การใช้ไมโครเวฟในการสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพของสารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน

โดย

นางสาววันวิการ์ รื่นสำราญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การใช้ไมโครเวฟในการสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพของสารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน

โดย

นางสาววันวิการ์ รื่นสำราญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

MICROWAVE - ASSISTED SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF HETEROCYCLIC NAPHTHOQUINONES

By

Wanwikar Ruensamran

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Department of Chemistry

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2008

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การใช้ไมโครเวฟในการสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพของสารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน ” เสนอโดย นางสาววันวิการ รื่นสำราญ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตังกูร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร.วยา พุทธวงศ์

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สิริธร สโมสร)

...../...../.....

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรชัย นิมจิรวัฒน์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.วยา พุทธวงศ์)

...../...../.....

50302202 : สาขาวิชาเคมีอินทรีย์
คำสำคัญ : สารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน/แนฟโทควิโนน/ microwave irradiation/ nucleophilic substitutions/intramolecular cyclizations/Heck coupling reactions

วันวิการ์ รื่นสำราญ : การใช้ไมโครเวฟในการสังเคราะห์และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพของสารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อ.ดร.วยา พุทธวงศ์. 108 หน้า.

งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์สารวงวิวิธพันธ์ของแนพโทควิโนนโดยใช้เครื่องไมโครเวฟที่ใช้ในครัวเรือนที่ได้รับการปรับเปลี่ยนให้เหมาะสมให้สามารถใช้ในการทำปฏิกิริยาได้ช่วยในการสังเคราะห์ โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ส่วน ส่วนที่ 1 ใช้ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone เป็นสารตั้งต้น ทำปฏิกิริยา nucleophilic substitutions กับอนุพันธ์ของ aniline ที่ตำแหน่ง C-3 และที่ตำแหน่ง C-2 เติมหมู่แทนที่เป็นหมู่อะมิโนโดยใช้ sodium azide จากนั้นพยายามปิดวงเป็นสารวงวิวิธพันธ์ของแนพโทควิโนนโดยทำปฏิกิริยากับ diethyl malomate พบว่าไม่ประสบความสำเร็จ ส่วนที่ 2 นำ 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone ซึ่งเป็นสารตั้งต้นทำปฏิกิริยา nucleophilic substitutions กับ aniline และ *p*-anisidine จากนั้นพยายามปิดวงแบบ intramolecular cyclization เป็นสารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยม โดยอาศัยวิธีการ reflux และ microwave irradiation พบว่าไม่ประสบความสำเร็จ ส่วนที่ 3 นำ 2-substituted amino-3-bromo-1,4-naphthoquinones **(74b, 74d, 74e)** มาสังเคราะห์เป็นสารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนพโทควิโนน โดยใช้ปฏิกิริยา Heck coupling reactions พบว่าการใช้ microwave irradiation ให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงกว่าและใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาน้อยกว่าวิธีการ reflux แบบธรรมดา จากนั้นทำปฏิกิริยา *N*-alkylation ของ azepine rings โดยใช้ alkyl/aryl halide และ K_2CO_3 โดยอาศัย microwave irradiation ได้อนุพันธ์ของ naphthoquinones **(76a-d)** นำสารกลุ่มนี้บางตัวไปทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลชีพ โดยวิธี Disc diffusion method และ Broth dilution method พบว่าส่วนใหญ่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลชีพต่ำ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ 64 μg/mL

ภาควิชาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2551

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

50302202 : MAJOR : ORGANIC CHEMISTRY
KEY WORDS : HETEROCYCLIC NAPHTHOQUINONES/NAPHTHOQUINONES/MICRO-
WAVE IRRADIATION/NUCLEOPHILIC SUBSTITUTIONS/
INTRAMOLECULAR/CYCLIZATIONS/HECK COUPLING REACTIONS
WANWIKAR RUENSAMRAN : MICROWAVE - ASSISTED SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF HETEROCYCLIC NAPHTHOQUINONES. : THESIS ADVISOR : WAYA PHUTDHAWONG, Ph.D., 108 pp.

In this study, the synthesis of heterocyclic naphthoquinones has been carried out using irradiation in a modified commercial domestic microwave. The project was divided into 3 parts. Firstly, 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone was used as a starting material for the nucleophilic substitution reactions with aniline derivatives on C_3 and the C_2 position was converted to amino group using sodium azide. Attempted cyclization with diethyl malonate was unsuccessful. Secondly, 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone was used as a starting material for the nucleophilic substitution reaction with aniline and *p*-anisidine. However, attempts to intramolecular cyclization to prepare heterocyclic five-membered ring indolonaphthoquinones under reflux method and microwave irradiation were unsuccessful. Finally, 2-substituted amino-3-bromo-1,4-naphthoquinones (74b, 74d, 74e) were used as starting materials for the synthesis of seven-membered ring fused naphthoquinones using the Heck coupling reactions. The microwave irradiation gave the desired products in higher yields and in much shorter reaction times than the conventional reflux method. The *N*-alkylation of the azepine rings using various alkyl/aryl halides and K_2CO_3 under microwave irradiation gave the naphthoquinone derivatives (76a-d). Selected compounds in this series were tested for antimicrobial activities using the disc diffusions method and broth dilution method. However, most of the tested compounds showed weak activity at the minimum concentration of 64 μg/mL.

Department of Chemistry Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2008

Student's signature .....

Thesis Advisor's signature .....

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.วยา พุทธวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้โอกาสในการทำวิจัยครั้งนี้ กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา แนวคิด คำแนะนำ และสละเวลาในการตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ด้วยความดูแลเอาใจใส่อย่างดียิ่งตลอดงานวิจัย

ขอขอบคุณอาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี รองศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย นิมจิรวัฒน์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สิริธร สโมสร กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาตรวจแก้ไขและให้แนวคิด รวมทั้งคำแนะนำที่มีคุณค่าแก่วิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณอาจารย์ รองศาสตราจารย์ ดร. วีรชัย พุทธวงศ์ ที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา แนวคิด และคำแนะนำ เกี่ยวกับการใช้ไมโครเวฟในการทำปฏิกิริยาเคมี และให้ความช่วยเหลือในการปรับปรุงเครื่องไมโครเวฟสำหรับทำปฏิกิริยาเคมีซึ่งเป็นอุปกรณ์สำคัญในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณอาจารย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย เตโชวิศาล ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และความช่วยเหลือในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยความเอาใจใส่ตลอดงานวิจัย และนางสาวศรีสกุล ชนะพันธ์ นักศึกษาปริญญาโทสาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่อำนวยความสะดวกสำหรับการทำปฏิบัติการในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่มอบทุนการศึกษาสำหรับการวิจัยครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญตาราง..... ซ
สารบัญรูป..... ฌ
บทที่
1 บทนำ..... 1
2 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง..... 17
3 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลชีพของสารประกอบแนฟโทควิโนน..... 30
4 สรุปผลการทดลอง..... 41
5 การทดลอง..... 43

บรรณานุกรม..... 66

ภาคผนวก..... 68
ภาคผนวก ก..... 69
ภาคผนวก ข..... 72

ประวัติผู้วิจัย..... 108

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงการเปรียบเทียบเวลาและเปอร์เซ็นต์ผลผลิตการสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนนด้วยวิธีการ reflux และการใช้ microwave reactor.....	28
2	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar diffusion test.....	31
3	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution test.....	33
4	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง NCI-H187-Small cell lung cancer.....	36
5	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง Easy Hep 2 cell line.....	37
6	ผลการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytoxicity) L929-Murine epithelium cells.....	39

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ naphthoquinones ที่พบในธรรมชาติ.....	1
2	สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ naphthoquinones ที่สังเคราะห์ขึ้น.....	2
3	โครงสร้างทางเคมีของ juglone.....	2
4	สารประกอบ naphthoquinones สกัดจากราก *Onosma argentatum* Hab.-Mor. (Boraginaceae).....	3
5	สารประกอบ naphthoquinones ชนิดใหม่สกัดได้จาก *Eleutherine bulbosa* (Miller)	3
6	โครงสร้างทางเคมีของ Cribrarione A.....	4
7	โครงสร้างทางเคมีของ newbouldiaquinone A.....	4
8	การสังเคราะห์ hydroxy-substitued 5-cyano-5*H*-benzo[*b*]carbozole-6,11-diones	5
9	การสังเคราะห์อนุพันธ์ Calothrixin B.....	6
10	การสังเคราะห์อนุพันธ์ (1,4)-naphthoquinono [3,2-c]-1H-pyrazoles.....	7
11	การสังเคราะห์สารประกอบ 3-hydrazino-naphthaquinones.....	8
12	โครงสร้างทางเคมีของ lapacol.....	8
13	การสังเคราะห์ 4,5-dihydro-1*H*-1,4-napthoquino[*b*]-benzo[*e*][1,4] diazepines **(40a-f)**.....	9
14	การสังเคราะห์สารประกอบ 6*H*-Naphtho[2,3-*c*]chromene-7,12-diones.....	10
15	โครงสร้างทางเคมีของ pentalongin.....	10
16	การสังเคราะห์สารประกอบ azepines.....	10
17	การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน **(52a, 52b)**	11
18	การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ประเภท diamides ของแนฟโทควิโนน ผ่านปฏิกิริยา Nucleophilic substitution.....	13
19	การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ aniline และปิดวงแบบ intramolecular cyclization.....	13
20	การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ Tryptamine และปิดวงแบบ intramolecular cyclization.....	14
21	Commercial Microwave Reactor.....	15

รูปที่		หน้า
22	เปรียบเทียบระดับความร้อน microwave heating และ conventional heating.....	15
23	การปรับปรุงเครื่องทำปฏิกิริยาเคมีโดยรังสีไมโครเวฟ (Domestic Microwave Reactor)	16
24	การสังเคราะห์ 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55a)** และ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55b)**	17
25	ปฏิกิริยา nucleophilic substitution อนุพันธ์ของ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone.....	18
26	ปฏิกิริยา nucleophilic substitution ของ primary amine กับ 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57a)**	18
27	ปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ของ Naphthazarin กับ Sodium azide ใน DMF.....	20
28	ปฏิกิริยา Nucleophilic substitutions ระหว่าง primary amine ของอนุพันธ์ Naphthazarin กับ diethyl malonate.....	20
29	การสังเคราะห์ 1,4-naphthoquinone **(15)**	21
30	การสังเคราะห์ 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)**	22
31	การสังเคราะห์ 2-bromo-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)**	22
32	การพยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมปิดวงแบบ intramolecular cyclization โดยอาศัย microwave reactor.....	23
33	การพยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมปิดวงแบบ intramolecular cyclization โดยอาศัยวิธีการ reflux.....	23
34	การพยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมปิดวงแบบ intramolecular cyclization โดยการทำปฏิกิริยากับ pyridine.....	24
35	การพยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมปิดวงแบบ intramolecular cyclization โดยอาศัยการเกิด free radical.....	24
36	การสังเคราะห์ 5-methoxy-2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(72)**	25
37	ปฏิกิริยา nucleophilic substitution ระหว่างอนุพันธ์ของ naphthoquinones กับอนุพันธ์ของ tryptamine.....	26
38	การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนนโดยอาศัยปฏิกิริยา intramolecular cyclisation.....	27
39	กลไกการเกิดปฏิกิริยา Heck coupling reaction.....	28

รูปที่ หน้า

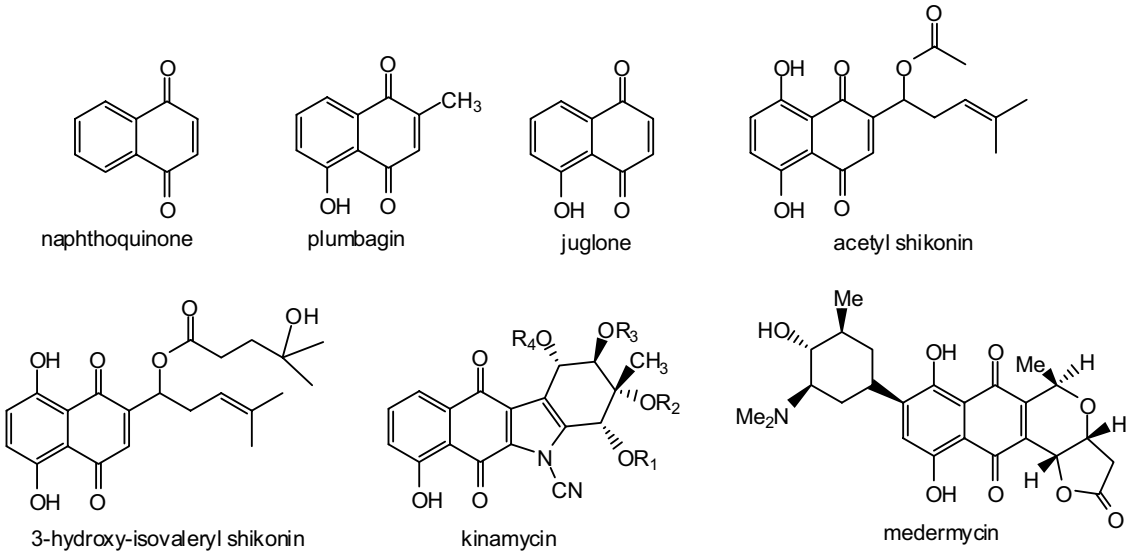
40 ปฏิกิริยา N-alkylation ของ 1,5,6,7,8, 14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75a)** 29

41 Hydrogen bonding ของ 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino [4,5-*b*] indole-9,14-dione **(75a)** 29

42 ปฏิกิริยาเคมีของ MTT assay..... 39

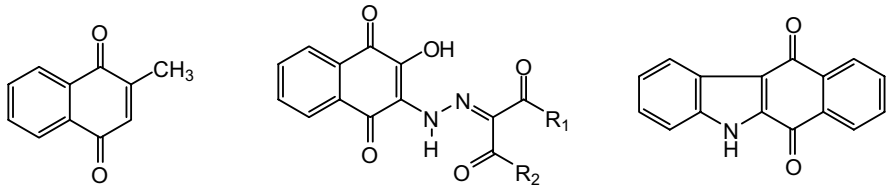
บทที่ 1
บทนำ

สารประกอบในกลุ่มของ naphthoquinones ที่มีโครงสร้างหลักเป็นวงเบนซีนต่อกับ 1,4-benzoquinone ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์เป็นอย่างมากเนื่องจากมีรายงานไว้ว่าเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง เช่น antifungal activity, antibacterial activity, anticancer activity, anti-inflammatory activity, antimalarial activity และ enzyme inhibition[1-4] โดยมีนักวิจัยพยายามหาสารชนิดใหม่เพื่อศึกษาสมบัติทางชีวภาพของสารกลุ่มนี้ ทั้งสารที่ได้จากการสกัดจากผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติ สารจากการสังเคราะห์เลียนแบบผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติหรือสารจากการสังเคราะห์โครงสร้างขึ้นมาใหม่ โดยสารประกอบประเภท naphthoquinones ที่พบในธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมีทั้งโครงสร้างที่เป็นลักษณะพื้นฐาน เช่น plumbagin และ juglone มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพ โดยต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (antibacterial activity) เชื้อรา (antifungal activity) และต้านเซลล์มะเร็ง (anticancer activity)[5-6] เป็นต้น และโครงสร้างที่สลับซับซ้อนขึ้น เช่น acetyl shikonin และ 3-hydroxy-isovalerylshikonin ซึ่งเป็นสารที่สกัดจากราก *Onosma argentatum* Hab.- Mor. (Boraginaceae)[7] มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (antimicrobial activity) เป็นต้น รวมทั้งที่มีลักษณะโครงสร้างเป็น heterocyclic naphthoquinone เช่น lambertellin, kinamycin, medermycin เป็นต้น



รูปที่ 1 สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ naphthoquinones ที่พบในธรรมชาติ

นอกจากนี้ยังมีสารสังเคราะห์เลียนแบบผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติและจากการสังเคราะห์โครงสร้างขึ้นมาใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ตัวอย่างเช่น menadione (วิตามิน K_3), hydrazino-naphthoquinone และ benzocarbazoledione เป็นต้น



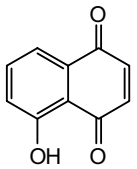
รูปที่ 2 สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ naphthoquinones ที่สังเคราะห์ขึ้น

เนื่องจากสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ naphthoquinones ที่มีประโยชน์และมีฤทธิ์ทางชีวภาพมีการศึกษาไว้มากมาย ผู้วิจัยจะขอยกตัวอย่างสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ naphthoquinones ที่น่าสนใจ ดังนี้

1.1 สารประกอบ naphthoquinones ที่มีในธรรมชาติ

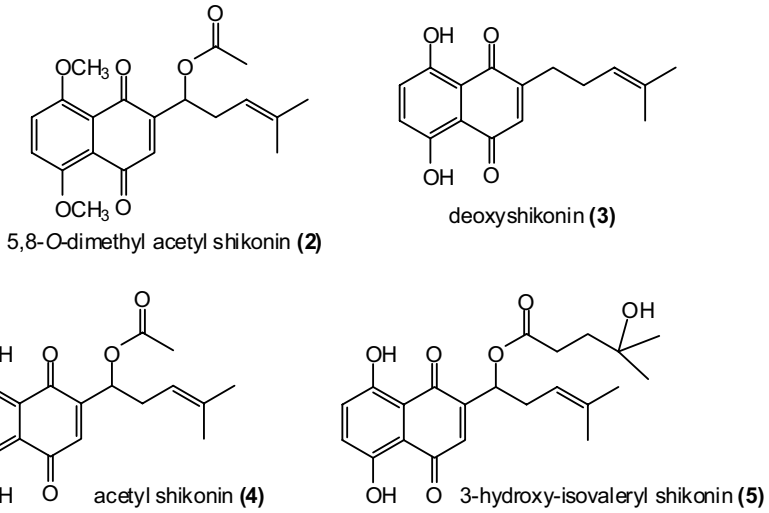
สารประกอบ naphthoquinones ที่พบในธรรมชาติ ส่วนมากพบในพืชวงศ์ Acanthaceae และ Plumbaginaceae โครงสร้างของ naphthoquinones ที่พบมีตั้งแต่โครงสร้างที่ไม่สลับซับซ้อน เช่น plumbagin และ juglone โดยหมู่ hydroxy ของ juglone มีความสำคัญต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังมีรายงานว่าเมื่อเติมหมู่ป้องกันหมู่ hydroxy ด้วยหมู่ OCH_3 ทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง ส่วนที่เติมหมู่แทนที่บนวง benzoquinone เช่น หมู่ CH_3 เช่นโมเลกุลของ plumbagin ไม่ส่งผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้การมีหมู่แทนที่บนวง naphthoquinones ที่เป็นสายโซ่ยาวยังพบความสามารถในการต้านเชื้อจุลชีพได้ดี ตัวอย่างเช่น

Juglone (5-hydroxy-1,4-naphthoquinone) **(1)** เป็นสารผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติที่พบได้ในราก ใบ เปลือกไม้ และเยื่อไม้ของต้นไม้ Black walnut (*Juglans nigra L.*)[5] โดยมีความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็ง (anticancer activity), ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial activity), และเชื้อรา (antifungal activity)[6]



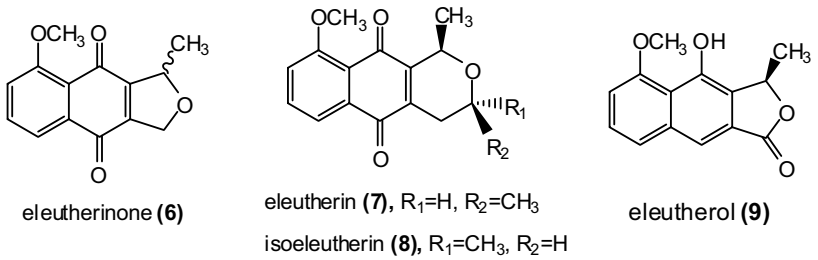
รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของ juglone

ในปี 2003 Ozgen, U. และคณะ[7] ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดจากราก *Onosma argentatum* Hab.- Mor. (Boraginaceae) พบสารประกอบ naphthoquinones ชนิดใหม่ คือ 5,8-*O*-dimethyl acetyl shikonin **(2)** และสารที่มีรายงานไว้แล้ว 3 ชนิด deoxyshikonin **(3)**, acetyl shikonin **(4)** และ 3-hydroxyl-isovaleryl shikonin **(5)** โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (antimicrobial activity) และมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก (high antioxidant activity)



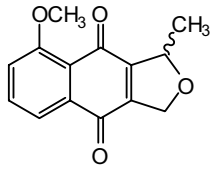
รูปที่ 4 สารประกอบ naphthoquinones สกัดจากราก *Onosma argentatum* Hab.-Mor. (Boraginaceae)

นอกจากนี้โมเลกุลของ naphthoquinones ที่เชื่อมกับวงแหวนเบนซีน หรือวงวิวิธพันธ์ยังคงปรากฏฤทธิ์ทางชีวภาพอยู่ เช่น naphthoquinones ที่เชื่อมกับวง tetrahydrofuran ในโมเลกุลของ eleutherinone **(6)** เป็นสารประกอบ naphthoquinones ชนิดใหม่สกัดได้จาก *Eleutherine bulbosa*(Miller) โดย Alive และคณะ[9] นอกจากนี้ยังพบสารประกอบ eleutherin **(7)** isoeleutherin **(8)** และ eleutherol **(9)** ซึ่งเคยมีรายงานแล้ว โดยสารประกอบ naphthoquinones **(7)** และ **(8)** รวมถึงโมเลกุล **(9)** ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราชนิด *Cladosporium sphaerospermum* ได้ดีมาก (strong antifungal activity, 100 μg/spot)



รูปที่ 5 สารประกอบ naphthoquinones ชนิดใหม่สกัดได้จาก *Eleutherine bulbosa* (Miller)

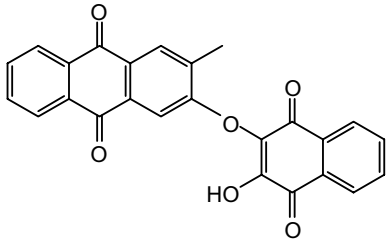
และถึงแม้ว่าวง tetrahydrofuran จะเชื่อมต่อกับโมเลกุลของ naphthoquinones ด้านวงเบนซีนดังโมเลกุลในรูป 6 พบว่ายังคงมีฤทธิ์ทางชีวภาพอยู่ โดย Naoe, A และคณะ[8] สามารถแยก Cribrarione A **(10)** ซึ่งเป็นสารประกอบ dihydrofuranonaphthoquinone ชนิดใหม่ จาก myxomycete *Cribraria purpurea* พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ชนิด *Bacillus subtilis*



eleutherinone **(10)**

รูปที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของ Cribrarione A

ในปี 2005 Eyong, K. O. และคณะ[10] ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารที่สกัดจาก *Newbouldia laevis*(Bignoniaceae) พบสารใหม่ newbouldiaquinone A **(11)** ซึ่งเป็นสารประกอบประเภท naphthoquinone-anthraquinone รวมทั้งสารที่เคยมีรายงานไว้แล้วอีก 14 ชนิด โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่า reference antibiotics (RA) และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ปานกลาง[11]



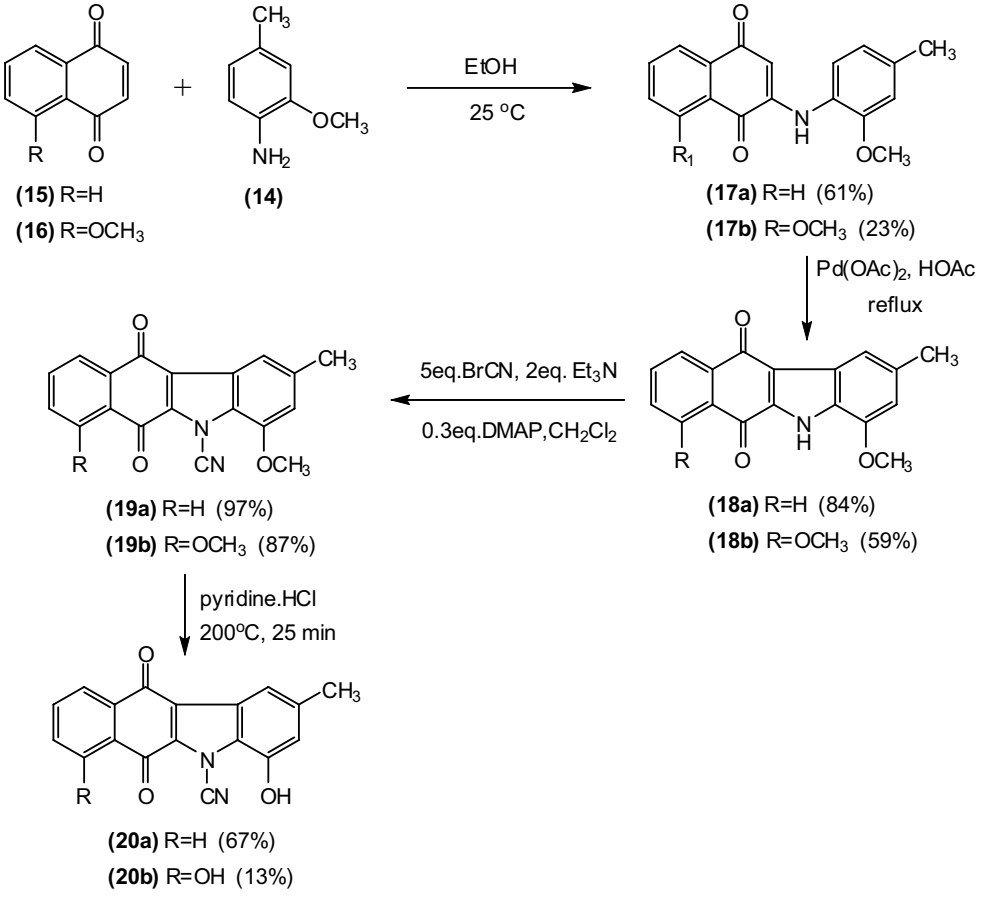
newbouldiaquinone A **(11)**

รูปที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของ newbouldiaquinone A

1.2 สารประกอบ naphthoquinones ที่สังเคราะห์ขึ้น

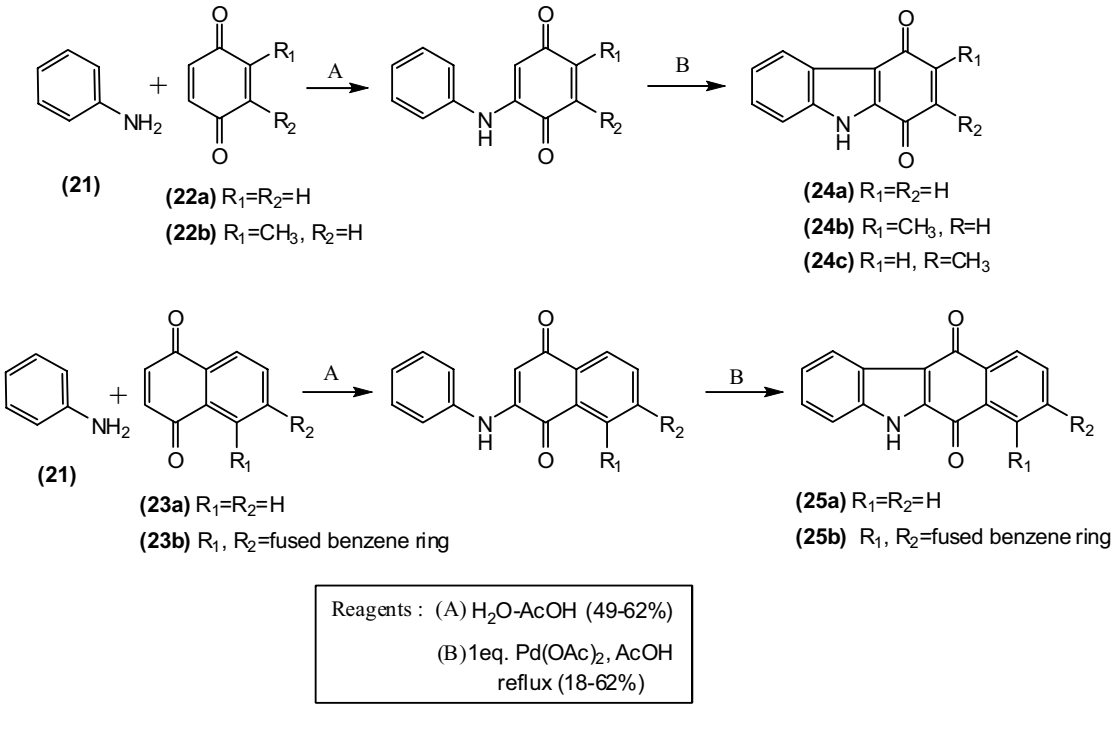
นอกจากสารประกอบ naphthoquinones ที่ได้จากผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติ ยังมีสารประกอบ naphthoquinones สังเคราะห์ขึ้นได้ในห้องปฏิบัติการจำนวนมาก โดยตัวอย่างการสังเคราะห์สารประกอบ naphthoquinones มีดังนี้

ในปี 1994 Knolker, H. J.และคณะ[12]ได้รายงานการสังเคราะห์สารประกอบ hydroxy-substitued benzo[*b*]carbozoloquinone cyanamide ที่มีโครงสร้างเป็น *N*-cyanoindoloquinone มีการค้นพบสารกลุ่มนี้ครั้งแรกในปี ค. ศ. 1970 ซึ่งสกัดได้จาก *Streptomyces murayamaensis* โดยพบ Kinamycin **(12)** ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (antitumor activity) และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ดีมาก (strongly active antibacterial) นอกจากนี้ยังมี Prekinamycin **(13)** ซึ่งมีการใช้เป็นยาปฏิชีวนะ จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์สนใจที่จะทำการสังเคราะห์สารในกลุ่ม indoloquinone นี้ โดยการสังเคราะห์ hydroxy-substituted 5-cyano-5*H*-benzo[*b*]carbozole-6,11-diones เริ่มต้นจากการทำปฏิกิริยา nucleophillic addition ของ arylamine **(14)** กับ 1,4-naphthoquinone derivatives **(15, 16)** จากนั้นปิดวงเป็น benzo[*b*]carbozoloquinones **(18a-b)** โดยผ่านปฏิกิริยา palladium(II)-promoted oxidative coupling ทำปฏิกิริยาต่อด้วย *N*-cyanation กับ cyanogen bromide และ chemo selective ether cleavage โดยใช้ pyridine hydrochloride ได้สารผลิตภัณฑ์ *N*-cyanoindoloquinone derivatives **(20a-b)**



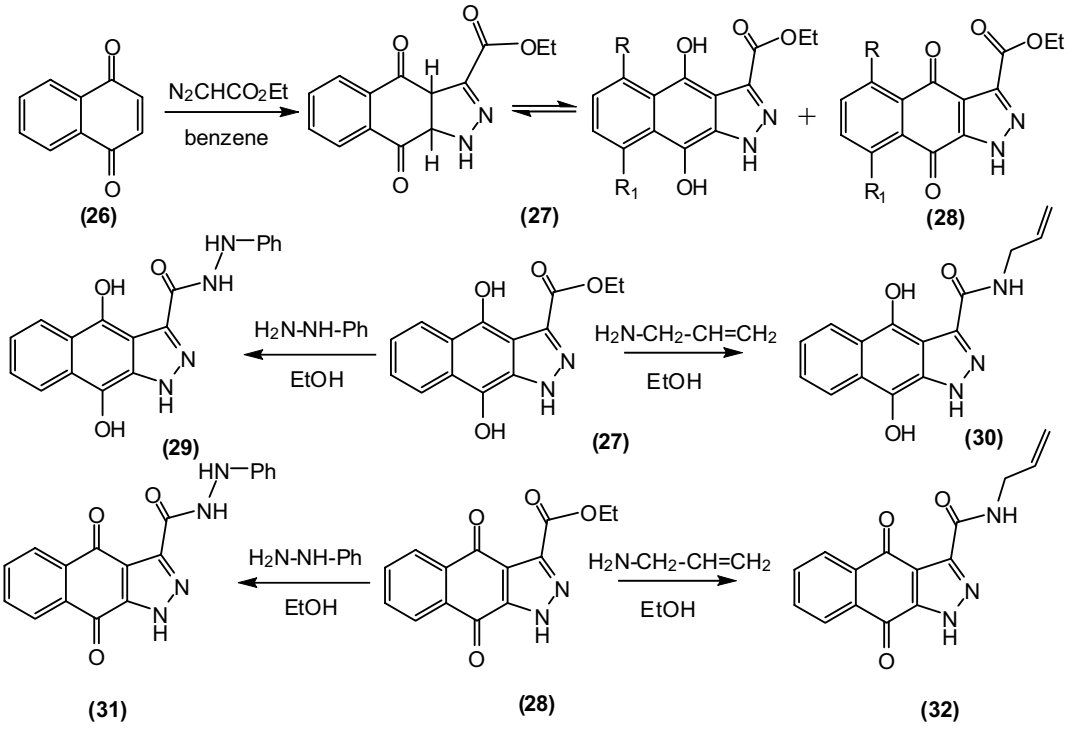
รูปที่ 8 การสังเคราะห์ hydroxy-substituted 5-cyano-5*H*-benzo[*b*]carbozole-6,11-diones

ในปี 2006 Bernardo, P. H. และคณะ[13] ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ Calothrixin B และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ (structure–activity relationship) เทียบกับ Calothrixin B ซึ่งเป็นสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสกัดจาก *Calothrix cyanobacteria* และมีโครงสร้างเป็น indolo[3,2-*j*]phenanthridine pentacyclic ring system โดยแสดงการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งชนิด human HeLa cell lines ได้ดีมาก (EC_{50} = 0.25 μM) โดยการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Calothrixin B เริ่มต้นจากปฏิกิริยา nucleophillic substitution ระหว่าง aniline **(21)** กับ1,4-benzoquinones **(22a-b)** หรือ 1,4-naphthoquinone derivatives **(23a-b)** จากนั้นทำปฏิกิริยา palladium(II)catalysed cyclisation ปิดวงได้สารผลิตภัณฑ์ carbozolediones **(24a-c, 25a-b)** เมื่อนำสารไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า benzocarbazoledione **(25b)** และ indolo-phenanthrenedione **(25a)** แสดงการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งชนิด human HeLa cell lines มีค่าใกล้เคียงกับ calothrixin B (EC_{50} = 1.5 μM และ 1.8 μM ตามลำดับ)



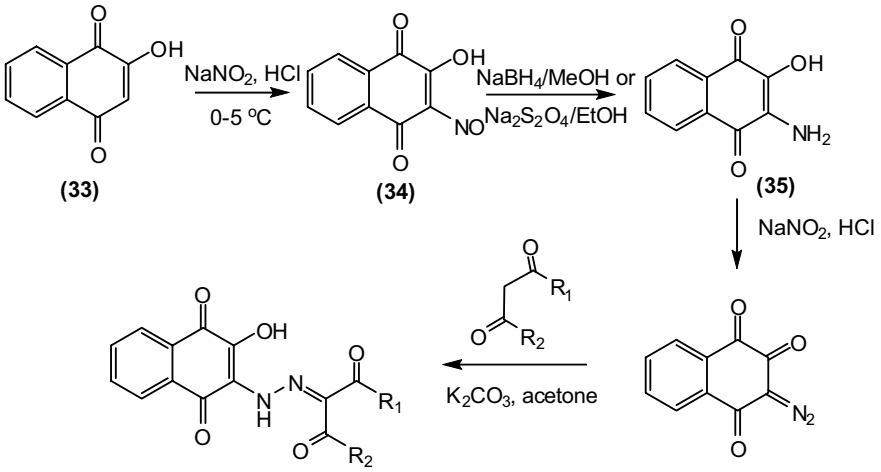
รูปที่ 9 การสังเคราะห์อนุพันธ์ Calothrixin B

Tandon, V. K. และคณะ[14] ได้การสังเคราะห์ (1,4)-naphthoquinono [3,2-c]-1*H*-pyrazoles โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ (structure–activity relationship) พบว่าสารประกอบ 1,4-naphthoquinone derivatives **(27, 28)** สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แก่ *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* และ *Streptococcus faecalis* ได้ ขณะที่สารประกอบ 1,4-naphthoquinone derivatives **(31, 32)** สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* นอกจากนี้สารประกอบ **(27)** ยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* และ *Cryptococcus neoformans* ได้ โดยการสังเคราะห์ (1,4)-naphthoquinono[3,2-c]-1*H*-pyrazoles เริ่มต้นจากปฏิกิริยา condensation ระหว่าง 1,4-naphtho quinone **(26)** กับ diazomethane ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสาร pyrazoles **(27)** และสาร **(28)** ในปริมาณ 48% และ 47% ตามลำดับ จากนั้นนำ pyrazoles **(27)** มาทำปฏิกิริยากับ substituted hydrazine ได้ผลิตภัณฑ์ (1,4)-naphthohydroquinono-[3,2-c]-1*H*-pyrazole-3-carboxylic acid hydrazides **(29)** และเมื่อทำปฏิกิริยากับ primary amine ได้ผลิตภัณฑ์ (1,4)-naphthohydroquinono-[3,2-c]-1*H*-pyrazole-3-carboxylic acid amides **(30)** และเมื่อ pyrazoles **(28)** มาทำปฏิกิริยากับ substituted hydrazine ได้ผลิตภัณฑ์ (1,4)-naphthoquinon-[3,2-*c*]-1*H*-pyrazole-3-carboxylic acid hydrazide **(31)** และเมื่อทำปฏิกิริยากับ primary amine ได้ผลิตภัณฑ์ (1,4)-naphthoquinon-[3,2-*c*]-1*H*-pyrazole-3-carboxylic acid amides **(31)**

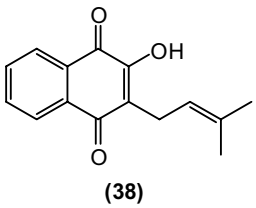


รูปที่ 10 การสังเคราะห์อนุพันธ์ (1,4)-naphthoquinono [3,2-c]-1*H*-pyrazoles

ในปี 2001 Ferreira, V. F และคณะ[15] ได้สังเคราะห์สารประกอบ 3-hydrazino-naphthaquinones **(37a-e)** ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ lapachol **(38)** ที่เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เริ่มต้นโดยทำปฏิกิริยา nitrosation ของ lawsone **(33)** ได้ nitroso-quinone **(34)** และทำปฏิกิริยา reduction ได้สารประกอบ **(35)** จากนั้นทำปฏิกิริยา diazotization ได้สารประกอบ 3-diazo-naphthalene-1,2,4-trione **(36)** แล้วทำการเติม 1,3-dicarbonylenolates ได้สารผลิตภัณฑ์เป็น hydrazine-1,4-naphthoquinones **(37a-e)** เมื่อนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสารประกอบ 3-hydroxy-2-hydrazino-1,4-naphthoquinone derivatives **(37e)** สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าสารประกอบ lapachol **(38)** 2 เท่า

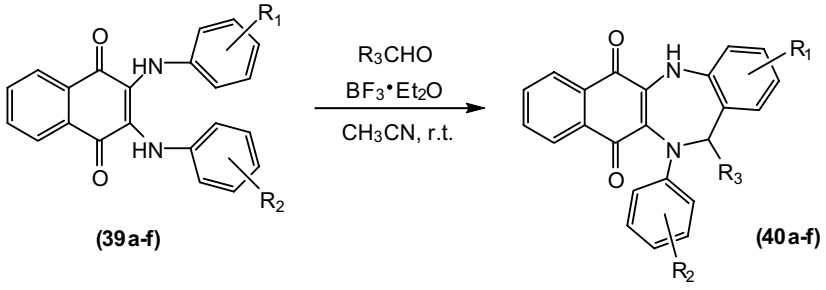


รูปที่ 11 การสังเคราะห์สารประกอบ 3-hydrazino-naphthaquinones



รูปที่ 12 โครงสร้างทางเคมีของ lapacol

Wang, X. L. และคณะ[16] ได้สังเคราะห์สารประกอบ 4,5-dihydro-1*H*-1,4-napthoquino [*b*]-benzo[*e*][1,4]diazepines **(40a-f)** ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่มของ benzodiazepine-naphtho quinones โดยสารประกอบ benzodiazepine นั้นมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง เช่น anti-convulsant, analgesic, anti-anxiety, และ anti-depressive เป็นต้น ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงคาดว่าสารประกอบกลุ่มนี้จะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีขึ้น โดยการสังเคราะห์เริ่มจากสารประกอบ 2,3-diamino-1,4-naphtho-quinones **(39a-g)** ทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler cyclization กับ alkyl หรือ aryl aldehydes ซึ่งมี $BF_3 \bullet OEt_2$ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้สารผลิตภัณฑ์ 4,5-dihydro-1*H*-1,4-napthoquino[*b*]benzo[*e*][1,4] diazepines **(40a-f)**

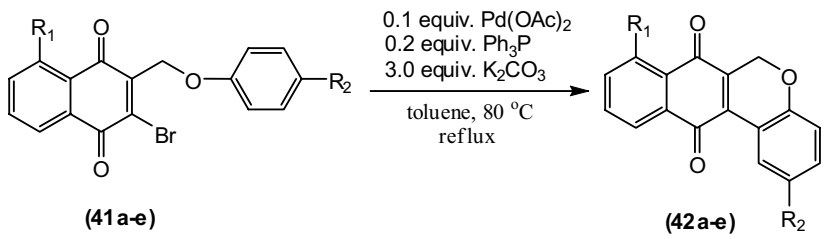


(39a-f) **(40a-f)**

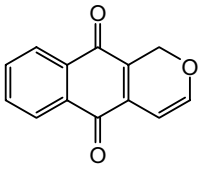
(a) R_1=H, R_2=4-Cl
(b) R_1=H, R_2=4-OEt
(c) R_1=R_2=4-OEt
(d) R_1=R_2=H
(e) R_1=R_2=2-Me
(f) R_1=H, R_2=2-Me
(g) R_1=NO_2, R_2=H

รูปที่ 13 การสังเคราะห์ 4,5-dihydro-1*H*-1,4-napthoquino[*b*]-benzo[*e*][1,4]diazepines **(40a-f)**

ในปี 2003 Van, T. N. และ Kimpe, N. D.[17] ได้สังเคราะห์สารประกอบ 6*H*-naphtho [2,3-*c*]chromene-7,12-diones **(42a-e)** เป็นสารที่มีโครงสร้างเป็น tetracyclic ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ pentalogin **(43)** ที่เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยอาศัยขั้นตอนสำคัญในการสังเคราะห์ คือ ปฏิกิริยา palladium-catalyzed intramolecular cyclization ของ 2-bromo-3-aryloxymethyl-1,4-naphtho quinones **(41a-e)**

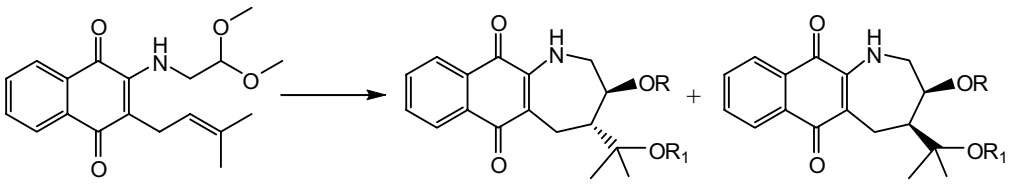


รูปที่ 14 การสังเคราะห์สารประกอบ 6*H*-Naphtho[2,3-*c*]chromene-7,12-diones



รูปที่ 15 โครงสร้างทางเคมีของ pentalongin

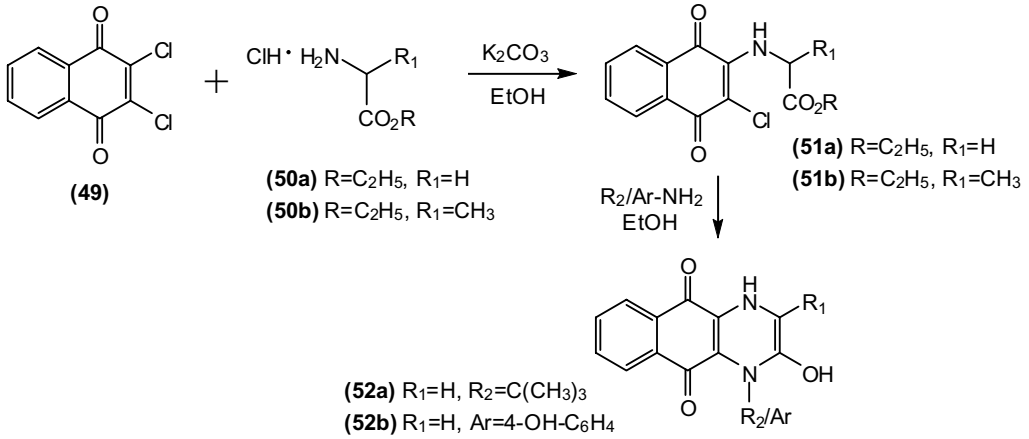
Vargas, M. D. และคณะ[18] ได้สังเคราะห์สารประกอบ azepines โดยอาศัยปฏิกิริยา intramolecular Prins cyclisation จากสารประกอบ 2-(2,2-dimethoxyethylamino)-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-dihydro-1,4-naphthalene-6,11-dione) **(44)** ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ lapachol **(38)** ทำปฏิกิริยาภายใต้ hydrolytic conditions ให้สารผลิตภัณฑ์เป็น diastereomeric mixture ของ azepines (**45a-b**)-(**48a-b**)



Condition ; (A) 88% HCO_2H, 2h, rt	**(45a)**	$R = R_1 = H$	**(45b)**	(7:3, 76%)
(B) aq.H_2SO_4, rt, MeOH	**(46a)**	$R = H, R_1 = CH_3$	**(46b)**	(4:1, 66%)
(C) $(Ac)_2O$, pyridine, DMAP,CH_2Cl_2, 24h, rt.	**(47a)**	$R = COCH_3, R_1 = H$	**(47b)**	(7:3, 69-78%)
(D) 88% HCO_2H, 2h, 0°C	**(48a)**	$R = H, R_1 = CHO$	**(48b)**	(7:3, 58%)

รูปที่ 16 การสังเคราะห์สารประกอบ azepines

Tandon, V. K. และคณะ[19] ได้สังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน 1,2,3-trisubstituted-1,4-dihydrobenzo[*g*]quinoxaline-5,10-diones **(52a, 52b)** โดยเริ่มต้นจาก 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinones **(49)** ทำปฏิกิริยากับ L-α -amino acid ethyl ester hydrochlorides **(50a, 50b)** ได้สารผลิตภัณฑ์ (S)-*N*-(3-chloro-1,4-naphthoquinon-2-yl)-α-amino acid ethyl esters **(51a, 51b)** จากนั้นปิดวงโดยทำปฏิกิริยากับ primary aliphatic หรือ aromatic amines ได้สาร **(52a)** และ **(52b)** ตามลำดับ โดยเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ (structure–activity relationship) พบว่าสารประกอบ **(51a, 51b)** มีความสามารถยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans, Cryptococcus neoformans,* และ *Sporothrix schenckii* และสารประกอบ **(52a, 52b)** มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* และ *Escherichia coli*



รูปที่ 17 การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน **(52a, 52b)**

จากงานวิจัยที่มีการศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบ naphthoquinones พบว่าโครงสร้างที่เป็นวงวิวิธพันธ์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาใหม่ สารประกอบบางตัวมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีขึ้น และมีฤทธิ์ดีกว่าสารประกอบ naphthoquinones ที่พบในธรรมชาติ ดังนั้นการสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนพโทควิโนนนั้นอาจนำไปสู่สารประกอบชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคดีได้กว่าสารที่มีอยู่ในปัจจุบันซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาไปเป็นยารักษาโรค นอกจากนี้ปัจจุบันการระบาดของเชื้อจุลชีพเป็นปัญหาที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของประเทศเขตร้อน และการรักษาโรคติดเชื้อโดยการใช้ยาต้านจุลชีพที่ไม่ถูกวิธีนั้น ทำให้เกิดการดื้อยาขึ้น จึงคาดว่าสารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนนที่สังเคราะห์ขึ้นมาใหม่อาจนำไปสู่สารชนิดใหม่ที่สามารถพัฒนาไปเป็นยาและแก้ปัญหาดังกล่าวได้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

จากการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับสารประกอบ naphthoquinones พบว่ามีกลุ่มนักวิจัยจำนวนมากได้ศึกษาและพัฒนาโครงสร้างของสารกลุ่มนี้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการการยับยั้งเชื้อจุลชีพ แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาลักษณะโครงสร้างที่เป็นวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของสารประกอบ naphthoquinones ยังมีน้อยมาก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างดังกล่าว นอกจากนี้ยังได้นำไมโครเวฟมาช่วยในการสังเคราะห์สารประกอบต่างๆ โดยมีวัตถุประสงค์ดังนี้

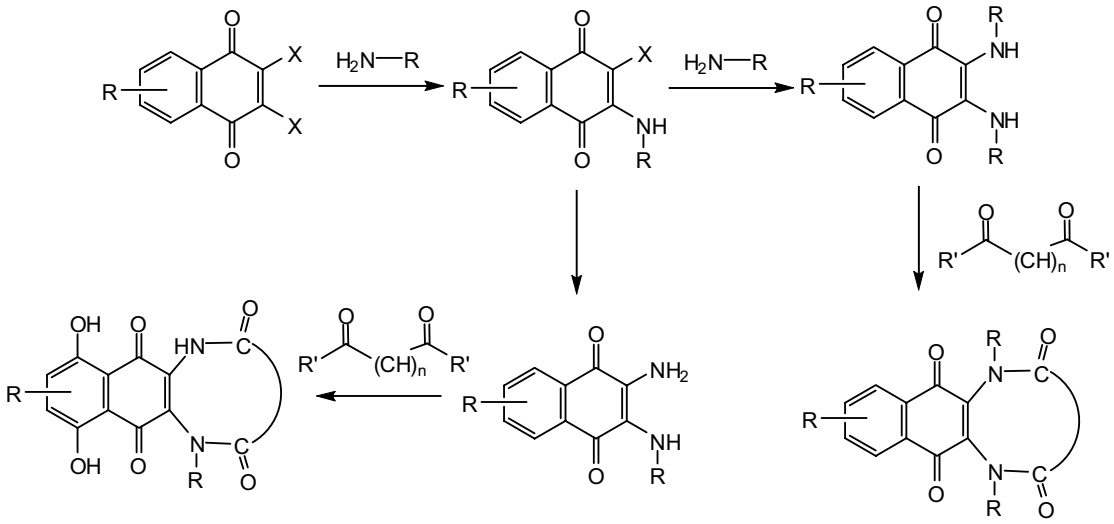
1. เพื่อใช้ไมโครเวฟสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน
2. เพื่อเปรียบเทียบวิธีการสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนนโดยการใช้ไมโครเวฟกับวิธีธรรมดาที่ใช้ทั่วไป
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของสารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟ-โทควิโนนที่สังเคราะห์ได้กับการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลชีพ

ขั้นตอนของการศึกษา

ผู้วิจัยได้วางแผนการทดลองเป็น 3 แผนการทดลอง และปรับปรุงเครื่องทำปฏิกิริยาเคมีโดยรังสีไมโครเวฟ (Domestic Microwave Reactor)

แผนการทดลองที่ 1 : การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ประเภท diamides ของแนฟโทควิโนนผ่านปฏิกิริยา Nucleophilic substitution

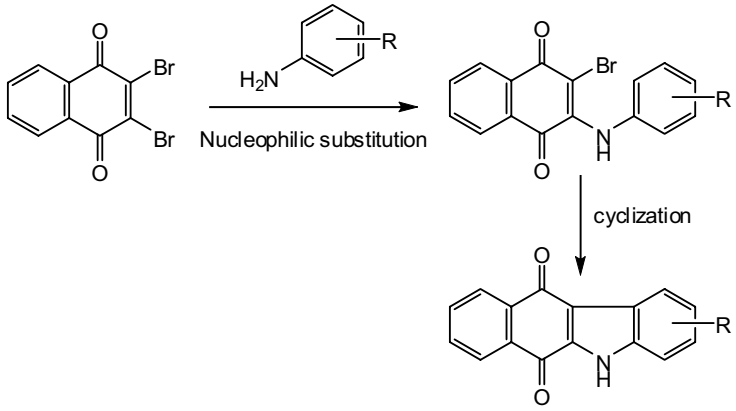
นำอนุพันธ์ของ 2,3-dihalogen-1,4-naphthoquinone มาทำปฏิกิริยา nucleophilic substitution กับอนุพันธ์ของ primary amine โดยเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่งที่ 2 หรือ 3 ของ 1,4-naphthoquinone แล้วเปลี่ยนหมู่ halogen ที่เหลือให้เป็น primary amine จากนั้นทำการปิดวงโดยการสังเคราะห์ diamide ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitutions หรือนำอนุพันธ์ของ 2,3-dihalogen-1,4-naphthoquinone มาทำปฏิกิริยา nucleophilic substitution กับอนุพันธ์ของ primary amine โดยควบคุมให้เกิดปฏิกิริยาทั้งตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของ 1,4-naphthoquinone จากนั้นทำการปิดวงโดยการสังเคราะห์ diamide ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitutions



รูปที่ 18 การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ประเภท diamides ของแนฟโทควิโนนผ่านปฏิกิริยา Nucleophilic substitution

แผนการทดลองที่ 2 : การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ aniline และปิดวงแบบ intramolecular cyclization

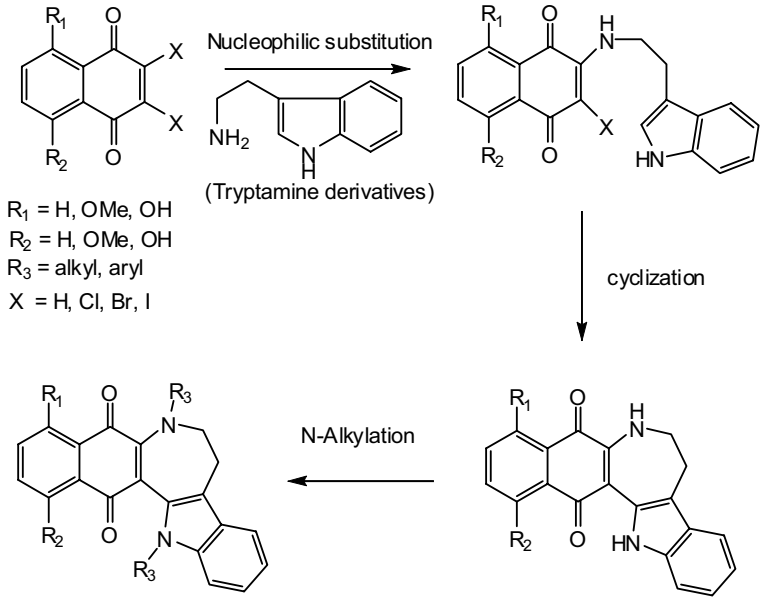
นำอนุพันธ์ของ 1,4-naphthoquinone มาทำปฏิกิริยา nucleophilic substitution กับอนุพันธ์ของ aniline ที่มี primary amine เข้าทำปฏิกิริยาที่ตำแหน่งที่ 2 หรือ 3 ของ 1,4-naphthoquinone จากนั้นปิดวงเป็นสารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยอาศัยปฏิกิริยาเกิดผ่าน free radical หรือการให้ความร้อนด้วยวิธีการ reflux และการใช้ไมโครเวฟ



รูปที่ 19 การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ aniline และปิดวงแบบ intramolecular cyclization

แผนการทดลองที่ 3 : การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ Tryptamine และปิดวงแบบ intramolecular cyclization

นำอนุพันธ์ของ 1,4-naphthoquinone มาทำปฏิกิริยา Nucleophilic substitution กับ secondary amine โดยใช้ Tryptamine และอนุพันธ์ของ Tryptamine จากนั้นปิดวงเป็นวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมโดยอาศัย Transition metal เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาหรือผ่าน free radical แล้วเติมหมู่แทนที่บนโปรตอนของไนโตรเจนอะตอมโดยใช้ปฏิกิริยา alkylation หรือ arylation ทั้งนี้ในขั้นตอนการทำปฏิกิริยา intramolecular cyclization จะให้ความร้อนโดยใช้วิธีการ reflux เปรียบเทียบกับการใช้ไมโครเวฟ



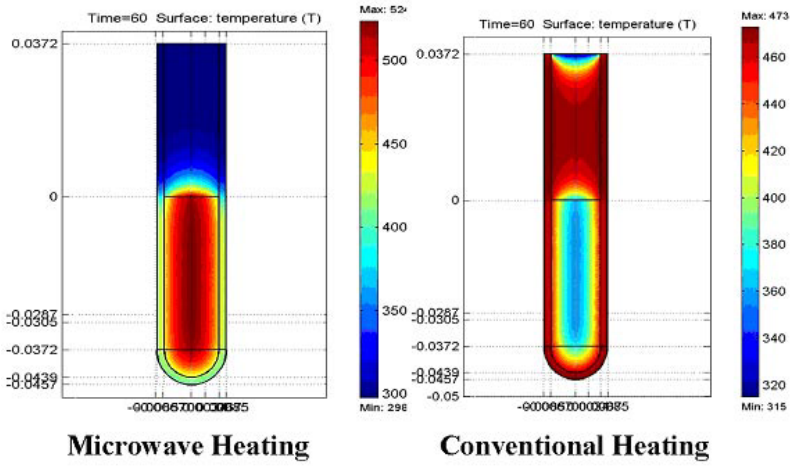
รูปที่ 20 การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ Tryptamine และปิดวงแบบ intramolecular cyclization

การปรับปรุงเครื่องทำปฏิกิริยาเคมีโดยรังสีไมโครเวฟ (Domestic Microwave Reactor)

ปัจจุบันงานวิจัยด้านนี้กำลังมีมากขึ้น เนื่องจากทำให้การใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาน้อยกว่า แต่ให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูง ดังนั้นเครื่องทำปฏิกิริยาเคมีด้วยไมโครเวฟออกจำหน่ายทั่วไป ทั้งที่ควบคุมโดยใช้ปุ่มควบคุม และควบคุมอัตโนมัติ โดยใช้ระบบคอมพิวเตอร์ ซึ่งมีราคาแพง

รูปที่ 21 Commercial Microwave Reactor

เมื่อเปรียบเทียบการทำปฏิกิริยาโดยการ reflux แบบเดิมซึ่งเป็นการพาความร้อน (conventional heating) โดยความร้อนจะเกิดขึ้นจากบริเวณที่ติดกับแท่นให้ความร้อนเนื่องจากต้องอาศัยตัวกลางในการพาความร้อน ทำให้การกระจายตัวของความร้อนไม่สม่ำเสมอ ขณะที่การทำปฏิกิริยาโดยใช้ไมโครเวฟ (microwave heating) ความร้อนเกิดขึ้นเนื่องจากตัวทำละลายดูดคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของจาก microwave reactor ทำให้มีการกระจายตัวของความร้อนสม่ำเสมอและจะเกิดความร้อนขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังแสดงในรูปที่ 22 เมื่อสีแดงแสดงระดับความร้อนที่อุณหภูมิสูง และสีน้ำเงินแสดงระดับความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ



รูปที่ 22 เปรียบเทียบระดับความร้อน microwave heating และ conventional heating

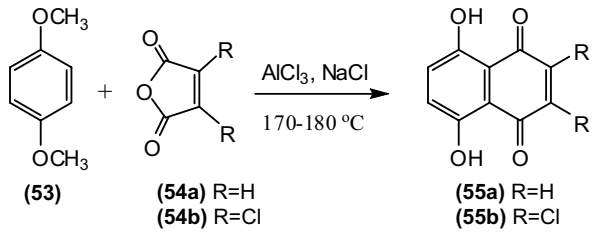
ในการวิจัยนี้ได้พัฒนาเครื่องไมโครเวฟบ้านมาเป็นเครื่องทำปฏิกิริยาเคมีด้วยไมโครเวฟ โดยทำการดัดแปลงเตาอบไมโครเวฟที่ใช้ในครัวเรือนทั่วไป ซึ่งความถี่ 2.45 GHz ซึ่งอาศัยหลักการเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าให้เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูง และมีพลังงานสูงทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูง และได้ดัดแปลงเพื่อให้สามารถทำปฏิกิริยาโดยวิธี Reflux ภายใต้สภาวะไนโตรเจนได้ดัดแปลงเตาอบไมโครเวฟ Sumsung M1932 โดยดัดแปลงเอาจานหมุนแก้วที่รองอาหารออก เอาพื้นโลหะ และระบบมอเตอร์ของจานหมุนออก และใช้อลูมิเนียมมาแทนพื้นโลหะ เชื่อมติดกันด้วยกาว Elastomer ทนไฟ สาเหตุที่ใช้แผ่นอลูมิเนียมแทน เพราะต้องการให้ Magnetic Stirrer และ Magnetic bar ใน Reaction Flask หมุนได้ เนื่องจากหากพื้นเป็นโลหะ Magnetic Bar จะไม่ขยับเลย ด้านบนของเครื่อง Microwave Reactor ได้เจาะรู เพื่อใส่ Condenser ซึ่งออกแบบมาพิเศษ ให้สามารถต่อได้พอดีกับ Reaction Flask ภายในเตาไมโครเวฟ

รูปที่ 23 การปรับปรุงเครื่องทำปฏิกิริยาเคมีโดยรังสีไมโครเวฟ (Domestic Microwave Reactor)

บทที่ 2
ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

2.1 ตอนที่ 1 การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ประเภท diamides ของแนฟโทควิโนนผ่านปฏิกิริยา Nucleophilic substitution

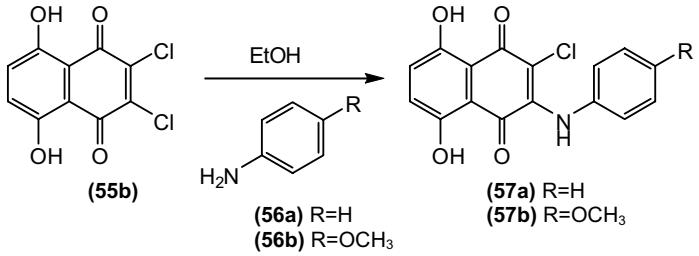
เริ่มจากการสังเคราะห์สารตั้งต้น 2, 3-disubstituted-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55a, 55b)** ทำได้โดยนำ maleic anhydride **(54a)** หรือ 2,3-dichloromaleic anhydride **(54b)** มาทำปฏิกิริยากับ 1,4-dimethoxybenzene **(53)** โดยอาศัยปฏิกิริยา Friedel-Crafts ซึ่งมี aluminium chloride และ sodium chloride เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา[20]ได้ 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55a)** และ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55b)** ในปริมาณ 13 และ 70% yield ตามลำดับ ซึ่งโครงสร้างของสารผลิตภัณฑ์ทั้งสองสามารถเปรียบเทียบกับที่เคยมีรายงานไว้[21] ในการทดลองนี้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตของ 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55a)** ต่ำ คาดว่าเนื่องมาจาก maleic anhydride **(54a)** มี electron density ภายในวงมากกว่า 2,3-dichloromaleic anhydride **(54b)** ที่มี chlorine atom เป็นหมู่ดึงอิเล็คตรอน ทำให้ 1,4-dimethoxybenzene **(53)** เข้าทำปฏิกิริยาได้ยากจึงได้สารผลิตภัณฑ์น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphtho quinone **(55b)** ดังนั้นการทดลองนี้จึงใช้ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55b)** เป็นสารตั้งต้น



(53) **(54a)** R=H **(54b)** R=Cl **(55a)** R=H **(55b)** R=Cl

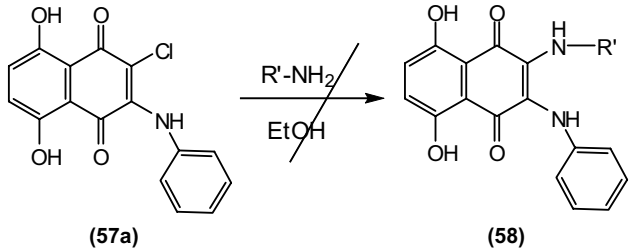
รูปที่ 24 การสังเคราะห์ 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55a)** และ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy 1,4-naphthoquinone **(55b)**

เมื่อได้สารตั้งต้น 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55b)** มาทำปฏิกิริยากับ aniline **(56a)** หรือ *p*-anisidine **(56b)** ใน ethanol โดยกวนสารละลายเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จะมีตะกอนสีแดงเกิดขึ้น เมื่อทำการกรองตะกอนจะได้สาร **(57a)** และ **(57b)** ในปริมาณ 82 และ 78% ตามลำดับ สำหรับสาร **(57a)** เมื่อนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้ข้อมูล ^{1}H-NMR พบสัญญาณ broad singlet ของ 1 โปรตอน NH ที่ 7.84 ppm พบสัญญาณของโปรตอนบน aromatic ring เป็น multiplet จำนวน 7 โปรตอนที่ 7.09-7.40 ppm และสัญญาณโปรตอนของ –OH จำนวน 2 กลุ่ม ที่ 11.90 และ 12.86 ppm และสาร **(57b)** พบสัญญาณ broad singlet ของ 1 โปรตอน NH ที่ 7.80 ppm พบสัญญาณของโปรตอนบน aromatic ring จำนวน 6 โปรตอน และสัญญาณโปรตอนของ –OH จำนวน 2 กลุ่ม ที่ 11.90 และ 12.90 ppm



รูปที่ 25 ปฏิกิริยา nucleophilic substitution อนุพันธ์ของ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone

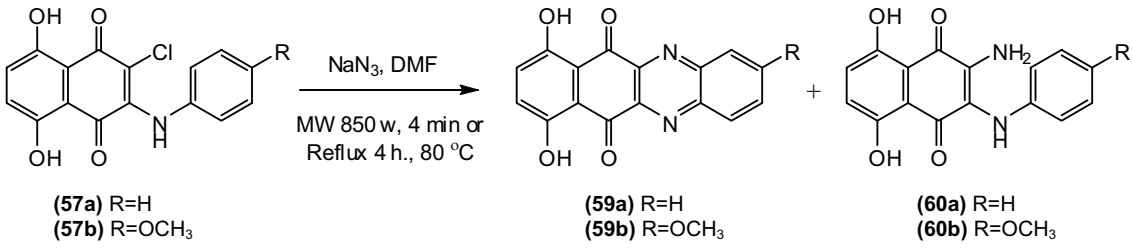
อย่างไรก็ตามในการสังเคราะห์สาร diamine **(58)** ของวงวิวิธพันธ์แนพโทควิโนน จำเป็นต้องเติมหมู่แทนที่ amino group เข้าแทนที่ chloride อีกหนึ่งอะตอม ดังนั้นจึงนำสาร **(57a)** มาทำปฏิกิริยา nucleophilic substitutions ในตำแหน่งที่ 2 โดยใช้ primary amine ในตัวทำละลาย EtOH ไม่มีสารผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นมีเพียงสารตั้งต้นเท่านั้น คาดว่าเนื่องจากผลของ amine ในตำแหน่งที่ 3 ที่นอกเหนือจะสร้างความเกะกะแล้วยังส่งผลให้วง naphthoquinones มี electron density สูงขึ้นส่งผลให้ nucleophiles ไม่สามารถแทนที่ในตำแหน่งที่ 2 ได้อีก



รูปที่ 26 ปฏิกิริยา nucleophilic substitution ของ primary amine กับ 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57a)**

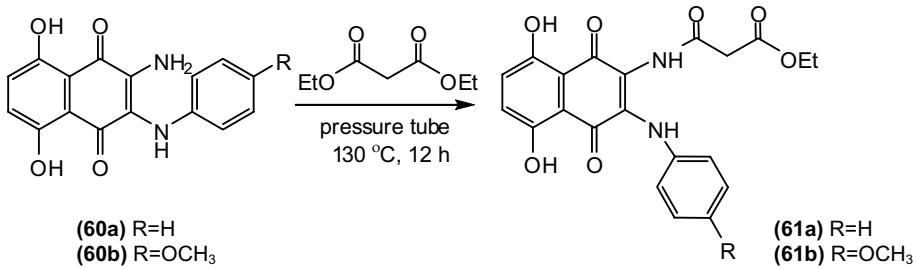
เมื่อวิธีข้างต้นไม่ประสบความสำเร็จจึงนำสาร 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57a)** และ 2-chloro-5,8-dihydroxyl-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57b)** มาเติมหมู่ amino โดยทำปฏิกิริยากับ sodium azide[22] ดังแสดงในรูปที่ 2.4 และให้ความร้อนกับปฏิกิริยา 2 วิธี โดยวิธีแรกเป็นการให้ความร้อน reflux ที่ 80 ^{o}C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และวิธีที่ 2 เป็นการให้ความร้อนโดยใช้ microwave irradiation ใน DMF ในการใช้ความร้อนโดยวิธี reflux พบว่ามีตะกอนสีแดงเกิดขึ้น กรองแยกตะกอน จะได้สาร **(59a)** และ **(59b)** ในปริมาณ 38% และ 86 % ตามลำดับ โดยคาดว่าผลของหมู่แทนที่ในตำแหน่งที่ 3 ทำให้ได้ปริมาณของสารผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งสาร **(57b)** มีหมู่แทนที่เป็น *p*-anisidine สามารถเกิด electron delocalized จากหมู่ methoxy ได้ดีจึงได้สารผลิตภัณฑ์ในปริมาณมากกว่าสาร **(57a)** มีหมู่แทนที่เป็น aniline จากข้อมูลทาง ^{1}H-NMR ของ **(59a)** และ **(59b)** พบจำนวนโปรตอนบน aromatic ring ของ aniline **(56a)** และ *p*-anisidine **(56b)** หายไปอย่างละ 1 ตัว โดย ^{1}H-NMR spectrum ของ **(59a)** มีความสมมาตร พบกลุ่มของสัญญาณโปรตอนจำนวน 2 โปรตอนบนวง aromatic ของ naphthoquinones และที่ตำแหน่ง 7.50 ppm และอีก 2 กลุ่มของ 4 โปรตอนบน aromatic ring ที่ตำแหน่ง 8.11-8.12 และ 8.52-8.53 ppm และไม่พบ broad singlet 1 โปรตอน ของ NH ซึ่งจากการวิเคราะห์น่าจะเกิดการปิดวงเกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์ **(59a)** ซึ่งตรงกับที่มีรายงานไว้[22] ส่วน ^{1}H-NMR spectrum ของ **(59b)** คล้ายกับ **(59a)** ต่างกันตรงที่ความสมมาตรหายไป จึงทำให้กลุ่มของโปรตอนจำนวน 2 โปรตอนนั้นแยกออกจากกัน ส่วนของสารละลายจากการกรองนำมาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และทำบริสุทธิ์โดยเทคนิค column chromatography กรณีที่สารตั้งต้นเป็น 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57a)** พบสัญญาณของ broad singlet ใน ^{1}H-NMR spectrum ของหมู่ NH_2 ที่ 4.69 ppm และ broad single ของ NH ที่ 6.56 ppm นอกจากนี้ยังพบสัญญาณของโปรตอนบน aromatic ring จำนวน 7 โปรตอน และยังพบสัญญาณโปรตอนของ –OH จำนวน 2 กลุ่ม ที่ 12.14 และ 12.50 ppm ซึ่งคาดว่าโครงสร้างของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ คือ **(60a)** ซึ่งตรงกับที่มีรายงานไว้[22] แต่ในกรณีที่สารตั้งต้นเป็น 2-chloro-5,8-dihydroxyl-3-(*p*-methoxy)phenylamino -1,4-naphthoquinone **(57b)** ไม่พบสาร **(60b)** คาดว่าเนื่องมาจากการเกิดสาร **(57b)** ผ่าน electron delocalized ของหมู่ methoxy ดังที่ได้กล่าวมาแล้วเกิดขึ้นได้ง่ายจึงพบเพียงสาร **(59b)** ในปริมาณสูง ส่วนวิธีที่ 2 การให้ความร้อนกับปฏิกิริยาโดยใช้ microwave irradiation นั้นไม่พบตะกอนสีแดง และหากเมื่อนำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนและทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ column chromatography พบว่าเมื่อสารตั้งต้นเป็น 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphtho quinone **(57a)** ทำปฏิกิริยากับ sodium azide จะได้สาร **(59a)** และ **(60a)** ในปริมาณ 39% และ 38%

ตามลำดับ แต่เมื่อใช้ 2-chloro-5,8-dihydroxyl-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57b)** แทน จะได้สาร **(60b)** ในปริมาณ 24% เพียงตัวเดียว โดยไม่พบสารผลิตภัณฑ์ที่ปิดวงเกิดขึ้น



รูปที่ 27 ปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ของ Naphthazarin กับ Sodium azide ใน DMF

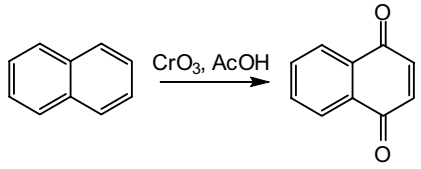
จากนั้นนำสาร **(60a)** และ **(60b)** มาทำปฏิกิริยากับ diethyl malonate ซึ่งเป็นสารที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ เพื่อเตรียมสารประกอบ diamide ในสภาวะปราศจากตัวทำละลาย โดยทำปฏิกิริยาใน pressure tube พบว่าเฉพาะด้าน amino group เท่านั้นที่ทำปฏิกิริยากับ diethyl malonate ส่วน secondary amine ไม่ทำปฏิกิริยาเนื่องจากความว่องไวในการทำปฏิกิริยาของ secondary amine ลดน้อยลงจึงไม่สามารถที่จะเกิดปฏิกิริยาการขจัดได้ และการเปลี่ยน secondary amine ให้เป็น nucleophile ที่ดี โดยทำปฏิกิริยากับเบสไม่สามารถทำได้ เนื่องจากเบสจะไปทำปฏิกิริยากับ $-CH_2$ ของ malonate ที่มีความเป็น acidic proton มากกว่าโปรตอนของ secondary amine ดังนั้นควรเปลี่ยนสภาวะในการทำปฏิกิริยาหรือเปลี่ยนมาใช้ diethyl malonic acid หรืออนุพันธ์ที่เป็น acid chloride เพื่อทำการศึกษาปฏิกิริยาการเพื่อทำการปิดวงเป็นสารประกอบวงวิวิธพันธ์ซึ่งจะทำการศึกษาต่อไป



รูปที่ 28 ปฏิกิริยา Nucleophilic substitutions ระหว่าง primary amine ของอนุพันธ์ Naphthazarin กับ diethyl malonate

2.2 ตอนที่ 2 การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ aniline และปิดวงแบบ intramolecular cyclization

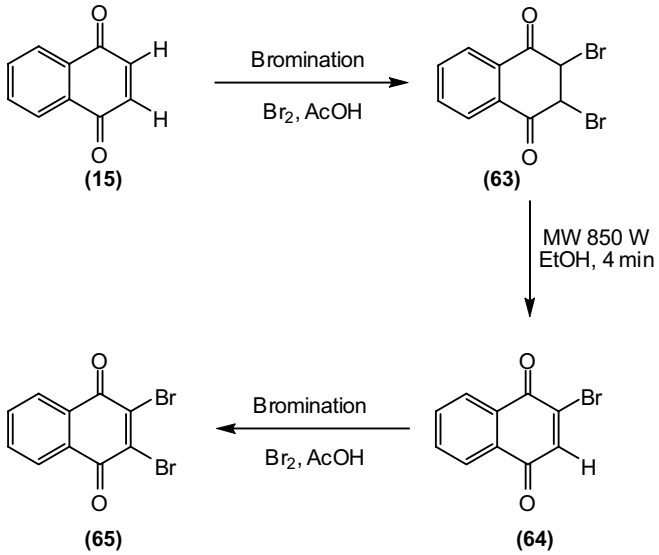
เริ่มจากการสังเคราะห์1,4-naphthoquinone **(15)** ทำได้โดยอาศัยปฏิกิริยา oxidation ของสารประกอบ naphthalene **(62)** โดยมี chromium trioxide เป็น oxidizing agent โดยทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่ำเนื่องจากเกิดปฏิกิริยา oxidation ที่รุนแรง ได้1,4-naphthoquinone **(15)** เป็นผลึกสีส้ม 35% yield จากข้อมูลทาง ^{1}H-NMR พบสัญญาณที่ 6.99 ppm เป็น singlet เนื่องจากโครงสร้างของ 1,4-naphthoquinone **(15)** มีลักษณะสมมาตร ซึ่งตรงตามที่เคยมีรายงานไว้[23]



(62) **(15)**

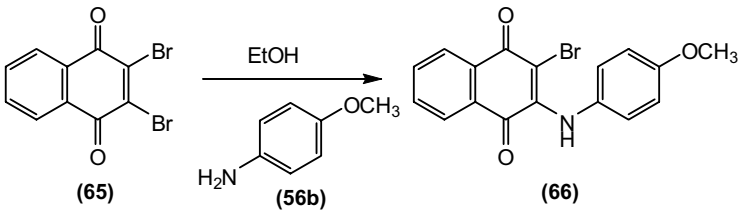
รูปที่ 29 การสังเคราะห์ 1,4-naphthoquinone **(15)**

ทางคณะผู้วิจัยคาดว่าเมื่อมีหมู่แทนที่เป็น halogen ในตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของ 1,4-naphthoquinone จะช่วยให้เกิดการปิดวงได้ง่ายขึ้น ไม่ว่าจะอาศัยปฏิกิริยา free radical nucleophilic substitution หรือการปิดวงแบบ intramolecular cyclization ดังนั้นจึงทำการสังเคราะห์ 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)**[24] เริ่มจาก 1,4-naphthoquinone **(15)** ทำปฏิกิริยา bromination กับ Br_2 ใน AcOH ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดง่าย รวดเร็ว ได้สาร 2,3-dibromo-2,3-dihydro-1,4-naphthoquinone **(63)** 80% ซึ่งเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเกิดสลายตัว ซึ่งเมื่อนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำได้เป็นผลึกสีเหลืองแล้ว ต้องรีบเติม ethanol เพื่อป้องการสลายตัว แล้วนำไปให้ความร้อนด้วย microwave reactor แล้วทำให้เย็นจะได้ตะกอนสีเหลืองตกลงมา กรองตะกอนแบบลดความดันจะได้ 2-bromo-1,4-naphthoquinone **(64)** 81% yield จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยา bromination ซ้ำอีกครั้งหนึ่ง ได้สาร 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)** 85% (รูปที่ 30) ซึ่งเมื่อตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้ ^{1}H-NMR และ mp 218-220 $^{\circ}$C พบว่าตรงกับที่รายงานไว้[24]



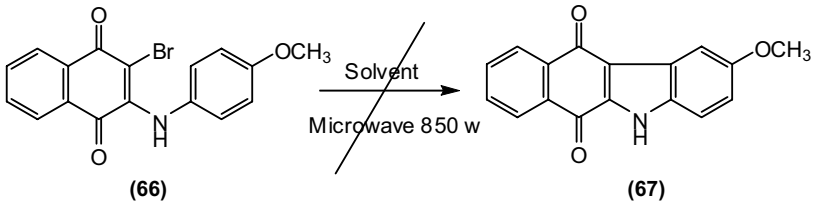
รูปที่ 30 การสังเคราะห์ 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)**

นำสาร 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)** ที่สังเคราะห์ได้มาทำปฏิกิริยา nucleophilic substitution กับ *p*-anisidine **(56b)** ใน ethanol โดยกวนสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะมีตะกอนสีแดงเกิดขึ้น เมื่อทำการกรองตะกอนจะได้สาร 2-bromo-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** 85% (รูปที่ 31) เมื่อนำไปตรวจสอบโครงสร้างโดยใช้ข้อมูล ^{1}H-NMR พบสัญญาณ singlet ของ 3 โปรตอน methoxy ที่ 3.86 ppm พบสัญญาณของโปรตอนบน aromatic ring เป็น doublet 2 กลุ่ม จำนวน 4 โปรตอน ที่ 6.90 และ 7.09 ppm และสัญญาณของโปรตอนบน aromatic ของ naphthoquinone จำนวน 2 โปรตอน ซ้อนทับกับสัญญาณโปรตอนของ NH เป็น multiplet ที่ 7.67-7.83 ppm และอีก 2 โปรตอน เป็น doublet 2 กลุ่ม ที่ 8.12 และ 8.21 ppm



รูปที่ 31 การสังเคราะห์ 2-bromo-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)**

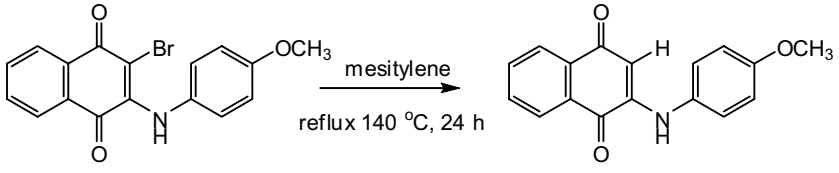
นำ 2-bromo-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** ที่ได้มาทำให้เกิดการปิดวงแบบ intramolecular cyclization ให้เป็นวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมของ indolonaphthoquinone ซึ่ง Knolker, H. J.และคณะ[12] ซึ่งทำการสังเคราะห์โดยใช้ palladium(II)catalysed cyclisation ได้ indolonaphthoquinone ในปริมาณ 84% yield ด้วยวิธีการต่างๆ โดยผู้วิจัยคาดว่าจากลักษณะโครงสร้างทางเคมีในส่วนของ *p*-methoxy phenylamino group นั้น มี electron density สูงจะสามารถเกิดการ electron delocalized ได้ ประกอบกับที่ตำแหน่งที่ 2 เป็นหมู่ bromine ซึ่งเป็น leaving group ที่ดี จึงคาดว่าน่าจะเกิดการปิดวงแบบ intramolecular cyclization เมื่อมีการให้พลังงานกับปฏิกิริยา เริ่มจากการให้ความร้อนโดยอาศัย microwave reactor ในสภาวะที่มีตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ Toluene, THF และ DMF แต่พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาทั้ง 3 สภาวะ คาดว่าส่วนหนึ่งอาจจะมาจากข้อจำกัดของเครื่อง microwave ที่ทำปฏิกิริยาได้ครั้งละไม่เกิน 8 นาที อาจทำให้ปฏิกิริยาได้รับพลังงานความร้อนไม่เพียงพอที่จะเกิดปฏิกิริยาได้ (รูปที่ 32)



(66) **(67)**

รูปที่ 32 การพยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมปิดวงแบบ intramolecular cyclization โดยอาศัย microwave reactor

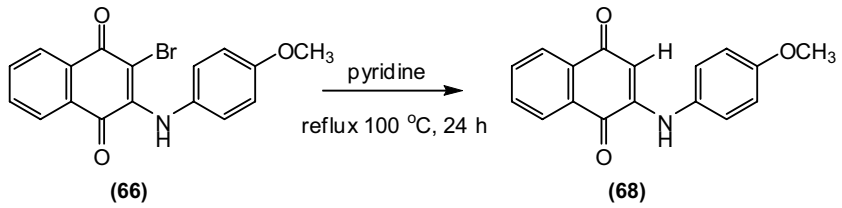
จากนั้นเปลี่ยนวิธีการให้พลังงานความร้อนโดยอาศัยการ reflux ซึ่งมี mesitylene เป็นตัวทำละลาย ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 140 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดสารผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยม ได้สาร 3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(68)** 42 % yield เป็น reduced product ซึ่งแทนที่ bromine ด้วย hydrogen อะตอม (รูปที่ 33) คาดว่าเนื่องมาจากสารตั้งต้น **(66)** ได้รับพลังงานสูงเป็นเวลานาน ทำให้ bromine ซึ่งเป็น leaving group ที่ดีหลุดออกและถูกแทนที่ด้วย hydrogen อะตอมได้



(66) **(68)**

รูปที่ 33 การพยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมปิดวงแบบ intramolecular cyclization โดยอาศัยวิธีการ reflux

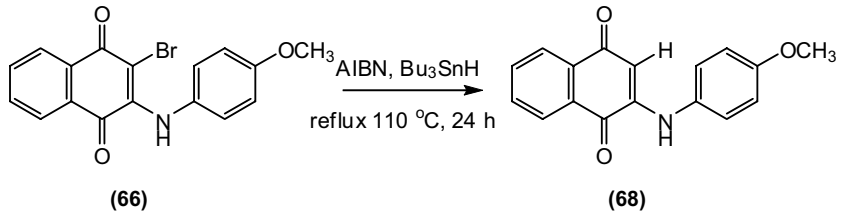
จากนั้นลอง 2-bromo-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** มาทำปฏิกิริยากับ pyridine โดย reflux ที่อุณหภูมิ 140 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยคณะผู้วิจัยคาดว่า pyridine จะช่วยในการปิดวงโดย nitrogen atom บน pyridine จะ coordinate กับ bromine ของสารตั้งต้น ซึ่งเคยมีรายงานไว้ว่า pyridine จะเข้าทำปฏิกิริยาที่ carbon ที่มี bromine เกาะอยู่เกิดเป็น iminium salt[25] และเมื่อเกิด electron delocalize บนส่วน *p*-methoxy phenylamino group จะสามารถเกิด intramolecular cyclization ได้โดยการขจัด pyridine ออกจากโมเลกุล แต่พบว่าจากปฏิกิริยานี้มีเพียงสาร 3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(68)** 96% yield ซึ่งเป็น reduced product



(66) **(68)**

รูปที่ 34 การพยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมปิดวงแบบ intramolecular cyclization โดยการทำปฏิกิริยากับ pyridine

จากนั้นผู้วิจัยได้พยายามทำปฏิกิริยา intramolecular cyclization ของ 2-bromo-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** โดยอาศัยการเกิด free radical ซึ่งคาดว่าจะสามารถ generate free radical ที่ตำแหน่ง C_2 ได้ แต่จากผลการทดลองพบเฉพาะสารที่เป็น reduce product ซึ่งแทนที่ bromine ด้วย hydrogen atom (รูปที่ 35) ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากเมื่อมีการ generate free radical ที่ตำแหน่ง C_2 แล้ว free radical นี้ ไปรับโปรตอนจากแหล่งอื่น จึงไม่เกิดการสร้างพันธะกับ aromatic ring แล้วปิดวงเป็นสาร **(67)** แต่ได้ reduced product เป็นสารผลิตภัณฑ์

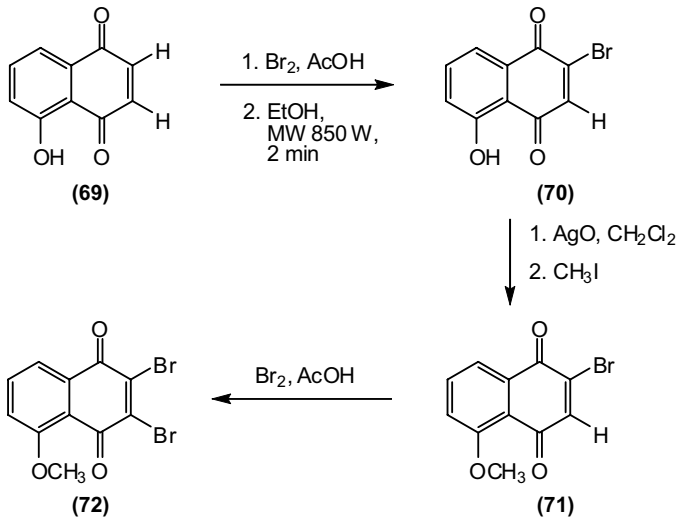


(66) **(68)**

รูปที่ 35 การพยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมปิดวงแบบ intramolecular cyclization โดยอาศัยการเกิด free radical

2.3 ตอนที่ 3 การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ Tryptamine และปิดวงแบบ intramolecular cyclization

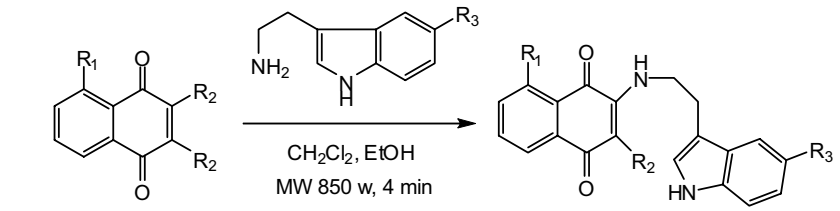
ในการทำการทดลองตอนนี้ สารตั้งต้นที่ใช้คือ 1,4-naphthoquinone **(15)**, 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)** และ 5-methoxy-2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(72)** ซึ่งต้องการทำการสังเคราะห์ขึ้นมาจาก 5-hydroxyl-1,4-naphthoquinone **(69)** ทำปฏิกิริยา bromination แล้วให้ความร้อนด้วย microwave reactor ใน ethanol ได้สาร **(70)** จากนั้นเติมหมู่ป้องกัน หมู่ hydroxyl ด้วยหมู่ methyl โดยใช้ methyl iodide และมี silver oxide เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้เป็น 5-methoxy-2-bromo-1,4-naphthoquinone **(71)** 98% จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยา bromination ซ้ำอีกครั้งหนึ่ง ได้สาร 5-methoxy-2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(72)** 77% (รูปที่ 36)



รูปที่ 36 การสังเคราะห์ 5-methoxy-2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(72)**

เมื่อได้อนุพันธ์ของ 1,4-naphthoquinone **(15, 65, 72)** ตามต้องการ นำมาทำปฏิกิริยา nucleophilic substitution กับ tryptamine **(73a)** หรือ 5-methoxytryptamine **(73b)** โดยการให้ความร้อนด้วย microwave reactor พบว่าการเกิดปฏิกิริยา nucleophilic substitution จะเกิดขึ้นได้ดีเมื่อสารตั้งต้นเป็น 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)** โดยให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงกว่าในกรณีที่สารตั้งต้นเป็น 1,4-naphthoquinone **(15)** เนื่องจากอิทธิพลของโบรมีนซึ่งเป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอนทำให้ electron density ในวงแนพโทควิโนนต่ำ และยังเป็น leaving group ที่ดี ทำให้เกิดปฏิกิริยา nucleophilic substitution ได้รวดเร็วและให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงกว่า 1,4-naphthoquinone **(15)**

โดยเมื่อทำปฏิกิริยากับ tryptamine **(73a)** ได้ผลิตภัณฑ์ **(74a)** และ **(74b)** 40% และ 89% ตามลำดับ จากการตรวจโครงสร้างโดยใช้ ^{1}H-NMR และ mass spectrometry พบว่า ^{1}H-NMR spectrum ลักษณะใกล้เคียงกัน คือ มีสัญญาณ triplet ของ 2 โปรตอน CH_2 และสัญญาณ quartet ของ 2 โปรตอน CH_2 ที่อยู่ติดกับ NH ในกรณีของสาร **(74a)** จะพบ singlet ของ 1 โปรตอนที่ 7.09 ppm และสาร **(74b)** ไม่พบสัญญาณ singlet โปรตอนนี้ นอกจากนี้พบสัญญาณ broad singlet ของ 1 โปรตอน NH และ singlet ของ 1 โปรตอนที่ C_2 ของวง indole และมีสัญญาณกลุ่มโปรตอนบน aromatic ring ของ indole และ naphthoquinones อย่างละ 4 โปรตอนเป็น triplet of doublet 2 กลุ่ม และ doublet of doublet อีก 2 กลุ่ม และพบสัญญาณ broad singlet ของ 1 โปรตอน NH ด้วย จากข้อมูล ^{1}H-NMR สามารถระบุจำนวนโปรตอนได้ชัดเจน และ mass spectrometry พบว่ามีมวลโมเลกุล 317.1251และ 395.0428 ตรงกับ สารหมายเลข **(74a)** และ **(74b)** ตามลำดับ เมื่อนำสารตั้งต้น **(15)** และ **(65)** ทำปฏิกิริยากับ 5-methoxytryptamine **(73b)** ได้สารผลิตภัณฑ์ **(74c)** และ **(74d)** 38% และ 75% ตามลำดับ จากการตรวจโครงสร้างโดยใช้ ^{1}H-NMR พบว่า ^{1}H-NMR spectrum ลักษณะใกล้เคียงกัน เช่นเดียวกับสาร **(74a)** และ **(74b)** ต่างกันที่สัญญาณกลุ่มโปรตอนบน aromatic ring ของ indole มีโปรตอนจำนวน 3 โปรตอน เป็น doublet of doublet 2 กลุ่ม และsinglet จำนวน 1 โปรตอน และพบสัญญาณ singlet ของ 3 โปรตอน methoxy และ mass spectrometry พบว่ามีมวลโมเลกุล 347.1396 และ 425.0561 ตรงกับ สารหมายเลข **(74c)** และ **(74d)** ตามลำดับ และเมื่อนำสาร **(72)** มาทำปฏิกิริยากับ tryptamine **(73a)** ได้สาร **(74e)** 53% นำมาตรวจโครงสร้างโดยใช้ ^{1}H-NMR พบสัญญาณ triplet ของ 2 โปรตอน CH_2 ที่ 3.15 ppm สัญญาณ singlet ของ 3 โปรตอน methoxy ที่ 3.98 ppm สัญญาณ quartet ของ 2 โปรตอน CH_2 ที่อยู่ติดกับ NH ที่ 4.21 ppm สัญญาณ broad singlet ของ 1 โปรตอน NH ที่ 6.34 ppm และสัญญาณของกลุ่มโปรตอนบน aromatic ring ของ indole และ naphthoquinones จำนวน 7 โปรตอน และสัญญาณ broad singlet ของ 1 โปรตอน NH ที่ 7.61 ppm และจาก mass spectrometry พบว่ามีมวลโมเลกุล 425.0501 ตรงกับสารหมายเลข **(74e)**



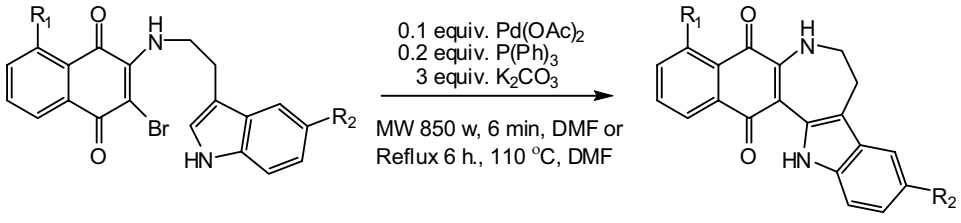
(15) R_1=R_2=H
(65) R_1=H, R_2=Br
(72) R_1=OCH_3, R_2=Br

(73a) R_3=H
(73b) R_3=OCH_3

(74a) R_1=R_2=R_3=H
(74b) R_1=H, R_2=Br, R_3=H
(74c) R_1=R_2=H, R_3=OCH_3
(74d) R_1=H, R_2=Br, R_3=OCH_3
(74e) R_1=OCH_3, R_2=Br, R_3=H

รูปที่ 37 ปฏิกิริยา nucleophilic substitution ระหว่างอนุพันธ์ของ naphthoquinones กับอนุพันธ์ของ tryptamine

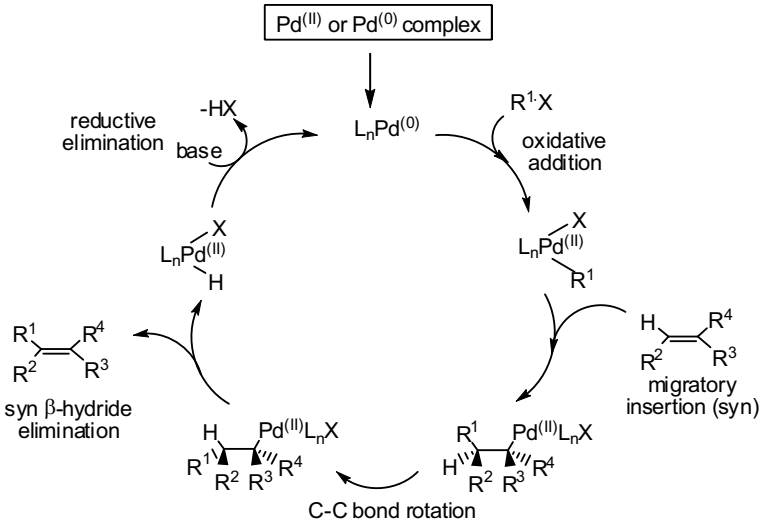
จากนั้นนำอนุพันธ์ของ 2-substituted amino-3-bromo-1,4-naphthoquinones **(74b, 74d, 74e)** มาทำปฏิกิริยา Intramolecular cyclization ผ่านปฏิกิริยา Heck coupling reaction อาศัย transition metal เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา[17] (รูปที่ 38) โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในรูปที่ 39 ในขั้นตอนแรก palladium(0) เกิด oxidative addition เป็น palladium(II) ที่พันธะระหว่าง carbon กับ bromine atom ซึ่งจะเกิดได้ดีกว่ากรณีที่เป็นพันธะ carbon กับ hydrogen atom ดังนั้นจึงเลือกสารตั้งต้นที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่งที่ 3 เป็น bromine atom มาทำปฏิกิริยา Heck coupling reaction หลังจากนั้นเกิดการ insertion เข้าที่พันธะคู่ของ tryptamine **(73a)** แล้วเกิด carbon rotation เพื่อให้ palladium และ hydrogen atom อยู่ด้านเดียวกัน เพื่อให้เกิด syn β-hydride eliminations ได้เป็นสารผลิตภัณฑ์ แล้ว palladium(II) จะเกิด reductive elimination เป็น palladium(0) เข้าสู่อีกครั้งวัฏจักรเพื่อนำไปใช้ในการสังเคราะห์อีกครั้ง (รูปที่ 39) โดยปฏิกิริยา Heck coupling reaction นี้ จะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ดีเนื่องจากมีความจำเพาะเจาะจงต่อตำแหน่งที่เข้าทำปฏิกิริยาของตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ นอกจากนี้จะเปรียบเทียบการให้ความร้อนแก่ปฏิกิริยา 2 วิธี คือ วิธีการ reflux และการใช้ microwave reactor พบว่าการให้ความร้อนโดย microwave reactor ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาน้อยกว่าและให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงกว่าวิธีการ reflux เนื่องจากการให้ความร้อนโดย microwave reactor เป็นการอาศัยการดูดกลืนคลื่นไมโครเวฟของตัวทำละลายส่งผลให้ปฏิกิริยามีอุณหภูมิสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่วิธีการ reflux เป็นการอาศัยการพาความร้อนของตัวทำละลายซึ่งส่งผลให้ปฏิกิริยามีอุณหภูมิสูงขึ้นอย่างช้าๆ ดังนั้นการสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนนด้วยปฏิกิริยา Heck coupling reaction ที่ใช้ microwave reactor จะใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาน้อยกว่าและให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงกว่าวิธีการ reflux ซึ่งได้ผลดังตาราง (ตารางที่ 1)



(74b) R_1=H, R_2=H
(74d) R_1=H, R_2=OCH_3
(74e) R_1=OCH_3, R_2=H

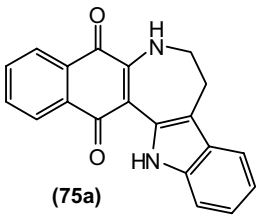
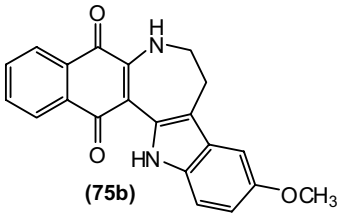
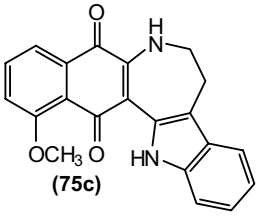
(75a) R_1=R_2=H
(75b) R_1=H, R_2=OCH_3
(75c) R_1=OCH_3, R_2=H

รูปที่ 38 การสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนนโดยอาศัยปฏิกิริยา intramolecular cyclisation

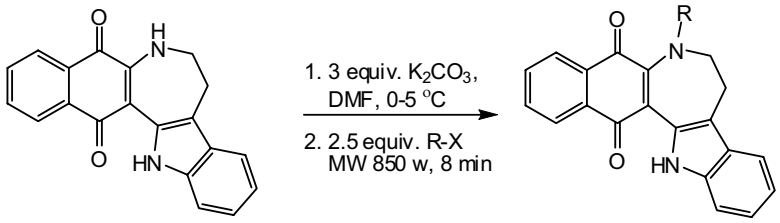


รูปที่ 39 กลไกการเกิดปฏิกิริยา Heck coupling reaction

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบเวลาและเปอร์เซ็นต์ผลผลิตการสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนนด้วยวิธีการ reflux และการใช้ microwave reactor

Structure	Reflux		Microwave	
	Time (min)	%Yield	Time (min)	%Yield
 (75a)	360	34	6	94
 (75b)	360	18	6	72
 (75c)	360	15	6	49

จากนั้นทำปฏิกิริยา *N*-alkylation วงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนนของ1,5,6,7, 8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75a)** โดยทำปฏิกิริยากับเบส potassium carbonate แล้วเติม alkyl halide และให้ความร้อนโดยใช้ microwave reactor ซึ่งจะเลือกเข้าทำปฏิกิริยาที่ NH วง azepine เท่านั้น เนื่องจากที่โปรตอนของ indole NH มีความเป็นกรดสูงจึงไม่เกิดปฏิกิริยากับ K_2CO_3 ซึ่งทำปฏิกิริยาเพียง 8 นาที จากข้อมูลทาง ^{1}H-NMR สัญญาณของ broad singlet 1 โปรตอน ที่ 7.13 ppm ของ NH หายไป และมีสัญญาณ ^{1}H-NMR ของหมู่ alkyl ที่เติมลงไป

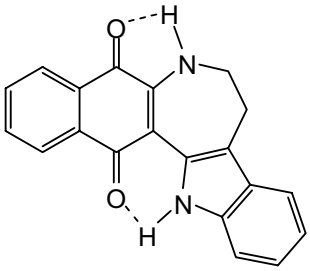


(75a)

(76a) R=-CH_3
(76b) R=-$CH_2CH_2CH_3$
(76c) R=-CH_2-CH=CH_2
(76d) R=-Bz

รูปที่ 40 ปฏิกิริยา N-alkylation ของ 1,5,6,7,8, 14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*] indole-9,14-dione **(75a)**

โดย *N*-alkylation เกิดกับ nitrogen atom ที่เกาะกับ C_2 ของ naphthoquinones จากข้อมูลทาง ^{1}H-NMR สัญญาณของ CH_2 ที่อยู่ติดกับ NH เปลี่ยนจาก quartet เป็น triplet จึงบอกได้ว่า selective *N*-alkylation เกิดขึ้นที่ตำแหน่งดังกล่าว โดย hydrogen บน nitrogen atom เกิด hydrogen bond กับ oxygen ของ naphthoquinones มีลักษณะเป็นวงห้าเหลี่ยม ในขณะที่ hydrogen บน nitrogen atom ของ indole เกิด hydrogen bond กับ oxygen ของ naphthoquinone อีกตัวหนึ่ง มีลักษณะเป็นวงหกเหลี่ยม โดยคาดว่าผลของ steric effect และความเสถียรจากลักษณะการเกิดของ hydrogen bond ที่ทำให้เป็นวงหกเหลี่ยมนี้มีมากกว่าเมื่อเป็นวงห้าเหลี่ยมส่งผลให้เกิด *N*-alkylation เพียงตำแหน่งเดียว



รูปที่ 41 Hydrogen bonding ของ 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*] indole-9,14-dione **(75a)**

บทที่ 3
การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลชีพของสารประกอบแนฟโทควิโนน

3.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบแนฟโทควิโนน

นำอนุพันธ์ของแนฟโทควิโนนที่สังเคราะห์ได้ตามแผนการสังเคราะห์ที่ 3 มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 2 วิธี

3.1.1 Agar diffusion test

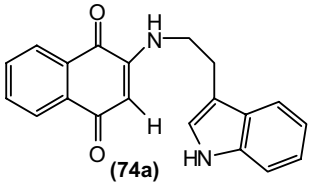
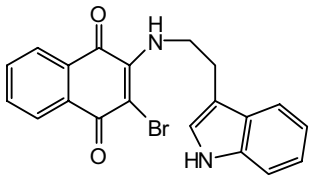
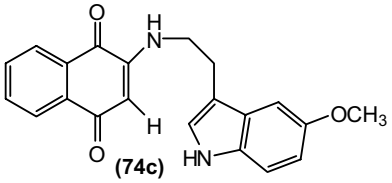
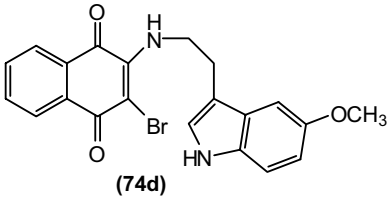
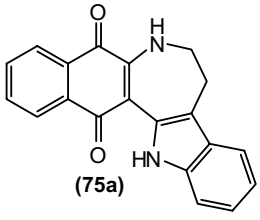
ในงานวิจัยนี้ใช้วิธี Disc diffusion method หลักการทั่วไป คือ การทำให้สารที่ถูกดูดซับด้วยแผ่นกระดาษกรอง (paper disc) ซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อไว้ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสไม่มีโคโลนีเชื้อรอบๆ แผ่น paper disc ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแปรตามขนาดของ inhibition zone วิธีการนี้โดยทั่วไปใช้เป็นการตรวจสอบฤทธิ์ของสารในเบื้องต้น นอกจากขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ทดสอบแล้ว ยังอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของสารที่ทดสอบ ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการแพร่กระจาย หรือการซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อของสารที่ทดสอบ เป็นต้น

วิธีการและผลการทดสอบ

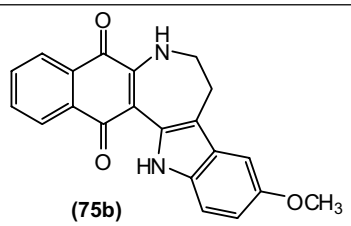
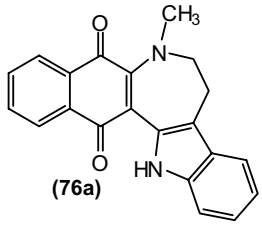
เตรียมอนุพันธ์ของแนพโทควิโนนที่ต้องการทดสอบให้มีความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 2000, 1000, 500, 250, 100 μg/ml และใช้ DMF เป็นตัวทำละลาย แล้วหยดลง paper disk แผ่นละ 50 μl และเตรียมแผ่น paper disk ทีมีเพียง DMF เพื่อใช้เปรียบเทียบว่ามีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหรือไม่ จากนั้นวางแผ่น paper disk ที่หยดสารไว้ ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ 1.5% Nutrient agar ที่แข็งตัวแล้ว โดยใน 1 pad วางแผ่น paper disk ของสาร 1 ชนิด ในทุกระดับความเข้มข้นและ DMF ที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ จากนั้นผสมเชื้อแบคทีเรียทีเลี้ยงใน Nutrient broth 100 μl กับ 1% Nutrient agar 9.9 mL ซึ่งอุ่นให้ละลายแล้วที่ 55˚C เทลงใน pad ที่วางแผ่น paper disk แล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น โดยทดสอบฤทธิ์การยังยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิด ได้แก่

Staphylococcus aureus, Bacillus cereus และ *Micrococcus luteus* และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* ได้ผลดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar diffusion test

Structure	Minimum Inhibitory Concentration (MIC) (mg/ml)				
	B. cereus	*M. luteus*	*S. aureus*	*Salmonella*	*E.coli*
 **(74a)**	1.0	>2.0	1.0	>2.0	>2.0
 **(74b)**	1.0	1.0	2.0	>2.0	>2.0
 **(74c)**	>2.0	1.0	>2.0	>2.0	>2.0
 **(74d)**	2.0	2.0	2.0	>2.0	>2.0
 **(75a)**	>2.0	2.0	>2.0	>2.0	>2.0

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion method (ต่อ)

Structure	Minimum Inhibitory Concentration (MIC) (mg/ml)				
	B. cereus	*M. luteus*	*S. aureus*	*Salmonella*	*E.coli*
 **(75b)**	>2.0	2.0	>2.0	>2.0	>2.0
 **(76a)**	0.25	0.1	0.25	>2.0	>2.0

สรุปผลการทดสอบ

ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบแนฟโทควิโนนด้วยวิธี Disc diffusion method ที่ความเข้มข้น 2000, 1000, 500, 250, 100 μg/ml พบว่าสารประกอบแนฟโทควิโนนส่วนใหญ่จะยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* และ *Micrococcus luteus* ซึ่งไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างทางเคมีพบว่าอนุพันธ์ของแนฟโทควิโนนที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วงวิวิธพันธ์ **(74b, 74d)** มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่ากรณีที่เป็นวงวิวิธพันธ์ **(75a-b)** โดยพบว่าสาร **(74b)** มีค่า MIC ต่ำกว่า สาร **(75a)** และสาร **(74d)** มีค่า MIC ต่ำกว่า สาร **(75b)** และสารที่เป็นวงวิวิธพันธ์แล้วทำปฏิกิริยา N-Alkylation สาร **(76a)** มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารที่เป็นวงวิวิธพันธ์สาร **(75a)** อาจพอสรุปได้ว่า nitrogen atom มีผลต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย แต่อย่างไรก็ตามสารประกอบแนฟโทควิโนนที่นำมาทดสอบนี้มีปัญหาด้านการละลายในตัวทำละลายมีขั้ว ทำให้สารไม่สามารถแพร่กระจายไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ดังนั้นจึงส่งผลให้ค่า MIC ที่ได้ยังไม่ใช้ค่าที่แท้จริง

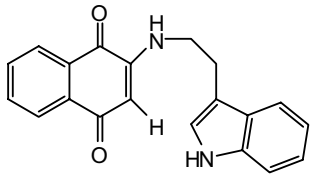
3.1.2 Broth dilution test

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Broth dilution test เป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ สามารถทราบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ MIC (minimum inhibitory concentration) ได้ โดยงานวิจัยนี้ทำการทดสอบใน microtiter plate 96-well โดยทำการเจือจางสารที่ต้องการทดสอบด้วย Nutrient broth แบบสองเท่า (2-fold serial dilution) จากนั้นใส่เชื้อที่ต้องการทดสอบลงในแต่ละหลุม แล้วนำไปบ่มเพาะให้เชื้อเจริญเติบโต อ่านค่า MIC โดยดูความขุ่นด้วยตาเปล่าหรือ อาจใช้สารบางอย่างที่สามารถบ่งชี้การเจริญของเชื้อได้เพื่อให้อ่านค่าได้ง่ายขึ้น

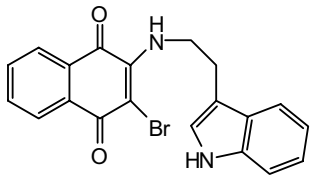
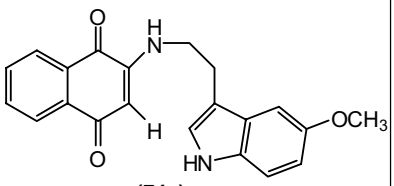
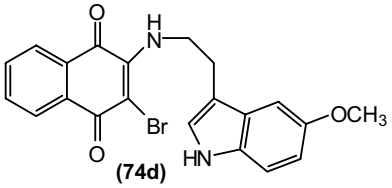
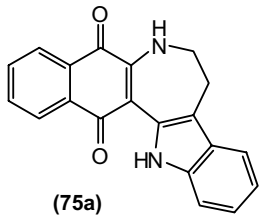
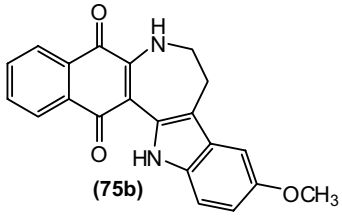
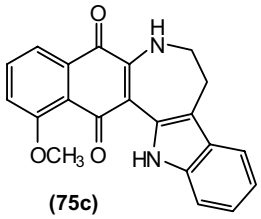
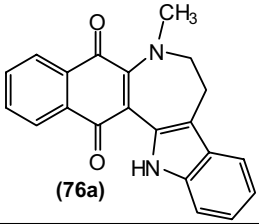
วิธีการและผลการทดสอบ[26]

เติม Nutrient broth ลงในทุกหลุม หลุมละ 100 µl จากนั้นหลุมที่ 1 ของแต่ละแถว เติมสารประกอบแนฟโทควิโนนความเข้มข้น 512 µg/ml ปริมาตร 100 µl แล้วทำการเจือจางแบบสองเท่า (2-fold serial dilution) ไปจนถึงหลุมที่ 11 แล้วดูดทิ้ง 100 µl และในหลุมที่ 12 จะใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์แทนสารที่ทดสอบ เพื่อดูผลของสารละลายที่ใช้ว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อหรือไม่ ทำให้ทุกหลุมมีปริมาตรรวมเป็น 100 µl จากนั้นเติม Nutrient broth หลุมละ 100 µl และเชื้อหลุมละ 20 µl โดยสาร 1 ตัว ทำ 2 ซ้ำนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในการแปลผลการทดสอบหลุมที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจะมีลักษณะใส ความเข้มข้นของหลุมนี้ถือว่าเป็นค่า MIC (µg/ml) โดยในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อกับแบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25932 และ *Bacillus subtilis* ATCC6633 และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 1 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC10536 และเชื้อรา *Candida albicans* ATCC90028 ได้ผลดังแสดงในตาราง

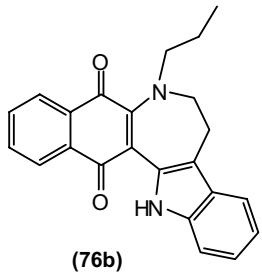
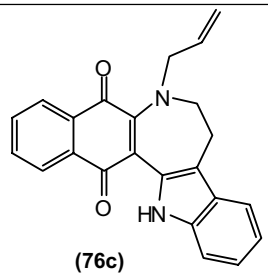
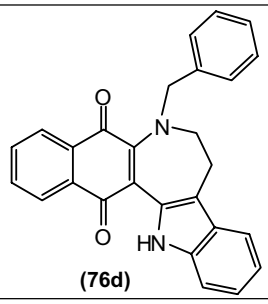
ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution test

Structure	Minimum Inhibitory Concentration (MIC) (µg/ml)			
	B. subtilis	*S. aureus*	*E.coli*	*C. albicans*
 **(74a)**	256	128	128	128

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution test (ต่อ)

Structure	Minimum Inhibitory Concentration (MIC) (μg/ml)			
	B. subtilis	*S. aureus*	*E.coli*	*C. albicans*
 **(74b)**	256	128	256	128
 **(74c)**	>512	64	128	128
 **(74d)**	128	128	128	64
 **(75a)**	256	128	128	128
 **(75b)**	256	128	128	128
 **(75c)**	512	128	128	64
 **(76a)**	>512	>512	>512	>512

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth dilution test (ต่อ)

Structure	Minimum Inhibitory Concentration (MIC) (μg/ml)			
	B. subtilis	*S. aureus*	*E.coli*	*C. albicans*
 **(76b)**	256	128	128	64
 **(76c)**	256	128	256	128
 **(76d)**	256	256	256	128

สรุปผลการทดสอบ

ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบแนฟโทควิโนนด้วยวิธี Broth dilution test โดยเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 512 μg/ml และเจือจางแบบสองเท่า (2-fold serial dilution) พบว่าวิธีนี้ให้ค่า MIC ที่ต่ำกว่าวิธี Disc diffusion method โดยส่วนใหญ่ให้ค่า MIC อยู่ในช่วง 64-512 μg/ml และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบแนฟโทควิโนนกับการออกฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียนั้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ยังคงพบปัญหาการละลายของสารประกอบแนฟโทควิโนนเนื่องจากยังมีสารตกตะกอนลงมาบางส่วน ดังนั้นค่า MIC ของสารประกอบแนฟโทควิโนนในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ได้ยังไม่ใช้ค่าที่แท้จริง

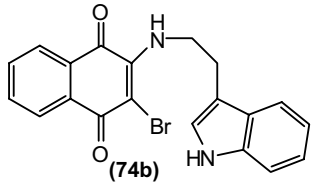
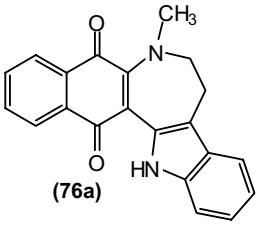
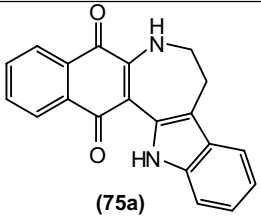
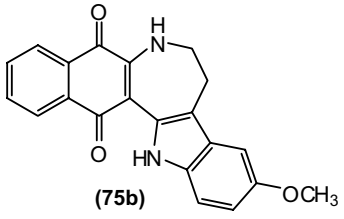
3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อมะเร็งของสารประกอบแนฟโทควิโนน

ผู้วิจัยนำสารประกอบแนฟโทควิโนนที่สังเคราะห์ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (anticancer activity) โดยทดสอบกับเซลล์ 3 ชนิด

3.2.1 NCI-H187-Small cell lung cancer

นำอนุพันธ์ของแนฟโทควิโนน 4 ชนิด โดยทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็ง (anticancer activity) ชนิด NCI-H187-Small cell lung cancer ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology) ซึ่งมียา Ellipticine และ Doxorubicine เป็น positive control และมี 0.5% DMSO เป็น negative control และใช้วิธี Resazurin Microplate Assay (REMA) ในการติดตามผลการทดสอบซึ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง NCI-H187-Small cell lung cancer

Structure	**IC_{50}**(μg/ml)	**Structure**	**IC_{50}**(μg/ml)
 **(74b)**	29.1	 **(76a)**	42.8
 **(75a)**	1.4	 **(75b)**	16.8
Ellipticine	0.441	Doxorubicine	0.061

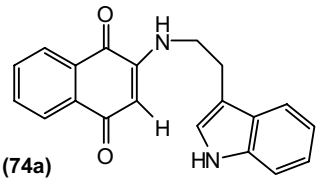
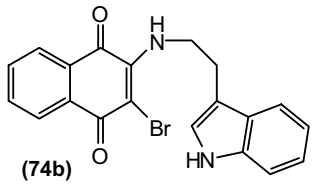
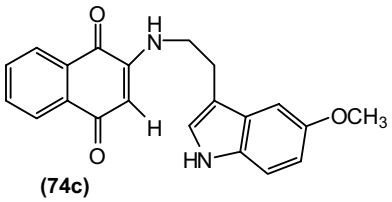
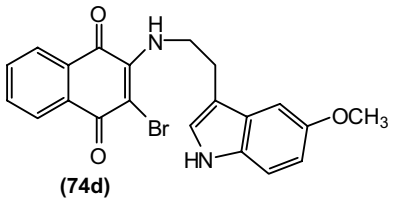
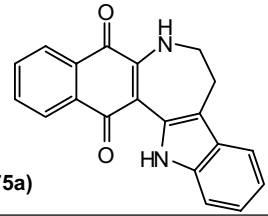
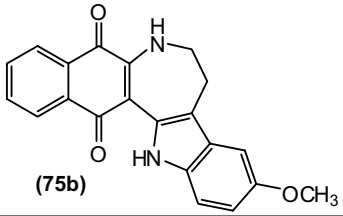
จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง NCI-H187-Small cell lung cancer ของอนุพันธ์แนฟโทควิโนนทั้ง 4 ชนิด พบว่าสาร 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*] indole-9,14-dione **(75a)** ที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นวงวิวิธพันธ์นั้นมีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งดีที่สุดมีค่า IC_{50} 1.4 μg/ml และจะเห็นได้ว่าสาร **(74b)** ที่ยังไม่ทำการปิดวงมีความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งได้ต่ำกว่าสาร **(75a)** โดยมีค่า IC_{50} 29.1 μg/ml และสาร **(76a)** ที่มีหมู่แทนที่ที่ nitrogen atom เป็นหมู่ methyl มีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งต่ำที่สุด โดยมี

ค่า IC_{50} 42.8 μg/ml ทำให้ทราบว่า -NH ที่ตำแหน่งดังกล่าวมีผลต่อการออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้สาร **(75b)** ที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นวงวิวิธพันธ์และมีหมู่ methoxy ในตำแหน่งที่ 5 ของ tryptamine มีความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งต่ำกว่าสาร **(75a)** โดยมีค่า IC_{50} 16.8 μg/ml สรุปได้ว่าสารที่มีโครงสร้างเป็นวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนนมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง NCI-H187-Small cell lung cancer ได้ดีกว่าโครงสร้างที่ยังไม่ปิดวงและ -NH ของ azepine มีผลทำให้การออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งดังกล่าวเพิ่มขึ้น และผลของหมู่แทนที่บน aromatic ring มีผลต่อการออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งซึ่งจะทำการศึกษาต่อไป

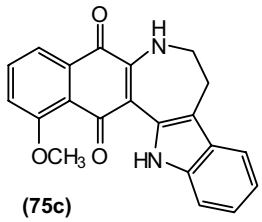
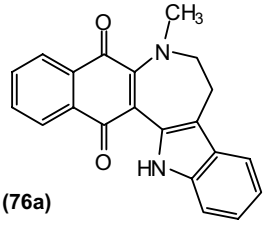
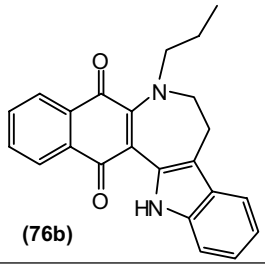
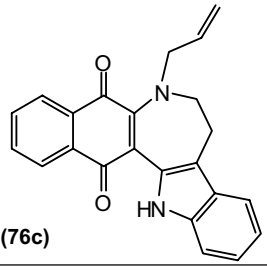
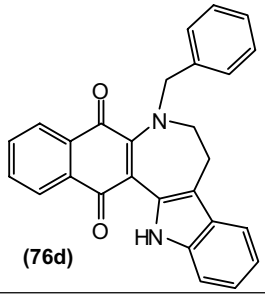
3.2.2 Easy Hep 2 cell line (human laryngeal carcinoma cells)

นำอนุพันธ์ของแนฟโทควิโนนที่สังเคราะห์ได้ตามแผนการสังเคราะห์ที่ 3 โดยทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็ง (anticancer activity) Easy Hep 2 cell line (human laryngeal carcinoma cells) ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร โดยมี 2.0% DMF เป็น negative control และมี 20% DMSO เป็น positive control[27]ใช้วิธี MTT Assay ในการติดตามผลทดสอบซึ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5

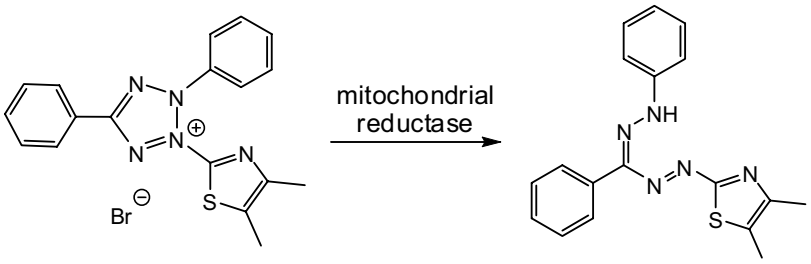
ตารางที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง Easy Hep 2 cell line

Structure	IC_{50}(μg/ml)	Structure	IC_{50}(μg/ml)
 (74a)	89.1	 (74b)	9.7
 (74c)	241.7	 (74d)	-
 (75a)	232.7	 (75b)	71.5

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง Easy Hep 2 cell line

Structure	IC_{50}(μg/ml)	Structure	IC_{50}(μg/ml)
 (75c)	31.2	 (76a)	85.7
 (76b)	293.4	 (76c)	29.4
 (76d)	71.8	ยา Adriamycin	0.08 ± 0.1

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง Easy Hep 2 cell line (human laryngeal carcinoma cells โดยใช้วิธี MTT Assay เป็นการวิเคราะห์โดยใช้ 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) เป็นการใช้สาร tetrazolium salt ซึ่งจะถูกเอนไซม์ในไมโตคอนเดรียเปลี่ยนเป็นผลึกสีม่วงที่ไม่ละลายน้ำ (violet formazan crystal) ในกรณีที่เซลล์ตายจะทำให้เอนไซม์ในไมโตคอนเดรียเสียสภาพไปด้วย จึงสามารถหาปริมาณของเซลล์ที่รอดชีวิตได้ โดยการตรวจวัดต้องละลาย formazan crystal แล้วนำไปวัดที่ความยาวคลื่น 540 nm (รูปที่ 42) โดยพบว่าอนุพันธ์ของแนฟโทควิโนนที่สังเคราะห์ได้รบกวนการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าวทำให้ผลการทดลองที่ได้ยังมีความคลาดเคลื่อนอยู่บ้าง ทำให้ค่า IC_{50} ที่ได้ยังไม่ใช่ค่าจริงซึ่งจะทำการศึกษาเพื่อหาวิธีที่เหมาะสมต่อไป

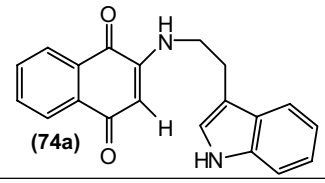
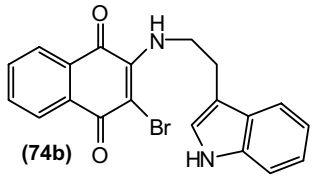
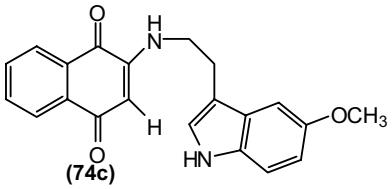
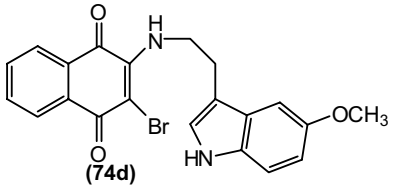
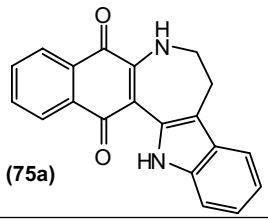
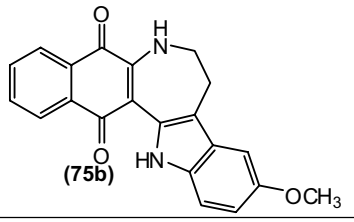


รูปที่ 42 ปฏิกิริยาเคมีของ MTT assay

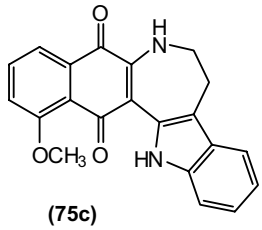
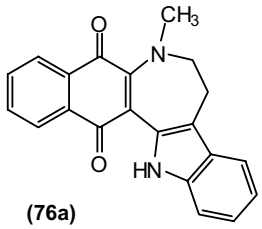
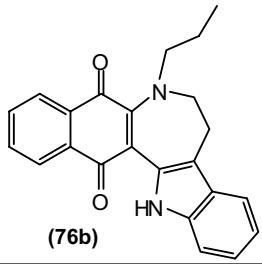
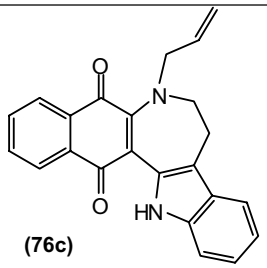
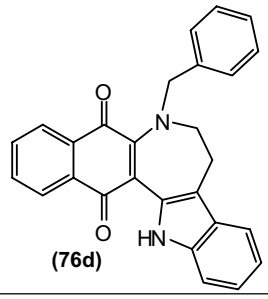
3.3.3 L929-Murine epithelium cells

นำอนุพันธ์ของแนฟโทควิโนนที่สังเคราะห์ได้ตามแผนการสังเคราะห์ที่ 3 โดยทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytotoxicity) L929-Murine epithelium cells ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร โดยมี 2.0% DMF เป็น negative control และมี 20% DMSO เป็น positive control[27]และใช้วิธี MTT Assay ในการติดตามผลการทดสอบซึ่งได้ผลดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytotoxicity) L929-Murine epithelium cells

Structure	IC_{50}(μg/ml)	Structure	IC_{50}(μg/ml)
 (74a)	105.3	 (74b)	24.7
 (74c)	-	 (74d)	130.0
 (75a)	447.0	 (75b)	66.9

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytotoxicity) L929-Murine epithelium cells (ต่อ)

Structure	IC_{50}(μg/ml)	Structure	IC_{50}(μg/ml)
 (75c)	113.1	 (76a)	604.2
 (76b)	293.4	 (76c)	157.6
 (76d)	133.5	ยา Adriamycin	0.08 ± 0.1

จากผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytotoxicity) L929-Murine epithelium cells ของสารประกอบแนฟโทควิโนน พบว่าส่วนใหญ่มีค่า IC_{50} สูงซึ่งหมายความว่าสารเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ โดยเฉพาะสาร 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*] azepino[4,5-*b*] indole-9,14-dione **(75a)** ที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นวงวิวิธพันธ์มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง NCI-H187-Small cell lung cancer สูง โดยมีค่า IC_{50} 1.4 μg/ml และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytotoxicity) L929-Murine epithelium cells ต่ำ โดยมีค่า IC_{50} 447.0 μg/ml ทำให้มีความน่าสนใจในพัฒนาโครงสร้างต่อไป

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้พยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ของแนฟโทควิโนน เริ่มต้นจากความพยายามในการสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ประเภท diamides ผ่านปฏิกิริยา nucleophilic substitution โดยพยายามสังเคราะห์สาร diamine **(58)** จากการเติมหมู่ amino แทนที่ chlorine ในตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55b)** พบว่าสามารถเติมหมู่ amine ได้เฉพาะตำแหน่งที่ 3 จากนั้นจึงเปลี่ยนเป็นการสังเคราะห์ amino group จาก 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-substituted-1,4-naphthoquinone **(57a-b)** โดยทำปฏิกิริยากับ sodium azide ได้สารประกอบแนฟโทควิโนนที่มีตำแหน่งที่ 2 เป็น amino group และตำแหน่งที่ 3 เป็น secondary amine แล้วนำมาทำปฏิกิริยากับ diethyl malonate พบว่าเฉพาะด้าน amino group เท่านั้นที่ทำปฏิกิริยากับ diethyl malonate ส่วน secondary amine ไม่ทำปฏิกิริยาจึงไม่สามารถสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ประเภท diamides ได้ จากนั้นพยายามสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์ห้าเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน (indolonaphthoquinone) โดยการปิดวงแบบ intramolecular cyclization ของ 2-bromo-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** โดยวิธีการต่างๆ ได้แก่ การใช้ microwave reactor พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยา การให้ความร้อนด้วยวิธีการ reflux ที่มี mesitylene และ pyridine เป็นตัวทำละลาย ได้สารผลิตภัณฑ์เป็น reduced product ซึ่งแทนที่ bromine ด้วย hydrogen อะตอม **(68)** และทำปฏิกิริยาโดยอาศัยการเกิด free radical ได้สารผลิตภัณฑ์ที่เป็น reduced product เช่นกัน จึงไม่ประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์ indolonaphthoquinone ด้วยวิธีการดังกล่าว จึงเปลี่ยนเป็นการสังเคราะห์สารประกอบวงวิวิธพันธ์เจ็ดเหลี่ยมของแนฟโทควิโนน โดยการทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ Tryptamine แล้วนำ 2-substitutedamino-3-bromo-1,4-naphthoquinones **(74b, 74d, 74e)** ที่ได้ปิดวงแบบ intramolecular cyclization โดยใช้ Heck coupling reaction ซึ่งมี palladium acetate เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และเปรียบเทียบการให้ความร้อนแก่ปฏิกิริยา 2 วิธี คือ วิธีการ reflux และการใช้ microwave reactor พบว่าการให้ความร้อนโดย microwave reactor ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาน้อยกว่าและให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตสูงกว่าการ reflux นำสารประกอบกลุ่มนี้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับการออกฤทธิ์ โดยทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่าสารส่วนใหญ่จะยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย แกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus*

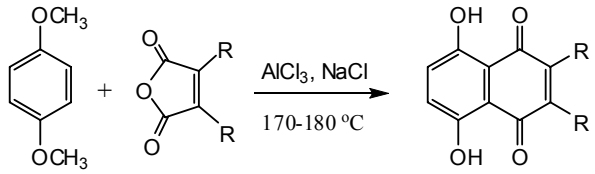
aureus, Bacillus cereus และ *Micrococcus luteus* มีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.25-2.0 mg/ml อย่างไรก็ตามสารประกอบแนฟโทควิโนนเหล่านี้ละลายในตัวทำละลายมีขั้วได้น้อยมาก ทำให้สารไม่สามารถแพร่กระจายไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ดังนั้นจึงพยายามแก้ไขปัญหานี้โดยใช้วิธี Broth dilution test พบว่าสารประกอบแนฟโทควิโนน ให้ค่า MIC ที่ต่ำลง อยู่ในช่วง 64-512 μg/ml และยังแสดงผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* ด้วย แต่ยังคงมีสารตกตะกอนลงมาบางส่วน ดังนั้นค่า MIC ที่ได้ยังไม่ใช้ค่าที่แท้จริง และทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ด้วยวิธีเดียวกันนี้ มีค่า MIC อยู่ในช่วง 64-512 μg/ml นอกจากนี้นำสารกลุ่มนี้ทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (anticancer activity) Easy Hep 2 cell line (human laryngeal carcinoma cells) ได้ผลดังตาราง 5 และนำสารประกอบแนฟโทควิโนน **(74b, 75a, 75b, 76a)** ทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง (anticancer activity) NCI-H187-Small cell lung cancer พบว่าสารที่เป็นวงวิวิธพันธ์ **(75a)** ยับยั้งเซลล์มะเร็งชนิดนี้ได้ดีที่สุดโดยมีค่า IC_{50} 1.4 μg/ml ซึ่งดีกว่าสารประกอบแนฟโทควิโนนก่อนการปิดวง **(74b)** มีค่า IC_{50} 29.1 μg/ml และต่างก็มีฤทธิ์ที่ดีกว่าสารวงวิวิธพันธ์ที่ทำ *N*-methylation แล้ว **(76a)** มีค่า IC_{50} 42.8 μg/ml จากนั้นนำสารประกอบแนฟโทควิโนนทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytoxicity) L929-Murine epithelium cells ได้ผลดังตาราง 6 พบว่าสารส่วนใหญ่มีค่า IC_{50} สูงซึ่งหมายถึงมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ จากงานวิจัยนี้พบว่าสาร 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75a)** มีฤทธิ์ต้านเซลล์ มะเร็ง NCI-H187-Small cell lung cancer ที่ดีมาก และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (Cytoxicity) L929-Murine epithelium cells ต่ำ มีค่า IC_{50} 447.0 μg/ml ทำให้มีความน่าสนใจในพัฒนาโครงสร้างต่อไป

บทที่ 5
การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 melting point apparatus โดยไม่ได้ปรับค่า (uncorrected) Infrared spectra (IR) วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer spectrum GX FT-IR system Major band (ν_{max}) ถูกบันทึกในรูปแบบ wavenumber (cm^{-1}) ^{1}H และ ^{13}C-NMR วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer (300 MHz สำหรับ ^{1}H-NMR และ 75 MHz สำหรับ ^{13}C-NMR) โดยใช้ $CDCl_3$ เป็นตัวทำละลาย และใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard

การทดลองตามแผนการสังเคราะห์ที่ 1

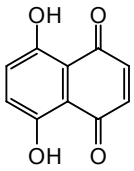
วิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ naphthazarin



(53) **(54a)** R=H **(54b)** R=Cl **(55a)** R=H **(55b)** R=Cl

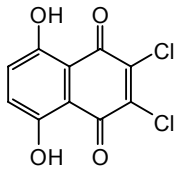
นำ sodium chloride (NaCl) (4.6 equiv.) และ aluminium chloride ($AlCl_3$) (9 equiv.) มาหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 170 °C ด้วยกัน ภายใต้บรรยากาศก๊าซ Ar จากนั้นค่อยๆเติมอนุพันธ์ของ maleic anhydride (1 equiv.) และ 1,4-dimethoxybenzene (3 equiv.) แล้ว reflux ที่อุณหภูมิ 175-180 °C เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง เติม 10% HCl กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นกรองตะกอนแบบลดความดัน นำตะกอนที่ได้มาทำ soxhlet โดยใช้ EtOAc เป็นตัวทำละลาย แล้วระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ

วิธีการสังเคราะห์ 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone (55a)



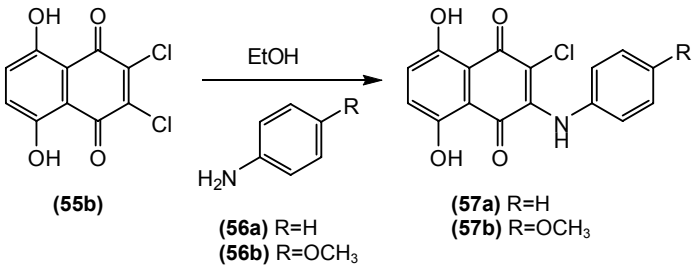
ทำตามวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ naphthazarin โดยใช้ NaCl (2.70 g, 0.046 mol), $AlCl_3$ (12.00 g, 0.090 mol), maleic anhydride (1.38 g, 0.010 mol) และ 1,4-dimethoxybenzene (5.00 g, 0.030 mol) ได้สาร 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55a)** เป็นของแข็งสีแดง (0.25 g, 13 %); mp 232-235 °C (lit[21]235-238 °C); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 7.05 (s, 4H), 12.31 (s, 2H)

วิธีการสังเคราะห์ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone (55b)



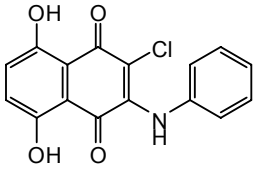
ทำตามวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ naphthazarin โดยใช้ NaCl (2.70 g, 0.046 mol), $AlCl_3$ (12.00 g, 0.090 mol), dichloromaleic anhydride (1.38 g, 0.010 mol) และ 1,4-dimethoxy-benzene (5.00 g, 0.030 mol) ได้สาร 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55b)** เป็นของแข็งสีแดง (1.80 g, 70 %); mp 197-199 °C (lit[21]198-199 °C); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 7.32 (s, 2H), 12.30 (s, 2H)

วิธีการสังเคราะห์ aminonaphthoquinones



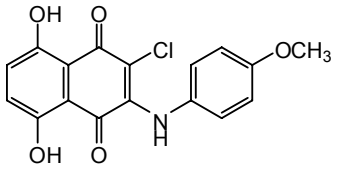
นำ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55b)** (1 equiv.) มาละลายด้วย EtOH จากนั้นเติมอนุพันธ์ของ aniline **(56a)** (2 equiv.) กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองตะกอนแบบลดความดัน ตะกอนที่ได้นำมาตกผลึกซ้ำด้วย EtOH

วิธีการสังเคราะห์ 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone (57a)



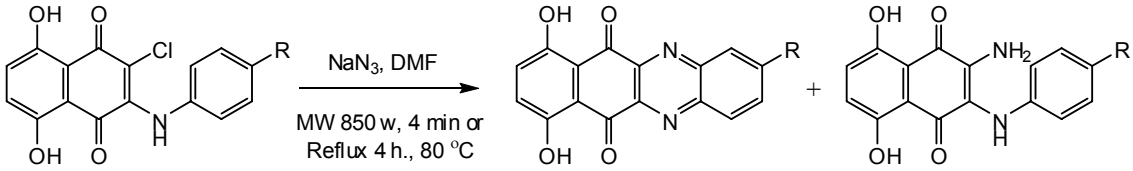
ทำตามวิธีการสังเคราะห์ aminonaphthoquinones โดยใช้ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55b)** (0.20 g, 0.77 mmol) ใน EtOH (8 mL) และ aniline **(56a)** (0.14 ml, 1.55 mmol) ได้สาร 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57a)** เป็นของแข็งสีแดง (0.2 g, 82 %); mp 203-205 °C (lit[22]205-207 °C); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 7.09-7.40 (m, 7H), 7.84 (br s, 1H), 11.90 (s, 1H), 12.86 (s, 1H)

วิธีการสังเคราะห์ 2-chloro-5,8-dihydroxyl-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone (57b)



ทำตามวิธีการสังเคราะห์ aminonaphthoquinones โดยใช้ 2,3-dichloro-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone **(55b)** (0.15 g, 0.58 mmol) ใน EtOH (6 mL) และ p-anisidine **(56b)** (0.22 ml, 1.74 mmol) ได้สาร 2-chloro-5,8-dihydroxyl-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57b)** เป็นของแข็งสีแดง (0.17 g, 78 %); mp 195-197 °C; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.84 (s, 3H), 6.89 (d, *J*= 8.8 Hz, 2H), 7.07 (d, *J*= 8.8 Hz, 2H), 7.71 (d, *J*= 9.4 Hz, 1H), 7.30 (d, *J*= 9.4 Hz, 1H), 7.80 (br s, 1H), 11.90 (s, 1H), 12.90 (s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 55.1, 110.3, 110.4, 112.4, 113.7, 126.6, 127.3, 129.8, 131.6, 142.5, 156.9, 158.2, 158.4, 181.3, 182.2.

วิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 7,10-dihydroxybenzo[*b*]phenazine-6,11-dione [21]



(57a) R=H
(57b) R=OCH_3

(59a) R=H
(59b) R=OCH_3

(60a) R=H
(60b) R=OCH_3

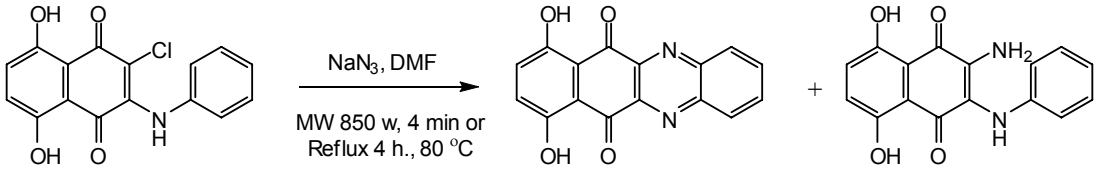
วิธีที่ 1

นำสารตั้งต้น **(57a-b)** (1 equiv.) ละลายใน DMF เติมสารสารละลาย sodium azide (NaN_3) (1.5 equiv.) ที่ละลายในน้ำ ให้ความร้อนโดยการ reflux ที่ 80 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำให้ของผสมเย็นถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนที่เกิดขึ้นแบบลดความดัน ได้สาร **(59a-b)** นำชั้นสารละลายมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 นำชั้น CH_2Cl_2 มาทำให้แห้งด้วย anh. Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane : EtOAc, 4:1) ได้สาร **(60a-b)**

วิธีที่ 2

นำสารตั้งต้น **(57a-b)** (1 equiv.) ละลายใน DMF เติมสารสารละลาย sodium azide (NaN_3) (1.5 equiv.) ที่ละลายในน้ำ ให้ความร้อนโดยใช้ microwave reactor 850 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที แล้วนำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 นำชั้น CH_2Cl_2 มาทำให้แห้งด้วย anh. Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane : EtOAc, 4:1)

วิธีการสังเคราะห์ 2-amino-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone (60a)



(57a)

(59a)

(60a)

วิธีที่ 1

ทำตามวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 7,10-dihydroxybenzo[*b*]phenazine-6,11-dione โดยใช้ 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57a)** (0.12 g, 0.38 mmol) ใน DMF (1 mL) และ NaN_3 (0.037 g, 0.57 mmol) ในน้ำ (0.1 mL) ได้สาร **(59a)** เป็นของแข็งสีแดง (0.042 g, 38 %) และได้สาร **(60a)** เป็นของแข็งสี (0.025 g, 23 %)

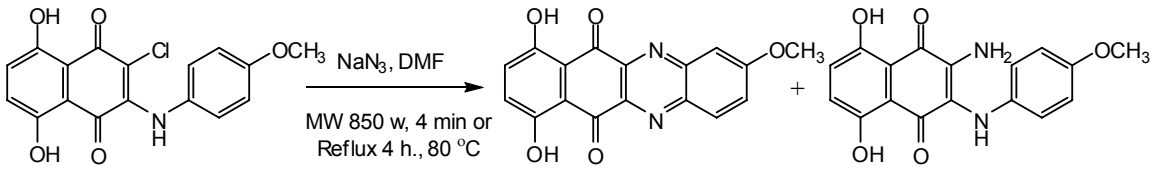
วิธีที่ 2

ทำตามวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 7,10-dihydroxybenzo[*b*]phenazine-6,11-dione โดยใช้ 2-chloro-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57a)** (0.07 g, 0.22 mmol) ใน DMF (0.7 mL) และ NaN_3 (0.030 g, 0.46 mmol) ในน้ำ (0.1 mL) ได้สาร **(59a)** เป็นของแข็งสีแดง (0.025 g, 39%) และได้สาร **(60a)** เป็นของแข็งน้ำตาลแดง (0.025 g, 38 %)

สาร **(59a)**; mp >250 °C; (lit[21]>300 °C) ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 7.50 (s, 2H), 8.11-8.12 (m, 2H), 8.52-8.53 (m, 2H), 12.95 (s, 2H, OH);

สาร **(60a)**; mp 213-214 °C (lit[21] 214-215 °C); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 4.69 (br. S, 2H), 6.56 (br s, 1H), 6.75 (d, *J*= 7.8 Hz, 2H), 6.99 (t, *J*= 7.8 Hz, 1H), 7.12 (d, *J*= 9.3 Hz, 1H), 7.17 (d, *J*= 9.3 Hz, 1H), 7.30 (t, *J*= 7.8 Hz, 2H), 12.14 (s, 1H), 12.51 (s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 109.0, 109.7, 117.5, 119.1, 120.9, 127.0, 128.2, 128.8, 132.9, 138.4, 155.4, 156.1, 182.0, 182.6.

วิธีการสังเคราะห์ 2-amino-5,8-dihydroxyl-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone (60b)



(57b) **(59b)** **(60b)**

วิธีที่ 1

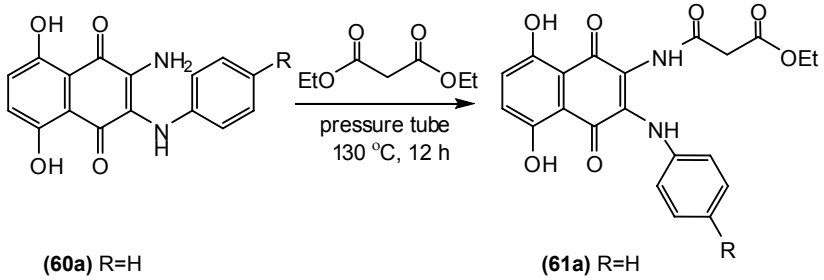
ทำตามวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 7,10-dihydroxybenzo[*b*]phenazine-6,11-dione โดยใช้ 2-chloro-5,8-dihydroxyl-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57b)** (0.10 g, 0.29 mmol) ใน DMF (0.7 mL) และ NaN_3 (0.029 g, 0.44 mmol) ในน้ำ (0.1 mL) ได้สาร **(59b)** เป็นของแข็งสีแดง (0.08 g, 86 % yield); mp >250 °C; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 4.08 (s, 1H), 7.46 (s, 2H),

7.70 (dd, *J*= 2.5, 9.3 Hz, 1H), 7.74 (d, *J*= 2.5 Hz, 1H), 8.36 (d, *J*= 9.3 Hz, 1H), 12.92 (s, 1H), 13.00 (s, 1H).

วิธีที่ 2

ทำตามวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 7,10-dihydroxybenzo[*b*]phenazine-6,11-dione โดยใช้ 2-chloro-5,8-dihydroxyl-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(57b)** (0.075 g, 0.22 mmol) ใน DMF (0.7 mL) และ NaN_3 (0.021 g, 0.33 mmol) ในน้ำ (0.1 mL) ได้สาร **(60b)** เป็นของแข็งสีน้ำตาลแดง (0.017 g, 24%); mp 185-187 °C; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.79 (s, 3H), 4.51 (br s, 2H), 6.54 (br s, 1H), 6.77 (d, *J*= 9.0, 2H), 6.85 (d, *J*= 9.0, 1H), 7.09 (d, *J*= 9.6, 1H), 7.13 (d, *J*= 9.6 Hz, 1H), 12.20 (s, 1H), 12.45 (s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 54.6, 109.0, 109.6, 113.4, 120.2, 120.6, 127.1, 128.3, 130.9, 131.1, 154.5, 155.4, 155.8, 181.8, 182.5.

วิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Ethyl 2-(1,4-dihydro-5,8-dihydroxy-1,4-dioxo-2-substituted-naphthalene-3-ylcarba- moyl)acetate (61a-b)

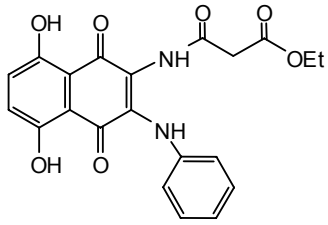


(60a) R=H
(60b) R=OCH_3

(61a) R=H
(61b) R=OCH_3

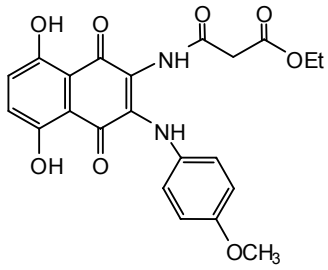
นำสารตั้งต้น **(60a-b)** ผสมกับ diethyl malonate แล้วให้ความร้อนโดยใช้ pressure tube ที่อุณหภูมิ 130 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง นำสารละลายที่ได้ทำให้บริสุทธิ์โดย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 4:1)

วิธีการสังเคราะห์ Ethyl 2-(1,4-dihydro-5,8-dihydroxy-1,4-dioxo-2-phenylamino-naphthalene-3-ylcarba- moyl)acetate (61a)



ทำตามวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Ethyl 2-(1,4-dihydro-5,8-dihydroxy-1,4-dioxo-2-substituted-naphthalene-3-ylcarba-moyl)acetate โดยใช้ 2-amino-5,8-dihydroxy-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(60a)** (20 mg, 0.068 mmol) ใน diethyl malonate (1 mL) ได้สาร **(61a)** (26 mg, 92 %); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 1.20 (t, *J*= 7.2 Hz, 3H), 3.80 (s, 2H), 4.11 (q, *J*= 7.2 Hz, 2H), 7.16-7.27 (m, 3H), 7.35-7.43 (m, 2H), 7.58-7.63 (m, 4H), 12.32 (s, 1H), 12.95 (s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 14.0, 33.6, 62.0, 112.1, 126.8, 127.4, 129.7, 129.8, 129.9, 130.0, 130.2, 130.5, 134.5, 143.4, 150.7, 158.4, 158.6, 167.4, 178.8, 182.8

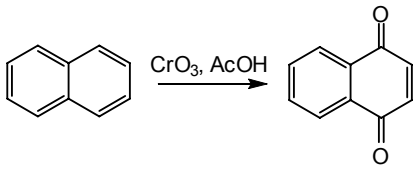
วิธีการสังเคราะห์ Ethyl 2-(2-(4-methoxyphenylamino)-1,4-dihydro-5,8-dihydroxy-1,4-dioxo-naphthalen-3-ylcarbamoyl)acetate (61b)



ทำตามวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Ethyl 2-(1,4-dihydro-5,8-dihydroxy-1,4-dioxo-2-substituted-naph thalene-3-ylcarba- moyl)acetate โดยใช้ 2-amino-5,8-dihydroxyl-3-(*p*-methoxy) phenylamino-1,4-naphthoquinone **(60b)** (17 mg, 0.052 mmol) ใน diethyl malonate (1 mL) ได้สาร **(61b)** (10 mg, 44 %); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 1.20 (t, *J*= 7.2 Hz, 3H), 3.81 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 4.13 (q, *J*= 7.2 Hz, 2H) 7.06-7.14 (m, 3H), 7.15-7.36 (m, 5H), 12.35 (s, 1H), 13.00 (s, 1H)

การทดลองตามแผนการสังเคราะห์ที่ 2

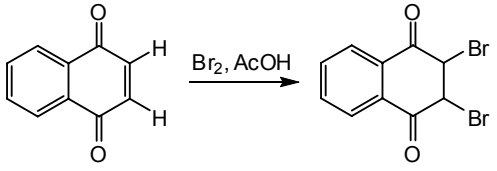
วิธีการสังเคราะห์ 1,4-naphthoquinone (15)



(62) **(15)**

นำ chromium trioxide (CrO_3) (3.0 g, 13 mmol) มาละลายใน 80% aqueous acetic acid (4 ml) ที่ 0 °C ค่อยๆเติมสารละลาย naphthalene **(62)** (1.6 g, 12.5 mmol) ที่ละลายใน glacial acetic acid (15 ml) และกวนที่ 10-15 °C เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง จากนั้นกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เทสารละลายลงในน้ำ (50 mL) สกัดด้วย CH_2Cl_2 (3 x 20 mL) และล้างด้วย sat. $NaHCO_3$ (2 x 20 mL) นำชั้น CH_2Cl_2 มาทำให้แห้งด้วย anh. Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 8:1) ได้สาร 1,4-naphthoquinone **(15)** เป็นของแข็งสีเหลือง (0.7 g, 35%); m.p. 125-126 ºC; (lit[23] 127-128 °C); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 6.99 (s, 2H), 7.74-7.80 (m, 2H), 8.07-8.12 (m, 2H)

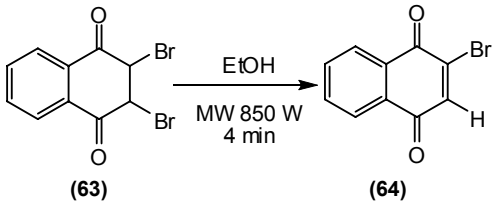
วิธีการสังเคราะห์ 2,3-dibromo-2,3-dihydro-1,4-naphthoquinone (63)



(15) **(63)**

เติมสารละลาย bromine (Br_2) ใน acetic acid (AcOH) 6.4 mL (Br_2 1 mL: AcOH 33 mL) ลง 1,4-naphthoquinone **(15)** (0.5 g, 3.16 mmol) ภายใต้บรรยากาศของก๊าซ Ar ในที่มืด กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที เทสารละลายลงในน้ำแข็งและกวนเป็นเวลา 10 นาที สกัดด้วย EtOAc (2 x 50 mL) ล้างด้วยน้ำหลายๆครั้ง นำชั้น EtOAC มาทำให้แห้งด้วย anh. Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ ได้สาร 2,3-dibromo-2,3-dihydro-1,4-naphthoquinone **(63)** เป็นของแข็งสีเหลืองที่ไม่เสถียร (0.80 g, 80%); ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 5.00 (s, 2H), 7.86 (dd, J= 2.4, 9.3 Hz, 2H), 8.13 (dd, J=2.4, 9.3 Hz, 2H)

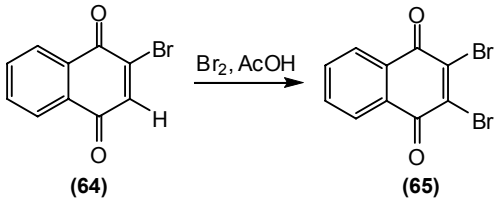
วิธีการสังเคราะห์ 2-bromo-1,4-naphthoquinone (64)



(63) **(64)**

นำ 2,3-dibromo-2,3-dihydro-1,4-naphthoquinone **(63)** (0.5 g, 1.57 mmol) มาละลายด้วย EtOH (2 mL) จากนั้นนำไปให้ความร้อนโดยใช้ microwave reactor 850 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที ทำให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดัน ได้สาร 2-bromo-1,4-naphthoquinone **(64)** เป็นของแข็งสีเหลือง (0.30 g, 81%); mp 136-137 °C; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 7.53 (s, 1H), 7.79 (m, 2H), 8.09 (ddd, *J*= 0.9, 2.4, 9.0 Hz, 1H), 8.19 (ddd, *J*=0.9, 2.4, 9.0 Hz, 1H)

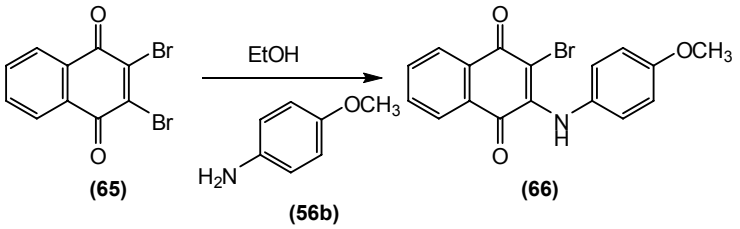
วิธีการสังเคราะห์ 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone (65)



(64) **(65)**

เติมสารละลาย bromine (Br_2)ใน acetic acid (AcOH) 6.4 mL (Br_2 1 mL: AcOH 33 mL) ลงสาร 2-bromo-1,4-naphthoquinone **(64)** (0.75 g, 3.16 mmol) ภายใต้บรรยากาศของก๊าซ Ar ในที่มืด กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที เทสารละลายลงในน้ำแข็งและกวนเป็นเวลา 10 นาที สกัดด้วย EtOAc (2 x 50 mL) ล้างด้วยน้ำหลายๆครั้ง นำชั้น EtOAC มาทำให้แห้งด้วย anh. Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ ได้สาร 2,3-dibromo-1,4-naphtho-quinone **(65)** เป็นของแข็งสีเหลือง (0.85 g, 85%); m.p. 218-220 ºC (lit[24] 219-221 °C); ^{1}H-NMR (CDCl3) δ 7.79 (dd, J= 2.4, 9.0 Hz, 2H), 8.13 (dd, J= 2.4, 9.0 Hz, 2H)

วิธีการสังเคราะห์ 2-bromo -3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone (66)

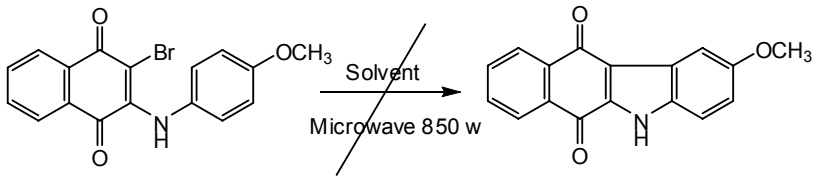


(65) **(56b)** **(66)**

นำ 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)** (0.15 g, 0.47 mmol) มาละลายด้วย EtOH (1 mL) จากนั้นเติม p-anisidine **(56b)** (0.10 g, 0.81 mmol) กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองตะกอนแบบลดความดัน ได้สาร 2-bromo -3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** เป็นของแข็งสีแดง (0.145 g, 85%); m.p. 216-218 ºC; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.86 (s, 3H), 6.90 (d, *J*= 8.7 Hz, 2H), 7.09 (d, *J*= 8.7 Hz, 2H), 7.67-7.83 (m, 3H), 8.12 (dd, *J*= 1.2, 7.5 Hz, 1H), 8.21 (dd, *J*=1.2, 7.5 Hz, 1H)

การพยายามเตรียมสารประกอบ indolonaphthoquinone

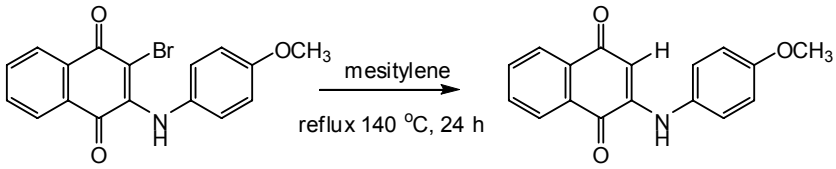
วิธีการพยายามเตรียมสารประกอบ indolonaphthoquinone โดยใช้ microwave irradiation



(66) **(67)**

นำ 2-bromo -3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** (0.03 g, 0.08 mmol) มาละลายด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ Toluene, THF, DMF (0.5 mL) จากนั้นให้ความร้อนโดยใช้ microwave reactor 850 วัตต์ เป็นเวลา 20 นาที แล้วสกัดด้วย EtOAc (15 mL) และล้างด้วยน้ำหลายๆครั้ง นำชั้น EtOAc มาทำให้แห้งด้วย anh.Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 4:1) จากข้อมูลทาง ^{1}H-NMR พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยา ได้เป็นสารตั้งต้น 2-bromo-3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)**

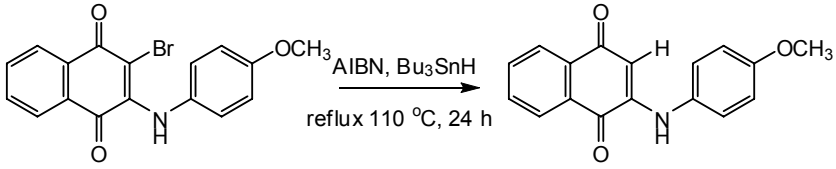
วิธีการพยายามทำปฏิกิริยา intramolecular cyclization โดยการ reflux



(66) **(68)**

นำ 2-bromo -3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** (0.06 g, 0.1 mmol) มาละลายด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน (10 mL) เช่น mesitylene, pyridine จากนั้น reflux ที่อุณหภูมิ140 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 4:1) จากข้อมูลทาง ^{1}H-NMR พบว่าได้สาร 3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphthoquinone **(68)** (0.02 g, 42%); m.p. 155-157 ºC; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.85 (s, 3H), 6.24 (s, 1H), 6.96 (d, *J*= 8.7 Hz, 2H), 7.22 (d, *J*= 8.7 Hz, 2H), 7.46 (br s, 1H), 7.67 (td, *J*= 1.2, 7.5 Hz, 1H), 7.77 (td, *J*= 1.2, 7.5 Hz, 1H), 8.11 (dd, *J*= 1.2, 3.0 Hz, 1H), 8.13 (dd, *J*=1.2, 3.0 Hz, 1H)); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 55.6, 102.5, 114.9, 124.8, 126.1, 126.4, 127.1, 130.0, 133.4, 134.9, 145.7, 157.7, 182.2, 183.7

วิธีปฏิกิริยา intramolecular cyclization โดยใช้ปฏิกิริยา free radical cyclization

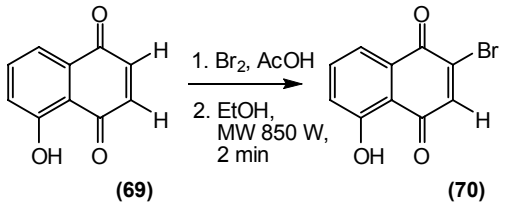


(66) **(68)**

นำ 2-bromo-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** (0.08 g, 0.23 mmol) มาละลายด้วย mesitylene (10 mL) ค่อยๆเติมสารละลาย azobisisobutyronitrile (AIBN) (0.037g, 0.23 mmol) ที่ละลายใน tributyltin hydride (Bu_3SnH) (0.2 mL, 0.45 mmol) จากนั้น reflux ที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ เติม Et_2O และ sat. KF กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้อง 2-3 ชั่วโมง แล้วสกัดแยกชั้น Et_2O นำชั้น Et_2O มาทำให้แห้งด้วย anh. Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำและทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 4:1) จากข้อมูลทาง ^{1}H-NMR ได้สารตั้งต้น 2-bromo-3-phenylamino-1,4-naphthoquinone **(66)** (0.01 g, 12%) และได้สาร3-(*p*-methoxy)phenylamino-1,4-naphtho quinone **(68)** (0.025 g, 39%)

การทดลองตามแผนการสังเคราะห์ที่ 3

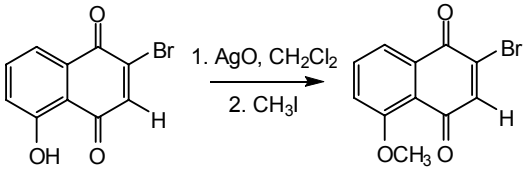
วิธีการสังเคราะห์ 5-hydroxy-2-bromo-1,4-naphthoquinone (70)



(69) **(70)**

เติมสารละลาย bromine (Br_2)ใน acetic acid (AcOH) 0.6 mL (Br_2 1 mL: AcOH 33 mL) ลงในสาร 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone **(69)** (0.05 g, 0.29 mmol) กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที ภายใต้บรรยากาศของก๊าซ Ar ในที่มืด เทสารละลายลงในน้ำแข็งและกวนเป็นเวลา 10 นาที สกัดด้วย EtOAc (2 x 50 mL) ล้างด้วยน้ำหลายๆครั้ง นำชั้น EtOAC มาทำให้แห้งด้วย anh. Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ จากนั้นเติม EtOH (2 mL) นำไปให้ความร้อนโดยใช้ microwave reactor 850 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที ทำให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง กรองตะกอนแบบลดความดัน ได้สาร 5-hydroxy-2-bromo-1,4-naphthoquinone **(70)** เป็นของแข็งสีเหลือง (0.065 g, 90%);. 170-171 ºC; (lit[28]171-172 °C); ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 7.31 (dd, *J*=2.4, 6.9 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.63-7.70 (m, 2H), 11.73 (s, 1H).

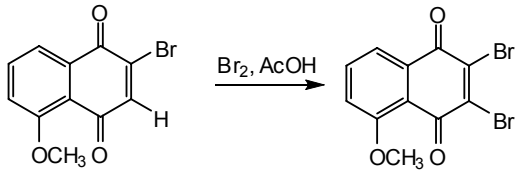
วิธีการสังเคราะห์ 5-methoxy-2-bromo-1,4-naphthoquinone (71)



(70) **(71)**

นำ 5-hydroxy-2-bromo-1,4-naphthoquinone **(70)** (0.05 g, 0.2 mmol) และ silver oxide (AgO) (0.092 g, 0.4 mmol) มาละลายด้วย CH_2Cl_2 (2 mL) ภายใต้ก๊าซ Ar กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม methyl iodide (CH_3I) (0.05 mL, 0.8 mmol) นำไปให้ความร้อนโดยใช้ microwave reactor 850 วัตต์ เป็นเวลา 8 นาที ภายใต้บรรยากาศก๊าซ Ar กรองของผสมด้วย celite นำชั้น CH_2Cl_2 ไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำและทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 4:1) ได้สาร 5-methoxy-2-bromo-1,4-naphthoquinone **(71)** เป็นของแข็งสีส้ม (0.052 g, 98%); ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.01 (s, 3H), 7.31 (dd, *J*=2.4, 6.9 Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.63-7.70 (m, 3H)

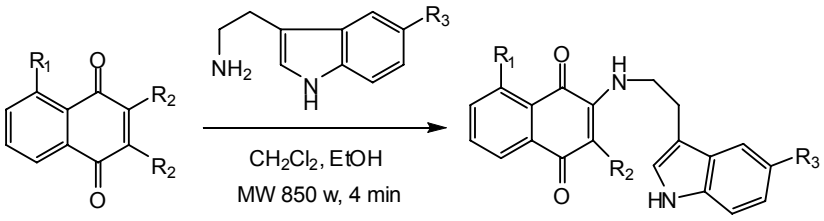
วิธีการสังเคราะห์ 5-methoxy-2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone (72)



(71) **(72)**

เติมสารละลาย bromine (Br_2)ใน acetic acid (AcOH) 2.0 mL (Br_2 1 mL: AcOH 33 mL) ลงสาร 5-methoxy-2-bromo-1,4-naphthoquinone **(71)** (0.3 g, 1.13 mmol) ภายใต้บรรยากาศของก๊าซ Ar ในที่มืด กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที เทสารละลายลงในน้ำแข็งและกวนเป็นเวลา 10 นาที สกัดด้วย EtOAc (2 x 50 mL) ล้างด้วยน้ำหลายๆครั้ง นำชั้น EtOAC มาทำให้แห้งด้วย anh. Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ ตกผลึกซ้ำด้วย EtOH ได้สาร 5-methoxy-2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(72)** เป็นของแข็งสีส้ม (0.30 g, 77%) ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 4.03 (s, 3H), 7.34 (d, *J*=7.4 Hz, 1H), 7.72 (t, *J*=7.4 Hz, 1H), 7.83 (dd, *J*=1.1, 7.4 Hz, 1H)

วิธีการสังเคราะห์ aminonaphthoquinone



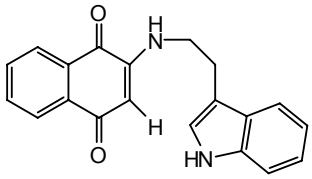
(15) R_1=R_2=H
(65) R_1=H, R_2=Br
(72) R_1=OCH_3, R_2=Br

(73a) R_3=H
(73b) R_3=OCH_3

(74a) R_1=R_2=R_3=H
(74b) R_1=H, R_2=Br, R_3=H
(74c) R_1=R_2=H, R_3=OCH_3
(74d) R_1=H, R_2=Br, R_3=OCH_3
(74e) R_1=OCH_3, R_2=Br, R_3=H

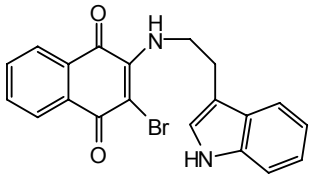
นำอนุพันธ์ของ 1,4-naphthoqunone **(15, 65, 72)** (1 equiv.) มาละลายด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นเติมสารละลายอนุพันธ์ของ tryptamine **(73a-b)** (1.2 equiv.) ที่ละลายใน EtOH จากนั้นนำไปให้ความร้อนโดยใช้ microwave reactor 850 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที นำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 4:1)

วิธีการสังเคราะห์ 2-(1*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone (74a)



ทำตามวิธีการสังเคราะห์ aminonaphthoquinone โดยใช้ 1,4-naphthoquinone **(15)** (50 mg, 0.32 mmol) ใน CH_2Cl_2 1 mL และ tryptamine **(73a)** (61 mg, 0.38 mmol) ใน EtOH (3 mL) ได้สาร 2-(1*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74a)** เป็นของแข็งน้ำตาลแดง (40 mg, 40 %); mp 184-185 °C; IR (CH_2Cl_2) ν_{max}: 1509, 1575, 1609, 1678, 3382, 3469 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.16 (t, *J*=6.8 Hz, 2H), 3.52 (q, *J*=6.4 Hz, 2H), 5.80 (s, 1H), 6.03 (br s, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.15 (td, *J*=0.8, 7.3 Hz, 1H), 7.23 (td, *J*=1.1, 7.7 Hz, 1H), 7.39 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.60 (td, *J*=1.0, 7.6 Hz, 1H), 7.61 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.72 (td, *J*=1.2, 7.5 Hz, 1H), 8.01 (dd, *J*=1.0, 7.6 Hz, 1H), 8.10 (dd, *J*=0.8, 7.6 Hz, 1H), 8.15 (br s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 24.2, 42.5, 100.9, 111.5, 112.7, 118.5, 119.7, 122.2, 122.5, 126.2, 126.3, 127.0, 130.5, 132.0, 133.7, 134.8, 136.5, 147.9, 181.0, 183.0; HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{20}H_{17}N_2O_2$: 317.1285, found: 317.1251.

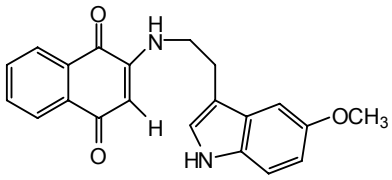
วิธีการสังเคราะห์ 2- bromo-3-(1*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone (74b)



ทำตามวิธีการสังเคราะห์ aminonaphthoquinone โดยใช้ 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)** (120 mg, 0.380 mmol) ใน CH_2Cl_2 (1 mL) และ tryptamine **(73a)** (73 mg, 0.456 mmol) ใน EtOH (4 mL) ได้สาร 2- bromo-3-(1*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74b)** เป็นของแข็งสีแดง(135 mg, 89 %); mp 155-156 °C; IR (CH_2Cl_2) ν_{max}: 1515, 1574, 1680, 3333, 3469 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.15 (t, *J*=6.7 Hz, 2H), 4.22 (q, *J*=6.5 Hz, 2H), 7.12 (s, 1H), 7.14 (td, *J*=1.1, 7.4 Hz, 1H), 7.20 (td, *J*=1.1, 7.5 Hz, 1H), 7.36 (d, *J*=7.9 Hz, 1H), 7.58 (td, *J*=1.2, 7.4 Hz, 1H), 7.63 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.68 (td, *J*=1.2, 7.4 Hz, 1H), 7.95 (d,

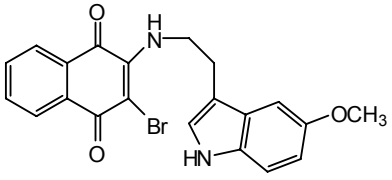
J=7.5 Hz, 1H), 8.12 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 8.18 (br s, 1H). δ HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{20}H_{16}BrN_2O_2$: 395.0390, found: 395.0428

วิธีการสังเคราะห์ 2-(5-methoxy-*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone (74c)



ทำตามวิธีการสังเคราะห์ aminonaphthoquinone โดยใช้ 1,4-naphthoquinone **(15)** (50mg, 0.316 mmol)ใน CH_2Cl_2 (0.5 mL) และ 5-methoxy tryptamine **(73b)** (72 mg, 0.379 mmol) ใน EtOH (3 mL) ได้สาร 2-(5-methoxy-*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74c)** เป็นของแข็งสีน้ำตาลแดง (42 mg, 38 %); mp 158-160 °C; IR (CH_2Cl_2) ν_{max}: 1509, 1575, 1609, 1678, 3381, 3469 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.12 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 3.50 (d, *J*=6.4 Hz, 2H) 3.86 (s, 3H), 5.81 (s, 1H), 6.05 (br s, 1H), 6.88 (dd, *J*=2.4, 8.8 Hz, 1H), 7.02 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.60 (td, *J*=1.3, 7.5 Hz, 1H), 7.72 (td, *J*=1.3, 7.5 Hz, 1H), 8.00 (dd, *J*=1.1, 7.7 Hz, 1H), 8.08 (br s, 1H), 8.09 (dd, *J*=1.0, 7.7 Hz, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 24.2, 42.5, 55.9, 100.3, 100.9, 111.8, 112.2, 112.7, 122.9, 126.2, 126.3, 127.4, 130.5, 131.6, 132.0, 133.7, 134.8, 147.9, 154.2, 181.8, 183.0.; HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{21}H_{19}N_2O_3$: 347.1390, found: 347.1383

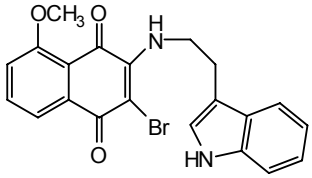
วิธีการสังเคราะห์ 2-bromo-3-(5-methoxy-*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone (74d)



ทำตามวิธีการสังเคราะห์ aminonaphthoquinone โดยใช้ 2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(65)** (50 mg, 0.158 mmol) ใน CH_2Cl_2 (0.5 mL) และ 5-methoxy-tryptamine **(73b)** (36 mg, 0.190 mmol) ใน EtOH (3 mL) ได้สาร 2-bromo-3-(5-methoxy-*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74d)** เป็นของแข็งสีแดง (50 mg, 75 %); mp 155-156 °C; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ

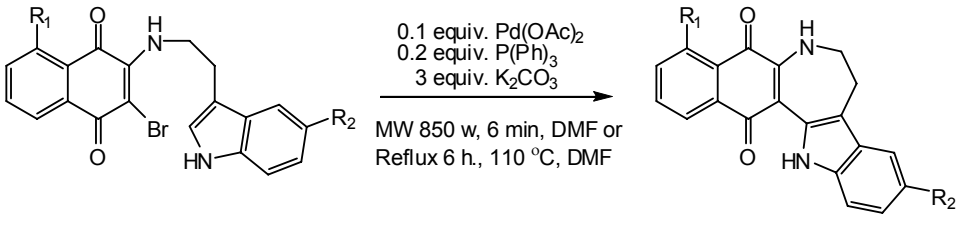
3.12 (t, *J*=6.7 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 4.21 (t, *J*=6.7 Hz, 2H), 6.17 (br s, 1H), 6.86 (dd, *J*=2.4, 8.8 Hz, 1H), 7.08 (dd, *J*=2.3, 11.0 Hz, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.60 (td, *J*=1.3, 7.5 Hz, 1H), 7.70 (td, *J*=1.4, 7.5 Hz, 1H), 7.95 (dd, *J*=1.1, 7.6 Hz, 1H), 7.97 (br s, 1H), 8.13 (dd, *J*=1.1, 7.6 Hz, 1H); HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{21}H_{18}BrN_2O_3$: 425.0495, found: 425.0561

วิธีการสังเคราะห์ 5-methoxy-2- bromo-3-(1*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone (74e)



ทำตามวิธีการสังเคราะห์ aminonaphthoquinone โดยใช้ 5-methoxy-2,3-dibromo-1,4-naphthoquinone **(72)** (50 mg, 0.15 mmol) ใน CH_2Cl_2 (0.5 mL) และ tryptamine **(73a)** (40 mg, 0.250 mmol) ใน EtOH (2.0 mL) ได้สาร 5-methoxy-2- bromo-3-(1*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74e)** เป็นของแข็งสีแดง (35 mg, 53 %); mp 152-153 °C; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.15 (t, *J*=6.6 Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 4.21 (t, *J*=6.5 Hz, 2H), 6.34 (br s, 1H), 7.10-7.18 (m, 3H), 7.21 (td, *J*=1.2, 7.5 Hz, 1H), 7.37 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.62 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.63 (t, *J*= 8.0 Hz, 1H), 7.82 (dd, *J*=0.9, 7.6 Hz, 1H), 7.61 (br s, 1H). HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{21}H_{18}BrN_2O_3$: 425.0495, found:425.0460

วิธีการสังเคราะห์ heterocyclic naphthoquinone



(74b) R_1=H, R_2=H
(74d) R_1=H, R_2=OCH_3
(74e) R_1=OCH_3, R_2=H

(75a) R_1=R_2=H
(75b) R_1=H, R_2=OCH_3
(75c) R_1=OCH_3, R_2=H

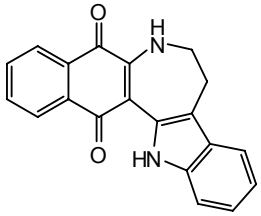
วิธีที่ 1

นำ aminonaphthoquinone (1 equiv), palladium acetate ($Pd(OAc)_2$) (0.10 equiv) triphenylphosphine ($P(Ph)_3$) (0.2 equiv) และ potassium carbonate (K_2CO_3) (3 equiv) มาละลายด้วย dry DMF (4 mL) ภายใต้บรรยากาศก๊าซ Ar จากนั้นให้ความร้อนโดยใช้ microwave reactor 850 วัตต์ เป็นเวลา 6 นาที แล้วสกัดด้วย EtOAc (15 mL) จากนั้นล้างด้วยน้ำหลายๆครั้ง นำชั้น EtOAc มาทำให้แห้งด้วย anh.Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 4:1)

วิธีที่ 2

นำ aminonaphthoquinone (1 equiv), palladium acetate ($Pd(OAc)_2$) (0.10 equiv) triphenylphosphine ($P(Ph)_3$) (0.2 equiv) และ potassium carbonate (K_2CO_3) (3 equiv) มาละลายด้วย dry DMF (4 mL) ภายใต้บรรยากาศก๊าซ Ar จากนั้นให้ความร้อนโดย reflux ที่อุณหภูมิ 110 $^{\circ}$C เป็นเวลา 360 นาที แล้วสกัดด้วย EtOAc (15 mL) และล้างด้วยน้ำหลายๆครั้ง นำชั้น EtOAc มาทำให้แห้งด้วย anh.Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 4:1)

วิธีการสังเคราะห์ 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione (75a)



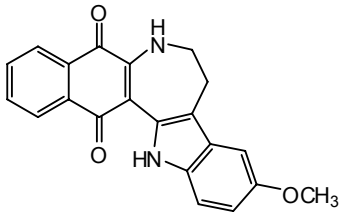
วิธีที่ 1

ทำตามวิธีการสังเคราะห์ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 2- bromo-3-(1*H*-indol-3-yl) ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74b)** (46 mg, 0.12 mmol), $Pd(OAc)_2$ (3 mg, 0.012 mmol), $P(Ph)_3$ (7 mg, 0.024 mmol) และ K_2CO_3 (48 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 ml) ได้สาร1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho [2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75a)** เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (35 mg, 94%)

วิธีที่ 2

ทำตามวิธีการสังเคราะห์ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 2- bromo-3-(1*H*-indol-3-yl) ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74b)** (46 mg, 0.12 mmol), $Pd(OAc)_2$ (3 mg, 0.012 mmol), $P(Ph)_3$ (7 mg, 0.024 mmol) และ K_2CO_3 (48 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 ml) ได้สาร1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione**(75a)** เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (12 mg, 34%); mp 218-219 °C; IR (CH_2Cl_2) ν_{max}: 1519, 1566, 1599, 1630, 1668, 3347 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.16 (t, *J*=4.5 Hz, 2H), 3.65 (q, *J*=4.5 Hz, 2H), 7.00 (td, *J*=1.0, 7.5 Hz, 1H), 7.10 (td, *J*=1.0, 7.5 Hz, 1H), 7.13 (br s, 1H), 7.31 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.40 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.50 (td, *J*=1.2, 7.5 Hz, 1H), 7.62 (td, *J*=1.2, 7.5 Hz, 1H), 7.91 (dd, *J*=1.0, 7.5 Hz, 1H), 8.05 (dd, *J*=1.0, 7.5 Hz, 1H), 11.46 (br s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 26.4, 44.1, 105.0, 110.1, 114.4, 116.6, 118.2, 121.5, 125.0, 125.7, 126.2, 128.7, 128.8, 131.4, 133.1, 133.9, 134.5, 143.6, 180.1, 183.6; HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{20}H_{15}N_2O_2$: 315.1128, found: 315.1032.

วิธีการสังเคราะห์ 4-Methoxy-1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione (75b)



วิธีที่ 1

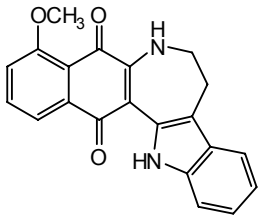
ทำตามวิธีการสังเคราะห์ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 2-bromo-3-(5-methoxy-*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74d)** (45 mg, 0.11 mmol), $Pd(OAc)_2$ (3 mg, 0.012 mmol), $P(Ph)_3$ (6 mg, 0.022 mmol) และ K_2CO_3 (45 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 ml)ได้สาร 4-Methoxy-1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75b)** เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (27 mg, 72%)

วิธีที่ 2

ทำตามวิธีการสังเคราะห์ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 2-bromo-3-(5-methoxy-*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74d)** (45 mg, 0.11 mmol), $Pd(OAc)_2$ (3 mg, 0.012 mmol), $P(Ph)_3$ (6 mg, 0.022 mmol) และ K_2CO_3 (45 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 ml) ได้สาร

4-Methoxy-1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75b)** เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (6.7 mg, 18%); mp 216-217 °C; IR (CH_2Cl_2) ν_{max}: 1513, 1566, 1598, 1630, 1666, 3346 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.24 (t, *J*=4.5 Hz, 2H), 3.78 (q, *J*=4.6 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 6.87 (dd, *J*=2.4, 8.7 Hz, 1H), 6.93 (d, *J*=2.2 Hz, 1H), 7.23 (br s, 1H), 7.32 (d, *J*=8.7 Hz, 1H), 7.62 (td, *J*=1.2, 7.5 Hz, 1H), 7.74 (td, *J*=1.2, 7.5 Hz, 1H), 8.03 (dd, *J*=1.1, 7.6 Hz, 1H), 8.16 (dd, *J*=1.1, 7.7 Hz, 1H), 11.49 (br s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 27.5, 45.1, 55.9, 99.2, 106.1, 111.9, 113.0, 115.1, 126.0, 126.7, 127.5, 129.8, 130.4, 130.9, 132.4, 134.1, 134.9, 144.5, 154.0, 181.1, 184.6; HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{21}H_{17}N_2O_3$: 345.1234, found: 345.1204

วิธีการสังเคราะห์ 13-Methoxy-1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione (75c)



วิธีที่ 1

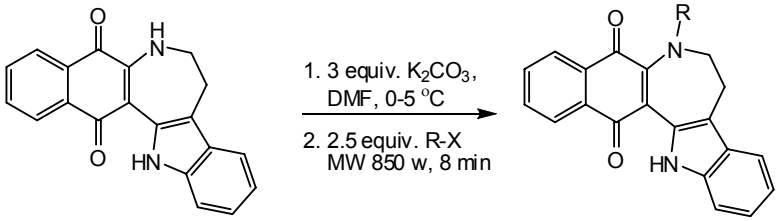
ทำตามวิธีการสังเคราะห์ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 5-methoxy-2- bromo-3-(1*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone **(75e)** (50 mg, 0.12 mmol), $Pd(OAc)_2$ (3 mg, 0.012 mmol), $P(Ph)_3$ (7 mg, 0.024 mmol) และ K_2CO_3 (48 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 mL)ได้สาร 13-Methoxy-1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75c)** เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (20 mg, 49%)

วิธีที่ 2

ทำตามวิธีการสังเคราะห์ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 5-methoxy-2- bromo-3-(1*H*-indol-3-yl)ethylamino-1,4-naphthoquinone **(74e)** (50 mg, 0.12 mmol), $Pd(OAc)_2$ (3 mg, 0.012 mmol), $P(Ph)_3$ (7 mg, 0.024 mmol) และ K_2CO_3 (48 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 ml)ได้สาร 13-Methoxy-1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75b)** เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (6 mg, 17 %); mp 233-235 °C; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.27 (t, *J*=4.5 Hz, 2H), 3.78 (q, *J*=4.8 Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 7.09 (td, *J*=0.9, 7.4 Hz, 1H), 7.15-7.21 (m, 2H), 7.38 (br s, 1H), 7.41 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.50 (d, *J*=7.9 Hz, 1H), 7.68 (t, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.87 (dd, *J*=1.0, 7.7 Hz, 1H), 11.56 (s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 27.3, 45.1, 56.5, 104.7, 111.1, 114.5, 116.1, 117.5,

119.1, 119.5, 122.2, 127.2, 129.6, 135.2, 136.1, 136.6, 145.9, 159.7, 179.4, 183.9; HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{21}H_{17}N_2O_3$: 345.1234, found: 345.1213

วิธีการทำปฏิกิริยา N-Alkylaion ของ Heterocyclic Naphthoquinone

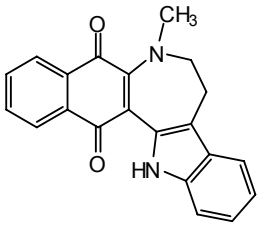


(75a)

(76a) R=-CH_3
(76b) R=-$CH_2CH_2CH_3$
(76c) R=-CH_2-CH=CH_2
(76d) R=-Bz

นำ 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75a)** (1 equiv) และ potassium carbonate (K_2CO_3) (2.5 equiv) มาละลายด้วย dry DMF (4 mL) ภายใต้บรรยากาศก๊าซ Ar กวนสารละลายที่อุณหภูมิ 0-5 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสาร Alkyl halide (3 equiv) และให้ความร้อนโดยใช้ microwave reactor 850 วัตต์ เป็นเวลา 8 นาที ทำให้เย็นถึงอุณหภูมิห้องเติมน้ำ (15 ml) สกัดด้วย EtOAc (2 x 10 ml) นำชั้น EtOAc มาทำให้แห้งด้วย anh.Na_2SO_4 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, Hexane: EtOAc, 4:1)

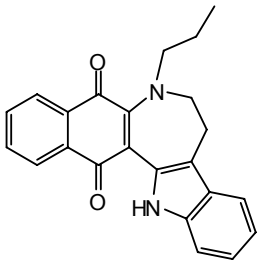
วิธีการสังเคราะห์ 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-*N*-methyl-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione (76a)



ทำตามวิธีการทำปฏิกิริยา *N*-Alkylaion ของ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 1,5,6,7,8,14b hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75a)** (45 mg, 0.14 mmol) และ K_2CO_3 (48 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 ml) และ methyl iodide (0.03mL, 0.43 mmol) ได้สาร 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-*N*-methyl-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(76a)** เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (45 mg, 96%); mp 218-219 °C; IR (CH_2Cl_2) ν_{max}: 1542, 1595, 1634, 1664,

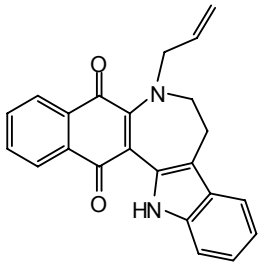
3379 cm^{-1}; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.16 (t, *J*=4.9 Hz, 2H), 3.27 (t, *J*=4.9 Hz, 2H), 3.29 (s, 3H), 7.03 (td, *J*=1.0, 7.4 Hz, 1H), 7.15 (td, *J*=1.0, 7.4 Hz, 1H), 7.33 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.49 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.56 (td, *J*=1.5, 7.5 Hz, 1H), 7.62 (td, *J*=1.5, 7.5 Hz, 1H), 7.92 (dd, *J*=1.3, 7.5 Hz, 1H), 8.07 (dd, *J*=1.3, 7.5 Hz, 1H), 11.32 (br s, 1H).; ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 24.3, 42.3, 53.2, 110.0, 112.7, 116.2, 117.6, 118.3, 122.2, 124.9, 125.4, 126.6, 128.9, 130.5, 131.8, 132.3, 132.8, 134.6, 149.7, 181.8, 185.5; HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{21}H_{17}N_2O_2$: 329.1285, found: 329.1247

วิธีการสังเคราะห์ 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-*N*-pyopyl-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione (75b)



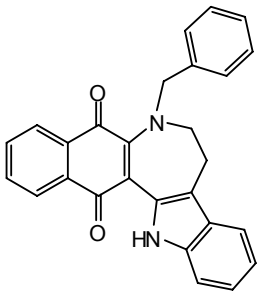
ทำตามวิธีการทำปฏิกิริยา *N*-Alkylaion ของ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 1,5,6,7,8,14b hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dion**e (75a)** (45 mg, 0.14 mmol), K_2CO_3 (48 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 ml) และ propyl bromide (0.04mL, 0.43 mmol) ได้สาร 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-*N*-pyopyl-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(76b)** เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (17mg, 36%); mp 151-153 °C; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 0.97 (t, *J*=7.4 Hz, 3H), 1.84-1.92 (m, 2H), 3.25 (t, *J*=4.8 Hz, 2H), 3.43 (t, *J*=4.8 Hz, 2H), 3.56 (t, *J*=7.7 Hz, 2H), 7.11 (t, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.23 (t, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.42 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.57 (d, *J*=7.9 Hz, 1H), 7.65 (td, *J*=1.5, 7.4 Hz, 1H), 7.71 (td, *J*=1.5, 7.5 Hz, 1H), 8.00 (dd, *J*=1.3, 7.4 Hz, 1H), 8.15 (dd, *J*=1.2, 7.6 Hz, 1H), 11.34 (br s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 11.4, 22.3, 25.9, 52.0, 56.9, 111.0, 113.6, 117.0, 118.5, 119.2, 123.2, 125.8, 126.3, 127.7, 130.1, 131.7, 132.8, 133.3, 133.8, 135.6, 151.5, 183.2, 186.5; HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{23}H_{21}N_2O_2$: 357.1598, found: 357.1586

วิธีการสังเคราะห์ 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-*N*-allyl -azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione (76c)



ทำตามวิธีการทำปฏิกิริยา *N*-Alkylaion ของ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 1,5,6,7,8,14b hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75a)** (45 mg, 0.14 mmol), K_2CO_3 (48 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 ml) และ allyl bromide (0.04mL, 0.43 mmol) ได้สาร 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-*N*-allyl-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(76c)** เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (20 mg, 50%); ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.23 (t, *J*=4.7 Hz, 2H), 3.38 (t, *J*=4.7 Hz, 2H), 4.13 (d, *J*=5.9 Hz, 2H), 5.34 (d, *J*=3.7 Hz, 1H), 5.38(s, 1H), 6.23-6.36(m, 1H), 7.14 (t, *J*=7.4 Hz, 1H), 7.27 (t, *J*=7.4 Hz, 1H), 7.44 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.60 (d, *J*=7.9 Hz, 1H), 7.66 (td, *J*=1.4, 7.4 Hz, 1H), 7.72 (td, *J*=1.5, 7.5 Hz, 1H), 8.02 (dd, *J*=1.4, 7.4 Hz, 1H), 8.18 (dd, *J*=1.3, 7.4 Hz, 1H), 11.37 (br s, 1H); HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{23}H_{19}N_2O_2$:355.1441, found: 355.1436

วิธีการสังเคราะห์ 1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-*N*-benzyl-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione (76d)



ทำตามวิธีการทำปฏิกิริยา *N*-Alkylaion ของ heterocyclic naphthoquinone โดยใช้ 1,5,6,7,8,14b hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(75a)** (45 mg, 0.14 mmol), K_2CO_3 (48 mg, 0.35 mmol) ใน DMF (4 ml) และ benzyl chloride (0.05mL, 0.43 mmol) ได้สาร1,5,6,7,8,14b-hexahydro-naphtho[2,3-*d*]-*N*-benzyl-azepino[4,5-*b*]indole-9,14-dione **(76d)**

เป็นของแข็งสีน้ำเงิน (25mg, 43%); mp 170-171 $^{\circ}$C; ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ 3.17 (t, *J*=4.9 Hz, 2H), 3.38 (t, *J*=4.8 Hz, 2H), 4.85 (s, 2H), 7.12 (td, *J*=0.8, 7.4 Hz, 1H), 7.23-7.41(m, 6H), 7.44 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.56 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.64 (td, *J*=1.4, 7.4 Hz, 1H), 7.71 (td, *J*=1.4, 7.5 Hz, 1H), 7.97 (dd, *J*=1.2, 7.5 Hz, 1H), 8.1 7 (dd, *J*=1.1, 7.6 Hz, 1H), 11.36 (br s, 1H); ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ 25.4, 50.9, 58.4, 111.1, 111.2, 115.6, 118.0, 118.8, 119.3, 123.5, 126.1, 126.3, 126.4, 127.4, 127.7, 128.1, 128.6,); HRES-MS m/z cald for $[M+H]^+$ $C_{27}H_{21}N_2O_2$: 405.1598, found: 405.1587

บรรณานุกรม

1. Tandon, V. K.; Singh, R. V.; Yadav, D. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 2901-2904.
2. Tandon, V. K.; Chhor, R. B.; Singh, R. V.; Rai, S.; Yadav, D. B. *Bioorg. Med. Chem.Lett.* **2004**, 14, 1079-1083.
3. Lee, E. J.; Lee, II. J.; Park, II. J.; Min, II. Y.; Suh, M. E.; Chung, II. J.; Lee, S. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. **2004,** 14, 5175-5178.
4. Ryu, C. K.; IIan, J. Y.; Jung, O. J.; Lee, S. K.; Lee, J. Y.; Jeing, S. II. *Bioorg. Med.Chem. Lett.* **2005**, 15, 679-682.
5. http://en.wikipedia.org/wiki/juglone
6. Lim, M. Y.; Jeon, J. H.; Eomg, E. Y. ; Lee, C. H. ; Lee, H. S. *Food Chemistry* **2007,** 100, 1254-1258.
7. Ozgen, U.; Coskun, M.; Kazaz, C.; Secen, H. T. *Turk. J. Chem*. **2004**, 28, 451-454.
8. Naoe, A.; Ishibashi, M.; Yamamoto, Y. *Tetrahedron* **2003,** 59, 3433-3435.
9. Alive, T. M. A.; Kloos, H.; Zani, C. L. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. **2003,** 98(5), 709-712.
10. Eyong, K. O.; Krohn, K.; Hussain, H.; Folefoc, G. N.; Nkenfack, A. E.; Sehulz, B.; Hu, Q. *Chem. Pharm. Bull*. **2005**, 53(6), 616-619.
11. Eyong, K. O.; et al. *Phytochemistry*. **2006**, 67, 605-609
12. Knolker, H. J.; Sullivan, N. O. *Tetrahedron* **1994,** 5O, 10893-10908.
13. Bernardo, P. H.; Chai, C. L. L.; Guen, M. L.; Smith, G. D.; Waring, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 82-85.
14. Tandon, V. K.; Yadav, D. B.; Chaturvedi, A. K. Shukla, P. K. *Bioorg. Med. Chem .Lett*. **2005**, 15, 3288-3291.
15. Oliveira, C. G. T.; Miranda, F. F.; Ferreira, V. F.; Freitas, C. C.; Rabello, R. F.; Carballida, J. M.; Correa, L. C. D. *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, 12, 339-345.
16. Wang, X. L.; Zheng, X. F.; Liu, R. H.; Reiner, J.; Chang, J. B. *Tetrahedron* **2007**, 63, 3389-3394.
17. Van, T. N.; Kimpe, N.D. *Tetrahedron* **2003**, 59, 5941-5946.
18. Camara, C. A.; Pinto, A. C.; Vargas, M. D.; Zukerman-Schpector, J. *Tetrahedron* **2002**, 58, 6135-6140.

19. Tandon, V. K.; et al. *Bioorg. Med. Chem*. **2006**, 14, 6120-6126.

20. Desslin, J.; Biot, C.; Charvet, E. D. *J.Org. Chem.* **2001**, 66, 5616-5619.

21. http://www.jonathanpmiller.com/experimental/ เข้าถึงเมื่อ 16 สิงหาคม พ.ศ. 2550

22. Nakazumi, H.; Kondo, K.; Kitao, T. *Communications*. **1982**, 878-879.

23. Yamazaki, S. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 3355-3357

24. Miguel del Corral, J. M.; et al. *Bioorg. Med. Chem*. **2005**, 13, 631-644.

25. Sartori, M. F.*Chem. Rev.*, **1963**, 63, 279–296.

26. Taechowisan, T.; Chuaychot, N.; Chanapat, S.; Wanbanjob, A.; Shen, Y. *Int. J. Pharmacol*. **2008**, 95-101.

27. Taechowisan, T.; Lu C.; Shen, Y.; Lumyong, S. *J. Canc. Res. Therapeut.* **2007**, 86-91.

28. Brimble, M. A.; Brenstrum, T. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001,** 1612-1623.

ภาคผนวก

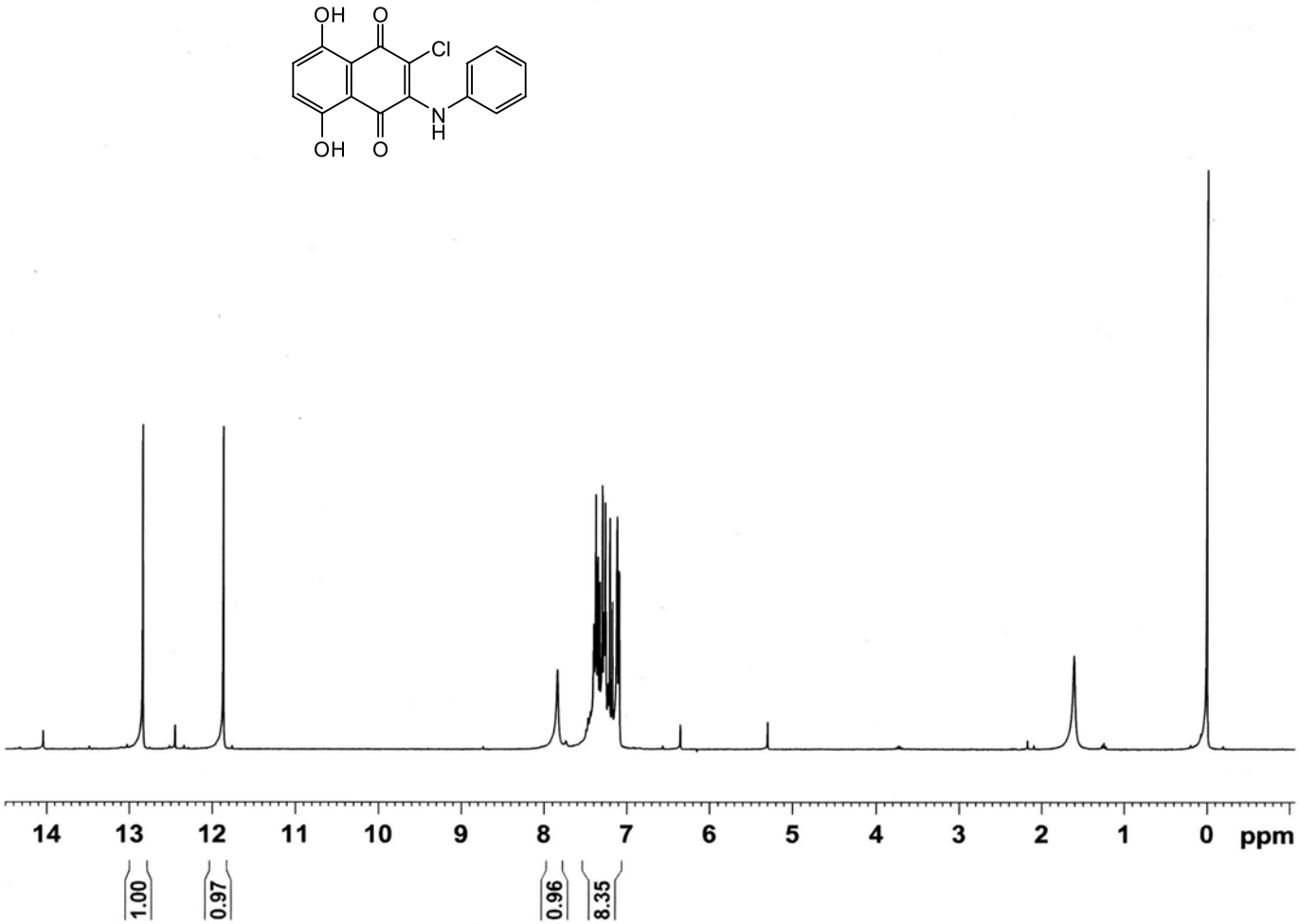
ภาคผนวก ก

LIST OF ABBREVIATIONS

anh.	anhydrous
AIBN	azobisisobutyronitrile
Ar	argon gas
CH_2Cl_2	dichloromethane
^{13}C NMR	carbon 13 nuclear magnetic resonance spectroscopy
d	doublet (NMR spectroscopy)
dd	doublet of doublets (NMR spectroscopy)
DMF	N,N-dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
EtOH	ethanol
EtOAc	ethyl acetate
equiv	equivalent
g	gram
h	hour
^{1}H NMR	proton nuclear magnetic resonance spectroscopy
HR-MS	high resolution mass spectrometry
Hz	Hertz
IC_{50}	inhibitory constant
K_2CO_3	potassium carbonate
MIC	minimum inhibitory concentration
Me	methyl group
mg	milligram
μL	microlitre
mL	milliliter
mmol	millimole
min	minute
MW	microwave irradiation
m/z	mass to charge ratio (mass spectrometry)
$Pd(OAc)_2$	palladium acetate

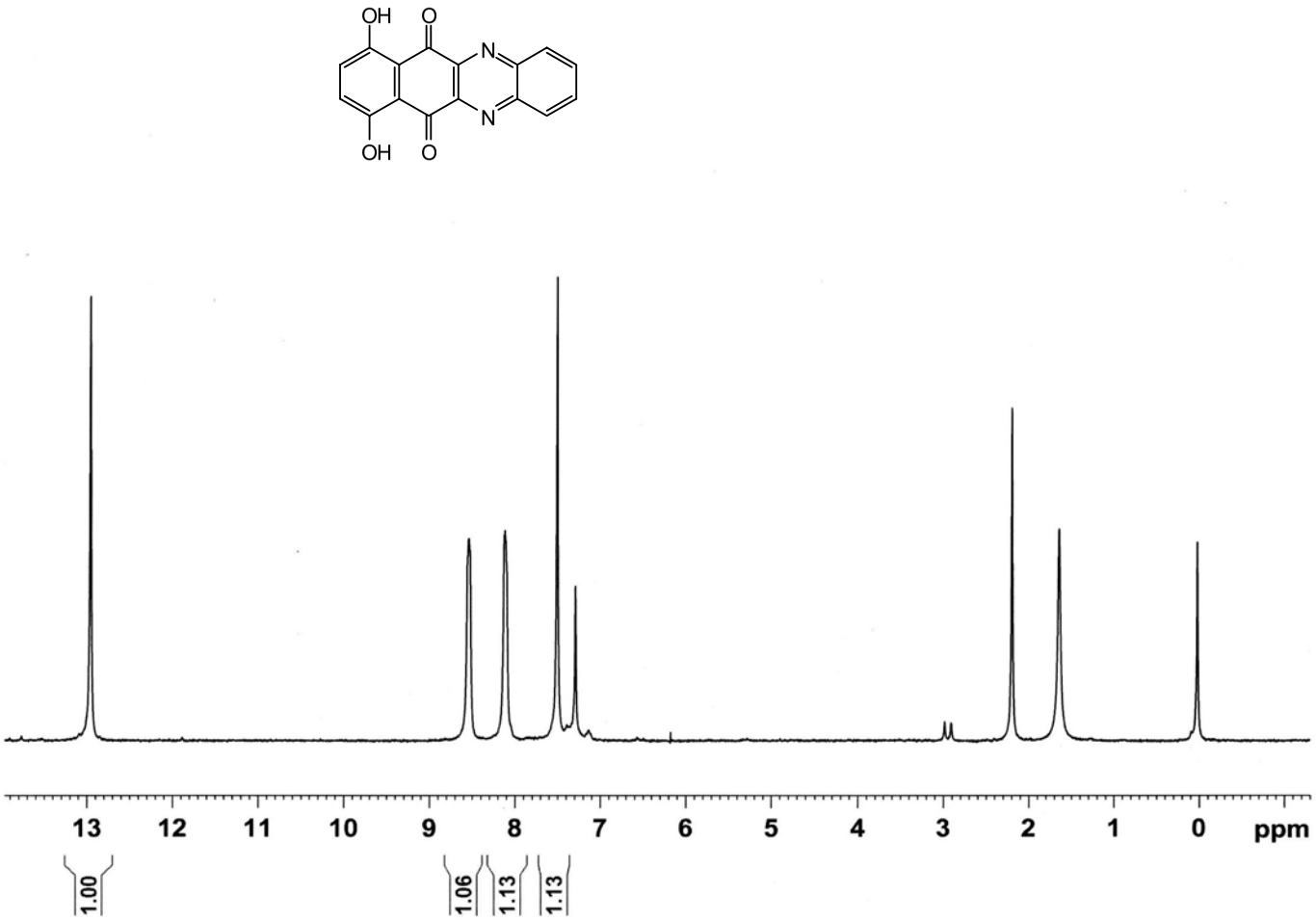
r.t.	room temperature
s	singlet (NMR spectroscopy)
sat.	saturated
t	triplet (NMR spectroscopy)
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography

ภาคผนวก ข



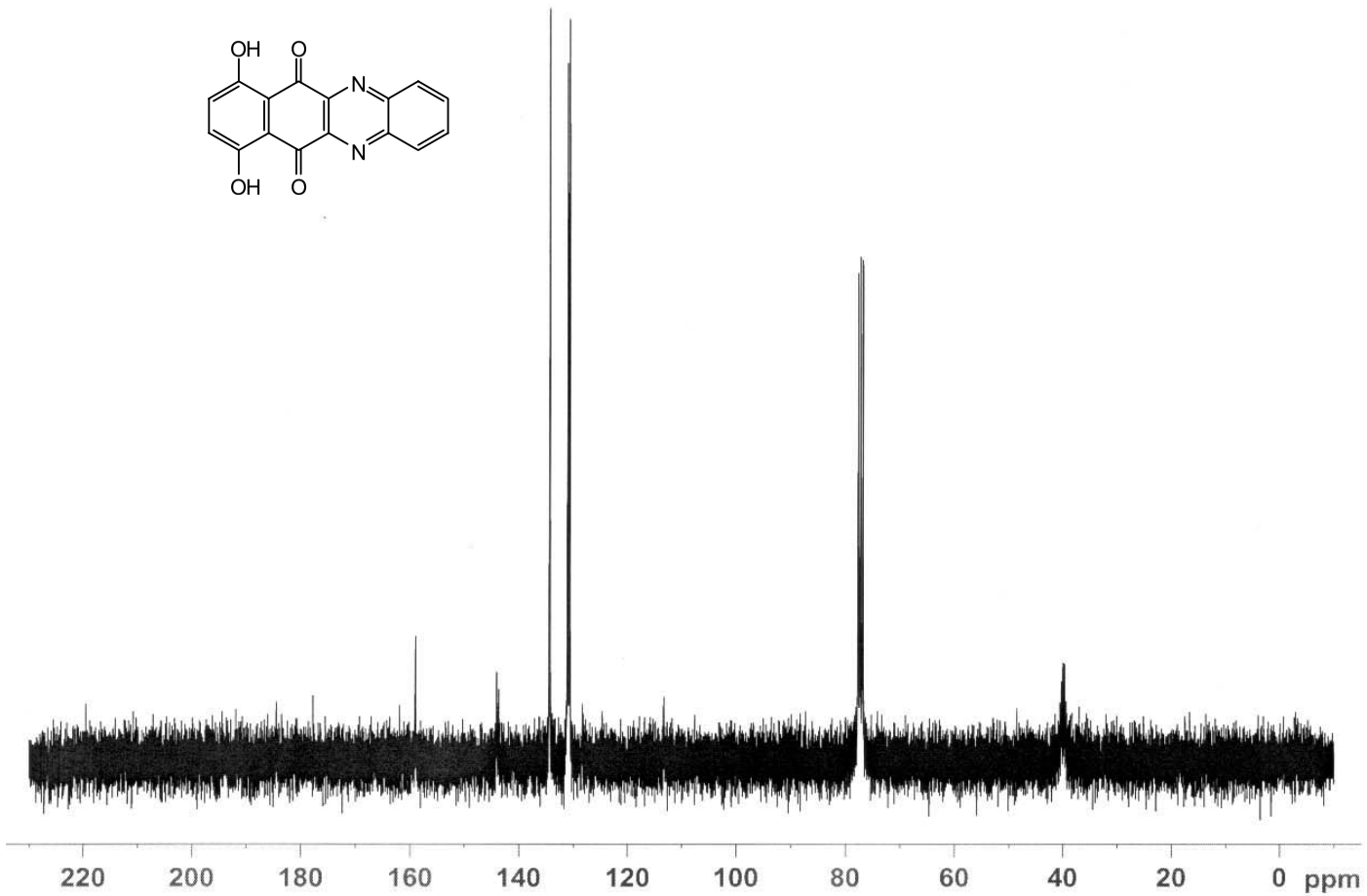
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-1911
EXPNO                        1
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20071120
Time                     11.27
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                  zg30
TD                      65536
SOLVENT                 CDCl3
NS                         16
DS                          2
SWH                  6172.839 Hz
FIDRES               0.094190 Hz
AQ                   5.3084660 sec
RG                         512
DW                    81.000 usec
DE                    20.00 usec
TE                    300.0 K
D1                 1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                        1H
P1                    10.60 usec
PL1                   -2.00 dB
SFO1              300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                      32768
SF                300.1300063 MHz
WDW                        EM
SSB                         0
LB                    0.30 Hz
GB                          0
PC                     1.00
```



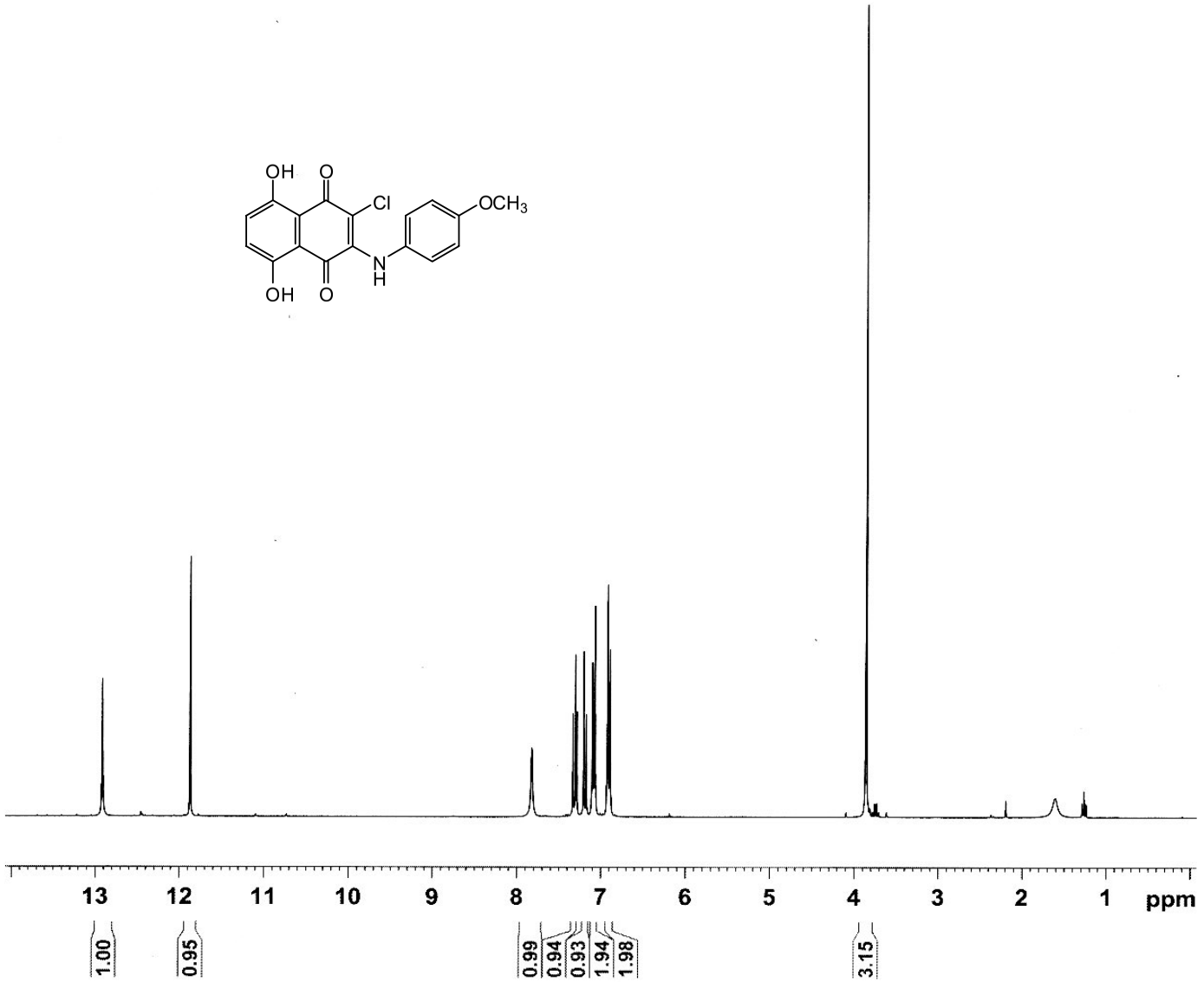
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-2011
EXPNO                        1
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20071121
Time                      8.48
INSTRUM                 av300
PROBHD     5 mm BBO BB-1H
PULPROG                  zg30
TD                      16384
SOLVENT                 CDCl3
NS                         16
DS                          2
SWH                  6172.839 Hz
FIDRES               0.376760 Hz
AQ                   1.3271540 sec
RG                       574.7
DW                      81.000 usec
DE                      20.00 usec
TE                      300.0 K
D1                 1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                        1H
P1                      10.60 usec
PL1                     -2.00 dB
SFO1               300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                        32768
SF                 300.1300000 MHz
WDW                          EM
SSB                           0
LB                       0.30 Hz
GB                            0
PC                         1.00
```



Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-2011
EXPNO                        5
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20090511
Time                     21.47
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                   zgdc
TD                       32768
SOLVENT                  CDCl3
NS                        7168
DS                           4
SWH                 18115.941 Hz
FIDRES               0.552855 Hz
AQ                   0.9044468 sec
RG                      9195.2
DW                     27.600 usec
DE                     20.00 usec
TE                     300.0 K
D1                  1.00000000 sec
d11                 0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                       13C
P1                        5.50 usec
PL1                      -3.00 dB
SFO1                75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2                waltz16
NUC2                       1H
PCPD2                   100.00 usec
PL2                      -1.00 dB
PL12                     16.50 dB
SFO2               300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                       32768
SF                  75.4677490 MHz
WDW                         no
SSB                          0
LB                        0.00 Hz
GB                           0
PC                        1.40
```



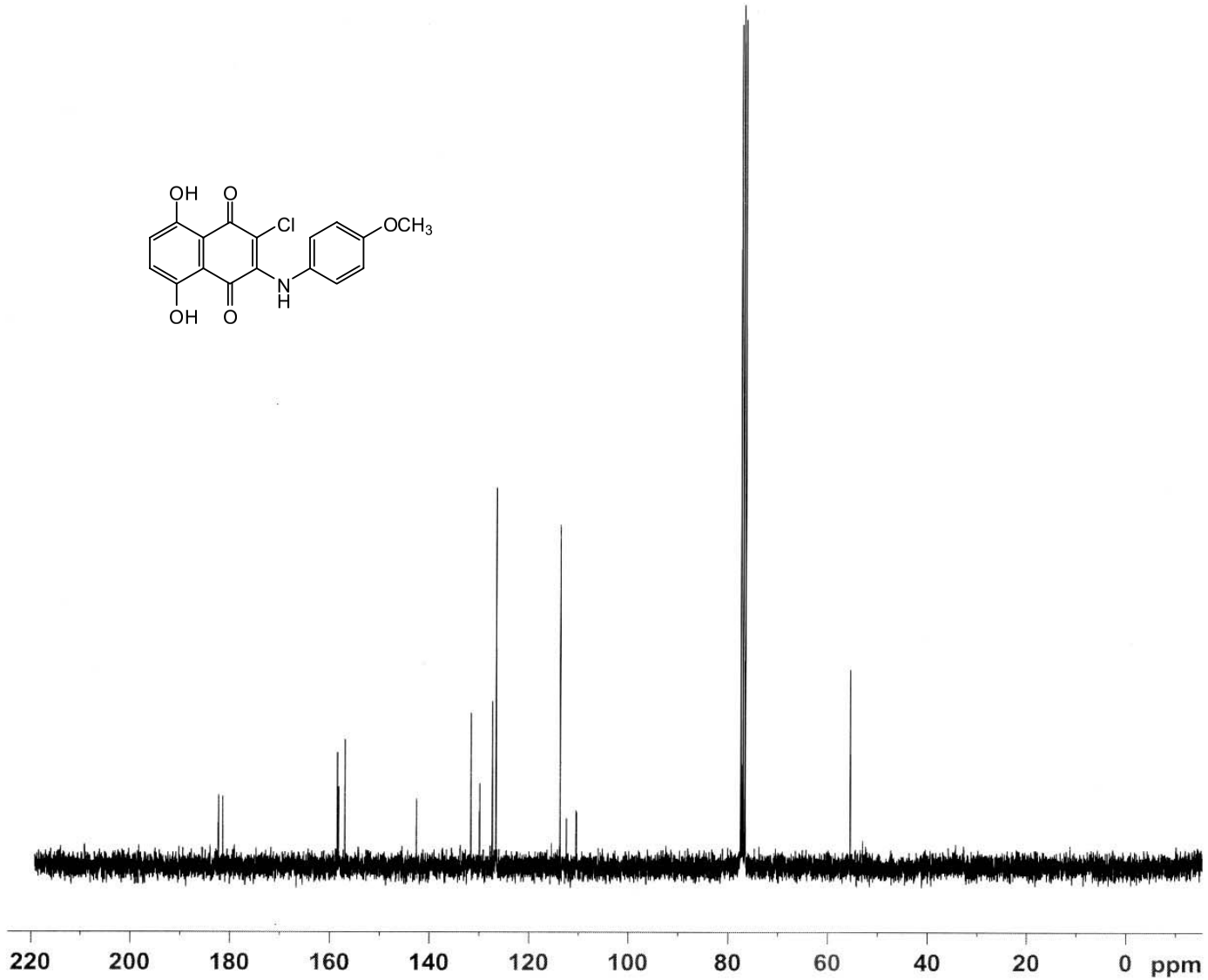
Department of Chemistry

Current Data Parameters
NAME wan-Cl-An
EXPNO 4
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20070608
Time 22.33
INSTRUM av300
PROBHD 5 mm BBO BB-1H
PULPROG zg30
TD 16384
SOLVENT CDCl3
NS 16
DS 2
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.376760 Hz
AQ 1.3271540 sec
RG 456.1
DW 81.000 usec
DE 20.00 usec
TE 300.0 K
D1 1.00000000 sec

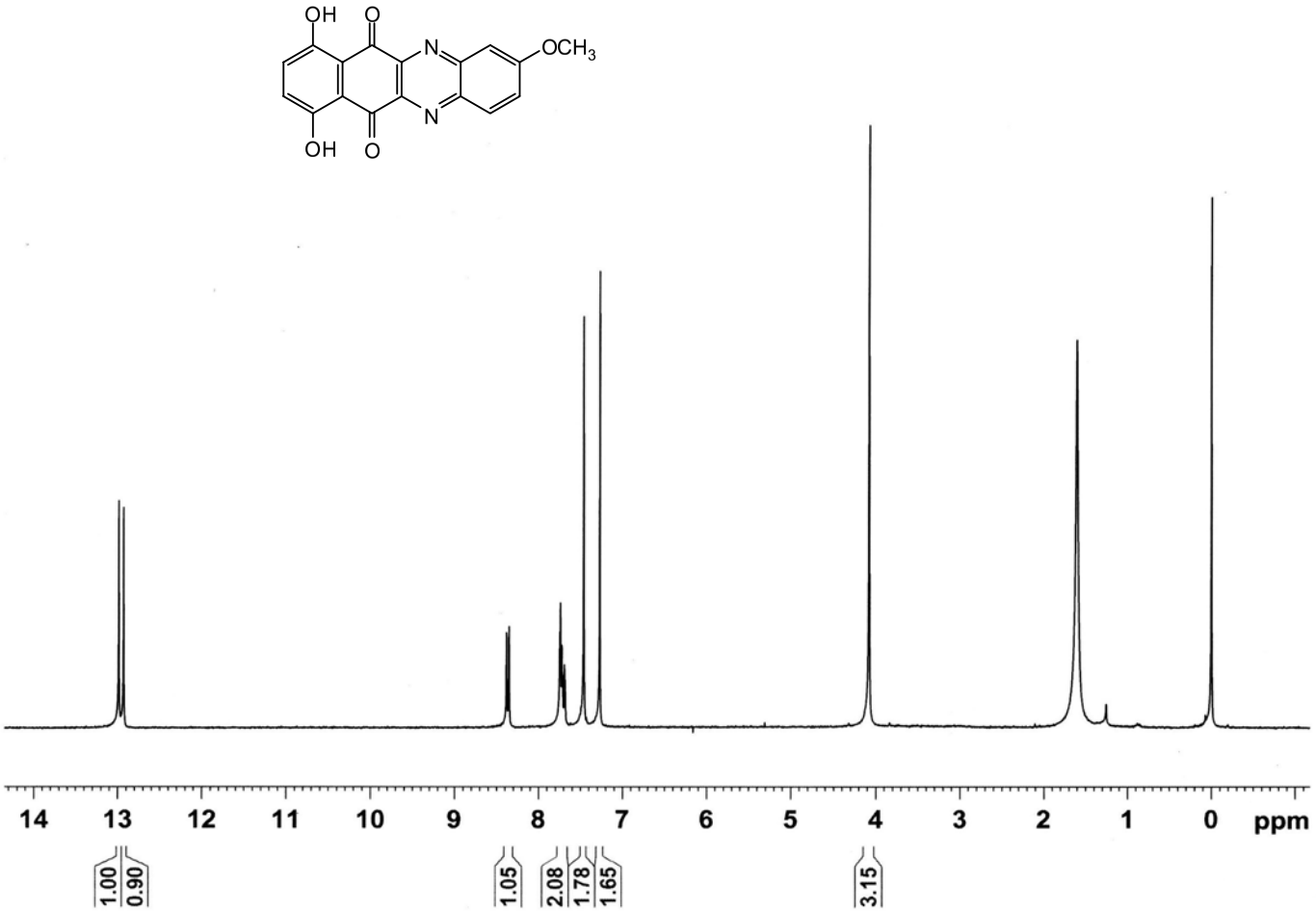
======== CHANNEL f1 ========
NUC1 1H
P1 10.50 usec
PL1 -1.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



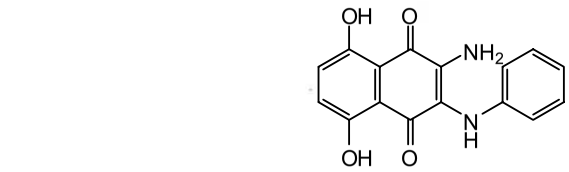
Department of Chemistry

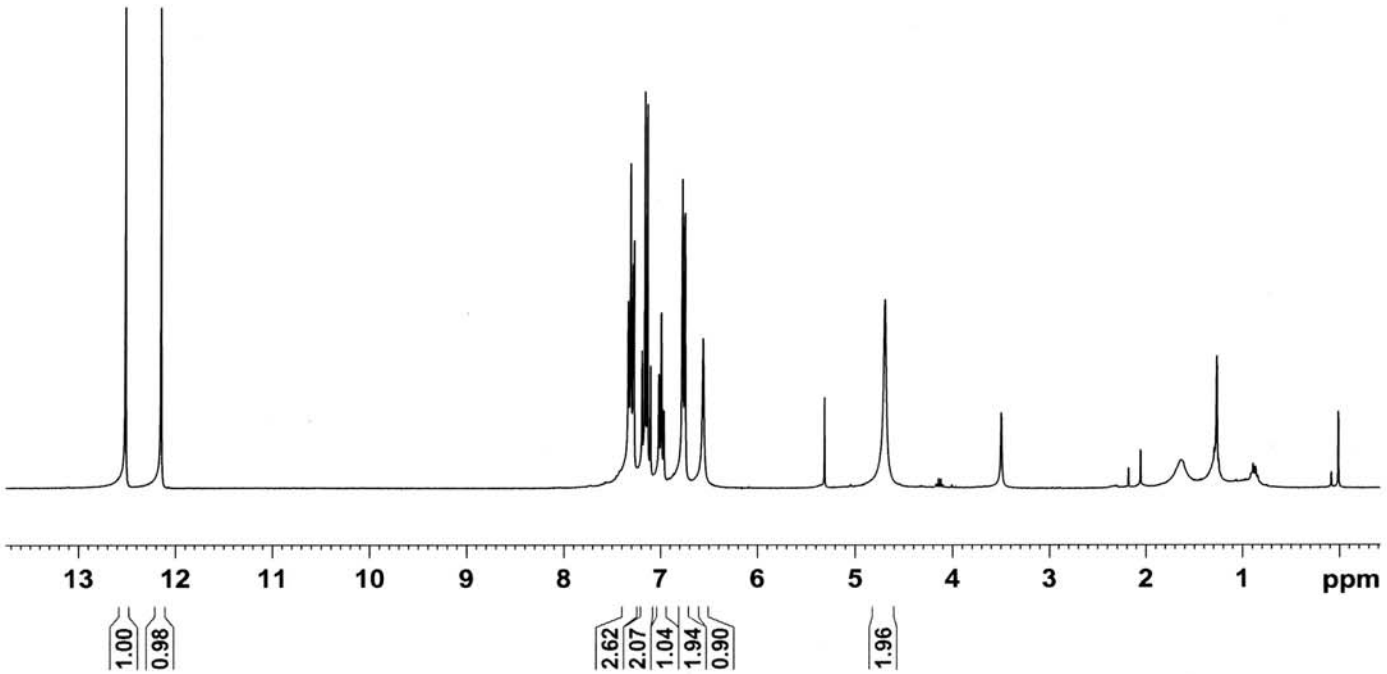
```
Current Data Parameters
NAME                  wan-Cl-An
EXPNO                         5
PROCNO                        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                  20070608
Time                      22.49
INSTRUM                   av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                 zgdc30
TD                        32768
SOLVENT                   CDCl3
NS                          256
DS                            4
SWH                  17985.611 Hz
FIDRES                0.548877 Hz
AQ                    0.9110004 sec
RG                      20642.5
DW                       27.800 usec
DE                        6.00 usec
TE                       300.0 K
D1                   2.00000000 sec
d11                  0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                        13C
P1                         4.80 usec
PL1                       -3.00 dB
SFO1                 75.4752953 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2                 waltz16
NUC2                        1H
PCPD2                     82.00 usec
PL2                       -1.00 dB
PL12                      16.00 dB
SFO2                300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                        131072
SF                   75.4677490 MHz
WDW                         EM
SSB                          0
LB                        0.80 Hz
GB                           0
PC                        1.00
```



Department of Chemistry

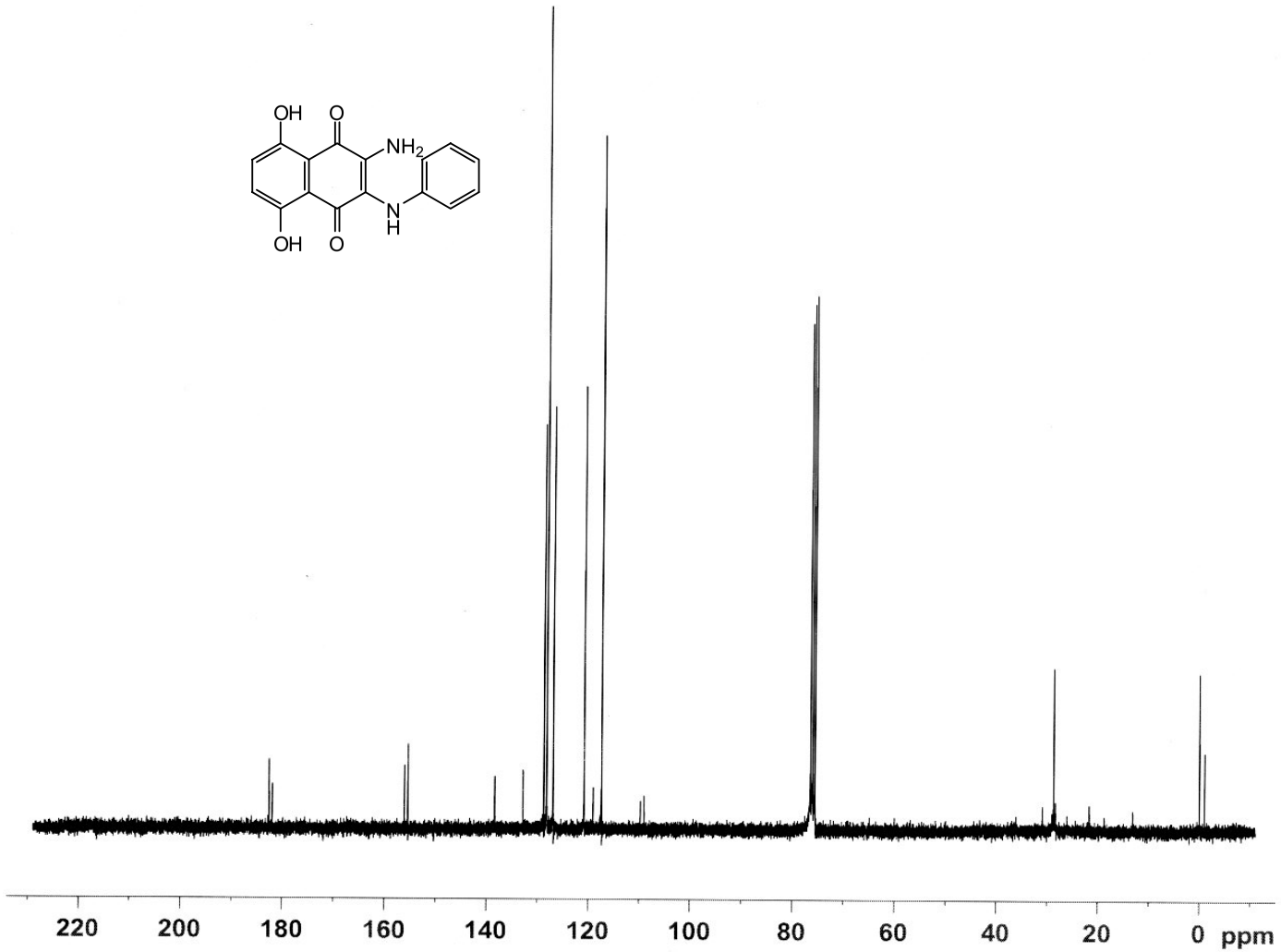
```
Current Data Parameters
NAME                  wan-1611
EXPNO                        3
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20071117
Time                     15.00
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                   zg30
TD                       16384
SOLVENT                  CDCl3
NS                          32
DS                           2
SWH                   6172.839 Hz
FIDRES                0.376760 Hz
AQ                    1.3271540 sec
RG                       645.1
DW                      81.000 usec
DE                      20.00 usec
TE                      300.0 K
D1                    1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                         1H
P1                      10.60 usec
PL1                     -2.00 dB
SFO1                300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                       32768
SF                  300.1300056 MHz
WDW                         EM
SSB                          0
LB                       0.30 Hz
GB                           0
PC                       1.00
```





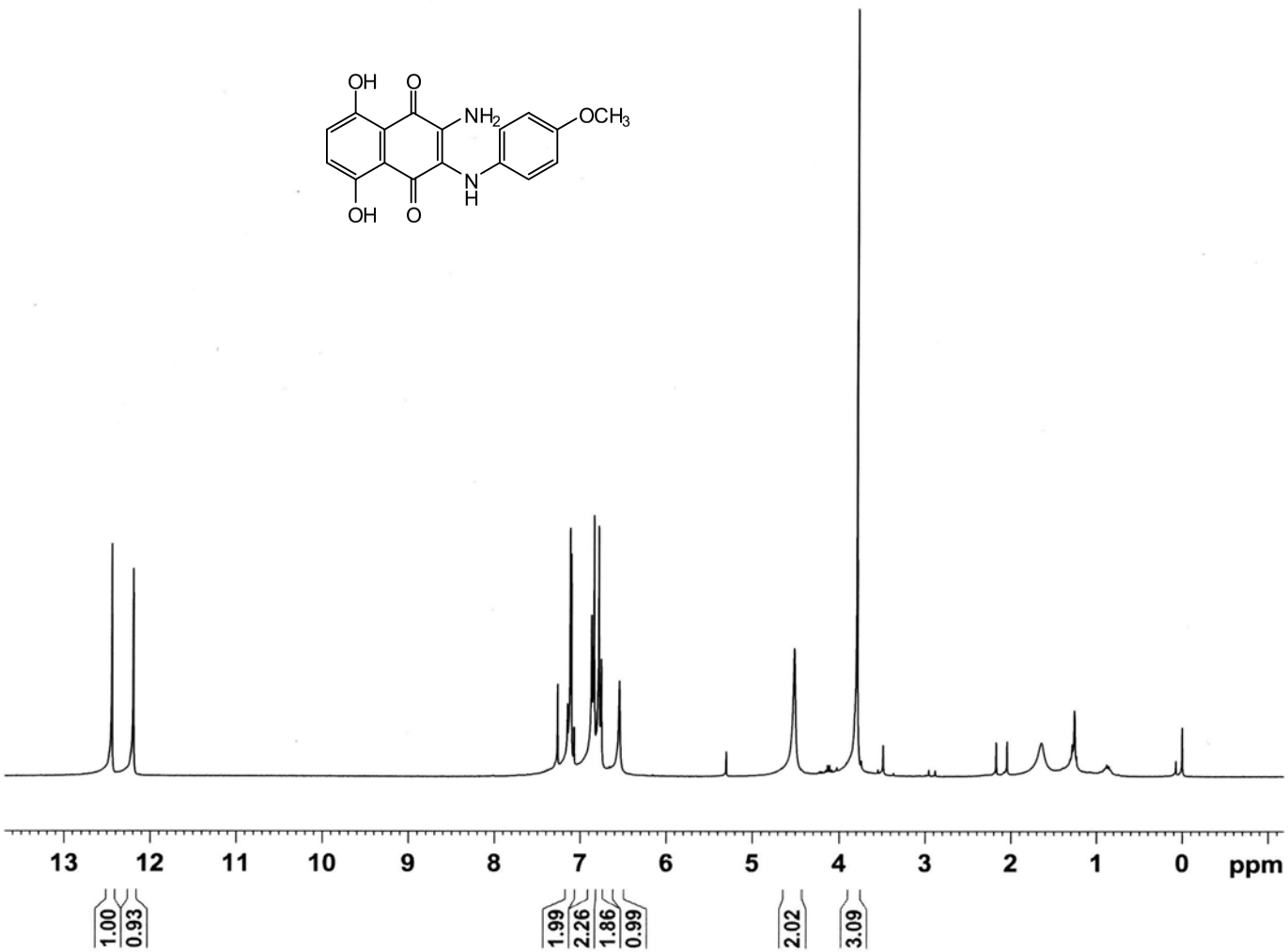
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-1212
EXPNO                        2
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20071213
Time                     11.08
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                   zg30
TD                       65536
SOLVENT                  CDCl3
NS                          16
DS                           2
SWH                  6172.839 Hz
FIDRES               0.094190 Hz
AQ                   5.3084660 sec
RG                         362
DW                      81.000 usec
DE                      20.00 usec
TE                      300.0 K
D1                  1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                        1H
P1                      100.00 usec
PL1                      -2.00 dB
SFO1                300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                       32768
SF                  300.1300047 MHz
WDW                         EM
SSB                          0
LB                        0.30 Hz
GB                           0
PC                        1.00
```



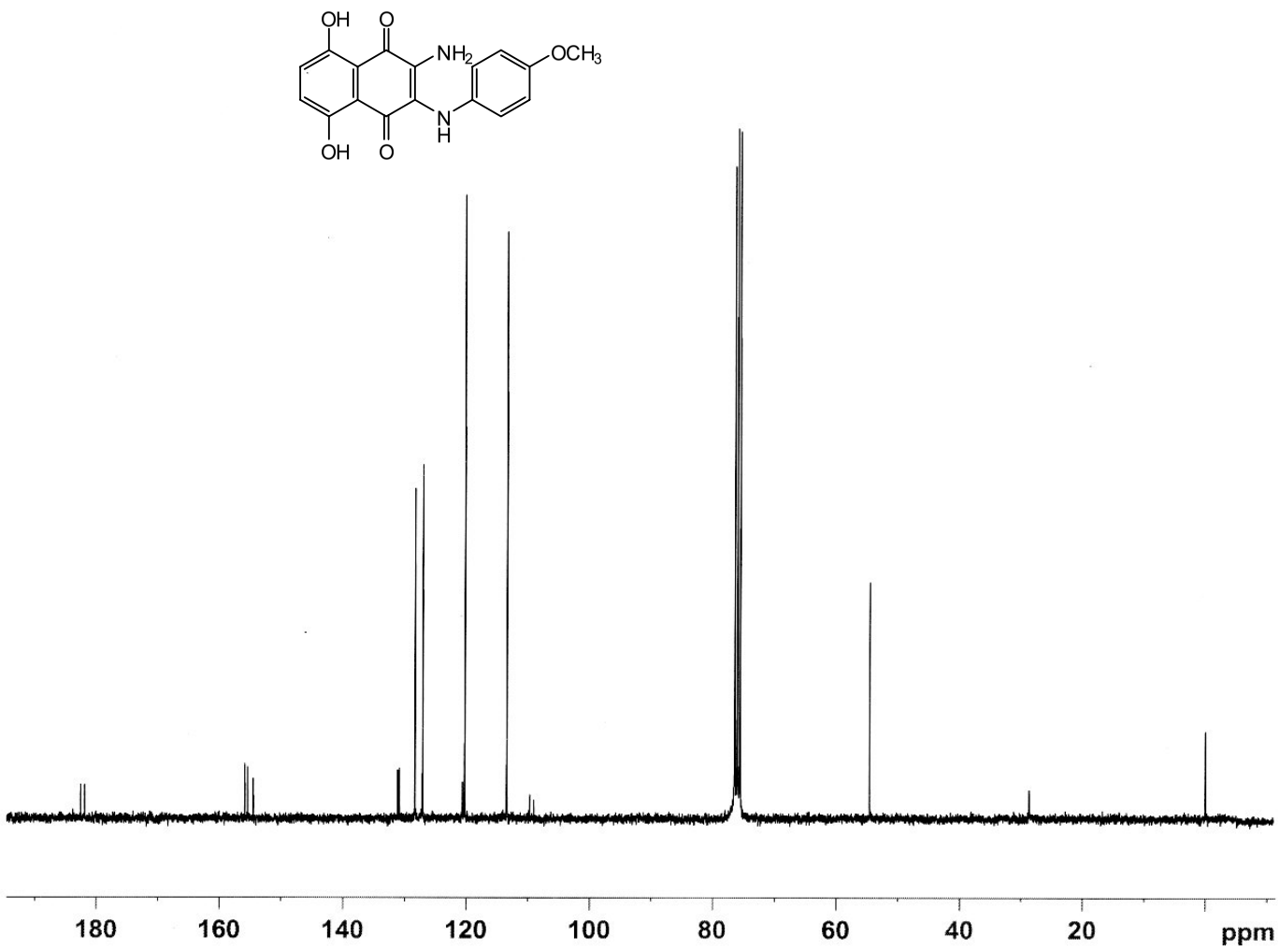
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-1212
EXPNO                        5
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20090510
Time                     21.38
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                   zgdc
TD                       32768
SOLVENT                  CDCl3
NS                       22528
DS                           4
SWH                18115.941 Hz
FIDRES              0.552855 Hz
AQ                  0.9044468 sec
RG                    10321.3
DW                     27.600 usec
DE                     20.00 usec
TE                     300.0 K
D1                1.00000000 sec
d11               0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                      13C
P1                     5.50 usec
PL1                   -3.00 dB
SFO1              75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2               waltz16
NUC2                      1H
PCPD2                100.00 usec
PL2                   -1.00 dB
PL12                  16.50 dB
SFO2             300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                       32768
SF                75.4678252 MHz
WDW                         no
SSB                          0
LB                    0.00 Hz
GB                           0
PC                        1.00
```



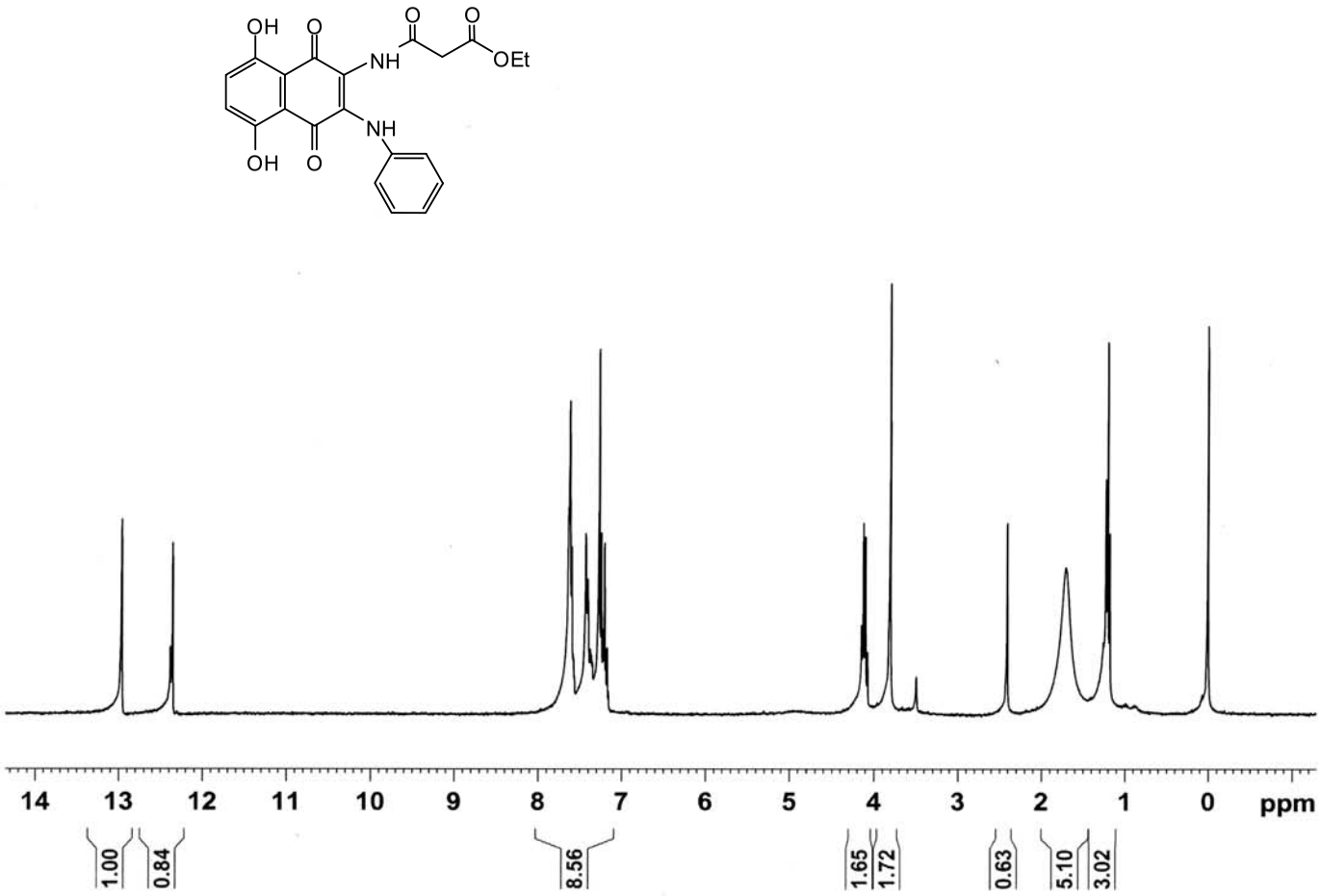
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-1712
EXPNO                        1
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20071217
Time                     16.44
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                  zg30
TD                      65536
SOLVENT                 CDCl3
NS                         16
DS                          2
SWH                  6172.839 Hz
FIDRES               0.094190 Hz
AQ                   5.3084660 sec
RG                       406.4
DW                      81.000 usec
DE                      20.00 usec
TE                      300.0 K
D1                 1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                        1H
P1                     100.00 usec
PL1                     -2.00 dB
SFO1             300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                      32768
SF               300.1300058 MHz
WDW                        EM
SSB                         0
LB                       0.30 Hz
GB                          0
PC                       1.00
```



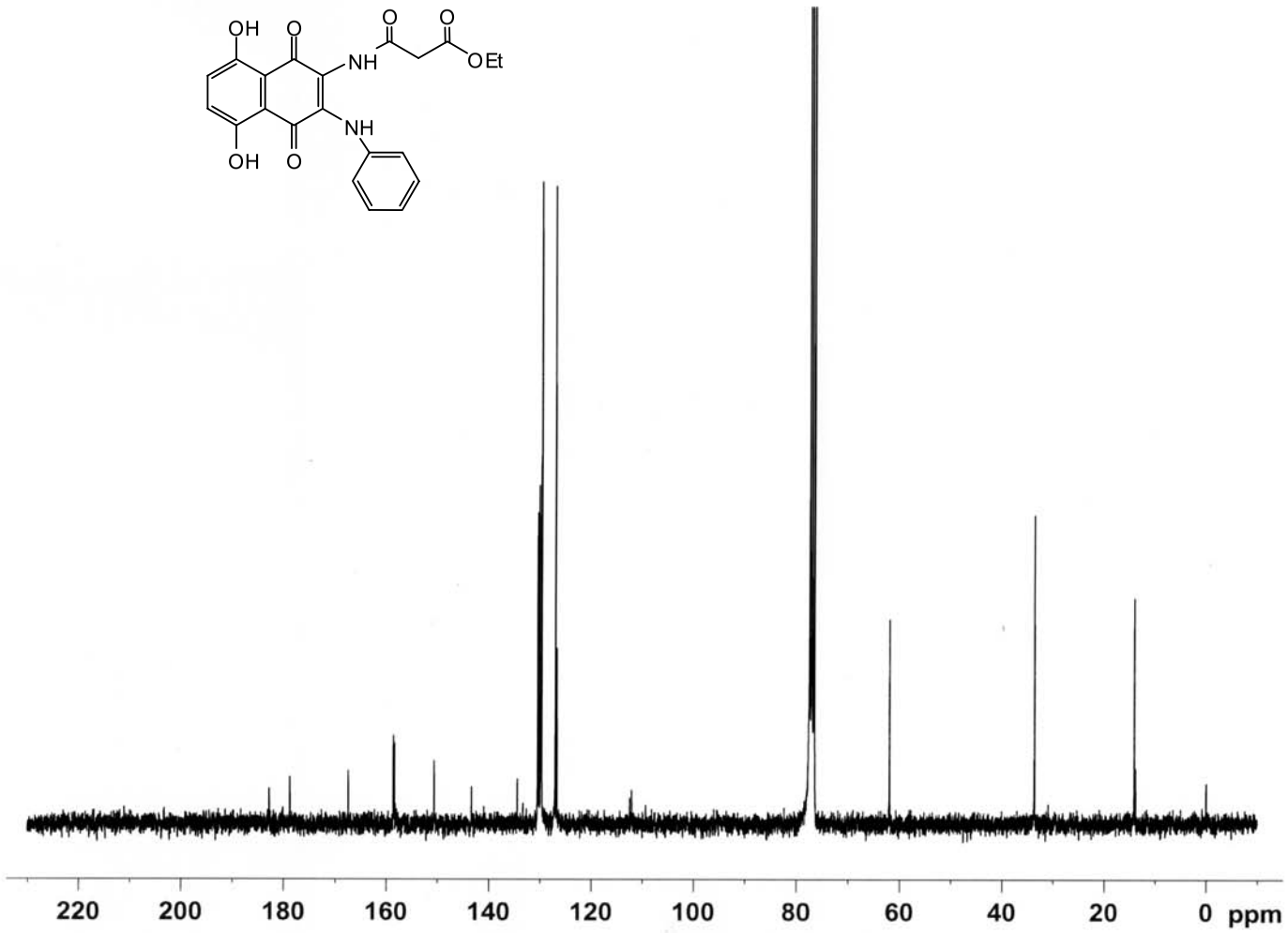
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME         wan-pAn-NH2
EXPNO                  4
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090503
Time                9.21
INSTRUM            av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG             zgdc
TD                 32768
SOLVENT            CDCl3
NS                 16896
DS                     4
SWH            18115.941 Hz
FIDRES          0.552855 Hz
AQ              0.9044468 sec
RG                11585.2
DW                 27.600 usec
DE                 20.00 usec
TE                 300.0 K
D1             1.00000000 sec
d11            0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                  13C
P1                   5.50 usec
PL1                 -3.00 dB
SFO1          75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2           waltz16
NUC2                  1H
PCPD2              100.00 usec
PL2                 -1.00 dB
PL12                16.50 dB
SFO2         300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4678250 MHz
WDW                   EM
SSB                    0
LB                  1.00 Hz
GB                     0
PC                  1.00
```



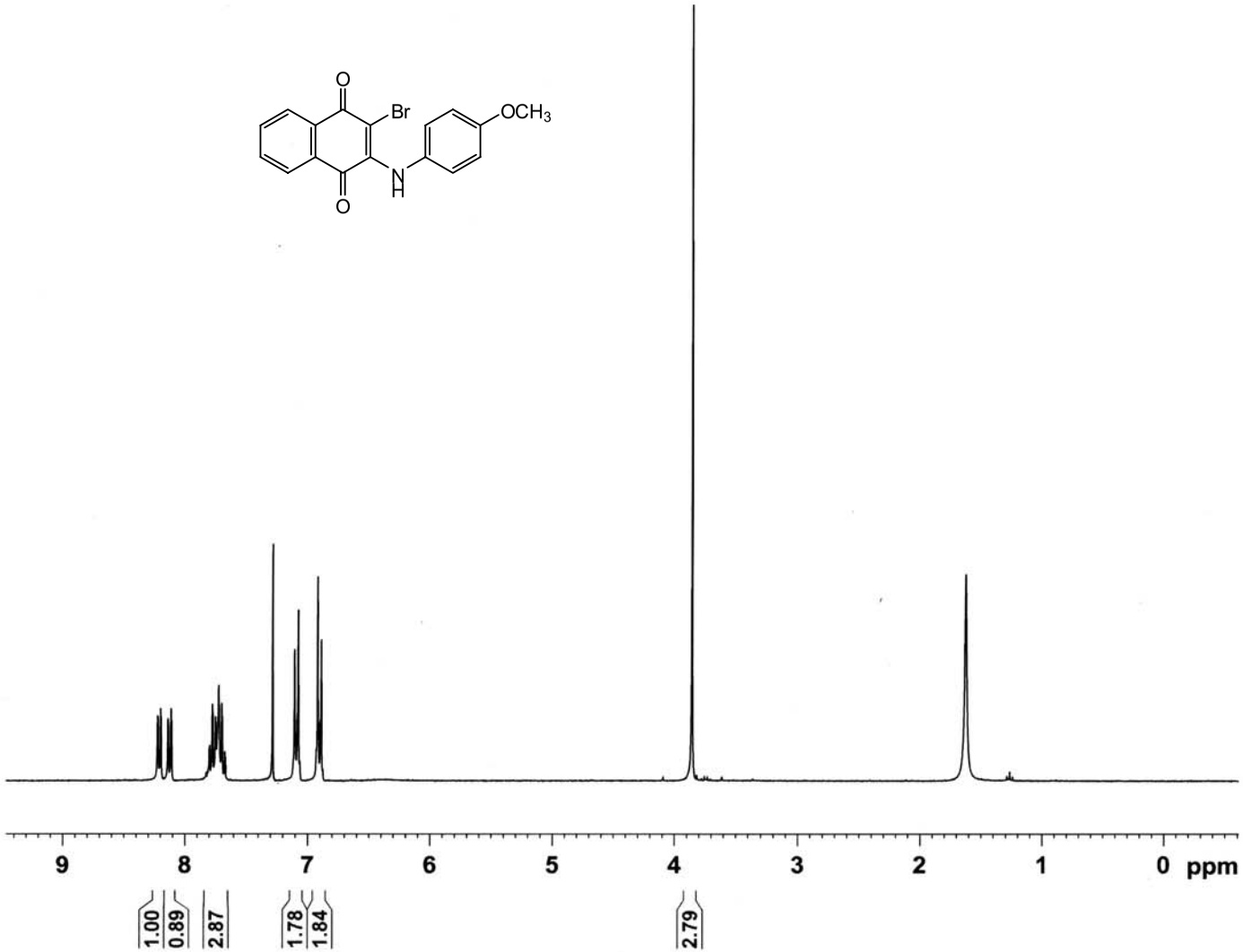
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-1312
EXPNO                        2
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20071216
Time                     16.33
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                   zg30
TD                       16384
SOLVENT                  CDCl3
NS                          32
DS                           2
SWH                   6172.839 Hz
FIDRES                0.376760 Hz
AQ                    1.3271540 sec
RG                       912.3
DW                      81.000 usec
DE                      20.00 usec
TE                      300.0 K
D1                    1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                        1H
P1                     100.00 usec
PL1                     -2.00 dB
SFO1                300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                          32768
SF                  300.1300053 MHz
WDW                            EM
SSB                             0
LB                       0.30 Hz
GB                              0
PC                       1.00
```



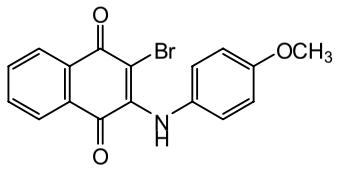
Department of Chemistry

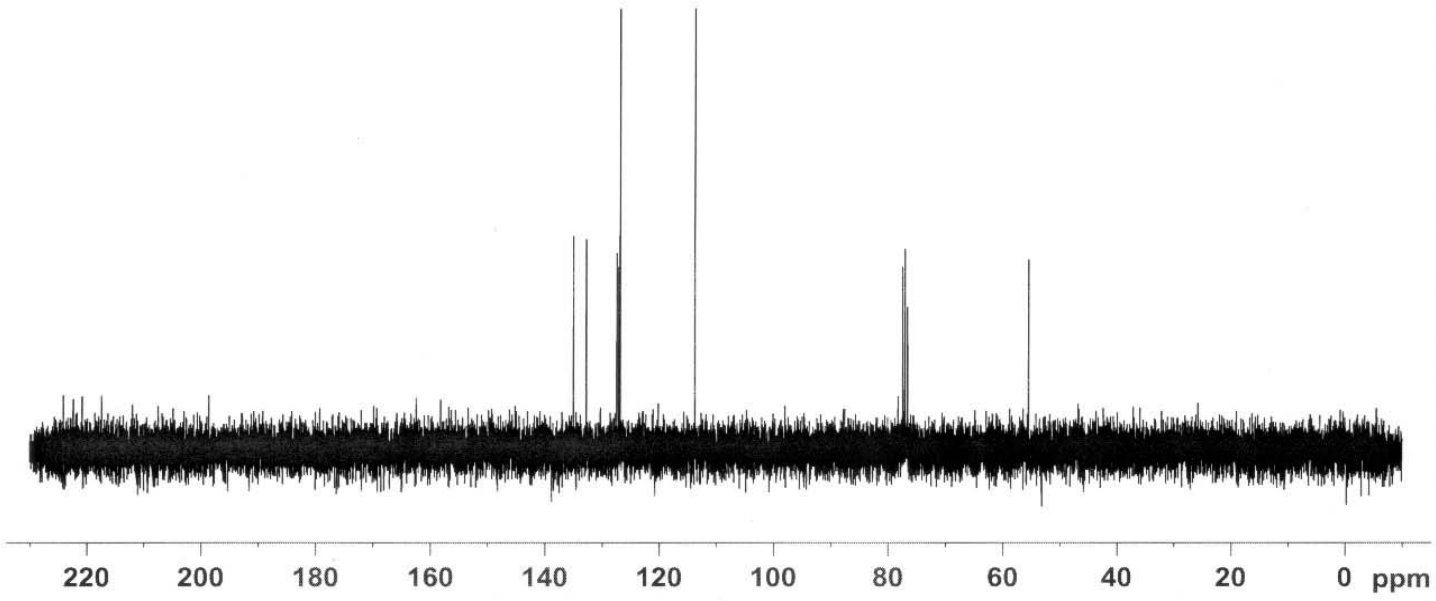
```
Current Data Parameters
NAME                  wan-1312
EXPNO                        3
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20071216
Time                     22.42
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                  zgdc
TD                      32768
SOLVENT                 CDCl3
NS                      15600
DS                          4
SWH                18115.941 Hz
FIDRES              0.552855 Hz
AQ                  0.9044468 sec
RG                     9195.2
DW                     27.600 usec
DE                     20.00 usec
TE                     300.0 K
D1                 2.00000000 sec
d11                0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                      13C
P1                       5.20 usec
PL1                     -3.00 dB
SFO1               75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2                waltz16
NUC2                       1H
PCPD2                  100.00 usec
PL2                     -2.00 dB
PL12                    -2.00 dB
SFO2              300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                      32768
SF                 75.4677477 MHz
WDW                        EM
SSB                         0
LB                       1.00 Hz
GB                          0
PC                       1.40
```



Department of Chemistry

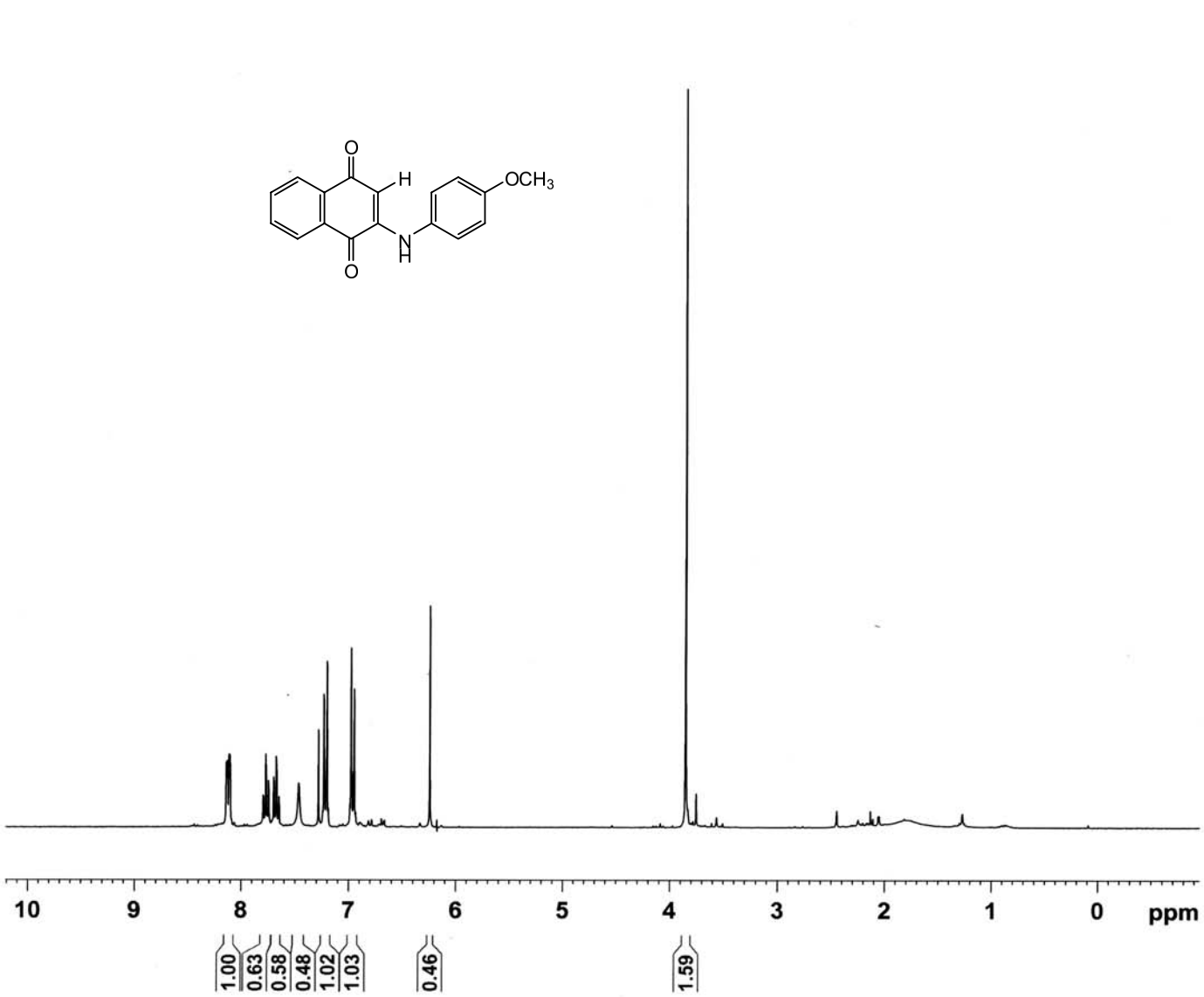
```
Current Data Parameters
NAME                  wan-Br-An
EXPNO                         6
PROCNO                        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                  20070630
Time                      14.05
INSTRUM                   av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                    zg30
TD                        16384
SOLVENT                   CDCl3
NS                           16
DS                            2
SWH                    6172.839 Hz
FIDRES                 0.376760 Hz
AQ                     1.3271540 sec
RG                         574.7
DW                        81.000 usec
DE                        20.00 usec
TE                        300.0 K
D1                    1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                         1H
P1                        10.50 usec
PL1                       -1.00 dB
SFO1                300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                        32768
SF                  300.1300000 MHz
WDW                          no
SSB                           0
LB                         0.00 Hz
GB                            0
PC                         1.00
```





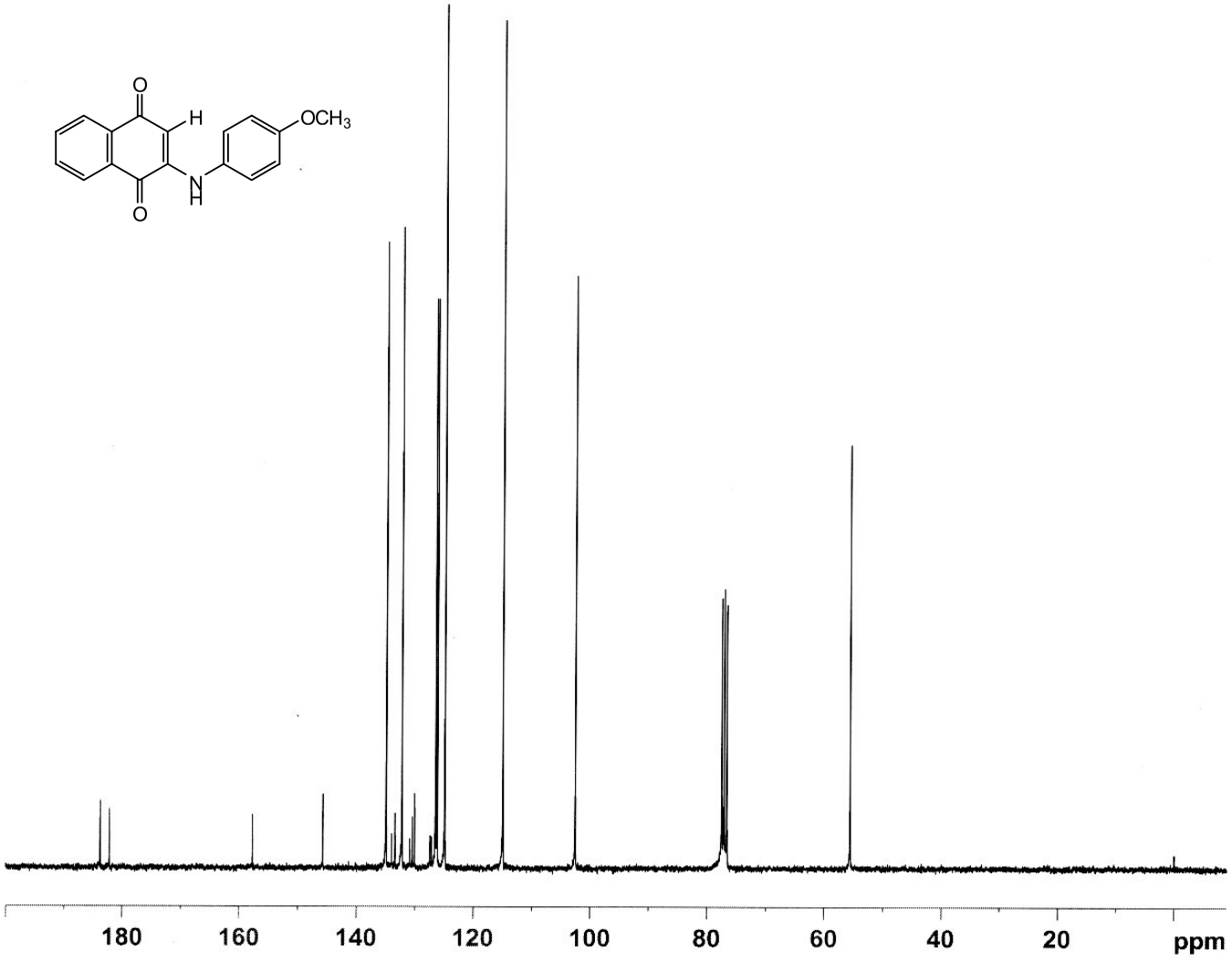
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-Br-An
EXPNO                         8
PROCNO                        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                  20090513
Time                      23.32
INSTRUM                   av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                    zgdc
TD                        32768
SOLVENT                   CDCl3
NS                        14336
DS                            4
SWH                  18115.941 Hz
FIDRES                0.552855 Hz
AQ                    0.9044468 sec
RG                        13004
DW                       27.600 usec
DE                       20.00 usec
TE                       300.0 K
D1                    1.00000000 sec
d11                   0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                        13C
P1                         5.50 usec
PL1                       -3.00 dB
SFO1                75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2                 waltz16
NUC2                        1H
PCPD2                    100.00 usec
PL2                       -1.00 dB
PL12                      16.50 dB
SFO2               300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                        32768
SF                 75.4677490 MHz
WDW                          no
SSB                           0
LB                         0.00 Hz
GB                            0
PC                         1.00
```



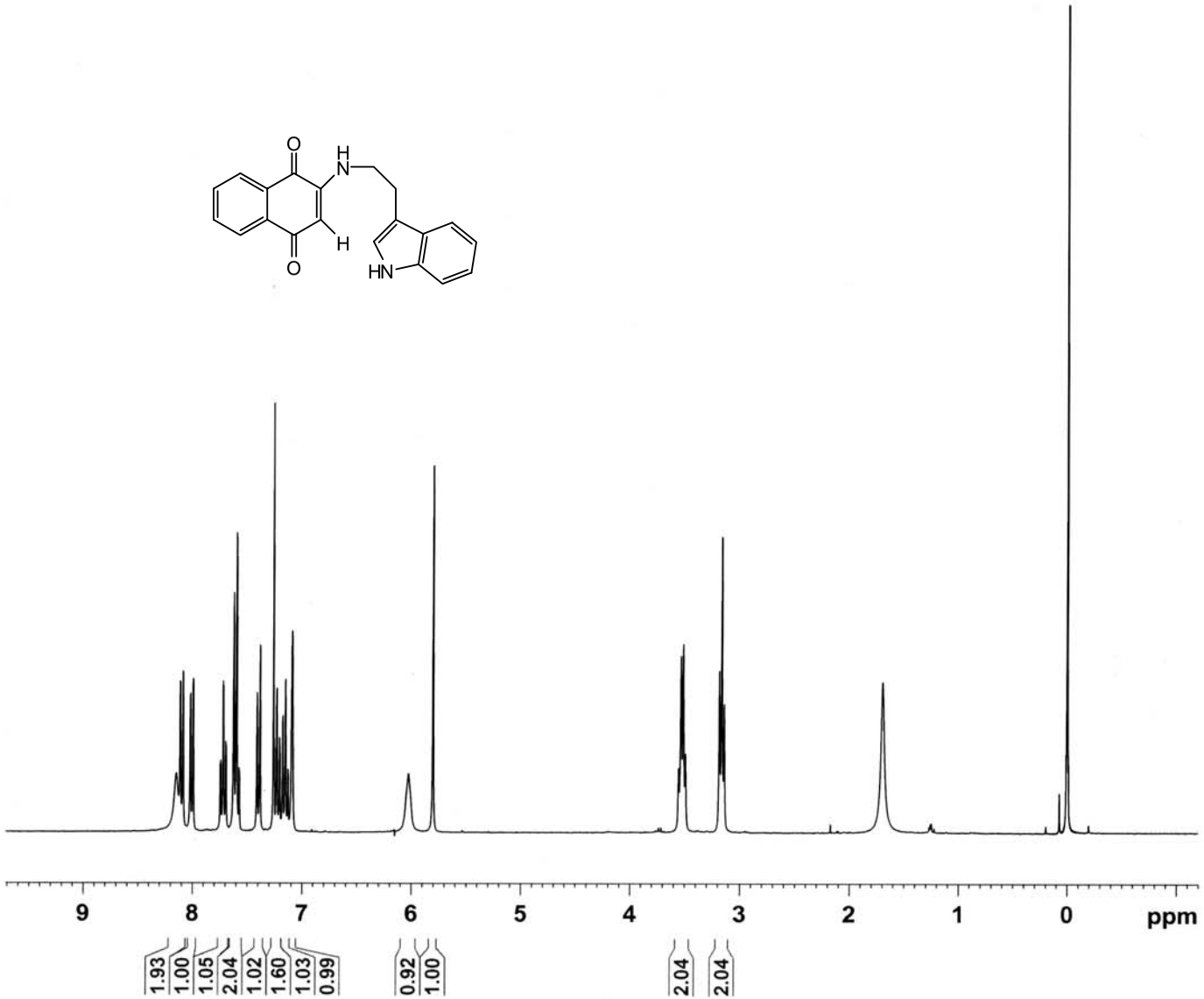
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-Br-In
EXPNO                         4
PROCNO                        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                  20070702
Time                      18.18
INSTRUM                   av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                    zg30
TD                        16384
SOLVENT                   CDCl3
NS                           16
DS                            2
SWH                    6172.839 Hz
FIDRES                 0.376760 Hz
AQ                     1.3271540 sec
RG                          362
DW                       81.000 usec
DE                       20.00 usec
TE                       300.0 K
D1                    1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                         1H
P1                       10.50 usec
PL1                      -1.00 dB
SFO1                300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                        32768
SF                  300.1300000 MHz
WDW                          no
SSB                           0
LB                     0.00 Hz
GB                            0
PC                         1.00
```



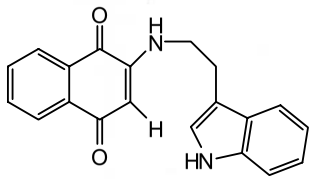
Department of Chemistry

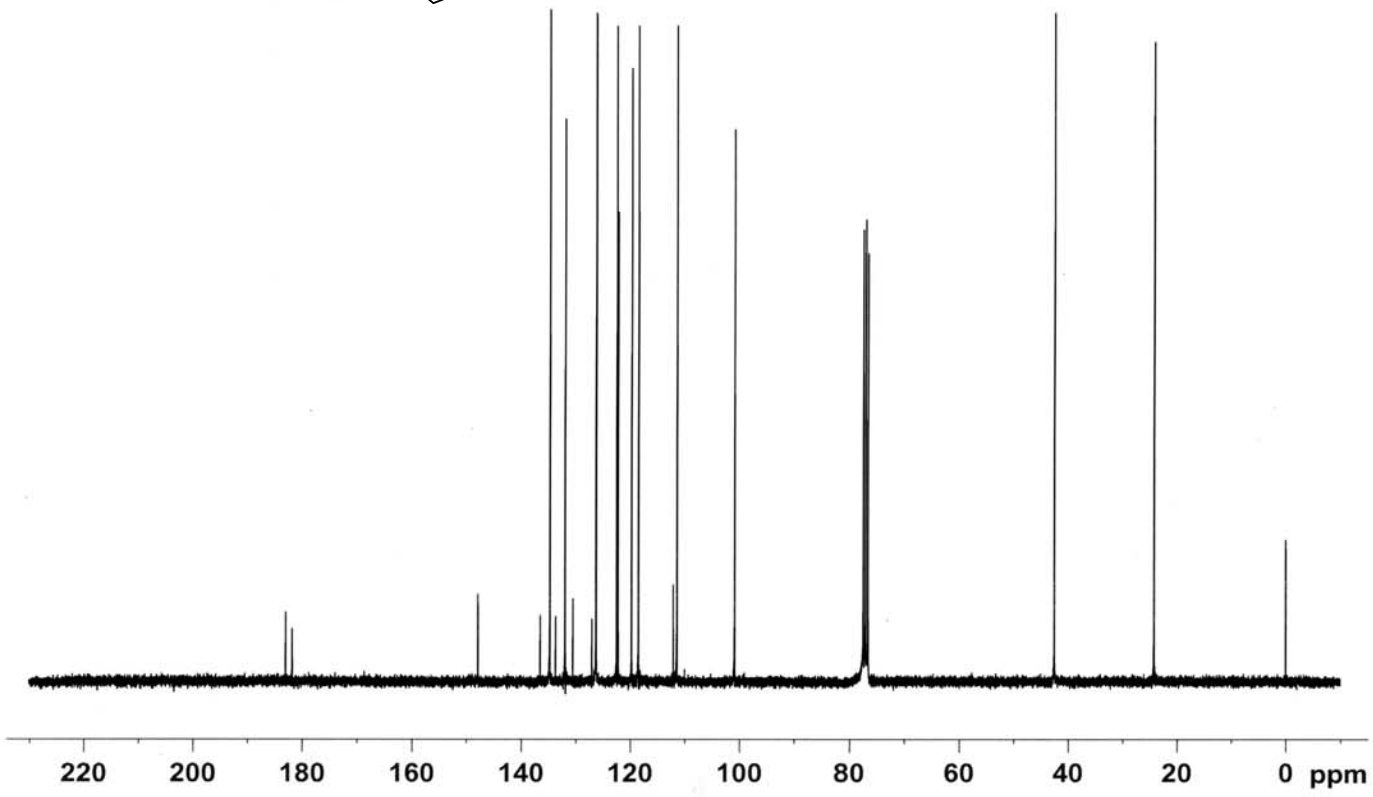
```
Current Data Parameters
NAME            wan-Br-In
EXPNO                   6
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20090513
Time                22.52
INSTRUM             av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG              zgdc
TD                  32768
SOLVENT             CDCl3
NS                  11264
DS                      4
SWH           18115.941 Hz
FIDRES         0.552855 Hz
AQ             0.9044468 sec
RG               10321.3
DW                27.600 usec
DE                20.00 usec
TE                300.0 K
D1           1.00000000 sec
d11          0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                  13C
P1                   5.50 usec
PL1                 -3.00 dB
SFO1         75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2           waltz16
NUC2                  1H
PCPD2              100.00 usec
PL2                 -1.00 dB
PL12                16.50 dB
SFO2        300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                  32768
SF           75.4677490 MHz
WDW                    EM
SSB                     0
LB                   1.00 Hz
GB                      0
PC                   1.00
```



Department of Chemistry

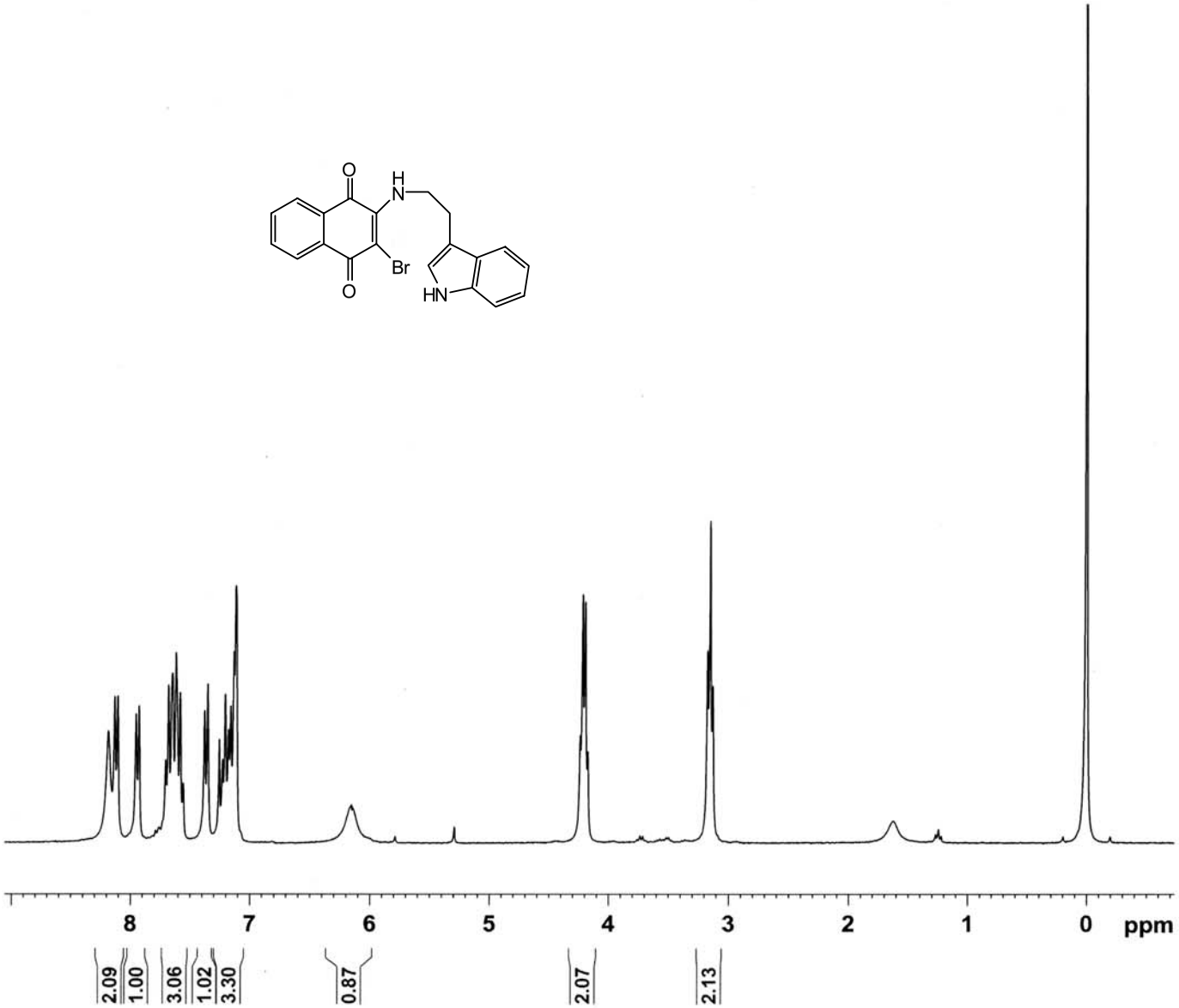
```
Current Data Parameters
NAME                  wan-0904
EXPNO                        2
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20080915
Time                     15.55
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                   zg30
TD                       16384
SOLVENT                  CDCl3
NS                          32
DS                           2
SWH                 6172.839 Hz
FIDRES               0.376760 Hz
AQ                  1.3271540 sec
RG                       574.7
DW                    81.000 usec
DE                    20.00 usec
TE                    300.0 K
D1                 1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                        1H
P1                    11.80 usec
PL1                   -1.00 dB
SFO1              300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                       32768
SF                300.1300067 MHz
WDW                         EM
SSB                          0
LB                    0.30 Hz
GB                           0
PC                        1.00
```





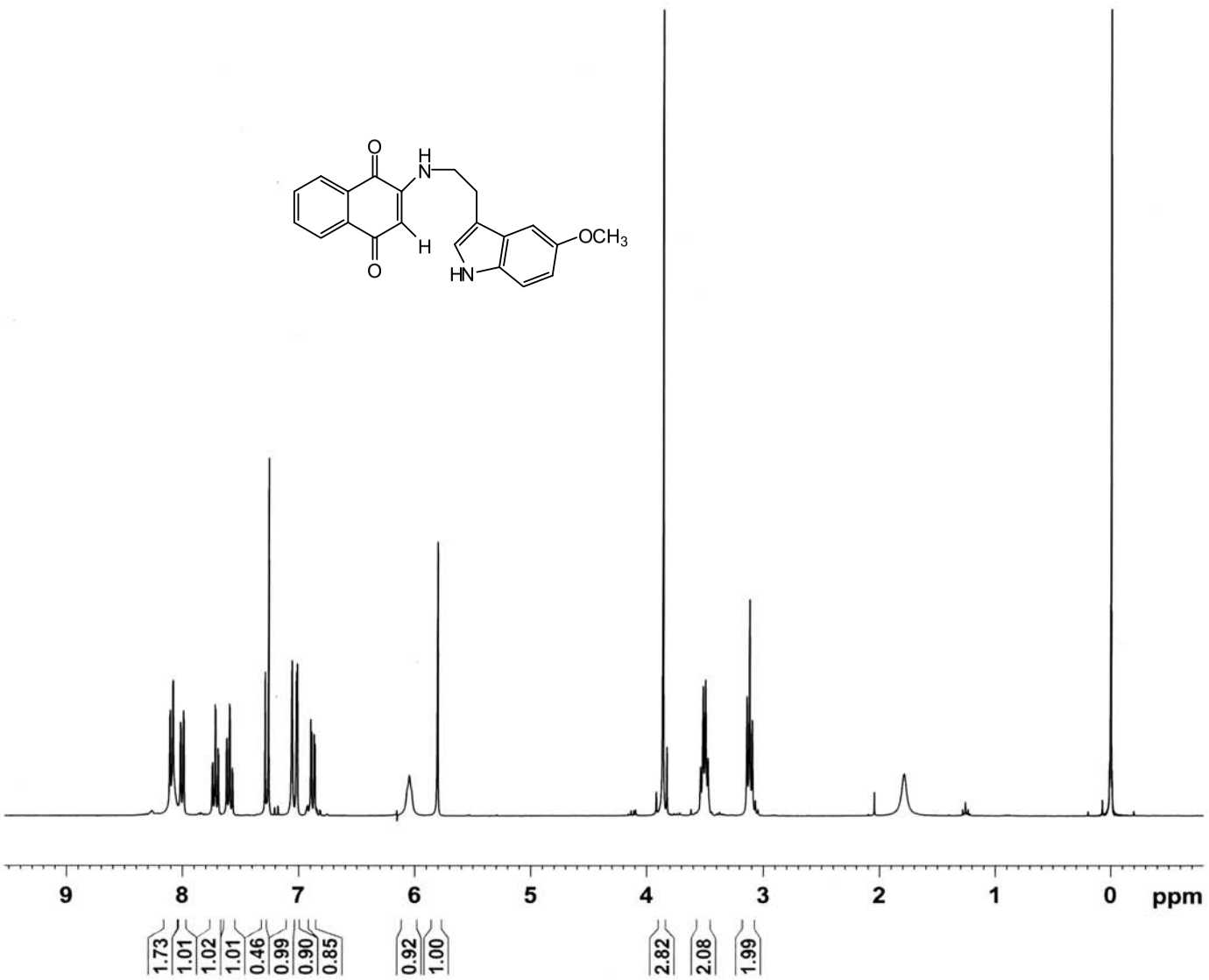
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                 wan-0904
EXPNO                       1
PROCNO                      1

F2 - Acquisition Parameters
Date_               20080906
Time                   10.00
INSTRUM                av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                 zgdc
TD                     32768
SOLVENT                CDCl3
NS                     27648
DS                         4
SWH                18115.941 Hz
FIDRES             0.552855 Hz
AQ                 0.9044468 sec
RG                   10321.3
DW                    27.600 usec
DE                    20.00 usec
TE                    300.0 K
D1                1.00000000 sec
d11               0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                     13C
P1                      5.40 usec
PL1                    -3.00 dB
SFO1              75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2              waltz16
NUC2                     1H
PCPD2                100.00 usec
PL2                    -1.00 dB
PL12                   17.00 dB
SFO2             300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                     32768
SF                75.4677490 MHz
WDW                       no
SSB                        0
LB                      0.00 Hz
GB                         0
PC                      1.40
```



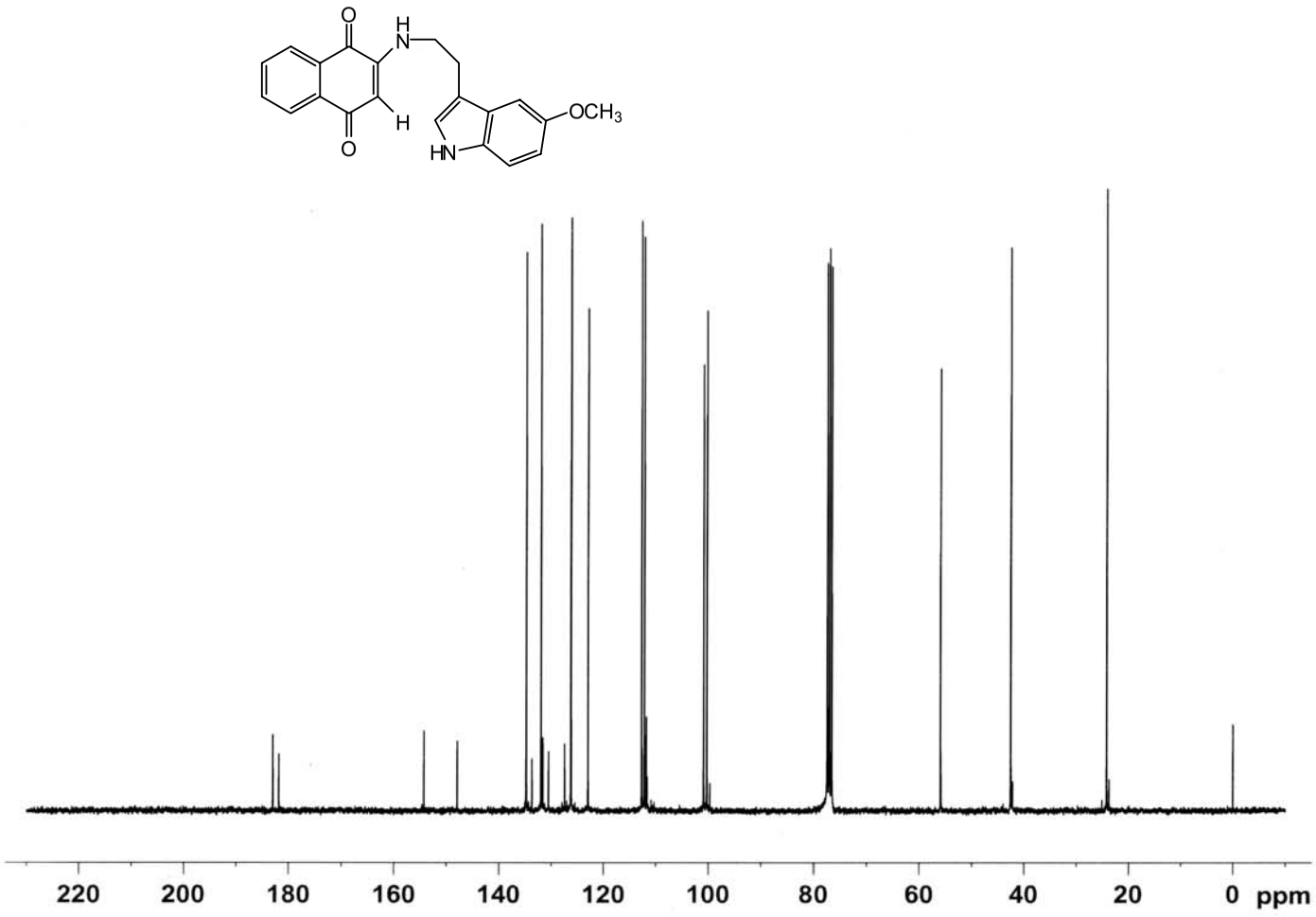
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME          wan-W-NT-3
EXPNO                  1
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20080826
Time               16.57
INSTRUM            av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG             zg30
TD                 16384
SOLVENT            CDCl3
NS                    16
DS                     2
SWH             6172.839 Hz
FIDRES          0.376760 Hz
AQ              1.3271540 sec
RG                   512
DW                81.000 usec
DE                20.00 usec
TE                300.0 K
D1             1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                  1H
P1                 11.60 usec
PL1                -1.00 dB
SFO1         300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF           300.1300078 MHz
WDW                   EM
SSB                    0
LB                0.30 Hz
GB                     0
PC                 1.00
```



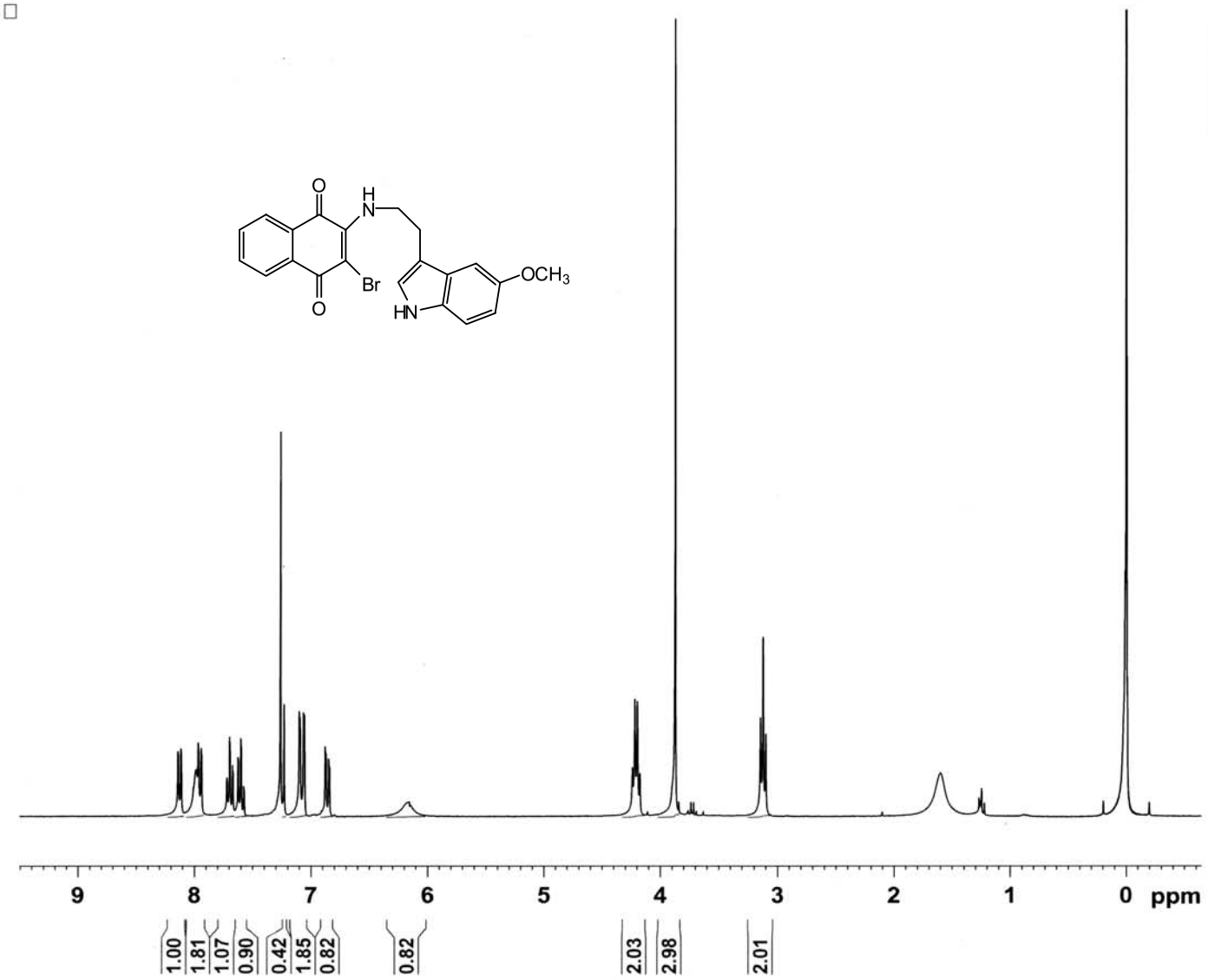
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                 wan-0916
EXPNO                       1
PROCNO                      1

F2 - Acquisition Parameters
Date_               20080916
Time                   15.42
INSTRUM                av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                 zg30
TD                     16384
SOLVENT                CDCl3
NS                        32
DS                         2
SWH                 6172.839 Hz
FIDRES              0.376760 Hz
AQ                  1.3271540 sec
RG                       512
DW                    81.000 usec
DE                    20.00 usec
TE                    300.0 K
D1                 1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                       1H
P1                    11.80 usec
PL1                   -1.00 dB
SFO1             300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                         32768
SF               300.1300064 MHz
WDW                           EM
SSB                            0
LB                      0.30 Hz
GB                             0
PC                          1.00
```



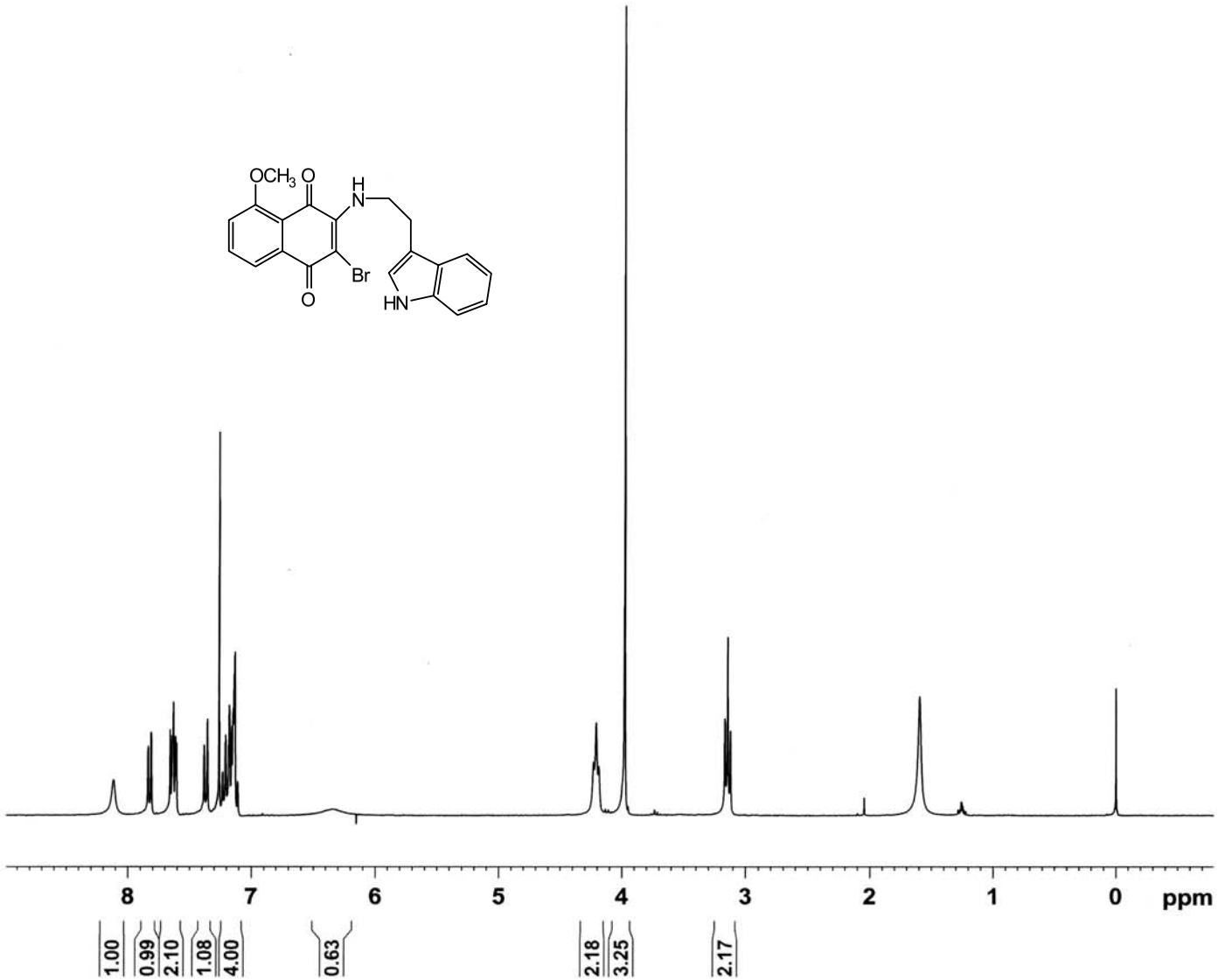
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                 wan-0916
EXPNO                       2
PROCNO                      1

F2 - Acquisition Parameters
Date_               20080917
Time                    8.26
INSTRUM                av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                 zgdc
TD                     32768
SOLVENT                CDCl3
NS                     28672
DS                         4
SWH                18115.941 Hz
FIDRES             0.552855 Hz
AQ                 0.9044468 sec
RG                     16384
DW                    27.600 usec
DE                    20.00 usec
TE                    300.0 K
D1                1.00000000 sec
d11               0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                     13C
P1                      5.40 usec
PL1                    -3.00 dB
SFO1              75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2              waltz16
NUC2                     1H
PCPD2                100.00 usec
PL2                     -1.00 dB
PL12                    17.00 dB
SFO2             300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                     32768
SF                75.4677479 MHz
WDW                       EM
SSB                        0
LB                      1.00 Hz
GB                         0
PC                      1.40
```



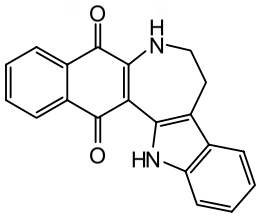
Department of Chemistry

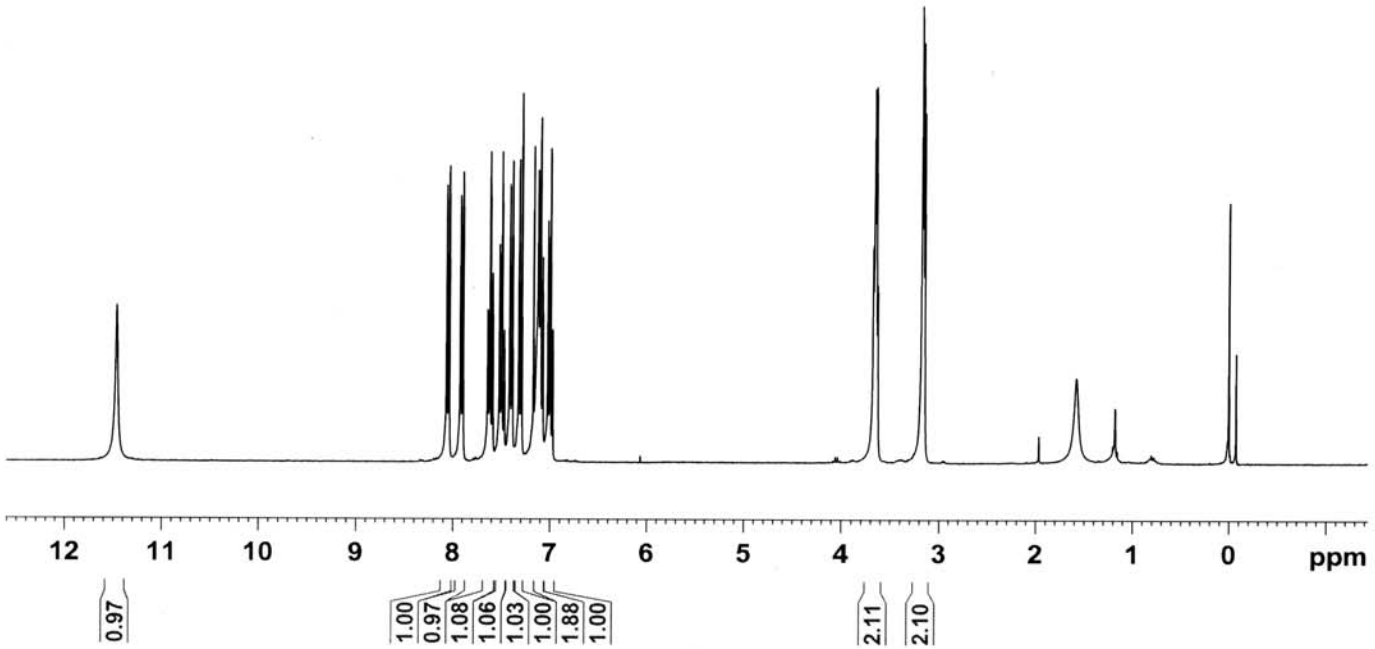
```
Current Data Parameters
NAME          wan-W-NMT-3
EXPNO                   6
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20080917
Time                10.00
INSTRUM             av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG              zg30
TD                  16384
SOLVENT             CDCl3
NS                     64
DS                      2
SWH              6172.839 Hz
FIDRES           0.376760 Hz
AQ               1.3271540 sec
RG                  645.1
DW                 81.000 usec
DE                 20.00 usec
TE                 300.0 K
D1              1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                   1H
P1                 11.80 usec
PL1                -1.00 dB
SFO1         300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                  32768
SF           300.1300061 MHz
WDW                    EM
SSB                     0
LB                 0.30 Hz
GB                      0
PC                   1.00
```



Department of Chemistry

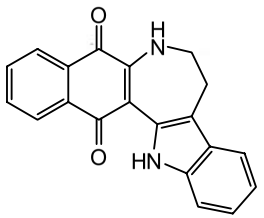
```
Current Data Parameters
NAME                  wan-0218
EXPNO                        3
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20090218
Time                     15.11
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                   zg30
TD                       16384
SOLVENT                  CDCl3
NS                          32
DS                           2
SWH                   6172.839 Hz
FIDRES                0.376760 Hz
AQ                    1.3271540 sec
RG                       724.1
DW                      81.000 usec
DE                      20.00 usec
TE                      300.0 K
D1                    1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                         1H
P1                      11.80 usec
PL1                     -1.00 dB
SFO1                300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                       32768
SF                  300.1300062 MHz
WDW                         EM
SSB                          0
LB                      0.30 Hz
GB                           0
PC                       1.00
```

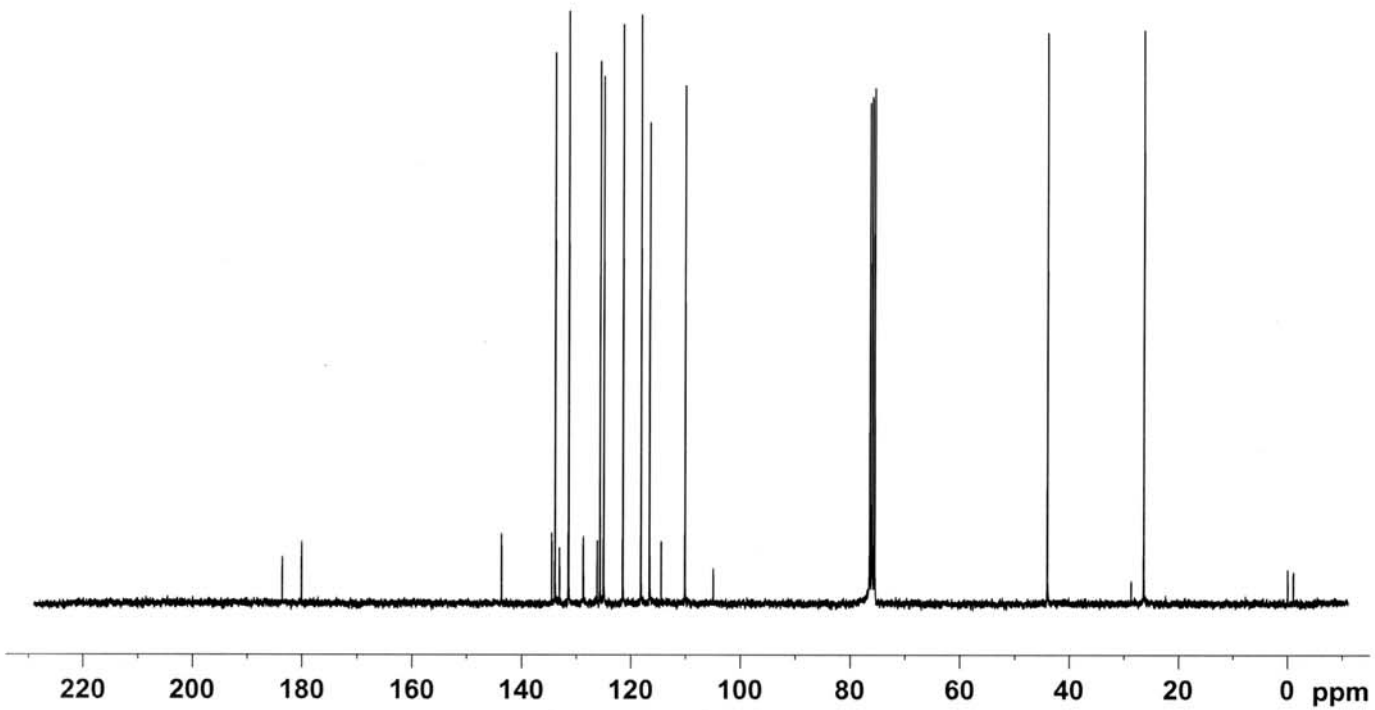




Department of Chemistry

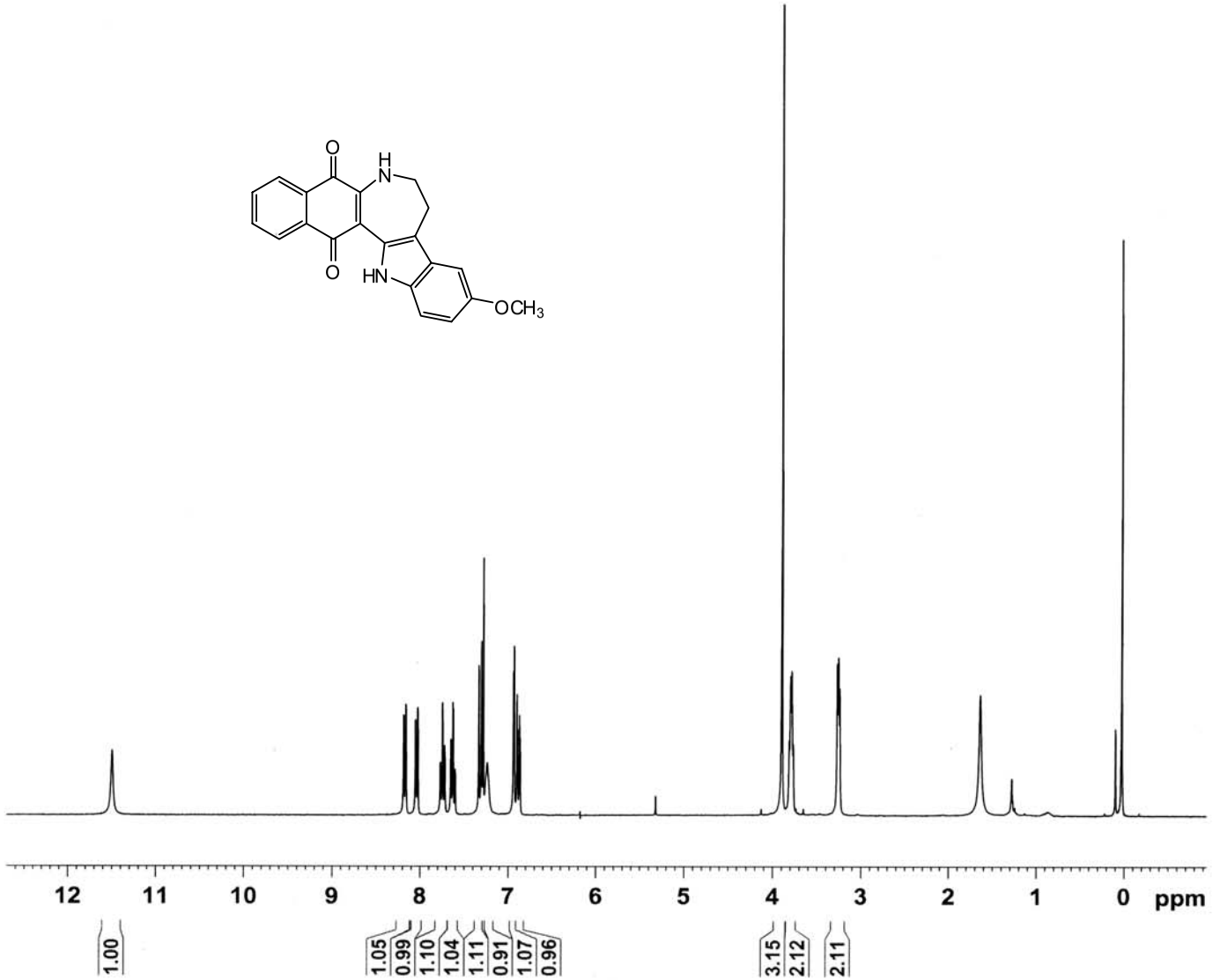
```
Current Data Parameters
NAME                  wan-0619
EXPNO                        3
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20080624
Time                     10.38
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                  zg30
TD                      16384
SOLVENT                  CDCl3
NS                          16
DS                           2
SWH                   6172.839 Hz
FIDRES                0.376760 Hz
AQ                    1.3271540 sec
RG                         512
DW                      81.000 usec
DE                      20.00 usec
TE                      300.0 K
D1                    1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                         1H
P1                      11.60 usec
PL1                     -1.00 dB
SFO1                300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                       32768
SF                  300.1300328 MHz
WDW                         EM
SSB                          0
LB                      0.30 Hz
GB                           0
PC                       1.00
```





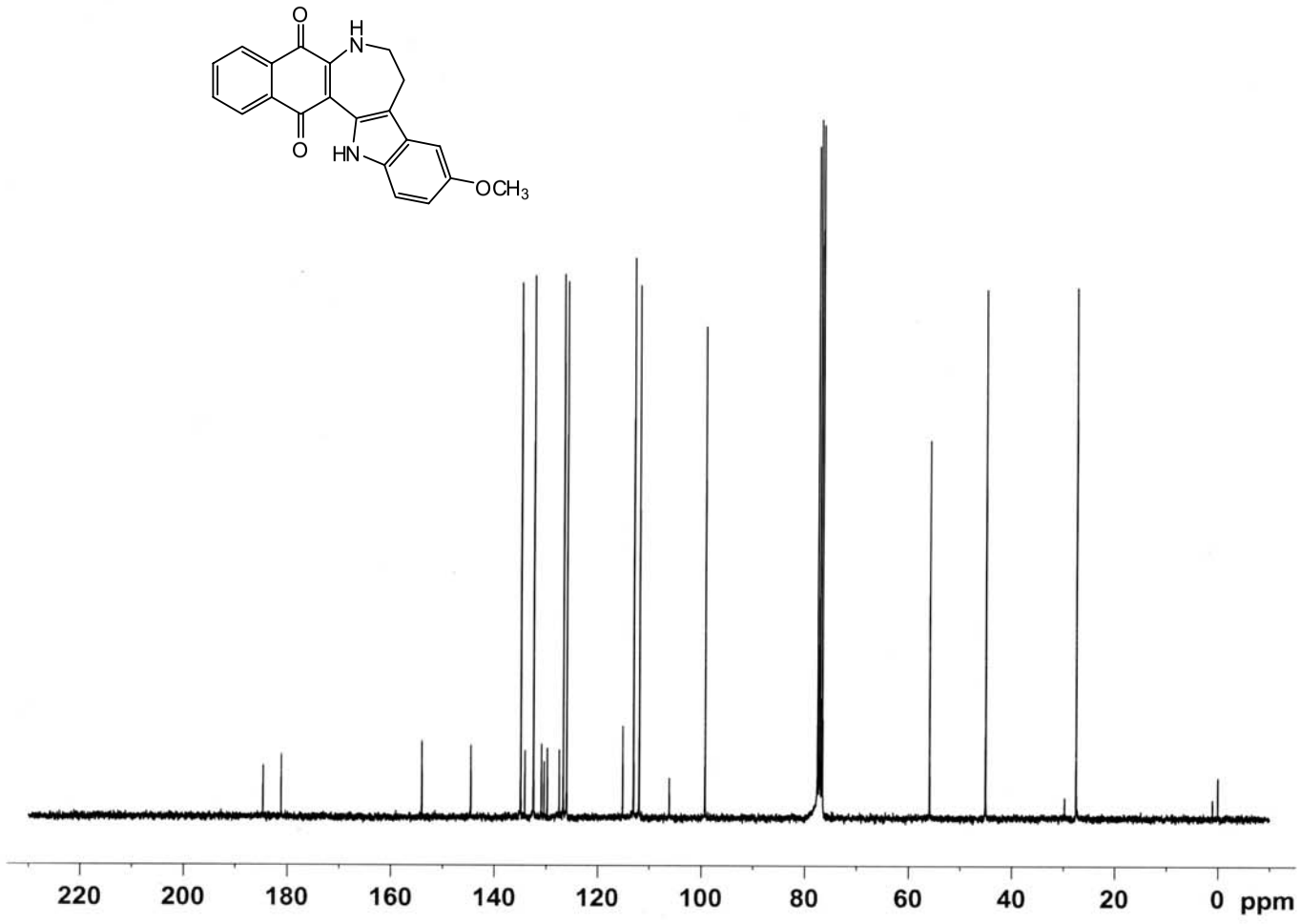
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                  wan-0619
EXPNO                        7
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                 20080701
Time                      1.25
INSTRUM                  av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                  zgdc
TD                      32768
SOLVENT                 CDCl3
NS                      13312
DS                          4
SWH                18115.941 Hz
FIDRES              0.552855 Hz
AQ                  0.9044468 sec
RG                    20642.5
DW                     27.600 usec
DE                     20.00 usec
TE                     300.0 K
D1                1.00000000 sec
d11               0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                      13C
P1                       5.20 usec
PL1                     -3.00 dB
SFO1              75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2                waltz16
NUC2                       1H
PCPD2                  100.00 usec
PL2                     -1.00 dB
PL12                    17.00 dB
SFO2             300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                      32768
SF                75.4678258 MHz
WDW                        EM
SSB                         0
LB                       1.00 Hz
GB                          0
PC                       1.40
```



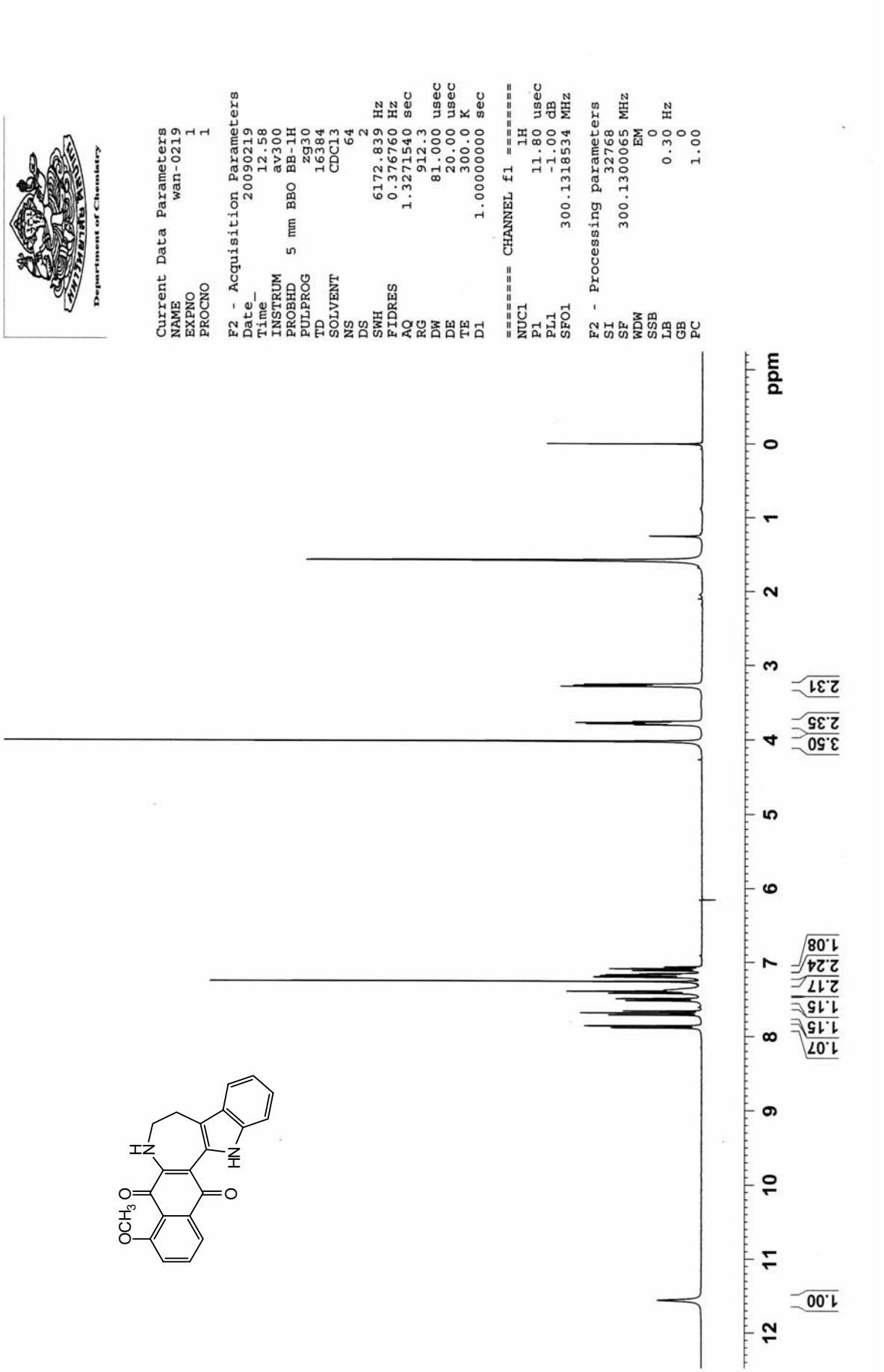
Department of Chemistry

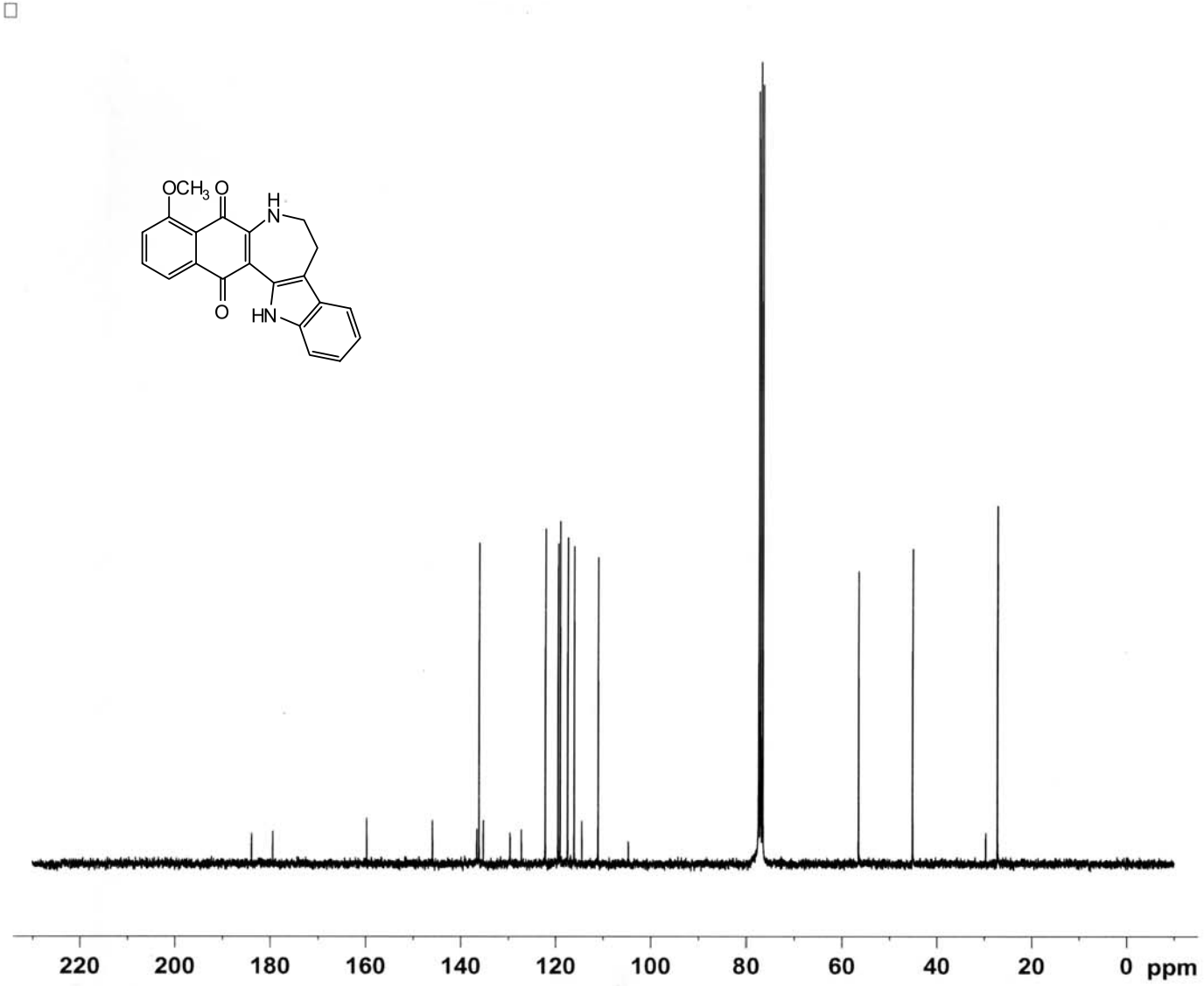
```
Current Data Parameters
NAME          wan-W-NMT-1
EXPNO                   2
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20081116
Time                18.51
INSTRUM             av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG              zg30
TD                  16384
SOLVENT             CDCl3
NS                     16
DS                      2
SWH              6172.839 Hz
FIDRES           0.376760 Hz
AQ               1.3271540 sec
RG                 574.7
DW                81.000 usec
DE                20.00 usec
TE                300.0 K
D1             1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                   1H
P1                 11.80 usec
PL1                -1.00 dB
SFO1         300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                  32768
SF           300.1300000 MHz
WDW                    EM
SSB                     0
LB                 0.30 Hz
GB                      0
PC                   1.00
```



Department of Chemistry

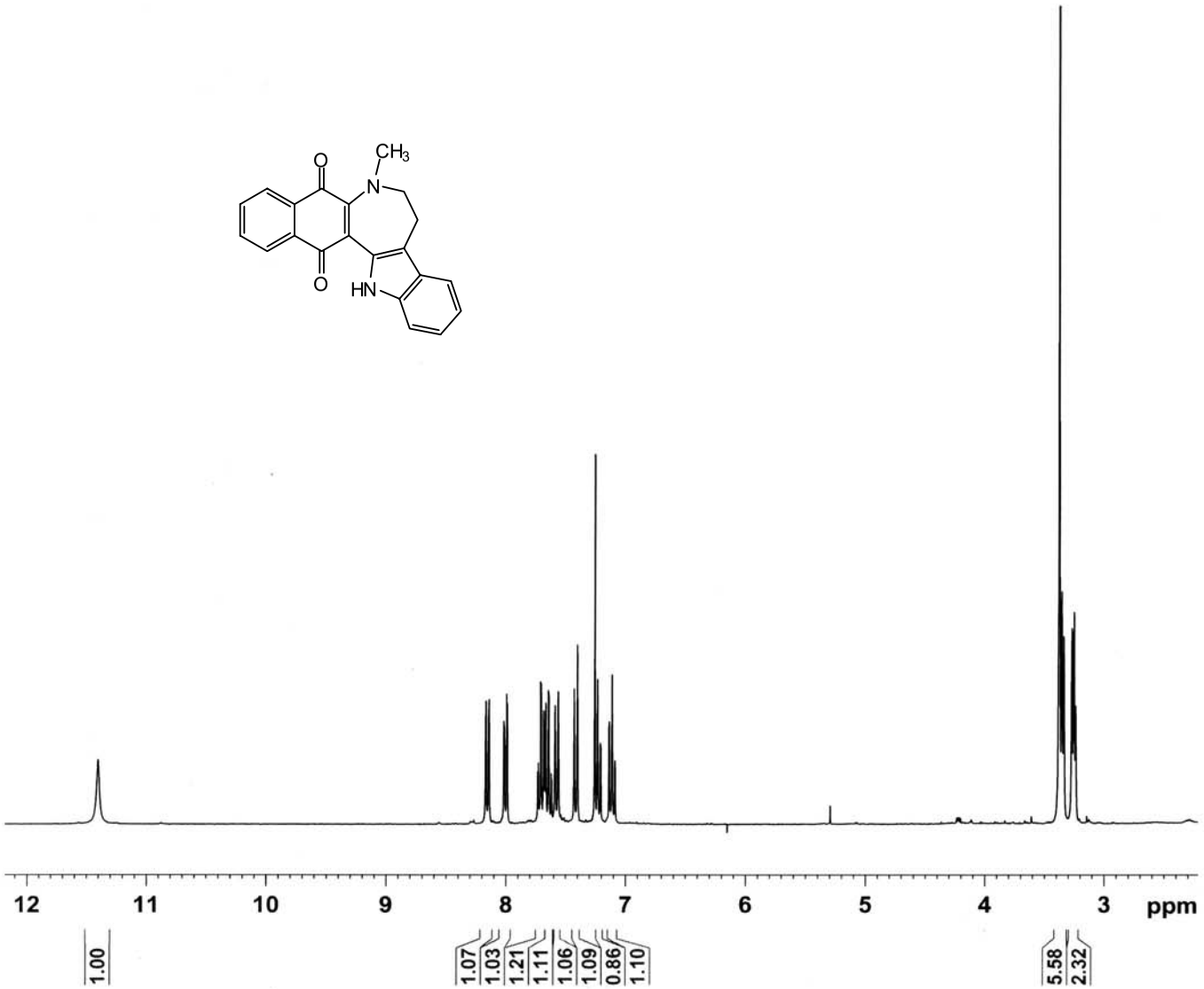
```
Current Data Parameters
NAME          wan-W-NMT-1
EXPNO                   3
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20081116
Time                19.00
INSTRUM             av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG              zgdc
TD                  32768
SOLVENT             CDCl3
NS                  25600
DS                      4
SWH           18115.941 Hz
FIDRES         0.552855 Hz
AQ             0.9044468 sec
RG               10321.3
DW                27.600 usec
DE                20.00 usec
TE                300.0 K
D1           1.00000000 sec
d11          0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                 13C
P1                  5.40 usec
PL1                -3.00 dB
SFO1         75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2          waltz16
NUC2                 1H
PCPD2            100.00 usec
PL2               -1.00 dB
PL12              17.00 dB
SFO2        300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                  32768
SF           75.4677480 MHz
WDW                  EM
SSB                   0
LB                 1.00 Hz
GB                    0
PC                 1.40
```


Department of Chemistry
Current Data Parameters
NAME wan-0219
EXPNO 1
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20090219
Time 12.58
INSTRUM av300
PROBHD 5 mm BBO BB-1H
PULPROG zg30
TD 16384
SOLVENT CDCl3
NS 64
DS 2
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.376760 Hz
AQ 1.3271540 sec
RG 912.3
DW 81.000 usec
DE 20.00 usec
TE 300.0 K
D1 1.00000000 sec
======== CHANNEL f1 ========
NUC1 1H
P1 11.80 usec
PL1 -1.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300065 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00
1.00
2.31
3.50
2.35
1.07
1.15
1.15
2.17
2.24
1.08
ppm
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
OCH3
O
HN
HN
O



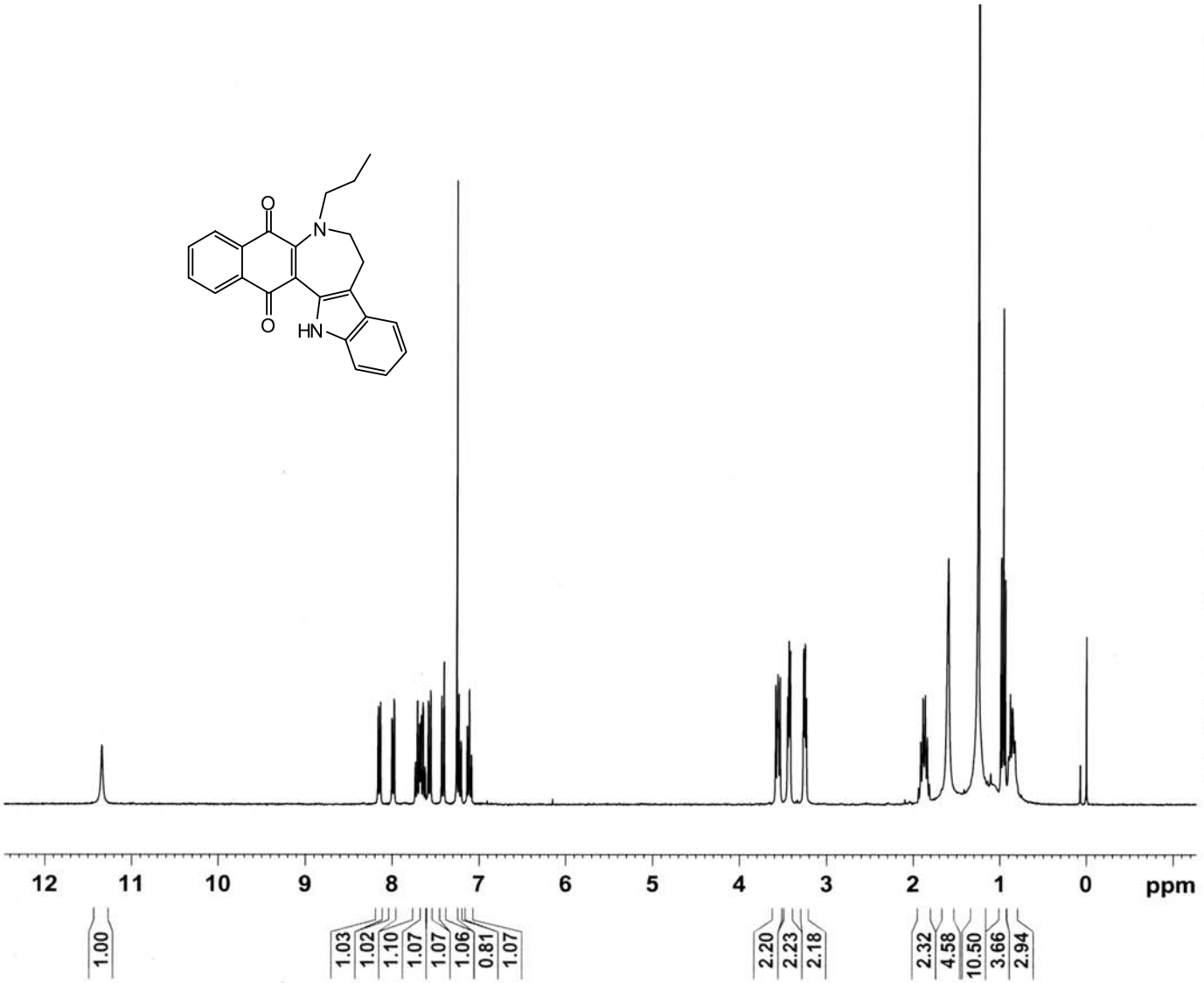
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME         wan-W-MJT-1
EXPNO                  1
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090219
Time               16.56
INSTRUM            av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG             zgdc
TD                 32768
SOLVENT            CDCl3
NS                 28672
DS                     4
SWH           18115.941 Hz
FIDRES         0.552855 Hz
AQ            0.9044468 sec
RG                  6502
DW               27.600 usec
DE               20.00 usec
TE               300.0 K
D1           1.00000000 sec
d11          0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                13C
P1                 5.40 usec
PL1               -3.00 dB
SFO1         75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2         waltz16
NUC2                1H
PCPD2           100.00 usec
PL2              -1.00 dB
PL12             17.00 dB
SFO2        300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF          75.4677490 MHz
WDW                   EM
SSB                    0
LB                1.00 Hz
GB                     0
PC                1.00
```



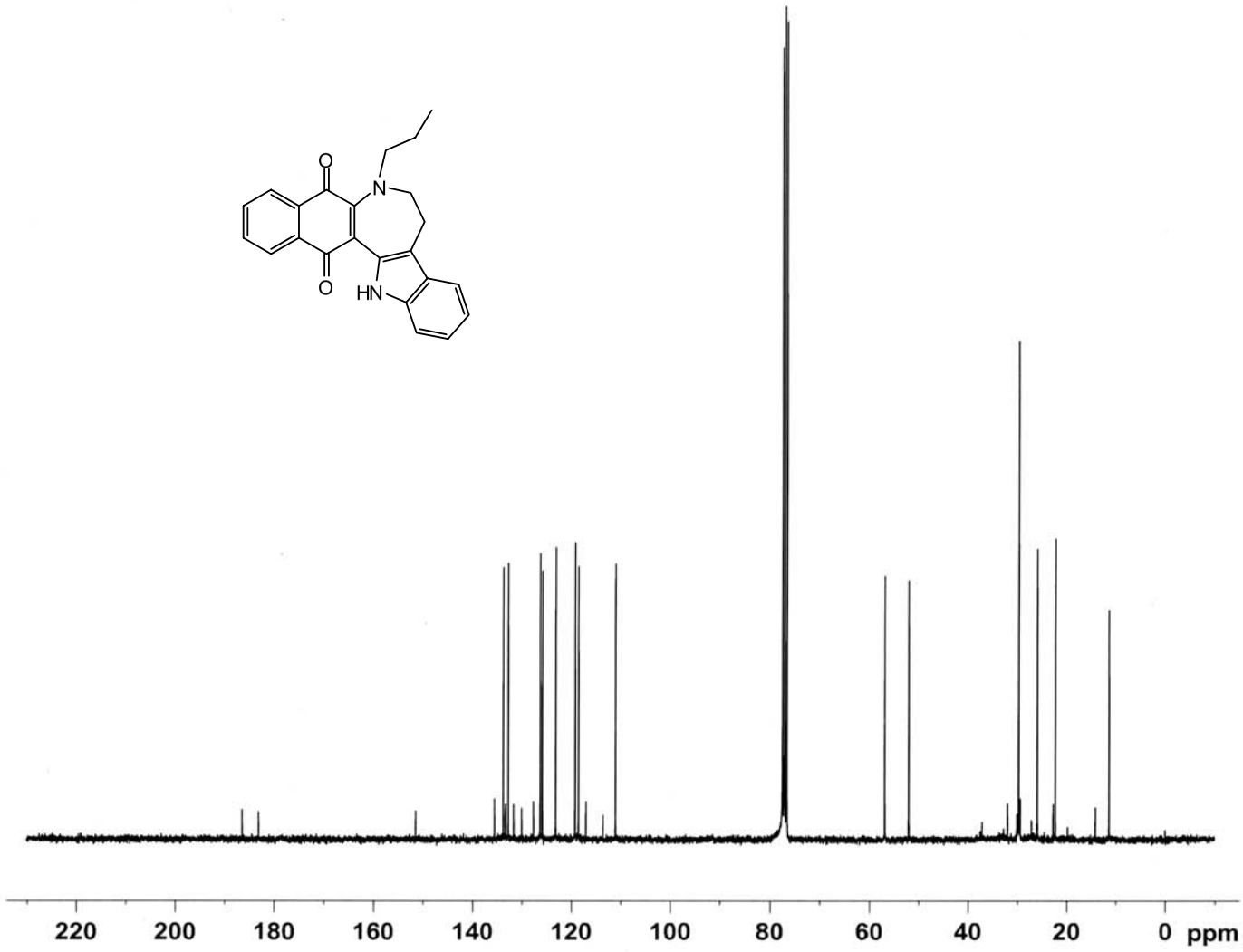
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME          wan-W-NT-2
EXPNO                  3
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20080902
Time               15.40
INSTRUM            av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG             zg30
TD                 16384
SOLVENT            CDCl3
NS                    16
DS                     2
SWH             6172.839 Hz
FIDRES          0.376760 Hz
AQ              1.3271540 sec
RG                   362
DW                81.000 usec
DE                20.00 usec
TE                300.0 K
D1           1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                  1H
P1                11.80 usec
PL1               -1.00 dB
SFO1        300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF          300.1300078 MHz
WDW                   EM
SSB                    0
LB                0.30 Hz
GB                     0
PC                1.00
```



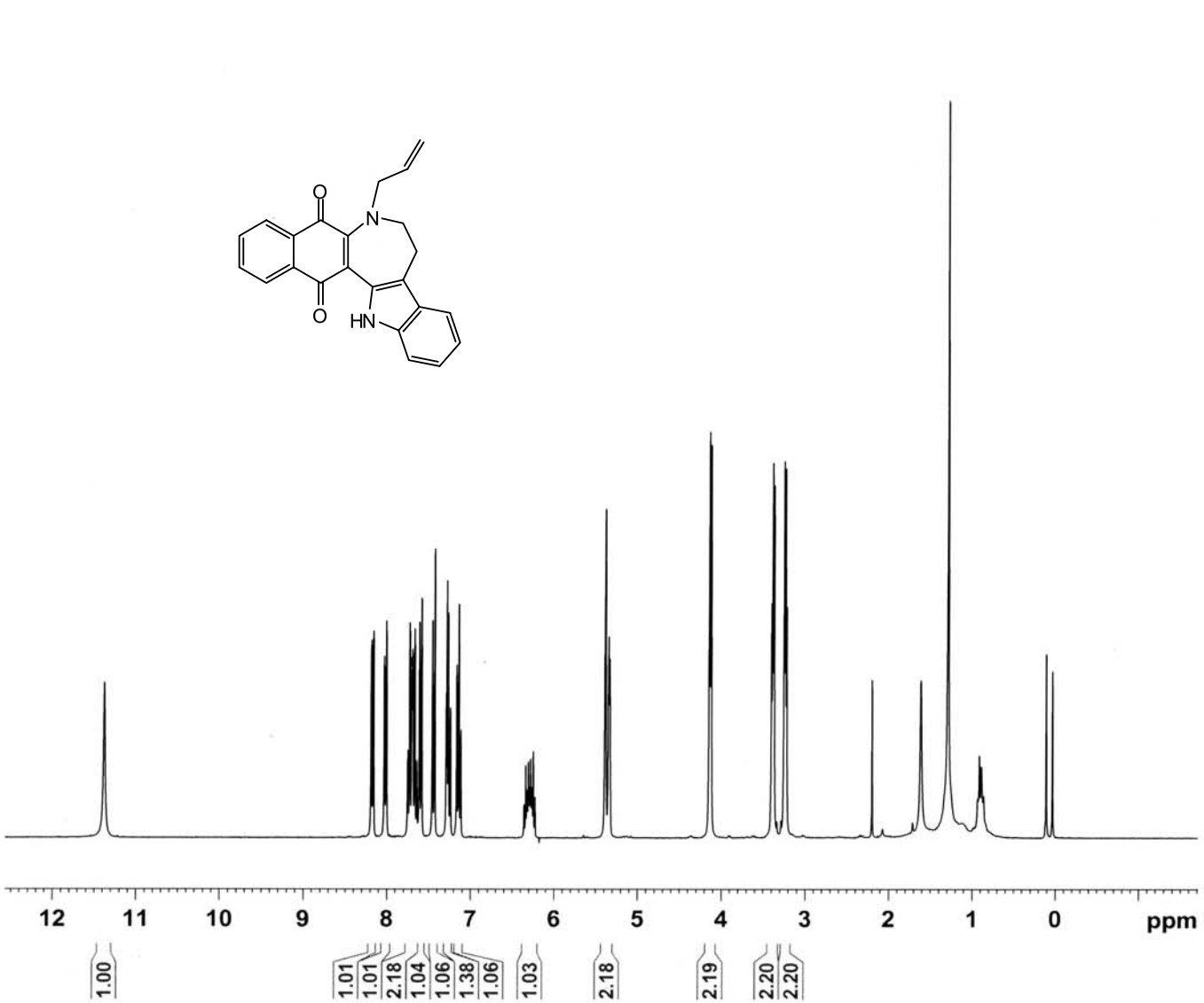
Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME                 wan-W-NT-6
EXPNO                         2
PROCNO                        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_                  20090228
Time                      17.36
INSTRUM                   av300
PROBHD    5 mm BBO BB-1H
PULPROG                    zg30
TD                        16384
SOLVENT                   CDCl3
NS                           16
DS                            2
SWH                    6172.839 Hz
FIDRES                 0.376760 Hz
AQ                     1.3271540 sec
RG                        645.1
DW                       81.000 usec
DE                       20.00 usec
TE                       300.0 K
D1                    1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                         1H
P1                       11.80 usec
PL1                      -1.00 dB
SFO1                300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                        32768
SF                 300.1300066 MHz
WDW                          EM
SSB                           0
LB                       0.30 Hz
GB                            0
PC                         1.00
```



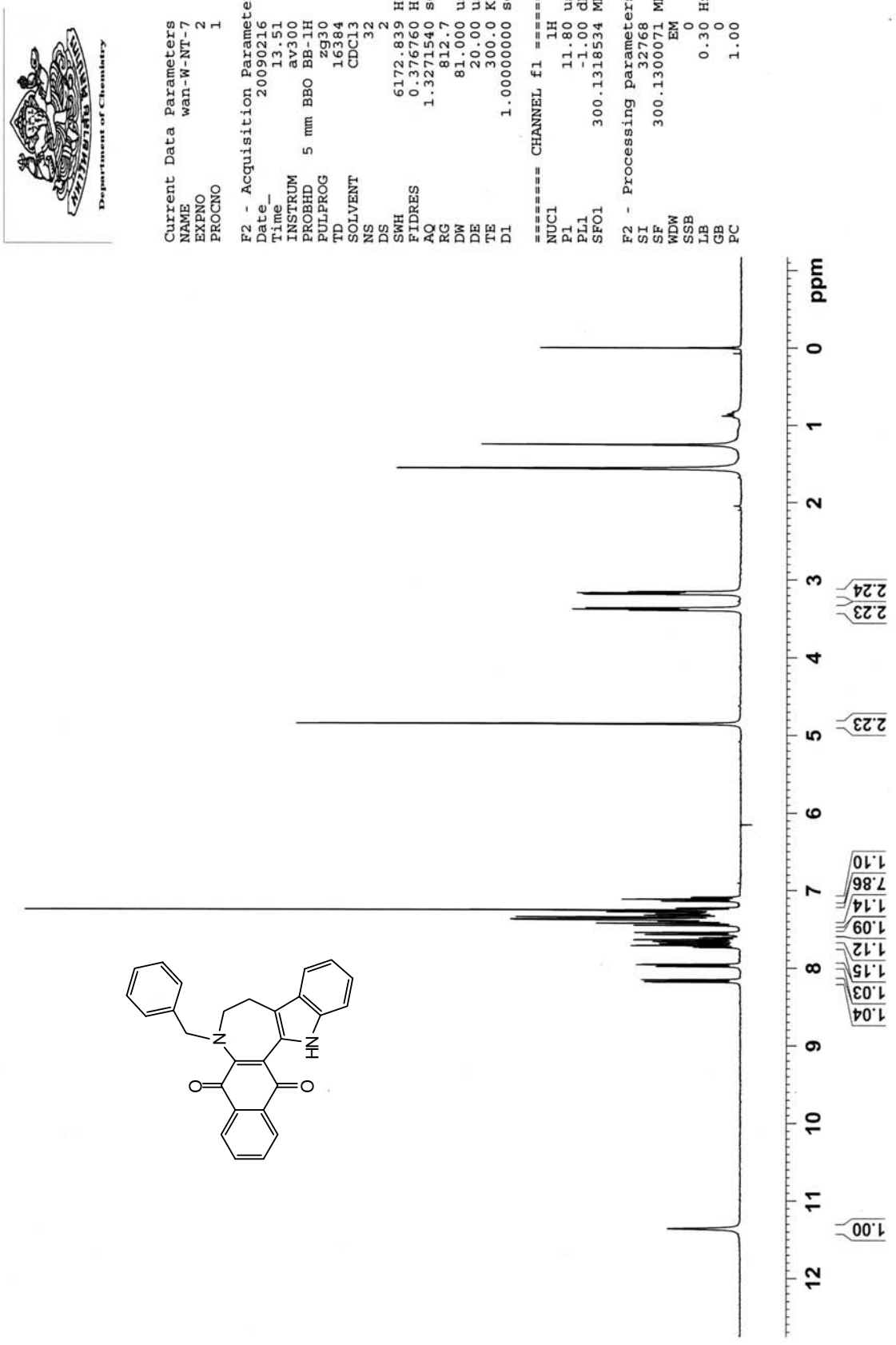
Department of Chemistry

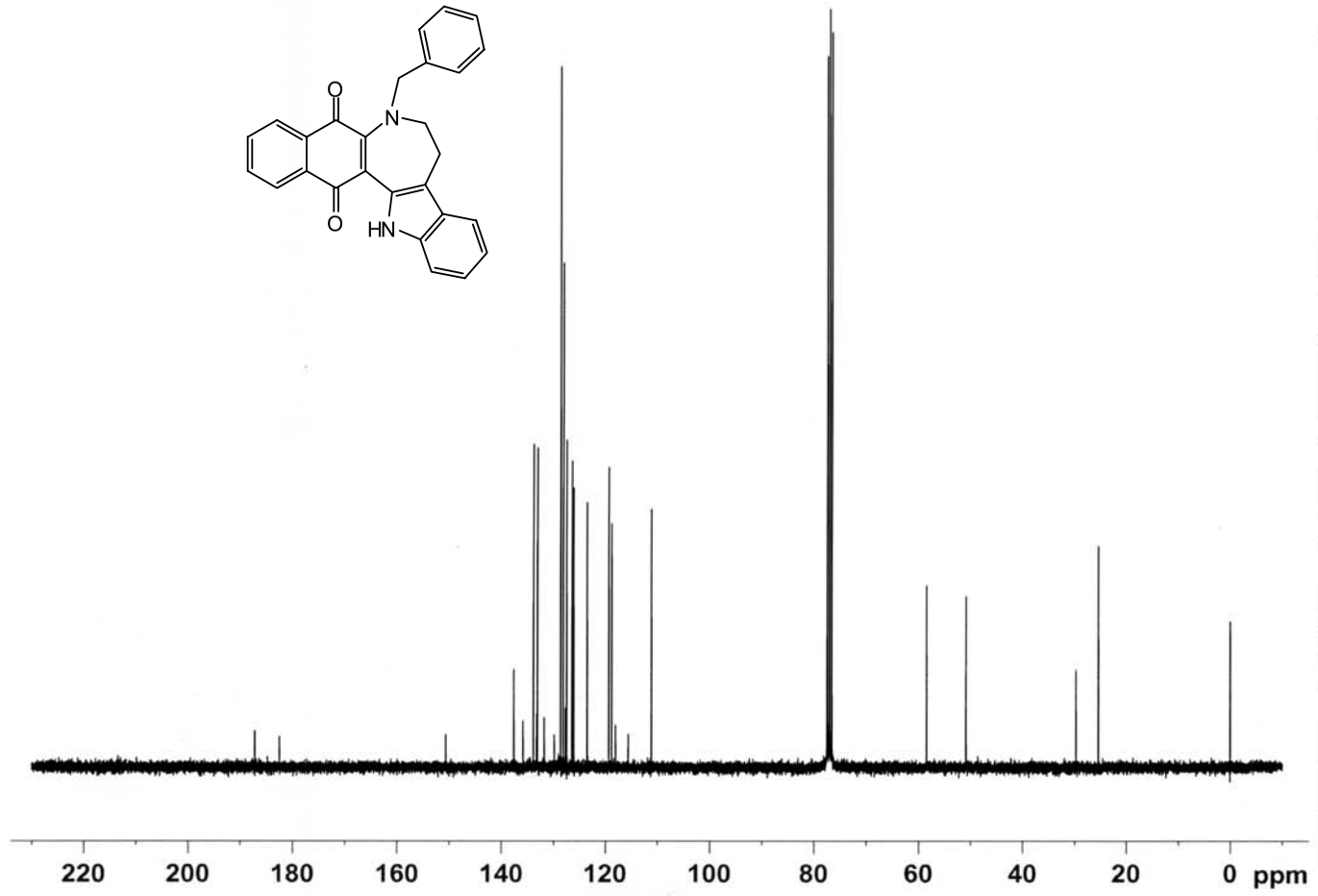
```
Current Data Parameters
NAME          wan-W-NT-6
EXPNO                  3
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090228
Time               17.39
INSTRUM            av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG             zgdc
TD                 32768
SOLVENT            CDCl3
NS                 30720
DS                     4
SWH            18115.941 Hz
FIDRES          0.552855 Hz
AQ              0.9044468 sec
RG                  4096
DW                27.600 usec
DE                20.00 usec
TE                300.0 K
D1             1.00000000 sec
d11            0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                13C
P1                 5.40 usec
PL1               -3.00 dB
SFO1          75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2         waltz16
NUC2                1H
PCPD2           100.00 usec
PL2              -1.00 dB
PL12             17.00 dB
SFO2         300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4677490 MHz
WDW                   EM
SSB                    0
LB                  1.00 Hz
GB                     0
PC                  1.00
```



Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME          wan-W-NT-4
EXPNO                  1
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090210
Time               15.06
INSTRUM            av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG             zg30
TD                 16384
SOLVENT            CDCl3
NS                    32
DS                     2
SWH             6172.839 Hz
FIDRES          0.376760 Hz
AQ              1.3271540 sec
RG                 456.1
DW                81.000 usec
DE                20.00 usec
TE                300.0 K
D1             1.00000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1                  1H
P1                 11.80 usec
PL1                -1.00 dB
SFO1         300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF           300.1300000 MHz
WDW                   EM
SSB                    0
LB                0.30 Hz
GB                     0
PC                  1.00
```


Department of Chemistry
Current Data Parameters
NAME wan-W-NT-7
EXPNO 2
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20090216
Time_ 13.51
INSTRUM av300
PROBHD 5 mm BBO BB-1H
PULPROG zg30
TD 16384
SOLVENT CDCl3
NS 32
DS 2
SWH 6172.839 Hz
FIDRES 0.376760 Hz
AQ 1.3271540 sec
RG 812.7
DW 81.000 usec
DE 20.00 usec
TE 300.0 K
D1 1.00000000 sec
======== CHANNEL f1 ========
NUC1 1H
P1 11.80 usec
PL1 -1.00 dB
SFO1 300.1318534 MHz
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 300.1300071 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00
ppm
1.00
2.23
2.23
2.24
1.04
1.03
1.15
1.12
1.09
1.14
7.86
1.10
N
HN
O
O



Department of Chemistry

```
Current Data Parameters
NAME          wan-W-NT-7
EXPNO                  4
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20090227
Time               23.38
INSTRUM            av300
PROBHD   5 mm BBO BB-1H
PULPROG             zgdc
TD                 32768
SOLVENT            CDCl3
NS                 19456
DS                     4
SWH          18115.941 Hz
FIDRES        0.552855 Hz
AQ           0.9044468 sec
RG              9195.2
DW             27.600 usec
DE             20.00 usec
TE             300.0 K
D1          1.00000000 sec
d11         0.03000000 sec

======== CHANNEL f1 ========
NUC1               13C
P1                5.40 usec
PL1              -3.00 dB
SFO1       75.4760505 MHz

======== CHANNEL f2 ========
CPDPRG2         waltz16
NUC2                1H
PCPD2          100.00 usec
PL2             -1.00 dB
PL12            17.00 dB
SFO2      300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF         75.4677481 MHz
WDW                   no
SSB                    0
LB              0.00 Hz
GB                     0
PC                  1.00
```

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาววันวิการ์ รื่นสำราญ
ที่อยู่	53 หมู่ที่ 14 ตำบลพะโต๊ะ อำเภอพะโต๊ะ จังหวัดชุมพร 86180
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2548	สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต วิชาเอกเคมี จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม
พ.ศ.2550	ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาเคมีอินทรีย์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การเสนอผลงานวิจัย

ระดับประเทศ

Ruensamran, W.; Sengpracha, W. “Microwave-Assisted Synthesis and Antimicrobial of Heterocyclic Naphthoquinones”, Poster presentation, 34th Congress on Science and Technology of Thailand, October 30-November 2, 2008, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand.

ระดับนานาชาติ

Ruensamran, W.; Sengpracha, W. “Microwave-Assisted Synthesis and Antimicrobial of Heterocyclic Naphthoquinones”, Poster presentation, Pure and Applied Chemistry International Conference 2009, January 14-16, 2009, Naresuan university, Phitsanulok, Thailand.