การสังเคราะห์และพัฒนาอนุพันธ์ 1,4-ไดไฮโดรพิริดีน-4-อะมิโนฟีนอล ไตรเอไมด์

เป็นฟลูออเรสเซนต์คีโมเซ็นเซอร์เพื่อการตรวจวัดไอออนของโลหะ

Synthesis and development of 1,4-dihydropyridine-4-aminophenol triamide derivative as a fluorescent sensor for metal ions

โดย

นางสาว พรณิชา   พรหมเสนา

รายงานนี้เป็นสวนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง การสังเคราะห์และพัฒนาอนุพันธ์ 1,4-ไดไฮโดรพิริดีน-4-อะมิโนฟีนอล ไตรเอไมด์ เป็นฟลูออเรสเซนต์คีโมเซ็นเซอร์เพื่อการตรวจวัดไอออนของโลหะ

โดย นางสาว พรณิชา พรหมเสนา

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

.... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวรักษ์ เฟื่องสวัสดิ์)

.... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนวัช อาชวาคม)

.... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัมฤทธิ์ วัชรสินธุ์)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

....

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วัน 22 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2558

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ☑ ดีมาก ☐ ดี ☐ พอใช้

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์และพัฒนาอนุพันธ์ 1,4-ไดไฮโดรพิริดีน-4-อะมิโนฟีนอล ไตรเอไมด์ เป็นฟลูออเรสเซนต์คีโมเซ็นเซอร์เพื่อการตรวจวัดไอออนของโลหะ

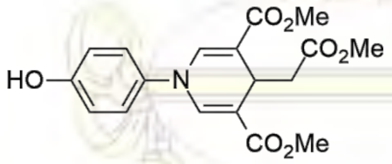
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวพรณิชา พรหมเสนา เลขประจำตัว 5433120923

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อนวัช อาชวาคม

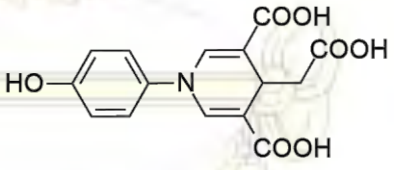
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อ

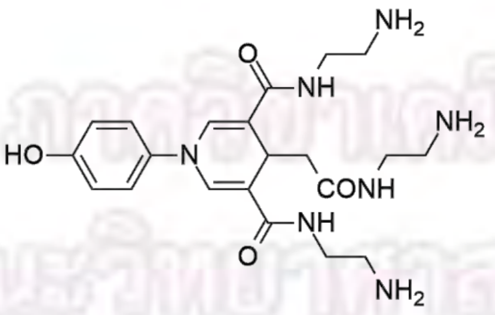
งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์ที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์ 1,4-dihydropyridine-4-aminophenol triamide (DHP-4AP triamide) เป็นสารประกอบเฮเทโรไซคลิกที่มีระบบคอนจูเกตในโมเลกุลจึงมีสมบัติการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งการสังเคราะห์เริ่มจากเตรียมอนุพันธ์ DHP-4AP ด้วยปฏิกิริยาการปิดวง โดยมีไทเทเนียมเตตระคลอไรด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หลังจากนั้นนำ DHP-4AP ที่ได้มาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่มากเกินพอเพื่อให้ได้ DHP-4AP triacid จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยา amidation กับเอทิลีนไดเอมีนซึ่งเราได้พยายามทำการสังเคราะห์เพื่อให้ได้ DHP-4AP triamide ด้วยสภาวะหลากหลายแล้วแต่ไม่ประสบผลสำเร็จ จึงศึกษาสมบัติการวาวแสงฟลูออเรสเซนต์เฉพาะ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ตามลำดับ แทนพบว่า Au^{3+} ดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ DHP-4AP เมื่อทดลองในน้ำ milli Q นอกจากนี้ DHP-4AP triacid สามารถเกิดโคออดิเนชันกับ Al^{3+} พบว่ามีการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้สูงกว่าไอออนโลหะตัวอื่นๆ เนื่องจากเกิดการจับตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง DHP-4AP triacid และ Al^{3+} ซึ่งมีเลขออกซิเดชันเท่ากับ +3 ยังมีอีกปัจจัยคือ ขนาดของไอออนโลหะที่เหมาะกันการเกิดโคออดิเนชันกับบายดิงค์ไซท์ ซึ่งมีการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ดีเมื่อละลายอยู่ในน้ำ



DHP-4AP



DHP-4AP triacid



DHP-4AP triamide

คำสำคัญ: Fluorescent sensor, 1,4-dihydropyridine (DHP), Au^{3+}, Al^{3+}

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Title	Synthesis and development of 1,4-dihydropyridine-4-aminophenol triamide derivative as a fluorescent sensor for metal ions

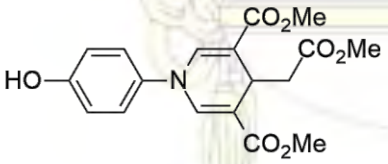
Student name	Miss Pronnicha Phromsena ID 5433120923

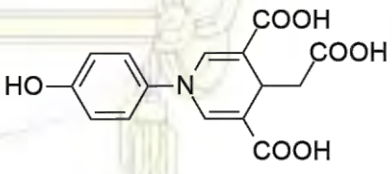
Advisor	Assist. Prof. Dr. Anawat Ajavakom

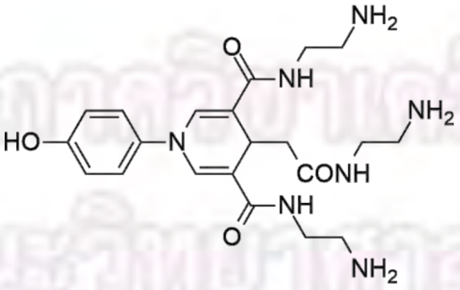
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic year 2014

Abstract

The aim of this project is to synthesize 1,4-dihydropyridine-4-aminophenol triamide (DHP-4AP triamide), which is a type of heterocyclic compounds with conjugated system from 4-aminophenol (4AP) as a fluorescent. The synthesis started from the preparation of DHP-4AP by cyclisation reaction in the presence of $TiCl_4$ as Lewis acid catalyst. Then the obtained DHP-4AP was hydrolyzed by excess amount of KOH to gain DHP-4AP triacid. The synthesis of DHP-4AP triamide was tried by amidation reaction of DHP-4AP triacid with ethylenediamine by various conditions. However, that results was not successful. So the fluorescence properties of developed DHP-4AP and DHP-4AP triacid have been investigated instead. The fluorescence sensing studies of these DHP derivatives were tested with 18 metal ions. Au^{3+} could selectively quench fluorescent signal of DHP-4AP when tested in milli Q water. On the other hand, the coordination between Al^{3+} and DHP-4AP triacid could selectively enhance fluorescent signal, may be due to the complexation between DHP-4AP triacid and Al^{3+} which has three oxidation number and appropriate atom radii that suitably match with the cavity of the DHP-4AP triacid.


DHP-4AP


DHP-4AP triacid


DHP-4AP triamide

Keywords: Fluorescent sensor, 1,4-dihydropyridine (DHP), Au^{3+}, Al^{3+}

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

การทำโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์และรายงานฉบับนี้จะไม่สามารถสำเร็จได้หากไม่ได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนวัช อาชวาคม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณที่ท่านกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ แง่คิด กำลังใจและแนวทางในการดำเนินงานวิจัยนี้ อีกทั้งสละเวลาในการให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆมาโดยตลอดเป็นอย่างดียิ่ง และขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวรักษ์ เฟื่องสวัสดิ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัมฤทธิ์ วัชรสินธุ์ ที่ยินดีสละเวลาในการตรวจทานแก้ไขและให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ ที่ให้คำปรึกษา รวมถึงเทคนิควิธีการทำวิจัยครั้งนี้ และสมาชิกในหน่วยวิจัยเคมีอินทรีย์ MAPS Group ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้และเป็นธุระให้ในส่วนของเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ รวมถึงให้ความรู้ในการวิเคราะห์ทางเทคนิคโปรตรอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ ฟลูออเรสเซนต์สเปกโตรมิเตอร์และเครื่องมือวิเคราะห์อื่นๆ เป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณกำลังใจที่สำคัญ ความช่วยเหลือ และความห่วงใยจากบิดา มารดา รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ในภาควิชาเคมี ผู้วิจัยขอระลึกในความกรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าวมาในข้างต้นและบุคคลที่มิได้เอ่ยนาม ณ ที่นี้ด้วย

ผู้วิจัย

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูปประกอบ	ช
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย	2
1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	2
1.3.1. การวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์	2
1.3.2. ฟลูออโรจีนิกเซ็นเซอร์ (Fluorogenic Sensor)	4
1.3.3. ปฏิกิริยาของแฮนท์ซช (Hantzsch reaction)	5
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
1.5 ขอบเขตของงานวิจัย	9
บทที่ 2 การทดลอง	
2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	11
2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	11
2.3 วิธีการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์	12
2.3.1. การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 1,4-ไดไฮโดรพิริดีน-4-อะมิโนฟีนอล (DHP-4AP)	12
2.3.2. การสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP-4AP triacid	12
2.3.3. การสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP-4AP triamide	13

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3.4. การสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP-4AP triamide โดยใช้เครื่องที่มีคลื่นไมโครเวฟช่วยในการทำปฏิกิริยา 14

2.3.5. การสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP-4AP triamide โดยใช้ไทโอนิลคลอไรด์และเอทิลไดเอมีนเป็นรีเอเจนท์ 14

2.4 ศึกษาค่าการดูดกลืนและการคายแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid 15

บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การสังเคราะห์ DHP-4AP 16

3.2 การสังเคราะห์ DHP-4AP triacid 19

3.3 การสังเคราะห์ DHP-4AP triamide 23

3.4 ศึกษาค่าการดูดกลืนและการคายแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid 24

3.4.1. การศึกษาการวาวแสงและการระงับแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ด้วยไอออนชนิดต่างๆ ในน้ำ 25

3.4.2. การศึกษาการวาวแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ด้วยไอออนชนิดต่างๆ ในเมทานอล 27

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง

4.1 สรุปผลการทดลอง 29

4.2 ข้อเสนอแนะในการพัฒนางานวิจัยนี้ต่อไปในอนาคต 31

เอกสารอ้างอิง 32

ประวัติผู้วิจัย 34

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปประกอบ

รูปที่	หน้า
รูปที่ 1.1 โครงสร้างของ DHP-4-phenylmethoxy triacid	2
รูปที่ 1.2 โครงสร้างของสารประกอบ naphthyridine–BF_2 ซึ่งมีแขนของ di-2-picolylamine (DPA)	2
รูปที่ 1.3 โครงสร้างของ DHP-4AP และ DHP-4AP triamide	2
รูปที่ 1.4 กลไกการวาวแสง (Fluorescence)	3
รูปที่ 1.5 การทำงานของเซ็นเซอร์เคมี	3
รูปที่ 1.6 โมเลกุล dibenzo-20-crown-6	4
รูปที่ 1.7 ฟลูออโรฟอร์ที่นิยมนำมาใช้เป็นหน่วยให้สัญญาณของฟลูออโรจีนิกเซ็นเซอร์	5
รูปที่ 1.8 แสดงการสังเคราะห์สารประกอบของปฏิกิริยาแฮนท์ซช	6
รูปที่ 1.9 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP โดย Sabitha และคณะ	6
รูปที่ 1.10 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP โดย Debache และคณะ	6
รูปที่ 1.11 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP โดย Sirijindalert และคณะ	7
รูปที่ 1.12 แสดงอนุพันธ์ของ 1,4-dihydropyridine (DHP) โดย Homraruen และคณะ	7
รูปที่ 1.13 อนุพันธ์ของ dansyl amide-armed calix[4]-aza-crown โดย Qi-Yin Chen และคณะ	8
รูปที่ 1.14 6-nitro-1,4-dihydroquinoxaline-2,3-dione โดย Jie Shao และคณะ	8
รูปที่ 1.15 naphthyridine–BF_2 ซึ่งมีแขนของ di-2-picolylamine (DPA) โดย Yun-Ying Wu และคณะ	8
รูปที่ 1.16 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ DHP-4AP	10
รูปที่ 2.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP-4AP	12
รูปที่ 2.2 การสังเคราะห์ DHP-4AP triacid	13
รูปที่ 2.3 การสังเคราะห์ DHP-4AP triamide	13
รูปที่ 2.4 การสังเคราะห์ DHP-4AP triamide โดยใช้เครื่องที่มีคลื่นไมโครเวฟช่วยในการทำปฏิกิริยา	14
รูปที่ 2.5 การสังเคราะห์ DHP-4AP triamide โดยใช้ไทโอนิลคลอไรด์และเอทิลไดเอมีนเป็นรีเอเจนท์	15
รูปที่ 3.1 แสดงโครงสร้างของ DHP-4AP triamide	16

รูปที่ 3.2 แผนภาพการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP-4AP 16

รูปที่ 3.3 กลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์อีนามีน 16

รูปที่ 3.4 กลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DHP-4AP 17

รูปที่ 3.5 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR 18

รูปที่ 3.6 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP ด้วยเทคนิค ^{13}C NMR 19

รูปที่ 3.7 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ DHP-4AP triacid 19

รูปที่ 3.8 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ของ DHP-4AP triacid 20

รูปที่ 3.9 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triacid ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR 21

รูปที่ 3.10 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triacid ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR (DMSO) 21

รูปที่ 3.11 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triacid ด้วยเทคนิค ^{13}C NMR 22

รูปที่ 3.12 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triacid ด้วยเทคนิค ^{13}C NMR (DMSO) 22

รูปที่ 3.13 แสดงการเปรียบเทียบการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างระหว่าง DHP-4AP กับ DHP-4AP triacid 23

รูปที่ 3.14 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triamide ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR 24

รูปที่ 3.15 แสดง absorption และ emission spectrum ของ DHP-4AP ในน้ำและเมทานอล 25

รูปที่ 3.16 แสดง absorption และ emission spectrum ของ DHP-4AP triacid ในน้ำและเมทานอล 25

รูปที่ 3.17 การระงับการวาวแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ในน้ำ 26
การวาวแสงของ DHP-4AP triacid ในน้ำ

รูปที่ 3.18 แสดงการโคออดิเนชั่น ระหว่าง DHP-4AP triacid และ Al^{3+} 27

รูปที่ 3.19 แสดงการระงับการวาวแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ในเมทานอล 27

รูปที่ 4.1 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ DHP-4AP (ปฏิกิริยาขั้นที่ 1) 29

รูปที่ 4.2 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ DHP-4AP triacid (ปฏิกิริยาขั้นที่ 2) 29

รูปที่ 4.3 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ DHP-4AP triamide (ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย) 30

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

R_f	retardation factor
^{o}C	degree centigrade
^{1}H NMR	proton nuclear magnetic resonance Spectroscopy
^{13}C NMR	carbon nuclear magnetic resonance Spectroscopy
cm^{-1}	wavenumber
δ	chemical shift
DHP-4AP	dihydropyridine 4- amino phenol
Equiv	equivalent
EtOAc	ethyl acetate
g	gram
IR	infrared spectroscopy
mg	milligram
MHz	megahertz
mL	milliliter
mmol	millimol
mol	mole
TLC	thin layer chromatography

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

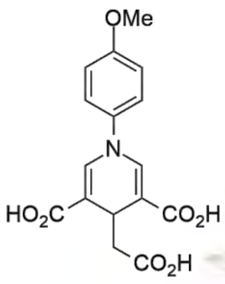
บทที่ 1

บทนำ

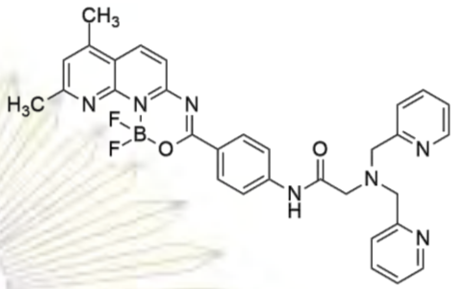
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันปัญหาสิ่งปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้รับการใส่ใจมากขึ้น โดยเฉพาะการปนเปื้อนของโลหะหนักซึ่งส่งผลร้ายแรงต่อสิ่งมีชีวิตในสิ่งแวดล้อม โลหะส่วนใหญ่นั้นถ้าร่างกายได้รับในปริมาณที่มากเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพได้ เพราะฉะนั้นการตรวจวัดโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมจึงมีความจำเป็นและสำคัญอย่างยิ่ง อย่างไรก็ตามวิธีการวิเคราะห์ไอออนของโลหะในปัจจุบันยกตัวอย่างเช่นเทคนิค ICP-MS ถึงแม้จะสามารถตรวจวัดไอออนของโลหะได้อย่างจำเพาะเจาะจงและมีความว่องไวสูง[1-4] แต่ก็ยังมีข้อเสียที่มีค่าใช้จ่ายแพงและต้องการผู้ชำนาญในการตรวจสอบ เพราะฉะนั้นการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์คีโมเซนเซอร์ สำหรับการตรวจวัดโลหะสำหรับสิ่งแวดล้อมทางเคมีและชีววิทยาซึ่งเป็นงานวิจัยที่สำคัญในช่วงสองถึงสามทศวรรษที่ผ่านมา การตรวจวัดไอออนของโลหะโดยใช้ฟลูออเรสเซนต์คีโมเซ็นเซอร์จึงได้รับความสนใจมากขึ้นเพราะนอกจากความจำเพาะเจาะจงและความว่องไวสูงแล้ว ยังสามารถวัดได้ง่ายและรวดเร็ว ทั้งยังมีค่าใช้จ่ายที่ถูกกว่าการตรวจวัดวิธีอื่นที่ได้กล่าวข้างต้น โดยทั่วไปตรวจวัดฟลูออเรสเซนต์คีโมเซ็นเซอร์นี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ reversible weak interaction และ non-reversible reactions[5-13] ซึ่งแบบ non-reversible reactions ระหว่างโมเลกุลฟลูออเรสเซนต์กับไอออนของโลหะ จะเปลี่ยนแปลงทั้งคุณสมบัติการดูดกลืนและฟลูออเรสเซนต์อย่างว่องไว บ่งบอกถึงการตรวจวัดที่มีประสิทธิภาพสูง[6-9]

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะสังเคราะห์สารอนุพันธ์ของ 1,4-dihydropyridine (DHP) ซึ่งก่อนหน้านี้มีงานวิจัยของ Sirijindalert และคณะ[14] พบว่าสามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ของ DHP ซึ่งภายในโมเลกุลมีระบบคอนจูเกตส่งผลทำให้อนุพันธ์ของ DHP สามารถวาวแสงฟลูออเรสเซนต์ได้ โดยใช้ β-amino acrylates ซึ่งทั้งนิวคลิโอไฟล์และอิเล็กโทรไฟล์เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ DHP และมี $TiCl_4$ เป็น Lewis acid ในการเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้ Homraruen และคณะ[15] ได้รายงานการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 1,4-dihydropyridine (DHP) จากนั้นเปลี่ยนจากหมู่ ester ทั้งสามให้เป็น triacid โดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสดังรูปที่ 1.1 จากนั้นนำ DHP-triacid ที่ได้ไปตรวจวัดโลหะพบว่ามีความเลือกจำเพาะกับโลหะปรอท ส่งผลทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์ลดลง ต่อมา Yun-Ying Wu และคณะ[20] ได้สังเคราะห์สารประกอบ naphthyridine–BF_2 ซึ่งมีแขนของ di-2-picolylamine (DPA) สำเร็จดังรูปที่ 1.2 พบว่า สามารถตรวจวัดโลหะที่มีวาเลนซ์อิเล็กตรอนเท่ากับ 2 เช่น Pd^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}, Zn^{2+} เป็นต้น โดยโคออร์ดิเนชันระหว่างไนโตรเจน 3 ตัวของเอไมด์กับออกซิเจนของ DPA จะดับสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ได้ดีในสารละลายมีขั้ว ดังนั้นจากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะออกแบบอนุพันธ์ DHP ที่มีสารตั้งต้นเป็น 4-อะมิโนฟีนอล (DHP-4AP) ให้เป็นหมู่คาร์บอกซิลิกก่อนโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจากนั้นค่อยนำอนุพันธ์ triacid ดังกล่าวไปทำปฏิกิริยา amidation กับ ethylene diamine เพื่อให้ได้สารเป้าหมายเป็นอนุพันธ์ triamide ซึ่งคาดว่าจะสามารถจับประจุบวกของไอออนของโลหะได้ดี ทำให้เหมาะสมที่จะนำไปใช้ตรวจวัดหาโลหะได้



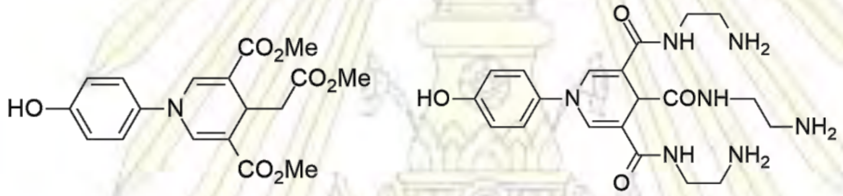
รูปที่ 1.1 โครงสร้างของ DHP-4-phenylmethoxy triacid



รูปที่ 1.2 โครงสร้างของสารประกอบ naphthyridine–BF_2 ซึ่งมีแขนของ di-2-picolylamine (DPA)

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

1) สังเคราะห์ DHP-4AP ก่อน แล้วเปลี่ยน DHP-4AP ให้เป็นหมู่คาร์บอกซิลิกก่อนโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจากนั้นค่อยนำอนุพันธ์ triacid ดังกล่าวไปทำปฏิกิริยา amidation กับ ethylene diamine เพื่อให้ได้สารเป้าหมาย triamide



รูปที่ 1.3 โครงสร้างของ DHP-4AP และ DHP-4AP triamide ตามลำดับ

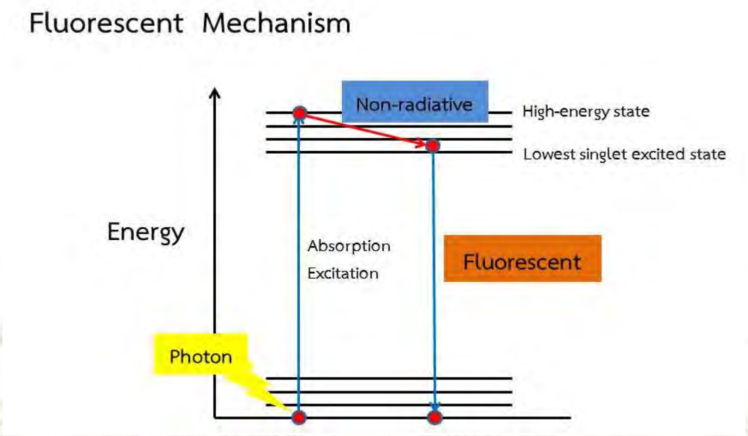
2) ศึกษาประสิทธิภาพการตรวจจับโลหะของฟลูออเรสเซนต์คีโมเซนเซอร์จากอนุพันธ์ของ DHP-4AP triamide

1.3 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.3.1. การวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์[22]

การวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์จากการศึกษาพบว่าเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดจากพลังงานของอะตอมมีค่าไม่ต่อเนื่องโดยเรียกค่าของพลังงานที่ต่ำและเสถียรสุดว่าค่าพลังงานที่สถานะพื้น (ground state) และเรียกค่าพลังงานที่สูงขึ้นไปว่าค่าพลังงานที่สถานะถูกกระตุ้น (excited state) เมื่ออะตอมถูกกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนสถานะ เช่น จากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นแรก (first excited state) ด้วยแสง สิ่งที่เกิดขึ้นตามมาหลังการกระตุ้นคือ “อะตอมบางชนิดมีการคายพลังงานส่วนเกินออกมาในรูปของพลังงานแสง” สิ่งที่กล่าวมาข้างต้นเป็นแนวคิดที่อยู่บนพื้นฐานของโครงสร้างอะตอมที่ได้รับการยอมรับกันอย่างกว้างขวางว่าอะตอมมีระดับพลังงานเป็นชั้น การรับหรือคายพลังงานของอะตอมมีค่าเฉพาะสัมพันธ์กับค่าระดับพลังงาน การคายพลังงานส่วนเกินออกมาในรูปของพลังงานแสงที่สามารถสังเกตได้ ปรากฏการณ์ที่สังเกตได้นี้เรียกว่าการเรืองแสง (Luminescence) ในที่นี้จะกล่าวถึงการวาวแสงแบบฟลูออเรสเซนซ์ แสดงกลไกได้ดังรูปที่ 1.4

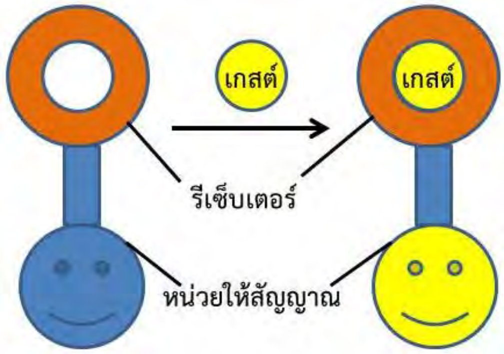
ศูนย์วิทยทรัพยากร
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.4 กลไกการวาวแสง (Fluorescence)[22]

จากรูปแสดงกลไกการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อให้พลังงานโฟตอนแก่อะตอมในสถานะพื้น พลังงานที่เพียงพอต่อการเปลี่ยนสถานะของอะตอมจะทำให้อะตอมดูดกลืนพลังงานและมีพลังงานสูงขึ้น (high energy state) เกิดการเปลี่ยนระดับพลังงานไปอยู่ในระดับพลังงานที่สูงกว่าทำให้ไม่เสถียรจึงเกิด relaxation เป็นรูปพลังงานความร้อนลงมาที่ lowest singlet excited state และคายพลังงานจาก lowest singlet excited state ลงมาที่ ground state เพื่อให้อะตอมมีพลังงานต่ำลงและเสถียร ขั้นตอนนี้เองที่เรียกว่า การวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์

สำหรับโมเลกุลของเซ็นเซอร์ทางเคมีนั้นต้องประกอบไปด้วย 2 ส่วนที่สำคัญคือ ส่วนที่ใช้ในการเลือกจับ (recognition unit) และส่วนของหน่วยให้สัญญาณ (sensory unit) รูปที่ ในส่วนของหน่วยให้สัญญาณนี้อาจจะเป็นโมเลกุลที่มีสมบัติเป็นโครโมฟอร์ ฟลูออโรฟอร์ หรือโมเลกุลที่สามารถเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ได้ ซึ่งเมื่อโมเลกุลของเซ็นเซอร์จับกับเกสต์โมเลกุลแล้วจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในส่วนของหน่วยให้สัญญาณ ในปัจจุบันนักเคมีสามารถออกแบบและสังเคราะห์โมเลกุลที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นเซ็นเซอร์ทางเคมี (chemical sensor) โดยโมเลกุลที่นำมาใช้เป็นเซ็นเซอร์ทางเคมีนั้นต้องประกอบไปด้วยส่วนที่สำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับ (receptor) เพื่อใช้ในการเลือกจับกับโมเลกุลของเกสต์ที่เราสนใจ และอีกส่วนคือส่วนที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้สัญญาณ (sensory unit) ซึ่งมีสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป เช่น ให้สัญญาณทางเคมีไฟฟ้า หรือให้สีที่แตกต่างกัน เมื่อโมเลกุลเกสต์มาจับกับโมเลกุลของโฮสต์โดยเกิดอันตรกิริยาที่ตำแหน่งของตัวรับ ก็จะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณของตัวให้สัญญาณ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณดังกล่าว สามารถตรวจวัดได้โดยใช้เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ เช่น เคมีไฟฟ้า และสเปกโทรเมทรี เป็นต้น การทำงานของเซ็นเซอร์ทางเคมีแสดงได้ดังรูปที่ จากภาพจะเห็นได้ว่าเมื่อโมเลกุลของโฮสต์มีการจับกับโมเลกุลของเกสต์จะเกิดการเปลี่ยนสีที่บริเวณหน่วยให้สัญญาณ

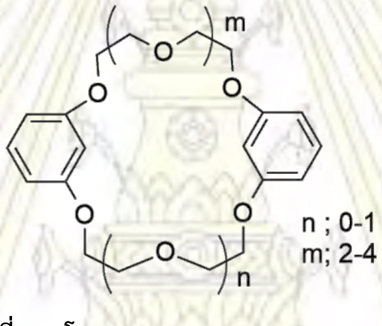


รูปที่ 1.5 การทำงานของเซ็นเซอร์เคมี

การออกแบบโมเลกุลของโฮสต์ให้มีความสามารถในการจับกับโมเลกุลเกสต์ได้อย่างจำเพาะเจาะจงนั้นต้องพิจารณาถึงความเหมาะสมทั้งในด้านสเตอริกและทางอิเล็กทรอนิกส์ โดยองค์ประกอบสำคัญที่มีผลต่อการเลือกจับได้แก่ ขนาดและรูปร่างของเกสต์ ขนาดโพรงของโฮสต์ ทิศทางของโมเลกุลในการจัดเรียงตัวเบื้องต้นเพื่อจับกับเกสต์ (preorganize) อะตอมที่ทำหน้าที่ในการเกิดอันตรกิริยา และอิทธิพลของตัวทำละลาย เป็นต้น

นอกจากนี้การออกแบบโมเลกุลของโฮสต์นั้นขึ้นกับความต้องการของการนำไปใช้งาน ในงานวิจัยนี้ต้องการออกแบบโมเลกุลของโฮสต์ที่ประกอบด้วยอะตอมของออกซิเจนที่มีลักษณะเป็นสายยาวคล้ายคราวน์อีเทอร์ โดยโฮสต์โมเลกุลจะเกิดอันตรกิริยาแบบไดโพล-ไดโพล หรือ ไอออน-ไดโพลกับเกสต์

ตัวอย่างรายงานการวิจัยที่เกี่ยวกับการออกแบบโมเลกุลของโฮสต์ที่ส่วนประกอบของออกซิเจนอะตอม[23] พบว่าสารประกอบเบนโซ เช่น dibenzo-20-crown-6 สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้อย่างจำเพาะเจาะจงกับ Na^+ และ K^+ โดยจับกันจะเกิดขึ้นกับออกซิเจนอะตอมในหมู่คราวน์อีเทอร์และเป็นหมู่เบนโซที่ทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ ในสารละลายอะซีโตไนไตรล์ เมื่อได้สารประกอบเชิงซ้อนเกิดกระบวนการ PET ซึ่งเปล่งฟลูออเรสเซนซ์ออกมา



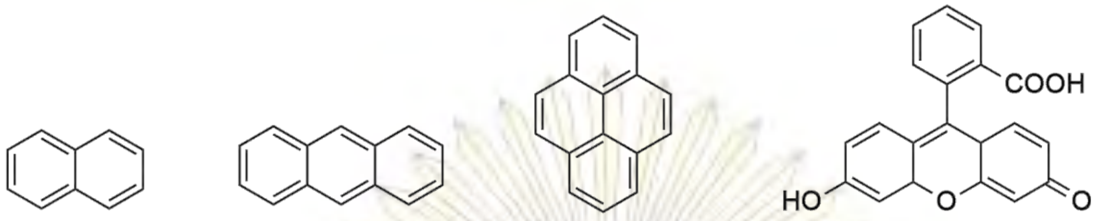
รูปที่ 1.6 โมเลกุล dibenzo-20-crown-6[23]

ในการสังเคราะห์โมเลกุลเซ็นเซอร์นั้นทำได้โดยการนำเอาโมเลกุลของ receptor มาเชื่อมต่อกับหน่วยให้สัญญาณโดยตรงโดยอาศัยพันธะโควาเลนท์ หรืออาจจะนำโมเลกุลของ receptor มาเชื่อมต่อกับหน่วยให้สัญญาณโดยอาศัยอันตรกิริยาที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนท์ก็ได้ เช่น การเกิดอันตรกิริยาแบบไดโพล-ไดโพล ของโมเลกุลของอินดิเคเตอร์กับโมเลกุลของโฮสต์โดยที่สีของสารละลายที่เกิดขึ้นในขั้นแรกนั้นจะเป็นสีของสารประกอบของโฮสต์กับอินดิเคเตอร์ และเมื่อมีเกสต์โมเลกุลที่สามารถแทนที่โมเลกุลของอินดิเตอร์ได้ โมเลกุลของเกสต์ดังกล่าวจะเข้าไปจับกับโฮสต์และโมเลกุลของอินดิเคเตอร์จะถูกปลดปล่อยออกมาอยู่ในสารละลายในรูปของอินดิเคเตอร์อิสระ ซึ่งจะทำให้สีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีของอินดิเคเตอร์อิสระและเรียกกลไกในการเปลี่ยนแปลงสัญญาณประเภทนี้ว่าการแทนที่ของเกสต์โมเลกุล (displacement of guest molecule)[24]

ชนิดของเซ็นเซอร์ทางเคมีแบ่งออกเป็น 3 ชนิดตามลักษณะของหน่วยที่ให้สัญญาณ คือ โครโมจีนิกเซ็นเซอร์ (chromogenic sensor) ฟลูออโรจีนิกเซ็นเซอร์ (fluorogenic sensor) และเซ็นเซอร์ทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical sensor) ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะเซ็นเซอร์ที่เป็นฟลูออโรจีนิกเซ็นเซอร์หรือที่เรียกว่าฟลูออเรสเซ็นต์คีโมเซ็นเซอร์

1.3.2. ฟลูออโรจีนิกเซ็นเซอร์ (Fluorogenic Sensor)

ฟลูออโรจีนิกเซ็นเซอร์คือโมเลกุลที่โมเลกุลที่สามารถให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ (หมู่ฟลูออโรฟอร์) เป็นหน่วยให้สัญญาณ ตัวอย่างของหมู่ฟลูออโรฟอร์ที่นิยมใช้กัน[25] แสดงได้ดังรูปที่ 1.7 ซึ่งเราสามารถติดตามอันตรกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์และเกสต์โมเลกุลที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น ข้อดีของเซ็นเซอร์ชนิดนี้อย่างที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้นคือ มีขีดจำกัดของการตรวจวัดที่ระดับความเข้มข้นต่ำ อีกทั้งยังมีสภาพที่ว่องไวและค่อนข้างมีความจำเพาะเจาะจงต่อสารเคมีเป้าหมาย



(ก) (ข) (ค) (ง)

รูปที่ 1.7 ฟลูออโรฟอร์ที่นิยมนำมาใช้เป็นหน่วยให้สัญญาณของฟลูออโรจีนิกเซ็นเซอร์
(ก) แนฟทาลีน (ข) แอนทราซีน (ค) ไพรีน (ง) ฟลูออเรสซีน

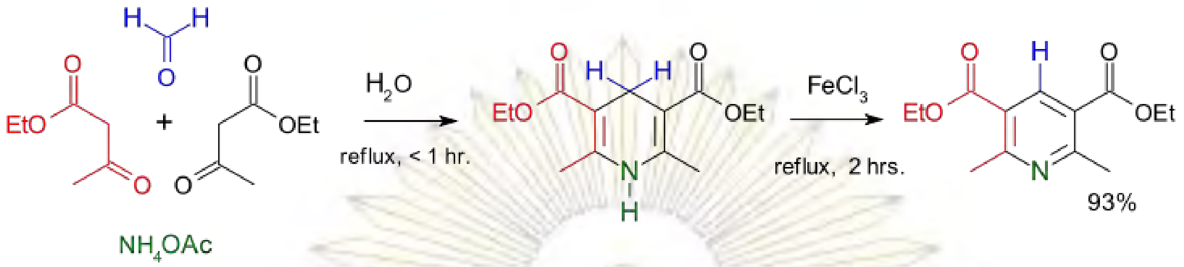
สำหรับกลไกของการเกิดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อันเนื่องมาจากอันตรกิริยาของเซ็นเซอร์กับโมเลกุลของเกสต์นั้นมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด อาทิเช่นเกิดการกระบวนการ photoinduced electron transfer (PET) ซึ่งผลที่ได้กระบวนการนี้คือ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของโฮสต์โดยที่ไม่ทำให้ความยาวคลื่นของการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ของโฮสต์มีการเปลี่ยนแปลง จะเห็นได้ว่าสภาวะที่อยู่ในรูปของสารประกอบโคออร์ดิเนชันกับสังกะสี (II) จะทำให้ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของลิแกนด์ดังกล่าวมีค่าเพิ่มขึ้น สำหรับการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อันเนื่องจากกระบวนการ fluorescene resonance energy transfer (FRET) นั้นจะเกิดเฉพาะกับโมเลกุลของโฮสต์ที่มีหมู่ฟลูออโรฟอร์อย่างน้อย 2 หมู่ อยู่ภายในโมเลกุลและต้องมีระยะห่างที่เหมาะสมระหว่างหมู่ฟลูออโรฟอร์ทั้งสอง และกระบวนการเกิด excimer ซึ่งจะเกิดเฉพาะในระบบของเซ็นเซอร์ที่มีการซ้อนทับหรือเหลื่อมกัน (stack) ของหมู่ฟลูออโรฟอร์ที่เป็นสารประกอบอะโรมาติกเท่านั้น

ในปัจจุบันนี้ได้มีการพัฒนานำเอาฟลูออโรจีนิกเซ็นเซอร์มาใช้ในงานทางด้านการแพทย์เช่นใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของไอออนของสังกะสี (II) ที่ปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ของตับอ่อน[9] เป็นต้น

ตัวอย่างการออกแบบและสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ที่มีสองบริเวณในการเลือกจับไอออนโลหะ[10] 1,3-alternate calix[4]crown จาก 25,27-bis(o-propargyl)calix[4]arene ทำปฏิกิริยาการปิดวงกับ tetraethyleneglycol ditosylate ในตัวสารละลายอะซีโตรไนไตล์ในสภาวะที่เป็นเบส Cs_2CO_3 จากนั้นศึกษาคุณสมบัติในการตรวจจับโลหะไอออนในสภาวะสารละลาย $CH_3CN/CHCl_3$ พบว่า เมื่อเติม Pb^{2+} ลงในผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้ Pb^{2+} จะไปจับกับไนโตรเจนอะตอมบนหมู่ไตรอะโซล ทำให้สัญญาณการคายแสงหายไปเนื่องจากเกิดกระบวนการจากหน่วยของ anthracene (PET donor) ไปยังหมู่ triazole (PET acceptor) แต่จะมีสัญญาณการคายแสงเพิ่มขึ้นเมื่อเติม K^+ ลงไปในสารประกอบเชิงซ้อนข้างต้นเนื่องจากมีการแลกเปลี่ยนไอออนโลหะโดย Pb^{2+} หลุดออกจากโครงสร้างแล้ว K^+ เข้าไปจับกับออกซิเจนอะตอมในคราวน์อีเทอร์จึงทำให้สัญญาณการคายแสงเข้มขึ้น

1.3.3. ปฏิกิริยาของแฮนท์ซช (Hantzsch reaction)

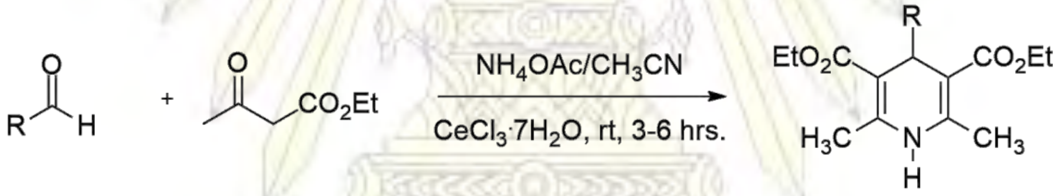
คือปฏิกิริยาที่เกิดระหว่าง แอลดีไฮด์ (aldehyde) กับ เบต้า-คีโตนเอสเตอร์ (β-keto ester) และ อะตอมของไนโตรเจนที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน เช่น ฟอร์มัลดีไฮด์ กับ เอทิลอะซิโตอะซิเตต และ แอมโมเนียม อะซิเตต หรือ แอมโมเนีย เป็นต้น ซึ่งปฏิกิริยานี้มี 2 ขั้นตอน เรียก อะโรมาไทเซชัน (aromatization) ตัวอย่างของปฏิกิริยาดังรูปที่ 1.8 จากรูปคือปฏิกิริยาการสังเคราะห์ 1,4-ไดไฮโดรพิริดีน ไดคาร์บอกซิเลต หรือเรียกว่า DHP ซึ่งเป็นสารประกอบของแฮนท์ซช



รูปที่ 1.8 แสดงการสังเคราะห์สารประกอบของปฏิกิริยาแฮนท์ซช[21]

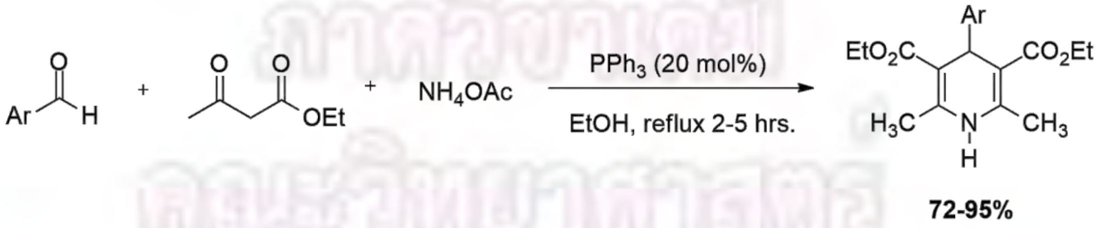
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยที่ Sabitha และคณะ[17] ได้ทำการสังเคราะห์สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของ DHP ได้ที่อุณหภูมิห้องโดยใช้แอลดีไฮด์กับแอมโมเนียม อะซีเตต และเอทิลอะซีโตอะซีเตต และมี $CeCl_3{\cdot}7H_2O$ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยเวลาการสังเคราะห์ (3-6 ชั่วโมง) และร้อยละผลิตภัณฑ์อาจจะแตกต่างขึ้นอยู่กับแอลดีไฮด์ที่ใช้วิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP ด้วยวิธีนี้เป็นกระบวนการง่าย ไม่ซับซ้อน และมีประสิทธิภาพเพราะเป็นสำหรับการสังเคราะห์ขั้นตอนเดียวที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรงและใช้เวลาไม่นานรวมถึงตัวเร่ง $CeCl_3{\cdot}7H_2O$ นั้นไม่มีพิษซึ่งเป็นวิธีการสังเคราะห์แบบใหม่ที่โดดเด่น



รูปที่ 1.9 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP โดย Sabitha และคณะ[17]

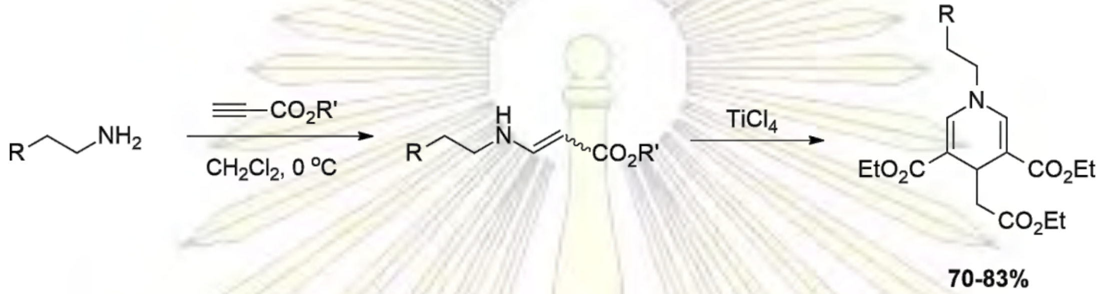
ตัวอย่างถัดไปเป็นการใช้ไตรฟีนิลฟอสฟีน (PPh_3) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP ซึ่ง Debache และคณะ[18] ได้ทำการศึกษาและปฏิกิริยาแบบขั้นตอนเดียวที่สามารถสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ได้ในปริมาณที่มาก จากปฏิกิริยาระหว่างแอโรมาติกแอลดีไฮด์ที่ทำกับเอทิลอะซีโตอะซีเตตและแอมโมเนียมอะซีเตต จากผลการศึกษาชนิดและปริมาณของตัวทำละลายชนิดต่างๆกัน และแบบไม่ใช้ตัวทำละลายพบว่า 20 mol% ของ PPh_3 ในเอทานอลให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ของอนุพันธ์ DHP สูงสุดถึงร้อยละ 94 และนอกจากนั้นได้ศึกษาชนิดของแอลดีไฮด์ที่มีหมู่ดึงและหมู่ให้อิเล็กตรอนต่างๆกัน ซึ่งได้ร้อยละผลิตภัณฑ์ 72-95 ในเวลา 2-5 ชั่วโมง ซึ่งข้อดีของการใช้ PPh_3 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาคือ มีประสิทธิภาพสูงในการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP ในขั้นตอนเดียวที่ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์มาก ประหยัดเวลาและลดค่าใช้จ่าย เมื่อเทียบกับการสังเคราะห์ด้วยตัวเร่งและวิธีอื่นๆ



รูปที่ 1.10 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP โดย Debache และคณะ[18]

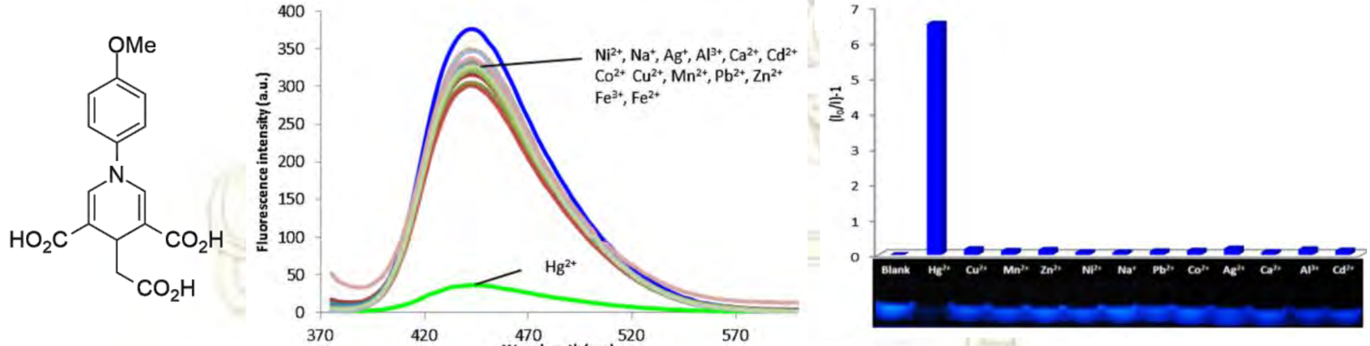
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อย่างไรก็ตาม Sirijindalert และคณะ[14] ได้พัฒนาวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP จากเบต้าอะมิโนอะครีเลตโดยใช้ไทเทเนียมคลอไรด์ ($TiCl_4$) เป็นกรดลิวอิส และคณะผู้วิจัยได้ออกแบบให้พันธะคู่ของสารเบต้าอะมิโนอะครีเลตมีคุณสมบัติที่สามารถทำหน้าที่เป็นทั้งนิวคลีโอไฟล์และอิเล็กโตรไฟล์ เกิดปฏิกิริยาไซโคลไตรเมอร์ไรเซชันผ่านกลไกที่คล้ายคลึงกับ Hantzsch reaction โดยมี $TiCl_4$ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 0 ^{o}C จนถึงอุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง ซึ่งปฏิกิริยาการควบแน่นแบบนี้ สามารถได้มาซึ่งอนุพันธ์ DHP แบบไม่ต้องมีหมู่เมทิลเป็นหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งเบต้าของผลิตภัณฑ์และยังให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ที่สูงประมาณ 70-83



รูปที่ 1.11 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP โดย Sirijindalert และคณะ[14]

ต่อมา Homraruen และคณะ[15] สังเคราะห์อนุพันธ์ของ DHP ด้วยกรรมวิธีที่พัฒนาโดย Sirijindalert และคณะ[14] จากนั้นทำการเปลี่ยนหมู่เอสเตอร์ทั้งสามให้เป็นหมู่คาร์บอกซิลิกโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสดังรูปที่ (a) จากนั้นนำ DHP-4-phenylmethoxy triacid ที่ได้ไปตรวจวัดโลหะพบว่ามีความเลือกจำเพาะกับโลหะปรอทและส่งผลทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์ลดลงอย่างชัดเจนดังรูปที่ (b) จากสเปกตรัมจะเห็นได้ว่าความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ (แกน y) ต่ำที่สุดและ (c) มีอัตราส่วนการดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่สูงกว่าเมื่อจับกับไอออนของปรอท นอกจากนี้ระบบนี้เป็นระบบที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจึงเหมาะสมที่จะใช้ตรวจวัดในสารตัวอย่างจริงได้อีกด้วย



(a) DHP-4-phenylmethoxy triacid (A)

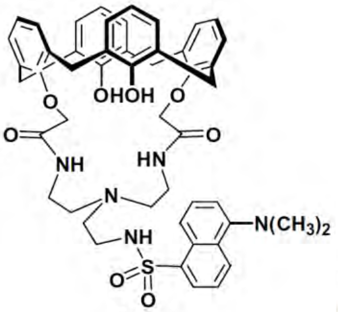
(b) Fluorescence quenching profile of **A** (1μM), 30 min after addition of each metal ion (50 μM) in pH 8.0 PB solution (λ_{ex}=352 nm), Acetate salt were used expect for $CdSO_4$, $FeSO_4$ and $Fe(NO_3)_3$.

(c) Fluorescence response (I_o/I)-1 of **A** (1 μM) and the photograph under black light of A (0.1 mM) 30 min after addition of metal ion (50 μM and 1 mM, respectively)

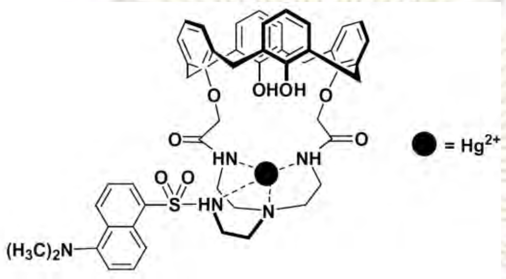
รูปที่ 1.12 แสดงอนุพันธ์ของ 1,4-dihydropyridine (DHP) โดย Homraruen และคณะ[15]

ในปี ค.ศ. 2005 Qi-Yin Chen และคณะ[16] ได้พัฒนาการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ dansyl amide-armed calix[4]-aza-crown (B) ดังรูปที่ (a) ซึ่งมีอิเล็กตรอนที่ช่วยในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนของโลหะส่งผลทำให้โมเลกุลสามารถวาวแสงฟลูออเรสเซนต์ได้ ซึ่งโมเลกุลดังกล่าวนี้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนเฉพาะเจาะจงกับไอออนของปรอท (Hg^{2+}) พร้อมเสนอการจับตัวกันระหว่างไอออนของปรอทกับรีเซ็บเตอร์ดังรูปที่ (b) จะสังเกตเห็นได้ว่า อะตอมของไนโตรเจนของพันธะเอไมด์และแดซิล สามารถจับ

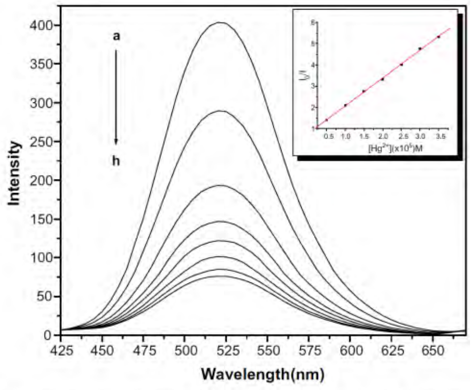
ไอออนของปรอทซึ่งมีประจุบวก นอกจากนี้ยังลดสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ได้ดังรูปที่ (c) จากสเปกตรัมสังเกตเห็นได้ว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Hg^{+} มากขึ้นสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลงอย่างชัดเจน



(a) dansyl amide-armed calix[4]-aza-crown (B)



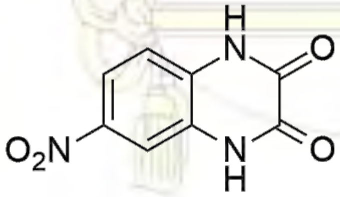
(b) Proposed binding mode of B with Hg^{2+}.



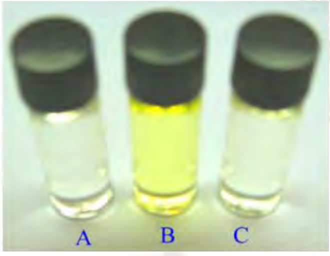
(c) Fluorescent titration of **B** with Hg^{2+} in MeCN-H_2O (4:1,v/v), [**B**]=1×10^{-5} $molL^{-1}$, [Hg^{2+}] =2×10^{-3} $molL^{-1}$, λ_{ex}=338 nm. From a-h: 0,0.5,1.0, 1.5, 2.0,2.5, 3.0, 3.5 equiv. Inset: the plot of (I_o/I) versus [Hg^{2+}].

รูปที่ 1.13 อนุพันธ์ของ dansyl amide-armed calix[4]-aza-crown โดย Qi-Yin Chen และคณะ[16]

Jie Shao และคณะ[19] พัฒนา 6-nitro-1,4-dihydroquinoxaline-2,3-dione เป็นฟลูออเรสเซนซ์คีโมเซ็นเซอร์ชนิดใหม่ได้สำเร็จดังรูปที่ (a) ซึ่งโมเลกุลนี้มีไนโตรเจนของพันธะเอไมด์ที่ช่วยในการเลือกเฉพาะเจาะจงกับ ฟลูออไรด์ (F^{-}) และ อะซิเตต (AcO^{-}) ในสารละลายอินทรีย์ซึ่งสังเกตได้จากผลของการทดลอง ^{1}H NMR titration ส่งผลทำให้เกิดกระบวนการ Photoinduced Electron Transfer (PET) จึงทำให้ดับสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ดังรูปที่ (d) ซึ่งนอกจากนี้สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยตาเปล่าคือ เปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีเหลืองเข้มดังแสดงในรูปที่ (b) ซึ่งง่ายต่อการใช้งานจริง

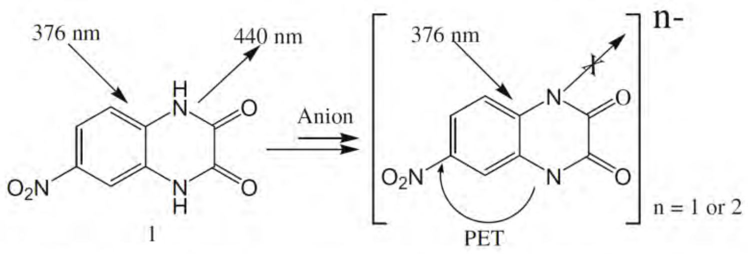


(a) 6-nitro-1,4-dihydroquinoxaline-2,3-dione (C)



(b) Color changes of **C** (5×10^{-5}M) in DMSO in absence and presence of different anions (A:**C** only; B: **C**+10 equiv. F^{-}; C: **C**+ miscellaneous ions including 10 equiv. Cl^{-}, Br^{-}, I^{-}).

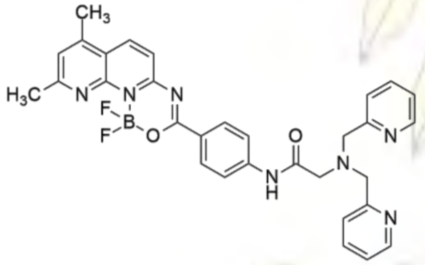
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



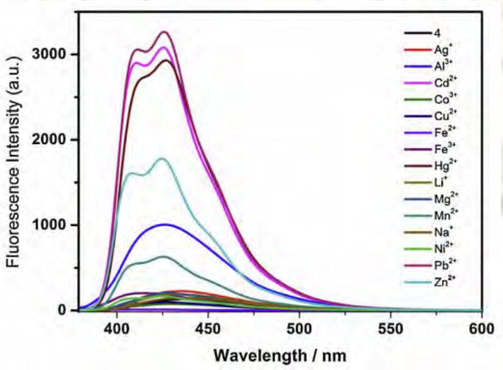
(d) Anion-induced fluorescent quenching of the sensor **C** based on PET mechanism.

รูปที่ 1.14 6-nitro-1,4-dihydroquinoxaline-2,3-dione โดย Jie Shao และคณะ

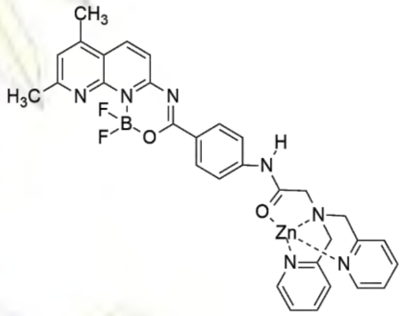
ต่อมาในปี ค.ศ. 2013 Yun-Ying Wu และคณะ[20] ได้สังเคราะห์สารประกอบ naphthyridine–BF_2 ซึ่งมีแขนของ di-2-picolylamine (DPA) (D) พบว่า สามารถตรวจวัดโลหะที่มีวาเลนซ์อิเล็กตรอนเท่ากับ 2 เช่น Pd^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}, Zn^{2+} เป็นต้น (รูปที่ (b)) เมื่อสังเกตจากสเปกตรัมพบว่ามีความเข้มของฟลูออเรสเซนซ์น้อยมากเกิดจากการจับไอออนของโลหะของ Pd^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}, Zn^{2+} จะดับสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ได้ดีในสารละลายมีขั้วในงานวิจัยนี้คือเมทานอลซึ่งได้แสดงกลไกการจับกับไอออนของสังกะสี (II) จะเกิดการโคออร์ดิเนชันกันไนโตรเจน 3 ตัวกับออกซิเจนของ DPA ดัง(รูปที่ (c))



(a) 6-nitro-1,4-dihydroquinoxaline-2,3-dione (D)



(b) Fluorescence responses of **D** (1.0×10^{-5} $molL^{-1}$) in the presence of 20 equiv. of various cations in methanol.



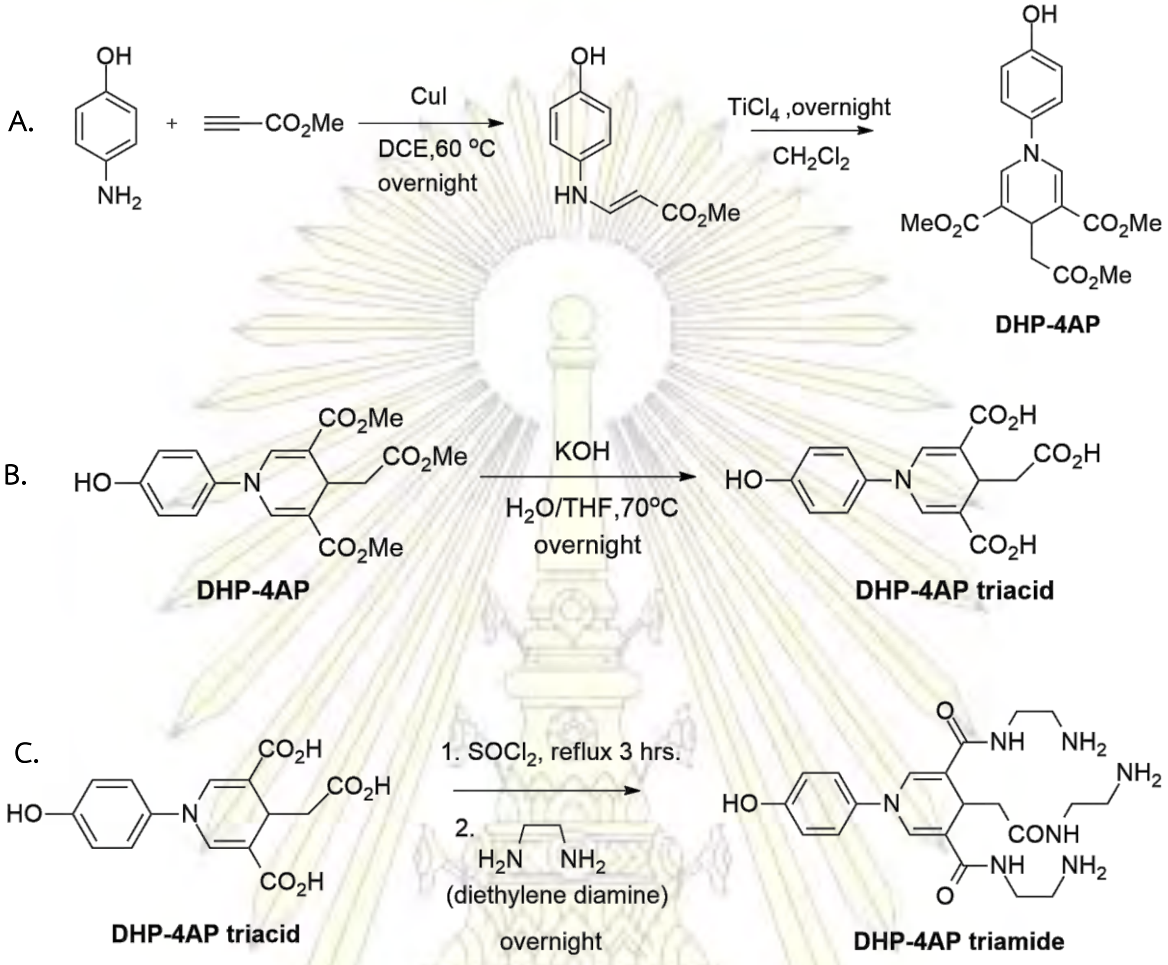
(c) Proposed binding mode of **D** with Zn^{2+}.

รูปที่ 1.15 naphthyridine–BF_2 ซึ่งมีแขนของ di-2-picolylamine (DPA) โดย Yun-Ying Wu และคณะ[20]

ภาควิชาเคมี
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.5 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะออกแบบอนุพันธ์ DHP ที่มีสารตั้งต้นเป็น 4 อะมิโนฟีนอล (DHP-4AP) ให้เป็นหมู่คาร์บอกซิลิกก่อน โดยปฏิกิริยา ไฮโดรไลซิสจากนั้นค่อยนำอนุพันธ์ triacid ดังกล่าวไปทำปฏิกิริยา amidation กับ ethylene diamine เพื่อให้ได้สารเป้าหมายเป็นอนุพันธ์ triamide ซึ่งคาดว่าจะสามารถจับประจุบวกของไอออนของโลหะได้ดีนอกจากนี้อนุพันธ์ของ DHP–4AP triamide ซึ่งเหมาะที่จะนำไปใช้ตรวจวัดหาโลหะได้



รูปที่ 1.16 (A) ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DHP-4AP (B) ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DHP-4AP triacid
(C) ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DHP-4AP triamide

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. สำหรับการระเหยตัวทำละลาย Rotary evaporator ของ Buchi Rotavapor รุ่น R-200
2. สำหรับพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้าง Fourier transform nuclear magnetic resonance spectrometer ACF 200, Bruker, Switzerland ทำงานที่ความถี่ 400 MHz
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 spectroscopy ของ Perkin Elmer Precisely รุ่น LS 45 Luminescence Spectrometer

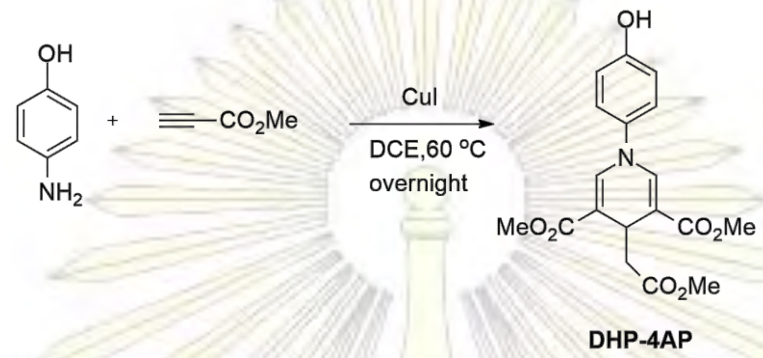
2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. Methylene chloride (CH_2Cl_2), commercial grade, ACI Labscan, Thailand. (ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่น)
2. Ethyl acetate (EtOAc), commercial grade, ACI Labscan, Thailand. (ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่น)
3. 1,2-Dichloroethane, AR grade, ACI Labscan, Thailand. (ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่น)
4. Tetrahydrofuran (THF), AR grade, ACI Labscan, Thailand.
5. Methanol (MeOH), commercial grade, ACI Labscan, Thailand. (ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกลั่น)
6. Silica gel 60, Merck, Germany.
7. Magnesium sulfate anhydrous ($MgSO_4$), Panreac, Spain.
8. DI water
9. Deuterated chloroform ($CDCl_3$), Fluka, Switzerland.
10. Methyl propiolate, Aldrich, USA.
11. 4-Aminophenol, Aldrich, USA.
12. Titanium tetrachloride ($TiCl_4$), Merck, Germany.
13. Hydrochloric acid (HCl), Merck, Germany.
14. Potassium hydroxide (KOH), Merck, Germany.
15. Acetone, commercial grade, ACI Labscan, Thailand.
16. Thionyl chloride ($SOCl_2$), Aldrich, USA.
17. ethylene diamine, Aldrich, USA.
18. diethylene triamine, Merck, Germany

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3 วิธีการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์

2.3.1. การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 1,4-ไดไฮโดรพิริดีน-4-อะมิโนฟีนอล (DHP-4AP)



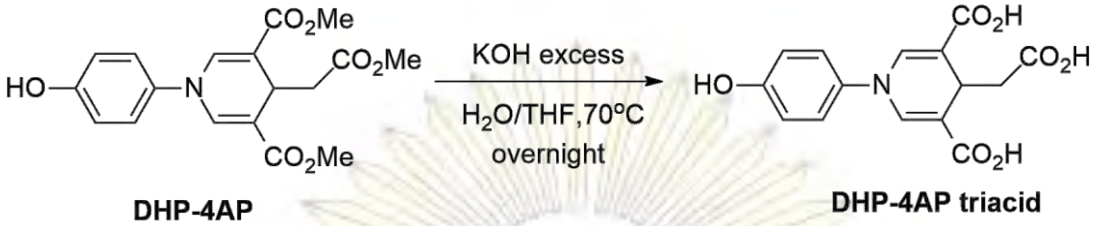
รูปที่ 2.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP-4AP[14]

ผสมคอปเปอร์(I)ไอโอไดด์ (0.87 g, 0.5 equiv, 4.58 mmol), เมทิลโพรพิโอเลท (1 mL, 1.2 equiv, 10.99 mmol) มาละลายในตัวทำละลาย 1,2-dichloroethane (DCE) 30 mL ลงในขวดก้นกลมขนาด 100 mL ตั้งสารผสมคนให้เข้ากันไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 4-อะมิโนฟีนอล (1 g, 9.16 mmol) ปิดฝาขวดด้วยเซ็ปตัม ไล่อากาศออก 2 ครั้งด้วยลูกโป่งที่บรรจุแก๊สไนโตรเจน ตั้งสารผสมทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 60 $^{\circ}$C เป็นเวลา 1 วัน พร้อมทั้งคนตลอดเวลา จากนั้นตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเทียบกับสารตั้งต้นด้วย TLC โดยใช้ EtOAc และ CH_2Cl_2 เป็นเฟสเคลื่อนที่

เมื่อพบว่าสารตั้งต้นทำปฏิกิริยาหมดแล้วนำจากนั้นกรองคอปเปอร์(I)ไอโอไดด์ออก ปิดฝาขวดด้วยเซ็ปตัม นำขวดก้นกลมที่มีสารผสมอยู่แช่ในอ่างน้ำแข็งจากนั้นไล่อากาศออก 2 ครั้งด้วยลูกโป่งที่บรรจุแก๊สไนโตรเจน แล้วเติม $TiCl_4$ (0.5 ml, 4.58 mmol) ด้วยเข็มฉีดยาลงในสารละลายอย่างรวดเร็ว ทิ้งให้สารทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 1 วัน หลังจากนั้นนำของผสมที่ได้มาเติมน้ำและสารละลาย 10% w/v $NaHCO_3$ จนเป็นเบสเล็กน้อยสกัดด้วย CH_2Cl_2 (3x10 mL) เก็บสารชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ นำสารละลายที่ได้เติม 0.1 M HCl และสกัดด้วย CH_2Cl_2 (10 mL) เก็บรวมชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งหมดเข้าด้วยกันแล้วเติม $MgSO_4$ เพื่อดูดน้ำออก สารละลายที่ได้นำมาระเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator

เมื่อตรวจสอบปฏิกิริยาด้วย TLC โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็น EtOAc และ CH_2Cl_2 พบว่าได้ของผสมของสารที่เรืองแสงภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเล็ต 3 ชนิด คือที่ค่า R_f = 0.28, 0.38 และ 0.53 (สารผลิตภัณฑ์) จึงแยกสารด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวทำลายผสม 90% CH_2Cl_2/EtOAc เป็นเฟสเคลื่อนที่แล้วนำสารที่แยกได้ระเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator จะได้ผลิตภัณฑ์ DHP-4AP เป็นของเหลวสีเหลืองอ่อน (0.83 g, 2.62 mmol) คิดเป็นผลิตภัณฑ์ร้อยละ 57 จากนั้นนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค ^{1}H NMR^{1}H NMR คือ δ_H (400 MHz; $CDCl_3$); 7.43 [2H, s, H(c)], 6.93 [2H, d, H(a)], 6.84 [2H, d, H(b)], 4.25 [H, t, H(e)], 3.76 [4H, s, H(d)], 3.62 [3H, s, H(g)] และ 2.59 [2H, s, H(f)]

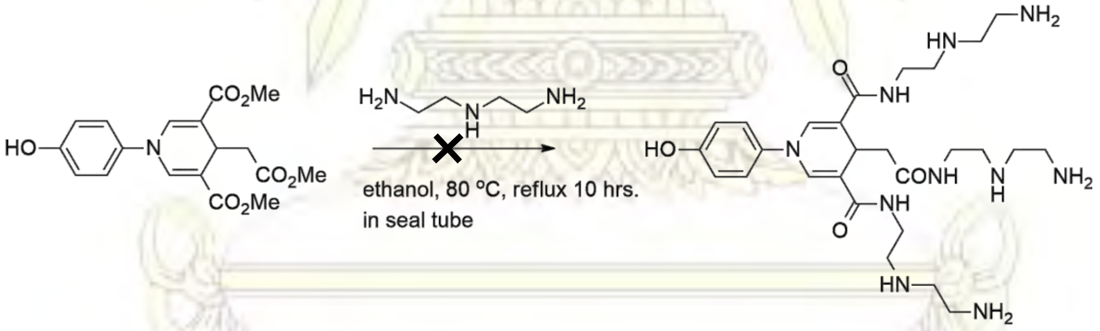
2.3.2. การสังเคราะห์อนุพันธ์ dimethyl 1-(4-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate (DHP-4AP triacid)



รูปที่ 2.2 การสังเคราะห์ dimethyl 1-(4-hydroxyphenyl)-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate (DHP-4AP triacid)[15]

นำ DHP-4AP (200 mg, 0.55 mmol) ลงในขวดก้นกลม จากนั้นใส่ KOH มากเกินพอในน้ำ 10 mL และ THF 10 mL เป็นตัวทำละลาย ทิ้งให้สารผสมทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นระเหย THF ออกด้วย rotary evaporator เติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 โมลาร์ลงไปในสารละลายผสม แช่น้ำแข็งให้ตกตะกอน 1 วัน นำตะกอนที่ได้ไปกรอง ล้างตะกอนด้วยน้ำเย็น ทำให้แห้งด้วยการอบให้ความร้อนที่ 80 °C จะได้ผลิตภัณฑ์ DHP-4AP triacid เป็นของแข็งสีน้ำตาลอมเขียว (0.15 g, 0.41 mmol) คิดเป็นผลิตภัณฑ์ร้อยละ 75 จากนั้นนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค ^{1}H NMR **คือ δ_H** (400 MHz; CD_3OD); 7.45 [2H, s, H(c)], 7.10 [2H, d, H(a)], 6.90 [2H, d, H(b)], 4.20 [H, t, H(d)] และ 2.58 [2H, d, H(e)] ไม่สามารถตรวจพบหมู่เมทิลเอสเทอร์ของสารตั้งต้นและมีพีคของสารละลายที่ δ_H เท่ากับ 4.80, 3.25 และ 1.25

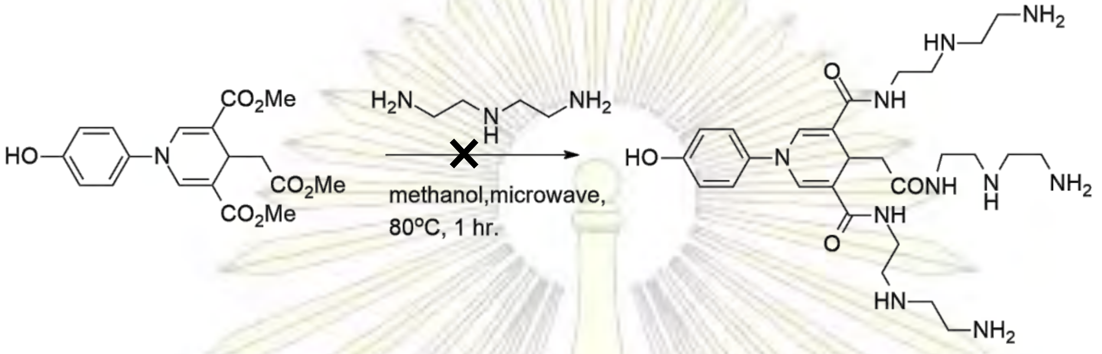
2.3.3. การสังเคราะห์อนุพันธ์ *N*^{3},*N*^{5}-bis(2-((2-aminoethyl)amino)ethyl)-4-(2-((2-((2-aminoethyl)amino)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1-(4-hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide (DHP-4AP triamide)



รูปที่ 2.3 การสังเคราะห์ *N*^{3},*N*^{5}-bis(2-((2-aminoethyl)amino)ethyl)-4-(2-((2-((2-aminoethyl)amino)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1-(4-hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide (DHP-4AP triamide)

นำ DHP-4AP (100 mg, 0.28 mmol) โดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ใส่ในซิลทูบ ใส่ไดเอทิลีนไตรเอมีน (0.12 mL, 1.11 mmol) จากนั้นตั้งรีฟลักซ์เป็นเวลา 10 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80 °C ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเทียบกับสารตั้งต้นด้วย TLC โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล 100% น้ำ 2 หยด เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าไม่พบการเกิดผลิตภัณฑ์จึงตั้งรีฟลักซ์ต่อเป็นเวลาอีก 2 วันแต่ก็ยังไม่พบการเกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

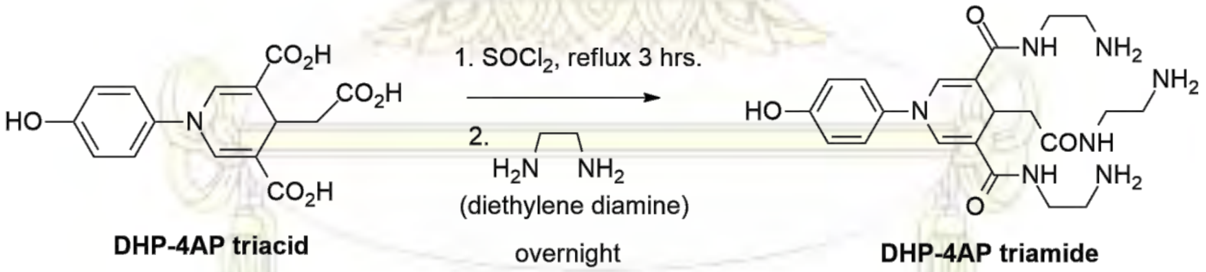
2.3.4. การสังเคราะห์อนุพันธ์ N^3,N^5-bis(2-((2-aminoethyl)amino)ethyl)-4-(2-((2-((2-aminoethyl)amino)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1-(4-hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide (DHP-4AP triamide) โดยใช้เครื่องที่มีคลื่นไมโครเวฟช่วยในการทำปฏิกิริยา



รูปที่ 2.4 การสังเคราะห์ N^3,N^5-bis(2-((2-aminoethyl)amino)ethyl)-4-(2-((2-((2-aminoethyl)amino)ethyl)amino)-2-oxoethyl)-1-(4-hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide (DHP-4AP triamide) โดยใช้เครื่องที่มีคลื่นไมโครเวฟช่วยในการทำปฏิกิริยา

นำ DHP-4AP (100 mg, 0.28 mmol) โดยมีเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ใส่หลอดไมโครเวฟ เติมไดเอทิลีนไตรเอมีนลงใน (0.12 mL, 1.11 mmol) จากนั้นไปใส่ในเครื่องที่ใช้คลื่นไมโครเวฟ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80 °C ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเทียบกับสารตั้งต้นด้วย TLC โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล 100% น้ำ 2 หยด เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าไม่พบการเกิดผลิตภัณฑ์จึงใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยในการทำปฏิกิริยาต่อเป็นเวลาอีก 4 ชั่วโมง แต่ก็ยังไม่พบการเกิดผลิตภัณฑ์

2.3.5. การสังเคราะห์อนุพันธ์ N^3,N^5-bis(2-aminoethyl)-4-(2-((2-aminoethyl)amino)-2-oxoethyl)-1-(4-hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide (DHP-4AP triamide) โดยใช้ไทโอนิลคลอไรด์และเอทิลีนไดเอมีนเป็นรีเอเจนท์



รูปที่ 2.5 การสังเคราะห์ N^3,N^5-bis(2-aminoethyl)-4-(2-((2-aminoethyl)amino)-2-oxoethyl)-1-(4-hydroxyphenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamide (DHP-4AP triamide) โดยใช้ไทโอนิลคลอไรด์และเอทิลไดเอมีนเป็นรีเอเจนท์

นำ DHP-4AP triacid (200 mg, 0.53 mmol) ไปผสมกับ excess $SOCl_2$ 5 mL ที่กลั่นเสร็จแล้ว รีฟลักซ์พร้อมให้ความร้อนที่ 75 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำสารผสมที่ได้ไประเหยไฮโดรคลอริกออกด้วย rotary evaporator จากนั้น ethylenediamine (0.11 ml, 1.66 mmol) ลงในสารผสมที่ได้ ตั้งสารผสมคนให้เข้ากันไว้เป็นเวลา 1 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำให้แห้งด้วยวิธี freeze dry จะได้สารที่คาดว่าเป็นผลิตภัณฑ์ ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเทียบกับสารตั้งต้นด้วย TLC โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล น้ำ 2 หยด เป็นเฟสเคลื่อนที่ พบว่าไม่มีการแยกของสารใดๆเกิดขึ้น จึงนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค ^1H NMR พบว่าสเปกตรัมที่ได้มีรูปแบบของสารเดิมแต่ไม่ใช่สารผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

2.4 ศึกษาค่าการดูดกลืนและการคายแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrometer และ fluorescence spectrometer

เตรียม stock solution ของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ความเข้มข้น 200 μM ใน 100 % เมทานอล เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis spectrometer และ fluorescence spectrometer (excitiation wavelength = 366 nm)

2.4.1. การศึกษาการวาวแสงและการระงับแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ด้วยไอออนชนิดต่างๆ ในน้ำ โดยใช้เครื่อง fluorescence spectrometer

เตรียมสารละลาย DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ความเข้มข้น 10 μM และเตรียม stock solution ของไอออนโลหะ 18 ชนิด ($CdSO_4$, $FeSo_4$, $Ba(NO_3)_3$, $Pb(OAc)_2$, $Cr(NO_3)_3$, $Ni(NO_3)_2$, $Co(NO_3)_2$, $(CH_3COO)_2Ca$, LiCl, $HgCl_2$, $Mg(NO_3)_2$, $AgNO_3$, $Fe(NO_3)_3$, $Al(NO_3)_3$, $Sr(NO_3)_2$, $Ga(NO_3)_3$, $Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$ และ $Au(NO_3)_3$) ความเข้มข้น 10 mM ในน้ำ milli Q แล้วเจือจางด้วยน้ำ milli Q ให้ได้ความเข้มข้น 1,000 μM วัดการคายแสงเมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่างๆลงใน DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ด้วย fluorescence spectrometer (excitiation wavelength = 366 nm)

2.4.2. การศึกษาการวาวแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ด้วยไอออนชนิดต่างๆ ในเมทานอล โดยใช้เครื่อง fluorescence spectrometer

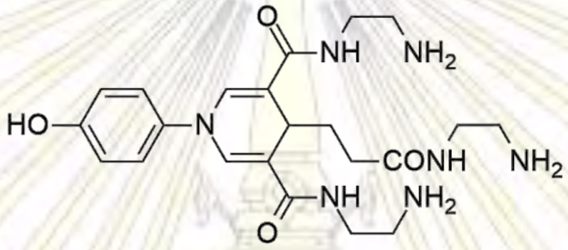
เตรียมสารละลาย DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ความเข้มข้น 10 μM และเตรียม stock solution ของไอออนโลหะ 18 ชนิด ตามการทดลอง 2.4.1. ความเข้มข้น 10 mM ในเมทานอลแล้วเจือจางด้วยน้ำให้ได้ความเข้มข้น 1,000 μM วัดการคายแสงเมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่างๆลงใน DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ด้วย fluorescence spectrometer (excitiation wavelength = 366 nm)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

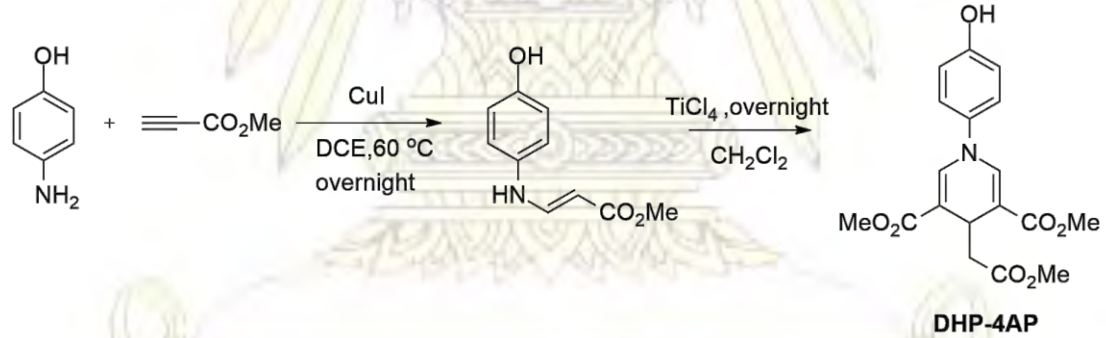
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการสังเคราะห์ DHP-4AP triamide ซึ่งเป็นสารเป้าหมาย ตามรูปที่ 3.1 เพื่อทดสอบความสามารถในการจับกับไอออนโลหะโดยการสังเคราะห์จาก DHP-4AP triacid กับไดเอทิลีนไดเอมีน ซึ่งมีคุณสมบัติการวาวแสงฟลูออเรสเซนซ์ ซึ่ง



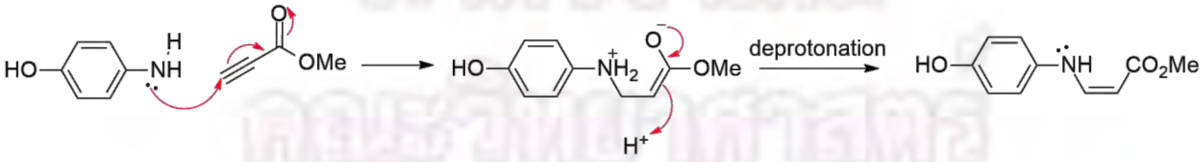
รูปที่ 3.1 แสดงโครงสร้างของ DHP-4AP triamide

3.1 การสังเคราะห์ DHP-4AP



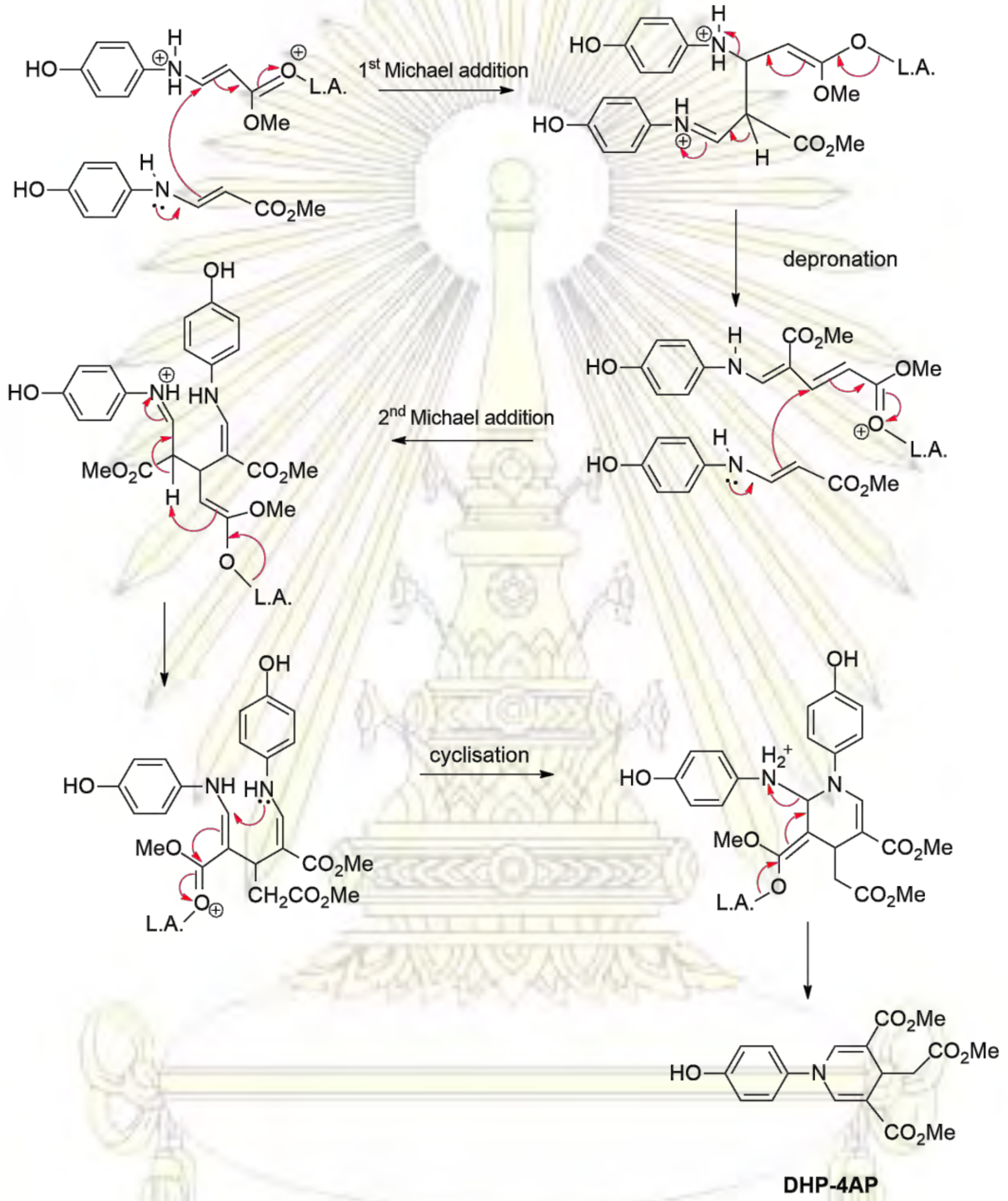
รูปที่ 3.2 แผนภาพการสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP-4AP[14]

การสังเคราะห์ขั้นตอนนี้แบ่งเป็น 2 ขั้นตอนคือ ขั้นแรกเป็นการทำปฏิกิริยากันระหว่าง 4-อะมิโนฟีนอลกับเมทิลโพรพิโอเลต โดย 4-อะมิโนฟีนอลจะทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไฟล์ เข้าชนที่ตำแหน่ง terminal alkyne ซึ่งมีตัวทำละลายเป็น 1,2-dichloroethane (DCE) ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 1 วัน จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบอีนามีน มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังนี้



รูปที่ 3.3 กลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์อีนามีน[14]

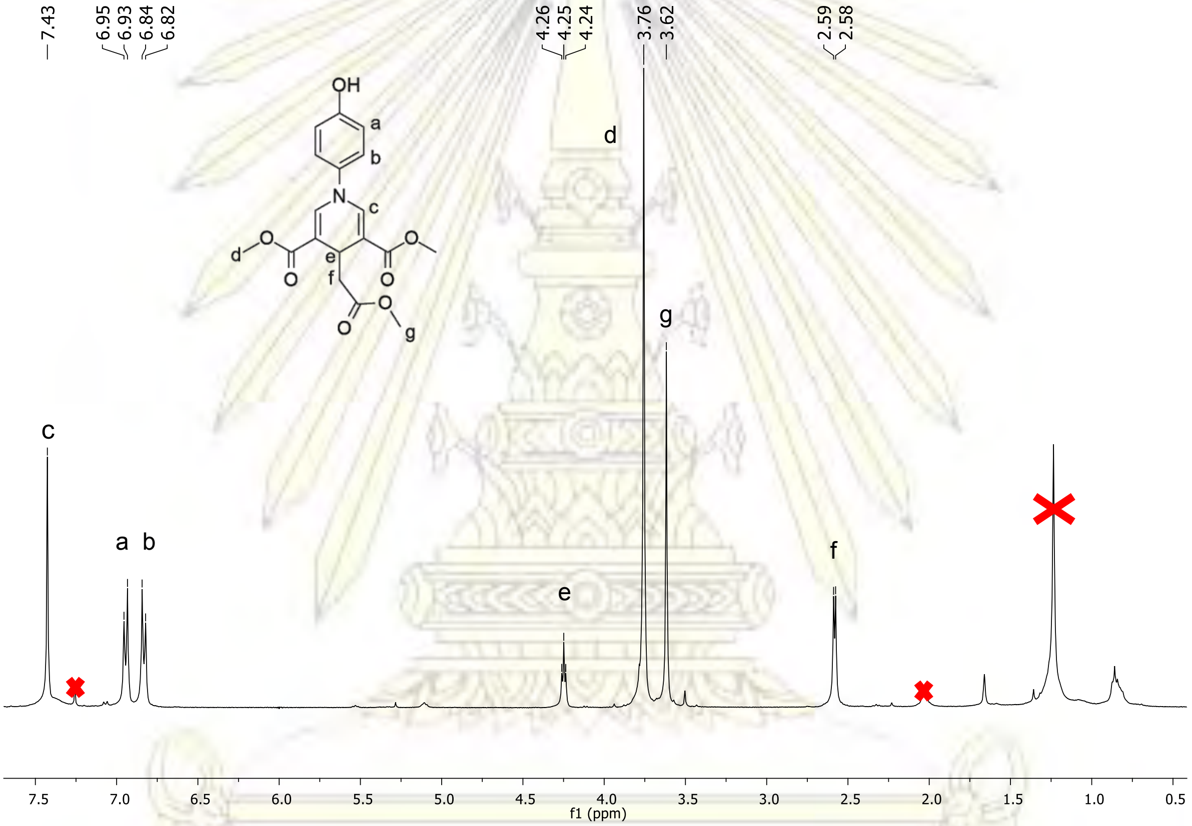
จากแผนการสังเคราะห์นี้เป็นแบบ one pot สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสามารถนำไปทำปฏิกิริยาต่อกับ Lewis acid คือ ไทเทเนียมเตตระคลอไรด์ ($TiCl_4$) ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดการปิดวงอนุพันธ์อีนามีน ที่อุณหภูมิห้องภายใต้บรรยากาศไนโตรเจนเป็นเวลา 1 วัน จะได้ DHP-4AP มีกลไกกรเกิดปฏิกิริยาดังนี้



รูปที่ 3.4 กลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DHP-4AP[14]

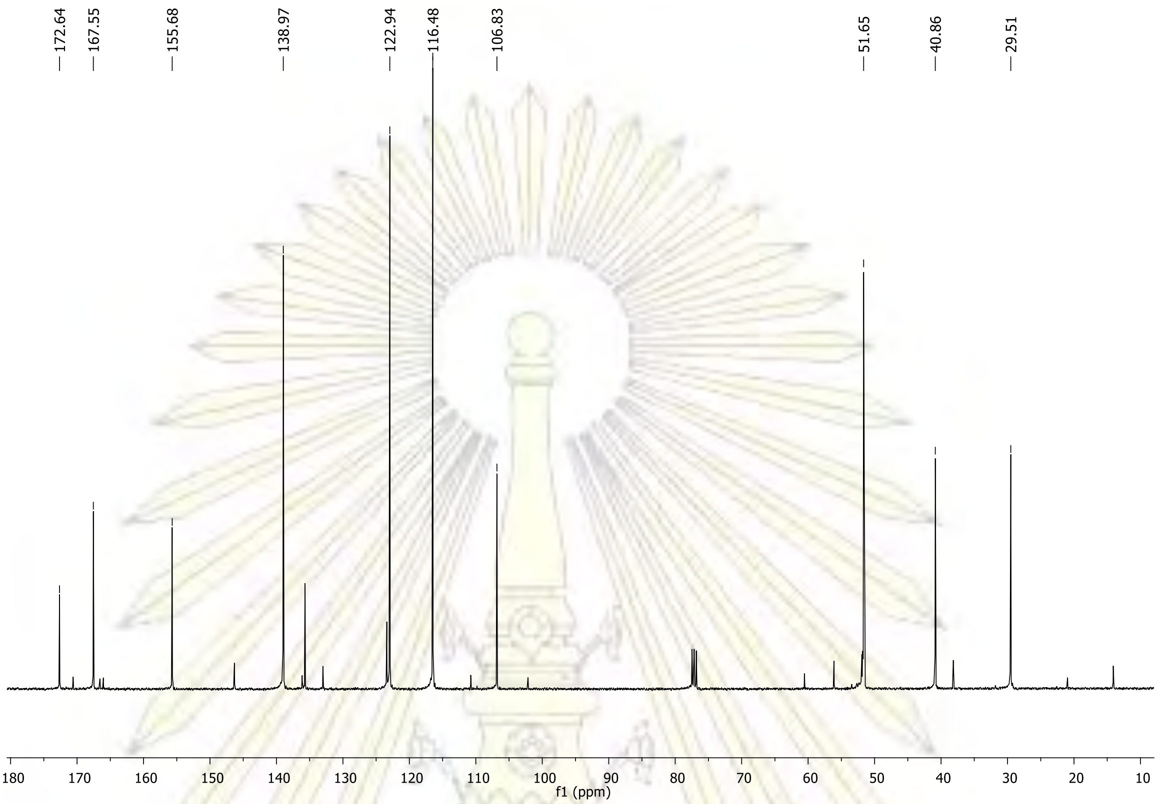
จากการทดลอง พบว่าได้สารผลิตภัณฑ์ DHP-4AP เป็นของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน คิดร้อยละของสารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 57 อาจเป็นเพราะในขั้นตอนการปิดวงของอนุพันธ์อีนามีนใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาคือ $TiCl_4$ ทำปฏิกิริยาการปิดวงที่สมบูรณ์และนอกจากนั้นขั้นตอนนี้เป็นปฏิกิริยาแบบ one pot ทำให้ลดขั้นตอนการแยกสารเพื่อทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ได้ร้อยละของสารผลิตภัณฑ์ที่สูงพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค ^{1}H NMR คือ δ_H (400 MHz; $CDCl_3$); 7.43 [2H, s, H(c)], 6.93 [2H, d, H(a)], 6.84 [2H, d, H(b)], 4.25 [H, t, H(e)], 3.76 [4H, s, H(d)], 3.62 [3H, s, H(g)] และ 2.59 [2H, s, H(f)] (ตามรูปที่ 3.5)

จากข้อมูล ^{1}H-NMR สเปกตรัม รูปที่ 3.5 ลักษณะของพีค DHP-4AP ที่ปรากฏคือ δ_H 7.43 ppm ตำแหน่ง c เป็นแอลคีนโปรตอนของวงไพริดีนซึ่งมีค่า δ_H อยู่ในช่วงของสารประกอบในกลุ่มแอโรแมติก (อยู่ในช่วง δ_H 7.00-8.00) ซึ่งค่า δ_H ค่อนข้าง downfield น่ามีผลเนื่องมากจากมีระบบคอนจูเกตจากอะตอมไนโตรเจนถึงหมู่ CO_2Me ส่วนค่า δ_H ที่ 4.25 และ 2.59 ppm เป็นตำแหน่ง e และ f ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงการปิดวงของอีนามีน นอกจากนี้ตำแหน่ง a มีค่าเคมิคัลชิฟท์สูงกว่าตำแหน่ง b เนื่องจากอยู่ใกล้อะตอมของออกซิเจนซึ่งมีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนได้ดี ทำให้ความหนาแน่นอิเล็กตรอนที่ตำแหน่ง a น้อยกว่าจึงมีเคมิคัลชิฟท์สูงกว่าตำแหน่ง b นอกจากนี้ยังยืนยันผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค ^{13}C NMR ในรูปที่ 3.6 พบว่า มีคาร์บอนในตำแหน่งที่สำคัญของสารทั้งหมด 10 ตัว คือที่ δ เท่ากับ 29.5, 40.7, 51.7, 106.8, 116.5, 122.9, 139.0, 155.7, 167.6 และ 172.6



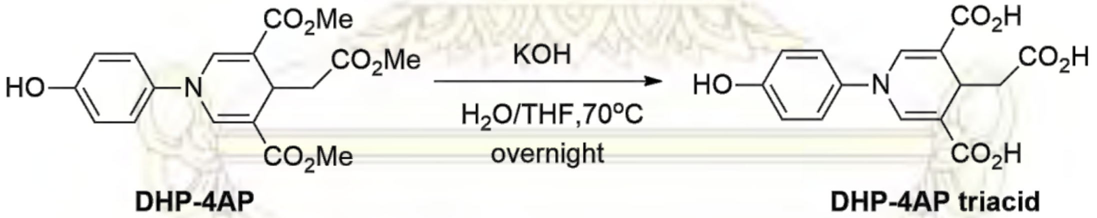
รูปที่ 3.5 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.6 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP ด้วยเทคนิค ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)

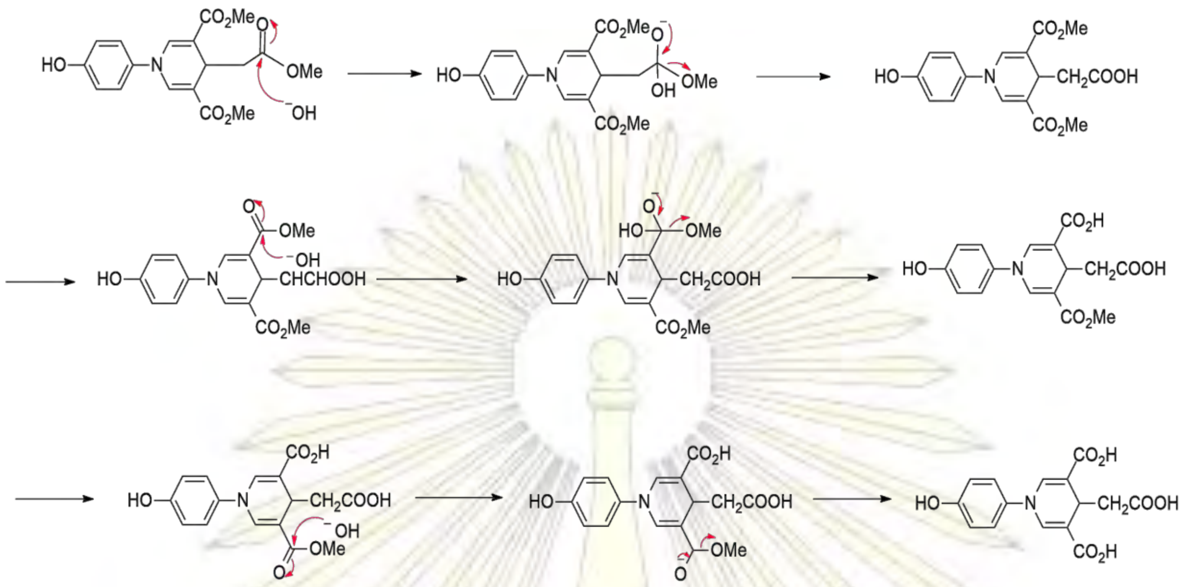
3.2 การสังเคราะห์ DHP-4AP triacid



รูปที่ 3.7 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ DHP-4AP triacid

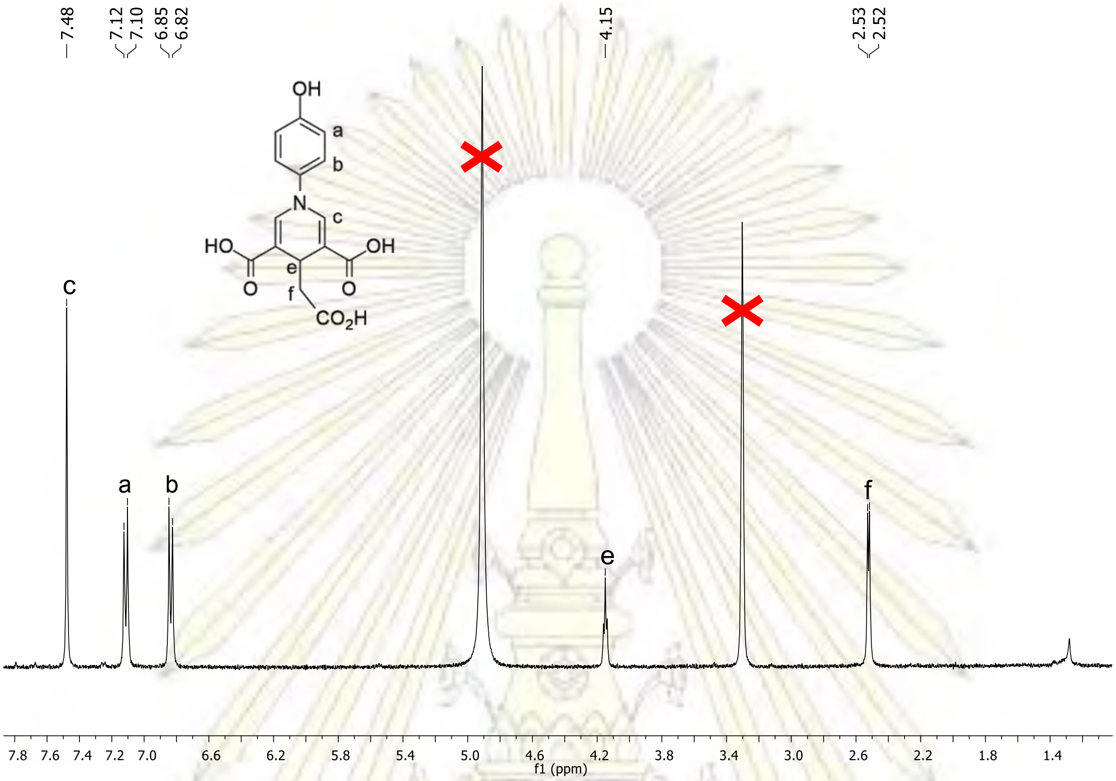
การสังเคราะห์อนุพันธ์ DHP-4AP triacid เป็นการทำปฏิกิริยากันระหว่าง DHP-4AP กับ KOH ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวของอะตอมออกซิเจนในหมู่ไฮดรอกซิลของ KOH เข้าชนที่ตำแหน่งอะตอมคาร์บอนของ DHP-4AP มีตัวทำละลายเป็นน้ำและ THF ที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 1 วัน มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังรูปที่ 3.7

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

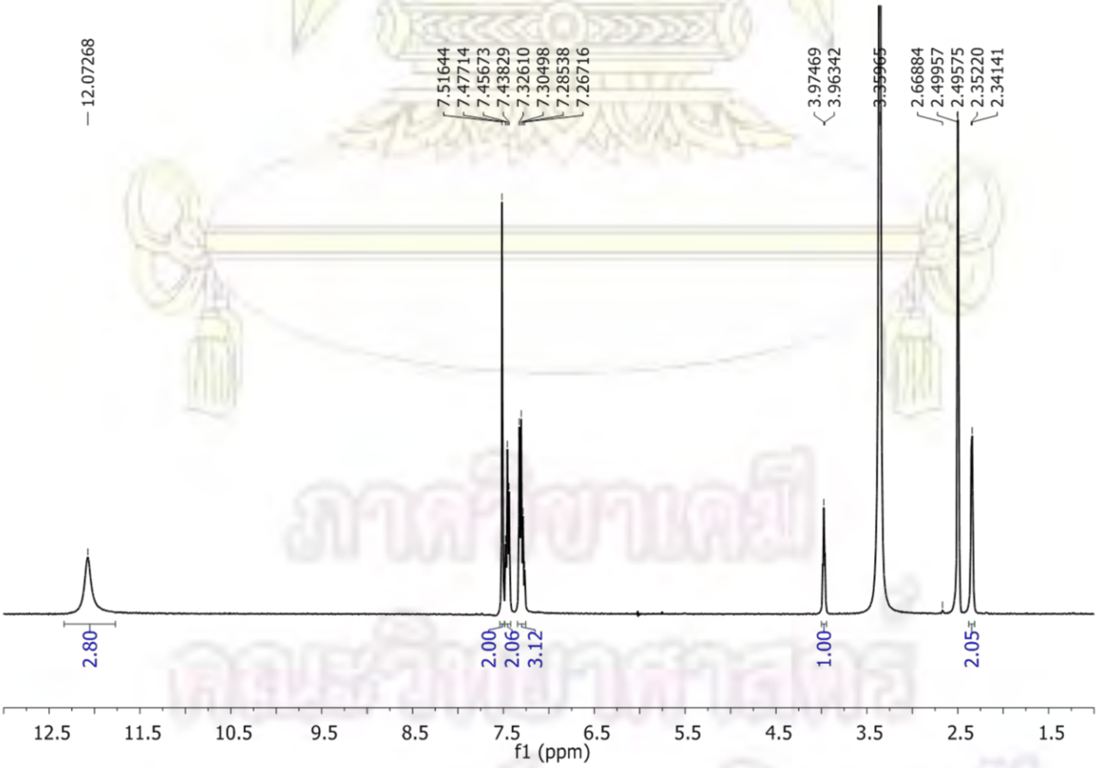


รูปที่ 3.8 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ของ DHP-4AP triacid[15]

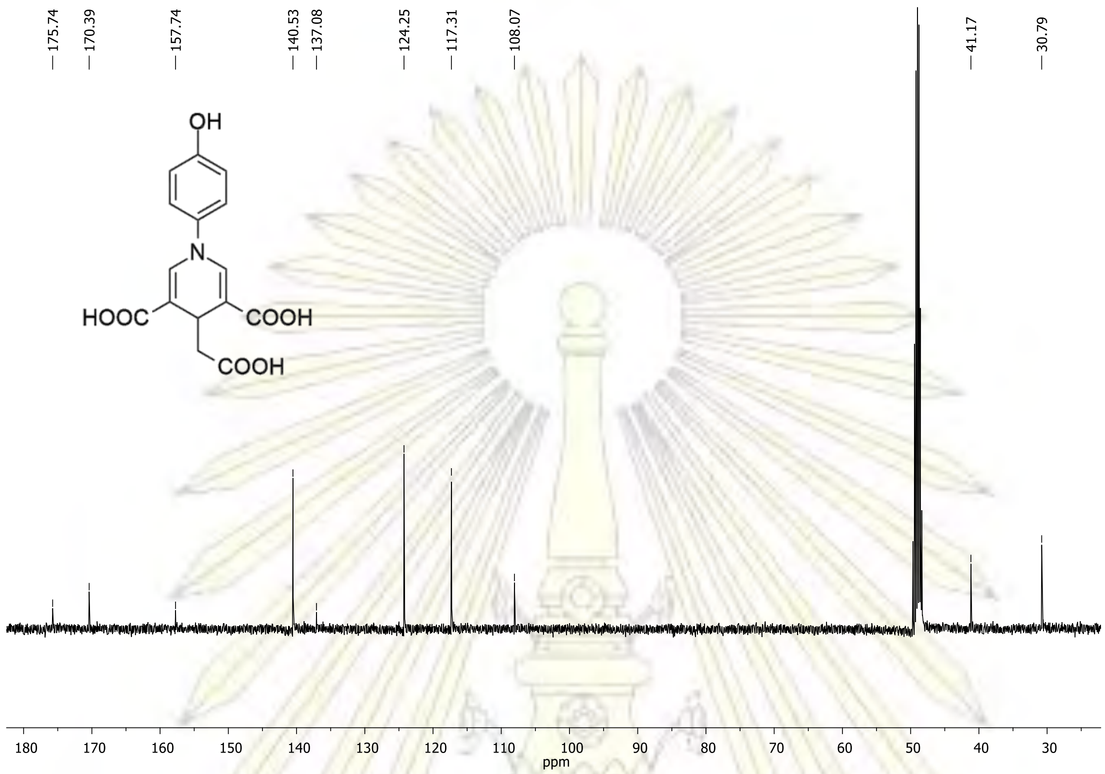
จากการทดลองพบว่าได้สารผลิตภัณฑ์ DHP-4AP triacid เป็นของแข็งสีน้ำตาลอมเขียว คิดร้อยละของผลิตภัณฑ์เท่ากับ 75 ปริมาณของสารผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่หยดทำให้สารเกิดสารผลิตภัณฑ์มากขึ้นโดยต้องตรวจสอบค่า pH ให้มีค่าประมาณ 3 ถ้าต่ำกว่านี้จะทำให้เป็นกรด จากข้อมูล ^{1}H-NMR สเปกตรัม รูปที่ 3.9 ลักษณะของพีค DHP-4AP triacid คือ δ_H (400 MHz; CD_3OD); 7.45 [2H, s, H(c)], 7.10 [2H, d, H(a)], 6.90 [2H, d, H(b)], 4.20 [H, t, H(d)] และ 2.58 [2H, d, H(e)] ไม่สามารถตรวจพบหมู่เมทิลเอสเทอร์ของสารตั้งต้นและมีพีคของสารละลายที่ δ_H เท่ากับ 4.80, 3.25 และ 1.25 นอกจากนี้สามารถวิเคราะห์ได้ว่า ที่ δ_H 7.48 ppm ตำแหน่ง c เป็นแอลคีนโปรตอนของวงไพริดีนซึ่งมีค่า δ_H อยู่ในช่วงของสารประกอบในกลุ่มแอโรแมติก (อยู่ในช่วง δ_H 7.00-8.00) ซึ่งค่า δ_H ค่อนข้าง downfield น่ามีผลเนื่องมาจากมีระบบคอนจูเกตจากอะตอมไนโตรเจนถึงหมู่ COOH ส่วนค่า δ_H ที่ 4.15 และ 2.53 ppm เป็นตำแหน่ง e และ f ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงการปิดวงของอีนามีน นอกจากนี้ตำแหน่ง a มีค่าเคมิคัลชิฟท์สูงกว่าตำแหน่ง b เนื่องจากอยู่ใกล้อะตอมของออกซิเจนซึ่งมีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนได้ดี ทำให้ความหนาแน่นอิเล็กตรอนที่ตำแหน่ง a น้อยกว่าจึงมีเคมิคัลชิฟท์สูงกว่าตำแหน่ง b ซึ่งเมื่อดูจากรูปที่ 3.10 เป็น ^{1}H-NMR สเปกตรัมงานวิจัยของ Homraruen และคณะ[15] พบว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรูปแบบของ โปรตอนของ DHP-4AP triacid ที่คล้ายกันแสดงว่า สารผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็น DHP-4AP triacid นอกจากนี้ยังยืนยันผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค ^{13}C NMR ในรูปที่ 3.11 พบว่า มีคาร์บอนในตำแหน่งที่สำคัญของสารทั้งหมด 10 ตัว คือที่ δ เท่ากับ 30.8, 41.2, 108.1, 117.3, 124.3, 137.1, 140.5, 157.7, 170.4 และ 175.7 ซึ่งมีรูปของคาร์บอนคล้ายกับงานวิจัยของ Homraruen และคณะ[15] ตามรูปที่ 3.12



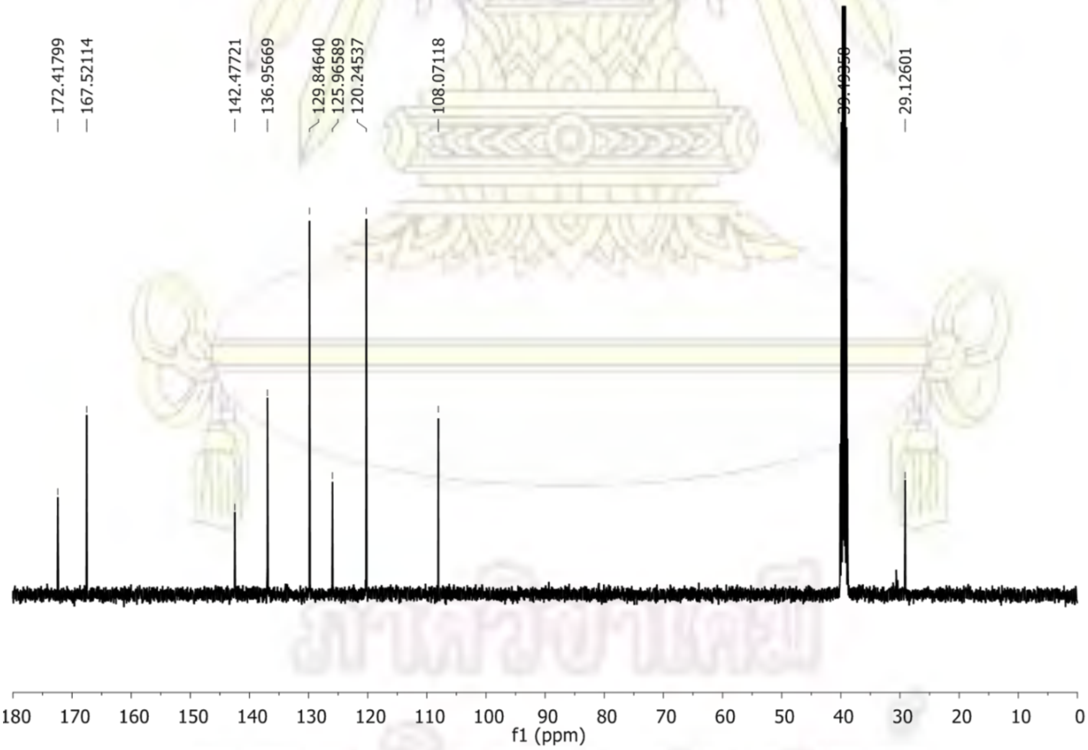
รูปที่ 3.9 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triacid ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz)



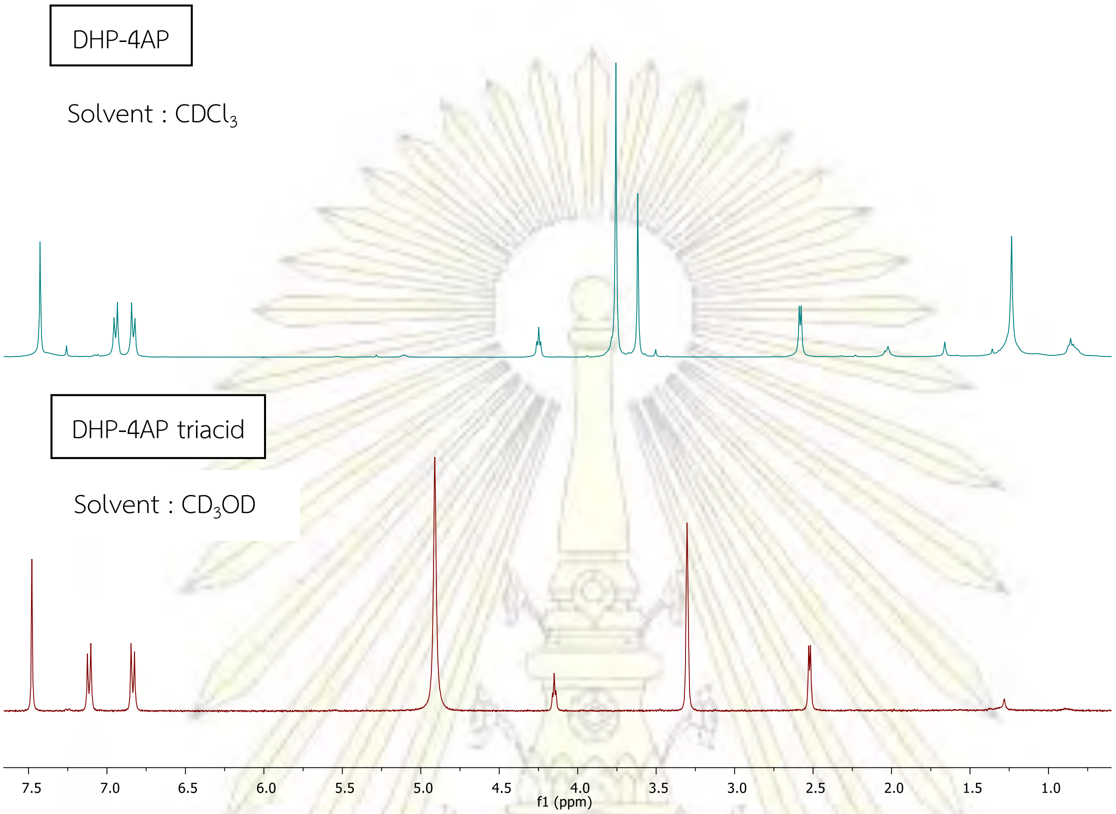
รูปที่ 3.10 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triacid ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR (DMSO, 400 MHz)[15]



รูปที่ 3.11 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triacid ด้วยเทคนิค ^{13}C NMR (CD_3OD, 400 MHz)



รูปที่ 3.12 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triacid ด้วยเทคนิค ^{13}C NMR (DMSO, 400 MHz)[15]



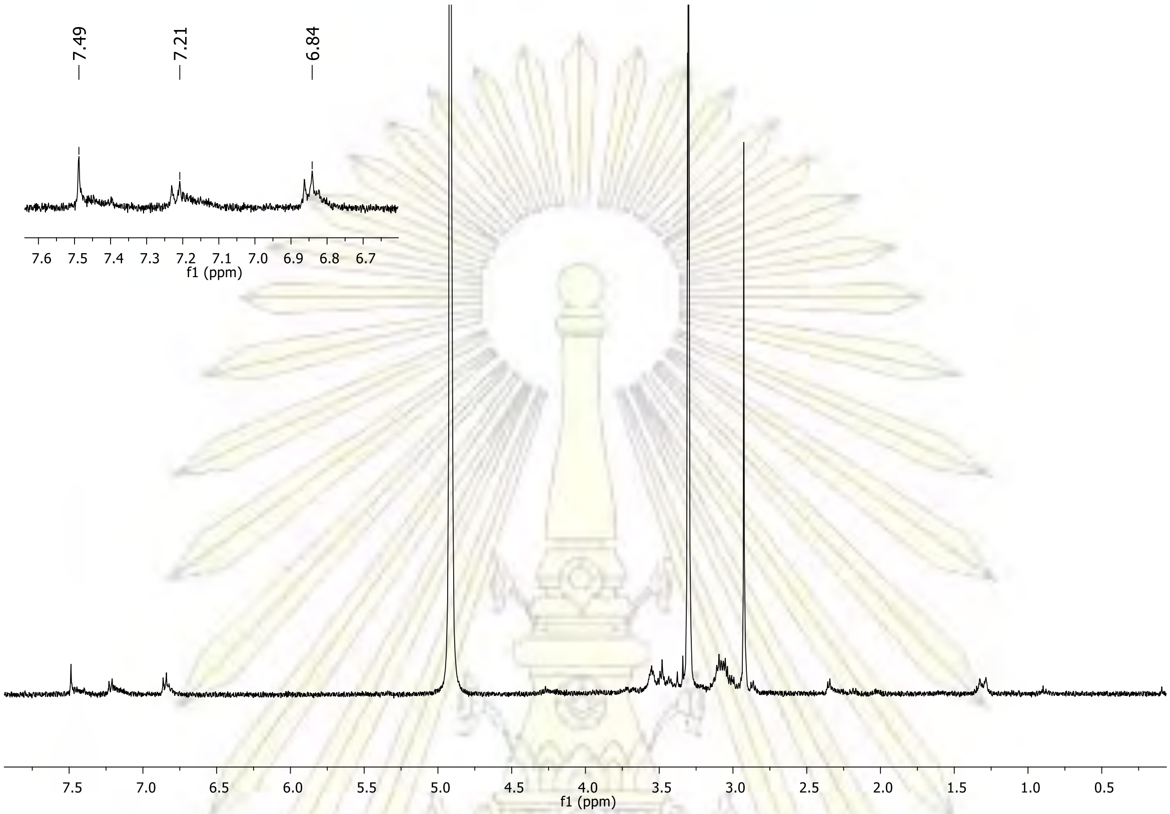
รูปที่ 3.13 แสดงการเปรียบเทียบการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างระหว่าง DHP-4AP กับ DHP-4AP triacid

เมื่อเปลี่ยน DHP-4AP ซึ่งมีหมู่เอสเตอร์ 3 หมู่ จากนั้นทำปฏิริยาไฮโดรไลซิสให้ได้ DHP-4AP triacid ที่มีกรดคาร์บอกซิลิก 3 หมู่ ซึ่งสามารถพิสูจน์ได้จาก ^{1}H NMR รูปที่ 3.13 จะเห็นได้ว่า มีการหายไปของสองพีคที่มีค่า δ_H เท่ากับ 3.62 และ 3.72 แสดงว่า หมู่เอสเตอร์ถูกไฮโดรไลซ์เปลี่ยนไปเป็นหมู่คาร์บอกซิลิกทั้ง 3 หมู่แล้ว

3.3 การสังเคราะห์ DHP-4AP triamide

หลังจากการสังเคราะห์ DHP-4AP triamide โดยเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง DHP-4AP triacid และไดเอทิลีนไตรเอมีน ก่อนพบว่าไม่สามารถแยกผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้ จากนั้นจึงนำ เอทิลีนไดเอมีนทำปฏิกิริยากับ DHP-4AP triacid แทนพบว่า น่าจะได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการแต่ไม่สามารถทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งสังเกตได้จากการนำสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค ^{1}H NMR (D_2O, 400 MHz) ดังรูปที่ 3.14 จะสังเกตเห็นว่า แต่ละพีคเห็นได้ไม่ชัดเจน ถึงแม้จะมีรูปแบบของ DHP-4AP ก็ตามอย่างไรก็ตามพีคช่วง δ_H ตั้งแต่ 2.5 ถึง 4.0 ไม่สามารถระบุได้ชัดเจนว่าเป็นพีคของสารใด

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



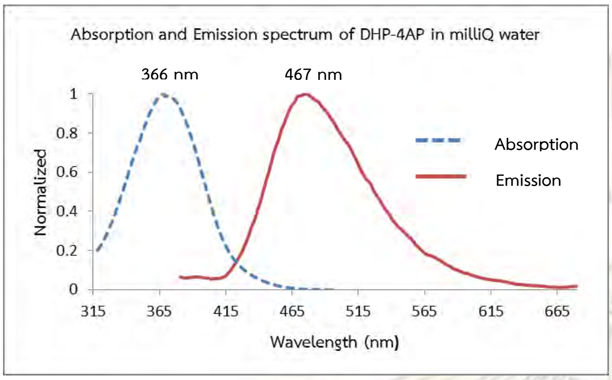
รูปที่ 3.14 แสดงการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างของ DHP-4AP triamide ด้วยเทคนิค ^{1}H NMR (D_2O, 400 MHz)

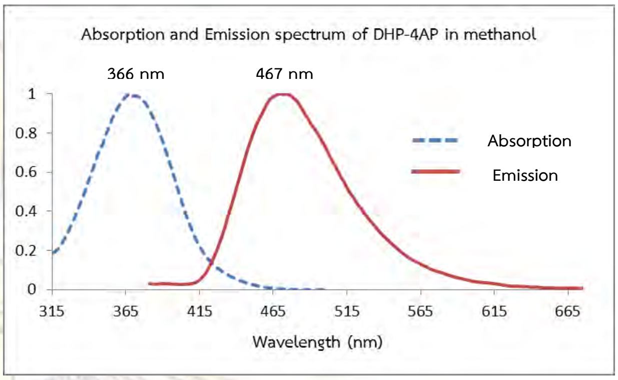
3.4 ศึกษาค่าการดูดกลืนและการคายแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrometer และ fluorescence spectrometer

เตรียม stock solution ของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ความเข้มข้น 200 μM ในเมทานอล เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis spectrometer และ fluorescence spectrometer (excitiation wavelength = 366 nm)

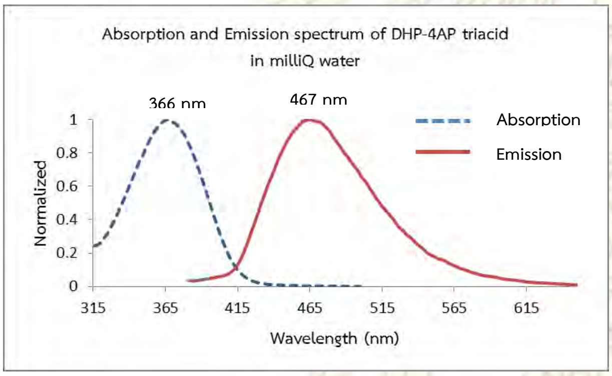
จากการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid เท่านั้น โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrometer เนื่องจากไม่สามารถสังเคราะห์ DHP-4AP triamide พบว่าสารผลิตภัณฑ์มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 366 nm จากค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุดดังกล่าวจึงได้นำไปใช้ในการกำหนดค่า excitation ของการวัดฟลูออเรสเซนซ์ได้และค่าความยาวคลื่นที่มีการคายแสงสูงสุดของแต่ละอนุพันธ์เท่ากันคือ 467 nm

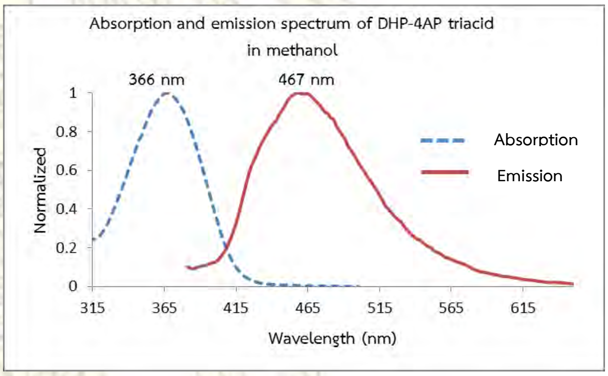
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 3.15 แสดง absorption และ emission spectrum ของ DHP-4AP ในน้ำและเมทานอล ตามลำดับ

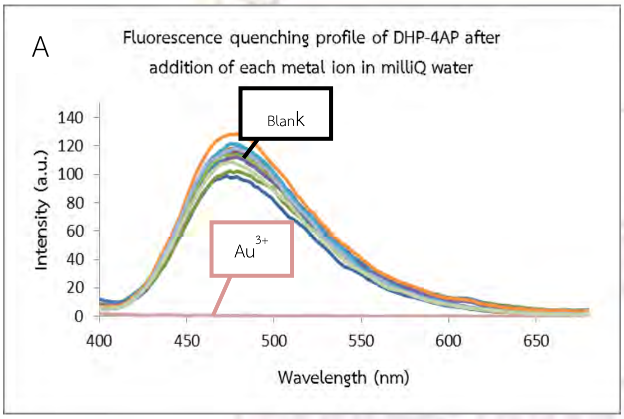


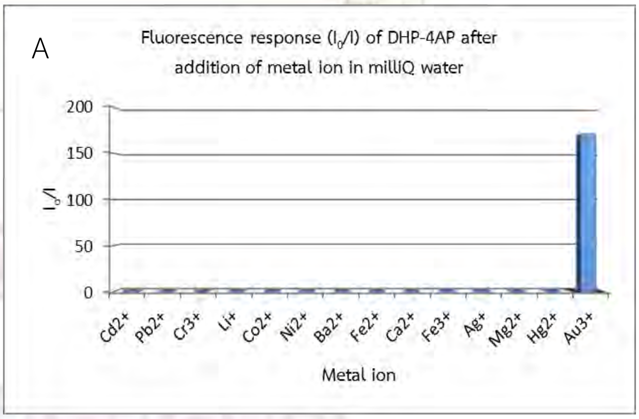


รูปที่ 3.16 แสดง absorption และ emission spectrum ของ DHP-4AP triacid ในน้ำและเมทานอล ตามลำดับ

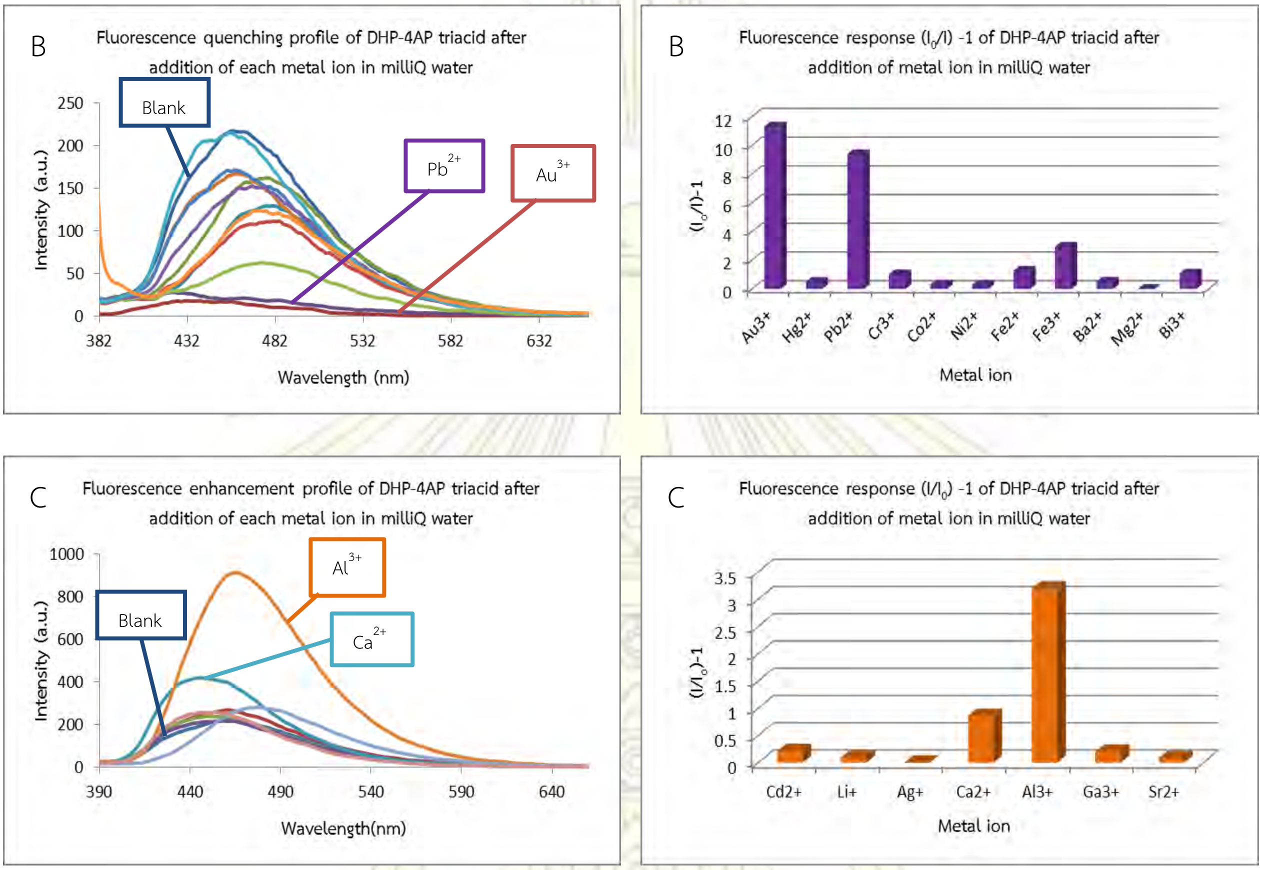
3.4.1. การศึกษาการวาวแสงและการระงับแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ด้วยไอออนชนิดต่างๆ ในน้ำ โดยใช้เครื่อง Fluorescence spectrometer

DHP-4AP





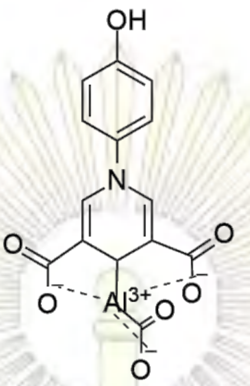
DHP-4AP triacid



รูปที่ 3.17 (A) การระงับการวาวแสงของ DHP-4AP ในน้ำ (B) การระงับการวาวแสงของ DHP-4AP triacid ในน้ำ (C) การวาวแสงของ DHP-4AP triacid ในน้ำ fluorophore : metal = 10:1000 (Ex. At 366 nm)

จากรูปที่ 3.17 จะเห็นได้ว่า (I_o/I)-1 หรือ (I/I_o)-1 โดย I_o = ความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid I = ความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ใดๆของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid เมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่ใช้ในการดูการระงับการวาวแสงของฟลูออโรฟอร์เมื่อเติมไอออนของโลหะชนิดต่างๆลงไป พบว่า เมื่อมีไอออนโลหะ Au^{3+} ทำให้เกิดการระงับการวาวแสงสูงสุดแสดงว่า DHP-4AP มีความจำเพาะการวาวแสงต่อ Au^{3+} ได้ดีสุดเมื่อมีน้ำเป็นตัวทำละลาย ส่วน DHP-4AP triacid มีลักษณะการระงับการวาวแสงและการวาวแสง ตามลำดับกล่าวคือ มีการเลือกจำเพาะจงกับ Au^{3+} และ Pb^{2+} มีค่า (I_o/I)-1 สูงที่สุด และวาวแสงเมื่อมี Al^{3+} ซึ่ง (I/I_o)-1 มีการวาวแสงมากที่สุดตามรูปที่ 3.5 (C) เนื่องจากการเกิดโคออดิเนชันแบบนี้เนื่องจาก DHP-4AP triacid เมื่อแตกตัวในน้ำให้โปรตอนของหมู่คาร์บอกซิลิก ทำให้โมเลกุลนี้มีประจุรวม -3 ซึ่งจะจับกับไอออนของโลหะที่มีประจุ +3 ตามรูปที่ 3.16 และอะตอมของออกซิเจนเลือกจำเพาะกับ Al^{3+} อีกด้วย

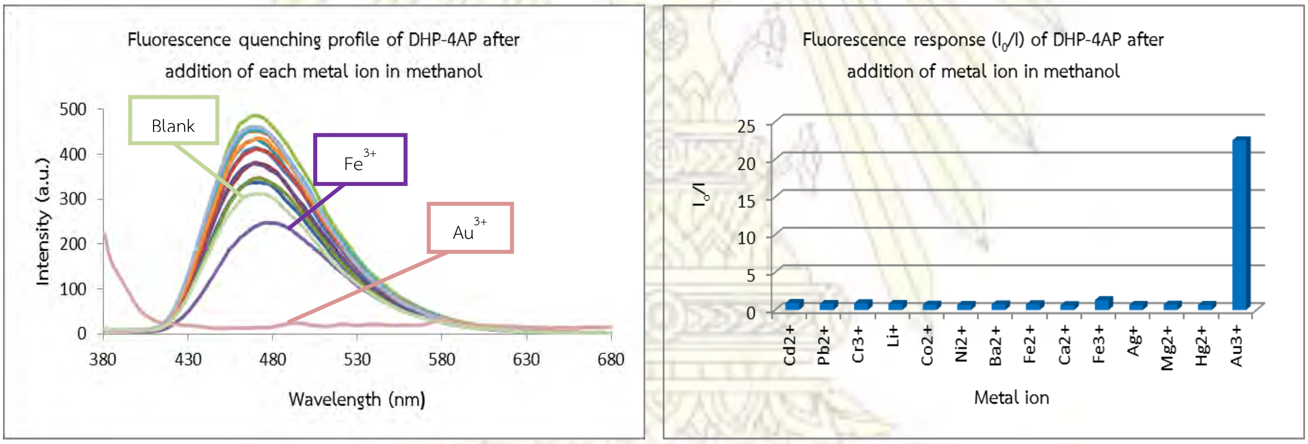
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



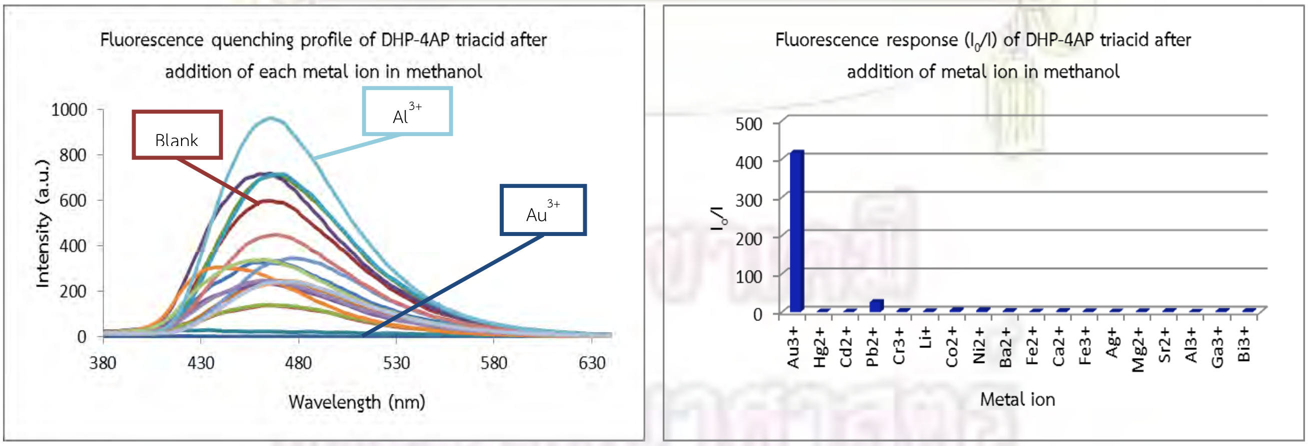
รูปที่ 3.18 แสดงการโคออดิเนชั่น ระหว่าง DHP-4AP triacid และ Al^{3+}

3.4.2. การศึกษาการวาวแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ด้วยไอออนชนิดต่างๆ ในเมทานอล โดยใช้เครื่อง fluorescence spectrometer

DHP-4AP



DHP-4AP triacid



รูปที่ 3.19 แสดงการระงับการวาวแสงของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid ในเมทานอล

fluorophore : metal = 10:1000 (Ex. At 366 nm)

จากรูปที่ 3.19 จะเห็นได้ว่า I_o/I โดย I_o = ความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid I = ความเข้มสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ใดๆของ DHP-4AP และ DHP-4AP triacid เมื่อเติมไอออนโลหะชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่ใช้ในการดูการระงับการวาวแสงของฟลูออโรฟอร์เมื่อเติมไอออนของโลหะชนิดต่างๆ ลงไป พบว่า DHP-4AP เลือกจำเพาะเจาะจงกับ Au^{3+} ได้ ค่า I_o/I สูงที่สุดแสดงว่า ระงับการวาวแสงได้ดีสุดเมื่อมีเมทานอลเป็นตัวทำละลาย ส่วน DHP-4AP triacid มีการเลือกจำเพาะจงกับ Au^{3+} เช่นกัน

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

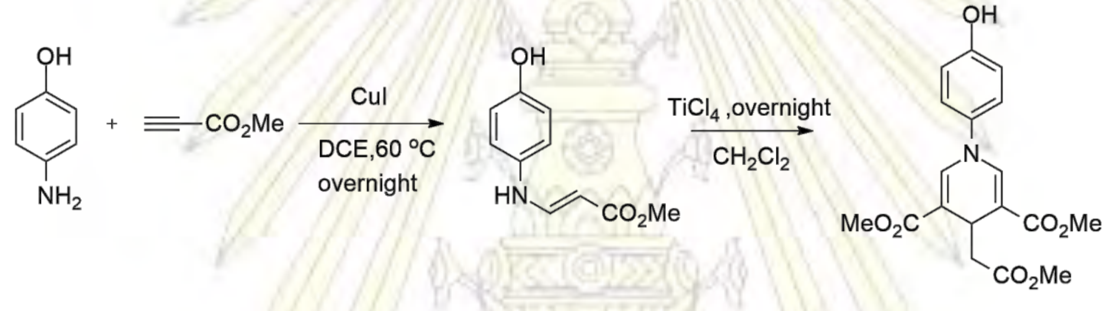
บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

4.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์ 1,4-dihydropyridine (DHP-4AP triamide) ฟลูออเรสเซนต์คีโมเซ็นเซอร์ชนิดใหม่สำหรับไอออนโลหะ ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.1.1. การสังเคราะห์ DHP-4AP ตามรูปที่ 4.1 จากปฏิกิริยาของ Hantzsch ระหว่างเอทาโนลามีนกับเอทิลโพรพิโอเลต ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน คิดเป็นผลิตภัณฑ์ร้อยละ 57 พิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค ^{1}H NMR พบว่า สารที่สังเคราะห์ได้เป็น DHP-4AP จริง

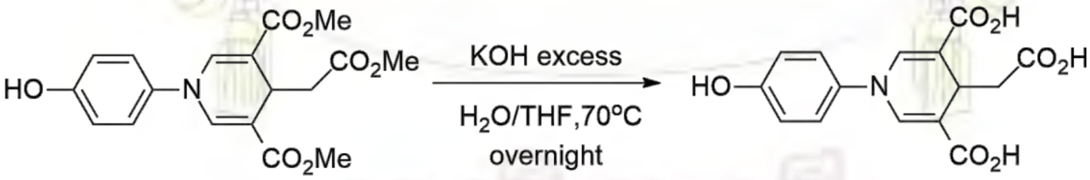


DHP-4AP

% yield = 57

รูปที่ 4.1 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ DHP-4AP (ปฏิกิริยาขั้นที่ 1)

4.1.2. การสังเคราะห์ DHP-4AP triacid ตามรูปที่ 4.2 จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ระหว่าง DHP-4AP กับ KOH ที่มากเกินพอ ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอมเขียว คิดเป็นผลิตภัณฑ์ร้อยละ 75 พิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้าง ^{1}H NMR พบว่า สารที่สังเคราะห์ได้เป็น DHP-4AP triacid จริง



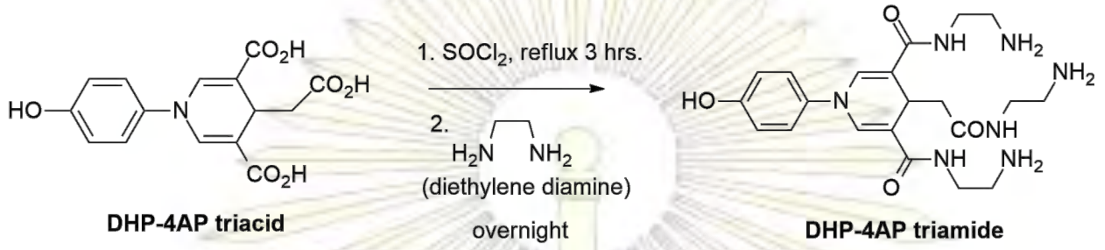
DHP-4AP **DHP-4AP triacid**

% yield = 75

รูปที่ 4.2 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ DHP-4AP triacid (ปฏิกิริยาขั้นที่ 2)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.1.3. การสังเคราะห์ DHP-4AP triamide ตามรูปที่ 4.3 จากปฏิกิริยาการ coupling ระหว่าง DHP-4AP triacid และเอทิลลีนไดเอมีน ได้สารผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้ม เมื่อนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโครงสร้างด้วยเทคนิค ^{1}H NMR พบว่า สเปกตรัมของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่ใช่ DHP-4AP triamide ตามรูปที่ 3.14 ในบทที่ 3 ในการสังเคราะห์ DHP-4AP triamide



รูปที่ 4.3 แสดงแผนภาพการสังเคราะห์ DHP-4AP triamide (ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย)

4.1.4. ได้ศึกษาความเป็นฟลูออเรสเซนซ์คีโมเซ็นเซอร์ของฟลูออโรฟอร์ที่สังเคราะห์ขึ้น DHP-4AP และ DHP-4AP triacid โดยตรวจวัดสัญญาณการวาวแสงด้วย fluorescence spectrometer หลังจากนำมาทำปฏิกิริยากับไอออนโลหะพบว่า DHP-4AP เลือกจำเพาะเจาะจงกับ Au^{3+} ระงับการวาวแสงได้ดีสุดเมื่อมีน้ำเป็นตัวทำละลาย ส่วน DHP-4AP triacid มีการเลือกจับจำเพาะจงกับ Au^{3+} และ Pb^{2+} ทำให้ระงับการวาวแสงเช่นกันซึ่งเป็นแบบ reaction mode และในขณะเดียวกันระบบของ DHP-4AP triacid นี้ยังสามารถเลือกจับจำเพาะเจาะจงกับ Al^{3+} ซึ่งเกิดจากฟลูออโรฟอร์โคออดิเนชันกับ Al^{3+} ซึ่งการเกิดโคออดิเนชันแบบนี้เนื่องจาก DHP-4AP triacid เมื่อแตกตัวในน้ำให้โปรตอนของหมู่คาร์บอกซิลิกกลายเป็นคาร์บอกซิเลต ทำให้โมเลกุลนี้มีประจุรวม -3 ซึ่งจะจับกับไอออนของโลหะที่มีประจุ +3 และอะตอมของออกซิเจนเลือกจับจำเพาะกับ Al^{3+} ในสารละลายเมทานอลและน้ำ ซึ่งมีค่า intensity ของ DHP-4AP triacid เมื่อจับกับ Al^{3+} มากกว่า 100 เท่า นอกจากนี้การวาวแสงมีผลมาจากขนาดของ Al^{3+} ซึ่งพอดีกับโพรงของแขนของ DHP-4AP triacid

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 ข้อเสนอแนะในการพัฒนางานวิจัยนี้ต่อไปในอนาคต

1. ทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ DHP-4AP triamide

2. ทำการทดลองเปลี่ยนอนุพันธ์ของเอมีนในการสังเคราะห์ DHP แล้วเพิ่มร้อยละผลิตภัณฑ์ให้มากขึ้น

3. ทำการทดลองปรับอัตราส่วนของฟลูออโรฟอร์ต่อไอออนโลหะเป็นอัตราส่วนอื่นๆเช่น 1:1, 1:10, 1:2 เป็นต้น และศึกษาระยะเวลาในการเกิดสมดุลที่ทำให้สัญญาณเปลี่ยนแปลงมากที่สุด

4. ทดลองเพื่อหาตำแหน่งของการจับกันระหว่างโมเลกุลฟลูออโรฟอร์กับไอออนโลหะ โดยทำ ^{1}H NMR และทดลองหาอัตราส่วนในการจับกันของฟลูออโรฟอร์กับไอออนโลหะ โดยการไทเทรชันและทำ Job’s plot

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Castillo, A.; Roig-Navarro, A. F.; Pozo, O. J. Method optimization for the determination of four mercury species by micro-liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry coupling in environmental water samples. *Anal. Chim. Acta.* **2006**, *577*, 18-25.
2. Batista, B. L.; Rodrigues, J. L.; de Souza, S. S.; Souza, V. C. O.; Barbosa, F. Mercury speciation in seafood samples by LC–ICP-MS with a rapid ultrasound-assisted extraction procedure: Application to the determination of mercury in Brazilian seafood samples. *Food Chem.* **2011**, *126*, 2000-2004.
3. Hong, Y. S.; Rifkin, E.; Bouwer, E. Combination of Diffusive Gradient in a Thin Film Probe and IC-ICP-MS for the Simultaneous Determination of CH3Hg+ and Hg2+ in Oxic Water. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45*, 6429-6436.
4. Leopold, K.; Foulkes, M.; Worsfold, P. Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters-A review. *Anal. Chim. Acta*. **2010**, *663*, 127-138.
5. Lee, M. H.; Lee, S. W.; Kim, S. H.; Kang, C.; Kim, J. S. Nanomolar Hg(II) Detection Using Nile Blue Chemodosimeter in Biological Media. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2101-2104.
6. Choi, M. G.; Ryu, D. H.; Jeon, H. L.; Cha, S.; Cho, J.; Joo, H. H.; Hong, K. S.; Lee, C.; Ahn, S.; Chang, S. K. Chemodosimetric Hg2+-Selective Signaling by Mercuration of Dichlorofluorescein Derivatives. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3717-3720.
7. Yang, Y. K.; Yook, K. J.; Tae, J. A Rhodamine-Based Fluorescent and Colorimetric Chemodosimeter for the Rapid Detection of Hg2+ Ions in Aqueous Media. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16760-16761.
8. Wu, J. S.; Hwang, I. C.; Kim, K. S.; Kim, J. S. Rhodamine-Based Hg2+-Selective Chemodosimeter in Aqueous Solution: Fluorescent OFF-ON. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 907-910.
9. Song, F. L.; Watanabe, S.; Floreancig, P. E.; Koide, K. Oxidation-Resistant Fluorogenic Probe for Mercury Based on Alkyne Oxymercuration. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16460-16461.
10. Ko, S. K.; Yang, Y. K.; Tae, J.; Shin, I. In Vivo Monitoring of Mercury Ions Using a Rhodamine-Based Molecular Probe. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14150-14155.
11. Nolan, E. M.; Lippard, S. Tools and Tactics for the Optical Detection of Mercuric Ion. *J. Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3443-3480.
12. Samb, I.; Bell, J.; Toullec, P. Y.; Michelet, V.; Leray, I. Fluorescent Phosphane Selenide As Efficient Mercury Chemodosimeter. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1182-1185.
13. Shao, N.; Zhang, Y.; Cheung, S. M.; Yang, R. H.; Chan, W. H.; Mo, T.; Li, K. A. Copper Ion-Selective Fluorescent Sensor Based on the Inner Filter Effect Using a Spiropyran Derivative. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 7294-7303.
14. Sirijindalert, T.; Hansuthirakul, K.; Rashatasakhon, P.; Sukwattanasinitt, M.; Ajavakom, 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.

15. Homraruen, D.; Sirijindalert, T.; Dubas, L.; Sukwattanasinitt, M.; Ajavakom, A. Selective fluorescent sensor for mercury ions in aqueous media using a 1,4-dihydropyridine derivative. Tetrahedron. **2013**, *69*, 1617-1621.
16. Chen, Q.-Y.; Chen, C.-F. A new Hg^{2+}- selective fluorescent sensor based on a dansyl amide-armed calix[4]-aza-crown. *Tetrahedron Letter.* **2005**, *46*, 165-168.
17. Sabitha, G.; Arundhathi, K.; Sudhakar, K.; Sastry, B. S.; Yadav, J.S. CeCl3.7H2O-catalyzed one-pot synthesis of hantzsch 1,4-dihydropyridines at room temperature. *Syn.Comm.* **2009**, *39*, 2843-2851.
18. Debache, A,; Ghalem, W.; Boulcina, R.; Belfaitah, A,; Rhouati, S. An efficient one-step synthesis of 1,4-dihydropyridines via a triphenylphosphine-catalyzed three-component hantzsch reaction under mild conditions. *Tet. Lett.* **2009**, *50*, 5248-5250.
19. Jie S.; Hai L.; Zun-Sheng C.; Huakuan L.; A simple colorimetric and ON–OFF fluorescent chemosensor for biologically important anions based on amide moieties. *Photochemistry and Photobiology B.* **2009**, *95*, 1-5.
20. Yun-Ying W.; Yong C.; Wei-Hua M.; Xiao-Jun L.; Wen-Fu F. Naphthyridine–BF2 complexes with an amide-containingdi-2-picolylamine receptor: Synthesis, structures and photo-induced electron transfer. *Photochemistry and Photobiology A.* **2013**, *272*, 73-79.
21. Xia, J. J.; Wang, G. W. One-Pot Synthesis and Aromatization of 1,4-Dihydropyridines in Refluxing Water. *Synthesis.* **2005**, *14*, 2379–83.
22. Ohara, P.B.; Engelson, C.; Peter, W.S. Turning on the light: lessons from luminescence. *J. Chem. Educ.* **2005**, *82*, 1.
23. Shizuka, H.; Takada, K.; Morita, T. Fluorescence enhancement of benzo-18-crown-6 by alkali metal cations. *J. Phys. Chem.* **1980**, *84*, 994.
24. Wiskur, S.L.; Ait-Haddou, H.; Lavigne, J.J.; Anslyn, E.V. Teaching old indicators new tricks. *ACC. Chem. Res.* **2001**, *34*, 963-972.
25. Valeur, B.; Leray, I. Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition. *Coordination Chemistry Reviews.* **2000**, *205*, 3-40.
26. Crivat, G.; Kikuchi, K.; Nagano, T.; Priel, T.; Hershfinkel, M.; Sekler, I.; Rosenzweig, N.; Fluorescence-based zinc ion sensor for zinc ion release from pancreatic cells. *Analytical Chemistry.* **2006**, *78*, 5799-5804.
27. Chang, K. C.; Su, I. H.; Senthilvelan, A.; Chung, W. S. Triazole-modified calix[4]crown as a novel fluorescent on-off switchable chemosensor. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 17.

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้วิจัย

นางสาว พรณิชา พรหมเสนา เกิดเมื่อวันที่ 8 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2534 ที่จังหวัด น่าน สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียน นารีรัตน์จังหวัดแพร่ จังหวัด แพร่ เมื่อปีการศึกษา 2553 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2554 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 155/1 หมู่ 1 ตำบล/แขวง น้ำชำ อำเภอ/เขต เมืองแพร่ จังหวัด แพร่ รหัสไปรษณีย์ 54000 อีเมล s.phonnicha@gmail.com

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย