

บทที่ 2

การทดลอง

2.1.1 Column Chromatography¹³ ใช้ Aluminium Oxide Standardised for Column chromatography ของบริษัท Riedel Dehaen Ag., Seelze Hannover เป็น Adsorbent โดยใช้ Column แก้วที่ Sintered glass ซึ่งปิดเปิด Column ด้วย Stop - cock ในการเตรียมคอลัมน์ให้ปิดคอลัมน์ เติม solvent ลงไปเล็กน้อยแล้วปล่อยให้ solvent ไหลออกบ้างเพื่อไล่ช่องอากาศ แล้วจึงเติม solvent ลงไปอีกจนได้ระดับ $\frac{3}{4}$ ของคอลัมน์ เติมทรายบริสุทซ์ลงไปให้มีความหนาประมาณ $\frac{1}{2}$ ซม. เพื่อกันไม่ให้ Aluminium oxide ไหลออกมากับ solvent และกันไม่ให้ Alumina เข้าไปอยู่ระหว่างข้อต่อของเครื่องแก้ว (quick fit) ทำให้ผิวหน้าของทรายเรียบแล้วจึงค่อย ๆ บรรจุ Aluminium oxide ลงไปให้ติดคอลัมน์จนได้ความยาวของคอลัมน์ที่ต้องการปรับผิวหน้าของ Aluminium oxide ให้เรียบแล้วเติมทรายบริสุทซ์ลงไปให้หนาประมาณ $\frac{1}{2}$ ซม. เพื่อป้องกันมิให้ผิวหน้าของคอลัมน์ถูกกระทบกระเทือนหรือเป็นรอยในตอนที่เติมสาร หรือ solvent ลงไป

2.1.2 Thin Layer Chromatography^{7,16} ใช้ Silica gel G.(acc. to Stahl for thin layer chromatography) ของบริษัท Riedel Dehaen Ag., Seelze Hannover เป็น Adsorbent การทำ Chromatoplates โดยใช้ Desaga spreader ถ้าใช้ Adsorbent 30 กรัมต่อน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร เหย้าให้เข้ากัน (1-2 นาที) เทใส่ Spreader ที่ปรับให้ Adsorbent มีความหนา 0.25 มม. จะได้ Chromatoplate ขนาด 20x20 ซม. จำนวน 5 plate ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง แล้วจึง Activate โดยอบที่อุณหภูมิ 100-125° อีก $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง เก็บไว้ใน Desiccator ที่มี Anhydrous calcium chloride บรรจุอยู่ เพื่อเตรียมไว้สำหรับใช้ ในการทำ TLC. ใช้สารประมาณ 0.5 มิลลิกรัม ละลายในแก้วหาลายที่สะอาดแล้ว Spot ห่างจากขอบล่าง

2 ซม. (Starting line) และ Spot ควรห่างกันอย่างน้อย 4 ซม. จาก Spot ขึ้นไปทางด้านบน 15 ซม. เติบ Spatular ชัดเจนเป็น Solvent front เมื่อ Spot แดงแล้วจึงจุ่ม Chromatoplate ลงใน Tank ที่ Saturated ด้วยไอของ Solvent โดยบรรจุ Solvent สูงประมาณ 1 ซม. เมื่อ Developing Solvent วิ่งขึ้นไปถึง Solvent front (ประมาณ 30 นาที) จึงยก Plate ออกจาก Tank ทำให้แห้ง แล้ว Spray ด้วย 2', 7' - Dichlorofluorescein Solution (0.2 % 2', 7' - Dichlorofluorescein ใน เอทิลแอลกอฮอล์) ซึ่งเป็น Detecting agent แดง แล้วจะเห็น Spots ของสารปรากฏบน Chromatoplate ซึ่ง Spot เหล่านี้ส่วนมากเรืองแสงใน Ultraviolet light ทำให้นมองเห็น Spots ได้ชัดเจน

2.1.3 Liebermann - Burchard Reaction¹¹ ละลายสารที่ต้องการทดสอบจำนวนเล็กน้อยในคลอโรฟอร์ม 4 - 5 หยด คอย ๆ หยด Acetic anhydride ลงไป - หยด และกรดกำมะถันเข้มข้น 1 หยด แล้วเขย่าถ้ามีสีเกิดขึ้น แสดงว่าสารนั้นเป็นสารประกอบพวก Steroids หรือ Triterpenoids

2.1.4 Infra - red spectrum Infra - red spectra ของสารต่าง ๆ หาได้จากเครื่อง Perkin - Elmer 421 Grating Infra - red Spectrophotometer โดยทำเป็น KBr - pellets ส่วนการตรวจลักษณะ Absorption peaks ของสารนั้นให้เปรียบเทียบกับ Standard characteristics และ Absorption peaks ที่อยู่ใน Literature^{6,9,12,17}

2.1.5 การหาจุดหลอมเหลว การหาจุดหลอมเหลวใช้เครื่อง Fisher - Johns melting point apparatus

2.1.6 การวิเคราะห์เปอรินต์ของธาตุต่าง ๆ ส่งไปทำที่กองเคมี กรมวิทยาศาสตร์ กระทรวงอุตสาหกรรม

2.1.7 การทำสารให้แห้ง ก่อนการวิเคราะห์ หรือก่อนทำ Infra - red spectra ใช้ Abderhalden vacuum drying apparatus โดยมี Anhydrous phosphorous

pentoxide เป็นตัวดูดความชื้น 12 - 18 ชั่วโมง

2.1.8 Solvent ที่ใช้ตลอดการทดลองนี้แทบทุกชนิดนำมากลั่นใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง

2.2 การสกัด (Extraction)

2.2.1 การสกัดสารจากใบประยงค์ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์

ใช้ใบประยงค์ที่ตากแห้งรังบดละเอียดหนัก 700 กรัม แลวกกรอง นำเอาสิ่งกรองได้ไปกลั่นเอาตัวทำละลายออกจนเกือบแห้ง ได้สารมีลักษณะเป็นยางเหนียวสีเขียวจนเกือบดำ ส่วนกากที่เหลือหลังจากแซควยปิโตรเลียมอีเทอร์ครั้งแรกนำเอาไปสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ตามวิธีเดิมอีก (6 ครั้ง) จนปิโตรเลียมอีเทอร์ที่แช่เกือบไม่มีสี รวมสารที่ได้จากการสกัดทั้งหมด ปล่อยให้ปิโตรเลียมระเหยจนแห้ง ผลที่สุดได้สารเป็นยางข้นสีเขียวเกือบดำ หนัก 30.3 กรัม (4.33 % โดยน้ำหนักจากใบประยงค์แห้ง)

ตารางที่ 1

ปริมาณของ Crude extract

ครั้งที่	น้ำหนักใบประยงค์แห้งบดละเอียด (กรัม)	จำนวนปิโตรเลียมอีเทอร์ (ลิตร)	น้ำหนักของ crude extract (กรัม)	% โดยน้ำหนักจากใบประยงค์แห้ง
1	700	6	30.3	4.33
2	2078	12	91.0	4.43
3	4150	30	183.6	4.18
4	920	15	42.5	4.62

2.3 การแยกสาร (Separation)

2.3.1 วิธีแยกสารจาก Crude extract ที่ได้จากการสกัดใบประยงค์ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์

นำ Crude extract ที่ได้จากการสกัดใบประยงค์ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ จำนวน 25 กรัม ละลายในปิโตรเลียมอีเทอร์จำนวน 600 มิลลิลิตร ผ่านสารละลายที่โคลงใน column chromatography number CR 51 $\frac{1}{2}$ 750 ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร ยาว 44 เซนติเมตร ใช้ Aluminium Oxide (400 กรัม) เป็น Adsorbent และปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายในการเตรียมคอลัมน์ตามวิธี 2.1.1 elute คอลัมน์ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์, 10 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์, 20 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์, 50 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์, 75 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์ และเมทิลแอลกอฮอล์ ตามลำดับ รับ eluate ครั้งละ 2 ลิตร แฉวนำ eluate แต่ละครั้ง (Fraction) ไปกลั่นได้ตัวทำละลายออกจนเหลือสารละลายประมาณ 50 มิลลิลิตร จึงตั้งไว้ให้ตกผลึก

ตารางที่ 2

การแยกสารออกจาก Crude Extract โดยวิธี Column Chromatography

ชนิด Eluent	จำนวน fraction ครั้งละ 2 ลิตร	สารที่ได้และ m.p.	น้ำหนักของสาร (กรัม)
ปิโตรเลียมอีเทอร์	5	Semisolid สีขาว (Wax)	4.47
10 % อีเทอร์ ปิโตรเลียม - อีเทอร์	2	น้ำมันสีเหลือง	1.38

ตารางที่ 2

การแยกสารออกจาก Crude extract โดยวิธี Column Chromatography

ชนิด solvent	จำนวน fraction (ครั้งละ 2 ลิตร)	สารที่ได้อะไร m.p.	น้ำหนักของสาร (กรัม)
ปิโตรเลียมอีเทอร์	5	Semisolid สีขาว (wax)	4.47
10 ٪ อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์	2	น้ำมันสีเหลือง	1.38
10 ٪ อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์	3	amorphous crystal สีขาว 82 - 85°	0.37
20 ٪ อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์	5	ของแข็งผสมน้ำมันสีเหลือง	0.78
20 ٪ อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์	3	ผลึกรูปเข็มไม่มีสีผสมน้ำมัน 131 - 134°	0.17
50 ٪ อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์	2	น้ำมันสีเหลือง	1.97
50 ٪ อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์	3	ผลึกรูปเตี้ยม 100 - 103°	0.09
50 ٪ อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์	10	ผลึกรูปเข็มรวมกับ amorphous crystal 90 - 122°	0.55
75 ٪ อีเทอร์ ปิโตรเลียมอีเทอร์	27	ผลึกรูปเข็มไม่มีสี 166 - 172°	0.36
เมทิลแอลกอฮอล์	2	น้ำมันสีเขียว	1.15

2.4 การทำสารให้บริสุทธิ์ (Purification)

2.4.1 วิธีทำสาร m.p. 82 - 85° ให้บริสุทธิ์

สาร m.p. 82 - 85° ได้จากการ elute column chromatography ด้วย 10 % อีเทอร์ บีโตร์เลียมอีเทอร์ในสาม fraction ซึ่งตกผลึกออกมาตั้งแต่วัตถุละลายยังไม่แห้ง เป็น amorphous crystal จากการทำให้ Thin - layer chromatography ทราบว่ายังมีนํ้าปนเปื้อนที่เป็น impurity จึงนำสาร m.p. 82 - 85° C นํ้าหนัก 0.217 กรัม ตกผลึกหลาย ๆ ครั้งใน benzene ในที่สุดจะได้ amorphous สีขาว มีจุดหลอมเหลวครั้งที่ 87 - 88° นํ้าหนัก 0.142 กรัม (0.83 เปอร์เซ็นต์ จาก crude extract) กำหนดให้เป็นสาร ก.

2.4.2 วิธีทำสาร m.p. 131 - 134° ให้บริสุทธิ์

สาร m.p. 131 - 134° ได้จากการ elute column chromatography ด้วย 20 เปอร์เซ็นต์ อีเทอร์ บีโตร์เลียมอีเทอร์ fraction ที่หกถึงเก้า เมื่อตัวทำละลายจวนแห้งจะเกิดผลึกรูปเข็มสีขาวคึกคักต่าง ๆ ขนาด นำสารนี้มาหนัก 0.16 กรัม ตกผลึกซ้ำหลาย ๆ ครั้งด้วยคลอโรฟอร์มและเบนทิลแอลกอฮอล์ (1 : 2) จะได้อะไรเป็นแผ่นสีขาว จุดหลอมเหลวครั้งที่ 137 - 138° นํ้าหนัก 0.08 กรัม (0.32 เปอร์เซ็นต์ จาก crude - extract) กำหนดให้เป็นสาร ข.

2.4.3 วิธีทำสาร m.p. 100 - 103° ให้บริสุทธิ์

สารจุดหลอมเหลว 100 - 103° ได้จากการ Elute column chromatography ด้วย 50 % อีเทอร์ บีโตร์เลียมอีเทอร์ fraction ที่ 3 - 5 ซึ่งจะตกผลึกรูปเข็มออกมาตั้งแต่วัตถุละลายยังไม่แห้ง กรองผลึกออกและล้างนํ้ามันออกด้วย 20 % อีเทอร์บีโตร์เลียมอีเทอร์ นำสารนี้มา 0.18 กรัม ตกผลึกหลาย ๆ ครั้งใน 10 % อะซีโตน บีโตร์เลียมอีเทอร์ จะได้อะไรผลึกรูปเข็มมีจุดหลอมเหลวครั้งที่ 105 - 106° นํ้าหนัก 0.11 กรัม (0.24 % จากนํ้าหนักของ Crude extract) กำหนดให้เป็นสาร ค.

2.4.4 วิเคราะห์สารที่ 90 - 122° ในบริษัทยา

สารจุดหลอมเหลว 90 - 122 ได้จากการ Elute column chromatography ด้วย 50 % อีเทอร์ - บีโตร์เลียมอีเทอร์ fraction ที่ 6 - 15 ซึ่งตกผลึกออกมาเป็นผลึกรูปเข็มเป็นดอก ๆ ร่วมกับ Amorphous crystal ซึ่งแตกตัวละลายยังไม่แห้ง กรองเอาตัวที่ละลายออก แล้วล้างน้ำมันที่ตกอยู่ด้วย 50 % อีเทอร์ - บีโตร์เลียมอีเทอร์ โคซาร์สีเหลืองอ่อน จุดหลอมเหลว 90 - 122° นาสารหนัก 2.46 กรัม ละลายในเบ็นซีน 20 มิลลิลิตร แล้วผ่านลงใน Column chromatography number C.R.12/30 เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.2 ซม. ยาว 29 ซม. ใช้ Aluminium oxide (25 กรัม) เป็น Absorbent โดยใช้บีโตร์เลียมอีเทอร์เป็นตัวที่ละลายในการเตรียมคอลัมน์ตามวิธี 2.1.1 Elute คอลัมน์ด้วย 10 % อีเทอร์ - บีโตร์เลียมอีเทอร์, 20 % อีเทอร์ - บีโตร์เลียมอีเทอร์ และ 50 % อีเทอร์ - บีโตร์เลียมอีเทอร์ ตามลำดับ

ตารางที่ 3

การแยกสารจุดหลอมเหลว 90 - 122°C โดย column chromatography

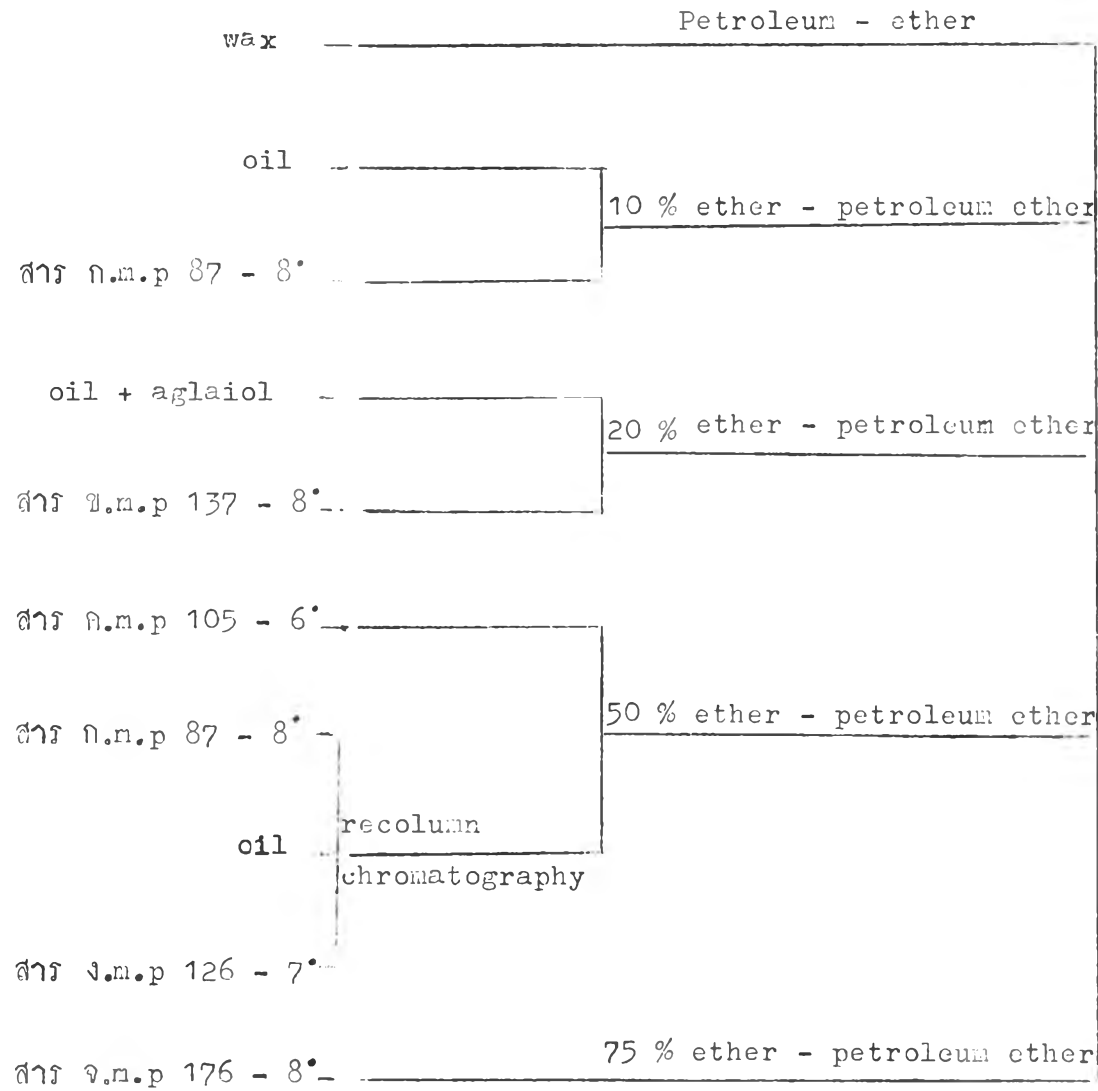
ชนิดของ Eluent	จำนวน fraction (ครึ่งละ 250 มิลลิลิตร)	สารที่ได้และจุดหลอมเหลว	น้ำหนัก (กรัม)
10 % อีเทอร์ - บีโตร์เลียมอีเทอร์	4	น้ำมันสีเหลืองผสม amorphous crystal 80 - 85°	0.46
20 % อีเทอร์ - บีโตร์เลียมอีเทอร์	4	น้ำมันสีเหลือง	เล็กน้อย
50 % อีเทอร์ - บีโตร์เลียมอีเทอร์	8	ผลึกรูปเข็มสีเหลืองอ่อน 120 - 122°	0.78

นำสารจุดหลอมเหลว 80 - 85[°] ที่ได้จากการทำ recolumn chromatography โดย elute column ด้วย 10 % อีเทอร์ - ปีโตรเลียมอีเทอร์ fraction ที่ 1 - 4 จำนวน 0.46 กรัม ตกผลึกหลาย ๆ ครั้งในเย็นขึ้น จะได้ amorphous crystal สีขาว จุดหลอมเหลวคงที่ 87 - 88[°]หนัก 0.21 กรัม (0.29 % จาก crude extract) เมื่อวิเคราะห์ mixed melting point กับสาร ก. จุดหลอมเหลวไม่เปลี่ยนแปลงและ Infra-red spectrum ก็ identical กับสาร ก. ทุกประการแสดงว่าสารจุดหลอมเหลว 87 - 88[°] ที่ได้นี้เป็นสารชนิดเดียวกับสาร ก.

นำสารจุดหลอมเหลว 120 - 122[°] ที่ได้จากการทำ recolumn chromatography โดย elute column ด้วย 50 % อีเทอร์ - ปีโตรเลียมอีเทอร์ fraction ที่ 1 - 8 จำนวน 0.78 กรัม มาตกผลึกหลายครั้งใน 40 % อีเทอร์ - ปีโตรเลียมอีเทอร์ ได้สารผลึกรูปเข็มไม่มีสี จุดหลอมเหลวคงที่ 126 - 127[°] C หนัก 0.54 กรัม (0.48 % จาก crude extract) กำหนดให้เป็นสาร ง.

2.4.5 วิธีทำสารจุดหลอมเหลว 166 - 172[°] ใหม่บริสุทธิ์

นำสารจุดหลอมเหลว 166 - 172[°] ได้จากการ Elute column chromatography ด้วย 75 % อีเทอร์ - ปีโตรเลียมอีเทอร์ fraction ที่ 1 - 27 ซึ่งตกผลึกเป็นดาวเล็ก ๆ เมื่อแก้วทำละลายจวนแห้ง กรองและล้างผลึกด้วยเบนซีนเล็กน้อย นำสารนี้มา 0.24 กรัม ตกผลึกในเบนซีนหลาย ๆ ครั้ง จะได้สารผลึกรูปเข็มไม่มีสี จุดหลอมเหลวคงที่ 176 - 178[°] หนัก 0.18 กรัม (0.72 % ของน้ำหนักของ crude extract) กำหนดให้เป็นสาร จ.



Crude Extract
Petroleum - ether
Column Chromatography

DISSEMINATION
FORM 4
UNIVERSITY OF SAIGON

2.5 การตรวจลักษณะของสารประกอบที่แยกออกมาได้

(Identification of Compound)

2.5.1 การตรวจลักษณะของสาร ก., m.p. 87 - 88°

2.5.1.1 Physical Properties and Colour Reaction ของสาร ก.

ลักษณะสาร ก. เป็น Amorphous solid สีขาว มีจุดหลอมเหลว 87 - 88°
 ปรากฏว่าละลายได้ในคลอโรฟอร์ม ดีเทอร์ เบนซีน และเมทิลแอลกอฮอล์ ไม่ละลายในน้ำ ไม่
 ให้สีกับ Liebermann - Burchard ไม่ฟอกสีโบรมีนในการบอเนตราคลอไรด์ ทา Rf
 value (ตามวิธี 2.1.2) ได้ 0.74 เมื่อนำไปตรวจหาธาตุต่าง ๆ โดยวิธี Lass-
 aigne sodium decomposition test¹⁵ ปรากฏว่าไม่พบ N, S และ Halogen
 ผลของการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์คาร์บอน และไฮโดรเจน มีดังนี้

$$C = 82.53 \% \qquad H = 14.42 \%$$

จากการคำนวณสำหรับ myricyl alcohol ($C_{30}H_{62}O$) C = 82.11 %
 H = 14.24 % Infra - red spectrum ของสาร ก. (รูปที่ 1 หน้า 32) แสดง
 Absorption peaks ดังตารางที่ 6 หน้า 22

2.5.1.2 การตรวจหา Functional group

ตรวจหา Functional group ตามวิธี Standard method¹⁵ ปรากฏว่าสารนี้เป็น
 Saturated alcohol

2.5.1.3 Acetylation ของสาร ก.

ละลายสาร ก. 100 มิลลิกรัมด้วย Anhydrous Pyridine 2 มิลลิลิตร ใน
 ขวดกนกขนาด 25 มิลลิลิตร เติม Acetic anhydride ลงไป 1.5 มิลลิลิตร ท่อ
 Reflux Condenser และ reflux in Water bath เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทำให้
 เย็นลงในน้ำแข็งผสมน้ำ 50 มิลลิลิตร ลบให้ทั่ว กรองลงในขวดด้วยน้ำกลั่นหลายครั้ง
 จนหมดกลิ่น Pyridine นำตะกอนในแห้ง ใสตะกอนหนัก 87 มิลลิกรัม แล้วเอาไปตก
 ผลึกหลาย ๆ ครั้งใน Petroleum ether ผลที่สุดได้ Amorphous solid สีขาว มี

จุดหลอมเหลวคงที่ 74 - 75° หนัก 52 มิลลิกรัม

Infra - red Spectrum ของ acetate ของสาร ก. (รูปที่ 2 หน้า 32) แสดง absorption peaks ดังตารางที่ 7 (หน้า 23)

2.5.2 การตรวจลักษณะของสาร ก., m.p. 137 - 138°

2.5.2.1 Physical Properties and Colour Reaction ของสาร ก.
 ผลิตของสาร ข. เป็นแผ่นสีขาว มีจุดหลอมเหลว 137 - 138° ละลายได้ในคลอโรฟอร์ม เป็นชั้น อีเทอร์ อะซีโตน ไม่ละลายในน้ำ ทำ Thin layer chromatography เทียบกับ β -Sitosterol ไม่จะใช้ solvent อะไร Rf value เท่ากัน เมื่อทดลอง ทำ Liebermann - Burchard Reaction ให้สีแดงแล้วเปลี่ยนเป็นม่วงน้ำเงินทันที แล้วเปลี่ยนเป็นสีเขียวในที่สุด เพื่อนำไปตรวจหาธาตุโดยวิธี Lassaigne's test ปรากฏว่าไม่มีธาตุอื่นเลยนอกจากคาร์บอน และไฮโดรเจน ผลของการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ของคาร์บอนและไฮโดรเจนมีดังนี้

$$C = 83.53 \% , H = 12.24 \%$$

จากการคำนวณ β - Sitosterol ($C_{29}H_{50}O$)

$$C = 83.99 \% , H = 12.15 \%$$

Infra - red spectrum ของสาร ข. (รูปที่ 5 หน้า 33) แสดง Absorption peaks ดังตารางที่ 8 (หน้า 24) ซึ่ง Identical กับ Infra - red spectrum ของ β -Sitosterol ทุกประการ (รูปที่ 4 หน้า 33) เมื่อนำสาร ข. ไปทำ mixed melting point กับ β -Sitosterol ปรากฏว่า melting point คงที่

2.5.2.2 การตรวจหา Functional group การตรวจหา Functional group ตาม standard method¹⁵ ปรากฏว่าสาร ข. นี้ฟอกสี bromine in CCl_4 ไม่ให้ gas HBr และเกิด ester กับ Acetic anhydride และ Benzoyl Chloride ได้ เมื่อทดสอบ Unsaturated steroid²¹ โดยละลายสาร ข. นี้เล็กน้อยใน Acetic acid แล้วเติม Ferric chloride solution 2 - 3 หยด จะได้สีส้ม และเมื่อเติม conc. H_2SO_4 ลงไป 1 - 2 หยด สีส้มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทันที

2.5.2.3 Acetylation ของสาร ๑ ละลายสาร ๑ 0.2 กรัม ใน Pyridine 3 มิลลิลิตร เติม Acetic anhydride 2 มิลลิลิตร แล้วหาคานวี่ 2.5.1.3 จะโคสารหนัก 0.21 กรัม ทดสอบสารที่ได้ โคโรโรฟอร์มอะเมทิลแอลกอฮอล์ (1 : 6) หลาย ๆ ครั้งจะโคสารเป็นแถบสี รุกละอมเหลว 127 - 128°

2.5.3 การตรวจลักษณะของสาร ก., m.p. 105 - 106°

2.5.3.1 การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพและ Colour reaction สาร m.p. 105 - 106° เป็นผลึกรูปเข็มไม่มีสี ละลายได้ใน Organic solvent แทบทุกชนิด แต่ไม่ละลายน้ำ เชื้อทดสอบ Liebermann - Burchard Reaction ได้สีแดง น้ำตาล เขียว แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินในที่สุด สารนี้ ออกสี Bromine in Carbontetrachloride ออกสี $KMnO_4$ แต่ไม่เปลี่ยนสี $FeCl_3$ solution เพื่อนำไปตรวจหาธาตุโดยวิธี Lassaigne's test¹⁵ ปรากฏว่าไม่มีธาตุอื่นนอกจากคาร์บอนและไฮโดรเจน และผลการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ของคาร์บอน และไฮโดรเจนมีดังนี้

$$C = 68.79 \% , \quad H = 7.06 \%$$

$$\text{Molecular weight} = 222$$

Infra - red spectrum ของสาร ค. ดังภาพที่ 5 (หน้า 34)

2.5.4 การตรวจลักษณะของสาร ง. , m.p. 126 - 127°

2.5.4.1 การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพ สาร ง. m.p. 126 - 127° เป็นผลึกรูปเข็มไม่มีสี ละลายได้ใน Benzene, Methanol, Ethanol, Acetone, Chloroform และ Ether ละลายได้บ้างใน Petroleum ether เมื่อร้อน, ไม่ละลายน้ำ เมื่อทดลองทำ Liebermann - Burchard Reaction ได้สีแดง แล้วกลายเป็นสีน้ำตาล เพื่อนำไปตรวจหาธาตุโดยวิธี Lassaigne's test¹⁵ ปรากฏว่าไม่มีธาตุอื่นนอกจากคาร์บอนและไฮโดรเจน ผลการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ของคาร์บอนและไฮโดรเจนมีดังนี้

$$C = 77.68 \% , \quad H = 11.41 \%$$

Thin layer Chromatography ตามวิธี 2.1.2 Rf. = 0.37 Infra - red

spectrum ของสาร ง. รูปที่ 6 . . . (หน้า 34 และ Absorption peaks ดัง
ตารางที่ 9 (หน้า 25) จาก Mass spectrum พบว่า Mol.wt. 458

2.5.4.2 การตรวจหา Functional group การหา Functional
group ตาม Standard method¹⁵ ปรากฏว่าสาร ง. ฟอกสี Bromine in Car-
bontetrachloride ไม่เกิด gas HBr ฟอกสี $KMnO_4$ กับโลหะโซเดียมให้ Gas H_2
เกิด ester กับ Acetic anhydride และ Benzoyl chloride ในตะกอน
สีเหลืองกับ 2,4 - dinitrophenylhydrazene แต่ไม่ Reduce Tollen's
reagent และไม่ Reduce Fehling solution

2.5.4.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของสาร ง

ก. Acetylation นำสาร ง. m.p. 125 - 126° 200 มิลลิกรัม
ละลายใน Pyridine 5 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร เติม Acetic
anhydride 2.5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 24 ชม. แล้วดำเนินการตามวิธี 2.5.1.3
จะได้ Crude acetyl derivative ออกมา 247 มิลลิกรัม นำสารที่ได้ตกผลึกใน
ปิโตรเลียม อีเทอร์ หลาย ๆ ครั้ง จนจุดหลอมเหลวคงที่ที่ 90 - 91° ได้สารหนัก 77
มิลลิกรัม

Infra - red spectrum ของ acetate ของสาร ง. ดังรูปที่ 7 (หน้า 35)
และ Absorption peaks ของ Infra - red spectrum ของสาร ง. ดังตารางที่
10 (หน้า 26)

106631

ข. 2,4 - dinitrophenylhydrazene นำสาร ง. m.p. 126 - 127°
มาหนัก 197 มิลลิกรัม ละลายใน Ethyl alcohol 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย
2,4 - dinitrophenylhydrazene¹⁵ ลงไปจนตะกอนเกิดอย่างสมบูรณ์ กรองเอาตะกอน
ออก ล้างตะกอนด้วย Ethyl alcohol จำนวนเล็กน้อย แล้วตกผลึกใช้ตัวทำละลายผสม
Ethyl alcohol กับน้ำ จะได้ Amorphous solid สีเหลืองเข้ม หนัก 89 มิลลิกรัม
จุดหลอมเหลว 183 - 185° Infra - red spectrum ของ 2,4 - dinitrope -

nylhydrazone ของสาร ง. ดังรูปที่ 8 (หน้า 35) Absorption peaks ดังตาราง
ที่ 11 (หน้า 27)

ค. Reduction¹⁹ สาร ง. หนัก 140 มิลลิกรัม ละลายใน satu -
rated Aluminium - isopropoxide ใน dry isopropyl alcohol จำนวน
15 มิลลิลิตร ในขวดกนกกลมขนาด 25 มิลลิลิตร ต่อเข้ากับเครื่อง Fractionating
distillation Fractionating column บรรจุหลอดแก้วเล็ก ๆ ทดคั่น ๆ กลั่น
อย่างช้า ๆ (1 - 2 หยดต่อนาที) โดยใช้ water bath test acetone ใน dis-
tillate ที่กลั่นได้ ด้วย 2,4 - dinitrophenylhydrazene reagent กลั่นจน
กระทั่ง distillate ที่ออกมาไม่มี acetone (ประมาณ 1 ช.ม.) แล้วกลั่นโดย reduce
pressure เอา Isopropyl alcohol ออกให้หมดเท residue ที่เย็นลงใน
dil. HCl (17.5 conc. HCl + 90 c.c.H₂O) จำนวน 10 มิลลิลิตรที่แช่เย็น วางขวด
กนกกลมที่มี residue ที่ติดด้วย dil HCl คนจะเกิดตะกอนขึ้น สกัดสารที่ติดด้วยอีเทอร์
ครึ่งละ 10 มิลลิลิตรสองครั้ง ล้างอีเทอร์ที่สกัดด้วย dil HCl และนำ คูดน้ำด้วย
Anhydrous MgSO₄ กรอง ether extract ระเหยเอาอีเทอร์ออกบน water
bath ตกผลึกสารที่ติดด้วย Benzene ผสม ether จะได้สารสีขาว จุดหลอมเหลว
159 - 161° แล้วตกผลึกอีกด้วย Pure Benzene จะได้สารที่จุดหลอมเหลวครั้งที่ 173
- 175° จำนวน 47 มิลลิกรัม
ผลการวิเคราะห์เพอร์เซนต์คาร์บอน และไฮโดรเจน

C = 77.59 % , H = 11.71 %

Infra - red spectrum ดังรูปที่ 9 (หน้า 36) Absorption peaks ของ
reduction product ของ ง. เหนือกับสาร จ. ดังตารางที่ 12 (หน้า 28)

2.5.5 การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสาร จ. m.p. 176 - 178°

2.5.5.1 การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพและ Colour reaction สาร

จ. เป็นผลึกรูปเข็มสีขาวละลายได้ใน Chloroform , benzene, ethyl alcohol

และ **ether** เมื่อบรรณ ละลายได้เล็กน้อยใน Petroleum ether ไม่ละลายน้ำ เมื่อทดสอบ Liebermann - Burchard reaction ได้สี ชมพูแดง แล้วเปลี่ยนเป็นม่วงใบไม้ที่สัคกลายเป็นสีน้ำตาลแดง Thin layer chromatography ตามวิธี 2.1.2 ได้ Rf value 0.25 เมื่อนำเอาไปตรวจหาธาตุโดย Lassaigne's test¹⁵ ปรากฏว่า ไม่มีธาตุอื่น นอกจากคาร์บอนและไฮโดรเจน ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์คาร์บอนและไฮโดรเจนมีดังนี้

$$C = 77.69 \% \quad , \quad H = 11.51 \%$$

Infra - red spectrum ของสาร จ. ดังรูปที่ 10 (หน้า 36)

Absorption peaks ของสาร จ. ดังตารางที่ 12 (หน้า 38)

Mass spectrography ดังภาพที่ 11 (หน้า 37) พบว่าน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 460

2.5.5.2 การตรวจหา Functional group

ตรวจหา Functional group ตาม Standard method¹⁵ สารนี้พอกสี Bromine in carbontetrachloride ไม่ให้ Gas HBr กับ โลหะโซเดียมได้ Gas H₂ เกิด Ester กับ Acetic anhydride และ benzoyl chloride ไม่ให้ตะกอนเหลืองกับ 2,4 Dinitrophenylhydrazene ไม่ Reduce Tollen's reagent และ Fehling solution

2.5.5.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์

ก. Acetylation

สาร จ. น้ำหนัก 160 มิลลิกรัม ละลายใน Pyridine 5 มิลลิลิตร เติม Acetic anhydride 2.5 มิลลิลิตร แล้วทำตามวิธี 2.5.1.3 เมื่อได้ Crude Acetylation Product แล้ว อบในอ่าง Reacetylate ซ้ำด้วยวิธีเดิมอีกสองครั้งได้ Crude acetylation น้ำหนัก 126 มิลลิกรัม นำ Crude Acetylation ที่ได้ทั้งหมดละลายใน Petroleum ether จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วผ่านลงใน Column

Chromatography ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ซม. (No C.R.12/30) Aluminium oxide ขาว 17 ซม. แคว Elute ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์, 10 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์, 30 % อีเทอร์- ปิโตรเลียมอีเทอร์ และ 50 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยเก็บ fraction ละ 100 มิลลิลิตร

ตารางที่ 5

การแยก Mono, Di และ Triacetate ของสาร จ. โดย Column Chromatography

Eluent	จำนวน Fraction	สารที่ได้ออกและจุดหลอมเหลว
ปิโตรเลียมอีเทอร์	2	---
10 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์ อีเทอร์	5	Triacetate ของ จ. m.p. 150 - 156°
30 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียม อีเทอร์	5	Diacetate ของ จ. m.p. 138 - 145°
50 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียม อีเทอร์	5	---

Diacetate ของสาร จ.

นำสารจุดหลอมเหลว 138 - 145° มาตกผลึกหลาย ๆ ครั้งในปิโตรเลียมอีเทอร์ ได้สารเป็น Amorphous solid สีขาว จุดหลอมเหลวครั้งที่ 146 - 147° Rf value ใน 30 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์ มีค่า 0.08 (ตามวิธี 2.1.2) ได้สารหนัก 63 มิลลิกรัม

Infra-red spectrum ของ Diacetate ของสาร จ. ดังรูปที่ 13
(หน้า 38) Absorption peaks ของ Diacetate ของสาร จ. ดังตารางที่ 14
(หน้า 30)

Triacetate ของสาร จ.

นำสารจุดหลอมเหลว $150 - 156^{\circ}$ มาตกผลึกหลาย ๆ ครั้งด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ จะได้อะไรผลึกรูปขนนกสีขาว จุดหลอมเหลวคงที่ $163 - 164^{\circ}$ จำนวน 34 มิลลิกรัม
Rf value ใน 30 % อีเทอร์ - ปิโตรเลียมอีเทอร์ มีค่า 0.38 (ตามวิธี 2.1.2)

Infra - red spectrum ของ Triacetate ของสาร จ. ดังรูปที่ 12
(หน้า 37)

Absorption peaks ดังตารางที่ 13 (หน้า 29)

จาก Mass spectrum ของ Triacetate ของสาร จ. พบว่ามี
น้ำหนักโมเลกุล 586

ข. Hydrogenation สาร จ. โดย PtO_2 เป็น Catalyst²⁰

ละลายสาร จ. 0.15 กรัมด้วย Glacial acetic acid 10 มิลลิลิตร
ในขวดกลมขนาด 50 มิลลิลิตร เติม PtO_2 ลงไป 0.03 กรัมเป็น Catalyst
แล้วทำการ hydrogenate ภายใต้ความดันปรกติ อนุเป็นครั้งคราวเพื่อป้องกันการตก
ตะกอน และคนตลอดเวลาคด้วย Magnetic stirrer (ประมาณ 14 ซม.) กรองเอา
Catalyst ออก เติมน้ำกลั่นลงไป 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันสกัดสารละลายที่ได้
ด้วยอีเทอร์ครั้งละ 50 มิลลิลิตร 4 ครั้ง รวมอีเทอร์ extracts เขาคอยกัน ล้างอีเทอร์
extract ด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 5 % จนหมดกรด สุกท้ายกลางด้วยน้ำกลั่น
จนหมดด่าง เติม Anhydrous sodium sulphate จำนวน 10 กรัม เพื่อคั่นออกจาก
Ether extract หึ่งไว้ข้างคืน กรองแล้วนำไประเหยเอาอีเทอร์ออก ตกผลึกสารที่ได้
เป็นชิ้น ได้ผลึกรูปเข็มสีขาว จุดหลอมเหลว $201 - 202^{\circ}$ จำนวน 34 มิลลิกรัม Rf

value ใน 1 : 1 ether : petroleum ether = 0

Infra - red spectrum ของสารซึ่งได้จาก hydrogenate สาร จ. ด้วย H_2 และ PtO_2 รูปที่ 14 (หน้า 38) absorption peaks ดังตารางที่ 15 (หน้า 31)

ค. Hydrogenation สาร จ. โดย Palladium black เป็น Catalyst

ใช้ Palladium black 10 มิลลิกรัม และ Absolute ethanol 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดกลมขนาด 25 มิลลิลิตร ผ่าน gas H_2 อย่างช้าๆ ประมาณ 30 นาที เติมสารละลายของสาร จ.หนัก 150 มิลลิกรัม ใน Absolute ethanol 10 มิลลิลิตร คนตลอดเวลาคอย Magnetic stirrer ในขณะผ่าน gas H_2 อย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิห้องภายใต้ความดันบรรยากาศเป็นเวลาประมาณ 18 ชม. กรองเอา Catalyst ออก ระบายให้แห้งบน water bath ละลายสารที่ได้ด้วย 1:5 ether : petroleum ether จำนวน 10 มิลลิลิตร ผ่านลงใน Column chromatography ขนาด diameter 1 ซม. Al_2O_3 ยาว 10 ซม. แล้ว elute ด้วย 20 % ether : petroleum ether, 50 % ether : petroleum ether และ 75 % ether : petroleum ether เก็บ fraction ละ 100 มิลลิลิตร ปรากฏว่ามีสารออกมาที่ fraction ที่ 1, 2 และ 3 ของ 50 % ether : petroleum ether ทั้ง 3 fraction นี้มี Rf. value เท่ากันคือ 0,28 ใน 1 : 1 ether : petroleum ether รวม fraction ทั้ง 3 นำมาตกผลึกใน 1 : 1 ether : petroleum ether จะได้ Amorphous solid สีขาว จุกหลอมเหลวคงที่ 202 - 203° จำนวน 32 มิลลิกรัม Infra - red spectrum เหมือนกับของ Hydrogenation Product ที่ใช้ PtO_2 เป็น Catalyst

ง. Oxidation สาร จ.⁵ ละลายสาร จ. 150 มิลลิกรัม ด้วย dry toluene 20 มิลลิลิตร และ Cyclohexanone 2 มิลลิลิตร ในขวดสองคอซึ่งมี Dropping funnel และ Condenser สำหรับกั้นคอกอยู่คนละข้าง ทั้ง Dropping funnel และ

Receiver ท่อกับ Condenser มี Calcium chloride tube ต่ออยู่เพื่อป้องกัน
 ความชื้น คอย ๆ กลั่นสิ่งที่อยู่ในขวดสองขวดได้ Distillate ประมาณ 10 มิลลิลิตร
 จงคอย ๆ หยดสารละลายของ Aluminium isopropoxide 0.3 กรัมใน dry
 toluene 10 มิลลิลิตร จาก Dropping funnel จนหมด reflux ออก 30 นาที
 ลดอุณหภูมิลงเล็กน้อย จึงเติมสารละลายอิ่มตัวของ Rochell salt (sodium potas-
 sium tartrate) 3 มิลลิลิตร แล้วผ่าน steam เข้าไปใน reaction flask เป็น
 เวลา 1 ชั่วโมงเพื่อให้ volatile matter ออกไป ทำให้เห็น extract คอย
 chloroform ดัง chloroform layer คอยนำแล้ว dry คอย Anhydrous sodium
 sulphate 10 กรัม ทิ้งไว้กลางคืนกรองเอา Sodium sulphate ออก ระเหยบน
 water bath จนแห้ง นำเอาส่วนที่เหลือไปตกผลึกในเบนซีน ได้สารผลึกสีขาว m.p.
 1.75 - 7° เมื่อนำไป run Infra - red spectrum ปรากฏว่า Identical กับ
 สาร จ ทุกประการได้พยายามเปลี่ยน Condition ต่าง ๆ , vary ปริมาณของ
 cyclohexanone เปลี่ยนความเข้มข้นของ Aluminium isopropoxide ใช้ ace-
 tone แทน cyclohexanone แต่ผลที่ได้ก็ยังเป็นสารตัวเดิม

ตารางที่ 6

IR. absorption peaks ของสาร n. m.p. 87 - 88°

Frequency (cm^{-1})	Band Type	Assignments.
3400 - 3200	very broad	stretching vibration of polymeric OH
2905 , 2835	sharp	CH stretching vibration of $-\text{CH}_2-$
1463	very sharp	$-\text{CH}_2-$ bending vibration
1454	very sharp	$\text{C}-\text{CH}_3$ bending vibration (asymmetrical)
1368	broad (weak)	$\text{C}-\text{CH}_3$ bending vibration (symmetrical)
1050	sharp	C-O stretching vibration of primary alcohol
725 , 714	sharp	$(\text{CH}_2)_n$ rocking ; n 4

ตารางที่ 7

IR. absorption ของ Acetate ของสาร n. n.p. 74 - 75°

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
2905 , 2835	sharp	CH stretching vibration of -CH ₃ and -CH ₂ -
1735	very sharp	stretching vibration of normal saturated ester
1470 , 1460	very sharp	CH bending vibration of -CH ₂ - and -CH ₃
1368	broad	C-CH ₃ bending vibration (Symmetrical)
1240 , 1040	sharp	C-O-C stretching vibration of acetoxie group
730 , 720	very sharp	Rocking modes of CH ₂ or (CH ₂) _n

ตารางที่ 8

IR. absorption peaks ของสาร ข. m.p. 137 - 8°

Frequency (cm^{-1})	Band Type	Assignments
3550 - 3200	very broad	stretching vibration of polymeric OH
3020	very weak	CH stretching vibration of C = CH
2960 - 2840	sharp	CH stretching vibration of $-\text{CH}_3$ and $-\text{CH}_2-$
1630	broad (very weak)	C = C stretching vibration of $\text{R}_2\text{C} = \text{CHR}$
1460	sharp	C- CH_3 bending vibration (asymmetrical)
1373	sharp	C- CH_3 bending vibration (symmetrical)
1050	sharp	C-O stretching vibration of 3^β-OH equatorial steroid
958	sharp	CH out of plane bending vibration of trans $\text{RCH}=\text{CHR}$
835,795	one pair of bands (weak)	CH out of plane bending vibration of $\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$

ตารางที่ 9

I.R. absorption peaks ของสาร จ. จุกดลอมเหลว 126 - 127°

Frequency (cm^{-1})	Band Type	Assignments
3500 - 3400	broad	OH stretching vibration of intermolecular bond (Single bridge) and intramolecular hydrogen bond (single bridge)
3078	sharp (weak)	CH-stretching vibration of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$
2975 , 2960	sharp	stretching vibration of CH_2 and CH_3
1700	sharp (strong)	stretching vibration of six membered ketone
1630	broad (weak)	CH stretching of = CH
146	broad	C- CH_3 bending vibration (asymmetrical)
1420	weak	CH_2 in plane bending of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$
1380	sharp	C- CH_3 bending vibration (Symmetrical)
1070	sharp	C-O stretching vibration of secondary alc.
880	sharp	CH out of - plane bending of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$

ตารางที่ 10

IR absorption peaks ของ Acetate ของสาร ง. จุดหลอมเหลว 90 - 91°

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3070	weak	CH stretching vibration of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$
2960, 2930, 2920 2840	sharp	stretching vibration of CH_2 , CH_3 and CH stretching of Acetoxy
1720	broad	C=O stretching vibration of acetoxy
1700	very sharp	C=O stretching vibration of ketone
1638	broad (weak)	CH stretching of =CH
1450	broad	C- CH_3 bending vibration (asymmetrical)
1370	sharp	C- CH_3 bending vibration (symmetrical)
1240	broad	C-O asymmetric stretching of acetate = C-O-C (so - called acetate band)
1040	broad	C-O symmetric stretching of acetate = C-O-C
880	sharp	CH out of plane bending of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$

ตารางที่ 11

IR. absorption peaks ของ 2,4 - dinitrophenylhydrazone

พบที่เลข 183 - 5°

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3500 - 3360	broad	OH stretching vibration of intramolecular hydrogenbond (single bridge) and polymeric association
3310	sharp	N-H stretching vibration
3100	sharp (weak)	CH stretching vibration of C=CH and phenyl
2960, 2920, 2550	sharp	stretching vibration of CH_2 and CH_3
1610	very sharp	C=N stretching vibration and CH- stretching of =CH
1580	very sharp	CH stretching vibration of phenyl nucleus
1508	sharp	Asymmetric stretching vibration of nitro
1328	very sharp	symmetric stretching vibration of nitro
1070	weak	C-O stretching vibration of secondary alcohol
880, 825	two sharp bands	CH out of - plane bending vibration of phenyl (1,2,4 Sub)
740	sharp	NH bending vibration

ตารางที่ 12

IR. absorption peaks ของสาร จ. จุดหลอมเหลว 176 - 178°

Frequency (cm^{-1})	Band Type	Assignment
3500 - 3200	broad	OH stretching of intramolecular hydrogenbond (Single bridge) and polymeric association
3078	sharp (weak)	CH - stretching vibration of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$
2975, 2960	sharp (strong)	stretching vibration of CH_2 and CH_3
1630	broad (weak)	CH stretching of =CH
1460	broad	C- CH_3 bending vibration (asymmetrical)
1425	weak	CH_2 in plane bending of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$
1380	sharp	C- CH_3 bending vibration (symmetrical)
1070	very sharp	C-O stretching vibration of secondary alcohol
1040, 1020	sharp	C-O stretching vibration of $\text{3}^\circ\text{-OH}$
880	sharp	CH out of -- plane bending of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$

ตารางที่ 13

IR. absorption peaks ของ Triacetate ของสาร จ. ๖๓๓๐๓๑๖๓ - ๔

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
2970, 2940 2860	sharp	CH stretching vibration of CH_2 , CH_3 and acetoxy
1730	sharp	C=O stretching vibration of acetoxy
1640	broad (weak)	CH stretching of =CH
1440	broad	C- CH_3 bending vibration (asymmetrical)
1365	sharp	C- CH_3 bending vibration (symmetrical)
1240	very sharp	C-O asymmetric stretching of acetate =C-O-C (so called acetate band)
1045	sharp	C-O Symmetric stretching of acetate =C-O-C
890	sharp	CH out-of-plan bending of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$

ตารางที่ 14

IR. absorption peaks

Diacetate ของสาร จ. จุดหลอมเหลว 146 - 147°

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3500 - 3200	broad	OH stretching vibration of intramolecular hydrogen bond (single bridge and polymeric association)
3600	weak	CH- stretching vibration of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$
2960, 2925, 2830	sharp	Stretching vibration of CH_2 and CH_3
1720	sharp (strong)	C=O stretching vibration of acetoxy
1630	broad	CH stretching of =CH
1435	broad	C- CH_3 bending vibration (asymmetrical)
1370	sharp	C- CH_3 bending vibration (symmetrical)
1240	very sharp	C-O asymmetric stretching of acetate =C-O-C (so - called acetate band)
1070	weak	C-O stretching vibration of secondary alcohol
1030	sharp	C-O symmetric stretching of acetate =C-O-C
880	sharp	CH out - of - plane bending of $\text{CR}_1\text{R}_2 = \text{CH}_2$

ตารางที่ 15

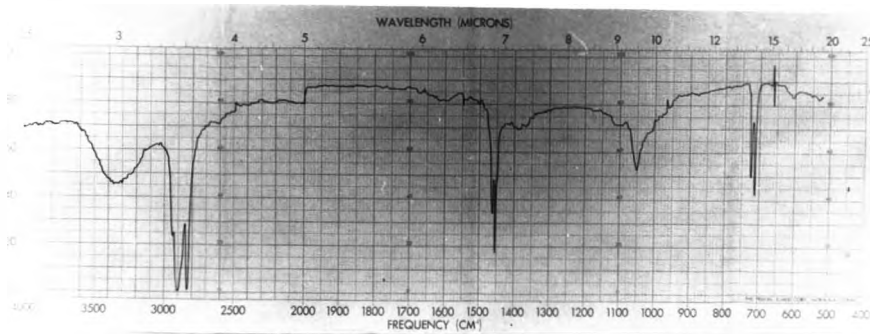
IR. absorption peaks ของ hydrogenation product

ของสาร จ. จุดหลอมเหลว 201-2°

Frequency (cm^{-1})	Band Type	Assignments.
3600 - 3200	Broad.	OH stretching vibration of intra and intermolecular hydrogen bond (single bridge) and polymeric association
2950, 2850	sharp	stretching vibration of CH_2 and CH_3
1460	Broad	$\text{C}-\text{CH}_3$ bending vibration (asymmetrical) and CH_2 scissor
1380	sharp	$\text{C}-\text{CH}_3$ bending vibration (symmetrical)
1070	sharp	C-O stretching vibration of secondary alcohol
1040, 1020	two sharp bands	C-O stretching vibration of β -OH

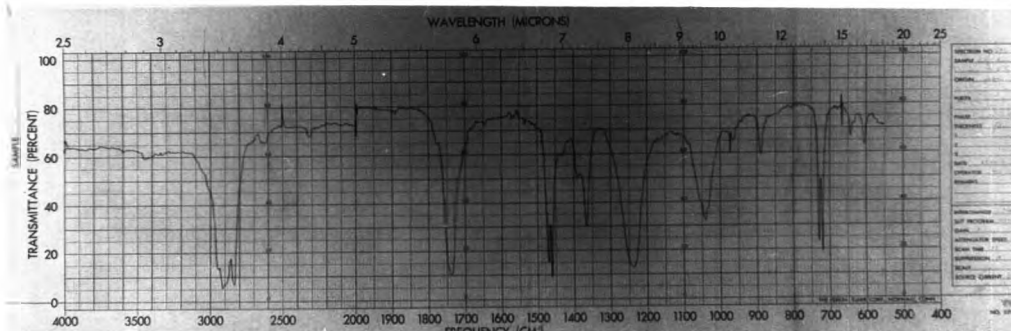
รูปที่ 1

IR. spectrum ของสาร ก.



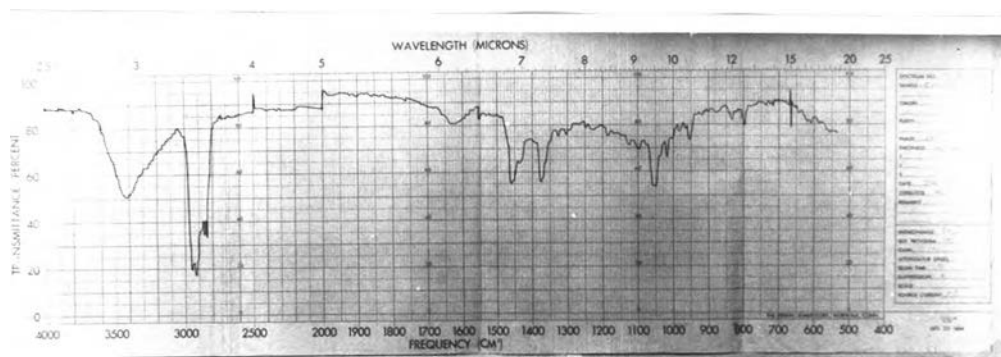
รูปที่ 2

IR. spectrum ของ Acetate ของสาร ก.

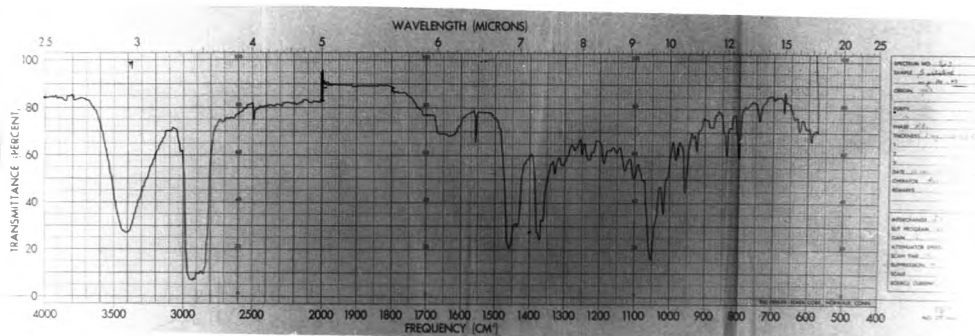


รูปที่ 3

IR. spectrum ของสาร ข.

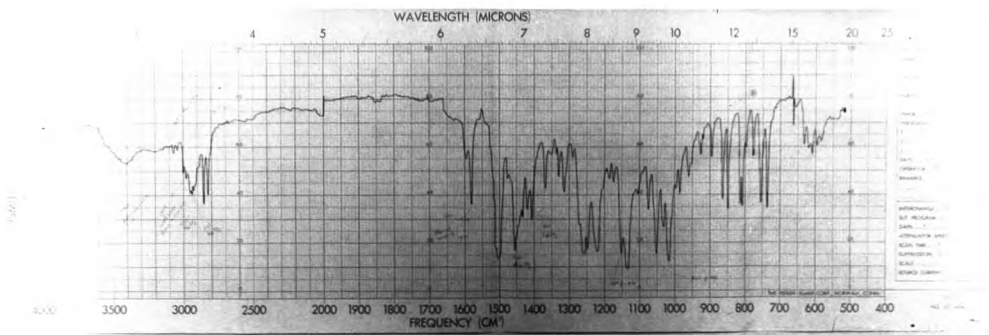


รูปที่ 4

IR. spectrum ของ β -Sitosterol

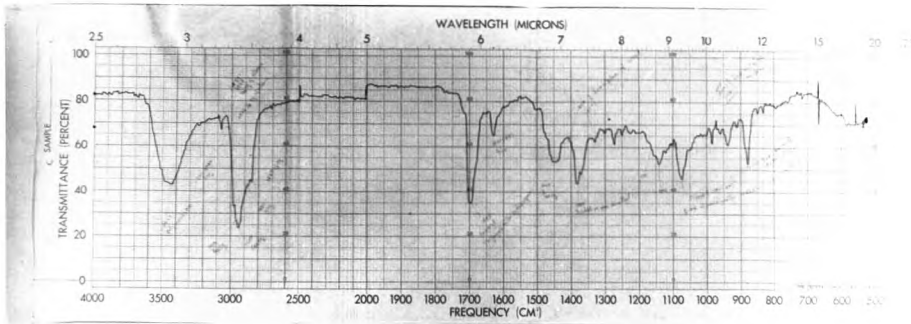
รูปที่ 5

IR. spectrum ของสาร ค.



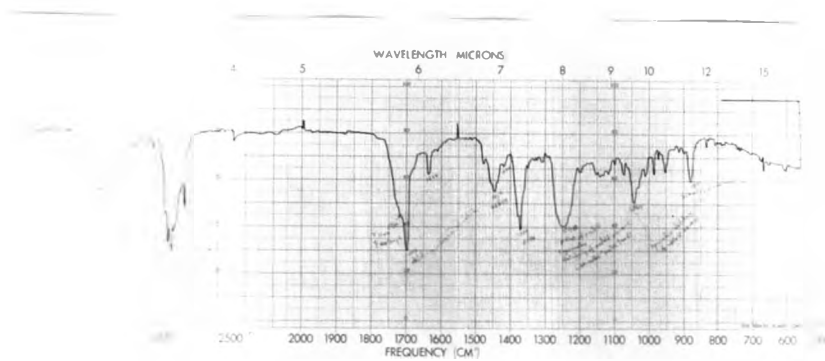
รูปที่ 6

IR. spectrum ของสาร ง.



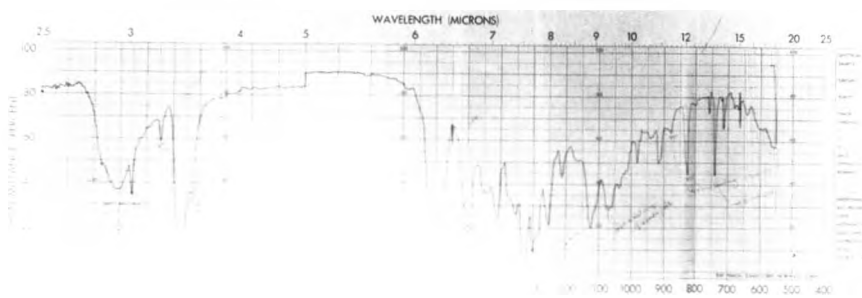
รูปที่ 7

IR. spectrum ของ Acetate ของสาร ง.



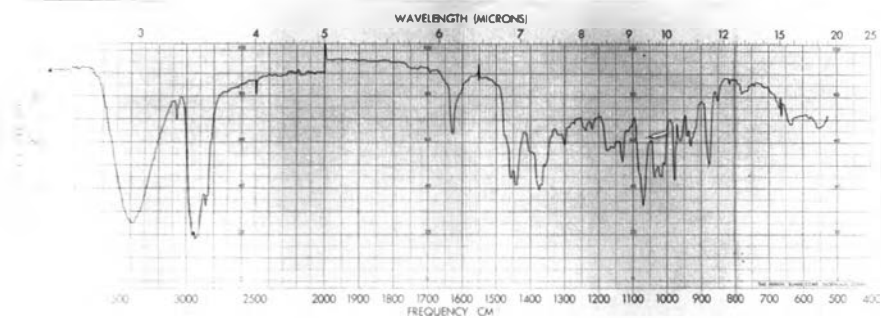
รูปที่ 8

IR. spectrum ของ 2,4-dinitrophenylhydrazone ของสาร ง.



รูปที่ 9

IR. spectrum ของ Reduction Product ของสาร ง.



รูปที่ 10

IR. spectrum ของสาร จ.

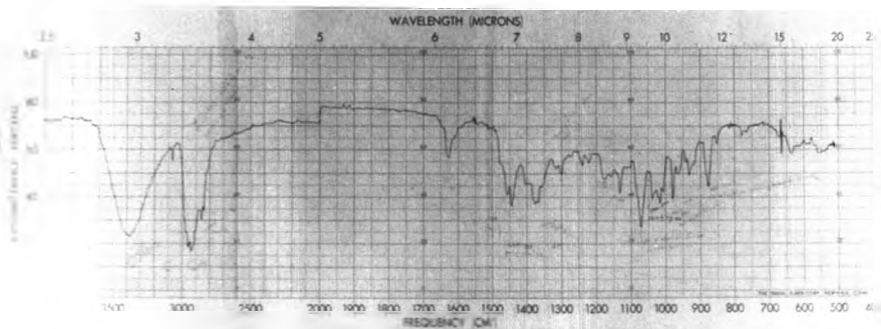


Figure 11

Mass-spectrum Triacetate 9.

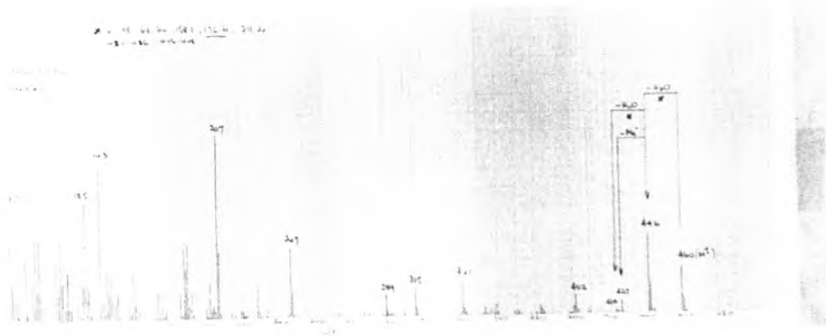
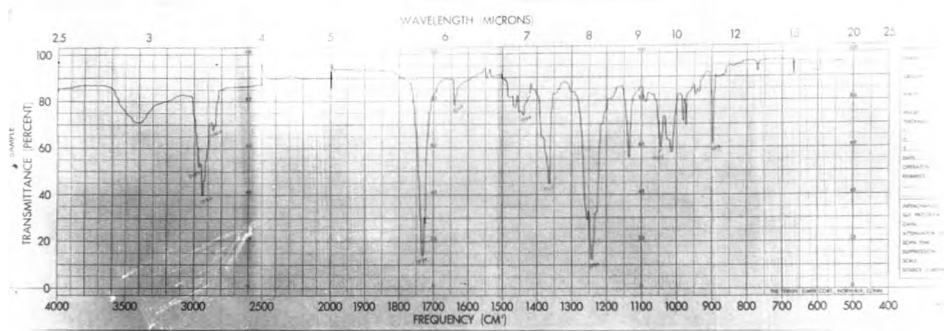


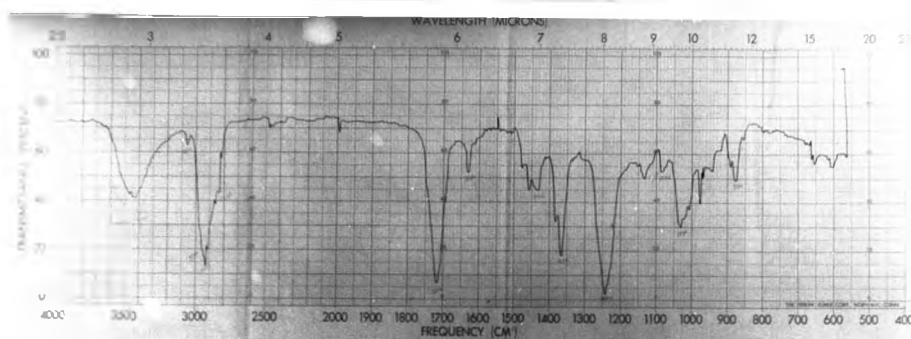
Figure 12

IR. spectrum 101 Triacetate 100977 9.



รูปที่ 13

IR. spectrum ของ Diacetate ของสาร จ.



รูปที่ 14

IR. spectrum ของ Hydrogenation product ของสาร จ.

