สารทำเครื่องหมายฟลูออเรสเซนซ์ชนิดใหม่จากอนุพันธ์บอดิพี

Novel fluorescent tag from BODIPY derivatives

โดย

นางสาวหทัยชนก ศีลาเจริญ
นายสุทธิชัย วศินธรรม

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2556

เรื่อง สารทำเครื่องหมายฟลูออเรสเซนซ์ชนิดใหม่จากอนุพันธ์บอดิพี

โดย นางสาวหทัยชนก ศีลาเจริญ

นายสุทธิชัย วศินธรรม

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชณิตา ธรรมยงค์กิจ)

....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โรจน์ฤทธิ์ โรจนธเนศ)

....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ภัสสร์พล งามอุโฆษ)

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

....

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่.............เดือน.....................................พ.ศ.........................

ชื่อโครงการ สารทำเครื่องหมายฟลูออเรสเซนซ์ชนิดใหม่จากอนุพันธ์บอดิพี
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวหทัยชนก ศีลาเจริญ เลขประจำตัว 5333135223
นายสุทธิชัย วศินธรรม เลขประจำตัว 5333131723
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โรจน์ฤทธิ์ โรจนธเนศ
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้สังเคราะห์อนุพันธ์ของบอดิพีชนิดใหม่สองชนิดได้สำเร็จ โดยการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ในภาวะเบส วิเคราะห์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีและมัลดิทอฟแมสสเปกโทรเมทรี วิเคราะห์คุณสมบัติเชิงแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลและฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตเมตรี ได้ค่าการดูดกลืนสงสูงสุดที่ 499 นาโนเมตร และค่าการคายแสงที่ความเข้มสูงสุดในช่วง 519-530 นาโนเมตร ชี้ให้เห็นว่ามีหมู่บอดิพีอยู่ในโมเลกุลที่สังเคราะห์ขึ้น

คำสำคัญ: บอดิพี, ฟลูออเรสเซนซ์, การสังเคราะห์

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Title Novel fluorescent tag from BODIPY derivatives

Student names Miss Hathaichanok Seelajaroen ID 5333135223

Mr. Suthichai Vasinthum ID 5333131723

Advisor Assistant Professor Dr. Rojrit Rojanathanes

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University,

Academic year 2013

Abstract

In this research, two BODIPY derivatives were successfully synthesised *via* nucleophilic substitution in basic condition. All synthesised compounds were characterised by NMR spectroscopy, IR spectroscopy and MALDI-TOF mass spectrometry. Their optical properties were investigated by UV-Vis and fluorescence spectrophotometry in solution. The observed absorbance maxima at 499 nm and emission maxima around 519-530 nm confirmed the formation of the desirable BODIPYs.

Keywords: BODIPY, fluorescence, synthesis

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โรจน์ฤทธิ์ โรจนธเนศ เป็นอย่างยิ่งที่กรุณาเสียสละเวลาให้คำแนะนำที่ดีเสมอมาในขั้นตอนต่างๆ ของงานวิจัย แก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นทำให้งานวิจัยและรายงานวิจัยเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัยขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชณิตา ธรรมยงค์กิจ ประธานกรรมการสอบและอาจารย์ ดร.ภัสสร์พล งามอุโฆษ กรรมการสอบ สำหรับคำแนะนำ คำติชม และข้อเสนอแนะในงานวิจัยและรายงานวิจัยนี้

คณะผู้วิจัยขอบพระคุณ ผศ.ดร.บุญเอก ยิ่งยงณรงค์กุล สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ต่างๆ ในการทำงานวิจัย

คณะผู้วิจัยขอบคุณ นายวิทวัส แก้วส่องแสง นางสาวกอบกุล แซ่ปัง รวมถึงพี่ๆ ทุกคนที่ให้กำลังใจ คำปรึกษา แนะนำวิธีการดำเนินงานและวิธีใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ

สุดท้ายคณะผู้วิจัยขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ง

กิตติกรรมประกาศ จ

สารบัญรูป ซ

สารบัญแผนภาพ ฌ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมา มูลเหตุจูงใจ ทฤษฎี และความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้อง 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ 7

บทที่ 2 การทดลอง

2.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ 8

2.1.2 สารเคมี 8

2.2 ขั้นตอนการสังเคราะห์

2.2.1 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin **(1)** 10

2.2.2 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin **(2)** 11

2.2.3 การสังเคราะห์ ethylene ditosylate **(3)** 12

2.2.4 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin **(4)** 13

2.2.5 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin **(5)** 14

บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin **(1)** 15

3.2 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin **(2)** 21

3.3 การสังเคราะห์ ethylene ditosylate **(3)** 26

3.4 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin **(4)** 28

3.5 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin **(5)** 34

หน้า

บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 37

เอกสารอ้างอิง 38

ประวัติผู้วิจัย 41

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1-1 แผนภาพแสดงระดับพลังงานของ Jablonski 3
รูปที่ 1-2 แสดงโครงสร้างโมเลกุล BODIPY 3
รูปที่ 1-3 แสดงโครงสร้าง BODIPY กับเซราไมด์ 5
รูปที่ 1-4 แสดงโครงสร้างโมเลกุลกลูตาไธโอน 6
รูปที่ 1-5 แสดงโครงสร้างของอนุพันธ์ของ BODIPY เป้าหมายที่ยึดติดกับกลูตาไธโอน 7
รูปที่ 3-1 แสดงแมสสเปกตรัมของสาร **1** ที่สังเคราะห์ได้ 18
รูปที่ 3-2 แสดง IR สเปกตรัมของสาร **1** ที่สังเคราะห์ได้ 19
รูปที่ 3-3 แสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR สาร **1** 20
รูปที่ 3-4 แสดงสเปกตรัม ^{13}C-NMR สาร **1** 20
รูปที่ 3-5 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสาร **1** 21
รูปที่ 3-6 แสดงแมสสเปกตรัมของสาร **2** ที่สังเคราะห์ได้ 23
รูปที่ 3-7 แสดง IR สเปกตรัมของสาร **2** ที่สังเคราะห์ได้ 23
รูปที่ 3-8 แสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR ของสาร **2** 24
รูปที่ 3-9 แสดงสเปกตรัม ^{13}C-NMR ของสาร **2** 25
รูปที่ 3-10 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสาร **2** 25
รูปที่ 3-11 แสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR ของสาร **3** 27
รูปที่ 3-12 แสดงสเปกตรัม ^{13}C-NMR ของสาร **3** 28
รูปที่ 3-13 แสดงแมสสเปกตรัมของสาร **4** ที่สังเคราะห์ได้ 30
รูปที่ 3-14 แสดง IR สเปกตรัมของสาร **4** ที่สังเคราะห์ได้ 30
รูปที่ 3-15 แสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR ของสาร **4** 31
รูปที่ 3-16 แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของสาร **4** 32
รูปที่ 3-17 แสดงสเปกตรัม ^{13}C-NMR ของสาร **4** 33
รูปที่ 3-18 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสาร **4** 34

สารบัญแผนภาพ

		หน้า
แผนภาพที่ 1-1	แสดงวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ BODIPY ด้วยพิร์โรล และ (a) แอลดีไฮด์ (b) อนุพันธ์ของกรดคาร์บอกซิลิก	4
แผนภาพที่ 2-1	แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5 -(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin (**1**)	10
แผนภาพที่ 2-2	แสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5 -(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin (**2**)	11
แผนภาพที่ 2-3	แสดงการสังเคราะห์เอธิลีนไดทอซิเลต (**3**)	12
แผนภาพที่ 2-4	แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5 -(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin (**4**)	13
แผนภาพที่ 2-5	แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5 -(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin (**5**)	14
แผนภาพที่ 3-1	แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5 -(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin (**1**)	15
แผนภาพที่ 3-2	แสดงการเกิดปฏิกิริยาควบแน่นระหว่าง 4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ กับพิร์โรล	16
แผนภาพที่ 3-3	แสดงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของพิร์โรลมีเทน **1a** ด้วย 2,3-ไดคลอโร-5,6-ไดไซยาโน-1,4-เบนโซควิโนน	17
แผนภาพที่ 3-4	แสดงปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโบรอนไตรฟลูออไรด์	17
แผนภาพที่ 3-5	แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5 -(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin (**2**)	21
แผนภาพที่ 3-6	แสดงการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ 1,2-ไดโบรโมอีเทน ในสภาวะเบส	22
แผนภาพที่ 3-7	แสดงการสังเคราะห์เอธิลีนไดทอซิเลต	26
แผนภาพที่ 3-8	แสดงการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ของทอซิลคลอไรด์ในเอธิลีนไกลคอล	26
แผนภาพที่ 3-9	แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5 -(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin (**4**)	28
แผนภาพที่ 3-10	แสดงการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่โดยใช้เอธิลีนไดทอซิเลต เป็นนิวคลีโอไฟล์ ในสภาวะเบส	29

หน้า

แผนภาพที่ 3-11 แสดงการสังเคราะห์ *N,N*´-difluoroboryl-5 35
-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin (**5**)
แผนภาพที่ 3-12 แสดงการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่โดยใช้กลูตาไธโอนเป็นนิวคลีโอไฟล์ 35

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมา มูลเหตุจูงใจ ทฤษฎี และความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้อง

ปรากฏการณ์การเปล่งแสงของโมเลกุล (luminescence) มีหลายชนิดขึ้นอยู่กับแหล่งพลังงานที่กระตุ้นโมเลกุล เช่น หากโมเลกุลได้รับพลังงานจากปฏิกิริยาเคมี เรียกว่า เคมิคอลลูมิเนสเซนซ์ (chemical luminescence) หรือโมเลกุลได้รับพลังงานจากอนุภาคที่มีพลังงานสูง เรียกว่า เรดิโอลูมิเนสเซนซ์ (radioluminescence) หรือในโมเลกุลที่เกิดอันตรกิริยากับโฟตอนของการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า เรียกว่า โฟโตลูมิเนสเซนซ์ (photoluminescence) แบ่งออกเป็นการวาวแสง (fluorescence) และการเรืองแสง (phosphorescence) ทั้งสองปรากฏการณ์แตกต่างกันที่กระบวนการกลับมาสู่สภาวะพื้นใหม่ เป็นต้น โดยโฟโตลูมิเนสเซนซ์ได้รับความนิยมสูงสุดในการวิเคราะห์ทางเคมี เนื่องจากมีสภาพความไวสูง มีลักษณะเฉพาะตัวต่อสาร และสามารถวิเคราะห์ได้ที่ความเข้มข้นต่ำในระดับนาโนโมลาร์[1]

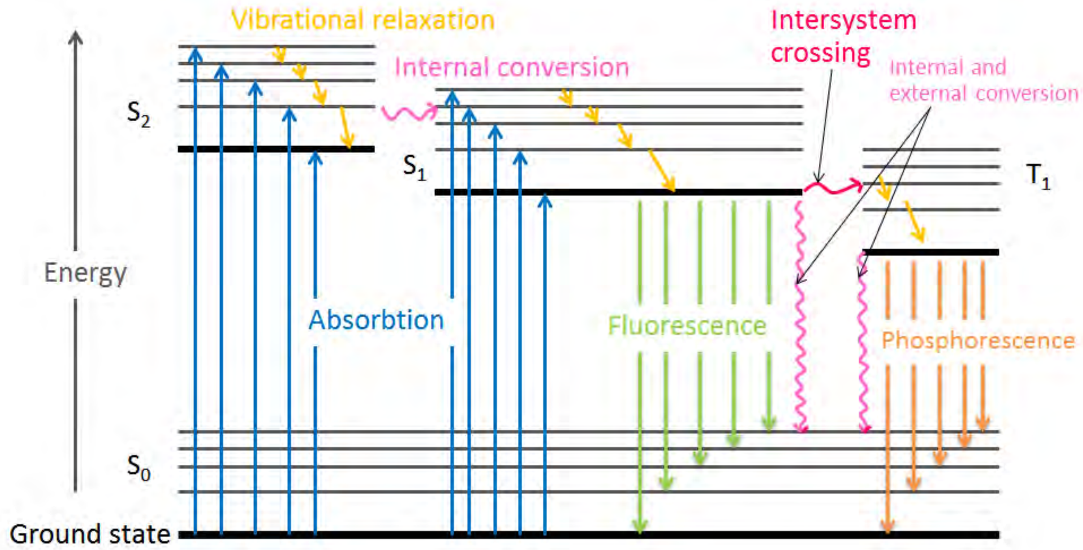
โฟโตลูมิเนสเซนซ์เป็นกระบวนการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนไปสู่สภาวะกระตุ้นและการกลับสู่สภาวะพื้น (excitation-deexcitation process) โดยมีโฟตอนเข้าไปเกี่ยวข้อง ดังรูปที่ 1-1 กระบวนการกระตุ้นเกิดจาก โมเลกุลในสภาวะพื้นซึ่งเป็นสภาวะที่มีพลังงานต่ำที่สุด และมีการหมุนของอิเล็กตรอนรวม (spin multiplicity) เท่ากับ 1 หรือเรียกว่าสถานะพื้นของอิเล็กตรอนแบบซิงเกล็ต (singlet electronic state; S_0) โดยดูดกลืนพลังงานจากการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้าทำให้อิเล็กตรอนเคลื่อนขึ้นไปอยู่ที่สภาวะกระตุ้น โมเลกุลสามารถดูดกลืนรังสีได้หลายช่วงความยาวคลื่น[2] เช่น ที่ความยาวคลื่น λ_1 จะเกิดการแทรนซิชันจากสภาวะพื้น (S_0) ไปยังสภาวะกระตุ้นที่หนึ่ง (S_1) หรือที่ความยาวคลื่น λ_2 เกิดการแทรนซิชันจากสภาวะพื้น (S_0) ไปยังสภาวะกระตุ้นที่สอง (S_2) โมเลกุลที่อยู่ในสภาวะกระตุ้นจะกลับสู่ระดับพลังงานต่ำสุดของสภาวะกระตุ้นนั้นๆ โดยกระบวนการต่างๆ[3] ได้แก่ การผ่อนคลายโดยการสั่น (vibrational relaxation) การเกิดการเปลี่ยนแปลงภายใน (internal conversion) การเกิดการเปลี่ยนแปลงภายนอก (external conversion) และการข้ามเกิดระหว่างระบบ (intersystem crossing)

การผ่อนคลายโดยการสั่น เกิดจากโมเลกุลถูกกระตุ้น ขึ้นไปสู่สภาวะกระตุ้นที่มีระดับพลังงานการสั่นหลายค่า ถ้าโมเลกุลในสภาวะกระตุ้นอยู่ในสารละลาย จะเกิดการถ่ายเทพลังงานจากการสั่นให้กับตัวทำละลาย มีผลให้ตัวทำละลายมีพลังงานสูงขึ้น กระบวนการนี้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ในเวลาน้อยกว่า 10^{-12} วินาที โมเลกุลที่อยู่ในสภาวะกระตุ้นที่มีพลังงานการสั่นต่ำที่สุดจะกลับสู่สภาวะพื้นโดยการปล่อยพลังงานออกมาในรูปของแสงตามปรากฏการณ์ฟลูออเรสเซนซ์และให้แสงหลายความยาวคลื่น เนื่องจากในสภาวะพื้นก็มีระดับพลังงานสั่นหลายค่า

การเกิดการเปลี่ยนภายใน อธิบายการเปลี่ยนแปลงระหว่างโมเลกุล ที่มีระดับพลังงานของอิเล็กตรอนสองระดับที่มีค่าการหมุนของอิเล็กตรอนรวมเท่ากันและมีค่าพลังงานใกล้เคียงกันหรือมีช่วงระดับพลังงานการสั่นที่เหลื่อมซ้อนทับกัน โดยการเปลี่ยนแปลงนี้ไม่มีการปล่อยรังสีออกมา ยกตัวอย่างเช่น ในสภาวะกระตุ้นที่หนึ่ง (S_1) และสภาวะกระตุ้นที่สอง (S_2) มีพลังงานใกล้เคียงกันจึงเกิดแทรนซิชันจาก S_2 ไปยัง S_1

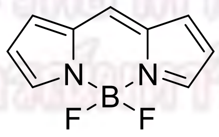
การเกิดการเปลี่ยนภายนอก เป็นกระบวนการคายพลังงานของระหว่างโมเลกุลที่อยู่ในสภาวะกระตุ้นกับตัวทำละลายหรือตัวถูกละลาย การเปลี่ยนภายนอกนี้มีผลต่อความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โดยสารละลายที่มีอุณหภูมิต่ำและมีความหนืดสูงจะทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์มีความเข้มสูงขึ้น เนื่องจากอนุภาคเกิดการชนกันลดลง

การข้ามเกิดระหว่างระบบเกิดจากการสปินของอิเล็กตรอนที่อยู่ในสภาวะกระตุ้นกลับไปมา ทำให้สปินมัลติพลิซิตีของโมเลกุลเปลี่ยนไป ปรากฏการณ์นี้จะเกิดเมื่อระดับพลังงานการสั่นของสถานะซิงเกล็ตและทริเพล็ตเท่ากัน การแทรนซิชันจะเกิดจากสถานะกระตุ้นซิงเกล็ตที่มีระดับพลังงานการสั่นต่ำสุดไปสู่สถานะกระตุ้นทริเพล็ตที่ระดับพลังงานการสั่นสูง หรือจาก S_1 ไปยัง T_1 โดยโมเลกุลที่อยู่ใน T_1 จะเกิดการผ่อนคลายโดยการสั่นไปยัง T_1 ที่มีระดับพลังงานต่ำสุด แล้วเกิดการแทรนซิชันไปสู่สภาวะพื้น S_0 เกิดปรากฏการณ์การเรืองแสงหรือฟอสฟอเรสเซนซ์ ใช้เวลา 10^{-3}-10 วินาที ซึ่งเป็นเวลาที่นานกว่าการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ และความยาวคลื่นของการคายแสงฟอสฟอเรสเซนซ์จะมากกว่าฟลูออเรสเซนซ์



รูปที่ 1-1 แผนภาพแสดงระดับพลังงานของ Jablonski

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ฟลูออเรสเซนซ์ในงานวิจัยทางการแพทย์และเทคโนโลยีชีวภาพจำนวนมาก[4] เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบหรือพิสูจน์ชนิดของสาร โดยเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่มีสภาพไวสูง มีลักษณะเฉพาะต่อสาร มีกระบวนการวิเคราะห์ที่ไม่ซับซ้อนและสามารถตรวจวัดได้ในระดับความเข้มข้นต่ำ ตัวอย่างสารฟลูออเรสเซนซ์อินทรีย์ เช่น ฟลูออเรสซีน (fluorescein) โรดามีน (rhodamine) รวมถึงสารประกอบ *N*,*N'*-difluoroboryl-dipyrrin หรือ BODIPY ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1-2 งานวิจัยนี้ใช้ BODIPY เป็นสารให้ฟลูออเรสเซนซ์ เนื่องจากเป็นโมเลกุลขนาดเล็กจึงสามารถเข้าสู่เซลล์ได้ง่าย มีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ[5-7] ให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ความเข้มสูง[8] และมีความเสถียรต่อสภาวะกรดเบสในระบบ

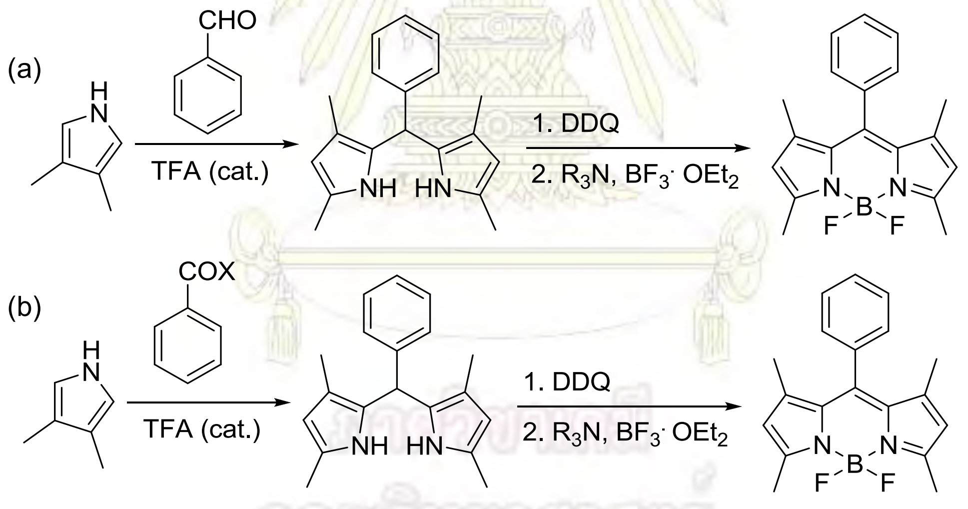


รูปที่ 1-2 แสดงแกนของโมเลกุล BODIPY

Treibs และคณะ[9] สังเคราะห์ BODIPY ขึ้นครั้งแรก ในปี ค.ศ. 1968 โดยอาศัยปฏิกิริยาควบแน่นระหว่างพิร์โรลและแอลดีไฮด์ โดยมีกรดลิวอิสเป็นตัวเร่ง เกิดปฏิกิริยาผ่านไดพิร์โรล

มีเทน ซึ่งเป็นสารที่ไม่เสถียรและสลายตัวได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่เมื่อถูกออกซิไดซ์และทำปฏิกิริยากับโบรอนไตรฟลูออไรด์ ในภาวะเบส จะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็น BODIPY ดังแสดงในแผนภาพที่ 1-1(a) ซึ่งมีสมบัติทางกายภาพเชิงแสงที่ดี กล่าวคือมีค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงสูง และมีความการดูดกลืนแสงกว้าง มีค่าผลผลิตควอนตัมสูง และมีความเสถียรต่อสภาพกรด เบส ความร้อน และแสง ทั้งยังสามารถปรับเปลี่ยนหมู่แทนที่เพื่อประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ ได้ ทำให้มีการนำ BODIPY มาใช้เป็นสารทำเครื่องหมายฟลูออเรสเซนซ์ในหลายระบบ[10]

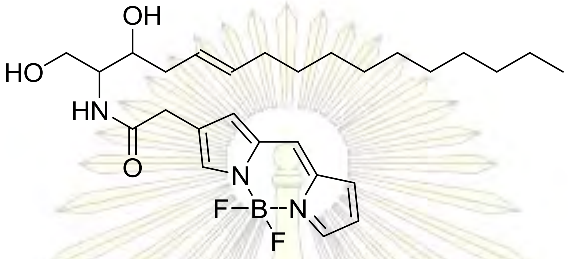
นอกจากการสังเคราะห์ด้วยพิร์โรลและแอลดีไฮด์แล้ว อนุพันธ์ของ BODIPY ยังสามารถสังเคราะห์ได้จากพิร์โรลและอนุพันธ์ของกรดคาร์บอกซิลิก ดังแสดงในแผนภาพที่ 1-1(b) เช่น แอซิดคลอไรด์ โดยตรง จะได้สารขั้นกลางเป็นไดพิร์โรลมีเทน แล้วนำมาทำปฏิกิริยาโบรอนไตรฟลูออไรด์ ในภาวะเบส ก็จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นอนุพันธ์ของ BODIPY ชนิดเดียวกัน แต่วิธีการใช้แอซิดคลอไรด์นั้นเป็นวิธีที่อันตรายมากกว่า เนื่องจากเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำจะให้ก๊าซไฮโดรเจนคลอไรด์ที่มีฤทธิ์เป็นกรด โดยปกติจึงนิยมใช้วิธีแรกเพื่อสังเคราะห์ BODIPY



แผนภาพที่ 1-1 แสดงวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ BODIPY ด้วยพิร์โรล และ (a) แอลดีไฮด์ (b) อนุพันธ์ของกรดคาร์บอกซิลิก

ในปี ค.ศ. 1991 Pagano และคณะ[11] สังเคราะห์อนุพันธ์ของ BODIPY ติดกับเซราไมด์ ดังรูปที่ 1-3 ซึ่งเซราไมด์เป็นส่วนประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ในลิพิดเวสิเคิล เพื่อศึกษาการเคลื่อนย้ายและการสะสมของไขมันขณะผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ไปยังกอลจิแอพพาราตัสภายในเซลล์ที่

มีชีวิต พบว่าตำแหน่งของค่าความยาวคลื่นการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงสุดขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของลิพิดเวสิเคิลตัวอย่าง โดยบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์จะมีความยาวคลื่นสูงกว่าบริเวณอื่น และเมื่อผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ พบว่าในกอลจิแอพพาราตัส สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เป็นไปในรูปแบบเดียวกันกับเยื่อหุ้มเซลล์ แสดงให้เห็นว่าอนุพันธ์ของ BODIPY สามารถนำไปพัฒนาเป็นสารทำเครื่องหมายฟลูออเรสเซนซ์ที่นำเข้าสู่เซลล์ได้



รูปที่ 1-3 แสดงโครงสร้าง BODIPY กับเซราไมด์

ในปี ค.ศ. 1994 Karolin และคณะ[12] สังเคราะห์อนุพันธ์ของ BODIPY เพื่อศึกษาการจับตัวกับไขมันบนเยื่อหุ้มเซลล์และโปรตีน ที่ pH ต่างๆ โดยเปรียบเทียบกับโรดามีน ซึ่งเป็นสารทำเครื่องหมายทางชีวภาพที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย พบว่าโมเลกุล BODIPY สามารถจับกับเยื่อหุ้ทเซลล์ และโปรตีนได้ดีกว่าในสารละลายทุกสภาวะที่ศึกษาและมีค่าคงที่การจับตัวและความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์สูง นอกจากนั้นยังไม่ส่งผลต่อกระบวนการทำงานปกติของโปรตีนภายในเซลล์ จึงมีแนวโน้มว่าสามารถใช้อนุพันธ์ BODIPY เป็นสารทำเครื่องหมายภายในเซลล์ได้

นอกจากการใช้ในงานเป็นสารทำเครื่องหมายทางชีวภาพแล้ว อนุพันธ์ของ BODIPY ยังสามารถนำไปใช้ในงานด้านอื่น ได้อย่างกว้างขวาง เช่น เป็นตัวตรวจวัดทางเคมี[13-15] การถ่ายภาพเซลล์[16] เซลล์สุริยะ[17] เลเซอร์สีย้อม[18] รวมไปถึงยังสามารถนำไปพัฒนาเป็นสารทำเครื่องหมายในสิ่งมีชีวิตได้อีกด้วย

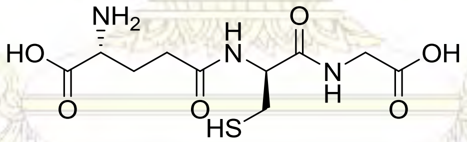
สิ่งมีชีวิตมีการรักษาสมดุลด้วยระบบอันซับซ้อนของปฏิกิริยาต่างๆ เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากตัวรีดิวซ์ไปยังตัวออกซิไดซ์[19] ให้ผลิตภัณฑ์หลายชนิด หนึ่งในนั้นคืออนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุล หรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว[20] ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ในสิ่งมีชีวิตได้

ดังนั้นพืชและสัตว์จึงรักษาสมดุลของปฏิกิริยาโดยอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระ[21] เช่น กลูตาไธโอน วิตามินซี และวิตามินอี เป็นต้น

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอื่นๆ ได้ โดยยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ด้วยการให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระ ทำให้สารอนุมูลอิสระเสถียรเนื่องจากอิเล็กตรอนครบคู่[22]

กลูตาไธโอนมีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 1-4 เป็นโมเลกุลแรกๆ ในการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเป็นสารช่วยป้องกันและต่อต้านการทำงานของสารประกอบซีโนไบโอติก (xenobiotic)[23] ซึ่งคือ สารพิษที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น ยา สารก่อมะเร็ง เป็นต้น อีกทั้งยังช่วยป้องกันเซลล์จากการเกิดสภาวะความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) หรือสภาวะที่อนุมูลอิสระมีปริมาณมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้นมา อันเป็นสาเหตุของโรคต่างๆ ในมนุษย์[24] ดังนั้นกลูตาไธโอนจึงมักถูกนำมาใช้รักษาโรคต่างๆ ในมนุษย์ เนื่องจากกลูตาไธโอนมีคุณสมบัติที่น่าสนใจดังนี้

1. ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดี
2. กระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกาย โดยกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ เพื่อให้ร่างกายต้านสิ่งแปลกปลอม แบคทีเรียหรือไวรัส



รูปที่ 1-4 แสดงโครงสร้างโมเลกุลกลูตาไธโอน

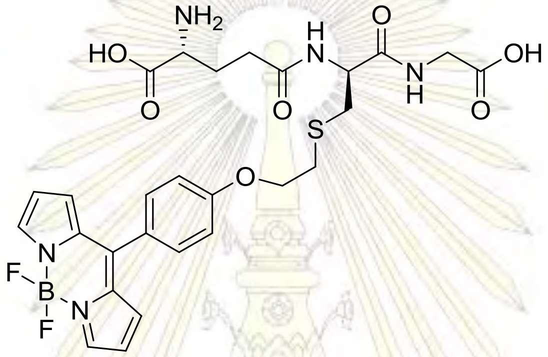
ในปี ค.ศ. 2005 Procopio และคณะ[25] ได้สังเคราะห์อนุพันธ์ของกลูตาไธโอนกับอิเล็กโทรไฟล์หลายชนิด ผ่านปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ในภาวะเบส พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ทั้งหมดเกิดผ่านการแทนที่บริเวณหมู่ไธออลเท่านั้น และนำไปใช้ศึกษาระบบการยับยั้งเอนไซม์กลูตาไธโอนทรานเฟอร์เรส ที่เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคมะเร็ง

จากงานวิจัยดังกล่าวพบว่า การติดตามกลูตาไธโอนมีความสำคัญต่อการศึกษากลไกการทำงานในระดับเซลล์ งานวิจัยนี้จะสังเคราะห์อนุพันธ์ของ BODIPY ให้มีหมู่ฟังก์ชันที่พร้อมจะยึดติดกับกลูตาไธโอนโดยอาศัยปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์บริเวณหมู่ไธออลเพื่อให้

BODIPY ระบุตำแหน่งและปริมาณของกลูตาไธโอนที่เซลล์เป้าหมายได้ โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์ของ BODIPY ที่มีหมู่แทนที่ในตำแหน่งมีโซเป็น 4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ เพื่อนำไปต่อกับกลูตาไธโอน ดังรูปที่ 1-5



รูปที่ 1-5 แสดงโครงสร้างของอนุพันธ์ของ BODIPY เป้าหมายที่ยึดติดกับกลูตาไธโอน

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องมือ, อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรมิเตอร์
   (Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer), Varian Mercury 400 MHz
   สำหรับการวิเคราะห์ ^{1}H-NMR และ 100 MHz สำหรับการวิเคราะห์ ^{13}C-NMR
2. นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรมิเตอร์
   (Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer), Bruker Advance 400 MHz
   สำหรับการวิเคราะห์ ^{1}H-NMR และ 100 MHz สำหรับการวิเคราะห์ ^{13}C-NMR
3. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) รุ่น N-1000,
   Tokyo Rikkakikai
4. สเปกโตรฟลูออโรมิเตอร์ (Spectrofluorometer),
   Varian Cary Eclipse spectrofluorometer
5. อัลตร้าไวโอเลต-วิสิเบิล สเปกโทรมิเตอร์
   (Ultraviolet-visible spectrophotometer), HP 5453 UV-Vis spectrophotometer
6. แมสสเปกโทรมิเตอร์ (mass spectrometer),
   Micromass Quattromicro^{TM} APL
7. เครื่องกวนแม่เหล็กแบบให้ความร้อน (Hotplate and Stirrer), JENWAY 1000
8. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง AB204-S, Mettler Toledo
9. แผ่นซิลิกาเจลบนอะลูมินัม, MERCK
10. เครื่องหาจุดหลอมเหลว, Mel-Temp

2.1.2 สารเคมี

2.1.2.1 สารตั้งต้นและสารทำปฏิกิริยา

1. 4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ (4-hydroxy benzaldehyde), Sigma-Aldrich

2. พิร์โรล (pyrrole), Sigma-Aldrich
3. กรดไตรฟลูออโรแอซีติก (trifluoroacetic acid; TFA), Sigma-Aldrich
4. 2,3-ไดคลอโร-5,6-ไดไซยาโนเบนโซควิโนน (2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone; DDQ), Sigma-Aldrich
5. 1,2-ไดโบรโมอีเทน (1,2-dibromoethane), Sigma-Aldrich
6. โบรอนไตรฟลูออไรด์ ไดเอทิลเอเธอเรท (boron trifluoride diethyl etherate; $BF_3{\cdot}OEt_2$), Merck
7. 4-โทลูอีนซัลโฟนิลคลอไรด์ (4-toluenesulfonyl chloride, TsCl), Merck
8. เอธิลีนไกลคอล (ethylene glycol), Fluka
9. สารละลายเตตระบิวทิลแมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (tetrabutyl ammonium hydroxide solution), Fluka
10. L-กลูตาไธโอน (L-glutathione reduced), Sigma-Aldrich

2.1.2.2 ตัวทำละลาย

1. ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane), commercial grade
2. เมทานอล (methanol), Merck
3. ไตรเอธิลเอมีน (triethylamine), Fisher Scientific
4. ไดเอธิลอีเทอร์ (diethyether), Merck
5. เอธิลแอซิเตต (ethylacetate), commercial grade
6. เอทานอล (ethanol), Carlo Erba
7. ไดเมธิลฟอร์มาไมด์ (dimethylformamide), Lab-Scan
8. คลอโรฟอร์ม (chloroform), Lab-Scan

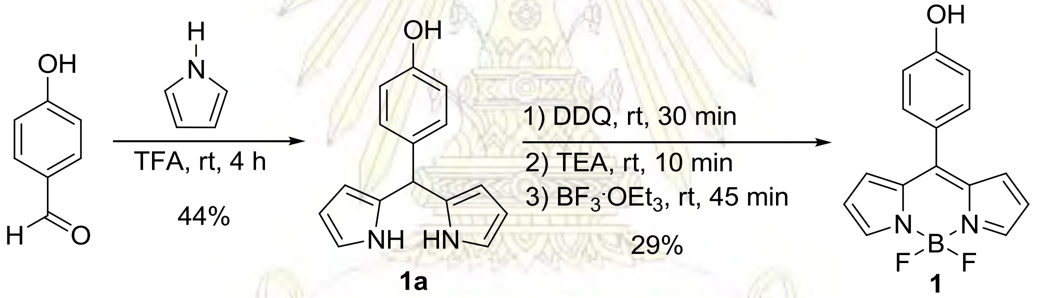
2.1.2.3 สารอื่น ๆ

1. เฮกเซน (hexanes), commercial grade
2. ซิลิกาเจล (silica gel) 60 (0.063-0.200 mm), Merck
3. เซฟาเด็กซ์ (sephadex) LH 20, Sigma-Aldrich
4. โซเดียมซัลเฟต แอนไฮดรัส (sodium sulfate anhydrous), Merck
5. โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate), Carlo Erba
6. โซเดียมซัลไฟต์ (sodium sulphite), Carlo Erba

7. โพแทสเซียมคาร์บอเนต (potassium carbonate), Merck
8. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide), Lab-Scan
9. อะซิโตน (acetone), Merck
10. โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride), Carlo Erba
11. ดิวทีเรเทดคลอโรฟอร์ม (chloroform-*d*), Sigma-aldrich
12. น้ำปราศจากไอออน (deionised water)
13. แก๊สไนโตรเจน

2.2 ขั้นตอนการสังเคราะห์

2.2.1 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin (1)

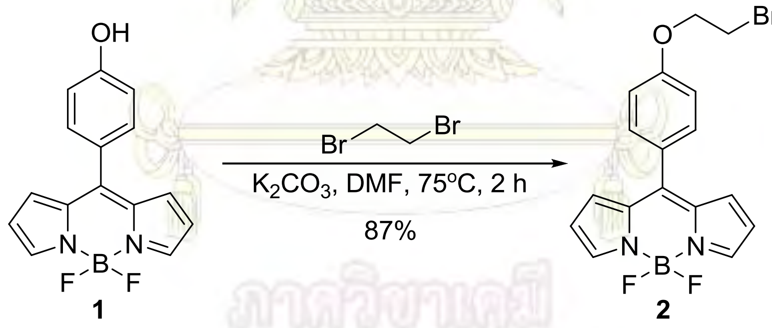


แผนภาพที่ 2-1 แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin (**1**)

วิธีสังเคราะห์สาร **1** ดัดแปลงมาจากเอกสารอ้างอิง[26] โดยบรรจุ 4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ (1.24 g, 10.2 mmol, 1 eq) ในขวดก้นกลมขนาด 50 mL เติมพิร์โรล (3.49 mL, 51.0 mmol, 5 eq) และกรดไตรฟลูออโรแอซิติก (0.20 mL, 0.1 eq) ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน และกวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติมเอธิลแอซิเตต 30 mL ก่อนนำไปสกัดด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมไบคาร์บอเนต (2 × 30 mL) น้ำปราศจากไอออน (30 mL) และสารละลายอิ่มตัวโซเดียมคลอไรด์ (30 mL) ตามลำดับ เก็บชั้นสารอินทรีย์ทำให้แห้งด้วยโซเดียมซัลเฟต แอนไฮดรัส แล้วนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้สารละลายแอธิลแอซิเตต 5% โดยปริมาตรในไดคลอโรมีเทน เป็นตัวชะ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม (1.0774 g, 44%)

ละลายสาร **1a** (1.0774 g, 4.52 mmol, 1 eq) ด้วยไดคลอโรมีเทน 40 mL ลงในขวดก้นกลมขนาด 100 mL เติม 2,3-ไดคลอโร-5,6-ไดไซยาโนเบนโซควิโนน (1.03 g, 4.52 mmol, 1 eq) ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน และกวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็ก 30 นาที จากนั้นจึงเติมไตรเอธิลเอมีน (1.9 mL, 13.6 mmol, 3 eq) แล้วเติมโบรอนไตรฟลูออไรด์ ไดเอทิลเอเธอเรท (2.9 mL, 22.6 mmol, 5 eq) กวนสารละลายต่ออีก 45 นาที หลังจากนั้นจึงสกัดด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ความเข้มข้น 10% (50 mL) น้ำปราศจากไอออน (2 × 50 mL) และสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมคลอไรด์ (50 mL) เก็บชั้นสารอินทรีย์ ทำให้แห้งด้วยโซเดียมซัลเฟต แอนไฮดรัส แล้วนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวชะ นำไปตกตะกอนด้วยเฮกเซน ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้ม (374 mg, 29%); ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) 7.92 (s, 2H), 7.50 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.99 (s, 2H), 6.97 (s, 2H), 6.55 (s, 2H), 5.42 (s, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 158.6, 147.4, 143.5, 134.7, 132.6, 131.3, 126.3, 118.3, 115.6; MALDI-TOF-MS obsd 284.213 ([M^+]), calcd 284.093; λ_{abs} (CH_2Cl_2) 381, 498 nm; λ_{em} (CH_2Cl_2) (λ_{ex} = 498 nm) 519 nm

2.2.2 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin (2)

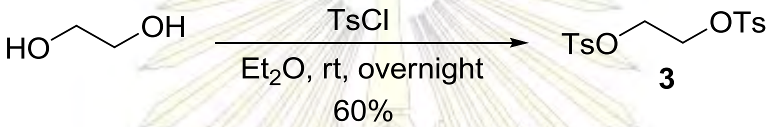


แผนภาพที่ 2-2 แสดงปฏิกิริยาการสังเคราะห์
N,N´-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin (**2**)

วิธีสังเคราะห์สาร **2** ดัดแปลงมาจากเอกสารอ้างอิง[27] โดยละลายสาร **1** (0.0549 g, 0.193 mmol, 1 eq) ด้วยไดเมธิลฟอร์มาไมด์ที่ปราศจากน้ำ 50 mL ลงในขวดก้นกลมขนาด 50 mL เติมโพแทสเซียมคาร์บอเนต 1 g และ 1,2-ไดโบรโม อีเทน (0.332 mL, 3.86 mmol, 20 eq) ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน และกวนที่อุณหภูมิ 75^{o}C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงสกัดด้วยสารละลายอิ่มตัวของโซเดียมคลอไรด์ (2 × 50 mL) เก็บชั้นสารอินทรีย์ ทำให้แห้งด้วยโซเดียมซัลเฟต แอนไฮดรัส และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน จากนั้น

ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ตัวชะเป็นสารละลายผสมไดคลอโรมีเทนและเฮกเซน (3:1) นำไปตกตะกอนด้วยเฮกเซน ได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีส้ม (68.5 mg, 87%); ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) 7.93 (s, 2H), 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.06 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.96 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H), 6.56 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 4.40 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.71 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 160.1, 146.6, 143.1, 134.4, 131.9, 130.9, 126.4, 117.6, 114.3, 67.6, 28.2; λ_{abs} (CH_2Cl_2) 384, 499 nm; λ_{em} (CH_2Cl_2) (λ_{ex} = 499 nm) 527 nm

2.2.3 การสังเคราะห์ ethylene ditosylate (3)

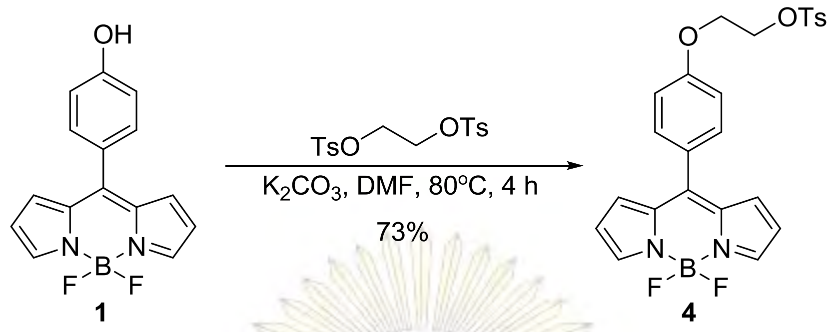


แผนภาพที่ 2-3 แสดงการสังเคราะห์เอธิลีนไดทอซิเลต (**3**)

วิธีสังเคราะห์สาร **3** เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง[28] โดยละลายเอธิลีนไกลคอล (4.86 g, 78.3 mmol, 1 eq) ลงในไตรเอธิลเอมีน 50 mL ภายในขวดก้นกลมขนาด 500 mL และเติมทอซิลคลอไรด์ (30.0 g, 157 mmol, 2 eq) ที่ละลายอยู่ในไดเอธิลอีเธอร์ 150 mL โดยหยดช้าๆ โดยการกวนอย่างแรง แล้วกวนต่อข้ามคืน จะได้ตะกอนสีขาว กรองตะกอนที่ได้ ล้างด้วยน้ำและเอทานอล ตกผลึกโดยอุ่นกับเอทานอล เป็นเวลา 30 นาที จะได้ผลึกขนาดเล็กสีขาวของเอธิลีนไดทอซิเลต (**3**) ได้ผลิตภัณฑ์ 60 % yield มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 124-125 ^{o}C; ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) 7.66 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H), 7.27 (d, *J* = 8.0 Hz, 4H), 4.12 (s, 4H), 2.39 (s, 6H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 145.0, 132.1, 129.8, 127.8, 66.5, 21.4 โดยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีที่ได้สอดคล้องกับที่ได้อธิบายไว้ในเอกสารอ้างอิง

คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

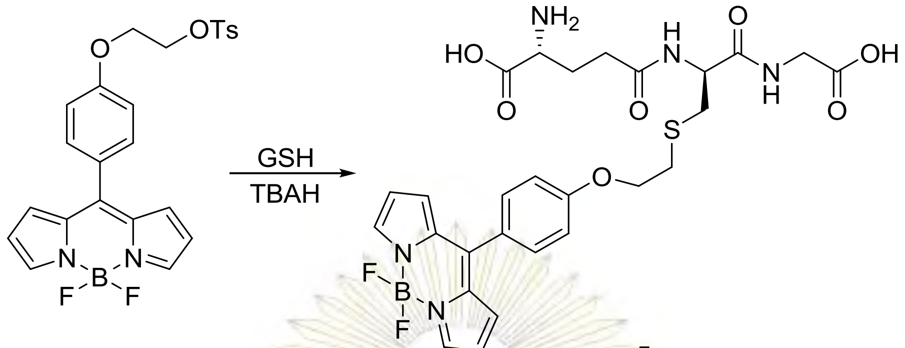
2.2.4 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin (4)



แผนภาพที่ 2-4 แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin (**4**)

วิธีสังเคราะห์สาร **4** ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิง[28] โดยละลายเอธิลีนไดทอซิเลต **3** (86 mg, 0.23 mmol, 1.1 eq) ลงในอะซีโตไนไตรล์ 10 mL ภายในขวดก้นกลมสองคอขนาด 50 mL เติมโพแทสเซียมคาร์บอเนต 0.5 g นำไปกวนให้ความร้อนจนรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 80^{o}C และเติมสารละลายสาร **1** (60 mg, 0.21 mmol, 1 eq) ที่ละลายอยู่ในอะซีโตไนไตรล์ 5 mL โดยหยดช้าๆ แล้วจึงกวนต่อไป 4 ชั่วโมง จะได้สารละลายสีส้มเข้ม ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ก่อนนำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (50 mL) และน้ำเกลือ (50 mL) แยกชั้นสารอินทรีย์ออกมา ทำให้แห้งด้วยโซเดียมซัลเฟต แอนไฮดรัส และนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวชะ จะได้เป็นของเหลวเหนียวสีส้มแดง นำไปตกตะกอนด้วยเฮกเซน จะได้เป็นของแข็งสีส้ม (74 mg, 73%) ช่วงการหลอมเหลว 190-192 ^{o}C; ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 7.93 (s, 2H), 7.84 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.97-6.96 (m, 2H), 6.94 (s, 1H), 6.56 (s, 2H), 4.50 (s, 1H), 4.42 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.27 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.18 (s, 1H), 2.36 (s, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 161.4, 147.6, 145.7, 145.6, 144.1, 135.3, 132.8, 131.7, 130.4, 128.4, 127.4, 118.8, 115.1, 68.1, 67.1, 22.1; λ_{abs} (CH_2Cl_2) 384, 499 nm; λ_{em} (CH_2Cl_2) (λ_{ex} = 499 nm) 530 nm

2.2.5 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin (5)



4 5

แผนภาพที่ 2-5 แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin (**5**)

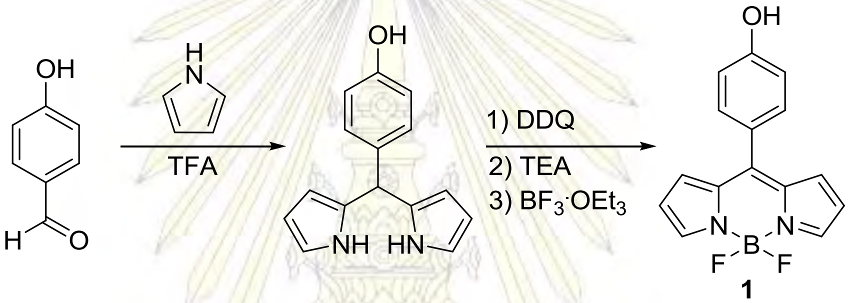
วิธีสังเคราะห์สาร **5** ดัดแปลงมาจากเอกสารอ้างอิง[25] โดยละลายสาร **4** (117 mg, 0.25 mmol, 1.5 eq) ด้วยคลอโรฟอร์ม 3 mL ในหลอดปิดขนาด 20 mL และละลาย L-กลูตาไธโอน (55 mg, 0.17 mmol, 1 eq) ด้วยน้ำ 1 mL ในหลอดทดลอง จากนั้นจึงเติมสารละลายกลูตาไธโอนลงในหลอดปิด และเติมสารละลายเตตระบิวทิล แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 40% โดยปริมาตร 250 µL กวนที่อุณหภูมิห้อง 4 วัน แยกชั้นสารอินทรีย์ออกมาสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (5mL), น้ำเกลือ (5 mL) ทำให้แห้งด้วยโซเดียมซัลเฟต แอนไฮดรัส แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้เซฟาเด็กซ์ปีนตัวดูดซับ และใช้สารละลายไดคลอโรมีเทน 15% โดยปริมาตรในเมทานอลเป็นตัวชะ ได้ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดง โดยข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของสารต่าง ๆที่แยกได้ไม่มีสารใดที่สอดคล้องกับโครงสร้างสาร **5**

บทที่ 3

ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.1 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin (1)

N,N´-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin (**1**) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สาร **2** และ **4** โดยการสังเคราะห์สาร **1** แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นแรกเป็นปฏิกิริยาควบแน่นระหว่าง 4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์กับพิร์โรลในภาวะกรด ขั้นที่สองเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโบรอนไตรฟลูออไรด์ ดังแสดงในแผนภาพที่ 3-1

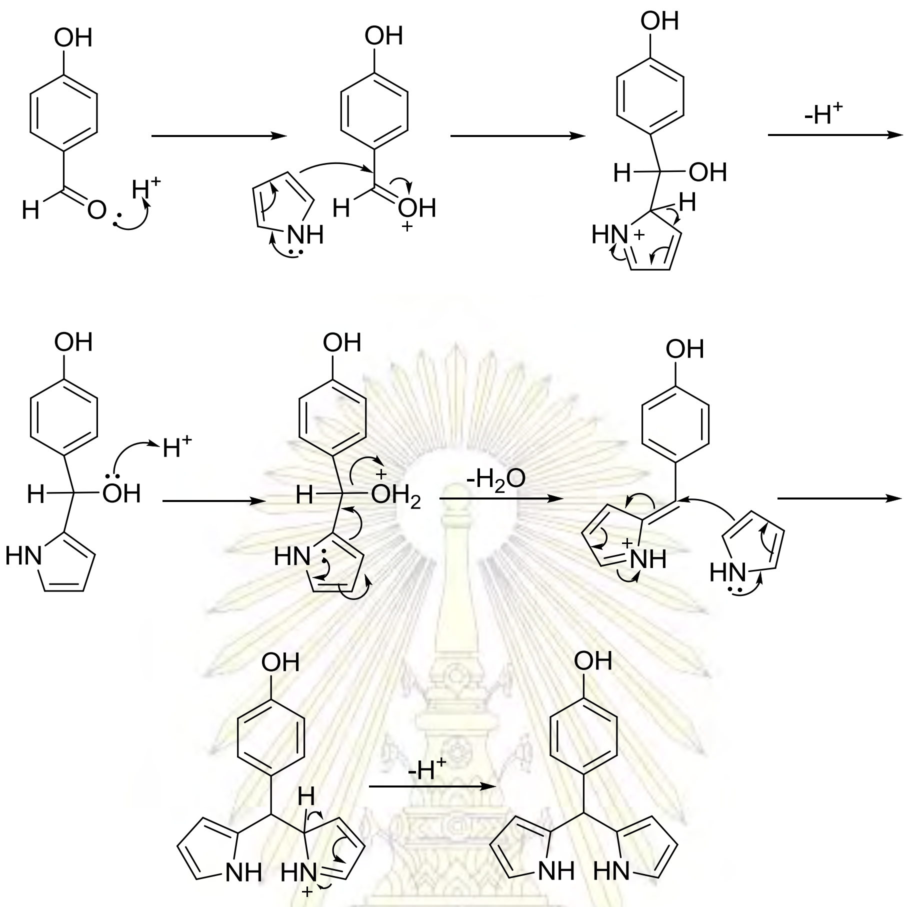


1

แผนภาพที่ 3-1 แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin (**1**)

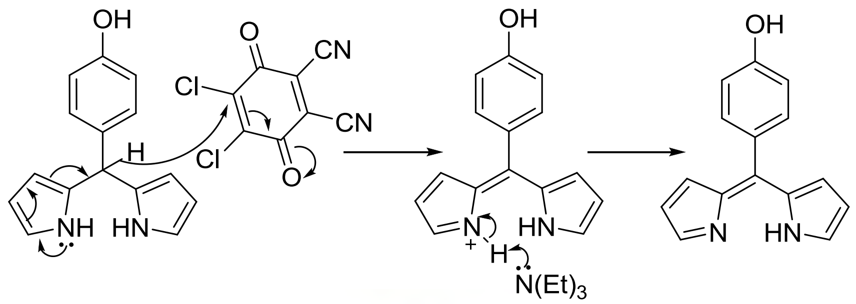
ปฏิกิริยาควบแน่นนี้เกิดผ่านกลไกในแผนภาพที่ 3-2 เริ่มจากออกซิเจนในโมเลกุล 4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์รับโปรตอนจากกรด และพิร์โรลเป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าทำปฏิกิริยาที่คาร์บอนของหมู่คาร์บอนิล จากนั้นออกซิเจนอะตอมเดิมจะรับโปรตอนอีกครั้ง พิร์โรลอีกโมเลกุลจะเข้าทำปฏิกิริยาที่คาร์บอนตำแหน่งเดิม ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไดพิร์โรลมีเทน **1a**

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

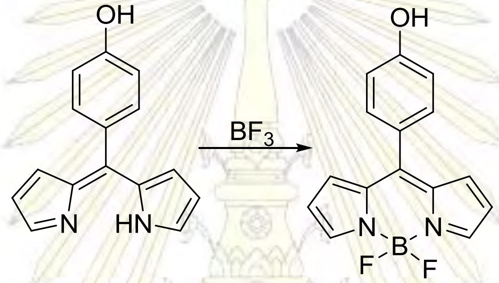


แผนภาพที่ 3-2 แสดงการเกิดปฏิกิริยาควบแน่นระหว่าง 4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์กับพิร์โรล

ขั้นต่อมาเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันของพิร์โรลมีเทน **1a** ด้วย 2,3-ไดคลอโร-5,6-ไดไซยาโน-1,4-เบนโซควิโนนดังแสดงในแผนภาพที่ 3-3 ผ่านกระบวนการแลกเปลี่ยนโปรตอน ได้โมเลกุลที่เสถียรมากขึ้น เนื่องจากมีระบบคอนจูเกตที่เชื่อมระหว่างวงพิร์โรลสองวง จากนั้นนำสารดังกล่าวมาทำปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโบรอนไตรฟลูออไรด์ในเบส ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็น *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin (**1**) ในแผนภาพที่ 3-4



แผนภาพที่ 3-3 แสดงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของพิร์โรลมีเทน **1a**
ด้วย 2,3-ไดคลอโร-5,6-ไดไซยาโน-1,4-เบนโซควิโนน



1

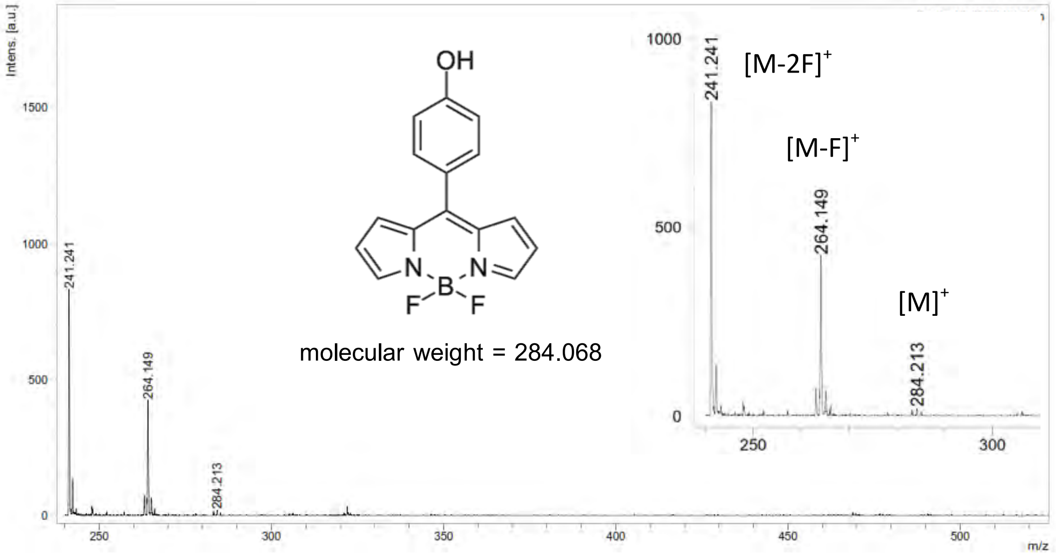
แผนภาพที่ 3-4 แสดงปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโบรอนไตรฟลูออไรด์

4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์และพิร์โรลทำปฏิกิริยาควบแน่น โดยมีกรดไตรฟลูออโรแอซิติกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้สารละลายสีน้ำตาลเข้มและมีตะกอนสีดำหนืดที่ก้นขวด ทดสอบการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้เอทิลแอซิเตตความเข้มข้น 5% โดยปริมาตร ในไดคลอโรมีเทนเป็นตัวชะ เทียบกับ 4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ (R_f = 0.6) พบ 2 จุด ที่ R_f = 0 และ 0.29 แสดงว่า 4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยาหมด ผู้วิจัยคาดว่าจุดที่มี R_f = 0 คืออนุพันธ์ของพอลิพิร์โรลที่ไม่เคลื่อนที่ในแผ่นซิลิกาเนื่องจากมีขนาดใหญ่ หลังจากสกัดด้วยตัวทำละลายและทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวชะเช่นเดียวกับในทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาล มีร้อยละผลได้เท่ากับ 44% ผู้วิจัยคาดว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ ไดพิร์โรลมีเทน **1a** โดยผู้วิจัยไม่สามารถวิเคราะห์เอกลักษณ์ของสารได้ เนื่องจากเป็นสารที่ไม่เสถียรและสลายตัวง่ายที่อุณหภูมิห้อง

จึงนำสาร **1a** ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับ 2,3-ไดคลอโร-5,6-ไดไซยาโน-1,4-เบนโซควิโนน และปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนต่อกับโบรอนไตรฟลูออไรด์ในภาวะเบสของไตรเอธิลเอมีน ทดสอบการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีด้วยไดคลอโรมีเทน พบว่ามี 3 จุดที่ R_f = 0, 0.14 และ 0.29 ที่ R_f = 0.29 เป็นจุดสีเหลืองที่ให้

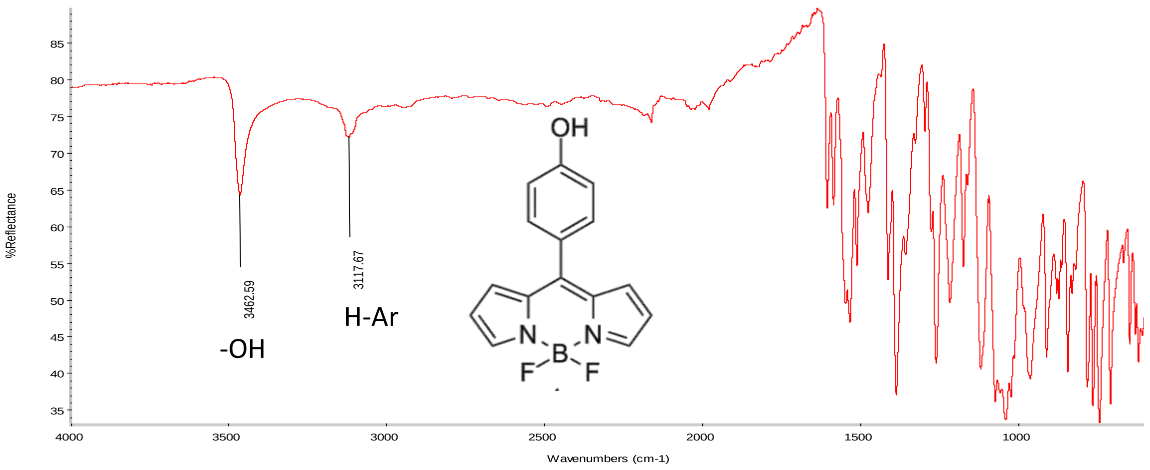
สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ คาดว่าเป็นสาร **1** จึงนำไปสกัดด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ เพื่อกำจัด 2,3-ไดคลอโร-5,6-ไดไซยาโน-1,4-เบนโซควิโนนที่เหลือจากการทำปฏิกิริยา แล้วทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี และตกตะกอนด้วยเฮกเซน

ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้ม มีร้อยละผลได้เท่ากับ 29% ผลการวิเคราะห์จากเทคนิค MALDI-TOF แมสสเปกโทรเมตรีดังแสดงในรูปที่ 3-1 พบว่าสัญญาณไอออนของโมเลกุล ที่ m/z 284.213 (สาร **1** มีมวลโมเลกุล = 284.068) และมีสัญญาณไอออนอื่นที่ m/z 264.219, 241.241 คาดว่าเกิดการหลุดออกของฟลูออไรด์ไอออน 1 และ 2 ไอออนตามลำดับ



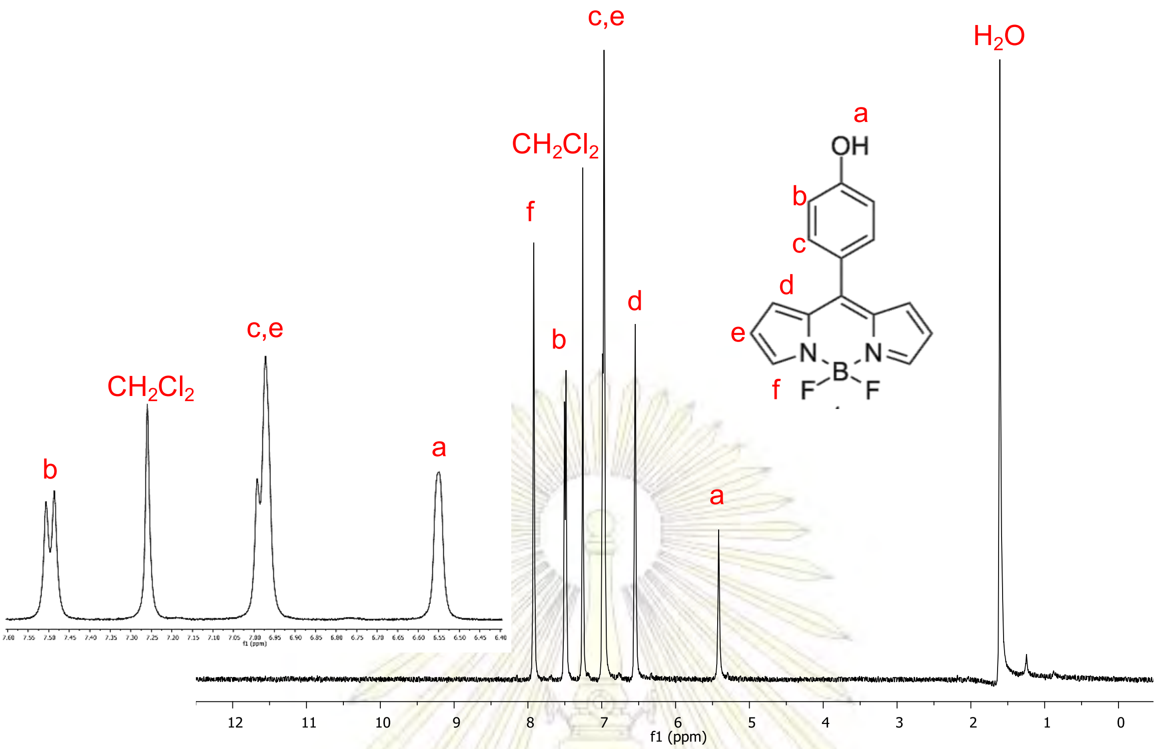
รูปที่ 3-1 แสดงแมสสเปกตรัมของสาร **1** ที่สังเคราะห์ได้

เมื่อวิเคราะห์โดยเทคนิค IR พบว่าได้สเปกตรัมที่สอดคล้องกับโครงสร้างของ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin ดังแสดงในรูปที่ 3-2 พบสัญญาณการดูดกลืนแสงที่ 3400 cm^{-1} เป็นเอกลักษณ์ของการสั่นของพันธะ O-H และมีสัญญาณการดูดกลืนแสงที่ 3100 cm^{-1}และในช่วง 2000-2500 cm^{-1} เป็นเอกลักษณ์ของแอโรแมติก

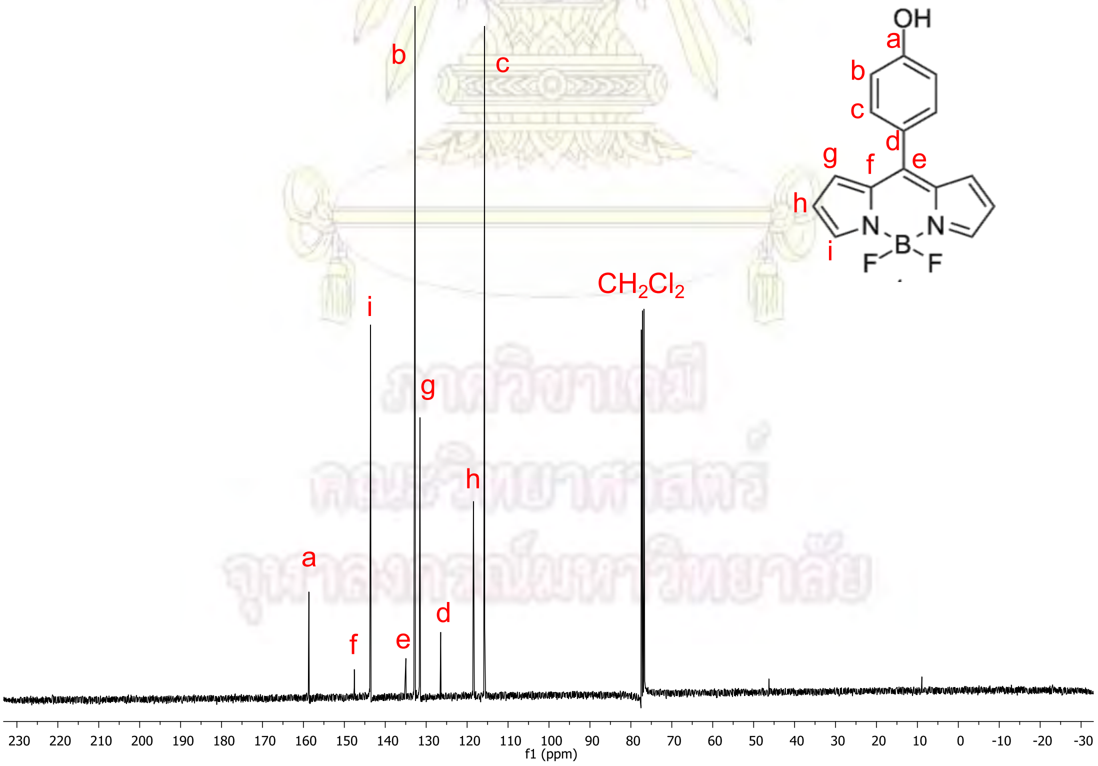


รูปที่ 3-2 แสดง IR สเปกตรัมของสาร **1** ที่สังเคราะห์ได้

จากผลการวิเคราะห์โดย [1]H-NMR ดังแสดงในรูปที่ 3-3 พบว่าสเปกตรัมที่ได้สนับสนุนว่าโมเลกุลที่สังเคราะห์ได้มีโครงสร้างเป็น *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin ปรากฏ 6 สัญญาณ สอดคล้องกับจำนวนโปรตอนที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน โดยมี 1 สัญญาณที่ δ 5.42 (s) ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนของหมู่ไฮดรอกซิลตำแหน่ง a และ 2 สัญญาณที่ δ 7.49 (d, *J* = 8.4 Hz) และ 6.99 (s) ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนบนวงแอโรแมติกตำแหน่ง b, c ตามลำดับ ส่วน 3 สัญญาณที่ δ 6.55 (s), 6.97 (s) และ 7.92 (s) ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนบนวงพิร์โรลตำแหน่ง d, e และ f ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ด้วย [13]C-NMR พบว่าสเปกตรัมที่ได้สนับสนุนโครงสร้างของ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin ซึ่งปรากฏ 9 สัญญาณของคาร์บอน ดังแสดงในรูปที่ 3-4 ประกอบด้วย 4 สัญญาณของจัตุรภูมิคาร์บอน (quaternary carbon) ที่ δ 126.3, 134.7, 147.4 และ 158.6 ppm เป็นสัญญาณของคาร์บอนตำแหน่ง d, e, f, a ตามลำดับ และมี 5 สัญญาณของตติยภูมิคาร์บอน (tertiary carbon) ที่ δ 115.6, 118.3, 131.3, 132.6 และ 143.5 ppm เป็นสัญญาณของคาร์บอนตำแหน่ง c, h, g, b และ i ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 3-4



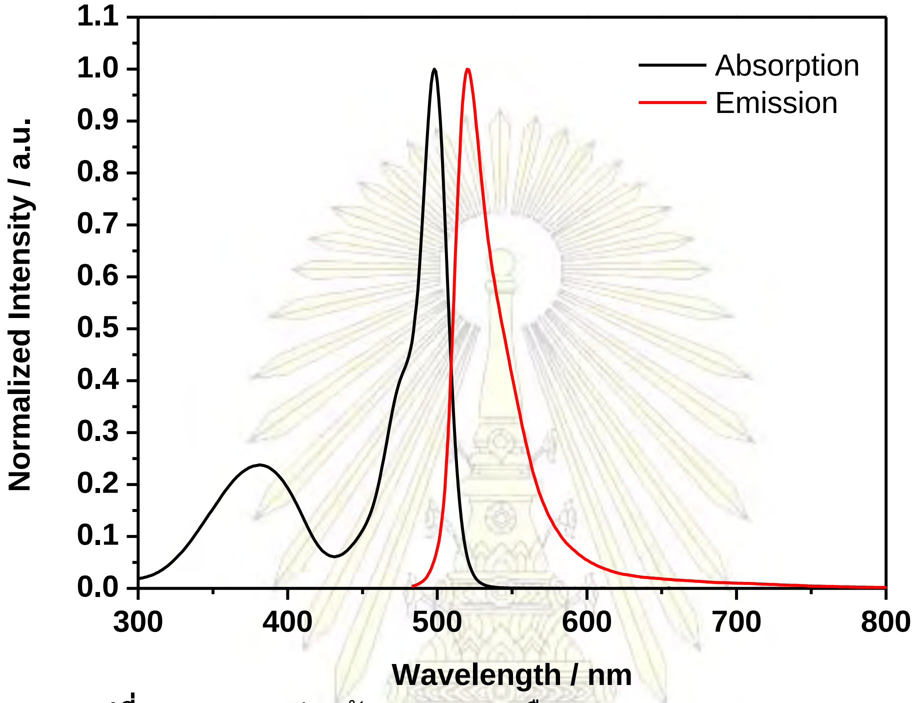
รูปที่ 3-3 แสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR สาร **1**



รูปที่ 3-4 แสดงสเปกตรัม ^{13}C-NMR สาร **1**

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

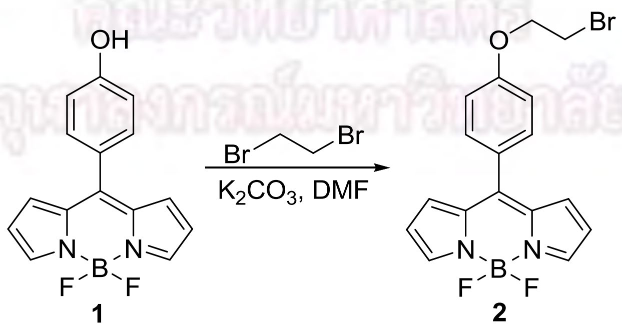
ผลการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี พบว่าสาร **1** ดูดกลืนแสงที่ 2 ความยาวคลื่นคือ 381 nm และ 498 nm เมื่อกระตุ้นด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 498 nm พบว่าคายแสงที่มีความเข้มสูงสุดที่ 519 nm ดังแสดงในรูปที่ 3-5



รูปที่ 3-5 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสาร **1**

3.2 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin (2)

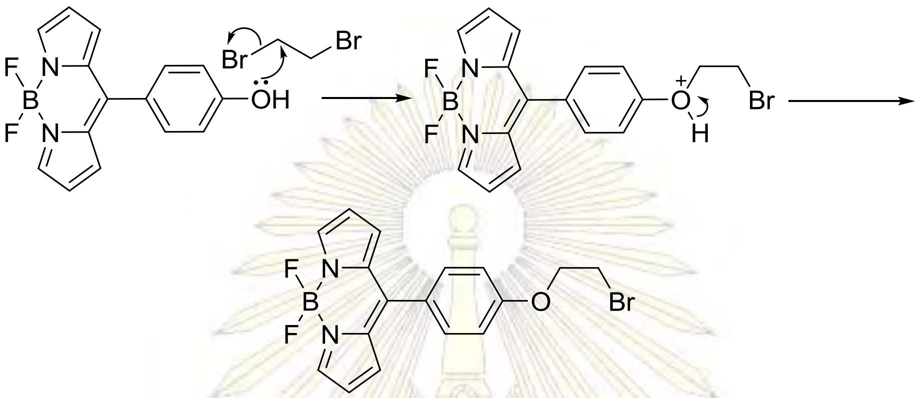
ขั้นตอนนี้ใช้สาร **1** เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin (**2**) ผ่านปฏิกิริยาการแทนที่โดยใช้ 1,2-ไดโบรโมอีเทนเป็นนิวคลีโอไฟล์ในภาวะเบส ดังแสดงในแผนภาพที่ 3-5



แผนภาพที่ 3-5 แสดงการสังเคราะห์

N,N´-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin (**2**)

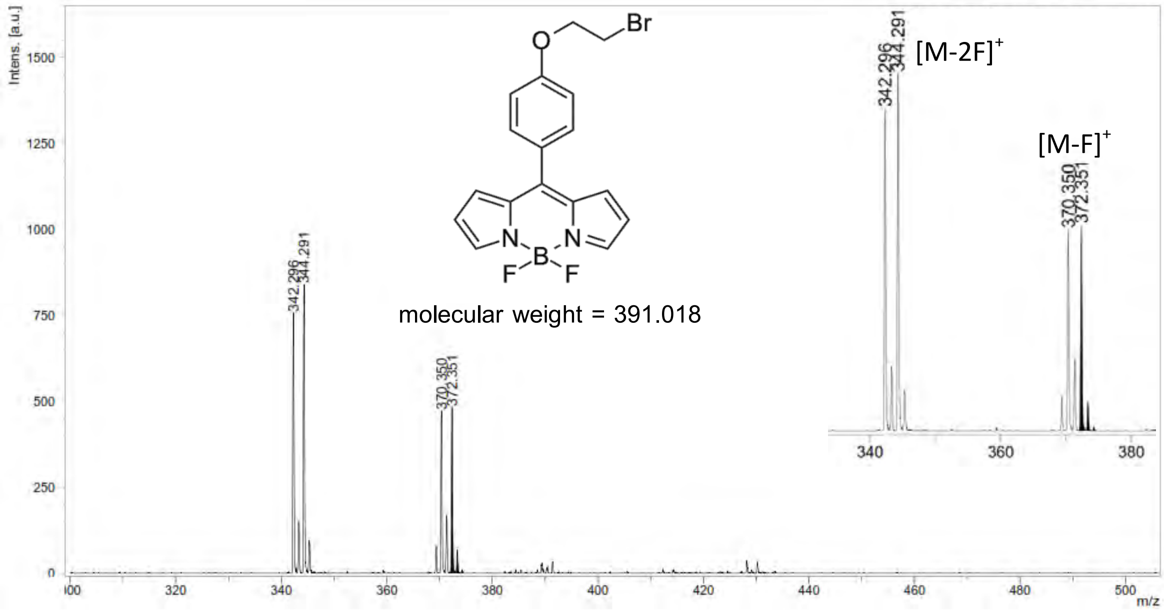
ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์แบบ S_N2 มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในแผนภาพที่ 3-6 โดยเริ่มจากอะตอมออกซิเจนของสาร **1** เป็นนิวคลีโอไฟล์ เข้าทำปฏิกิริยากับ 1,2-ไดโบรโมอีเทน ในภาวะเบส เกิดเป็น *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy) phenyl)-dipyrrin (**2**)



แผนภาพที่ 3-6 แสดงการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ด้วย
นิวคลีโอไฟล์ 1,2-ไดโบรโมอีเทนในภาวะเบส

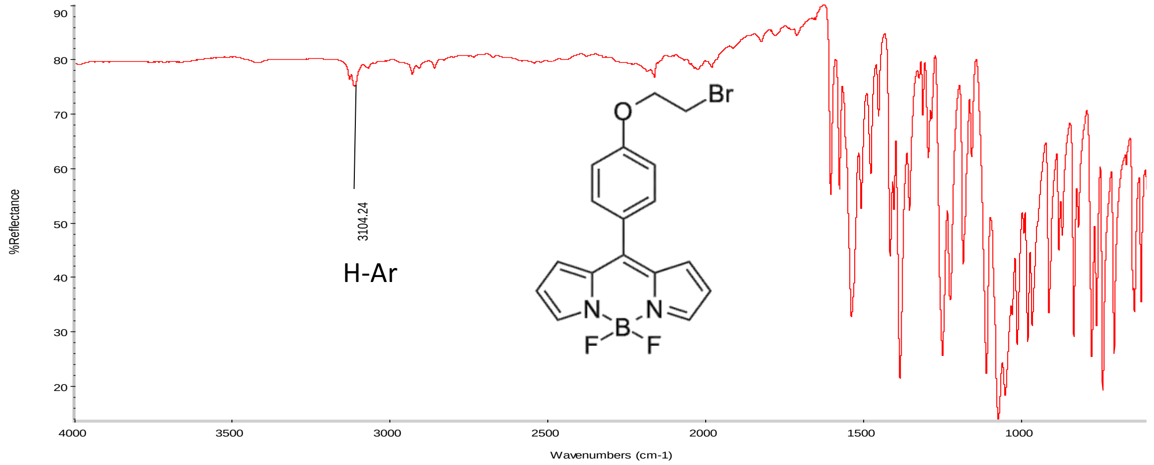
ผู้วิจัยละลายสาร **1** และโพแทสเซียมคาร์บอเนตในไดเมธิลฟอร์มาไมด์ เมื่อเติม 1,2-ไดโบรโมอีเทน ลงไปจะได้สารละลายสีเขียวเข้ม ผู้วิจัยต้องการให้เกิดการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์เพียงด้านเดียว จึงปรับอัตราส่วนสาร **1**:1,2-ไดโบรโมอีเทน เป็น 1:20 และทดสอบการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวชะ พบว่ามี 1 จุดที่ R_f = 0.63 เป็นจุดสีเหลืองและให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์ จากนั้นทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี และตกตะกอนด้วยเฮกเซน

จากการสังเคราะห์สาร **2** พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้มเข้ม มีร้อยละผลได้เท่ากับ 87% ผลการวิเคราะห์จากเทคนิค MALDI-TOF แมสสเปกโทรเมตรี ดังแสดงในรูปที่ 3-6 ไม่พบว่ามีสัญญาณไอออนของโมเลกุล (สาร **2** มีมวลโมเลกุล = 391.018) แต่พบสัญญาณของไอออนอื่น ที่ m/z 370.350, 372.351 และที่ m/z 342.296, 344.291 คาดว่าเกิดการหลุดออกของฟลูออไรด์ไอออน 1 และ 2 ไอออนตามลำดับ โดยสัญญาณจะขึ้นเป็นคู่ ห่างกัน m/z 2 ละมีความเข้มของสัญญาณใกล้เคียงกัน แสดงถึงอะตอมของโบรมีนในโมเลกุลที่ปรากฏสองไอโซโทป



รูปที่ 3-6 แสดงแมสสเปกตรัมของสาร **2** ที่สังเคราะห์ได้

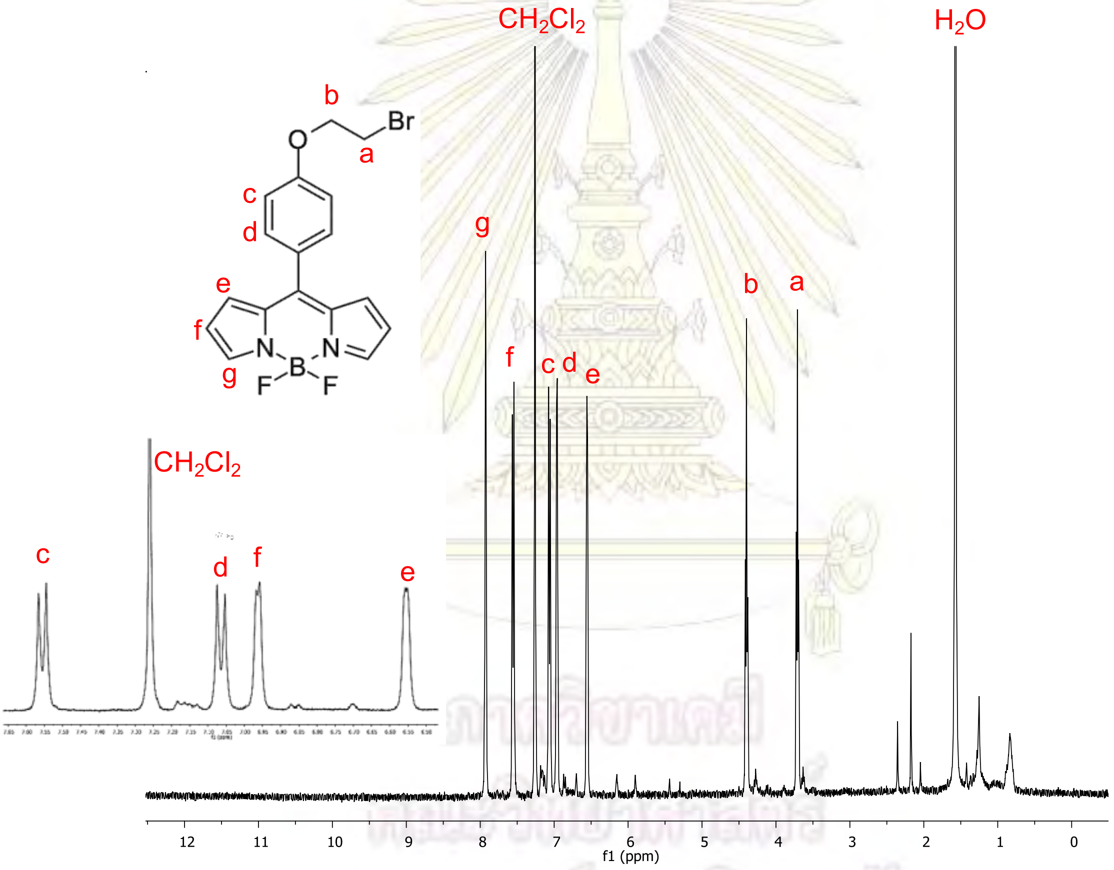
เมื่อวิเคราะห์โดยเทคนิค IR พบว่าได้สเปกตรัมที่สอดคล้องกับโครงสร้างของ *N,N*′-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin ดังแสดงในรูปที่ 3-7 ไม่พบสัญญาณในช่วง 3200-3500 cm^{-1} ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของการสั่นของพันธะ O-H แสดงให้เห็นว่าสารที่สังเคราะห์ไม่ใช่สารตั้งต้น พบสัญญาณที่ 3100 cm^{-1} และในช่วง 2000-2500 cm^{-1} ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของแอโรแมติก



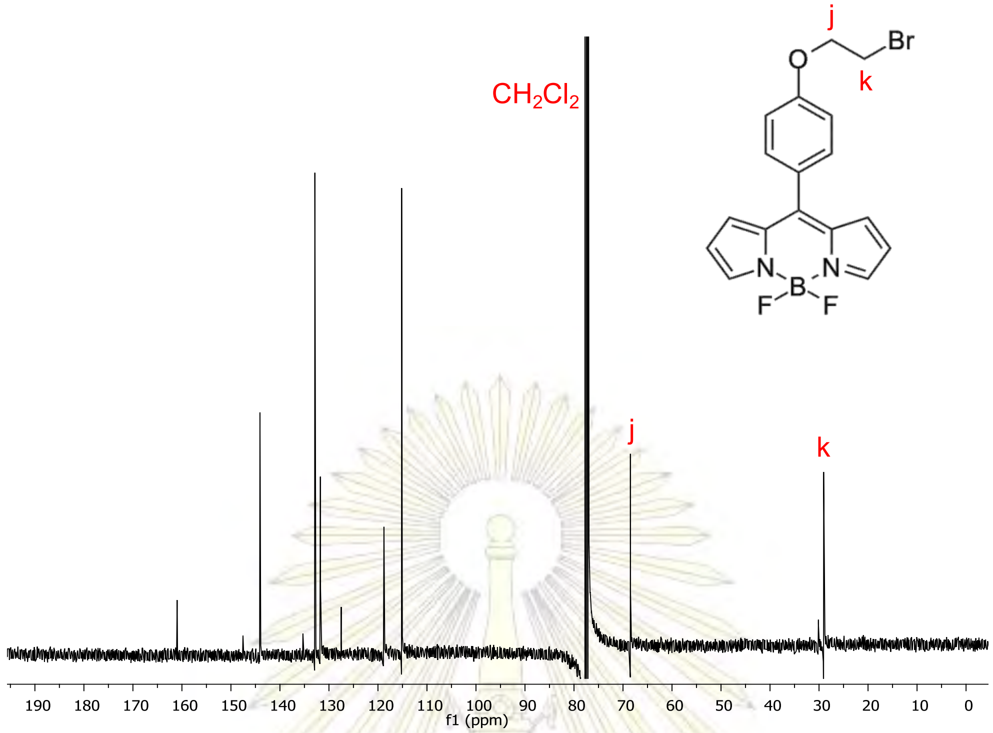
รูปที่ 3-7 แสดง IR สเปกตรัมของสาร **2** ที่สังเคราะห์ได้

ผลการวิเคราะห์โดย ^{1}H-NMR ดังแสดงในรูปที่ 3-8 พบว่าสเปกตรัมที่ได้สนับสนุนโครงสร้างของ *N,N*′-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin ปรากฏ 7 สัญญาณสอดคล้องกับจำนวนโปรตอนที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างกันในโมเลกุล โดยมี 2 สัญญาณที่ δ

3.71 (t, *J* = 6.2 Hz) และ 4.40 (t, *J* = 6.2 Hz) ppm เป็นสัญญาณของโปรตอน a, b ตามลำดับ ส่วน 2 สัญญาณที่ δ 7.06 (d, *J* = 8.8 Hz) และ 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz) ppm เป็นสัญญาณของโปรตอนแอโรแมติก ที่ตำแหน่ง d, c และ 3 สัญญาณที่ δ 6.56 (d, *J* = 2.4 Hz), 6.96 (d, *J* = 3.6 Hz) และ 7.93 (s) เป็นสัญญาณของโปรตอนบนวงพิร์โรลตำแหน่ง e, f และ g โดยไม่พบว่ามีสัญญาณของโปรตอนของแอลกอฮอล์ที่เป็นสัญญาณที่พบในสารตั้งต้น และจากการวิเคราะห์ด้วย ^{13}C NMR พบว่าสเปกตรัมสอดคล้องกับ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin ซึ่งปรากฏ 11 สัญญาณของคาร์บอน ดังแสดงในรูปที่ 3-9 โดยมี 2 สัญญาณที่ δ 28.2 และ 67.6 ppm ที่เพิ่มจากสเปกตรัมของสาร **1** เป็นสัญญาณของทุติยภูมิคาร์บอน (secondary carbon) ตำแหน่ง k และ j ตามลำดับ

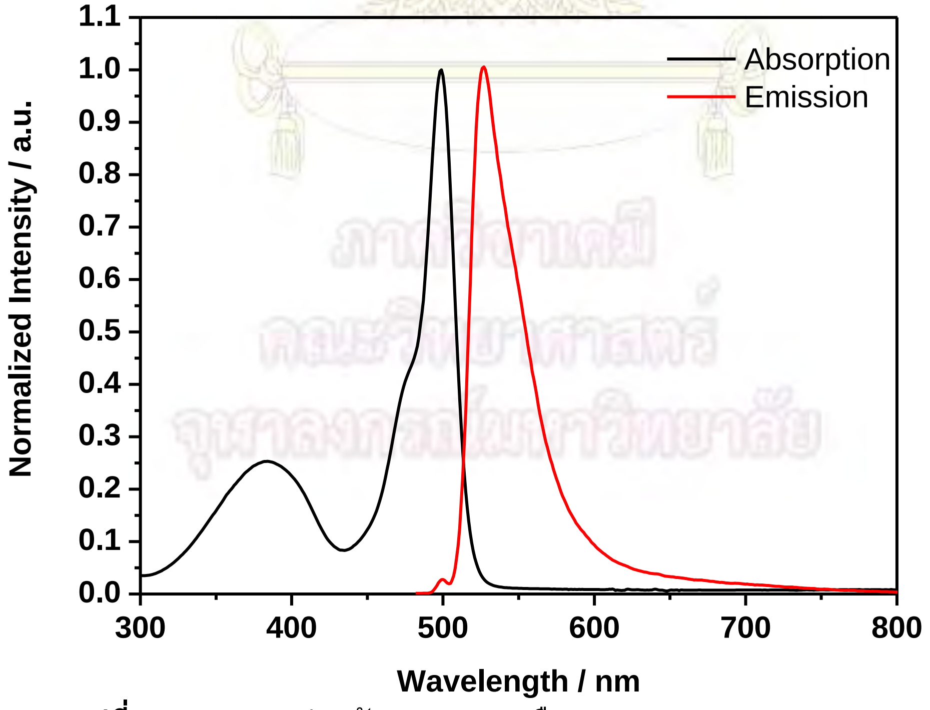


รูปที่ 3-8 แสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR ของสาร **2**



รูปที่ 3-9 แสดงสเปกตรัม ^{13}C-NMR ของสาร **2**

ผลการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี พบว่าสาร **2** ดูดกลืนแสงที่ความเข้มแสงสูงสุด 2 ความยาวคลื่นคือ 384 nm และ 499 nm เมื่อกระตุ้นด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 499 nm พบว่าคายแสงที่มีความเข้มสูงสุดที่ 527 nm ดังแสดงในรูปที่ 3-10



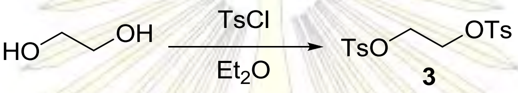
รูปที่ 3-10 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสาร **2**

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เนื่องจากการสังเคราะห์สาร **2** ใช้ 1,2-ไดโบรโมอีเทน เป็นสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยา ซึ่งเป็นสารห้ามนำเข้ามาในประเทศ จึงเป็นเหตุผลให้ผู้วิจัยเปลี่ยนหมู่โบรโมเป็นทอซิลเลตแทน ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้จากเอธิลีนไดทอซิลเลต

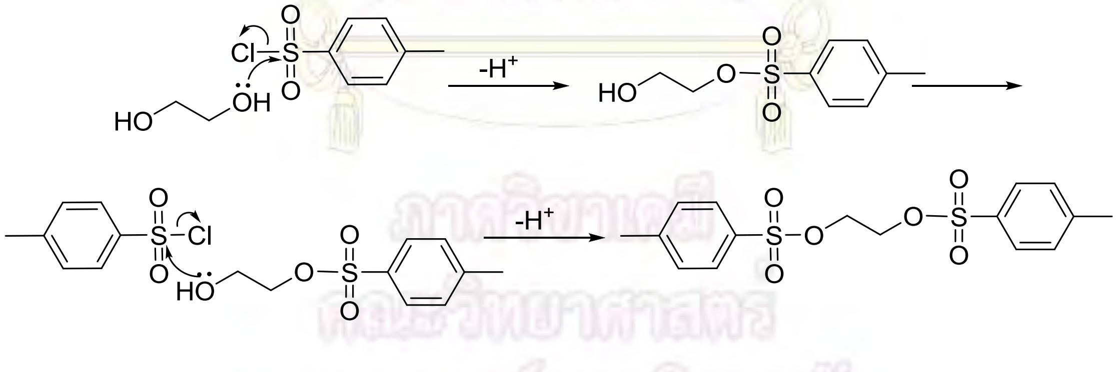
3.3 การสังเคราะห์เอธิลีนไดทอซิเลต (3)

การสังเคราะห์เอธิลีนไดทอซิเลต (**3**) จากทอซิลคลอไรด์และเอธิลีนไกลคอล ผ่านปฏิกิริยาแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์ 2 ดังแสดงในแผนภาพที่ 3-7



แผนภาพที่ 3-7 แสดงการสังเคราะห์เอธิลีนไดทอซิเลต

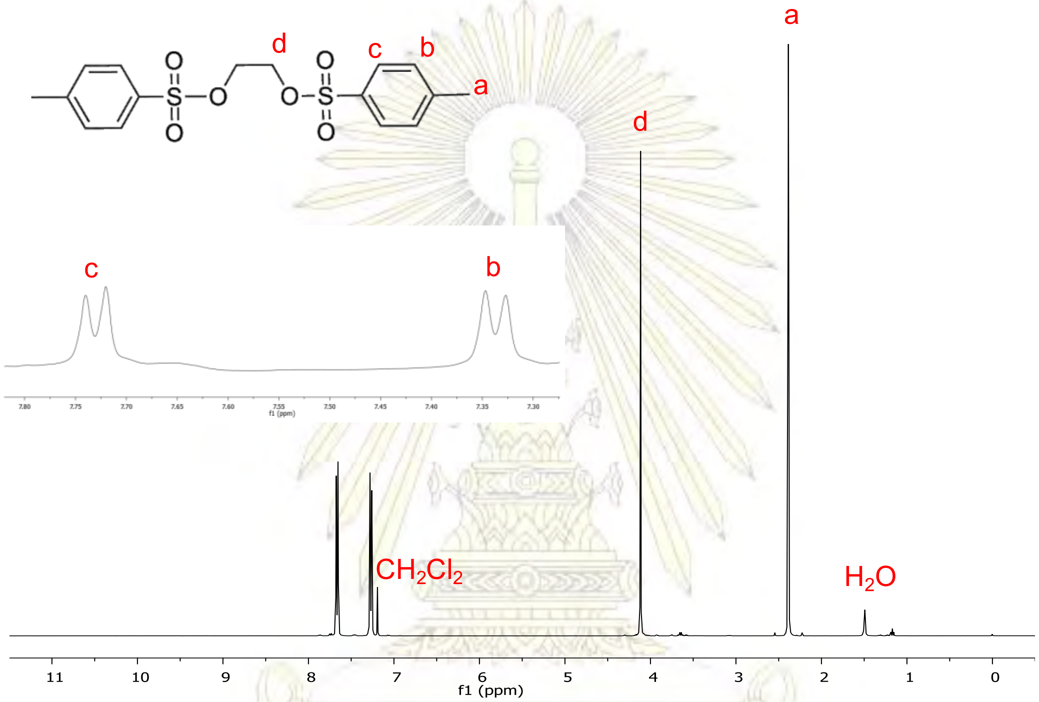
กลไกการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ เริ่มจากอะตอมออกซิเจนของเอธิลีนไกลคอลเป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าทำปฏิกิริยากับทอซิลคลอไรด์ ทำให้อะตอมคลอไรด์หลุดออกทั้งสองด้านของระบบ ดังแสดงในแผนภาพที่ 3-8 ในการทำปฏิกิริยาใช้อัตราส่วนโดยโมล ทอซิลคลอไรด์:เอธิลีนไกลคอน เป็น 2:1



แผนภาพที่ 3-8 แสดงการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่ของทอซิลคลอไรด์ในเอธิลีนไกลคอล

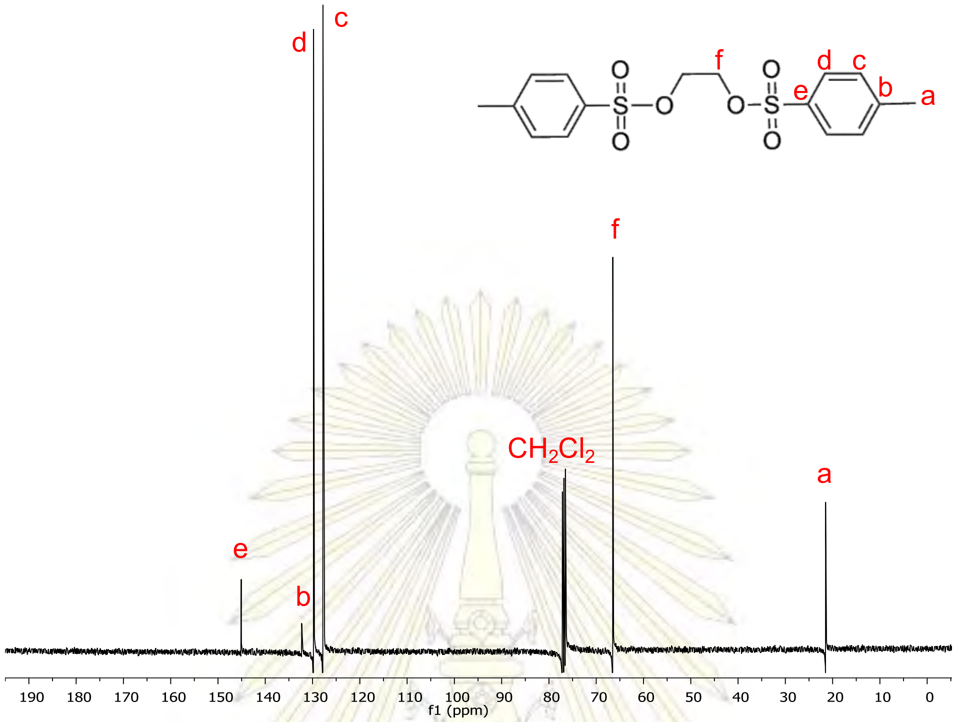
จากการสังเคราะห์เอธิลีนไดทอซิเลตและทำให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึก พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นผลึกสีขาว ได้ร้อยละผลได้เท่ากับ 60% และเมื่อวิเคราะห์ ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR พบว่าสเปกตรัมที่ได้สนับสนุนโครงสร้างของเอธิลีนไดทอซิลเลต ผลการวิเคราะห์โดย ^{1}H-NMR ปรากฏ 2 สัญญาณ ในช่วง δ 7-8 ppm ซึ่งเป็นพีคของโปรตอนบนวงแอโรแมติก และ 2 สัญญาณที่ δ 4.11, 2.39 ppm ซึ่งเป็นพีคของโปรตอนตำแหน่ง d และ a ตามลำดับ ดังแสดงใน

รูปที่ 3-11 และจากการวิเคราะห์ด้วย ^{13}C NMR ปรากฏ 6 สัญญาณสอดคล้องกับโครงสร้างของเอธิลีนไดทอซิลเลต ดังแสดงในรูปที่ 3.12 โดยมี 2 สัญญาณของจัตุรภูมิคาร์บอนที่ δ 132.1 และ 145.0 ppm ของคาร์บอนตำแหน่ง b และ e ตามลำดับ และมี 2 สัญญาณที่ δ 127.8 และ 129.8 ppm เป็นสัญญาณของคาร์บอนบนวงแอโรแมติกตำแหน่ง c และ d ตามลำดับ ส่วนอีก 2 สัญญาณที่ δ 21.4 และ 66.5 ppm เป็นสัญญาณของคาร์บอนตำแหน่ง a และ f



รูปที่ 3-11 แสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR ของสาร **3**

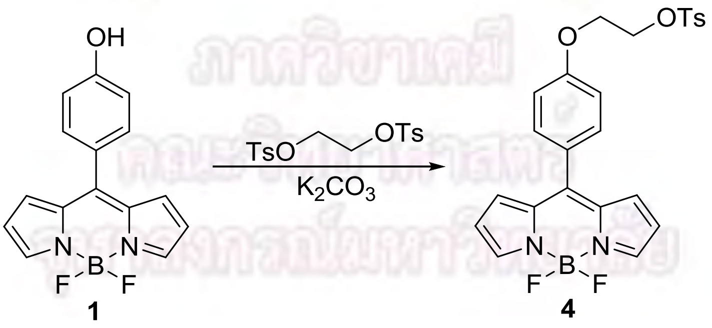
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3-12 แสดงสเปกตรัม ^{13}C-NMR ของสาร **3**

3.4 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin (4)

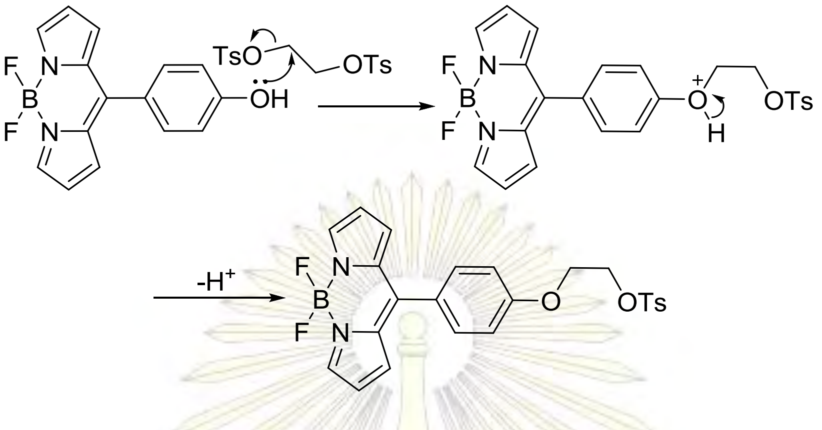
ขั้นตอนนี้ผู้วิจัยใช้สาร **1** เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin (**4**) ผ่านปฏิกิริยาการแทนที่โดยใช้เอธิลีนไดทอซิเลตเป็นนิวคลีโอไฟล์ในภาวะเบส ดังแสดงในแผนภาพที่ 3-9



แผนภาพที่ 3-9 แสดงการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin (**4**)

ปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์แบบ S_N2 นี้มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในแผนภาพที่ 3-10 โดยเริ่มจากอะตอมออกซิเจนของสาร **1** เป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าทำปฏิกิริยากับ

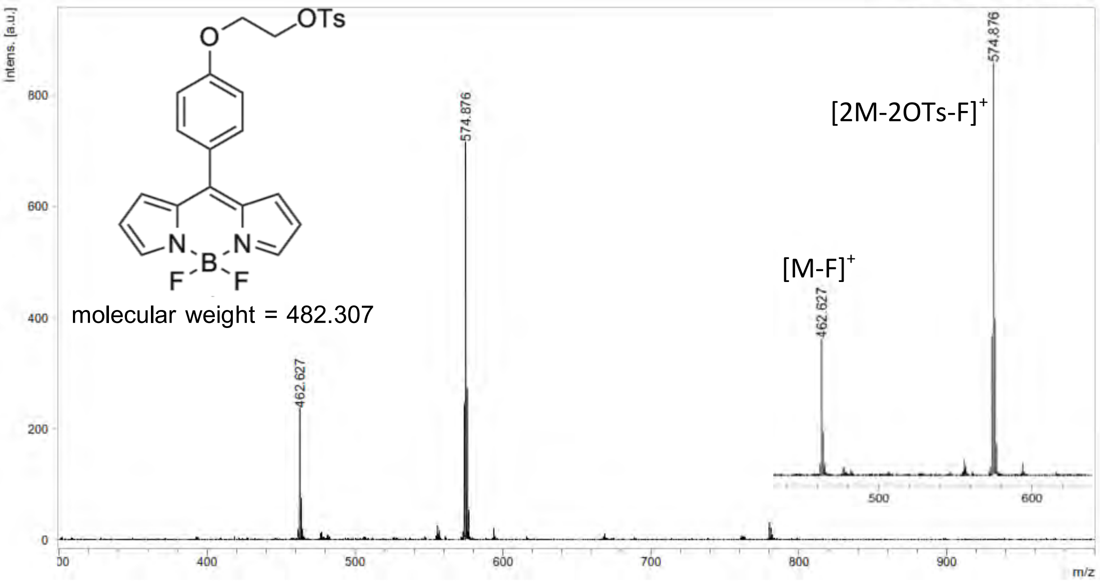
เอธิลีนไดทอซิลเลตในภาวะเบส และให้ทอซิลเลตไอออนออกมา เกิดเป็น *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin (**4**)



แผนภาพที่ 3-10 แสดงการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่โดยใช้
เอธิลีนไดทอซิเลตเป็นนิวคลีโอไฟล์ในภาวะเบส

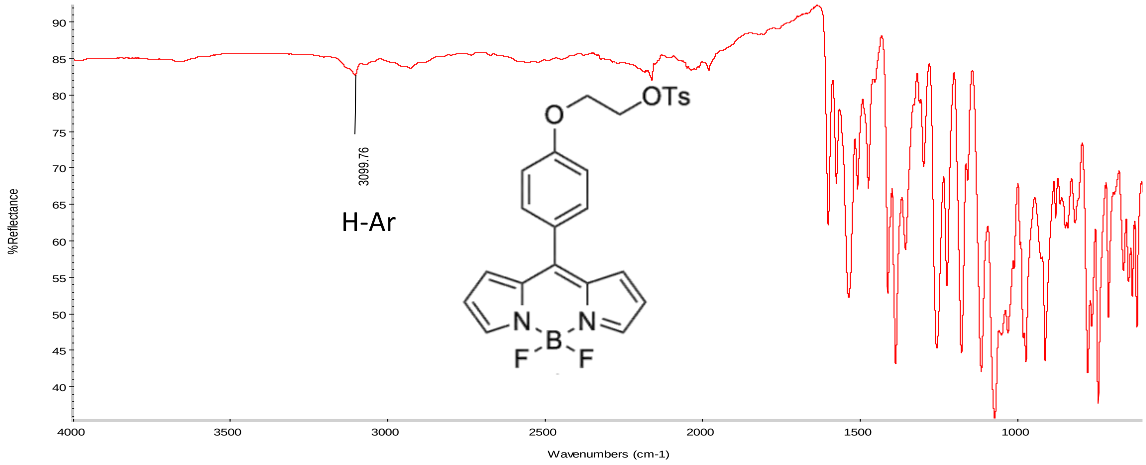
ผู้วิจัยได้ทดลองละลายเอธิลีนไดทอซิลเลต โพแทสเซียมคาร์บอเนตและสาร **1** ในอะซีโตไนไตรล์ กวนและให้ความร้อนจนรีฟลักซ์ จะได้สารละลายสีเขียวเข้ม ใช้อัตราส่วนโดยโมลของสาร **1**:เอธิลีนไดทอซิลเลต เป็น 1:10 เพราะผู้วิจัยต้องการให้เกิดการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์แค่ด้านเดียว แต่ผู้วิจัยพบว่า การสกัดและทำให้บริสุทธิ์ยาก เนื่องจากมีเอธิลีนไดทอซิลเลตเหลืออยู่ปริมาณมาก อีกทั้งร้อยละผลได้ต่ำ เพราะเกิดผลิตภัณฑ์ที่มีการแทนที่ทั้ง 2 ด้าน จึงปรับอัตราส่วนสาร **1**:เอธิลีนไดทอซิลเลต เป็น 1:1.1 และควบคุมการเกิดปฏิกิริยา โดยค่อยๆ หยดสารละลายของสาร **1** ลงไปในสารละลายเอธิลีนไดทอซิลเลต ดังนั้นความเข้มข้นของสาร **1** ในสารละลายขณะหยดจึงต่ำ สามารถลดการเข้าทำปฏิกิริยาสองข้างได้ ตรวจสอบการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวชะ พบว่าเกิดขึ้น 2 จุดที่ R_f = 0.14 และ 0.60 ซึ่งทั้งสองจุดให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในช่วงแรกของปฏิกิริยา จุดสารตั้งต้นมีสีเข้มกว่า แต่เมื่อผ่านไป 4 ชั่วโมง จุดของสารตั้งต้นจางลงมาก จึงนำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี และตกตะกอนด้วยเฮกเซน

จากการสังเคราะห์สาร **4** พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้ม มีร้อยละผลได้เท่ากับ 73% ผลการวิเคราะห์จากเทคนิค MALDI-TOF แมสสเปกโทรเมตรี ดังแสดงในรูปที่ 3-13 ไม่พบว่ามีสัญญาณไอออนของโมเลกุล (สาร **4** มีมวลโมเลกุล = 482.307) แต่พบสัญญาณของไอออนอื่นที่ m/z 462.627 คาดว่าเกิดการหลุดออกของฟลูออไรด์ไอออน และพบสัญญาณที่ m/z 574.876 คาดว่าเป็นสัญญาณของโมเลกุลที่มีการแทนที่ด้วยสาร **1** สองครั้ง



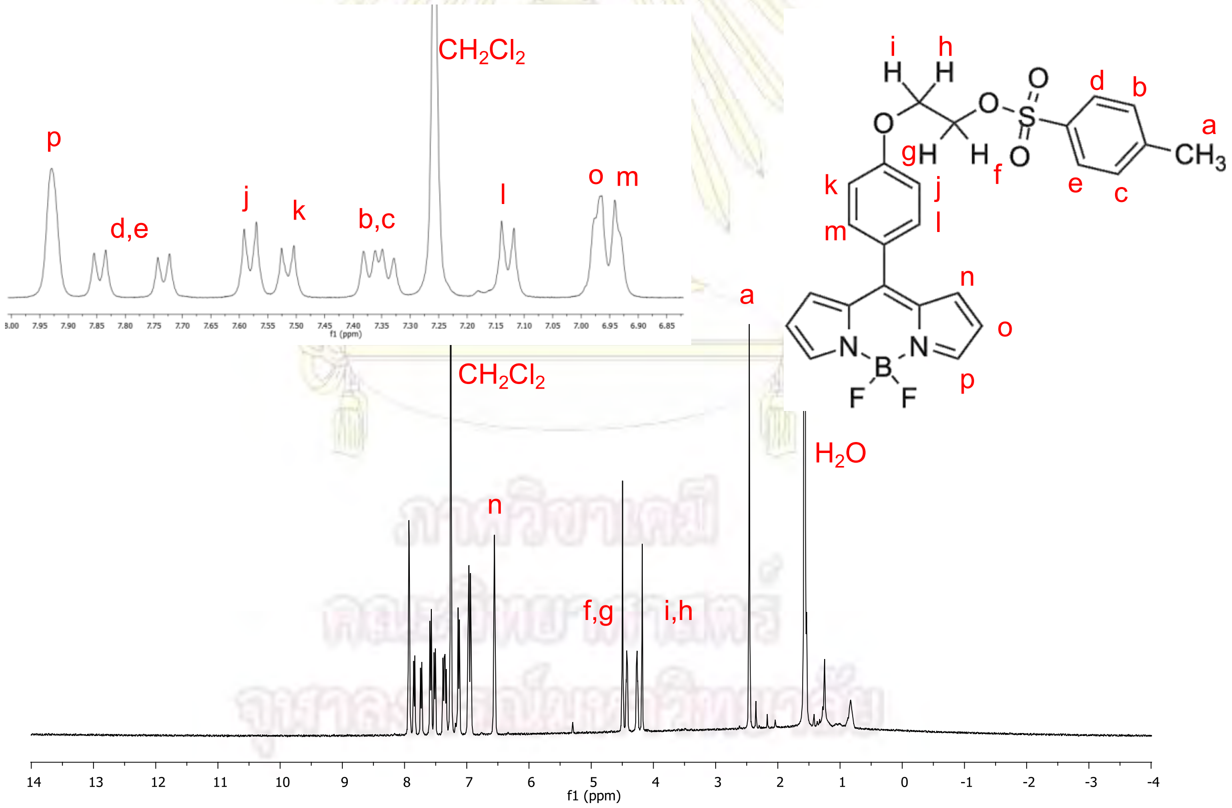
รูปที่ 3-13 แสดงแมสสเปกตรัมของสาร **4** ที่สังเคราะห์ได้

เมื่อวิเคราะห์โดยเทคนิค IR พบว่าได้สเปกตรัมที่สอดคล้องกับโครงสร้างของ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin ดังแสดงในรูปที่ 3-14 โดยพบว่าไม่มีสัญญาณในช่วง 3200-3500 cm^{-1} เป็นเอกลักษณ์ของการสั่นของพันธะ O-H แสดงให้เห็นว่าสารที่สังเคราะห์ไม่ใช่สารตั้งต้น และพบสัญญาณที่ 3100 cm^{-1} และในช่วง 2000-2500 cm^{-1} เป็นเอกลักษณ์ของแอโรแมติก

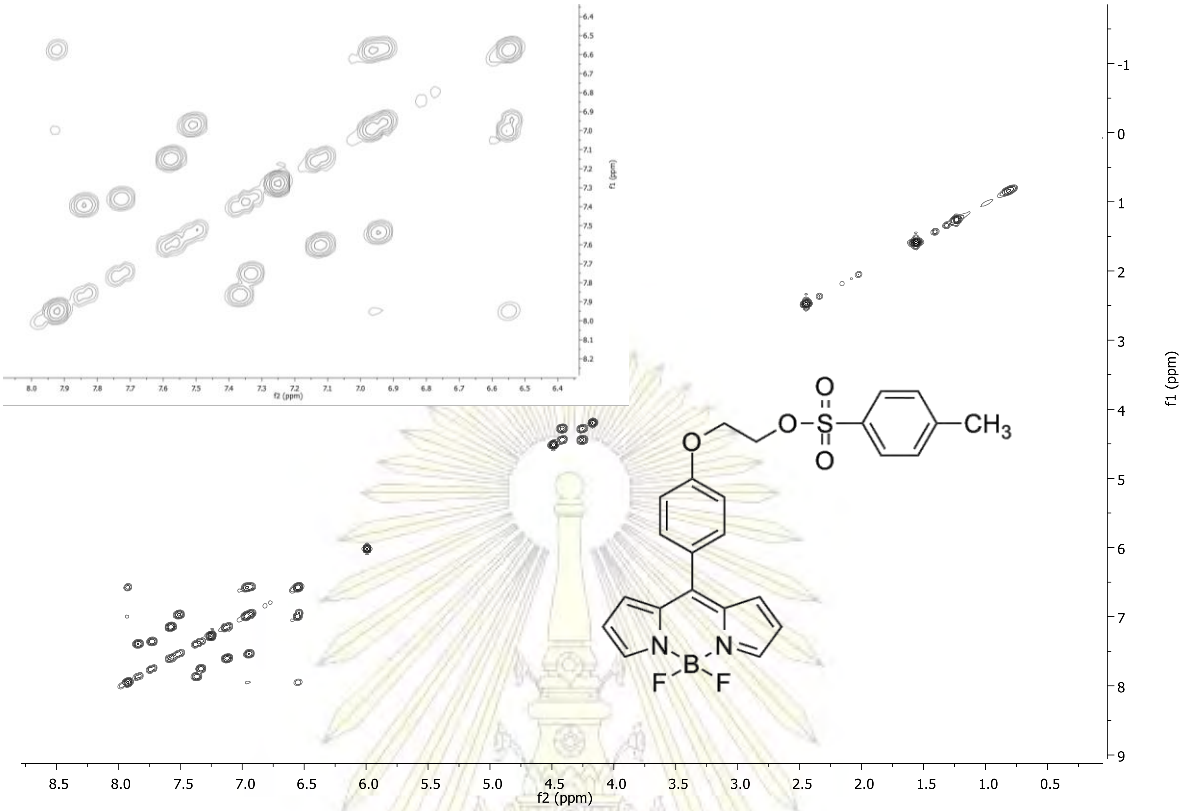


รูปที่ 3-14 แสดง IR สเปกตรัมของสาร **4** ที่สังเคราะห์ได้

ผลการวิเคราะห์โดย ^{1}H-NMR ดังแสดงในรูปที่ 3-15 พบว่าสเปกตรัมที่ได้สนับสนุนโครงสร้างของ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin ปรากฏ 16 สัญญาณสอดคล้องกับจำนวนโปรตอนที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างกันในโมเลกุล โดยมี 1 สัญญาณที่ δ 2.46 (s) ppm เป็นสัญญาณของโปรตอน a และอีก 4 สัญญาณที่ δ 4.18 (s), 4.27 (t, *J* = 4.4 Hz), 4.42 (t, *J* = 4.4 Hz) และ 4.50 (s) เป็นสัญญาณโปรตอนของเอธิลีนที่ตำแหน่ง f-i และมี 3 สัญญาณที่ δ 6.56 (s), 6.97-6.96 (m) และ 7.93 (s) เป็นสัญญาณของโปรตอนบนวงพิร์โรลตำแหน่ง n, o และ p ตามลำดับ และ 4 สัญญาณที่ δ 6.94 (s), 7.13 (d, *J* = 8.8 Hz), 7.51 (d, *J* = 8.8 Hz) และ 7.58 (d, *J* = 8.4 Hz) เป็นสัญญาณโปรตอนตำแหน่ง m, l, k และ j ตามลำดับ ส่วนอีก 4 สัญญาณที่ δ 7.34 (d, *J* = 8.4 Hz), 7.37 (d, *J* = 8.0 Hz), 7.73 (d, *J* = 8.4 Hz) และ 7.84 (d, *J* = 8.4 Hz) เป็นสัญญาณของโปรตอนบนวงฟีนิลของทอซิลตำแหน่ง b-e โดยการระบุตำแหน่งของโปรตอนวิเคราะห์มาจากข้อมูล 2D NMR correlation spectroscopy (COSY) ดังแสดงในรูปที่ 3-16



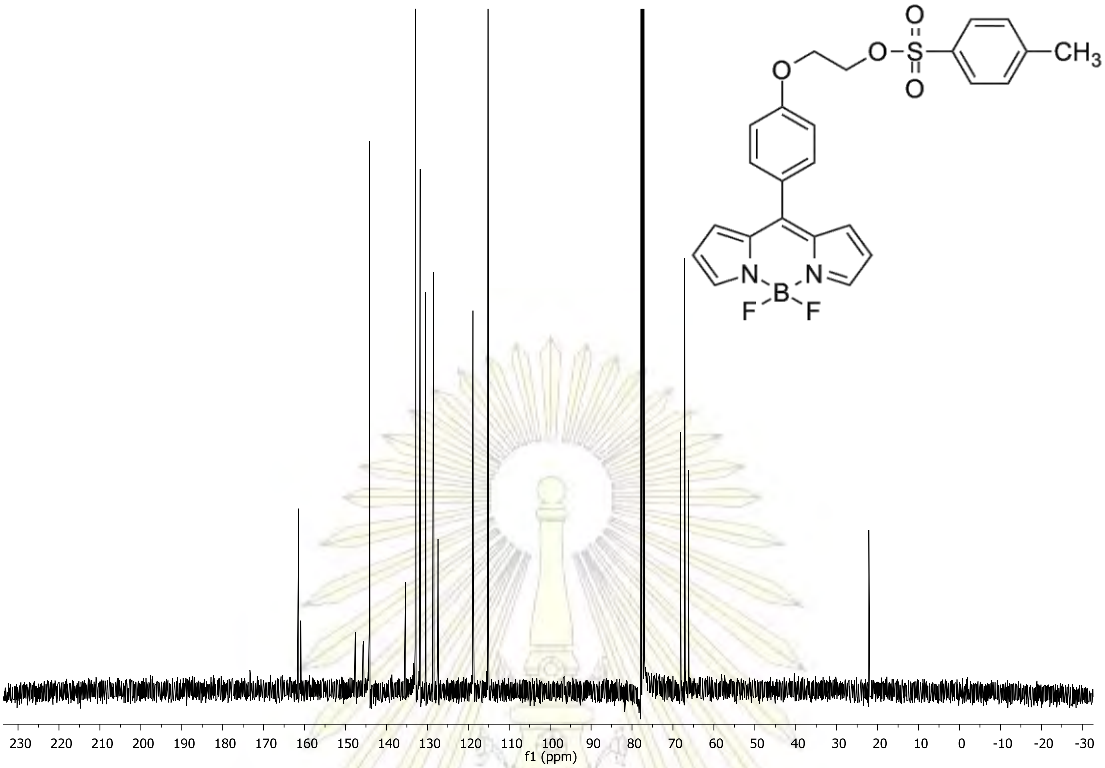
รูปที่ 3-15 แสดงสเปกตรัม ^{1}H-NMR ของสาร **4**



รูปที่ 3-16 แสดงสเปกตรัม COSY NMR ของสาร **4**

จากการวิเคราะห์ด้วย ^{13}C NMR พบว่าสเปกตรัมสอดคล้องกับ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin ซึ่งปรากฏ 16 สัญญาณของคาร์บอน ดังแสดงในรูปที่ 3-17 โดยมี 2 สัญญาณที่ δ 28.2 และ 67.6 ppm ที่เพิ่มจากสเปกตรัมของสาร **1** เป็นสัญญาณของคาร์บอน 2 คาร์บอนบริเวณเอธิลีน และ 4 สัญญาณของคาร์บอนบนวงฟีนิลของหมู่ทอซิล

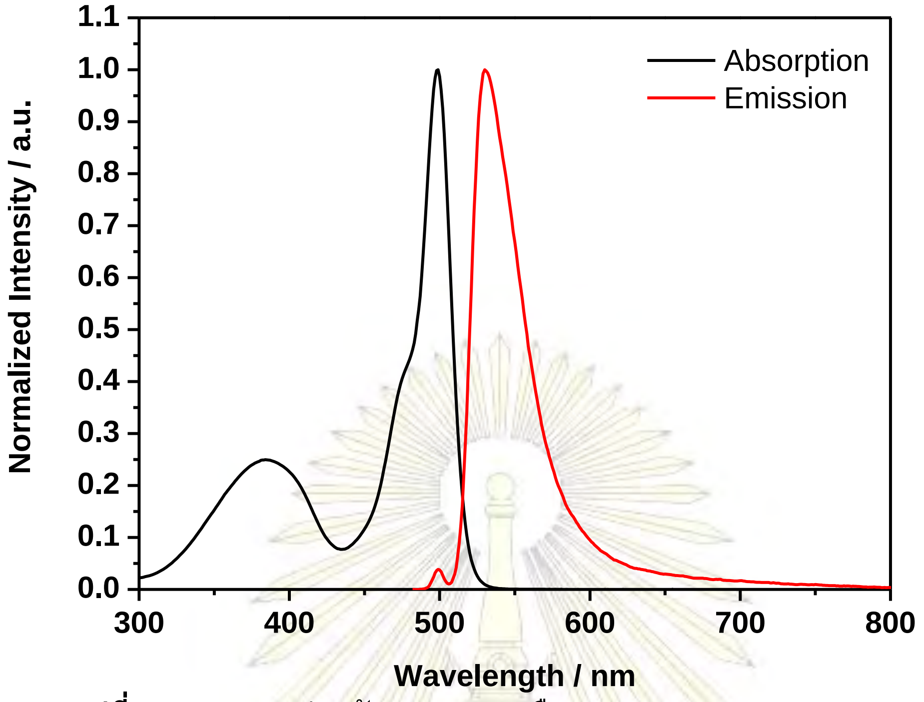
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3-17 แสดงสเปกตรัม ^{13}C-NMR ของสาร **4**

ผลการวิเคราะห์ทางสเปกโทรสโกปี พบว่าสาร **4** ดูดกลืนแสงที่ 2 ความยาวคลื่นคือ 384 nm และ 499 nm เมื่อกระตุ้นด้วยแสงที่ความยาวคลื่น 499 nm พบว่าคายแสงที่มีความเข้มสูงสุดที่ 530 nm ดังแสดงในรูปที่ 3-18

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

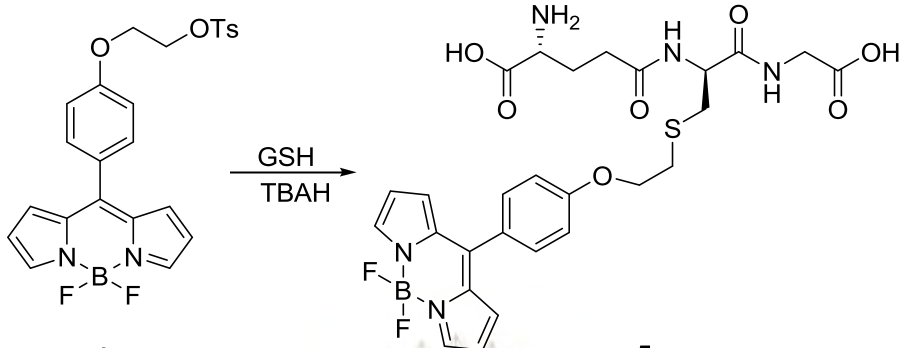


รูปที่ 3-18 แสดงสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสาร **4**

ในลำดับถัดไปจะนำสาร **4** ที่สังเคราะห์ได้ไปทำปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์โดยใช้กลูตาไธโอนที่ตำแหน่งไธออลเป็นนิวคลีโอไฟล์ในภาวะเบส

3.5 การสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin (5)

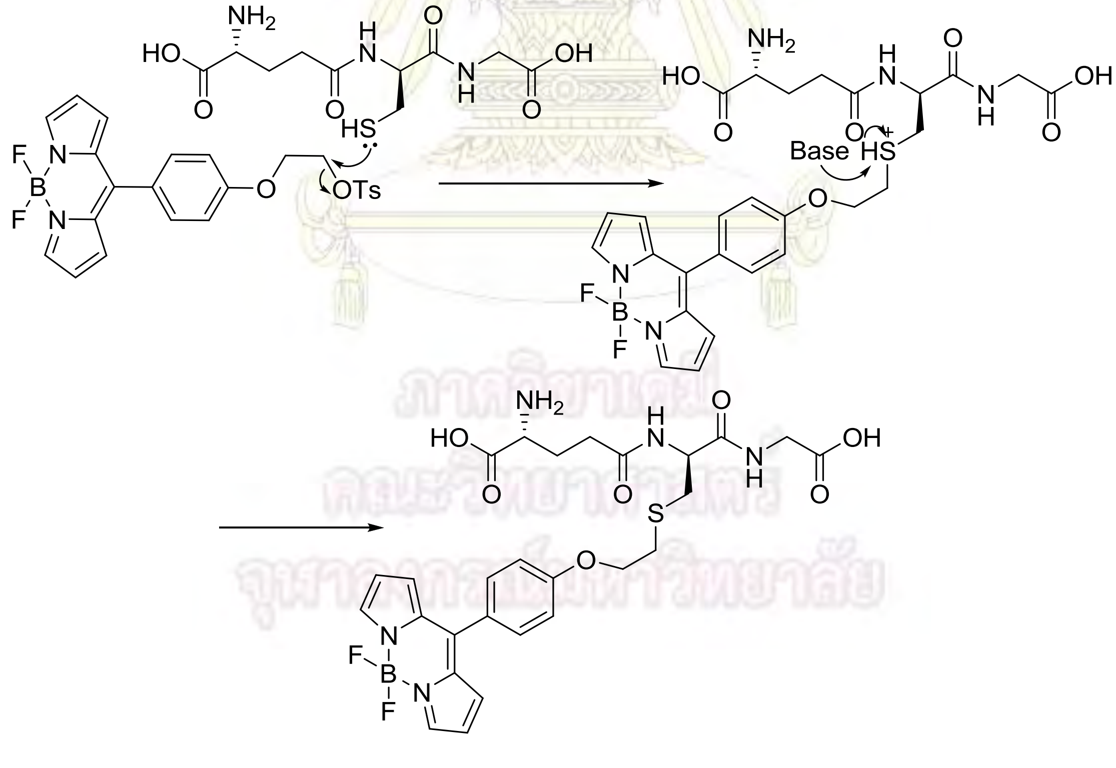
ขั้นตอนนี้เป็นการสังเคราะห์ *N,N´*-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin (**5**) จากสาร **2** ผ่านปฏิกิริยาการแทนที่โดยใช้ L-กลูตาไธโอนเป็นด้วยนิวคลีโอไฟล์ในภาวะเบส ดังแสดงในแผนภาพที่ 3-11



4 **5**

แผนภาพที่ 3-11 แสดงการสังเคราะห์ *N,N*´-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin (**5**)

ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์แบบ S_N2 มีกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในแผนภาพที่ 3-12 โดยเริ่มจากอะตอมซัลเฟอร์ของ L-กลูตาไธโอนเป็นนิวคลีโอไฟล์เข้าทำปฏิกิริยากับสาร **3** ในภาวะเบส เกิดเป็น *N,N*´-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionyl ethoxy)phenyl)-dipyrrin (**5**)



แผนภาพที่ 3-12 แสดงการเกิดปฏิกิริยาการแทนที่โดยใช้กลูตาไธโอนเป็นนิวคลีโอไฟล์ในภาวะเบส

ผู้วิจัยละลายสาร **4** ด้วยคลอโรฟอร์ม และเติมสารละลายของ L-กลูตาไธโอนในน้ำ สารละลายจะแบ่งเป็นสองชั้น ชั้นบนเป็นชั้นน้ำใสไม่มีสี ส่วนชั้นล่างเป็นชั้นคลอโรฟอร์มมีสีส้มเข้มและให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โดยใช้อัตราส่วนโมลของสาร **4**:กลูตาไธโอนเป็น 1.5:1 เพื่อป้องกันการเกิดพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างโมเลกุลกลูตาไธโอน และเติมสารละลายเตตระบิวทิลแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ซึ่งทำหน้าเป็นเบสและสารถ่ายโอนวัฏภาค หลังจากนั้นจะพบว่าชั้นน้ำจะมีสีส้มมากขึ้นเมื่อเติมสารถ่ายโอนวัฏภาคเพิ่มขึ้น และตรวจสอบการดำเนินไปของปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวชะ พบว่ามี 2 จุด ที่ R_f = 0 และ 0.14 ซึ่งทั้งสองจุดให้ฟลูออเรสเซนซ์ ทำปฏิกิริยา 4 วัน และนำไปสกัดแยกชั้นสารอินทรีย์ และนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมโครมาโทกราฟี โดยใช้เซฟาเด็กซ์เป็นวัฏภาคหยุดนิ่ง และใช้สารละลายไดคลอโรมีเทน 15% โดยปริมาตรในเมทานอลเป็นตัวชะ แยกโดยมวลโมเลกุลของสาร ได้เป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดงเพื่อนำไปวิเคราะห์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าสเปกตรัมของสารต่างๆที่แยกได้ ไม่มีสารใดสอดคล้องกับโครงสร้างของ *N,N*´-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin คาดว่ามีการสลายตัวของสารในระกระบวนการทำให้บริสุทธิ์

ในการสังเคราะห์ *N,N*´-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin ควรปรับปรุงวิธีการสังเคราะห์ยกตัวอย่างเช่น โดยการปรับอัตราส่วนโดยโมลให้อัตราส่วนของสาร **3** มากขึ้น ศึกษาสารถ่ายโอนวัฏภาคชนิดอื่นๆ และเวลาในการทำปฏิกิริยาเพื่อลดการเกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียง นอกจากนี้ยังควรปรับปรุงกระบวนการแยกสารให้บริสุทธิ์

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ BODIPY 2 ชนิด คือ *N,N*´-difluoroboryl-5-(4-(bromoethoxy)phenyl)-dipyrrin (**2**) มีร้อยละของผลได้ 87% และ *N,N*´-difluoroboryl-5-(4-(tosyloxy)phenyl)-dipyrrin (**4**) มีร้อยละของผลได้ 73% จาก *N,N*´-difluoroboryl-5-(4-hydroxyphenyl)-dipyrrin (**1**) ที่สังเคราะห์จากพิร์โรลและ 1,4-ไฮดรอกซีเบนซัลดีไฮด์ ผ่านปฏิกิริยาการแทนที่ด้วยนิวคลีโอไฟล์แบบ S_N2 ในสภาวะเบส พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR และ IR สเปกโทรสโกปี และวิเคราะห์คุณสมบัติเชิงแสงของสารที่สังเคราะห์ได้ พบว่า อนุพันธ์ BODIPY ทุกตัวแสดงค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด 2 ความยาวคลื่น ในช่วง 381-384 และ 498-499 nm ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของอนุพันธ์ BODIPY และคายแสงความเข้มสูงสุดในช่วงความยาวคลื่น 519-530 nm

อย่างไรก็ดีการสังเคราะห์ *N,N*´-difluoroboryl-5-(4-((*S*)-glutathionylethoxy)phenyl)-dipyrrin (**5**) ยังไม่ประสบผลสำเร็จ จึงต้องมีการปรับปรุงและพัฒนากระบวนการสังเคราะห์และวิธีทำให้บริสุทธิ์ต่อไป

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

1. Christian, G. D. *Analytical Chemistry*, 5th.; John Wiley & Sons, Inc.; USA, 1994.
2. Skoong, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J. *Fundamental of Analytical Chemistry*, 7th.; Saunders College Publisher: Florida, 1996.
3. รศ. แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ (Principles and Techniques of Instrumental Analysis Spectroscopy). กรุงเทพฯ: ชวนพิมพ์, 2552.
4. Lakowicz, J. R. *Principles of fluorescence spectroscopy*, 3rd.; Springer: New York, 2006.
5. Weissleder, R. Scaling Down Imaging: Molecular Mapping of Cancer in Mice. *Nat. Rev. Cancer.* **2002**, *2*, 11–18.
6. Ntziachristos, V.; Ripoll, J.; Wang, L. V.; Weissleder, R. Looking and Listening to Light: the Evolution of Whole–Body Photonic Imaging. *Nat. Biotechnol.* **2005**, *23*, 313–320.
7. Rudin, M.; Weissleder R. Molecular Imaging in Drug Discovery and Development. *Nat. Rev. Drug Discovery*. **2003**, *2*, 123–131.
8. Tasior, M.; Murtagh, J.; Frimannsson, D. O.; McDonnell S. O.; O'Shea D. F. Water-Solubilised BF_2-Chelated Tetraarylazadipyrromethenes. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 522–525.
9. Treibs, A.; Kreuzer, F. H. Difluorboryl-Komplexe von Di- und Tripyrrylmethenen. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *718*, 208.
10. Monsma, F. J.; Barton, A. C.; Kang, H. C.; Brassard, D.L.; Haughland, R. P.; Sibley, D. R. Characterization of Novel Fluorescent Ligands with High Affinity for D1 and D2 Dopaminergic Receptors. *J. Neurochem.* **1989**, *52*, 1641–1644.
11. Pagano, R. E.; Martin, O. C.; Kang, H. C.; Haugland R. P. A Novel Fluorescent Ceramide Analogue for Studying Membrane Traffic in Animal Cells: Accumulation at the Golgi Apparatus Results in Altered Spectral Properties of the Sphingolipid Precursor. *J. Cell. Biol.* **1991**, *113*, 1267–1279.
12. Karolin, J.; Johansson, L. B.; Strandberg, L.; NyZ, T.; Fluorescence and Absorption Spectroscopic Properties of Dipyrrometheneboron Difluoride (BODIPY)

Derivatives in Liquids, Lipid Membranes, and Proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **1994,** *116,* 7801–7806.

13. Peng, X.; Du, J.; Fan, J.; Wang, J.; Wu, Y.; Zhao, J.; Sun, S.; Xu, T. A Selective Fluorescent Sensor for Imaging Cd^{2+} in Living Cells. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**,129, 1500–1501.
14. Zeng, L.; Miller, E. W.; Pralle, A.; Isacoff, E. Y.; Chang, C. J. A Selective Turn-On Fluorescent Sensor for Imaging Copper in Living Cells. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10–11.
15. Bozdemir, O. A.; Guliyev, R.; Buyukcakir, O.; Selcuk, S.; Kolemen, S.; Gulseren, G.; Nalbantoglu, T.; Boyaci, H.; Akkaya, E. U. Selective Manipulation of ICT and PET Processes in Styryl-Bodipy Derivatives: Applications in Molecular Logic and Fluorescence Sensing of Metal Ions. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 8029–8036.
16. Rousseau, T.; Cravino, A.; Bura, T.; Ulrich, G.; Ziessel, R.; Roncali, J. A Selective Turn-On Fluorescent Sensor for Imaging Copper in Living Cells. *J. Mater. Chem.* **2009**, ***19***, 2298–2300.
17. Kolemen, S.; Cakmak, Y.; Erten-Ela, S.; Altay, Y.; Brendel, J.; Thelakkat, M.; Akkaya, E. U. Solid-State Dye-Sensitized Solar Cells Using Red and Near-IR Absorbing Bodipy Sensitizers. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3812–3815.
18. Arbeloa, T. L.; Arbeloa, F. L.; Arbeloa, I. L.; Garcia-Moreno, Costela, A.; Sastre, R.; Amat-Guerri, F. Correlations between Photophysics and Lasing Properties of Dipyrromethene–BF_2 Dyes in Solution. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *299*, 315–321.
19. Sies H. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Exp Physiol.* **1997**, *82*, 291–295.
20. Herzberg, G. *The Spectra and Structures of Simple Free Radicals: An Introduction to Molecular Spectroscopy.* New York: Dover, **1971**.
21. Pastore, A.; Piemonte, F.; Locatelli, M.; Lo Russo, A.; Gaeta, LM.; Tozzi, G.; Federici, G. Determination of Blood Total, Reduced, and Oxidized Glutathione in Pediatric Subjects. *Clin Chem.* **2001**, *47*, 1467–1469.
22. Finkel, T.; Holbrook, NJ. Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Aging. *Nature.* **2000**, *408,* 239-247.

23. Pompella, A.; Visvikis, A.; Paolicchi, A.; De Tata, V.; Casini, AF. The Changing Faces of Glutathione, a Cellular Protagonist. *Biochem Pharmacol*. **2003**, *66*, 1499–1503.

24. Hayes, JD.; McLellan, LI.; Glutathione and Glutathione-Dependent Enzymes Represent a Co-Ordinately Regulated Defence against Oxidative Stress. *Free Radic Res*. **1999**, *31*, 273–300.

25. Procopio, A.; Alcaro, S.; Cundari, S.; Nini, A. D.; Ortuso, F.; Sacchetta, P.; Pennelli, A.; Sindona, G. Molecular Modeling, Synthesis, and Preliminary Biological Evaluation of Glutathione-*S*-Transferase Inhibitors as Potential Therapeutic Agents. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6084–6089.

26. Wagner, R. W.; Lindsey, J. S. Boron–Dipyrromethane Dyes for Incorporation in Synthetic Multi–Pigment Light–Havesting Arrays. *Pure Appl. Chem.* **1996,** *68*, 1373.

27. Poddutoori, P.; Poddutoori, P. K.; Maiya, B. G. Nucleobase (A, T, G and C) Appended Tri–Cation Water–Soluble Prophyrins: Synthesis, Characterization, Binding and Photocleavage Studies with DNA. *J. Porphyrins Phthalocyanines.* **2006**, *10*, 1–12.

28. Buttafava, A.; Fabbrizzi, L.; Perotti, A.; Poggi, A.; Poli, G.; Seghi B. Trivalent Nickel Bis(triaza macrocyclic) Complexes. Ligand Ring Size and Medium Effects on the Nickel(III)/Nickel(II) Redox Couple Potential. *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 1456–1461.

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวหทัยชนก ศีลาเจริญ รหัสประจำตัวนิสิต 533 31352 23 เกิดเมื่อวันที่ 2 มีนาคม พ.ศ. 2535 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย สายสามัญ แผนกวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ จากโรงเรียนสาธิตแห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา เมื่อปีการศึกษา 2552 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี หลักสูตรเกียรตินิยม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2553 ที่อยู่ปัจจุบันเลขที่ 421 หมู่ 5 ตำบลท่าระหัด อำเภอเมือง สุพรรณบุรี 72000

นายสุทธิชัย วศินธรรม รหัสประจำตัวนิสิต 533 31317 23 เกิดเมื่อวันที่ 20 มิถุนายน พ.ศ. 2535 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายสายสามัญ แผนกวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ จากโรงเรียนนวมินทราชูทิศ กรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2552 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2553 ที่อยู่ปัจจุบันเลขที่ 89/1201 ถนน นวมินทร์ ซอย นวมินทร์ 81 คลองกุ่ม บึงกุ่ม กรุงเทพมหานคร 10240

ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย