

ส่วนที่ 2

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2553

โครงการวิจัยรหัส ว-ท(ด)8.52

ไกลโคซิลเลชันอย่างเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีเพื่อการสังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยใช้
ฟอสฟอรัสไตรเอเจนต์

(1)วันชัย ปลื้มภาณุภัทร,

(1)Wanchai Pluempunapat,

บทคัดย่อ

จากการศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาคลอริเนชันของ 2,3,4,6-เทตระ-O-เบนซิล-D-กลูโคไพราโนส โดยใช้รีเอเจนต์ผสมแบบใหม่ระหว่างไตรฟีนิลฟอสฟีน และ ไตรคลอโรอะเซทาไมด์ สามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นไกลโคซิล คลอไรด์ ได้ในปริมาณสูง ภายใต้สภาวะไม่รุนแรงและเป็นกลาง นอกจากนี้ยังสามารถไปประยุกต์ใช้สำหรับปฏิกิริยาไกลโคซิลเลชันเพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์ของอาร์บิวติน โดยนำปฏิกิริยาข้างต้นมาทำต่อกับ โมโนเบนซิล ไฮโดรควิโนน ภายใต้สภาวะที่มี ซิงค์ (II) โบรไมด์ และโมเลกุลซีฟ 5A จะได้อนุพันธ์ของอาร์บิวตินที่มี %ผลิตภัณฑ์สูง และมีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีเป็นแบบ แอลฟา

คำสำคัญ : ไกลโคซิลเลชัน, ความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอ

ABSTRACT

The chlorination of 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-glucopyranose utilizing a new and efficient combination of triphenylphosphine and trichloroacetamide could be smoothly converted to the corresponding glycosyl chlorides in excellent yields under mild and neutral conditions. Furthermore, the developed reaction could be applied to glycosylation of glycosyl chloride and monobenzyl hydroquinone in the presence of zinc (II) bromide and molecular sieve 5A to furnish arbutin derivative in high yields with alpha-stereoselectivity.

Key words : Stereoselective Glycosylation, Halogenat

(1)ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ บางเขน

(1)Faculty of Science

ส่วนที่ 2

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2552-2553

โครงการวิจัยรหัส ว-ท(ด)8.52

ชื่อโครงการภาษาไทย ไกลโคซิเลชันอย่างเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีเพื่อการสังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มี
ฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยใช้ฟอสฟอรัสรีเอเจนต์

ชื่อโครงการภาษาอังกฤษ Stereoselective Glycosylation toward the Synthesis of Bioactive Glycosides
Using Phosphorus Reagents

ชื่อผู้วิจัยภาษาไทย วันชัย ปลื้มภาณุภัทร ⁽¹⁾ ภรณ์วณิช จิตตจิรจรรย์ ⁽¹⁾ กฤษณะ ป็องนนานาค ⁽¹⁾
ชื่อผู้วิจัยภาษาอังกฤษ Wanchai Pluempanupat ⁽¹⁾ Pawarun Chitchirachan ⁽¹⁾ Krisana Pongnanak ⁽¹⁾

บทคัดย่อ

จากการศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาคลอรีเนชันของ 2,3,4,6-เทตระ-O-เบนซิล-D-กลูโคไพราโนส โดยใช้รีเอเจนต์ผสมแบบใหม่ระหว่างไตรเฟนิลฟอสฟีน และ ไตรคลอโรอะเซตามิด สามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นไกลโคซิล คลอไรด์ ได้ในปริมาณสูง ภายใต้สภาวะไม่รุนแรงและเป็นกลาง นอกจากนี้ยังสามารถไปประยุกต์ใช้สำหรับปฏิกิริยาไกลโคซิเลชันเพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์ของอาร์บูติน โดยนำปฏิกิริยาข้างต้นมาทำต่อกับ โมโนเบนซิล ไฮโดรควิโนน ภายใต้สภาวะที่มี ซิงค์(II) โบรไมด์ และโมเลกุลซีฟ 5A จะได้อนุพันธ์ของอาร์บูตินที่มี %ผลผลิตสูง และมีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีเป็นแบบ แอลฟา

คำสำคัญ : ไกลโคซิเลชัน, ความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมี, เฮไลเจนทิงเอเจนต์, ไตรเฟนิลฟอสฟีน, ไตรคลอโรอะเซตามิด

ABSTRACT

The chlorination of 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-glucopyranose utilizing a new and efficient combination of triphenylphosphine and trichloroacetamide could be smoothly converted to the corresponding glycosyl chlorides in excellent yields under mild and neutral conditions. Furthermore, the developed reaction could be applied to glycosylation of glycosyl chloride and monobenzyl hydroquinone in the presence of zinc(II) bromide and molecular sieve 5A to furnish arbutin derivative in high yields with α -stereoselectivity.

Key words: Stereoselective Glycosylation, Halogenating agent, Triphenylphosphine, Trichloroacetamide

บทนำ

สารประกอบที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหรือไกลโคไซด์ (Glycoside) สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยๆ ได้หลายกลุ่ม เช่น O-ไกลโคไซด์, C-ไกลโคไซด์, N-ไกลโคไซด์ และ S-ไกลโคไซด์ ไกลโคไซด์ส่วนใหญ่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่น เป็นยาปฏิชีวนะ¹ สารต้านอนุมูลอิสระ² และสารต้านการเกิดมะเร็ง³ เป็นต้น สมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่งของสารกลุ่มนี้คือ สามารถละลายน้ำได้ดี ไกลโคไซด์พบได้ทั้งจากผลิตภัณฑ์ทาง

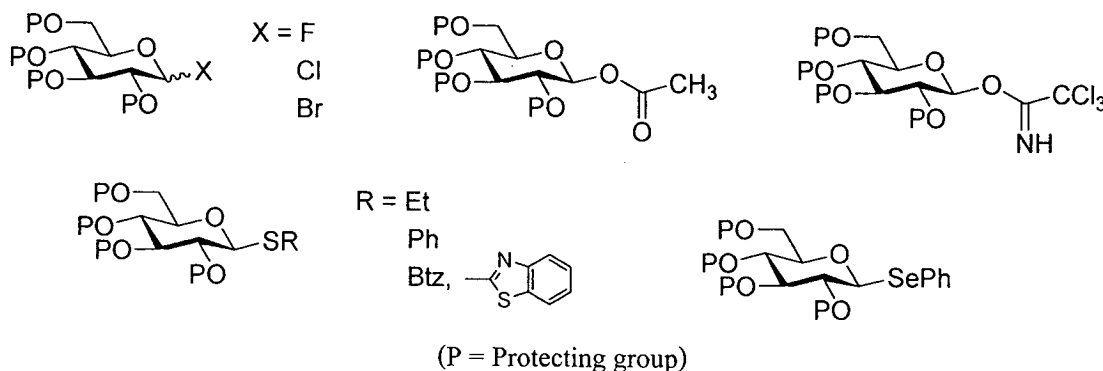
ธรรมชาติหรือได้จากการสังเคราะห์ ไกลโคไซด์ส่วนใหญ่ที่ได้จากการแยกจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมักมีปริมาณน้อย จึงไม่เพียงพอต่อการนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังพบว่าการแยกสารจากพืชหรือสมุนไพรชนิดเดียวกัน ในแต่ละพื้นที่ อาจจะได้ไกลโคไซด์ที่เหมือนกัน เนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ เช่น ภูมิอากาศ สภาพสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการสังเคราะห์ จึงเป็นทางเลือกที่นิยมกันมากในการเตรียมไกลโคไซด์ ส่งผลให้มีการศึกษาและพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ทางเคมีคาร์โบไฮเดรตอย่างต่อเนื่อง

1. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1.1 ศึกษาวิธีการสังเคราะห์ไกลโคไซด์แบบใหม่ที่มีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมี
- 1.2 นำวิธีการสังเคราะห์ที่ได้ ไปประยุกต์ใช้สังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

2. ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

การศึกษาการสังเคราะห์ไกลโคไซด์อย่างเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมี (Stereoselective glycosylation) เป็นหนึ่งในหัวข้อวิจัยที่มีความสำคัญมากทางเคมีคาร์โบไฮเดรต เนื่องจากสามารถควบคุมการสังเคราะห์ให้มีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีของไกลโคไซด์ที่ต้องการ เช่น แอลฟา (Alpha) หรือ เบต้า (Beta) ได้มีรายงานการพัฒนาวิธีสังเคราะห์อย่างต่อเนื่อง ส่วนใหญ่เน้นการศึกษาและพัฒนาในส่วนของไกลโคซิลโดเนอร์ (Glycosyl donor) โดยเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่ง Anomeric ของโมเลกุลน้ำตาล เป็น Leaving group ชนิดต่างๆ เช่น ฟลูออไรด์ คลอไรด์ โบรไมด์ แอซิเตต ไตรคลอโรอะซิเตต ซัลไฟต์ หรือซิลิไนด์ เป็นต้น⁴



หรือศึกษาชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) เช่น SnCl_2 ,⁵ AgOTf ,⁶ $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$,² $\text{Cu}(\text{OTf})_2$,⁷ AgClO_4 ,⁸ $\text{TrB}(\text{C}_6\text{F}_5)_4$,⁹ HClO_4 หรือ TfOH ¹⁰

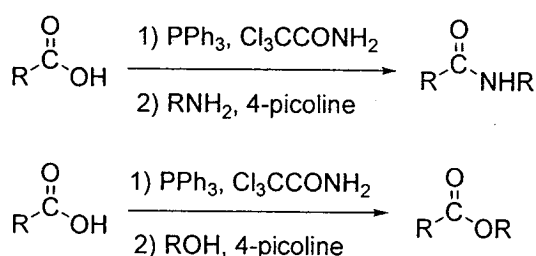
ถึงแม้ว่าจะมีการรายงานวิธีการสังเคราะห์ไกลโคไซด์อย่างเลือกจำเพาะทาง สเตอริโอเคมีเพื่อให้ได้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ที่สูงอย่างต่อเนื่อง แต่อย่างไรก็ตาม ยังคงพบข้อเสียหรือข้อจำกัดบางอย่าง เช่น 1) การเตรียมไกลโคซิล ฟลูออไรด์ต้องใช้รีเอเจนต์ที่มีราคาแพง คือ DAST (Diethylaminosulfur trifluoride) และรีเอเจนต์มีความไวต่ออากาศและความชื้นสูง จึงเกิดการสลายตัวง่าย 2) ไกลโคซิลโดเนอร์ที่มีหมู่ leaving group เป็นเฮไลเจน จะมีความเสถียรค่อนข้างต่ำ ทำให้ยากต่อการเก็บรักษา 3) ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้บางชนิดเช่น $\text{TrB}(\text{C}_6\text{F}_5)_4$ ¹⁴ วิธีการเตรียมที่ยุ่งยากและหลายขั้นตอน และเกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้ต้องเตรียมใหม่

ทุกครั้งที่จะใช้ 4) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ที่อยู่ในขวดบรรจุมีการปนเปื้อน เนื่องจากเกิดการสลายตัวเมื่อโดนอากาศ ดังนั้นต้องนำมาล้างให้บริสุทธิ์ก่อนนำไปใช้ ทำให้เสียเวลา 5) เมื่อใช้ HClO_4 และ TfOH เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้ภาวะของปฏิกิริยามีความเป็นกรด จึงไม่สามารถใช้กับสารตั้งต้นมีหมู่ฟังก์ชันที่ว่องไวต่อกรด เนื่องจากอาจจะเกิดการแข่งขันของปฏิกิริยาที่ไม่ต้องการ (Side Reaction) จากข้อเสียและข้อจำกัดที่กล่าวมาข้างต้น จึงมีความจำเป็นที่จะศึกษาและพัฒนาวิธีการสังเคราะห์แบบใหม่ ๆ อย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการสังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมี

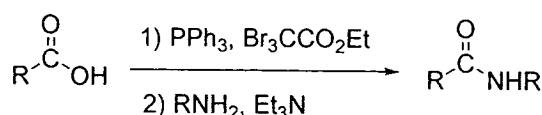
3. การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาและรายงานการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันจากแอลกอฮอล์ (ROH) คาร์บอกซิลิกแอซิด (RCO_2H) และซัลโฟนิคแอซิด (RSO_3H) มาเป็นสารประกอบแอลคิลแฮไลด์ (RX), แอซิดแฮไลด์ (RCOX) และซัลโฟนิลแฮไลด์ (RSO_2X) โดยใช้ระบบรีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 กับ เฮไลจีนิงเอเจนต์ เช่น $\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$, Cl_3CCN หรือ $\text{Br}_3\text{CCO}_2\text{Et}$ เช่น

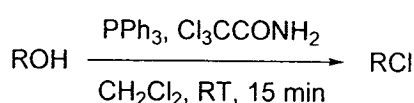
ปี 2003 Chaysripongkul และคณะ¹¹ ได้รายงานการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์เอไมด์ และ เอสเทอร์ โดยใช้รีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 กับ $\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$ และสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีเปอร์เซ็นต์ผลิตรากันที่สูง ภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง



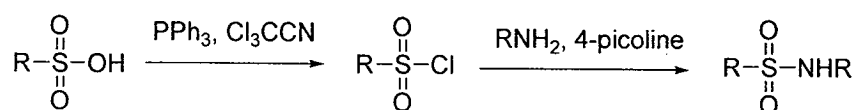
ปี 2003 Jang และคณะ¹² ได้รายงานการวิธีการสังเคราะห์เอสเทอร์จากกรดคาร์บอกซิลิกโดยใช้รีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 กับ Cl_3CCN มาสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น α -Tocopherol, Clofibrate และ Flavoxate จากนั้นในปี 2006 Kang และคณะ¹³ ได้นำหลักการดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในการสังเคราะห์เอไมด์ชนิดต่างๆ โดยเปลี่ยน $\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$ ไปเป็น $\text{Br}_3\text{CCO}_2\text{Et}$ พบว่ายังคงมีเปอร์เซ็นต์ผลิตรากันที่สูงเช่นเดียวกัน



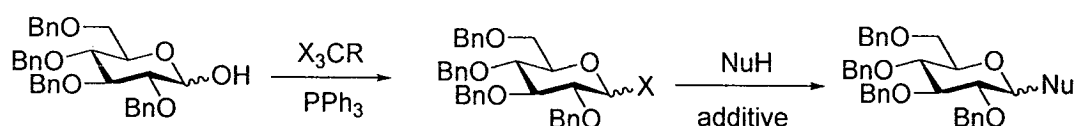
ต่อมาปี 2006 Pluempanupat และคณะ¹⁴ ได้ศึกษาและรายงานภาวะที่เหมาะสม ในการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ไปเป็นแอลคิลคลอไรด์ที่มีเปอร์เซ็นต์ผลิตรากันที่สูงและมีสเตอริโอเคมีเป็นแบบ Inversion of configuration โดยใช้รีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 กับ $\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$ ภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรงและใช้เวลารวดเร็ว



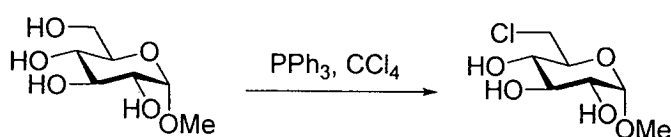
ในปีเดียวกัน Chantarasriwong และคณะ¹⁵ ได้นำหลักการดังกล่าวไปศึกษาและรายงานวิธีการเตรียมสารประกอบซัลโฟนามิดที่มีประสิทธิภาพ โดยใช้รีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 กับ Cl_3CCN และจากการศึกษาโดยใช้เทคนิค IR พบว่าสารชั้นกลาง (Intermediate) ที่เกิดขึ้นคือซัลโฟนิล คลอไรด์



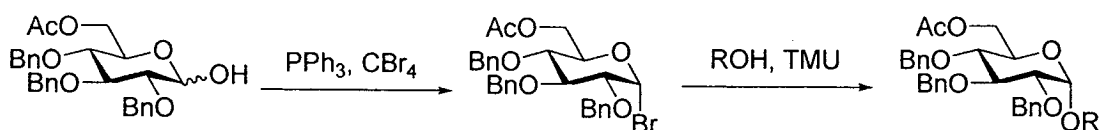
จากข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ชี้ให้เห็นว่าการใช้รีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 กับเฮไลจีนิงเอเจนต์สามารถเกิดปฏิกิริยาดีออกซิเจนชัน (Deoxygenation) ของหมู่ไฮดรอกซีของสารตั้งต้นชนิดต่างๆ ไปเป็นสารประกอบเฮไลเจน จากนั้นสามารถที่จะเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ (Substitution) ต่อไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงสนใจที่จะนำวิธีดังกล่าวมาพัฒนาและประยุกต์ใช้กับสารตั้งต้นชนิดอื่นๆ เช่นโมเลกุลน้ำตาล ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงมีแนวความคิดที่จะนำรีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 กับเฮไลจีนิงเอเจนต์มาใช้กับปฏิกิริยาไกลโคซิเลชัน โดยหาภาวะที่เหมาะสมเพื่อสังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มีเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ที่สูงและมีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีที่ดี



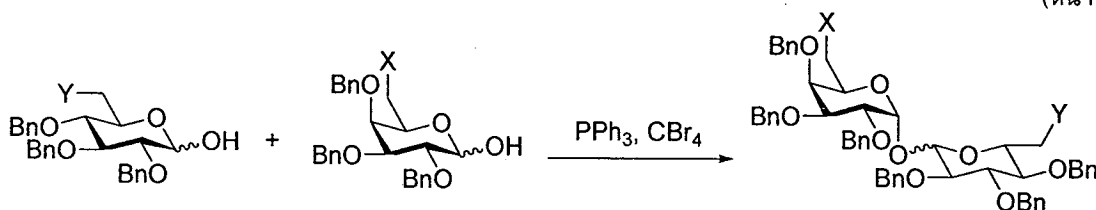
จากการศึกษาเอกสารอ้างอิงพบว่ายังมีรายงานการศึกษาวิธีการสังเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับวิธีที่สนใจไม่มากนัก เช่น ปี 1981 David และคณะ¹⁶ รายงานการทำปฏิกิริยาคลอรีเนชันของ Glucopyranoside โดยใช้รีเอเจนต์ผสมระหว่าง $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$ พบว่าจะเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่ง 5 เท่านั้น



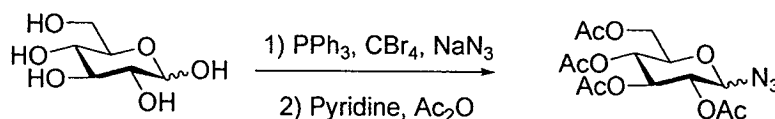
ในปี 2003 Shingu และคณะ¹⁷ ได้รายงานวิธีไกลโคซิเลชันอย่างเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีเพื่อการสังเคราะห์ α -ไกลโคไซด์ โดยใช้รีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 กับ CBr_4 พบว่าได้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ที่สูงและมีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีที่ดี และสามารถนำไปใช้สังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้อีกด้วย



จากนั้นในปี 2006 Miyaji และคณะ¹⁸ ได้นำวิธีการดังกล่าวไปใช้ในการสังเคราะห์ α , α - และ α , β -Disaccharide



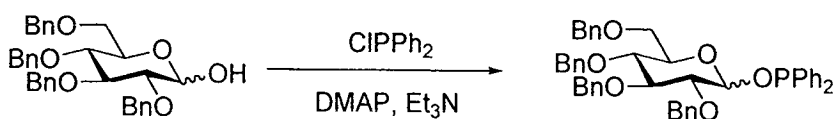
ต่อมาปี 2007 Gouin และคณะ¹⁹ ได้รายงานการเตรียม Polyazido-sugars โดยใช้รีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 และ CBr_4



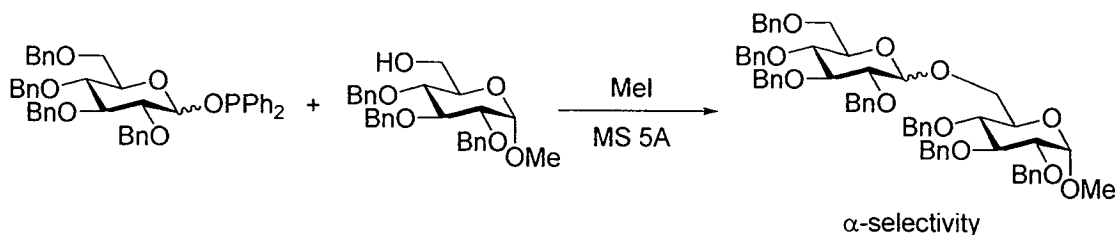
อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาการรีเอเจนต์ผสมระหว่าง $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$ หรือ $\text{PPh}_3/\text{CBr}_4$ ยังคงต้องใช้เวลาในการเกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ค่อนข้างนาน หรือได้เปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ต่ำ จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ต้องมีการพัฒนารีเอเจนต์ใหม่ ๆ เมื่อดูจากการรายงานการศึกษาความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาของรีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 และ X_3CR โดย Pluempanupat และ คณะ²⁰ ในปี 2007 พบว่าหมู่แทนที่ (R) ที่ตำแหน่ง $\text{X}_3\text{C}-$ มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา เช่น $\text{R} = \text{COCBr}_3 > \text{COCCl}_3 > \text{CN} > \text{CO}_2\text{Et} > \text{CONH}_2 > \text{Br} > \text{Cl}$

ดังนั้นงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นการใช้ระบบรีเอเจนต์ผสมระหว่าง PPh_3 กับ เฮไลเจนทีงเอเจนต์ที่มีความว่องไวเช่น $\text{Br}_3\text{CCOCBr}_3$, $\text{Cl}_3\text{CCOCCl}_3$, Cl_3CCN หรือ $\text{Br}_3\text{CCO}_2\text{Et}$ เป็นต้น ข้อดีของงานวิจัยนี้คือ 1) เป็นวิธีการสังเคราะห์แบบใหม่ที่มีประสิทธิภาพกว่าเดิม 2) ไกลโคซิลโดเนอร์และรีเอเจนต์ที่ใช้มีความเสถียรสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่ต้องควบคุมความชื้นหรืออากาศ 3) รีเอเจนต์หาซื้อได้และมีราคาถูก 4) ประหยัดเวลาเนื่องจากสามารถลดขั้นตอนการเตรียมไกลโคซิลโดเนอร์ เนื่องจากไม่ต้องเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซีเป็น Leaving group อื่นๆ 5) ใช้กับสารตั้งต้นที่มีหมู่ฟังก์ชันที่ว่องไวต่อกรดได้

นอกจากนี้แนวความคิดที่จะเปลี่ยนไกลโคซิลโดเนอร์จากที่ใช้มาข้างต้น มารวมกับ PPh_3 เป็นฟอสฟอรัสโดเนอร์



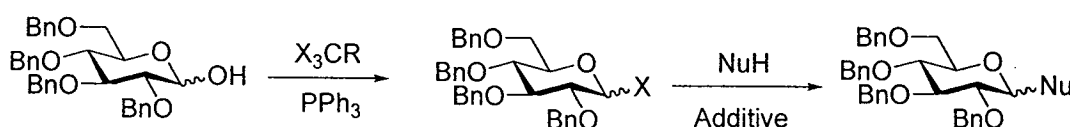
เนื่องจากการรายงานการใช้ฟอสฟอรัสโดเนอร์ตัวนี้ในการทำไกลโคซิเลชัน โดยใช้เฮไลเจนทีงเอเจนต์ที่เป็น MeI เพื่อให้ได้ α -ไกลโคไซด์ที่มีเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์สูง โดย Mukaiyama และคณะ ในปี 2003²¹



การศึกษานี้จะเป็นแนวทางการพัฒนาชนิดของไกลโคซิลโดเนอร์ให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น และเป็นทางเลือกหนึ่งในการเตรียมไกลโคไซด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และยังไม่เคยมีการรายงานการนำมาใช้กับเฮโลจินอิงเอเจนต์ที่มีความว่องไว เช่น $\text{Br}_3\text{CCOCBr}_3$, $\text{Cl}_3\text{CCOCCl}_3$, Cl_3CCN หรือ $\text{Br}_3\text{CCO}_2\text{Et}$ เป็นต้น จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาและวิจัยต่อไป

4. ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้จะนำรีเอเจนต์ผสมระหว่าง ไตรฟีนิลฟอสฟีน (PPh_3) กับ เฮโลจินอิงเอเจนต์ มาใช้กับปฏิกิริยาไกลโคซิเลชัน โดยเปลี่ยนไกลโคซิลโดเนอร์ ไปเป็นไกลโคไซด์ที่ต้องการ ดังสมการ



จะทำการศึกษหาภาวะที่เหมาะสม เพื่อสังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มีเปอร์เซ็นต์ผลิตภัณฑ์ที่สูงและมีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีที่ดี จากปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของเฮโลจินอิงเอเจนต์ ผลของตัวทำละลาย เวลา อุณหภูมิ และชนิดของ Additive จากนั้นจะนำวิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้ มาประยุกต์ใช้ในการสังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สนใจ

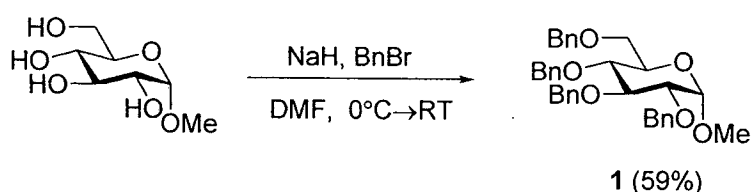
5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 5.1 ได้วิธีการสังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีแบบใหม่ ที่สามารถนำไปใช้สังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างไกลโคไซด์ต่อฤทธิ์ทางชีวภาพได้ (SAR) ในงานวิจัยต่อไปในอนาคตได้
- 5.2 ผลงานได้รับการตีพิมพ์ ในวารสารระดับนานาชาติได้
- 5.3 พัฒนานิสิตหรือบุคลากร ให้มีความรู้ความสามารถในการวิจัย รู้จักแก้ปัญหาและมีความเชี่ยวชาญในการปฏิบัติการทดลองทางเคมีอินทรีย์ขั้นสูง ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทำงานหรือเรียนต่อในระดับบัณฑิตศึกษา ซึ่งนำไปสู่การพัฒนามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และประเทศไทยต่อไปในภายภาคหน้า

วิธีวิจัย

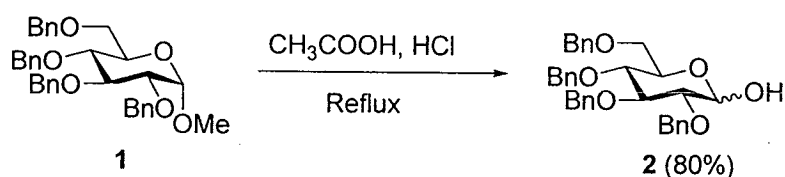
1. สังเคราะห์ไกลโคซิลโดเนอร์ และสารตั้งต้นอื่นๆ

1.1 สังเคราะห์ Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranoside (1)



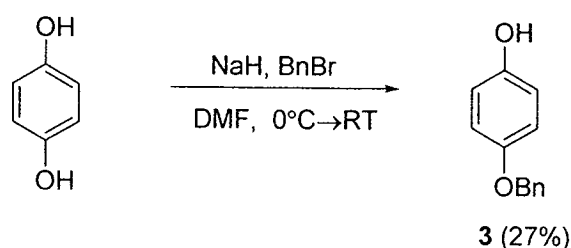
ผสม Methyl- α -D-glucopyranoside 10.00 g (0.051 mol) กับ DMF 170 mL ลงในขวดก้นกลม 2 คอ ขนาด 500 mL ภายใต้บรรยากาศ N_2 นำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งเพื่อให้อุณหภูมิของปฏิกิริยาอยู่ที่ $0^\circ C$ ค่อยๆ เติม Sodium hydride (NaH, 55% oil dispersion) 10.11 g (0.232 mol) ลงในปฏิกิริยาพร้อมคน จากนั้นเอา ขวดก้นกลมออกจากอ่างน้ำแข็ง เพื่อเปลี่ยนอุณหภูมิของปฏิกิริยาจาก $0^\circ C$ ไปสู่อุณหภูมิห้อง พร้อมทั้งคน ปฏิกิริยาต่อเนื่อง 30 นาที จากนั้นค่อยๆ เติม Benzyl bromide (BnBr) 36.75 mL (0.309 mol) ลงในปฏิกิริยา อย่างช้าๆ และคนปฏิกิริยาต่อเนื่อง 16 ชั่วโมง หรือติดตามการสิ้นสุดของปฏิกิริยาด้วย TLC (Thin Layer Chromatography) เมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์แล้ว ทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมน้ำ จากนั้นนำของผสมมา สกัดแยกสารด้วย Diethyl ether 600 mL และน้ำ 200 mL แยกชั้น ether มาล้างด้วย น้ำ 200 mL และ น้ำเกลือ 200 mL ตามลำดับ นำชั้น ether ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator แล้วแยก ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้บริสุทธิ์โดยใช้ Silica gel column chromatography ที่มีตัวชะเป็น Hexane:Ethyl acetate ในอัตราส่วน 7:1 ได้ผลิตภัณฑ์ Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranoside ที่มีน้ำหนัก 16.69 g คิดเป็น 59% yield

1.2 สังเคราะห์ 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucopyranose (2)



ผสม Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranoside 1.94 g (3.5 mmol) ใน Acetic acid 40 mL และ 2M Hydrochloric acid 16 mL ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 mL คนปฏิกิริยาและให้ความร้อนที่ $80^\circ C$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น เทของผสมลงไปในน้ำ จะเกิดตะกอนของ 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucopyranose เกิดขึ้น นำไปตกผลึกซ้ำด้วย MeOH อีกครั้ง ได้น้ำหนักของผลิตภัณฑ์เท่ากับ 1.51 g คิดเป็น 80% yield

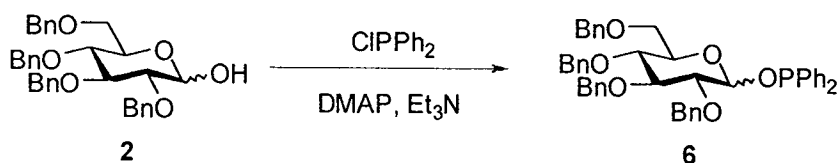
1.3 สังเคราะห์ Monobenzyl hydroquinone (3)



ผสม Hydroquinone 11.01 g (100 mmol) ใน DMF 120 mL คนจนละลาย นำไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง เพื่อให้อุณหภูมิของปฏิกิริยาอยู่ที่ $0^\circ C$ จากนั้นเติม NaH 2.4 g (100 mmol) คนปฏิกิริยา 15 นาที ค่อยๆ เติม Benzyl bromide 11.87 mL (100 mmol) แล้วคนปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วย TLC เมื่อปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์แล้ว นำของผสมมาสกัดด้วย Dichloromethane (CH_2Cl_2) และน้ำ แล้วแยกชั้น CH_2Cl_2 ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator แล้วแยกผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้บริสุทธิ์โดยใช้

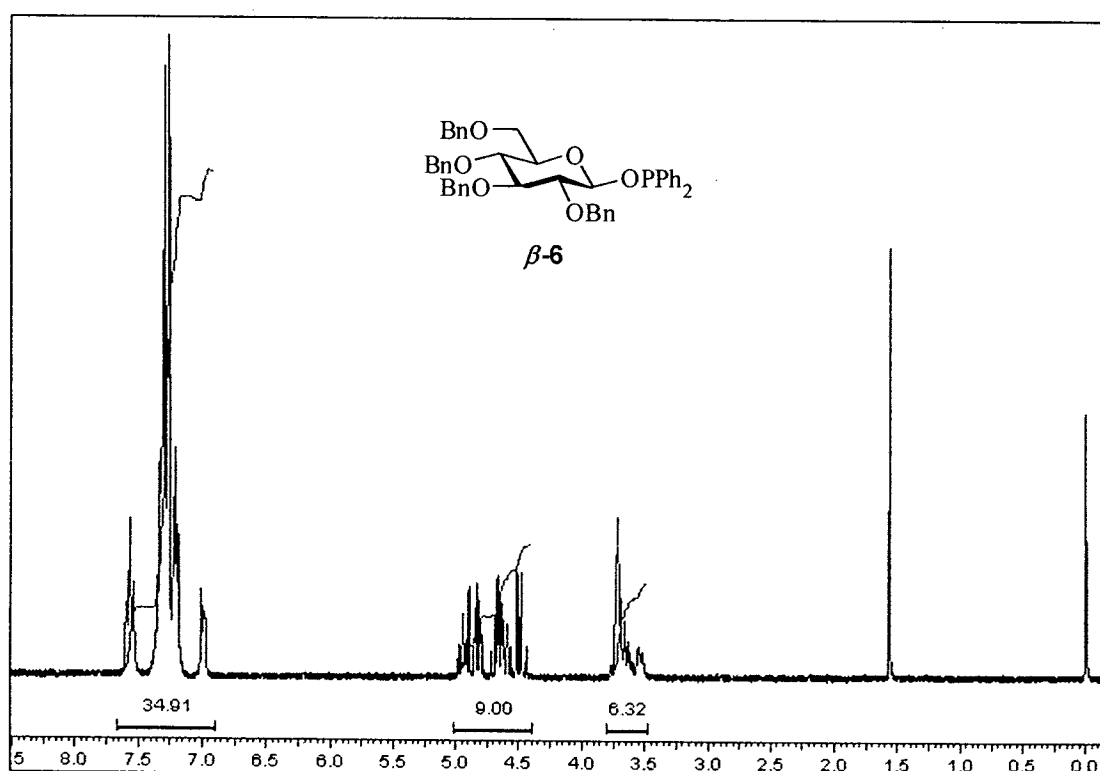
Silica gel column chromatography ที่มีตัวชะเป็น Hexane:Ethyl acetate ในอัตราส่วน 3:1 ได้ผลิตภัณฑ์ 4-(Benzyloxy) phenol ที่มีน้ำหนัก 2.70 g คิดเป็น 27%

1.4 สังเคราะห์ฟอสฟอรัสไดเนอร์



นำ 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucopyranose (10 mmol), 4-Dimethylamino pyridine (3 mmol) และ Triethylamine (12 mmol) มาละลายใน dry THF 20 mL ภายใต้ N_2 จากนั้นค่อยๆเติม Chloro diphenylphosphine (11 mmol) พร้อมทั้งคนปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไประเหยจนเกือบแห้ง โดยใช้เครื่อง Rotary evaporator แล้วเติมตัวทำละลายผสม Hexane/EtOAc อัตราส่วน 8/1 แล้วนำไปกรองผ่านชั้น Alumina-Celite จากนั้นนำสารละลายไประเหยตัวทำละลายออกจนแห้ง ได้ของผสม α - และ β -isomer ของ 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucopyranosyl diphenylphosphinite (6) ปริมาณ 95% Yield จากนั้น นำของผสมดังกล่าวมาตกผลึกด้วย EtOAc และ Hexane ได้ β -isomer (β -6) ปริมาณ 45% yield

2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- β -D-glucopyranosyl diphenylphosphinite (β -6): white solid; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 6.98-7.59 (m, 30H), 4.79-4.97 (m, 4H), 4.43-4.71 (m, 5H), 3.51-3.71 (m, 6H).



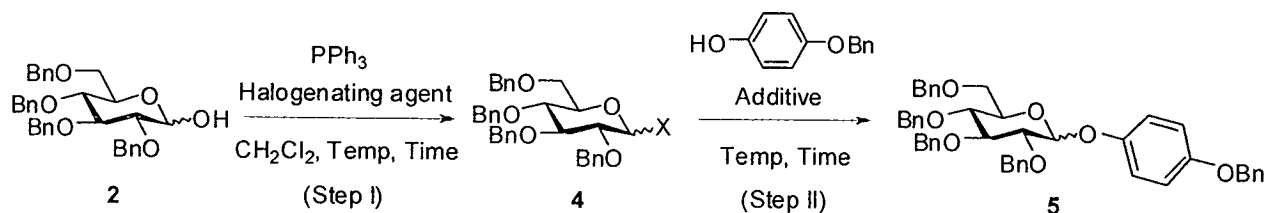
รูปที่ 1 $^1\text{H-NMR}$ ของ 2,3,4,6-tetra-O-benzyl- β -D-glucopyranosyl diphenylphosphinite (β -6)

หมายเหตุ 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- β -D-glucopyranosyl diphenylphosphinite เกิดการสลายตัวไปเป็น 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- β -D-glucopyranosyl diphenylphosphine oxide ได้ง่ายเมื่อเจอความชื้นหรือ O_2 ในอากาศ ทำให้ประสบปัญหาในการทำการทดลองเป็นอย่างมาก จึงไม่นำฟอสฟอรัสไดเนอร์ชนิดนี้ไปศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยากับไกลโคซิลไดเนอร์ชนิดอื่นๆ ตามที่เสนอไว้ โดยแผนงานที่จะทำในอนาคตเพื่อแก้ปัญหานี้คือ จะศึกษาและพัฒนาวิธีการเตรียมฟอสฟอรัสไดเนอร์แบบ in situ เพื่อสามารถนำฟอสฟอรัสไดเนอร์ชนิดนี้ไปใช้ในขั้นตอนต่อไปได้ทันที แบบปฏิกิริยาขั้นตอนเดียว (one pot reaction)

2) การศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสม

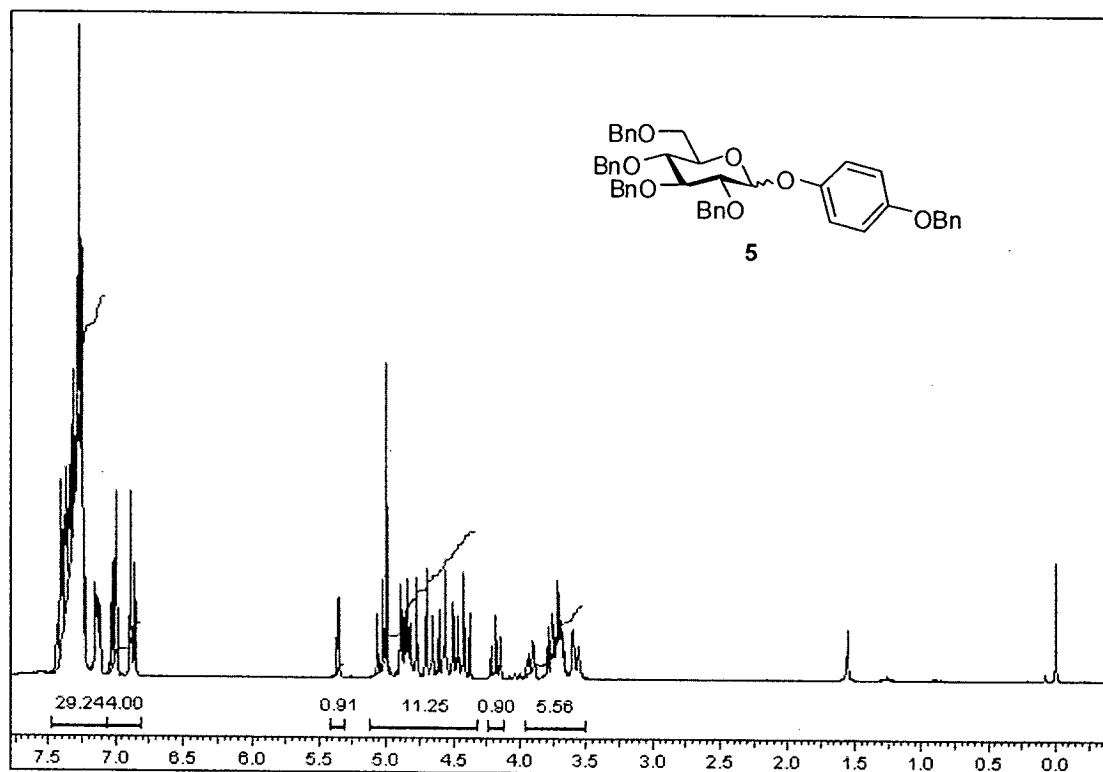
2.1 การศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Arbutin

การศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Arbutin (5) นั้น จะเริ่มต้นศึกษาระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาก่อนเป็นลำดับแรก โดยใช้ปฏิกิริยาดังแบบในการศึกษา คือ ขั้นที่ 1 นำไกลโคซิลไดเนอร์ 2 มาทำปฏิกิริยากับ Triphenylphosphine (PPh_3) และ Halogenating agent ชนิดต่างๆ และมี CH_2Cl_2 เป็นตัวทำละลาย ภายใต้บรรยากาศ Nitrogen โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กัน เพื่อให้เกิด Glycosyl halide (4) จากนั้น ทำขั้นที่ 2 ต่อโดยเติม Monobenzyl hydroquinone และ Additive ชนิดต่างๆ โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กัน เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มี %Yield มากที่สุด ดังแสดงในสมการด้านล่าง

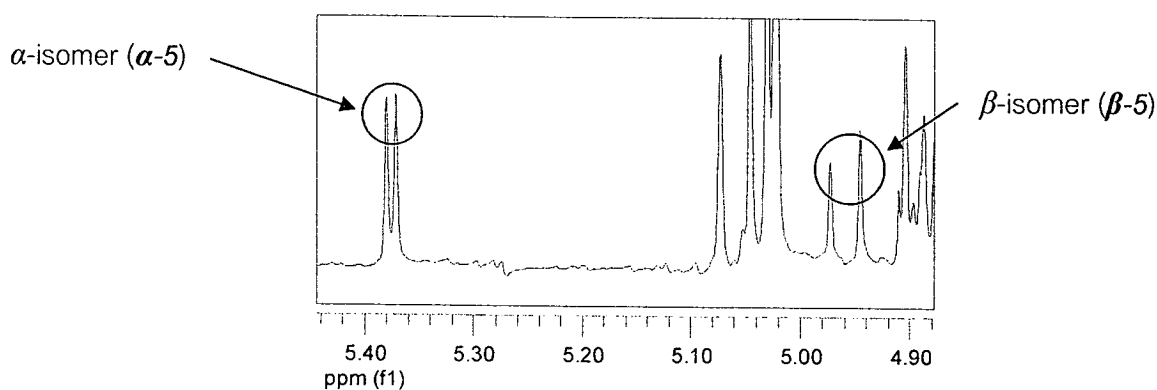


วิธีทำการทดลองคือ นำ 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucopyranose (0.1 mmol) และ PPh_3 มาละลายด้วย CH_2Cl_2 0.5 mL ภายใต้บรรยากาศ Nitrogen จากนั้นเติม Halogenating agent ที่สนใจ แล้วคนปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ และเวลาต่างๆ กัน ต่อจากนั้นเติม Monobenzyl hydroquinone (0.1 mmol) และ Additive ที่สนใจลงไปในปฏิกิริยา ตามลำดับ พร้อมทั้งคนปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กัน เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา นำของผสมมา สกัดด้วย CH_2Cl_2 และน้ำ (หรือสกัดด้วยวิธีการอื่นๆ ขึ้นอยู่กับ Additive ที่ใช้) แยกชั้น CH_2Cl_2 ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator จากนั้นแยกผลิตภัณฑ์ 5 ให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค Preparative Thin Layer Chromatography (PTLC)

4-Benzyloxyphenyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-glucopyranoside (5): colorless oil; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 7.12-7.43 (m, 25H), 7.02 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.87 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 5.28 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 4.42-5.07 (m, 10H), 4.18 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 3.58-3.79 (m, 5H).



รูปที่ 2 ^1H NMR ของอนุพันธ์ของ Arbutin (5)

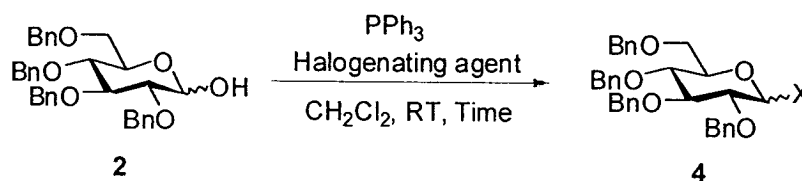


รูปที่ 3 ตำแหน่งสัญญาณ ^1H NMR ของอนุพันธ์ของ Arbutin (5)

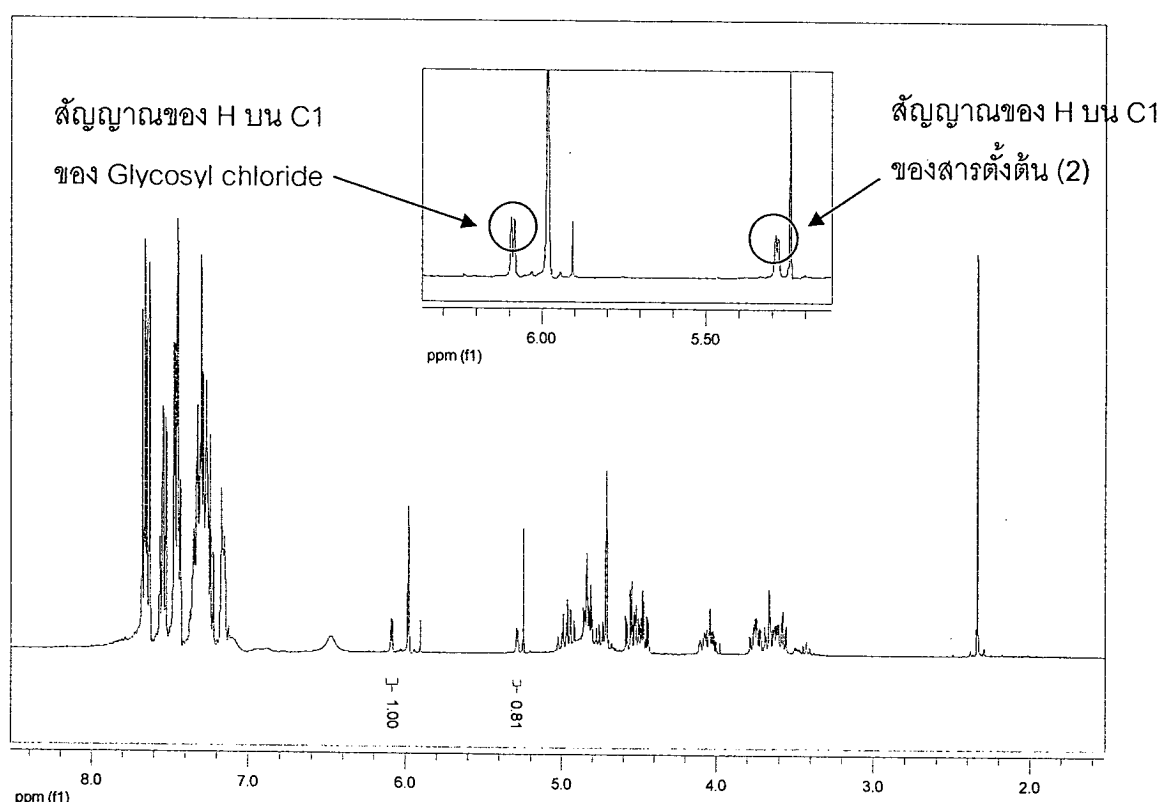
2.2 การศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ Glycosyl halide

การศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ Glycosyl halide (4) เพื่อให้ได้ %Yield ของ Glycosyl halide ในปริมาณสูงที่สุด โดย %Yield จะหาได้จากเทคนิค ^1H NMR เนื่องจาก Glycosyl halide ที่สังเคราะห์ได้เป็นสารที่ไม่เสถียร จึงประสบปัญหาในการแยกสารให้บริสุทธิ์

โดยภาวะและปัจจัยที่จะศึกษามีดังนี้ ชนิดและปริมาณของ Halogenating agent, ปริมาณของ PPh_3 และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา ดังสมการ



วิธีทำการทดลองคือ นำ 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucopyranose 0.1 mmol และ PPh₃ มาละลายด้วย CH₂Cl₂ ภายใต้บรรยากาศ Nitrogen จากนั้นเติม Halogenating agent ที่สนใจ แล้วคนปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องที่เวลาต่างๆกัน จากนั้นนำปฏิกิริยาไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนแห้งแล้วนำ Crude ของปฏิกิริยาที่ได้ทั้งหมด ไปตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้เทคนิค ¹H NMR ทั้งนี้ตัวอย่าง สัญญาณ ¹H NMR ของ Crude ที่ได้แสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ¹H NMR ของ Crude จากการศึกษากภาวะที่เหมาะสมในการเกิด Glycosyl chloride

2.3 การศึกษาผลของ Additive

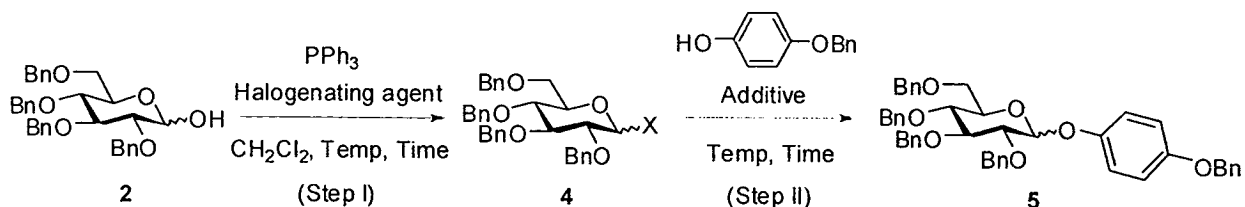
วิธีทำการทดลองคือ นำ 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucopyranose (0.1 mmol) และ PPh₃ (0.3 mmol) มาละลายด้วย CH₂Cl₂ 1 mL ภายใต้บรรยากาศ Nitrogen จากนั้นเติม Cl₃CCONH₂ (0.3 mmol) แล้วคนปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม Monobenzyl hydroquinone (0.12 mmol) และ Additive ที่สนใจ (Promoter หรือ Drying agent) ลงไปในปฏิกิริยาตามลำดับ พร้อมทั้งคนปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้องหรือ Reflux เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา นำของผสมมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ และน้ำ (หรือสกัดด้วยวิธีการอื่นๆ ขึ้นอยู่กับ Additive ที่ใช้) แยกชั้น CH₂Cl₂ ไประเหยตัวทำ

ละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator จากนั้นแยกผลิตภัณฑ์ 5 ให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค Preparative Thin Layer Chromatography (PTLC)

ผลและวิจารณ์

1. ผลการศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Arbutin

จากผลการศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Arbutin (5) โดยใช้ปฏิกิริยาดังต่อไปนี้ ขั้นที่ 1 นำไกลโคซิลโดเนอร์ 2 มาทำปฏิกิริยากับ Triphenylphosphine (PPh_3) และ Halogenating agent ชนิดต่างๆ และมี CH_2Cl_2 เป็นตัวทำละลาย ภายใต้บรรยากาศ Nitrogen โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กัน เพื่อให้เกิด Glycosyl halide (4) จากนั้น ทำขั้นที่ 2 ต่อโดยเติม Monobenzyl hydroquinone และ Additive ชนิดต่างๆ โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ กัน เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มี %Yield มากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 1



ตารางที่ 1 การศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Arbutin

Entry	Halogenating agent		PPh ₃ (eq)	CH ₂ Cl ₂ (M)	Step I		Step II		Additive	%Yield
	Type	eq			Temp	Time (h)	Temp	Time (h)		
1	ClC ₃ CN	2	2	0.05	RT	1	RT	2	-	0
2	ClC ₃ CN	2	2	0.2	RT	0.5	RT	3	Pyridine (6.7 eq)	8%
3	ClC ₃ CN	3	3	0.1	RT	1	RT	3	-	0
4	ClC ₃ CN	3	3	0.1	RT	3	RT	6	-	0
5	ClC ₃ CN	3	3	0.1	RT	3	RT	12	-	0
6	ClC ₃ CN	3	3	0.1	Reflux	3	RT	3	-	0
7	ClC ₃ CN	3	3	0.05	RT	3	RT	24	TMU (6.7 eq)	trace
8	Cl ₃ CCOCCl ₃	3	3	0.05	RT	3	RT	24	TMU (6.7 eq)	4
9	Br ₃ CCOCHBr ₂	3	3	0.05	RT	3	RT	24	TMU (6.7 eq)	trace
10	Cl ₃ CCONH ₂	3	3	0.05	RT	3	RT	24	TMU (6.7 eq)	7
11	Cl ₃ CCONH ₂	3	3	0.2	RT	1	RT	24	-	0
12	Cl ₃ CCONH ₂	3	3	0.2	RT	1	Reflux	24	-	trace

a) Monobenzyl hydroquinone was used in 1.2 eq

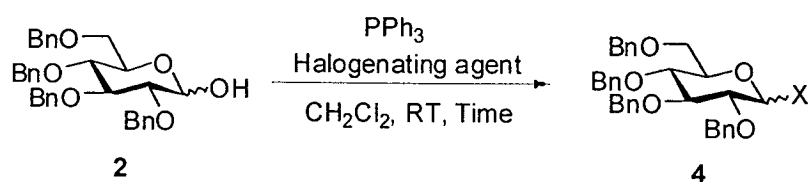
จากผลการทดลองในตารางที่ 1 พบว่า %Yield ของสาร 5 ยังมีปริมาณต่ำ ไม่ว่าจะการเปลี่ยนชนิดของ Halogenating agent, ปริมาณของรีเอเจนต์และตัวทำละลาย, อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา แต่อย่างไรก็ตามยังพบจุดที่น่าจะศึกษา คือผลของ Additive เพราะจากผลการทดลอง พบว่าการเติม Additive บางชนิด เช่น pyridine หรือ tetramethyl urea (TMU) มีผลให้พบปริมาณผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย

จากการทดลอง แสดงให้เห็นว่า %Yield ของผลิตภัณฑ์ 5 ยังมีปริมาณต่ำมาก ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า ภาวะที่ใช้ใน ขั้นตอนที่ 1 อาจจะไม่สามารถเปลี่ยนสารตั้งต้น 2 ไปเป็น Glycosyl halide ได้ทั้งหมด จึงมีแนวความคิดที่จะแยกการศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ %Yield ออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นที่ 1 การเตรียม Glycosyl halide และ ขั้นที่ 2 การเติม Nucleophile และ Additive เพื่อไปเป็น ผลิตภัณฑ์ 5

2 ผลการศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ Glycosyl halide

ภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในขั้นการเตรียม Glycosyl halide (ขั้นที่ 1) ที่จะศึกษา คือ ชนิดและปริมาณของ Halogenating agent, ปริมาณของ PPh_3 และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งมีผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ Glycosyl halide



Entry	Halogenating agent		PPh_3 (eq)	CH_2Cl_2 (M)	Time (h)	% Yield ^a	% Recovered 2 ^a
	Type	eq					
1	$\text{Cl}_3\text{CCOCCl}_3$	2	2	0.1	2	27 (X=Cl)	73
2	Cl_3CCN	2	2	0.1	2	quant (X=Cl)	-
3	$\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$	2	2	0.1	2	quant (X=Cl)	-
4	$\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$	2	2	0.2	1	51 (X=Cl)	49
5	$\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$	2.5	2.5	0.2	1	50 (X=Cl)	50
6	$\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$	3	3	0.2	1	quant (X=Cl)	-
7	$\text{Br}_3\text{CCOCHBr}_2$	1	1	0.2	1	23 (X=Br)	77
8	$\text{Br}_3\text{CCOCHBr}_2$	2	2	0.2	1	50 (X=Br)	50

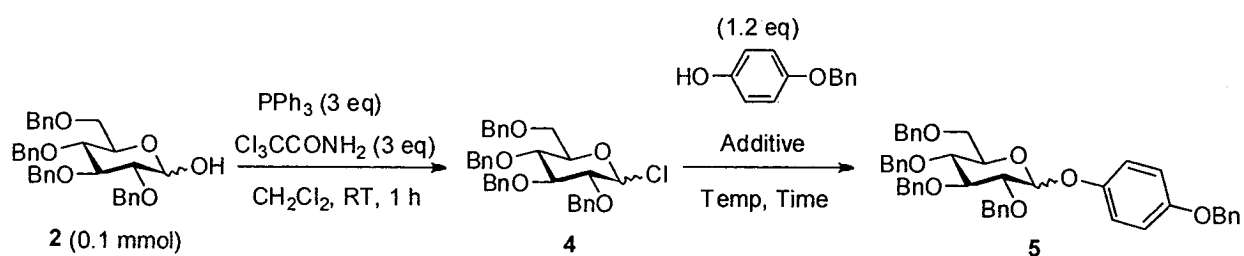
a) Determined by ^1H NMR

ผลการทดลองในตารางที่ 2 ชี้ให้เห็นว่า Cl_3CCN และ $\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$ เป็น Chlorinating agent ที่เหมาะสมในการเปลี่ยนสารตั้งต้น 2 ไปเป็น Glycosyl chloride (entries 2 และ 3) และที่สำคัญคือยังไม่เคยมีรายงานการใช้สาร 2 ตัวนี้ในการเตรียม Glycosyl chloride มาก่อน แต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาต่อไปจะเลือกใช้ $\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$ เนื่องจาก มีราคาถูก และสามารถกำจัดออกได้ง่ายโดยการสกัดกับน้ำ ซึ่งพบว่าปฏิกิริยาการเตรียม Glycosyl chloride จะเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ในเวลาเพียง 1 ชั่วโมง เมื่อใช้ PPh_3 และ $\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$ ในปริมาณ 3 eq เมื่อเทียบกับสารตั้งต้น (entry 6) โดยจะนำภาวะนี้ไปใช้ในการศึกษา ปฏิกิริยาขั้นที่ 2 ต่อไป ในขณะที่การสังเคราะห์ Glycosyl bromide ยังให้ %Yield ที่ต่ำ (entries 7-8)

หลังจากได้ภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาขั้นที่ 1 แล้ว จะไปศึกษาผลของตัว Additive ในปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2 เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ 5 ที่มี %Yield มากที่สุด (ตารางที่ 3)

จากผลการทดลองในตารางที่ 3 พบว่าการเติม ZnCl_2 จำนวน 2 eq จะให้ %Yield ของผลิตภัณฑ์ดีกว่าการเติม TMU, Tetramethyl urea, Pyridine และไม่เติมอะไรเลย และยังพบว่าการเติม Molecular sieve (MS) ทั้ง 4A และ 5A ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวดูดน้ำในปฏิกิริยา มีความสำคัญ ในการทำให้ %Yield ของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน เนื่องจากน้ำที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา อาจจะทำให้เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับ โดยเปลี่ยน Glycosyl chloride กลับเป็นสารตั้งต้น 2 ส่งผลให้ %Yield ของผลิตภัณฑ์ที่ได้ต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ Reflux มีผลต่อการเพิ่ม %Yield ของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังพบว่าความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีของปฏิกิริยาที่ศึกษานี้จะอยู่ในช่วง $\alpha/\beta = 2/1$ ถึง $3/1$

ตารางที่ 3 การศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Arbutin

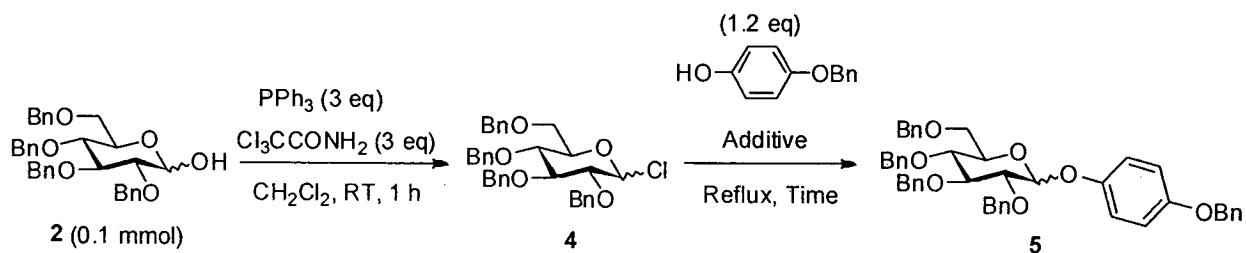


Entry	Additive		Temp (°C)	Time (h)	%Yield	α/β
	Promoter (eq)	Drying agent (3 g/mmol)				
1	-	-	RT	24	0	-
2	-	-	Reflux	24	trace	-
3	TMU (6.7)	-	RT	24	7	-
4	Pyridine (3)	-	RT	24	3	78/22
5	Pyridine (3)	-	RT	24	5	-
6	Pyridine (3)	MS 4A	RT	24	0	-
7	ZnCl_2 (2)	-	RT	24	6	68/32
8	ZnCl_2 (3)	-	RT	24	11	84/16
9	ZnCl_2 (2)	MS 4A	RT	24	52	72/28
10	ZnCl_2 (3)	MS 4A	RT	24	30	68/32
11	ZnCl_2 (4)	MS 4A	RT	24	44	64/36
12	ZnCl_2 (6)	MS 4A	RT	24	41	60/40
13	ZnCl_2 (2)	MS 4A	Reflux	24	46	64/36
14	ZnCl_2 (4)	MS 4A	Reflux	24	58	62/38
15	-	MS 4A	Reflux	24	9	-
16	ZnCl_2 (2)	MS 5A	Reflux	24	46	69/31
17	ZnCl_2 (2)	MS 5A	Reflux	24	48 ^a	75/25
18	ZnCl_2 (4)	MS 5A	Reflux	24	57	65/35

a) CH_2Cl_2 0.5 mL was used

การศึกษามลของ Promoter ชนิดต่าง ๆ ในปฏิกิริยขั้นตอนที่ 2 เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ 5 ที่มี %Yield มากที่สุด จะแสดงอยู่ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การศึกษาผลของ Promoter ในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Arbutin



Entry	Additive		Time (h)	%Yield	$\alpha\beta$
	Promoter (eq)	Drying agent (3 g/mmol)			
1	ZnCl_2 (2)	MS 5A	24	46	69/31
2	ZnCl_2 (2)	MS 5A	24	39 ^a	74/26
3	CuCl_2 (2)	MS 5A	24	41	67/33
4	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2)	MS 5A	24	45	-
5	AlCl_3 (2.5)	MS 4A	24	0	-
6	ZnBr_2 (2)	MS 5A	24	61	72/28
7	ZnBr_2 (4)	MS 5A	24	44	77/23
8	ZnBr_2 (2)	MS 5A	6	43	-
9	ZnBr_2 (2)	MS 5A	12	48	-
10	ZnBr_2 (2)	MS 5A	48	50	-
11	ZnBr_2 (2)	MS 5A	24	59 ^b	-
12	ZnBr_2 (2)	MS 5A	24	75 ^c	72/28

a) 0.8 eq of monobenzyl hydroquinone was used

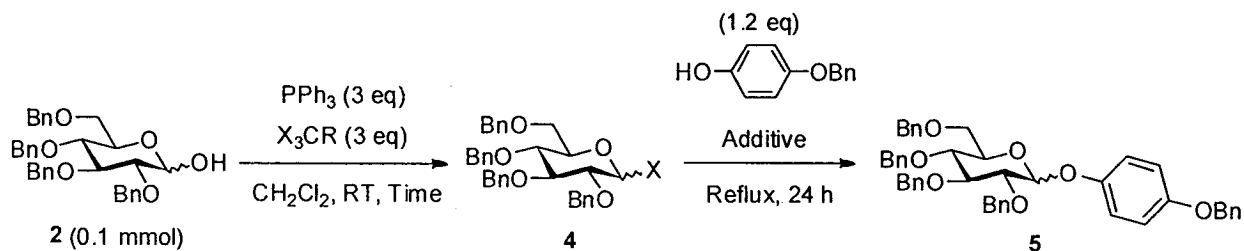
b) 1.5 eq of monobenzyl hydroquinone was used

c) 2.0 eq of monobenzyl hydroquinone was used

จากผลการทดลองพบว่า ZnBr_2 เป็นตัว Promoter ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด และมีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีของปฏิกิริยา $\alpha\beta = 3/1$ โดยใช้เวลาทำปฏิกิริยาในขั้นตอนที่ 2 ที่ 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่า %yield ของ 5 จะเพิ่มขึ้นเป็น 75% เมื่อใช้ monobenzyl hydroquinone เพิ่มขึ้นเป็น 2 eq

ลำดับต่อไปเป็นการนำภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้างต้น มาศึกษาผลของ Halogenating agent ในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Arbutin ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การศึกษาผลของ Halogenating agent ในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Arbutin



Entry	X ₃ CR	Time (h)	Additive		%Yield	α/β
			Promoter (eq)	Drying agent (3 g/mmol)		
1	Cl ₃ CCONH ₂	1	ZnCl ₂ (2)	MS 5A	46	69/31
2	Cl ₃ CCONH ₂	1	ZnCl ₂ (2)	MS 4A	74 ^a	-
3	Br ₃ CCO ₂ Et	1	ZnCl ₂ (2)	MS 4A	48	74/26
4	Br ₃ CSO ₂ Ph	0.5	ZnCl ₂ (2)	MS 5A	42 ^b	54/46
5	Cl ₃ CCN	1	ZnBr ₂ (2)	MS 5A	48	-
6	Cl ₃ CCOCCl ₃	1	ZnBr ₂ (2)	MS 5A	9	-
7	Cl ₃ CCONH ₂	1	ZnBr ₂ (2)	MS 5A	61	77/23
8	Cl ₃ CCONH ₂	1	ZnBr ₂ (2)	MS 4A	85 ^a	-
9	CBr ₄	3	ZnBr ₂ (2)	MS 5A	39	-
10	Br ₃ CSO ₂ Ph	3	ZnBr ₂ (2)	MS 5A	<50	-
11	2-(Tribromomethyl) quinoline	1	ZnBr ₂ (2)	MS 5A	<50	-
12	Cl ₄	3	ZnBr ₂ (2)	MS 5A	0	-
13	CBr ₄	3	TMU (6)	-	45 ^c	-
14	CBr ₄	3	TMU (6)	-	54 ^{c,d}	-

a) 3-Phenyl-1-propanol was used instead of monobenzyl hydroquinone

b) PPh₃ and Br₃CSO₂Ph were used in 1.2 eq

c) 3 eq of monobenzyl hydroquinone was used

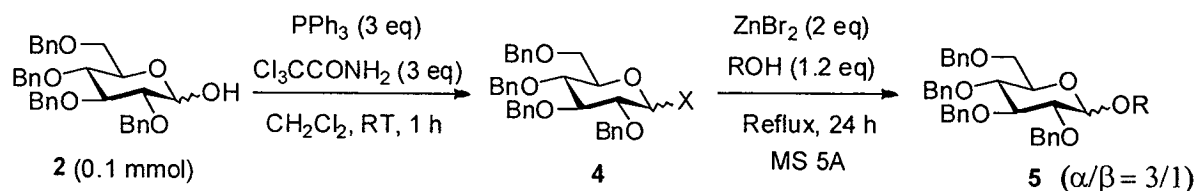
d) Reaction time in step 2 was 96 h

จากการทดลองพบว่า Cl₃CCONH₂ เป็น Halogenating agent ที่มีความเหมาะสมมากที่สุดในการเปลี่ยนเป็น Glycosyl chloride ในขณะที่ ขั้นตอนที่ 2 การใช้ ZnBr₂ และ MS 5A เป็น Additive จะให้ %Yield ของผลิตภัณฑ์สูงที่สุด

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการทำปฏิกิริยา Glycosylation ของ 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-glucopyranose โดยใช้รีเอเจนต์ผสมแบบใหม่ระหว่าง PPh₃ และ Cl₃CCONH₂ ที่อุณหภูมิห้อง

เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตามด้วยการเติม Monobenzyl hydroquinone และ MS 5A ที่อุณหภูมิ Reflux เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการสูงที่สุด และมีความเลือกจำเพาะทางสเตอริโอเคมีเป็นแบบ α โดยวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนี้เป็นวิธีการสังเคราะห์แบบใหม่ ที่สามารถนำไปใช้สังเคราะห์ไกลโคไซด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ได้ โดยภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา สามารถสรุปเป็นสมการดังแสดง



เอกสารอ้างอิง

1. Kato, H.; Ohmori, K.; Suzuki, K. "Glycosylation Study on Pradimicin-Benanomicin Antibiotics", *Tetrahedron Lett.*, 2000, 41, 6827-6832.
2. Uhrig, R. K.; Picard, M. A.; Beyreuther, K.; Wiessler, M. "Synthesis of Antioxidative and Anti-inflammatory Drugs Glycoconjugates", *Carbohydr. Res.*, 2000, 325, 72-80.
3. Mukaiyama, T.; Ikegai, K.; Jona, H.; Hashihayata, T.; Takeuchi, K. "A Convergent Total Synthesis of the Mucin Related F1 α Antigen by One-pot Sequential Stereoselective Glycosylation", *Chem. Lett.*, 2001, 11, 840-841.
4. Osborn, H. M. I. "Carbohydrates", 1st ed., Elsevier, Oxford, 2003.
5. Nicolaou, K. C.; Seitz, S. P.; Papahatjis D. P. "A Mild and General Method for the Synthesis of O-glycosides", *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, 105, 2430-2434.
6. Ueda, M.; Sawai, Y.; Yamamura, S. "Syntheses and Novel Bioactivities of Artificial Leaf-Opening Substances of *Lespedeza Cuneata* G. Don, Designed for the Bioorganic Studies of Nyctinasty", *Tetrahedron*, 1999, 55, 10925-10936.
7. Mukaiyama, T.; Nakatsuka, T.; Shoda, S. "An Efficient Glycosylation of Alcohol Using 1-Thioglucoside Derivative", *Chem. Lett.*, 1978, 487-490.
8. Mukaiyama, T., Murai, Y., Shoda S. "An Efficient Method for Glycosylation of Hydroxy Compounds Using Glucopyranosyl Fluoride", *Chem. Lett.*, 1981, 431-432
9. Mukaiyama, T.; Takeuchi, K.; Higuchi, S. "An Efficient Method for Catalytic and Stereoselective Synthesis of 2-Deoxy- α -D-glucopyranosides from 3,4,6-tri-O-benzyl-2-deoxy-D-glucopyranose and Several Alcoholic Nucleophiles", *Chem. Lett.*, 1997, 969-970.
10. Mukaiyama, T.; Jona, H.; Chavasiri, W.; Takeuchi, K. "Protic Acid Catalyzed Stereoselective Glycosylation Using Glycosyl Fluorides" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 2002, 75, 291-309.

11. Chayaripongkal, S. "Reagent Development for the Preparation of Acid Chloride for Synthesis of Bioactive Compound", Master's Thesis, Department of Chemistry, Chulalongkorn University, 2003.
12. Jang, O. D.; Cho, D. H.; Kim, J. G. "One-Pot Preparation of Esters from Carboxylic Acids Using the $\text{PPh}_3\text{-CCl}_3\text{CN}$ System", *Synth. Commun.*, 2003, 33, 2885-2890.
13. Kang, D. H.; Joo, T. Y.; Lee, E. H.; Chaysripongkul, S.; Chavasiri, W.; Jang, D. O. "A Mild and Efficient Reaction for Conversion of Carboxylic Acids into Acid Bromides with Ethyl Tribromoacetate/Triphenylphosphine under Acid-Free Conditions", *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 5693-5696.
14. Pluempanupat, W.; Chavasiri, W. "An Efficient Method for Chlorination of Alcohols Using $\text{PPh}_3/\text{Cl}_3\text{CCONH}_2$ ", *Tetrahedron Lett.*, 2006, 47, 6821-6823.
15. Chantarasriwong, O.; Jang, D. O.; Chavasiri, W. "A Practical and Efficient Method for the Preparation of Sulfonamides Utilizing $\text{Cl}_3\text{CCN/PPh}_3$ ", *Tetrahedron Lett.*, 2006, 47, 7489-7492.
16. Whistler, R. L.; Anisuzzaman, A. K. M. "Preferential Halogenation of the Primary Hydroxyl Group", *Carbohydr. Chem.*, 1980, 8, 227-31.
17. Shingu, Y.; Nishida, Y.; Dohi, H.; Kobayashi, K. "An Easy Access to Halide Ion-Catalytic α -Glycosylation using Carbon Tetrabromide and Triphenylphosphine as Multifunctional Reagents", *Org. & Biomol. Chem.*, 2003, 1, 2518-2521.
18. Miyaji, A.; Shinmiya, Y.; Nishida, Y.; Kobayashi, K. "Preparation of Trehalose-type Disaccharides and of Their Derivatives", *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, 2006, 18 pp.
19. Gouin, S. G.; Kovensky, J. "Direct Azidation of Unprotected Carbohydrates with $\text{PPh}_3/\text{CBr}_4/\text{NaN}_3$ ", *Tetrahedron Lett.*, 2007, 48, 2875-2879.
20. Pluempanupat, W.; Chantarasriwong, O.; Taboonpong, P.; Jang, D. O.; Chavasiri, W. "Reactivity of Chlorinating Agents/ PPh_3 for the Chlorination of Alcohols and Carboxylic Acids: a Comparative Study", *Tetrahedron Lett.*, 2007, 48, 223-226.
21. Mukaiyama, T.; Kobashi, Y.; Shintou, T. "A New Method for α -Selective Glycosylation Using a Donor, Glycosyl Methylphenylphosphonium Iodide, without Any Assistance of Acid Promoters", *Chem. Lett.*, 2003, 32, 900-901.

⁽¹⁾ (ภาษาไทย) ภาควิชาเคมี และศูนย์นวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

(ภาษาอังกฤษ) Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry,
Faculty of Science, Kasetsart University