การออกแบบและพัฒนาฟลูออเรสเซนต์โพรบสำหรับการรับรู้น้ำตาล

นางสาวสุชาดา นาวงศ์ศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

DESIGN AND DEVELOPMENT OF FLUORESCENT PROBE FOR SUGAR SENSING

Miss Suchada Nawongsri

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Chemistry
Department of Chemistry
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2013

Thesis Title	DESIGN AND DEVELOPMENT OF FLUORESCENT PROBE FOR SUGAR SENSING
By	Miss Suchada Nawongsri
Field of Study	Chemistry
Thesis Advisor	Assistant Professor Boosayarat Tomapatanaget, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

S. Hannongbua .... Dean of the Faculty of Science

(Professor Supot Hannongbua, Dr.rer.nat.)

THESIS COMMITTEE

Warinthorn Chavasiri .... Chairman

(Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.)

B. Tomapatanaget .... Thesis Advisor

(Assistant Professor Boosayarat Tomapatanaget, Ph.D.)

.... Examiner

(Numpon Insin, Ph.D.)

Boon-ek Yingyongnarongkul .... External Examiner

(Assistant Professor Boon-ek Yingyongnarongkul, Ph.D.)

สุชาดา นาวงศ์ศรี : การออกแบบและพัฒนาฟลูออเรสเซนต์โพรบสำหรับการรับรู้น้ำตาล. (DESIGN AND DEVELOPMENT OF FLUORESCENT PROBE FOR SUGAR SENSING) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร.บุษยรัตน์ ธรรมพัฒนกิจ, 100 หน้า.

เป้าหมายของงานวิจัยนี้คือ การสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์ Cum_B ที่ประกอบด้วยคูมารินเป็นหมู่ฟลูออโรฟอร์และกรดโบโรนิกเป็นหน่วยเกิดปฏิกิริยาและเซ็นเซอร์ NBDB_AuNPs ประกอบด้วยหมู่แนฟทาลิไมด์เป็นหมู่ฟลูออโรฟอร์ กรดโบโรนิกเป็นหน่วยเกิดปฏิกิริยากับน้ำตาลและหมู่โดพามีนเป็นตัวเชื่อมระหว่างแนฟทาลิไมด์และกรดโบโรนิก ในช่วงแรกได้ศึกษาคุณสมบัติการเป็นเซ็นเซอร์ของ Cum_B เพื่อใช้ในการตรวจวัดน้ำตาล ในตัวทำละลายผสมของไดเมทิลซัลฟอกไซด์กับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 7.4 โดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซ็นต์สเปกโตรโฟโตเมทรี พบว่าเซ็นเซอร์ Cum_B มีความจำเพาะเจาะจงกับน้ำตาลฟรุตโตสมากกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ สังเกตุจากการลดลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ ด้วยกระบวนการ PET และพบว่าค่าคงที่การจับ (log Ks) และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดของเซ็นเซอร์ Cum_B กับน้ำตาลฟรุตโตสเท่ากับ 3.6 และ 2.83 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ สำหรับเซ็นเซอร์ NBDB พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนต์น้อยมากและไม่มีความจำเพาะเจาะจงกับน้ำตาลชนิดใดๆ เพื่อปรับปรุงความสามารถในการตรวจวัดน้ำตาลของเซ็นเซอร์นี้ จึงได้ดัดแปรเซ็นเซอร์ NBDB บนอนุภาคทองคำระดับนาโน (AuNPs) ทำให้เกิดการถ่ายโอนพลังงานจากเซ็นเซอร์ NBDB ไปยัง AuNPs ทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์ต่ำลง เมื่อ NBDB จับกับน้ำตาลฟรุกโตส ทำให้ NBD หลุดออกจาก AuNPs จะเกิดการยับยั้งการถ่ายโอนพลังงานทำให้เห็นสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ของ NBD เพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก จากหลักการนี้พบว่าสามารถตรวจวัดน้ำตาลฟรุกโตสได้อย่างจำเพาะเจาะจงและมีความว่องไวสูง โดยมีค่าคงที่ในการตรวจวัดน้ำตาลฟรุกโตสด้วยค่า log Ks เท่ากับ 4.35 และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดท่ากับ 1.50 มิลลิโมลาร์ ดังนั้น NBDB_AuNPs สามารถตรวจวัดน้ำตาลฟรุกโตสได้อย่างประสิทธิภาพมากกว่า Cum_B

ภาควิชา เคมี	ลายมือชื่อนิสิต สุชาดา นาวงศ์ศรี
สาขาวิชา เคมี	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก บุษยรัตน์ ธรรมพัฒนกิจ
ปีการศึกษา 2556	

5372413023 : MAJOR CHEMISTRY
KEYWORDS: BORONIC ACID / SACCHARIDES / FLUORESCENCE SENSOR / GOLD NANOPARTICLES / CUMARIN / NAPTHALIMIDE

SUCHADA NAWONGSRI: DESIGN AND DEVELOPMENT OF FLUORESCENT PROBE FOR SUGAR SENSING. ADVISOR: ASST. PROF. BOOSAYARAT TOMAPATANAGET, Ph.D., 100 pp.

An aim of this research is to synthesize the fluorescence sensors Cum_B consisting a coumarin as fluorophore and boronic acid as active site and sensor NBDB_AuNPs containing napthalimide as fluorophore, boronic acid as binding site and dopamine as linker. Initially, the complexation properties of sensor Cum_B toward saccharides in DMSO: phosphate buffer pH 7.4 were investigated by fluorescence spectrophotometry. It was found that sensor Cum_B showed high selectivity with fructose over other saccharides under PET process and also the log Ks values and detection limit of Cum_B with fructose were 3.6 and 2.83 mM, respectively. For sensor NBDB, it showed a poor fluorescence change and no selectivity with all saccharides. To improve the sensing ability of this sensor, the fabrication of NBDB on AuNPs was performed to improve the significant change of fluorescence. This approach is based on the energy transfer from NBDB to AuNPs resulting in the fluorescence quenching. As anticipated, the suitable saccharides bind to boronic ester to separate NBD and AuNPs inducing fluorescence enhancement of NBD. As a result, fructose was found to induce a large fluorescence enhancement of NBDB_ AuNPs system under the inhibition of the energy transfer process from NBDB to AuNPs. The sensor NBDB_ AuNPs demonstrates more excellently sensing ability toward fructose than sensor Cum_B with log Ks values of 4.35 and detection limit of 1.50 mM for NBDB_ AuNPs.

Department:	Chemistry	Student's Signature	Suchada N.
Field of Study:	Chemistry	Advisor's Signature	B. Tomapatanaget
Academic Year:	2013		

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deep appreciation toward my advisor, Assistant Professor Dr. Boosayarat Tomapatanaget for the whole work carried out under her direction and guidance, kindnesses, suggestions and supports throughout my master career. Moreover, I would like to sincerely thank Assistant Professor Dr. Warinthorn Chavasiri, Assistant Professor Dr. Boon-ek Yingyongnarongkul and Dr. Numpon Insin for their time, valuable comments and suggestions as thesis committee and thesis examiner.

I would like to acknowledge the financial support for my study from the Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund of Chulalongkorn University (RES560530126-AM). I gratefully acknowledge the Thailand Research Fund, Commission on Higher Education and Chulalongkorn University (RMU5380003 and RTA5300083) and The 90th Anniversary of Chulalongkorn University Fund (Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund) for research support.

In addition, this accomplishment could not occur without the support from Chulalongkorn University. Special thanks are due to all members of Supramolecular Chemistry Research Unit at Department of Chemistry, Chulalongkorn Unitversity for all help, their kindnesses, encouragement and supports.

Finally, I would like to express my deepest gratitude to my parent and my sisters, for their love, care, kindness, encouragement and other supports throughout my life.

CONTENTS

Page

Page

Page

Page

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

Page

Page

Page

LIST OF SCHEMES

LIST OF ABBREVATIONS

^{1}H-NMR	Proton nuclear magnetic resonance
^{13}C-NMR	Carbon nuclear magnetic resonance
Hz	Hertz
J	Coupling constant
δ	Chemical shift
m/z	Mass per charge ratio
L	Litre
µ	Micro
µL	Microliter
µM	Micromolar
β	Beta
ppm	Part per million
rpm	Revolutions per minute
°C	Degree Celsius
nm	Nanometer
equiv.	Equivalent
mmol	Millimole
M	Molar
Mg	Milligram
mL	Milliliter
s, d, t, m	Splitting patterns of ^{1}H-NMR (singlet, doublet, triplet, multiplet)
EA	Elemental Analysis

Anal. Calcd.	Analysis calculated
DMSO	Dimethylsulfoxide
CH_2Cl_2	Dichloromethane
MEOH	Methanol
ICT	Intramolecular charge transfer
PET	Photoinduced electron transfer
Ks	Stability constant
AuNPs	Gold nanoparticles