

โครงการ การท่อหู่่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยไซโคลเดกซ์ทริน:
การศึกษาด้วยการเลียวเบนของรังสีเอกซ์

โดย นางสาวสิทธิณี จิสุภกร


ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


คณะกรรมการสอบโครงการ

1. ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ ทารหนองบัว
2. รองศาสตราจารย์ ดร.สุรัชย์ พรภคกุล
3. ศาสตราจารย์ ดร.ธรรมรัตน์ อารีย์

ประธานกรรมการ
กรรมการ
อาจารย์ที่ปรึกษา

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี


.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ธรรมรัตน์ อารีย์)
อาจารย์ที่ปรึกษา


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

วันที่ ๑๖ เดือน มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๖๓

Project Title Cyclodextrin encapsulation of bioactive compounds:
 An X-ray diffraction study

Student Name Miss Sittinee Tisupakorn Student ID 5933100823

Advisor Name Professor Thammarat Aree, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2019

Abstract

Cyclodextrins (CDs) are macrocyclic compounds and often chosen for the encapsulation of bioactive compounds. The objective of this research is to study the inclusion complexes of CDs (α -CD, β -CD, γ -CD and HP- β -CD) with polyphenols (gallic acid (GA) and ferulic acid (FA)) by single-crystal X-ray diffraction for deep understanding about the inclusion structure of guest molecule in the CD cavity, and the effects of size and shape of guest molecules on the interaction with CD and on the stability of inclusion complexes. Crystallographic research comprises four steps, i.e., 1) crystallization, 2) X-ray diffraction experiment, 3) structure solution and refinement, and 4) structure analysis and interpretation. Even though several attempts have been made to crystallize various complexes of α -CD, β -CD and HP- β -CD with FA, and β -CD, γ -CD and HP- β -CD with GA, single crystals of the desired inclusion complexes cannot be obtained. However, X-ray diffraction data of the α -CD-FA inclusion complex provided by advisor enable to finish the research work. Structure solution and refinement, as well as preliminary structure analysis reveal that FA is included in the α -CD cavity and held in place by hydrogen bonding with α -CD and water molecules.

Keywords: cyclodextrins, ferulic acid, X-ray diffraction, crystal structure

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยและรายงานฉบับนี้ได้รับการสนับสนุน ช่วยเหลือดังต่อไปนี้

ศาสตราจารย์ ดร. ธรรมรัตน์ อารีย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ สำหรับคำปรึกษาและคำแนะนำตลอดทำการวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว และ รองศาสตราจารย์ ดร. สุรัชย์ พรภคกุล ที่ได้สละเวลามาเป็นคณะกรรมการในการสอบและตรวจทานแก้ไขโครงการ

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการวิจัยนี้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญรูป	ญ
รายการศัพท์เฉพาะและคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
1.1.1 โซโคลเดกซ์ทริน	1
1.1.2 ข้อมูลเชิงผลึกศาสตร์ของโซโคลเดกซ์ทริน	3
1.1.2.1 การจัดเรียงตัวของโซโคลเดกซ์ทรินในผลึก	3
1.1.2.2 พารามิเตอร์เชิงโครงสร้าง	4
1.1.3 พอลิฟินอล	6
1.1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
1.1.5 ทำไมจึงศึกษาสารเชิงซ้อนอินคลูชันของโซโคลเดกซ์ทรินด้วยวิธีทางผลึกศาสตร์	10
1.1.6 วัตถุประสงค์	11
1.1.7 ขอบเขตงานวิจัย	11
1.1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	11
1.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	12
1.2.1 ระบบผลึก บราวเวียสแลตทิซ และสเปซกรุป	12
1.2.2 ระนาบแลตทิซและดัชนีมิลเลอร์	14
1.2.3 การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	15
1.2.3.1 รังสีเอกซ์	15
1.2.3.2 กฎของแบรกก์ (Bragg's law)	16
1.2.3.3 Ewald Sphere	17

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
1.2.4 แพกเตอร์โครงสร้าง (structure factors)	18
1.2.4.1 แพกเตอร์การกระจัดของอะตอม (atomic displacement factors, U)	18
1.2.4.2 แพกเตอร์โครงสร้าง (structure factors, f_j)	18
1.2.5 การหาคำตอบโครงสร้าง (structure solution)	19
1.2.6 การขัดเกลาโครงสร้าง (structure refinement)	20
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน	22
2.1 อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี	22
2.1.1 การตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน (crystallization of CD inclusion complexes)	22
2.1.2 การคัดเลือกผลึกและการติดตั้งผลึก (crystal selection and crystal mounting)	23
2.1.3 การเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction data collection)	23
2.1.4 การประมวลผลและวิเคราะห์ผล (data processing and data analysis)	23
2.2 วิธีการทดลอง	24
2.2.1 การตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน	24
2.2.2 การคัดเลือกและติดตั้งผลึก	26
2.2.3 การเก็บข้อมูลเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	27
2.2.3.1 การทำให้ผลึกอยู่ศูนย์กลางของลำรังสีเอกซ์ (crystal centering)	28
2.2.3.2 การหาขนาดของยูนิตเซลล์และระบบผลึก (determination of unit cell dimensions and crystal system)	29
2.2.3.3 การรวบรวมข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (data collection)	31
2.2.3.4 การอินทิเกรตข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (data integration)	32
2.2.3.5 การรีดิวซ์ข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (data reduction)	32
2.2.4 การประมวลผลข้อมูล (data processing)	34
2.2.4.1 การหาคำตอบโครงสร้าง (structure solution)	34
2.2.4.2 การขัดเกลาโครงสร้าง (structure refinement)	36
2.2.4.3 การตรวจสอบความถูกต้องของโครงสร้าง (structure validation)	37
2.2.5 การวิเคราะห์และตีความโครงสร้าง	37

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	38
3.1 การตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันและการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์เบื้องต้น	38
3.1.1 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD—FA และ α -CD—FA	38
3.1.2 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-GA และ γ -CD-GA	42
3.1.3 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD—FA และ HP- β -CD—GA	43
3.2 การวิเคราะห์เชิงผลึกศาสตร์จากข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	46
3.2.1 การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	46
3.2.2 การหาคำตอบและการขีดเคลาโครงสร้างผลึก	46
3.2.3 การเปรียบเทียบโครงสร้างของสารเชิงซ้อน α -CD กับ α -CD ไฮเดรต	48
3.2.4 การแทรกตัวของโมเลกุลเกสท์ในโพรงของ α -CD	51
3.2.5 การเรียงตัวของ α -CD ในโครงสร้างผลึก	54
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง	56
4.1 สรุปผลการทดลอง	56
4.1.1 การทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน	56
4.1.1.1 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-FA และ α -CD-FA	56
4.1.1.2 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-GA และ γ -CD-GA	57
4.1.1.3 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD-FA และ HP- β -CD-GA	57
4.1.2 การวิเคราะห์เชิงผลึกศาสตร์จากข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	57
4.2 ข้อเสนอแนะ	58
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก	62
ภาคผนวก ก ข้อมูลโคออร์ดิเนตลำดับส่วนของอะตอมที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนของสารเชิงซ้อน α -CD-FA	62
ภาคผนวก ข ข้อมูลความยาวพันธะของสารเชิงซ้อน α -CD-FA	65
ภาคผนวก ค ข้อมูลมุมพันธะของสารเชิงซ้อน α -CD-FA	67
ประวัติผู้วิจัย	71

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	สมบัติของไซโคลเดกซ์ทริน (Dodziuk, 2006) [3]	2
1.2	ตัวอย่างพารามิเตอร์เชิงโครงสร้างที่สำคัญของ CDs (Dodziuk, 2006) [3]	4
1.3	รายละเอียดพารามิเตอร์เชิงโครงสร้างของ CDs (Dodziuk, 2006) [3]	5
1.4	ผลการคำนวณค่าคงที่ของการเกิดสารเชิงซ้อน (association constant, K_a) ที่ pH ต่าง ๆ ของ HP- β -CD-FA และ β -CD-FA (Min Zhang และคณะ, 2009) [9]	8
1.5	ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชันที่จะศึกษา	11
1.6	ระบบผลึก 7 ระบบผลึกและและบราวเวียสแลตทิซ (https://docs.exabyte.io/properties-directory/structural/lattice/)	13
2.1	ค่าการละลายน้ำของไซโคลเดกซ์ทรินที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในหน่วย g/100mL (Hedges, 2009) [15]	25
2.2	ค่าการละลายของกรดแกลลิก (Mendes และคณะ, 2017) [16] และกรดเพอรูลิก (Mota และคณะ, 2008 , Buranov และคณะ, 2009) [17], [18] ในตัวทำละลายน้ำและเอทานอล ในหน่วย (g/100mL)	25
3.1	ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-FA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ	38
3.2	ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -CD-FA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ	41
3.3	ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-GA และ γ -CD-GA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ	43
3.4	ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD-GA และ HP- β -CD-FA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ	44
3.5	ข้อมูลทางผลึกศาสตร์ของสารเชิงซ้อน α -CD-FA	47
3.6	พารามิเตอร์เชิงโครงสร้างที่สำคัญของสารเชิงซ้อน α -CD-FA	48
3.7	พารามิเตอร์พันธะไฮโดรเจนของสารเชิงซ้อน α -CD-FA	52
4.1	สรุปผลการทำงานตลอดระยะเวลาโครงการ	59

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1.1	โครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทริน	1
1.2	สารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD กับเบนซิลแอลกอฮอล์ (Dodziuk, 2006) [3]	2
1.3	รูปแบบการจัดเรียงตัวของโครงสร้างสารเชิงซ้อนอินคลูชันของ (ก) โครงสร้างแบบกรง (cage-type) (ข) โครงสร้างแบบช่อง (channel-type) และ (ค) โครงสร้างแบบชั้น (layer-type) (Dodziuk, 2006) [3]	3
1.4	ระนาบ O4 ในโมเลกุล α -CD (Dodziuk, 2006) [3]	5
1.5	โครงสร้างกรดเพอรูติก (ก) และ กรดแกลลิก (ข)	7
1.6	ลักษณะการวางตัวของกรดเพอรูติกในโพรง α -CD (Cecilia Anselmi และคณะ, 2008) [8]	7
1.7	ลักษณะการวางตัวที่มีเสถียรภาพมากที่สุดของ FA ในโพรง β -CD (Min Zhang และคณะ, 2009) [9]	8
1.8	ลักษณะการวางตัวที่เป็นไปได้ของกรดแกลลิกในโพรง HP- β -CD แบบ head (ก, ข) และแบบ tail (ค, ง) (Zeynep Aytac และคณะ, 2016) [13]	10
1.9	ยูนิตเซลล์และจุดแลตทิซในโครงสร้างผลึก	12
1.10	ดัชนีมิลเลอร์ (Miller indices)	14
1.11	ระยะห่างระหว่างระนาบผลึก (d_{hkl})	14
1.12	หลอดกำเนิดรังสีเอกซ์ (Massa, 2004) [14]	15
1.13	กฎของแบรกก์ (Bragg's law)	16
1.14	The Ewald sphere (Massa, 2004) [14]	17
1.15	แผนภาพแสดงขั้นตอนโดยสรุปการหาค่าตอบโครงสร้างและการขีดเกล้าโครงสร้าง (Massa, 2004) [14]	21
2.1	ขั้นตอนโดยย่อของงานวิจัยด้านผลึกศาสตร์ (ธรรมรัตน์, 2002)	24
2.2	วิธีการติดตั้งผลึก (MiTeGen, 2008)	26
2.3	หัวโกนมิติเตอร์ (goniometer head) (Massa, 2004) [14] (A: อุปกรณ์ใช้หมุนปรับตำแหน่งผลึก)	27
2.4	แผนภาพการทดลองการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (Papageorgiou และ Mattsson, 2014) [19]	27
2.5	หน้าต่างเริ่มต้นของชุดโปรแกรม APEX2 (Bruker, 2010) [20]	28
2.6	ตำแหน่งของผลึกบนหัวโกนมิติเตอร์ (ก) ตำแหน่งเริ่มต้น (ข) ตำแหน่งศูนย์กลาง [20]	29

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
2.7	รูปแบบการเลี้ยวเบนของผลึกที่มีค่าเรโซแนนซ์ของการเลี้ยวเบน 0.83 บน frame images หนึ่งซึ่งจะมีลักษณะ spot เป็นวงกลม (Bruker, 2010) [15]	29
2.8	(ก) เมนู Harvest spot (ข) เมนู Index (ค) Bravais lattice และ (ง) เมนู Refine (Bruker, 2010) [20]	30
2.9	ลักษณะของ reciprocal lattice ใน (ก) มุมมองเริ่มต้น (ข) มุมมองในแกนใดแกนหนึ่ง (Bruker, 2010) [20]	31
2.10	ขั้นตอนโดยย่อของการเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	33
2.11	SXGRAPH ที่ได้จากการแก้ไขปัญหาเฟส	34
2.12	แผนภาพแสดงการทำงานของโปรแกรม SHELXS และ SHELXL ในขั้นตอนหาคำตอบโครงสร้างและการขัดเกลารูปโครงสร้างโดยชุดโปรแกรม SHELX-97	35
3.1	กราฟเรดาร์ (ก) มุมเอียงของสารเชิงซ้อน α -CD-FA เปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของ α -CD hydrate (ข) ระยะห่าง O3(n)...O2(n+1) ในหน่วยกิโลโอสทั้ง 6 หน่วยของสารเชิงซ้อน α -CD-FA เปรียบเทียบกับ α -CD.6H ₂ O	49
3.2	กราฟแสดงการกระจายข้อมูลของ (ก) มุมทอร์ชันชนิด ϕ และ ψ ($^{\circ}$) ที่บริเวณพันธะไกลโคซิดิก (ข) ระยะห่าง O-4(n)-O-4(n-1) (Å) และระยะห่าง O-4(n)-centroid ของสารเชิงซ้อน α -CD-FA เปรียบเทียบกับ α -CD.6H ₂ O	50
3.3	ออร์เทฟพลอตของสารเชิงซ้อน α -CD-FA สีเทาเข้มแทนอะตอมคาร์บอน สีแดงแทนอะตอมออกซิเจน และสีเทาอ่อนแทนอะตอมไฮโดรเจน	51
3.4	พันธะไฮโดรเจนอย่างอ่อนระหว่าง α -CD-FA กับโมเลกุลน้ำและโมเลกุล α -CD	52
3.5	การเรียงตัวแบบกรงของ α -CD-FA (α -CD วาดแบบ wireframe models สีเทาแทนอะตอมคาร์บอนและสีแดงแทนอะตอมออกซิเจน และ FA แสดงด้วยสีดำ วาดแบบ ball and stick models)	54
3.6	ภาพโปรเจกชันของการเรียงตัวของ α -CD-FA บนยูนิตเซลล์ (ก) ภาพบนระนาบ ab หรือ หน้า C ของยูนิตเซลล์ (ข) ภาพบนระนาบ ac หรือ หน้า B ของยูนิตเซลล์	55

รายการศัพท์เฉพาะและคำย่อ

สัญลักษณ์ย่อ	ความหมาย
a, b, c	ความยาวของยูนิตเซลล์
Å	หน่วยอังสตรอม (Angstrom unit)
CD	ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrin)
E	แฟกเตอร์โครงสร้างที่ถูกนอร์มัลไลซ์แล้ว (normalized structure factors)
F	แฟกเตอร์การกระเจิงอะตอม (atomic scattering factors)
FA	กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid)
F _c	แฟกเตอร์โครงสร้างที่ได้จากการคำนวณ (calculated structure factors)
F _o	แฟกเตอร์โครงสร้างที่ได้จากการทดลอง (observed structure factors)
GA	กรดแกลลิก (gallic acid)
hkl	ดัชนีมิลเลอร์ (Miller indice)
Q	Puckering amplitude
R	ดัชนีส่วนเหลือ (residual index)
w	น้ำหนักของแฟกเตอร์โครงสร้าง
wR	ดัชนีส่วนเหลือที่ถูกให้น้ำหนัก (weight residual index)
x, y, z	โคออร์ดิเนตของอะตอม
α, β, γ	มุมของยูนิตเซลล์
χ	มุมทอร์ชัน C4-C5-C6-O6 ในโมเลกุลกลูโคส
λ	ความยาวคลื่นรังสีเอกซ์
μ	สัมประสิทธิ์การดูดกลืน (absorption efficient)
ω	มุมทอร์ชัน O5-C5-C6-O6 ในโมเลกุลกลูโคส
ϕ	มุมทอร์ชัน C1(n+1)-O4(n)-C4(n)-C5(n) ในโมเลกุลกลูโคส
ψ	มุมทอร์ชัน O5(n+1)-C1(n+1)-O4(n)-C4 ในโมเลกุลกลูโคส

บทที่ 1

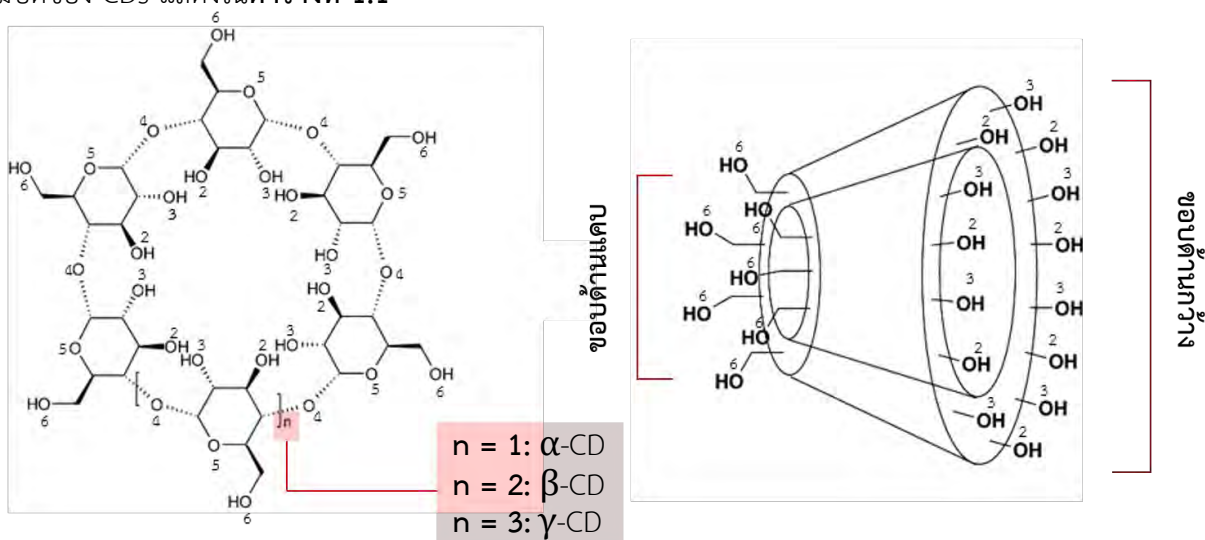
บทนำ

รายงานนี้บางส่วน (เฉพาะบทที่ 2) ที่ผ่านการตรวจและความเห็นชอบจากอาจารย์ที่ปรึกษา นิสิตยอมรับว่าไม่สามารถแก้รายงานให้ถูกต้องตามที่อาจารย์ที่ปรึกษาแนะนำได้ดีกว่านี้ โดยเฉพาะบทที่ 3 การขีดเกล้าโครงสร้างที่ยังไม่สิ้นสุด ทำให้โครงสร้างที่ได้ยังไม่ถูกต้อง ขอความกรุณาให้คณะกรรมการประเมินพิจารณาคุณภาพของรายงานเท่าที่ปรากฏนี้

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.1.1 ไซโคลเดกซ์ทริน

ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrins, CDs) เป็นสารประกอบวงแหวนขนาดใหญ่ ประกอบด้วยน้ำตาลดี-กลูโคส 6, 7 และ 8 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4-ไกลโคซิดิก (α -1,4-glycosidic linkage) มีชื่อเรียกว่า แอลฟา- บีตา- และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน (α -CD, β -CD และ γ -CD) ตามลำดับ [1] มีลักษณะเป็นรูปกรวยกลวงปลายตัด (hollow truncated cone) CDs มีสมบัติกึ่งชอบน้ำ-กึ่งไม่ชอบน้ำ (amphiphilic) กล่าวคือ โพรงภายในเคลือบด้วยหมู่ C-H และอะตอมอีเทอร์ของ O4 และ O5 จึงมีสมบัติไม่มีขั้ว และที่ขอบทั้งสองด้านมีสมบัติมีขั้ว เนื่องจากมี O6-H ที่ขอบด้านแคบและ O2-H, O3-H ที่ขอบด้านกว้าง ดังแสดงในรูปที่ 1.1 สำหรับสมบัติของ CDs แสดงในตารางที่ 1.1



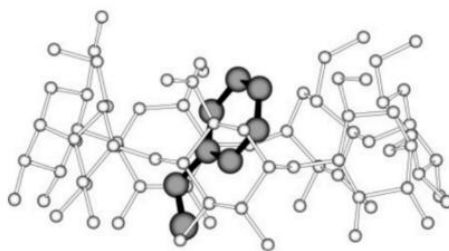
รูปที่ 1.1 โครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทริน

CDs สามารถเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชัน (inclusion complexes) คือการที่สารประกอบหนึ่ง (โมเลกุลเกสต์) ถูกปิดล้อมด้วยสารประกอบหนึ่ง (โมเลกุลโฮสต์) โดยยึดเหนี่ยวด้วยแรงระหว่างโมเลกุลอย่างอ่อนที่ไม่ใช่พันธะโคเวเลนต์ (weak non-covalent intermolecular interactions) เช่น พันธะไฮโดรเจน แรงแวนเดอร์วาลส์ และ แรงไฟฟ้าสถิต [1]

ตารางที่ 1.1 สมบัติของไซโคลเดกซ์ทริน (Dodziuk, 2006) [3]

	α -CD	β -CD	γ -CD
จำนวนหน่วยกลูโคส	6	7	8
มวลโมเลกุล (g/mol)	972	1135	1297
เส้นผ่านศูนย์กลางภายในโพรง	5	6	8
บริเวณขอบด้านแคบ (Å)			
เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอกโพรง	5	7	9
บริเวณขอบด้านกว้าง (Å)			
ความสูงของโมเลกุล (Å)	7.9	7.9	7.9
ปริมาตรของโพรง (Å ³)	174	262	427
ค่าการละลายน้ำที่อุณหภูมิ 25°C (g/100mL)	14.5	1.85	23.2
จำนวนโมเลกุลน้ำภายในโพรง [2]	2.0	6.0	8.8
จำนวนโมเลกุลน้ำภายนอกโพรง [2]	4.4	3.6	5.4

การเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันนั้นสามารถเพิ่มความเสถียรของโมเลกุลเกสต์ที่เข้ามาอยู่ในโพรงของ CDs เช่น การป้องกันส่วนประกอบที่ไวต่อการเกิดออกซิเดชัน ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาที่ชักนำโดยแสง ป้องกันการสลายตัวด้วยความร้อน ทำให้สามารถกำจัดหรือลดรสชาติและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ กำจัดหรือลดความสามารถในการระเหยของสารประกอบบางชนิด สามารถเพิ่มความความสามารถในการละลายน้ำ เป็นต้น [1] **รูปที่ 1.2** แสดงตัวอย่างสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD กับเบนซิลแอลกอฮอล์ [3]



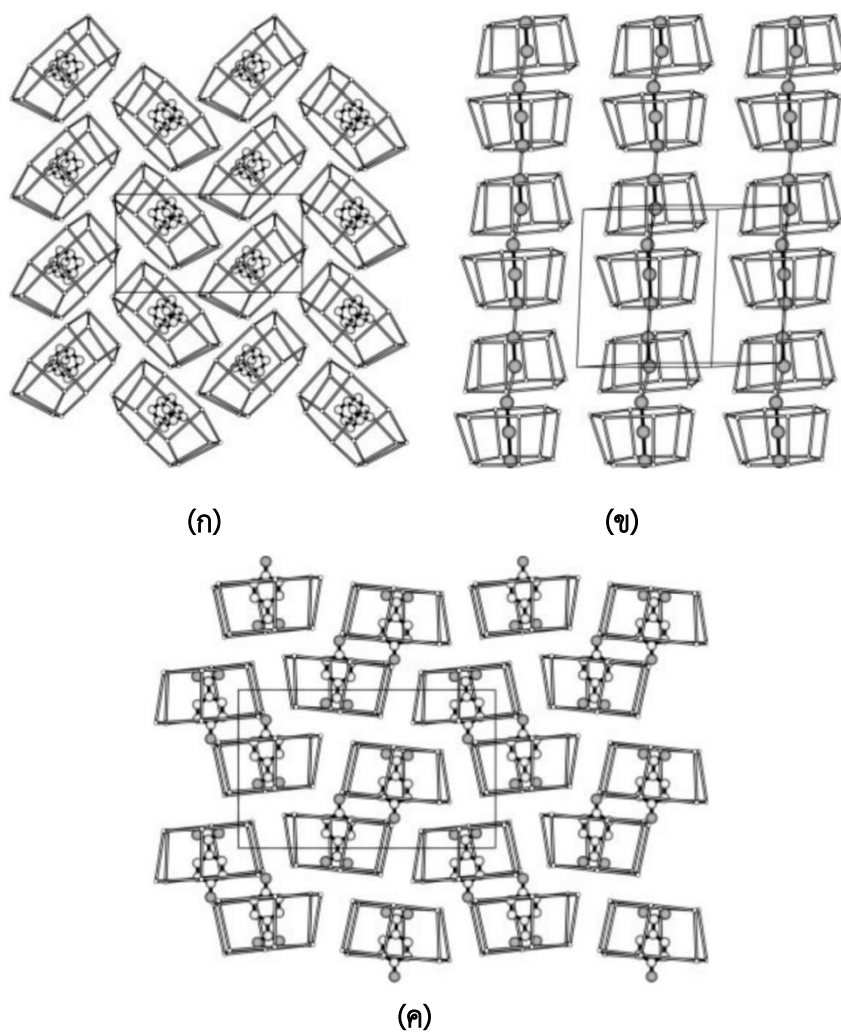
รูปที่ 1.2 สารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD กับเบนซิลแอลกอฮอล์
(Dodziuk, 2006) [3]

1.1.2 ข้อมูลเชิงผลึกศาสตร์ของไซโคลเดกซ์ทริน

1.1.2.1 การจัดเรียงตัวของไซโคลเดกซ์ทรินในผลึก

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ในผลึก ไซโคลเดกซ์ทรินมีการจัดเรียงตัว 3 แบบ คือ โครงสร้างแบบกรง (cage-type) โครงสร้างแบบช่อง (channel-type) และโครงสร้างแบบชั้น (layer-type) [3]

หากโมเลกุลเกสต์มีขนาดเล็กและเข้าไปอยู่ในโพรงได้ทั้งหมด CDs จะวางตัวไขว้สลับกันไปมามีลักษณะคล้ายก้างปลา (herringbone pattern) โพรงภายในของแต่ละ CD ถูกปิดทั้ง 2 ด้านในลักษณะเป็นกรง (cage type) โดยที่โมเลกุลเกสต์จะไม่สัมผัสกัน ดังรูปที่ 1.3ก



รูปที่ 1.3 รูปแบบการจัดเรียงตัวของโครงสร้างสารเชิงซ้อนอินคลูชันของ

(ก.) โครงสร้างแบบกรง (cage-type)

(ข.) โครงสร้างแบบช่อง (channel-type) ชนิดหัวชนหัว (head to head)

(ค.) โครงสร้างแบบชั้น (layer-type)

(Dodziuk, 2006) [3]

สำหรับโครงสร้างแบบช่อง (channel-type) CDs จะวางตัวซ้อนกันเกิดเป็นช่องว่างในแนวดิ่ง สามารถพบการจัดเรียงแบบนี้ได้เมื่อโมเลกุลเกสต์มีขนาดใหญ่และมีลักษณะเป็นสายโซ่ตรง เช่น โพลีเมอร์สายตรง ซึ่งจะเกิดได้ 2 ชนิดคือ หัวชนหัว (head to head) และหัวชนหาง (head to tail) พิจารณา CDs 2 หน่วยที่อยู่ติดกัน หากด้านกว้างของทั้ง 2 หน่วยหันเข้าหากันและเชื่อมด้วยพันธะไฮโดรเจนจะเรียกว่า โครงสร้างหัวชนหัว หากด้านแคบและด้านกว้างหันเข้าหากันจะเรียกว่า โครงสร้างหัวชนหาง **รูปที่ 1.3ข** แสดงลักษณะการจัดเรียงโครงสร้างแบบช่องชนิดหัวชนหัว

หากโมเลกุลเกสต์มีขนาดไม่ใหญ่มากและไม่สามารถเข้าไปอยู่ในโพรงได้ทั้งหมด CDs จะจัดเรียงเป็นระนาบที่เกิดเป็นชั้นและชั้นที่ติดกันจะเลื่อนห่างไประยะครึ่งโมเลกุล ซึ่งจะมีลักษณะการจัดเรียงตัวกันแบบชั้น (layer-type) หรือกำแพงอิฐ (brick-type) ดัง**รูปที่ 1.3ค** ปลายทั้งสองของโพรง CDs จะสัมผัสช่องว่างระหว่างโมเลกุลของชั้นที่อยู่ติดกัน โมเลกุลเกสต์บางส่วนที่ไม่อยู่ในโพรง CDs จะยื่นออกมาสัมผัสช่องว่างระหว่างโมเลกุลและสัมผัสกับโมเลกุล CDs ของชั้นที่อยู่ติดกัน

1.1.2.2 พารามิเตอร์เชิงโครงสร้าง

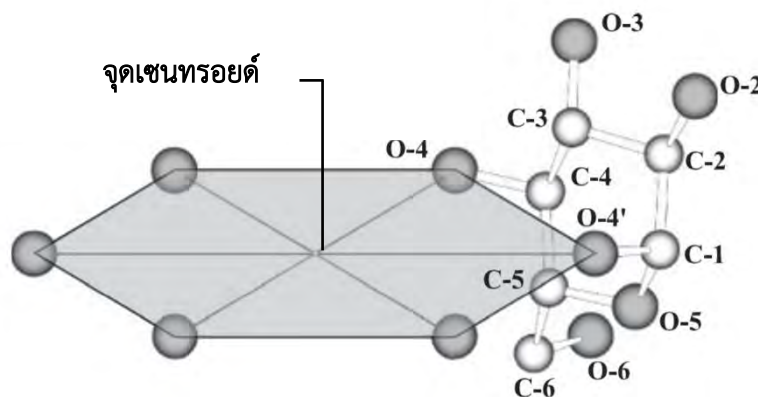
โครงสร้างของแต่ละหน่วยกลูโคสจำนวน 6, 7 และ 8 หน่วยของโมเลกุล α -CD, β -CD และ γ -CD ตามลำดับ มีคอนฟอร์เมชันแบบเก้าอี้ชนิด 4C_1 ตัวอย่างพารามิเตอร์เชิงโครงสร้างที่สำคัญของ CDs แสดงใน**ตารางที่ 1.2**

ตารางที่ 1.2 ตัวอย่างพารามิเตอร์เชิงโครงสร้างที่สำคัญของ CDs (Dodziuk, 2006) [3]

	α -CD	β -CD	γ -CD
ระยะ O-4(n)—centroid เฉลี่ย (Å)	4.2(0.1)	5.0(0.2)	5.9(0.1)
ระยะ O-4(n)—O-4(n-1) เฉลี่ย (Å)	4.2(0.1)	4.3(0.1)	4.5(0.1)
ระยะ O-2(n)—O-3(n-1) เฉลี่ย (Å)	3.0(0.1)	2.9(0.1)	2.8(0.1)
ความแบนราบของระนาบ O4 (Å) ⁿ	0.10	0.16	0.11
มุมเฉลี่ยที่พันธะไกลโคลิดิก (°)	119(1)	118(1)	117(1)
มุมเออนเฉลี่ย (°)	13(10)	14(10)	19(9)

ⁿ รากที่สองของผลบวกกำลังสองเฉลี่ยของค่าระยะทางที่ O4 (n) เบี่ยงเบนไปจากระนาบ O4

รูปร่างของระนาบเฉลี่ย (mean plane) ของโมเลกุล CDs จะเป็นรูป n เหลี่ยมตามจำนวนหน่วยกลูโคส ซึ่งสร้างจากตำแหน่งอะตอม O4(n) ทุกอะตอม ด้วยวิธี least-square มีจุดศูนย์กลางของระนาบ O4 เรียกว่า จุดเซนทรอยด์ (centroid) ดังแสดงในรูปที่ 1.4 สำหรับรายละเอียดพารามิเตอร์เชิงโครงสร้างของ CDs แสดง ดังตารางที่ 1.3



รูปที่ 1.4 ระนาบ O4 ในโมเลกุล α -CD

(Dodziuk, 2006) [3]

ตารางที่ 1.3 รายละเอียดพารามิเตอร์เชิงโครงสร้างของ CDs (Dodziuk, 2006) [3]

รายละเอียดพารามิเตอร์เชิงโครงสร้างของ CDs

1. Puckering amplitude (Q) และ Puckering angle (θ) [3]

คือพารามิเตอร์ที่ใช้อธิบายคอนฟอร์เมชันของวงกลูโคส โดยโครงสร้างที่มีคอนฟอร์เมชันแบบเก้าอี้ ในอุดมคติจะมีค่า Puckering angle เท่ากับศูนย์

2. มุมเอิน (tilt angle)

คือค่ามุมระหว่างระนาบของ O4 กับระนาบที่ผ่าน C1(n), C4(n), O4(n) และ O4(n-1) ใช้ประมาณระดับความเอียงของหน่วยกลูโคสแต่ละหน่วย เทียบกับระนาบ O4 ของโมเลกุล CDs มีค่าอยู่ในช่วง 10° - 20° หน่วยกลูโคสจะถูกเหนี่ยวรั้ง (restrain) ด้วยพันธะไฮโดรเจนที่ O-3(n)...O-2(n+1) ภายในโมเลกุล CDs (intramolecular hydrogen bonds) ซึ่งจะมีผลต่อความยืดหยุ่นของคอนฟอร์เมชันวง CDs บริเวณรอบพันธะไกลโคซิดิก

ตารางที่ 1.3 (ต่อ)

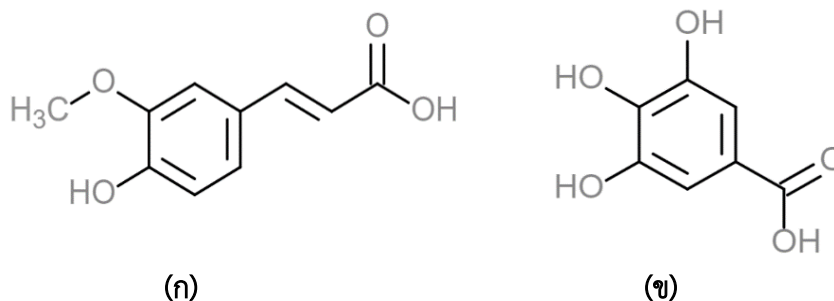
3. **ระยะ O-4(n)—centroid เฉลี่ยและ O-4(n)—O-4(n-1) เฉลี่ย**
โครงสร้างของ CDs เป็นวงขนาดใหญ่ จึงบิดเบี้ยวจากโครงสร้างในอุดมคติ เพื่อลดความเกะกะระหว่างกลูโคสแต่ละหน่วยในโครงสร้าง เมื่อเกิดสารเชิงซ้อน CDs จะสามารถปรับเปลี่ยนโครงสร้างของโพรงเพื่อให้ guest โมเลกุลสามารถเข้ามาอยู่ในโพรงได้ โครงสร้างของ CDs ในสารเชิงซ้อนจึงแตกต่างจาก CDs เดิม
4. **ระยะ O3(n)...O2(n+1)**
บ่งบอกถึงพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล CDs (intramolecular hydrogen bonds)
5. **มุมทอร์ชัน (torsion angle) บริเวณพันธะไกลโคซิดิก**
มุม ϕ คือ มุม C1(n+1)-O4(n)-C4(n)-C5(n) และมุม ψ คือมุม O5(n+1)-C1(n+1)-O4(n)-C4(n)
6. **มุมทอร์ชัน (torsion angle)**
บ่งบอกถึงทิศทางและตำแหน่งของหมู่ O6-H ของหน่วยกลูโคส
มุม χ คือ มุม C4-C5-C6-O6 และมุม ω คือมุม O5-C5-C6-O6

1.1.3 พอลิฟีนอล

พอลิฟีนอลเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลรวมอยู่ในโมเลกุล ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป พอลิฟีนอลแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ และกลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ [5]

กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid, FA) สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ รูปแบบอนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) มีโครงสร้างดังรูปที่ 1.5ก พบมากในใบและเมล็ดของพืชหลายชนิด เช่น ข้าวสาลี บัทรูป ข้าวโพด เป็นต้น มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ ลดระดับคอเรสเตอรอล ยับยั้งแบคทีเรีย (antibacterial) ยับยั้งจุลินทรีย์ (anti-microbial) ยับยั้งไวรัส (antiviral) ยับยั้งการติดเชื้อ (anti-inflammatory) ต้านมะเร็ง (anticancer) ฯลฯ [6]

กรดแกลลิก (gallic acid, GA) สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ อนุพันธ์ของ ไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) มีโครงสร้างดังรูปที่ 1.5 ข พบมากใน บลูเบอร์รี่ แอปเปิล และใบชา มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยป้องกันเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยป้องกันเซลล์จากความเครียดเมื่ออายุมากขึ้น ซึ่งช่วยลดโรคหัวใจและโรคมะเร็งในผู้สูงอายุ [7]

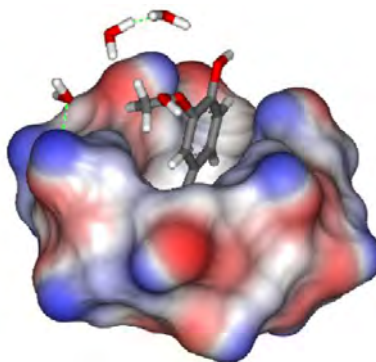


รูปที่ 1.5 โครงสร้างกรดเฟอร์ูลิก (ก) และ กรดแกลลิก (ข)

1.1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ. 2008 Cecilia Anselmi และคณะ [8] ได้ศึกษาการเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -CD กับ FA ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy, เทคนิค Differential Scanning Calorimetry (DSC), เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์แบบผง (Powder X-ray diffraction) และการจำลองทางพลวัตเชิงโมเลกุล (molecular dynamics)

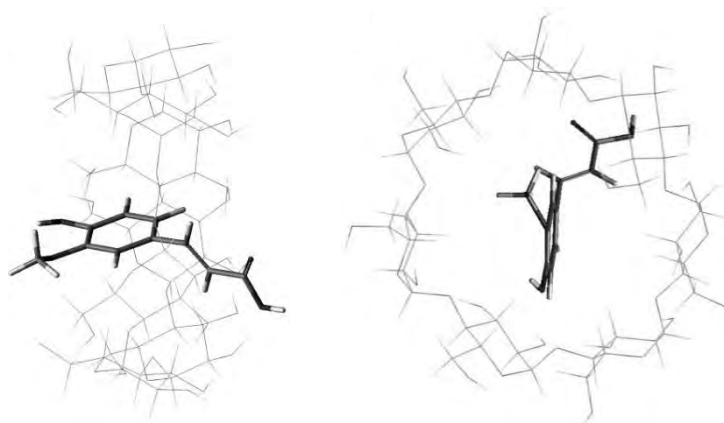
จาก $^1\text{H-NMR}$ spectrum เมื่อเปรียบเทียบ ค่า chemical shift ระหว่างสารเชิงซ้อนกับโมเลกุลที่ยังไม่เกิดสารเชิงซ้อน ทำให้ทราบว่าส่วนของหมู่อะโรมาติกของ FA อยู่ในโพรงของ α -CD ส่วนหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอกซิลอยู่ด้านนอกที่ฝั่งด้านกว้างของ α -CD จากการจำลองทางพลวัตเชิงโมเลกุลเพื่อศึกษาเสถียรภาพของสารเชิงซ้อน เพื่อทำนายลักษณะการเกิดสารเชิงซ้อน คำนวณค่าพลังงานอิสระของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นเท่ากับ -1634.21 kcal/mol และจำลองโครงสร้างสารเชิงซ้อนที่เป็นไปได้ ดังรูปที่ 1.6 นอกจากนี้ การเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันสามารถเพิ่มความคงทนต่อแสงของ FA สำหรับการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง



รูปที่ 1.6 ลักษณะการวางตัวของ FA ในโพรง α -CD

(Cecilia Anselmi และคณะ, 2008) [8]

ในปี ค.ศ. 2009 Min Zhang และคณะ [9] ได้ศึกษาการเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันไฮดรอกซีโพรพิล-บีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน (HP- β -CD) กับ FA และ β -CD กับ FA ในสถานะสารละลายด้วยเทคนิค UV-visible spectroscopy, เทคนิค $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy และ เทคนิค Fluorescence พบว่า FA สามารถเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันที่มีความเสถียรทั้งกับ HP- β -CD และ β -CD ได้ จากการจำลองทางพลวัตเชิงโมเลกุล พบว่าลักษณะการวางตัวที่เสถียรที่สุดของ β -CD—FA คือ หมู่อะโรมาติกของ FA จะอยู่ในโพรง β -CD และในส่วนของหมู่คาร์บอกซิลจะอยู่ใกล้กับขอบด้านแคบของโมเลกุล β -CD ดังรูปที่ 1.7



รูปที่ 1.7 ลักษณะการวางตัวที่มีเสถียรภาพมากที่สุดของ FA ในโพรง β -CD

(Min Zhang และคณะ, 2009) [9]

นอกจากนี้ จากเทคนิค Fluorescence มีผลการคำนวณค่าคงที่ของการเกิดสารเชิงซ้อน (association constant, K_a) ที่ pH 3.05 7.5 และ 10.53 แสดงดังตารางที่ 1.4 ซึ่งพบว่า FA สามารถเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันกับ HP- β -CD ได้ดีกว่า β -CD ซึ่งเป็นผลมาจากของขนาดวง และความไม่มีขั้วที่มากกว่าของ HP- β -CD

ตารางที่ 1.4 ผลการคำนวณค่าคงที่ของการเกิดสารเชิงซ้อน (association constant, K_a) ที่ pH ต่าง ๆ ของ HP- β -CD—FA และ β -CD—FA (Min Zhang และคณะ, 2009) [9]

สารเชิงซ้อนอินคลูชัน	K_a (M^{-1}) ที่ pH		
	3.05	7.5	10.53
β -CD—FA	102	205	—
HP- β -CD—FA	128	590	93

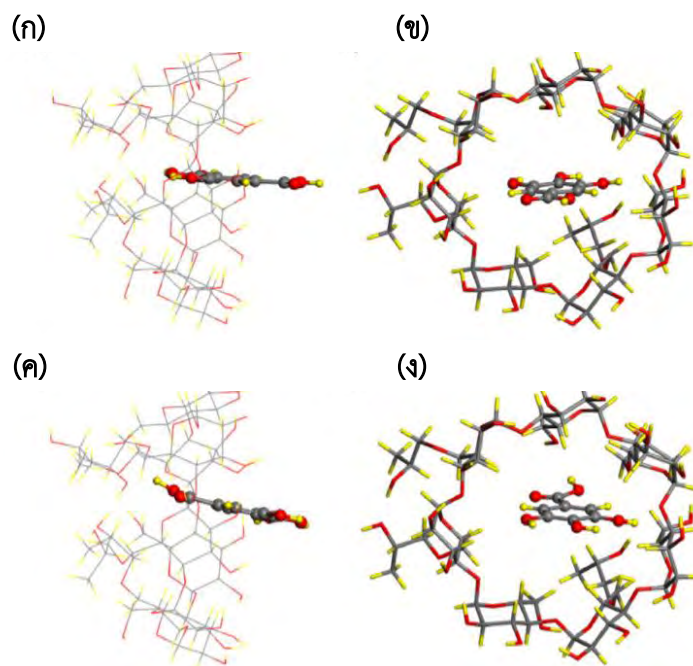
ต่อมาในปี ค.ศ. 2011 Jing Wang และคณะ [10] ได้พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD กับ FA ด้วยหลายเทคนิคเช่น UV-visible spectroscopy, FT-IR, DSC, XRD และ SEM เป็นต้น พบว่า FA สามารถเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันในสถานะสารละลาย โดยมีค่าคงที่การเกิดสารเชิงซ้อนเท่ากับ 166.3 M^{-1} และมีการทดสอบเสถียรภาพของ FA หลังเกิดสารเชิงซ้อนโดยการฉายรังสี UV เปรียบเทียบอัตราการลดลงของ FA เทียบกับเวลา พบว่า FA อิสระจะคงเหลืออยู่ในสารละลาย 51.2% เมื่อเวลาผ่านไป 12 ชม. ในขณะที่สารเชิงซ้อนอินคลูชันคงเหลือ 87.4% ทำให้สรุปได้ว่า การเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันสามารถเพิ่มการละลายน้ำและเสถียรภาพของ FA ได้

ในปี ค.ศ. 2016 Edith González-Mondragón และคณะ [11] ทำการวิเคราะห์เชิงอุณหพลศาสตร์การเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -, β - และ γ -CD กับ FA ในสถานะสารละลาย ได้ค่าคงที่การเกิดสารเชิงซ้อนของ α -CD-FA, β -CD-FA และ γ -CD-FA ที่อุณหภูมิ 25°C และ pH 9.0 เท่ากับ $53.2 \pm 3.4 \text{ M}^{-1}$, $176.5 \pm 5.0 \text{ M}^{-1}$ และ $19.4 \pm 0.4 \text{ M}^{-1}$ ตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 2015 Ana Martínez-Alonso และคณะ [12] ได้ศึกษาการเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD กรดแกลลิกและอนุพันธ์ของกรดแกลลิก (ethyl (EG), propyl (PG) และ butyl (BG)) ในสถานะสารละลาย ด้วยเทคนิค UV-visible spectroscopy พบว่า เกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-PG และ β -CD-BG มีค่าคงที่การเกิดสารเชิงซ้อนเท่ากับ $105 \pm 2 \text{ M}^{-1}$ และ $200 \pm 15 \text{ M}^{-1}$ ตามลำดับ ในขณะที่ β -CD-GA และ β -CD-EG มีการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมน้อยมากทำให้ไม่สามารถทำการคำนวณค่าคงที่การเกิดสารเชิงซ้อนได้

ต่อมาในปี ค.ศ. 2016 Zeynep Aytac และคณะ [13] ศึกษาการเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD กับ GA โดยพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค XRD, TGA และ $^1\text{H-NMR}$ พบว่า ค่าคงที่การเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD กับ GA มีเท่ากับ 100 M^{-1}

นอกจากนี้ จากการจำลองทางพลวัตเชิงโมเลกุล มีการคำนวณค่าพลังงานของสารเชิงซ้อน ($E_{\text{comp}} = E_{\text{CD}} + E_{\text{guest}} - E_{\text{IC}}$) ซึ่งคำนวณจากผลต่างพลังงานระหว่างพลังงานรวมของโมเลกุลเกสต์และโมเลกุลโฮสต์กับพลังงานสารเชิงซ้อนอินคลูชันที่เกิดขึ้น ในลักษณะการวางตัวที่ต่างกัน ซึ่งสามารถจำลองโครงสร้างสารเชิงซ้อนที่เป็นไปได้ 2 แบบ คือ แบบส่วนหางของ GA อยู่ด้านในโพรง (tail) ดังรูปที่ 1.8 (ก, ข) มีโอกาสเกิดขึ้นมากกว่าแบบส่วนหัวของ GA อยู่ด้านในโพรง (head) ดังรูปที่ 1.8 (ค, ง) เนื่องจาก E_{comp} แบบ tail มีค่าเท่ากับ 15.22 kcal/mol ซึ่งมากกว่า E_{comp} แบบ head ที่มีค่าเท่ากับ 2.53 kcal/mol สาเหตุมาจากปฏิกิริยาระหว่างขั้วที่เพิ่มขึ้นระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลในการวางตัวแบบ tail



รูปที่ 1.8 ลักษณะการวางตัวที่เป็นไปได้ของ GA ในโพรง HP- β -CD

แบบ head (ก, ข) และแบบ tail (ค, ง)

(Zeynep Aytac และคณะ, 2016) [13]

1.1.5 ทำไมจึงศึกษาสารเชิงซ้อนอินคลูชันของไซโคลเดกซ์ทรินด้วยวิธีทางผลึกศาสตร์

เนื่องจากการศึกษาด้วยเทคนิคที่หลากหลาย ได้แก่ เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโตรสโกปี (NMR spectroscopy) การศึกษาเสถียรภาพของสารเชิงซ้อน โดยการหาค่าคงที่การเกิดสารเชิงซ้อน และการศึกษาเชิงทฤษฎีด้วยการสร้างแบบจำลองโมเลกุลในคอมพิวเตอร์ แม้ทำได้ค่อนข้างรวดเร็ว และสะดวก แต่ไม่ให้ข้อมูลเชิงลึกระดับอะตอมโดยเฉพาะโครงสร้างสามมิติที่เป็นรายละเอียดทางโครงสร้างของสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน (α -CD, β -CD, γ -CD และ HP- β -CD) กับพอลิฟีนอล (กรดแกลลิก และกรดเฟอร์ูลิก) และการวางตัวของโมเลกุลเกสท์ในโพรงของไซโคลเดกซ์ทริน เพื่อให้ได้รายละเอียดเชิงโครงสร้างดังกล่าว ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน (α -CD, β -CD, γ -CD และ HP- β -CD) กับพอลิฟีนอล (กรดแกลลิกและกรดเฟอร์ูลิก) ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผลึกเดี่ยว (single crystal X-ray diffraction)

1.1.6 วัตถุประสงค์

ศึกษาระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน (α -CD, β -CD, γ -CD และ HP- β -CD) กับพอลิฟีนอล (กรดแกลลิกและกรดเพอรูลิก) ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผลึกเดี่ยว (single crystal X-ray diffraction)

1.1.7 ขอบเขตงานวิจัย

ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชันที่จะศึกษาแสดงดังตารางที่ 1.5 โดยศึกษาลักษณะการวางตัวของโมเลกุลเกสท์ในโพรงของไซโคลเดกซ์ทริน ผลของขนาดและรูปร่างของโมเลกุลเกสท์ที่มีต่อแรงยึดเหนี่ยวและเสถียรภาพของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน

ตารางที่ 1.5 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชันที่จะศึกษา

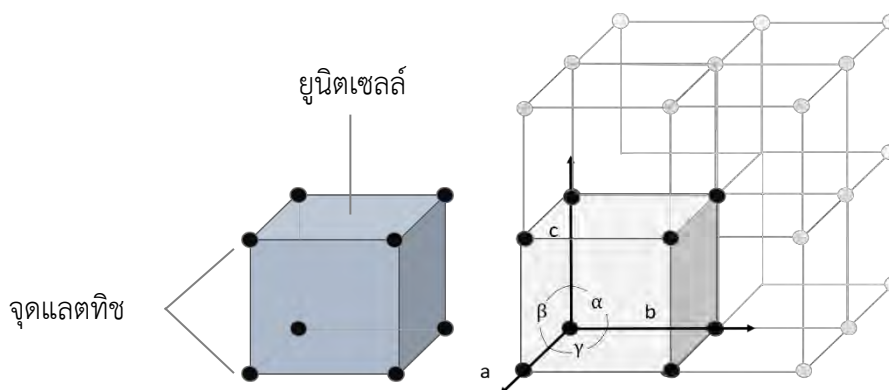
โมเลกุลโฮสต์	โมเลกุลเกสท์
α -CD, β -CD และ HP- β -CD	กรดเพอรูลิก
β -CD, γ -CD และ HP- β -CD	กรดแกลลิก

1.1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้โครงสร้างสามมิติของสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน (α -CD, β -CD, γ -CD และ HP- β -CD) กับพอลิฟีนอล (กรดแกลลิกและกรดเพอรูลิก) และลักษณะการวางตัวของโมเลกุลเกสท์ในโพรงของไซโคลเดกซ์ทริน
2. สามารถอธิบายการเกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันระหว่างไซโคลเดกซ์ทริน (α -CD, β -CD, γ -CD และ HP- β -CD) กับพอลิฟีนอล (กรดแกลลิกและกรดเพอรูลิก)

1.2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 ระบบผลึก บราวเวียสแลตทิซ และสเปซกรุป



รูปที่ 1.9 ยูนิตเซลล์และจุดแลตทิซในโครงสร้างผลึก

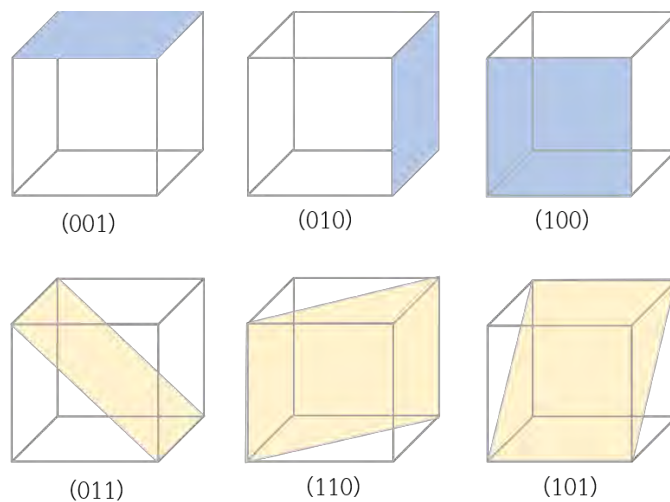
ผลึกเป็นของแข็งที่มีการจัดเรียงอะตอมเป็นแบบแผนซ้ำ ๆ ทั้ง 3 มิติ ซึ่งมียูนิตเซลล์เป็นหน่วยซ้ำที่เล็กที่สุดของผลึก (รูปที่ 1.9) และจากรูปร่างของยูนิตเซลล์ที่แตกต่างกันของผลึก ทำให้สามารถจำแนกชนิดผลึกออกเป็นระบบผลึก 7 ระบบ และบราวเวียสแลตทิซ (Bravais lattice) 14 ชนิด ซึ่งมีค่าตัวเลขที่ใช้บอกชนิดของระบบผลึกเรียกว่า ยูนิตเซลล์พารามิเตอร์ (unit cell parameters) ได้แก่ ความยาวด้าน (a, b, c) และมุม (α, β, γ) ตามความสมมาตรของยูนิตเซลล์ ดังแสดงในตารางที่ 1.6 โดย α เป็นมุมระหว่างเวกเตอร์ b และ c , β เป็นมุมระหว่างเวกเตอร์ a และ c และ γ เป็นมุมระหว่างเวกเตอร์ a และ b [14]

นอกจากนี้ ในโครงสร้างผลึกแต่ละชนิดจะมีสมมาตรที่ต่างกัน ดังนั้นจึงมีเกณฑ์แบ่งชนิดของผลึกโดยใช้ความรู้สมมาตรของผลึกเชื่อมโยงกับความรู้ระบบผลึกและบราวเวียสแลตทิซ จำแนกออกเป็น สเปซกรุป (space group) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดสำหรับการจำแนกชนิดของโครงสร้างผลึก มีทั้งหมด 230 ชนิด สามารถศึกษาเพิ่มเติมจากหนังสือ International Tables for Crystallography Volume A: Space-group symmetry [15]

ตารางที่ 1.6 ระบบผลึก 7 ระบบผลึกและแลตทิซบราเวียสแลตทิซ (<https://docs.exabyte.io/properties-directory/structural/lattice/>)

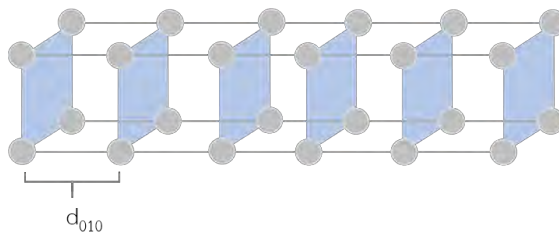
ระบบผลึก	สมมาตร	บราเวียสแลตทิซ 14 ชนิด			
		Primitive (P)	Base-centered (C)	Body-centered (I)	Face-centered (F)
Triclinic $a \neq b \neq c, \alpha \neq \beta \neq \gamma$	C_i				
Monoclinic $a \neq b \neq c,$ $\alpha = \gamma = 90^\circ, \beta \neq 90^\circ$	C_{2h}	$\beta \neq 90^\circ$ $a \neq c$ 	$\beta \neq 90^\circ$ $a \neq c$ 		
Orthorhombic $a \neq b \neq c,$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	D_{2h}	$a \neq b \neq c$ 	$a \neq b \neq c$ 	$a \neq b \neq c$ 	$a \neq b \neq c$
Tetragonal $a = b \neq c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	D_{4h}	$a \neq c$ 		$a \neq c$ 	
Hexagonal $a = b \neq c$	Rhombohedral $\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$	$\alpha \neq 90^\circ$ 			
	Hexagonal $\alpha = \beta = 90^\circ$ $\gamma = 120^\circ$	$\gamma = 120^\circ$ 			
Cubic $a = b = c$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	O_h				

1.2.2 ระนาบแลตทิซและดัชนีมิลเลอร์



รูปที่ 1.10 ดัชนีมิลเลอร์ (Miller indices)

ดัชนีมิลเลอร์ (Miller indice) เป็นค่าที่คำนวณจากส่วนกลับของจุดตัดของระนาบบนแกน $X Y Z$ ในหน่วยเซลล์และทำให้เป็นจำนวนเต็ม (hkl) ตัวอย่างดัชนีมิลเลอร์แสดงดังรูปที่ 1.10 นอกจากนี้ ค่า d_{hkl} เป็นค่าที่บอกถึงระยะห่างระหว่างระนาบ hkl ในแต่ละโครงสร้างผลึก ดังแสดงในรูปที่ 1.11 ซึ่งค่า d_{hkl} นี้สามารถหาได้จากเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์



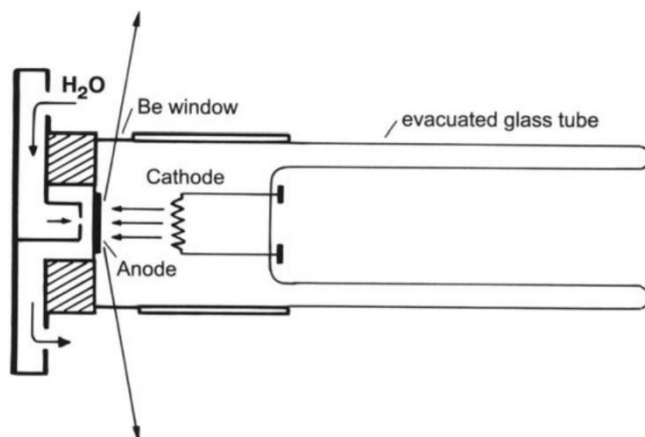
รูปที่ 1.11 ระยะห่างระหว่างระนาบผลึก (d_{hkl})

1.2.3 การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

1.2.3.1 รังสีเอกซ์

รังสีเอกซ์ เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าชนิดหนึ่ง ที่มีความยาวคลื่นสั้นกว่า คลื่นวิทยุ (radio wave) หรือแสงที่มองเห็นได้ (visible light) รังสีเอกซ์ใช้ในการศึกษาทางฟิสิกส์ เนื่องจากมีความยาวคลื่นเทียบกับระยะห่างระหว่างอะตอมของผลึกในผลึก ซึ่งมีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง $0.01-100 \text{ \AA}$ [14]

การกำเนิดรังสีเอกซ์



รูปที่ 1.12 หลอดกำเนิดรังสีเอกซ์ (Massa, 2004) [14]

รังสีเอกซ์เกิดขึ้นจากการเร่งให้อิเล็กตรอนในหลอดรังสีเอกซ์ด้วยความต่างศักย์สูงที่ 30-60 kV ในโลหะที่เป็นแคโทด(cathode) วิ่งเข้าชนแผ่นโลหะที่เป็นแอโนด (anode) ดังรูปที่ 1.12 รังสีเอกซ์จะเกิดผ่าน 2 กลไกที่แยกกันคือ

1. เมื่ออิเล็กตรอนที่เข้าชนโลหะสูญเสียความเร็วอย่างฉับพลัน จะปล่อยพลังงานออกมาในช่วงของรังสีเอกซ์เรียกว่า เบรมส์ชตราลุง (Bremsstrahlung) รังสีเอกซ์ชนิดนี้จะมีลักษณะเป็นสเปกตรัมแบบต่อเนื่อง (continuous spectrum)

2. รังสีเอกซ์ที่เกิดจากการเปลี่ยนระดับพลังงานของอิเล็กตรอนจากโลหะแอโนด โดยมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากระดับพลังงานในวงโคจร K (ชั้นในสุด) ทำให้อิเล็กตรอนวงนอกคือ L คายพลังงานที่อยู่ในช่วงรังสีเอกซ์ออกมา เพื่อแทนที่อิเล็กตรอนที่สูญเสียไปที่ชั้น K สำหรับรังสีเอกซ์ชนิดนี้จะมีลักษณะเป็นสเปกตรัมแบบเส้น (line spectrum) ซึ่งจะมีความยาวคลื่นขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะที่ทำหน้าที่เป็นแอโนด

รังสีเอกซ์ที่นิยมนำมาใช้ในการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกมาจากโลหะทองแดง (Cu) และ โลหะโมลิบดีนัม (Mo) สำหรับวิเคราะห์ผลึกของโมเลกุลขนาดใหญ่ และ โมเลกุลขนาดเล็กตามลำดับ [14]

1.2.3.2 กฎของแบรกก์ (Bragg's law)

ในปี ค.ศ. 1912 เซอร์วิลเลียม เฮนรี แบรกก์ (W.H. Bragg) และเซอร์วิลเลียม ลอร์เรนซ์ แบรกก์ (W.L. Bragg) เสนอแนวคิดที่ว่า ระนาบของอะตอมในโครงสร้างผลึกสามารถสะท้อนคลื่นที่ตกกระทบได้เหมือนกระจกเงา ระนาบทำให้แสงสะท้อน โดยที่มุมตกกระทบเท่ากับมุมสะท้อน [14]

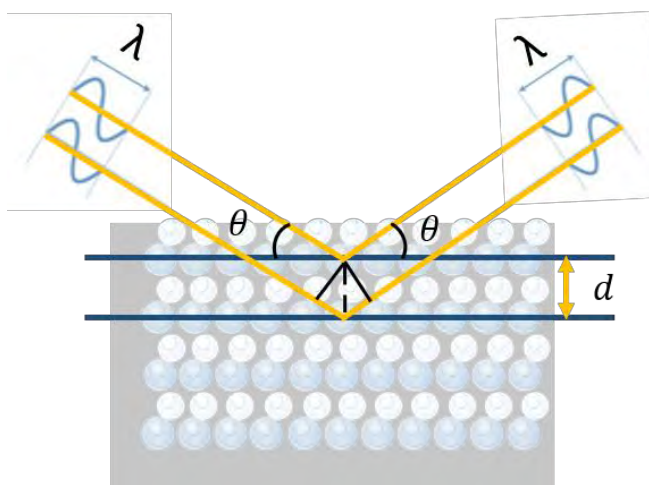
$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (1.1)$$

λ = ความยาวคลื่น (อังสตรอม, Å)

θ = มุมตกกระทบและมุมสะท้อน (องศา)

d = ระยะห่างระหว่างระนาบของอะตอม (Å)

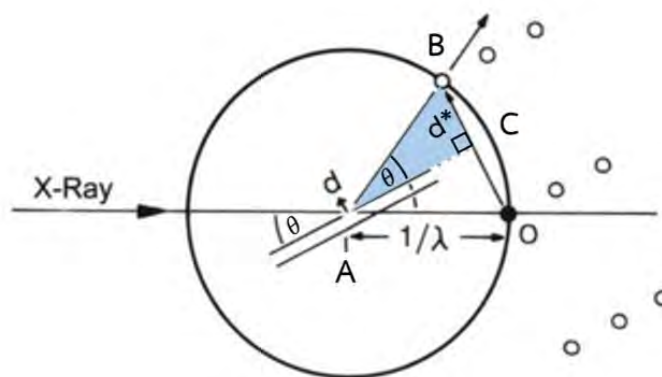
รังสีเอกซ์ที่สะท้อนจากระนาบผลึกชนิดเดียวกันจะมีเฟสที่ตรงกันดังแสดงในรูปที่ 1.13 ทำให้เกิดการแทรกสอดแบบเสริมกัน (constructive interference) ซึ่งมีมุมการเลี้ยวเบนเท่ากับ 2θ ทำให้ได้รังสีเอกซ์ที่เลี้ยวเบน (diffracted beam) และถูกวัดความเข้มด้วยเครื่องตรวจวัด (detector) เป็นไปตามสมการแบรกก์ (สมการที่ 1.1) ซึ่งอธิบายการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์แลตทิซตรง (direct lattice) ระหว่างระนาบแลตทิซที่ติดกัน ค่า n มีค่าเท่ากับ 1



รูปที่ 1.13 กฎของแบรกก์ (Bragg's law)

1.2.3.3 Ewald Sphere

การทดลองการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์เริ่มขึ้นที่การยิงรังสีเอกซ์ไปยังผลึกที่ต้องการตรวจสอบแล้วเข้าเครื่องตรวจวัด (detector) ทำหน้าที่รับสัญญาณของรังสีเอกซ์ที่ถูกเลี้ยวเบนซึ่งมีทิศทางใน 3 มิติ ดังนั้น ตำแหน่งเครื่องตรวจวัดการเลี้ยวเบนจะอยู่ที่มุม 2θ และเนื่องจากการตรวจวัดจะต้องกำหนดระยะทางจากระยะทางจากผลึกถึงเครื่องตรวจวัดให้มีค่าคงที่เท่ากับ $1/\lambda$ [14] ดังแสดงในรูปที่ 1.14



รูปที่ 1.14 The Ewald sphere (Massa, 2004) [14]

พิจารณารูปที่ 1.14 จุด A แทนตำแหน่งของผลึก

จากรูปสามเหลี่ยม BAC จะได้ว่า

$$\sin \theta = BC/CA$$

$$\sin \theta = \lambda d^*/2$$

$$(2/d^*) \sin \theta = \lambda$$

$$(2/d_{hkl}^*) \sin \theta = \lambda \quad (1.2)$$

สมการที่ 1.2 เรียกว่า สมการของแบรกก์ในพื้นที่ส่วนกลับ (Bragg's equation in reciprocal space) เนื่องจากเมื่อเทียบสมการที่ 1.1 กับ 1.2 พบว่า d_{hkl}^* คือพื้นที่ส่วนกลับ (reciprocal space) [14]

ประโยชน์ของ Ewald sphere คือนำมาใช้ประมาณจำนวนรีเฟลคชันทั้งหมดที่เกิดขึ้นกับระบบผลึกแต่ละชนิดและใช้ในการกำหนดทิศทางของผลึกและเครื่องตรวจวัด เพื่อรวบรวมจำนวนรีเฟลคชันจนครบถ้วน ผลึกที่มีคุณภาพดีจะมีมุม θ_{hkl} ที่กว้างและมี reciprocal space (d_{hkl}^*) ยาว จุด (spot) ที่วัดได้จะมีลักษณะเป็นวงกว้างและมีจำนวนมาก [14]

1.2.4 แฟกเตอร์โครงสร้าง (structure factors)

1.2.4.1 แฟกเตอร์การกระจัดของอะตอม (atomic displacement factors, U)

แฟกเตอร์การกระจัดของอะตอม (atomic displacement factors, U) หรือ แฟกเตอร์อุณหภูมิ (temperature factors) เป็นพารามิเตอร์ที่ใช้อธิบายการสั่นของอะตอม [14] โดยมีความสัมพันธ์ดังสมการที่ 1.3

$$f' = f \cdot \exp\left\{\frac{-2\pi^2 u^2}{d^2}\right\} \quad (1.3)$$

1.2.4.2 แฟกเตอร์โครงสร้าง (structure factors, F)

แฟกเตอร์โครงสร้างคือผลรวมของสมการคลื่นที่อธิบายความสามารถในการกระเจิงของรังสีเอกซ์ในอะตอมชนิดต่าง ๆ มีค่าขึ้นอยู่กับตำแหน่งของอะตอมทุกอะตอม (x_j, y_j, z_j) และระนาบ (hkl) ดังสมการที่ 1.4 และสามารถลดรูปเป็นสมการแฟกเตอร์โครงสร้างอย่างง่ายดังสมการที่ 1.5

$$F_{hkl} = \sum |f_j| \cdot e^{-i2\pi(hx_j + ky_j + lz_j)} \quad (1.4)$$

$$F_{hkl} = |F_{hkl}| e^{i\alpha(hkl)} \quad (1.5)$$

$\alpha(hkl)$ คือมุมเฟสเริ่มต้นของแฟกเตอร์โครงสร้างที่ระนาบ (hkl) ใด ๆ

สำหรับ $|F_{hkl}|^2$ หรือแอมพลิจูดกำลังสองของแฟกเตอร์โครงสร้างจะแปรผันตรงกับค่าความเข้มรังสีเอกซ์ที่วัดจากการทดลอง ดังสมการที่ 1.6 ดังนั้น ค่าแฟกเตอร์โครงสร้างนี้จึงหาได้จากค่าความเข้มรังสีเอกซ์ที่ถูกเลี้ยวเบนในแต่ละรีเฟลคชัน (hkl)

$$I(hkl) = \text{constant} \cdot |F_{hkl}|^2 \quad (1.6)$$

1.2.5 การหาคำตอบโครงสร้าง (structure solution)

หลังจากทำการเก็บข้อมูลแล้ว จะทำให้ทราบถึงระบบผลึก ชนิดของสเปซกรุป และข้อมูลความเข้ม ซึ่งจะต้องอาศัยข้อมูลทั้งหมดนี้มาคำนวณหาตำแหน่งของอะตอมในยูนิตเซลล์ เนื่องจากต้องการหาศูนย์กลางความหนาแน่นอิเล็กตรอน (electron density, $\rho_j(xyz)$) เพื่อที่จะทราบโครงสร้าง 3 มิติ โดยอาศัยหลักการของฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม (Fourier transform) [14] จัดรูปสมการได้ดังนี้

$$\rho_{xyz} = \frac{1}{V} \sum_{hkl} |F_{hkl}| \cdot e^{-i2\pi(hx+ky+lz)} \quad (1.7)$$

ρ_{xyz} คือความหนาแน่นของอิเล็กตรอนทั้งหมดในยูนิตเซลล์ ($\rho_{xyz} = \sum \rho_j(xyz)$)
ซึ่ง V คือปริมาตรของยูนิตเซลล์

เมื่อแทนค่า F_{hkl} จากสมการ 1.5 ลงในสมการ 1.7 ได้สมการดังนี้

$$\rho_{xyz} = \frac{1}{V} \sum_{hkl} |F_{hkl}| \cdot e^{-i2\pi(hx+ky+lz)+i\alpha(hkl)} \quad (1.8)$$

ในขั้นตอนนี้สิ่งที่หายไปจากการตรวจวัดคือ มุมเฟสเริ่มต้น หรือ α_{hkl} ดังนั้นการหาคำตอบโครงสร้างจึงเป็นการแก้ไขปัญหาเฟส (phase problem) เพื่อสร้างแผนที่ความหนาแน่นอิเล็กตรอน (electron density map) ในยูนิตเซลล์ ซึ่งใช้ระบุชนิดและตำแหน่งของอะตอม

สำหรับการแก้ไขปัญหาเฟสมีหลายวิธี วิธีดั้งเดิมที่นิยมใช้คือ วิธี Patterson (Patterson methods) และวิธีตรง (direct methods) [14]

1.2.6 การขัดเกลาโครงสร้าง (structure refinement)

จากขั้นตอนการหาค่าตอบโครงสร้าง จะทำให้ทราบตำแหน่งศูนย์กลางความหนาแน่นของอิเล็กตรอนของอะตอมที่ไม่ใช่ไฮโดรเจน (non-hydrogen atoms) แต่จะไม่สามารถหาตำแหน่งของอะตอมไฮโดรเจนได้ เนื่องจากมีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนต่ำมากเมื่อเทียบกับ non-hydrogen atoms ในแต่ละรีเฟลคชัน (hkl) จึงมีการคำนวณค่าแฟกเตอร์โครงสร้าง (calculated structure factor, F_C) จากการแทนตำแหน่ง x, y, z, ค่า h, k, l และ $|f_j|$ ลงในสมการที่ 1.4 แล้วนำมาเปรียบเทียบกับค่าแฟกเตอร์โครงสร้างที่มาจากการทดลอง (observed structure factor, F_O) ค่า F_O และ F_C จะถูกนำมาคำนวณค่าความคลาดเคลื่อน (error) [14] ดังสมการที่ 1.9

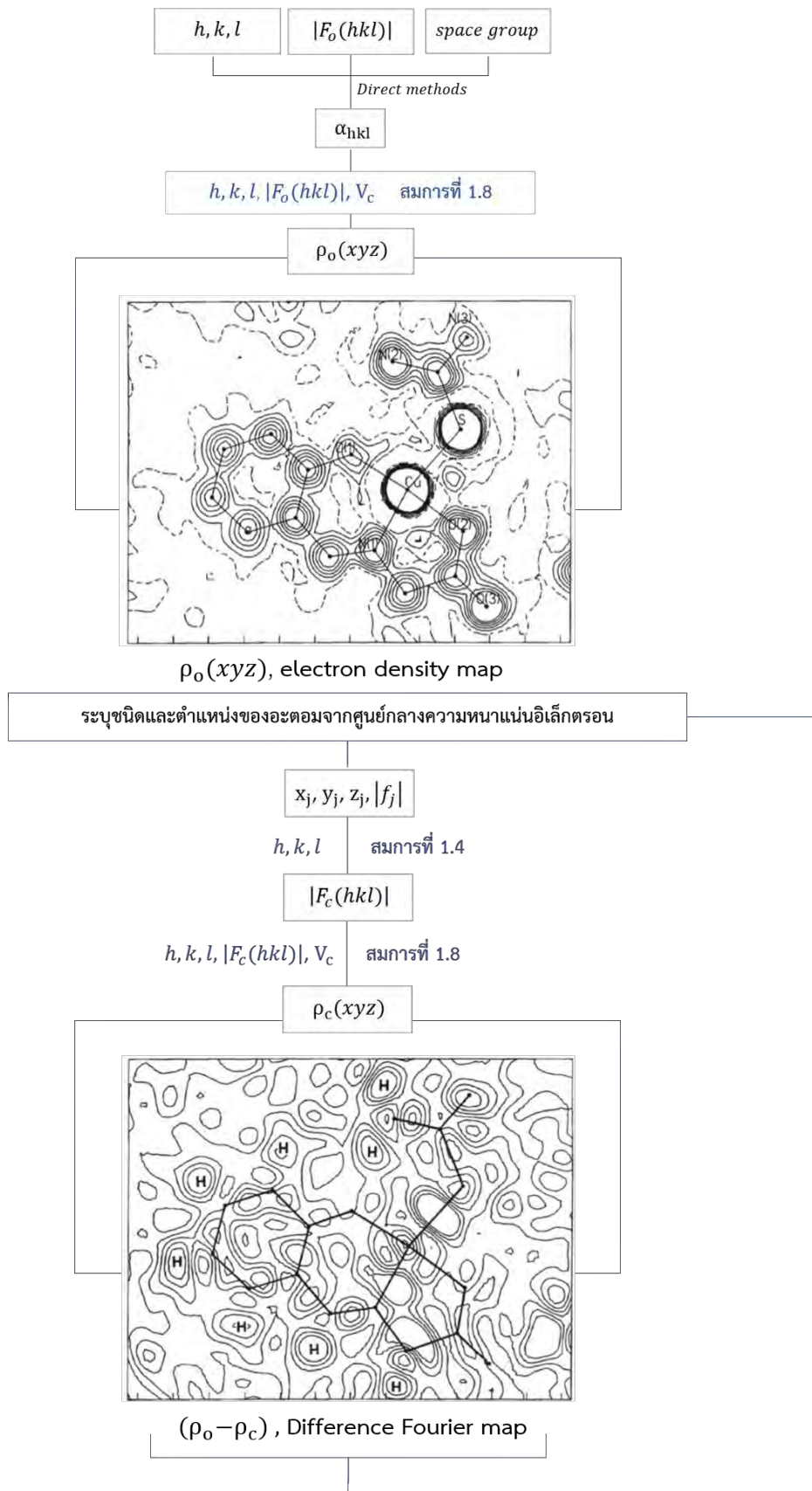
$$\begin{aligned}\Delta_1 &= \left| |F_O| - |F_C| \right| \\ \Delta_2 &= \left| F_O^2 - F_C^2 \right|\end{aligned}\quad (1.9)$$

จากขั้นตอนนี้ใช้ Least-square method ในการปรับตำแหน่งของ non-hydrogen atoms ที่ยังไม่ถูกต้องเพื่อให้ได้ค่าความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด และในการหาตำแหน่งของอะตอมอื่นเช่น อะตอมไฮโดรเจนหรือโมเลกุลของน้ำ จะใช้ difference Fourier map ($\rho_o - \rho_c$) ซึ่งเป็นค่าความหนาแน่นของอิเล็กตรอนในสมการที่ 1.7

ในขั้นตอนขัดเกลาโครงสร้างจะมีค่า R-factor หรือ ค่าดรรชนีส่วนเหลือ (residual index) เป็นพารามิเตอร์หนึ่งที่บ่งบอกถึงความถูกต้องของโครงสร้างที่ได้มา ซึ่งควรมีค่าอยู่ระหว่าง 3 - 7% หรือน้อยที่สุดเท่าที่เป็นไปได้ โดยจะมีค่าที่ขึ้นอยู่กับ F_c และ F_o ดังสมการดังนี้

$$\begin{aligned}wR_2 &= \left\{ \frac{\sum_{hkl} [w(F_o^2 - F_c^2)]^2}{\sum_{hkl} w(F_o^2)^2} \right\}^{\frac{1}{2}} \\ R_1 &= \frac{\sum_{hkl} (|F_o| - |F_c|)}{\sum_{hkl} |F_o|}\end{aligned}\quad (1.10)$$

แผนภาพแสดงขั้นตอนโดยสรุปการหาค่าตอบโครงสร้างและการขัดเกลาโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.15



รูปที่ 1.15 แผนภาพแสดงขั้นตอนโดยสรุปการหาค่าตอบโครงสร้างและการขีดเกล้าโครงสร้าง
(Massa, 2004) [14]

บทที่ 2

วิธีการดำเนินงาน

รายงานนี้บางส่วน (เฉพาะบทที่ 2) ที่ผ่านการตรวจและความเห็นชอบจากอาจารย์ที่ปรึกษา นิสิตยอมรับว่าไม่สามารถแก้รายงานให้ถูกต้องตามที่อาจารย์ที่ปรึกษาแนะนำได้ดีกว่านี้ โดยเฉพาะบทที่ 3 การขัดเกลาโครงสร้างที่ยังไม่สิ้นสุด ทำให้โครงสร้างที่ได้ยังไม่ถูกต้อง ขอความกรุณาให้คณะกรรมการประเมินพิจารณาคุณภาพของรายงานเท่าที่ปรากฏนี้

2.1 อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

2.1.1 การตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน (crystallization of CD inclusion complexes)

- อุปกรณ์ และ เครื่องมือ
 - ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาดปริมาตร 50 และ 100 ไมโครลิตร
 - ทิปที่ใช้กับไมโครปิเปต (micropipette tip) ขนาดปริมาตร 100 และ 200 ไมโครลิตร
 - ขวดไวอัลเล็กขนาดปริมาตร 1 มิลลิลิตร
 - เครื่องแก้วทั่วไป เช่น ปีกเกอร์ กระจกตวง เป็นต้น
 - ซ้อนตักสาร
 - เครื่องเขย่าสาร (vortex)
 - เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
 - เครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic water bath)
 - แผ่นพาราฟิล์ม (parafilm)
- สารเคมี
 - แอลฟา-ไซโคลเดกซ์ทริน (α -cyclodextrin), ความบริสุทธิ์ 98%, บริษัท Cyclolab
 - บีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน (β -cyclodextrin), ความบริสุทธิ์ 98%, บริษัท Acros Organics
 - แกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน (γ -cyclodextrin), ความบริสุทธิ์ 98%, บริษัท Cyclolab
 - ไฮดรอกซีโพรพิลบีตา-ไซโคลเดกซ์ทริน(hydroxypropyl- β -cyclodextrin), ความบริสุทธิ์ 97%, บริษัท Acros Organics
 - กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid), ความบริสุทธิ์ 98%, บริษัท SRL
 - กรดแกลลิก (gallic acid), ความบริสุทธิ์ 98%, บริษัท Acros Organics

- ตัวทำละลายที่ใช้ในการตกผลึก ได้แก่ น้ำมิลลิคิว (Milli-Q water) และ เอทานอล (ethanol), ความบริสุทธิ์ 99.8%, องค์การสุรา กรมสรรพสามิต

2.1.2 การคัดเลือกผลึกและการติดตั้งผลึก (crystal selection and crystal mounting)

- อุปกรณ์ และ เครื่องมือ
 - เข็มและคีมหนีบ (forceps)
 - กระจกสไลด์
 - กาวอีพอกซี (epoxy glue)
 - น้ำมันพาราฟิน (paraffin oil) และน้ำมันพาราโทน (paratone oil)
 - หัวโกนิโอมิเตอร์ (goniometer head)
 - มิทีเจน-ไมโครลูป (MiTeGen-microloops)

2.1.3 การเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction data collection)

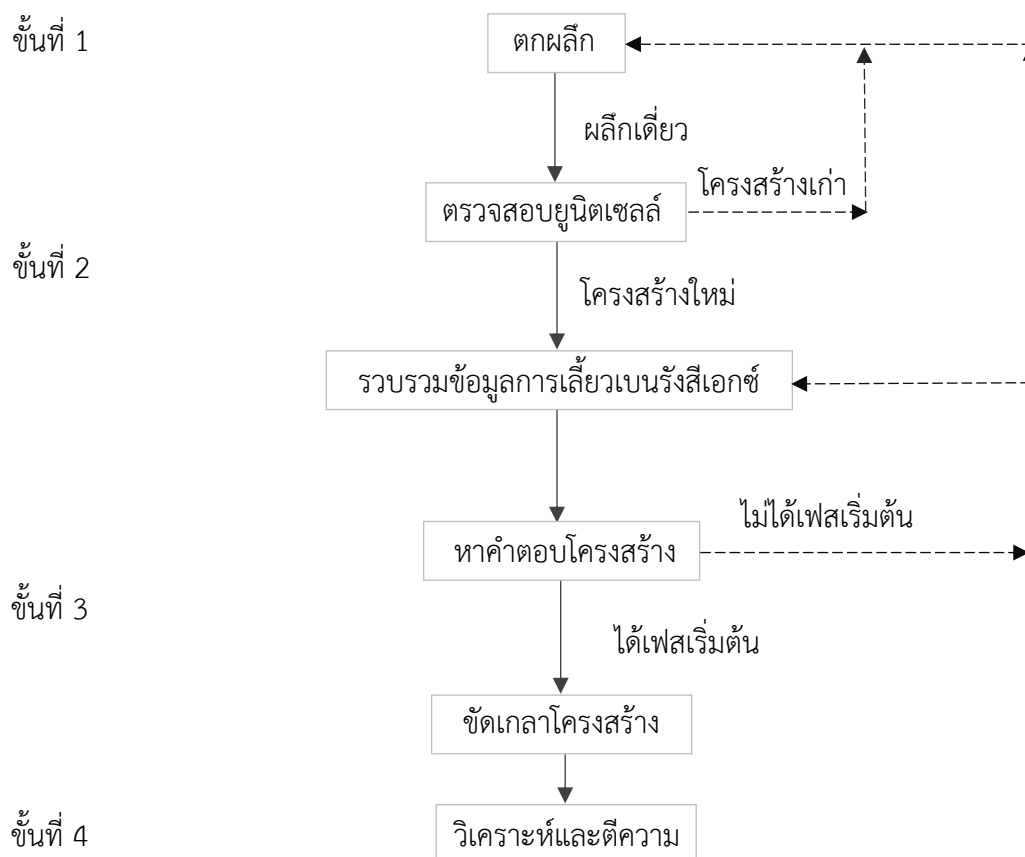
- ผลึกที่ติดตั้งบนปลายไมโครลูปเรียบร้อยแล้ว
- เครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์สำหรับผลึกเดี่ยว (single crystal X-ray diffractometer)

2.1.4 การประมวลผลและวิเคราะห์ผล (data processing and data analysis)

- เครื่องคอมพิวเตอร์แบบตั้งโต๊ะ (desktop personal computer)
- เครื่องคอมพิวเตอร์แบบพกพา (notebook)
- โปรแกรม WinGX 2018, โปรแกรม SHELX-97 และโปรแกรม Mercury 3.10.3

2.2 วิธีการทดลอง

การทำวิจัยด้านผลึกศาสตร์ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ การตกผลึก การวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ การประมวลผลข้อมูล และการวิเคราะห์ตีความข้อมูล มีแผนภาพดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนโดยย่อของงานวิจัยด้านผลึกศาสตร์ (ธรรมรัตน์, 2002)

2.2.1 การตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน

วิธีการตกผลึกที่เลือกใช้ในการทดลองนี้คือ การระเหยตัวทำละลายอย่างช้า ๆ (slow solvent evaporation) ซึ่งทำได้ง่ายและให้ผลึกเดี่ยวที่มีคุณภาพดีและมีขนาดเหมาะสม (กว้าง ยาวและสูง 0.2-0.5 mm) ข้อมูลที่จำเป็นต่อการออกแบบการทดลองตกผลึกด้วยวิธีนี้คือ ค่าการละลายของ CD ในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์และข้อมูลค่าการละลายของโมเลกุลเกสต์ แสดงดังตารางที่ 2.1 และตารางที่ 2.2 ตามลำดับ

การหาข้อมูลการละลายของโมเลกุลเกสท์เป็นสิ่งสำคัญมาก เพราะหากโมเลกุลเกสท์ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายหนึ่งที่อุณหภูมิสูงได้ ตัวทำละลายชนิดนั้นจะไม่สามารถใช้ตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันได้ จาก **ตารางที่ 2.2** พบว่า โมเลกุลเกสท์มีค่าการละลายน้ำที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับเอทานอล ดังนั้น ตัวทำละลายที่ใช้ในการตกผลึกควรเป็นตัวทำละลายผสมโดยมีอัตราส่วนของน้ำและเอทานอลอย่างน้อย 50:50 โดยปริมาตร

ตารางที่ 2.1 ค่าการละลายน้ำของไซโคลเดกซ์ทรินที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในหน่วย g/100mL (Hedges, 2009) [15]

โมเลกุลโฮสต์	ค่าการละลายน้ำที่อุณหภูมิ (g/100mL)		
	25 °C	45 °C	60 °C
α -CD	12.8	29.0	66.2
β -CD	1.8	4.5	9.1
γ -CD	25.6	58.5	129.2
HP β -CD	>1200	-	-

หมายเหตุ – หมายถึงไม่มีข้อมูล

ตารางที่ 2.2 ค่าการละลายของกรดแกลลิก (Mendes และคณะ, 2017) [16] และกรดเฟอรูลิก (Mota และคณะ, 2008, Buranov และคณะ, 2009) [17], [18] ในตัวทำละลายน้ำและเอทานอล ในหน่วย (g/100mL)

โมเลกุลเกสท์	น้ำ		เอทานอล	
	25 °C	40 °C	25 °C	40 °C
กรดแกลลิก	1.1	2.4	2.4	2.5
กรดเฟอรูลิก	0.08	0.18	0.7	-

หมายเหตุ – หมายถึงไม่มีข้อมูล

การตกผลึกด้วยวิธีการระเหยตัวทำละลายอย่างช้า ๆ เริ่มต้นด้วยการเตรียมสารละลายอิ่มตัวยิ่งยวด (supersaturated solution) ด้วยการเพิ่มอุณหภูมิให้กับสารละลาย ซึ่งจะต้องใช้ปริมาณ CD ที่มากกว่าค่าการละลายที่อุณหภูมิห้อง และใช้ปริมาณ CD กับเกสท์โมเลกุลในอัตราส่วน 1:1, 1:2 หรือ 2:1 เป็นต้น

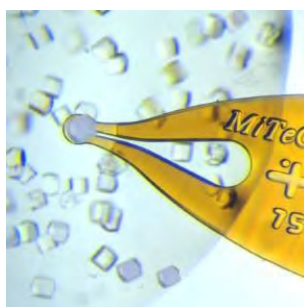
ตัวอย่างขั้นตอนการตกผลึกของระบบ β -CD และ FA ในอัตราส่วน 1:1 โดยโมล ด้วยตัวทำละลายผสม เอทานอลกับน้ำเข้มข้น 50% โดยปริมาตร

1. ชั่ง β -CD และ FA ปริมาณ 43 mg และ 9 mg ตามลำดับ ลงในขวดไวอัลขนาดปริมาตร 1 มิลลิลิตร
2. ปิเปตเอทานอล 250 μ L และน้ำ 250 μ L ลงในไวอัล แล้วปิดฝาไวอัลด้วยแผ่นพาราฟิล์ม
3. ละลายของแข็งในตัวทำละลายผสมด้วยเครื่อง Vortex
4. ทำให้สารทั้งหมดละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกันจนได้สารละลายใส โดยใช้อัลตราโซนิก ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 2-3 ชม. แล้วทิ้งไว้ให้สารละลายเย็นลงอย่างช้า ๆ
5. ตั้งไวอัลไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C
6. สังเกตการเปลี่ยนแปลงของผลึกและบันทึกผล

2.2.2 การคัดเลือกผลึกและการติดตั้งผลึก

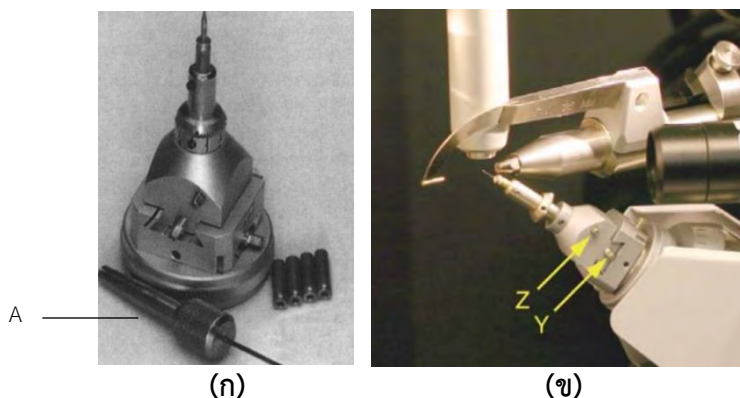
เมื่อผลึกเกิดขึ้นในไวอัลและสิ้นสุดการเติบโตแล้ว พิจารณาจากขนาดของผลึกที่ไม่มีขนาดเพิ่มขึ้นจากเดิม หลังจากนั้น ผลึกจะถูกนำมาตรวจสอบคุณภาพและติดตั้งก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยรังสีเอกซ์ โดยศึกษาผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรซ์ (polarized light microscope) ตรวจสอบผลึกทุกชิ้น ผลึกเดี่ยวที่ดีจะโปร่งแสง ไม่มีผลึกอื่นซ้อนทับ มีขอบมุมด้านที่ชัดเจน และมีขนาดที่เหมาะสมระหว่าง 0.3-0.5 mm

เมื่อได้ผลึกเดี่ยวที่มีขนาดและคุณภาพที่เหมาะสมแล้ว จะถูกติดตั้งในหัวไมโครลูป (microloop head) (รูปที่ 2.2)



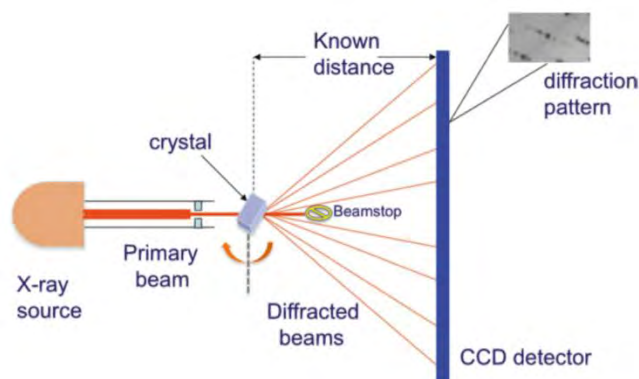
รูปที่ 2.2 หัวไมโครลูป (MiTeGen, 2008)

หลังจากติดตั้งผลึกบนปลายไมโครลูปเรียบร้อยแล้ว ไมโครลูปจะถูกติดตั้งบนหัวโกนิมิเตอร์ (goniometer head) (รูปที่ 2.3) เพื่อทำการตรวจสอบด้วยรังสีเอกซ์ต่อไป (รูปที่ 2.4) ในขั้นตอนนี้ จะได้ข้อมูลเกี่ยวกับผลึกเบื้องต้น ได้แก่ คุณภาพของผลึกความสามารถในการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผลึก และยูนิทเซลล์พารามิเตอร์



รูปที่ 2.3 หัวโกนิมิเตอร์ (goniometer head) (Massa, 2004) [14]

(A: อุปกรณ์ใช้หมุนปรับตำแหน่งผลึก, Y: ใช้ปรับตำแหน่งในแนวแกน y และ Z: ใช้ปรับตำแหน่งในแนวแกน z)



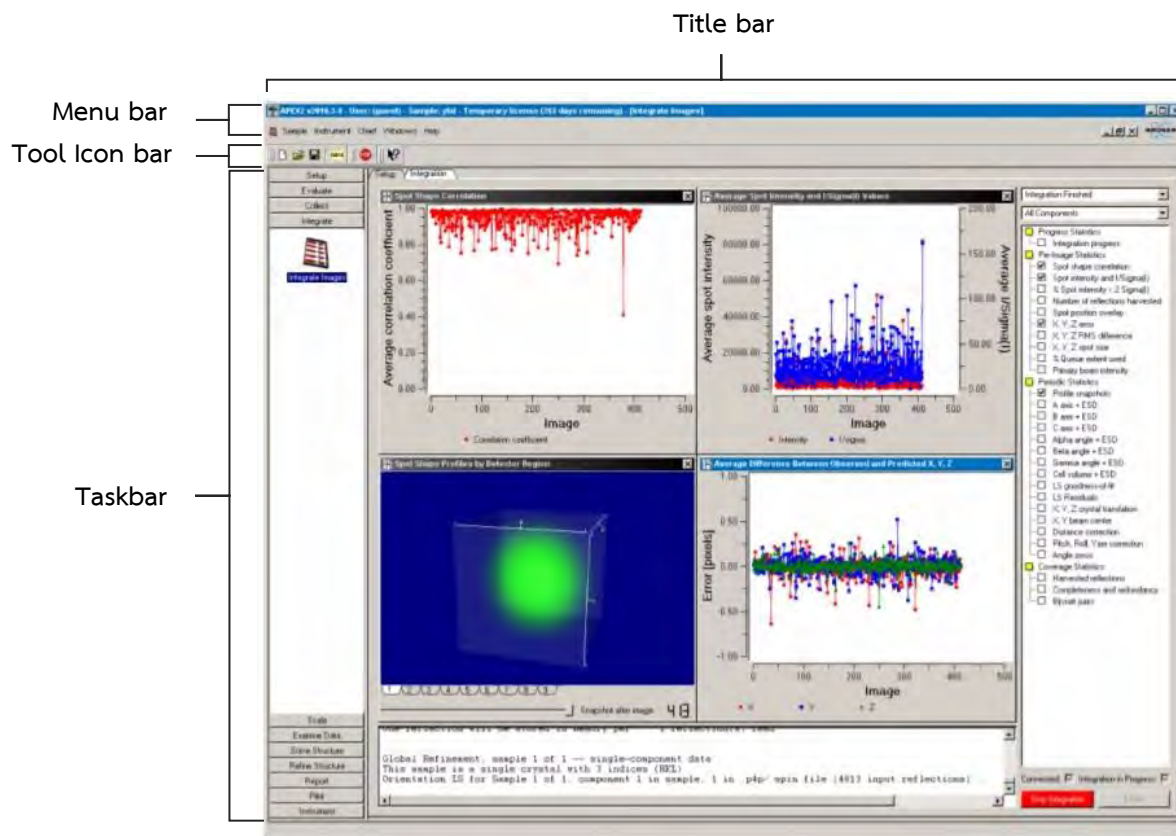
รูปที่ 2.4 แผนภาพการทดลองการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (Papageorgiou และ Mattsson, 2014) [19]

2.2.3 การเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

ในการทดลองใช้เครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผลึกเดี่ยว รุ่น Bruker KAPPA APEXII CCD area detector สามารถศึกษาจากคู่มือ [19] มีเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ติดตั้งซอฟต์แวร์สำหรับควบคุมการทำงาน ได้แก่

โปรแกรม BIS (Bruker Instrument Service) : สำหรับเชื่อมต่อซอฟต์แวร์กับเครื่องมือ (รูปที่ 2.5 แสดงหน้าต่างเริ่มต้นของชุดโปรแกรม APEX2)

ชุดโปรแกรม APEX2 : สำหรับเก็บข้อมูลและประมวลผลข้อมูล




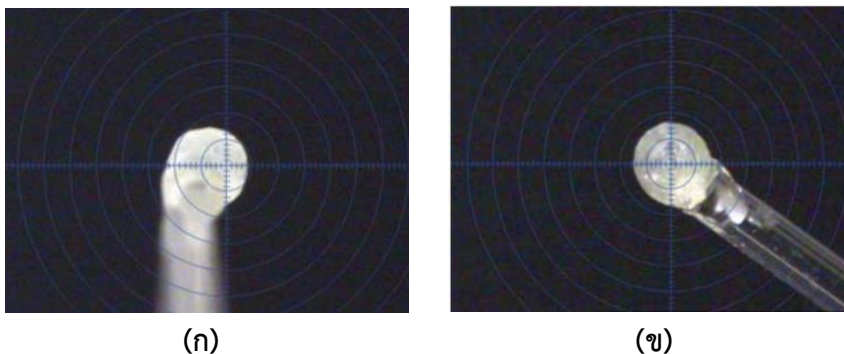
รูปที่ 2.5 หน้าต่างเริ่มต้นของชุดโปรแกรม APEX2 (Bruker, 2010) [20]

สำหรับขั้นตอนการเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังนี้

2.2.3.1 การทำให้ผลึกอยู่ศูนย์กลางของลำรังสีเอกซ์ (crystal centering)

การวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์จะต้องทำการวัดทุก ๆ มุม จากการหมุนผลึก ดังนั้นจึงต้องทำให้ผลึกอยู่ที่ศูนย์กลางของลำรังสีเอกซ์เพื่อให้ได้ความเข้มของสัญญาณสูงสุด มีรายละเอียดขั้นตอนดังนี้


1. ไปที่หมวด 'Set up' ในส่วนของเมนู Task bar คลิกที่ **Center crystal**  ซึ่งตำแหน่งเริ่มต้นของผลึกจะไม่อยู่กึ่งกลางดังรูปที่ 2.6ก
2. คลิกที่ **Mount** และติดตั้งผลึกบนหัวโกนิโอมิเตอร์โดยปรับหมุนตำแหน่ง X และ Y ดังรูปที่ 2.3ข จนกว่าผลึกจะอยู่กึ่งกลางดังรูปที่ 2.6ข
3. คลิกที่ **Center** เพื่อให้ผลึกอยู่ที่ตำแหน่งศูนย์กลางจริงสำหรับการเก็บข้อมูลในขั้นตอนต่อไป บันทึกภาพและขนาดของผลึกจากขั้นตอนนี้

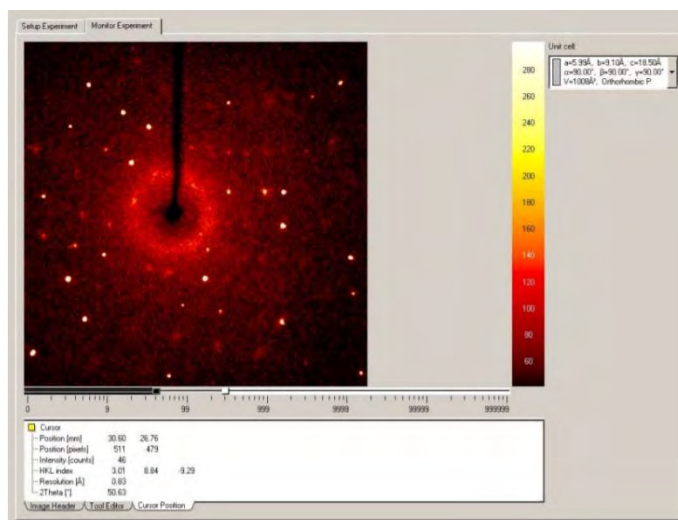


รูปที่ 2.6 ตำแหน่งของผลึกบนหัวโกนิมิเตอร์ (ก) ตำแหน่งเริ่มต้น (ข) ตำแหน่งศูนย์กลาง
(Bruker, 2010) [20]

2.2.3.2 การหาขนาดของยูนิตเซลล์และระบบผลึก (determination of unit cell dimensions and crystal system)

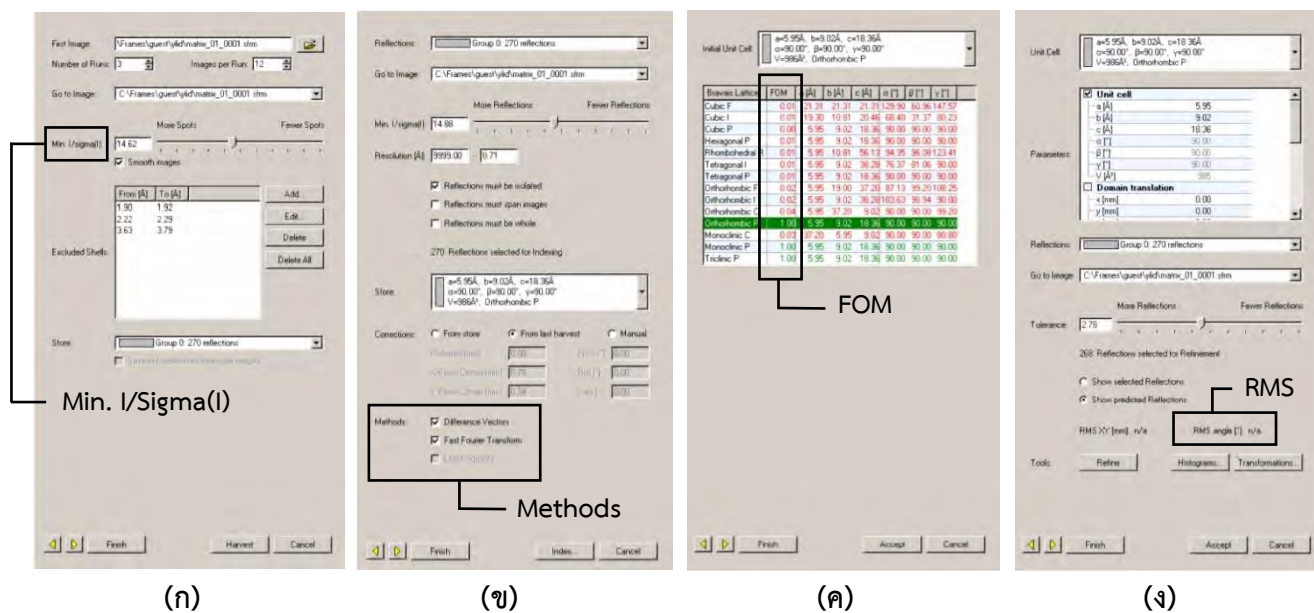
ขั้นตอนนี้เป็น การตรวจสอบคุณภาพผลึกจากการวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของรีเฟลคชันบางส่วน

1. ไปที่หมวด 'Collect' ในส่วนของเมนู Task bar เลือกไอคอน Experiment 
2. คลิก Append Matrix Strategy เลือกวิธีดำเนินการในการเก็บข้อมูล โดยเลือกใช้วิธี run แบบ omega Scan ทั้งหมด 3 ครั้ง (12 frame images ต่อ 1 run)
3. ป้อนค่า Default time เพื่อกำหนดระยะเวลาในการวัด
4. ตรวจสอบความพร้อมก่อน โดยคลิกที่ Validate แล้วคลิกที่ Execute เพื่อเริ่มต้นเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์



รูปที่ 2.7 รูปแบบการเลี้ยวเบนของผลึกที่มีค่าเรโซลูชันการเลี้ยวเบน 0.83 Å บน frame image หนึ่ง
ซึ่งจะมีลักษณะ spot เป็นวงกลม (Bruker, 2010) [20]

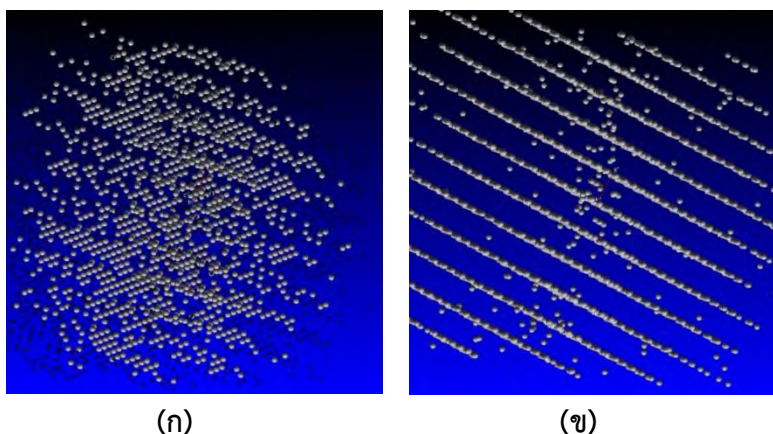
5. ตรวจสอบคุณภาพผลึกจากลักษณะของ spot ที่ได้จากการวัด ผลึกที่มีคุณภาพดีหรือค่าเรโซลูชันการเลี้ยวเบนสูงจะมีลักษณะ spot เป็นวงกลมดังรูปที่ 2.7 ถ้า spot มีลักษณะเหลี่ยมหรือซ้อนทับกัน แสดงว่าผลึกคุณภาพไม่ดีหรือบ่งบอกได้ว่าไม่ใช่ผลึกเดี่ยว ในขั้นตอนนี้จะกำหนดจำนวน spot ที่จะเก็บค่า (รูปที่ 2.8ก) และเลือก **Methods** ในการแปรผลยูนิตเซลล์ ซึ่งสามารถเลือกได้ทั้ง 3 วิธี ได้แก่ difference vector, fast fourier transform หรือ least squares (รูปที่ 2.8ข) นอกจากนี้ สามารถเลือกพิจารณาจากคะแนนความน่าเชื่อถือ FOM (ค่าความน่าเชื่อถือจากน้อยไปมาก ในช่วง 0.00-1.00) (รูปที่ 2.8ค) ซึ่งสามารถเปรียบเทียบความถูกต้องจากค่า RMS angle [°] โดยการกด **Refine** (รูปที่ 2.8ง) เมื่อเลือก Bravais lattice ได้แล้ว คลิกที่ **Accept** และทำการบันทึกไฟล์ .p4p



รูปที่ 2.8 (ก) เมนู Harvest spot (ข) เมนู Index (ค) Bravais lattice และ (ง) เมนู Refine (Bruker, 2010) [20]

6. สามารถดูการจัดเรียง reciprocal lattice ได้จากการเลือกไอคอน **Reciprocal Lattice Viewer** (รูปที่ 2.9) ในผลึกเดี่ยวที่มีคุณภาพการเลี้ยวเบนดี จะสังเกตว่าการจัดเรียง reciprocal lattice จะมีระเบียบ (สามารถกดคีย์ลัดคือ F1 F2 และ F3 เพื่อพิจารณาลักษณะการเรียงในแกน x y และ z ตามลำดับ)







รูปที่ 2.9 ลักษณะของ reciprocal lattice ใน (ก) มุมมองเริ่มต้น (ข) มุมมองในแกนใดแกนหนึ่ง
(Bruker, 2010) [20]


จากขั้นตอนนี้จะทำการเปรียบเทียบข้อมูลชนิดของยูนิตเซลล์ที่ได้กับข้อมูลผลึกที่ได้ถูกรายงานไว้แล้วซึ่งอาจตรวจสอบได้จากฐานข้อมูล CCDC (Cambridge Crystallographic Data Centre) หากเป็นโครงสร้างเดิมที่เคยมีรายงานไว้ในฐานข้อมูลแล้วก็จะไม่ทำการทดลองในขั้นต่อไป (ตามแผนภาพขั้นตอนโดยย่อของงานวิจัยด้านผลึกศาสตร์ดังรูปที่ 2.1)

2.3.3.3 การรวบรวมข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (data collection)

1. ไปที่หมวด 'Collect' ในส่วนของเมนู Task bar เลือกไอคอน Data Collection Strategy 
 2. ใน Step 1 ชนิดของยูนิตเซลล์จะถูกเลือกอัตโนมัติจากหัวข้อ 2.2.3.2 ส่วนสมมาตรของยูนิตเซลล์ หลังจากนั้นใน Step 2 เลือกค่าเรโซเรชันให้เหมาะสมกับคุณภาพการเลี้ยวเบนของผลึกที่ตรวจสอบแล้วคลิกที่ Determine Strategy กำหนดค่า Crystal to detector distance และ Strategy type ใน Step 3 และสุดท้าย Step 4 คลิกที่ Select scan parameter เพื่อระบุค่า frame angle, measure time แล้วคลิก OK
- หลังจากนั้นเลือกไอคอน Experiment  ซึ่งจะมีข้อมูลที่กำหนดไว้ กด Execute เพื่อเริ่มเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์


2.2.3.4 การอินทิเกรตข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (data integration)


เมื่อได้ข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์แล้ว จะต้องนำข้อมูลมาคำนวณหาความเข้มของแต่ละรีเฟลคชัน โดยจะได้เป็นค่าเฉลี่ยของความเข้ม ในขั้นตอนนี้โปรแกรมจะอ่านไฟล์จากขั้นตอน 2.2.3.3


ไปที่หมวด 'Integrate' ในส่วนของเมนู Task bar เลือกไอคอน Integrate image  แล้วกำหนดค่าเรโซลูชันและข้อมูลยูนิตเซลล์ให้ตรงกับ ขั้นตอน 2.2.3.3 แล้วคลิกที่ Start Integrate

2.2.3.5 การรีดิวซ์ข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (data reduction)

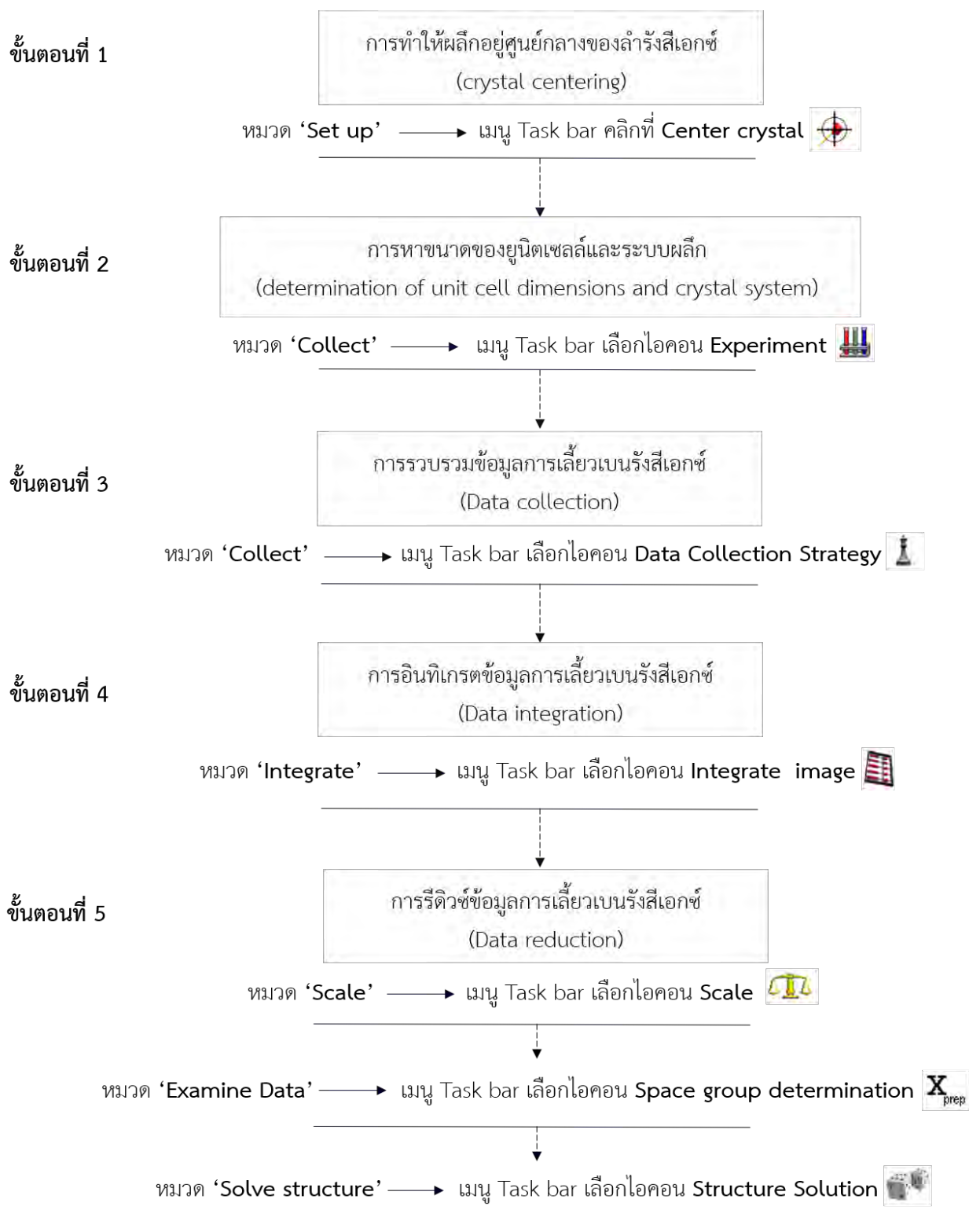
ในขั้นตอนนี้ ข้อมูลที่ได้จากขั้นตอนที่ 2.2.3.4 จะถูกนำมาแก้ไขค่าการดูดซับรังสีเอกซ์ (adsorption correction) และแก้ไขค่าอื่น ๆ จากนั้นจะถูกแปลงจากความเข้มเป็นกำลังสองของแฟกเตอร์โครงสร้าง ($|F_{hkl}|^2$)

1. ไปที่หมวด 'Scale' ในส่วนของเมนู Task bar เลือกไอคอน Scale  โดยขั้นตอนนี้จะได้ output files ชนิดต่าง ๆ เช่น ไฟล์ .hkl, ไฟล์ .pcf, ไฟล์ .abs เป็นต้น ซึ่งข้อมูลกำลังสองของแฟกเตอร์โครงสร้าง จะอยู่ในไฟล์ .hkl

2. ไปที่หมวด 'Examine Data' ในส่วนของเมนู Task bar เลือกไอคอน Space group determination  โดยโปรแกรมจะตรวจสอบ output files และเสนอชนิดस्पष्टกรุปที่เป็นไปได้ ป้อนสูตรโมเลกุลของสารที่ตรวจสอบ หลังจากนั้นทำการเตรียมไฟล์ .ins เพื่อเป็นไฟล์เริ่มต้นที่ใช้ในการหาคำตอบโครงสร้างต่อไป

3. ไปที่หมวด 'Solve structure' ในส่วนของเมนู Task bar เลือกไอคอน Structure Solution  หากพบว่าเกณฑ์โมเลกุลอยู่ในโพรงของโฮสต์แล้ว แสดงว่าเป็นโครงสร้างสารเชิงซ้อนอินคลูชัน

สำหรับขั้นตอนโดยย่อของการเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์แสดงดังรูปที่ 2.10 ในหน้าถัดไป



รูปที่ 2.10 ขั้นตอนโดยย่อของการเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

2.2.4 การประมวลผลข้อมูล (data processing)

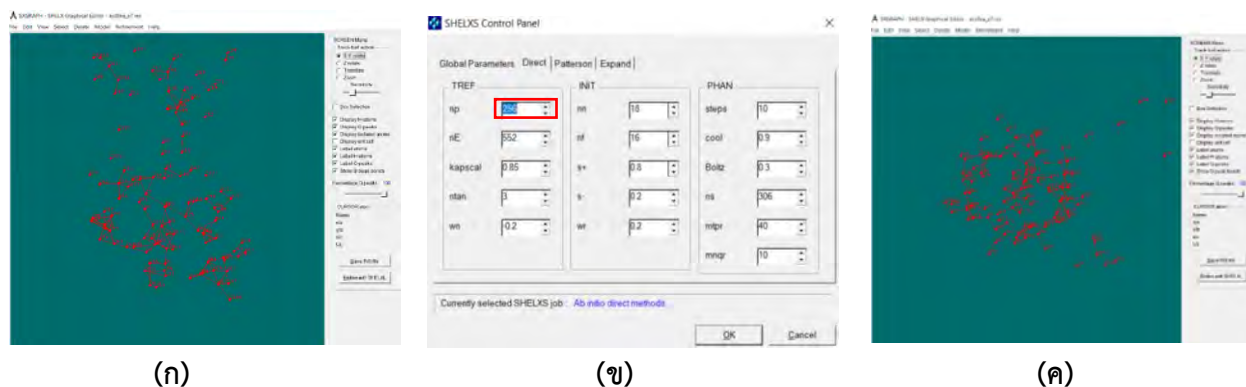
ขั้นตอนนี้จะเป็นการนำข้อมูลจากขั้นตอนก่อนหน้ามาแปลผลเป็นโครงสร้าง 3 มิติ ซึ่งสามารถดำเนินการได้ทั้งในรูปแบบข้อความและรูปแบบกราฟิก ซอฟต์แวร์ที่ทำหน้าที่เป็น GUI (Graphic User Interface) คือ โปรแกรม WinGX สามารถเชื่อมโยงการทำงานกับซอฟต์แวร์อื่นที่สำคัญในงานวิจัยทางฟิสิกศาสตร์

การประมวลผลข้อมูลประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ การหาคำตอบโครงสร้าง (structure solution) และการขัดเกลาโครงสร้าง (structure refinement)

2.2.4.1 การหาคำตอบโครงสร้าง (structure solution)

ขั้นตอนนี้เป็นการแก้ไขปัญหาเฟส ในสมการความหนาแน่นอิเล็กตรอน โดยใช้วิธีตรง (Direct methods) เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด ในที่นี้ใช้โปรแกรม WINGX โดยเลือกใช้โปรแกรม SHELX-97 [20] โดยใช้ไฟล์อินพุต (input file) จำนวน 2 ไฟล์ ที่มีชื่อเหมือนกันแต่ต่างกันว่านามสกุลไฟล์ เช่น acdfeax1.ins และ acdfeax1.hkl โดยไฟล์ .hkl เป็นชุดข้อมูลความเข้มของแต่ละรีเฟลคชันที่ได้จากการทดลองการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ สำหรับขั้นตอนนี้จะทำให้ทราบโคออร์ดิเนตลำดับส่วนของอะตอม (fractional atomic coordinates) โดยส่วนใหญ่หรือทั้งหมดในโครงสร้างโมเลกุล (ไม่รวมอะตอมไฮโดรเจน)

หลังจากขั้นตอนนี้จะมีหน้าต่างของ SHELX Graphical Model Editor (SXGRAPH) ปรากฏขึ้นและแสดง fractional atomic coordinates ของ Q-peaks ที่ไม่ใช่ไฮโดรเจน ดังรูปที่ 2.11ก หากลักษณะตำแหน่งของ Q-peaks ที่ได้ไม่ตรงกับโครงสร้างที่กำลังศึกษา จะต้องแก้ไขปัญหาเฟสอีกครั้งโดยปรับตัวเลข ของ TREF ในหน้าต่าง Direct ดังรูปที่ 2.11ข



รูปที่ 2.11 SXGRAPH ที่ได้จากการแก้ไขปัญหาเฟส

(ก) ลักษณะ fractional atomic coordinates ของ Q-peaks ที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนก่อนปรับตัวเลข np ของ TREF

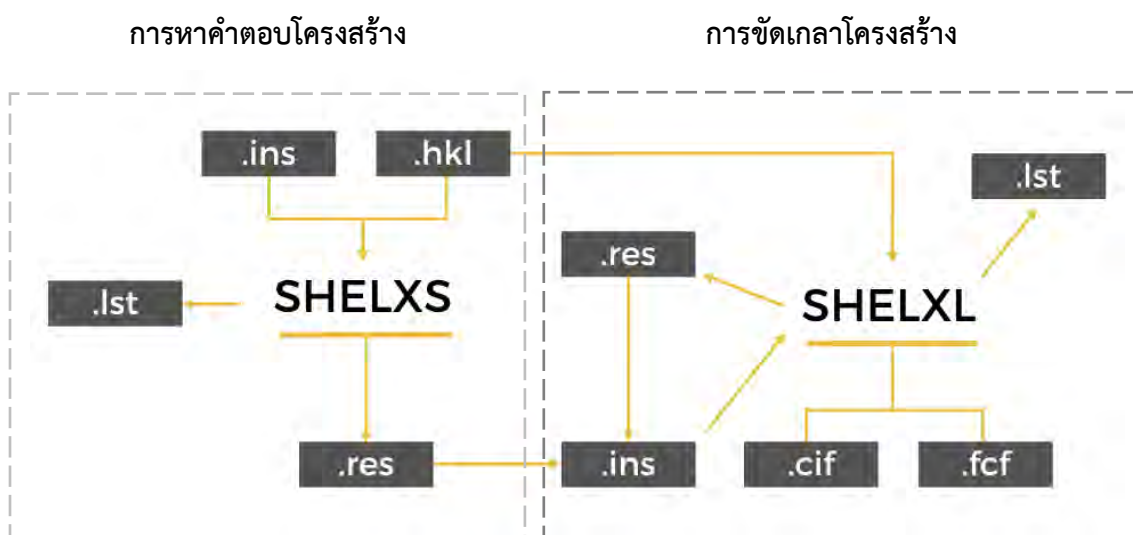
(ข) หน้าต่าง Direct ของ SHELXS Control Panel แสดงการปรับตัวเลข np ของ TREF

(ค) ลักษณะ fractional atomic coordinates ของ Q-peaks ที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนหลังจากปรับตัวเลข np ของ TREF

เมื่อเริ่มทำงานในโปรแกรม SHELX จะมีไฟล์ใหม่ถูกสร้างขึ้นใน working directory ดังนี้

ชื่อไฟล์	รายละเอียด
1. shelx.ins	เหมือนไฟล์ acdfeax1.ins มีคำสั่งเกี่ยวกับ direct methods
2. shelx.lst	การแก้ปัญหาเฟสจาก direct methods
3. shelx.res	เหมือนไฟล์ acdfeax1.ins เพิ่มข้อมูล fractional atomic coordinates ของ Q-peaks, แฟกเตอร์การครอบครอง (site occupancy factor, SOF) และความเข้มของ Q-peaks
4. acdfeax1.res	เหมือนไฟล์ shelx.res แต่ไฟล์นี้จะถูกอัปเดตทุกครั้งในการทำ การขัดเกลาคโครงสร้าง

แผนภาพแสดงการทำงานของโปรแกรม SHELXS และ SHELXL แสดงดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 แผนภาพแสดงการทำงานของโปรแกรม SHELXS และ SHELXL ในขั้นตอนหาคำตอบโครงสร้างและการขัดเกลาคโครงสร้างโดยชุดโปรแกรม SHELX-97

2.2.4.2 การขัดเกลาคโครงสร้าง (structure refinement)

เมื่อเฟสเริ่มต้นตรงกับโครงสร้างเคมีที่กำลังศึกษาแล้ว (โดยการเปรียบเทียบกับผลจาก NMR) โคออร์ดิเนตของอะตอมที่ได้จากวิธี Direct methods (ไฟล์ .res) จะถูกนำมาขยายผลเพื่อหาโคออร์ดิเนตของอะตอมที่ยังขาดหายไป โดยใช้โปรแกรม SHELXL ได้แก่ อะตอมไฮโดรเจนและอะตอมที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนของตัวทำละลายในโครงสร้างผลึกด้วยวิธี full matrix least-squares และ difference Fourier map โดยโครงสร้างที่อยู่ระหว่างการขัดเกลานั้นจะถูกนำไปคำนวณค่าแฟกเตอร์โครงสร้าง (calculated structure factors, F_c) แล้วเปรียบเทียบกับแฟกเตอร์โครงสร้างที่ได้จากการทดลอง (observed structure factors, F_o) ในไฟล์ .hkl

จาก SXGRAPH จะได้ลักษณะโครงสร้างเป็น Q-peaks ในขั้นตอนนี้จะต้องทำการระบุชนิดอะตอมที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนของโครงสร้างให้ถูกต้อง และทำการขัดเกลาคโครงสร้างแบบ anisotropic โดยใช้คำสั่ง ANIS

ในขั้นตอนการเพิ่มอะตอมไฮโดรเจนสามารถทำได้โดย ป้อนคำสั่งผ่านไฟล์ acdfea.ins โดยตรง ใช้คำสั่ง HFIX mn ตามด้วยชื่ออะตอม โดยตัวเลข mn จะต่างกัน ตามชนิดของไฮโดรเจนในหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ดังนี้ [21]

- 13 methine hydrogen
- 23 methylene hydrogen
- 137 methyl hydrogen
- 147 hydroxyl hydrogen

กล่าวโดยสรุป ในขั้นตอนการหาคำตอบโครงสร้างจะอาศัย input files 2 ไฟล์ คือ .ins และ .hkl ผลการหาคำตอบโครงสร้างจะออกมาใน output files ได้แก่ ไฟล์ .res และ ไฟล์ .lst จากนั้นในขั้นตอนการขัดเกลาคโครงสร้าง จะนำไฟล์ .res มาบันทึกเป็น .ins โดยใส่คำสั่งต่าง ๆ ลงไป และใช้ไฟล์ .hkl ที่เป็นไฟล์เดียวกันที่ใช้ในการหาคำตอบโครงสร้าง ผลการขัดเกลาคโครงสร้าง คือ ไฟล์ .res และ .lst โดยการขัดเกลาคจะทำวนซ้ำไปเรื่อย ๆ หลายรอบ (iterative process) จนกระทั่งค่าพารามิเตอร์ที่ได้ของรอบที่ n กับรอบที่ n-1 แตกต่างกันน้อยที่สุด หรือเรียกว่า การขัดเกลาคโครงสร้างสิ้นสุดแล้ว (converged refinement) แผนภาพแสดงการทำงานของโปรแกรม SHELXS และ SHELXL ในขั้นตอนหาคำตอบโครงสร้างและการขัดเกลาคโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.12 สำหรับโครงสร้างที่ถูกต้องควรมีค่าพารามิเตอร์ ดังนี้ ค่า maximum shift/esd เข้าใกล้ศูนย์, ค่า R1 อยู่ในช่วง 3-7% หรือน้อยที่สุดเท่าที่สามารถทำได้และค่า GOF มีค่าเข้าใกล้ 1

2.2.4.3 การตรวจสอบความถูกต้องของโครงสร้าง (structure validation)

เมื่อการขีดเคลาโครงสร้างสิ้นสุดแล้ว จะต้องมีการตรวจสอบความถูกต้องของโครงสร้างโดยใช้ไฟล์ .cif ที่เว็บไซต์ <https://checkcif.iucr.org/> ไฟล์ที่ถูกตรวจสอบแล้วจะระบุข้อความเตือนเป็น Alert ระดับ A, B, C หรือ G สาเหตุที่เกิดการเตือน เช่น ข้อมูลจากการทดลองในไฟล์ไม่ครบถ้วน ข้อมูลที่ใช้ประมวลผลมีคุณภาพต่ำ หรือโครงสร้างมีความบกพร่อง การสร้างไฟล์ .cif สามารถป้อนคำสั่งโดยตรงลงในไฟล์ .ins ได้เช่นกัน โดยใช้คำสั่ง เช่น ACTA, CONF, HTAB เป็นต้น

สำหรับโครงสร้างสุดท้ายจากการตรวจสอบ ไม่ควรมีหรือมี error น้อยที่สุด คือ Alert ระดับ A และ B และถ้ามีจะต้องให้คำอธิบายเพิ่มเติมในไฟล์ .cif ส่วน Alert ระดับอื่นเป็นแค่การเตือนจึงไม่จำเป็นต้องมีคำอธิบายเพิ่ม

2.2.5 การวิเคราะห์และตีความโครงสร้าง (structure analysis and interpretation)

โครงสร้างของสารเชิงซ้อนอินคลูชันสุดท้ายจะถูกนำมาวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์เชิงโครงสร้าง เช่น ความยาวพันธะ มุมพันธะ มุมทอร์ชัน และเปรียบเทียบกับโมเลกุลโฮสต์ชนิดไฮเดรต ศึกษาลักษณะการวางตัวของโมเลกุลเกสท์ในโพรงของโฮสต์โคเลเดกซ์ทริน ผลของขนาดและรูปร่างของโมเลกุลเกสท์ที่มีต่อแรงยึดเหนี่ยว และเสถียรภาพของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน

บทที่ 3

ผลการทดลองและการอภิปรายผลการทดลอง

รายงานนี้บางส่วน (เฉพาะบทที่ 2) ที่ผ่านการตรวจและความเห็นชอบจากอาจารย์ที่ปรึกษา นิสิตยอมรับว่าไม่สามารถแก้รายงานให้ถูกต้องตามที่อาจารย์ที่ปรึกษาแนะนำได้ดีกว่านี้ โดยเฉพาะบทที่ 3 การขัดเกลาโครงสร้างที่ยังไม่สิ้นสุด ทำให้โครงสร้างที่ได้ยังไม่ถูกต้อง ขอความกรุณาให้คณะกรรมการประเมินพิจารณาคุณภาพของรายงานเท่าที่ปรากฏนี้

3.1 การตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันและการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์เบื้องต้น

3.1.1 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD—FA และ α -CD—FA

จากการทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD—FA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์แสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD—FA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ

อัตราส่วนโมล	ตัวทำละลายและปริมาณสารที่ใช้	ผลการตกผลึก	ผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผลึกเดี่ยว
1:1	1. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ ร้อยละ 50 โดยปริมาตร - จำนวน 500 μ L - β -CD 50 mg - FA 9 mg	- เมื่อทิ้งสารละลายให้เย็นลงข้ามคืน พบว่าเกิดผลึกใส ไม่มีสี รูปบล็อก (block)	- นำผลึกรูปบล็อก (block) ขนาดใหญ่ มาตัดให้ได้ผลึกเดี่ยวขนาดเหมาะสม (0.4 x 0.4 x 0.6 mm) ทดสอบพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับ β -CD.11H ₂ O [22] - ผลึกอื่นที่มีลักษณะคล้ายกันไม่ได้นำมาทดสอบแต่คาดว่าเป็ผลึกของ β -CD.11H ₂ O [22]

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

อัตราส่วนโมล	ตัวทำละลายและปริมาณสารที่ใช้	ผลการตกผลึก	ผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผลึกเดี่ยว
1:1	2. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 30 โดยปริมาตร - จำนวน 300 μL - β -CD 47 mg - FA 8 mg	- ไม่ได้สารละลายใส จึงหยุดการทดลองไว้	- ไม่มีการทดสอบ
1:2	3. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 30 โดยปริมาตร - จำนวน 300 μL - β -CD 47 mg - FA 16 mg	- มีผลึกใสไม่มีสี รูปเข็ม (needle) และรูปบล็อก (block) เกิดขึ้นในไวอัลเดียวกัน	- ผลึกรูปเข็ม (needle) ทดสอบพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับกรดเพอรูลิก [23] - ผลึกรูปบล็อก (block) ทดสอบพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับ β -CD.11H ₂ O [22]
1:1	4. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 70 โดยปริมาตร - จำนวน 300 μL - β -CD 47 mg - FA 8 mg	- มีผลึกใสไม่มีสี รูปบล็อก (block) - เมื่อระเหยตัวทำละลายไปประมาณ 6 สัปดาห์ พบว่ามีตะกอนของ FA เกิดขึ้นที่ก้นไวอัล	- ผลึกรูปบล็อก (block) ทดสอบพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับ β -CD.11H ₂ O [22]
1:2	5. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 70 โดยปริมาตร - จำนวน 300 μL - β -CD 39 mg - FA 13 mg	- เมื่อทิ้งสารละลายให้เย็นลงข้ามคืน พบว่ามีตะกอนสีขาวขุ่นอัดแน่นที่ก้นไวอัล	- ไม่มีการทดสอบ

การใช้ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ ทำให้มีโอกาสได้ผลึกของโมเลกุลโฮสต์ ได้แก่ β -CD.11H₂O [22] ซึ่งอยู่ในระบบ monoclinic สเปนเซอร์รูป $P2_1$ ยูนิตเซลล์พารามิเตอร์มีค่าดังนี้ $a = 21.261 \text{ \AA}$, $b = 10.306 \text{ \AA}$, $c = 15.123 \text{ \AA}$, $\alpha = 90.00^\circ$, $\beta = 112.3^\circ$, $\gamma = 90.00^\circ$, $V = 3065.8 \text{ \AA}^3$ และ ผลึกของ α -CD.6H₂O [24] ซึ่งอยู่ในระบบ orthorhombic สเปนเซอร์รูป $P2_12_12_1$ ยูนิตเซลล์พารามิเตอร์มีค่าดังนี้ $a = 14.86 \text{ \AA}$, $b = 34.04 \text{ \AA}$, $c = 9.53 \text{ \AA}$, $\alpha = 90.00^\circ$, $\beta = 90.00^\circ$, $\gamma = 90.00^\circ$, $V = 4806 \text{ \AA}^3$

หากโมเลกุลเกสต์ที่มีขนาดเล็ก จะทำให้ค่ายูนิตเซลล์พารามิเตอร์น้อย เนื่องจากไม่กระทบต่อการจัดเรียงตัวของ CDs ทั้งนี้เมื่อพิจารณาขนาดของ FA จะพบว่ามีความใหญ่ไม่สามารถเข้าไปอยู่โพรงของ CDs ทั้งโมเลกุลได้ จึงส่งผลต่อการจัดเรียงตัวของ CDs ยูนิตเซลล์พารามิเตอร์จึงมีค่าเปลี่ยนแปลงไปจาก โครงสร้างชนิดไฮเดรตของ CDs ข้อสังเกตนี้จึงนำมาใช้ในการวิเคราะห์ว่าผลึกที่ได้เป็นผลึกสารเชิงซ้อนชนิดไฮเดรตหรือสารเชิงซ้อนอินคลูชันของ β -CD—FA และ α -CD—FA ได้

จากผลการทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันในระบบ β -CD—FA (ตารางที่ 3.1) และ α -CD—FA (ตารางที่ 3.2) พบว่า การใช้ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำสามารถแก้ไขปัญหการละลายของ FA ได้ อย่างไรก็ตาม โครงสร้างของ FA มีหมู่ไฮดรอกซิลเพียง 2 หมู่ จึงพบปัญหาการตกตะกอนของ FA และรบกวนระบบการตกผลึก การใช้ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 และ 70 โดยปริมาตร โดยมีอัตราส่วนโมลระหว่างโมเลกุลโฮสต์และเกสต์เท่ากับ 1:1 ดังตารางที่ 3.1 และ ตารางที่ 3.2 ให้ผลที่ไม่ต่างกัน คือ ผลึกที่ได้ส่วนใหญ่เป็นผลึกชนิดไฮเดรตของ โมเลกุลโฮสต์ ได้แก่ β -CD.11H₂O และ α -CD.6H₂O

นอกจากนี้ ในการทดลองตกผลึกที่มีอัตราส่วนโมลระหว่างโมเลกุลโฮสต์และเกสต์เท่ากับ 1:2 จะพบว่า มีผลึกของโมเลกุลเกสต์เกิดขึ้น คือ กรดเพอรูลิก [23] ซึ่งอยู่ในระบบ monoclinic สเปนเซอร์รูป $P2_1$ ยูนิตเซลล์พารามิเตอร์มีค่าดังนี้ $a = 4.64 \text{ \AA}$, $b = 16.84 \text{ \AA}$, $c = 12.02 \text{ \AA}$, $\alpha = 90.00^\circ$, $\beta = 90.15^\circ$, $\gamma = 90.00^\circ$, $V = 938 \text{ \AA}^3$ สำหรับค่าคงที่การเกิดสารเชิงซ้อนของ α -CD—FA และ β -CD—FA ในสถานะสารละลาย มีรายงานไว้เท่ากับ $53.2 \pm 3.4 \text{ M}^{-1}$ และ $176.5 \pm 5.0 \text{ M}^{-1}$ [10] ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่สูงมาก สาเหตุที่ไม่เกิดสารเชิงซ้อนอาจเป็นเพราะแรงยึดเหนี่ยวระหว่าง FA กับ α -CD และ FA กับ β -CD ยึดเหนี่ยวด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์มากกว่าพันธะไฮโดรเจน ทำให้ไม่สามารถเกิดเป็นสารเชิงซ้อนที่เป็นผลึกในสถานะของแข็งได้

ตารางที่ 3.2 ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน

α -CD—FA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ

อัตราส่วนโมล	ตัวทำละลายและปริมาณสารที่ใช้	ผลการตกผลึก	ผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผลึกเดี่ยว
1:1	1. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร - จำนวน 500 μ L - α -CD 75 mg - FA 16 mg	- เมื่อทิ้งสารละลายให้เย็นลงข้ามคืน พบว่ามีผลึกรูปบล็อก (block) เกิดขึ้น	- ผลึกรูปบล็อก (block) ทดสอบพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับ α -CD.6H ₂ O [24] - ทำการทดสอบกับผลึกอื่นในไวอัลเดียวกันที่มีขนาดต่างกันพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับ α -CD.6H ₂ O [24] เช่นกัน
1:2	2. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร - จำนวน 300 μ L - α -CD 47 mg - FA 18 mg	- เมื่อทิ้งสารละลายให้เย็นลงข้ามคืน พบว่ามีผลึกรูปแท่ง (rod) เกิดขึ้น 1 ชั้น	- ผลึกรูปแท่ง (rod) ขนาดใหญ่ มาตัดให้ได้ผลึกเดี่ยวขนาดเหมาะสม (0.24 x 0.44 x 0.62 mm) ทดสอบพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับ กรดเพอรูลิก [23]
1:3	3. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร - จำนวน 500 μ L - α -CD 47 mg - FA 28 mg	- เมื่อสารละลายระเหยไปประมาณ 1 สัปดาห์ พบว่าเกิดเป็นตะกอนอัดแน่นที่ก้นไวอัล	- ไม่มีการทดสอบ
1:1	4. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 30 โดยปริมาตร - จำนวน 300 μ L - α -CD 20 mg - FA 3 mg	- เมื่อทิ้งสารละลายให้เย็นลงข้ามคืน พบว่ามีผลึกรูปบล็อก (block) เกิดขึ้น และมีตะกอนเกิดขึ้นที่ก้นไวอัล	- ผลึกรูปบล็อก (block) ทดสอบพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับ α -CD.6H ₂ O [24]

3.1.2 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-GA และ γ -CD-GA

สำหรับโมเลกุลเกสท์ GA ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า FA ผู้วิจัยจึงทดลองตกผลึกโดยเลือกโมเลกุลโฮสต์เป็น β -CD และ γ -CD ซึ่งมีขนาดโพรงที่ใหญ่กว่า α -CD จากการทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-GA และ γ -CD-GA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ 50 โดยปริมาตร ในอัตราส่วนโมล 1:1 ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์แสดงดังตารางที่ 3.3

เมื่อพิจารณาจากขนาดของ GA จะพบว่า มีขนาดใกล้เคียงกับ FA ดังนั้น ขนาดของ GA จึงส่งผลต่อการจัดเรียงตัวของ CDs หากมีผลึกสารเชิงซ้อนเกิดขึ้น ค่ายูนิตเซลล์พารามิเตอร์จะมีค่าเปลี่ยนแปลงไปจากโครงสร้างชนิดไฮเดรตของ CDs ข้อสังเกตนี้จึงนำมาใช้ในการวิเคราะห์หว่าผลึกที่ได้เป็นผลึกสารเชิงซ้อนชนิดไฮเดรตหรือสารเชิงซ้อนอินคลูชันของ β -CD-GA และ γ -CD-GA

จากผลการทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันในระบบ β -CD-GA และ γ -CD-GA (ตารางที่ 3.3)

การใช้ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร ในการตกผลึกสารเชิงซ้อนระหว่าง β -CD กับ GA อัตราส่วนโมล 1:1 พบว่า มีผลึกใสไม่มีสี รูปร่างบล็อก (block) จากการตรวจวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ เพื่อหาขนาดยูนิตเซลล์พารามิเตอร์ พบว่า เป็นผลึกของ β -CD.11H₂O อย่างไรก็ตาม ผลึกที่ได้เป็นผลึกเดี่ยวคุณภาพดีกว่า β -CD.11H₂O ที่พบในระบบ β -CD-FA เนื่องจาก โครงสร้างของ GA มีหมู่ไฮดรอกซิลสูงกว่า (มีหมู่ไฮดรอกซิล 4 หมู่) ทำให้มีขั้วสูงและมีการละลายที่สูง จึงไม่พบปัญหาการตกตะกอนในการใช้ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ

สำหรับการตกผลึกสารเชิงซ้อนระหว่าง γ -CD กับ GA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร อัตราส่วนโมล 1:1 พบว่า ผลึกใสไม่มีสี รูปร่างบล็อก (block) ขนาดเล็กเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก แต่พบว่า ผลึกที่เกิดขึ้นมีคุณภาพไม่ดีพอ จึงไม่สามารถทำการตรวจวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์เพื่อหาขนาดยูนิตเซลล์พารามิเตอร์ได้ ทำให้ไม่มีการทดสอบในขั้นตอนต่อไป

การไม่เกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชัน ของระบบ β -CD-GA และ γ -CD-GA อาจเป็นผลมาจาก GA มีค่าการละลายน้ำที่สูง เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างทั้งหมด 4 หมู่ ทำให้สารอยู่ในสภาวะอิ่มตัวยิ่งยวดได้นานมาก จึงควรใช้สารที่ช่วยในการตกผลึก เช่น PEG เป็นต้น

ตารางที่ 3.3 ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน

β -CD—GA และ γ -CD—GA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ

โมเลกุลโฮสต์	อัตราส่วนโมล	ตัวทำละลายและปริมาณสารที่ใช้	ผลการตกผลึก	ผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผลึกเดี่ยว
β -CD	1:1	1. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร - จำนวน 500 μ L - β -CD 18 mg - GA 3 mg	- เมื่อสารละลายระเหยไปประมาณ 2 วันพบว่า มีผลึกใสไม่มีสี รูปลูกบล็อกรูปบล็อก (block)	- ผลึกรูปลูกบล็อกรูปบล็อก (block) ทดสอบพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับ β -CD.11 H ₂ O [22]
γ -CD	1:1	2. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร - จำนวน 500 μ L - γ -CD 97 mg - GA 13 mg	- เมื่อทิ้งสารละลายให้เย็นลงข้ามคืน พบว่ามีผลึกใส ไม่มีสี รูปลูกบล็อกรูปบล็อก (block) ขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก ภายใน 2 วัน	- ไม่มีการทดสอบ

3.1.3 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD—FA และ HP- β -CD—GA

สำหรับการตกผลึกสารเชิงซ้อนระหว่าง HP- β -CD กับ FA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร อัตราส่วนโมล 1:1 พบว่า มีผลึกใสไม่มีสี รูปร่าง (rod) จากการตรวจวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ เพื่อหาหน่วยเซลล์พารามิเตอร์ พบว่า มีค่าใกล้เคียงกับ กรดเพอรูลิก [22]

การที่ไม่เกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันของระบบ HP- β -CD—FA และ HP- β -CD—GA สาเหตุหนึ่งมาจาก HP- β -CD เป็นอนุพันธ์ของ β -CD ที่มีค่าการละลายที่สูงมาก (จากตารางที่ 2.1 บทที่ 2) เพราะโครงสร้างมีขั้วสูงทำให้สารอยู่ในสภาวะอิ่มตัวยิ่งยวดได้นานมาก ทำให้ไม่เกิดผลึกสารเชิงซ้อน

ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD—GA และ HP- β -CD—FA ในระบบตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ 50 โดยปริมาตร แสดงดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ผลการตกผลึกและผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD—GA และ HP- β -CD—FA ในตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำ

โมเลกุลเกสต์	อัตราส่วนโมล	ตัวทำละลาย	ผลการตกผลึก	ผลการทดสอบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผลึกเดี่ยว
กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid, FA)	1:1	1. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50% โดยปริมาตร - จำนวน 100 μ L - HP- β -CD 103 mg - FA 15 mg	- เมื่อทิ้งสารละลายให้เย็นลงข้ามคืน พบว่า มีผลึกรูปแท่ง (rod) - เมื่อสารละลายระเหยไปประมาณ 2 วัน พบว่า สารละลายชั้นหนืดติดกันไว้อัล	- ผลึกรูปแท่ง (rod) ทดสอบพบว่า มีค่าคงที่ยูนิตเซลล์ใกล้เคียงกับกรดเฟอร์ูลิก [22]
	1:2	2. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50% โดยปริมาตร - จำนวน 100 μ L - HP- β -CD 103 mg - FA 30 mg	- ไม่ได้สารละลายใส แม้จะเพิ่มอุณหภูมิถึง 60°C นาน 3 ชม. จึงหยุดการทดลองไว้	- ไม่มีการทดสอบ
กรดแกลลิก (gallic acid, GA)	1:1	3. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร - จำนวน 500 μ L - HP- β -CD 56 mg - GA 7 mg	- ไม่มีผลึกเกิดขึ้น	- ไม่มีการทดสอบ
	1:2	4. ตัวทำละลายผสมเอทานอลกับน้ำร้อยละ 50 โดยปริมาตร - จำนวน 500 μ L - HP- β -CD 56 mg - GA 14 mg	- ไม่มีผลึกเกิดขึ้น	- ไม่มีการทดสอบ

เนื่องจากได้พยายามตกผลึกอยู่ระยะเวลาหนึ่ง แต่ยังไม่ได้ผลึกของสารเชิงซ้อนอินคลูชันที่ต้องการ เพื่อให้สามารถเรียนรู้ฝึกฝนการขัดเกลาโครงสร้างจากข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์จริงของผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -CD—FA กลางเดือนธันวาคม 2562 อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลรังสีเอกซ์ (ผลึกเตรียมได้จาก 50% โดยปริมาตรของเอทานอล-น้ำซึ่งนิสิตลองทำซ้ำแต่ไม่ได้ผลึก) ในภาคปลาย ก่อนสิ้นเดือนกุมภาพันธ์ 2563 นิสิตกำหนดแผนงานว่าจะทำการประมวลผลข้อมูล (การหาค่าตอบโครงสร้างและการขัดเกลาโครงสร้าง) ให้ได้โครงสร้างผลึกที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องและคุณภาพด้วยเว็บไซต์ IUCr checkcif รวมถึงทำการวิเคราะห์โครงสร้างให้เสร็จเรียบร้อย

3.2 การวิเคราะห์เชิงผลึกศาสตร์จากข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

3.2.1 การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

ผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -CD—FA เป็นผลึกใสไม่มีสี รูปแผ่น ขนาด 0.06 x 0.20 x 0.24 mm โครงสร้างผลึกอยู่ในระบบ orthorhombic สเปนเซอร์รูป $P2_12_12_1$ ยูนิตาพารามิเตอร์มีค่าดังนี้ $a = 14.00 \text{ \AA}$, $b = 19.30 \text{ \AA}$, $c = 22.58 \text{ \AA}$, $\alpha = 90.00^\circ$, $\beta = 90.00^\circ$, $\gamma = 90.00^\circ$ ข้อมูลรีเฟลคชันทั้งหมด (total reflections) จำนวน 35912 ถูกรวบรวมขึ้นที่อุณหภูมิ 296 K ในช่วงมุม $\theta = 1.39^\circ - 25.59^\circ$ มีความสมบูรณ์ของข้อมูล (completeness) 99.0% เป็นข้อมูลรีเฟลคชันเดี่ยว (unique reflections) จำนวน 2760 และมีค่า $R_{\text{int}} = 0.1172$ ดังแสดงรายละเอียดเพิ่มเติมในตารางที่ 3.5

3.2.2 การหาคำตอบและการขัดเกลารูปโครงสร้างผลึก

โครงสร้างผลึกได้ถูกแก้ปัญหาลำดับด้วยวิธีตรง (direct methods) ใช้โปรแกรม SHELXS [20] ในขั้นตอนนี้จะสามารถระบุอะตอมที่ไม่ใช่ไฮโดรเจน (non-hydrogen atom) ของ α -CD และ โมเลกุลน้ำ หลังจากนั้นทำการขัดเกลารูปโครงสร้างแบบแอนไอโซทรอปิก (anisotropic refinement) ด้วยวิธี full-matrix least squares โดยใช้โปรแกรม SHELXL หลังจากนั้นหาตำแหน่งอะตอมไฮโดรเจนและอะตอมที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนของตัวทำละลายในโครงสร้างผลึกที่เหลือโดยคำนวณตาม riding model สำหรับไฮโดรเจนของโมเลกุลน้ำใช้คำสั่ง AFIX 3 และกำหนด $U_{\text{iso}} = 1.5U_{\text{eq}}$ (water) กรณีหาอะตอมไฮโดรเจนของน้ำได้ทั้ง 2 โมเลกุล ต้องจำกัดความยาวพันธะ O-H โดยใช้คำสั่ง DFIX และคำสั่ง BUMP เพื่อป้องกันไม่ให้ระยะ $H \cdots H$ ใกล้กันเกินไป

สำหรับ โครงสร้างสารเชิงซ้อน α -CD—FA มีพารามิเตอร์เชิงอะตอม (atomic parameters) ทั้งหมดจำนวน 814 กับข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์จำนวน 11285 สิ้นสุดที่ $R_1 = 0.0978$ โคออร์ดิเนตลำดับส่วนของอะตอมที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนและแฟกเตอร์ของอุณหภูมิแบบไอโซทรอปิก (U_{eq}) ของสารเชิงซ้อน แสดงไว้ในภาคผนวก ก ข้อมูลความยาวพันธะและมุมพันธะ แสดงในภาคผนวก ข และ ค ตามลำดับ ข้อมูลพารามิเตอร์เชิงโครงสร้างที่สำคัญของสารเชิงซ้อนแสดงดังตารางที่ 3.6 โมเลกุลของสารเชิงซ้อนแสดงการสั่นเชิงอุณหภูมิ (thermal vibration) ที่ปกติแสดงด้วยออร์เทปพลอต (ORTEP plot) ในรูปที่ 3.1 ข้อมูลบางส่วนนำเสนอเชิงเปรียบเทียบในรูปแบบของกราฟเรดาร์ในรูปที่ 3.2

ตารางที่ 3.5 ข้อมูลทางผลึกศาสตร์ของสารเชิงซ้อน α -CD—FA

สูตรเคมี	$C_{46} H_{70} O_{43}$
น้ำหนักตามสูตรเคมี	1311.02
รูปร่าง, สี, ขนาด (mm)	รูปแผ่น, ไม่มีสี, ขนาด 0.06 x 0.20 x 0.24 mm
ระบบผลึก, สเปนเซอร์ูป	Orthorhombic, $P2_12_12_1$
ยูนิตเซลล์พารามิเตอร์ a, b, c (Å)	14.0014(14), 19.2972(19), 22.580(3)
α, β, γ (°)	90, 90, 90
ปริมาตรของยูนิตเซลล์ (Å ³)	6100.9(11)
จำนวนหน่วยสูตรต่อยูนิตเซลล์ (Z)	4
ความหนาแน่นผลึกที่คำนวณได้ (gcm ⁻³)	1.427
สัมประสิทธิ์การดูดซับ (μ , mm ⁻¹)	0.129
จำนวนอิเล็กตรอนต่อยูนิตเซลล์ [F(000)]	2760
เครื่องวัดการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	APEXII Kappa CCD (Bruker)
รังสีที่ใช้, ความยาวคลื่น (Å)	MoK α , 0.71073
อุณหภูมิ (K)	296
ช่วงมุม θ ในการรวบรวมข้อมูล (°)	1.388° to 25.548°
จำนวนรีเฟลคชันทั้งหมด/รีเฟลคชันอิสระ	35863/ 11285
ความสมบูรณ์ของข้อมูล (%), R_{int}	99.0%. 0.1172
ช่วงของค่า h k l	-16 \leq h \leq 13, -22 \leq k \leq 23, -27 \leq l \leq 27
จำนวนรีเฟลคชันเดี่ยวที่มี $F^2 > 2(F^2)$	2760
วิธีการหาค่าตอบโครงสร้าง	วิธีตรง (direct methods)
วิธีการขัดเกลารูปโครงสร้าง	Full-matrix least-square on F^2
รูปแบบของการให้น้ำหนัก (Weighting scheme)	$w = [\sigma^2(F_o^2) + (0.1601P)^2 + 0.00P]^{-1}$ เมื่อ $P = (\text{Max}(F_o^2, 0) + 2F_c^2) / 3$
จำนวนข้อมูล/พารามิเตอร์/restraint	11285 / 814 / 5
R_1 , wR_2 [$F^2 > 4(F^2)$]	0.0978, 0.2396
R_2 , wR_2 [ข้อมูลทั้งหมด]	0.1869, 0.2906
คุณภาพการฟิต (GoF)	1.021
พีคสูงสุด/หลุมลึกสุด (e Å ⁻³)	0.489/-0.382

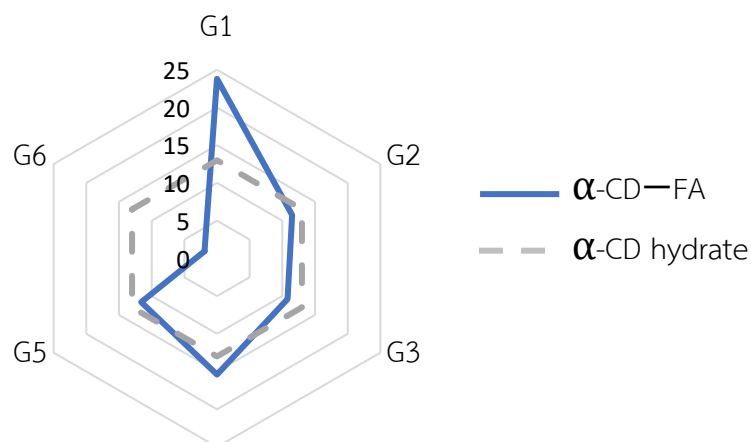
ตารางที่ 3.6 พารามิเตอร์เชิงโครงสร้างที่สำคัญของสารเชิงซ้อน α -CD—FA

	หน่วยกลูโคส					
	1	2	3	4	5	6
(a) Puckering parameter	0.561, 3.9	0.550, 3.6	0.565, 2.0	0.559, 7.7	0.549, 1.5	0.527, 9.3
(b) มุมเอิน ($^{\circ}$)	23.8	11.5	10.8	15.4	11.6	1.9
(c) ระยะทางที่ O-4(n) เบี่ยงเบนไปจากระนาบ O4 (\AA)	-0.149	0.125	0.028	-0.157	0.1339	0.0189
(d) ระยะห่าง O-4(n)—O-4(n-1) (\AA) และ O-4(n)—centroid (\AA)	4.281 4.174	4.289 4.263	4.258 4.336	4.223 4.172	4.324 4.234	4.152 4.327
(e) ระยะห่าง O3(n)...O2(n+1) (\AA)	2.8569	2.9348	3.0194	2.8107	2.8393	3.1218
(f) มุมทอร์ชัน บริเวณพันธะไกลโคลซิดิก ชนิด ϕ และ ψ ($^{\circ}$)	103.77 -119.56	103.76 -107.31	105.06 -108.87	111.83 -115.90	107.89 -118.90	113.91 -93.55
(g) มุมทอร์ชัน ภายในโมเลกุลกลูโคส ชนิด ω และ χ ($^{\circ}$)	-62.69 55.73	-58.34 62.83	-61.72 60.37	-60.22 60.46	67.30 -173.12	-57.89 61.49

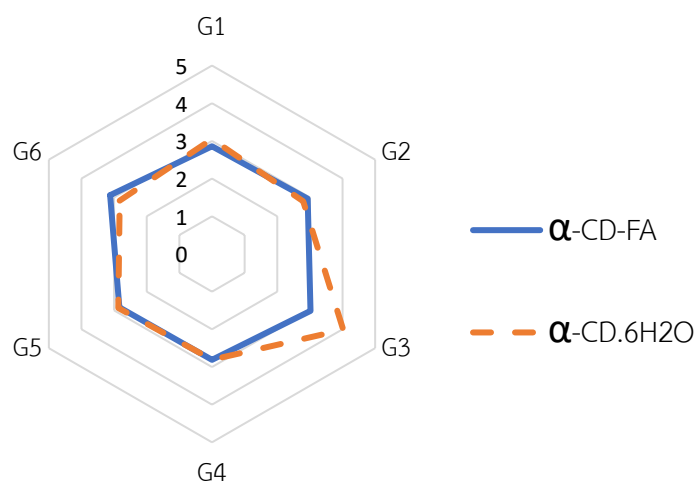
3.2.3 การเปรียบเทียบโครงสร้างของสารเชิงซ้อน α -CD—FA กับ α -CD ไฮเดรต

ทุกหน่วยของกลูโคสมีคอนฟอร์เมชัน (conformation) แบบเก้าอี้ 4C_1 ที่ปกติ ดังแสดงได้จากค่า Cremer-Pople puckering parameters Q, θ ของโครงสร้าง α -CD—FA มีค่าอยู่ในช่วง 0.527-0.565 \AA และ 1.5-9.3 $^{\circ}$ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับคอนฟอร์เมชัน (conformation) แบบเก้าอี้ในอุดมคติ มุมเอิน (tilt angle) บ่งบอกถึงระดับความเอินของหน่วยกลูโคสกับระนาบ O4 ของโมเลกุล α -CD จากกราฟเรดาร์ดังแสดงในรูป 3.1ก พบว่าสารเชิงซ้อน α -CD—FA มีขนาดของมุมเอินเล็กกว่าค่าเฉลี่ยของมุมเอิน α -CD hydrate (ค่าเฉลี่ยของมุมเอิน α -CD hydrate มีค่า 13 $^{\circ}$) ยกเว้นในหน่วยกลูโคสที่ 1 และ 4 จะมีค่ามุมเอินที่มากกว่า ค่าเฉลี่ยของมุมเอิน α -CD hydrate จากข้อมูลนี้จึงบอกได้ว่า สารเชิงซ้อน α -CD—FA ที่เกิดขึ้นมีคอนฟอร์เมชันที่เปลี่ยนไปน้อยเมื่อเทียบกับ α -CD hydrate

เมื่อพิจารณาระยะห่าง $O3(n)...O2(n+1)$ ซึ่งบอกถึงความแข็งแรงของการสร้างพันธะไฮโดรเจน โครงสร้างของสารเชิงซ้อน $\alpha\text{-CD-FA}$ มีค่าอยู่ในช่วง $2.8107\text{-}3.1218\text{\AA}$ จากกราฟเรดาร์ในรูปที่ 3.1 ข พบว่า $\alpha\text{-CD-FA}$ ในหน่วยกลูโคสที่ 3 มีค่าน้อยกว่าและมากกว่าในหน่วยกลูโคสที่ 6 เมื่อเทียบกับค่าระยะห่าง $O3(n)...O2(n+1)$ ของ $\alpha\text{-CD}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ จึงกล่าวได้ว่า ขนาดโพรงของ $\alpha\text{-CD}$ มีการเปลี่ยนแปลงน้อยเมื่อเทียบกับ $\alpha\text{-CD}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เนื่องจาก ขนาดของเอสทโมเลกุลมีขนาดใหญ่จึงไม่สามารถเข้าไปอยู่ในโพรงทั้งหมดได้ ดังนั้น เป็นผลทำให้ขนาดโพรงของ $\alpha\text{-CD}$ และคอนฟอร์เมชันเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเพียงเล็กน้อย



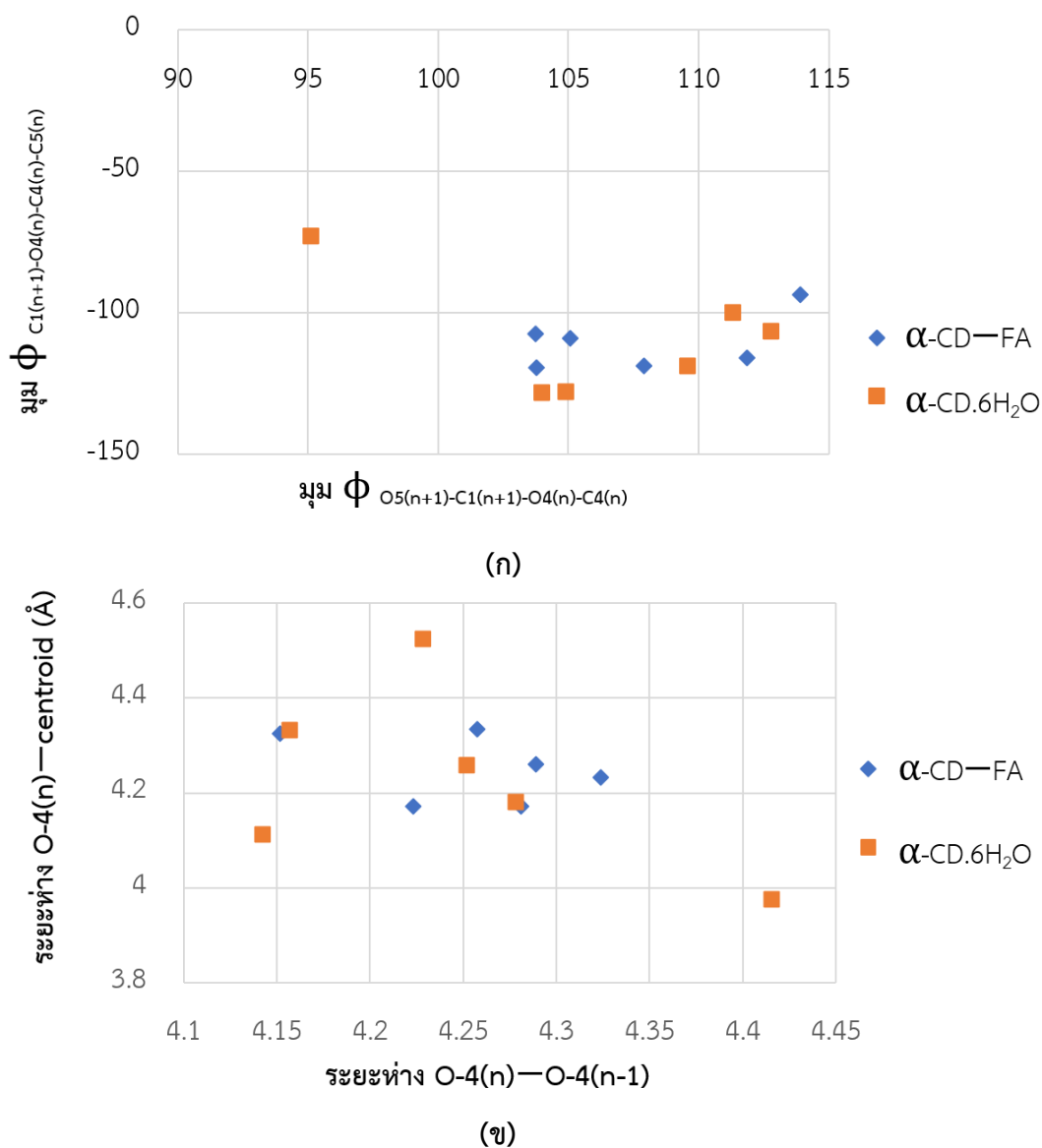
(ก)



(ข)

รูปที่ 3.1 กราฟเรดาร์ (ก) มุมเอนของสารเชิงซ้อน $\alpha\text{-CD-FA}$ เปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของ $\alpha\text{-CD hydrate}$
 (ข) ระยะห่าง $O3(n)...O2(n+1)$ ในหน่วยกลูโคสทั้ง 6 หน่วยของสารเชิงซ้อน $\alpha\text{-CD-FA}$
 เปรียบเทียบกับ $\alpha\text{-CD}\cdot 6\text{H}_2\text{O}$

ถ้าหน่วยของกลูโคสทั้ง 6 หน่วย มีความสัมพันธ์ระหว่างมุมทอร์ชันบริเวณพันธะไกลโคซิดิกชนิด ψ และ ϕ ($^{\circ}$) ใกล้เคียงกัน แสดงว่า หากมองจากด้านบนของโครงสร้าง รูปร่างของโพรงจะมีลักษณะเป็นรูปวงกลมมาก จากกราฟแสดงการกระจายข้อมูลของมุมทอร์ชันชนิด ϕ กับ ψ ($^{\circ}$) และระยะห่างของ O-4(n)—O-4(n-1) (\AA) กับระยะห่าง O-4(n)—centroid ในรูปที่ 3.2ก และ 3.2ข พบว่า α -CD—FA มีการกระจายข้อมูลคล้ายกับข้อมูลของ α -CD.6H₂O จึงสรุปได้ว่าคอนฟอร์เมชันและรูปร่างลักษณะของโพรง α -CD ของ α -CD—FA มีลักษณะคล้ายคลึงกับ α -CD.6H₂O ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลมุมเอินและระยะห่าง O3(n)...O2(n+1)



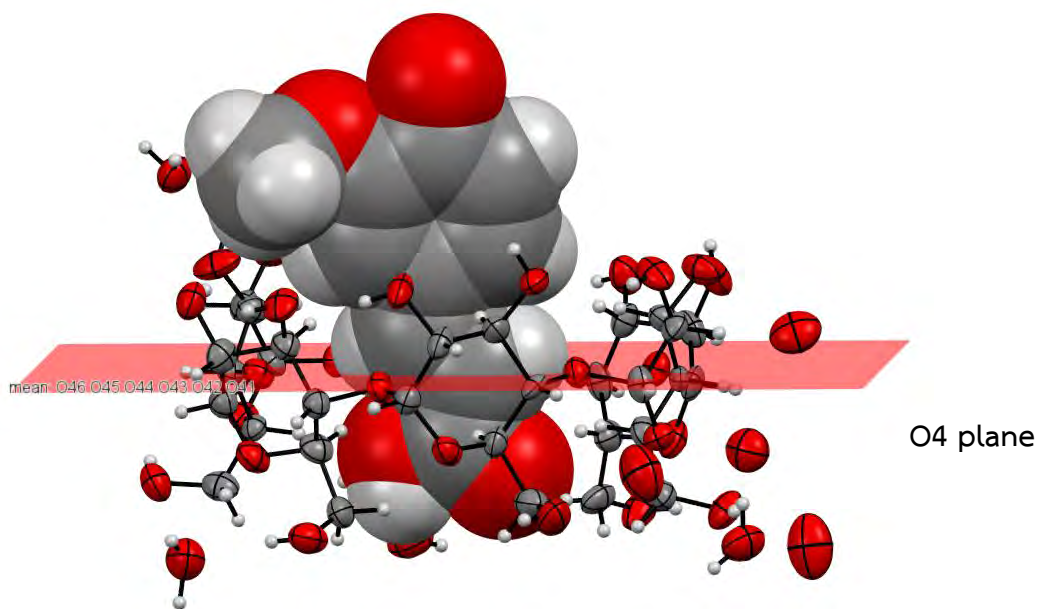
รูปที่ 3.2 กราฟแสดงการกระจายข้อมูลของ (ก) มุมทอร์ชันชนิด ϕ และ ψ ($^{\circ}$) ที่บริเวณพันธะไกลโคซิดิก (ข) ระยะห่าง O-4(n)—O-4(n-1) (\AA) และระยะห่าง O-4(n)—centroid ของสารเชิงซ้อน α -CD—FA เปรียบเทียบกับ α -CD.6H₂O

ทิศทางและตำแหน่งของหมู่ O6-H จะมีความยืดหยุ่นสูง ซึ่งสามารถชี้เข้าโพรงหรือออกโพรง α -CD ได้ พิจารณาค่ามุมทอร์ชันชนิดเอกโซไซคลิก (exocyclic torsion angles) ได้แก่ มุม χ และ ω พบว่า หมู่ O6-H จะมีลักษณะชี้ออกจากโพรง α -CD เมื่อมุม χ และ ω มีค่าบวกและลบ ตามลำดับ ในทางตรงกันข้าม หากมีค่าเป็นลบและบวกตามลำดับ หมู่ O6-H จะมีลักษณะชี้เข้าหาโพรง α -CD เมื่อพิจารณาค่ามุม χ และ ω ใน α -CD—FA จึงพบว่าหมู่ O6-H จะมีลักษณะชี้ออกจากโพรงเกือบทั้งหมด ยกเว้นหน่วยกลูโคสที่ 5 ซึ่งมีค่า มุม χ และ ω เท่ากับ -173.12° และ 67.30° ซึ่งเป็นค่าลบและบวกตามลำดับ จึงมีทิศชี้เข้าหาโพรงและทิศทางแบบ gauche-trans

3.2.4 การแทรกตัวของโมเลกุลเอสทีในโพรงของ α -CD

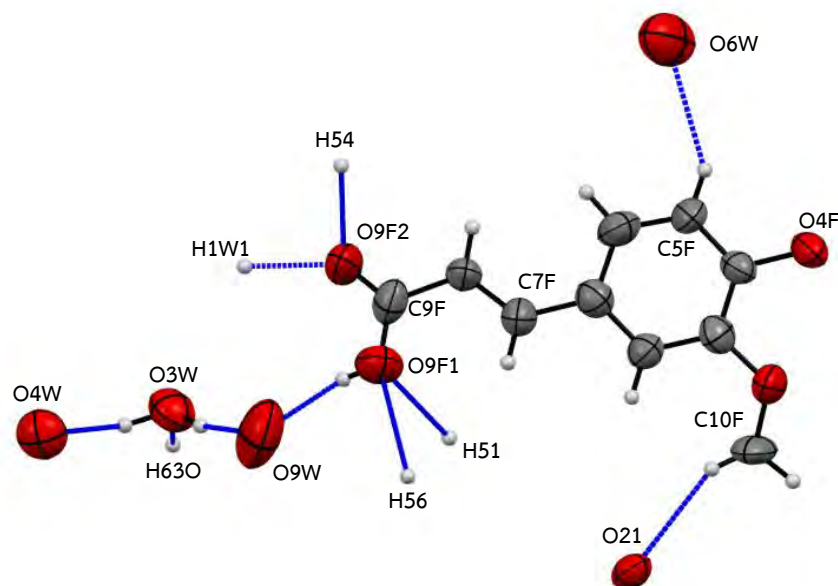
โมเลกุลของ FA วางตัวอยู่ในโพรงโดยส่วนของวงอะโรมาติกของ FA จะวางตัวอยู่เหนือระนาบ O4 ขึ้นไป ดังแสดงในรูปที่ 3.3 โดยหมู่ C8F จะอยู่ใกล้จุดเซนทรอยด์มากที่สุดเพียง 0.388 \AA จากผลการทดลองนี้ พบว่า สอดคล้องกับผล $^1\text{H-NMR}$ spectrum ในปี ค.ศ. 2008 Cecilia Anselmi และคณะ [8] ที่ระบุว่าส่วนของหมู่อะโรมาติกของ FA อยู่ในโพรงของ α -CD ส่วนหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอกซิลอยู่ด้านนอกที่ฝั่งด้านกว้างของ α -CD

นอกจากนี้ FA ยังสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนอย่างอ่อนกับโมเลกุลน้ำและโมเลกุล α -CD ได้ดังแสดงในรูปที่ 3.4 และรายละเอียดพันธะไฮโดรเจนของสารเชิงซ้อน α -CD—FA ทั้งหมดแสดงตารางที่ 3.7



รูปที่ 3.3 ออร์เทฟพลอตของสารเชิงซ้อน α -CD—FA

สีเทาเข้มแทนอะตอมคาร์บอน สีแดงแทนอะตอมออกซิเจน และสีเทาอ่อนแทนอะตอมไฮโดรเจน



รูปที่ 3.4 พันธะไฮโดรเจนอย่างอ่อนระหว่าง α -CD—FA กับโมเลกุลน้ำและโมเลกุล α -CD

ตารางที่ 3.7 พารามิเตอร์พันธะไฮโดรเจนของสารเชิงซ้อน α -CD—FA

D-H...A	D-H	H...A	D...A	\angle (DHA)
α-CD—α-CD				
O21-H21O...O36	0.82	2.33	3.122(14)	163.6
O22-H22O...O31	0.82	2.07	2.857(13)	162.2
O32-H32O...O64 ⁱ	0.82	1.98	2.712(13)	148.4
O23-H23O...O32	0.82	2.24	2.935(13)	143
O33-H33O...O24	0.82	2.26	3.019(13)	155.2
O34-H34O...O25	0.82	2.04	2.811(13)	157.2
O25-H25O...O22 ⁱⁱ	0.82	2.6	3.364(12)	156.5
O35-H35O...O22 ⁱⁱ	0.82	1.99	2.776(12)	159.6
O65-H65O...O23 ⁱⁱⁱ	0.82	2.06	2.780(15)	146.7
O26-H26O...O35	0.82	2.22	2.839(13)	132.1
α-CD—FA				
C51-H51...O9F1	0.98	2.61	3.480(19)	147.5
O62-H62O...O3F ^{iv}	0.82	2.11	2.867(15)	153.7
C54-H54...O9F2	0.98	2.61	3.52(2)	154.8

ตารางที่ 3.7 (ต่อ)

D-H...A	D-H	H...A	D...A	∠ (DHA)
α-CD—FA				
C56-H56...O9F1	0.98	2.6	3.554(16)	165.6
C10F-H10A...O21	0.96	2.62	3.316(19)	129.7
α-CD—H₂O				
O61-H61O...O1W	0.82	1.98	2.713(16)	148.7
O31-H31O...O5W ^v	0.82	2.3	2.991(17)	142.8
FA—H₂O				
C5F-H5F...O6W ^{vi}	0.93	2.61	3.42(2)	145.8
O9F1-H9F1...O9W ^{vii}	0.82	1.97	2.61(2)	135.3
O1W-H1W1...O9F2 ^{viii}	0.96	1.87	2.763(16)	152.7
α-CD—H₂O				
O63-H63O...O3W	0.82	1.97	2.757(14)	159.8
O24-H24O...O5W ^{vi}	0.82	2.38	3.191(16)	173.4
O64-H64O...O7W ^{ix}	0.82	2.12	2.906(16)	160.4
O36-H36O...O2W ⁱⁱ	0.82	2.32	2.876(17)	126
O66-H66O...O7W ^x	0.82	2.46	3.251(15)	163.1
O1W-H2W1...O6W ^v	0.96	1.98	2.90(2)	160.5
O3W-H1W3...O4W	0.96	1.99	2.880(16)	153.2
O3W-H2W3...O9W ^{xi}	0.97	1.85	2.803(19)	166.9
O8W-H1W8...O5W ⁱⁱ	0.96	2.44	3.312(17)	150.1
O8W-H2W8...O2W ⁱⁱ	0.96	2.39	3.34(2)	171.2

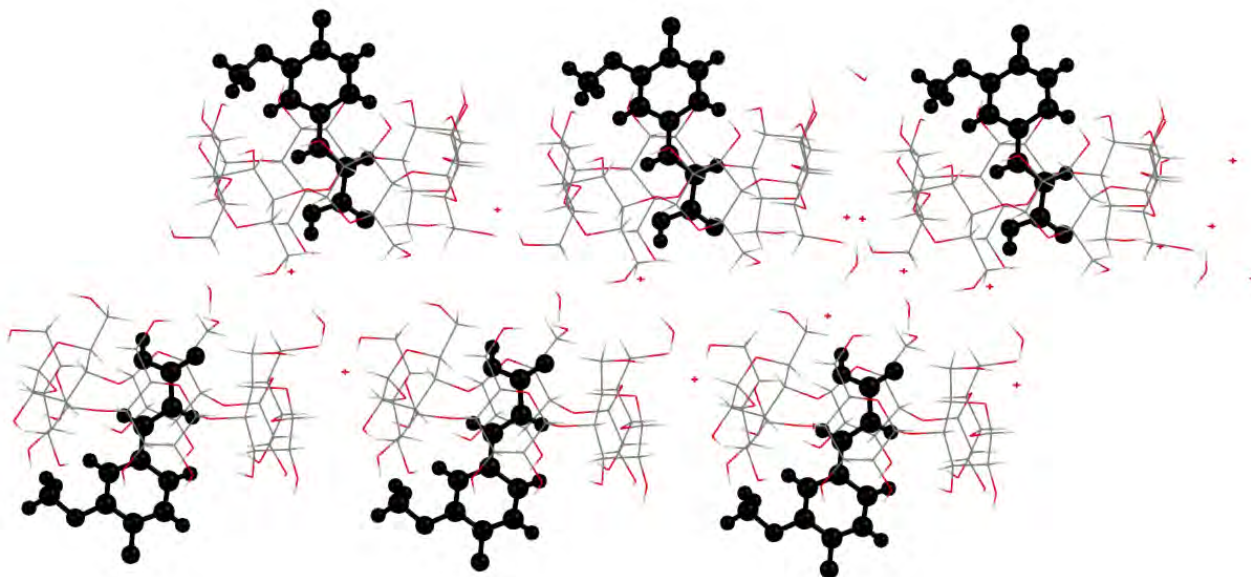
ตำแหน่งทั่วไป (general equivalent position)

- | | |
|-----------------------------|------------------------------|
| (i) $-x+1/2, -y+1, z+1/2$ | (vii) $-x+3/2, -y+1, z+1/2$ |
| (ii) $-x+1, y-1/2, -z+3/2$ | (viii) $x+1/2, -y+3/2, -z+1$ |
| (iii) $-x+1/2, -y+1, z-1/2$ | (ix) $x-1/2, -y+1/2, -z+1$ |
| (iv) $-x+1, y+1/2, -z+3/2$ | (x) $x+1/2, -y+1/2, -z+1$ |
| (v) $x+1, y, z$ | (xi) $-x+1, y+1/2, -z+1/2$ |
| (vi) $-x, y-1/2, -z+3/2$ | |

3.2.5 การเรียงตัวของ α -CD ในโครงสร้างผลึก

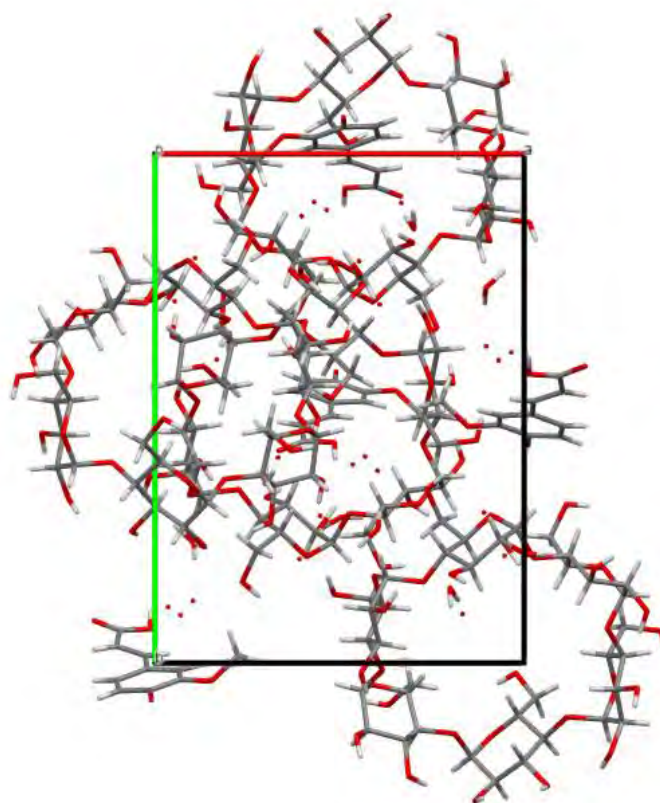
เมื่อโมเลกุลของ FA เข้าไปอยู่ในโพรงเกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับ α -CD ทำให้การจัดเรียงตัวของ α -CD เปลี่ยนแปลงไปจากลักษณะการเรียงตัวแบบช่องเป็นลักษณะโครงสร้างแบบชั้นหรือกำแพงอิฐ ดังแสดงในรูปที่ 3.5 แต่ละโมเลกุลจะสัมผัสกับช่องว่างระหว่างโมเลกุล α -CD เพื่อรองรับโครงสร้างของ FA บางส่วนที่ยื่นออกมา เพราะ FA มีขนาดค่อนข้างใหญ่จึงไม่สามารถเข้าไปอยู่ในโพรง α -CD ได้ทั้งหมด

ภาพโปรเจกชันของการเรียงตัวของ α -CD-FA บนยูนิตเซลล์ แสดงดังรูปที่ 3.6 ภาพบนระนาบ ab หรือ หน้า C ของยูนิตเซลล์ รูปที่ 3.6ข ภาพบนระนาบ ac หรือ หน้า B ของยูนิตเซลล์

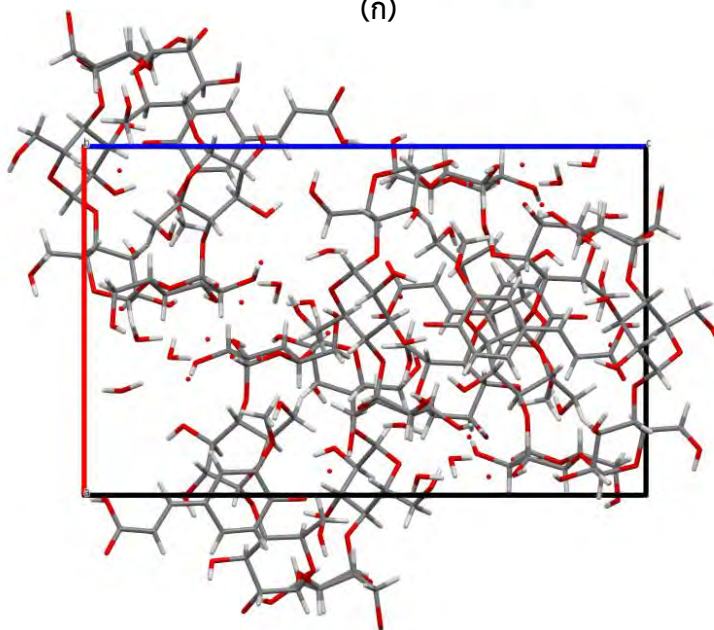


รูปที่ 3.5 การเรียงตัวแบบกรงของ α -CD—FA

(α -CD วาดแบบ wireframe models สีเทาแทนอะตอมคาร์บอนและสีแดงแทนอะตอมออกซิเจน และ FA แสดงด้วยสีดำ วาดแบบ ball and stick models)



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.6 ภาพโปรเจกชันของการเรียงตัวของ α -CD—FA บนยูนิตเซลล์ (ก) ภาพบนระนาบ ab หรือ หน้า C ของยูนิตเซลล์ (ข) ภาพบนระนาบ ac หรือ หน้า B ของยูนิตเซลล์

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

4.1 สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 เป็นการทดลองตกผลึก และ ส่วนที่ 2 เป็นการวิเคราะห์เชิงผลึกศาสตร์จากข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

4.1.1 การทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันไซโคลเดกซ์ทริน

การตกผลึกเป็นขั้นตอนเริ่มต้นที่สำคัญของงานวิจัยเชิงผลึกศาสตร์ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ต้องใช้เวลาในการลองผิดลองถูกเพื่อค้นหาสภาวะที่เหมาะสมในการตกผลึกของสารหนึ่ง ๆ สำหรับงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้วิธีการตกผลึกโดยการระเหยตัวทำละลายอย่างช้า ๆ (slow solvent evaporation) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่จะทำให้ได้ผลึกเดี่ยวที่มีคุณภาพดีและมีขนาดเหมาะสม แม้ว่าผู้วิจัยได้ใช้ความพยายามอย่างยิ่งในการทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนระหว่าง CDs กับกรดเพอรูลิกและกรดแกลลิก แต่ไม่สามารถได้ผลึกที่ต้องการ ปัญหาและอุปสรรคที่เกิดขึ้นพอจะสรุปได้ดังนี้

4.1.1.1 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-FA และ α -CD-FA

สำหรับการทดลองตกผลึก β -CD กับกรดเพอรูลิก กรดเพอรูลิกแทบจะไม่สามารถละลายในน้ำบริสุทธิ์ได้ จึงต้องใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำและเอทานอลในการแก้ไขปัญหาละลายนี้ แต่เมื่อเวลาผ่านไป β -CD มีแนวโน้มจะตกผลึกแยกออกมาจากสารละลายก่อนเสมอ และเมื่อทำการทดสอบการเลี้ยวเบนพบว่าเป็นผลึกของ β -CD.11H₂O ในบางครั้งยังพบว่าเกิดการตกผลึกแยกกันระหว่าง β -CD และ กรดเพอรูลิกภายในไวอัลเดียวกันอีกด้วย นอกจากนี้กรดเพอรูลิกอาจมีขนาดเล็กเกินไปสำหรับโพรง β -CD ทำให้ไม่สามารถเข้าแทรกตัวอยู่ในโพรง β -CD ได้

สำหรับการทดลองตกผลึก α -CD กับกรดเพอรูลิก การที่ α -CD มีขนาดโพรงที่เล็กลงน่าจะทำให้กรดเพอรูลิกสามารถแทรกเข้าไปอยู่ในโพรงได้ อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองพบว่า เมื่อเวลาผ่านไป β -CD มีแนวโน้มจะตกผลึกแยกออกมาจากสารละลาย เมื่อทำการทดสอบการเลี้ยวเบนพบว่าเป็นผลึกของ α -CD.6H₂O และไม่พบผลึกของสารเชิงซ้อนเกิดขึ้น

4.1.1.2 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD-GA และ γ -CD-GA

สำหรับการทดลองตกผลึก β -CD กับกรดแกลลิก โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำและเอทานอลในการแก้ไขปัญหาละลายนี้ แต่เมื่อเวลาผ่านไป β -CD มีแนวโน้มจะตกผลึกแยกออกมาจากสารละลายก่อน และเมื่อทำการทดสอบการเลี้ยวเบนพบว่าเป็นผลึกของ β -CD.11H₂O นอกจากนี้กรดแกลลิกอาจมีขนาดใหญ่เกินไปสำหรับโพรง β -CD ทำให้ไม่สามารถเข้าแทรกตัวอยู่ในโพรง β -CD ได้

สำหรับการทดลองตกผลึก γ -CD กับกรดเพอรูลิก การที่ γ -CD มีขนาดโพรงที่ใหญ่ขึ้นน่าจะช่วยให้กรดแกลลิกสามารถแทรกเข้าไปอยู่ในโพรงได้ อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองพบว่า ถึงแม้จะเตรียมสารละลายอิ่มตัวยิ่งยวดแล้วก็ไม่สามารถตกผลึกออกมาได้ อย่างไรก็ตามปัญหาละลายอาจแก้ไขได้โดยใช้วิธีการตกผลึกแบบอื่น เนื่องจาก γ -CD มีค่าการละลายน้ำที่สูงจึงยังคงละลายอยู่ในสารละลาย เป็นผลทำให้ยังไม่ได้ผลึกของสารเชิงซ้อนที่ต้องการ

4.1.1.3 ระบบสารเชิงซ้อนอินคลูชัน HP- β -CD-FA และ HP- γ -CD-GA

การที่ไม่เกิดสารเชิงซ้อนอินคลูชันของระบบ HP- β -CD-FA และ HP- β -CD-GA สาเหตุหนึ่งมาจาก HP- β -CD เป็นอนุพันธ์ของ β -CD ที่มีค่าการละลายที่สูง ซึ่งเป็นเพราะโครงสร้างมีขั้วสูง ทำให้สารอยู่ในสภาวะอิ่มตัวยิ่งยวดได้นานมาก ทำให้ไม่เกิดผลึกสารเชิงซ้อน

4.1.2 การวิเคราะห์เชิงผลึกศาสตร์จากข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์

ถึงแม้ว่าผู้วิจัยไม่สามารถตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชันระหว่าง α -CD, β -CD และ γ -CD กับพอลิฟีนอล (กรดแกลลิกและกรดเพอรูลิก) ได้ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -CD-FA จากอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการมาวิเคราะห์ ทำให้ผู้วิจัยได้เรียนรู้ ฝึกฝน และได้ประสบการณ์ในการทำงานวิจัยทางผลึกศาสตร์

สำหรับโครงสร้างผลึกของสารเชิงซ้อนที่ได้รับพบว่า ผลึกอยู่ในระบบ orthorhombic สเปนเซอร์ P2₁2₁2₁ ยูนิตาเซลล์มีค่าดังนี้ a = 14.00 Å, b = 19.30 Å, c = 22.58 Å, α = 90.00°, β = 90.00°, γ = 90.00° ผลการขัดเกลาคโครงสร้างนี้มีค่าเท่ากับ R1 factor = 9.78% จากการวิเคราะห์โครงสร้างพบว่า FA วางตัวอยู่ในโพรงของ α -CD โดยเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุล α -CD และโมเลกุลน้ำ

4.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนในงานวิจัยนี้ ได้เลือกใช้วิธีการระเหยตัวทำละลายอย่างช้า ๆ (slow solvent evaporation) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่นิยมใช้ในการตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชัน อย่างไรก็ตาม ยังมีวิธีอื่นที่ผู้วิจัยยังไม่ได้ทดลอง เช่น การแพร่ของไอตัวทำละลาย (vapor diffusion) หรือ การแยกชั้นของตัวทำละลาย (solvent layering) เป็นต้น จึงควรทดลองตกผลึกด้วยวิธีอื่นเพิ่มเติม

สรุปผลการดำเนินงานตลอดระยะเวลาโครงการแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สรุปผลการดำเนินงานตลอดระยะเวลาโครงการ

กิจกรรมตามแผนงาน	วันที่คาดว่าจะเสร็จ	ผลที่คาดหวัง	กิจกรรมที่ทำจริง	วันที่ทำเสร็จ	ผลที่ได้จริง
1. ตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -CD, β -CD และ γ -CD กับพอลิพีโนล (กรดแกลลิกและกรดเพอรูลิก) รวมถึงการทดสอบผลึกและการเก็บข้อมูลการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์	30.12.62	- ผลึกสารเชิงซ้อน	- ทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -CD, β -CD กับกรดเพอรูลิก - ทดลองตกผลึกสารเชิงซ้อนอินคลูชัน β -CD, γ -CD กับกรดแกลลิก	30.11.62	- ไม่ได้ผลึกสารเชิงซ้อนที่ต้องการ แต่ได้ผลึกของโมเลกุลโฮสต์และโมเลกุลเกสต์แยกกัน ได้แก่ β -CD.9H ₂ O, α -CD.7.57H ₂ O และกรดเพอรูลิก
2. หาคำตอบโครงสร้างและขีดเกล้าโครงสร้างของสารเชิงซ้อนอินคลูชันตามแผนการตกผลึก	02.02.62	- ข้อมูลโครงสร้างของสารเชิงซ้อนอินคลูชันจากสารเชิงซ้อนตามแผนการตกผลึก	- หาคำตอบโครงสร้างและขีดเกล้าโครงสร้างของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -CD-FA ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้รับมอบหมายจากอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ	20.04.62	- ข้อมูลเชิงโครงสร้างของสารเชิงซ้อนอินคลูชัน α -CD-FA

เอกสารอ้างอิง

- [1] Del Valle, M. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem.* **2004**, 39, 1033-1046
- [2] Dodziuk, H. Cyclodextrins and Their Complexes. WILEY-VCH. **2006**.
- [3] Sabadini, E.; Cosgrovea, T.; do Carmo Egídio, F. Solubility of cyclomaltooligosaccharides (cyclodextrins) in H₂O and D₂O: a comparative study. *Carbohydrate Research*, 200, 341, 270-274.
- [4] Cremer, D.; Pople, J. A. General definition of ring puckering coordinates. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 6, 1354-1358.
- [5] Rasouli, H.; Farzaei, M. H.; Khodarahmi, R. Polyphenols and their benefits: A review. *Int. J. Food Prop.* **2017**, 20, 1700-1714.
- [6] Ou, S.; Kwok, K. C. Review Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods, *J. Sci. Food Agric.* **2004**, 84, 1261-1269
- [7] Pal, S. M.; Avneet, G.; Siddhraj, S. S. Gallic Acid: Pharmacological Promising Lead Molecule: A Review. *J Pharmacogn Phytochem.* **2018**, 10, 132-138.
- [8] Anselmi, C.; Centini, M.; Maggiore, M.; Gaggelli, N.; Andreassi, M.; Buonocore A.; Beretta, G.; Facino, R.M. Non-covalent inclusion of ferulic acid with α -cyclodextrin improves photo-stability and delivery: NMR and modeling studies. *J Pharm Biomed Anal.* **2008**, 46, 645-652.
- [9] Zhang, M.; Li, J.; Jia, W.; Chao, J.; Zhang, L. Theoretical and experimental study of the inclusion complexes of ferulic acid with cyclodextrins. *Supramol. Chem.* 2009, 21:7, 597-602.
- [10] Wang, J.; Cao, Y.; Sun, B.; Wang, C. Characterisation of inclusion complex of trans-ferulic acid and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Food chem.* **2011**, 124, 1069-1075.
- [11] Mondragón, E. G.; González, A. T.; -Gutiérrez, P. G.; González, V. S. R.; Govea, A. Y. S.; Zubillaga, R. A. Thermodynamic analysis of ferulate complexation with α -, β - and γ -cyclodextrins. *Thermochim. Acta.* **2016**, 634, 1-5.
- [12] Alonso, A.M.; Barreiro, S.L.; Díaz, C.B. Encapsulation and solubilization of the antioxidants gallic acid and ethyl, propyl and butyl gallate with β -cyclodextrin. *J. Mol. Liq.* **2015**, 210, 143-150.
- [13] Ayta, Z.; Kusku, S.I.; Durgun, E.; Uyar, T. Encapsulation of gallic acid/cyclodextrin inclusion complex in electrospun polylactic acid nanofibers: Release behavior and antioxidant activity of gallic acid. *Mater. Sci. Eng. C.* **2016**, 63, 231-239.
- [14] Massa, W. *Crystal Structure Determination*; Springer-Verlag GmbH; **2000**

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [15] Hedges, A. *Cyclodextrins: Properties and Applications; Starch, 3rd Edition*; Food Sci. Technol: **2009**, 833-851.
- [16] Mendes, S. A.; Boas, V. Studies on the Solubility of Phenolic Compounds
- [17] Mota, F. L.; Queimada, A. J.; Pinho, S. P.; Macedo, E.A. Aqueous Solubility of Some Natural Phenolic Compounds. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2008**, 47, 5182–5189.
- [18] Buranov, A. U.; Mazza, G. Extraction and purification of ferulic acid from flax shives, wheat and corn bran by alkaline hydrolysis and pressurised solvents. *Food Chem.* **2009**, 115, 1542-1548.
- [19] Papageorgiou A.C.; Mattsson, Jesse. *Protein Structure Validation and Analysis with X-Ray Crystallography*; Humana Press, Totowa, NJ, 2014; 1129, 397-421.
- Sérgio Antonio Mendes Vilas Boas Studies on the Solubility of Phenolic Compounds
- [20] Bruker. **2010**. APEX2 Software User Manual. Madison, WI: Bruker AXS Inc.
- [21] Sheldrick, G M. A Short History of SHELX. *Acta. Cryst. A.* **2008**, 64, 112-122.
- [22] Betzel, C.; Saenger, W.; Hingerty, B.E.; Brown, G.M. Topography of cyclodextrin inclusion complexes, part 20. Circular and flip-flop hydrogen bonding in β -cyclodextrin undecahydrate: a neutron diffraction study. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 7545-7557.
- [23] Nethaji, M.; Pattabhi, V.; Desiraju, G. R. Structure of 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propenoic acid (ferulic acid). *Acta. Cryst.* **1988**, C44, 275-277.
- [24] Lindner, K.; Saenger, W. Topography of Cyclodextrin Inclusion Complexes. XVI.* Cyclic System of Hydrogen Bonds: Structure of α -Cyclodextrin Hexahydrate, Form (II): Comparison with Form (I). *Acta. Cryst.* **1982**, B38, 203-210.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ข้อมูลโคออร์ดิเนตลำดับส่วนของอะตอมที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนของสารเชิงซ้อน α -CD-FA

ตารางที่ ผ.1 โคออร์ดิเนตลำดับส่วนของอะตอมที่ไม่ใช่ไฮโดรเจน ($\times 10^4$) และแฟคเตอร์ของอุณหภูมิแบบไอโซโทรปิก (U_{eq} , $\text{\AA}^2 \times 10$) ของสารเชิงซ้อน

Atom	x	y	z	U(eq)	Atom	x	y	z	U(eq)
C11	7705(10)	6350(6)	6203(5)	48(3)	O52	4104(6)	7911(4)	6860(4)	50(2)
C21	7774(10)	6532(7)	6861(5)	51(3)	O62	2359(8)	8409(5)	6511(5)	82(3)
C31	6792(9)	6625(7)	7123(5)	47(3)	C13	1265(9)	6675(6)	7095(6)	47(3)
C41	6225(9)	7117(6)	6775(5)	44(3)	C23	844(9)	6058(6)	7425(5)	45(3)
C51	6186(10)	6928(7)	6130(5)	52(3)	C33	1068(9)	5390(6)	7097(5)	46(3)
C61	5707(9)	7473(7)	5741(6)	50(3)	C43	758(8)	5455(6)	6443(5)	38(3)
O21	8332(6)	6018(5)	7159(4)	62(2)	C53	1181(10)	6107(7)	6176(5)	51(3)
O31	6890(7)	6842(6)	7725(4)	66(3)	C63	845(9)	6253(7)	5550(5)	46(3)
O41	5257(6)	7060(4)	7006(3)	42.5(1.9)	O23	1199(7)	6028(5)	8016(4)	64(3)
O51	7158(7)	6870(4)	5919(4)	57(2)	O33	576(7)	4802(5)	7350(4)	62(3)
O61	6142(8)	8119(5)	5803(4)	69(3)	O43	1163(6)	4861(4)	6163(3)	45(2)
C12	4791(9)	7634(6)	7250(5)	44(3)	O53	925(6)	6707(4)	6521(3)	46(2)
C22	4352(8)	7417(7)	7819(5)	44(3)	O63	-146(7)	6345(5)	5501(4)	64(3)
C32	3548(8)	6889(6)	7712(6)	47(3)	C14	610(9)	4464(7)	5783(6)	51(3)
C42	2881(8)	7170(6)	7255(4)	33(2)	C24	751(10)	3688(7)	5940(6)	56(4)
C52	3394(8)	7419(6)	6710(5)	44(3)	O52	4104(6)	7911(4)	6860(4)	50(2)
C62	2758(11)	7791(7)	6268(6)	61(4)	O62	2359(8)	8409(5)	6511(5)	82(3)
O22	5047(6)	7133(5)	8208(4)	62(2)	C13	1265(9)	6675(6)	7095(6)	47(3)
O32	3010(6)	6748(5)	8236(3)	54(2)	C23	844(9)	6058(6)	7425(5)	45(3)
O42	2268(6)	6591(4)	7112(3)	46(2)	C33	1068(9)	5390(6)	7097(5)	46(3)

ตารางที่ ผ.1 (ต่อ)

Atom	x	y	z	U(eq)	Atom	x	y	z	U(eq)
C34	1779(9)	3490(6)	5841(6)	48(3)	C56	7279(8)	5153(6)	5193(4)	34(3)
C44	2100(9)	3687(6)	5210(6)	49(3)	C66	7706(11)	5712(7)	4812(5)	54(3)
C54	1856(9)	4425(7)	5043(5)	50(3)	O26	7344(8)	3233(4)	6096(4)	62(3)
C64	1938(10)	4588(8)	4387(6)	60(4)	O36	8074(9)	4513(5)	6677(4)	78(3)
O24	450(8)	3574(5)	6526(5)	71(3)	O46	7244(6)	5687(4)	6169(3)	47(2)
O34	1864(7)	2769(5)	5927(5)	66(3)	O56	7497(6)	4500(4)	4904(3)	46(2)
O44	3115(6)	3617(4)	5212(4)	52(2)	O66	8713(7)	5630(5)	4730(5)	64(3)
O54	851(6)	4578(5)	5176(4)	58(2)	C1F	4782(11)	4885(7)	7155(6)	59(4)
O64	1310(8)	4167(6)	4044(4)	77(3)	C2F	5652(10)	4859(7)	7451(6)	55(3)
C15	3571(8)	3166(6)	4803(5)	40(3)	C3F	5680(11)	4679(7)	8050(6)	57(4)
C25	4211(9)	2681(6)	5146(5)	45(3)	O3F	6518(7)	4643(6)	8361(4)	75(3)
C35	4982(8)	3080(5)	5440(5)	38(3)	C4F	4878(10)	4470(7)	8330(5)	51(3)
C45	5527(9)	3523(6)	4998(5)	45(3)	O4F	4896(7)	4276(5)	8921(4)	64(3)
C55	4843(9)	3977(6)	4644(5)	41(3)	C5F	4033(10)	4460(8)	8035(6)	62(4)
C65	5305(12)	4318(9)	4135(8)	80(5)	C6F	3954(11)	4662(9)	7465(7)	72(4)
O25	3653(7)	2284(4)	5546(4)	60(2)	C7F	4749(11)	5143(8)	6545(6)	65(4)
O35	5637(6)	2584(4)	5705(4)	51(2)	C8F	3959(10)	5331(8)	6240(6)	63(4)
O45	6165(6)	3944(4)	5324(3)	43(2)	C9F	4039(13)	5641(8)	5642(6)	67(4)
O65	4776(10)	4802(6)	3822(5)	97(4)	C10F	7245(11)	5144(9)	8228(8)	87(5)
C16	7166(9)	3894(6)	5210(5)	44(3)	O9F1	4864(8)	5666(6)	5395(5)	84(3)
C26	7654(10)	3849(6)	5809(6)	50(3)	O9F2	3345(9)	5833(8)	5402(5)	100(4)
C36	7488(10)	4482(6)	6158(5)	47(3)	O1W	7986(9)	8520(6)	5666(6)	96(4)
C46	7695(9)	5140(6)	5824(5)	42(3)	O2W	1029(11)	8779(8)	7364(7)	125(5)

ตารางที่ ผ.1 (ต่อ)

Atom	x	y	z	U(eq)
O3W	-544(8)	7645(5)	5944(5)	83(3)
O4W	-529(9)	7893(6)	7201(5)	91(3)
O5W	-1087(10)	7043(6)	8115(5)	101(4)
O6W	-1671(11)	9038(8)	6853(8)	133(6)
O7W	4308(9)	944(6)	5630(7)	107(4)
O8W	8949(7)	2640(5)	6522(5)	69(3)
O9W	9648(13)	3900(9)	-659(6)	139(6)

ภาคผนวก ข ข้อมูลความยาวพันธะของสารเชิงซ้อน α -CD-FA

ตารางที่ ผ.2 ความยาวพันธะ (Å) ของสารเชิงซ้อน α -CD-FA

C11	C21	1.530(17)	C22	O22	1.420(14)	C53	H53	0.98
C11	H11	0.98	C32	C42	1.494(15)	C53	O53	1.425(16)
C11	O46	1.435(14)	C32	H32	0.98	C43	O43	1.427(14)
C11	O51	1.416(15)	C32	O32	1.427(15)	C53	C63	1.516(18)
C21	C31	1.507(18)	C42	C52	1.504(16)	C53	H53	0.98
C21	H21	0.98	C42	H42	0.98	C53	O53	1.442(15)
C21	O21	1.430(15)	C42	O42	1.446(14)	C63	H63A	0.97
C31	C41	1.467(17)	C52	C62	1.518(18)	C63	H63B	0.97
C31	H31	0.98	C52	H52	0.98	C63	O63	1.404(15)
C31	O31	1.430(14)	C52	O52	1.416(15)	O23	H23O	0.82
C41	C51	1.502(17)	C62	H62A	0.97	O33	H33O	0.82
C41	H41	0.98	C62	H62B	0.97	O43	C14	1.386(14)
C41	O41	1.456(14)	C62	O62	1.428(18)	O63	H63O	0.82
C51	C61	1.525(18)	O22	H22O	0.82	C14	C24	1.552(19)
C51	H51	0.98	O32	H32O	0.82	C14	H14	0.98
C51	O51	1.446(16)	O42	C13	1.415(15)	C14	O54	1.427(15)
C61	H61A	0.97	O62	H62O	0.82	C24	C34	1.506(18)
C61	H61B	0.97	C13	C23	1.522(17)	C24	H24	0.98
C61	O61	1.394(16)	C13	H13	0.98	C24	O24	1.406(16)
O21	H21O	0.82	C13	O53	1.381(15)	C34	C44	1.540(18)
O31	H31O	0.82	C23	C33	1.518(17)	C34	H34	0.98
O41	C12	1.400(14)	C23	H23	0.98	C34	O34	1.410(15)
O61	H61O	0.82	C23	O23	1.427(14)	C44	C54	1.514(18)
C12	C22	1.485(17)	C33	C43	1.544(16)	C44	H44	0.98
C12	H12	0.98	C33	H33	0.98	C44	O44	1.427(15)
C12	O52	1.409(14)	C33	O33	1.445(14)	C54	C64	1.520(17)
C22	C32	1.538(17)	C43	C53	1.516(17)	C54	H54	0.98
C22	H22	0.98	C43	H43	0.98	C54	O54	1.470(15)

ตารางที่ ผ.2 (ต่อ)

C64	H64A	0.97	C16	C26	1.517(17)	C4F	O4F	1.385(15)
C64	H64B	0.97	C16	H16	0.98	C5F	C6F	1.35(2)
C64	O64	1.425(18)	C16	O56	1.435(14)	C5F	H5F	0.93
O24	H24O	0.82	C26	C36	1.473(17)	C6F	H6F	0.93
O34	H34O	0.82	C26	H26	0.98	C7F	C8F	1.353(19)
O44	C15	1.419(14)	C26	O26	1.424(15)	C7F	H7F	0.93
O64	H64O	0.82	C36	C46	1.505(16)	C8F	C9F	1.48(2)
C15	C25	1.510(17)	C36	H36	0.98	C8F	H8F	0.93
C15	H15	0.98	C36	O36	1.431(15)	C9F	O9F1	1.284(19)
C15	O55	1.408(14)	C46	C56	1.540(15)	C9F	O9F2	1.172(17)
C25	C35	1.482(16)	C46	H46	0.98	C10F	H10A	0.96
C25	H25	0.98	C46	O46	1.456(14)	C10F	H10B	0.96
C25	O25	1.419(14)	C56	C66	1.503(17)	C10F	H10C	0.96
C35	C45	1.519(16)	C56	H56	0.98	C10F	O3F	1.435(17)
C35	H35	0.98	C56	O56	1.451(13)	O9F1	H9F1	0.82
C35	O35	1.453(13)	C66	H66A	0.97	O1W	H1W1	0.9603
C45	C55	1.523(16)	C66	H66B	0.97	O1W	H2W1	0.9601
C45	H45	0.98	C66	O66	1.431(17)	O3W	H1W3	0.9598
C45	O45	1.414(14)	O26	H26O	0.82	O3W	H2W3	0.9713
C55	C65	1.476(19)	O36	H36O	0.82	O8W	H1W8	0.9605
C55	H55	0.98	O66	H66O	0.82	O8W	H2W8	0.96
C55	O55	1.437(14)	C1F	C2F	1.390(19)	O1W	H1W1	0.9603
C65	H65A	0.97	C1F	C6F	1.42(2)	O1W	H2W1	0.9601
C65	H65B	0.97	C1F	C7F	1.467(19)	O3W	H1W3	0.9598
C65	O65	1.385(17)	C2F	C3F	1.396(18)	O3W	H2W3	0.9713
O25	H25O	0.82	C2F	H2F	0.93	O8W	H1W8	0.9605
O35	H35O	0.82	C3F	C4F	1.351(18)	O8W	H2W8	0.96
O45	C16	1.428(15)	C3F	O3F	1.371(17)			
O65	H65O	0.82	C4F	C5F	1.358(19)			

ภาคผนวก ค ข้อมูลมุมพันธะของสารเชิงซ้อน α -CD-FA

ตารางที่ ผ.3 มุมพันธะ ($^{\circ}$) ของสารเชิงซ้อน α -CD-FA

C11	C21	H21	107.8	O41	C12	O52	111.9(9)	C52	C42	H42	109.9
C11	O46	C46	118.7(9)	O41	C41	C31	105.2(9)	C52	C62	H62A	109.2
C11	O51	C51	114.5(9)	O41	C41	C51	107.2(10)	C52	C62	H62B	109.2
C21	C11	H11	110.2	O41	C41	H41	110.6	C62	C52	H52	109.1
C21	C31	H31	108.4	O51	C11	C21	108.2(10)	C62	O62	H62O	109.5
C21	O21	H21O	109.5	O51	C11	H11	110.2	O22	C22	C12	111.2(9)
C31	C21	C11	110.5(11)	O51	C11	O46	111.3(10)	O22	C22	C32	110.1(10)
C31	C21	H21	107.8	O51	C51	C41	107.7(11)	O22	C22	H22	108.3
C31	C41	C51	112.4(10)	O51	C51	C61	106.2(10)	O32	C32	C22	112.5(10)
C31	C41	H41	110.6	O51	C51	H51	109.6	O32	C32	C42	108.1(9)
C31	O31	H31O	109.5	O61	C61	C51	111.5(11)	O32	C32	H32	109
C41	C31	C21	111.2(10)	O61	C61	H61A	109.3	O42	C13	C23	106.4(10)
C41	C31	H31	108.4	O61	C61	H61B	109.3	O42	C13	H13	109.1
C41	C51	C61	114.0(11)	C12	C22	C32	110.7(10)	O42	C42	C32	104.2(9)
C41	C51	H51	109.6	C12	C22	H22	108.3	O42	C42	C52	110.3(8)
C51	C41	H41	110.6	C12	O41	C41	121.0(9)	O42	C42	H42	109.9
C51	C61	H61A	109.3	C12	O52	C52	111.9(8)	O52	C12	C22	111.5(10)
C51	C61	H61B	109.3	C22	C12	H12	108.4	O52	C12	H12	108.4
C61	C51	H51	109.6	C22	C32	H32	109	O52	C52	C42	110.8(9)
C61	O61	H61O	109.5	C22	O22	H22O	109.5	O52	C52	C62	104.5(10)
O21	C21	C11	109.4(10)	C32	C22	H22	108.3	O52	C52	H52	109.1
O21	C21	C31	113.4(10)	C32	C42	C52	112.5(9)	O62	C62	C52	111.9(11)
O21	C21	H21	107.8	C32	C42	H42	109.9	O62	C62	H62A	109.2
O31	C31	C21	108.7(10)	C32	O32	H32O	109.5	O62	C62	H62B	109.2
O31	C31	C41	111.8(10)	C42	C32	C22	109.0(9)	C13	C23	H23	108.5
O31	C31	H31	108.4	C42	C32	H32	109	C13	O42	C42	120.4(9)
O41	C12	C22	108.0(10)	C42	C52	C62	114.1(10)	C13	O53	C53	112.7(9)
O41	C12	H12	108.4	C42	C52	H52	109.1	C23	C13	H13	109.1

ตารางที่ ผ.3 (ต่อ)

C23	C33	C43	109.9(10)	O53	C13	H13	109.1	O24	C24	C34	112.8(12)
C23	C33	H33	109	O53	C13	O42	111.8(9)	O24	C24	H24	108.4
C23	O23	H23O	109.5	O53	C53	C43	110.8(9)	O34	C34	C24	108.1(11)
C33	C23	C13	110.2(10)	O53	C53	C63	106.1(10)	O34	C34	C44	110.3(10)
C33	C23	H23	108.5	O53	C53	H53	108.7	O34	C34	H34	109.2
C33	C43	H43	111	O63	C63	C53	113.9(10)	O44	C15	C25	108.3(9)
C33	O33	H33O	109.5	O63	C63	H63A	108.8	O44	C15	H15	109.3
C43	C33	H33	109	O63	C63	H63B	108.8	O44	C44	C34	105.3(11)
C43	C53	C63	113.8(11)	C14	C24	H24	108.4	O44	C44	C54	108.3(10)
C43	C53	H53	108.7	C14	O43	C43	119.7(9)	O44	C44	H44	109.9
C53	C43	C33	109.7(10)	C14	O54	C54	113.1(9)	O54	C14	C24	109.8(10)
C53	C43	H43	111	C24	C14	H14	108.8	O54	C14	H14	108.8
C53	C63	H63A	108.8	C24	C34	C44	110.8(11)	O54	C54	C44	110.7(10)
C53	C63	H63B	108.8	C24	C34	H34	109.2	O54	C54	C64	103.3(10)
C63	C53	H53	108.7	C24	O24	H24O	109.5	O54	C54	H54	109.2
C63	O63	H63O	109.5	C34	C24	C14	109.4(10)	O64	C64	C54	111.5(12)
O23	C23	C13	110.8(10)	C34	C24	H24	108.4	O64	C64	H64A	109.3
O23	C23	C33	110.4(10)	C34	C44	H44	109.9	O64	C64	H64B	109.3
O23	C23	H23	108.5	C34	O34	H34O	109.5	C15	C25	H25	108
O33	C33	C23	112.0(9)	C44	C34	H34	109.2	C15	O44	C44	120.2(9)
O33	C33	C43	107.9(10)	C44	C54	C64	114.9(10)	C15	O55	C55	114.9(8)
O33	C33	H33	109	C44	C54	H54	109.2	C25	C15	H15	109.3
O43	C14	C24	108.6(10)	C54	C44	C34	113.3(10)	C25	C35	C45	111.3(9)
O43	C14	H14	108.8	C54	C44	H44	109.9	C25	C35	H35	109.7
O43	C14	O54	112.1(10)	C54	C64	H64A	109.3	C25	O25	H25O	109.5
O43	C43	C33	104.4(9)	C54	C64	H64B	109.3	C35	C25	C15	109.9(9)
O43	C43	C53	109.6(9)	C64	C54	H54	109.2	C35	C25	H25	108
O43	C43	H43	111	C64	O64	H64O	109.5	C35	C45	C55	110.6(10)
O53	C13	C23	111.2(10)	O24	C24	C14	109.2(11)	C35	C45	H45	109.7

ตารางที่ ผ.3 (ต่อ)

C35	O35	H35O	109.5	O65	C65	H65A	107.9	O46	C46	C36	105.1(9)
C45	C35	H35	109.7	O65	C65	H65B	107.9	O46	C46	C56	108.6(9)
C45	C55	H55	109.7	C16	C26	H26	107.9	O46	C46	H46	109.7
C45	O45	C16	119.2(9)	C16	O56	C56	115.0(8)	O56	C16	C26	109.3(10)
C55	C45	H45	109.7	C26	C16	H16	110.1	O56	C16	H16	110.1
C55	C65	H65A	107.9	C26	C36	C46	113.6(10)	O56	C56	C46	108.8(9)
C55	C65	H65B	107.9	C26	C36	H36	108.4	O56	C56	C66	106.4(9)
C65	C55	C45	113.0(11)	C26	O26	H26O	109.5	O56	C56	H56	109.5
C65	C55	H55	109.7	C36	C26	C16	111.0(10)	O66	C66	C56	112.7(11)
C65	O65	H65O	109.5	C36	C26	H26	107.9	O66	C66	H66A	109
O25	C25	C15	109.5(10)	C36	C46	C56	114.0(10)	O66	C66	H66B	109
O25	C25	C35	113.4(10)	C36	C46	H46	109.7	C1F	C2F	C3F	119.9(13)
O25	C25	H25	108	C36	O36	H36O	109.5	C1F	C2F	H2F	120
O35	C35	C25	107.6(9)	C46	C36	H36	108.4	C1F	C6F	H6F	120.4
O35	C35	C45	108.8(9)	C46	C56	H56	109.5	C1F	C7F	H7F	116.7
O35	C35	H35	109.7	C56	C46	H46	109.7	C2F	C1F	C6F	117.9(13)
O45	C16	C26	106.7(9)	C56	C66	H66A	109	C2F	C1F	C7F	119.4(13)
O45	C16	H16	110.1	C56	C66	H66B	109	C3F	C2F	H2F	120
O45	C16	O56	110.4(10)	C66	C56	C46	113.1(10)	C3F	C4F	C5F	119.8(12)
O45	C45	C35	107.4(9)	C66	C56	H56	109.5	C3F	C4F	O4F	121.2(12)
O45	C45	C55	109.8(9)	C66	O66	H66O	109.5	C3F	O3F	C10F	117.7(11)
O45	C45	H45	109.7	O26	C26	C16	108.5(10)	C4F	C3F	C2F	120.4(13)
O55	C15	C25	110.8(9)	O26	C26	C36	113.6(11)	C4F	C3F	O3F	117.1(12)
O55	C15	H15	109.3	O26	C26	H26	107.9	C4F	C5F	H5F	118.8
O55	C15	O44	109.8(9)	O36	C36	C26	112.5(10)	C5F	C4F	O4F	119.0(12)
O55	C55	C45	109.7(9)	O36	C36	C46	105.4(10)	C5F	C6F	C1F	119.3(14)
O55	C55	C65	105.1(10)	O36	C36	H36	108.4	C5F	C6F	H6F	120.4
O55	C55	H55	109.7	O46	C11	C21	106.5(10)	C6F	C1F	C7F	122.6(14)
O65	C65	C55	117.7(15)	O46	C11	H11	110.2	C6F	C5F	C4F	122.4(14)

ตารางที่ ผ.3 (ต่อ)

C6F	C5F	H5F	118.8
C7F	C8F	C9F	120.7(13)
C7F	C8F	H8F	119.7
C8F	C7F	C1F	126.5(14)
C8F	C7F	H7F	116.7
C9F	C8F	H8F	119.7
C9F	O9F1	H9F1	109.5
H10A	C10F	H10B	109.5
H10A	C10F	H10C	109.5
H10B	C10F	H10C	109.5
H1W1	O1W	H2W1	104.8
H1W3	O3W	H2W3	104
H1W8	O8W	H2W8	104.7
H61A	C61	H61B	108
H62A	C62	H62B	107.9
H63A	C63	H63B	107.7
H64A	C64	H64B	108
H65A	C65	H65B	107.2
H66A	C66	H66B	107.8
O3F	C10F	H10A	109.5
O3F	C10F	H10B	109.5
O3F	C10F	H10C	109.5
O3F	C3F	C2F	122.3(13)
O9F1	C9F	C8F	118.6(14)
O9F2	C9F	C8F	119.1(16)
O9F2	C9F	O9F1	122.2(15)
C6F	C5F	H5F	118.8
C7F	C8F	C9F	120.7(13)
C7F	C8F	H8F	119.7

ประวัติผู้ทำวิจัย

นางสาวสิทธิณี ฐิติศุภกร เกิดเมื่อวันที่ 14 ธันวาคม พ.ศ. 2539 จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนชลกันยานุกูล จังหวัดชลบุรี ปีการศึกษา 2558 และเข้าศึกษาต่อที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ เมื่อปีการศึกษา 2559