถดึงโปรตอนจากกาซอะเซทิลีน ดังรูปที่ 3.14



รูปที่ 3.14 สมการแสดงการสังเคราะห์ลิเทียมอะเซทิลด์

ลิเทียมอะเซทิลไลต์ที่เตรียมได้มีสมบัติเป็นเบส เมื่อเติม 3-(เอน-ไพริลิดิล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอน ลงในสารละลายลิเทียมอะเซทิลไลต์ อะเซทิลไลต์ไอออน($\text{HC}\equiv\text{C}^-$)จะเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 17 ของ 3-(เอน-ไพริลิดิล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอน เกิดเป็นอัลคอกไซด์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเบสแก่ เมื่อเติมสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่มีคุณสมบัติเป็นกรดลงไป อัลคอกไซด์จะดึงโปรตอนจากแอมโมเนียมไอออนเกิดเป็นหมู่เอทิลคาร์บอนิล ดังรูปที่ 3.15 เช่นเดียวกับที่ได้กล่าวมาแล้วในตอนต้น สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่เติมลงไปมากเกินไป สามารถกำจัดอะมีนที่ป้องกันหมู่คาร์บอนิลตำแหน่งที่ 3 ไปได้กลายเป็นหมู่คาร์บอนิลที่ค่อนข้างคงทนกับพันธะคู่ตามเดิม



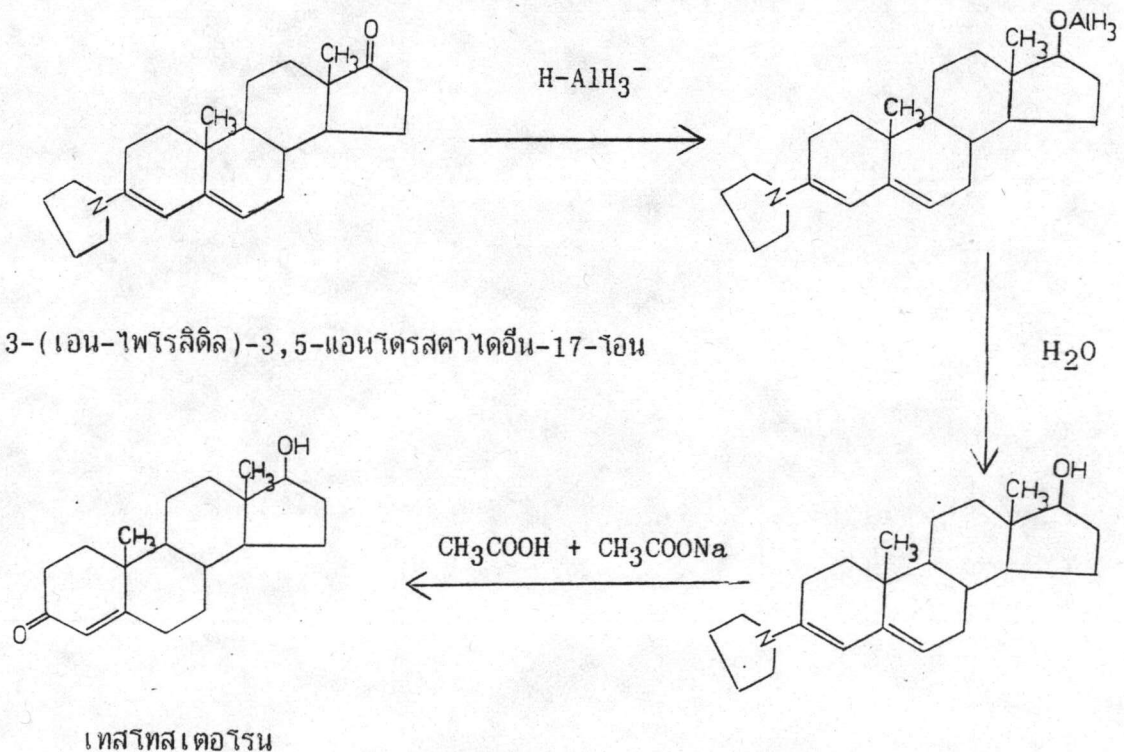
รูปที่ 3.15 สมการแสดงการสังเคราะห์เอทิลสเตอรอนจาก 3-(เอน-ไพริลิดิล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอน โดยใช้ลิเทียมอะเซทิลไลต์เป็นตัวรีดิวซ์

การสังเคราะห์เอทิลสเตอรอนโดยวิธีนี้จะได้ผลิตภัณฑ์ 44% เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสเปกโตรสโคปี พบว่าจะได้ผลการวิเคราะห์เช่นเดียวกับเอทิลสเตอรอนที่สังเคราะห์โดยใช้อะเซทิลลิทิลกรีนยารีเอเจนต์ ผลการวิเคราะห์ทางสเปกโตรสโคปี แสดงในรูปที่ 2.14 - 2.19, ตารางที่ 2.3 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเอทิลสเตอรอนที่สังเคราะห์โดยทั้งสองวิธีพบว่าวิธีสังเคราะห์โดยใช้ลิเทียมอะเซทิลไลต์เป็นตัวรีดิวซ์จะให้ปริมาณที่ต่ำกว่า เนื่องจากลิเทียมเป็นสารประกอบโลหะที่ไวต่อความชื้นได้ง่าย ซึ่งในการทดลองต้องมีระบบป้องกันความชื้นอย่างดี นอกจากนี้เอทิลสเตอรอนที่ใช่เป็นตัวทำละลายนั้นสามารถละลายน้ำได้ เมื่อนำไปสกัดด้วยอีเทอร์ อาจสกัดออกมาได้ไม่หมด ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์น้อยกว่าที่ควรจะได้รับ

การสังเคราะห์ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจาก 3-(เอน-ไพโรลิดีล)-3,5-แอนโดรสตาไดอิน-17-โอิน โดยวิธีลิเทียมอลูมิเนียมไฮไดรด์เป็นตัวรีดิวซ์

หากการสังเคราะห์โดยการเปลี่ยนหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 17 ของ 4-แอนโดรสเตน-3, 17-ไดโอน ให้เป็นหมู่ไฮดรอกซิลเพื่อสังเคราะห์เทสโทสเตอโรน สามารถทำได้โดยใช้กาซาไฮโดรเจนที่มีโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หรือใช้สารเคมีที่มีสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ เช่น ลิเทียมอลูมิเนียมไฮไดรด์ (LiAlH_4), โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4) ในการทดลองนี้เลือกใช้ลิเทียมอลูมิเนียมไฮไดรด์เป็นตัวรีดิวซ์ เนื่องจากการใช้กาซาไฮโดรเจนที่มีโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ต้องอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น Pd, Pt, Ru, Rh ซึ่งมีราคาแพง และโซเดียมโบโรไฮไดรด์มีความว่องไวน้อยกว่าลิเทียมอลูมิเนียมไฮไดรด์

ลิเทียมอลูมิเนียมไฮไดรด์สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอีเทอร์, เตตระไฮโดรฟิวแรน แล้วอยู่ในรูปอลูมิเนียมไฮไดรด์ไอออน (AlH_4^-) ซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยาตรงคาร์บอนิลตำแหน่งที่ 3 แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยใช้น้ำ หลังจากนั้นกำจัดหมู่ไฮดรอกซิลที่ป้องกันหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3 โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์จะได้ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ดังรูปที่ 3.16



รูปที่ 3.16 แผนผังปฏิกิริยาการสังเคราะห์เทสโทสเตอโรน

เทสโทสเตอโรนที่ได้จากการสังเคราะห์โดยวิธีนี้ จะได้ผลิตภัณฑ์ 60% เมื่อนำไปวิเคราะห์โดยวิธีทางสเปกโตรสโคปี ให้ผลการวิเคราะห์ ดังนี้คือ

อินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบเทสโทสเตอโรน

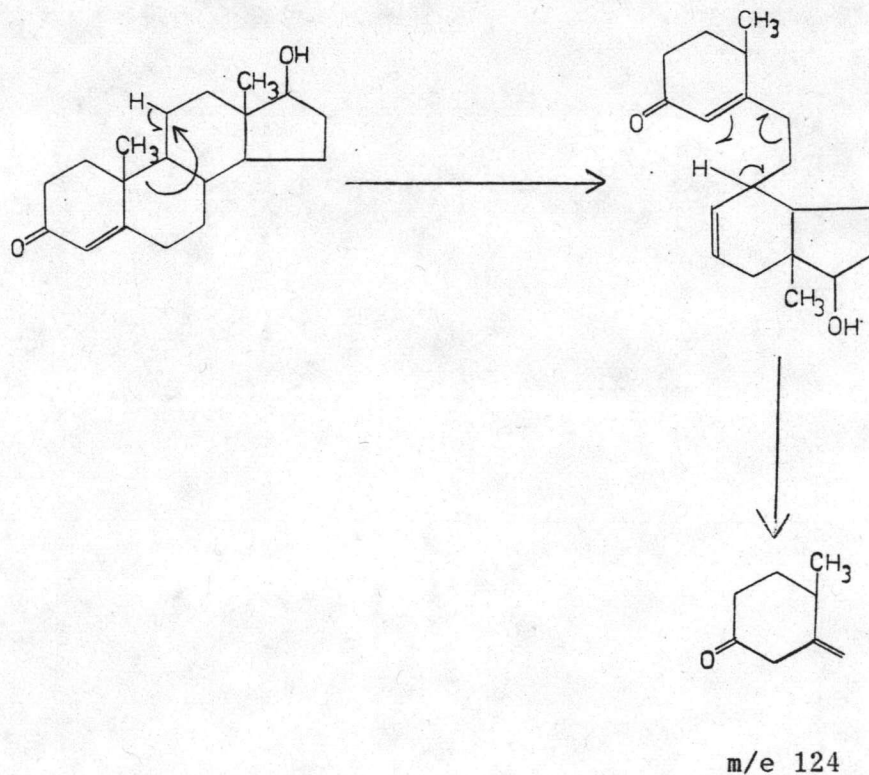
อินฟราเรดสเปกตรัมของสารประกอบเทสโทสเตอโรน แสดงในรูปที่ 2.20 ซึ่งแสดงลักษณะการดูดกลืนแสงที่สำคัญ คือ free OH stretching ที่ประมาณ 3510 cm^{-1} และ H-bond stretching ที่ประมาณ 3400 cm^{-1} แสดงหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 17, C=O stretching ที่ประมาณ 1610 cm^{-1} แสดงหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 3, C=C stretching ที่ประมาณ 1600 cm^{-1} แสดงพันธะคู่ตำแหน่งที่ 4 และ 5 รายละเอียดของลักษณะการดูดกลืนแสงแสดงในตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 IR absorption band assignments of testosterone

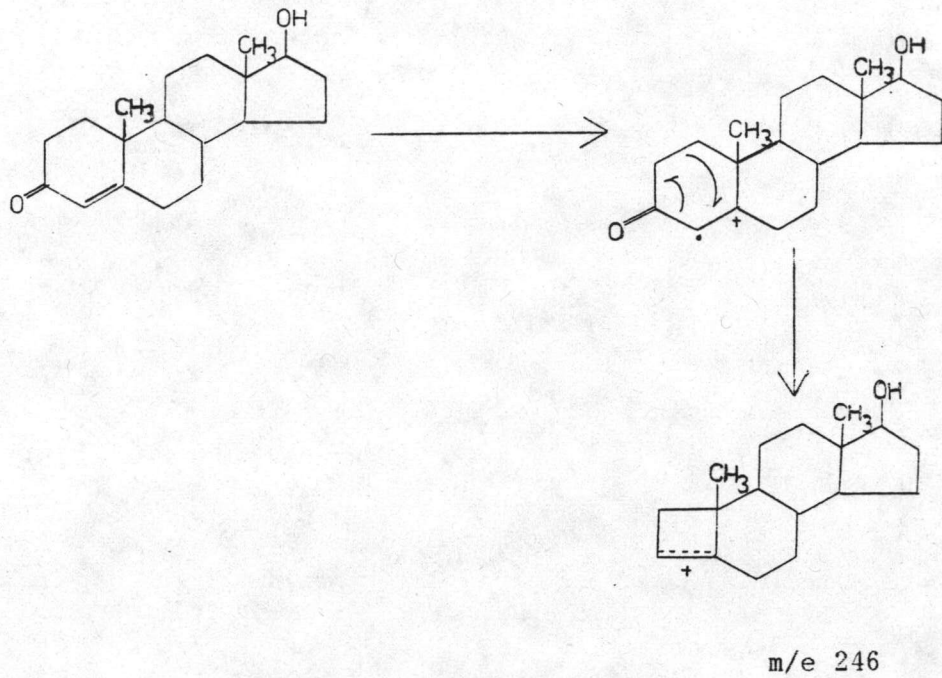
frequency (cm^{-1})	band type	tentative assignments
3510-3400	B,S	O-H stretch. vibration
2920-2860	S	C-H stretch. of $-\text{CH}_3, -\text{CH}_2-$
1610	S	C=O stretch. of ketone conjugated with C=C
1350	M	O-H bend vibration
1220	S	C-O stretch. of alcohol
1600	S	C=C stretch. mode of unconjugated olefin
3200	W	C-H stretch. of olefin
1440	M	C-H bend of $\text{CH}_3, -\text{CH}_2-$

แมสสเปคตรัมของสารประกอบเทสโทสเตอโรน

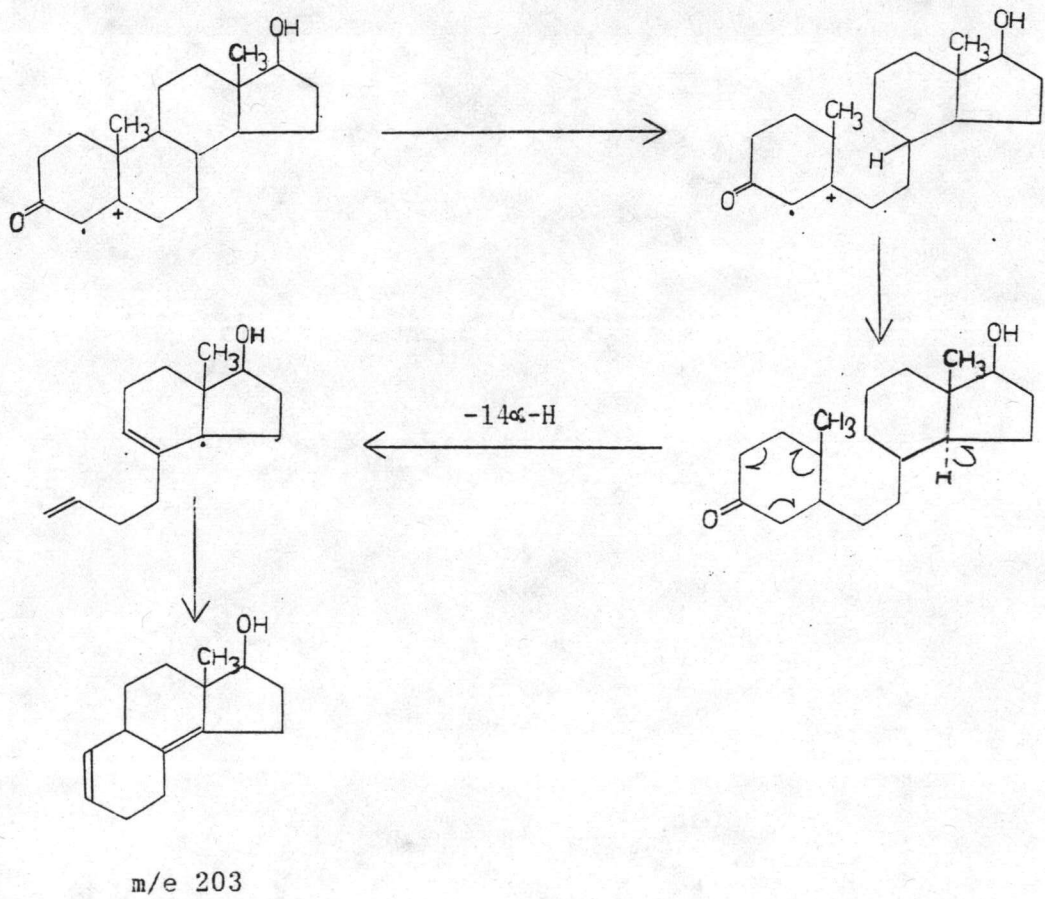
แมสสเปคตรัมของสารประกอบเทสโทสเตอโรน แสดงในรูปที่ 2.25 ข้อมูลค่า m/e ที่สำคัญและค่า relative intensity แสดงในตารางที่ 2.4 สารประกอบเทสโทสเตอโรนมีสูตรโมเลกุล $C_{19}H_{28}O_2$ จากแมสสเปคตรัมพบ molecular ion peak ที่ m/e 288 ส่วนพีคที่มีความเข้มสูงสุด คือ พีคของไอออนที่มีค่า m/e 124 ซึ่งเกิดจากการเคลื่อนย้ายของไฮโดรเจนอะตอมจากตำแหน่งที่ 8 และ 11 ไปยังวงแหวน A ดังแสดงในรูปที่ 3.17 นอกจากนี้ fragment ion อื่นๆ เช่น พีคของไอออนที่มีค่า m/e 246 เกิดจากการเคลื่อนย้ายของอิเล็กตรอนในวงแหวน A ดังแสดงในรูปที่ 3.18 และพีคของไอออนที่มีค่า m/e 203 เกิดจากการแตกพันธะระหว่างตำแหน่งที่ 9 และ 10 และเกิดการเคลื่อนย้ายของไฮโดรเจนอะตอมจากตำแหน่งที่ 8 และ 14 ดังแสดงในรูปที่ 3.19



รูปที่ 3.17 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 124



รูปที่ 3.18 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 246



รูปที่ 3.19 การเกิด fragmentation ที่ทำให้เกิด molecular ion ที่มีค่า m/e 203

โปรตอน-เอนเอมอาร์ สเปกตรัมของสารประกอบเทสโทสเตอโรน

โปรตอนเอนเอมอาร์ สเปกตรัมของสารประกอบเทสโทสเตอโรน แสดงในรูปที่ 2.21 และตารางที่ 3.8 พบว่าสัญญาณโปรตอนที่สำคัญ ดังนี้คือ $\delta(H)$ 5.73 ppm แสดง ethylene proton ตำแหน่งที่ 4, 1.67 ppm แสดง hydroxyl proton, 1.22 ppm แสดง methyl proton ตำแหน่งที่ 19, 0.92 ppm แสดง methyl proton ตำแหน่งที่ 18

ตารางที่ 3.8 H^1 -NMR chemical shift assignments of testosterone ($CDCl_3$)

chemical shift (ppm)	type and number of protons	tentative assignments
0.92	S, 3H	$CH_3-C \begin{array}{l} / \\ \backslash \end{array}$
1.22	S, 3H	$CH_3-C \begin{array}{l} / \\ \backslash \end{array}$
1.67	D, 1H	$-CH-OH$
3.61	T, 1H	$OH-CH-CH_2-$
5.73	S, 1H	$-C=CH-$

คาร์บอน-13 เอนเอมอาร์ สเปกตรัมของสารประกอบเทสโทสเตอโรน

คาร์บอนเอนเอมอาร์สเปกตรัมของสารประกอบเทสโทสเตอโรน แบบ complete decoupling spectra แสดงในรูปที่ 2.22, แบบ DEPT 135 แสดงในรูปที่ 2.23, แบบ DEPT 90 แสดงในรูปที่ 2.24 จากสเปกตรัมแสดงสัญญาณของคาร์บอนที่สำคัญ ดังนี้คือ $\delta(C)$ 199.52 ppm. แสดงสัญญาณของ $C=O$ ตำแหน่งที่ 3, 171.24 ppm. แสดงสัญญาณของ $=C$ ตำแหน่งที่ 5 123.81 ppm. แสดงสัญญาณของ $=CH$ ตำแหน่งที่ 4, 81.00 ppm. แสดงสัญญาณของ $-CH_3$ ตำแหน่งที่ 17, 17.42 ppm. แสดงสัญญาณของ $-CH_3$ ตำแหน่งที่ 19 และ 11.15 ppm. แสดงสัญญาณของ $-CH_3$ ตำแหน่งที่ 18 รายละเอียดของ C^{13} -NMR spectrum ของสารประกอบเทสโทสเตอโรน แสดงในตารางที่ 3.9

ตารางที่ 3.9 C^{13} -NMR chemical shift assignments of testosterone ($CDCl_3$)

carbon position	chemical shift (ppm)
1	36.38
2	35.68
3	199.52
4	123.81
5	171.24
6	32.75
7	31.50
8	35.68
9	53.87
10	38.62
11	20.60
12	37.69
13	42.77
14	50.44
15	23.29
16	30.38
17	81.54
18	11.00
19	17.37