สัญญาเลขที่ R2560C165

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การสังเคราะห์ การวิเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II)กับสารประกอบชิฟฟ์เบสและอะซิซัลเฟม-เค และการศึกษาปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล

ดร.บุษบา บุญเซ่ง

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

2562
QD
181
.N6
บ675ร
2560

สนับสนุนโดย งบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยนเรศวร

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	ช
Executive summary	ซ
Abstract	ฌ
บทคัดย่อ	ฌ
เนื้อหางานวิจัย	
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 สมมุติฐานงานวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 การประยุกต์ใช้สารประกอบเชิงซ้อนในการรักษาโรคมะเร็ง	4
2.2 การทดสอบเซลล์และความเป็นพิษของสารต่อเซลล์ในภาพรวม	6
2.3 การใช้สารประกอบ Schiff base ในการหาปริมาณของโลหะหนัก	7
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	8
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้	8
1) การสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อน	8
2) การทดสอบประสิทธิภาพของสารประกอบเชิงซ้อนกับสารชีวโมเลกุล	8
3) การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำ	8
3.2 สารเคมีที่ใช้	8
1) การสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อน	8
2) การทดสอบประสิทธิภาพของสารประกอบเชิงซ้อนกับสารชีวโมเลกุล	9

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
	3) การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำ	9
3.3	วิธีการทดลอง	10
	1) การสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base	10
	2) การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน	10
	3) การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (A549 cell) ด้วยวิธี MTT assay	12
	4) การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำ	13
บทที่ 4	**ผลการวิจัยและอภิปรายผล**	14
4.1	การวิเคราะห์โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อน	14
	1) การศึกษาโครงสร้างด้วยเทคนิค FT-IR	14
	2) การศึกษาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค UV-Vis Spectrophotometry	16
	3) การศึกษาโครงสร้างด้วยเทคนิค NMR Spectroscopy	17
	4) การหาน้ำหนักของสารด้วยเทคนิค mass spectrometry	18
	5) การศึกษาโครงสร้างด้วยเทคนิค single crystal X-ray crystallography	18
4.2	การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (A549 cell) ด้วยวิธี MTT assay	22
4.3	การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำ	23
	4.3.1 การหาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำด้วยลิแกนด์ HqsalBr	23
	4.3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาโลหะสังกะสี(II)	23
	1. การศึกษาผลของ pH	24
	2. การศึกษาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา	24
	3. การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลาย	24
	4.3.3 การศึกษาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำตัวอย่างด้วย HqsaBr	26

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	27
5.1 สรุปผลการวิจัย	27
บรรณานุกรม	28
ภาคผนวก	30

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ข้อมูลจากการวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค FT-IR ของสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II)	15
2	ข้อมูลจากการวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค FT-IR ของสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน (I) และลิแกนด์ผสม	15
3	ลักษณะทางกายภาพ ค่าสัมประสิทธิ์ในการดูดกลืนแสงและค่าคงที่ความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อน	17
4	ความยาวพันธะ มุมพันธะและมุมไดฮีดรัลในสารประกอบเชิงซ้อน [Ni(qsalBr_2)$_2$] (3)	20
5	ความยาวพันธะ มุมพันธะและมุมไดฮีดรัลในสารประกอบเชิงซ้อน [Ag(ace)(PPh_3)] (6)	21
6	ค่า IC_{50} แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (A549 cell) ของสารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้น	22
7	สภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการศึกษาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำ	26
8	ผลการศึกษาปริมาณโลหะสังกะสี(II) ในน้ำตัวอย่าง	26

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบชิฟฟ์เบส (Schiff base)	1
2	โครงสร้างของอะซิซัลเฟม-เค (acesulfame-K)	2
3	โครงสร้างของ ซิสพลาติน cis-$[PtCl_2(NH_3)_2]$ (cis-DDP หรือ cisplatin) และ คาร์บอพลาติน (carboplatin)	4
4	การสร้างพันธะระหว่าง cisplatin และ DNA	5
5	โครงสร้างสารเชิงซ้อนของ Co(II) และ Mn(II) กับลิแกนด์ 5-chloro-quinolin-8-ol	5
6	โครงสร้างของ MTT และกลไกการทำงานของ MTT assay	7
7	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base	10
8	ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II)	11
9	สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค (ace) และสารประกอบไตรฟีนิลฟอสฟีน (PPh_3) ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน	12
10	ผลการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของลิแกนด์ HqsalBr, $HqsalBr_2$ และสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II)และสังกะสี(II)	16
11	โครงสร้างแบบ Ellipsoid ของสารประกอบเชิงซ้อนของ $[Ni(qsalBr_2)_2]$ **(3)** และ $[Zn(qsalBr_2)_2]$ **(4)** ที่ระดับความเป็นไปได้ 50%; ไม่แสดงตำแหน่งของอะตอมไฮโดรเจน เพื่อความชัดเจนของโครงสร้าง	19
12	โครงสร้างแบบ Ellipsoid ของสารประกอบเชิงซ้อนของ $[Ag(ace)(PPh_3)]$ **(6)** และ $[Ag(PPh_3)_4](ace)$ **(8)** ที่ระดับความเป็นไปได้ 50%; ไม่แสดงตำแหน่งของอะตอมไฮโดรเจน เพื่อความชัดเจนของโครงสร้าง	21
13	สเปกตรัมการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบ HqsalBr (1×10^{-3} mol/L) กับโลหะชนิดต่างๆ (100 mg/L) ที่ pH 3.0	23

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
14	การศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของ Zn(II)-HqsalBr เทียบกับเวลา	24
15	การศึกษาค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับปริมาณของตัวทำละลาย (% v/v)	25

Executive summary

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปฏิกิริยาของสารประกอบเชิงซ้อนและสารชีวโมเลกุล โดยจุดเริ่มต้นของงานวิจัย มีแนวคิดที่จะนำโลหะนิกเกิล(II) ซึ่งเป็นโลหะที่อยู่ในหมู่เดียวกับโลหะแพลทินัม(II) ที่ถูกนำมาใช้เป็นยาต้านมะเร็งในปัจจุบันนี้ อย่างไรก็ตาม Pt(II) ยังมีข้อเสียในเรื่องของความเป็นพิษ (toxicity) และมีราคาที่ค่อนข้างสูง ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการทดสอบโลหะทรานซิชันในแถวที่ 1 (1^{st} row transition) โดยคาดว่าสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และแพลทินัม(II) น่าจะมีประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลได้ใกล้เคียงกัน ในส่วนของลิแกนด์ ทางผู้วิจัยมีความสนในลิแกนด์ชิฟฟ์เบส (Schiff base) เนื่องจากเป็นสารประกอบที่สามารถสังเคราะห์ได้ง่ายและสามารถปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันบนโครงสร้างให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ของงานที่จะศึกษาได้ นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังมีความสนใจในการนำสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค (acesuslfame-K) ซึ่งเป็นสารให้ความหวานประเภทหนึ่งที่นิยมใช้ในปัจจุบัน และยังไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายในปริมาณความเข้มข้นต่ำอีกด้วย ดังนั้นจึงเป็นที่มาของงานวิจัยในหัวข้อการสังเคราะห์ การวิเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) กับสารประกอบชิฟฟ์เบสและอะซิซัลเฟม-เค และการศึกษาปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล อย่างไรก็ตาม หลังจากเริ่มต้นงานวิจัยในช่วงแรก คือ การสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base แล้ว ประกอบกับข้อมูลจากการทบทวนวรรณกรรม พบว่า สารประกอบ Schiff base สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้ดีกับโลหะทรานซิชันหลายชนิด ดังนั้น สารประกอบ Schiff base ที่ได้สังเคราะห์ขึ้น จึงถูกนำไปศึกษาการหาปริมาณของโลหะหนักในน้ำด้วยเทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมทรี (UV-Vis Spectrophotometry) จากผลการศึกษา พบว่าสารประกอบ Schiff base ที่สังเคราะห์ขึ้นมีประสิทธิภาพที่ดีกับการศึกษาหาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำ ซึ่งผลงานวิจัยได้ถูกนำเสนอแบบโปสเตอร์และตีพิมพ์ใน proceedings จากงานประชุมวิชาการนานาชาติ PACCON 2017

สำหรับการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบเชิงซ้อนกับสารชีวโมเลกุล พบว่า สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโลหะนิกเกิล(II) และสารประกอบ Schiff base ได้แก่ $[Ni(qsalBr)_2]$ และ $[Ni(qsalBr_2)_2]$ ไม่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด A549 ได้ แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่ไม่ดีในการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล ส่วนการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) กับลิแกนด์ผสม จากการวิเคราะห์โครงสร้างพบว่ายังไม่ได้โครงสร้างตามที่ต้องการ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเปลี่ยนแผนที่วางไว้จากโลหะนิกเกิล(II) มาเป็นสารประกอบของโลหะสังกะสี(II) และโลหะเงิน(I) เนื่องจากผลของงานวิจัยที่พบว่าสารประกอบ Schiff base สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้ดีกับโลหะสังกะสี(II) ประกอบข้อมูลจากการทบทวนวรรณกรรมซึ่งพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) สามารถเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลได้ดีและยังมีความเป็นพิษต่อ

ร่างกายที่น้อย ดังนั้น ผู้วิจัยจึงทำการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโลหะสังกะสี(II) และสารประกอบ Schiff base รวมถึงสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) และสารประกอบอะซิซัลเฟม และเมื่อนำสารไปทดสอบการยับยั้งเซลล์มะเร็งพบว่า สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโลหะสังกะสี(II) กับสารประกอบ Schiff base นั้น ก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ไม่ดีเช่นเดียวกันกับโลหะนิกเกิล(II) อย่างไรก็ตาม สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) และสารประกอบอะซิซัลเฟมที่สังเคราะห์ขึ้นนั้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ดี จากนั้นผู้วิจัยจึงได้ต่อยอดงานโดยการนำสารประกอบไตรฟีนิลฟอสฟีน (triphenylphosphine, PPh_3) เข้ามาเป็นลิแกนด์ผสมกับสารประกอบอะซิซัลเฟมในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน โดยผลการศึกษาพบว่าลิแกนด์ผสมให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ดีกว่าการใช้ลิแกนด์เพียงชนิดเดียว

ดังนั้นจากผลงานวิจัยจึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้โลหะนิกเกิล(II) และสังกะสี(II) ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ Schiff base ยังไม่มีประสิทธิภาพที่ดีเพียงพอในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้ดำเนินการเขียนผลงานสำหรับการตีพิมพ์ในส่วนนี้ด้วย เนื่องจากสารประกอบเชิงซ้อนทั้งหมดที่สังเคราะห์ขึ้นเป็นสารชนิดใหม่ยังไม่เคยมีการตีพิมพ์มาก่อน รวมถึงมีข้อมูลจากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค X-ray crystallography ที่ใช้ในการการยืนยันโครงสร้างที่แท้จริง แต่ยังต้องการข้อมูลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Thermal Gravimetric Analysis (TGA) ซึ่งผลที่ได้ ยังมีคุณภาพที่ไม่ดีเพียงพอสำหรับการตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติได้ ซึ่งคาดว่าจะได้ข้อมูลและสามารถเขียนผลงานที่สมบูรณ์สำหรับการตีพิมพ์ได้ในเดือน ต.ค. 2561

สำหรับผลงานการสังเคราะห์ วิเคราะห์ สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟมและไตรฟีนิลฟอสฟีน และการศึกษาการยับยั้งเซลล์มะร็งปอด A549 ก็ได้ถูกนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์และตีพิมพ์ใน proceedings ในงานประชุมวิชาการนานาชาติ PACCON 2018 เรียบร้อยแล้ว

นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโลหะนิกเกิล(II) กับสารประกอบอะซิซัลเฟมเพียงอย่างเดียวสำหรับการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง เพื่อจะได้หาข้อสรุปได้ว่าการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจาก ชนิดของโลหะ, ชนิดของลิแกนด์, อัตราส่วนของลิแกนด์ผสมหรือโครงสร่างของสารประกอบเชิงซ้อน โดยงานวิจัยนี้ได้ดำเนินการมาแล้วประมาณ 60% และมีเป้าหมายจะตีพิมพ์ใน Naresuan University Journal: Science and Technology (NUJST) ภายในปี 2561

Abstract

Nickel(II) and zinc(II) complexes with Schiff bases compounds of 5-bromo-*N*-(8-quinolyl)salicylaldimine (HqsalBr) and 3,5-dibromo-*N*-(8-quinolyl)salicylaldimine ($HqsalBr_2$) were synthesized and characterized by FT-IR, NMR, MS and single crystal X-ray crystallography. However, the synthesis of nickel(II) complex with the mixed ligands of Schiff base and acesulfame (ace) was unsuccessful. This is according to the feasibility in forming chelate ring by such tridentate character of Schiff base compound that hinder the interaction between metal centre and ace compound. Then, the project has moved to the synthesis of silver(I) complexes incorporated with the mixed ligands of ace and triphenylphosphine (PPh_3) in different ratio. Thereafter, all the synthesized complexed were investigated in their biological reactivity with A549 cancer cells and activities were evaluated by IC50 method. The results indicated that Ni(II) and Zn(II) with Schiff base complexes could not inhibit the growth of cancer cells, however; the mixed ligands between ace and PPh_3 of Ag(I) complexes could perform more excellent inhibition of biomolecular growing in comparison to the using of only ace or PPh_3 ligand.

บทคัดย่อ

สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II)และโลหะสังกะสี(II) กับสารประกอบชิฟฟ์เบสของ 5-bromo-*N*-(8-quinolyl)salicylaldimine (HqsalBr) and 3 ,5-dibromo-*N*-(8-quinolyl)salicylaldimine ($HqsalBr_2$) ได้ถูกสังเคราะห์และวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค FT-IR, NMR, MS และ single crystal X-ray crystallography แต่สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบชิฟฟ์เบสและสารประกอบอะซิซัลเฟมนั้นไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากลักษณะ tridentate ของลิแกนด์ชิฟฟ์เบสทำให้เกิดโครงสร้างแบบ chelate ส่งผลให้โมเลกุลของสารประกอบอะซิซัลเฟมมาสามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาได้ ดังนั้นงานวิจัยจึงได้ต่อยอดไปที่การศึกษาสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I)กับลิแกนด์ผสมของสารประกอบอะซิซัลเฟมและสารประกอบไตรฟีนิลฟอสฟีน (PPh_3) จากนั้นสารประกอบเชิงซ้อนทั้งหมดที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น ได้ถูกนำไปศึกษาปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอด (A549) ผลการทดลองพบว่า สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II)และโลหะสังกะสี(II) ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอดได้ ในขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโดของเซลล์นี้ได้ นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าการใช้ลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟมและสารประกอบ PPh_3 ในสารประกอบเชิงซ้อนนั้นให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าการใช้ลิแกนด์เพียงชนิดเดียวอีกด้วย

เนื้อหางานวิจัย

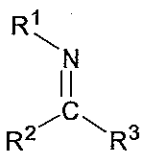
บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

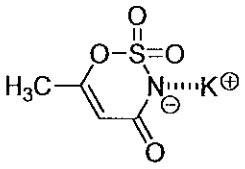
การศึกษาสารอนินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับด้านชีวเคมีอนินทรีย์ (Inorganic Biochemistry) เป็นงานที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในยุคปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การนำสารประกอบเชิงซ้อนมาศึกษากลไลหรือปฏิกิริยาทางชีวภาพ เช่น การใช้เป็นยาปฏิชีวนะ การศึกษาปฏิกิริยาการยับยั้งการเกิดเนื้องอก ตลอดจนการใช้เป็นยาต้านมะเร็ง [2] และการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างสารเชิงซ้อนกับ DNA นับว่าเป็นกลไกสำคัญที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพทางด้านชีวภาพของสารเชิงซ้อน เนื่องจาก DNA สามารถสร้างพันธะกับโลหะทรานซิชัน โดยใช้ส่วนที่เป็นไอออนลบของฟอสเฟตในโครงสร้างหลัก (anionic phosphate back bone) หรือโมเลกุลเบส รวมถึงร่องขนาดใหญ่และร่องขนาดเล็ก (major and minor grooves) ของโครงสร้าง DNA ในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี[3] เพราะฉะนั้นการออกแบบและสังเคราะห์สารเชิงซ้อนชนิดใหม่ขึ้นมา โดยใช้สารประกอบที่มีลักษณะตามคุณสมบัติของการผลิตยาต้านมะเร็งมาใช้เป็นลิแกนด์ น่าจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยาของสารเชิงซ้อนกับ DNA ได้มากขึ้น รวมถึงจะช่วยลดผลข้างเคียงที่เกิดจากการใช้สารเชิงซ้อน ที่เคยเป็นปัญหาสำหรับงานวิจัยที่ผ่านมาด้วย

ชิฟฟ์เบส เป็นสารประกอบที่ได้รับบความสนใจเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะการศึกษาสารประกอบโคออร์ดิเนชันของลิแกนด์ชนิดนี้ เนื่องจากชิฟฟ์เบสเป็นลิแกนด์ที่สามารถสังเคราะห์ได้ง่าย มีเสถียรภาพสูง มีจำนวนของอะตอมผู้ให้ได้หลายตัว และสามารถปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันให้เหมาะสมกับแต่ละปฏิกิริยาได้[4] โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบชิฟเบสดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบชิฟฟ์เบส (Schiff base)

อะซิซัลเฟม-เค (acesulfame-K) เป็นสารให้ความหวานชนิดหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย อยู่ในลักษณะของโครงสร้างที่มีประจุลบดังแสดงในภาพที่ 2 อะซิซัลเฟม-เค เป็นสารที่มีความเป็นพิษต่ำ การมีสารประกอบชนิดนี้ในโครงสร้างของสารเชิงซ้อน พบว่าสามารถช่วยลดความเป็นพิษของสารประกอบเชิงซ้อนที่จะมีต่อร่างกายของมนุษย์ได้อีกด้วย [1]



ภาพที่ 2 โครงสร้างของอะซิซัลเฟม-เค (acesulfame-K)

สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเป็นตัวเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ โดยสารประกอบเชิงซ้อนกลุ่มแรกที่นำมาใช้กันอย่างแพร่หลายคือ *cis*-diamminedichloroplatinum(II) ซึ่งเป็นที่รู้จักกันในชื่อว่า ซิสพลาติน (cisplatin) [5] เพื่อใช้เป็นยาต้านมะเร็ง อย่างไรก็ตามการใช้ยาซิสพลาตินและอนุพันธ์มีข้อจำกัดเกี่ยวกับผลข้างเคียงและการดื้อยาของเซลล์มะเร็งดังนั้น จึงได้มีความพยายามอย่างมากที่จะศึกษาและพัฒนาสารประกอบเชิงซ้อนโลหะทรานซิชันตัวใหม่ๆ ด้วยเหตุนี้การพัฒนาสารเชิงซ้อนจึงเป็นไปอย่างรวดเร็วเพื่อให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพ ในการรักษาและลดผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย ดังนั้น เพื่อให้สารประกอบเชิงซ้อนมีคุณสมบัติที่ดีขึ้น หลายกลุ่มวิจัยจึงมีความสนใจในการเปลี่ยนปัจจัยต่างๆดังต่อไปนี้

1) เพิ่มตำแหน่งของพันธะโคออร์ดิเนตในสารประกอบเชิงซ้อน และสามารถเปลี่ยนรูปร่างของสารประกอบเชิงซ้อน
2) เปลี่ยนแปลงการเข้าแทนที่ของลิแกนด์
3) เปลี่ยนภาวะออกซิเดชัน
4) การเปลี่ยนแปลงปัจจัยและสภาวะที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจการสังเคราะห์และศึกษาการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารประกอบเชิงซ้อนของสารประกอบชิฟฟ์เบส (Schiff Base) ซึ่งถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์และยา รวมถึงการนำสารประกอบอะซิซัลเฟม-เคมาเป็นลิแกนด์ร่วม โดยโลหะที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ โลหะนิกเกิล(II) สังกะสี(II) และเงิน(I) และจากประสิทธิภาพของสารประกอบชิฟเบสและสารประกอบอะซิซัลเฟม ในการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล จึงมีความเป็นไปได้ที่สร้างประกอบเชิงซ้อนชนิดใหม่ จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างพันธะกับสารชีวโมเลกุลและมีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่จะทำการทดสอบในระดับต่ำกว่าสารเชิงซ้อนจากงานวิจัยที่ผ่านมา

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

2. เพื่อทำการสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อนของสารประกอบ Schiff base กับโลหะนิกเกิล(II) และสังกะสี(II)
3. เพื่อทำการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบ Schiff base และสารประกอบอะซิชัลเฟม-เค (ace)
4. เพื่อทำการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิชัลเฟม-เคและสารประกอบไตรฟีนิลฟอสฟีน (PPh_3)
5. วิเคราะห์โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นด้วยเทคนิค FT-IR, NMR, MS และ single crystal X-ray crystallography
6. ศึกษาปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบเชองซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นกับสารชีวโมเลกุลผ่านการศึกษาการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (A549 cell)

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะโดยใช้ลิแกนด์ผสม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล รวมถึงลดความเป็นพิษที่จะมีต่อเซลล์ที่ทดสอบ โดยงานวิจัยนี้เริ่มจากการใช้โลหะนิกเกิล(II) เนื่องจากเป็นโลหะที่อยู่ในหมู่เดียวกับโลหะแพลทินัมซึ่งถูกใช้เป็นยาต้านมะเร็งไนปัจจุบัน จากนั้นงานวิจัยได้ถูกต่อยอดไปที่การสังเคราะห์สารประกอบสารเชิงซ้อนของโลหะสังกะสี(II)และเงิน(I) เมื่อทำการวิเคราะห์เพื่อยืนยันโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้น สารประกอบเชิงซ้อนจะถูกนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลผ่านการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอด (A549 cell)

1.4 สมมุติฐานงานวิจัย

1. สามารถสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) สังกะสี(II) และเงิน(I) กับสารประกอบ Sciff base และลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบ Schiff base และสารประกอบอะซิชัลเฟม-เคได้
2. สารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลโดยการศึกษาปฏิกิริยาผ่านประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอดได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

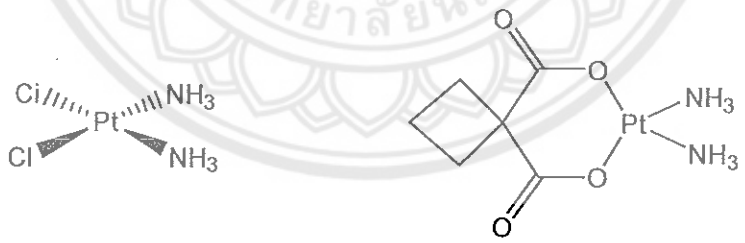
1. ทราบโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนทุกชนิดที่สังเคราะห์ขึ้น
2. ทราบว่าสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอดหรือไม่

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม (Literature Review)

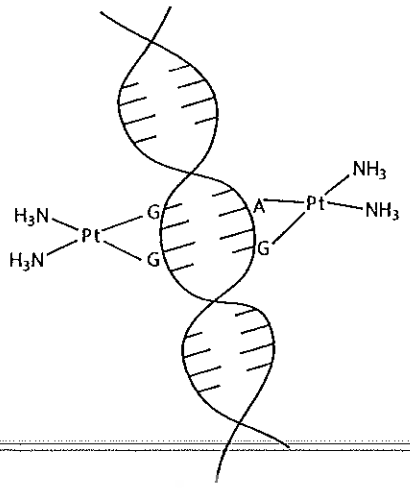
2.1 การประยุกต์ใช้สารประกอบเชิงซ้อนในการรักษาโรคมะเร็ง

การนำโลหะมาใช้เป็นยา เริ่มเป็นที่สนใจมากขึ้นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1965 เมื่อ Rosenberg และคณะ ได้ค้นพบการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์เซลล์แบคทีเรีย *Escherichia coli* โดยการเจริญเติบโตของเซลล์ยังคงดำเนินต่อไป แต่การแบ่งตัวของเซลล์หยุดชะงักลง ซึ่งสารที่นำมาใช้คือสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะแพลทินัม คือ *cis*-diammineedichloroplatinum(II) หรือซิสพลาติน (cisplatin) [5] (ภาพที่ 3) หลังจากนั้นได้มีการศึกษาและพบว่าซิสพลาตินมีฤทธิ์ต้านมะเร็งและได้ถูกนำมาใช้ทางคลินิกในปัจจุบัน หลักการที่ทำให้สารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง คือ สารประกอบเชิงซ้อนสามารถทำปฏิกิริยากับ DNA โดยการสร้างพันธะกับส่วนที่เป็นโมเลกุลเบสของ DNA เกิดเป็นโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 4 (เมื่อ G คือ เบสกวานีน (guanine) และ A คือ เบสอะดีนีน (adenine) ตามลำดับ) ซึ่งเป็นการซ่อมแซมส่วนที่เชื่อมต่อกันระหว่างสายของ DNA ภายในโมเลกุลเดียวกัน (intrastrand cross link) กระบวนการนี้จะเข้าไปยับยั้งการเติบโตของมะเร็งและเซลล์เนื้องอกได้ [6] อย่างไรก็ตามการใช้สารประกอบเชิงซ้อนชนิดนี้ก็ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของผลข้างเคียงที่ตามมา ซึ่งในงานวิจัยต่อมาก็ได้มีการดัดแปลงชนิดของลิแกนด์ รวมถึงการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนที่มีโลหะอะตอมกลางมากกว่า 1 ตัว เพื่อปรับปรุงคุณภาพของยาต้านมะเร็งให้ดียิ่งขึ้น [7]



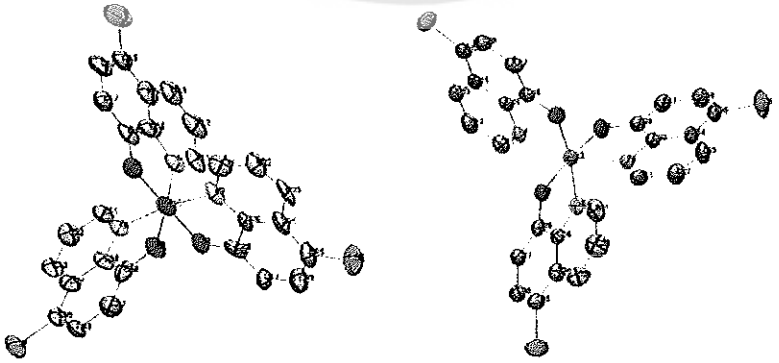
cisplatin carboplatin

ภาพที่ 3 โครงสร้างของ ซิสพลาติน *cis*-$[PtCl_2(NH_3)_2]$ (*cis*-DDP หรือ cisplatin) และ คาร์บอพลาติน (carboplatin)



ภาพที่ 4 การสร้างพันธะระหว่าง cisplatin และ DNA

หลังจากนั้น งานวิจัยได้ถูกต่อยอดไปสู่การเปลี่ยนชนิดของโลหะอะตอมกลาง โดยในช่วง 10 ปีย้อนหลัง สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะชนิดต่างๆได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาการเกิดปฏิกิริยากับ DNA รวมถึงสารชีวภาพอีกหลายชนิด ในปี 2011 Gou และคณะ ได้สังเคราะห์สารเชิงซ้อนของโลหะแพลทินัมโดยยึดโครงสร้างแบบ cisplatin โดยมีหมู่ฟังก์ชันเป็นสารประกอบประเภทแอลคอกซิอะซิเตต (alkoxyacetate) แทนที่ของคลอไรด์ไอออน [8] ปี 2016 Potočnák และคณะ ศึกษาประสิทธิภาพของสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะทรานซิชันในแถวที่ 1 กับลิแกนด์ 5-chloro-quinolin-8-ol ในการเกิดปฏิกิริยากับ DNA และสมบัติในการต้านมะเร็ง ผลการวิจัยพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนแสดงประสิทธิภาพที่ดีกว่า cisplatin รวมถึงมีความเป็นพิษที่น้อยกว่าอีกด้วย ซึ่งเป็นแนวโน้มที่ดีในการนำไปศึกษาต่อด้านเภสัชวิทยาต่อไป [9] ตัวอย่างของโครงสร้างของสารเชิงซ้อนจากงานวิจัยของ Potočnák และคณะ ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 โครงสร้างสารเชิงซ้อนของ Co(II) และ Mn(II) กับลิแกนด์ 5-chloro-quinolin-8-ol

ในปี 2016 Reddy และคณะ สังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโลหะทองแดงกับสารประกอบชิฟเบสและสารประกอบฟรีแนนโทรลีน (phenanthroline) ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้องอกแบบ *in vitro* ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้ลิแกนด์ร่วมนอกเหนือจากสารประกอบชิฟเบส สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของสารประกอบเชิงซ้อนในการเกิดปฏิกิริยาการยับยั้งได้ดีกว่าการใช้ลิแกนด์เพียงชนิดเดียว [3]

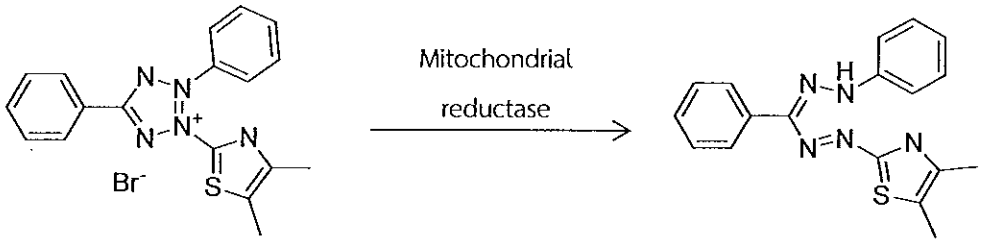
นอกจากนี้ สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะชนิดอื่นๆก็ถูกนำมาวิจัยในงานนี้อย่างมากมาย เช่น สารประกอบเชิงซ้อนของรูทีเนียม(II) กับสารประกอบประกอบไพริดิโนน (pyridinone) [10] สารประกอบเชิงซ้อนของนิกเกิล(II) กับสารประกอบไทรอะซีน (triazine) [11] สารประกอบเชิงซ้อนของทองแดง(II) และแมงกานีส(II) กับสารประกอบชิฟเบส [12] [13] รวมถึงสารประกอบเชิงซ้อนของสังกะสี(II) กับสารประกอบเซมิคาบาโซน (semicarbazone) [14] ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่าหนึ่งในลิแกนด์ที่นิยมนำมาสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะชนิดต่างๆ แล้วสามารถแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้คือ สารประกอบชิฟฟ์เบส เพราะฉะนั้นชิฟฟ์เบสจึงถูกเลือกนำมาใช้เป็นสารประกอบหลักในงานวิจัยนี้

ในปี 2010 Cavicchioli และคณะ ศึกษาสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะแพลทินัมและโลหะเงินโดยมีสารประกอบอะซิซัลเฟม-เคเป็นลิแกนด์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้น มีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ศึกษาต่ำกว่ากลุ่มของการทดลองควบคุม นอกจากนี้ สารเชิงซ้อนของโลหะเงินกับสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค ยังแสดงประสิทธิภาพที่ดีในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารประกอบอะซิซัลเฟม-เคเป็นสารประกอบอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับงานวิจัยด้านนี้ [2]

2.2 การทดสอบเซลล์และความเป็นพิษของสารต่อเซลล์ในภาพรวม

viability assay หรือ cytotoxicity assay คือการทดสอบพิษของสารต่อการอยู่รอดของเซลล์โดย MTT assay เป็น assay หนึ่งที่นิยมมากที่สุดในการทดสอบนี้ MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] เป็นสีสังเคราะห์ประเภท tetrazolium salt (ภาพที่ 6) หลักการทำงานของ MTT assay คือ เซลล์ซึ่งยังมีชีวิตอยู่หรือ metabolically active เท่านั้นที่สามารถใช้ enzyme succinate dehydrogenase ในไมโตคอนเดรียเปลี่ยน MTT ให้เป็น formazan product โดยปฏิกิริยา reduction ผลึกของ formazan ที่ได้มีสีม่วง-น้ำเงินและมีความสามารถดูดกลืนแสงสูงสุดที่ช่วงความยาวคลื่นประมาณ 500-600 nm ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มของสีม่วงหรือปริมาณ formazan product ซึ่งจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของ succinate dehydrogenase enzyme โดยขึ้นกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ดังนั้นจึงสามารถ

วัดปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ โดยการวัดปริมาณ formazan product ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลง MTT ภายในเซลล์ได้



3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; MTT (yellow colour)

(*E*,*Z*)-5-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-1,3-diphenylformazan; Formazan (purple colour)

ภาพที่ 6 โครงสร้างของ MTT และกลไกการทำงานของ MTT assay

2.3 การใช้สารประกอบ Schiff base ในการหาปริมาณของโลหะหนัก

นอกจากการศึกษาประสิทธิภาพของสารประกอบเชิงซ้อนในการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล โดยเฉพาะอย่างยิ่งการยับยั้งเซลล์มะเร็งนั้น สารประกอบ Schiff base ยังถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาปริมาณของโลหะหนักได้อีกด้วย ในปี 2014 กลุ่มวิจัยของ Zayed ได้นำสารประกอบ macrocyclic Schiff base ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการควบแน่นระหว่างสารประกอบ 2,2'-ethylenedioxy)bis(benzaldehyde) กับ 2-aminobenzoic acid ไปศึกษาหาปริมาณไอออนของโลหะด้วยเทคนิค UV-Visible spectrophotometry ในสารตัวอย่างหลากหลายชนิดโดยเฉพาะโลหะ Fe(II) ในน้ำ [15] นอกจากนี้กลุ่มวิจัยของ Afkhami ได้นำสารประกอบ 3,6-bis((aminoethyl)thio)pyridazine มาศึกษาปริมาณของ Co(II), Ni(II), Cu(II) และZn(II) ในผลิตภัณฑ์อาหาร [16] นอกจากนี้ ยังมีอีกหลายงานวิจัยที่ได้รายงานการใช้สารประกอบ Schiff base ในการหาปริมาณของโลหะในสารตัวอย่างหลากหลายชนิด [17] อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยที่นำสารประกอบ Schiff base ของ 5-bromo-*N*-(8-quinolyl)salicylaldimine (HqsalBr) ที่สังเคราะห์ขึ้นในงานวิจัยนี้ ไปศึกษางานทางด้านการวิเคราะห์ ผู้วิจัยจึงได้นำสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นไปต่อยอด โดยการหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อศึกษาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำด้วยเทคนิค UV-Visible spectrophotometry

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้

1) การสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อน

1) ขวดไวออล (Vials)
2) กรวยกรองแก้ว (Glass funnels)
3) ขวดก้นกลม (Round bottom flasks)
4) ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) ขนาด 200 µL, Micropipette Research Plus Eppendorf, Germa
5) เครื่องชั่งดิจิตอลทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance), Sartorius, TE214S, Germany
6) เครื่องกวนสารแบบให้ความร้อน (Hotplate stirrer), IKA, C-MAG HS7, Germany
7) Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR), Bruker, Avance 400, Germany
8) Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR), Perkin Elmer, Spectrum GX, USA
9) ESI-mass spectrometry (Agilent 6540 LC/MS system)
10) Microplate Reader, Perkin Elmer, Spectrum GX, USA

2) การทดสอบประสิทธิภาพของสารประกอบเชิงซ้อนกับสารชีวโมเลกุล

1) ตู้บ่มเพาะเลี้ยงเซลล์และเชื้อควบคุมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 incubators), SHEL LAB, 2323-2, United States of America (USA)
2) ตู้ลามินาร์, Scientific biological safety cabinets, Germany

3) การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำ

1) UV-Vis Spectrophotometer (Specord 200 plus from Analytik Jena)
2) Microcuvette and Microplate Reader (Synergy H1 Hybrid Reader from BioTek).

3.2 สารเคมีที่ใช้ (คุณภาพ Analytical Grade เป็นอย่างน้อย)

1) การสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อน

1) 8-Aminoquinoline (Aldrich)
2) 5-Bromosalicylaldehyde 98% (Aldrich)
3) 3,5-Dibromosalicylaldehyde 98% (Aldrich)
4) Acesulfame-K (Fluka)

5) Triphenylphosphine (Fluka)

6) Silver nitrate ($AgNO_3$) (Labscan)

7) $NiCl_2(PPh_3)_2$ (Aldrich)

8) $Ni(CH_3CO_2)_2{\cdot}4H_2O$ (Aldrich)

9) $Zn(NO_3)_2{\cdot}6H_2O$ (Ajax)

10) Ethanol (Merck)

11) Hexane (Labscan)

2) การทดสอบประสิทธิภาพของสารประกอบเชิงซ้อนกับสารชีวโมเลกุล

1) Dimethyl sulfoxide (DMSO)

2) 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)

3) A549 cells

4) Phosphate buffered saline (PBS)

5) Culture medium (10% fetal bovine serum (FBS) + 1% Penicillin Streptomycin in Minimum Essential Medium (MEM))

3) การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำ

1) Acetic acid (Labscan)

2) Sodium acetate (Merck)

3) Ethanol (Labscan)

4) $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ (Merck)

5) $(CH_3COO)_2Mg.4H_2O$ (Merck)

6) $Ce(NO_3)_3.6H_2O$ (Merck)

7) $Pb(NO_3)_2$ (Ajax)

8) $K_2Cr_2O_7$ (Ajax)

9) KI (Ajax)

10) $ZnSO_4.7H_2O$ (Fisher)

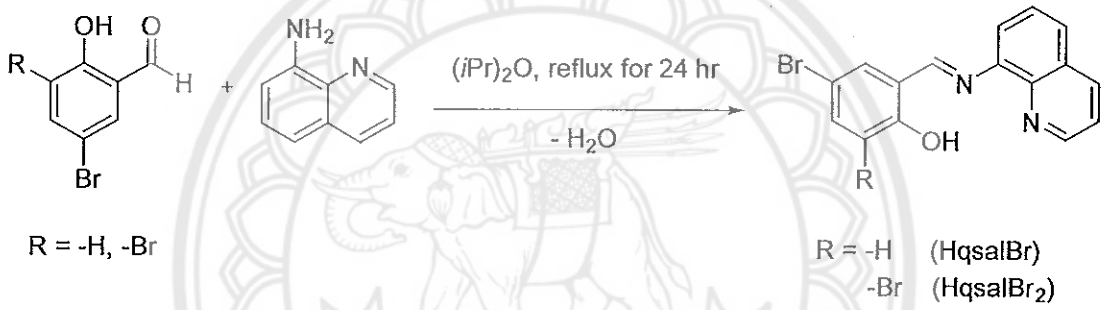
11) $[(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O]$ (Fisher)

12) Standard stock solutions ของ Ce(III), Cr(VII), Fe(II), K(I), Mg(II), Mo(VI), Pb(II) และ Zn(II) (1000 mg/L) เตรียมโดยละลายเกลือของโลหะแต่ละชนิดในน้ำ DI แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

3.3 วิธีการทดลอง

1) การสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base

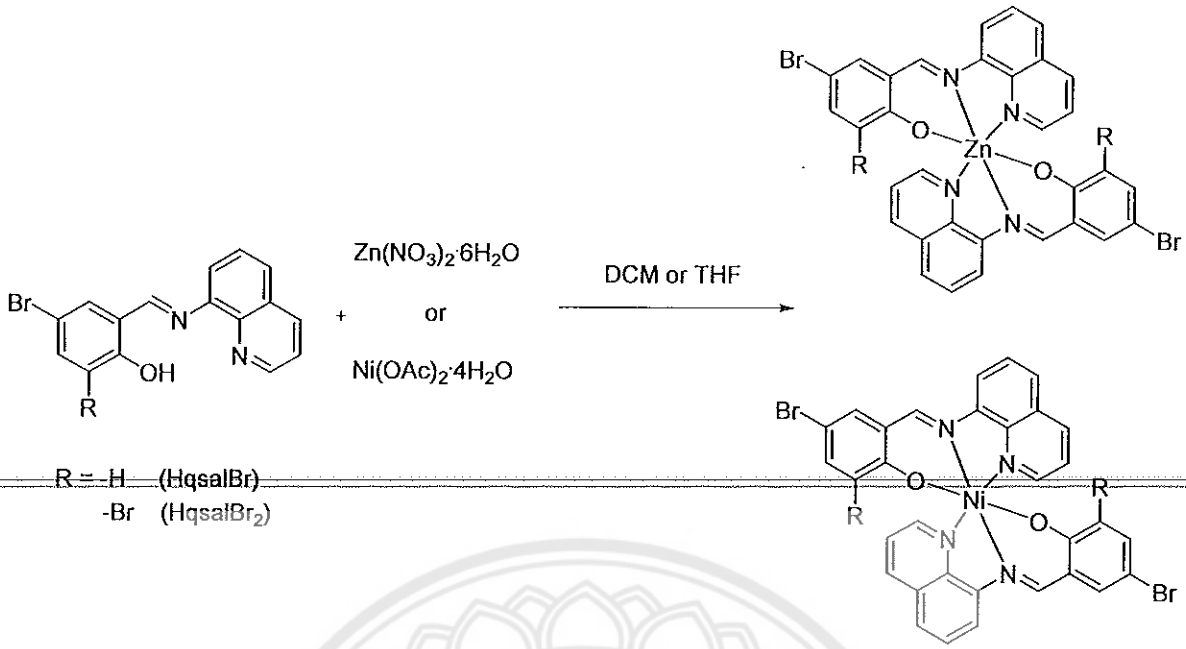
สารประกอบ 5-bromo-*N*-(8-quinolyl)salicylaldimine (HqsalBr) ทำการสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา condensation ระหว่างสารประกอบ 8-Aminoquinoline และ 5-bromosalicylaldehyde ในสารละลาย *iso*-propanol สารละลายถูกตั้งภายใต้สภาวะ reflux เป็นเวลา 24 ช.ม. จากนั้นปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยที่อุณหภูมิห้องจนได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีแดง ทำการกรองและล้างผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วย Ethanol ส่วนสารประกอบ 3,5-dibromo-*N*-(8-quinolyl)salicylaldimine ($HqsalBr_2$) ทำการสังเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกับ HqsalBr แต่เปลี่ยนจากสารประกอบ 5-bromosalicylaldehyde เป็นสารประกอบ 3,5-dibromosalicylaldehyde ปฏิกิริยาดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base

2) การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน

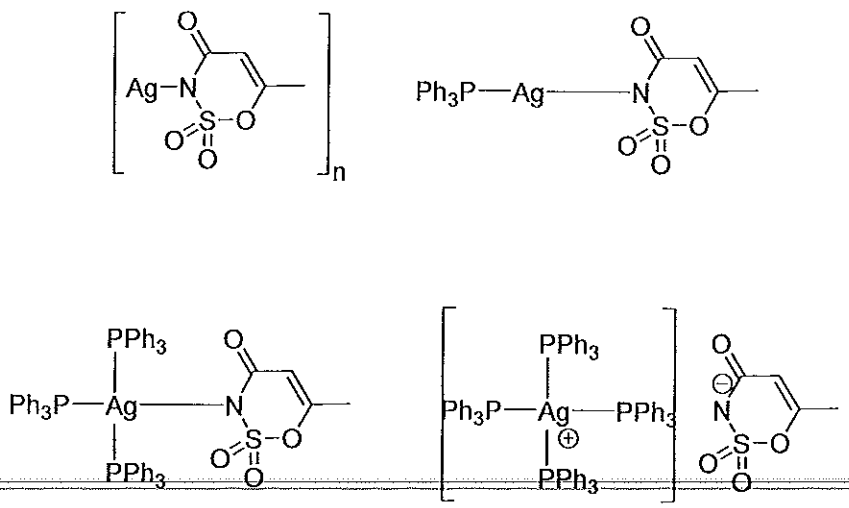
สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) กับสารประกอบ Schiff base สามารถสังเคราะห์ได้โดย นำ $Ni(CH_3CO_2)_2{\cdot}4H_2O$ ละลายใน Methanol (1.5 ml) จากนั้นเติมลงในสารละลายของลิแกนด์ Schiff base ใน DCM หรือ THF (3.5 ml) นำสารละลายตั้งไว้ภายใต้สภาวะ reflux เป็นเวลา 4 ช.ม. จากนั้นจะเกิดตะกอนของผลิตภัณฑ์ขึ้น นำตะกอนที่ได้ไปกรองและล้างด้วย Ethanol และทำให้แห้งโดยตั้งไว้ที่อุณภูมิห้อง สำหรับสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะสังกะสี(II) กับสารประกอบ Schiff base สามารถสังเคราะห์ได้เช่นเดียวกับการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของนิกเกิล(II) โดยใช้ $Zn(NO_3)_2{\cdot}6H_2O$ แทนที่ของ $Ni(CH_3CO_2)_2{\cdot}4H_2O$ จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จะถูกนำมาตกผลึกด้วยเทคนิค Layer Diffusion ด้วยตัวทำละลาย DCM:Methanol ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II) ดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II)

สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบ Schiff base และสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค สามารถสังเคราะห์ได้โดยเติมสารละลายของ $Ni(CH_3CO_2)_2{\cdot}4H_2O$ ในน้ำ ลงในสารละลายของสารประกอบ Schiff base ใน Methanol ตั้งปฏิกิริยาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ช.ม. จากนั้น เติมสารละลายของสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค ในน้ำ แล้วตั้งปฏิกิริยาต่ออีก 5 ช.ม. จากนั้นเมื่อมีตะกอนเกิดขึ้น นำตะกอนที่ได้ไปกรองและล้างด้วย Ethanol และทำให้แห้งโดยตั้งไว้ที่อุณภูมิห้อง

การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค (ace) และสารประกอบไตรฟีนิลฟอสฟีน (PPh_3) สามารถสังเคราะห์โดยนำสารละลายของ $AgNO_3$ ในน้ำ เติมลงในสารละลายของ PPh_3 ใน Ethanol จากนั้นตั้งปฏิกิริยาพร้อมคนสม่ำเสมอเป็นเวลา 2 ช.ม. แล้วเติมสารละลายของ ace ในน้ำและตั้งปฏิกิริยาต่ออีก 5 ช.ม. ที่อุณหภูมิห้อง นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มากรองและ recrystallize ด้วย Ethanol โดยผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดจะมีการเติม ace : PPh_3 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะนำมาตกผลึกด้วยเทคนิค slow evaporation ในตัวทำละลาย Ethanol ในที่มืดเป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) ที่สังเคราะห์ขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 9



ภาพที่ 9 สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค (ace) และสารประกอบไตรฟีนิลฟอสฟีน (PPh_3) ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

3) **การทดสอบ**ประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (A549 cell) ด้วยวิธี MTT assay

สารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (A549 cell) ด้วยวิธี MTT assay โดยพิจารณาจากค่า IC50 การทดลองเริ่มจากนำ A549 cell มาเพาะเลี้ยงใน media (media = 10% fetal bovine serum (FBS) + 1% Penicillin Streptomycin in Minimum Essential Medium (MEM)) จากนั้นเซลล์จะถูกเติมด้วยสารละลายของสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้น และสารตั้งต้นแต่ละชนิดที่ใช้ในการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน รวมถึงตัวทำละลาย DMSO เพื่อเป็นการยืนยันประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งว่าเป็นผลที่เกิดขึ้นจากสารประกอบเชิงซ้อนจริง จากนั้นผลการทดลองที่ได้จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Etoposide ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมผลบวก (positive control) โดยสารละลายของสารประกอบเชิงซ้อรแต่ละความเข้มข้นจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำไปเลี้ยงในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ (5% CO_2 การเจริญเติบโตincubator, 37 °C) เป็นเวลา 48 ช.ม. จากนั้นหาความเป็นพิษของสารต่อ A549 cell โดยใช้ MTT Assay ซึ่งทำโดยการปิเปต media เดิมออกแล้วเติมสารละลาย MTT ใน media (0.5 mg./mL) ปริมาตร 100 µL ลงไป และนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 4 ช.ม. จากนั้นปิเปตเอาสารละลาย MTT ออกแล้วเติม dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 100 µL ลงไปเพื่อละลาย formazan ซึ่งเป็นผลึกสีม่วงที่เกิดขึ้น (ความเข้มของสีม่วงแปรผันตามจำนวนการรอดชีวิตของเซลล์) จากนั้นนำไปวัดค่าการการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm ด้วยเครื่องไมโครเพลท (microplate reader) นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งของ A549 cell ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (50% inhibitory concentration, IC50)

4) การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำ

ในการศึกษาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำ เริ่มจากการศึกษาความสามารถของสารประกอบ HqsalBr ในการเกิดปฏิกิริยากับสารละลายของโลหะชนิดต่างๆ ซึ่งพบว่าสารประกอบ HqsalBr ที่สังเคราะห์ขึ้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ λ_{max} มากที่สุดเมื่อทำปฏิกิริยากับโลหะสังกะสี(II) ในตัวทำละลาย Ethanol จากนั้นจึงศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการนำลิแกนด์ที่สังเคราะห์ขึ้นไปศึกษาหาปริมาณของสังกะสี(II) ในน้ำตัวอย่าง โดยนำสารละลายของโลหะสังกะสี(II) ความเข้มข้น 100 mg/L ปิเปตใส่ใน vial ขนาดเล็ก จากนั้นเติมอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1.0 mol/L แล้วผสมสารละลายของ HqsalBr ความเข้มข้น 1×10^{-3} mol/L ลงไป และปรับปริมาตรของสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายที่เตรียมได้ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 nm จากนั้น เมื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาหาปริมาณของโลหะสังกะสี (ปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ค่า pH, เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา, ความเข้มข้นของลิแกนด์, ปริมาณของตัวทำละลายและปริมาณของสารละลายบัฟเฟอร์) จะนำสภาวะที่ได้มาใช้ในการหาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำตัวอย่าง

การหาปริมาณความเข้มข้นของโลหะสังกะสี(II)ในน้ำตัวอย่างทำได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายสังกะสี(II)ที่เตรียมขึ้นกับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) จากนั้นนำน้ำตัวอย่างมาปรับให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมตามการทดลองข้างต้น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ผลการทดลองที่ได้จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งจะทำให้ทราบความเข้มข้นของโลหะสังกะสี(II) ที่อยู่ในน้ำตัวอย่างได้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การวิเคราะห์โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อน

จากการสังเคราะห์สารประกอบ Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และสังกะสี(II) รวมถึงสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค และสารประกอบไตรฟีนิลฟอสฟีน เมื่อนำสารที่สังเคราะห์ขึ้นไปวิเคราะห์โครงสร้าง พบว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้นเป็นไปตามโครงสร้างที่ต้องการ แต่สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบ Schiff base และสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค ไม่สามารถสังเคราะห์สารที่ต้องการได้ตามเป้าหมายที่วางไว้ จากการวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคต่างๆ พบว่า สารประกอบ Schiff base ซึ่งเป็นลิแกนด์ประเภท tridentate ligand มีความเกะกะสูงและมีความสามารถในการสร้างพันธะกับโลหะนิกเกิล(II) ได้ดี ทำให้เกิดโครงสร้างที่เป็นวง chelate จนสารประกอบอะซิซัลเฟม ไม่สามารถเข้าไปสร้างพันธะกับโลหะอะตอมกลางได้ โดยผลการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ได้ $[Ni(qsalBr)_2]$ (1), $[Zn(qsalBr)_2]$ (2), $[Ni(qsalBr_2)_2]$ (3), $[Zn(qsalBr_2)_2]$ (4), $[Ag(ace)]_n$ (5), $[Ag(ace)(PPh_3)]$ (6), $[Ag(ace)(PPh_3)_3]$ (7) และ $[Ag(PPh_3)_4](ace)$ (8) มีดังต่อไปนี้

1. การศึกษาโครงสร้างด้วยเทคนิค FT-IR

การศึกษาด้วยเทคนิค FT-IR ของสารประกอบ Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และสังกะสี(II) พบว่ามีช่วงของเลขคลื่นซึ่งสัมพันธ์กับความถี่ในการสั่นของหมู่ฟังก์ชันในสารประกอบ Schiff base นอกจากนี้ ในโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อน ยังพบการเปลี่ยนแปลงความถี่ในการสั่นของหมู่ฟังก์ชันเหล่านี้อีกด้วย รวมถึงยังพบพีคเกิดขึ้นใหม่ในช่วงของเลขคลื่น 468-489 cm^{-1} และ 416-426 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับการสั่นของ ν(M–O) และ ν(M–N) จากผลการทดลองจึงสามารถยืนยันการสร้างพันธะระหว่างลิแกนด์กับโลหะนิกเกิล(II) และสังกะสี(II) ในสารประกอบเชิงซ้อน ค่าความถี่ในการการสั่นของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

สำหรับ IR spectra ของสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับความถี่ในการสั่นของหมู่ฟังก์ชันในสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค ซึ่งจะพบเลขคลื่นที่ 1651 cm^{-1}, 1588 cm^{-1} และ 1287 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับความถี่ในการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C=O, $S(=O)_2$ และ C-N ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณนี้ไม่ถูกพบในสารประกอบเชิงซ้อน $[Ag(PPh_3)_4](ace)$ (8) เนื่องจากสารประกอบอะซิ

ซัลเฟม ทำหน้าที่เป็น counter ion ที่ไม่ได้ให้คู่อิเล็กตรอนกับโลหะอะตอมกลางในการสร้างพันธะ จึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเกิดขึ้น สำหรับสารประกอบเชิงซ้อน $[Ag(ace)]_n$ **(5)**, $[Ag(ace)(PPh_3)]$ **(6)** และ $[Ag(ace)(PPh_3)_3]$ **(7)** จะพบการเปลี่ยนแปลง โดยค่าเลขคลื่นที่สัมพันธ์กับหมู่ฟังก์ชัน C=S จะมีค่าต่ำลง ในขณะที่ค่าเลขคลื่นที่สัมพันธ์กับการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C–N จะมีค่าสูงขึ้น จากผลที่ได้แสดงให้เห็นถึงการสร้างพันธะระหว่างลิแกนด์อะซิซัลเฟมและโลหะเงิน(I) ค่าความถี่ในการการสั่นของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ข้อมูลจากการวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค FT-IR ของสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II)

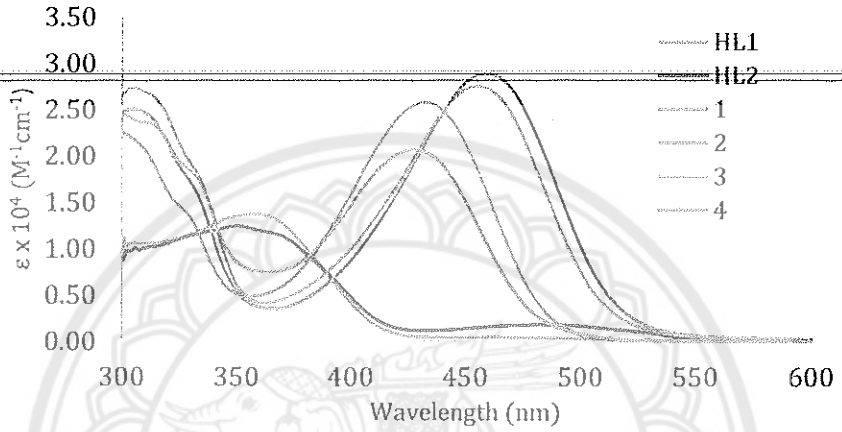
สารประกอบ	IR (cm^{-1})				
	ν(C=N)	ν(C–O)	ν(C=N)(quinoline)	ν(M-O)	ν(M-N)
HqsalBr (HL^1)	1606	1282	1423	-	-
$HqsalBr_2$ (HL^2)	1607	1283	1425	-	-
$[Ni(qsalBr)_2]$ (1)	1603	1231	1417	470	419
$[Zn(qsalBr)_2]$ (2)	1605	1234	1415	468	416
$[Ni(qsalBr_2)_2]$ (3)	1604	1240	1413	489	426
$[Zn(qsalBr_2)_2]$ (4)	1605	1241	1414	484	421

ตารางที่ 2 ข้อมูลจากการวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค FT-IR ของสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) และลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟมและสารประกอบ PPh_3

สารประกอบ	IR (cm^{-1})		
	ν(C=O)	$\nu(S(=O)_2)$	ν(C-N)
acesulfame	1651	1588	1287
$[Ag(ace)]_n$ **(5)**	1644	1563	1312
$[Ag(ace)(PPh_3)]$ **(6)**	1643	1566	1342
$[Ag(ace)(PPh_3)_3]$ **(7)**	1638	1557	1323
$[Ag(PPh_3)_4](ace)$ **(8)**	1652	1589	1290

2. *การศึกษาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค UV-Vis Spectrophotometry*

เทคนิค UV-Vis spectrophotometry เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาการดูดกลืนแสงของสารที่สังเคราะห์ขึ้น ในการทดลองได้ทำการศึกษาเฉพาะช่วง visible light เท่านั้น เนื่องจากสารประกอบ Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II) เป็นสารที่มีสีทั้งหมด สเปกตรัมจากการศึกษาค่าการดูดกลืนแสง ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 10



ภาพที่ 10 ผลการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของลิแกนด์ HqsalBr, $HqsalBr_2$ และสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II)และสังกะสี(II)

สารประกอบ HqsalBr และ $HqsalBr_2$ พบค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 358 nm และ 347 nm ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดทรานซิชันของ n-π^* ในหมู่ฟังก์ชัน azomethine ในขณะที่การเกิด *d-d* transition ก็ถูกพบในลักษณะของ broad peak ที่ความยาวคลื่นประมาณ 475 nm และพีคเหล่านี้ได้มีการเปลี่ยนแปลงไปทางความยาวคลื่นที่มากขึ้นเมื่ออยู่ในสารประกอบเชิงซ้อน เนื่องจากสารประกอบ Schiff base ได้ให้คู่อิเล็กตรอนแก่โลหะอะตอมกลาง ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II) ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิด Ligand to Metal Charge Transfer (LMCT) นอกจากนี้ อัตราส่วนระหว่างโลหะต่อลิแกนด์ได้ถูกศึกษาด้วยวิธีของ Job จากนั้นข้อมูลของการทดลองจะถูกไปคำนวณค่าคงที่ความเสถียร (Stability constant) เพื่อศึกษาเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้น ผลการทดลองจากการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค UV-Vis spectrophotometry ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ลักษณะทางกายภาพ ค่าสัมประสิทธิ์ในการดูดกลืนแสงและค่าคงที่ความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อน

สารประกอบ	สี (ของแข็ง)	สี (สารละลาย)	λ_{max}(nm), ε ($M^{-1}cm^{-1}$)	Formation constant at room temperature (°C)
HL^1	Orange	Pale yellow	357 (12428)	-
HL^2	Red	Pale yellow	351 (13732)	-
$[Ni(qsalBr)_2]$ (1)	Brown	Deep orange	484 (20545)	2.52×10^6
$[Zn(qsalBr)_2]$ (2)	Orange	Light orange	460 (15690)	5.67×10^5
$[Ni(qsalBr_2)_2]$ (3)	Brown	Deep orange	487 (14810)	8.69×10^5
$[Zn(qsalBr_2)_2]$ (4)	Orange	Light orange	461 (9785)	4.61×10^5

3. *การศึกษาโครงสร้างด้วยเทคนิค NMR Spectroscopy*

^{1}H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะสังกะสี(II) ได้ถูกศึกษาในตัวทำละลาย dimethylsulfoxide-*d6* (DMSO-d_6) สำหรับลิแกนด์ HqsalBr และ HqsalBr2 จะมีพีคที่เด่นชัดที่ตำแหน่ง chemical shift เท่ากับ 9.10 ppm และ 9.28 ppm ซึ่งเป็นพีคของ H ที่อยู่ในหมู่ฟังก์ชัน azomethine (*H*C=N) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสารประกอบ Schiff base สำหรับสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะสังกะสี(II) พีคของ H ในหมู่ azomethine นี้ ได้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปในทาง chemical shift ที่สูงขึ้นอย่างชัดเจน จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าตำแหน่งของ N ที่อยู่ในหมู่ฟังก์ชัน azomethine (HC=*N*) ต้องมีส่วนเกี่ยวข้องในการให้คู่อิเล็กตรอนกับโลหะ เนื่องจากเมื่อตำแหน่งนี้ถูกใช้ในการสร้างพันธะ coordinate covalent จะทำให้ความหนาแน่นของอิเล็กตรอนบริเวณ H ของ azomethine มีค่าลดลง ส่งผลให้พีคเกิดขึ้นในตำแหน่งchemical shift ที่สูงขึ้น อย่างไรก็ตาม ในโครงสร้างทรงแปดหน้า (Octahedral) ของสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) นั้น ไม่สามารถศึกษาด้วยเทคนิค ^{1}H NMR ได้ เนื่องจากโลหะนิกเกิล(II) มีการจัดอิเล็กตรอนแบบ d^8 ซึ่งจะทำให้มีอิเล็กตรอนสปินเดี่ยวเกิดขึ้น ทำให้สารประกอบเชิงซ้อนมีสมบัติแม่เหล็กเป็นแบบพาราแมกเนติก (paramagnetic) ซึ่งสนามแม่เหล็กที่เกิดจากการสปินของอิเล็กตรอนเดี่ยวนี้ จะไปรบกวนสัญญาณในการศึกษานิวเคลียสของ H ทำให้เกิดการ broad ของสัญญาณเกิดขึ้น

สำหรับสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) ได้ศึกษาด้วยเทคนิค ^{31}P NMR เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสัญญาณของนิวเคลียสของอะตอมฟอสฟอรัส จากการทดลองพบว่า สารประกอบ PPh_3 มีพีคของสัญญาณที่ chemical shift เท่ากับ -5.25 ppm แต่ในสารประกอบเชิงซ้อนพบสัญญาณที่ chemical shift เท่ากับ 15.81 ppm, 5.56 ppm และ 3.27 ppm สำหรับสารประกอบเชิงซ้อน $[Ag(ace)(PPh_3)]$ (6), $[Ag(ace)(PPh_3)_3]$ (7)

และ $[Ag(PPh_3)_4](ace)$ (8) ตามลำดับ จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าอะตอม P มีการสร้างพันธะกับโลหะอะตอมกลาง Ag(I) ในลักษณะที่แตกต่างกันไป ซึ่งก็สอดคล้องกับโครงสร้างของสารประกอบทั้ง 3 ชนิด สำหรับการศึกษาด้วย ^{1}H NMR ไม่สามารถยืนยันโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนได้ เนื่องสัญญาณ H ของโมเลกุลอะซิชัลเฟม ถูกบดบังด้วยสัญญาณของ H จากหมู่ฟีนิลของโมเลกุลของ PPh_3

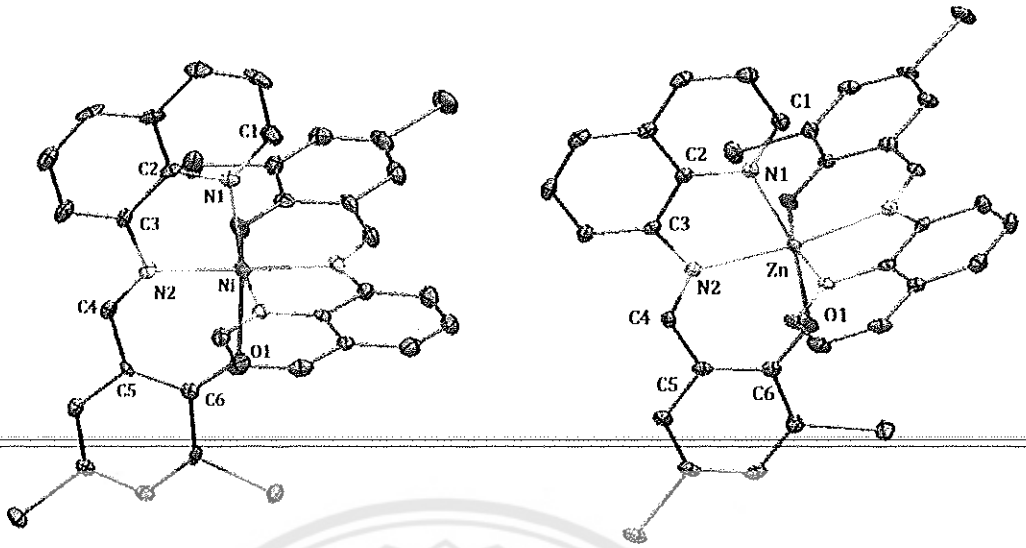
4. *การหาน้ำหนักของสารด้วยเทคนิค mass spectrometry*

สารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นถูกนำมาหาค่าน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค mass spectrometry จากผลการทดลองพบว่า $[Ni(qsalBr)_2]$ (1), $[Zn(qsalBr)_2]$ (2), $[Ni(qsalBr_2)_2]$ (3) และ $[Zn(qsalBr_2)_2]$ (4) มีค่ามวลโมเลกุลเท่ากับ 710.93 (711.13) $[M]^+$, 716.95 (717.71) $[M]^+$ 868.74 (868.82) $[M]^+$ และ874.76 (875.51) $[M]^+$ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับโครงสร้างที่สังเคราะห์ขึ้น

สำหรับสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) ทำการศึกษาเฉพาะสารประกอบเชิงซ้อน $[Ag(ace)(PPh_3)_3]$ (7) เนื่องจากเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเพียงชนิดเดียวที่ไม่สามารถตกผลึกเพื่อนำไปวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิค single crystal X-ray crystallography ได้ อย่างไรก็ตาม ผลจาก mass spectrometry แสดงพีคที่ตำแหน่ง 1180.9195 $[M]^+$ ในลักษณะของ minor peak ซึ่งสามารถยืนยันการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ $[Ag(ace)(PPh_3)_3]$ (7) ได้

5. *การศึกษาโครงสร้างด้วยเทคนิค single crystal X-ray crystallography*

นอกจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FT-IR, UV-Vis Spectrophotometry, NMR spectroscopy และ mass spectrometry จะสามารถยืนยันโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม เพื่อเป็นการยืนยันโครงสร้างที่แท้จริง รวมถึงตำแหน่งของแต่ละอะตอมในโครงสร้าง สารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นจึงถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค single crystal X-ray crystallography โดยโครงสร้างที่ได้ ดังแสดงในภาพที่ 11



ภาพที่ 11 โครงสร้างแบบ Ellipsoid ของสารประกอบเชิงซ้อนของ $[Ni(qsalBr_2)_2]$ **(3)** และ $[Zn(qsalBr_2)_2]$ **(4)** ที่ระดับความเป็นไปได้ 50%; ไม่แสดงตำแหน่งของอะตอมไฮโดรเจน เพื่อความชัดเจนของโครงสร้าง

โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อน $[Ni(qsalBr_2)_2]$ **(3)** และ $[Zn(qsalBr_2)_2]$ **(4)** มีรูปร่างเป็นทรงแปดหน้า (octahedral) โดยสารประกอบ $HqsalBr_2$ ที่ถูก deprotonated แล้ว จะใช้อะตอม O, N และ N ของ quinoline ในการให้คู่อิเล็กตรอนกับโลหะอะตอมกลาง สำหรับสารประกอบเชิงซ้อน $[Ni(qsalBr_2)_2]$ **(3)** ความยาวพันธะ Ni–N1, Ni–N2 และ Ni–O1 มีค่าเท่ากับ 2.104(5), 2.034(5) และ 2.039(4) ตามลำดับ สำหรับความยาวพันธะภายในโครงสร้างของลิแกนด์ $HqsalBr_2$ คือ N2–C4 และ N1–C1 มีค่าเท่ากับ 1.312(2) และ 1.317(3) ซึ่งความยาวพันธะภายในโครงสร้างของลิแกนด์นี้มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 1.316(8) และ 1.322(8) ในสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งสอดคล้องกับความแข็งแรงของพันธะภายในลิแกนด์ที่ลดลง เนื่องจากความหนาแน่นของอิเล็กตรอนได้ถูกถ่ายเทไปให้กับโลหะอะตอมกลางในการสร้างพันธะ coordinate covalent

ส่วนมุมภายในบริเวณตำแหน่งของ azomethine C3–N2–C4 ก็มีการเปลี่ยนแปลงจาก 127.1(2) ในลิแกนด์เป็น 120.0(5) ในสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงขนาดของมุมก็เป็นไปเพื่อให้สารประกอบเชิงซ้อนมีการจัดตัวเพื่อให้โครงสร้างมีความเสถียรมากที่สุด

สำหรับความเป็นระนาบของลิแกนด์สามารถพิจารณาได้จาก dihedral angle ซึ่งหลังจากที่ลิแกนด์เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนแล้ว dihedral angle C3–N2–C4–C5, C4–N2–C3–C2 และ C1–N1–C2–C3 ก็เปลี่ยนแปลงจาก -178.0(2), -176.4(2) และ 178.6(2) เป็น -168.7(6), -167.0(6) และ 176.8(6) ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้แสดงถึงการเบี่ยงเบนไปจากระนาบของลิแกนด์เพื่อให้สารประกอบ $HqsalBr_2$ ซึ่งเป็น tridentate

ligand สามารถสร้าวง chelate ได้ โดยมี O, N และ N ของ quinoline เป็นอะตอมที่ใช้ในการสร้างพันธะกับโลหะอะตอมกลาง สำหรับสารประกอบเชิงซ้อน $[Zn(qsalBr_2)_2]$ (4) ก็มีลักษณะโครงสร้างและการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในของโครงสร้างของลิแกนด์ $HqsalBr_2$ เช่นเดียวกับสารประกอบเชิงซ้อนของ $[Ni(qsalBr_2)_2]$ (3) ความยาวพันธะและมุมที่สำคัญของสารประกอบเชิงซ้อน $[Ni(qsalBr_2)_2]$ (3) ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ความยาวพันธะ มุมพันธะและมุมไดฮีดรัลในสารประกอบเชิงซ้อน $[Ni(qsalBr_2)_2]$ (3)

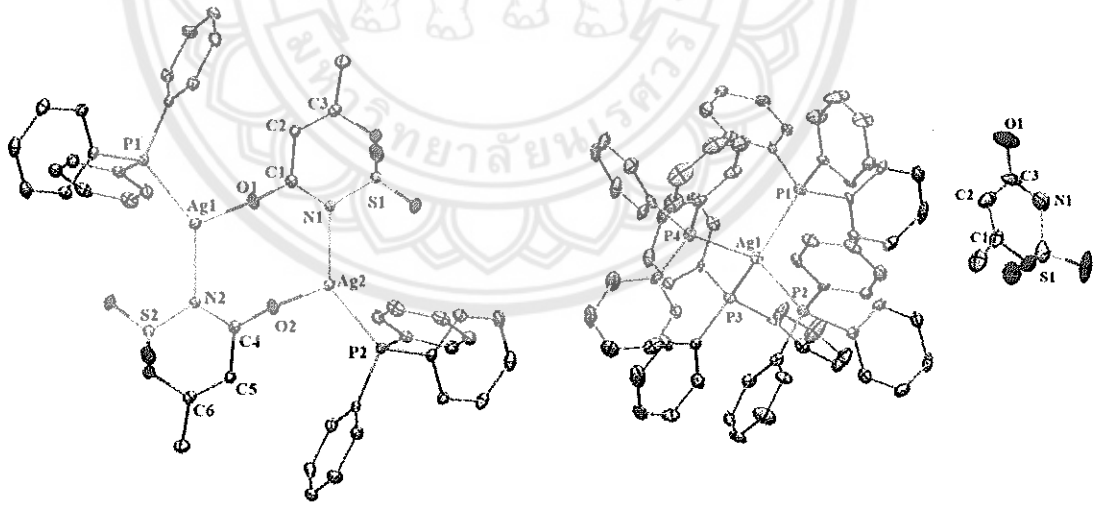
$[Ni(qsalBr_2)_2]$ (3)					
Ni–N1	2.104(5)	Ni–N2–C4	125.8(4)	N2–C4–C5	-124.1(6)
Ni–N2	2.034(5)	Ni–O1–C6	127.0(4)	C3–N2–C4–C5	-168.7(6)
Ni–O1	2.039(4)	C3–N2–C4	120.0(5)	C4–N2–C3–C2	-167.0(6)
N2–C4	1.316(8)	O1–Ni–O2	94.4(2)	O2–C6–C5–C4	-6(1)
N1–C1	1.322(8)	O1–Ni–N1	89.9(2)	C1–N1–C2–C3	176.8(6)
O1–C6	1.275(7)	O1–Ni–N2	94.3(2)		

ผลึกของสารประกอบเชิงซ้อนของ $[Ag(ace)(PPh_3)]$ (6) และ $[Ag(PPh_3)_4](ace)$ (8) ได้จากการตกผลึกด้วยวิธี slow evaporation ในตัวทำละลาย Ethanol ที่อุณหภูมิห้อง สารประกอบเชิงซ้อน $[Ag(ace)(PPh_3)]$ (6) มีระบบผลึกแบบ triclinic และ *P-1* space group มุมพันธะระหว่างลิแกนด์กับโลหะอะตอมกลาง P1–Ag1–O1, P1– Ag1–N2 และ N2–Ag1–O1 มีค่าเท่ากับ 95.35(3), 136.32(4) และ 101.13(5) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงโครงสร้างแบบ distorted trigonal planar รอบอะตอมของโลหะเงิน(I) ในขณะที่พันธะ O1–C1; 1.237(2) Å ในสารประกอบเชิงซ้อนก็มีค่าเพิ่มขึ้น แต่ความยาวพันธะระหว่าง C1–N1; 1.366(2) Å มีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับความยาวพันธะในโครงสร้างของลิแกนด์ $HqsalBr_2$ นอกจากนี้โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนยังมีการเบี่ยงเบนไปจากระนาบซึ่งมีค่า torsion angle P1–Ag1–O1–C1: 103.0(2), P1– Ag1–N2–C4; 146.1(1) และ P1–Ag1–N2 –S2; -36.3(1) ตามลำดับ ความยาวพันธะและมุมพันธะที่สำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ความยาวพันธะ มุมพันธะและมุมไดฮีดรัลในสารประกอบเชิงซ้อน [Ag(ace)(PPh_3)] **(6)**

[Ag(ace)(PPh_3)] (6)					
Ag1–P1	2.3918(5)	P1–Ag1–O1	95.35(3)	P1–Ag1–O1–C1	-103.0(2)
Ag1–O1	2.484(1)	P1–Ag1–N2	136.32(4)	P1–Ag1–N2–C4	146.1(1)
Ag1–N2	2.220(1)	N2–Ag1–O1	101.13(5)	P1–Ag1–N2–S2	146.1(1)
O1–C1	1.237(2)	O1–C1–N1	120.1(2)	N2–Ag1–O1–C1	117.7(2)
C1–N1	1.366(2)	C1–N1–Ag2	134.0(1)	O1–Ag1–N2–C4	-36.0(1)
N1–S1	1.593(1)	Ag1–O1–C1	121.7(1)	O1–Ag1–N4–S2	146.36(8)

ในสารประกอบเชิงซ้อน [Ag(PPh_3)$_4$](ace) **(8)** ซึ่งแสดงการสร้าพันธะระหว่าง PPh_3 ทั้งหมด 4 โมเลกุลกับอะตอมกลาง ในขณะที่โมเลกุลของอะซิซัลเฟมทำหน้าที่เป็น counter ion เพื่อให้เกิดสมดุลระหว่างประจุบวกและประจุลบภายในโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อน โดยผลึกที่ได้มีระบบผลึกแบบ monoclinic และ *C2/c* space group มีมุมภายใน P1–Ag1–P2, P1–Ag1–P3 และ P1–Ag1–P4 เท่ากับ 108.95(6), 110.34(6) และ 109.48(6) ตามลำดับ ซึ่งแสดงโครงสร้างของทรงสี่หน้าแบบเกือบสมบูรณ์ โครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนของ [Ag(ace)(PPh_3)] **(6)** และ [Ag(PPh_3)$_4$](ace) **(8)** ดังแสดงในภาพที่ 12



ภาพที่ 12 โครงสร้างแบบ Ellipsoid ของสารประกอบเชิงซ้อนของ [Ag(ace)(PPh_3)] **(6)** และ [Ag(PPh_3)$_4$](ace) **(8)** ที่ระดับความเป็นไปได้ 50%; ไม่แสดงตำแหน่งของอะตอมไฮโดรเจน เพื่อความชัดเจนของโครงสร้าง

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (A549 cell) ด้วยวิธี MTT assay

การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในครั้งนี้ใช้เซลล์มะเร็งปอด (A549 cell) โดยใช้วิธี MTT assay ซึ่งเป็นการวัดปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของ formazan ในช่วงความยาวคลื่น 500-600 nm โดยที่ค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของ A549 cell ซึ่งขึ้นกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต จากนั้นความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งโดยสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ขึ้นจะถูกนำไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Epotoside

จากผลการทดลองพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II)และโลหะสังกะสี(II) ไม่สามารถคำนวณค่า IC50 ได้ แสดงว่าสารประกอบเชิงซ้อนนี้ยังไม่มีประสิทธิภาพที่ดีพอในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง ในขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) สามารถคำนวณค่า IC50 ออกมาได้ และจากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าการใช้ลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟมกับสารประกอบ PPh_3 ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าสารมาตรฐาน Epotoside อีกด้วย ผลการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่า IC_{50} แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปอด (A549 cell) ของสารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้น

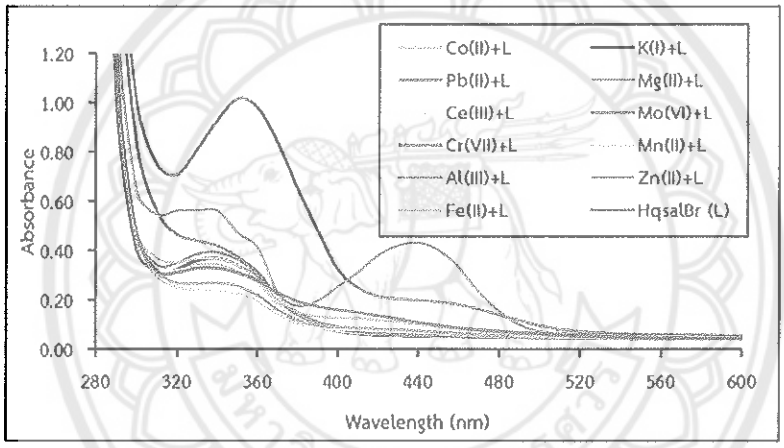
สารประกอบ	IC50(μM)	สารประกอบ	IC50(μM)
$Ni(CH_3CO_2)_2{\cdot}4H_2O$	N/A	$AgNO_3$	N/A*
$Zn(NO_3)_2{\cdot}6H_2O$	N/A	acesulfame-K	N/A
HqsalBr	N/A	PPh_3	N/A
$HqsalBr_2$	N/A	$[Ag(ace)]_n$ (5)	42.037±3.9235
$[Ni(qsalBr)_2]$ **(1)**	N/A	$[Ag(ace)(PPh_3)]$ **(6)**	1.655±0.0348
$[Zn(qsalBr)_2]$ **(2)**	N/A	$[Ag(ace)(PPh_3)_3]$ **(7)**	1.542±0.0214
$[Ni(qsalBr_2)_2]$ **(3)**	N/A	$[Ag(PPh_3)_4](ace)$ **(8)**	-
$[Zn(qsalBr_2)_2]$ **(4)**	N/A	Epotoside	5.623±0.7816

* N/A = ไม่สามารถคำนวณค่า IC50 ได้

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำ

4.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำด้วยลิแกนด์ HqsalBr

ก่อนการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณของโลหะในสารตัวอย่าง สารประกอบ HqsalBr ได้ถูกนำมาศึกษาค่าการดูดกลืนแสงกับโลหะหลายๆชนิด เพื่อศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน เนื่องจากสเปกตรัมที่ได้จากการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนควรมีความแตกต่างอย่างชัดเจนกับสารประกอบ HqsalBr เพื่อจะสามารถยืนยันได้ว่า เมื่อนำไปหาปริมาณของโลหะแล้ว สัญญาณที่เกิดขึ้นจะเป็นของสารประเชิงซ้อน Zn(II)-HqsalBr ที่แท้จริง ไม่ใช่สัญญาณของสารประกอบ HqsalBr หรือสิ่งเจือปนอื่นๆ สเปกตรัมที่ได้จากการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบ HqsalBr กับโลหะชนิดต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 13



ภาพที่ 13 สเปกตรัมการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบ HqsalBr (1×10^{-3} mol/L) กับโลหะชนิดต่างๆ (100 mg/L) ที่ pH 3.0

4.3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการศึกษาปริมาณของโลหะสังกะสี(II)

จากสเปกตรัมที่ได้ พบว่า ลิแกนด์มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น (λ_{max}) 340 nm ซึ่งผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทำการทดลองในสภาวะ pH ที่แตกต่างกัน ในขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเกือบทุกชนิด มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วงความยาวคลื่น 320-380 nm แต่สารประกอบเชิงซ้อน Zn(II)-HqsalBr กลับให้ค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างอย่างชัดเจน โดยพบค่า λ_{max} ที่ 440 nm ซึ่งจะทำให้การทดสอบปริมาณของโลหะชนิดนี้ในน้ำ ไม่ถูกรบกวนด้วยสัญญาณของสารชนิดอื่น

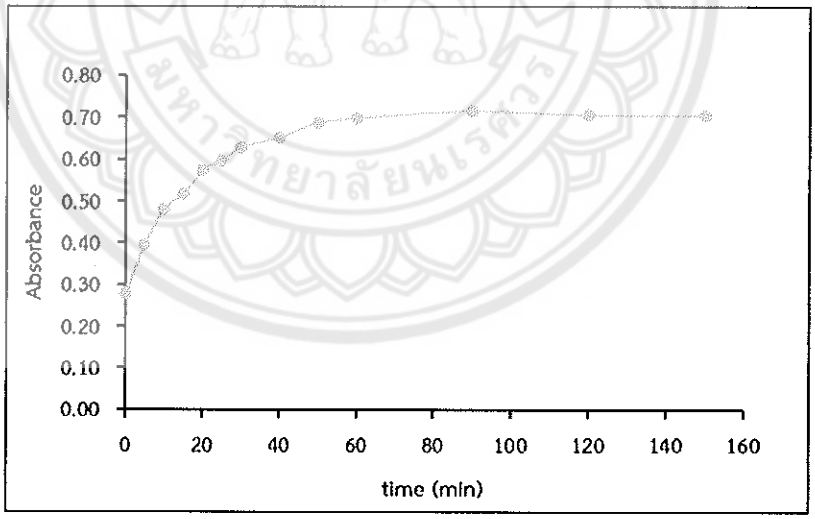
จากนั้นจึงเป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่จะใช้ในการหาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำ ผลการทดลองจากการศึกษาปัยจัยต่างๆมีดังต่อไปนี้

1. **การศึกษาผลของ pH**

สารละลายผสมระหว่างโลหะสังกะสี(II) และสารประกอบ HqsalBr ในตัวทำละลาย Ethanol จะถูกปรับค่า pH ด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์ในช่วง pH 2.0-7.0 จากผลการทดลองพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนของ Zn(II)-HqsalBr ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดที่ความยาวคลื่น 440 nm ในสภาวะที่ pH เท่ากับ 3.0

2. **การศึกษาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา**

ในการศึกษาสภาพความคงตัวของสารละลาย Schiff base และสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะสังกะสี(II) สารละลายจะถูกนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงเวลาต่างๆ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนของ Zn(II)-HqsalBr ให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งเวลาผ่านไปประมาณ 50 นาที จึงให้ค่าการดูดกลืนแสงที่คงที่ ดังนั้น ในแต่ละการทดลอง จึงต้องตั้งปฏิกิริยาระหว่าง Zn(II) และ HqsalBr เป็นเวลาอย่างน้อย 50 นาที ก่อนจะนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ ค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของ Zn(II)-HqsalBr เทียบกับเวลาดังแสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 14 การศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของ Zn(II)-HqsalBr เทียบกับเวลา

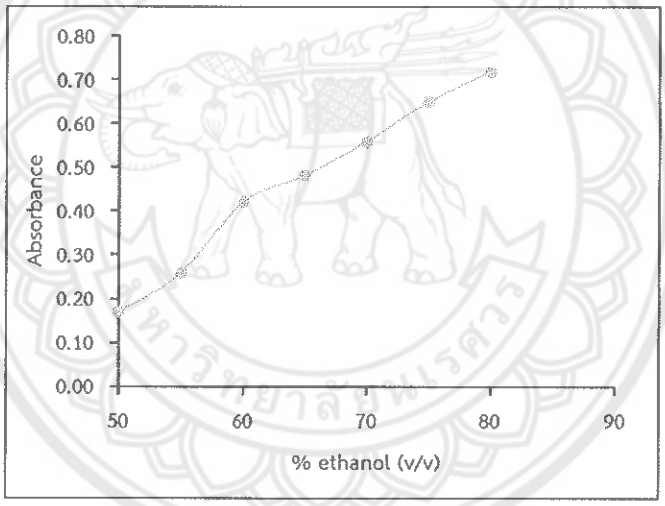
3. **การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลาย**

ในการศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย Schiff base จะกำหนดให้ปริมาตรรวมของสารละลายคงที่ คือ 200 µL ทำการศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย HqsalBr ในช่วง 1.2×10^{-4}–2.0×10^{-4} mol/L ในตัวทำ

2 QD
181
.N6
U675ว
2560

ละลาย Ethanol และสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH 3.0 จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 nm ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 1.5×10^{-4} mol/L เป็นความเข้มข้นที่ไม่เป็นการใช้ปริมาณสารที่มากจนเกินไป แต่ยังสามารถให้ผลการศึกษาที่ดีเพียงพอได้

สำหรับการหาปริมาณของตัวทำละลายและปริมาณของบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม ได้ทำการทดลองเหมือนกับการหาความเข้มข้นของสารละลาย HqsalBr แต่เป็นการปรับปริมาณของตัวทำละลายในช่วงความเข้มข้น 50-90% v/v และปริมาณของบัฟเฟอร์ในช่วง 0-25 µL ผลจากการศึกษาปริมาณชิงตัวทำละลายพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของตัวทำละลาย ค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนก็มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถละลายได้มากขึ้น อย่างไรก็ตาม เพื่อเป็นการใช้ปริมาณสารเคมีให้น้อยที่สุด จึงเลือกปริมาณของตัวทำละลายที่ความเข้มข้น (70% v/v) ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ดีเพียงพอ ผลการศึกษาปริมาณของตัวทำละลายกับค่าการดูดกลืนแสง ดังแสดงในภาพที่ 15



ภาพที่ 15 การศึกษาค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับปริมาณของตัวทำละลาย (% v/v)

ส่วนปริมาณของบัฟเฟอร์ พบว่าให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ปริมาณของสารละลายบัฟเฟอร์ที่แตกต่างกัน ดังนั้นทำให้สามารถสรุปสภาวะที่เหมาะสมในการใช้สารประกอบ HqsalBr สำหรับการศึกษาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำได้ ดังแสดงในตาราง 7

ตารางที่ 7 สภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการศึกษาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำ

ตัวแปร	สภาวะที่เหมาะสม
pH	3.0
Reaction Time	50 min
HqsalBr concentration	20 µL (1x10-4 mol/L)
EtOH concentration	120 µL (70 % v/v)
Volume of acetate buffer	15 L

4.3.3 การศึกษาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำตัวอย่างด้วย HqsaBr

จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อทำการ spiked สารตัวอย่างด้วยสารละลายมาตรฐานของโลหะสังกะสี(II) ความเข้มข้น 0.6 และ 4.0 mg/L สามารถศึกษาปริมาณของโลหะได้ โดยมีเปอร์เซนต์ของการคืนกลับ (%recoveries) อยู่ในช่วงของ 78–128% ผลการศึกษาตัวอย่างน้ำชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการศึกษาปริมาณโลหะสังกะสี(II) ในน้ำตัวอย่าง

สารตัวอย่าง	ปริมาณ spiked Zn (mg/L)	ปริมาณที่พบ (mg/L)	
		$\bar{x}$±SD	% Recovery
Distilled water	0.0	<DL[a]	-
	0.6	0.47±0.01	78.22±2.15
	4.0	3.93±0.01	98.29±0.17
Drinking water	0.0	<DL	-
	0.6	0.59±0.00	99.04±0.64
	4.0	3.87±0.01	96.66±0.34
Tap water	0.0	<DL	-
	0.6	0.70±0.00	116.26±0.28
	4.0	3.93±0.01	98.30±0.25
Natural water	0.0	<DL	-
	0.6	0.77±0.01	128.32±1.49
	4.0	3.94±0.00	98.55±0.11

[a] <DL = ปริมาณที่พบมีค่าต่ำกว่าค่า detection limit

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ได้ทำการสังเคราะห์สารประกอบชิฟฟ์เบส (Schiff base) ของ 5-bromo-*N*-(8-quinolyl)salicylaldimine (HqsalBr) และ 3,5-dibromo-*N*-(8-quinolyl)salicylaldimine ($HqsalBr_2$) จากนั้นสารประกอบ Schiff base ได้ถูกนำไปสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II) แต่ยังไม่สามารถสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบ Schiff base และสารประกอบอะซิซัลเฟม-เคได้ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้สังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค และสารประกอบไตรฟีนิลฟอสฟีน (PPh_3) ในอัตราส่วนต่างๆได้ จากนั้นสารประกอบเชิงซ้อนทั้งหมดได้ถูกนำไปศึกษาประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลผ่านการศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอด (A549) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II) กับสารประกอบ Schiff base ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอดได้ ในขณะที่สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) กับสารประกอบอะซิซัลเฟมมีประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟมและสารประกอบ PPh_3 ซึ่งสามารถให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ดีกว่าการใช้ลิแกนด์เพียงชนิดเดียว นอกจากนี้ สารประกอบ HqsalBr ที่ได้สังเคราะห์ในงานวิจัยนี้ ยังได้ถูกนำไปศึกษาการหาปริมาณของโลหะหนักในน้ำด้วยเทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมทรี (UV-Vis Spectrophotometry) ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารประกอบ HqsalBr มีประสิทธิภาพที่ดีในการศึกษาหาปริมาณโลหะสังกะสี(II)ในน้ำตัวอย่างได้

บรรณานุกรม

[1] O'Brien-Nabors, L., *Alternative Sweeteners*. 2001, New York: Marcel Dekker,Inc.

[2] Cavicchioli, M., et al., *Pt(II) and Ag(I) complexes with acesulfame: Crystal structure and a study of their antitumoral, antimicrobial and antiviral activities.* Journal of Inorganic Biochemistry, 2010. **104**(5): p. 533-540.

[3] Reddy, P.R., S. Rajeshwar, and B. Satyanarayana, *Synthesis, characterization of new copper (ii) Schiff base and 1,10 phenanthroline complexes and study of their bioproperties.* Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology, 2016. **160**: p. 217-224.

[4] Macho, V., et al., *One stage preparation of Schiff's bases from nitroarenes, aldehydes and carbon monoxide at presence of water.* Journal of Molecular Catalysis a-Chemical, 2004. **209**(1-2): p. 69-73.

[5] *Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents.* Nature, 1969: p. 385-386.

[6] *Adducts of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II) with DNA: formation, identification, and quantitation.* Biochemistry 1985: p. 707-713.

[7] *Conformation, recognition by high mobility group domain proteins, and nucleotide excision repair of DNA intrastrand cross-links of novel antitumor trinuclear platinum complex BBR3464.* Journal of Biological Chemistry 2001: p. 22191-22199.

[8] Yin, R.T., et al., *Antitumor activities and interaction with DNA of oxaliplatin-type platinum complexes with linear or branched alkoxyacetates as leaving groups.* Journal of Inorganic Biochemistry, 2011. **105**(8): p. 1095-1101.

[9] Potocnak, I., et al., *Low-dimensional compounds containing bioactive ligands. Part VI: Synthesis, structures, in vitro DNA binding, antimicrobial and anticancer properties of first row transition metal complexes with 5-chloro-quinolin-8-ol.* Journal of Inorganic Biochemistry, 2016. **154**: p. 67-77.

[10] Shoair, A.F., A.R. El-Shobaky, and E.A. Azab, *Synthesis, characterization, DNA binding and catalytic applications of Ru(III) complexes.* Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015. **151**: p. 322-334.

[11] Duan, R.R., et al., *Synthesis, crystal structures, photoluminescence properties and DNA binding of triazine-nickel(II) complexes for DNA detection.* Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015. **151**: p. 64-71.

[12] Li, Z., et al., *Cu(II), Ni(II) complexes derived from chiral Schiff-base ligands: Synthesis, characterization, cytotoxicity, protein and DNA binding properties.* Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology, 2016. **163**: p. 403-412.

[13] Zhou, X.Q., et al., *Copper complexes based on chiral Schiff-base ligands: DNA/BSA binding ability, DNA cleavage activity, cytotoxicity and mechanism of apoptosis.* European Journal of Medicinal Chemistry, 2016. **114**: p. 244-256.

[14] Vikneswaran, R., et al., *New alicyclic thiosemicarbazone chelated zinc(II) antitumor complexes: Interactions with DNA/protein, nuclease activity and inhibition of topoisomerase-I.* Polyhedron, 2016. **105**: p. 89-95.

[15] Zayed, E.M., et al., *Synthesis, spectroscopic and structural characterization, and antimicrobial studies of metal complexes of a new hexadentate Schiff base ligand. Spectrophotometric determination of Fe(III) in water samples using a recovery test.* Monatshefte Fur Chemie, 2014. **145**(5): p. 755-765.

[16] Afkhami, A., M. Abbasi-Tarighat, and H. Khanmohammadi, *Simultaneous determination of Co2+, Ni2+, Cu2+ and Zn2+ ions in foodstuffs and vegetables with a new Schiff base using artificial neural networks.* Talanta, 2009. **77**(3): p. 995-1001.

[17] Memon, S.Q., et al., *Schiff Bases as Chelating Reagents for Metal Ions Analysis.* Current Analytical Chemistry, 2014. **10**(3): p. 393-417.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ข้อมูล Crystallographic data ของสารประกอบเชิงซ้อน

สารประกอบเชิงซ้อน	$[Ni(qsalBr_2)_2]$ (3)	$[Zn(qsalBr_2)_2]$ (4)	$[Ag(ace)(PPh_3)]$ (6)	$[Ag(PPh_3)_4](ace)$ (8)
Formula	$C_{32}H_{18}Br_4N_4NiO_2$	$C_{32}H_{17}Br_4N_4O_2Zn$	$C_{22}H_{19}AgNO_4PS$	$C_{76}H_{65}AgNO_4P_4S$
Formula weight	868.83	874.50	532.31	1406.33
Temperature/K	100.01	100.0	120.06	100.0
Crystal system	monoclinic	triclinic	triclinic	Monoclinic
Space group	$P2_1/c$	$P\bar{1}$	$P\bar{1}$	$C2/c$
a/Å	21.8302(12)	11.0954(10)	10.0298(8)	32.0063(18)
b/Å	10.1217(6)	12.8467(12)	10.2434(8)	22.2266(14)
c/Å	13.4878(8)	13.2738(13)	10.7526(8)	23.5928(14)
α/°	90	65.832(3)	102.919(3)	90
β/°	103.808(2)	82.588(3)	94.618(3)	124.719(2)
γ/°	90	65.606(3)	94.871(3)	90
Volume/Å3	2894.1(3)	1570.3(3)	1067.22(14)	13795.5(15)
Z	4	2	2	8
ρ_{calc} g/cm^3	1.9939	1.850	1.6564	1.3541
μ/mm^{-1}	6.232	5.908	1.146	0.469
2Θ range for data collection/°	4.46 to 51.56	4.588 to 56.724	4.96 to 60.74	4.48 to 36.32
Reflections collected	54704	73496	52850	56712
Independent reflections	5542	7831	6436	4883
R_{int}	0.1105	0.0599	0.0531	0.0965
Goodness-of-fit on F^2	1.096	1.017	1.046	1.052
Final R [I>=2σ (I)]	R_1 = 0.0532, wR_2 = 0.0942	R_1 = 0.0306, wR_2 = 0.0578	R_1 = 0.0292, wR_2 = 0.0537	R_1 = 0.0356, wR_2 = 0.0788

บทความสำหรับการเผยแพร่

1. Synthesis, characterization and anticancer studies of acesulfame mixed with triphenylphosphine silver(I) complexes, Bussaba Boonseng, Jaruwan Chatwichien, Ratanon Chotima, Teerawat Khudkam and Taweesak Pila, proceedings p. IN6-10, The Pure and Applied Chemistry International Conference 2018 (PACCON 2018), February 7-9, 2018, Songkhla, Thailand
2. Application of a synthetic Schiff base of 4-bromo-2-(quinolone-8-yliminomethyl)-phenol in ethanol for the determination of Zn (II) by spectrophotometric method Bussaba Boonseng, Orawan Kritsunankul, Ratanon Chotima, Benjaporn Pramote and Sunisa Seehawong, proceedings p. 150-155, The Pure and Applied Chemistry International Conference 2017 (PACCON2017), February 2-3, 2017, Bangkok, Thailand

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา
1.เพื่อสังเคราะห์ลิแกนด์ชิฟเบสและสารเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล (II) กับลิแกนด์ที่สังเคราะห์ขึ้นโดยนำสารประกอบอะซิซัลเฟม-เคมาเป็นลิแกนด์ร่วม 2.เพื่อนำสารเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ไปทดสอบปฏิกิริยาทางชีวภาพเบื้องต้นกับ DNA รวมถึงการทดสอบผลของความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity evaluation) ที่เกิดจากสารเชิงซ้อน จากนั้นทำการเปรียบเทียบผลการทดลองกับการใช้สารเชิงซ้อนจากงานวิจัยที่ผ่านมา	1) ทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ ที่เกี่ยวข้อง 2)สังเคราะห์ลิแกนด์ Schiff base 3)สังเคราะห์สารเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II)กับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบ Schiff base และสารประกอบอะซิซัลเฟม-เค 4)ทดสอบประสิทธิภาพของสารเชิงซ้อนที่มีต่อสารชีวโมเลกุล 5)วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผลการศึกษา 6)รายงานผลการศึกษา	1) ทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ ที่เกี่ยวข้อง 2)สังเคราะห์ลิแกนด์ Schiff base 3)สังเคราะห์สารเชิงซ้อนของโลหะนิกเกิล(II) และโลหะสังกะสี(II) กับสารประกอบ Schiff base เพียงชนิดเดียว รวมถึงสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะเงิน(I) และลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบอะซิซัลเฟม-เคและ PPh_3 4)ทดสอบประสิทธิภาพของสารเชิงซ้อนที่มีต่อสารชีวโมเลกุล 6)รายงานผลการศึกษา

ผลที่ได้รับตลอดโครงการ

จากทุนวิจัยที่ได้รับจากมหาวิทยาลัยนเรศวร (งบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560) ทำให้ผู้วิจัยสามารถเริ่มต้นงานวิจัยที่ตนเองสนใจและคิดว่าเป็นประโยชน์ในด้านของการสร้างความรู้พื้นฐาน ที่จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาต่อไป ในช่วงเริ่มต้น ผู้วิจัยได้ใช้งบประมาณที่ได้ในการซื้อเครื่องแก้วและสารเคมี ซึ่งเป็นอุปกรณ์พื้นฐานที่จำเป็นอย่างมากสำหรับการวิจัยเชิงเคมีสังเคราะห์ รวมถึงค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์โครงสร้างของสารประกอบทั้งหมดที่สังเคราะห์ขึ้นด้วย

จากวัตถุประสงค์เริ่มต้นของงานวิจัยที่ต้องการศึกษาสารประกอบเชิงซ้อนกับลิแกนด์ผสมระหว่างสารประกอบ Schiff baseและสารประกอบอะซิซัลเฟมนั้น ปรากฏว่าไม่สามารถทำตามแผนที่วางไว้ อาจเป็นผลมาจากกลไกของปฏิกิริยาทางเคมีรวมถึงสภาวะที่ต้องใช้ในการสังเคราะห์ เนื่องจากงานวิจัยก่อนหน้า (Literature Reviews) ได้แสดงให้เห็นว่าการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนนี้มีความเป็นไปได้ แต่ต้องทำภายใต้แก๊สอาร์กอนและทำปฏิกิริยาภายใน glovebox ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีราคาสูงมาก อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยก็ได้ปรับเปลี่ยนแผนของโครงการไปสังเคราะห์สารที่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ ภายใต้สภาวะบรรยากาศปกติ ซึ่งผลจากการทดลองก็ประสบความสำเร็จ รวมถึงสารประกอบเชิงซ้อนชนิดใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้นยังแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าสารมาตรฐานอีกด้วย นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ประยุกต์นำสารที่สังเคราะห์ขึ้นไปใช้ในการหาปริมาณของโลหะสังกะสี(II) ในน้ำ ซึ่งถือเป็นการประยุกต์ความรู้ด้านเคมีสังเคราะห์ เข้ากับเคมีวิเคราะห์ด้วย แล้วผลงานที่ผู้วิจัยได้ทำตลอดระยะเวลาของการได้รับทุนยังได้รับการนำเสนอแบบโปสเตอร์และตีพิมพ์ในงานประวิชาการระดับนานาชาติอีกด้วย นอกจากนี้ผู้วิจัยยังอยู่ในขั้นตอนของการเขียนผลงานตีพิมพ์ในระดับนานาชาติสำหรับการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนชนิดใหม่ รวมถึงการตีพิมพ์ผลงานในวารสาร Naresuan University Journal: Science and Technology (NUJST) สำหรับการเปรียบเทียบผลของโลหะ ชนิดของลิแกนด์และอัตราส่วนของลิแกนด์ผสมที่มีต่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งอีกด้วย