

p-Benzoilbenzoik Asitle Esterifiye Edilmiş Steroit Moleküllerinin Fotolitik Reaksiyon Ürünleri Üzerinde Çalışmalar*

The Photolytic Reactions of Steroid Molecules Which Were Esterified
by Using p-Benzoylbenzoic Acid

Ningur NOYANALPAN**

Abidin AYALP***

GİRİŞ VE AMAÇ

Steroid hormonlar çoğunlukla bitkisel kaynaklı sapogenollerden yararlanılarak elde edilmektedir. Hormon yapısı için gerekli olan oksijenli fonksiyonlar mikrobiyolojik yöntemlerle yaratılmaktadır. Daha yüksek verimle yürüyen kimyasal oksijenasyon için özellikle karbon halkasında doymamışlığın bulunması önem taşımaktadır.

Çalışmada steroid moleküllerinin fotolitik reaksiyon, ürünleri üzerinde çalışılmıştır. Amaç, fotolitik yöntemlerle steroid molekülüne bir fonksiyonel grup olan çifte bağı sokmaktır. Bu yöntemlerin bugün için en çok kullanılanı mikrobiyolojik olanıdır. Bu çalışmada zor ve pahalı olan kimyasal ve mikrobiyolojik yöntemler yerine fotokimyasal yöntemin diosgenol ve pregnenolona uygulanmasına çalışılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan diosgenol ve pregnenolon asetat arı bileşiklerdir. Kullanılan tüm kimyasal bileşikler, çözücüler, re ajanlar, katalizörler Merck veya Riedel'dir. Kullanılan elektronik aygıtlar, IR Spektrofotometresi PYE UNICAM SP-1100, UV Spektrofoto-

Redaksiyona verildiği tarih: 19 Ocak 1983

* Eczacı Abidin Ayalp'ın aynı isimli doktora tezinin özetidir. Sınav tarihi: Şubat 1979.

** Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Gazi Üniversitesi.

*** Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

metresi PYE UNICAM SP-1700, NMR Spektrometresi R-32 PERKİN ELMER 90 MHz, ergime noktası saptama aygıtı BUCHI SMP-20 ve cıva lambası 500 W PHILIPS'tir. İnce tabaka kromatografisi için kullanılan aygıt ise CAMAG ince tabaka yayıcısıdır. Hazırlanan cam plakların kalınlığı 0.3 mm'dir. Aktivasyon otuz dakika süre ile 120°C'de yapılmıştır. Kromatografik çalışmalarda lekeler önce UV lambası altında gözlenmiş daha sonra vanilin/sülfürik asit reaktifi ile ısıtılarak görünür duruma getirilmiştir. Çalışmada çeşitli kromatografik solvent sistemleri arasından incelemeler sonucu en uygun olanları aşağıda verilmiştir.

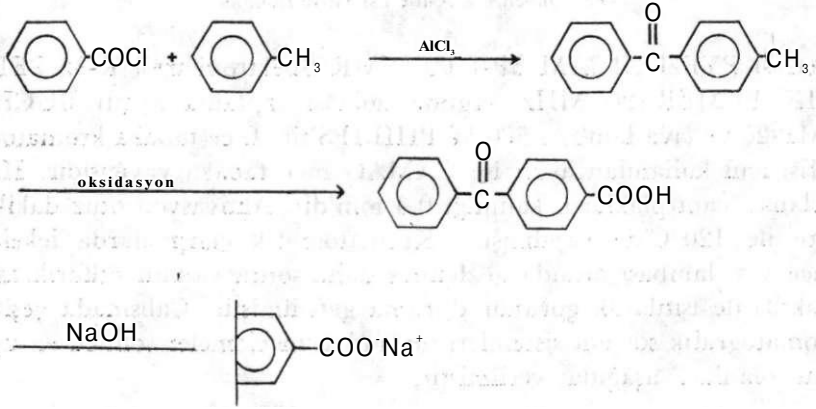
Benzen:Kloroform	9:1	Sistem I
Kloroform:Eter	8:2	Sistem II
Kloroform	100	Sistem III
Kloroform :Benzen	100:3	Sistem IV
Kloroform:Benzen	8:3	Sistem V
Kloroform:Metanol	100:3	Sistem VI

DENEYSEL KISIM

Bu çalışmada, diosgenol ve pregnenolon başlangıç bileşiği olarak kullanılmış ve bu bileşikler üzerinde çifte bağ oluşturulmuştur. Bunun için, önce bu bileşiklerin esterleri hazırlanmıştır. Esterifikasyon ajanı olarak p-benzoilbenzoik asidin sodyum tuzundan yararlanılmıştır. Bu bileşiğin eldesi için Friedel-Crafts reaksiyonu uygulanmış, alüminyum triklorür katalizörlüğünde toluenin benzoilasyonu ile p-metilbenzofenon elde edilmiştir (1-8). Elde edilen bileşik okside edilerek p-benzoilbenzoik asite (9-11) geçilmiş, daha sonra bu bileşiğin sodyum tuzu hazırlanmıştır. p-Benzoilbenzoik asidin sodyum tuzunun elde edilişi Şekil: 1'de reaksiyon denklemleri ile verilmiştir.

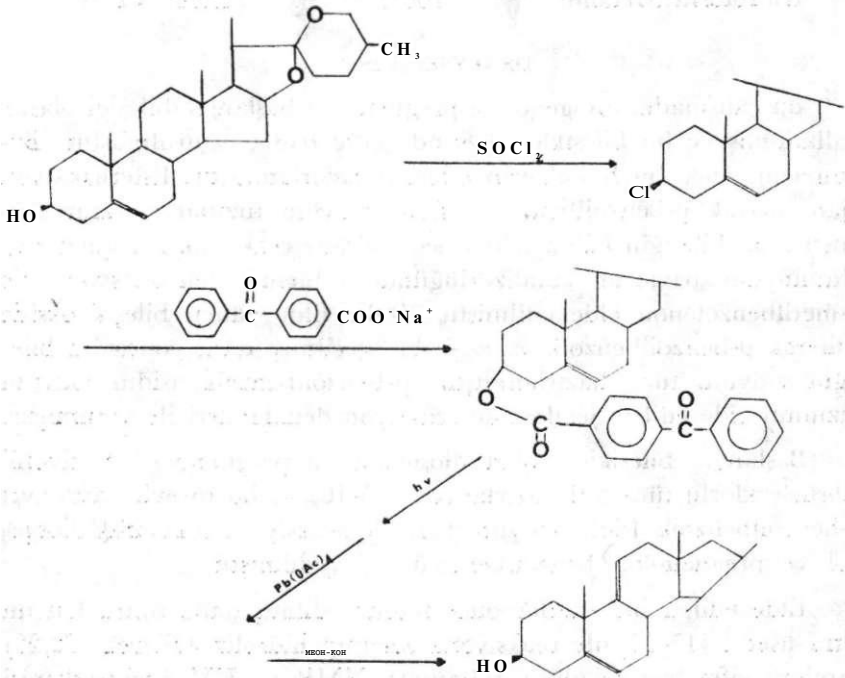
Başlangıç bileşikleri olan diosgenol ve pregnenolon'un tiyonil klorürle klorlu türevleri hazırlanmış (12-16) ve bu türevler ayrı ayrı p-benzoilbenzoik asidin sodyum tuzu ile reaksiyona sokularak diosgenol ve pregnenolon benzoilbenzoat elde edilmiştir.

Elde edilen bu esterler önce fotoliz edilmiş daha sonra kurşun tetra asetat (17-21) ile reaksiyona sokulup hidroliz edilerek (22,23) yapıları çifte bağ sokuluğu sağlanmış, NMR ve UV Spektroskopisi yöntemleriyle kanıtlanmıştır.

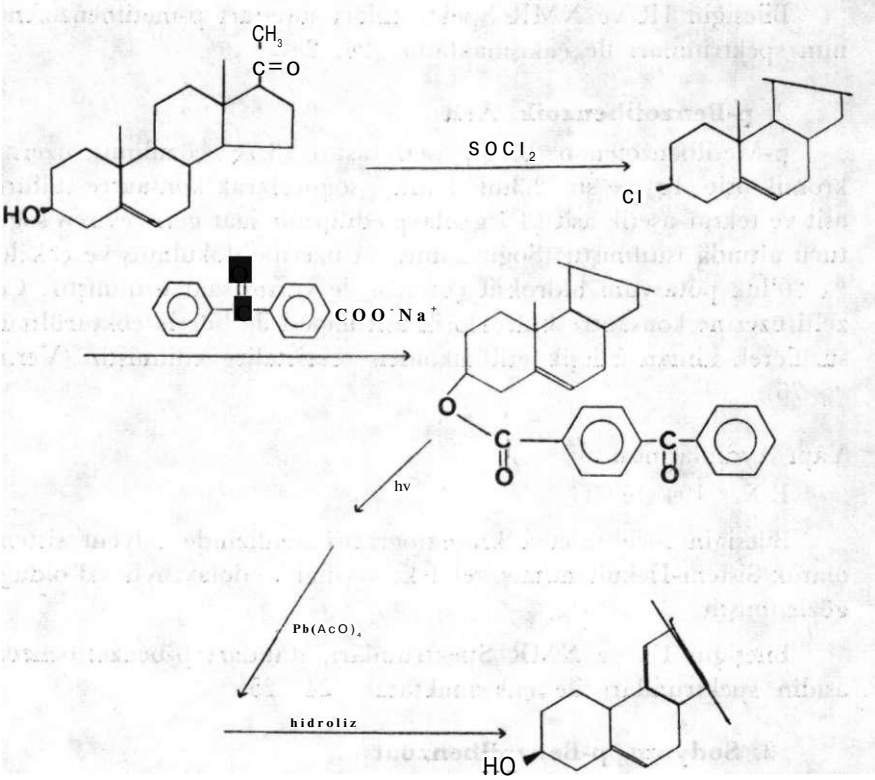


Şekil 1. p-Benzoilbenzoik asidin sodyum tuzunun elde edilişi.

Diosgenol ve pregnenolon üzerinde çifte bağ oluşturulması için uygulanan reaksiyon dizisi denklemler halinde Şekil: II ve III'te verilmiştir.



Şekil II. Diosgenol üzerinde çifte bağ oluşturulması için uygulanan reaksiyon dizisi.



Pregnenolon üzerinde çift bağ oluşturulması için uygulanan reaksiyon dizisi.

BULGULAR

1- p-Metilbenzofenon

Alüminyum triklorür (7g), benzoil klorür (6.2g) ve toluen (5.5g) 25°C'de bir saat süre ile karıştırılmış, sonra 380 ml 4N sodyum hidrokosit çözeltisi ile hidroliz edilip, kloroformla ekstre edilmiştir. Organik faz uçurulup suyundan kurtarılmış ve bileşiğin petrol eteri ile kristalizasyonu yapılmıştır (Verim % 83).

Yapı Aydınlatması

E.N.: 56-60°C

Bileşiğin ince tabaka kromatografik analizinde solvent sistemi olarak Sistem-1 kullanılmış ve bileşiğin tek leke verdiği ve dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

Bileşğin IR ve NMR Spektrumları standart p-metilbenzofenonun spektrumları ile çakışmaktadır (24, 25).

2. p-Benzoilbenzoik Asit

p-Metilbenzofenon (0.7g), asetik asitte (3.7g) çözülmüş, üzerine kromik asit (1g) ve su (2.3ml) katılıp, soğutularak konsantre sülfürik asit ve tekrar asetik asit (3.7 g) ilave edilip bir saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılmıştır. Soğutulmuş, su üzerine dökülmüş ve çökelek % 30'luk potasyum hidroksit çözeltisi ile yarım saat ısıtılmıştır. Çözelti üzerine konsantre hidroklorik asit ilavesi ile bileşik çöktürülmüş, süzülerek alınan bileşik etil alkolden rekrystalize edilmiştir (Verim % 76).

Yapı Aydınlatması

E.N.: 194-197°C

Bileşğin ince tabaka kromatografisi analizinde solvent sistemi olarak Sistem-II kullanılmış, tek leke verdiği ve dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

Bileşğin IR ve NMR Spektrumları, standart p-benzoilbenzoik asidin spektrumları ile çakışmaktadır (24, 25).

3. Sodyum p-Benzoilbenzoat

p-benzoilbenzoik asidin sodyum hidroksit çözeltisi ile sodyum tuzu hazırlanmıştır (Verim % 85).

4. 3-β -Klorodiosgenin

Diosgenin (0.4 g), tiyonil klorür (0.4 g) ve kloroform (10 ml) 40-50°C'de geri çeviren soğutucu altında ondört saat ısıtılmıştır, bu süre sonunda % 2'lik sodyum hidroksit çözeltisi ile çalkalanmış, kloroformlu faz suyundan kurtarılıp uçurulmuştur. Kalıntı aseton-eter karışımından rekrystalize edilmiştir (Verim % 76).

Yapı Aydınlatması

E.N.: 174-177°C

Bileşğin ince tabaka kromatografisi analizinde solvent sistemi olarak Sistem III kullanılmış, bileşğin tek leke verdiği ve dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

IR Spektrumu: ν cm⁻¹ 2990-2800 Alifatik C - H gerilimi, 1450 C - H eğilimi, 1030 C - O - C gerilimi, 810 C - C1 gerilimi.

5. Diosgenin benzoilbenzoat

3-β-Klorodiosgenin (0.2 g), sodyum p-benzoilbenzoat (0.123) g ve aseton (10 ml) iki saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılmış bu süre sonunda reaksiyon ürünü su ile çöktürülüp, süzülmüş, metanol-petrol eterinden rekristalize edilmiştir (Verim % 79).

Yapı Aydınlatması

E.N.: 144-147°C

Bileşiğin ince tabaka kromatografik analizinde solvent sistemi olarak Sistem IV kullanılmış ve bileşiğin tek leke verdiği dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

IR Spektrumu: $\bar{\nu}$ cm⁻¹ 3100-3000 = C - H gerilimi, 2940-2820 - C - H gerilimi, 1780 C= O gerilimi, 1600-1500 C=C gerilimleri, 1490 C - H eğilimi, 1240 - C - O gerilimi, 1030 - C - O - C gerilimi, 800-650 - C - H plan dışı deformasyon bantları (mono ve para süstitüe benzen halkaları).

6. Diosgenin benzoilbenzoat'ın fotolizi

Diosgenin benzoilbenzoat (0.157) g ve susuz benzen (25 ml) UV lambası altında beş saat ışınlam yapılarak geri çeviren soğutucu altında ısıtılmıştır. Bu süre sonunda benzen uçurulmuş kalıntı aseton-petrol eterinden rekristalize edilmiştir (Verim % 95).

Yapı Aydınlatması

E.N.: 143-147°C

Bileşiğin ince tabaka kromatografik analizinde solvent sistemi olarak Sistem IV kullanılmış ve bileşiğin tek leke verdiği dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

7. Kurşun tetra asetat'ın hazırlanışı

Asetik asit (34 g), % 99'luk asetik asit (22g) karışımı 55-60°C'ye kadar ısıtılmış, bu sıcaklıkta kırmızı kurşun oksit (41 g) katılmış ve yarım saat ısıtılmış, soğutulmuş, oluşan kristaller süzülerek alınmış ve susuz asetik asitten rekristalize edilmiştir (Verim % 90).

E.N.: 176-180°C

8. Fotoliz edilmiş diosgenin benzoilbenzoatın kurşun tetra asetatla reaksiyonu ve hidrolizi

Fotoliz edilmiş diosgenin benzoilbenzoat (0.1 g), kurşun tetra asetat (0.7 g), kalsiyum karbonat (0.2 g) ve benzen (20 ml) karışımı 15 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılmış sonra sırası ile su, % 10'luk potasyum iyodür, % 10'luk sodyum tiyosulfat, doymuş sodyum bikarbonat çözeltisi ve tekrar su ile tüketilmiş, organik faz suyundan kurtarılmış, uçurulmuş, kalıntı metanolde hazırlanmış % 10'luk potasyum hidroksit çözeltisi ile hidroliz edilip sonuçta oluşan çökelek metanol-aseton karışımından rekristalize edilmiştir (Verim % 81).

Yapı Aydınlatması

E.N.: 185-188°C

Bileşiğin ince tabaka kromatografik analizinde solvent sistemi olarak Sistem VI kullanılmış ve bileşiğin tek leke verdiği dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

IR Spektrumu: $\bar{\nu}$ cm⁻¹ 3500-3000 O—H gerilimi (sekonder alkol), 2980-2900 - C - H gerilimi, 1450 - C - H eğilimi, 1030 — C — O gerilimi.

NMR Spektrumu: δ ppm 5.4 teki sinyal dikkatli olarak incelenmiştir. Bu dejenere bir dublete benzemektedir. Entegrasyonda bu protonların iki tane olduğu gözlenmiştir. Buna göre çifte bağın oluşumu bir proton verecek şekildedir çünkü 5.4 S ppm'deki sinyali veren protonlardan biri 6. konuma bağlı hidrojenidir. Bu kısım dışında kalan sinyallerin ise diosgenol'e benzer olduğu gözlenmiştir.

9. Pregnenolon Asetat'ın hidrolizi

Pregnenolon asetat (0.5 g) ve metanolde hazırlanmış % 10'luk potasyum hidroksit çözeltisi ile iki saat geri çeviren soğutucu altında hidroliz edilmiş daha sonra aseton ile kristalizasyonu yapılmıştır (Verim % 90).

Yapı Aydınlatması

E.N.: 19Q-194°C

Bileşiğin ince tabaka kromatografik analizinde solvent sistemi olarak Sistem V kullanılmış ve bileşiğin tek leke verdiği dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

Bileşiğin IR ve NMR Spektrumları pregnenolon'un standart spektrumları ile çakışmaktadır (24, 25).

10. 3- β -Kloropregnenolon

3- β -klorodiosgenin'in sentezi için uygulanmış olan yöntemle yapılmış ve sentezde 0.2 g pregnenolon, 0.2 g tanyonil klorür ve 7 ml kloroform kullanılmıştır. Kristalizasyon asetondan yapılmıştır (Verim % 91).

Yapı Aydınlatması

E.N.: 127-131°C

Bileşiğin ince tabaka kromatografik analizinde solvent sistemi olarak Sistem VI kullanılmış ve bileşiğin tek leke verdiği ve dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

IR Spektrumu: $\bar{\nu}$ cm⁻¹ 2920-2820 - C - H gerilimi, 1680 C = O gerilimi, 1460-1435 C - H eğilimi, 740 C - C1 gerilimi.

11. Pregnenolon benzoilbenzoat

Diosgenol benzoilbenzoatın sentezindeki yöntemle yapılmış bunun için 0.1 g sodyum p-benzoilbenzoat ve 0.137 g 3- β -kloropregnenolon kullanılmıştır. Bileşiğin kristalizasyonu metanol-petrol eterinden, yapılmıştır (Verim % 91).

Yapı Aydınlatması

E.N.: 176-180°C

Bileşiğin ince tabaka kromatografik analizinde solvent sistemi olarak Sistem V kullanılmış ve tek leke verdiği dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

12. Pregnenolon benzoilbenzoatın fotolizi

Diosgenol benzoilbenzoat'ın sentezindeki yöntemle yapılmış bunun için 0,130 g pregnenolon benzoilbenzoat ve 20 ml susuz benzen kullanılmıştır. (Verim % 93).

13. Fotoliz edilmiş pregnenolon benzoilbenzoatın kurşun tetra asetatla reaksiyonu ve hidrolizi

Fotoliz edilmiş diosgenol benzoilbenzoatın sentezindeki yöntem ile yapılmış bunun için 0.070 g pregnenolon benzoilbenzoat 0.5 g kurşun tetra asetat, 0.120 g sodyum karbonat ve 20 ml benzen kullanılmıştır (Verim % 82).

Yapı Aydınlatması:

E.N.: 165-169°C

Bileşiğin ince tabaka kromatografik analizinde solvent sistemi olarak Sistem VI kullanılmış ve bileşiğin tek leke verdiği dolayısıyla saf olduğu gözlenmiştir.

IR Spektrumu: $\bar{\nu}$ cm⁻¹ 3540 O—H gerilimi, 3020 =C—H gerilimi, 1720 C = O gerilimi, 1490-1460 C - H eğilimi, 1390 C - H eğilimi, 1080-1060 - C - O gerilimi.

UV Spektrumu: Başlangıç bileşiğinin spektrumunda 246 ve 285 nm'de iki maksimum görülmektedir. Elde edilen türevde ise 250 nm'de bir maksimum, 285 nm'de ise bir omuz görülmüştür. Görüldüğü gibi, başlangıç bileşiğine göre 4 nm'lik bir kayma vardır. Kayma, non-konjuge durumda bir doymamışlık olduğunu göstermektedir.

NMR Spektrumu: 5.36 δ ppm'deki sinyal dikkatli olarak incelenmiştir. Bu dejenere bir dublete benzemektedir. Entegrasyonda bu protonların iki tane olduğu gözlenmiştir. Buna göre çifte bağın oluşumu bir proton verecek şekildedir çünkü 5.36 δ ppm'deki sinyali veren protonlardan biri 6. konuma bağlı hidrojenidir. UV spektrumu ile elde edilen bilgiler ve bu bağın başlangıçta var olan çifte bağ ile konjuge olmadığını da kanıtlamaktadır. Bu durumda oluşan çifte bağ çok büyük bir olasılıkla 9-11 no.lu karbonlar arasındadır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu araştırma da daha önce düz zincirli asitlere ve kolestanol'e uygulanmış fotolitik yöntemle oksidasyon işlemi diosgenol ve pregnenolon'a uygulanmıştır.

Yapılan çalışma da gerek diosgenol ve gerekse pregnenolon önce üç no.lu konumdan p-benzoilbenzoik asit ile esterifiye edilmiştir. Bu esterifikasyon işlemi için moleküller üç numaralı konumdan klorlu türevi şeklinde çevrilmiş daha sonra sodyum p-benzoilbenzoat etki ettirilmiştir. Esterler fotolizden sonra kurşun tetra asetat ile reaksiyona sokulmuş ve hidroliz edilmiştir. Böylece elde edilen bileşikler başlangıç bileşiğine oranla bir adet fazla olefinik proton içermektedir. Ancak bu yeni oluşan çifte bağ UV bulgularına göre molekülde var olan çifte bağ konjuge durumda değildir. Her ne kadar bu yeni oluşan bağın yeri kesinlikle saptanamamışsa bu bağın büyük olasılıkla 9-11 no.lu karbonlar arasındadır.

Görüldüğü gibi fotolitik yöntemle diosgenol ve pregnenolon molekülüne çifte bağ sokmak mümkündür. Elde edilen ürün kromatografide tek leke verecek şekilde arıdır. Bütün bunlara karşın bazı güçlükler dikkati çekmiştir. Fotolitik reaksiyon ancak düşük konsantrasyonlarda düzgün yürüyen ve tek ürün veren bir yöntemdir. Konsantrasyon arttırıldığında verim önemli ölçüde düşmektedir, verimin düşüşünü önlemek fotoliz süresini uzatmakta yeterli bir önlem değildir.

ÖZET

Bu çalışmada da diosgenol ve pregnenolon molekülü üzerinde fotoliz ve oksijenasyon sonucu bir çifte bağ oluşması sağlanmıştır. Bu amaçla önce diosgenol ve pregnenolon, sodyum p-benzoilbenzoat ile esterleştirilmiştir. p-benzoilbenzoik asit, toluen ve benzoil klorürden hareketle önce Friedel-Crafts ve sonra oksidasyon işlemi uygulanarak elde edilmiştir. Daha sonra bu bileşiğin sodyum hidroksitle muamelesi sonucunda sodyum p-benzoilbenzoat elde edilmiştir. Hazırlanan esterler benzen içinde fotoliz edilmiş, daha sonra kurşun tetra asetat ile esterifikasyona sokulan fotoliz ürünleri son basamakta hidroliz edilerek ester grubundan ayrılmıştır. Yapılan işlemler sonucu elde edilen dios-

genol ve pregnenolon türevi bileşikler üzerinde çift bağ oluştuğu spektral analizlerle gösterilmiştir.

SUMMARY

In this research, we tried to introduce an olefinic bond into the steroid molecules such as diosgenol and pregnenolone, by using the photolytic processes. For this purpose, we prepared the steroidal ester. The substance we used for esterification was p-benzoylbenzoic acid which was prepared from toluen, reacted with benzoyl chloride according to the Friedel-Crafts reaction, as a result p-methylbenzophenone was obtained. This substance was oxidized and p-benzoylbenzoic acid was acquired, then the sodium salt of the p-benzoylbenzoic acid was prepared. The sodium salt of the p-benzoylbenzoic acid and the 3- β -chlorinated diosgenol and pregnenolone were introduced into the reaction as a result the steroidal esters were obtained.

The esters were photolyzed in benzen, reacted with lead tetra acetate and hydrolysed at the last step of the reaction sequences, then the last product was examined and the single double bond was seen as a result of spectral determinations.

LİTERATÜR

- 1- Brown, C.H. and Young, L.H., *J.Org.Chem.*, 22, 719 (1957).
- 2- Brown, C.H. and Jensen, R., *J.Am.Chem.Soc* 80, 2296(1958).
- 3- Church, J.M., *Chem.Brit.*, 3, 507 (1972).
- 4- Thomas, C.A., Anhydrous AlCl₃ in Organic Chem., 206, Reinhold Publish Comp. N.Y.(1941).
- 5- Price, O.C., *Org.Reactions*, 13, 2, John Wiley and Sons, Inc., N.Y. (1975).
- 6- Cremlyn, J.R., A Concise Org.Chem., 10-89, John Wiley and Sons, Inc., N.Y. (1975).
- 7- Griffin, W.R., Modern Org.Chem., 139-142, 185-186, Mc.Graw Hill Comp.N.Y. (1975).
- 8- Huston, R.S. and Wasson, R.L., *J.Org.Chem.*, 6, 252 (1941).
- 9- Wertheim, E., *J.Am.Chem.Soc*, 55, 2541 (1933).
- 10- Zincke, H., *Ann.*, 161, 100 (1872).
- 11- Smith, E.M., *J.Am.Chem.Soc*, 43, 1920(1921).

- 12- Ireland, R.E., Wringley, T.I., Brown, C.H. and Young, S.R., *J.Am.Chem.Soc.*, 80, 4604(1958).
- 13- Marker, R.E. and Turner, P., *J.Am.Chem.Soc.*, 57, 2358 (1935).
- 14- Henbest, H.B. and Wilson, R.A., *J.Chem.Soc.*, 3289 (1956).
- 15- Hughes, E.D., Ingold, C.K., *J.Chem.Soc.*, 1177 (1937).
- 16- Wallis, E.S. and Bowman, I.P., *J.Org.Chem.*, 1, 383 (1936).
- 17- Breslow, R. and Winnik, M., *J.Am.Chem.Soc.*, 91, 3083 (1969).
- 18- Breslow, R. and Kalicky, P., *J.Am.Chem.Soc.*, 93, 3540 (1971).
- 19- Breslow, R., Baldwin, S.W. and Washburn, W., *J.Am.Chem.Soc.*, 94: 10, 3251 (1973).
- 20- Baldwin, E., Bhatnagar, A.K., *Chem.Comm.*, 659(1970).
- 21- O.Dimroth and R.Schweizer., *Ber.*, 56, 1375(1923).
- 22- Mihalovic, Lj., M.Stajilkovic, K, and Andrejevic, V., *Tetrahedron Letters.* 22, 723-955(1966).
- 23- Breslow, R. and Baldwin, W.S., *J.Am.Chem.Soc.*, 92:3, 732 (1970).
- 24- The Aldrich Library of Infrared Spectra, Second Edition, Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wisconsin.
- 25- The Aldrich Library of NMR Spectra, Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wisconsin.