



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

แนวคิดใหม่เพื่อนำไปสู่สารอนุพันธ์ไครัลต้นแบบเพื่อช่วยในการศึกษาโครงสร้าง
ของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

New concepts towards new chiral derivatizing agents for
structure determination of bioactive natural products

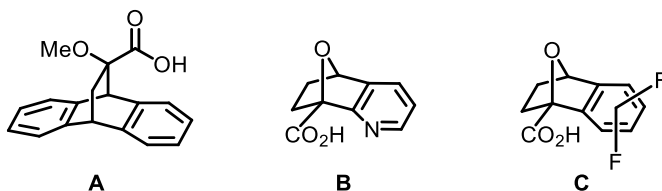
โดย รศ.ดร.เทียนทอง ทองพันชั่ง และ คณะ

เมษายน 2562

Abstract

This work involved the design and synthesis of 3 new types of chiral derivatizing agents (CDA). The designed CDA which will be used to link with chiral 2°-alcohol or 1°-amine to form a derivative of which the NMR spectra will be analyzed. The difference in anisotropic effect from the CDA would lead to the chemical shift difference of the substituents on the compound of interest which can later be interpreted to the absolute configuration of the molecule. This research focused on the modification of the aromatic residues on the CDA to improve the anisotropic effect which will lead to the larger chemical shift difference and the effectiveness in interpreting the chemical shift data.

All 3 CDA models could be synthesized based on the Diels-Alder reaction to generate the bicyclic structure in a racemic form and the resolution of the bicyclic acid. The anthracene based CDA (**A**) could be synthesized in an optically active form and it could be used to determine the absolute configuration of the chiral 1°-amine. Pyridine based CDA (**B**) could be synthesized in a rather low yield due to the ineffective Diels-Alder reaction between pyridine and furan derivative. Moreover, the racemic product could not be resolved since the ester derivative was not stable on silica gel. Difluoro based CDA (**C**) could also be synthesized and resolved into an optically active form. It could be used successfully with ^1H -NMR and ^{19}F -NMR to determine the absolute configuration of the chiral 2°-alcohol.

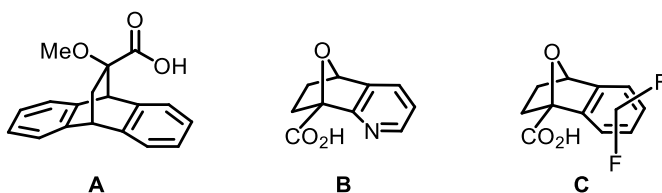


Keyword: Absolute configuration, Anisotropic effect, Bicyclic acid, Chemical shift difference, Chiral derivatizing agent, CDA, Chiral 2°-alcohol, Chiral 1°-amine, Diels-Alder reaction, NMR

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้ เป็นการออกแบบและสังเคราะห์โมเลกุล 3 แบบ เพื่อทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมกับสารไครัล 2°-อัลกอฮอล์ หรือ 1°-เอมีน เพื่อให้ได้สารอนุพันธ์ที่เมื่อนำไปศึกษาข้อมูลทาง NMR โดยผลทาง anisotropic effect จะทำให้ค่าเคมีคัลชิฟท์ของหมู่แทนที่ของสารที่ต้องการศึกษาเปลี่ยนแปลงไป โดยโครงการนี้มุ่งเน้นการปรับปรุงหมู่อะโรมาติกเพื่อให้มี anisotropic effect ที่มากขึ้น เพื่อให้การใช้งานและการแปลผลทำได้สะดวกและชัดเจนยิ่งขึ้น

โมเลกุลทั้ง 3 แบบสามารถสังเคราะห์ได้ผ่านกระบวนการหลักคือ ปฏิกิริยา Diels-Alder เพื่อสร้างสารไบไซคลิกในรูปสารผสมราซิมิก และ การทำการแยกสารผสมราซิมิก โมเลกุลที่มีฐานเป็นแอนทราซีน (A) สามารถทำการสังเคราะห์ได้ในรูปแบบที่เป็นไครัล และสามารถนำมาใช้ในการระบุคอนฟิกูเรชันสัมบูรณ์ของสารประกอบ 1°-เอมีน ได้เป็นอย่างดี สำหรับโมเลกุลที่มีฐานเป็นไพรีดีน (B) พบว่า สามารถสังเคราะห์ในรูปสารผสมราซิมิกได้ในปริมาณน้อย เนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างไพรีโดนกับอนุพันธ์ฟิวแรนเกิดได้ไม่ดัดนัก และไม่สามารถทำการแยกสารผสมราซิมิกได้ เนื่องจากอนุพันธ์เอสเทอร์ของสารดังกล่าวไม่เสถียรบนซิลิกาเจล สำหรับโมเลกุลที่มีฐานเป็นไดฟลูออโรเบนซีน (C) นั้น สามารถเตรียมในรูปแบบที่เป็นไครัลได้ และสามารถนำมาใช้ในการระบุคอนฟิกูเรชันสัมบูรณ์ของสารไครัล 2°-อัลกอฮอล์ได้ โดยสามารถใช้ร่วมกับทั้ง $^1\text{H-NMR}$ และ $^{19}\text{F-NMR}$

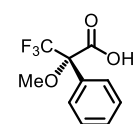


คำสำคัญ: คอนฟิกูเรชันสัมบูรณ์, ผลแอนไอโซโทรปี, กรดไบไซคลิก, ความแตกต่างของค่าเคมีคัลชิฟท์, สารเตรียมอนุพันธ์ไครัล, CDA, ไครัล 2°-อัลกอฮอล์, ไครัล 1°-เอมีน, ปฏิกิริยา Diels-Alder, NMR

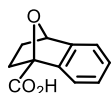
Executive Summary

งานวิจัยทางด้านเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีความสำคัญต่อประเทศเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งทรัพยากรที่มีความหลากหลายทางชีวภาพที่สำคัญ การทำวิจัยทางด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในปัจจุบัน มุ่งเน้นการศึกษาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งการที่จะพัฒนาสารดังกล่าวให้เป็นสารต้นแบบทางยาได้นั้นจำเป็นต้องรู้โครงสร้างสามมิติหรือ absolute configuration ที่ถูกต้อง เพื่อให้สามารถนำไปวิเคราะห์ให้เข้าใจความเชื่อมโยงระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางยาเพื่อการพัฒนาปรับปรุงสารต้นแบบให้เป็นยารักษาโรคที่มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นต่อไป

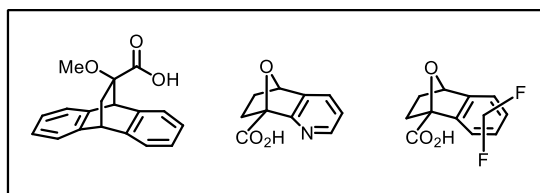
การศึกษา absolute configuration ของสารอินทรีย์ อาศัยวิธีทางสเปกโตรสโกปี ซึ่งวิธีที่ได้รับความนิยมมากชิ้นได้แก่ วิธีการใช้ chiral derivatizing agent (CDA) ควบคู่กับ NMR spectroscopy โดยมีข้อดีคือ NMR เป็นเครื่องมือที่มีใช้ในห้องปฏิบัติการวิจัยทางเคมีอินทรีย์ทั่วไป วิธีการนี้ต้องการใช้สารที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณน้อย ไม่มีข้อจำกัดในเรื่องสถานะของสาร และให้ข้อมูลที่เชื่อถือได้ดี โดยสารอนุพันธ์ไครัลที่นิยมใช้กันมากได้แก่ Mosher's acid เป็นต้น



Mosher's acid



THENA

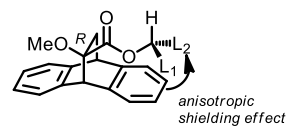
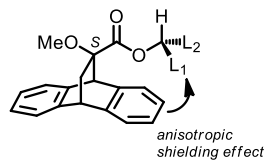
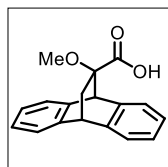


สาร THENA ถูกพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารอนุพันธ์ไครัลชนิดใหม่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ระบุ absolute configuration โดยมุ่งหมายพัฒนาเทคโนโลยีขึ้นใช้เองในประเทศ เพื่อให้สามารถทดแทนการนำเข้าสารอนุพันธ์ไครัลจากต่างประเทศได้ THENA ที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้ระบุ absolute configuration ของสารทดสอบและสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้อย่างถูกต้อง อย่างไรก็ดี สาร THENA อาศัยผลทาง anisotropic deshielding effect (รูปที่ 1) ซึ่งมีผลต่อค่า chemical shift ของหมู่แทนที่ของสารที่ต้องการศึกษาในระยะใกล้ ทำให้ค่าความแตกต่างของ chemical shift ($\Delta\delta$) มีค่าน้อยเมื่อเทียบกับสาร CDA อื่น ดังนั้น เพื่อให้การแปลผลชัดเจนขึ้น โครงการนี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาสาร CDA ชนิดใหม่ โดยเน้นการปรับปรุงหมู่อะโรมาติกเพื่อให้มี anisotropic effect ที่มากขึ้น เพื่อให้การใช้งานและการแปลผลทำได้สะดวกและชัดเจนยิ่งขึ้น

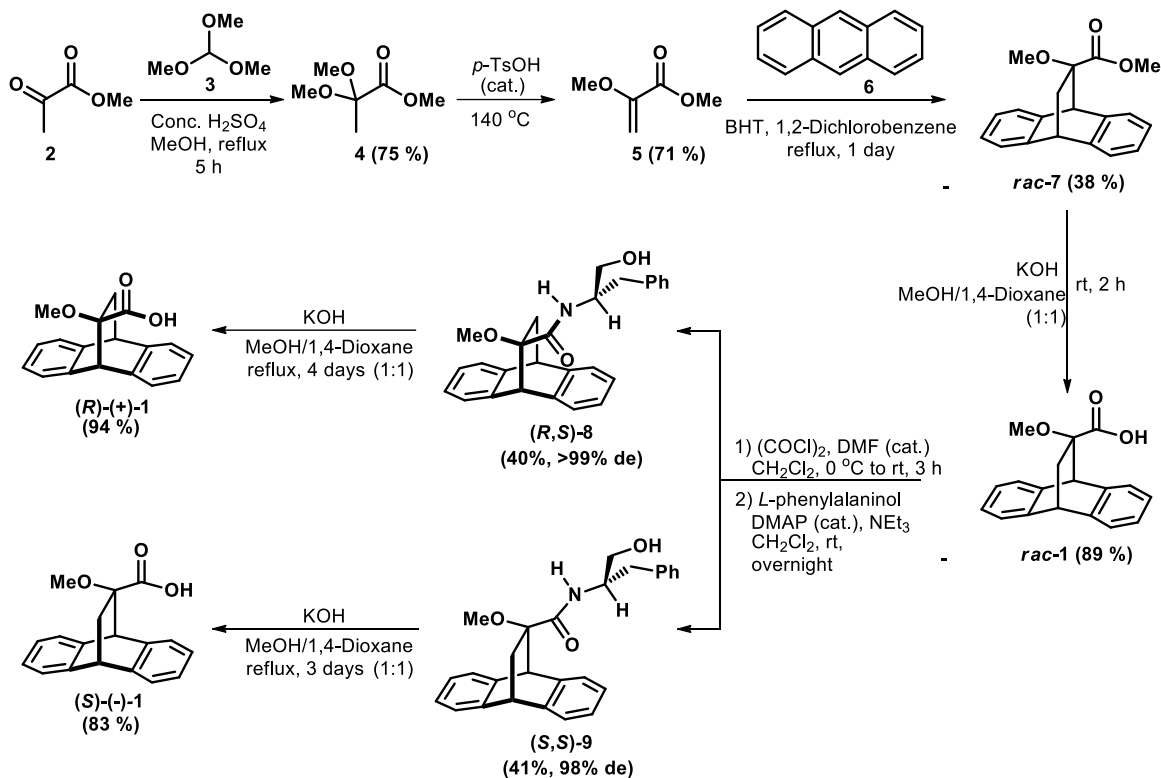
แนวทางในการพัฒนาสาร CDA เพื่อให้ได้ค่าความแตกต่างของ chemical shift ($\Delta\delta$) มากขึ้น มี 3 แนวทางสำคัญคือ

1. การเปลี่ยนผล anisotropic deshielding effect ของ THENA ให้เป็น shielding effect โดยใช้ anthracene adduct เป็นโครงสร้างหลัก (รูปที่ 3) เป็นการบังคับให้หมู่แทนที่จัดตัวอยู่ใน shielding zone ของวงเบนซีน

Anthracene-based CDA



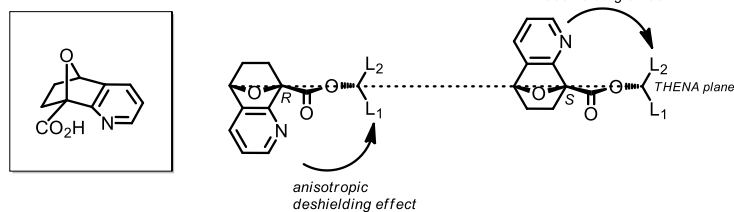
ซึ่งการสังเคราะห์สามารถทำได้โดยอาศัยปฏิกิริยาดังนี้



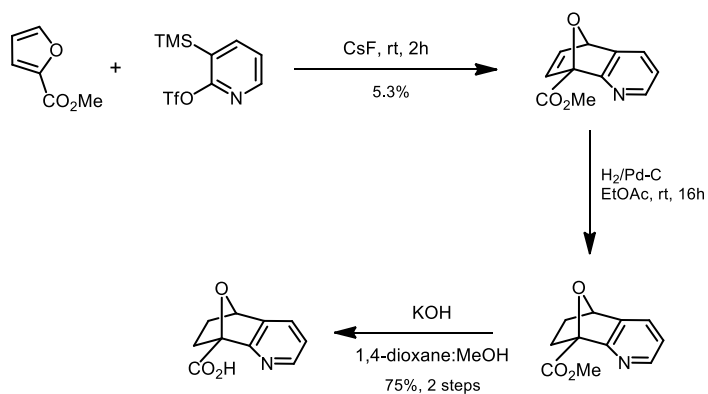
สารที่ได้ สามารถใช้ในการหา absolute configuration ของสาร chiral 1°-amine ได้เป็นอย่างดี มีศักยภาพในการนำไปใช้งานได้จริง

2. การเปลี่ยนวงอะโรมาติกของ THENA จากเบนซีนเป็นฟิรีดิน (รูปที่ 3) เพื่อศึกษาผลของ anisotropic effect จาก วงฟิรีดินแทนวงเบนซีน

Pyridine-based CDA



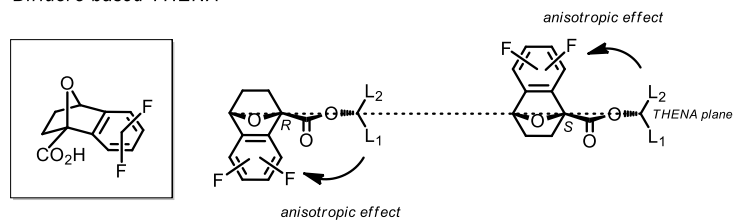
ซึ่งการสังเคราะห์สามารถทำได้โดยอาศัยปฏิกิริยาดังนี้



อย่างไรก็ดี การแยกสารผสม racemic ของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจาก ปฏิกิริยา hydrolysis เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว อันเป็นผลมาจากการมีหมู่ pyridine ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้เป็นอย่างดี

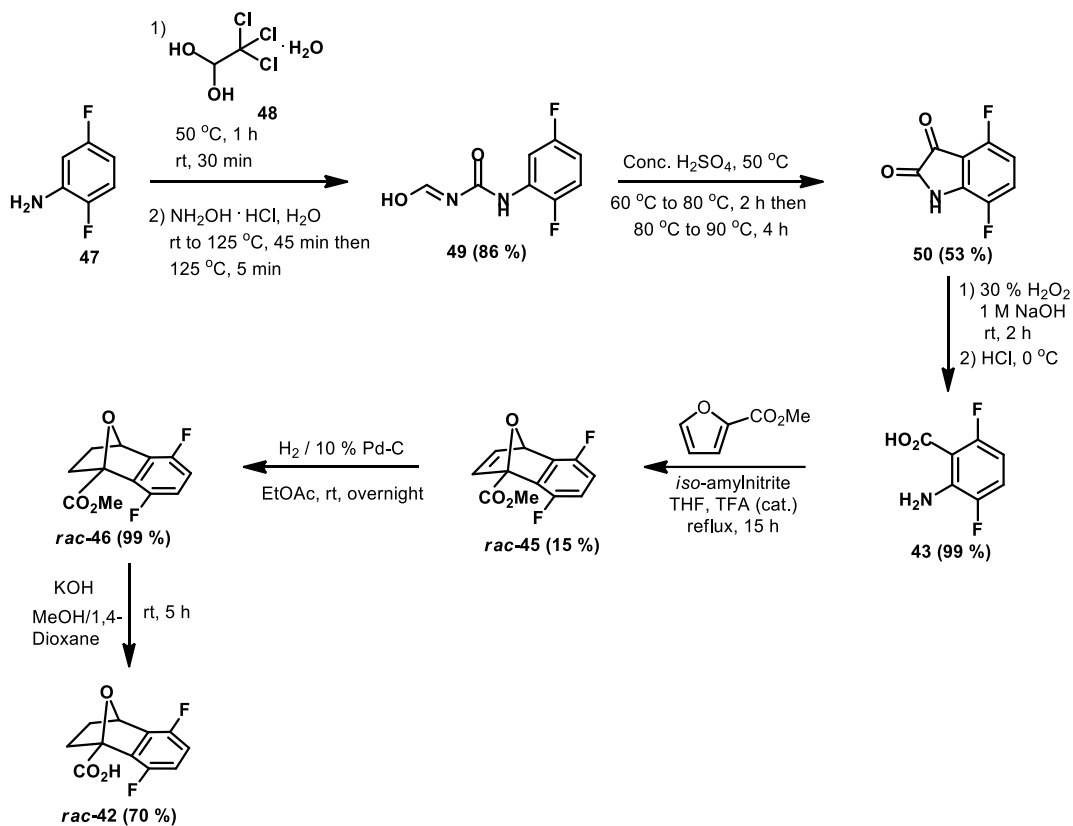
3. ศึกษาผลของอะตอมฟลูออรีนที่ตำแหน่งบนวงอะโรมาติก เพื่อช่วยในการใช้ระบุ absolute configuration ของสารไครัลอัลกอฮอล์

Difluoro-based THENA

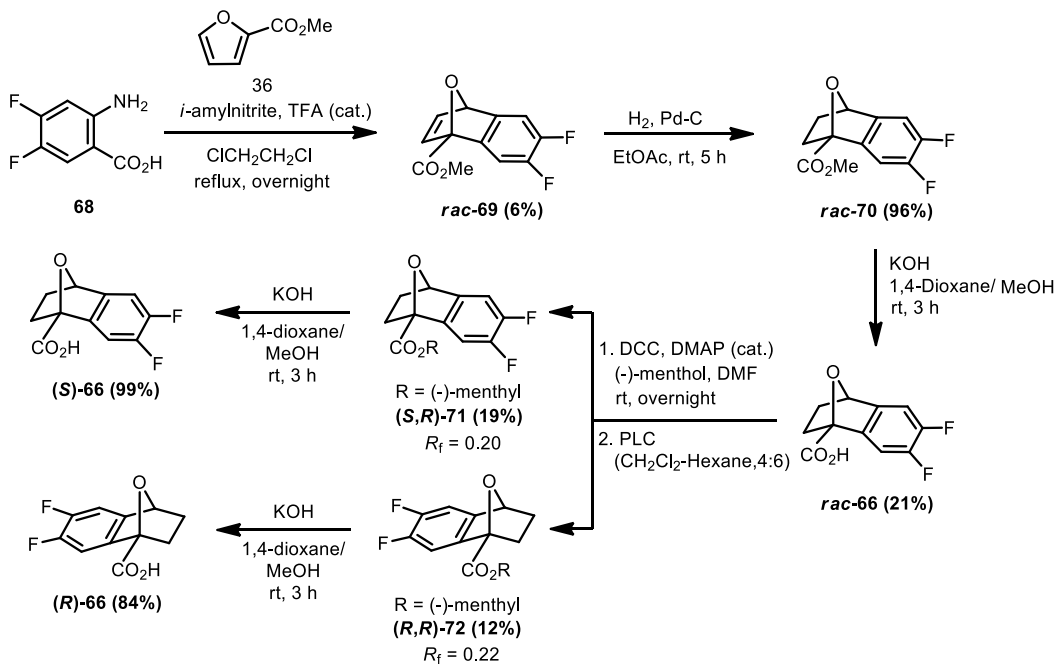


รูปที่ 4 แนวคิดในการใช้ difluoro derivatives

ซึ่งสาร 5,8-FF-THENA สามารถทำการสังเคราะห์ได้โดยอาศัยปฏิกิริยาดังนี้



ส่วนสาร 6,7-FF-THENA สามารถทำการสังเคราะห์ได้โดยอาศัยปฏิกิริยาดังนี้

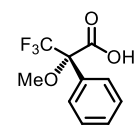


เนื้อหางานวิจัย

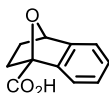
ความสำคัญและที่มาของปัญหา

งานวิจัยทางด้านเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีความสำคัญต่อประเทศเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งทรัพยากรที่มีความหลากหลายทางชีวภาพที่สำคัญ การทำวิจัยทางด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในปัจจุบัน มุ่งเน้นการศึกษาสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งการที่จะพัฒนาสารดังกล่าวให้เป็นสารต้นแบบทางยาได้นั้น จำเป็นต้องรู้โครงสร้างสามมิติหรือ absolute configuration ที่ถูกต้อง เพื่อให้สามารถนำไปวิเคราะห์ให้เข้าใจความเชื่อมโยงระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ทางยาเพื่อการพัฒนาปรับปรุงสารต้นแบบให้เป็นยารักษาโรคที่มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นต่อไป

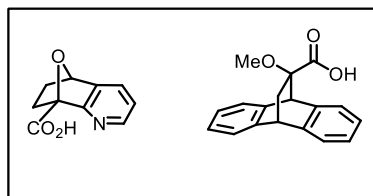
การศึกษา absolute configuration ของสารอินทรีย์ อาศัยวิธีทางสเปกโตรสโกปี ได้แก่ วิธี X-ray analysis วิธีทาง Chiroptical ได้แก่ การวัด optical rotation หรือ การใช้ CD และวิธีการใช้ chiral derivatizing agent (CDA) ควบคู่กับ NMR spectroscopy ซึ่งวิธี CDA-NMR นี้ได้รับความสนใจมากขึ้นเนื่องจาก NMR เป็นเครื่องมือที่มีใช้ในห้องปฏิบัติการวิจัยทางเคมีอินทรีย์ทั่วไป วิธีการนี้ต้องการใช้สารที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณน้อย ไม่มีข้อจำกัดในเรื่องสถานะของสาร และให้ข้อมูลที่เชื่อถือได้ดี โดยสารอนุพันธ์ไครัลที่นิยมใช้กันมากได้แก่ Mosher's acid เป็นต้น



Mosher's acid

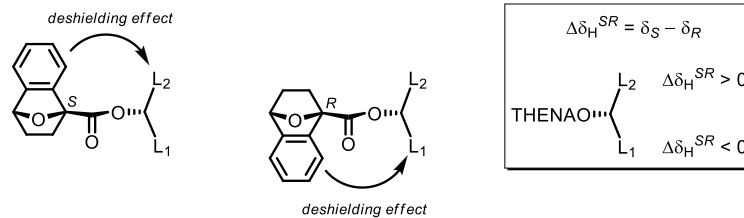


THENA



กลุ่มวิจัยของเราได้ทำการวิจัยและพัฒนาสารอนุพันธ์ไครัลชนิดใหม่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ระบุ absolute configuration โดยมุ่งหมายพัฒนาเทคโนโลยีขึ้นใช้เองในประเทศเพื่อให้สามารถทดแทนการนำเข้าสารอนุพันธ์ไครัลจากต่างประเทศได้ ซึ่งสาร THENA 2 ที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้ระบุ absolute configuration ของสารทดสอบและสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้อย่างถูกต้อง อย่างไรก็ตาม สาร THENA อาศัยผลทาง anisotropic deshielding effect (รูปที่ 1) ซึ่งมีผลต่อค่า chemical shift ของหมู่แทนที่ของสารที่ต้องการศึกษาในระยะใกล้ ทำให้ค่าความแตกต่างของ chemical shift ($\Delta\delta$) มีค่าน้อยเมื่อเทียบกับสาร CDA อื่น ดังนั้น เพื่อให้การแปลผลชัดเจนขึ้น โครงการนี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาสาร CDA ชนิดใหม่ โดยเน้นการปรับปรุงหมู่อะโรมาติกเพื่อให้มี anisotropic effect ที่มากขึ้น หรือการเพิ่ม fluorine เข้าไปในโครงสร้างของ CDA เพื่อให้การใช้งานและการแปลผลทำได้สะดวกและชัดเจนยิ่งขึ้น

THENA Model



รูปที่ 1 แสดง anisotropic deshielding effect จาก THENA และแบบจำลองที่มาของผลต่างของค่า chemical shift ($\Delta\delta$)

วัตถุประสงค์

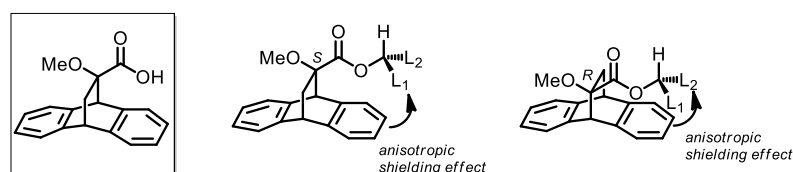
- 1) ออกแบบ วิจัยและพัฒนากระบวนการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ไครัลแบบใหม่สำหรับใช้ควบคู่กับเทคนิค NMR เพื่อใช้ในการศึกษาคอนฟิกรेशनสัมบูรณ์ของสารไครัลอัลกอฮอล์
- 2) สร้างแบบจำลองความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างของ NMR chemical shift ที่เป็นผลมาจากสารอนุพันธ์ไครัลกับค่าคอนฟิกรेशनสัมบูรณ์
- 3) ศึกษาการนำสารอนุพันธ์ไครัลไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาค่าคอนฟิกรेशनสัมบูรณ์ของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

ระเบียบวิธีวิจัย

แนวทางในการพัฒนาสาร CDA เพื่อให้ได้ค่าความแตกต่างของ chemical shift ($\Delta\delta$) มากขึ้น มี 3 แนวทางสำคัญคือ

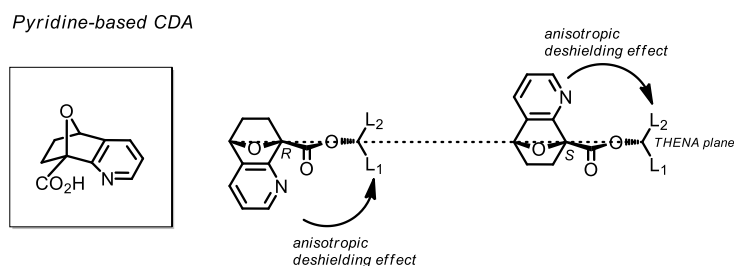
1. การเปลี่ยนผล anisotropic deshielding effect ของ THENA ให้เป็น shielding effect โดยใช้ anthracene adduct เป็นโครงสร้างหลัก (รูปที่ 3) เป็นการบังคับให้หมู่แทนที่จัดตัวอยู่ใน shielding zone ของวงเบนซีน

Anthracene-based CDA



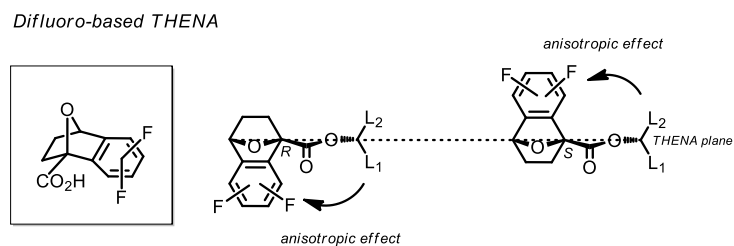
รูปที่ 2 แนวคิดในการใช้ anisotropic shielding effect จาก anthracene adduct

2. การเปลี่ยนวงอะโรมาติกของ THENA จากเบนซีนเป็นพิริดีน (รูปที่ 3) เพื่อศึกษาผลของ anisotropic effect จาก วงพิริดีนแทนวงเบนซีน



รูปที่ 3 แนวคิดในการใช้ anisotropic effect จากวงพิริดีน

3. ศึกษาผลของอะตอมฟลูออรีนที่ตำแหน่งบนวงอะโรมาติก เพื่อช่วยในการใช้ระบุ absolute configuration ของสารไครัลอัลกอฮอล์



รูปที่ 4 แนวคิดในการใช้ difluoro derivatives

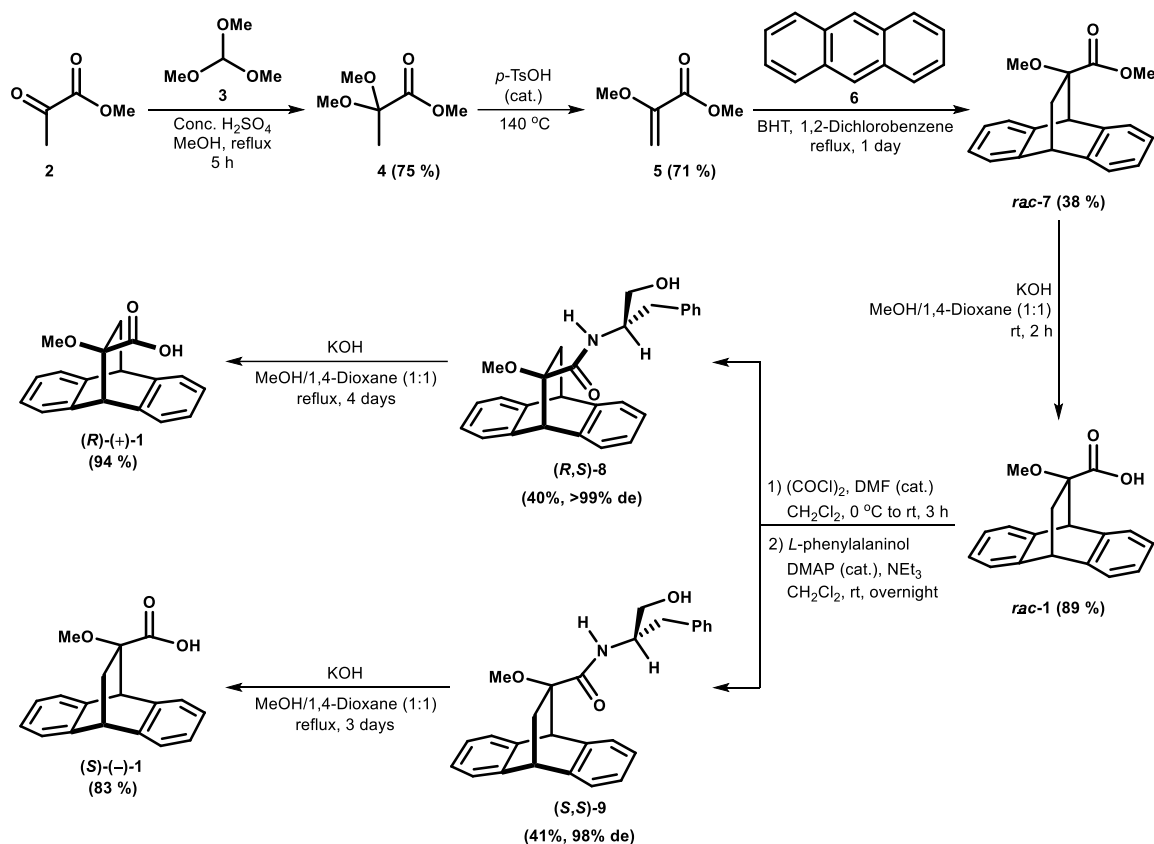
โดยในขั้นแรกจะทำการศึกษาการสังเคราะห์สารเป้าหมายให้อยู่ในรูป optically active form จากนั้นจะนำสาร CDA ที่เตรียมได้มาทดสอบการศึกษา absolute configuration กับสารทดสอบที่ทราบ absolute configuration แล้ว และได้ทดสอบกับสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติต่อไป

ผลการดำเนินวิจัย

Anthracene-based CDA

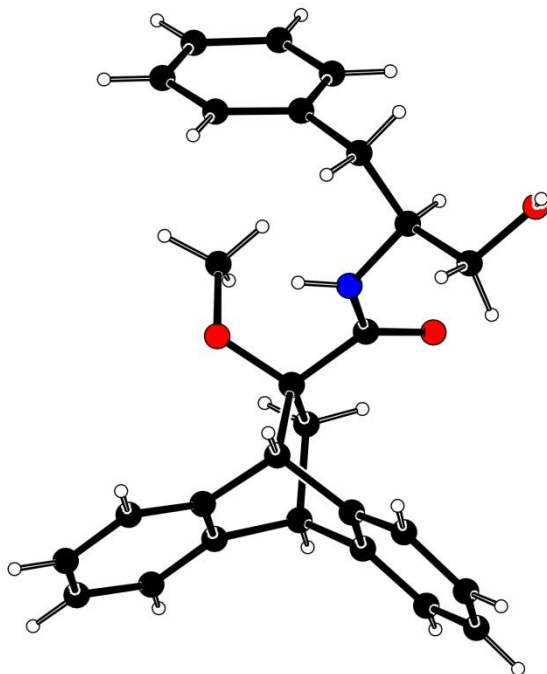
สาร enantiomer (*R*)-1 และ (*S*)-1 สามารถสังเคราะห์ได้ดังแสดงในแผนภาพ 1 โดยจะเริ่มจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง methyl pyruvate 2 กับ trimethyl orthoformate 3 โดยใช้กรดซัลฟิวริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้สารประกอบ 4 คิดเป็น 75 % yield จากนั้นนำสารประกอบ 4 มากลั่นที่อุณหภูมิ 140 °C เพื่อกำจัด MeOH โดยใช้ *p*-TsOH เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้ dienophile 5 คิดเป็น 85 % yield แล้วจึงนำมาทำปฏิกิริยา Diels-Alder กับ anthracene 6 จะได้สารประกอบ *rac*-7 คิดเป็น 38 % yield จากนั้นสารประกอบ *rac*-8 จะถูกทำปฏิกิริยา hydrolysis ต่อกลายเป็นสารประกอบ *rac*-1 คิดเป็น 89 % yield จากนั้น จะนำสารประกอบ *rac*-1 มาทำ resolution ผ่านปฏิกิริยา amidation กับ

L-phenylalaninol โดยใช้ oxalyl chloride เป็น coupling reagent จะได้คู่ diastereomer (*R,S*)-8 (40 % yield) และ (*S,S*)-9 (41 % yield) แล้วจึงนำแต่ละ diastereomer มาทำปฏิกิริยา hydrolysis อีกครั้ง เพื่อให้ได้สารประกอบ (*R*)-(+)-1 (94 % yield) และ (*S*)-(-)-1 (83 % yield) ตามลำดับ



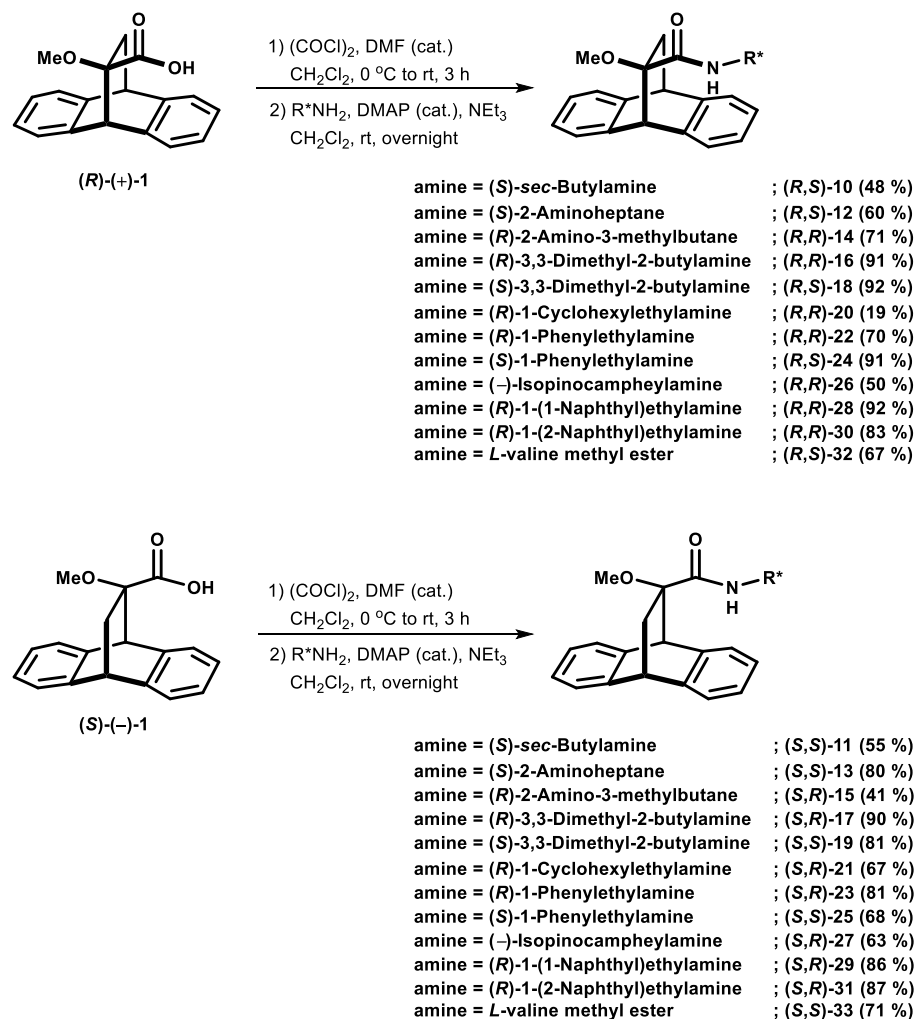
แผนภาพ 1. สรุปวิธีการสังเคราะห์สาร optically active 1

ทั้งนี้ สารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดสามารถยืนยันโครงสร้างที่ถูกต้องด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, และ MS นอกจากนี้ stereochemistry ที่ถูกต้องของ diastereomer (*R,S*)-8 สามารถถูกยืนยันได้จากเทคนิค x-ray crystallography (ดังแสดงในภาพ 1)



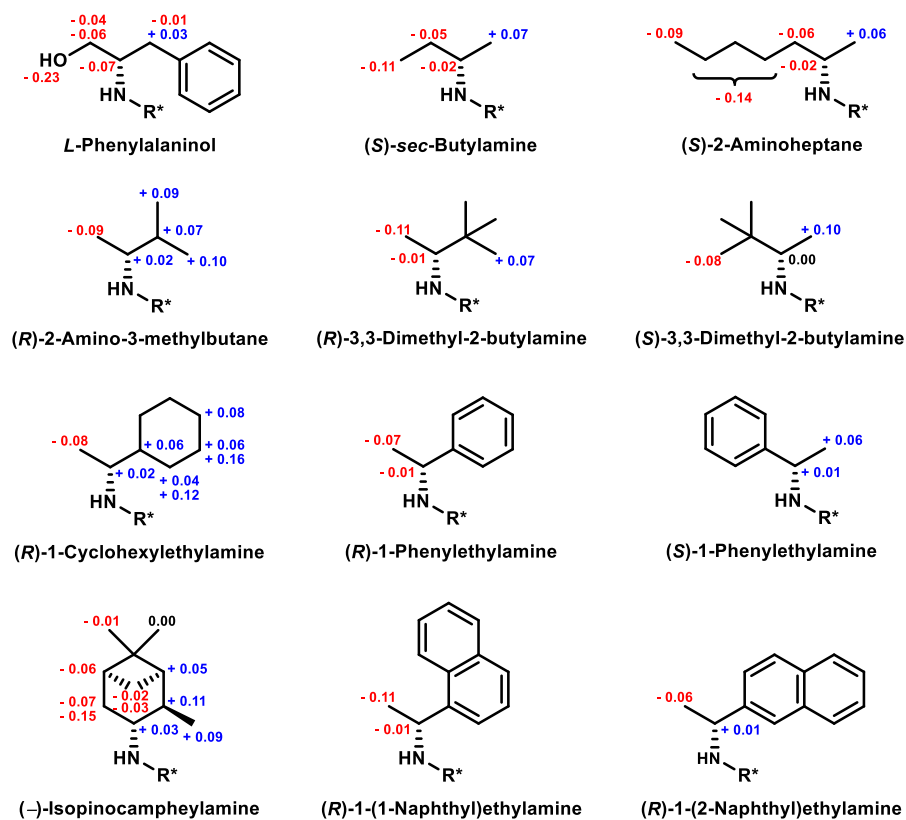
ภาพ 1. โครงสร้าง diastereomer (*R,S*)-8 จากเทคนิค x-ray crystallography

สาร enantiomer (*R*)-1 และ (*S*)-1 ที่ได้ นำมาใช้ศึกษาการระบุดอกพันธุ์ของสารไครัล^{1°} เอมีน โดยนำมาทำปฏิกิริยา amidation กับไครัล ^{1°} เอมีนที่รู้ stereochemistry ที่แน่นอน ได้แก่ (*S*)-sec-butylamine, (*S*)-2-aminoheptane, (*R*)-2-amino-3-methylbutane, (*R*)-3,3-dimethyl-2-butylamine, (*S*)-3,3-dimethyl-2-butylamine, (*R*)-1-cyclohexylethylamine, (*R*)-1-phenylethylamine, (*S*)-1-phenylethylamine, (–)-isopinocampheylamine, (*R*)-1-(1-naphthyl)ethylamine, (*R*)-1-(2-naphthyl)ethylamine และ *L*-valine methyl ester โดยใช้ oxalyl chloride เป็น coupling reagent ดังแผนภาพ 3 จะได้คู่ diastereomer 11 คู่ ได้แก่ (*R,S*)-10 (48 % yield), (*S,S*)-11 (55 % yield), (*R,S*)-12 (60 % yield), (*S,S*)-13 (80 % yield), (*R,R*)-14 (71 % yield), (*S,R*)-15 (41 % yield), (*R,R*)-16 (91 % yield), (*S,R*)-17 (90 % yield), (*R,S*)-18 (92 % yield), (*S,S*)-19 (81 % yield), (*R,R*)-20 (19 % yield), (*S,R*)-21 (67 % yield), (*R,R*)-22 (70 % yield), (*S,R*)-23 (81 % yield), (*R,S*)-24 (91 % yield), (*S,S*)-25 (68 % yield), (*R,R*)-26 (50 % yield), (*S,R*)-27 (63 % yield), (*R,R*)-28 (92 % yield), (*S,R*)-29 (86 % yield), (*R,R*)-30 (83 % yield), (*S,R*)-31 (87 % yield), (*R,S*)-32 (67 % yield) และ (*S,S*)-33 (71 % yield)



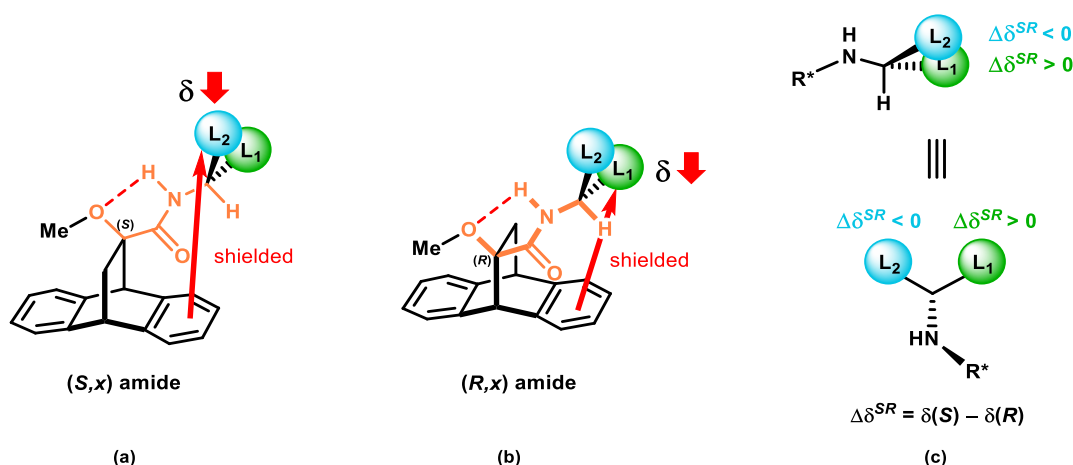
แผนภาพ 3. ปฏิกิริยา amidation ของสาร **(R)-1** และ **(S)-1** กับไครัล 1° เอมีน

ซึ่งข้อมูลความแตกต่างของสัญญาณจาก ¹H NMR สเปกตรัม สามารถนำมาคำนวณหาความแตกต่างของค่าเคมีเคิลชิฟท์ ($\Delta\delta^{SR}$; $\Delta\delta^{SR} = \delta_{(S,X)} - \delta_{(R,X)}$) ได้ ดังสรุปในภาพ 2



ภาพ 2. ค่าความแตกต่างของค่าเคมีเคิลชิฟท์จาก $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัม

เพื่อนำผลความแตกต่างของค่าเคมีเคิลชิฟท์มาพิจารณาหาคอนฟิกูเรชันสัมบูรณ์ จึงได้เสนอแบบจำลอง (แผนภาพ 4) โดยผลของ H-bonding (---) ระหว่างหมู่ -OMe กับ NH ของ amide ทำให้ conformation ของ amide ถูกควบคุมให้แสดงในแบบจำลอง ดังนั้นในกรณี (S,X)-amide (แผนภาพ 4a) หมู่ L_2 จะอยู่ด้านเดียวกันกับหมู่อะโรมาติกที่ให้ผล anisotropic แบบ shielding ทำให้ค่า chemical shift ของโปรตอนของหมู่ L_2 มีค่าลดลง ในทางตรงกันข้าม ค่าเคมีเคิลชิฟท์ของโปรตอนของหมู่ L_1 ในกรณี (R,X)-amide (แผนภาพ 4b) จะมีค่าลดลง เพราะหมู่ L_1 จะอยู่ด้านเดียวกันกับหมู่อะโรมาติกที่ให้ผล anisotropic แบบ shielding แทน เมื่อนำค่าเคมีเคิลชิฟท์ที่ได้มาคำนวณหาค่า $\Delta\delta^{SR}$ จะได้ว่า โปรตอนของหมู่ L_1 จะมีค่า $\Delta\delta^{SR}$ เป็นลบ และโปรตอนของหมู่ L_2 จะมีค่า $\Delta\delta^{SR}$ เป็นบวก (แผนภาพ 4c) ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้ในภาพ 2



แผนภาพ 4. แบบจำลองแสดงผล anisotropic ที่มีต่อค่าเคมีเคลิชิฟของสาร

(a) (S)-(-)-1 และ (b) (R)-(+)-1 กับไครัล 1° เอมีน พร้อมทั้ง (c) ค่า $\Delta\delta^{SR}$ ที่ได้

นอกจากนี้ ในกรณีของไครัล 1° เอมีนที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่อะโรมาติก ((R)-1-phenylethylamine, (S)-1-phenylethylamine, (–)-isopinocampheylamine, (R)-1-(1-naphthyl)ethylamine และ (R)-1-(2-naphthyl)ethylamine) ผล anisotropic แบบ shielding ของหมู่อะโรมาติกสามารถส่งผลต่อค่า chemical shift ของโปรตอนตำแหน่งเบต้าของสาร 1 ได้ ดังสรุปด้วยค่า $\Delta\delta^{SR}$ ของโปรตอน H_1 และ H_{3b} ใน ภาพ 3

(S,x) amide

(R,x) amide

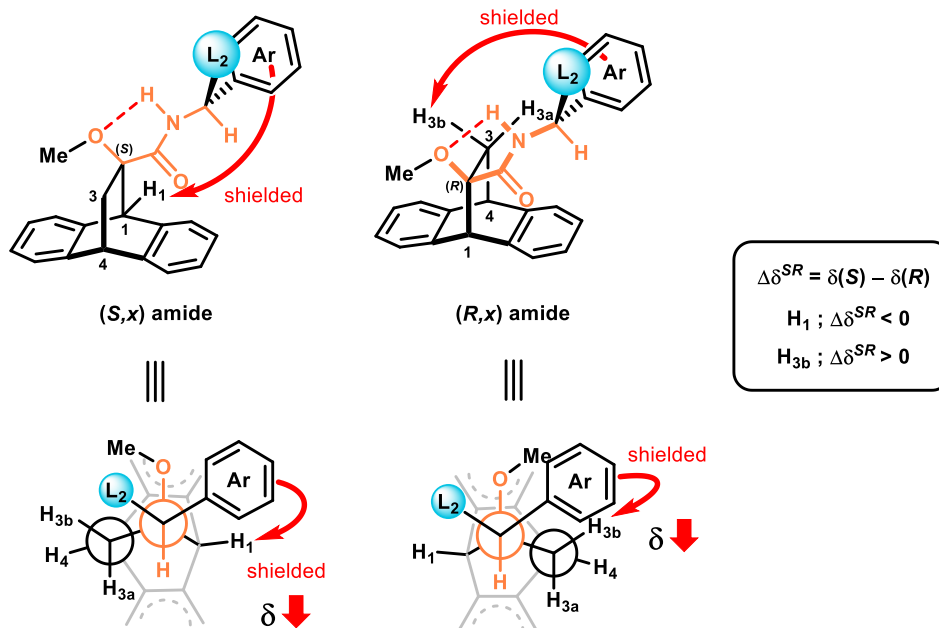
	L_1	L_2	$\Delta\delta^{SR} (H_1)$	$\Delta\delta^{SR} (H_{3b})$
amine = (R)-1-Phenylethylamine	Ph	Me	-0.11	+0.04
amine = (S)-1-Phenylethylamine	Me	Ph	+0.11	-0.05
amine = (R)-1-(1-Naphthyl)ethylamine	1-Naph	Me	-0.18	+0.08
amine = (R)-1-(2-Naphthyl)ethylamine	2-Naph	Me	-0.14	+0.06

ภาพ 3. ค่าความแตกต่างของค่าเคมีเคลิชิฟของโปรตอนตำแหน่งเบต้าจาก $^1\text{H-NMR}$ สเปกตรัม

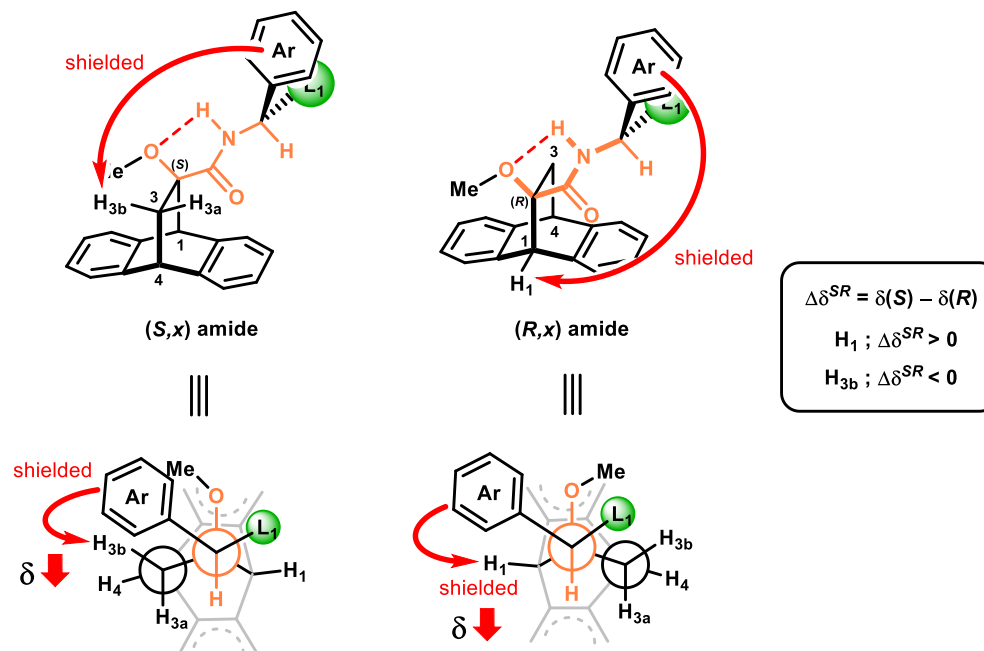
จากผลการทดลองที่ได้ จึงได้เสนอแบบจำลองเพื่อแสดงความสัมพันธ์ของความแตกต่างของค่าเคมีเคลชิฟท์กับผล anisotropic ของหมู่เอโรมาติกของไครัล 1° เอมีน (แผนภาพ 5) ในกรณี $L_1 = Ar$ (แผนภาพ 5a) โปรตอน H_1 ใน (S,X)-amide และ H_{3b} ใน (R,X)-amide จะได้ผล anisotropic แบบ shielding จากหมู่เอโรมาติกของไครัล 1° เอมีน ส่งผลให้ค่า chemical shift ลดลง เมื่อนำค่าเคมีเคลชิฟท์ที่ได้มาคำนวณหาค่า $\Delta\delta^{SR}$ จะได้ว่า โปรตอน H_1 จะมีค่า $\Delta\delta^{SR}$ เป็นลบ และโปรตอน H_{3b} จะมีค่า $\Delta\delta^{SR}$ เป็นบวก ในทางตรงกันข้าม ค่า chemical shift ของโปรตอน H_{3b} ใน (S,X)-amide และ H_1 ใน (R,X)-amide จะลดลงในกรณีที่ $L_2 = Ar$ แทน (แผนภาพ 5b) ซึ่งจะได้ว่าในกรณีนี้ ค่า $\Delta\delta^{SR}$ ของโปรตอน H_1 จะเป็นบวก และค่า $\Delta\delta^{SR}$ ของโปรตอน H_{3b} จะเป็นลบ โดยผลที่ได้จากทั้งสองกรณีสอดคล้องกับค่าที่ได้ในภาพ 3

จากผลการทดลองและแบบจำลองที่สร้างขึ้น ทำให้สามารถหาคอนฟิเกอเรชันสัมบูรณ์ของสารไครัล 1°-เอมีนได้อย่างถูกต้อง

(a) $L_1 = \text{Ar}$



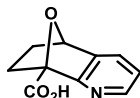
(b) $L_2 = \text{Ar}$



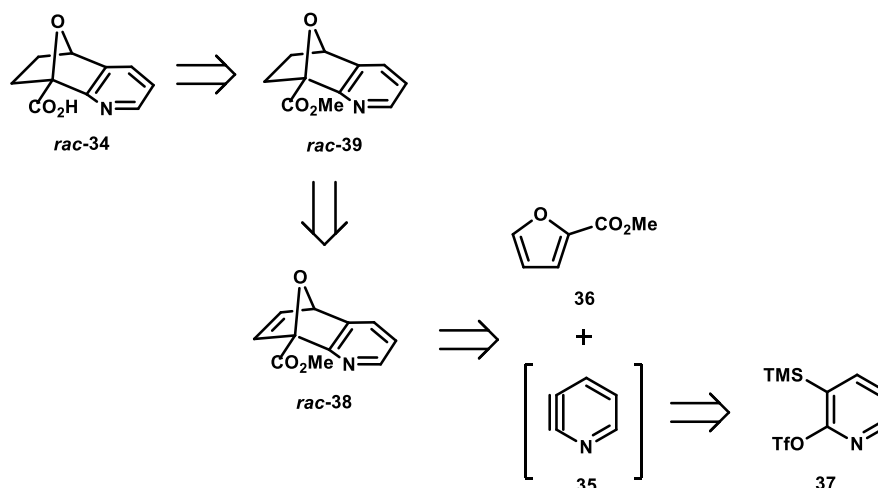
แผนภาพ 5. แบบจำลองแสดงผล anisotropic ที่มีต่อค่าเคมีเคิลชิฟท์ของสาร (S)-(-)-1 และ (R)-(+)-1 กับไครัล 1° เอมีน ในกรณี (a) $L_1 = \text{Ar}$ และ (b) $L_2 = \text{Ar}$ พร้อมทั้งค่า $\Delta\delta^{SR}$ ที่ได้ในแต่ละกรณี

Pyridine-based CDA

กลุ่มผู้วิจัยได้ทำการศึกษาแนวทางการเตรียมสารอนุพันธ์ไครัลที่มีหมู่ pyridine เป็นองค์ประกอบ (สาร **34** หรือสารอนุพันธ์) เพื่อศึกษาผล anisotropic effect ของหมู่ pyridine เทียบกับหมู่ benzene

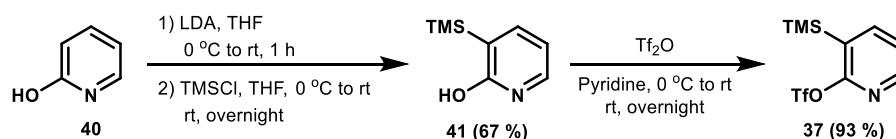


ซึ่งการสังเคราะห์สารประกอบ *rac*-**34** มีแผนการสังเคราะห์ดังแสดงในแผนภาพ 6 ซึ่งมีปฏิกิริยา Diels-Alder ระหว่าง pyridyne **35** และ furan derivative **36** เป็นปฏิกิริยาหลักในการสังเคราะห์



แผนภาพ 6. แผนการสังเคราะห์สารประกอบ *rac*-**34**

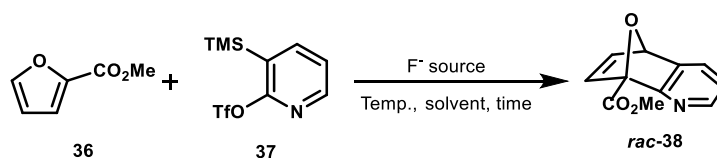
ในการสังเคราะห์สารประกอบ *rac*-**34** จะเริ่มจากการเตรียม pyridyne precursor **37** จากการทำปฏิกิริยา *ortho*-lithiation – silylation ของสารประกอบ **40** โดยใช้ LDA เป็นเบส จะได้สารประกอบ **41** คิดเป็น 67 % yield ซึ่งจะถูกลำบากปฏิกิริยาต่อกับ Tf₂O กลายเป็นสารประกอบ **37** คิดเป็น 93 % yield (แสดงในแผนภาพ 7)



แผนภาพ 7. การเตรียมสารประกอบ **37**

จากนั้นทำปฏิกิริยา Diels-Alder ระหว่าง pyridyne **35** (ซึ่งเกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง pyridyne precursor **37** และ fluoride (F^- source)) กับ methyl-2-furoate **36** โดยมี reaction condition และผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1

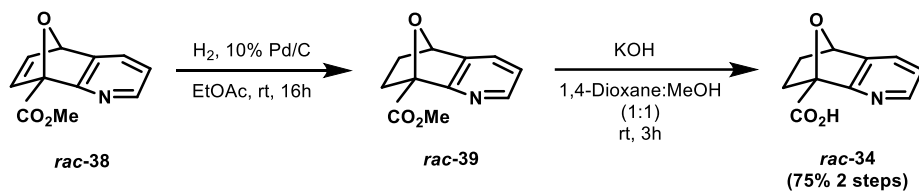
ตารางที่ 1 reaction condition และผลการทดลองของการทำปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบ **36** และ **37**



Entry	F^- source (4 eq.)	Amount of furan 36 (mL)	Solvent	Temp.	Time	% Yield
1	CsF	0.7	MeCN	rt	24 h	0.7
2	CsF	0.7	neat	rt	Overnight	2.4
3	CsF	5.0	neat	rt	Overnight	5.0
4	CsF	2.0	neat	rt	Overnight	4.1
5	CsF	2.0	neat	rt	1 h	1.7
6	CsF ^a	2.0	neat	rt	2 h	5.3
7	CsF ^a	2.0	neat	rt	1 h	4.1
8	CsF ^a	2.0	neat	rt	30 min	1.9
9	CsF ^a	2.0	neat	rt	Overnight	4.4
10	CsF ^a	2.0	neat	0 °C to rt	1 h	4.1
11	CsF ^a	2.0	neat	0 °C	1 h	0.8
12	CsF ^a	2.0	neat	0 °C	6 h	3.1
13	TBAF	2.0	neat	rt	2 h	2.3
14	1M TBAF	2.0	neat	rt	Overnight	Not observed

a: flame dry under vacuum prior to use.

จากผลการทดลองพบว่า reaction condition ใน entry 6 ซึ่งใช้ CsF เป็น F^- source และทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะทำให้ได้ % yield ของสารผลิตภัณฑ์ *rac*-38 มากที่สุด ซึ่งเมื่อนำมาทำปฏิกิริยา hydrogenation และปฏิกิริยา hydrolysis จะได้สารผลิตภัณฑ์ *rac*-34 (75% yield จาก 2 ขั้นตอน) ตามต้องการ (แผนภาพ 8)

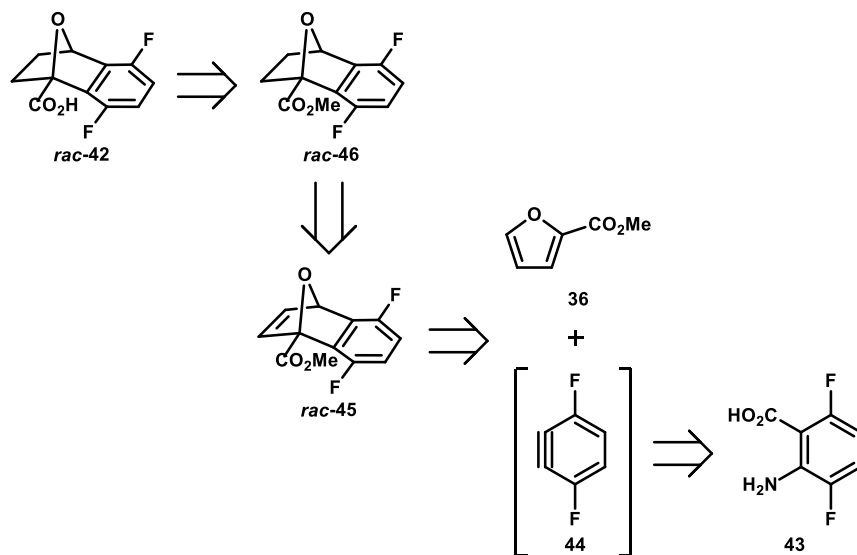


แผนภาพ 8. การเตรียมสารประกอบ *rac*-34

อย่างไรก็ดี ไม่สามารถดำเนินการแยกสารผสม *rac*-34 ให้เป็นสาร optically active ได้ โดยมีสมมติฐานว่า หมู่ pyridiyl ในโมเลกุล เป็นตัวช่วยเร่งให้เกิดปฏิกิริยา hydrolysis ทำให้ไม่สามารถเตรียมอนุพันธ์เอสเทอร์ได้

Fluorine-containing CDA

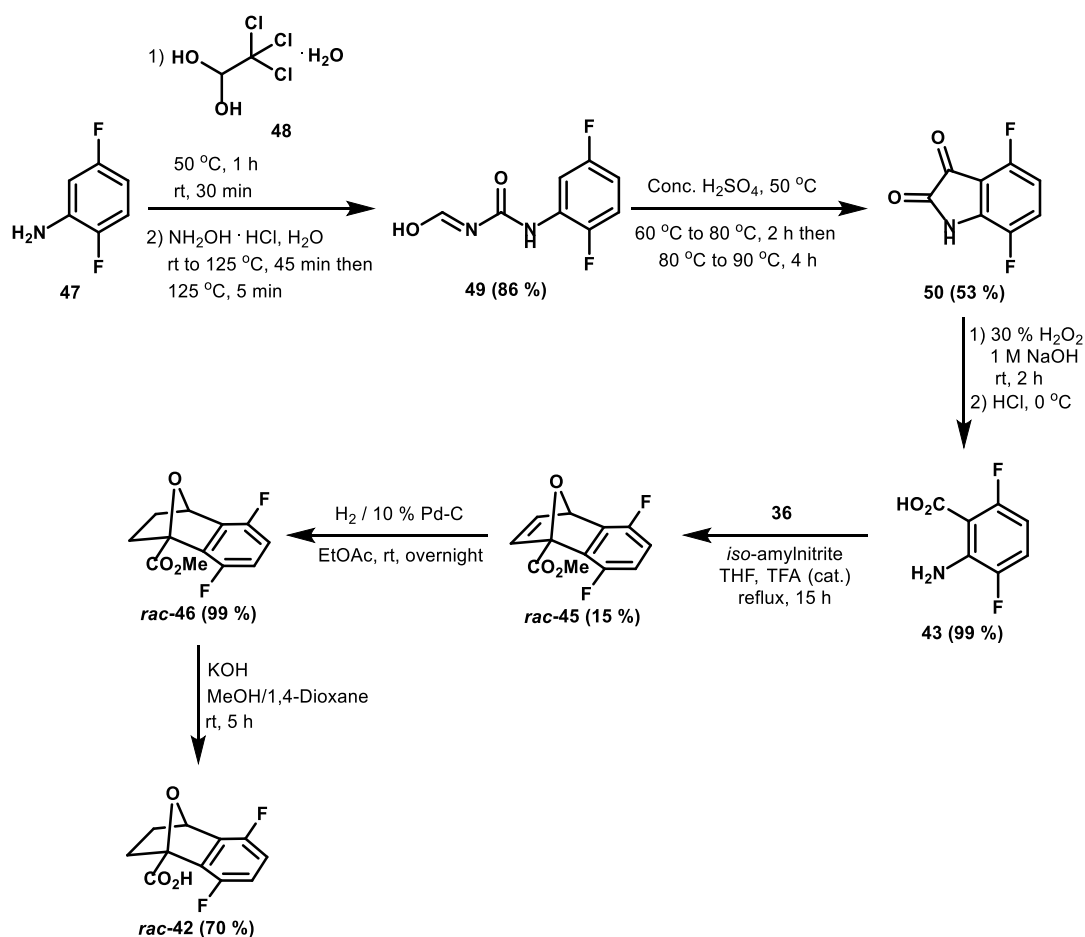
สารประกอบ 42 ที่มีอะตอมของ F อยู่ในโครงสร้างโมเลกุลได้ถูกออกแบบและสังเคราะห์ขึ้นเพื่อศึกษาการใช้ ^{19}F -NMR ในการบอก absolute configuration ของ chiral 2°-alcohol โดยแผนการสังเคราะห์สารประกอบ 18 แสดงในแผนภาพ 9



แผนภาพ 9. การเตรียมสารประกอบ *rac*-42

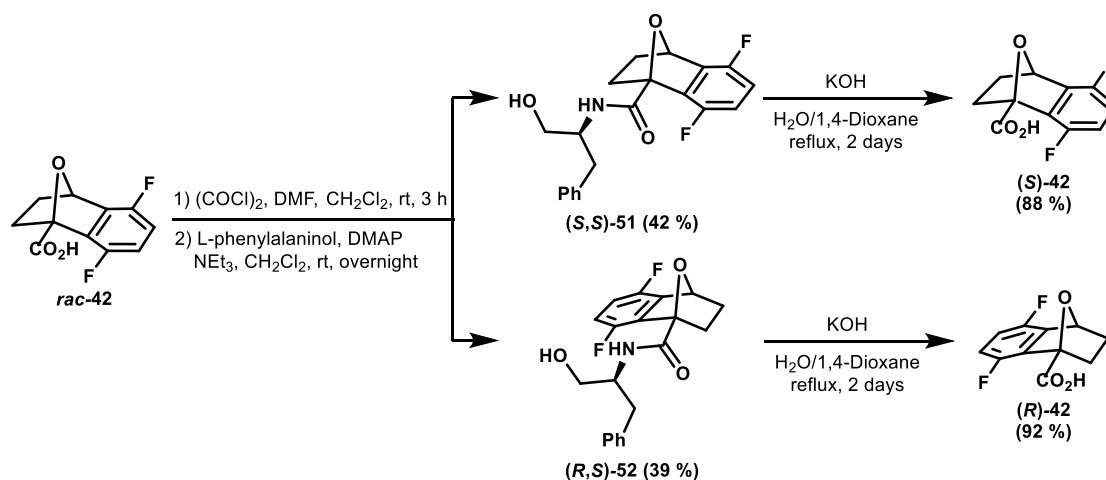
สาร FF-THENA **rac-42** สามารถสังเคราะห์ได้โดยเริ่มจากปฏิกิริยา Sandmeyer isonitrosoacetanilide isatin synthesis ของ 2,5-difluoroaniline (**47**) chloral hydrate (**48**) และ hydroxylamine ในกรดซัลฟูริก จะได้สารประกอบ **50** คิดเป็น 53 % yield ซึ่งจะถูกทำปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อได้เป็นสาร difluoroanthranilic acid **43** คิดเป็น 99 % yield ซึ่งสารดังกล่าวจะใช้เป็น precursor ของ difluorobenzene **44**

ปฏิกิริยา Diels-Alder ระหว่าง methyl-2-furoate (**36**) และ difluorobenzene **44** เกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูง ซึ่ง difluorobenzene **44** ถูกเตรียมขึ้นจาก difluoroanthranilic acid **43** ทำปฏิกิริยากับ iso-amyl nitrite โดยใช้กรด trifluoroacetic acid (TFA) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้สารผลิตภัณฑ์ **rac-45** คิดเป็น 15 % yield ขั้นตอนถัดไปคือ ปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนที่ตำแหน่งพันธะคู่ของสารประกอบ **rac-45** โดยใช้ 10% Pd/C เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้สารประกอบ **rac-46** คิดเป็น 99 % yield ซึ่งเมื่อนำมาทำปฏิกิริยา hydrolysis ในสภาวะที่เป็นเบส จะได้สารประกอบ FF-THENA **rac-42** คิดเป็น 70 % yield (แสดงในแผนภาพ 10)



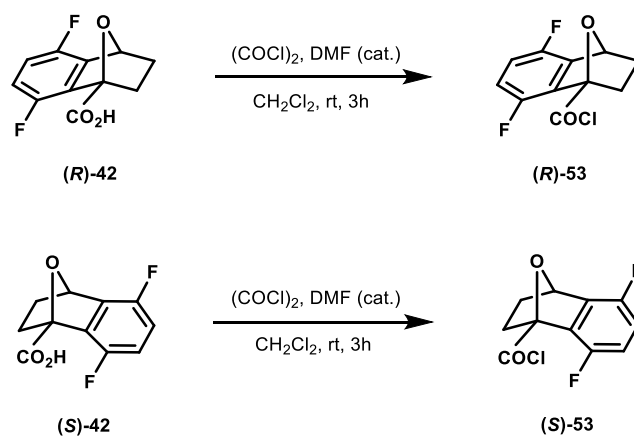
แผนภาพ 10. การเตรียมสารประกอบ FF-THENA *rac*-42

การสังเคราะห์ในขั้นตอนถัดไป คือการทำ resolution เพื่อแยกคู่ enantiomers ของสารประกอบ FF-THENA *rac*-42 ที่สังเคราะห์ได้นั้นออกจากกัน โดยนำสารประกอบ FF-THENA *rac*-42 มาทำปฏิกิริยา amidation กับ *L*-phenylalaninol เพื่อให้ได้สารที่มีคุณสมบัติเป็นคู่ diastereomers กัน ได้แก่สารประกอบ (*S,S*)-51 และ (*R,S*)-52 และสามารถแยกสารทั้ง 2 ตัว ออกจากกันได้โดยเทคนิคทาง Chromatography จากนั้นทำปฏิกิริยา hydrolysis ของสารประกอบ (*S,S*)-51 และ (*R,S*)-52 จะได้สาร optically active ที่ต้องการทั้ง 2 ตัว คือ FF-THENA (*S*)-42 และ (*R*)-42 เพื่อใช้เป็น CDA (แสดงในแผนภาพ 11)

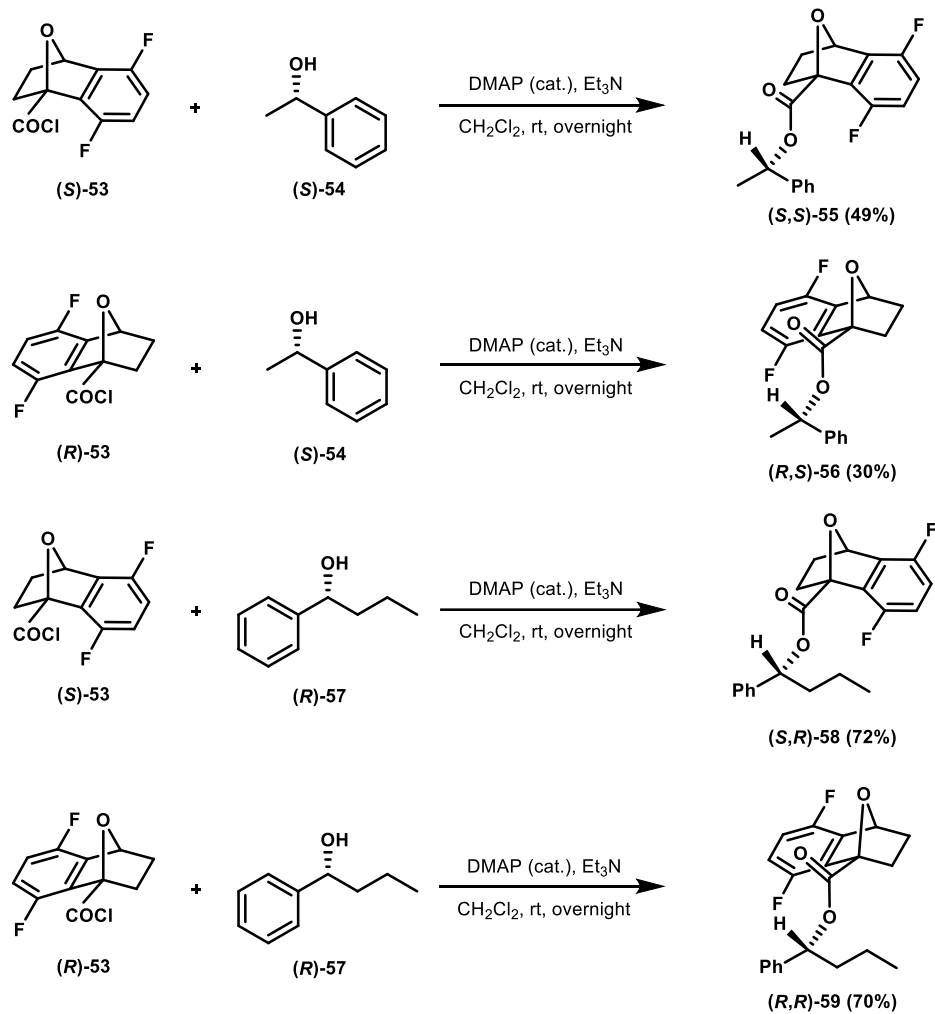


แผนภาพ 11. การแยกของผสมราซีมิกของสารประกอบ FF-THENA *rac*-42

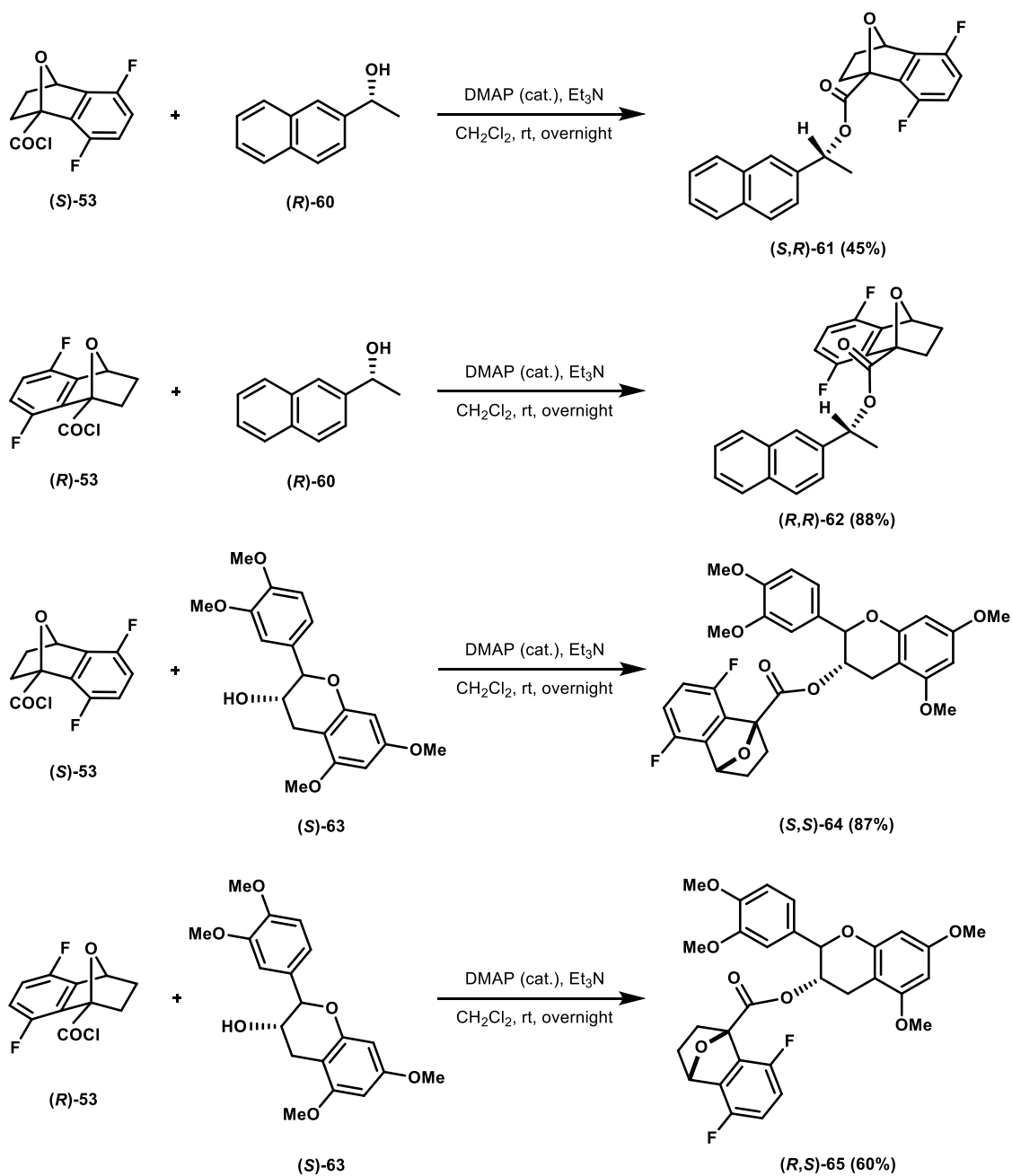
การใช้สาร 42 เพื่อใช้บอกคอนฟิกูเรชันของสารแอลกอฮอล์ สามารถทำได้โดยเปลี่ยนหมู่คาร์บอกซิลิกให้เป็นหมู่แอซิด คลอไรด์ 53 (แผนภาพ 12) จากนั้นทำปฏิกิริยาระหว่างสารแอซิด คลอไรด์ 53 กับสารไครัล แอลกอฮอล์ที่ทราบคอนฟิกูเรชันแล้ว (แผนภาพ 13) และเปรียบเทียบค่าผลต่างเคมีคัลชิฟต์จาก ^{19}F -NMR สเปกตรัม (ภาพ 4)



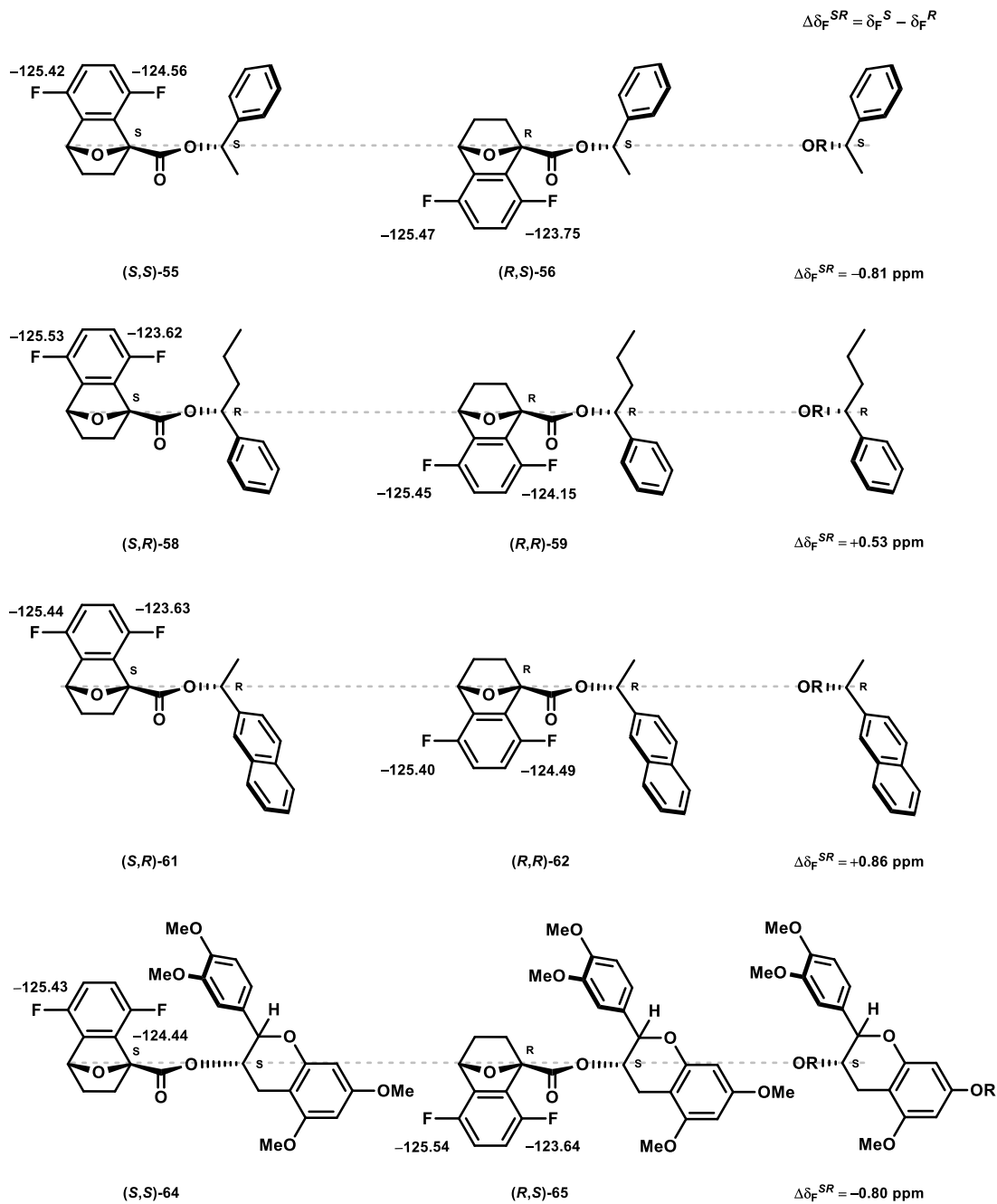
แผนภาพ 12. การเตรียมแอซิด คลอไรด์ของสาร 53



แผนภาพ 13. การทำปฏิกิริยาระหว่างแอซิด คลอไรด์ 53 และสารไครัลแอลกอฮอล์



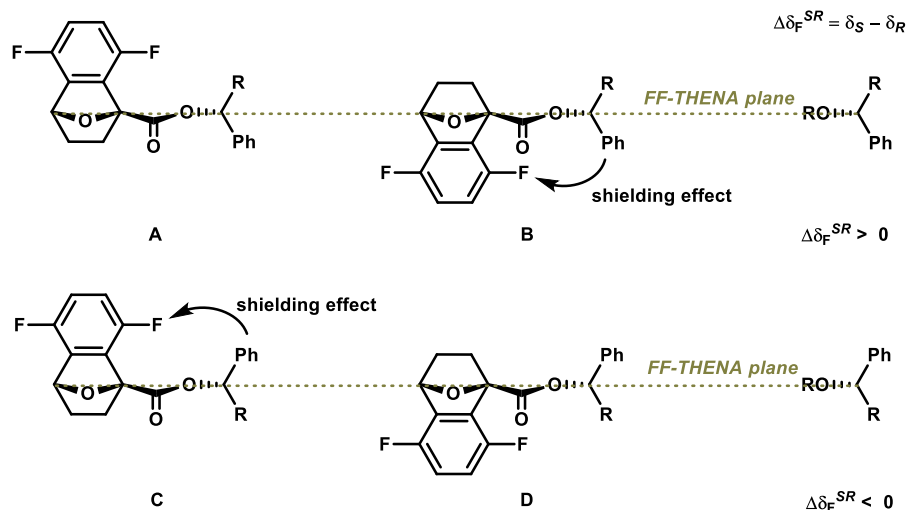
แผนภาพ 13. (ต่อ) การทำปฏิกิริยาระหว่างแอซิด คลอไรด์ 53 และสารไครัลแอลกอฮอล์



ภาพ 4. เปรียบเทียบค่าผลต่างเคมีคัลชิฟต์จาก ^{19}F NMR สเปกตรัม

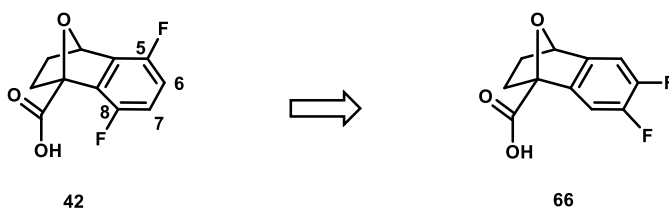
สำหรับแบบจำลองของ FF-THENA เพื่อใช้ในการบอกคอนฟิกูเรชันสัมบูรณ์โดยใช้ ^{19}F NMR สามารถอธิบายได้ดังนี้ ฟลูออรีนอะตอมของสาร B และ C จะได้รับผล shield จากวงอะโรมาติกของสารไครัลแอลกอฮอล์ ทำให้มีค่าเคมีคัลชิฟต์น้อยใน ^{19}F NMR สเปกตรัม ในทางตรงกันข้าม กรณีของ A และ D ฟลูออรีนอะตอมจะได้รับผล shield จากวงอะโรมาติกของสารไครัลแอลกอฮอล์เพียงเล็กน้อย เนื่องจาก

ฟลูออรีนอะตอมอยู่ไกลจากวงอะโรมาติก ดังนั้นค่าผลต่างของเคมีคัลชิฟต์ ($\Delta\delta_F^{SR} = \delta_F^S - \delta_F^R$) ของ ^{19}F NMR ระหว่าง (S)- และ (R)-ester จะมีค่าเป็นบวกในกรณีที่วงอะโรมาติกของสารไครัลแอลกอฮอล์ อยู่ด้านล่างของ plane และจะมีค่าเป็นลบในกรณีที่วงอะโรมาติกของสารไครัลแอลกอฮอล์อยู่ด้านบนของ plane ดังแสดงในภาพ 5



ภาพ 5. แบบจำลองของ FF-THENA

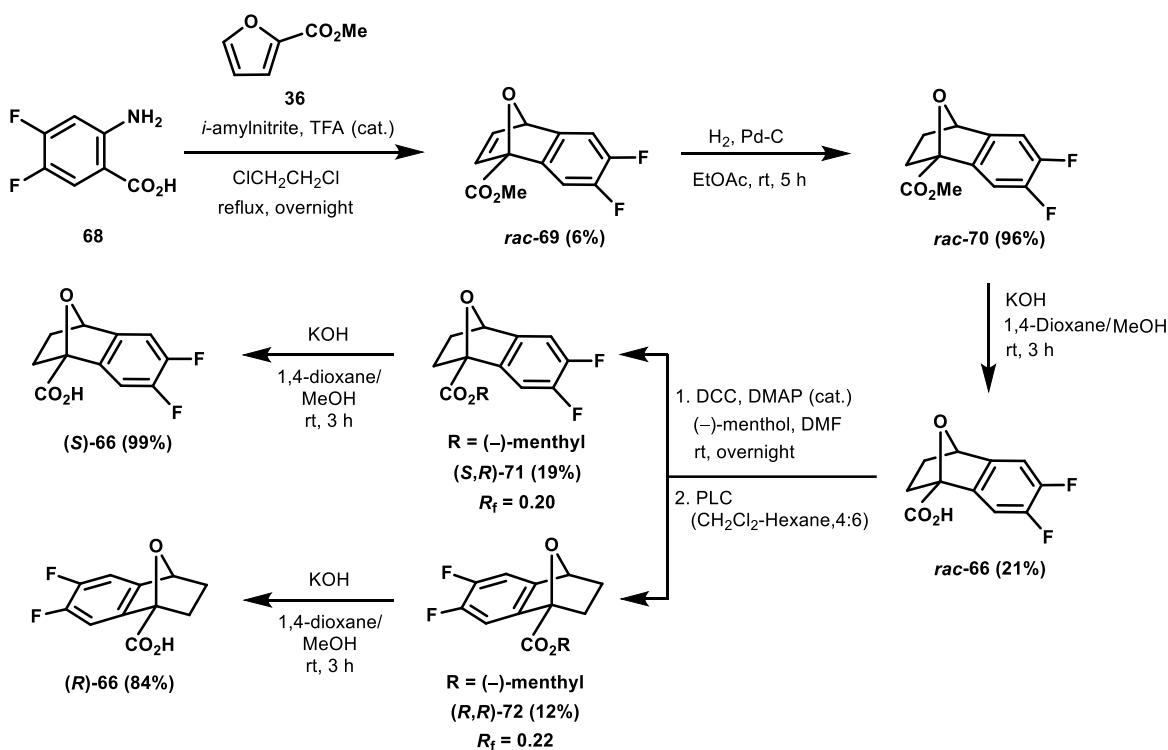
จากผลการทดลอง ฟลูออรีนที่ตำแหน่ง 8 เกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณใน ^{19}F -NMR มากกว่าฟลูออรีนที่ตำแหน่ง 5 เพื่อเป็นการศึกษาผลดังกล่าวให้ชัดเจน สารประกอบ 6,7-FF-THENA **66** ที่มีฟลูออรีนอะตอมที่ตำแหน่ง 6 และ 7 จึงถูกออกแบบขึ้น (แผนภาพ 14)



แผนภาพ 14. แสดงโครงสร้างเปรียบเทียบระหว่างสารประกอบ 5,8-FF-THENA และ 6,7-FF-THENA

ซึ่งการสังเคราะห์สาร **66** สามารถทำได้ดังสรุปในแผนภาพ 15 กล่าวคือ เริ่มจากปฏิกิริยา Diels-Alder ระหว่างสาร methyl furan-2-carboxylate (**36**) กับสาร difluorobenzyne **67** ซึ่งเตรียมได้จากปฏิกิริยา

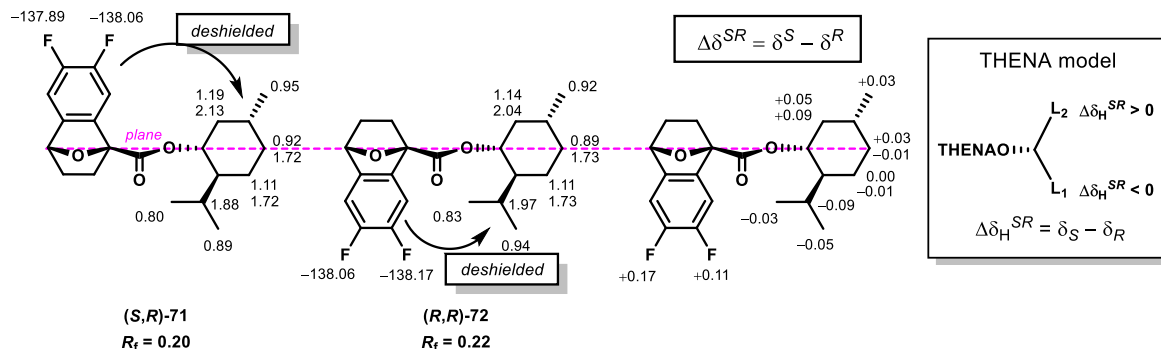
ระหว่าง สาร **68** กับ *iso*-amylnitrite ในสภาวะที่ใช้ Trifluoroacetic acid (TFA) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งจะได้สารประกอบ *rac*-**69** ในปริมาณค่อนข้างน้อยที่ 6% yield จากนั้นจึงนำผลิตภัณฑ์มาทำปฏิกิริยา hydrogenation บน 10% Pd-C catalyst แล้วตามด้วยปฏิกิริยา hydrolysis ในสภาวะที่เป็นเบส จะได้สารประกอบ *rac*-**66** ในรูปที่เป็น racemic mixture ซึ่งสามารถทำการแยก resolution โดยการทำปฏิกิริยากับ (–)-menthol จะได้คู่ diastereomers ซึ่งสามารถทำการแยกออกจากกันได้โดยการทำ preparative thin layer chromatography ได้สาร (*S,R*)-**71** (19% yield) และ (*R,R*)-**72** (12% yield) จากนั้นจึงนำแต่ละ diastereomer มาทำปฏิกิริยา hydrolysis จะได้สาร (*S*)- และ (*R*)-**66** ที่เป็น optically active (แผนภาพ 15)



แผนภาพ 15. สรุปวิธีการสังเคราะห์และการทำ resolution ของสารประกอบ **66**

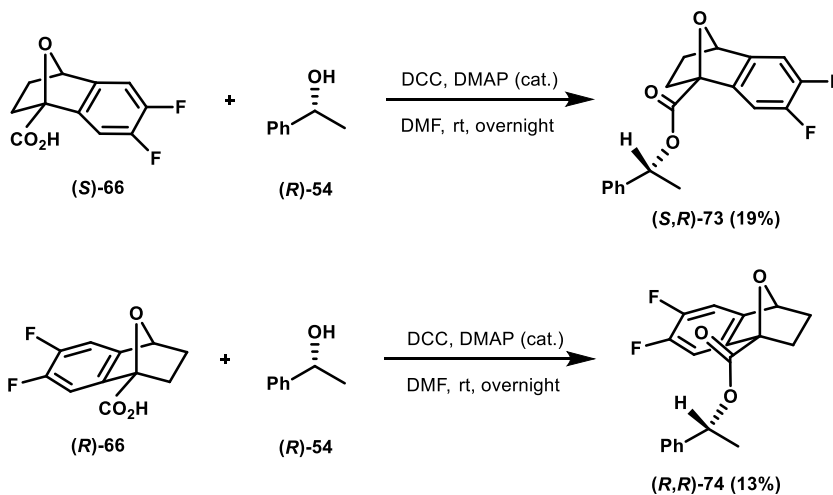
โดยอ้างอิงจากแบบจำลองที่ใช้ deshielding effect จากวง aromatic คล้ายกับในกรณีของ THENA ซึ่งค่าความแตกต่างของ chemical shift ($\Delta\delta^{\text{SR}}$) ของโปรตอนของหมู่แทนที่ที่อยู่เหนือระนาบจะมีค่าบวก ในขณะที่โปรตอนที่จัดอยู่ใต้ระนาบจะมีค่าลบ และการที่เรหาคอนฟิเกชันสมบูรณ์ของ (–)-menthol ทำให้สามารถระบุคอนฟิเกชันสมบูรณ์ของสาร 6,7-FF-THENA ได้ โดยส่วนของ 6,7-FF-THENA ที่ได้จาก diastereomer (FF-THENA-menthol) ที่มีค่า R_f ต่ำกว่า จะมีคอนฟิเกชันสมบูรณ์เป็น (*S*)-configuration

ในขณะที่ diastereomer (FF-THENA-menthol) ที่มีค่า R_f สูงกว่าจะมีคอนฟิเกชันสมบูรณ์เป็น (R)-configuration (ภาพ 6)



ภาพ 6. ค่าเคมีเคิลชิฟท์ของ (S,R)-71 และ (R,R)-72 รวมทั้งค่าความแตกต่างของค่า $\Delta\delta^{\text{SR}}$

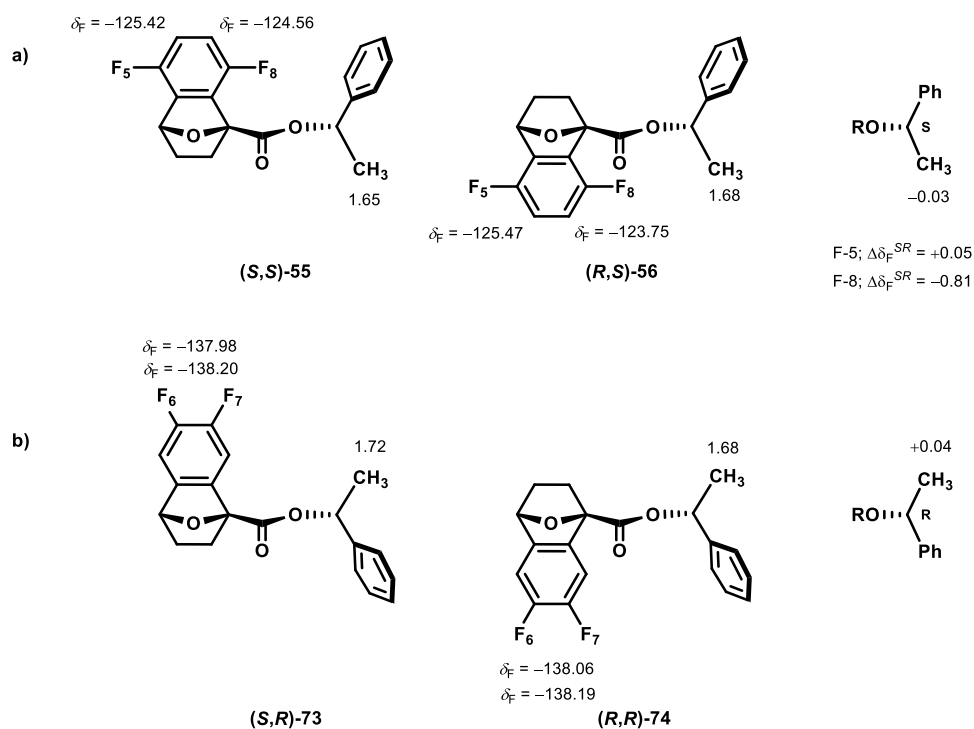
สาร optically active 6,7-FFTHENA สามารถทำปฏิกิริยากับ (R)-phenylethanol (R)-54 โดยใช้ DCC เป็น coupling reagent และ DMAP เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้สาร diastereomer (S,R)-73 (19%) และ (R,R)-74 (13%) ดังแสดงในแผนภาพ 16



แผนภาพ 16. ปฏิกิริยา esterification ของสาร optically active 6,7-FFTHENA กับสาร (R)-54

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของค่าเคมีเคิลชิฟท์ใน ^{19}F -NMR พบว่า ผลต่างของค่าเคมีเคิลชิฟท์ของ ฟลูออรีนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 8 เท่านั้น ที่ให้ค่าผลต่างของค่าเคมีเคิลชิฟท์มากที่สุดเมื่อเทียบกับฟลูออรีนที่ติด

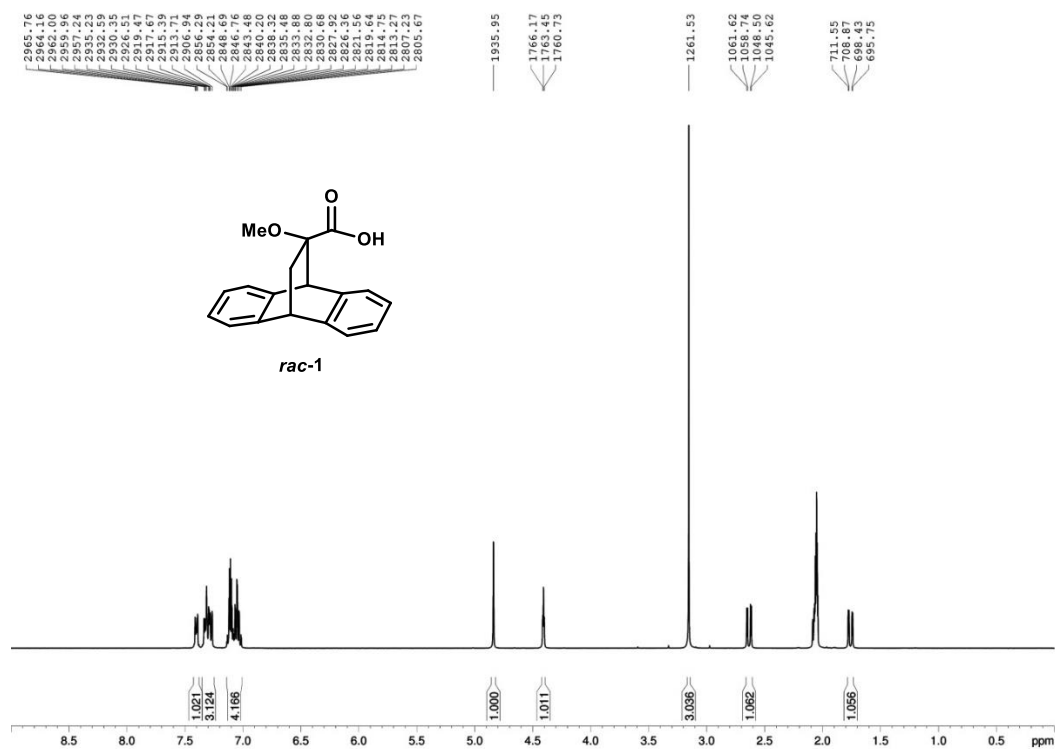
กับคาร์บอนตำแหน่งอื่นๆ เนื่องจากตำแหน่งของฟลูออรีนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 8 นั้น อยู่ใกล้กับ หมู่ anisotropic (benzene หรือ หมู่คาร์บอนิล) มากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามสารที่มีฟลูออรีนอยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 8 จะส่งผลต่อค่าผลต่างเคมีเคิลชิฟท์ในกรณีของ $^1\text{H-NMR}$ เล็กน้อย เนื่องจากผลของ steric ระหว่างฟลูออรีนอะตอมและส่วนที่เป็นอะโรมาติก ทำให้โมเลกุลมีการเปลี่ยนแปลง conformation (ภาพ 7)



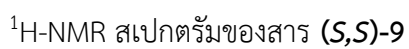
ภาพ 7. ค่า ^{19}F และ ^1H เคมีเคิลชิฟท์ของ a) 5,8-FF-THENA และ b) 6,7-FF-THENA กับสาร phenylethanol รวมทั้งค่าความแตกต่างของค่า $\Delta\delta^{SR}$

ข้อมูล NMR สเปกตรัม ที่สำคัญ

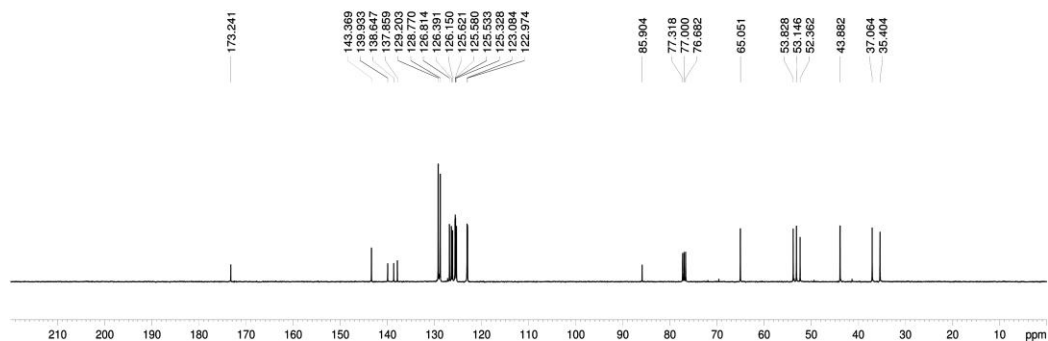
¹H-NMR สเปกตรัมของสาร *rac-1*



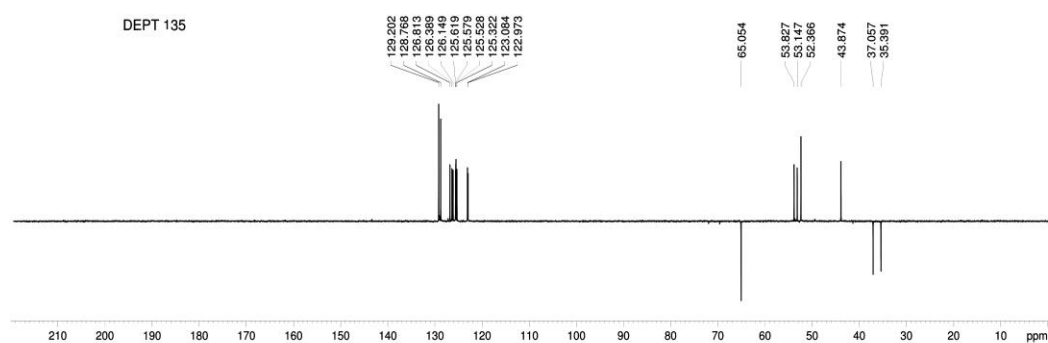
^{13}C -NMR สเปกตรัมของสาร *rac*-1



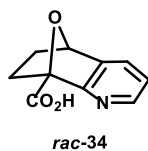
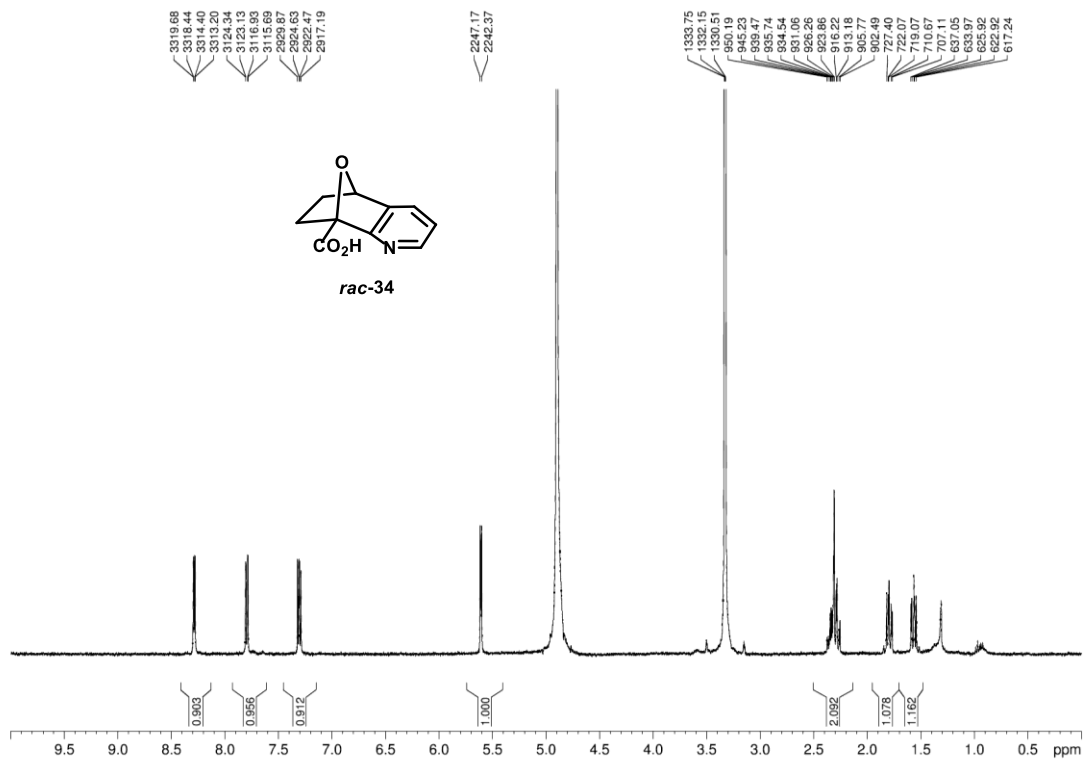
^{13}C -NMR สเปกตรัมของสาร (S,S)-9



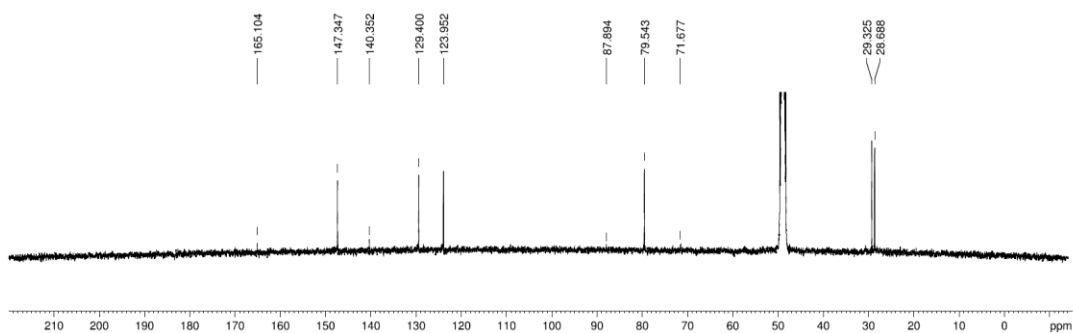
DEPT 135



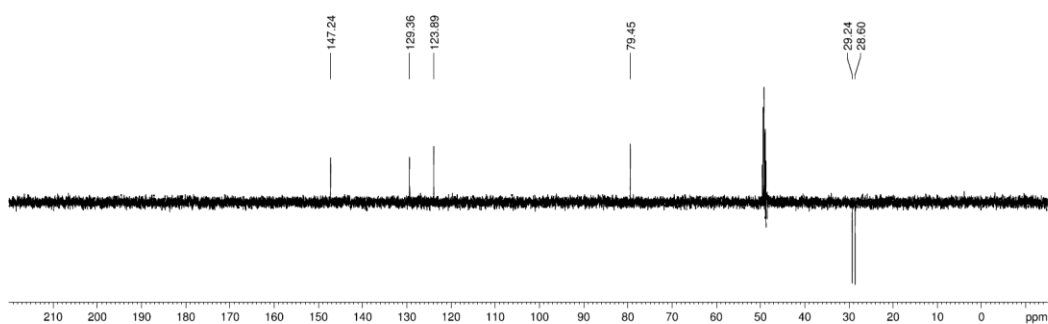
^1H -NMR สเปกตรัมของสาร *rac*-34



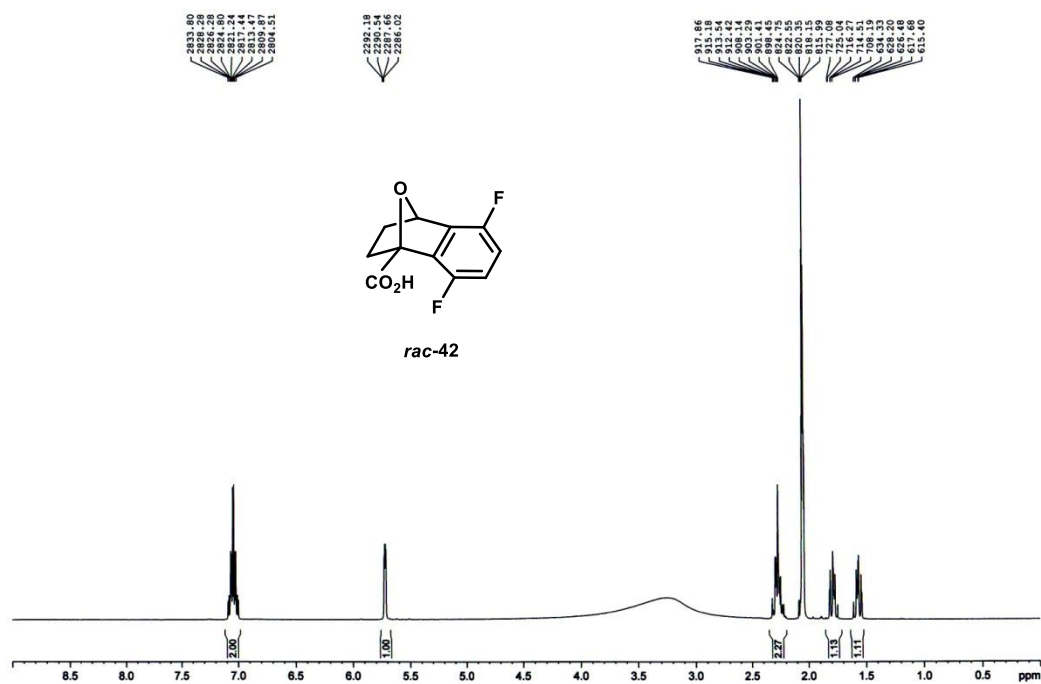
^{13}C -NMR สเปกตรัมของสาร *rac*-34



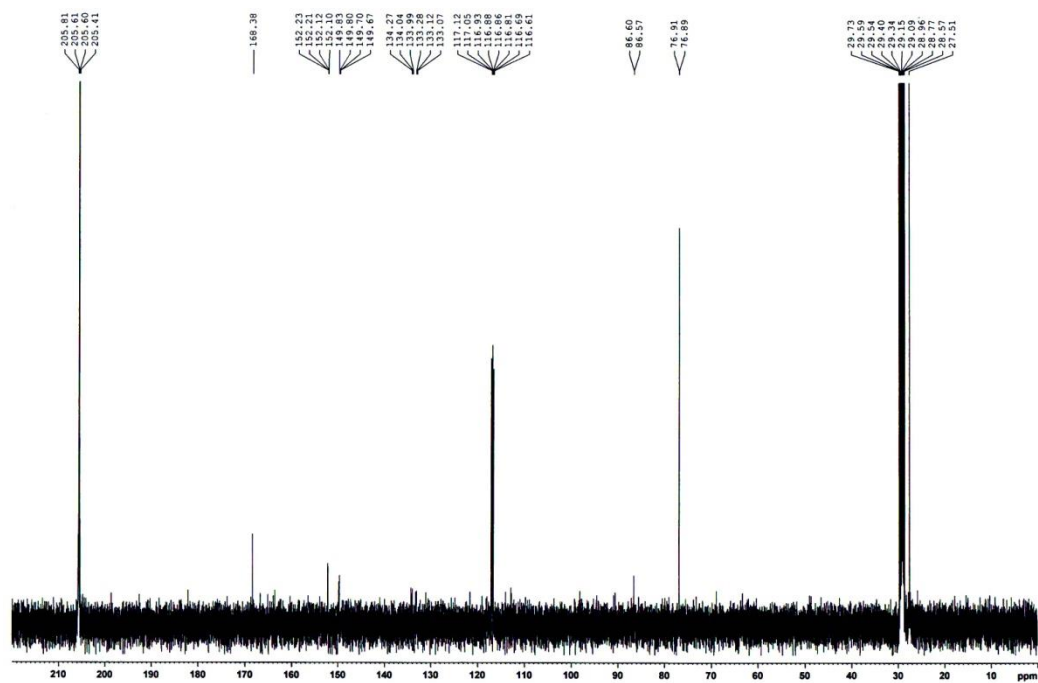
DEPT 135



^1H -NMR สเปกตรัมของสาร *rac*-42

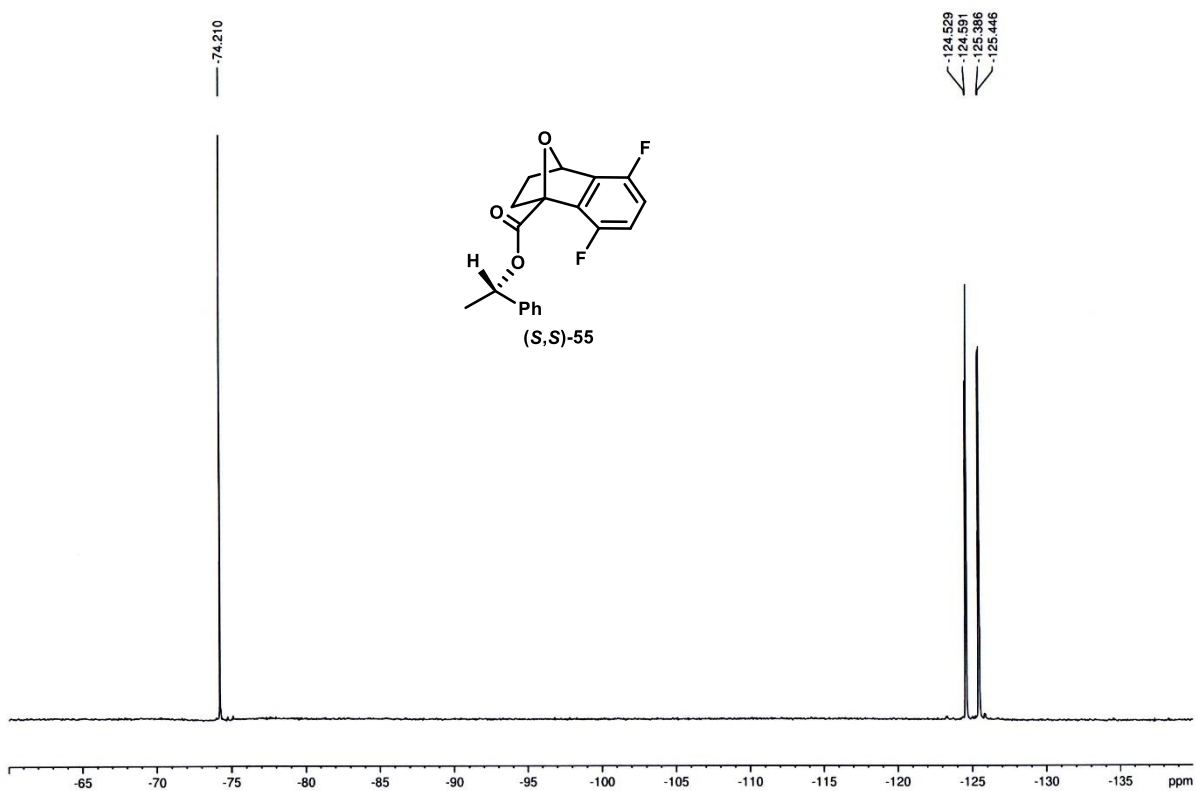


^{13}C -NMR สเปกตรัมของสาร *rac*-42

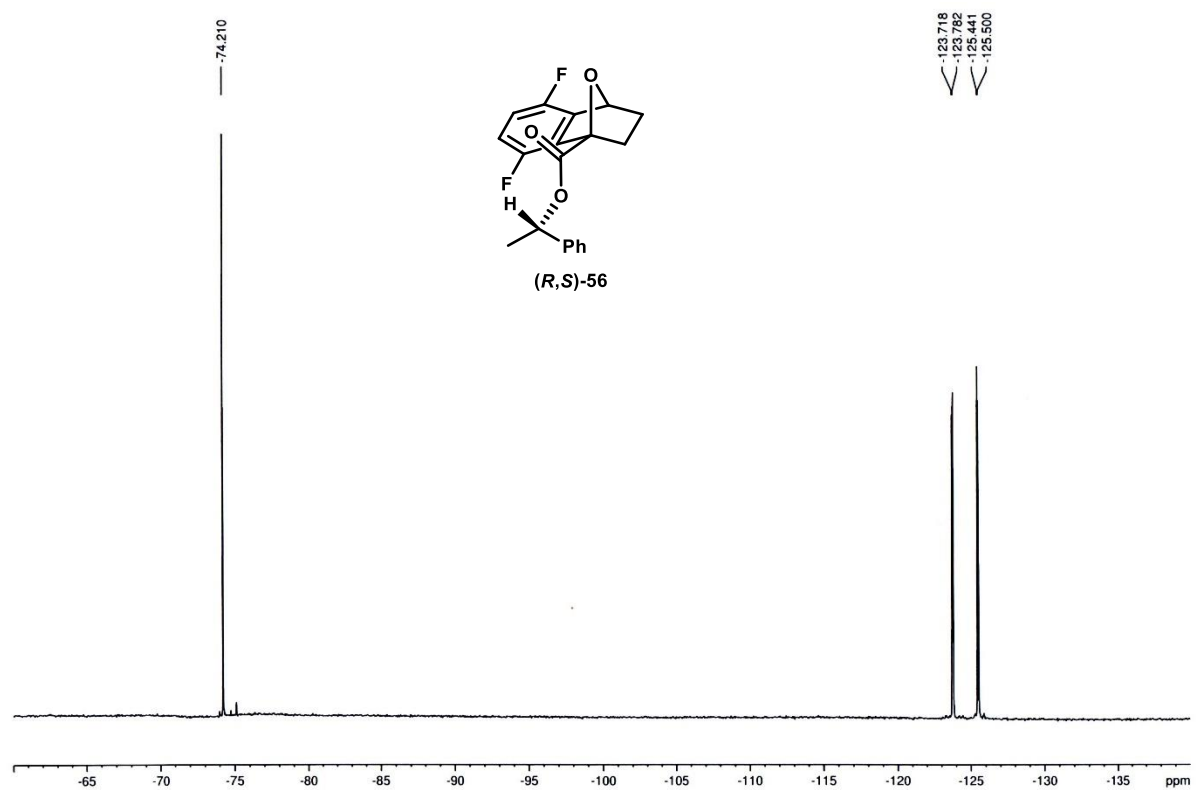


^1H -NMR สเปกตรัมของสาร *rac*-66

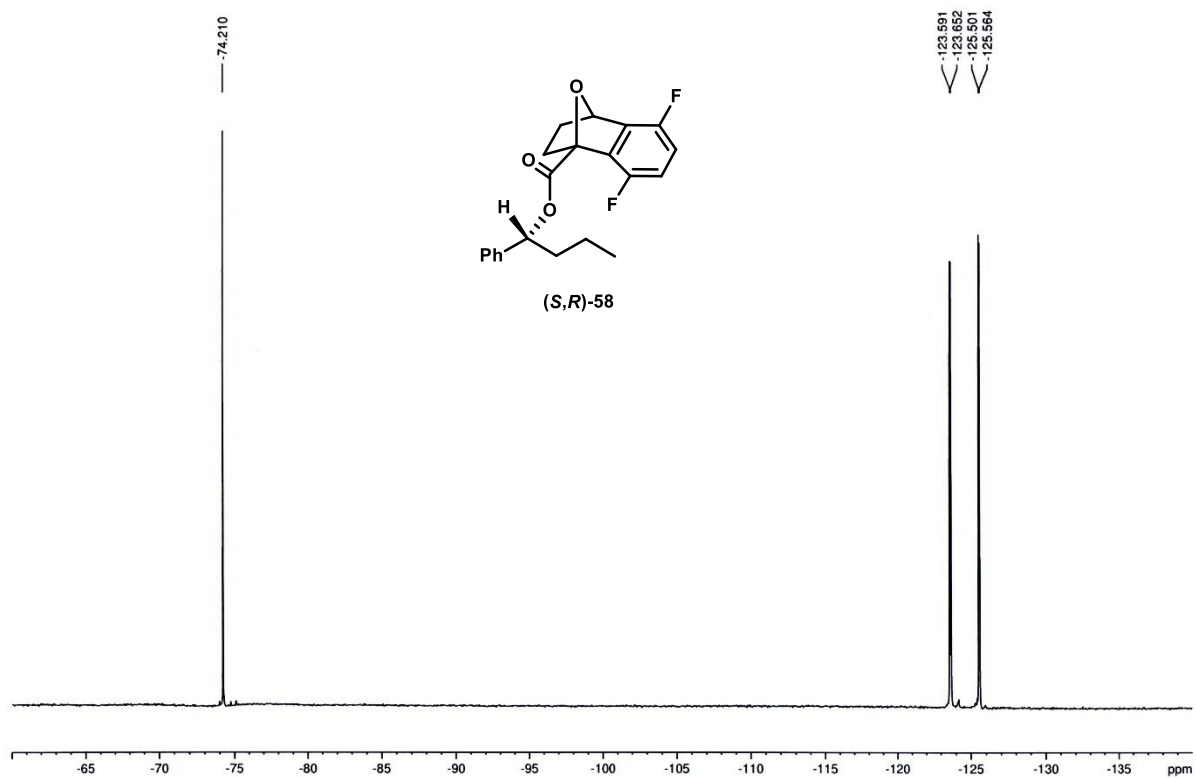
^{19}F -NMR สเปกตรัมของสาร (S,S)-55



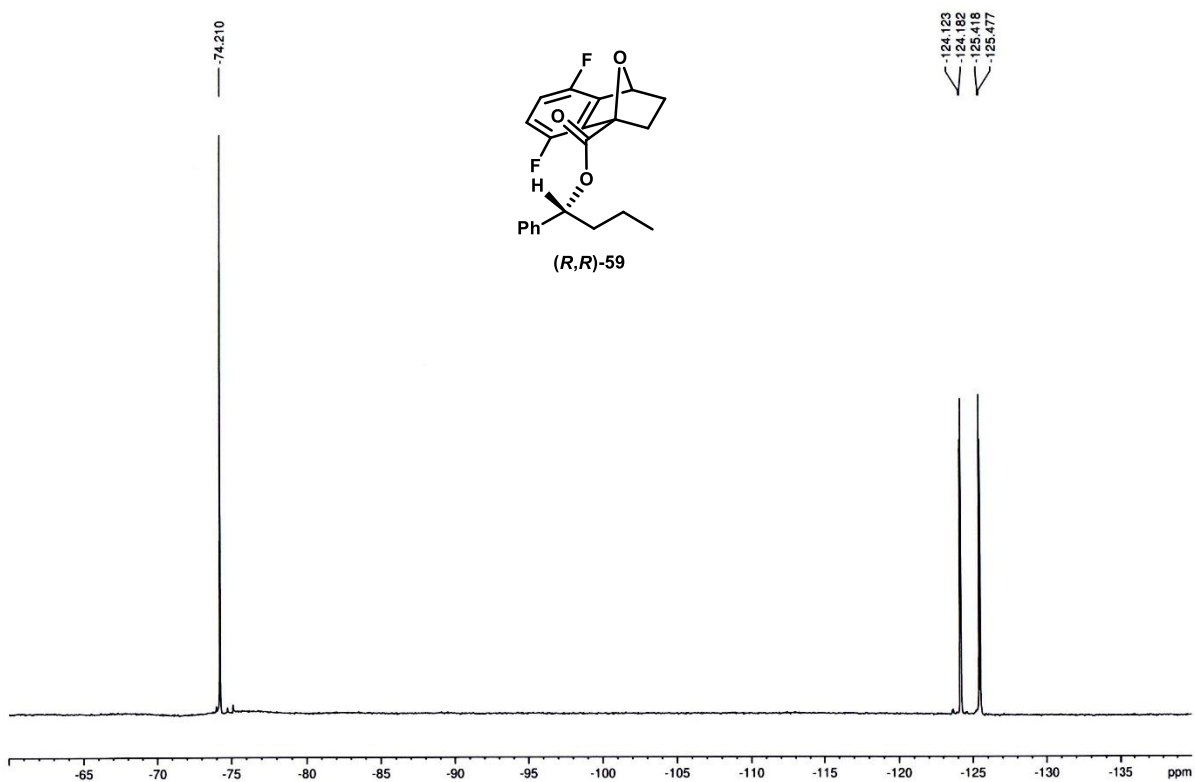
^{19}F -NMR สเปกตรัมของสาร (R,S)-56



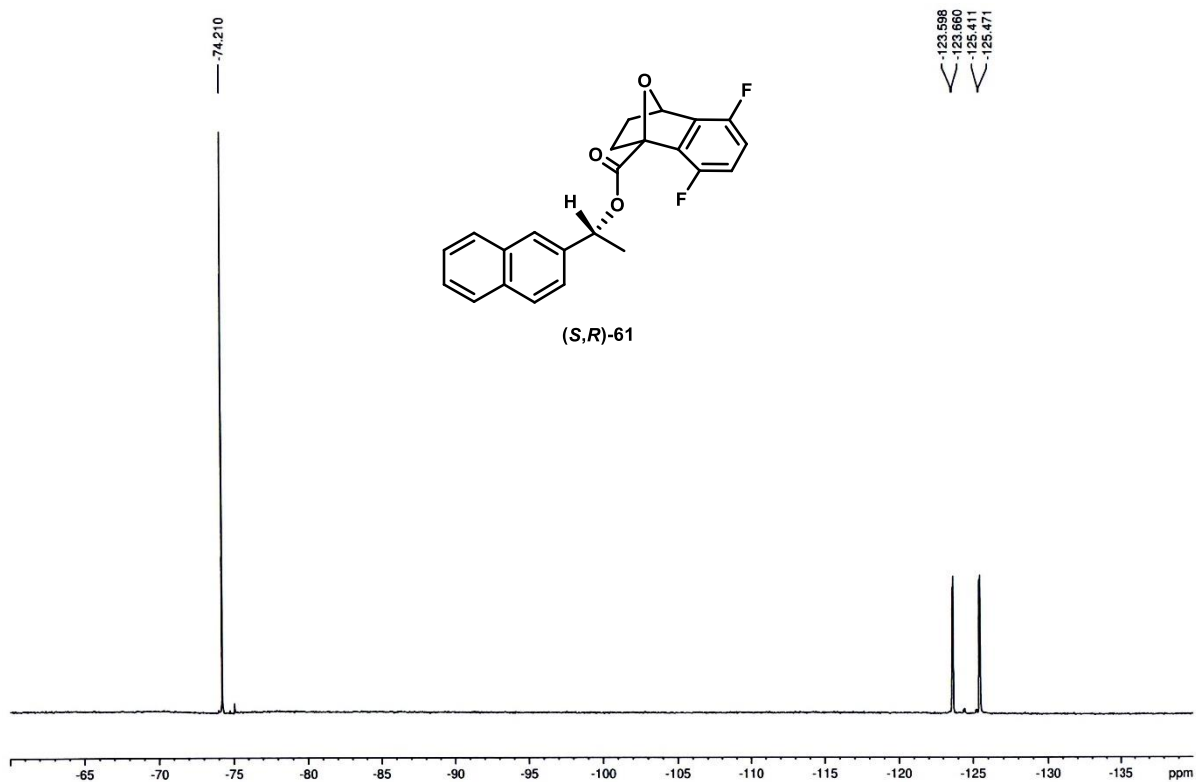
^{19}F -NMR สเปกตรัมของสาร (S,R)-58



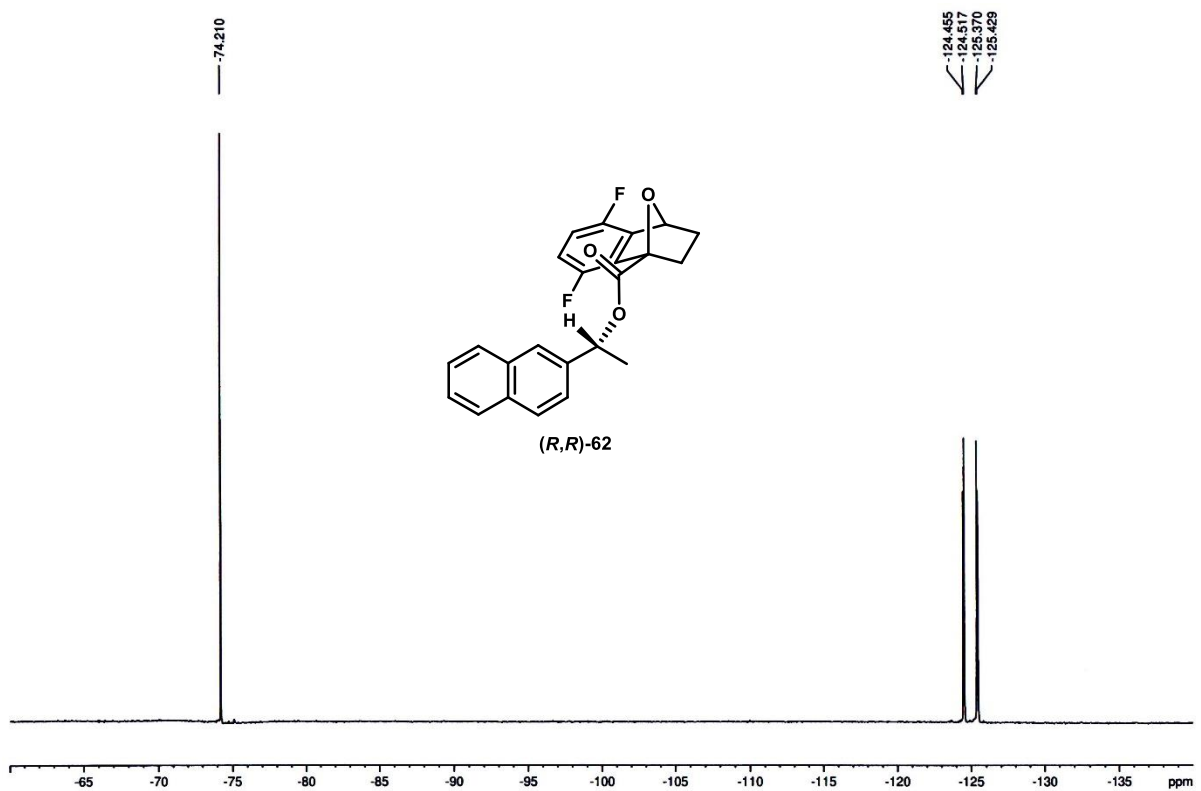
^{19}F -NMR สเปกตรัมของสาร (R,R)-59



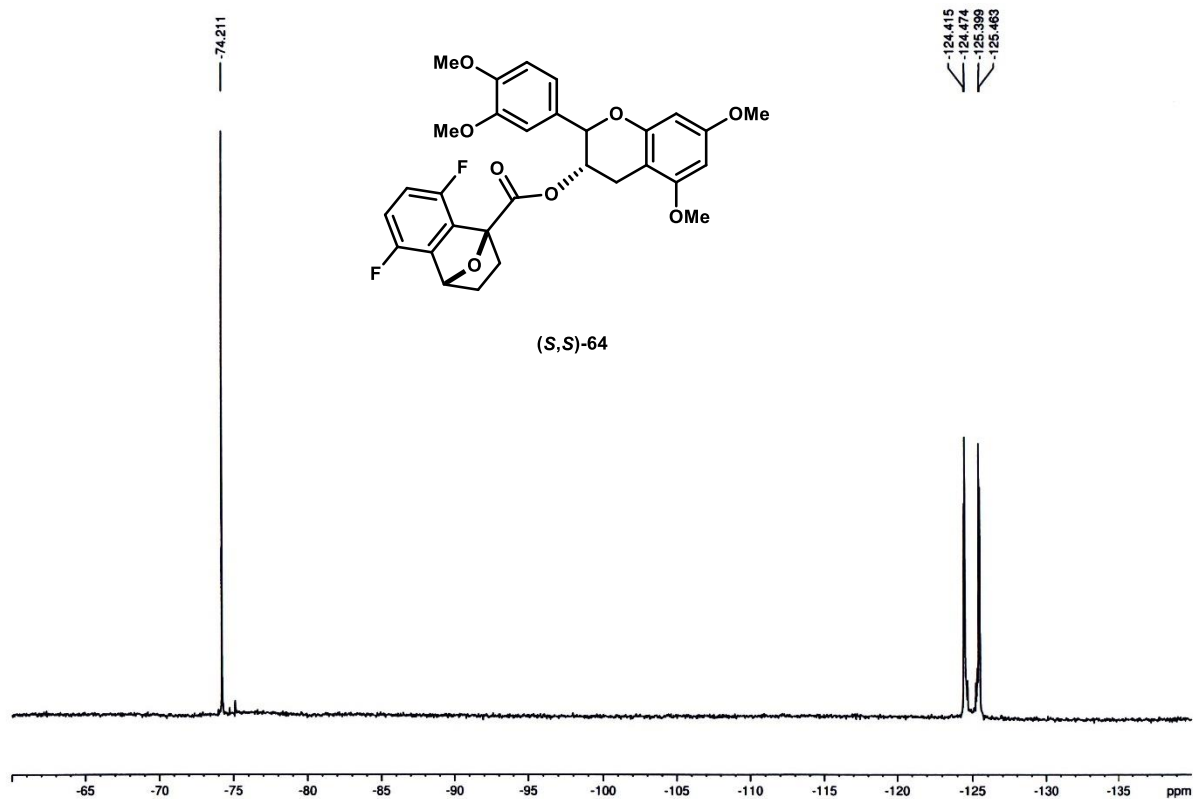
^{19}F -NMR สเปกตรัมของสาร (S,R)-61



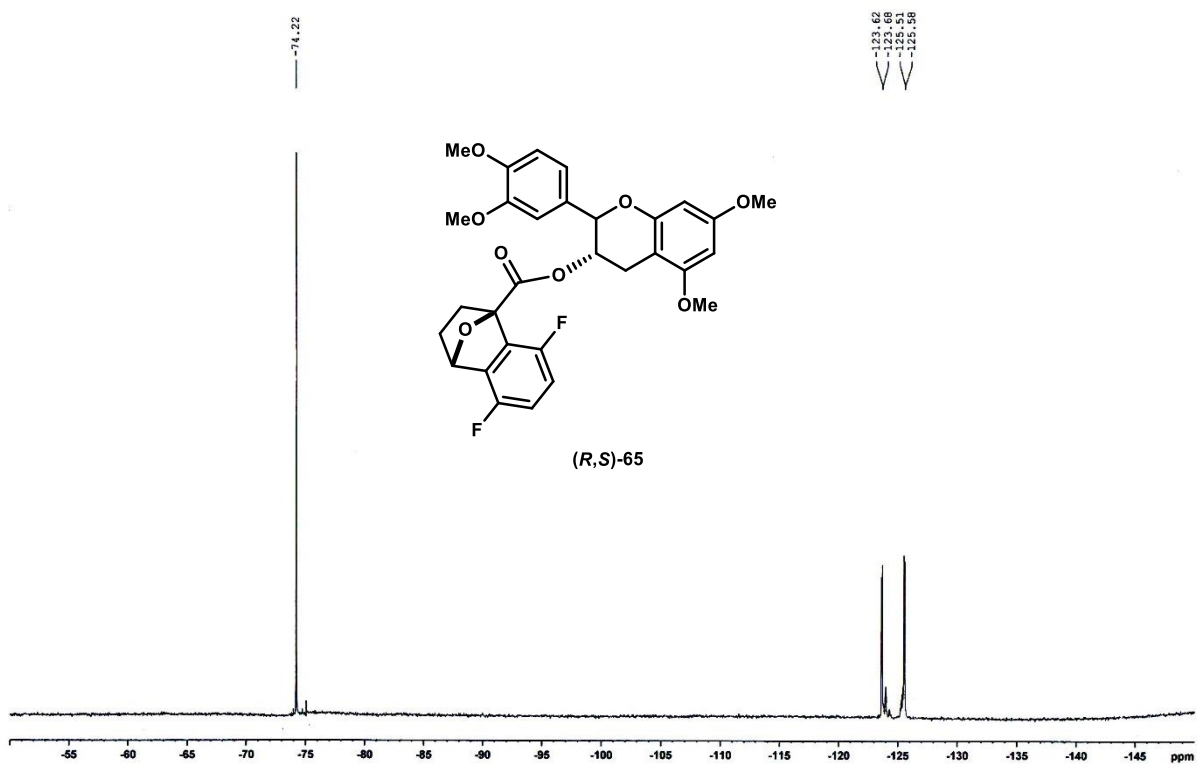
^{19}F -NMR สเปกตรัมของสาร (R,R)-62



^{19}F -NMR สเปกตรัมของสาร (S,S)-64



^{19}F -NMR สเปกตรัมของสาร (R,S)-65



Output ที่ได้จากโครงการ

ผลงานวิจัย

ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ

1. F-THENA: a chiral derivatizing agent for the determination of the absolute configuration of secondary aromatic alcohols with a self-validating system. Dolsophon, K.; Soponpong, J.; Kornsakulkarn, J.; Thongpanchang, C.; Prabpai, S.; Kongsaeree, P.; Thongpanchang, T. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 11002-11012.
2. Application of deuterated THENA for assigning the absolute configuration of chiral secondary alcohols. Soponpong, J., Dolsophon, K., Thongpanchang, C., Linden, A., Thongpanchang, T. *Tetrahedron Lett.* **2019**, *60*, 497-500.

การเผยแพร่ผลงานในการประชุมวิชาการ

1. The 23rd International Conference on Physical Organic Chemistry (ICPOC-23), July 3-8, 2016, Sydney, Australia
2. The 6th Asian Network for Natural & Unnatural Materials (ANNUM VI) 2018, July 27-28, 2018, Gifu, Japan
3. The 1st International Conference of Chemistry (ICCHEM-2018), Plenary Speaker, September 28-30, 2018, Yogyakarta, Indonesia
4. The 6th NRCT-IFS-PERCH-CIC Workshops: ASEAN Research and Innovation Initiatives, February 20-22, 2019, Chiang Mai, Thailand

นักศึกษาระดับปริญญาโท 1 คน

นายชาลุภัส จินดาคุณ

นักศึกษาระดับปริญญาเอก 2 คน

นางสาวกุลวดี ดลโสภณ

นายจักรพันธ์ โสภณพงษ์

ภาคผนวก (Reprint)

1. F-THENA: a chiral derivatizing agent for the determination of the absolute configuration of secondary aromatic alcohols with a self-validating system. Dolsophon, K.; Soponpong, J.; Kornsakulkarn, J.; Thongpanchang, C.; Prabpai, S.; Kongsaree, P.; Thongpanchang, T. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 11002-11012.
2. Application of deuterated THENA for assigning the absolute configuration of chiral secondary alcohols. Soponpong, J., Dolsophon, K., Thongpanchang, C., Linden, A., Thongpanchang, T. *Tetrahedron Lett.* **2019**, *60*, 497-500.