รายงานผลงานวิจัย

เรื่อง

การสังเคราะห์สารประกอบอะไกลโคนของไกลโคซินนาโมอิล สเปอร์มิดีน LL-BM123

SYNTHESIS OF THE AGLYCONE OF GLYCOCINNAMOYL SPERMIDINES LL-BM123

สมบ
เลขหมู่ QD393.P64 ก63 2533 ฉ.1
เลขทะเบียน 018384
13 ส.ค. 2536

ก้าน จันทร์พรหมมา

อดุลย์ เที่ยงจรรยา

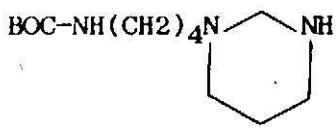
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

มกราคม 2533

บทคัดย่อ

สารประกอบ N^8-(tert-butoxycarbonyl) hexahydropyrimidine (20) ได้ถูกสังเคราะห์ขึ้นในผลผลิตที่สูง แล้วนำไปใช้ในการเตรียมสารประกอบอะไกลโคนของไกลโคซิน-นาโมอิล สเปอร์มิดีน LL-BM123 (32a),(32b) และ (32c)

A high yield synthesis of N^8 -(tert-butoxycarbonyl) hexahydropyrimidine (20) and its use as a reagent in the preparation of the aglycone of glycocinnamoyl spermidines (32a), (32b) and (32c)



(20)

$H_2N(CH2)_4NH(CH_2)_3NH-R$

(32a) ; R = cinnamoyl

(32b) ; R = p-methoxycinnamoyl

(32c) ; R = 3,4-methylenedioxy-cinnamoyl

สารบัญ

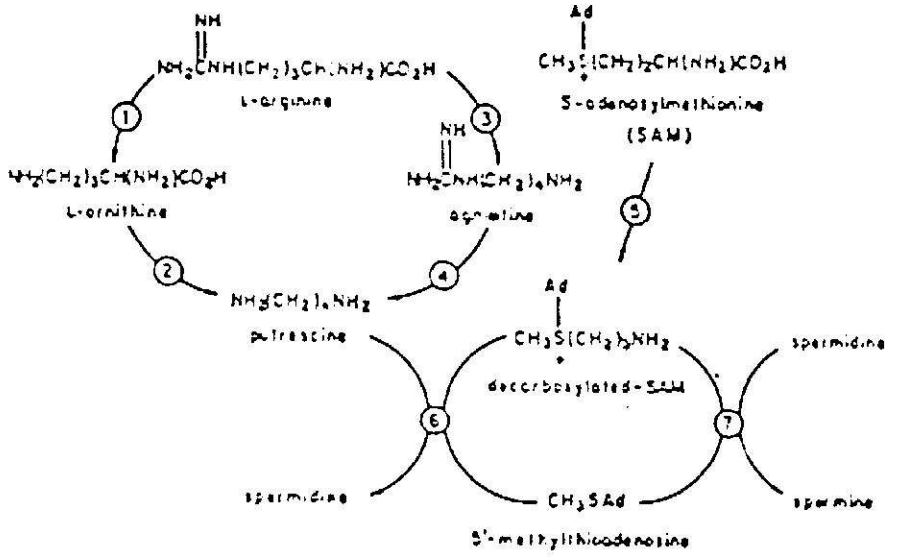
	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	2
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	2
บทนำ	4
วัตถุประสงค์	8
ผลและบทวิจารณ์	8
สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	17
การทดลอง	18
เอกสารอ้างอิง	34

บทนำ

สารประกอบโพลีเอมีน (polyamines) ได้รับความสนใจกันมาเป็นเวลานาน ในปี ค.ศ.1677 Anton Von Leeuwenhock[1] เป็นคนแรกที่พบ spermatozoa ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ โดยพบอยู่ในรูปเกลือของโพลีเอมีน คือ spermine phosphate จากนั้นหลังสงครามโลกครั้งที่ 1 Rosenheim [2,3] และ Wrede [4] ได้พบสารประกอบโพลีเอมีนพวก putrescine (1), cadaverine (2) , spermidine (3) และ spermine (4) สารประกอบโพลีเอมีนเหล่านี้พบอยู่ทั่วไปทั้งในพืช สัตว์ และพวกจุลินทรีย์ (microorganism) ทั้งหลาย [5,6]

$NH_2(CH_2)_4NH_2$	putrescine (1)
$NH_2(CH_2)_6NH_2$	cadaverine (2)
$NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH_2$	spermidine (3)
$NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH_2$	spermine (4)

อย่างไรก็ตาม pathways ทาง biosynthesis [1] ของสารประกอบพวกโพลีเอมีนไม่ได้พบเฉพาะในสัตว์ พืช และ พวกจุลินทรีย์ เท่านั้น แต่สามารถที่จะพบได้ทั้งในเซลของสัตว์มีชีวิตชั้นสูง (eukaryotic cell) และ เซลของสัตว์มีชีวิตชั้นต่ำ (prokaryotic cells) ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าสนใจมากที่พบสารประกอบพวกโพลีเอมีนอย่างกว้างขวางในธรรมชาติ นอกจากนี้ TaborsและRosenthal[7,8] ยังพบว่าeukaryoticและ prokaryotic cell จะทำหน้าที่สังเคราะห์สารประกอบโพลีเอมีนพวก putrescine (1) spermidine (3) และ spermine (4) โดย eukaryotic cell ทำหน้าที่สังเคราะห์ spermine (4) ส่วน prokaryotic cell จะทำหน้าที่สังเคราะห์ putrescine (1) spermidine (3) นอกจากนี้ยังพบว่า pathway ทาง biosynthesis ของโพลีเอมีนยังเกี่ยวข้องกับกรดอะมิโน คือ L-ornithine และ S-adenosyl methonine (Scheme 1)



Scheme 1 แสดง biosynthesis pathways ของสารประกอบโพลีเอมีน

ได้มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างผลทางชีวเคมีกับสารประกอบโพลีเอมีนจำนวนมาก [5,6] โดยเฉพาะเกี่ยวกับสารประกอบ putrescine (1) , cadaverine (2) , spermidine (3) และ spermine (4) อย่างไรก็ตามรายงานที่น่าสนใจเป็นพิเศษก็คือ ความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปรกติของร่างกายกับความเข้มข้นของสารประกอบโพลีเอมีน Russell [9] รายงานไว้ว่าปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบโพลีเอมีนในปัสสาวะจะเพิ่มขึ้นถึง 50 เท่า เมื่อพบอาการเนื้องอกหรือโลหิตจางในร่างกายของคน และเมื่อได้ผ่าตัดเอาเนื้องอกออกไปแล้ว ปริมาณของโพลีเอมีนจะลดลงใกล้เคียงกับระดับปรกติ ดังนั้นในเวลาต่อมา Bachrach ได้ชี้ให้เห็นว่าการค้นพบเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของโรคกับสารประกอบโพลีเอมีนอาจนำไปสู่ความรู้เบื้องต้นในการทดลองร่างกายของคนที่มีอาการเป็นเนื้องอก

ตั้งแต่ปี ค.ศ.1970 เป็นต้นมา มีรายงานและการวิจัยเกี่ยวกับสารประกอบโพลีเอมีนอย่างแพร่หลาย โดยพบว่าสารประกอบเอมีนนอกจากจะอยู่ในรูป free aliphatic base แล้ว ยังอาจเกิดในรูปอนุพันธ์ของ sugar [10], steroid [11], phospholipid [12] และ peptide [13] เช่น สารประกอบของ LL-BM123 β (5) LL-BM123 γ_1 (6) และ LL-BM123 γ_2 (7) ที่สกัดได้จาก unidentified species ของ *Nocadia* ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ (antibiotic) โดยเฉพาะสารประกอบ LL-BM123 γ_1 (6) และ LL-BM123 γ_2 พบว่าน่าสนใจมาก ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบทั้งสองมีสมบัติในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Gram-negative และสามารถต่อต้านการติดเชื้อ (inflection) ด้วย

นอกจากนี้สารประกอบ spermidine (3) และ spermine (4) ยังเป็นโครงสร้างหลักของสารประกอบพวกอัลคาลอยด์เป็นจำนวนมาก สารประกอบอนุพันธ์โพลีเอมีนที่พบในธรรมชาติบางตัวจะมีผลทางชีวเคมีและทางด้านเภสัชวิทยา เช่น เป็นสารปฏิชีวนะ [10,14,15] เป็นสารต่อต้านไวรัส (antivirial) [14] เป็นสารต่อต้านเนื้องอก (tumor-inhibitory) [16] และเป็นสารต่อต้านความดันต่ำ (antihypertensive) [17,18] เป็นต้น

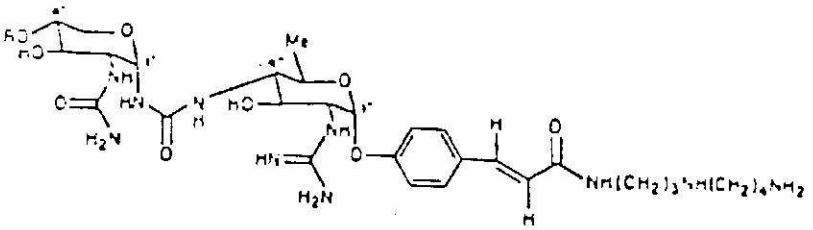
อนุพันธ์โพลีเอมีนที่พบในธรรมชาติตัวอื่น ๆ ที่สำคัญได้แก่ p;eurostyline (8) [19], cyclocelabensine (9)[20], oncinotine (10) [21], codonocarpine (11) [22], cytotoxic spermidine (12)[22], homoline (13)[17] และ ephedraline A (14)[24]

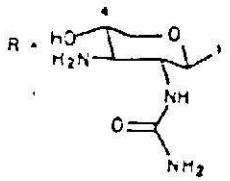
สารประกอบโพลีเอมีนบางพวกที่พบในเนื้อเยื่อสัตว์ [25] เช่น polyamino acid hypusine (15) ใน lymphocytes [26] (เม็ดขาวชนิดหนึ่ง) ของมนุษย์ และพบ *thermospermine* (16) กับ thermine (17) ในแบคทีเรีย *thermus thermophirus* [27,28]

$NH_2(CH_2)_2CH(OH)CH_2NH(CH_2)_4CH(NH_2)CO_2H$ (15)

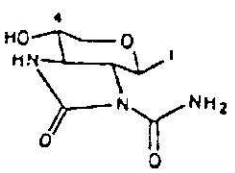
$NH_2(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH(CH_2)_3NH_2$ (16)

$NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_3NH(CH_2)_3NH_2$ (17)

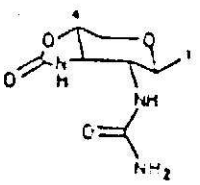




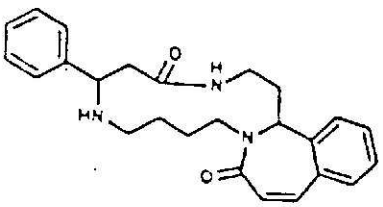
(5)



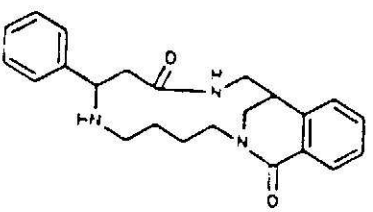
(6)



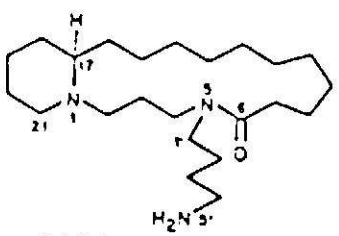
(7)



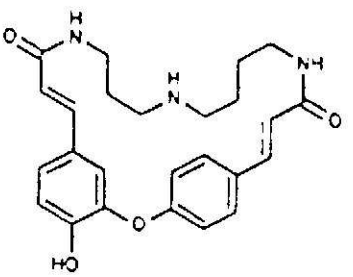
(8)



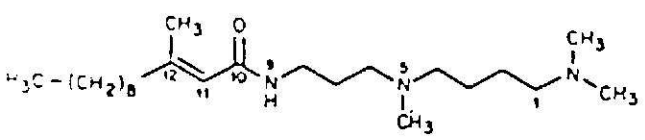
(9)



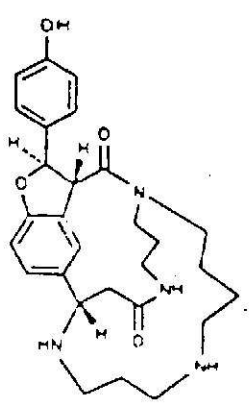
(10)



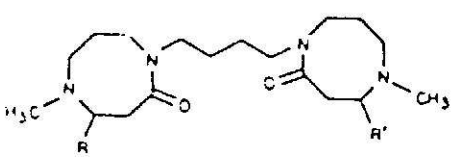
(11)



(12)



(14)



(13)

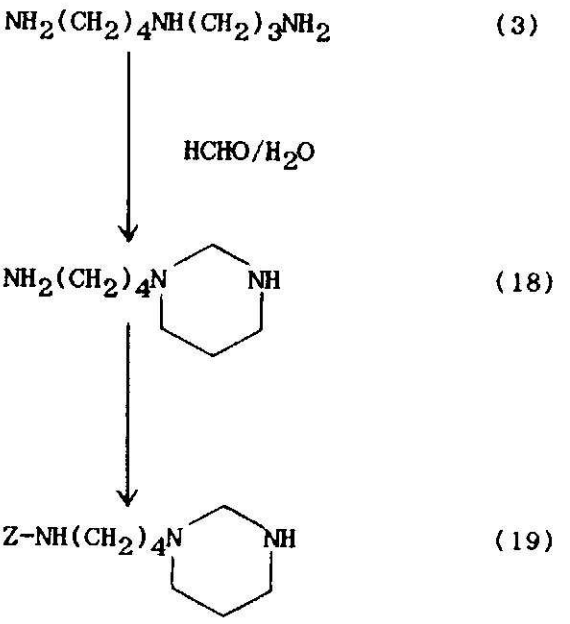
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อหาแนวทางในการสังเคราะห์สารประกอบอะไกลโคนของซินนาโมอิล สเปอร์มิดีน LL-BM123 ให้ได้เปอร์เซ็นต์สูง

ผลและบทวิจารณ์

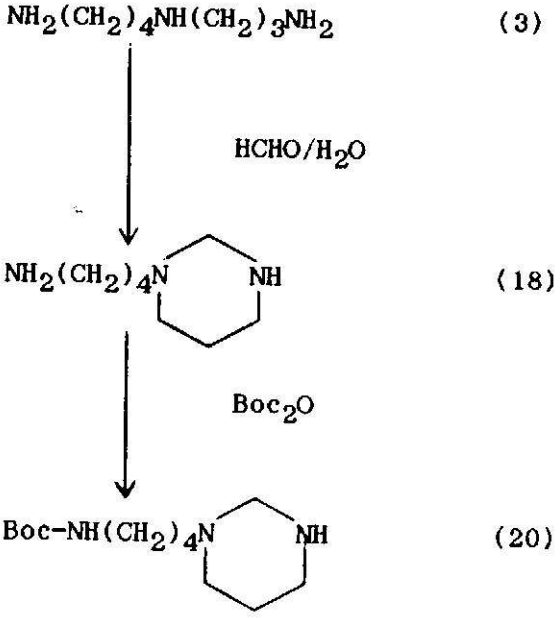
1. การสังเคราะห์สารประกอบ N^8 -(tert-butoxycarbonyl) hexahydropyrimidine (20)

จากโครงสร้างของสารประกอบอนุพันธ์โพลีเอมีนที่เกิดขึ้นในธรรมชาติโดยมี spermidine เป็นโครงสร้างหลัก จะเห็นได้ว่าสารประกอบแต่ละชนิดจะแตกต่างกันในส่วนของการจัดเรียงตัวของหมู่แทนที่ต่าง ๆ บนตำแหน่งของไนโตรเจนที่ตำแหน่งต่าง ๆ กัน ดังนั้นหากเราสามารถที่จะเติมหมู่แทนที่ในตำแหน่ง N^1 N^4 และ N^8 ของสารประกอบ spermidine (3) ได้ตามต้องการแล้ว ก็จะสามารถสังเคราะห์สารประกอบอัลคาลอยด์ที่มีโครงสร้างเหมือนกับสารประกอบที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติได้เป็นจำนวนมาก ดังนั้นในการทำวิจัยนี้จะเริ่มต้นจากสารประกอบ spermidine (3) นำมาทำให้อยู่ในรูป protected spermidine (18) ซึ่งจะเป็นการ protect nitrogen ที่ตำแหน่ง N^4 จึงเหลือเพียง N^1 และ N^8 ที่เป็นเอมีนอิสระ ในขั้นตอนต่อไปเราจำเป็นที่จะต้องทำการ protect ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งของ N^1 และ N^8 เมื่อพิจารณาความเป็นเบสของ N^1 และ N^8 แล้ว ตำแหน่ง N^8 เป็น primary amine ซึ่งมีความเป็นเบสสูงกว่าที่ตำแหน่ง N^1 ซึ่งเป็น secondary amine จากความแตกต่างในข้อนี้มีความเป็นไปได้ที่เราจะสามารถทำการ protect ตำแหน่ง N^8 ของ protect spermidine (18) ได้โดยจะเหลือN^4เป็นอิสระซึ่งสามารถที่จะเกิดปฏิกิริยา acylation กับ acylating อื่น ๆ ได้ จากแนวความคิดแบบนี้ ในขั้นแรกต้องทำการสังเคราะห์สารประกอบ (19) ดังแสดง

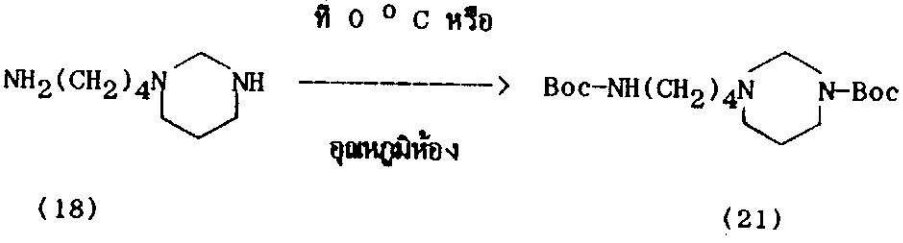


โดยที่ Z จะต้องเป็น protecting group ที่สามารถใส่เข้าและเอาออกได้ง่าย และได้ผลผลิตที่สูง นอกจากนี้ Z จะต้องไม่ได้รับผลและมีผลกระทบต่อปฏิกิริยาอื่น ๆ ที่ใช้ในการสังเคราะห์ คือ มีความเสถียรสูง ดังนั้นในขั้นตอนนี้เราจึงต้องหาหมู่ Z ที่เหมาะสมมาเป็น protecting group

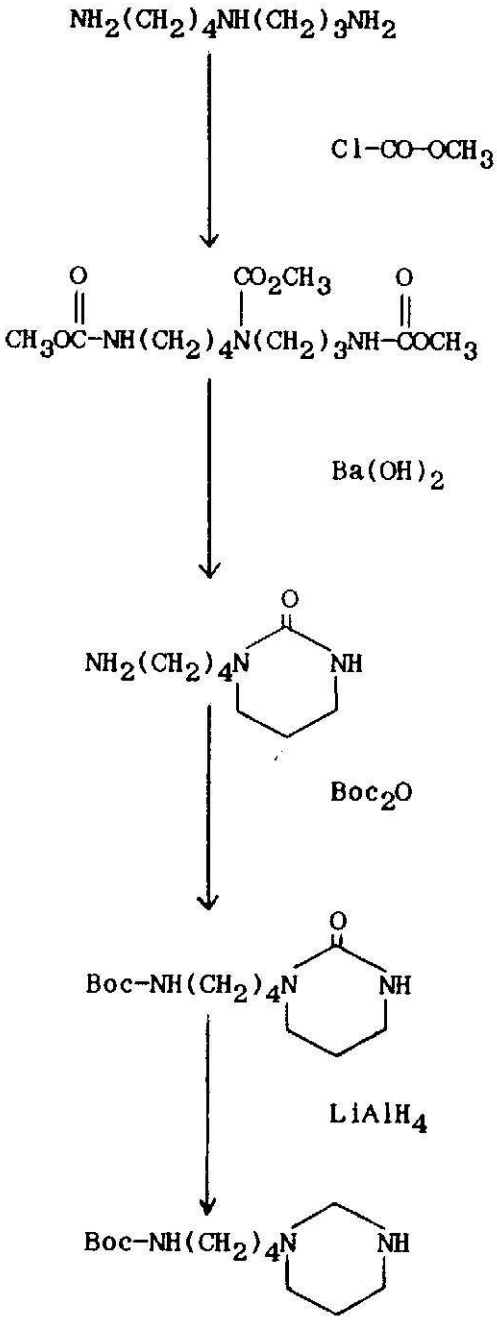
จากการศึกษารายงานการสังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์โพลีเอมีนต่าง ๆ พบว่า protecting group ชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กันมากในการ protect หมู่ amino คือ tert-butoxycarbonyl (Boc) ซึ่งหมู่ Boc นี้มีความเสถียรที่สูงและการเติมหรือการนำออกสามารถกระทำได้โดยง่ายและได้ผลผลิตที่สูง เมื่อมาพิจารณา reagent ที่จะเป็นตัว generate หมู่ Boc จากรายงานฉบับหนึ่งพบว่าใช้ di-tert-butoxy-dicarbonate เป็น (Boc_2O) reagent สำหรับการ generate หมู่ Boc ดังนั้นจึงเริ่มทำการทดลองเติม Boc_2O ลงไปใน protected spermidine (18) โดยพยายามควบคุมให้หมู่ Boc เข้าเฉพาะตำแหน่ง N^8 เท่านั้น และไม่เข้าที่ตำแหน่ง N^1 หรือเกิดขึ้นน้อยมาก



จากการทำการทดลองพบว่า ไม่ว่าจะใช้เงื่อนไขของปฏิกิริยาอย่างไรก็ตามที่ 0 ° C หรือที่อุณหภูมิห้อง จะได้ผลผลิตเป็น diprotect (21) เสมอ และมีผลผลิตของสารประกอบ (20) เกิดขึ้นน้อยมาก

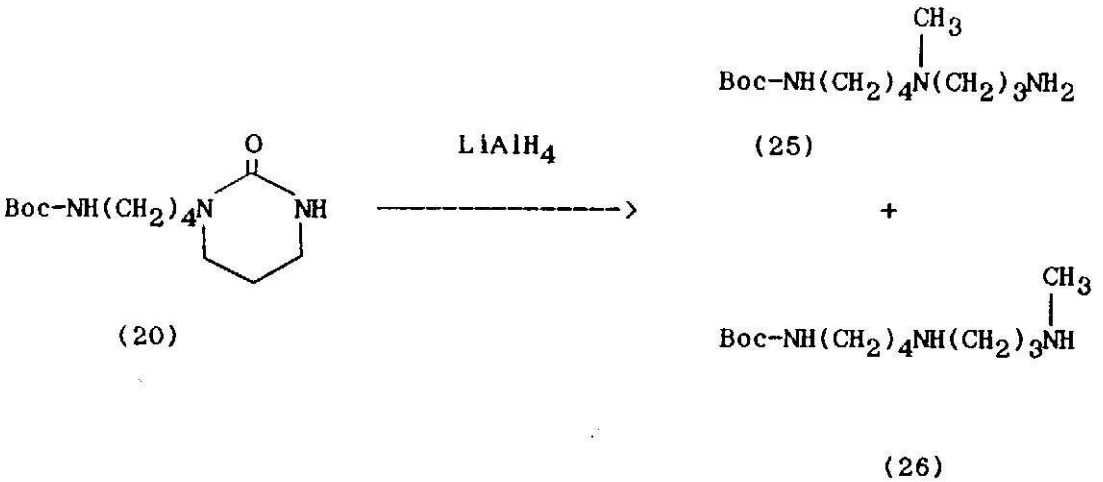


ดังนั้นจึงเปลี่ยนแนวทางในการสังเคราะห์ใหม่ โดยเริ่มต้นจากสารประกอบ spermidine (3) เช่นกัน ดังแสดง



ทั้งนี้เพื่อต้องการสร้างสารประกอบ (23) ซึ่งเมื่อพิจารณาโครงสร้างแล้วจะพบว่าความเป็นเบสของ N^1 และ N^8 แตกต่างกันมาก เพราะที่ตำแหน่ง N^1 เป็นเอมีนอิสระ ส่วนที่ตำแหน่ง N^8 อยู่ในรูปของเอไมด์ (amide) ดังนั้นเมื่อให้สารประกอบ (23) ทำปฏิกิริยากับ Boc_2O จะได้สารประกอบ (24) ในปริมาณสูง (82 %) โดยที่ไม่มีสารประกอบ N^1,N^8-di-(tert-butoxycarbonyl)-2-oxohexahydropyrimidine เกิดขึ้นเลย

อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่า ในขั้นตอนของการรีดิวส์หมู่ carbonyl ของเอไมด์ในสารประกอบ (24) ให้เปลี่ยนไปเป็นหมู่ methylene นั้นทำได้ยากมาก เนื่องจาก $LiAlH_4$ เป็น reducing agent ที่รุนแรง ทำให้เกิด over reduction คือ ปฏิกิริยาจะไม่สิ้นสุดที่การได้ methylene แต่จะเกิดปฏิกิริยา reduction ต่อไปทำให้เกิดการแตกของ hexahydropyrimidine ring ได้ผลผลิตเป็น (25) และ (26) แทน ดังปฏิกิริยา

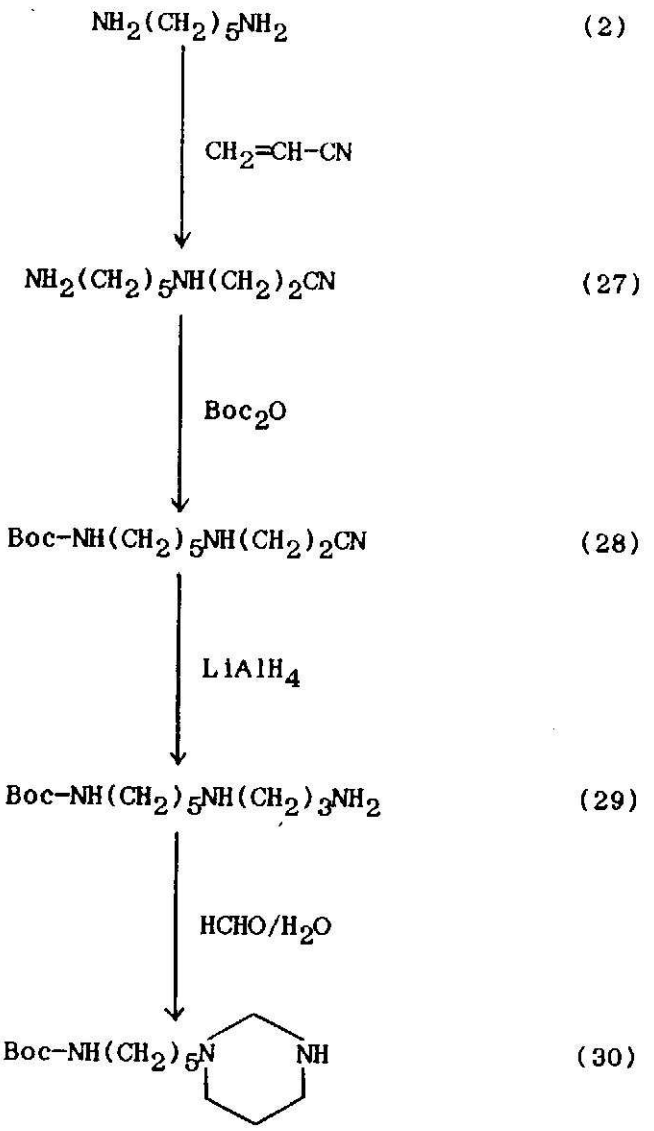


(20)

(26)

เมื่อทำการทดลองใหม่โดยใช้ $NaBH_4$ แทน $LiAlH_4$ ซึ่งเป็น reducing agent ที่รุนแรงน้อยกว่า พบว่าใช้ $NaBH_4$ จะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคือไม่สามารถรีดิวส์หมู่ carbonyl ของเอไมด์ในสารประกอบ (24) ได้ แม้ว่าจะใช้ถึง 10 เท่าก็ตาม

แนวทางในการสังเคราะห์อีกวิธีหนึ่งที่เป็นไปได้ โดยเริ่มต้นจาก 1,5-diaminopropane (Cadaverine) (2) ดังแสดง



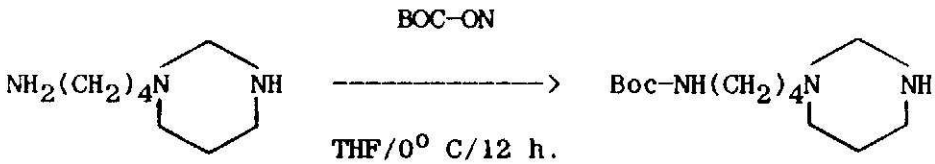
จากการทดลองพบว่า ในขั้นตอนของการทำ selective โดยการเติมหมู่ Boc เข้าในตำแหน่ง primary amine ของสารประกอบ (27) แล้วได้ผลผลิตเป็น (28) นั้นมี selectivity ค่อนข้างต่ำคือได้ประมาณ 45 % การทดสอบว่าหมู่ Boc เข้าที่ตำแหน่ง primary amine เพียงตำแหน่งเดียวโดยการนำสารประกอบ (28)มาทำปฏิกิริยา acylation กับ benzoyl chloride แล้วได้ผลผลิตเป็น N^1-(tert-butoxycarbonyl)-N^5-benzoyl-N^5-(2-cyanoethyl)-1,5-diaminopentane (31) ดังสมการ

และในขั้นตอนของการ protect ตำแหน่งของ nitrogen ที่ N^1 และ N^5 ในสารประกอบ (29) ให้อยู่ในรูปของ hexahydropyrimidine (30) โดยใช้สารละลาย formaldehyde นั้นมีปัญหาในการละลายของสารประกอบ (29) กล่าวคือ ปฏิกิริยานี้ต้องใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย แต่สารประกอบ (29) ละลายได้น้อยมาก ซึ่งแก้ปัญหาโดยการใช้สารละลายผสมของ H_2O : CH_3OH (1:1) เป็นตัวทำละลาย แต่ผลสุดท้ายแล้วจะได้ผลผลิต (30) ในปริมาณที่ต่ำมาก (ประมาณ 30 %)

จากการทดลองต่าง ๆ เพื่อหาแนวทางการสังเคราะห์ mono-Boc-protect ของ protect spermidine (20) นั้นจะเห็นได้ว่าเราไม่สามารถที่จะใช้ Boc_2O เป็น protecting group เพื่อให้ได้ผลผลิตตามต้องการ

จากการรายงานการสังเคราะห์สารประกอบอนุพันธ์ของโพลีเอมีนนั้นพบว่า นอกจาก Boc_2O ยังมี reagent อีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการ generate หมู่ Boc สำหรับการ protect หมู่ amino คือ 2-(tert-butoxycarbonyloxyimino)-2-phenylacetonitrile (BOC-ON)นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้สารประกอบ BOC-ON นี้ในการทำปฏิกิริยา selective โดยควบคุมให้หมู่ Boc เข้าทำปฏิกิริยาเฉพาะตำแหน่ง primary amine เท่านั้นและไม่เข้าที่ secondary amine โดยได้อธิบายไว้ว่า BOC-ON เป็น reagent ที่มี selectivity สูง คือ ในที่อุณหภูมิ 0^o C BOC-ON จะเลือกเข้าทำปฏิกิริยาที่ primary amine มากกว่า secondary amine ทำให้สามารถสังเคราะห์ selective monoprotect ได้ตามต้องการ นอกจากนี้แล้วการนำเอาหมู่ Boc ออกก็สามารถกระทำได้โดยง่าย โดยการใช้กรด เช่น HCl/CH_3OH หรือ CF_3COOH (TFA) แต่พบว่าการใช้ TFA สามารถทำได้ง่ายและสะดวกกว่าการใช้ HCl

จากแนวทางการสังเคราะห์ดังกล่าวจึงนำมาใช้เป็นแนวทางการสังเคราะห์ selective mono-Boc-protect ของ protected spermidine (18) (คือ การเตรียมสารประกอบ (20) โดยการใช้ BOC-ON จากการศึกษาโดยการทำปฏิกิริยาภายใต้เงื่อนไขที่แตกต่างกันหลายๆ ปฏิกิริยา พบว่าที่อุณหภูมิ $0\ ^o$ C โดยใช้ THF เป็นตัวทำละลายใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 12 ชั่วโมง เป็นเงื่อนไขที่เหมาะสมที่สุดที่จะให้ได้ผลผลิตของ N^8-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (20) ที่ต้องการมากที่สุด คือได้ประมาณ 68 % yield

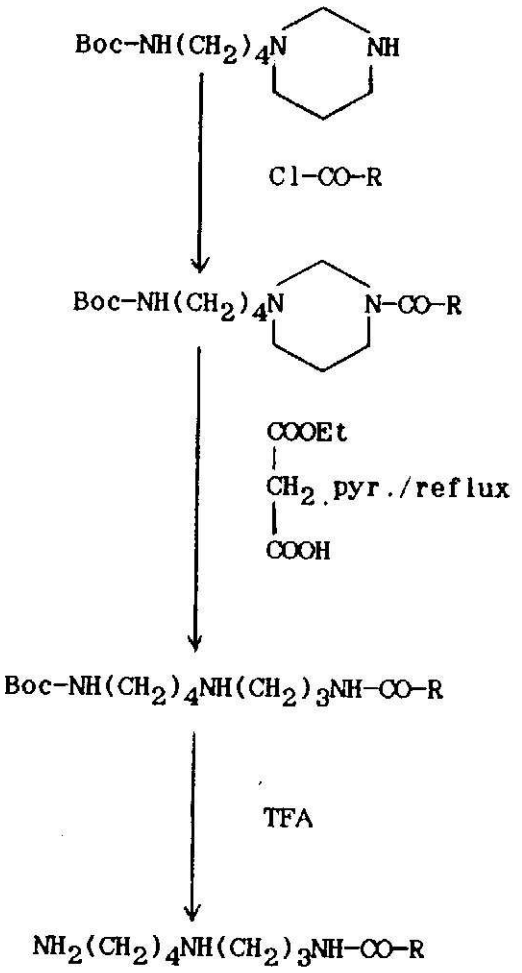


(18) (20)

นอกจากจะได้สารประกอบ N^8-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (20) ตามต้องการแล้วยังได้สารประกอบที่เป็น N^1,N^8-di-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (21) อีกด้วย (17% yield) ซึ่งสารประกอบทั้งสองสามารถแยกออกจากกันได้โดยง่าย ส่วนการพิสูจน์ว่าสารประกอบที่ได้ออกมานั้นเป็น N^8-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (20) ตามที่ต้องการ โดยการเปรียบเทียบทาง spectroscopy (IR, NMR, MS) และทาง chromatography กับสารประกอบของ N^1,N^8-di-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (21)

2. <u>การสังเคราะห์สารประกอบ aglycone ของ LL-BM123 (32a, b และ c)</u>

จากการที่ค้นพบวิธีการสังเคราะห์สารประกอบ N^8-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine(20) ได้ผลผลิตในปริมาณสูงและสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์สารประกอบ N^1,N^4,N^8-triacylated spermidine ซึ่งสามารถนำ R^1, R^2 และ R^3 ที่ไม่เหมือนกัน เข้าที่ตำแหน่ง N^1, N^4 และ N^8 ได้ตามต้องการและมีผลผลิตสูง ดังนั้นแนวทางเช่นนี้น่าที่จะนำไปสู่การสังเคราะห์สารประกอบ aglycone LL-BM123 (32a, b และ c) ได้ดังนี้



(20)

32a R = cinnamoyl

32b R = p-methoxycinnamoyl

32c R = 3,4-methylenedioxycinnamoyl

จากการทดลองพบว่าได้สารประกอบ (32a, b และ c) ที่เป็นผลผลิตสุดท้ายในปริมาณที่สูงมากพอสมควร (38-40 % yield จาก spermidine) และมากพอที่จะสามารถนำไปทำการทดสอบหาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้

<u>สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง</u>

จุดหลอมเหลว (melting point) ของสารวัดได้ด้วยเครื่อง Electrothermal melting point ใช้หน่วยองศาเซลเซียส (^{o}C)

อินฟราเรดสเปคตรา (Infrared spectra) บันทึกด้วยเครื่อง PERKIN ELMER IR 783 หน่วยเป็น wave number (cm^{-1})

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปคตรา (Nuclear Magnetic Resonance Spectra) บันทึกด้วยเครื่อง Bruker WP QO Spectrometer และ JEOL Fx-900 ที่ 60 MHz โดยใช้ tetramethylsilane (TMS) เป็นสารอ้างอิง บอกตำแหน่งสัญญาณเรโซแนนซ์ (resonance signal) ด้วยสัญญาณของ chemical shift parameter ((ppm)) ลักษณะสัญญาณแทนด้วย (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet) และ br (broad)

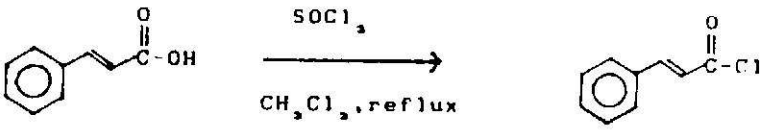
แมสสเปคตรา (Mass spectra) บันทึกด้วยเครื่อง JEOL DX-300 โดยวัดค่า m/e และ % intensity

โครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (thin layer chromatography, t.l.c.) และโครมาโตกราฟีแบบแผ่นหนา (preparative thin layer chromatography, p.t.l.c.) เป็นแผ่นแก้วขนาด 20 x 5 เซนติเมตร ใช้ซิลิกาเจลชนิด 60 GF_{254} ของ MERCK

ตัวทำละลายต่าง ๆ ที่ใช้ ทำให้บริสุทธิ์โดยการกลั่นและเก็บที่จุดเดือดของตัวทำละลายนั้น ๆ ก่อนที่จะนำมาใช้

การทดลอง

1. การเตรียม cinnamoyl chloride

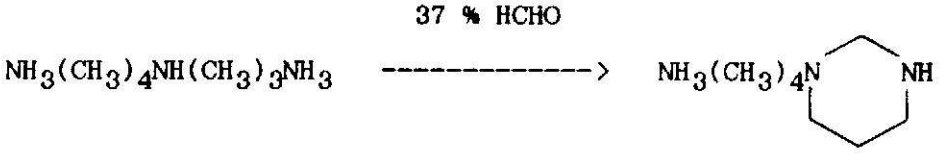


เติม thionyl chloride (0.98 มิลลิลิตร หรือ 13 มิลลิโมล) ลงไปในของผสมระหว่าง cinnamic acid(1.00 กรัม หรือ 6.84 มิลลิโมล) กับไดคลอโรมีเทนที่ปราศจากน้ำ (3 มิลลิลิตร) จากนั้น reflux ของผสมที่ได้เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตั้งของผสมทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำของผสมที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดัน จะได้ cinnamoyl c-hloride (0.91 กรัม , 80 %) เป็นของเหลวหนืดไม่มีสี

NMR($CDCL_3$) δ : 7.30 (2H,AB quartet,Ph-CH=CH,J = 8Hz)

7.35-7.70 (5H,m,Ar-H)

2. การเตรียม hexahydropyrimidine (18)



(18)

ละลาย spermidine (3) (2.09 กรัม หรือ 0.0144 มิลลิโมล) ในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร พร้อมกับคนสารละลายที่อุณหภูมิ 0° C ภายใต้ความดันบรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน ค่อย ๆ หยดสารละลาย 37 % formaldehyde (0.92 มิลลิลิตร หรือ 0.0129 โมล) ลงไปทีละหยดอย่างช้า ๆ ให้คนสารละลายผสมที่ได้ต่อไปอีกเป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ทำให้สารละลายอิ่มตัวด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ลงไป แล้วสกัดสารละลายที่ผสมด้วยคลอโรฟอร์ม (8 x 20 มิลลิลิตร) รวมส่วนสกัดของคลอโรฟอร์มแล้วนำไปทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัล-เฟตที่ปราศจากน้ำกรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายที่ได้มาระเหยเอาคลอโรฟอร์มออกภายใต้การลดความดัน จะได้สารประกอบของ hexahydropyrimidine (18) (2.10 กรัม หรือ 93 %) ลักษณะเป็นของเหลวไสไม่มีสี

NMR($CDCL_3$) δ : 1.30-1.38 (6H,m,3 X C-CH_2-C)
2.10-2.40 (3H,m,3 X N-H)
2.42-2.90 (8H,m,4 X C-CH_2-N)
3.30-3.45 (2H,s,N-CH_2-N)

IR(film) cm^{-1} : 3300,2900-2800,1640

3. การเตรียม N^8-(tert-butoxycarbonyl) hexahydropyrimidine (20)

(18) (20) (21)

ละลาย hexahydeopyrimidine (18) (0.55 กรัม หรือ 3.4974 มิลลิโมล) ใน dry THF (25 มิลลิลิตร) พร้อมกับคนสารละลายที่อุณหภูมิ 0° C ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน ค่อยๆหยดสารละลายของ 2-[[(tert-butoxycarbonyl)oxy]imino]-2-

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

phenylacetonitrile (BOC-ON) (0.77 กรัม หรือ 3.1474 มิลลิโมล) ใน dry THF (5 มิลลิลิตร) เมื่อเติมหมดแล้วให้คนสารละลายผสมต่อไปอีกเป็นเวลา 12 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องนำสารละลายผสมที่ได้มาทำการกรองแบบ suction แล้วล้างตะกอนด้วย THF (10 มิลลิลิตร) นำส่วนของสารละลายที่กรองได้มากรองเอาตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดัน จะได้ของเหลวหนืด นำของเหลวหนืดที่ได้มาละลายไดคลอโรมีเทน 20 มิลลิลิตร แล้วล้างด้วยสารละลาย 10 % โซเดียมไฮดรอกไซด์ (2 x 20 มิลลิลิตร) นำส่วนของสารละลายไดคลอโรมีเทนมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้ไประเหยไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืด เมื่อนำไปแยกด้วยวิธี quick column chromatography โดยใช้เอธิลอะซิเตดเป็นตัวทำละลาย แล้วจะได้สารประกอบของ N^1,N^8-di-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (21) (0.21 กรัม หรือ 17 %)

NMR($CDCL_3$) δ : 1.10-1.73 (6H,m,3 X C-CH_2-C)
1.38 (18H,s,6 X C-CH_3)
2.08-3.50 (8H,m,4 X C-CH_2-N)
3.39 (2H,s,N-CH_2-N)

IR(film) cm^{-1} : 3380,2990-2790,1720-1680

MS m/e (%) : 357(2.81), 256(79.85), 200(100)

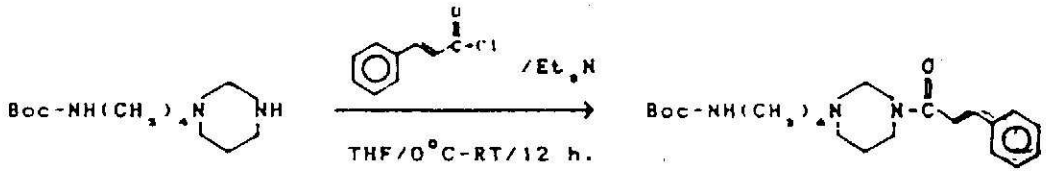
เมื่อใช้เมธานอลเป็นตัวทำละลายต่อไปจะได้สารประกอบของ N^8-(tert-butoxy-carbonyl)-hexahydropyrimidine (20) (0.61 กรัม หรือ 68 %) เป็นของเหลวหนืดไม่มีสี

NMR($CDCL_3$) δ : 1.24-1.89 (6H,m,3 X C-CH_2-C)
1.44 (9H,s,6 X C-CH_3)
2.07-3.28 (8H,m,4 X C-CH_2-N)
3.38 (2H,s,N-CH_2-N)

IR(film) cm^{-1} : 3350,2900-2800,1700,1370,1255

MS m/e (%) : 257(10.70), 200(51.31), 99(100)

4. การเตรียม N^{1}-cinnamoyl-N^{8}-(tert-butoxycarbonyl) hexahydro pyrimidine (33)



(20) (33)

ละลาย N^{8}-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (20) (0.48 กรัม หรือ 1.8658 มิลลิโมล) ใน dry THF (25 มิลลิลิตร) พร้อมคนสารละลายที่อุณหภูมิ 0^{o} C เติม triethylamine (1.30 มิลลิลิตร หรือ 9.3290 มิลลิโมล) และสารละลายของ cinnamoyl chloride (0.37 กรัม หรือ 2.2390 มิลลิโมล) ใน dry THF (5 มิลลิลิตร) ทีละหยดอย่างช้า ๆ ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน ให้คนสารละลายผสมที่ได้ต่อไปอีกเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำของผสมที่ได้มาทำการกรองแล้วล้างตะกอนด้วย THF (2 X 20 มิลลิลิตร) นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยเอาตัวทำละลายในไดคลอโรมีเทน (30 มิลลิลิตร) แล้วล้างด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมไบคาร์บอเนต (2 X 20 มิลลิลิตร) สารละลายอิ่มตัวของโซเดียมคลอไรด์ (2 X 20 มิลลิลิตร) และ น้ำกลั่น (20 มิลลิลิตร) ตามลำดับ นำส่วนของสารละลายไดคลอโรมีเทนมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้มาระเหยเอาไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อนเมื่อนำมาแยกด้วยวิธี quick column chromatography โดยใช้เอทธิลอะซิเตดเป็นตัวทำละลายจะได้ N^{1}-cinnamoyl-N^{8}-(tert-butoxycarbonyl) hexahydro pyrimidine (33) (0.59 กรัม หรือ 81%) เป็นของเหลวหนืดไม่มีสี

NMR($CDCL_3$) δ : 1.10-1.91 (6H,m,3 X C-CH_2-C)

1.43 (9H,s,3 X C-CH_3)

2.27-3.83 (8H,m,4 X C-CH_2-N)

4.31 (2H,s,N-CH_2-N)

6.86 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

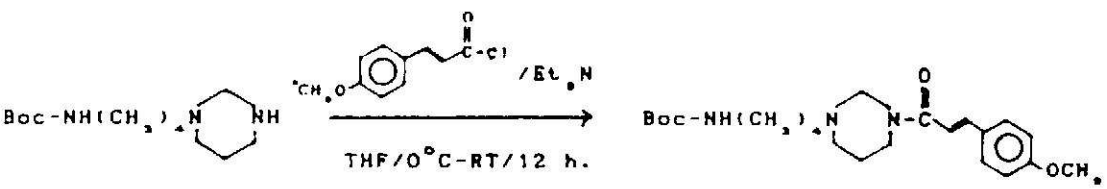
6.54-7.59 (5H,m,Ar-H)

7.67 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

IR(film) cm^{-1} : 3340,2950-2880,1710,1665,1610

MS m/e (%) : 387(87.27), 200(80.69), 131(100)

5. <u>การเตรียม N^1-(p-methoxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (34)</u>



(20) (34)

ละลาย N^8-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (20) (0.43 กรัม หรือ 1.6751 มิลลิโมล) ใน dry THF (25 มิลลิลิตร) พร้อมคนสารละลายที่อุณหภูมิ 0^o C เติม triethylamine (1.16 มิลลิลิตร หรือ 8.3575 มิลลิโมล) และสารละลายของ p-methoxycinnamoyl chloride (0.39 กรัม หรือ 2.0058 มิลลิลิตร)ใน dry THF (5 มิลลิลิตร) ทีละหยดอย่างช้า ๆ ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน ให้คนสารละลายผสมที่ได้ต่อไปอีกเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำของผสมที่ได้มาทำการกรองแล้วล้างตะกอนด้วย THF (2 X 20 มิลลิลิตร) นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืด นำของเหลวหนืดที่ได้มาละลายในไดคลอโรมีเทน (30 มิลลิลิตร)

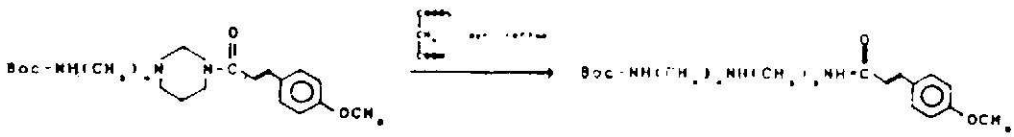
แล้วล้างด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมไบคาร์บอเนต (2 X 20 มิลลิลิตร) สารละลายอิ่มตัวของโซเดียมคลอไรด์ (2 X 20 มิลลิลิตร) และ น้ำกลั่น (20 มิลลิลิตร) ตามลำดับ นำส่วนของสารละลายไดคลอโรมีเทนมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้มาระเหยเอาไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อนเมื่อนำมาแยกด้วยวิธี quick column chromatography โดยใช้เอทธิลอะซิเตดเป็นตัวทำละลายจะได้ N^1-(p-methoxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) hexahydropyrimidine (34) เป็นของเหลวหนืดไม่มีสี

NMR($CDCL_3$) δ : 1.15-1.87 (6H,m,3 X C-CH_2-C)
1.43 (9H,s,3 X C-CH_3)
2.27-3.88 (8H,m,4 X C-CH_2-N)
3.82 (3H,s,O-CH_3)
4.31 (2H,s,N-CH_2-N)
6.73 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)
6.89 (2H,d,AB system,J = 9 HZ)
7.47 (2H,d,AB system,J = 9 HZ)
7.64 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

IR(film) cm^{-1} : 3340,2950,2870,1710,1650,1610

MS m/e (%) : 417(67.62), 200(51.27), 161(100)

6. <u>การเตรียม N^1-(p-methoxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) spermidine (35)</u>



(34) (35)

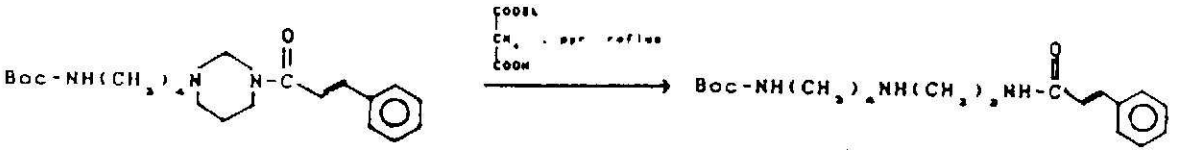
ละลาย N^1-(p-methoxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) hexahydropyrimidine (34) (0.45 กรัม หรือ 1.0791 มิลลิลิตร) ในเอธานอลที่ปราศจากน้ำ (5 มิลลิลิตร) พร้อมกับคนสารละลายที่อุณหภูมิห้อง เติม pyridine (0.26 มิลลิลิตร หรือ 3.2373 มิลลิโมล) และ ethyl hydrogen malonate (0.60 มิลลิลิตร หรือ 5.3955 มิลลิโมล) ลงไปอย่างช้า ๆ ทีละหยดภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน แล้ว reflux ของผสมที่ได้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ตั้งของผสมทิ้งไว้ให้เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำมาระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืด นำของเหลวหนืดที่ได้มาละลายในไดคลอโรมีเทน (30 มิลลิลิตร) แล้วล้างด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมไบคาร์บอเนต (2 X 20 มิลลิลิตร) นำส่วนของสารละลายไดคลอโรมีเทนมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้มาระเหยเอาไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืด เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน เมื่อนำมาแยกด้วยวิธี quick column chromatography โดยใช้เมธานอลเป็นตัวทำละลาย จะได้ N^1-(p-methoxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) spermidine (35) (0.37 กรัม หรือ 85 %) ลักษณะเป็นของแข็งไม่มีสี จุดหลอมเหลว 84 - 86 ^{o} C

NMR($CDCL_3$) δ : 1.11-1.91 (6H,m,3 X C-CH_2-C)
1.44 (9H,s,3 X C-CH_3)
2.00-3.61 (8H,m,4 X C-CH_2-N)
3.82 (3H,s,O-CH_3)
6.29 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)
6.87 (2H,d,AB system,J = 9 HZ)
7.44 (2H,d,AB system,J = 9 HZ)
7.55 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

IR(film) cm^{-1} : 3800,3200,1690,1655,1610

MS m/e (%) : 405(12.47), 161(100)

7. การเตรียม N^1-cinnamoyl-N^8-(tert-butoxycarbonyl)-spermidine (36)



(33) (36)

ละลาย N^1-cinnamoyl-N^8-(tert-butoxycarbonyl) hexahydro pyrimidine (33) (0.59 กรัม หรือ 1.4729 มิลลิโมล) ในเอธานอลที่ปราศจากน้ำ (5 มิลลิลิตร) พร้อมกับคนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเติม pyridine (0.24 มิลลิลิตร หรือ 2.9458 มิลลิโมล) และ ethyl hydrogen malonate (0.82 มิลลิลิตร หรือ 7.3645 มิลลิโมล) ลงไปอย่างช้า ๆ ทีละหยดภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน แล้ว reflux ของผสมที่ได้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ตั้งของผสมทิ้งไว้ให้เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำมาระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืด นำของเหลวหนืดที่ได้มาละลายในไดคลอโรมีเทน (30 มิลลิลิตร) แล้วล้างด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมไบคาร์บอเนต (2 X 20 มิลลิลิตร) นำส่วนของสารละลายไดคลอโรมีเทนมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้มาระเหยเอาไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืด เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน เมื่อนำมาแยกด้วยวิธี quick column chromatography โดยใช้เมธานอลเป็นตัวทำละลายจะได้ N^1-cinnamoyl-N^8-(tert-butoxycarbonyl)-spermidine (36) (0.42 กรัม หรือ 76 %) ลักษณะเป็นผลึกไม่มีสี จุดหลอมเหลว 74 - 76 ^{o} C

NMR($CDCL_3$) δ : 1.11-1.87 (6H,m,3 X C-CH_2-C)

1.41 (9H,s,3 X C-CH_3)

2.04-3.65 (8H,m,4 X C-CH_2-N)

6.42 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

6.87 (2H,d,AB system,J = 9 HZ)

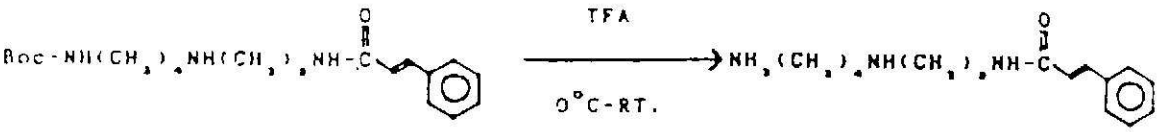
7.23-7.55 (5H,m,Ar-H)

7.60 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

IR(film) cm^{-1} : 3370,3330,1690,1650,1610

MS m/e (%) : 375(14.43), 131(100)

8. การเตรียม N^1-cinnamoylspermidine (32a)



(36) (32a)

เติม trifluoroacetic acid (TFA) (10 มิลลิลิตร) ลงใน N^1-cinnamoyl-N^8-(tert-butoxycarbonyl)-spermidine (36) (0.22 กรัม หรือ 0.5863 มิลลิโมล) พร้อมคนสารละลายที่อุณหภูมิ 0^o C เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกอย่างรวดเร็ว จะได้ของเหลวหนืด นำส่วยของเหลวหนืดที่เหลือละลายในเมธานอล 20 มิลลิลิตร) แล้วทำการระเหยเอาเมธานอลออก ทำซ้ำอีกครั้ง นำของเหลวหนืดที่เหลือมาละลายในสารละลาย 15 % โซเดียมไบคาร์บอเนต (10 มิลลิลิตร) แล้วสกัดของผสมที่ได้ด้วยไดคลอโรมีเทน แล้วนำมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้มาระเหยเอาไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน เมื่อนำมาทำการแยกด้วยวิธี p.t.l.c. โดยใช้ของผสมระหว่างเมธานอลและแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวทำละลายแล้ว จะได้ N^1-cinnamoylspermidine (32a) (0.15 กรัม หรือ 99 %) เป็นของเหลวหนืดไม่มีสี

NMR($CDCL_3$) δ : 1.34-2.01 (6H,m,3 X C-CH_2-C)

2.40-2.92 (6H,m,3 X C-CH_2-N)

3.21-3.53 (2H,t,CH_2-N-CO)

6.61 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

7.28-7.82 (5H,m,Ar-H)

7.56 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

IR(film) cm^{-1} : 3290(board),2940,2860,1660,1620

MS m/e (%) : 275(4.17), 131(100)

9. <u>การเตรียม N^1-(p-methoxycinnamoyl) spermidine (32b)</u>

(35) (32b)

เติม trifluoroacetic acid (TFA) (10 มิลลิลิตร) ลงใน N^1-(p-methoxy-cinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) spermidine (35) (0.37 กรัม หรือ 0.5432 มิลลิโมล) พร้อมคนสารละลายที่อุณหภูมิ 0^o C เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกอย่างรวดเร็ว จะได้ของเหลวหนืด นำส่วยของเหลวหนืดที่เหลือละลายในเมธานอล 20 มิลลิลิตร) แล้วทำการระเหยเอาเมธานอลออก ทำซ้ำอีกครั้ง นำของเหลวหนืดที่เหลือมาละลายในสารละลาย 15 % โซเดียมไบคาร์บอเนต (10 มิลลิลิตร) แล้วสกัดของผสมที่ได้ด้วยไดคลอโรมีเทน (3 X 20 มิลลิลิตร) รวมส่วนสกัดของไดคลอโรมีเทน แล้วนำมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้มาระเหยเอาไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน เมื่อนำมาทำการแยกด้วยวิธี p.t.l.c. โดยใช้ของผสมระหว่างเมธานอล

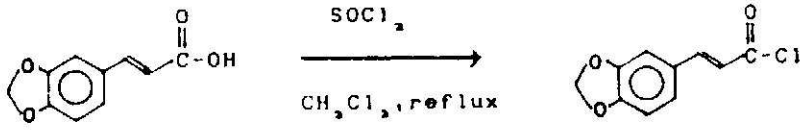
และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวทำละลายแล้ว จะได้ N^1-(p-methoxycinnamoyl) spermidine (32b) (0.16 กรัม หรือ 96 %) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน

NMR($CDCL_3$) δ : 1.43-2.00 (6H,m,3 X C-CH_2-C)
2.54-2.94 (6H,m,3 X C-CH_2-N)
3.16-3.52 (2H,t,CH_2-N-CO)
3.81 (3H,s, O-CH_3)
6.47 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)
6.92 (2H,d,AB system,J = 9 HZ)
7.50 (2H,d,AB system,J = 9 HZ)
7.50 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

IR(film) cm^{-1} : 3290(board),2940,2860,1665,1610

MS m/e (%) : 305(0.99), 161(67.85)

10. <u>การเตรียม 3,4-methylenedioxycinnamoyl chloride</u>



เติม thionyl chloride (1.37 มิลลิลิตร หรือ 15.6250 มิลลิโมล) ลงไปในของผสมระหว่าง 3,4-methylenedioxycinnamic acid (1.50 กรัม หรือ 7.1825 มิลลิโมล) กับ ไดคลอโรมีเทนที่ปราศจากน้ำ (3 มิลลิลิตร) จากนั้น reflux ของผสมที่ได้เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตั้งของผสมทิ้งไว้ให้เย็นลง แล้วนำของผสมที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดัน จะได้ 3,4-methylenedioxycinnamoyl chloride (1.56 กรัม หรือ 95 %) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน

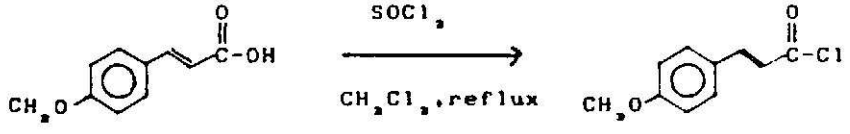
NMR($CDCL_3$) δ : 6.12 (2H,s, O-CH_2-O)

6.52 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

6.80-7.40 (3H,m,Ar-H)

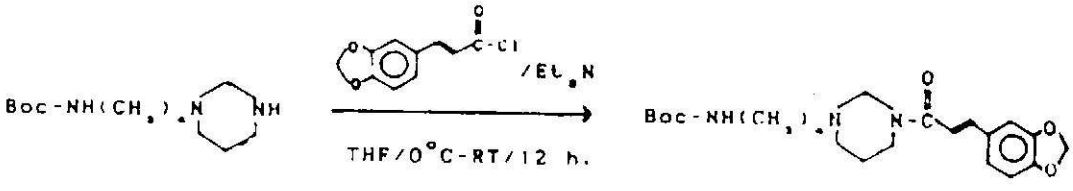
7.85 (1H,d,-CH=CH-, J = 15 Hz)

11. <u>การเตรียม p-methoxycinnamoyl chloride</u>



เติม thionyl chloride (1.18 มิลลิลิตร หรือ 13.4830 มิลลิโมล) ลงไปในของผสมระหว่าง p-methoxycinnamic acid (1.20 กรัม หรือ 6.74157 มิลลิโมล) กับไดคลอโรมีเทนที่ปราศจากน้ำ(3 มิลลิลิตร) จากนั้น reflux ของผสมที่ได้เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตั้งของผสมทิ้งไว้ให้เย็นลง แล้วนำของผสมที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดัน จะได้ p-methoxycinnamoyl chloride (1.19 กรัม หรือ 90 %) เป็นของเหลวหนืดไม่มีสี

12. <u>การเตรียม N^1-(3,4-methyenedioxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) hexahhydropyromidine (37)</u>



(20) (37)

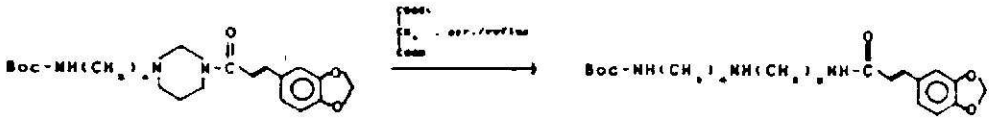
ละลาย N^8-(tert-butoxycarbonyl)-hexahydropyrimidine (20) (0.48 กรัม หรือ 1.8658 มิลลิโมล) ใน dry THF (25 มิลลิลิตร) พร้อมคนสารละลายที่อุณหภูมิ 0^o C เติม triethylamine (1.30 มิลลิลิตร หรือ 9.3290 มิลลิโมล) และสารละลายของ 3,4-methylenedioxycinnamoyl chloride (0.28 กรัม หรือ 1.3541 มิลลิโมล) ใน dry THF (5 มิลลิลิตร) ทีละหยดอย่างช้า ๆ ภายใต้บรรยากาศของก๊าซไนโตรเจน ให้คนสารละลายผสมที่ได้ต่อไปอีกเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำของผสมที่ได้มาทำการกรองแล้วล้างตะกอนด้วย THF (2 X20 มิลลิลิตร) นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยเอาตัวทำละลายในไดคลอโรมีเทน (30 มิลลิลิตร) แล้วล้างด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมไบคาร์บอเนต (2 X 20 มิลลิลิตร) สารละลายอิ่มตัวของโซเดียมคลอไรด์ (2 X 20 มิลลิลิตร) และ น้ำกลั่น (20 มิลลิลิตร) ตามลำดับ นำส่วนของสารละลายไดคลอโรมีเทนมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้มาระเหยเอาไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดัน จะได้ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อนเมื่อนำมาแยกด้วยวิธี quick column chromatography โดยใช้เอทธิลอะซิเตดเป็นตัวทำละลายจะได้ N^1-(3,4-methyenedioxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) hexahhydropyrimidine (37) (0.45 กรัม หรือ 78%) เป็นของเหลวหนืดไม่มีสี

NMR($CDCL_3$) δ : 1.10-1.86 (6H,m,3 X C-CH_2-C)
1.43 (9H,s,3 X C-CH_3)
2.27-3.88 (8H,m,4 X C-CH_2-N)
4.31 (2H,s,N-CH_2-N)
5.99 (2H,s,O-CH_2-O)
6.70-7.13 (3H,m,Ar-H)
6.68 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)
7.64 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

IR(film) cm^{-1} : 3340,2955,2890,1705,1650,1610

MS m/e (%) : 431(76.68), 256(72.05), 200(100)
175(82.99)

13. การเตรียม N^1-(3,4-methylenedioxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) spermidine (38)



(37) (38)

ละลาย N^1-(3,4-methyenedioxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) hexahhydropyrimidine (37) (0.28 กรัม หรือ 0.6493 มิลลิลิตร) ในเอธานอลที่ปราศจากน้ำ (5 มิลลิลิตร) พร้อมกับคนสารละลายที่อุณหภูมิห้อง เติม pyridine (0.10 มิลลิลิตร หรือ 1.2986 มิลลิโมล) และ ethyl hydrogen malonate (0.72 มิลลิลิตร หรือ 6.4930 มิลลิโมล) ลงไปอย่างช้า ๆ ทีละหยดภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน แล้ว reflux ของผสมที่ได้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ตั้งของผสมทิ้งไว้ให้เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำมาระเหยเอาตัวทำละลายออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืด นำของเหลวหนืดที่ได้มาละลายในไดคลอโรมีเทน (30 มิลลิลิตร) แล้วล้างด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมไบคาร์บอเนต (2 X 20 มิลลิลิตร) นำส่วนของสารละลายไดคลอโรมีเทนมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้มาระเหยเอาไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลวหนืด เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน เมื่อนำมาแยกด้วยวิธี quick column chromatography โดยใช้เมธานอลเป็นตัวทำละลาย จะได้ N^1-(3,4-methylenedioxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) spermidine (38) (0.23 กรัม หรือ 85 %) ลักษณะเป็นของแข็งละเอียดไม่มีสี จุดหลอมเหลว 108 - 109 ^{o} C

NMR($CDCL_3$) δ : 1.15-1.95 (6H,m,3 X C-CH_2-C)

1.44 (9H,s,3 X C-CH_3)

2.04-3.65 (8H,m,4 X C-CH_2-N)

5.99 (2H,s,O-CH_2-O)

6.25 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

6.73-7.27 (3H,m,Ar-H)

7.51 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

IR(film) cm^{-1} : 3360,3320,1690,1655,1605

MS m/e (%) : 419(12.65), 175(100)

14. <u>การเตรียม N^1-(3,4-methylenedioxycinnamoyl) spermidine (32c)</u>

(38) (32c)

เติม trifluoroacetic acid (TFA) (10 มิลลิลิตร) ลงใน N^1-(3,4-methylenedioxycinnamoyl)-N^8-(tert-butoxycarbonyl) spermidine (38) (0.20 กรัม หรือ 0.4640 มิลลิโมล) พร้อมคนสารละลายที่อุณหภูมิ 0° C เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกอย่างรวดเร็ว จะได้ของเหลวหนืด นำส่วยของเหลวหนืดที่เหลือละลายในเมธานอล 20 มิลลิลิตร) แล้วทำการระเหยเอาเมธานอลออก ทำซ้ำอีกครั้ง นำของเหลวหนืดที่เหลือมาละลายในสารละลาย 15 % โซเดียมไบคาร์บอเนต (10 มิลลิลิตร) แล้วสกัดของผสมที่ได้ด้วยไดคลอโรมีเทน (3 X 20 มิลลิลิตร) รวมส่วนสกัดของไดคลอโรมีเทน แล้วนำมาทำให้แห้งด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ กรองเอาโซเดียมซัลเฟตออก นำสารละลายไดคลอโรมีเทนที่ได้มาระเหยเอาไดคลอโรมีเทนออกภายใต้การลดความดันจะได้ของเหลว

หนืดสีเหลืองอ่อน เมื่อนำมาทำการแยกด้วยวิธี p.t.l.c. โดยใช้ของผสมระหว่างเมธานอล และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวทำละลายแล้ว จะได้ N^1-(3,4-methylenedioxycinnamoyl) spermidine (32c) (0.15 กรัม หรือ 97 %) เป็นของเหลวหนืดไม่มีสี

NMR($CDCL_3$) δ : 1.43-2.00 (6H,m,3 X C-CH_2-C)

2.45-2.94 (6H,m,3 X C-CH_2-N)

3.12-3.52 (2H,t,CH_2-N-CO)

5.99 (2H,s, O-CH_2-O)

6.43 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

6.69-7.27 (3H,m,Ar-H)

7.46 (1H,d,-CH=CH-,J = 15 Hz)

IR(film) cm^{-1} : 3290(board),2940,2870,1665,1610

MS m/e (%) : 319(0.76), 175(59.96)

เอกสารอ้างอิง

1. A. Leeuwenhock, ***Philos.Trans.R.Soc.London.***, 12,1040,1698.
2. O. Rosenheim, ***Biochem.J.***, 18,1253,1954.
3. H.W. Dudley, O. Rosenheim and W.W. Starling, ***Biochem.J.***, 20, 1082,1926.
4. F. Wrede, H. Fonselow and Strack, ***Z.Physiol.Chem.***, 163,219,1927.
5. S.S. Cohen, ***"Introduction to the Polyamines,"*** Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1971.
6. U. Bachrach, ***"Function of Naturally Ocuuring Polyamines,"*** Acadamic Press, New York, 1973.
7. H. Tabor and C.W. Tabor, ***Pharmacol. Rev.***, 16,245,1964.
8. S.M. Rosenthal and C.W. Tabor, ***J.Pharmacol. Exp.Ther.***, 116,131,1956.
9. (a) D.H. Russill, ***Biochem.Pharmacol.***, 20,3481,1971.
   (b) D.H. Russell, C.C. Levy and S.C. Schimpff, ***Proc.Am.Assoc. Cancer Res.***, 12,76,1971. ; ***Cancer Res.***, 31,1555,1971.
   (c) ***"Polyamines in Normal and Neoplastic Growth,"*** D.H. Russell, Ed., Rosen Press New York, 1973.
10. G.A. Ellestad and et.al., ***J.Amer.Chem.Soc.***, 100,2515,1978.
11. H.R. Mahler and G.Green, ***Ann. N.Y. Acad.Sci.***, 171,783,1970.
12. T. Kosaki, et.al., ***Ann.N.Y.Acad.Sci.***, 127,1176,1958.
13. T.P. HEttinger, et.al., ***Ann.N.Y.Acad.Sci.***,171,1002,1970.
14. G.T. Carter and K.L. Rinehart, Jr.,***J.Amer.Chem.Soc.***, 100,4302,1978.
15. M.T. Cheng and K.L. Rinechart, Jr., ***J.Amer.Chem.Soc.***, 100,7409,1978.
16. S.M. Kupchan, et.al., ***J.Amer.Chem.Soc.***, 89,5718,1967.
17. M. Tamada, et.al., ***Tetrahedron Lett.***, 873,1979.
18. S. Funayama, et.al., ***Tetrahedron Lett.***, 21,1355,1980.

19. H. Wagner, J. Burghart and S. Baladt, ***Tetrahedron Lett.***, 781,1978.

20. H.Warner, J.Berhart and W.E. Hall, ***Ibid.***, 3893,1978.

21. M.M. Badawi, et.al., ***Helv.Chim.Acta.***, 51,1813,1968.

22. M. Pais, et.al., ***C.R.Acad.Sci.Ser.C,*** 266,37,1968.

23. F.J. Schmitz, K.H. Hollenbeak and R.S. Prasad, ***Tetrahedron Lett.***, 3387,1979.

24. R.Q. Doskotch, et.al., ***Tetrahedron,*** 30,3229,1974.

25. T. Nakajima, et.al., ***Biochim.Biophys.Acta,*** 252,92,1974.

26. M.H. Park, H.L. Cooper and J.E. Folk, ***Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.***, 78,2869,1979.

27. T. Oshima, ***J.Biol.Chem.***, 254,8720,1979.

28. T. Oshima, ***Biolchem.Biophos.Res.Commun.***, 63,1093,1975.