

### บทที่ 3

#### สรุปและวิจารณ์การทดลอง

เมื่อนำดอกประยงค์แห้งสกัดด้วย hexane และ methyl alcohol ตามลำดับ จากส่วนที่สกัดด้วย hexane แยกสารได้ 4 ชนิด ได้แก่สาร mp.  $45^{\circ}$ , mp.  $80-81^{\circ}$ , mp.  $135-137^{\circ}$  และน้ำมัน (ยังไม่บริสุทธิ์) และจากส่วนที่สกัดด้วย methyl alcohol แยกได้สาร mp.  $236-238^{\circ}$  โดยหลักฐานทาง spectroscopy และปฏิกิริยาเคมีบางปฏิกิริยา ทำให้เสนอสูตรโมเลกุลและสูตรโครงสร้างของสารต่าง ๆ ได้ดังนี้

1. สาร mp.  $45^{\circ}$  IR spectrum ของสารนี้เหมือนกับ IR spectrum ของ Nujol และ  $^1\text{H}$  NMR spectrum แสดงสัญญาณของ proton ชนิดที่เป็น aliphatic hydrocarbon เพียงอย่างเดียว น้ำหนักโมเลกุลของสารนี้จาก MS ได้เท่ากับ 464 ซึ่งตรงกับสูตรโมเลกุล  $\text{C}_{33}\text{H}_{68}$  จากหลักฐานดังกล่าวแสดงว่าสาร mp.  $45^{\circ}$  คือ tritriacontane<sup>6</sup> ซึ่งมีสูตรโครงสร้างเป็น  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{31}-\text{CH}_3$
2. สาร mp.  $80-81^{\circ}$  IR spectrum ของสารนี้แสดงลักษณะคล้ายกับ IR spectrum ของสารประกอบพวก alkyl alcohol ทั่ว ๆ ไป ซึ่ง  $^1\text{H}$  NMR spectrum ยืนยันว่าสารประกอบนี้มีแต่ proton ของหมู่ alkyl และ proton ที่เกาะกับ carbon ที่มีหมู่ OH ต่ออยู่ด้วย น้ำหนักโมเลกุลของสารนี้หาจาก MS ได้เท่ากับ 382 ซึ่งตรงกับสูตรโมเลกุล  $\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{O}$  จากการเปรียบเทียบ mp., IR spectrum และ  $^1\text{H}$  NMR spectrum ของสารนี้กับข้อมูลดังกล่าวของสารที่มีอยู่ใน literature<sup>6,7,8</sup> พบว่าสาร mp.  $80-81^{\circ}$  เหมือนกันทุกประการกับ ceryl alcohol ซึ่งมีสูตรโครงสร้างเป็น  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{24}-\text{CH}_2-\text{OH}$
3. สาร mp.  $135-137^{\circ}$  IR spectrum และ  $^1\text{H}$  NMR spectrum ของสารนี้และการทดสอบด้วย Liebermann Burchard reagent ชี้ให้เห็นว่าสารนี้เป็นพวก steroid หรือพวกที่มีโครงสร้างแบบ triterpenoid เมื่อนำสารนี้ไปทำปฏิกิริยา acetylation ด้วย  $\text{Ac}_2\text{O}$ -pyridine ได้ออนุพันธ์ acetate ที่มี mp.  $127-128^{\circ}$  เมื่อเปรียบเทียบ spectral data, mp.,

และทำ mixed mp. ระหว่างอนุพันธ์ acetate ของสารที่แยกได้กับ acetate ที่เตรียมจาก authentic  $\beta$ -sitosterol พบว่าสมบัติดังกล่าวเหมือนกันทุกประการ ดังนั้นจึงเชื่อได้ว่าสาร mp. 135-137 $^{\circ}$  ที่แยกได้นั้นคือ  $\beta$ -sitosterol

4. น้ำมัน IR spectrum และ  $^1\text{H}$  NMR spectrum ของสารชี้ให้เห็นว่าสารน้ำมันนี้เป็นพวก ester ที่มีหมู่ phenyl อยู่ด้วย แต่เนื่องจากสารที่แยกได้นี้ยังไม่บริสุทธิ์พอและมีปริมาณน้อย จึงไม่เพียงพอสำหรับการวิเคราะห์หาโครงสร้างต่อไปได้

5. สาร mp. 236-238 $^{\circ}$  IR absorption peak ที่สำคัญของสารนี้แสดงถึงหมู่ -OH และหมู่ C=O ของพวก tertiary amide จากการวิเคราะห์ธาตุและ MS ชี้ให้เห็นว่าสารนี้มีสูตรโมเลกุลเป็น  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_3$  ซึ่งจะเห็นว่ามีอัตราส่วนของ H น้อยกว่าพวก saturated compound ทั่ว ๆ ไป ดังนั้นสารนี้ควรเป็นพวก unsaturated หรือพวก cyclic compound แต่ทั้งใน IR spectrum และ  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum ไม่แสดงสัญญาณของ unsaturated carbon เลย จึงทำให้เชื่อว่าสารนี้น่าจะเป็น พวก cyclic amide ที่มีหมู่ -OH อยู่ด้วย นอกจากนี้จาก IR spectrum ยังสามารถบอกได้ว่าควรเป็นพวก  $\delta$ -lactam ไม่ใช่  $\gamma$ -lactam (มี strong absorption ที่  $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$  ที่เป็นลักษณะของ cyclic amide ชนิด six-membered ring

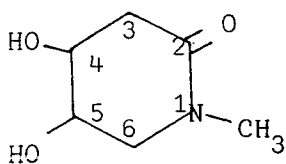
เมื่อพิจารณา  $^{13}\text{C}$  proton noise decoupled spectrum ที่ 22.5 MHz พบว่ามีสัญญาณเพียง 6 สัญญาณซึ่งเท่ากับจำนวน carbon ที่ได้จากสูตรโมเลกุลของสารนี้นั่นเอง และจากการวิเคราะห์ค่า chemical shift ของ C ( $\delta\text{C}$ ) ต่าง ๆ รวมทั้งพิจารณา  $^{13}\text{C}$  proton off-resonance decoupled spectrum ควบคู่กันไปด้วย สิ่งพอที่จะบอกได้ว่ามี C ชนิดใดอยู่บ้างในโมเลกุลของสารตัวนี้ ซึ่งชนิดต่าง ๆ ของ C ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

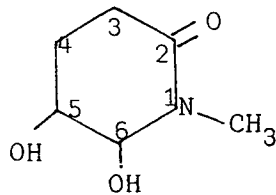
ตารางที่ 3 การคาดคะเนชนิดของ C โดยวิเคราะห์หลัก  $\delta_C$  ใน  $^{13}C$  proton noise decoupled spectrum และ splitting pattern ใน  $^{13}C$  proton off-resonance decoupled spectrum

(ppm)	splitting pattern	ชนิดของ C
40.8	t	$-\underline{C}H_2-C(=O)-$
45.7	q	$-N-\underline{C}H_3$
65.2	t	$-\underline{C}H_2-N-$
72.0	d	$-\underline{C}H-OH$
72.6	d	$-\underline{C}H-OH$
175.3	s	$-\underline{C}(=O)-N$

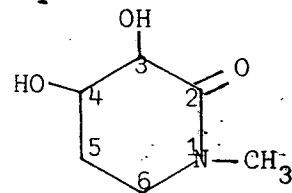
สูตรโครงสร้างที่เป็นไปได้ของสาร mp. 236-238° นี้มีอยู่ด้วยกัน 6 โครงสร้าง ที่เป็น  $\delta$ -lactam ดังแสดงไว้ข้างล่างนี้



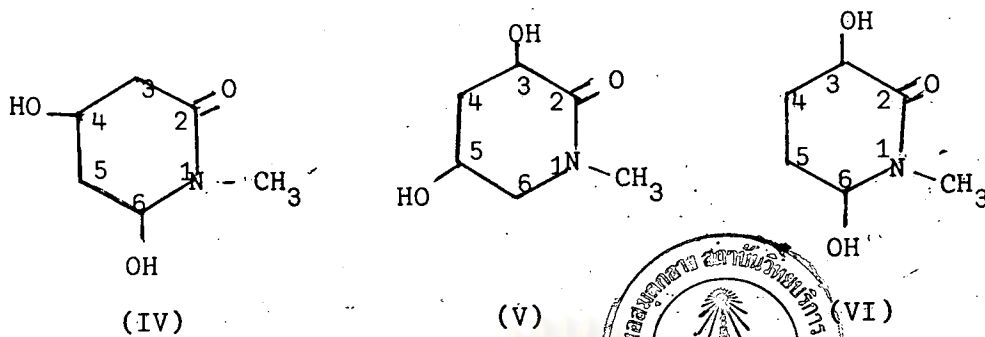
(I)



(II)



(III)



หลักฐานทาง spectroscopy ที่เป็นประโยชน์ในการวิเคราะห์มากที่สุดคือ  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum

ซึ่งในกรณีนี้ค่า  $\delta_{\text{C}}$  เป็นสิ่งที่ใช้บอกความแตกต่างได้ว่า mp. 236-238 $^{\circ}$  นี้จะมีโครงสร้างใดใน 6 แบบข้างต้นนี้ การคำนวณ  $\delta_{\text{C}}$  ของสูตรต่าง ๆ สามารถทำได้โดยอาศัยวิธีของ Ben Shoulder<sup>9</sup> ซึ่งคำนวณได้โดยอาศัยสมการ (1)

$$\delta_{^{13}\text{C}} = \sum_j A_j n_{ij} \quad (1)$$

$A_j$  เป็นค่าของ shift parameter โดยประมาณ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4 และ  $n_{ij}$  เป็นจำนวนของ shift parameter ที่มีอยู่

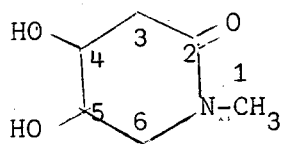
ตารางที่ 4 ค่า shift parameter สำหรับการคำนวณค่า  $\delta_{^{13}\text{C}}$

Shift parameter $A_j$ ( $\Delta\delta$ )	
$\alpha$ - carbon (or substituent)	+ 7.5 ppm.
$\beta$ - carbon (or substituent)	+ 7.5 ppm.
$\alpha$ - nitrogen	+ 22.5 ppm.
$\alpha$ - oxygen	+ 37.5 ppm.
$\alpha$ - carbonyl	+ 19.5 ppm.

หมายเหตุ ถ้ามี polyhydroxy - 10 ppm.

ring strain - 2 ppm.

ตัวอย่างการคำนวณ  $\delta_C$  ของสูตรโครงสร้าง (1)



$$C_1: 1\alpha + 7.5$$

$$2\beta + 15.0$$

$$\alpha N + 22.5$$

$$\hline \sum_i A_{ij} n_{ij} + 45.0$$

$$\delta_{C_1} = + 45.0 \quad \text{ppm.}$$

$$\begin{aligned} \delta_{C_3} &= \alpha + \alpha \text{ carbonyl} + 2\beta - \text{ring strain} \\ &= 7.5 + 19.5 + 15.0 - 2 = 40 \quad \text{ppm.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \delta_{C_4} &= 3\alpha + 3\beta + \alpha \text{-oxygen} - \text{polyhydroxy} \\ &= 22.5 + 22.5 + 37.5 - 10 = 72.5 \quad \text{ppm.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \delta_{C_5} &= 3\alpha + 3\beta + \alpha \text{-oxygen} - \text{polyhydroxy} \\ &= 22.5 + 22.5 + 37.5 - 10 = 72.5 \quad \text{ppm.} \end{aligned}$$

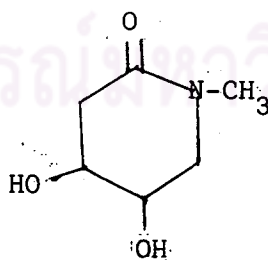
$$\begin{aligned} \delta_{C_6} &= 2\alpha + 4\beta + \alpha \text{-Nitrogen} - 2 \\ &= 15 + 30 + 22.5 - 2 = 65.5 \quad \text{ppm.} \end{aligned}$$

เมื่อเปรียบเทียบค่า  $\delta_C$  ต่าง ๆ ที่คำนวณได้จากแต่ละโครงสร้างกับค่าที่ได้จากการทดลอง พบว่าค่าของ  $\delta_C$  ต่าง ๆ จากสูตรโครงสร้าง (I) มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่วัดได้จริงมากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 5

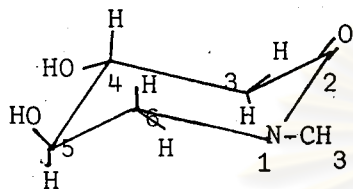
ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบค่า  $\delta_C$  ของสูตรโครงสร้าง (I) ถึง (VI) กับค่าที่วัดได้จากการทดลอง

สูตรโครงสร้าง	$\delta_C$ (ppm)				
	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	N-CH <sub>3</sub>
(I)	40.0	72.5	72.5	65.5	45.0
(II)	32.5	32.5	72.5	95.0	45.0
(III)	69.5	72.5	35.5	58.0	45.0
(IV)	40.5	65.0	43.0	95.0	45.0
(V)	69.5	43.0	65.0	65.5	45.0
(VI)	69.5	35.5	35.5	95.0	45.0
ค่าที่วัดได้จากการทดลอง	40.8	72.0	72.6	65.2	45.7

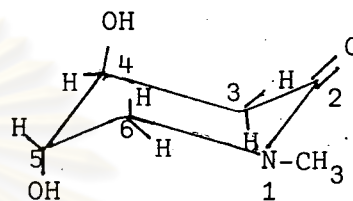
ดังนั้นสูตรโครงสร้างของสาร mp. 236-238° น่าจะมีสูตรโครงสร้างตามแบบที่ I มากกว่าสูตรโครงสร้างแบบอื่นๆ



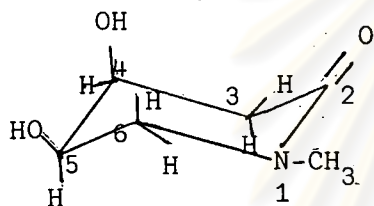
เมื่อพิจารณาโครงสร้าง (I) จะเห็นได้ว่าในโมเลกุลสารนี้มี asymmetric center อย่างน้อยที่ C<sub>4</sub> และ C<sub>5</sub> ดังนั้นจำนวน stereoisomer ที่เป็นไปได้จึงมีอย่างน้อยเท่ากับ 4 stereoisomers (พิจารณาเฉพาะ form ที่มี -CH<sub>3</sub> ที่ N อยู่ในตำแหน่ง equatorial) ดังแสดงในรูปแบบ chair conformation ทั้ง 4 รูป (VII ถึง X)



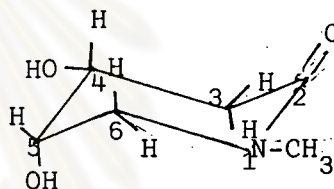
(VII)



(VIII)

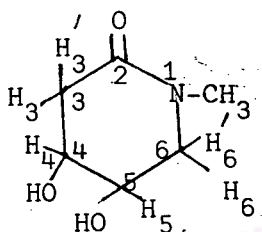


(IX)

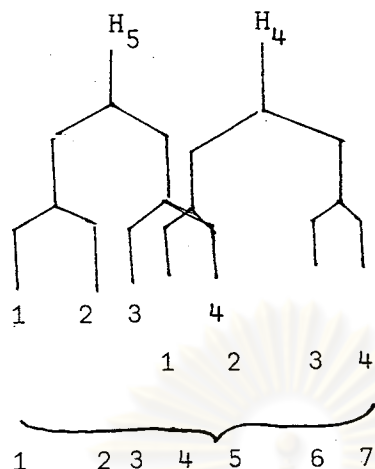


(X)

ข้อมูลที่ได้จาก <sup>1</sup>H NMR spectrum สัมกับสูตร (I) ด้วยเหตุผลดังต่อไปนี้



ที่  $\delta$  1.8-2.5 (m, 2H) เป็นสัญญาณของ H<sub>3</sub> กับ H<sub>3</sub> ซึ่ง coupling กับ H<sub>4</sub> แบบ ABX system, ที่  $\delta$  3.0 (s, 4H) เป็นสัญญาณที่เกิดจาก proton 3 ตัวของ CH<sub>3</sub>-N- กับ proton อีก 1 ตัว คือ H<sub>6</sub> หรือ H<sub>6</sub>' ซึ่งสัญญาณไปซ้อนกันในฐานะของสัญญาณ singlet นี้, ที่  $\delta$  3.1 (b, 1H) เป็นสัญญาณของ H<sub>6</sub> (หรือ H<sub>6</sub>') ที่ coupling กับ H<sub>5</sub> และ H<sub>6</sub> (หรือ H<sub>6</sub>') แบบ ABX system, ที่  $\delta$  3.9 (q, 1H) เป็นสัญญาณของ H<sub>4</sub> ที่ coupling กับ H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub> และ H<sub>3</sub> แบบ ABXY system และที่  $\delta$  4.1 (q, 1H) เป็นสัญญาณของ H<sub>5</sub> ที่ coupling กับ H<sub>4</sub>, H<sub>6</sub> และ H<sub>6</sub>' แบบ ABXY system เหตุผลที่ H<sub>5</sub> ให้สัญญาณที่  $\delta$  downfield กว่า H<sub>4</sub> เนื่องจาก deshielding effect และการที่ splitting pattern ของสัญญาณ H<sub>4</sub> และ H<sub>5</sub> มีเพียง 7 peak ก็เพราะว่า peak ที่ 2 ของ H<sub>4</sub> ซ้อนกับ peak ที่ 4 ของ H<sub>5</sub> จึงเห็นเป็น 7 peak แทนที่จะเป็น 8 peak

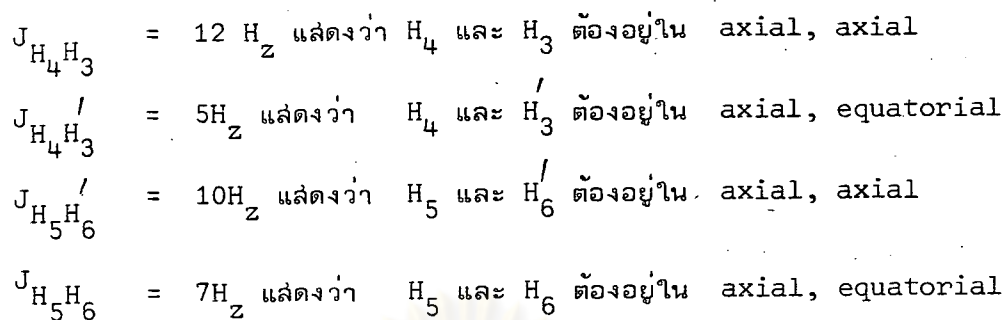


ค่า coupling constant ( $J$ ) และ splitting pattern ของสารประกอบนี้ สามารถใช้เป็นหลักฐานในการกำหนดว่า สารประกอบนี้จะเป็น stereoisomer ได้ การเปรียบเทียบค่า  $J_{HH}$  ที่วัดได้โดยตรงจาก spectrum กับค่า  $J_{HH}$  ของสารที่ประกอบด้วย six-membered ring<sup>10</sup> ทั่ว ๆ ไป แสดงไว้ในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบค่า  $J_{HH}$  ที่ได้จากการทดลองกับค่า  $J_{HH}$  ของสารประเภท six-membered ring

compound	Jaa	Jae	Jee
six-membered ring	8-13	2-6	0-1
สารสูตร (I)			
$J_{H_4H_3}$	12	-	-
$J_{H_4H_3} /$	-	5	-
$J_{H_5H_6}$	10	-	-
$J_{H_5H_6}$	-	7	-

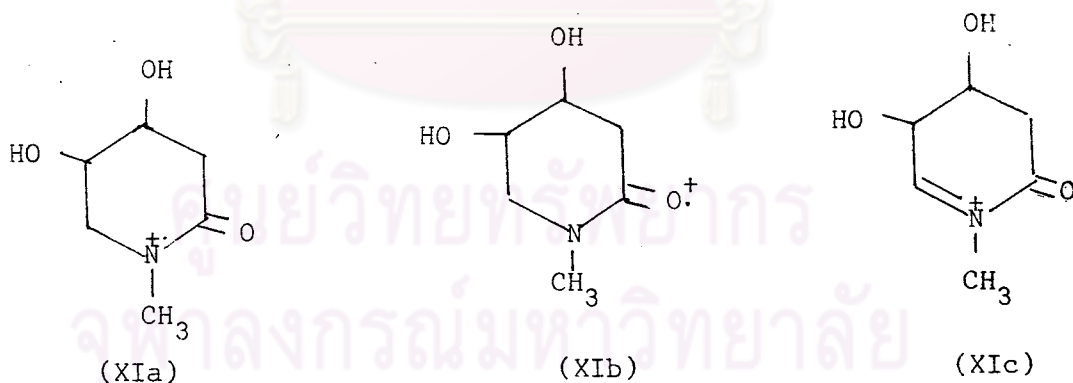




จากเหตุผลที่กล่าวมานี้แสดงว่า stereoisomer ของสาร mp. 236-238° น่าจะมี group ใหญ่ได้แก่ OH และ CH<sub>3</sub> อยู่ในตำแหน่ง equatorial ดังสูตร VII ซึ่งเป็นแบบที่เสถียรที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแบบอื่นที่กล่าวมาแล้ว

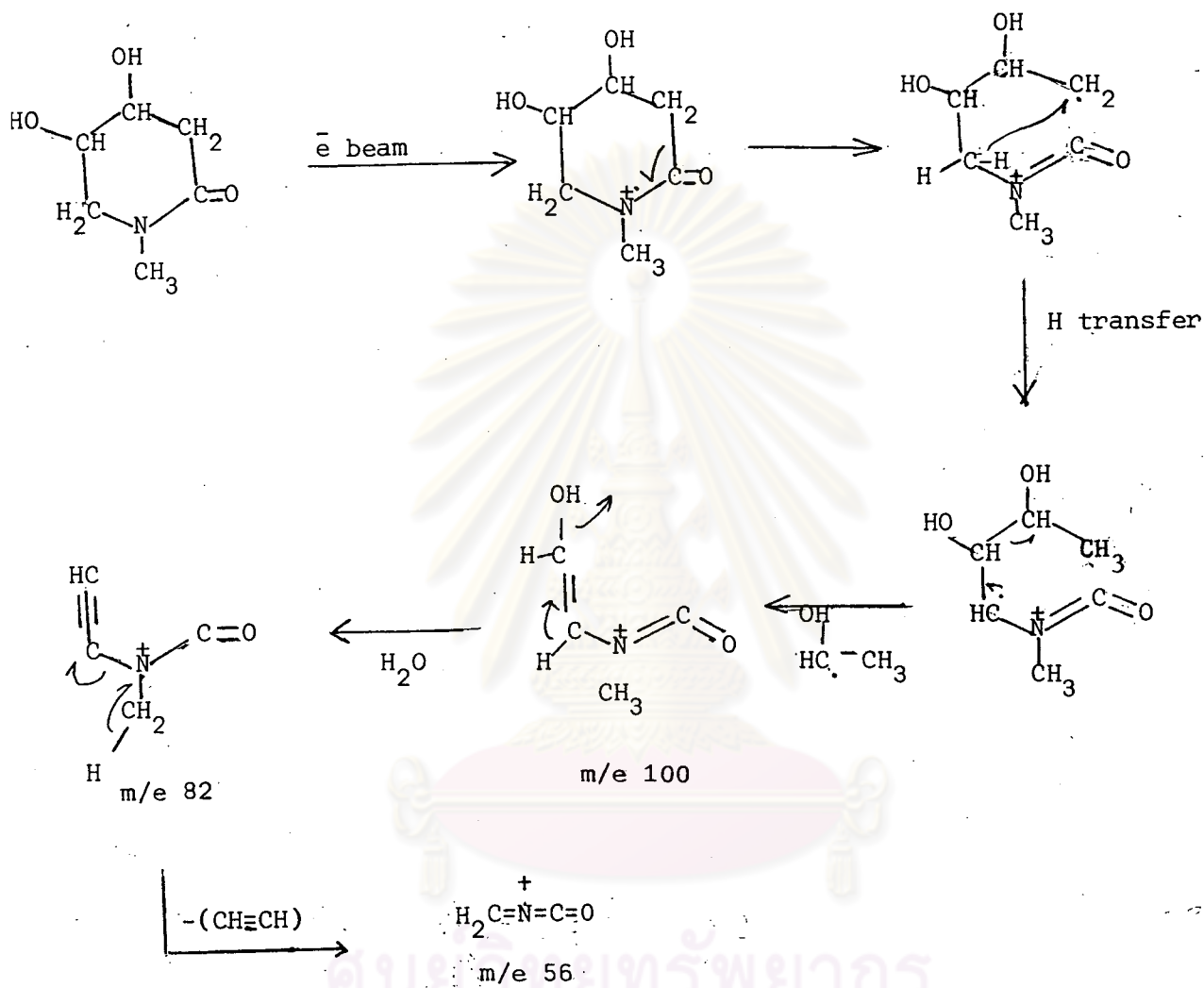
นอกจากนี้ MS spectrum ยังสนับสนุนสูตรโครงสร้างแบบที่ (I) ที่เสนอนี้ โดยมี peak ของ molecular ion ที่ m/e 145 ตรงตามสูตรโมเลกุล C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> การอธิบายการแตกออกเป็นส่วนตัวย่อย ๆ ของสารประกอบ δ-lactam ตัวที่สกัดได้นี้ ส่วนใหญ่ใช้ mechanism เสนอโดย Duffield, Budzikiewicz และ Djerassi<sup>11</sup>

MS ของสาร mp. 236-238° นี้แสดง fragment ของ molecular ion M<sup>+</sup> (โครงสร้าง XIa และ XIb), M-1 (โครงสร้าง XIc) และ M+1 ซึ่งเป็น isotope peak เกิดขึ้นด้วย



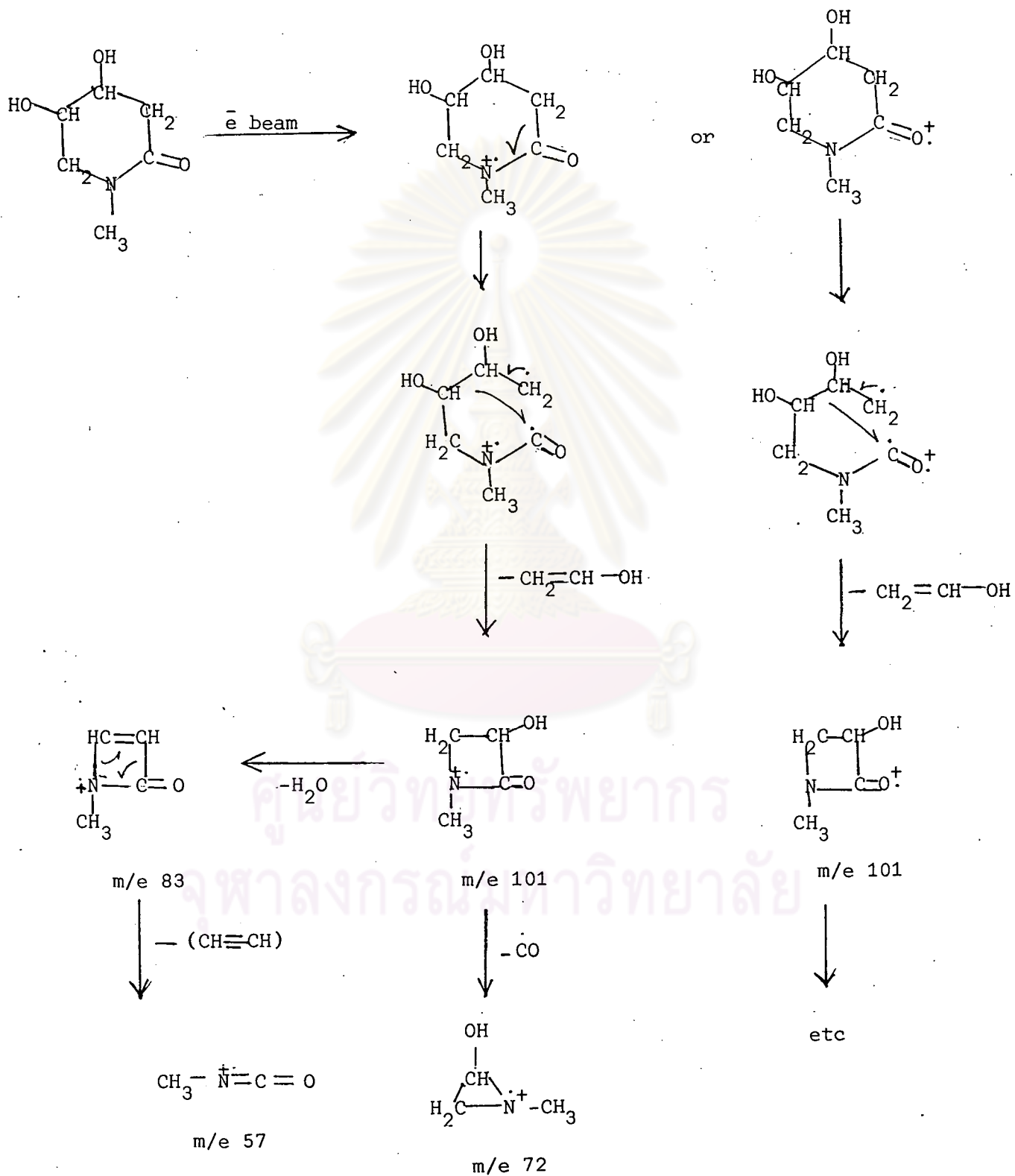
การเกิด (M-45) fragment (m/e 100) ซึ่งเป็น base peak สามารถอธิบายได้ตาม mechanism ที่แสดงไว้ใน scheme ที่ 2

Scheme ที่ 2 การแตกออกเป็น ion ที่ m/e 100, 82, 56.



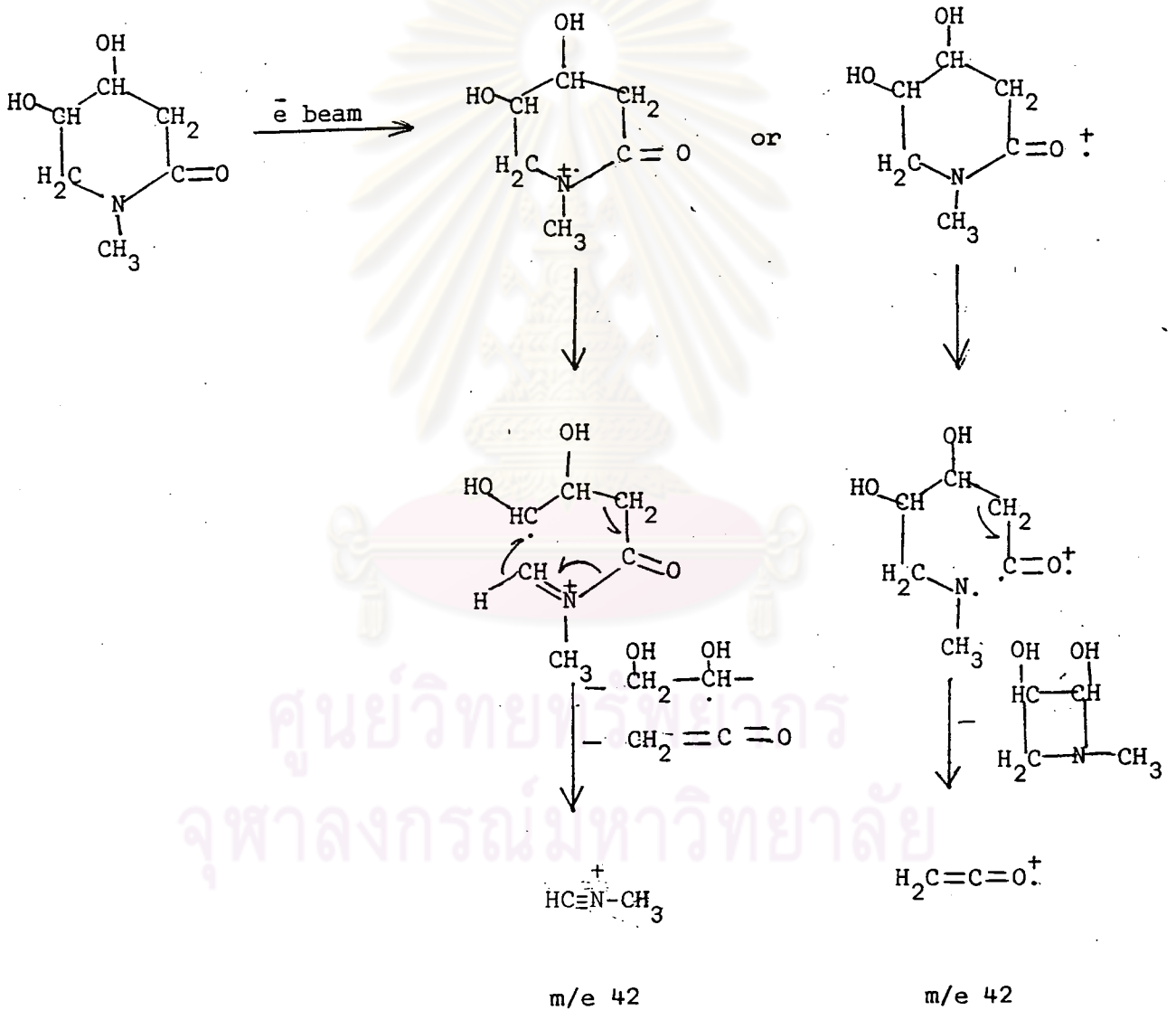
สิ่งที่น่าสังเกตใน MS ของสารประกอบตัวนี้ก็คือ การเกิด (M-44) fragment ที่ m/e 101) ใกล้กับ base peak ซึ่งก็สามารถอธิบาย mechanism ได้ดังแสดงไว้ใน Scheme ที่ 3

Scheme ที่ 3 การแตกออกเป็น ion ที่ m/e 101, 83, 72, 57.

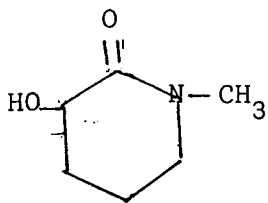


นอกจากนี้ fragment ที่  $m/e$  42 ซึ่งเป็น fragment ที่สำคัญอีก fragment หนึ่ง (มี 28% relative abundance ใน MS) mechanism ของการเกิด fragment นี้ได้อธิบายไว้ใน scheme ที่ 4

Scheme ที่ 4 การแตกออกเป็น ion ที่  $m/e$  42



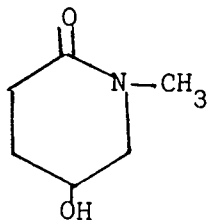
สารประเภทอนุพันธ์ hydroxyl ของ 1-methyl-2-piperidone ยังไม่เคยพบในต้น  
 ประยงค์หรืออาจจะยังไม่พบในธรรมชาติมาก่อน ส่วนใหญ่มีแต่รายงานการสังเคราะห์สารคล้าย ๆ  
 กันนี้ในห้องปฏิบัติการได้แก่



(XII)

3-hydroxy-1-methyl-2-piperidone สังเคราะห์มาจาก

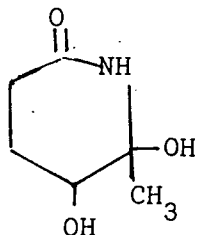
3-hydroxy-1-methyl-2-pyridinone<sup>12</sup>



(XIII)

5-hydroxy-1-methyl-2-piperidone สังเคราะห์มาจาก

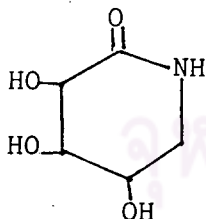
trans-3,4-didehydro-3,4-dideoxy-1,2:5,6-di-O-  
 isopropylidene-D-threo-hexitol<sup>13</sup>



(XIV)

6-methyl-5,6-dihydroxy-2-piperidone สังเคราะห์มาจาก

6-methyl-2-piperidone<sup>14</sup>



(XV)

D-ribo-3,4,5-trihydroxy-2-piperidone สังเคราะห์มาจาก

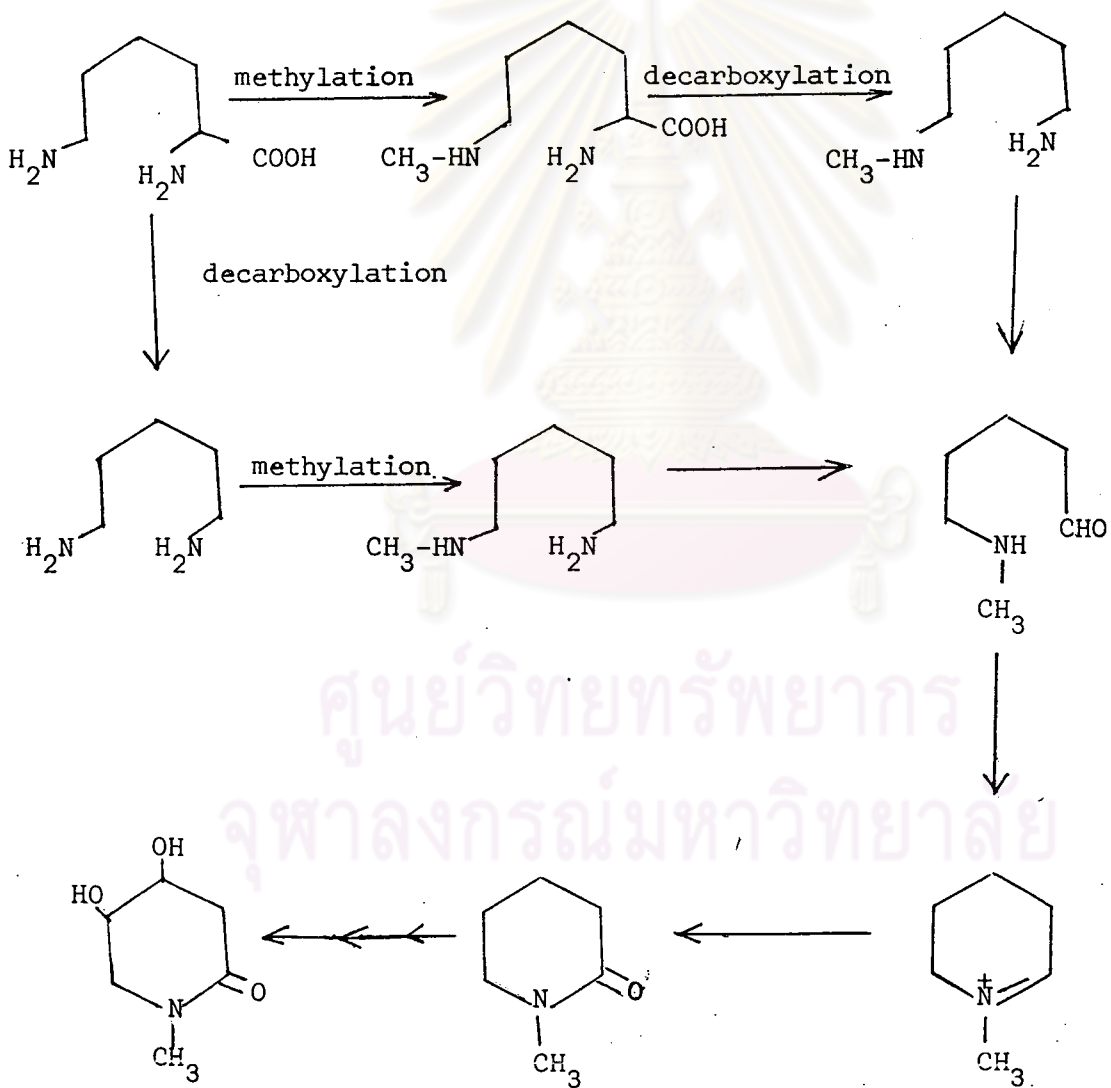
5-azido-2,3-O-benzilidene-5-deoxy-β-D-ribofuranose<sup>15</sup>

ดังนั้นสาร mp. 236-238° ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ 1-methyl-2-piperidone ที่สกัด  
 จากดอกประยงค์ด้วย methyl alcohol อาจจะเป็นอนุพันธ์ dihydroxy ของ 1-methyl-2-  
 piperidone ตัวแรกที่แยกได้จากธรรมชาติให้ชื่อของสารตามพันธุ์ไม้ว่า odoram เมื่อพิจารณาการ  
 สังเคราะห์ที่เกิดในธรรมชาตินี้เชื่อว่าสังเคราะห์มาจาก lysine<sup>16</sup> ซึ่งเปลี่ยนเป็น six-membered

17

ring nucleus (N-methyl piperinium ion) ขึ้นก่อนตั้ง scheme ที่ 5 แล้วเกิด oxidation เป็น piperidone และในที่สุดเกิด hydroxylation เป็น odoram

Scheme ที่ 5 การสังเคราะห์ทางธรรมชาติของ odoram



N-methyl piperinium ion:

เมื่อพิจารณาหลักฐานและเหตุผลต่าง ๆ ทำให้เชื่อว่าสาร mp. 236-238<sup>o</sup> ควรจะมี  
สูตรโครงสร้างเป็น (I) และมี configuration เป็นแบบ (VII) ซึ่ง configuration ที่  
C<sub>4</sub> และ C<sub>5</sub> เป็น R ทั้งคู่ เรียกชื่อว่า (-)-(4R : 5R)-4,5-dihydroxy-1-methyl-2-  
piperidone



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย