หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

รากหนอนตายอยากที่นำเอามาวิจัยนี้ได้ใช้รากหนอนตายอยากที่แห้งและบดให้ละเอียดแล้ว สกัดด้วย ethyl alcohol แยกเอา alkaloidal bases ออกด้วยกรดเกลือเข้มข้น 2 เปอร์เซนต์ นำเอาของแข็งส่วนที่เหลือมาแยกโดย column chromatography ได้สารออกมา 4 ชนิดคือ สาร ก. มีจุดหลอมเหลว 203 - 4° สาร ข. มีจุดหลอมเหลวและสลายตัวที่ 229 - 30° (d) สาร ค. มีจุดหลอมเหลว 215 - 6° (d°)และสาร ง. มีจุดหลอมเหลว 244 - 5° นอกจากนี้ยังมีพวก wax และ oil ปนออกมาด้วย เนื่องจากในการแยกสารทั้ง 4 ชนิดนี้ออกมา สาร ก. ซึ่งมีจุดหลอมเหลว 203 - 4° สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่าย และปริมาณสารก็มีมากที่จะศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ คุณสมบัติทางเคมี และสูตรโครงสร้างได้ ในการวิจัยนี้จึงเห็นสมควรที่จะศึกษาคุณสมบัติและเสนอสูตรโครงสร้างของสาร ก.

การหาสูตรโครงสร้างของสาร ก. จุดหลอมเหลว 203 - 4°

จากการ elute column chromatography ด้วย benzene ใน fraction แรก ๆ จะได้สาร m.p. 203 - 4° (I) infra - red spectrum ของสารดังนี้ ปรากฏว่ามี broad band absorption มี maximum ที่ 3400 cm^{-1} (Polymeric association of OH stretching vibration) และ strong absorption peak ที่ 1210 cm^{-1} (phenolic CH stretching vibration) ที่ 1100 cm^{-1} (stretching vibration of secondary OH) ที่ 1650 cm^{-1}(stretching vibration of α, β unsaturated ketone) ที่ 1590, 1500, 1440 cm^{-1}(-HC = CH - stretching vibration of Phenyl

ที่ 2985, 2950, 2850, 2820 cm^{-1} ($-CH_3$ symmetric stretching vibration of $-OCH_3$) และที่ 1030, 1045 cm^{-1} (= C - O - C symmetric vibration of aromatic $-OCH_3$) ที่ 875, 840,825,800,790 cm^{-1} (out of plane bending band of substituted phenyl) แสดงว่าสารตัวนี้จะต้องมี benzene nucleus มี phenolic -OH และ secondary OH group มี carboxyl group ซึ่งอยู่ในตำแหน่ง adjacent กับ -HC = CH - และมี $-OCH_3$ group อยู่ด้วย

จากการตรวจหา functional group ตามวิธี standard method[5]. สาร ก. จะต้องเป็น α- hydroxy ketone และ secondary OH จะต้องอยู่ที่ตำแหน่ง α ของ carbonyl ซึ่ง confirm carbonyl group โดย form 2,4 - Dinitrophenylhydrazone m.p. 248 - 50° (II)

ในการ confirm ว่าสาร ก. มี OH group จึง form acetyl และ methyl derivatives acetyl derivative m.p. 194 - 5° (III) จากการวิเคราะห์หาเปอร์เซนต์ของธาตุมี C = 63.50 % H = 4.52 % จาก I.R. spectrum ยังคงมี broad band absorption มี maximum ที่ 3400 cm^{-1} และ acetate ของสาร ก. นี้ ไม่เปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย Ferric chloride ละลายในสารละลาย 5 % sodium hydroxide ได้น้อยมาก และ methyl derivative m.p. 181 - 2° (IV) จากการวิเคราะห์หาเปอร์เซนต์ของธาตุมี C = 62.94 % H = 5.03 % และ $-OCH_3$ = 36.07 % I.R. spectrum ยังคงมี broad band absorption มี maximum ที่ 3410 cm^{-1} methyl derivative ของสาร ก. นี้ ไม่เปลี่ยนแปลงสีสารละลาย Ferric chloride และละลายในสารละลาย 5 % sodium hydroxide ได้น้อยมาก

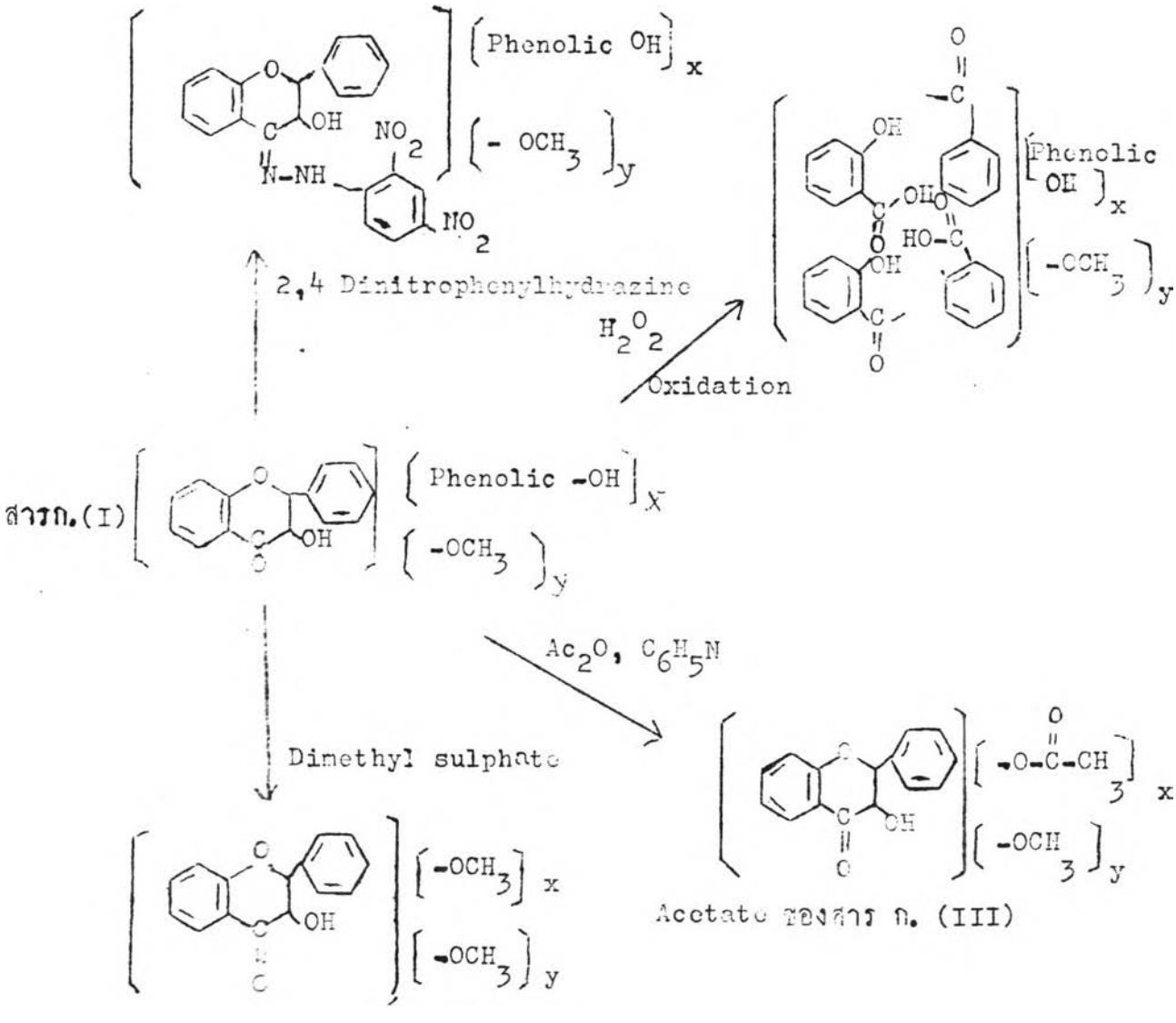
จาก U.V spectrum ของสาร ก. มี absorption peak มี maximum ที่ 275 และ 320 mμ และจากการทดลองและ color reaction ที่กล่าวมาแล้ว สรุปได้ว่าสาร ก. จะต้องเป็นสารพวก 3 - hydroxyflavanone ชนิดหนึ่ง จึงได้พยายาม degraded สาร ก. นี้ด้วย 30 % sodium hydroxide เพื่อที่จะ confirm สูตรโครงสร้างของสาร ก. ผลที่ได้จาก degration เป็นของเหลวสีน้ำตาล ซึ่งตรวจพบว่ามี carboxylic, phenolic OH และ carbonyl group และเนื่องจาก product ที่ได้ ไม่สามารถที่จะแยกให้บริสุทธิ์ได้ จึงไม่สามารถทราบสูตรโครงสร้างที่แน่นอนของ degraded product อย่างไรก็ดีได้พยายามที่จะ convert 3 - hydroxyflavanone ไปเป็น corresponding 3 - hydroxyflavone เพื่อที่อาจจะเป็นแนวทางที่จะหาสูตรโครงสร้างของสาร ก. จาก 3 - hydroxyflavone ซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมีที่เสถียรกว่า แต่เนื่องจากสาร ก. มี phenolic OH group ซึ่งสามารถถูก oxidised ได้ง่าย จึงทำให้ product ที่ได้จาก oxidation ซึ่งเป็นของเหลวสีน้ำตาลดำ ไม่สามารถที่จะ identifyได้

3 - hydroxyflavanone derivative มีคุณสมบัติแตกต่างจาก flavanone derivative อื่น ๆ เนื่องจากสามารถเกิด rearrangement ขึ้นภายในโมเลกุลเมื่อทำปฏิกิริยากับreagentsต่าง ๆ ในสารละลายที่เป็นกรดหรือด่าง และ secondary OH ที่อยู่ตำแหน่งที่ 3 ของ flavanone จะ resist ต่อการ methylation ด้วย dimethyl sulfate ในด่าง ทำให้การติดตามปฏิกิริยาและ product ที่จะเกิดขึ้นอย่างแน่นอนนั้นได้ยาก

อย่างไรก็ดี จากปฏิกิริยาต่าง ๆ คุณสมบัติทางกายภาพ คุณสมบัติทางเคมี จาก I.R และ U.V spectrum และการวิเคราะห์ค่าเปอร์เซนต์ของธาตุของสาร ก. (I) 2,4 - Dinitrophenylhydrazone (II) Acetyl derivative (III) และ methyl derivative(IV) และ

product ที่ได้จาก degradation สาร ก. พอจะสรุปได้ว่าสาร ก. เป็นสารพวก 3 - hydroxyflavanone มี $-OCH_3$ y group, phenolic OH x group และมี secondary OH ซึ่งอยู่ในตำแหน่ง adjacent กับ carbonyl group พอจะ predict สูตรโครงสร้างโดยเคร่า ๆ ซึ่งควรจะเป็นดังนี้

2,4 - Dinitrophenylhydrazone ของสาร ก. (II)

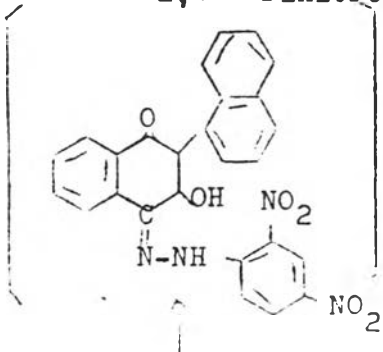


Acetate ของสาร ก. (III)

Methyl derivative ของสาร ก. (IV)

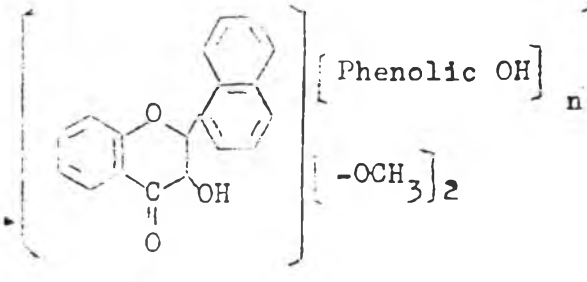
จาก Mass spectra analysis ของสาร ก. พบว่ามีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{21}H_{20}O_8$ และน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 400 และจาก NMR. แสดงว่า สาร ก. มี $-OCH_3$, phenolic OH และproton splitting ในbenzene nuclei ซึ่งเป็นการยืนยัน partial structure จาก chemical reactions ตามที่กล่าวมาแล้ว เพราะฉะนั้น อาจจะ predict สูตรโครงสร้างซึ่งอาจจะเป็นได้อีกดังนี้

2,4 - Dinitrophenylhydrazone ของสาร ก. (II')



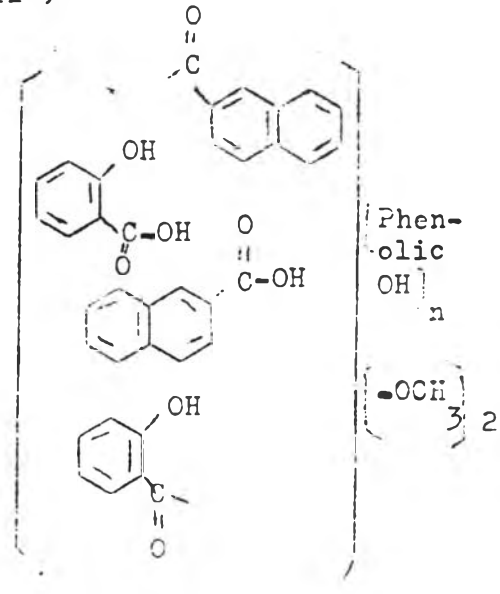
2,4 Dinitrophenylhydrazine

สาร ก.(I)

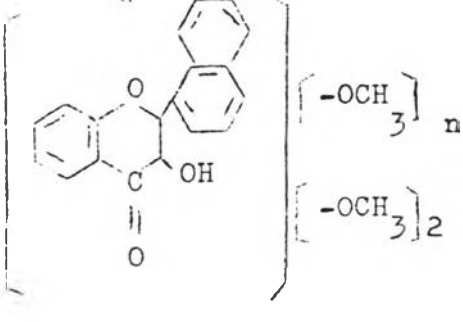


H_2O_2

Oxidation

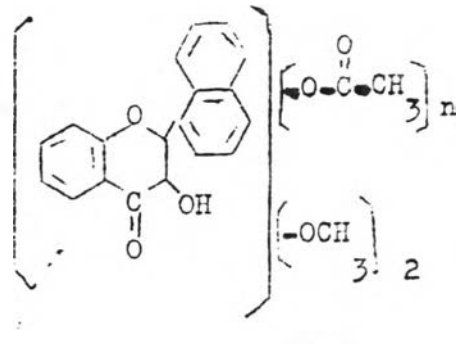


Dimethyl sulfate



Methyl derivative ของสาร ก.(IV)

Ac_2O, C_6H_5N



Acetate ของสาร ก.(III')

นอกจากนี้ยังมีสารประกอบอีก 3 ชนิด ที่ไม่ได้ identify มี m.p. 229 - 30° (d), 215 - 6° (d) และ 244 - 5° เนื่องจากมีอยู่จำนวนน้อย แต่ก็น่าสนใจ เพราะทำให้ทราบว่าในรากกะเพียดหรือหนอนตายอยากหมอยู่ในเมืองไทยเรา นอกจากจะมีสารพวก alkaloidal bases แล้ว ยังมีสารประกอบพวก 3 - hydroxyflavanone และสารพวก neutral อื่น ๆ อีก ซึ่งนักวิทยาศาสตร์ชาวต่างประเทศและของไทยเรา ยังไม่ได้ค้นพบมาก่อนเลย นับว่ามีประโยชน์ทางวงการวิทยาศาสตร์ และวงการเภสัชที่อาจจะใช้สารพวก 3 - hydroxyflavanone มาวิเคราะห์คุณภาพในทางยาได้