

ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ของอนุพันธ์ไอซาติน

Structure and Antibacterial Activity Relationship of Isatin Derivatives

โดย

นางสาวชัชยา ศรีจันทร์กุล

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

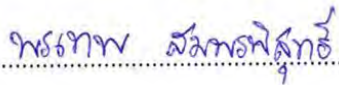
เรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของอนุพันธ์ซาติน  
โดย นางสาวชัชยา ศรีจันทร์ากุล


ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

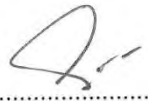
คณะกรรมการสอบโครงการ

..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรเทพ สมพรพิสุทธ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ชวนศิริ)

..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร.นวพร วินยเวคิน)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

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

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้

ชื่อโครงการ ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย  
ของอนุพันธ์อิซาติน  
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวชัชยา ศรีจันทร์ากุล เลขประจำตัว 5533069723  
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.วรินทร์ ชวนศิริ  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของ Isatin Schiff's bases ได้สังเคราะห์สาร 15 ชนิดผ่านปฏิกิริยาควบนั่นของหมู่คีโตนของอิซาตินกับแอมโรมาติกเอมีนที่เลือก ทำสารให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเอทานอลหรือซิลิกาเจลคอลัมน์ และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย  $^1\text{H}$  NMR สเปกโทรสโกปี ได้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus sobrinus* และ *Streptococcus mutans* ด้วยวิธี modified diffusion พบว่าสารที่มีหมู่ให้อิเล็กตรอน เช่น แอลโลเจนที่ตำแหน่ง *para*- มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

คำสำคัญ: อนุพันธ์อิซาติน, อิซาตินชิฟเบส, ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย, ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์

Title Structure and Antibacterial Activity Relationship of Isatin Derivatives  
Student name Miss Chatchaya Srijantrakool ID 5533069723  
Advisor name Assistant Professor Dr. Warinthorn Chavasiri  
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic year 2015

### Abstract

This research aims to examine the structure and antibacterial activity relationship of isatin Schiff's bases. Fifteen compounds were synthesized by condensation of the keto group of isatin with selected aromatic amines. The target products were purified by recrystallization from ethanol or silica gel column and characterized by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy. Investigation of antibacterial activity was conducted against 5 bacteria: *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans* by modified diffusion method. Among the compounds tested, those containing electron donating group such as halogen group at *para*-position showed potent antibacterial activity.

keyword: isatin derivatives, isatin Schiff's bases, antibacterial activity, structure activity relationship (SAR)

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการทำวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของ Isatin Schiff's bases โดยผู้วิจัยได้ศึกษา สังเคราะห์ วิเคราะห์ข้อมูลที่เกี่ยวข้อง และจัดทำรายงานฉบับนี้เพื่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้อ่านและผู้ที่จะทำงานวิจัยต่อไป ซึ่งงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน ดังนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ชวศิริ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยนี้เป็นอย่างสูง ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ ตั้งแต่เริ่มค้นคว้าข้อมูล วิธีการทดลอง รวมถึงวิธีการแก้ปัญหาและความช่วยเหลือด้านต่างๆ ตลอดจนการเขียนงานวิจัยฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ซึ่งโครงการนี้จะเกิดขึ้นและสำเร็จไม่ได้หากไม่มีท่าน

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.พรเทพ สมพรพิสุทธิ์ และอาจารย์ ดร.นวพร วินยเวทิน ที่ให้ความกรุณาสละเวลาอันมีค่าให้เกียรติมาเป็นประธานกรรมการและกรรมการสอบโครงการนี้ รวมทั้งคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงแก้ไขข้อผิดพลาด จนรายงานฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณพี่ๆในห้องปฏิบัติการ WC ทุกคนสำหรับการให้ความรู้และคำแนะนำในการปฏิบัติตนในห้องปฏิบัติการ รวมถึงเพื่อนๆและผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกคนสำหรับความช่วยเหลือในทุกๆเรื่อง

ผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีการศึกษา 2558 ที่ได้มอบโอกาสและความรู้ต่างๆ อันมีค่าแก่ผู้วิจัยได้มีประสบการณ์และสามารถนำความรู้เหล่านั้นมาปรับใช้ในงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณครอบครัวที่ได้มอบความรัก ความเข้าใจ รวมถึงคำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ ซึ่งเป็นกำลังใจที่สำคัญสำหรับผู้วิจัยเป็นอย่างมาก ทำให้ผู้วิจัยสามารถผ่านพ้นอุปสรรคต่างๆ จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูปประกอบ	ช
สารบัญตารางประกอบ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	5
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 2 วิธีการทดลอง	
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	9
2.2 สารเคมี	9
2.2.1 สารเคมีที่ใช้สังเคราะห์ Isatin Schiff's bases	9
2.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	9
2.3 การสังเคราะห์ Isatin Schiff's bases	9
2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	12
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง	
3.1 การสังเคราะห์ Isatin Schiff's bases	13
3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของอิซาตินและ Isatin Schiff's bases ที่สังเคราะห์ได้	15
3.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	17
3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของ Isatin Schiff's bases และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	20

## สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 สรุปลผลการทดลอง	
4.1 สรุปลผลการทดลอง	23
4.2 งานวิจัยในอนาคต	23
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	26
ประวัติผู้วิจัย	32

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1.1	อิซาติน	2
1.2	อินโดล	2
1.3	อินดีโก	2
1.4	Isatin Schiff's bases	3
1.5	Isatin Schiff's-Mannich base	3
1.6	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของการเกิด Isatin Schiff's bases	5
1.7	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของการเกิด Isatin Schiff's-Mannich base	6
1.8	<i>N</i> -methyl-5-bromo-3-( <i>p</i> -chlorophenylimino)isatin	6
1.9	Isatin Schiff's-Mannich base ที่มีไฮดรอกซีเป็นหมู่แทนที่	7
1.10	Isatin Schiff's-Mannich base ที่มีคลอรีนเป็นหมู่แทนที่	7
1.11	สารประกอบ 3 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง Src และ GST	8
1.12	สารประกอบ 4 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย <i>P. aeruginosa</i>	8
2.1	Isatin Schiff's bases	9
3.1	สมการแสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์ Isatin Schiff's bases	13
3.2	กลไกการเกิดปฏิกิริยาของการเกิด Isatin Schiff's bases	13
3.3	ระบุตำแหน่งโครงสร้างของ Isatin Schiff's bases	15
3.4	แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อผิวหนัง	18
3.5	แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้	18
3.6	แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ในช่องปาก	19
3.7	แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของ Isatin Schiff's bases กลุ่มที่ 1	20
3.8	แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของ Isatin Schiff's bases กลุ่มที่ 2	21
3.9	แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของ Isatin Schiff's bases กลุ่มที่ 3	22
1	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของอิซาติน	26
2	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของสาร 1	27
3	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของสาร 2	27
4	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของสาร 3	28
5	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของสาร 4+5	28



สารบัญรูปประกอบ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
6	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของสาร 6+7	29
7	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของสาร 8+9	29
8	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของสาร 10+11	30
9	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของสาร 12+13	30
10	<sup>1</sup> H-NMR สเปกตรัมของสาร 14+15	31

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
3.10	ลักษณะทางกายภาพ, โครงสร้าง, % yield และ $R_f$ ของอิซาทีนและ Isatin Schiff's bases	14
3.11	การกำหนดสัญญาณ $^1\text{H}$ NMR ของอิซาทีนและ Isatin Schiff's bases	15
3.12	ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อแบคทีเรีย 5 ชนิดของอิซาทีนและ Isatin Schiff's bases	17



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบัน การติดเชื้อจุลินทรีย์เป็นปัญหาที่เติบโตอย่างมากในวงการแพทย์ร่วมสมัย และวิธีการรักษาอาการติดเชื้อทั่วไปเน้นการใช้ยาปฏิชีวนะหรือยาต้านจุลชีพ ซึ่งโรคติดเชื้อนี้เป็นโรคที่พบมากและเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตในอันดับต้นๆ ยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ในการรักษาโรคติดเชื้อจึงเป็นสิ่งจำเป็น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศกำลังพัฒนา<sup>1</sup>

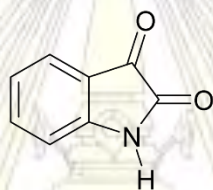
จุลชีพคือ สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า แต่เห็นได้จากกล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ แบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา และสัตว์เซลล์เดียว โรคติดเชื้อหรือภาวะติดเชื้อคือ โรคหรือภาวะเจ็บป่วยที่เกิดจากร่างกายได้รับการรุกราน ติดเชื้อจุลชีพหรือจุลินทรีย์ทั้งชนิดที่ก่อโรคหรือเชื้อโรค และชนิดที่ไม่ก่อโรค ซึ่งพบได้ในคนทุกเพศทุกวัย รายงานจากองค์การอนามัยโลก (World Health Organization หรือ WHO) ในปี พ.ศ. 2545 พบประชากรทั่วโลกที่เสียชีวิตจากโรคติดเชื้อประมาณ 14.7 ล้านคน คิดเป็น 25.9% ของสาเหตุการเสียชีวิตทั้งหมด โดยอัตราการเสียชีวิตสูงสุด 11 ลำดับแรก ได้แก่ อันดับ 1 เกิดจากการติดเชื้อระบบทางเดินหายใจ (6.9%) และรองลงไปตามลำดับ คือ โรคติดเชื้อ HIV/โรคเอดส์ (4.9%), โรคท้องร่วง/ท้องเสีย (3.2%), วัณโรค (2.7%), มาลาเรีย/ไข้จับสั่น (2.2%), โรคหัด (1.1%), โรคไอกรน (0.5%), โรคบาดทะยัก (0.4%), โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (0.3%), ชิฟิลิส (0.3%) และไวรัสตับอักเสบบี (0.2%)<sup>2</sup>

ในช่วงเวลา 20 ปีที่ผ่านมา ผลกระทบของการติดเชื้อจุลินทรีย์มีเพิ่มขึ้นในระดับที่น่ากลัว เป็นผลมาจากการดื้อยา และจำนวนของผู้ป่วยโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องที่เพิ่มขึ้นก็เป็นผลมาจากปัจจัยต่างๆ เช่น การติดเชื้อ HIV, ยาเคมีบำบัดโรคมะเร็ง และการปลูกถ่ายอวัยวะ เป็นต้น ในปี พ.ศ. 2557 องค์การอนามัยโลกมีรายงานฉบับใหม่ประกาศว่า ขณะนี้ถึงยุคที่ยาปฏิชีวนะได้สูญเสียคุณสมบัติในการรักษาโรคและไม่สามารถรักษาโรคได้อีกต่อไป โดยข้อมูลจาก 114 ประเทศทั่วโลกเปิดเผยว่า ไม่สามารถใช้อยาปฏิชีวนะได้อีกแล้วในอนาคต จากการทดสอบพบว่าแบคทีเรียก่อโรคสามารถต้านทานยาปฏิชีวนะได้ทั้งหมด แม้กระทั่งยาที่ใช้ศึกษาเป็นกรณีสุดท้ายเมื่อยาอื่นหมดทางรักษา ก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพของประชาชนอย่างต่อเนื่อง<sup>3</sup>

ในช่วง 25 ปีที่ผ่านมา ยังไม่มียาปฏิชีวนะชนิดใหม่เกิดขึ้น บริษัทผู้ผลิตยาไม่สามารถรองรับต้นทุนของการวิจัยและพัฒนาได้ เนื่องจากยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ต้องใช้อย่างจำกัด เพราะเกรงการพัฒนาการต้านของเชื้อต่อตัวยา และเมื่อพัฒนายาขึ้นมา พบว่ายามีอายุการใช้งานที่สั้นมาก ยาปฏิชีวนะใหม่ๆ ที่มีอยู่ในท้องตลาดจึงเป็นชนิดที่มีอยู่แล้วไม่ใช่ยาใหม่ ส่งผลให้แบคทีเรียสามารถ

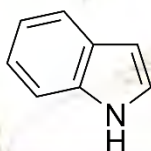
พัฒนา ต้านยาเหล่านี้ได้ในไม่ช้า สำหรับการรักษาในผู้ป่วยบางคนก็ล้มเหลวเนื่องจากรักษาไม่ทัน แต่ในบางคนก็สามารถรักษาได้เพียงใช้ยาแค่ชนิดเดียว หลังจากนั้นก็ต้องใช้ยาตัวใหม่ซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงเมื่อเกิดอาการดื้อยา ทำให้อาการป่วยและการต้านยาเพิ่มมากขึ้นด้วย<sup>4</sup>

ยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่จะทำให้คนมีชีวิตยืนยาวขึ้น อยู่อย่างสุขภาพดี และได้รับประโยชน์จากการแพทย์สมัยใหม่ หากไม่เห็นความสำคัญของการปรับปรุงความพยายามที่จะป้องกันโรคและเปลี่ยนวิธีการสร้าง การกำหนด และการใช้ยาปฏิชีวนะ โลกจะสูญเสียสินค้าสุขภาพและสิ่งที่เกี่ยวข้องจะสูญหายไปด้วย ปัญหาสุขภาพเหล่านี้ทำให้เกิดความต้องการที่จะสังเคราะห์และเสาะหาสารต้านจุลชีพตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่จะพัฒนาความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้ในปัจจุบัน

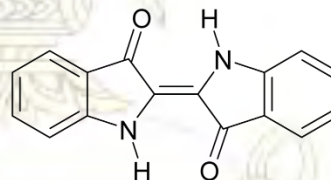


รูปที่ 1.1 อีซาติน

อีซาติน หรือ 1H-indole-2,3-dione (รูปที่ 1.1) เป็นอนุพันธ์ของอินโดล (รูปที่ 1.2) เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการออกซิเดชันของสีย้อมครามหรืออินดิโก (รูปที่ 1.3) ด้วยกรดไนตริกและกรดโครมิก ค้นพบครั้งแรกโดย Erdman และ Laurent ในปี ค.ศ. 1841



รูปที่ 1.2 อินโดล

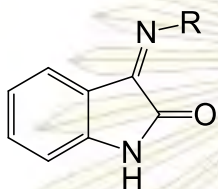


รูปที่ 1.3 อินดิโก

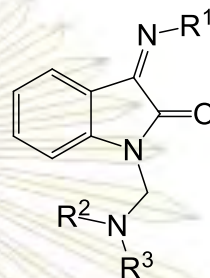
ในธรรมชาติ พบอีซาตินในพืชหลายชนิด เช่น *Isatis tinctoria*, *Calanthe discolor* LINDL และ *Couroupita guianensis* Aubl เป็นต้น ในสัตว์ พบอีซาตินเป็นส่วนประกอบของสารคัดหลั่งที่ได้จากต่อมน้ำลายบริเวณหูของคางคกและเป็นอนุพันธ์ที่เกี่ยวกับการเผาผลาญของอะดรีนาลีนในมนุษย์ นอกจากนี้ยังพบอนุพันธ์อีซาตินในพืช เช่น melosatin alkaloids (methoxy phenylphenyl isatins) ได้จากพืช *Melochia tomentosa* ซึ่งก่อให้เกิดโรคเนื้องอกในแถบทะเลแคริบเบียน รวมถึงในเชื้อรา *Streptomyces albus* มี 6-(3'-methylbutan-2'-yl)isatin และในเชื้อรา *Chaetomium globosum* มี 5-(3'-methylbuten-2'-yl)isatin และยังพบว่าอีซาตินเป็นส่วนประกอบของน้ำมันดิบถ่านหินด้วย<sup>5</sup>

เนื่องจากอีซาตินเป็นสารประกอบที่เกิดขึ้นภายในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะในมนุษย์ จึงมีความหลากหลายของสมบัติทางชีวภาพครอบคลุมช่วงการดำเนินการของสมอง และป้องกันการ

ต่อต้านการติดเชื้อบางประเภท วงแหวนอิซาตินเป็นโครงสร้างที่โดดเด่นและเป็นสารตั้งต้นสังเคราะห์ที่ปรับโครงสร้างได้ง่าย มีความสามารถในการนำไปใช้สำหรับการสังเคราะห์สารประกอบเฮเทอโรไซคลิกอื่นๆ เช่น อินโดลและควิโนลีน รวมถึงยังเป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์ยาปฏิชีวนะและพบได้ในสารประกอบทางเภสัชกรรมหลายชนิด<sup>6</sup>



รูปที่ 1.4 Isatin Schiff's base



รูปที่ 1.5 Isatin Schiff's-Mannich base

Isatin Schiff's base (รูปที่ 1.4) เป็นอนุพันธ์อิซาตินที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ยาต้านจุลชีพ, ยาต้านเชื้อรา, ยาต้านมะเร็ง, ยาป้องกันเอชไอวี, ยาป้องกันพยาธิ อีกทั้งยังสามารถใช้ตรวจสอบฤทธิ์ต้านการชัก นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับอนุพันธ์อิซาตินอีกประเภทคือ Isatin Schiff's-Mannich base (รูปที่ 1.5) ซึ่งเกิดจากการเชื่อมพันธะระหว่างเอโซเมทีน ( $R_2C=NR'$ ) กับเมทิลเอมีน ( $CH_3-NH_2$ )<sup>7</sup> ด้วยสารดังกล่าวสังเคราะห์ได้ไม่ยากและมีความสำคัญในการเกิดปฏิกิริยาเคมีทางเภสัชกรรม ทำให้เกิดความสนใจในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและทางเภสัชวิทยาของอนุพันธ์อิซาตินที่นำไปสู่การใช้งานอย่างกว้างขวาง ดังนั้น การสังเคราะห์และการเติมหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลอิซาตินจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก รวมถึงการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย<sup>8</sup>

แบคทีเรียคือ จุลินทรีย์ที่เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดเซลล์เดียวแบบโพรแคริโอต มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า พบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป ในธรรมชาติ ดิน น้ำ อากาศ แบคทีเรียมีรูปร่างแตกต่างกัน 3 แบบใหญ่ๆ ได้แก่ รูปแท่งหรือท่อน รูปกลม และรูปเกลียว สภาวะที่แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีคือ ที่ 35-37 องศาเซลเซียส แบคทีเรียมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศน์ บางชนิดสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น การหมักอาหาร การบำบัดน้ำเสีย และการผลิตยาปฏิชีวนะ แต่บางชนิดก็ให้โทษ เช่น เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ทำให้เกิดโรคทั้งในคน พืชและสัตว์ เป็นต้น ในร่างกายมนุษย์มีแบคทีเรียหลายชนิด ทั้งแบคทีเรียประจำถิ่นซึ่งมักจะพบในร่างกายตั้งแต่กำเนิด เป็นแบคทีเรียทั้งที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายแก่ร่างกาย เช่น แบคทีเรียที่พบได้ตามผิวหนังและทางเดินปัสสาวะ แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดประโยชน์แก่ร่างกาย เช่น แบคทีเรียที่ช่วยย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหาร ส่วนแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโทษแก่ร่างกาย เช่น แบคทีเรียในช่องปากที่ทำให้เกิดโรคฟันผุ แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ และแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการอักเสบของลิ่ว เป็นต้น

งานวิจัยนี้สนใจศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโทษแก่ร่างกาย 5 ชนิด ได้แก่ *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhoid*, *Streptococcus sobrinus* และ *Streptococcus mutans*

### 1.1.1 *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)

เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) อาศัยอยู่บนร่างกายของมนุษย์ตามผิวหนัง รูขุมขนและต่อมไขมัน ผลิตภัณฑ์โพรพิโอนิก สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน *P. acnes* มีหลายสายพันธุ์ แบ่งได้หลายประเภท แต่ละประเภทมีความสัมพันธ์กับโรคชนิดต่างๆ บางประเภทก่อให้เกิดสิว บางประเภทก่อให้เกิดการติดเชื้อ แต่บางประเภทก็ช่วยสร้างความสมดุลแก่ผิวได้

*P. acnes* มีบทบาทสำคัญที่เป็นต้นเหตุของการอักเสบของสิวซึ่งจัดเป็นโรคทางผิวหนังที่พบบ่อยและเกิดได้อย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะในวัยรุ่นช่วงอายุ 12-24 ปี อย่างไรก็ตาม *P. acnes* ยังเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอื่นๆ ด้วย เช่น โรคเกี่ยวกับตา โรคหมอนรองกระดูกหรืออาจทำให้เกิดเยื่อหูหัวใจอักเสบ

### 1.1.2 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลม ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ อยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีออกซิเจน พบได้ตามผิวหนัง โพรงจมูก เยื่อทางเดินหายใจ ทางเดินอาหารและบาดแผลที่เป็นฝี หนอง รวมถึงในดินฝุ่นละออง พบได้ง่ายในสิ่งแวดล้อม ในอาหารเนื้อสัตว์ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมหรืออาหารที่เก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน

*S. aureus* สามารถสร้างสารพิษชนิดเอนโทโรทอกซินซึ่งสามารถทนความร้อนได้ เป็นเชื้อก่อโรคในอาหารที่สำคัญ เชื้อนี้จะออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้ จึงเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ และเกิดการติดเชื้อของทางเดินอาหารส่วนกระเพาะและลำไส้เล็ก ทำให้เกิดอาการท้องเสียและอาเจียน ซึ่งเป็นอาการของการเจ็บป่วยที่มักพบในเด็ก นอกจากนี้ *S. aureus* ยังเป็นสาเหตุของโรคอื่นๆ เช่น โรคปอดบวม การติดเชื้อทางผิวหนัง โรคลำไส้อักเสบเป็นพิษ โรคโลหิตเป็นพิษ เป็นต้น

### 1.1.3 *Salmonella typhimurium* (*S. typhi*)

เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอุณหภูมิร่างกายหรือ 37 องศาเซลเซียส เป็นสาเหตุทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบและโรคใช้รากสาดน้อยในคน (ไข้ไทฟอยด์) พบได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา โดยจะติดต่อผ่านทางรับประทานอาหารหรือน้ำดื่มที่ปนเปื้อนเชื้อและการอยู่ใกล้ชิดผู้ที่มีเชื้อ *S. typhi* ที่ทำให้เกิดไข้ไทฟอยด์พบในคนเท่านั้น และสามารถรักษาได้ด้วยยาปฏิชีวนะ ดังนั้นจึงควรป้องกันการติดเชื้อของโรคนี้ด้วยการรับประทานอาหารและดื่มน้ำที่สะอาด ปลอดภัย

### 1.1.4 *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) และ *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)

แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างกลม อยู่ในสภาวะกึ่งออกซิเจน พบได้ทั่วไปในช่องปาก มีความเกี่ยวข้องเนื่องกับการเกิดโรคในช่องปากและเป็นสาเหตุของโรค

ฟันผุ แบคทีเรีย 2 ชนิดนี้สามารถอาศัยอยู่ในสภาวะที่เป็นกรด ณ อุณหภูมิในช่องปากของมนุษย์ มีการปรับกลไกในการอยู่รอดได้ และมีการสร้างกรดกับผิวหน้าของฟัน จึงทำให้เกิดฟันผุได้ นอกจากนี้ ยังมีแบคทีเรียที่พบในช่องปากชนิดอื่นๆอีก เช่น *lactobacilli*, *bifidobacteria* และแบคทีเรียสร้างกรดชนิดอื่นที่ยังได้รับความสนใจน้อย เช่น *Atopobium sp.* หรือ *Slackia exigua*

งานวิจัยนี้สนใจที่จะสังเคราะห์ Isatin Schiff's base ด้วยปฏิกิริยาควบแน่น (condensation) ระหว่างอิซาทินกับแอมโรมาติกเอมีน และนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของ Isatin Schiff's base และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 สังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของ Isatin Schiff's base

1.2.2 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของ Isatin Schiff's base ที่สังเคราะห์ได้

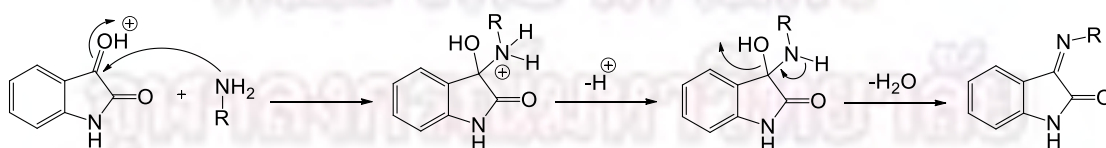
1.2.3 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของ Isatin Schiff's base ที่สังเคราะห์ได้

## 1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาเอกสารอ้างอิงเกี่ยวกับการสังเคราะห์อนุพันธ์อิซาทินพบว่า อนุพันธ์อิซาทินสามารถสังเคราะห์ได้หลายวิธี งานวิจัยนี้สนใจศึกษาการสังเคราะห์ Isatin Schiff's base ผ่านปฏิกิริยาควบแน่นของอิซาทินกับแอมโรมาติกเอมีน

Schiff's base คือ สารที่มีสูตรโครงสร้าง  $R_2C=NR'$  ( $R' \neq H$ ) ค้นพบโดยนักเคมีชาวเยอรมัน Hugo Schiff เกิดจากปฏิกิริยาควบแน่นของแอลดีไฮด์หรือคีโตนกับเอมีน ได้สารอิมีน ซึ่งเป็นได้ทั้ง secondary ketimine หรือ secondary aldimine ทั้งนี้ขึ้นกับโครงสร้าง ในกรณีที่เป็น secondary aldimine มักเรียกว่า เอโซเมทีน

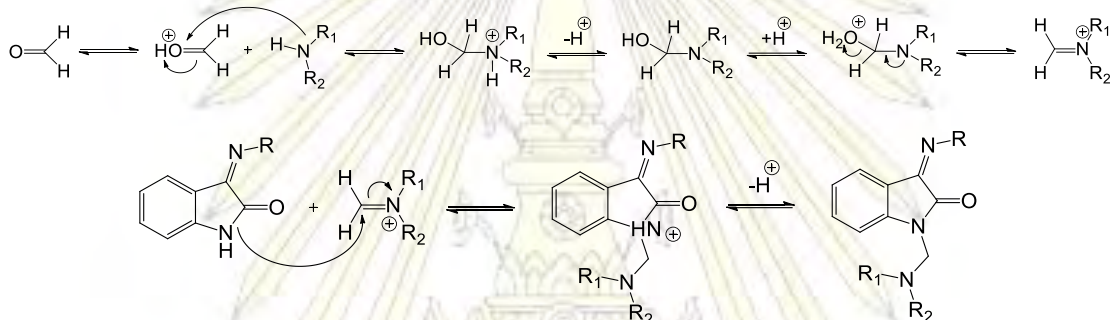
Isatin Schiff's bases คือ อนุพันธ์อิซาทินที่ได้จากปฏิกิริยาระหว่างอิซาทินกับเอมีนใดๆ มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาเป็น nucleophilic attack ของไนโตรเจนของเอมีนกับอะตอมคาร์บอนของคาร์บอนิล ตามด้วยการกำจัดน้ำ ดังรูปที่ 1.6



รูปที่ 1.6 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของการเกิด Isatin Schiff's bases

Mannich bases คือ สารประกอบที่มีโครงสร้างเป็นเบตาเอมิโนคีโตน เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเอมีน พอร์มาลดีไฮด์ (หรือแอลดีไฮด์) และโมเลกุลที่มีคาร์บอนอะตอมที่มีประจุบวก (คาร์โบเนียมไอออน) โดยทั่วไป Mannich bases เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายจากปฏิกิริยา Mannich ที่เกิดจากปฏิกิริยาการเติมนิวคลีโอไฟล์กับแอลดีไฮด์ที่ไม่มีแอลฟาไฮโดรเจน (non-enolizable aldehyde) และ primary หรือ secondary amine จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นอิมิเนียมไอออนหรือเกลืออิมิเนียม

สำหรับกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ Isatin Schiff's-Mannich bases เกี่ยวข้องกับ nucleophilic attack ของไนโตรเจนของเอมีนกับอะตอมคาร์บอนของพอร์มิลคาร์บอนิล ตามด้วยการกำจัดน้ำ จากนั้นจึงทำปฏิกิริยาต่อกับ Isatin Schiff's base ดังแสดงในรูปที่ 1.7



รูปที่ 1.7 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของการเกิด Isatin Schiff's-Mannich base

นอกจากนี้ได้ศึกษางานวิจัยต่างๆ ที่มีรายงานเกี่ยวกับการสังเคราะห์และสมบัติทางชีวภาพของอนุพันธ์อิมิเนียมชนิดต่างๆ ดังนี้

ในปี 2004 Verma และคณะ<sup>9</sup> ได้สังเคราะห์และศึกษา Schiff's bases ของอนุพันธ์อิมิเนียมในรูปแบบ *N*-methyl และ *N*-acetyl กับเอริลเอมีน และคัดกรองหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งอาการชัก maximal electroshock (MES) และ subcutaneous metrazole (ScMet) พบว่า *N*-methyl-5-bromo-3-(*p*-chlorophenylimino)isatin แสดงฤทธิ์ยับยั้งอาการชักใน MES และ ScMet ด้วยค่า LD<sub>50</sub> > 600 mg kg<sup>-1</sup> แสดงว่าสารกลุ่มนี้อาจสามารถใช้เป็นต้นแบบสำหรับการพัฒนายารักษาโรคลมชักชนิดใหม่ๆ ได้



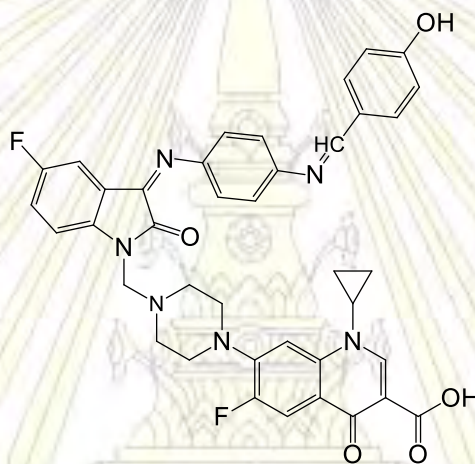
รูปที่ 1.8 *N*-methyl-5-bromo-3-(*p*-chlorophenylimino)isatin

ในปี 2011 Chaluvaraju และ Zaranappa<sup>10</sup> ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ Schiff's และ Mannich bases ของอิมิเนียม และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 6 ชนิด คือ *S. aureus*, *B.*



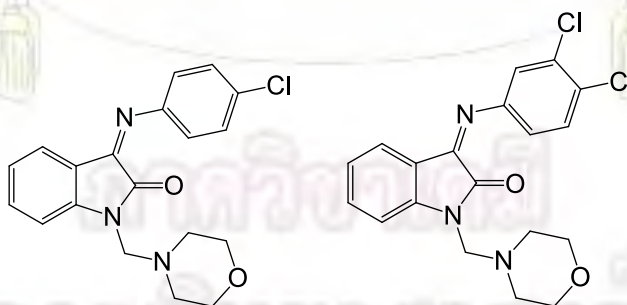
*subtilis*, *S. typhi*, *E. coli*, *A. niger* และ *C. albicans* ด้วยวิธี cup-plate โดยใช้ amoxicillin และ fluconazole เป็นสารมาตรฐาน พบว่าสารประกอบที่ได้ทดสอบทั้งหมดแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในระดับปานกลาง

ในปี 2013 Prakash และคณะ<sup>11</sup> ได้สังเคราะห์และพัฒนายาปฏิชีวนะประเภท ciprofloxacin ชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพ โดยทำปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์เมทิลอินดาซาทินกับแอมโรมาติกแอลดีไฮด์ที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ เมื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพกับแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ 7 ชนิด และเชื้อราอีก 2 ชนิด พบว่าอนุพันธ์ที่มีหมู่แทนที่เป็นไฮดรอกซี ซึ่งเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอนแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีมาก เมื่อเทียบกับอนุพันธ์ที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอน เช่น ไนโตรและคลอโร



รูปที่ 1.9 Isatin Schiff's-Mannich base ที่มีไฮดรอกซีเป็นหมู่แทนที่

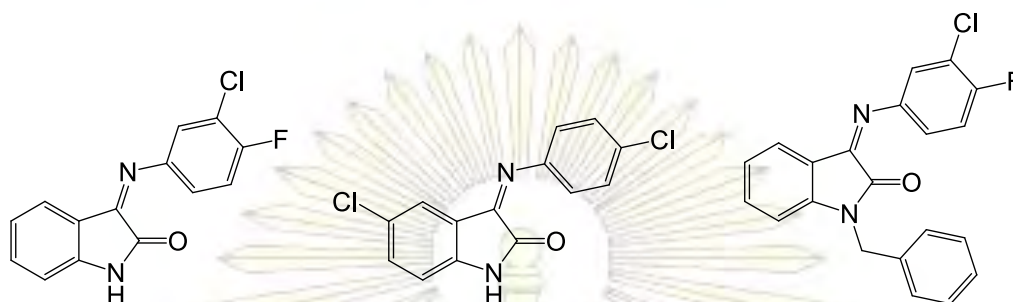
ในปีเดียวกัน Panda<sup>12</sup> ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ Schiff's-Mannich base ของอินดาซาทิน และประเมินฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ฤทธิ์ยับยั้งอาการปวด และฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ พบว่าอนุพันธ์ที่มีคลอรีนเป็นหมู่แทนที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 1.10 Isatin Schiff's-Mannich base ที่มีคลอรีนเป็นหมู่แทนที่

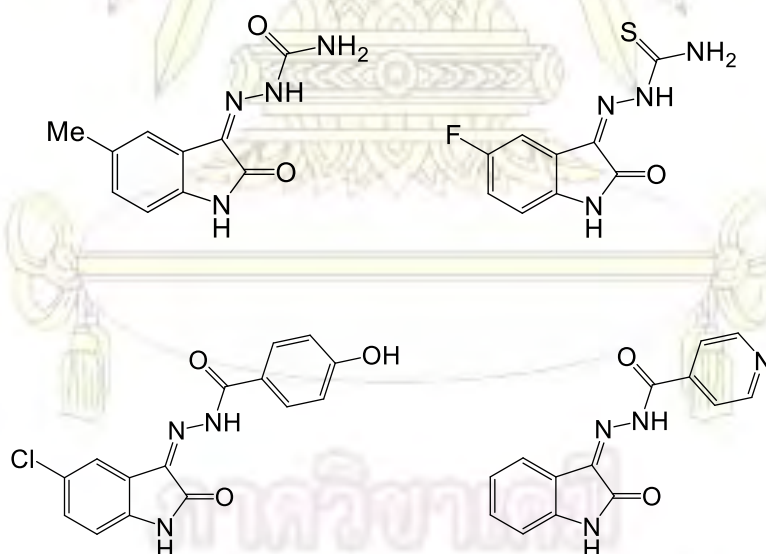
ในปี 2013 Kurt และคณะ<sup>13</sup> ได้ออกแบบและสังเคราะห์สารยับยั้ง Src protein tyrosine kinase (PTK) และ glutathione S-transferases (GSTs) ซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งและความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน โดยศึกษาอนุพันธ์ 14 indole-3-imine-2-one และ *N*-benzyl indole-

3-imin-2-one สำหรับการยับยั้ง Src และ GST พบว่ามีสารประกอบเพียง 3 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง Src และ GST



รูปที่ 1.11 สารประกอบ 3 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้ง Src และ GST

ในปี 2016 Tehrani และคณะ<sup>14</sup> ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ Schiff's และ Mannich bases ของอิซาติน และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. faecalis* โดยวิเคราะห์จากค่า MIC = 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีสารประกอบ 4 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และมีโอกาสได้รับการพัฒนาไปใช้ในผลิตยาต่อไป



รูปที่ 1.12 สารประกอบ 4 ชนิดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. aeruginosa*

## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ซึ่งสารด้วยเครื่องซึ่งดิจิตอล ยี่ห้อ PRECISION รุ่น XT 200A, ทินแลร์โครมาโทกราฟี (TLC) ใช้แผ่นอะลูมิเนียมที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล (Merck Kieselgel 60 PF<sub>254</sub>), <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัมบันทึกด้วยเครื่อง Bruker Advance II 400 MHz Spectrometer และ Varian model Mercury +400 Spectrometer ที่ความถี่ 400 MHz ใช้ deuterated dimethylsulfoxide (DMSO-d<sub>6</sub>) เป็นตัวทำละลาย

#### 2.2 สารเคมี

##### 2.2.1 สารเคมีที่ใช้สังเคราะห์ Isatin Schiff's bases

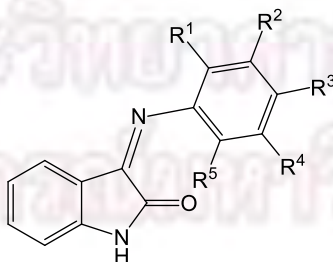
สารเคมีและตัวทำละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์ Isatin Schiff's bases ซื้อมาจากบริษัท Merck, Sigma-Aldrich และ Fluka ซึ่งนำมาใช้โดยตรง ไม่ได้ทำให้บริสุทธิ์เพิ่มขึ้นอีก

##### 2.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เรียกว่า Difco™ Nutrient broth และ Difco™ Agar ซื้อมาจากบริษัท Becton, Dickinson and company

#### 2.3 การสังเคราะห์ Isatin Schiff's bases

ผสมอิซาติน 0.74 กรัม (0.01 mol) กับเอมีนที่สนใจ (0.01 mol) ในเอทานอล 10 mL และกรดแอสติก 2-3 หยด รีฟลักซ์ของผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้ของผสมเย็นลงที่อุณหภูมิห้องจะเกิดของแข็ง กรองและทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเอทานอลหรือซิลิกาเจลคอลัมน์ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน จะได้ Isatin Schiff's bases ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 Isatin Schiff's bases

สาร 1	:	(E) $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$
สาร 2	:	(E) $R^1 = R^2 = R^4 = R^5 = H, R^3 = Cl$
สาร 3	:	(E) $R^1 = R^2 = R^4 = R^5 = H, R^3 = F$
สาร 4+5	:	(E) และ (Z) $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = H, R^2 = NO_2$
สาร 6+7	:	(E) และ (Z) $R^1 = R^3 = Cl, R^2 = R^4 = R^5 = H$
สาร 8+9	:	(E) และ (Z) $R^1 = R^4 = Cl, R^2 = R^3 = R^5 = H$
สาร 10+11	:	(E) และ (Z) $R^1 = R^4 = R^5 = H, R^2 = R^3 = Cl$
สาร 12+13	:	(E) และ (Z) $R^1 = R^4 = R^5 = H, R^2 = NO_2, R^3 = Cl$
สาร 14+15	:	(Z) $R^1 = R^3 = R^4 = H, R^2 = CH_3, R^5 = NH_2$ และ (Z) $R^1 = R^2 = R^4 = H, R^3 = CH_3, R^5 = NH_2$

สาร 1 (E)-3-(phenylimino)-1,3-dihydro-2H-indol-2-one<sup>7</sup>: ผลึกรูปเข็มสีเหลืองส้มแวววาว (28%),  $R_f$  0.44 (ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล 98:2),  $^1H$  NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) (รูปที่ 2)  $\delta_H$ (ppm): 11.01 (bs, 1H), 7.47 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.35 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.26 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 6.98 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 6.90 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.72 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.33 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H)

สาร 2 (E)-3-[(4-chlorophenyl)imino]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one<sup>13</sup>: ผลึกรูปเข็มสีเหลืองส้มแวววาว (19%),  $R_f$  0.49 (ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล 98:2),  $^1H$  NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) (รูปที่ 3)  $\delta_H$ (ppm): 10.99 (bs, 1H), 7.50 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.34 (t,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 7.01 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 6.88 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 6.75 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.41 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H)

สาร 3 (E)-3-[(4-fluorophenyl)imino]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one<sup>12</sup>: ผลึกรูปเข็มสีส้มแวววาว (66%),  $R_f$  0.51 (ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล 98:2),  $^1H$  NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) (รูปที่ 4)  $\delta_H$ (ppm): 10.99 (bs, 1H), 7.47 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.28 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.03 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 6.88 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.73 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.41 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H)

สารผสม 4+5 (E)- และ (Z)-1,3-dihydro-3-[(3-nitrophenyl)imino]-2H-indol-2-one<sup>15</sup> (2:1): ผงสีส้มดำ (59%),  $R_f$  0.56 (ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล 98:2),  $^1H$  NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) (รูปที่ 5) สำหรับ (E)-isomer  $\delta_H$ (ppm): 11.03 (bs, 1H), 8.11 (dd,  $J = 8.2, 1.3$  Hz, 1H), 7.86 (bs, 1H), 7.77 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.45 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.38 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 6.74 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.36 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H) สำหรับ (Z)-isomer

$\delta_{\text{H}}$  (ppm): 10.92 (bs, 1H), 8.29 (bs, 1H), 7.97 (dd,  $J = 8.2, 1.2$  Hz, 1H), 7.62 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.60 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.49 (t,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.10 (t,  $J = 5.3$  Hz, 1H), 7.07 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.90 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H)

สารผสม **6+7** (*E*- และ *Z*-3-[(2,5-dichlorophenyl)imino]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one<sup>7</sup> (2:1): ผงสีส้มดำ (18%),  $R_f$  0.63 (ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล 98:2), <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) (รูปที่ 6) (*E*-isomer  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 11.09 (bs, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.52 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.14 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.40 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.90 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.81 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.38 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H) สำหรับ *Z*-isomer  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 10.98 (bs, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.66 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.50 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.34 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.09 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.83 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H)

สารผสม **8+9** (*E*- และ *Z*-3-[(2,5-dichlorophenyl)imino]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one<sup>15</sup> (3:2): ผงสีส้มเข้มสีส้มดำ (22%),  $R_f$  0.61 (ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล 98:2), <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) (รูปที่ 7) สำหรับ *E*-isomer  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 11.10 (bs, 1H), 7.65 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.63 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.36 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.92 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.83 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.33 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H) สำหรับ *Z*-isomer  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 10.98 (bs, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.41 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.35 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.19 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.81 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H)

สารผสม **10+11** (*E*- และ *Z*-3-[(3,4-dichlorophenyl)imino]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one<sup>15</sup> (2:1): ผงสีน้ำตาลแวววาว (21%),  $R_f$  0.65 (ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล 98:2), <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) (รูปที่ 8) สำหรับ *E*-isomer  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 11.00 (bs, 1H), 7.69 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.36 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 6.89 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.78 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.44 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H) สำหรับ *Z*-isomer  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 10.91 (bs, 1H), 7.57 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.45 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.28 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 7.00 (m, 2H), 6.86 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H)

สารผสม **12+13** (*E*- และ *Z*-3-[(4-chloro-3-nitrophenyl)imino]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one<sup>15</sup> (1:1): ผงสีน้ำตาลแวววาว (23%),  $R_f$  0.69 (ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล 98:2), <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) (รูปที่ 9) สำหรับ *E*-isomer  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 11.05 (bs, 1H), 7.86 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.42 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.36 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.93 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.82 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 6.51 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H) สำหรับ *Z*-isomer  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 10.95 (bs, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.69 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.62 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.50 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.40 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.10 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 6.90 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H)

สารผสม **14+15** (*Z*)-3-[(2-amino-4-methylphenyl)imino]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one และ (*Z*)-3-[(2-amino-5-methylphenyl)imino]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one (1:1): ผงสีเหลืองน้ำตาลด้าน (28%)  $R_f$  0.74 (ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล 98:2),  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ) (รูปที่ 10) สำหรับ (*Z*)-3-[(2-amino-4-methylphenyl)imino]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 11.97 (bs, 1H), 8.26–8.36 (m, 2H), 8.12 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.58–7.70 (m, 2H), 7.54 (s, 2H), 7.34 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 2.57 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H) สำหรับ (*Z*)-3-[(2-amino-5-methylphenyl)imino]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 11.94 (bs, 1H), 8.26–8.36 (m, 1H), 8.10 (d,  $J = 0.6$  Hz, 1H), 7.95 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.58–7.70 (m, 2H), 7.56 (s, 2H), 7.34 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 2.57 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H)

## 2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

นำ Isatin Schiff's bases 15 ชนิดที่สังเคราะห์ได้ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *P. acnes* KCCM 41747, *S. aureus* ATCC 25923, *S. typhi* ATCC 422, *S. sobrinus* KCCM 11898 และ *S. mutans* ATCC 25175 ด้วยวิธี modified diffusion ของ Berghe และ Vlietinck<sup>16</sup> ในการทดสอบใช้ความเข้มข้นของแบคทีเรียประมาณ  $1.5 \times 10^6$  colony forming unit (cfu)/mL ตามค่ามาตรฐาน MacFarland turbidity standard เบอร์ 0.5 โดยเทวุ้นลงในจานเพาะเชื้อ ที่งไว้ให้แห้ง จากนั้นใช้ที่เจาะจุกยางปลอดเชื้อเจาะลงไปในวันเพื่อทำหลุมสำหรับใส่สาร นำไม้ที่พันด้วยสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงในแบคทีเรียที่ได้เพาะเลี้ยง ทาลงบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ ปิเปต Isatin Schiff's bases ที่มีความเข้มข้น 1 mM ปริมาณ 1 mL ใส่ในหลุม ปิเปตตัวทำละลายชนิดเดียวกันกับที่ใช้เตรียม Isatin Schiff's bases ลงในหลุมเพื่อเป็นชุดควบคุม (negative control) บ่มเพาะแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

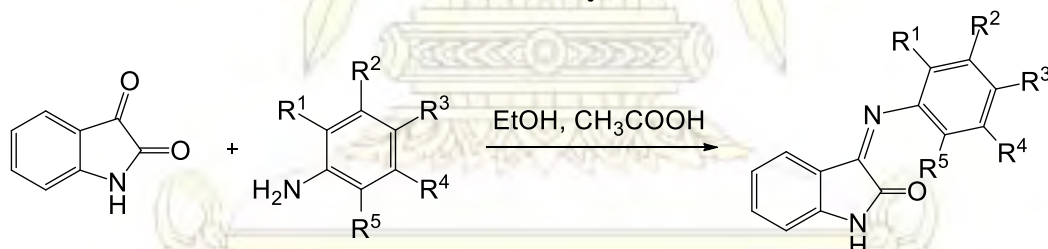
### บทที่ 3

#### ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของ Isatin Schiff's bases กับฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ได้สังเคราะห์ Isatin Schiff's bases 15 ชนิด โดยใช้ไอซาทินและแอมโรเมติกเอมีนที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ เป็นสารตั้งต้น ทำสารที่สังเคราะห์ได้ให้บริสุทธิ์ พิสูจน์เอกลักษณ์โดยใช้  $^1\text{H}$  NMR และนำไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *P. acnes* (แบคทีเรียที่ทำให้เกิดสิว), *S. aureus* (แบคทีเรียที่พบตามบาดแผลบนผิวหนังและทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ), *S. typhi* (แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคไข้รากสาดน้อย (typhoid)), *S. sobrinus* และ *S. mutans* (แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคฟันผุและคราบหินปูนในช่องปาก) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

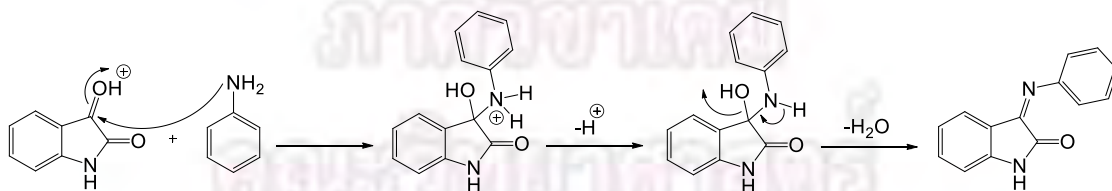
#### 3.1 การสังเคราะห์ Isatin Schiff's bases

สังเคราะห์ Isatin Schiff's bases โดยใช้ไอซาทินและแอมโรเมติกเอมีนที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ เป็นสารตั้งต้น ได้ผลิตภัณฑ์เป็น Isatin Schiff's bases ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 สมการแสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์ Isatin Schiff's bases

กลไกการเกิดปฏิกิริยาเกี่ยวข้องกับ nucleophilic attack ระหว่างไนโตรเจนของเอมีนกับคาร์บอนอะตอมของคาร์บอนิล ตามด้วยการกำจัดน้ำ ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของการเกิด Isatin Schiff's bases

ได้ผลิตภัณฑ์ของแข็งทั้งสิ้น 15 ชนิด มีลักษณะทางกายภาพ, โครงสร้าง, %yield และ  $R_f$  ดังตารางที่ 3.1 โดยพิจารณาเลือกชนิดของหมู่แทนที่จากคุณสมบัติการเป็นหมู่ให้และดึงอิเล็กตรอน รวมถึงพิจารณาอิทธิพลของหมู่แทนที่ในตำแหน่งที่แตกต่างกันด้วย

ตารางที่ 3.1 ลักษณะทางกายภาพ, โครงสร้าง, % yield และ  $R_f$  ของอิซาตินและ Isatin Schiff's bases

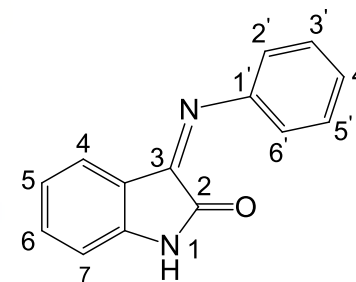
สาร	โครงสร้าง	ลักษณะทางกายภาพ	% yield	$R_f^*$
isatin		ผงสีส้มดำ	-	0.40
1 (E)		ผลึกรูปเข็มสีเหลืองส้ม แวววาว	28	0.44
2 (E)		ผลึกรูปเข็มสีเหลืองส้ม แวววาว	19	0.49
3 (E)		ผลึกรูปเข็มสีส้มแวววาว	66	0.51
4+5 (E)+(Z) (2:1)		ผงสีส้มดำ	59	0.56
6+7 (E)+(Z) (2:1)		ผงสีส้มดำ	18	0.63
8+9 (E)+(Z) (3:2)		ผลึกรูปเข็มสีส้มดำ	22	0.61
10+11 (E)+(Z) (2:1)		ผลึกรูปเข็มสีส้มแวววาว	21	0.65
12+13 (E)+(Z) (1:1)		ผงสีน้ำตาลแวววาว	23	0.69
14+15 (Z) (1:1)		ผงสีเหลืองน้ำตาลดำ	28	0.74

\*ระบบตัวทำละลาย: ไดคลอโรมีเทน/เมทานอล (98:2)



### 3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของอิซาตินและ Isatin Schiff's bases ที่สังเคราะห์ได้

ได้วิเคราะห์โครงสร้างของอิซาตินและ Isatin Schiff's bases ที่สังเคราะห์ได้โดยใช้  $^1\text{H}$  NMR สเปกโทรสโกปี พบว่ามีโครงสร้างเป็นทั้ง *E* ไอโซเมอร์, *Z* ไอโซเมอร์ และเป็นสารผสมของ *E/Z* ไอโซเมอร์ สำหรับสารผสมของ *E/Z* ไอโซเมอร์สังเกตจาก 2 สัญญาณเรโซแนนซ์จาก -NH ของอินโดลที่  $\delta_{\text{H}} \sim 10.95$  เป็นของ *Z* ไอโซเมอร์ และ  $\delta_{\text{H}} \sim 11.05$  เป็นของ *E* ไอโซเมอร์<sup>17</sup> อีกทั้งสัญญาณจาก H ในตำแหน่งที่ 4 ของ *E* ไอโซเมอร์ปรากฏสัญญาณต่ำกว่า ไอโซเมอร์ *Z*<sup>13</sup> สำหรับสาร 14+15 เนื่องจากกลุ่มแอมิโนของเอโรมาติกเอมีนสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอิซาตินได้ทั้ง 2 ตำแหน่ง จึงพบสัญญาณ singlet 2 ชุด ดังตารางที่ 3.2



รูปที่ 3.3 ระบุตำแหน่งโครงสร้างของ Isatin Schiff's bases

ตารางที่ 3.2 การกำหนดสัญญาณ  $^1\text{H}$  NMR ของอิซาตินและ Isatin Schiff's bases

สาร	ตำแหน่ง										หมายเหตุ
	1	4	5	6	7	2'	3'	4'	5'	6'	
isatin	11.04 (bs)	6.88 (d, $J = 7.9$ )	7.04 (t, $J = 7.5$ )	7.55 (t, $J = 7.7$ )	7.46 (d, $J = 7.5$ )	-	-	-	-	-	
1 ( <i>E</i> )	11.01 (bs)	6.33 (d, $J = 7.6$ )	6.72 (t, $J = 7.6$ )	7.26 (t, $J = 7.4$ )	6.90 (d, $J = 7.8$ )	6.98 (d, $J = 7.3$ )	7.47 (d, $J = 7.8$ )	7.26 (d, $J = 7.4$ )	7.47 (d, $J = 7.8$ )	6.98 (d, $J = 7.3$ )	
2 ( <i>E</i> )	10.99 (bs)	6.41 (d, $J = 7.6$ )	6.75 (t, $J = 7.7$ )	7.34 (t, $J = 8.9$ )	6.88 (d, $J = 7.9$ )	7.01 (d, $J = 8.5$ )	7.50 (d, $J = 8.5$ )	-	7.50 (d, $J = 8.5$ )	7.01 (d, $J = 8.5$ )	
3 ( <i>E</i> )	10.99 (bs)	6.41 (d, $J = 7.5$ )	6.73 (t, $J = 7.7$ )	7.28 (t, $J = 8.0$ )	6.88 (d, $J = 7.8$ )	7.03 (d, $J = 8.3$ )	7.47 (d, $J = 8.0$ )	-	7.47 (d, $J = 8.0$ )	7.03 (d, $J = 8.3$ )	
4 ( <i>E</i> )	11.03 (bs)	6.36 (d, $J = 8.4$ )	6.74 (t, $J = 7.7$ )	7.38 (t, $J = 7.7$ )	6.92 (d, $J = 8.2$ )	7.86 (s)	-	8.11 (dd, $J = 8.2, 1.3$ )	7.77 (t, $J = 8.1$ )	7.45 (d, $J = 7.9$ )	

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

สาร	ตำแหน่ง										หมายเหตุ
	1	4	5	6	7	2'	3'	4'	5'	6'	
5 (Z)	10.92 (bs)	6.90 (d, $J = 8.4$ )	7.10 (t, $J = 5.3$ )	7.49 (t, $J = 7.2$ )	7.60 (d, $J = 8.0$ )	8.29 (s)	-	7.97 (dd, $J = 8.2, 1.2$ )	7.62 (t, $J = 8.0$ )	7.07 (d, $J = 8.0$ )	
6 (E)	11.09 (bs)	6.38 (d, $J = 7.9$ )	6.81 (t, $J = 7.6$ )	7.40 (t, $J = 7.8$ )	6.90 (d, $J = 7.8$ )	-	7.78 (s)	-	7.52 (d, $J = 8.0$ )	7.14 (d, $J = 8.0$ )	
7 (Z)	10.98 (bs)	6.92 (d, $J = 7.7$ )	7.09 (t, $J = 7.7$ )	7.50 (t, $J = 7.5$ )	7.60 (t, $J = 7.5$ )	-	8.29 (s)	-	7.66 (d, $J = 8.0$ )	7.34 (d, $J = 8.0$ )	
8 (E)	11.10 (bs)	6.33 (d, $J = 7.9$ )	6.81 (t, $J = 7.6$ )	7.41 (t, $J = 7.8$ )	6.91 (d, $J = 7.8$ )	-	7.65 (d, $J = 7.8$ )	7.63 (d, $J = 7.4$ )	-	7.27 (s)	
9 (Z)	10.98 (bs)	6.81 (d, $J = 7.7$ )	7.10 (t, $J = 7.7$ )	7.50 (t, $J = 7.5$ )	7.63 (t, $J = 7.5$ )	-	7.35 (d, $J = 7.8$ )	7.33 (d, $J = 7.4$ )	-	8.28 (s)	
10 (E)	11.00 (bs)	6.44 (d, $J = 7.9$ )	6.78 (t, $J = 7.6$ )	7.36 (t, $J = 7.8$ )	6.89 (d, $J = 7.8$ )	7.53 (s)	-	-	7.34 (d, $J = 8.5$ )	7.32 (d, $J = 2.3$ )	
11 (Z)	10.91 (bs)	6.86 (d, $J = 7.7$ )	7.00 (m)	7.45 (t, $J = 7.5$ )	7.00 (m)	7.51 (s)	-	-	7.57 (d, $J = 7.4$ )	7.28 (d, $J = 2.3$ )	
12 (E)	11.05 (bs)	6.51 (d, $J = 7.6$ )	6.82 (t, $J = 7.5$ )	7.36 (t, $J = 8.0$ )	6.93 (d, $J = 8.0$ )	7.81 (s)	-	-	7.86 (d, $J = 8.4$ )	7.42 (d, $J = 7.6$ )	
13 (Z)	10.95 (bs)	6.90 (d, $J = 8.0$ )	7.10 (t, $J = 7.7$ )	7.50 (t, $J = 7.4$ )	7.62 (d, $J = 7.4$ )	7.75 (s)	-	-	7.69 (d, $J = 8.5$ )	7.40 (d, $J = 7.8$ )	
14 (Z)	11.94 (bs)	8.12 (d, $J = 1.7$ )	7.34 (t, $J = 7.6$ )	7.65 (m)	8.30 (m)	8.01 (s)	-	8.30 (m)	7.65 (m)	-	-CH <sub>3</sub> 2.57 (s) -NH <sub>2</sub> 7.56 (s)
15 (Z)	11.97 (bs)	8.12 (d, $J = 1.7$ )	7.34 (t, $J = 7.6$ )	7.65 (m)	8.30 (m)	7.95 (t, $J = 8.9$ )	7.65 (m)	-	7.83 (s)	-	-CH <sub>3</sub> 2.57 (s) -NH <sub>2</sub> 7.56 (s)

### 3.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของอิซาทีนและ Isatin Schiff's bases ที่สังเคราะห์ได้กับแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *P. acnes*, *S. aureus*, *S. typhi*, *S. sobrinus* และ *S. mutans* ด้วยวิธี modified diffusion โดยเตรียมอิซาทีนและ Isatin Schiff's bases ที่ความเข้มข้น 1.0 mM ใช้ชุดควบคุม (negative control) เป็นเอทานอล ทดสอบซ้ำทั้งหมด 2 ครั้ง ได้ผลการทดสอบวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ดังตารางที่ 3.3

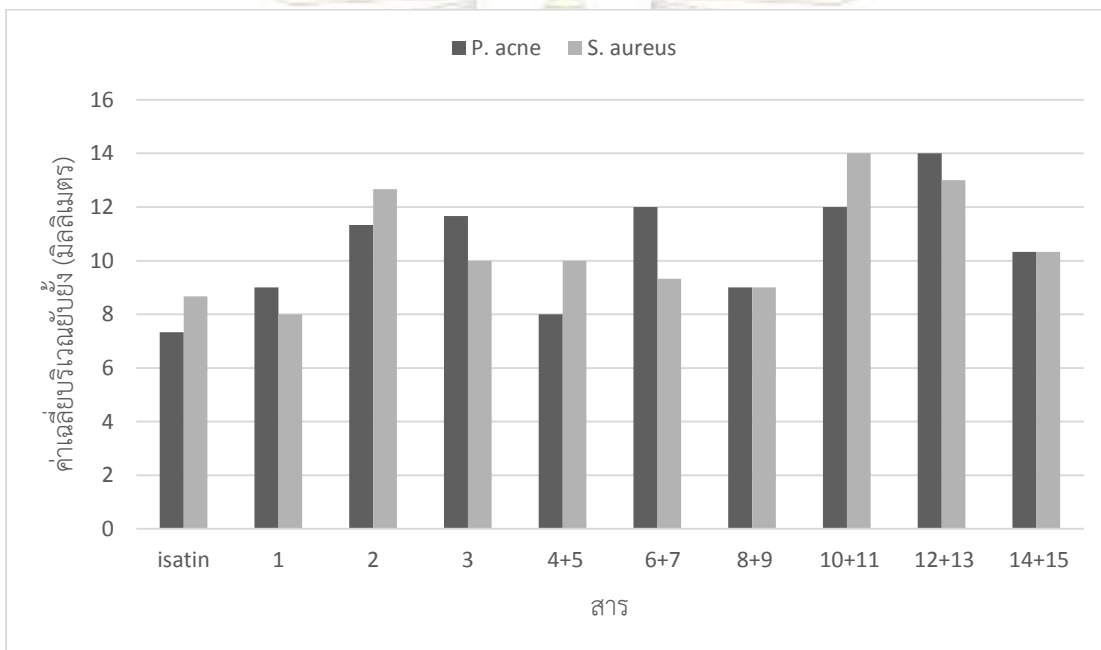
ตารางที่ 3.3 ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อแบคทีเรีย 5 ชนิดของอิซาทีนและ Isatin Schiff's bases

Compound (1 mM)	Inhibition zone average (mm) $\pm$ SD				
	<i>P. acnes</i> KCCM 41747	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. typhi</i> ATCC 422	<i>S. sobrinus</i> KCCM 11898	<i>S. mutans</i> ATCC 25175
isatin	7.33 $\pm$ 0.47	8.67 $\pm$ 0.47	11.33 $\pm$ 0.47	9.33 $\pm$ 0.47	9.67 $\pm$ 0.47
1	9.00 $\pm$ 0.00	8.00 $\pm$ 0.00	11.00 $\pm$ 0.00	8.00 $\pm$ 0.00	11.00 $\pm$ 0.00
2	11.33 $\pm$ 0.47	12.67 $\pm$ 0.94	13.00 $\pm$ 0.00	7.33 $\pm$ 0.47	15.67 $\pm$ 0.47
3	11.67 $\pm$ 0.47	10.00 $\pm$ 0.00	10.33 $\pm$ 0.47	12.33 $\pm$ 0.47	8.67 $\pm$ 0.94
4+5	8.00 $\pm$ 0.00	10.00 $\pm$ 0.00	10.00 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 0.00
6+7	12.00 $\pm$ 0.00	9.33 $\pm$ 0.47	11.00 $\pm$ 0.00	10.00 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 0.00
8+9	9.00 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 0.00	10.00 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 0.00	8.00 $\pm$ 0.00
10+11	12.00 $\pm$ 0.00	14.00 $\pm$ 0.00	12.33 $\pm$ 0.47	9.00 $\pm$ 0.47	15.00 $\pm$ 0.00
12+13	14.00 $\pm$ 0.00	13.00 $\pm$ 0.00	13.00 $\pm$ 0.00	10.00 $\pm$ 0.00	12.33 $\pm$ 0.00
14+15	10.33 $\pm$ 0.47	10.33 $\pm$ 0.94	10.00 $\pm$ 0.00	10.00 $\pm$ 0.00	11.00 $\pm$ 0.00

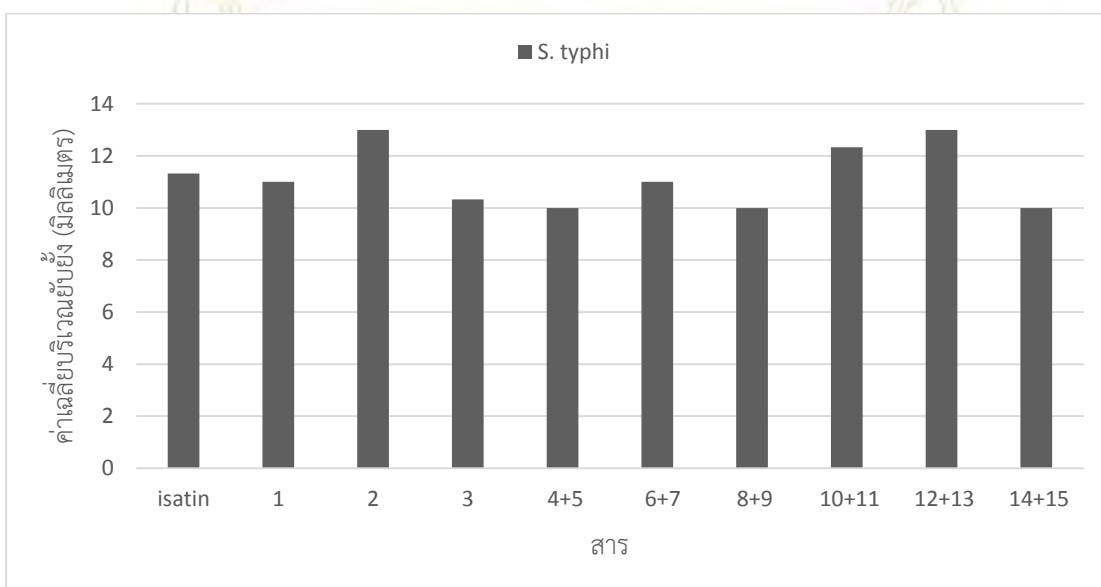
จากตารางค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อแบคทีเรีย 5 ชนิดของอิซาทีนและ Isatin Schiff's bases ที่สังเคราะห์ได้ 15 ชนิด (ตารางที่ 3.3) แบ่งการพิจารณาประเภทของแบคทีเรียที่ศึกษาออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1. แบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อผิวหนัง ได้แก่ *P. acnes* ซึ่งเป็นต้นเหตุของการเกิดสิว และ *S. aureus* ซึ่งพบได้ตามบาดแผลที่เป็นฝี หนอง
2. แบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้ ได้แก่ *S. typhi* ซึ่งทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ และโรคอาหารเป็นพิษ
3. แบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ในช่องปาก ได้แก่ *S. sobrinus* และ *S. mutans* ซึ่งทำให้เกิดโรคฟันผุและคราบหินปูนในช่องปาก

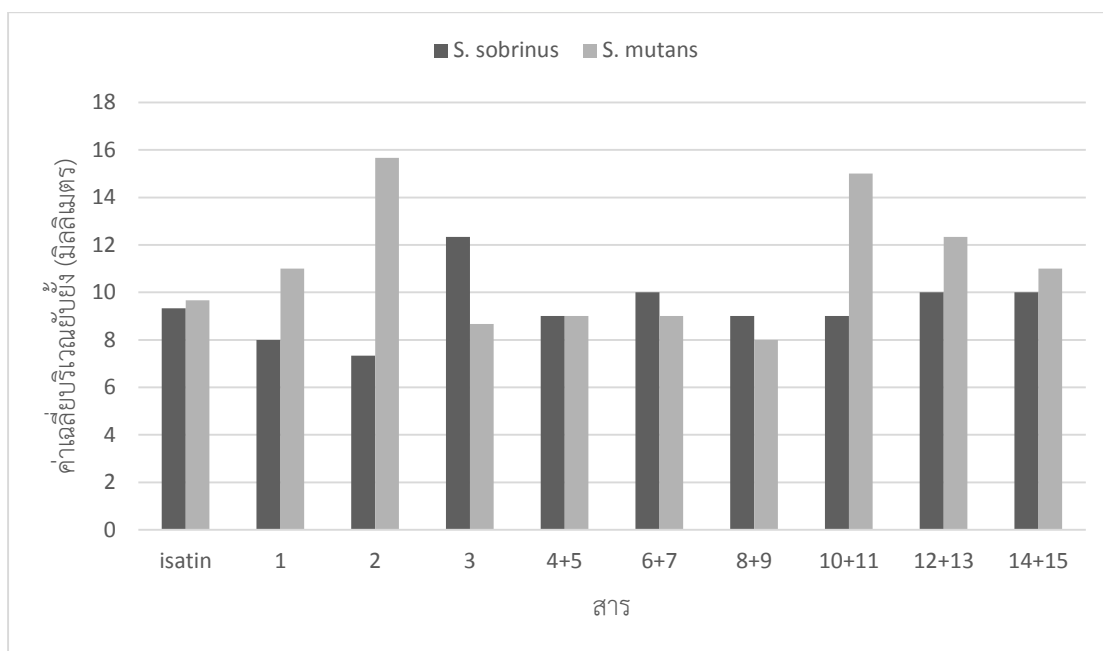
สามารถเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อแบคทีเรียแต่ละกลุ่ม ดังรูปที่ 3.4-3.6



รูปที่ 3.4 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อผิวหนัง



รูปที่ 3.5 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่อแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้



รูปที่ 3.6 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาตรยับยั้งต่อแบคทีเรียที่เรียกออกฤทธิ์ในช่องปาก

จากแผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาตรยับยั้งต่อแบคทีเรียทั้ง 3 กลุ่ม (รูปที่ 3.4-3.6) พบว่า Isatin Schiff's bases ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เรียกออกฤทธิ์ต่อผิวหนังได้ดี 3 อันดับแรก สำหรับ *P. acnes* คือ สาร 6+7, 10+11 และ 12+13 มีค่าเฉลี่ยปริมาตรยับยั้งในช่วง 12.00-14.00 มิลลิเมตร โดยสาร 12+13 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีที่สุด (14.00±0.00 มิลลิเมตร) สำหรับ *S. aureus* 3 อันดับแรกคือ สาร 2, 10+11 และ 12+13 มีค่าเฉลี่ยปริมาตรยับยั้งในช่วง 12.00-14.00 มิลลิเมตร โดยสาร 10+11 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีที่สุด (14.00±0.00 มิลลิเมตร)

Isatin Schiff's bases ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เรียกออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้ได้ดี 3 อันดับแรก สำหรับ *S. typhi* คือ สาร 2, 10+11 และ 12+13 มีค่าเฉลี่ยปริมาตรยับยั้งในช่วง 12.00-13.00 มิลลิเมตร โดยสาร 2 และ 12+13 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีที่สุด (13.00±0.00 มิลลิเมตร)

Isatin Schiff's bases ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เรียกออกฤทธิ์ในช่องปากได้ดี 3 อันดับแรก สำหรับ *S. sobrinus* คือ สาร 3, 6+7 และ 12+13 มีค่าเฉลี่ยปริมาตรยับยั้งในช่วง 10.00-13.00 มิลลิเมตร โดยสาร 3 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีที่สุด (12.33±0.47 มิลลิเมตร) สำหรับ *S. mutans* 3 อันดับแรกคือ สาร 2, 10+11 และ 12+13 โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาตรยับยั้งในช่วง 12.00-16.00 มิลลิเมตร โดยสาร 2 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีที่สุด (15.67±0.47 มิลลิเมตร)

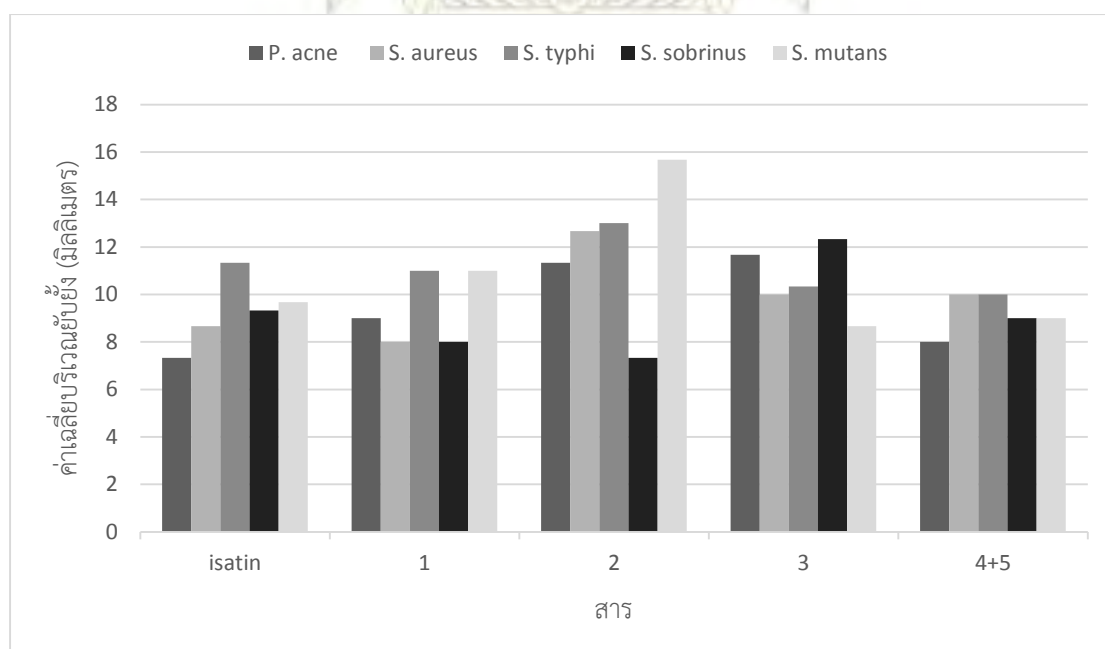
### 3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของ Isatin Schiff's bases และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดของอิซาตินและ Isatin Schiff's bases ที่สังเคราะห์ได้ 15 ชนิด (ตารางที่ 3.3) พบว่า Isatin Schiff's bases มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียมากกว่าอิซาติน โดยสามารถแบ่งการพิจารณาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียของ Isatin Schiff's bases ออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่แทนที่ 1 หมู่ที่ต่างกัน ได้แก่ สาร 1, 2, 3 มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง  $R^3$  เป็นไฮโดรเจน, คลอรีน และ ฟลูออรีน ตามลำดับ และสาร 4+5 มีไนโตรเป็นหมู่แทนที่ในตำแหน่ง  $R^2$

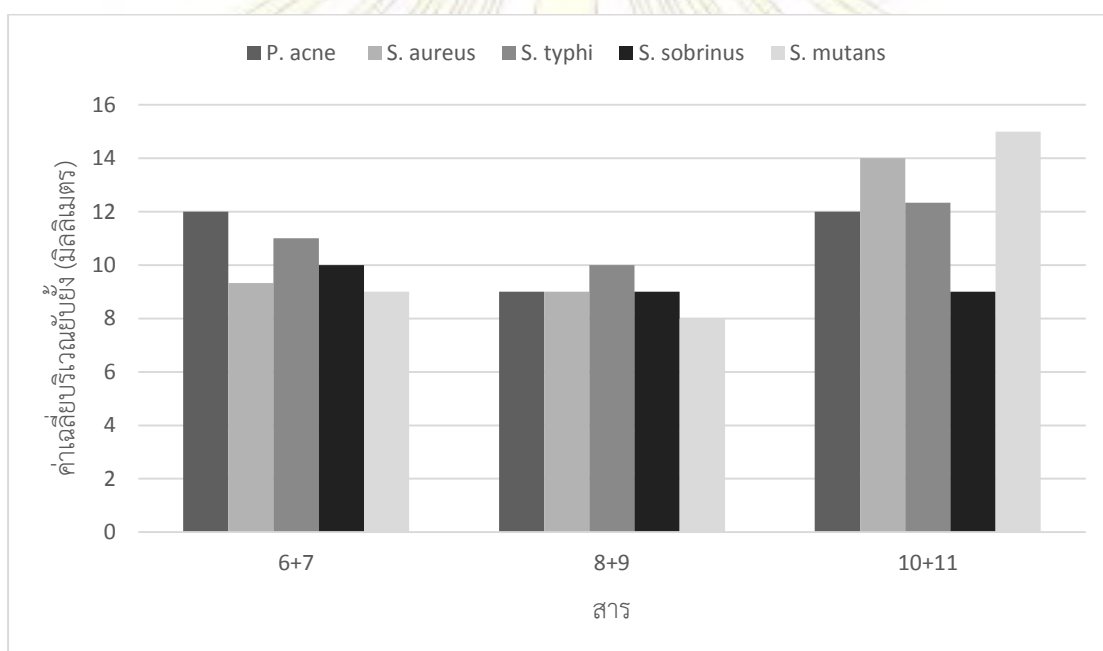
กลุ่มที่ 2 Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่แทนที่ 2 หมู่ที่เหมือนกัน ได้แก่ สาร 6+7, 8+9, 10+11 มีหมู่แทนที่เป็นคลอรีนที่ตำแหน่ง  $R^1$  และ  $R^3$ ,  $R^1$  และ  $R^4$ ,  $R^2$  และ  $R^3$  ตามลำดับ

กลุ่มที่ 3 Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่แทนที่ 2 ชนิดที่ต่างกัน ได้แก่ สาร 12+13 มีหมู่แทนที่เป็นไนโตรและคลอรีนในตำแหน่ง  $R^2$  และ  $R^3$  ตามลำดับ และสาร 14+15 มีหมู่แทนที่เป็นเมทิลและแอมิโนในตำแหน่ง  $R^2$ ,  $R^4$  และ  $R^2$ ,  $R^5$  ตามลำดับ



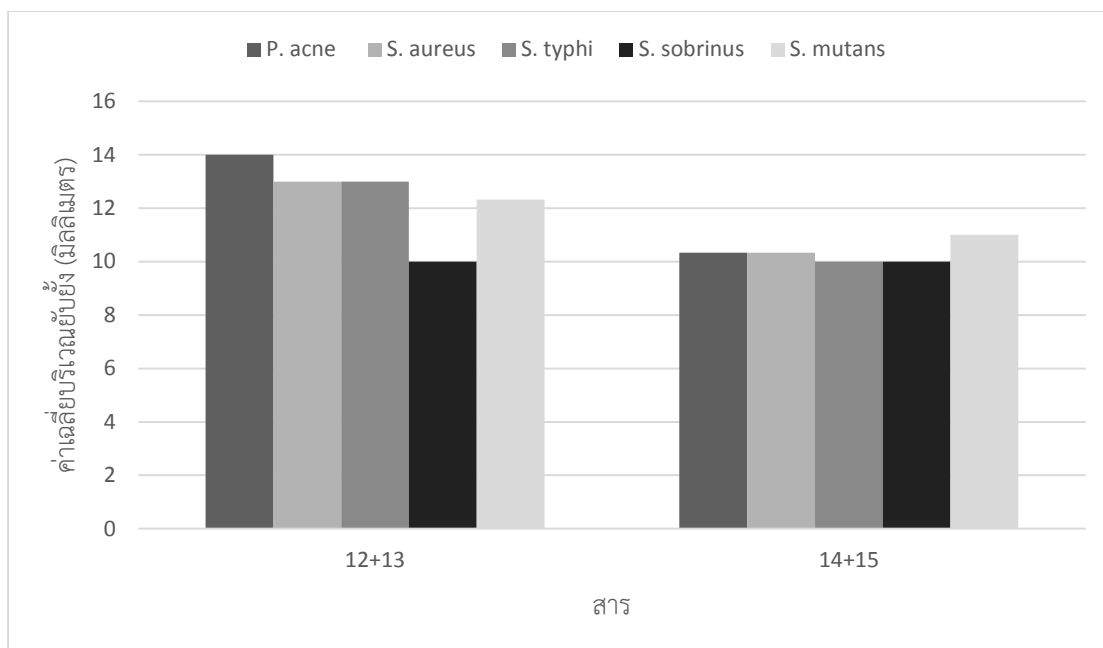
รูปที่ 3.7 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของ Isatin Schiff's bases กลุ่มที่ 1

เมื่อพิจารณาแผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของ Isatin Schiff's bases กลุ่มที่ 1 (รูปที่ 3.7) พบว่าสารที่มีหมู่แทนที่เป็นแฮโลเจน (สาร 2 และ 3) ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียส่วนใหญ่มากกว่าสารที่ไม่มีหมู่แทนที่ (สาร 1) และสารที่มีหมู่แทนที่เป็นไนโตร (สาร 4+5) โดยสาร 2 แสดงฤทธิ์ดีที่สุดกับ *S. mutans* สาร 3 แสดงฤทธิ์ดีที่สุดกับ *S. sobrinus* ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดต่างเป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่ออกฤทธิ์ในช่องปาก แต่สำหรับ *S. typhi* และ *S. mutans* พบว่าสาร 1 แสดงฤทธิ์ได้ดีกว่าสาร 3 และสำหรับ *S. sobrinus* สาร 1 แสดงฤทธิ์ได้ดีกว่าสาร 2 เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารในกลุ่มที่ 1 จะเห็นว่าสาร 1-3 มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง R<sup>3</sup> คือ ตำแหน่ง *para*- สาร 4+5 มีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง R<sup>2</sup> คือ ตำแหน่ง *meta*- เพราะฉะนั้นจึงคาดว่าสารที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่แฮโลเจนในตำแหน่ง *para*- จะแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดี



รูปที่ 3.8 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของ Isatin Schiff's bases กลุ่มที่ 2

เมื่อพิจารณาแผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของ Isatin Schiff's bases กลุ่มที่ 2 (รูปที่ 3.8) พบว่าหมู่แทนที่ในตำแหน่งที่ต่างกันให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ต่างกันด้วย สารที่มีคลอรีนในตำแหน่ง R<sup>3</sup> (สาร 6+7 และ 10+11) ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียมากกว่าสารที่ไม่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่งนี้ (สาร 8+9) โดยสาร 6+7 แสดงฤทธิ์ดีที่สุดกับ *P. acnes* และสาร 10+11 แสดงฤทธิ์ดีที่สุดกับ *S. mutans* เมื่อพิจารณาโครงสร้างจะเห็นได้ว่าสาร 6+7 มีคลอรีนในตำแหน่ง R<sup>1</sup> และ R<sup>3</sup> คือ ตำแหน่ง *ortho*- และ *para*- ตามลำดับ และสาร 10+11 มีคลอรีนในตำแหน่ง R<sup>2</sup> และ R<sup>3</sup> คือ ตำแหน่ง *meta*- และ *para*- ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าทั้งสาร 6+7 และ 10+11 ต่างมีคลอรีนในตำแหน่ง *para*- เช่นเดียวกัน เพราะฉะนั้นจึงสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ Isatin Schiff's bases ในกลุ่มที่ 1 ที่ว่าสารที่มีหมู่แทนที่เป็นแฮโลเจนในตำแหน่ง *para*- จะแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดี



รูปที่ 3.9 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของ Isatin Schiff's bases กลุ่มที่ 3

เมื่อพิจารณาแผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของ Isatin Schiff's bases กลุ่มที่ 3 (รูปที่ 3.9) สำหรับสาร 12+13 ซึ่งมีคลอรีนที่ตำแหน่ง  $R^3$  และเปลี่ยนหมู่แทนที่ในตำแหน่ง  $R^2$  เป็นไนโตร พบว่ายังคงได้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ดี โดยแสดงฤทธิ์ดีที่สุดกับ *P. acnes* และสำหรับสาร 14+15 ซึ่งมีหมู่แทนที่นอกเหนือจากหมู่แฮโลเจนและหมู่นิโตร พบว่าให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ใกล้เคียงกับสารในกลุ่มที่ 1 แต่ยังต่ำกว่าสารที่มีหมู่แทนที่เป็นแฮโลเจนในตำแหน่ง  $R^3$  เล็กน้อย เพราะฉะนั้นจึงสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ Isatin Schiff's bases ในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 แสดงว่าสารที่มีหมู่แทนที่เป็นแฮโลเจนในตำแหน่ง *para*- แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดี

จากการพิจารณาข้างต้นจึงวิเคราะห์ได้ว่า Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่แทนที่เป็นแฮโลเจน โดยเฉพาะคลอรีน ซึ่งเป็นหมู่ตั้งอิเล็กตรอน แต่เมื่อเป็นหมู่แทนที่ในตำแหน่ง  $R^1$  และ  $R^3$  หรือ *ortho*- และ *para*- ตามลำดับ จะเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอนมากกว่าเมื่ออยู่ในตำแหน่ง  $R^2$  หรือ *meta*- ซึ่งแตกต่างจากหมู่นิโตรที่เป็นหมู่ตั้งอิเล็กตรอนที่มากในทุกตำแหน่ง ดังนั้น Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ให้อิเล็กตรอนจะแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีกว่า Isatin Schiff's bases ที่ไม่มีหมู่แทนที่และ Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่ตั้งอิเล็กตรอน ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Panda ในปี 2013<sup>12</sup> รายงานว่า Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่แทนที่เป็นแฮโลเจนโดยเฉพาะคลอรีนในตำแหน่ง *para*- แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญ โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีกว่า Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่แทนที่ชนิดอื่นๆ และในตำแหน่ง *ortho*- และ *meta*- ตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ให้อิเล็กตรอนอาจนำไปสู่การใช้ประโยชน์สำหรับการพัฒนายาต้านจุลชีพต่อไปในอนาคต



## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

#### 4.1 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองสังเคราะห์ Isatin Schiff's bases ผ่านปฏิกิริยาควบแน่นระหว่างอิซาตินกับแอโรเมติกเอมีนที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ ได้ผลิตภัณฑ์ทั้งสิ้น 15 ชนิด ทำ Isatin Schiff's bases ที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกด้วยเอทานอลและซิลิกาเจลคอลัมน์ ได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตอยู่ในช่วงร้อยละ 18-72 พิสูจน์เอกลักษณ์โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H}$  NMR และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *P. acnes*, *S. aureus*, *S. typhi*, *S. sobrinus* และ *S. mutans* ด้วยวิธี modified diffusion ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย พบว่า Isatin Schiff's bases ที่มีหมู่แทนที่เป็นคลอรีนในตำแหน่ง *para*- มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดี และ Isatin Schiff's bases ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. acnes*, *S. aureus*, *S. typhi*, *S. sobrinus* และ *S. mutans* ได้ดีที่สุดคือ สาร 12+13, 10+11, 12+13, 3 และ 2 ตามลำดับ

#### 4.2 งานวิจัยในอนาคต

การสังเคราะห์ Isatin Schiff's bases ควรมีการทดลองเปลี่ยนชนิดและตำแหน่งของหมู่แทนที่ ให้มีความหลากหลายมากขึ้น และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกับสารมาตรฐานที่ใช้ในปัจจุบันเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ และการทดลองที่ครอบคลุมการศึกษาภาวะของปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ที่อาจจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์มากขึ้น ใช้เวลาน้อยลง

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## เอกสารอ้างอิง

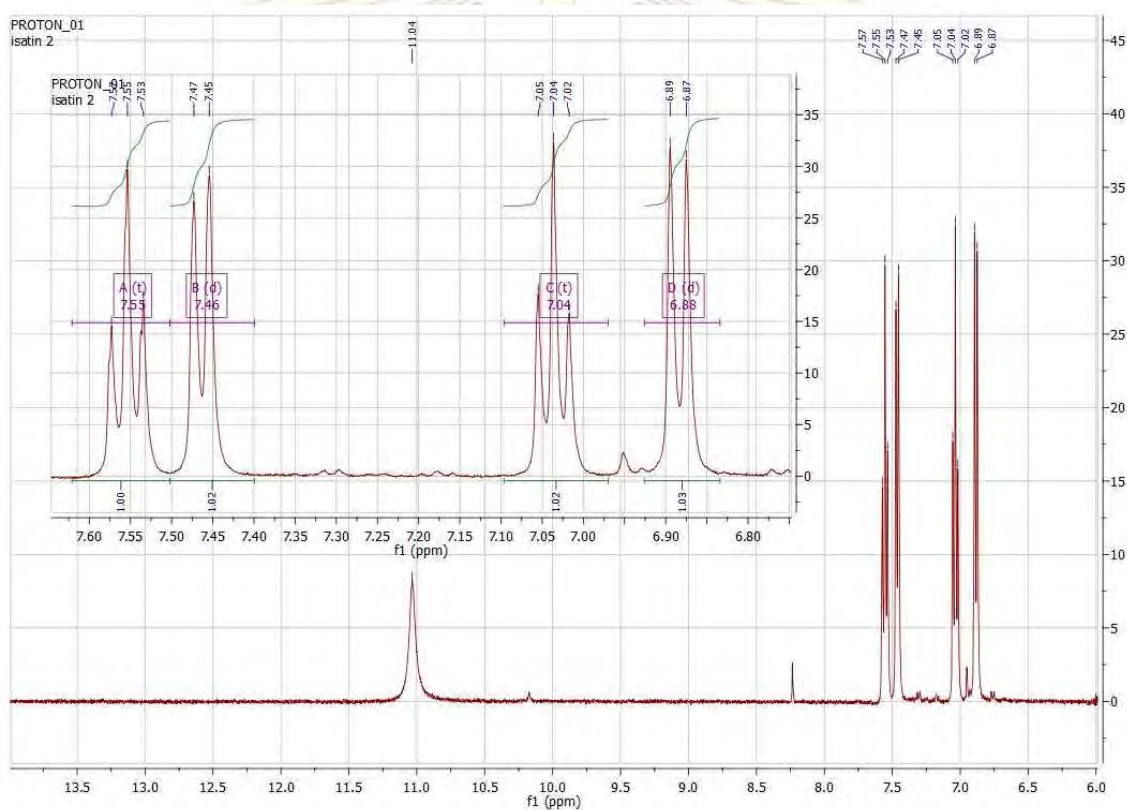
1. Koca, M.; Servi, S.; Kirilmis, C.; Ahmedzade, M.; Kazaz, C.; Ozbek, B.; Otuk, G. Synthesis and antimicrobial activity of some novel derivatives of benzofuran: part 1. Synthesis and antimicrobial activity of (benzofuran-2-yl)(3-phenyl-3-methylcyclobutyl) ketoxime derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1351–1358.
2. หาหมอ.com แหล่งรวมข้อมูลสุขภาพ โรงพยาบาล และแพทย์. 2013. โรคติดเชื้อ ภาวะติดเชื้อ (Infectious disease). (ออนไลน์). แหล่งที่มา: <http://haamor.com/th/%E0%B8%A0%E0%B8%B2%E0%B8%A7%E0%B8%B0%E0%B8%95%E0%B8%B4%E0%B8%94%E0%B9%80%E0%B8%8A%E0%B8%B7%E0%B9%89%E0%B8%AD/>. (วันที่ค้นข้อมูล: 19 มกราคม 2559)
3. World Health Organization. 2014. WHO's first global report on antibiotic resistance reveals serious, worldwide threat to public health. (ออนไลน์). แหล่งที่มา: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/en/>. (วันที่ค้นข้อมูล: 19 มกราคม 2559)
4. The guardian. 2014. Antibiotics are losing effectiveness in every country, says WHO. (ออนไลน์). แหล่งที่มา: <http://www.theguardian.com/society/2014/apr/30/antibiotics-losing-effectiveness-country-who>. (วันที่ค้นข้อมูล: 19 มกราคม 2559)
5. Sonawane, R.P.; Tripathi, R.R. The chemistry and synthesis of 1*H*-indole-2,3-dione (Isatin) and its derivatives. *Int. Lett. Chem. Phys. Ast.* **2013**, *7*, 30-36.
6. Da-Silva, J.F.M.; Garden, S.J.; Pinto, A.C. The chemistry of isatins: a review from 1975 to 1999. *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, *12*, 273-324.
7. Al-kadhimi, A.A.H.; Al-azzawi, N.K.E.; Khalaf, A.I. Facile synthesis of Schiff and Mannich bases of isatin derivatives. *J. Chem. Bio. Phy. Sci. Sec. A.* **2015**, *5*, 2338-2349.
8. Bekircan, O.; Bektas, H. Synthesis of Schiff and Mannich bases of isatin derivatives with 4-amino-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazole-5-ones. *Molecules.* **2008**, *13*, 2126–2135.
9. Verma, M.; Pandeya, S.N.; Singh, K.N.; Stables, J.P. Anticonvulsant activity of Schiff bases of isatin derivatives. *Acta. Pharm.* **2004**, *54*, 49–56.

10. Chalubaraju, K.C.; Zaranappa. Synthesis and biological evaluation of some isatin derivatives for antimicrobial properties. *Res. J. Pharm. Bio. Chem. Sci.* **2011**, *2*, 541.
11. Prakash, C.R.; Raja, S. Synthesis, characterization and *in vitro* antimicrobial activity of some novel 5-substituted Schiff and Mannich base of isatin derivatives. *J. S. Chem. Soc.* **2013**, *17*, 337-3
12. Panda, J. Synthesis and biological evaluation of some isatin-based Mannich bases. *Int. J. Pharm. Sci. Nanotech.* **2013**, *5*, 1841-1846.
13. Kurt, Z.K.; Aydin, D.; Isgor, Y.G.; Isgor, B.S.; Olgen, S. Synthesis and biological study of novel indole-3-imine-2-one derivatives as Src kinase and glutathione S-transferase inhibitors. *Lett. Drug. Design Disc.* **2013**, *10*, 19-26.
14. Tehrani, K.H.M.E.; Hashemi, M.; Hassan, M.; Kobarfard, F.; Mohebbi, S. Synthesis and antibacterial activity of Schiff bases of 5-substituted isatins. *Chin. Chem. Lett.* **2016**, *27*, 221-225.
15. Khan, K.M.; Mughal, U.R.; Samreen.; Perveen, S.; Choudhary, M.I. Schiff bases of isatin: potential anti-leishmanial agents. *Lett. Drug. Design Disc.* **2008**, *5*, 243-249.
16. Berghe, D.A.V.; Vlietinck, A.J. Screening methods for antimicrobial and antiviral agents from higher plants. In: Dey PM, Horbone JB (Eds) *Methods in plant biochemistry*. Academic Press Inc. **1991**, *6*, 47-69.
17. Ikotun, A.A.; Egharevba, G.O.; Obafemi, C.A.; Owoseni, A.O. Ring deactivating effect on antimicrobial activities of metal complexes of the Schiff bases of *p*-nitroaniline and isatin. *J. Chem. Pharm. Res.* **2012**, *4*, 416-422.

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

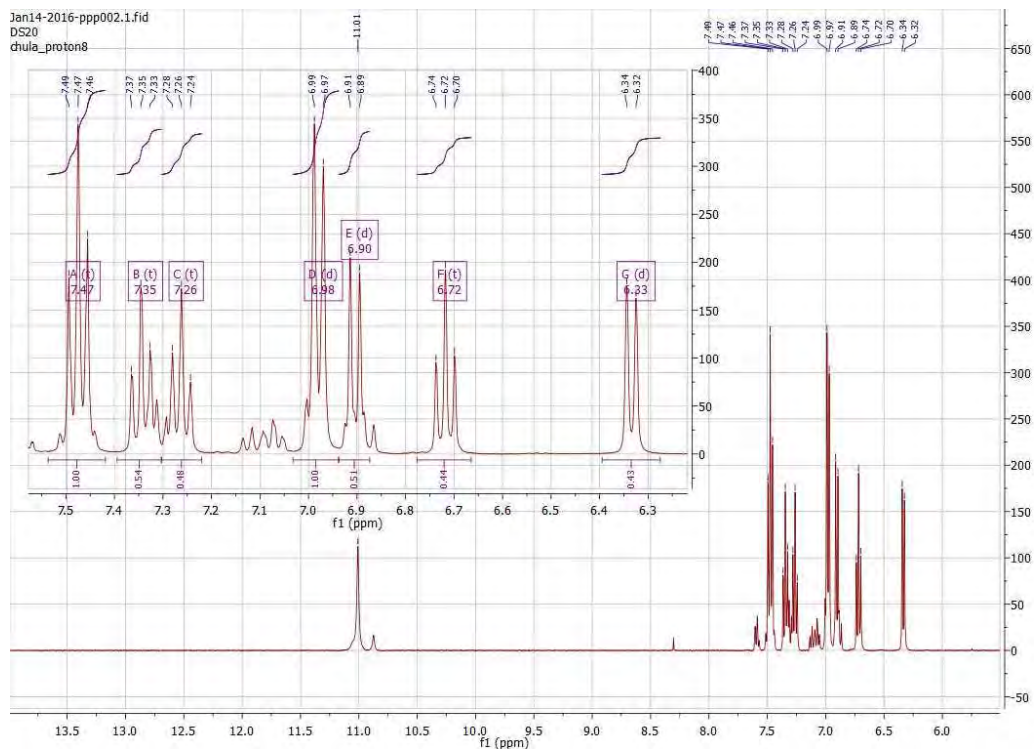
## ภาคผนวก

รูปแสดง  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของอิซาตินและอนุพันธ์อิซาตินที่สังเคราะห์ได้

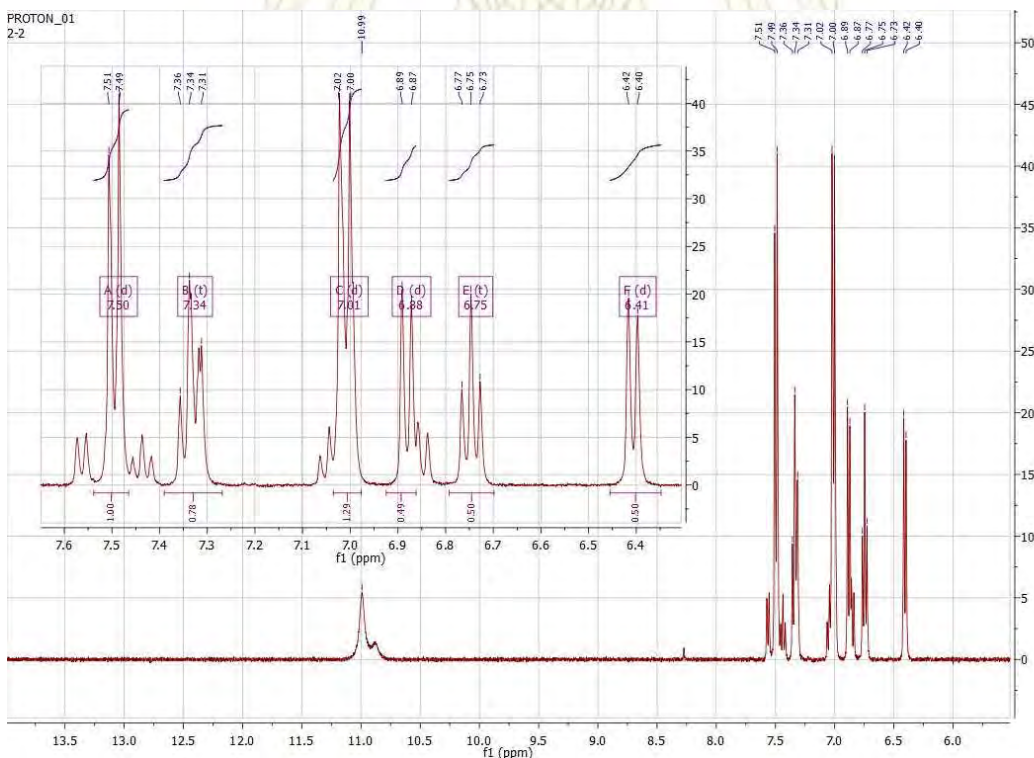


รูปที่ 1  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของอิซาติน 1H-indole-2,3-dione

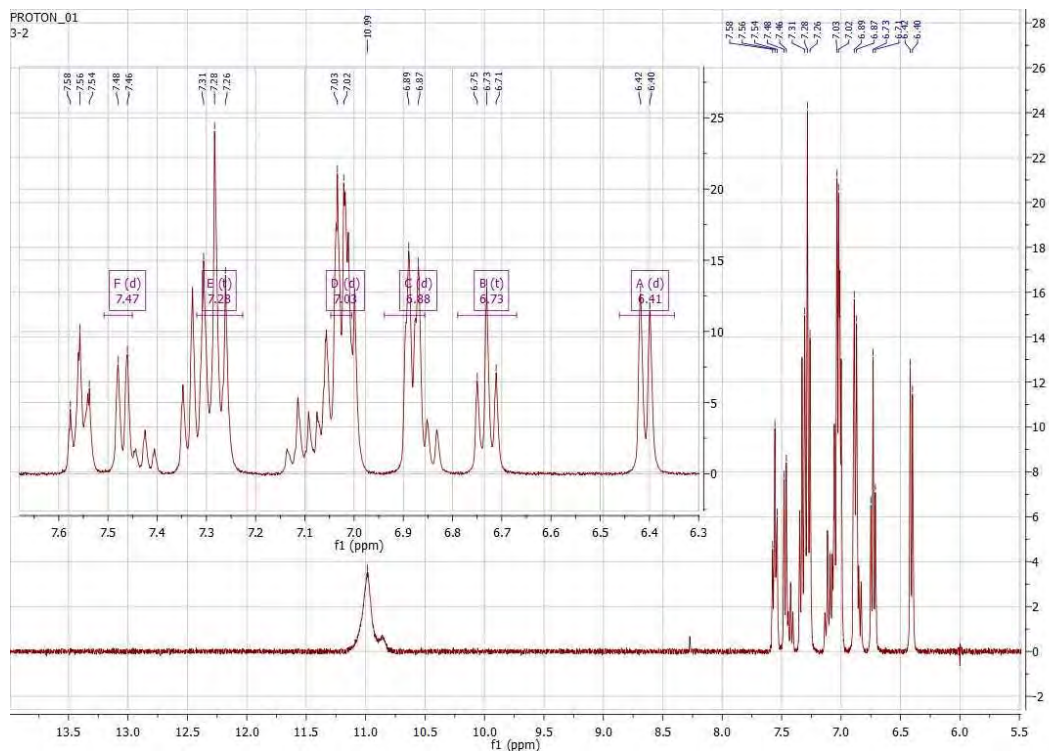
ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



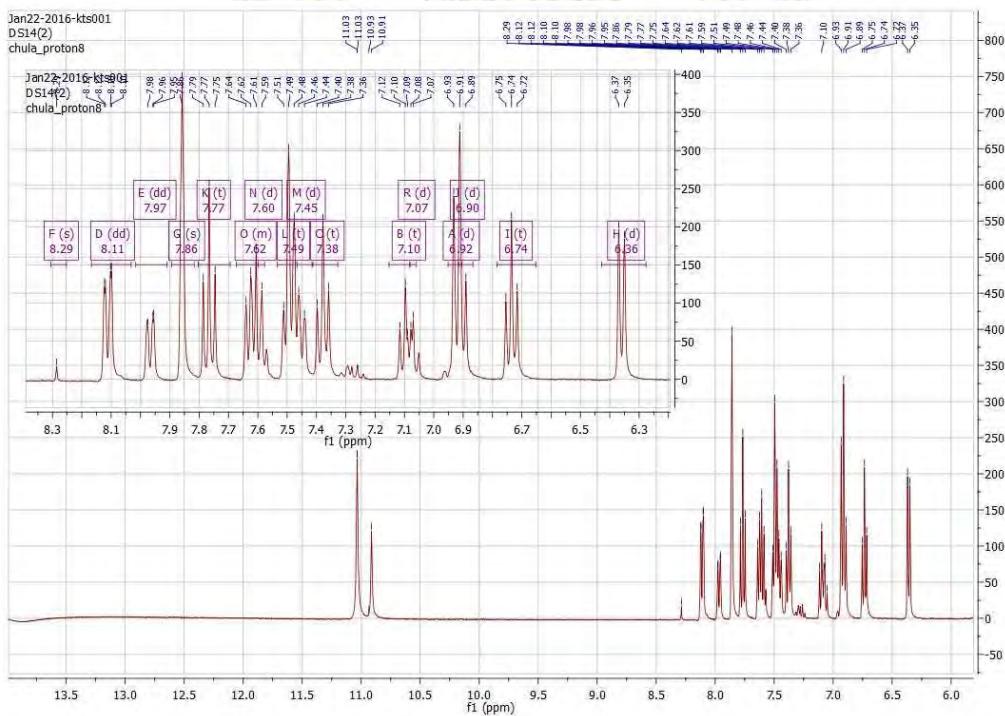
รูปที่ 2  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของสาร 1



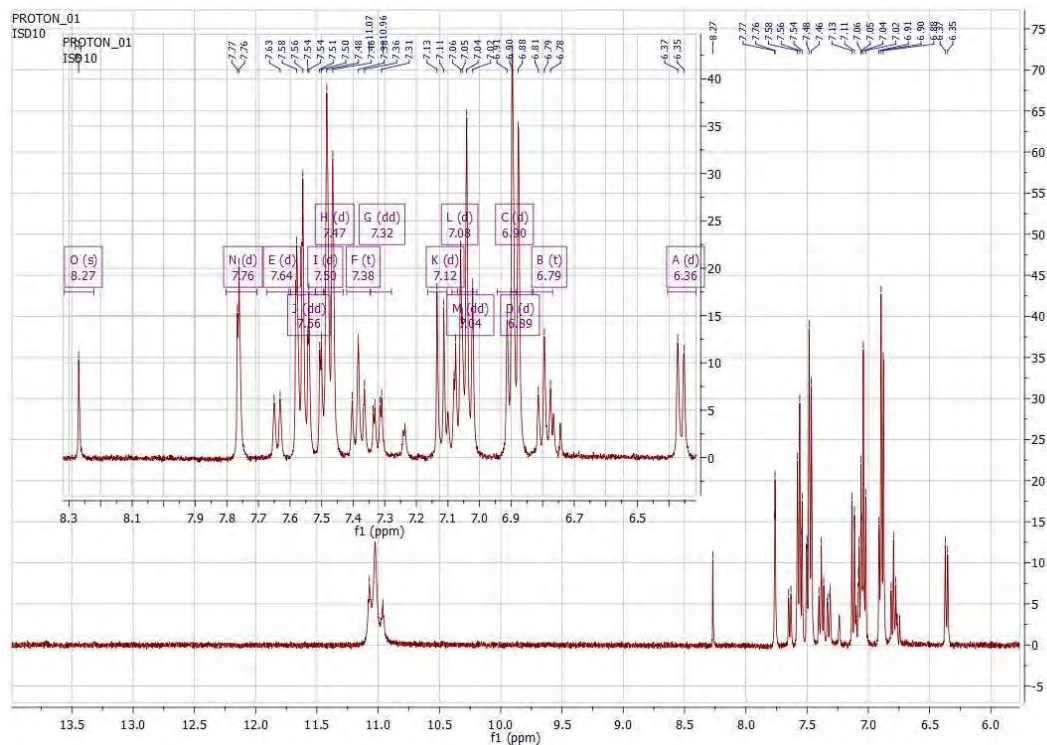
รูปที่ 3  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของสาร 2



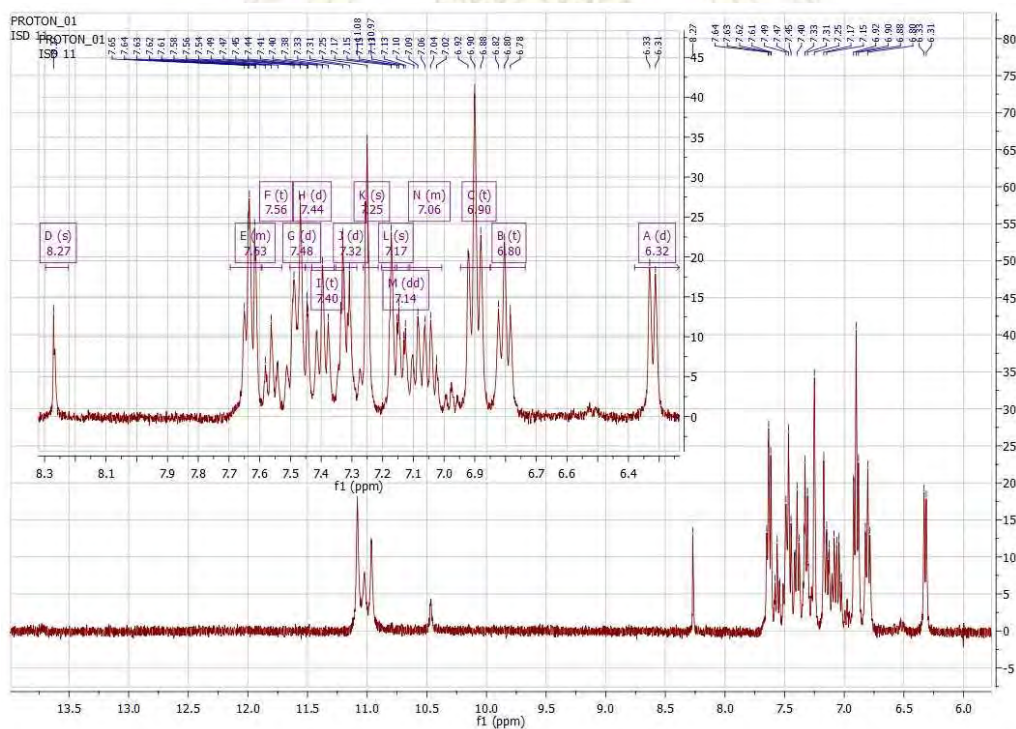
รูปที่ 4 <sup>1</sup>H-NMR สเปกตรัมของสาร 3



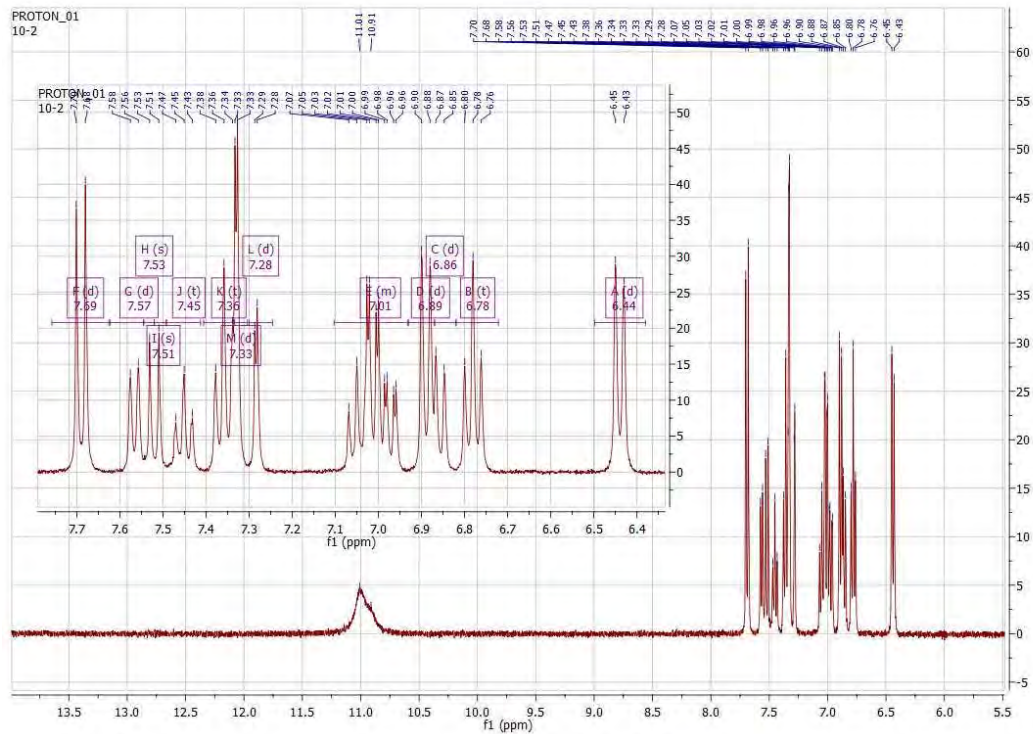
รูปที่ 5 <sup>1</sup>H-NMR สเปกตรัมของสาร 4+5



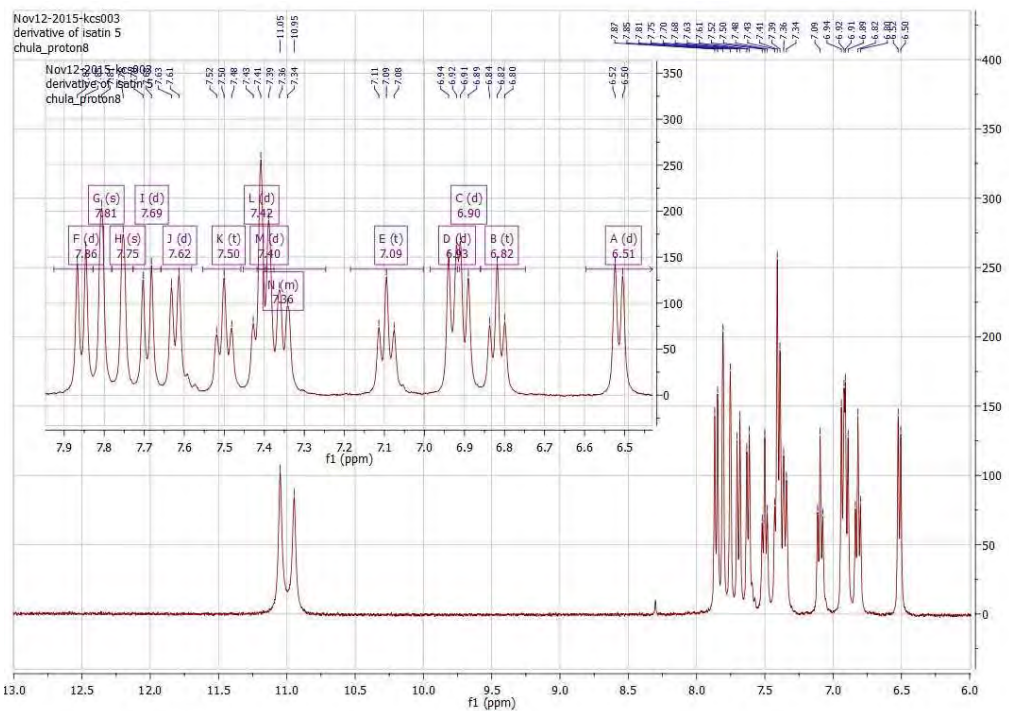
รูปที่ 6  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของสาร 6+7



รูปที่ 7  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของสาร 8+9

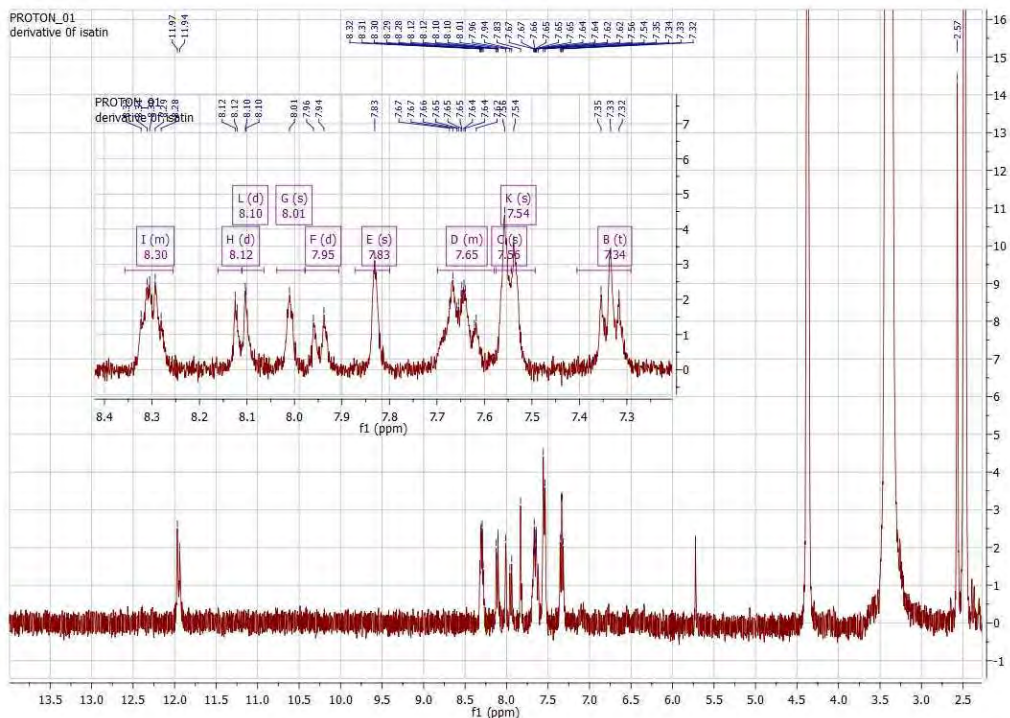


รูปที่ 8  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของสาร 10+11



รูปที่ 9  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของสาร 12+13





รูปที่ 10  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของสาร 14+15

ภาควิชาเคมี  
 คณะวิทยาศาสตร์  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวชัชชา ศรีจันทร์กุล เกิดเมื่อวันที่ 19 สิงหาคม พ.ศ.2536 ที่จังหวัดแพร่ สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนนารีรัตน์จังหวัดแพร่ จังหวัดแพร่ เมื่อปีการศึกษา 2554 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2555 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 139 หมู่ที่ 4 ตำบลพระหลวง อำเภอสองเม่น จังหวัดแพร่ รหัสไปรษณีย์ 54130 อีเมล Chat\_61\_33@hotmail.com



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย