



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ	พรีโรลิดินิลเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดที่มีตัวเชื่อมเป็นกรดเบต้าอะมิโนที่มีออกซีเทนเป็นองค์ประกอบ Pyrrolidinyl peptide nucleic acid with an oxetane containing β -amino acid linker		
ชื่อนิสิต	นายภัทรเกียรติ	แสนคงสุข	เลขประจำตัว 533 31060 23
ภาควิชา	เคมี		
ปีการศึกษา	2556		

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง พิธีโรดดิเนลเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดที่มีตัวเชื่อมเป็นกรดเบต้าอะมิโนที่มีออกซีเทนเป็นองค์ประกอบ
โดย นายภัทรเกียรติ แสนคงสุข
ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการการสอบโครงการ



รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชา

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)
หัวหน้าภาควิชาเคมี
วันที่ เดือน พ.ศ.

ชื่อโครงการ	พิริโรดิโนลเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดที่มีตัวเชื่อมเป็นกรดเบต้าอะมิโนที่มีออกซีเทนเป็นองค์ประกอบ		
ชื่อนิสิตในโครงการ	นายภัทรเกียรติ แสนคงสุข	เลขประจำตัว	5333106023
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์		
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร.ภาณุวัฒน์ ผดุงรส		
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2556			

บทคัดย่อ

เพปไทด์นิวคลีอิกแอซิด (พีเอ็นเอ) เป็นสารสังเคราะห์เลียนแบบโครงสร้างของดีเอ็นเอที่มีความสามารถในการจับยึดกับดีเอ็นเอได้อย่างแข็งแรงและจำเพาะเจาะจงกว่าที่ดีเอ็นเอจับยึดกันเอง และเป็นไปตามกฎของวัตสัน-คริก ดังนั้นพีเอ็นเอจึงมีศักยภาพที่จะนำไปใช้งานเพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ เช่น การตรวจวินิจฉัย การบำบัดรักษาโรค งานด้านเทคโนโลยีชีวภาพและวัสดุศาสตร์ เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการสังเคราะห์พิริโรดิโนลเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดที่มีไซคลิกเบต้าอะมิโนของค์ประกอบที่มีโครงสร้างหลักเป็น D-prolyl-(1S,2S)-2-aminocyclobutanecarboxylic acid (acbcPNA) ที่มีความสามารถในการจับยึดกับดีเอ็นเอได้อย่างดีเยี่ยม อย่างไรก็ตามความสามารถในการละลายน้ำที่จำกัด และการยึดจับแบบไม่จำเพาะเจาะจงกับโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำยังคงเป็นปัญหาหลักของพีเอ็นเอระบบนี้ ในงานวิจัยนี้ได้เสนอแนวคิดที่จะเอาชนะข้อจำกัดของ acbcPNA ได้ โดยการเพิ่มอะตอมที่มีขั้วลงไปในช่วงแหวนไซโคลบิวเทนใน acbcPNA ได้เป็นพิริโรดิโนลเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดชนิดใหม่ที่มีตัวเชื่อมต่อเป็น (2S,3S)-3-aminooxetane-2-carboxylic acid (หรือ 2S,3S-oxetin) ในการสังเคราะห์พีเอ็นเอชนิดใหม่นี้จำเป็นต้องใช้ [(2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid] เป็นสารตั้งต้น โดยได้มีการพัฒนาแผนการสังเคราะห์แบบกำหนดสเตอริโอไอโซเมอร์ของ (2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl-amino)oxetane-2-carboxylic acid โดยเริ่มต้นจาก (Z)-but-2-ene-1,4-diol ผ่านปฏิกิริยาต่อเนื่องทั้งสิ้น 11 ขั้นตอน ที่มี ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol เป็นอินเทอร์มีเดียตที่สำคัญ โดยมีปฏิกิริยา Jorgensen's organocatalytic epoxidation เป็นขั้นตอนสำคัญในการกำหนดสเตอริโอไอโซเมอร์ของอินเทอร์มีเดียตอพอคไซด์นี้ซึ่งให้ %ee สูงถึง 92 ถึง 95 % ต่อมาเป็นขั้นตอนการเปิดวงอพอคไซด์แบบเลือกจำเพาะต่อตำแหน่งด้วย azide ตามด้วยปฏิกิริยา monotosylation ที่สามารถปิดเป็นวงออกซีเทนอินเทอร์มีเดียตได้ภายใต้สภาวะที่เป็นเบส ซึ่งจะสามารถสังเคราะห์ต่อไปเป็นสารผลิตภัณฑ์เป้าหมายได้ผ่านกระบวนการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันและหมู่ปกป้อง โดยงานในส่วนนี้ได้ศึกษาผ่านแบบจำลองที่เป็นสารผสมราซิมิกผ่านการ enrich บางส่วน แต่ยังไม่ได้ทำกับตัวที่เป็นอินเทนซิโอมเมอร์เดี่ยว

คำสำคัญ : พิริโรดิโนลเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิด, ออกซีเทน, ออกซีทิน, ปฏิกิริยาอพอคไซด์ขั้นแบบอสมมาตร

Title Pyrrolidinyl peptide nucleic acid with an oxetane-containing β -amino acid linker
Student name Mr.Pattarakiat Seankongsuk ID. 5333106023
Advisor Prof. Dr. Tirayut Vilaivan
Co-advisor Dr. Panuwat Padungros
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University,
Academic year 2013

Abstract

Peptide nucleic acid (PNA) is a synthetic structural mimic of DNA that possesses higher affinity and sequence specificity in binding to DNA/RNA according to the Watson-Crick base pairing rules than natural DNA. PNA is therefore potentially useful in many areas of application such as diagnosis, medical treatment, biological technology and material science. Recently, cyclic β -amino acid-containing pyrrolidinyl PNA with D-prolyl-(1*S*,2*S*)-2-aminocyclobutanecarboxylic acid backbone (acbcPNA) was synthesized and shown to have excellent DNA binding properties. However, limited solubility in water and non specific binding with hydrophobic molecules were challenging problems with these hydrophobic pyrrolidinyl PNA. In this research, a concept for overcoming the weakness of acbcPNA by adding a polar atom into the cyclobutane ring of acbcPNA to give a new pyrrolidinyl PNA with (2*S*,3*S*)-3-aminooxetane-2-carboxylic acid (also known as 2*S*,3*S*-oxetin) linker was purposed. To synthesize the new oxetin-containing PNA, the corresponding Fmoc-protected oxetin [(2*S*,3*S*)-3-(((9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid] was required. Accordingly, a stereocontrolled synthetic route towards (2*S*,3*S*)-3-(((9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid was developed starting from (*Z*)-but-2-ene-1,4-diol through a 11-step sequence via ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol intermediate. The synthesis featured Jorgensen's organocatalytic epoxidation as the key step to introduce stereochemistry to the epoxide intermediate with high %ee up to 92 to 95 %. Subsequent regioselective epoxide ring opening with azide followed by mono-tosylation and base-induced cyclization gave an oxetane-containing intermediate. This will be converted into the desired product following a straightforward functional/protecting groups manipulation that had been explored in racemic/enantio-enriched model experiments. However, the pure enantiomeric product was not yet synthesized in this report.

Keywords: pyrrolidinyl PNA, oxetane, oxetin, asymmetric epoxidation

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องพีร์โรลิดินิลเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดที่มีตัวเชื่อมเป็นกรดเบต้าอะมิโนที่มีออกซีเทนเป็นองค์ประกอบ สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือจากศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ และ อ.ดร.ภาณุวัฒน์ ผดุงรส อาจารย์ที่ปรึกษาพร้อมในโครงการ ที่ให้ความรู้ คำแนะนำและสละเวลาอันมีค่าในการให้ความช่วยเหลือตลอดการทำงานวิจัย เพื่อเพื่อสถานที่และสารเคมีในการทำทดลอง และช่วยแก้ไขปรับปรุงรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ผู้ทำโครงการจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โสภณวี ไชยอนันต์สุจริต และรองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โฮเวณ ที่สละเวลาให้เกียรติมาเป็นกรรมการในการสอบงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความรู้วิชาการต่างๆ อันเป็นพื้นฐานสำคัญที่สามารถทำให้ทำงานวิจัยนี้ได้ลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณภาควิชาเคมีที่สนับสนุนการใช้ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือวิจัยต่างๆ ขอขอบคุณ ดร.วรลักษณ์ มั่นสวัสดิ์ นางสาวพิชชานันท์ ศรีวะระมย์ นายฐิติพงษ์ คำเคน นางสาวจุฑาทิพย์ คงเพชร นายณัฐวุฒิ โยธาพันธ์ และนิสิตปริญญาโทและเอกในกลุ่มวิจัยของศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานและให้คำแนะนำในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ฝ่ายวิชาการ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปี 2556 การสนับสนุนจากหลักสูตรปริญญาบัณฑิต สาขาเคมี (โปรแกรมเกียรตินิยม) คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปี 2554 และ 2555 และโครงการพัฒนาอัจฉริยภาพทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสำหรับเด็กและเยาวชน (JSTP) ที่ให้ทุนสนับสนุนสำหรับการทำวิจัย ผู้วิจัยขอระลึกถึงในความกรุณาช่วยเหลือและห่วงใยเสมอของทุกท่านที่ได้กล่าวมาข้างต้นและบุคคลที่ไม่ได้เอ่ยนามไว้ ณ ที่นี้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
Abstract	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญคำย่อ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1. เพปไทด์นิวคลีอิกแอซิด หรือ พีเอ็นเอ	1
1.2. ไซคลิกเบต้าอะมิโนแอซิด oxetin	4
บทที่ 2 การทดลอง	9
2.1. วิธีการทดลองทั่วไป	9
2.1.1. เครื่องมือ และอุปกรณ์	9
2.1.2. สารเคมี	9
2.2. การสังเคราะห์สารตั้งต้น (<i>E</i>)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29)	10
2.2.1. การสังเคราะห์ (<i>E</i>)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก (<i>Z</i>)-but-2-ene-1,4-diol (30)	10
2.2.2. การสังเคราะห์ (<i>E</i>)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก but-2-yne-1,4-diol (34)	13
2.2.3. การสังเคราะห์ (<i>E</i>)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก benzyl glycidyl ether (36)	15
2.3. การทดสอบแผนการสังเคราะห์สารเป้าหมาย 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40) โดยใช้ racemic model	19
2.3.1. การสังเคราะห์ 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40)	19
2.3.2. การแก้ปัญหาการสังเคราะห์ 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40)	26
2.4. การสังเคราะห์ ((2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) ด้วยปฏิกิริยา stereo selective epoxidation	28
2.4.1. Sharpless epoxidation	28
2.4.2. Shi epoxidation	29
2.4.3. Jorgensen epoxidation	30

2.5. การสังเคราะห์ (2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40a) จาก ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) ที่ได้จากปฏิกิริยา stereo selective epoxidation	32
บทที่ 3 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง	36
3.1. การสังเคราะห์สารตั้งต้น (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29)	36
3.1.1. การสังเคราะห์ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก (Z)-but-2-ene-1,4-diol (30)	37
3.1.2. การสังเคราะห์ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก but-2-yne-1,4-diol (34)	40
3.1.3. การสังเคราะห์ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก benzyl glycidyl ether (36)	40
3.2. การทดสอบแผนการสังเคราะห์สารเป้าหมาย 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40) โดยใช้ racemic model	42
3.2.1. การสังเคราะห์ 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40)	42
3.2.2. แนวทางการแก้ปัญหาการสังเคราะห์ 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40)	46
3.3. การสังเคราะห์ (2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) ด้วยปฏิกิริยา enantioselective epoxidation	49
3.3.1. Sharpless epoxidation	49
3.3.2. Shi epoxidation	50
3.3.3. Jorgensen epoxidation	51
3.4. การสังเคราะห์ (2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40a) จาก ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a)	54
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	55
เอกสารอ้างอิง	57
ภาคผนวก	60
ภาคผนวก A	61
ภาคผนวก B	85
ภาคผนวก C	90
ภาคผนวก D	95
ประวัติผู้วิจัย	103

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 การจับยี่ตรงระหว่างดีเอ็นเอกับพีเอ็นเอของ Nielsen ตามกฎของ Watson-Crick	1
1.2 โครงสร้างของพีเอ็นเอที่อ้างถึงในข้อเสนอโครงการวิจัยนี้	2
1.3 มุมทอร์ชันนัลของ acbcPNA, acpcPNA และ achcPNA	2
1.4 โครงสร้างของ aegPNA เปรียบเทียบกับ ^{R-MP} ypNA	3
1.5 โครงสร้างของพีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาในงานวิจัยนี้	3
1.6 โครงสร้างของไซคลิกเบต้าอะมิโนแอซิดออกซิทีนที่ปกป้องด้วยหมู่ Fmoc เพื่อเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ออกซิทีนพีเอ็นเอ	4
1.7 การสังเคราะห์สาร 5 จากสาร 1	5
1.8 การสังเคราะห์สาร 11 จากสาร 5	5
1.9 การสังเคราะห์สาร 15 จากสาร 11	6
1.10 การสังเคราะห์สาร 18a จากสาร 15	6
1.11 การสังเคราะห์สารผสม 23a และ 23b จากสาร 19	7
1.12 การสังเคราะห์สาร 18a จากสารผสม 23a และ 23b	7
1.13 ไครัลลอปอกไซดีอินเทอร์มีเดียที่มีสเตอริโอเคมีสอดคล้องกับ 10a	8
2.1 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 29 จากสาร 30	10
2.2 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 22 จากสาร 33	13
2.3 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 22 จากสาร 35	15
2.4 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 40a และ 40b จากสาร 29	19
2.5 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 40a จากสาร 45a โดยผ่านอินเทอร์มีเดียต 28a	26
2.6 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 40a จากสาร 41a ด้วยวิธีการสังเคราะห์ที่ปรับปรุงใหม่	32
3.1 แผนการสังเคราะห์สาร 21a ด้วยวิธีที่เสนอขึ้นใหม่	36
3.2 ผลการสังเคราะห์สาร 29 โดยเริ่มต้นจากสาร 30	37
3.3 ¹ H NMR spectrum ของสารได้สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร 31	38
3.4 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสาร 31 ที่ใช้ sodium hypochlorite ร่วมกับ KBr และ TEMPO เป็นออกซิแดนซ์	39
3.5 แผนการสังเคราะห์สาร 29 โดยเริ่มต้นจากสาร 34	40
3.6 แผนการสังเคราะห์สาร 29 โดยเริ่มต้นจากสาร 36	40
3.7 การเกิด conjugate reduction ของสาร 33	41
3.8 สรุปผลการสังเคราะห์ racemic mixture ของ 40a กับ 40b โดยเริ่มต้นจากสาร 29	42
3.9 การเกิดปฏิกิริยาเปิดวง epoxide ด้วย azide ตามเอกสารอ้างอิง	43
3.10 กลไกการเกิดปฏิกิริยาเปิดวง epoxide ด้วย azide	43
3.11 การเปรียบเทียบ ¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) ระหว่างสาร 43a กับ 43b และ สาร 44a กับ 44b	45

3.12 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดคาร์บอกซิลิก	46
3.13 แผนการสังเคราะห์สาร 40a และ 40b โดยเริ่มต้นจากสาร 45a และ 45b ผ่านตัวกลาง 28a และ 28b	47
3.14 การเปรียบเทียบ ¹ H NMR ระหว่างสาร 28a (400 MHz, CDCl ₃) และ สาร 40a (400 MHz, DMSO-d ₆ , 66 %ee)	48
3.15 แผนการสังเคราะห์สาร 40a ที่ปรับปรุงขึ้น	49
3.16 การสังเคราะห์สาร 41a ด้วยปฏิกิริยา Sharpless epoxidation ของสาร 29	49
3.17 การสังเคราะห์สาร 41a ด้วยปฏิกิริยา Shi epoxidation ของสาร 29	50
3.18 การสังเคราะห์สาร 41a ด้วยปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation ของสาร 29	51
3.19 กลไกการเกิดปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation ของสาร 33	53
3.20 แผนภาพในการสังเคราะห์ อินเทอร์มีเดียต 44a ในรูปที่เป็นอินแนนซีโอเมอร์เดี่ยว โดยเริ่มต้นจากสาร 41a	54
3.21 แนวทางในการสังเคราะห์ pure enantiomeric 40a โดยเริ่มต้นจากสาร 44a	54
4.1 สูตรวิธีการสังเคราะห์ (2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40a) จากสาร (Z)-but-2-ene-1,4-diol (30)	56
A-1 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (Z)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (31)	62
A-2 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (Z)-4-(benzyloxy)but-2-enal (32)	63
A-3 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-enal (33) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก (Z)-but-2-ene-1,4-diol (30)	64
A-4 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก (Z)-but-2-ene-1,4-diol (30)	65
A-5 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ 4-(benzyloxy)but-2-yn-1-ol (35)	66
A-6 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก but-2-yne-1,4-diol (34)	67
A-7 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ 3-(benzyloxy)propane-1,2-diol (37)	68
A-8 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ 2-(benzyloxy)acetaldehyde (38)	69
A-9 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-enal (33) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก benzyl glycidyl ether (36)	70
A-10 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก benzyl glycidyl ether (36)	71
A-11 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) ที่สังเคราะห์ที่สังเคราะห์จากปฏิกิริยา NaBH ₄ reduction ที่อุณหภูมิห้อง	72
A-12 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ racemic (3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a กับ 41b)	73

A-13 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ racemic 2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a) กับ 42b)	74
A-14 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ racemic 2-azido-4-(benzyloxy)-3-hydroxybutyl 4-methylbenzenesulfonate (43a) กับ 43b)	75
A-15 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ racemic 3-azido-2-(benzyloxymethyl)oxetane (44a) กับ 44b)	76
A-16 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ racemic tert-butyl-2-(hydroxymethyl)oxetan-3-ylcarbamate (45a) กับ 45b)	77
A-17 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ racemic (9H-fluoren-9-yl)methyl-2-(hydroxymethyl)oxetan-3-ylcarbamate (46a) กับ 46b)	78
A-18 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (2S,3S)-3-(tert-butoxycarbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (28a)	79
A-19 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-d ₆) ของ (2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40a)	80
A-20 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a)	81
A-21 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a)	82
A-22 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)-3-hydroxybutyl 4-methylbenzenesulfonate (43a)	83
A-23 ¹ H NMR spectrum (400 MHz, CDCl ₃) ของ (2S,3S)-3-azido-2-(benzyloxymethyl)oxetane (44a)	84
B-1 ¹³ C NMR spectrum (100 MHz, CDCl ₃) ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a)	86
B-2 ¹³ C NMR spectrum (100 MHz, CDCl ₃) ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a)	87
B-3 ¹³ C NMR spectrum (100 MHz, CDCl ₃) ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)-3-hydroxybutyl 4-methylbenzenesulfonate (43a)	88
B-4 ¹³ C NMR spectrum (100 MHz, CDCl ₃) ของ (2S,3S)-3-azido-2-(benzyloxymethyl)oxetane (44a)	89
C-1 IR spectrum ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a)	91
C-2 IR spectrum ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a)	92
C-3 IR spectrum ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)-3-hydroxybutyl 4-methylbenzenesulfonate (43a)	93
C-4 IR spectrum ของ (2S,3S)-3-azido-2-(benzyloxymethyl)oxetane (44a)	94

D-1 HPLC chromatogram ของ racemic-(3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a และ 41b) จากปฏิกิริยา epoxidation ด้วย mCPBA	96
D-2 HPLC chromatogram ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Sharpless epoxidation โดยใช้สาร 29 (7.58 mmol), 2.5 eq. TBHP, 0.38 eq. D-(-)diisopropyl ttrate และ 0.25 eq. Ti(O ⁱ Pr) ₄	97
D-3 HPLC chromatogram ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Sharpless epoxidation โดยใช้สาร 29 (4.92 mmol) ที่มีการปนเปื้อนของสาร 51 ในสัดส่วน 29:51 เป็น 68:32, 3.8 eq. TBHP, 2.3 eq. D-(-)diisopropyl ttrate และ 1.5 eq. Ti(O ⁱ Pr) ₄	98
D-4 HPLC chromatogram ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Shi epoxidation ที่มี hydrogenperoxide เป็น oxidant	99
D-5 HPLC chromatogram ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation โดยใช้สาร 33 (1 mmol) ที่อุณหภูมิห้อง	100
D-6 HPLC chromatogram ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation โดยใช้สาร 33 (1 mmol) ที่อุณหภูมิ 10-20 °C	101
D-7 HPLC chromatogram ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation โดยใช้สาร 33 (5.86 mmol) ที่อุณหภูมิ 10-20 °C	102

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ผลการทดลองปฏิกิริยา Sharpless epoxidation	29
2.2 ผลการทดลองปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation	31
3.1 สรุปผลการทดลองปฏิกิริยา Sharpless epoxidation	50
3.2 สรุปผลการทดลองปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation	52



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญคำย่อ

[α] _D	specific rotation
ν_{\max}	maximum frequency
δ	chemical shift
2,4-DNP	2,4-Dinitrophenylhydrazine
Ac	acetyl
ACN	acetonitrile
acbcPNA	pyrrolidinyl PNA with 2-aminocyclobutanecarboxylic acid spacer
achcPNA	pyrrolidinyl PNA with 2-aminocyclohexanecarboxylic acid spacer
AcOH	acetic acid
acpcPNA	pyrrolidinyl PNA with 2-aminocyclopentanecarboxylic acid spacer
aeg	<i>N</i> -2-aminoethylglycine
aegPNA	<i>N</i> -2-aminoethylglycyl PNA
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
c	concentration
CDCl ₃	deuterated chloroform
d	doublet
dd	doublet of doublet
dt	doublet of triplet
DIBAL-H	diisobutylaluminum hydride
DAIB	diacetoxy iodobenzene
DMAP	4-dimethylaminopyridine
DMDO	dimethyldioxirane
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO-d ₆	deuterated dimethylsulfoxide
DNA	deoxyribonucleic acid
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
eq.	equivalent
Et	ethyl
Fmoc	9-fluorenylmethoxycarbonyl
FmocOSu	<i>N</i> -(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy) succinimide
HPLC	high performance liquid chromatography
m	multiplet

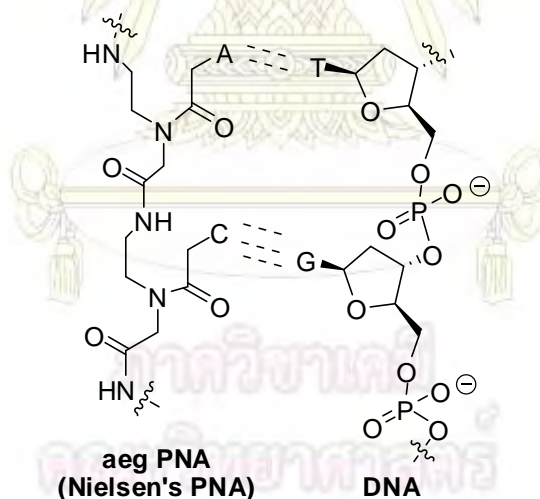
mCPBA	meta-chloroperoxybenzoic acid
Me	methyl
MHz	megahertz
NMR	nuclear magnetic resonance
PNA	peptide nucleic acid or polyamide nucleic acid
ppm	part per million
q	quartet
Red-Al	sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminumhydride
R_f	retention factor
rt	room temperature
s	singlet
TBAHS	tetrabutyl ammonium hydrogen sulfate
TBHP	<i>tert</i> -butylhydroperoxide
TEA	triethylamine
Temp	temperature
TEMPO	(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)oxy
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography
T_m	melting temperature
TMS-Cl	trimethylsilyl chloride
t_R	retention time
Tr	trityl
Ts	para-toluenesulfonyl
UV	ultraviolet
UV-vis	ultraviolet-visible

บทที่ 1

บทนำ

1.1. เพลไทด์นิวคลีอิกแอซิด หรือ พีเอ็นเอ

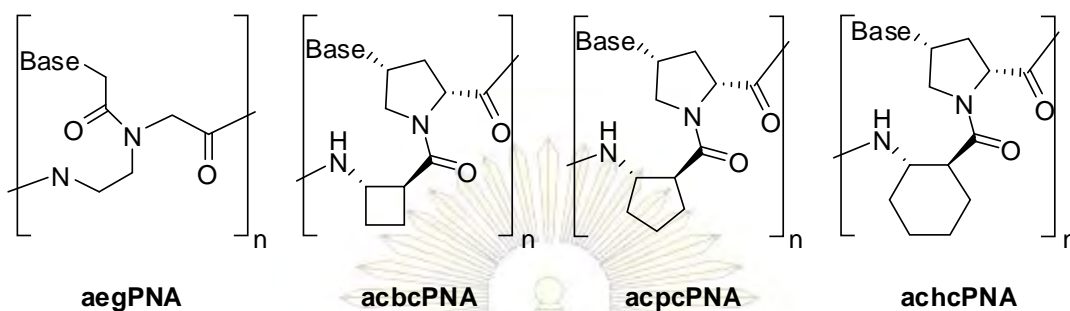
ในช่วงประมาณปี ค.ศ. 1990 Nielsen และคณะได้พัฒนาสารเลียนแบบดีเอ็นเอที่สามารถแสดงการจับยึดกับดีเอ็นเอได้ตามกฎของ Watson-Crick ที่เรียกว่าเพลไทด์นิวคลีอิกแอซิด หรือ พีเอ็นเอ ขึ้น โดยโครงสร้างของพีเอ็นเอของ Nielsen (บางทีก็เรียกว่า aegPNA) แตกต่างจากดีเอ็นเอ คือ โครงหลักของโมเลกุลจะเป็นสายโซ่คล้ายเพลไทด์ของ *N*-2-aminoethylglycine (aeg) แทนที่จะเป็นดีออกซีไรโบสฟอสเฟต ซึ่งโครงหลักของพีเอ็นเอที่เป็นเพลไทด์ซึ่งมีความเป็นกลางทางไฟฟ้าส่งผลให้การจับยึดระหว่างดีเอ็นเอกับพีเอ็นเอเกิดได้ดีกว่าการจับยึดระหว่างดีเอ็นเอด้วยกันเอง (รูปที่ 1.1) เนื่องจากปราศจากแรงผลักทางไฟฟ้าดังที่พบระหว่างสายดีเอ็นเอสองสายที่มีประจุลบเหมือนกัน สิ่งที่เป็นที่น่าประหลาดใจคือพีเอ็นเอยังแสดงความจำเพาะต่อการจับยึดกับเป้าหมายที่เป็นดีเอ็นเอ หรือ อาร์เอ็นเอคู่สมได้ดีกว่าดีเอ็นเอธรรมชาติ และนอกจากนี้ โครงสร้างที่แตกต่างไปจากดีเอ็นเอและเพลไทด์ธรรมชาติทำให้พีเอ็นเอนี้ไม่สามารถถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์นิวคลีเอสและโปรตีเอส^[1-2] จากสมบัติต่างๆ เหล่านี้ทำให้มีการนำพีเอ็นเอมาใช้งานเพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ อย่างกว้างขวาง ทั้งในด้านการวินิจฉัยและการบำบัดรักษาโรค รวมไปถึงการประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ เช่น เทคโนโลยีชีวภาพ และวัสดุศาสตร์^[3-4]



รูปที่ 1.1 การจับยึดระหว่างดีเอ็นเอกับพีเอ็นเอของ Nielsen ตามกฎของ Watson-Crick

ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา Vilaivan และคณะได้พัฒนาพีเอ็นเอระบบใหม่ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนโพรลีนที่ถูกดัดแปลงด้วยนิวคลีโอเบสต่อสลับกันกับตัวเชื่อมที่เป็นกรดเบต้าอะมิโนแบบวงแหวน โดยมีสมมติฐานว่าการจำกัดคอนฟอร์เมชันของพีเอ็นเอด้วยโครงสร้างที่เป็นวงแหวนจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงและความจำเพาะเจาะจงของการจับยึดกับดีเอ็นเอเป้าหมายเมื่อเทียบกับพีเอ็นเอดั้งเดิมของ Nielsen ที่ค่อนข้างยืดหยุ่นได้มาก

ตัวอย่างที่ประสบความสำเร็จตัวอย่างหนึ่งคือ พีเอ็นเอที่มีตัวเชื่อมเป็น (1*S*,2*S*)-2-aminocyclopentane carboxylic acid (acpcPNA) ที่มีประสิทธิภาพในการจับยึดกับ ดีเอ็นเอที่แข็งแรงและจำเพาะเจาะจงกว่า aegPNA ดั้งเดิมของ Nielsen อีกทั้งยังเลือกจับเฉพาะในทิศทาง antiparallel อีกด้วย^[5-7]



รูปที่ 1.2 โครงสร้างของพีเอ็นเอที่อ้างถึงในข้อเสนอดังกล่าว

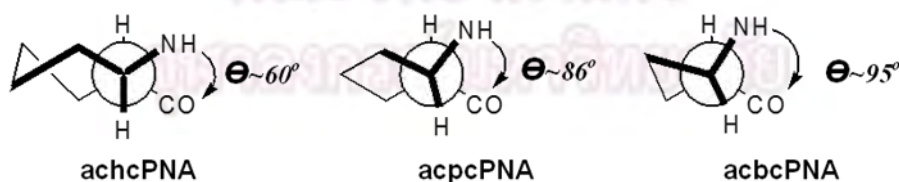
aeg PNA : *N*-(2- aminoethyl)glycine PNA

acbcPNA : pyrrolidinyl PNA with 2-aminocyclobutanecarboxylic acid spacer

acpcPNA : pyrrolidinyl PNA with 2-aminocyclopentanecarboxylic acid spacer

achcPNA : pyrrolidinyl PNA with 2-aminocyclohexanecarboxylic acid spacer

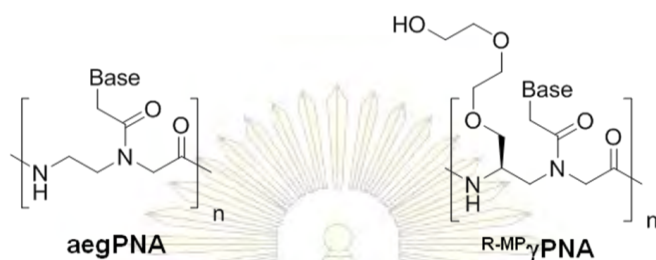
ในระยะเวลาต่อมา กลุ่มวิจัยเดมินี้ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของขนาดของวงแหวนในส่วนของกรดเบต้าอะมิโน โดยได้พัฒนาระบบพีเอ็นเอใหม่ขึ้นมาอีก 2 ระบบโดยการปรับเปลี่ยนขนาดวงของ cyclic β -amino acid (spacer) ให้มีขนาดเป็น 4 คาร์บอน (aminocyclobutanecarboxylic acid, acbcPNA) และ 6 คาร์บอน (aminocyclohexanecarboxylic acid, achcPNA) โครงสร้างของพีเอ็นเอที่อ้างถึงในงานวิจัยนี้เป็นดังแสดงในรูปที่ 1.2 ซึ่งพบว่าเมื่อนำขนาดวงเล็กลงเป็น 4 คาร์บอน ความแข็งแรงในการจับยึดกับ ดีเอ็นเอ จะเพิ่มมากขึ้นโดยไม่มีผลกระทบต่อความจำเพาะเจาะจง ในทางกลับกันการเพิ่มขนาดของวงแหวนเป็น 6 คาร์บอน จะทำให้พีเอ็นเอที่ได้สูญเสียการจับกับดีเอ็นเอไป ซึ่งอธิบายได้ว่ามุมทอร์ชันนัลของ acbc มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่เหมาะสมของพีเอ็นเอในสภาพที่เกิดไฮบริดกับดีเอ็นเอ คือ 99° มากกว่า acpc และ achc ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 1.3 ดังนั้นระบบของ acbcPNA จึงให้ประสิทธิภาพการจับยึดที่สูงกว่าระบบอื่นๆที่ได้กล่าวมา^[8]



รูปที่ 1.3 มุมทอร์ชันนัลของ acbcPNA, acpcPNA และ achcPNA^[8]

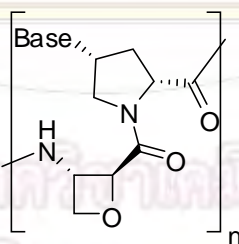
อย่างไรก็ตาม ปัญหาในทางปฏิบัติที่พบในการนำพีเอ็นเอไปประยุกต์ใช้คือความสามารถในการละลายน้ำที่จำกัด และการเกิดแรงกระทำแบบไม่จำเพาะเจาะจงกับโมเลกุลที่ไม่ใช่ดีเอ็นเอเป้าหมายซึ่งคาดว่าเกี่ยวข้อง

กับการที่พีเอ็นเอมีโครงสร้างหลักที่มีความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) กลุ่มวิจัยของ Ly ได้แสดงให้เห็นว่าการเติมหมู่ไดเอทิลีนไกลคอลที่มีขั้วสูงลงไปในโครงสร้างหลักของ aegPNA ($R\text{-MP}\gamma\text{PNA}$) ที่มีโครงสร้างเป็นดังแสดงในรูปที่ 1.4 จะสามารถเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของพีเอ็นเอ ทั้งยังสามารถลดแรงกระทำแบบไม่จำเพาะเจาะจงกับโมเลกุลที่ไม่ใช่ดีเอ็นเอเป้าหมาย ในขณะที่ประสิทธิภาพในการจับยึดกับดีเอ็นเอเป้าหมายยังคงเหมือนเดิม^[9]



รูปที่ 1.4 โครงสร้างของ aegPNA เปรียบเทียบกับ $R\text{-MP}\gamma\text{PNA}$ ^[9]

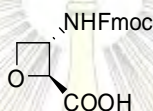
ในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะพัฒนาอนุพันธ์ของ acbcPNA ที่มีความชอบน้ำมากขึ้น ซึ่งน่าจะทำได้โดยการแทนที่วงแหวนไซโคลบิวเทนด้วยวงแหวนออกซีเทนโดยจะต้องรักษาสเตอริโอเคมีของหมู่อะมิโนและหมู่คาร์บอกซิลไว้ให้สอดคล้องกับของ acbcPNA และ acpcPNA (รูปที่ 1.5) โดยคาดหมายว่าการแทนที่คาร์บอนด้วยออกซิเจนอะตอมดังกล่าวจะช่วยเพิ่มขั้วของพีเอ็นเอทำให้ส่งผลในทางบวกต่อการละลายน้ำซึ่งเป็นประโยชน์ในแง่ของการลดการจับยึดแบบไม่จำเพาะเจาะจงของพีเอ็นเอ กับโมเลกุลอื่นที่ไม่ใช่ดีเอ็นเอเป้าหมาย นอกจากนี้การละลายที่เพิ่มขึ้นยังเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาโครงสร้างสามมิติของพีเอ็นเอด้วยเทคนิคที่ต้องอาศัยความเข้มข้นสูงเช่น $^1\text{H NMR}$ อีกด้วย



รูปที่ 1.5 โครงสร้างของพีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาในงานวิจัยนี้

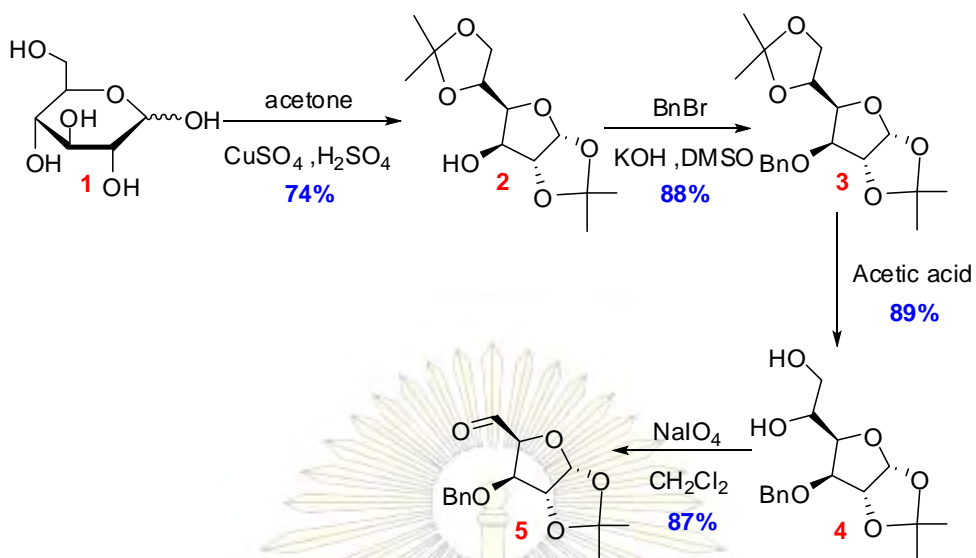
1.2. ไซคลิกเบต้าอะมิโนแอซิด oxetin

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของพีเอ็นเอระบบใหม่ที่จะศึกษานั้น เห็นได้ว่าจะประกอบไปด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ เบสที่ต่อกับวงโพสเฟอไรล และ ไซคลิกเบต้าอะมิโนแอซิดซึ่งมีวงแหวนออกซีเทนเป็นส่วนประกอบ ที่มีชื่อเรียกเฉพาะว่าออกซีทิน (oxetin)^[10] ตัวไซคลิกเบต้าอะมิโนแอซิดนี้เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้พีเอ็นเอที่จะสังเคราะห์และศึกษาสมบัติในงานวิจัยนี้แตกต่างจากพีริโรดิโนลพีเอ็นเอระบบอื่นที่ได้เคยมีรายงานไปแล้ว โดยงานวิจัยนี้ได้วางแผนสังเคราะห์พีเอ็นเอระบบใหม่นี้จากการสังเคราะห์ (2S,3S)-ไอโซเมอร์ของออกซีทินที่มีหมู่ปกป้องเป็น Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) ที่มีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1.6 และเนื่องจากระยะเวลาในการดำเนินการที่จำกัด ดังนั้นขอบเขตของการศึกษาในงานวิจัยนี้คือการสังเคราะห์ (2S,3S)-ไอโซเมอร์ของออกซีทินเท่านั้น



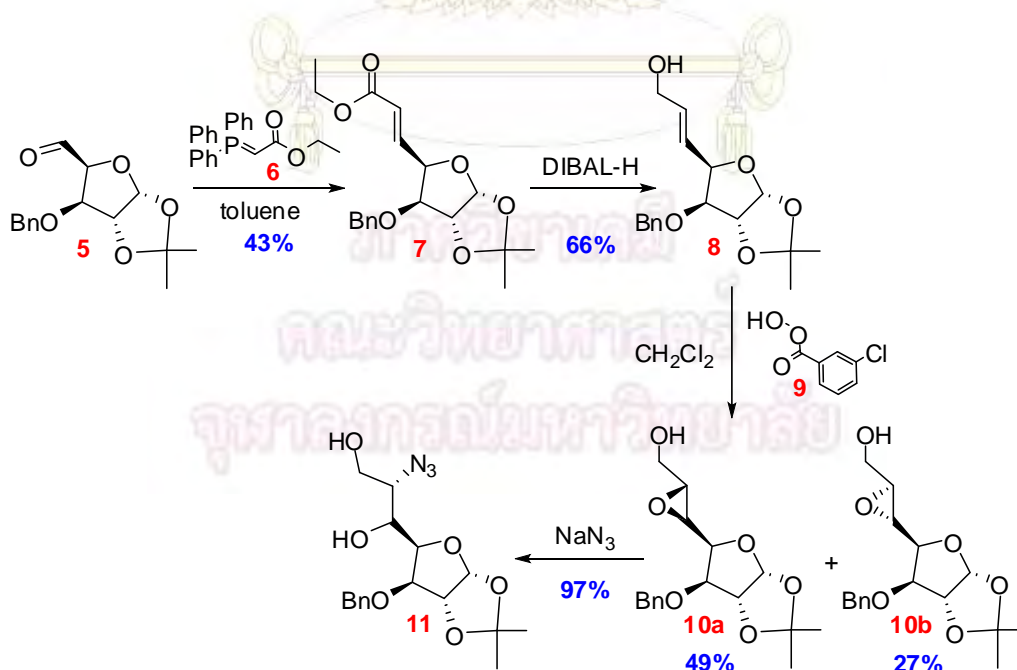
รูปที่ 1.6 โครงสร้างของไซคลิกเบต้าอะมิโนแอซิดออกซีทินที่ปกป้องด้วยหมู่ Fmoc เพื่อเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ออกซีทินพีเอ็นเอ

Ōmura และคณะได้รายงานที่สามารถแยกไอโซเมอร์ (2R,3S) ของออกซีทิน ได้จากเชื้อ *Streptomyces* sp. OM-2317 สารนี้แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง *Bacillus subtilis* และ *Piricularia oryzae* ต่อมาคณะผู้วิจัยเดียวกันได้แสดงการสังเคราะห์ออกซีทินนั้นทั้งสเตอริโอไอโซเมอร์ที่เป็นไปได้ในปี ค.ศ. 1996^[10] และคณะของ Blauvet และ Howell ที่เลือกสังเคราะห์เฉพาะไอโซเมอร์ (2S,3S) ในปี ค.ศ. 2008^[11] สำหรับวิธีการสังเคราะห์ของ Ōmura ที่พัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1986 ที่อาศัยสารตั้งต้นคือ D-glucose ผ่านปฏิกิริยาทั้งหมด 15 ขั้นตอน^[10] โดยเริ่มต้นจากปฏิกิริยาปกป้องหมู่ไฮดรอกซิลของ glucose 1 ด้วย acetone ที่ใช้ sulfuric acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้สารผลิตภัณฑ์ 2^[12] ที่สามารถปกป้องหมู่ไฮดรอกซิลที่เหลือบนวงของ glucose ด้วย benzyl bromide จะได้สารผลิตภัณฑ์ 3 จากนั้นจึงปลด acetonide ที่เป็นหมู่ปกป้องออก โดยใช้ acetic acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้สารผลิตภัณฑ์ 4 หลังจากนั้นจึงทำปฏิกิริยา oxidative cleavage ด้วย sodium periodate จนได้เป็นสารประกอบ aldehyde 5^[13]



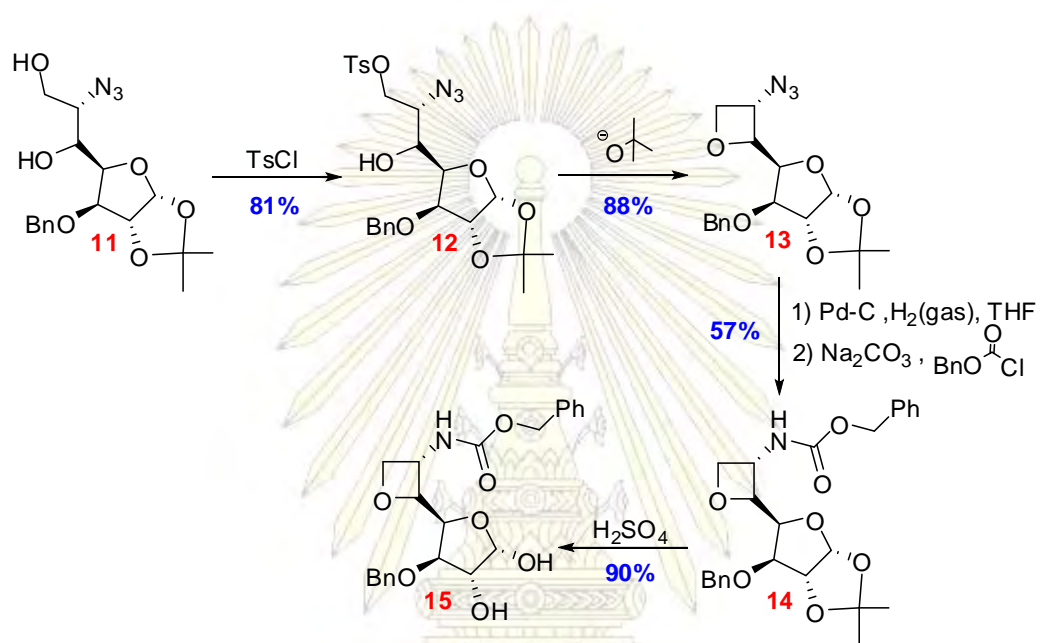
รูปที่ 1.7 การสังเคราะห์สาร 5 จากสาร 1

จากนั้นจึงนำสารประกอบแอลดีไฮด์ 5 ที่ได้มาทำปฏิกิริยา Wittig กับ stabilized phosphorus ylide 6 จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น *trans*-unsaturated ester 7 เมื่อนำมาทำปฏิกิริยารีดักชันของหมู่เอสเทอร์ด้วย Di-isobutylaluminum hydride (DIBAL-H) จะได้ *trans*-allylic alcohol 8 ที่เมื่อนำมาทำปฏิกิริยา epoxidation โดยใช้ mCPBA 9 จะได้ของผสมของ epoxyalcohol 10a และ 10b ซึ่งสามารถแยกออกจากกันโดยเทคนิคโครมาโทกราฟี จากนั้นจึงนำไอโซเมอร์ที่ต้องการสำหรับการสังเคราะห์ไอโซเมอร์ (2S,3S) ของออกซีทีน คือ 10a มาใช้ในปฏิกิริยาเปิดวง epoxide ด้วย sodium azide จะได้สารประกอบ azide 11^[10]



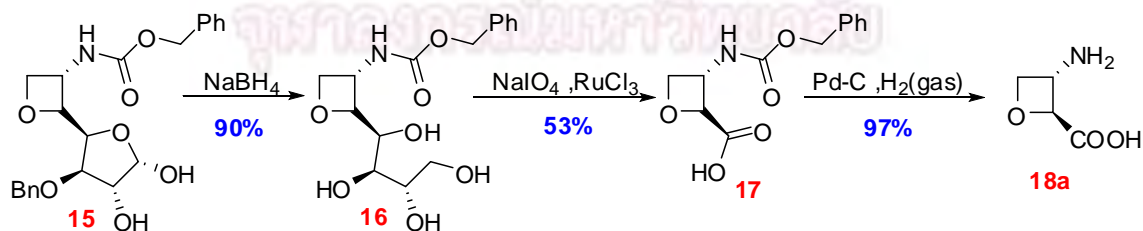
รูปที่ 1.8 การสังเคราะห์สาร 11 จากสาร 5

ขั้นตอนต่อมาเป็นขั้นสำคัญในการสร้างวงแหวนออกซิเทน โดยการนำสารประกอบ azide 11 มาทำปฏิกิริยา tosylation ด้วย *p*-toluenesulfonyl chloride แล้วจึงนำเอาสารประกอบ tosylate 12 ที่ได้ มาทำปฏิกิริยาปิดวง โดยใช้ potassium *t*-butoxide ซึ่งจะดึงโปรตอนจากหมู่แอลกอฮอล์และชักนำให้เกิดการปิดวงแหวนเป็นสารประกอบออกซิเทน 13 ขั้นตอนที่เหลือเป็นการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันจาก azide ให้เป็นหมู่ amino และปกป้องหมู่ amino ด้วยหมู่ปกป้อง carbobenzyloxy (Cbz) ได้สาร 14^[10]



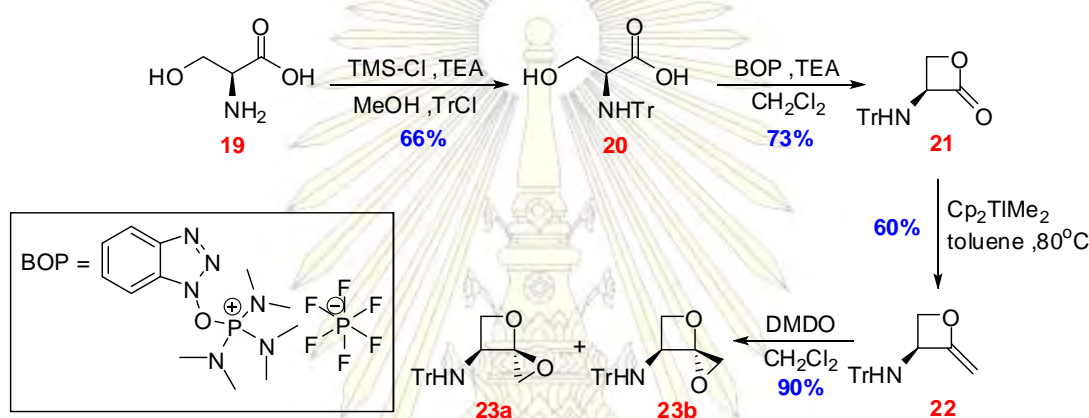
รูปที่ 1.9 การสังเคราะห์สาร 15 จากสาร 11

จากสาร 14 จะต้องผ่านขั้นตอนการปลดหมู่ acetonide ที่ปกป้องหมู่ไดออลออกไป โดยใช้ sulfuric acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้เป็นออกซิเทน 15^[10] ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยารีดักชันด้วย NaBH_4 จะได้สารประกอบ polyol 16 จากนั้นจึงทำปฏิกิริยา oxidative cleavage เพื่อตัดหมู่ไดออลให้กลายเป็นหมู่กรดคาร์บอกซิลิกของสารประกอบ 17 หลังจากการปลดหมู่ปกป้องของหมู่อะมิโนออกไปจะได้ (2S,3S) ไอโซเมอร์ของไซคลิกเบต้าอะมิโนแอซิด 18a ตามที่ต้องการในที่สุด^[10]



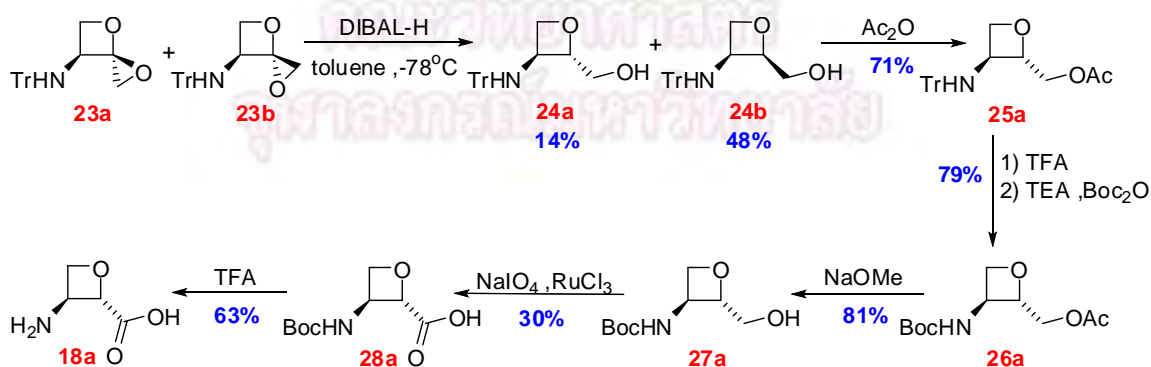
รูปที่ 1.10 การสังเคราะห์สาร 18a จากสาร 15

สำหรับการสังเคราะห์ (2S,3S)-oxetin ตามวิธีของ Blauvet และ Howell ในปี ค.ศ. 2008 อาศัยสารตั้งต้นคือ L-Serine ผ่านปฏิกิริยาทั้งหมด 10 ขั้นตอน^[11] โดยเริ่มต้นจาก การนำ L-Serine 19 มาทำปฏิกิริยาเติมหมู่ปกป้อง trityl ที่ตำแหน่งหมู่อะมิโนได้สาร 20 แล้วจึงปิดวง lactone โดยทำปฏิกิริยากับ benzotriazol-1-yloxy tris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate (BOP) เกิดเป็น lactone 21 ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยา methylenation กับ dimethyltitanocene (Cp_2TiMe_2) ต่อไปได้ ก่อนจะนำ methylene oxetane 22 มาทำ epoxidation โดยใช้ไดเมทิลไดออกซิเรน (DMDO) ได้ epoxide 23 ที่ยังคงเป็น diastereomeric mixture ที่มีสัดส่วน isomer 23a:23b เป็น 2:1 โดย 23a คือไอโซเมอร์ที่ต้องการ ซึ่งนำไปทำปฏิกิริยาต่อโดยไม่แยก isomer ทั้ง 2 ออกจากกัน



รูปที่ 1.11 การสังเคราะห์สารผสม 23a และ 23b จากสาร 19

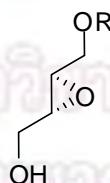
ในขั้นตอนต่อมาคือ การทำปฏิกิริยา reduction ของ epoxide ผสม 23a และ 23b เกิดเป็น alcohol ผสม 24a และ 24b ซึ่งสามารถแยกเฉพาะ isomer 24b มาทำปฏิกิริยาการเติมหมู่ acetyl ที่ตำแหน่งของ alcohol ได้สาร 25a แล้วจึงเปลี่ยนหมู่ปกป้องที่หมู่ amino จาก trityl ให้เป็น tert-butyloxycarbonyl (Boc) ก่อนจะนำสาร 26a มาปลดหมู่ปกป้อง acetyl ออก แล้วทำปฏิกิริยา oxidation ไปเป็น carboxylic 27a แล้วปลดหมู่ปกป้อง Boc ออกได้เป็น (2S,3S)-oxetin 18a ในที่สุด^[11]



รูปที่ 1.12 การสังเคราะห์สาร 18a จากสารผสม 23a และ 23b

จากการพิจารณาแผนการสังเคราะห์ตามวิธีของ Blauvet และ Howell ข้างต้น^[11] พบว่าแผนการสังเคราะห์ดังกล่าวใช้สารตั้งต้น และ reagent ที่ค่อนข้างมีราคาสูง ทั้งยังอาศัยปฏิกิริยา methylenation โดย Cp_2TiMe_2 ซึ่งมีความยุ่งยากในการควบคุมภาวะของปฏิกิริยาให้ได้สารผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ นอกจากนี้ปฏิกิริยาในบางขั้นตอนยังไม่ค่อยมีประสิทธิภาพเช่นปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 22 ไปเป็น 23 ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์เป็นของผสมของไดอะสเตอร์ไอเมอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสังเคราะห์ตามวิธีของ Omura^[10] ที่ได้อธิบายมาก่อนหน้านี้ จะเห็นได้ว่าวิธีของ Omura แม้จะยาวกว่าแต่ก็ใช้สารตั้งต้น และรีเอเจนต์ที่มีราคาถูกลง ทั้งยังใช้ปฏิกิริยาพื้นฐาน และอาศัยปฏิกิริยาที่เชื่อถือได้ เช่น Wittig reaction, epoxidation, oxidative cleavage ด้วย NaIO_4 ซึ่งไม่ต้องมีการควบคุม condition ของปฏิกิริยามากนัก

อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ภายใต้หลักสูตรปริญญาบัณฑิต สาขาเคมี (โปรแกรมเกียรตินิยม) คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ โครงการพัฒนาอัจฉริยภาพทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสำหรับเด็กและเยาวชน (JSTP) ผู้วิจัยได้พยายามสังเคราะห์ (2S,3S)-oxetin ผ่านวิธีของ Omura ดังกล่าวข้างต้น^[32-33] ซึ่งพบว่าสามารถทำได้สำเร็จถึงขั้นตอนการสังเคราะห์สาร 16 แต่พบปัญหาในแง่ของความยุ่งยากจากการสังเคราะห์สารต่อเนื่องหลายขั้นตอน ที่ต้องใช้ปริมาณสารตั้งต้นมากและระยะเวลาในการสังเคราะห์สารยาวนาน จึงก่อให้เกิดปัญหาด้านปริมาณของสารผลิตภัณฑ์ในปฏิกิริยาขั้นท้ายๆ ที่ได้ปริมาณน้อยเกินกว่าที่จะใช้ทดลองต่อไป ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเสนอวิธีการสังเคราะห์สารเป้าหมาย (2S,3S)-ไอโซเมอร์ของออกซิทีนที่มีหมู่ปกป้องเป็น Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) วิธีใหม่ที่ใช้ปฏิกิริยาที่มีความซับซ้อนน้อยกว่าวิธีของ Blauvet และ Howell^[11] และมีจำนวนขั้นตอนการสังเคราะห์ที่สั้นกว่าวิธีของ Omura^[10] โดยอาศัยหลักการเดียวกับของ Omura^[10] แต่แทนที่จะใช้ส่วนของวงแหวนของน้ำตาลเป็นตัวกำหนดสเตอริโอเคมีและเป็นส่วนที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นหมู่คาร์บอกซิลในที่สุด จะเปลี่ยนเป็นการสังเคราะห์โดยผ่านไครลอปอกไซด์อินเทอร์มีเดียตดังแสดงในรูปที่ 1.13 ที่มีสเตอริโอเคมีสอดคล้องกับ 10a แต่มีหมู่แอลกอฮอล์ที่ถูกปกป้องอย่างเหมาะสมเพื่อที่จะเปลี่ยนเป็นหมู่คาร์บอกซิลต่อไป (ดู retrosynthetic analysis plan ในบทที่ 3)



รูปที่ 1.13 ไครลอปอกไซด์อินเทอร์มีเดียตที่มีสเตอริโอเคมีสอดคล้องกับ 10a

บทที่ 2 การทดลอง

2.1. วิธีการทดลองทั่วไป

2.1.1. เครื่องมือ และอุปกรณ์

การชั่งน้ำหนักสารทุกชนิดใช้เครื่องชั่งตวงวัดชนิด 4 ตำแหน่งของ DKSH รุ่น AND GR-200, การตั้งปฏิกิริยาใช้เครื่องกวนแบบให้ความร้อน (magnetic stirrer) ของ Corning, การระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้เครื่อง rotary evaporator ของ Buchi รุ่น Rotavapor R-200 ที่ประกอบด้วยอ่างน้ำร้อนของ Buchi รุ่น B-490 โดยใช้ปั๊มน้ำ (water aspirator) ของ Buchi รุ่น V-700 การติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ใช้แผ่น thin layer chromatography ของ Macherey-Negel ที่ใช้ silicagel 60 ร่วมกับ fluorescent indicator UV₂₅₄ 0.20 mm ที่เคลือบบนแผ่นอะลูมิเนียม, การทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ใช้ silica gel ขนาด 70-230 mesh ของ Merck เป็นเฟสคงที่, การเตรียม molecular sieve เพื่อใช้ในปฏิกิริยา และเตรียมตัวทำละลายที่ปราศจากน้ำใช้ปั๊มอากาศของ Vacuubrand รุ่น RZ2 ร่วมกับการให้ความร้อน, การกำจัดตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำออกจากสารที่เป็นของแข็งใช้การเก็บในเดซิเคเตอร์ร่วมกับการใช้ปั๊มสุญญากาศชนิดไดอะแฟรมของ JKI รุ่น JK-DVP-0.5A, การยืนยันหมู่ฟังก์ชันของสารด้วยเทคนิค IR spectroscopy ด้วยเครื่อง FTIR ของ Thermo Fisher Scientific รุ่น Nicolet 6700, การหาค่าการหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ ($[\alpha]_D$) ทำโดยใช้เครื่อง Jasco P-1010 Polarimeter โดยใช้แสงโซเดียม (D line, 589.3 nm) ในการวัดค่าที่รายงานในหน่วยองศา, การวัด %enantiomeric excess ของสารทำได้โดยการแยกสารทั้ง 2 enantiomers ออกจากกันด้วย chiral HPLC บนเครื่อง HPLC Waters Delta 600 ที่มี Waters 2996 photodiode array detector โดยใช้ OJ-H HPLC column ของ DAICEL ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง column เป็น 0.46 cm และ มีความยาว 25 cm และใช้โปรแกรม Empower Software สำหรับดูสัญญาณจากการตรวจวัด, การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารด้วยเทคนิค ^1H NMR และ ^{13}C NMR ทำโดยใช้ตัวทำละลาย deuterated ที่เหมาะสมละลายสารตัวอย่าง และวัดโดยเครื่อง Varian Mercury-400 และ Bruker Avance 400 ที่ความถี่ 400 MHz สำหรับ ^1H NMR และ 100 MHz สำหรับ ^{13}C NMR

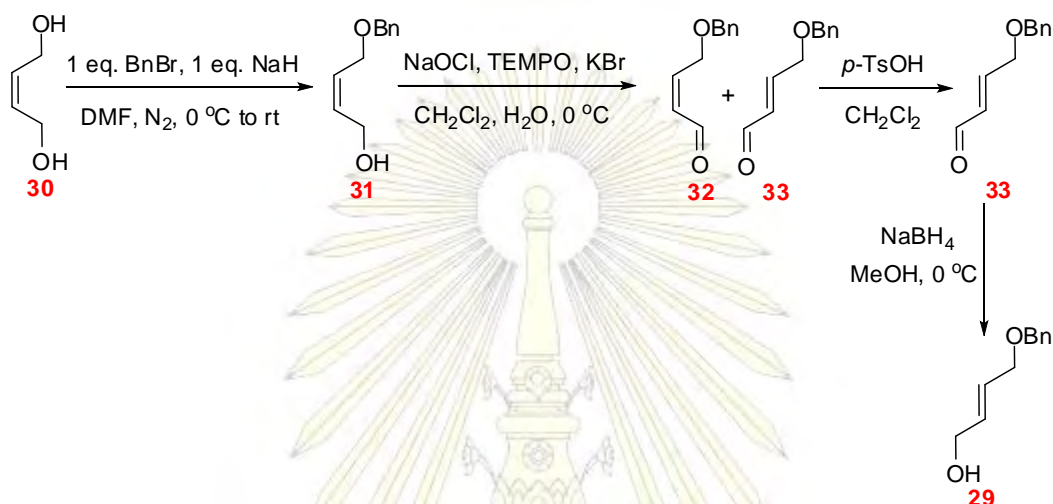
2.1.2. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์ใช้เป็นรีเอเจนต์เกรดจาก Fluka, Acros, Merck และ Sigma-Aldrich, ตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับการสังเคราะห์ใช้เป็น Analytical grade จาก Burdick&Jackson และ RCI, ตัวทำละลายสำหรับทำ column chromatography และ thin layer chromatography ใช้เป็น laboratory grade จาก RCI, ตัวทำละลายสำหรับใช้งานในเครื่อง HPLC ใช้เป็นเกรด HPLC จาก Merck และ Scharlau

2.2. การสังเคราะห์สารตั้งต้น (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29)

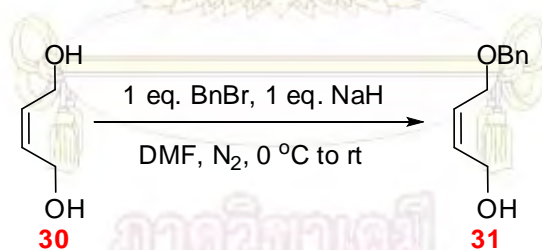
ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองเพื่อหาวิธีที่สะดวก และเหมาะสมในการสังเคราะห์สาร 29 ทั้งสิ้น 3 แนวทาง ที่เริ่มต้นการสังเคราะห์จากสารตั้งต้นต่างชนิดกันดังนี้

2.2.1. การสังเคราะห์ (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก (*Z*)-but-2-ene-1,4-diol (30)



รูปที่ 2.1 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 29 จากสาร 30

Benzylation of (*Z*)-but-2-ene-1,4-diol (30) ^[14]



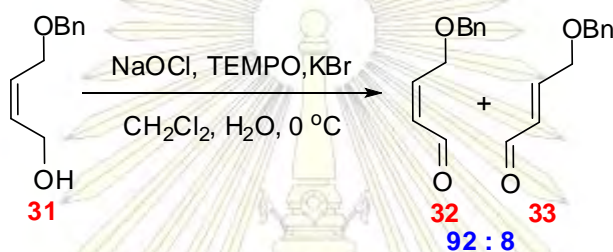
ซึ่ง 60% sodium hydride ใน mineral oil ปริมาณ 0.8697 g (12 mmol ของ sodium hydride) ในขวดกันกลม 2 คอ หลังจากนั้นจึงกำจัดอากาศออกจากระบบด้วยแก๊สไนโตรเจน ก่อนจะเติม DMF 20 mL แล้วตามด้วย *cis*-2-butene-1,4-diol 30 1.60 mL (20 mmol) ในอ่างน้ำแข็ง ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน แล้วจึงเติม benzyl bromide ที่ละลาย ปริมาณ 2.40 mL (20 mmol) ที่อุณหภูมิ 0 °C โดยใช้ dropping funnel ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปอีกเป็นเวลา 19 ชั่วโมง ติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารเพียง 2 จุด มีค่า R_f เป็น 0.14 และ 0.54 ซึ่งไม่พบจุดสารของ *cis*-2-butene-1,4-diol (R_f = 0) และ benzyl bromide (R_f = 0.64) จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเทสารลงในน้ำแข็งสกัดสารที่ได้ด้วย diethyl ether 3 ครั้ง ล้างชั้น organic ที่ได้ด้วยน้ำ 4 ครั้ง เพื่อกำจัด DMF ที่ใช้เป็นตัวทำ

ละลาย แล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ isocratic โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น ethyl acetate:hexanes 3:17 และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า R_f เป็น 0.14 เท่านั้น

ได้สารผลิตภัณฑ์ 31 เป็นของเหลวสีเหลืองใส ปริมาณ 1.7257 g คิดเป็น 48 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่าเป็นสารผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการจริง

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-1) δ (ppm) 4.09 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Bn}$), 4.17 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4.53 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 5.70-5.90 (m, 2H, $-\text{HC}=\text{CH}-$), 7.34 (m, 5H, $-\text{C}_6\text{H}_5$)

Oxidation of (Z)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (31) to aldehyde

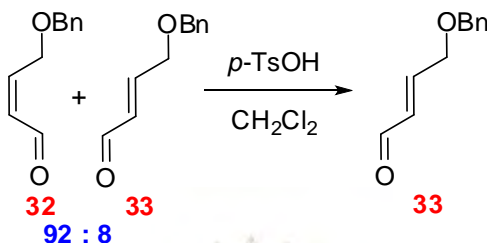


ละลายสาร 31 ปริมาณ 1.7257 g (9.7 mmol) และ (2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)oxy (TEMPO) ปริมาณ 0.0186 g (0.1 mmol) ใน dichloromethane ปริมาณ 24 mL ซึ่งทำในอ่างน้ำแข็ง หลังจากนั้นจึงเติมน้ำปริมาณ 37 mL แล้วละลาย potassium bromide ปริมาณ 0.3116 g (2.62 mmol) ลงไป ตามด้วยการเติมสารละลาย 0.81 M (6% w/w) sodium hypochlorite ปริมาตร 28 mL (29.1 mmol) ก่อนเติม sodium hydrogen carbonate ลงไปจนกระทั่งอิ่มตัวในสารละลาย เพื่อเป็น buffer ควบคุม pH ในระบบ หลังให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 10 นาที ติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยการส่องไฟ UV พบจุดสารเพียงจุดเดียว มีค่า R_f เป็น 0.40 แล้วจึงตรวจสอบหมู่ฟังก์ชัน aldehyde ด้วยสารละลาย 2,4-DNP stain พบว่าจุดสารจุดนั้นเปลี่ยนเป็นสีส้ม และไม่พบจุดสาร 31 ($R_f = 0.14$) เลย จึงหยุดปฏิกิริยาโดยแยกเก็บชั้น organic และจึงนำเอาชั้นน้ำที่เหลือมาสกัดซ้ำด้วย dichloromethane 2 ครั้ง รวมชั้น organic ที่ได้ และนำไประเหยตัวทำละลายออก

ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของเหลวสีเหลือง ปริมาณ 1.5982 g คิดเป็น 94 %yield โดยการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่ามีสัญญาณทั้งสิ้น 2 ชุด คือ ชุดสัญญาณของสาร 32 กับ 33 สามารถคิดสัดส่วนของสารผสม 32 กับ 33 เป็น 92:8

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-2) δ (ppm) 4.52 (dd, $J = 5.2, 1.6$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Bn}$), 4.59 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 6.06 (m, 1H, $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CHO}$), 6.64 (td, $J = 11.6, 5.6$ Hz, 1H, $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CHO}$), 7.35 (m, 5H, $-\text{C}_6\text{H}_5$), 10.05 (d, $J = 6.8$, 1H, $-\text{C}(\text{O})\text{H}$)

isomerization of (*Z*)-4-(benzyloxy)but-2-enal (**32**) to (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-enal (**33**)^[15]

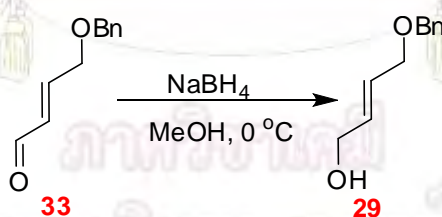


ละลายสารผสมของ **32** และ **33** ปริมาณ 1.5982 g ที่สังเคราะห์ได้ใน dichloromethane ปริมาตร 27 mL แล้วเติม *p*-toluenesulfonic acid ปริมาณ 26.7 mg หลังจากให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาที ติดตามการเกิดปฏิกิริยา โดยการ sampling สารไปยืนยันเอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ¹H NMR พบว่าได้สารผลิตภัณฑ์ทั้งหมดเป็น *trans*-isomer จึงหยุดปฏิกิริยา โดยนำเอาสารที่ได้ไปเติมสารละลายอิ่มตัว sodium hydrogen carbonate ปริมาณ 5 mL แล้วแยกเอาชั้นน้ำออก ระเหยชั้น organic

ได้สารผลิตภัณฑ์ *trans*-alkene aldehyde **33** เป็นของเหลวสีเหลือง ปริมาณ 1.5442 g คิดเป็น 97 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ¹H NMR

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, รูปที่ A-3) δ (ppm) 4.29 (dd, *J* = 3.9, 1.8 Hz, 2H, -CH₂-O-Bn), 4.60 (s, 2H, -O-CH₂-Ph), 6.41 (dd, *J* = 15.6, 7.6 Hz, 1H, -HC=CH-CHO), 6.85 (dt, *J* = 16.0, 4.0 Hz, -HC=CH-CHO), 7.35 (m, 5H, C₆H₅), 9.59 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, -C(O)H)

NaBH₄ reduction of (*E*)-4-(benzyloxy)-but-2-enal (**33**)^[16]

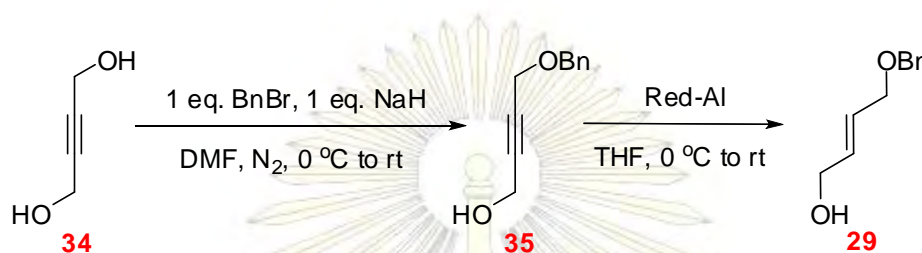


เริ่มต้นจากการละลายสาร **33** ปริมาณ 1.2395 g (7.0 mmol) ใน methanol ปริมาตร 14 mL ที่ 0 °C แล้วจึงเติม NaBH₄ ปริมาณ 0.2814 g (7.4 mmol) หลังจากให้ทำปฏิกิริยาต่อไปในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยการส่องใต้แสง UV พบจุดสารทั้งหมด 2 จุดมีค่า R_f = 0 และ 0.18 ซึ่งไม่พบจุดสารของสาร **33** (R_f = 0.40) นำสารที่ได้มาเติมน้ำ แล้วทำให้เป็นกลางด้วย citric acid แล้วระเหยตัวทำละลายออก แล้วทำสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ isocratic โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 25% ethyl acetate ใน hexanes และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า R_f = 0.14 เท่านั้น

ได้สารผลิตภัณฑ์ 29 เป็นของเหลวสีเหลือง ปริมาณ 0.9749 g คิดเป็น 78 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$

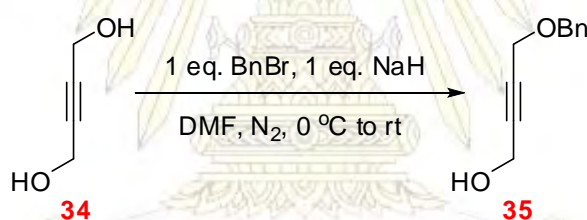
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-4) δ (ppm) 4.07 (d, $J = 4.4$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Bn}$), 4.19 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4.56 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 5.90-6.00 (m, 2H, $-\text{HC}=\text{CH}-$), 7.37 (m, 5H, C_6H_5)

2.2.2. การสังเคราะห์ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก but-2-yne-1,4-diol (34)



รูปที่ 2.2 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 22 จากสาร 34

Benylation of but-2-yne-1,4-diol (34)

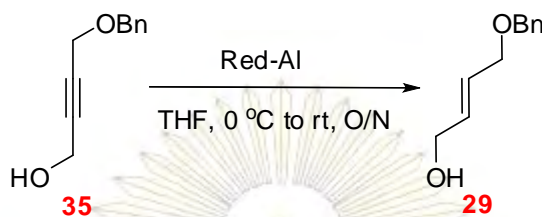


ซึ่ง 60% sodium hydride ใน mineral oil ปริมาณ 0.8500 g (12 mmol ของ sodium hydride) ในขวดกันกลม 2 คอ หลังจากนั้นจึงกำจัดอากาศออกจากระบบเพื่อกำจัดน้ำทั้งหมดในระบบ ก่อนจะเติม DMF 20 mL แล้วตามด้วย 1,4-butynediol 34 1.7281 g (20 mmol) ในอ่างน้ำแข็ง หลังจากให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน แล้วจึงเติม benzyl bromide ที่ละลาย ปริมาณ 2.40 mL (20 mmol) ที่อุณหภูมิ 0 °C โดยใช้ dropping funnel ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปอีกเป็นเวลา 22 ชั่วโมง ติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารเพียง 2 จุด มีค่า R_f เป็น 0.15 และ 0.56 ซึ่งไม่พบจุดสารของ *cis*-2-butene-1,4-diol 33 ($R_f = 0$) และ benzyl bromide ($R_f = 0.68$) จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเทสารที่ลงในน้ำแข็ง สกัดสารที่ได้ด้วย diethyl ether 3 ครั้ง ล้างชั้น organic ที่ได้ด้วยน้ำ 4 ครั้ง เพื่อกำจัด DMF ที่ใช้เป็นตัวทำละลาย แล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ isocratic โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น ethyl acetate:hexanes 3:17 และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า $R_f = 0.15$ เท่านั้น

ได้สารผลิตภัณฑ์ 35 เป็นของเหลวสีเหลืองใส ปริมาณ 0.8487 g คิดเป็น 24 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่าเป็นสารผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการจริง

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-5) δ (ppm) 4.22 (s, 2H, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Bn}$), 4.32 (s, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4.60 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 7.35 (m, 5H, C_6H_5)

Alkyne reduction of 4-(benzyloxy)but-2-yn-1-ol (**35**)^[17]

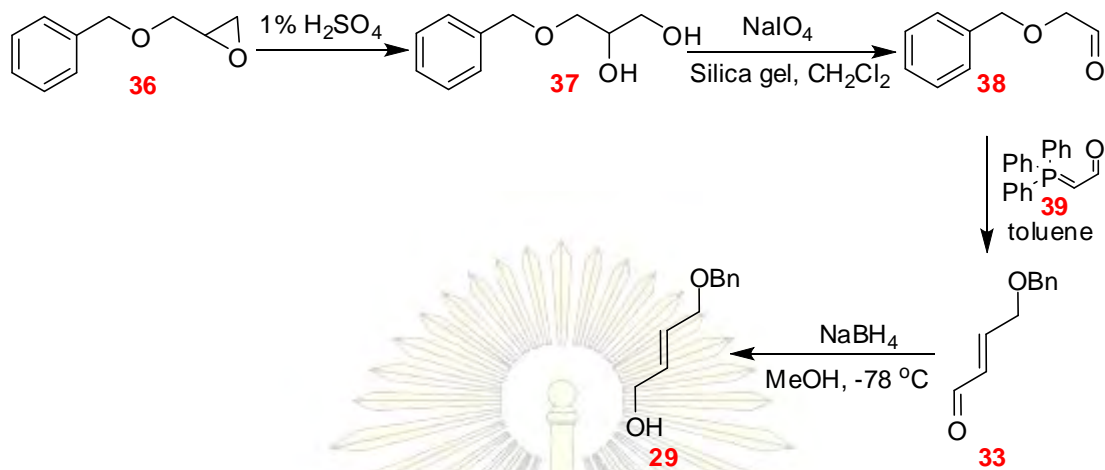


ละลายสาร **35** ปริมาณ 0.8487 g (4.82 mmol) ใน THF ที่ผ่านการกำจัดน้ำปริมาตร 15 mL แล้วจึงเติม red-Al ปริมาณ 2.35 mL (7.23 mmol) ที่อุณหภูมิ 0 °C หลังจากให้ทำปฏิกิริยาจนถึงอุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย potassium permanganate stain พบจุดสารเพียง 3 จุด มีค่า R_f เป็น 0.00, 0.14 และ 0.21 ซึ่งไม่พบจุดสารของสาร **35** ($R_f = 0.18$) แล้วจึงนำปฏิกิริยามาเติมน้ำปริมาตร 5 mL แล้วเติม 10% w/v sodium hydroxide ในน้ำ อีก 15 mL หลังจากนั้นจึงเอาสารที่ได้มาสกัดด้วย ethyl acetate 3 ครั้ง แล้วระเหยตัวทำละลายออก สามารถทำสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ gradient โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 15 % ethyl acetate จนถึง 50 % ethyl acetate ใน hexanes และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า $R_f = 0.14$ เท่านั้น

ได้สารผลิตภัณฑ์ **29** เป็นของเหลวสีเหลืองใส ปริมาณ 0.4382 g คิดเป็น 51 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่าเป็นสารผลิตภัณฑ์ **29** ที่บริสุทธิ์

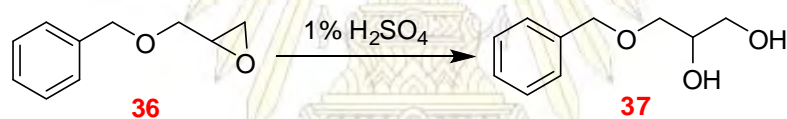
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-6) δ (ppm) 3.97 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Bn}$), 4.09 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4.46 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 5.70-5.90 (m, 2H, $-\text{HC}=\text{CH}-$), 7.27 (m, 5H, C_6H_5)

2.2.3. การสังเคราะห์ (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก benzyl glycidyl ether (36)



รูปที่ 2.3 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 22 จากสาร 35

Epoxide ring opening of benzyl glycidyl ether (36)^[18]

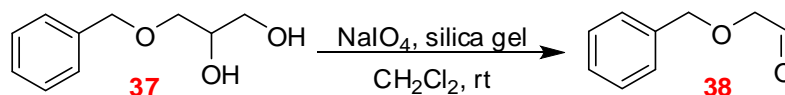


ละลายสาร 36 ปริมาตร 3.05 mL (3.2840 g, 20 mmol) ใน sulfuric acid ในน้ำ (1% v/v) หลังจากทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 2:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดยการส่องใต้ UV พบจุดสารเพียงจุดเดียวที่มีค่า R_f เป็น 0.14 ซึ่งไม่พบจุดสารของสาร 36 (R_f = 0.60) จึงเติม sodium chloride ที่เป็นของแข็งจนได้สารละลายอิ่มตัว แล้วสกัดด้วย ethyl acetate 3 ครั้ง จากนั้นจึงระเหยตัวทำละลายออก

ได้สารผลิตภัณฑ์ 37 เป็นของเหลวใสสีเหลืองอ่อน ปริมาณ 3.5656 g คิดเป็น 98 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ¹H NMR พบว่าเป็นสารผลิตภัณฑ์ 37 ตามที่ต้องการจริง

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, รูปที่ A-7) δ (ppm) 3.50-7.0 [m, 4H, -O-CH₂-CH(OH)-CH₂-OH], 3.90 [m, 1H, -O-CH₂-CH(OH)-CH₂-OH], 4.56 (s, 2H, -O-CH₂-Ph), 7.33 (m, 5H, C₆H₅)

Periodate oxidation of 3-(benzyloxy)propane-1,2-diol (37)

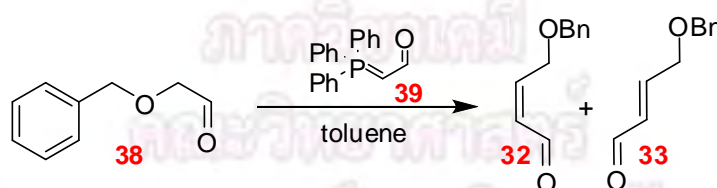


เตรียม sodium periodate ที่ adsorb บนซิลิกาเจลโดยการเติม NaIO_4 ปริมาณ 5.4409 g (25.4 mmol) ที่ละลายในน้ำ 39 mL (ความเข้มข้น 0.65 M) ที่ละลายลงใน dichloromethane 150 mL ที่มี silica gel แขนงลอยอยู่ 40 g พร้อมทั้งคนตลอดเวลา หลังจากนั้นจึงเติมสาร 37 ปริมาณ 3.5656 g (19.6 mmol) ที่ละลายใน dichloromethane ปริมาณ 25 mL ที่ละลายอย่างช้าๆ หลังจากให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดยการส่องใต้ UV พบจุดสารเพียงจุดเดียวที่มีค่า R_f เป็น 0.50 ซึ่งไม่พบจุดสารของสาร 37 ($R_f = 0.14$) ยืนยันหมู่ฟังก์ชัน aldehyde ด้วย 2,4-DNP stain พบว่าจุดสารที่ $R_f = 0.50$ เปลี่ยนเป็นสีส้ม จึงหยุดปฏิกิริยาโดยการกรองเอา silica gel ออก แล้วระเหยตัวทำละลายให้มีปริมาตรรวมไม่เกิน 120 mL แล้วนำไปสกัดกับสารละลายอิ่มตัว sodium hydrogen carbonate นำเอาชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มาระเหยออก นำสารที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดย short column chromatography ใช้ ethyl acetate เป็นตัวชะ

ได้สารผลิตภัณฑ์ 38 เป็นของเหลวใสสีเหลือง ปริมาณ 2.8153 g คิดเป็น 96 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่าเป็นสารผลิตภัณฑ์ 38 ตามที่ต้องการจริง

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-8) δ (ppm) 4.10 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CHO}$), 4.63 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 7.36 (m, 5H, C_6H_5), 9.73 (s, 1H, $-\text{C}(\text{O})\text{H}$)

Wittig reaction of 2-(benzyloxy)acetaldehyde (38) with phosphorus ylide 39



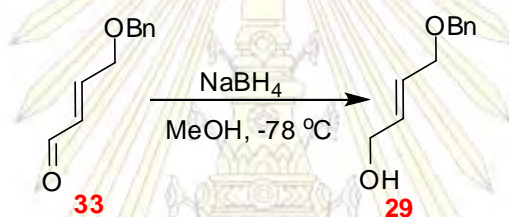
เริ่มต้นจากละลายสาร 38 ปริมาณ 2.8153 g (18.8 mmol) ใน toluene 80 mL แล้วเติม ylide 39 ปริมาณ 6.2765 g (20.6 mmol) ปล่อยให้ปฏิกิริยาเกิดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดยการส่องใต้ UV พบจุดสารทั้งหมด 3 จุดมีค่า R_f เป็น 0, 0.16 และ 0.31 ซึ่งไม่พบจุดสารของสาร 38 ($R_f = 0.21$) ติดตามหมู่ฟังก์ชัน carbonyl ด้วย 2,4-DNP stain พบว่าจุดสารที่ $R_f = 0$ และ 0.31 เปลี่ยนเป็นสีส้ม จึงหยุดปฏิกิริยาโดยการระเหย toluene ออก แล้วตกตะกอน triphenylphosphine oxide ออก ในตัวทำละลาย

hexanes ที่อุณหภูมิต่ำ -20 °C แล้วกรองของแข็งออก นำสารที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ gradient โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 100% hexanes จนถึง 10 % ethyl acetate ใน hexanes และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า R_f เป็น 0.31

ได้สารผลิตภัณฑ์ เป็นน้ำมันสีเหลือง ปริมาณ 2.7096 g คิดเป็น 82 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่ามีสัญญาณทั้งสิ้น 2 ชุด คือ ชุดสัญญาณของสาร 32 กับ 33 สามารถคิดสัดส่วนของสารผสม 32 กับ 33 เป็น 5:95

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-9) δ (ppm) 4.29 (dd, $J = 4.0, 1.9$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Bn}$), 4.60 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 6.41 (dd, $J = 15.6, 8.0$ Hz, 1H, $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CHO}$), 6.85 (dt, $J = 15.6, 4.0$ Hz, 1H, $-\text{HC}=\text{CH}-\text{CHO}$), 7.35 (m, 5H, C_6H_5), 9.59 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, $-\text{C}(\text{O})\text{H}$)

NaBH_4 reduction of (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-enal (33) at -78 °C^[16]

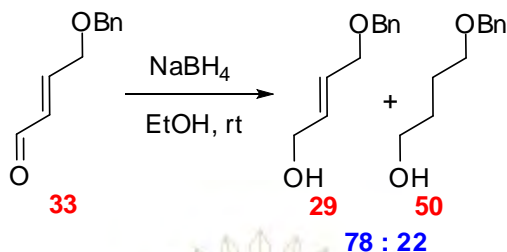


ละลายสาร 33 ปริมาณ 2.4290 g (13.6 mmol) ใน methanol ในอ่างน้ำแข็งแห้ง (-78 °C) แล้วจึงเติม sodium borohydride ปริมาณ 0.5162 g (13.6 mmol) ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารทั้งหมด 2 จุดมีค่า R_f เป็น 0 และ 0.16 ซึ่งไม่พบจุดสารของสาร 32 ($R_f = 0.35$) นำสารที่ได้มาเติมน้ำ แล้วทำให้เป็นกลางด้วย citric acid แล้วค่อยระเหยตัวทำละลายออก ต่อมาจึงสกัดด้วย dichloromethane 3 ครั้ง นำเอา organic phase มาระเหยตัวทำละลายออก แล้วทำสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ isocratic โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 25 % ethyl acetate ใน hexanes และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า R_f เป็น 0.16

พบว่าได้สารผลิตภัณฑ์ 29 เป็นน้ำมันสีเหลือง ปริมาณ 0.9981 g คิดเป็น 41 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่าเป็นสารผลิตภัณฑ์ 29

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-10) δ (ppm) 4.04 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Bn}$), 4.17 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4.53 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 5.90-6.00 (m, 2H, $-\text{HC}=\text{CH}-$), 7.34 (m, 5H, C_6H_5)

NaBH_4 reduction of (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-enal (**33**) at room temperature^[16]



ละลายสาร **32** ปริมาณ 1.5442 g (8.76 mmol) ใน ethanol ปริมาตร 20 mL แล้วเติม sodium borohydride ปริมาณ 0.3291 g (8.9 mmol) ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยการส่องใต้แสง UV พบจุดสารเพียงจุดเดียว มีค่า R_f เป็น 0.14 แล้วจึงตรวจสอบหมู่ฟังก์ชัน aldehyde ของสารตั้งต้นด้วยสารละลาย 2,4-DNP stain ไม่พบว่าจุดสารใดๆปรากฏเป็นสีส้ม แสดงว่า aldehyde ได้หมดลงแล้ว จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำลงไปในระบบเล็กน้อย แล้วทำให้เป็นกลางโดยใช้ citric acid หลังจากนั้นจึงระเหย ethanol ที่ใช้เป็นตัวทำละลายออก นำสารที่ได้มาเติมน้ำ แล้วสกัดด้วย dichloromethane 3 ครั้ง รวมชั้น organic ที่ได้ และนำไประเหยตัวทำละลายออก แล้วทดสอบสารที่ได้ด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารเพียง 4 จุด มีค่า R_f เป็น 0.14, 0.29, 0.43 และ 0.50 จึงต้องทำให้บริสุทธิ์ซ้ำด้วยเทคนิค column chromatography แบบ gradient โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น ethyl acetate:hexanes 1:9 จนถึง ethyl acetate:hexanes 1:1 และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า $R_f = 0.14$

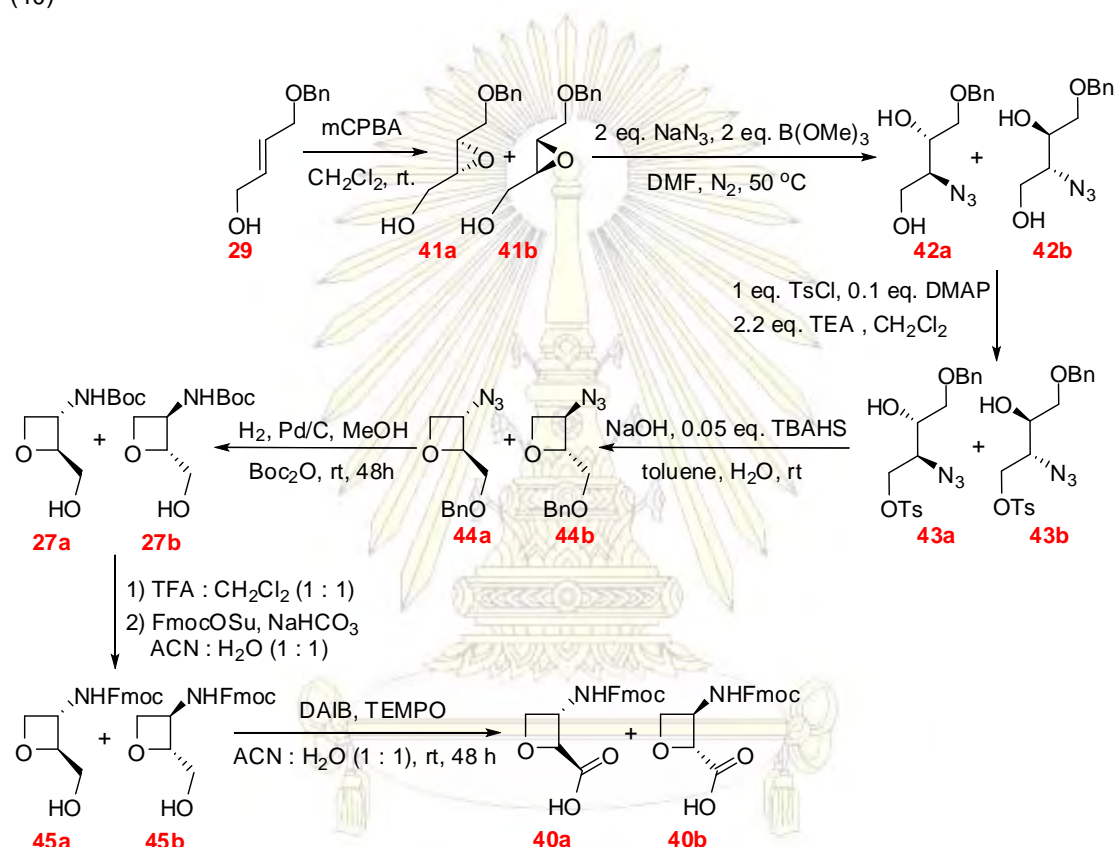
ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของเหลวสีเหลืองใส ปริมาณ 0.8880 g โดยการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่ามีสัญญาณทั้งสิ้น 2 ชุด คือ ชุดสัญญาณของสาร **29** กับ **50** สามารถคิดสัดส่วนของสารผสม **29** กับ **50** เป็น 78:22 สามารถคิดได้ 44 %yield โดยคำนวณจากการหักสัดส่วนของสาร **50** ออกไป

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-11) δ (ppm) 4.04 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Bn}$), 4.17 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4.53 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 5.90-6.00 (m, 2H, $-\text{HC}=\text{CH}-$), 7.34 (m, 5H, C_6H_5)

2.3. การทดสอบแผนการสังเคราะห์สารเป้าหมาย 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40) โดยใช้ racemic model

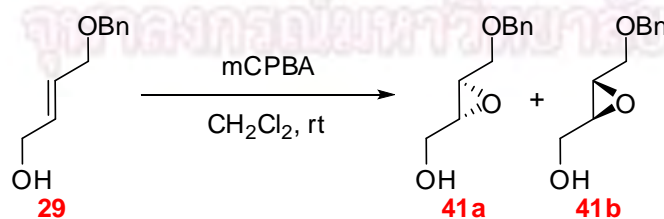
เมื่อสามารถสังเคราะห์สาร 29 ได้สำเร็จจึงศึกษา racemic model ตามแผนการสังเคราะห์สารเป้าหมาย 40 เพื่อทดสอบว่าแผนการสังเคราะห์สามารถใช้งานได้

2.3.1. การสังเคราะห์ 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40)



รูปที่ 2.4 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 40a และ 40b จากสาร 29

Epoxidation of (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) with *m*-chloroperbenzoic acid (mCPBA)



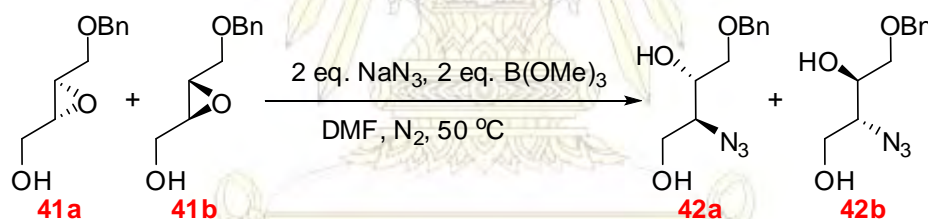
เติม 70% w/w mCPBA ปริมาณ 1.4005 g (4.46 mmol) ลงในสารละลายของสาร 29 ปริมาณ 0.7955 g (4.46 mmol) ใน dichloromethane ปริมาตร 28 mL หลังจากให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา

3 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสาร 3 จุด มีค่า R_f เป็น 0.28 และ 0.52 ที่ไม่มีจุดของสาร 29 ($R_f = 0.35$) จึงหยุดปฏิกิริยาโดยการเติม $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ปริมาณ 2.2649 g (30.7 mmol) แล้วกวนทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองเอาตะกอนเกล็ดของ calcium ออก ล้างด้วย dichloromethane ระเหยตัวทำละลายออก นำสารละลายที่ได้มาล้างซ้ำด้วยสารละลายอิมิตัว sodium hydrogen carbonate

ได้สารผลิตภัณฑ์เป็น racemic mixture ของสาร 41a กับ 41b ที่มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองใส ปริมาณ 0.7923 g คิดเป็น 91 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR พบว่าสอดคล้องกับสารผลิตภัณฑ์ 41a กับ 41b ตามที่ต้องการ

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-12) δ (ppm) 3.10 (m, 1H, epoxide proton), 3.24 (m, 1H, epoxide proton), 3.53 (dd, $J = 11.6, 5.6$ Hz, 1H, $-\text{CHH}-\text{OH}$), 3.65 (dd, $J = 12.4, 4.0$ Hz, 1H, $-\text{CHH}-\text{OBn}$), 3.77 (dd, $J = 11.6, 2.8$ Hz, 1H, $-\text{CHH}-\text{OH}$), 3.90 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H, $-\text{CHH}-\text{OBn}$), 4.58 (m, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 7.34 (m, 5H, C_6H_5)

Azide ring opening of racemic (3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a and 41b) ^[19]

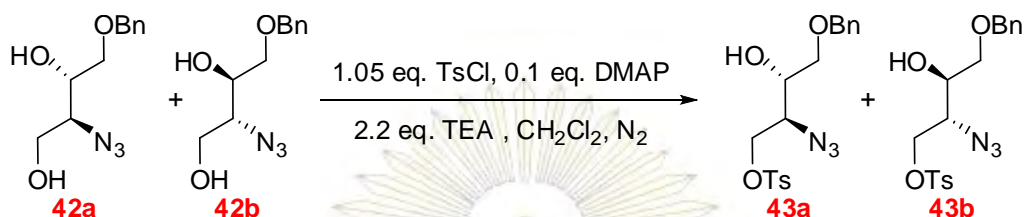


ผสม racemic mixture 41a กับ 41b ปริมาณ 0.3581 g (1.84 mmol) และ sodium azide ปริมาณ 0.2400 (3.69 mmol) ในขวดก้นกลมที่ผ่านการเติมแก๊สไนโตรเจนเพื่อกำจัดอากาศออกจากระบบ แล้วจึงเติม dry DMF ปริมาตร 5 mL ก่อนจะเติม trimethyl borate ปริมาตร 0.41 mL (3.69 mmol) หลังจากให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50°C ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน เป็นระยะเวลา 5 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ acetone:ethyl acetate 1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารเพียงจุดเดียว มีค่า R_f เป็น 0.30 ซึ่งไม่ตรงกับจุดของสารตั้งต้น (สารผสม 41) ที่มีค่า R_f เป็น 0.39 จึงหยุดปฏิกิริยาโดยการทำให้สารที่ได้เย็นลงถึง 0°C แล้วเติมสารละลายอิมิตัว sodium hydrogen carbonate ปริมาตร 20 mL กวนสารผสมเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาสกัดกับ ethyl acetate 3 ครั้ง ก่อนนำเอา organic phase ที่ได้มาล้างด้วยน้ำ 3 ครั้ง และ สารละลายอิมิตัว sodium hydrogen carbonate อีก 1 ครั้ง แล้วระเหยตัวทำละลายออก

ได้สารผลิตภัณฑ์ racemic mixture 42a กับ 42b เป็นน้ำมันสีเหลือง ปริมาณ 0.3909 g คิดเป็น 90 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-13) δ (ppm) 3.50-3.85 (m, 6H, $-\text{CH}_2-\text{OBn}$, $-\text{C}(\text{OH})\text{H}-\text{CH}_2-\text{OBn}$, $-\text{CH}_2-\text{OH}$ และ $-\text{C}(\text{N}_3)\text{H}-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4.51 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 7.27 (m, 5H, C_6H_5)

Tosylation of racemic 2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a and 42b)

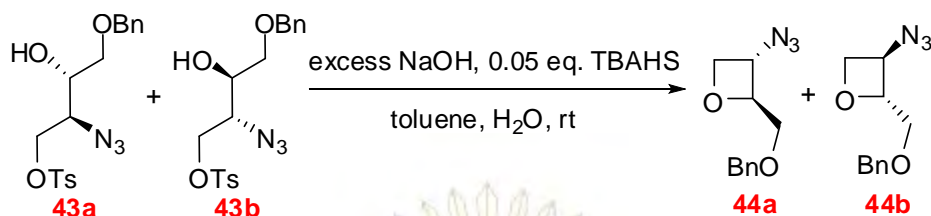


ทำสาร racemic mixture 42a กับ 42b ให้ปราศจากน้ำ โดยเติม toluene แล้วระเหยตัวทำละลายทิ้ง 4 ครั้ง แล้วจึงนำเอาสาร racemic mixture ปริมาณ 0.3909 g (1.65 mmol) มาละลายใน dichloromethane ที่ได้จากการกลั่น ปริมาตร 6.0 mL ที่ 0°C ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน แล้วค่อยๆเติม triethylamine (TEA) ปริมาตร 0.25 mL (3.63 mmol) ที่ละลายตามด้วย 4-dimethylaminopyridine (DMAP) ปริมาณ 20.8 mg (0.17 mmol) หลังจากนั้นจึงเติม *p*-toluenesulfonyl chloride (TsCl) ปริมาณ 0.3321 g (1.73 mmol) ที่ละลายใน dry dichloromethane ปริมาตร 2.0 mL ที่ละลายผ่าน syringe กล้วภาชนะด้วย distilled dichloromethane ปริมาตร 1.0 mL สองครั้ง ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาที่ 0°C ที่สามารถปล่อยให้ถึงอุณหภูมิห้องได้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารเพียง 4 จุด มีค่า R_f เป็น 0, 0.23, 0.45 และ 0.55 ซึ่งพบจุดสารตั้งต้น 42a กับ 42b ($R_f = 0.23$) จึงเติม TsCl เพิ่มโดยการละลายใน dry dichloromethane แล้วเติมผ่าน syringe จนจุดของสารตั้งต้นจางลงมาก หลังการติดตามปฏิกิริยาด้วย thin layer chromatography ที่มีการตรวจสอบจุดสารด้วยสารละลาย cerium molybdate stain รวมปริมาณ TsCl ที่เติมตลอดการทำปฏิกิริยาเป็น 0.4870 g (2.55 mmol) จึงหยุดปฏิกิริยาโดยการล้างด้วยน้ำ 3 ครั้ง ด้วยวิธีการสกัด ระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออก แล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ isocratic โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 25 % ethyl acetate ใน hexanes และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า R_f เป็น 0.45

ได้สารผลิตภัณฑ์ racemic mixture 43a กับ 43b เป็นน้ำมันสีเหลือง ปริมาณ 0.2108 g คิดเป็น 33 % yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-14) δ (ppm) 2.38 (s, 3H, $-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$), 3.50 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OBn}$), 3.51-3.65 (m, 2H, $-\text{C}(\text{OH})\text{H}-\text{CH}_2-\text{OBn}$ และ $-\text{C}(\text{N}_3)\text{H}-\text{CH}_2-\text{OTs}$), 4.06 (dd, $J = 10.4, 7.6$ Hz, 1H, $-\text{CHH}-\text{OTs}$), 4.34 (dd, $J = 7.6, 2.7$ Hz, 1H, $-\text{CHH}-\text{OTs}$), 4.47 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 7.24 (m, 7H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ และ $-\text{C}_6\text{H}_2\text{H}_2-\text{CH}_3$), 7.74 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, $-\text{C}_6\text{H}_2\text{H}_2-\text{CH}_3$)

Cyclization of racemic 2-azido-4-(benzyloxy)-3-hydroxybutyl 4-methylbenzenesulfonate (**43a** and **43b**) to oxetane



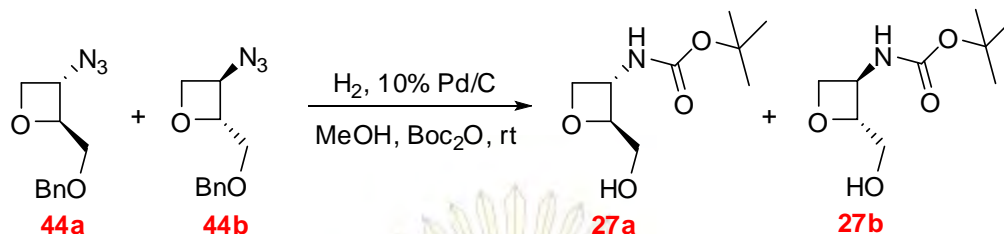
ละลาย sodium hydroxide ปริมาณ 0.8744 g (21.5 mmol) แล้วจึงเติม tetrabutyl ammonium hydrogen sulfate (TBAHS) 18.3 mg (0.054 mmol) และน้ำอีก 3 หยด หลังจากนั้นจึงเติมสารละลายของ racemic mixture ของ **43a** กับ **43b** ปริมาณ 0.2108 g (0.54 mmol) ใน toluene 2.4 mL ที่ละลายลงในสารละลายที่เตรียมไว้ กั้วซ้ำด้วย toluene ปริมาตร 1.0 mL อีก 3 ครั้ง หลังจากทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที ติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารเพียง 4 จุด มีค่า R_f เป็น 0.00, 0.32, 0.42 และ 0.49 ซึ่งไม่พบจุดจุดสารตั้งต้น **43a** กับ **43b** ($R_f = 0.18$) หยุดปฏิกิริยา โดยนำสารที่ได้มาสกัดล้างด้วยน้ำ 2 ครั้ง นำชั้น organic มาระเหยตัวทำละลายออก แล้วนำสารที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ isocratic โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 15 % ethyl acetate ใน hexanes และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า R_f เป็น 0.42

ได้สารผลิตภัณฑ์ racemic mixture ของ **44a** กับ **44b** เป็นน้ำมันสีเหลือง ปริมาณ 84.0 mg คิดเป็น 70 % yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-15) δ (ppm) 3.66 (d, $J = 3.2$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OBn}$), 4.51 (m, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 4.59-4.90 (m, 4H, oxetane protons), 7.36 (m, 5H, $-\text{C}_6\text{H}_5$)

ภาควิชาเคมี
 คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Reduction Boc-protection and debenzoylation of racemic 3-azido-2-(benzyloxy-methyl)oxetane (44a and 44b)

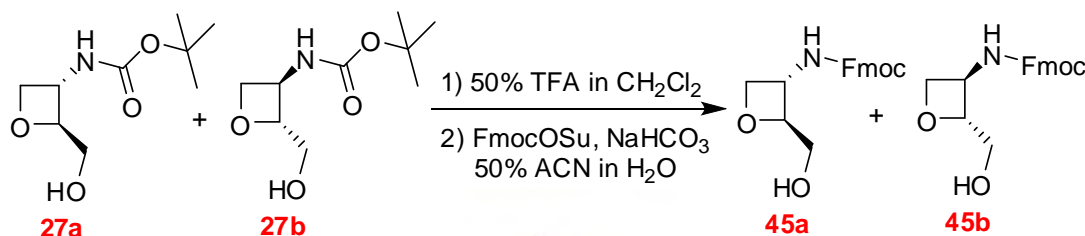


เริ่มต้นเตรียมสารละลายของ Di-*tert*-butyl dicarbonate (Boc_2O) ปริมาณ 0.1994 g (0.88 mmol) ใน MeOH ปริมาตร 6 mL แล้วเติมลงในสารผสม 44a กับ 44b ปริมาณ 0.1607 g (0.73 mmol) หลังจากนั้นจึงเติมตัวเร่งปฏิกิริยา 10% Pd/C ปริมาณ 0.0389 g หลังจากให้ทำปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศของแก๊สไฮโดรเจน เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารเพียงเดียวจุด มีค่า R_f เป็น 0.21 ซึ่งไม่ตรงกับจุดของสารตั้งต้น 44a และ 44b ($R_f = 0.45$) ยืนยันว่าสาร 44a และ 44b หมดลงแล้วแต่พบว่าจุดสาร 0.21เรืองแสงใต้ UV แสดงว่าสารที่ได้ยังมี chromophore ที่เกิดจากหมู่ benzyl อยู่ จึงทดสอบต่อไปในระบบ ethyl acetate ที่ตรวจสอบจุดสารด้วยสารละลาย ninhydrin stain พร้อมให้ความร้อน พบจุดสาร 2 จุดที่มีค่า R_f เป็น 0.35 และ 0.63 โดยพบว่าจุดที่มีค่า R_f เป็น 0.63 ยังเป็นจุดที่เรืองแสงใต้ UV แสดงว่ามีสารส่วนหนึ่งเกิดปฏิกิริยา reduction ของ azide เป็น amine แต่ยังไม่เกิดการ deprotection ของหมู่ benzyl จึงปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศของแก๊สไฮโดรเจนต่อไปอีก 4 วัน แล้วติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย ninhydrin จุดสาร 2 จุดเช่นเดิม แต่จุดสารที่มีสมบัติ UV active ($R_f = 0.63$) จางลงอย่างมาก จึงหยุดปฏิกิริยาโดยการกรองเอา Pd/C ออก แล้วล้างด้วย Pd/C ซ้ำด้วย MeOH นำเอาส่วน Organic solvent มาระเหยตัวทำละลายออก แล้วนำเอาสารที่ได้มาล้างด้วย hexanes

ได้สารผลิตภัณฑ์ racemic mixture ของ 27a กับ 27b เป็นของแข็งสีขาว ปริมาณ 105.3 mg คิดเป็น 66 % yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-16) δ (ppm) 1.46 (s, 9H, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3.79 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4.44-4.70 (m, 4H, oxetane protons), 5.16 (br m, 1H, $-\text{NH}-\text{Boc}$)

Fmoc protection of racemic tert-butyl-2-(hydroxymethyl)oxetan-3-ylcarbamate (27a and 27b)

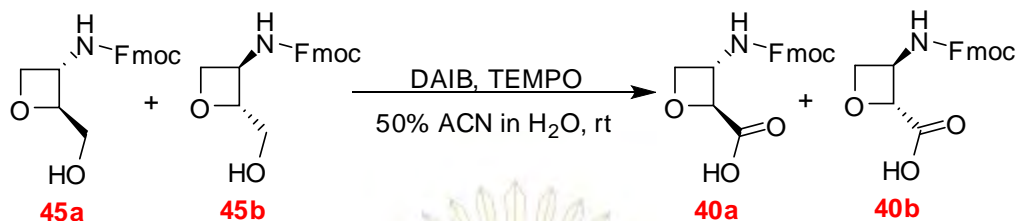


ปลดหมู่ Boc โดยนำสารผสม 27a และ 27b ปริมาณ 0.1053 g (0.52 mmol) ละลายในสารละลาย 50% v/v trifluoroacetic acid (TFA) ใน dichloromethane ปริมาตร 1 mL เขย่าเป็นเวลา 10 นาที แล้วเป่า 50% w/v TFA ใน dichloromethane ออก ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดย ninhydrin stain พบจุดสารทั้งสิ้น 3 จุด มีค่า R_f เป็น 0, 0.10 และ 0.21 ที่ไม่ตรงกับจุดของสาร 27 (R_f = 0.43) หลังจากนั้นจึงนำสารที่ได้มาละลายใน 50% v/v acetonitrile ในน้ำ ปริมาตร 1 mL แล้วเติม sodium hydrogen carbonate ปริมาณ 0.928 g (1.04 mmol) แล้วค่อยๆเติม N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)succinimide (FmocOSu) ปริมาณ 0.1781 g (0.52 mmol) ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 3:2 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดยการส่องใต้ UV พบจุดสารทั้งสิ้น 3 จุด มีค่า R_f เป็น 0.10, 0.29 และ 0.41 และตรวจสอบจุดสารที่เป็น amine compound ด้วยสารละลาย ninhydrin stain ไม่พบจุดติดสียืนยันว่าในระบบไม่เหลือสารตั้งต้นที่เป็น amine จึงหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมน้ำลงในระบบ แล้วเติม sodium chloride ลงไปให้เป็นสารละลายอิ่มตัว หลังจากนั้นจึงสกัดด้วย ethyl acetate 3 ครั้ง เมื่อระเหยตัวทำละลายออก นำเอาสารที่ได้มาล้างด้วย diethyl ether กรองเก็บส่วนของแข็งสีขาวที่ได้มาทดสอบด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 3:2 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดยการส่องใต้ UV พบจุดสารเพียง 1 จุด มีค่า R_f เป็น 0.10

ได้สารผลิตภัณฑ์ racemic mixture ของ 45a กับ 45b เป็นของแข็งสีขาว ปริมาณ 64.4 mg คิดเป็น 38 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ¹H NMR

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, รูปที่ A-17) δ (ppm) 3.76 (m, 2H, -CH₂OH), 4.10 (m, 1H, Fmoc aliphatic CH), 4.30-4.50 และ 4.60-4.70 (m, 6H, oxetane protons และ Fmoc aliphatic CH₂), 5.19 (br ms, 1H, -NH-Fmoc), 7.32 (t, J = 7.2 Hz, 2H, Fmoc aromatic CH), 7.41 (t, J = 7.2 Hz, 2H, Fmoc aromatic CH), 7.57 (d, J = 7.2 Hz, 2H, Fmoc aromatic CH), 7.77 (d, J = 7.2 Hz, 2H, Fmoc aromatic CH)

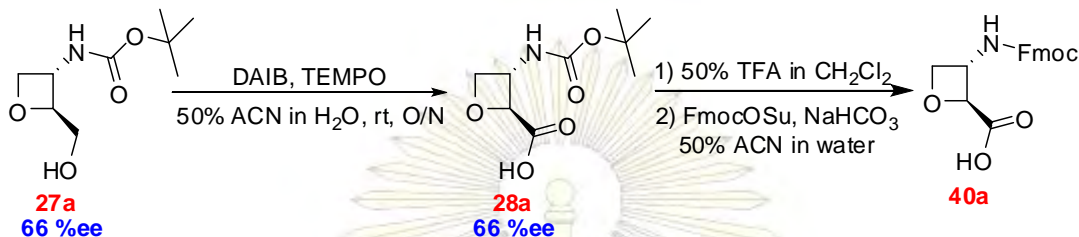
Oxidation to carboxylic acid of racemic (9H-fluoren-9-yl)methyl-2-(hydroxymethyl)oxetan-3-ylcarbamate (**45a** and **45b**)



ละลายสารผสม **45a** และ **45b** ปริมาณ 0.0644 g (0.198 mmol) ใน 50% v/v acetonitrile ในน้ำ ปริมาตร 3 mL เติม diacetoxy iodobenzene (DAIB) ปริมาณ 0.1401 g (0.435 mmol) แล้วนำสารละลายไป sonicate หลังจากนั้นค่อยเติม (2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-yl)oxy (TEMPO) ปริมาณ 0.0081 g (0.05 mmol) หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ methanol:ethyl acetate 1:9 ที่เติม acetic acid 2 หยด ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์โดยการส่องใต้ UV พบจุดสารทั้งสิ้น 4 จุด มีค่า R_f เป็น 0, 0.21, 0.57 และ 0.69 ซึ่งพบว่ายังเหลือจุดของสาร **45a** และ **45b** ที่มีค่า R_f เป็น 0.57 จึงเติม DAIB และ TEMPO เพิ่มลงไป และคอยติดตามการเกิดปฏิกิริยา จนกว่าจุดของสาร **45a** และ **45b** จางลง (รวมปริมาณ DAIB และ TEMPO ที่เติมไปทั้งหมด คือ 0.6260 g และ 0.0234 g ตามลำดับ) แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมสารละลายอิ่มตัว sodium hydrogen carbonate จนสารละลายเป็นเบส แล้วสกัดด้วย ethyl acetate 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำเอาชั้นน้ำมาปรับให้เป็นกรดด้วย 2 N of hydrochloric acid แล้วสกัดด้วย ethyl acetate อีก 3 ครั้ง นำชั้น organic phase ที่ได้จากการสกัดชั้นน้ำที่ถูกปรับให้เป็นกรดไประเหยตัวทำละลายออก แล้วล้างสารที่ได้ด้วย diethyl ether ทดสอบสารละลาย ether และของแข็งที่ได้จากการล้าง ด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ methanol:ethyl acetate 1:9 ที่เติม acetic acid 2 หยด ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดยการส่องใต้ UV พบจุดสารทั้งสิ้น 2 จุด ทั้งในสารละลาย ether และของแข็งที่ได้ โดยมีค่า R_f เป็น 0 และ 0.21 แต่ในของแข็งจะให้จุดสารที่มี $R_f = 0.21$ จางๆ จึงนำสารทั้งสองส่วนไป ทดสอบ $^1\text{H NMR}$ พบว่าไม่ได้สารผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ ทำให้เกิดแนวคิดว่ามีสารอื่นเจือปนอยู่ในสารผลิตภัณฑ์จำนวนมาก ทำให้สัญญาณสารผลิตภัณฑ์ถูกบดบังไว้ (จุดสารที่ $R_f = 0$ บดบังจุดสารที่ $R_f = 0.21$) จึงนำเอาสารที่ได้จากชั้น ether มาแยกต่อด้วย preparative TLC ในระบบตัวทำละลาย methanol:ethyl acetate 1:4 พบว่าไม่สามารถแยกจุดสารที่มี R_f เป็น 0.21 ออกมาเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ได้

2.3.2. การแก้ปัญหาการสังเคราะห์ 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40)

จากปัญหาการสังเคราะห์ที่เกิดขึ้นในการสังเคราะห์สารเป้าหมาย 40 ในปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายตามที่ได้แสดงไว้ในหัวข้อ 2.6.1 จึงนำไปสู่การปรับเปลี่ยนวิธีการในการสังเคราะห์ โดยในเบื้องต้นจึงสลับการทำปฏิกิริยาในสองขั้นตอนสุดท้าย โดยใช้สารตั้งต้น 27a ที่ได้จากสารตั้งต้น epoxide 41a ที่มี %ee เป็น 66% (มาจากการทดลองในหัวข้อ 2.7.1) ตามวิธีที่ได้เสนอในหัวข้อ 2.6.1



รูปที่ 2.5 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 40a จากสาร 27a โดยผ่านอินเทอร์มีเดียต 28a

Oxidation of tert-butyl (2S,3S)-2-(hydroxymethyl)oxetan-3-ylcarbamate (27a) to carboxylic acid

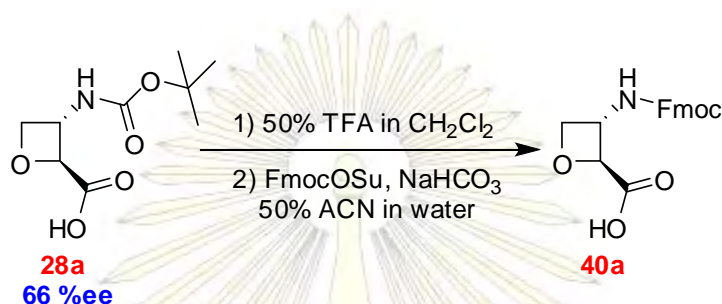


นำสาร 27a ปริมาณ 0.1819 g (0.9 mmol) ที่ได้มาเติม DAIB ปริมาณ 0.6361 g (1.97 mmol) หลังจากนั้นจึงละลายสารทั้งสองใน 50 % ACN ในน้ำ ปริมาตร 5 mL ตามด้วยการเติม TEMPO ปริมาณ 36.0 mg (0.23 mmol) ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 3:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ ด้วยการส่องใต้แสง UV พบจุดสารเพียงจุดเดียว ที่มีค่า R_f เป็น 0.72 และสารละลาย ninhydrin stain พร้อมให้ความร้อน พบจุดสารอีก 1 จุดที่มีค่า R_f เป็น 0.10 ที่ไม่ตรงกับจุดของสาร 27a ($R_f = 0.29$) จึงหยุดปฏิกิริยาโดยนำเอาสารที่ได้มาเติมน้ำกลั่น ปรับสภาพให้เป็นเบสด้วย NaHCO_3 แล้วสกัดด้วย diethyl ether 3 ครั้ง นำชั้นน้ำที่ได้จากการสกัดมาปรับให้เป็นกรดด้วย 2 N of hydrochloric acid แล้วสกัดซ้ำด้วย ethyl acetate 3 ครั้ง และนำสารที่ได้ไปพิสูจน์เอกลักษณ์ โดยไม่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์อื่นๆ

ได้สาร 28a ปริมาณ 0.1020 g คิดเป็น 64 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-18) δ (ppm) 1.47 (s, 9H, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 4.55 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H, oxetane proton), 4.67 (m, 1H, oxetane proton), 4.76 (m, 1H, oxetane proton), 5.07 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, oxetane CHCO_2H), 5.33 (br m, 1H, $-\text{NH}-\text{Boc}$)

Boc deprotection and Fmoc protection of (2S,3S)-3-(tert-butoxycarbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (28a)



ปลด Boc โดยนำสาร 28a ปริมาณ 0.1020 g (0.47 mmol) ละลายในสารละลาย 50% v/v trifluoroacetic acid (TFA) ใน dichloromethane ปริมาตร 1 mL เขย่าเป็นเวลา 10 นาที แล้วเป่า 50% w/v TFA ใน CH_2Cl_2 ออก ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดย ninhydrin stain พบจุดสารเพียงจุดเดียว มีค่า R_f เป็น 0 ที่ไม่ตรงกับจุดของสาร 28a ($R_f = 0.22$) หลังจากนั้นจึงนำสารที่ได้มาละลายใน 50% v/v ACN ในน้ำ ปริมาตร 5 mL แล้วเติม FmocOSu ปริมาณ 0.1417 g (0.42 mmol) แล้วตามด้วย sodium hydrogen carbonate ปริมาณ 0.0788 g (0.94 mmol) ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดยการส่องใต้ UV พบจุดสารทั้งสิ้น 7 จุด มีค่า R_f เป็น 0, 0.28, 0.34, 0.41, 0.47, 0.59 และ 0.67 โดยยังพบว่ามีจุดของ FmocOSu อยู่จางๆ ($R_f = 0.34$) จึงหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมน้ำลงในระบบ แล้วปรับให้เป็นกรดด้วย 2 N HCl โดยเกิดตะกอนวุ้นสีขาวขึ้น จึงกรองเก็บสารที่ได้ด้วยการกรองสุญญากาศ เมื่อนำของแข็งที่ได้มาทดสอบด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ methanol:ethyl acetate 1:9 ที่เติม acetic acid ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ โดยการส่องใต้ UV พบจุดสารเพียง 1 จุด มีค่า R_f เป็น 0.19

ได้สารผลิตภัณฑ์ 40a เป็นของแข็งสีน้ำตาล (ปล่อยให้แห้งแล้วสีเปลี่ยนแปลงไป) พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR ยืนยันว่าได้สารเป้าหมายตามต้องการ แต่ยังคงพบพิกัดของ impurity ปะปนอยู่ โดยพิจารณาได้จาก ^1H NMR spectrum ที่ 3.67 และ 3.97 ppm

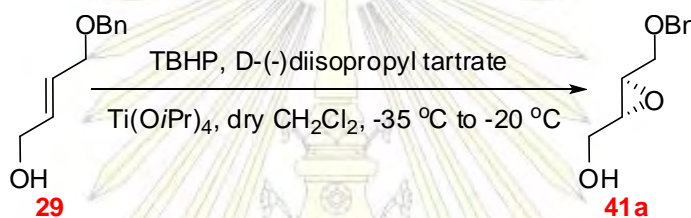
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, รูปที่ A-19) δ (ppm) 4.23 (m, 2H, oxetane proton และ Fmoc aliphatic CH), 4.35 (m, 3H, oxetane proton และ Fmoc aliphatic CH_2), 4.56 (m, 1H, oxetane proton), 4.90 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, oxetane CHCO_2H), 7.32 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, Fmoc aromatic CH), 7.40 (t, $J =$

7.2 Hz, 2H, Fmoc aromatic CH), 7.68 (m, 2H, Fmoc aromatic CH), 7.87 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, Fmoc aromatic CH), 8.26 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H, -NH-Fmoc)

2.4. การสังเคราะห์ ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) ด้วยปฏิกิริยา stereo selective epoxidation

ตัวกลางหนึ่งที่มีความสำคัญตามแผนการสังเคราะห์สารเป้าหมาย 40a แบบกำหนดคิแนนซีโอเมอร์ที่ต้องการอย่างเดียวนั้น คือ อีพอกไซด์ 41a โดยได้มีการศึกษาปฏิกิริยา stereo selective epoxidation ทั้งสิ้น 3 ปฏิกิริยา ที่มีการหา condition ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

2.4.1. Sharpless epoxidation^[20]



เติม 4 Å molecular sieve ที่บดจนเป็นผงละเอียด (ประมาณ 0.06 g ต่อ 1 mmol ของสารตั้งต้น) ลงในขวดก้นกลม ที่กำจัดอากาศออกจากระบบด้วยแก๊สไนโตรเจน แล้วเติม dichloromethane ที่ทำให้แห้งโดยการกลั่น (ประมาณ 8 mL ต่อ 1 mmol ของสารตั้งต้น) ที่อุณหภูมิ $-40\text{ }^\circ\text{C}$ หลังจากนั้นจึงเติม titanium (IV) isopropoxide และ D-(-)-diisopropyl tartrate กวนสารผสมที่อุณหภูมิ -40 ถึง $-30\text{ }^\circ\text{C}$ เป็นระยะเวลา 30 นาที แล้วจึงค่อยๆเติม สาร 29 ที่ละลายผ่าน syringe แล้วสารที่เหลืออยู่ด้วย distilled dichloromethane (3 mL ต่อ 1 mmol ของสารตั้งต้น) กวนสารผสมที่อุณหภูมิ -40 ถึง $-30\text{ }^\circ\text{C}$ ต่อไปอีกเป็นระยะเวลา 45 นาที และค่อยๆเติม *t*-butylhydroperoxide (TBHP) ใน nonane ความเข้มข้น 5.5 M ที่ละลาย โดยการเติมสารผ่าน syringe กวนทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ -35 ถึง $-20\text{ }^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 19 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1: 1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารทั้งสิ้น 4 จุด มีค่า R_f เป็น 0, 0.29, 0.46 และ 0.59 ซึ่งไม่ตรงกับจุดของสารตั้งต้น (สาร 29) ที่มีค่า R_f เป็น 0.39 จึงหยุดปฏิกิริยา โดยการเติมน้ำ (ประมาณ 1 mL ต่อ 1 mmol ของสารตั้งต้น) แล้วกวนปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ $0\text{ }^\circ\text{C}$ ต่อไปอีก 10 นาที หลังจากนั้นจึงเติมสารละลายอิมิตัว sodium hydroxide ในสารละลายเกลืออิมิตัว (ประมาณ 7 mL ต่อ 1 mmol ของสารตั้งต้น) กวนที่อุณหภูมิห้องต่อไปอีก 10 นาที แล้วนำมาแยก organic phase ออก สกัดชั้นน้ำซ้ำด้วย diethyl ether 3 ครั้ง กรองของแข็งสีขาวออก โดยการกรองสุญญากาศ แล้วนำเอาสารที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ gradient โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 10 % ethyl acetate จนถึง 40 % ethyl acetate ใน hexanes และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า R_f เป็น 0.29

ได้สารผลิตภัณฑ์ 41a เป็นน้ำมันสีเหลือง พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR และ ^{13}C NMR โดยการใช้เทคนิค chiral column HPLC (column: OJ-H chiral column, mobile phase: 15% $^i\text{PrOH}$ in n-hexane, flow rate: 0.6 mL/min @ 210 nm, t_{R} major: 36.21 min, t_{R} minor: 41.68 min) สามารถหา %ee ของปฏิกิริยานี้ได้ ผลการทดลองในการหา condition ที่เหมาะสมของปฏิกิริยาเป็นดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ผลการทดลองปฏิกิริยา Sharpless epoxidation

entry	amount of 29 g (mmol)	TBHP mL (mmol)	D-(-)diisopropyl tatarate mL (g, mmol)	$\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$ mL (g, mmol)	amount of product 41a g (mmol)	%yield	%ee ^b
1	1.3501 (7.58)	3.45 (15.16)	0.60 (2.8)	0.56 (1.89)	1.1490 (5.91)	78	66
2 ^a	1.3479 (7.57, 4.92 mmol of 29)	3.44 (18.92)	2.38 (11.4)	2.24 (7.57)	0.4941 (2.54)	52 ^c	40

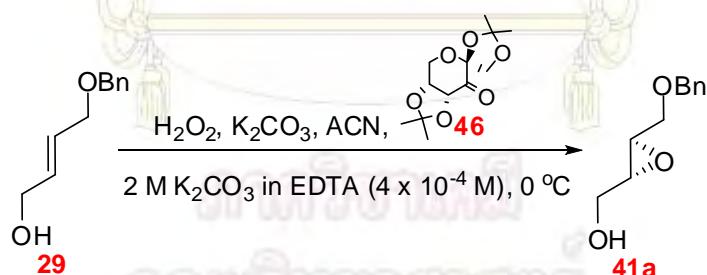
หมายเหตุ

^a สารตั้งต้น 29 ที่ใช้มีการปนเปื้อนของ 4-(benzyloxy)butan-1-ol (50) ในสัดส่วน 29:50 = 68:32

^b %ee ตรวจสอบโดยใช้ chiral HPLC (column: OJ-H chiral column, mobile phase: 15% $^i\text{PrOH}$ in n-hexane, flow rate: 0.6 mL/min @ 210 nm, t_{R} major: 36.21 min, t_{R} minor: 41.68 min)

^c %yield คำนวณเทียบกับปริมาณของสารตั้งต้น 29 เพียง 4.92 mmol จาก 7.57 mmol

2.4.2. Shi epoxidation

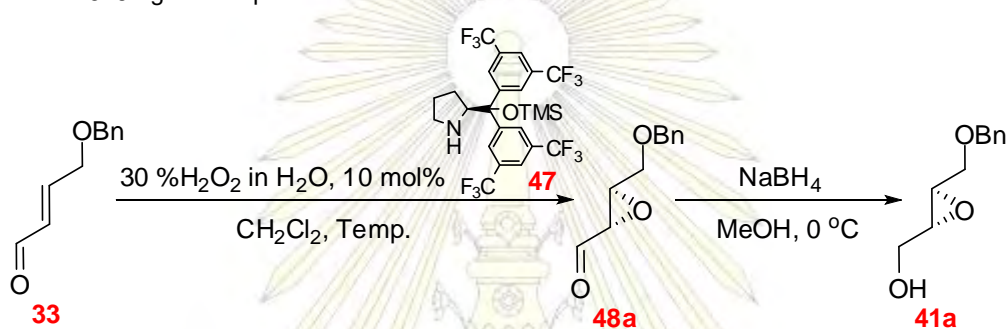


นำสารละลาย 2 M potassium carbonate ใน 0.4 mM EDTA ในน้ำ ปริมาตร 1.5 mL เติมลงในสารละลายของสาร 29 ปริมาณ 0.1791 g (1.0 mmol) และสาร 46 ปริมาณ 0.0830 g (0.3 mmol) ใน acetonitrile ปริมาตร 1.5 mL แล้วตามด้วยการเติมสารละลาย 30% w/v hydrogen peroxide ในน้ำ ปริมาตร 4.55 mL (4 mmol) ที่ละลายที่อุณหภูมิ 0 °C หลังจากให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 0 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วย cerium molybdate stain พบจุดสารทั้งหมด 2 จุดมีค่า $R_f = 0$ และ 0.27 ซึ่งไม่พบจุดสารของสาร 29 ($R_f = 0.37$) จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำลงไปในสาร แล้วสกัดด้วย ethyl acetate 3

ครั้ง นำขึ้น Organic phase มาล้างด้วย 1M sodium thiosulfate 2 ครั้ง แล้วนำสารที่ได้มาระเหยตัวทำละลาย ออก ก่อนทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ gradient โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 10% ethyl acetate ถึง 35% ethyl acetate ใน hexanes และเก็บจุดสารที่มีค่า R_f เป็น 0.27

ได้สาร **41a** เป็นน้ำมันสีเหลือง ปริมาณ 0.1306 g คิดเป็น 67 %yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร ผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ และยังวัดค่า $[\alpha]_D^{23}$ และใช้เทคนิค chiral column HPLC (column:OJ-H chiral column, mobile phase:15% $^i\text{PrOH}$ in n-hexane, flow rate:0.6 mL/min @ 210 nm, t_R major:36.21 min , t_R minor:41.68 min) ยืนยันว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็น racemic mixture

2.4.3. Jorgensen epoxidation ^[21]



เติมสารละลาย 30% w/v hydrogen peroxide ในน้ำที่ละลายลง ในสารละลายผสมของสาร **33** และ สาร **47** ใน dichloromethane ปริมาตร 2 mL ต่อ 1 mmol ของสารตั้งต้น **33** ปล่อยให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่ตาม อุณหภูมิที่กำหนดเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยการส่องได้แสง UV พบจุดสารเพียงจุดเดียว มีค่า R_f เป็น 0.04, 0.17, 0.38, 0.47 และ 0.57 แล้วจึงตรวจสอบหมู่ฟังก์ชัน aldehyde ด้วยสารละลาย 2,4-DNP stain พบว่าจุดสารที่ R_f เป็น 0.03 และ 0.47 เปลี่ยนเป็นสีส้ม ซึ่งไม่พบจุดสาร **33** ($R_f = 0.28$) จึงหยุด ปฏิกิริยาโดยการแยกชั้น organic phase ออก และสกัดชั้นน้ำด้วย dichloromethane 1 mL ต่อ 1 mmol ของ สารตั้งต้น **33** รวมชั้น organic แล้วเจือจางสารที่ได้ด้วย methanol 2 mL ต่อ 1 mmol ของสารตั้งต้น **33** ต่อมา จึงเติม sodium borohydride ที่อุณหภูมิ $0\text{ }^\circ\text{C}$ หลังจากให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 30 นาที ติดตามการ เกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:1 ตรวจสอบตำแหน่ง ของผลิตภัณฑ์ด้วยการส่องได้แสง UV พบจุดสาร 3 จุด มีค่า R_f เป็น 0.22 และ 0.74 แล้วจึงตรวจสอบหมู่ฟังก์ชัน aldehyde ด้วยสารละลาย 2,4-DNP stain แต่ไม่พบว่ามีจุดสารใดเปลี่ยนเป็นสีส้ม แสดงให้เห็นว่าการ reduction ของ aldehyde เกิดขึ้นสมบูรณ์แล้ว จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติมน้ำ แล้วทำให้เป็นกลางด้วย citric acid ระเหยตัวทำละลายออก นำสารที่ได้มาละลายใน dichloromethane แล้วกรองของแข็งที่ไม่ละลายออก ก่อนทำ ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ gradient โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 10% ethyl acetate ถึง 35% ethyl acetate ใน hexanes และเก็บจุดสารที่มีค่า R_f เป็น 0.22

ได้สาร **41b** เป็นน้ำมันสีเหลือง พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$ และยังวัดค่า ใน chloroform ($c = 0.5$) นอกจากนี้ยังใช้เทคนิค chiral column HPLC (column:OJ-H chiral column,

mobile phase:15% ⁱPrOH in n-hexane, flow rate:0.6 mL/min @ 210 nm, t_R major:34.73 min , t_R minor:40.22 min) สามารถหา %ee ของสาร 41a ที่ได้ผลการทดลองเป็นดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ผลการทดลองปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation

entry	amount of 33 g (mmol)	30% w/v H ₂ O ₂ mL (mmol)	amount of 47 g (mmol)	NaBH ₄ g (mmol)	amount of product 41a g (mmol)	Temp. (°C)	%yield	specific rotation at 23 °C ^a	%ee ^c
1	0.1775 (1.01)	1.50 (1.30)	0.0581 (0.10)	0.0431 (1.14)	0.1072 (0.55)	rt	55	+18.01	92
2	0.1779 (1.01)	1.50 (1.30)	0.0590 (0.10)	0.0392 (1.04)	0.1087 (0.56)	10-20	56	+17.48 ^b	94
3	1.0325 (5.86)	8.70 (7.62)	0.3474 (0.58)	0.2230 (5.89)	0.5518 (2.84)	10-20	48	+17.70	95

หมายเหตุ

^a c = 0.5 g/100 mL ใน chloroform

^b ค่า specific rotation ที่ 22 °C

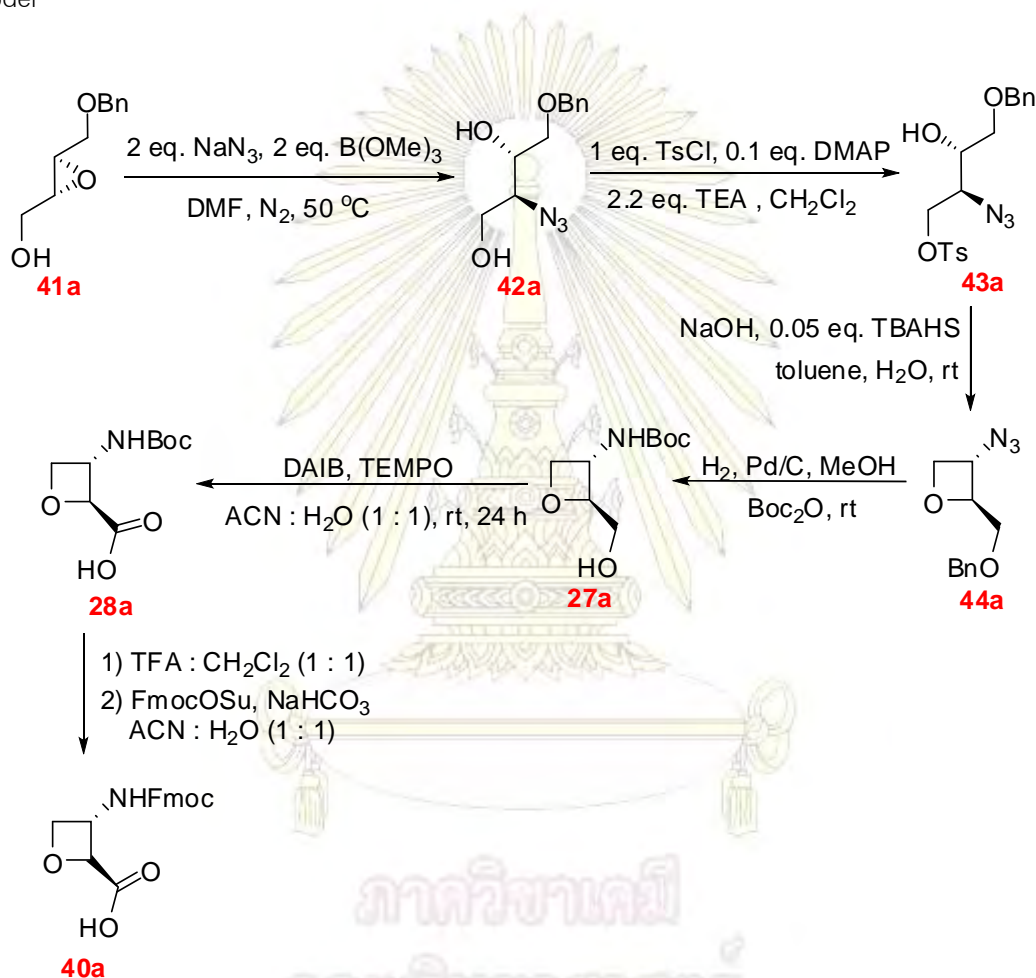
^c %ee ตรวจสอบโดยใช้ chiral HPLC (column:OJ-H chiral column, mobile phase:15% ⁱPrOH in n-hexane, flow rate:0.6 mL/min @ 210 nm, t_R major:36.21 min , t_R minor:41.68 min)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, รูปที่ A-20) δ (ppm) 3.12 (m, 1H, epoxide proton), 3.26 (m, 1H, epoxide proton), 3.55 (dd, J = 11.2, 5.2 Hz, 1H, -CHH-OH), 3.66 (dd, J = 12.8, 4.0 Hz, 1H, -CHH-OBn), 3.79 (dd, J = 11.6, 2.8 Hz, 1H, -CHH-OH), 3.95 (d, J = 12.4 Hz, 1H, -CHH-OBn) , 4.60 (m, 2H, -O-CH₂-Ph), 7.34 (m, 5H, C₆H₅); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, รูปที่ B-1) δ (ppm) 54.3, 55.8, 61.2, 69.7, 73.4, 127.8 (2 carbons), 128.5, 137.8; IR (KBr, รูปที่ C-1): ν_{max} (cm⁻¹) 3421.0, 2920.4, 2868.2, 1453.4, 1279.3, 1100.8

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

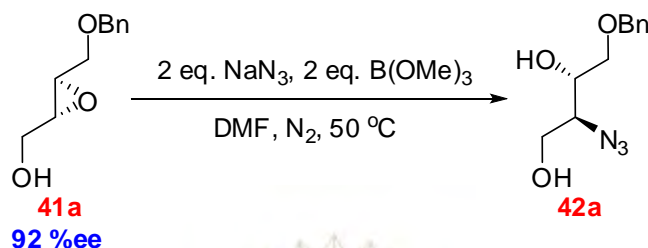
2.5. การสังเคราะห์ (2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40a) จาก ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) ที่ได้จากปฏิกิริยา stereo selective epoxidation

หลังจากที่ประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol จากปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation ที่ให้ %ee สูงมากกว่า 90% จึงดำเนินการสังเคราะห์สารเป้าหมายแบบ กำหนด stereo isomer ของสาร 40a โดยอาศัยแผนการสังเคราะห์ที่ทำผ่านปฏิกิริยาทดสอบของ racemic model



รูปที่ 2.6 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 40a จากสาร 41a ด้วยวิธีการสังเคราะห์ที่ปรับปรุงใหม่

Azide ring opening of ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) ^[19]

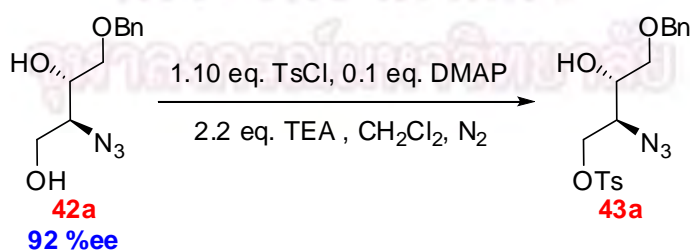


ผสมสาร 41a ที่มี %ee เป็น 92 % ปริมาณ 0.7068 g (3.64 mmol) และ sodium azide ปริมาณ 0.4716 g (7.25 mmol) ที่เติมแก๊สไนโตรเจนเพื่อกำจัดอากาศออกจากระบบ แล้วจึงเติม dry DMF ปริมาตร 7 mL ก่อนจะเติม trimethyl borate ปริมาตร 0.81 mL (7.28 mmol) หลังจากให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 °C ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน เป็นระยะเวลา 150 นาที ติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ acetone:dichloromethane 1:9 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสารเพียงจุดเดียว มีค่า R_f เป็น 0.26 ซึ่งไม่มีจุดสารของสารตั้งต้น (สาร 41a) ที่มีค่า R_f เป็น 0.36 จึงหยุดปฏิกิริยาการทำให้สารที่ได้เย็นลงถึง 0 °C แล้วเติมสารละลายอิมิตัว NaHCO_3 ปริมาตร 20 mL กวนสารละลายผสมเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาสกัดกับ ethyl acetate 3 ครั้ง ก่อนนำเอา organic phase ที่ได้มาล้างด้วยน้ำ 4 ครั้ง แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออก

ได้สารผลิตภัณฑ์ 42a เป็นน้ำมันสีเหลือง ปริมาณ 0.7373 g คิดเป็น 85 % yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-21) δ (ppm) 3.55-3.85 (m, 6H, $-\text{CH}_2-\text{OBn}$, $-\text{C}(\text{OH})\text{H}-\text{CH}_2-\text{OBn}$, $-\text{CH}_2-\text{OH}$ และ $-\text{C}(\text{N}_3)\text{H}-\text{CH}_2-\text{OH}$), 4.50 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 7.26 (m, 5H, C_6H_5); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , รูปที่ B-2) δ (ppm) 62.8, 63.9, 70.7, 70.9, 73.6, 127.9, 128.1, 128.6, 137.4; IR (KBr, รูปที่ C-2): ν_{max} (cm^{-1}) 3394.9, 2920.4, 2863.8, 2097.7 (azide), 1449.1, 1087.8

Tosylation of (2*S*,3*S*)-2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a)



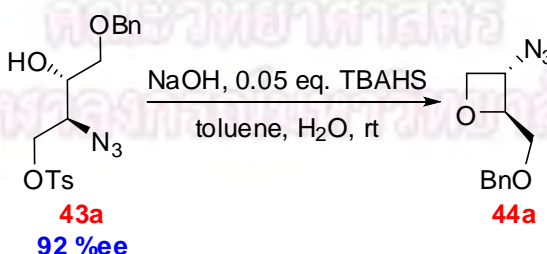
ทำสาร 42a ที่มี %ee เป็น 94 % ให้ปราศจากน้ำ โดยเติม toluene แล้วระเหยตัวทำละลายออก 4 ครั้ง แล้วจึงนำเอาสารที่ได้ ปริมาณ 1.7060 g (2.98 mmol) มาละลายใน dichloromethane ที่ได้จากการกลั่น ปริมาตร 10 mL ที่ 0 °C ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน แล้วค่อยๆเติม triethylamine ปริมาตร 0.44 mL

(6.5mmol) ที่ละลายตามด้วย DMAP ปริมาณ 36.8 mg (0.33 mmol) หลังจากนั้นจึงเติม TsCl ปริมาณ 0.6283 g (3.27 mmol) ที่ละลายใน distilled dichloromethane ปริมาตร 5 mL ที่ละลายผ่าน syringe รั้นภาชนะด้วย distilled dichloromethane ปริมาตร 2.5 mL สองครั้ง ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาที่ 0 °C ที่สามารถปล่อยให้ถึงอุณหภูมิห้องได้เป็นเวลา 27 ชั่วโมง ติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยการส่องไฟแสง UV พบจุดสารเพียงจุดเดียว มีค่า R_f เป็น 0, 0.54 และ 0.64 ด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสาร 3 จุด มีค่า R_f เป็น 0.27 และ 0.55 ซึ่งพบจุดสารตั้งต้น **42a** ($R_f = 0.27$) จึงเติม TsCl และ TEA เพิ่มเป็น 0.3493 g (1.84 mmol) และ 0.13 mL (1.97 mmol) ตามลำดับ หลังจากให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 41 ชั่วโมง แล้วติดตามปฏิกิริยาด้วย thin layer chromatography ที่มีการตรวจสอบจุดสารด้วยสารละลาย cerium molybdate stain พบจุดสาร 3 จุด มีค่า R_f เป็น 0.19, 0.47 และ 0.59 โดยมีจุดสาร **42a** ที่เจางลงมากกว่าจุดอื่น จึงหยุดปฏิกิริยาโดยการล้างด้วยน้ำ 3 ครั้ง ด้วยวิธีการสกัด ระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออก แล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ gradient โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 10 ถึง 20 % ethyl acetate ใน hexanes และเก็บเฉพาะจุดสารที่มีค่า R_f เป็น 0.42

ได้สารผลิตภัณฑ์ **43a** เป็นน้ำมันสีเหลือง ปริมาณ 0.3516 g คิดเป็น 30 % yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค ^1H NMR

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-22) δ (ppm) 2.37 (s, 3H, $-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$), 3.52 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{OBn}$), 3.53-3.65 (m, 2H, $-\text{C}(\text{OH})\text{H}-\text{CH}_2-\text{OBn}$ และ $-\text{C}(\text{N}_3)\text{H}-\text{CH}_2-\text{OTs}$), 4.06 (dd, $J = 10.4, 7.2$ Hz, 1H, $-\text{CHH}-\text{OTs}$), 4.34 (dd, $J = 10.4, 2.8$ Hz, 1H, $-\text{CHH}-\text{OTs}$), 4.47 (s, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 7.26 (m, 7H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ และ $-\text{C}_6\text{H}_2\text{H}_2-\text{CH}_3$), 7.74 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, $-\text{C}_6\text{H}_2\text{H}_2-\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , รูปที่ B-3) δ (ppm) 21.8, 61.6, 69.5 (2 carbons), 70.2, 73.6, 127.9, 128.0, 128.1 (2 carbons), 128.6, 129.9, 137.3, 145.1; IR (KBr, รูปที่ C-3): ν_{max} (cm^{-1}) 3512.4, 2920.4, 2859.5, 2097.7 (azide), 1453.4, 1353.3, 1174.8

Cyclization of (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)-3-hydroxybutyl 4-methylbenzenesulfonate (**43a**) to oxetane



ละลาย sodium hydroxide ปริมาณ 1.3938 g (34.8 mmol) ใน toluene 5.0 mL แล้วจึงเติม tetrabutyl ammonium hydrogen sulfate 30.1 mg (0.088 mmol) และน้ำอีก 3 หยด หลังจากนั้นจึงเติม

สารละลายของ **43a** ปริมาณ 0.3380 g (0.86 mmol) ใน toluene 2.0 mL ที่ละลายลงในสารละลายที่เตรียมไว้ รินซ้ำด้วย toluene ปริมาตร 1.0 mL อีก 2 ครั้ง หลังจากให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที ติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes 1:3 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วยการส่องไฟ UV พบจุดสารเพียง 4 จุด มีค่า R_f เป็น 0.19, 0.30, 0.39 และ 0.49 ซึ่งไม่พบจุดจุดสารตั้งต้น **43a** ($R_f = 0.14$) จึงหยุดปฏิกิริยา โดยนำสารที่ได้มาสกัดล้างด้วยน้ำ 3 ครั้ง นำชั้น organic มาระเหยตัวทำละลายออก แล้วนำสารที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography แบบ gradient โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 10 ถึง 15 % ethyl acetate ใน hexanes เพื่อเก็บจุดสารที่มีค่า $R_f = 0.39$

ได้สารผลิตภัณฑ์ **44a** เป็นน้ำมันสีเหลือง ปริมาณ 0.0998 g คิดเป็น 53 % yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค $^1\text{H NMR}$

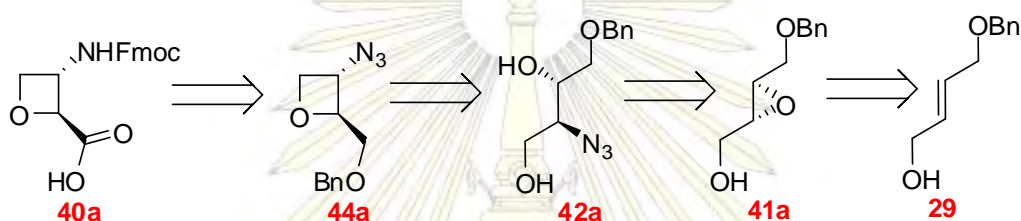
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , รูปที่ A-23) δ (ppm) 3.70 (d, $J = 3.2$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{-OBn}$), 4.54 (m, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.62 (m, 1H, oxetane proton), 4.72 (m, 2H, oxetane protons), 4.82 (m, 1H, oxetane proton), 7.38 (m, 5H, $-\text{C}_6\text{H}_5$); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , รูปที่ B-4) δ (ppm) 55.5, 70.4, 73.5, 73.8, 86.7, 127.7, 127.8, 128.5, 137.8; IR (KBr, รูปที่ C-4): ν_{max} (cm^{-1}) 3100-3000, 2800-3000, 2102.1 (azide)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงได้เสนอวิธีการสังเคราะห์ (2S,3S)-oxetin วิธีใหม่โดยมีขั้นตอนที่สั้นลงที่มีความซับซ้อนในการทำปฏิกิริยาต่ำ โดยเริ่มต้นจากการพิจารณาการสังเคราะห์แบบย้อนกลับของโมเลกุลเป้าหมาย 40a ซึ่งน่าจะสังเคราะห์ได้จากสาร 44a ผ่านปฏิกิริยาการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันมาตรฐานทั่วไป 2-3 ขั้นตอน สำหรับการสังเคราะห์สาร 44a สามารถทำได้ผ่านปฏิกิริยา tosylation และ ตามด้วยปฏิกิริยาปิดเป็นวง oxetane ของสาร 42a ที่สามารถเตรียมได้จากการเปิดวงของ epoxide 41a ด้วย azide ในส่วนของการสังเคราะห์สาร 41a สามารถทำได้ด้วยปฏิกิริยา epoxidation แบบ enantioselective ของสาร 29 เป็นไปดังแสดงในรูปที่ 3.1



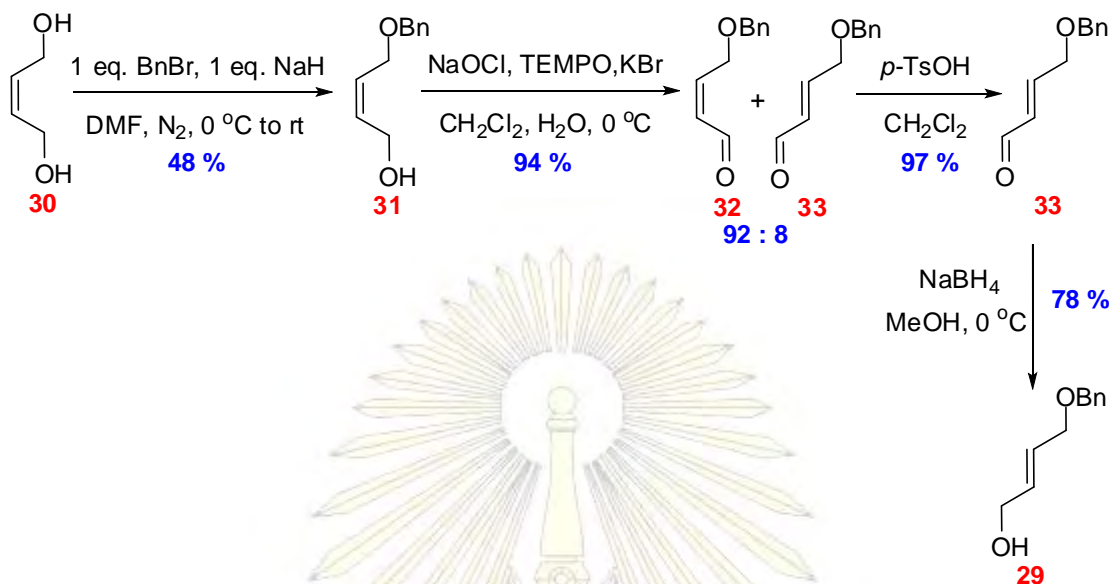
รูปที่ 3.1 แผนการสังเคราะห์สาร 21a ด้วยวิธีที่เสนอขึ้นใหม่

3.1. การสังเคราะห์สารตั้งต้น (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29)

ถึงแม้ว่าสาร 29 จะเป็นสารที่เป็นที่รู้จัก^[16] และสามารถสั่งซื้อได้ แต่สารชนิดนี้ราคาสูงถึง 8,640 บาท ต่อกรัม จากบริษัท LabSeeker (<http://www.labseeker.com/goods.php?id=16310>) จึงได้หาวิธีการสังเคราะห์สารตั้งต้น 29 จากสารอื่นที่มีราคาถูก และทำได้สะดวก และสามารถขยายสเกลในการสังเคราะห์ได้ โดยได้ศึกษาทั้งหมด 3 แนวทางดังต่อไปนี้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

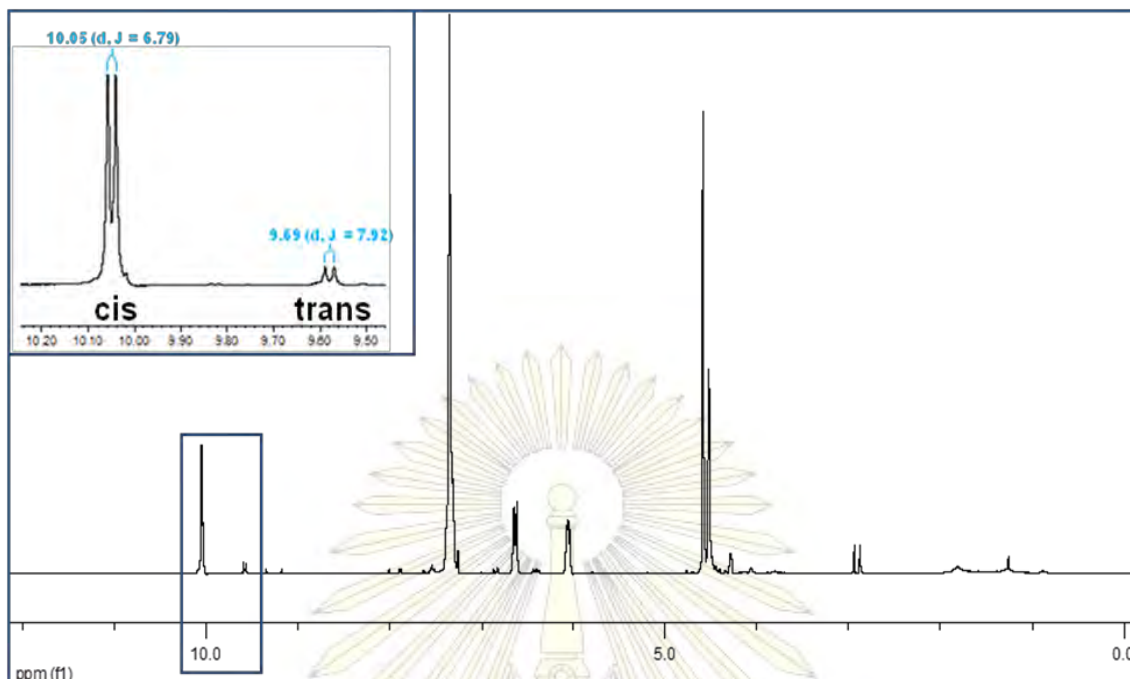
3.1.1. การสังเคราะห์ (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก (*Z*)-but-2-ene-1,4-diol (30)



รูปที่ 3.2 ผลการสังเคราะห์สาร 29 โดยเริ่มต้นจากสาร 30

วิธีการสังเคราะห์สาร 29 ทางหนึ่งที่เป็นไปได้ คือ ปฏิกริยา mono benzylation ของ *trans*-2-butene-1,4-diol ที่สามารถสังเคราะห์สาร 29 ผ่านปฏิกริยาเพียงขั้นตอนเดียวเท่านั้น^[22] แต่ *trans*-2-butene-1,4-diol ไม่มีจำหน่ายทั่วไป อย่างไรก็ตาม ในเอกสารอ้างอิง^[14-16, 23] มีรายงานการสังเคราะห์สาร 29 โดยเริ่มต้นจาก *cis*-2-butene-1,4-diol (30) ซึ่งมีจำหน่าย โดยเริ่มต้นจากการนำสาร *cis*-diol 30 มาปกป้องหมู่ hydroxyl เพียง 1 หมู่ ด้วยหมู่ benzyl^[14] ในขั้นนี้พบว่าสามารถสังเคราะห์สาร 31 ได้ 48 %yield แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ต้องการคือ *trans*-alkene 29 ทำให้ต้องมีการเปลี่ยน isomer จาก *cis* ไปเป็น *trans* โดยใช้วิธีเปลี่ยนเป็นแอลดีไฮด์ ตามด้วยการไอโซเมอไรซ์ในกรดเพื่อให้ได้ *trans*-aldehyde 32 และรีดักชันกลับไปเป็นแอลกอฮอล์ตามวิธีการในเอกสารอ้างอิง^[15-16, 23] แม้จะมีรายงานว่าปฏิกริยา oxidation ของสาร 31 ด้วย PCC จะให้ *trans*-aldehyde โดยตรง^[24] แต่ในงานนี้เลือกใช้วิธีการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่า โดยใช้ sodium hypochlorite ร่วมกับ KBr และ TEMPO เป็น oxidant^[23] ซึ่งพบว่า 31 ทำปฏิกริยาอย่างรวดเร็วภายใต้ภาวะสองเฟส (ไดคลอโรมีเทน-น้ำ) โดยปฏิกริยาเกิดสมบูรณ์ภายใน 10 นาที ได้ผลิตภัณฑ์เป็น aldehyde 32 ผสมกับ 33 ในสัดส่วน 92:8 คิดเป็น 94 %yield

สำหรับการวิเคราะห์สัดส่วนของ *cis*-aldehyde 32 ต่อ *trans*-aldehyde 33 ทำโดยการพิจารณา ¹H NMR พบว่าเห็นสัญญาณของแอลดีไฮด์โปรตอนทั้งสิ้น 2 ชุด คือ ชุดของ major product (10.05 ppm, *J* = 6.79 Hz) และชุดของ minor product (9.69 ppm, *J* = 7.92 Hz) ดังรูปที่ 3.3

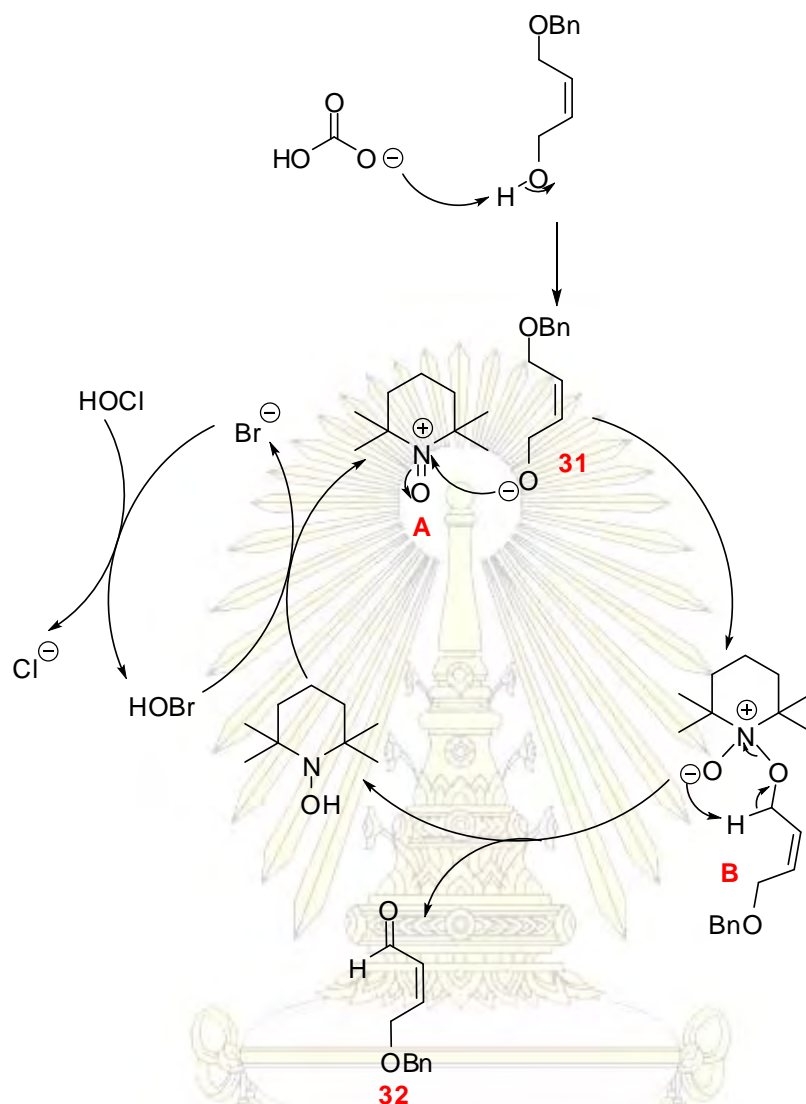


รูปที่ 3.3 ^1H NMR spectrum ของสารได้สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร 31

โดยสามารถเปรียบเทียบสัญญาณของสารทั้งสองชุดตามในเอกสารอ้างอิง^[15] ได้ ซึ่งสามารถระบุได้อย่างชัดเจนว่า สัญญาณของ major product คือ สัญญาณของ *cis*-aldehyde 32 และ สัญญาณของ minor product คือ สัญญาณของ *trans*-aldehyde 33 จากสัดส่วน integration line ของ major product เทียบกับ minor product ทำให้สามารถหาค่าสัดส่วน dr ของ *cis:trans* isomers ได้เป็น 11:1 หรือประมาณ 92:8

ในปฏิกิริยาขั้นออกซิเดชันนี้มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาที่น่าสนใจ^[23] คือ เริ่มต้น sodium hypochlorite เข้าทำปฏิกิริยากับ potassium bromide เกิดเป็น sodium hypobromite ที่สามารถออกซิไดซ์ TEMPO เกิดเป็นอินเทอร์มีเดียต A ต่อมาสาร 31 ที่ถูก deprotonate ด้วย sodium hydrogen carbonate จะเกิดปฏิกิริยากับอินเทอร์มีเดียต A ที่ตำแหน่งไนโตรเจนอะตอมเกิดเป็นอินเทอร์มีเดียต B สุดท้ายพันธะระหว่างคาร์บอนกับไฮโดรเจนอะตอมของสาร 31 จะสลายเกิดเป็นพันธะคู่เกิดเป็นแอลดีไฮด์ และส่งอิเล็กตรอนระหว่างพันธะไนโตรเจนกับออกซิเจนได้กลายเป็น TEMPO กลับมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาต่อไป กลไกการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นดังแสดงในรูปที่ 3.4

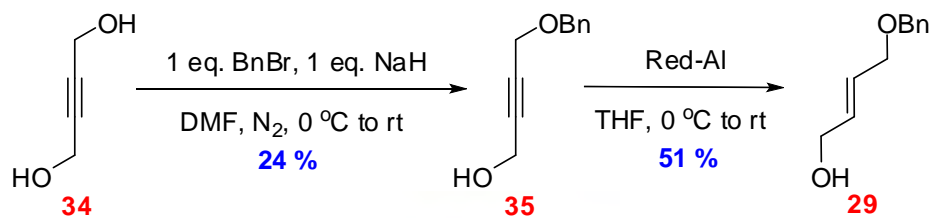
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.4 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสาร 31 ที่ใช้ sodium hypochlorite ร่วมกับ KBr และ TEMPO เป็นออกซิแดนซ์

เนื่องจากแอลดีไฮด์ที่ต้องการคือ *trans* isomer 33 จึงจำเป็นต้องทำ isomerization จาก aldehyde 32 ไปเป็นสาร 33 ซึ่งสามารถทำได้โดยอาศัย *p*-toluenesulfonic acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาตามวิธีการในเอกสารอ้างอิง^[15] ได้ปริมาณผลผลิตรวม 97 %yield แล้วจึงนำไปทำ reduction ด้วย NaBH₄ ที่ 0 °C ให้ได้เป็น *trans*-alcohol 29^[16] ตามต้องการคิดเป็น 78 %yield โดยสามารถคิด %overall yield ของการสังเคราะห์ผ่านทั้ง 4 ขั้นตอนได้เป็น 34 % สำหรับผลการทดลองปฏิกิริยา reduction ของสาร 33 จะอภิปรายในหัวข้อ 3.1.3

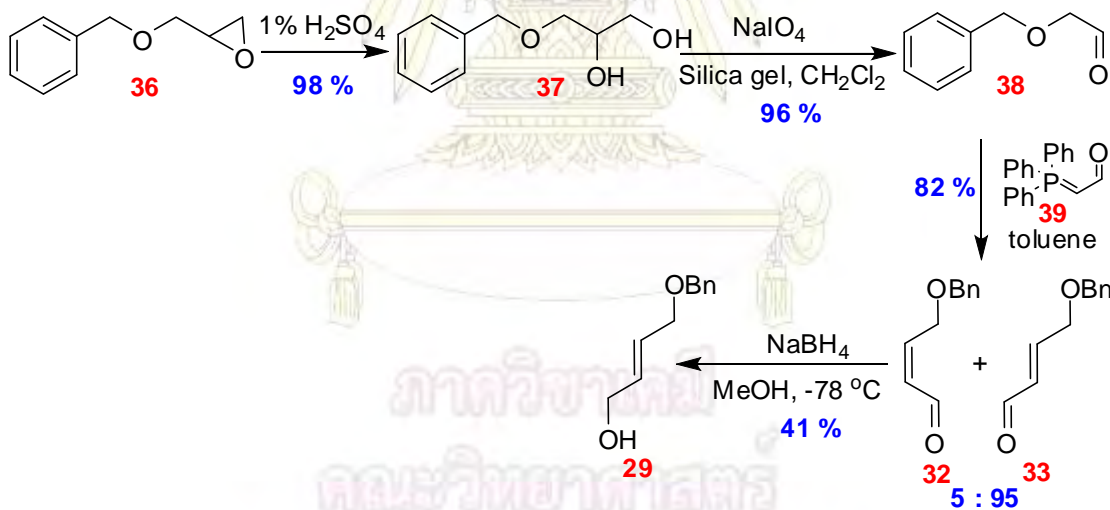
3.1.2. การสังเคราะห์ (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก but-2-yne-1,4-diol (34)



รูปที่ 3.5 แผนการสังเคราะห์สาร 29 โดยเริ่มต้นจากสาร 34

แนวทางที่สองในการสังเคราะห์สาร 29 ใช้วิธีการตามเอกสารอ้างอิง^[14, 17] โดยเริ่มต้นจากการนำ alkyne diol 34 มาปกป้องหมู่ alcohol ข้างหนึ่งโดยการทำปฏิกิริยา benzylation แบบเลือกจำเพาะ^[14] ได้สาร 35 คิดเป็น 24 %yield เมื่อนำสาร 35 ที่ได้มาทำปฏิกิริยา reduction ของ alkyne ไปเป็น alkene ได้โดยใช้ Red-Al เป็น reducing agent จะได้สาร 29^[17] คิดเป็น 51 %yield ดังแสดงในรูปที่ 3.5 และสามารถคิด %overall yield จากการสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาทั้ง 2 ขั้นตอนได้เป็น 12 %

3.1.3. การสังเคราะห์ (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) จาก benzyl glycidyl ether (36)



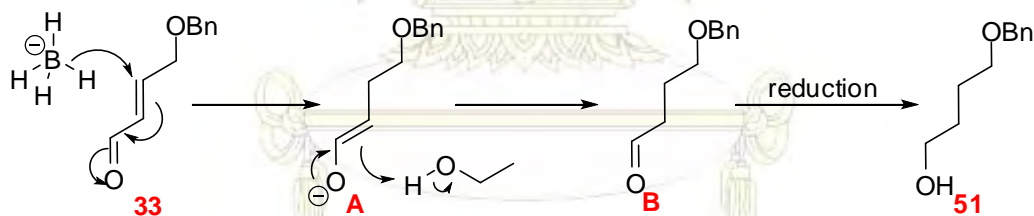
รูปที่ 3.6 แผนการสังเคราะห์สาร 29 โดยเริ่มต้นจากสาร 36

แนวทางที่สามในการสังเคราะห์สาร 29 ซึ่งเป็นวิธีใหม่ที่พัฒนาขึ้นเองเริ่มต้นจากการเปิดวง epoxide ของ benzyl glycidyl ether (36) ด้วยน้ำโดยมี sulfuric acid เป็นตัวเร่งได้ diol 37^[18] โดยมีปริมาณผลผลิต 98 %yield แล้วนำมาทำปฏิกิริยา periodate oxidation^[10] ได้เป็น aldehyde 38 คิดเป็น 96 %yield ต่อมาจึงสังเคราะห์ aldehyde 33 ได้ด้วยปฏิกิริยา Wittig ระหว่าง สาร 37 กับ phosphorus ylide 39 พบว่าได้สารผสมของ *cis*+*trans*- aldehyde 32 กับ 33 ในสัดส่วน 5:95 คิดเป็น 82 %yield

การวิเคราะห์สัดส่วนของสารผสมสาร 32 กับ 33 โดยใช้เทคนิค ^1H NMR พบว่าได้สาร 33 เป็นผลิตภัณฑ์หลัก (major product) และสาร 32 เป็นสารผลิตภัณฑ์รอง (minor product) สามารถคิดอัตราส่วนของสารผสม 33 ต่อ 32 ได้เป็น 95:5 ที่ทราบได้จากสัดส่วน integration ของ aldehyde proton ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎีที่ว่า stabilized ylide (มีหมู่แทนที่ที่สามารถเกิดไพคอนจูเกชันกับ $\text{P}=\text{C}$) จะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็น *trans*- เป็นผลิตภัณฑ์หลัก สุดท้ายคือการทำปฏิกิริยา reduction กับ sodium borohydride ที่อุณหภูมิ -78°C ให้สาร 29^[16] คิดเป็น 41 %yield แผนภาพเป็นดังแสดงในรูปที่ 3.6 และสามารถคิด %overall yield จากการสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาทั้ง 4 ขั้นตอนได้เป็น 32 %

ปฏิกิริยาในขั้นรีดักชันนี้ได้ปริมาณผลผลิตต่ำเนื่องจากถ้าทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องจะเกิด 1,4-reduction ได้ผลิตภัณฑ์เป็นแอลกอฮอล์ที่อิมพัลวร่วมด้วยที่ยืนยันได้ตามผลการทดลอง คือ ได้สารผสม 29 กับ 51 ที่ไม่สามารถแยกให้บริสุทธิ์ต่อไปได้จากการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง โดยให้สาร 29 เพียง 44 %yield แต่ถ้าทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่ำเกินไปดังเช่นที่ -78°C ที่ทำอยู่นี้ก็จะเกิดปฏิกิริยาไม่สมบูรณ์ โดยยังพบสารตั้งต้นเหลืออยู่ อย่างไรก็ตามถ้าทำปฏิกิริยารีดักชันของ 33 ที่อุณหภูมิ 0°C ตามที่ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อ 3.1.1 จะให้สาร 29 สูงถึง 78 %yield

สำหรับกลไกการเกิดปฏิกิริยาที่ได้สาร 51 เป็นผลิตภัณฑ์ร่วมเกิดได้ผ่านปฏิกิริยา conjugate reduction ของ α,β -unsaturated aldehyde 33 กล่าวคือ hydride สามารถทำปฏิกิริยาที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ได้เป็น intermediate A ในที่สุดจะได้เป็น alkane aldehyde B ที่ aldehyde จะถูก reduction ต่อไปเป็นแอลกอฮอล์ได้เป็น saturated alcohol 51 ได้ดังรูปที่ 3.7



รูปที่ 3.7 การเกิด conjugate reduction ของสาร 33

จากผลการทดลองพบว่าสามารถสังเคราะห์สาร 29 ได้ทั้งสามแนวทาง โดยสำหรับแนวทางแรกที่สังเคราะห์สาร 29 จาก (Z)-but-2-ene-1,4-diol (30) ถึงแม้ว่าจะเป็นวิธีการที่ใช้ปฏิกิริยามากถึง 4 ขั้นตอน แต่ก็ให้ %overall yield ที่เป็นที่น่าพอใจ คือ 34 % overall yield ทั้งยังใช้เวลาในการดำเนินการต่อปฏิกิริยาที่สั้น เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชันในเวลาในการดำเนินการเพียง 10 นาที และ ปฏิกิริยา isomerization ที่ใช้เวลาเพียง 30 นาที

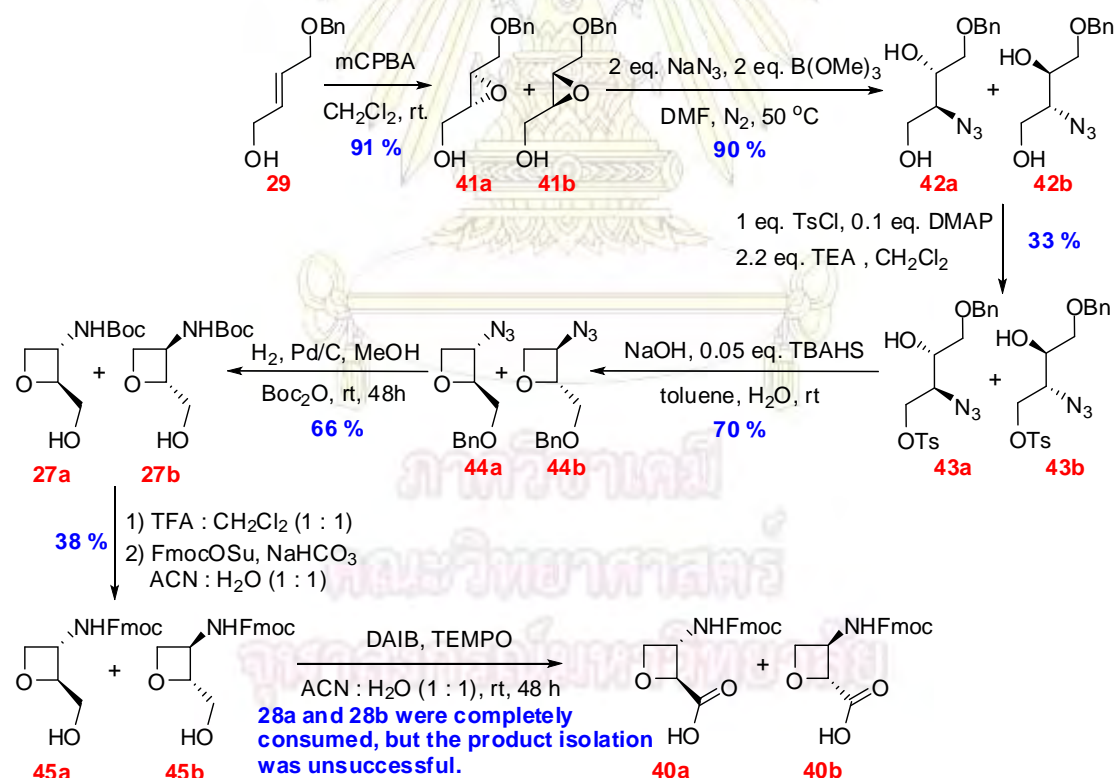
ในขณะที่แนวทางการสังเคราะห์ที่ 2 คือการสังเคราะห์สาร 29 จาก but-2-yne-1,4-diol (34) ที่มีจำนวนขั้นตอนในการทำปฏิกิริยาเพียง 2 ขั้นตอน และใช้สารตั้งต้น 34 ที่มีราคาถูกมากเพียง 3.5 บาทต่อกรัม (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/b103209?lang=en®ion=TH>) แต่วิธีดำเนินการ

ในขั้น reduction จำเป็นต้องทำในตัวทำละลาย THF ที่ต้องผ่านการทำให้แห้งด้วยการกลั่นเสียก่อน ซึ่งมีความยุ่งยากในการดำเนินการในส่วนดังกล่าว และยังให้ %overall yield ค่อนข้างต่ำ (12 %)

สำหรับการดำเนินการตามแนวทางสุดท้าย คือ การสังเคราะห์สาร 29 จาก benzyl glycidyl ether (36) เป็นวิธีที่สามารถในสังเคราะห์สารตั้งต้นในปริมาณมากได้ดี และให้ %overall yield ที่ยอมรับได้ คือ 32 % overall yield ซึ่งน่าจะสามารถปรับ %yield ในปฏิกิริยา reduction ขั้นตอนสุดท้ายได้ ทำให้มั่นใจได้ว่าจะทำให้ %overall yield ของวิธีการนี้ได้แน่นอน แต่สารที่ใช้ในการดำเนินการวิธีนี้มีราคาค่อนข้างสูง เช่น ylide 39 มีราคาสูงถึง 384 บาทต่อกรัม (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/280933?lang=en®ion=TH>) และยังทำให้เกิดของเสียไตรฟีนิลฟอสฟีนออกไซด์ ($\text{Ph}_3\text{P}=\text{O}$) ในปริมาณมาก จึงเป็นวิธีที่ไม่ดีนักเมื่อเทียบกับวิธีแรก

3.2. การทดสอบแผนการสังเคราะห์สารเป้าหมาย 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40) โดยใช้ racemic model

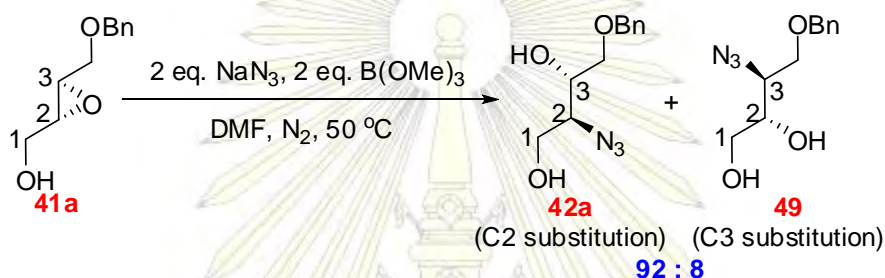
3.2.1. การสังเคราะห์ 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40)



รูปที่ 3.8 สรุปผลการสังเคราะห์ racemic mixture ของ 40a กับ 40b โดยเริ่มต้นจากสาร 29

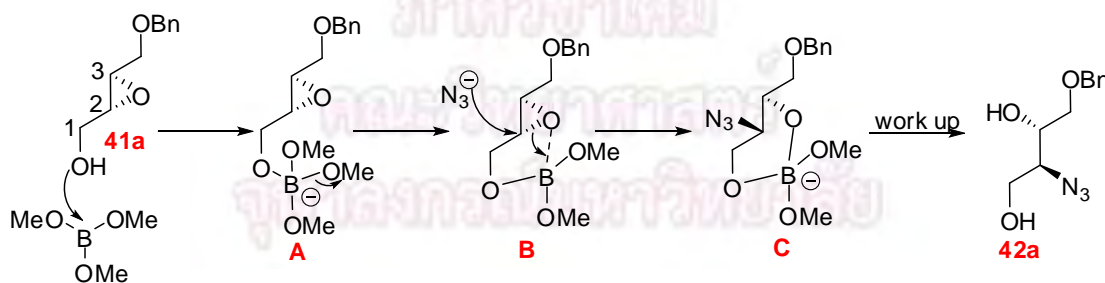
เมื่อสามารถสังเคราะห์สาร 29 ได้สำเร็จจึงศึกษา racemic model ของการสังเคราะห์สารเป้าหมาย 40a และ 40b โดยเริ่มต้นจากการทำปฏิกิริยา epoxidation แบบไม่กำหนด stereochemistry ของสาร 29 ด้วย

mCPBA^[10] ได้สารผสมราซิมิก 41a กับ 41b คิดเป็น 91 %yield ซึ่งสามารถเปิดวง epoxide ด้วย azide แบบ regioselective ได้สารผสม 42a กับ 42b^[19] คิดเป็น 90 %yield โดยหลักการปฏิกิริยานี้สามารถเกิดปฏิกิริยาการเปิดวงได้ทั้งหมด 2 แบบ คือ การเปิดวงโดยการเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และการเกิดปฏิกิริยาที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ดังแสดงในรูปที่ 3.9 แต่เอกสารอ้างอิงระบุว่า การใส่ trimethyl borate [B(OMe)₃] จะทำให้เกิดการเปิดวงแบบ regioselective ที่ตำแหน่ง C2^[19] จากการทดลองพบว่า ได้ผลิตภัณฑ์จากการเปิดวงที่ตำแหน่ง C2 เป็น major product จริง อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการซ้อนทับกันของ ¹H NMR ของทั้งสองไอโซเมอร์ทำให้ไม่สามารถระบุปริมาณสัดส่วนของสารผสมของการแทนที่ที่ตำแหน่งที่ 2 และ 3 ได้แน่นอน แต่ถ้ายึดตามเอกสารอ้างอิงที่ทำกับสารเดียวกัน^[19] จะได้ว่าอัตราส่วนของการเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ต่อ การเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งที่ 3 เป็น 92 ต่อ 8



รูปที่ 3.9 การเกิดปฏิกิริยาเปิดวง epoxide ด้วย azide ตามเอกสารอ้างอิง^[19]

สำหรับกลไกการเกิดปฏิกิริยาการเปิดวงแหวนอีพอกไซด์แบบจำเพาะที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 เริ่มต้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร 41a หรือ 41b (แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาเฉพาะสาร 41a) กับ trimethyl borate เกิดเป็นอินเทอร์มีเดียตที่แบบเตตระฮีดรอน A ที่จะปลดปล่อยหมู่ methoxy ออกไป แล้วเกิดการโคออร์ดิเนตกับออกซิเจนอะตอมของ epoxide ได้อินเทอร์มีเดียต B ซึ่งให้คอนฟิกูเรชันที่เหมาะสมต่อการให้ azide ion เข้าเกิดปฏิกิริยาที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ได้เป็นอินเทอร์มีเดียต C ที่เป็นบอเรตเอสเทอร์ ซึ่งสามารถถูกไฮโดรไลสออกไปในขั้นตอนการ work up ด้วยสารละลาย sodium hydrogen carbonate ดังแดงในรูปที่ 3.10^[19]

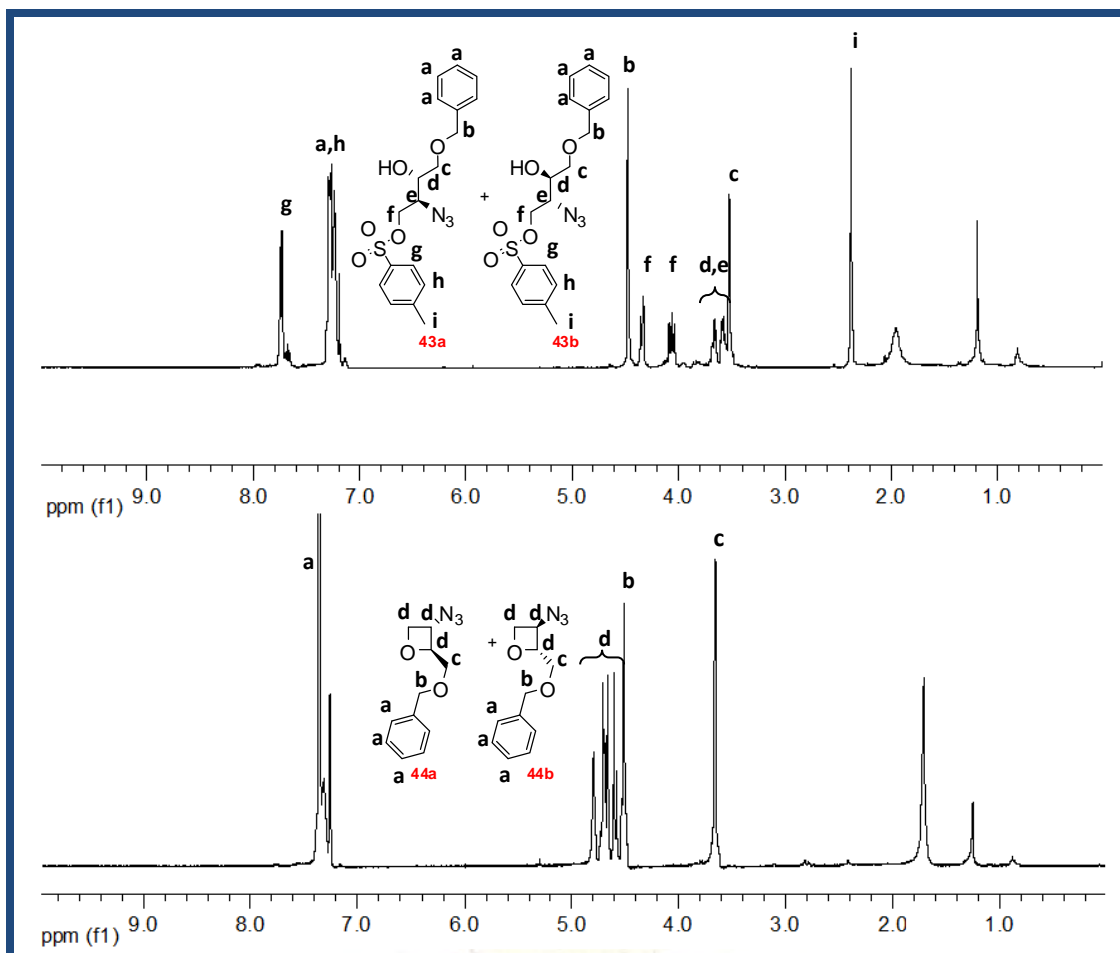


รูปที่ 3.10 กลไกการเกิดปฏิกิริยาเปิดวง epoxide ด้วย azide

ในขั้นต่อมาจึงนำสารผสม 42a กับ 42b มาทำปฏิกิริยา tosylation ด้วย *p*-toluenesulfonyl chloride (TsCl)^[25] ได้สารผสมราซิมิก 43a กับ 43b คิดเป็น 33 %yield โดยในขั้นนี้ได้ปริมาณผลผลิตต่ำเนื่องจากเกิดปฏิกิริยา tosylation ที่หมู่แอลกอฮอล์ทั้งสองหมู่พร้อมด้วย และสารตั้งต้นบางส่วนก็ทำปฏิกิริยาไม่สมบูรณ์ ซึ่ง

สามารถแยกผลิตภัณฑ์ที่ต้องการออกมาได้โดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี เมื่อนำมาปิดวงแหวนภายใต้ภาวะเบส^[26] ได้เป็นออกซิเทนอินเทอร์มีเดียตตัวแรก คือ สารผสมราซิมิก **44a** กับ **44b** คิดเป็น 70 %yield เนื่องจากปฏิกิริยาในขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนสำคัญที่นำไปสู่การสังเคราะห์สารเป้าหมาย **40a** กับ **40b** การยืนยันโครงสร้างของสาร **44a** กับ **44b** จึงมีความสำคัญ

พิจารณาเปรียบเทียบ ^1H NMR ของสาร **43a** กับ **43b** และ **44a** กับ **44b** ดังแสดงในรูปที่ 3.11 พบว่าหลังจากเกิดปฏิกิริยาของสาร **43a** กับ **43b** หมู่ tosyl หายไป ยืนยันได้จากการหายไปของ aromatic proton ที่ 7.74 ppm และหมู่เมทิลที่ 2.38 ppm แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ชั้นที่หมู่ tosyl ดังกล่าว โดยหากพิจารณาต่อไปถึงรูปแบบของ chemical shift ในช่วง 3.60-4.50 ppm ของสาร **43a** กับ **43b** ที่เป็นรูปแบบของ aliphatic proton มีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างสิ้นเชิงกลายเป็น chemical shift ในช่วง 4.50-4.80 ppm ซึ่งสอดคล้องกับรูปแบบการปิดวงเป็นออกซิเทนของสาร **44a** กับ **44b** นอกจากนี้ยังสามารถพิจารณาจำนวน proton และจำนวนชุดสัญญาณที่สอดคล้องกับโครงสร้างของสาร **44a** กับ **44b** ได้ดังนี้ คือ ชุดสัญญาณที่ 7.36 ppm มีอินทิเกรชัน 5 โปรตอนยืนยัน aromatic proton ของหมู่ benzyl และสัญญาณที่ 3.66 ppm มีอินทิเกรชัน 2 โปรตอนยืนยัน methylene proton ที่อยู่ติดกับวงออกซิเทน ส่วนชุดสัญญาณที่เหลือในช่วง 4.50-4.80 ppm ที่มีการซ้อนทับของสัญญาณ และรูปแบบการ split ของสัญญาณที่ซับซ้อนจนไม่สามารถระบุชนิดของโปรตอนแน่นอนได้ แต่สามารถหาจำนวนโปรตอนในช่วงสัญญาณดังกล่าวได้เป็น 6 โปรตอน พบว่าสอดคล้องกับจำนวนโปรตอนภายในวงออกซิเทน และ methylene proton ของหมู่ benzyl ที่รวมกันได้ 6 โปรตอน ซึ่งทั้งหมดนี้ยืนยันโครงสร้างของสาร **44a** และ **44b**



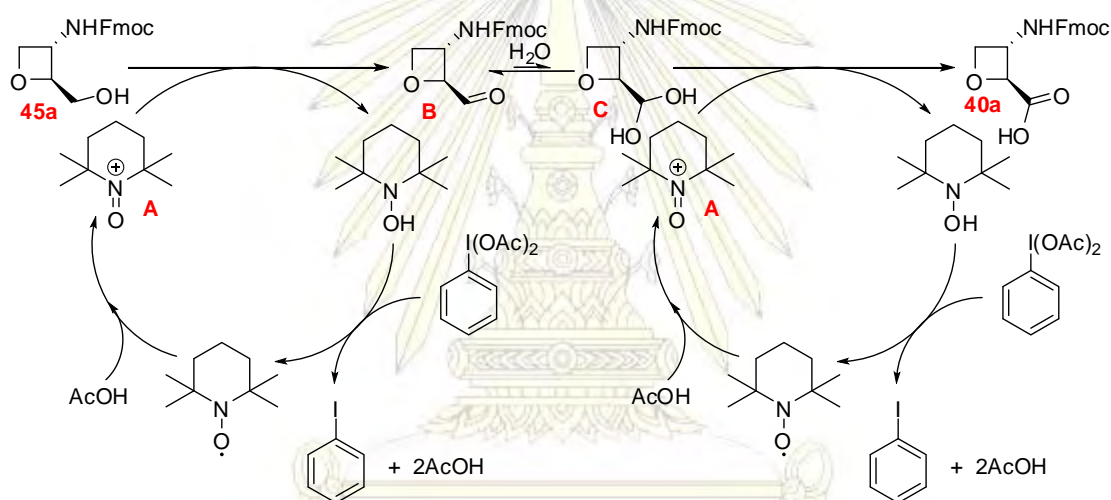
รูปที่ 3.11 การเปรียบเทียบ ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) ระหว่างสาร 43a กับ 43b และ สาร 44a กับ 44b

หลังจากนั้นเป็นการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันและหมู่ปกป้องให้ได้เป็นสารเป้าหมายที่ต้องการ โดยนำสารผสม 44a กับ 44b มาทำปฏิกิริยารีดักชัน และปลดหมู่ benzyl ด้วยแก๊สไฮโดรเจนโดยมี Pd-C เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา^[10] และมี di-*tert*-butyl dicarbonate (Boc₂O) เป็นตัวปกป้องหมู่ amino ที่เกิดขึ้น ได้สารผสม 27a กับ 27b คิดเป็น 66 %yield ซึ่งสารผลิตภัณฑ์ 27a ในขั้นนี้ ได้เคยมีการรายงานมาก่อนด้วยวิธีการสังเคราะห์อื่นตามเอกสารอ้างอิง^[11] ซึ่งสามารถเปรียบเทียบ ¹H NMR spectrum ที่ได้จากการทดลองตามเอกสารอ้างอิงดังกล่าว พบว่าได้ผลที่สอดคล้องกัน ทำให้ได้หลักฐานชิ้นสำคัญที่ยืนยันว่าวิธีการสังเคราะห์ตามแนวทางที่ดำเนินอยู่ประสบความสำเร็จในการปิดวงออกซิเทน

ในขั้นตอนต่อมาเป็นการเปลี่ยนหมู่ปกป้องจาก Boc ไปเป็น Fluorenylmethoxycarbonyloxy (Fmoc)^[8] ได้สารผสม 45a กับ 45b คิดเป็น 38 %yield สุดท้ายจึงนำสารผสม 45a กับ 45b ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ปฐมภูมิมาทำปฏิกิริยาออกซิเดชันไปเป็นกรดคาร์บอกซิลิก 40a กับ 40b ด้วย diacetoxy iodobenzene (DAIB) โดยมี TEMPO เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา^[27] พบว่าสารผสม 45a กับ 45b เกิดปฏิกิริยาไปทั้งหมด แต่ไม่สามารถแยกสารที่คาดว่าจะผลิตภัณฑ์ออกมาได้พิสูจน์เอกลักษณ์ได้ ซึ่งเป็นที่น่าประหลาดใจเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ดังกล่าวได้รับการพิสูจน์มาแล้วว่าให้ผลที่ดีกับสับสเตรตที่หลากหลาย^[27] เพื่อพิจารณาถึงสาเหตุของปัญหาที่เป็นไปได้จึงต้องพิจารณาถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดคาร์บอกซิลิก

กลไกการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวมีลักษณะที่คล้ายคลึงกับกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร 31 จากแอลกอฮอล์ไปเป็นแอลดีไฮด์ที่ใช้ sodium hypochlorite ร่วมกับ KBr และ TEMPO เป็น oxidant ดังแสดงในรูป 3.4 แต่ในปฏิกิริยานี้ใช้ diacetoxy iodobenzene (DAIB) เป็น oxidant ร่วมกับ TEMPO เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยเริ่มต้น TEMPO ต้องถูกออกซิไดซ์ด้วย DAIB ได้เป็น radical specie ที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นอินเทอร์มีเดียต A ด้วยโมเลกุลของกรดอะซิติก ที่เกิดขึ้นจากการเกิดออกซิเดชันในขั้นตอนแรก และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างแอลกอฮอล์ กับอินเทอร์มีเดียต A ได้เป็นแอลดีไฮด์ B ที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับน้ำได้เป็นอินเทอร์มีเดียต C ได้บ้าง สุดท้ายอินเทอร์มีเดียต C จะถูกออกซิไดซ์ซ้ำอีกครั้งด้วยอินเทอร์มีเดียต A เกิดกลายเป็นกรดคาร์บอกซิลิกในที่สุด^[28] เป็นดังแสดงในรูปที่ 3.12

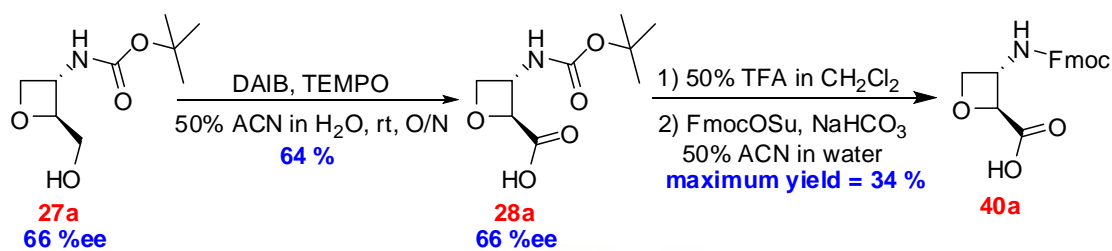


รูปที่ 3.12 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดคาร์บอกซิลิก

จากกลไกดังกล่าวจะเห็นว่าน้ำเป็นสิ่งสำคัญที่ใช้เปลี่ยนจากอินเทอร์มีเดียต B ไปเป็นอินเทอร์มีเดียต C ก่อนจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเหตุผลหนึ่งที่น่าจะเป็นไปได้คือการละลายของ Fmoc-protected alcohol 40a และ 40b ที่ไม่ดีนักในตัวกลางที่เป็นน้ำ ผลการทดลองทั้งหมดสรุปได้ดังรูปที่ 3.8

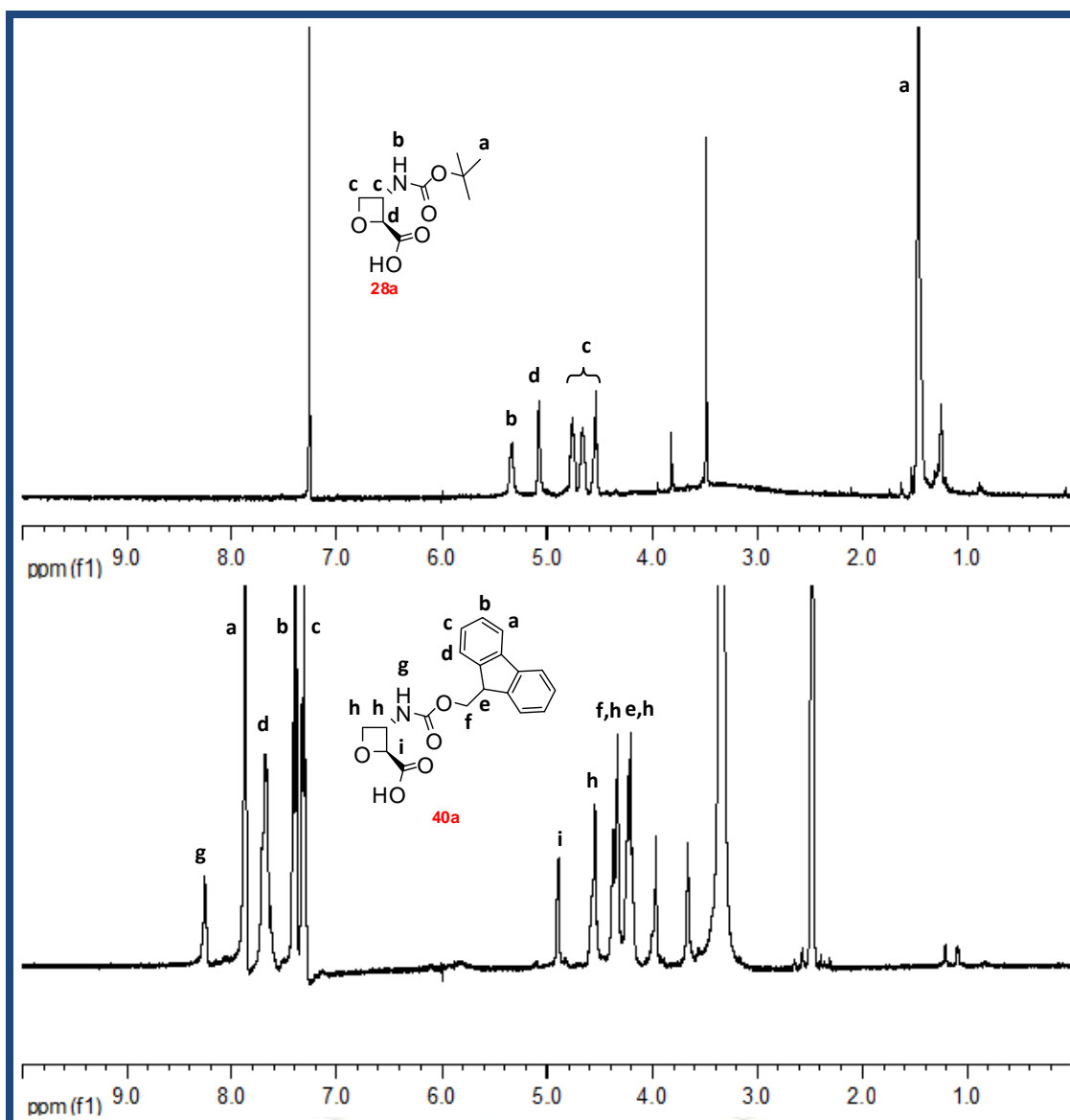
3.2.2. แนวทางการแก้ปัญหาการสังเคราะห์ 3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)-oxetane-2-carboxylic acid (40)

จากปัญหาที่พบในปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร 45a และ 45b เพื่อเปลี่ยนแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดคาร์บอกซิลิกที่อาศัยแนวคิดในเรื่องความสามารถในการละลายน้ำของ Boc alcohol 27a และ 27b ที่ดีกว่า Fmoc alcohol 45a และ 45b จึงเกิดแนวคิดที่จะแก้ปัญหาดังกล่าว โดยนำสาร 27a และ 27b มาทำปฏิกิริยาออกซิเดชันเสียก่อน^[27] แล้วจึงนำเอาสารผลิตภัณฑ์ 28a และ 28b ที่ได้ มาเปลี่ยนหมู่ปกป้องจาก Boc เป็น Fmoc ภายหลัง^[8] แผนการสังเคราะห์ใหม่นี้เป็นดังแสดงในรูปที่ 3.13



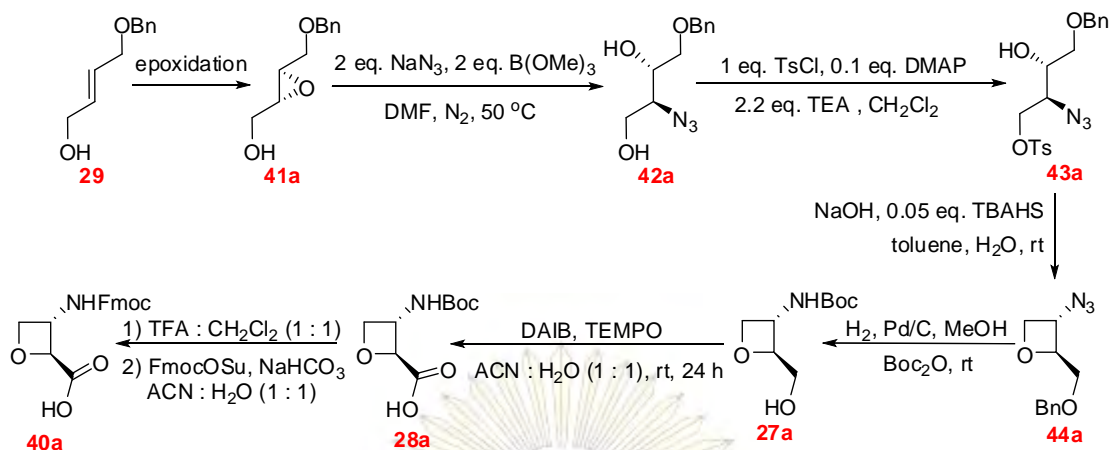
รูปที่ 3.13 แผนการสังเคราะห์สาร 40a และ 40b โดยเริ่มต้นจากสาร 27a และ 27b ผ่านตัวกลาง 28a และ 28b

ในกระบวนการสังเคราะห์สารเป้าหมายครั้งนี้ใช้สารตั้งต้น 27a ที่มี %ee เป็น 66 % ที่สังเคราะห์มาจากการนำ epoxide 41a ที่มี %ee เป็น 66% ตามวิธีที่ได้เสนอในหัวข้อ 2.6.1 (สาร 41a ที่ใช้ได้มาจากการทดลองในหัวข้อ 2.7.1) มาทำปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย diacetoxy iodobenzene (DAIB) โดยมี TEMPO เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา^[27] พบว่าสามารถสังเคราะห์กรดคาร์บอกซิลิก 28a ได้เป็น 64 %yield สามารถยืนยันโครงสร้างของสาร 28a ได้ โดยเปรียบเทียบ ¹H NMR spectrum กับสารชนิดเดียวกันที่เคยมีการรายงานด้วยวิธีการสังเคราะห์อื่นตามเอกสารอ้างอิง^[11] พบว่าให้ผลที่สอดคล้องกัน หลังจากนั้นจึงเปลี่ยนหมู่ปกป้องไปเป็น Fmoc^[6] พบว่าสามารถสังเคราะห์สารผลิตภัณฑ์ 40a ซึ่ง สามารถยืนยันโครงสร้างของสารเป้าหมาย 40a ได้จากการพิจารณาเปรียบเทียบกับ ¹H NMR ของสาร 28a ดังแสดงในรูปที่ 3.14 เห็นได้ชัดเจนว่า methyl proton ของหมู่ Boc ที่ 1.47 ppm หายไป และมีสัญญาณในช่วง 7.20-8.00 ppm จำนวน 4 ชุดสัญญาณที่มีจำนวนโปรตอนเป็น 2 โปรตอนต่อชุดสัญญาณที่สอดคล้องกับหมู่ aromatic ของ Fmoc ปรากฏขึ้นแทน และยังมีสัญญาณที่ 8.26 ppm ที่มีจำนวน 1 โปรตอนยืนยัน amide proton นอกจากนี้ยังมีสัญญาณในช่วง 4.20-5.00 ppm เพิ่มขึ้นมา คิดเป็นจำนวน 3 โปรตอนที่สอดคล้องกับผลรวมของจำนวนของ methylene proton และ โปรตอนบน tertiary carbon ของหมู่ Fmoc โดยข้อมูลทั้งหมดนี้ทำให้สรุปได้ว่าผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการเปลี่ยนหมู่ปกป้องจากเดิมที่เป็น Boc เป็น Fmoc และสามารถสังเคราะห์สารเป้าหมาย 40a ได้สำเร็จ แต่อย่างไรก็ตามสารเป้าหมาย 40a ที่สังเคราะห์ได้ยังคงมีสารปนเปื้อนอื่นอยู่ ซึ่งแสดงให้เห็นเป็นชุดสัญญาณ 2 ชุด ที่ 3.67 และ 3.97 ppm และมีสัดส่วนจำนวนโปรตอนในแต่ละชุดสัญญาณที่ไม่เข้าพวกกับชุดสัญญาณหลัก ดังนั้นจึงคิด % maximum yield ได้ไม่เกิน 34% โดยคาดว่าจะสามารถปรับปรุงขั้นสุดท้ายให้ได้สารผลิตภัณฑ์มากขึ้นรวมทั้งมีความบริสุทธิ์สูงขึ้นได้ต่อไป



รูปที่ 3.14 การเปรียบเทียบ ^1H NMR ระหว่างสาร 28a (400 MHz, CDCl_3) และ สาร 40a (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 66 %ee)

สามารถสรุปแผนการสังเคราะห์ที่นำไปสู่การสังเคราะห์สารเป้าหมายในรูปแบบราซีมิกโดยเริ่มต้นจาก alcohol 29 ได้เป็นดังแสดงในรูปที่ 3.15 (แสดงเพียงอิมเมอร์เดียวคือ 40a)

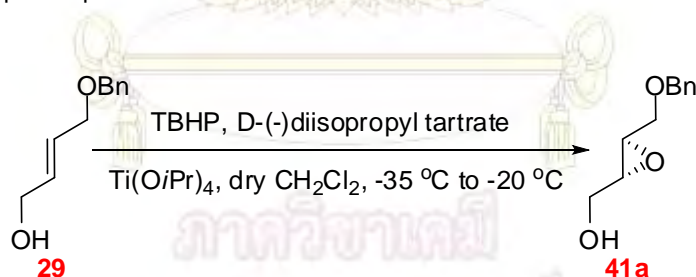


รูปที่ 3.15 แผนการสังเคราะห์สาร 40a ที่ปรับปรุงขึ้น

เมื่อพบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ต้องการโดยวิธีนี้แล้ว ขั้นตอนต่อไปคือการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ให้ได้เฉพาะไอโซเมอร์ (2*S*,3*S*) ของ 40a ซึ่งต้องเริ่มจากการสังเคราะห์อีพอกไซด์ 41a ในรูปที่เป็นอีแนนชิโอเมอร์เดี่ยว

3.3. การสังเคราะห์ (2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-ylmethanol (41a) ด้วยปฏิกิริยา enantioselective epoxidation

3.3.1. Sharpless epoxidation^[20]



รูปที่ 3.16 การสังเคราะห์สาร 41a ด้วยปฏิกิริยา Sharpless epoxidation ของสาร 29

ในส่วนต่อมาเป็นการศึกษาวิธีการสังเคราะห์แบบ enantioselective เพื่อนำไปสู่สารสังเคราะห์สารเป้าหมาย 40a ที่เป็นอีแนนชิโอเมอร์ที่ต้องการอย่างเดียวยเท่านั้น จากรูปที่ 3.15 จะเห็นได้ว่าตัวกลางสำคัญคืออีพอกไซด์ 41a ซึ่งเป็นสารที่เคยมีผู้เตรียมมาก่อนแล้วด้วยปฏิกิริยา Sharpless epoxidation ของแอลลิลิกแอลกอฮอล์ 29^[20] และ enzymatic resolution ของ racemic epoxy alcohol 41a/b^[16] ในเบื้องต้นได้เลือกปฏิกิริยา Sharpless epoxidation ซึ่งมีประวัติการใช้งานที่ยาวนานและเชื่อถือได้ในการทำอีพอกไซด์ขั้นแบบอุตสาหกรรมของแอลลิลิกแอลกอฮอล์^[20] ดังแสดงในรูปที่ 3.16 โดยได้ทดลอง 2 conditions ที่สรุปได้ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สรุปผลการทดลองปฏิกิริยา Sharpless epoxidation

entry	29 (mmol)	TBHP (eq.)	D-(-)-diisopropyl tatrte (eq.)	Ti(O ⁱ Pr) ₄ (eq.)	%yield	%ee ^c
1	7.58	2.5	0.38	0.25	78	66
2 ^a	4.92	3.8	2.3	1.5	52 ^b	40

หมายเหตุ

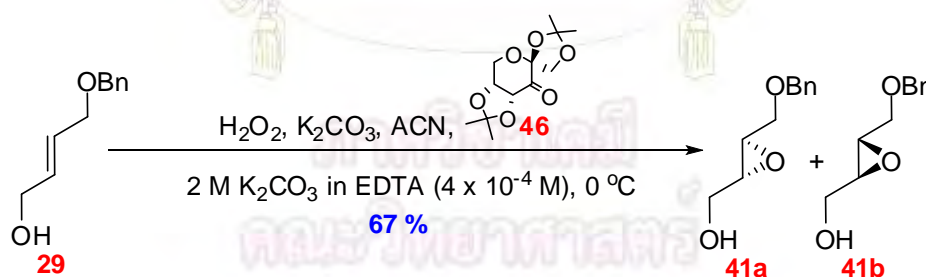
^a สารตั้งต้น 29 ที่ใช้มีการปนเปื้อนของ 4-(benzyloxy)butan-1-ol (50) ในสัดส่วน 29:50 = 68:32

^b %yield คำนวณเทียบกับปริมาณของสารตั้งต้น 29 เพียง 4.92 mmol จาก 7.57 mmol

^c %ee ตรวจสอบโดยใช้ chiral HPLC (column: OJ-H chiral column, mobile phase: 15% ⁱPrOH in n-hexane, flow rate: 0.6 mL/min @ 210 nm, t_R major: 36.21 min, t_R minor: 41.68 min)

แม้ว่าจะมีรายงานถึงการเตรียมสาร 41a ที่มี %ee สูงกว่า 90% โดยวิธีเดียวกันนี้ในเอกสารอ้างอิง^[20] จากตารางที่ 3.1 จะเห็นได้ว่าการทำปฏิกิริยา Sharpless epoxidation ถึงแม้จะให้ผลิตภัณฑ์เป็นอินแนนทิโอเมอร์ที่ต้องการ (ทราบจากการเปรียบเทียบทิศทางการหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์กับเอกสารอ้างอิง)^[29] แต่ยังไม่สามารถควบคุมให้ %ee ที่ได้จากการสังเคราะห์ในแต่ละครั้งให้คงที่ และค่า %ee ที่ได้ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ ส่วนหนึ่งน่าจะมาจากความยากลำบากในการควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยา Sharpless epoxidation ได้แก่ ความชื้น สัดส่วนของตัวทำปฏิกิริยา อุณหภูมิของการทำปฏิกิริยา รวมทั้งความบริสุทธิ์ของสารตั้งต้นที่ใช้ (29) ดังนั้นจึงได้ละทิ้งแนวทางนี้ และไปศึกษาวิธีการทำปฏิกิริยา epoxidation แบบ enantioselective อื่นๆเพิ่มเติมต่อไป

3.3.2. Shi epoxidation

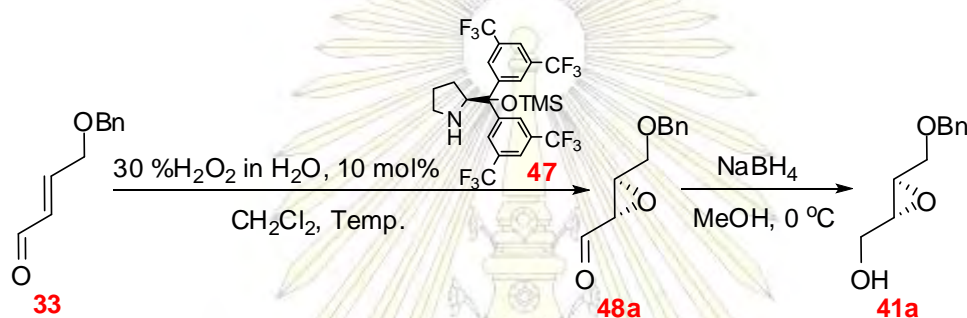


รูปที่ 3.17 การสังเคราะห์สาร 41a ด้วยปฏิกิริยา Shi epoxidation ของสาร 29

จากปัญหาที่พบในการทำปฏิกิริยา Sharpless epoxidation อย่างหนึ่งคือการควบคุมความชื้นในระบบ ดังนั้นจึงสนใจปฏิกิริยาการทำ enantioselective ภายใต้ภาวะการทำปฏิกิริยาที่เป็นน้ำเพื่อหลีกเลี่ยงการควบคุมความชื้นดังกล่าว วิธีหนึ่งที่น่าสนใจคือ Shi epoxidation ซึ่งทำงานได้ในสภาวะที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย และมีตัวอย่างการใช้งานกับแอลคิลิกแอลกอฮอล์อยู่บ้างแม้จะไม่ตรงทีเดียวนัก เช่น เคยมีรายงานว่าแอลกอฮอล์ (E)-3-phenylprop-2-en-1-ol ได้ (R,R) enantiomer ที่มีความบริสุทธิ์ถึง 94 % ee^[30] โดยปกติการทำ Shi

epoxidation จะใช้ oxone ในตัวทำละลายที่เป็น aqueous MeCN แต่ในการทดลองนี้เลือกใช้ภาวะที่ปรับปรุงโดย Shi เองซึ่งมี H_2O_2 เป็น oxidant^[31] ดังแสดงสถานะของปฏิกิริยาในรูปที่ 3.17 โดยพบว่าสามารถสังเคราะห์ epoxide **41** ได้ 67 % yield (ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา **46** ในปริมาณ 30 mol%) แต่จากการวิเคราะห์ด้วย chiral HPLC (column: OJ-H chiral column, mobile phase: 15% i PrOH in n-hexane, flow rate: 0.6 mL/min @ 210 nm) ร่วมกับการวัดการบิดระนาบแสงพาราไรซ์ สามารถยืนยันอย่างชัดเจนว่าได้สารผลิตภัณฑ์เป็น racemic mixture ซึ่งเป็นที่น่าผิดหวังอย่างยิ่ง อย่างไรก็ตาม ไม่ได้มีการศึกษาแนวทางในการปรับปรุงการสังเคราะห์โดยวิธีการนี้ ต่อเนื่องจากอีกวิธีหนึ่งที่ทำควบคู่กันไปคือ Jorgensen epoxidation ให้ผลเป็นที่น่าพอใจแล้ว

3.3.3. Jorgensen epoxidation^[21]



รูปที่ 3.18 การสังเคราะห์สาร **41a** ด้วยปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation ของสาร **29**

จากความล้มเหลวในการทำปฏิกิริยา Sharpless epoxidation และ Shi epoxidation จึงได้เลือกปฏิกิริยา enantioselective epoxidation แบบอื่น ที่สามารถทำได้แม้จะมีน้ำภายในระบบ โดยปฏิกิริยาหนึ่งที่เคยมีการรายงานว่าสามารถใช้ในการสังเคราะห์ **41a** ในรูป pure enantiomer เมื่อไม่นานมานี้คือปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation^[21] ของ α,β -unsaturated aldehyde โดยมีออร์แกนิกคatalyst ที่เป็นอนุพันธ์ของพิริโรลิดีน **47** เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยตามเอกสารอ้างอิงสามารถสังเคราะห์ epoxy aldehyde **48a** ได้จากแอลดีไฮด์ **33** โดยมี %yield และ %ee เป็น 84 % และ 94 % ตามลำดับ^[21] ในการทดลองที่ทำจริงภายใต้ภาวะเดียวกับเอกสารอ้างอิงทุกประการ (ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา **47** ในปริมาณ 10 mol%) ไม่ได้แยก **48a** ให้เป็นอิสระแต่นำมาทำปฏิกิริยารีดักชันต่อด้วย sodium borohydride ที่อุณหภูมิ 0°C การสังเคราะห์เป็นดังแสดงในรูปที่ 3.18 ได้เป็นสาร **41a** ที่มี %yield และ %ee อยู่ในช่วง 48-56% และ 92-95% ตามลำดับ และสามารถระบุสเตอริโอไอโซเมอร์ของสารโดยเปรียบเทียบเครื่องหมายของค่า specific rotation ที่ได้จากการทดลอง โดยมีค่าอยู่ในช่วง +17.48 ถึง +18.01 เมื่อเทียบกับค่าของสาร **41b** ที่เป็นอีแนนทิโอเมอร์ของ **41a** จากเอกสารอ้างอิง^[29] ที่มีค่าเป็น -22.0 แสดงว่าค่าของสาร **41a** ที่ต้องการต้องมีค่าเป็น +22.0 แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายของค่า specific rotation ของสารที่สังเคราะห์ได้สอดคล้องกับค่าของสาร **41a** ดังนั้นจึงเป็นการยืนยันว่าสามารถสังเคราะห์สาร **41a** ตามต้องการ โดยได้ทดลอง 3 ครั้ง ได้ผลที่สรุปได้ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 สรุปผลการทดลองปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation

entry	33 (mmol)	NaBH ₄ (eq.)	Temp. (°C)	%yield	specific rotation at 23 °C ^b	%ee ^d
1	1.01	1.14	rt	55	+18.01	92
2	1.01	1.04	10-20	56	+17.48 ^c	94
3	5.86	1.01	10-20	48	+17.70	95

หมายเหตุ

^a ปฏิกิริยาทั้งหมดใช้สัดส่วนของ 33 1 eq., 30%w/v H₂O₂ 1.30 eq. และ 47 10 mol%

^b c = 0.5 g/100 mL ใน chloroform

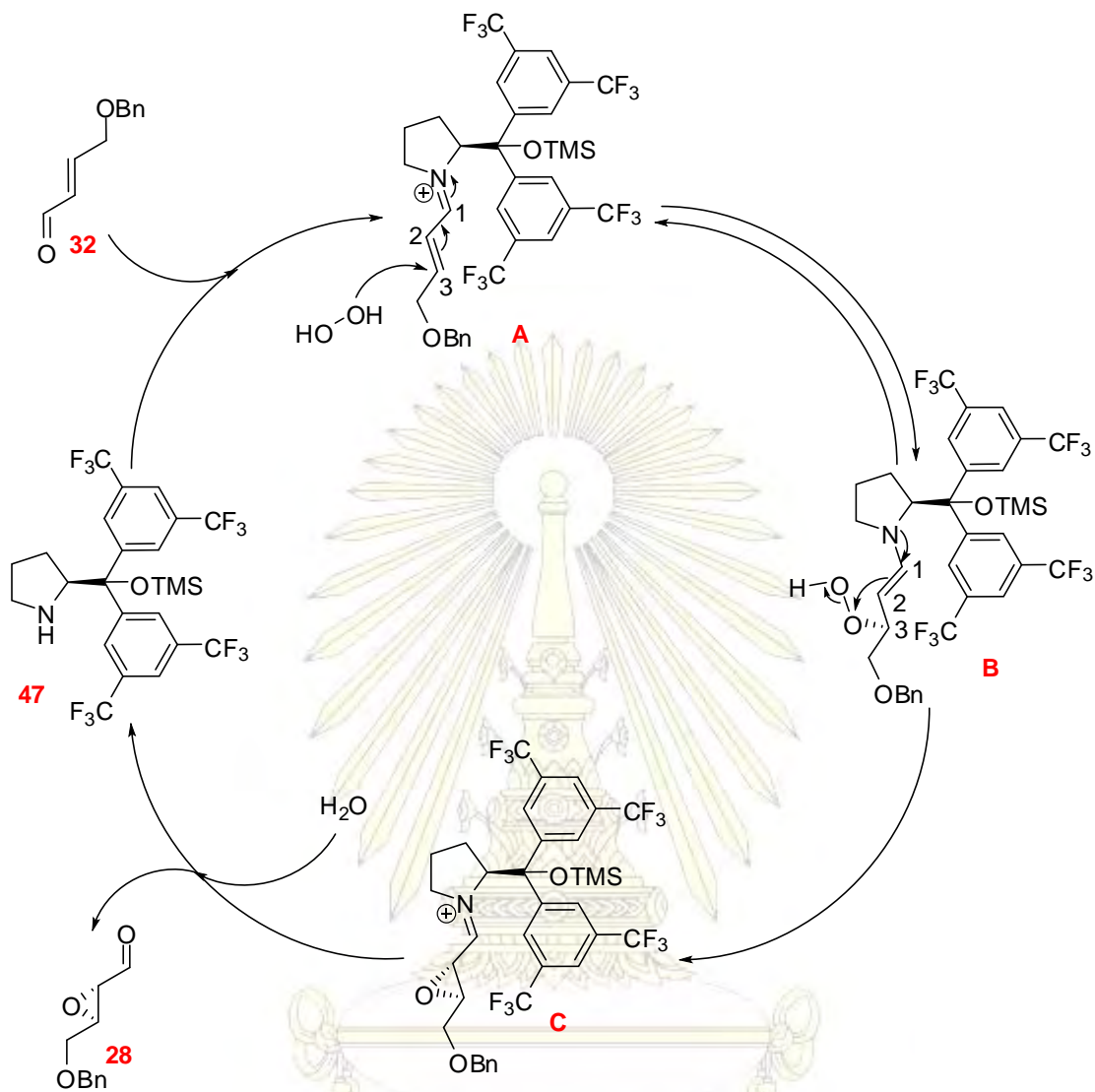
^c ค่า specific rotation ที่ 22 °C

^d %ee ตรวจสอบโดยใช้ chiral HPLC (column:OJ-H chiral column, mobile phase:15% 'PrOH in n-hexane, flow rate:0.6 mL/min @ 210 nm, t_R major:36.21 min , t_R minor:41.68 min)

จากผลการทดลองของทั้ง 3 conditions เห็นได้ชัดเจนสามารถสังเคราะห์สารผลิตภัณฑ์ 41a ที่มี %ee สูงมากเกินกว่า 90 % ซึ่งถือว่าประสบความสำเร็จเป็นที่น่าพอใจ และยังให้ปริมาณของสารผลิตภัณฑ์สูงแม้ว่าจะสังเคราะห์ปฏิกิริยาต่อเนื่องถึง 2 ขั้นตอน และการลดอุณหภูมิของการทำปฏิกิริยาลงจะให้ %ee ที่สูงกว่าการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ยังประสบความสำเร็จในการขยายสเกลขึ้นถึงระดับ 5 mmol ซึ่งได้ %ee ใกล้เคียงกับที่ทำในสเกลเล็กอีกด้วย

กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ enantioselective Jorgensen epoxidation เริ่มต้นจากการเกิด imine (iminium catalysis) ระหว่างสาร 47 กับแอลดีไฮด์ 33 ได้กลายเป็นอินเทอร์มีเดียต A ต่อมา hydrogen peroxide จึงเข้าทำปฏิกิริยาที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และเกิดการดีโลคัลไลซ์ของอิเล็กตรอนไปยังอะตอมของไนโตรเจนเกิดเป็นอินเทอร์มีเดียต B โดยอินเทอร์มีเดียตชนิดนี้สามารถส่งคู่อิเล็กตรอนบนอะตอมไนโตรเจนกลับมาสร้างพันธะคู่ และส่งอิเล็กตรอนระหว่างพันธะคู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และ 2 ไปสร้างพันธะกับออกซิเจนอะตอมเกิดเป็นอินเทอร์มีเดียต C สุดท้ายอินเทอร์มีเดียต C จะถูกไฮโดรไลส์ด้วยน้ำในระบบ ได้เป็นสาร 41a และตัวเร่งปฏิกิริยา 47 กลับคืนมาในที่สุดกลไกการเกิดปฏิกิริยาทั้งหมดเป็นดังแสดงในรูปที่ 3.18^[21]

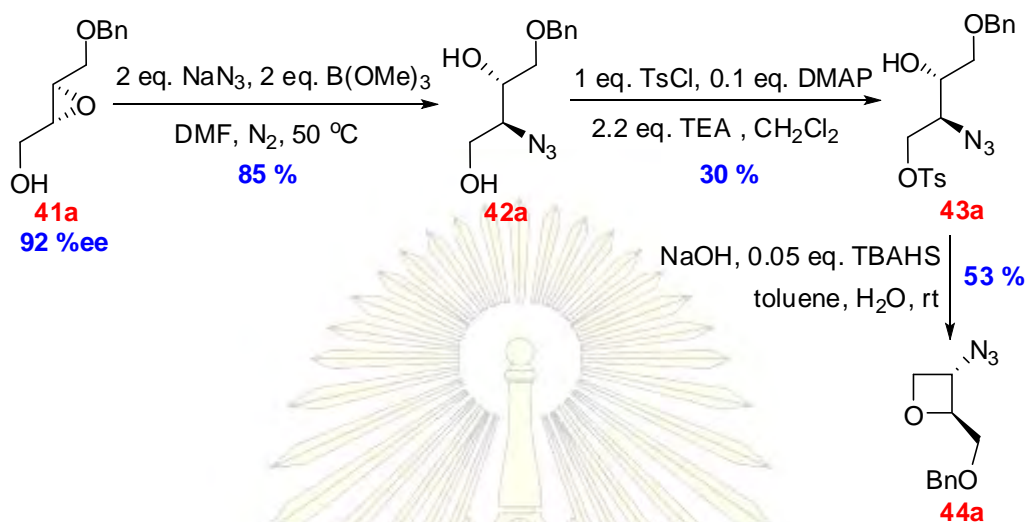
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.19 กลไกการเกิดปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation ของสาร 33

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

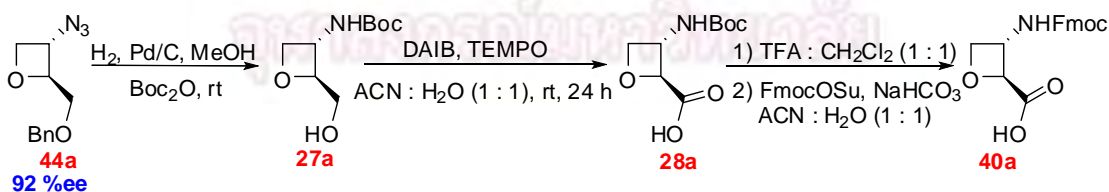
3.4. การสังเคราะห์ (2*S*,3*S*)-3-(((9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40a) จาก ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a)



รูปที่ 3.20 แผนภาพในการสังเคราะห์ อินเทอร์มีเดียต 44a ในรูปที่เป็นอีแนนซีโอเมอร์เดี่ยว โดยเริ่มต้นจากสาร

41a

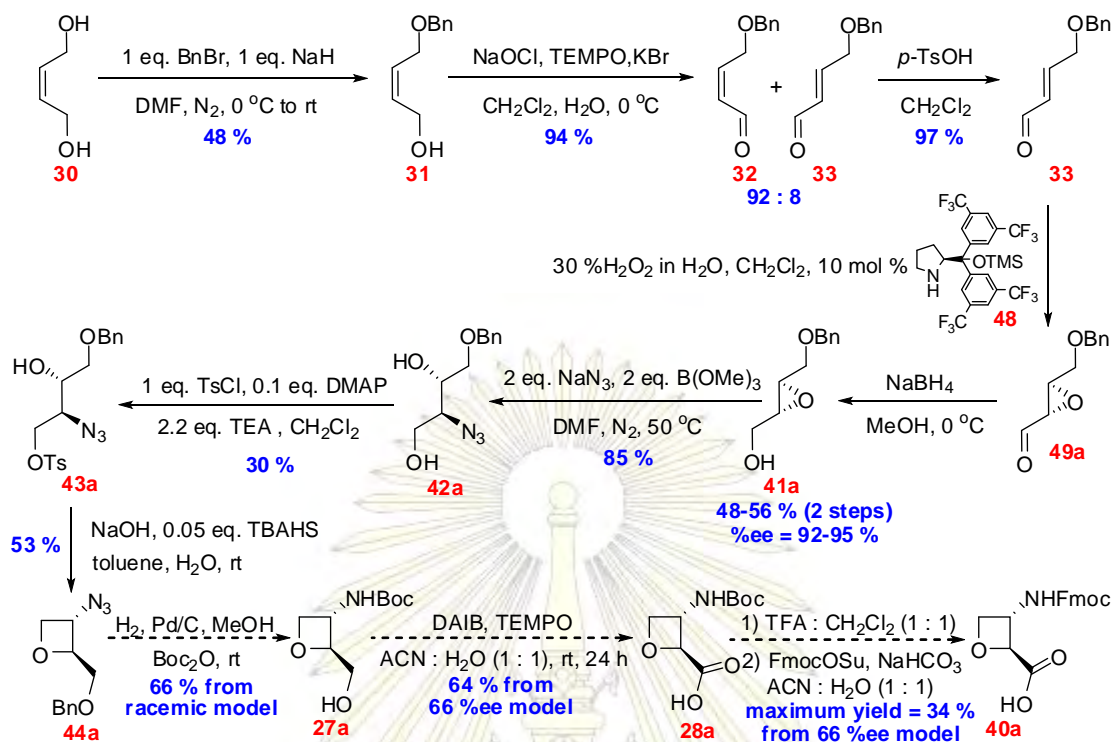
การสังเคราะห์ 40a ในรูปที่เป็น pure enantiomer ได้ดำเนินการตามแผนการสังเคราะห์ตามรูปที่ 3.19 และ 3.20 ซึ่งเหมือนกับที่ทำกับสารราซิมิกตามรูปที่ 3.15 ทุกประการ แต่ใช้ epoxide 41a ที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation เป็นสารตั้งต้นแทนของผสมราซิมิกของ 41a/b โดยเริ่มต้นจากการนำสาร 41a^[21] ที่มี %ee เป็น 92 % มาเปิดวง epoxide ด้วย azide แบบ regioselective ได้เป็นสาร 42a^[19] คิดเป็น 85 % yield หลังจากนั้นจึงทำปฏิกิริยา tosylation^[25] ได้สาร 43a คิดเป็น 30 % yield แล้วจึงนำมาเปิดวงภายใต้สภาวะที่เป็นเบส^[26] ได้สาร 44a คิดเป็น 53 % yield และเนื่องจากระยะเวลาในการดำเนินงานที่จำกัดทำให้ยังไม่สามารถดำเนินการสังเคราะห์จนถึงสารเป้าหมาย 40a ได้ งานส่วนที่เหลืออยู่คือการดำเนินการสังเคราะห์ต่อไปดังแผนการที่แสดงในรูปที่ 3.20 ซึ่งคาดว่าจะนำไปสู่สารเป้าหมายคือ (S,S) ไอโซเมอร์ของ 40a ได้ตามต้องการ โดยอาจต้องมีการยืนยันความบริสุทธิ์ของอีแนนซีโอเมอร์ของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้อีกครั้งด้วย chiral HPLC



รูปที่ 3.21 แนวทางในการสังเคราะห์ pure enantiomeric 40a โดยเริ่มต้นจากสาร 44a

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการหาแนวทางสังเคราะห์สารเป้าหมาย (2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40a) ที่มีความซับซ้อนของวิธีดำเนินการต่ำกว่าวิธีของ Blauvet และ Howell^[11] และมีจำนวนขั้นตอนการสังเคราะห์ที่สั้นกว่าวิธีของ Omura^[10] โดยใช้ (Z)-but-2-ene-1,4-diol (30) เป็นสารตั้งต้นผ่านปฏิกิริยาทั้งสิ้น 11 ขั้นตอน เริ่มต้นจากปฏิกิริยา mono benzylation ของสาร 30 ได้สาร 31 ที่สามารถนำไปออกซิไดซ์กลายเป็นแอลดีไฮด์ 32 ด้วย sodium hypochlorite ร่วมกับ KBr และ TEMPO ที่สามารถทำ isomerization ไปเป็นสาร 33 โดยอาศัย *p*-toluenesulfonic acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แล้วจึงทำปฏิกิริยาของ enantioselective Jorgensen epoxidation ได้เป็นสาร 48a (92-95 %ee) แล้วทำการรีดิวซ์ด้วย sodium borohydride ได้เป็นสาร 41a ซึ่งสามารถเปิดวง epoxide ด้วย azide แบบ regioselective ได้สาร 42a ต่อมาจึงนำสาร 42a มาทำปฏิกิริยา tosylation ด้วย *p*-toluenesulfonyl chloride ได้สาร 43a ที่นำมาปิดวงแหวนภายใต้ภาวะเบสได้เป็นออกซีเทนอินเทอร์มีเดียต (2S,3S)-3-azido-2-(benzyloxymethyl)oxetane (44a) และได้ทดสอบวิธีการสังเคราะห์ในขั้นตอนจาก 44a ไปเป็น 40a ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการโดยใช้ racemic/enantiomerically enriched model โดยนำ 44a/44b มาทำปฏิกิริยา reduction และปิดหมู่ benzyl ด้วยแก๊สไฮโดรเจนโดยมี Pd-C เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และมี di-*tert*-butyl dicarbonate (Boc₂O) เป็นตัวปกป้องหมู่ amino ที่เกิดขึ้น ได้สารผสม 27a/45b โดยสามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย diacetoxy iodobenzene (DAIB) ที่มี TEMPO เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้สาร 28a/28b ที่สามารถเปลี่ยนหมู่ปกป้องไปเป็น Fmoc ได้สารเป้าหมาย 40a/40b racemic พบว่าสามารถสังเคราะห์สารเป้าหมายได้สำเร็จ แต่เนื่องจากเวลาในการดำเนินการที่จำกัดทำให้ยังไม่สามารถดำเนินการสังเคราะห์ 40a ในรูปที่เป็น enantiomerically pure ได้ สรุปผลการทดลองเป็นดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 สรุปวิธีการสังเคราะห์ (2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40a) จากสาร (Z)-but-2-ene-1,4-diol (30)

แนวทางในการดำเนินงานวิจัยต่อไปในอนาคต

การดำเนินการต่อเนื่องในเบื้องต้นคือการสังเคราะห์สารเป้าหมาย 40a ตามวิธีการสังเคราะห์ที่ได้เสนอไว้ดังแสดงในรูปที่ 4.1 จนประสบความสำเร็จ และมีปริมาณที่มากเพียงพอต่อการใช้สังเคราะห์เป็นสายพีเอ็นเอเพื่อนำไปใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการจับยึดกับ DNA โดยการหาค่า T_m ของพีเอ็นเอที่จับยึดกับดีเอ็นเอคู่สม, ดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสผิดไป และ พีเอ็นเอด้วยตัวเองโดยอาศัยเทคนิค UV-Vis spectrophotometry ประกอบกับเทคนิคอื่นเพิ่มเติมเช่น Circular dichroism (CD) spectroscopy นอกจากนี้จะได้ทดสอบความสามารถในการละลายของ PNA ที่สังเคราะห์ได้ และผลการลดแรงกระทำแบบไม่จำเพาะเจาะจงกับโมเลกุลที่ไม่ใช่ DNA เป้าหมาย โดยใช้เทคนิค gel electrophoresis ร่วมกับเทคนิคอื่น เช่น fluorescence spectrophotometry ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Egholm, M.; Buchardt, O.; Christensen, L.; Behrens, C.; Freier, S.M.; Driver DA.; Berg, RH.; Kim, SK.; Nordén, B.; Nielsen, P.E. PNA Hybridizes to Complementary Oligonucleotides Obeying the Watson-Crick Hydrogen-bonding Rules. *Nature*. **1993**, *365*, 566-568.
2. Nielsen, P.E.; Haaima, G. Peptide Nucleic Acid (PNA). A DNA Mimic with a Pseudopeptide Backbone. *Chem. Soc. Rev.* **1997**, *26*, 73-78.
3. Demidov, V.V.; Potaman V.N.; Frank-Kamenetskii M.D.; Egholm M.; Buchardt O.; Sönnichsen S.H.; Nielsen P.E. Stability of Peptide Nucleic Acid in Human Serum and Cellular Extracts. *ft.* **1994**, *48*, 1310-1313.
4. Nielsen P.E.: Peptide Nucleic Acid: a Versatile Tool in Genetic Diagnostics and Molecular Biology. *Curr Opin Biotechnol.* **2001**, *12*, 16-20.
5. Vilaivan, T.; Srisuwannaket, C. Hybridization of Pyrrolidinyl Peptide Nucleic Acids and DNA: Selectivity, Base-pairing Specificity and Direction of Binding *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1897-1900.
6. Ananthanawat, C.; Vilaivan, T.; Hoven, V.P.; Su, X. Comparison of DNA, Aminoethylglycyl PNA and Pyrrolidinyl PNA as Probes for Detection of DNA Hybridization Using Surface Plasmon Resonance Technique. *Biosensors and Bioelectronics.* **2010**, *25*, 1064-1069.
7. Vilaivan, C.; Srisuwannaket, C.; Ananthanawat, C; Suparpprom, C; Kawakami, J.; Yamaguchi, Y.; Tanaka, Y.; Vilaivan, T. Pyrrolidinyl Peptide Nucleic Acid with α/β -Peptide Backbone. *Artificial DNA: PNA & XNA.* **2011**, *2*, 50-59.
8. Mansawat, W.; Vilaivan, C.; Balázs, Á.; Aitken, D.J.; Vilaivan, T. Pyrrolidinyl Peptide Nucleic Acid Homologues: Effect of Ring Size on Hybridization Properties. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 1440-1443.
9. Saha, B.; Sacui, I.; Rapireddy, S.; Zanotti, K.J.; Bahal, R.; Armitage, B.A. Ly, D.H. Synthesis and Characterization of Conformationally Preorganized, (R)-Diethylene Glycol-Containing γ -Peptide Nucleic acids with Superior Hybridization Properties and Water Solubility. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 5614-5627.
10. Kawahata, Y.; Takaysuto, S.; Ikekawa, N.; Murata, M.; Ōmura, S. Synthesis of a New Amino Acid-Antibiotic, Oxetin and Its Three Stereoisomers. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*(8), 3102-3110.
11. Blauvelt M.L.; Howell A.E. Synthesis of *epi*-Oxetin via a Serine-Derived 2-Methyleneoxetane. *J.Org.Chem.* **2008**, *73*, 517-521.

12. Adelwöhrer, C.; Takano, T.; Nakatsubo, F.; Rosenau, T. Synthesis of ^{13}C -Perlabeled Cellulose with more than Isotopic Enrichment by a Cationic Ring-Opening Polymerization Approach. *Biomacromolecules*. **2009**, *10*, 2817-2822.
13. Krueger, E.B.; Hopkins, T.P.; Keaney, M.T.; Walters, M.A.; Boldi, A. Solution-Phase Library Synthesis of Furanoses. *J. Comb. Chem.* **2002**, *4*, 229-238
14. Thurner, A.; Faigl, F.; Toke, L.; Mordini, A.; Valacchi, M.; Reginato, G.; Czira, G. Useful Base Promoted Elaborations of Oxiranyl Ethers. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 8173-8180.
15. Fournier, J.; Mathieu, S.; Charette, A.B. Diastereoselective Zinc-Cyclopropanation of Chiral Allylic Alcohols with *gem*-Dizinc Carbenoids. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 13140-13141.
16. Shen, L.; Wang, F.; Mun, H.; Suh, M.; Jeong, J. Solvent-dependent Reactivity in Porcine Pancreatic Lipase (PPL)-Catalyzed Hydrolysis. *Tetrahedron: Asymm.* **2008**, *19*, 1647-1653.
17. Fitzgerald, R.N.; Marshall, J.A. Synthesis of a *syn,syn,syn,syn*-Stereopentad Precursor of the Marine Sponge Polyketide Calystatin A. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4477-4481.
18. Tsujigami, T.; Sugai, T.; Ohta, H. Microbial Asymmetric Reduction of α -Hydroxyketones in the Anti-Prelog Selectivity. *Tetrahedron: Asymm.* **2001**, *12*, 2543-2549.
19. Sasaki, M.; Tanino, K.; Hirai, A.; Miyashita, M. the C2 Selective Nucleophilic Substitution Reactions of 2,3-Epoxy Alcohols Mediated by Trialkyl Borates: The First *Endo*-mode Epoxide-opening Reaction Through an Intramolecular Metal Chelate. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1789-1791.
20. Hayes, M.P.; Hatala, P.J.; Sherer, B.A.; Tong, X. Zanatta, N.; Borer, P.N.; Kallmerten, J. Regioselective Synthesis of $^{13}\text{C}_1$ -labeled 2-Deoxyribonolactones. *Tetrahedron*. **2001**, *57*, 1515-1524.
21. Marigo, M.; Franzen, J.; Poulsen, T.B.; Zhuang, W.; Jorgensen, K.A. Asymmetric Organocatalytic Epoxidation of α,β -Unsaturated Aldehydes with Hydrogen Peroxide. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6964-6965.
22. Nelson, B.; Hiller, W.; Pollex, A.; Hiersemann, M. Palladium(II)-Catalyzed Cycloisomerization of Functionalized 1,5- Hexadienes. *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 4438-4441.
23. Anelli, P.L.; Biffi, C.; Montanari, F.; Quici, S. Fast and Selective Oxidation of Primary Alcohols to Aldehydes or to Carboxylic Acids and of Secondary Alcohols to Ketones Mediated by Oxoammonium Salts under Two-phase Conditions. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2559-2562.
24. Danishefsky, S.; Berman, E.M.; Ciufolini, M.; Etheredge, S.; Segmuller, B.E. A Stereospecific Route to Aziridinomitosanes: The Synthesis of Novel Mitomycin Congeners. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3891-3898.

25. Miller, J.J.; Rajaram, S.; Pfaffenroth, C.; Sigman, M. S. Synthesis of Amine Functionalized Oxazolines with Applications in Asymmetric Catalysis. *Tetrahedron*. **2009**, *65*, 3110-3119.
26. Rao, H.S.P.; Senthilkumar, S. P. A Convenient Procedure for the Synthesis of Allyl and Benzyl Ethers from Alcohols and Phenols. *Proc. Indian Acad. Sci.*, **2001**, *113*, 191-196.
27. Epp, J.B.; Widlanski, T.S. Facile Preparation of Nucleoside-5'-carboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 293-295.
28. De Mico, A.; Margarita, R.; Parlanti, L.; Vescovi, A.; Piancatelli, G. A Versatile and Highly Selective Hypervalent Iodine(III)/2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidinyloxy-Mediated Oxidation of Alcohols to Carbonyl Compounds. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6974-6977.
29. Katsuki, T.; Lee, A.W.M.; Ma, P.; Martin, V.S.; Masamune, S.; Sharpless, K.B.; Tuddenham, D.; Walker, F.J. Synthesis of Saccharides and Related Polyhydroxylated Natural Products 2 Simple Deoxyalditols. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 1378-1380.
30. Wong, O.A.; Shi, Y. Organocatalytic Oxidation. Asymmetric Epoxidation of Olefins Catalyzed by Chiral Ketones and Iminium Salts. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3958-3987.
31. Shu, L.; Shi, Y. An Efficient Ketone-catalyzed Asymmetric Epoxidation using Hydrogen peroxide (H₂O₂) as Primary Oxidant. *Tetrahedron*. **2001**, *57*, 5213-5218.
32. กัทธเกียรติ แสนคงสุข. รายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัย พิธีโรลิตินิลเพปไทด์นิวคลีอิกแอซิดที่มีตัวเชื่อมเป็นกรดเบต้าอะมิโนที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ. **2013**.
33. กัทธเกียรติ แสนคงสุข. รายงานความก้าวหน้างานวิจัย โครงการวิจัยปริญญาบัตรชนิด 2. **2013**.

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

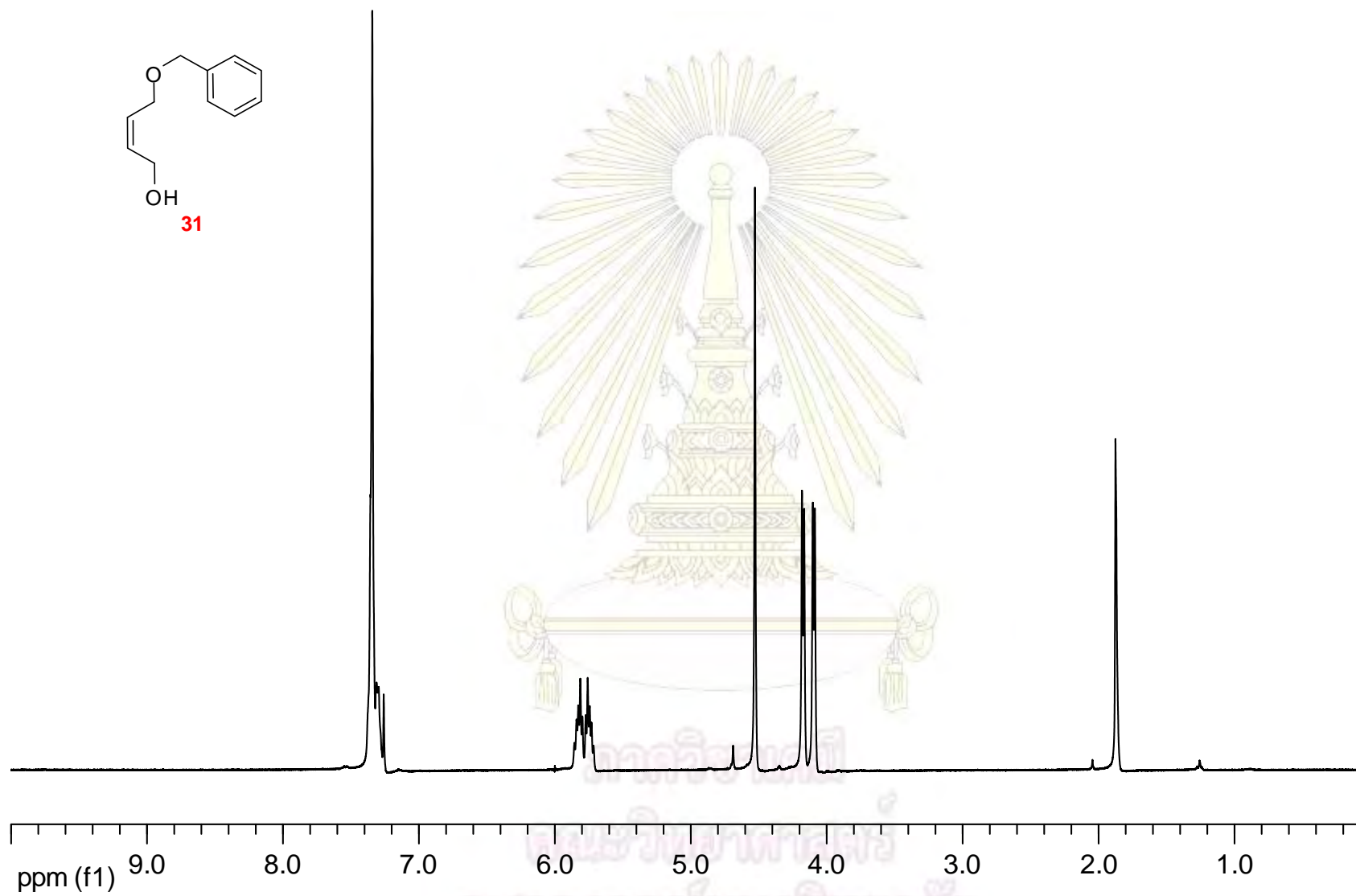


ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

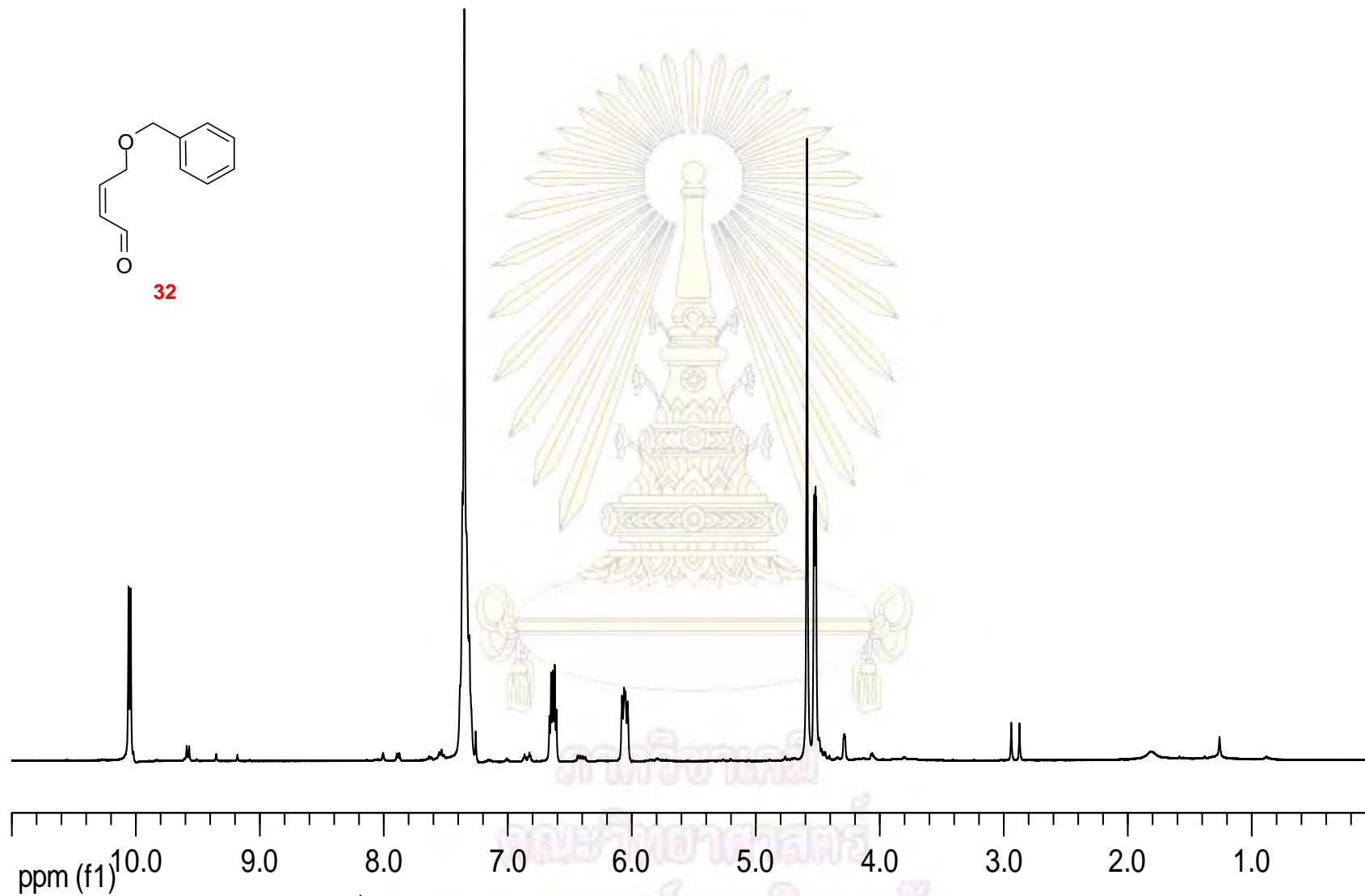
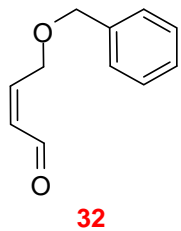
ภาคผนวก A



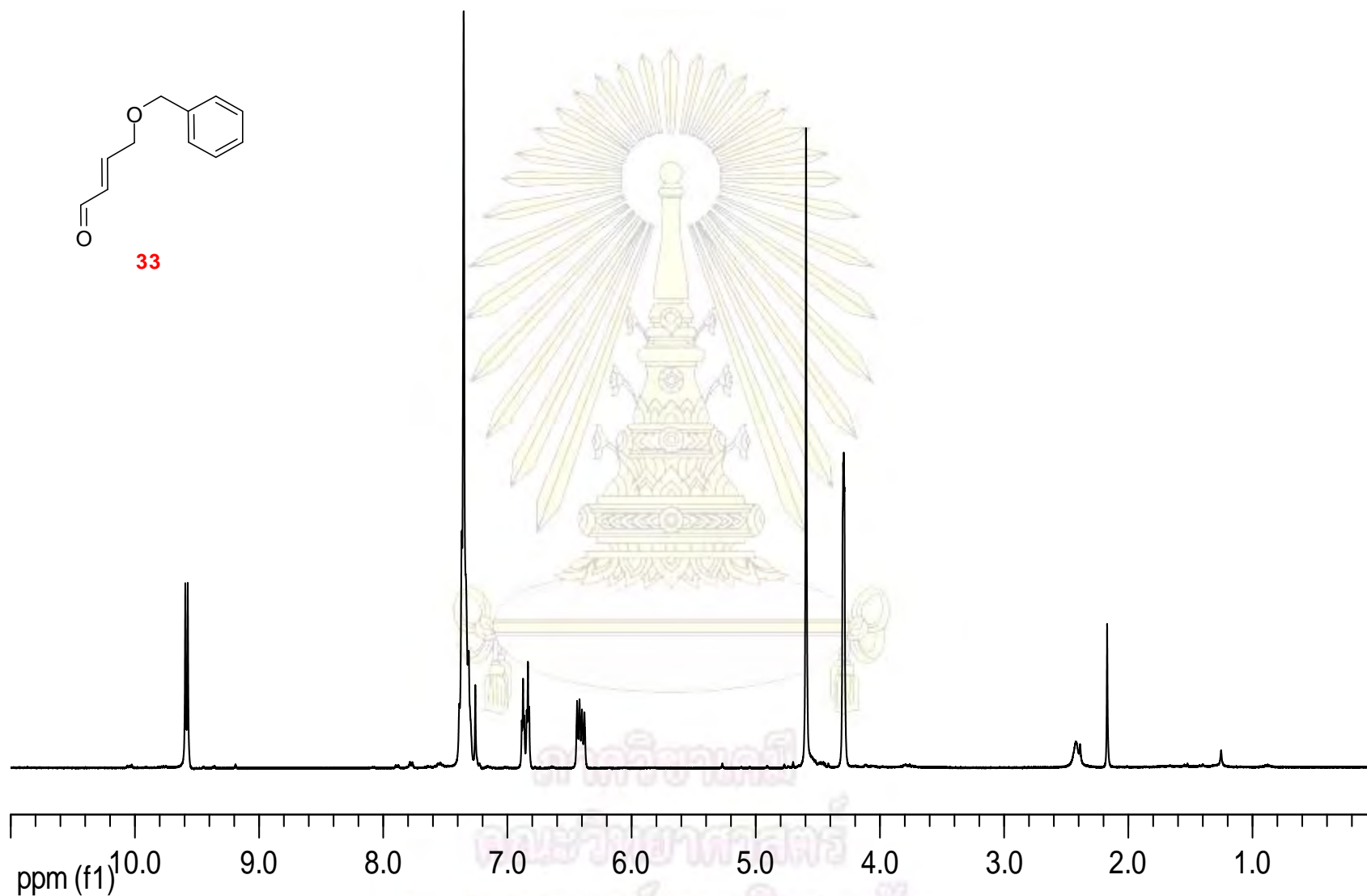
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



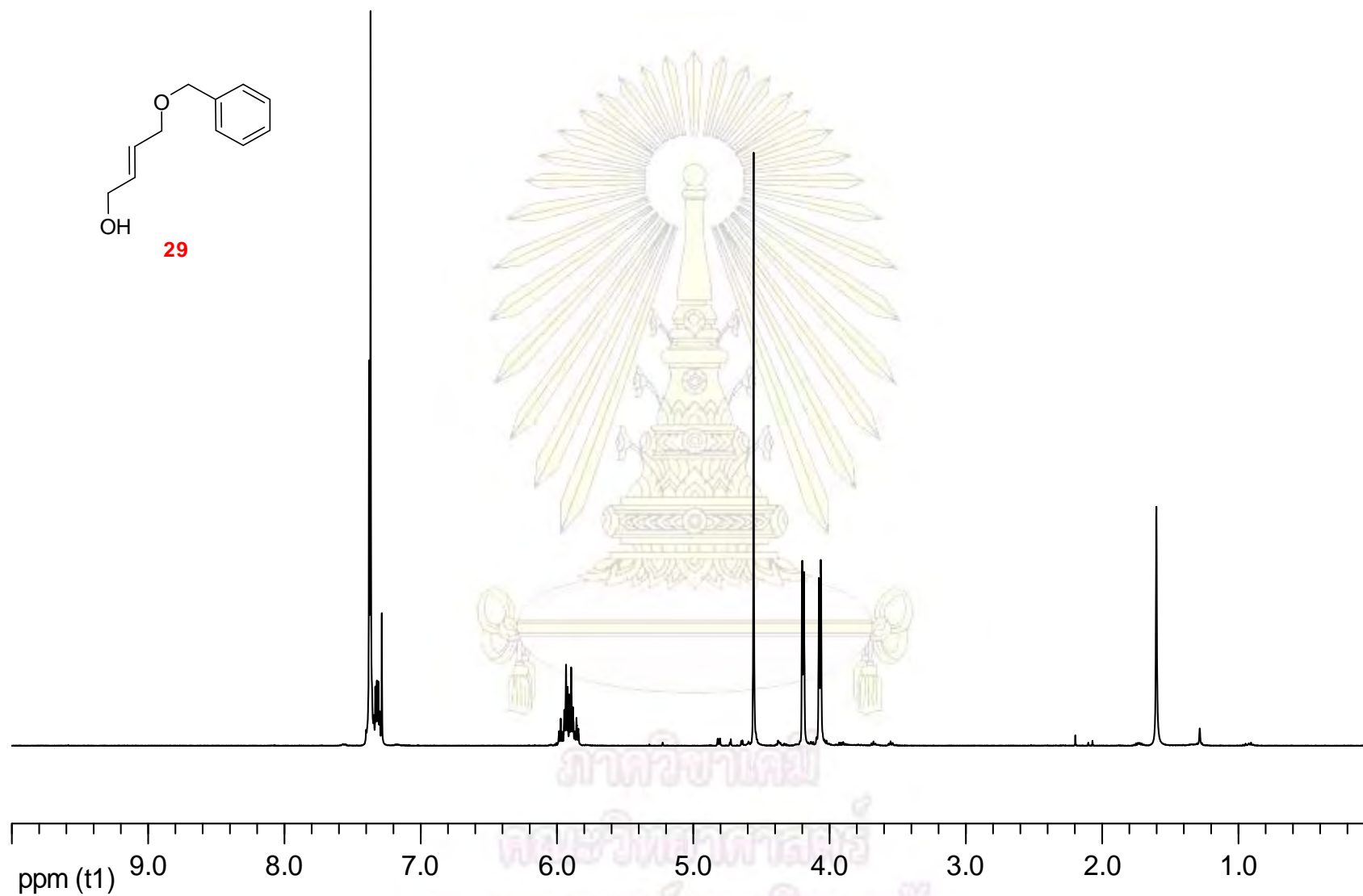
รูปที่ A-1 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ (Z)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (31)



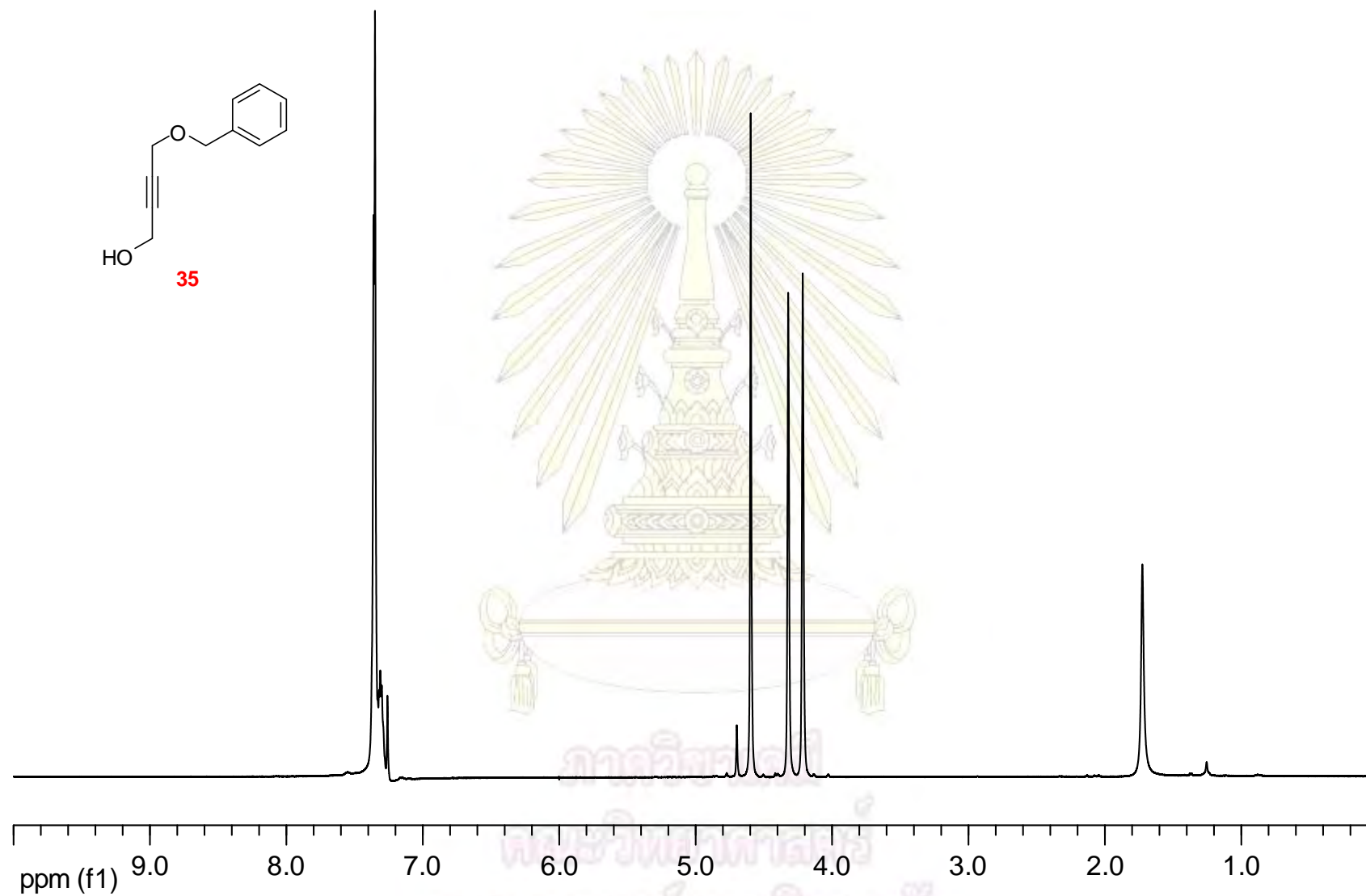
รูปที่ A-2 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ (Z)-4-(benzyloxy)but-2-enal (32)



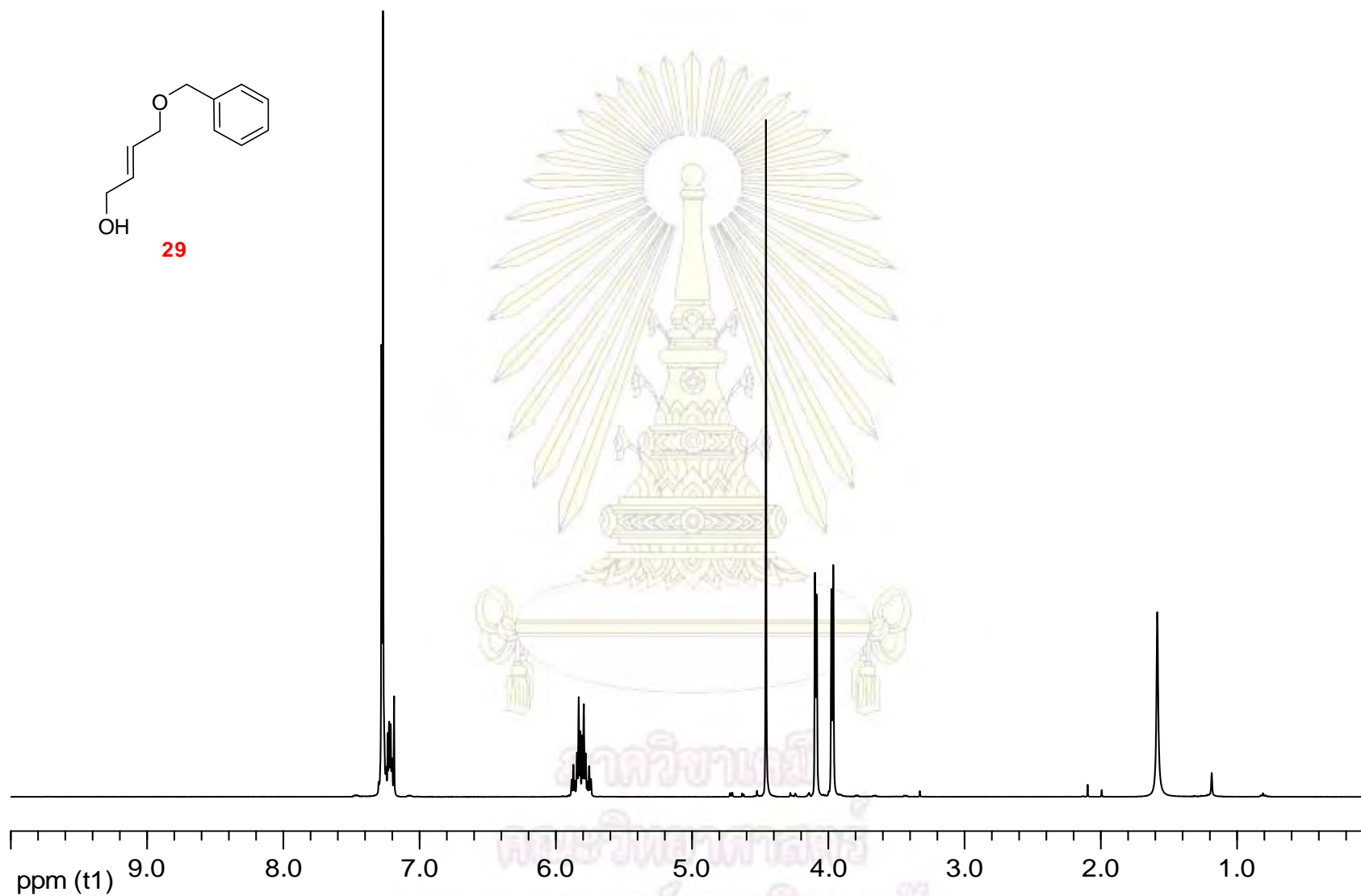
รูปที่ A-3 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-enal (33) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก (Z)-but-2-ene-1,4-diol (30)



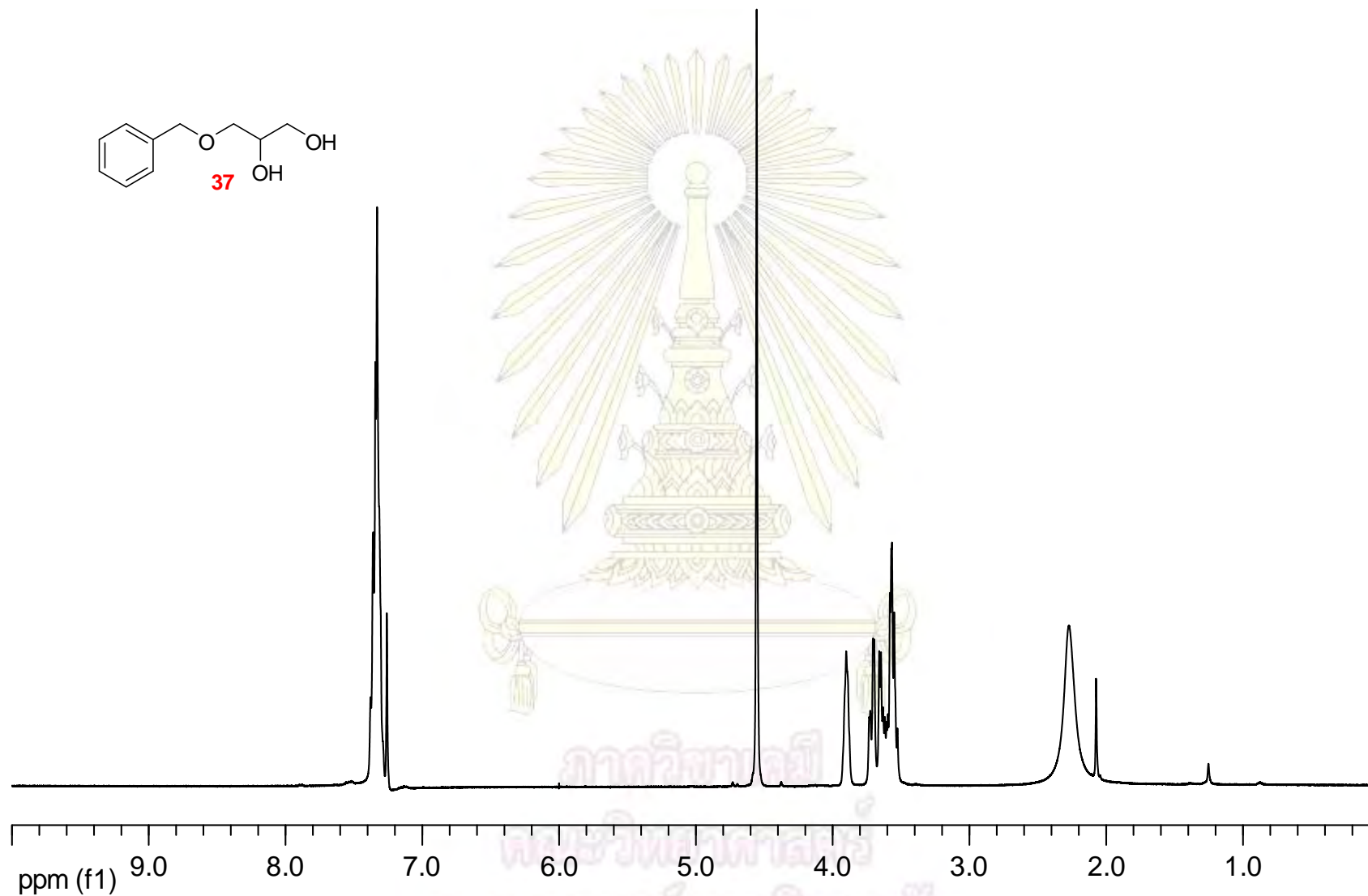
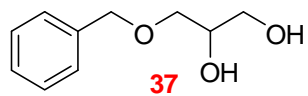
รูปที่ A-4 ¹H NMR spectrum (400 MHz, CDCl₃) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก (Z)-but-2-ene-1,4-diol (30)



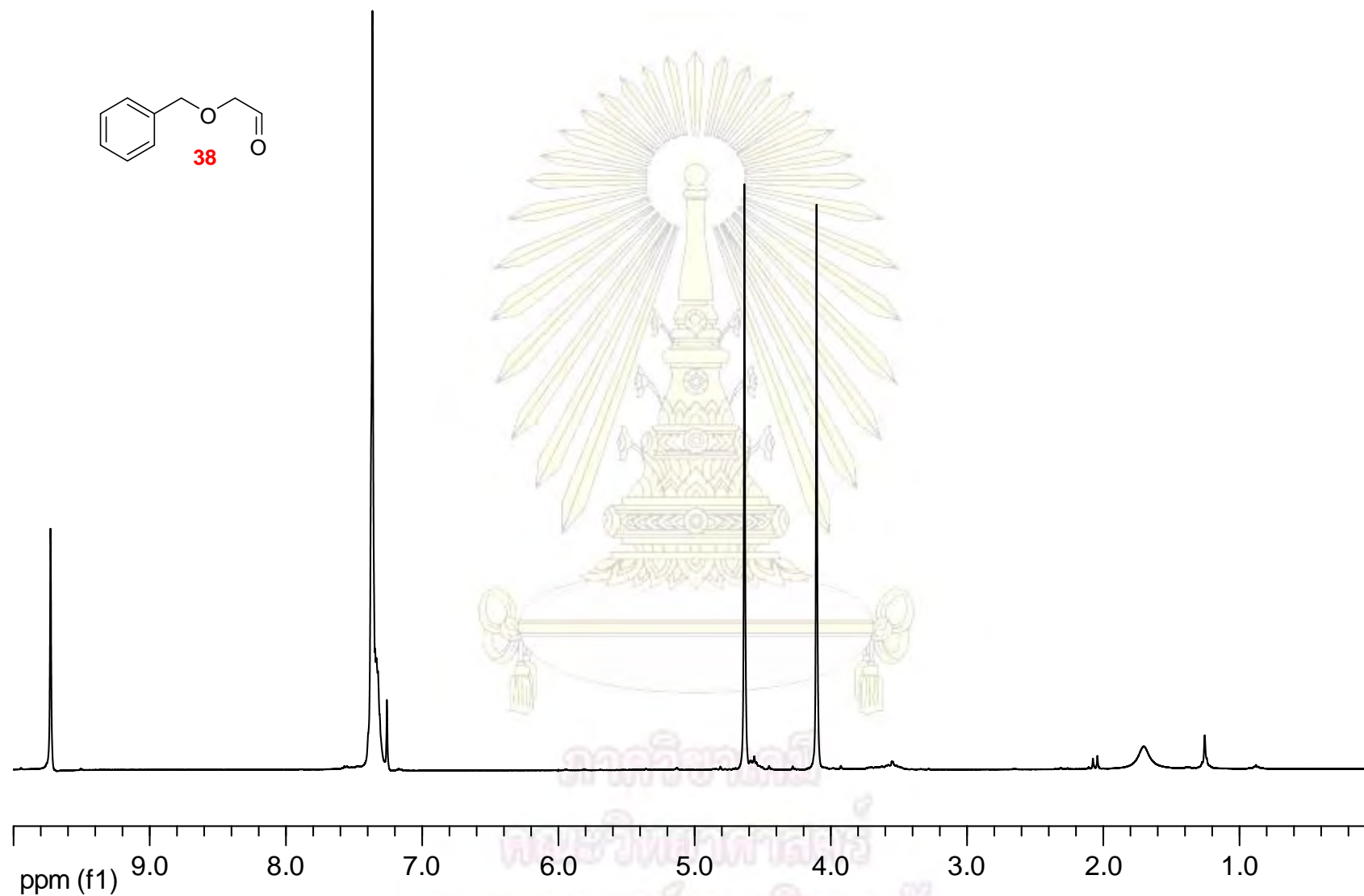
รูปที่ A-5 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ 4-(benzyloxy)but-2-yn-1-ol (35)



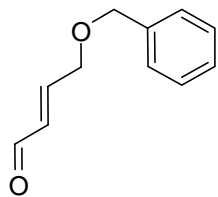
รูปที่ A-6 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก but-2-yne-1,4-diol (34)



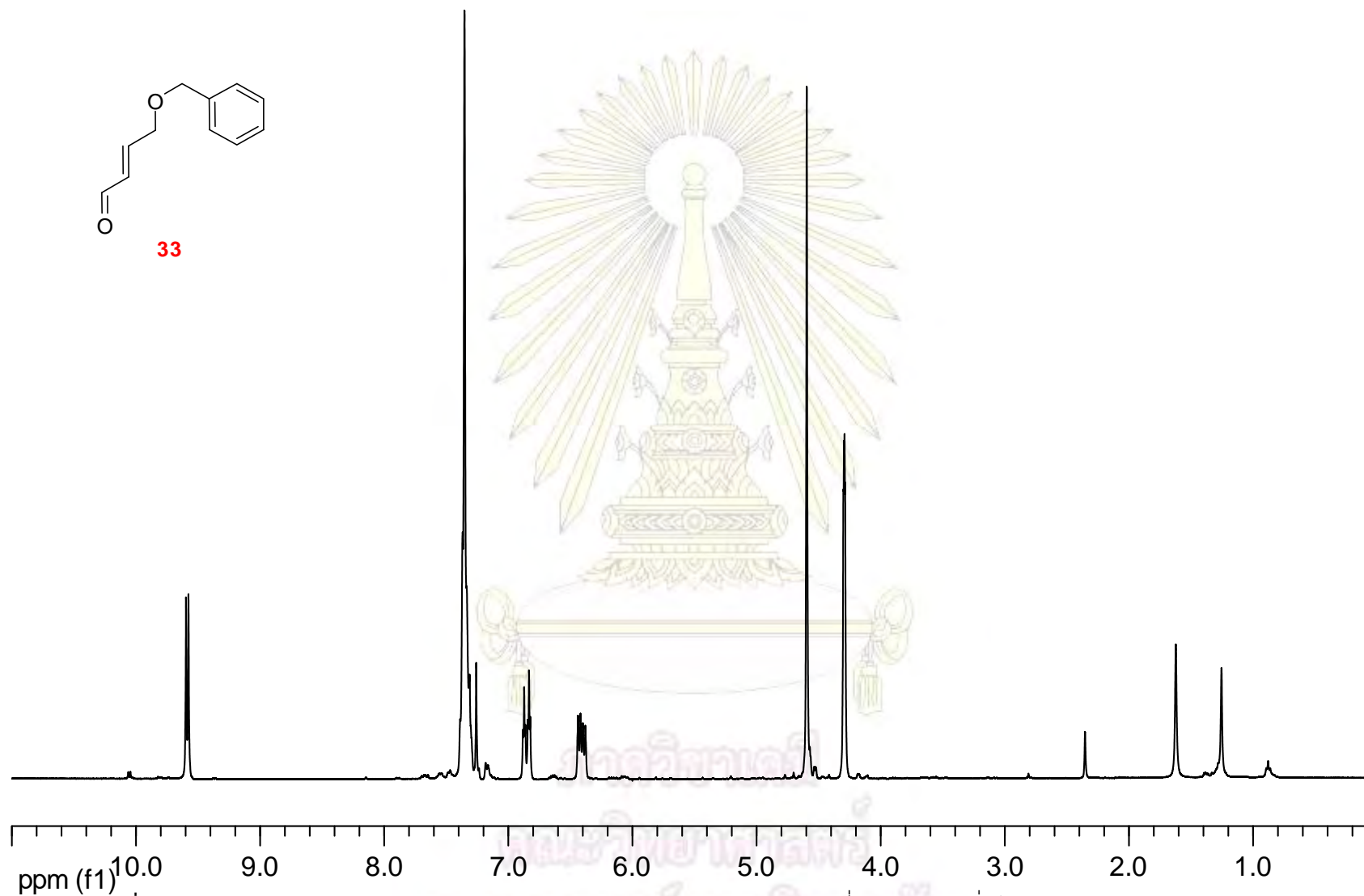
รูปที่ A-7 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ 3-(benzyloxy)propane-1,2-diol (37)



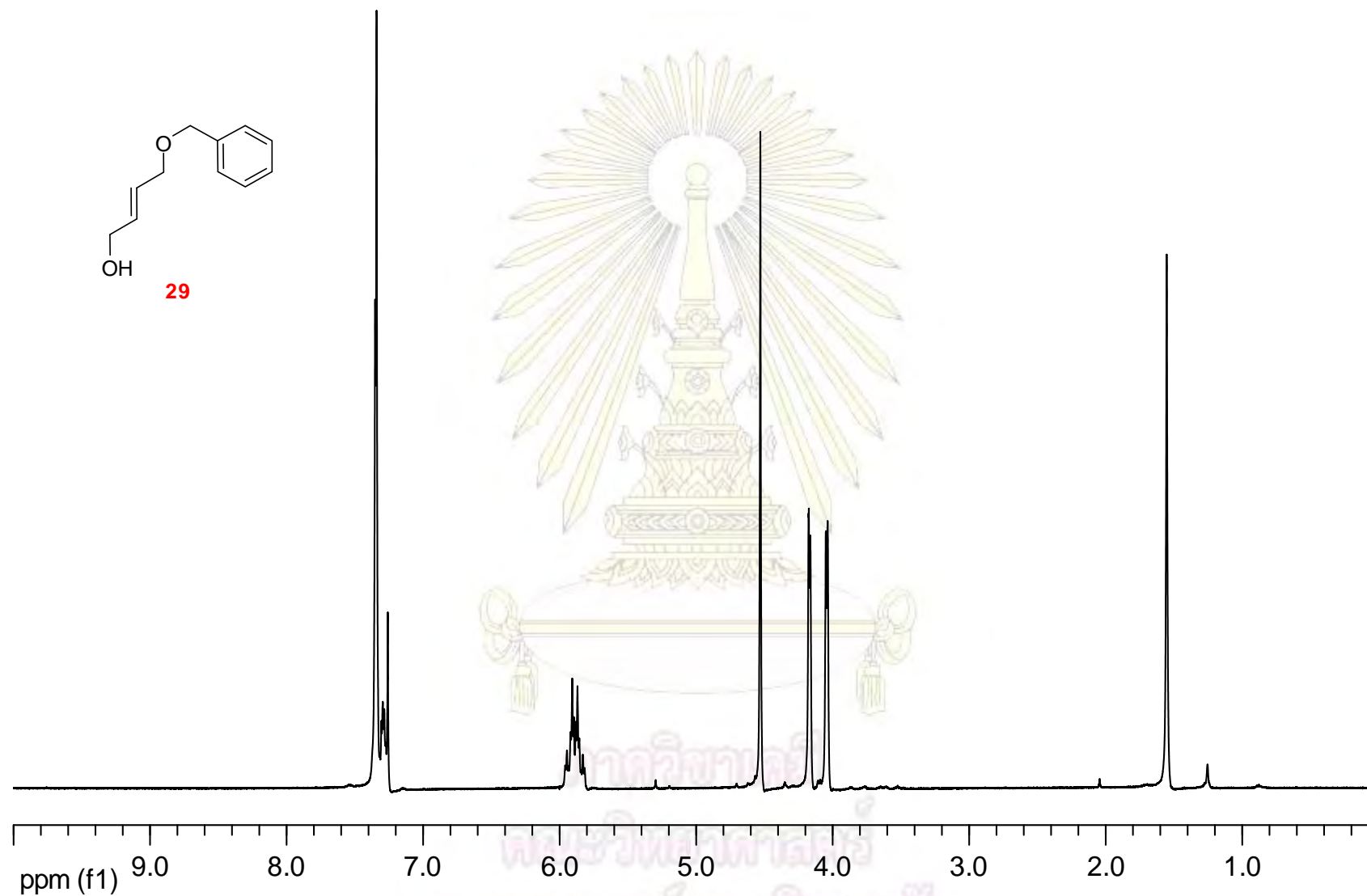
รูปที่ A-8 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ 2-(benzyloxy)acetaldehyde (38)



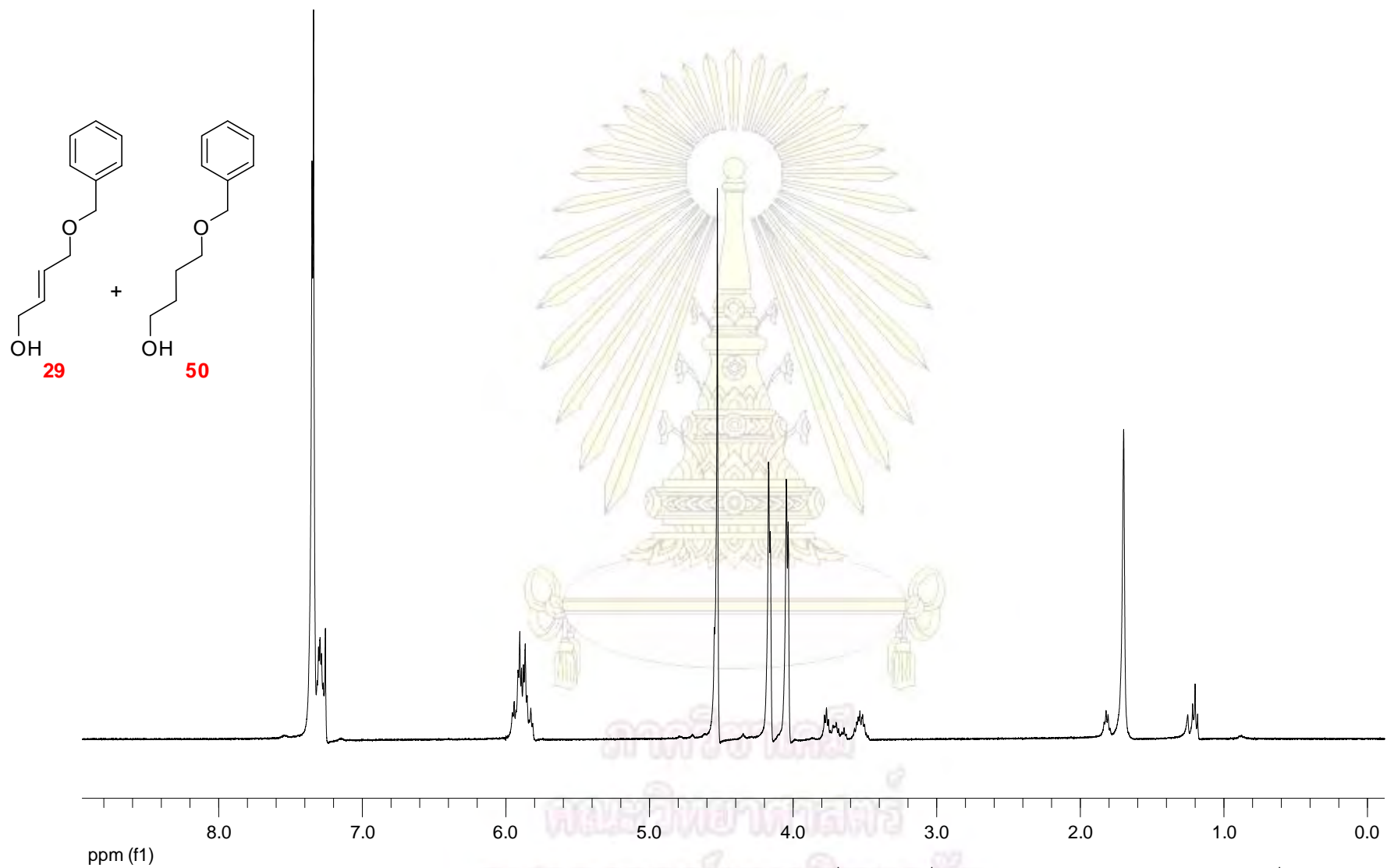
33



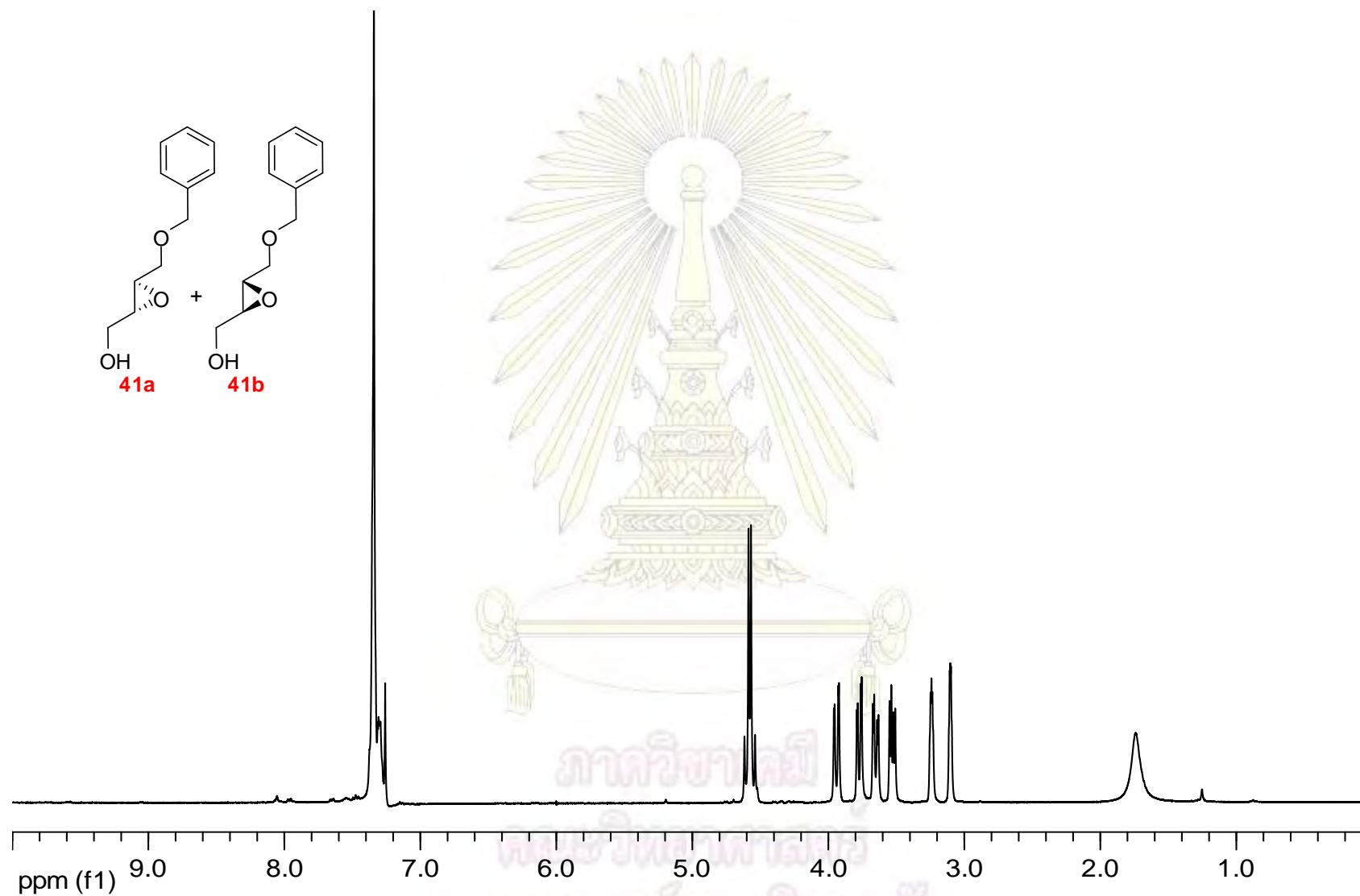
รูปที่ A-9 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ (*E*)-4-(benzyloxy)but-2-enal (33) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก benzyl glycidyl ether (36)



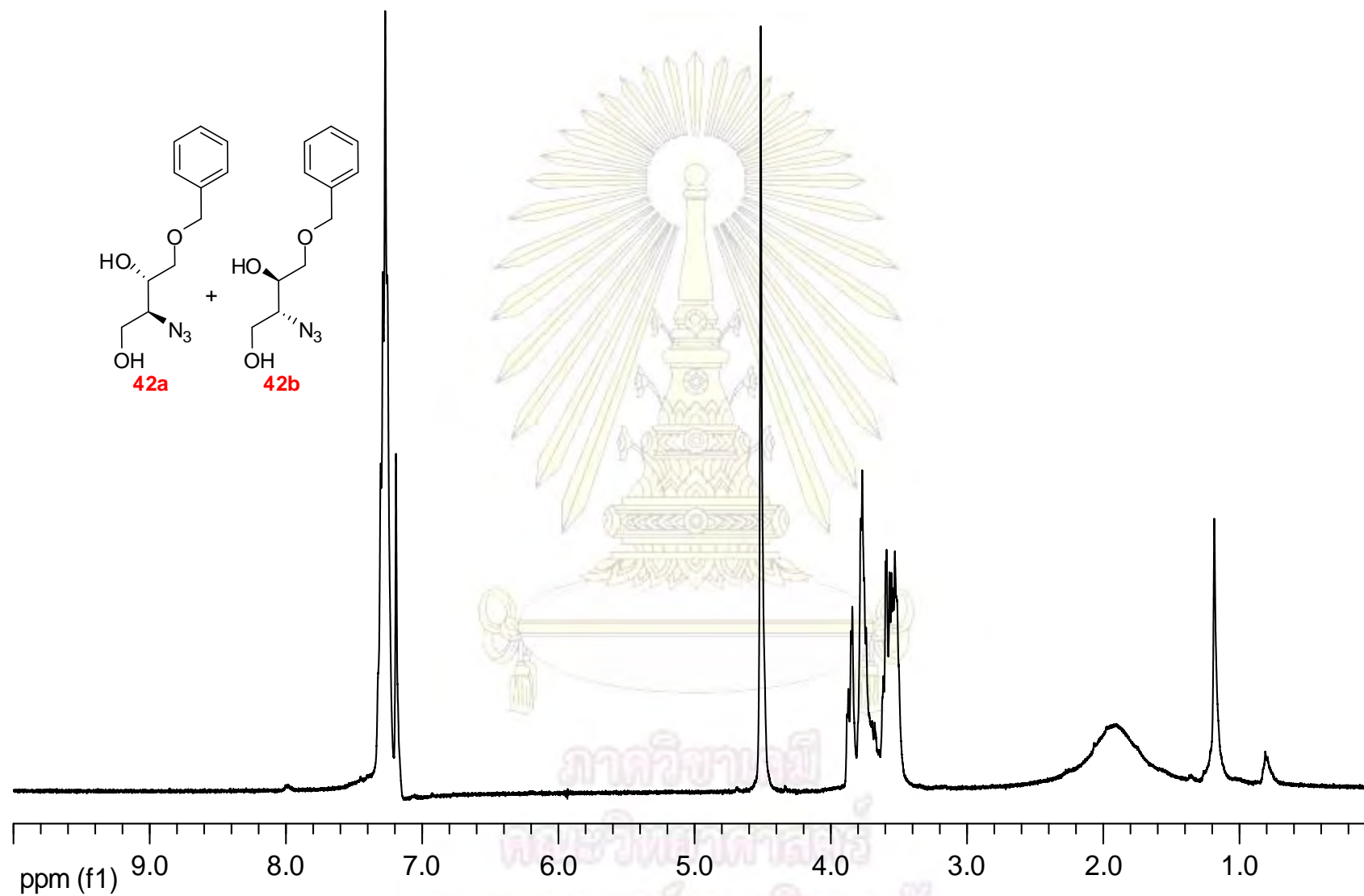
รูปที่ A-10 ¹H NMR spectrum (400 MHz, CDCl₃) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) ที่สังเคราะห์โดยเริ่มต้นจาก benzyl glycidyl ether (36)



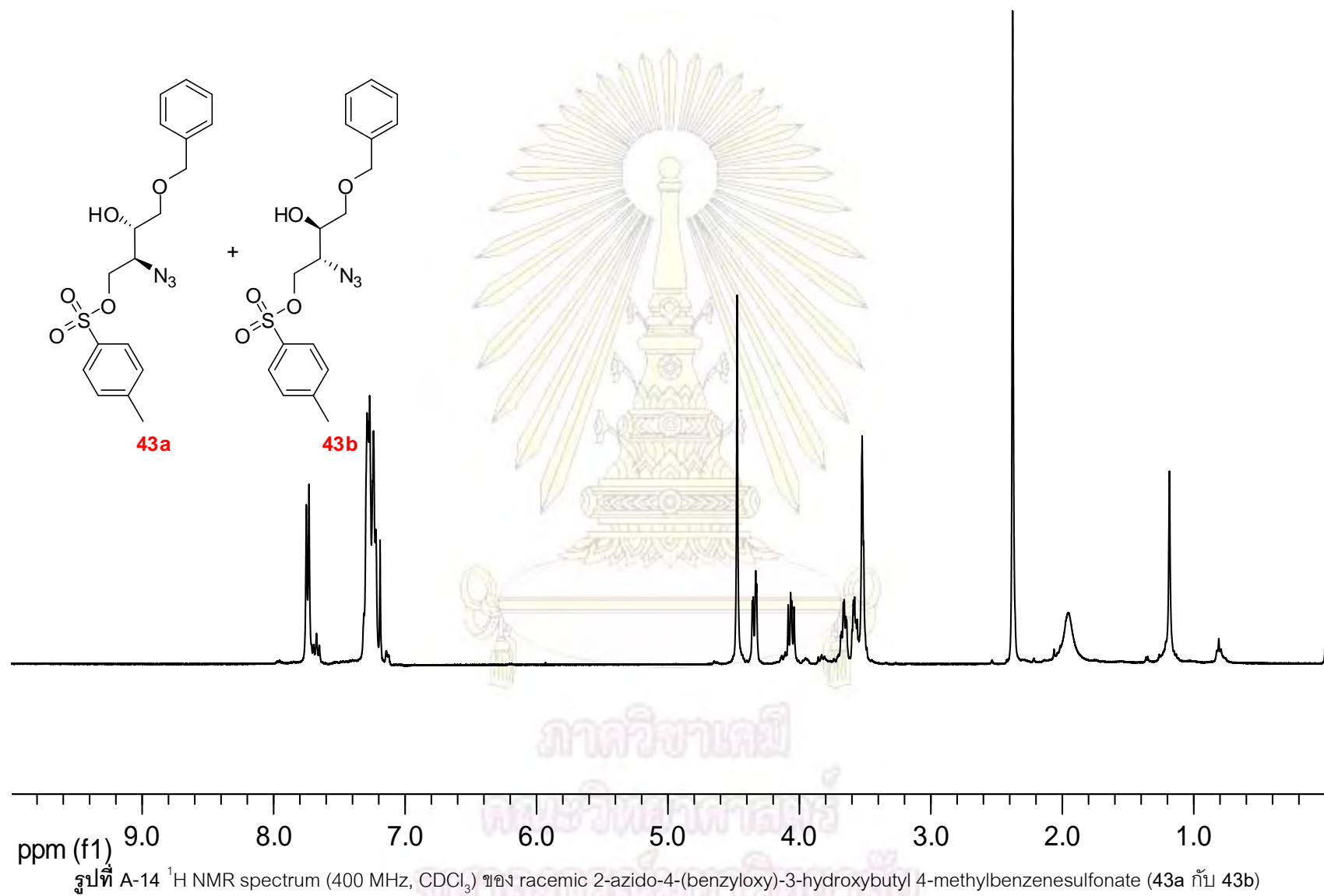
รูปที่ A-11 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ (E)-4-(benzyloxy)but-2-en-1-ol (29) ที่สังเคราะห์ที่สังเคราะห์จากปฏิกิริยา NaBH_4 reduction ที่อุณหภูมิห้อง

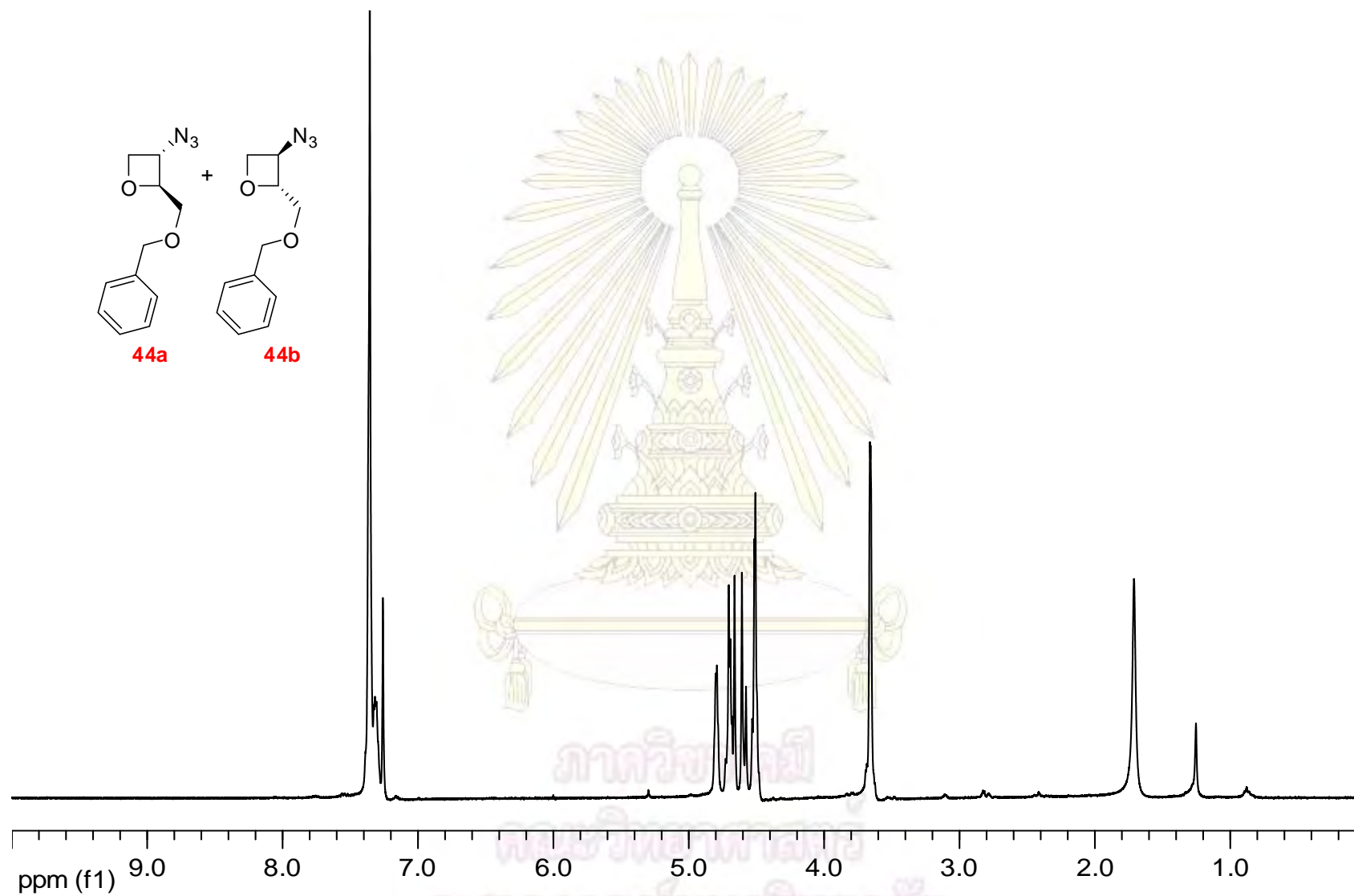


รูปที่ A-12 ¹H NMR spectrum (400 MHz, CDCl₃) ของ racemic (3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a กับ 41b)

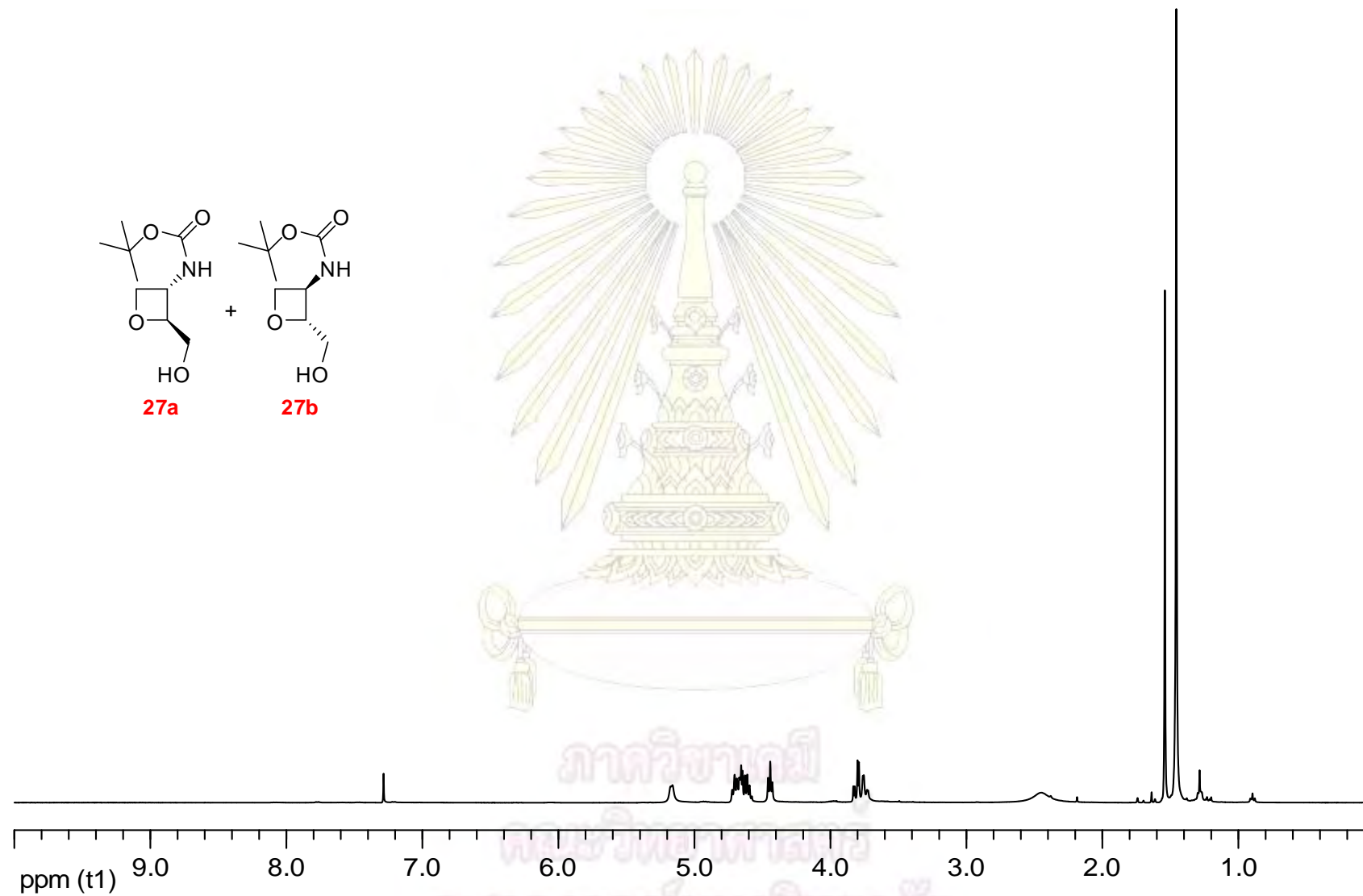


รูปที่ A-13 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ racemic 2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a กับ 42b)

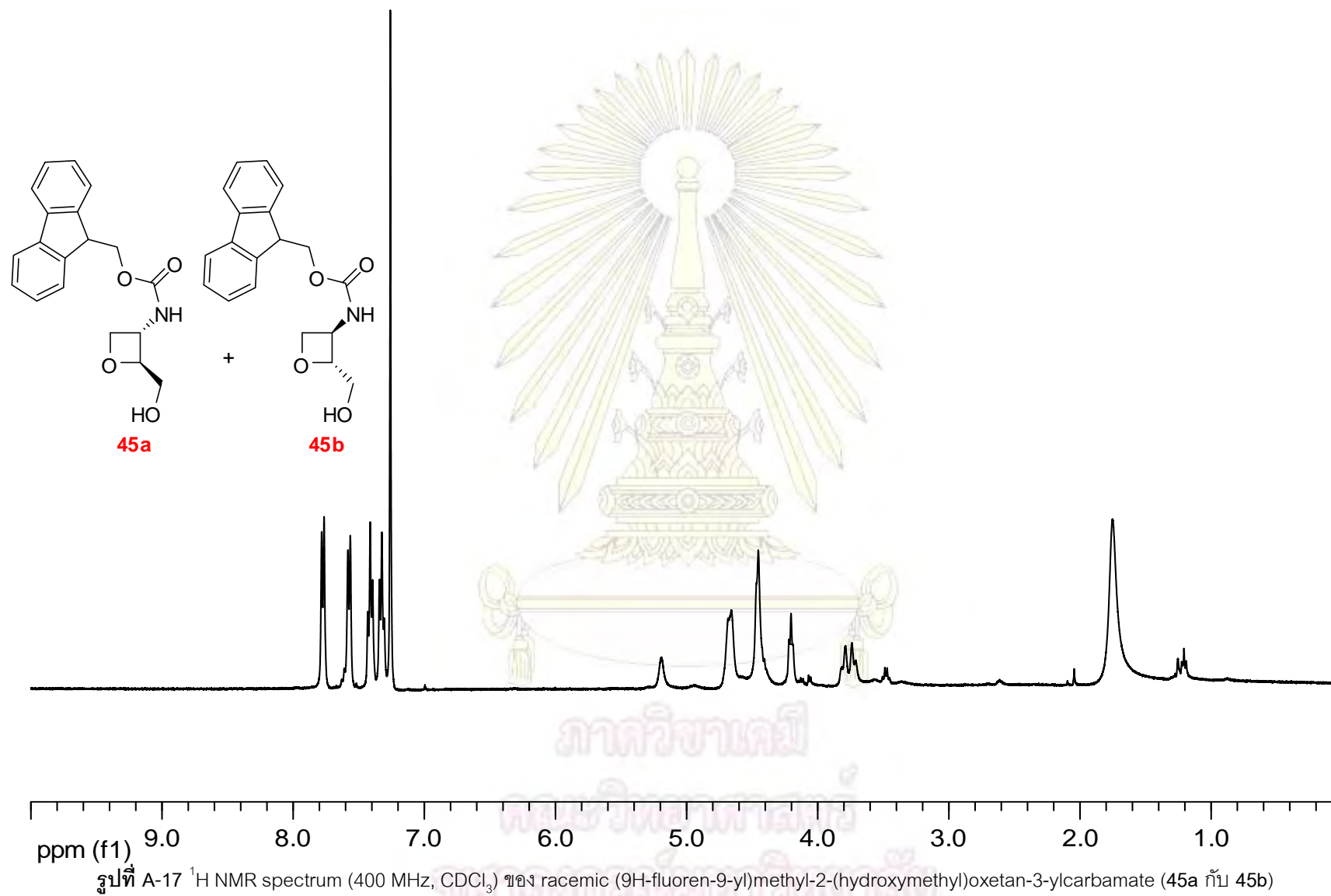


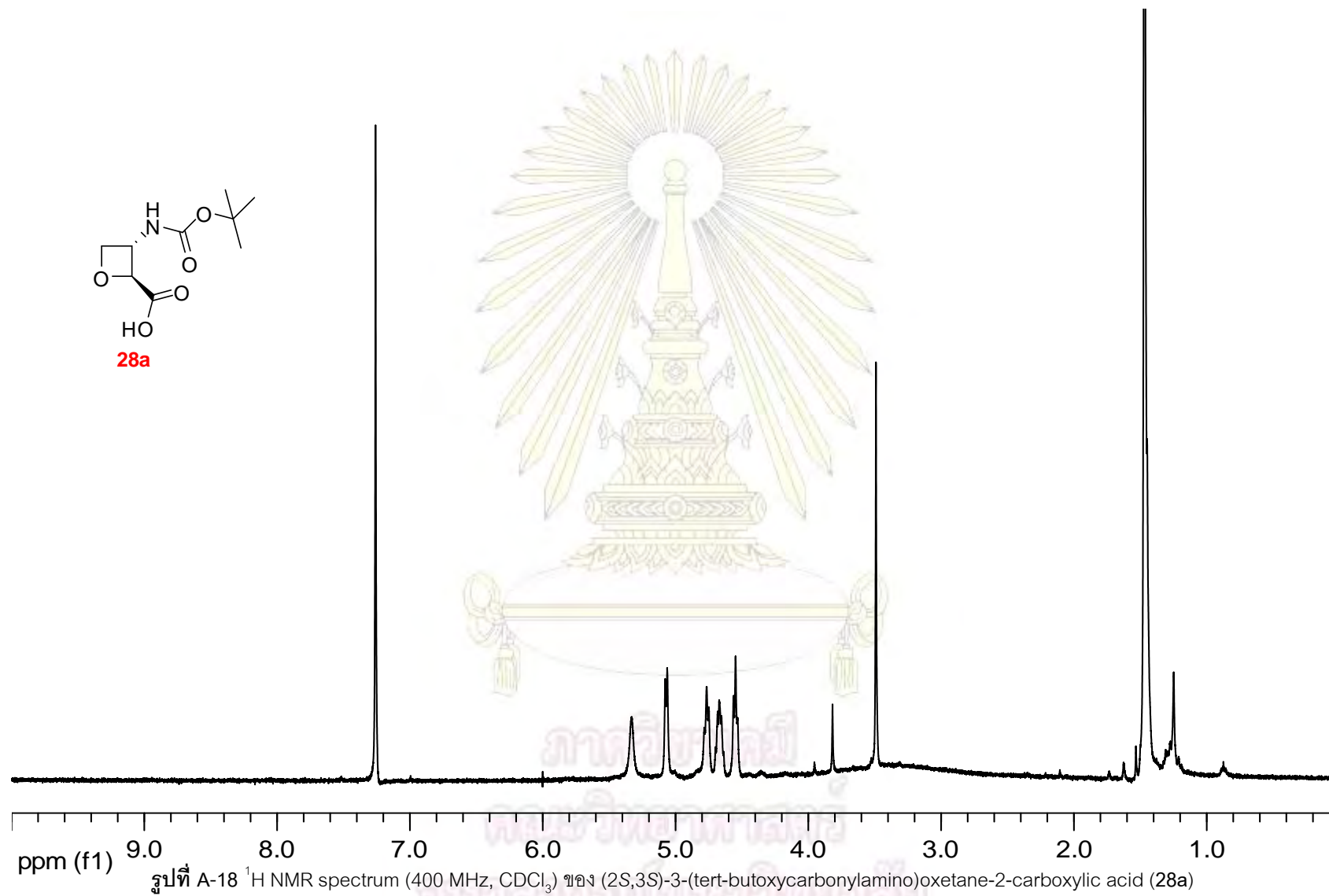
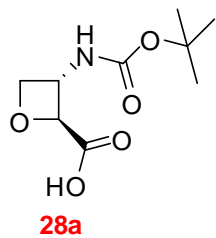


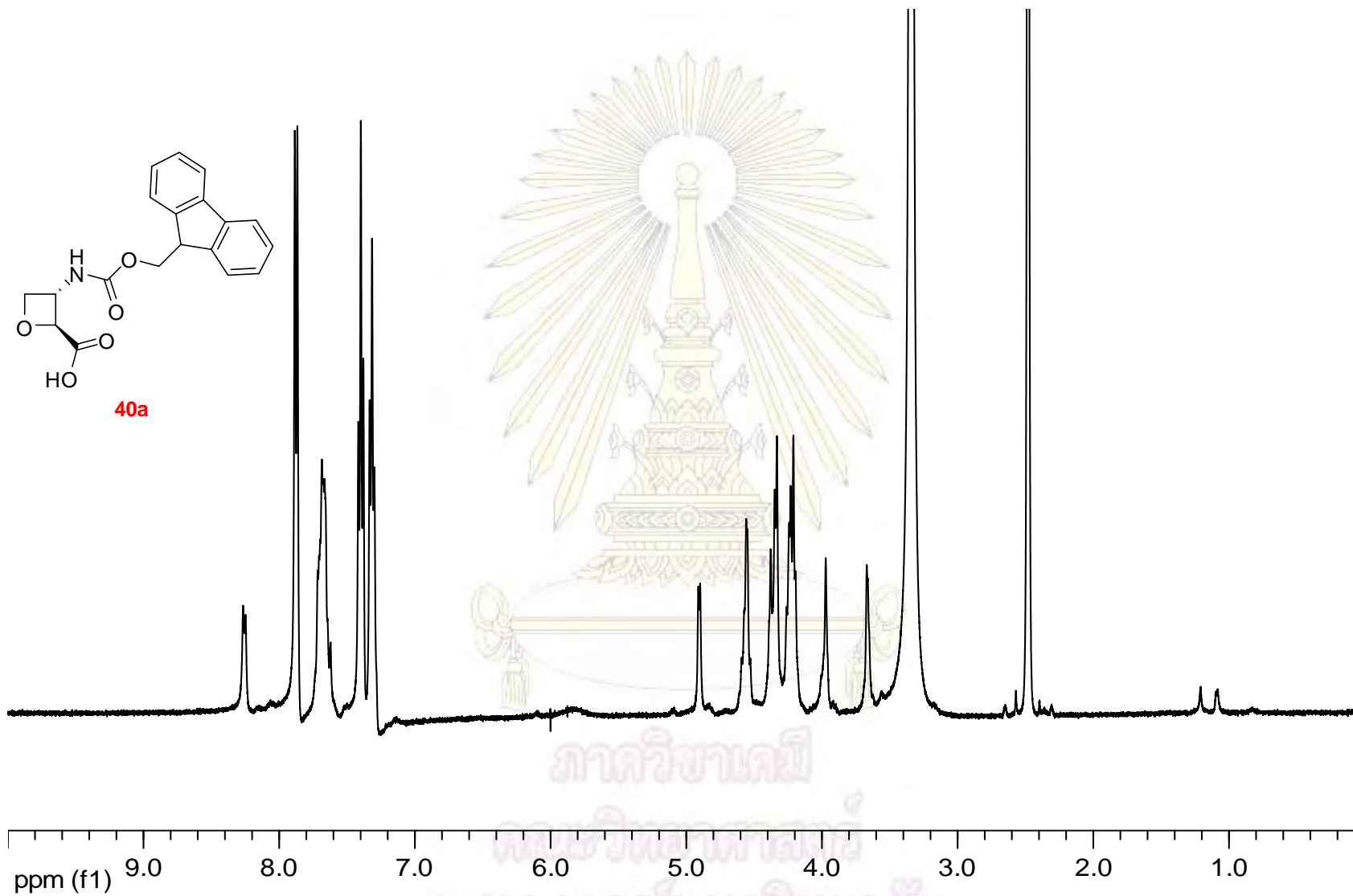
รูปที่ A-15 ¹H NMR spectrum (400 MHz, CDCl₃) ของ racemic 3-azido-2-(benzyloxymethyl)oxetane (44a กับ 44b)



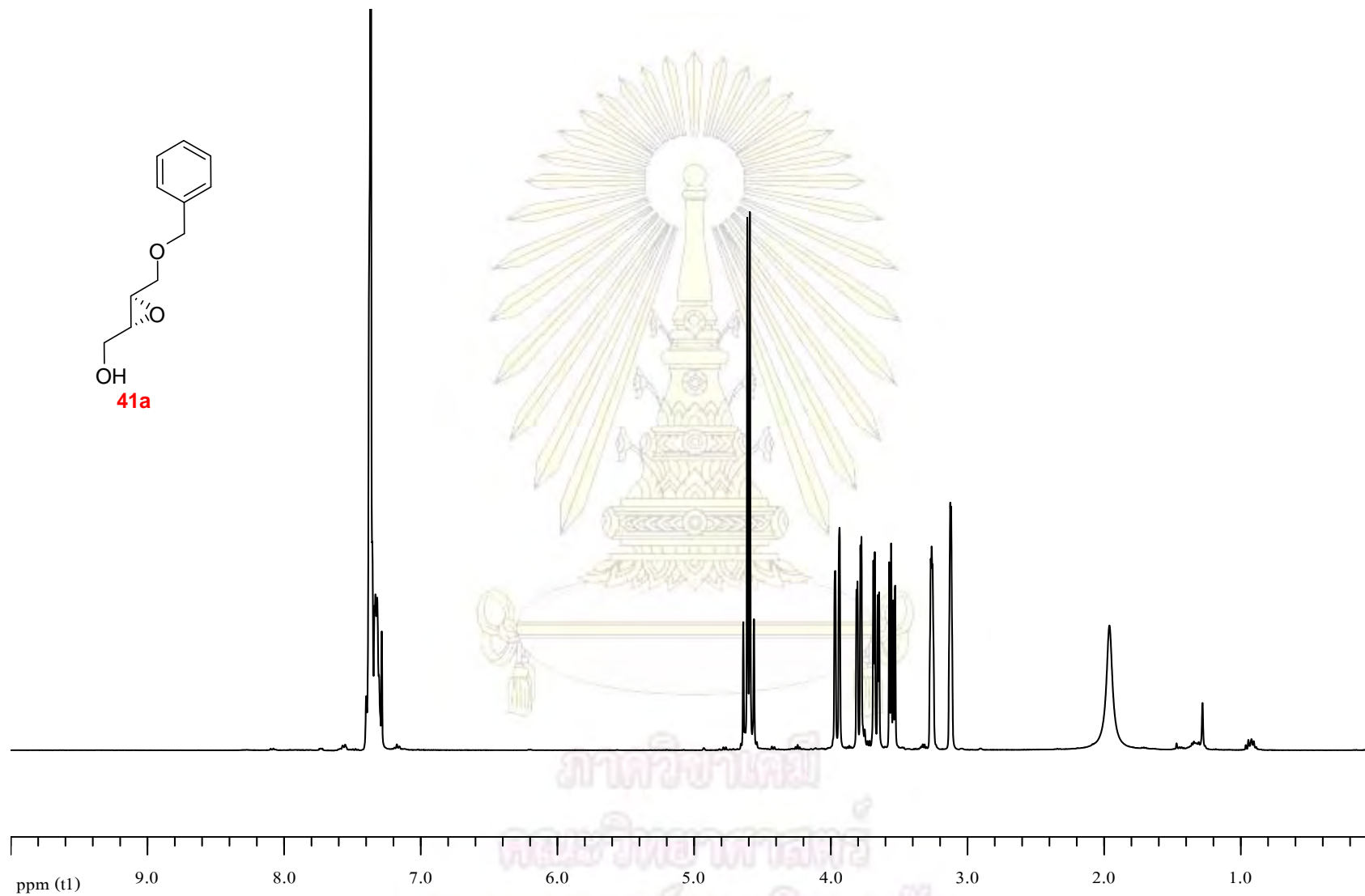
รูปที่ A-16 ¹H NMR spectrum (400 MHz, CDCl₃) ของ racemic tert-butyl-2-(hydroxymethyl)oxetan-3-ylcarbamate (27a กับ 27b)



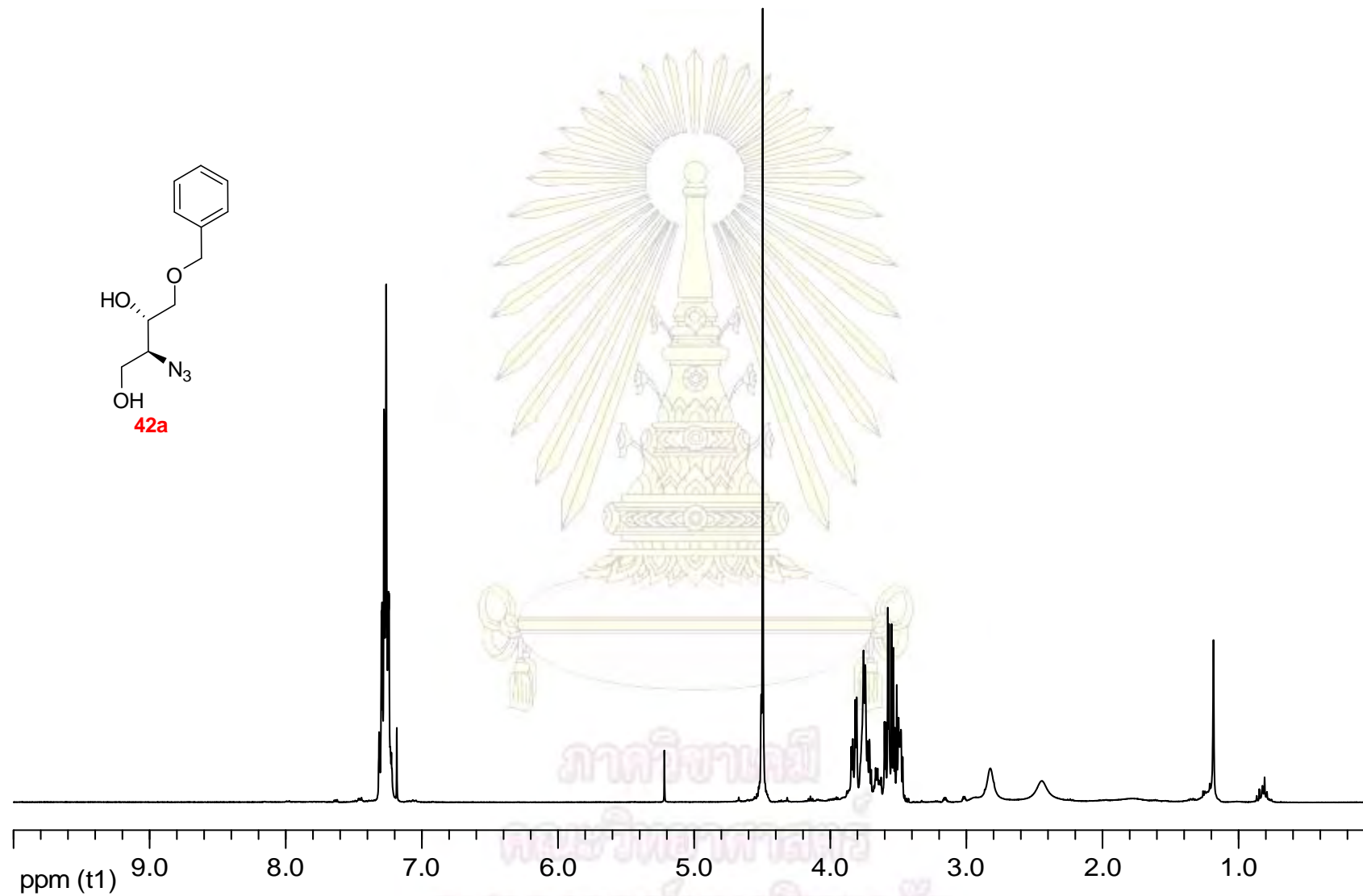




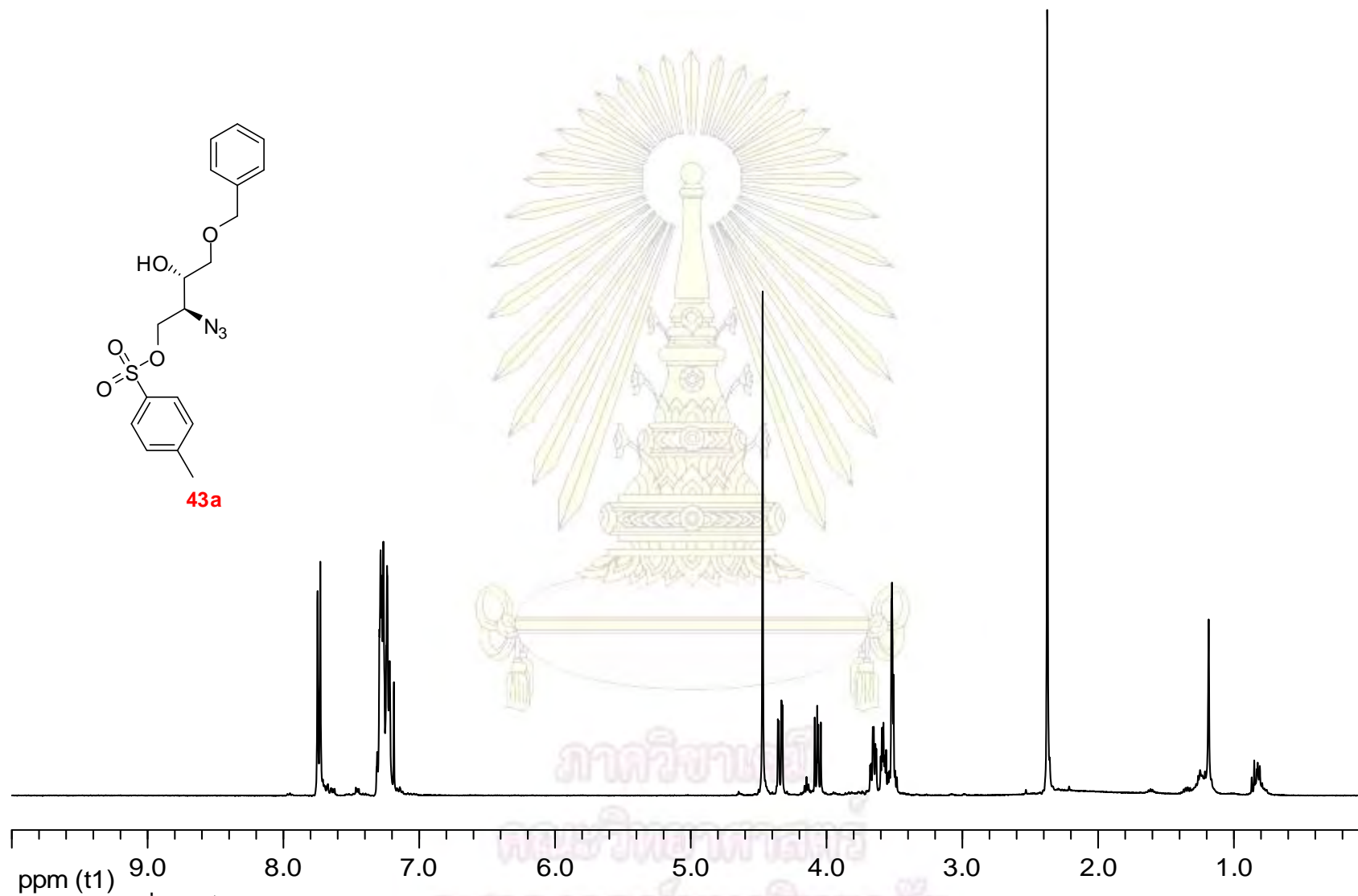
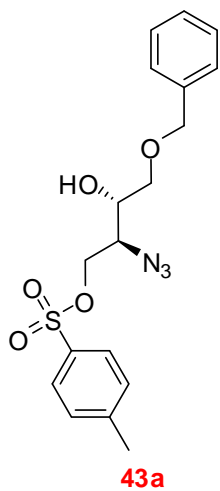
รูปที่ A-19 ¹H NMR spectrum (400 MHz, DMSO-d₆) ของ (2S,3S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonylamino)oxetane-2-carboxylic acid (40a)



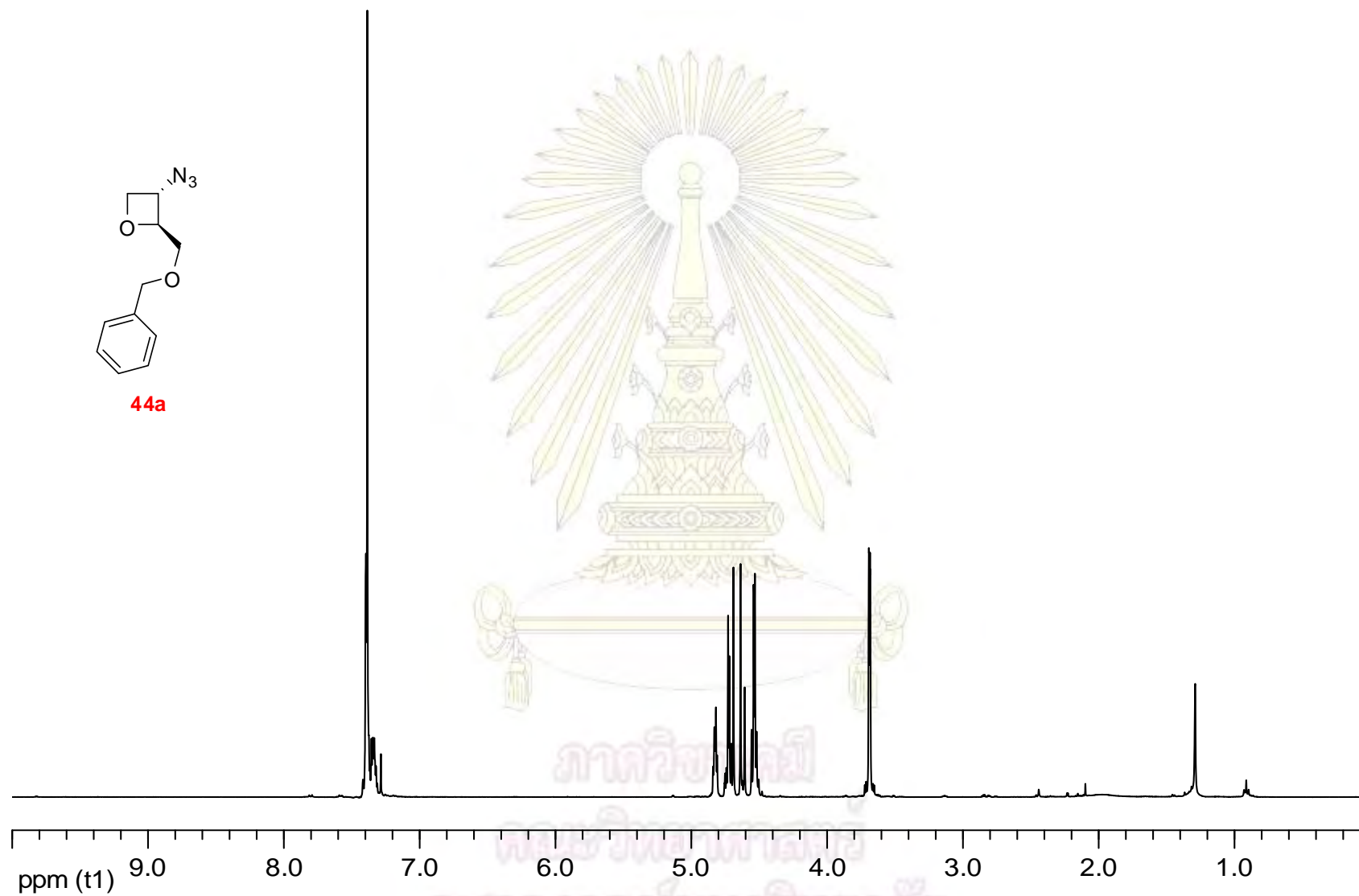
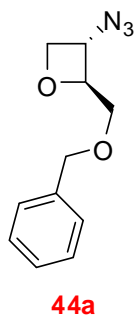
รูปที่ A-20 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (**41a**)



รูปที่ A-21 ¹H NMR spectrum (400 MHz, CDCl₃) ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a)



รูปที่ A-22 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)-3-hydroxybutyl 4-methylbenzenesulfonate (43a)

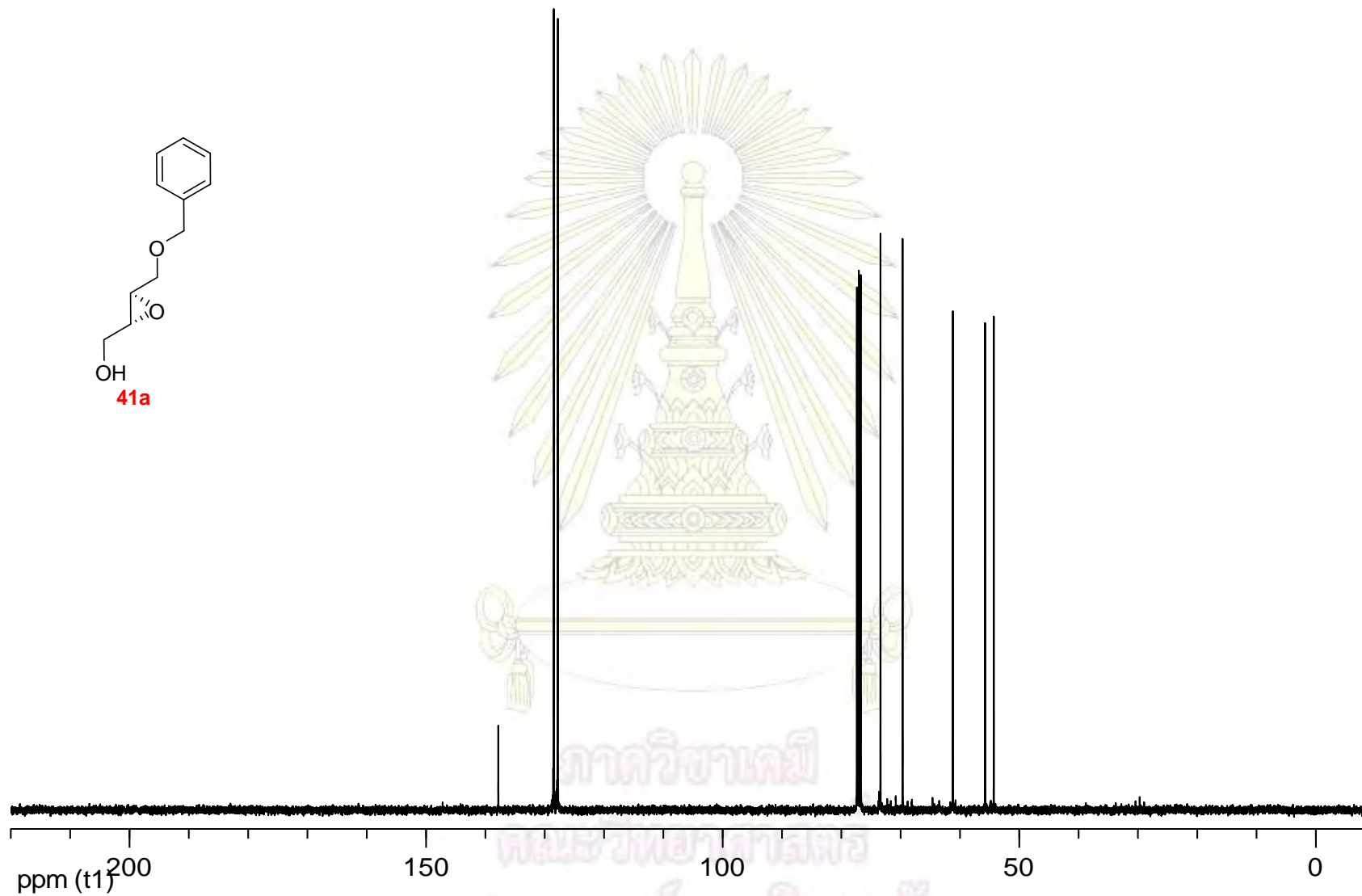
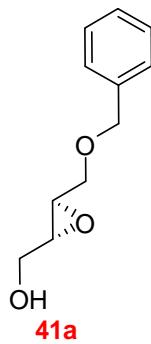


รูปที่ A-23 ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) ของ (2S,3S)-3-azido-2-(benzyloxymethyl)oxetane (44a)

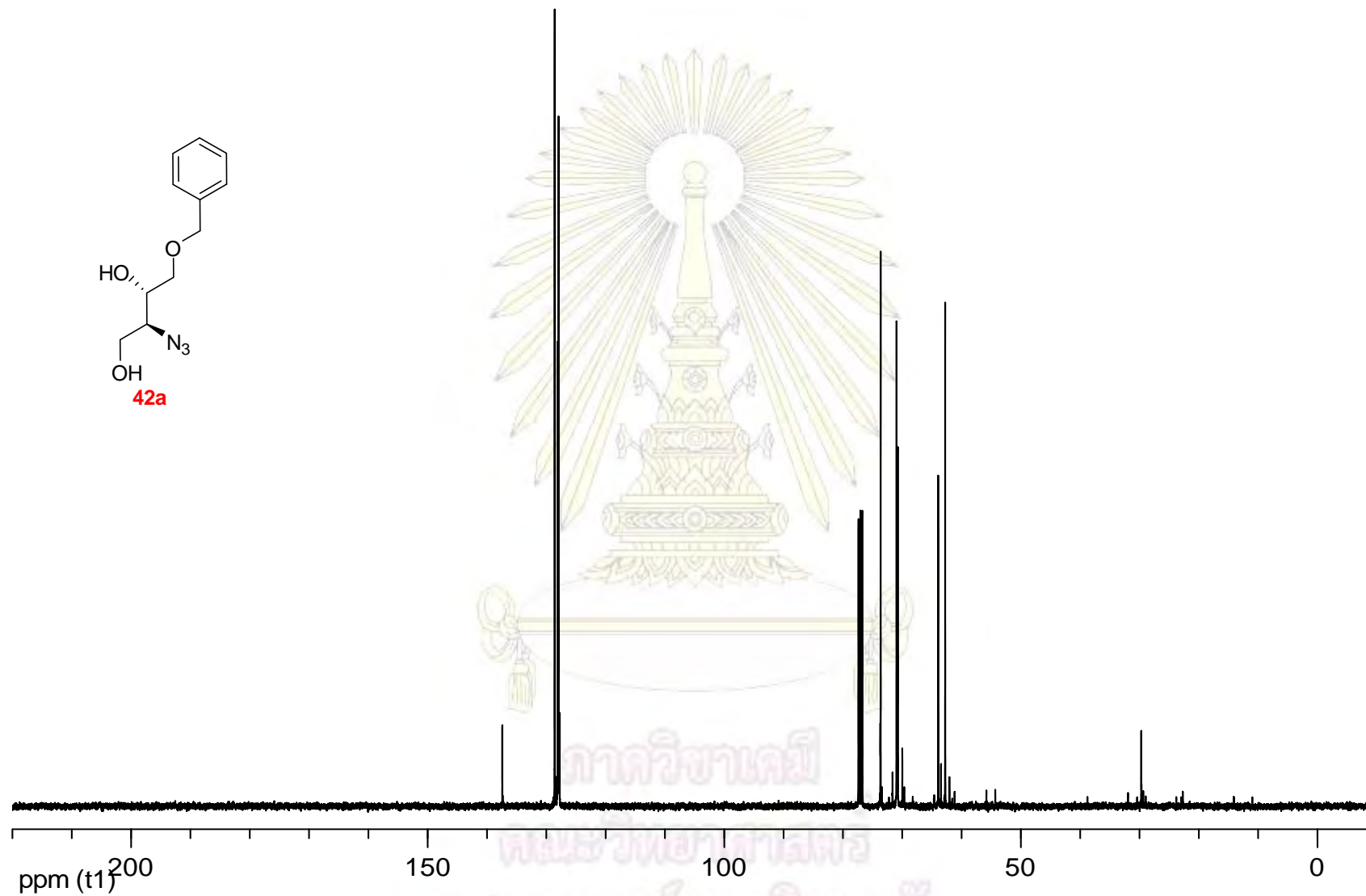
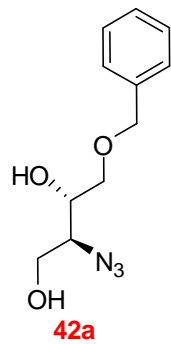
ภาคผนวก B



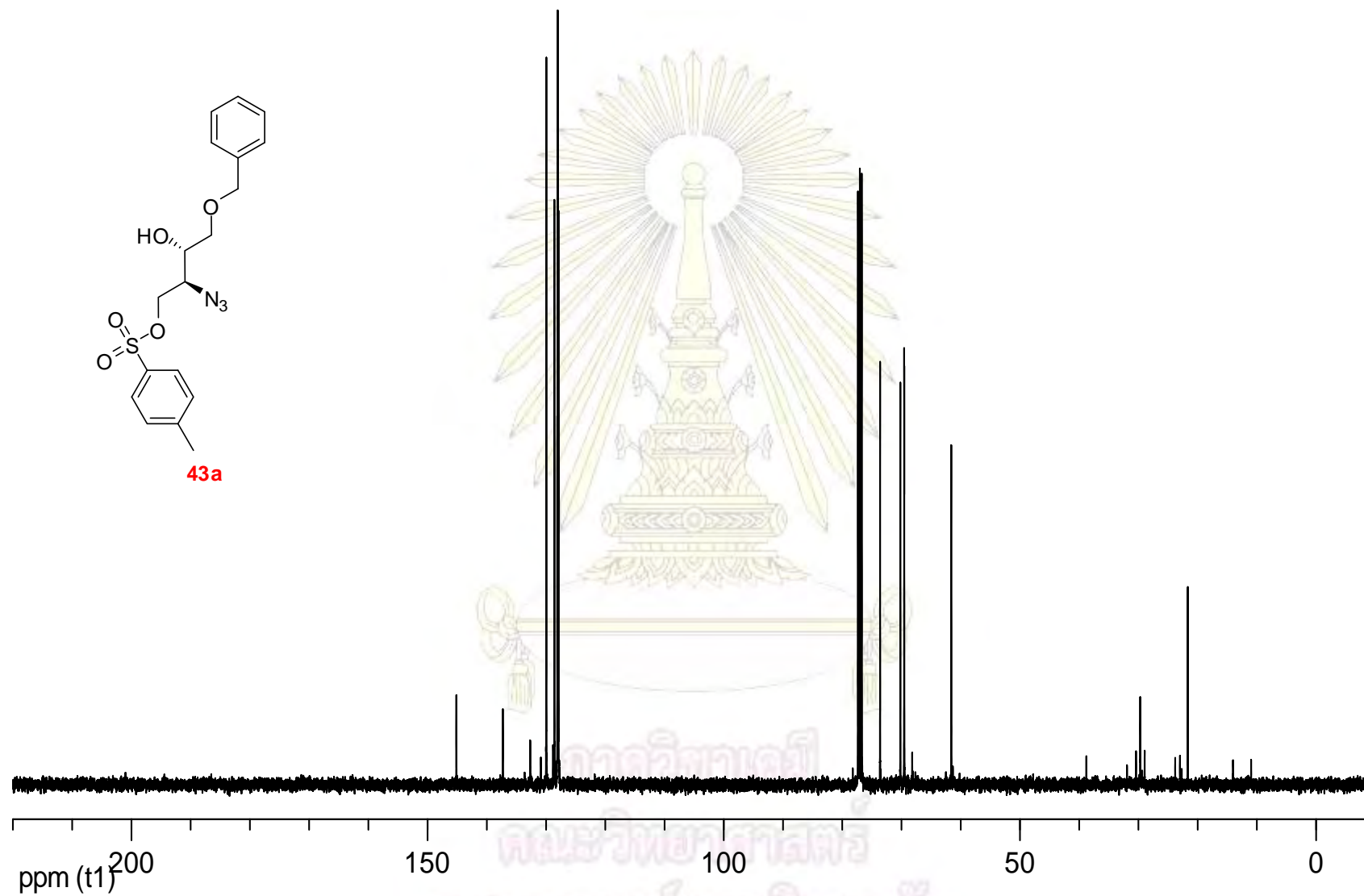
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



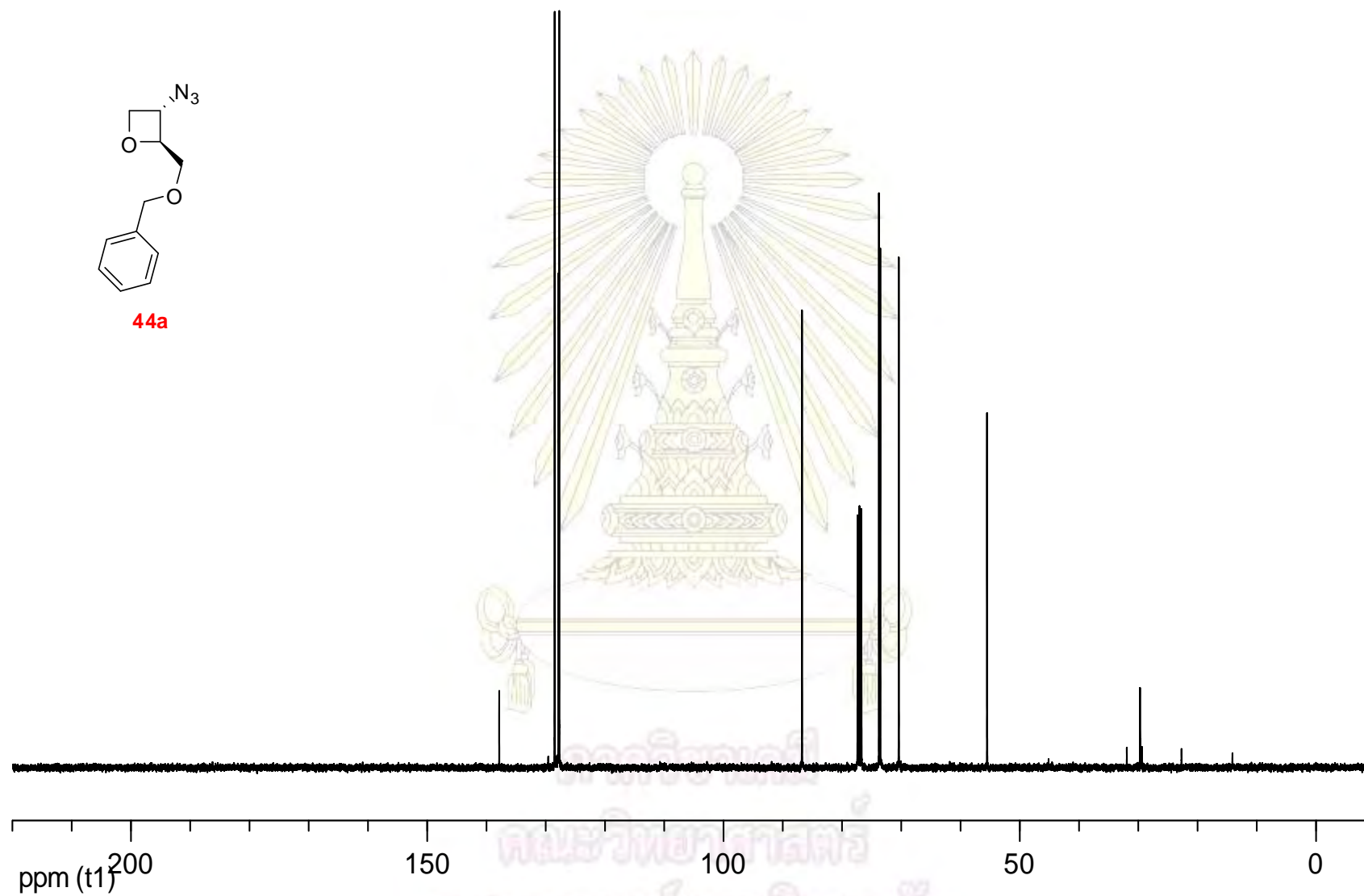
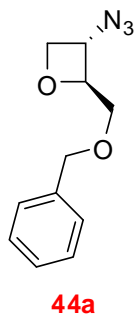
รูปที่ B-1 ^{13}C NMR spectrum (100 MHz, CDCl_3) ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a)



รูปที่ B-2 ^{13}C NMR spectrum (100 MHz, CDCl_3) ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a)



รูปที่ B-3 ^{13}C NMR spectrum (100 MHz, CDCl_3) ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)-3-hydroxybutyl 4-methylbenzenesulfonate (43a)

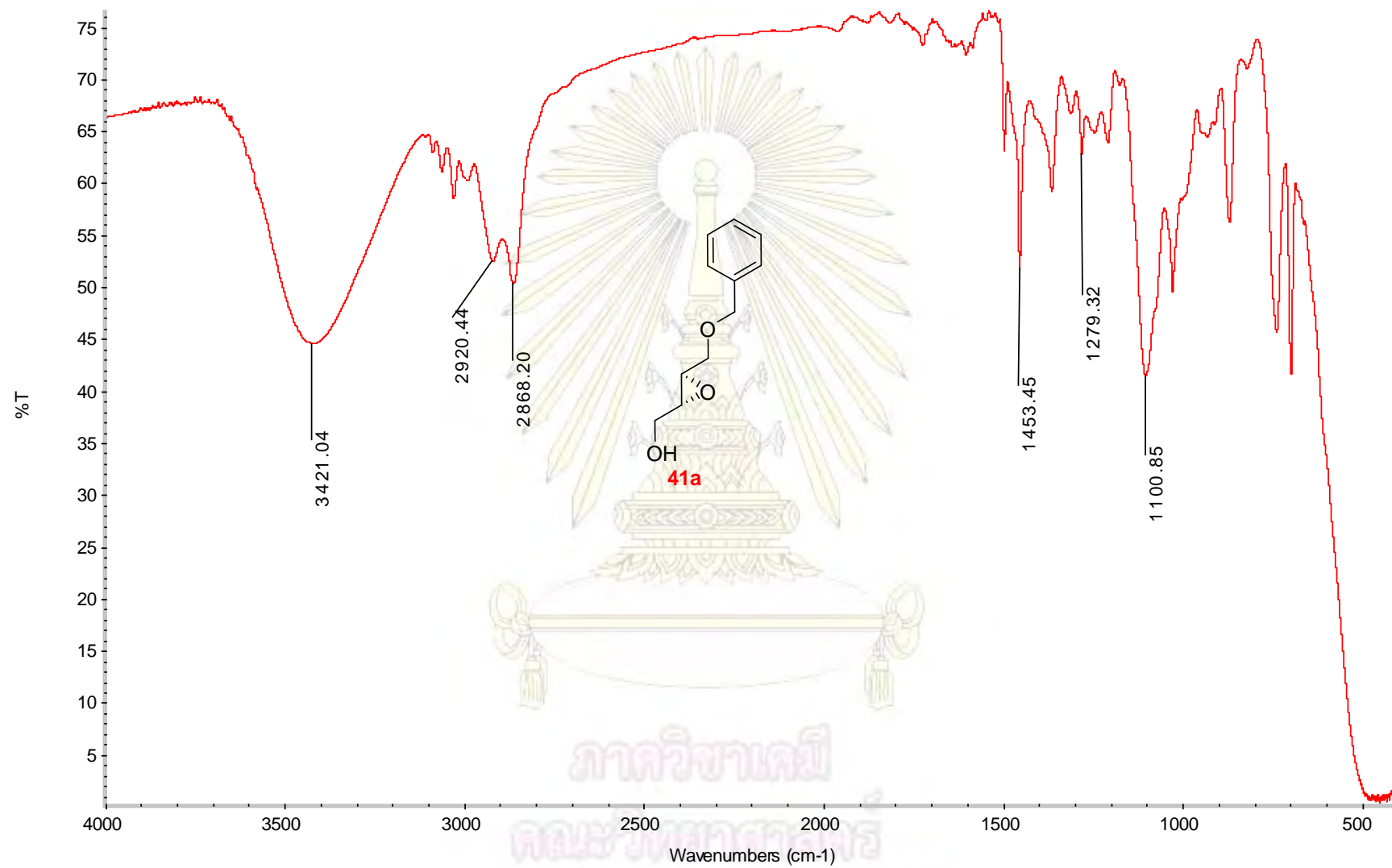


รูปที่ B-4 ^{13}C NMR spectrum (100 MHz, CDCl_3) ของ (2S,3S)-3-azido-2-(benzyloxymethyl)oxetane (44a)

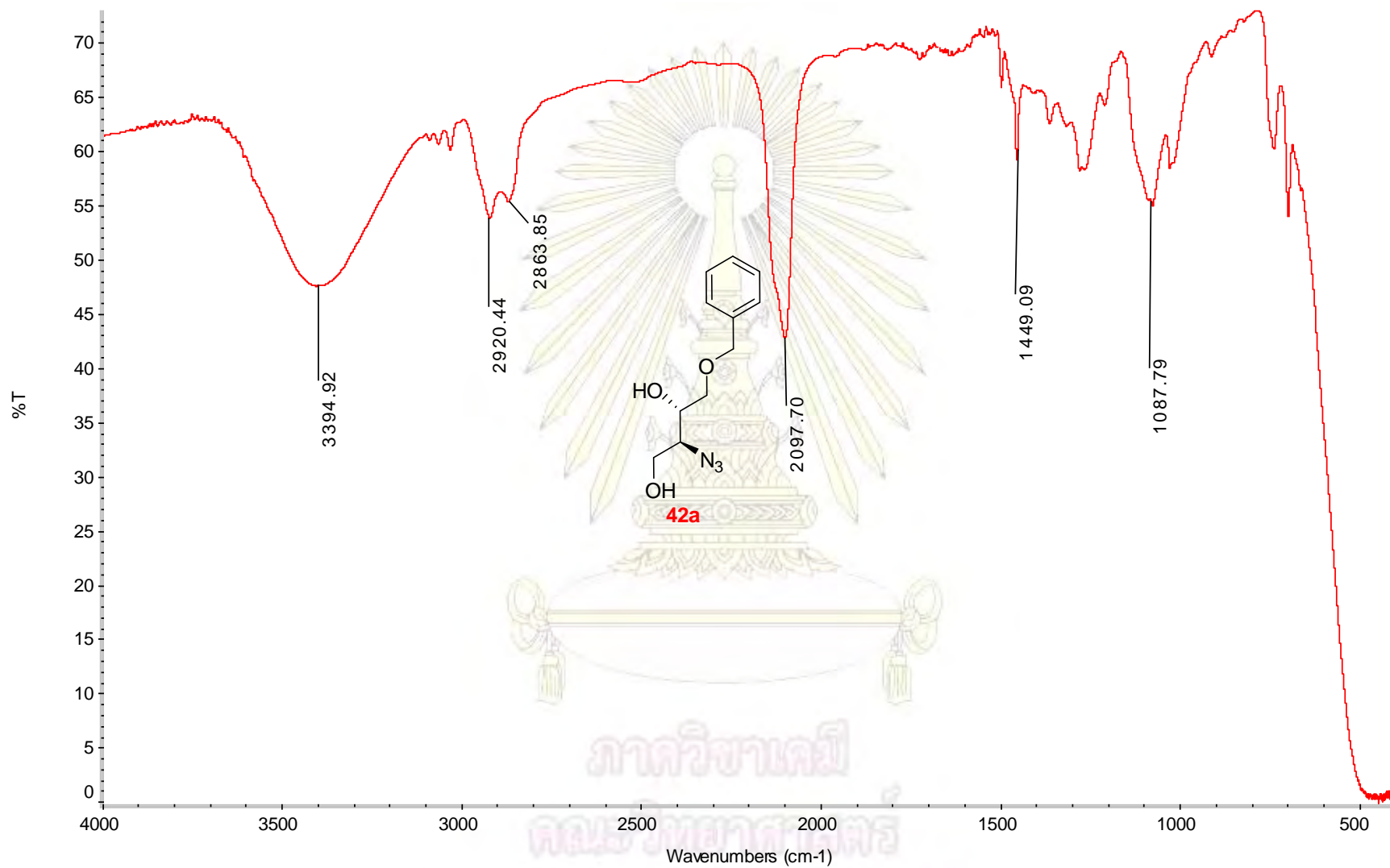
ภาคผนวก C



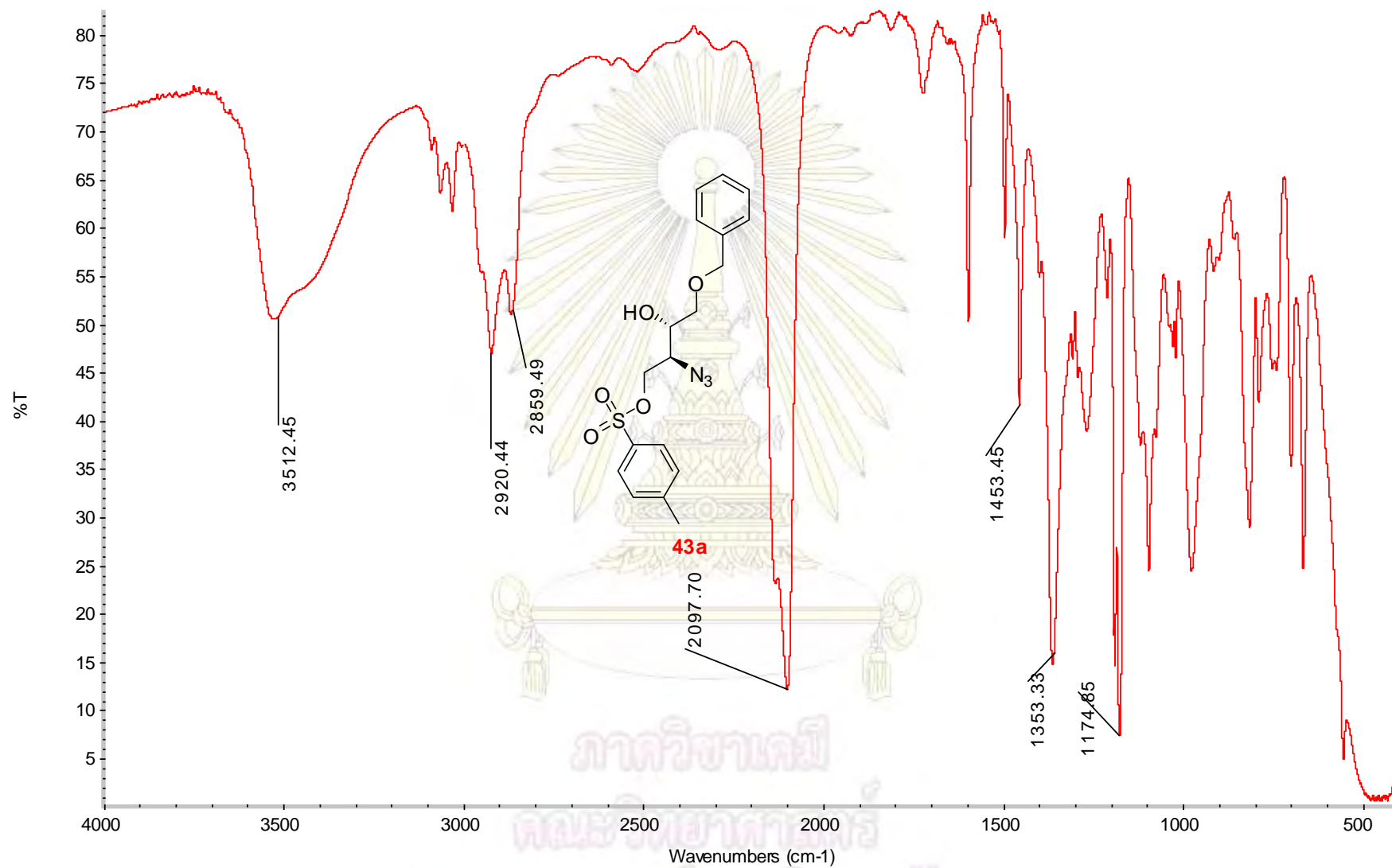
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



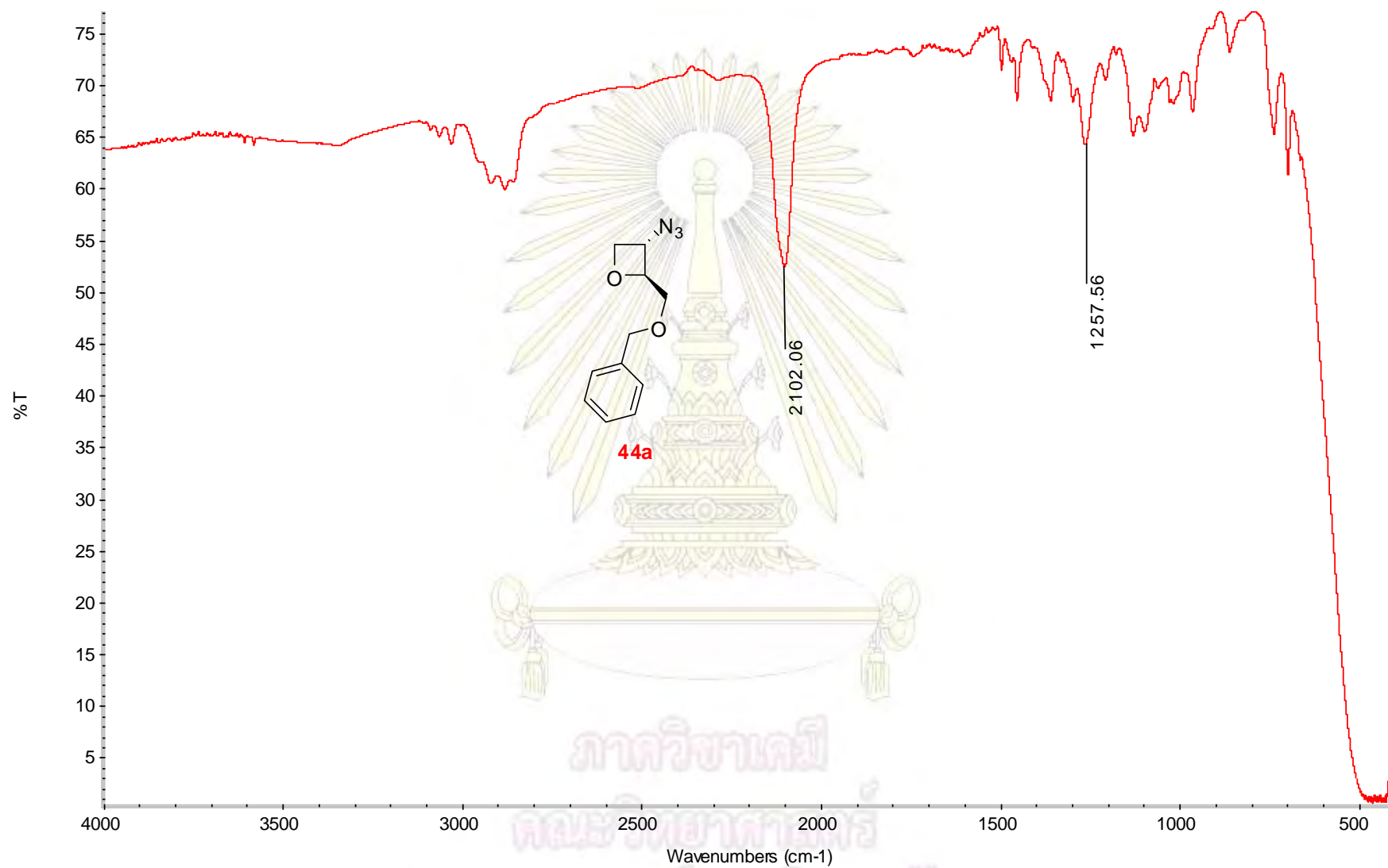
รูปที่ C-1 IR spectrum ของ ((2R,3R)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a)



รูปที่ C-2 IR spectrum ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)butane-1,3-diol (42a)



รูปที่ C-3 IR spectrum ของ (2S,3S)-2-azido-4-(benzyloxy)-3-hydroxybutyl 4-methylbenzenesulfonate (43a)

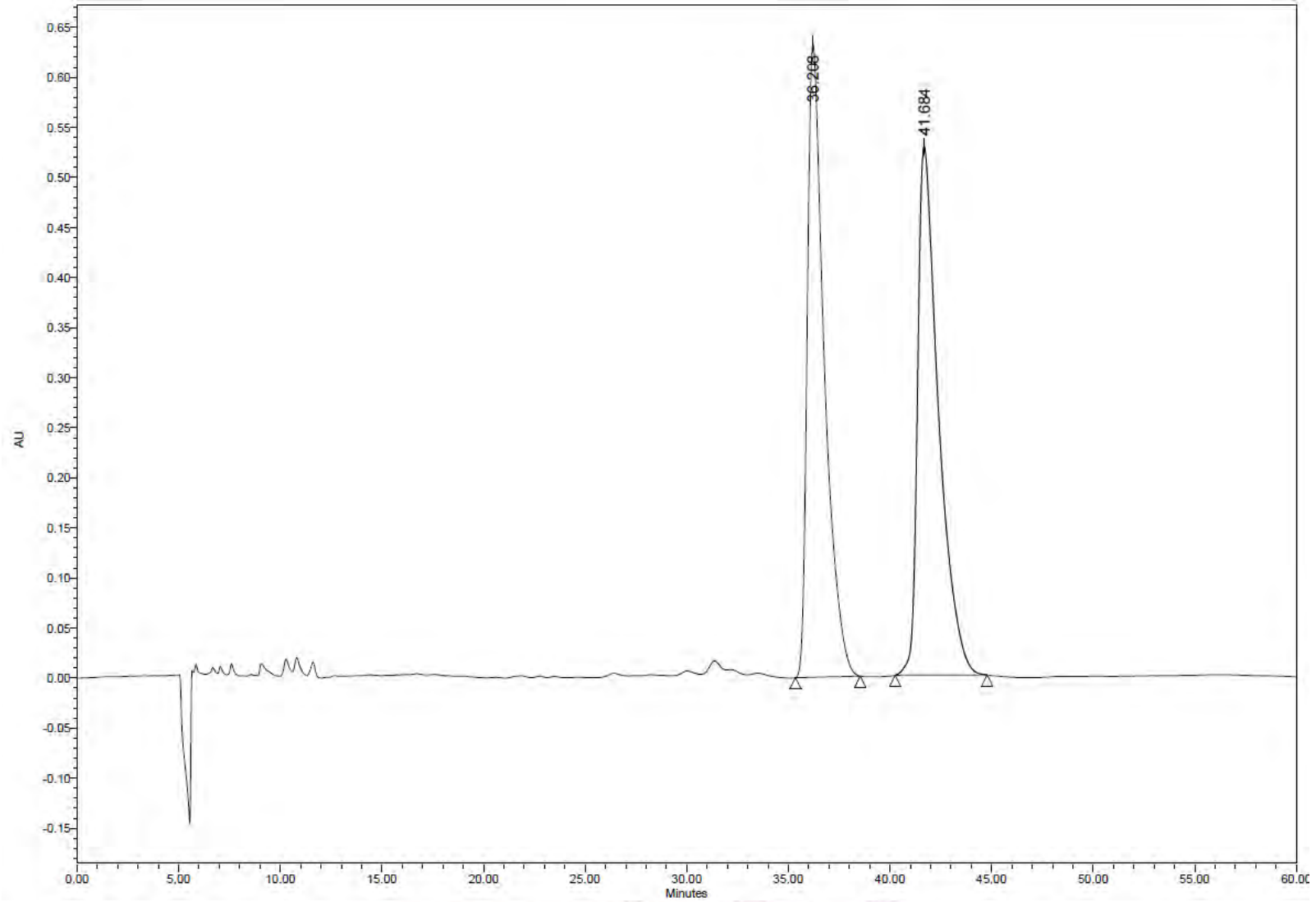


รูปที่ C-4 IR spectrum ของ (2S,3S)-3-azido-2-(benzyloxymethyl)oxetane (44a)

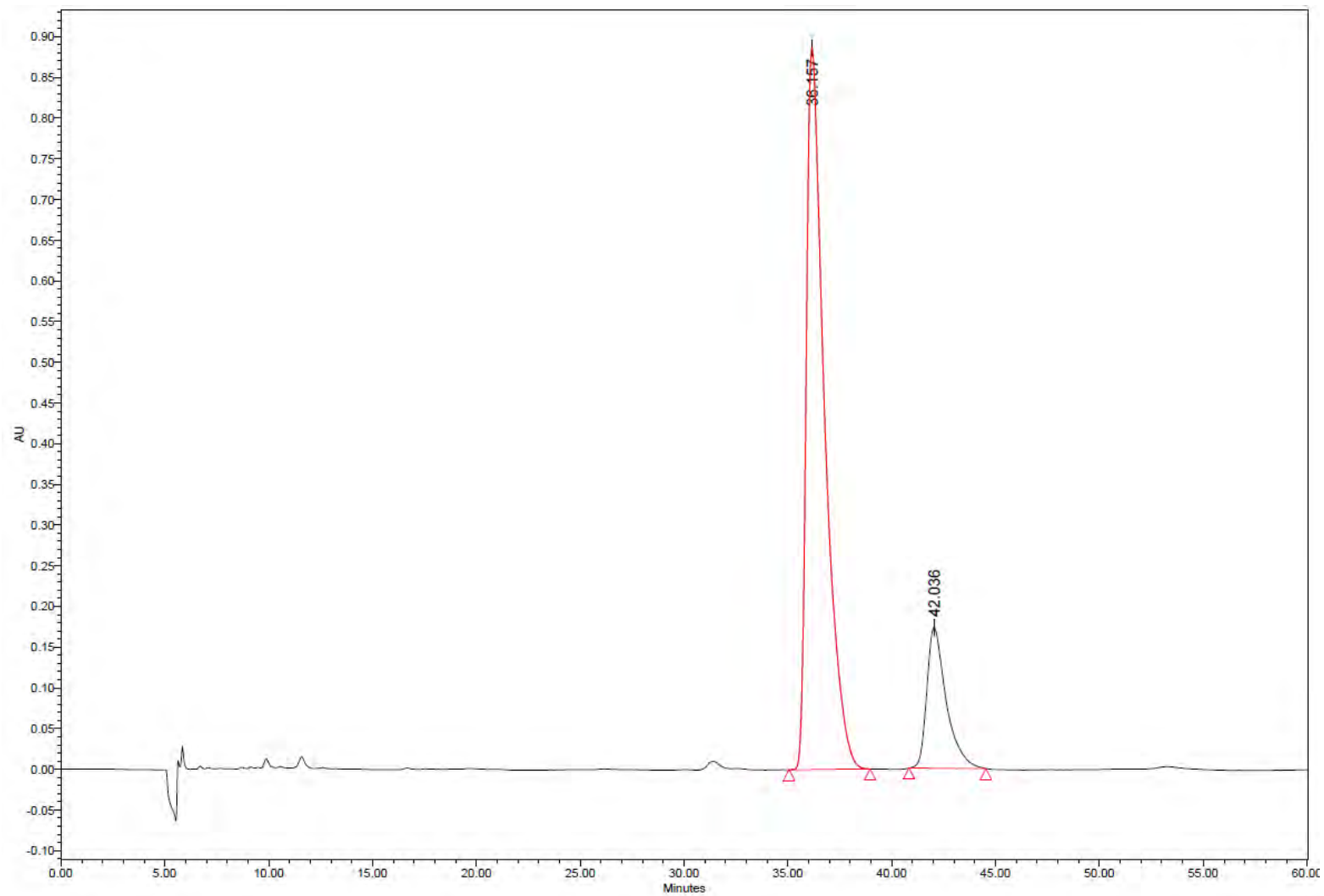
ภาคผนวก D



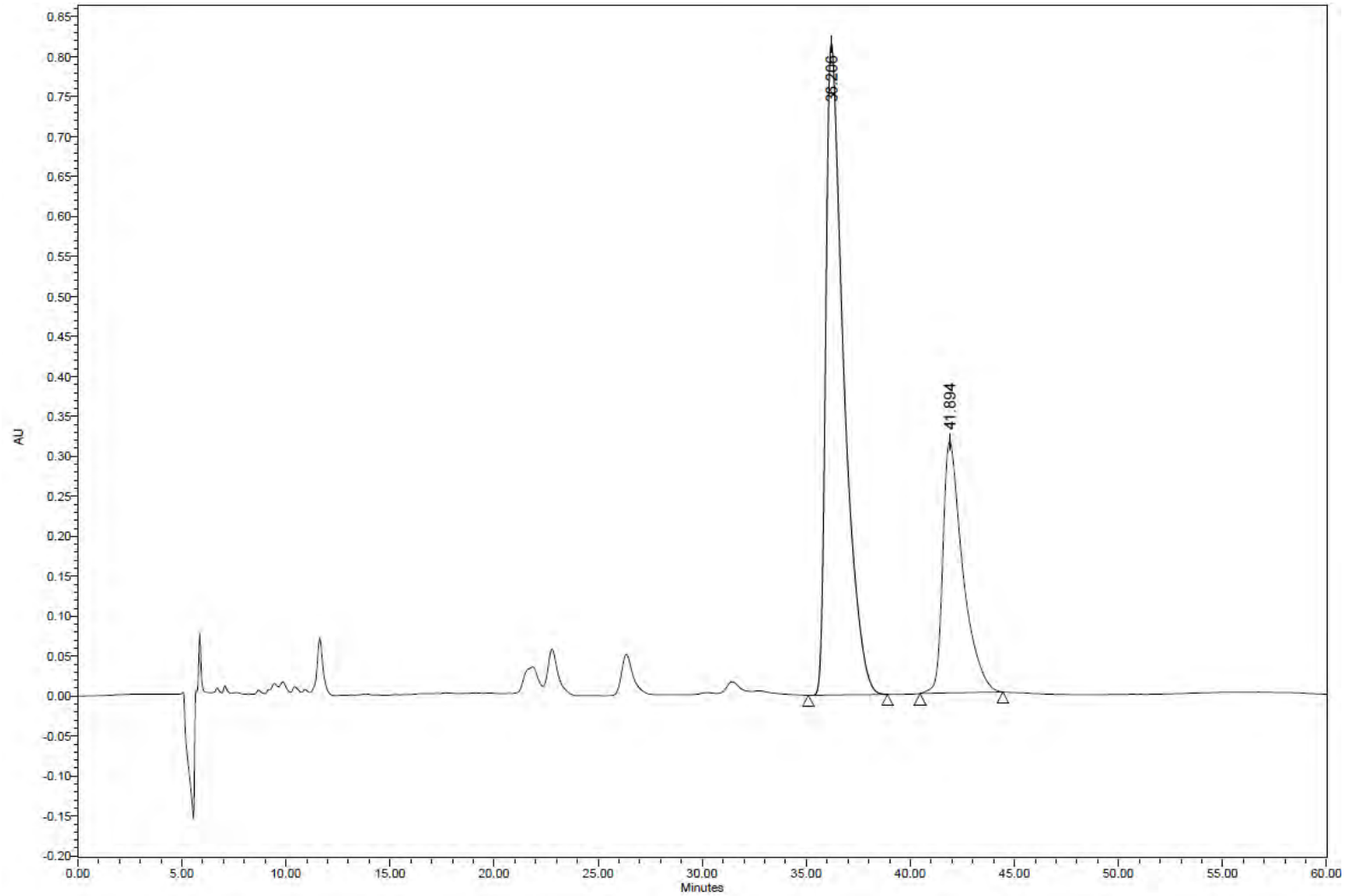
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



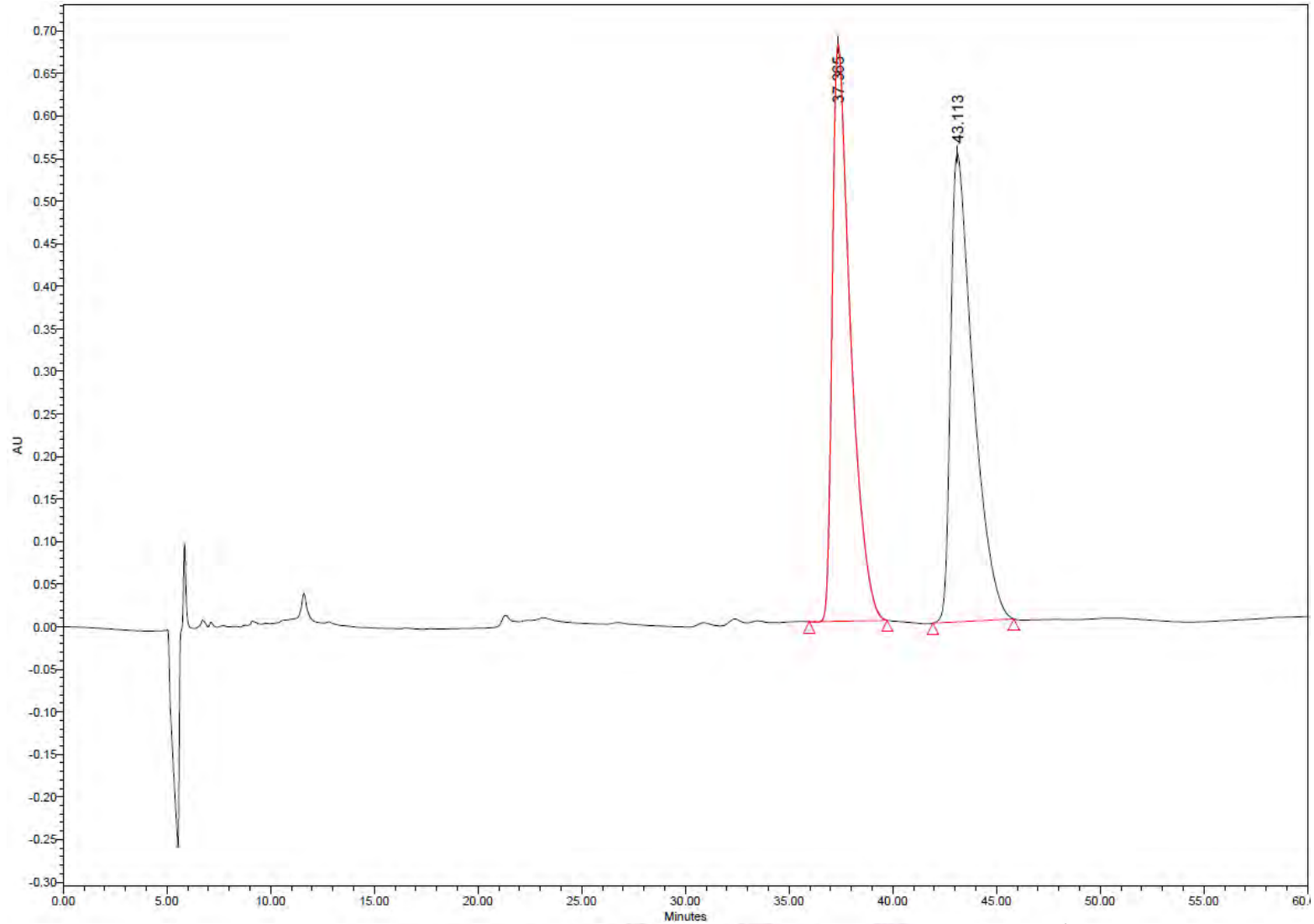
รูปที่ D-1 HPLC chromatogram ของ racemic-(3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a และ 41b) จากปฏิกิริยา epoxidation ด้วย mCPBA



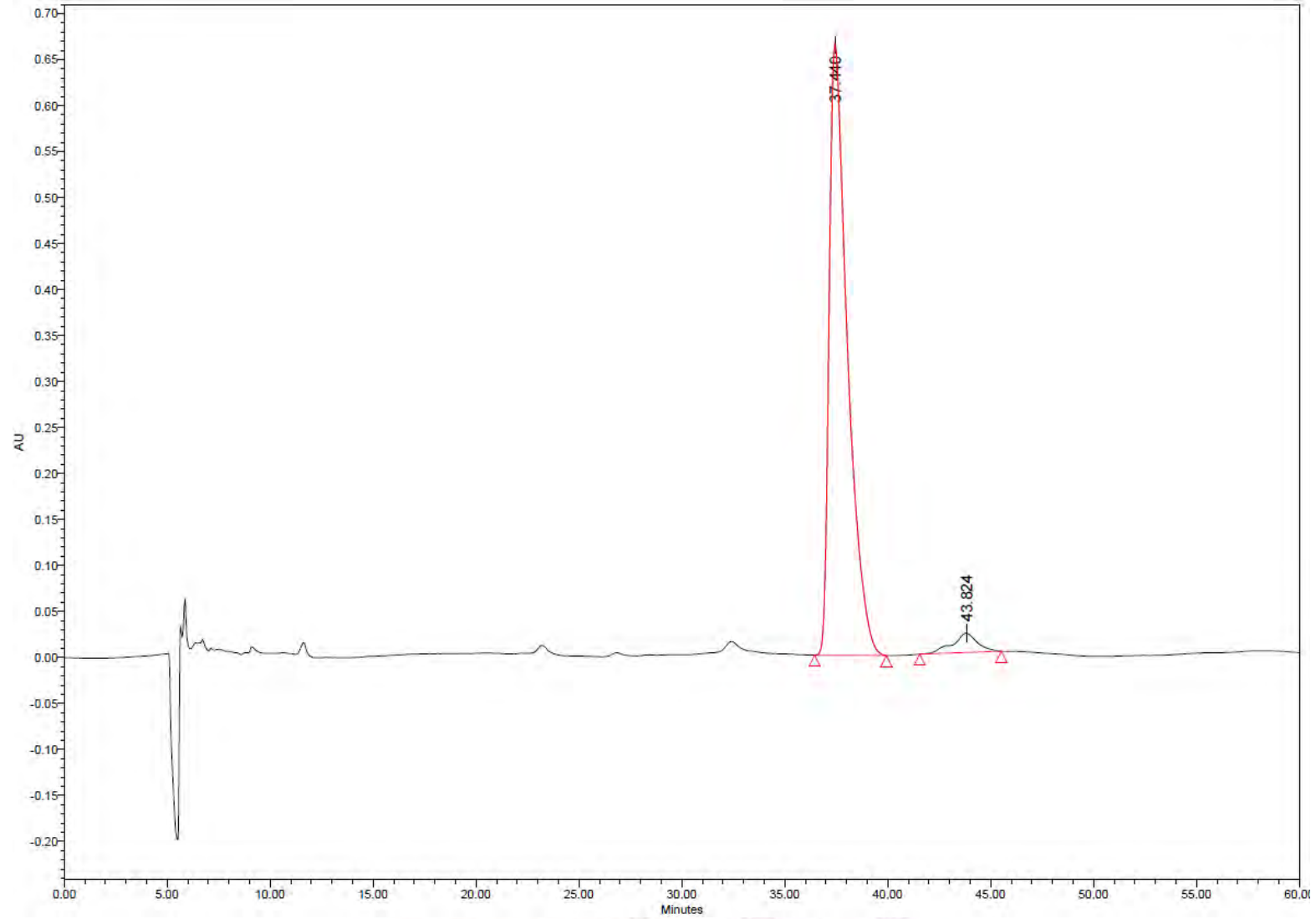
รูปที่ D-2 HPLC chromatogram ของ ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (**41a**) จากปฏิกิริยา Sharpless epoxidation โดยใช้สาร **29** (7.58 mmol), 2.5 eq. TBHP, 0.38 eq. D-(-)-diisopropyl tartrate และ 0.25 eq. $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})_4$



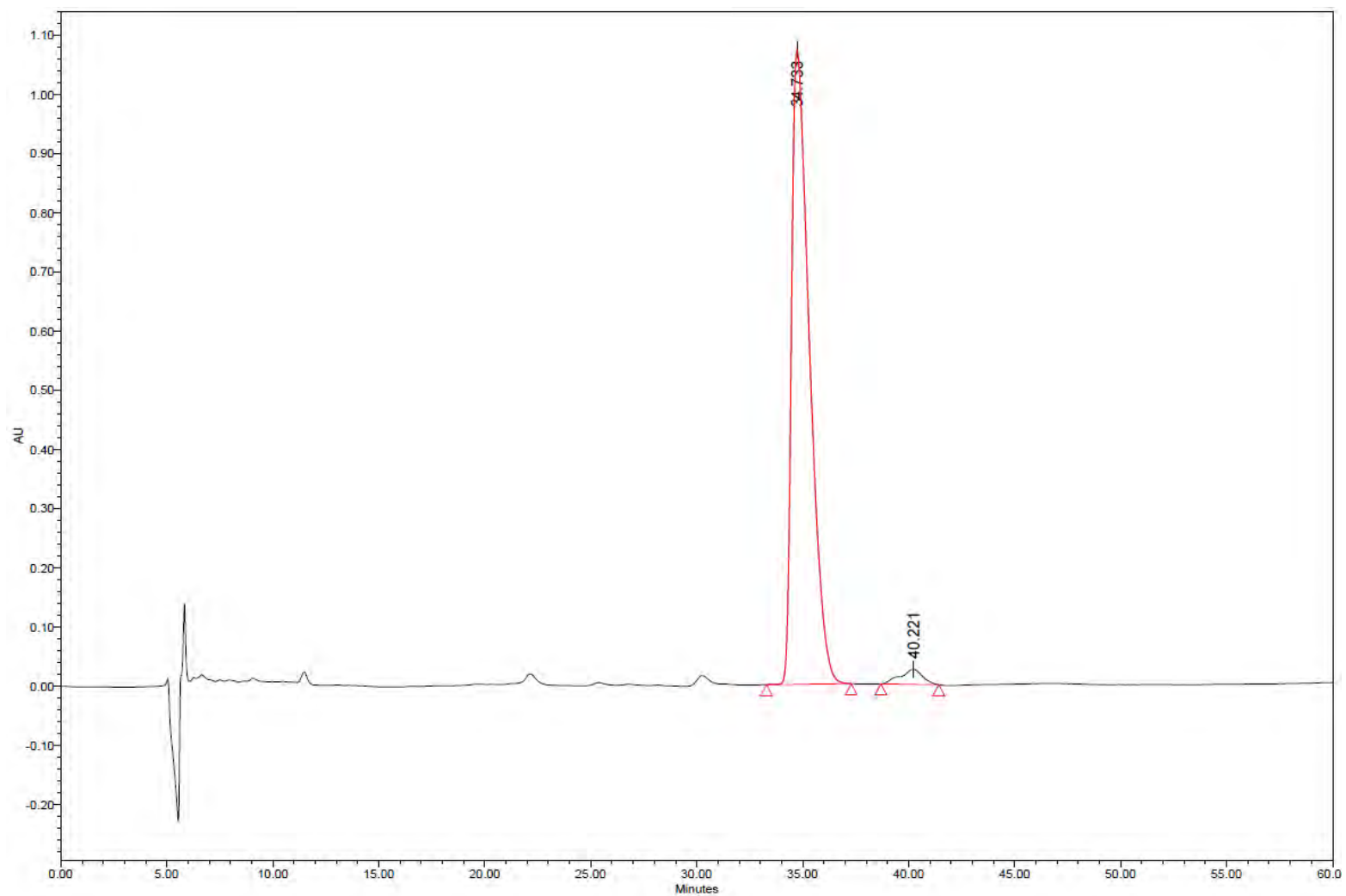
รูปที่ D-3 HPLC chromatogram ของ ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (**41a**) จากปฏิกิริยา Sharpless epoxidation โดยใช้สาร **29** (4.92 mmol) ที่มีการปนเปื้อนของสาร **51** ในสัดส่วน 29:51 เป็น 68:32, 3.8 eq. TBHP, 2.3 eq. D-(-)-diisopropyl tartrate และ 1.5 eq. Ti(OⁱPr)₄



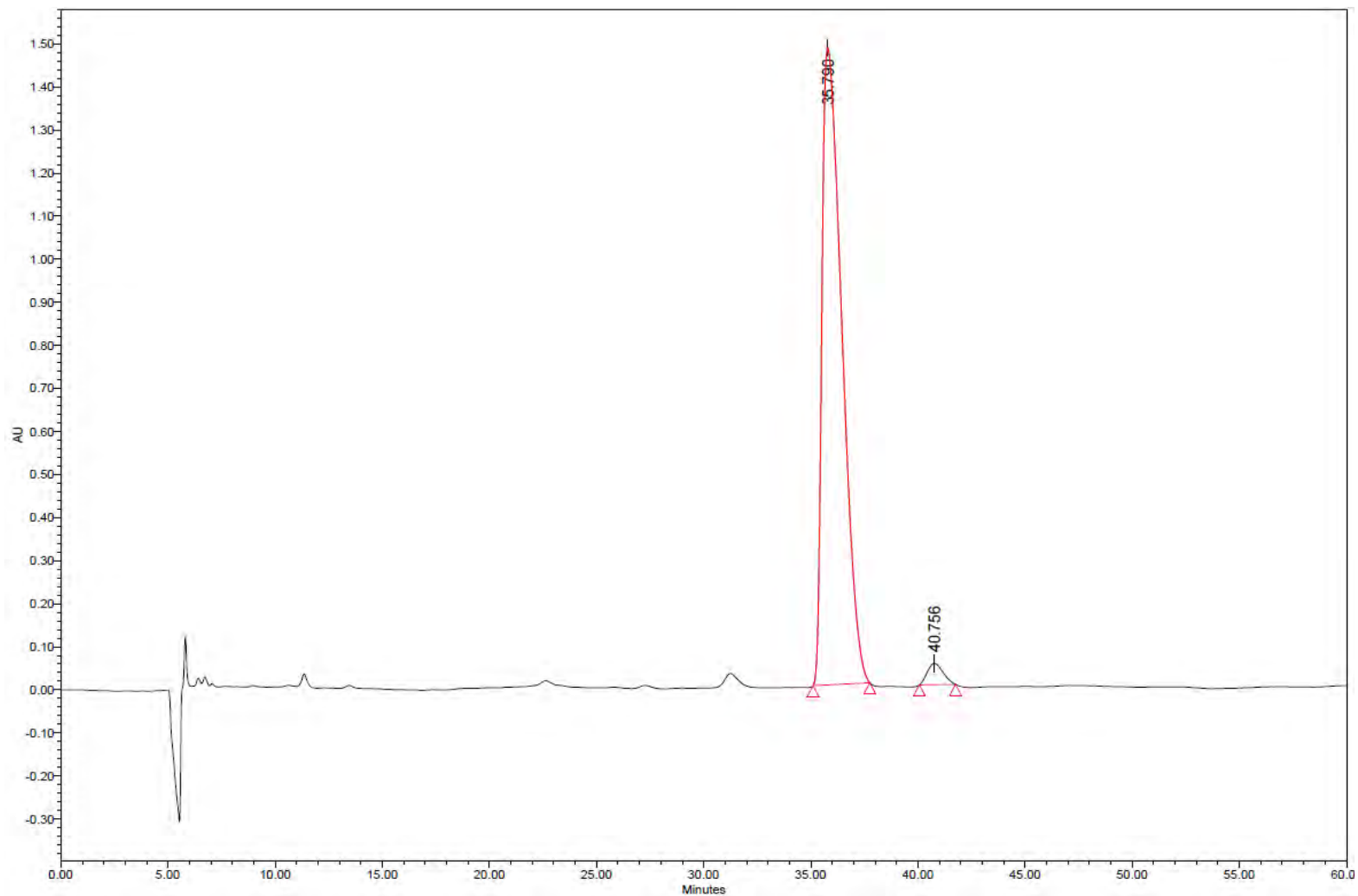
รูปที่ D-4 HPLC chromatogram ของ ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Shi epoxidation ที่มี hydrogenperoxide เป็น oxidant



รูปที่ D-5 HPLC chromatogram ของ ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation โดยใช้สาร 33 (1 mmol) ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ D-6 HPLC chromatogram ของ ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation โดยใช้สาร 33 (1 mmol) ที่อุณหภูมิ 10-20 °C



รูปที่ D-7 HPLC chromatogram ของ ((2*R*,3*R*)-3-(benzyloxymethyl)oxiran-2-yl)methanol (41a) จากปฏิกิริยา Jorgensen epoxidation โดยใช้สาร 33 (5.86 mmol) ที่อุณหภูมิ 10-20 °C

ประวัติผู้วิจัย

นายภัทรเกียรติ แสนคงสุข เกิดเมื่อวันที่ 14 สิงหาคม พ.ศ. 2534 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษา
 ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย สายสามัญแผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์จากโรงเรียนเทพศิรินทร์ จังหวัด
 กรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2552 ได้ทุนการศึกษาระยะยาวจากโครงการพัฒนาอัจฉริยภาพทาง
 วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสำหรับเด็กและเยาวชน เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (โปรแกรม
 เกียรตินิยม) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2553 ที่อยู่ที่ติดต่อได้
 หลังจบการศึกษาปริญญาตรี 2 ซอยสุดประเสริฐ 2 ถนนสุดประเสริฐ แขวงบางโคล่ เขตบางคอแหลม
 กรุงเทพมหานคร 10120 หมายเลขโทรศัพท์ 086-7787162



ภาควิชาเคมี
 คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย