

บทที่ 2
ไม้ประดู่



(*Dalbergia floribunda* Craib)

2.1 การสกัดและการแยกสาร (Extraction and Separation)

มีวิธีสกัดหลายวิธีดังนี้

2.1.1 ใช้ไม้ประดู่ 1 กิโลกรัม สกัดด้วย n-hexane 3 ลิตร โดยเครื่อง Soxhlet เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำสารที่ไ้มากลับใส่ Solvent ให้เหลือ 150 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งค้างคืนไว้จะได้ผลึกรูปเข็ม ให้เป็นสาร A

2.1.2 นำไม้ที่สกัดด้วย n-hexane แล้วไปสกัดต่อด้วย

Ethyl alcohol 95% จำนวน 4 ลิตร โดยเครื่องมือสกัดชนิดเดิม เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำเอาสารละลายที่สกัดได้กลับไปกลั่นใส่ Ethyl alcohol ออก จนเหลือปริมาตรประมาณ 200 มิลลิลิตร ปล่อยให้แห้งให้เย็นจะได้อาหารขึ้นเป็นขางเหนียว เติม Ethyl ether ลงไป 1 ลิตร เขย่า นาน ๆ แยกเอาส่วนที่ละลายใน Ether ไปกลั่นใส่ Ether ออก จะเหลือสารที่มีลักษณะขุ่นเหนียวหนัก 20 กรัม นำเอาสารนี้ละลายใน Ether จำนวนน้อยที่สุดที่จะใช้แยกด้วย column chromatography โดยใช้ Alumina 400 กรัม เป็น Adsorbent บรรจุใน Column ที่มีขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว และใช้ Ether เป็น Eluent

Eluant	Number of 1 litre fraction collected	M.P. of compound °C	Remark
100 % Ethyl Ether	1 - 2	สารละลายสีเหลือง แฉว ไตสารผลึกรูปเข็มสีขาว M.P. 37 °C หนัก สาร C	สาร B
	3	สารละลายสีเหลือง แฉว ไตสารผลึกรูปเข็มสีขาว M.P. 164.5 °C หนัก สาร B	สาร C
	4 - 35	เป็นน้ำมัน, wax	-
75% Ethyl Ether	36 - 40	เป็นน้ำมัน	-
25 % Ethyl alcohol		ไม่มีสารที่เป็นผลึก	

เนื่องจากใน Column มี band หลาย band จึงตัด Column แยกเอา band สีเหลืองขึ้นมา 1 band สะกัดด้วย Ethyl acetate 250 มิลลิลิตร โดยเครื่อง Soxhlet เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำสารที่ได้มากลั่นได้ Solvent ให้เหลือ 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ ได้สารเป็นน้ำมันไม่สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้

2.1.3 นำไม้ที่บดละเอียดมา 1 กิโลกรัม แช่ใน Carbon tetrachloride จำนวน 2.5 ลิตร เป็นเวลา 2 วัน ในที่มืด กรองเอาสารละลายมากลั่นได้ solvent ให้เหลือปริมาณน้อย ๆ แล้วตั้งทิ้งไว้จะได้ผลึกรูปเข็มใส นำมา ทำให้บริสุทธิ์หลายครั้งโดยใช้ Ethyl alcohol 95 % จะได้ผลึกสาร B จุดหลอมเหลว 87°C ปนกับสาร C จุดหลอมเหลว 164.5°C สาร B ละลายง่ายใน Ethyl alcohol 95 % เป็น จึงใช้แยกสาร B ออกจากสาร C

สาร C ละลายได้ใน Ethyl alcohol 95 % ร้อน ต้องนำมอดกลั่นหลาย ๆ ครั้ง จึงจะได้สาร C บริสุทธิ์

Infra - red Spectrum เหมือนกับที่ สะกัดตาม 2.1.2

การสกัดแยกสารด้วยวิธีนี้ ได้สารปริมาณน้อย จึงไม่ใช้วิธีนี้

2.2 การทำสารให้บริสุทธิ์ (Purification)

2.2.1 การทำสาร A ให้บริสุทธิ์

นำสาร A ที่ได้จากการสกัด ไม่ระกูดด้วย n-hexane มาละลายใน n-hexane ร้อน แล้วเติม Ethyl acetate ลงไปเล็กน้อย กรองสารละลายให้ใส แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้จะตกผลึกรูปเข็มสีขาวใส โดยการตกผลึกซ้ำหลาย ๆ ครั้ง จะได้สาร A บริสุทธิ์มีจุดหลอมเหลว $100 - 2^{\circ}\text{C}$ ประมาณ 0.5 % โดยน้ำหนักของเนื้อไม้หน้ามาสกัด

2.2.2 การทำสาร B และสาร C ให้บริสุทธิ์

สาร B ได้จากการ Elute column chromatography ด้วย Ether ใน fraction ที่ 1,2 ส่วน fraction ที่ 3 เป็นสาร C นำ fraction ที่ 1 และ fraction ที่ 2 มากลั่นใส Ether ออกให้เหลือประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้โดยลึกลงไปผสมกับน้ำมัน กรองผลึก ใช้กระดาษกรองซับน้ำมันออก แล้วนำผลึกมาละลายใน Ethyl alcohol 95 % เติมน้ำลงไปเล็กน้อย กรองสารละลายให้ใส แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ให้ตกผลึก จากการตกผลึกหลาย ๆ ครั้ง จะได้สาร B เป็นผลึกรูปเข็มใส มีจุดหลอมเหลว 87°C ประมาณ 0.3 % โดยน้ำหนักของเนื้อไม้ที่นำมาสกัด

Fraction ที่ 3 นำมากลั่นใส Ether ให้เหลือ 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จะได้ผลึกรูปเข็มใสของสาร C ปนกับสาร B กรองเอาผลึกไปล้างด้วย Ethyl alcohol 95 % เป็นหลาย ๆ ครั้ง สาร B ละลายง่าย จะแยกออกไป ซ้ำตะกอนด้วยกระดาษกรองให้แห้งแล้วนำไปละลายใน Ethyl alcohol 95 % ร้อน กรองสารละลายอีกครั้งหนึ่ง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกผลึก โดยการตกผลึกซ้ำหลาย ๆ ครั้ง จะได้สาร C บริสุทธิ์ จุดหลอมเหลว 164.5°C ประมาณ 0.1 % โดยน้ำหนักของเนื้อไม้ที่นำมาสกัด

เพื่อกจะทดสอบว่าสาร A, B, และ C บริสุทธิ์ โดยการทำ TLC ใช้ Silica Gel เป็น Adsorbent และ run ด้วย Chloroform, benzene และ Ethyl acetate แล้วนำ plate มา spray ด้วย 2, 7 - Dichlorofluorescein จะได้จุดสีชมพู เมื่อส่องแสง UV. พบว่ามีจุดเดียว แสดงว่าสาร A, B และ C บริสุทธิ์

2.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารประกอบ A

2.3.1 การตรวจคุณสมบัติของกายภาพ

(a) สาร A เป็นผลึกรูปเข็มสีขาว มีจุดหลอมเหลว $100 - 2^{\circ}\text{C}$

(b) Solubility ของสารประกอบ A

Solvent	Solubility
Ethyl alcohol	Soluble
Ethyl ether	Soluble
Ethyl acetate	Soluble
Acetone	Soluble
Carbon tetrachloride	Soluble
Chloroform	Soluble
Benzene	Soluble
Toluene	Soluble
Dioxan	Soluble
Water	Insoluble

(c) การทำ TLC ได้ $R_f = 0.92$ ใน Ethyl acetate เป็น Eluting solvent และ Alumina เป็น Adsorbent

(d) ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของธาตุมีดังนี้

C = 74.28 %

H = 11.46 %

- (e) การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลได้ = 238 โดย Mass Spectra Analysis มีสูตรโมเลกุล $C_{15}H_{26}O_2$
- (f) จากการคำนวณเปอร์เซ็นต์ของธาตุจากสูตร $C_{15}H_{26}O_2$
 $C = 75.63 \%$, $H = 10.91 \%$
- (g) Infra-red Spectrum ของสาร A (ภาพหน้า 33)

Frequency cm^{-1}	Band type	Assignment
3255 - 3300	sharp	OH vibration
1650	sharp	unsaturated
2780	sharp	$-CH_2-$ sym. Stretching
890	sharp	unsaturated (Vinyl)

2.3.2 การตรวจ Functional groups ของสารประกอบ A

ตรวจหา Functional groups ตาม Standard methods

ปรากฏว่า

- (a) Bromine in CCl_4 Solution ไม่ฟอกสี
- (b) Aqueous Potassium permanganate Solution ฟอกสี
- (c) Concentrated H_2SO_4 ได้สารละลายสีเหลืองปนน้ำตาล
- (d) Concentrated HNO_3 ได้สารละลายสีเหลืองปนเขียว
- (e) Concentrated H_3PO_4 ได้สารละลายสีเหลืองส้ม
- (f) Concentrated HCl ได้สารละลายสีเหลือง
- (g) $FeCl_3$ 1 % ไม่เปลี่ยนแปลง



(h) Millon's Test ไม่เปลี่ยนแปลง

(e) ไม่ Absorb UV.

จากคุณสมบัติต่าง ๆ แสดงว่าสาร A มี double band

2.3.3 การวิเคราะห์พันธะของสารประกอบ A

(a) Hydrogenation¹⁸ สารประกอบ A

นำ PtO_2 0.01 กรัม ใส่ใน Absolute ethyl alcohol 25 มิลลิลิตร ผ่านก๊าซไฮโดรเจน จนอิ่มตัว แล้วใส่สาร A 0.2 กรัม เติมไฮโดรเจน เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ปรากฏว่าไฮโดรเจนถูกดูดไว้ประมาณ 20 มิลลิลิตร กรองสารละลายเพื่อแยกเอา Catalyst ออก เอา filtrate ไประเหยบนเครื่องอังไอน้ำจนเกือบแห้ง เอาตั้งทิ้งค้างคืนไว้ solvent จะระเหยออกไปหมด มีสารเป็นของแข็งเหลืออยู่ตกผลึกสารนี้ด้วย n - hexane ปนกับ Ethyl acetate เล็กน้อย จะได้ผลึกรูปเหลี่ยม สีขาว มีจุดหลอมเหลว $134^\circ C$ จำนวน 0.129 กรัม

การตรวจหาเปอร์เซ็นต์ของธาตุมีดังนี้

C = 74.83 %, H = 11.57 %

จากการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของธาตุจากสูตร $C_{15}H_{28}O_2$

C = 75.00 %, H = 11.66 %

Infra-red spectrum Hydrogenated of compound A (ภาพหน้า 35)

Frequency cm^{-1}	Band type	Assignment
3255 - 3300	Sharp	OH stretching vibration
1650	-	Disappear
2780	Sharp	Stretching vibration of CH_2
890	-	Unsaturated disappear

(b) Acetylation¹⁷ ของสารประกอบ A

นำสาร A 0.3 กรัม ละลายใน pyridine แล้วเติม Acetic anhydride 3 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 2 วัน เกล่งในน้ำกรองตะกอน ออก นำมาตกยลิกใน n - heaxane จะได้สารเป็นผลึกรูปเข็ม สีขาว มีจุดหลอมเหลว $90 - 1^{\circ}\text{C}$ จำนวน 0.265 กรัม

จากการตรวจหาเปอร์เซ็นต์ของธาตุมีดังนี้

$$\text{C} = 72.78 \%, \quad \text{H} = 10.15 \%$$

จากการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของธาตุจากสูตร $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_3$

$$\text{C} = 72.85 \%, \quad \text{H} = 10.0 \%$$

Infra - red Spectrum Mono Acetate ของสารประกอบ A
(ภาพหน้า 35)

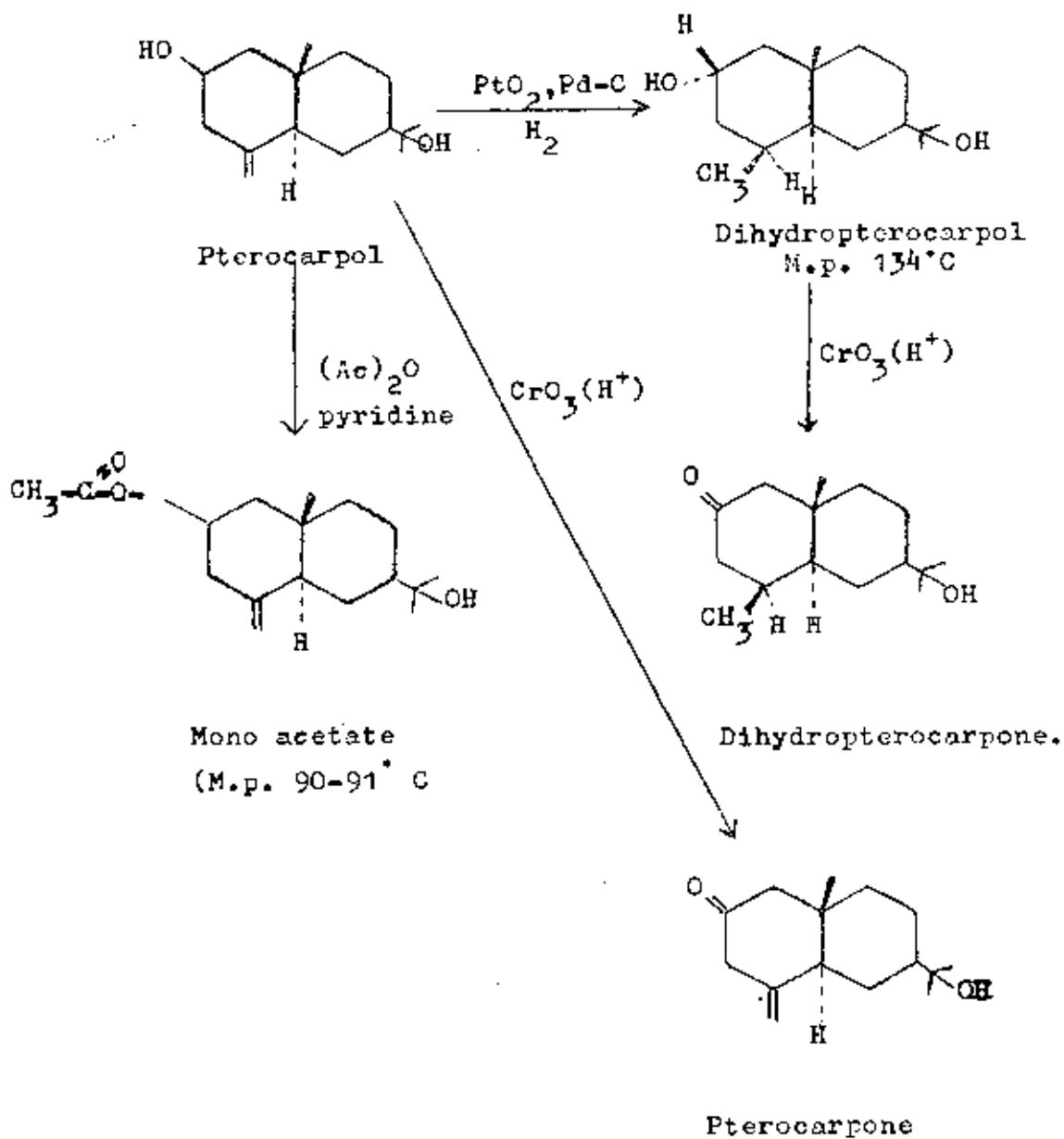
Frequency cm^{-1}	Band type	Assignment
3255 - 3300	Sharp	OH vibration
2780	Sharp	Stretching vibration of $-\text{CH}_2-$
1730	Sharp	$-\text{C}=\text{O}$ Stretching vibration of acetyxy
1650	Sharp	Unsaturated $-\text{C}=\text{C}-$
890	Sharp	Unsaturated $-\text{C}=\text{C}-$

(๑) Oxidation¹⁹ ของสารประกอบ A

นำสาร A 0.238 กรัม ละลายใน Acetone ปริมาณ 40 มิลลิลิตร ผ่านทางไนโตรเจนลงไปเพื่อไล่ออกซิเจนออกให้หมด แล้วค่อย ๆ หยด Chromium tri Oxide solution ลงไป 0.8 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10-15 นาที พร้อมทั้งคนอยู่ตลอดเวลา นำสารละลายที่ได้เทลงในน้ำเย็น 200 มิลลิลิตร แล้วนำมาสกัดด้วย Ethyl ether 5 ครั้ง นำ Ether extract ล้างด้วย NaHCO_3 10% จนหมดกรด แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นจนน้ำที่ล้างไม่มีฤทธิ์เป็นด่าง ใช้ Anhydrous Sodium Sulphate หักล้างคืนเพื่อดูดน้ำ กรองเอาสารละลายไประเหยจนแห้ง จะได้อะไหล่สีเหลือง นำมากลั่นที่ 206°C ความดัน 2 มิลลิเมตร สารที่ได้จากการ Oxidise สารประกอบ A มี $R_f = 0.692$ ใน CHCl_3 ใช้ Alumina เป็น Adsorbent

2.3.4 การสรีรเคมีของสารประกอบ A (M.P. 100-2°C)

จากการตรวจคุณสมบัติของสารประกอบ A พอสรุปได้ดังนี้



จาก Mass Spectrum Analysis สาร A สูตร $C_{15}H_{26}O_2$ มี m/e
 เท่ากับ 220 ปรากฏว่าตรงกับ Pterocarpol ใน Tetrahedron paper¹⁰
 และ N.M.R. Spectra ของตัวสารและ Derivative ต่าง ๆ สัมพันธ์
 สูตรโครงสร้างของสาร A นี้ เป็น Pterocarpol

A M.P. 100°-2° C (Benzene)	ใน	Literature 104-5°
$d_n^{20} + 34.5°$	ใน	Literature + 39°
Acetate M.P 90 - 1° C	ใน	Literature 88-89° C
Allylhydro 70% A M.p 133-4° C	ใน	Literature 120-121 °C

2.4 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารประกอบ B

2.4.1 การตรวจหาคุณสมบัติทางกายภาพของสารประกอบ B

- (a) สาร B เป็นผลึกรูปเข็ม สีขาวใส มี M.P. 87° C
 (b) Solubility ของสาร B

Solvent	Solubility
Ethyl alcohol	Soluble
Ethyl ether	Soluble
Ethyl acetate	Soluble
Acetone	Soluble
Carbon tetra Chloride	Soluble
Chloroform	Soluble
Toluene	Soluble
n-hexane	Soluble
Dioxan	Soluble
Water	Insoluble

(c) การหา TLC ได้ $R_f = 0.8$ ใน Ethyl alcohol เป็น Eluting solvent, Silica Gel ขนาด 0.25 มิลลิเมตร เป็น Adsorbent

(d) ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของธาตุมีดังนี้

C = 71.84 %, H = 5.62 %

OCH₃ = 20.19 %, M.wt = 193

(e) จากการคำนวณเปอร์เซ็นต์ของธาตุจาก Homopterocarpin

C = 71.80 % , H = 5.7 %

OCH₃ = 21.8 % , M.wt = 284

สูตรโมเลกุลของ Homopterocarpin เป็น C₁₇H₁₆O₄

มี OCH₃ 2 หมู่

Infra - red spectrum ของสารประกอบ B (ภาพหน้า 33)

Frequency (cm ⁻¹)	Band type	Assignments
2830 - 2950	Sharp	Aromatic - OCH ₃
3020	weak	-CH Stretching
1630	very sharp	aromatic
1250 - 1275	sharp	C-C-O-C vibration
1070 - 1150	Sharp	ring C-O-C

2.4.2 การตรวจหา Functional group ของสารประกอบ B

ตรวจหา Functional group ตาม Standard method¹⁷
ปรากฏว่า

- (a) Bromine in CCl₄ solution ฟอกสีได้
- (b) Aqueous potassium permanganate ฟอกสีได้
- (c) Shinoda's Reagent.
โคตะกอนแดง สารละลายสีส้มอ่อน
- (d) Concentrated HCl ได้สารละลายสีเหลืองมีตะกอนสีขาว
- (e) Concentrated HNO₃ ได้สารละลายสีเหลือง แล้วเปลี่ยน
เป็นสีม่วงเข้ม
- (f) Concentrated H₂SO₄ ได้สารละลายสีแดง

(g) 2, 4-Dinitrophenylhydrazine ได้ตะกอนสีส้ม

(h) UV (ภาพหน้า 37)

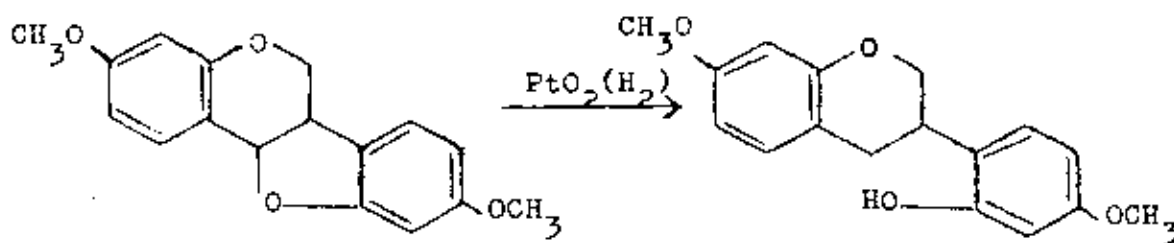
2.4.3 การวิเคราะห์อนุพันธ์ของสารประกอบ B

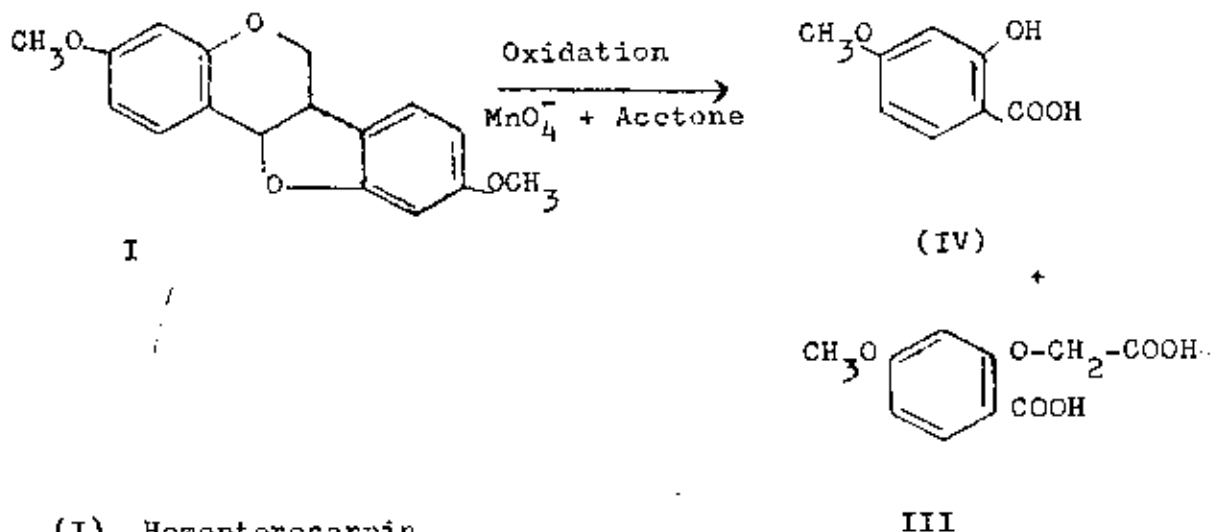
Hydrogenation¹⁸ Homopterocarpin

นำ Homopterocarpin 1 กรัม ผสมกับ PtO_2 10 มิลลิกรัม ใส่ใน Absolute ethyl alcohol 125 มิลลิลิตร แล้วนำไปผ่านไฮโดรเจนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง นำสารละลายไปกรองแยก Catalyst ออก แล้วนำ filtrate ไประเหย ทิ้งไว้ จะได้ Dihydroderivative มีจุดหลอมเหลว $160^\circ C$

2.4.4 การสรุปสูตรของการประกอบ B (จุดหลอมเหลว $87^\circ C$)

จากการตรวจคุณสมบัติทางเคมีของสารประกอบ B และ Spectra data ได้แก่ mass spectrum ให้ m/e เท่ากับ 284, NMR, และ IR spectra ปรากฏว่า identical กับ Homopterocarpin ทุกอย่าง สารประกอบ B จึงเป็น Homopterocarpin แน่ชอบ





(I) Homopterocarpin

(II) Dihydrohomopterocarpin

(III) 5 - methoxy - 2 carboxylphenoxy acetic acid

(IV) 2 - hydroxy - 4 - methoxy benzoic acid

2.5 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารประกอบ C

2.5.1 การตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ

(a) สารประกอบ C เป็นผลึกรูปเข็มสีขาวใส มี M.P. 164.5°C

(b) Solubility ของสารประกอบ C

Solvent	Solubility
Ethyl alcohol (hot)	Soluble
Ethyl ether	Soluble
Ethyl acetate	Soluble
Acetone	Soluble
Carbon tetra chloride	Soluble
Chloroform	Soluble
Benzene	Slightly soluble
Toluene	Slightly soluble
n - hexane	Slightly soluble
Diexan	Slightly soluble
Water	Insoluble

(c) การทำ TLC ได้ $R_f = 0.75$ ใน Ethyl alcohol เป็น Eluting solvent มี Silica gel หน้า 0.25 มิลลิเมตร เป็น Adsorbent

(d) ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของธาตุมีดังนี้

$$C = 68.13 \% ; \quad H = 4.95 \%$$

$$OCH_3 = 10.40 \% ; \quad M.wt = 282$$

(e) จากการคำนวณเปอร์เซ็นต์ของธาตุจาก

Pterocarpin ($C_{17}H_{14}O_5$)

$$C = 68.5 \% , \quad H = 4.9 \%$$

$$OCH_3 = 10.40 \% , \quad M.wt = 298$$

สูตรโมเลกุลของ Pterocarpin เป็น $C_{17}H_{14}O_5$
มี OCH_3 1 หมู่

Infra - red spectrum ของสาร C (ภาพหน้า 34)

Frequency (cm ⁻¹)	Band type	Assignment
2830 - 2950	Sharp	Aromatic OCH ₃
3020	weak	= CH - vibration
2780	Sharp	-CH ₂ -sym stretching
1630	Sharp	Aromatic
1250-1275	Sharp	Aromatic -O-C-O-C-
1075-1150	Sharp	ring C-O-C -O-CH ₂ -O-(methylenedioxy)
925	Sharp	Most useful, probably related to C-O stretching

2.5.2 การตรวจหา Functional group ของสาร C ตาม Standard Method¹⁷ ปรากฏว่า

- (a) ฟอกสีสารละลายโบรมีนใน Carbon tetrachloride ได้
- (b) ฟอกสีสารละลาย Potassium permanganate
- (c) มี OCH₃ 1 หมู่
- (d) Shinoda's reagent ให้สีเขียวแกมเหลือง
- (e) Concentrated HCl ได้ตะกอนสีขาว
- (f) Concentrated HNO₃ ได้สารละลายสีเหลืองแล้วเปลี่ยนเป็น สีเขียว มี NO₂ เกิดขึ้นมาก
- (g) Concentrated H₂SO₄ ได้สีแดง
- (h) 2,4 - Dinitrophenylhydrazine ได้ตะกอนสีส้ม
- (i) UV (ภาพหน้า 37)

2.5.3 การสรีรศาสตร์ของสารประกอบ C (จุดหลอมเหลว 164.5°C)

จากการตรวจคุณสมบัติทางเคมีของสารประกอบ C และ Spectra data พบว่า m/e เท่ากับ 298, N.M.R. และ IR. spectra เหมือนกับ Pterocarpin ทุกประการ ฉะนั้นสาร C เป็น Pterocarpin อย่างแน่นอน

