

การสกัดเปลือกโมกหลวง

2.1 การสกัด (Extraction)

สกัดเปลือกโมกหลวงที่แห้งและบดละเอียด 10 กิโลกรัม โดยแช่ด้วย
ตัวทำละลายผสมระหว่าง $\text{Et}_2\text{O} : \text{EtOH} : \text{NH}_3$ ด้วยอัตราส่วน 8 : 1 : 0.5
โดยปริมาตร แช่ทิ้งไว้ 7 วัน นำสิ่งที่สกัดได้มากรอง ผ่าน dry HCl gas
ลงในสารละลาย จะได้ตะกอน alkaloid hydrochloride ที่เหลืองอ่อนตกออกมา
กรองตะกอน alkaloid hydrochloride (ส่วนตัวทำละลายทำให้เป็นด่างด้วย
แอมโมเนียเข้มข้น กลั่นเอาอีเทอร์นำไปใช้สกัดใหม่) ทำซ้ำแบบนี้ 5 ครั้ง ปรากฏว่า
ได้ตะกอน alkaloid hydrochloride หนัก 1670 กรัม (ประมาณ 16.7
เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของ raw material) นำตะกอน hydrochloride
มาละลายด้วยน้ำ อุณหภูมิร้อนบน water bath กรองตะกอน นำ filtrate
มาทำให้เป็นด่าง ด้วย 10 % NaOH จะได้ free alkaloids ตกตะกอน
ออกมา กรองตะกอนและล้างตะกอนด้วยน้ำจนหมดด่าง ทำให้แห้งใน
desiccator จะได้ crude alkaloids หนัก 210 กรัม (ประมาณ 2.1
เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ raw material)

2.2 การแยก crude alkaloids (Separation of crude alkaloids)

นำ crude alkaloids มาละลายด้วย 10 % HCl อุณหภูมิร้อนบน
water bath เติม 20 % Na_2SO_4 ลงไปที่ละน้อย ๆ จนไม่มีตะกอนตกเพิ่ม
ขึ้นอีก ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน กรองตะกอนทำให้แห้งจะได้ alkaloid sulfate
หนัก 16.2 กรัม (กำหนดให้เป็น fraction A) (ประมาณ 7.7 เปอร์เซ็นต์
โดยน้ำหนักของ crude alkaloids) ส่วน filtrate นำมาทำให้เป็นด่าง
ด้วย 10 % NaOH แล้วสกัดด้วย chloroform นำ chloroform
extract มาล้างน้ำ แยกน้ำที่ตกมาด้วย anhydrous Na_2SO_4 กรองเอา

filtrate มากลั่นได้ chloroform ออกจะได้ crude chloroform chloroform extract เป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้มหนัก 143.6 กรัม (ประมาณ 68.4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ crude alkaloids) สกัด crude products ด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์บน water bath หลาย ๆ ครั้ง แล้วนำ petroleum extract มาผ่าน moist CO₂ จะได้ตะกอนสีเหลืองอ่อนของ alkaloid carbonate กรองตะกอนทำซ้ำโดยนำ filtrate ไปผ่านก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 2 ครั้ง ปรากฏว่าได้ alkaloid carbonate รวมหนัก 11.2 กรัม (ประมาณ 5.3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ crude alkaloids)

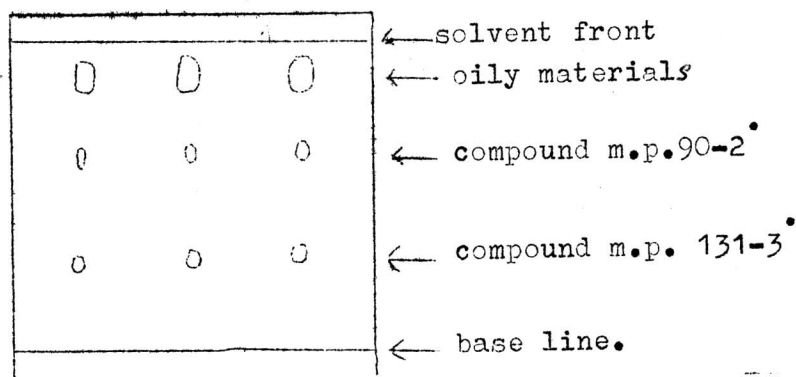
ละลายตะกอน alkaloid carbonate ด้วย 10% HCl กรอง เอา filtrate มาเติมผลึก KI ที่ละน้อย ๆ จะได้ alkaloid iodide แยกออกมาเป็นน้ำมัน เมื่อตั้งทิ้งค้างคืน จะได้ผลึกรูปดาวตกออกมา กรองตะกอน alkaloid iodide มาตกผลึกใหม่ใน MeOH ปรากฏว่าได้ผลึกรูปเข็มสีเหลืองอ่อนของ alkaloid iodide หนัก 7.8 กรัม (ประมาณ 3.7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ crude alkaloids) นำผลึก alkaloid iodide มา suspend ในน้ำแล้วทำให้เป็นด่างด้วย 10% NaOH สกัดด้วยอีเทอร์ กลั่นไล่อีเทอร์ แล้วตกผลึกใน acetone ผสมน้ำ จะได้ผลึกของอัลคาลอยด์สีขาวรูปเข็มหนัก 4.32 กรัม (ประมาณ 2.06 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของ crude alkaloids) m.p. 78 - 82° (กำหนดให้ส่วนนี้เป็น fraction B)

2.3 การทำให้สารบริสุทธิ์ (Purification)

2.3.1. การทำให้สารใน fraction B บริสุทธิ์

นำสารใน fraction B มาตกผลึกใน solvent ต่าง ๆ หลาย ๆ ครั้ง ก็ไม่สามารถทำให้บริสุทธิ์ จึงทดลองนำมาแยกโดยใช้ column chromatography โดยใช้ adsorbent ต่าง ๆ เช่น neutral alumina, acid alumina และ basic alumina เมื่อ elute ด้วย petroleum ether ปรากฏว่าสารถูก elute ออกมาใน fraction 1-3 หมด เมื่อกลั่นไล่อีเทอร์แล้วละลาย แล้วตกผลึกใน acetone ผสมน้ำ จุด

หุลอมเหลวก็ไม่เปลี่ยนแปลงแต่ range ยาวจึงนำมาทดลองแยกโดย thin layer chromatography ใช้ aluminium oxide G. เป็น adsorbent และใช้ตัวทำละลายผสมของ n BuOH:HOAc : H₂O ด้วยอัตราส่วน 100 : 3 : 40 เขย่าให้เข้ากันแล้วปล่อยให้แห้งสนิท ใช้เอาน้ำมันมาเป็น eluting solvent แล้ว spray ด้วย Dragendorff reagent ได้ 3 spots สีน้ำตาลเข้ม ดังผลดังนี้



ทำซ้ำใหม่หลาย ๆ ครั้ง แล้วจุดเอาแต่ละ spot ไปสกัดด้วย MeOH ระบุ MeOH ออก ปรากฏว่า spot บนสุดเป็นน้ำมันสีเหลือง spot กลางเป็นของแข็งสีขาว m.p. 90 - 2 และ spot ต่ำสุดก็เป็นของแข็งสีขาว m.p. 131 - 3

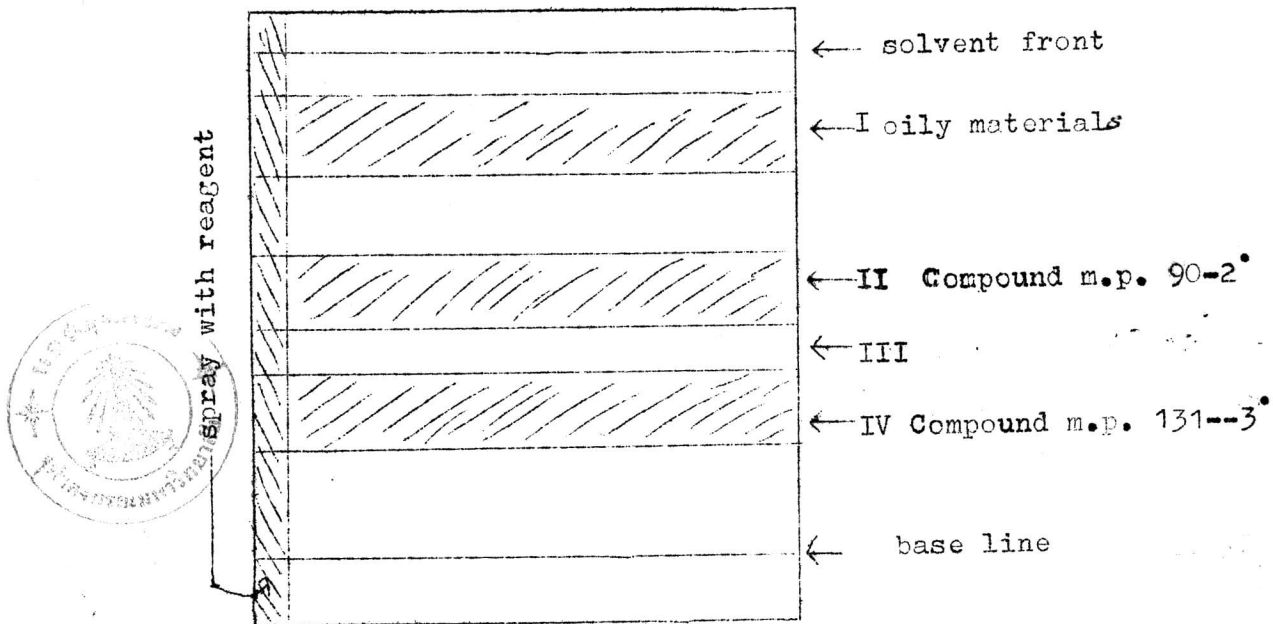
จากนี้จึงนำเอาสารใน fraction B มาแยกโดย Preparative layer chromatography แล้วรวบรวมสารที่มี Rf value เท่ากันเอาไว้ด้วยกัน

Preparative layer chromatography ของ fraction B (2),(8),(12)

การเตรียม thick layer plate สำหรับทำ chromatography นั้น ทำดังนี้

ผสม Aluminium oxide G 90 กรัม กับน้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันในขวดที่มีจุกปิดสนิท เมื่อผสมกันก็แล้วจึงเท slurry material ลงใน Desaga spreader ที่ adjust ให้มีความหนา 2 มิลลิเมตร ลากผ่านบน plate ขนาด 20*20 เซนติเมตร 5 แผนอย่างช้า ๆ ปล่อยให้ plate แห้งสนิทแล้วจึงนำไป activate ที่อุณหภูมิ 100 - 120 °C เป็นเวลา

2 ชั่วโมง ปล่อยให้แห้งไว้ให้เย็นแล้วเก็บไว้ใน desiccator เพื่อจะได้ใช้ต่อไป
 ขีดเส้นขนาน 2 เส้นบน plate โดยให้ห่างจากริม plate ประมาณ 2 เซนติเมตร กำหนดให้เส้นล่างเป็น base line และเส้นบนห่างจากเส้นล่าง 15 เซนติเมตรเป็น solvent front ใช้สารใน fraction B ครึ่งละประมาณ 100 มิลลิกรัมละลายด้วย acetone ประมาณ 1 - 2 มิลลิลิตร แล้วใช้ dropper ดูดสารและขีดเบา ๆ ไปบน base line พอแห้งแล้วนำเอา plate ใส่ใน glass tank ซึ่งมีชั้นบนของสารละลายผสมของ n-BuOH:HOAc:H₂O ด้วย อัตราส่วน 100:3:40 เป็น eluting solvent ปิดปาก tank ด้วยกระจก เมื่อ solvent ขึ้นถึง solvent front ที่กำหนด ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ยก plate ออก ปล่อยให้แห้งในอากาศ spray ริมขอบด้านหนึ่งด้วย Dragendorff reagent จะเห็นเป็น 3 bands ดังรูป



ตัดแบ่งแต่ละ band และชุกแยกใส่ใน beaker แล้วนำไปสกัดด้วย MeOH
 กลับได้ MeOH จนแห้ง ปรากฏผลดังนี้

Band I ได้เป็นน้ำมันสีเหลือง ให้ precipitate กับ alkaloid reagents ยังไม่ได้ identify

Band II ได้เป็นสารสีขาว เมื่อตกผลึกใน acetone ผสมน้ำ จะได้เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว m.p. 90 - 2° ให้เป็นสาร ก.

Band III ได้เป็นสารสีขาว เมื่อนำไปละลายด้วย acetone แล้วแยกโดย thin layer chromatography ใหม่ ปรากฏว่าเป็น 2 spots จึงนำทั้งหมดไปแยกใหม่

Band IV ได้เป็นสารสีขาว นำไปตกผลึกใน acetone ผสมน้ำ จะได้เป็นผลึกรูปเข็ม m.p. 131 - 3° ให้เป็นสาร ข.

2.3.2. การทำให้สารใน fraction A บริสุทธิ์

สารใน fraction A ทั้งหมดหนัก 16.2 กรัม นำมา suspend ด้วยน้ำ แล้วทำให้เป็น free base ด้วย 10% NaOH จนเป็นคาง อุ่นบน water bath กรอง free base แล้วล้างจนหมดคางด้วยน้ำ ปล่อยให้แห้งใน desiccator ปรากฏว่าหนัก 9.6 กรัม (ประมาณ 4.55 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของ crude alkaloids) นำมาละลายด้วย MeOH โดยใช้ปริมาณให้น้อยที่สุด (ในการทดลองนี้ใช้ free base ของ fraction A 7 กรัม ละลายใน MeOH 20 มิลลิลิตร) ผ่านลงใน column chromatography ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร ยาว 80 เซนติเมตร โดยใช้ standard aluminium oxide 500 กรัม เป็น adsorbent ซึ่ง pack โดยวิธี wet packing แล้ว elute ด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ แบ่งรับ eluant fraction ละ 1 ลิตร กลั่นเอาตัวทำละลายออก ผลการ elute ดังนี้

ตารางที่ 2

การแยกสารใน Fraction A โดยวิธี Column chromatography

Eluants	Number of 1 litre fractions collected	Notes	Remark
Petroleum ether	1 - 7	สารสีเหลือง เป็นคราบ ไม่เป็นรูปผลึก	ไม่โคหา
Acetone	8 - 15	สารสีน้ำตาลแดง เป็นคราบ ไม่เป็นรูปผลึก	ไม่โคหา
CHCl ₃	16 - 20	สารสีน้ำตาลเข้ม ไม่เป็นรูปผลึก	ไม่โคหา
MeOH	21 - 25	สารสีขาว m.p. 179-182° เป็น amorphous	สาร ก.

2.3.3. การทำให้สาร ก. บริสุทธิ์

สาร ก. ที่ได้จากการแยกโดย thin layer chromatography แล้วหนัก 1.94 กรัม นำมาละลายด้วย acetone ที่ร้อน แล้วค่อย ๆ หยคน้ำลงไปจนเริ่มขุ่น เติม acetone ที่ละหยกจนสารละลายเริ่มใสใหม่ ตั้งทิ้งไว้ให้ตกผลึก กรองผลึกที่ได้มาตกผลึกซ้ำอีก 2 - 3 ครั้ง จะได้ผลึกสีขาวรูปเข็ม จุดหลอมเหลว 93 - 4° หนัก 1.76 กรัม (ประมาณ 0.7 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของ crude alkaloids)

2.3.4. การทำให้สาร ข. บริสุทธิ์

สาร ข. ที่ได้จากการแยกโดย thin layer chromatography แล้วหนัก 1.106 กรัม ละลายใน acetone ที่ร้อน แล้วค่อย ๆ หยคน้ำลงไปจนเริ่มขุ่น เติม acetone ที่ละหยกลงในสารละลายจนเริ่มใสใหม่ ตั้งทิ้งไว้ให้ตกผลึก

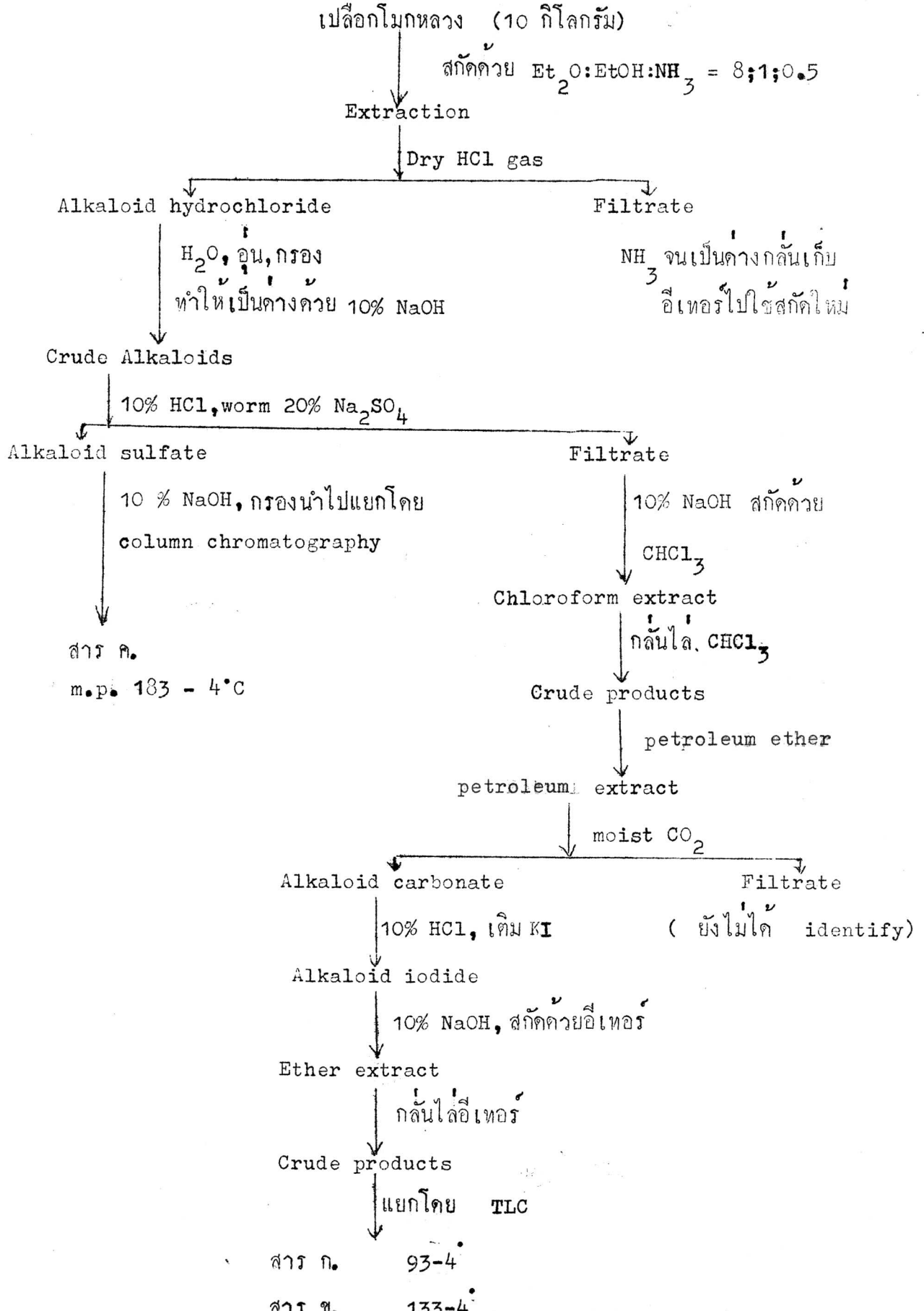
กรองผลึกที่ได้มาตกผลึกซ้ำอีก 2 - 3 ครั้ง จะได้ผลึกรูปเข็มสีขาวจุดหลอมเหลว 133 - 4 °C หนัก 1.087 กรัม (ประมาณ 0.52 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของ crude alkaloids)

2.3.5. การทำให้อาร์ ค. บริสุทธิ์

อาร์ ค. ที่ยังไม่บริสุทธิ์หนัก 2.63 กรัม ละลายด้วย 10 % alcoholic HCl โดยใช้ปริมาตรไม่เกิน 25 มิลลิลิตร อุณหภูมิร้อนทำให้เป็นกลางด้วย Conc. NH_3 แล้วค่อย ๆ หยด 1 % H_2SO_4 ลงไปปริมาตรเท่ากับแอมโมเนียที่ใช้ พออาร์ละลายค่อย เย็นลง จะได้ผลึกรูปดาวสีขาวตกออกมา กรองผลึก alkaloid sulfate และนำมา suspend ในน้ำกลั่น ทำให้อาร์ละลายเป็นทางด้วย 10 % NaOH จะได้ free base ตกตะกอนออกมา กรองตะกอน ล้างตะกอนด้วยน้ำจนหมดทาง แล้วตกผลึกใน EtOAc จะได้ผลึกเป็นแผ่นสี่เหลี่ยม สีขาว หนัก 2.27 กรัม (ประมาณ 1.08 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของ crude alkaloids) m.p. 183 - 4 °C

ตารางที่ 3

แผนภาพการสกัดและการแยกสารออกจากเปลือกโมกหลวง



2.4. การตรวจลักษณะของสารประกอบที่แยกออกมาได้ (Identification of Compounds)

2.4.1. การตรวจหาคุณสมบัติของสาร ก.

2.4.1.1. การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพ

สาร ก. เป็นผลึก รูปเข็ม สีขาว มีจุดหลอมเหลว 93 - 4 ° ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในปิโตรเลียมอีเทอร์ อีเทอร์ อะซีโตน และแอลกอฮอล์ มี $[\alpha]_D^{20} = + 31.0$ (in EtOH) Rf value = 0.57 ให้สีเหลืองอ่อนกับ Libermann - Burchard reaction (3), (6) ละลายได้ดีในกรกเชื้อจาง เมื่อทำเป็นค่างจะโคตะกอนกลับคืน นำไปตรวจหาธาตุโดยวิธี microanalysis ปรากฏผลดังนี้

C = 79.85 % H = 11.29 % N = 8.09 %

Molecular weight = 328

จากการคำนวณสำหรับ isoconessimine (4), (14) $(C_{23}H_{38}N_2)$

C = 80.7 % H = 11.11 % N = 8.19 %

Molecular weight = 342

Infra - red spectrum ของสาร ก. ดังรูปที่ 1 (หน้า 47) และ Absorption peaks (10), (11), (22) ดังตารางที่ 4 (หน้า 33)

2.4.1.2. การตรวจหา Functional groups

การหา functional groups ตาม Standard method (17) ปรากฏว่าสาร ก. ฟอกสีโบรมีนใน carbontetrachloride. แต่ไม่โทกาส HBr ฟอกสีน้ำตาลทับทิม ให้ตะกอน $Fe(OH)_3$ กับสารละลาย $FeCl_3$ ทดสอบกับ acetyl chloride ให้ตะกอนขาว แต่เมื่อเติมน้ำลงไป ตะกอนละลายไป กับโลหะโซเดียมใน dry benzene โทกาสไฮโดรเจน ทดสอบ unsaturated steroid (3) โดยละลายสาร ก. เล็กน้อยใน

acetic acid แล้วเติมสารละลาย FeCl_3 2 - 3 หยด จะให้สีส้ม แต่เมื่อเติม $\text{Conc. H}_2\text{SO}_4$ 1 - 2 หยด สีส้มเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมเหลืองทันที หาก methylimino group ปรากฏว่ามี 2N-CH_3 groups.

2.4.1.3. การทำ Spot test สำหรับ 1^{ry} และ 2^{ry} amine (15)

ก. ใช้สารละลายของสาร ก. ในอีเทอร์ 1 หยด

หยดลงบน spot plate หยด 1 หยดของ 1 % สารละลาย

2,4,dinitro-chloro-benzene ในอีเทอร์ เมื่ออีเทอร์ระเหยแห้ง จะได้ตะกอนสีน้ำตาลแดง

ข. ให้ 1 หยดของสาร ก. ในสารละลายกรดเกลือ

หยดลงในหลอด test tube เติม fluorescenc chloride 2 - 3 เกล็ด

และ anh. ZnCl_2 20 มิลลิกรัมลงไป นำไป heat บน oil-bath ที่ 250 - 260 ° จน ZnCl_2 ละลาย ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ละลายของผสมด้วย

10 % alcoholic HCl ๓ หยด fluorescenc ใน u.v. ปรากฏว่าให้

Orange - fluorescenc.

2.4.1.4. การสังเคราะห์อนุพันธ์ของสาร ก.

ก. Picrate ใช้สาร ก. หนัก 0.145 กรัม

ละลายด้วย 5 % HCl คอย ๆ หยด saturated picric acid ลงไปจนตะกอนตกสมบูรณ์ กรองตะกอน ล้างตะกอน picrate ด้วยน้ำกลั่น นำตะกอนมาตกผลึกในน้ำ ผลที่สุดจะได้ผลึกสีเหลืองสด รูปเข็ม มีจุดหลอมเหลว 198-200 (dec.) หนัก 0.164 กรัม

Infra - red spectrum ของ picrate

ของสาร ก. ดังรูปที่ 2 (หน้า 47) และ Absorption peaks (10), (11), (22)

ดังตารางที่ 5 (หน้า 34)

ข. Chloroplatinate ใช้สาร ก. หนัก 0.124 กรัม

ละลายใน 10 % HCl แลวหยค 3 % platinic chloride ลงไปจนตะกอนตกสมบูรณ์ กรองตะกอน ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น ในที่สุดได้ตะกอน chloroplatinate เป็นผงสีส้มอ่อน ไม่ละลายในตัวทำละลายใด ๆ มีจุดหลอมเหลว 283 - 285° (dec.) หนัก 0.177 กรัม

ผลการหาเปอร์เซ็นต์ของธาตุ Pt ได้ 25.31 % จากการคำนวณสำหรับ isoconessimine chloroplatinate⁽¹⁴⁾ ($C_{23}H_{38}N_2 \cdot H_2PtCl_6$)
Pt = 25.93 %

Infra - red spectrum ของ chloroplatinate ของสาร ก. ดังรูปที่ 3 (หน้า 48) และ Absorption peaks^{(10),(11),(22)} ดังตารางที่ 6 (หน้า 35)

ค. Nitroso compound ใช้สาร ก. หนัก 0.187 กรัม

ละลายใน 10 % acetic acid แลวแช่ให้เป็นจลในน้ำแข็ง หยคสารละลายของ KNO_2 (ใช้ 1.2 กรัมในน้ำ 3 มิลลิลิตร) ที่แช่จนเย็นแล้วลงไปคนให้เข้ากัน ตั้งค้ำคืนในที่อุณหภูมิต่ำ กรองตะกอนและตกผลึกใน 10 % acetic acid ในที่สุดจะได้ผลึกเป็นแผ่นบาง ๆ สีเหลืองอ่อน ๆ หนัก 0.102 กรัม ทำให้แห้งใน vacuum มีจุดหลอมเหลว 163 - 4°

ผลการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนได้ 11.02 %

คำนวณสำหรับ nitroso - isoconessimine⁽⁴⁾ ($C_{23}H_{37}N_2 \cdot NO$) N=11.32%

Infra - red spectrum ของ nitroso compound ของสาร ก. ดังรูปที่ 4 (หน้า 48) และ absorption peaks^{(10),(11),(22)} ดังตารางที่ 7 (หน้า 36)

ง. Acetylation และ Benzoylation สาร ก. เมื่อนำมา

ทำ acetylation^{(2),(3),(23)} โดยใช้ acetic anhydride ใน pyridine เมื่อ reflux ปรากฏว่าสารที่ได้ออกมาเป็นน้ำมัน ไม่สามารถตกผลึกได้ และทำโดยวิธี acetic anhydride กับ anhydrous sodium acetate⁽²³⁾

ก็โดยผลเช่นเดียวกัน เมื่อนำมาทำ benzoylation (23) โดยใช้
benzoyl chloride ผลที่ได้ก็เป็นน้ำมันเช่นเดียวกัน
แต่ถ้าทำโดยไม่ heat โดยทิ้ง reaction mixture ไว้ 3 วัน
ปรากฏว่าไม่เกิด reaction

2.4.2. การตรวจคุณสมบัติของสาร ข.

2.4.2.1. การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพ

สารข. เป็นผลึกรูปเข็ม สีขาว มีจุดหลอมเหลว
133 - 4 ° ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในไนโตรเลียมอีเทอร์โดยง่าย ถ้าอุณหภูมิร้อน
จะละลายได้ดี ละลายได้ในอีเทอร์ อะซีโตน คลอโรฟอม และแอลกอฮอล์ มี
 $[\alpha]_D^{30} = -30.5$ [in EtOH] Rf value = 0.49 ให้สีเหลืองอ่อนกับ
Liebermann - Burchard reaction (3), (6) ละลายได้ดีในกรดเจือจาง
เมื่อทำให้สารละลายเป็นคาง จะได้ตะกอนกลับคืนนำไปตรวจหาธาตุโดยวิธี
microanalysis ปรากฏผลดังนี้

C = 80.17 % H = 10.74 % N = 8.43 %

Molecular weight = 321

จากการคำนวณสำหรับ conimine (4), (14) (C₂₂H₃₆N₂) ได้

C = 80.48 % H = 10.98 % N = 8.54 %

Molecular weight = 328

Infra - red spectrum ของสาร ข. ดังรูปที่ 5 (หน้า 49) และ
Absorption peaks (10), (11), (22) ดังตารางที่ 8 (หน้า 37)

2.4.2.2 การตรวจหา Functional groups และทำ Spot test

การหา functional groups ทำตาม Standard
method (17) ปรากฏว่าสาร ข. ฟอกจางสีโบรมีนในคาร์บอนเตตระคลอไรด์แต่ไม่
ให้ก๊าซ HBr ฟอกจางสีน้ำคางทับทิม ให้ตะกอน Fe(OH)₃ กับ สารละลาย FeCl₃
ทำกับโลหะโซเดียมใน dry benzene ให้ H₂ gas ทดสอบ unsaturated
steroid (3) ตามวิธีในข้อ 2.4.1.2. ได้สารละลายสีเหลืองทันที หาก

methylimino group ปรากฏว่ามี 1 N - CH₃ group ทำ spot test⁽¹⁵⁾ ตามวิธีในข้อ 2.4.1.3. ได้ผลเช่นเดียวกับสาร ก.

2.4.2.3. การสังเคราะห์หอนพันธะของสาร ข.

ก. Picrate ใช้สาร ข. หนัก 0.102 กรัม ละลายด้วย 5 % HCl แล้วค่อย ๆ หยด saturated picric acid ลงไปจนตะกอนตกสมบูรณ์ กรองตะกอน picrate ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นจนหมดกรด นำตะกอนมาตกผลึกในน้ำ ผลที่สุดจะได้ผลึกสีเหลืองสด รูปเข็ม มีจุดหลอมเหลว 140 - 1° หนัก 0.092 กรัม

Infra - red spectrum ของ picrate ของสาร ข. ดังรูปที่ 6 (หน้า 49) และ Absorption peaks (10), (11), (22) ดังตารางที่ 9 (หน้า 38)

ข. Chloroplatinate ใช้สาร ข. หนัก 0.11 กรัม ละลายใน 10 % HCl แล้วหยด 3 % platinum chloride จนตะกอนตกสมบูรณ์ กรองตะกอน chloroplatinate ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง จะได้ตะกอนเป็นผงสีส้มอ่อน ไม่ละลายในตัวทำละลายใด ๆ มีจุดหลอมเหลว 295 - 7° (dec.)

ผลการหาเปอร์เซ็นต์ของธาตุ Pt. ได้ 25.84 % จากการคำนวณสำหรับ conimine chloroplatinate⁽¹⁴⁾ (C₂₂H₃₆N₂ · H₂PtCl₆)

Pt = 26.42 %

Infra - red spectrum ของ chloroplatinate ของสาร ข. ดังรูปที่ 7 (หน้า 50) และ Absorption peaks (10), (11), (22) ดังตารางที่ 10 (หน้า 39)

ค. Nitroso compound ใช้สาร ข. หนัก 0.156 กรัม ละลายใน 10 % acetic acid แล้วแช่ในน้ำแข็งให้เป็นจืด หยดสารละลาย KNO₂ (ใช้ 1.5 กรัม ในน้ำ 3 มิลลิลิตร) ที่แช่จนเย็นแล้วลงไป คนให้เข้ากัน ตั้งสารละลายทิ้งค้างคืนในที่อุณหภูมิห้อง กรองตะกอน และตกผลึกใน acetone ผสมน้ำ ในที่สุดได้ผลึก nitroso - compound เป็น ผลึกรูปเข็มสีขาว หนัก 0.107 กรัม ทำให้แห้งใน vacuum มีจุดหลอมเหลว 204 - 5°

ผลการหาเปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนได้ 14.09 %
 จากการคำนวณสำหรับ dinitrosoconimine (19) ($C_{22}H_{34}N_2 \cdot 2NO$)
 N = 14.51 %

Infra - red spectrum ของ nitroso compound ของสาร ข.
 ดังรูปที่ 8 (หน้า 50) และ Absorption peaks (10), (11), (22)
 ดังตารางที่ 11 (หน้า 40)

2.4.3 การตรวจหาคุณสมบัติของสาร ค.

2.4.3.1. การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพ

สาร ค. เป็นผลึกเป็นแท่งสีเหลือง สีขาว มีจุดหลอม
 เหนือ 183 - 4 ไม่ละลายน้ำ บีโตรเลียมอีเทอร์ อีเทอร์ ละลายได้ใน
 เอทิลอะซิเตต คลอโรฟอม และแอลกอฮอล์ มี $[\alpha]_D^{29} = -14.24$
 $[in CHCl_3]$ Rf value = 0.38 ละลายได้ในกรดเจือจาง เมื่อทำให้เป็น
 คางจะโคตะกอนกลับคืน ให้สีสมอองกับ Libermann - Burchard
 reaction (3), (6) นำไปตรวจหาธาตุโดยวิธี microanalysis
 ปรากฏผลดังนี้

C = 75.62 % H = 11.10 % N = 8.23 % O = 5.05 %

Molecular weight = 327

จากการคำนวณสำหรับ holarrhimine (4), (18) ($C_{21}H_{36}ON_2$)

C = 75.90 % H = 10.84 % N = 8.43 % O = 4.83 %

Molecular weight = 332

Infra - red spectrum ของสาร ค. ดังรูปที่ 9 (หน้า 51)
 และ Absorption peaks (10), (11), (22) ดังตารางที่ 12 (หน้า 41)



2.4.3.2. การตรวจหา Functional groups และทำ Spot test

การหา functional groups ตาม Standard method⁽¹⁷⁾ ปรากฏว่าสาร ค. ฟอกสีโบรมีนในคาร์บอนเตตระคลอไรด์ แต่ไม่ไทกาซ HBr ฟอกสีน้ำตาลทับทิม ให้ตะกอน $Fe(OH)_3$ กับสารละลาย $FeCl_3$ ทดสอบกับ acetyl chloride ให้ตะกอนขาว กับโลหะโซเดียมใน dry benzene ไทกาซไฮโดรเจน ทดสอบ unsaturated steroid⁽³⁾ ตามวิธี 2.4.1.2. ได้สีส้ม เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนทันที หา methylimino group และ methoxy group ปรากฏว่าไม่มี ทำ spot test⁽¹⁵⁾ ตามวิธี 2.4.1.3. ก. ได้ตะกอนสีเหลือง และตามวิธี 2.4.1.3 ข. ได้ yellow - fluorescence.

2.4.3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของสาร ค.

ก. Picrate ใช้สาร ค.หนัก 0.096 กรัม ละลายด้วย 10 % HCl แล้วคอย ๆ หยด saturated picric acid ลงไปจนตะกอนตกสมบูรณ์ กรองตะกอน ล้างตะกอน picrate ด้วยน้ำกลั่น นำไปตกผลึกใหม่ในน้ำ ผลที่สุดจะได้ผลึกเป็นแผ่นบาง ๆ สีเหลืองเข้ม มีจุดหลอมเหลว 109 - 111 °C หนัก 0.107 กรัม

Infra - red spectrum ของ picrate ของสาร ค. ดังรูปที่ 10 (หน้า 51) และ Absorption peaks^{(10), (11), (22)} ดังตารางที่ 13 (หน้า 42)

ข. Chloroplatinate ใช้สาร ค.หนัก 0.116 กรัม ละลายใน 10 % HCl แล้วหยด 3 % platinum chloride จนตะกอนตกสมบูรณ์ กรองตะกอน ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง จะได้ตะกอนเป็นผงสีส้มอ่อน ไม่ละลายในตัวทำละลายใด ๆ มีจุดหลอมเหลวเริ่มเปลี่ยนสีที่ 265 °C จนเป็นสีดำที่ 300 °C ยังไม่หลอม

ผลการหาเปอร์เซ็นต์ของธาตุ Pt ได้ 25.87 % จากการ

คำนวณสำหรับ holarrhime chloroplatinate (4), (18) ($C_{21}H_{36}ON_2 \cdot H_2PtCl_6$)
Pt = 26.31 %

Infra - red spectrum ของ chloroplatinate ของสาร ค. ดังรูปที่ 11 (หน้า 52) และ Absorption peaks (10), (11), (22) ดังตารางที่ 14 (หน้า 43)

ค. Sulfate ใช้สาร ค. หนัก 0.087 กรัม ละลายใน 10 % alcoholic HCl อุ่นไทรอน หยด 1 % H_2SO_4 ลงไปที่ละน้อย ๆ จน solution เริ่มขุ่น อุ่นไทรอนบน water bath ตั้งทิ้งค้างคืนให้ตกผลึก กรองตะกอนทำให้แห้ง จะได้เป็นผลึกรูปดาวสีขาวไม่ละลายในตัวทำละลายใด ๆ มีจุดหลอมเหลว 336 - 7 ° หนัก 0.072 กรัม

Infra - red spectrum ของ sulfate ของสาร ค. ดังรูปที่ 12 (หน้า 52) และ Absorption peaks (10), (11), (22) ดังตารางที่ 15 (หน้า 44)

ง. Acetylation ใช้สาร 0.101 กรัม ละลายใน anhydrous pyridine จนละลายหมด เติม acetic anhydride ลงไป 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วต้มให้เดือด under reflux condenser เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็น เติมน้ำแข็งปนน้ำ 20 มิลลิลิตร ทำให้สารละลายเป็นกลางด้วยสารละลาย Na_2CO_3 กรอง acetylated product ล้างด้วยน้ำจนหมด pyridine ที่ทิ้งไว้ในอ่างในอากาศ แล้วเอาไปตกผลึกหลาย ๆ ครั้งใน acetone/petroleum ether (1 : 3) ผลที่สุดจะได้ amorphous crystal สีขาว มีจุดหลอมเหลวคงที่ ที่ 174 - 5 ° หนัก 0.086 กรัม ผลการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ของธาตุดังนี้ . -

C = 73.50 % H = 10.11 % N = 7.23 % O = 9.16 %

จากการคำนวณสำหรับ O - acetylholarrhime ($C_{23}H_{38}O_2N_2$)

C = 73.79 % H = 10.16 % N = 7.49 % O = 8.56 %

Infra - red spectrum ของ O - acetate ของสาร ค. ดังรูปที่ 13 (หน้า 53) และ Absorption peaks (10), (11), (22) ดังตารางที่ 16 (หน้า 45)

จ. Diazotization ของสารค. ใช้สาร ค. 0.158

กรัม ละลายใน 10 ซี HCl 10 มิลลิลิตร แล้วแช่ในน้ำแข็งจนเย็นจัด เติม สารละลาย KNO_2 (ใช้ 2.5 กรัมในน้ำ 3 มิลลิลิตร) ที่แช่จนเย็นแล้วลงไป คน ให้เข้ากัน จะโคของแข็งสีขาวเหนียว ๆ แยกออกมาทันที รินเอาสารละลายที่ ล้างตะกอนเหนียวควายน้ำหลาย ๆ ครั้ง จนหมดกรก หึ่งไว้ให้แห้งใน desiccator แล้วนำมาตกผลึกในอีเทอร์หลาย ๆ ครั้ง จะได้เป็น amorphous crystal สีขาว มีจุดหลอมเหลวคงที่ ที่ $237 - 8^\circ$

Infra - red spectrum ของ diazotization product ของสาร ค. ดังรูปที่ 14 (หน้า 53) และ Absorption peaks (10), (11), (22), (25) ดังตารางที่ 17 (หน้า 46)

ตารางที่ 4

IR. absorption peaks ของสาร ก.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3240	medium	NH stretching vibration of 2 ^{ry} amine
2660	sharp	N-CH ₃ stretching vibration
1473	weak	NH bending vibration
1210, 1180	weak	C-N stretching vibration of t - aliphatic amine
880, 845	weak	NH out of plane bending
2920, 2880, 2854	strong	CH ₂ & CH ₃ stretching vibration
2960	weak	CH stretching vibration of C=CH
1650	broad	C=C stretching vibration of R ₂ C = CHR
1450	strong	C-CH ₃ asymmetrical bending vibration
796, 825	sharp	CH stretching vibration of R ₂ C=CHR
1370	strong	C-CH ₃ symmetrical bending vibration
723, 712	weak	CH ₂ rocking vibration

ตารางที่ 5



IR. absorption peaks ของ picrate ของสาร ก.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3400	broad	-OH associated stretching vibration
3020	weak	CH=CH stretching vibration in aromatic ring
2930, 2900	strong and broad	CH_3 & CH_2 stretching vibration
2850	broad	N^+H_2 stretching vibration of ammonium compound.
2705	weak	$\text{N}-\text{CH}_3$ stretching vibration
2300	weak	N^+H_2 overtone, combination tones
3030	weak	CH stretching vibration of C=CH
1630	sharp	stretching vibration of phenyl nucleus
790	sharp	$\text{R}_2\text{C} = \text{CHR}$ in cyclic compound
1600, 1510	very strong	C- NO_2 asym & sym. stretching vibration
1430	weak	C- CH_3 asym. bending vibration
1375	strong	C- CH_3 sym. bending vibration
1160, 1075	strong	C-N stretching vibration in amine
915	sharp	C-N stretching vibration in nitro compound.

ตารางที่ 6

IR. absorption peaks ของ Chloroplatinate ของสาร ก.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3500-3300	very broad	May be the broad peak of -NH, -OH associated together
3010	weak	CH stretching vibration of C=CH
3120, 3070	broad but strong	cannot identify
2960, 2930, 2850	strong	-CH ₂ & CH ₃ stretching vibration
1570	sharp	C=C stretching vibration of R ₂ C=CHR
1460	sharp	N-H bending vibration
1370	strong	C-CH ₃ symmetrical bending vibration
1215, 1095	medium	C-N stretching vibration
950	medium	R ₂ C=CHR out of plane bending vibration
830	sharp	CH stretching vibration of C=CH

ตารางที่ 7

IR. absorption peaks ของ nitroso compound ของสาร ก.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
1440	medium	N=N=O stretching vibration
2970, 2925,	sharp	stretching vibration of $-\text{CH}_2, -\text{CH}_3$
2910		
3030	medium	CH stretching vibration of C=CH
2860	sharp	N- CH_3 stretching vibration
1380	strong	C- CH_3 asym. bending vibration
1265, 1020	broad	C-N stretching of amine
1600	broad	$\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$ stretching vibration
800	medium	$\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$ in cyclic compound.

ตารางที่ 8

IR. absorption peaks ของสาร ๑.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3320, 3240	medium	NH stretching vibration of 2 ^{ry} amine
2770	sharp	N-CH ₃ stretching vibration
1500	sharp	N-H bending vibration
890, 850	weak	N-H out of plane bending
1277, 1140	sharp	C-N stretching vibration
2920, 2850, 2820	strong	CH ₂ , CH ₃ stretching vibration
1450	strong	C-CH ₃ asym. bending vibration
1370	strong	C-CH ₃ sym. bending vibration
725, 710	weak	-CH ₂ rocking vibration
2950	weak	CH stretching vibration of C=CH
1650	broad	C=C stretching vibration of R ₂ C=CHR
800, 830	sharp	CH stretching vibration of C=CH in cyclic compound.

ตารางที่ 9

IR. absorption peaks ของ picrate ของสาร ก.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3400	broad	OH associated stretching vibration
3030	weak	CH=CH in aromatic ring
2950-2920	broad	CH ₂ & CH ₃ stretching vibration
2820	broad	-N ⁺ H ₂ stretching vibrations in ammonium compound
2300	weak	-N ⁺ H ₂ overtone, combination tones
2740	broad	N-CH ₃ stretching vibration
1600, 1550	strong	C-NO ₂ asym. & sym. stretching vibration
1430	weak	C-CH ₃ asym. bending vibration
910	weak	C-N stretching vibration in nitro compound.
1160, 1075	sharp	C-N stretching vibration in amine compound.
2780	very weak	N-CH ₃ stretching vibration
1360	sharp	C-CH ₃ symmetrical bending vibration
3070	weak	CH stretching of C=CH
1630	broad	R ₂ C=CHR stretching vibration
790	sharp	R ₂ C=CHR unsaturated in cyclic compound.
740, 710	weak	-CH ₂ rocking vibration

ตารางที่ 10

IR. absorption peaks ของ Chloroplatinate ของสาร ๗.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3500-3300	very broad	May be the broad peak of -NH, -OH associated together
3010	weak	CH stretching vibration of C=CH
3120, 3060	broad but strong	cannot identify
2960, 2920, 2860	strong	-CH ₂ & -CH ₃ stretching vibration
1450	strong	NH bending vibration
1370	strong	C-CH ₃ symmetrical bending vibration
1250, 1090	weak	C-N stretching vibration
980	medium	R ₂ C=CHR out of plane bending
830	sharp	CH stretching vibration of C=CH
1570	sharp	C=C stretching vibration of R ₂ C=CHR



ตารางที่ 11

IR. absorption peaks ของ nitroso compound ของสาร 1.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3020	very weak	CH stretching vibration of C=CH
2975, 2930, 2900	strong	CH_2 & CH_3 stretching vibration
2860	sharp	N- CH_3 stretching vibration
1440, 1320	very sharp	N=N=O stretching vibration
1255, 1030	very sharp	C-N stretching vibration of amine
1365	sharp	C- CH_3 sym. bending vibration
1400	sharp	C- CH_3 asym. bending vibration
1600	broad	$\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$ stretching vibration
798, 820	medium	$\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$ unsaturated in cyclic compound.

ตารางที่ 12

IR. absorptions peaks ของสาร ค.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3400	broad	-OH associated stretching vibration
3250	sharp	bonded -NH_2 stretching vibration
3010	very weak	CH stretching vibration of $\text{C}=\text{CH}$
2960, 2920	sharp and	CH_2 & CH_3 stretching vibration
2860, 2780	strong	
1650	strong	$\text{C}=\text{C}$ stretching vibration
1450	strong	NH bending vibration
1230, 1140	weak	$\text{C}-\text{N}$ stretching vibration of amine
1030	weak	$\text{C}-\text{OH}$ stretching vibration of alcohol
1630	weak	-NH_2 scissor vibration of primary alcohol
1430	weak	$\text{C}-\text{CH}_3$ asym. bending vibration
835, 797	sharp	$\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$ stretching vibration in cyclic compound

ตารางที่ 13

IR. absorption peaks ของ picrate สาร ค.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3400-3360	broad	OH associated stretching vibration and intermolecular H-bonding
3070	very weak	CH=CH in aromatic ring
2920-2900	broad but strong	CH ₂ & CH ₃ stretching vibration
2300	weak	-NH ⁺ ₃ stretching vibration in ammonium compound
1600, 1540	strong	C-NO ₂ asym. & sym. stretching vibration
1630	strong but not sharp	R ₂ C=CHR stretching vibration
1070	strong & sharp	primary C-O stretching vibration
910	sharp	C-N stretching vibration in nitro compound
1160	sharp	C-N stretching vibration in amine
1430	weak	C-CH ₃ asym. bending vibration
1360	weak	C-CH ₃ sym. bending vibration
1250	strong & broad	O-H out of plane bending vibration
830, 790	sharp	CH-stretching vibration of C=CH in cyclic compound

ตารางที่ 14

IR. absorption peaks ของ chloroplatinate ของสาร ค.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3500-3300	very broad	May be the broad peak of -NH, -OH associated together
3100	broad but strong	cannot identify
2960, 2920, 2870	strong	-CH ₂ & -CH ₃ stretching vibration
1570	broad	C=C stretching vibration
1460	strong	N-H bending vibration
1370	medium	C-CH ₃ symmetrical bending vibration
1050	medium	C-N stretching vibration

ตารางที่ 15

IR. absorption peaks of sulfate group.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3300-3000	very broad	Bonded -OH and bonded-NH ₂ stretching vibration
1145	weak	-C-N stretching vibration
1130	very strong	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \nearrow \text{S} \\ \searrow \text{O} \end{array}$ sym. stretching vibration
1400	very strong	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \nearrow \text{S} \\ \searrow \text{O} \end{array}$ asym. stretching vibration
1395	weak	-OH bending vibration
1070	weak	-C-OH stretching vibration in primary alcohol
620	very strong	-SO ₂ stretching vibration

ตารางที่ 16

IR. absorption peaks ของ acetate สาร ก.

Frequency -1 (cm)	Band type	Assignments
3400	-	disappear of OH stretching vibration
3260	strong	NH stretching vibration of amine
1720	strong & sharp	C=O stretching vibration of ester
1250	sharp	C-O-C stretching vibration of acetate
1650,	broad	CH stretching vibration of C=CH
810,795	weak	CH stretching vibration of unsaturation in cyclic compound
1610,1550	strong	-N-H ₂ in plane bending of p-amine
1280,1120	strong	-C-N stretching vibration
1370	medium	C-CH ₃ symmetrical bending vibration

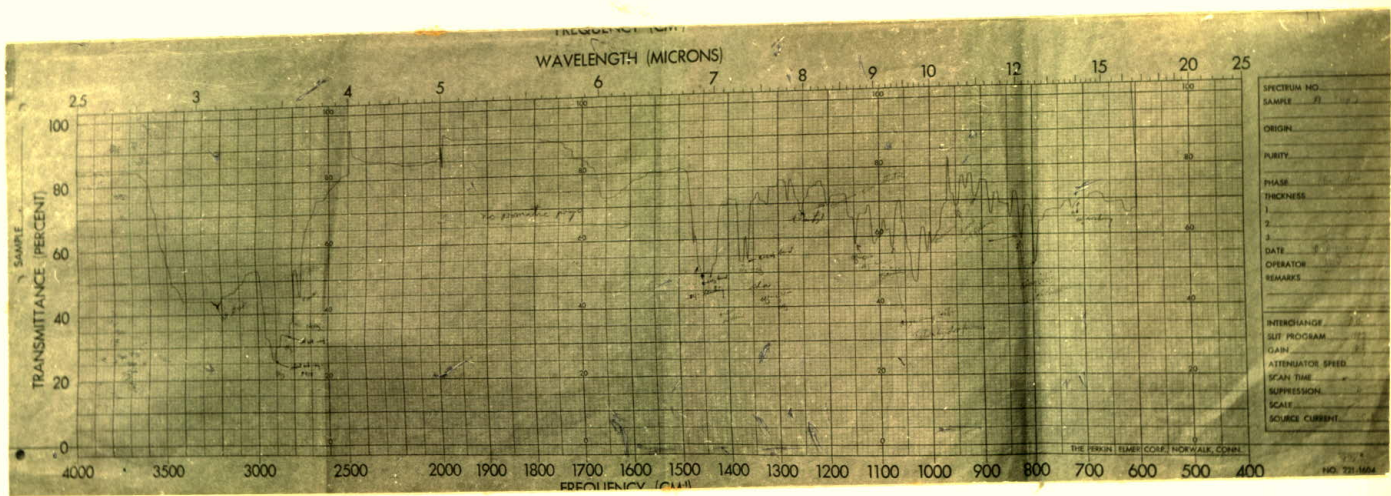
ตารางที่ 17

IR. absorption peaks ของ diazotization product ของสาร ก.

Frequency (cm^{-1})	Band type	Assignments
3400	broad	association of OH stretching vibration
1050	sharp	C-O stretching vibration of alcohol
2950, 2920, 2850	sharp	CH ₂ & CH ₃ stretching vibration
1630	broad	C=C stretching vibration
1450	sharp	C-CH ₃ asym. bending vibration
795, 830	medium	-C=C- stretching vibration in cyclic compound
970	weak	-C=CH- out of plane bending vibration

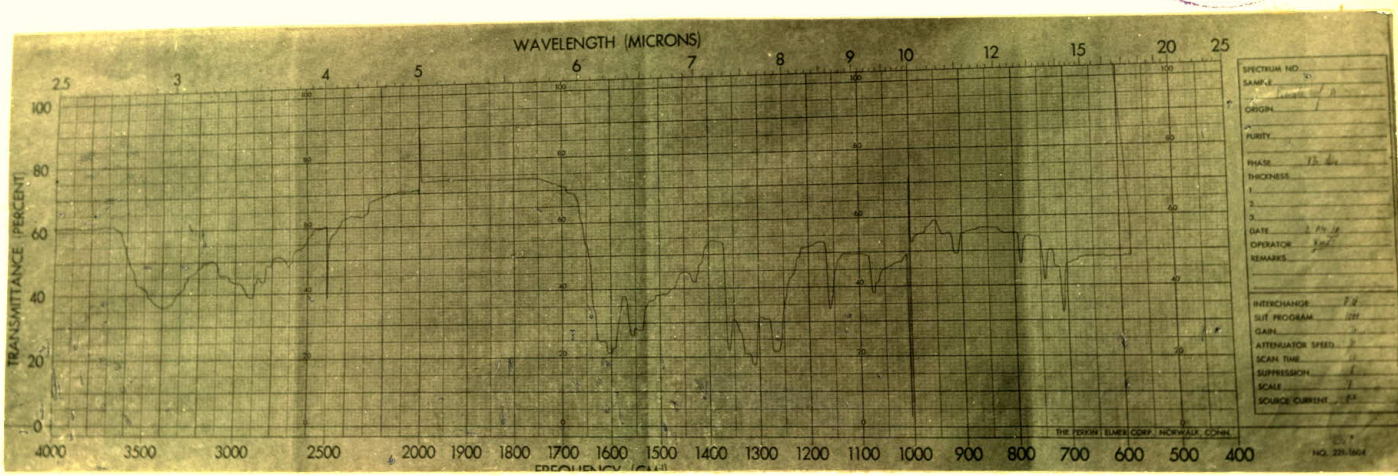
รูปที่ 1

IR. Spectrum ของสาร ก.



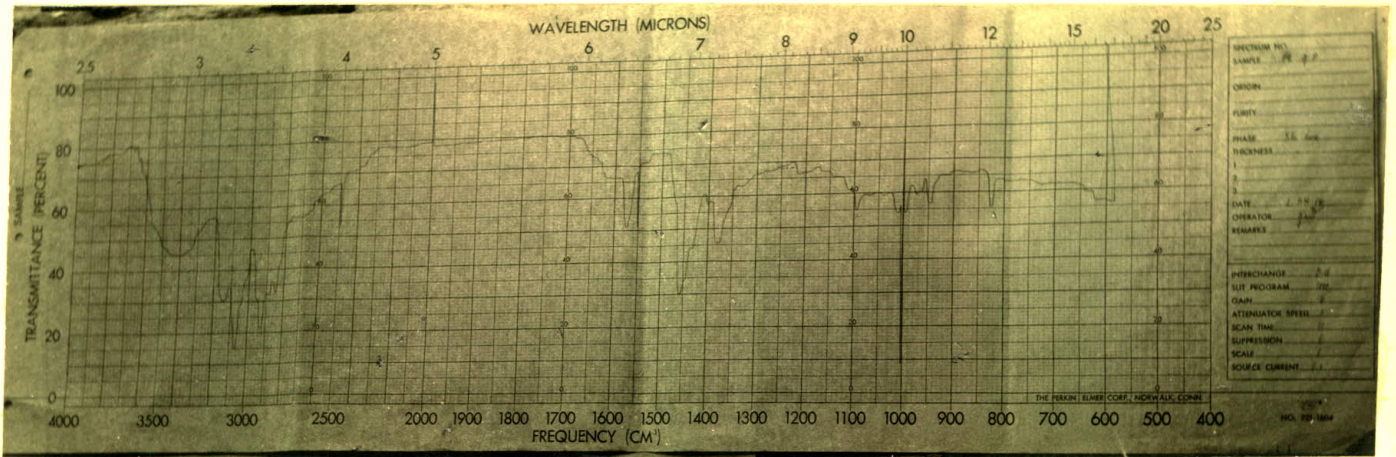
รูปที่ 2

IR. Spectrum ของ picrate ของสาร ก.



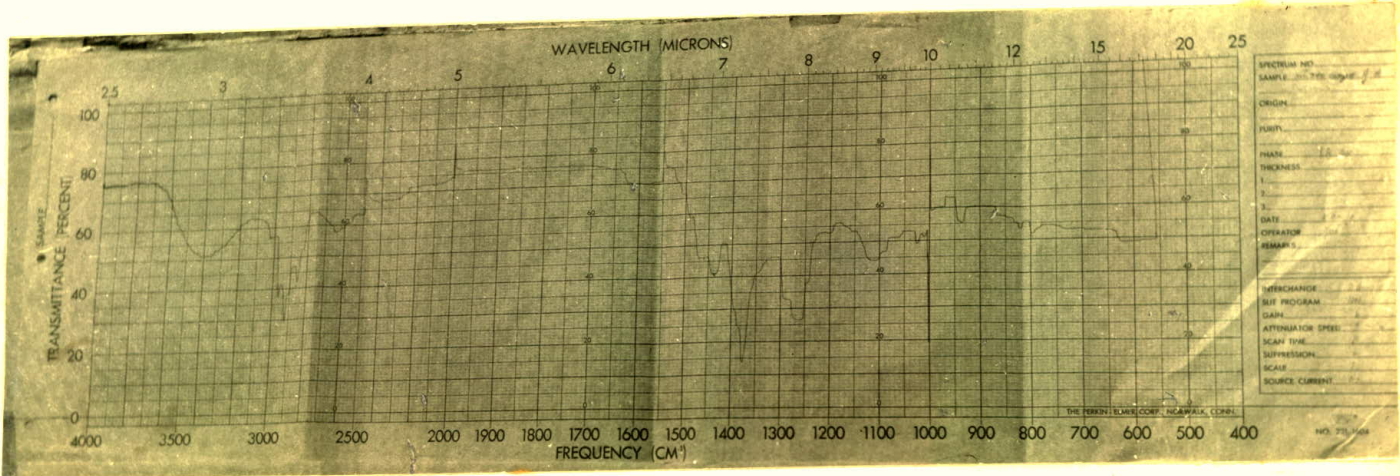
รูปที่ 3

IR. Spectrum ของ chloroplatinate ของสาร ก.



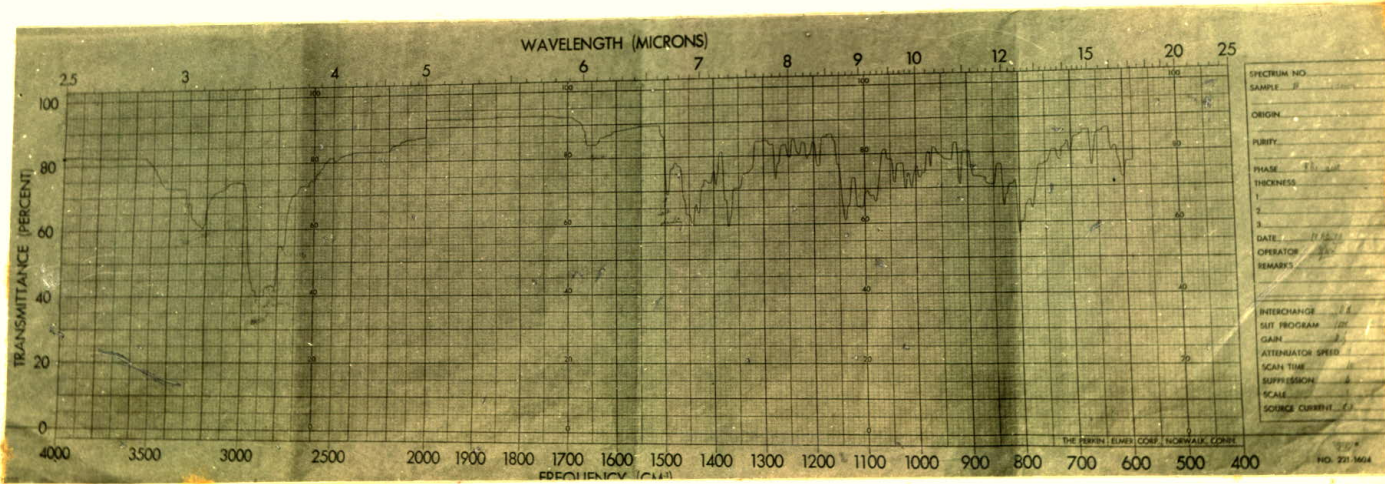
รูปที่ 4

IR. Spectrum ของ nitroso compound ของสาร ก.



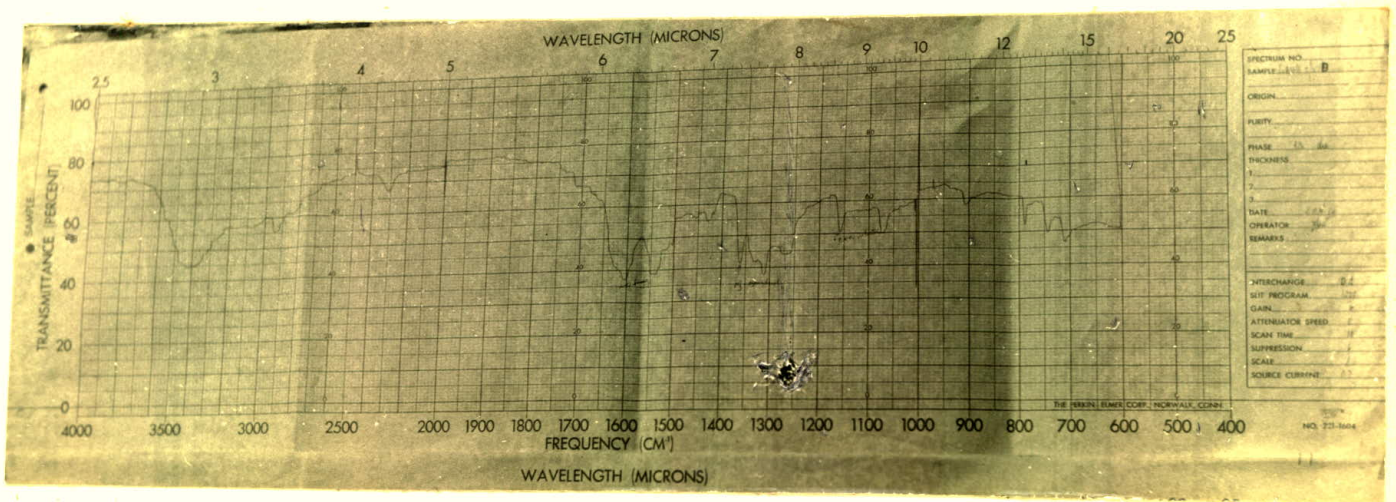
รูปที่ 5

IR. Spectrum ของสาร ข.



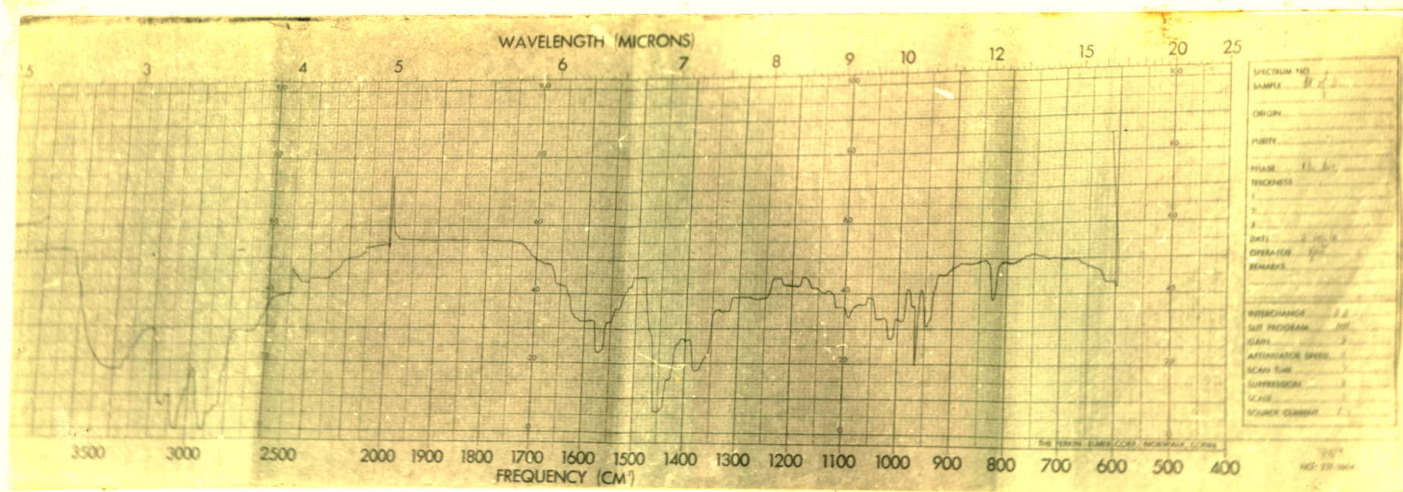
รูปที่ 6

IR. Spectrum ของ picrate ของสาร ข.



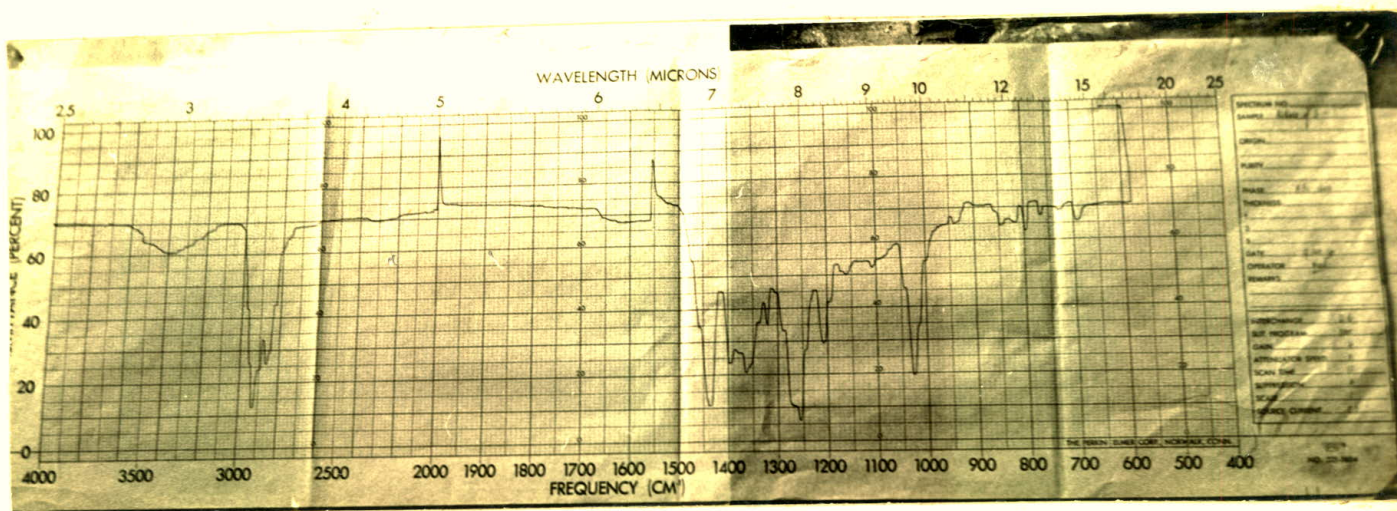
รูปที่ 7

IR. Spectrum ของ chloroplatinate ของสาร ข.



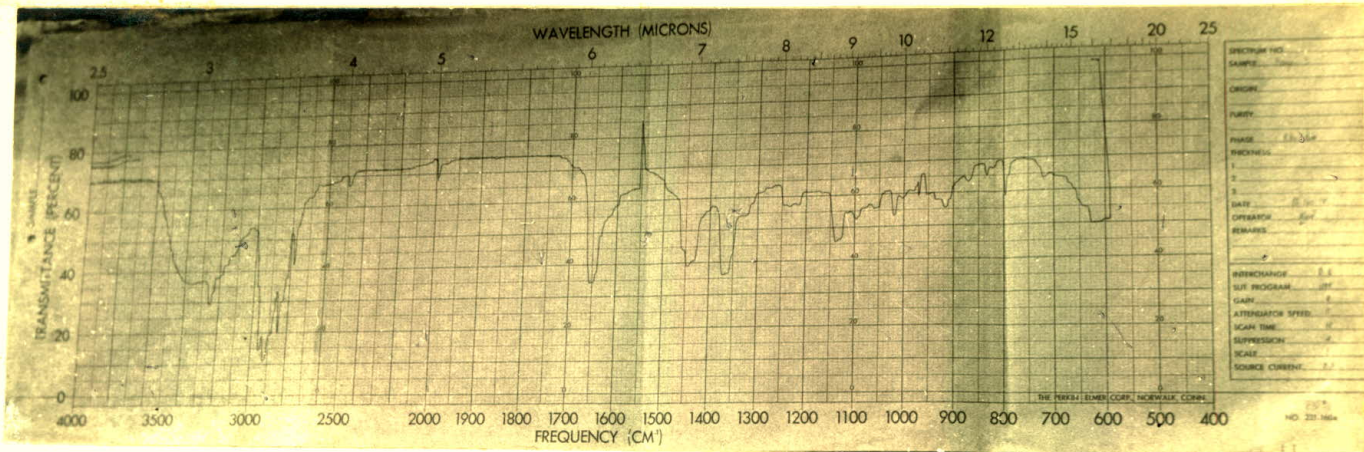
รูปที่ 8

IR. Spectrum ของ nitroso compound ของสาร ข.



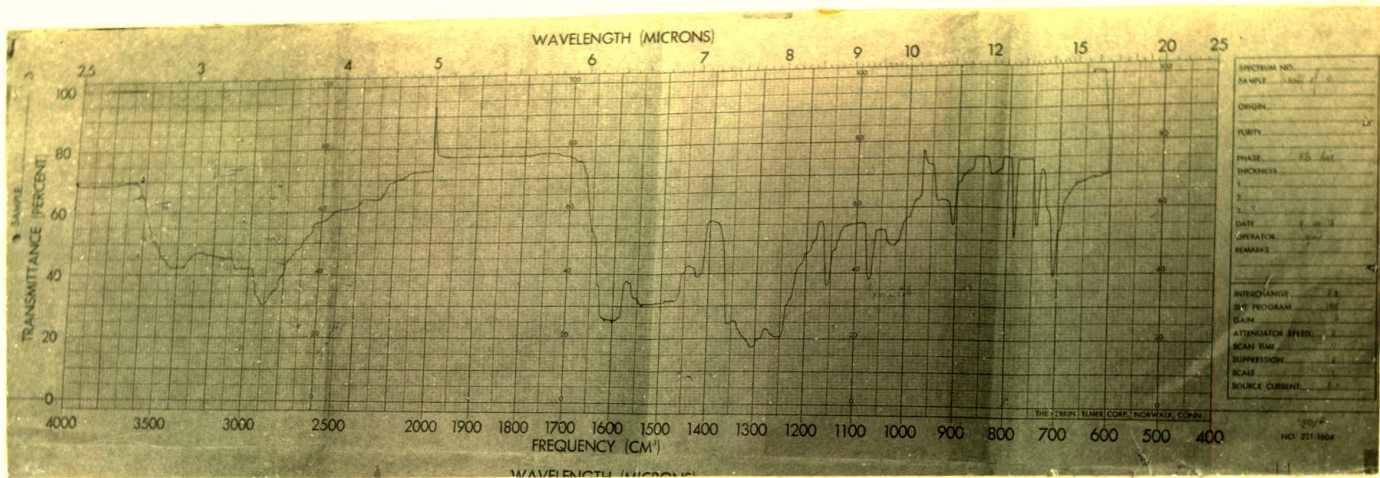
รูปที่ 9

IR. Spectrum ของสาร ค.



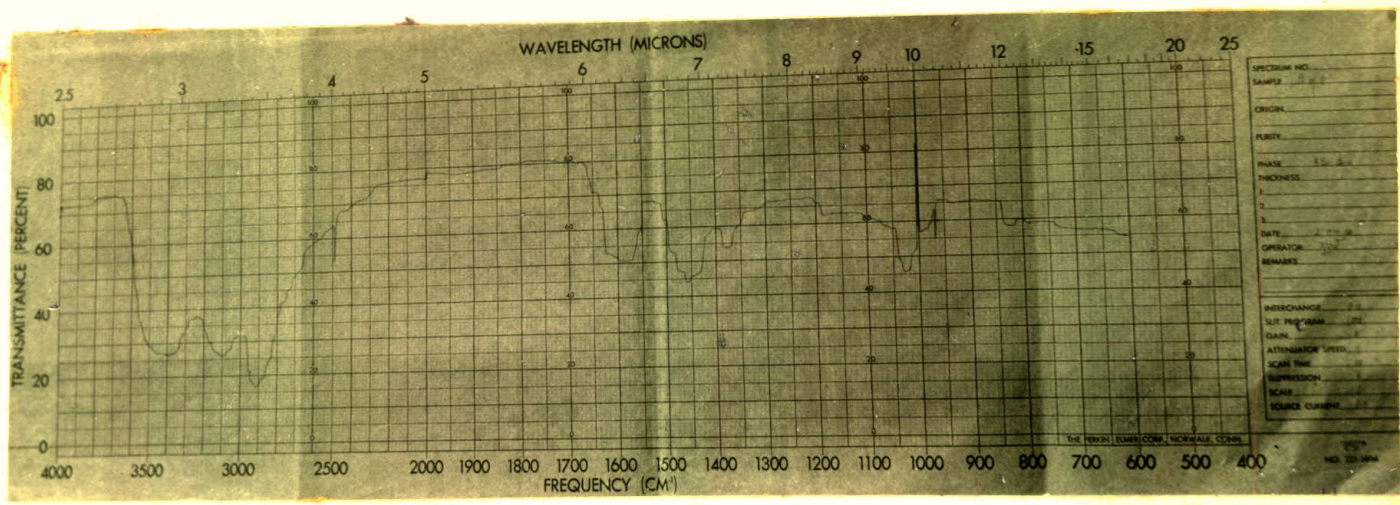
รูปที่ 10

IR. Spectrum ของ picrate ของสาร ค.



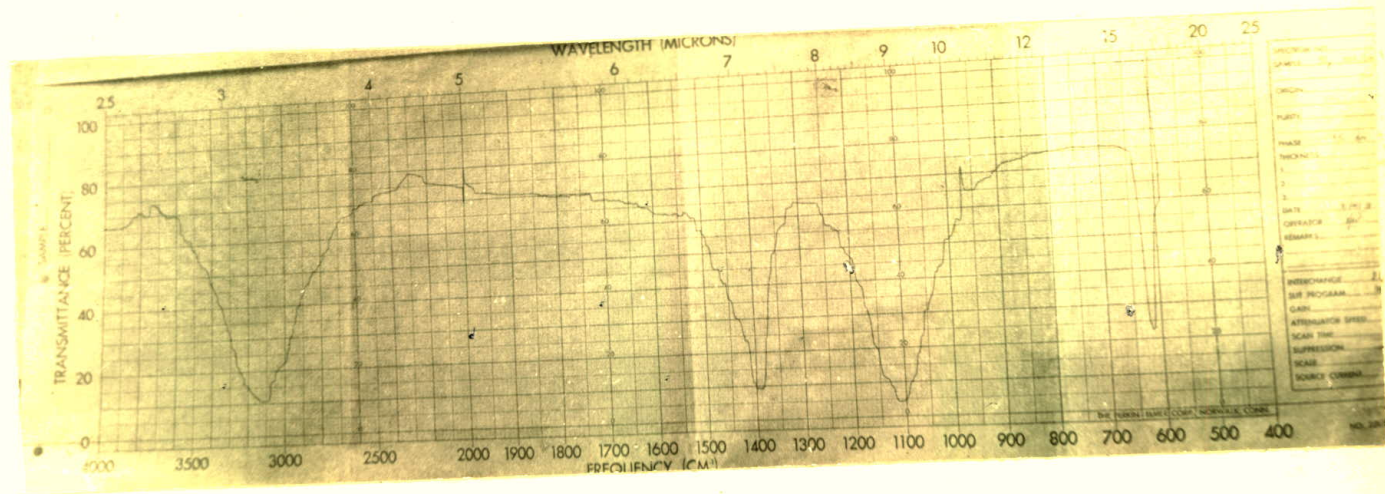
รูปที่ 11

IR. Spectrum ของ chloroplatinate ของสาร ค.



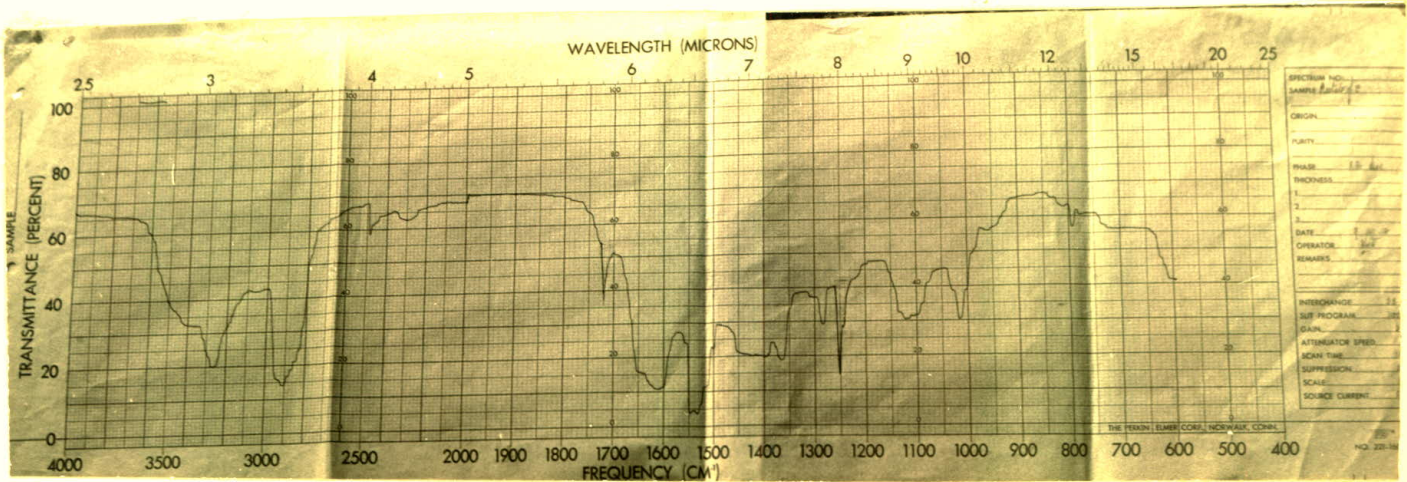
รูปที่ 12

IR. Spectrum ของ Sulfate ของสาร ค.



รูปที่ 13

IR. Spectrum ของ O - acetate ของสาร ค.



รูปที่ 14

IR. Spectrum ของ diazotization product ของสาร ค.

