

การพัฒนาโมเลกุลฟลูออเรสเซนต์เคมีเซ็นเซอร์จากปฏิกิริยาปิดวงของสารปีตาอะมิโนอะคริเลต

Development of a Fluorescent Molecule Chemosensor from Cyclization of β -
Aminoacrylates



โดย

นางสาวลำดวน จรสาย

รายงานเล่มนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง การพัฒนาโมเดลกลยุทธ์อเรสเซนซ์ซีโมเซ็นเซอร์จากปฏิกิริยาปิดวงของสารปีตาอะมิโนอะคริเลต

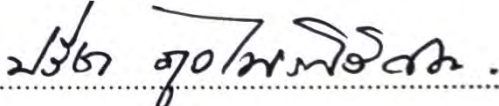
โดย นางสาวลำดวน จรสาย

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

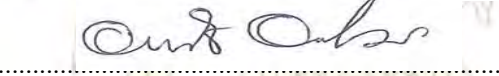
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ



ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูไพโรศิริศาล)



อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนวัช อาชวาคม)



กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วัน เดือน พ.ศ.

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

Title Development of a Fluorescent Molecule Chemosensor from
Cyclization of β -Aminoacrylates

Student name Miss Lamduan Jonsai ID 5533144023

Advisor Assist. Dr. Anawat Ajavakom

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year
2015

Abstract

Copper(II) is an important element in the human body. However, its excess from normal permissible limit can induce harmful effects to organ systems such as nervous system that lead to serious diseases, including Alzheimer's, Parkinson's and Wilson's diseases. Herein, novel of dihydrobenzoquinoline (DHBQ) derivative was synthesized from the cyclization reaction of β -aminoacrylates between 3-aminophenol and methyl propiolate in 91 % yield. Its structure was characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR, COSY, HMBC, HSQC and maldi-TOF MS spectrometry. The photophysical properties of DHBQ were investigated by UV-visible and fluorescence spectroscopy in which the absorption and emission maximum wavelengths Determined in 10 % $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ were 345 nm and 553 nm, respectively. According to the metal ion sensing results, DHBQ was found to be highly selective to Copper(II) without any other metal ion interferences. In addition, the detection limit of DHBQ was determined as $0.8 \mu\text{M}$ for copper(II) which was lower than the allowed value of copper(II) ions in drinking water ($20 \mu\text{M}$) Environmental Protection Agency (EPA).

Keywords: Copper(II), β -aminoacrylates, Dihydrobenzoquinoline, Fluorescent
chemosensor

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำโครงการวิจัยนี้ผู้จัดทำขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนวัช อาชวาคม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือให้คำปรึกษา ถ่ายทอดประสบการณ์ต่างๆ รวมทั้งให้ความอนุเคราะห์สถานที่ห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งเครื่องมือและสารเคมีในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพโรศิรศาสตร์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าให้เกียรติเป็นกรรมการในโครงการวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนกรุณาให้คำแนะนำและตรวจสอบการแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลภา เอื้องไมตรีภิรมย์ อาจารย์ผู้ประสานงานในรายวิชา Senior Project 2302499 ที่คอยดูแลและให้คำปรึกษาในรายวิชานี้

ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของฝ่ายวิชาการจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและภาควิชาเคมีที่ได้ให้ความสนับสนุนและทุนอุดหนุนในโครงการวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณความช่วยเหลือจากเพื่อนในภาควิชาเคมีทุกคน รวมไปถึงพี่น้องศิษย์ปริญาโท และปริญาเอกในกลุ่มวิจัยที่ได้ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคต่างๆ ในการใช้และดูแลรักษาเครื่องมือ รวมไปถึงคำปรึกษาและคำแนะนำต่าง ๆ จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ค	
Abstract.....ง	
กิตติกรรมประกาศ.....จ	
สารบัญรูป.....ญ	
สารบัญตาราง.....ฐ	
บทที่ 1 บทนำ..... 1	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา (มูลเหตุจูงใจ)..... 1	
1.2 วัตถุประสงค์ 3	
1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง..... 3	
1.3.1 การวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์..... 3	
1.3.2 ฟลูออโรจีนิคเซ็นเซอร์..... 7	
1.4 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 9	
1.5 ขอบเขตของงานวิจัย..... 12	
บทที่ 2 การทดลองและผลการทดลอง 13	
2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 13	
2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 13	
2.3 วิธีการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ 14	
2.3.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรไพริดีน-2-อะมีโนฟีนอล (dimethyl 1-(2-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate; DHP-2AP)..... 14	

2.3.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรพิริดีน-4-อะมิโนฟีนอล (dimethyl 1-(4-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate; DHP-4AP).....	15
2.3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรเบนโซควิโนลีน (methyl 5-hydroxy-3-(2-methoxy-2-oxoethyl)-3,4-dihydrobenzo[f]quinoline-2-carboxylate; DHBQ)	18
2.4 การศึกษาค่าการดูดกลืนและการคายแสงของ DHBQ.....	24
2.4.1 การศึกษาผลของเปอร์เซ็นต์น้ำต่อความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์.....	24
2.4.2 การศึกษาความจำเพาะต่อไอออนโลหะของ DHBQ ในตัวทำละลาย H ₂ O/DMSO ที่ 1%, 5% และ 10%.....	24
2.4.3 การหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดของ DHBQ ต่อไอออน Cu(II) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอออน Cu(II) จาก 0-50 µM.....	24
2.4.4 การศึกษาผลของการรบกวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบ DHBQ-Cu(II) เมื่อมีไอออนชนิดต่างๆ ในสารละลาย	25
บทที่ 3 วิจารณ์ผลการทดลอง	26
3.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรพิริดีน-2-อะมิโนฟีนอล (dimethyl 1-(2-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate; DHP-2AP)	26
3.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรพิริดีน-4-อะมิโนฟีนอล (dimethyl 1-(4-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate; DHP-4AP)	27
3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรเบนโซควิโนลีน (methyl 5-hydroxy-3-(2-methoxy-2-oxoethyl)-3,4-dihydrobenzo[f]quinoline-2-carboxylate; DHBQ).....	30
3.4 การศึกษาค่าการดูดกลืนและการคายแสงของ DHBQ.....	44
3.4.1 การศึกษาผลของเปอร์เซ็นต์น้ำต่อความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์.....	44
3.4.2 การตรวจสอบความจำเพาะต่อไอออนโลหะของ DHBQ ที่ 1%, 5% และ 10% H ₂ O/DMSO	45

3.4.3 การศึกษาผลของการรบกวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบ DHBQ-Cu(II) เมื่อมีไอออนชนิดต่างๆในสารละลาย.....	47
3.4.4 การหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดของ DHBQ ต่อไอออน Cu(II) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ ไอออน Cu(II) จาก 0-50 μM	48
บทที่ 4 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	50
4.1 สรุปผลการทดลอง.....	50
4.2 ข้อเสนอแนะในการพัฒนางานวิจัยนี้ต่อไปในอนาคต	50
เอกสารอ้างอิง.....	51
ประวัติผู้วิจัย	53

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 1.1 โครงสร้างของ DHP	2
รูปที่ 1.2 โครงสร้างของ DHP-4AP	2
รูปที่ 1.3 โครงสร้างของ 3-amino-2-naphtol	2
รูปที่ 1.4 โครงสร้างของสารเป้าหมาย (DHP-AN)	2
รูปที่ 1.5 Jablonski diagram แสดงการเกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์	3
รูปที่ 1.6 การถ่ายเทพลังงานแบบ FRET	4
รูปที่ 1.7 กระบวนการระงับการเรืองแสงแบบ collisional (dynamic) และ static	5
รูปที่ 1.8 กระบวนการเกิด photo-induced electron transfer (PET)	5
รูปที่ 1.9 กระบวนการเกิด internal charge transfer (ICT)	5
รูปที่ 1.10 ส่วนประกอบของเซ็นเซอร์ทางเคมี	7
รูปที่ 1.11 รูปร่างโมเลกุลที่นิยมใช้เป็นฟลูออโรฟอร์สำหรับให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (ก) แนพทาลีน (ข) พีแนนทรีน (ค) ไพรีน (ง) ฟลูออเรสซีน	7
รูปที่ 1.12 รูปแบบการตอบสนองของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์	8
รูปที่ 1.13 โครงสร้างของ mercyanine dye 1 (ซ้าย) และกราฟการตอบสนองของสัญญาณ ฟลูออเรสเซนซ์ 1 ต่อไอออนชนิดต่างๆ (ขวา)	9
รูปที่ 1.14 โครงสร้างของ P2 (ซ้าย) และกราฟแสดงการตอบสนองของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ของ P2 เมื่อมี copper(II) และเมื่อมีทั้ง copper(II) และ sulfide ในระบบ (ขวา)	10
รูปที่ 1.15 โครงสร้างโมเลกุลเป้าหมาย (ซ้าย) และฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของโมเลกุลฟลูออ เรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีแกนกลางเป็น 1,3,5-triphenylbenzene ต่อเข้ากับฟลูออโร ฟอร์ชนิดที่ 3 ตอบสนองต่อไอออนชนิดต่างๆ (ขวา)	10
รูปที่ 1.16 Novel “turn on” fluorescent sensors based on anthracene and carbazone units for Cu (II) ion in CH ₃ CN–H ₂ O	10

รูปที่	หน้า
รูปที่ 1.17 แสดงการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของอนุพันธ์ 1,4-dihydropyridine	11
รูปที่ 1.18 Novel Synthetic Route to 1,4-Dihydropyridines from β -Amino Acrylates by Using Titanium(IV) Chloride under Facile Conditions	11
รูปที่ 1.19 การสังเคราะห์สารเป้าหมาย DHP-AN	12
รูปที่ 2.1 สเปกตรัม ^1H NMR ของ DHP-4AP	17
รูปที่ 2.2 สมการการสังเคราะห์ DHBQ	19
รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงเมื่อเตรียมสาร DHBQ ในตัวทำละลาย CDCl_3 เพื่อวิเคราะห์ ^1H NMR	19
รูปที่ 2.4 ^1H NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ	22
รูปที่ 2.5 สเปกตรัม maldi-TOF MS ของ DHBQ	23
รูปที่ 2.6 ^1H NMR สเปกตรัม (CDCl_3 , 400 MHz) ของ BQ	23
รูปที่ 3.1 กลไกการสังเคราะห์สารปีตาอะมีโนอะคริเลตของ DHP-2AP	26
รูปที่ 3.2 กลไกการปิดวงของสารปีตาอะมีโนอะคริเลตได้ DHP-2AP	27
รูปที่ 3.3 กลไกการสังเคราะห์สารปีตาอะมีโนอะคริเลตของ DHP-4AP	28
รูปที่ 3.4 กลไกการปิดวงของสารปีตาอะมีโนอะคริเลตได้ DHP-4AP	28
รูปที่ 3.5 สเปกตรัม ^1H NMR ของ DHP-4AP	29
รูปที่ 3.6 ^1H NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ	31
รูปที่ 3.7 ^{13}C NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ	32
รูปที่ 3.8 COSY NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ	33
รูปที่ 3.9 HMBC NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ	34
รูปที่ 3.10 HSQC NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ	35
รูปที่ 3.11 สเปกตรัม maldi-TOF MS ของ DHBQ	36
รูปที่ 3.12 กลไกการสังเคราะห์ DHBQ	37
รูปที่ 3.13 การเปลี่ยนแปลงเมื่อเตรียมสาร DHBQ ในตัวทำละลาย CDCl_3 เพื่อวิเคราะห์ ^1H NMR	38

รูปที่	หน้า
รูปที่ 3.14 ^1H NMR สเปกตรัม (CDCl_3 , 400 MHz) ของ BQ	38
รูปที่ 3.15 ^1H NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ	39
รูปที่ 3.16 เปรียบเทียบ DHBQ กับ BQ เมื่อเวลาผ่านไป	42
รูปที่ 3.17 ^1H NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ BQ	43
รูปที่ 3.18 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจาก DHBQ เป็น BQ	43
รูปที่ 3.19 โครงสร้างผลึก sc-XRD ของ BQ	44
รูปที่ 3.20 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ เมื่อเพิ่มสัดส่วนน้ำตั้งแต่ 0% - 90%	45
รูปที่ 3.21 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ ตอบสนองต่อไอออนโลหะชนิดต่างๆ ที่ 1% $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$	45
รูปที่ 3.22 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ ตอบสนองต่อไอออนโลหะชนิดต่างๆ ที่ 5% $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$	46
รูปที่ 3.23 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ ตอบสนองต่อไอออนโลหะชนิดต่างๆ ที่ 10% $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$	46
รูปที่ 3.24 การศึกษาผลของการรบกวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบ DHBQ-Cu(II)	47
รูปที่ 3.25 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ-Cu(II) ที่ความเข้มข้น Cu(II) ระหว่าง 0-60 μM ในระบบ 10% $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$	48
รูปที่ 3.26 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Cu(II) (แกนนอน) และความเข้มของแสง (แกนตั้ง)	49

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงสถานะในการทดลองเพื่อสังเคราะห์ DHP-AN	17
ตารางที่ 2.2 ตารางแสดงขั้นตอนการทดลองเพื่อพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสาร DHBQ	20
ตารางที่ 2.3 แสดงชนิดของแคตไอออนและ stock solution ที่ใช้	24

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายคำย่อและสัญลักษณ์



R_f	retardation factor
$^{\circ}\text{C}$	degree centigrade
$^1\text{H-NMR}$	Proton Nuclear Magnetic Resonance
$^{13}\text{C-NMR}$	Carbon Nuclear Magnetic Resonance
cm^{-1}	wavenumber
δ	chemical shift
eq.	equivalent
DCM	dichloromethane
DCE	1,2-dichloroethane
DHP	dihydropyridine
EtOAc	ethyl acetate
g	gram
mg	milligram
mL	milliliter
mmol	millimole
μM	micromolar
nm	nanometer
TLC	thin layer chromatography
MHz	megahertz

J	coupling constant
s	singlet
d	doublet
t	triplet
q	quartet
m	multiplet
dd	doublet of doublet
dt	doublet of triplet
hsqc	Heteronuclear Single Quantum Coherence
hmbc	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
COSY	Correlation spectroscopy
mal-di-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometer

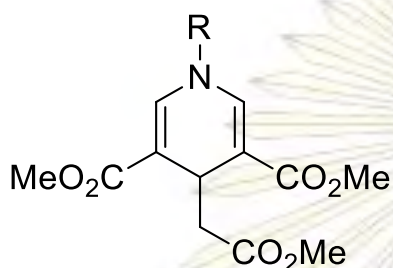
ภาควิชาเคมี
 คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1 บทนำ

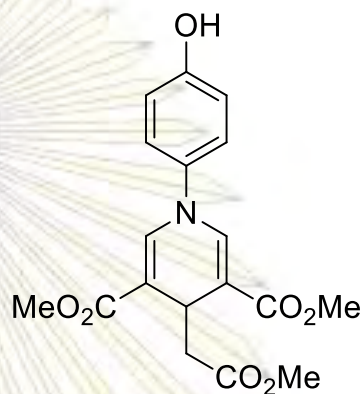
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา (มูลเหตุจูงใจ)

คอปเปอร์(II) หรือทองแดงเป็นหนึ่งในธาตุที่ร่างกายต้องการในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ เนื่องจากเป็นส่วนประกอบสำคัญในเอนไซม์และน้ำย่อยต่างๆ ในร่างกาย ทั้งยังเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการสร้างฮีโมโกลบินของเม็ดเลือดแดง^[1] การขาดคอปเปอร์(II) หรือมีปริมาณคอปเปอร์(II) ไม่เพียงพอต่อความจำเป็นของร่างกายอาจส่งผลเสียต่อระบบการทำงานของร่างกายโดยเฉพาะความผิดปกติของการสร้างเม็ดเลือดแดงและอาจทำให้เกิดโรคโลหิตจาง^[1] อย่างไรก็ตามปริมาณของคอปเปอร์(II) ที่มากเกินไปในร่างกายก็สามารถทำให้เกิดผลเสียต่อร่างกายได้เช่นกัน โดยจะทำให้เกิดความผิดปกติของระบบประสาทส่งผลให้เกิดโรคต่างๆ ตามมาได้แก่ โรค พาร์กินสัน (Parkinson's disease)^[2] โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และโรควิลสัน (Wilson's disease)^[3] อีกทั้งยังอาจทำให้ระบบทางเดินอาหารและไตทำงานผิดปกติได้ สำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (Environmental Protection Agency - EPA) ได้อนุญาตให้มีคอปเปอร์(II) ปนเปื้อนในน้ำดื่มได้ไม่เกิน 1.3 ppm^[4] หรือประมาณ 20 μM ในปัจจุบันนักวิจัยได้พัฒนาเทคนิคต่างๆ ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์คอปเปอร์(II) และไอออนโลหะหนักต่างๆ เช่น atomic absorption spectroscopy (AAS), inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP - AES) และ inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) เป็นต้น แต่เทคนิคดังกล่าวมีข้อจำกัดทั้งค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ที่ค่อนข้างสูง อีกทั้งยังมีความซับซ้อนซึ่งต้องอาศัยทักษะและความชำนาญในการวิเคราะห์สูง เมื่อเทียบกับเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence spectroscopy) ที่มีค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างต่ำ มีความไวและความจำเพาะในการตรวจวัดสูง ใช้งานง่าย ทำให้ปัจจุบันมีงานวิจัยที่พยายามพัฒนาโมเลกุลฟลูออเรสเซนซ์คีโมเซ็นเซอร์เพื่อใช้เป็นเซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนโลหะคอปเปอร์(II) รวมถึงไอออนโลหะอื่นๆ เป็นจำนวนมาก โดยลักษณะของโมเลกุลที่สามารถเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้มักเป็นโมเลกุลที่อยู่ในโครงสร้างประกอบด้วยระบบคอนจูเกตจำนวนมาก อาทิเช่น สารกลุ่มอะโรมาติก และเป็นโครงสร้างที่แข็งเกร็ง (rigid)^[5] จากรายงานการวิจัยของ Sirijindalert และคณะ^[6] พบว่าสามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 1,4-dihydropyridine (DHP-OH) โดยอาศัยปฏิกิริยาของ Hantzsch ที่ผ่านการดัดแปลงแล้วได้สำเร็จ ดังแสดงโครงสร้างรูป 1.1 ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวมีระบบคอนจูเกตทำให้สามารถวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ ถัดมาในงานวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโทของณัฐพงษ์ ศรีเมือง^[7] ได้รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรพริดีน 4-อะมิโนฟีนอล (dimethyl-1-(4-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate; DHP-4AP) รูปที่ 1.2 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ DHP ชนิดที่มีหมู่แทนที่บนอะตอมไนโตรเจนเป็นฟีนอลซึ่งเป็นวงอะโรมาติกหนึ่งวง พบว่าโมเลกุลดังกล่าวมีความจำเพาะต่อไอออน Au^{3+}

ด้วยเหตุนี้ผู้ทำวิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาผลของหมู่แทนที่ตำแหน่งอะตอมไนโตรเจนของโมเลกุล DHP เพื่อพัฒนาการสังเคราะห์ DHP ตัวใหม่สำหรับพัฒนาเป็นฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น โดยได้เลือกสาร 3-amino-2-naphthol (รูปที่ 1.3) มาเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP ชนิดใหม่ โดยมีการเพิ่มระบบคอนจูเกตให้กับโมเลกุลจากการที่มีวงอะโรมาติกคอนจูเกตกันสองวง อีกทั้งยังอาจเพิ่ม

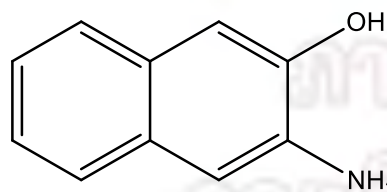


รูปที่ 1.1 โครงสร้างของ DHP

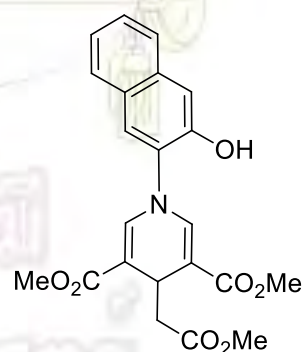


รูปที่ 1.2 โครงสร้างของ DHP-4AP

ความสามารถในการจับกับโลหะไอออนได้ดีขึ้น เนื่องจากมีอะตอมออกซิเจนจากหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งเป็นหมู่แทนที่ในวงแนฟทาลีนซึ่งมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวหลงเหลืออยู่ และด้วยตำแหน่งของหมู่ดังกล่าวอยู่ใกล้กับอะตอมไนโตรเจนยังอาจมีส่วนช่วยในการคีเลตกับไอออนโลหะร่วมกับอะตอมไนโตรเจนได้ โดยคาดหวังว่าการจับตัวกับไอออนของโลหะจะเกิดขึ้นอย่างจำเพาะเจาะจงและจะส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณการเรืองแสงอย่างมีนัยสำคัญได้ โดยแสดงโครงสร้างของสารเป้าหมาย (DHP-AN) ดังรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.3 โครงสร้างของ 3-amino-2-naphthol



รูปที่ 1.4 โครงสร้างของสารเป้าหมาย (DHP-AN)

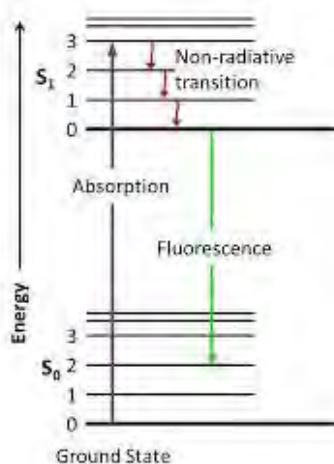
1.2 วัตถุประสงค์

1. สังเคราะห์โมเลกุลฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ (DHP-AN) ที่เกิดจากการเปลี่ยนหมู่แทนที่ของอะตอมไนโตรเจนของโมเลกุล DHP ด้วย 3-amino-2-naphthol และพิสูจน์เอกลักษณ์รวมทั้งวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ของสารผลิตภัณฑ์
2. ทดสอบการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ของสารผลิตภัณฑ์เมื่อจับกับกลุ่มไอออนโลหะ ได้แก่ Li^+ , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+} , Hg^+ และ Hg^{2+}

1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.3.1 การวาวแสงฟลูออเรสเซนต์^[8]

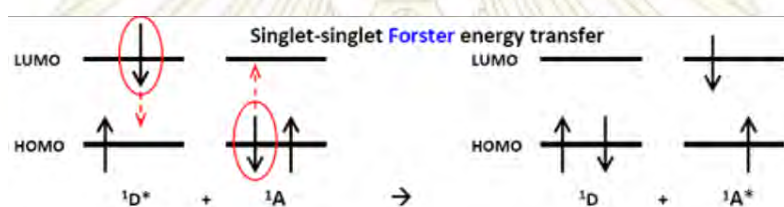
ฟลูออเรสเซนต์เกิดจากการที่สารดูดกลืนพลังงานแสงในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ และปล่อยโฟตอน ที่มีพลังงานต่ำกว่าออกมา กระบวนการเกิดฟลูออเรสเซนต์ของสารเริ่มต้นจากการที่โมเลกุลของสารที่สถานะพื้น (ground state, S_0) ได้รับพลังงานกระตุ้นด้วยแสง ทำให้อิเล็กตรอนในออร์บิทัลระดับพลังงานสูงสุดที่มีอิเล็กตรอนบรรจุอยู่หรือที่เรียกว่า HOMO (highest occupied molecular orbital) ถูกกระตุ้นไปยังออร์บิทัลระดับพลังงานต่ำสุดที่ไม่มีอิเล็กตรอนอยู่หรือที่เรียกว่า LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) มีผลทำให้ระบบมีความเสถียรลดลง โมเลกุลจึงมีการคายพลังงานที่ไม่ใช่แสง (non-radiative decay) เพื่อลดระดับพลังงานการสั่น หรือการหมุนลงมายังระดับที่มีพลังงานต่ำที่สุดของภาวะกระตุ้นที่เรียกว่า lowest singlet excited state (LSE) ทำให้เกิดการคายพลังงาน โดยการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence) ทำให้โมเลกุลกลับมาอยู่ที่สถานะพื้นซึ่งมีอิเล็กตรอนกลับมาที่ระดับพลังงานในชั้น HOMO โดยสามารถอธิบายได้ด้วย Jablonski diagram ดังรูปที่ 1.5



รูปที่ 1.5 Jablonski diagram แสดงการเกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนต์^[8]

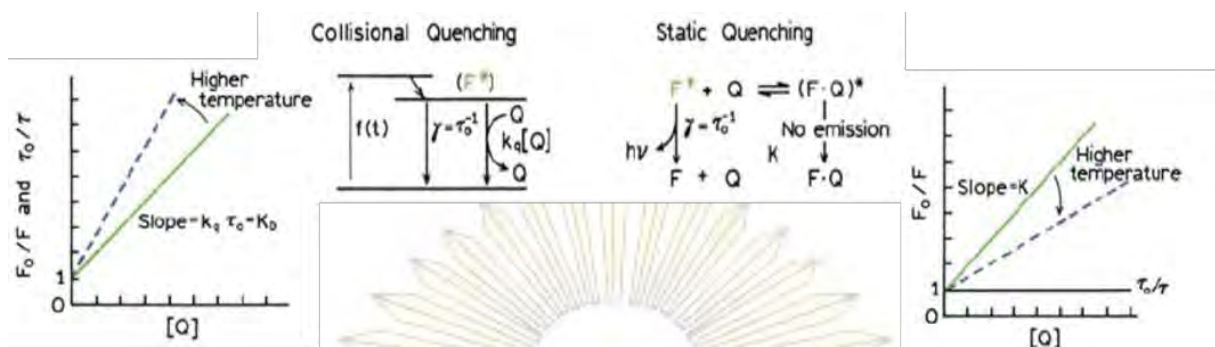
ในบางกรณีกระบวนการเปล่งแสงนี้อาจถูกแทรกแซงได้โดยกระบวนการอื่น ในบางกรณีกระบวนการเปล่งแสงนี้อาจถูกแทรกแซงได้โดยกระบวนการอื่น อาทิเช่น

1) พลังงานแบบ Förster resonance energy transfer (FRET) ทำให้มีการลดระดับพลังงานในรูปแบบที่ไม่ให้แสงโดยการเหนี่ยวนำไดโพลโมเมนต์ของหน่วยเรืองแสงในภาวะกระตุ้นที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้พลังงาน (energy donor) กับโมเลกุลข้างเคียงกับที่ทำหน้าที่รับพลังงาน (energy acceptor) โดยตัวรับพลังงานต้องมีช่องพลังงาน HOMO-LUMO อยู่ระหว่างช่องพลังงานของหน่วยเรืองแสง (รูปที่ 1.6) และประสิทธิภาพการถ่ายเทพลังงานแปรผกผันกับระยะห่างระหว่างหน่วยเรืองแสงกับตัวรับพลังงานยกกำลังหก กระบวนการ FRET จึงเกิดได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อหน่วยเรืองแสงกับตัวรับพลังงานอยู่ห่างกันไม่เกิน 10 นาโนเมตร



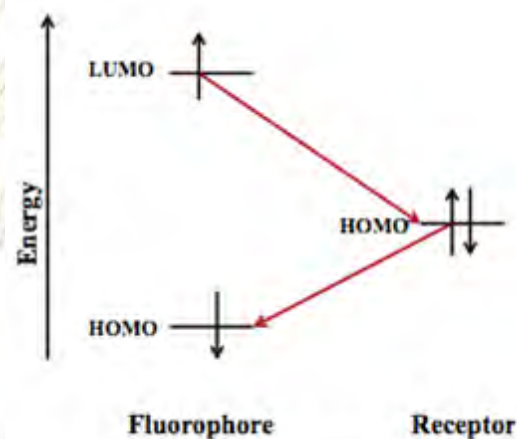
รูปที่ 1.6 การถ่ายเทพลังงานแบบ FRET ^[9]

2) การถ่ายเทพลังงานแบบ Dexter ซึ่งมีกลไกการระงับการเรืองแสง (quenching) ซึ่งในระดับโมเลกุลแบ่งได้เป็นสองแบบ คือ แบบ dynamic และ static ดังรูปที่ 1.7 ซึ่งการระงับการเรืองแสงทั้งสองลักษณะต้องอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารที่เรืองแสงได้และสารระงับการเรืองแสง โดยในกรณีของ dynamic quenching การระงับการเรืองแสงเกิดจากสารที่เรืองแสง (donor) อยู่ในสถานะกระตุ้น ถ่ายโอนพลังงานไปยังตัวระงับการเรืองแสง (acceptor) เมื่อโมเลกุลของสารทั้งสองเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันมากพอ แล้วเกิดการส่งผ่านพลังงานโดยอาศัยการเหนี่ยวนำแบบ ไดโพล-ไดโพล ผ่านที่ว่างโดยไม่มีการซ้อนทับกันของโมเลกุลออร์บิทัลที่เรียกว่า FRET นอกจากนี้การส่งผ่านพลังงานยังอาจเกิดจากการชนกันและมีการซ้อนทับกันของออร์บิทัลของสารที่ให้และรับพลังงานที่เรียกว่า Dexter energy transfer หรืออาจเรียกว่า collisional quenching ส่วน static quenching เกิดขึ้นเมื่อสารที่เรืองแสง และตัวระงับการเรืองแสงยึดจับกันเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สถานะพื้น (ground state complex) แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน มีสเปกตรัมการดูดกลืนและการเรืองแสงที่ต่างไปจากสารเรืองแสงเดิม รวมทั้งการเพิ่มอุณหภูมิจะมีผลให้ประสิทธิภาพการระงับการเรืองแสงลดลงซึ่งตรงข้ามกับกรณีของ FRET แบบ dynamic quenching



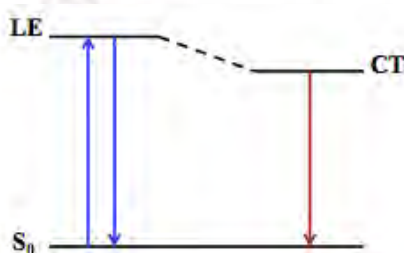
รูปที่ 1.7 กระบวนการระงับการเรืองแสงแบบ collisional (dynamic) และ static ^[9]

3) กระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอน (photo-induced electron transfer, PET) เกิดขึ้นได้เมื่อสารที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนมีออร์บิทัลไดออร์บิทัลหนึ่ง (HOMO หรือ LUMO) อยู่ระหว่างระดับชั้นพลังงาน HOMO และ LUMO ของสารเรืองแสงที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนดังรูปที่ 1.8



รูปที่ 1.8 กระบวนการเกิด photo-induced electron transfer (PET) ^[9]

4) การถ่ายเทคู่อิเล็กตรอนภายในโมเลกุลที่เรียกว่า internal charge transfer (ICT) ซึ่งเกิดผ่านระบบพายคอนจูเกต มีผลทำให้โมเลกุลสารเรืองแสงในภาวะกระตุ้นมีระดับพลังงานลดลง ดังแสดงในรูปที่ 1.9 จึงทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เลื่อนไปทางแสงสีแดง (red shift) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวมักทำให้ประสิทธิภาพการเรืองแสงลดลงด้วยเนื่องจากโมเลกุลในภาวะกระตุ้นมีช่วงชีวิตที่ยาวขึ้น



รูปที่ 1.9 กระบวนการเกิด internal charge transfer (ICT) ^[9]

ประสิทธิภาพของการเปล่งแสงหลังการกระตุ้นด้วยพลังงานแสงเรียกว่าควอนตัมยิลด์ (quantum yield) ซึ่งค่าควอนตัมยิลด์ ของปรากฏการณ์ฟลูออเรสเซนซ์ (Φ_F) สามารถวัดได้จากจำนวนโฟตอนของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ให้ออกมาเทียบกับจำนวนโฟตอนที่ถูกดูดกลืนโดยสาร ดังสมการ

$$\Phi_F = \frac{\text{photons emitted}}{\text{photons absorbed}}$$

ค่าควอนตัมยิลด์นี้ยังสัมพันธ์กับอัตราเร็วในการคายพลังงานในรูปแสงฟลูออเรสเซนซ์เทียบกับอัตราเร็วในการคายพลังงานทั้งหมด ดังสมการ

$$\Phi_F = \frac{k_F}{(k_F + k_{nr})}$$

โดยที่ k_F = ค่าคงที่อัตราเร็วของ fluorescence relaxation

และ k_{nr} = ค่าคงที่อัตราเร็วของ nonradiative relaxation

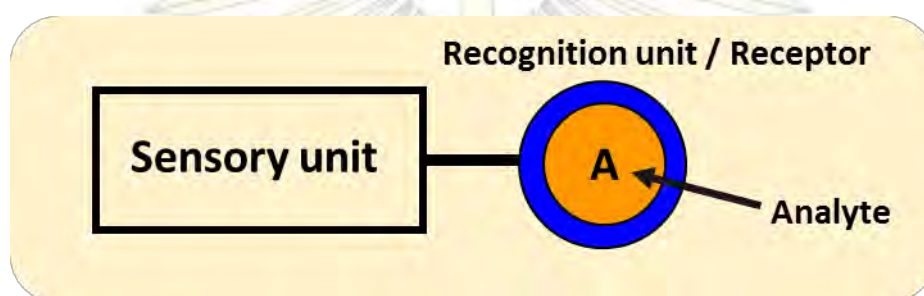
โมเลกุลที่ให้ฟลูออเรสเซนซ์ได้ดี เช่น Rhodamine 101 มีควอนตัมยิลด์ใกล้เคียง 1 ในตัวทำละลายเอทานอล และสารที่ไม่ให้ฟลูออเรสเซนซ์มีควอนตัมยิลด์ใกล้เคียง 0 การเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์นอกจากเกิดผ่านกระบวนการถ่ายเทพลังงานแล้วยังอาจเกิดผ่านกระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอน (photo-induced electron transfer, PET) ได้ด้วย

ในการวิเคราะห์ที่เกิเกิดขึ้นจากตัวระงับสัญญาณนั้นให้ความสำคัญกับอัตราส่วนระหว่างความเข้มของแสงที่ปลดปล่อยออกมาจากสารเรืองแสงก่อนเติมสารระงับการเรืองแสง (I_0) เทียบกับความเข้มของแสงที่ปลดปล่อยออกมาหลังการเติมสารระงับการเรืองแสง (I) ในช่วงที่แปรผันตามความเข้มข้นของสารระงับการเรืองแสง ($[Q]$) ตามสมการของ Stern-Volmer ดังต่อไปนี้โดยที่ K_{SV} บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของการระงับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของตัวระงับสัญญาณที่มีต่อสารเรืองแสง

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV} [Q]$$

โดยที่ K_{SV} บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของการระงับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของตัวระงับสัญญาณที่มีต่อสารเรืองแสง

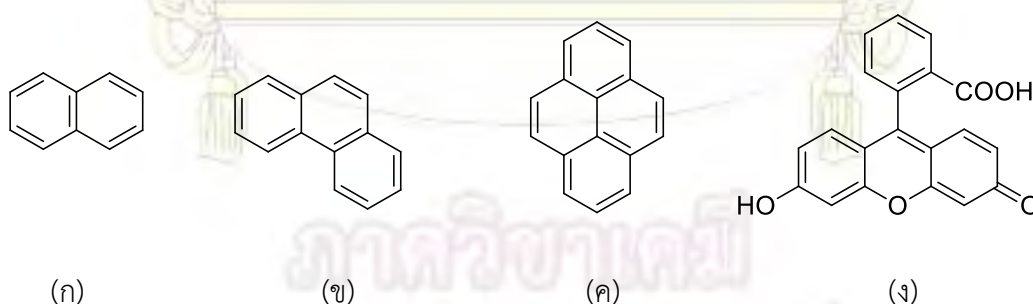
โมเลกุลของเซ็นเซอร์ทางเคมีนั้นต้องประกอบไปด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วนได้แก่ ส่วนในการเลือกจับอย่างจำเพาะเจาะจงกับสารที่เราต้องการวิเคราะห์ (recognition unit) หรือตัวรับ (receptor) และส่วนของหน่วยให้สัญญาณ (sensory unit) ดังในรูปที่ 1.10 โดยในส่วนของหน่วยให้สัญญาณอาจจะเป็นโมเลกุลที่มีคุณสมบัติเป็นโครโมฟอร์ ฟลูออโรฟอร์ หรือโมเลกุลที่สามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ได้ เมื่อส่วนของตัวรับของเซ็นเซอร์ได้เลือกจับกับโมเลกุลเป้าหมาย (analyte) จะเกิดการถ่ายทอดสัญญาณผ่านกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนไปยังหน่วยให้สัญญาณซึ่งจะแสดงสัญญาณออกมาได้หลายรูปแบบและสามารถตรวจวัดได้โดยใช้เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ต่างๆ อาทิเช่น เคมีไฟฟ้า สเปกโตรโฟโตเมทรี เป็นต้น



รูปที่ 1.10 ส่วนประกอบของเซ็นเซอร์ทางเคมี

1.3.2 ฟลูออโรจินิกเซ็นเซอร์

ฟลูออโรจินิกเซ็นเซอร์เป็นเคมีเซ็นเซอร์ที่มีหน่วยให้สัญญาณเป็นฟลูออโรฟอร์ซึ่งสามารถให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ได้ ข้อดีของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์คือมีระดับการตรวจวัดสารหรือไอออนที่มีปริมาณน้อยหรือมีความเข้มข้นต่ำได้เป็นอย่างดี โดยทั่วไปโมเลกุลที่นิยมนำมาใช้เป็นฟลูออโรฟอร์ของฟลูออโรจินิกเซ็นเซอร์มักเป็นโมเลกุลที่มีระบบพายคอนจูเกตในโมเลกุล ดังตัวอย่างที่แสดงในรูปที่ 1.11

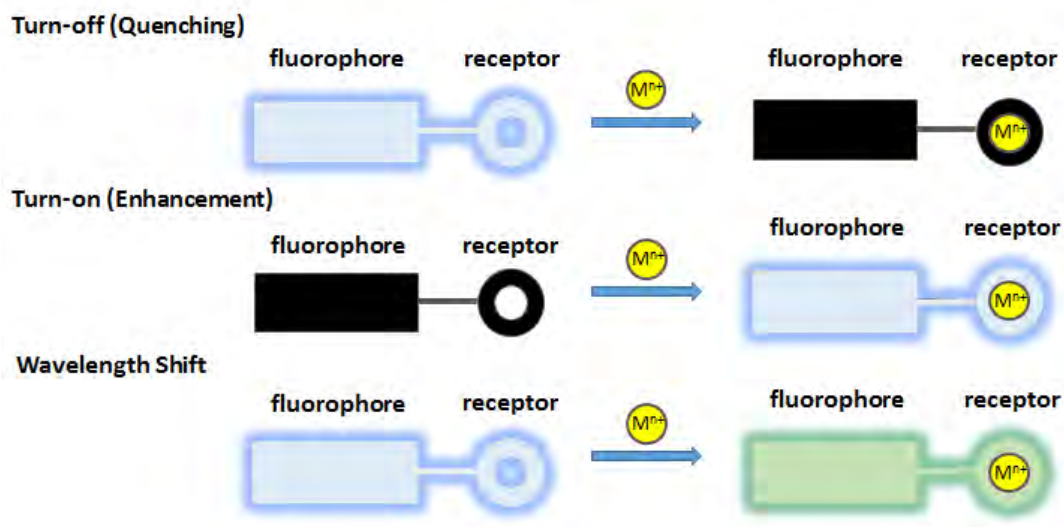


รูปที่ 1.11 รูปร่างโมเลกุลที่นิยมใช้เป็นฟลูออโรฟอร์สำหรับให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

(ก) แนพทาลีน (ข) ฟีนแอนทรีน (ค) ไพรีน (ง) ฟลูออเรสซิน

เมื่อหน่วยรับของโมเลกุลฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จับกับโมเลกุลเป้าหมายจะทำให้การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ได้ 3 รูปแบบคือ ฟลูออเรสเซนต์แบบดับสัญญาณ (turn-off fluorescence), ฟลูออเรสเซนต์แบบเปล่งสัญญาณ (turn-on fluorescence) และฟลูออเรสเซนต์แบบเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่น (wavelength shift fluorescence) ดังแสดงในรูปที่ 1.12

1. ฟลูออเรสเซนต์แบบดับสัญญาณ (turn-off fluorescence) คือการที่หน่วยรับของโมเลกุลฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จับกับโมเลกุลเป้าหมายแล้วเกิดการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ลง ค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์จะลดลง
2. ฟลูออเรสเซนต์แบบเปล่งสัญญาณ (turn-on fluorescence) คือการที่หน่วยรับของโมเลกุลฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จับกับโมเลกุลเป้าหมายแล้วเกิดการเปล่งสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ขึ้น ค่าความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์จะเพิ่มขึ้น
3. ฟลูออเรสเซนต์แบบเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่น (wavelength shift fluorescence) คือการที่หน่วยรับของโมเลกุลฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์จับกับโมเลกุลเป้าหมายแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงของความยาวคลื่นในขณะที่ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์นั้นยังคงเดิม

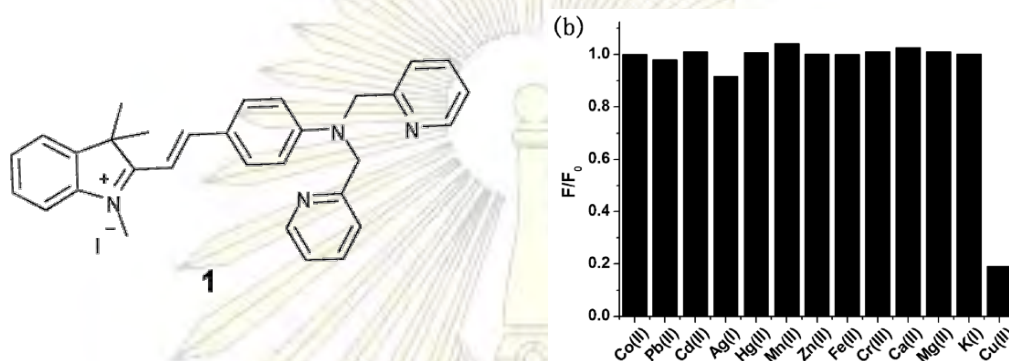


รูปที่ 1.12 รูปแบบการตอบสนองของฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ ^[10]

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

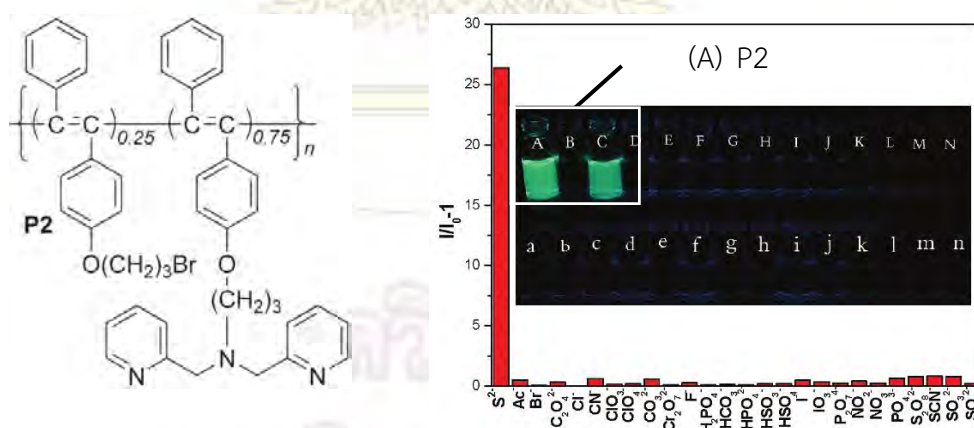
1.4 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Wang และคณะ^[11] ได้สังเคราะห์ merocyanine dye **1** พบว่าสัญญาณการเรืองแสงของโมเลกุลถูกระงับอย่างมีความจำเพาะเจาะจงกับไอออนของคอปเปอร์(II) เมื่อนำฟลูออโรฟอร์ไปยังอิมเมชันแล้วทดสอบด้วยไอออนของคอปเปอร์(II) จะเห็นการดับสัญญาณการเรืองแสงลง (รูปที่ 1.13)



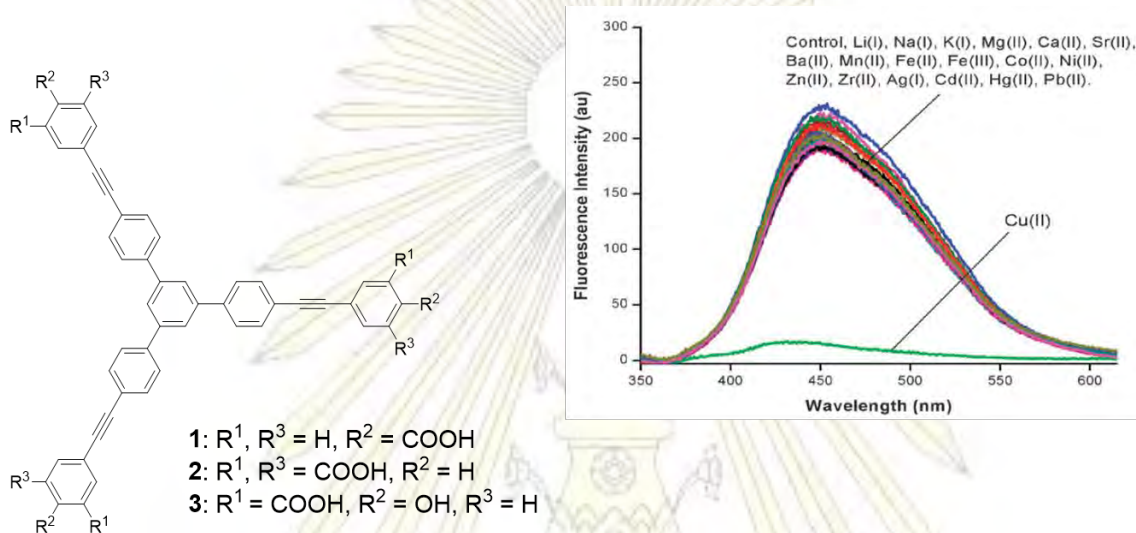
รูปที่ 1.13 โครงสร้างของ merocyanine dye **1** (ซ้าย) และกราฟการตอบสนองของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ **1** ต่อไอออนชนิดต่างๆ (ขวา)^[11]

Zhang และคณะ^[12] ได้ศึกษาสมบัติการเรืองแสงของ P2 ซึ่งเป็นสาร polyacetylene ที่มี pyridine ต่อที่โซ่กิ่งโดยพบว่าสัญญาณการเรืองแสงของ P2 จะถูกระงับอย่างสมบูรณ์ด้วยไอออนคอปเปอร์(II) ได้ที่ความเข้มข้นต่ำในระดับ 2 μM และเมื่อเติมไอออนของซัลไฟด์ลงไปในสารละลายของ P2 + Cu จะสามารถดึงสัญญาณการเรืองแสงกลับคืนมาได้ 80% มีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด (LOD) เท่ากับ 50 μM (รูปที่ 1.12)



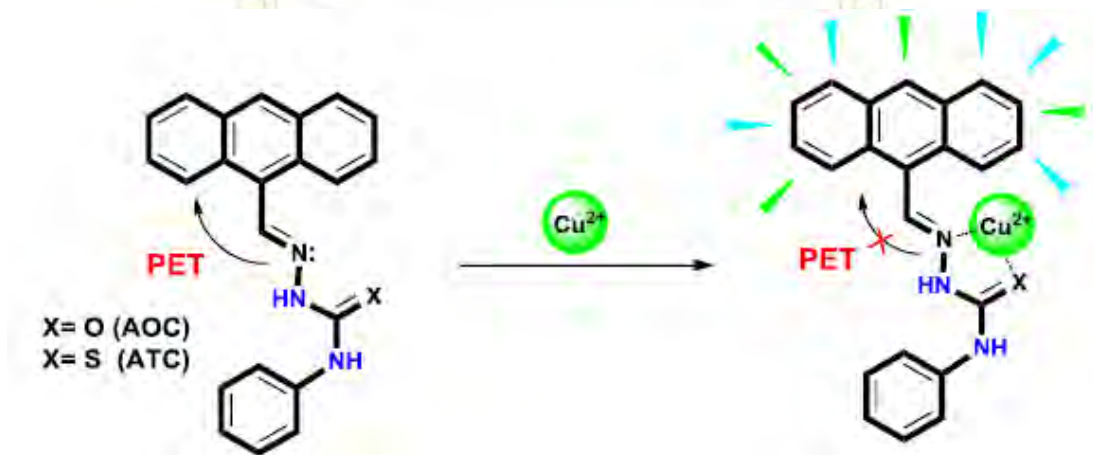
รูปที่ 1.14 โครงสร้างของ P2 (ซ้าย) และกราฟแสดงการตอบสนองของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ P2 เมื่อมี copper(II) และเมื่อมีทั้ง copper(II) และ sulfide ในระบบ (ขวา)^[12]

Sirilaksanapong และคณะ^[13] ได้ทำการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ 3 ชนิดที่มีแกนกลางเป็น 1,3,5-triphenylbenzene พบว่าฟลูออโรฟอร์ชนิดที่ 3 ที่มีหมู่ปลายเป็น salicylate ถูกกระตุ้นสัญญาณอย่างจำเพาะเจาะจงกับไอออนของทองแดง(II) เมื่อมีการเติม triton X-100 ก็ช่วยเพิ่มค่าควอนตัมยิลต์ซึ่งยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการกระตุ้นสัญญาณการเรืองแสงเพิ่มขึ้น และมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำลงด้วย



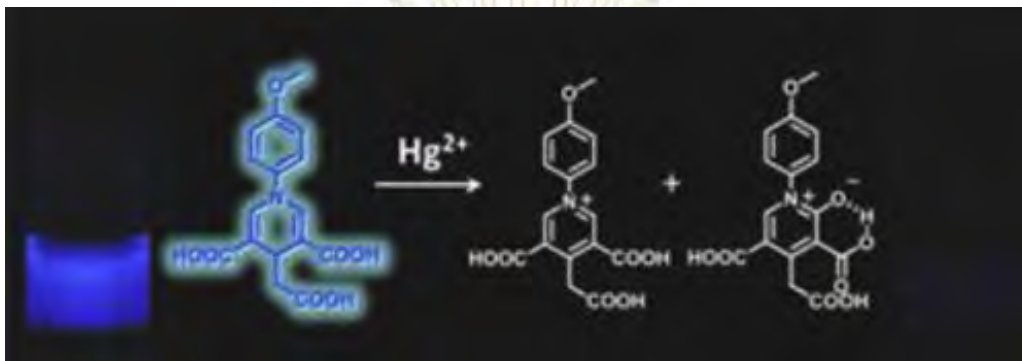
รูปที่ 1.15 โครงสร้างโมเลกุลเป้าหมาย (ซ้าย) และฟลูออเรสเซนต์สเปกตรัมของโมเลกุลฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่มีแกนกลางเป็น 1,3,5-triphenylbenzene ต่อเข้ากับฟลูออโรฟอร์ชนิดที่ 3 ตอบสนองต่อไอออนชนิดต่างๆ (ขวา)^[13]

Serkan และ Sait^[14] ได้สังเคราะห์โมเลกุล AOC และ ATC ซึ่งสามารถจับกับไอออน Cu(II) ได้อย่างจำเพาะและทำให้เกิดการระงับกระบวนการ PET และเกิดการเปล่งแสงฟลูออเรสเซนต์ขึ้น



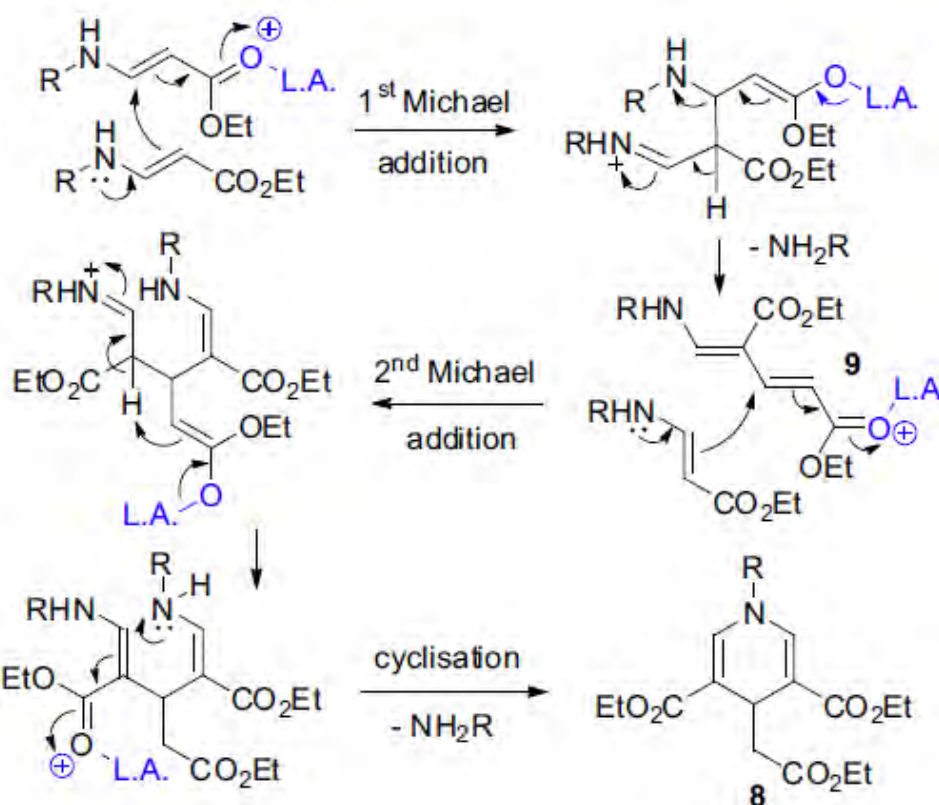
รูปที่ 1.16 Novel “turn on” fluorescent sensors based on anthracene and carbazone units for Cu (II) ion in CH₃CN–H₂O^[14]

Darane และคณะ^[15] ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของ 1,4-dihydropyridine ชนิดที่มีหมู่แทนที่ตรงตำแหน่งอะตอมไนโตรเจนเป็น *p*-methoxyphenyl ซึ่งสามารถตรวจวัดไอออนโลหะปรอท(II) ได้ในตัวทำละลายน้ำโดยเกิดการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ดังแสดงตามรูปที่ 1.17



รูปที่ 1.17 แสดงการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของอนุพันธ์ 1,4-dihydropyridine เมื่อจับกับไอออนปรอท(II)^[15]

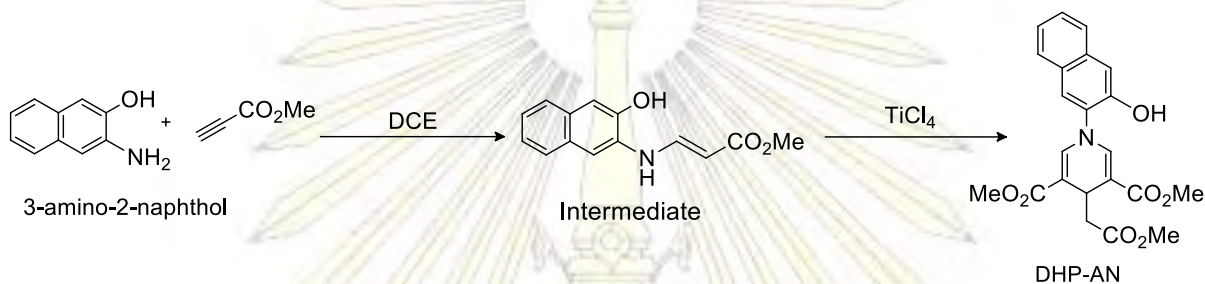
Sirijindalert และคณะ^[6] ได้พัฒนาวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP ซึ่งมีกลไกการสังเคราะห์ดังรูปที่ 1.18



รูปที่ 1.18 Novel Synthetic Route to 1,4-Dihydropyridines from β -Amino Acrylates by Using Titanium(IV) Chloride under Facile Conditions^[6]

1.5 ขอบเขตของงานวิจัย

สังเคราะห์โมเลกุลฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่เกิดจากการเปลี่ยนหมู่แทนที่บนตำแหน่งอะตอมไนโตรเจนของโมเลกุล DHP ด้วย 3-amino-2-naphthol และศึกษาความจำเพาะต่อไอออนโลหะโดยวัดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ก่อนและหลังการจับกับไอออนโลหะโดยมีความคาดหวังว่าโมเลกุลที่สังเคราะห์ได้จะสามารถตรวจจับไอออนโลหะได้อย่างจำเพาะเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจจับไอออนโลหะที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยแสดงสมการการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์เป้าหมายดังรูปที่ 1.19



รูปที่ 1.19 การสังเคราะห์สารเป้าหมาย DHP-AN

บทที่ 2

การทดลองและผลการทดลอง

2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. การระเหยตัวทำละลายใช้ Rotary evaporator ของ Buchi Rotavapor รุ่น R-200
2. การวัด ^1H NMR และ ^{13}C NMR ใช้เครื่อง Fourier transform nuclear magnetic resonance spectrometer ACF 200, Bruker, Switzerland ทำงานที่ความถี่ 400 MHz สำหรับโปรตอน และ 100 MHz สำหรับคาร์บอน - 13
3. TLC แผ่นอลูมิเนียมเคลือบด้วย silica gel 60 F₂₅₄ ความหนา 0.24 mm ของ Merck
4. เครื่อง UV spectrometer ของ Shimadzu รุ่น CPS-240A
5. เครื่อง Fluorescence spectrometer ของ Perkin Elmer Precisely รุ่น LS 45 Luminescence spectrometer

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

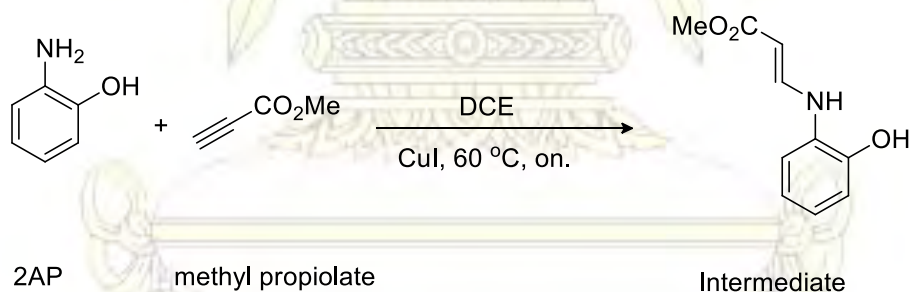
1. Dichloromethane (CH_2Cl_2), commercial grade. (ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่น)
2. 1,2-Dichloroethane ($\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), analytical reagents grade
3. Ethyl acetate (EtOAc), commercial grade. (ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่น)
4. n-Hexane, commercial grade. (ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่น)
5. Methanol (MeOH), analytical reagents grade
6. Acetone, commercial grade
7. Hydrochloric acid (HCl), Merck, Germany
8. Titanium tetrachloride (TiCl_4)
9. Methyl propiolate, Aldrich, USA
10. Magnesium sulfate anhydrous (MgSO_4)
11. Deuterated chloroform (CDCl_3), Fluka, Switzerland

12. Deuterated acetonitrile (CD_3CN), Fluka, Switzerland
13. Silica gel 60, Merck, Germany
14. Sodium hydrogen carbonate (NaHCO_3)
15. Copper(I) iodide (CuI), Aldrich, USA
16. Dimethyl sulfoxide (DMSO), Aldrich, USA

2.3 วิธีการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์

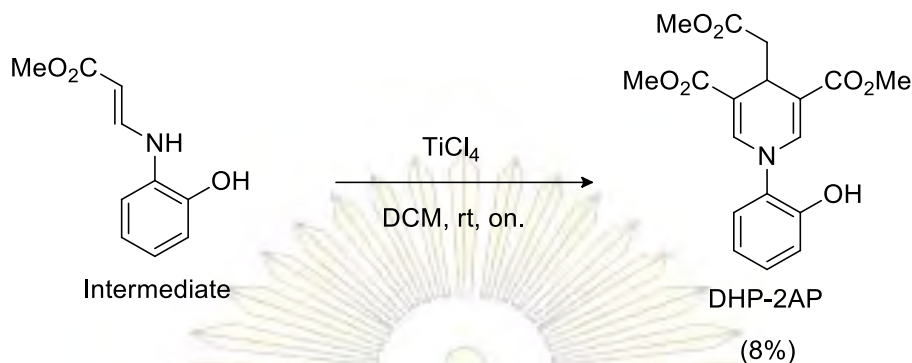
2.3.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรพิรีดีน-2-อะมิโนฟีนอล (dimethyl 1-(2-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate; DHP-2AP)

นำ Methyl propiolate (0.49 mL, 1.2 eq.) และ CuI (440 mg, 0.5 eq.) ใส่ลงในขวดก้นกลม เติม 1,2-Dichloroethane (DCE) (25 mL) ลงไปเป็นตัวทำละลาย ใส่ magnetic stirrer ปิดฝาขวดด้วยเซปตัม ไล่อากาศออก 2 ครั้งด้วยลูกโป่งที่บรรจุแก๊สไนโตรเจน คนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 2-aminophenol (500 mg, 1 eq.) ลงไปแล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง



จากนั้นกรอง CuI ออก ระเหยตัวทำละลายด้วย Rotary evaporator แล้วเติมตัวทำละลาย Dichloromethane (DCM) ลงไป 25 mL จากนั้นนำมาแช่ในอ่างน้ำแข็ง ไล่อากาศออก 2 ครั้งด้วยลูกโป่งที่บรรจุแก๊สไนโตรเจน จากนั้นเติม TiCl_4 (2.29 mL, 0.5 eq.) ด้วยเข็มฉีดยาลงไปอย่างรวดเร็ว แล้วคนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

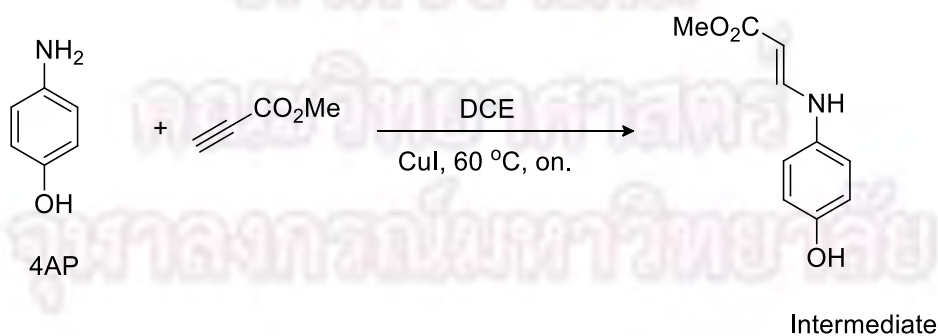


จากนั้นนำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้มาเติมน้ำ DI 15 mL เพื่อกำจัด TiCl_4 ตรวจสอบ pH ของสารด้วยกระดาษ Universal indicator หากเป็นกรดให้ปรับเป็นกลางด้วย 10% w/v NaHCO_3 แล้วสกัดด้วย CH_2Cl_2 25 mL 3 ครั้ง (3×25 mL) นำชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มากำจัดน้ำที่หลงเหลือด้วย anhyd. MgSO_4 กรอง MgSO_4 ออกด้วยกรวยแก้วดูดด้วยสำลี แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator

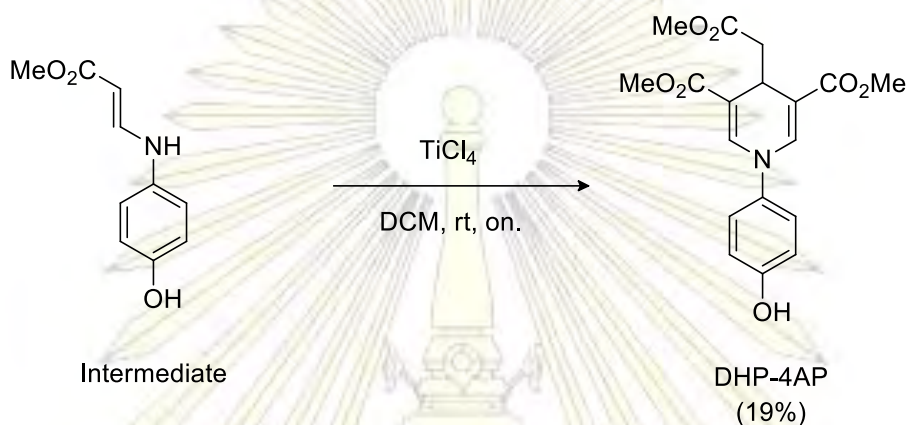
นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทดสอบด้วยเทคนิค TLC ในระบบ 50% EtOAc/n-hexane พบว่าเป็นสารผสมระหว่างสาร 2 ชนิดที่เรืองแสงอัลตราไวโอเล็ต คือ ที่ $R_f = 0.37$ (DHP-2AP) และ 0.25 (สารตั้งต้น) จึงนำสารผสมดังกล่าวมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ 50% EtOAc/n-hexane เป็นเฟสเคลื่อนที่ และซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator ได้ผลิตภัณฑ์ DHP-2AP เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนปริมาณ 43 mg หรือคิดเป็นร้อยละ 8 ของผลิตภัณฑ์

2.3.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรพิรีดีน-4-อะมิโนฟีนอล (dimethyl 1-(4-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate; DHP-4AP)

นำ Methyl propiolate (0.49 mL, 1.2 eq.) และ CuI (440 mg, 0.5 eq.) ใส่ลงในขวดก้นกลม เติม 1,2-Dichloroethane (DCE) (25 mL) ลงไปเป็นตัวทำละลาย ใส่ magnetic stirrer ปิดฝาขวดด้วยเซปตัม ไล่อากาศออก 2 ครั้งด้วยลูกโป่งที่บรรจุแก๊สไนโตรเจน คนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 4-aminophenol (500 mg, 1 eq.) ลงไปแล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง



จากนั้นกรอง CuI ออก ระเหยตัวทำละลายด้วย Rotary evaporator แล้วเติมตัวทำละลาย Dichloromethane (DCM) ลงไป 25 mL จากนั้นนำมาแช่ในอ่างน้ำแข็ง ไล่อากาศออก 2 ครั้งด้วยลูกโป่งที่บรรจุแก๊สไนโตรเจน จากนั้นเติม TiCl_4 (2.29 mL, 0.5 eq.) ด้วยเข็มฉีดยาลงไปอย่างรวดเร็ว แล้วคนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน

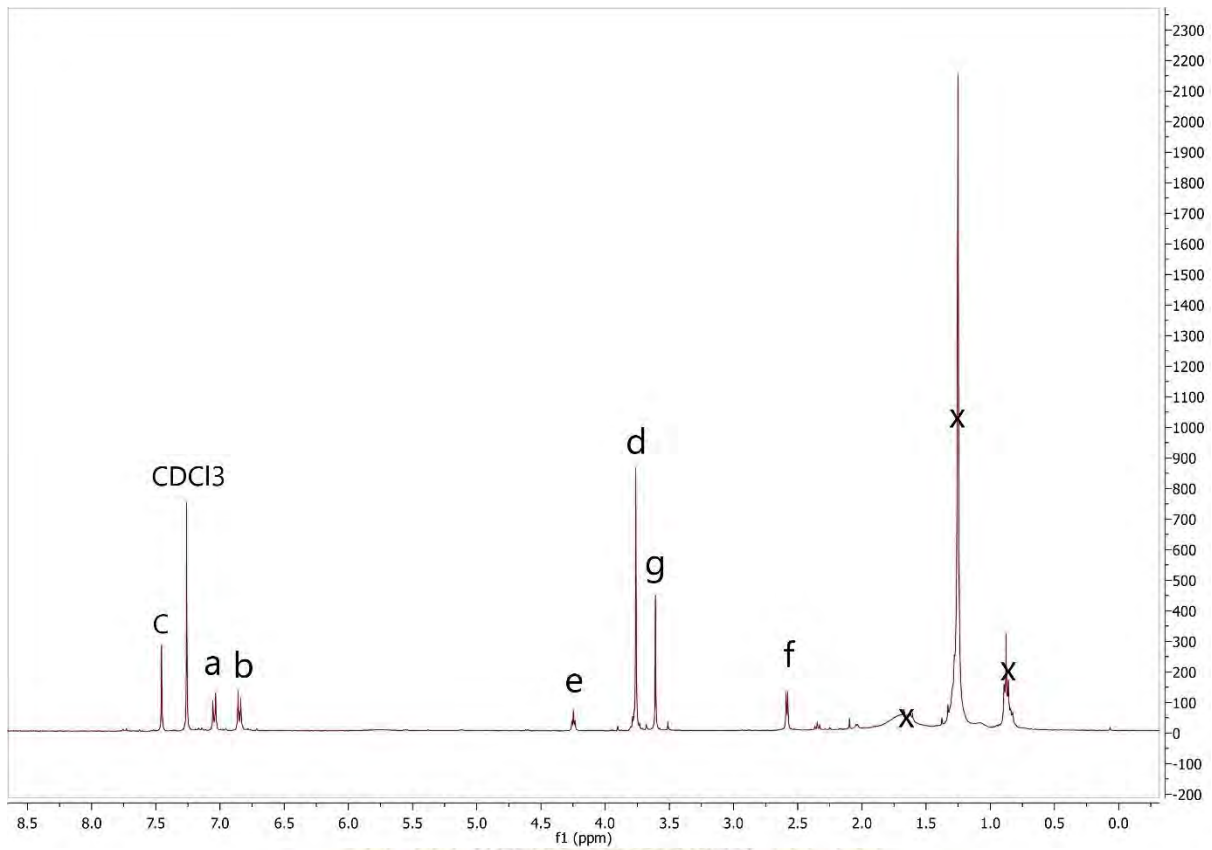


จากนั้นนำสารละลายปฏิกิริยาที่ได้มาเติมน้ำ DI 15 mL เพื่อกำจัด TiCl_4 ตรวจสอบ pH ของสารด้วยกระดาษ Universal indicator หากเป็นกรดให้ปรับเป็นกลางด้วย 10% w/v NaHCO_3 แล้วสกัดด้วย CH_2Cl_2 25 mL 3 ครั้ง (3×25 mL) นำชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มากำจัดน้ำที่หลงเหลือด้วย anhydrous MgSO_4 กรอง MgSO_4 ออกด้วยกรวยแก้วดูดด้วยสำลี แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทดสอบด้วยเทคนิค TLC ในระบบ 50% EtOAc/n-hexane พบว่าเป็นสารผสมระหว่างสาร 3 ชนิดที่เรืองแสงอัลตราไวโอเล็ต คือ ที่ $R_f = 0.50$, 0.31 (DHP-2AP) และ 0.21 (สารตั้งต้น) จึงนำสารผสมดังกล่าวมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ 50% EtOAc/n-hexane เป็นเฟสเคลื่อนที่ และซิลิกาเจลเป็นเฟสคงที่ จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator ได้ผลิตภัณฑ์ DHP-4AP เป็นของแข็งสีเหลืองเข้มปริมาณ 105 mg หรือคิดเป็นร้อยละ 19 ของผลิตภัณฑ์

จากนั้นพิสูจน์เอกลักษณ์ของโครงสร้างผลิตภัณฑ์โดยใช้เทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่า $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} (ppm) 7.42 (s, 2H), 6.96 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.85 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 4.24 (t, 1H), 3.73 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H), 3.60 (d, $J = 6.8$, 3H), 2.56 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H).

คณะวิทยาศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.1 สเปกตรัม ^1H NMR ของ DHP-4AP

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรเบนโซควิโนลีน (methyl 5-hydroxy-3-(2-methoxy-2-oxoethyl)-3,4-dihydrobenzo[f]quinoline-2-carboxylate; DHBQ)

เริ่มแรกได้ทำการสังเคราะห์โดยใช้สภาวะตามการสังเคราะห์ DHP-2AP และ DHP-4AP คือ นำ 3-amino-2-naphthol (515 mg, 1 eq.) มาทำปฏิกิริยากับ methyl propiolate (0.35 mL, 1.2 eq.) โดยใช้ 1,2-dichloroethane (DCE) 25 mL เป็นตัวทำละลายและใช้ CuI (310 mg, 0.5 eq.) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศของแก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 60 °C ทิ้งไว้ 1 คืนพบว่าได้สารละลายสีเหลืองและเรืองแสงสีเหลืองภายใต้แบลคไลท์ (black light) เมื่อตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเทียบกับสารตั้งต้นด้วย TLC โดยใช้ 20 % EtOAc/CH₂Cl₂ พบว่าเป็นสารผสม 2 ชนิดเรืองแสงภายใต้อัลตราไวโอเล็ตที่ Rf = 0.50 (สารตั้งต้น) และ 0.57 เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ¹H NMR พบว่า ลักษณะของพิกที่ได้ไม่เป็นไปตามโครงสร้างที่คาดว่าจะสังเคราะห์ได้ กล่าวคือ ลักษณะพิกที่ได้บ่งบอกว่ามีเมทิลเอสเทอร์จำนวน 2 ชุดชุดละ 3 โปรตอนเท่ากัน ซึ่งไม่เป็นไปตามพิกของสาร DHP ที่มีเมทิลเอสเทอร์ 2 ชุดแบ่งเป็น 6 โปรตอนและ 3 โปรตอน จึงได้พยายามปรับเปลี่ยนสภาวะดังตารางที่ 2.1

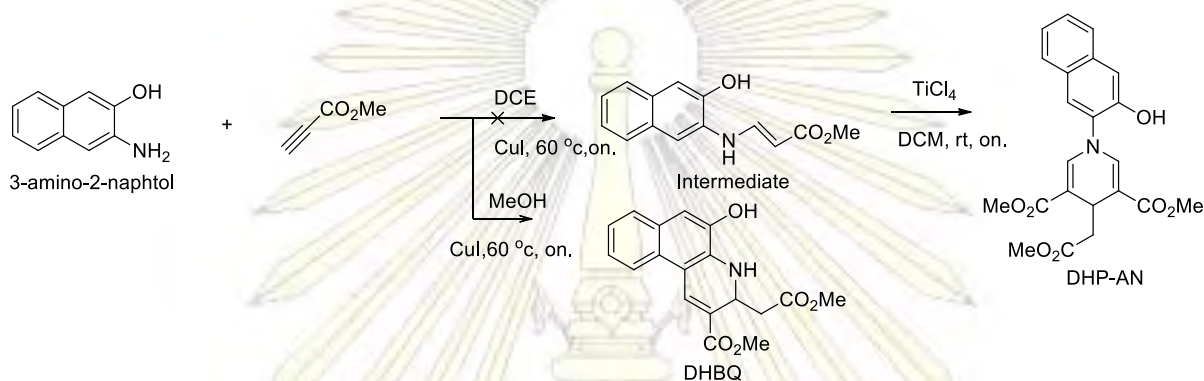
ตารางที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงสภาวะในการทดลองเพื่อสังเคราะห์ DHP-AN

ครั้งที่	การเปลี่ยนแปลงสภาวะในการทดลอง	ผลการทดลอง
1	ทำการทดลองสภาวะเดียวกับ DHP-2AP และ DHP-4AP	ไม่เกิดสาร DHP-AN, เกิดสาร DHBQ, เหลือสารตั้งต้น,
2	เพิ่มเวลาในการตั้งปฏิกิริยาเป็น 2 วัน	ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง
3	ทำปฏิกิริยาในขั้นที่ 2 โดยกรอง CuI ออกแล้วฉีด TiCl ₄ ลงไป 0.5 eq ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน	ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง
4	ฉีด TiCl ₄ ลงไปอีก 0.5 eq ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน	ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง
5	เปลี่ยนตัวทำละลายจาก DCE เป็น เมทานอล	ไม่เกิดสาร DHP-AN, เกิดสาร DHBQ, เหลือสารตั้งต้นน้อยลง
6	เปลี่ยนตัวทำละลายจาก DCE เป็นเมทานอลแล้วเพิ่มปริมาณ methylpropiolate จาก 1.2 eq เป็น 2.2 eq (ต้องการ 2.0 eq)	ไม่เกิดสาร DHP-AN, เกิดสาร DHBQ, ไม่เหลือสารตั้งต้น (สารตั้งต้นทำปฏิกิริยาสมบูรณ์)

จากตารางพบว่าไม่สามารถสังเคราะห์ DHP-AN ที่เป็นสารเป้าหมายได้โดยใช้วิธีนี้แต่สามารถสังเคราะห์สาร DHBQ ได้โดยมีวิธีการสังเคราะห์ DHBQ ซึ่งผ่านการเปลี่ยนแปลงสภาวะที่เหมาะสมแล้วดังนี้

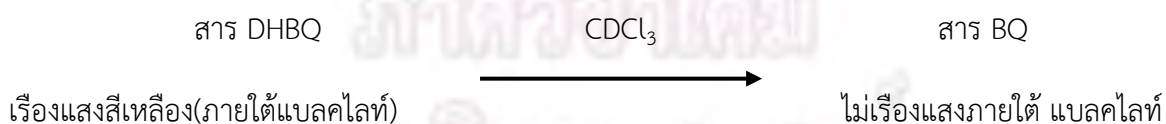
นำ methyl propiolate (0.63 mL, 2.2 eq.) และ CuI (310 mg, 0.5 eq.) ใส่ลงในขวดก้นกลมเติม MeOH (50 mL) ลงไปเป็นตัวทำละลาย ใส่ magnetic stirrer ปิดฝาขวดด้วยเซปตัม ไล่อากาศออก 2 ครั้งด้วยลูกโป่งที่บรรจุแก๊สไนโตรเจน คนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 3-amino-

2-naphthol (515 mg, 1 eq.) ลงไป รีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน และตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเทียบกับสารตั้งต้นด้วย TLC โดยใช้ 20 % EtOAc/CH₂Cl₂ พบว่าเป็นสารบริสุทธิ์เพียงสารเดียวเรืองแสงภายใต้อัลตราไวโอเล็ตและแบลคไลท์ (เรืองสีเหลือง) ที่ R_f = 0.57 จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลืองส้มปริมาณ 966 mg. หรือคิดเป็นร้อยละ 91 ของผลิตภัณฑ์ แสดงสมการการสังเคราะห์ DHBQ ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 สมการการสังเคราะห์ DHBQ

ก่อนการพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ของสาร DHBQ มีอุปสรรคหลากหลายที่ทำให้ไม่สามารถทราบโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ได้ อาทิเช่น สเปกตรัมของ ¹H NMR ที่ได้มีความแตกต่างจากลักษณะของสารเป้าหมาย (DHP-AN) และเป็นสารชนิดใหม่ที่ไม่ได้อยู่ในกลุ่มของอนุพันธ์ DHP ทำให้การตีความเป็นไปอย่างยากลำบาก, โครงสร้างอื่นๆที่คาดว่าอาจเป็นไปได้ไม่สอดคล้องกับผลของ ESI-MS แม้แต่โครงสร้างเดียว (ภายหลังทราบว่าผลจาก ESI-MS ดังกล่าวมีความผิดพลาด), สารที่สังเคราะห์ได้สามารถเปลี่ยนรูปเป็นสารอื่นเมื่ออยู่ในตัวทำละลาย CDCl₃ ที่ใช้วิเคราะห์ ¹H NMR ทำให้สเปกตรัม ¹H NMR ที่ได้ไม่ใช่สเปกตรัมของสารที่สังเคราะห์ได้จริง แต่เป็นสารอื่นที่ถูกเปลี่ยนรูปไปแล้วดังจะเห็นได้ว่าเมื่อสารอยู่ในรูปของสารละลาย CDCl₃ (รูปที่ 2.3)



รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงเมื่อเตรียมสาร DHBQ ในตัวทำละลาย CDCl₃ เพื่อวิเคราะห์ ¹H NMR

ซึ่งขั้นตอนการทดลองเพื่อพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสาร DHBQ มีดังต่อไปนี้

ตารางที่ 2.2 ขั้นตอนการทดลองเพื่อพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสาร DHBQ

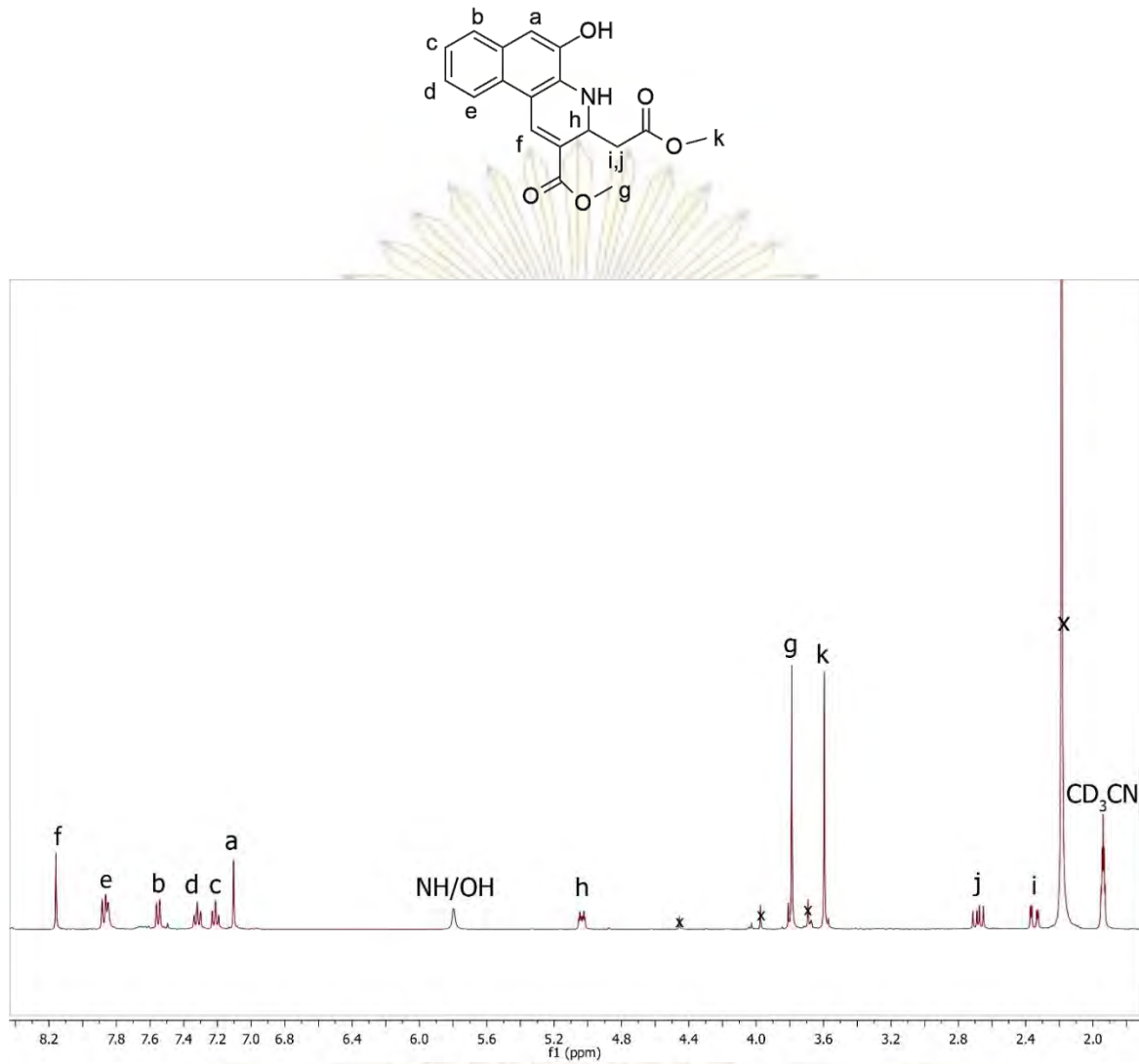
สมมติฐาน	การทดลอง	ผลการทดลอง
1. โครงสร้างของสาร DHBQ ในตัวทำละลาย $CDCl_3$ เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากคุณสมบัติการเรืองแสงเปลี่ยนไป	<ul style="list-style-type: none"> - ทดสอบ TLC ของสาร DHBQ ก่อนและหลังดับแสง - วิเคราะห์สเปกตรัมจาก 1H NMR ของสาร DHBQ ก่อนและหลังดับแสงในตัวทำละลาย $CDCl_3$ 	<ul style="list-style-type: none"> - ขณะเรืองแสง : สาร 1 ชนิดเรืองเหลืองภายใต้แบลคไลท์, $R_f = 0.57$ - ขณะดับแสง : สาร 1 ชนิดไม่เรืองแสงภายใต้แบลคไลท์, $R_f = 0.68$ - ให้สเปกตรัม แบบเดียวกัน
2. สาร DHBQ ถูกเปลี่ยนรูปเป็นสาร BQ ตั้งแต่แรกในตัวทำละลาย $CDCl_3$ ก่อนการวิเคราะห์ 1H NMR ทำให้สเปกตรัมก่อนและหลังดับแสงเป็นแบบเดียวกัน	<ul style="list-style-type: none"> - วิเคราะห์ 1H NMR โดยเปลี่ยนตัวทำละลายเป็น CD_3CN โดยคาดว่าจะให้ผลแตกต่างจากใน $CDCl_3$ - ทดสอบ TLC ของสาร DHBQ ก่อนและหลังเติมตัวทำละลาย CD_3CN เพื่อวิเคราะห์ 1H NMR 	<ul style="list-style-type: none"> - ให้สเปกตรัม แตกต่างจากใน $CDCl_3$ และไม่เกิดการดับแสง - สาร 1 ชนิด เรืองเหลืองภายใต้แบลคไลท์, $R_f = 0.57$ แบบเดียวกัน
3. เมื่อเวลาผ่านไปสาร DHBQ จะถูกเปลี่ยนรูปเป็นสาร BQ ในตัวทำละลาย CD_3CN	<ul style="list-style-type: none"> - วิเคราะห์สเปกตรัม 1H NMR ของสาร DHBQ ในตัวทำละลาย CD_3CN เมื่อเวลาผ่านไป 0, 1 และ 7 วัน - ทดสอบ TLC ของสาร DHBQ เมื่อเวลาผ่านไป 	<ul style="list-style-type: none"> - สเปกตรัมมีการเปลี่ยนแปลงโดยพบว่าสัดส่วนพีคของสาร DHBQ จะค่อย ๆ ลดลงในขณะที่พีคของ BQ จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป - เกิดจุดใหม่ขึ้น 1 จุด ไม่เรืองแสงภายใต้แบลคไลท์, $R_f = 0.68$

4. สาร DHBQ เปลี่ยนรูปเป็นสาร BQ อย่างสมบูรณ์เฉพาะในตัวทำละลาย $CDCl_3$	- ทดสอบ TLC ของสาร DHBQ ในตัวทำละลายต่างชนิดกัน 10 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เอทิลอะซิเตต, ไดคลอโรมีเทน, อะซิโตน, อะซิโตนไตรัล, ไดเมทิลฟอร์มาไมด์, ไดเมทิลซัลฟอกไซด์, เมทานอล และ น้ำ	- สาร DHBQ ในตัวทำละลายทั้ง 10 ชนิด ให้ผลแบบเดียวกันคือ ปรากฏ 1 จุด เรืองเหลืองภายใต้ แบลคไลท์ $R_f = 0.57$
5. พิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร DHBQ ได้โดยใช้ 1H NMR, COSY, HSQC, HMBC และ maldi-TOF MS	- วิเคราะห์ 2D NMR และ maldi TOF MS ของสาร DHBQ	- ได้โครงสร้างคือ DHBQ ดังรูปที่ 2.6
6. พิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร BQ ได้โดยใช้ 1H NMR และ sc-XRD	- วิเคราะห์ 1H NMR และ sc-XRD ของสาร BQ	- ได้โครงสร้างคือ BQ ดังรูปที่ 2.7
7. โครงสร้าง BQ ที่เป็นกรดสามารถเรืองแสงอีกครั้งหากเติมเบสลงไป	- เติม ethylamine ลงในสารละลาย BQ ที่อยู่ในตัวทำละลาย $CDCl_3$	- เกิดการเปลี่ยนแปลงจากไม่เรืองแสงเป็นเรืองแสงสีฟ้าภายใต้แบลคไลท์

พิสูจน์เอกลักษณ์ของโครงสร้าง DHBQ โดยใช้เทคนิค 1H NMR พบว่า 1H NMR (400 MHz, CD_3CN): δ_H (ppm) 8.16 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 5.04 (dt, $J = 9.1, 3.1$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 2.68 (dd, $J = 15.2, 9.2$ Hz, 1H), 2.35 (dd, $J = 15.2, 3.5$ Hz, 1H). (รูปที่ 2.4)

ผลจาก maldi-TOF MS พบว่า DHBQ มี $m/z = 328.261$ (มวลโมเลกุลของ DHBQ = 327.111 g/mol) (รูปที่ 2.5)

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

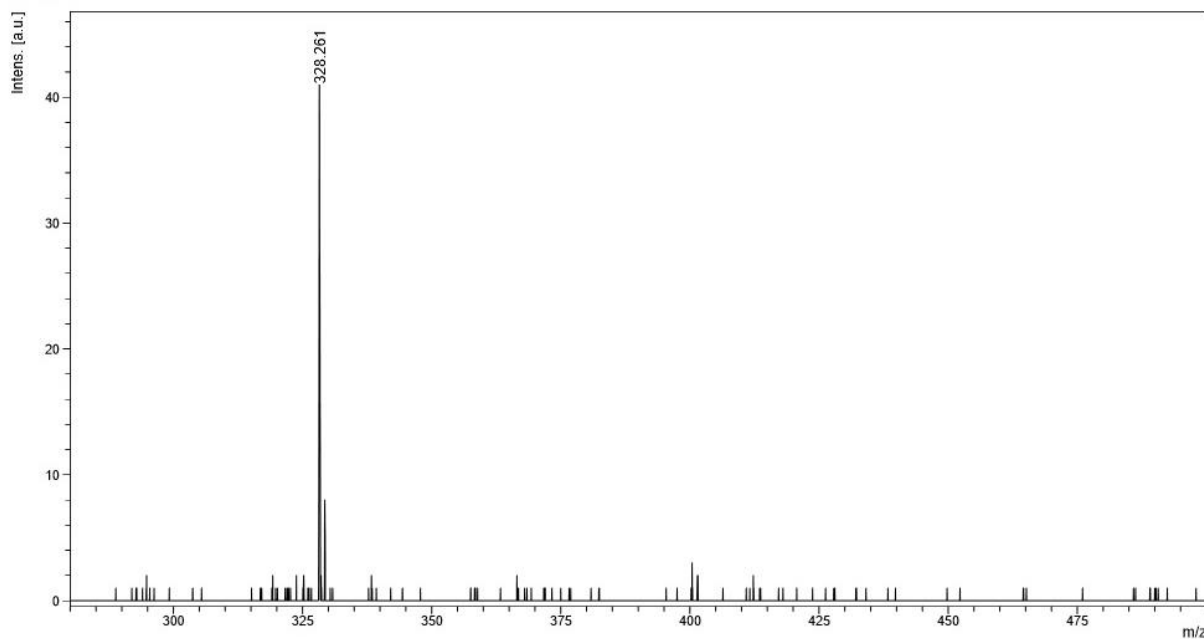


รูปที่ 2.4 ^1H NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBO

ภาควิชาเคมี

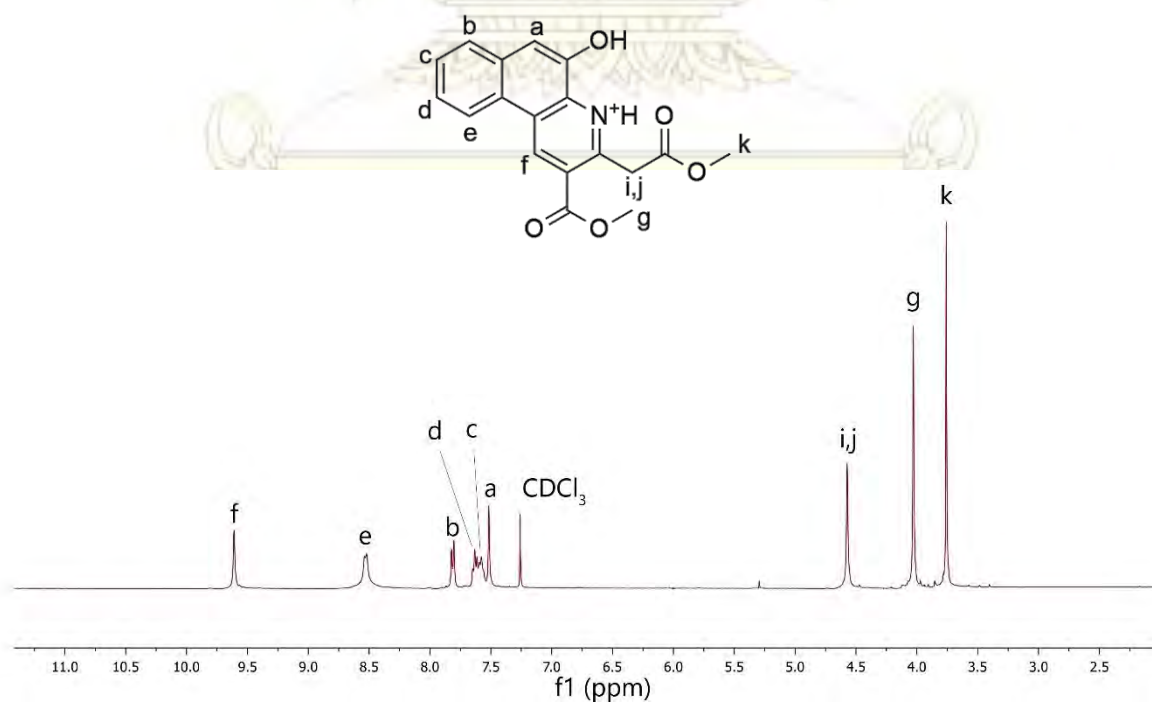
คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.5 สเปกตรัม maldi-TOF MS ของ DHBQ

พิสูจน์เอกลักษณ์ของโครงสร้าง BQ โดยใช้เทคนิค $^1\text{H NMR}$ พบว่า $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3CN): δ_{H} (ppm) 9.61 (s, 1H), 8.53 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.60 (dt, $J = 14.3, 6.2$ Hz, 2H), 7.52 (s, 1H), 4.57 (s, 2H), 4.03 (s, 3H), 3.76 (s, 3H). (รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.6 $^1\text{H NMR}$ สเปกตรัม (CDCl_3 , 400 MHz) ของ BQ

จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ไปวิเคราะห์คุณสมบัติเชิงแสง โดยใช้ UV-visible spectroscopy และ Fluorescent spectrophotometry

2.4 การศึกษาค่าการดูดกลืนและการคายแสงของ DHBQ

2.4.1 การศึกษาผลของเปอร์เซ็นต์น้ำต่อความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

เตรียม Stock solution ของ DHBQ ความเข้มข้น 1 mM ในตัวทำละลาย DMSO แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV spectrometer พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 345 nm. แล้วเจือจางสารละลาย DHBQ ให้มีความเข้มข้น 10 μ M ในตัวทำละลาย H₂O/DMSO ที่ 0%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% และ 90% แล้ววัดค่าการคายแสงด้วย Fluorescence spectrophotometer (excitation = 345 nm.)

2.4.2 การศึกษาความจำเพาะต่อไอออนโลหะของ DHBQ ในตัวทำละลาย H₂O/DMSO ที่ 1%, 5% และ 10%

เตรียมสารละลายของไอออนโลหะ 19 ชนิด ความเข้มข้น 100 μ M แล้ววัดค่าการคายแสงเมื่อเติมไอออนโลหะแต่ละชนิดลงในสารละลาย DHBQ 10 μ M. ในตัวทำละลาย H₂O/DMSO 1%, 5% และ 10% ตามลำดับ แล้วเปรียบเทียบผลของความจำเพาะต่อไอออนโลหะของ DHBQ เมื่อเปลี่ยนสัดส่วนของ H₂O (excitation = 345 nm.)

2.4.3 การหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดของ DHBQ ต่อไอออน Cu(II) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอออน Cu(II) จาก 0-50 μ M

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอออน Cu(II) จาก 0-50 μ M ได้แก่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 30, 40, 50 และ 60 μ M ในขณะที่ความเข้มข้นของ DHBQ เท่าเดิมคือ 10 μ M ในระบบ 10% H₂O/DMSO แล้วกระตุ้นแสงที่ความยาวคลื่น 345 nm จะได้ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของสารประกอบ DHBQ-Cu(II)

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Cu(II) และความเข้มของแสงในช่วงเส้นตรงแล้วนำค่าความชันที่ได้จากกราฟดังกล่าวมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด (LOD) ได้ดังสมการ

$$LOD = [I_0/(I_0-3SD)-1]/K_{sv}$$

เมื่อ	I_0	คือความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออโรฟอร์ที่ยังไม่ได้จับกับ analyte
	I	คือความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออโรฟอร์ที่จับกับ analyte แล้ว
	SD	คือค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

K_{sv} คือค่าคงที่การดับสัญญาณของ Stern-Volmer ซึ่งหาได้จากความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ analyte (แกนนอน) และความเข้มของแสง (แกนตั้ง)

2.4.4 การศึกษาผลของการรบกวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบ DHBQ-Cu(II) เมื่อมีไอออนชนิดต่างๆ ในสารละลาย

เตรียมสารละลายผสมที่ประกอบด้วย DHBQ 10 μ M, สารละลาย Cu(II) 50 μ M แล้ววัดค่าการคายแสงเมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่างๆ 19 ชนิด (ตารางที่ 2.3) ลงไป 50 μ M (excitation = 345 nm)

ตารางที่ 2.3 แสดงชนิดของแคตไอออนและ stock solution ที่ใช้

ชนิดของแคตไอออน	Stock solution
Li ⁺	100 mM LiCl
Na ⁺	100 mM NaCl
K ⁺	100 mM KNO ₃
Mg ²⁺	100 mM Mg(NO ₃) ₂
Ca ²⁺	100 mM Cr(OAc) ₂
Ba ²⁺	100 mM Ba(NO ₃) ₂
Al ³⁺	100 mM Al(NO ₃) ₃
Pb ²⁺	100 mM Pb(OAc) ₂
Cr ³⁺	100 mM Cr(NO ₃) ₃
Fe ²⁺	100 mM FeSO ₄
Fe ³⁺	100 mM Fe(NO ₃) ₃
Co ²⁺	100 mM Co(NO ₃) ₂
Ni ²⁺	100 mM Ni(OAc) ₂
Cu ²⁺	100 mM Cu(OAc) ₂
Zn ²⁺	100 mM Zn(NO ₃) ₂
Ag ⁺	100 mM AgNO ₃
Cd ²⁺	100 mM Cd(NO ₃) ₂
Hg ²⁺	100 mM HgCl ₂
Hg ⁺	100 mM HgCl

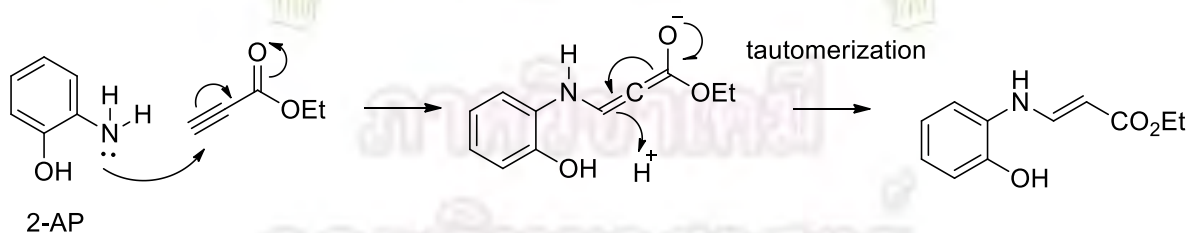
บทที่ 3

วิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้แรกเริ่มมีเป้าหมายในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ DHP-OH ชนิดใหม่จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง 3-amino-2-naphthol และ methyl propiolate โดยใช้ปฏิกิริยาของ Hantzsch ที่ผ่านการดัดแปลงแล้ว เพื่อศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงและความจำเพาะต่อไอออนโลหะของโมเลกุล แต่การสังเคราะห์ครั้งนี้กลับไม่ได้โมเลกุลเป้าหมาย (DHP-AN) ที่คาดว่าจะสังเคราะห์ได้ อย่างไรก็ตาม โมเลกุลดังกล่าวกลับมีคุณสมบัติในการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ ผู้วิจัยจึงได้พยายามพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ (DHBO) และได้นำโมเลกุลดังกล่าวมาทดสอบคุณสมบัติเชิงแสงและความจำเพาะต่อไอออนโลหะซึ่งพบว่ามีความจำเพาะต่อไอออน Cu(II) เพียงชนิดเดียวดังจะได้นำเสนอต่อไป โดยก่อนที่จะได้เริ่มการสังเคราะห์สารเป้าหมายนั้น ผู้วิจัยได้เริ่มการสังเคราะห์สาร DHP-2AP และ DHP-4AP ที่นายณัฐพงษ์ ศรีเมือง นิสิตปริญญาโทในกลุ่มวิจัยได้เคยทำการสังเคราะห์แล้ว เพื่อเป็นการฝึกทักษะการสังเคราะห์และการวิเคราะห์ก่อนเริ่มสังเคราะห์สารจริงซึ่งมีราคาแพงกว่า โดยมีขั้นตอนการสังเคราะห์ 2 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นแรกเป็นการสังเคราะห์สารปีตาอะมิโนอะคริเลต และขั้นที่สองคือการปิดวงของสารปีตาอะมิโนอะคริเลต

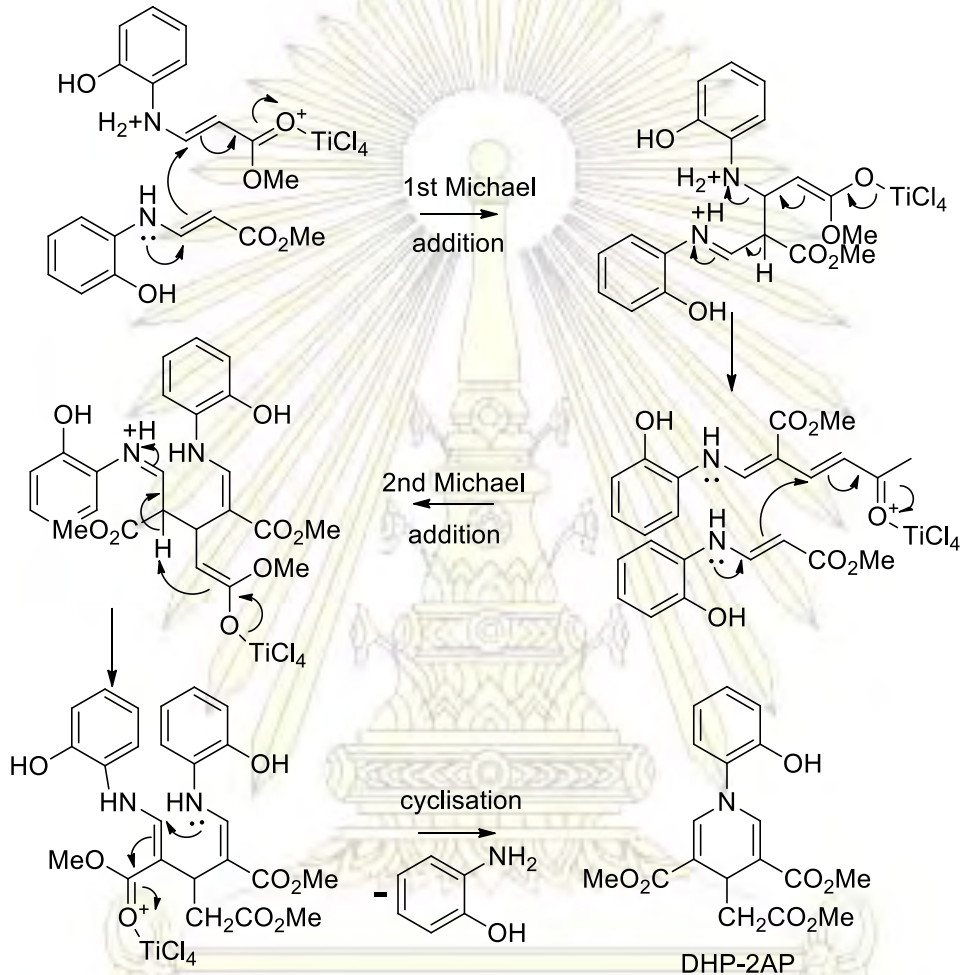
3.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรพิริดีน-2-อะมิโนฟีนอล (dimethyl 1-(2-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate; DHP-2AP)

การสังเคราะห์แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรกเป็นการสังเคราะห์สารปีตาอะมิโนอะคริเลตจาก 2-aminophenol (2-AP) และ methyl propiolate โดยใช้ 1,2-dichloroethane (DCE) เป็นตัวทำละลาย และใช้ CuI เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้อุณหภูมิ 84 °C เป็นเวลา 1 คืน โดย 2-AP จะทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าชนที่ตำแหน่ง terminal alkyne ของ methyl propiolate เกิดเป็นสารปีตาอะมิโนอะคริเลต แสดงกลไกปฏิกิริยา ดังนี้



รูปที่ 3.1 กลไกการสังเคราะห์สารปีตาอะมิโนอะคริเลตของ DHP-2AP

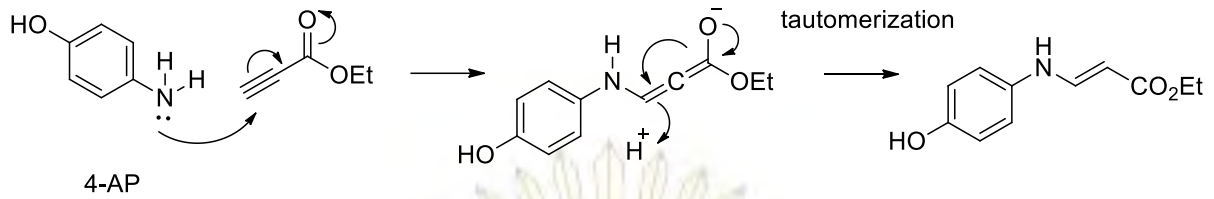
จากนั้นนำสารปีตาอะมีโนอะคริเลตที่สังเคราะห์ได้มาทำปฏิกิริยากับไทเทเนียมเตตระคลอไรด์ (TiCl_4) ซึ่งเป็นกรดลิวอิส จะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดการปิดวงของสารปีตาอะมีโนอะคริเลตได้เป็น DHP-2AP ซึ่งเป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน คิดเป็นร้อยละ 8 ของผลิตภัณฑ์ แสดงกลไกปฏิกิริยาดังนี้



รูปที่ 3.2 กลไกการปิดวงของสารปีตาอะมีโนอะคริเลตได้ DHP-2AP

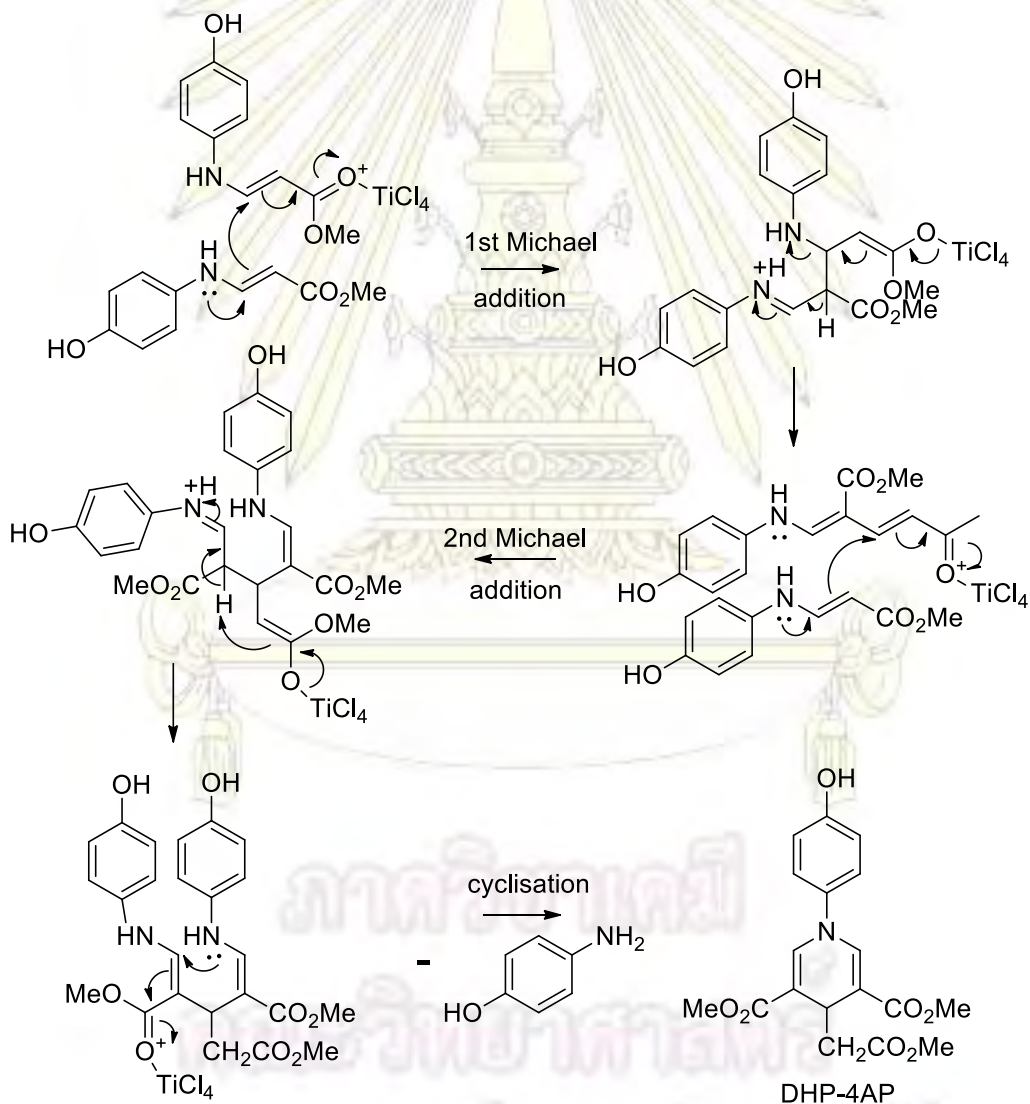
3.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดไฮโดรพิรีดีน-4-อะมีโนฟีนอล (dimethyl 1-(4-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate; DHP-4AP)

การสังเคราะห์แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรกเป็นการสังเคราะห์สารปีตาอะมีโนอะคริเลตจาก 4-aminophenol (4-AP) และ methyl propiolate โดยใช้ 1,2-dichloroethane (DCE) เป็นตัวทำละลายและใช้ CuI เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ภายใต้อุณหภูมิ 84°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดย 4-AP จะทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าชนที่ตำแหน่ง terminal alkyne ของ methyl propiolate เกิดเป็นสารปีตาอะมีโนอะคริเลต แสดงกลไกปฏิกิริยาดังนี้

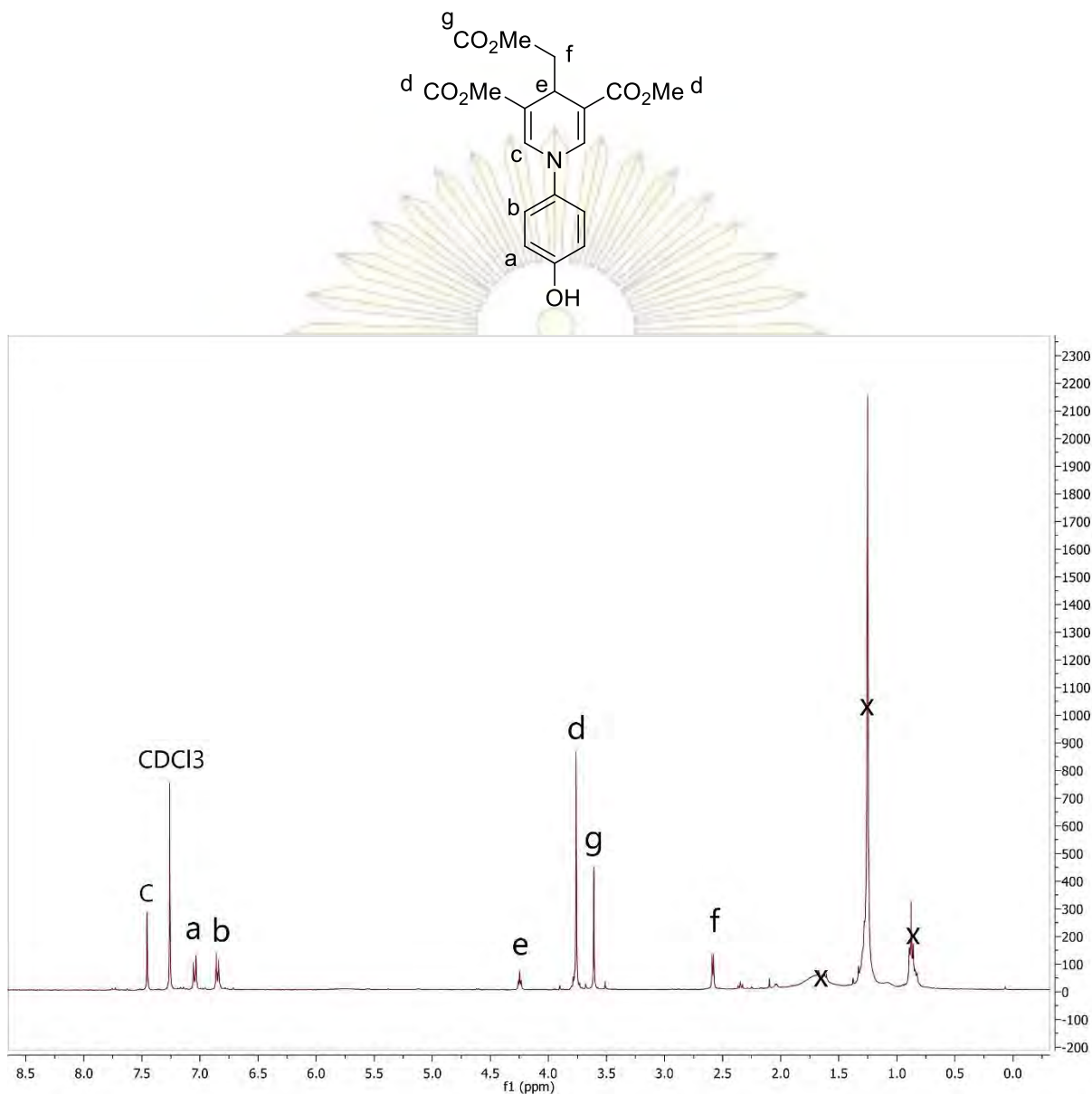


รูปที่ 3.3 กลไกการสังเคราะห์สารปีตาอะมีโนอะคริเลตของ DHP-4AP

จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทำปฏิกิริยากับไทเทเนียมเตตระคลอไรด์ (TiCl_4) ซึ่งเป็นกรดลิวอิส จะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดการปิดวงของสารปีตาอะมีโนอะคริเลตได้เป็น DHP-4AP ซึ่งเป็นของแข็งสีเหลืองเข้ม คิดเป็นร้อยละ 19 ของผลิตภัณฑ์



รูปที่ 3.4 กลไกการปิดวงของสารปีตาอะมีโนอะคริเลตได้ DHP-4AP



รูปที่ 3.5 สเปกตรัม ^1H NMR ของ DHP-4AP

จากการวิเคราะห์สเปกตรัม ^1H NMR ของ DHP-4AP ปรากฏพีก doublet บนวงอะโรมาติก 2 พีกคือ a และ b และพบพีกที่บ่งบอกถึงการปิดวงของ DHP ได้แก่พีก singlet ของ e และมีพีกที่บ่งบอกถึงหมู่เมทิล-เอสเตอร์ 3 ชุด คือ d ซึ่งสมมาตรกัน 2 ชุด และ g

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไฮโดรเบนโซควิโนลิน (methyl 5-hydroxy-3-(2-methoxy-2-oxoethyl)-3,4-dihydrobenzo[f]quinoline-2-carboxylate; DHBQ)

เริ่มแรกได้ทำการสังเคราะห์โดยใช้สภาวะตามการสังเคราะห์ DHP-2AP และ DHP-4AP คือ นำ 3-amino-2-naphthol (515 mg, 1 eq.) มาทำปฏิกิริยากับ methyl propiolate (0.35 mL, 1.2 eq.) โดยใช้ 1,2-dichloroethane (DCE) 25 mL เป็นตัวทำละลายและใช้ CuI (310 mg, 0.5 eq.) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาภายใต้บรรยากาศของแก๊สไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 60 °C ทิ้งไว้ 1 คืนพบว่าได้สารละลายสีเหลืองและเรืองแสงสีเหลืองภายใต้แบลคไลท์ (black light) เมื่อตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเทียบกับสารตั้งต้นด้วย TLC โดยใช้ระบบ 20 % EtOAc/CH₂Cl₂ พบว่าเป็นสารผสม 2 ชนิดเรืองแสงภายใต้อัลตราไวโอเล็ตที่ Rf = 0.50 (สารตั้งต้น) และ 0.57 เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ¹H NMR พบว่า ลักษณะของพิกที่ได้ไม่เป็นไปตามโครงสร้างของสารเป้าหมาย (DHP-AN) กล่าวคือ ลักษณะพิกที่ได้บ่งบอกว่ามีเมทิลเอสเทอร์จำนวน 2 ชุดชุดละ 3 โปรตอนเท่ากัน (รูปที่ 3.5) ซึ่งไม่เป็นไปตามพิกของสาร DHP ที่มีเมทิลเอสเทอร์ 2 ชุดแบ่งเป็น 6 โปรตอนและ 3 โปรตอน

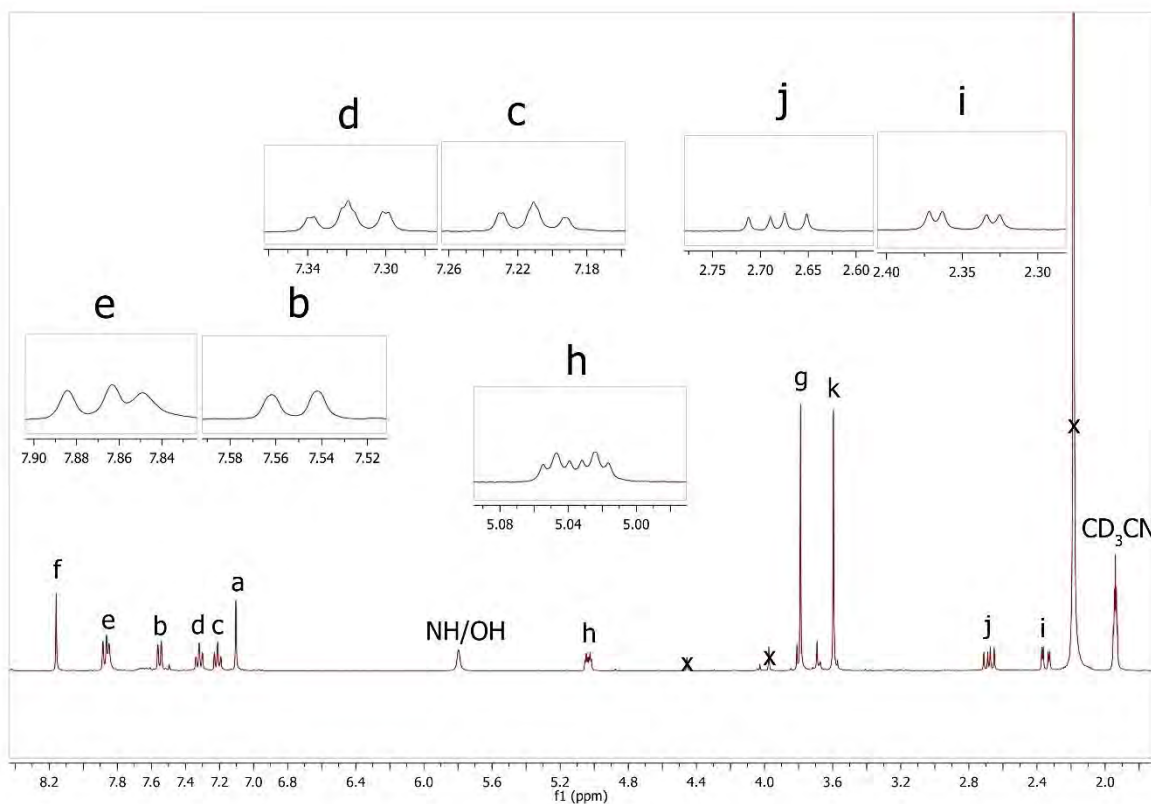
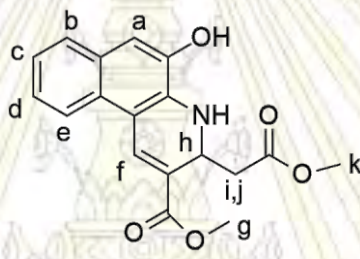
จึงตั้งปฏิกิริยาต่ออีก 1 วัน พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งผลจาก TLC และ ¹H NMR จึงลองทำปฏิกิริยาต่อในขั้นที่สองคือ กรอง CuI ออกแล้วฉีด TiCl₄ ลงไป ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องภายใต้บรรยากาศของแก๊สไนโตรเจน 1 วัน ตรวจสอบแล้วไม่พบการเปลี่ยนแปลงจึงลองฉีด TiCl₄ ลงไปอีก 0.5 eq. แล้วตั้งปฏิกิริยาต่ออีก 1 วัน ก็ไม่พบการเปลี่ยนแปลง

ต่อมาได้ลองทำการสังเคราะห์ใหม่โดยเปลี่ยนชนิดตัวทำละลายจาก DCE เป็นเมทานอลเนื่องจากผู้วิจัยสงสัยว่าสารตั้งต้น 3-amino-2-naphthol นี้ละลายในเมทานอลได้ดีกว่าใน DCE จึงอาจช่วยให้ปฏิกิริยาเกิดได้ดีขึ้น ซึ่งจากการทดลองพบว่าได้ผลิตภัณฑ์ในลักษณะเดิม แต่จากการทดสอบด้วยเทคนิค TLC พบว่าจุดของสารตั้งต้นนั้นจางลงกว่าเดิมมากแสดงว่าสารผสมที่สังเคราะห์ได้นี้มีส่วนของสารตั้งต้นที่น้อยลง หรือเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มากขึ้น

จากการทดลองดังกล่าวทำให้ทราบว่า สารตั้งต้น 3-amino-2-naphthol นี้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยา Hantzsch ที่ผ่านการดัดแปลงแล้วได้เป็นอนุพันธ์ของ DHP เหมือนอย่าง 2-aminophenol (2-AP) หรือ 4-aminophenol (4-AP) ได้โดยวิธีนี้ ผู้วิจัยจึงเปลี่ยนเป้าหมายในการวิจัยจากการพยายามสังเคราะห์อนุพันธ์ของ DHP เป็นการพยายามพิสูจน์ว่าสารผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้นี้มีโครงสร้างเป็นอย่างไร เพื่อจะนำไปทดสอบคุณสมบัติเชิงแสงและความจำเพาะต่อไอออนโลหะได้เนื่องจากมีคุณสมบัติในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ มีขั้นตอนการสังเคราะห์ที่ง่ายเพียงขั้นตอนเดียว และยังมีควมบริสุทธิ์สูงโดยไม่ต้องผ่านการลงคอลัมน์ อีกทั้งการทราบโครงสร้างของผลิตภัณฑ์อาจจะทำให้ทราบถึงสาเหตุที่ 3-amino-2-naphthol นี้ไม่สามารถ

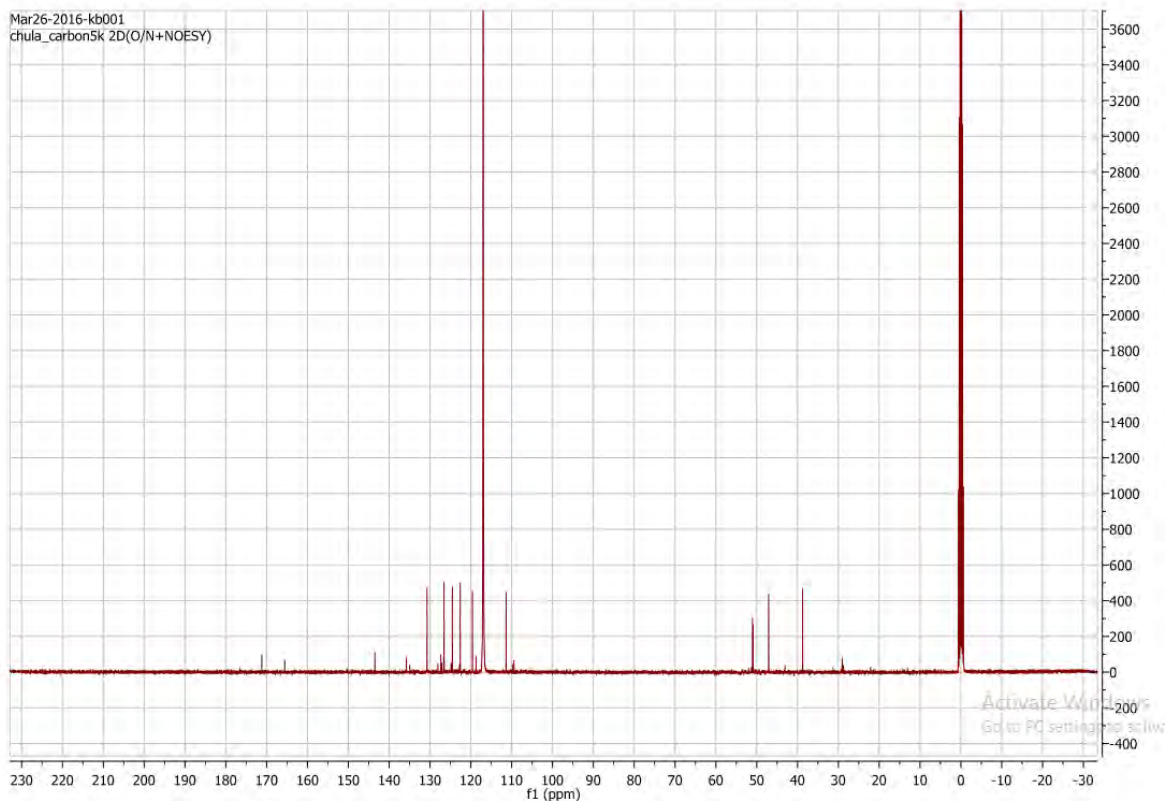
เกิดเป็นอนุพันธ์ของ DHP ได้ซึ่งการพิสูจน์โครงสร้างได้ใช้เทคนิค ^1H NMR, 2D NMR (COSY, HSQC, HMBC) และ maldi-TOF MS

จากการวิเคราะห์สเปกตรัม ^1H NMR ของ DHBQ พบว่ามีพิกตำแหน่ง e ซึ่งเป็นพิก doublet แต่กลับปรากฏในสถานะที่มี 3 พิกอันเนื่องมาจากเกิดการซ้อนทับกับพิกของหมู่ -OH ทำให้สัดส่วนพื้นที่ใต้พิกเป็น 2 โปรตอนไม่ใช่ 1 โปรตอน พิกตำแหน่ง h ปรากฏพิก doublet of doublet of doublet (ddd) เนื่องจากตำแหน่ง h มีโครงสร้างเป็นแบบ sp^3 ทำให้เกิดความไม่สมมาตรในโครงสร้างบริเวณดังกล่าวแล้วทำให้เกิดความแตกต่างระหว่าง h-i และ h-j เกิดขึ้นไปได้ 2 ทางคือทางที่ทำให้อยู่ฝั่งเดียวและฝั่งตรงกันข้ามกัน ส่วนตำแหน่ง g และ k ปรากฏพิก singlet ของเมทิลเอสเทอร์ 2 ชุดได้แก่ ที่ 3.79 และ 3.60 ppm ตามลำดับ (รูปที่ 3.6)



รูปที่ 3.6 ^1H NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ

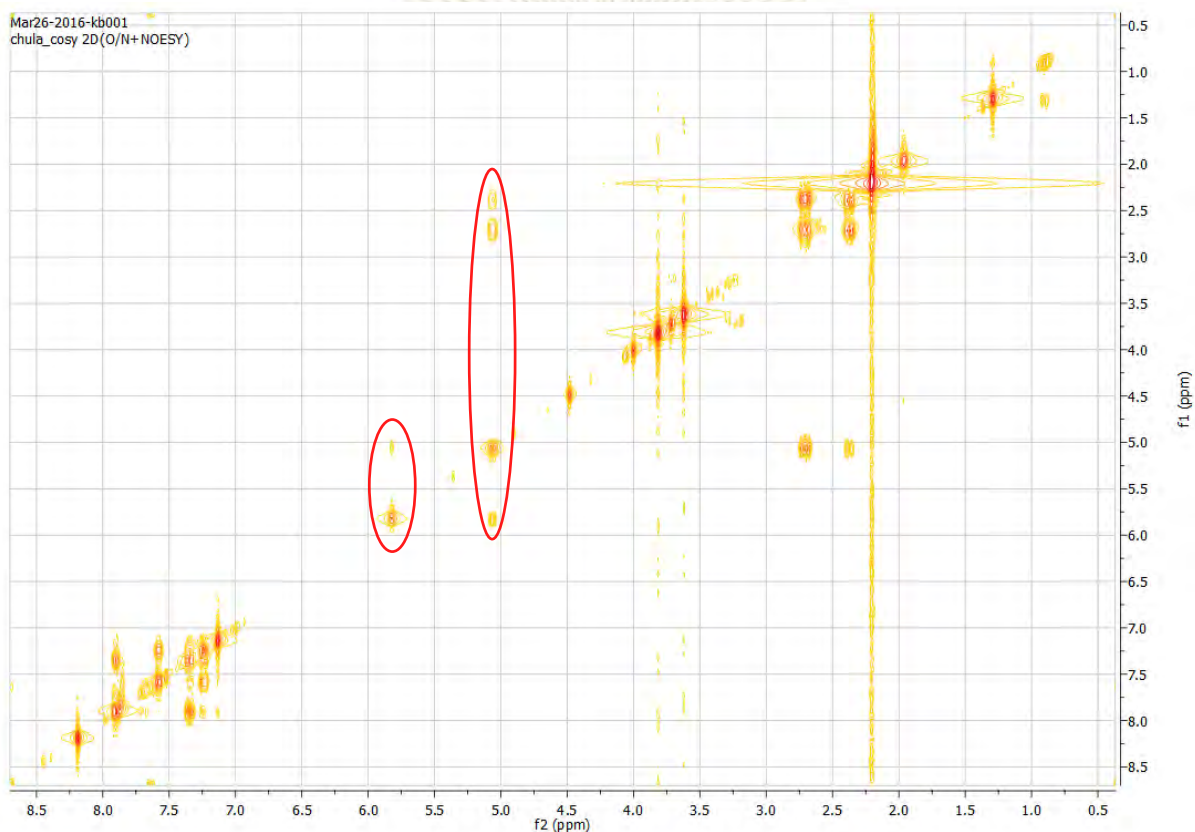
จากสเปกตรัมของ ^{13}C NMR พบคาร์บอนทั้งหมด 19 ชนิดโดยคาร์บอนที่ตำแหน่งประมาณ 160 ppm ถึง 175 ppm เป็นของหมู่คาร์บอนิล คาร์บอนที่ตำแหน่งประมาณ 110 ppm ถึง 145 ppm เป็นของแอลคีนหรืออะโรมาติก และคาร์บอนตำแหน่งประมาณ 40 ppm ถึง 53 ppm เป็นของ $-\text{CH}-$, $-\text{CH}_2$ หรือ CH_3



รูปที่ 3.7 ^{13}C NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ

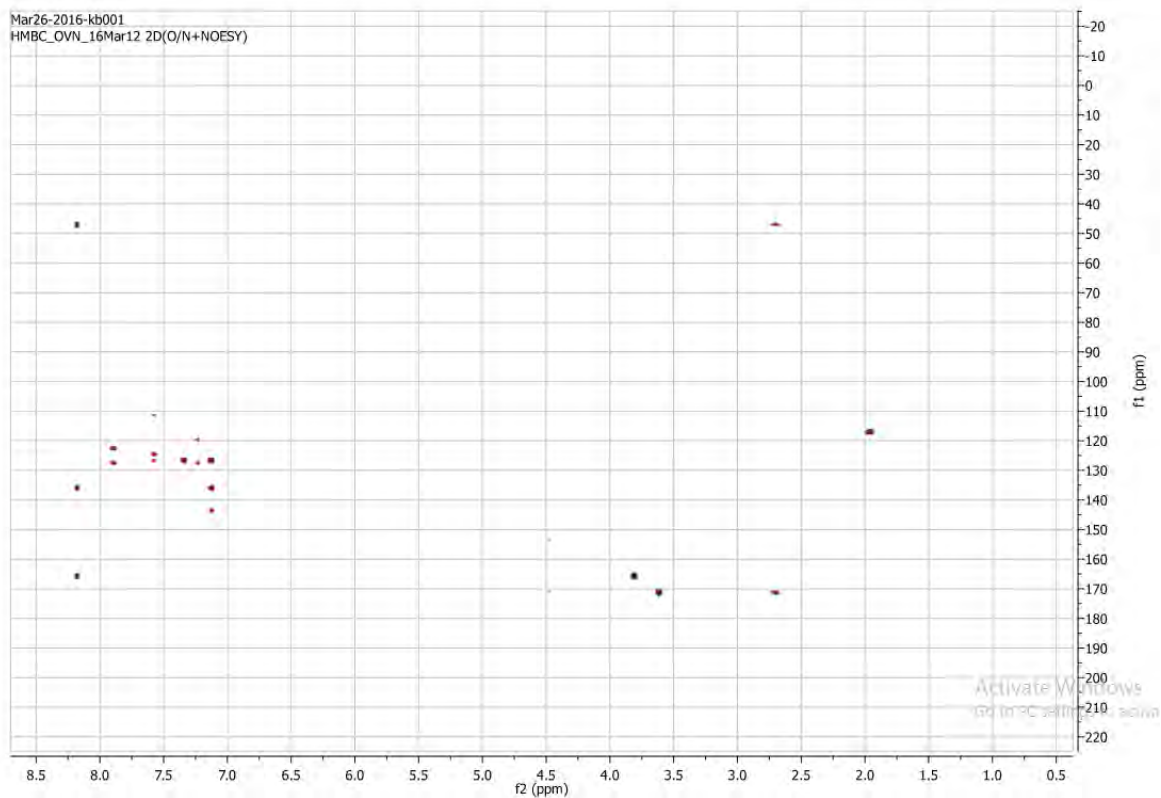
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากสเปกตรัม COSY สามารถบ่งชี้ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนที่อยู่ห่างกันไม่เกิน 3 พันธะได้ดังนี้ โปรตอนที่อยู่บนวงอะโรมาติกที่สัมพันธ์กันจะเกิดจุดที่ไขว้กันของแต่ละฟีกมองเห็นเป็นกลุ่มในช่วงประมาณ 7.0 ppm ถึง 8.2 ppm โปรตอนของ NH (5.80 ppm) สัมพันธ์กับโปรตอน h (5.04 ppm) นอกจากนี้โปรตอน h (5.04 ppm) ยังสัมพันธ์กับโปรตอน i (2.35 ppm) และ j (2.68 ppm) ตามลำดับ



รูปที่ 3.8 COSY NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBO

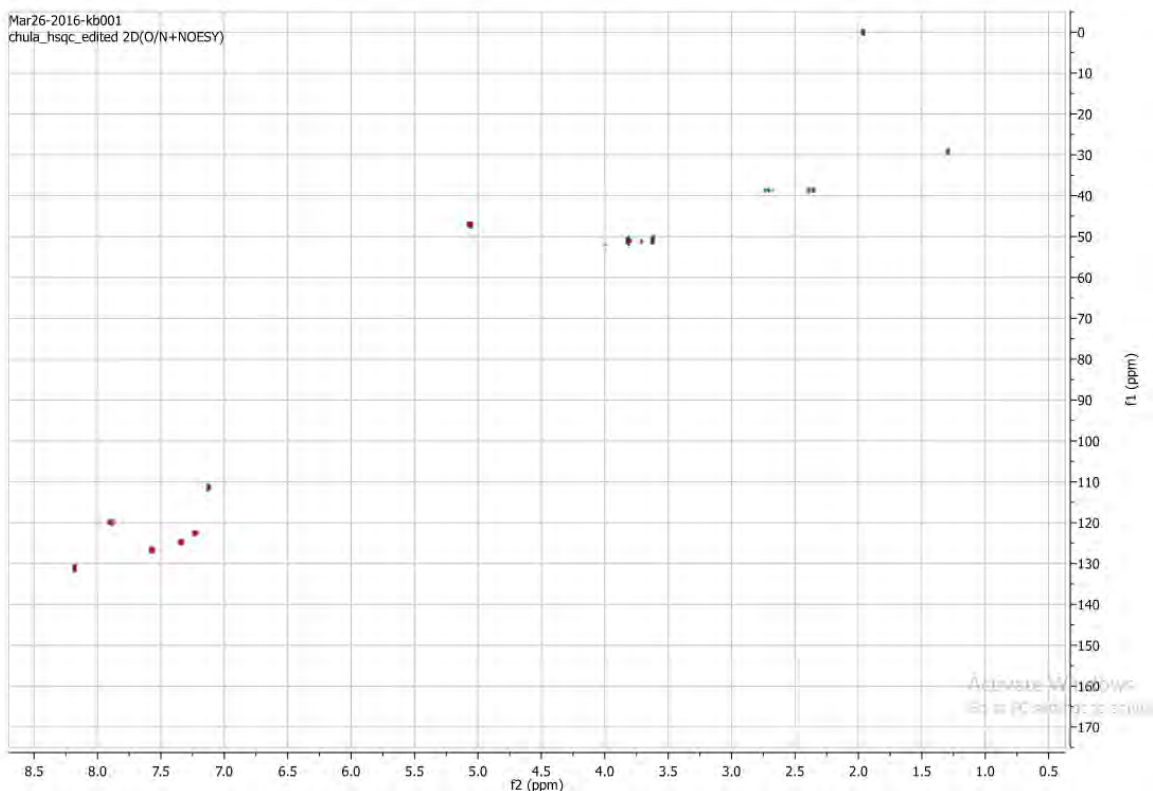
จากสเปกตรัม HMBC สามารถบ่งชี้ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนและคาร์บอนที่อยู่ถัดไป 3 ถึง 4 อะตอมได้ดังนี้ โปรตอน f (8.16 ppm) และ j (2.68 ppm) สัมพันธ์กับคาร์บอน C15 (48.4 ppm) โปรตอน f และ g (3.79 ppm) ยังสัมพันธ์กับคาร์บอน C14 (52.4 ppm) ด้วย นอกจากนี้โปรตอน k (3.6 ppm) และ j ยังสัมพันธ์กับคาร์บอน C16 (40.1 ppm) ด้วย



รูปที่ 3.9 HMBC NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBO

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

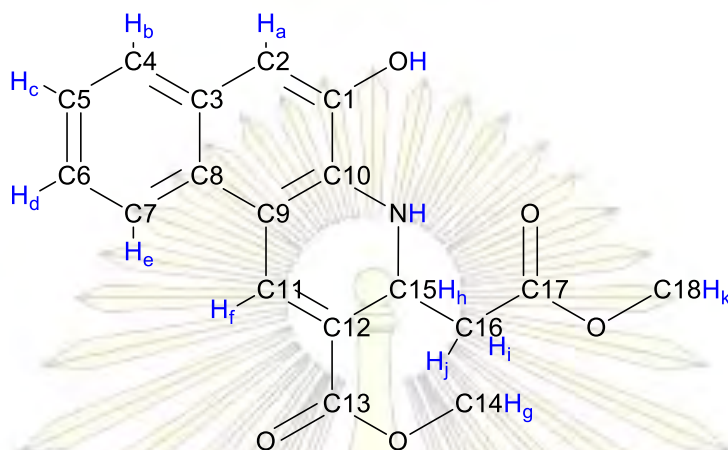
จากสเปกตรัม HSQC สามารถบ่งชี้ความสัมพันธ์ระหว่างโปรตอนที่อยู่บนคาร์บอนได้ดังนี้ โปรตอนที่ตำแหน่ง 5.80 ppm ไม่ปรากฏความสัมพันธ์กับคาร์บอนใดๆ แสดงว่าเป็นโปรตอนที่อยู่บนอะตอมอื่นได้แก่ NH โปรตอนและคาร์บอนที่ไขว้กันแบบ Negative ซึ่งสังเกตเห็นเป็นสีฟ้าแสดงถึง CH_2 ได้แก่โปรตอน i (2.35 ppm) และโปรตอน j (2.68 ppm) ซึ่งทั้งสองโปรตอนดังกล่าวนี้อยู่บนคาร์บอน C16 (40.1 ppm) นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตอน h (5.04 ppm) อยู่บนคาร์บอน C15 (48.4 ppm) โปรตอน g (3.79 ppm) และ k (3.60 ppm) อยู่บนคาร์บอน C14 (52.4 ppm) และ C18 (52.2 ppm) ตามลำดับ โปรตอนในวงอะโรมาติกได้แก่ f (8.16 ppm), e (7.87 ppm), b (7.55 ppm), d (7.32 ppm), c (7.21 ppm) และ a (7.10 ppm) อยู่บนคาร์บอนตำแหน่ง C11 (132.0 ppm), C7 (120.9 ppm), C4 (127.9 ppm), C6 (125.9 ppm), C5 (123.9 ppm) และ C2 (112.7 ppm) ตามลำดับ



รูปที่ 3.10 HSQC NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ

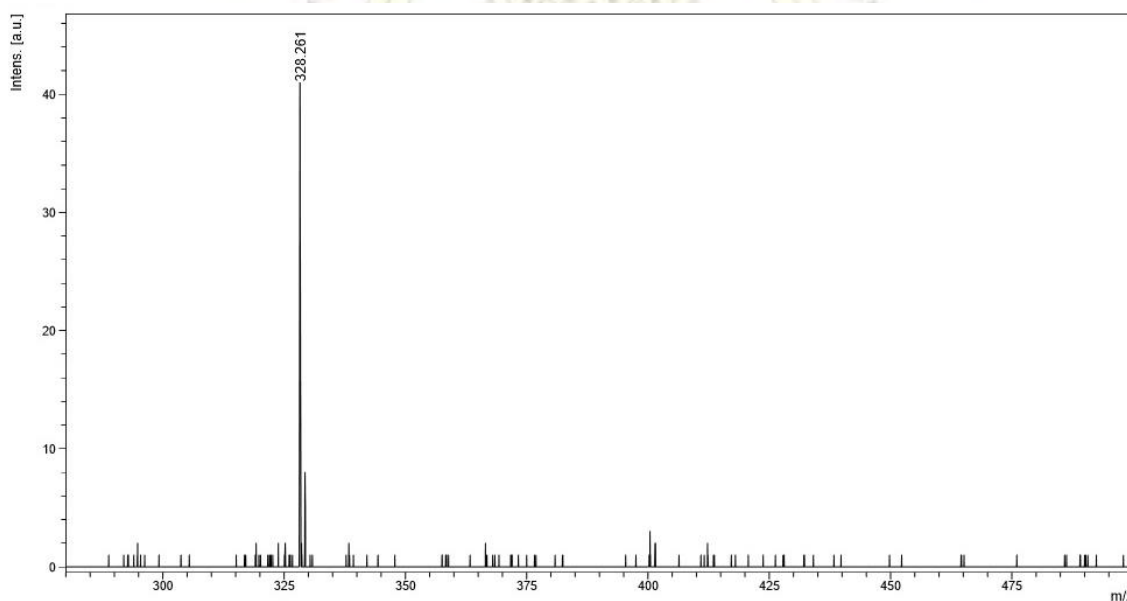
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จึงแสดงโครงสร้างของ DHBQ ได้ดังนี้



โครงสร้างระบุตำแหน่งคาร์บอนและโปรตอนของ DHBQ

ยืนยันโครงสร้างที่ได้โดยใช้ maldi-TOF MS พบว่า DHBQ มี $m/z = 328.261$ (มวลโมเลกุลของ DHBQ = 327.111 g/mol) (รูปที่ 3.11)

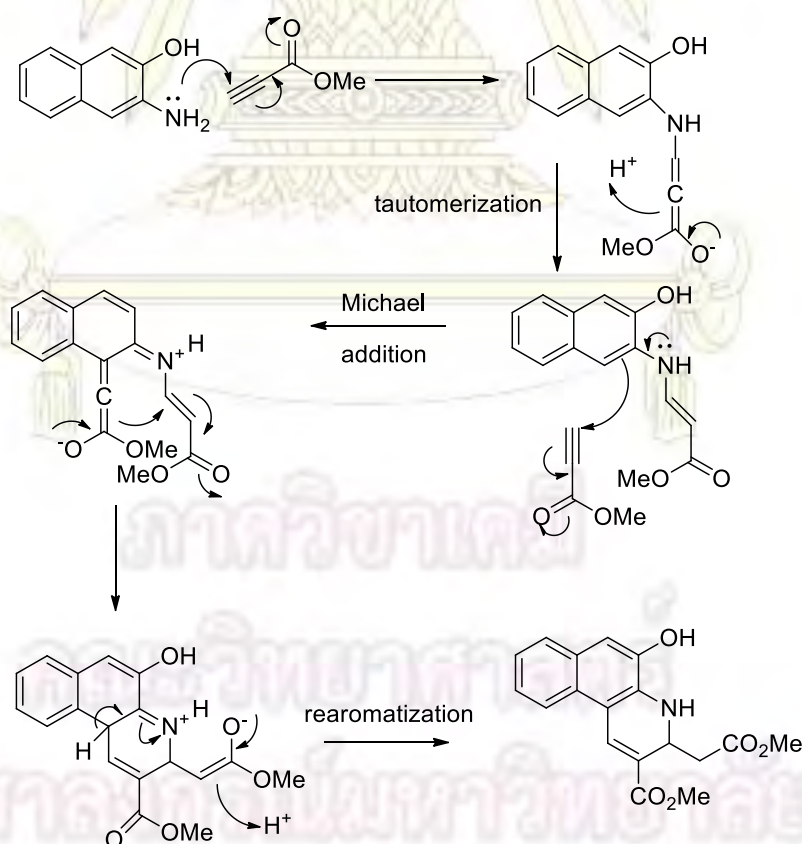


รูปที่ 3.11 สเปกตรัม maldi-TOF MS ของ DHBQ

จากการพิจารณา ^1H NMR ที่ได้ปรากฏเมทิลเอสเทอร์ 2 ชุด แสดงว่าปฏิกิริยานี้มีการใช้ methyl propiolate ในสัดส่วน 2 เท่าของ 3-amino-2-naphthol การใช้เพียง 1.2 eq. ไม่สามารถทำให้สารตั้งต้น 3-amino-2-naphthol ทำปฏิกิริยาหมดสมบูรณ์ได้ ดังนั้นจึงต้องเพิ่มสัดส่วนของ methyl propiolate เป็น 2.0

eq. (ปริมาณจริงที่เติมคือ 2.2 eq เพื่อให้มีปริมาณมากกว่า 3-amino-2-naphthol ซึ่งเป็นสารกำหนดปฏิกิริยาเล็กน้อย โดยปริมาณ methyl propiolate ส่วนที่เกินจะถูกกำจัดไปในขั้นตอนระเหยตัวทำละลายด้วย rotary evaporator) จึงจะสามารถทำให้สารตั้งต้นทำปฏิกิริยาจนหมดได้ ซึ่งจากการทดลองปรากฏว่าไม่พบจุดของสารตั้งต้นบนแผ่น TLC แสดงว่าสารตั้งต้นทำปฏิกิริยาหมดและเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ได้สารเพียงชนิดเดียว และจาก $^1\text{H NMR}$ ก็ยืนยันได้ว่าสารที่สังเคราะห์ได้มีความบริสุทธิ์สูง

ด้วยเหตุนี้จึงได้วิธีการสังเคราะห์ DHBQ ซึ่งผ่านการเปลี่ยนแปลงสถานะที่เหมาะสมแล้วดังนี้คือ นำ methyl propiolate (0.63 mL, 2.2 eq.) และ CuI (310 mg, 0.5 eq.) ใส่ลงในขวดก้นกลม เติม MeOH (50 mL) ลงไปเป็นตัวทำละลาย ใส่ magnetic stirrer ปิดฝาขวดด้วยเซปตัม ไล่อากาศออก 2 ครั้งด้วยลูกโป่งที่บรรจุแก๊สไนโตรเจน คนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 3-amino-2-naphthol (515 mg, 1 eq.) ลงไป รีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน และตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเทียบกับสารตั้งต้นด้วย TLC โดยใช้ 20 % EtOAc/CH₂Cl₂ พบว่าเป็นสารบริสุทธิ์เพียงสารเดียวเรืองแสงภายใต้อัลตราไวโอเล็ตและแบลคไลต์ (เรืองสีเหลือง) ที่ $R_f = 0.57$ จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วย Rotary evaporator ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีเหลืองส้มปริมาณ 966 mg. หรือคิดเป็นร้อยละ 91 ของผลิตภัณฑ์ เสนอกลไกการสังเคราะห์ DHBQ ดังรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.12 กลไกการสังเคราะห์ DHBQ

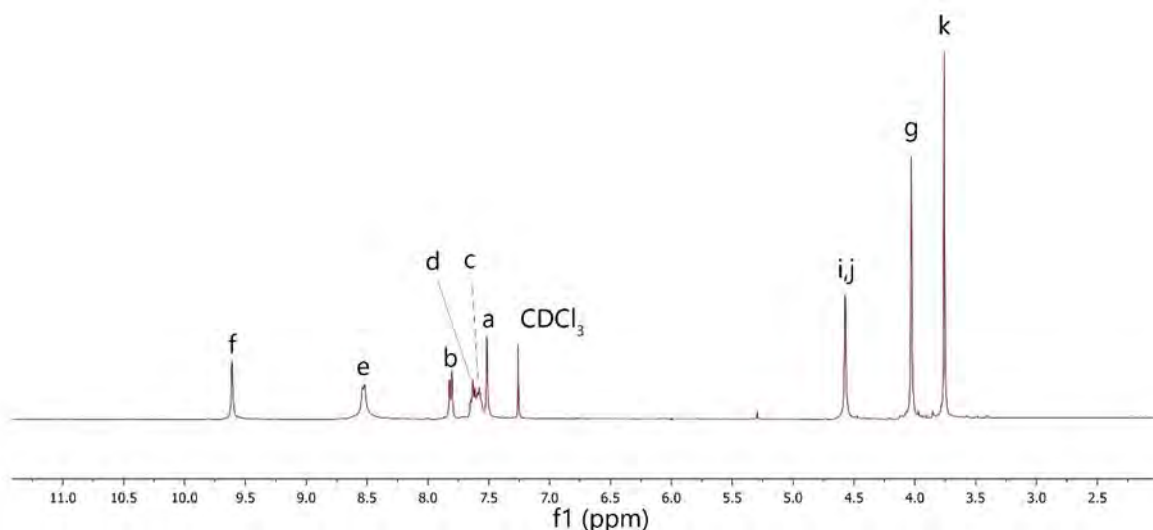
ก่อนการพิสูจน์ทราบเอกลักษณ์ของสาร DHBQ มีอุปสรรคหลากหลายที่ทำให้ไม่สามารถทราบโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ได้ หนึ่งในนั้นคือการที่สาร DHBQ สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างกลายเป็นสาร BQ เมื่ออยู่ใน CDCl_3 ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NMR ซึ่งเริ่มต้นจากการสังเกตเห็นว่าเมื่อนำหลอด NMR ที่บรรจุสารละลายของ DHBQ ในตัวทำละลาย CDCl_3 กลับมาจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง NMR แล้วปรากฏว่าคุณสมบัติของการเรืองแสงของสารละลาย DHBQ เปลี่ยนแปลงไปดังรูปที่ 3.13

สาร DHBQ $\xrightarrow{\text{CDCl}_3}$ สาร BQ

เรืองแสงสีเหลือง(ภายใต้แบลคไลต์) \longrightarrow ไม่เรืองแสงภายใต้ แบลคไลต์

รูปที่ 3.13 การเปลี่ยนแปลงเมื่อเตรียมสาร DHBQ ในตัวทำละลาย CDCl_3 เพื่อวิเคราะห์ ^1H NMR

สเปกตรัม ^1H NMR ที่ได้ในครั้งแรกเป็นดังรูปที่ 3.14

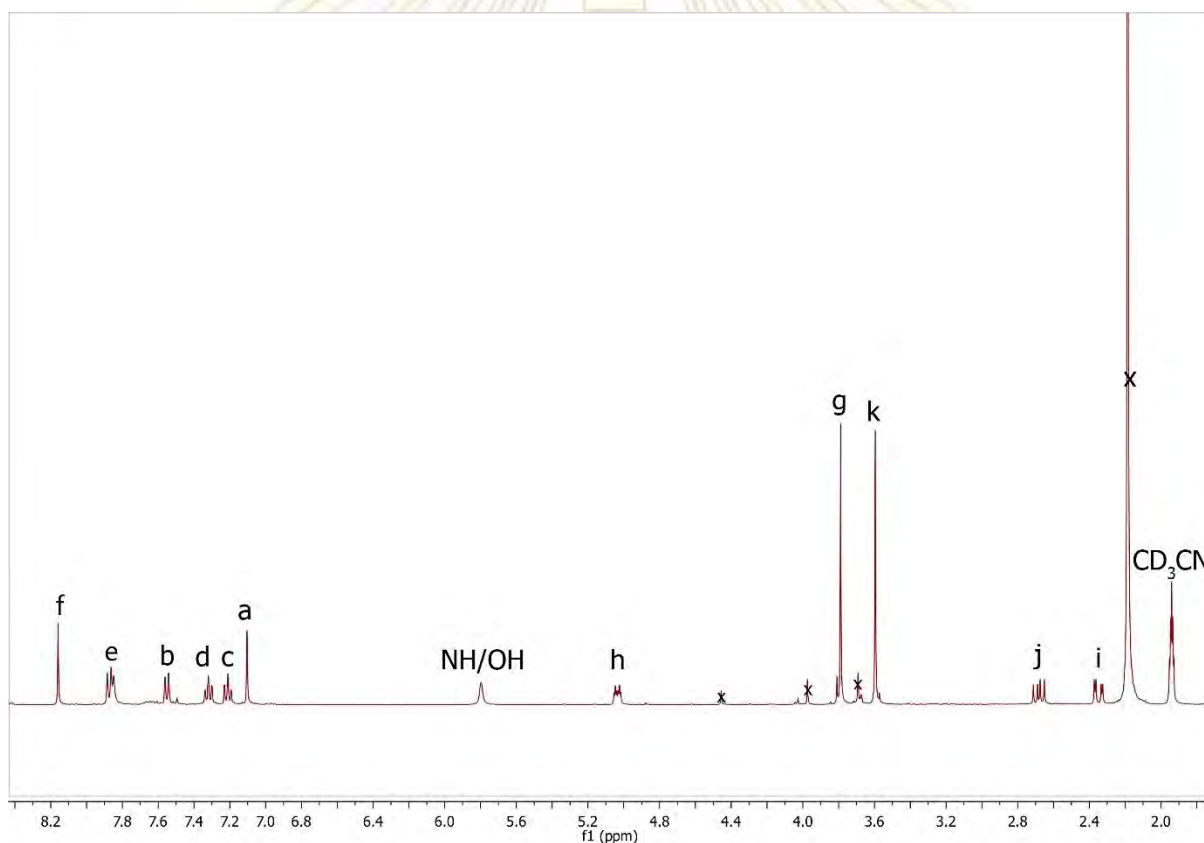


รูปที่ 3.14 ^1H NMR สเปกตรัม (CDCl_3 , 400 MHz) ของ BQ

จึงตั้งสมมติฐานว่าโครงสร้างของสาร DHBQ ในตัวทำละลาย CDCl_3 เปลี่ยนแปลงไปทำให้คุณสมบัติการเรืองแสงที่เห็นเปลี่ยนแปลงไป แล้วทำการทดสอบสมมติฐานโดยทดสอบ TLC ของสาร DHBQ ที่ดับแสงในตัวทำละลาย CDCl_3 ดังกล่าวเทียบกับสาร DHBQ ในตัวทำละลาย DCM ที่เรืองแสงสีเหลืองเป็นปกติพบว่าให้จุดบน TLC ที่แตกต่างกันในระบบ 20 % EtOAc/ CH_2Cl_2 โดยที่ DHBQ ใน DCM ปรากฏ 1 จุดเรืองแสงทั้งภายใต้อัลตราไวโอเล็ตและแบลคไลต์ที่ $R_f = 0.57$ ส่วน DHBQ ใน CDCl_3 ปรากฏ 1 จุดเรืองแสงภายใต้อัลตราไวโอเล็ตแต่ไม่เรืองแสงภายใต้แบลคไลต์ที่ $R_f = 0.68$ จากค่า R_f ที่ต่างกันจึงคาดว่าสาร DHBQ อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างกลายเป็นสารชนิดอื่น (BQ) เมื่ออยู่ในตัวทำละลาย CDCl_3 จึงทำการทดสอบด้วย

เทคนิค NMR เพื่อยืนยันสมมติฐานโดยนำหลอด NMR ที่ดับแสงแล้วกลับไปวิเคราะห์สเปกตรัม ^1H NMR ซ้ำอีกครั้งแต่ปรากฏว่าได้สเปกตรัมแบบเดียวกัน (รูปที่ 3.9) จึงคาดว่าสาร DHBQ อาจเปลี่ยนโครงสร้างกลายเป็น BQ ตั้งแต่เติมตัวทำละลาย CDCl_3 แล้ว ทำให้สเปกตรัม ^1H NMR ที่ได้ในครั้งแรก (รูปที่ 3.13) ไม่ใช่ของสาร DHBQ แต่เป็นสเปกตรัมของสาร BQ แทน

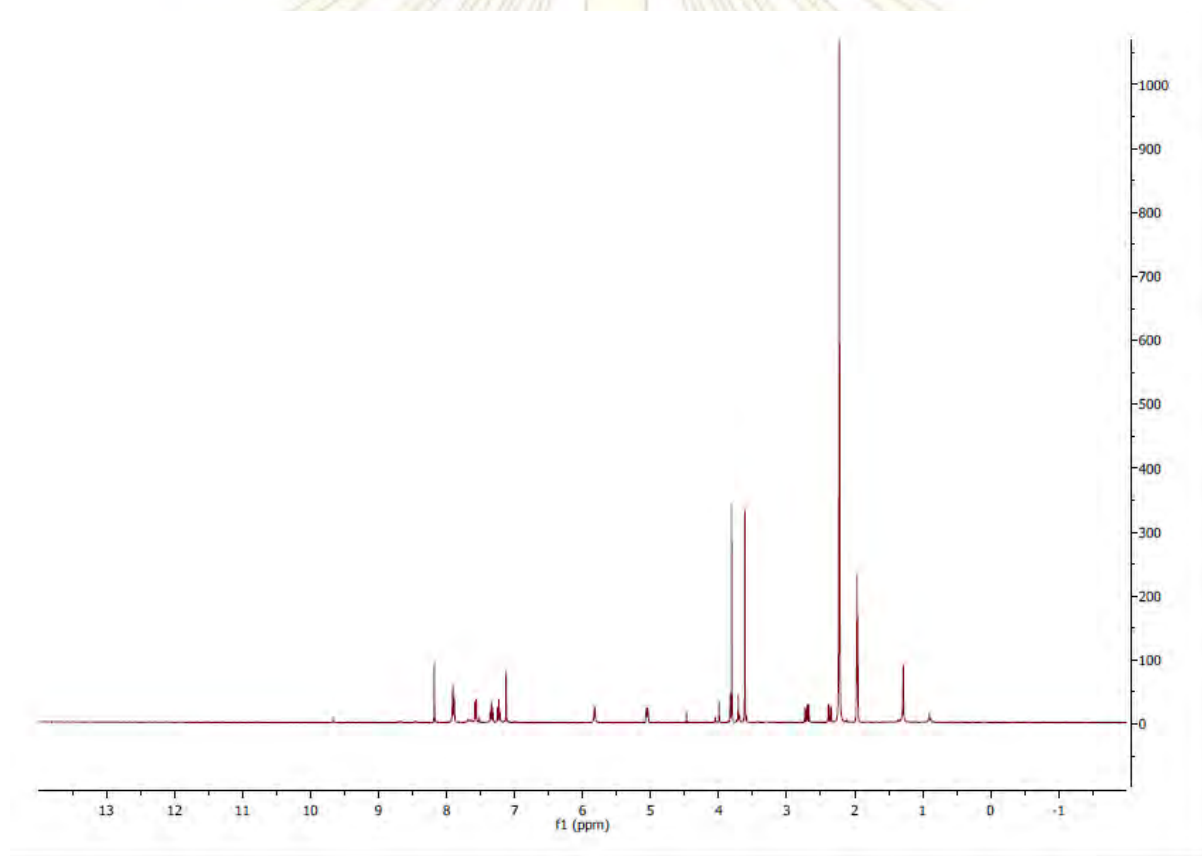
เพื่อทำการทดสอบสมมติฐานที่ว่าสาร DHBQ ถูกเปลี่ยนรูปเป็นสาร BQ ตั้งแต่แรกในตัวทำละลาย CDCl_3 ก่อนการวิเคราะห์ ^1H NMR ทำให้สเปกตรัมก่อนและหลังดับแสงเป็นแบบเดียวกันจึงทำการทดสอบสมมติฐานโดยลองเปลี่ยนชนิดตัวทำละลายในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NMR จาก CDCl_3 เป็น CD_3CN เนื่องจาก CD_3CN สามารถละลาย DHBQ ได้และไม่ทำให้เกิดการดับแสงเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งพบว่าได้สเปกตรัม ^1H NMR ที่เปลี่ยนไปดังรูปที่ 3.15



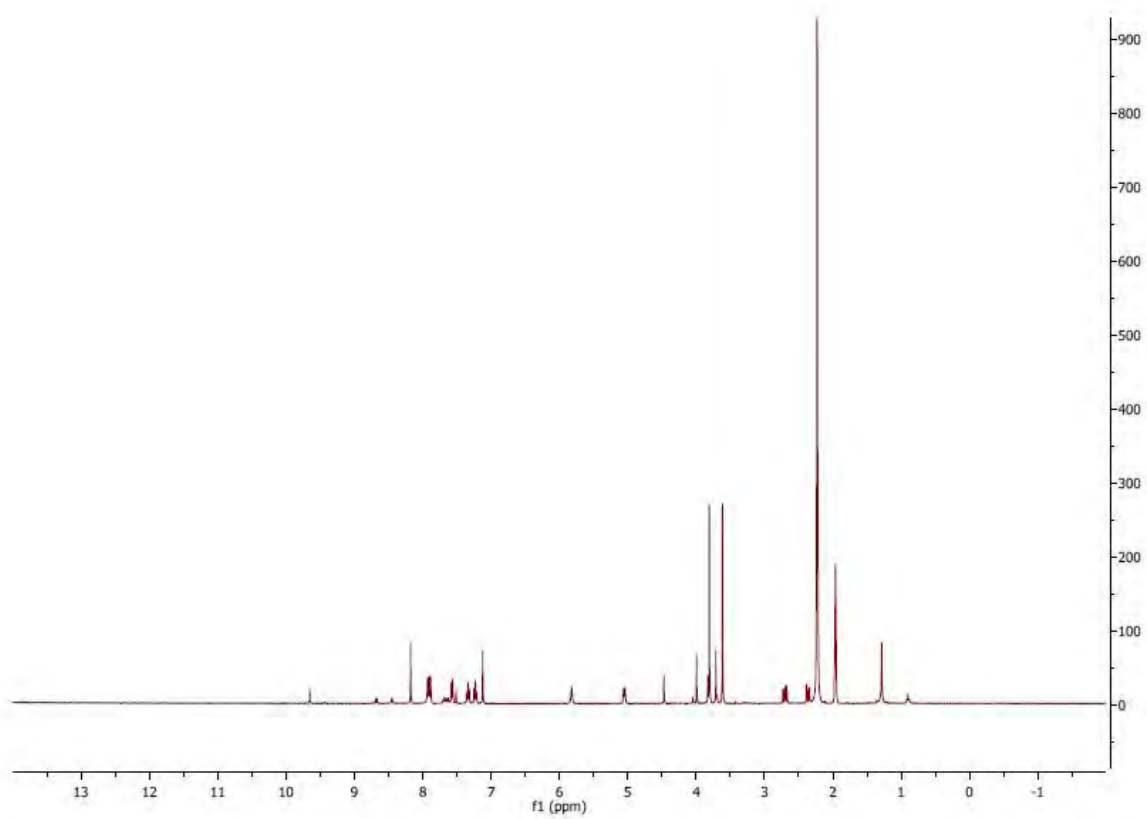
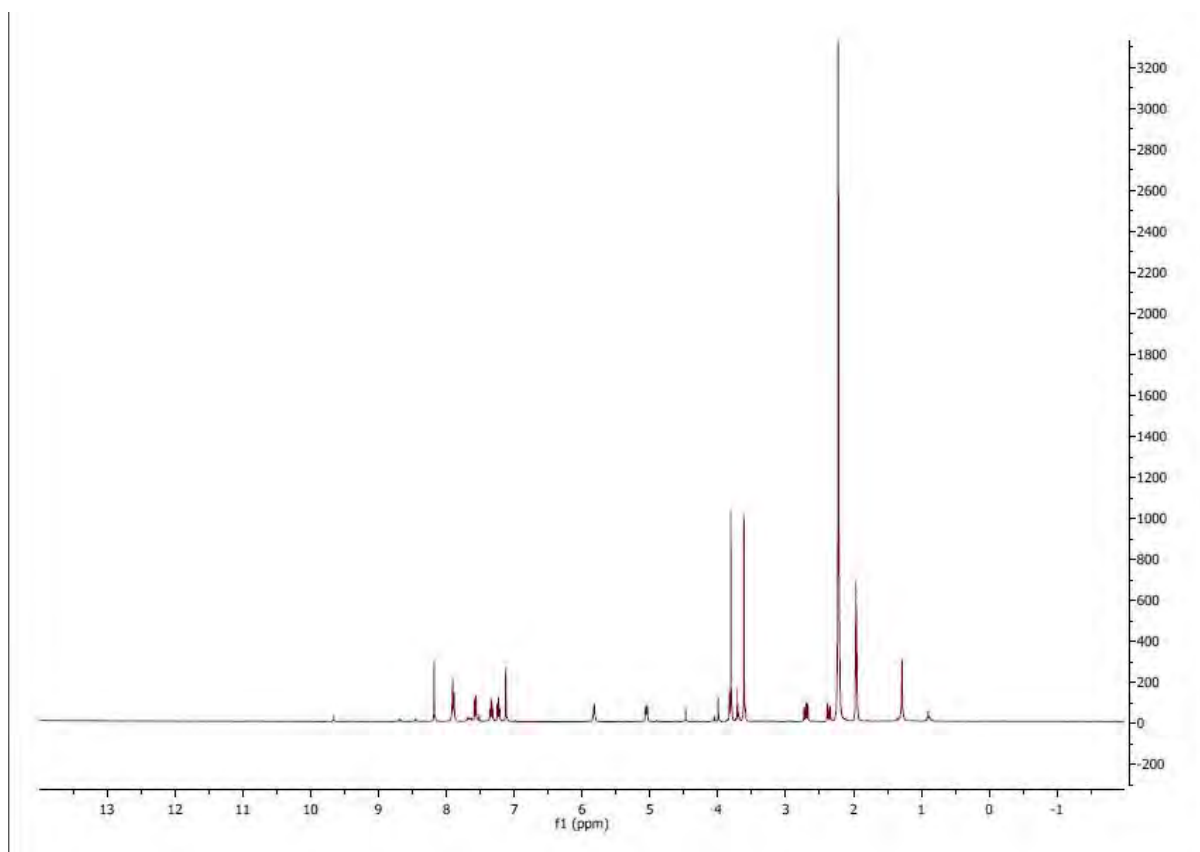
รูปที่ 3.15 ^1H NMR สเปกตรัม (CD_3CN , 400 MHz) ของ DHBQ

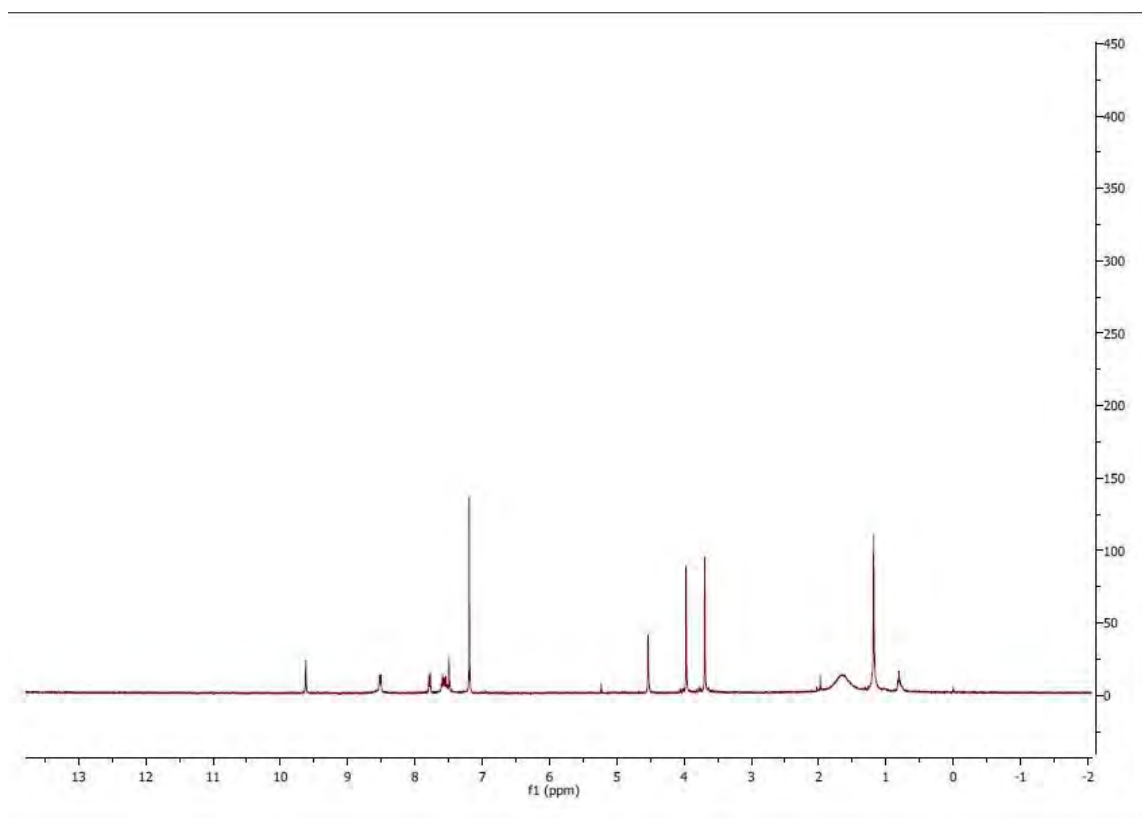
ซึ่งเมื่อนำหลอด NMR กลับมาทดสอบการเรืองแสงพบว่ายังคงเรืองแสงสีเหลืองปกติภายใต้แบล็คไลท์ทดสอบด้วยเทคนิค TLC ในระบบเดิมปรากฏ 1 จุดเรืองแสงทั้งภายใต้อัลตราไวโอเล็ตและแบล็คไลท์ที่ $R_f = 0.57$ เช่นเดียวกับในตัวทำละลาย DCM แสดงว่า ^1H NMR ที่ได้ครั้งนี้เป็นของ DHBQ จริงและ ^1H NMR รูปที่ 3.13 นั้นเป็นสเปกตรัมของ BQ ซึ่งถูกเปลี่ยนรูปมาจาก DHBQ หลังจากที่เติมตัวทำละลาย CDCl_3

เมื่อพิจารณา ^1H NMR ของ DHBQ (รูปที่ 3.15) จะพบว่าไม่มีฟีกของสารอื่นเจือปนอยู่เล็กน้อย (แม้ TLC จะปรากฏจุดของสาร 1 ชนิดเท่านั้นคือที่ $R_f = 0.57$) ได้แก่ที่ δ ประมาณ 3.7, 4.0 และ 4.5 ซึ่งตรงกับ δ ของ k, g และ i+j ของสเปกตรัม ^1H NMR ของ BQ แสดงว่าสาร DHBQ อาจจะถูกเปลี่ยนรูปเป็น BQ ในตัวทำละลาย CD_3CN ได้เช่นกัน จึงตั้งสมมติฐานว่าเมื่อเวลาผ่านไปสาร DHBQ จะถูกเปลี่ยนรูปเป็นสาร BQ ในตัวทำละลาย CD_3CN แล้วตรวจสอบสมมติฐานโดยวิเคราะห์สเปกตรัม ^1H NMR ของสาร DHBQ ในตัวทำละลาย CD_3CN เมื่อเวลาผ่านไป 0, 1 และ 7 วัน พบว่าสเปกตรัมมีการเปลี่ยนแปลงโดยสัดส่วนของพื้นที่ใต้ฟีกของสาร DHBQ จะค่อยๆลดลงในขณะที่สัดส่วนของพื้นที่ใต้ฟีกของสาร BQ จะค่อยๆเพิ่มขึ้น (รูปที่ 3.16) ในขณะที่ผลการทดสอบ TLC ก็พบจุดใหม่ 1 จุดที่ไม่เรืองแสงภายใต้แบล็คไลท์ที่ $R_f = 0.68$ ซึ่งตรงกับ R_f ของสาร BQ ที่เพิ่มขึ้นนั่นเอง



คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



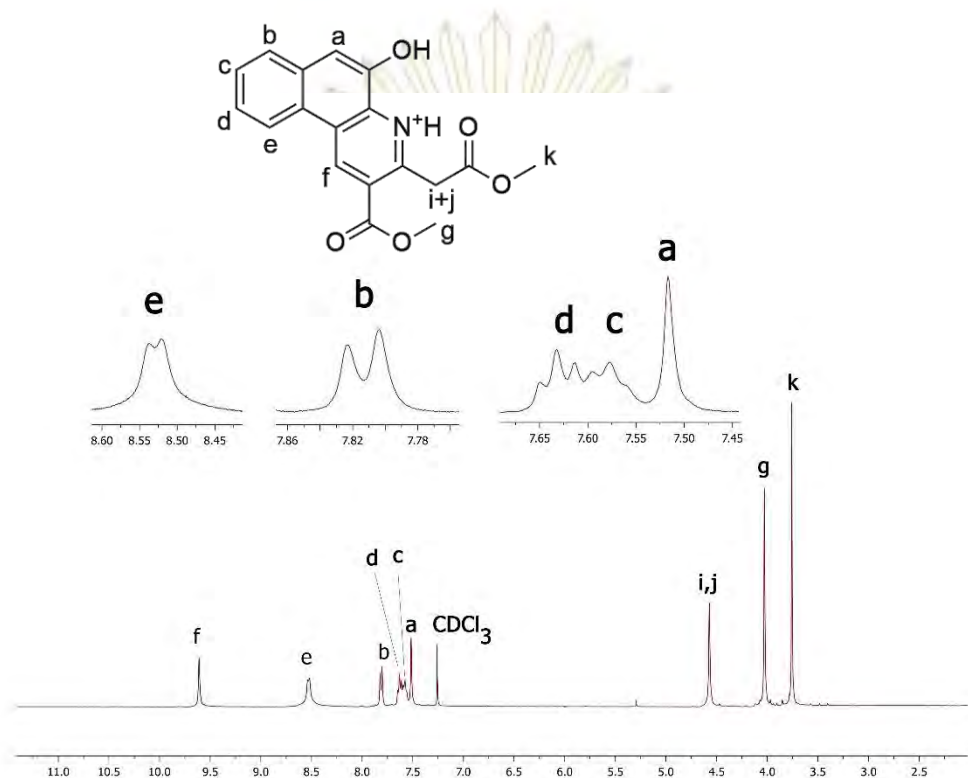


รูป 3.16 เปรียบเทียบ DHBQ กับ BQ เมื่อเวลาผ่านไป 0,1 และ 7 วัน (สเปกตรัม 1-3 เป็นของ DHBQ และ 4 เป็นของ BQ)

หลังจากที่ทราบว่สาร DHBQ สามารถเปลี่ยนรูปเป็นสาร BQ ได้เมื่อเวลาผ่านไปและถูกเปลี่ยนรูปได้รวดเร็วและสมบูรณ์เมื่ออยู่ในตัวทำละลาย CDCl_3 (เติมตัวทำละลาย CDCl_3 ลงไปแล้วนำไปวิเคราะห์สเปกตรัม ^1H NMR ทันทีแล้วได้สเปกตรัมของสาร BQ ที่บริสุทธิ์) จึงตั้งสมมติฐานขึ้นมาว่าสาร DHBQ ถูกเปลี่ยนรูปเป็นสาร BQ อย่างสมบูรณ์เฉพาะในตัวทำละลาย CDCl_3 แล้วตรวจสอบสมมติฐานโดยเตรียมสารละลาย DHBQ ในตัวทำละลายต่างชนิดกัน 10 ชนิดได้แก่ เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม, เอทิลอะซิเตท, ไดคลอโรมีเทน, อะซีโตน, อะซีโตนไตรัล, ไดเมทิลฟอร์มาไมด์, ไดเมทิลซัลฟอกไซด์, เมทานอลและน้ำที่ความเข้มข้นเท่ากันแล้วทดสอบด้วยเทคนิค TLC ในระบบ 20 % EtOAc/ CH_2Cl_2 พบว่าให้ผลในลักษณะเดียวกันคือเกิดเมื่อทดสอบทันทีจะให้จุด 1 จุดเรืองแสงทั้งภายใต้อัลตราไวโอเล็ตและแบลคไลท์ที่ $R_f = 0.57$ (DHBQ) แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้ 1 วันจะเกิดจุดใหม่ขึ้นมา 1 จุดเรืองแสงภายใต้อัลตราไวโอเล็ตแต่ไม่เรืองแสงภายใต้แบลคไลท์ที่ $R_f = 0.68$ (BQ) จึงสรุปได้ว่าสาร DHBQ จะถูกเปลี่ยนรูปเป็นสาร BQ ได้เมื่อเวลาผ่านไปและจะเกิดได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์เมื่ออยู่ในตัวทำละลาย CDCl_3

จากการวิเคราะห์สเปกตรัม ^1H NMR ของ BQ พบว่ามีลักษณะคล้ายกับ DHBQ แต่โปรตอนทุกตัวเกิดการ downfield มากขึ้นอันเนื่องมาจากผลของการเกิดวงอะโรมาติกเพิ่มขึ้น 1 วงซึ่งทราบได้จากการที่

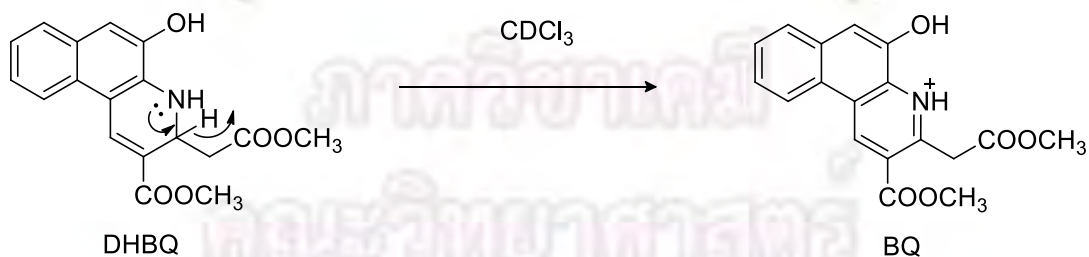
โปรตอนตำแหน่ง h ของ DHBQ หายไป ส่งผลให้โปรตอน i และ j ไม่มีความแตกต่างกันจึงปรากฏเป็นโปรตอน i+j ที่เป็นพีก singlet และมีสัดส่วนพื้นที่ใต้พีกเป็น 2 โปรตอนขึ้นมาแทน (รูปที่ 3.17)



รูปที่ 3.17 วิเคราะห์สเปกตรัม ^1H NMR ของ BQ

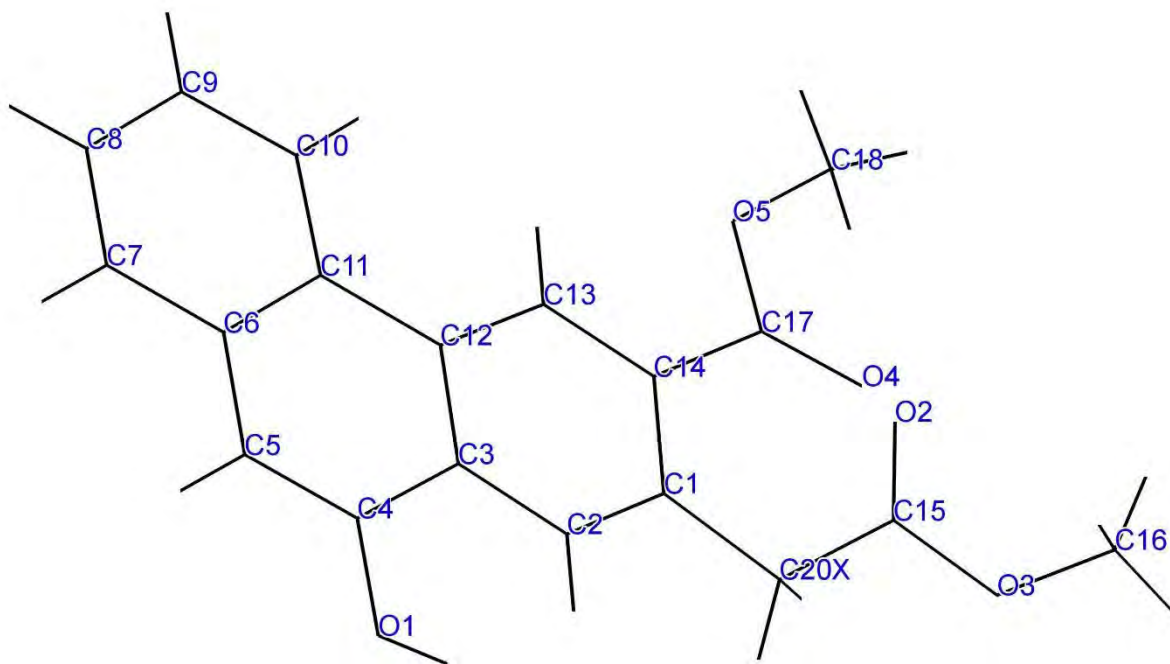
ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก CDCl_3 ที่ใช้มีความเป็นกรดจากการใช้ไปนานๆ ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเหนี่ยวนำให้เกิดการปิดวงเป็น aromatic ขึ้นกลายเป็น 5-hydroxy-3-(2-methoxy-2-oxoethyl)-2-(methoxycarbonyl)benzo[f]quinolin-4-ium

เสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจาก DHBQ เป็น BQ ดังรูปที่ 3.18



รูปที่ 3.18 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจาก DHBQ เป็น BQ

สามารถยืนยันโครงสร้างโดย sc-XRD ดังรูปที่ 3.19



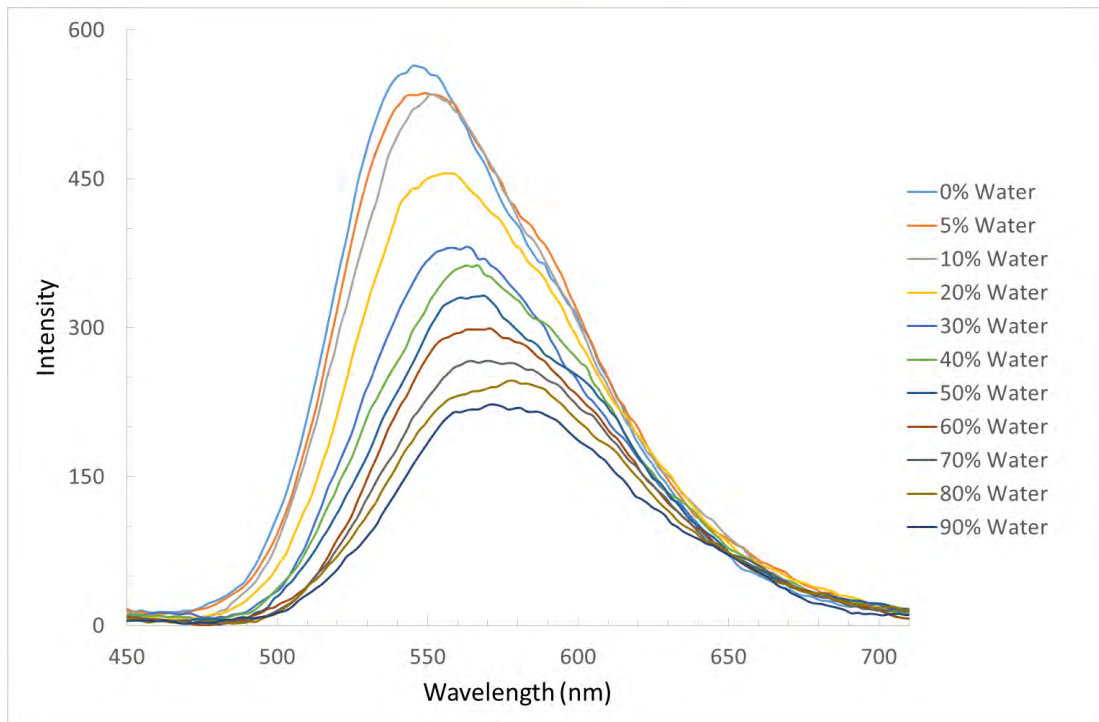
รูปที่ 3.19 โครงสร้างผลึก sc-XRD ของ BQ

แม้ว่าสาร DHBQ จะมีความเสถียรค่อนข้างต่ำดังที่กล่าวมา แต่ด้วยคุณสมบัติการเรืองแสงที่ดี สัณฐานง่ายเพียงขั้นตอนเดียว ได้ร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่สูง อีกทั้งการเปลี่ยนรูปกลายเป็นสาร BQ ยังเกิดขึ้นได้ช้าเมื่ออยู่ในตัวทำละลายชนิดอื่นที่ไม่ใช่ CDCl_3 ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำโมเลกุล DHBQ มาวิเคราะห์สมบัติเชิงแสงด้วยเทคนิคยูวีวิสสเปกโตรสโกปีและฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรสโกปีเพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการตรวจวัดไอออนโลหะ

3.4 การศึกษาค่าการดูดกลืนและการคายแสงของ DHBQ

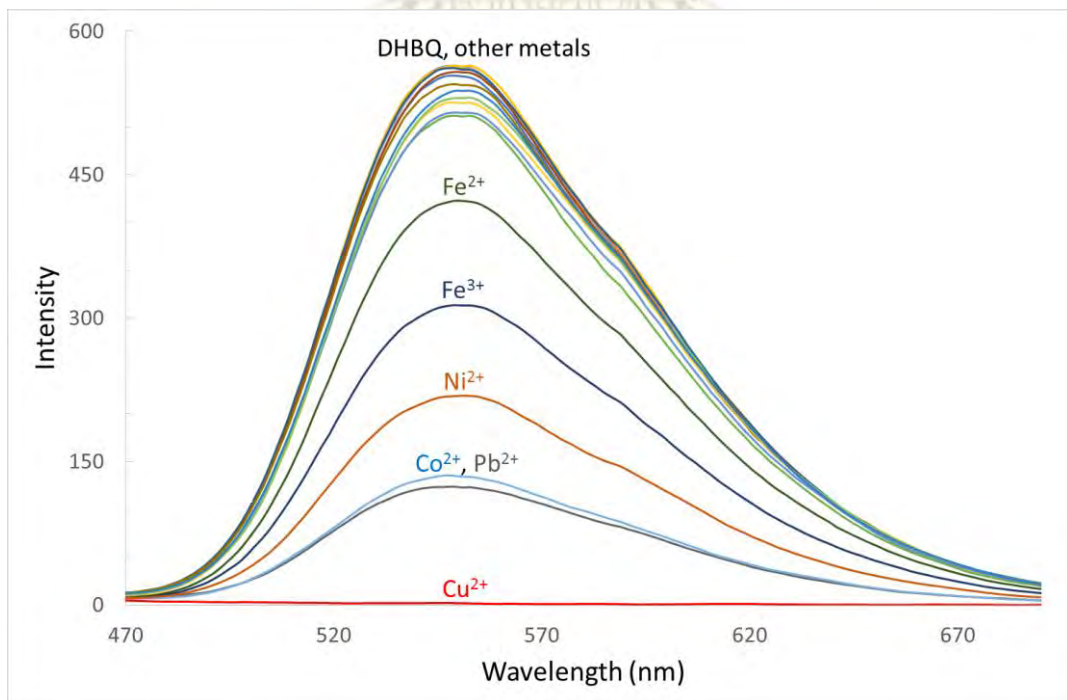
3.4.1 การศึกษาผลของเปอร์เซ็นต์น้ำต่อความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์

จากฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ (รูปที่ 3.20) เมื่อกระตุ้นด้วยแสงความยาวคลื่น 345 nm พบว่าเมื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์น้ำในตัวทำละลาย DMSO ให้มากขึ้นจะส่งผลให้ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มีค่าลดลงดังนั้นในการวัดการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์จะใช้สัดส่วนตัวทำละลายที่ประกอบด้วยน้ำเพียงเล็กน้อยและยังพบว่าที่สัดส่วนน้ำต่อ DMSO ตั้งแต่ 0% - 10% ไม่ทำให้ค่าความเข้มของสัญญาณลดต่ำมาก ดังนั้นจึงสนใจที่จะทดสอบความจำเพาะต่อไอออนโลหะของ DHBQ ที่สัดส่วน น้ำ/DMSO 0%, 5% และ 10% เพื่อดูว่าสัดส่วนใดให้ความจำเพาะต่อไอออนโลหะมากที่สุด



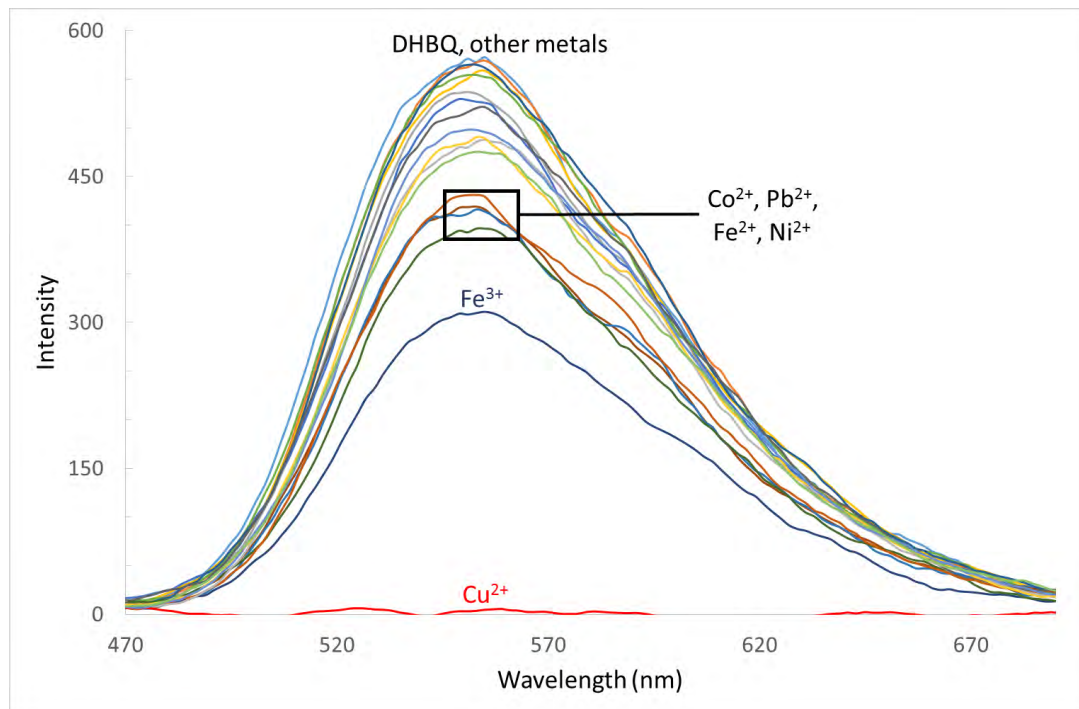
รูปที่ 3.20 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ เมื่อเพิ่มสัดส่วนน้ำตั้งแต่ 0% - 90%

3.4.2 การตรวจสอบความจำเพาะต่อไอออนโลหะของ DHBQ ที่ 1%, 5% และ 10% H₂O/DMSO - ที่ 1% H₂O/DMSO



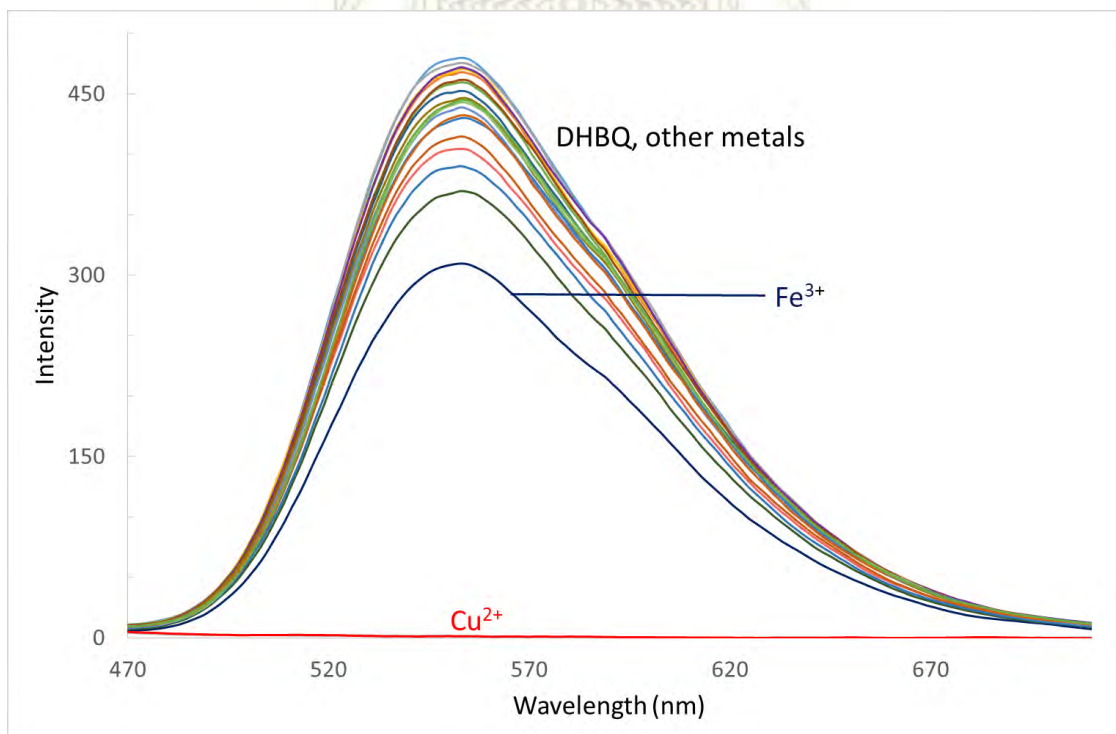
รูปที่ 3.21 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ ตอบสนองต่อไอออนโลหะชนิดต่างๆ ที่ 1% H₂O/DMSO

- ที่ 5% H₂O/DMSO



รูปที่ 3.22 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ ตอบสนองต่อไอออนโลหะชนิดต่างๆ ที่ 5% H₂O/DMSO

- ที่ 10% H₂O/DMSO



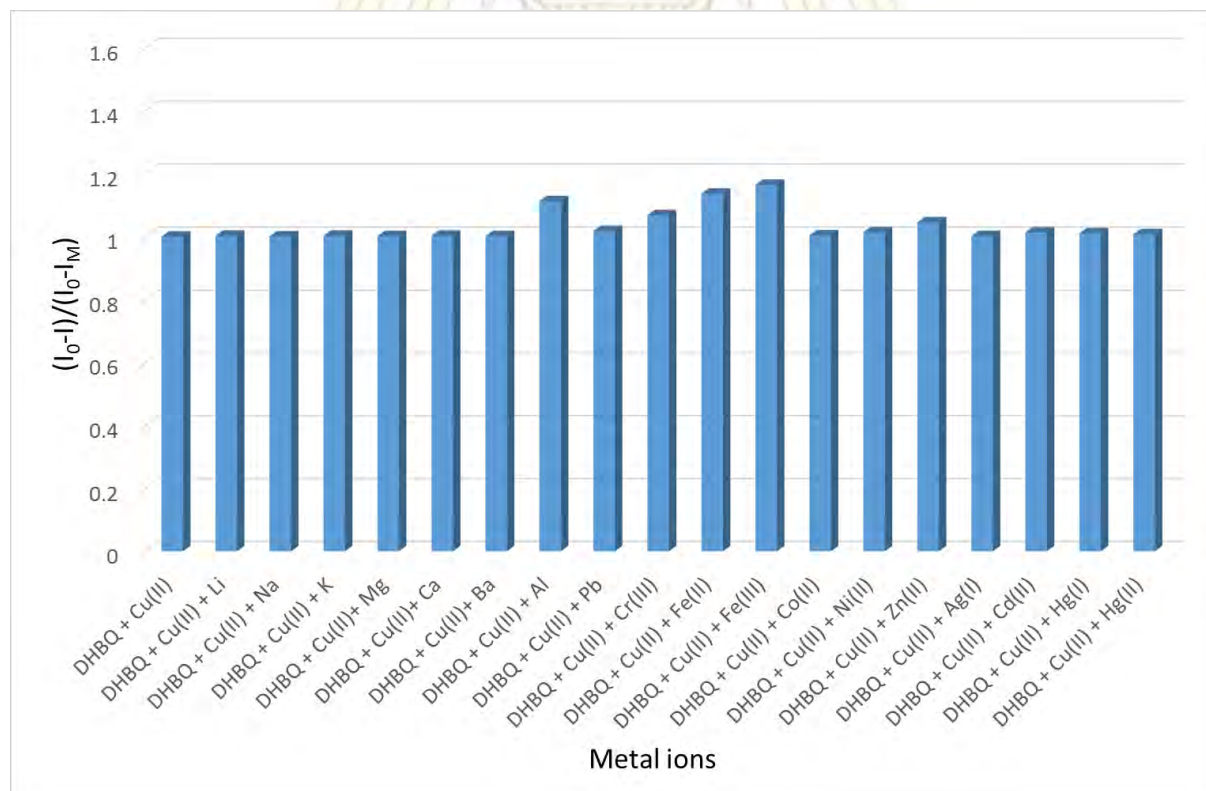
รูปที่ 3.23 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ ตอบสนองต่อไอออนโลหะชนิดต่างๆ ที่ 10% H₂O/DMSO

จากฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ ตอบสนองต่อไอออนโลหะชนิดต่างๆ ทั้ง 3 สเปกตรัมพบว่า สัดส่วนน้ำที่มากขึ้นจะเพิ่มความจำเพาะต่อ Cu^{2+} มากขึ้นและชัดเจนที่สุดที่ 10% $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$

จากการทดลองดังกล่าวทำให้เราทราบสัดส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับ DHBQ ที่จะทำให้สามารถตรวจวัดการคายแสงของฟลูออเรสเซนซ์ให้ได้ความจำเพาะที่ดีและความเข้มแสงไม่ลดลงมาก คือที่ 10% $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ ซึ่งให้ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดที่ความยาวคลื่น 553 nm และในการวิเคราะห์เชิงแสงทั้งหมดดำเนินการทันทีภายในเวลา 15 วินาที

3.4.3 การศึกษาผลของการรบกวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบ DHBQ-Cu(II) เมื่อมีไอออนชนิดต่างๆในสารละลาย

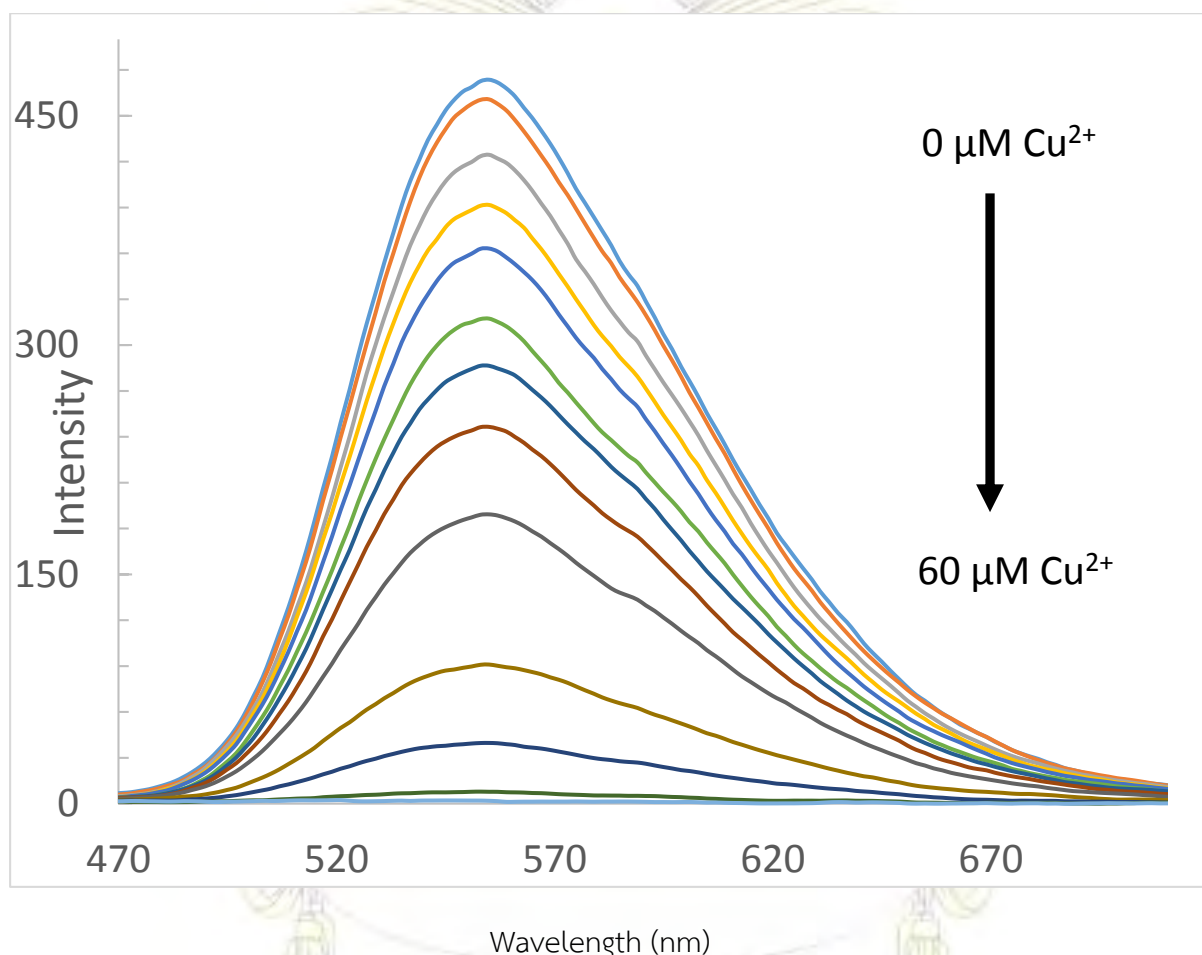
จากกราฟการทดสอบการรบกวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบ DHBQ-Cu(II) (รูปที่ 3.24) เมื่อใช้ความเข้มข้น DHBQ 10 μM , สารละลาย Cu(II) 50 μM แล้ววัดค่าการคายแสงเมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่างๆ ลงไป 50 μM พบว่าไม่มีไอออนโลหะตัวใดมีผลรบกวนสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบ DHBQ อย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 3.24 การศึกษาผลของการรบกวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบ DHBQ-Cu(II)

3.4.4 การหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดของ DHBQ ต่อไอออน Cu(II) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอออน Cu(II) จาก 0-50 μM

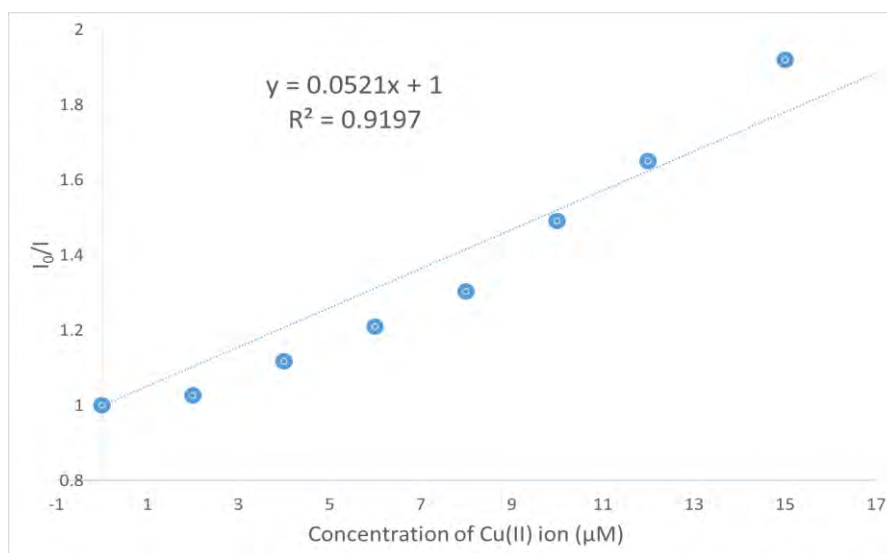
เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอออน Cu(II) จาก 0-50 μM ในขณะที่ความเข้มข้นของ DHBQ เท่าเดิมคือ 10 μM ในระบบ 10% $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ แล้วกระตุ้นแสงที่ความยาวคลื่น 345 nm ได้ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตร้าของสารประกอบ DHBQ-Cu(II) ดังรูปที่ 3.25



รูปที่ 3.25 ฟลูออเรสเซนซ์สเปกตรัมของ DHBQ-Cu(II) ที่ความเข้มข้น Cu(II) ระหว่าง 0-60 μM ในระบบ 10% $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$

พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Cu(II) มากขึ้นจะทำให้ความเข้มแสงลดลงและเริ่มอ้อมตัวที่ความเข้มข้น 50 μM ดังนั้นจะใช้ความเข้มข้นของ Cu(II) 50 μM ต่อ DHBQ 10 μM ในการวิเคราะห์ผลของการรบกวนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารประกอบ DHBQ-Cu(II) เมื่อมีไอออนชนิดต่างๆในสารละลาย ดังจะได้นำเสนอต่อไป (หัวข้อ 3.4.4)

นำข้อมูลที่ได้มาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Cu(II) และความเข้มของแสงในช่วงเส้นตรงได้ดังรูปที่ 3.26



รูปที่ 3.26 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ Cu(II) (แกนนอน) และความเข้มของแสง (แกนตั้ง)

จากนั้นนำค่าความชันที่ได้จากกราฟดังกล่าวมาคำนวณหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุด (LOD) ได้ดังสมการ

$$\text{LOD} = [I_0/(I_0 - 3\text{SD}) - 1]/K_{sv}$$

เมื่อ I_0 คือความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออโรฟอร์ที่ยังไม่ได้จับกับ analyte

I คือความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออโรฟอร์ที่จับกับ analyte แล้ว

SD คือค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

K_{sv} คือค่าคงที่การดับสัญญาณของ Stern-Volmer ซึ่งหาได้จากความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ analyte (แกนนอน) และความเข้มของแสง (แกนตั้ง)

คำนวณแล้วได้ค่า LOD การตรวจวัดของ DHBQ ต่อไอออน Cu(II) เป็น 0.8 µM ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าที่สำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกา (Environmental Protection Agency - EPA) ได้อนุญาตให้มีคอปเปอร์(II) ปนเปื้อนในน้ำดื่มได้ไม่เกิน 1.3 ppm^[4] หรือประมาณ 20 µM

บทที่ 4

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการทดลอง

1. ไม่สามารถสังเคราะห์โมเลกุลฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของไดไฮโดรพิริดีน (DHP-AN) ได้แต่สามารถสังเคราะห์โมเลกุลที่เป็นอนุพันธ์ของไดไฮโดรเบนโซควิโนลิน (HDBQ) ได้คิดเป็นร้อยละ 91 ของผลิตภัณฑ์

2. โมเลกุล HDBQ ที่สังเคราะห์ได้มีความจำเพาะที่ดีกับไอออนคอปเปอร์(II) และไม่มีผลรบกวนจากแคตไอออนตัวอื่น

3. โมเลกุล HDBQ มีค่าขีดจำกัดการตรวจวัด $0.8 \mu\text{M}$

4.2 ข้อเสนอแนะในการพัฒนางานวิจัยต่อไปในอนาคต

การวิเคราะห์สารด้วย ^1H NMR ควรทดลองใช้ในตัวทำละลายสำหรับวิเคราะห์ NMR มากกว่า 1 ชนิด เพราะสารบางชนิดอาจสลายตัวหรือเปลี่ยนโครงสร้างในตัวทำละลายเหล่านั้นได้ ซึ่งอาจทำให้การพิสูจน์เอกลักษณ์ผิดพลาด

โมเลกุล BQ ที่เกิดจากการเปลี่ยนรูปจาก HDBQ เมื่ออยู่ในตัวทำละลาย CDCl_3 มีความน่าสนใจที่จะลองศึกษาคุณสมบัติเชิงแสงเนื่องจากมีความเสถียรมากกว่า HDBQ และอยู่ในรูปที่ไม่เรืองแสงอาจนำไปใช้เป็นฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์แบบเปล่งสัญญาณ (turn-on fluorescence) ได้

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

- 1 <http://www.greenclinic.in.th/copper.html> (Accessed April 2016).
- 2 Montes, S; Mancina, S; Ruiz, A; Lopez, L; Rios, C. Copper and Copper Proteins in Parkinson's Disease. *Oxid Med Cell Longev* **2014**, *147251* ,15.
- 3 Measel, C; Anderson, G. Nonnutritive sucking during tube feedings: effect on clinical course in premature infants. *JOGN Nurs* **1979**, *5*, 265-272.
- 4 <http://goo.gl/TrG395L> ((Accessed April 2016).
- 5 Nijegorodov, N; Downey, W. The Influence of Planarity and Rigidity on the Absorption and Fluorescence Parameters and Intersystem Crossing Rate Constant in Aromatic Molecules. *J. Phys. Chem.* **1994**, *22*, 5639–5643.
- 6 Sirijindalert, T; Hansuthirakul, K; Rashatasakhon, P; Sukwattanasinitt, M; Ajavakorn, A. Novel Synthetic Route to 1,4-dihydropyridines from β -amino acrylates by Using Titanium (IV) chloride under Facile Conditions. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5161-5167.
7. โครงการวิจัยระดับปริญญาโทของนาย ณัฐพงษ์ ศรีเมือง ปีการศึกษา 2557 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 8 <http://kemia.unideb.com/pr/Principles%20of%20Fluorescence%20Spectroscopy.pdf> (Accessed April 2016).
- 9 โครงการวิจัยระดับปริญญาตรีของนางสาว พันนิดา ตักขุนทด ปีการศึกษา 2556 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 10 <https://goo.gl/QbP9hE> (Accessed April 2016).
- 11 Wang, H; Xue, L; Fang, Z; Liab, G; Jiang, H. A colorimetric and fluorescent chemosensor for copper ions in aqueous media and its application in living cells. *NEW J. CHEM* **2010**, *34*, 1239–1242.
- 12 Zhang, L; Lou, X; Yu, Y; Qin, J; Li, Z. A New Disubstituted Polyacetylene Bearing Pyridine Moieties: Convenient Synthesis and Sensitive Chemosensor toward Sulfide Anion with High Selectivity. *Macromolecules* **2011**, *44*, 5186–5193.

- 13 Sirilaksanapong, S; Sukwattanasinittb, M; Rashatasakhon, P. 1,3,5-Triphenylbenzene fluorophore as a selective Cu²⁺ sensor in aqueous media. *Chem. Commun* **2012**, *48*, 293–295.
- 14 Serkan, E; Sait, M; Novel “turn on” fluorescent sensors based on anthracene and carbazone units for Cu (II) ion in CH₃CN–H₂O. *J LUMIN.* **2015**, *158*, 86-90.
- 15 Homraruena, D; Sirijindalertb, T; Dubasc, L; Sukwattanasinittb, M; Ajavakom, A. Selective fluorescent sensor for mercury ions in aqueous media using a 1,4-dihydropyridine derivative. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 1617-1621.



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวลำดวน จรสาย เกิดเมื่อวันที่ 12 มกราคม พ.ศ. 2537 ภูมิลำเนาจังหวัดลพบุรี สำเร็จการศึกษา ระดับมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนวินิตศึกษาในพระราชูปถัมภ์ฯ และได้เข้าศึกษาต่อในระดับอุดมศึกษาในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อยู่ สามารถติดต่อได้หลังจากจบการศึกษาระดับปริญญาตรี บ้านเลขที่ 16 หมู่ 3 ตำบลหนองกระเบียนอำเภอบ้านหมี่ จังหวัดลพบุรี



ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย