บทที่ 3

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ได้ค้นพบมาก่อนแล้วว่า ในส่วนที่ใช้ petroleum ether สกัดเอาสารออกมาจากใบประยงค์ แยกได้สารใหม่ถึง 4 ชนิด[1b, 2c] และมีสารอื่นซึ่งมีปริมาณไม่มากอีกหลายสาร (สารเหล่านี้ยังไม่ศึกษารายละเอียด) เมื่อนำเอาใบประยงค์นั้นไปสกัดต่อด้วย ether หลังจากการใช้วิธี column chromatography แยกได้สาร 4 ชนิด มี m.p. 83 - 5°, 87 - 9°, 200 -210° และ 160 - 6° ตามลำดับ (ตารางหน้า 9) นำสารที่มี m.p. 200 -210° และ 160 - 6° ไปตกผลึกในตัวทำละลายที่เหมาะสมได้สารที่บริสุทธิ์ มี m.p. 218 - 9° และ 166 - 8° เรียกชื่อว่า odoratine และ odoratinol ได้ศึกษาสมบัติทางเคมี และเสนอสูตรโครงสร้างของสารทั้งสองนั้น มีสูตรเป็น I และ II เป็นสารใหม่ ยังไม่มีผู้ใดได้ค้นพบมาก่อน

ลักษณะทั่ว ๆ ไปของ odoratine และ odoratinol ทั้งคู่เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว odoratine แยกออกมาจาก column เมื่อใช้ 50% ether-petroleum ether เป็น solvent แล้วตกผลึกใน benzene ส่วน odoratinol แยกออกมาได้เมื่อใช้ 75% ether-petroleum ether เป็น solvent และตกผลึกใน benzene-petroleum ether สารทั้งคู่นี้ละลายได้ดีใน chloroform, acetone, ethanol conc. H_2SO_4 และ conc. HCl ละลายใน ether ได้ไม่ดี และไม่ละลายใน petroleum ether ให้ positive test กับ alkaloid reagents ทุกชนิด แต่ไม่สามารถจะเตรียม picrate หรือ hydrochloride derivatives ของสารทั้งสองนี้ได้ ฟอกสีสารละลาย $KMnO_4$ ในน้ำได้ช้า ๆ เมื่อทำ sublimation ของสารทั้งสอง odoratine ระเหิดได้บางเป็นบางส่วน แต่ odoratinol เกือบไม่ระเหิดเลย จากการวิเคราะห์หาธาตุปรากฏว่ามีไนโตรเจนอยู่ด้วย แสดงว่า odoratine และ odoratinol เป็นพวก nitrogeneous compounds ชนิดหนึ่ง

Odoratine จากการวิเคราะห์ odoratine, m.p. 218-9°, $[\alpha]_D^{20}$ +72.5° (c:0.003, chloroform) มี C = 72.16 % H = 8.14 % N = 9.12 % mol. wt. = 300 (mass spectrum) ซึ่งตรงกับสูตร $C_{18}H_{24}O_2N_2$ ให้ spectral data และสมบัติทางเคมีดังต่อไปนี้

1) Mass spectrum มี molecular ions (M^+) ที่ 57, 85, 103, 131, 169, 199, และ 300 M^+ ที่สำคัญได้แก่ 199 (M-101) ซึ่งทำให้ช่วยหาสูตรโครงสร้างได้

2) UV-spectrum ของสารนี้ให้ $\lambda_{max}^{ethanol}$ 283 nm ($\log \epsilon$ = 4.20) แสดงว่าในโมเลกุลของสารมี α,β-unsaturated carbonyl group และได้เปรียบเทียบ UV-spectrum นี้ (ดังรูปที่ 2 หน้า 14) กับ cinnamic acid ($\lambda_{max}^{ethanol}$ 270 nm) และ cinnamide($\lambda_{max}^{ethanol}$ 268 nm) ด้วย เพื่อเป็นการ confirm ว่า odoratine มี chromophore นั้นแน่นอน และเหมือนกับ cinnamic acid และ cinnamide

3) IR-spectrum (รูปที่ 1 หน้า 12) ให้ characteristic peaks ที่บ่งว่ามี -N-H (ν_{max} 3245 cm^{-1}), =CH stretching vibration ของ C=C (ν_{max} 3030 cm^{-1}) , 2°-amide(ν_{max} 1670, 1535, และ 1320 cm^{-1} สำหรับ band I , band II และ band III ตามลำดับ) , 3°-amide(ν_{max} 1650 cm^{-1}) monosubstituted benzene(ν_{max} 1600, 1530, 1500, 765, 690 cm^{-1}) และ C-N stretching vibration(ν_{max} 1270 cm^{-1})

4) NMR-spectrum ทำใน $CDCl_3$ (รูปที่ 3 หน้า 15) ให้ signals ของ proton ต่างๆที่ δ 0.78 เป็น triplet ของ 3H และที่ δ 1.40 เป็น quintet ของ 2H รวมกันเข้าเป็น ethyl group ที่ติดอยู่กับ tertiary carbon atom, ที่ δ 1.08 เป็น doublet ของ 3H แสดงถึง methyl group ที่ต่ออยู่กับ tertiary carbon atom, ที่ δ 2.05 เป็น broad multiplet ของ 7H, ที่ δ 3.60 เป็น multiplet ของ 1H, ที่ δ 6.18 เป็น broad peak ระหว่าง 6.0 - 6.25 ของ 1H และ exchange กับ D_2O

ได้, ที่ δ 6.89 และ 7.69 เป็น doublet ของแต่ละ 1H ซึ่งเป็น trans-hydrogen ของ carbon-carbon double bond และที่ δ 7.29 เป็น multiplet ของ 5H แสดงถึง aromatic protons

5) สำหรับ chemical data ที่แสดงให้ทราบถึงสูตรโครงสร้างบางส่วนของ odoratine ดังต่อไปนี้

a) Catalytic hydrogenationภายใต้ความดันต่าง ๆ ได้ dihydro-odoratine m.p. 110 - 2°, mol. wt.= 302 (mass spectrum), $C_{18}H_{26}O_2N_2$ ไม่ให้ absorption ใน UV-region แต่ IR-spectrum ส่วนใหญ่แสดง major absorption peaksเหมือน odoratine แสดงว่า odoratine มี olefinic bond เพียง bond เดียวเท่านั้น

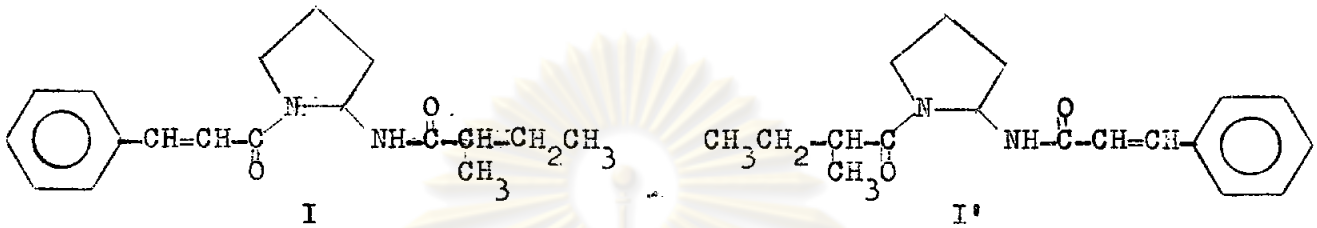
b) Oxidise odoratine ด้วย $KMnO_4$ แยกได้ benzoic acid แสดงว่า odoratine มี benzene nucleus อยู่ด้วย

c) Ozonolysis ของ odoratine แยกได้ benzaldehyde และน้ำมันสีเหลือง และ NMR spectrum ของน้ำมันสีเหลืองไม่มี signals ของ aromatic protons แต่เมื่อเอา dihydroodoratine ไปทำ ozonolysis บ้าง แยกได้สารเดิมกลับคืนมา แสดงว่าใน odoratine มี styrenyl group

d) เมื่อนำ odoratine และ dihydroodoratine ไป hydrolysis ใน alkali conditionไม่สามารถแยกเอา hydrolysis product ออกมาได้ ส่วนใหญ่ยังเป็นสารเดิมอยู่ แสดงว่าสารทั้งคู่ไม่ถูก hydrolyse ได้ง่ายในด่าง แต่เมื่อเอา odoratine ไปทำ acid hydrolysis แยกได้ cinnamic acid, 2-methyl-butanoic acid และ amine แสดงว่า odoratine เป็น amide ของกรดทั้งสองที่กล่าวมานั้น

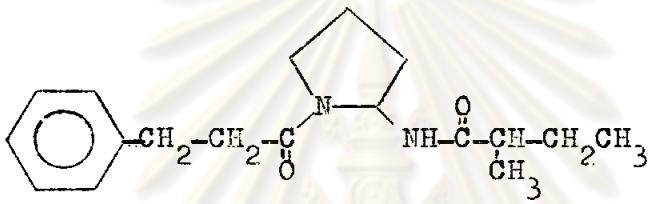
e) นอกจากนี้ยังได้ทำปฏิกิริยาเคมีอื่น ๆ ได้แก่ acetylation, LAH-reduction,hydrochloride, picrate, N-oxide และ glycol แต่ไม่สามารถจะแยกเอา reaction product ออกมาให้บริสุทธิ์ได้

จาก spectral data และ chemical data ที่ศึกษามานี้ ทำให้สามารถเสนอสูตรโครงสร้างของ odoratine เป็น I และ dihydroodoratine เป็น DH – I ซึ่งจะได้ spectral data และ chemical reactions ตรงตามที่ทดลอง



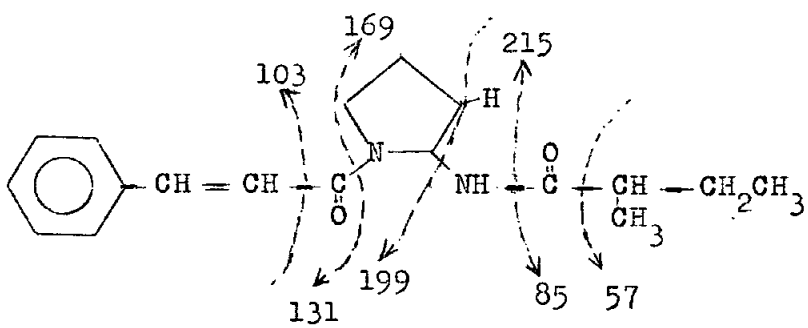
I

I'

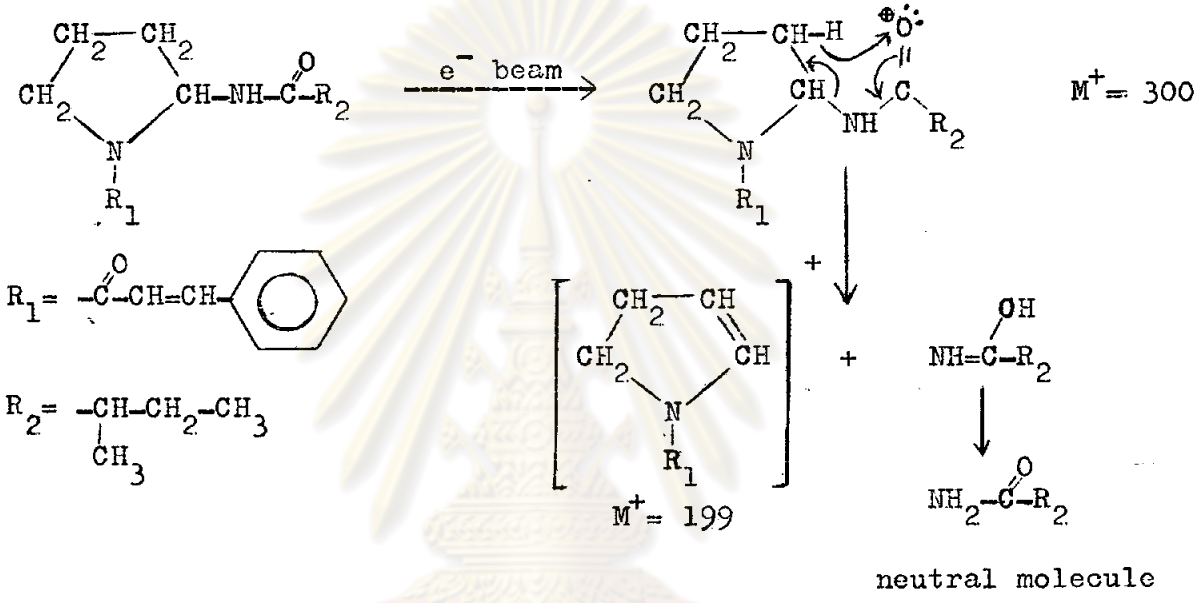


DH – I

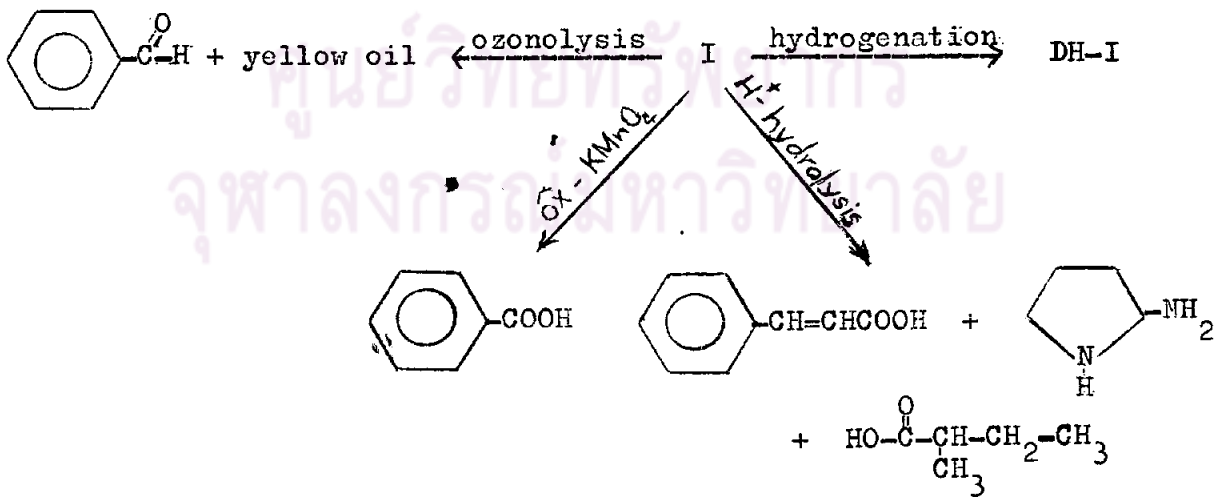
NMR spectrum ที่ δ 2.05 (broad multiplet) เป็นของ 7H จะเห็นว่า 1H อันหนึ่งเป็นของ tertiary hydrogen ใน butyroyl group ซึ่งอยู่ติดกับ –C=O จึงมี signal ไม่เหมือนกับของพวก C–H อื่นๆ และช่วยทำให้เกิด quintet ของ methylene group ที่ δ 1.40 กับ doublet ของ methyl group ที่ δ 1.08 และอีก 6H เป็น 3 x CH_2 ใน pyrrolidine nucleus, ที่ δ 3.60 เป็น tertiary proton ที่อยู่ในระหว่าง nitrogen atom จึงทำให้ได้ signal ต่ำลงมาจาก C–H อื่นๆมากยิ่งขึ้น และที่ δ 6.18 เป็นของ –N–H ที่เป็น amide ส่วนนอกนั้นเหมือนกับที่กล่าวมาแล้วในตอนต้น สูตร I นี้ให้ mass spectrum ที่แสดงถึง molecular ions ต่างๆตรงตามที่พบดังนี้



สำหรับ I' เป็น alternative structure ของ odoratine โดย butyroyl group และ cinnamoyl group อยู่สลับที่กัน แต่สูตรนี้เป็นไปไม่ได้ เพราะว่าไม่สามารถจะให้ M^+ = 199 (M-101) สูตร I เท่านั้น จึงจะเป็นสูตรที่ให้ M^+= 199 ได้ โดยการเกิด McLafferty-rearrangement ขึ้นได้ดังนี้



สำหรับ chemical reaction ต่าง ๆ ของ odoratine ที่สามารถ identify product ได้เป็นดังนี้



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

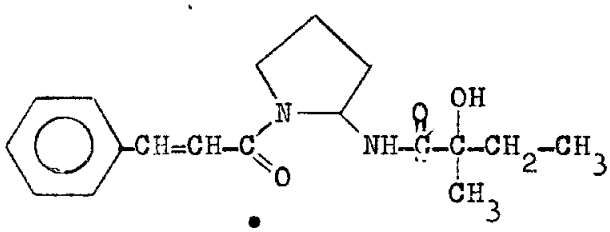
Odoratinol เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว m.p. 166 - 8°, $[\alpha]_D^{20}$ + 40.5° (c : 0.01, $CHCl_3$) จากการวิเคราะห์ได้ C = 68.36% H = 7.83% N = 9.04% mol. wt. = 316 (mass spectrum) ซึ่งตรงกับสูตร $C_{18}H_{24}O_3N_2$ (คำนวณจากสูตรได้ C = 68.30% H = 7.64% N = 8.85%) ได้ spectral data และสมบัติทางเคมีดังต่อไปนี้

สารนี้ให้ UV-absorption $\lambda_{max}^{ethanol}$ 283 nm , $\log \epsilon$ = 4.23 แสดงว่าโมเลกุลมี $\alpha\ \beta$-unsaturated carbonyl group เหมือนกับของ cinnamic acid และ cinnamide ตามรูปหน้า 19

ส่วน IR-spectrum (ตามรูปหน้า 18) ให้ characteristic peaks ที่บ่งว่ามี -OH (ν_{max} 3480 cm^{-1}), N-H (ν_{max} 3295 cm^{-1}) 2°-amide (ν_{max} 1655, 1542 และ 1340 cm^{-1} สำหรับ band I, band II และ band III ตามลำดับ), 3°amide (ν_{max} 1650 cm^{-1}), monosubstituted benzene (ν_{max} 1610, 1542, 1209, 1140 และ 1060 cm^{-1}) และ C-N stretching vibration (ν_{max} 1280 cm^{-1})

เมื่อทำ acid hydrolysis สารนี้แยกได้ cinnamic acid, 2-Methyl-2-hydroxybutanoic acid และ amine

ฉะนั้นจากการศึกษา spectral data ของ odoratinol เปรียบเทียบกับ odoratine พบว่าใน odoratinol มี hydroxyl group absorption peak เพิ่มขึ้น นอกนั้นเหมือนกันหมด และ odoratinol เป็นสารที่แยกออกมาใน portion เดียวกันกับ odoratine จึงทำให้ทราบสูตรของ odoratinol เป็น II ซึ่งคล้ายคลึงกับ odoratine (I) ที่กล่าวมาแล้ว



II