บทที่ 3

วิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสารที่แยกได้จากรากประยงค์

3.1.1 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ก

สาร ก เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว หนัก 0.65 กรัม (1.7×10^{-2} % ของน้ำหนักรากแห้ง) มีจุดหลอมเหลว 135-137 °C R_f = 0.45 (เฮกเซน:ไดคลอโรมีเธน 1:1) ได้จากสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน ในลำดับส่วนที่ 17-19 และ 22 ของการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีครั้งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ ลำดับส่วนที่ 24-25 ของการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้อะลูมินาเป็นตัวดูดซับ และจากสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธนในลำดับส่วนที่ 13-14 ซึ่งถูกชะด้วย ไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (50:50) เหมือนกันทั้งหมด ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเฮกเซนหลาย ๆ ครั้ง จากการทดสอบด้วยปฏิกิริยา Liebermann-Burchard ให้สารละลายสีเขียว แสดงว่า สาร ก เป็นสารประเภทสเตอรอยด์ และฟอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ก เป็นสารไม่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 8) แสดงแถบการดูดกลืนแสงซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญ คือ 3600-3200 ซม.$^{-1}$ (O-H), 1060-1040 ซม.$^{-1}$ (C-O), 970 ซม.$^{-1}$, 960 ซม.$^{-1}$ (disubstituted vinyl) และ 840 ซม.$^{-1}$, 800 ซม.$^{-1}$ (trisubstituted vinyl) และได้รวบรวมแถบการดูดกลืนแสงไว้ในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ก

แถบการดูดกลืน ($ซม.^{-1}$)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3200	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยืดของ R-OH
2940-2860	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3, CH_2
1640	ต่ำ	C=C สั่นแบบยืดของแอลคีน
1465	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอ CH_3, CH_2
1380, 1370	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงออย่างสมมาตรของ CH_3
1060-1040	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืด และ O-H สั่นแบบงอ
970-960	ต่ำ	C-H สั่นแบบงอแบบนอกระนาบของ $R_1CH=CHR_2$
840, 800	ต่ำ	C-H สั่นแบบงอแบบนอกระนาบของ $R_1R_2C=CHR_3$

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ($CDCl_3$) ของสาร ก (รูปที่ 9) ปรากฏสัญญาณที่ 0.70-1.06 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณของหมู่เมธิลที่เกาะอยู่ที่ C-18 และ C-19 และหมู่เมธิลที่เกาะอยู่ที่ C-21, C-26, C-27 และ C-29 สัญญาณที่ 1.51-2.30 ppm เป็นสัญญาณของหมู่เมธิลีน ($-CH_2-$) และหมู่เมไธน์ (CH) ของสเตอรอยด์ สัญญาณที่ 3.46 ppm (m) แสดงถึงโปรตอนของหมู่ไฮดรอกซิล สัญญาณที่ 5.08 ppm (dd) แสดงถึง disubstituted vinyl proton (H-22 และ H-23) และสัญญาณที่ 5.32 ppm เป็นสัญญาณของ trisubstitued vinyl proton (H-6)

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ($CDCl_3$) (รูปที่ 10) ปรากฏสัญญาณที่ใกล้เคียงกับ ^{13}C NMR สเปกตรัม ของ β-sitosterol และ stigmasterol ดังแสดงในตารางที่ 3.2 [34]

ตารางที่ 3.2 ค่า chemical shifts ของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ ของβ-sitosterol, stigmasterol และ สาร ก

ตำแหน่งคาร์บอน	chemical shifts (ppm)		
	β-sitosterol	stigmasterol	สาร ก
1	37.1	37.4	37.25
2	31.8	31.7	31.64
3	71.9	71.8	71.78
4	42.4	42.4	42.29
5	140.9	140.0	140.76
6	121.8	121.7	121.68
7	32.0	31.9	31.90
8	32.0	31.9	31.90
9	50.3	50.3	50.13
10	36.6	36.6	36.49
11	21.1	21.1	21.07
12	39.9	39.8	39.77

(ต่อ)

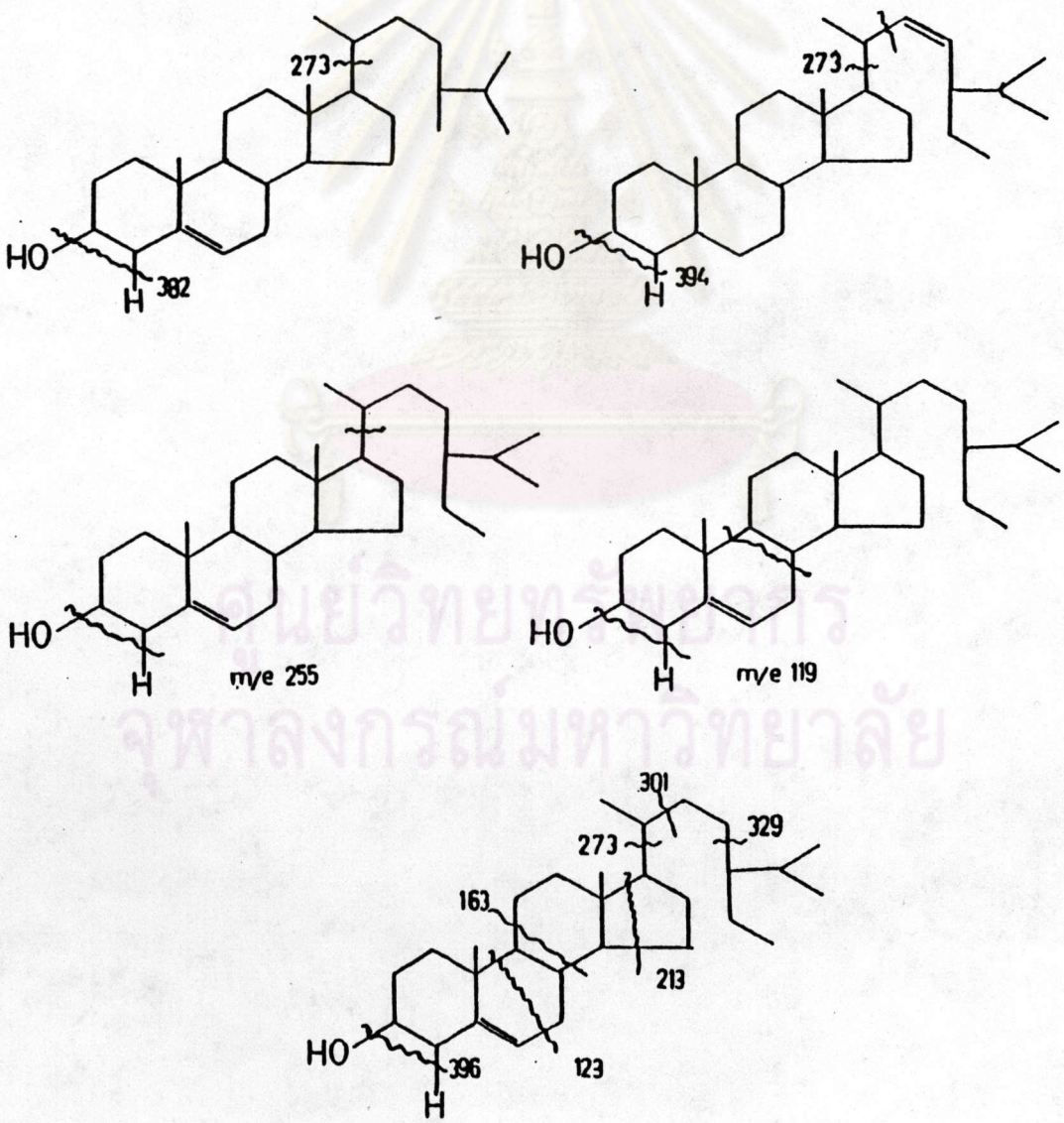
ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

ตำแหน่งคาร์บอน	chemical shifts (ppm)		
	β-sitosterol	stigmasterol	สาร ก
13	42.4	42.4	42.29
14	56.8	57.0	56.76
15	24.3	24.4	24.28
16	28.2	28.9	28.23,28.89
17	56.2	56.0	56.06
18	11.9	12.2	11.84,12.21
19	19.4	19.4	19.37
20	36.2	40.5	36.13,40.45
21	19.1	21.1	19.02,21.07
22	34.0	138.4	33.94,138.29
23	29.3	129.4	29.16,129.28
24	50.3	51.3	51.22
25	26.2	31.9	26.09,31.90
26	18.8	19.0	18.96
27	19.8	21.1	19.79,21.19
28	23.1	25.4	23.09,25.38
29	11.9	12.0	11.97,12.03

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

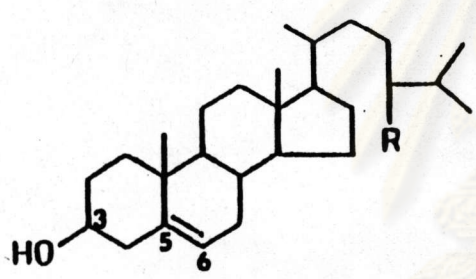
แมสสเปกตรัม (รูปที่ 11) แสดงพีคของไอออนเชิงโมเลกุลของ β-sitosterol ที่ m/e 414.0 และเป็นลักษณะเฉพาะในการแตกโมเลกุลของ C_{29} steroid อย่างไรก็ตามพีคที่สำคัญอีก 2 พีค คือ m/e 412.0 และ 400.0 ไม่ใช่ส่วนของ β-sitosterol แมสสเปกตรัมของสารนี้ชี้ให้เห็นว่าสารประกอบนี้เป็นของผสมสเตอรอยด์ที่พบในธรรมชาติ รูปแบบที่เป็นไปได้ในการแตกมวลของโมเลกุลของ สาร ก แสดงดังแผนภาพที่ 3.1 [35]

แผนภาพที่ 3.1 รูปแบบที่เป็นไปได้ในการแตกมวลของโมเลกุลของ สาร ก



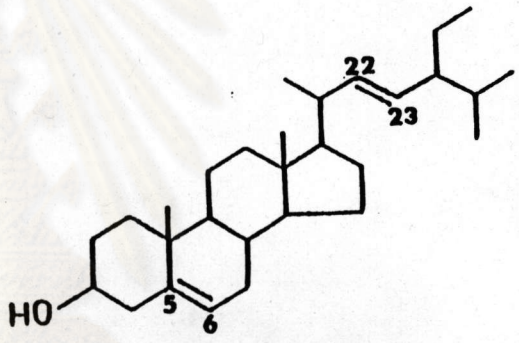
จากข้อมูลปฏิกิริยาเคมี และสเปกโทรสโกปี สาร ก มีลักษณะใกล้เคียงกับสารประเภทสเตอรอยด์ จึงทำการยืนยันสูตรโครงสร้างของ สาร ก ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานสเตอรอยด์ (รูปที่ 12) พบว่า สาร ก ให้ค่า retention time เท่ากับ 20.95, 22.10 และ 24.97 นาที ซึ่งตรงกับค่า retention time ของ campesterol, stigmasterol และ β-sitosterol ตามลำดับ

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นสรุปได้ว่า สาร ก เป็นของผสมสเตอรอยด์ที่ประกอบด้วย campesterol 5.9 %, stigmasterol 30.3 % และ β-sitosterol 63.8 % และมีสูตรดังนี้



R=Me, campesterol

R=Et, β-sitosterol



stigmasterol

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.2 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ข

สาร ข เป็นของแข็งอสัณฐานสีขาว หนัก 0.42 กรัม (1.0×10^{-2} % ของน้ำหนักรากแห้ง) จุดหลอมเหลว 260 °C (decomposed) ได้จากส่วนสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน ในลำดับส่วนที่ 31-37 และจากส่วนสกัดด้วยเอธิลอะซีเตต ในลำดับส่วนที่ 4-6 ของการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และถูกชะด้วยเมธานอล-ไดคลอโรมีเธน (5:95) ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเมธานอลหลาย ๆ ครั้ง R_f = 0.65 (เมธานอล-คลอโรฟอร์ม 5:95) ให้สารละลายสีเขียว กับ Liebermann-Burchard รีเอเจนต์ แสดงว่าเป็นสารประเภทสเตอรอยด์

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 13) แสดงแถบการดูดกลืนแสง ที่ 3410 ซม.$^{-1}$ ซึ่งเป็นลักษณะของหมู่ไฮดรอกซิลและแถบการดูดกลืนแสงที่ 1065-1020 ซม.$^{-1}$ ซึ่งเป็นลักษณะของ glycosidic linkage ข้อมูลการดูดกลืนแสงของสาร ข แสดงดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ข

แถบการดูดกลืน (ซม.$^{-1}$)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3200	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยืด
2940-2840	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3, CH_2
1640	ต่ำ	C=C สั่นแบบยืด
1460, 1380	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอ CH_3, CH_2
1160-1020	สูง	C-O สั่นแบบยืดของglycosidic linkage

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO) (รูปที่ 14) ให้สัญญาณโปรตอนที่ 0.68-2.20 ppm ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของโปรตอนที่เป็นสารประเภทสเตอรอยด์ สัญญาณที่ 5.36 ppm เกิดจาก olefinic proton สัญญาณที่ 3.73-4.79 ppm เกิดจากโปรตอนที่เป็นส่วนของน้ำตาล สัญญาณที่ 4.18 ppm เกิดจาก anomeric proton ซึ่งแสดงให้เห็นว่า มี glycosidic linkage

จากข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัม, โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และการทดสอบปฏิกิริยาเคมี แสดงว่า สาร ข จะประกอบด้วยส่วนที่เป็น สเตอรอยด์ต่ออยู่กับส่วนของน้ำตาลที่ตำแหน่ง C-3 ด้วย glycosidic linkage [36,37]

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DMSO)(รูปที่ 15) จะปรากฏสัญญาณของ olefinic carbon ที่ 140.25 ppm และ 121.19 ppm สัญญาณของคาร์บอนในโมเลกุลของน้ำตาลปรากฏที่ 100.86-61.22 ppm และสัญญาณที่ 56.21-11.57 ppm เกิดจากส่วนของสเตอรอยด์

จากข้อมูลสเปกโทรสโกปี สาร ข มีลักษณะใกล้เคียงกับสารประเภท steroid glycoside จึงยืนยันสูตรโครงสร้างของสาร ข โดยการไฮโดรไลซ์ ด้วย 5 % กรดไฮโดรคลอริกในเอธานอล แล้วนำไปสกัดต่อด้วยอีเธอร์ จะได้ aglycone (สาร 1ข) อยู่ในชั้นอีเธอร์ ส่วนน้ำตาลอยู่ในชั้นน้ำ นำสาร 1ข มาตกผลึกด้วยเมธานอลหลาย ๆ ครั้ง ได้ผลึกเป็นแผ่นสีขาวหนัก 0.038 กรัม มีจุดหลอมเหลว 135-137°C ละลายได้ดีใน ไดคลอโรมีเธน อีเธอร์ เอธานอล ให้สารละลายสีเขียวกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard และฟอกจางสี Br_2 ใน CCl_4

อินฟราเรดสเปกตรัม (KBr)(รูปที่ 17) พบการดูดกลืนที่สำคัญคือ 3600-3200 ซม.$^{-1}$ (O-H), 1060-1040 ซม.$^{-1}$ (C-O), 970 ซม.$^{-1}$, 960 ซม.$^{-1}$ (disubstituted vinyl) และ 840 ซม.$^{-1}$, 800 ซม.$^{-1}$ (trisubstituted vinyl) ดังแสดงในตารางที่ 3.4

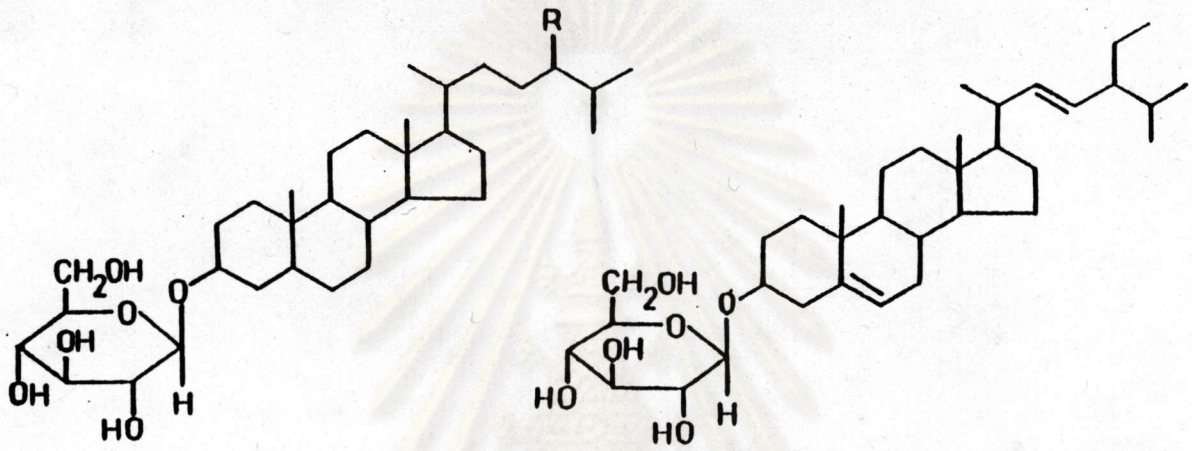
ตารางที่ 3.4 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร 1ข

แถบการดูดกลืน ($ซม.^{-1}$)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3200	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยืดของ R-OH
2940-2860	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3, CH_2
1640	ต่ำ	C=C สั่นแบบยืดของแอลคีน
1465	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอ CH_3, CH_2
1380, 1370	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงออย่างสมมาตรของ CH_3
1060-1040	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืด และ O-H สั่นแบบงอ
970-960	ต่ำ	C-H สั่นแบบงอแบบนอกระนาบของ $R_1CH=CHR_2$
840, 800	ต่ำ	C-H สั่นแบบงอแบบนอกระนาบของ $R_1R_2C=CHR_3$

จากข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัม มีลักษณะใกล้เคียงกับสารประเภทสเตอรอยด์ จึงทำการยืนยันสูตรโครงสร้างด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานสเตอรอยด์ (รูปที่ 18) ค่า retention time เท่ากับ 17.94, 18.87 และ 21.04 ซึ่งใกล้เคียงกับค่า retention time ของ campesterol, stigmasterol และ β-sitosterol

สำหรับชั้นน้ำนำมาวิเคราะห์ด้วยเปเปอร์โครมาโทกราฟี เทียบกับสารละลายมาตรฐานน้ำตาลพบว่า น้ำตาลที่พบคือ glucose

ผลการศึกษาปฏิกิริยาเคมี และ ข้อมูลสเปกโทรสโกปี เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแสดงว่า สาร ข คือ สารผสม steroid glycoside ที่ประกอบด้วย campesteryl-3-O-glucopyranoside , stigmasteryl-3-O-glucopyranoside และ β -sitosteryl-3-O-glucopyranoside และมีสูตรดังนี้



stigmasteryl-3-O-glucopyranoside

R=Me, campesteryl-3-O-glucopyranoside

R=Et, β -sitosteryl-3-O-glucopyranoside

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.3 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของสาร ค

สาร ค เป็นของแข็งอสัณฐานสีขาว หนัก 0.12 กรัม (0.3 $X10^{-2}$ % ของน้ำหนักรากแห้ง) จุดหลอมเหลว 74-75 °C R_f = 0.57 (คลอโรฟอร์ม)ได้จากการแยกสิ่งสกัดด้วยเฮกเซน ในลำดับส่วนที่ 17-18 ของการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟี ซึ่งชะด้วยไดคลอโรมีเธน-เฮกเซน (25:75) ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยไดคลอโรมีเธน-เมธานอลหลาย ๆ ครั้ง ทดสอบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard ได้ผลลบ ไม่ฟอกจางสี Br_2 ใน CCl_4 แสดงว่า สาร ค ไม่ใช่สารประเภท สเตอรอยด์ หรือ ไตรเทอร์พีนอยด์ และไม่เป็นสารประเภทไม่อิ่มตัว

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 20) แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญ คือ 3400-3200 ซม.$^{-1}$ ซึ่งเป็นลักษณะของหมู่ O-H, 1050 ซม.$^{-1}$ (C-O), 720 ซม.$^{-1}$, 710 ซม.$^{-1}$ [$(CH_2)_n$, n > 4] แถบการดูดกลืนแสดงในตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ค

แถบการดูดกลืน (ซม.$^{-1}$)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3400-3200	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยืดของ R-OH
2920, 2820	สูง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3, CH_2
1470, 1375	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอ CH_3, CH_2
1050	ปานกลาง	C-O สั่นแบบยืด และ O-H สั่นแบบงอ
720, 710	ปานกลาง	C-H สั่นแบบงอแบบโคลงของ $(CH_2)_n$, n > 4

โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม ($CDCl_3$)(รูปที่ 21) ปรากฏสัญญาณโปรตอนที่ 3.67 ppm เกิดจากโปรตอนที่ต่ออยู่กับออกซิเจน สัญญาณโปรตอนที่ 1.27 เกิดจากหมู่เมธิลีน และสัญญาณที่ 0.90 ppm (3H) เกิดจากหมู่เมธิล [38]

จากข้อมูลสเปกโทรสโกปี แสดงว่า สาร ค น่าจะเป็นสารประกอบแอลกอฮอล์โซ่ตรง จึงทำการยืนยันโครงสร้างของ สาร ค โดยแก๊สโครมาโทกราฟี เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์โซ่ตรง (รูปที่ 24) พบว่า สาร ค ให้ค่า retention time เท่ากับ 7.10, 9.37, 11.70, 15.80 และ 19.70 และจากการเปรียบเทียบค่า log retention time ของจำนวนคาร์บอนของสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์โซ่ตรง กับ สาร ค (รูปที่ 25)

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 23)ไม่ปรากฏพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M^+) แต่จะปรากฏพีคสำคัญที่เกิดจาก การสูญเสียน้ำ 1 โมเลกุลจากพีคของไอออนเชิงโมเลกุล (M^+-H_2O) [38] ที่ m/e 392, 378, 364, 350 และ 336 พีคที่เกิดจากการสูญเสียน้ำ 1 โมเลกุล และเอธิลีน 1 โมเลกุล ($M^+-[H_2O]-[CH_2=CH_2]$) [38,39] ที่ m/e 364, 350, 336, 322 และ 308 และพีคที่เป็นลักษณะเฉพาะของ long chain aliphatic primary alcohol ซึ่งเกิดจากการสูญเสียมวลไปครั้งละ 28 ($CH_2=CH_2$) [38] เช่น m/e 392 (M^+-H_2O), 364 ($M^+-H_2O-C_2H_4$), 336 ($364-C_2H_4$), 308 ($336-C_2H_4$), 280 ($308-C_2H_4$), 252 ($280-C_2H_4$), 224 ($252-C_2H_4$), 167 ($336-(CH_2)_{11}CH_3$), 97 ($167-C_5H_{10}$)

จากข้อมูลการศึกษาทางสเปกโทรสโกปี แก๊สโครมาโทกราฟี และ ปฏิกิริยาเคมีจึงสรุปว่า สาร ค เป็นของผสมแอลกอฮอล์โซ่ตรงที่ประกอบด้วย C_{24} - C_{28} และมีสูตรโมเลกุลดังนี้คือ

$C_{24}H_{49}OH$ (tetracosanol)	มีปริมาณ	8.9 %
$C_{25}H_{51}OH$ (pentacosanol)	มีปริมาณ	1.7 %
$C_{26}H_{53}OH$ (hexacosanol)	มีปริมาณ	35.5 %
$C_{27}H_{55}OH$ (heptacosanol)	มีปริมาณ	10.8 %
$C_{28}H_{57}OH$ (octacosanol)	มีปริมาณ	43.1 %

3.1.4 การตรวจหาสูตรโครงสร้างของ สาร ง

สาร ง เป็นผลึกรูปแท่งสีขาว หนัก 0.29 กรัม (0.8 X 10^{-2} % ของน้ำหนักรากแห้ง) มีจุดหลอมเหลว 257-258 °C R_f = 0.63 (เมธานอล-ไดคลอโรมีเธน 1:99) ได้จากลำดับส่วนที่ 1-10 ของการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีของสารลำดับส่วนที่ 10-11 จากข้อ 2.7.2.3 ของสิ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเธน ทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วย เฮกเซน-ไดคลอโรมีเธน หลาย ๆ ครั้ง สาร ง ละลายได้ดีใน ไดคลอโรมีเธน คลอโรฟอร์ม เมธานอล จากการทดสอบปฏิกิริยาเคมีพบว่า ให้ผลลบกับปฏิกิริยา Liebermann-Burchard, Br_2 ใน CCl_4, 2,4-DNP, Flavanoid reagent และ Dragendorff s reagent แสดงว่า สาร ง ไม่ใช่สารประเภทสเตอรอยด์, ไตรเทอร์พีนอยด์, แอลดีไฮด์, คีโทน, xanthones, rotenoids, flavanoids และ alkaloids

อินฟราเรดสเปกตรัม (รูปที่ 26) แสดงแถบการดูดกลืนที่สำคัญ(ซม.$^{-1}$) คือ 3600-3200 (O-H), 3060 และ 3020 (=C-H), 1670 (C=O), 1600, 1530 และ 1500 (C=C aromatic), 1250 และ 1020 (=C-O ของอีเธอร์), 1100 (C-O ของแอลกอฮอล์) 820 และ 810 (para-substitued), 740 และ 700 (mono-substitued) แถบการดูดกลืนของ สาร ง ได้รวบรวมแสดงไว้ในตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของ สาร ง

แถบการดูดกลืน ($ซม.^{-1}$)	ความเข้ม	แสดงลักษณะ
3600-3200	ปานกลาง	O-H สั่นแบบยืด (H-bonded)
3080, 3020	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดของแอโรมาติก
2920, 2850	ต่ำ	C-H สั่นแบบยืดของ CH_3, CH_2
1670	สูง	C=O สั่นแบบยืดเมื่อต่อกับพันธะคู่ หรือ C=O ของแอมีด
1600, 1530, 1500	สูง	C=C สั่นแบบยืดของแอโรมาติก
1450, 1380	ปานกลาง	C-H สั่นแบบยืดของ CH_2, CH_3
1300	ปานกลาง	C-N สั่นแบบยืด
1250	สูง	C-O สั่นแบบยืดไม่สมมาตรของ =C-O-C
1140	สูง	C-O สั่นแบบยืดไม่สมมาตรของ $-OCH_3$
1100	สูง	C-O สั่นแบบยืดของแอลกอฮอล์
1020	สูง	C-O สั่นแบบยืดแบบสมมาตรของ =C-O-C
820, 810	ปานกลาง	=CH สั่นแบบงอนอกระนาบของแอโรมาติก ชนิด para-substitued
740, 700	ปานกลาง	=CH สั่นแบบงอนอกระนาบของแอโรมาติก ชนิด mono-substitued

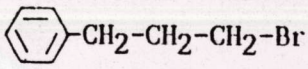
โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 27) ปรากฏสัญญาณของ 28 โปรตอน ของหมู่เมธอกซี 3 หมู่ หมู่เมธิลีน 3 หมู่ หมู่เมไธน์ 1 หมู่ โปรตอนของแอโรมาติก 11 โปรตอน และโปรตอนที่เกาะอยู่กับออกซิเจน 1 โปรตอน โดยสัญญาณที่ 2.20-2.32 (m, 2H), 3.12-3.28 (m, 2H) และ 4.02-4.18 ppm (m, 2H) เป็นสัญญาณที่เกิดจากหมู่ CH_2 สัญญาณของหมู่เมธอกซีปรากฏที่ 3.83 (s, 3H), 3.78 (s, 3H) และ 3.66 ppm (s, 3H) ส่วนโปรตอนของหมู่ CH ปรากฏที่ 4.69 ppm (s, 1H) แสดงว่าต่ออยู่กับส่วนที่มีขั้ว สำหรับโปรตอนของแอโรมาติก 11 โปรตอน ให้สัญญาณปรากฏที่ 6.04 ppm (d, J=2 Hz, 1H) กับ 6.19 ppm (d, J=2 Hz, 1H) แสดงว่าโปรตอนทั้งสองเป็นโปรตอนที่อยู่ในลักษณะ meta ซึ่งกันและกัน และเกิด couple กัน ให้ค่า coupling constant(J)=2 Hz เท่ากันทั้งสองโปรตอน นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.52-6.58 (d, J=8 Hz, 2H), 6.85-6.89 (m, 2H) และ 7.02-7.10 ppm (m, 5H)

จากการทำ deuterium exchange โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 28) ปรากฏว่า สัญญาณที่ 3.32 ppm (s, 1H) หายไป และปรากฏสัญญาณที่ 4.72 ppm ขึ้นมาแทนซึ่งเป็นสัญญาณของ H-O-D จึงสรุปว่า สัญญาณโปรตอนที่ 3.32 ppm คือ หมู่ OH

คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 29) ปรากฏสัญญาณของ 27 คาร์บอน และจากผลการทำ คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (DEPT 90) (รูปที่ 30) ซึ่งแสดงเฉพาะเมไธน์คาร์บอน(CH) และปรากฏสัญญาณทั้งหมด 8 คาร์บอน ดังนี้ 129.2, 128.9, 127.6, 126.7, 112.2, 92.6, 89.0 และ 56.9 ppm จากผลการทำ คาร์บอน-13เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม(DEPT 135) (รูปที่ 31) พบว่าประกอบด้วย เมธิลีนคาร์บอน 3 คาร์บอน ปรากฏที่ 46.7, 32.7 และ 19.4 ppm เมธอกซีคาร์บอน 3 อะตอม ปรากฏที่ 55.6, 55.5 และ 54.9 ppm และสามารถสรุปได้ว่า มี quarternary carbon 13 อะตอม ปรากฏที่ 166.7, 166.0, 163.4, 160.8, 159.0, 158.6, 158.0, 136.9, 127.0, 121.4, 107.2, 103.6 และ 90.3 ppm

การศึกษา Two dimension (COSY) เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 32) พบลักษณะที่สำคัญคือ

1. สัญญาณโปรตอนของหมู่เมธิลีน 3 หมู่ couple กันโดยสัญญาณโปรตอนที่ 2.20-2.32 ppm couple กับ สัญญาณที่ 3.12-3.28 ppm และ 4.02-4.18 ppm สัญญาณโปรตอนที่ 3.12-3.28 ppm couple กับสัญญาณที่ 2.20-2.32 ppm และสัญญาณโปรตอนที่ 4.02-4.18 ppm couple เฉพาะกับสัญญาณที่ 2.20-2.32 ppm แต่สัญญาณโปรตอนที่ 3.12-3.28 ppm ไม่ couple กับสัญญาณโปรตอนที่ 4.02-4.18 ppm แสดงว่าสัญญาณโปรตอนของหมู่เมธิลีนที่ 4.02-4.18 ppm ต้องเกาะอยู่กับเฮทเทอโรอะตอม (O,N) สัญญาณโปรตอนของหมู่เมธิลีนที่ 3.12-3.28 ppm ต่ออยู่กับส่วนที่มีขั้วแต่ได้รับผลน้อยกว่าสัญญาณโปรตอนที่ 4.02-4.18 ppm และสัญญาณของหมู่เมธิลีนที่ 2.20-2.32 ppm จะต่ออยู่กับหมู่เมธิลีนที่ 3.12-3.28 ppm และหมู่เมธิลีนที่ 4.02-4.18 ppm และโครงสร้างของหมู่เมธิลีนที่ต่อกันจะไม่เป็นแบบโซ่ตรงเพราะถ้าต่อกันเป็นแบบโซ่ตรงแล้วค่า chemical shift จะต่างจากที่พบในสาร ง เช่น 3-Bromo-1-phenylpropane [40] จะให้ค่า chemical shift ของหมู่เมธิลีนทั้ง 3 หมู่ดังนี้

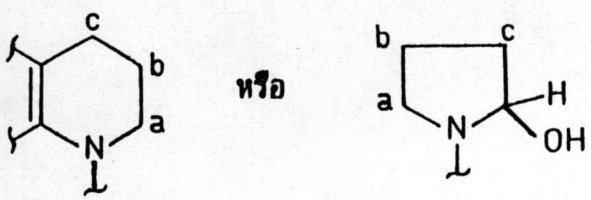


โปรตอน a ให้สัญญาณที่ 2.0-2.5 ppm (pentet)

โปรตอน b ให้สัญญาณที่ 2.6-3.1 ppm (triplet)

โปรตอน c ให้สัญญาณที่ 3.2-3.6 ppm (triplet)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นสรุปได้ว่า หมู่เมธิลีน 3 หมู่มีโครงสร้างที่เป็นไปได้ดังนี้



หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

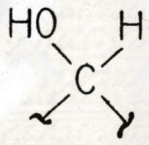
โปรตอน a ให้สัญญาณที่ 4.02-4.18 ppm (multiplet)

โปรตอน b ให้สัญญาณที่ 2.20-2.32 ppm (multiplet)

โปรตอน c ให้สัญญาณที่ 3.12-3.28 ppm (multiplet)

2. สัญญาณโปรตอนที่ 4.69 ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนที่เกาะอยู่กับคาร์บอนที่มีไฮบริไดเซชันแบบ sp^3 และ อะตอมคาร์บอนนี้เกาะอยู่กับออกซิเจนซึ่งมีค่าอิเลคโตรเนกาติวิตีสูง จึงทำให้เกิด deshielded ดังนั้นค่า chemical shift จึงสูงขึ้น และไม่ coupleกับโปรตอนใด ๆ เลยแต่จะเกิด long range coupling กับสัญญาณโปรตอนของหมู่ไฮดรอกซิลที่ 3.32 ppm

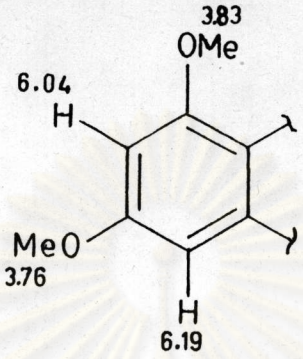
จากข้อมูลสามารถสรุปได้ว่าโครงสร้างที่เป็นไปได้คือ



3. สัญญาณโปรตอนของหมู่เมธอกซี ที่ 3.83 ppm (s, 3H) เกิด long range coupling กับสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.04 ppm (d, J=2 H_z, 1H) และสัญญาณโปรตอนของหมู่เมธอกซีที่ 3.78 ppm (s, 3H) เกิด long range coupling กับสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.04 ppm (d, J=2 H_z, 1H) และ 6.19 ppm (d, J=2 H_z, 1H)

4. สัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.04 ppm (d, J=2H_z, 1H) จะเกิด long range coupling กับสัญญาณของหมู่เมธอกซีที่ 3.76 ppm (s, 3H) และ 3.83 ppm (s, 3H) แต่สัญญาณแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.19 ppm (d, J=2 H_z, 1H) จะเกิด long range coupling เฉพาะกับสัญญาณของหมู่เมธอกซีที่ 3.76 ppm (s, 3H) เท่านั้น

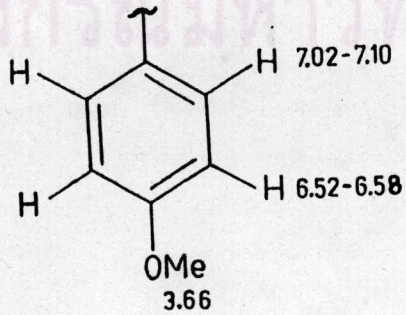
จากข้อมูลในข้อ 3 และ 4 สามารถสรุปโครงสร้างและค่า chemical shift ได้ดังนี้



5. สัญญาณของหมู่เมธอกซีที่ 3.66 ppm (s, 3H) เกิด long range coupling กับสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.52-6.58 ppm (d, J=8 H_Z, 2H)

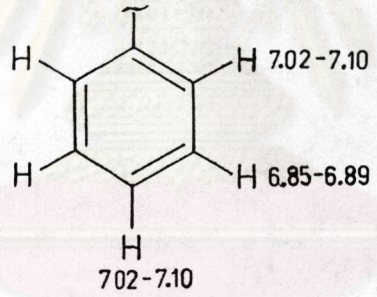
6. สัญญาณแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.52-6.58 ppm (d, J=8 H_Z, 2H) จะ couple กับสัญญาณแอโรมาติกโปรตอนที่ 7.02-7.10 ppm แสดงว่าแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.52-6.58 ppm (2H) กับ แอโรมาติกโปรตอนที่ 7.02-7.10 ppm (2H) จะอยู่ในตำแหน่ง ortho ซึ่งกันและกัน จึงให้สัญญาณเป็น doublet มีค่า coupling constant(J)เท่ากับ 8 H_Z และมีลักษณะสมมาตรด้วย

จากข้อมูลในข้อ 5 และ 6 สามารถสรุปโครงสร้างและตำแหน่งของค่า chemical shift ได้ดังนี้



7. สัญญาณแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.85-6.89 ppm (2H) จะ couple กับสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่ 7.02-7.10 ppm (3H) จากพื้นฐานที่ว่าโปรตอนที่มีอิเลคตรอนหนาแน่นมาก ค่า chemical shift (δ) จะต่ำ เมื่อพิจารณาข้อมูลข้างต้นแสดงว่าสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่ 7.02-7.10 ppm ซึ่งประกอบด้วย 3 โปรตอน จะมีอิเลคตรอนหนาแน่นน้อยกว่าสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.85-6.89 ppm ซึ่งมี 2 โปรตอน ดังนั้นโครงสร้างของวงแอโรมาติกที่เป็นไปได้คือ mono-substituted benzene โดยที่หมู่แทนที่นั้นจะต้องเป็นหมู่ที่ดึงอิเลคตรอนจากวงแอโรมาติก ถ้าเป็นหมู่ที่ให้อิเลคตรอนกับวงแอโรมาติกแล้วสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่มี 3 โปรตอน จะเกิดที่ค่า chemical shift ต่ำกว่าสัญญาณของแอโรมาติกโปรตอนที่มี 2 โปรตอน ซึ่งไม่ตรงกับโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม (รูปที่ 27)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นสรุปโครงสร้างได้ดังนี้



การศึกษา C-H correlation (รูปที่ 33) พบลักษณะที่สำคัญดังแสดงในตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 แสดง C-H correlation ของสาร ง

ค่า chemical shift ของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์ (ppm)	จำนวนโปรตอน	ค่า chemical shift ของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์ (ppm)
7.02-7.10	5	128.9, 127.6, 126.7
6.85-6.89	2	129.2
6.55-6.57	2	112.2
6.19	1	89.0
6.04	1	92.6
4.69	1	56.9
4.02-4.18	2	46.7
3.83	3	55.6
3.78	3	55.5
3.66	3	54.9
3.12-3.28	2	32.7
2.20-2.30	2	19.4

จากตารางที่ 3.7 สามารถสรุปได้ดังนี้

1. สัญญาณแอโรมาติกโปรตอนที่ 7.02-7.10 ppm จาก integration ประกอบด้วย 5 โปรตอน จะปรากฏสัญญาณของเมไธน์คาร์บอน (CH) 3 อะตอมที่ 128.9, 127.6 และ 126.7 ppm แสดงว่า มี เมไธน์คาร์บอน เกิดสัญญาณที่เดียวกัน 2 กลุ่ม

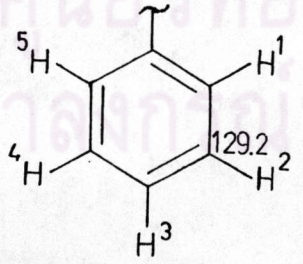
2. สัญญาณแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.85-6.89 ppm จาก integration มี 2 โปรตอน จะปรากฏสัญญาณเมไธน์คาร์บอน 1 อะตอม ที่ 129.2 ppm แสดงว่า มี เมไธน์คาร์บอน 2 อะตอม ปรากฏที่สัญญาณเดียวกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

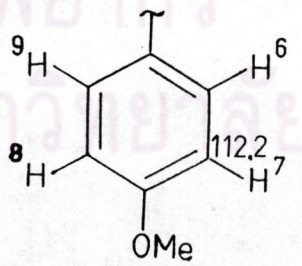
3. สัญญาณแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.52-6.56 ppm จาก integration มี 2 โปรตอน จะปรากฏสัญญาณเมไธน์คาร์บอน 1 อะตอม ที่ 112.2 ppm แสดงว่า มีเมไธน์คาร์บอน 2 อะตอม ปรากฏที่สัญญาณเดียวกัน

จากการพิจารณาข้อมูลข้างต้นสรุปได้ว่า สาร ง จะมี เมไธน์คาร์บอน 12 อะตอม เมธอกซีคาร์บอน 3 อะตอม และเมธิลีนคาร์บอน 3 อะตอม

พิจารณาข้อมูล 2D(COSY)เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม และ C-H correlation สามารถสรุปได้ดังนี้ สัญญาณแอโรมาติกโปรตอนที่ 7.02-7.10 ppm ซึ่งมี 5 โปรตอนจะประกอบด้วยโปรตอน 2 กลุ่มคือ กลุ่มแรกมี 2 โปรตอน ($J=8H_Z$) เกิดร่วมกับสัญญาณโปรตอนที่ 6.52-6.58 ppm (d, $J=8\ H_Z$, 2H) ซึ่งให้สัญญาณของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมเพียง 1 สัญญาณ ที่ 112.2 ppm ดังนั้นสัญญาณของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมที่เกิดจากแอโรมาติกโปรตอนกลุ่มแรก จะให้เพียง 1 สัญญาณ แสดงว่าวงแอโรมาติกจะมีสมมาตร กลุ่มที่สองมี 3 โปรตอน เกิดร่วมกับสัญญาณแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.85-6.89 ppm (2H) ซึ่งให้สัญญาณของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมที่ 129.2 ppm ดังนั้นสัญญาณของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของแอโรมาติกโปรตอนกลุ่มที่สองจะประกอบด้วย 2 สัญญาณโดยที่ 1 สัญญาณเกิดร่วมกับแอโรมาติกโปรตอนที่ 6.85-6.89 ppm (2H) ส่วนอีก 1 สัญญาณไม่เกิดร่วมกับโปรตอนใดเลย จากข้อมูลข้างต้นโครงสร้างของวงแอโรมาติกเป็นดังนี้



I



II

พิจารณาโครงสร้าง I และ II เปรียบเทียบความหนาแน่นของอิเลคตรอน จะพบลักษณะสำคัญดังนี้

1. ในโครงสร้าง I ความหนาแน่นของอิเลคตรอนที่ H^2 และ H^4 จะมากที่สุด และความหนาแน่นของอิเลคตรอนของ H^3 จะมากกว่า H^1 และ H^5 เนื่องจากผลของหมู่ที่ดึงอิเลคตรอน ดังนั้นค่า chemical shift (δ) ในคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมเป็นดังนี้

$$C_H^3 < C_H^1 \text{ และ } C_H^5$$

2. ในโครงสร้าง II ความหนาแน่นของอิเลคตรอนที่ H^7 และ H^8 จะมากกว่า H^6 และ H^9 เนื่องจากผลของหมู่ที่ให้อิเลคตรอน ($-OCH_3$) ดังนั้นค่า chemical shift (δ) ในคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมเป็นดังนี้

$$C_H^6 \text{ และ } C_H^9 < C_H^7 \text{ และ } C_H^8$$

3. เปรียบเทียบความหนาแน่นของอิเลคตรอนที่ H^1, H^3 และ H^5 ในโครงสร้าง I และ H^6, H^9 ในโครงสร้างที่ II พบว่า ความหนาแน่นของอิเลคตรอนที่ H^6 และ H^9 จะมากกว่า H^1, H^3 และ H^5 เนื่องจากผลของหมู่ที่ให้อิเลคตรอน ($-OCH_3$) ดังนั้นค่า chemical shift (δ) ในคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมเป็นดังนี้

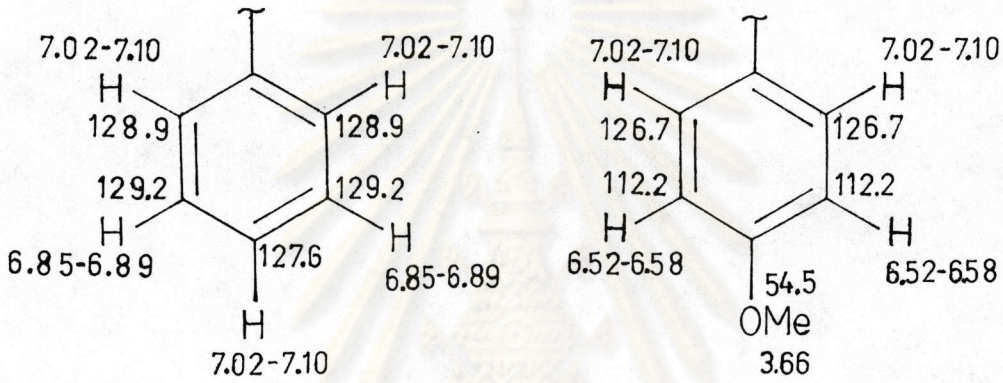
$$C_H^6 \text{ และ } C_H^9 < C_H^1, C_H^3 \text{ และ } C_H^8$$

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นสามารถเปรียบเทียบความหนาแน่นของอิเลคตรอนของแอโรมาติกโปรตอนที่ 7.02-7.10 ppm ได้ดังนี้

$$H^6, H^9 > H^3 > H^1, H^5$$

ดังนั้นสัญญาณของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมจะกำหนดได้ดังนี้ คือ 126.7 X 2, 127.6, 128.9 X 2 ppm ตามลำดับ

จากการศึกษาข้อมูลข้างต้นสามารถสรุปโครงสร้าง, ค่า chemical shift ของโปรตอน และ คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของวงแอโรมาติกได้ดังนี้



จากการศึกษาข้อมูลคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม, DEPT 90, DEPT 135 และ CH correlation สรุปได้ว่า สาร ง มีจำนวนคาร์บอนทั้งหมด 31 คาร์บอน ประกอบด้วย ควอเทอร์นารีคาร์บอน (-C-) 13 อะตอม เมไธน์คาร์บอน (-CH-) 12 อะตอม เมธิลีนคาร์บอน ($-CH_2-$) 3 อะตอม และเมธอกซีคาร์บอน ($-OCH_3$) 3 อะตอม

จาก integration ของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัม มีจำนวนไฮโดรเจนทั้งหมด 28 อะตอม

จากการทำ elemental analysis สาร ง แสดงดังตารางที่ 3.8

ตารางที่ 3.8 ผลการวิเคราะห์ elemental analysis ของ สาร ง

วิเคราะห์โดย	ครั้งที่	% C	% H	% N
ศูนย์เครื่องมือวิจัยฯ	1	68.91	5.04	-*
	2	68.99	5.24	-*
คณะวิทยาศาสตร์ มหิดล	1	60.02	4.46	4.56
	2	60.87	4.54	3.74
	3	61.11	4.64	3.95

หมายเหตุ * หมายถึง ไม่วิเคราะห์ N

แมสสเปกตรัม (รูปที่ 34) ปรากฏไอออนเชิงโมเลกุล (M^+) ที่ m/e 524 สูตรที่เป็นไปได้มีดังนี้ $C_{32}H_{28}O_7$, $C_{31}H_{24}O_8$, $C_{30}H_{20}O_9$, $C_{26}H_{36}O_{11}$, $C_{31}H_{28}N_2O_6$

จากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีสามารถสรุปได้ว่า สูตรโมเลกุลของสาร ง คือ $C_{31}H_{28}N_2O_6$ (จากการคำนวณ % C = 70.99, % H = 5.34, % N = 5.34) และจากการค้นคว้าจากเอกสารอ้างอิงพบว่ายังไม่เคยมีใครพบสารนี้มาก่อน

จากข้อมูลทั้งหมดที่ศึกษามา สามารถหาสูตรโครงสร้างที่น่าจะเป็นไปได้ของสาร ง คือ

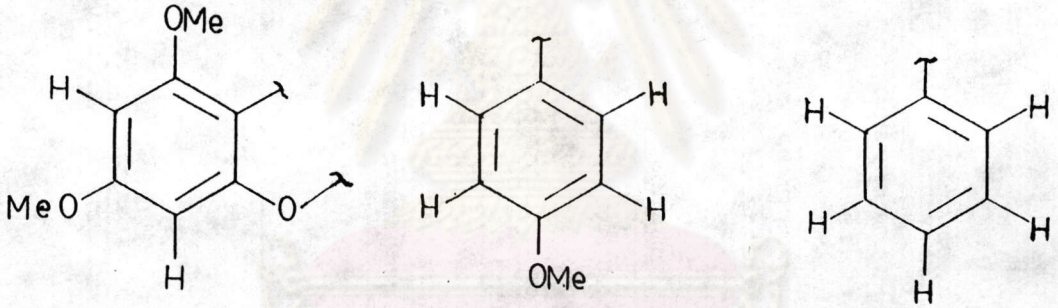
สูตรโมเลกุล $C_{31}H_{28}N_2O_6$

ring plus double bond $= \frac{31-28+2+1}{2}$

$= \frac{31-14+1+1}{2} = 19$

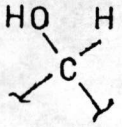
จากข้อมูลสเปกโทรสโกปี พบโครงสร้างต่าง ๆ ดังนี้

1. conjugated carbonyl หรือ carbonyl amide
2. วงแอโรมาติก



3.

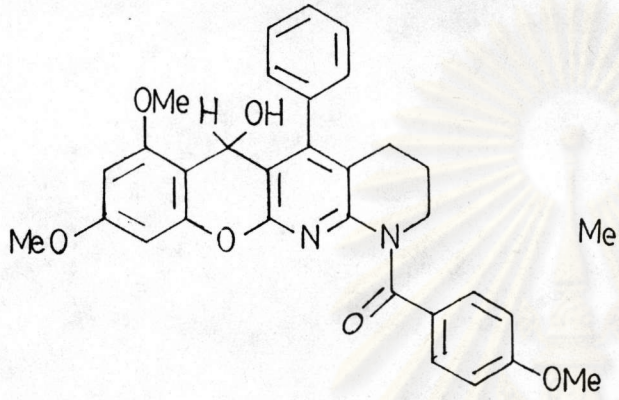
4.



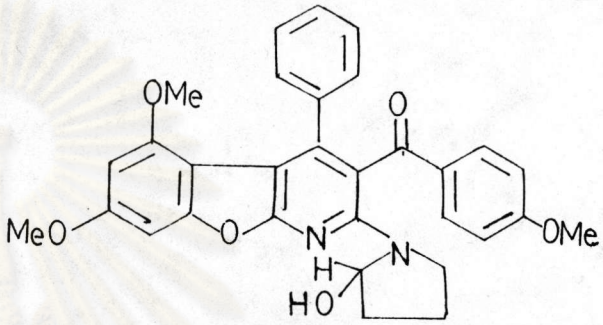
ข้อมูลที่ได้มาทั้งหมดประกอบด้วย $C_{28}H_{28}NO_5$ และเหลือ C_3NO

ring plus double bond = 17

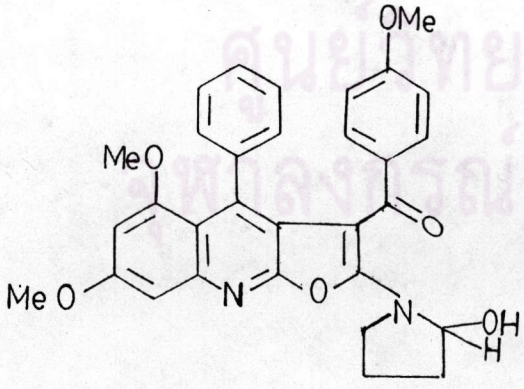
สูตรโครงสร้างที่น่าจะเป็นไปได้คือ



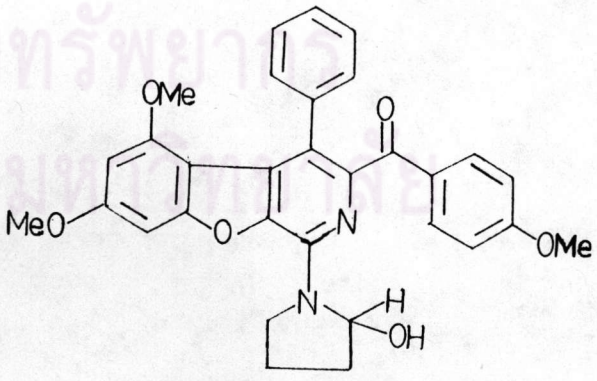
สูตร 1



สูตร 2



สูตร 3



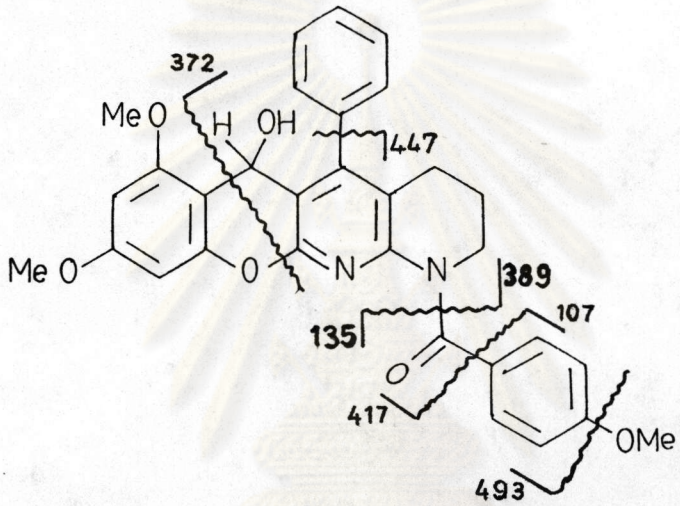
สูตร 4

พิจารณาสูตรโครงสร้างเปรียบเทียบกับข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี

สูตร 1 : IR (C=O) 1670-1640 cm^{-1} [41]

: ^{13}C-NMR (C=O) 170.8 ppm [38]

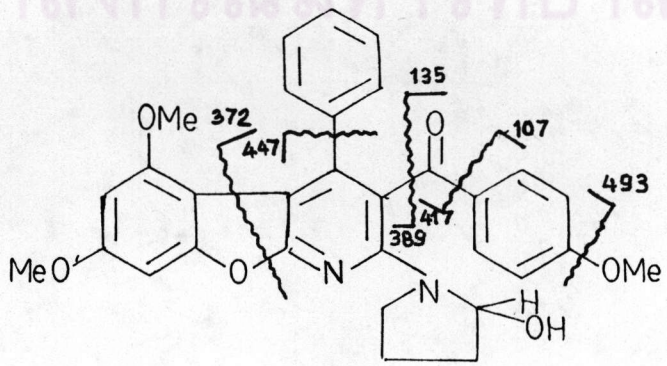
: mass fragmentation [39,42]



สูตร 2 : IR (C=O) 1670-1660 cm^{-1} [43]

: ^{13}C-NMR (C=O) 180-190 ppm [38,40,44]

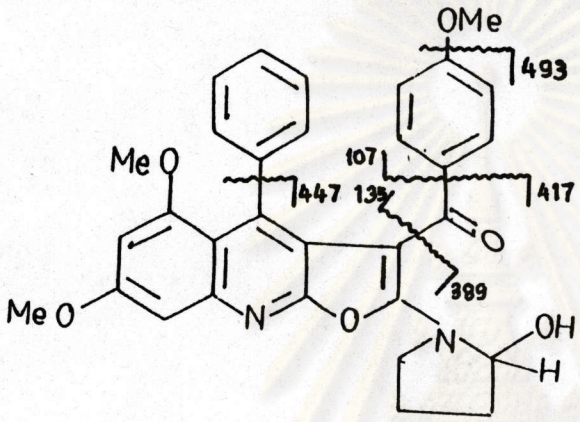
: mass fragmention [39,42]



สูตร 3 : IR (C=O) 1670-1660 cm^{-1} [43]

: ^{13}C-NMR (C=O) 180-190 ppm [38,40,44]

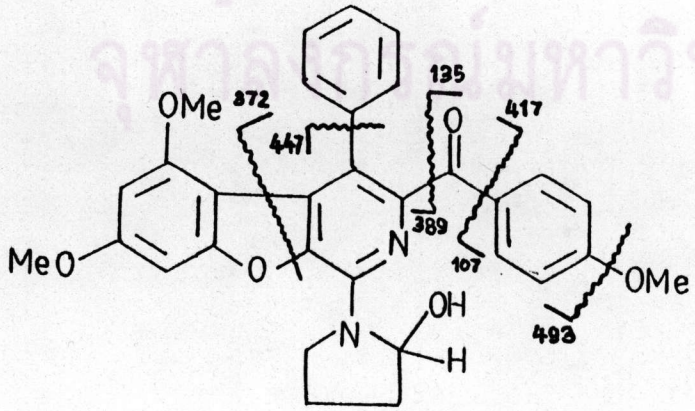
: mass fragmention [39,42]



สูตร 4 : IR (C=O) 1670-1660 cm^{-1} [43]

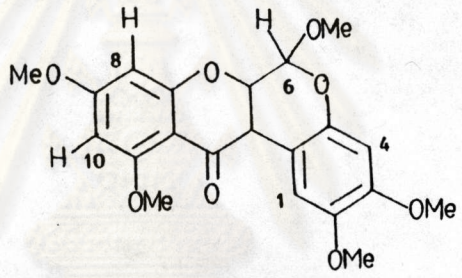
: ^{13}C-NMR (C=O) 180-190 ppm [38,40,44]

: mass fragmention [39,42]

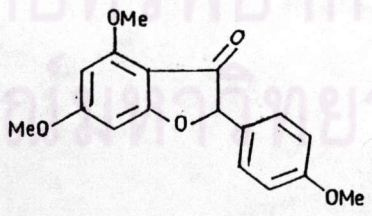


จากข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีที่ศึกษามาทั้งหมด โครงสร้างที่น่าจะเป็นไปได้ของ สาร ง คือสูตร 1 เพราะตรงกับข้อมูลสเปกโทรสโกปีมากที่สุด และสามารถกำหนดค่า chemical shift ของโปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ สาร ง โดยเปรียบเทียบกับสารที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกันจากเอกสารอ้างอิงได้ดังนี้

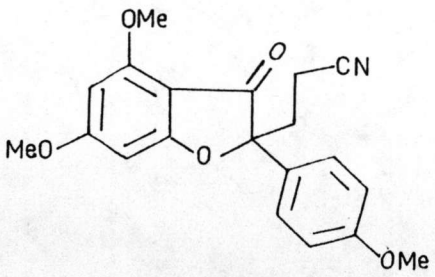
1. โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของอนุพันธ์ methylation ของ stemonacetal [45] ให้สัญญาณโปรตอนที่ค่า chemical shift(ppm)ดังนี้ 3.55 (s, 3H, OCH_3),3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.93 (s, 6H, 2 X OCH_3), 5.70 (s, 1H, H^6), 6.62 (s, 1H, H^4), 8.67 (s, 1H, H^1), 6.32 (d, J=2.2 H_Z, 1H, H^8 or H^{10}), 6.42 (d, J=2.2 H_Z, 1H, H^8 or H^{10})



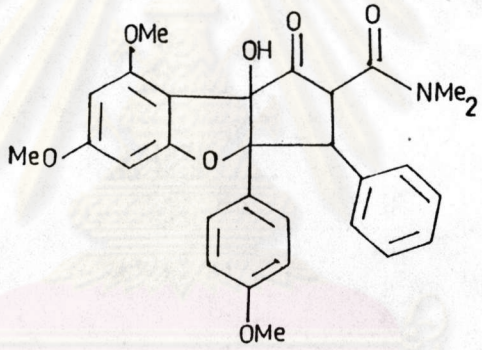
2. โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ 4,6-Dimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3-benzofuranone [46] ให้สัญญาณที่ค่า chemical shift(ppm)ดังนี้ 7.30 (d, J=6 H_Z, 2H), 6.90 (d, J=6 H_Z, 2H), 6.20 (d, J=2 H_Z, 1H), 6.00 (d, J=2 H_Z, 1H), 5.40 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.78 (s, 3H)



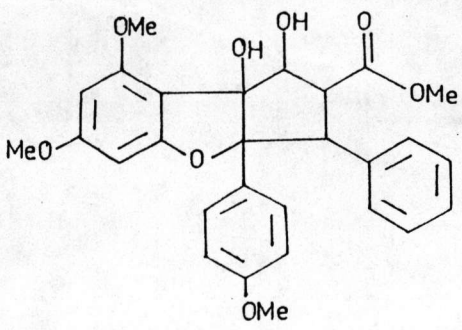
3. โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ 4,6-Dimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-2-(2-cyanoethyl)-3-benzofuranone [46]ให้สัญญาณที่ค่า chemical shift (ppm) ดังนี้ 7.48 (d, J=7 H_Z, 2H), 6.85 (d, J=7 H_Z, 2H), 6.25 (d, J=2 H_Z, 1H), 6.00 (d, J=2 H_Z, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.75 (s,3H), 2.55-2.28 (m, 4H)



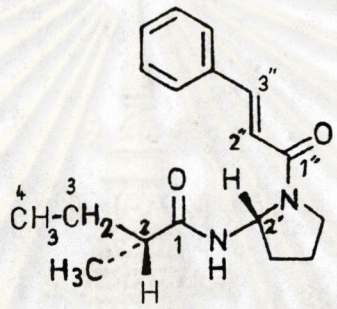
4. โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Tricyclic Keto Amide [46] ให้สัญญาณที่ค่า chemical shift(ppm) ดังนี้ 7.35 (d, J=8 H_z, 2H), 7.20 (m, 3H), 7.07 (m, 2H), 6.86 (d, J=8 H_z, 2H), 6.16 (d, J=3 H_z, 1H), 6.03 (d, J=3 H_z, 1H), 4.74 (d, J=13 H_z, 1H), 4.53 (d, J=13 H_z, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.76 (s,3H), 2.95 (s, 3H), 2.86 (s, 3H)



5. โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Tricyclic Ester [46] ให้สัญญาณที่ค่า chemical shift(ppm) ดังนี้ 7.33 (d, J=8 H_z, 2H), 7.16 (m, 3H), 6.94 (m, 2H), 6.87 (d, J=8 H_z, 2H), 6.12 (d, J=2 H_z, 1H), 6.05 (d, J=2 H_z, 1H), 4.77 (d, J=11 H_z,1H), 4.03 (d, J=13 H_z, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 3.24 (dd, J=11 and 13 H_z, 1H)

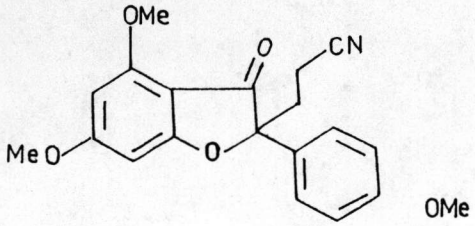


6. โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ 2-Methyl-N-[1'-1"-oxo-3"-phenylpro-2"-enyl)pyrroldin-2'-yl]butanamide (odorine) [14] ให้สัญญาณที่ค่า chemical shift(ppm) ดังนี้ 0.7 (t, J=6 H_z, 3H[H^4]$_3$), 1.05 (d, J=6 H_z, 3H [CH_3 ที่ตำแหน่ง 2]), 1.4 (m, J=6 H_z, 2H[H^3]$_2$), 1.6-2.2 (m, 5H[$H^{3'}$]$_2$, [$H^{4'}$]$_2$ and H^2), 3.0-3.8 (m, 2H[$H^{5'}$]$_2$), 5.8 (m[เมื่อทำ D_2O exchange ได้ doublet], 2H[$H^{2'}$ and NH]), 6.6 (d, J=15 H_z, 1H[$H^{2''}$]), 6.8-7.2 (m, 5H, phenyl), 7.3 (d, J=15 H_z, 1H[$H^{3''}$])

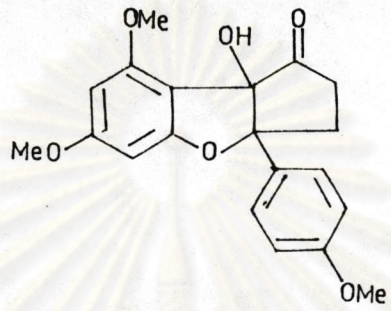


การกำหนดค่า chemical shift ของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของโครงสร้างที่น่าจะเป็นไปได้ของ สาร ง ทำโดยอาศัยข้อมูลของค่า chemicals shift ของสารที่มีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับ สาร ง จากเอกสารอ้างอิง ดังนี้

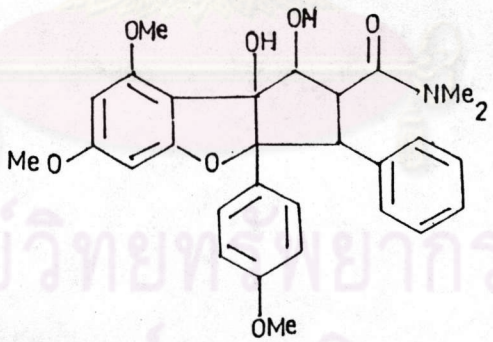
1. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ 4,6-Dimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-2-(2-cyanoethyl)-3-benzofuranone [46] ให้สัญญาณที่ค่า chemical shift(ppm)ดังนี้ 194.40, 173.76, 170.71, 159.56, 159.30, 127.73, 125.82, 118.57, 113.50, 102.81, 93.30, 90.29, 88.85, 55.96, 55.81, 55.03, 33.56 และ 11.90



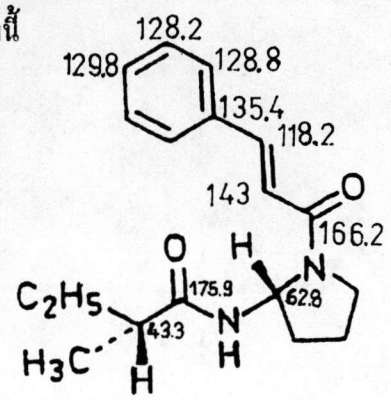
2. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Tricyclic ∝-Hydroxy Ketone [46] ให้สัญญาณที่ค่า chemical shift(ppm) ดังนี้ 211.14, 164.19, 161.92, 159.17, 158.08, 129.73, 127.17, 118.90, 105.53, 96.86, 92.19, 88.71, 76.51, 55.46, 55.32, 55.03, 33.97 และ 33.81



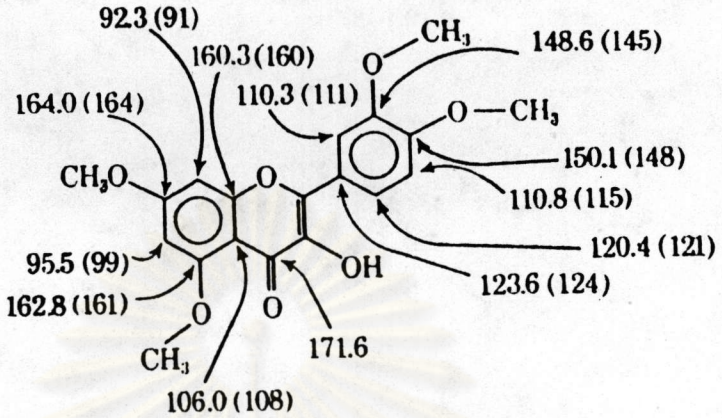
3. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Rocaglamide [46] ให้สัญญาณที่ค่า chemical shift(ppm) ดังนี้ 169.0, 163.5, 161.0, 158.0, 157.5, 138.3, 129.0, 128.0, 128.0, 126.5, 112.8, 101.5, 93.8, 92.8, 89.0, 78.5, 56.0, 56.0, 55.5, 55.0, 47.0, 36.9 และ 35.7



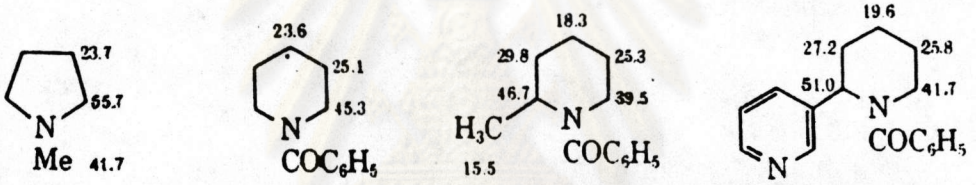
4. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ 2-Methyl-N-[1-1 -oxo-3 -phenylpro-2 -enyl)pyrroldin-2-yl]butanamide (odorine) [14] ให้สัญญาณที่ค่า chemical shift(ppm) ดังนี้



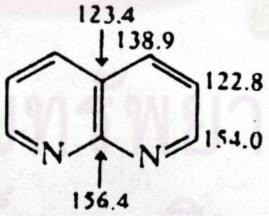
5. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Methoxyflavone [47]



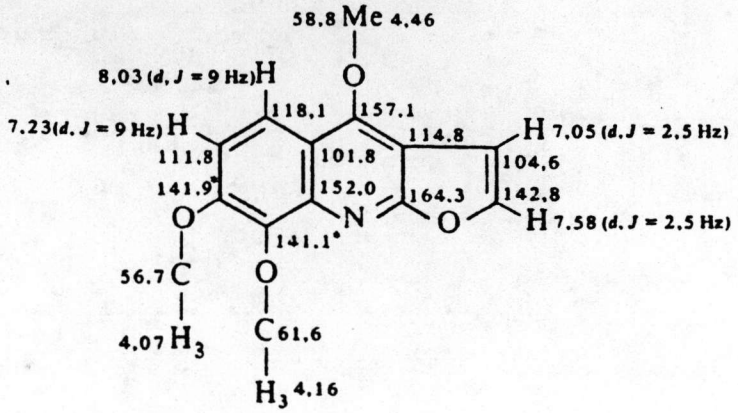
6. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Alkaloids [48]



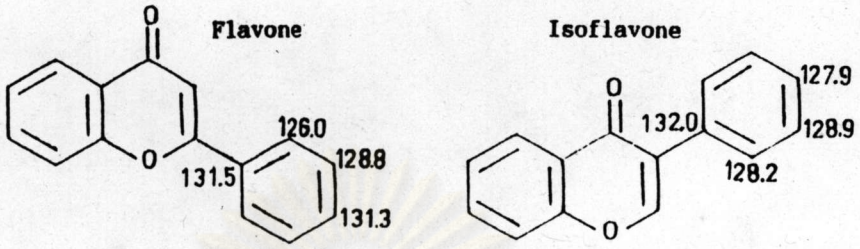
7. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ 1,8-Naphthyridine [49]



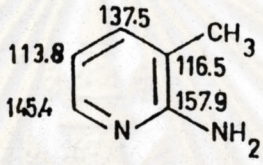
8. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Shimmianine [50]



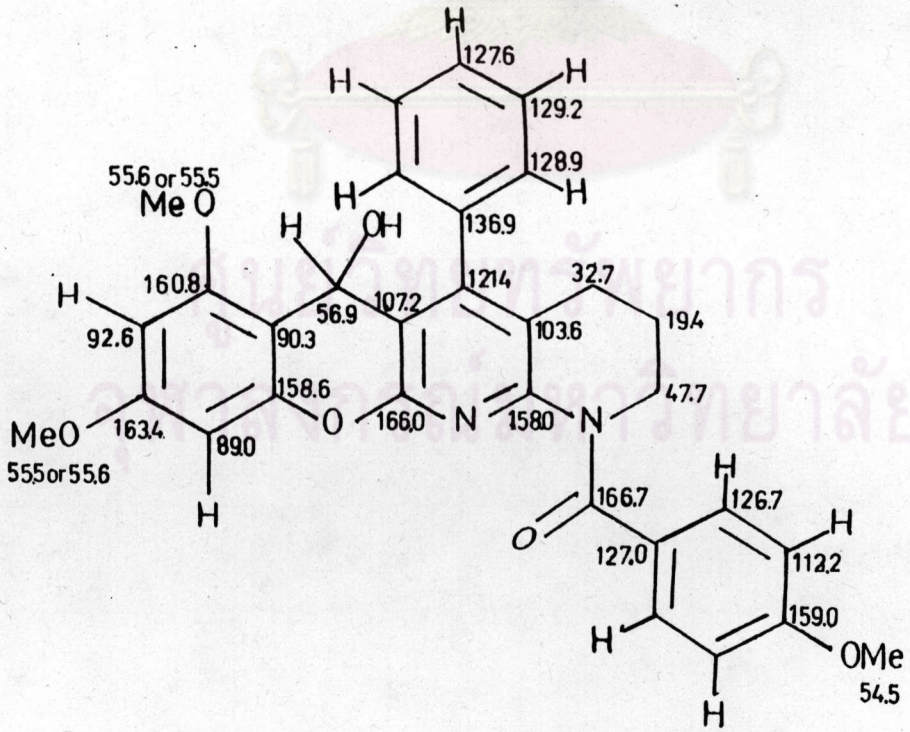
9. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Flavone [47] และ Isoflavone [51,52]



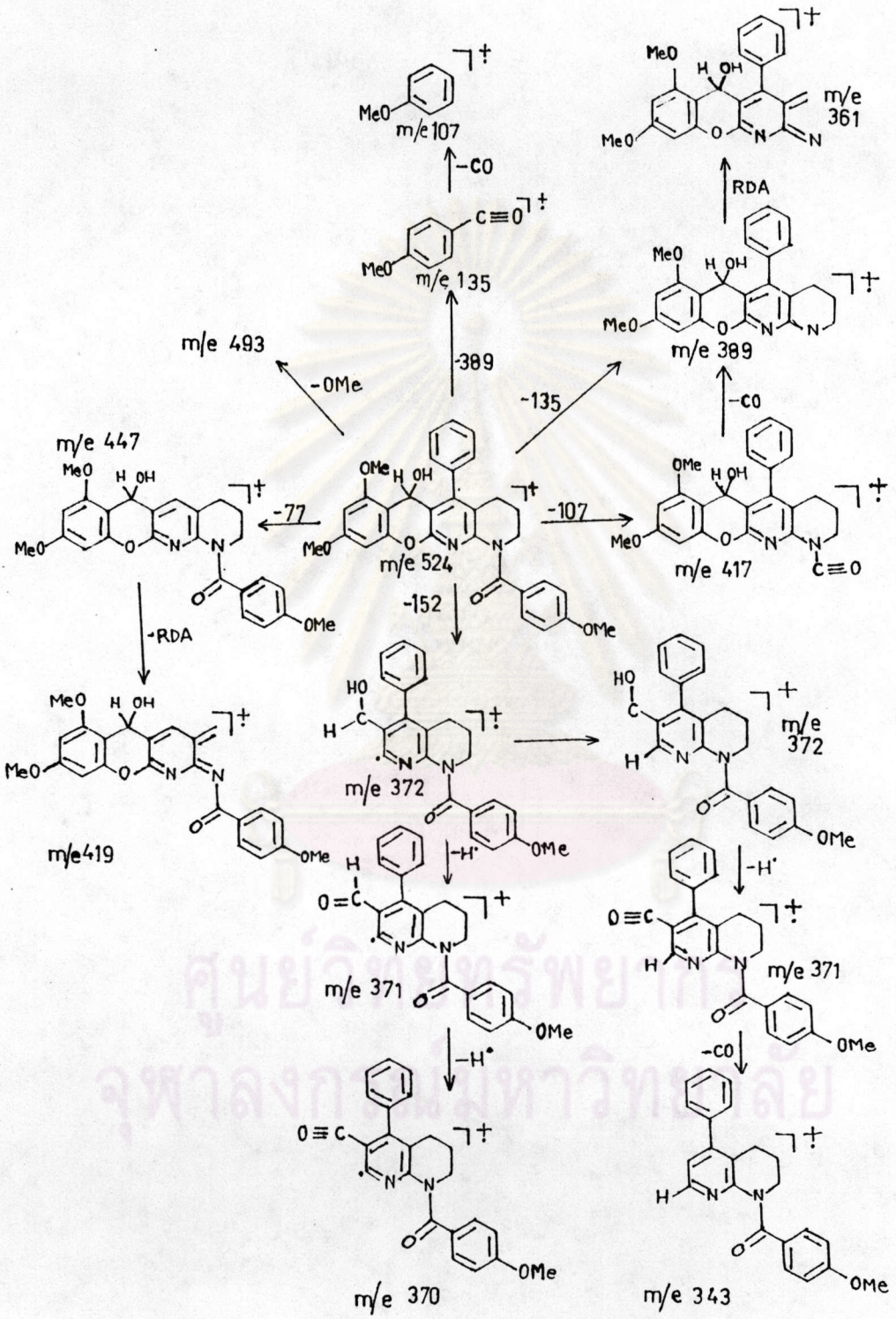
10. คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ 2-Amino-3-methyl-pyridine [53]



จากข้อมูลสเปกโทรสโกปี และ เอกสารอ้างอิงสามารถกำหนดตำแหน่งของค่า chemical shift ของคาร์บอนในสูตรโครงสร้างที่น่าจะเป็นไปได้ของ สาร ง ได้ดังนี้

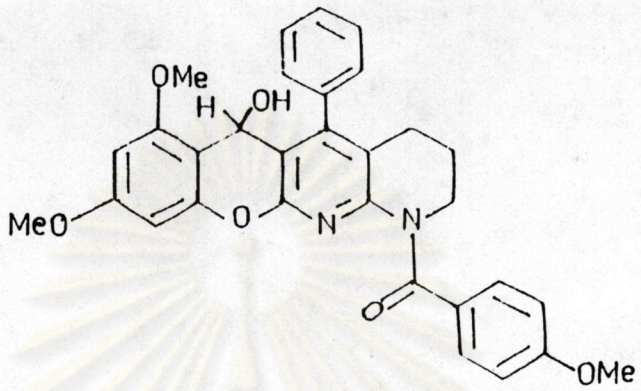


พิจารณาแมสสเปกตรัมของ สาร ง การแตกมวล (mass fragmention) ของสูตรโครงสร้างที่น่าจะเป็นไปได้ แสดงดังแผนภาพที่ 3.2 [32,42]

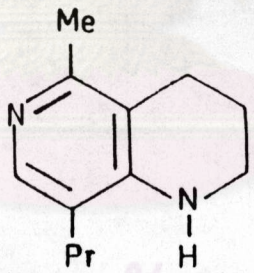


แผนภาพที่ 3.2 รูปแบบที่เป็นไปได้ในการแตกมวลของโมเลกุลของ สาร ง

จากข้อมูลปฏิกิริยาเคมี สเปกโทรสโกปี และ การเปรียบเทียบข้อมูลกับเอกสารอ้างอิงทั้งหมด สูตรโครงสร้างที่น่าจะเป็นไปได้ของสาร ง คือ



สำหรับการเรียกชื่อสูตรโครงสร้างที่น่าจะเป็นไปได้ของสาร ง อาศัยหลักจากเอกสารอ้างอิง [54] และสารบางตัวที่พบในธรรมชาติ เช่น 5-methyl-8-propyl-1,2,3,4-tetrahydro-1,6-naphthyridine [55] ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



ดังนั้นสูตรที่เป็นไปได้ของสาร ง ถ้าพิจารณาที่ Naphthyridine nucleus เรียกชื่อได้ดังนี้คือ 4-Hydroxy-5,7-dimethoxybenzopyro[2,3-*f*]1-(p-methoxybenzoyl)-5-phenyl-2,3,4-trihydro-1,8-naphthyridine ถ้าพิจารณาที่ Benzopyran nucleus เรียกชื่อได้ดังนี้ 1-(p-Methoxybenzoyl)-5-phenyl-2,3,4-trihydro-1,8-naphthyrido[6,7-*b*]4-hydroxy-5,7-dimethoxybenzopyran

3.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่แยกได้จากเอกสารอ้างอิง

สาร ก คือของผสม campesterol, stigmasterol และ β-sitosterol สเตอรอยด์เหล่านี้พบกระจายทั่วไปในพืชและสเตอรอยด์ในพืชส่วนใหญ่จะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในการเตรียมสเตอรอยด์ฮอร์โมน เช่น stigmasterol ได้มีรายงานว่าถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone)[56] β- sitosterol มีฤทธิ์ hypercholesterolemia [57] นอกจากนี้ของผสมสเตอรอยด์ยังมีฤทธิ์ antifeedant [58]

สาร ข คือของผสม campesteryl-3-O-glucopyranoside, stigmasteryl-3-O-glucopyranoside และ β-sitosteryl-3-O-glucopyranoside จากการค้นคว้าจากเอกสารอ้างอิงพบว่า β-sitosteryl-3-O-glucopyranoside มีผลต่อ vascular permeability, antiulcerrogenic และ hemostatic effect [59] และมีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตในมนุษย์ [60] นอกจากนี้ได้มีรายงานว่าของผสม steryl glycoside ที่ประกอบด้วย β-sitosteryl-3-O-glucopyranoside มีฤทธิ์ antitumor activity ต่อ leukemia [61-62]

สาร ง เนื่องจาก สาร ง เป็นสารใหม่ดังนั้นจึงไม่มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพในเอกสารอ้างอิง แต่ได้มีการทดสอบความเป็นพิษกับปลาหางนกยูงและได้ผลดังตารางที่ 3.9

ตารางที่ 3.9 แสดงผลความเป็นพิษต่อปลาหางนกยูงของ สาร ง

สาร	ความเข้มข้นของสาร(กรัมต่อ 200 มิลลิลิตร)	% ปลาตายหลังใส่สาร 24 ชั่วโมง
สาร ง	0.001	0
	0.005	0
	0.010	0
ควบคุม	0.000	0

จากตารางที่ 3.9 แสดงว่า สาร ง ไม่แสดงความเป็นพิษต่อปลาหางนกยูง แต่จากสิ่งสกัดด้วยเมธานอลของรากประยงค์ จะแสดงความเป็นพิษต่อปลาหางนกยูงที่ความเข้มข้น 0.100 กรัมต่อ 20 มิลลิลิตร ทำให้สามารถสรุปได้ว่า

1. สาร ง ความเข้มข้นต่ำเกินไปจึงไม่แสดงความเป็นพิษต่อปลาหางนกยูง
2. สาร ง ไม่แสดงความเป็นพิษต่อปลาหางนกยูง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย