

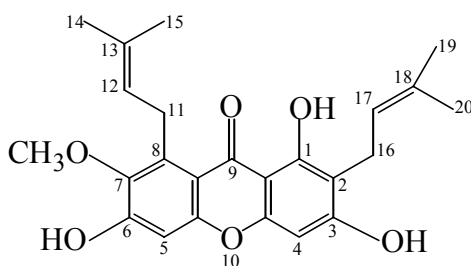
บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

อนุพันธ์แซนโทนที่สังเคราะห์ขึ้นเป็นอนุพันธ์ที่เกิดจากการปิดวงของหมู่ isoprenyl ของแมงโกสทินและใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุพันธ์ต่าง ๆ โดยเติมหมู่อะมิโน อีพอกไซด์ และอะมิโนแอลกอฮอล์ โดยปฏิกิริยาการแทนที่นิวคลีโอฟิลิก (nucleophilic substitution) สามารถสังเคราะห์สารประกอบแซนโทนได้จำนวน 13 สาร ได้แก่ GMB-1 GMB-2 GMB-5 GMB-8 GMB-3 GMB-4 GMB-6 GMB-7 GMB-9 GMB-10 GMB-11 GMB-12 และ GMB-13 โครงสร้างของสารเหล่านี้วิเคราะห์ด้วยข้อมูล ^1H NMR สเปกตรัม

3.1 การสกัดและแยกแมงโกสทินจากมังคุด

แมงโกสทินซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุพันธ์ต่าง ๆ สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้โดยวิธีการทางโครมาโทกราฟีและการตกผลึก แมงโกสทินที่บริสุทธิ์มีจุดหลอมเหลว 179-181 $^{\circ}\text{C}$ และพิสูจน์โครงสร้างด้วยข้อมูล ^1H NMR



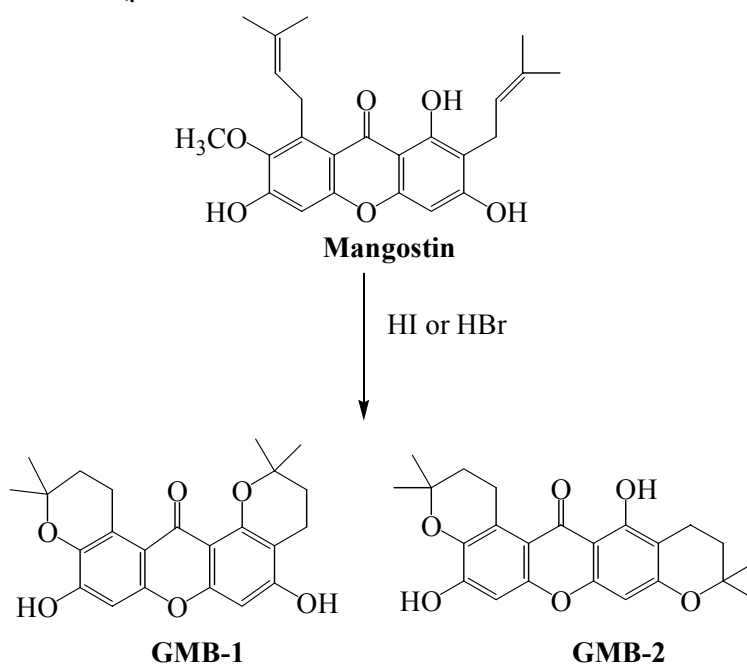
Mangostin

^1H NMR (รูปที่ 6) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.82 (s, 1H) และ 6.28 (s, 1H) สัญญาณ methoxy proton 7-OCH₃ ที่ δ 3.81 (s, 3H) สัญญาณของหมู่ hydroxy

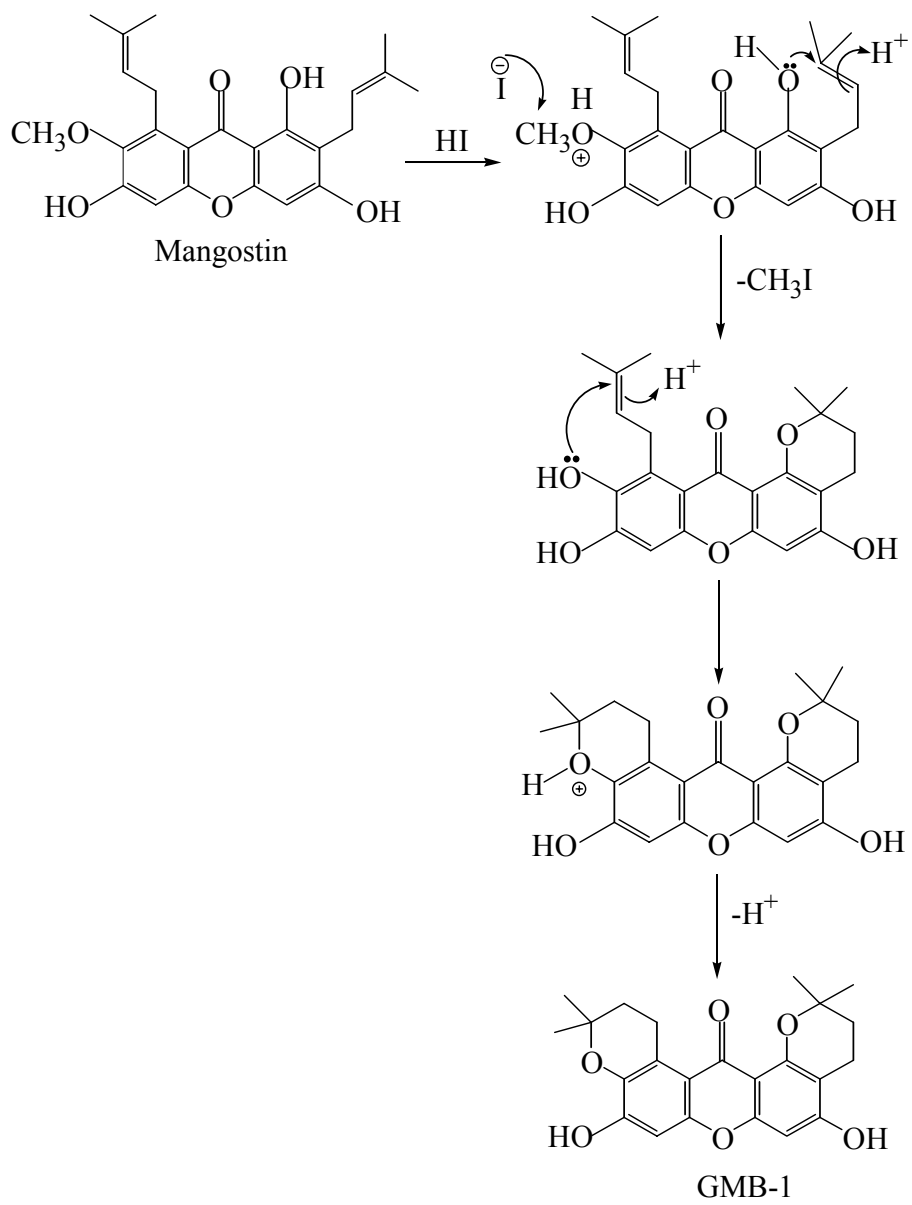
1-OH ที่ก่อกันระไฮโครเจนกับหมู่คาร์บอนิลที่ δ 13.80 (s, 1H) สัญญาณของหมู่ hydroxy 6-OH และ 3-OH ที่ δ 6.31 (s, 1H) และ 6.16 (s, 1H) ชุดสัญญาณ allylic proton 17-H ที่ δ 5.28 (t, 1H) methylene proton ที่ δ 3.47 (d, 2H) และ methyl proton 15-CH₃ และ 14-CH₃ ที่ δ 1.84 (s, 3H) และ 1.78 (s, 3H) เป็นสัญญาณโปรตอนของหมู่ prenyl ที่ต่อกับโครงสร้างหลักที่ C-2 ชุดสัญญาณของ allylic proton 12-H ที่ δ 5.28 (t, 1H) methylene proton ที่ δ 4.11 (d, 2H) และ methyl proton 20-CH₃ และ 19-CH₃ ที่ δ 1.84 (s, 3H) และ 1.70 (s, 3H) เป็นสัญญาณโปรตอนของหมู่ prenyl ที่ต่อกับโครงสร้างหลักที่ C-8 ข้อมูลเหล่านี้สอดคล้องกับข้อมูลของแมงโกสทินที่มีรายงานแล้ว (Mahabusarakam และคณะ, 1987)

3.2 การสังเคราะห์ GMB-1 และ GMB-2

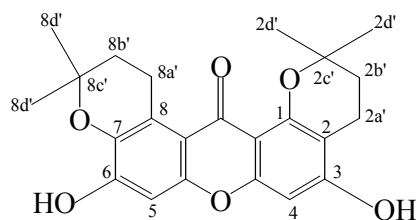
แมงโกสทินประกอบด้วยหมู่ prenyl ในตำแหน่ง *ortho* กับหมู่ methoxyl และ *ortho* กับหมู่ hydroxyl สามารถเกิดการปัดวงได้เมื่อมีการเติมกรดให้สารประกอบ GMB-1 และ GMB-2 เป็นผลิตภัณฑ์ ในงานวิจัยนี้เตรียม GMB-1 และ GMB-2 โดยใช้ HI และ HBr เป็นตัวเร่งและพบว่าการใช้ HI เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะให้ผลิตภัณฑ์ในร้อยละที่มากกว่าการใช้ HBr



กลไกการเกิดปฏิกิริยาเป็นดังแสดง



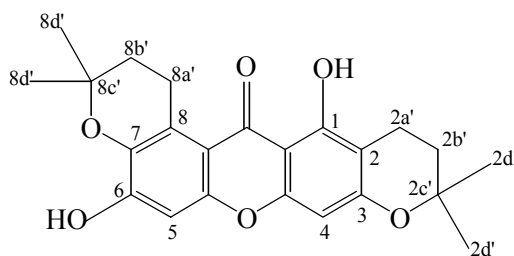
3.2.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ GMB-1



GMB-1

^1H NMR (รูปที่ 7) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.64 (s, 1H) และ 6.31 (s, 1H) สัญญาณของ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.45 (t, J 7 Hz, 2H) 1.84 (t, J 7 Hz, 2H) 2.64 (t, J 7 Hz, 2H) และ 1.82 (t, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณของ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ปรากฏที่ δ 1.41 (s, 6H) และ 1.36 (s, 6H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง ^1H NMR ไม่ปรากฏสัญญาณของ 1-OH ที่สนามต่ำ ($\sim\delta$ 13) แสดงว่าการปิดวงเกิดระหว่างหมู่ prenyl กับ 1-OH ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่าสารประกอบ GMB-1 คือ 3,6-dihydroxy-di-[1,2-b], [7,8-a]-(3,3-dimethylpyrano)xanthen-9-one

3.2.2 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ GMB-2

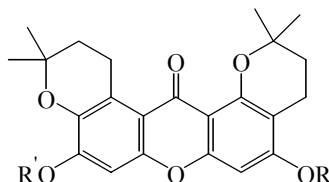


GMB-2

^1H NMR (รูปที่ 8) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.79 (s, 1H) และ 6.40 (s, 1H) สัญญาณของ hydroxy proton 1-OH ที่ δ 13.76 (s, 1H) ที่เกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่คาร์บอนิล และ 6-OH ที่ δ 6.25 (s, 1H) สัญญาณของ methylene proton ($-\text{CH}_2-$) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.50 (t, J 7 Hz, 2H) 1.88 (t, J 7 Hz, 2H) 2.71 (t, J 7 Hz, 2H) และ 1.84 (t, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณของ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ที่ δ 1.39 (s, 6H) และ 1.37 (s, 6H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง ^1H NMR ยังคงปรากฏสัญญาณของ 1-OH (δ 13.76) แสดงว่าการปิดวงไม่เกิดระหว่างหมู่ prenyl กับ 1-OH แต่เกิดกับ 3-OH ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่าการประกอบ GMB-2 คือ 1,6-dihydroxy-di-[2,3-b], [7,8-a]-(3,3-dimethylpyrano)xanthen-9-one

3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ GMB-1

อนุพันธ์ของ GMB-1 ที่สังเคราะห์ได้แก่ GMB-3 – GMB-8



GMB-1 : R' = R = H

GMB-3 : R' = H, R = CH₂CH₂N(CH₃)₂

GMB-4 : R' = H, R = CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂

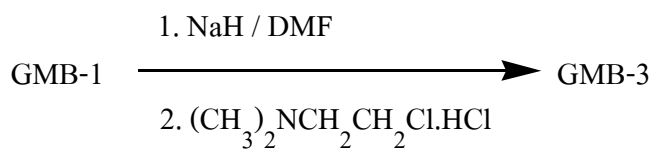
GMB-5 : R' = R = CH₂CH(O)CH₂

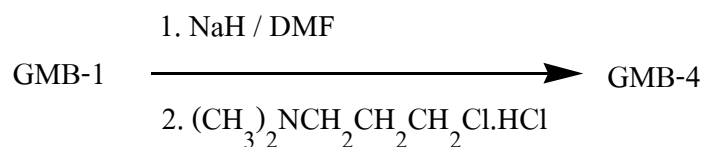
GMB-6 : R' = H, R = CH₂CH(O)CH₂

GMB-7 : R' = R = CH₂CH(OH)CH₂N(CH₃)₂

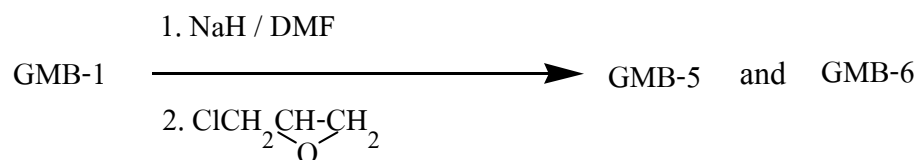
GMB-8 : R' = R = CH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₃)₂

อนุพันธ์ GMB-3 และ GMB-4 สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาระหว่าง GMB-1 กับ *N,N*-dimethylaminoethylchloride hydrochloride และ *N,N*-dimethylaminopropylchloride hydrochloride โดยให้ GMB-1 ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮไดรด์เกิดเป็น phenoxide ion ซึ่งเป็นนิวคลีโอไฟล์ (nucleophile) เข้าแทนที่ chloride ใน *N,N*-dimethylaminoethylchloride และ *N,N*-dimethylaminopropylchloride ให้ GMB-3 และ GMB-4 ตามลำดับ

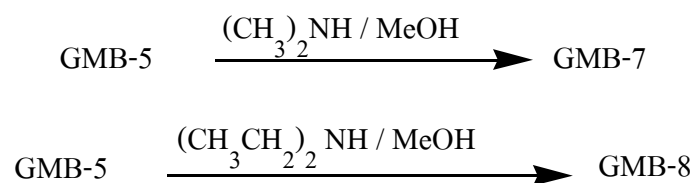




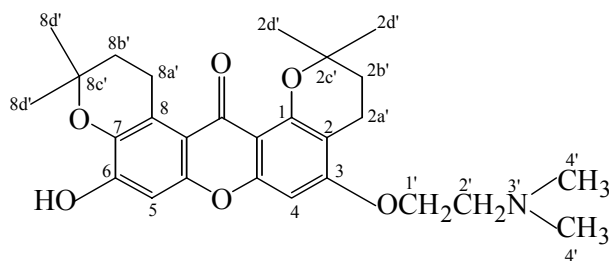
อนุพันธ์ GMB-5 และ GMB-6 สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาระหว่าง GMB-1 กับ epichlorohydrin โดยให้ GMB-1 ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮไดรด์เกิดเป็น phenoxide ion ซึ่งเป็นนิวคลีโอไฟล์ (nucleophile) เข้าทำปฏิกิริยากับ epichlorohydrin



อนุพันธ์ GMB-7 และ GMB-8 สังเคราะห์ได้จาก GMB-5 ซึ่งประกอบด้วยวงแหวนอีพอกไซด์ เมอร์ฟรัคซ์ GMB-5 กับ dimethylamine และ diethylamine วงแหวนอีพอกไซด์จะเปิดออกแล้วให้อะมิโนแอลกอฮอล์ GMB-7 และ GMB-8 ตามลำดับ



3.3.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 3-hydroxy-3-(*N,N*-dimethylethoxy)-di-[1,2-*b*], [7,8-*a*]-(*3,3*-dimethylpyrano)xanthen-9-one (GMB-3)

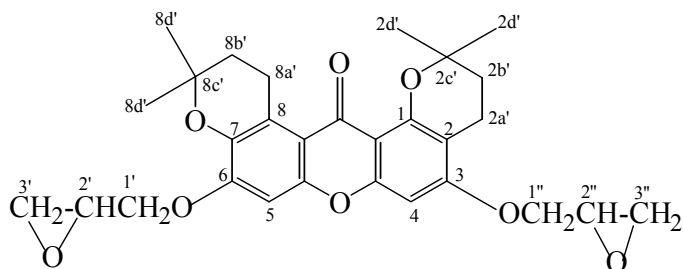


GMB-3

$^1\text{H NMR}$ (รูปที่ 9) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.74 (s, 1H) และ 6.34 (s, 1H) สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.58 (t, J 7 Hz, 2H) 1.84 (t, J 7 Hz, 2H) 2.66 (t, J 7 Hz, 2H) และ 1.82 (t, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ปรากฏที่ δ 1.45 (s, 6H) และ 1.36 (s, 6H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบกับ $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัมของสารนี้และ GMB-1 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณของหมู่ $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 1 หมู่ ปรากฏที่ δ 4.17 (t, J 5 Hz, 2H) 2.83 (t, J 5 Hz, 2H) และ 2.40 (s, 6H) สัญญาณเหล่านี้เป็นของ H-1' H-2' และ H-4' ตามลำดับ ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่าสารประกอบ GMB-3 มีโครงสร้างดังแสดง

ตำแหน่งของหมู่แทนที่ตรวจสอบจาก NOE (รูปที่ 10 และ 11) พบว่าเมื่อฉายรังสีที่สัญญาณของ H-4 (δ 6.34) ทำให้ความเข้มของสัญญาณ methylene proton ที่ δ 4.17 (H-1') เพิ่มขึ้น และเมื่อฉายรังสีที่ δ 4.17 (H-1') ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตอนที่ δ 6.34 (H-4) δ 2.83 (H-2') และ δ 2.40 (H-4') ซึ่งให้เห็นว่าหมู่แทนที่เข้าแทนที่ที่ตำแหน่ง C-3

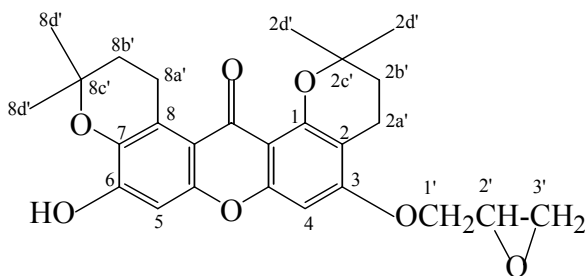
3.3.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 3,6-di-(2,3-epoxypropoxy)-di-[1,2-b], [7,8-a]-(3,3-dimethylpyrano) xanthen-9-one (GMB-5)



GMB-5

^1H NMR (รูปที่ 15) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.75 (s, 1H) และ 6.31 (s, 1H) สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.57 (t, J 7 Hz, 2H) 1.82 (t, J 7 Hz, 2H) 2.69 (t, J 7 Hz, 2H) และ 1.80 (t, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ปรากฏที่ δ 1.46 (s, 6H) และ 1.36 (s, 6H) เป็นสัญญาณ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบกับ ^1H NMR สเปกตรัมของสารนี้และ GMB-1 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณของหมู่ $\text{CH}_2\text{CHOCH}_2$ 2 หมู่ สัญญาณที่ δ 4.38 (dd, 1H) 4.08 (dd, 1H) เป็นสัญญาณของ H-1' ที่ δ 4.38 (dd, 1H) 4.01 (dd, 1H) เป็นสัญญาณของ H-1'' ที่ δ 3.42 (m, 2H) เป็นสัญญาณของ H-2' และ H-2'' ที่ δ 2.95 (m, 2H) และ 2.82 (m, 2H) เป็นสัญญาณของ H-3' และ H-3'' ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่า สารประกอบ GMB-5 มีโครงสร้างดังแสดง

3.3.4 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 3-hydroxy-3-(2,3-epoxypropoxy)-di-[1,2-b], [7,8-a]-(3,3-dimethylpyrano)xanthen-9-one (GMB-6)

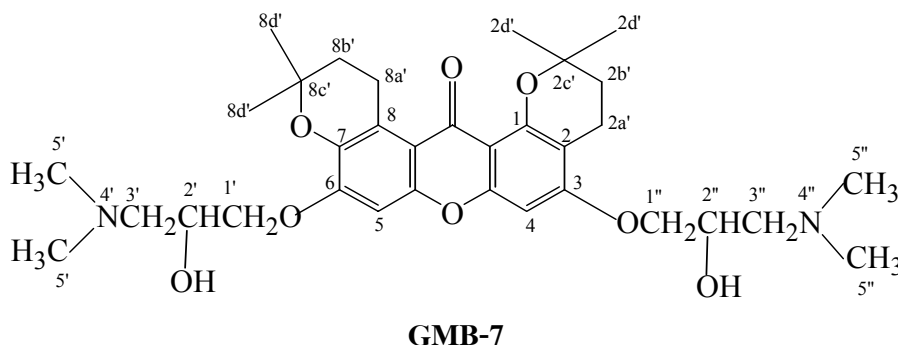


GMB-6

^1H NMR (รูปที่ 16) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.74 (s, 1H) และ 6.33 (s, 1H) สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.58 (t, J 7 Hz, 2H) 1.84 (t, J 7 Hz, 2H) 2.69 (t, J 7 Hz, 2H) และ 1.82 (t, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ที่ δ 1.45 (s, 6H) และ 1.35 (s, 6H) เป็นสัญญาณ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบกับ ^1H NMR สเปกตรัมของสารนี้และ GMB-1 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณโปรตอนของหมู่ $\text{CH}_2\text{CHOCH}_2$ 1 หมู่ สัญญาณที่ δ 4.36 (dd, 1H) 4.01 (dd, 1H) เป็นสัญญาณของ H-1' สัญญาณที่ δ 3.42 (m, 1H) เป็นสัญญาณของ H-2' และที่ δ 2.95 (t, 1H) 2.82 (dd, 1H) เป็นสัญญาณของ H-3' ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่าสารประกอบ GMB-6 มีโครงสร้างดังแสดง

ตำแหน่งของหมู่แทนที่ตรวจสอบจาก NOE (รูปที่ 17 และ 18) พบว่าเมื่อฉายรังสีที่ δ 4.36 (H-1') ทำให้ความเข้มของสัญญาณที่ δ 4.01 (H-1') δ 3.42 (H-2') และ δ 6.33 (H-4) เพิ่มขึ้น และเมื่อฉายรังสีที่ δ 4.01 (H-1') ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตอนที่ δ 6.33 (H-1') δ 4.36 (H-1') δ 3.42 (H-2') และ δ 2.82 (H-3') ซึ่งให้เห็นว่าหมู่แทนที่เข้าแทนที่ตำแหน่ง C-3

3.3.5 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 3,6-di-(2-hydroxy-3-*N,N*-dimethylaminopropoxy)-di-[1,2-b], [7,8-a]-(3,3-dimethylpyrano)xanthen-9-one (GMB-7)

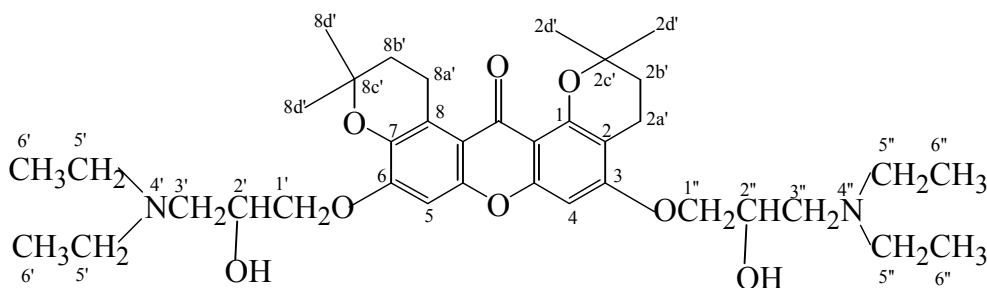


^1H NMR (รูปที่ 19) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.72 (s, 1H) และ 6.32 (s, 1H) สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.56 (t, J 7 Hz, 2H) 1.81 (t, J 7 Hz, 2H) 2.67 (t, J 7 Hz, 2H) และ 1.79 (t, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ปรากฏที่ δ 1.45 (s, 6H) และ 1.34 (s, 6H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบกับ ^1H NMR สเปกตรัมของสารนี้และ GMB-5 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณของหมู่ $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ปรากฏที่ δ 2.37 (s, 12H) ทำให้ทราบว่าวงแหวนอิมิดาโซลใน GMB-5 ถูกทำปฏิกิริยาแล้ว และหมู่แทนที่ใหม่คือ $\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ สัญญาณที่ δ 4.05-4.08 (m, 2H) เป็นสัญญาณของ H-1' และ H-1'' ที่ δ 4.18 (m, 1H) 4.13 (m, 1H) เป็นสัญญาณของ H-2' และ H-2'' ที่ δ 2.50 (dd, 2H) 2.61 (m, 2H) เป็นสัญญาณของ H-3' และ H-3'' ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่าสารประกอบ GMB-7 มีโครงสร้างดังแสดง

ตำแหน่งของหมู่แทนที่ตรวจสอบจาก NOE (รูปที่ 20 21 และ 22) พบว่าเมื่อฉายรังสีที่สัญญาณของ H-4 (δ 6.32) ทำให้ความเข้มของสัญญาณ methylene proton ที่ δ 4.05 (H-1', 1'') เพิ่มขึ้น ฉายรังสีที่สัญญาณของ H-5 (δ 6.72) ทำให้ความเข้มของสัญญาณ methylene proton ที่ δ 4.08 (H-1', 1'') และเมื่อฉายรังสีที่ δ 4.05 (H-1', 1'') ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ

โปรตอนที่มี δ 6.32 (H-4) δ 6.72 (H-5) และ δ 4.18 (H-2',2'') ซึ่งชี้ให้เห็นว่าหมู่แทนที่เข้าแทนที่ที่ตำแหน่ง C-3 และ C-6

3.3.6 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 3,6-di-(2-hydroxy-3-*N,N*-diethylaminoethoxy)-di-[1,2-b],[7,8-a]-(3,3-dimethylpyrano)xanthen-9-one (GMB-8)

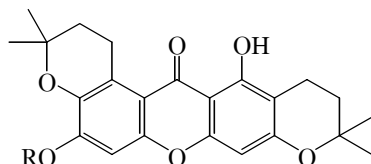


GMB-8

^1H NMR (รูปที่ 23) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่มี δ 6.72 (*s*, 1H) และ 6.34 (*s*, 1H) สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.56 (*t*, J 7 Hz, 2H) 1.82 (*t*, J 7 Hz, 2H) 2.68 (*t*, J 7 Hz, 2H) และ 1.81 (*t*, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ปรากฏที่ δ 1.45 (*s*, 6H) และ 1.34 (*s*, 6H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบ ^1H NMR สเปกตรัมของสารนี้และ GMB-5 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณของหมู่ $\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 2 หมู่ สัญญาณที่ δ 4.07 (*m*, 6H) เป็นสัญญาณของ H-1' H-1'' H-2' และ H-2'' ที่มี δ 2.68 (*m*, 12H) เป็นสัญญาณของ H-3' H-3'' H-5' และ H-5'' และที่มี δ 1.07 (*t*, 12H) เป็นสัญญาณของ H-6' และ H-6'' ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่าสารประกอบ GMB-8 มีโครงสร้างดังแสดง

3.4 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ GMB-2

อนุพันธ์ของ GMB-2 ที่สังเคราะห์ได้แก่ GMB-9 – GMB-13



GMB-2 : R = H

GMB-9 : R = CH₂CH₂N(CH₃)₂

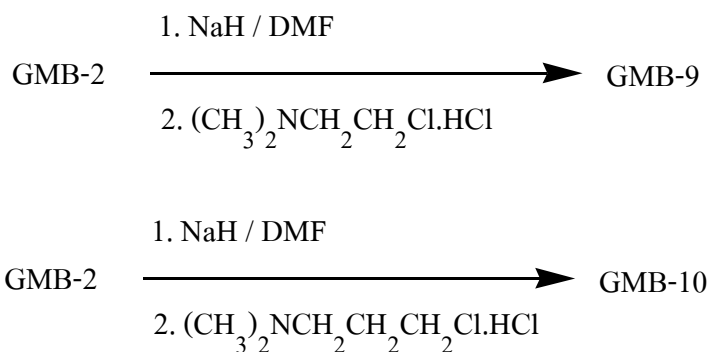
GMB-10: R = CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂

GMB-11: R = CH₂CH(O)₂CH₂

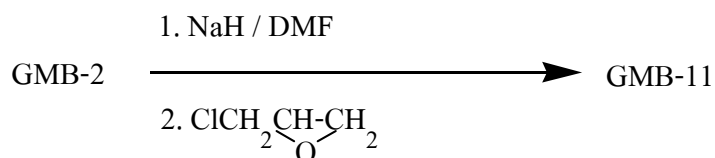
GMB-12: R = CH₂CH(OH)CH₂N(CH₃)₂

GMB-13: R = CH₂CH(OH)CH₂N(CH₂CH₃)₂

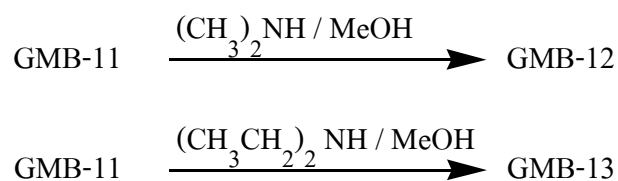
อนุพันธ์ GMB-9 และ GMB-10 สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาระหว่าง GMB-2 กับ *N,N*-dimethylaminoethylchloride hydrochloride และ *N,N*-dimethylaminopropylchloride hydrochloride โดยให้ GMB-2 ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮไดรด์เกิดเป็น phenoxide ion ซึ่งเป็นนิวคลีโอไฟล์ (nucleophile) เข้าแทนที่ chloride ใน *N,N*-dimethylaminoethylchloride และ *N,N*-dimethylaminopropylchloride ให้ GMB-9 และ GMB-10 ตามลำดับ



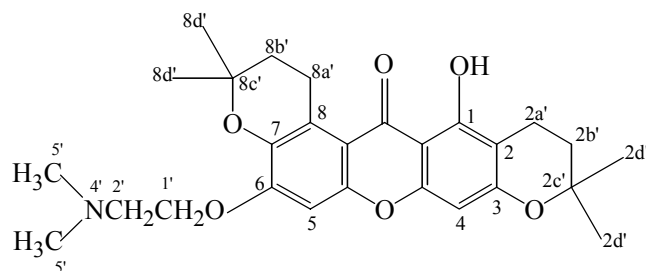
อนุพันธ์ GMB-11 สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาระหว่าง GMB-2 กับ epichlorohydrin โดยให้ GMB-2 ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮไดรด์เกิดเป็น phenoxide ion ซึ่งเป็นนิวคลีโอไฟล์ เข้าทำปฏิกิริยากับ epichlorohydrin ให้ GMB-11



อนุพันธ์ GMB-12 และ GMB-13 สังเคราะห์ได้จาก GMB-11 ซึ่งประกอบด้วยวงแหวนอิมิดาโซล เมื่อนำ GMB-11 ไปทำปฏิกิริยากับ dimethylamine และ diethylamine วงแหวนอิมิดาโซลจะเปิดออกแล้วให้อะมิโนแอลกอฮอล์ GMB-12 และ GMB-13 ตามลำดับ



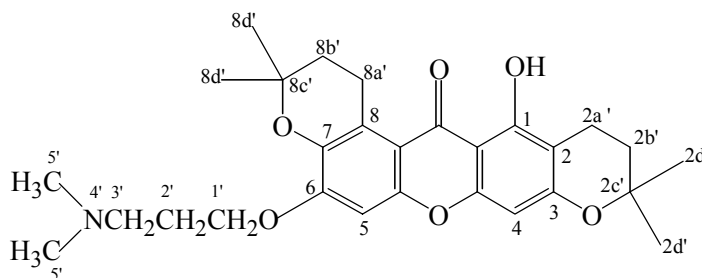
3.4.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 1-hydroxy-6-(*N,N*-dimethylaminoethoxy)-di-[2,3-*b*], [7,8-*a*]-(*3,3*-dimethylpyrano)xanthen-9-one (GMB-9)



GMB-9

^1H NMR (รูปที่ 24) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.74 (*s*, 1H) และ 6.24 (*s*, 1H) สัญญาณของ hydroxy proton 1-OH ที่ δ 13.79 (*s*, 1H) ซึ่งเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.50 (*t*, J 7 Hz, 2H) 1.84 (*t*, J 7 Hz, 2H) 2.72 (*t*, J 7 Hz, 2H) และ 1.82 (*t*, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ที่ δ 1.37 (*s*, 12H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบ ^1H NMR สเปกตรัมของสารนี้และ GMB-2 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณของหมู่ $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 1 หมู่ สัญญาณที่ δ 4.19 (*t*, J 6.5 Hz, 2H) 2.85 (*t*, J 6.5 Hz, 2H) และ 2.38 (*s*, 6H) ซึ่งเป็นสัญญาณของ H-1' H-2' และ 4' ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่าสารประกอบ GMB-9 มีโครงสร้างดังแสดง

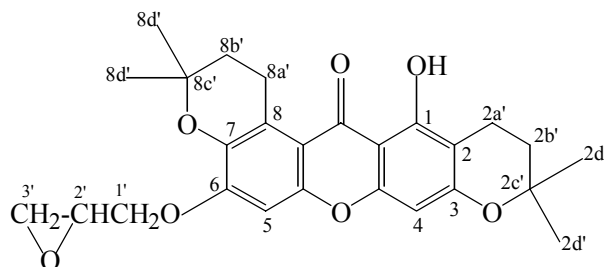
3.4.2 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 1-hydroxy-6-(*N,N*-dimethylaminopropoxy)-di-[2,3-b],[7,8-a]-(3,3-dimethylpyrano)xanthen-9-one (GMB-10)



GMB-10

^1H NMR (รูปที่ 25) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.75 (s, 1H) และ 6.24 (s, 1H) สัญญาณของ hydroxy proton 1-OH ที่ δ 13.83 (s, 1H) ซึ่งเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.50 (t, J 7 Hz, 2H) 1.84 (t, J 7 Hz, 2H) 2.72 (t, J 7 Hz, 2H) และ 1.82 (t, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ที่ δ 1.37 (s, 12H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบ ^1H NMR สเปกตรัมของสารนี้และ GMB-2 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณของหมู่ $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 1 หมู่ สัญญาณที่ δ 4.15 (t, J 6.5 Hz, 2H) 2.07 (qn, J 6.5 Hz, 2H) 2.50 (t, J 7 Hz, 2H) และ 2.28 (s, 6H) ซึ่งเป็นสัญญาณของ H-1' H-2' H-3' และ H-5' ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบที่ทราบที่สารประกอบ GMB-10 มีโครงสร้างดังแสดง

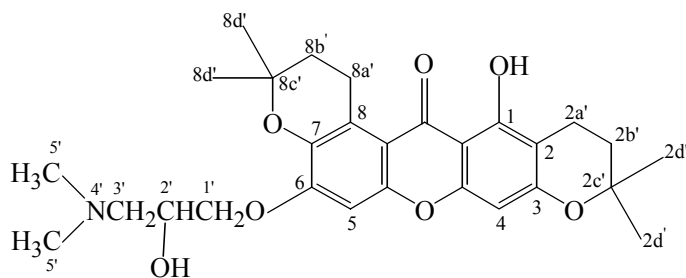
3.4.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 1-hydroxy-6-(2,3-epoxypropoxy)-di-[2,3-b], [7,8-a]-(3,3-dimethylpyrano) xanthen-9-one (GMB-11)



GMB-11

^1H NMR (รูปที่ 26) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.79 (s, 1H) และ 6.24 (s, 1H) สัญญาณของ hydroxy proton 1-OH ที่ δ 13.76 (s, 1H) ซึ่งเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.51 (t, J 7 Hz, 2H) 1.85 (t, J 7 Hz, 2H) 2.71 (t, J 7 Hz, 2H) และ 1.83 (t, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ที่ δ 1.37 (s, 12H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบ ^1H NMR สเปกตรัมของสารนี้และ GMB-2 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณของหมู่ $\text{CH}_2\text{CHOCH}_2$ 1 หมู่ สัญญาณที่ δ 4.40 (dd, 1H) และ 4.08 (dd, 1H) เป็นสัญญาณของ H-1' ที่ δ 3.45 (m, 1H) เป็นสัญญาณของ H-2' ที่ δ 4.15 และที่ δ 2.95 (dd, 1H) 2.83 (dd, 1H) เป็นสัญญาณของ H-3' ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่าสารประกอบ GMB-11 มีโครงสร้างดังแสดง

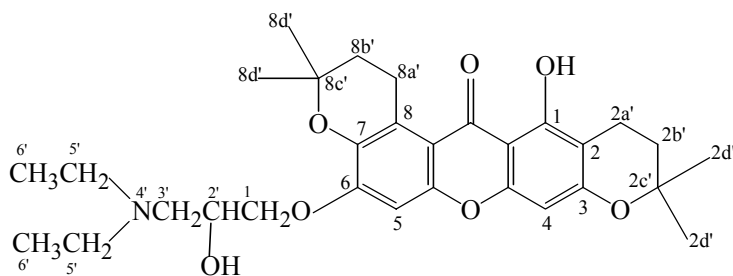
3.4.4 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 1-hydroxy-6-(2-hydroxy-3-*N,N*-dimethylaminopropoxy)-di-[2,3-*b*],[7,8-*a*]-[3,3-dimethylpyrano]xanthen-9-one (GMB-12)



GMB-12

^1H NMR (รูปที่ 27) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.78 (*s*, 1H) และ 6.24 (*s*, 1H) สัญญาณของ hydroxy proton 1-OH ที่ δ 13.77 (*s*, 1H) ซึ่งเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.50 (*t*, J 7 Hz, 2H) 1.84 (*t*, J 7 Hz, 2H) 2.71 (*t*, J 7 Hz, 2H) และ 1.82 (*t*, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ที่ δ 1.37 (*s*, 12H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบ ^1H NMR สเปกตรัมของสารนี้และ GMB-11 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณของหมู่ $\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 1 หมู่ สัญญาณที่ δ 4.10 (*m*, 2H) เป็นสัญญาณของ H-1' ที่ δ 4.19 (*m*, 2H) เป็นสัญญาณของ H-2' ที่ δ 2.59 (*dd*, 1H) 2.46 (*dd*, 1H) เป็นสัญญาณของ H-3' และที่ δ 2.35 (*s*, 6H) เป็นสัญญาณของ H-5' ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบที่สารประกอบ GMB-12 มีโครงสร้างดังแสดง

3.4.5 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของ 1-hydroxy-6-(2-hydroxy-3-*N,N*-diethylaminoethoxy)-di-[2,3-*b*],[7,8-*a*]-[3,3-dimethylpyrano]xanthen-9-one (GMB-13)

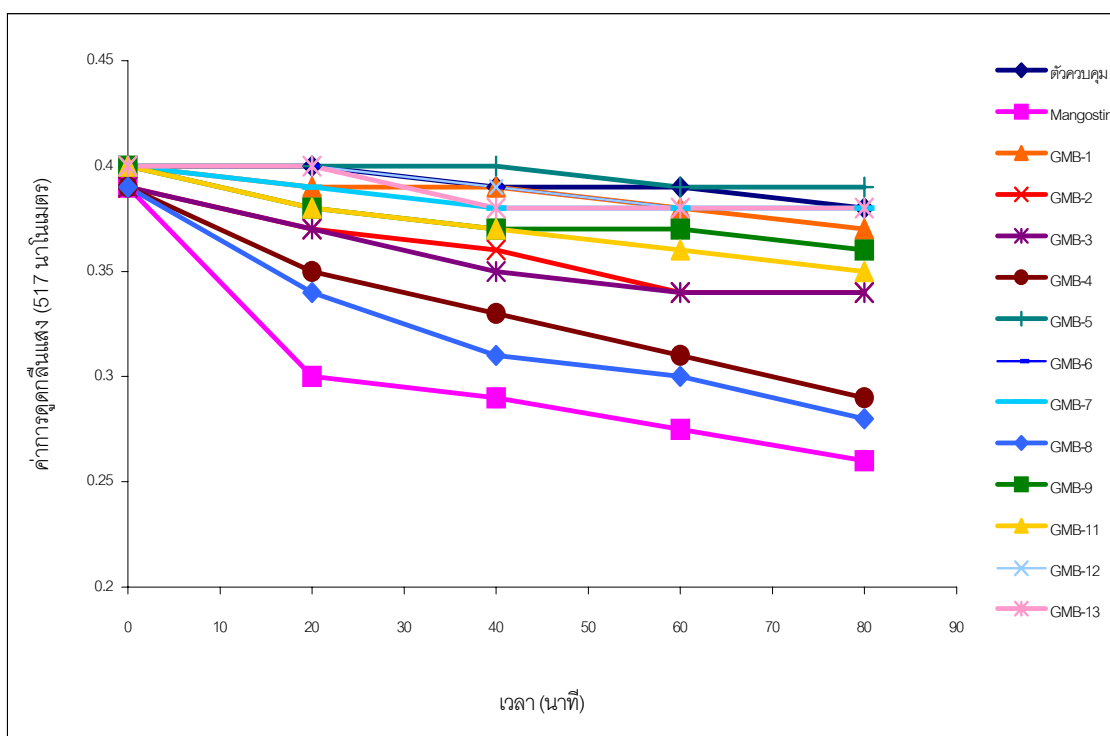


GMB-13

^1H NMR (รูปที่ 28) แสดงสัญญาณ aromatic proton H-5 และ H-4 ที่ δ 6.78 (s, 1H) และ 6.24 (s, 1H) สัญญาณของ hydroxy proton 1-OH ที่ δ 13.79 (s, 1H) ซึ่งเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methylene proton (CH_2) 4 หมู่ ซึ่งเป็นของ 8a' 8b' 2a' และ 2b' ปรากฏที่ δ 3.50 (t, J 7 Hz, 2H) 1.84 (t, J 7 Hz, 2H) 2.66 (t, J 7 Hz, 2H) และ 1.84 (t, J 7 Hz, 2H) ตามลำดับ สัญญาณของ methylene proton 8a' ปรากฏที่สนามต่ำสุด แสดงว่าโปรตอนนี้อยู่ใกล้กับหมู่คาร์บอนิล สัญญาณ methyl proton (CH_3) 4 หมู่ ที่ δ 1.37 (s, 12H) เป็นสัญญาณของ methyl proton ของวง 2,2-dimethylchromane 2 วง เมื่อเปรียบเทียบ ^1H NMR สเปกตรัมของสารนี้ GMB-11 ซึ่งเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีสัญญาณของ $\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 1 หมู่ สัญญาณที่ δ 4.11 (m, 3H) เป็นสัญญาณของ H-1' และ H-2' ที่ δ 2.66 (m, 6H) เป็นสัญญาณของ H-3' และ H-5' และที่ δ 1.07 (t, 6H) เป็นสัญญาณของ H-6' ข้อมูลเหล่านี้ทำให้ทราบว่าสารประกอบ GMB-13 มีโครงสร้างดังแสดง

3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วย DPPH

การทดสอบศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตัวอย่างในการวิจัยนี้ทดสอบด้วยอนุมูลอิสระ DPPH สารตัวอย่างที่สามารถให้อนุมูลอิสระไฮโดรเจน (H^{\bullet}) ได้ดี จะมีศักยภาพในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ติดตามผลการทดลองโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ในสารละลายที่มีสารตัวอย่างเทียบกับสารละลาย DPPH ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจะลดลงเมื่อ DPPH จับอนุมูลไฮโดรเจนและเปลี่ยนเป็น DPPH:H



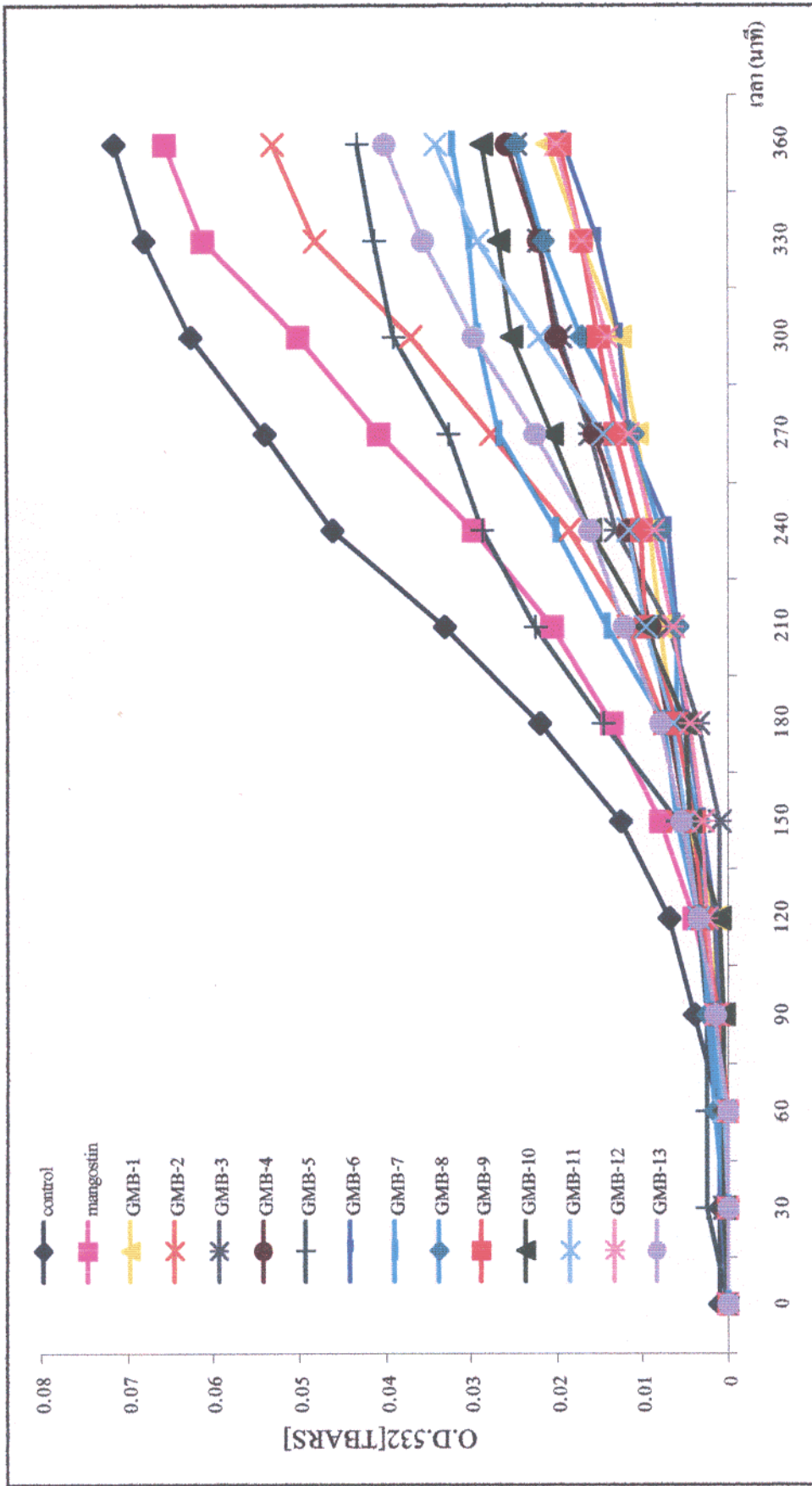
รูปที่ 4 ค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์

จากการศึกษาโดยทดสอบการดักจับอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ให้ผลในการดักจับอนุมูลอิสระน้อยมากจึงทำการศึกษาโดยทดสอบการดักจับอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่มีสาร

ตัวอย่าง และชุดการทดลองที่มีสารแมงโกสทิน ติดตามผลการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทุก ๆ 20 นาที เป็นเวลา 80 นาที พบว่าสารละลายผสม DPPH กับแมงโกสทิน มีการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงลดลงตามระยะเวลาและมีค่าการดูดกลืนแสงลดลงได้มากกว่าอนุพันธ์อื่น ๆ (รูปที่ 4) แสดงว่าอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้มีฤทธิ์ในการดักจับอนุมูลอิสระได้น้อยกว่าแมงโกสทิน ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างที่เป็นวงแหวนจะลดประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้การทดสอบพบว่าสาร GMB-4 และ GMB-8 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ GMB-1 ดักจับอนุมูลอิสระได้ดีกว่า GMB-1 แสดงว่าหมู่แทนที่ $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ และ $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ มีส่วนช่วยเพิ่มความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ

3.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ด้วยวิธี TBARS

นอกจากการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการทดสอบด้วย DPPH แล้วในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี TBARS เพิ่มเติมเพื่อดูประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดกับ LDL โดยมี Fe^{2+} เป็นอินินิทีเอเตอร์ (initiator) เมื่อเปรียบเทียบผลการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของชุดการทดลองที่ไม่มีสารตัวอย่าง ชุดการทดลองที่มีแมงโกสทิน และชุดการทดลองที่มีอนุพันธ์ต่าง ๆ พบว่าชุดการทดลองที่ไม่มีสารตัวอย่าง จะให้ค่าออปติคัลเดนซิตี (optical density) เพิ่มขึ้นตามระยะเวลา ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์อัลดีไฮด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ส่วนชุดการทดลองที่มีสารตัวอย่างจะให้ค่าออปติคัลเดนซิตีที่ต่ำกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีสารตัวอย่างซึ่งหมายถึงปริมาณผลิตภัณฑ์อัลดีไฮด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันมีน้อยกว่า ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าสารตัวอย่างทุกสารสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ได้ จึงเป็นข้อมูลว่า โครงสร้างที่เป็นวงแหวนและหมู่อะมิโนจะช่วยให้ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตัวอย่างอาจเกิดจากสารตัวอย่างสามารถจับไอออน Fe^{2+} ไว้ทำให้ Fe^{2+} ซึ่งเป็นอินินิทีเอเตอร์ของปฏิกิริยามีปริมาณน้อยลงทำให้การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลงด้วย



รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ TBARS