

บทที่ 3

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากการสกัดใบแก้วแห้งด้วยการแช่กับ Chloroform ได้ Crude สีเขียวเข้มและเหนียวหนักออกมา Crude นี้ละลายใน Petroleum ether ได้เป็นบางส่วน ส่วนที่ไม่ละลายไปละลายต่อใน Ether และ Ethyl acetate ตามลำดับ นำเอา Crude ที่ละลายได้ใน Ether ไปแยกโดย Column chromatography ได้สารเป็น Amorphous สีขาว m.p. 85-86°C กำหนดให้เป็นสาร ก. และเมื่อเอา Crude ที่ละลายได้ใน Ethyl acetate มาแยกโดย T.L.C. เลือกเอา Band บนสุดมาสกัดอีกครั้งด้วย Ethyl acetate จะได้ผลึก 2 ชนิด คือ ผลึกรูปเหลี่ยมเล็กสีขาวนวล m.p. 131 - 132°C กำหนดให้เป็นสาร ก. ออกมาก่อน กับผลึกรูปเข็มสีขาวรวมกันเป็นกลุ่มคล้ายดอกกระถิน m.p. 120 - 121°C ซึ่งกำหนดให้เป็นสาร ข. ออกมาที่หลัง

3.1 สาร ก. จุดหลอมเหลว 85 - 86°C

จากการตรวจ Functional group ข้างต้นทราบว่าสาร ก. เป็น Saturated alcohol ผลจากการวิเคราะห์ธาตุต่าง ๆ พบว่ามี C = 83.12%, H = 11.96%

IR. spectrum ของสาร ก. (m.p. 85-86°C) แสดง broad band absorption maximum ที่  $3450\text{ cm}^{-1}$  (Polymeric association of OH stretching vibration) และที่  $1050\text{ cm}^{-1}$  (C-OH stretching vibration of primary alcohol) ที่  $2905$  และ  $2835\text{ cm}^{-1}$  (C-CH<sub>3</sub> asymmetric bending vibration) และที่  $725\text{ cm}^{-1}$  (-CH<sub>2</sub> rocking vibration) ไม่มี absorption peak ของ Olefinic linkage branched chain skeleton หรือ Carbonyl group อยู่เลย

ซึ่งแสดงว่าสาร ก. เป็น Saturated long chain primary alcohol  
 ค้างกลาวข้างต้น ซึ่งเมื่อนำมาเตรียม Acetyl derivative ได้ m.p. 72-73°C  
 และ IR. absorption peaks แสดง peak ของ Acetoxyc group ที่  
 1745, 1240 และ 1040  $\text{cm}^{-1}$  ส่วน absorption peaks ของ alcoholic  
 hydroxyl group ที่ 3400 - 3200 และที่ 1050  $\text{cm}^{-1}$  หายไป

จากการเปรียบเทียบ IR. absorption peaks ของสาร ก. และ  
 Acetyl derivative ของสาร ก. กับ Myricyl alcohol ปรากฏว่าเหมือน  
 กันทุกประการ และเมื่อเอาสาร ก. ไปทำ mixed กับ Myricyl alcohol  
 แล้วนำไปหาจุดหลอมเหลวก็โคจุดหลอมเหลวคงที่ และเมื่อนำสาร ก. ไปทำ  
 T.L.C. เปรียบเทียบกับ Myricyl alcohol ก็ได้  $R_f$  value เท่ากัน  
 จากผลการทดลองค้างกลาวทั้งหมด แสดงว่าสาร ก. เป็น Myricyl alcohol (2)  
 ซึ่งมีสูตรว่า  $\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{O}$  มี C = 83.99%, H = 12.15% ซึ่งใกล้เคียงกับ  
 เปอร์เซนต์ที่คำนวณหาได้ คือ C = 83.12% H = 11.96% สารที่แยกได้นี้เป็น  
Myricyl alcohol เป็น  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{28}-\text{CH}_2-\text{OH}$

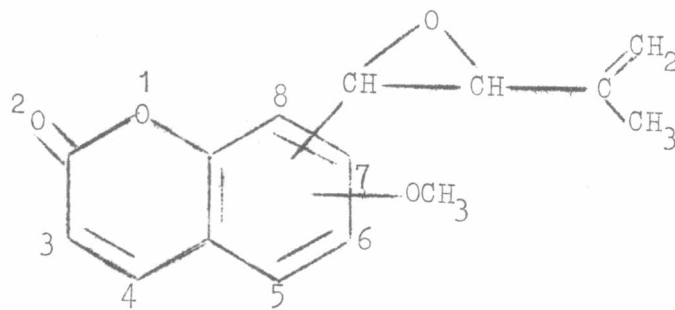
### 3.2 สาร ข. จุดหลอมเหลว 120 - 121°C

สาร ข. นี้ฟอกสี Bromine in carbon tetrachloride โดย  
 ไม่ให้แก๊ส Hydrogen bromide เกิดขึ้น และฟอกสีสารละลาย  $\text{KMnO}_4$  ไม่มี  
 ปฏิกิริยากับ Carbonyl reagent ต่าง ๆ ไม่ให้สีกับ Liebermann-Burchard  
 reagent ผลจากการวิเคราะห์ธาตุ ไม่พบว่ามีธาตุ Nitrogen, Sulphur และ  
 Halogen หา C = 69.53%, H = 5.66% และ  $\text{OCH}_3 = 12.37\%$  แต่  $\text{M}^+$   
 จาก mass spectrum โคเท่ากับ 258 ฉะนั้นสูตรของโมเลกุลที่จะให้  $\text{M}^+ 258$   
 จะเป็น  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$  (จากสูตรโคไว้ C = 69.76%, H = 5.46%,  $1 \times \text{OCH}_3$   
 = 12.02% )

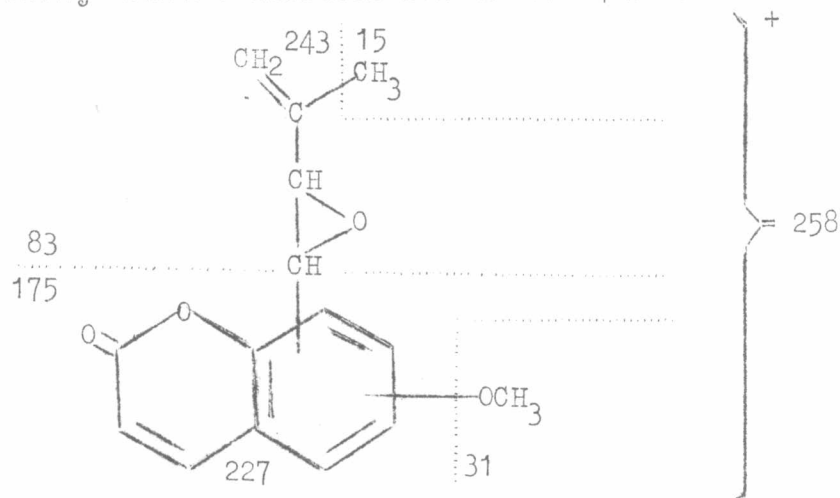
U.V. spectrum ของสาร ข. ในสารละลาย Ethanol ให้ absorption maxima ที่ 246 ( $\log \epsilon$  3.66), 256 ( $\log \epsilon$  3.70) และ 322 ( $\log \epsilon$  4.18) และเป็น Shoulder ที่ 220 m $\mu$  ( $\log \epsilon$  4.08) แสดงว่าสารนี้มี Coumarin chromophore อยู่ภายใน

IR. spectrum in KBr pellet ให้ absorption peaks ที่ 1740  $\text{cm}^{-1}$  (แสดง  $\alpha, \beta$ -unsaturated ของ  $\delta$ -lactone) ซึ่งเป็น Characteristic ของ Coumarin carbonyl (19), ที่ 1600 และ 1495  $\text{cm}^{-1}$  (แสดง Aromatic system) ที่ 1260  $\text{cm}^{-1}$  (แสดง epoxide ring) และที่ 890 กับ 3080  $\text{cm}^{-1}$  (แสดง Vinylidene group)

กัณฑ์สูตรของสาร ข. m.p. 120 - 121 $^{\circ}$ c จึงเป็นไปได้ดังนี้:-

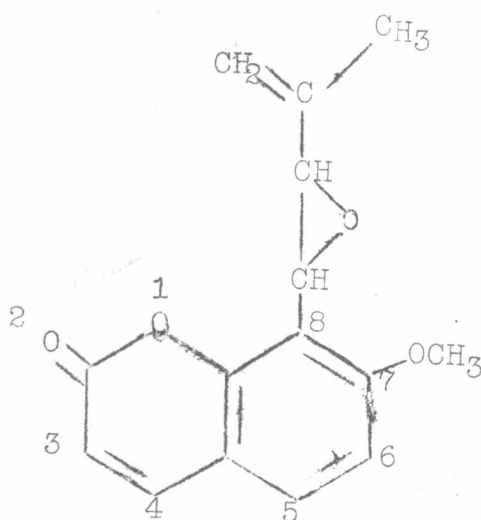


เพราะว่าจาก mass spectrum จะได้  $M^+$  เป็น 258, 243, 227 และ 175 เป็นส่วนใหญ่ แสดงถึง fraction ที่ให้  $M^+$  ต่าง ๆ ดังนี้.



ส่วน N.M.R. spectrum ของสาร ข. นี้ได้ doublets center ที่  $\delta$  6.25 และ  $\delta$  7.60 ซุกหนึ่งกับ doublets center ที่  $\delta$  6.35 และ  $\delta$  7.41 อีกซุกหนึ่ง ซึ่งแสดงถึง proton ที่ coumarin nucleus ซึ่งได้แก่ H-4, H-3, H-6 และ H-5 ตามลำดับ สำหรับ Sharp singlet ที่  $\delta$  3.95 แสดงถึง proton ใน  $-OCH_3$  กับที่มีอยู่ใน epoxide ring ที่  $\delta$  1.88 เป็น Vinylic methyl group และ multiplet ที่  $\delta$  5.12 เป็น Vinylidene protons

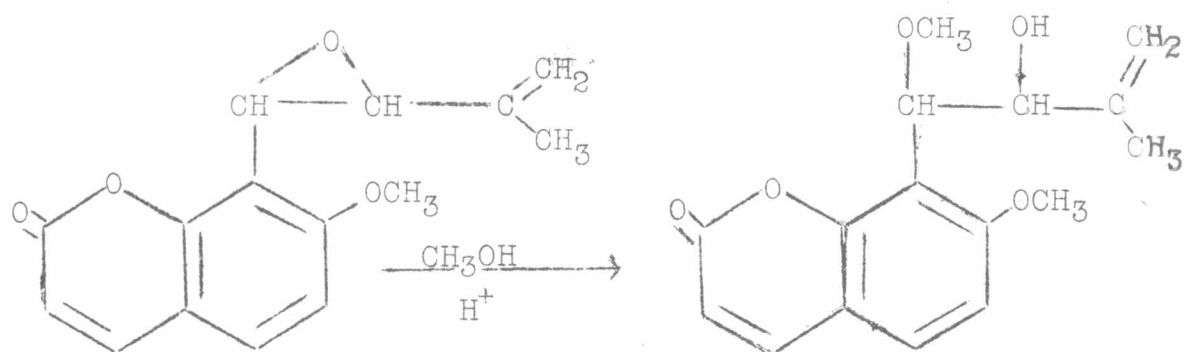
ดังนั้นสูตรโครงสร้างของสาร ข. m.p. 120 - 121°C จึงเป็น



ซึ่งปรากฏว่าเหมือนกับ Phebalosin ( $C_{15}H_{14}O_4$ ) ตามที่ Chow et. al. (14) ได้พบใน Species อื่น ๆ ของ Rutaceae ทุกประการ

ได้ทำการ Confirm ว่าสาร ข. เป็น Phebalosin โดยการเอาไปทำปฏิกิริยากับ Methanol ใน Sulphuric acid conc. และนำแล้วตกผลึกใน Petroleum ether กับ Benzene ดัง ข้อ. 2.5.2.3.1 (14) ได้สารที่มีจุดหลอมเหลว 153 - 154°C พบว่าฟอกสี Bromine in carbon tetrachloride โดยไม่ไหม้แก่ส HBr, ฟอกสีสารละลาย  $KMnO_4$  ให้แก่ส Hydrogen กับโลหะ Sodium จากการวิเคราะห์ธาตุได้ C = 66.6%, H = 5.25% และ  $OCH_3$  = 23.80% [ แต่จาก Literature, m.p. 152 - 153°C,  $C_{16}H_{18}O_5$ , C = 66.20%, H = 6.25%, 2 x  $OCH_3$  = 21.40% ]

U.V. spectrum ของ Methyl ether ของสาร ข. ในสารละลาย Chloroform ให้ absorption maxima ที่ 248 ( $\log \epsilon$  3.77); ที่ 258 ( $\log \epsilon$  3.80) และที่ 322 ( $\log \epsilon$  4.13) แสดงว่ามี Coumarin chromophore อยู่



สาร ข.

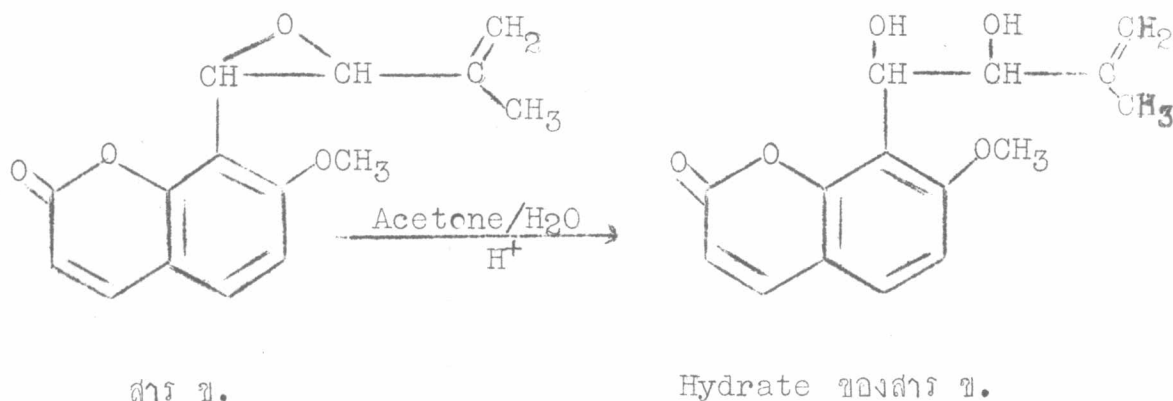
(Phebalosin)

methyl ether ของสาร ข.

เมื่อนำสารนี้ไปทำปฏิกิริยากับ Acetone และน้ำที่มี  $H_2SO_4$  เข้มข้นอยู่ ภาย แล้วนำสารที่ได้ไปตกผลึกใน Ethyl acetate - hexane ถึงจุด 2.5.2.5.2 ได้สารที่มีจุดหลอมเหลว  $130 - 132^\circ C$  พบว่าสารนี้ให้แก๊ส Hydrogen กับโลหะ Sodium สารนี้ฟอกสี Bromine in carbon tetrachloride โดยไม่ให้เกิด HBr, ฟอกสีสารละลาย  $KMnO_4$  จากการวิเคราะห์ธาตุได้  $C = 64.83\%$ ,  $H = 5.42\%$

I.R. spectrum ของ hydrate ของสาร ข. นี้ปรากฏว่า Identical กับ I.R. spectrum ของสาร ก. แสดง peak ของ  $-OH$  ที่  $3495\text{ cm}^{-1}$  กับ peaks ของ Secondary alcohol ที่  $1120$  และ  $1095\text{ cm}^{-1}$  เมื่อทำ mixed melting point ของสารนี้กับสาร ก. melting point ไม่เปลี่ยนแปลง แสดงว่า Hydrate ของสาร ข. นี้ควรเป็นสารตัวเดียวกันกับสาร ก.

U.V. spectrum ของ Hydrate ของสาร ข. ในสารละลาย Chloroform ให้ absorption maxima ที่ 248 ( $\log \epsilon$  3.67) ที่ 458 ( $\log \epsilon$  3.69) และที่ 322 ( $\log \epsilon$  4.17) แสดงว่ามี coumarin chromophore อยู่



### 3.3 สาร ค. จุดหลอมเหลว 131 - 132°

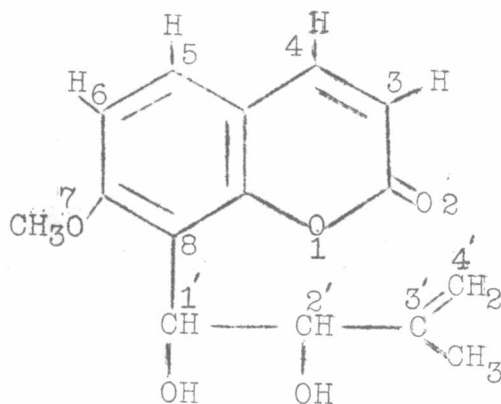
สาร ค. นี้ ฟอกสี Bromine in carbon tetrachloride แต่ไม่  
ให้แก๊ส HBr, ฟอกสีสารละลาย  $\text{KMnO}_4$  ให้แก๊ส Hydrogen เมื่อทำกับโลหะ  
Sodium ไม่มีปฏิกิริยากับ Carbonyl reagent จากการวิเคราะห์ธาตุไม่พบ  
Nitrogen, Sulphur และ Halogen ทั่ว

$$\text{C} = 65.89\% \quad \text{H} = 5.95\%$$

U.V. spectrum ในสารละลาย Chloroform มี absorption maxima ที่ 248 ( $\log \epsilon$  3.79); ที่ 258 ( $\log \epsilon$  3.81), และที่ 322 ( $\log \epsilon$  4.22) แสดงว่าสารนี้เป็นพวก Coumarin type เช่นเดียวกับสาร ข. (Phebalosin)

ส่วน I.R. absorption แสดงถึง Characteristic peaks ที่  
3495  $\text{cm}^{-1}$  (-OH); 1740  $\text{cm}^{-1}$  ( $\delta$ -lactone); 1600, 1495 (แสดง aromatic system); และที่ 835, 925  $\text{cm}^{-1}$  ( $-\text{C} = \text{CH}_2$ )

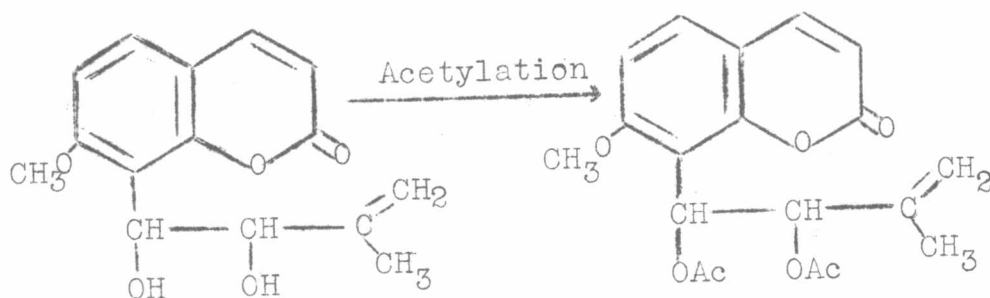
สาร ค. นี้ ปรากฏว่าเป็นสารตัวเดียวกันกับสารที่ได้จากการนำเอาสาร ข. (Phebalosin) มาเปิด epoxide ring ใน aqueous acetone ที่เป็นกรดเล็กน้อย เพราะว่า I.R. spectra ของสาร ค. กับที่เตรียมได้จากสาร ข. คึงกล่าว Identical กัน และเมื่อทำ mixed melting point จุดหลอมเหลวไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม หลอมที่  $130 - 132^{\circ}\text{C}$  ฉะนั้นสาร ค. จะต้องมีสูตรโครงสร้างเป็นดังนี้:-



( $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_5$ ; จากสูตรได้  $\text{C} = 65.22\%$ ;  $\text{H} = 5.80\%$ ) เรียกว่า 7-methoxy - 8 - (1, 2 diol - 3 - methyl - 3 - butenyl) - coumarin และ N.M.R. spectrum หน้า 40 สันนิษฐานสูตรโครงสร้างนี้ให้ signal ของ 3 H ที่  $\delta$  1.75 เป็นของ  $-\text{CH}_3$  (ที่ 3) ใน butenyl side chain, 2 H ที่  $\delta$  3.40 (singlet) เป็นของ 2OH ใน butenyl side chain 3 H ที่  $\delta$  3.99 (singlet) เป็นของ  $-\text{OCH}_3$  ที่  $\text{C}_7$  ของ Coumarin nucleus 3 H ที่  $\delta$  4.55 (multiplet) เป็นของ  $=\text{CH}_2$  และ  $-\text{CH}-\text{O}-$  (ที่ 2 และ 4 จากสูตร) ของ Butenyl side chain, 1 H ที่  $\delta$  5.35 (doublet) เป็นของ  $-\text{CH}-\text{O}-$  (ที่ 1 จากสูตร) ของ butenyl, ที่  $\delta$  6.20, 6.89, 7.45, 7.68 (doublet) เป็น aromatic protons ที่  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_6$ ,  $\text{C}_5$  และ  $\text{C}_3$  ใน Coumarin nucleus และเมื่อทำ N.M.R. ใน  $\text{CDCl}_3$

solution ปรากฏว่า signal ของ -OH ที่ 3.40 หายไป ส่วน signals ของ protons ตัวอื่น ๆ ยังคงเดิม (N.M.R. spectrum หน้า 41 ) นอกจากนี้ได้ Confirm ว่าเป็นสาร ค. มีสูตรดังกล่าวแล้วโดยการเตรียม Acetyl derivative พบว่า acetate ของสาร ค. มี I.R. absorption peaks เหมือนกับสารตั้งต้น นอกจากที่  $3495\text{ cm}^{-1}$  (-OH) หายไป วิเคราะห์ธาตุได้  
 C = 62.96% ; H = 5.30%

สูตรเป็น  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$  ( $-\text{C}-\text{CH}_3$ )<sub>2</sub> ซึ่งต้องการ C = 63.33% H = 5.55



(สาร ค.)

ฉะนั้นจึงเป็นการยืนยันว่าสาร ค. มีสูตรเป็นดังกล่าวมานั้นแน่นอน.