

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง



ส่วนที่ 1

จากผลการทดสอบหาอัลคาลอยด์จากส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่นราก ต้น ใบ เปลือก และดอก ในพันธุ์ไม้ที่จัดเป็นสมุนไพรชนิดที่หาซื้อได้ตามร้านขายยาไทย จำนวน 161 ชนิด ปรากฏว่ามีพืช 118 ชนิดไม่พบอัลคาลอยด์เลย อีก 43 ชนิดให้ positive test กับ alkaloid reagents ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ในพืช 43 ชนิดนี้อาจจำแนกตามปริมาณมากน้อยของอัลคาลอยด์ได้โดย 30 ชนิด มีอัลคาลอยด์เพียงเล็กน้อย 4 ชนิดมีปานกลาง และ 9 ชนิดมีมาก จากการทดสอบนี้พอสรุปว่า อัลคาลอยด์มักมีอยู่ตามคอก ผล ใบ เปลือก และต้นเรียงจากมากมาน้อย ในรากแทบไม่พบเลย (ยกเว้นในรากระยอมีเพียงเล็กน้อย) ส่วนของต้นที่พบอัลคาลอยด์ก็มักเป็นชนิดเถา พากแกนของต้นจะไม่พบเลย ส่วนการทดสอบหา triterpenoids หรือ steroids นั้น พบว่า ส่วนต่าง ๆ ของพืชส่วนใหญ่ให้สีกับ Conc. H₂SO₄ และ Libermann - Burchard test (6) ตั้งแต่สีเหลืองอ่อนจนเป็นสีม่วงเข้มแล้ว แต่ชนิดของพืช

ในการทดสอบ triterpenoids หรือ steroids นี้ ยังอาจนำมาใช้ทดสอบหา triterpene acid ได้อีกด้วย (6) โดยนำ ether extract มาทำให้เป็นคางควย 3 % NaOH เขย่าให้เข้ากันในกรวย แยกปล่อยให้ไวให้แยกชั้น คุปริมาณ precipitate ที่เกิดขึ้นเพราะเกลือโซเดียมของ triterpene acid จะไม่ถูกสกัดด้วยอีเทอร์ และบางชนิดละลายน้ำได้บ้าง เพื่อเป็นการยืนยันว่ามี triterpene acid ที่เกิดเป็นเกลือแล้วละลายน้ำได้บ้าง (6) โดยแยกเอาชั้นน้ำ มาทำให้เป็นกรก แล้วสกัดด้วยอีเทอร์ นำ ether extract มาทดสอบใหม่กับ Conc. H₂SO₄ และ Libermann - Burchard reagent ก็จะทำให้สีจาง จากผลการทดลองพบว่า ether extract จากพืชที่ทำให้เป็นคางควยแล้วให้ precipitate มี 60 ชนิด ไม่ให้ precipitate เลย 101 ชนิด และในพืช

60 ชนิด ที่ตรวจพบ triterpene acid นี้ มี triterpene acid ที่เกิด เป็นเกลือแล้วละลายน้ำได้บางส่วนมี 39 ชนิด

จากผลที่ทำการเกี่ยวกับอัลคาลอยด์พบว่า พืชต่าง ๆ ที่ให้ positive test กับ alkaloid reagents ประมาณ 1:4 ของพืชที่นำมาทดสอบ แต่ Webb (5) ได้ทดลองกับพืชใน Queensland พบมีอัลคาลอยด์ในอัตราส่วน 1:7 และ H.R. Arthur (6) ได้ทำกับพืชทางบอเนียวตะวันตกพบในอัตราส่วน 1:6 และผู้ทดลองคนเดียวกันนี้ได้ใช้พืช species เดียวกันกับ Webb ที่ตรวจพบ อัลคาลอยด์แต่เอาพืชจากบอเนียว ปรากฏว่า 7 ใน 10 species เท่านั้นที่ตรวจ พบอัลคาลอยด์ จะเห็นว่าอัลคาลอยด์ในพืชนั้นอาจมีหรือไม่มี ขึ้นอยู่กับ factor หลายประการด้วยกัน (6), (9) เช่นอายุของพืช คินฟ้าอากาศ และฤดูกาลเก็บพืชนั้น มาทดลอง สาเหตุที่ผู้เขียนตรวจพบอัลคาลอยด์ในพืชเมืองไทยมีอัตราส่วนสูงกว่า เพราะผู้เขียนมิได้แยกพืชเป็น species ฉะนั้นพืช species เดียวกันอาจเอาส่วน ต่าง ๆ มาทดสอบด้วย

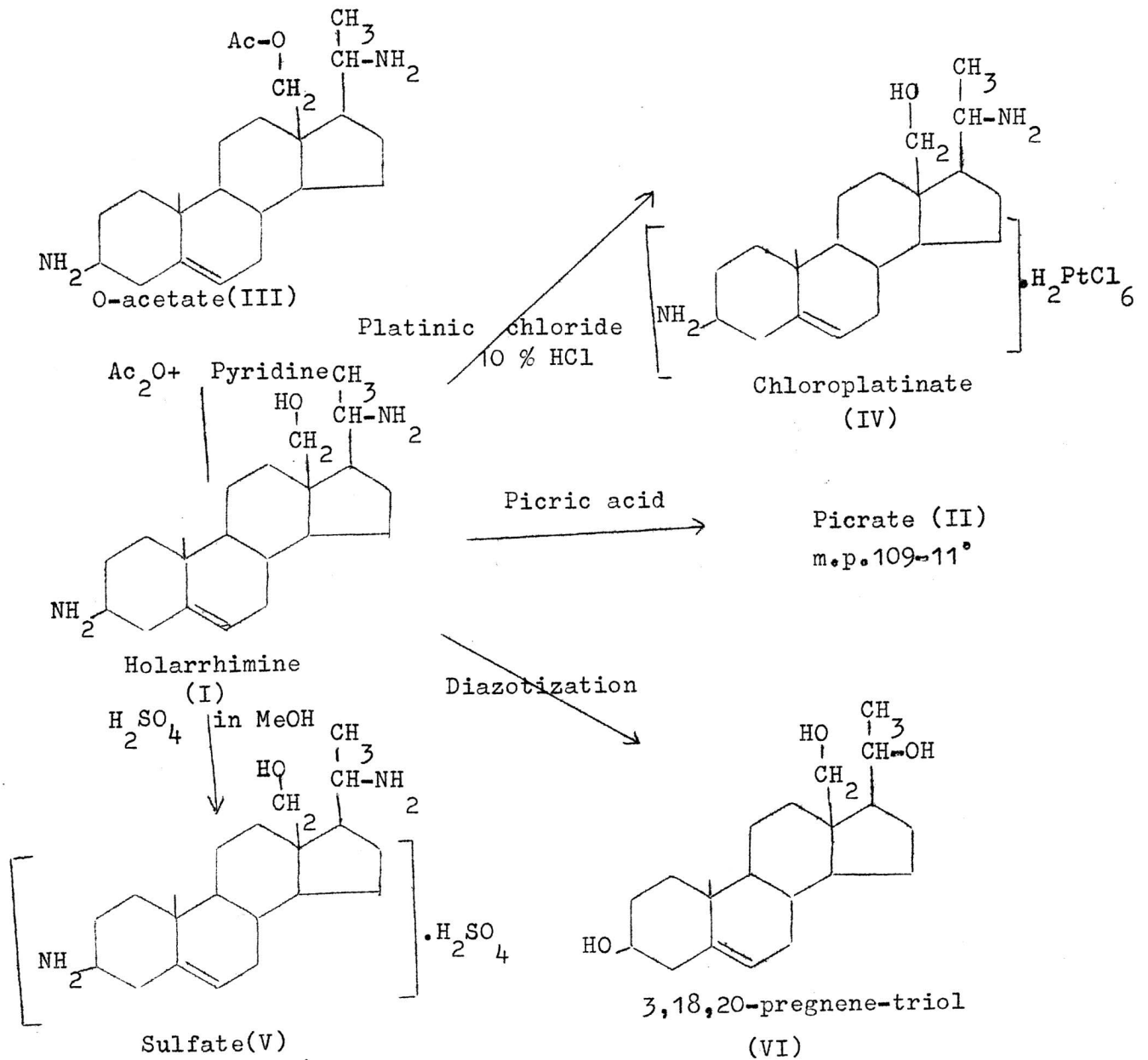
ส่วนที่ 2

อัลคาลอยด์ที่ได้จากการสกัดเปลือกโมกหลวงด้วยตัวทำละลายผสมของ $\text{Et}_2\text{O} : \text{EtOH} : \text{NH}_3$ ด้วยอัตราส่วน 8:1:0.5 โดยปริมาตร แล้วนำ crude alkaloids ที่สกัดได้มาแยกโดยการทำให้เกิดเป็นเกลือที่ละลายในตัว ทำละลายได้ต่างกัน และแยกโดย thin layer chromatography ในที่สุดได้ อัลคาลอยด์ 3 ชนิด และยังไม่ทราบว่าสารที่สกัดได้นั้นตัวใดเป็น active principle ของต้นไม้นชนิดนี้ ซึ่งจะต้องนำไปศึกษาต่อไป อย่างไรก็ตามอัลคาลอยด์ ที่สกัดได้ก็น่าสนใจที่จะนำมาใช้ศึกษาพอสมควร จึงได้ศึกษาคุณสมบัติของสารที่แยกออกมาดังต่อไปนี้

จากการแยก crude alkaloids โดย precipitate ส่วนหนึ่ง ออกด้วย 20% Na_2SO_4 solution กรอง alkaloid sulfate มาทำเป็น free base แล้วนำไป run column chromatography & fraction ที่

elute ด้วย MeOH จะได้อสารเป็นผลึกเป็นแท่ง สีขาว มีสูตร $C_{21}H_{36}ON_2$
 m.p. 183 - 4 (I) infra - red spectrum ของสารนี้แสดง broad
 absorption ที่ 3400 cm^{-1} (association of OH stretching vibration)
 3250 cm^{-1} (bonded - NH_2 stretching vibration of amine compound)
 $2960, 2920, 2860, 2780\text{ cm}^{-1}$ (CH_2 & CH_3 stretching vibration)
 1450 cm^{-1} (NH bending vibration) 1430 cm^{-1} (C - CH_3 asym. bending
 vibration) $1230, 1140\text{ cm}^{-1}$ (C - N stretching vibration) 1030 cm^{-1}
 (C - O stretching vibration of alcohol) และ $1650, 835, 797\text{ cm}^{-1}$
 (C = CH stretching vibration of $R_2C = CHR$)

Confirm ว่ามี -OH และ NH โดยทดสอบกับโลหะโซเดียมให้ก๊าซ
 ไฮโดรเจนใน dry benzene ละลายได้ในกรด แต่เมื่อทำให้เป็นคางจะได้
 ตะกอนกลับคืน ให้ตะกอน $Fe(OH)_3$ กับสารละลาย $FeCl_3$ แสดงว่าสาร
 นี้เป็น amine compound ให้สีส้มกับ Libermann - Burchard reaction พอก
 สี Br_2 in CCl_4 แต่ไม่ให้ก๊าซ HBr ทดสอบ unsaturated steroid (3)
 ปรากฏว่าให้สีเหลือง แสดงว่าสาร (I) เป็น unsaturated steroid alkaloid
 จาก derivatives ที่ได้ picrate m.p. 109-11° (II), O-acetate,
 $C_{23}H_{38}O_2N_2$ m.p. 174 - 5° (III), chloroplatinate, $C_{21}H_{36}ON_2 \cdot H_2PtCl_6$
 m.p. 300° (dec.) (IV), sulfate, $C_{21}H_{36}ON_2 \cdot H_2SO_4$ m.p. 336-7° (V),
 และการทำ diazotization ได้สารที่มี infra - red spectrum identical
 กับ 3, 18, 20 - pregnene - triol (25) m.p. 237 - 8° (VI)
 จากการทดลองเหล่านี้แสดงว่าสารนี้เป็น holarrhimine ดังนี้



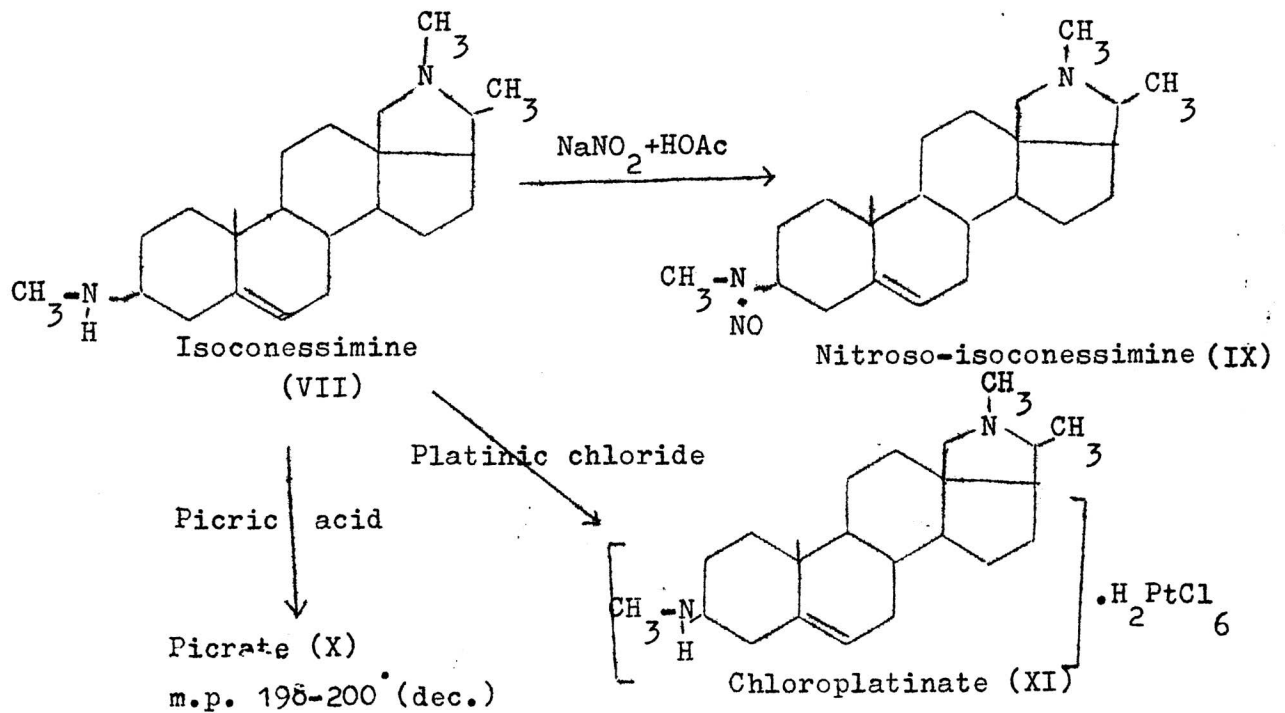
crude alkaloids ส่วนที่ละลายได้ใน petroleum ether
 นำมาผ่านกระดาษกรองคอปเปอร์ออกไซด์ที่ชื้นได้ alkaloid carbonate ละลาย
 alkaloid carbonate ด้วย 10 % HCl ตกผลึก alkaloid iodide ด้วย
 KI ทำเป็น free base แยกด้วย thin layer chromatography
 จะได้อัลคาลอยด์ 2 ชนิด มีสูตร $C_{23}H_{38}N_2$ m.p. 93 - 4° (VII) และ
 $C_{22}H_{36}N_2$ m.p. 133 - 4° (VIII)

อัลคาลอยด์ที่มีสูตร $C_{23}H_{38}N_2$ m.p. 93 - 4° (VII)
 infra - red spectrum ดังนี้ 3240 cm^{-1} (NH stretching vibration
 of 2^{xy} amine) $880, 845\text{ cm}^{-1}$ (NH out of plane bending) $1210,$
 1180 cm^{-1} (C-N stretching vibration of aliphatic amine) 2660 cm^{-1}
 (N-CH₃ stretching vibration) $2920, 2880, 2854\text{ cm}^{-1}$ (CH₂ and
 CH₃ stretching vibration) 1450 cm^{-1} (C-CH₃ asym. bending
 vibration) $2960, 1650, 796, 825\text{ cm}^{-1}$ (CH stretching vibration
 of R₂C=CHR) แสดงว่าสารนี้เป็น unsaturated amine

การตรวจคุณสมบัติทางเคมี กับโลหะโซเดียมใน dry benzene
 ในภาวะ H₂ ละลายได้ดีในกรดเมื่อทำเป็นค้างจะได้ตะกอนกลับคืน หากกับ
 acetyl chloride ได้ตะกอนขาว แต่เมื่อเติมน้ำตะกอนจะละลาย จาก
 spot test ปรากฏว่าสารนี้เป็น 2^{xy} amine จากการตรวจหา
 methylimino group ปรากฏว่ามี 2 N - CH₃ groups ฟอกสี Br₂ in CCl₄
 และ KMnO₄ ทดสอบ unsaturated steroid ให้สีเหลือง แสดงว่า
 สารนี้เป็น steroid alkaloid จากการตรวจสอบทาง Literature^{(4), (14), (21)}
 สารนี้อาจเป็น conessimine (C₂₃H₃₈N₂) หรือ isoconessimine (C₂₃H₃₈N₂)

confirm โดยการเตรียม derivatives ปรากฏผลดังนี้
 nitroso derivative, C₂₃H₃₇N₂·NO m.p. 163 - 4° (IX) picrate
 m.p. 198 - 200° (dec.) (X) chloroplatinate, C₂₃H₃₈N₂·H₂PtCl₆
 m.p. 283 - 5° (dec.) (XI)

จาก derivatives ที่ได้ แสดงว่าสารนี้เป็น
 isoconessimine^{(4), (14), (20), (21)}



อัลคาลอยดามีนสูตร $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{N}_2$ m.p. 133 - 4° (VIII)
 infra - red spectrum ดังนี้ $3320, 3240 \text{ cm}^{-1}$ (NH stretching
 vibration of 2^{ry} amine) 1500 cm^{-1} (NH bending vibration)
 2770 cm^{-1} (N - CH₃ stretching vibration) $890, 850 \text{ cm}^{-1}$
 (NH out of plane bending) $2920, 2850, 2820 \text{ cm}^{-1}$ (CH₂ and
 CH₃ stretching vibration) 1450 cm^{-1} (C - CH₃ asym. bending
 vibration) $2950, 800, 830$ (CH stretching vibration of C=CH)
 จาก infra - red spectrum ของสาร (VIII) เกือบจะ identical
 กับสาร (VII) แสดงว่าสารนี้ต้องมี structure คล้ายกันด้วย

จากสมบัติทางเคมี ละลายได้ดีในกรด เมื่อทำเป็นด่างจะได้ตะกอน
 กลับคืน ให้ตะกอน $\text{Fe}(\text{OH})_3$ กับสารละลาย FeCl_3 กับโลหะโซเดียม ให้
 ก๊าซ H_2 ใน dry benzene ฟอกสี Br_2 in CCl_4 แต่ไม่ไหม้

HBr ทดสอบ unsaturated steroid⁽³⁾ ให้สีเหลือง ทราจหา

methylimino group ปรากฏว่ามี 1 N-CH₃ group

derivatives ของสารนี้ เช่น picrate m.p. 140 - 1°

(XII) chloroplatinate, C₂₂H₃₆N₂·H₂PtCl₆ m.p. 295 - 7° (dec.)

(XIII) dinitroso compound, C₂₂H₃₄N₂·2NO m.p. 204 - 5° (XIV)

จาก derivatives ที่ได้แสดงว่าสารนี้เป็น

conimine^{(4), (9), (20), (21)}.

