

การสังเคราะห์สารประกอบไพราซีนจากกลูโคซามีนเพื่อใช้สำหรับเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมี

Synthesis of Pyrazine Derivatives from Glucosamine and Their Application as  
Organocatalysts



โดย

นางสาวอุมารัตน์ อูมา

นางสาวพรรณชนก เวชรัตน์

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

เรื่อง การส่งเคราะห์สารประกอบไพราซีนจากกลูโคซามีนเพื่อใช้สำหรับเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมี

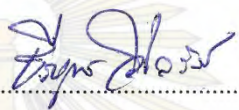
โดย นางสาวอุมารัตน์ อูมา และนางสาวพรรณชนก เวชรัตน์

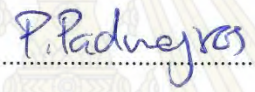
ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

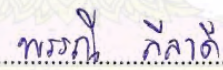
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


คณะกรรมการสอบโครงการ

  
.....ประธานกรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์)

  
.....อาจารย์ที่ปรึกษา  
(อาจารย์ ดร.ภาณุวัฒน์ ผดุงรส)

  
.....กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.พรรณี ลีลาดี)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

  
.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 22 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2558

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้



Title Synthesis of Pyrazine Derivatives from Glucosamine and Their Application as Organocatalysts

Student name 1. Umarat Uma ID 5433160023  
 2. Phanchanok Wetcharat ID 5433121523

Advisor Dr. Panuwat Padungros

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University. Academic Year 2014

### Abstract

Glucosamine is carbohydrate derived from hydrolysis of chitin. Chitin is one of the most abundance oligosaccharide mainly found in shrimp and crustacean skeleton. Seafood industry in Thailand produces large amount of waste from shrimp skeleton, thus a utilization of this waste by chemical processes will be beneficial for a whole industry. Glucosamine undergoes a self-condensation catalyzed by phenylboronic acid to provide deoxyfructosazine in good yield. However, due to its high polarity, large scale synthesis of deoxyfructosazine is challenging because of difficulty in purification. Herein, we report a practical procedure for large scale synthesis of deoxyfructosazine catalyzed by phenylboronic acid. The deoxyfructosazine is successfully produced up to 15 grams and phenylboronic catalyst is also reused for at least 7 times. Protecting group manipulation of deoxyfructosazine is then developed in order to apply this pyrazine derivative as an organocatalyst for selective acylation. Acetonide protection and benzylation provide the desired deoxyfructosazine derivative  $2-((S)-2-(benzyloxy)-2-((R)-2,2\text{-dimethyl-}1,3\text{-dioxolan-}4\text{-yl)ethyl)-5-((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'\text{-tetramethyl-[}4,4'\text{-bi(}1,3\text{-dioxolan)}\text{]-}5\text{-yl)pyrazine}$  in 3 %yield over 3 steps. Complexation between deoxyfructosazine derivative and propionic anhydride is investigated by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. However, the preliminary result shows that there is a weak complex formation between deoxyfructosazine derivative and propionic anhydride. Thus there are many factors that could be applied to improve the complexation such as reactivity of acylating agent, protecting groups on deoxyfructosazine, reaction time and temperature. Further study will be pursued in order to achieve organocatalyst from deoxyfructosazine.

Keywords: glucosamine, pyrazine, organocatalyst, acylation

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความเมตตาให้ความอนุเคราะห์อย่างยิ่งของอาจารย์ ดร.ภาณุวัฒน์ ผดุงรส อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่เอื้อเพื่อสถานที่และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย อาจารย์ได้ให้ความรู้ คำอธิบายด้วยความเข้าใจ เสียสละเวลาในการให้ความช่วยเหลือตลอดการทำงานวิจัย คอยให้คำแนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความใส่ใจ ตลอดจนช่วยแก้ไขรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ และยังคงคอยให้กำลังใจยามท้อแท้ ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์ และอาจารย์ ดร.พรรณี สีสาดิ ที่สละเวลาให้เกียรติมาเป็นกรรมการสอบการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้ ประสบการณ์ และเทคนิคปฏิบัติการอันเป็นพื้นฐานสำคัญในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาเคมีที่สนับสนุนเครื่องมือและดำเนินงานด้านทุนสนับสนุนสำหรับงานวิจัย รวมถึงบุคลากรที่อำนวยความสะดวกทุกท่าน

ขอขอบคุณนายวุฒินนท์ ทวีเศรษฐ และนายไพศาล ศรีทอง นิสิตปริญญาโทในกลุ่มวิจัยของอาจารย์ ดร.ภาณุวัฒน์ ผดุงรส ที่ให้คำปรึกษาขณะทำงานและช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเทคนิค NMR นายภัทรเกียรติ แสนคงสุข นิสิตปริญญาโทในกลุ่มวิจัยของศาสตราจารย์ ดร.ธีรยุทธ วิไลวัลย์ ที่ได้ให้คำแนะนำในการเขียนรายงาน และนางสาวพรเพ็ญ แซ่อึ้ง นิสิตปริญญาเอกในกลุ่มวิจัยของรองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โฮเวน ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ lyophilizer และเจ้าหน้าที่ที่มีส่วนช่วยในการใช้เครื่องมือต่างๆ ทุกท่าน และขอขอบคุณคุณ Laura Alberch ที่ให้ความช่วยเหลือแนะนำเทคนิคและวิธีการที่ถูกต้องในการทำงานในห้องปฏิบัติการ ผู้ปฏิบัติงานในห้องวิจัยที่ทำให้บรรยากาศในการทำงานเป็นไปอย่างมีความสุข รวมถึงอาจารย์และนิสิตท่านอื่นที่ได้เคยให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอระลึกถึงความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวมาข้างต้นไว้ ณ ที่นี้

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ	ค
Abstract	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูปภาพ	ช
สารบัญตาราง	ฅ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ญ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ	8
<b>บทที่ 2 การทดลอง</b>	<b>9</b>
2.1 วิธีการทดลองทั่วไป	9
2.2 วิธีการสังเคราะห์	10
2.3 การทดสอบความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของสาร 9	18
<b>บทที่ 3 ผลการทดลอง วิเคราะห์ผลการทดลอง</b>	<b>20</b>
3.1 การทำบริสุทธิ์สารตั้งต้น D-glucosamine hydrochloride ด้วยการตกผลึก	21
3.2 การพัฒนาการสังเคราะห์ deoxyfructosazine (2) ในปริมาณสูง	21
3.3 การทำปฏิกิริยา benzoylation ของ deoxyfructosazine (สาร 2)	27
3.4 การปกป้องหมู่ไฮดรอกซิลบนโครงสร้าง deoxyfructosazine ด้วยหมู่ acetonide	28
3.5 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของไพราซีนเพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชัน	31
3.6 การทดสอบความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสาร 9	35
<b>บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง</b>	<b>39</b>
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	43
ภาคผนวก ก	44
ภาคผนวก B	61
ประวัติผู้วิจัย	70

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
1.1 แสดงการย่อยสลายไคตินเป็นสารประกอบ glucosamine hydrochloride โดย อนวัช อาชวาคม และคณะ	1
1.2 แสดงการเกิดสมดุเปิด-ปิดวงของกลูโคซามีน ทำให้เกิด หมู่ฟังก์ชันที่สำคัญบนโมเลกุลคือหมู่เอมีนและหมู่แอลดีไฮด์	1
1.3 แสดงการสังเคราะห์ fluorescent-labelled glycoside จาก glucosamine hydrochloride โดย Lei Z. และคณะ	2
1.4 แสดงโครงสร้างของ Methoxypyrazine (a), 2-((4-2 bromobenzyl)thio)-5-(pyrazin-2-yl)-1,3,4-thiadiazole (b) และ 2,4-anhydroglucosyl-3-oxo-3,4-dihydropyrazine-2-carboxamide (c)	2
1.5 แสดงการสังเคราะห์อนุพันธ์ของไพราซีนโครงสร้างไม่สมมาตรโดย Loy N. S. Y. และคณะ	3
1.6 แสดงการสังเคราะห์ไพราซีนโดยวิธีของ Ryu T. และคณะ	3
1.7 แสดงโครงสร้าง fructosazine และ deoxyfructosazine	3
1.8 แสดงการสังเคราะห์ deoxyfructosazine จาก cellobiose โดย Wu S. และคณะ	4
1.9 แสดงการสังเคราะห์ดีออกซีฟรุกโตซาซีน โดย Rohovec J. และคณะ	5
1.10 แสดงกลไกการปฏิกิริยาการควบแน่นระหว่าง glucosamine สองโมเลกุลโดยมี phenylboronic acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	5
1.11 แสดงการสังเคราะห์ deoxyfructosazine จาก cellobiose โดย Wu S. และคณะ	6
1.12 แสดงการทำปฏิกิริยาเอซิลเลชันโดย Ueda Y. และคณะ	6
1.13 แสดงปฏิกิริยาการเติมหมู่ไทโอโอฟอร์เมตแบบเจาะจงโดย Sánchez-Roselló M. และคณะ	7
1.14 แสดง catalytic cycle ปฏิกิริยาการเติมหมู่ไทโอโอฟอร์เมตแบบเจาะจง โดย Sánchez-Roselló M. และคณะ	7
1.15 แสดง catalytic cycle ของปฏิกิริยาเอซิลเลชันที่เร่งปฏิกิริยาด้วยอนุพันธ์ของ deoxyfructosazine	8
2.1 แสดงแผนการสังเคราะห์ในงานวิจัยนี้	10
2.2 แสดงโครงสร้าง D-glucosamine hydrochloride	11
2.3 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 2 จากสาร 1	11
2.4 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzylation ของ deoxyfructosazine	12
2.5 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 4 และสาร 5 จากสาร 2	13
2.6 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4	14
2.7 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5	15
2.8 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4	15
2.9 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5	16
2.10 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 11 จากสาร 10	17
2.11 แผนภาพการทำปฏิกิริยา acylation ของสาร 11	18
2.12 แสดงตำแหน่งบน TLC ของปฏิกิริยา 2.3	18
3.1 แสดงผลแผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ deoxyfructosazine	19

3.2 แสดง $^1\text{H}$ NMR spectrum (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) ของ glucosamine hydrochloride ก่อนและหลังตกผลึกในตัวทำละลายผสม $\text{H}_2\text{O}:\text{EtOH}$	20
3.3 แสดงกลไกการปฏิกิริยาการควบแน่นระหว่าง glucosamine สองโมเลกุลโดยมี phenylboronic acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	22
3.4 แสดงการเกิด hydrogen bond ระหว่าง silica gel และ deoxyfructosazine	24
3.5 กราฟแสดงปริมาณของ deoxyfructosazine ที่สังเคราะห์ได้และจำนวนครั้งที่ใช้ซ้ำ phenylboronic acid	25
3.6 NMR spectrum (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) ของ deoxyfructosazine (สาร 2)	25
3.7 แสดงการเกิด hydrogen bonding บนโครงสร้าง deoxyfructosazine	26
3.8 แสดงลักษณะสัญญาณ $^1\text{H}$ NMR spectrum ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของสาร 2	26
3.9 แสดงผลการทำปฏิกิริยา benzylation ของ deoxyfructosazine	27
3.10 แสดง $^1\text{H}$ NMR spectrum (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}$ ) ของสาร 2 (a) และ $^1\text{H}$ NMR spectrum (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 3 (b)	27
3.11 แผนภาพแสดงการเคลื่อนที่ของสัญญาณ $^1\text{H}$ NMR บนวงไพราซีนของสาร 2 (a), สาร 4 (b) และสาร 5 (c)	30
3.12 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา benzoylation ของวงไพราซีน	31
3.13 แผนภาพแสดงผลการทำปฏิกิริยา benzoylation ของสาร 4 (a) และสาร 5 (b)	31
3.14 แสดงการเกิดเกลือ benzoate	32
3.15 แสดง $^1\text{H}$ NMR spectrum (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) ของผลิตภัณฑ์จากการทำปฏิกิริยา benzoylation ของสาร 4 (a) และสาร 5 (b)	32
3.16 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5	33
3.17 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4	33
3.18 แผนภาพแสดงผลการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5	33
3.19 แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ NMR spectrum (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) ที่สำคัญของสาร 9	34
3.20 แสดงองค์ประกอบที่ต้องการในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันของอนุพันธ์ไพราซีนที่สังเคราะห์ได้ (สาร 9)	34
3.21 แผนภาพผลการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตที่จะใช้ทดสอบปฏิกิริยาเอซิลเลชัน	35
3.22 TLC แสดงผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสาร 11 ในสถานะที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา	35
3.23 แผนภาพแสดงผลการทำปฏิกิริยา acylation ของสาร 11	36
3.24 แสดง catalytic cycle ของปฏิกิริยาเอซิลเลชันที่เร่งปฏิกิริยาด้วยอนุพันธ์ของ deoxyfructosazine (สาร 9)	36
3.25 แผนภาพการทำปฏิกิริยาระหว่าง 9 และ propionic anhydride ด้วยเทคนิค $^1\text{H}$ NMR spectroscopy	37
3.26 แสดงข้อมูล $^1\text{H}$ NMR spectrum ของสาร 9 (a) และปฏิกิริยาระหว่าง สาร 9 กับ propionic anhydride ที่คาดว่าจะเกิด 9A (b)	37
4.1 แสดงผังการสังเคราะห์สาร 9 จากสาร 1	40



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 แสดงการศึกษาการเปลี่ยนแปลงตัวเร่งปฏิกิริยาของการสังเคราะห์ deoxyfructosazine (2)	21
3.2 แสดงปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการพัฒนาการทำบริสุทธิ์ deoxyfructosazine (2)	23
3.3 แสดงปริมาณของ deoxyfructosazine (2) ที่สังเคราะห์ได้จากจำนวนครั้งที่ใช้ซ้ำ phenylboronic acid	25
3.4 แสดงปริมาณผลิตภัณฑ์สาร 4 และ 5 ที่ได้จาก การสังเคราะห์ในสภาวะต่างๆ	29



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

$\delta$	chemical shift
Bn	benzyl
Bz	benzoyl
CDCl <sub>3</sub>	deuterated chloroform
d	doublet
dd	doublet of doublet
dt	doublet of triplet
DMF	dimethylformamide
Equiv	equivalent
g	gram
m	multiplet
mg	milligram
ml	milliliter
mmol	millimole
NMR	nuclear magnetic resonance
ppm	parts per million
R <sub>f</sub>	retention factor
rt	room temperature
TBAI	tetra butyl ammonium iodide
TLC	Thin Layer Chromatography
UV	ultraviolet

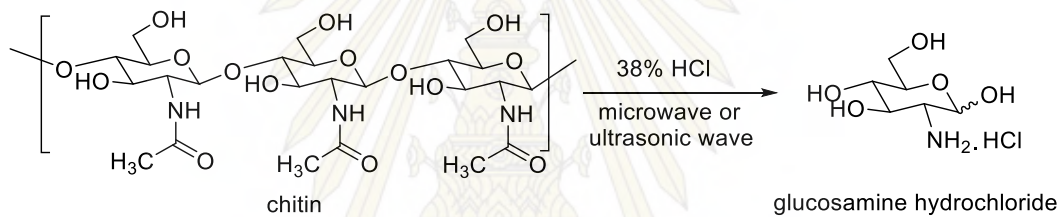
ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

## บทนำ

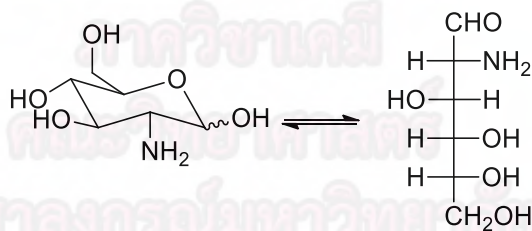
### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไคติน (chitin) เป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่มีมากในธรรมชาติ พบมากในโครงสร้างส่วนเปลือกแข็งของสัตว์ทะเลจำพวกกุ้งและปู ประเทศไทยมีอุตสาหกรรมประมงเป็นรายได้หลักที่สำคัญ ประกอบไปด้วยอุตสาหกรรมอาหารทะเลแช่แข็งและการแปรรูปอาหารทะเล ส่งผลให้มีของเหลือทิ้งจำพวกเปลือกกุ้งที่มีองค์ประกอบของไคตินเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการนำของเหลือทิ้งเหล่านี้ไปใช้ให้เกิดประโยชน์จึงเป็นปัญหาวิจัยที่สำคัญต่อการเพิ่มมูลค่าของของเหลือทิ้ง ในปี 2012 อนวัช อาชวาคม และคณะ (1) ได้รายงานการย่อยสลายไคตินจากเปลือกกุ้งด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 38% โดยอาศัยเทคนิค microwave หรือ ultrasonic wave เพื่อเร่งให้ปฏิกิริยาเกิดได้เร็วมากขึ้น โดยได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ (glucosamine hydrochloride) ในปริมาณสูงถึง 57 %yield (รูปที่ 1.1)



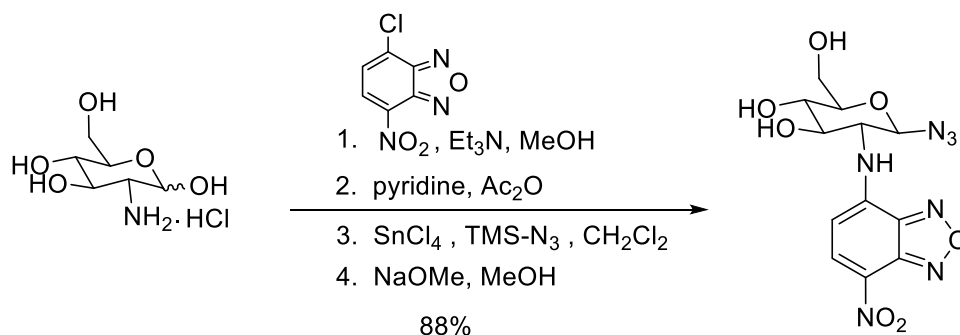
รูปที่ 1.1 แสดงการย่อยสลายไคตินเป็นสารประกอบ glucosamine hydrochloride โดย อนวัช อาชวาคม และคณะ

กลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์เป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้หลายแนวทาง เนื่องจากสารละลายกลูโคซามีนในตัวทำละลายที่มีขั้วสูงเช่นน้ำ สามารถเกิดสมดุลเปิด-ปิดวง ทำให้เกิดหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญคือหมู่อะมีนและหมู่อัลดีไฮด์ซึ่งว่องไวต่อปฏิกิริยาเคมี สามารถเกิดปฏิกิริยาเคมีได้หลากหลาย (รูปที่ 1.2)



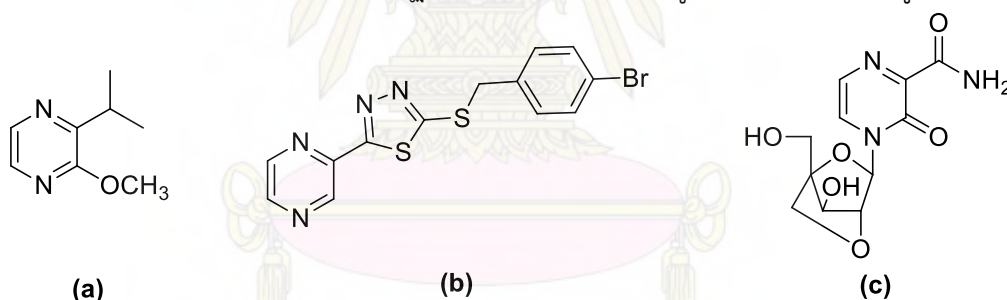
รูปที่ 1.2 แสดงการเกิดสมดุลเปิด-ปิดวงของกลูโคซามีน ทำให้เกิดหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญบนโมเลกุลคือหมู่อะมีนและหมู่อัลดีไฮด์

ตัวอย่างของการนำกลูโคซามีนไปประยุกต์ใช้ในงานเคมีสังเคราะห์ได้แก่ ในปี 2015 Lei Z. และคณะ (2) ได้รายงานการสังเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่มีหมู่เรืองแสง (fluorescent-labelled glycoside) ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic aromatic substitution ( $S_NAr$ ) ระหว่างหมู่อะมีนของกลูโคซามีนกับ 4-Chloro-7-nitrobenzofurazan (NBD-Cl) ได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณสูง จากนั้นจึงนำสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่ได้ไปศึกษาการเคลื่อนที่ภายในระบบการลำเลียงน้ำ (xylem) ของรากต้นละหุ่ง (รูปที่ 1.3)



รูปที่ 1.3 แสดงการสังเคราะห์ fluorescent-labelled glycoside จาก glucosamine hydrochloride โดย Lei Z. และคณะ

ไพราซีนเป็นสารประกอบประเภท N-heterocycle ที่มีไนโตรเจนอะตอมแทนที่คาร์บอนอะตอมบนวงแหวนอะโรแมติกในตำแหน่งที่ 1 และ 4 จำนวน 2 อะตอม รายงานการวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าสารประกอบไพราซีนหลายชนิดเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพรวมถึงมีแนวโน้มที่พัฒนาเป็นยารักษาโรคได้ อนุพันธ์ของไพราซีนหลายชนิดยังแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันออกไป บางชนิดได้จากการสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น methoxypyrazine (a) เป็นสารไพราซีนที่มีคุณสมบัติมีกลิ่นเหมือนไวน์ที่ได้จากการหมักองุ่น สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นกลิ่นสังเคราะห์ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มที่ต้องการให้มีกลิ่นของไวน์ได้ (3) ส่วนไพราซีนที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการยกตัวอย่างเช่น 2-((4-bromobenzyl)thio)-5-(pyrazin-2-yl)-1,3,4-thiadiazole (b) เป็นไพราซีนที่มีความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งชนิด SW1116 (4) และ 2,4-anhydroglucosyl-3-oxo-3,4 dihydropyrazine-2-carboxamide (c) ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อไวรัสไข้หวัด H1N1 และ H3N2 ก็ต้องสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคซิลไพราซีน (5) (รูปที่ 1.4)



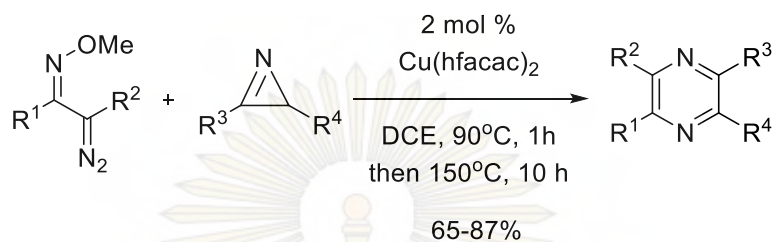
รูปที่ 1.4 แสดงโครงสร้างของ Methoxypyrazine (a), 2-((4-bromobenzyl)thio)-5-(pyrazin-2-yl)-1,3,4-thiadiazole (b) และ 2,4-anhydroglucosyl-3-oxo-3,4 dihydropyrazine-2-carboxamide (c)

เนื่องจากประโยชน์อันหลากหลายของอนุพันธ์ไพราซีน การสังเคราะห์ทางเคมีอย่างมีประสิทธิภาพจึงเป็นหัวข้องานวิจัยที่นักเคมีจำนวนมากให้ความสนใจ ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงสนใจพัฒนาการสังเคราะห์อนุพันธ์ไพราซีนโดยใช้ glucosamine hydrochloride เป็นสารตั้งต้น โดยหวังว่าจะเป็นการเพิ่มมูลค่าแก่ของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเลตั้งที่กล่าวไว้ข้างต้น จากการทบทวนวรรณกรรมก่อนหน้านี้พบว่ายังไม่มีงานวิจัยที่ใช้อนุพันธ์ไพราซีนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชัน ทั้งที่ไพราซีนมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของไนโตรเจนบนวงอะโรแมติกคล้ายคลึงกับ pyridine และ *N,N*-dimethylaminopyridine (DMAP) ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำอนุพันธ์ไพราซีนที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันต่อไป

## 1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

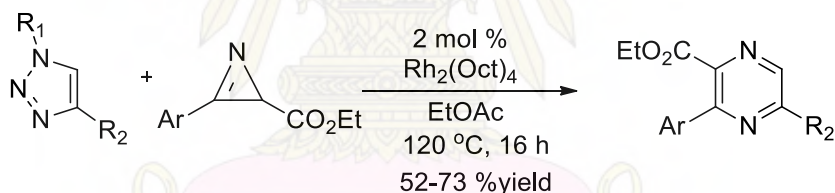
### 1.2.1 การสังเคราะห์สารประกอบไพราซีนชนิดต่างๆ

หลายกลุ่มวิจัยได้นำเสนอวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ไพราซีนที่แตกต่างกันออกไป ตัวอย่างเช่น ในปี 2014 Loy N. S. Y. และคณะ (6) ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของไพราซีนที่มีโครงสร้างแบบไม่สมมาตร (unsymmetrical pyrazines) ที่มีหมู่แทนที่ไฮโดรเจนในวง N-heterocycle แตกต่างกัน โดยใช้  $\alpha$ -diazo oxime ethers เป็นสารตั้งต้น และใช้  $\text{Cu}(\text{hfacac})_2$  เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยให้ผลิตภัณฑ์ไพราซีนในปริมาณสูงถึง 65-87 %yield (รูปที่ 1.5)



รูปที่ 1.5 แสดงการสังเคราะห์อนุพันธ์ของไพราซีนโครงสร้างไม่สมมาตรโดย Loy N. S. Y. และคณะ

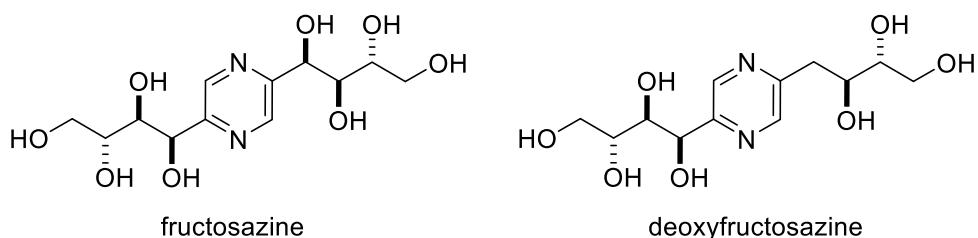
ต่อมาในปี 2015 Ryu T. และคณะ (7) รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ของไพราซีนจาก *N*-sulfonyl 1,2,3-triazoles และ 2*H*-azirines ผ่านการเร่งปฏิกิริยาด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาของโรห์เดียม ( $\text{Rh}_2(\text{Oct})_4$ ) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น trisubstituted pyrazines ในปริมาณสูงถึง 52-73 %yield (รูปที่ 1.6)



รูปที่ 1.6 แสดงการสังเคราะห์ไพราซีนโดยวิธีของ Ryu T. และคณะ

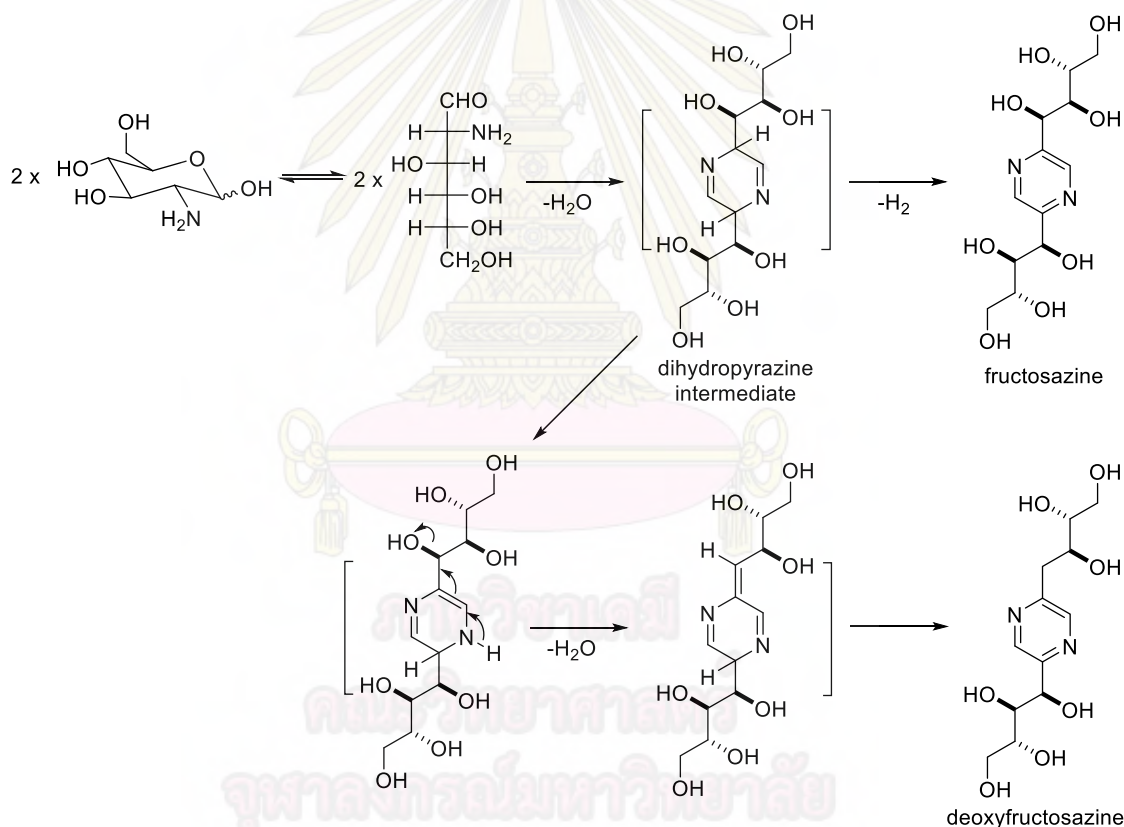
### 1.2.2 การสังเคราะห์ไดออกซีฟรุกโตซาซีนจากกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์

ฟรุกโตซาซีนและไดออกซีฟรุกโตซาซีน (fructosazine and deoxyfructosazine) (รูปที่ 1.7) เป็นอนุพันธ์ของไพราซีน ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารสำหรับแต่งกลิ่นและรสชาติอาหาร ตัวอย่างเช่น ใช้ผสมในขนมถ้วยเหลือง (8) คาราเมล (9) และเนยถั่วลิสง (10) เป็นต้น นอกจากนี้ deoxyfructosazine ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ ตัวอย่างเช่น ในปี 2007 Zhu A. และคณะ (11) ได้ศึกษาความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านการหลั่ง interleukin-2 (IL-2) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ควบคุมการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาว พบว่า deoxyfructosazine สามารถต้านการหลั่งโปรตีน IL-2 ได้ดีกว่า glucosamine



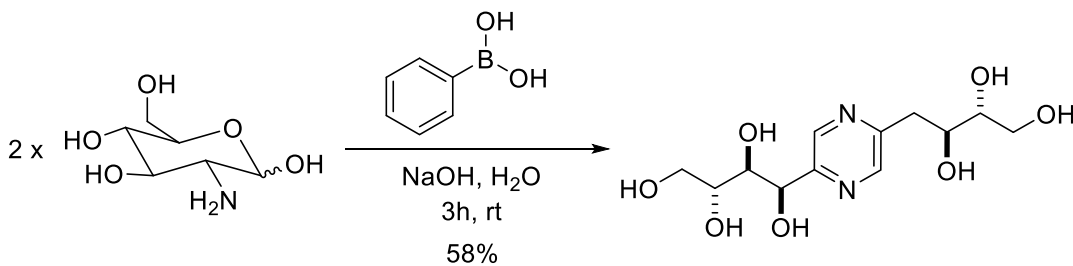
รูปที่ 1.7 แสดงโครงสร้าง fructosazine และ deoxyfructosazine

เนื่องจากความสามารถในการนำไปประยุกต์ใช้ที่หลากหลายของ fructosazine และ deoxyfructosazine การพัฒนาการสังเคราะห์จึงเป็นงานที่นักเคมีจำนวนมากให้ความสนใจ ในปี 1991 Sumoto K. และคณะ (12) พัฒนาการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ ไพราซีนจาก glucosamine hydrochloride โดยทำปฏิกิริยาในตัวทำละลายที่เป็นของผสมระหว่างน้ำกับตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ต่างกัน พบว่าให้ผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นของผสมระหว่าง fructosazine และ deoxyfructosazine ในอัตราส่วนที่ต่างกัน โดย Sumoto K. และคณะเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาของอนุพันธ์ของไพราซีนทั้งสองผ่าน dihydropyrazine intermediate (รูปที่ 1.8) โดยการสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้ จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นของผสมระหว่าง fructosazine และ deoxyfructosazine ซึ่งอัตราส่วนของผสมที่ได้จะขึ้นอยู่กับสถานะที่ใช้ในการสังเคราะห์ หากทำปฏิกิริยาโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย dihydropyrazine intermediate จะเกิดปฏิกิริยา dehydrogenation และให้ผลิตภัณฑ์หลักเป็น fructosazine แต่หากใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำผสมกับพิริดีน (pyridine) ซึ่งทำหน้าที่เป็นเบส dihydropyrazine intermediate จะเกิดปฏิกิริยา dehydration แทนและให้ผลิตภัณฑ์หลักที่เป็น deoxyfructosazine แต่วิธีการสังเคราะห์นี้มีข้อเสียที่ต้องตั้งรีฟลักซ์เป็นระยะเวลานานในการทำปฏิกิริยา



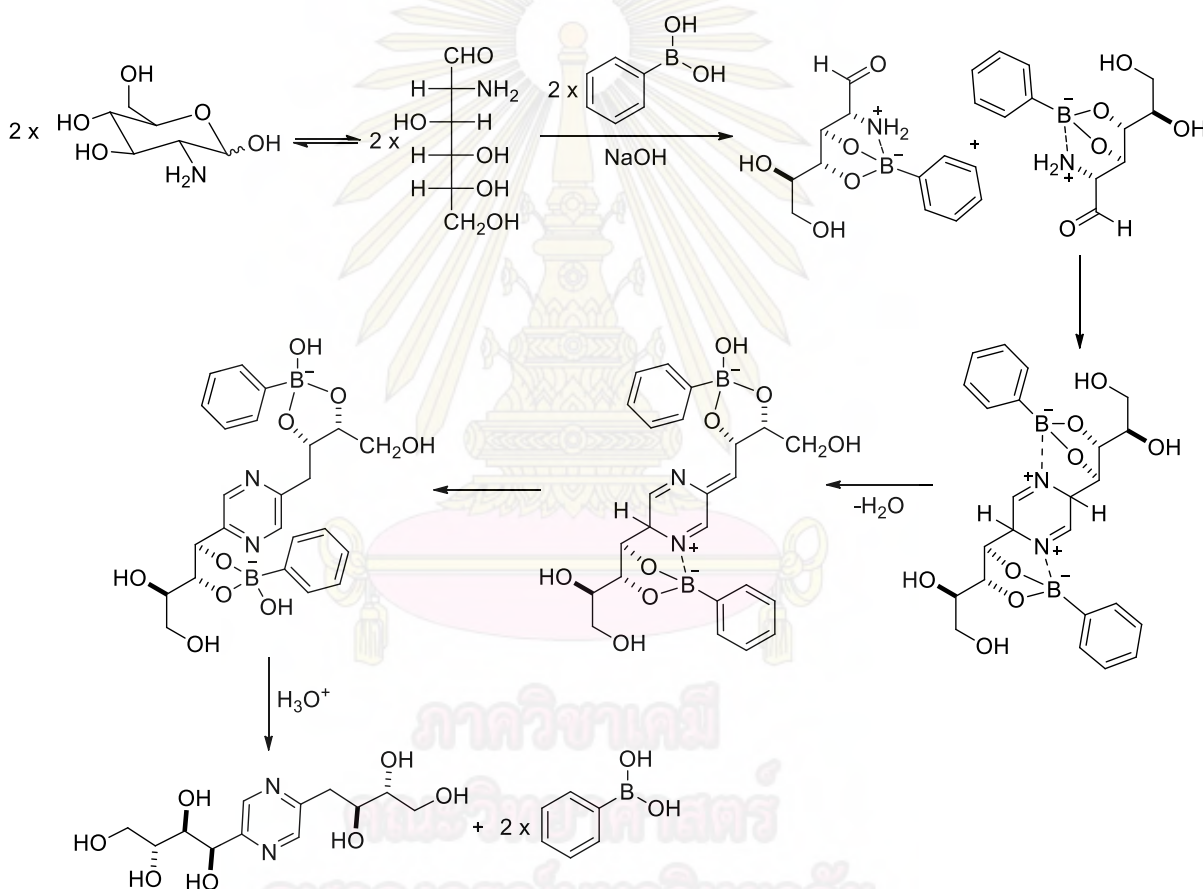
รูปที่ 1.8 แสดงกลไกการสังเคราะห์ fructosazine และ deoxyfructosazine

โดยในปี 2001 Rohovec J. และคณะ (13) ได้พัฒนาการวิธีการสังเคราะห์ deoxyfructosazine จาก glucosamine hydrochloride โดยใช้ phenylboronic acid หรือ boric acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (รูปที่ 1.9) โดยสามารถสังเคราะห์ deoxyfructosazine ได้เป็นผลิตภัณฑ์หลักในปริมาณ 58 %yield ซึ่งสูงกว่าวิธีของ Sumoto K. และคณะที่รายงานมาก่อนหน้านี้ นอกจากนี้ปฏิกิริยายังสามารถเกิดขึ้นได้ที่อุณหภูมิห้องและลดระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาได้ถึง 10 เท่า



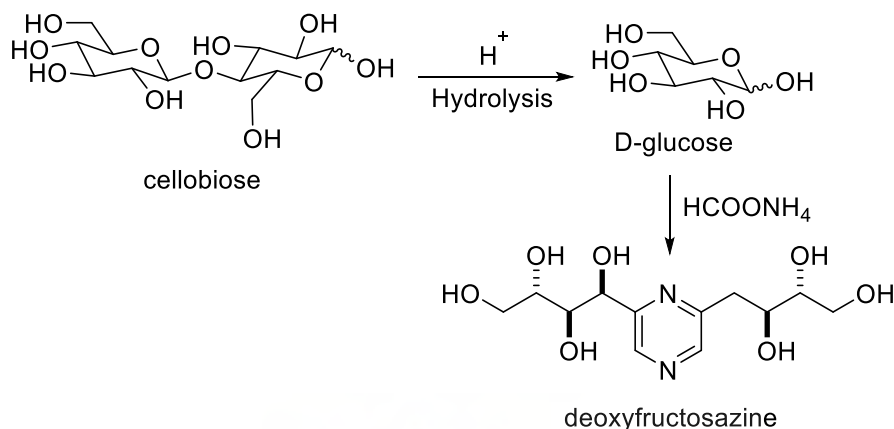
รูปที่ 1.9 แสดงการสังเคราะห์ดีออกซีฟรุกโตซาซีน โดย Rohovec J. และคณะ

กลไกปฏิกิริยาที่เสนอโดย Rohovec J. และคณะ คือ phenylboronic acid จะเกิดปฏิกิริยากับ sodium hydroxide เกิดเป็น phenylboronate จากนั้นจึงไป coordinate กับกลูโคซามีนเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง phenylboronate กับ glucosamine (รูปที่ 1.10)



รูปที่ 1.10 แสดงกลไกการปฏิกิริยาการควบแน่นระหว่าง glucosamine สองโมเลกุลโดยมี phenylboronic acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

นอกจากการใช้กลูโคซามีนเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ดีออกซีฟรุกโตซาซีนแล้ว โอลิโกแซคคาไรด์ชนิดอื่นที่มีอยู่มากในธรรมชาติก็สามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ได้เช่นกัน ยกตัวอย่างเช่น ในปี 2011 Wu S. และคณะ (14) รายงานการสังเคราะห์ deoxyfructosazine จากเซลโลไบโอส (cellobiose) โดยเริ่มจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลโลไบโอสให้อยู่ในรูปของกลูโคส จากนั้นทำปฏิกิริยาควบแน่นกับเกลือแอมโมเนียมฟอร์มเมท (ammonium formate) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น deoxyfructosazine ในปริมาณ 33% yield (รูปที่ 1.11) และนอกจากนี้ โอลิโกแซคคาไรด์ชนิดอินูลิน (Inulin) ยังสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นและให้ผลิตภัณฑ์ deoxyfructosazine ได้ในปริมาณ 28% yield เช่นกัน

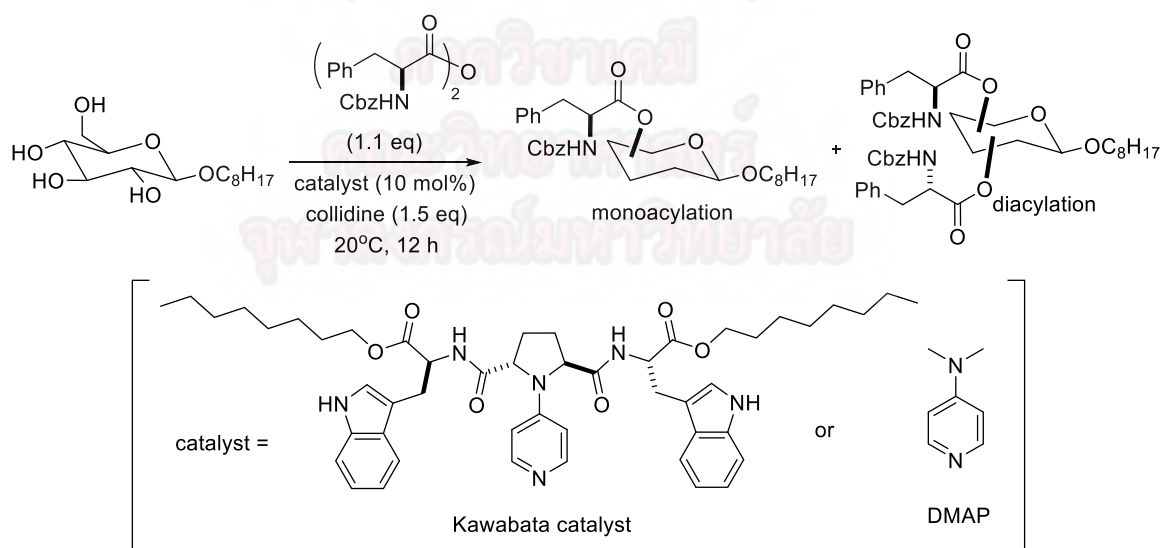


รูปที่ 1.11 แสดงการสังเคราะห์ deoxyfructosazine จาก cellobiose โดย Wu S. และคณะ

### 1.2.3 การเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาอินทรีย์ (organocatalyst)

เอซิลเลชัน (acylation) เป็นปฏิกิริยาการเติมหมู่เอซิล (acyl) ลงไปบนหมู่นิวคลีโอไฟล์ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญสำหรับการเติมหมู่ปกป้อง (protecting group) หรือการดัดแปลงโครงสร้าง (modification) ในการสังเคราะห์สารประกอบคาร์โบไฮเดรต โดยหากเติม nucleophilic catalyst เพื่อสร้างสารชั้นกลางจากการเกิดพันธะโคเวเลนต์ระหว่าง nucleophilic catalyst กับสารตั้งต้นโดยจะทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยามีค่าพลังงานกระตุ้นลดลง

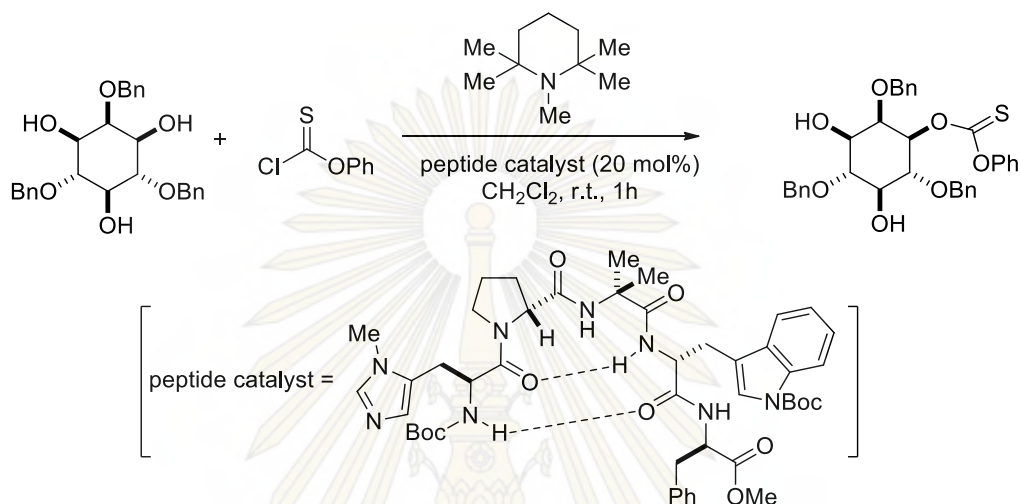
Ueda Y. และคณะ (15) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการเติมหมู่เอซิลแบบเลือกจำเพาะบนสารประกอบคาร์โบไฮเดรตโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาอินทรีย์ เปรียบเทียบระหว่างตัวเร่งปฏิกิริยาชนิด *N,N*-dimethylaminopyridine (DMAP) และตัวเร่งปฏิกิริยาอินทรีย์ที่มีแกนหมุนสมมาตรแบบ  $C_2$  (Kawabata catalyst) ที่พัฒนาขึ้นมาเองในกลุ่มวิจัย โดยพบว่าภายใต้สภาวะเดียวกันในปฏิกิริยาเอซิลเลชัน Kawabata catalyst มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาแบบจำเพาะหนึ่งตำแหน่ง (monoacylation) สูงถึง 81 %yield ในขณะที่ DMAP มีความสามารถในการเลือกจำเพาะเพียง 38 %yield (รูปที่ 1.12)



รูปที่ 1.12 แสดงการทำปฏิกิริยาเอซิลเลชันโดย Ueda Y. และคณะ

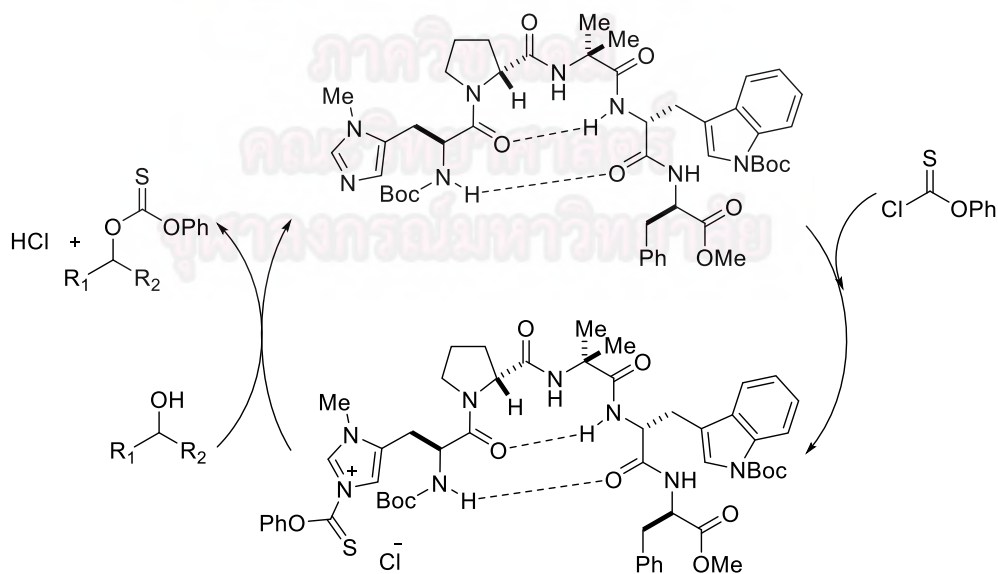


นอกจากนั้น Sánchez-Roselló M. และคณะ (16) ศึกษาการเติมหมู่ phenyl thionoformate ลงบน สารประกอบโพลีไฮดรอกซีและคาร์โบไฮเดรต พบว่าหากสารประกอบคาร์โบไฮเดรตตั้งต้นที่ใช้มีหมู่ไฮดรอกซีมากกว่า หนึ่งหมู่ การทำปฏิกิริยาเอซิลเลชันสามารถเกิดการแทนที่ได้หลายตำแหน่ง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของผสมหลาย regioisomer ส่งผลให้ %yield ของผลิตภัณฑ์แต่ละตัวมีปริมาณต่ำ แต่เมื่อนำสารประกอบเพปไทด์มาใช้เป็นตัวเร่งใน ปฏิกิริยาพบว่าสามารถเติมหมู่ไทโอโนฟอร์มเมตแบบเจาะจงได้ โดยเพปไทด์ที่ใช้มีสายโซ่กิ่งเป็นหมู่อิมิดาโซล (imidazole) ซึ่งเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอนที่ดีและมีไครัลคาร์บอน (chiral carbon) อยู่บนโมเลกุลเพปไทด์ (รูปที่ 1.13)



รูปที่ 1.13 แสดงปฏิกิริยาการเติมหมู่ไทโอโนฟอร์มเมตแบบเจาะจงโดย Sánchez-Roselló M. และคณะ

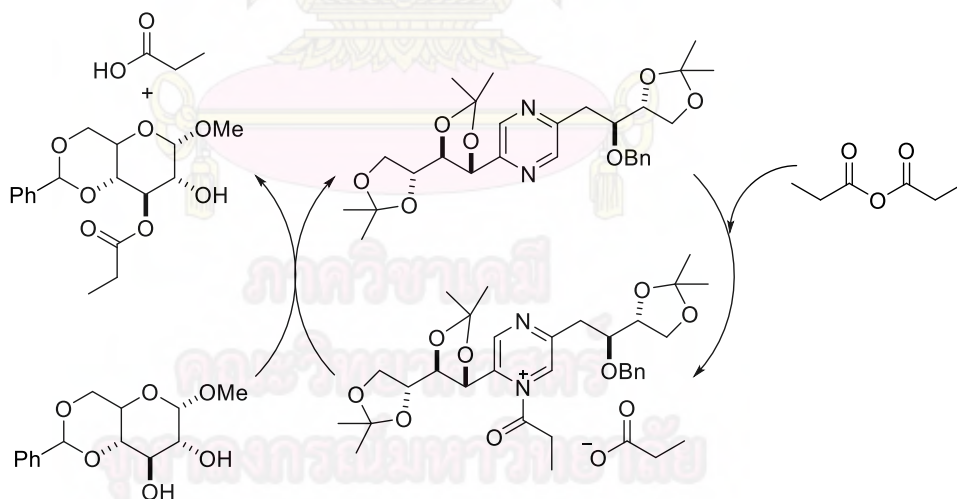
โดย Sánchez-Roselló M. และคณะ (16) เสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาเกิดผ่าน catalytic cycle (รูปที่ 1.14) โดยเสนอว่าไนโตรเจนอะตอมบนวงแหวนอิมิดาโซลทำหน้าที่เป็น organocatalyst ทำให้เกิดการจำเพาะเจาะจงในการแทนที่บนหมู่ไฮดรอกซี



รูปที่ 1.14 แสดง catalytic cycle ปฏิกิริยาการเติมหมู่ไทโอโนฟอร์มเมตแบบเจาะจง โดย Sánchez-Roselló M. และคณะ

จากงานวิจัยของ Sánchez-Roselló M. และคณะ (16) ทำให้สรุปได้ว่าปัจจัยที่สำคัญต่อการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันที่มีประสิทธิภาพได้แก่ 1) หมู่ให้อิเล็กตรอนซึ่งทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไฟล์ เพื่อกระตุ้นให้หมู่เอซิลมีความว่องไวต่อปฏิกิริยามากขึ้น 2) หมู่ที่แสดงความเป็นโคโรลเพื่อให้สามารถเลือกจับกับสารตั้งต้น (substrate) ในตำแหน่งที่เหมาะสมแบบสามมิติได้และ 3) การมีโครงสร้างแบบไม่ยืดหยุ่น (rigidity) ที่จะช่วยให้มีการเลือกทำปฏิกิริยาจำเพาะเพียงตำแหน่งเดียว

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยสนใจสังเคราะห์อนุพันธ์ไพราซีนชนิด deoxyfructoszine จากสารตั้งต้น glucosamine hydrochloride ที่ได้จากการย่อยโคตินซึ่งมาจากเปลือกกึ่งเหลือทิ้ง โดยกรรมวิธีเคมีสังเคราะห์จะพัฒนาจากวิธีการที่ Rohovec J. และคณะ (13) ที่ได้รายงานมาก่อนหน้านี้ซึ่งใช้ phenyl boronic acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่เนื่องจากวิธีที่รายงานนั้นเป็นการสังเคราะห์ deoxyfructoszine ในปริมาณน้อย (small scale synthesis) คณะผู้วิจัยจึงมีเป้าหมายที่จะปรับปรุงกระบวนการทำบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ผสมที่ได้ให้สามารถสังเคราะห์ deoxyfructoszine ได้ในปริมาณที่มากขึ้น (large scale synthesis) และยังคงสนใจที่จะศึกษาการใช้ซ้ำของตัวเร่งปฏิกิริยา phenyl boronic acid จากนั้นจะศึกษาการปรับเปลี่ยนหมู่แทนที่บนโมเลกุลของ deoxyfructoszine ให้แตกต่างกันทั้งหมดให้และหมู่ให้อิเล็กตรอนและปรับโครงสร้างให้มีคุณสมบัติความไม่ยืดหยุ่น (rigidity) ท้ายที่สุดจึงนำอนุพันธ์ของ deoxyfructoszine ที่ได้ไปศึกษาความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่มีหมู่ไฮดรอกซีหลายหมู่ โดยคาดหวังว่าไนโตรเจนอะตอมในวงแหวน deoxyfructoszine จะทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไฟล์เช่นเดียวกับอิมมิดาโซลในงานวิจัยของ Sánchez-Roselló M. (16) นอกจากนั้นอนุพันธ์ของ deoxyfructoszine ยังมีคาร์ลคาร์บอนหลายหมู่ซึ่งอาจส่งผลทำให้เกิดการเติมหมู่เอซิลแบบจำเพาะเจาะจงได้ ผู้วิจัยเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาเอซิลเลชันแบบจำเพาะเจาะจงดังรูปที่ 1.15 และยกตัวอย่างตำแหน่งที่จะเกิดการแทนที่หมู่ไฮดรอกซีบนสารประกอบคาร์โบไฮเดรตตำแหน่งดังรูปเนื่องจากมีผลจากความเกะกะ (steric effect) น้อยที่สุด



รูปภาพที่ 1.15 แสดง catalytic cycle ของปฏิกิริยาเอซิลเลชันที่เร่งปฏิกิริยาด้วยอนุพันธ์ของ deoxyfructoszine

### 1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. สังเคราะห์สารประกอบไพราซีนชนิดไดออกซีฟรุคโตซาซีนจากสารตั้งต้นกลูโคซามีนในปริมาณมาก (large scale synthesis)
2. ออกแบบและสังเคราะห์อนุพันธ์ของไดออกซีฟรุคโตซาซีนเพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชนิด organocatalyst
3. ศึกษาการเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันแบบจำเพาะของอนุพันธ์ไดออกซีฟรุคโตซาซีนกับสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่มีหมู่ไฮดรอกซีหลายหมู่

## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 วิธีการทดลองทั่วไป

##### 2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- การชั่งน้ำหนักสารทุกชนิดใช้เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จาก Denver instrument รุ่น TP-214
- การระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้เครื่อง rotary evaporator จาก EYELA รุ่น N-1000 ที่ประกอบด้วยอ่างน้ำร้อนจาก EYELA รุ่น SB-1000 โดยใช้ปั้มน้ำจาก SONIC รุ่น AP2500
- การระเหยตัวทำละลายอินทรีย์จุดเดือดสูงใช้เครื่อง high vacuum rotary evaporator จาก Buchi รุ่น Rotavapor R-210 ที่ประกอบด้วยอ่างน้ำร้อนจาก Buchi รุ่น B-491 โดยใช้ปั้มน้ำจาก Daikawa รุ่น 2VP-250L
- การตั้งปฏิกิริยาใช้เครื่องกวนแบบให้ความร้อนจาก HL instrument รุ่น HS-115
- อ่างน้ำร้อนจาก Memmert
- เครื่องดูดสุญญากาศจาก EYELA รุ่น A-35
- การระเหยตัวทำละลายน้ำด้วยเทคนิค lyophilization ใช้เครื่อง freeze dryer จาก Labconco รุ่น 77535-01
- การติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ใช้แผ่น thin layer chromatography จาก Macherey-Nagel ที่ใช้ silica gel 60 ร่วมกับ fluorescent indicator UV<sub>254</sub> 0.2 mm ที่เคลือบบนแผ่นอะลูมิเนียม
- การทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ใช้ silica gel ขนาด 70-230 mesh จาก Merck หรือ aluminiumdioxide ขนาด 50 mesh เป็นเฟสคงที่
- การกรอง impurity ด้วย fritted funnel กรองผ่าน celite หรือใช้เทคนิคกรองร้อนผ่าน activated charcoal จาก May&Baker
- การกระตุ้น (activate) molecular sieve เพื่อใช้ในปฏิกิริยาและใช้สำหรับเตรียมตัวทำละลายที่ปราศจากน้ำ ใช้ปั้มนสุญญากาศ จาก Daikawa รุ่น 2VP-180L
- การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารด้วยเทคนิค <sup>1</sup>H NMR และ <sup>13</sup>C NMR ทำโดยใช้ตัวทำละลาย deuterated ที่เหมาะสมละลายสารตัวอย่างและวัดโดยเครื่อง Varian Mercury-400 ที่ความถี่ 400 MHz สำหรับ <sup>1</sup>H NMR และวัดที่ความถี่ 100 MHz สำหรับ <sup>13</sup>C NMR
- การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารด้วยเทคนิค mass spectrometry โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำที่เหมาะสมและวัดโดยเครื่อง mass spectrometer จาก ESCi รุ่น Micromass Quattro Micro

##### 2.1.2 สารเคมี

- สารตั้งต้น glucosamine hydrochloride ได้จากการย่อยสลายเปลือกกุ้งด้วยเทคนิค microwave หรือ ultrasonic wave โดยรับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.อนวัช อาชวาคม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์เป็น reagent grade จาก Sigma-Aldrich, Merck, Fluka และ Acros ได้แก่ benzyl bromide, benzoyl chloride, copper(II)sulfate, diethyl ether, dimethylformamide,

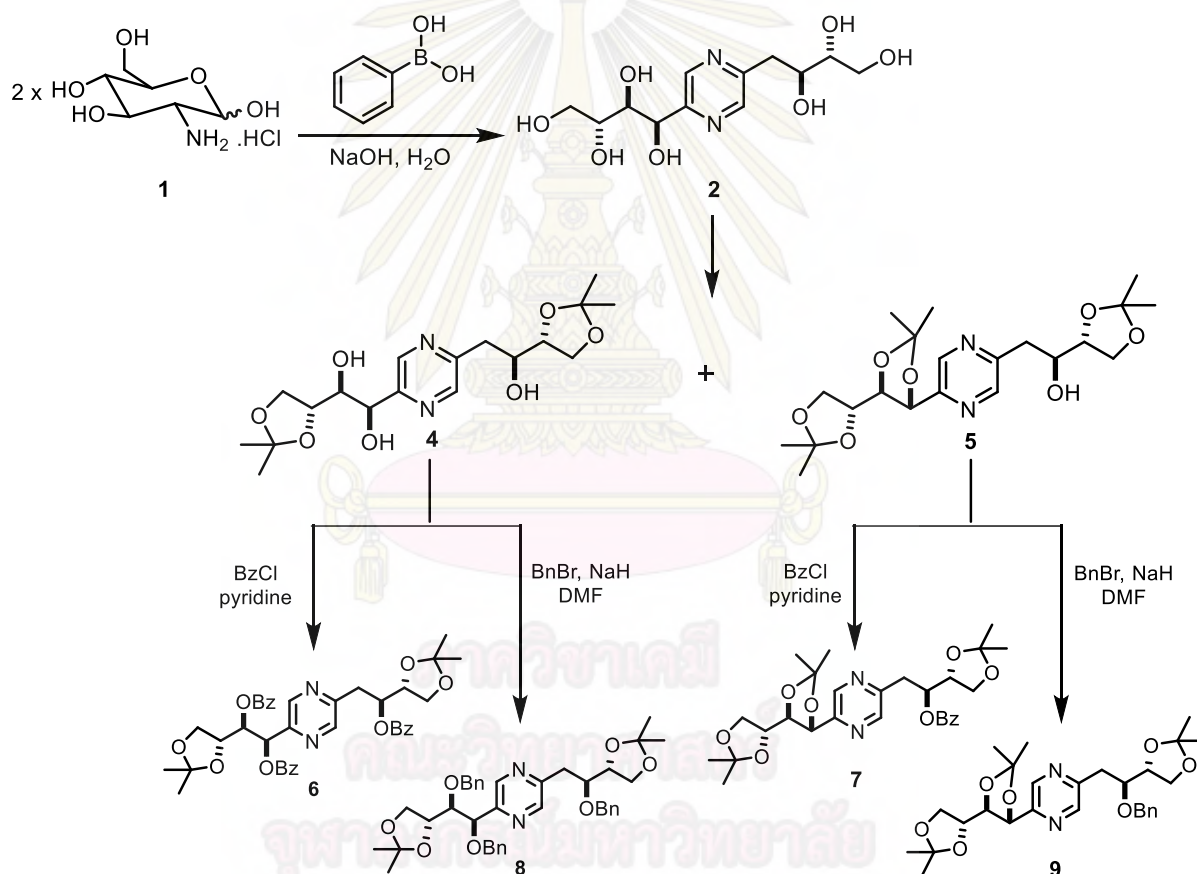
hydrochloric acid, phenylboronic acid, pyridine, sodium chloride, sodium hydrogen carbonate, sodium hydroxide, sodium hydride (60% w/w), sodium sulfate, tetrabutylammonium iodide

- ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้เป็นเกรด analytical grade จาก Carlo Erba, RCI Labscan และ Emsure ได้แก่ acetic acid, acetone, n-butanol, ethanol, ethyl acetate, hexanes, methanol, toluene

- TLC stain ที่ใช้ได้แก่ *p*-anisaldehyde, ninhydrin และ potassium permanganate

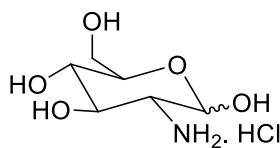
## 2.2 วิธีการสังเคราะห์

ผู้วิจัยได้วางแผนการสังเคราะห์ ดังนี้



รูปที่ 2.1 แสดงแผนการสังเคราะห์ในงานวิจัยนี้

## 2.2.1 การทำบริสุทธิ์ D-glucosamine hydrochloride (1) ด้วยการตกผลึก

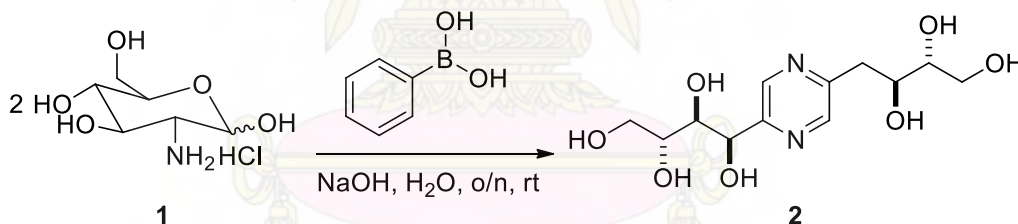


รูปที่ 2.2 แสดงโครงสร้าง D-glucosamine hydrochloride

ซึ่ง D-glucosamine hydrochloride ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. อนวัช อาชวาคม มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลืองน้ำตาล ปริมาณ 10.0 g ละลายด้วยน้ำร้อนปริมาณน้อยที่สุด เมื่อของแข็งละลายหมดแล้วเติม activated charcoal 2 ซ้อนชา เพื่อดูดสีของ impurity เขย่าขวดเล็กน้อย นำไปกรองร้อน ชะสารด้วยน้ำร้อน จากนั้นเติม ethanol จนกระทั่งสารเริ่มขุ่น วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสารเย็นลงจึงนำไปเก็บไว้ที่ที่มีอุณหภูมิ -3 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 คืน เพื่อให้สารตกผลึก จากนั้นนำไปกรองสุญญากาศล้างผลึกด้วย ethanol เย็น ทำผลึกให้แห้ง ได้ผลิตภัณฑ์เป็นผลึกสีขาวปนน้ำตาลอ่อน คิดเป็น 72 % recovery yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H NMR}$  พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการจริง

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , รูปที่ ก-2)  $\delta$  (ppm) 2.8 (m, 1H), 3.1 (m, 2H), 3.29 (m, 4H), 3.61 (m, 12H), 4.75 (m, 1H), 5.25 (d,  $J=3.5$  Hz, 2H)

## 2.2.2 การสังเคราะห์ปริมาณสูงของ deoxyfructosazine (2)



รูปที่ 2.3 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 2 จากสาร 1

ซึ่ง phenylboronic acid ปริมาณ 5.64 g (46.23 mmol, 2.5 equiv.) ใส่ขวดก้นกลม ละลายด้วย NaOH 1.85 g ในน้ำ 112 mL stir จนของแข็งละลายหมด จากนั้นเติม D-glucosamine hydrochloride 4.00 g (18.52 mmol, 1 equiv.) stir ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ n-butanol:acetic acid: $\text{H}_2\text{O}$  อัตราส่วน 3:1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วย UV lamp และสารละลาย ninhydrin stain พบจุดสาร 2 จุด มีค่า  $R_f$  ต่างจากสารตั้งต้น จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติม 10% HCl จนสารละลายมี pH 2-3 โดย phenylboronic acid จะตกตะกอนกลับมาเป็นของแข็งสีขาว สกัดสาร phenylboronic acid ที่ได้ด้วย diethyl ether 3 ครั้งเพื่อนำกลับไปใช้ใหม่ ส่วนชั้นน้ำที่มีดีออกซีฟรุกโตซาซินนำไประเหยไอรด HCl ด้วย water bath ที่อุณหภูมิ 50-60  $^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 2 ชม. จากนั้นตรวจสอบ pH ถ้ายังเป็นกรดให้เติมของแข็ง  $\text{NaHCO}_3$  จนสารละลายมี pH เป็นกลาง แล้วนำสารละลายที่ได้ไประเหยอีกครั้งด้วยเครื่อง rotary evaporator เพื่อไล่ diethyl ether ออกให้หมด เติม activated charcoal 1 ซ้อนชา ทำให้ร้อนใน water bath อุณหภูมิ 50-60  $^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 5-10 นาที แล้วกรองสุญญากาศ นำสารละลายที่ได้ไปเข้าสู่กระบวนการ lyophilization ซึ่งจะได้สารผสมเป็นของแข็งสีขาวขุ่นประกอบไปด้วยดีออกซีฟรุกโตซาซินและเกลือโซเดียม จึงต้องนำของผสมที่ได้จึงนำไปล้างเกลือโซเดียมออกด้วยเมทานอลซึ่งจะละลายเฉพาะผลิตภัณฑ์ดีออกซีฟรุกโตซาซินส่วนเกลือโซเดียมจะเหลือเป็นของแข็งอยู่

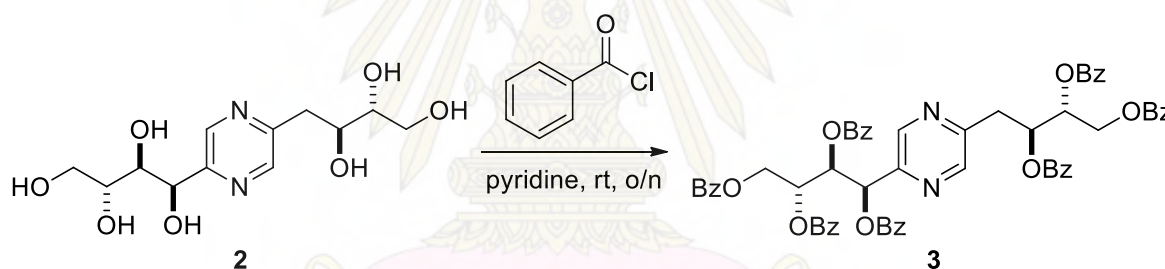
ที่กั้นภาชนะ ล้างด้วยเมทานอลจนกระทั่งไม่มีผลิตภัณฑ์เหลืออยู่ (ตรวจสอบโดยใช้ปลาย pipet และของแข็งที่เหลืออยู่ปริมาณเล็กน้อย แล้วนำไปเผาไฟหากมีดีออกซิฟรุคโตซาซินเหลืออยู่กับของแข็งจะเกิดเขม่าควันไฟสีดำของสารประกอบอินทรีย์ชนิดไม่อิ่มตัวเกิดขึ้นอย่างชัดเจน) นำสารละลายที่ประเหยแห้งด้วย rotary evaporator ได้ของแข็งสีเหลืองจากนั้นจึงนำไปละลายด้วยเมทานอลปริมาตรเล็กน้อยแล้วกรองผ่าน short column ด้วยซึ่งบรรจุด้วย celite และ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ชะคอหล่นด้วยเมทานอล เพื่อกำจัดสีและทำให้ของผสมมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น จากนั้นทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกผลึกตัวทำละลายผสมระหว่าง  $\text{H}_2\text{O}:\text{ethanol}$  ในอัตราส่วน 1:50

ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งมีลักษณะเป็นเม็ดกลมเล็กสีขาวหนัก 2.1665 g คิดเป็น 77% yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR และ  $^{13}\text{C}$  NMR (รูปที่ ก-16) พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการจริง

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , รูปที่ ก-3)  $\delta$  (ppm) 2.77 (dd,  $J=14, 9.8$  Hz, 1H), 3.01 (dd,  $J=14.2, 2.9$  Hz, 1H), 3.48 (m, 3H), 3.64 (m, 4H), 3.82 (ddd,  $J=9.5, 6.1, 3.1$  Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 8.32 (br. s, 1H), 8.51 (s, 1H)

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , รูปที่ ก-16)  $\delta$  (ppm) 37.40, 62.33, 62.82, 70.88, 71.12, 73.02, 73.23, 74.29, 142.10, 143.98, 153.07, 153.91

### 2.2.3 การทำปฏิกิริยา benzoylation ของ deoxyfructosazine (2)



รูปที่ 2.4 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzoylation ของ deoxyfructosazine

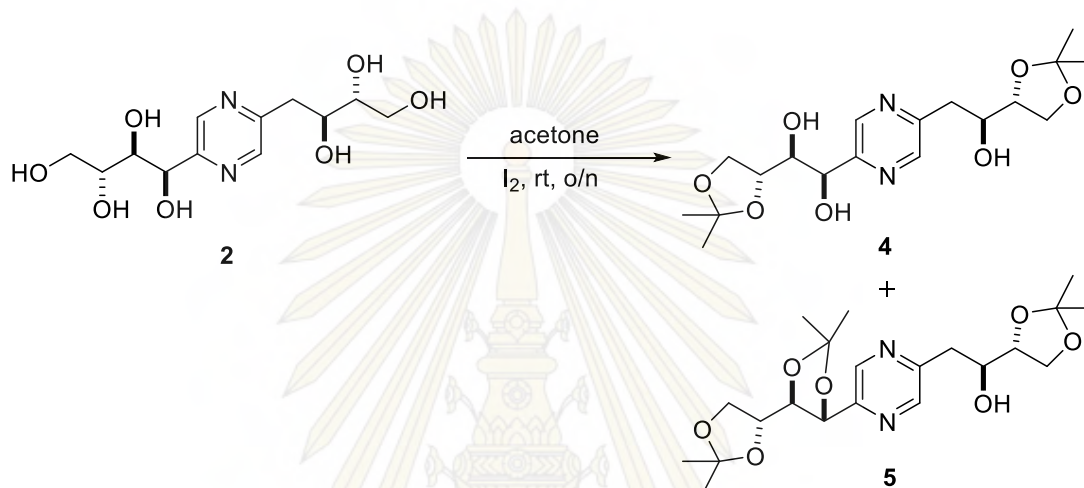
ปฏิกิริยาเบนโซอิลเลชันนี้ทำเพื่อจำแนกและยืนยันตำแหน่งของสัญญาณโปรตอนบน  $^1\text{H}$  NMR spectrum ของสาร 2 เริ่มด้วยการเผาขวดก้นกลมพร้อม magnetic bar ด้วยเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์ (flame-dried technique) รอให้ภาชนะเย็นลง จากนั้นเติม deoxyfructosazine 130 mg (0.427 mmol, 1.0 equiv.) ทำให้แห้งโดยเติม toluene แล้ว azeotrope จำนวน 3 ครั้ง ทำให้แห้งอีกครั้งด้วย manifold เป็นเวลา 10 นาที ปิดขวดด้วยจุกยาง septum แล้วเสียบลูกโป่งบรรจุ Ar เติม pyridine 4.30 mL และ benzoyl chloride 0.52 mL (4.48 mmol, 10.5 equiv.) โดยใช้เข็มฉีดยา stir ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ ethyl acetate:hexanes อัตราส่วน 1:1 ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วย UV lamp และสารละลาย  $\text{KMnO}_4$  stain พบจุดสาร 2 จุด มีค่า  $R_f$  ต่างจากสารตั้งต้น จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายอิ่มตัว  $\text{CuSO}_4$  และ ethyl acetate ตัวทำละลาย pyridine ที่ใช้นั้นมีกลิ่นเหม็นและมีจุดเดือดสูง ไม่เหมาะที่จะใช้ rotary evaporator ในการระเหยออกจากของผสมปฏิกิริยา ผู้วิจัยจึงเลือกที่จะกำจัด pyridine ออกจากโดยการสกัดด้วยสารละลายอิ่มตัวของ  $\text{CuSO}_4$  จนกระทั่งสีของชั้น  $\text{CuSO}_4$  เป็นสีฟ้าอ่อน (หากยังมี pyridine เหลืออยู่ในของผสมสารละลายที่ได้จะมีน้ำเงิน-ฟ้าเข้ม) จากนั้นนำชั้น ethyl acetate มาเติมสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaHCO}_3$  จนสารละลายเป็นเบสแล้วนำไปสกัดด้วย ethyl acetate จำนวน 3 ครั้ง ตามด้วยสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaCl}$  กำจัดน้ำด้วย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  นำสารละลายที่ประเหยแห้งได้ของแข็งสีขาว ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค  $\text{SiO}_2$  column chromatography โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 20-80% ethyl acetate in hexanes

ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาวปริมาณ 0.0479 g คิดเป็น 11% yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H NMR}$  และ mass spectroscopy พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการจริง

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-4)  $\delta$  (ppm) 3.33 (m, 2H), 4.54 (ddd,  $J=16.1, 12.2, 5.9$  Hz, 2H), 4.8 (ddd,  $J=19.4, 12.3, 3.4$  Hz, 2H), 5.8 (dd,  $J=5.6, 2.2$  Hz, 1H), 5.91 (m, 2H), 6.33 (dd,  $J=7.3, 4.4$  Hz, 1H), 6.55 (d,  $J=4.4$  Hz, 1H), 8.45 (d,  $J=1$  Hz, 1H), 8.59 (d,  $J=1$  Hz, 1H)

ESI-MS (รูปที่ ข-1) :  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{61}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  1032.31, พบ 1055.48

## 2.2.4 การทำปฏิกิริยา acetonide protection ของ deoxyfructosazine (2)



รูปที่ 2.5 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 4 และสาร 5 จากสาร 2

เผาขวดกันกลมพร้อม magnetic bar ด้วยกระบวนการ frame dry glassware จากนั้นเติม deoxyfructosazine 1.00 g (3.29 mmol, 1 equiv.) ทำให้แห้งโดยเติม toluene แล้ว azeotrope จำนวน 3 ครั้ง ทำให้แห้งอีกครั้งด้วย manifold เป็นเวลา 10 นาที ปิดขวดด้วยจุกยางแล้วเสียบลูกโป่งบรรจุก๊าซ Ar นำ  $\text{I}_2$  1.00 g (3.95 mmol, 1.2 equiv.) ละลายใน acetone 40 mL แล้วเติมลงในขวดกันกลม stir ทิ้งไว้ 4 วัน ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ 20 % ethyl acetate in hexanes ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วย UV lamp และสารละลาย  $\text{KMnO}_4$  stain พบจุดสาร 2 จุด มีค่า  $R_f$  ต่างจากสารตั้งต้น จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายอิ่มตัว  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  จนสารละลายสีน้ำตาลเข้มของไอโอดีนจางลงและคงที่ เติมสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaHCO}_3$  จนสารละลายมี pH เป็นเบสแล้วนำไปสกัดด้วย ethyl acetate จำนวน 3 ครั้ง แล้วนำชั้น organic ไปสกัดด้วย  $\text{H}_2\text{O}$  จำนวน 3 ครั้งตามด้วยสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaCl}$  และกำจัดน้ำด้วย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  นำสารละลายที่ได้ไประเหยได้ของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค  $\text{Al}_2\text{O}_3$  column chromatography โดยใช้ระบบ mobile phase 10-100% ethyl acetate in hexanes และแยกเก็บผลิตภัณฑ์เป็น fraction ที่ 1 และ 2

โดย fraction ที่ 1 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสาร 4 ลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลือง ปริมาณ 0.0678 g คิดเป็น 5% yield ส่วน fraction ที่ 2 เป็นสาร 5 ลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลือง ปริมาณ 0.2856 g คิดเป็น 20% yield ยืนยันเอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H NMR}$  และ mass spectroscopy ดังต่อไปนี้คือ

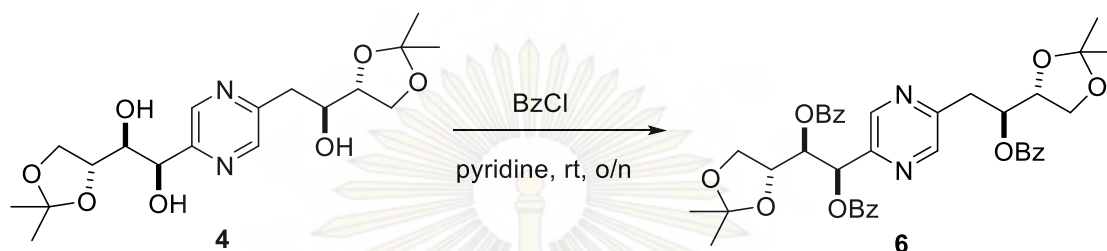
สาร 4;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-5)  $\delta$  (ppm) 1.37 (s, 6H), 1.44 (d,  $J=7$  Hz, 6H), 2.94 (dd,  $J=15.2, 7.8$  Hz, 1H), 3.19 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H), 3.92 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H), 4.03 (m, 4H), 4.17 (m, 3H), 5.02 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.66 (s, 1H)

ESI-MS (รูปที่ ข-2) :  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_7\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  407.18, พบ 407.24

สาร 5;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-6)  $\delta$  (ppm) 1.05 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.45 (d,  $J=2.3$  Hz, 6H), 2.91 (dd,  $J=15.2, 7.8$  Hz, 1H), 3.14 (m, 1H), 3.93 (m, 4H), 4.05 (dd,  $J=8.6, 5.9$  Hz, 2H), 4.24 (m, 2H), 4.94 (d,  $J=7$  Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.54 (d,  $J=1.2$  Hz, 1H)

ESI-MS (รูปที่ ข-3) :  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_7$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  425.23, พบ 425.26

## 2.2.5 การทำปฏิกิริยา benzoylation ของ (1S,2R)-1-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((S)-2-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-hydroxyethyl)pyrazin-2-yl)ethane-1,2-diol (สาร 4)



รูปที่ 2.6 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzoylation ของสาร 4

ทำการเผาขวดกันกลมพร้อม magnetic bar ด้วยกระบวนการ frame dry glassware จากนั้นเติมสาร 4 0.0753 g (0.196 mmol, 1 equiv.) ทำให้แห้งโดยเติม toluene แล้ว azeotrope จำนวน 3 ครั้ง ทำให้แห้งอีกครั้งด้วย manifold เป็นเวลา 10 นาที ปิดขวดด้วยจุกยางแล้วเสียบลูกโป่งบรรจุก๊าซ Ar เติม pyridine 1.96 mL และ benzoyl chloride 0.602 mL (4.29 mmol, 21.85 equiv.) โดยใช้เข็มฉีดยา stir ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ 20 % ethyl acetate:hexanes ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วย UV lamp และสารละลาย  $\text{KMnO}_4$  stain พบจุดสาร 2 จุด มีค่า  $R_f$  ต่างจากสารตั้งต้น จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายอิมิตัว  $\text{CuSO}_4$  เติม ethyl acetate กำจัด pyridine โดยสกัดสารที่ได้ด้วยสารละลายอิมิตัว  $\text{CuSO}_4$  จนกระทั่งสีของชั้น  $\text{CuSO}_4$  (ชั้นน้ำ) ไม่เปลี่ยน จากนั้นนำชั้น organic มาเติมสารละลายอิมิตัว  $\text{NaHCO}_3$  จนสารละลายมี pH เป็นเบสแล้วนำไปสกัดด้วย ethyl acetate จำนวน 3 ครั้ง ตามด้วยสารละลายอิมิตัว  $\text{NaCl}$  กำจัดน้ำด้วย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  นำสารละลายที่ไป ระเหย ได้ของเหลวสีเหลือง ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ผ่าน silica gel โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 20-70% ethyl acetate in hexanes

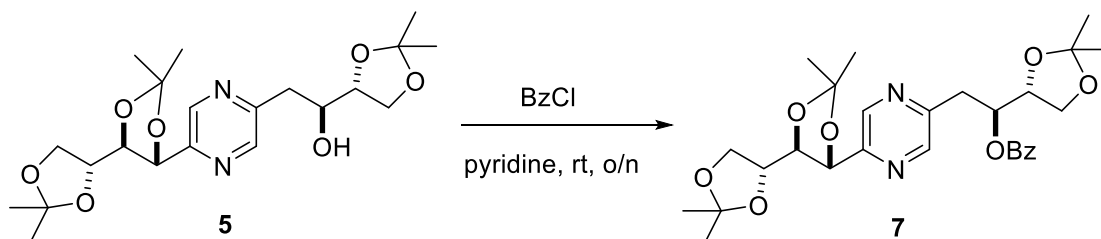
ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของเหลวหนืดสีขาว ปริมาณ 0.0717 g คิดเป็น 53% yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR และ mass spectroscopy พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการจริง

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-7)  $\delta$  (ppm) 3.27 (d,  $J=5.9$  Hz, 2H), 5.48 (d,  $J=5.9$  Hz, 1H), 5.9 (m, 1H), 6.43 (d,  $J=3.9$  Hz, 1H), 7.9 (dd,  $J=19.1, 8.2$  Hz, 4H), 8.48 (s, 1H), 8.56 (s, 1H)

ESI-MS (รูปที่ ข-4) :  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{10}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  696.27, found 719.19



## 2.2.6 การทำปฏิกิริยา benzoylation ของ (S)-1-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'-tetramethyl-[4,4'-bi(1,3-dioxolan)]-5-yl)pyrazin-2-yl)ethanol (สาร 5)



รูปที่ 2.7 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzoylation ของสาร 5

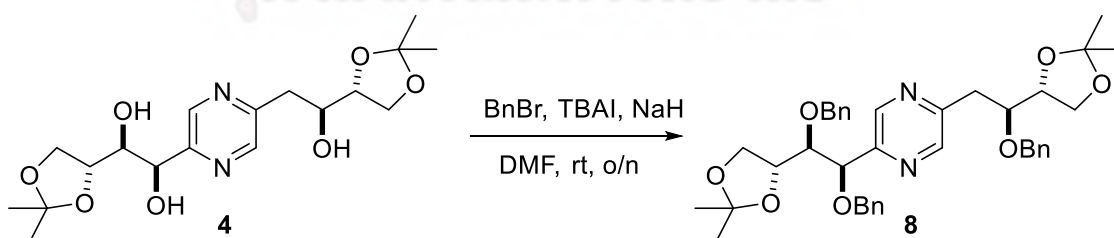
ทำการเผาขวดกันกลมพร้อม magnetic bar ด้วยกระบวนการ frame dry glassware จากนั้นเติมสาร 5 0.0436 g (0.103 mmol, 1 equiv.) ทำให้แห้งโดยเติม toluene แล้ว azeotrope จำนวน 3 ครั้ง ทำให้แห้งอีกครั้งด้วย manifold เป็นเวลา 10 นาที ปิดขวดด้วยจุกยางแล้วเสียบลูกโป่งบรรจุ Ar เติม pyridine 1.03 mL และ benzoyl chloride 0.518 mL (3.68 mmol, 35.7 equiv.) โดยใช้เข็มฉีดยา ขึ้น stir ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ 20 % ethyl acetate:hexanes ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วย UV lamp และสารละลาย KMnO<sub>4</sub> stain พบจุดสาร 2 จุด มีค่า R<sub>f</sub> ต่างจากสารตั้งต้น จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายอิ่มตัว CuSO<sub>4</sub> เติม ethyl acetate กำจัด pyridine โดยสกัดสารที่ได้ด้วยสารละลายอิ่มตัว CuSO<sub>4</sub> จนกระทั่งสีของชั้น CuSO<sub>4</sub> (ชั้นน้ำ) ไม่เปลี่ยน จากนั้นนำชั้น organic มาเติมสารละลายอิ่มตัว NaHCO<sub>3</sub> จนสารละลายมี pH เป็นเบสแล้วนำไปสกัดด้วย ethyl acetate จำนวน 3 ครั้ง ตามด้วยสารละลายอิ่มตัว NaCl กำจัดน้ำด้วย Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> นำสารละลายที่ไป ระเหย ได้ของเหลวสีเหลือง ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ผ่าน silica gel โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 20-70% ethyl acetate in hexanes

ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของเหลวหนืดสีขาว ปริมาณ 0.0483 g คิดเป็น 89% yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค <sup>1</sup>H NMR และ mass spectroscopy พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการจริง

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, รูปที่ ก-8) δ (ppm) 2.15 (m, 1H), 3.33 (m, 2H), 4.98 (d, J=7 Hz, 1H), 5.56 (m, 1H), 7.4 (m, 2H), 7.93 (d, J=8 Hz, 2H), 8.51 (s, 1H), 8.65 (s, 1H)

ESI-MS (รูปที่ ข-5) : m/z calcd for C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 528.25, found 551.25

## 2.2.7 การทำปฏิกิริยา benzylation ของ (1S,2R)-1-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((S)-2-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-hydroxyethyl)pyrazin-2-yl)ethane-1,2-diol (สาร 4)

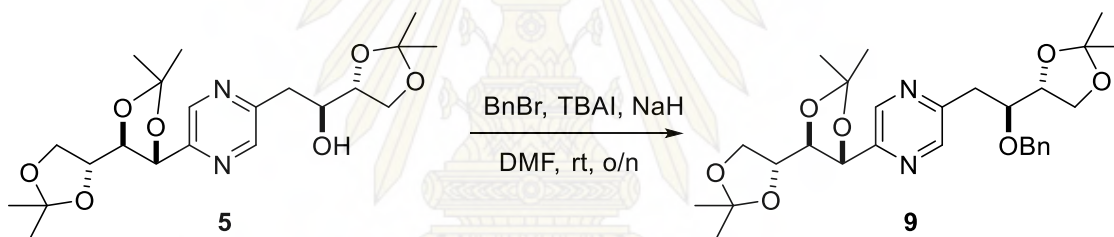


รูปที่ 2.8 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4

ทำการเผาขวดกันกลมพร้อม magnetic bar ด้วยกระบวนการ frame dry glassware จากนั้นเติมสาร 4 0.0678 g (0.176 mmol, 1 equiv.) ทำให้แห้งโดยเติม toluene แล้ว azeotrope จำนวน 3 ครั้ง ทำให้แห้งอีกครั้ง

ด้วย manifold เป็นเวลา 10 นาที ปิดขวดด้วยจุกยางแล้วเสียบลูกโป่งบรรจุก๊าซ Ar เติม *N,N*-dimethylformamide 1.8 mL เพื่อละลายสาร หลังจากนั้นเติม tetrabutylammonium iodide 0.0114 g (0.0308 mmol, 0.175 equiv.), benzyl bromide 0.08 mL (0.66 mmol, 3.75 equiv.) และเติม 60% Sodium hydride 0.0633 g (1.584 mmol, 9 equiv.) โดยใช้เข็มฉีดยา stir ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ 20 % ethyl acetate:hexanes ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วย UV lamp และสารละลาย *p*-anisaldehyde stain พบจุดสาร 2 จุด มีค่า  $R_f$  ต่างจากสารตั้งต้น จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaHCO}_3$  จนสารละลายมีฤทธิ์เป็นเบส หลังจากนั้นนำสารละลายไปสกัดด้วย  $\text{Et}_2\text{O}$  จนครบ 3 ครั้ง ตามด้วยสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaCl}$  กำจัดน้ำด้วย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  นำสารละลายที่ไป ระเหย ได้ของเหลวสีเหลือง ทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ผ่าน silica gel โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 5-50% ethyl acetate in hexanes และเก็บเฉพาะสารที่คาดว่าผลิตภัณฑ์เพียงตัวเดียว เมื่อตรวจสอบด้วย TLC แล้วใช้  $\text{KMnO}_4$  เป็น dipping reagent พบว่าสารที่ค่า  $R_f$  ดังกล่าว มีการทำปฏิกิริยาบนแผ่น TLC แต่เมื่อนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-9) พบว่าไม่ใช่ผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ

## 2.2.8 การทำปฏิกิริยา benzylation ของ (*S*)-1-((*R*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((4*S*,4'*R*,5*R*)-2,2,2',2'-tetramethyl-[4,4'-bi(1,3-dioxolan)]-5-yl)pyrazin-2-yl)ethanol (สาร 5)



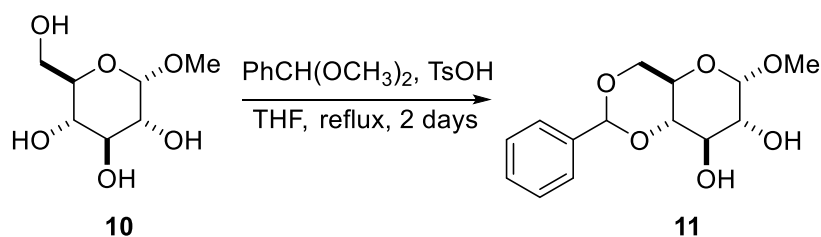
รูปที่ 2.9 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5

ทำการเผาขวดกันกลมพร้อม magnetic bar ด้วยกระบวนการ frame dry glassware จากนั้นเติมสาร 5 0.080 g (0.189 mmol, 1 equiv.) ทำให้แห้งโดยเติม toluene แล้ว azeotrope จำนวน 3 ครั้ง ทำให้แห้งอีกครั้งด้วย manifold เป็นเวลา 10 นาที ปิดขวดด้วยจุกยางแล้วเสียบลูกโป่งบรรจุก๊าซ Ar เติม *N,N*-dimethylformamide 1.9 mL เพื่อละลายสาร หลังจากนั้นเติม tetrabutylammonium iodide 0.012 g (0.033 mmol, 0.175 equiv.), benzyl bromide 0.0281 mL (0.2362 mmol, 1.25 equiv.) และเติม 60% sodium hydride 0.0227 g (0.367 mmol, 3 equiv.) โดยใช้เข็มฉีดยา stir ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิค thin layer chromatography ในระบบ 20 % ethyl acetate:hexanes ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วย UV lamp และสารละลาย *p*-anisaldehyde stain พบจุดสาร 2 จุด มีค่า  $R_f$  ต่างจากสารตั้งต้น จึงหยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaHCO}_3$  จนสารละลายมีฤทธิ์เป็นเบส หลังจากนั้นนำสารละลายไปสกัดด้วย  $\text{Et}_2\text{O}$  จนครบ 3 ครั้ง ตามด้วยสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaCl}$  กำจัดน้ำด้วย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  นำสารละลายที่ไป ระเหย ได้ของเหลวสีเหลือง ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ผ่าน silica gel โดยใช้ระบบ mobile phase เป็น 5-50% ethyl acetate in hexanes ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว ปริมาณ 0.0693 g คิดเป็น 64% yield พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H NMR}$  และ mass spectroscopy พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการจริง

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-10)  $\delta$  (ppm) 3.09 (m, 2H), 4.48 (m, 2H), 4.99 (d,  $J=6.6$  Hz, 1H), 7.13 (m, 1H), 7.27 (m, 2H), 7.36 (m, 2H), 8.48 (s, 1H), 8.63 (s, 1H)

ESI-MS (รูปที่ ข-6) :  $m/z$  cslcd for  $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_7$  [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$  514.27, found 515.27

2.2.9 การสังเคราะห์  $\alpha$ -D-4,6-benzylidene-O-methyl glucopyranoside (11) จาก  $\alpha$ -D-O-methyl glucopyranoside (10) เพื่อใช้เป็นคาร์โบไฮเดรตในการทดสอบปฏิกิริยา

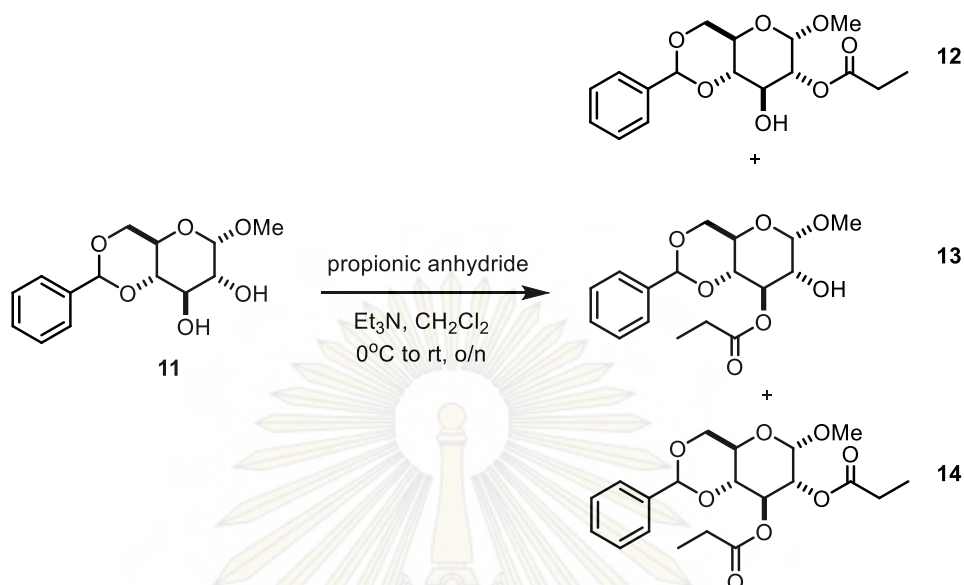


รูปที่ 2.10 แผนภาพการสังเคราะห์สาร 11 จากสาร 10

ชั่งสาร **10** ปริมาณ 1.00 g และ *p*-toluenesulfonic acid (TsOH) ใส่ขวดก้นกลมที่ผ่านกระบวนการ flame dry ต่อด้วยนำไป azeotrope จำนวน 3 ครั้งแล้วทำให้แห้งด้วยเครื่อง manifold เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นละลายสารด้วย tetrahydrofuran (THF) ปริมาตร 20 mL เมื่อสารละลายหมดจึงเติม benzaldehyde dimethylacetal ( $\text{PhCH}(\text{OCH}_3)_2$ ) ลงในสารละลาย แล้วทำการรีฟลักซ์ปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วันแล้วตรวจเช็คปฏิกิริยาโดยใช้เทคนิค thin layer chromatography ในระบบ 9:1 dichloromethane:methanol ตรวจสอบตำแหน่งของผลิตภัณฑ์ด้วย UV lamp และใช้ *p*-anisaldehyde เป็น dipping reagent ไม่พบสารตั้งต้นจึงหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaHCO}_3$  จนมี pH เป็นเบสแล้วนำไปสกัดด้วย EtOAc จำนวน 3 ครั้ง แล้วนำไปสกัดต่อด้วย  $\text{H}_2\text{O}$  เพื่อกำจัดสารตั้งต้นที่อาจเหลืออยู่ หลังจากนั้นสกัดต่อด้วยสารละลายอิ่มตัว NaCl และเติม  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  เพื่อกำจัดน้ำ นำชั้น organic ที่ได้ไประเหยโดยใช้เครื่อง rotary evaporator เมื่อตัวทำละลายระเหยหมดจึงนำไปตกผลึกโดยใช้ EtOAc กับ hexanes และเก็บในที่ที่มีอุณหภูมิ -3 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 1 วันจึงกรองผลึกโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศและล้างผลึกด้วย 10% EtOAc:hexanes ได้ผลิตภัณฑ์เป็นผลึกรูปเข็มสีขาวปริมาณ 0.7746 g (53% yield) พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H NMR}$

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-11)  $\delta$  (ppm) 3.93 (m, 1H), 4.3 (dd,  $J=9.8, 4.3$  Hz, 1H), 4.8 (d,  $J=3.9$  Hz, 1H), 5.53 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.49 (m, 1H)

## 2.3 การศึกษาปฏิกิริยาเอซิลเลชันของ $\alpha$ -D-4,6-benzylidene methyl glucopyranoside (สาร 11) ในสถานะที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา



รูปที่ 2.11 แผนภาพการทำปฏิกิริยา acylation ของสาร 11

นำสารตั้งต้นคาร์โบไฮเดรต (สาร 11) 0.100 g (0.35 mmol, 1 equiv.) ใส่ในขวดก้นกลมที่ผ่านกระบวนการ flame dry แล้วนำไป azeotrope จำนวน 3 ครั้งเพื่อกำจัดน้ำ จากนั้นจึงนำไปต่อเข้ากับ manifold อีก 10 นาที เมื่อสารตั้งต้นแห้งดีแล้วนำมาละลายด้วย dry dichloromethane 3.5 mL เพื่อให้สารละลายมีความเข้มข้น 0.1 M หลังจากนั้นรองขวดปฏิกิริยาด้วยน้ำแข็งก่อนเติม triethylamine ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) 0.098 mL (0.7, 2 equiv.) แล้วเติม propionic anhydride 0.054 mL ลงไป stir ทิ้งไว้ เมื่อครบ 3 ชั่วโมงจึงติดตามปฏิกิริยาด้วย TLC พบว่าสารตั้งต้นยังทำปฏิกิริยาไม่หมดจึง stir ทิ้งไว้ เมื่อเวลาครบ 24 ชั่วโมง จึงตรวจปฏิกิริยาอีกครั้งแต่ไม่พบจุดของสารตั้งต้นจึงหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaHCO}_3$  จนมี pH เป็นเบสแล้วนำไปสกัดด้วย  $\text{EtOAc}$  จำนวน 3 ครั้ง แล้วนำไปสกัดต่อด้วย  $\text{H}_2\text{O}$  เพื่อกำจัดสารตั้งต้นที่อาจเหลืออยู่ หลังจากนั้นสกัดต่อด้วยสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaCl}$  และเติม  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  เพื่อกำจัดน้ำ นำชั้น organic ไปตรวจสอบด้วยวิธี TLC พบจุดสาร 3 ตำแหน่งที่  $R_f$  ต่างกัน (รูปที่ 2.13) แล้วไประเหยตัวทำละลายโดยใช้เครื่อง rotary evaporator จากนั้นจึงนำไปทำบริสุทธิ์โดยวิธี column chromatography ผ่าน silica gel และใช้ mobile phase ระบบ 5-60% ethyl acetate in hexanes ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของผสม 3 ชนิด พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H NMR}$

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-12),  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-13) และ  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ ก-14)



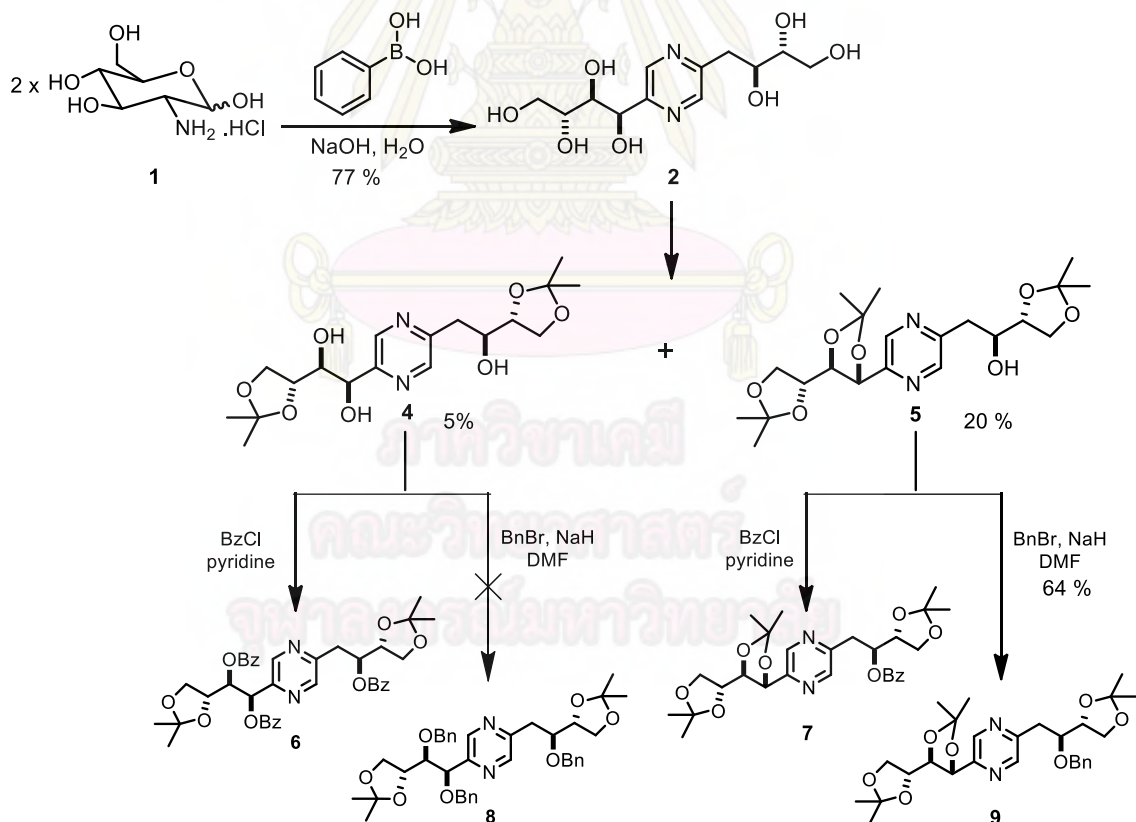
Mobile phase คือ 30%ethyl acetate:hexanes  
Dipping agent คือ *p*-anisaldehyde

รูปที่ 2.12 แสดงตำแหน่งบน TLC ของปฏิกิริยา 2.3

### บทที่ 3

#### ผลการทดลอง วิเคราะห์ผลการทดลอง

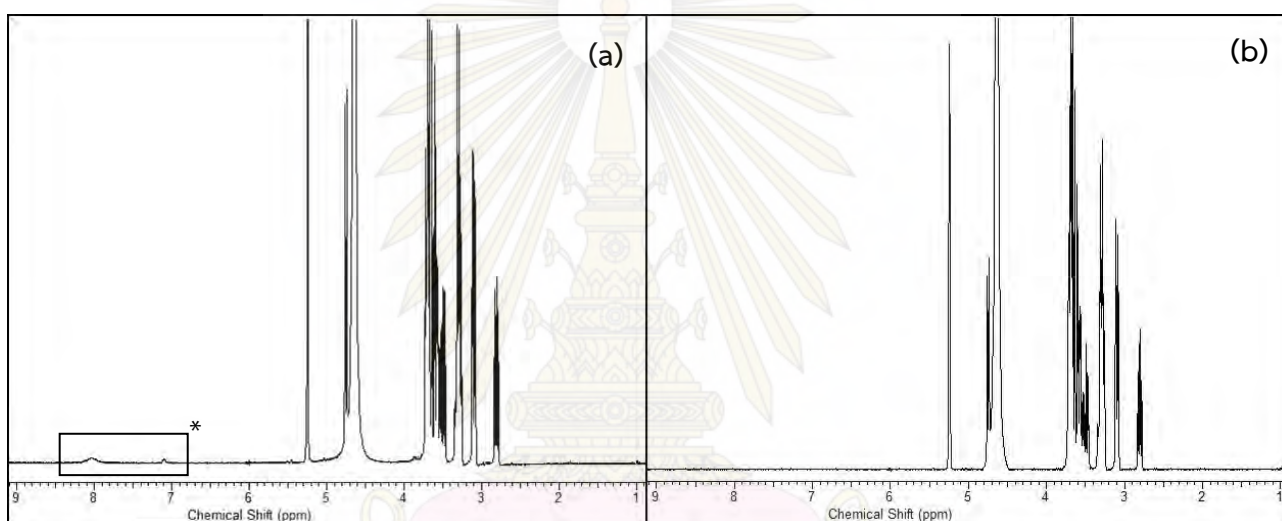
ในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยสนใจสังเคราะห์อนุพันธ์ไพราซีนชนิด deoxyfructosazine (2) จาก glucosamine hydrochloride ที่ได้จากการย่อยโคตินจากเปลือกกุ่มเหลือทิ้ง โดยประยุกต์ใช้วิธีสังเคราะห์ ที่ได้พัฒนาจากงานวิจัยที่รายงานมาก่อนหน้านี้ของ Rohovec J. และคณะ (13) โดยนำมาปรับปรุงกระบวนการทำบริสุทธิ์ของการสังเคราะห์ในปริมาณมาก (large scale synthesis) และศึกษาการใช้ซ้ำของ phenylboronic acid ที่ใช้เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยา เนื่องจาก phenylboronic acid มีราคาสูงถึงกรัมละ 158 บาท (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka/78181?lang=en&region=TH>) หลังจากพัฒนาการทำบริสุทธิ์จนได้ deoxyfructosazine ในปริมาณมากพอแล้วจึงนำ deoxyfructosazine ที่ได้มาสังเคราะห์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาอินทรีย์ โดยการปรับปรุงหมู่แทนที่หมู่ hydroxy บนโมเลกุลให้มีความแตกต่างกันทั้งเป็นหมู่ให้และหมู่ดึงอิเล็กตรอนรวมถึงเติมหมู่ปกป้องที่ทำให้โมเลกุลมีความไม่ยืดหยุ่น (rigidity) และท้ายที่สุดจึงนำอนุพันธ์ของ deoxyfructosazine (9) ที่ได้ไปศึกษาความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสารประกอบคาร์โบไฮเดรต โดยสามารถสรุปงานวิจัยได้ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แสดงแผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ deoxyfructosazine

### 3.1 การทำบริสุทธิ์สารตั้งต้น D-glucosamine hydrochloride ด้วยการตกผลึก

สารตั้งต้น glucosamine hydrochloride ที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้รับความอนุเคราะห์โดยกลุ่มวิจัยของ ผศ.ดร.อนวัช อาชวาคม ซึ่งได้มาจากการย่อยสลายไคตินจากเปลือกกุ้งเหลือทิ้ง เนื่องจากคณะผู้วิจัยสังเกตเห็นว่า สารตั้งต้นมีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อนและมีผงสีดำปะปนอยู่แทนที่จะเป็นของแข็งสีขาวบริสุทธิ์ จึงคาดว่ามีความสิ่งเจือปน (impurity) ที่เกิดจากการเก็บ glucosamine hydrochloride ไว้เป็นเวลานาน จึงจำเป็นต้องนำสารตั้งต้นมาเพิ่มความบริสุทธิ์โดยการตกผลึกในตัวทำละลายผสม  $H_2O:EtOH$  อัตราส่วน 1:20 และนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ  $-3$  องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังตกผลึกได้ glucosamine hydrochloride ลักษณะเป็นผลึกแวววาว สีขาว คิดเป็น 72 % recovery เมื่อนำไปยืนยันเอกลักษณ์ด้วยเทคนิค  $^1H$  NMR พบว่าสาร glucosamine hydrochloride ที่ได้มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นเนื่องจากไม่พบสัญญาณของ aromatic impurity (impurity เกิดจาก Maillard reaction) ที่ตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) 7.2 ppm และ 8.1 ppm ของกลูโคซามีนหลังจากตกผลึกแล้ว (รูปที่ 3.2)



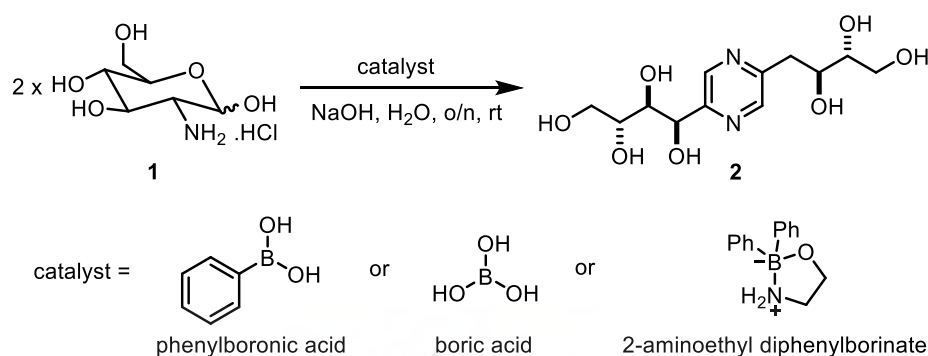
รูปที่ 3.2 แสดง  $^1H$  NMR spectrum (400 MHz,  $D_2O$ ) ของ (a) glucosamine hydrochloride ก่อนตกผลึก, (b) glucosamine hydrochloride หลังตกผลึกในตัวทำละลายผสม  $H_2O:EtOH$ , (\*) สัญญาณของ impurity

### 3.2 การพัฒนาการสังเคราะห์ deoxyfructosazine (2) ในปริมาณสูง

#### 3.2.1 การทำปฏิกิริยาเพื่อเลือกตัวเร่งปฏิกิริยาที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ deoxyfructosazine (2)

หลังจากได้ glucosamine hydrochloride ที่มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นแล้วจึงนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ deoxyfructosazine ซึ่งใช้สภาวะเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Rohovec J. และคณะ (13) โดยศึกษาผลของตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดต่างๆ ต่อปริมาณและความยากง่ายในการแยกผลิตภัณฑ์ deoxyfructosazine (2) และตัวเร่งปฏิกิริยาออกจากกันเพื่อนำกลับไปใช้ใหม่ (ตารางที่ 3.1) ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ศึกษามีทั้งสิ้น 3 ชนิด ได้แก่ phenylboronic acid และ boric acid ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ในงานวิจัยของ Rohovec J. และคณะ (13) แม้ว่าจากรายงาน phenylboronic acid จะให้ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ดีกว่า แต่มีราคาแพง ผู้วิจัยจึงต้องการทดลองใช้สารที่ราคาถูกกว่า คือ boric acid และสุดท้ายคือ 2-aminoethyl diphenylborinate ซึ่งมีรายงานจากการวิจัยก่อนหน้านี้ของ Lee D. และคณะ (17) ว่าเป็นสารประกอบโบรอนที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อน (complexation) กับหมู่ hydroxy ได้ดี

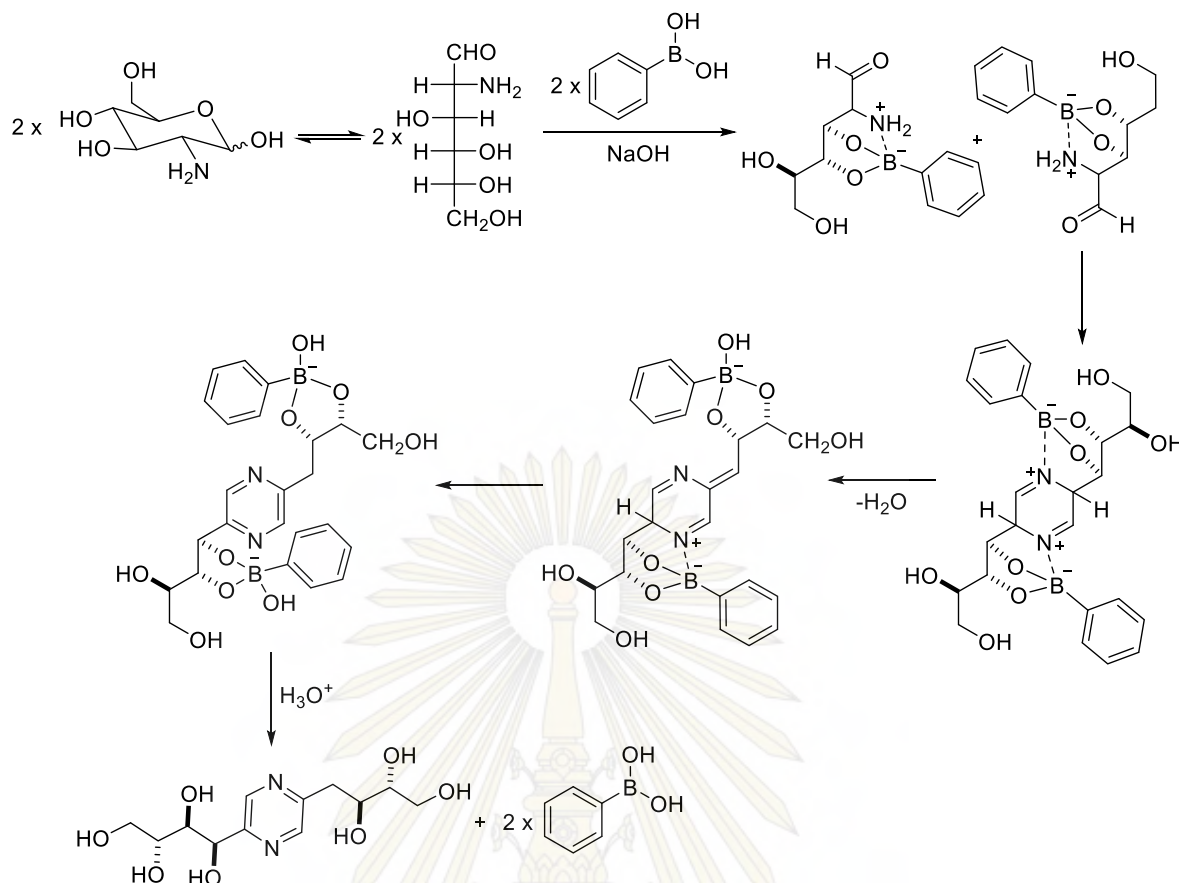
ตารางที่ 3.1 แสดงการศึกษาการเปลี่ยนแปลงตัวเร่งปฏิกิริยาของการสังเคราะห์ deoxyfructosazine (2)



การทดลองที่	ตัวเร่งปฏิกิริยา	เมื่อตั้งปฏิกิริยา 1 วัน	การตัวใช้ซ้ำตัวเร่งปฏิกิริยา	การทำบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์	%yield
1	phenylboronic acid	ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์	ใช้ซ้ำได้	ตกผลึก	62
2	boric acid	ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์	ใช้ซ้ำไม่ได้	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> column	62
3	2-aminoethyl diphenylborinate	ปฏิกิริยาเกิดไม่สมบูรณ์*	-	-	-

หมายเหตุ : (\*) คือ ติดตามปฏิกิริยาด้วย TLC ไม่พบผลิตภัณฑ์ จึงยืนยันด้วยเทคนิค mass spectroscopy (รูปที่ ข-8) พบว่าเกิดผลิตภัณฑ์น้อยมาก (trace amount)

จากการทดลองศึกษาปฏิกิริยาควบนั่นของ glucosamine hydrochloride โดยใช้ phenylboronic acid (ตารางที่ 3.1 การทดลองที่ 1) หรือ boric acid (การทดลองที่ 2) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและติดตามปฏิกิริยาด้วย TLC พบว่าจะใช้เวลา 1 วัน ในการทำปฏิกิริยาสมบูรณ์โดยได้ผลิตภัณฑ์ปริมาณ 62% yield เท่ากัน ในขณะที่เมื่อใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาเป็น 2-aminoethyl diphenylborinate (การทดลองที่ 3) พบว่าปฏิกิริยาเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย (trace amount) โดยยืนยันจากการติดตามปฏิกิริยาด้วย TLC และ mass spectrometry นอกจากนี้เมื่อศึกษาการนำกลับมาใช้ใหม่ของตัวเร่งปฏิกิริยา โดยการเติมกรด 10%HCl ลงไปในสารของผสมของปฏิกิริยาเพื่อให้ H<sup>+</sup> จากกรดทำการ protonate phenylboronate ให้กลับมาเป็น phenylboronic acid และ borate anion ให้กลับมาเป็น boric acid เช่นเดิม พบว่า phenylboronic acid สามารถกู้คืนได้โดยหลังจากเติมกรดลงไปจน pH 2-3 จะเกิด phenylboronic acid เป็นของแข็งสีขาวซึ่งสามารถแยกออกจากของผสมได้โดยการสกัดด้วย Et<sub>2</sub>O แล้วนำไประเหยตัวทำละลาย โดยได้ปริมาณ phenylboronic acid กลับมา quantitative แต่เมื่อเติมกรดลงไปในปฏิกิริยาที่ใช้ boric acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ไม่พบของแข็งเกิดขึ้นในสารละลายซึ่งทำให้ไม่สามารถแยก boric acid กลับมาใช้ซ้ำได้ (ตารางที่ 3.1) ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงเลือกวิธีสังเคราะห์ deoxyfructosazine โดยใช้ phenylboronic acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเนื่องจากสามารถทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์ภายในเวลา 1 วันและสามารถนำ phenylboronic acid กลับมาใช้ซ้ำเป็นตัวเร่งปฏิกิริยานี้ได้อีก โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาคาดว่าเกิดผ่านดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แสดงกลไกการปฏิกริยาการควบแน่นระหว่าง glucosamine สองโมเลกุลโดยมี phenylboronic acid เป็นตัวเร่งปฏิกริยา

### 3.2.2 การพัฒนาการทำบริสุทธิ์ deoxyfructosazine (2) ในปริมาณมาก

รายงานการวิจัยก่อนหน้าของ Rohovec J. และคณะ (13) เป็นการสังเคราะห์สาร 2 ปริมาณน้อยกว่า 1 กรัม และทำบริสุทธิ์โดยการตกผลึกตัวทำละลายผสม MeOH:EtOH แต่ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยต้องการสังเคราะห์ในปริมาณมากเพื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติในการเป็นตัวเร่งปฏิกริยาต่อ ประกอบกับ deoxyfructosazine เป็นสารที่มีขั้วสูงทำให้การทำบริสุทธิ์ทำได้ยาก เมื่อผู้วิจัยทดลองสังเคราะห์สารและทำบริสุทธิ์ด้วยวิธีการเดียวกับ Rohovec J. และคณะ (13) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการตกผลึกตัวทำละลายผสม MeOH:EtOH นั้นให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ปริมาณน้อย จึงทดลองเปลี่ยนวิธีการทำบริสุทธิ์ด้วย  $Al_2O_3$  column chromatography พบว่าให้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณสูงขึ้น แต่คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์ไม่มากพอ สังเกตจากสีของผลิตภัณฑ์และลักษณะของ  $H^1$  NMR ที่มีสัญญาณของ impurity ปะปนอยู่ ผู้วิจัยจึงศึกษากระบวนการทำบริสุทธิ์ของ deoxyfructosazine ในปริมาณสูง และพบว่าต้องเพิ่มขั้นตอนการทำบริสุทธิ์เบื้องต้น (semi-purification) เพื่อกำจัด impurity ก่อนการนำไปตกผลึก โดยสรุปกระบวนการทดลองที่ใช้ในการสังเคราะห์โดยใช้กลูโคซามีนเป็นสารตั้งต้นครั้งละ 2 กรัม ได้ดังนี้ (ตารางที่ 3.2)

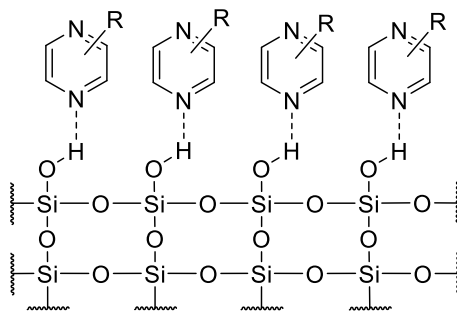


ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการพัฒนาการทำบริสุทธิ์ deoxyfructosazine

การทดลองที่	การกำจัดไฮดรอกซิลเบื้องต้น	ปรับ pH	การระเหยน้ำ	การกำจัด impurity เบื้องต้น	การดูดสี	การทำบริสุทธิ์	%yield
1	high vacuum rotary evaporator	-	high vacuum rotary evaporator	-	-	ตกผลึก (MeOH:EtOH)	62
2	hot plate, water bath	-	hot plate, water bath	-	-	column chromatography (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	60
3	water bath	NaHCO <sub>3</sub> (s)	high vacuum rotary evaporator	-	-	column chromatography (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	47
4	water bath	NaHCO <sub>3</sub> (s)	freeze dryer	short column (Celite และ Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	-	ตกผลึก (MeOH:EtOH)	63
5	water bath	NaHCO <sub>3</sub> (s)	freeze dryer	short column (Celite และ Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	activated charcoal	ตกผลึก (H <sub>2</sub> O:EtOH)	77

การทดลองครั้งที่ 1 ซึ่งในการทดลองครั้งแรกผู้วิจัยได้เริ่มจากการนำชั้นน้ำหลังจากแยก phenylboronic acid ออกแล้วไประเหยน้ำและไฮดรอกซิล เบื้องต้นด้วยเครื่อง high vacuum rotary evaporator ก่อนนำไปตกผลึกด้วยระบบ MeOH:EtOH อนึ่งในการศึกษาช่วงแรกผู้วิจัยพยายามหลีกเลี่ยงการสะเทินกรด HCl ที่เหลือด้วยเบส เนื่องจากจะเป็นการเพิ่มปริมาณเกลือในของผสมและจะเจือปนในการผลึก deoxyfructosazine ในขั้นสุดท้าย และในการสังเคราะห์นี้ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายและมีความเป็นกรดสูง (pH 2-3) ซึ่งไม่เหมาะต่อการใช้งานของเครื่อง high vacuum rotary evaporator ในการกำจัดน้ำเนื่องจากปริมาณน้ำที่มากจะทำให้เครื่อง high vacuum rotary evaporator ทำงานหนักและความเป็นกรดสูงจะทำให้อุปกรณ์ถูกกัดกร่อนได้

การทดลองครั้งที่ 2 ผู้วิจัยจึงได้เปลี่ยนวิธีการระเหยน้ำและไฮดรอกซิล มาใช้ hot plate ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสและอ่างน้ำร้อนระเหยน้ำในของผสมจนหมดก่อนจะนำไปทำบริสุทธิ์ และเปลี่ยนจากการตกผลึกในขั้นสุดท้าย เป็น Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> column chromatography แต่พบว่าหลังจากการให้ความร้อนด้วย hot plate เป็นเวลานาน สังเกตเห็นสีของสารละลายเป็นสีน้ำตาลเข้มและจากผล TLC พบว่ามี impurity ใหม่ซึ่งไม่พบในการทดลองก่อนหน้านี้ จึงคาดว่าเกิดจากการให้ความร้อนที่นานเกินไป โดยการทำให้ column chromatography ใช้ Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ที่อิมมัวใน MeOH เป็น stationary phase และใช้ MeOH:H<sub>2</sub>O เป็น mobile phase เหตุที่ใช้ Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> แทน silica gel เนื่องจากผลิตภัณฑ์ deoxyfructosazine เป็นสารที่มีความเป็นขั้วสูงมาก หากใช้ silica gel เป็น stationary phase สารจะเกิดพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ที่แข็งแรงและยึดติดอยู่กับกับ silica gel ทำให้ไม่สามารถแยกสารออกมาจากคอลัมน์ได้ (รูปที่ 3.4) ผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์ deoxyfructosazine ที่ได้มีสีน้ำตาลเข้มซึ่งอาจเกิดการให้ความร้อนที่สูงเกินไป ผู้วิจัยจึงต้องปรับเปลี่ยนขั้นระเหยตัวทำละลายอีกครั้ง



รูปที่ 3.4 แสดงการเกิด hydrogen bond ระหว่าง silica gel และ deoxyfructosazine

การทดลองครั้งที่ 3 ผู้วิจัยเลือกที่จะระเหยน้ำและไฮดรอกไซด์ HCl โดยใช้อ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงเพื่อที่จะลดปริมาตรตัวทำละลายก่อนที่จะนำไปปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย  $\text{NaHCO}_3$  (s) แล้วจึงนำไประเหยน้ำด้วยเครื่อง high vacuum rotary evaporator เพื่อป้องกันเครื่องจากการทำงานหนักและถูกกัดกร่อน หลังจากนั้นจึงนำไปทำบริสุทธิ์โดยวิธี column chromatography โดยใช้  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ที่อิมมิดในตัวใน MeOH เป็น stationary phase พบว่าได้ผลผลิตภัณฑ์เพียง 47 %yield ซึ่งได้ปริมาณน้อยกว่างานวิจัยของ Rohovec J. และคณะ (13) จึงคาดว่าการทำงานบริสุทธิ์ด้วยวิธี column chromatography ไม่เหมาะสมในการทำบริสุทธิ์สาร deoxyfructosazine ที่มีปริมาณมาก

การทดลองครั้งที่ 4 ผู้วิจัยนำสารละลายมาระเหยน้ำและไฮดรอกไซด์ HCl โดยใช้อ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส แล้วปรับ pH ให้เป็นกลางก่อนด้วย  $\text{NaHCO}_3$  (s) ระเหยน้ำออกโดยใช้เครื่อง freeze dryer จากนั้นกรองผ่าน short column ที่บรรจุ Celite และ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ที่อิมมิดในตัวใน MeOH ตามลำดับโดยต่อเข้าชุดเครื่องดูดสุญญากาศแล้วใช้ MeOH:H<sub>2</sub>O อัตราส่วน 1:1 ชะสารผลิตภัณฑ์ทั้งหมด ก่อนที่จะนำสารละลายที่ผ่านการกรองไประเหย MeOH ออกโดยใช้ rotary evaporator แล้วนำสารละลายที่เหลือซึ่งมีน้ำเป็นองค์ประกอบปริมาณมาก ไประเหยน้ำออกโดยใช้เครื่อง freeze dryer อีกครั้งแล้วจึงกลับมาใช้การตกผลึกด้วยตัวทำละลาย MeOH:EtOH ในการทำบริสุทธิ์ ได้ผลผลิตภัณฑ์ปริมาณ 63% yield แต่ยังมีปัญหาว่าในการตกผลึกจะต้องใช้ MeOH ปริมาณมากในการละลาย deoxyfructosazine ทำให้ในท้ายที่สุดได้ผลึกออกมาน้อย ดังนั้นต้องศึกษาวิธีอื่นเพื่อปรับปรุงต่อไป

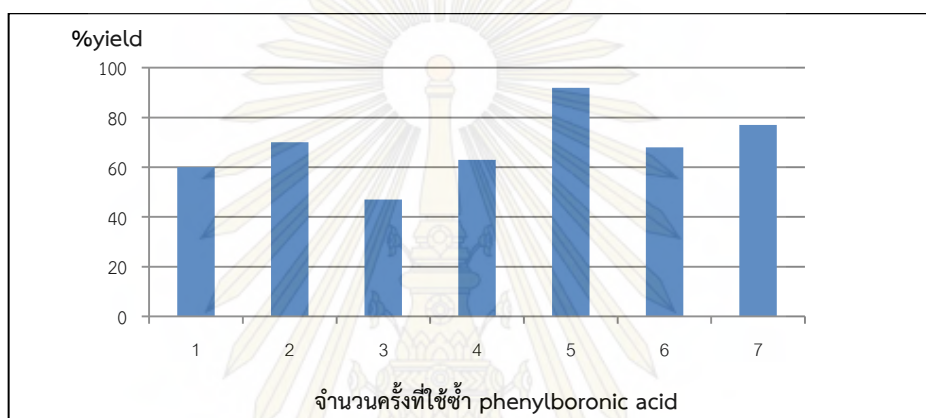
การทดลองครั้งที่ 5 ผู้วิจัยนำสารละลายมาระเหยน้ำและไฮดรอกไซด์ HCl โดยใช้อ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส แล้วปรับ pH ให้เป็นกลางก่อนด้วย  $\text{NaHCO}_3$  (s) มาดูดสีโดยการเติม activated charcoal จากนั้นกรองผง activated charcoal ออกแล้วไประเหยน้ำออกด้วยเครื่อง freeze dryer จากนั้นจึงนำมาผ่าน short column ที่ใส่ Celite และ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ที่อิมมิดในตัวใน MeOH ตามลำดับ แล้วชะด้วย MeOH (ไม่ใช้น้ำในการชะเหมือนการทดลองครั้งที่ 4 เพื่อที่จะได้ไม่ต้องไป freeze dryer อีกครั้ง) โดยการทำ short column นี้เพื่อเป็นการกำจัด impurity เบื้องต้น ก่อนจะนำไปตกผลึกโดยได้เปลี่ยนตัวทำละลายจาก MeOH:EtOH (การทดลองครั้งที่ 4) เป็น H<sub>2</sub>O:EtOH เพื่อเพิ่ม %recovery ของการตกผลึกและพบว่าได้ deoxyfructosazine ในปริมาณสูงที่สุดถึง 77 %yield ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกการทดลองที่ 5 นี้เพื่อใช้ในการทำบริสุทธิ์ของการสังเคราะห์ deoxyfructosazine ปริมาณมากต่อไป โดยผลสรุปปริมาณผลิตภัณฑ์ (%yield) และวิธีการของแต่ละการทดลองดังตารางที่ 3.2

เนื่องจากในการทดลองผู้วิจัยเลือกใช้ phenylboronic acid ซึ่งมีราคาสูงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการสังเคราะห์สาร deoxyfructosazine (2) ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำ phenylboronic acid กลับมาใช้ใหม่เพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่าย และพบว่า phenylboronic acid สามารถนำมาได้มาใช้ซ้ำเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้โดยไม่ต้องผ่านการทำบริสุทธิ์ก่อนอีกด้วย ในการทดลองครั้งที่ 1-7 phenylboronic acid ยังคงสามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาให้เกิดผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่มากกว่าหรือใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Rohovec J. และคณะ (13) ดังนั้นการศึกษาคั้งนี้พบว่า phenylboronic acid ที่ได้จากการกู้คืนสามารถนำมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพได้อย่างน้อย 7 ครั้ง (ตารางที่ 3.3 และรูปที่ 3.5)

ตารางที่ 3.3 แสดงปริมาณของ deoxyfructosazine ที่สังเคราะห์ได้จากจำนวนครั้งที่ใช้ phenylboronic acid\*

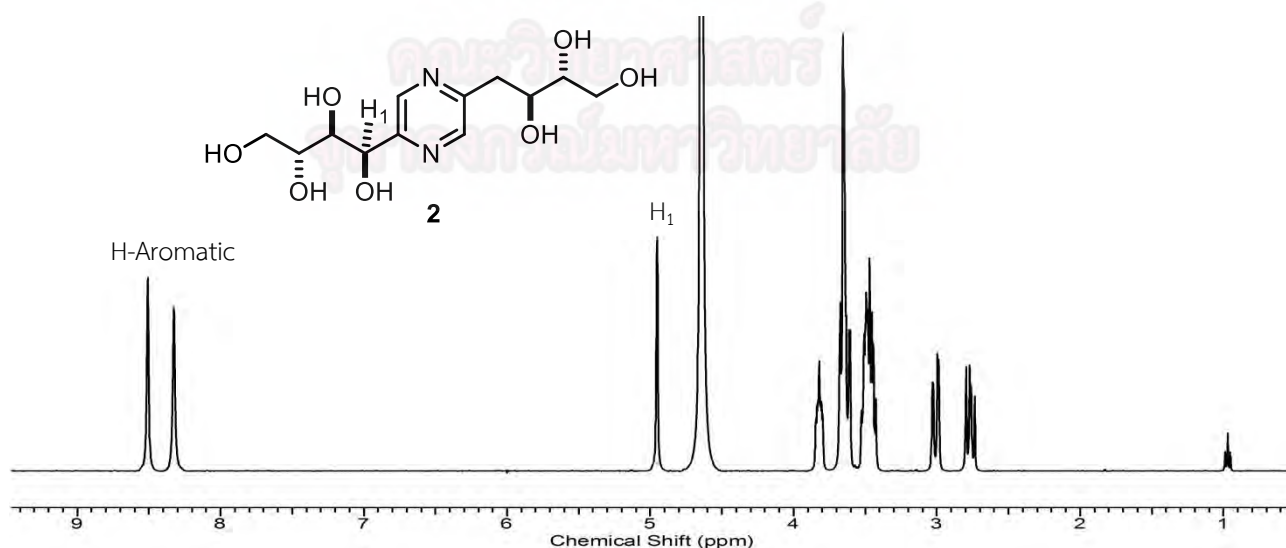
จำนวนครั้งที่ใช้ของ phenylboronic acid	1	2	3	4	5	6	7
กลูโคซามีนตั้งต้น (g)	0.500	0.500	2.000	4.000	4.000	4.000	4.000
deoxyfructosazine (%yield)	60	70	47	63	92	68	77

\* phenylboronic acid ที่กู้คืนมาได้แต่ละปฏิกิริยามี %recovery เป็น quantitative เนื่องจากตกตะกอนออกมาด้วยกรด HCl เป็น crude และนำกลับไปใช้ซ้ำโดยที่ไม่มีการทำบริสุทธิ์เพิ่มเติม

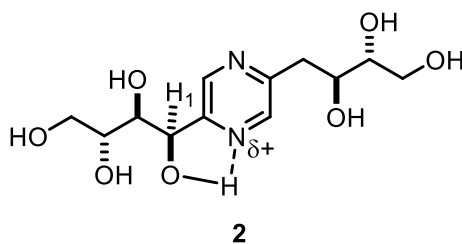


รูปที่ 3.5 กราฟแสดงปริมาณของ deoxyfructosazine ที่สังเคราะห์ได้จากจำนวนครั้งที่ใช้ phenylboronic acid

เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์ deoxyfructosazine (2) ด้วย  $^1\text{H}$  NMR (รูปที่ 3.6) พบสัญญาณของโปรตอน ทั้ง 2 อะตอมบนวงไพราซีนที่ตำแหน่งอะโรมาติก มีค่า  $\delta$  8.32 และ 8.51 ppm เนื่องจาก nitrogen บนวงไพราซีนจะส่งผลให้โปรตอนมีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนลดลงทำให้สัญญาณเคลื่อนที่ไปทาง downfield และนอกจากนี้อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของ nitrogen สามารถเกิด hydrogen bonding กับโปรตอนบนหมู่ hydroxy บนโครงสร้าง (รูปที่ 3.7) ส่งผลให้  $\text{H}_1$  เคลื่อนที่ไปทาง downfield มากกว่าสัญญาณของ โปรตอนตำแหน่งอื่น (รูปที่ 3.6)



รูปที่ 3.6  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ของ deoxyfructosazine (สาร 2)



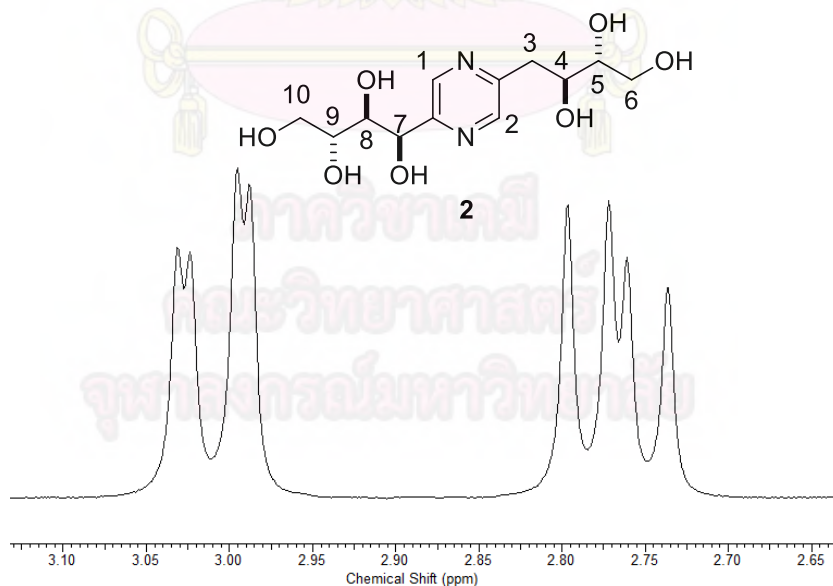
รูปที่ 3.7 แสดงการเกิด hydrogen bonding บนโครงสร้าง deoxyfructosazine

จากข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR ของสาร deoxyfructosazine (2) (รูปที่ 3.10 (a)) สามารถจำแนกสัญญาณของโปรตอนได้ดังนี้

สัญญาณตำแหน่ง  $\delta$  2.77 ppm (dd,  $J=14, 9.8$  Hz, 1H) และ 3.01 ppm (dd,  $J=14.2, 2.9$  Hz, 1H) คือสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 3 ซึ่งมี 2 โปรตอน จากการที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 เป็น chiral carbon ส่งผลให้โปรตอนทั้งสองแตกต่างกันในสามมิติ (diastereotopic proton) จึงได้รับอิทธิพลของสนามแม่เหล็กไฟฟ้าที่ต่างกัน สัญญาณของโปรตอนทั้งสองจึงต่างกันแม้จะอยู่บนคาร์บอนเดียวกันและเกิด coupling กันเองด้วย (รูปที่ 3.8) นอกจากนี้ยังปรากฏสัญญาณ upfield ที่สุดเนื่องจากไม่มีหมู่ hydroxy บนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เช่นเดียวกับคาร์บอนอื่น

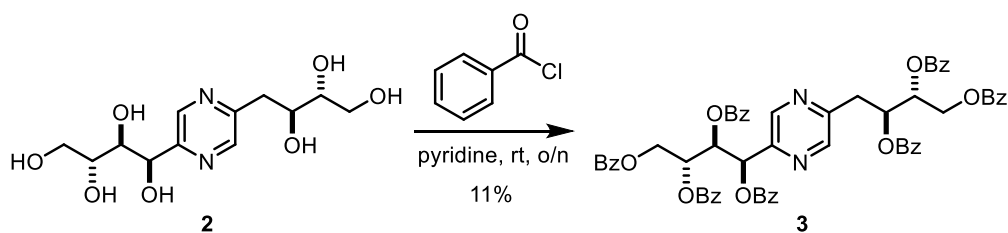
สัญญาณตำแหน่ง  $\delta$  4.95 ppm (s, 1H) คือสัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 7 เนื่องจากมีหมู่ hydroxy ที่คาดว่าสามารถเกิด hydrogen bond กับ nitrogen บนวงไพราซีนได้ (รูปที่ 3.7) สัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งนี้จึง downfield ที่สุดรองจากโปรตอนบนวงไพราซีน

ส่วนสัญญาณตำแหน่ง  $\delta$  8.32 ppm (br. s, 1H) และ 8.51 ppm (s, 1H) คือสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 1 และ 2 บนวงไพราซีน (อาจสลับตำแหน่งกันได้) ส่วนสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งอื่นๆนั้นยากต่อการจำแนกเนื่องจากรวมกันอยู่ในตำแหน่งเดียวกัน



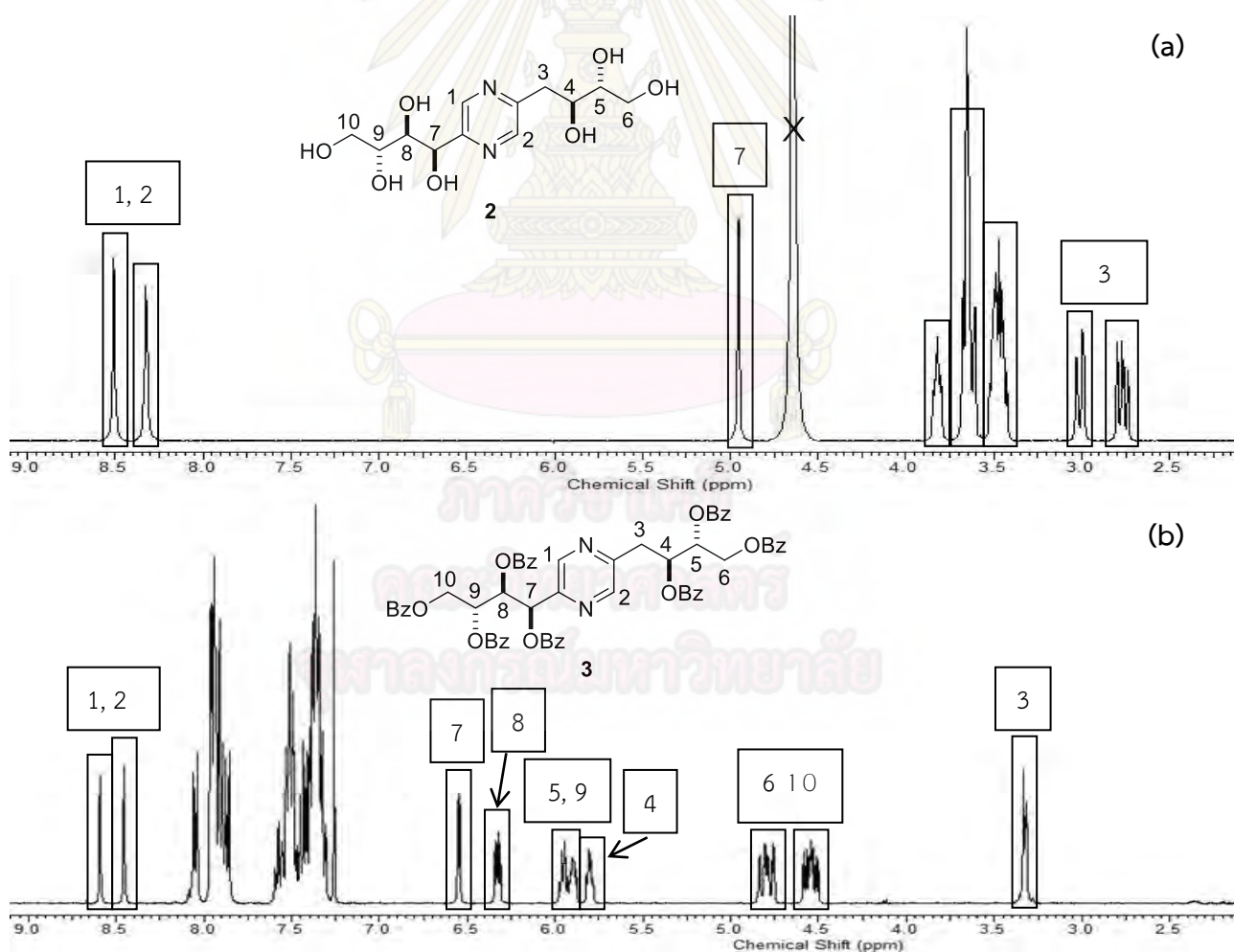
รูปที่ 3.8 แสดงลักษณะสัญญาณ  $^1\text{H}$  NMR spectrum ของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของสาร 2

### 3.3 การทำปฏิกิริยา benzoylation ของ deoxyfructosazine (สาร 2)



รูปที่ 3.9 แสดงผลการทำปฏิกิริยา benzoylation ของ deoxyfructosazine

เพื่อช่วยในการยืนยันเอกลักษณ์ของสาร deoxyfructosazine (2) ที่สังเคราะห์ได้ ผู้วิจัยจึงทำปฏิกิริยา benzoylation เพื่อที่จะใช้ระบุตำแหน่งของโปรตอนแต่ละตำแหน่งของสาร 2 ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR จึงทำปฏิกิริยา benzoylation ของสาร 2 เนื่องจากหมู่ benzoyl เป็นหมู่เอสเทอร์มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอน เมื่อเกิดการแทนที่หมู่ hydroxy ทำให้เกิดความแตกต่างกันของความหนาแน่นของอิเล็กตรอนบนโปรตอนแต่ละตำแหน่ง สัญญาณของโปรตอนจึงเกิดการเคลื่อนที่ (shift) ไปทาง downfield มากน้อยต่างกัน เกิดการแยกตัวของกลุ่มสัญญาณ ทำให้สามารถระบุตำแหน่งที่แน่นอนของโปรตอนแต่ละตำแหน่งของสาร 2 บน  $^1\text{H}$  NMR ได้ (รูปที่ 3.10)



รูปที่ 3.10 แสดง  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ของสาร 2 (a) และ  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 3 (b)

หมายเหตุ : (a) มีอัตราส่วนของ integration จากซ้ายไปขวาเป็น 1:1:1:1:4:3:1:1

(b) มีอัตราส่วนของ integration จากซ้ายไปขวาเป็น 1:1:1:1:2:1:2:2:2

หลังจากทำปฏิกิริยา benzoylation ของสาร 2 ได้เป็นสาร 3 ทำให้สามารถระบุตำแหน่งของโปรตอนอื่นๆ บนสัญญาณ  $^1\text{H NMR}$  ได้มากขึ้น (รูปที่ 3.10 (b)) ดังนี้

สัญญาณตำแหน่ง  $\delta$  3.33 (m, 2H) คือสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 3 เนื่องจากสัญญาณมีลักษณะเป็น multiplet ซึ่ง upfield ที่สุดเนื่องจากไม่มีหมู่ benzoyl เช่นเดียวกับคาร์บอนตำแหน่งอื่น

สัญญาณตำแหน่ง  $\delta$  4.54 ppm (ddd,  $J=16.1, 12.2, 5.9$  Hz, 2H) และ 4.8 ppm (ddd,  $J=19.4, 12.3, 3.4$  Hz, 2H) คือสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 6 และ 10 (ตำแหน่งอาจสลับกันได้ระหว่าง 6 และ 10) เนื่องจากทั้งสองชุดสัญญาณมีลักษณะสัญญาณที่คล้ายกันและจากค่า integration พบว่ามีชุดสัญญาณละ 2 โปรตอน ซึ่งบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และ 10 นั้นต่างมี 2 โปรตอนบนแต่ละคาร์บอน

สัญญาณตำแหน่ง  $\delta$  5.8 ppm (dt,  $J=5.9 \times (2), 3.9$  Hz, 1H) มีลักษณะสัญญาณเป็น triplet of doublet คือสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 4 ซึ่ง upfield ที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตอนตำแหน่งที่ 5, 7, 8, 9 เนื่องจากต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ซึ่งไม่ได้ต่อกับหมู่ benzoyl

สัญญาณในช่วง  $\delta$  5.89 ppm ถึง 5.96 ppm (2H) คือสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 5 และ 9 เนื่องจากมีตำแหน่งละ 1 โปรตอนและมีโปรตอนข้างเคียงในลักษณะเดียวกัน จึงควรมีสัญญาณของโปรตอนทั้งสองชุดขึ้นในตำแหน่งใกล้เคียงกัน

สัญญาณตำแหน่ง  $\delta$  6.33 ppm (dd,  $J=7.3, 4.4$  Hz, 1H) คือสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 8 เนื่องจากต่อกับสองคาร์บอนที่ต่อกับหมู่ benzoyl ซึ่งโปรตอนตำแหน่งที่ 7 และ 8 ต่อกับหมู่ benzoyl ในระนาบเดียวกัน ทำให้เกิด coupling ที่มีค่า  $J$  ขนาดเล็ก (4.4 Hz) และยัง coupling กับโปรตอน 9 ซึ่งอยู่คนละระนาบ มีค่า  $J$  ขนาดใหญ่ (7.3 Hz)

สัญญาณตำแหน่ง  $\delta$  6.55 ppm (d,  $J=4.4$  Hz, 1H) คือสัญญาณของโปรตอนตำแหน่งที่ 7 ซึ่งมี 1 โปรตอนข้างเคียง เนื่องจากมีลักษณะของสัญญาณเป็น doublet และมี integration เป็น 1 โปรตอน

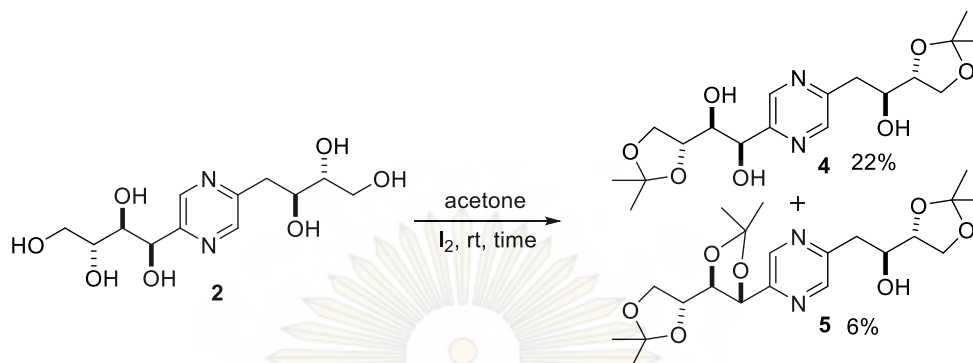
สัญญาณตำแหน่ง  $\delta$  8.45 ppm (d,  $J=1$  Hz, 1H) และ 8.59 (d,  $J=1$  Hz, 1H) คือสัญญาณของโปรตอนบนวงแหวนไพราซีนตำแหน่งที่ 1 และ 2 (อาจสลับตำแหน่งกันได้) เช่นเดียวกับสาร 2 แต่จะมีการเคลื่อนที่ไปทาง downfield เล็กน้อยเนื่องจากหมู่แทนที่ที่เปลี่ยนจากหมู่ hydroxy เป็นหมู่ benzoyl ซึ่งเป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอน สัญญาณของโปรตอนทั้งสองบนวงไพราซีนจึง shift ไปทาง downfield

### 3.4 การทำปฏิกิริยา acetonide protection ของ deoxyfructosazine (2)

คณะผู้วิจัยต้องการปกป้องหมู่ hydroxy บนโครงสร้าง deoxyfructosazine (2) ด้วยหมู่ acetonide เพื่อลดความสามารถในการหมุนของพันธะคาร์บอน-คาร์บอน ทำให้เป็นการเพิ่ม rigidity ของโมเลกุล ซึ่งได้ทำการศึกษาการทำปฏิกิริยาในสภาวะต่างๆ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม โดยการทำปฏิกิริยาของ deoxyfructosazine กับอะซีโตนโดยมีไอโอดีนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งประยุกต์จากงานวิจัยของ Xingqian, H. และคณะ (18) (ตารางที่ 3.4) โดยในการทดลองที่ 1 พบว่าปฏิกิริยาที่ตั้ง 4 วันซึ่งติดตามปฏิกิริยาด้วยวิธี TLC พบสารผลิตภัณฑ์ 2 ตำแหน่ง แต่ยังเหลือสารตั้งต้นในปฏิกิริยา ในการทดลองครั้งที่ 2 ผู้วิจัยจึงเพิ่มจำนวนวันในการตั้งปฏิกิริยาเป็น 7 วันแล้วติดตามปฏิกิริยาด้วย TLC โดยคาดหวังว่าจะทำให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์และให้ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้น พบว่าการเพิ่มระยะเวลาในการตั้งปฏิกิริยาไม่ทำให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์และยังคงให้ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ใกล้เคียงเดิม และในการทดลองครั้งที่ 3 จึงทดลองลดปริมาณ  $\text{I}_2$  ซึ่งใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเหลือเพียง 0.1 equivalent โดยคาดหวังว่าตัวเร่งปฏิกิริยาจะสามารถเวียนกลับไปทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น deoxyfructosazine 2 ได้เป็นวัฏจักรซึ่งจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการแต่ใช้  $\text{I}_2$  น้อยลง พบว่าเมื่อตั้งปฏิกิริยาโดยใช้เวลา 3 วันแล้วตรวจสอบปฏิกิริยาด้วยวิธี TLC พบว่าเกิดจุดสารผลิตภัณฑ์ใน

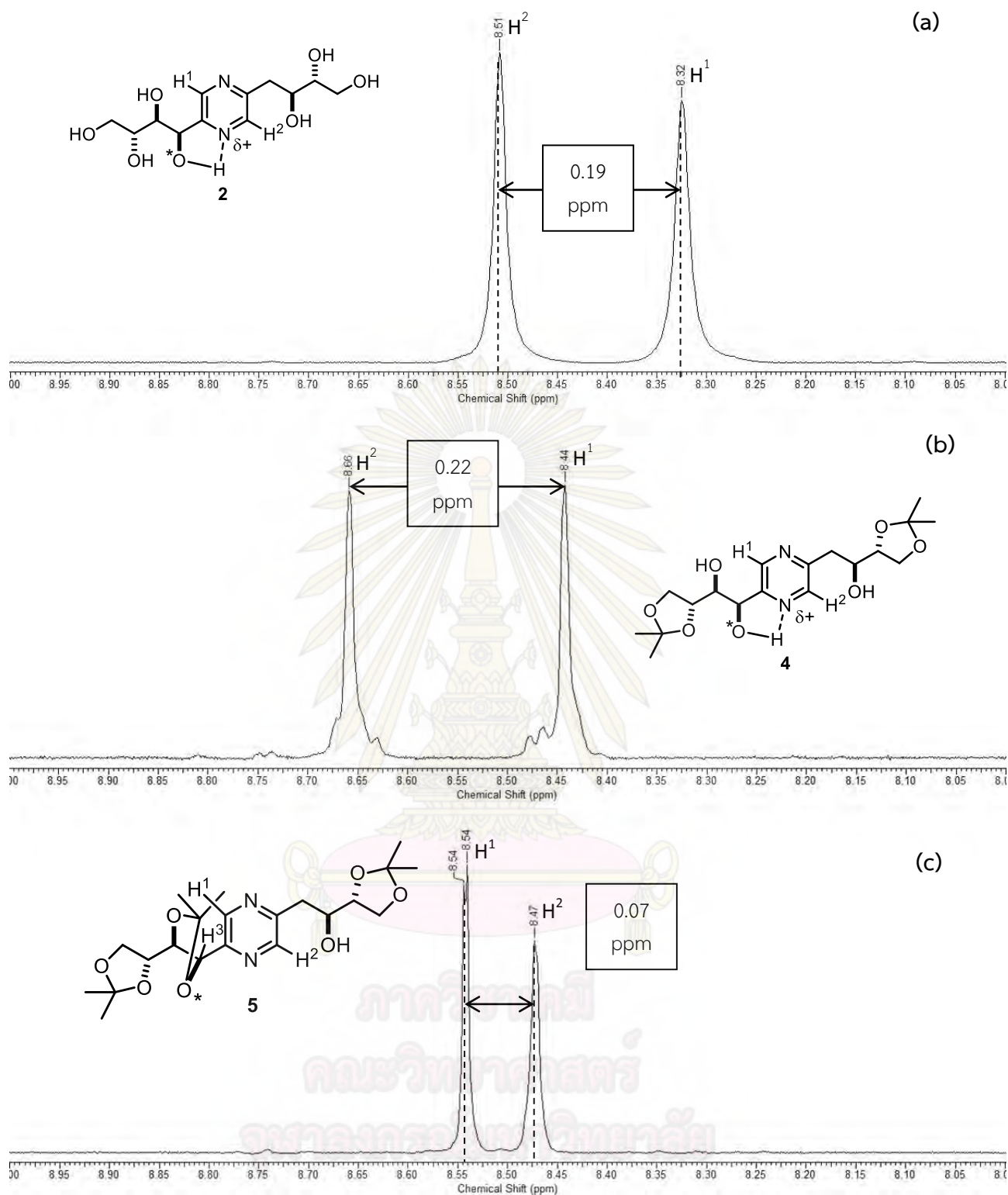
ปริมาณที่น้อยจึงเพิ่ม  $I_2$  จนมีปริมาณรวมเป็น 1.2 equivalent แล้วตั้งปฏิกิริยาต่ออีก 7 วันก่อนนำมาทำบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค  $Al_2O_3$  column chromatography (ตารางที่ 3.4)

ตารางที่ 3.4 แสดงปริมาณผลิตภัณฑ์สาร 4 และ 5 ที่ได้จากการสังเคราะห์ในสภาวะต่างๆ



การทดลองที่	สาร 2 (mmol)	$I_2$ (equivalent)	เวลาการตั้งปฏิกิริยา (วัน)	สาร 4 (%yield)	สาร 5 (%yield)
1	3.29	1.2	4	22	6
2	3.29	1.2	7	20	5
3	10.17	0.1+1.1	3+7	25	7

เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร 4 และสาร 5 ด้วย  $^1H$  NMR พบว่าสัญญาณของโปรตอนทั้ง 2 อะตอมบนวงไพราซีนยังคงอยู่ในช่วง chemical shift ( $\delta$ ) 8-9 ppm เช่นเดียวกับสาร 2 (รูปที่ 3.11) โดยสาร 4 มีระยะห่างระหว่างสัญญาณของ  $H^1$  และ  $H^2$  ( $\Delta\delta$ ) 0.22 ppm ใกล้เคียงกับสัญญาณของสารตั้งต้น 2 (0.19 ppm) เนื่องจาก nitrogen atom ยังสามารถเกิด hydrogen bonding กับหมู่ hydroxy และสามารถระบุได้ว่าสัญญาณของโปรตอนที่ downfield ที่สุดคือ  $H^2$  เนื่องจากอยู่บนคาร์บอนที่ใกล้กับ nitrogen ที่เกิด hydrogen bonding มากกว่า  $H^1$  แต่ในขณะเดียวกันสาร 5 ซึ่งได้รับการปกป้องด้วยหมู่ acetonide 3 หมู่ ไม่มีหมู่ hydroxyl อิสระที่จะสามารถเกิด hydrogen bonding ได้ จึงมีค่า  $\Delta\delta$  ลดลงเหลือเพียง 0.07 ppm นอกจากนี้จะสังเกตเห็นว่าสัญญาณของโปรตอนทั้งคู่ของวงไพราซีนของสาร 5 มี long range coupling กับโปรตอนอะลิฟาติกที่อยู่ข้างเคียงซึ่งอาจเป็นการแสดงให้เห็นว่าโมเลกุลมีความไม่ยืดหยุ่น (rigidity) เพิ่มขึ้นด้วย



รูปที่ 3.11 แสดงการเคลื่อนที่ของสัญญาณ  $^1\text{H}$  NMR บนวงไพราซีนของสาร 2 (a), สาร 4 (b) และสาร 5 (c)

หมายเหตุ : \* แสดงตำแหน่งที่สามารถเกิดหรือไม่เกิด hydrogen bonding กับ nitrogen

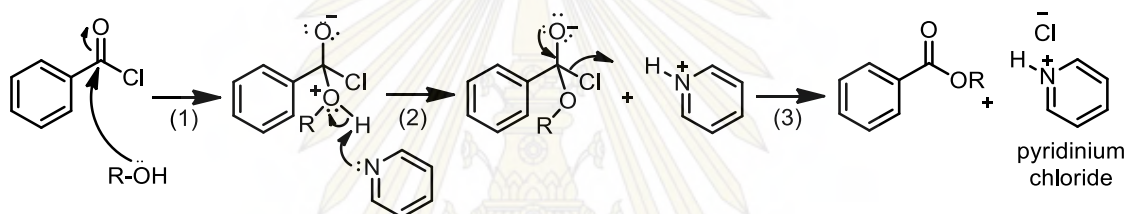


### 3.5 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของไพราซีนเพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชัน

เมื่อปกป้องหมู่ hydroxy บนโครงสร้างไดออกซีฟรุกโตซาซีน 2 ด้วยหมู่ acetonide เกิดเป็นสาร 4 ที่มีหมู่ acetonide 2 หมู่โดยเหลือหมู่ hydroxy 3 หมู่ และสาร 5 ที่มีหมู่ acetonide 3 หมู่โดยเหลือหมู่ hydroxy 1 หมู่แล้ว ขั้นตอนต่อไปคณะผู้วิจัยจึงทำปฏิกิริยาปกป้องหมู่ hydroxy ที่เหลือ สำหรับใช้พัฒนาเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาอินทรีย์สำหรับปฏิกิริยาเอซิลเลชัน โดยในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ alcohol protecting groups เป็นหมู่ benzoyl และ benzyl โดยทำผ่านปฏิกิริยา benzoylation และ benzylation ตามลำดับ

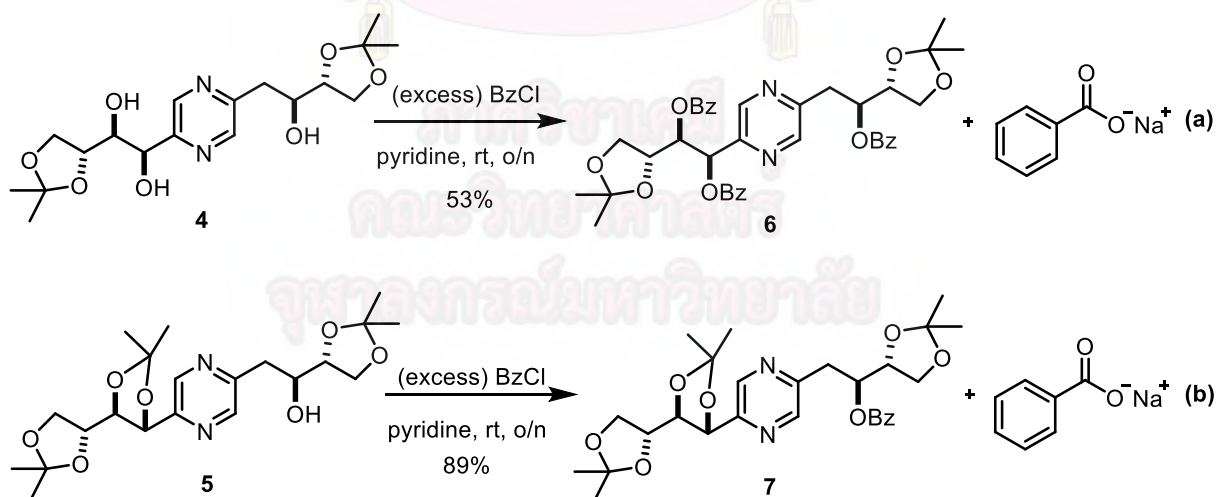
#### 3.5.1 การทำปฏิกิริยา benzoylation ของสาร 4 และสาร 5

ปฏิกิริยา benzoylation โดยทั่วไป จะใช้ระบบ BzCl และ pyridine เมื่อเติม benzoyl chloride และ pyridine ลงในปฏิกิริยาจะเกิดการปกป้องหมู่ hydroxy โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยา ดังรูปที่ 3.12 โดย pyridine จะทำหน้าที่เป็นทั้งตัวเร่งปฏิกิริยาและตัวทำละลายในคราวเดียวกัน



รูปที่ 3.12 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา benzoylation ของวงไพราซีน  
หมายเหตุ : R คือ วงไพราซีน

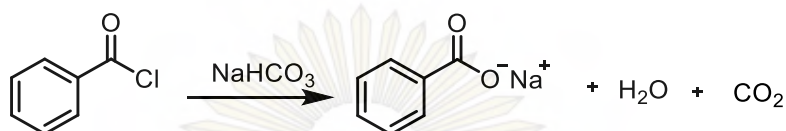
ในงานวิจัยนี้ได้ทดลองทำปฏิกิริยา benzoylation แก่สาร 4 และสาร 5 เกิดเป็นสาร 6 และสาร 7 ตามลำดับ



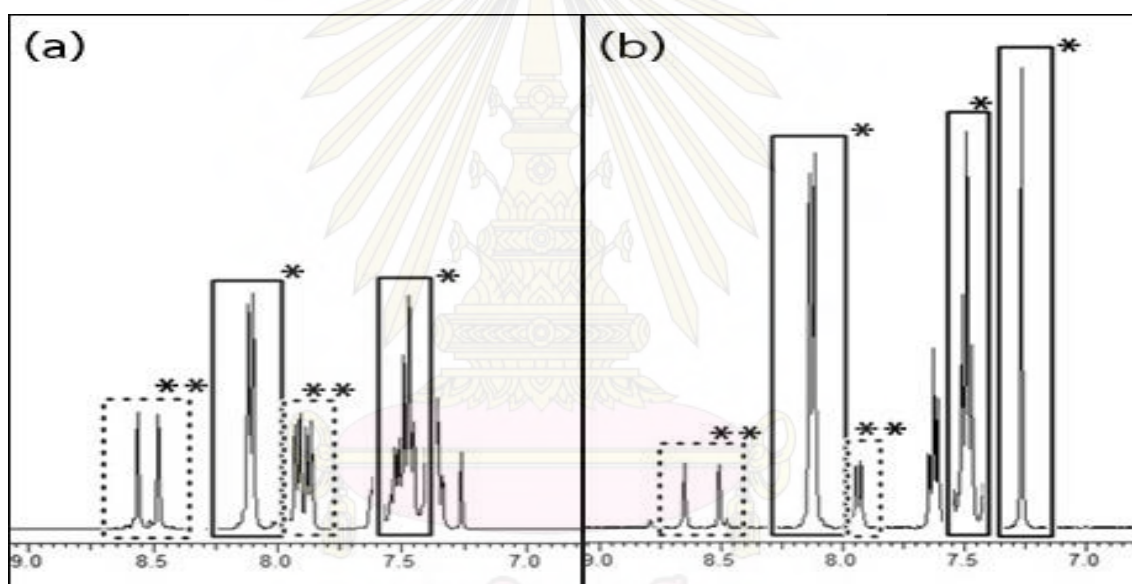
รูปที่ 3.13 แผนภาพแสดงผลการทำปฏิกิริยา benzoylation ของสาร 4 (a) และสาร 5 (b)

หลังจากติดตามปฏิกิริยาด้วย และหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายอิ่มตัว  $\text{NaHCO}_3$  จึงนำของผสมที่ได้ไปทำบริสุทธิ์ด้วย  $\text{SiO}_2$  column chromatography ได้ผลิตภัณฑ์ 6 และ 7 เป็นของเหลวหนืดขาวปริมาณ 53 %yield และ 89 %yield ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR และ mass

spectrometry พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการจริงแต่ยังพบว่ามีเกลือ sodium benzoate (รูปที่ 3.14) ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ สังเกตได้จากลักษณะสัญญาณ  $^1\text{H}$  NMR ที่อัตราส่วนระหว่างความสูงสัญญาณของเกลือ sodium benzoate สูงกว่าสัญญาณของสาร 6 และสาร 7 มาก (รูปที่ 3.15) ผู้วิจัยได้ทำการแก้ปัญหาโดยนำสารที่ได้นำไปสกัดอีกครั้งโดยเปลี่ยนตัวทำละลายจาก ethyl acetate (EtOAc) เป็น diethyl ether ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) เนื่องจากคาดว่า ethyl acetate มีความเป็นขั้วสูงเกินไปจึงละลายเอาเกลือ sodium benzoate มาด้วย การเปลี่ยนตัวทำละลายเป็น  $\text{Et}_2\text{O}$  ซึ่งมีขั้วน้อยลงอาจจะแก้ปัญหานี้ได้ แต่จากผลการพิสูจน์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR ยังคงพบสัญญาณที่คาดว่าเป็ของเกลือ sodium benzoate ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงไม่สามารถนำสาร 6 และ 7 ไปใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาอินทรีย์ต่อไปได้



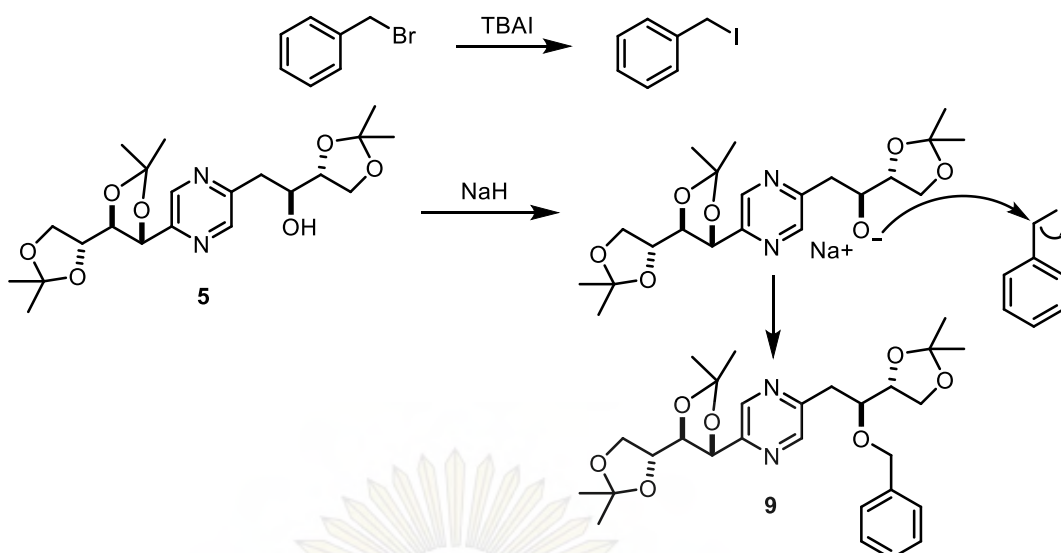
รูปที่ 3.14 แสดงการเกิดเกลือ benzoate



รูปที่ 3.15 แสดง  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของผลิตภัณฑ์จากการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4 (a) และสาร 5 (b) อัตราส่วนระหว่างความสูงสัญญาณของเกลือ sodium benzoate (\*) สูงกว่าสัญญาณโปรตอนของสาร 6 และสาร 7 (\*\*) มาก

### 3.5.2 การทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4 และสาร 5

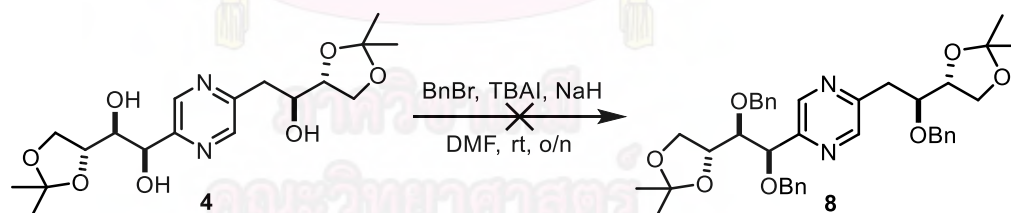
ปฏิกิริยา benzylation เป็นปฏิกิริยาที่เกิดผ่านปฏิกิริยาการแทนที่แบบ  $\text{S}_{\text{N}}2$  โดยใช้ สาร 4 และสาร 5 ทำปฏิกิริยากับ benzyl bromide โดยมี sodium hydride (NaH) เป็นเบส และ tetrabutylammonium iodide (TBAI) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในตัวทำละลาย *N,N*-dimethylformamide (DMF) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเปลี่ยนหมู่ hydroxy เป็นหมู่ benzyloxy โดยมีกลไกของปฏิกิริยาดังแสดง (รูปที่ 3.16)



รูปที่ 3.16 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5

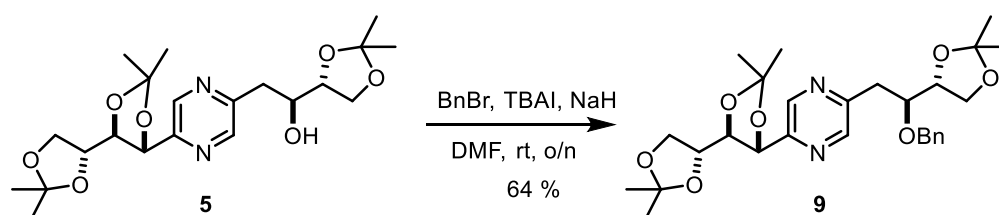
จากกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงจะเห็นว่า NaH ทำหน้าที่ deprotonate แอลกอฮอล์ตั้งต้นให้เป็นแอลกอฮอล์ที่มีความเป็นนิวคลีโอไฟล์ที่ดีขึ้น จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับ benzyl iodide ซึ่งสังเคราะห์มาจากการทำปฏิกิริยา (in situ generation) ระหว่าง benzyl bromide และ TBAI เมื่อติดตามปฏิกิริยาด้วย TLC แล้วพบว่าเกิดปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ จึงหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย  $\text{NaHCO}_3$  เพื่อทำลาย NaH ที่เหลืออยู่ในระบบ จากนั้นจึงสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ diethyl ether แล้วจึงนำชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ที่สกัดได้มาสกัดซ้ำด้วยน้ำปริมาณมากเพื่อกำจัดตัวทำละลาย DMF ที่เหลือออกไป เนื่องจากหากมี DMF ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์จะไม่สามารถทำการระเหย DMF ออกไปได้ที่อุณหภูมิต่ำ

หลังการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4 เมื่อได้สารผลิตภัณฑ์แล้วจึงนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR (รูปที่ ก-9) และ mass spectrometry (รูปที่ ข-6) พบว่าไม่ใช่ผลิตภัณฑ์ (สาร 8) ตามต้องการ (รูปที่ 3.17)



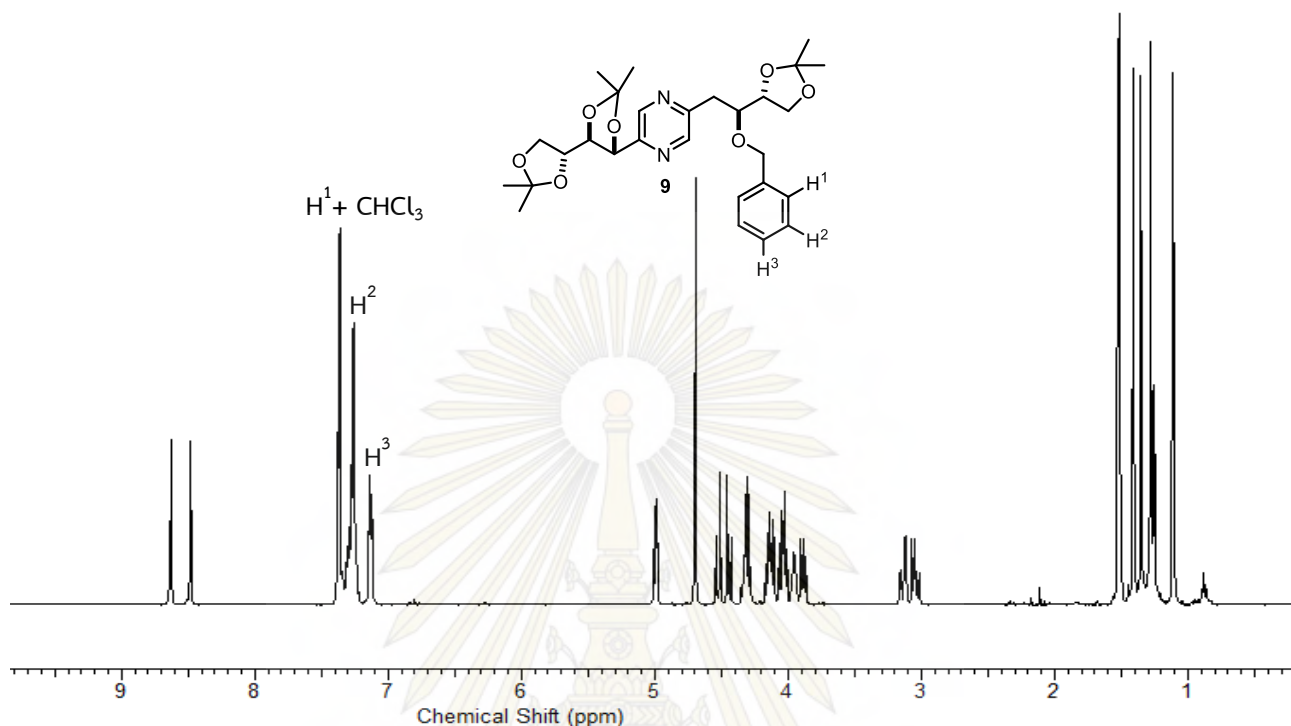
รูปที่ 3.17 แผนภาพการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4

สำหรับการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5 ดังแผนภาพการทำปฏิกิริยา (รูปที่ 3.18) พบว่าได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาวปริมาณ 64 % yield ซึ่งเมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR (รูปที่ ก-10) และ mass spectroscopy (รูปที่ ข-7) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นสาร 9 จริง ดังรูปที่ 3.19



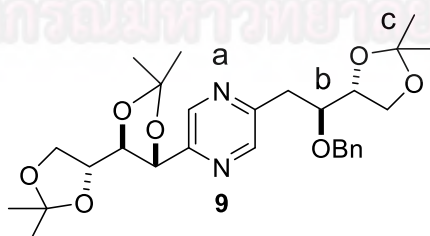
รูปที่ 3.18 แผนภาพแสดงผลการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5

และเมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย  $^1\text{H}$  NMR พบสัญญาณของโปรตอนของหมู่ benzyloxy ที่เพิ่มขึ้นคือ สัญญาณที่ chemical shift ( $\delta$ ) 7.13 ppm, 7.27 ppm และ 7.36 ppm ซึ่งเป็นการยืนยันการประสบความสำเร็จของการสังเคราะห์และสามารถจำแนกสัญญาณได้ดังรูปที่ 3.19



รูปที่ 3.19 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ที่สำคัญของสาร 9

จากการสังเคราะห์อนุพันธ์ของไพราซีนเพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทั้ง 4 ปฏิกิริยา ได้แก่ ปฏิกิริยา benzoylation ของสาร 4 และ 5, ปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4 และ 5 พบว่ามีเพียงสารผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5 ที่มีความบริสุทธิ์สูงมากพอและสามารถนำไปศึกษาเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันต่อไปได้ โดยคณะผู้วิจัยคาดหวังว่าสาร 9 จะสามารถทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันได้เนื่องจากปัจจัยดังนี้คือ มีไนโตรเจนอะตอมบนวงแหวนไพราซีนซึ่งเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน (nucleophile) ที่ดี ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาและมีไครัลคาร์บอน (chiral carbon) ที่มาจากหมู่ hydroxy รวมถึงโมเลกุลของสาร 9 มีความไม่ยืดหยุ่น (rigidity) ของโครงสร้างสูงเนื่องจากถูกปกป้องด้วยหมู่ acetonide ทำให้มี conformation ที่จำกัดเหมาะในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่จำเพาะ (รูปที่ 3.20)



รูปที่ 3.20 แสดงองค์ประกอบที่ต้องการในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันของอนุพันธ์ไพราซีนที่สังเคราะห์ได้ (สาร 9)

หมายเหตุ : a คือ หมู่ให้อิเล็กตรอน

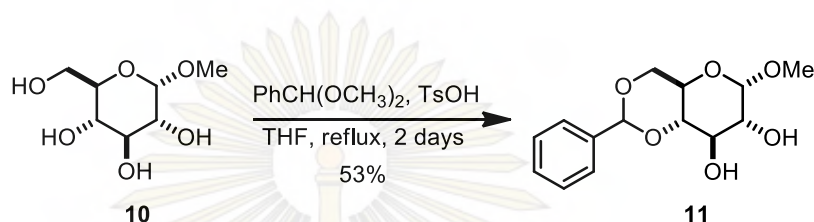
b คือ chiral carbon

c คือ หมู่ acetonide ที่ทำให้โครงสร้างของสาร 2 มี rigidity มากขึ้น

### 3.6 การทดสอบความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสาร 9

คณะผู้วิจัยได้เลือกสาร 9 มาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการทดสอบปฏิกิริยาการเติมหมู่เอซิลอย่างจำเพาะบนโครงสร้างของสารคาร์โบไฮเดรตที่มีหมู่ hydroxy มากกว่าหนึ่งหมู่ โดยในขั้นตอนต่อไปผู้วิจัยได้ทำการสังเคราะห์สาร 10 มาใช้เป็นคาร์โบไฮเดรตในการทดสอบตัวเร่งปฏิกิริยาเนื่องจากสาร 10 มีจำนวนหมู่ hydroxy บนโครงสร้าง 2 หมู่ ซึ่งสามารถนำมาศึกษาการเลือกแทนที่หมู่ hydroxy ของหมู่เอซิลได้

#### 3.6.1 การสังเคราะห์ $\alpha$ -D-4,6-benzylidene methyl glucopyranoside (สาร 11) จาก $\alpha$ -D-methyl glucopyranoside (สาร 10)

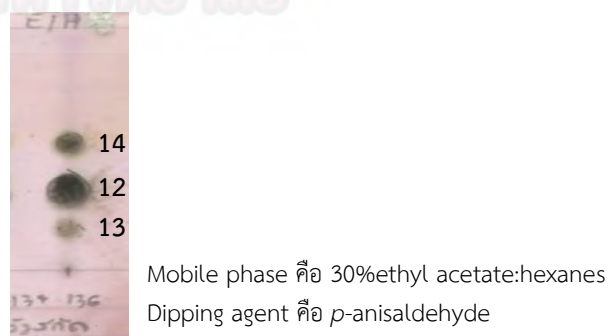


รูปที่ 3.21 แผนภาพผลการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตที่ใช้ทดสอบปฏิกิริยาเอซิลเลชัน

ปฏิกิริยาการปกป้องหมู่ hydroxy ด้วยหมู่เบนซิลลิดีน ทำได้โดยตั้งปฏิกิริยาภายใต้สภาวะรีฟลักซ์จนครบ 2 วันแล้วจึงติดตามปฏิกิริยาด้วย TLC ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะดูดแสง UV เนื่องจากผลิตภัณฑ์ 11 มีหมู่ aromatic จาก phenyl ในขณะที่สารตั้งต้นคือ  $\alpha$ -D-methylglucoside จะไม่ดูดแสง UV แต่จะสังเกตได้จากการใช้ *p*-anisaldehyde เป็น dipping reagent สำหรับ TLC แล้วเป่าด้วยลมร้อนจะเกิดจุดสีดำของสารตั้งต้นหากยังมีสารตั้งต้นยังเหลืออยู่ในปฏิกิริยา ซึ่งเมื่อนำมาทำปฏิกิริยาสู่และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย  $^1\text{H NMR}$  พบสัญญาณของ aromatic ring ของ phenyl ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกิดผลิตภัณฑ์เป็นสาร 11 จริง โดยได้ผลิตภัณฑ์ 11 เป็นของแข็งสีขาว 53% yield (รูปที่ ก-11)

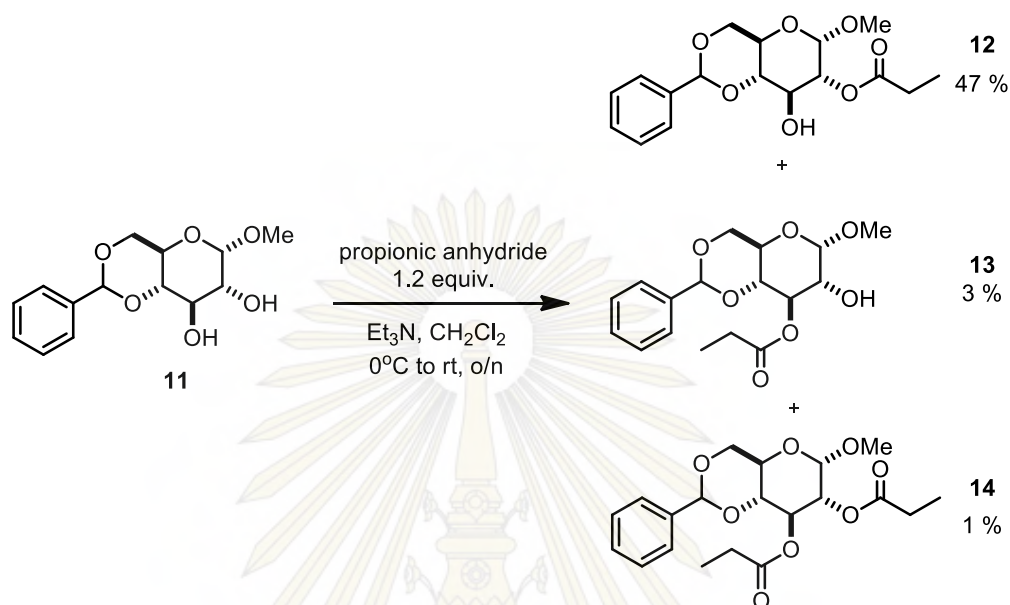
#### 3.6.2 การศึกษาปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสาร 11 ในสถานะที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา

ในเบื้องต้นคณะผู้วิจัยต้องการทราบความสามารถในการทำปฏิกิริยาเอซิลเลชันของคาร์โบไฮเดรต 11 ในสถานะที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยากับ propionic anhydride ว่าสามารถเกิดการแทนที่หมู่ hydroxy ได้กี่ตำแหน่งและตำแหน่งใดบ้างรวมถึงให้ผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดในปริมาณเท่าไร จากการทดลองพบว่าปฏิกิริยาเอซิลเลชันที่ไม่เติมตัวเร่งนั้น เกิดการแทนที่หมู่ hydroxy ให้ผลิตภัณฑ์ทั้งสิ้น 3 ชนิด ยืนยันเบื้องต้นด้วยผลจาก TLC ดังรูป 3.22



รูปที่ 3.22 TLC แสดงผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสาร 11 ในสถานะที่ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา

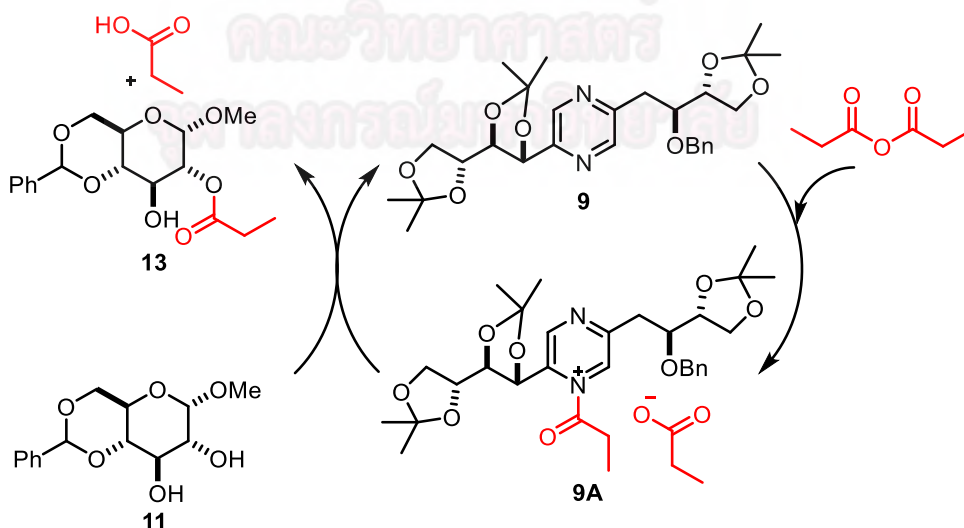
และปฏิกิริยาดังกล่าวไม่สามารถเลือกแทนที่หมู่ hydroxy บนสารประกอบคาร์โบไฮเดรตได้ด้วยตัวเองแม้ว่า ปริมาณของผลิตภัณฑ์สาร **12** ที่ได้จะมากกว่าสาร **13** และ **14** พอสสมควรรูป 3.23 และจากผลิตภัณฑ์รวมพบว่ามี ปริมาณเพียง 51% yield เนื่องมาจากเกิดการผสมกันของสารผลิตภัณฑ์ระหว่างการทำบริสุทธิ์โดยวิธี column chromatography จึงมีการสูญเสียสารผลิตภัณฑ์ ทำให้ไม่ทราบปริมาณที่แท้จริงของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด



รูปที่ 3.23 แผนภาพแสดงผลการทำปฏิกิริยา acylation ของสาร **11**

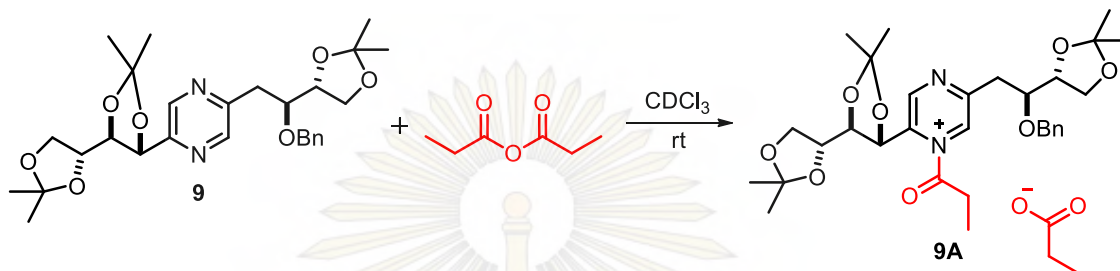
### 3.6.3 การทดสอบความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันโดยสาร deoxyfructosazine **9** โดยเทคนิค $^1\text{H}$ NMR spectroscopy

จากผลที่ได้จาก 3.6.2 จะพบว่าปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสารคาร์โบไฮเดรต (**11**) ที่มีหมู่ hydroxy 2 หมู่ ไม่มีความจำเพาะเจาะจง ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทดสอบความสามารถในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการเติมหมู่ acyl แบบจำเพาะ โดยใช้อนุพันธ์ของสารดีออกซีฟรุกโตซาซีน (**9**) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy โดยคาดว่าจะเกิดผ่านกลไกดังแสดงในรูปที่ 3.24



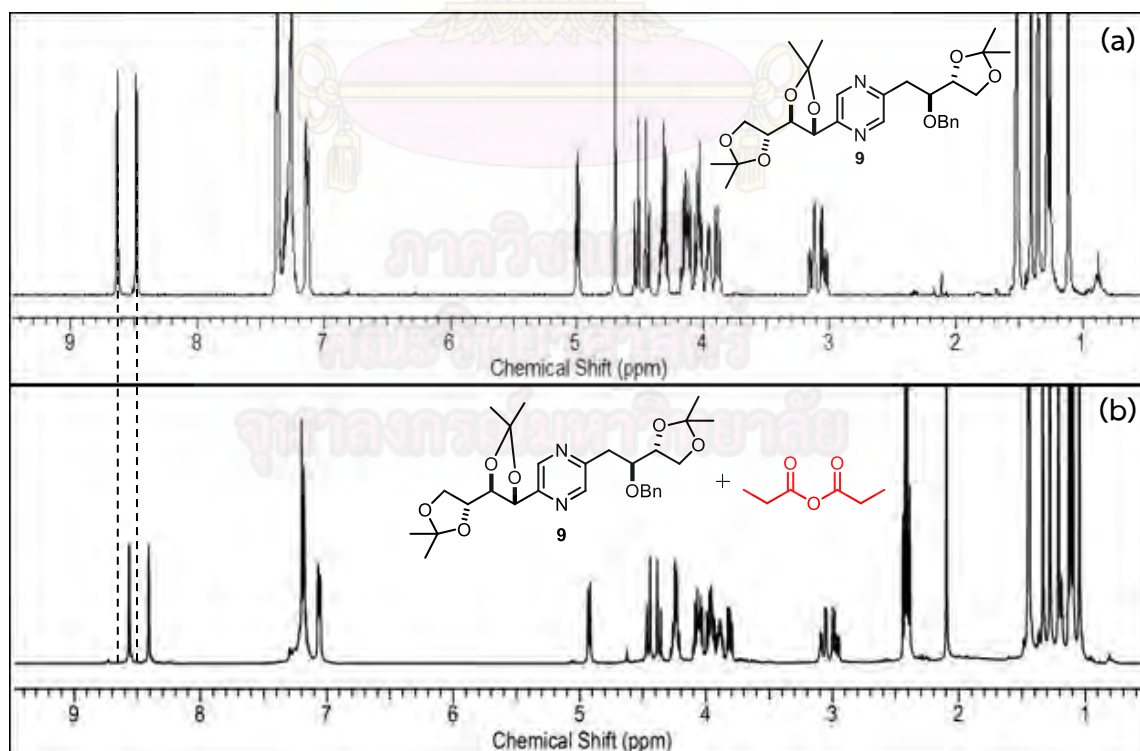
รูปภาพที่ 3.24 แสดง catalytic cycle ของปฏิกิริยาเอซิลเลชันที่เร่งปฏิกิริยาด้วยอนุพันธ์ของ deoxyfructosazine (สาร **9**)

เพื่อทดสอบสมมุติฐานดังกล่าว อันดับแรกคณะผู้วิจัยเลือกที่จะศึกษาการเกิดของสารประกอบ **9A** ซึ่งเป็นสารชั้นกลางสำหรับปฏิกิริยาเอซิลเลชัน โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy กล่าวคือเตรียมของผสมอัตราส่วน 1:1 โดยโมล ระหว่างสาร deoxyfructosazine (**9**) และ propionic anhydride ในตัวทำละลาย  $\text{CDCl}_3$  ในหลอด NMR แล้วติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วย  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy คาดว่าจะเกิดปฏิกิริยารูปที่ 3.25 โดยหากเกิดสารประกอบ **9A** ตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้ จะเกิดประจวบกับไนโตรเจนของวงแหวนไพราซีนซึ่งจะทำให้โปรตอนบนวงไพราซีนขาดอิเล็กตรอน สัญญาณจึงเคลื่อนที่ไปทาง downfield และยังจะทำให้ค่า  $\delta$  ของสัญญาณของโปรตอนทั้งสองบนวงไพราซีนแตกต่างกันมากขึ้นเมื่อเทียบกับ  $^1\text{H}$  NMR ของสาร deoxyfructosazine (**9**)



รูปภาพที่ 3.25 แผนภาพการทำปฏิกิริยาระหว่าง **9** และ propionic anhydride ด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy

จากการทดลองติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy ทุกๆ 30 นาที (ในระยะแรก) พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของ  $^1\text{H}$  NMR เพียงเล็กน้อย โดยเฉพาะโปรตอนบริเวณวงแหวนไพราซีน (รูปที่ 3.26) ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่าระบบของปฏิกิริยาที่เลือกใช้นั้นยังไม่เหมาะสมต่อการเกิดสารประกอบ **9A** ซึ่งเป็นสารชั้นกลางที่จำเป็นต่อการพัฒนาปฏิกิริยาเอซิลเลชันแบบจำเพาะเจาะจงหรืออาจจะเกิด intermediate ที่ไม่เสถียรพอที่จะตรวจวัดด้วย  $^1\text{H}$  NMR



รูปที่ 3.26 แสดงข้อมูล  $^1\text{H}$  NMR spectrum ของสาร **9** (a) และปฏิกิริยาระหว่างสาร **9** กับ propionic anhydride ที่คาดว่าจะเกิด **9A** (b) หมายเหตุ : เส้นประแสดงการเคลื่อนที่ของสัญญาณเมื่อทำปฏิกิริยาระหว่างสาร **9** กับ propionic anhydride

อนึ่งเนื่องจากระยะเวลาที่จำกัดประกอบกับคณะผู้วิจัยไม่มีสาร deoxyfructosazine (9) เพียงพอที่จะทำการศึกษาต่อ โดยเฉพาะกับการทดลองใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสารคาร์โบไฮเดรต (11) ดังนั้นการทดลองนี้จึงจำเป็นที่ต้องมีการศึกษาต่อไปในอนาคต



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

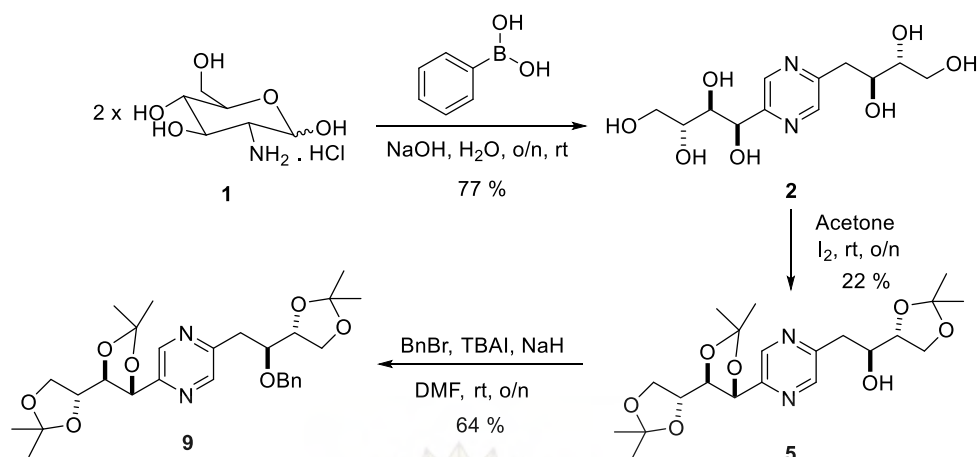


## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์และทำบริสุทธิ์ deoxyfructosazine (2) ในปริมาณมาก (large scale synthesis) โดยใช้สารตั้งต้นคือ glucosamine hydrochloride ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและน้ำ โดยการสังเคราะห์ deoxyfructosazine (2) เกิดผ่านปฏิกิริยาการควบแน่นโดยมี phenylboronic acid เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แต่เนื่องจาก phenylboronic acid เป็นสารเคมีที่มีราคาแพง เพื่อลดค่าใช้จ่ายในงานวิจัยทางคณะผู้วิจัยจึงศึกษาการนำกลับมาใช้ซ้ำของ phenylboronic acid และพบว่าสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้อย่างน้อยถึง 7 ครั้ง โดยให้ปริมาณของผลิตภัณฑ์ถึง 77% yield ซึ่งสูงกว่างานวิจัยของ Rohovec J. และคณะที่รายงานมาก่อนหน้านี้ (13)

เมื่อได้สาร deoxyfructosazine (2) แล้วผู้วิจัยจึงทำการออกแบบและสังเคราะห์อนุพันธ์ของดีออกซีฟรุกโตซาซีนเพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาโดยมีองค์ประกอบที่สำคัญของตัวเร่งปฏิกิริยาแบบจำเพาะคือการทำให้อิเล็กตรอน (nucleophile) ที่ดีของไนโตรเจนบนวงแหวนไพราซีน มีไครัลคาร์บอน (chiral carbon) รวมถึงมีความไม่ยืดหยุ่น (rigidity) การสังเคราะห์เริ่มจากการปกป้องหมู่ hydroxyl ด้วยหมู่ acetonide เพื่อเป็นการเพิ่มความไม่ยืดหยุ่น (rigidity) ของโมเลกุลโดยการนำสาร deoxyfructosazine (2) ทำปฏิกิริยากับ acetone โดยใช้  $I_2$  เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดผลิตภัณฑ์เป็นสาร 4 และสาร 5 ก่อนที่จะนำไปทำปฏิกิริยา benzoylation และ ปฏิกิริยา benzylation เพื่อปกป้องหมู่ hydroxyl ด้วยหมู่ benzoyl และหมู่ benzyl ตามลำดับ พบว่าเมื่อนำสาร 4 และสาร 5 มาทำปฏิกิริยา benzoylation กับ benzoyl chloride โดยใช้ pyridine เป็นตัวทำละลายจะเกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (สาร 6 และ 7 ตามลำดับ) ในปริมาณสูง แต่อย่างไรก็ตามหลังจากการทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography ก็ยังพบว่าผลิตภัณฑ์มีการปนเปื้อนของเกลือ sodium benzoate และไม่สามารถแยกออกจากกันได้แม้ว่าจะทำการสกัดแยกด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ และน้ำแล้วก็ตาม ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงไม่สามารถนำสาร 6 และ 7 ที่สังเคราะห์ได้ไปศึกษาต่อ ในขณะที่เมื่อนำสาร 4 และสาร 5 มาทำปฏิกิริยา benzylation โดยใช้ sodium anhydride เป็นเบสเพื่อ deprotonate หมู่ hydroxyl จะเกิดสารประกอบแอลคอกไซด์เข้าทำปฏิกิริยากับ benzyl bromide ที่ถูก activate ด้วย TBAI ผ่านปฏิกิริยาการแทนที่แบบ  $S_N2$  พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 4 กลับไม่ใช่สาร 8 ดังที่คาดหวังยืนยันจาก  $^1H$  NMR แต่อย่างไรก็ตามคณะผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์สาร 9 ที่มีความบริสุทธิ์จากการทำปฏิกิริยา benzylation ของสาร 5 ได้ปริมาณ 64% yield จึงเลือกนำสาร 9 ไปใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชนิด organocatalyst ในการทดสอบความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่มีหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ โดยสามารถสรุปการสังเคราะห์ได้ดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 แสดงผังการสังเคราะห์ สาร 9 จากสาร 1

ผลจากการนำสาร 9 ไปทดสอบการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันกับ propionic anhydride และติดตามปฏิกิริยาด้วยเทคนิค <sup>1</sup>H NMR spectroscopy ในเบื้องต้น พบการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอนุพันธ์ไดออกซีฟรุกโตซาซีนและ propionic anhydride พบการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณ <sup>1</sup>H NMR เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งอาจมีสาเหตุจาก การเกิดสารเชิงซ้อนเพียงอย่างอ่อน (weak complexation) หรืออาจจะเกิด intermediate ที่ไม่เสถียรพอที่จะตรวจวัดด้วย <sup>1</sup>H NMR spectroscopy ได้ที่อุณหภูมิห้อง

#### แนวทางในการดำเนินงานวิจัยในอนาคต

การดำเนินการสังเคราะห์ในเบื้องต้นประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์ deoxyfructosazine (4) ที่มีปริมาณมาก (large scale synthesis) และสาร 9 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไพราซีนตามวิธีการสังเคราะห์ดังแสดงในรูปที่ 4.1 โดย deoxyfructosazine ที่สังเคราะห์ได้ปริมาณมากนั้นสามารถนำไปเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุพันธ์ไพราซีนเพื่อนำมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเอซิลเลชันของสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่มีหมู่ไฮดรอกซีหลายหมู่ แม้ว่าการทดลองเบื้องต้นจะให้ผลเป็นที่น่าไม่พอใจ แต่ทางคณะผู้วิจัยได้แนวทางวิจัยต่อไปในอนาคตได้แก่

1. อาจเป็นไปได้ว่า propionic anhydride ที่เลือกใช้ในการทดลองนั้นมีความว่องไวต่ำเกินไป ดังนั้นในอนาคตคณะผู้วิจัยจึงจะเลือกใช้ acylating agent ที่เป็น electrophile ที่ว่องไวขึ้น ยกตัวอย่างเช่น propionyl chloride, acetic anhydride, acetyl chloride เป็นต้น

2. หรือในอีกกรณีคือสารไดออกซีไพราซีน 9 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่ nucleophilicity ต่ำเกินไป ซึ่งอาจเกิดจากการมีโมเลกุลมีขนาดใหญ่ทำให้มีความเกะกะต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของ acylating agent กับไนโตรเจนบนวงแหวนไพราซีน ดังนั้นอาจปรับปรุงด้วยการปรับลดความเกะกะของโมเลกุลไพราซีน 9 ด้วยการทำปฏิกิริยา oxidative cleavage ของหมู่ไดออลทำให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลง ซึ่งควรส่งผลสารไดออกซีไพราซีนให้เข้าทำปฏิกิริยากับ acylating agent ได้ง่ายขึ้นนั่นเอง

3. ติดตามปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนด้วย <sup>1</sup>H NMR ที่อุณหภูมิต่ำลงซึ่งอาจทำให้ตรวจวัด intermediate ที่ไม่เสถียรได้

4. ทดสอบปฏิกิริยาเอซิลเลชันแบบจำเพาะกับสารประกอบคาร์โบไฮเดรตหรือโพลีไฮดรอกซีจริง ๆ

## เอกสารอ้างอิง

1. Ajavakom, A.; Supsvetson, S.; Sombot, A.; Sukwattanasinitt, M. Products from Microwave and Ultrasonic Wave Assisted Acid Hydrolysis of Chitin. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *90*, 73-75.
2. Lei, Z.; Wang, J.; Tian, Y.; Song, G.; Zhao, G.; Xu, H., Synthesis and application of clickable and biocompatible fluorescent glycosyl labels. *Dyes and Pigments.* **2015**, *113*, 627-633.
3. Marais, J.; Hunter, J. J.; Haasbroek, P. D. Effect of canopy microclimate, season and region on Sauvignon blanc grape composition and wine quality. *South African Journal of Enology and Viticulture.* **1999**, *20*, 19-30.
4. Zhang, Y. B.; Wang, X. L.; Liu, W.; Yang, Y. S.; Tang, J. F.; Zhu, H. L. Design, synthesis and biological evaluation of heterocyclic azoles derivatives containing pyrazine moiety as potential telomerase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 6356-6365.
5. Gao, J.; Luo, X.; Li, Y.; Gao, R.; Chen, H.; Ji, D. Synthesis and Biological Evaluation of 2-oxo-pyrazine-3-carboxamide-yl Nucleoside Analogues and Theirs Epimers as Inhibitors of Influenza A Viruses. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2015**, *85* (3), 245-252.
6. Loy, N. S. Y.; Kim, S.; Park, C. Synthesis of Unsymmetrical Pyrazines Based on  $\alpha$ -Diazo Oxime Ethers. *Org. Lett.* **2015**, *17* (3), 395-397.
7. Ryu, T.; Baek, Y.; Lee, P. H. Synthesis of Pyrazines from Rhodium-Catalyzed Reaction of 2H-Azirines with N-Sulfonyl 1,2,3-Triazoles. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (4), 2376-2383.
8. Tsuchida, H.; Komoto, M.; Mizuno, S. Isolation and Identification of Polyhydroxyalkylpyrazines in Soy Sauce. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* **1990**, *37* (2), 154-161.
9. Tsuchida, H.; Morinaka, K.; Fujii, S.; Komoto, M.; Mizuno, S. Identification of novel non-volatile pyrazines in commercial caramel colors. *Dev. Food Sci.* **1986**, *13*, 85-94.
10. Magaletta, R. L.; Ho, C. T. Effect of Roasting Time and Temperature on the Generation of Nonvolatile (Polyhydroxyalkyl)pyrazine Compounds in Peanuts, As Determined by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, **1996**, *44* (9), 2629-2635.
11. Zhu, A.; Huang, J.; Clark, A.; Romeo, R.; Petty, H. R. 2,5-Deoxyfructosazine, a D-Glucosamine derivative, inhibits T-cell interleukin-2 production better than D-glucosamine. *Carbohydrate Research.* **2007**, *342*, 2745-2749.
12. Sumoto, K.; Irie, M.; Mibu, N.; Miyano, S.; Nakashima, Y.; Watanabe, K.; Yamaguchi, T. Formation of Pyrazine Derivatives from D-Glucosamine and Their Deoxyribonucleic Acid (DNA) Strand Breakage Activity. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, *39* (3), 792-794.
13. Rohovec, J.; Kotek, J.; Peters J. A.; Maschmeyer, T. A Clean Conversion of D-Glucosamine Hydrochloride to a Pyrazine in the Presence of Phenylboronate or Borate. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *20*, 3899-3901.

14. Wu, S.; Fan, H.; Zhang, Q.; Cheng, Y.; Wang, Q.; Yang, G.; Han, B. Conversations of Cellobiose and Inulin to Deoxyfructosazine in Aqueous Solutions. *Clean-Soil, Air, Water*. **2011**, *39* (6), 572-576.
15. Ueda, Y.; Muramatsu, W.; Mishiro, K.; Furuta, T.; Kawabata, T. Functional Group Tolerance in Organocatalytic Regioselective Acylation of Carbohydrates. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8802–8805.
16. Sánchez-Roselló, M.; Puchlopek, A. L. A.; Morgan, A. J.; Miller, S. J. Site-Selective Catalysis of Phenyl Thionoformate Transfer as a Tool for Regioselective Deoxygenation of Polyols. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1774-1782.
17. Lee, D.; Williamson, C. W.; Chan, L.; Taylor, M. S. Regioselective, Borinic Acid-Catalyzed Monoacylation, Sulfonylation and Alkylation of Diols and Carbohydrates: Expansion of Substrate Scope and Mechanistic Studies. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (19), 8260–8267.
18. Xingqian, H.; Jiguo, H.; Shangwu, C.; Bo, L. Iodine-catalyzed reaction of D-glucose with acetone for preparation of 1,2-5,6-di-O-isopropylidene-alpha-D-glucofuranose (DAG). *Shipin Kexue*. **2009**, *30*, 153-155





# ภาคผนวก

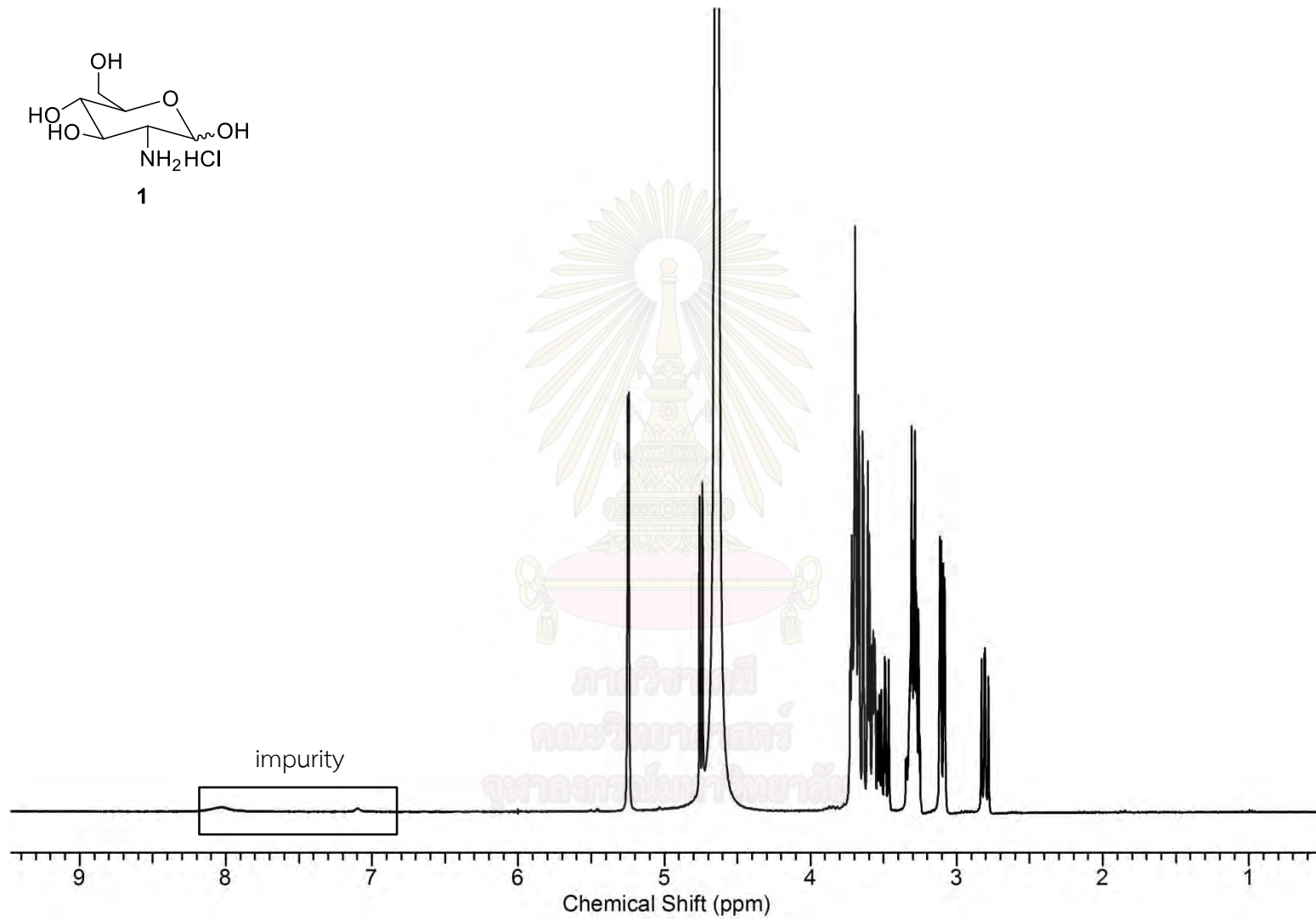
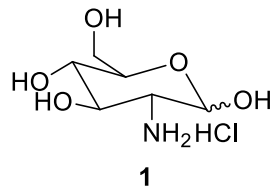


ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

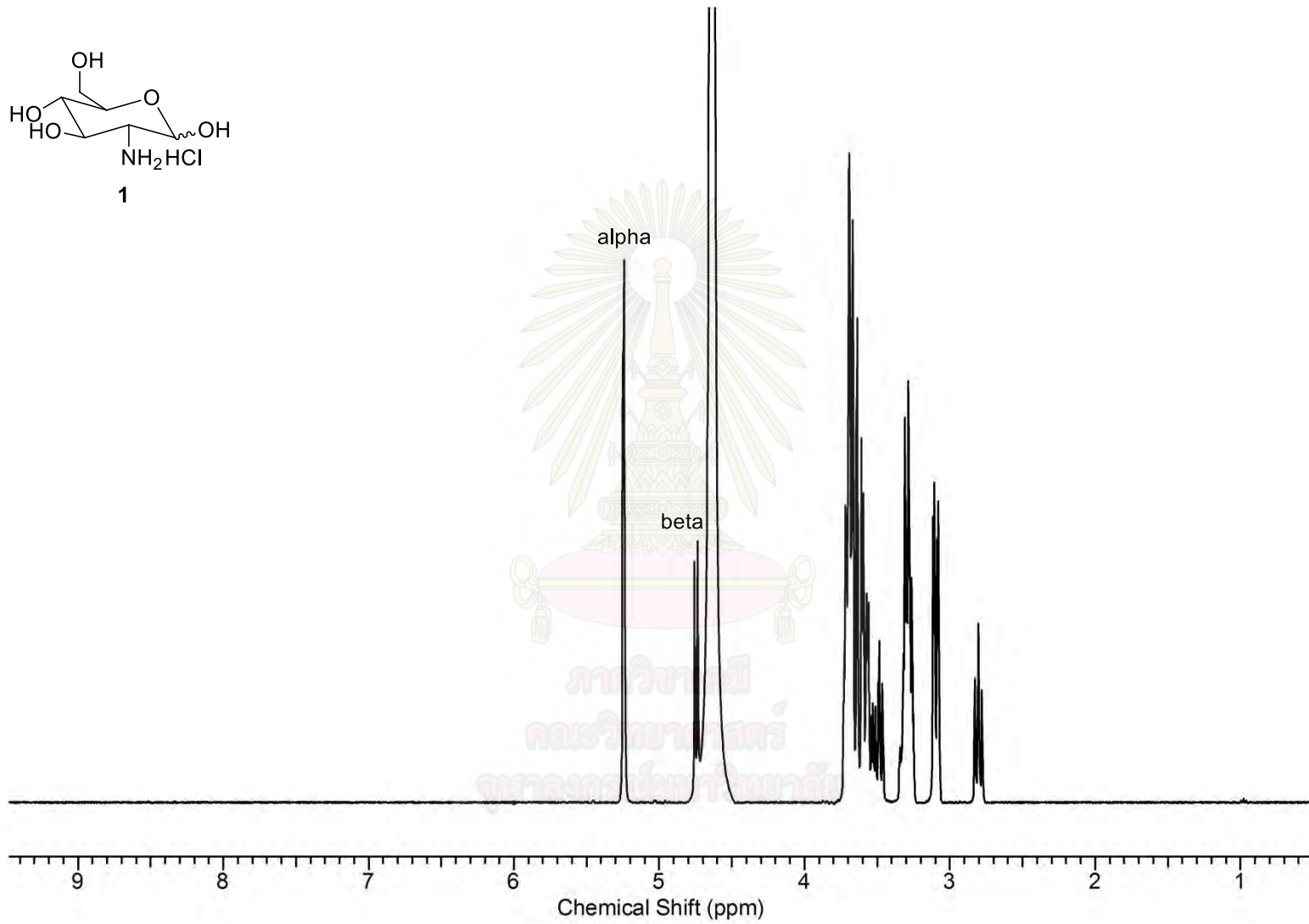


# ภาคผนวก ก

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

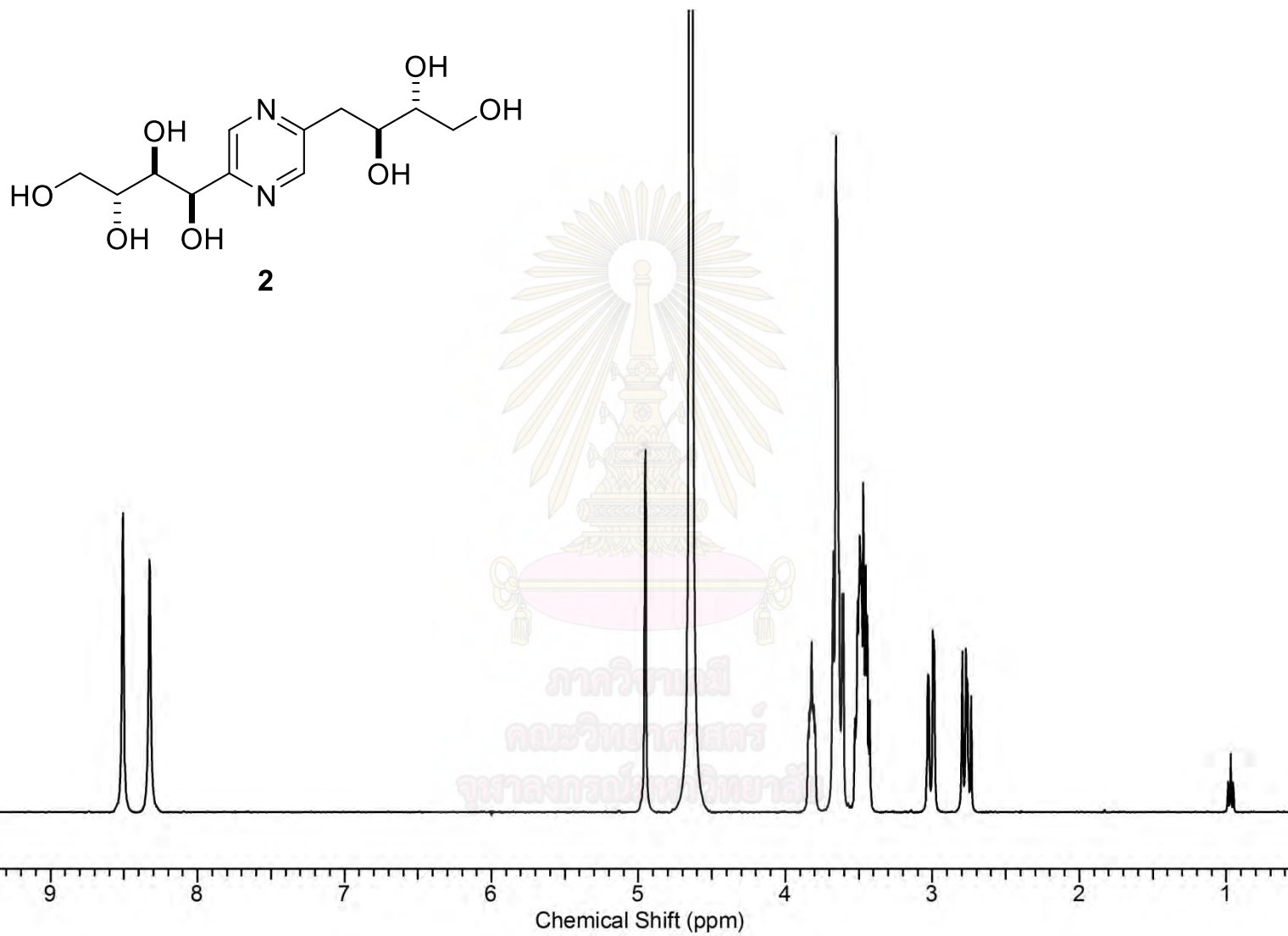


รูปที่ ก-1  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ของ D-glucosamine hydrochloride จากงานวิจัยของ อนวัช อาชวาคม และคณะ

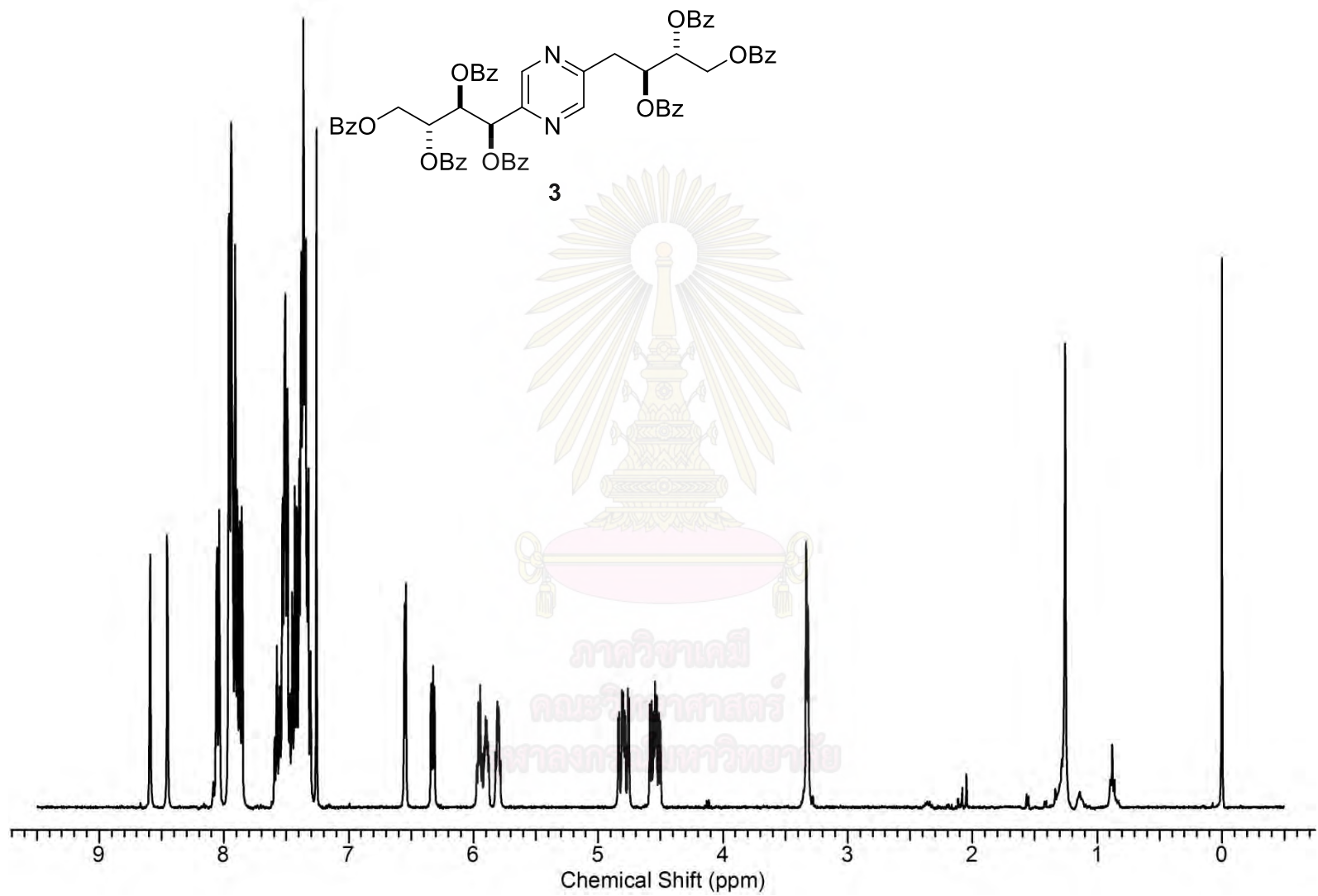


รูปที่ ก-2  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ของ D-glucosamine hydrochloride (สาร 1) หลังทำบริสุทธิ์

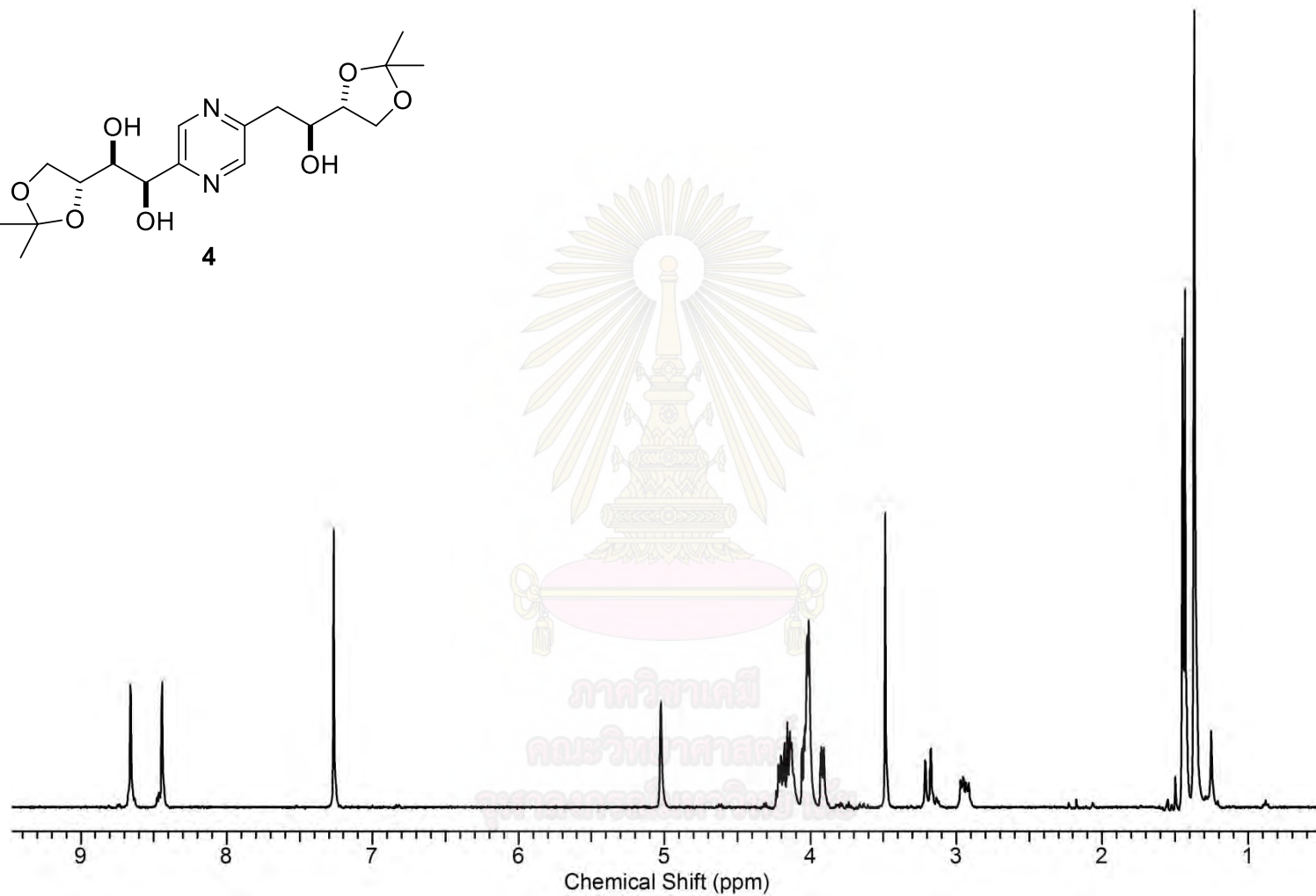
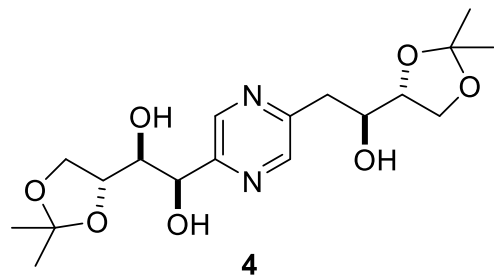




รูปที่ ก-3  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ของ deoxyfructosazine (สาร 2)

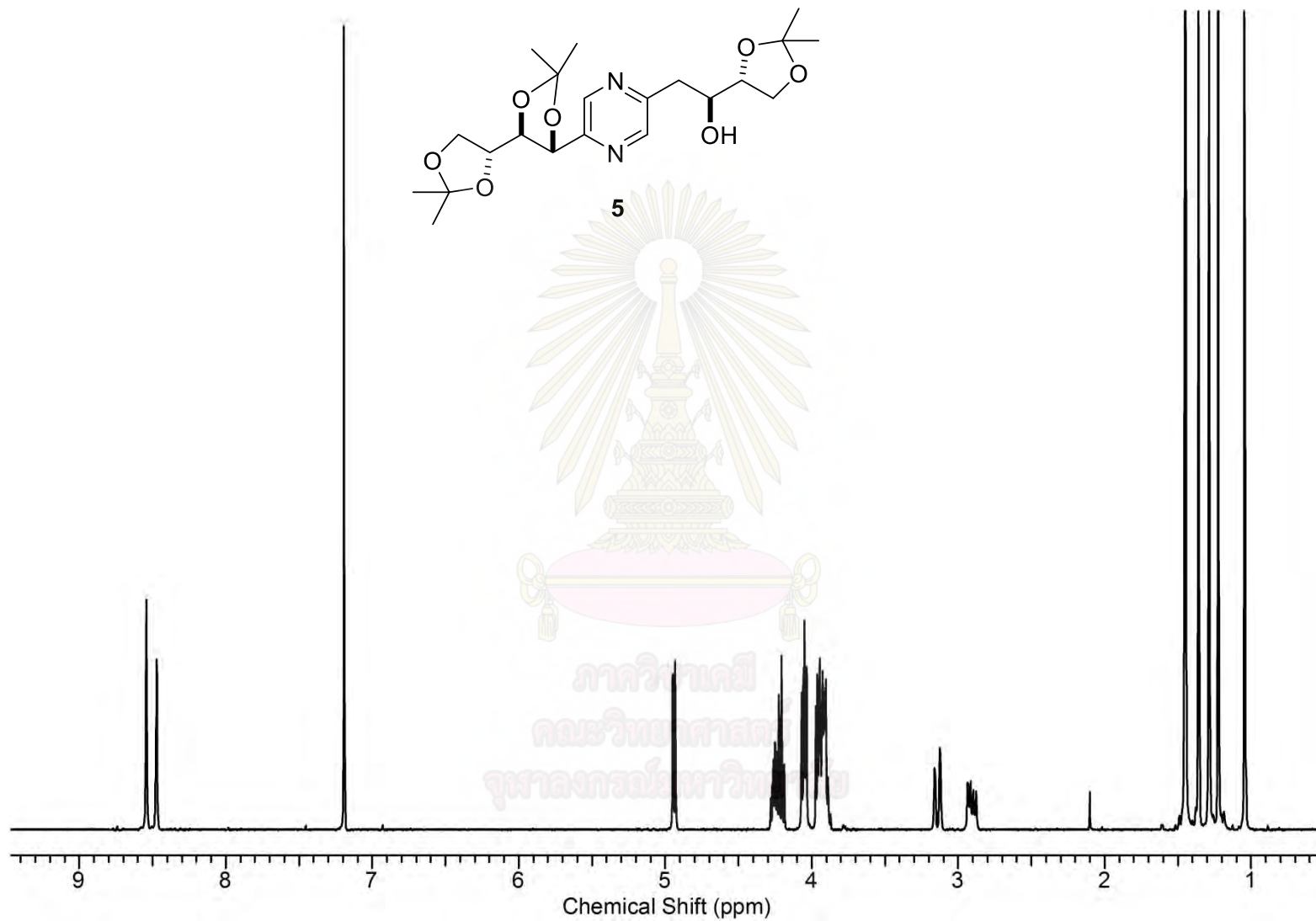


รูปที่ ๓-4  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ (1*R*,2*S*,3*R*)-1-(5-((2*S*,3*R*)-2,3,4-tris(benzoyloxy)butyl)pyrazin-2-yl)butane-1,2,3,4-tetraol tetrabenzoate (สาร 3)

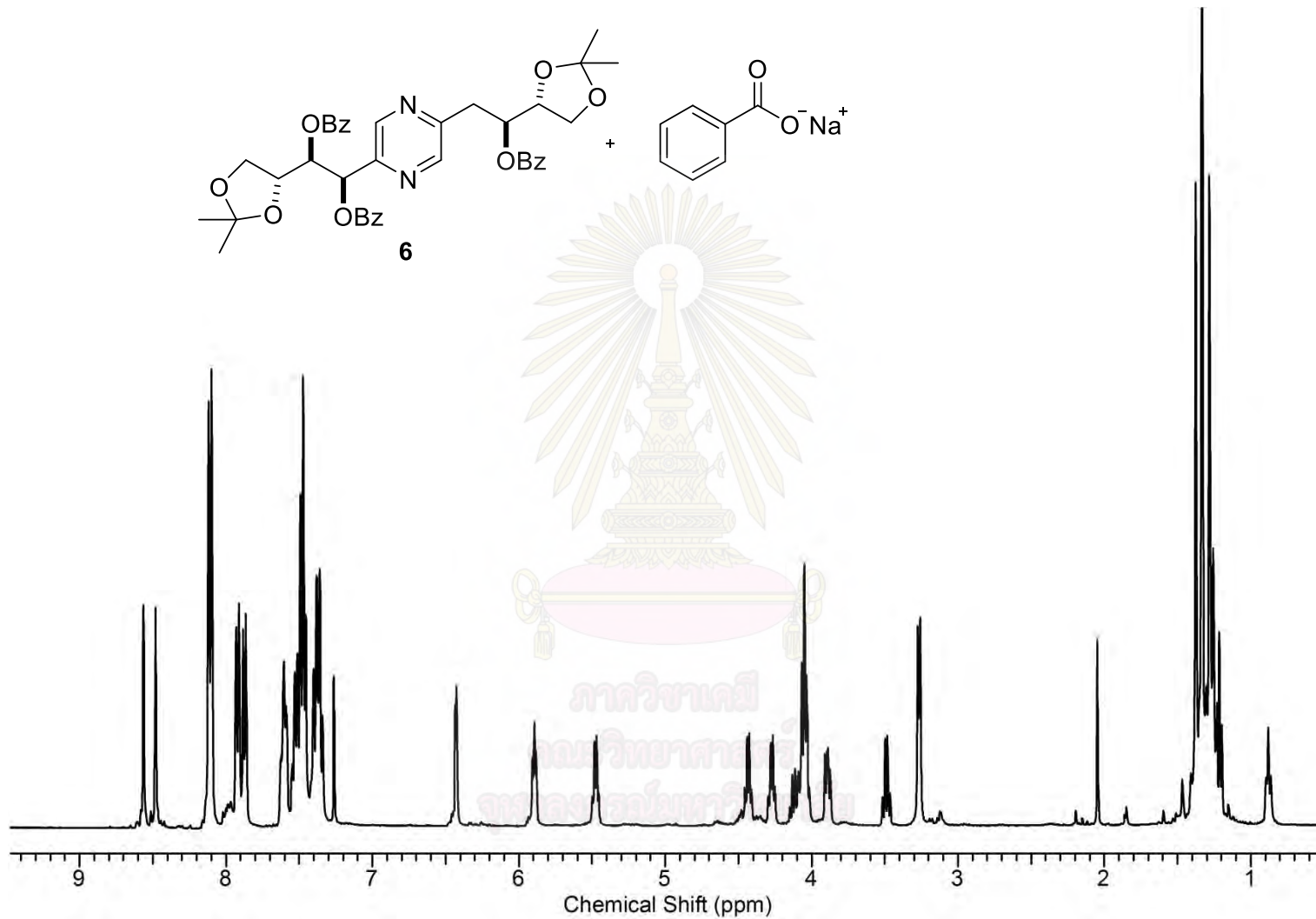
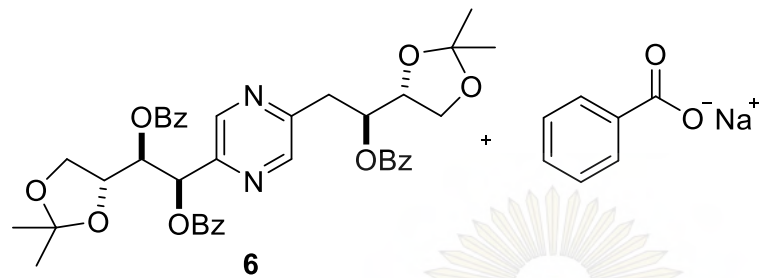


รูปที่ ๓-5  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ (1*S*,2*R*)-1-((*R*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((*S*)-2-((*R*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-hydroxyethyl)pyrazin-2-yl)ethane-1,2-diol

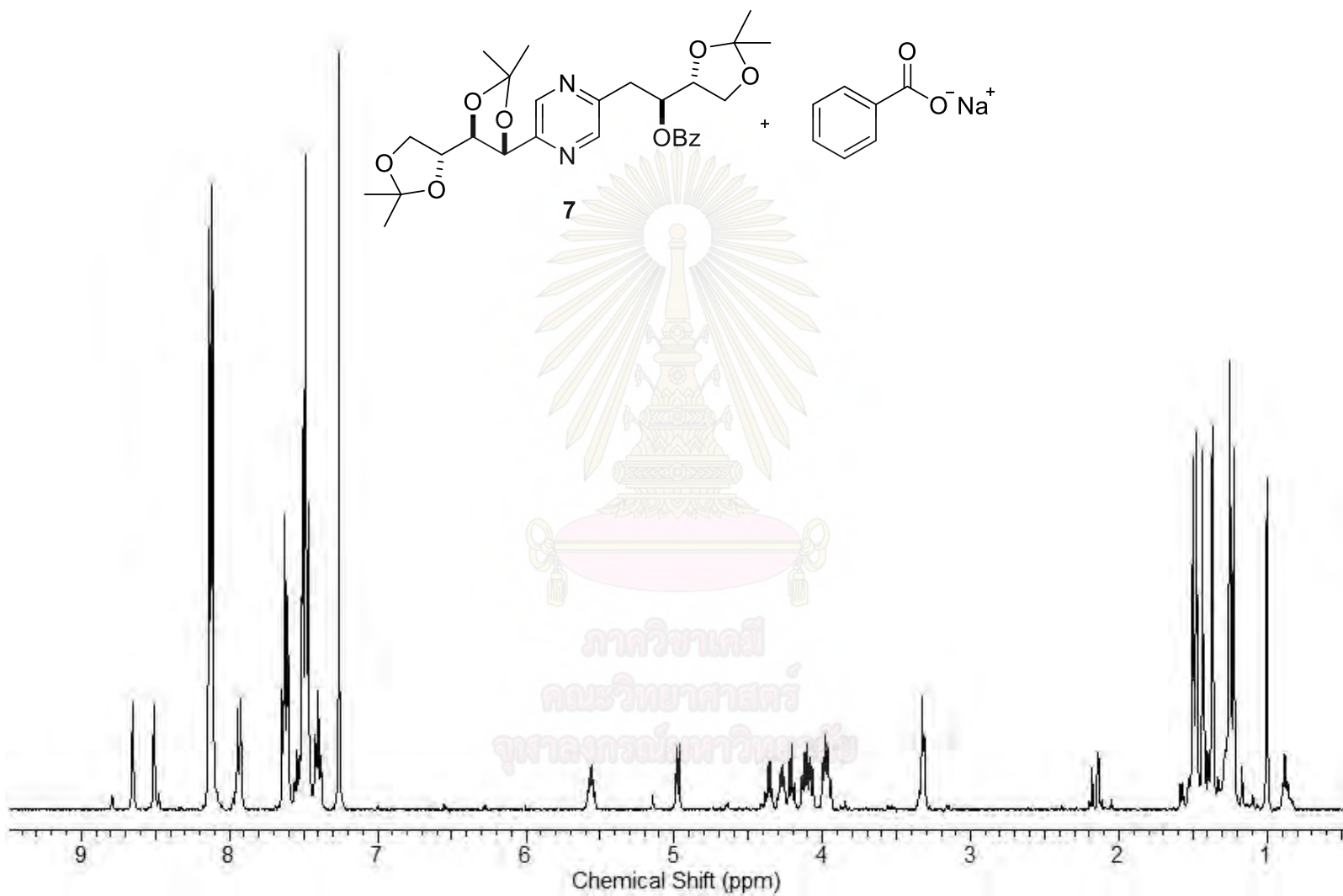
(สาร 4)



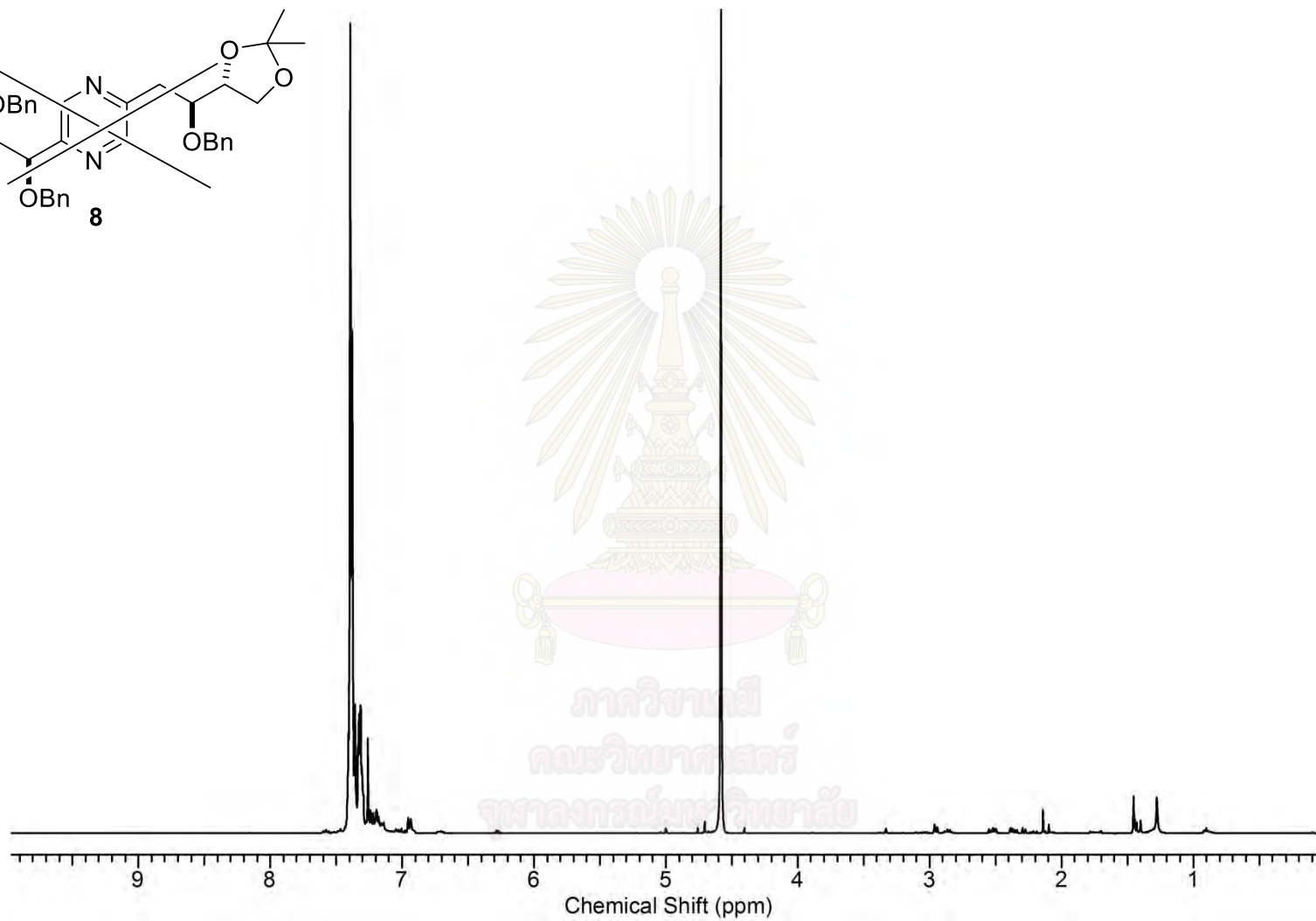
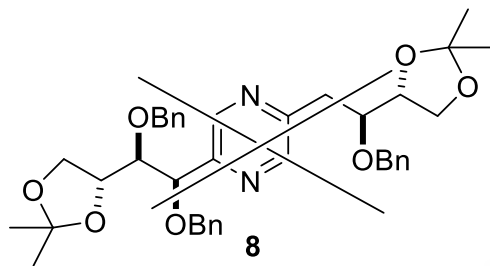
รูปที่ 6-6  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ (S)-1-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((4*S*,4'*R*,5*R*)-2,2,2'-tetramethyl-[4,4'-bi(1,3-dioxolan)]-5-yl)pyrazin-2-yl)ethanol (สาร 5)



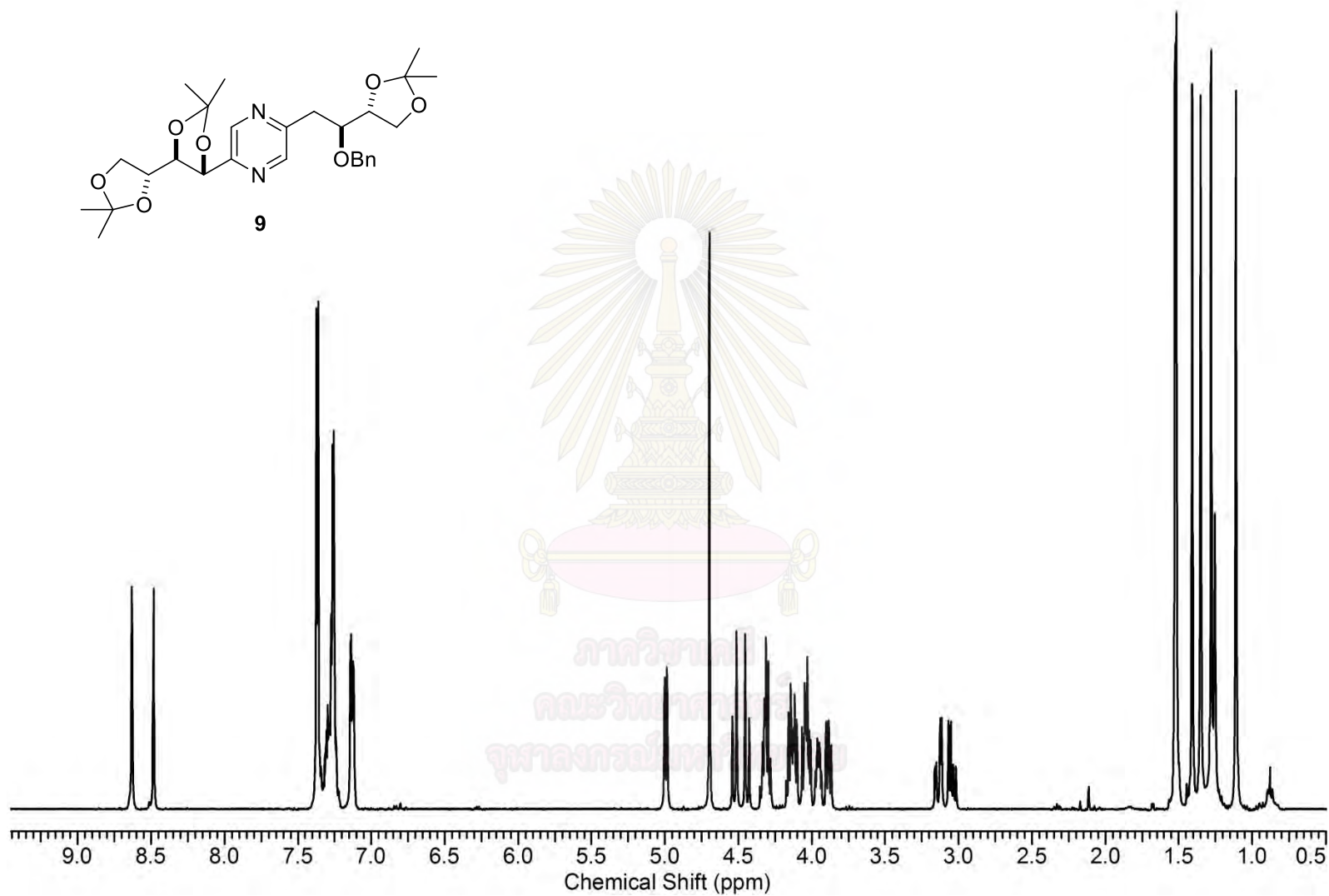
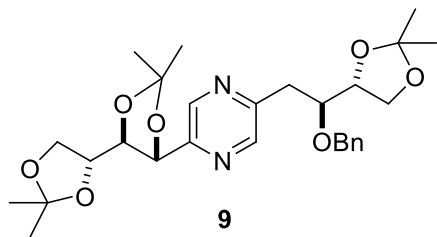
รูปที่ ๓-7  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ (1*R*,2*S*)-1-(5-((*S*)-2-(benzoyloxy)-2-((*R*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl)pyrazin-2-yl)-2-((*R*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethane-1,2-diyl dibenzoate (สาร 6)



รูปที่ ๓-8  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ (S)-1-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((4S,4'R,5R)-2,2',2''-tetramethyl-[4,4'-bi(1,3-dioxolan)]-5-yl)pyrazin-2-yl)ethyl benzoate (สาร 7)

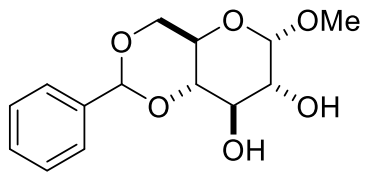


รูปที่ ก-9  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา benzylation ของ (1*S*,2*R*)-1-((*R*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((*S*)-2-((*R*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-hydroxyethyl)pyrazin-2-yl)ethane-1,2-diol (สาร **4**)



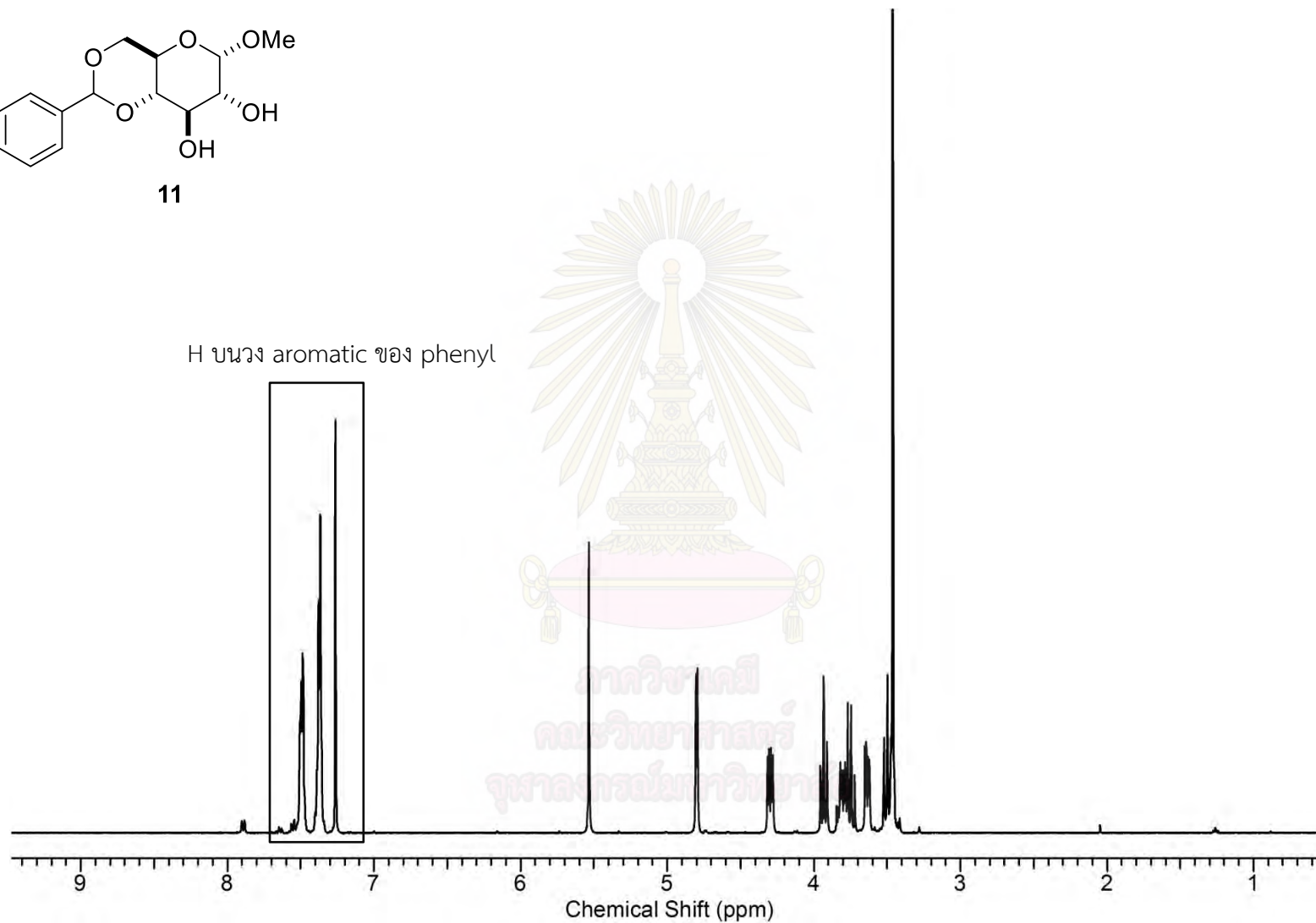
รูปที่ ๓-10  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ 2-((*S*)-2-(benzyloxy)-2-((*R*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl)-5-((4*S*,4'*R*,5*R*)-2,2,2',2'-tetramethyl-[4,4'-bi(1,3-dioxolan)]-5-yl)pyrazine (สาร 9)



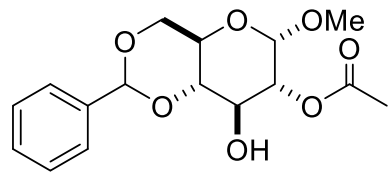


11

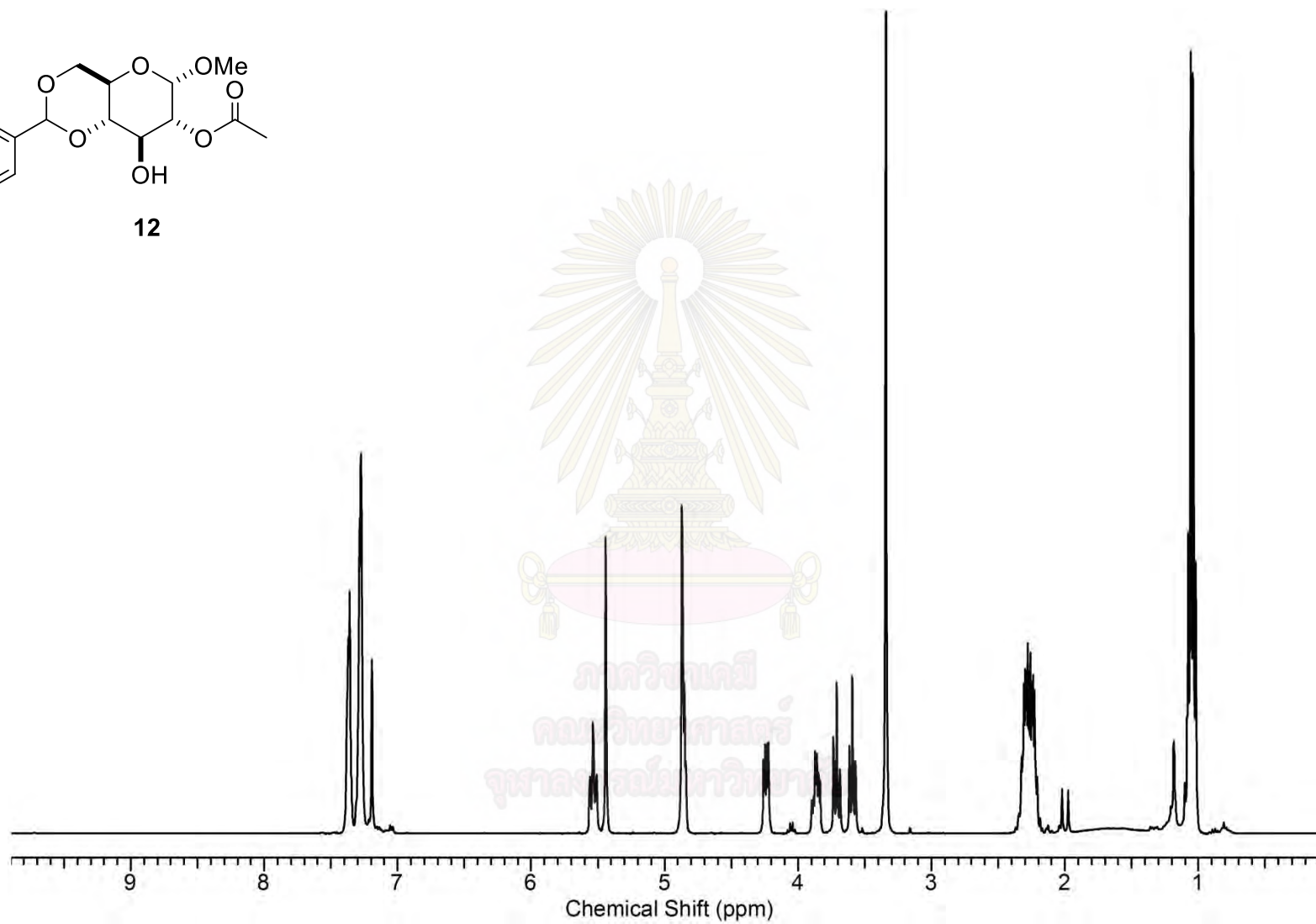
H บวง aromatic ของ phenyl



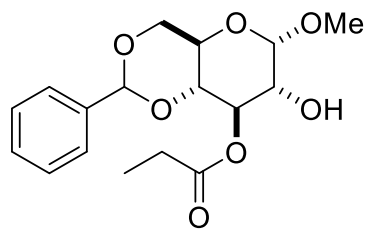
รูปที่ ก-11  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ (4a*R*,6*S*,7*R*,8*R*,8a*S*)-6-methoxy-2-phenylhexahydropyrano[3,2-*d*][1,3]dioxine-7,8-diol (สาร 11)



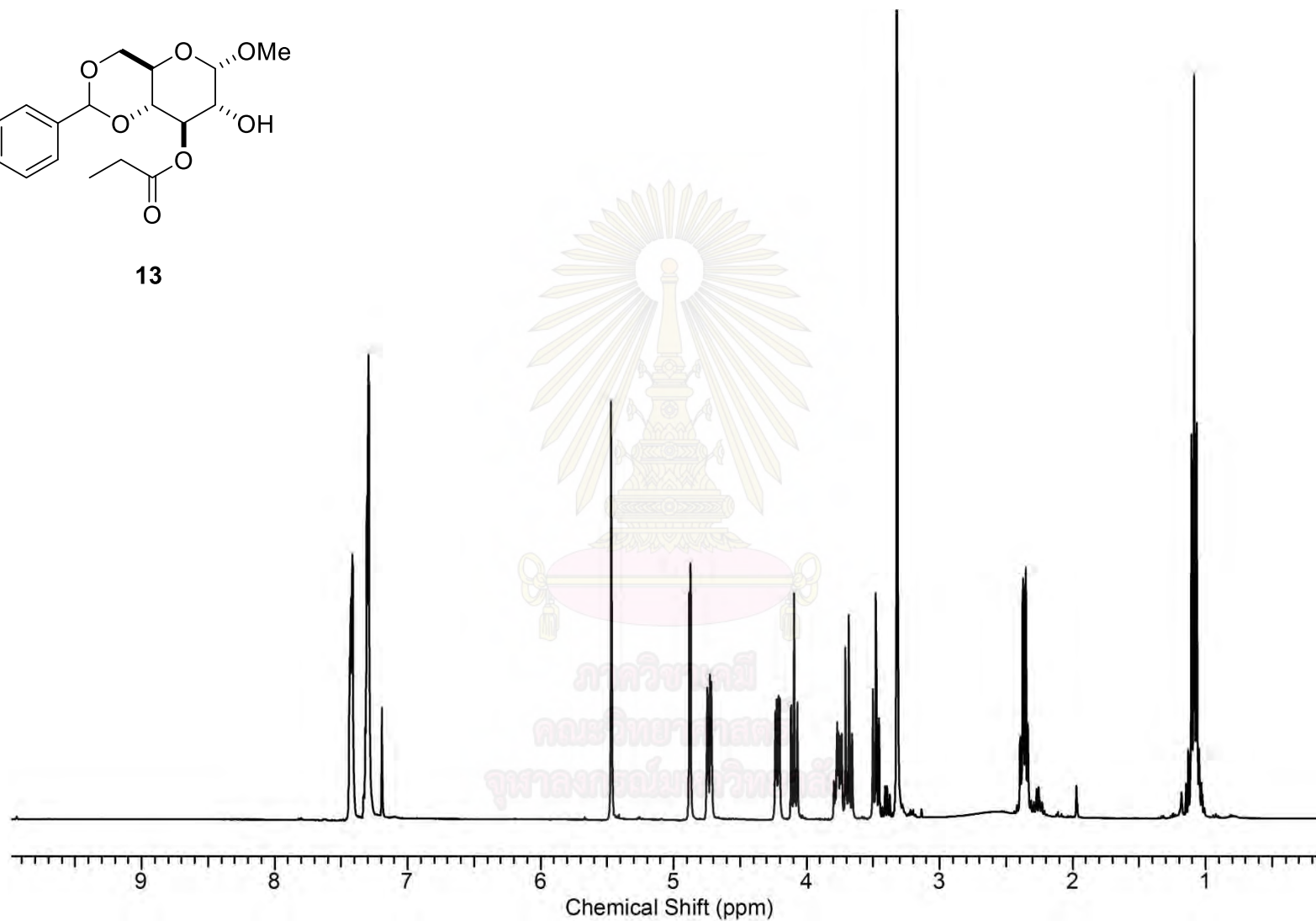
12



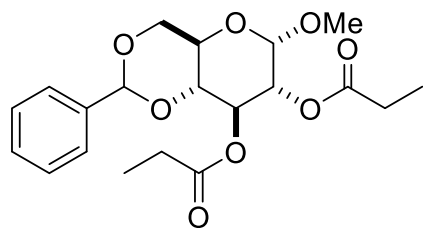
รูปที่ ๓-12  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ (4*aR*,6*S*,7*R*,8*S*,8*aS*)-8-hydroxy-6-methoxy-2-phenylhexahydropyrano[3,2-*d*][1,3]dioxin-7-yl acetate (สาร 12)



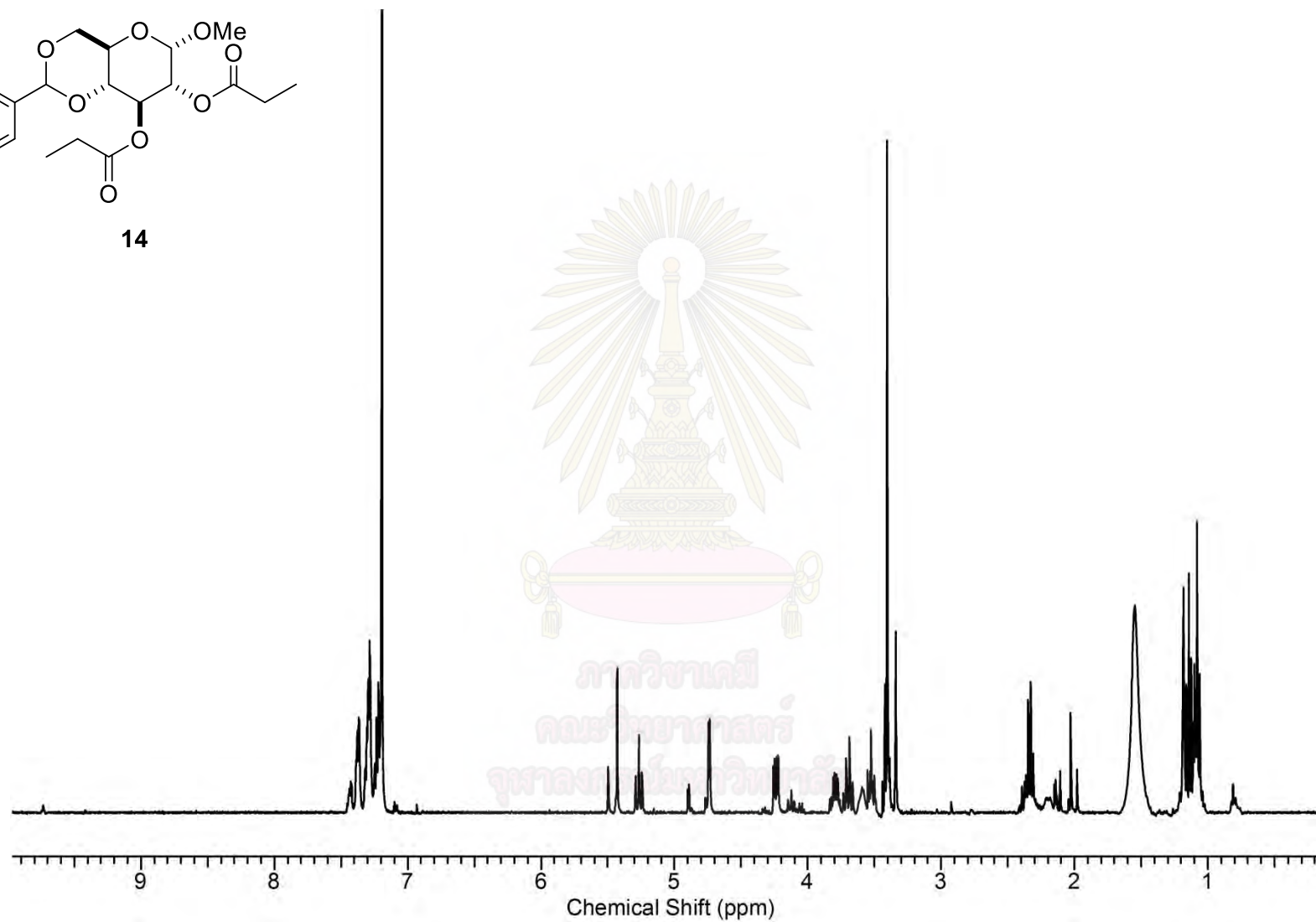
13



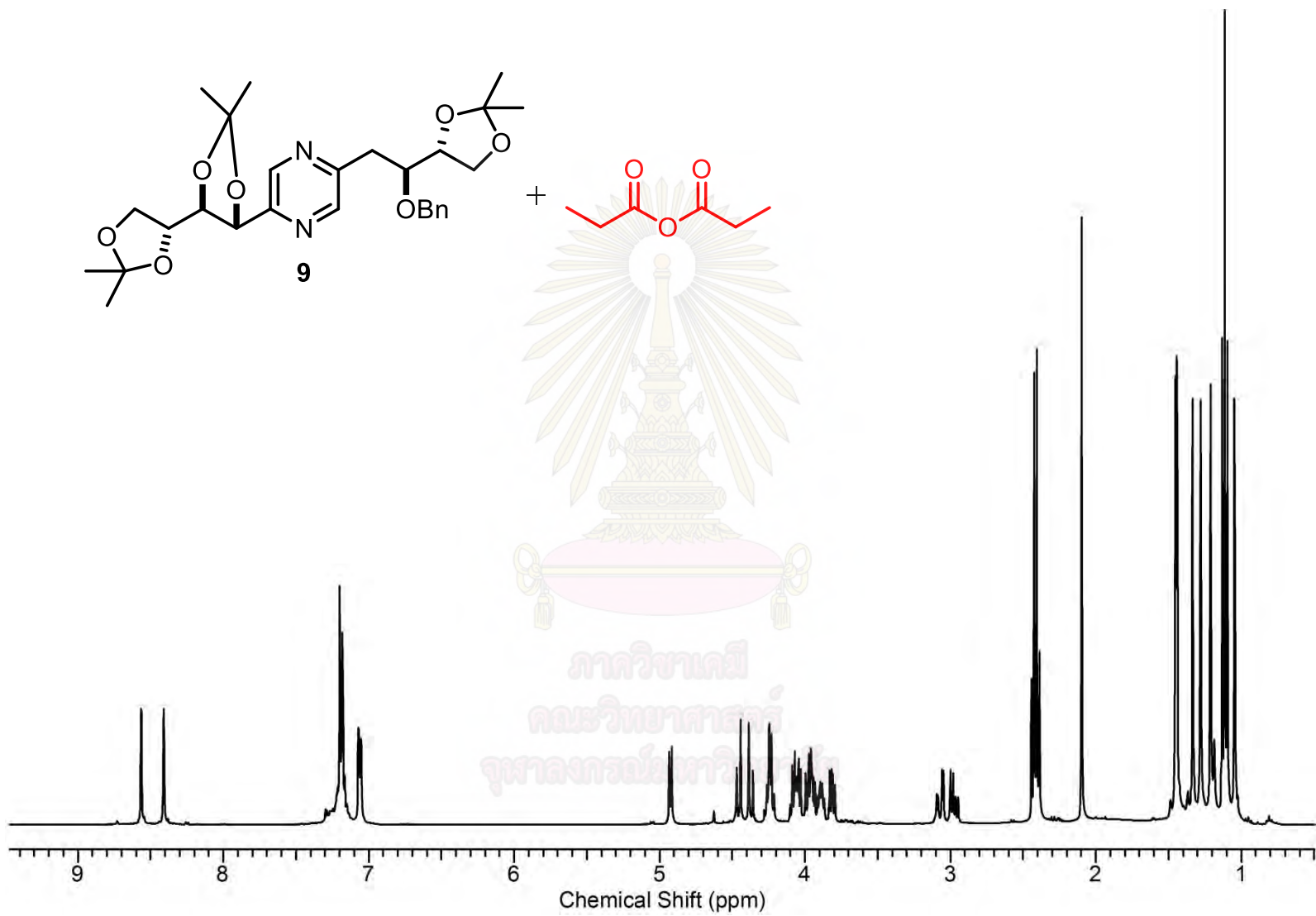
รูปที่ ๓-13  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ (4*aR*,6*S*,7*R*,8*R*,8*aR*)-7-hydroxy-6-methoxy-2-phenylhexahydropyrano[3,2-*d*][1,3]dioxin-8-yl acetate (สาร 13)



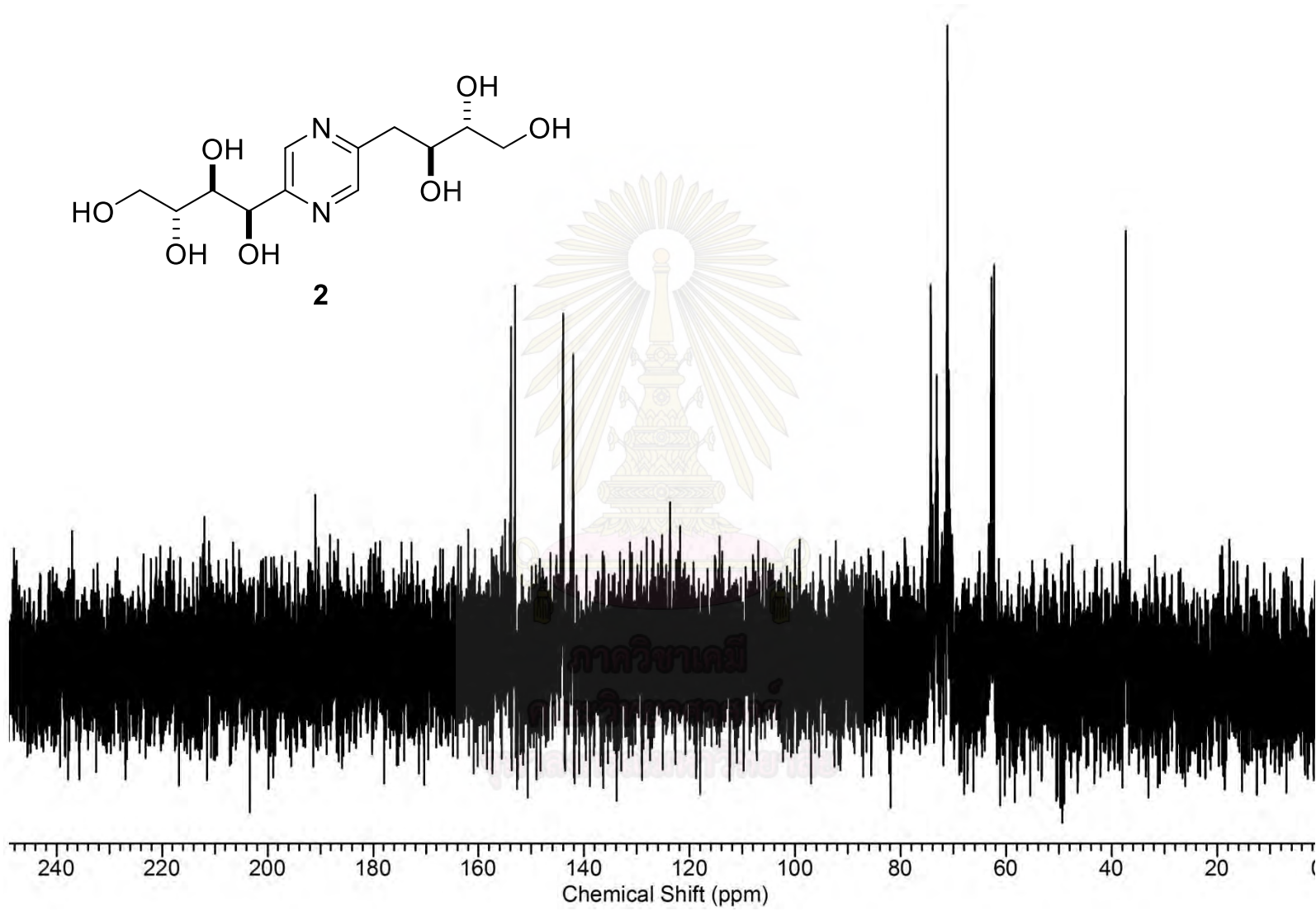
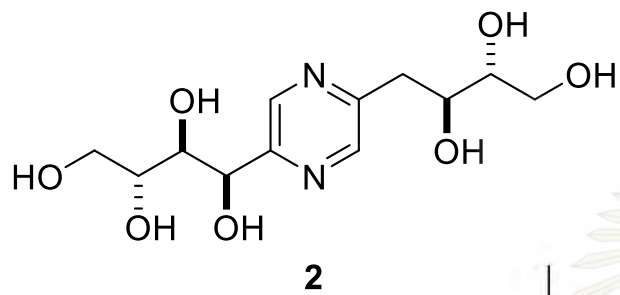
14



รูปที่ ก-14  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของ (4a*R*,6*S*,7*R*,8*S*,8a*R*)-6-methoxy-2-phenylhexahydropyrano[3,2-*d*][1,3]dioxine-7,8-diyl diacetate (สาร 14)



รูปที่ ก-15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของปฏิกิริยาระหว่างสาร 9 กับ propionic anhydride

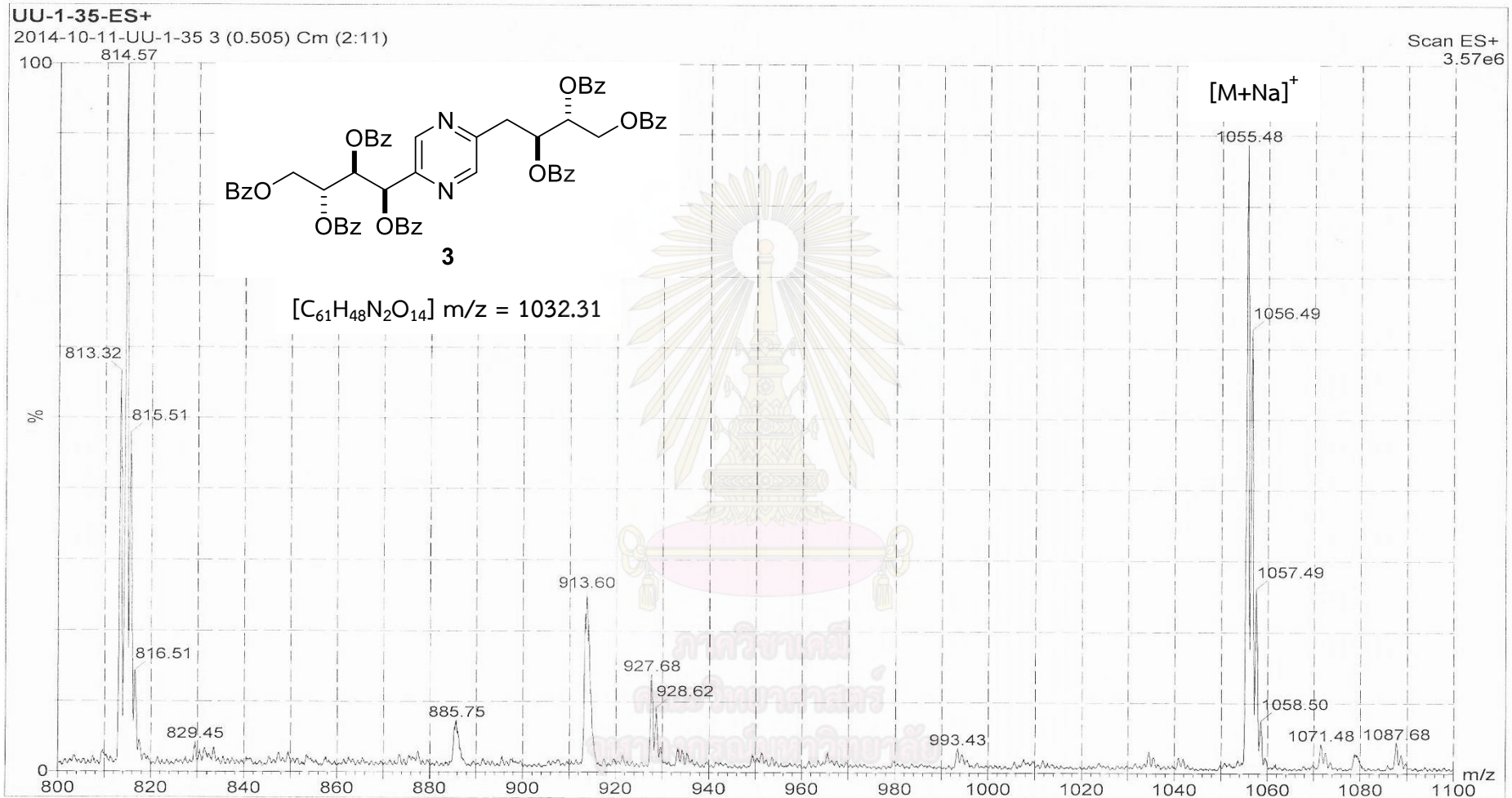


รูปที่ ๓-16 (100 MHz, D<sub>2</sub>O) ของ deoxyfructosazine (สาร 2)



# ภาคผนวก ข

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ข-1 ESI-MS ของ (1R,2S,3R)-1-(5-((2S,3R)-2,3,4-tris(benzoyloxy)butyl)pyrazin-2-yl)butane-1,2,3,4-tetraol tetrabenzoate (สาร 3)

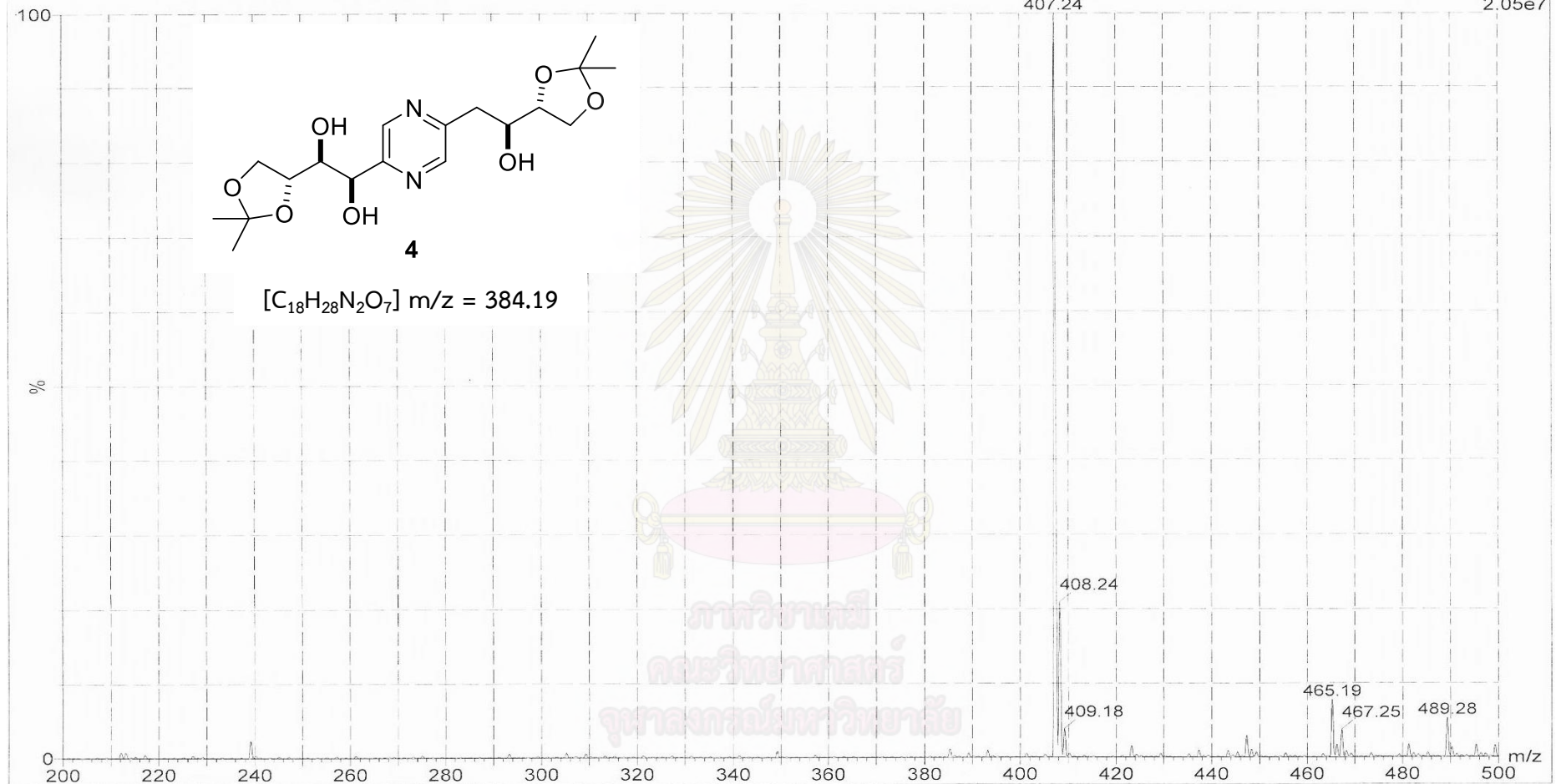


UU-1-61 (Fraction2) ES+

2014-11-30-UU-1-61-F2-ES+ 9 (1.516) Cm (2:11)

[M+Na]<sup>+</sup>

Scan ES+  
2.05e7



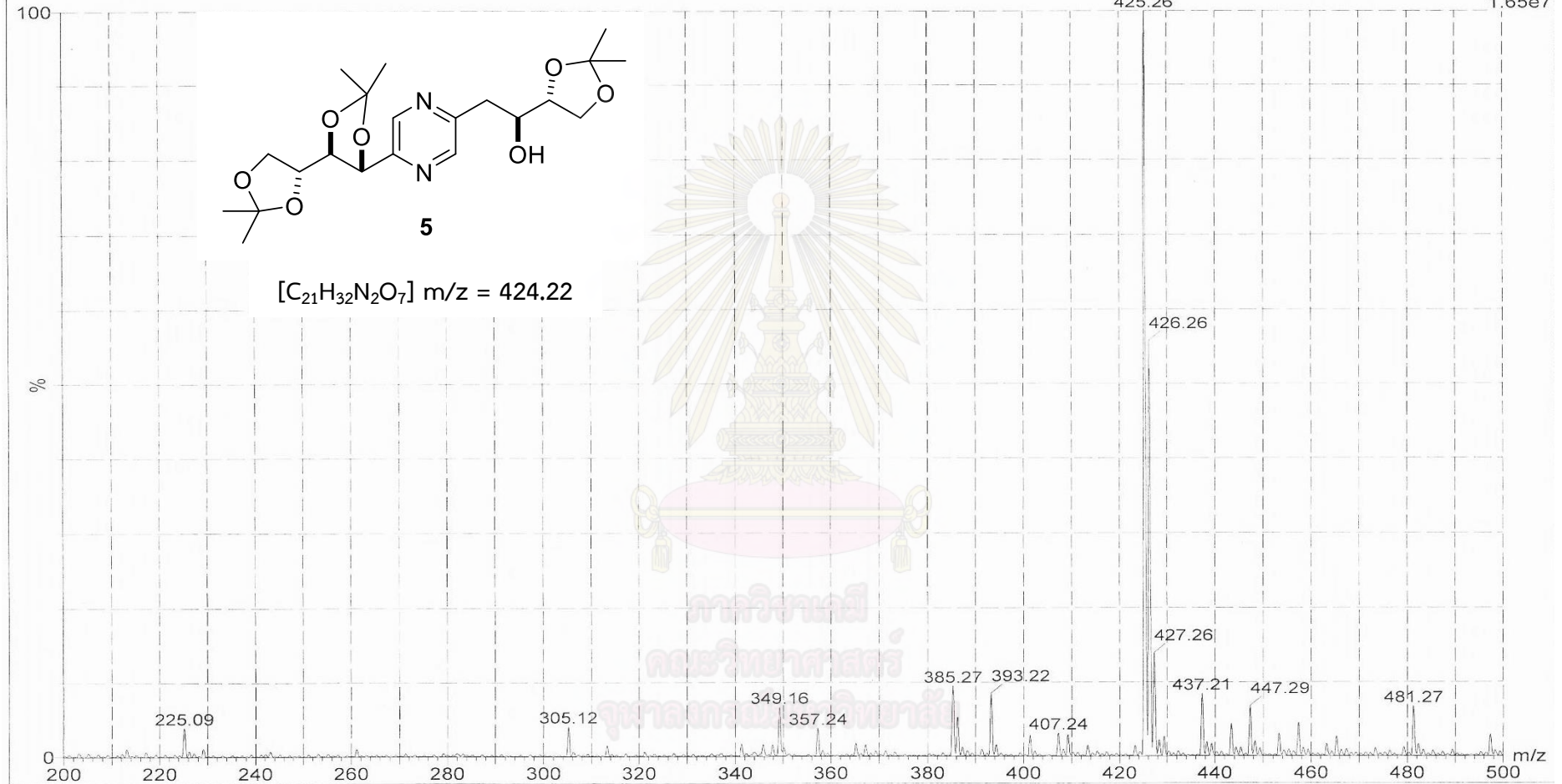
รูปที่ ข-2 ESI-MS ของ ของ (1S,2R)-1-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((S)-2-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-hydroxyethyl)pyrazin-2-yl)ethane-1,2-diol (สาร 4)

UU-1-61 (Fraction1) ES+

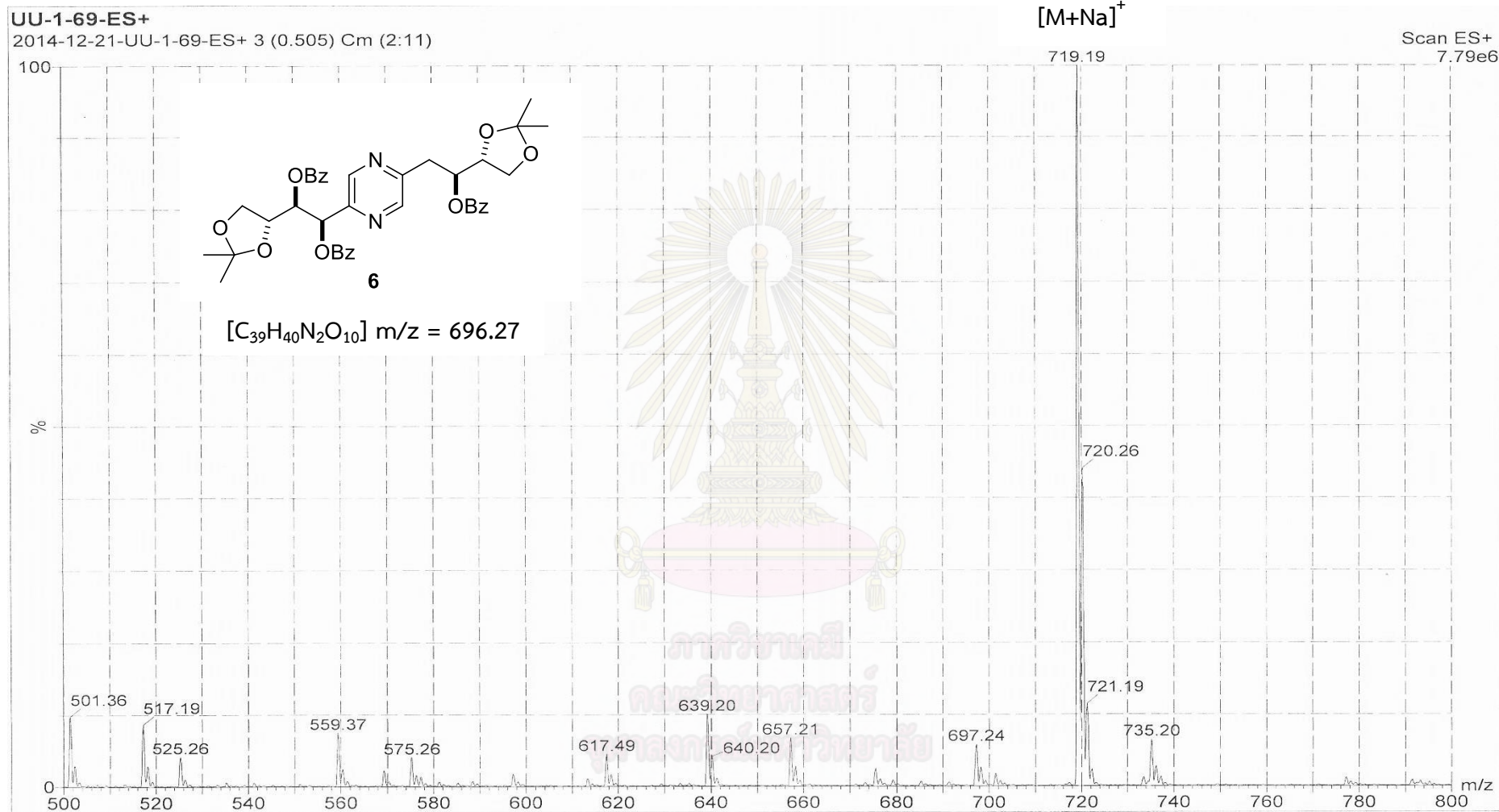
2014-11-30-UU-1-61-F1-ES+ 11 (1.854) Cm (2:11)

[M+H]<sup>+</sup>

Scan ES+  
1.65e7



รูปที่ ข-3 ESI-MS ของ (S)-1-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'-tetramethyl-[4,4'-bi(1,3-dioxolan)]-5-yl)pyrazin-2-yl)ethanol (สาร 5)



รูปที่ ข-4 ESI-MS ของ (1R,2S)-1-(5-((S)-2-(benzyloxy)-2-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl)pyrazin-2-yl)-2-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethane-1,2-diyl dibenzoate (สาร 6)

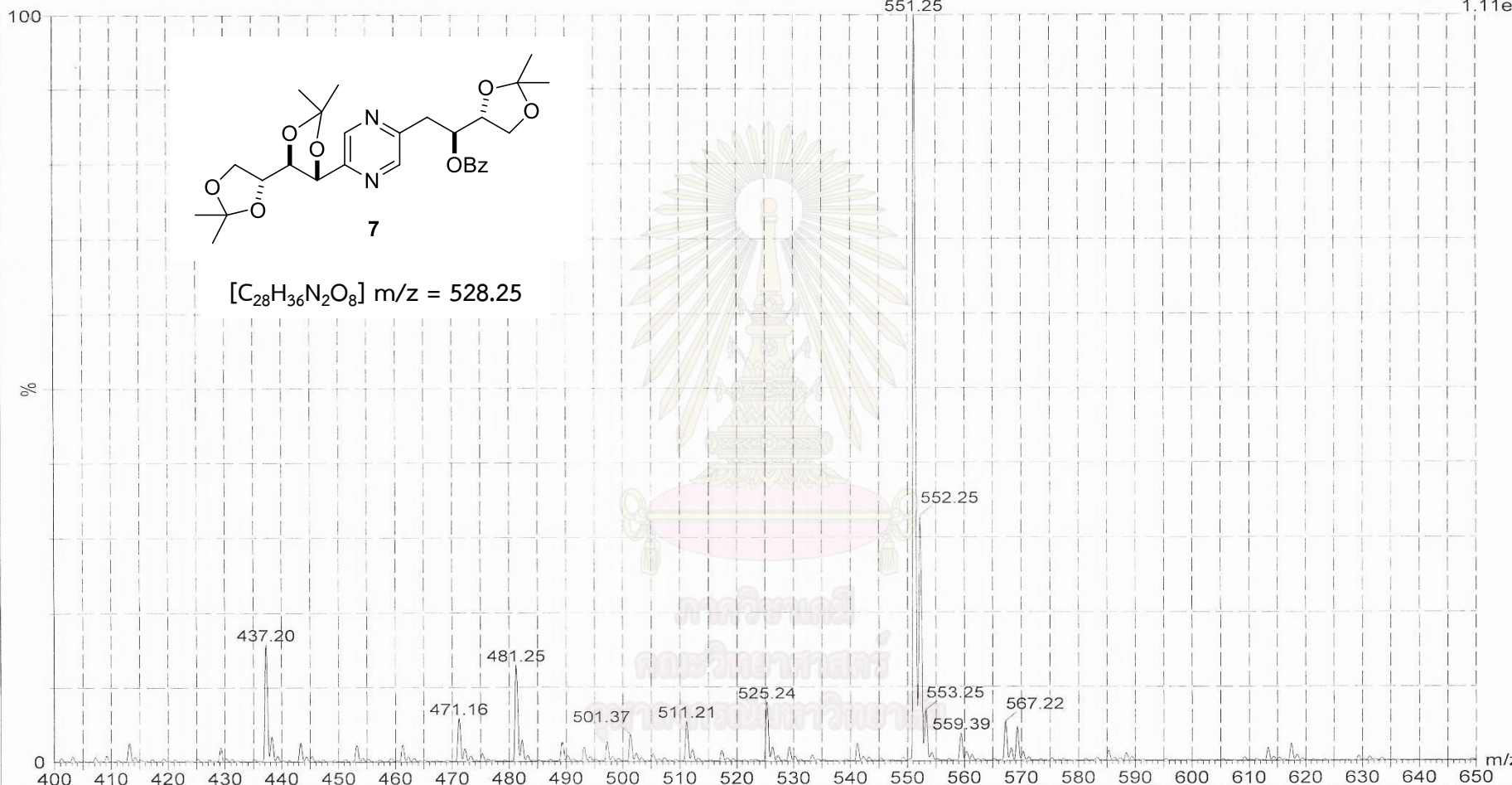
หมายเหตุ : จากข้อมูล H<sup>1</sup> NMR พบว่าผลิตภัณฑ์มีเกลือ benzoate เจือปน

UU-1-66-ES+

2014-12-21-UU-1-66-ES+ 2 (0.337) Cm (2:11)

[M+Na]<sup>+</sup>

Scan ES+  
1.11e8



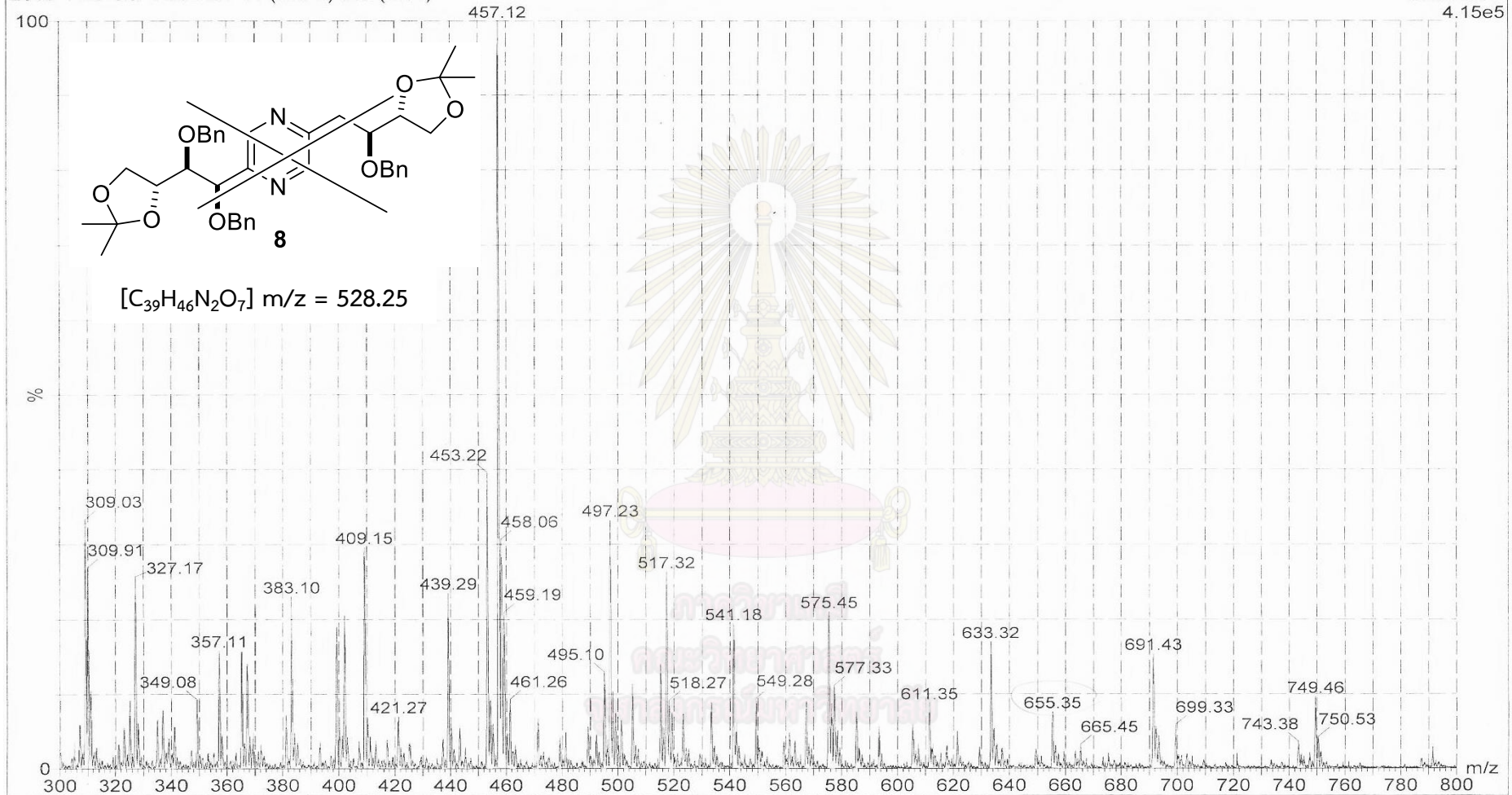
รูปที่ ข-5 ESI-MS ของ (S)-1-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-(((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'-tetramethyl-[4,4'-bi(1,3-dioxolan)]-5-yl)pyrazin-2-yl)ethyl benzoate (สาร 7)

หมายเหตุ : จากข้อมูล  $H^1$  NMR พบว่าผลิตภัณฑ์มีเกลือ benzoate เจือปน

UU-1-83-ES+

2015-1-25-UU-1-83-ES+ 11 (1.854) Cm (2:11)

Scan ES+  
4.15e5



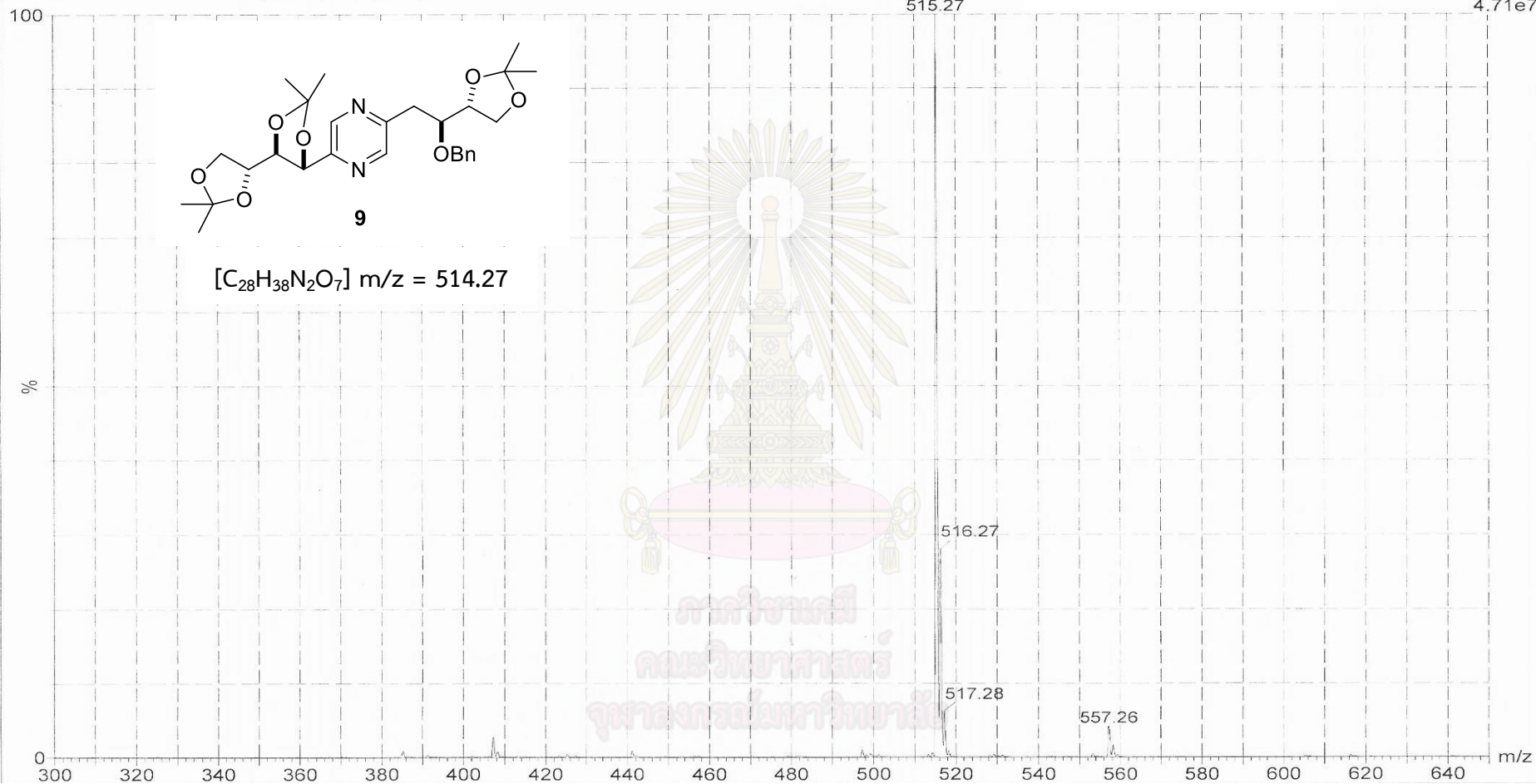
รูปที่ ข-6 ของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา benzylation ของ (1S,2R)-1-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-(5-((S)-2-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-2-hydroxyethyl)pyrazin-2-yl)ethane-1,2-diol (สาร 4)

UU-1-80-ES+

2015-1-25.UU-1-80-ES+ 6 (1.011) Cm (2:11)

[M+H]<sup>+</sup>

Scan ES+  
4.71e7

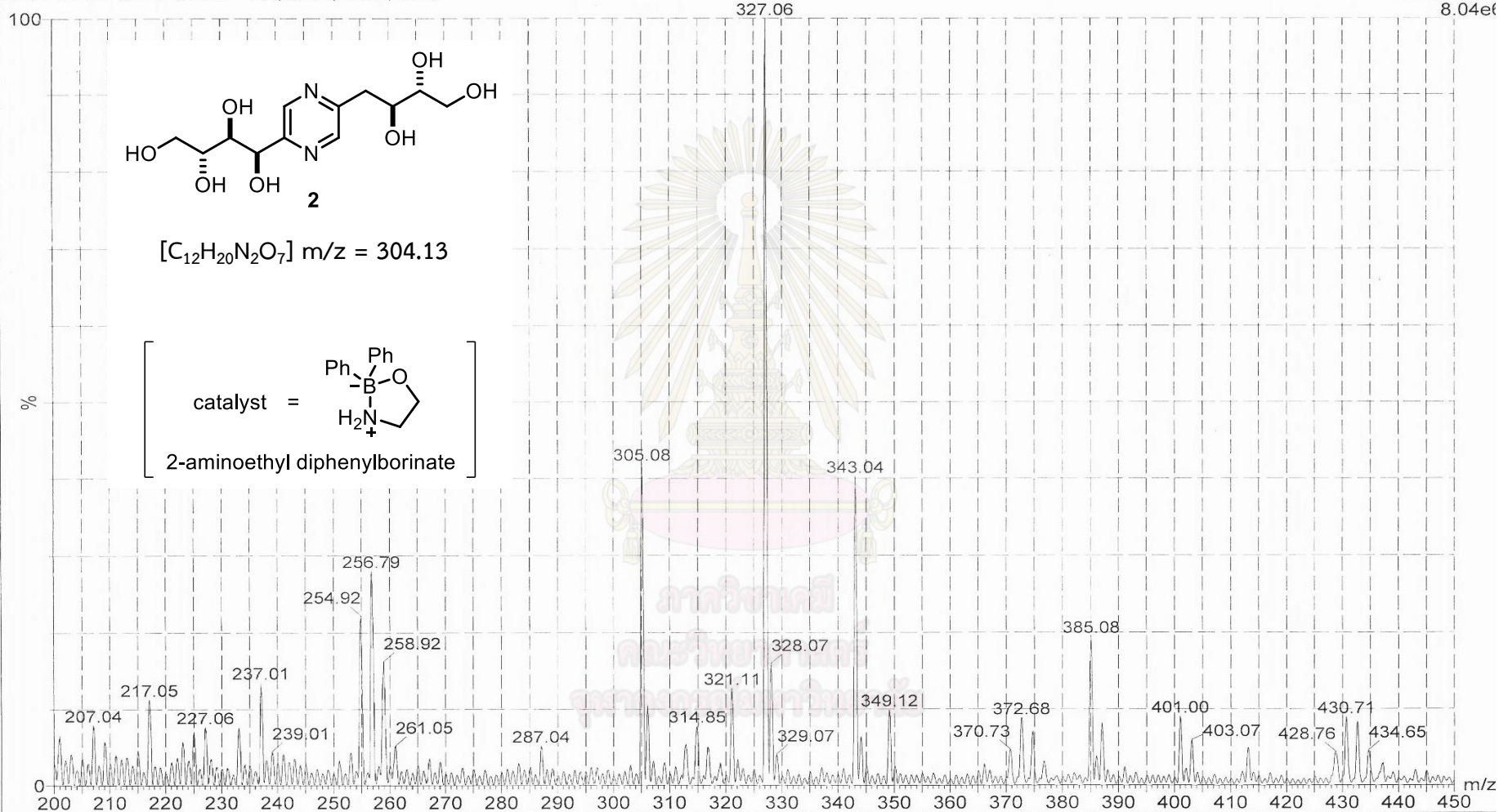


รูปที่ ๗-7 ESI-MS ของ 2-((S)-2-(benzyloxy)-2-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)ethyl)-5-((4S,4'R,5R)-2,2,2',2'-tetramethyl-[4,4'-bi(1,3-dioxolan)]-5-yl)pyrazine (สาร 9)

UU-1-40-ES+

2014-12-21-UU-1-40-ES+ 11 (1.854) Cm (2:11)

Scan ES+  
8.04e6



รูปที่ ข-8 ESI-MS ของ dxyfructosazine (สาร 2) ที่สังเคราะห์โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา คือ 2-aminoethyl diphenylborinate

## ประวัติผู้วิจัย

นางสาว อุมารัตน์ อูมา เกิดเมื่อวันที่ 22 กันยายน พ.ศ. 2535 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายแผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์จากโรงเรียนสายปัญญา ในพระบรมราชินูปถัมภ์ กรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2553 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2554 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้หลังจบการศึกษาระดับปริญญาตรี บ้านเลขที่ 37/147 หมู่บ้านปรีญลักษณ์ไลท์สามัคคี ซอยวัดบัวขวัญ ถนนสามัคคี 58/10 แขวงท่าทราย อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000 หมายเลขโทรศัพท์ 083-0342896 อีเมล lukpear\_kamo@hotmail.com

นางสาวพรรณชนก เวชรัตน์ เกิดเมื่อวันที่ 17 สิงหาคม พ.ศ. 2535 ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายแผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์จากโรงเรียนสุราษฎร์ธานี จังหวัดสุราษฎร์ธานี เมื่อปีการศึกษา 2553 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2554 ที่อยู่ที่ติดต่อได้หลังจบการศึกษาระดับปริญญาตรี บ้านเลขที่ 54/7 หมู่ที่ 3 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84320 หมายเลขโทรศัพท์ 081-9787163 อีเมล pwetcharat17@gmail.com

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย