

HADIAH

**SINTESIS HIDROKSIL DAN AMINOKOUMARIN**

Oleh

**KHOO CHONG SENG**

Di bawah penyeliaan

**Prof. Madya Dr. KHOO LIAN EE**

Disertasi bagi memenuhi sebahagian daripada  
keperluan kursus KUE 400 - Projek Penyelidikan

**PUSAT PENGAJIAN SAINS KIMIA**

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA**

**PULAU PINANG**

**Mac, 1991**

## PENGHARGAAN

Penulis ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada Pusat Pengajian Sains Kimia kerana telah memberi peluang kepadanya untuk menjalankan projek penyelidikan ini.

Penulis juga ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada Profesor Madya Dr. Khoo Lian Ee yang telah banyak memberi bimbingan dan nasihat untuk menjayakan projek penyelidikan penulis. Tunjuk ajar dan kesabaran beliau amat dihargai oleh penulis.

Tidak ketinggalan juga, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Encik Chow Cheng Por, Encik Zahari, Encik Jalil, Encik Tan Chin Tong dan Encik Clement serta rakan-rakan penulis di atas bantuan dan kerjasama mereka di sepanjang projek penyelidikan ini.

Terima Kasih.

## ABSTRAK

Satu tindakbalas yang baru di mana gas ammonia digunakan untuk menjalankan tindakbalas penukargantian ke atas 3- atau 4-aminokoumarin dan terbitannya telah dilaporkan. Peratusan hasil (3- dan 4-hidroksilkoumarin) adalah di antara 21-93% dimana peratusan hasil bagi 3-aminokoumarin dan terbitannya adalah lebih tinggi. Tindakbalas penukargantian ini akan memberi hasil yang sedikit apabila terdapat kumpulan penukarganti pada kedudukan 3 dan 4 contohnya racumin iaitu 4 - hidroksil - 3-(1, 2, 3, 4- tetrahidro-1-naftalenil)-2H-1-benzopiran-2-on. Ia bertindakbalas dengan gas ammonia untuk memberi hasil 4-amino analog yang sedikit sahaja. Ini mungkin disebabkan oleh kehadiran kesan sterik. Satu mekanisma untuk tindakbalas penukargantian ini telah dicadangkan.

Penyediaan bahan terbitannya seperti 3- atau 4-hidroksilkoumarin dan derivatifnya telah disediakan mengikut laporan dari rujukan dan hasilnya adalah seperti yang dijangkakan.

Dalam pengekstrakan racumin daripada bahan Dora (satu racun tikus komersial) terdapat dua bahan anu selain daripada racumin yang tidak dapat ditentukan strukturnya. Racumin yang terkandung dalam hasil racumin tikus ini adalah seperti yang dilaporkan iaitu 0.6%.

## ABSTRACT

A new reaction using ammonia gas to effect a substitution reaction on 3- or 4-hydroxylcoumarin and derivatives is reported. The yield 3- or 4-aminocoumarin is between 21-93% with a higher yield for 3-aminocoumarin and its derivatives. This reaction gives a poor yield when both the 3,4 positions are substituted, for example racumin (4-hydroxyl-3(1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthyl)-2H-1-benzopyran-2-one. On the reaction with ammonia gas it gives very little yield of the 4-amino analog. This could be due to steric effect. A mechanism is proposed for this substitution reaction.

Preparation of starting materials for example 3- or 4-hydroxylcoumarins and derivatives were prepared according to literature and the yield is as reported.

Extraction of racumin from Dora (a commercial rodenticide), give besides racumin, two compounds where structure could not be determined. The percentage of racumin in the rodenticide was found as reported, (0.6%).

## KANDUNGAN

## Muka Surat

Senarai rajah/jadual	111
<b>1. PENGENALAN</b>	
1.1 Koumarin adalah hasilan semulajadi	1
1.2 Tindakbalas koumarin	2
1.3 Koumarin sebagai bahan permulaan di dalam sintesis	4
1.4 Hidroksil dan aminokoumarin digunakan untuk penyediaan gelang heterosiklik	6
1.5 Penukaran sebatian kimia pada 4-hidroksilkoumarin	11
1.6 Aminokoumarin merupakan enamina primer	13
<b>2. EKSPERIMENTAL</b>	
2.1 Bahan-bahan	16
2.2 Penyediaan	16
2.2.1. Penyediaan N-asetilglisina	16
2.2.2. Penyediaan 2-asetamidokoumarin	16
2.2.3. Penyediaan 3-hidroksilkoumarin	17
2.2.4. Penyediaan 7-metil-4-hidroksilkoumarin	18
2.2.5. Kaedah pengekstrakan sokelet bagi sampel racumin	18

2.3	Tindakbalas penukargantian nukleofilik	19
2.3.1.	Tindakbalas 3-hidroksilkoumarin ke 3-aminokoumarin	19
2.3.2.	Tindakbalas 4-hidroksilkoumarin ke 4-aminokoumarin	20
2.4	Spektra inframerah	21
2.5	Spektra proton Resonans Magnetik Nuklear	20
2.6	Penganalisan CHN	21
2.7	Penyediaan kromatografi lapisan nipis	21
2.8	Penganalisan dengan kromatografi lapisan nipis	21
2.9	Takat suhu lebur	22
3.0	KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN	29
3.1	Sintesis 3-hidroksilkoumarin	29
3.2	Sintesis 4-hidroksilkoumarin	32
3.3	Pengekstrakan racumin	33
3.4	Sintesis bagi 3- dan 4-aminokoumarin	35
3.5	Analisis spektrum Inframerah	38
3.6	Analisis spektrum proton NMR	39
3.7	Penganalisan CHN	40
3.8	Kesimpulan	40
	Rujukan	44
	Lampiran A	47
	Lampiran B	48
	Lampiran C	49

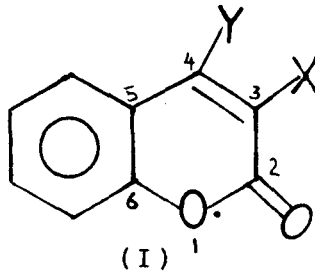
## Senarai Rajah/Jadual

Gambarajah 1:	Radas bagi penyediaan asetamidokoumarin dan hidroksilkoumarin	23
Gambarajah 2:	Radas pengekstrakan sokelet	24
Gambarajah 3:	Radas bagi tindakbalas aminokoumarin	25
Jadual 1	: Sifat fizikal bagi terbitan 3-asetomidokoumarin	26
Jadual 2	: Sifat fizikal bagi terbitan 3-hidroksilkoumarin	26
Jadual 3	: Sifat fizikal bagi terbitan 4-hidroksilkoumarin	27
Jadual 4	: Sifat fizikal bagi terbitan 3-aminokoumarin	28
Jadual 5	: Sifat fizikal bagi terbitan 4-aminokoumarin	28
Jadual 6	: Analisis inframerah	41
Jadual 7	: Anjakan kimia bagi proton NMR	42
Jadual 8	: Analisis bagi CHN	43

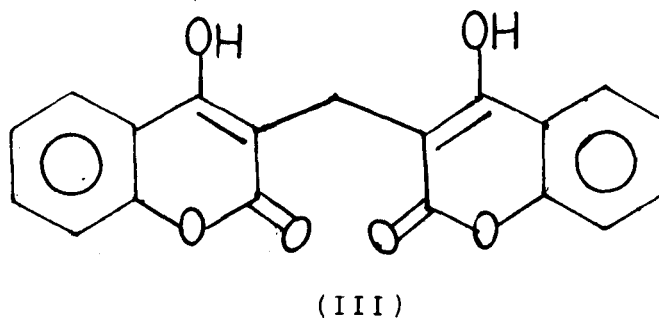
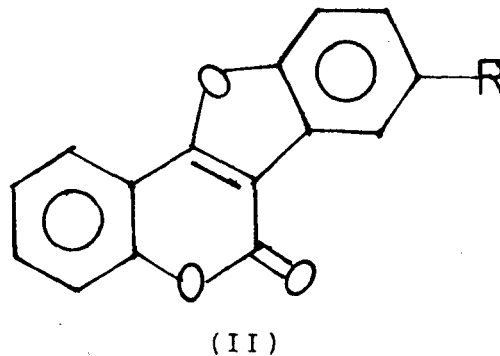
## 1.0 PENGENALAN

### 1.1 Koumarin adalah hasilah semulajadi

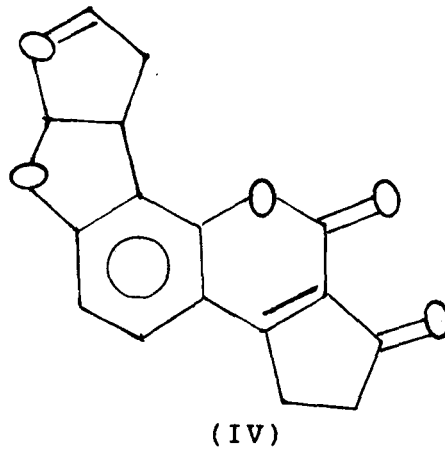
Koumarin (I, X=Y=H) atau 5,6-benzopiran-2-on juga dikenali sebagai lakton aromatik yang mempunyai struktur seperti berikut;\_



Koumarin tertabur secara meluas di dalam alam semulajadi (1,2). Beberapa contoh hasilah semulajadi bagi koumarin yang telah diasingkan dari *Ladivo Cleovor* (3) ialah komestan (II, R=H) dan komestrol (II, R=OH). Sementara dikoumarol (III) dan aflatoxin B (IV) yang sangat meracun juga merupakan hasilah semulajadi yang dipisahkan dari *melilotus Spp.* dan *Apergillus Flavus* masing-masing (4).







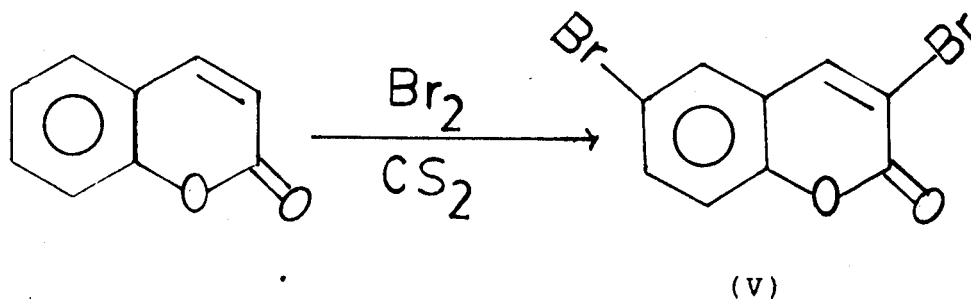
Telah diketahui hidroksil, amino dan terbitan kumarin yang lain mempunyai berbagai fungsi di dalam aktiviti biologi seperti antibiotik (4,5), antikuman (6-8), hipotensif (9), antialergi (10,11) dan juga sebagai penanda fluoresen di dalam dasar fluorogenik untuk penentuan enzim secara biokimia (12,13).

Kepentingan beberapa contoh terbitan kumarin di dalam aktiviti biologi adalah seperti dikoumarol (III), warfarin dan koumafuran yang telah digunakan sebagai pengantikental (6,14). Sementara komestrol (II, R=OH) pula digunakan sebagai hormon estrogen (15).

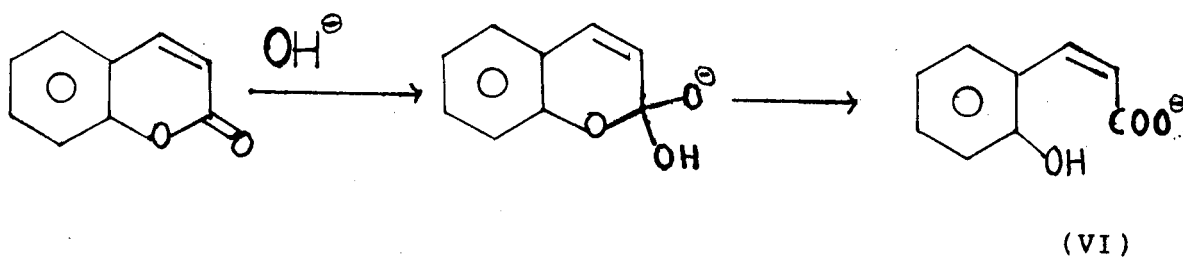
## 1.2 TINDAKBALAS KUMARIN

Kumarin mempunyai sepuluh elektron di dalam sistem konjugat. Oleh yang demikian, ia adalah sebagai sebatian aromatik (16).

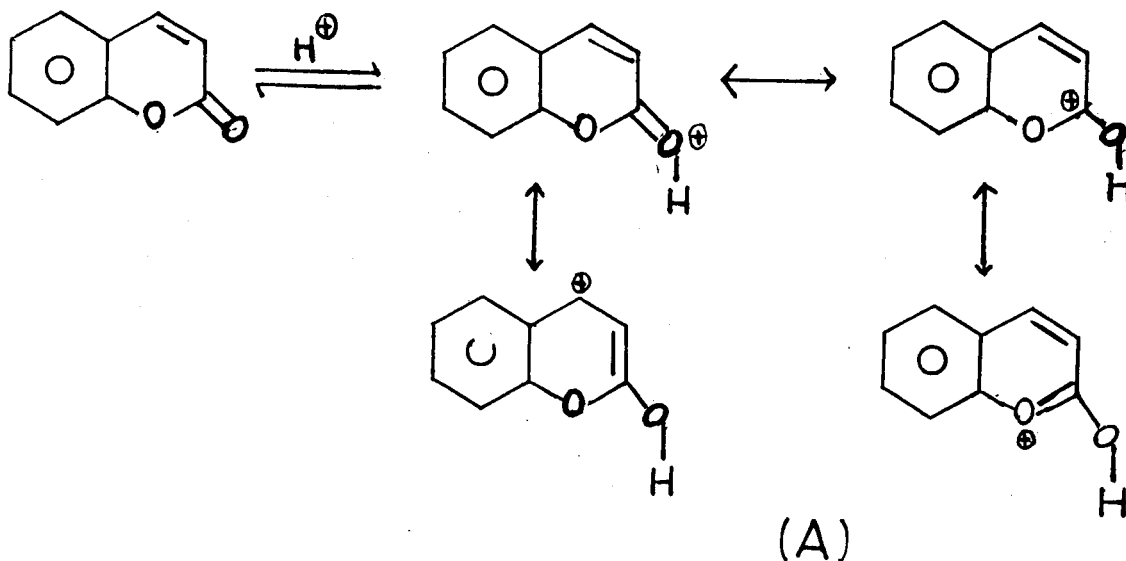
Tindakbalas bagi reagen elektrofilik berlaku dengan kehadiran kumarin dan bromin di dalam karbon disulfida untuk memberi 3,6-dibromokumarin (V). Tindakbalas ini adalah satu tindakbalas penukaran elektrofilik ke atas gelangan aromatik seperti ditunjukkan:-



Manakala tindakbalas bagi reagen nukleofilik pula berlaku di dalam keadaan beralkali bersama dengan kumarin untuk memberi anion asid kumarinik (VI) seperti berikut (17):-

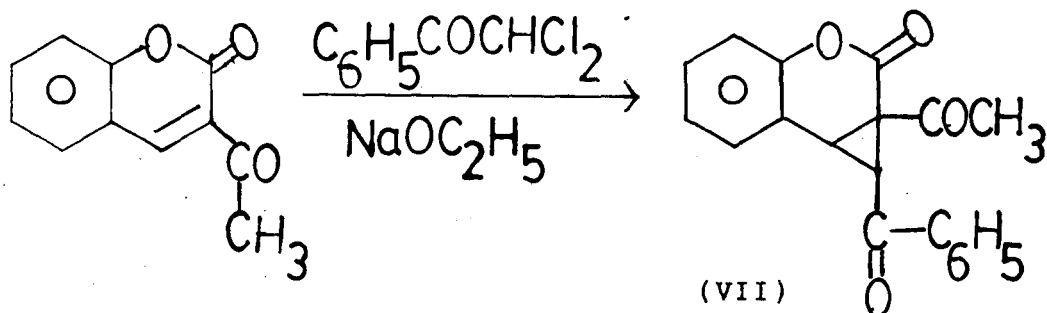


Koumarin boleh juga mengalami pemprotonan karbonil oksigen di dalam kehadiran asid seperti ditunjukkan (A), (18):-

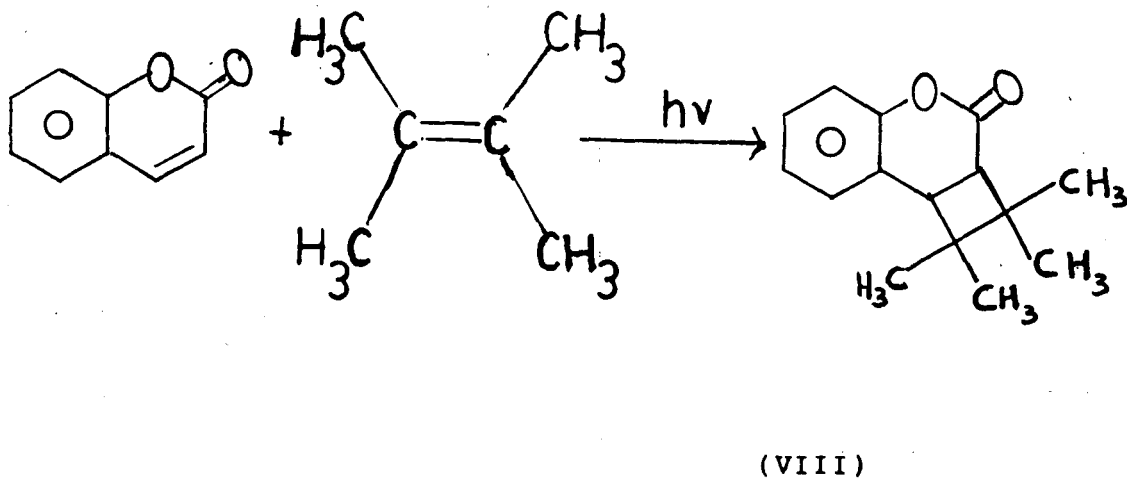


### 1.3 KOUMARIN SEBAGAI BAHAN PERMULAAN DI DALAM SINTESIS

Oleh kerana kumarin mempunyai satu ikatan gandadua yang aktif, maka ia boleh digunakan sebagai reagen tindakbalas penambahan. Dengan ini, beberapa sebatian gelang beranggota tiga, gelang beranggota empat dan sebagainya boleh disediakan seperti berikut:-

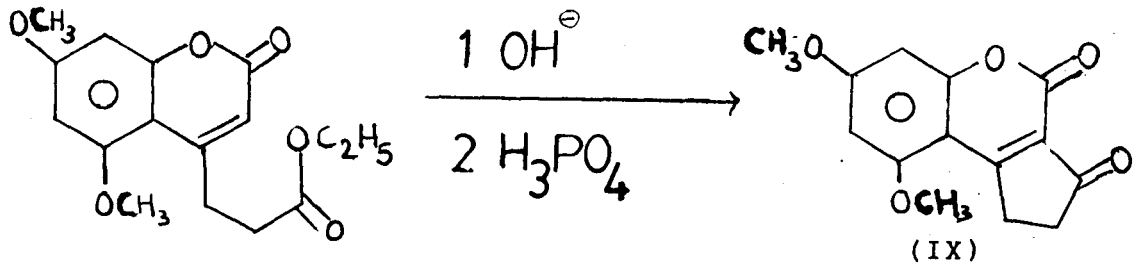


Widman (15) telah menyediakan sistem gelang beranggota tiga iaitu 3:4-fenasilidena-3-asetilkumarin (VII) melalui kondensasi 3-asetilkumarin dan fenasil klorida pada suhu  $0^\circ C$ .

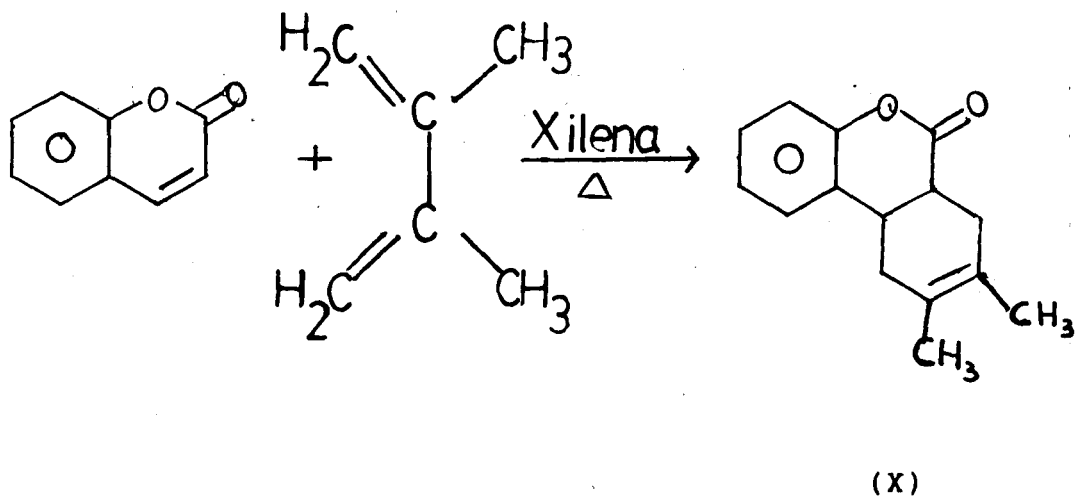


Untuk sistem gelang beranggota empat pula disediakan melalui tindakbalas kumarin dan tetrametiletena di dalam dioksana (19) dengan kehadiran cahaya untuk menghasilkan kumarin 3:4-

siklobutana (VIII). Tindakbalas ini adalah tindakbalas penambahan siklo (2+2) kerana kedua-dua sistem melibatkan sistem dua elektron  $\pi$  (dienofil) (20).



Sebatian etil 3-(5,7-dimetoksikoumarin-4-il)-propanoat boleh dihidrolisiskan melalui natrium hidroksida beralkohol dengan kehadiran asid fosforik pada suhu 120 C untuk memberi hasil 6,7-diokso-1,3-dimetoksi-benzosiklopentapironon (IX) yang mempunyai gelang beranggota lima (21).



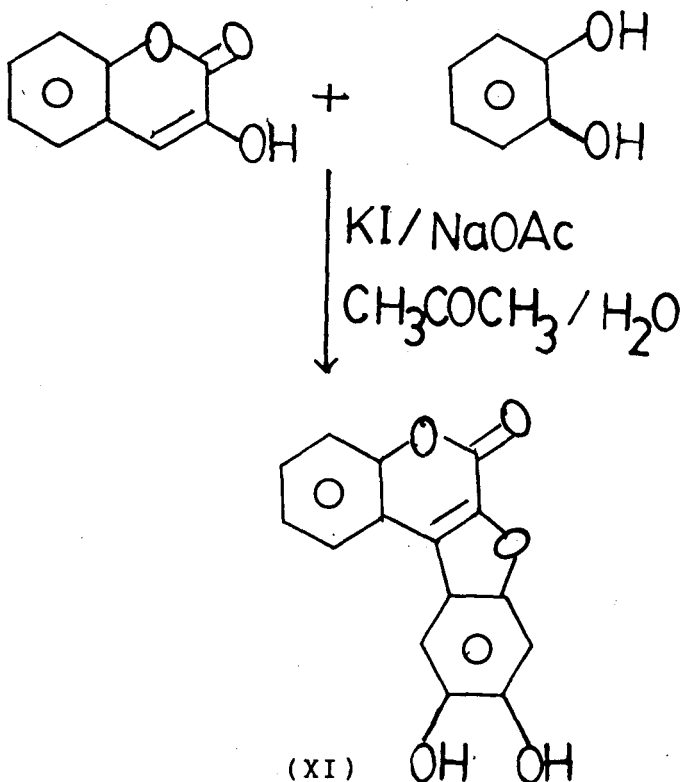
Sementara di dalam sintesis gelang beranggota enam pula adalah melalui tindakbalas Diels-Alder di mana kumarin berfungsi sebagai dienofil. Pada suhu 260 C, sebatian 2,3-dimetilbutadiena akan bertindakbalas dengan kumarin di dalam

dimetilbutadiena akan bertindakbalas dengan koumarin di dalam larutan xilena untuk memberi hasil 8,9-dimetil-6a,7,10,10a-tetrahidrodibenzo- -piron (X) (22).

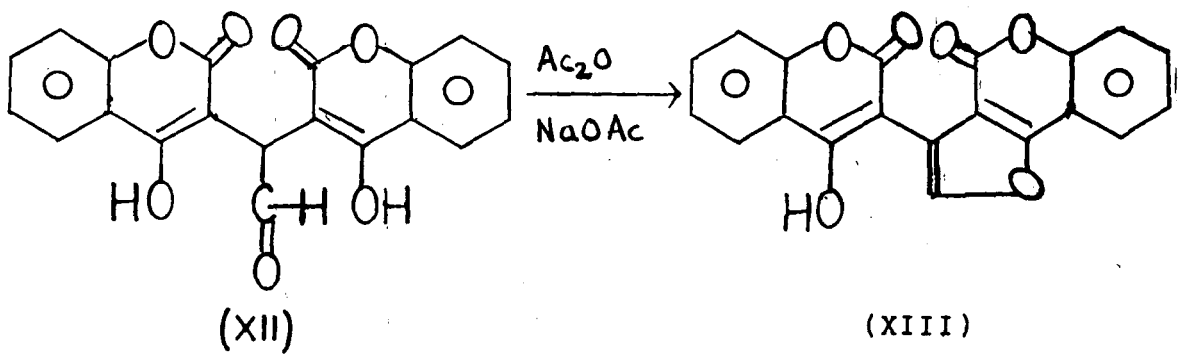
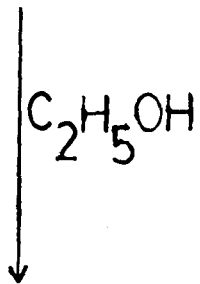
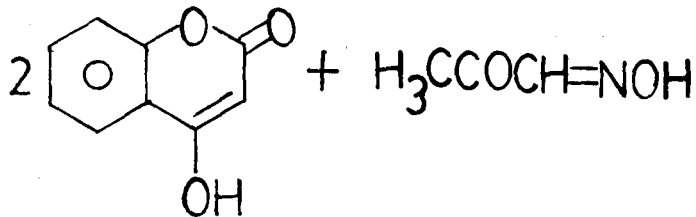
Tindakbalas ini melibatkan satu sistem dua elektron (dienolfil) dan satu sistem empat elektron (diena) yang dinamakan penambahan siklo (4+2) di bawah keadaan terma (20).

#### 1.4 HIDROKSIL DAN AMINOKOUMARIN DIGUNAKAN UNTUK PENYEDIAAN GELANG HETEROSIKLIK

Penukaran koumarin pada kedudukan 3 atau 4 (I, X=OH, NH, Y=OH, NH) boleh juga digunakan untuk sintesis gelang heterosiklik di mana gelang itu bila terbentuk akan terlakur pada kedudukan 3 atau 4. Di antara gelang heterosiklik yang terkenal ialah gelang 'furan'. Ini adalah kerana gelang furan ini merupakan aflatoxin dan satu contoh diberikan seperti berikut:-

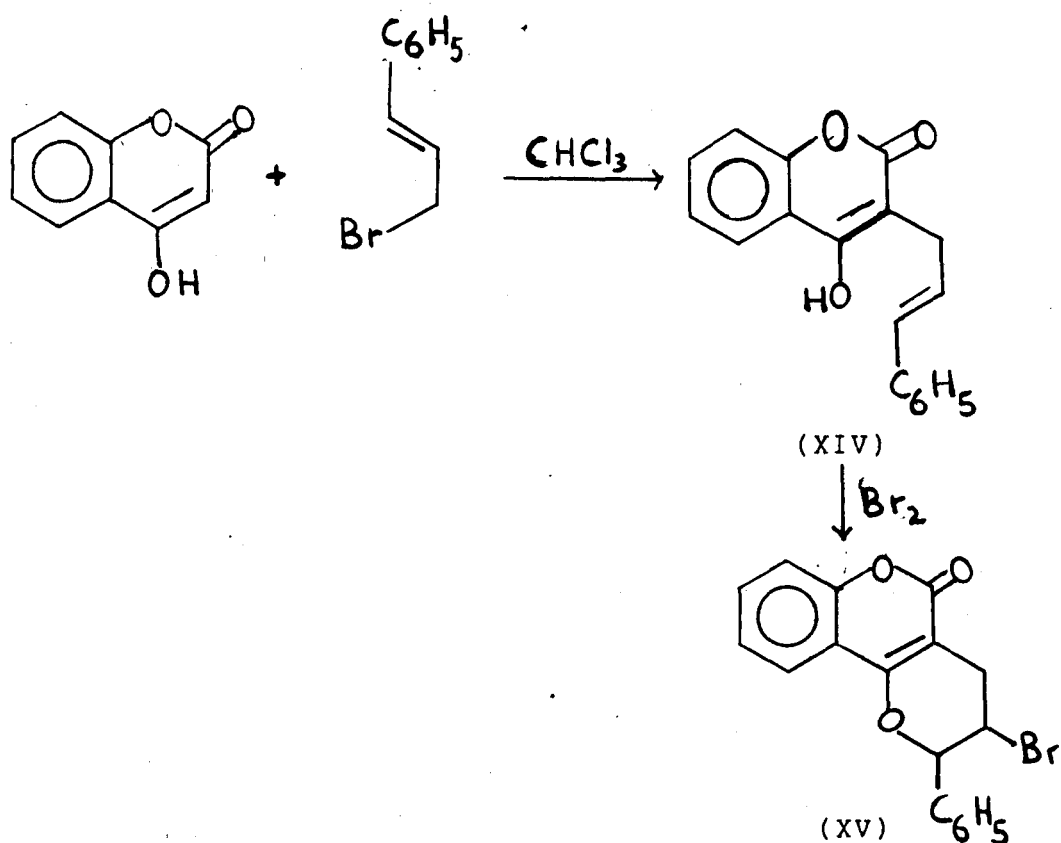


Sebatian Isokoumestan (XI) telah disediakan melalui pengkupelan dehidrogenatik bagi 3-hidroksilkoumarin (I, X=OH, Y=H) bersama katekol dengan kehadiran natrium asetat dan kalium iodida di dalam larutan akuas aseton (23).

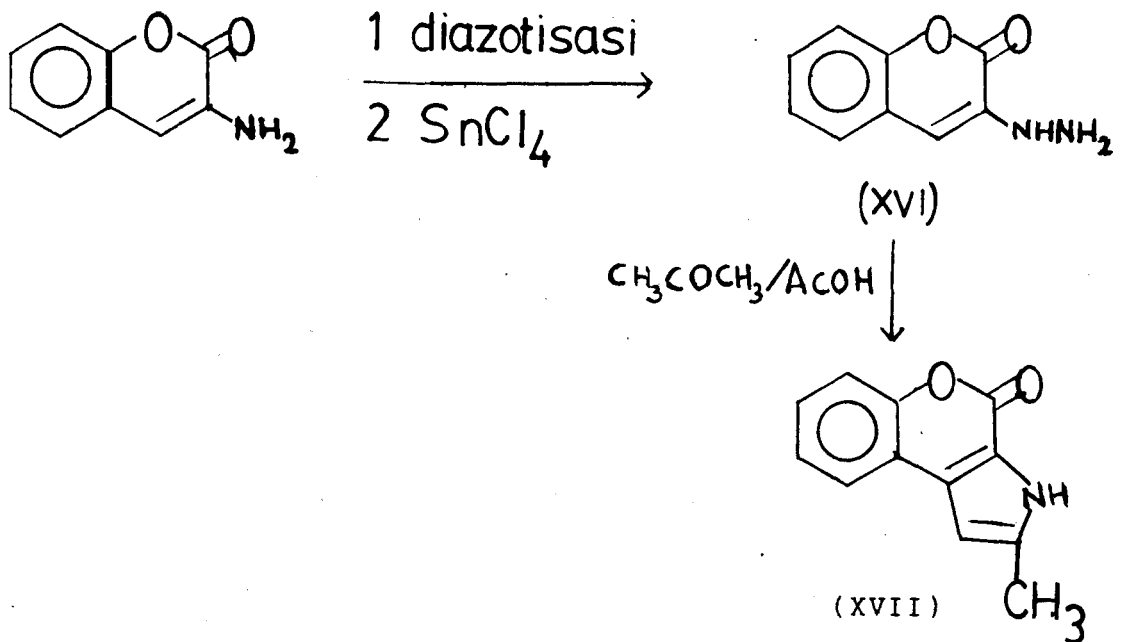


Tindakbalas 4-hidroksilkoumarin (I, X=H, Y=OH) dan oksiminoaseton di dalam etanol akan memberi sebatian 1,1-bis[4-hidroksil-4-koumarinil]-2-propanon (XII). Kemudian kumpulan enol pada sebatian (XII) mengalami penghidratan dengan kehadiran asetik anhidrida dan natrium asetat untuk memberi hasil (XIII) (24).

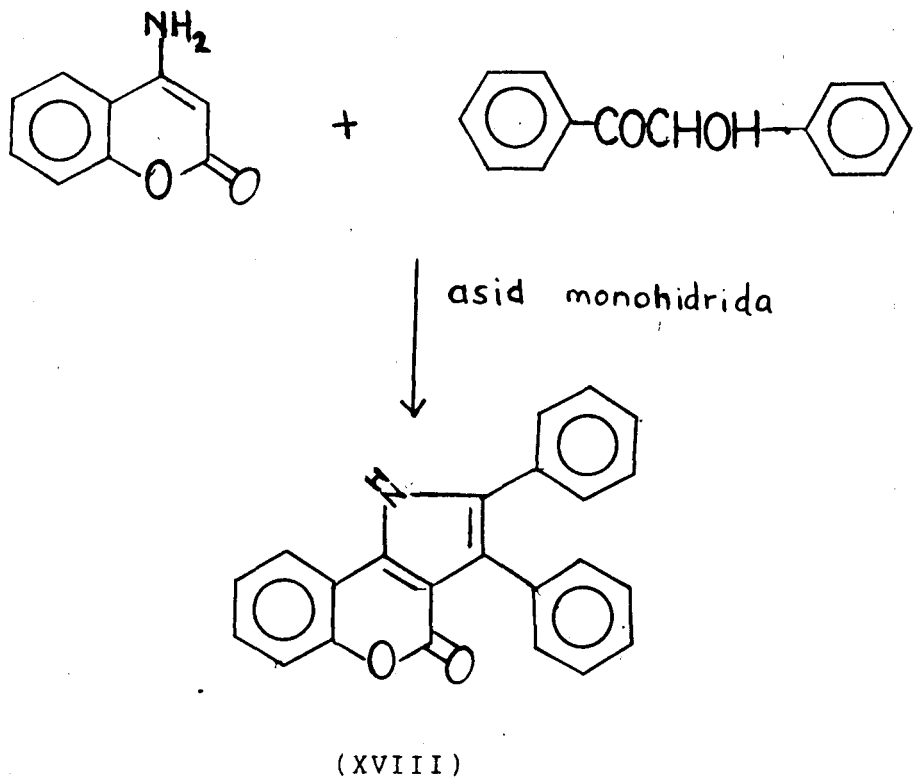
Kedua-dua contoh yang diberikan adalah gelang heterosiklik lima segi yang mengandungi satu oksigen. Manakala bagi gelang heterosiklik enam segi pula boleh disediakan melalui tindakbalas 4-hidroksilkoumarin (I, X=H, Y=OH) di dalam kloroform untuk menghasilkan sebatian 3-(3-fenil-2-propenil)-4-hidroksilkoumarin (XIV). Sebatian (XIV) seterusnya melalui pembrominan akan memberi hasil 2-fenil-3-bromo-piranobenzopiran-5-on (XV), (15).



Selain daripada itu beberapa contoh bagi gelang heterosiklik yang mengandungi satu nitrogen adalah ditunjukkan seperti berikut:-



Sintesis bagi [11]-benzopiran-2-metil-[3,4-b]pirola-4-on, (XVII) melibatkan diazotisasi 3-aminokoumarin (I, X=NH<sub>2</sub>, Y=H) diikuti penurunan dengan stanum (IV) klorida untuk memberi koumarin-3-ilhidrazin (XVI). Sebatian (XVI) ini seterusnya ditindakbalas dengan 2-propanon dan asid asetik di dalam etanol yang direfluks selama satu jam pada suhu 130 °C (25).

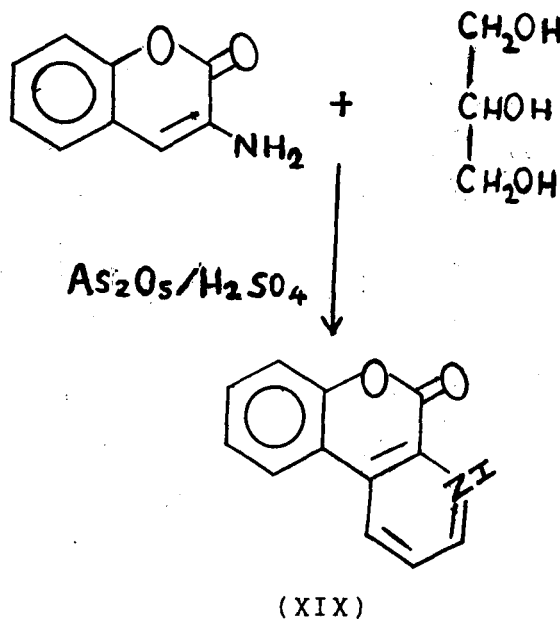




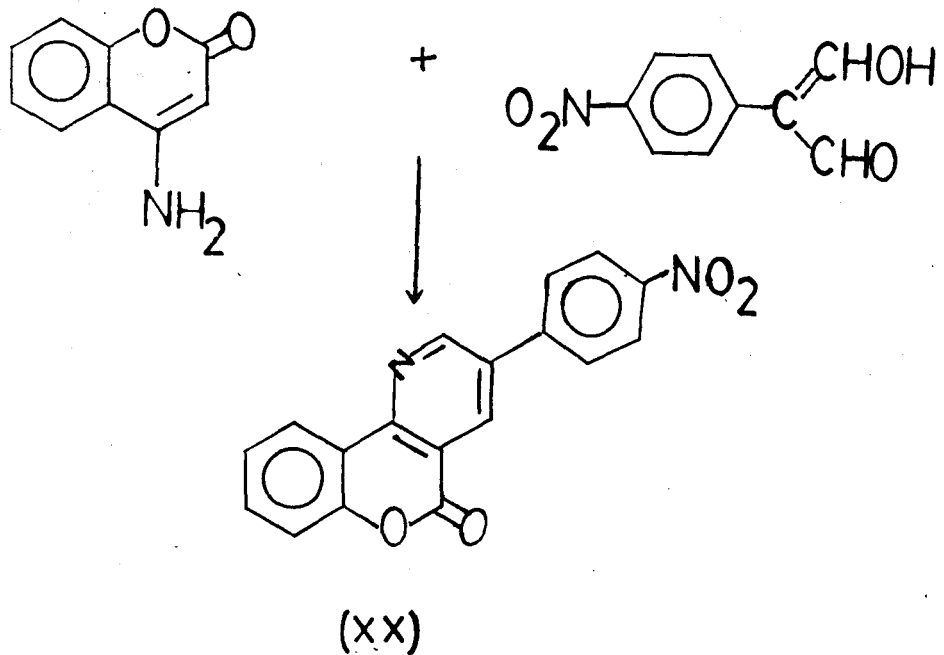
Dean-Stark (26) telah melaporkan bahawa 2,3-diaril-4-[H]-oksobenzopirano-[4,3-b]-pirola (XVIII) boleh diperolehi melalui campuran 4-aminokoumarin (I, X=H, Y=NH<sub>2</sub>) dan benzoin dengan kehadiran bahan pemindah fasa asid monohidrida yang direfluks untuk selama tiga jam.

Di sini 4-aminokoumarin disediakan secara in situ iaitu tidak diasingkan daripada tindakbalas 4-hidroksilkoumarin dengan ammonia.

Kedua-dua tindakbalas di atas akan memberi gelang heterosiklik lima segi yang mengandungi satu nitrogen. Sementara untuk gelang heterosiklik enam segi pula adalah ditunjukkan seperti berikut:-



Campuran sebatian 3-aminokoumarin (I, X=NH<sub>2</sub>, Y=H) dan gliserol bersama dengan asid sulfurik dan arsenik (V) oksida akan memberi hasil sebatian 5H-okso-benzopirano-[4,3-c]-piridina. (XIX), (15).

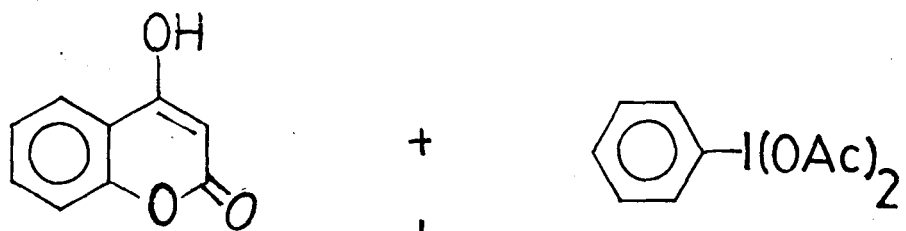


Sebatian 3-(p-nitrofenil-5[H]-okso-benzopirano[4,3-b]-piridina (XX) boleh diperolehi melalui tindakbalas p-nitrofenilmalodialdehid dan 4-aminokoumarin (I, X=H, Y=NH<sub>2</sub>) dengan kehadiran asid asetik bersama dengan bahan pemindah fasa asid monohidrida yang direfluks selama empat jam (26).

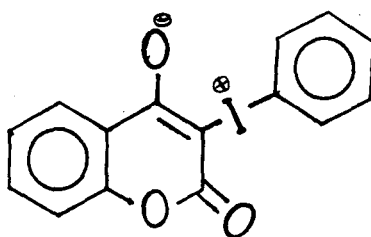
#### 1.5 PENUKARAN SEBATIAN KIMIA PADA 4-HIDROKSILKOUMARIN

Campuran diasetoksi-iodo-benzena dan 4-hidroksilkoumarin (I, X=H, Y=OH) di dalam 0.1N larutan natrium karbonat akues yang direfluks pada suhu 120-140 °C selama dua jam untuk memberi ylid idonium (XXI). Seterusnya sebatian (XXI) akan mengalami penyusunan semula melalui tindakbalas Heck apabila direfluks selama 10 minit pada keadaan suhu yang sama dengan kehadiran dimetilformamida (DMF) untuk memberi 4-benziloksi-3-iodokoumarin (XXII), (27).

Penyusunan semula itu membolehkan sebatian (XXII) ditukar kepada kosmestan (II, R=H) dengan kehadiran paladium klorida di dalam trietilamina dan direfluks selama 8 jam.

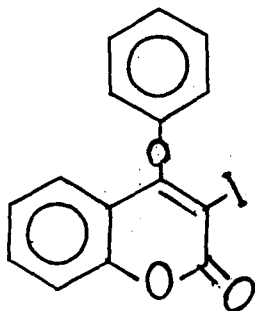


$\text{Na}_2\text{CO}_3,$   
 $120-140^\circ\text{C}$



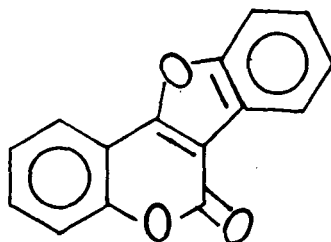
(XXI)

DMF



(XXII)

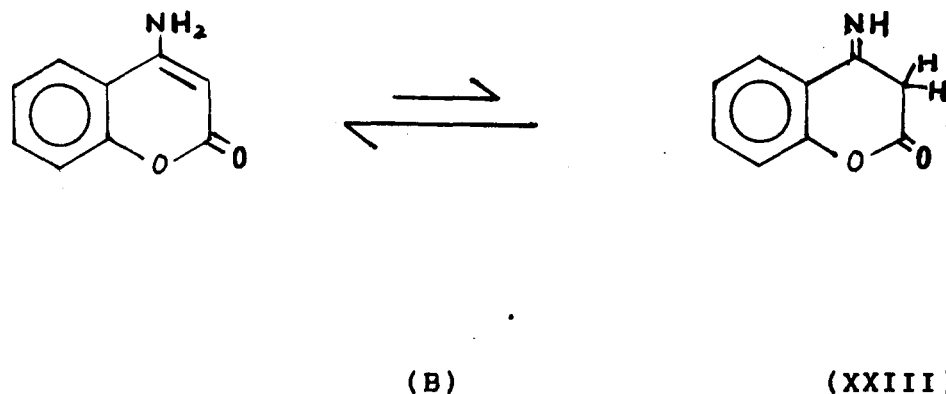
$\text{PdCl}_2 / \text{NEt}_3$



(II)

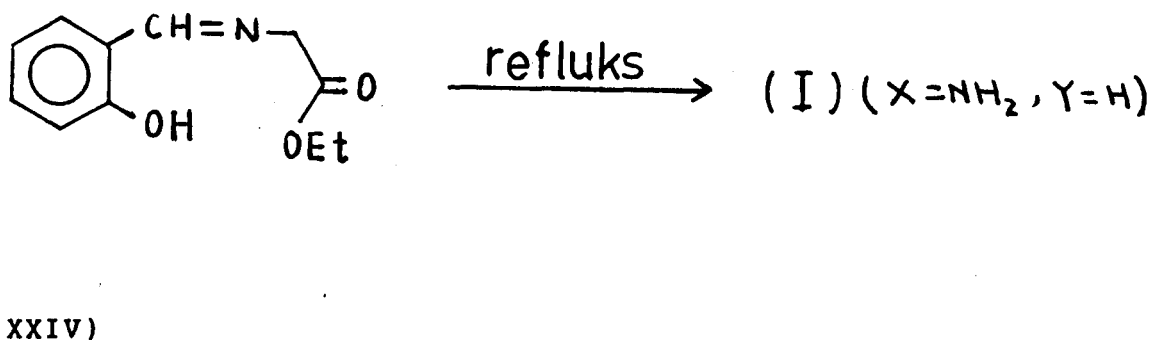
### 1.6 AMINOKOUMARIN MERUPAKAN ENAMINA PRIMER

Sebatian 4-aminokoumarin (I, X=H, Y=NH<sub>2</sub>) merupakan satu bahan enamina primer yang stabil di mana terdapat satu keseimbangan di antara enamina dan imina (XXIII), (28).



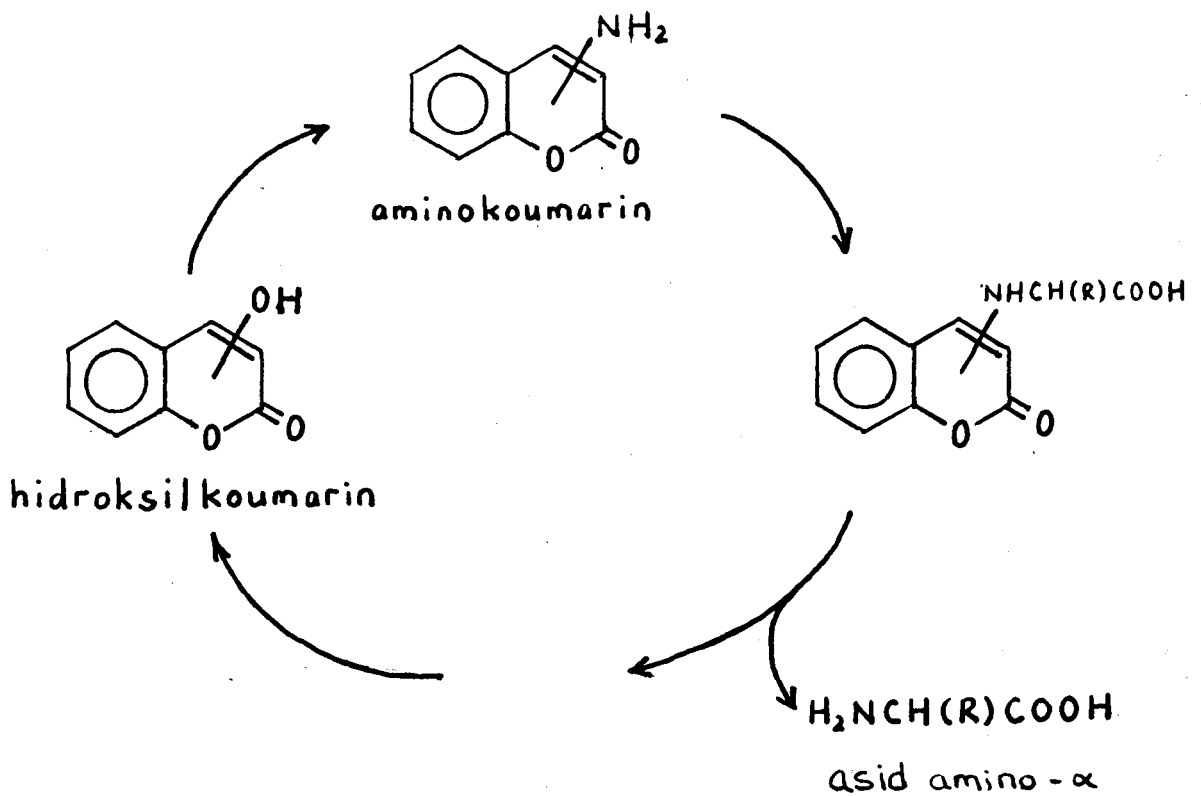
Keseimbangan enamina-imina seperti (B) juga terjadi di dalam 3-aminokoumarin (I, X=NH<sub>2</sub>, Y=H).

Baru-baru ini, terdapat satu kaedah penyediaan yang mudah bagi 3-aminokoumarin (I, X=NH<sub>2</sub>, Y=H) iaitu melalui etil-N-salisilidenaglisinat (XXIV) yang direflukan pada suhu 150-170 °C selama 3 jam (29).



Akan tetapi tiada seorang pun yang berusaha menyediakan

hidroksil dan aminokoumarin sebagai langkah permulaan untuk kitaran lengkap (C) seperti ditunjukkan:-



Justeru itu, kami telah berusaha membuat satu penyelidikan yang bertajuk 'sintesis hidroksil dan aminokoumarin' yang mempunyai tiga tujuan.

Tujuan pertama ialah menyediakan 3-hidroksil dan 4-hidroksilkoumarin serta terbitannya. Tujuan ini diadakan ialah sebagai penyediaan bahan permulaan untuk kitaran lengkap (C). Di samping itu, bahan ini digunakan untuk kajian mengenai aktiviti biologis tentang pengantikental bagi terbitan hidroksil dan aminokoumarin.

Tujuan kedua ialah tindakbalas penukaran melalui penukaran nukleofilik dengan kehadiran gas ammonia di dalam

asid asetik. Seterusnya aminokoumarin dapat juga digunakan sebagai bahan permulaan untuk sintesis asid amino- $\alpha$  seperti yang ditunjukkan di kitaran lengkap (C).

Tujuan ketiga ialah mencadangkan mekanisma bagi tindakbalas hidroksil dan aminokoumarin. Di samping itu membuat perbandingan mengenai kereaktifan antara 3- dan 4-hidroksil serta aminokoumarin.

## 2.0 EKSPERIMENTAL

### 2.1 BAHAN-BAHAN

Salisilaldehid, 3-metoksisalisilaldehid, 2-hidroksil-1-naftaldehid dan 4-hidroksilkoumarin didapati dari Aldrich Chemical Ltd. Sementara bagi m-cresol, p-cresol, o-cresol dan  $\beta$ -naftol didapati dari Merck-Schuchardt. Kesemua bahan permulaan digunakan terus tanpa penceriaan.

### 2.2 PENYEDIAAN

#### 2.2.1. PENYEDIAAN N-ASETILGLISINA

Glisina (37.5 g, 0.5 mol) ditambahkan 150 ml air suling di dalam 500 ml kelalang konikal yang diputar dengan pengacau magnet supaya hampir semua pepejal itu dilarutkan. Campuran kemudian ditambahkan dengan 100 ml (108 g) asetik anhidrida. 95% dan diputar untuk selama 15-20 minit. Larutan itu akan menjadi panas dan sebahagian asetilglisina akan menjadi kristal. Campuran larutan disejukkan di dalam ais untuk semalaman. Hablur yang terbentuk dikumpulkan melalui corong Buchner dan dikeringkan di dalam oven. Hasil turasan dikeringkan pada suhu 50-60 °C. Penghabluran semula perlu dilakukan dengan menambahkan 40 ml air suling panas. Hablur yang terbentuk dituras dan dikeringkan seperti yang telah dilakukan. Gabungkan kedua-dua hablur itu. (53.2 g, 90.9 %), T.l (207-208 °C), (lit 207-208 °C), (30).

#### 2.2.2 PENYEDIAAN 3-ASETAMIDOKOUMARIN

Campuran ekuimolar bagi salisilaldehid (12.12 g, 0.1 mol), asetilglisina (11.7 g, 0.1 mol) dan natrium asetat

anhidrida (8.2 g, 0.1 mol) yang ditambahkan 100 ml asetik anhidrida di dalam kelalang bertapak bulat. Campuran direfluks selama 4 hingga 8 jam di bawah kekusan minyak parafin (rujuk gambarajah 1) pada suhu 100-120 C. Hasil refluks itu disejukkan ke suhu bilik. Kemudian ditambahkan 100-150 ml air suling dan disejukkan di dalam ais. Pepejal dipungut sebagai 3-asetamidokoumarin (31). (11.28 g, 55.8%), T.l (181-182 C).

Dengan tatacara yang sama, terbitan 3-asetamidokoumarin yang lain dapat disediakan. Jadual 1 menunjukkan satu senarai sebatian terbitan 3-asetamidokoumarin yang telah disediakan.

### 2.2.3 PENYEDIAAN 3-HIDROKSILKOUMARIN

3-asetamidokoumarin (10 g, 0.049 mol) dilarutkan di dalam kuantiti etanol yang minima dan ditambahkan 120 ml 3N asid hidroklorik di dalam kelalang bertapak bulat (rujuk gambarajah 1). Campuran direfluks di dalam kukusan minyak parafin pada suhu 100-140 C untuk selama 4 hingga 6 jam. Hasil refluks disejukkan ke dalam ais dan dituras dengan corong Buchner. Penghabluran semula perlu dilakukan dengan menggunakan etanol 95%. Pepejal yang terbentuk ialah 3-hidroksilkoumarin (30). (5.56 g, 70.0%), T.l (122-125 C).

Tatacara di atas diulangi untuk mendapatkan terbitan 3-hidroksilkoumarin dan satu senarai jadual 2 menunjukkan terbitan 3-hidroksilkoumarin.



#### 2.2.4 PENYEDIAAN 7-METIL-4-HIDROKSILKOUMARIN

Campuran ekuimolar bagi m-cresol (10.8 g, 0.1 mol) dan asid malonik (10.41 g, 0.1 mol) dengan kehadiran agen kondensasi zink klorida anhidrida (34.07 g, 0.25 mol) dan 40 ml fosforus oksiklorida, di dalam kelalang bertapak bulat (rujuk gambarajah 1). Campuran ini direfluks di dalam kukusan minyak parafin pada suhu 60-75 °C untuk selama 30 jam hingga 35 jam. Hasil refluks dibiarkan sejuk ke suhu bilik kemudian ditambahkan 100-200 ml air suling yang sejuk dan dibiarkan untuk mengurai. Akhirnya campuran hasil refluks disejukkan di dalam ais dan diturunkan melalui corong Buchner. Penghabluran semula perlu dilakukan terhadap baki turasan dengan menggunakan metanol. Pepejal yang terhablur ialah 7-metil-4-hidroksilkoumarin (32). (11.95 g, 67.8 %), T.l (255-256 °C).

Dengan tatacara yang sama, terbitan 4-hidroksilkoumarin yang lain diperolehi. Jadual 3 merupakan satu senarai bagi terbitan 4-hidroksilkoumarin.

#### 2.2.5 KAEDAH PENGEKSTRAKAN SOKELET BAGI SAMPEL RACUMIN

Sebanyak 5 kg sampel racumin telah digunakan dengan menggunakan kaedah pengekstrakan sokelet (30). Sampel racumin (500 g) dimasukkan ke dalam bekas yang porous dan ditempatkan di bahagian A (rujuk gambarajah 2). Pengekstrakan berterusan dilakukan dengan menggunakan kloroform. Selepas pengekstrakan lengkap berlaku, kloroform yang mengandungi sampel anu dan racumin disulingkan. Tatacara di atas diulangi dengan menggantikan sampel racumin yang baru.

Sebanyak 45 g sampel anu dan racumin telah diperolehi dari pengekstrakan berterusan. Selepas penghabluran semula dengan menggunakan metanol, racumin yang tulen diperolehi. (31.5 g, 0.63%), T.l (165-167 C). (Rujuk jadual 3).

## 2.3 TINDAKBALAS PENUKARGANTIAN NUKLEOFILIK

### 2.3.1 TINDAKBALAS 3-HIDROKSILKOUMARIN KE 3-AMINOKOUMARIN

3-hidroksilkoumarin (5 g, 0.031 mol) dilarutkan di dalam 60-100 ml glacial asid asetik di dalam kelalang bertapak bulat. Campuran dilalukan dengan gas ammonia dan direfluks selama 5 hingga 10 jam pada suhu 100-160 C di dalam kukusan minyak parafin (rujuk gambarajah 3). Bekalan gas ammonia dihentikan dan campuran itu dibiarkan dalam kukusan minyak parafin selama 2 jam. Hasil refluks disejukkan ke suhu bilik. Kemudian ditambahkan 100-150 ml air suling yang sejuk dan disejukkan di dalam ais. Pepejal yang terbentuk dikumpulkan melalui corong Buchner. Kemudian dengan menggunakan turus kromatografi yang dipadatkan dengan 250 g silika gel bersama pengelusi iaitu kloroform. Pecahan ketiga (100 ml setiap pecahan) memberi 3-aminokoumarin (4.6 g, 92.3%), T.l (135-136 C).

Analisis unsur adalah seperti berikut:-

C H NO : C 66.95 (67.07), H 4.30 (4.39), N 8.75  
9 7 2  
(8.69)

Tatacara di atas diulangi untuk terbitan 3-aminokoumarin yang lain dan satu senarai jadual 4 merupakan terbitan bagi 3-aminokoumarin.

### 2.3.2 TINDAKBALAS 4-HIDROKSILKOUMARIN KE 4-AMINOKOUMARIN

Tatacara dan radas bagi tindakbalas penukaran 4-hidroksilkoumarin kepada 4-aminokoumarin adalah sama seperti tindakbalas penukaran bagi 3-hidroksilkoumarin.

Satu senarai jadual 5 menunjukkan terbitan bagi 4-aminokoumarin yang telah diperolehi.

### 2.4 SPEKTRA INFRAMERAH

Kesemua spektrum inframerah diukur dengan menggunakan plat kalium bromida. Alatan Beckman Acculab TM1<sup>-1</sup> spektrofometer yang berfungsi pada nombor gelombang 4000 cm<sup>-1</sup> hingga 600 cm<sup>-1</sup> telah digunakan.

### 2.5 SPEKTRA PROTON RESONAN MAGNETIK NUKLEAR

Spektrum proton NMR telah direkodkan dengan alat Perkin-Elmer NMR spektrometer model R12B yang beroperasi pada 60 MHz.

Kesemua sampel bagi spektra NMR dilarutkan dengan deuterium kloroform dan ditambahkan beberapa titik tetrametil silana (TMS) sebagai standard dalaman. Ada sebahagian sampel yang tidak begitu larut dalam deuterium kloroform terpaksa menggunakan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO) untuk melarutkannya supaya menjadi homogenus. Pemalar pengkupelan diperbesarkan untuk memperjelaskan isyarat yang telah diperolehi.

## 2.6 PENGANALISISAN BAGI CHN

Peratusan berat karbon, hidrogen dan nitrogen (CHN) di dalam sesuatu sampel telah direkodkan dengan Elemental Analyser Model 240-XA dari control Equipment Corporation. Ia beroperasi pada ketepatan hingga  $\pm 0.01\%$ .

## 2.7 PENYEDIAAN KROMATOGRAFI LAPISAN NIPIS

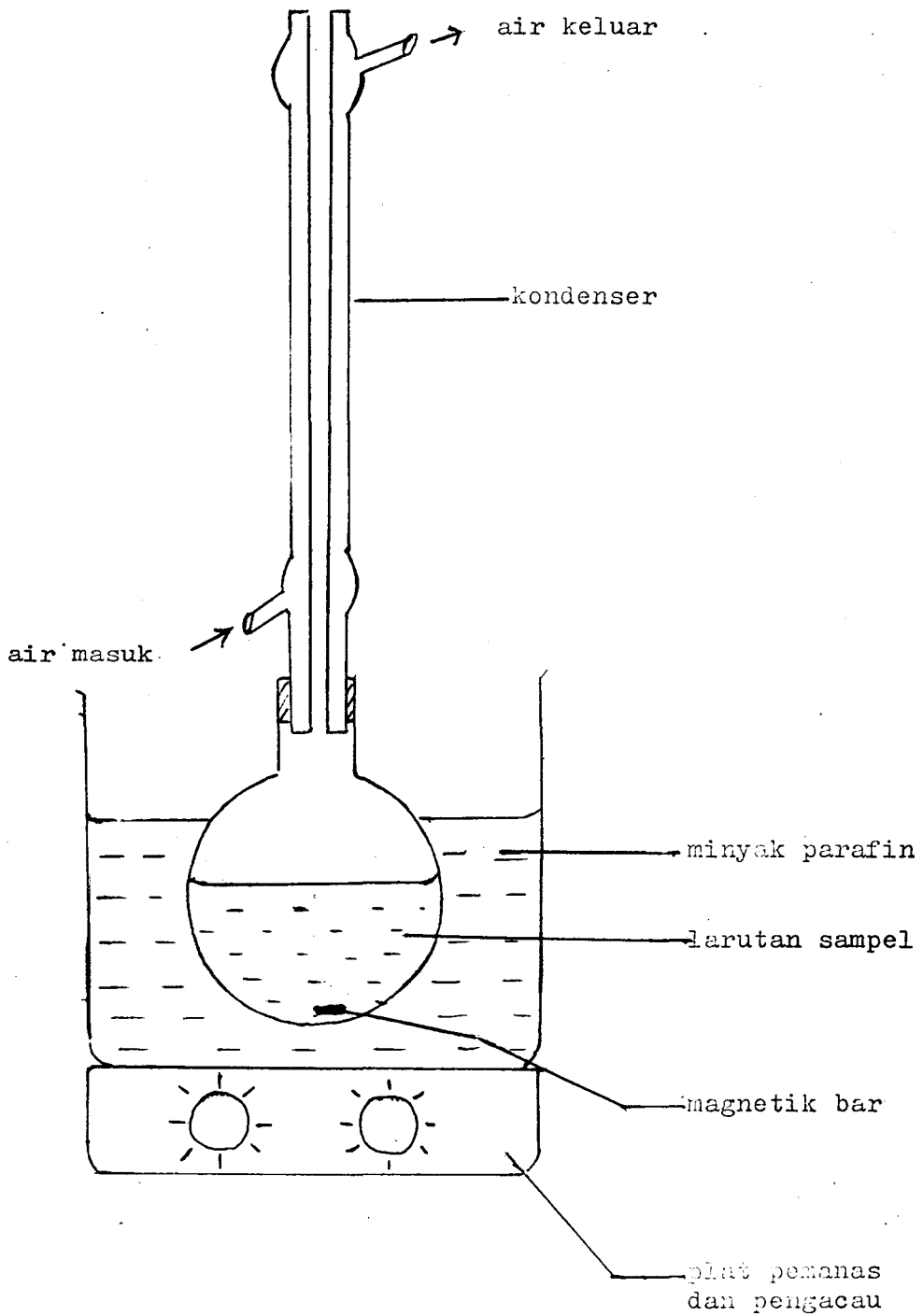
Penyediaan plat kromatografi lapisan nipis dilakukan dengan menggunakan silika gel 60 TF254. Bagi penyediaan satu plat kromatografi lapisan nipis memerlukan 20 g silika gel yang digaulkan di dalam campuran metanol dan air dengan nisbah 1:1. Selepas penyediaan silika gel di atas plat kaca, ia dibiarkan kering di udara dan kemudian dikeringkan di oven pada suhu  $80^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Plat kaca yang tersedia itu boleh terus digunakan untuk memisahkan sampel-sampel yang tidak tulen.

## 2.8 PENGANALISISAN DENGAN KROMATOGRAFI LAPISAN NIPIS

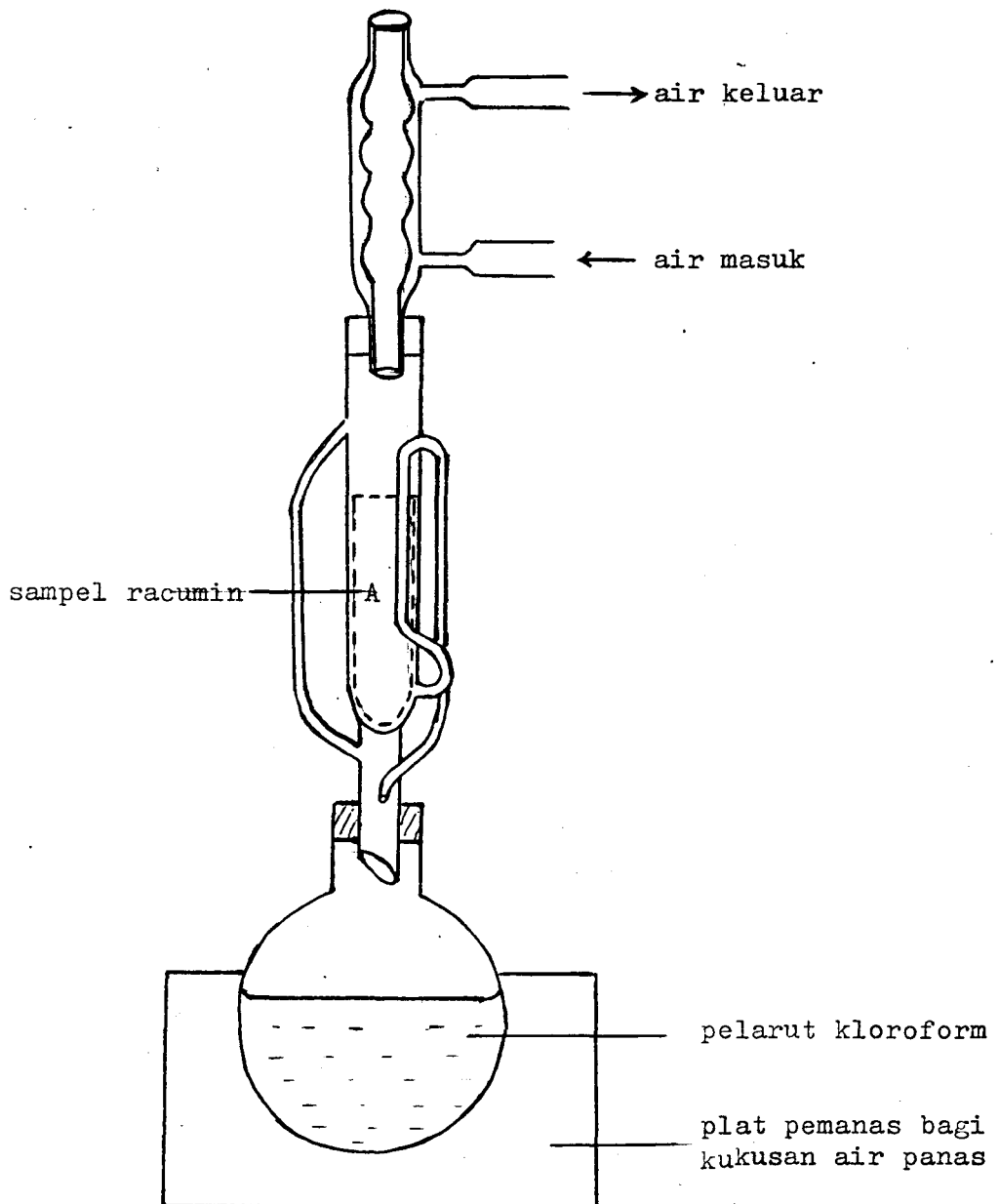
Plat kromatografi lapisan nipis (TLC) dibeli dari Schleicher dan Schuell (TLC Ready Plates). Pelarut yang digunakan bergantung kepada keterlarutan sampel di dalam pelarut. Manakala fasa bergerak yang digunakan bergantung kepada kesesuaian sampel-sampel yang digunakan ke atas polariti larutan yang telah digunakan.

## 2.9 TAKAT SUHU LEBUR

Takat suhu lebur disukat dengan alat model Gallenkamp (melting point Apparatus) bersama-sama satu termometer berukuran  $-10^{\circ}\text{C}$  hingga  $360^{\circ}\text{C} \pm 2$  yang dibeli dari England.



Gambarajah 1 : Radas bagi penyediaan asetimidokoumarin dan hidroksilkoumarin.



Gambarajah 2 : Radas pengestrakan sokelet.