

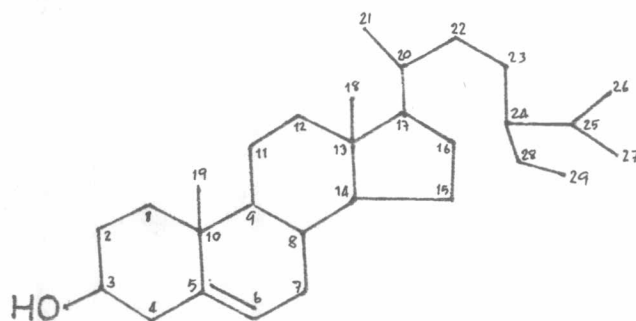


สรุปและวิจารณ์การทดลอง

จากการสกัดเปลือกกรากของต้นคนทาแห้งที่บดละเอียด ด้วย chloroform กรองสารละลาย แล้วกลั่นโดยลดความดัน แบ่ง crude chloroform extract นี้เป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ละลายได้ใน hexane และส่วนที่ไม่ละลายใน hexane หลังจากเทเอาส่วนที่ละลายได้ใน hexane ไปทำการแยกสาร โดยวิธี short column chromatography แยกได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิด ได้แก่ สารที่มีจุดหลอมเหลว $137-139^{\circ}$ และจากการแยกสารในส่วนที่ไม่ละลายใน hexane โดยวิธี quick column chromatography สามารถแยกได้สารบริสุทธิ์ 2 สาร ได้แก่ สารที่มีจุดหลอมเหลว $219-220^{\circ}$ และสารที่มีจุดหลอมเหลว $182-183.5^{\circ}$ การเส้นอนุกรมโมเลกุลและสูตรโครงสร้างของสารต่าง ๆ เหล่านี้ทำโดยอาศัยหลักฐานทาง spectroscopy เป็นสำคัญ ซึ่งสรุปได้ดังนี้

1. สาร A มีจุดหลอมเหลว $137-139^{\circ}$ คือ β -sitosterol ซึ่งมี $M^+ = 414$ (EI/MS ให้ M^+ ที่ m/e 414) มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{29}H_{50}O$ และ peak ของ m/e อื่น ๆ ตามตารางที่ 6 หน้า 30 IR ให้ $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) 3400(OH), 2950 (CH_3), 1470(CH_2), 1380(C-C), 1050, 960 (C-O) ตามตารางที่ 5 $^1\text{H-NMR}$ spectrum δ_{H} (CDCl_3) 0.68-2.30 ($\text{CH}, \text{CH}_2, \text{CH}_3$), 3.5 (br, OH), 5.09 (br, $-\text{HC}=\text{CH}$) ตามรูปที่ 2 หน้า 39 การคำนวณเปอร์เซ็นต์ของธาตุจากสูตร $C_{29}H_{50}O$ พบว่ามี C=84.06 %, H=12.17 %

คุณสมบัติทางกายภาพของสาร A กล่าวคือ จุดหลอมเหลว และ spectrum ต่าง ๆ ของสาร A ซึ่งประกอบด้วย IR, $^1\text{H-NMR}$, mass spectrum และ UV ซึ่งแสดงให้เห็น functional groups ต่าง ๆ ของสาร A ที่สำคัญ นอกจากนี้ยังได้นำสาร A มาทำ mixed melting point กับ authentic compound และตรวจด้วย TLC ทำให้กำหนดได้ว่าสาร A คือ β -sitosterol ยืนยันโดยเปรียบเทียบกับ literatures ^{18,19} สูตรโครงสร้างของ β -sitosterol เป็นดัง รูป (I) ที่แสดงไว้ข้างล่างนี้

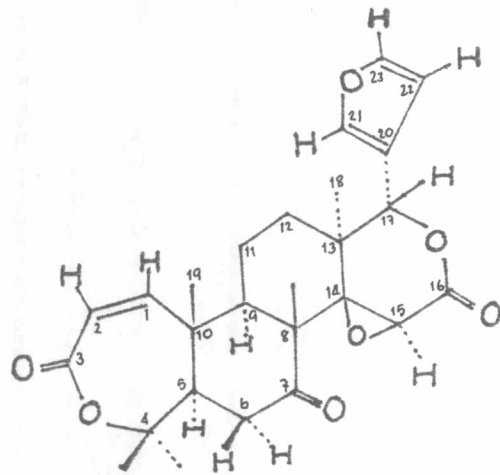


I

2. สาร B มีจุดหลอมเหลว 219-220^o คือ obacunone มี R_f value = 0.27 (ในchloroform), $[\alpha]_D^{26} - 50.2^{\circ}$ (c, 2.14, chloroform), M⁺ = 454 (CI/MS ให้ M⁺ ที่ m/e = 454) มีสูตรโมเลกุลเป็น C₂₆H₃₀O₇ IR ให้ $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹) 3040 (C=CH), 2980 (CH₃), 1740, 1700 (C=O), 1620 (C=C), 1390 (C-C), 1280 (C-O), 1020-990 (C-O), 870 (furan) ตามตารางที่ 7 หน้า 32

¹H-NMR spectrum δ_{H} (CCL₄-CDCL₃) 1.12 (CH₃), 1.23 (CH₃), 1.46 (CH₃), 1.50 (2CH₃), 1.84 (7,5,9,-H), 2.26 (13,5,5-H), 2.59 (14,5,6 -H), 2.99 (14,13,6 -H), 3.61 (15-H), 5.43 (17-H), 5.92 (12,2-H), 6.35 (22-H), 6.50 (12,1-H), 7.38 (23-H), 7.40 (21-H) ตามตารางที่ 8 หน้า 33 ¹³C proton noise decoupled spectrum และ ¹³C off-resonance decoupled spectrum δ_{C} 16.36 (q, CH₃), 16.85 (t, CH₂), 19.40 (q, CH₃), 21.02 (q, CH₃), 26.71 (q, CH₃), 31.91 (t, CH₂), 32.73 (q, CH₃), 37.33 (s, C-13), 39.77 (t, C-6), 43.07 (s, C-10), 49.14 (d, C-9), 52.88 (s, C-8), 53.21 (d, C-5), 57.27 (d, C-15), 64.91 (br, s, C-14), 77.80 (d, C-17), 83.66 (s, C-4), 109.66 (ddd, C-22), 120.07 (m, C-20), 123.04 (d, C-2), 140.87 (dd, C-21), 142.98 (ddd, C-23), 156.53 (d, C-1), 166.18 (dd, C-3), 166.44 (d, C-16), 207.23 (s, C-7) ตามตารางที่ 9 หน้า 34 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ธาตุจากสูตร C₂₆H₃₀O₇ พบว่ามี C = 68.73 %, H = 6.67 %

จากคุณสมบัติทางกายภาพ ซึ่งรวมทั้ง spectrums ต่าง ๆ ของสาร B ได้แก่ IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR และ mass spectrum แสดงให้เห็นถึง functional groups ที่สำคัญ ๆ ของสาร B สามารถกำหนดได้ว่าสาร B คือ obacunone ซึ่งเป็นสารที่เคยพบจากพืชในวงศ์ SIMARUBACEAE ตระกูล Harrisonia abyssinica¹⁰ สำหรับสูตรโครงสร้างของ obacunone เป็นดังรูป (II) ที่แสดงไว้ข้างล่างนี้



II.

3. สาร C มีจุดหลอมเหลว 182 - 183.5^o ยังไม่ได้วิเคราะห์หาสูตรโครงสร้าง เนื่องจาก สารที่แยกได้มีปริมาณน้อย บอกได้เพียงคร่าว ๆ เท่านั้น คือ สาร C ไม่ได้มีโครงสร้างแบบ steroid หรือแบบ triterpenoid เพราะให้ negative test กับ Liebermann - Burchard reagent และไม่ใช่ว่า alkaloid เพราะให้ negative test กับ alkaloid reagents จาก spectrum ของสารที่มีจุดหลอมเหลว 182 - 183.5^o แสดงให้เห็นถึง functional groups ต่าง ๆ ที่มีอยู่ในสารนี้ กล่าวคือ IR spectrum ให้ $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$ 3500, 3200 (OH), 3000 (CH₃), 2940 (CH), 1640 (CO), 1580 (C=C), 1280 (C-O-C), 1000-950 (C-O), 850 - 740 (=CH-) ตามตารางที่ 10 หน้า 35 ¹H-NMR spectrum $\delta\text{H} (\text{CDCl}_3)$ 1.25 (3H), 1.36 (3H), 1.76 (3H), 2.61 (3H), 2.98, 3.08 (2H), 3.32, 3.39 (2H), 4.73 (1H), 5.26 (1H) ตามตารางที่ 11 หน้า 36 ¹³C proton noise decoupled spectrum และ ¹³C off - resonance decoupled spectrum δC 17.83, 21.62, 24.54, 25.79, 26.11 และ 26.87 ให้สัญญาณที่ซับซ้อนของ CH₃-, -CH₂- และ -CH- ส่วน δC ที่ให้สัญญาณชัดเจน ได้แก่ 31.21 (d, -CH), 71.9- (s, C-O), 135.78 (s, =C=) และ 201.61 (s, C-O) ตามตารางที่ 12 หน้า 37 Mass spectrum (EI/MS) ให้ M⁺ ที่ m/e 320 และ peaks อื่น ๆ ตามตารางที่ 13 หน้า 38 UV spectrum $\lambda_{\text{max}}^{\text{methyl alcohol}}$ 288 nm ($\epsilon = 26,560$), 225 nm ($\epsilon = 20,800$) ตามรูปที่ 12 หน้า 45 แสดงถึงการเกิด bathochromic shift ซึ่งชี้ให้เห็นว่า carbonyl group ของสาร C เป็นแบบ conjugated กับ carbon-carbon double bond จาก spectrum ของสาร C ที่กล่าวนี้ สาร C ควรจะเป็นสารประเภท sesquiterpenoid ที่มี functional groups ที่สำคัญ คือ hydroxyl group และ carbonyl group ที่ conjugated อยู่กับ carbon-carbon double bond และไม่มี aromatic ring system เพราะไม่ปรากฏสัญญาณใน ¹H-NMR spectrum

ตารางที่ 5 IR absorption peaks ของสาร A (mp. 137 - 139°)

Frequency (cm^{-1})	Intensity	Characteristic Groups
3400	br	OH stretching
2950	s	C-H stretching W-CH_3
1470	m	CH_2 stretching
1380	m	C-C stretching
1050-960	m,w	C-O stretching

ตารางที่ 6 Mass spectral data ของสาร A (mp. 137-139^o)

Peak. No.	Measured Mass	% Int. Base
3	414.3841	25.0
5	412.3659	27.8
36	255.1946	16.8
65	159.1107	13.4
72	147.1081	10.5
74	145.0965	14.5
85	133.0962	14.2
96	121.0959	13.5
98	119.0803	12.4
104	109.0982	14.7
106	107.0815	25.2
108	105.0638	25.2
110	97.0972	18.6
112	95.0813	30.7
114	93.0660	24.4
116	91.0523	26.1
119	83.0820	39.6
121	81.0656	47.6
123	79.0515	30.6
125	77.0357	11.3
126	71.0839	16.7
128	69.0676	54.1
131	67.0525	32.2
134	57.0699	29.6



ตารางที่ 6 (ต่อ)

Peak No.	Measured Mass	% Int. Base
137	56.0614	12.8
138	55.0548	100.0
141	53.0381	10.0
148	43.0508	81.6
149	43.0210	15.9
150	42.0499	20.0
152	41.0427	92.3
154	39.9666	48.2
155	39.0275	32.0

ตารางที่ 7 IR absorption peaks ของสาร B (mp. 219-220)

Frequency (cm^{-1})	Intensity	Characteristic Groups.
3040	w	C=CH stretching (olefinic C-H)
2980	br,m	C-H stretching (saturated C-H)
1740	s	C=O stretching (lactone)
1700	m	C=O stretching (ketone)
1620	w	C=C stretching (olefinic)
1390	m	C-C stretching
1280	s	=C-O-C stretching (asymmetry)
1160	m	=CH - bending vibration
1020-990	s	C-O stretching
870	s	C-H stretching (furan)

ตารางที่ 8 $^1\text{H-NMR}$ spectral data ของสาร B (mp. 219-220 $^{\circ}$)

Chemical Shift, δ_{H} (ppm)	Multiplicity	Proton Assignments.
0	s	TMS-H
1.12	s	CH_3 -H
1.23	s	CH_3 -H
1.46	s	CH_3 -H
1.50	s	CH_3 -H
1.50	s	CH_3 -H
1.84	dd	7,5,9-H
2.26	dd	13,5,5-H
2.59	dd	14,5,6 -H
2.99	dd	14,13,6 -H
3.61	s	15-H
5.43	s	17-H
5.92	d	12,2-H
6.35	m	22-H
6.50	d	12,1-H
7.38	d	23-H
7.40	br,s	21-H

ตารางที่ 9 ^{13}C proton noise decoupled spectral data ของสาร B (mp. 219-220 $^{\circ}$)

Chemical Shift, δ_{C} (ppm)	Multiplicity	Carbon Assignments
16.36	q	CH_3^-
16.85	t	$-\text{CH}_2^-$
19.40	q	CH_3^-
21.02	q	CH_3^-
26.71	q	CH_3^-
31.91	t	$-\text{CH}_2^-$
32.73	q	CH_3^-
37.33	s	C-13
39.77	t	C-6
43.07	s	C-10
49.14	d	C-9
52.88	s	C-8
53.21	d	C-5
57.27	d	C-15
64.91	br, s	C-14
77.80	d	C-17
83.66	s	C-4
109.66	ddd	C-22
120.07	m	C-20
123.04	d	C-2
140.87	dd	C-21
142.98	ddd	C-23
156.53	d	C-1
166.18	dd	C-3
166.44	d	C-16
207.23	s	C-7

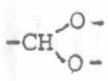
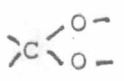

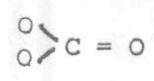
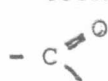
ตารางที่ 10 IR absorption peaks ของสาร C (mp. 182-183.5°)

Frequency (cm ⁻¹)	Intensity	Characteristic Groups.
3500	s	OH- stretching (hydrogenbond)
3200	br,s	OH stretching (free OH)
3000	s	CH ₃ stretching
2940	s	CH stretching
1640	br,s	C=O stretching
1580	s	C=C stretching
1440	s	CH ₃ bending vibration (asymmetry)
1375	s	CH ₃ bending vibration
1280	s	=C-O-C stretching (asymmetry)
1230	s	-
1200	s	-
1150	s	=CH- bending vibration
1100	s	-
1000	m	
950	s	C-O stretching
850-740	br,m	=CH- bending vibration

ตารางที่ 11 $^1\text{H-NMR}$ spectral data ของสาร C (mp. 182-183.5 $^{\circ}$)

Chemical Shift, δH (ppm)	Multiplicity	No. of Protons.
0	s	12 H (TMS)
1.25	s	3 H
1.36	s	3 H
1.76	d	3 H
1.81	s	3 H
2.61	s	3 H
2.98	s	2 H
3.08	s	2 H
3.32	br, s	2 H
3.39	br, s	2 H
4.73	t	1 H
5.26	br, t	1 H

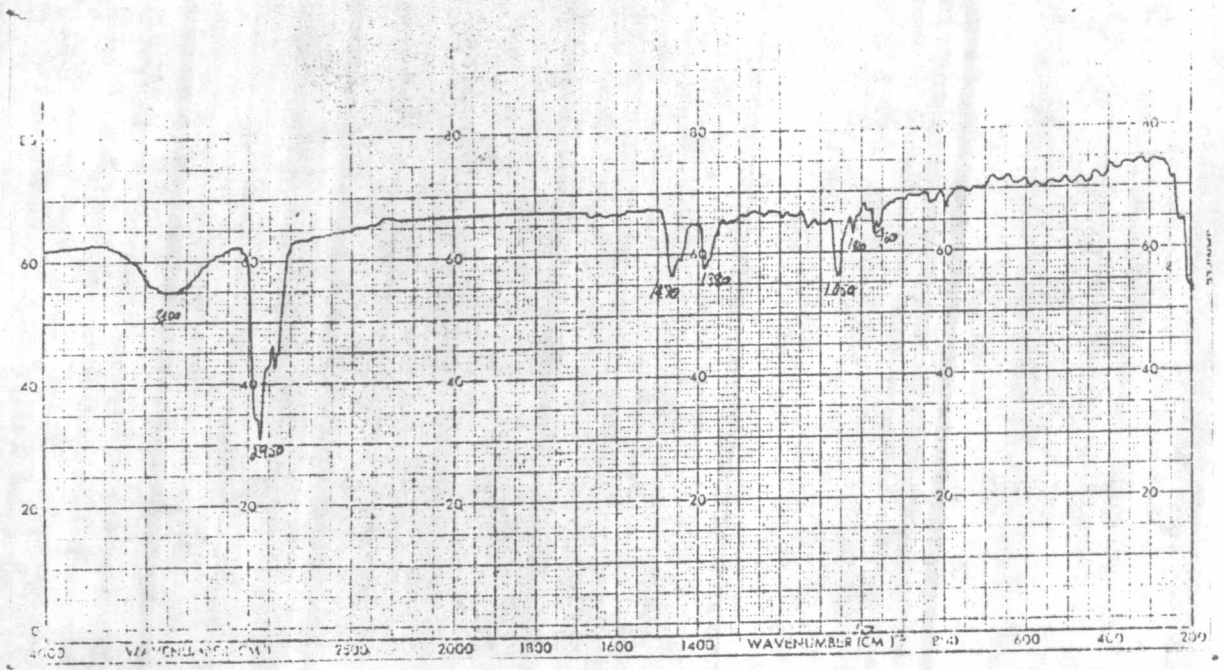
ตารางที่ 12 ¹³C proton noise decoupled spectral data ของสาร C (mp. 182-183.5°)

Chemical Shift, δ_c (ppm)	Multiplicity	Characteristic Carbons.
17.83	} Complicated	CH ₂ , CH ₃ shifts.
21.62		
24.54		
25.79		
26.11		
26.87		
31.21	d	- CH <
71.68	s	>C - O -
91.35	d	= CH- , -CH 
101.86	s	-O >=C < 
103.86	s	
105.60	s	
121.91	d	= CH-
135.78	s	= C <
158.04	s	= C  ,  C = O
161.83	s	- COOR
201.61	s	- C 

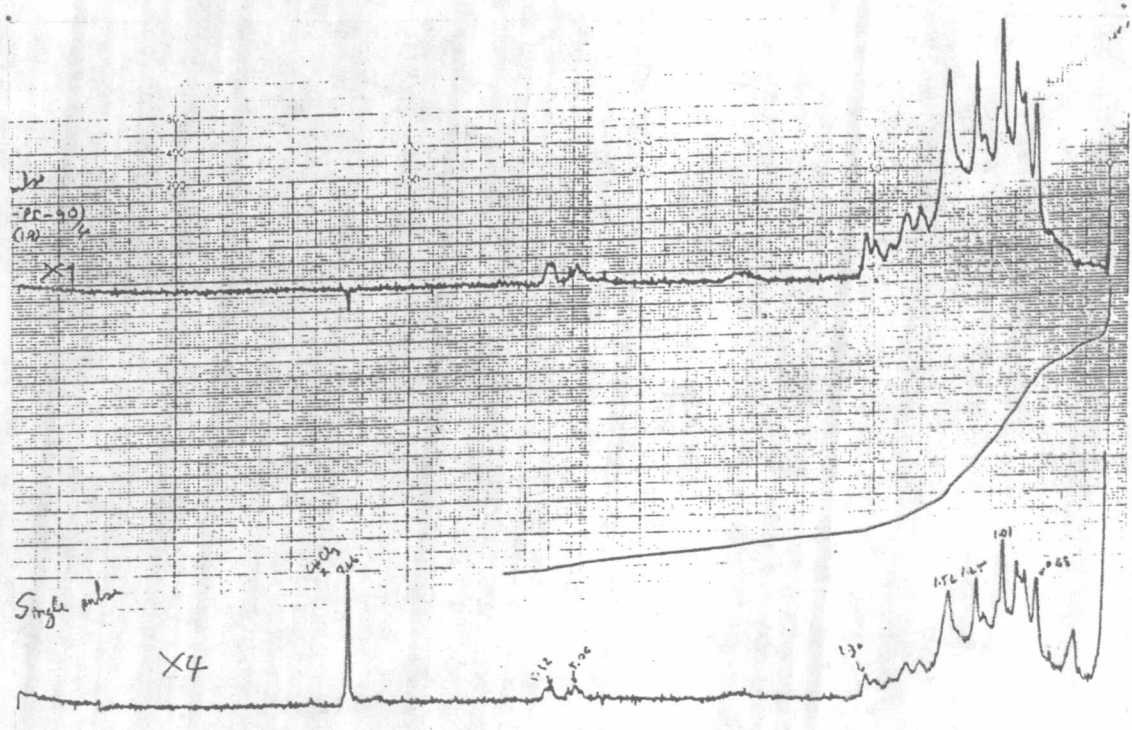


ตารางที่ 13 Mass spectral data ของสาร C (mp. 182-183.5 °)

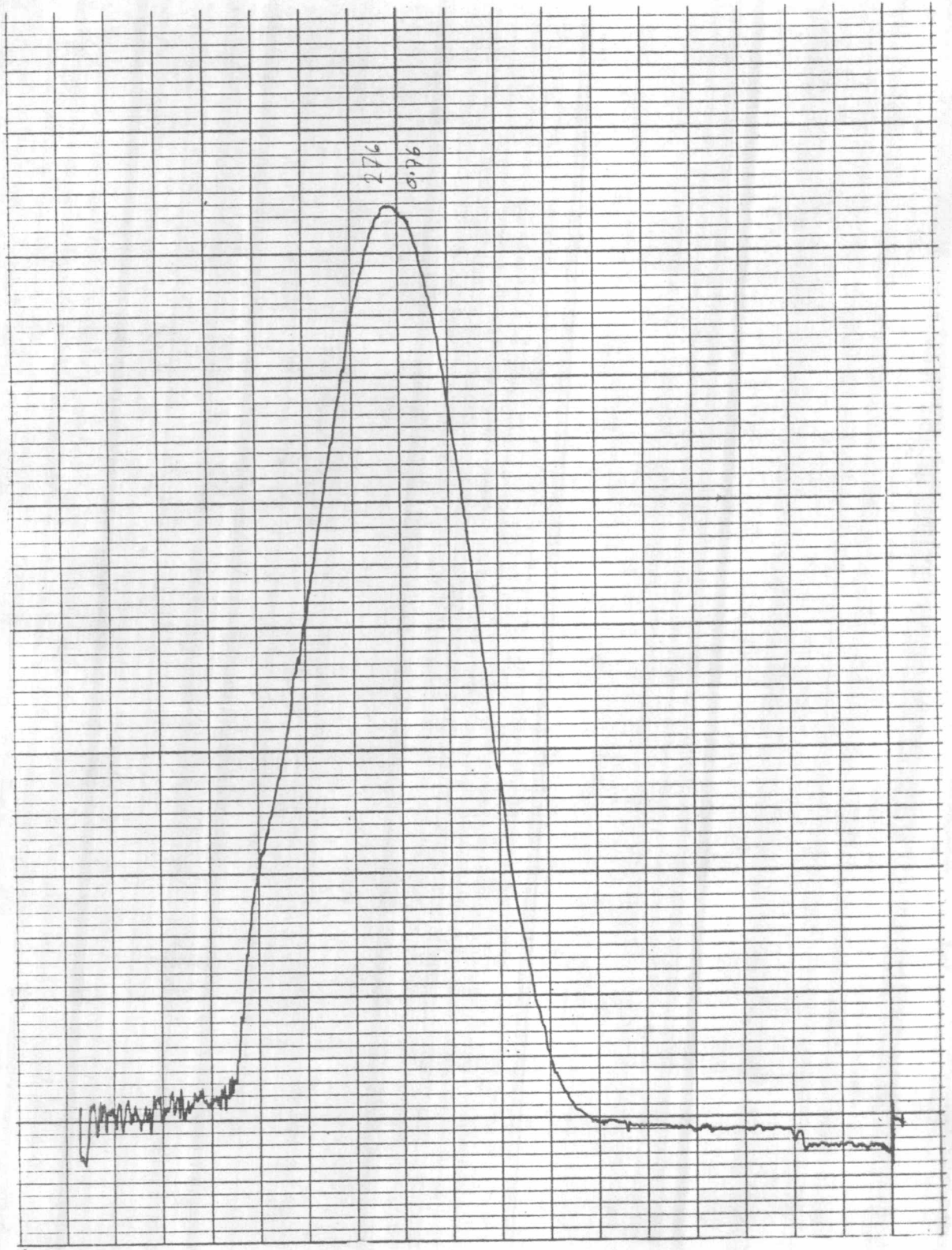
Peak No.	Measured	% Int. Base
3	320.1574	32.8
15	265.1099	13.1
31	133.0820	10.1
33	231.0635	12.1
45	206.0578	18.9
46	205.0495	21.4
52	193.0493	14.1
132	59.0515	23.0
138	55.0204	10.5
150	43.9952	25.5
151	43.0595	12.2
152	43.0234	100.0
155	41.0447	33.8
159	39.0299	16.1



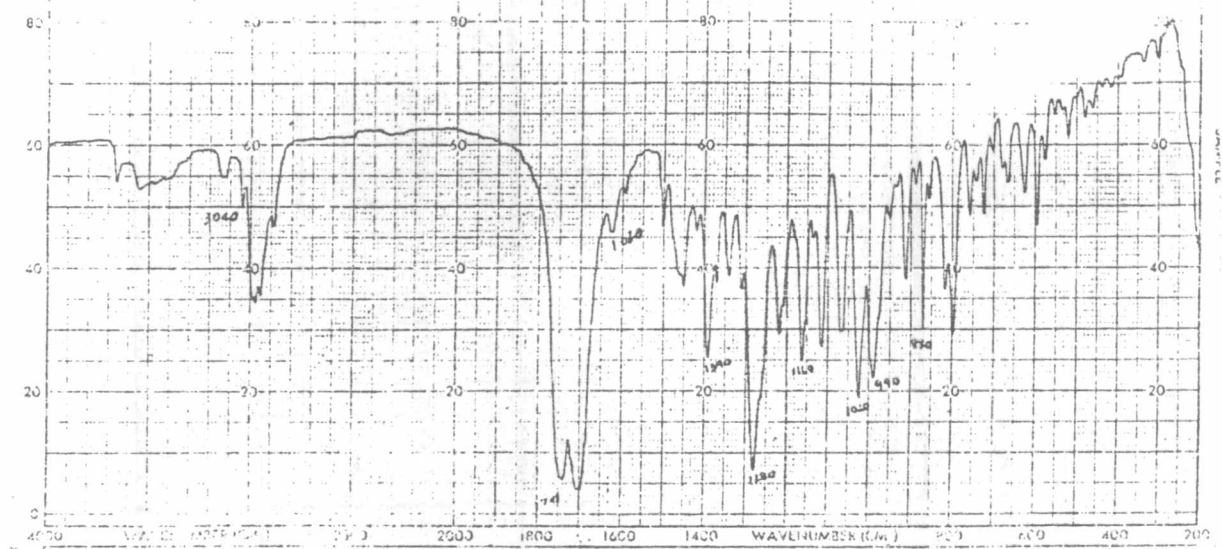
รูปที่ 1 IR spectrum ของสาร A (mp. 137-139°)



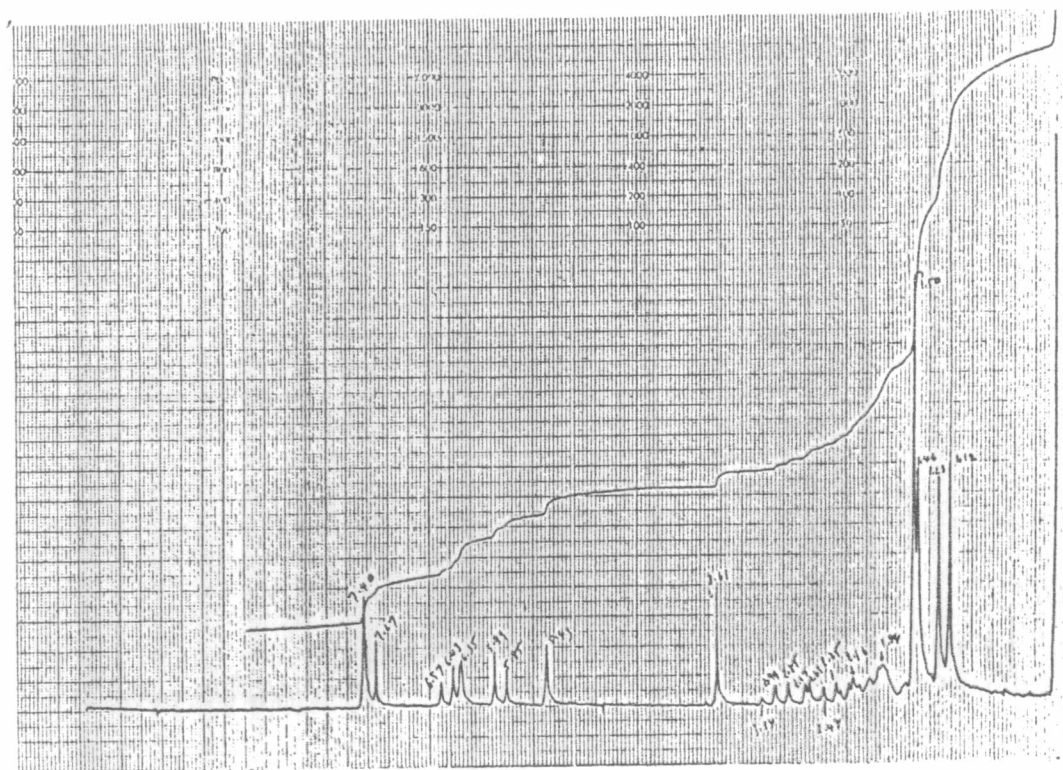
รูปที่ 2 ¹H-NMR (CCl₄-CDCl₃) spectrum ของสาร A (mp. 137-139°)



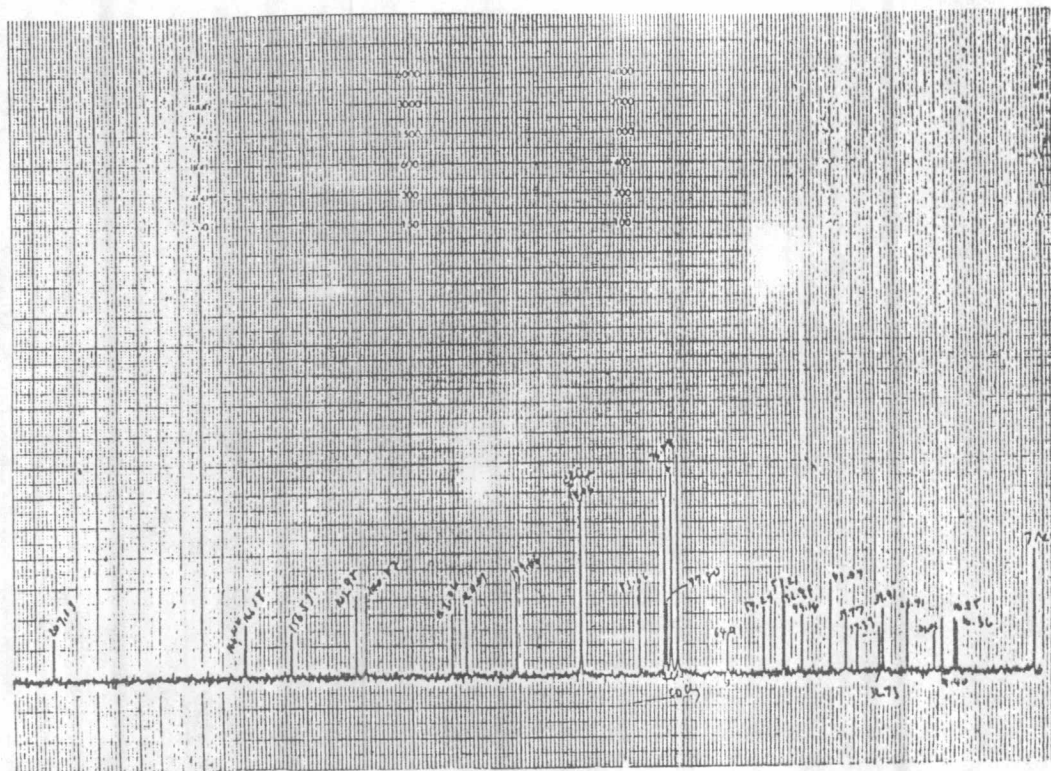
รูปที่ 3 UV (CHCl_3) spectrum ของสาร A (mp. $137-139^\circ$)



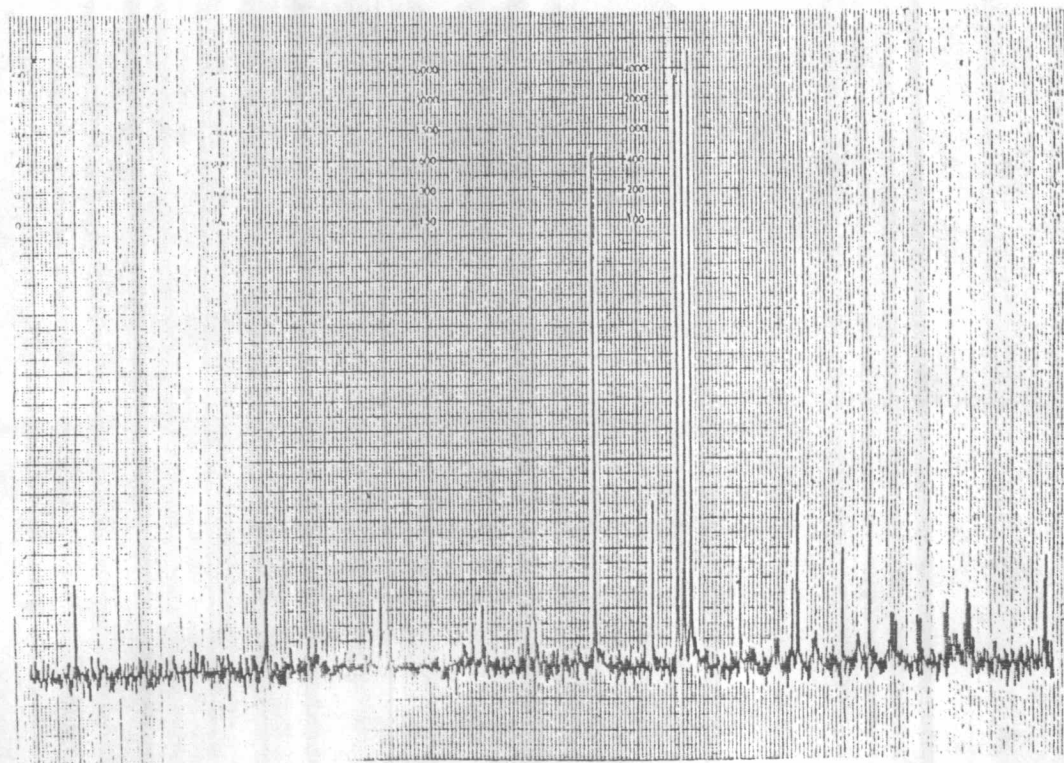
รูปที่ 4 IR spectrum ของสาร B (mp.219-220^o)



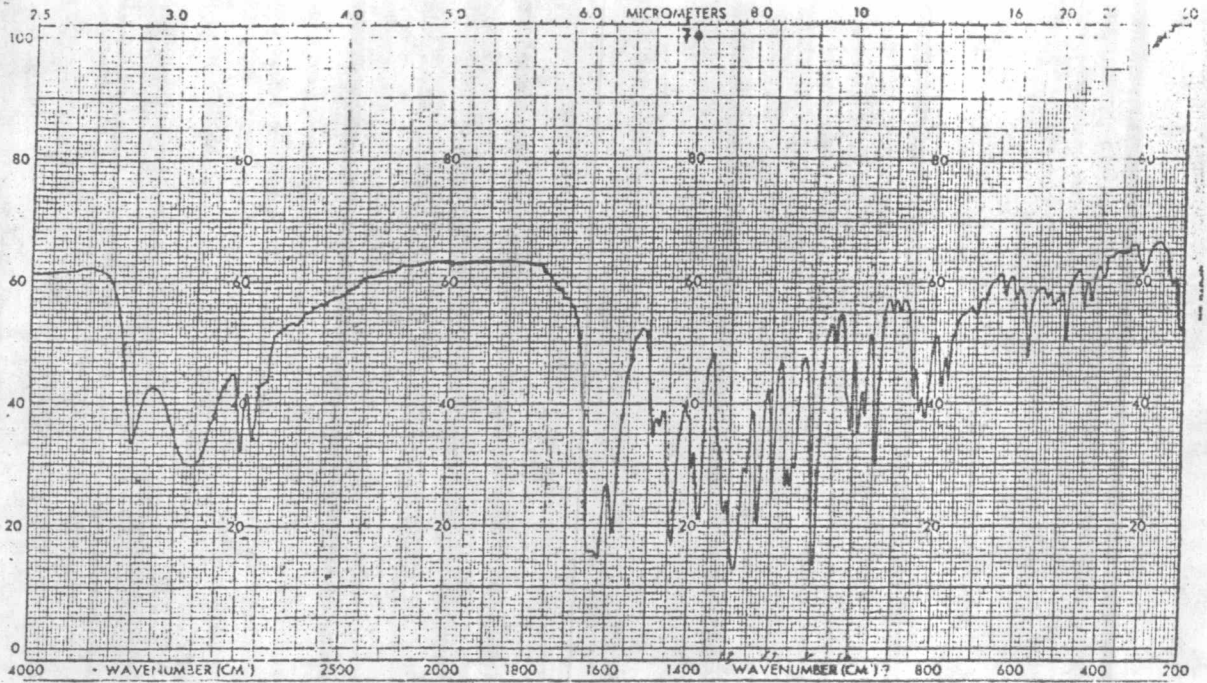
รูปที่ 5 ¹H-NMR (CCl₄-CDCl₃) spectrum ของสาร B (mp.219-220^o)



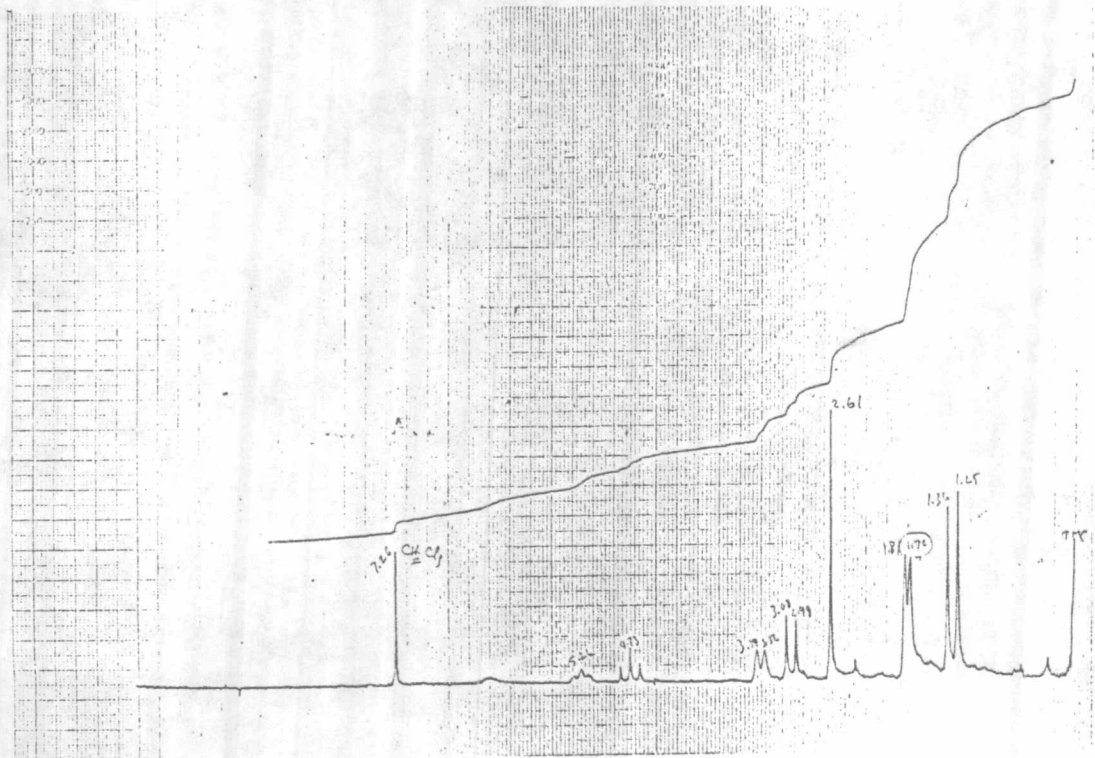
รูปที่ 6 ^{13}C ($\text{CCl}_4\text{-CDCl}_3$) proton noise decoupled spectrum ของสาร B (mp.219-220°)



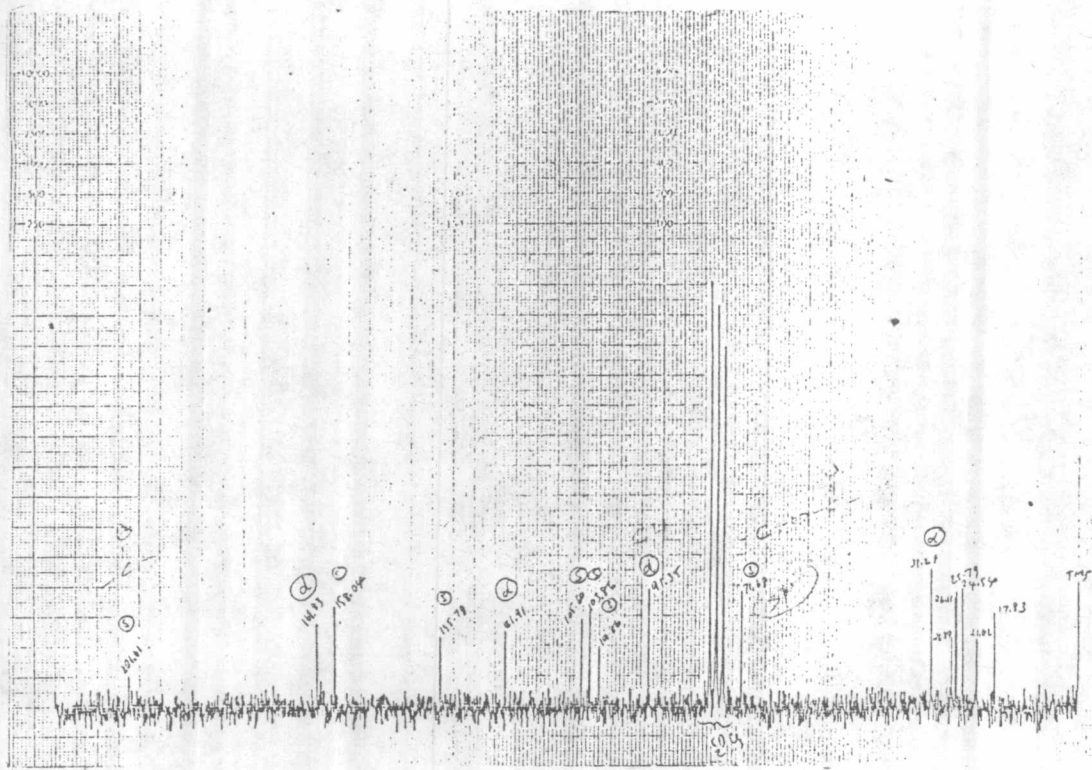
รูปที่ 7 ^{13}C ($\text{CCl}_4\text{-CDCl}_3$) off-resonance decoupled spectrum ของสาร B (mp.219-220°)



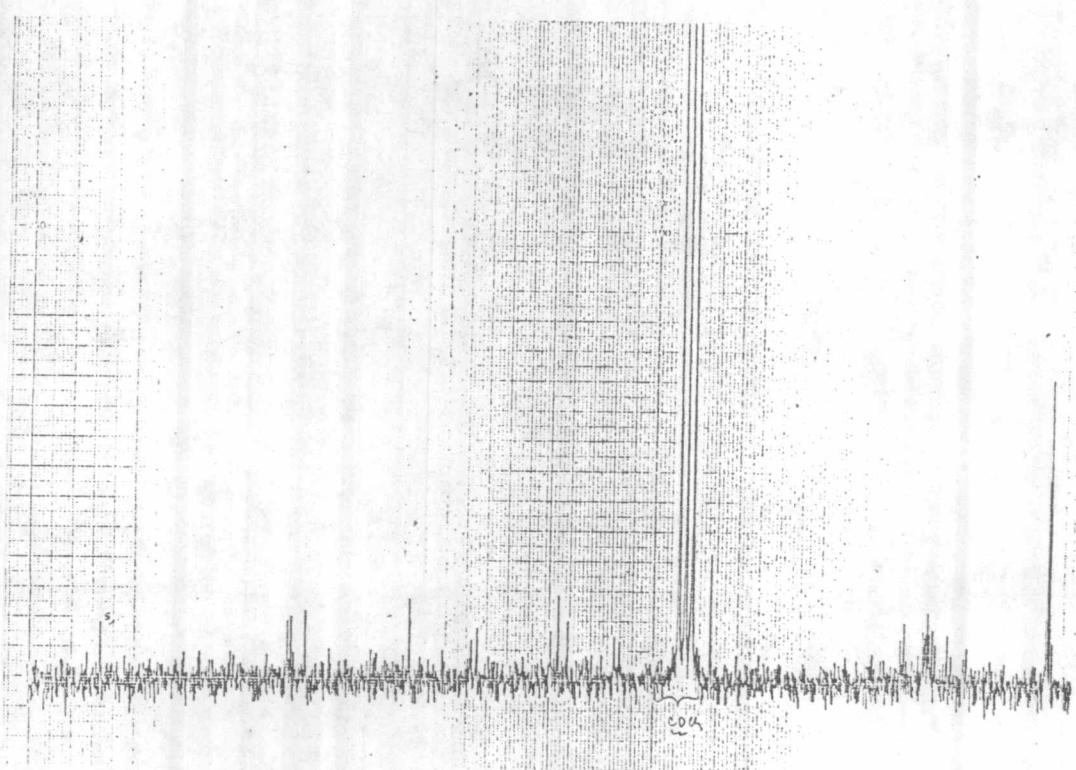
รูปที่ 8 IR spectrum ของสาร C (mp.182-183.5°)



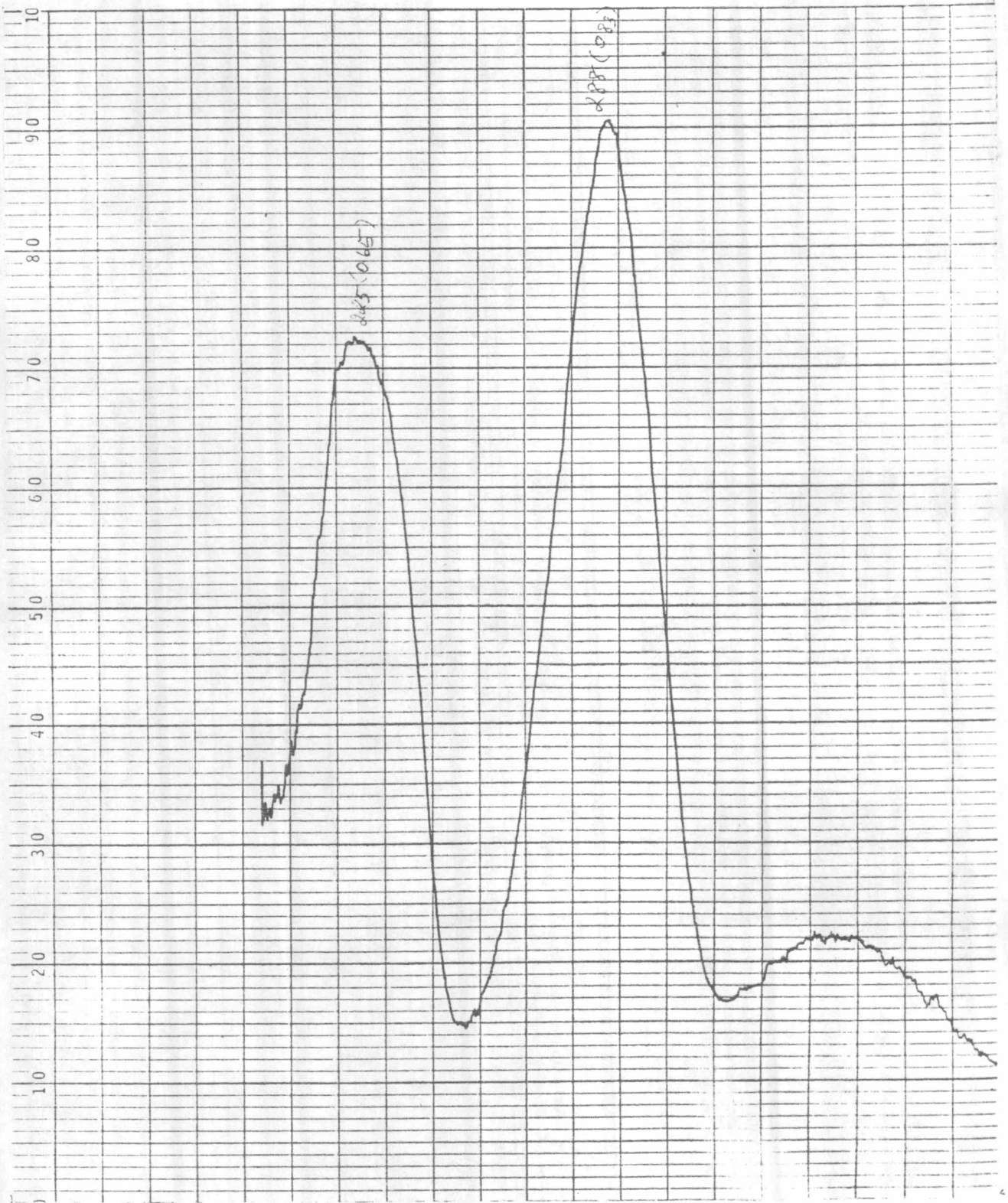
รูปที่ 9 ¹H-NMR (CDCl₃ warm) spectrum ของสาร C (mp.182-183.5°)



รูปที่ 10 ^{13}C (CDCl_3 warm) proton noise decoupled spectrum ของสาร C (mp.182-183.5 $^\circ$)



รูปที่ 11 ^{13}C (CDCl_3 warm) off-resonance decoupled spectrum ของสาร C (mp.182-183.5 $^\circ$)



รูปที่ 12 UV (methyl alcohol) spectrum ของสาร C (mp.182-183.5°)