

Thesis Title	Development of Ferrocenic Steroidal Glucocorticoid Derivatives Production for Pharmaceutical Application	
Author	Miss Kanjana Rueanto	
Degree	Master of Science (Pharmaceutical Sciences)	
Thesis Advisory Committee	Prof. Dr. Jiradej Manosroi	Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Aranya Manosroi	Member
	Prof. Dr. Jacques Brocard	Member

ABSTRACT

Ferrocenic glucocorticoids were synthesized from glucocorticoid precursors (hydrocortisone and prednisolone) and ferrocene carboxaldehyde. Three reactions, viz. Mannich, esterification and aldol condensation reaction, were used. The aldol condensation was found to be the most suitable method and was used to synthesize two novel ferrocenic glucocorticoid derivatives of prednisolone and hydrocortisone, namely 16-ferrocenic-11 β -hydroxyandrost-1,4-diene-3,17-dione (FPA) and 16-ferrocenic-11 β -hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione (FHA). The two derivatives were characterized by ESI-MS, ^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT, H-H COSY, C-H COSY and HMBC. Their anti-inflammatory activities were determined by using rat hind paw edema method were compared comparing with the parent compounds prednisolone and hydrocortisone. At 1, 2 and 3 h, FPA showed the percentages of inflammation inhibition of 80.99 ± 13.0 , 22.54 ± 3.1 and $17.83\pm 3.1\%$, whereas its parent compound prednisolone gave 82.52 ± 9.2 , 52.24 ± 9.8 and $48.21\pm 9.1\%$ respectively. FHA gave the percentages of inflammation inhibition of 68.24 ± 10.0 , 15.53 ± 1.7 and $14.41\pm 4.3\%$,

whereas its parent compound hydrocortisone gave 63.59 ± 6.8 , 52.46 ± 7.4 and $35.58\pm 1.5\%$ respectively. The scavenging activity (SC_{50}) by the DPPH radical scavenging method exhibited the concentration at 50% activity of the ferrocene carboxaldehyde compound, FPA and FHA at 0.12 ± 0.01 , 0.76 ± 0.03 and 0.95 ± 0.06 mg/ml respectively. No activity of the parent compounds, (prednisolone and hydrocortisone), was detected, while the standard, vitamin C, vitamin E and BHT gave the SC_{50} value of 0.021 ± 0.002 , 0.030 ± 0.001 and 0.037 ± 0.004 mg/ml respectively. The concentration at 50% of ferrous metal ion chelating activity (MC_{50}) for ferrocene carboxaldehyde, FPA and FHA was 0.14 ± 0.008 , 0.61 ± 0.07 and 0.98 ± 0.01 mg/ml respectively. No activity of the parent compounds, (prednisolone and hydrocortisone), was observed, while the standard EDTA gave the MC_{50} of 0.03 ± 0.001 mg/ml. The FPA novel ferrocenic derivatives showed anti-cancer activity in HeLa cell line with a higher anti-cancer activity than their parent compounds, ferrocene carboxaldehyde and prednisolone of about 4.16 and 5.28 times. The FHA novel ferrocenic derivatives showed anti-cancer activity in HeLa cell line with higher anti-cancer activities than their parent compounds, ferrocene carboxaldehyde and hydrocortisone of about 3.25 and 5.13 times respectively. The concentration exhibiting 50% of anti-proliferation activity (GI_{50}) of FPA and FHA were 0.672 ± 0.073 and 0.862 ± 0.032 $\mu\text{g/ml}$, which were 2.69 and 3.45 times of doxorubicin respectively. Their parent compounds, ferrocene carboxaldehyde, prednisolone and hydrocortisone gave the GI_{50} values of 2.799 ± 0.164 , 3.550 ± 0.247 and 4.421 ± 0.297 $\mu\text{g/ml}$, while the standard doxorubicin gave the GI_{50} value of 0.250 ± 0.017 $\mu\text{g/ml}$. The results from this study can be used to further investigate for a novel anti-inflammatory and anti-cancer drug. The FPA and FHA derivative did not show the inhibition zone of antibacterial activity.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาการผลิตอนุพันธ์เฟอร์โรซีนิก ของตัวยากลูโคคอร์ติคอยด์สเตียรอยด์เพื่อใช้ทางยา	
ผู้เขียน	นางสาว กาญจนา เรือนโต	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศ. ดร. จีระเดช มโนสร้อย	ประธานกรรมการ
	รศ. ดร. อรัญญา มโนสร้อย	กรรมการ
	ศ. ดร. แจ็ค โบรคาร์ด	กรรมการ

บทคัดย่อ

การสังเคราะห์ ferrocenic glucocorticoids จากสารตั้งต้นยาในกลุ่ม glucocorticoids (ซึ่งได้แก่ hydrocortisone และ prednisolone) และ ferrocene carboxaldehyde โดยได้ศึกษาวิธีการสังเคราะห์ด้วย 3 ปฏิกิริยา คือ ปฏิกิริยา mannich, esterification และ aldol condensation และได้เลือกปฏิกิริยา aldol condensation มาใช้ในการสังเคราะห์ ferrocenic glucocorticoids จากสารตั้งต้น prednisolone และ hydrocortisone โดยได้สารสังเคราะห์อนุพันธ์ใหม่คือ 16-ferrocenic-11 β -hydroxyandrost-1,4-diene-3,17-dione (FPA) และ 16-ferrocenic-11 β -hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione (FHA) ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสองตัวนี้ด้วยเทคนิค ESI-MS, ^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT, H-H COSY, C-H COSY และ HMBC จากการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธีเหนี่ยวนำให้อู้งเท้าหนูเกิดการบวมด้วย carrageenan พบว่าในชั่วโมงที่ 1, 2 และ 3 อนุพันธ์ FPA มี % ด้านการอักเสบ เท่ากับ 80.99 ± 13.0 , 22.54 ± 3.1 และ 17.83 ± 3.1 % ในขณะที่สารตั้งต้น prednisolone มี % ด้านการอักเสบ 82.52 ± 9.2 , 52.24 ± 9.8 และ 48.21 ± 9.1 % ตามลำดับ ส่วนอนุพันธ์ FHA มี % ด้านการอักเสบเท่ากับ 68.24 ± 10.0 , 15.53 ± 1.7 and 14.41 ± 4.3 % ในขณะที่ hydrocortisone มีค่า % ด้านการอักเสบเท่ากับ 63.59 ± 6.8 , 52.46 ± 7.4 and 35.58 ± 1.5 % ตามลำดับ สำหรับการศึกษากุทธิ์

ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH จากการเปรียบเทียบความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 50 % (SC_{50}) พบว่า ferrocene carboxaldehyde, FPA และ FHA มีค่า SC_{50} เท่ากับ 0.12 ± 0.01 , 0.76 ± 0.03 และ 0.95 ± 0.06 mg/ml ตามลำดับ แต่สารตั้งต้น prednisone และ hydrocortisone ไม่มีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันดังกล่าว ในขณะที่สารมาตรฐาน vitamin C, vitamin E และ BHT มีค่า SC_{50} เท่ากับ 0.021 ± 0.002 , 0.030 ± 0.001 และ 0.037 ± 0.004 mg/ml ตามลำดับ สำหรับการศึกษากิจกรรม ferrous metal ion chelating ของ ferrocene carboxaldehyde, FPA และ FHA พบว่ามีความเข้มข้นของสารที่ยับยั้ง metal ion chelating 50% (MC_{50}) มีค่าเท่ากับ 0.14 ± 0.008 , 0.61 ± 0.07 และ 0.98 ± 0.01 mg/ml ตามลำดับ ในขณะที่สารตั้งต้น prednisolone และ hydrocortisone ไม่มีฤทธิ์นี้ โดยสารมาตรฐาน EDTA มีค่า MC_{50} เท่ากับ 0.03 ± 0.001 mg/ml สำหรับการศึกษากิจกรรมต้านมะเร็งในเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa cell line) พบว่าอนุพันธ์ FPA มีฤทธิ์ต้านมะเร็งมากกว่า ferrocene carboxaldehyde และ สารตั้งต้น prednisolone 4.16 และ 5.28 เท่า อนุพันธ์ FHA มีฤทธิ์ต้านมะเร็งมากกว่า ferrocene carboxaldehyde และ สารตั้งต้น hydrocortisone 3.25 และ 5.13 เท่า โดย FPA และ FHA มีค่า GI_{50} เท่ากับ 0.672 ± 0.073 และ 0.862 ± 0.032 μ g/ml ตามลำดับ โดยมีฤทธิ์ต้านมะเร็งน้อยกว่า สารมาตรฐาน doxorubicin 2.69 และ 3.45 เท่า ในขณะที่ ferrocene carboxaldehyde, prednisolone และ hydrocortisone มีค่า GI_{50} เท่ากับ 2.799 ± 0.164 , 3.550 ± 0.247 และ 4.421 ± 0.297 μ g/ml ในขณะที่สารมาตรฐาน doxorubicin มีค่า GI_{50} เท่ากับ 0.250 ± 0.017 μ g/ml จากผลการศึกษานี้สามารถพัฒนาตัวยาใหม่ที่พัฒนาได้สำหรับการรักษาโรค โดยมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านมะเร็งต่อไป