

การพัฒนาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์ 19-TBDPS-8,17-Epoxy Andrographolide เพื่อการผลิตเชิงอุตสาหกรรม

DEVELOPMENT OF AN OPTIMIZED SYNTHETIC PROCESS FOR 19-TBDPS-8,17-EPOXY ANDROGRAPHOLIDE TOWARD INDUSTRIAL APPLICATION

จินตจุฑา พะมะราภา¹⁾, สุนิษา สุวรรณเจริญ^{2),3)}, อาภาพร บุญมี^{2),3)} และ ธีรพิชญ์ เกษมสุข^{2),3)*}

¹⁾ นักศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิตสาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

²⁾ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

³⁾ หน่วยวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรเพื่อสุขภาพและความงาม มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

Jinjutha Pamarapa¹⁾, Sunisa Suwancharoen^{2),3)}, Apaporn Boonmee^{2),3)}, Teerapich Kasemsuk^{2),3)*}

¹⁾ Undergraduate Student Science in Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University.

²⁾ Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University.

³⁾ Herbal Product for Health and Beauty Research and Development Center, Rambhai Barni Rajabhat University.

*Corresponding author e-mail: teerapich.k@rbru.ac.th

บทคัดย่อ

อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide เป็นสารตั้งต้นที่มีศักยภาพสูงสำหรับการพัฒนาเป็นยาต้านมะเร็งชนิดใหม่ อย่างไรก็ตามวิธีการสังเคราะห์ที่มีรายงานก่อนหน้านี้จากการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของสาร andrographolide ยังมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ การใช้รีเอเจนต์ในปริมาณมาก และระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาที่ยาวนาน ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม งานวิจัยนี้พัฒนาวิธีการสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพ และเหมาะสมต่อการขยายขนาดการผลิต โดยแยกสาร andrographolide บริสุทธิ์จากต้นฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees) ด้วยวิธีการสกัดอย่างง่ายผ่านเทคนิคการหมักแซในเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) และตกผลึกด้วยเมทานอล (methanol) จากนั้นสังเคราะห์อนุพันธ์เป้าหมายผ่านปฏิกิริยาสองขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาอีพอกซิเดชัน (epoxidation) และปฏิกิริยาไซลิลเลชัน (silylation) ตามลำดับ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาอีพอกซิเดชัน คือ ใช้ปริมาณ *m*-CPBA 1.5 eq. ในระบบตัวทำละลายผสม CHCl₃/H₂O อัตราส่วน 5:1 ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง สำหรับปฏิกิริยาไซลิลเลชัน ใช้ปริมาณ TBDPSCl 3.0 eq. ใน pyridine เป็นเวลา 1 ชั่วโมง วิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์ที่สามารถลดการใช้รีเอเจนต์ และระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาได้อย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลให้ช่วยลดต้นทุนการผลิต และมีการใช้ตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม กระบวนการดังกล่าวมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้เป็นต้นแบบของกระบวนการสังเคราะห์สารตั้งต้นสำหรับยาต้านมะเร็งในระดับที่สูงขึ้น

คำสำคัญ: 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide กระบวนการสังเคราะห์ ปฏิกิริยาอีพอกซิเดชัน ปฏิกิริยาไซลิเลชัน

ABSTRACT

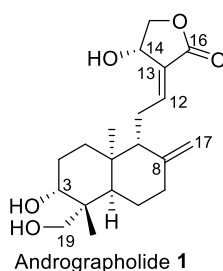
19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide is considered a promising precursor for the development of novel anticancer agents. However, previously reported synthetic approaches based on structural modification of andrographolide remain limited by excessive reagent consumption and prolonged reaction times, thereby restricting their industrial applicability. In this study, an efficient and scalable synthetic methodology was developed. Pure andrographolide was isolated from *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees via a simple maceration extraction with ethyl acetate, followed by crystallization with methanol. The target derivative was synthesized through a two-step sequence comprising epoxidation and silylation reactions. Optimal epoxidation was achieved using *m*-CPBA (1.5 eq.) in a $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ (5:1) solvent system at 50 °C for 5 h, while silylation was efficiently performed with TBDPSCl (3.0 eq.) in pyridine for 1 h. This optimized method significantly reduces the amount of reagents and reaction time, lowers production costs, and incorporates water as part of the solvent system, thereby enhancing environmental compatibility. Overall, the developed process shows strong potential as a prototype synthetic platform for the large-scale preparation of anticancer drug precursors.

Keywords: 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide, synthetic methodology, epoxidation, silylation

บทนำ

โรคมะเร็งเป็นหนึ่งในสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก แม้ว่าความก้าวหน้าทางการแพทย์จะช่วยพัฒนาวิธีการรักษาอย่างต่อเนื่อง แต่การค้นคว้าและพัฒนาายาต้านมะเร็งชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพความปลอดภัย และสามารถผลิตได้ในเชิงพาณิชย์ ยังคงเป็นประเด็นสำคัญ โดยเฉพาะการใช้ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากสมุนไพรเป็นแหล่งสารตั้งต้นในการพัฒนา (Izzo and Stefanska, 2025, 2069-2074; Mali, 2023; Naeem et al., 2022; Negi and Jain, 2022, 367-447; Setiawati et al., 2022, 729-289) ฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata* (Burm. F.) Nees) เป็นสมุนไพรไทยที่ได้รับการบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ และมีการใช้ในทางการแพทย์แผนไทยและแผนปัจจุบันอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีสารสำคัญหลัก คือ andrographolide (ภาพที่ 1) เป็นสารกลุ่ม diterpenoid lactone ที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย อาทิ ด้านการอักเสบ ด้านเชื้อแบคทีเรียและไวรัส กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งหลายชนิด (Chao and Lin, 2010, 17; Islam et al., 2018, 129-145; Yerragunta et al., 2021, 1-9; Zeng et al., 2022, 336-364) จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า การปรับเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีของ andrographolide สามารถช่วยเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลากหลาย (Kumar et al., 2020, 103511; Latif and Wang, 2020, 760-769; Zhang et al., 2021, 113710) โดยเฉพาะ

อย่างยิ่งฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งเต้านม มะเร็งตับ มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ และมะเร็งระบบประสาท ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Hu et al., 2024, 117438; Kasemsuk et al., 2013, 1454-1464; Messire et al., 2024, 2884; Sirion et al., 2012, 49-52; Sirion et al., 2017, 1653-1663) และหนึ่งในอนุพันธ์สังเคราะห์ที่มีศักยภาพสูงที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งได้ดีกว่ายาต้านมะเร็งบางชนิด คืออนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ topoisomerase II α ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการจำลองตัวของเซลล์มะเร็ง อย่างไรก็ตาม กรรมวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดด้านการใช้รีเอเจนต์ในปริมาณสูง ความเป็นพิษของสารเคมี และระยะเวลาการทำปฏิกิริยาที่ยาวนาน จึงไม่เหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตเชิงอุตสาหกรรม (Nateewattana et al., 2013, 320-332) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงพัฒนาวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide ที่มีประสิทธิภาพเพิ่มสูงขึ้นเพื่อใช้เป็นต้นแบบสำหรับกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมยาต้านมะเร็ง



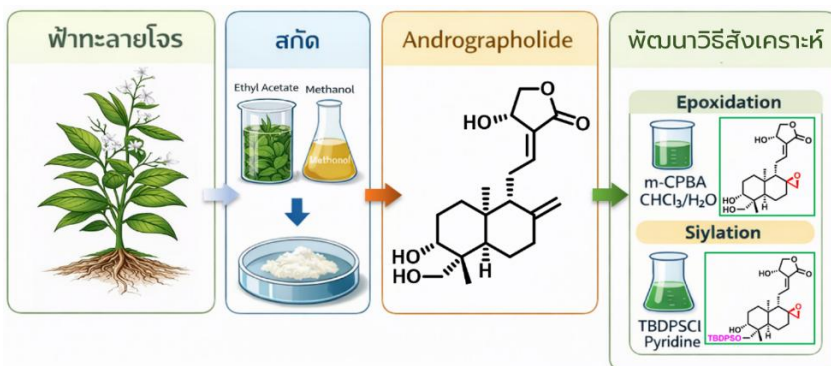
ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของสาร andrographolide

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนากรรมวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide จาก andrographolide บริสุทธิ์ที่สกัดได้จากต้นฟ้าทะลายโจร โดยการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์ที่ลดการใช้รีเอเจนต์ และระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยา ลดต้นทุนการผลิต และมีการใช้ตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ขอบเขตของการวิจัย

สังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide จาก andrographolide บริสุทธิ์ที่สกัดได้จากสมุนไพรฟ้าทะลายโจรผ่านปฏิกิริยาทางเคมี 2 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยา epoxidation ของ andrographolide กับ *m*-CPBA และตัวทำละลายผสม $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ และปฏิกิริยา silylation ของ 8,17-epoxy andrographolide กับ TBDPSCl ใน pyridine ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 กระบวนการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide จาก andrographolide

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมี

การยืนยันโครงสร้างของสารโดยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy ที่ความถี่ 400 MHz และ $^{13}\text{C-NMR}$ spectroscopy ที่ความถี่ 100 MHz ของบริษัท Bruker Avance III HD 400 MHz โดยใช้ตัวทำละลาย CDCl_3 และ CD_3OD ในการวัด และรายงานค่า chemical shift เป็นค่า δ หน่วย ppm เทียบกับ tetramethylsilane ($\delta = 0.00$) หรือ CDCl_3 ($\delta = 7.26$; สำหรับ $^1\text{H-NMR}$ และ $\delta = 77.0$; สำหรับ $^{13}\text{C-NMR}$) หรือ CD_3OD ($\delta = 3.31$; สำหรับ $^1\text{H-NMR}$ และ $\delta = 49.0$; สำหรับ $^{13}\text{C-NMR}$) ซึ่งใช้เป็นสารอ้างอิง การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC) ดำเนินการบนแผ่น TLC เคลือบซิลิกาเจลสำเร็จรูป silica gel 60F-254 (E. Merck, Darmstadt, Germany) ส่วนการแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีใช้ซิลิกาเจล silica gel 60 PF254 (E. Merck, Darmstadt, Germany) สารเคมีและรีเอเจนต์ (reagents) ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำวิจัยเลือกของบริษัท Merck, Sigma-Aldrich, TCI และ Fluka)

การสกัด Andrographolide 1 จากต้นฟ้าทะลายโจร

นำทุกส่วนเหนือดิน (ใบ ลำต้น กิ่ง และดอก) ของต้นฟ้าทะลายโจรที่เก็บในช่วงออกดอก ซึ่งผ่านการตากและอบแห้งซึ่งน้ำหนัก 1.00 kg มาสกัดด้วยเทคนิคการหมักแช่ใน ethyl acetate (EtOAc) และทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกโดยใช้ methanol โดยวิธีการตามอนุสิทธิบัตรเลขที่ 23291 (รุ่งนภา แซ่เอ็ง และคณะ, 2567) พบว่าได้ andrographolide 1 ลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน นหนัก 30.21 กรัม คิดเป็นร้อยละ 3 สารบริสุทธิ์ที่แยกได้ยืนยันเอกลักษณ์โดยเทคนิค NMR-spectroscopy

การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์อนุพันธ์ 8,17-epoxy andrographolide

นำ andrographolide 1 (50 mg, 0.143 mmol) ใส่ในหลอดทำปฏิกิริยาเติมตัวทำละลายคนด้วย magnetic stirrer และเติม 3-chloroperbenzoic acid (*m*-CPBA) ดังตารางที่ 1 คนต่อจนเกิดปฏิกิริยาหมด (ทำการตรวจสอบปฏิกิริยาด้วยเทคนิค Thin-Layer Chromatography (TLC) โดยใช้ระบบตัวทำละลาย 100% EtOAc)) หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายอิ่มตัว NaHCO_3 10 ml สกัดด้วย EtOAc 10 ml จำนวน 3 ครั้ง ล้างด้วยน้ำ 10 ml จำนวน 1 ครั้ง และสารละลายอิ่มตัว NaCl จำนวน 1 ครั้ง ดูดความชื้นด้วย Na_2SO_4 anhyd. กรองและระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography (CC)

โดยใช้ระบบตัวทำละลาย 100% EtOAc และทำให้แห้งจะได้ผลิตภัณฑ์ 2 ลักษณะเป็นของแข็งสีขาว สารบริสุทธิ์ที่ได้ชั่งน้ำหนักและคำนวณหาร้อยละผลผลิต จากนั้นพิสูจน์เอกลักษณ์โดยเทคนิค NMR-spectroscopy

ตารางที่ 1 สภาวะการสังเคราะห์อนุพันธ์ 8,17-epoxy andrographolide 2

ตัวทำละลาย (อัตราส่วน)	ปริมาณ <i>m</i> -CPBA		อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลา (h)
	mg	eq.		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (5:1)	40	2.0	อุณหภูมิห้อง	15
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (5:1)	37	1.5	อุณหภูมิห้อง	10
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (5:1)	32	1.3	อุณหภูมิห้อง	19
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (5:1)	27	1.1	อุณหภูมิห้อง	19
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (5:1)	37	1.5	50	5
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (5:1)	37	1.5	60	4
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1:1)	37	1.5	50	7
CH ₂ Cl ₂ /EtOH (5:1)	37	1.5	50	19
CH ₂ Cl ₂ /H ₂ O (5:1)	37	1.5	50	19
CHCl ₃ /MeOH (5:1)	37	1.5	50	5
CHCl ₃ /H ₂ O (5:1)	37	1.5	50	5
CHCl ₃ /H ₂ O (1:1)	37	1.5	50	6
CHCl ₃ /H ₂ O (1:5)	37	1.5	50	6
CHCl ₃ /H ₂ O (20:1)	37	1.5	50	5
CH ₂ Cl ₂	37	1.5	50	7
CHCl ₃	37	1.5	50	5
MeOH	37	1.5	50	19
EtOH	37	1.5	50	19

การหาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3

ซึ่ง 8,17-epoxy andrographolide 2 (50 mg, 0.6820 mmol) ใส่ในหลอดทำปฏิกิริยา จากนั้นละลายด้วยตัวทำละลาย คนด้วย magnetic stirrer เติม *tert*-butyldiphenylchlorosilane (TBDPSCl) ที่อุณหภูมิห้อง ดังตารางที่ 2 คนต่อจนกระทั่งสารตั้งต้นเกิดปฏิกิริยาจนหมด (ทำการตรวจสอบปฏิกิริยาด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลาย 60% EtOAc/Hexane) หยุดปฏิกิริยาสารละลายอิมตัว NH₄Cl 10 ml สกัดต่อด้วย EtOAc 10 ml จำนวน 3 ครั้ง ล้างด้วยน้ำ 10 ml จำนวน 1 ครั้ง และสารละลายอิมตัว NaCl 10 ml จำนวน 1 ครั้ง ดูดความชื้นด้วย Na₂SO₄ anh. กรองและระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค CC โดยใช้ระบบตัวทำละลาย 60% EtOAc/Hexane และทำให้แห้งจะได้ผลิตภัณฑ์ 3

ลักษณะเป็นของแข็งสีขาว สารบริสุทธิ์ที่ได้ซึ่งน้ำหนักและค่านวนหาร้อยละผลผลิต จากนั้นพิสูจน์เอกลักษณ์โดยเทคนิค NMR-spectroscopy

ตารางที่ 2 สภาวะการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3

การทดลองที่	ปริมาณ TBDPSCl (eq.)	ตัวทำละลาย (1 ml)	เบส	เวลา (h)
1	5.0	Pyridine		1.0
2	3.0	Pyridine		1.0
3	2.0	Pyridine		2.0
4	1.1	Pyridine		3.0
5	3.0	DMF	Imidazole (3.0 eq.)	24.0

การประยุกต์สภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide

ขั้นที่ 1 นำ andrographolide 1 (5.0 g, 14.3 mmol) ใส่ในขวดก้นกลม เติมตัวทำละลาย $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ อัตราส่วน 5:1 ปริมาตร 50 ml คนด้วย magnetic stirrer เติม m-CPBA (3.70 g, 21.4 mmol) คนต่อที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาโดยด้วยสารละลายอิ่มตัว NaHCO_3 ที่เย็น 100 ml สกัดด้วย EtOAc 100 ml จำนวน 3 ครั้ง ล้างด้วยน้ำ 100 ml จำนวน 1 ครั้ง และสารละลายอิ่มตัว NaCl จำนวน 1 ครั้ง ดูดความชื้นด้วย Na_2SO_4 anhyd. กรองและระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค CC โดยใช้ระบบตัวทำละลาย 100% EtOAc จะได้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ 2 ซึ่งน้ำหนักและค่านวนหาร้อยละผลผลิต จากนั้นสังเคราะห์ซ้ำอีก 2 ครั้ง

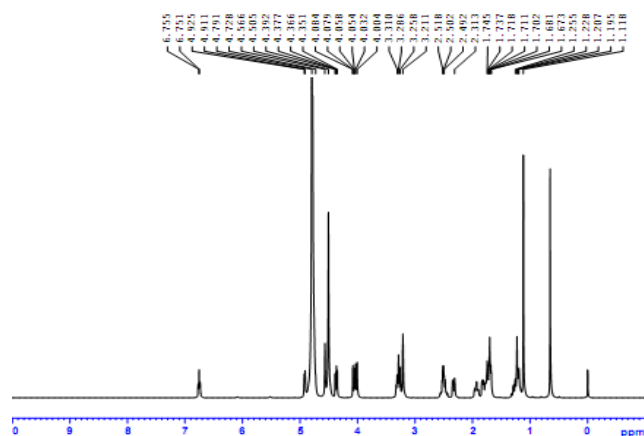
ขั้นที่ 2 นำผลิตภัณฑ์ 2 ที่ได้มาสังเคราะห์ต่อโดยซึ่งน้ำหนัก 1.0 g (2.73 mmol) ใส่ในขวดก้นกลม ละลายด้วย pyridine คนด้วย magnetic stirrer เติม TBDPSCl (2.13 ml, 8.19 mmol) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาสารละลายอิ่มตัว NH_4Cl 100 ml สกัดด้วย EtOAc 100 ml จำนวน 3 ครั้ง ล้างด้วยน้ำ 100 ml จำนวน 1 ครั้ง และสารละลายอิ่มตัว NaCl 100 ml จำนวน 1 ครั้ง ดูดความชื้นด้วย Na_2SO_4 anhyd. กรองและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค CC โดยใช้ระบบตัวทำละลาย 60% EtOAc/Hexane จะได้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ 3 ซึ่งน้ำหนัก และค่านวนหาร้อยละผลผลิต จากนั้นสังเคราะห์ซ้ำอีก 2 ครั้ง

ผลการวิจัย

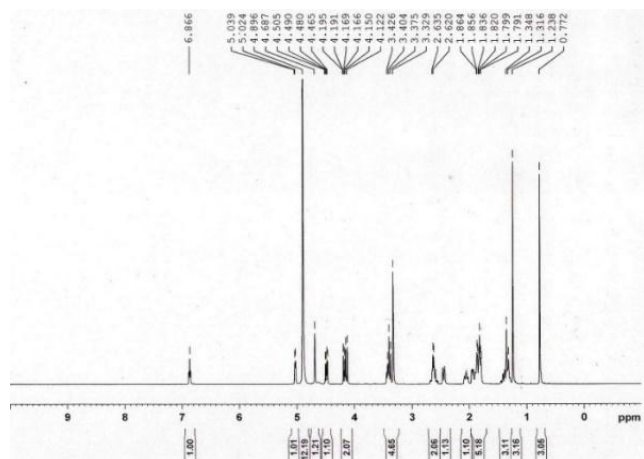
การสกัดสาร Andrographolide จากต้นฟ้าทะลายโจร

การสกัดแยกสาร andrographolide 1 จากทุกส่วนเหนือดินของต้นฟ้าทะลายโจรแห้งหนัก 1.00 kg โดยเทคนิคการหมักแช่ด้วยตัวทำละลาย EtOAc และทำบริสุทธิ์โดยเทคนิคการตกผลึกด้วย methanol ตามวิธีการในอนุสิทธิบัตรเลขที่ 23291 (รุ่งนภา แซ่เอ็ง และคณะ, 2567) พบว่า ได้ andrographolide 1 ลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน หนัก 30.21 g คิดเป็นร้อยละ 3 เมื่อยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ เทียบกับสารมาตรฐาน

andrographolide จากบริษัท Sigma-Aldrich โดยใช้ตัวทำละลาย CD_3OD พบว่า มีลักษณะสเปกตรัมใกล้เคียงกัน
มากดังภาพที่ 3 และ 4



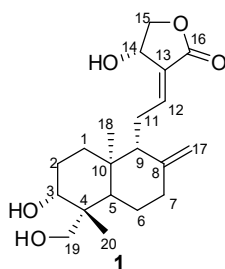
ภาพที่ 3 ^1H -NMR ของสาร andrographolide 1 จากบริษัท Aldrich



ภาพที่ 4 ^1H -NMR ของสาร andrographolide 1 จากการสกัดแยกต้นฟ้าทะลายโจร

ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร andrographolide 1 ที่สกัดได้โดยเทคนิค ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR แสดง

ดังนี้



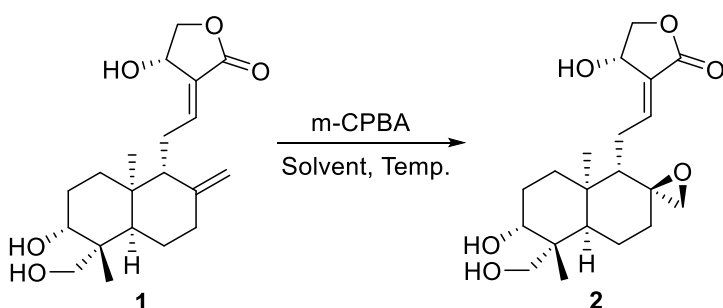
ภาพที่ 5 การวิเคราะห์โครงสร้างสาร andrographolide 1

สาร 1 : $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD) : δ 0.65 (3H, s, H-20), 1.11 (3H, s, H-18), 1.15-1.35 (4H, m, H-1, H-6), 1.64-1.98 (5H, m, H-2, H-5, H-7), 2.33 (1H, dt, $J = 7.0, 2.0$ Hz, H-9), 2.43-2.58 (2H, m, H-11), 3.17-3.23 (1H, m, H-3), 3.27 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-19a), 4.02 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-19b), 4.07 (1H, dd, $J = 10.0, 2.0$ Hz, H-15a), 4.37 (1H, dd, $J = 10.0, 6.0$ Hz, H-15b), 4.57 (1H, brs, H-17a), 4.79 (1H, brs, H-17b), 4.92 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-14), 6.76 (1H, td, $J = 6.0, 1.0$ Hz, H-12)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD) : δ 15.54 (C-20), 23.37 (C-18), 25.20 (C-11), 25.73 (C-6), 29.00 (C-2), 38.13 (C-1), 38.96 (C-7), 39.96 (C-10), 43.68 (C-4), 56.32 (C-5), 57.38 (C-9), 64.96 (C-19), 66.64 (C-14), 76.17 (C-15), 80.92 (C-3), 109.24 (C-17), 129.74 (C-13), 148.76 (C-8), 149.48 (C-12), 172.72 (C-16)

การศึกษาวิธีการสังเคราะห์ 8,17-epoxy andrographolide 2

การสังเคราะห์สาร 8,17-epoxy andrographolide 2 โดยทำปฏิกิริยา epoxidation ของ andrographolide 1 ดังภาพที่ 6 ได้ศึกษาปริมาณ *m*-CPBA ผลของอุณหภูมิ และชนิดของตัวทำละลาย แสดงผลการทดลองดังนี้



ภาพที่ 6 การสังเคราะห์อนุพันธ์ 8,17-epoxy andrographolide 2

ตารางที่ 3 แสดงผลของสภาวะการสังเคราะห์อนุพันธ์ 8,17-epoxy andrographolide 2

การทดลอง ที่	ตัวทำละลาย (อัตราส่วน)	ปริมาณ <i>m</i> -CPBA (eq.)	อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	ระยะเวลา (h)	ร้อยละ ผลิตภัณฑ์
1	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5:1)	2.0	อุณหภูมิห้อง	15	27
2	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5:1)	1.5	อุณหภูมิห้อง	10	60
3	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5:1)	1.3	อุณหภูมิห้อง	19	57
4	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5:1)	1.1	อุณหภูมิห้อง	19	43
5	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5:1)	1.5	50	5	37
6	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5:1)	1.5	60	4	38
7	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1:1)	1.5	50	7	45
8	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ (5:1)	1.5	50	19	26
9	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (5:1)	1.5	50	19	50
10	$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (5:1)	1.5	50	5	50

ตารางที่ 3 แสดงผลของสภาวะการสังเคราะห์อนุพันธ์ 8,17-epoxy andrographolide 2 (ต่อ)

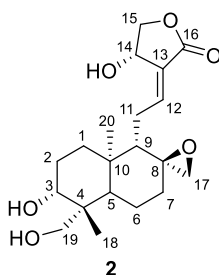
การทดลอง ที่	ตัวทำละลาย (อัตราส่วน)	ปริมาณ <i>m</i> -CPBA (eq.)	อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลา (h)	ร้อยละ ผลิตภัณฑ์
11	CHCl ₃ /H ₂ O (5:1)	1.5	50	5	52
12	CHCl ₃ /H ₂ O (1:1)	1.5	50	6	44
13	CHCl ₃ /H ₂ O (1:5)	1.5	50	6	28
14	CHCl ₃ /H ₂ O (20:1)	1.5	50	5	32
15	CH ₂ Cl ₂	1.5	50	7	50
16	CHCl ₃	1.5	50	5	54
17	MeOH	1.5	50	19	45
18	EtOH	1.5	50	19	25

จากผลการทดลองดังตารางที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของ *m*-CPBA (การทดลองที่ 1 - 4) เป็นตัวออกซิไดซ์ในปฏิกิริยา epoxidation ในตัวทำละลาย CH₂Cl₂/MeOH (5:1) ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ปริมาณ *m*-CPBA ที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยานี้ คือ 1.5 เท่าของสารตั้งต้น andrographolide เนื่องจากใช้เวลาในการสังเคราะห์ 10 ชั่วโมง สามารถให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูงถึงร้อยละ 60 เมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสังเคราะห์อนุพันธ์ 2 พบว่า การทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องจะให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูงถึง 60% ใช้เวลาในการสังเคราะห์ 10 ชั่วโมง (การทดลองที่ 2) หากทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 °C (การทดลองที่ 5) ใช้เวลาในการสังเคราะห์ 5 ชั่วโมง สามารถให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ 37% และเมื่อทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 60 °C ใช้ระยะเวลาเพียง 4 ชั่วโมง ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ 38% (การทดลองที่ 6) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มอุณหภูมิส่งผลให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ลดลง อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าการเกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องจะให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูงสุด แต่จะต้องใช้ระยะเวลาในการสังเคราะห์นานกว่าการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิ 50 °C ถึงสองเท่า และการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 60 °C จะให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูงกว่าที่อุณหภูมิ 50 °C แต่ก็ไม่มีความแตกต่างของร้อยละผลิตภัณฑ์ ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยานี้ คือ 50 °C เพราะสามารถลดระยะเวลาการสังเคราะห์ลงได้ถึงสองเท่าเมื่อเทียบกับอุณหภูมิห้อง และใช้อุณหภูมิไม่สูงจนเกินไป การเปรียบเทียบชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมดังการทดลองที่ 5 และ 7 - 18 เมื่อใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง CH₂Cl₂/MeOH อัตราส่วน 5:1 และ 1:1 ดังการทดลองที่ 5 และ 7 ตามลำดับ ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ 37 และ 45 ตามลำดับ หากเปลี่ยนตัวทำละลายเป็น CH₂Cl₂/EtOH (5:1) ส่งผลให้ร้อยละผลิตภัณฑ์เหลือ 26 (การทดลองที่ 8) ขณะที่ตัวทำละลาย CH₂Cl₂/H₂O (5:1) ดังการทดลองที่ 9 ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูงถึง 50 ในเวลา 19 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองที่ 11 โดยเปลี่ยนตัวทำละลายเป็น CHCl₃/H₂O (5:1) พบว่า ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ 52 และใช้เวลาเพียง 5 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายผสมที่เป็น CHCl₃ สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่า CH₂Cl₂ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ 15 และ 16 นอกจากนี้การใช้ตัวทำละลายผสม CHCl₃/H₂O (5:1) สามารถลดเวลาในการเกิดปฏิกิริยาลงถึง 3.8 เท่าเทียบกับ CH₂Cl₂/H₂O (5:1) เมื่อเปรียบเทียบผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมระหว่าง CHCl₃/H₂O ดังการทดลองที่ 11 - 14 พบว่า อัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมคือ CHCl₃/H₂O (5:1) เนื่องจากให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูงสุดและใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาน้อยที่สุด สำหรับตัวทำละลายเดี่ยวดังการทดลอง

ที่ 15 - 19 พบว่า ใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยายาวนานกว่าตัวทำละลายผสมระหว่าง $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ ยกเว้นการทดลองที่ 16 ที่เป็นตัวทำละลาย CHCl_3 แสดงให้เห็นว่าการใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์ในกลุ่ม protic solvent ที่เป็น halogenated solvent สามารถให้ผลิตภัณฑ์สูงกว่าตัวทำละลายที่เป็น alcohol และเมื่อใช้ตัวทำละลายผสมพบว่า ตัวทำละลายผสมในอัตราส่วน 5:1 ที่มีส่วนผสมของ CH_2Cl_2 จะใช้ระยะเวลาในการสังเคราะห์ที่นานและให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ที่ต่ำกว่าตัวทำละลายที่มีส่วนผสมเป็น CHCl_3 และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวทำละลายผสมของ CHCl_3 กับตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ พบว่า ตัวทำละลายผสมระหว่าง CHCl_3 และ H_2O ในอัตราส่วน 5:1 ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูงสุด (52%) และใช้เวลาในการสังเคราะห์ 5 ชั่วโมง ซึ่งตัวทำละลาย $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ (5:1) นี้มีความเป็นพิษที่น้อยกว่าการใช้ CHCl_3 บริสุทธิ์ ดังนั้นชนิดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาการสังเคราะห์สาร 2 คือ $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ อัตราส่วน 5:1

ดังนั้นการศึกษาการสังเคราะห์สาร 8,17-epoxy andrographolide 2 โดยปฏิกิริยา epoxidation ของ andrographolide 1 ได้สภาวะที่เหมาะสม คือ ปริมาณ *m*-CPBA ที่ 1.5 eq. ใน $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ (5:1) ที่อุณหภูมิ 50 °C ซึ่งใช้เวลาในการสังเคราะห์ 5 ชั่วโมง ได้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 52%

ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร 8,17-epoxy andrographolide 2 โดยเทคนิค NMR-spectroscopy



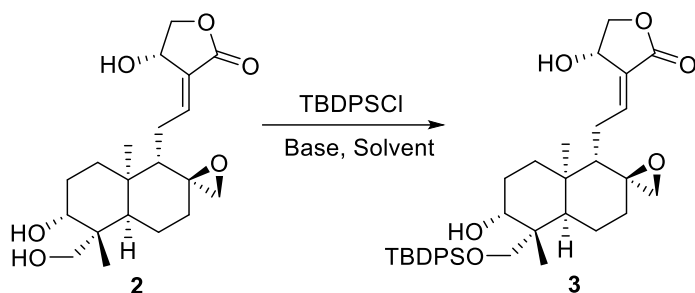
ภาพที่ 7 การวิเคราะห์โครงสร้างสาร 8,17-epoxy andrographolide 2

สาร 2 : $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : δ 6.79 (1H, ddd, J = 11.0, 5.5, 1.5 Hz, H-12), 5.01-4.96 (1H, m, H-14), 4.36 (1H, dd, J = 9.5, 6.0 Hz, H-15b), 4.26 (1H, dd, J = 9.5, 1.5 Hz, H-15a), 4.17 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-19b), 3.52 (1H, dd, J = 11.0, 4.0 Hz, H-19a), 3.35 (1H, t, J = 9.0 Hz, H-3), 2.88 (1H, dd, J = 3.5, 1.5 Hz, H-17b), 2.80 (1H, brd, J = 8.5 Hz, OH), 2.68 (1H, d, J = 3.5 Hz, H-17a), 2.42 (1H, brs, OH), 2.06-1.72 (6H, m), 1.50-1.41 (2H, m), 1.35-1.15 (2H, m), 1.27 (3H, s, H-18), 1.26-1.16 (2H, m), 0.82 (3H, s, H-20)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) : δ 15.10 (C-20), 21.26 (C-18), 22.70 (C-6), 22.78 (C-11), 27.09 (C-2), 35.85 (C-1), 36.78 (C-7), 39.73 (C-10), 42.67 (C-4), 50.94 (C-5), 53.36 (C-17), 54.54 (C-9), 60.24 (C-8), 63.83 (C-14), 65.12 (C-19), 73.67 (C-15), 80.13 (C-3), 129.20 (C-13), 145.87 (C-12), 170.20 (C-16)

การศึกษาวิธีการสังเคราะห์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3

การสังเคราะห์สาร 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3 โดยทำปฏิกิริยา silylation ของ 8,17-epoxy andrographolide 2 กับ TBDPSCI ดังภาพที่ 8 ได้ศึกษาปริมาณ TBDPSCI ชนิดของเบส และชนิดของตัวทำละลาย แสดงผลการทดลองดังตารางที่ 4



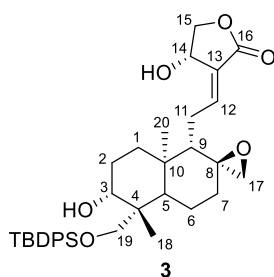
ภาพที่ 8 การสังเคราะห์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3

ตารางที่ 4 การหาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3

การทดลอง ที่	ปริมาณ TBDPSCI (eq.)	ตัวทำละลาย (1 ml)	เบส	เวลา (h)	ร้อยละผลิตภัณฑ์
1	5.0	Pyridine		1.0	66
2	3.0	Pyridine		1.0	82
3	2.0	Pyridine		2.0	70
4	1.1	Pyridine		3.0	57
5	3.0	DMF	Imidazole	24	12

จากผลการทดลองดังตารางที่ 4 ผลของสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 2 พบว่า ปริมาณ TBDPSCI ที่เหมาะสมในปฏิกิริยาไซลิเลชันของ 8,17-epoxy andrographolide 2 คือ 3 eq. เนื่องจากสามารถให้ผลิตภัณฑ์สูงถึง 82% และใช้เวลาเพียง 1 ชั่วโมง (การทดลองที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบชนิดของเบส (การทดลองที่ 2 และ 5) พบว่า การใช้ pyridine สามารถทำปฏิกิริยาได้ดีกว่า imidazole

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3 คือ ปริมาณ TBDPSCI ที่ 3.0 eq. ใน pyridine และใช้ระยะเวลาในการสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ได้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 82



ภาพที่ 9 การวิเคราะห์โครงสร้างสาร 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide **3**

สาร **3** : $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : δ 7.70-7.63 (4H, m, PhH), 7.49-7.38 (6H, m, PhH), 6.76 (1H, ddd, $J = 10.5, 5.5, 1.5$ Hz, H-12), 4.94 (1H, brd, $J = 5.5$ Hz, H-14), 4.34 (1H, dd, $J = 10.0, 5.5$ Hz, H-15b), 4.23 (1H, dd, $J = 10.0, 1.5$ Hz, H-15a), 4.15 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-19b), 3.40 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-19a), 3.40-3.34 (1H, m, H-3), 2.76 (1H, dd, $J = 3.5, 1.5$ Hz, H-17b), 2.53 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-17a), 2.02-1.87 (2H, m), 1.82-1.60 (6H, m), 1.34 (3H, s, H-18), 1.31-1.12 (4H, m), 1.06 (9H, s, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.56 (3H, s, H-20)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) : δ 15.23 (C-20), 19.05 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 21.22 (C-18), 22.69 (C-11), 23.08 (C-6), 26.77 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 27.70 (C-2), 35.86 (C-1), 36.69 (C-7), 39.77 (C-10), 42.66 (C-4), 50.74 (C-5), 53.39 (C-17), 54.65 (C-9), 60.20 (C-8), 65.14 (C-14), 65.57 (C-19), 73.59 (C-15), 79.93 (C-3), 127.90 (C-13), 129.11 (Ph), 130.03 (Ph), 131.95 (Ph), 132.35 (Ph), 135.56 (Ph), 135.69 (Ph), 145.78 (C-12), 170.01 (C-16)

เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Nateewattana et al. (2013) ที่รายงานสภาวะการทดลองที่ใช้ คือ ขั้นตอนปฏิกิริยา epoxidation คือ ใช้ปริมาณ *m*-CPBA 2.0 eq. ในตัวทำละลายผสม CH_2Cl_2 /methanol อัตราส่วน 5:1 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 19 ชั่วโมง และขั้นตอนปฏิกิริยา silylation ใช้ปริมาณ TBDPSCl 25 eq. ใน pyridine เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (Nateewattana et al., 2013, 320-332) ดังตารางที่ 5 แสดงให้เห็นว่า สภาวะที่ได้จากการทดลองของงานวิจัยนี้สามารถลดปริมาณการใช้รีเอเจนต์ ลดความเป็นพิษให้ต่ำลงด้วยการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายผสม และลดระยะเวลาในการสังเคราะห์เร็วขึ้นเกือบ 4 เท่า

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบสภาวะการสังเคราะห์สาร 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide **3**

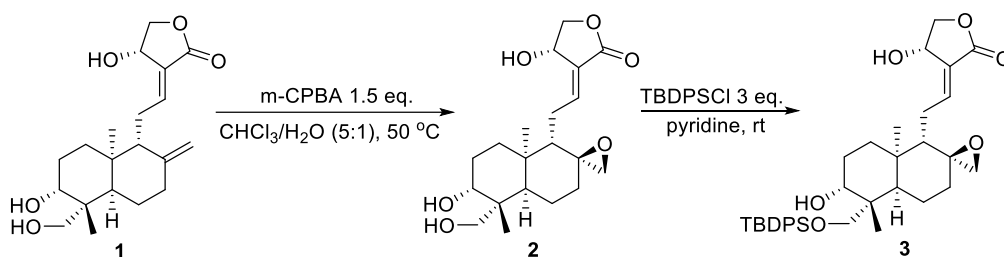
ปฏิกิริยา	สภาวะ	Nateewattana et al. (2013)	งานวิจัยนี้
epoxidation	<i>m</i> -CPBA (eq.)	2.0	1.5
	ตัวทำละลาย	CH_2Cl_2 /MeOH (5:1)	CHCl_3 /H ₂ O (5:1)
	อุณหภูมิ (°C)	อุณหภูมิห้อง	50
	เวลา (h)	19	5
	ร้อยละผลิตภัณฑ์	72	52

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบสภาวะการสังเคราะห์สาร 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3 (ต่อ)

ปฏิกิริยา	สภาวะ	Nateewattana et al. (2013)	งานวิจัยนี้
silylation	TBDPSCI (eq.)	25.3	3
	ตัวทำละลาย	pyridine	pyridine
	อุณหภูมิ (°C)	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิห้อง
	เวลา (h)	1	1
	ร้อยละผลผลิต	81	82

การประยุกต์สภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 8

การประยุกต์การสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3 (ภาพที่ 10) โดยนำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้มาสังเคราะห์ในระดับกรัม คือ เพิ่มปริมาณจากระดับทดลองเป็น 100 เท่า (ใช้สารตั้งต้น 1 ปริมาณ 5.0 g) ในขั้นตอนที่ 1 (ปฏิกิริยา epoxidation) และขั้นตอนที่ 2 (ปฏิกิริยา silylation) เพิ่มปริมาณเป็น 20 เท่าจากระดับทดลอง (ใช้สารตั้งต้น 2 ปริมาณ 1.0 g)



ภาพที่ 10 การประยุกต์การสังเคราะห์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3

ขั้นตอนที่ 1 ปฏิกิริยา epoxidation สภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์สาร 2 คือ ปริมาณ *m*-CPBA ที่ 1.5 eq. ใน $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ (5:1) ที่อุณหภูมิ 50 °C และเวลาในการสังเคราะห์ 5 ชั่วโมง โดยสังเคราะห์ซ้ำจำนวน 3 รอบ แสดงผลดังตารางที่ 6 พบว่า การสังเคราะห์สาร 2 โดยใช้สภาวะการทดลองดังกล่าวในปริมาณระดับกรัมให้ร้อยละผลผลิตอยู่ในช่วง 57 - 68 ซึ่งสูงกว่าในระดับทดลองขนาดเล็ก

ตารางที่ 6 ร้อยละผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์ 8,17-epoxy andrographolide 2

ครั้งที่	ร้อยละผลผลิต
1	68
2	57
3	63

ขั้นตอนที่ 2 ปฏิกิริยา silylation สำหรับการสังเคราะห์สาร 3 คือ ปริมาณ TBDPSCI ที่ 3.0 eq. ใน pyridine 5 ml และเวลาในการสังเคราะห์ 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง โดยสังเคราะห์ซ้ำจำนวน 3 รอบ แสดงผลดังตารางที่ 7 พบว่า การสังเคราะห์สาร 3 โดยใช้สภาวะการทดลองดังกล่าวในปริมาณระดับกรัมให้ร้อยละผลผลิตที่สูงมากถึง 94 - 96%

ตารางที่ 7 ร้อยละผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสังเคราะห์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3

ครั้งที่	ร้อยละผลิตภัณฑ์
1	94
2	96
3	95

จากตารางที่ 6 และ 7 แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มปริมาณสารตั้งต้นให้มากขึ้นสามารถให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูงกว่าการทำในระดับทดลอง ซึ่งสภาวะในการสังเคราะห์นี้สามารถใช้ในการเตรียมอนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3 ในระดับกรัมได้ดังนี้นักวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จในการใช้เป็นต้นแบบสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้สังเคราะห์สารในระดับอุตสาหกรรมได้

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการสังเคราะห์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide เพื่อการประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตเชิงอุตสาหกรรม พบว่า การสกัดแยกสาร andrographolide จากต้นฟ้าทะลายโจรด้วยวิธีอย่างง่ายคือ นำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย EtOAc และทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน มีร้อยละผลิตภัณฑ์เท่ากับ 3 ซึ่งถูกยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค NMR เทียบกับสาร andrographolide มาตรฐานแล้วได้ผลใกล้เคียงกันมาก สารบริสุทธิ์ที่แยกได้นำไปใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3 พบว่า ได้สภาวะการสังเคราะห์ที่เหมาะสมคือ ขั้นตอนการสังเคราะห์สาร 2 (ปฏิกิริยา epoxidation) ใช้ปริมาณ *m*-CPBA 1.5 eq. ใน CHCl₃/H₂O (5:1) ที่อุณหภูมิ 50 °C และเวลา 5 ชั่วโมง ส่วนขั้นตอนการสังเคราะห์สาร 3 (ปฏิกิริยา silylation) ใช้ปริมาณ TBDPSCl 3.0 eq. ใน pyridine และเวลา 1 ชั่วโมง หากเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Nateewattana et al. (2013) แสดงให้เห็นว่างานวิจัยนี้สามารถลดการใช้สารตั้งต้นที่มีราคาแพง เช่น *m*-CPBA, TBDPSCl ลงจากเดิมหลายเท่า มีการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายผสมซึ่งช่วยลดความเป็นพิษ ใช้ระยะเวลาในการสังเคราะห์ขั้นที่ 1 ลดลง 3.8 เท่า เป็นเหตุผลสนับสนุนให้นักวิจัยนี้มีประสิทธิภาพสูงกว่าวิธีที่รายงานก่อนหน้านี้ เมื่อนำสภาวะที่ได้ไปเพิ่มปริมาณการสังเคราะห์เป็นระดับกรัมพบว่า สามารถใช้สังเคราะห์สารที่ต้องการซึ่งให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ของสาร 2 อยู่ระหว่าง 57 - 68% และสาร 3 อยู่ระหว่าง 94 - 96% ซึ่งสูงกว่าที่ได้ในระดับทดลองขนาดเล็ก

ดังนี้นักวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จในการหาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์อนุพันธ์ 19-TBDPS-8,17-epoxy andrographolide 3 ที่สามารถลดต้นทุนการผลิต ลดเวลาในการสังเคราะห์ ลดความเป็นพิษและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบในการประยุกต์ใช้กับการสังเคราะห์ในระดับอุตสาหกรรมได้ในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นเพียงต้นแบบการผลิตเพื่อพัฒนาไปสู่ในระดับอุตสาหกรรมจึงควรทดลองสังเคราะห์ในระดับ (Scale) ที่ใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนาสภาวะการสังเคราะห์เพิ่มเติม รวมไปถึงการนำเทคโนโลยีสมัยใหม่เข้ามาช่วยในการออกแบบและช่วยในการสังเคราะห์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย ตามรหัสโครงการเลขที่ 2141/2558 ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ที่สนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีในการทำวิจัย ศาสตราจารย์ ดร. รุ่งนภา แซ่เอ็ง ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ปรึกษาโครงการ และนักศึกษากลุ่มวิจัย TK Lab; นายสุชิน เขียวมรกต นางสาวกรรณิการ์ ทิพบุญ และนางสาวปรังค์วลัย เปรมวินัย

เอกสารอ้างอิง

- รุ่งนภา แซ่เอ็ง พัชรี อาษาขันธ และ อธิพัชร์ เกษมสุข. (2567). **กรรมวิธีการสกัดแอนโดกราโฟไลด์ (Andrographolide) จากสมุนไพรฟ้าทะลายโจร (อนุสิทธิบัตรเลขที่ 23291)**. กรุงเทพฯ: กรมทรัพย์สินทางปัญญา.
- กองผลิตภัณฑ์สมุนไพร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2566). **บัญชียาหลักแห่งชาติด้านสมุนไพร พ.ศ. 2566 (พิมพ์ครั้งที่ 1)**. ปทุมธานี: บริษัท มินนี่ กรุ๊ป จำกัด.
- Chao, W. W. and Lin, B. F. (2010). Isolation and identification of bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian). **Chinese Medical Journal**, **5**, 17.
- Hu, J., Li, Y., Xie, X., Song, Y., Yan, W., Luo, Y., and Jiang, Y. (2024). The therapeutic potential of andrographolide in cancer treatment. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, **180**, 117438.
- Islam, M. T., Ali, E. S., Uddin, S. J., Islam, M. A., Shaw, S., Khan, I. N., Saravi, S. S. S., Ahmad, S., Rehman, S., Gupta, V. K., Gaman, M. A., Gaman, A. M., Yele, S., Das, A. K., Sousa, J. M. C. E., Dantas, S. M. M. M., Rolim, H. M. L., Melo-Cavalcante, A. A. C., Mubarak, M. S., Yarla, N. S., Shilpi, J. A., Mishra, S. K., Atanasov, A. G., and Kamal, M. A. (2018). Andrographolide, a diterpene lactone from *Andrographis paniculata* and its therapeutic promises in cancer. **Cancer Letters**, **420**, 129-145.
- Izzo, A. A., and Stefanska, B. (2025). Natural products and cancer: From drug discovery to prevention and therapy. **British Journal of Pharmacology**, **182** (10), 2069-2074.
- Kasemsuk, S., Sirion, U., Suksen, K., Piyachaturawat, P., Suksamrarn, A., and Saeeng, R. (2013). 12-Amino-andrographolide analogues: synthesis and cytotoxic activity. **Archives of Pharmacal Research**, **36** (12), 1454-1464.
- Kumar, G., Singh, D., Tali, J. A., Dheer, D., and Shankar, R. (2020). Andrographolide: Chemical modification and its effect on biological activities. **Bioorganic Chemistry**, **95**, 103511.
- Latif, R., and Wang, C. Y. (2020). Andrographolide as a potent and promising antiviral agent. **Chinese Journal of Natural Medicines**, **18** (10), 760-769.
- Mali, S. B. (2023). Cancer treatment: Role of natural products. Time to have a serious rethink. **Oral Oncology Reports**, **6**, 100040.

- Messire, G., Rollin, P., Gillaizeau, I., and Berteina-Raboin, S. (2024). Synthetic modifications of andrographolide targeting new potential anticancer drug candidates: A comprehensive overview. **Molecules**, **29** (12), 2884.
- Naeem, A., Hu, P., Yang, M., Zhang, J., Liu, Y., Zhu, W., and Zheng, Q. (2022). Natural products as anticancer agents: Current status and future perspectives. **Molecules**, **27** (23), 8367.
- Nateewattana, J., Saeeng, R., Kasemsook, S., Suksen, K., Dutta, S., Jariyawat, S., Chairoungdua, A., Suksamrarn, A., and Piyachaturawat, P. (2013). Inhibition of topoisomerase II α activity and induction of apoptosis in mammalian cells by semi-synthetic andrographolide analogues. **Investigational New Drugs**, **31** (2), 320-332.
- Negi, A. S., and Jain, S. (2022). Chapter 10 - Recent advances in natural product-based anticancer agents. **Studies in Natural Products Chemistry**, **75**, 367-447. Retrieved January 25, 2026, from <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91250-1.00010-0>.
- Setiawati, A., Candrasari, D. S., Setyajati, F. D. E., Prasetyo, V. K., Setyaningsih, D., and Hartini, Y. S. (2022). Anticancer drug screening of natural products: In vitro: cytotoxicity assays, techniques, and challenges. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, **12** (7), 279-289.
- Sirion, U., Kasemsook, S., Suksen, K., Piyachaturawat, P., Suksamrarn, A., and Saeeng, R. (2012). New substituted C-19-andrographolide analogues with potent cytotoxic activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, **22** (1), 49-52.
- Sirion, U., Kasemsuk, T., Piyachaturawat, P., Suksen, K., Suksamrarn, A., and Saeeng, R. (2017). Synthesis and cytotoxic activity of 14-deoxy-12-hydroxyandrographolide analogs. **Medicinal Chemistry Research**, **26** (8), 1653-1663.
- Yerragunta, V., Waghray, K., Shivraj and Subhashini, N. J. P. (2021). Anti-cancer activity of andrographolide: A review. **Journal of Pharmaceutical Research International**, **33** (43B), 1-9.
- Zeng, B., Wei, A., Zhou, Q., Yuan, M., Lei, K., Liu, Y., Song, J., Guo, L., and Ye, Q. (2022). Andrographolide: A review of its pharmacology, pharmacokinetics, toxicity and clinical trials and pharmaceutical researches. **Phytotherapy Research**, **36** (1), 336-364.
- Zhang, H., Li, S., Si, Y., and Xu, H. (2021). Andrographolide and its derivatives: Current achievements and future perspectives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **224**, 113710.