

โครงการ  
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของแคลโคน  
Structure and Antibacterial Activity Relationship of Chalcones

ชื่อนิสิต นางสาวธิดารัตน์ คงสุพรศักดิ์

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2558



ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของแคลโคน  
Structure and Antibacterial Activity Relationship of Chalcones



โดย  
นางสาวธิดารัตน์ คงสุพรศักดิ์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

เรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและหน้าที่ทางสรีรวิทยาของเมล็ดคน

โดย นางสาวธิดารัตน์ คงสุพรรณศักดิ์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

ศาสตราจารย์ ดร. อรุณรัตน์ วัฒนศิริ ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิศนทรา อธิพันธุ์ยศ)

Dr. .... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วสันตพร ชวศิริ)

น.ส. .... กรรมการ

(อาจารย์ ดร. พรอภัสสร์ เทวรัตน์ธรรม)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

(รองศาสตราจารย์ ดร. ทัศนีย์ พาวราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่... เดือน ..... พ.ศ. ....

คุณภาพของการเขียนเล่มรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของแคลโคโคน  
 ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวธิดารัตน์ คงสุพรศักดิ์ เลขประจำตัว 5533097223  
 ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ชวศิริ  
 ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแคลโคโคนและอนุพันธ์กับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ได้สังเคราะห์แคลโคโคน 7 ตัว ด้วยปฏิกิริยา aldol condensation และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  สเปกโทรสโกปี ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของแคลโคโคนที่สังเคราะห์ได้ร่วมกับแคลโคโคนที่พิสูจน์เอกลักษณ์แล้ว 5 ตัว ต่อ *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus sobrinus* และ *Streptococcus mutans* ผลการทดสอบชี้ว่าสารส่วนใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เลือก แคลโคโคนที่มีหมู่คลอรีนที่ตำแหน่งที่ 4' แสดงความสามารถในการยับยั้งที่สูงต่อ *S. sobrinus* และ *S. mutans* แต่มีผลน้อยต่อ *P. acnes* แคลโคโคนที่มีหมู่แอลิเฟติกที่ตำแหน่ง 4' แสดงความสามารถในการยับยั้งต่อ *S. sobrinus*, *S. mutans* และ *S. typhi* สูงแต่แสดงฤทธิ์ยับยั้งต่ำต่อ *P. acnes* ยกเว้น 4'-ethyl-2-hydroxychalcone แคลโคโคนที่มีตำแหน่งแทนที่เป็น ไฮดรอกซิลและ เมทอกซิลที่ตำแหน่ง 4' แสดงความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบทั้งหมดที่สูง เมื่อมีโบรมีนเป็นหมู่แทนที่ในวง A ของแคลโคโคนจะเพิ่มฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. sobrinus*, *S. mutans* และ *S. typhi*

คำสำคัญ: แคลโคโคน, ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Salmonella typhoid*, *Streptococcus sobrinus* และ *Streptococcus mutans*

Title Structure and Antibacterial Activity Relationship of Chalcones

Student name Miss Tidarat Kongsupornsak ID 5533097223

Advisor Assist. Prof. Dr. Warinthorn Chavasiri

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

### Abstract

This research investigates the structure and antibacterial activity relationship of chalcone and its derivatives. Seven chalcones were synthesized by condensation and characterized by  $^1\text{H}$  NMR. The synthesized products together with five known chalcones were tested against *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans*. The results indicated that most compounds could inhibit the growth of selected bacteria. Chalcones containing chlorine at 4'-position displayed high inhibition ability against *S. sobrinus* and *S. mutans*, but low effect on *P. acnes*. Chalcones with aliphatic group at 4'-position gave high inhibition zone against *S. sobrinus*, *S. mutans* and *S. typhi* while low activity against *P. acnes*, except for 4'-ethyl-2-hydroxychalcone, was observed. Chalcones bearing 4'-hydroxyl and 4'-methoxyl substituents displayed high inhibitory ability against all tested bacteria. The presence of Br substituent on ring A of chalcone enhanced antibacterial activity against *S. aureus*, *S. sobrinus*, *S. mutans* and *S. typhi*.

Keywords: Chalcone, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Salmonella typhoid*, *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans*

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของแคลโคน โดยผู้วิจัยได้จัดทำรายงานฉบับนี้ เพื่อประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ รายงานฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงไม่ได้ หากขาดความอนุเคราะห์และสนับสนุนอย่างสูงจากบุคคลหลายท่าน ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วง ดังต่อไปนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร์ ขวศิริ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยนี้เป็นอย่างสูง ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา กำลังใจ รวมถึงวิธีการแก้ปัญหาในงานวิจัย และการเขียนรายงานฉบับนี้จะสำเร็จไม่ได้หากไม่มีท่าน

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัฒนรา ธีรพิบูลย์เดช และอาจารย์ ดร. พร้อมพงศ์ เพียรพินิจธรรม ที่ให้ความกรุณาสละเวลาอันมีค่าให้เกียรติมาเป็นประธานและกรรมการสอบโครงการนี้ รวมทั้งให้คำแนะนำ ตรวจสอบและแก้ไขข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้น

ขอขอบคุณพี่ๆทุกคนในห้องปฏิบัติการ WC สำหรับคำแนะนำ ความรู้ ความช่วยเหลือ และความเมตตาในทุกๆเรื่อง

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณครอบครัวของผู้วิจัยเป็นอย่างสูงที่ให้คำปรึกษา และความกำลังใจแก่ผู้วิจัย ทำให้ผู้วิจัยสามารถผ่านพ้นอุปสรรคต่างๆในงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีได้

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูปประกอบ	ช
สารบัญตารางประกอบ	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	3
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
<b>บทที่ 2 การทดลอง</b>	
2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	5
2.2 สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์แคลโคนและอนุพันธ์	5
2.3 การสังเคราะห์สาร	6
2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย	8
<b>บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง</b>	
3.1 การสังเคราะห์สาร	10
3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย	15
3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแคลโคนและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย	17
<b>บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง</b>	
4.1 สรุปผลการทดลอง	20
4.2 งานวิจัยในอนาคต	20

เอกสารอ้างอิง

22

ภาคผนวก

25

ประวัติผู้วิจัย

36



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญตารางประกอบ

ตารางที่	หน้า
3.1 ลักษณะทางกายภาพ, %yield และ Retardation factor ( $R_f$ ) ของอนุพันธ์แคลโคินที่สังเคราะห์ได้	12
3.2 การกำหนดสัญญาณ $^1\text{H}$ NMR ของอนุพันธ์แคลโคิน	14
3.3 ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone average) ของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด	15



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญรูปประกอบ

รูปที่	หน้า
3.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคนด้วยปฏิกิริยา aldol condensation	11
3.2 กลไกการเกิดปฏิกิริยา aldol condensation	11
3.3 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดกับอนุพันธ์แคลโคน	16



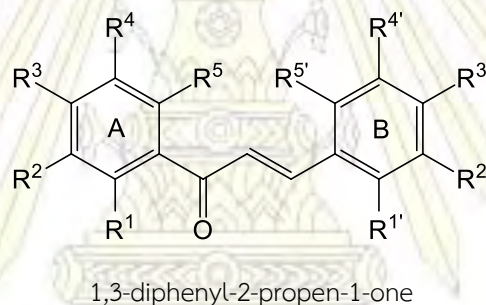
ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โมเลกุลเป้าหมายที่ศึกษาในงานวิจัยนี้คือ แคลโคน (chalcone) หรือ 1,3-diphenyl-2-propen-1-one ประกอบด้วยวงแอรอมาติก 2 วง เชื่อมกันด้วยสะพาน  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl (ดังรูป) มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของแคลโคนต่างๆ เช่น ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย<sup>1</sup> ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ<sup>2</sup> เป็นต้น และพบว่าฤทธิ์ทางชีวภาพขึ้นกับตำแหน่งและชนิดของหมู่แทนที่บนวงแอรอมาติกทั้ง 2 วง



การสังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคนสามารถทำได้หลายรูปแบบ เช่น การเปลี่ยนชนิดของหมู่แทนที่หรือการเปลี่ยนตำแหน่งของหมู่แทนที่

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของแคลโคนกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย แบคทีเรียคือ จุลชีพชนิดเซลล์เดียว ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าเนื่องจากมีขนาดเล็กมาก พบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35-37 องศาเซลเซียส สามารถแบ่งตามรูปร่างได้ 3 ชนิดคือ รูปกลม รูปแท่งและรูปเกลียว แบคทีเรียสามารถแบ่งได้เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดประโยชน์แก่ร่างกาย เช่น แบคทีเรียในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งทำหน้าที่ช่วยในการย่อยอาหารและแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโทษแก่ร่างกาย เช่น แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค

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

### *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียที่ย้อมสีติดแกรมบวก (Gram positive bacteria) มีรูปทรงกลม อยู่รวมกันคล้ายรวงองุ่น สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน แต่ในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเจริญเติบโตได้ดีกว่า สามารถสร้าง enterotoxin ซึ่งเป็นสารพิษที่มีคุณสมบัติพิเศษคือ ทนความร้อน ทนต่อรังสีแกมมา ในระดับที่ใช้กับอาหาร สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและสารละลายเกลือ พบได้ที่บริเวณผิวหนัง โพรงงมูก เยื่อหูทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร ฝุ่นละอองในดินหรือบาดแผลที่มีฝี หนอง แบคทีเรียชนิดนี้มักจะปนเปื้อนอยู่ในอาหารประเภทเนื้อ เนื้อสัตว์ปีก ผลิตภัณฑ์จากไข่และนม อาหารประเภทสลัดที่เก็บไว้เป็นเวลานานและอยู่ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมโดยจะก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งออกฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหารและลำไส้ ก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก ส่งผลให้ท้องเสียและอาเจียน

### *Propionibacterium acnes*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิวหรืออาจทำให้เกิดเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ พบได้ตามรูขุมขนและต่อมไขมัน ผลิตภัณฑ์โปรพิโอนิก *P. acnes* สามารถย่อยไขมันให้กลายเป็นกรดไขมัน ส่งผลให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง ทำให้เกิดการอักเสบจนกลายเป็นสิว แบคทีเรียชนิดนี้พบในวัยรุ่นมากกว่าในวัยอื่น

### *Salmonella typhoid*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะแท่งสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้โดยการใช้แฟลกเจลลัมและเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิของร่างกายมนุษย์ที่ประมาณ 37 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคไข้ไทฟอยด์หรือโรคไขกระดูกน้อยที่พบเฉพาะในมนุษย์ ผู้ป่วยมักได้รับเชื้อจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อในปัสสาวะและอุจจาระของผู้ป่วยที่เป็นโรคไข้ไทฟอยด์หรือผู้ที่เป็นพาหะของโรคนี้ โดยมักพบในประเทศที่กำลังพัฒนา เนื่องจากไม่มีระบบสาธารณสุขและสุขาภิบาลที่สะอาดและเพียงพอ ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อ สามารถรักษาได้ด้วยการใช้ยาปฏิชีวนะ

### *Streptococcus sobrinus* และ *Streptococcus mutans*

แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นแบคทีเรียแกรมบวก พบได้ในช่องปาก อาศัยอยู่ในสภาวะที่เป็นกรด ทำให้เกิดโรคในช่องปากของมนุษย์ คือ เกิดฟันผุ มักพบแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้มีสายพันธุ์ที่หลากหลายภายในปากของผู้ที่มีฟันผุมากกว่าผู้ที่ไม่มีอาการฟันผุ

ในงานวิจัยนี้แบ่งแบคทีเรียที่ศึกษาเป็น 3 กลุ่มดังต่อไปนี้ แบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อผิวหนัง ได้แก่ *S. aureus* และ *P. acnes* แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคไขกระดูกน้อย ได้แก่ *S. typhi* และแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปาก ได้แก่ *S. sobrinus* และ *S. mutans* เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้ง 3 กลุ่มกับแคลโคเนที่สังเคราะห์ขึ้น

มูลเหตุจูงใจที่ทำให้สนใจทำงานงานวิจัยนี้เนื่องจากสารต้านแบคทีเรียเมื่อใช้ไประยะหนึ่งจะพบว่าแบคทีเรียเกิดดื้อยา ทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาลดลง ทำให้มีความจำเป็นต้องเสาะหาสารต้านแบคทีเรียชนิดใหม่ๆ เพิ่มขึ้น แคลโคเนเป็นกลุ่มสารที่น่าสนใจและมีการศึกษาเบื้องต้นแล้วว่าสารในกลุ่มนี้บางชนิดมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

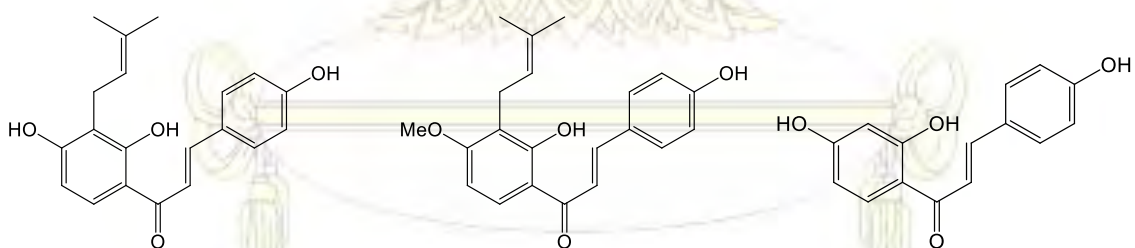
## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. สังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของแคลโคน
2. ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของแคลโคนที่สังเคราะห์ได้
3. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของแคลโคนที่สังเคราะห์ได้กับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

## 1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ในปี 2007 Ohkatsu และ Satoh<sup>3</sup> รายงานการสังเคราะห์แคลโคนเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ โดยศึกษาโครงสร้างของหมู่ไฮดรอกซิลบนวง A และ B พบว่า ตำแหน่งพารา-ของวง B ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล มีโครงสร้างคล้าย *p*-coumaric acid ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี และที่วง A มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 2 และหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 1 มีสมบัติเป็น photo-antioxidant และที่สายโซ่ของคาร์บอน 3 อะตอมที่เชื่อมระหว่างวง A กับ B จะทำให้เกิดการคอนจูเกต ทำให้มีสมบัติเป็นทั้งสารต้านอนุมูลอิสระและ photo-antioxidant

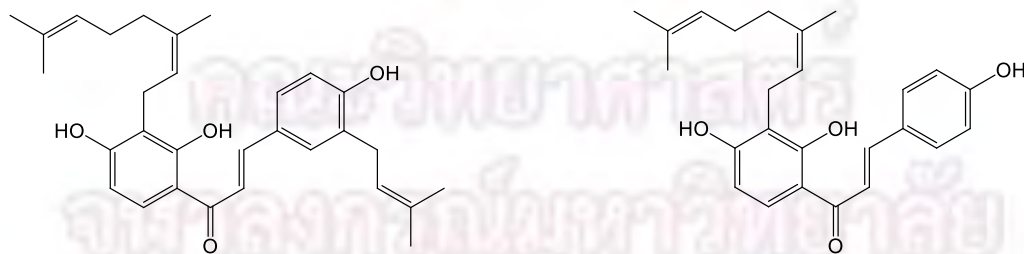
ในปี 2008 Hugo และคณะ<sup>4</sup> ได้สังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคน 31 ตัว และทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas eruginosa* และ *Staphylococcus aureus* พบว่า แคลโคน 5 ตัว (ดังรูป) ที่สังเคราะห์ได้แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus*



4-hydroxyisocordoin

4-hydroxyderricin

2',4,4'-trihydroxychalcone



2',4,4'-trihydroxy-3-prenyl-3'-geranylchalcone

2',4,4'-trihydroxy-3'-geranylchalcone

ในปี 2009 Daniela และคณะ<sup>5</sup> ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างแคลโคนกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยศึกษาหมู่แทนที่ในวง A ที่เป็น 4'-chloro และ 3',4',5'-trimethoxy ส่วนวง B มีการเปลี่ยนหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิล พบว่า ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสัมพันธ์กับค่าพลังงานที่แตกต่างกันระหว่าง HOMO และ HOMO-1 โดยหมู่ไฮดรอกซิลที่วง B ไม่มีผลสำคัญต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย แต่ค่า lipophilicity กับหมู่ไฮดรอกซิลบนวง A มีผลต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ในปี 2010 Balkrishna<sup>6</sup> และคณะ ได้สังเคราะห์แคลโคล โดยเปลี่ยนตำแหน่งหมู่แทนที่เป็นหมู่แอลเจน ไนโตรเจนไดออกไซด์ ไฮดรอกซิล เมทิลและเมทอกซี ที่ตำแหน่งที่ 3 และ 4 ของวง A และ B เพื่อศึกษาความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย คือ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* พบว่า แคลโคนที่สังเคราะห์ได้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีทุกตัว

ในปี 2010 Juan และคณะ<sup>7</sup> ได้สังเคราะห์แคลโคน โดยการเปลี่ยนตำแหน่งหมู่แทนที่ในวง A และ B ด้วยหมู่ไฮดรอกซิลพบว่า อนุพันธ์แคลโคนที่สังเคราะห์ได้เกือบทั้งหมดแสดงฤทธิ์ที่ดี

ในปี 2011 Alka และคณะ<sup>8</sup> ได้สังเคราะห์แคลโคนเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ คือ *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ตามลำดับ พบว่า แคลโคนที่สังเคราะห์ได้ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ได้ดี แต่แคลโคนที่สังเคราะห์ทั้งหมดไม่สามารถออกฤทธิ์ต้าน *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้

ในปี 2012 Kawada-Matsuo และ Komatsuzawa<sup>9</sup> รายงานว่าแบคทีเรียยังมีการดื้อยา เนื่องจากการอาศัยอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ทำให้เกิดเชื้อชนิดใหม่และยังมีปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการดื้อยา เช่น ลักษณะทางชีวภาพของผนังเซลล์ การควบคุมการแสดงออกของยีน ความรุนแรงของเชื้อที่ทำให้เกิดการแสดงอาการของโรค และการเกิดปฏิกริยาภายในระหว่างแบคทีเรียกับระบบภูมิคุ้มกัน

ในปี 2015 Anke และคณะ<sup>10</sup> ได้สังเคราะห์แคลโคนเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับฤทธิ์ต้านมาลาเรียพบว่า แคลโคนที่สังเคราะห์ได้ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ต้านมาลาเรียใกล้เคียงหรือดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ chloroquin ซึ่งเป็นยาต้านมาลาเรียที่ใช้ในปัจจุบัน

จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า การเปลี่ยนตำแหน่งหมู่แทนที่เป็นหมู่ที่มีออกซิเจนหรือแอลเจนในตำแหน่งที่ 3 หรือ 4 ของวง A หรือ B และมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 2 และ 4 ของวง A ทำให้ได้แคลโคนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ ซึ่งสามารถนำไปออกแบบโครงสร้างแคลโคนใหม่ๆ ต่อไป งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะสังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคนโดยปรับเปลี่ยนตำแหน่งและชนิดของหมู่แทนที่วิเคราะห์โครงสร้างของแคลโคนที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Salmonella typhoid*, *Streptococcus sobrinus* และ *Streptococcus mutans* ด้วยวิธี modified diffusion เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของแคลโคน

## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

ซังสารโดยใช้เครื่องซังดิจิตอล ยี่ห้อ PRECISION รุ่น XT 200A, ทินแลร์โครมาโทกราฟี (TLC) ใช้แผ่นอลูมิเนียมที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมบันทึกด้วยเครื่อง nuclear magnetic resonance spectrometer 400 MHz, ยี่ห้อ Varian model Mercury +400 ใช้ คลอโรฟอร์ม ( $\text{CDCl}_3$ ) ที่มีสารอ้างอิงเทระเมทิลไซเลน (TMS) หรือ deuterated dimethylsulfoxide ( $\text{DMSO-d}_6$ ) เป็นตัวทำละลาย

#### 2.2 สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์แคลโคินและอนุพันธ์

สารเคมีและสารที่ใช้เป็นรีเอเจนต์ซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich, Merck และ Fluka ได้แก่ 2-hydroxyacetophenone, 4-hydroxybenzaldehyde, 4-fluorobenzaldehyde, 4-bromobenzaldehyde, 4-diethylaminobenzaldehyde, 4-ethylbenzaldehyde, resorcinol, zinc chloride, ethyl bromide, 4-isobutylbenzaldehyde, bromine

#### 2.2.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

##### 2.2.1.1 สารเคมี

1. Nutrient broth
2. Agar

##### 2.2.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้

1. Petri dish for sterile
2. Alcohol burner stainless
3. Erlenmeyer flask

#### 2.3 การสังเคราะห์สาร

##### 2.3.1 วิธีการสังเคราะห์สารตั้งต้น

##### 2.3.1.1 การสังเคราะห์ 2,4-dihydroxyacetophenone<sup>11</sup>

ละลาย  $\text{ZnCl}_2$  33 mg ในกรดแอซิดิก 32 mL ให้ความร้อนจน  $\text{ZnCl}_2$  ส่วนใหญ่ละลาย เติม resorcinol 22 mg (200 mmol) ให้ความร้อนและคนสารละลายผสมที่อุณหภูมิ 140-150 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที วางสารละลายผสมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 1:1 HCl 100 mL ภายใน

5 นาที ทำให้สารละลายผสมเย็นที่ 5 องศาเซลเซียส ได้ตะกอนสีน้ำตาล กรองตะกอนและตกผลึกด้วย 20% HCl ได้ผลึกของ 2,4-dihydroxyacetophenone

2,4-dihydroxyacetophenone<sup>12</sup>: ผลึกสีเหลือง 1.1 g (36% yield)  $R_f$  0.74 (ระบบตัวทำละลาย: hexane:EtOAc 3:2)  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ 1)  $\delta_H$  (ppm): 12.71 (s, 1H), 7.63 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 6.48 (bs, 1H), 6.41 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.32 (s, 1H) และ 2.56 (s, 3H)

### 2.3.1.2 การสังเคราะห์ 4-ethoxybenzaldehyde<sup>13</sup>

ซึ่ง 4-hydroxybenzaldehyde 0.61 g (10 mmol), ethyl bromide 3.75 g (25 mmol) และ anhydrous  $\text{K}_2\text{CO}_3$  4.50 g ในเอซีโตน 40 mL ลงในขวดก้นกลม รีฟลักซ์ของผสม ติดตามการเกิดผลิตภัณฑ์ด้วย TLC เทของผสมลงน้ำและสกัดด้วย EtOAc (3x50 mL) ล้างชั้นสารอินทรีย์ที่สกัดได้ด้วยน้ำ ทำให้แห้งด้วย anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แยกผลิตภัณฑ์ที่สนใจด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์ด้วยระบบตัวทำละลาย hexane/EtOAc (3:1 - 6:1)

4-ethoxybenzaldehyde<sup>13</sup>: น้ำมันใสสีเหลือง 0.23 g (30% yield)  $R_f$  0.49 (ระบบตัวทำละลาย: hexane:EtOAc 3:1)  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ 2)  $\delta_H$  (ppm): 9.76 (s, 1H), 7.71 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 6.87 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 3.98 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 1.33 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H)

### 2.3.1.3 การสังเคราะห์ 3,5-dibromo-2-hydroxyacetophenone<sup>14</sup>

ละลาย  $\text{Br}_2$  3.2 g (0.02 mol) ในกรดแอสติค 10 mL หยด 2-hydroxyacetophenone 1.36 g (0.01 mol) ที่ละลายในกรดแอสติค 2 mL ที่ละลายเป็นเวลา 10 นาที คนของผสมต่อที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที เจือจางของผสมด้วยน้ำ 20 mL ได้ผลึกสีขาว กรอง ตกผลึกด้วย EtOH:H<sub>2</sub>O (1:1)

3,5-dibromo-2-hydroxyacetophenone<sup>15</sup>: ผลึกสีขาว 2.16 g (70% yield)  $R_f$  0.73 (ระบบตัวทำละลาย: dichloromethane)  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , รูปที่ 3)  $\delta_H$  (ppm): 12.75 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 2.70 (s, 3H)

### 2.3.1.4 การสังเคราะห์ 3,5-dibromo-2,4-dihydroxyacetophenone

ทำการทดลองเช่นเดียวกับ 2.3.1.3 แต่ใช้ 2,4-dihydroxyacetophenone 1.52 g (0.01 mol) ที่ละลายในกรดแอสติค 20 mL เป็นสารตั้งต้น ได้ผลึกสีขาว กรอง ตกผลึกด้วย EtOH:H<sub>2</sub>O (1:1)

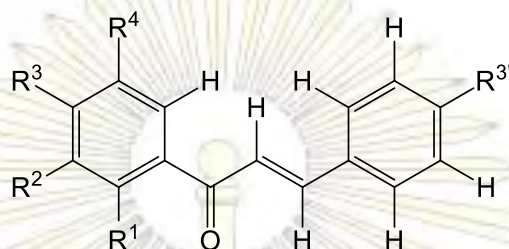
3,5-dibromo-2,4-dihydroxyacetophenone<sup>16</sup>: ผลึกสีขาว 2.78 g (86% yield)  $R_f$  0.82 (ระบบตัวทำละลาย dichloromethane)  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , รูปที่ 4)  $\delta_H$  (ppm): 13.34 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 2.63 (s, 3H)

## 2.3.2 วิธีการทั่วไปสำหรับการสังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคเน<sup>17</sup>

ซึ่ง acetophenone 0.20 g (1.47 mmol) ละลายในสารละลาย 50% NaOH 3 mL หยด สารละลาย aromatic benzaldehyde ที่สนใจ (1.84 mmol) ใน EtOH 5 mL ที่ละลายลงในของผสม คนที่อุณหภูมิห้อง 16-36 ชั่วโมง ทำให้สารละลายผสมเป็นกรดด้วย 6M HCl (ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส)



จะเกิดตะกอนสีเหลืองขึ้น กรองตะกอนที่ได้ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ล้างตะกอนด้วยน้ำ และนำไปตกผลึกด้วยเมทานอล หรือเอทานอล จะได้ผลึกของอนุพันธ์แคลโคน



- สาร 1:  $R^1=OH, R^2=R^3=R^4=R^{3'}=H$   
 สาร 2:  $R^1=OH, R^{3'}=F, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 3:  $R^1=OH, R^{3'}=Br, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 4:  $R^1=OH, R^{3'}=Cl, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 5:  $R^1=OH, R^{3'}=CH_2CH_3, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 6:  $R^1=OH, R^{3'}=CH_2CH_2CH_3, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 7:  $R^1=OH, R^{3'}=CH_2CH_2CH_2CH_3, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 8:  $R^1=OH, R^{3'}=(CH_2)_8CH_3, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 9:  $R^1=OH, R^{3'}=CH_2CH(CH_3)_2, R^3=R^4=H$   
 สาร 10:  $R^1=OH, R^{3'}=C(CH_3)_3, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 11:  $R^1=R^{3'}=OH, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 12:  $R^1=OH, R^{3'}=OCH_3, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 13:  $R^1=OH, R^{3'}=OCH_2CH_3, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 14:  $R^1=OH, R^{3'}=N(CH_2CH_3)_2, R^2=R^3=R^4=H$   
 สาร 15:  $R^1=R^2=R^4=OH, R^3=R^{3'}=OH$   
 สาร 16:  $R^1=R^2=R^4=OH, R^3=Br, R^{3'}=OH$

สาร 1, 4, 10, 11 และ 12 ได้รับความอนุเคราะห์จากนางสาวปิยมภรณ์ ตั้งเกษมสำราญ และนางสาวชนิกา สมสะอาด<sup>17</sup>

*4'-fluoro-2-hydroxychalcone*<sup>18</sup> (2): ผลึกสีน้ำตาล 0.24 g (10% yield)  $R_f$  0.83 (ระบบตัวทำละลาย dichloromethane)  $^1H$  NMR (DMSO, รูปที่ 5)  $\delta_H$  (ppm): 12.50 (s, 1H), 8.26 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.03-7.99 (m, 3H), 7.85 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.02 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H)

*4'-bromo-2-hydroxychalcone*<sup>18</sup> (3): ผลึกเหลือง 1.16 g (38% yield)  $R_f$  0.73 (ระบบตัวทำละลาย dichloromethane)  $^1H$  NMR (DMSO, รูปที่ 6)  $\delta_H$  (ppm): 12.43 (s, 1H), 8.25 (d,  $J = 8.0$  Hz,

1H), 8.07 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H), 7.84 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.81-7.61 (m, 2H), 7.52 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.11 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 7.01 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H)

*4'-ethyl-2-hydroxychalcone* (**5**): ผลึกสีส้ม 1.63 g (32% yield)  $R_f$  0.83 (ระบบตัวทำละลาย dichloromethane)  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ 7)  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 12.92 (s, 1H), 8.05 (d,  $J = 8.0$ , 1H), 7.95 (d,  $J = 8.0$ , 1H), 7.68-7.50 (m, 3H), 7.64 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.30 (d,  $J = 15.0$  Hz, 2H), 7.06 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 2.73 (q,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 1.30 (t,  $J = 7.6$  Hz, 3H)

*4'-isobutyl-2-hydroxychalcone* (**9**): ของแข็งสีเหลือง 21 mg (4.0% yield)  $R_f$  0.55 (ระบบตัวทำละลาย dichloromethane)  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ 8)  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 12.88 (s, 1H), 8.00 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H), 7.50 (t,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.36-7.31 (m, 2H), 7.22 (d,  $J = 9.6$  Hz, 2H), 7.03 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 6.94 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 2.56-2.46 (m, 2H), 1.89 (m, 1H), 0.91(d,  $J = 3.6$  Hz, 6H).

*4'-ethoxy-2-hydroxychalcone* (**13**): ผลึกสีเหลือง 37 mg (7.4% yield)  $R_f$  0.82 (ระบบตัวทำละลาย dichloromethane)  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ 9)  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 12.89 (s, 1H), 7.93 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 7.91 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 7.61 (d,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 7.50 (t,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.34-7.29 (m, 2H), 7.03 (d,  $J = 4.8$  Hz, 4H), 6.95(t,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 2.96 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.28 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H)

*4'-diethylamino-2- hydroxychalcone* (**14**): ผลึกสีดำ 3.54 g (64%yield)  $R_f$  0.63 (ระบบตัวทำละลาย: dichloromethane)  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ 10)  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 13.30 (s, 1H), 7.94 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H), 7.50-6.95 (m, 3H), 7.03 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 6.69 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H), 3.45 (m, 4H), 1.24 (t,  $J = 7.1$  Hz, 6H).

*3,5-dibromo-2-hydroxy-4'-hydroxychalcone* (**15**): ผลึกเหลือง 0.23 g (31% yield)  $R_f$  0.52 (ระบบตัวทำละลาย dichloromethane)  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , รูปที่ 11)  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 12.97 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.65 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.53 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.05 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.96 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H).

*4'-propyl-2-hydroxychalcone* (**6**), *4'-butyl- 2-hydroxychalcone* (**7**), *4'-octyl- 2-hydroxychalcone* (**8**) และ *3,5-dibromo-2,4-dihydroxy-4'-hydroxychalcone* (**16**): ไม่สามารถสังเคราะห์สารได้

## 2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

นำแคล์โคน 15 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *P. acnes* KCCM41747, *S. aureus* ATCC25956, *S. sobrinus* KCCM11898, *S. mutans* ATCC25175 และ *S. typhi* ATCC422 ด้วยวิธี modified diffusion ของ Rahman และคณะ (2005)<sup>19</sup>, Berghe และ Vlietinck (1991)<sup>31</sup> ใช้ความเข้มข้นของแบคทีเรียประมาณ  $1.5 \times 10^6$  cfu ต่อมิลลิลิตร ตามค่ามาตรฐาน MacFarland turbidity standards เบอร์ 0.5 โดยเทวุ้นลงใน petri disc ทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นใช้ cork borer ปลอดภัย เจาะลง

ไปในวุ้น เพื่อทำหลุมสำหรับใส่สาร นำไม้ที่พันด้วยสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงในแบคทีเรียที่ได้เพาะเลี้ยง ทาลงบน petri disc ที่เตรียมไว้ ปิเปตแคลโคโคนที่มีความเข้มข้น 1 mM ใส่ในหลุม ปิเปตตัวทำละลายชนิดเดียวกันกับที่ใช้เตรียมแคลโคโคนลงในหลุม เพื่อเป็นชุดควบคุม (negative control) บ่มเพาะแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทที่ 3

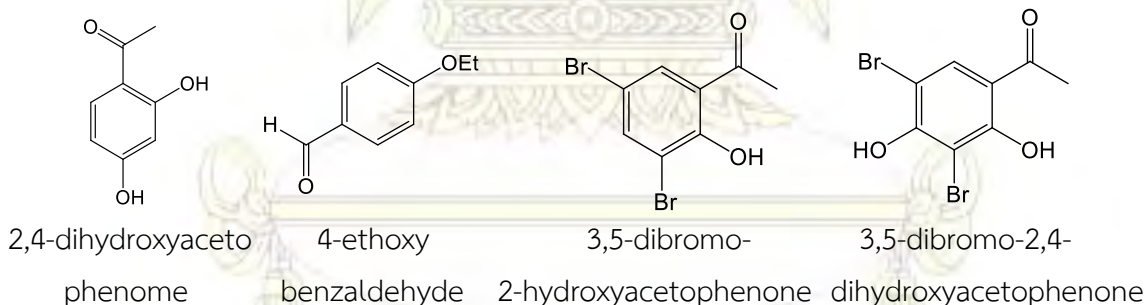
#### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์ของแคลโคินและศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแคลโคินและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ได้สังเคราะห์สารตั้งต้น 4 ตัวเพื่อนำไปสังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคิน นำสารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *P. acnes* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังและอาหารเป็นพิษ *S. sobrinus*, *S. mutans* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ และ *S. typhi* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคไทฟอยด์หรือโรคไข้รากสาดน้อย ส่งผลให้เกิดอาการท้องเสีย ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะนำมาวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ของโครงสร้างและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของอนุพันธ์แคลโคิน

#### 3.1 การสังเคราะห์สาร

##### 3.1.1 การสังเคราะห์สารตั้งต้น

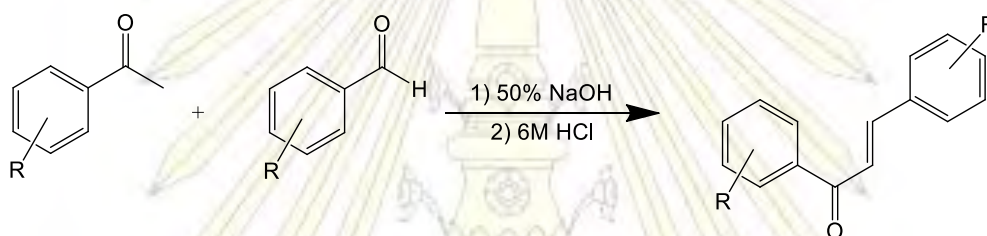


ได้สังเคราะห์สารตั้งต้น 4 ตัว โดยอาศัยปฏิกิริยาดังต่อไปนี้ ปฏิกิริยา acylation ระหว่าง resorcinol กับกรดแอสติค โดยมี  $ZnCl_2$  เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสำหรับเตรียม 2,4-dihydroxyacetophenone (36% yield) ปฏิกิริยาการแทนที่ของเกลือฟีนอกไซด์ของ 4'-hydroxybenzaldehyde กับ ethyl bromide จะได้ 4-ethoxybenzaldehyde (30% yield) และปฏิกิริยาโบรมิเนชันของ 2-hydroxybenzaldehyde และ 2,4-dihydroxybenzaldehyde ด้วยโบรมีนเพื่อเตรียม 3,5-dibromo-2-hydroxyacetophenone (70% yield) และ 3,5-dibromo-2,4-dihydroxyacetophenone (86% yield) ตามลำดับ เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค  $^1H$  NMR พบว่า

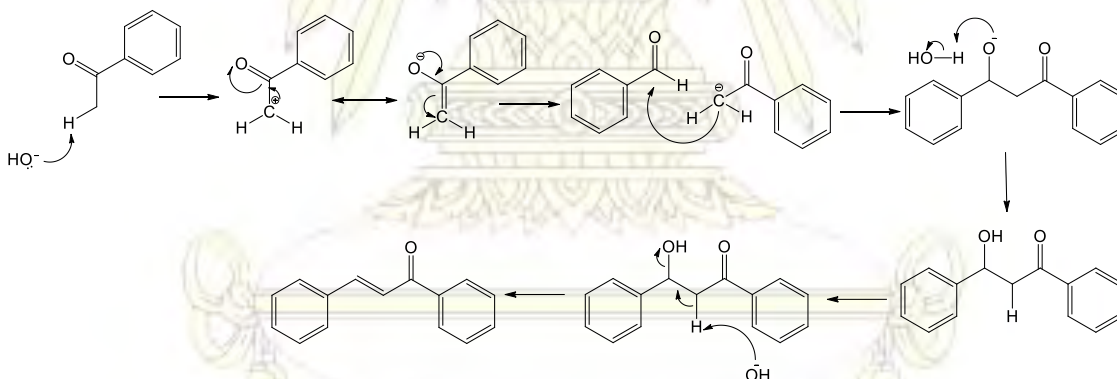
สเปกตรัมที่ได้ให้จำนวนสัญญาณและตำแหน่งของสัญญาณเป็นไปตามผลิตภัณฑ์เป้าหมายที่คาดว่าจะเกิดขึ้น<sup>14,15,17,18</sup>

### 3.1.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคเน

สังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคเนด้วยปฏิกิริยา aldol condensation โดยการใช้สารตั้งต้นคือ อนุพันธ์ของแอสिटโทฟีนอนและอนุพันธ์ของเบนซัลดีไฮด์ที่สนใจ 7 ตัว ดังรูปที่ 3.1 ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกผลึกด้วยเมทานอลหรือเอทานอล และตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยทินแลร์โครมาโทกราฟี ลักษณะทางกายภาพ, ร้อยละผลได้ของปฏิกิริยา (%yield) และ retardation factor ( $R_f$ ) ของอนุพันธ์แคลโคเนที่สังเคราะห์ได้แสดงดังตารางที่ 3.1 กลไกการเกิดปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคเนด้วยปฏิกิริยา aldol condensation



รูปที่ 3.2 กลไกการเกิดปฏิกิริยา aldol condensation

จากกลไกการเกิดปฏิกิริยาเมื่อ  $-OH$  ของเบสดีงไฮโดรเจนของแอสिटโทฟีนอน เกิดเป็นคาร์แบนไอออน ทำให้มีสมบัติความเป็นนิวคลีโอไฟล์ที่ดี จึงเกิดปฏิกิริยากับคาร์บอนที่ตำแหน่งคาร์บอนิลของเบนซัลดีไฮด์ nucleophilic addition ได้สารประกอบบีตา-ไฮดรอกซีคาร์บอนิล จากนั้นเกิดปฏิกิริยา elimination ( $E_2$ ) เกิดเป็นแคลโคเน

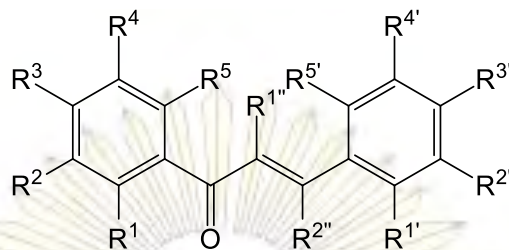
ตารางที่ 3.1 ลักษณะทางกายภาพ, %yield และ retardation factor ( $R_f$ ) ของอนุพันธ์แคลโคนที่สังเคราะห์ได้

สาร	ลักษณะทางกายภาพของสาร	%yield	$R_f$
2	ผลึกรูปแท่งสีน้ำตาล	10	0.83
3	ผลึกรูปแท่งสีเหลือง	38	0.73
5	ผลึกรูปแท่งสีส้ม	32	0.73
9	ผงสีเหลือง	4.0	0.55
13	ผลึกรูปแท่งสีเหลือง	7.4	0.82
14	ผลึกรูปแท่งสีดำ แฉววาว	64	0.63
15	ผลึกรูปแผ่นสีเหลือง แฉววาว	31	0.52

ระบบตัวทำละลาย: dichloromethane

พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  สเปกโทรสโกปี การกำหนดสัญญาณ  $^1\text{H NMR}$  ของอนุพันธ์แคลโคนที่สังเคราะห์ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.2

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



- สาร 1:  $R^1=OH, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^3'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 2:  $R^1=OH, R^3'=F, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 3:  $R^1=OH, R^3'=Br, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 4:  $R^1=OH, R^3'=Cl, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 5:  $R^1=OH, R^3'=CH_2CH_3, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 6:  $R^1=OH, R^3'=CH_2CH_2CH_3, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 7:  $R^1=OH, R^3'=CH_2CH_2CH_2CH_3, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 8:  $R^1=OH, R^3'=(CH_2)_8CH_3, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 9:  $R^1=OH, R^3'=CH_2CH(CH_3)_2, R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 10:  $R^1=OH, R^3'=C(CH_3)_3, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 11:  $R^1=R^3'=OH, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 12:  $R^1=OH, R^3'=OCH_3, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 13:  $R^1=OH, R^3'=OCH_2CH_3, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 14:  $R^1=OH, R^3'=N(CH_2CH_3)_2, R^2=R^3=R^4=R^5=R^1'=R^2'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 15:  $R^1=R^2=R^4=OH, R^3=R^5=R^1'=R^2'=R^3'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$   
 สาร 16:  $R^1=R^2=R^4=OH, R^3=Br, R^5=R^1'=R^2'=R^3'=R^4'=R^5'=R^{1''}=R^{2''}=H$

ภาควิชาเคมี  
 คณะวิทยาศาสตร์  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.2 การกำหนดสัญญาณ  $^1\text{H}$  NMR ของอนุพันธ์แคลโคโค

สาร	ตำแหน่ง												หมายเหตุ
	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	R <sup>1''</sup>	R <sup>2''</sup>	R <sup>1'</sup>	R <sup>2'</sup>	R <sup>3'</sup>	R <sup>4'</sup>	R <sup>5'</sup>	
2	12.50 (s)	7.58 (d, J = 16.0 Hz)	8.03-7.99 (m)	8.03-7.99 (m)	8.03-7.99 (m)	8.26 (d, J = 8.0 Hz)	7.58 (d, J = 8.0 Hz)	7.02 (d, J = 8.0 Hz)	7.33 (d, J = 8.0 Hz)	-	7.33 (d, J = 8.0 Hz)	7.02 (d, J = 8.0 Hz)	
3	12.43 (s)	7.01 (d, J = 8.0 Hz)	7.81-7.61 (m)	7.81-7.61 (m)	7.11 (d, J = 4.0 Hz)	8.25 (d, J = 8.0 Hz)	8.07 (d, J = 16.0 Hz)	7.52 (d, J = 8.0 Hz)	7.84 (d, J = 8.0 Hz)	-	7.84 (d, J = 8.0 Hz)	7.52 (d, J = 8.0 Hz)	
5	12.92 (s)	7.06 (d, J = 8.0 Hz)	7.68-7.50 (m)	7.68-7.50 (m)	7.68-7.50 (m)	8.05 (d, J = 8.0 Hz)	7.95 (d, J = 8.0 Hz)	7.30 (d, J = 15.0 Hz)	7.64 (d, J = 8.0 Hz)	-	7.64 (d, J = 8.0 Hz)	7.30 (d, J = 15.0 Hz)	3'-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> 2.73 (q, J = 8.0 Hz), 1.30 (t, J = 7.6 Hz, 3H)
9	12.88 (s)	7.50 (t, J = 8.4 Hz)	7.36-7.31 (m)	7.36-7.31 (m)	6.94 (t, J = 8.0 Hz)	8.00 (d, J = 8.0 Hz)	7.93 (d, J = 9.2 Hz)	7.03 (d, J = 7.2 Hz)	7.22 (d, J = 9.6 Hz)	-	7.22 (d, J = 9.6 Hz)	7.03 (d, J = 7.2 Hz)	3'-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> 2.56-2.46 (m), 1.89 (m), 0.91 (d, J = 3.6 Hz)
13	12.89 (s)	7.50 (t, J = 8.4 Hz)	7.34-7.29 (m)	7.34-7.29 (m)	6.95 (t, J = 7.2 Hz)	7.93 (d, J = 6.0 Hz)	7.91 (d, J = 5.2 Hz)	7.03 (d, J = 4.8 Hz)	7.61 (d, J = 5.6 Hz)	-	7.61 (d, J = 5.6 Hz)	7.03 (d, J = 4.8 Hz)	3'-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> 3.45 (m), 1.24 (t, J = 7.1 Hz)
14	13.30 (s)	7.03 (d, J = 8.3 Hz)	7.50-6.95 (m)	7.50-6.95 (m)	7.50-6.95 (m)	7.94 (d, J = 8.0 Hz)	7.93 (d, J = 8.0 Hz)	6.69 (d, J = 8.9 Hz)	7.58 (d, J = 8.9 Hz)	-	7.58 (d, J = 8.9 Hz)	6.69 (d, J = 8.9 Hz)	3'-N(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 1.24 (t, J = 7.1 Hz)
15	12.97 (s)	-	7.55 (s)	-	7.95 (s)	7.53 (d, J = 8.0 Hz)	7.05 (d, J = 8.0 Hz)	6.96 (d, J = 7.3 Hz)	7.65 (d, J = 8.0 Hz)	-	7.65 (d, J = 8.0 Hz)	6.96 (d, J = 7.3 Hz)	3'-OH 7.95 (s)



จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย  $^1\text{H NMR}$  ของอนุพันธ์แคลโคเนที่สังเคราะห์ขึ้น สามารถตรวจสอบได้ด้วยตำแหน่งสัญญาณไฮโดรเจนที่ตำแหน่งแอลฟา และบีตาที่อยู่ระหว่างวงแอโรมาติกทั้ง 2 วงของอนุพันธ์แคลโคเนที่ประมาณ 7-8 ppm<sup>22</sup> เป็น doublet และแสดงเอกลักษณ์ของตำแหน่งซีส- แทรนส์ ไอโซเมอร์ (ซีสไอโซเมอร์ ค่า  $J = 13.00$  Hz และแทรนส์ไอโซเมอร์ ค่า  $J = 15.00-16.00$  Hz)<sup>23</sup> ตำแหน่งสัญญาณของ -OH ที่ตำแหน่ง 1 เป็นอีกตำแหน่งสัญญาณที่สังเกตได้ง่าย พบที่ประมาณ 12-13 ppm<sup>23</sup> เป็น singlet เนื่องจากเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่ C=O สัญญาณไฮโดรเจนบนวงแอโรมาติกประมาณ 7-8 ppm<sup>22</sup> ขึ้นกับไฮโดรเจนบนวงแอโรมาติก และอาจจะมีการซ้อนทับกันของสัญญาณทำให้เกิดเป็น multiplet ได้ โดยไฮโดรเจนในวง B จะมีตำแหน่งของสัญญาณที่สูงกว่าวง A เนื่องจากมีอิทธิพลของหมู่แทนที่เข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น สาร 2 (4'-fluoro-2-hydroxychalcone) หมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 3' เป็นฟลูออรีน เนื่องจากฟลูออรีนเป็นสารที่มีค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตีสูง ทำให้ดึงอิเล็กตรอนได้ดี ไฮโดรเจนที่ตำแหน่งใกล้เคียงจึง deshield ทำให้ปรากฏสัญญาณที่ค่าสูงขึ้น และตำแหน่งสัญญาณที่เหลือของหมู่ไฮโดรเจน ซึ่งจะพบบริเวณ 1-3.5 ppm<sup>24</sup>

### 3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในงานวิจัยนี้ได้ทดสอบกับแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *P. acnes* KCCM41747, *S. aureus* ATCC25956, *S. sobrinus* KCCM11898, *S. mutans* ATCC25175 และ *S. typhi* ATCC422 ด้วยวิธี modified diffusion โดยเตรียมอนุพันธ์แคลโคเนที่ความเข้มข้น 1 mM ใช้ชุดควบคุมเป็นแอซิโตน ได้ผลการทดสอบการวัดค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้หรือบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ดังตารางที่ 3.3

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.3 ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด

สาร	Inhibition zone average (mm) $\pm$ SD				
	<i>P. acnes</i> KCCM41747	<i>S. aureus</i> ATCC25956	<i>S. sobrinus</i> KCCM11898	<i>S. mutans</i> ATCC25175	<i>S. typhi</i> ATCC422
1	8.33 $\pm$ 0.47	8.67 $\pm$ 0.47	9.33 $\pm$ 0.47	8.00 $\pm$ 0.00	7.67 $\pm$ 0.47
2	8.33 $\pm$ 0.47	9.00 $\pm$ 0.82	8.67 $\pm$ 0.47	10.00 $\pm$ 0.00	8.67 $\pm$ 0.47
3	7.33 $\pm$ 0.47	9.00 $\pm$ 1.63	8.00 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 0.82
4	8.00 $\pm$ 0.00	8.67 $\pm$ 0.00	11.67 $\pm$ 1.25	10.00 $\pm$ 0.82	10.67 $\pm$ 0.94
5	10.67 $\pm$ 0.47	8.00 $\pm$ 0.00	8.00 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 0.00	10.00 $\pm$ 0.00
9	8.00 $\pm$ 0.00	8.33 $\pm$ 0.47	11.00 $\pm$ 0.82	12.00 $\pm$ 0.00	10.67 $\pm$ 0.47
10	8.33 $\pm$ 0.47	9.67 $\pm$ 0.94	9.33 $\pm$ 0.47	9.00 $\pm$ 0.00	10.00 $\pm$ 0.00
11	13.67 $\pm$ 0.94	15.33 $\pm$ 0.47	14.33 $\pm$ 0.94	15.33 $\pm$ 0.47	13.67 $\pm$ 0.47
12	15.67 $\pm$ 0.47	14.33 $\pm$ 0.47	10.67 $\pm$ 0.94	14.33 $\pm$ 0.47	13.33 $\pm$ 0.94
13	8.00 $\pm$ 0.00	8.67 $\pm$ 0.47	9.67 $\pm$ 0.47	9.00 $\pm$ 0.00	9.00 $\pm$ 0.00
14	8.00 $\pm$ 0.00	8.67 $\pm$ 0.47	9.67 $\pm$ 0.47	8.33 $\pm$ 0.47	9.00 $\pm$ 0.00
15	8.33 $\pm$ 0.47	10.00 $\pm$ 0.00	10.00 $\pm$ 0.00	10.67 $\pm$ 0.47	10.33 $\pm$ 0.47

ได้เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของแคลโคนที่สังเคราะห์ขึ้นว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพน้อยหรือมาก เทียบกับ 2-hydroxychalcone (สาร 1) ดังนี้

กลุ่มที่มีหมู่แทนที่ในวง A ได้แก่ สาร 15 ซึ่งมี -Br เป็นหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 2 และ 4 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของแบคทีเรีย 4 ชนิด (*S. aureus*, *S. sobrinus*, *S. mutans* และ *S. typhi*) ที่ดีกว่า 2-hydroxychalcone (สาร 1)

กลุ่มที่มีหมู่แทนที่ในวง B ที่ตำแหน่งที่ 4 แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มแฮโลเจน ได้แก่ -F (สาร 2), -Br (สาร 3) และ -Cl (สาร 4) พบว่า ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของสาร 2 และ 3 มีค่าต่ำกว่าและใกล้เคียงกับ 2-hydroxychalcone (สาร 1) แสดงว่าสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียปานกลาง ส่วนสาร 4 พบว่าค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งมีค่าสูงกว่า 2-hydroxychalcone ใน *S. sobrinus*, *S. mutans* และ *S. typhi*

กลุ่มที่ 2 กลุ่มแอลคิลไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ -ethyl (สาร 5), -iso-butyl (สาร 9) และ -tert-butyl (สาร 10) พบว่า มีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งดีกว่า 2-hydroxychalcone (สาร 1) กล่าวคือ สาร 9 แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดี 3 ชนิด (*S. sobrinus*, *S. mutans* และ *S. typhi*) สาร 10 แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดี 2 ชนิด (*S. mutans* และ *S. typhi*) ในขณะที่สาร 5 มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ *P. acnes* ดีที่สุด

กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่มีธาตุดอกซิเจนเป็นองค์ประกอบ แบ่งเป็นกลุ่มไฮดรอกซิล ได้แก่ -OH (สาร 11), -OMe (สาร 12) และกลุ่มแอลคอกซี ได้แก่ -OEt (สาร 13) เมื่อเทียบกับ 2-hydroxychalcone (สาร 1) พบว่าทั้ง 3 สารมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งดีกว่า สาร 11 แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดโดยรวมสูงที่สุด สาร 12 มีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งโดยรวมค่อนข้างดี และสาร 13 แสดงฤทธิ์ยับยั้งน้อยที่สุด ใกล้เคียงกับสาร 1

กลุ่มที่ 4 กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ -diethylamino (สาร 14) พบว่าค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งมีค่าใกล้เคียงกับ 2-hydroxychalcone (สาร 1)

เมื่อพิจารณาแคลโคเนที่สังเคราะห์ได้และฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย สามารถจัดลำดับความสามารถของแคลโคเนในการต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ 3 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

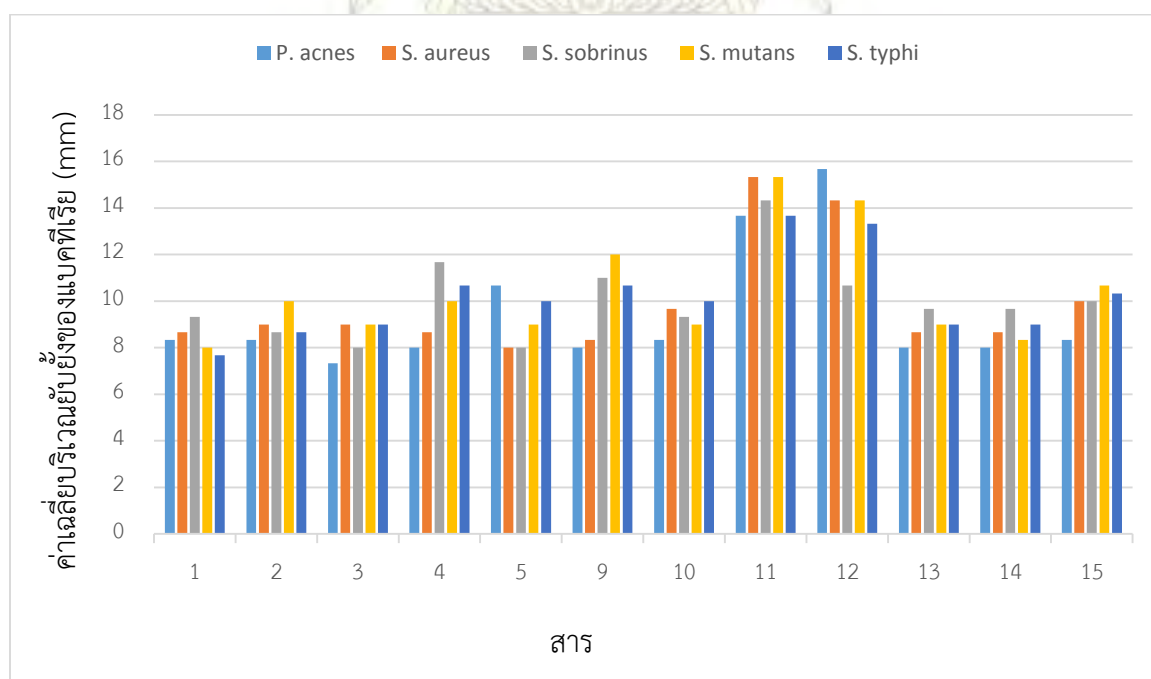
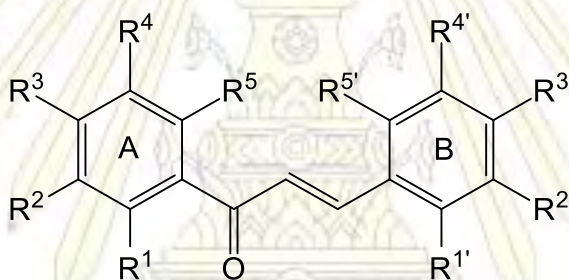
แคลโคเนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ออกฤทธิ์ต่อผิวหนังได้ดีใน *P. acne* 3 อันดับแรก ได้แก่ 4'-methoxy-2-hydroxychalcone (สาร 12), 4'-hydroxy-2-hydroxychalcone (สาร 11) และ 4'-ethyl-2-hydroxychalcone (สาร 5) ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งคือ  $15.67 \pm 0.47$  mm,  $13.67 \pm 0.94$  mm และ  $10.67 \pm 0.47$  mm ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีต่อ *S. aureus* 3 อันดับแรก ได้แก่ 4'-hydroxy-2-hydroxychalcone (สาร 11), 4'-methoxy-2-hydroxychalcone (สาร 12), และ 3,5-dibromo-2-hydroxy-4'-hydroxychalcone (สาร 15) มีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งคือ  $15.33 \pm 0.47$  mm,  $14.33 \pm 0.47$  mm และ  $10.00 \pm 0.00$  mm ตามลำดับ

แคลโคเนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคไขกระดูกน้อย 3 อันดับแรก ได้แก่ 4'-hydroxy-2-hydroxychalcone (สาร 11), 4'-chloro-2-hydroxychalcone (สาร 4) และ 4'-isobutyl-2-hydroxychalcone (สาร 9) คือ  $14.33 \pm 0.94$  mm,  $11.67 \pm 1.25$  mm และ  $11.00 \pm 0.82$  mm ตามลำดับ

แคลโคนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปากต่อ *S. sobrinus* 3 อันดับแรกได้แก่ 4'-hydroxy-2-hydroxycalcone (สาร 11), 4'-chloro-2-hydroxycalcone (สาร 4), 4'-isobutyl-2-hydroxycalcone (สาร 9) คือ  $14.33 \pm 0.94$  mm,  $11.67 \pm 1.25$  mm และ  $11.00 \pm 0.82$  mm ส่วนฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีต่อ *S. mutans* 3 อันดับแรก ได้แก่ 4'-methoxy-2-hydroxycalcone (สาร 12), 4'-hydroxy-2-hydroxycalcone (สาร 11) และ 4'-isobutyl-2-hydroxycalcone (สาร 9) คือ  $15.33 \pm 0.47$  mm,  $14.33 \pm 0.47$  mm และ  $12.00 \pm 0.00$  mm ตามลำดับ

### 3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแคลโคนและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ได้พิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแคลโคน 12 ชนิดกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 5 ชนิด จากค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง ถ้ามีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งมากแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดี ในที่นี้แบ่งการพิจารณาเป็น 2 กลุ่ม คือ อิทธิพลของหมู่แทนที่ในวง A และหมู่แทนที่ในวง B ผลการพิจารณาได้แสดงไว้ในรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.3 แผนภูมิแท่งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดกับอนุพันธ์แคลโคน

เมื่อพิจารณาแผนภูมิแท่งค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งของแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดของสารที่มีหมู่แทนที่ที่แตกต่างกันในวง A พบว่าหมู่ -Br (สาร 15) มีอิทธิพลต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. sobrinus*, *S. mutans* และ *S. typhi* ในขณะที่เมื่อพิจารณาหมู่ที่ในวง B ที่ตำแหน่ง R<sup>3</sup> พบว่าหมู่ -ethyl (สาร 5) มีอิทธิพลต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *P. acnes* หมู่ -Cl (สาร 4) และ -*tert*-butyl (สาร 10) มีอิทธิพลต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. sobrinus*, *S. mutans* และ *S. typhi* หมู่ -*iso*-butyl (สาร 9) มีอิทธิพลต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. sobrinus*, *S. mutans* และ *S. typhi* และหมู่ -OH (สาร 11) และ -OMe (สาร 12) มีอิทธิพลต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดที่ดีที่สุด

จากผลการทดลองพบว่า หมู่แอลิเฟติกที่มีโครงสร้างเป็นโซ่กิ่งอาจจะมีฤทธิ์ต้าน *S. sobrinus*, *S. mutans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มก่อให้เกิดโรคในช่องปาก และ *S. typhi* ซึ่งก่อให้เกิดโรคไข้รากสากน้อย และพบว่าหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง R<sup>3</sup> ควรเป็นหมู่ที่มีขนาดเล็ก หรือเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน เช่น -OH, -OMe, -Cl หรือแอลิเฟติกที่เป็นโซ่กิ่ง เช่น -*iso*-butyl, -*tert*-butyl

กรณี *P. acnes* พบว่าสารที่มีหมู่แทนที่เป็น -Br จะให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่ำ ในกรณี *S. aureus*, *S. sobrinus* พบว่าไม่ควรมีหมู่แทนที่เป็น -ethyl เพราะให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ต่ำ

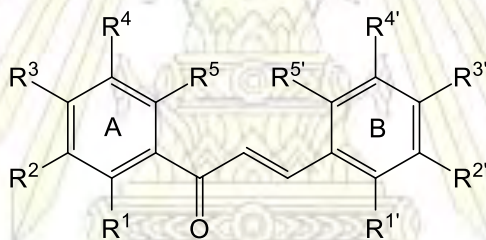
ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

#### 4.1 สรุปผลการทดลอง

ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแคลโคนและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้วยการสังเคราะห์สารตั้งต้น 4 ตัว สังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคน 7 ตัวรวมกับแคลโคนที่มีการพิสูจน์เอกลักษณ์แล้ว 5 ตัว มี %yield ในช่วงร้อยละ 4-86 พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H NMR}$  และนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่ *P. acnes* KCCM41747 และ *S. aureus* ATCC25956 เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนัง *S. sobrinus* KCCM11898 และ *S. mutans* ATCC25175 เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปาก และ *S. typhi* ATCC422 เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคไข้รากสากน้อย (typhoid)



จากผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแคลโคนและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย พบว่าแคลโคนที่ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดี คือแคลโคนที่หมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง R<sup>3</sup> เป็น -OH, -OMe หมู่แอลิเฟติกแบบไซกิง และหมู่ -Cl จะแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีกว่าแคลโคนที่ไม่มีหมู่แทนที่ การเพิ่มตำแหน่ง -Br ในวง A จะมีอิทธิพลต่อฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีขึ้น

กลุ่มแคลโคนที่ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคแก้มือหนังได้ดีใน *P. acnes* 3 อันดับแรก ได้แก่ สาร 12, 11 และ 5 ส่วนฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีใน *S. aureus* 3 อันดับแรก ได้แก่ สาร 11, 12, 15 แคลโคนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคไข้รากสากน้อย 3 อันดับแรก ได้แก่ สาร 11, 4, 9 แคลโคนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกลุ่มแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปากใน *S. sobrinus* 3 อันดับแรก ได้แก่ สาร 11, 4, 9 ส่วนฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดีใน *S. mutans* 3 อันดับแรก ได้แก่ สาร 12, 11, 9

#### 4.2 งานวิจัยในอนาคต

เปลี่ยนตำแหน่งและชนิดของหมู่แทนที่ในการสังเคราะห์อนุพันธ์แคลโคน ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างแคลโคนกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยต่อยอดจากงานวิจัยเดิมในกลุ่มที่ได้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ดี เช่น การเปลี่ยนหมู่แทนที่ในวง A การเปลี่ยนชนิด และเพิ่ม

จำนวนของหมู่แทนที่ อาจจะมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปากได้ดีขึ้น และยังศึกษาวิธีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของแคลโคโคนด้วยวิธีอื่น เช่น การควบคุมอุณหภูมิ การเปลี่ยนความเข้มข้นของเบส เป็นต้น เพื่อให้สามารถสังเคราะห์แคลโคโคนได้โดยใช้เวลาน้อยลง สังเคราะห์ได้สำเร็จ และได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณมากขึ้น



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## เอกสารอ้างอิง

1. Liu, X. L.; Xu, Y. J.; Go, M. L. Functionalized Chalcones with Basic Functionalities have Antibacterial Activity against Drug Sensitive *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1681-1687.
2. Won, S. J.; Liu, C. T.; Tsao, L. T.; Ko, H. H.; Wang, J. P.; Lin, C. N. Synthetic Chalcones as Potential Anti-inflammatory and Cancer Chemo Protective Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 103-112.
3. Ohkatsu, Y.; Satoh, T. Antioxidant and Photo-antioxidant Activities of Chalcone Derivatives. *J. Jpn. Petrol. Inst.* **2007**, *51*, 298-308.
4. Avila, H. P.; Smania, E. F. A.; Monache, F. D.; Junior, A. S. Structure-activity Relationship of Antibacterial Chalcones. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9790-9794.
5. Batovska, D.; Parushev, S.; Stamboliyska, B.; Tsvetkova, I.; Ninova, M.; Najdenski, H. Examination of Growth Inhibitory Properties of Synthetic Chalcones for which Antibacterial Activity was Predicted. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2211-2218.
6. Tiwari, B.; Pratapwar, A. S.; Tapas, A.R.; Butle, S. R.; Vatkar, B. S. Synthesis and Antimicrobial Acitivity of some Chalcone Derivatives. *Int. J. ChemTech. Res.* **2010**, *2*, 499-503.
7. Talia, J. M.; Debattista, N. B.; Pappano, N. B. New Antimicrobial Combinations: Substituted Chalcones- Oxacillin against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Braz. J. Microbiol.* **2011**, *42*, 470-475.
8. Choudhary, A.N.; Juyal, V. Synthesis of Chalcone and Their Derivatives as Antimicrocial Agents. *Int. J. Phram. Sci.* **2011**, *3*, 125-128.
9. Kawada-Matsuo, M.; Komatsuzawa, H. Factors Affecting Susceptibility of *Staphylococcus aureus* to Antibacterial Agents. *J. Oral Biosci.* **2012**, *54*, 86-91.
10. Wilhelm, A.; Kendrekar, P.; Noreljaleel, A. E. M.; Abay, E. T.; Bonnet, L. W.; Kock, C.; Swart, K. J.; Westhuizen, J. H. Syntheses and *in vitro* Antiplasmodial Activity of Aminoalkylated Chalcones and Analogues. *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 1848-1858.



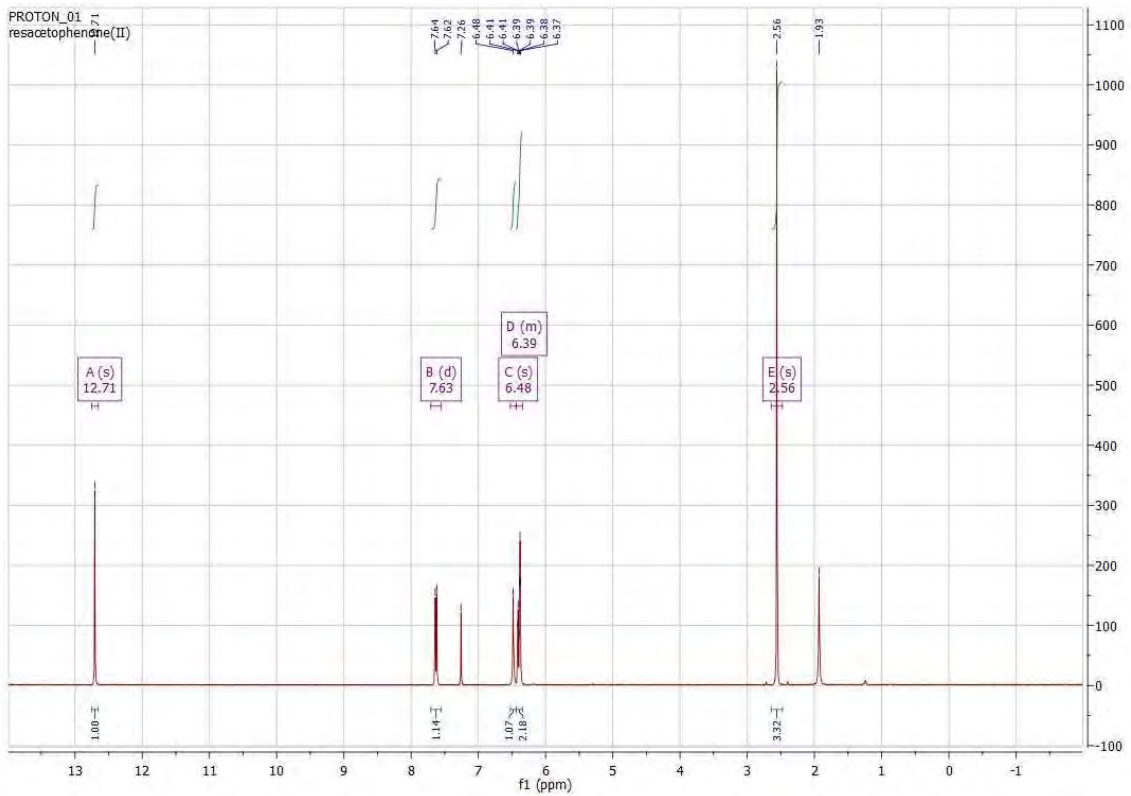
11. N, M. Y. L.; Viswanath, I. V. K.; Pandit, E. N. Synthesis, Characteriation & Antibacterial Activity of 7,4'-Dihydroxy, 3'-Methoxy Flavones. *Int. J. ChemTech Res.* **2010**, *2*, 1097-1101.
12. Murthy, Y. L. N.; Varma, K. S.; Murthy, C. V. V. S. Synthesis of 2-Amino-4-(21-nitro)phenyl-6(2<sup>11</sup>, 2<sup>11</sup>-dimethyl, 7<sup>11</sup>-hydroxychroman)pyrimidine and Study of Their Antimicrobial Activity. *Orient. J. Chem.* **2009**, *25*, 329-334.
13. Watanabe, N.; Kabasawa, Y.; Takase, Y.; Matsukura, M.; Miyazaki, K.; Ishihara, I.; Kodama, K.; Adachi, H. 4-Benzylamino-1-chloro-6-substituted Phthalazines: Synthesis and Inhibitory Activity toward Phosphodiesterase 5. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3367-3372.
14. Mallavadhani, U. V.; Mahapatra, A.; Narasimhan, K.; Sahoo, L. D. Interesting Product Formation during O-alkylation and Subsequent Rearrangement of two Building Blocks of dibromotyrosine Based Natural Products. *Indian J. Chem.* **2002**, *41*, 1460-1466.
15. Pui, A.; Mahy, J. P.; Synthesis, Characterization and Catalytic Activity of halo-methyl-bis(salicylaldehyde)ethylenediamine cobalt(II) complexes. *Polyhedron.* **2007**, *26*, 3143-3152.
16. Xu, S. P.; Liu, C.; Zhao, J. Crystal Structure of 1-(3,5-dibromo-2,4-dihydroxyphenyl)ethanone, C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>Br<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. *Z. Kristallogr. NCS.* **2014**, *229*, 11-12.
17. Tangkasemsamran, P.; Somsaard, C. Structure-Antibacterial Activity Relationship of Chalcone. B.Sc. Senior Project, Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 2015.
18. Lorenz, M.; Kabir, M. S.; Cook, J. M. A Two Step Synthesis of BzR/GABAergic Active Flavones via a Wacker-related Oxidation. *TetrahedronLett.* **2010**, *51*, 1095-1098.
19. Stoyanov, E. V.; Champavier, Y.; Simon, A.; Basly, J. P. Efficient Liquid-Phase Synthesis of 2'-Hydroxychalcones. *Blioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2685-2687.
20. Vlietinck, A.J., Berghe, D. A. V. Can Ethnopharmacology Contribute to the Development of Antiviral Drugs?. *J. Ethanopharmacol.* **1999**, *32*, 141-153.

21. Detsi, A.; Majdalani, M.; Kontogiorgis, C. A.; Litina, D. H.; Kefalas, P. Natural and Synthetic 2'-Hydroxy-chalcones and Aurones: Synthesis, Characterization and Evaluation of the Antioxidant and Soybean lipoxygenase Inhibitory Activity. *Bioorgan. Med. Chem.* **2009**, *17*, 8073-8085.
22. Shibata, S. Anti-tumorigenic Chalcones. *Stem Cells.* **1994**, *12*, 44-52.
23. Lim, Y. M. C.; Ha, S. T.; Yeap, G. Y.; Sastry, S. S. Synthesis and Mesomorphic Properties of New Heterocyclic Liquid Crystals with Central Ester-Chalcone Linkages. *Taibah. Univ. Sci.* **2016**.



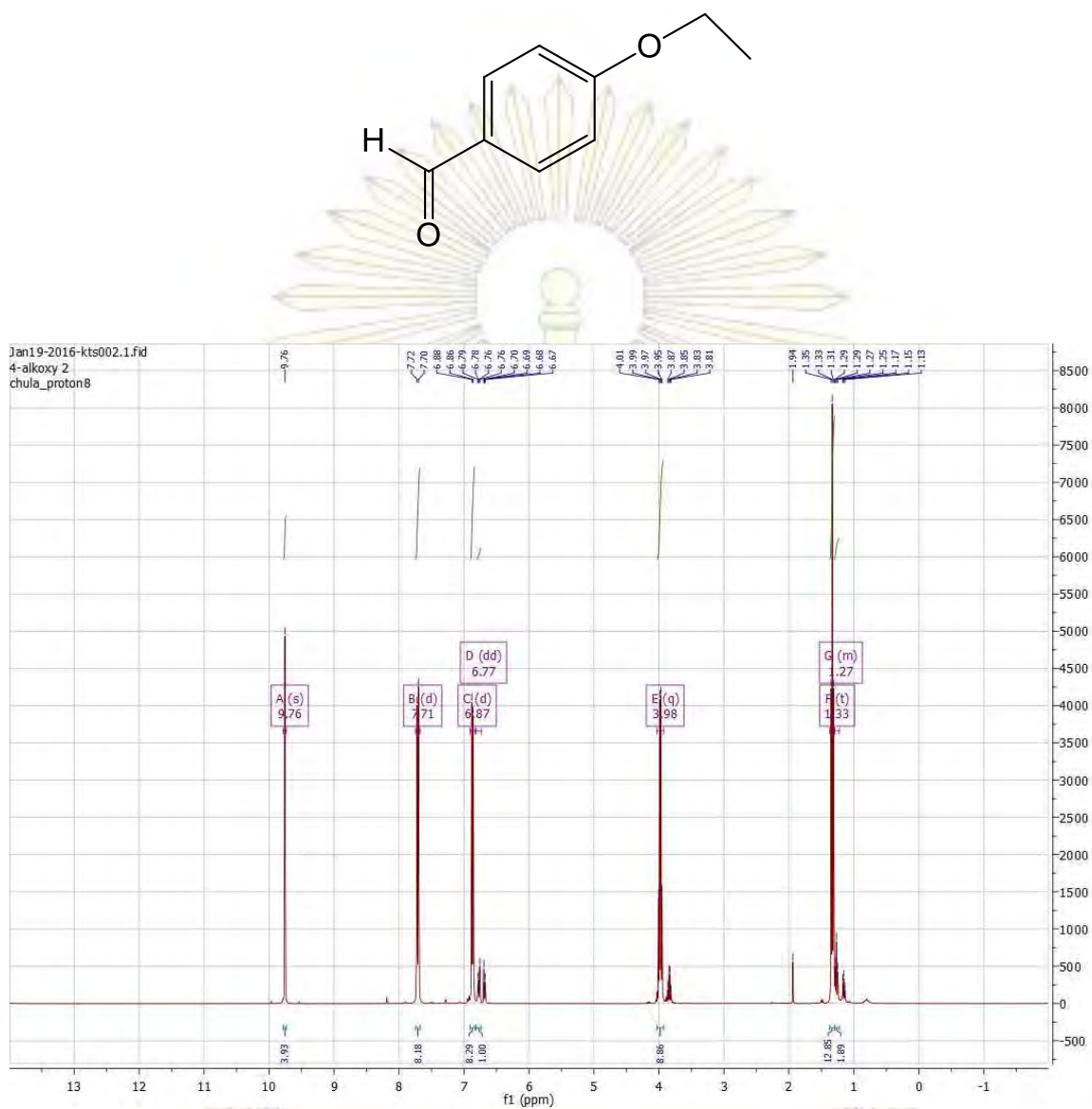
ภาคผนวก

รูป สัญญาณ  $^1\text{H-NMR}$  ของสารตั้งต้น



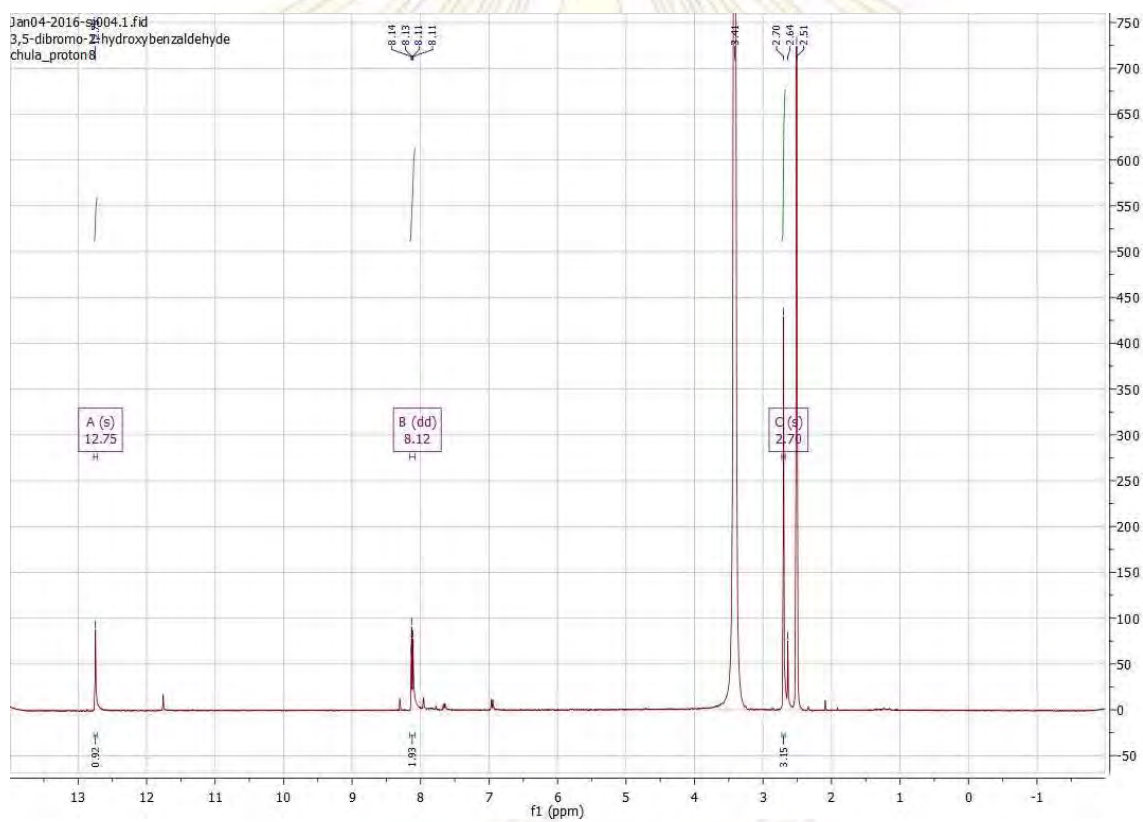
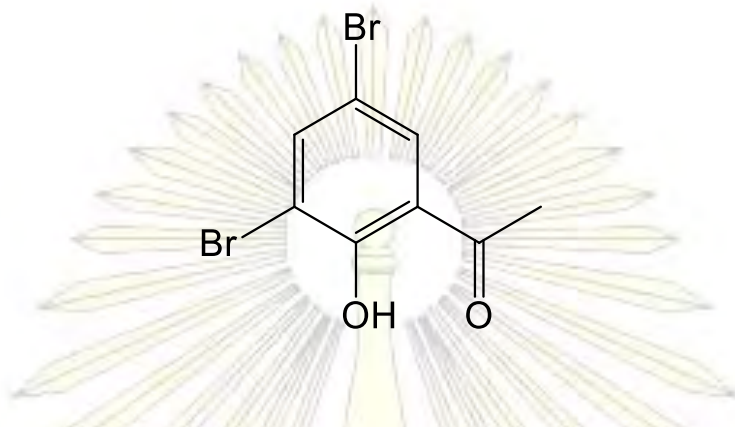
รูปที่ 1  $^1\text{H-NMR}$  สเปกตรัมของ 2,4-dihydroxyacetophenone

คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



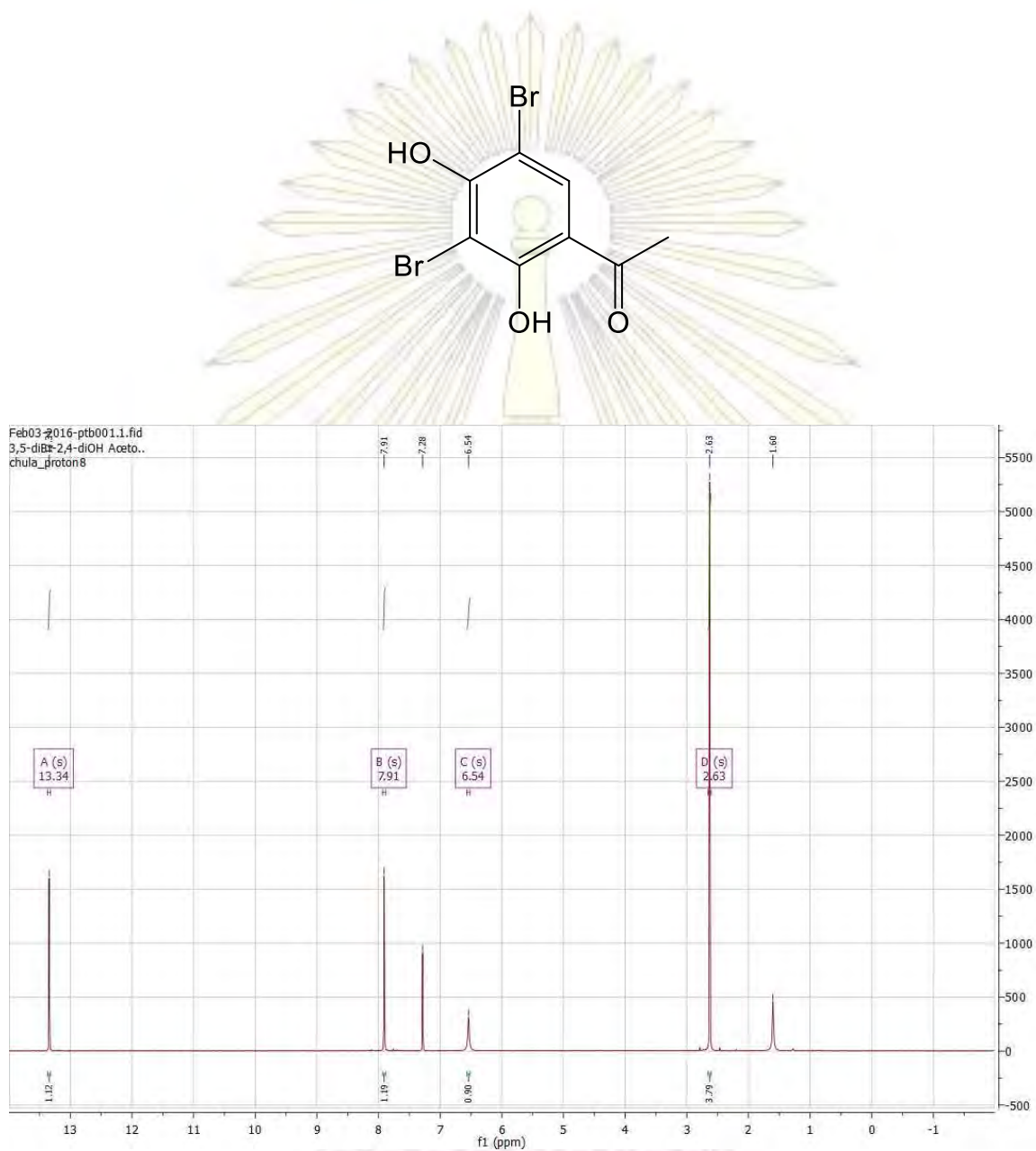
รูปที่ 2  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 4-ethoxybenzaldehyde

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



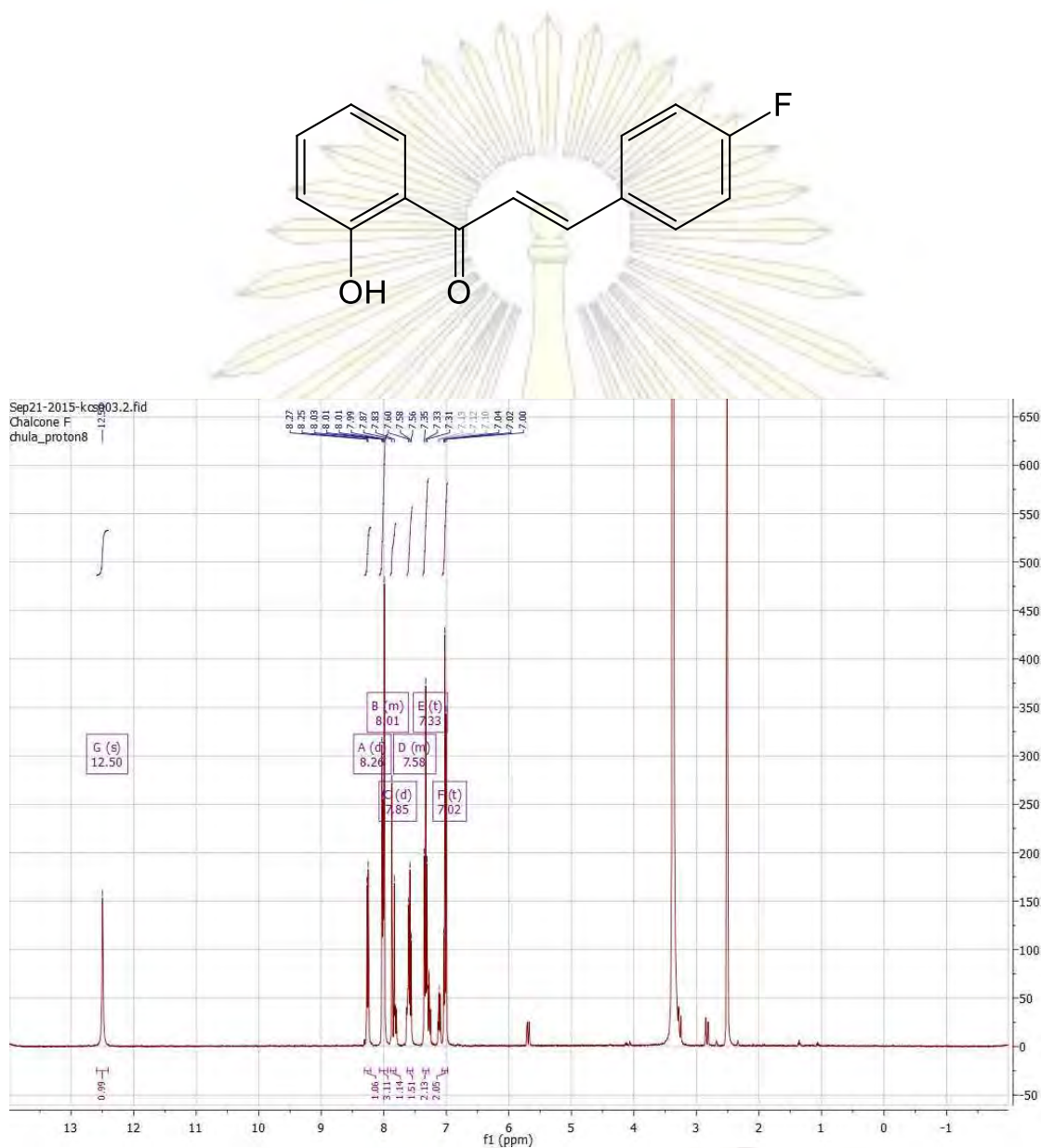
รูปที่ 3  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 3,5-dibromo-2-hydroxyacetophenone

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



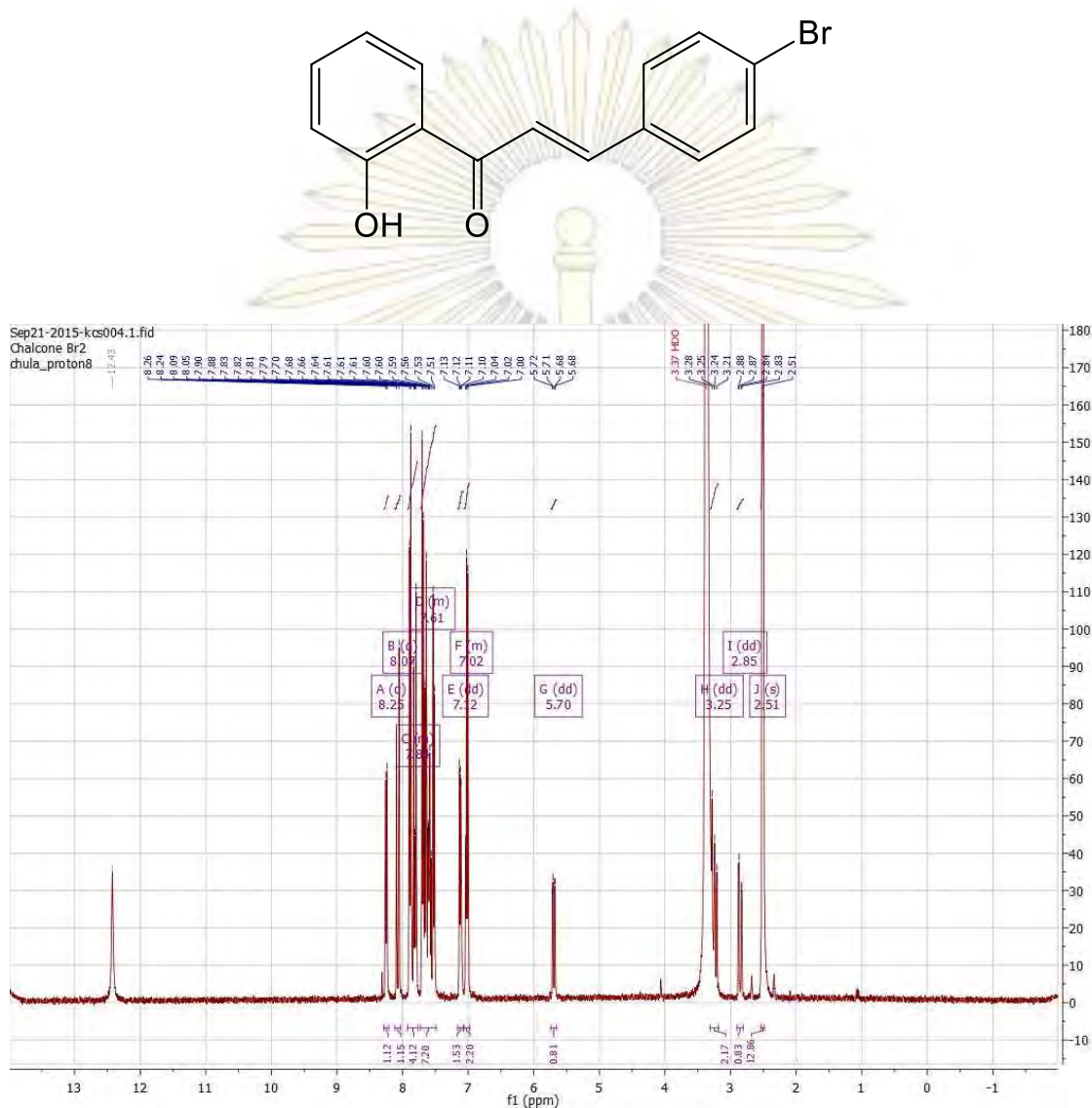
รูปที่ 4  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 3,5-dibromo-2,4-dihydroxyacetophenone

รูป สัญญาณ  $^1\text{H-NMR}$  ของแคลโคนที่สังเคราะห์ได้



รูปที่ 5  $^1\text{H NMR}$  สเปกตรัมของ 4'-fluoro-2-hydroxychalcone (สาร 2)

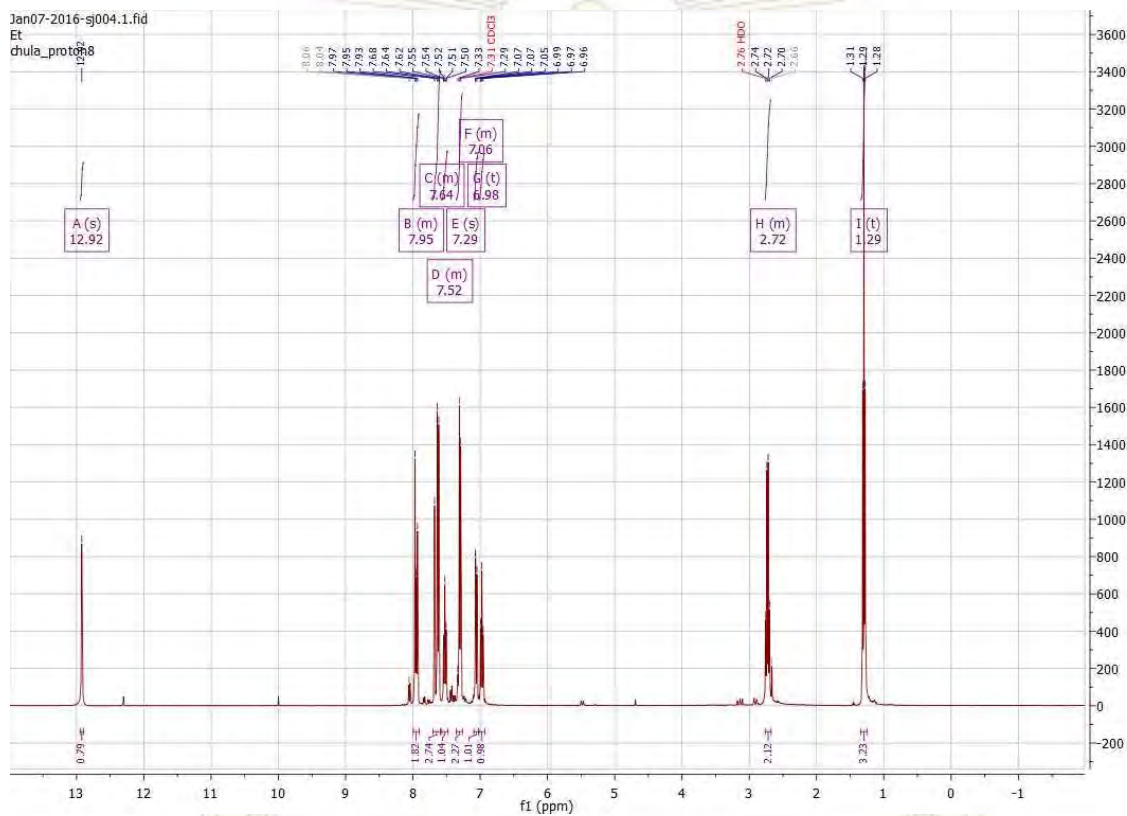
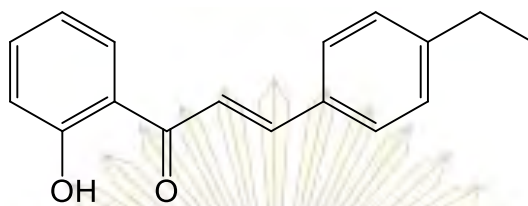
ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 6  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 4'-bromo-2-hydroxychalcone (สาร 3)

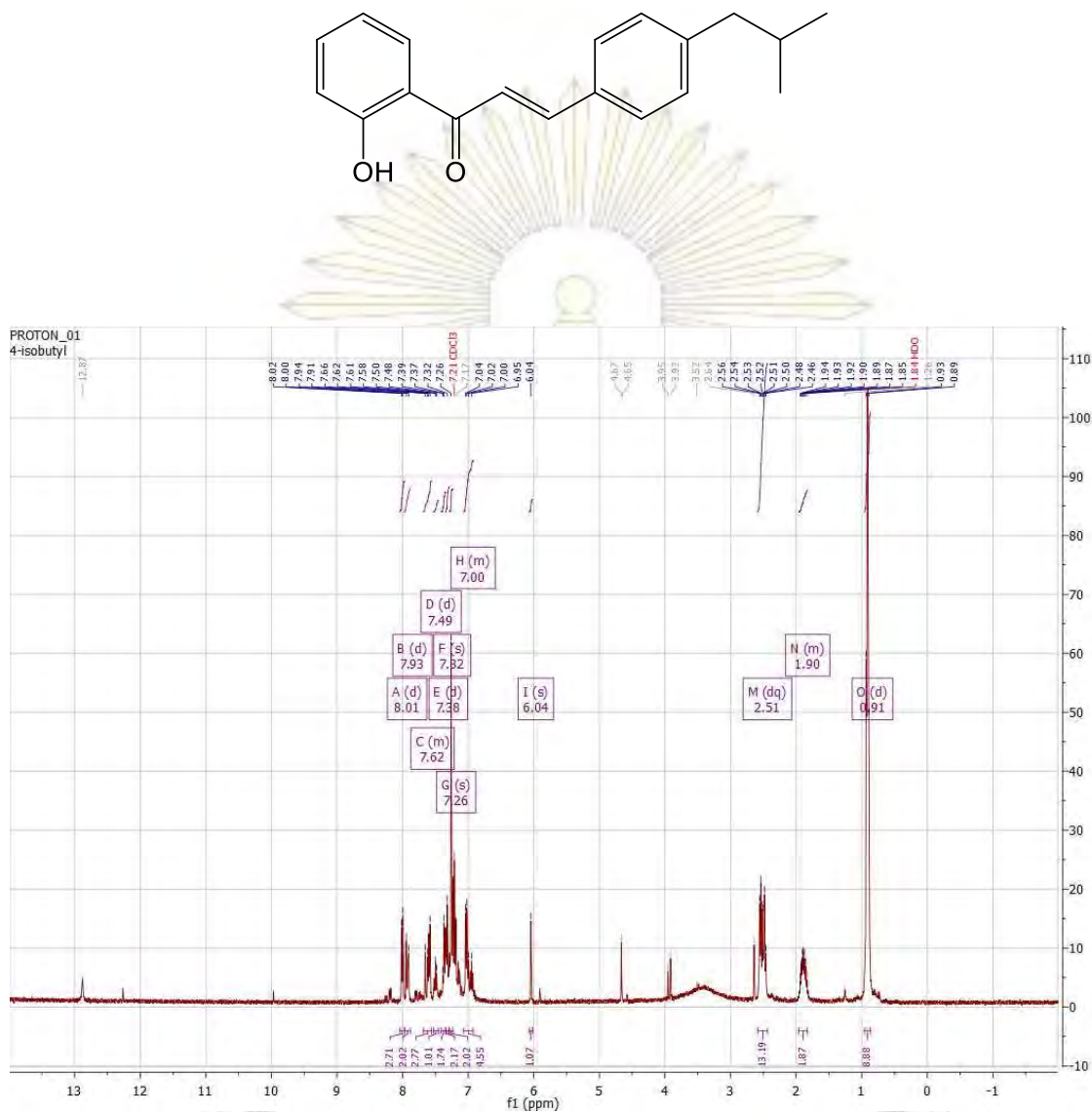
มหาวิทยาลัย  
 คณะวิทยาศาสตร์  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





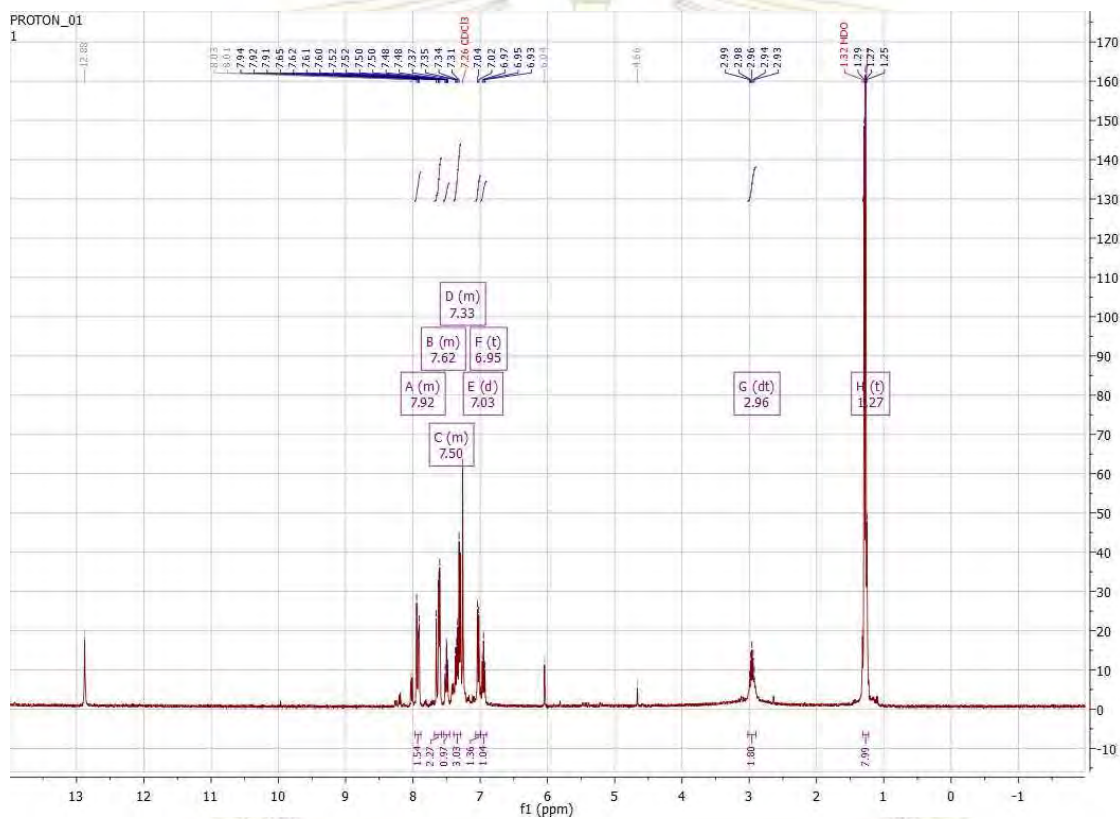
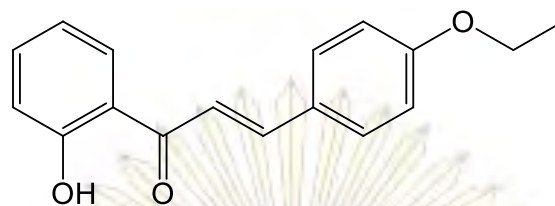
รูปที่ 7  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 4'-ethyl-2-hydroxychalcone (สาร 5)

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



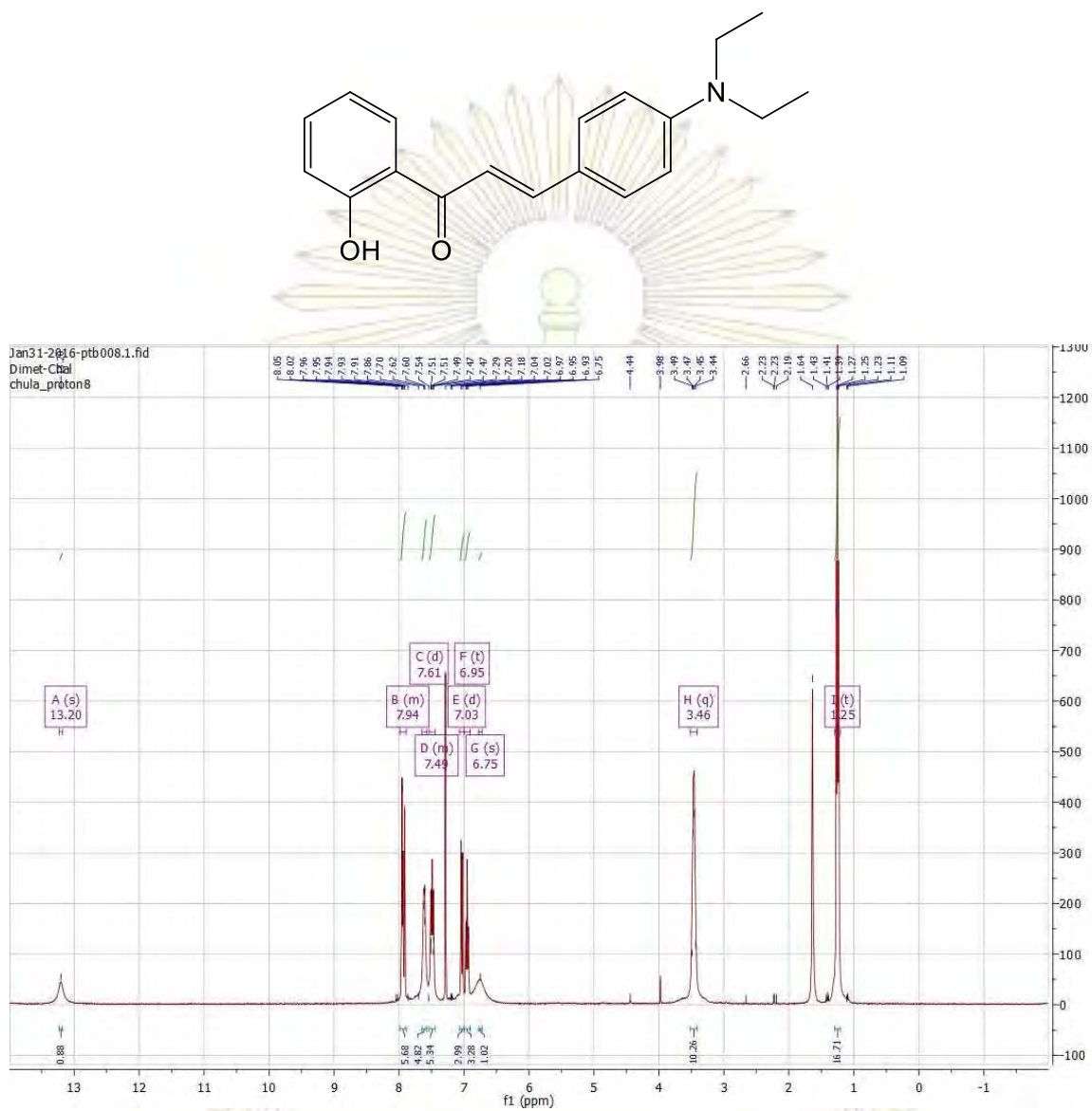
รูปที่ 8  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 4'-isobutyl-2-hydroxychalcone (สาร 9)

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



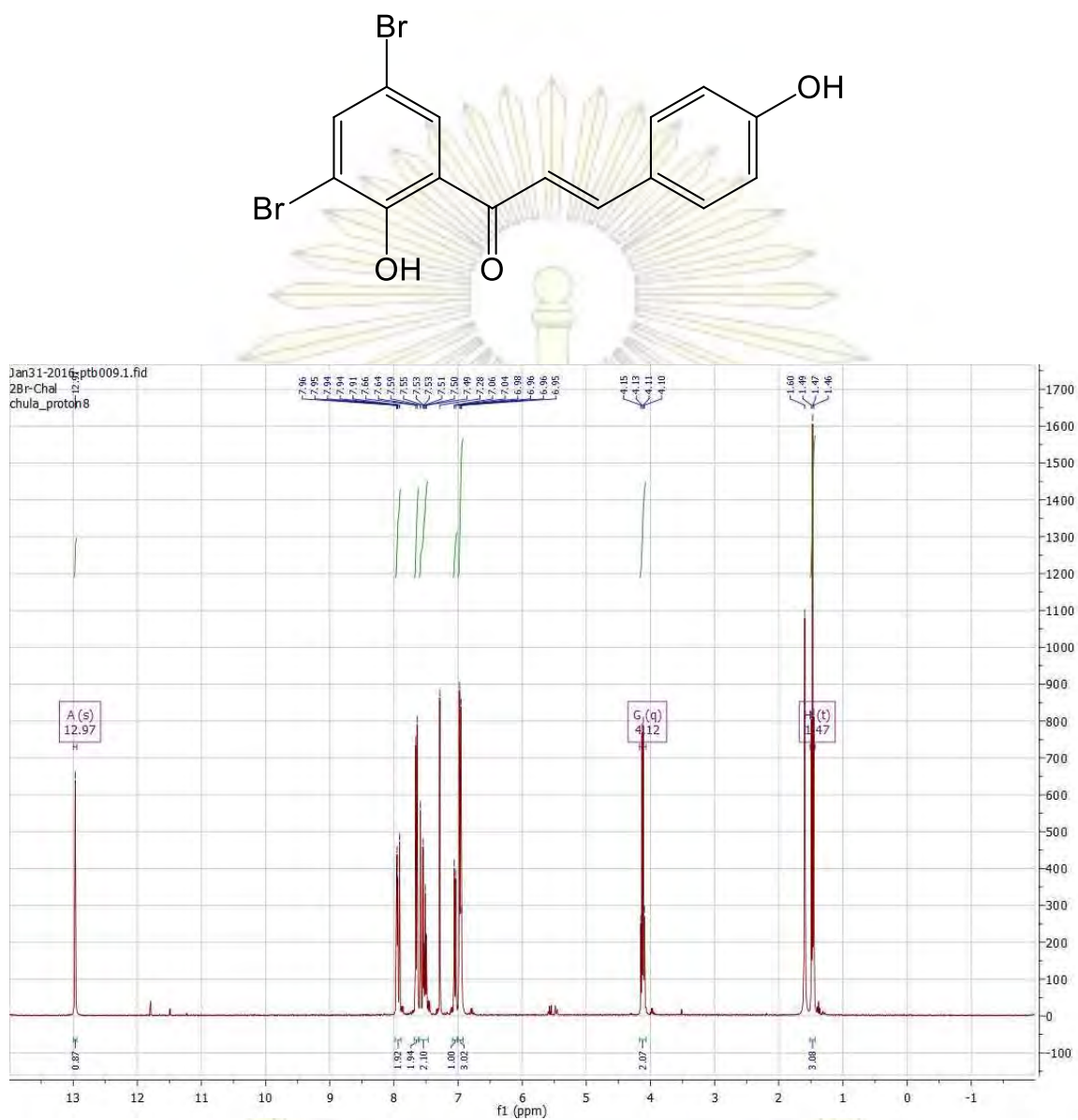
รูปที่ 9  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 4'-ethoxy-2-hydroxychalcone (สาร 13)

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 4'-diethylamino-2- hydroxychalcone (สาร 14)

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 3,5-dibromo-2-hydroxy-4'-hydroxychalcone (สาร 15)

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวธิดารัตน์ คงสุพรศักดิ์ เกิดเมื่อวันที่ 8 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2537 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสตรีศรีสุริโยทัย จังหวัดกรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2554 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2555 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 259/16 ซอยจันทน์ 43 ถนนจันทน์ แขวงทุ่งวัดดอน เขตสาทร จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10120 อีเมล weaw08@hotmail.com



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย