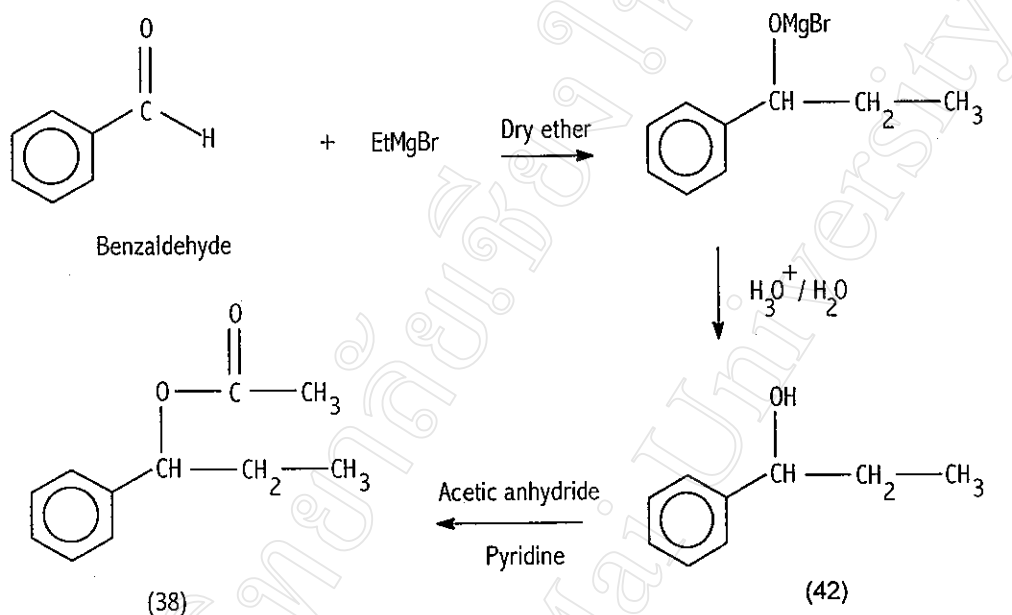


บทที่ 3

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การเตรียมสาร (38) จาก benzaldehyde

ในการทดลองเตรียมสาร (38) จาก benzaldehyde โดยเริ่มต้นจากการนำ benzaldehyde มาทำปฏิกิริยา Grignard reaction โดยใช้ Ethyl magnesium bromide ซึ่งเกิดปฏิกิริยาดังสมการ



การทดลองใช้ benzaldehyde ทำปฏิกิริยากับ ethyl-magnesium bromide ใน dry ether ที่อุณหภูมิไม่เกิน -5°C . จะได้สารที่มีลักษณะเป็นเกล็ดของแมกนีเซียม หลังจากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยการเติมน้ำแข็งและไฮโดรไลซ์เกล็ดด้วยสารละลาย 15% H_2SO_4 ลงไป จะได้สาร α -ethylbenzyl alcohol (สาร 42)

ขั้นตอนนำสาร α -ethylbenzyl alcohol มาทำปฏิกิริยา acetylation กับ acetic anhydride ในที่นี้ใช้ α -ethylbenzyl alcohol (สาร 42) ทำปฏิกิริยากับ acetic anhydride ที่มี pyridine เป็นตัวทำละลาย ทำการคนจนครบเวลา จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการเติมน้ำแข็งและน้ำลงไป หลังจากนั้นทำการเติม ไดคลอโรมีเทนลงไปเพื่อแยกผลิตภัณฑ์ (38) ให้มาอยู่ในชั้นไดคลอโรมีเทน ทำการแยกชั้นน้ำออกจากชั้นไดคลอโรมีเทน แล้วจึงนำสารละลายของไดคลอโรมีเทนมาทำการล้างด้วย 5% H_2SO_4 (เพื่อกำจัดด่าง pyridine), น้ำและสารละลายอิมตัวของไซเตียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตหลายๆครั้ง เพื่อกำจัดกรดที่หลงเหลืออยู่และล้างน้ำอีกครั้งจนเป็นกลาง หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้มาระเหยเอาตัวทำละลายออก จะได้สาร (38) (%yield เมื่อเทียบจากสารตั้งต้น = 68.0%)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย IR พบว่า IR spectrum ของสารที่ได้ปรากฏแบนด์คือ (รูปที่ 2.5)

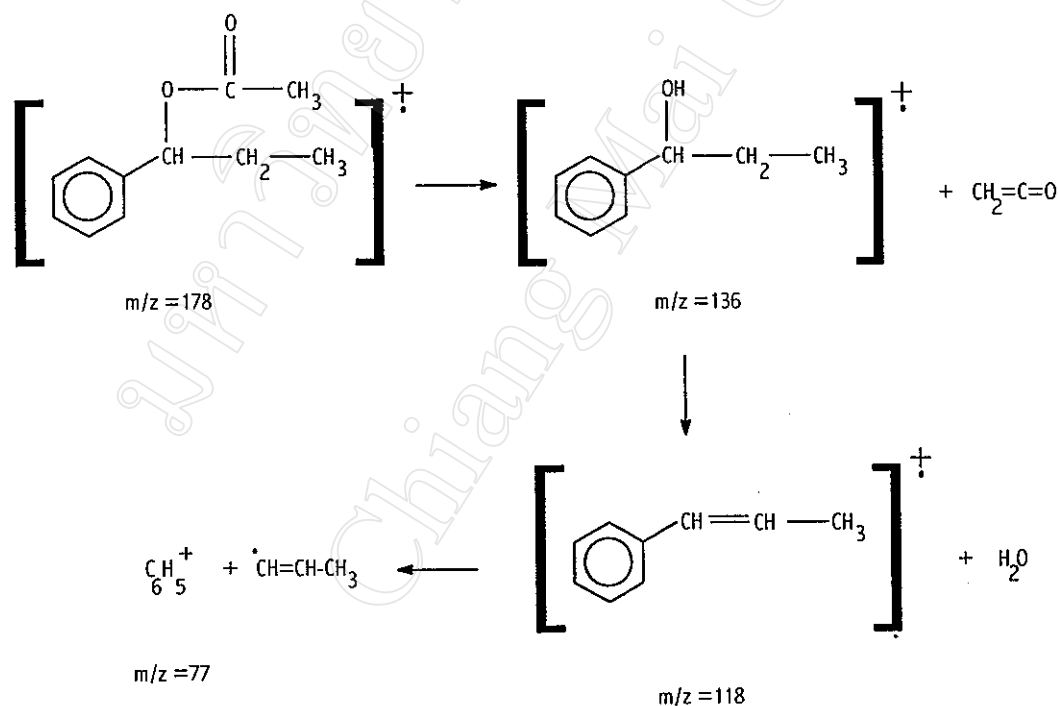
2939 cm^{-1} , C – H stretching

1731 cm^{-1} , C = O stretching (C=O absorption band of ester)

1350 cm^{-1} , C – O stretching (C–O absorption band of ester)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย $^1\text{H-NMR}$ พบสัญญาณที่(δ): 7.2-7.7(singlet), 5.4-5.8(multiplet), 2.0-2.3(singlet), 1.4-2.0 (multiplet) และ 0.6-1.0 (triplet) เมื่อ integrals พื้นที่ใต้พีคจะได้อัตราส่วนของ protons เป็น 5:1:3:2:3 (รูปที่ 2.6)

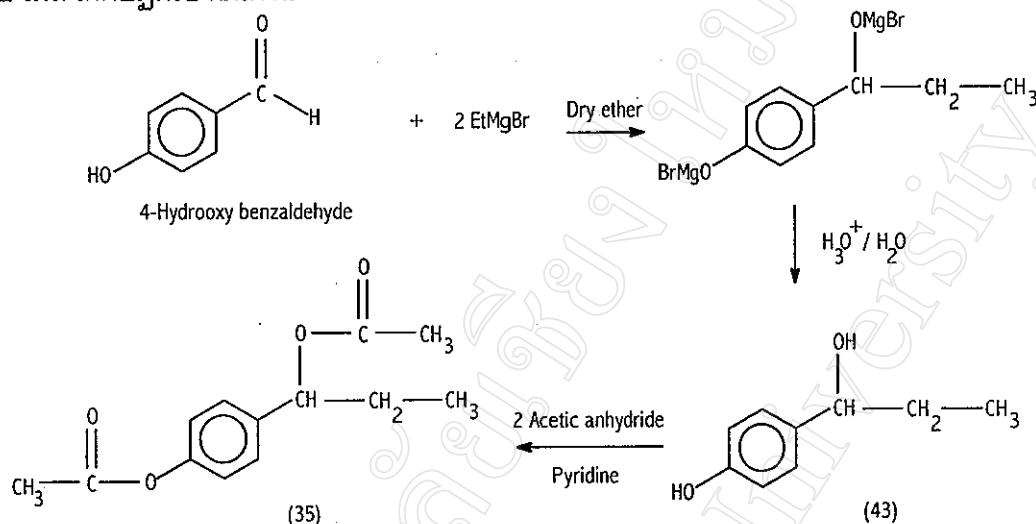
เมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบด้วย MS พบว่า mass-spectrum ของสารที่ได้(รูปที่ 2.8) ปรากฏพีคที่มีค่า m/z น่าสนใจคือ $178[\text{M}^+]$, 149, 136, 117, 107, 91, 77, 51 และ 43 โดยพีคที่มีค่า m/z เท่ากับ 178 คือไอออนของโมเลกุล และ 43 เป็นเบสพีค ซึ่งเป็นพีคของกลุ่มอะเซทิล $[\text{CH}_3\text{CO}]^+$ พีคที่มีค่า m/z เท่ากับ 149 เกิดจากการสูญเสียหมู่เอทิลนอกจากนี้โมเลกุลของสารอาจเกิดการแตกตัวดังนี้



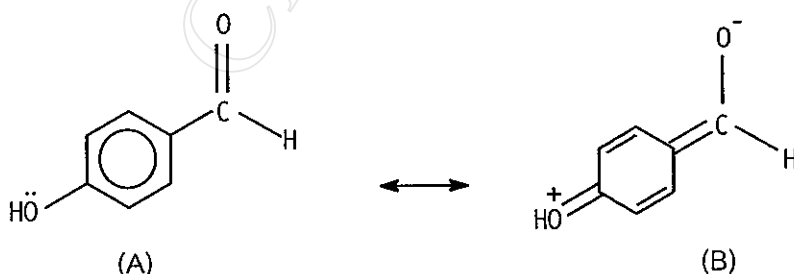
ดังนั้นจากการรวบรวมข้อมูลจาก IR, NMR และ MS ประกอบกันแล้วสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงควรเป็นสาร (38)

3.2 การเตรียมสาร (35) จาก 4-hydroxybenzaldehyde

ในการทดลองเตรียมสาร (35) จากสาร 4-hydroxybenzaldehyde เริ่มต้นจากการนำ 4-hydroxybenzaldehyde 1 โมล มาทำปฏิกิริยากับ ethyl-magnesium bromide จำนวน 2 โมล เกิดปฏิกิริยาขึ้นดังนี้



การทดลองใช้ 4-hydroxybenzaldehyde ทำปฏิกิริยากับ ethyl-magnesium bromide ใน dry ether ที่อุณหภูมิไม่เกิน -5°C . จะได้สารที่มีลักษณะเป็นเกล็ดของแมกนีเซียม หลังจากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยการเติมน้ำแข็งและ 15% H_2SO_4 เพื่อไฮโดรไลซ์เกล็ด จากนั้นทำการแยกสารที่เป็นน้ำและอีเธอร์ออกจากกัน แล้วทำการกำจัดน้ำในสารละลายของอีเธอร์โดยใช้โพแทสเซียมคาร์บอเนต หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้มาระเหยเอาตัวทำละลายออกจะได้สาร (43) ในขั้นตอนนี้สารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณน้อยมาก คือมี % yield เพียง 9.02 % เนื่องมาจากความมีขั้วของคาร์บอนในตำแหน่งที่เป็นหมู่อัลดีไฮด์ มีความเป็นลบสูงเพราะอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของออกซิเจนของ phenolic hydroxyl สามารถถ่ายเทผ่านวงเบนซีน มาที่คาร์บอนของหมู่อัลดีไฮด์ได้ทำให้นิวคลีโอไฟล์ $[\text{CH}_2\text{CH}_3]$ เกิดความยากลำบากในการเข้าทำปฏิกิริยาที่คาร์บอนตำแหน่งนี้ ดังสมการ



ดังนั้นถ้าสารอยู่ในรูปแบบ (A) นิวคลีโอไฟล์ที่เดิมจะสามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ แต่ถ้าสารเกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอนมาอยู่ในรูปแบบ (B) จะทำให้นิวคลีโอไฟล์ที่เดิมลงไปไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ จึงทำให้ปริมาณผลผลิตที่ได้มีปริมาณที่น้อยมาก

ขั้นตอนต่อไปของการเตรียมสาร (35) คือ การเปลี่ยนไฮโดรเจนที่หมู่แอลกอฮอล์ ทั้ง 2 หมู่ ให้เป็น หมู่อะซิเตต ในขั้นนี้ใช้สาร (43) ที่ได้ ละลายโดยใช้ pyridine หลังจากนั้นเติม acetic anhydride ทำการคนสารตลอดเวลาที่ทดลองจนครบเวลาจึงทำการหยุดปฏิกิริยา จะได้ สาร (35) (% yield เมื่อเทียบจากสารตั้งต้น = 8.23%)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย IR พบว่า IR spectrum ของสารที่ได้ปรากฏ แบบดัดคือ (รูปที่ 2.13)

2971 cm^{-1} , C – H stretching

1753 cm^{-1} , C = O stretching (C=O absorption band of ester)

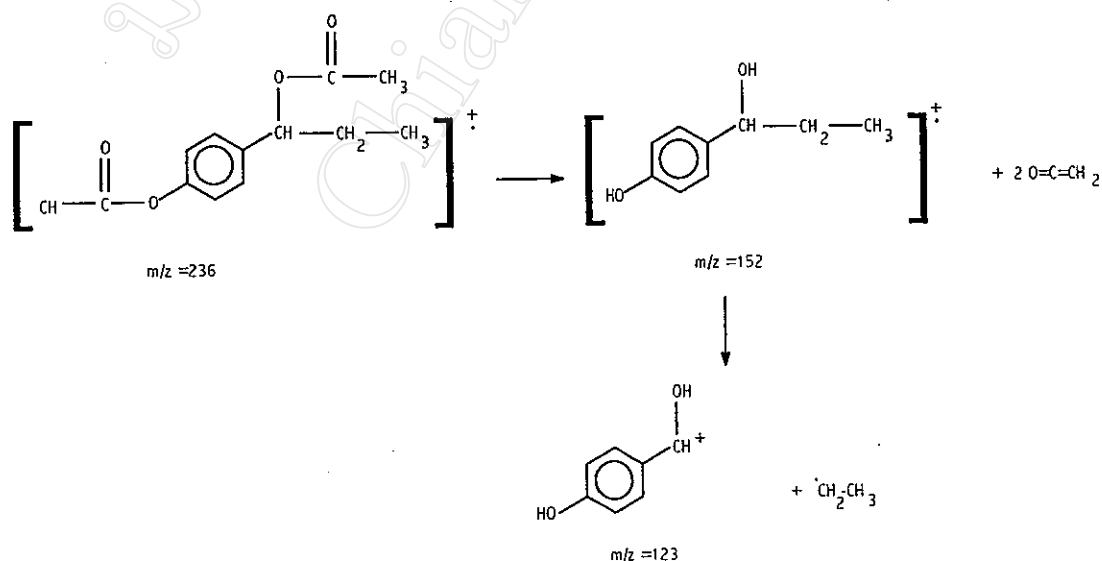
1500 cm^{-1} , aromatic C = C stretching

1370 cm^{-1} , C – H bending

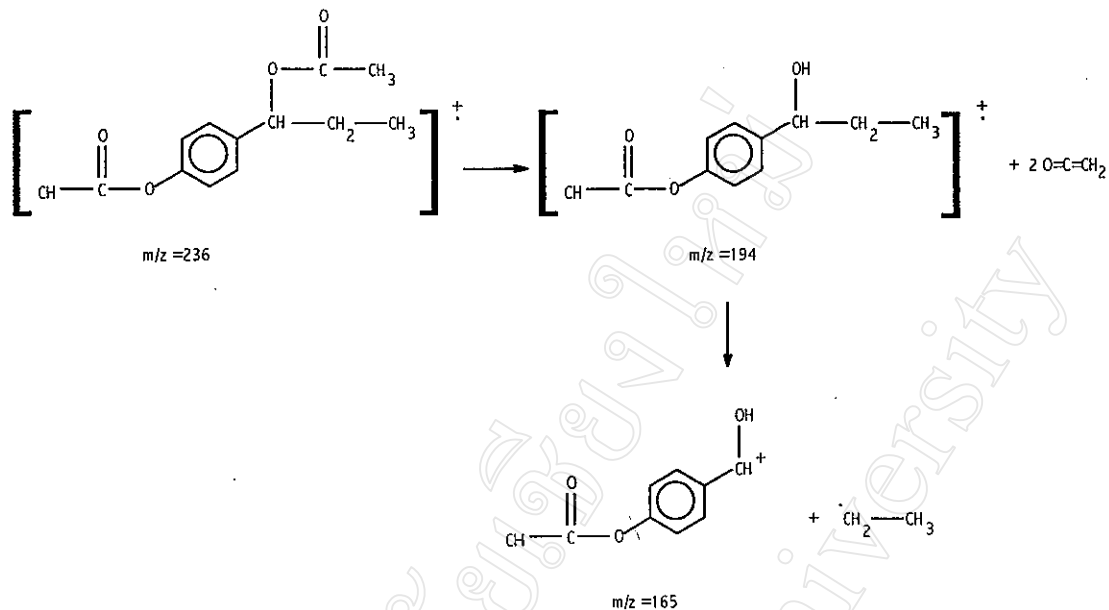
1200 cm^{-1} , C – O stretching (C–O absorption band of ester)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย $^1\text{H-NMR}$ พบสัญญาณที่(δ): 6.982-7.422 (quartet), 2.285-3.00 (multiplet), 2.285 (singlet), 2.061 (singlet), 1.660 – 1.875 (multiplet) และ 0.762 – 0.996 (triplet) เมื่อ integrals พื้นที่ใต้พีคจะได้อัตราส่วนของ protons เป็น 4:1:3:3:3:2 (รูปที่ 2.14)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบด้วย MS พบว่า mass-spectrum ของสารที่ได้ (รูปที่ 2.16) ปรากฏพีคที่มีค่า m/z น่าสนใจคือ 236(M^+), 194, 165, 123 และ 43 โดยพีคที่มีค่า m/z เท่ากับ 236 เป็นไอออนโมเลกุล และ $m/z = 43$ เป็นพีคของกลุ่มอะเซทิล [CH_3CO^+] นอกจากนี้โมเลกุลของสารอาจเกิดการแตกหักตัวนี้

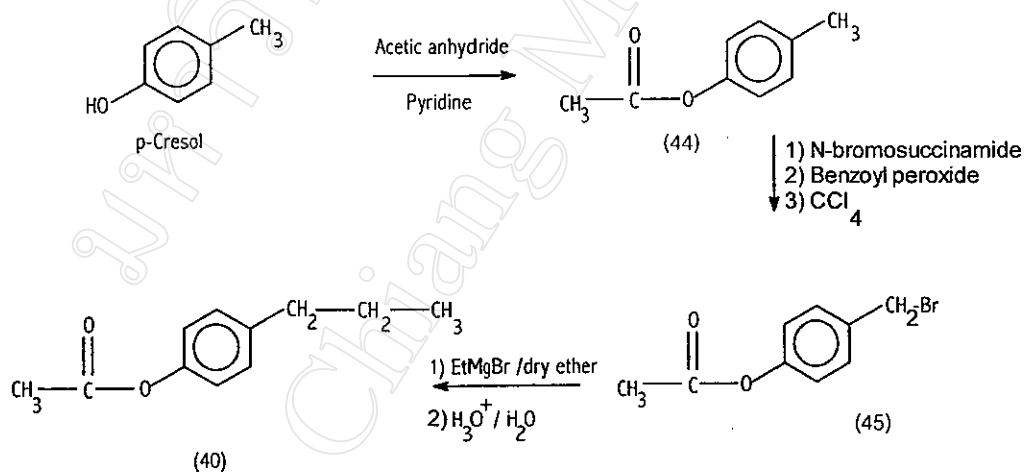


นอกจากนี้การแตกหักยังอาจเกิดรูปแบบอื่นได้อีกดังสมการ



ดังนั้นจากการรวบรวมข้อมูลที่ได้จาก IR, NMR และ MS ประกอบกันแล้วสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงควรเป็นสาร (35)

3.3 การเตรียมสาร (40) จาก p-cresol



ในการทดลองเตรียมสาร (40) จาก p-cresol เริ่มต้นจากการนำ p-cresol มาทำปฏิกิริยา Acetylation โดยให้ acetic anhydride และในการทดลองใช้ p-cresol ทำปฏิกิริยากับ acetic anhydride ในสารละลาย pyridine ทำการคนตลอดเวลาจนครบกำหนดจึงทำการหยุดปฏิกิริยาจะได้สาร (44) (65.15%)

ขั้นตอนต่อมาสาร(44) มาทำปฏิกิริยา Bromination ในขั้นตอนนี้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นคือสาร (45) ไม่มีความเสถียรต่อแสงและอากาศทำให้เมื่อเตรียมได้จึงต้องนำไปทำปฏิกิริยาต่อ

โดยนำสาร (45) ที่ได้ไปทำปฏิกิริยา Grignard reaction โดยใช้ Grignard reagent คือ สาร ethyl-magnesium bromide ได้เป็นผลิตภัณฑ์ได้แก่สาร (40) ในการทดลองนำสาร (44) ทำปฏิกิริยา bromination โดยใช้ N-bromosuccinamide และมี benzoyl peroxide เป็นตัวตั้งต้นเริ่มปฏิกิริยา โดยที่ทั้งหมดละลายในสารคาร์บอนเตตระคลอไรด์ เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาคาดว่าจะได้สาร (45) หลังจากนั้นนำสาร (45) ที่เตรียมได้มาละลายโดยใช้ dry ether และใส่ EtMgBr ลงไป ห้ามไม่ให้อุณหภูมิที่เกิน -5°C เมื่อครบกำหนดเวลาจะได้สาร (40) (%yield ที่ได้เมื่อเทียบกับจากสาร (44) = 60.25%)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย IR พบว่า IR spectrum ของสารที่ได้ปรากฏแบนด์คือ(รูปที่ 2.21)

2950 cm^{-1} , C – H stretching

1760 cm^{-1} , C = O stretching (C=O absorption band of ester)

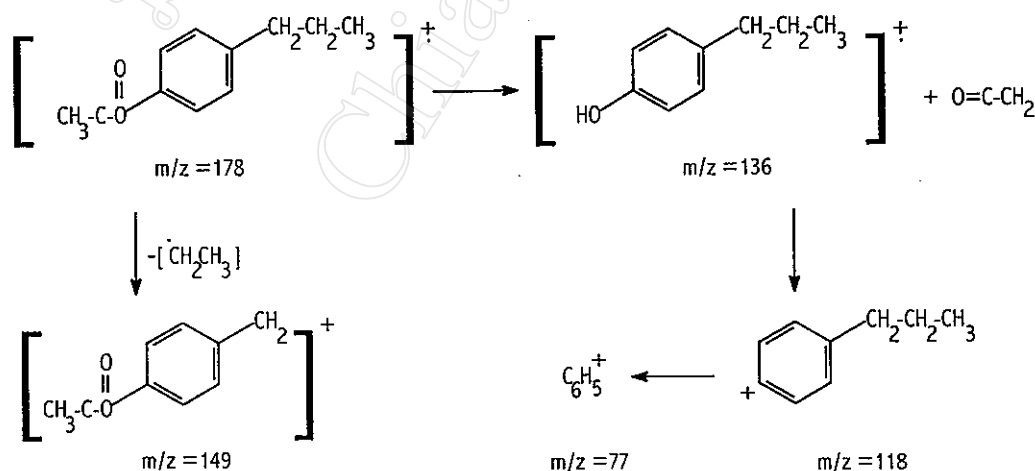
1500 cm^{-1} , aromatic C = C stretching

1375 cm^{-1} , C – H bending

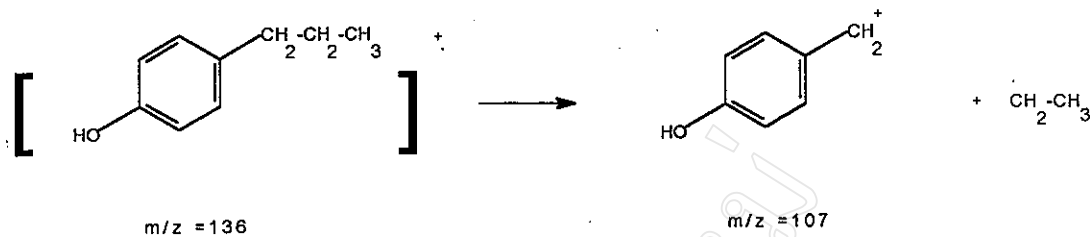
1200 cm^{-1} , C – O stretching (C–O absorption band of ester)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย $^1\text{H-NMR}$ พบสัญญาณที่(δ): 6.64-7.10 (quartet), 2.00-2.60(multiplet), 1.00-1.40(multiplet) และ 0.60-1.00(multiplet) (รูปที่ 2.22)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบด้วย MS พบว่า mass-spectrum ของสารที่ได้ (รูปที่ 2.24) ปรากฏพีกที่มีค่า m/z น่าสนใจคือ 178(M^+), 149, 136, 117, 107, 91, 77 และ 43 โดยพีกที่มีค่า m/z เท่ากับ 178 เป็นไอออนของโมเลกุลและ $m/z = 43$ เป็นพีกของกลุ่มอะเซทิล [CH_3CO] นอกจากนี้ในโมเลกุลของสารอาจเกิดการแตกหักดังนี้



หรืออาจเกิดการแตกหักได้อีกอย่างคือ ที่ $m/z = 136$ อาจเกิดการแตกหมู่ ethyl ออกดังนี้



ดังนั้นจากการรวบรวมข้อมูลที่ได้จาก IR, NMR และ MS ประกอบกันแล้วสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงควรเป็นสาร (40)

3.4 การศึกษาสาร 1'-acetoxychavicol acetate (5) จากข้า

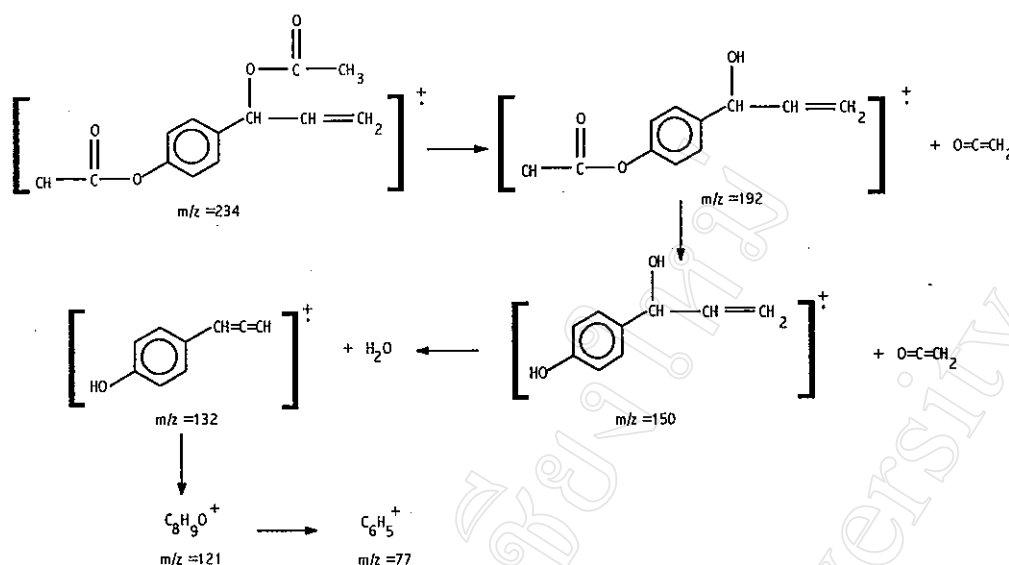
จากการแยกส่วนสกัดหยาบของข้าโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี จะได้สารส่วนหนึ่งที่มีความสามารถต้านเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* ได้ในปริมาณมากจึงนำสารส่วนนี้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกแล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปแช่ในสารละลายผสมระหว่างเฮกเซน : ไดคลอโรมีเทน (อัตราส่วน 1 : 1) โดยใช้สารละลายผสมปริมาณเล็กน้อยทิ้งเอาไว้ที่อุณหภูมิ 0 °C จะพบว่าเมื่อมีผลึกเกิดขึ้น (0.043%) ผลึกที่ได้มีค่า melting point = 68 - 71 °C. จึงนำผลึกที่ได้ไปวิเคราะห์โดยเทคนิค IR, NMR และ GC-MS ได้ผลดังนี้

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย IR พบว่า IR spectrum ของสารที่ได้ปรากฏแบนด์คือ(รูปที่ 2.25)

- 2970 cm^{-1} , C-H stretching
- 1746 cm^{-1} , C=O stretching (C=O absorption band of ester)
- 1650 cm^{-1} , C=C stretching
- 1350 cm^{-1} , C-H bending
- 1197 cm^{-1} , C-O stretching (C-O absorption band of ester)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบด้วย $^1\text{H-NMR}$ พบสัญญาณที่(δ): 7.0-7.6 (quartet), 5.7 - 6.4 (triplet), 5.0 - 5.5 (multiplet), 2.2 - 2.4 (singlet) และ 2.0 - 2.2 (singlet) เมื่อ integrals พื้นที่ใต้พีคจะได้อัตราส่วนของ protons เป็น 4:2:2:3:3 (รูปที่ 2.26)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ไปตรวจสอบด้วย MS พบว่า mass-spectrum ของสารที่ได้ (รูปที่ 2.28) ปรากฏพีคที่มีค่า m/z น่าสนใจคือ 234(M^+), 193, 150, 132, 121, 77 และ 43 โดยพีคที่มีค่า m/z เท่ากับ 234 เป็นไอออนของโมเลกุลและ $m/z = 43$ เป็นพีคของกลุ่มอะซิเตต [CH_3CO^+] นอกจากนี้โมเลกุลของสารอาจเกิดการแตกหักได้ดังนี้



จากข้อมูลของเอกสารอ้างอิง⁽¹⁹⁾ พบว่าสาร 1'-acetoxychavicol acetate ให้ข้อมูลดังนี้ ¹H-NMR พบสัญญาณที่(δ): 2.08, 2.26, 5.22, 5.29, 6.05, 6.25, 7.13 และ 7.42 นอกจากนี้ mass-spectrum ของสารปรากฏพีคที่มีค่า m/z ดังนี้ คือ 192, 150, 132, 121, 105, 77, 43 และ 40

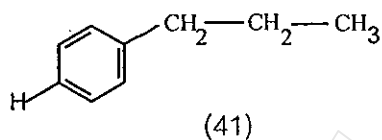
ดังนั้นจากการรวบรวมข้อมูลที่ได้จาก IR, NMR และ MS เทียบกับข้อมูลที่ได้จากเอกสารอ้างอิง⁽¹⁹⁾ ประกอบกันแล้วผลึกที่ได้จึงควรเป็นสาร (5)

3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราโดยวิธี Agar Overlay Technique

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงผลของหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ที่มีอยู่ในสาร 1'-acetoxychavicol acetate (5) ซึ่งเป็นสารต้านเชื้อราที่พบในปริมาณมากในหัวข่า การศึกษากลุ่ม acetoxyl สองกลุ่ม และ vinyl หนึ่งกลุ่ม ในโมเลกุลว่ามีผลต่อการต้านเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* ทำได้โดยการกำจัดกลุ่มแต่ละกลุ่มออกจากโมเลกุลของสาร 1'-acetoxychavicol acetate (5) ซึ่งสกัดได้จากหัวข่าดังนั้นสารที่ต้องการคือ (35), (36), (37), (38), (39), (40) และ (41) แต่พบว่าสาร (39) และ (41) เป็นสารที่สั่งซื้อได้จากบริษัท ฟลักก้า ส่วนสาร (36) และ (37) ไม่สามารถหามาทำการทดลองได้เพราะฉะนั้นสารที่ต้องเตรียมขึ้นมาจึงมีเพียงสาร (35), (38) และ (40)

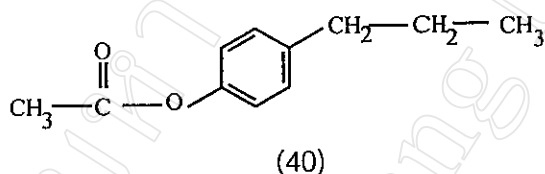
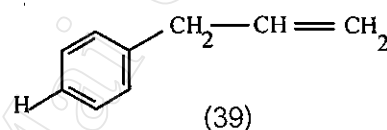
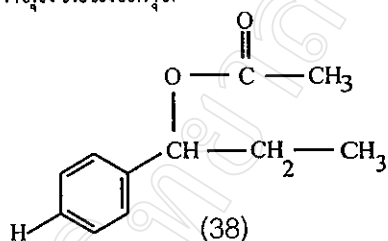
ในการศึกษาผลของหมู่ acetoxyl สองกลุ่มและ vinyl หนึ่งกลุ่มในโมเลกุลของสาร 1'-acetoxychavicol acetate (5) ในการต้านเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* พบว่า

3.5.1 เมื่อไม่มีกลุ่ม acetoxyl 2 กลุ่ม และ vinyl 1 กลุ่ม โมเลกุลสารจะมีโครงสร้างเป็นแบบสาร (41) คือ สาร propylbenzene



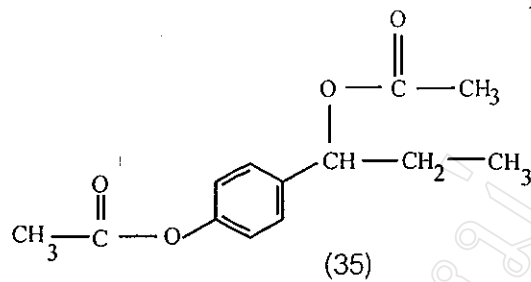
พบว่าที่ความเข้มข้น 10^1 , 10^2 และ 10^3 ppm. สารนี้ไม่สามารถต้านเชื้อรา *Cladosporium cladosporioides* แต่ที่ความเข้มข้น 10^4 และ 10^5 ppm. สารสามารถต้านเชื้อราชนิดนี้ได้เพิ่มขึ้นตามปริมาณของความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น (ดูรูปที่ 2.31)

- 3.5.2 เมื่อมีกลุ่ม acetoxy หรือ กลุ่ม vinyl อยู่เพียง 1 กลุ่มในโมเลกุล พบว่าตัวอย่างของสารที่มีโครงสร้างแบบนี้คือ สาร Allylbenzene (39) ที่มีกลุ่ม vinyl อยู่ 1 กลุ่มในโมเลกุล สาร (38) และ (40) ที่มีกลุ่ม acetoxy อยู่ 1 กลุ่มในโมเลกุล



พบว่าสำหรับสาร Allylbenzene (39) ที่ความเข้มข้น 10^1 และ 10^2 ppm. สาร allylbenzene ไม่สามารถต้านเชื้อราชนิดนี้ได้ แต่ที่ความเข้มข้น 10^3 , 10^4 และ 10^5 ppm. สารนี้สามารถต้านเชื้อราชนิดนี้ได้และมีความสามารถในการต้านเชื้อราได้เพิ่มขึ้นตามปริมาณของความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น สำหรับสาร (38) และ (40) สารสองชนิดนี้สามารถต้านเชื้อราได้ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราจะเพิ่มขึ้นด้วย (ดูรูปที่ 2.31)

- 3.5.3 เมื่อมีกลุ่มฟังก์ชัน 2 กลุ่ม ในโมเลกุล พบว่าตัวอย่างของสารที่มีโครงสร้างแบบนี้ คือ สาร (35) ที่มีกลุ่ม acetoxy อยู่ 2 กลุ่ม ในโมเลกุล



จากการทดลองพบว่า สาร (35) สามารถต้านเชื้อราชนิดนี้ได้ทุกความเข้มข้นที่ได้ทำการทดลอง และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราจะเพิ่มขึ้นด้วย (ดูรูปที่ 2.31)

- 3.5.4 เมื่อมีทุกกลุ่มฟังก์ชันในโมเลกุลคือสาร 1'-acetoxychavicol acetate (5) มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารทุกชนิดที่ได้ทำการทดลองที่ความเข้มข้นเดียวกันในการทดลองครั้งนี้ (ดูรูปที่ 2.31)

ผลที่ได้จากการศึกษาผลของกลุ่มฟังก์ชัน คือ กลุ่ม acetoxy สองกลุ่มและกลุ่ม vinyl หนึ่งกลุ่ม พบว่าสามารถต้านเชื้อรานี้ได้ที่มีความเข้มข้นสูง ๆ เช่นเดียวกันคือ ที่ความเข้มข้นมากกว่า 10^4 ppm. เมื่อขาดกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งความสามารถในการต้านเชื้อราจะลดลงมาประมาณครึ่งหนึ่ง เช่นที่ 10^4 ppm. นอกจากนี้เมื่อลองเปรียบเทียบถึงประสิทธิภาพในการต้านเชื้อรา ระหว่างกลุ่ม acetoxy และกลุ่ม vinyl พบว่า กลุ่ม acetoxy จะมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราชนิดนี้พอๆกับกลุ่ม vinyl ที่ความเข้มข้นมากกว่า 10^4 ppm. สรุปที่ความเข้มข้นมากกว่า 10^3 ppm. แต่ละกลุ่มของ acetoxy และกลุ่ม vinyl มีความสามารถในการต้านเชื้อราพอๆกัน และต้านได้ประมาณครึ่งหนึ่งของทั้งสามกลุ่มรวมกัน