



วิธีการสังเคราะห์สารประกอบเฮเทอโรไซคลิกจากนินไฮดริน

Synthetic methodology for heterocyclic compounds from  
ninhydrin

โดย

นางสาวสิริมาส แร่เพชร

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2563

โครงการ วิธีการสังเคราะห์สารประกอบเฮเทอโรไซคลิกจากนินไฮดริน

โดย นางสาวสิริมาส แร่เพชร

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

- |  |                  |
|--|------------------|
| 1. รองศาสตราจารย์ ดร.นวลพรรณ จันทศิริ      | ประธานกรรมการ    |
| 2. รองศาสตราจารย์ ดร. ณรงค์ ประไพรัชสิทธิ์ | กรรมการ          |
| 3. ศาสตราจารย์ ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร       | อาจารย์ที่ปรึกษา |

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี



(ศาสตราจารย์ ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร)  
อาจารย์ที่ปรึกษา



(รองศาสตราจารย์ ดร. วรวิรี โฮვნ)  
หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 14 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2564

ชื่อโครงการ                      วิธีการสังเคราะห์สารประกอบเฮเทอโรไซคลิกจากนินไฮดริน  
ชื่อนิสิตในโครงการ            นางสาวสิริมาศ แร่เพชร    เลขประจำตัว 603102523  
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา            ศาสตราจารย์ ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2563

### บทคัดย่อ

โครงการนี้เกี่ยวข้องกับการเพิ่มประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ไดเอซาทรุกซีน โดยใช้นินไฮดรินกับอินโดล เป็นสารตั้งต้นภายใต้สภาวะที่มีกรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งเป็นวิธีที่เคยมีผู้รายงานไว้แล้ว แต่เป็นกระบวนการที่ใช้เวลานาน ให้ผลผลิตเพียงร้อยละ 30% และมีผลิตภัณฑ์ร่วมในปริมาณมากถึง 64% ในการทดลองนี้จึงมีการศึกษาปัจจัยจากตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพของปฏิกิริยา ได้แก่ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยา อุณหภูมิ และชนิดของตัวเร่งปฏิกิริยาร่วม โดยการทดลองพบว่า ภาวะที่ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูง ได้แก่ 1) การใช้กรดอะซิติกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในสัดส่วน 10 มิลลิลิตร ต่อสารตั้งต้นนินไฮดริน 1 มิลลิโมล 2) การทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และ 3) การใช้กรดคลอโรอะซิติกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาร่วม อย่างไรก็ตามสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคโควิด-19 ส่งผลให้จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยปิดทำการชั่วคราว ทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถทดลองรวมสภาวะทั้ง 3 ที่กล่าวมาข้างต้นเพื่อเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสังเคราะห์ไดเอซาทรุกซีนจากนินไฮดริน

คำสำคัญ: diazatruxene, diazatruxenone

Project Title                Synthetic methodology for heterocyclic compounds from ninhydrin

Student Name                Miss Sirimas Raephet    Student ID 6033102523

Advisor Name                Professor Dr. Paitoon Rashatasakhon, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2020

### **Abstract**

This project involves the optimization of the synthesis of diazatruxene using ninhydrin and indole as two starting materials under acid catalysis. The original protocol has been previously reported, but the process is time-consuming, affords the desired product in 30% yield along with a significant amount (64%) of by-product. In this research, factors that contribute to the efficiency of this reaction including the amount of catalyst, temperature, and co-catalyst has been investigated. The data suggests that high yields of product can be obtained when 1) 10 mL of acetic acid is used for a reaction of 1 mmol of ninhydrin, 2) the reaction temperature is 120 °C, and 3) chloroacetic acid is used as a co-catalyst. However, a massive surge of COVID-19 which led to a temporary shut down of Chulalongkorn University prohibits additional test for the optimal synthetic condition for diazatruxene from ninhydrin by a combination of those three conditions.

Keywords: diazatruxene, diazatruxenone

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ เพราะได้รับคำแนะนำจากอาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ศาสตราจารย์ ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร ผู้ให้คำปรึกษา และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยมา โดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นवलพรรณ จันทศิริ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ณรงค์ ประไพรัชสิทธิ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำ โครงงานวิจัยให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณ นายคมเทพ ศิลป์จารุ นิสิตหลังปริญญาเอก ที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ และให้ คำปรึกษาตลอดการทดลองทำวิจัยจนสำเร็จ

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณครอบครัว และมีตรสหายของข้าพเจ้า ที่ให้การสนับสนุนทั้งกำลังใจ และให้โอกาสทางการศึกษาที่ตีมาโดยตลอด

## สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูปภาพ	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	1
1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	2
1.4.1 สารตั้งต้น	2
1.5 การทบทวนวรรณกรรม (literature review)	4
1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ	6
<b>บทที่ 2 การทดลอง</b>	<b>7</b>
2.1 สารเคมี	7
2.2 เครื่องมือ	7
2.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน และวิธีการทดลอง	7
2.3.1 การสังเคราะห์ diazatruxene	8
2.3.2 การศึกษาปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยากรดอะซิติกที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ diazatruxene	8
2.3.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา	8
2.3.4 การศึกษาผลของการเพิ่มตัวเร่งปฏิกิริยากรดคลอโรอะซิติก	9
<b>บทที่ 3 ผลทดลองและอภิปรายผลการทดลอง</b>	<b>10</b>
3.1 การสังเคราะห์ diazatruxene ตามวิธีที่มีผู้เคยรายงานไว้	10
3.2 การศึกษาปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยากรดอะซิติกที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ diazatruxene	11
3.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา	13
3.4 การศึกษาผลของกรดคลอโรอะซิติก	13
<b>บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง</b>	<b>15</b>
4.1 สรุปผลการทดลอง	15
4.2 ข้อเสนอแนะ	15
ภาคผนวก	16
เอกสารอ้างอิง	24
ประวัติผู้วิจัย	26

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงลักษณะของสารที่ใช้ปริมาณกรดอะซิติคต่างกัน	12
ตารางที่ 2 แสดงลักษณะของสารที่ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาแตกต่างกัน	13
ตารางที่ 3 แสดงการคำนวณหาร้อยละผลผลิตของ diazatruxene ในแต่ละสภาวะต่างๆ	23



## สารบัญรูปภาพ

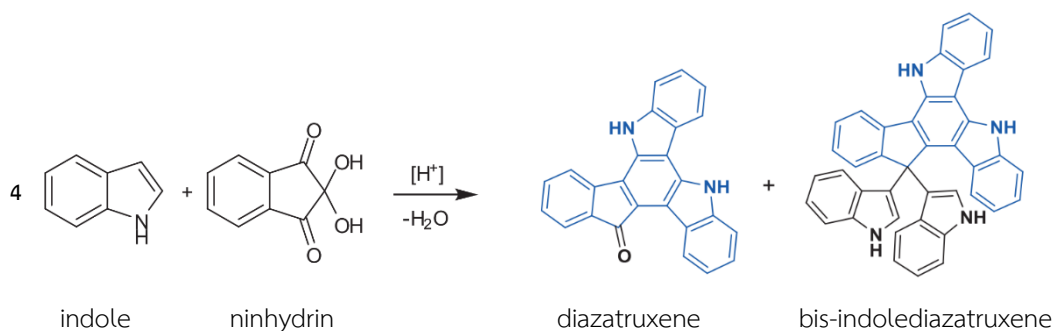
	หน้า
รูปที่ 1 ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ diazatruxene	1
รูปที่ 2 โครงสร้าง indole	2
รูปที่ 3 การ resonance ของ indole เมื่อ x คือ NH	3
รูปที่ 4 โครงสร้าง ninhydrin	3
รูปที่ 5 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนกับนินไฮดริน	4
รูปที่ 6 กลไกการเกิดปฏิกิริยา condensation ระหว่าง indole และ ninhydrin	4
รูปที่ 7 การสังเคราะห์ 2-(5-Chloro-1H-indol-3-yl)-2-hydroxy-1H-indene-1,3(2H)-dione	5
รูปที่ 8 สังเคราะห์สารประกอบ 1-5	6
รูปที่ 9 สังเคราะห์สารประกอบ 6-8	6
รูปที่ 10 <sup>1</sup> H-MNR ของ diazatruxene	9
รูปที่ 11 กลไกการสังเคราะห์ diazatruxene	10
รูปที่ 12 พื้นที่ได้กราฟ diazatruxene ต่อ acetone – D <sub>6</sub>	15
รูปที่ 13 พื้นที่ได้กราฟ crude จากการสังเคราะห์ diazatruxene ต่อ acetone – D <sub>6</sub>	16
รูปที่ 14 พื้นที่ได้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้กรดอะซิติก 5 mL ต่อ acetone -D <sub>6</sub>	16
รูปที่ 15 พื้นที่ได้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้กรดอะซิติก 10 mL ต่อ acetone - D <sub>6</sub>	17
รูปที่ 16 พื้นที่ได้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้กรดอะซิติก 15 mL ต่อ acetone - D <sub>6</sub>	17
รูปที่ 17 พื้นที่ได้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้อุณหภูมิ 80 °C ต่อ acetone – D <sub>6</sub>	18
รูปที่ 18 พื้นที่ได้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้อุณหภูมิ 100 °C ต่อ acetone – D <sub>6</sub>	18
รูปที่ 19 พื้นที่ได้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้อุณหภูมิ 120 °C ต่อ acetone – D <sub>6</sub>	19
รูปที่ 20 พื้นที่ได้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้กรดคลอโรอะซิติกกับกรดอะซิติกต่อ acetone – D <sub>6</sub>	19

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

diazatruxene หรือเป็นสารที่รู้จักกันในอนุพันธ์ของ truxene ซึ่งเป็นโมเลกุลที่สามารถให้และรับอิเล็กตรอนได้ (donor – acceptor molecule) โดยประกอบไปด้วยกลุ่ม carbazole 2 กลุ่ม และกลุ่ม fluorenone 1 กลุ่ม [1] ซึ่งในปัจจุบันเป็นที่น่าสนใจอย่างมาก เพราะเป็นสารที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ เช่น อุปกรณ์ LED, solar cell, แบตเตอรี่ และตัวเก็บประจุ เป็นต้น เนื่องจากคุณสมบัติทางกายภาพ ความสามารถในการส่งอิเล็กตรอน เป็นสารที่เสถียรไม่ว่าต่อการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ และยังประพฤติตัวเป็น electroactive discotic liquid crystals [2-5] เหมาะที่จะนำไปใช้ในวัสดุอุปกรณ์ไฟฟ้า โดยอนุพันธ์ของ truxene ส่วนใหญ่ได้มาจากสารตั้งต้นคือ indole จัดเป็นสารประกอบ heterocyclic ซึ่งเป็นที่น่าสนใจในด้านวัสดุ และเคมี เพราะเป็นสารที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับตนเองได้ รูปร่างโมเลกุลมีลักษณะเป็นโพรง และมีประสิทธิภาพในการเป็นลิแกนด์หรือ ion sensing scaffolds [6-8] และที่สำคัญมีราคาถูก ดังนั้นจึงสนใจที่จะหาวิธีการสังเคราะห์ diazatruxene แต่จากข้อมูลงานวิจัยที่มีอยู่แล้วนั้นพบว่า สามารถสังเคราะห์ diazatruxene จากสารตั้งต้นคือ ninhydrin และ indole ในอัตราส่วน 1:4 ในสภาวะกรด [9] (ดังแสดงในรูปที่ 1) อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที และต้องทำการ stir ตลอดทั้งคืน ซึ่งเป็นการใช้เวลานานในการสังเคราะห์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจปรับปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยา และปรับสภาวะการสังเคราะห์ให้เหมาะสมเพื่อเป็นการลดเวลาในการสังเคราะห์ และให้ได้ร้อยละของผลผลิตมากที่สุด โดยผลิตภัณฑ์ที่คาดว่าจะได้รับคือ diazatruxene ที่ใช้เวลาในการสังเคราะห์ลดลง และที่มีร้อยละผลผลิตสูง



รูปที่ 1 ปฏิกิริยาสังเคราะห์ diazatruxene [9]

#### 1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสังเคราะห์ diazatruxene จาก ninhydrin และ indole

#### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 การหาปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยากรด คือ ปริมาณกรดอะซิติก (AcOH) ในการสังเคราะห์ diazatruxene โดยทำการศึกษา 3 ปริมาณ ได้แก่ 5 10 และ 15 มิลลิลิตร

1.3.2 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา ได้แก่ 80 100 และ 120 องศาเซลเซียส โดยได้มีการทดลองสังเคราะห์ diazatruxene ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และเมื่อทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า หากทำการสังเคราะห์ที่อุณหภูมิห้องจะไม่เกิดปฏิกิริยา

1.3.3 การศึกษาผลของการเติมตัวเร่งปฏิกิริยาเพิ่มเติม ได้แก่ กรดคลอโรอะซิติก ( $\text{ClCH}_2\text{COOH}$ )

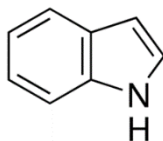
1.3.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้ โดยการใช้เทคนิค nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR spectroscopy)

## 1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

### 1.4.1 สารตั้งต้น

#### 1.4.1.1 อินโดล (indole)

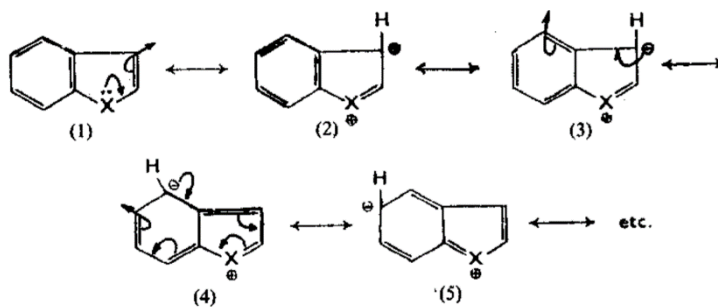
indole จัดเป็นสารประกอบอินทรีย์ ประเภทอะโรมาติก เฮเทอโรไซคลิก ประกอบไปด้วย โครงสร้าง 2 วงแหวน (bicyclic structure) โดยส่วนที่เป็น 6 เหลี่ยมเรียก เบนซีน จะเชื่อมกับวงแหวน 5 เหลี่ยมที่มีอะตอมไนโตรเจน 1 อะตอม เชื่อมต่อกับคาร์บอน 4 อะตอมซึ่งเรียกว่า วงแหวน ไพร์โรล (pyrrole) ลักษณะทางกายภาพของ indole เป็นผลึกไม่มีสี มีกลิ่นคล้ายเนพทาลีน ส่วนใหญ่เสถียรในอากาศ



รูปที่ 2 โครงสร้างอินโดล

มีการสังเคราะห์ indole ครั้งแรกในปีค.ศ. 1866 จากการกลั่น oxindole ในผงสังกะสี คำว่า indole ได้มาจากคำว่า India เนื่องจากในศตวรรษที่ 16 มีการส่งสีย้อมสีน้ำเงิน (indigo) มาจากอินเดีย ซึ่งเมื่อนำสีย้อมนี้มาทำให้แตกสลาย (degradation) จะให้ indoxyl, oxindole และในที่สุดได้ indole [10]

โครงสร้างของ indole ประกอบไปด้วย 10  $\pi$  - electron สามารถเขียนโครงสร้าง resonance ได้รูปที่ 3 ดังนี้

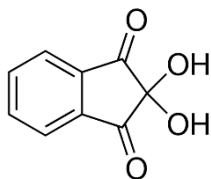


รูปที่ 3 การ resonance ของ indole เมื่อ x คือ NH [11]

โดยโครงสร้างที่ (1) – (3) จะสำคัญที่สุด เนื่องจากโครงสร้าง resonance พบว่าที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 มีอิเล็กตรอนมาก (electron rich) [11]

#### 1.4.1.2 นินไฮดริน (ninhydrin)

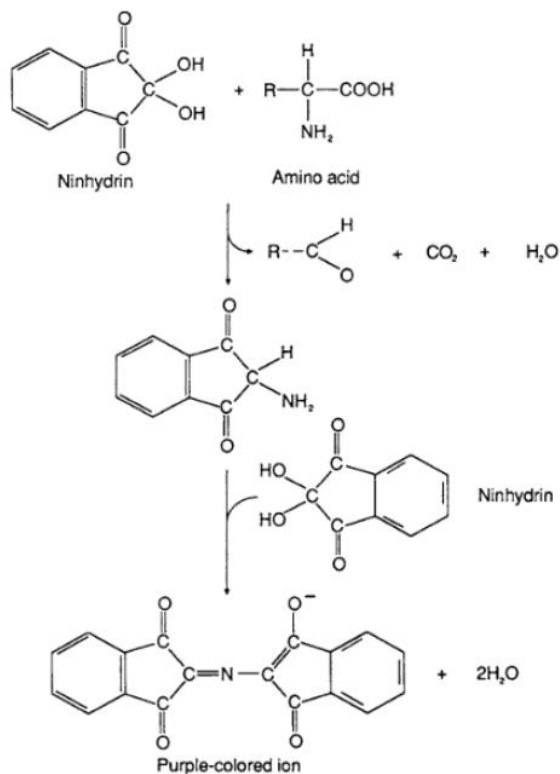
นินไฮดริน หรือ 2,2-Dihydroxy-1,3-indandione มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวถึงเหลืองอ่อน มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่ประมาณ 228 – 195 °C จัดเป็นสารประเภท indanones ซึ่งประกอบด้วย beta-diketone, aromatic ketone และ ketone hydrate โดยที่ indane-1,3-dione ถูกแทนที่ด้วย hydroxy ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และมีบทบาทเป็นอินดิเคเตอร์สี [12]



รูปที่ 4 โครงสร้างนินไฮดริน

#### การใช้ประโยชน์จากนินไฮดริน

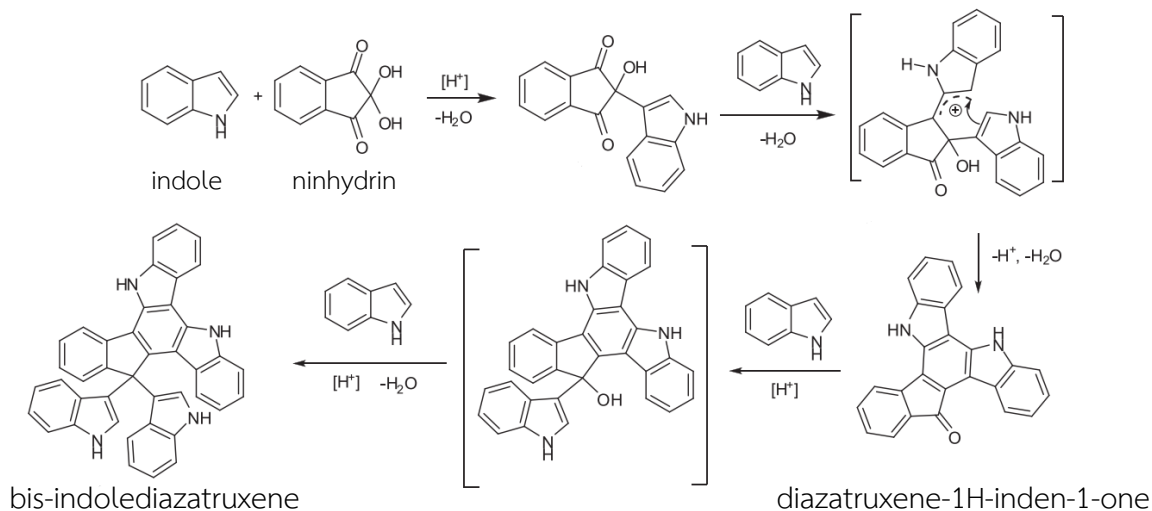
นินไฮดรินใช้ในการตรวจลายนิ้วมือแฝง โดยนินไฮดรินเป็นรีเอเจนต์ที่ทำให้เกิดสี (chromogenic reagent) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน ทำให้ได้เป็นสารประกอบสีม่วง เรียกว่า Ruhemann's purple [13] โดยทั่วไปแล้วกรดอะมิโนทุกชนิดสามารถทำปฏิกิริยาได้กับนินไฮดริน จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบสีม่วง แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) และแอลดีไฮด์ ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดังรูปที่ 5 ยกเว้นกรดอะมิโนบางชนิด เช่น โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบสีเหลือง โดยวิธีนี้สามารถใช้วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนได้อีกด้วย [14]



รูปที่ 5 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนกับนินไฮดริน [14]

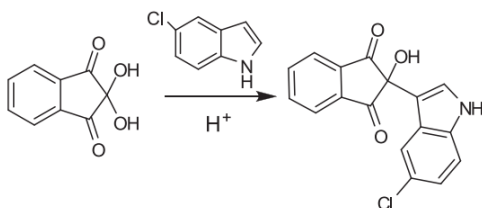
### 1.5 การทบทวนวรรณกรรม (literature review)

El-sayed และคณะ [9] การสังเคราะห์ diazatruxene จากปฏิกิริยา condensation ระหว่าง indole และ ninhydrin โดยใช้อัตราส่วนจำนวนโมล indole : ninhydrin เท่ากับ 4 : 1 และใช้กรดอะซิติกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้ผลิตภัณฑ์ 2 ตัว คือ diazatruxene-1H-inden-1-one มีลักษณะเป็นของแข็งสีดำ และ bis-indolediazatruxene มีลักษณะเป็นของแข็งสีเทาอ่อน ซึ่งมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 30 และ 64 ตามลำดับ



รูปที่ 6 กลไกการเกิดปฏิกิริยา condensation ระหว่าง indole และ ninhydrin [9]

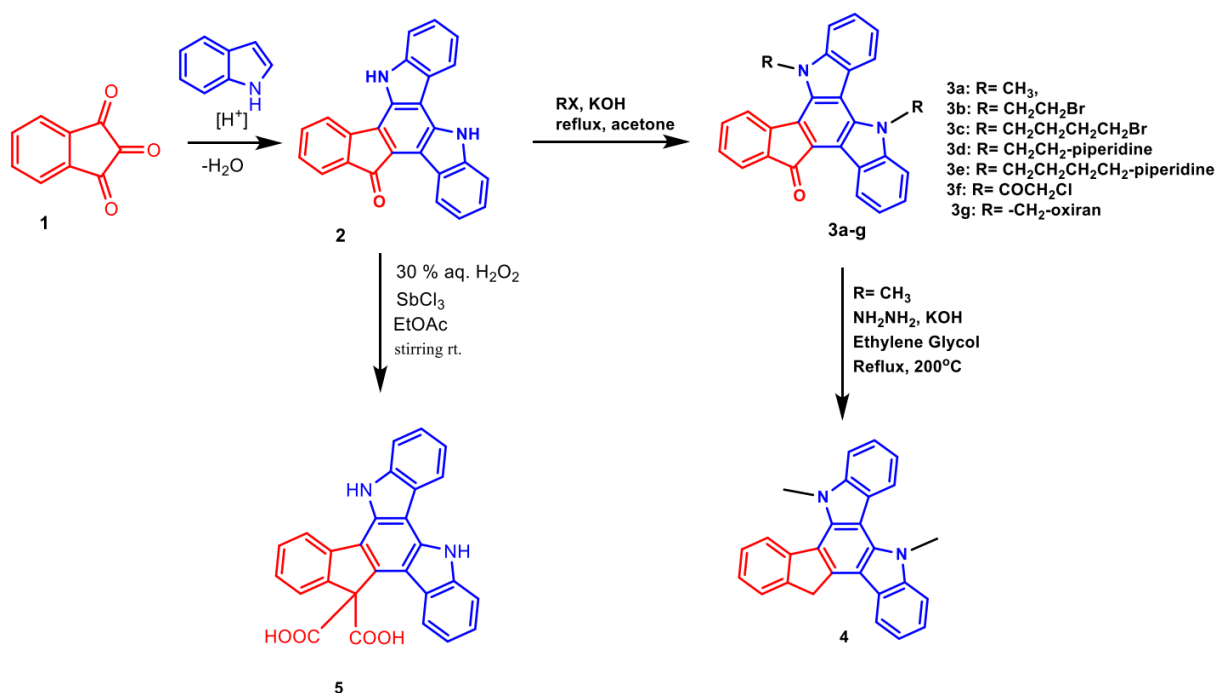
จากนั้นเมื่อนำ 5-chloroindole ทำปฏิกิริยากับ ninhydrin ในอัตราส่วน 1 : 1 ภายใต้สภาวะเดียวกัน จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น 2-(5-Chloro-1H-indol-3-yl)-2-hydroxy-1H-indene-1,3(2H)-dione



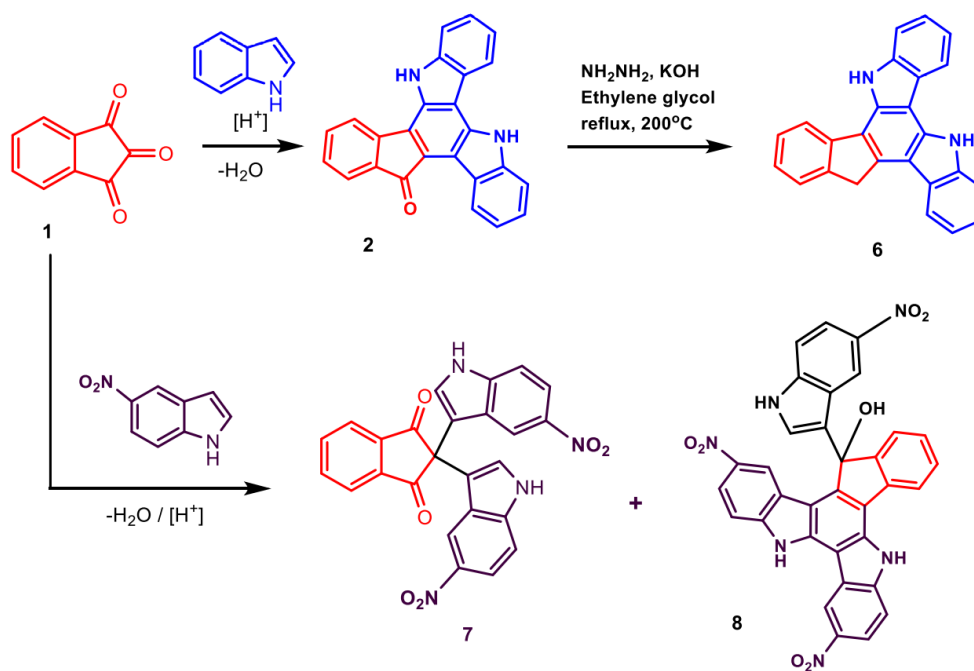
รูปที่ 7 การสังเคราะห์ 2-(5-Chloro-1H-indol-3-yl)-2-hydroxy-1H-indene-1,3(2H)-dione [9]

Benito-Hernandez และคณะ [1] ศึกษาการสังเคราะห์ diazatruxene และสมบัติความเป็น electronic โดยการทำการปฏิกิริยา indole กับ ninhydrin ในอัตราส่วน 2 : 1 ใช้กรดอะซิติกเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยา จากนั้นนำไปทดสอบคุณสมบัติทางอิเล็กทรอนิกส์ต่างๆ ผลปรากฏว่า การเปลี่ยนแปลงลักษณะอิเล็กทรอนิกส์ของหมู่แทนที่ ส่งผลต่อสมบัติ redox และสมบัติเชิงแสง ในทางกลับกัน N-alkylation มีผลต่อคุณสมบัติทางอิเล็กทรอนิกส์น้อยมาก แต่อย่างไรก็ตามมันมีอิทธิพลอย่างมากต่อโมเลกุลอื่นๆ ที่มาเกิดอันตรปฏิกิริยาด้วย โดยที่มันจะชอบเรียงตัวซ้อนกัน (stacking) ผลจากการศึกษาในปัจจุบัน พบว่าโมเลกุลนี้มีคุณสมบัติเป็นวัสดุ electroactive ชนิด amphoteric ที่มีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ทางด้าน organic electronic

Hassan และคณะ [15] ได้ทำการศึกษาการจับกันของ DNA ของ Diazatruxene และอนุพันธ์ ใช้เป็นสารยับยั้งเซลล์มะเร็ง โดยทำการสังเคราะห์ diazatruxene จากทำปฏิกิริยาระหว่าง indole กับ ninhydrin ในอัตราส่วน 2 : 1 ใช้กรดอะซิติก 20 mL เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยทิ้งให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 66% จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยาต่างๆ เพื่อจะได้อนุพันธ์ใหม่ ๆ ของ diazatruxene เกิดขึ้นดังรูปที่ 8 และ 9 ผลปรากฏว่า ผลิตภัณฑ์ 2 (diazatruxene) กับ 8 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง โดย diazatruxene มีค่า growth inhibition (GI%) หรือค่ายับยั้งการเจริญเติบโตที่สูงกว่าอนุพันธ์ตัวอื่น



รูปที่ 8 การสังเคราะห์สารประกอบ 1 - 5 [15]



รูปที่ 9 การสังเคราะห์สารประกอบ 6 - 8 [15]

## 1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ

ได้วิธีการสังเคราะห์ diazatruxene ที่มีประสิทธิภาพ โดยใช้ ninhydrin เป็นสารตั้งต้น

## บทที่ 2

### การทดลอง

งานวิจัยนี้แบ่งการดำเนินงานออกเป็น 4 ส่วน คือ การศึกษาปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยากรดอะซิติกที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ diazatruxene การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา การศึกษาผลของการเพิ่มตัวเร่งปฏิกิริยากรดคลอโรอะซิติก และพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร และการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สังเคราะห์ได้

#### 2.1 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยมีดังนี้

2.1.1	indole	Sigma-Aldrich
2.1.2	ninhydrin	Sigma-Aldrich
2.1.3	acetic acid (glacial) 100%	Merch
2.1.4	sodium hydroxide	Merch
2.1.5	sodium sulfate anhydrous	Merch
2.1.6	dichloromethane	RCL Labscan
2.1.7	hexane	RCL Labscan
2.1.8	ethyl acetate	RCL Labscan
2.1.9	dimethyl sulfoxide-d <sub>6</sub>	Merch
2.1.10	acetone-d <sub>6</sub>	Sigma-Aldrich
2.1.11	silica gels (60 - 200µm)	Silicycle
2.1.12	chloroacetic acid 99%	Sigma-Aldrich
2.1.13	dichloromethane 99.6%, AR grade	Sigma-Aldrich

#### 2.2 เครื่องมือ

<sup>1</sup>H-NMR และ <sup>13</sup>C-NMR สเปกตรัม ได้มาจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง nuclear magnetic resonance spectroscopy รุ่น Jeol 500 MHz NMR spectroscopy และรุ่น Jeol 125 MHz NMR spectroscopy

#### 2.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน และวิธีการทดลอง

เนื่องจากการทดลองสังเคราะห์สารในช่วงแรกต้องใช้เวลาอย่างมากในการแยกสารผลิตภัณฑ์โดยใช้เทคนิค column chromatography และถ้าหากจะทำให้สารบริสุทธิ์นั้นจะต้องทำการแยกสารด้วย column chromatography ประมาณ 3 - 4 ครั้งต่อผลิตภัณฑ์หนึ่งชนิด ซึ่งทางผู้วิจัยเห็นว่าจะต้องใช้เวลาอย่างมากในการดำเนินงาน ดังนั้นจึงทำการแก้ปัญหาในการวิเคราะห์ห่าร้อยละผลผลิตด้วยการทำ NMR yield ซึ่งวิธีนี้จะสามารถลดเวลาในการแยกสารผลิตภัณฑ์ และช่วยลดปริมาณสารที่ใช้ในการลง column chromatography โดยวิธีการนี้ผู้วิจัยได้ทำการสังเคราะห์ diazatruxene และทำการแยกสารผลิตภัณฑ์โดยใช้เทคนิค column



chromatography โดยจะอธิบายขั้นตอนการสังเคราะห์ diazatruxene ในหัวข้อที่ 2.3.1 เมื่อได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการแล้ว จะนำไปเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทดลองในหัวข้อ 2.3.2, 2.3.3 และ 2.3.4 โดยทำ NMR yield เพื่อคำนวณร้อยละผลผลิตที่ได้

### 2.3.1 การสังเคราะห์ diazatruxene

การสังเคราะห์ diazatruxene เริ่มจากซึ่ง indole มา 0.468 g (4 mmol) ใส่ขวดก้นกลม ตามด้วยซึ่ง ninhydrin 0.178 g (1 mmol) จากนั้นเติมกรดอะซิติก 15 mL และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที สังเกตเห็นสารละลายสีเหลืองใส จากนั้นคนสารละลายผสมที่อุณหภูมิห้องตลอดทั้งคืน (ประมาณ 12 ชั่วโมง) จะได้สารละลายสีน้ำตาลดำ โดยสามารถตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ dichloromethane เป็นตัวทำละลาย พบว่า เกิดจุดของผลิตภัณฑ์ 2 ตำแหน่ง โดยมีค่า  $R_f$  ดังนั้น 0.68 และ 0.26 แล้วให้นำมาปรับเป็นกลางโดยใช้ sodium hydroxide จากนั้นนำไปสกัดด้วย dichloromethane ปริมาตร 200 mL ทำ 3 ครั้ง และสกัดด้วย DI water ปริมาตร 200 mL อีก 2 ครั้ง แล้วเก็บสารที่ละลายอยู่ในชั้น organic ใส่ sodium sulfate anhydrous เพื่อดูดน้ำออก จากนั้นกรอง sodium sulfate anhydrous ออก แล้วนำสารไประเหย solvent ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ต่อไปเป็นการแยกสารโดยใช้เทคนิค column chromatography ใช้ silica gels เป็นวัสดุภาคคงที่ และใช้ dichloromethane : hexane เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ โดยเริ่มที่อัตราส่วน 30 : 70 แล้วค่อยๆเพิ่มปริมาณ dichloromethane ไปเรื่อย ๆ จนถึง 100% dichloromethane เมื่อได้ผลิตภัณฑ์แล้วนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy

### 2.3.2 การศึกษาปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยากรดอะซิติกที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ diazatruxene

ทำการทดลองในลักษณะเดียวกันกับหัวข้อ 2.3.1 โดยใช้ indole ปริมาณ 0.468 g (4 mmol) กับ ninhydrin 0.178 g (1 mmol) จากนั้นเติมกรดอะซิติก ตามปริมาณที่ต้องการศึกษา คือ 5 10 และ 15 mL และนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที และคนให้สารละลายผสมต่อไปจนข้ามคืน (ประมาณ 12 ชั่วโมง) จากนั้นจึงหยุดปฏิกิริยา และทำการสกัดสารผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีในหัวข้อ 2.3.1 โดยไม่ต้องทำการแยกสารด้วยเทคนิค column chromatography จากนั้นเก็บ crude ที่ได้แต่ละอุณหภูมิไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy

### 2.3.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

ทำการทดลองในลักษณะเดียวกันกับหัวข้อ 2.3.1 โดยใช้ indole ปริมาณ 0.468 g (4 mmol) กับ ninhydrin 0.178 g (1 mmol) และกรดอะซิติก 15 mL โดยนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 100 และ 120 °C เป็นเวลา 15 นาที และคนให้สารละลายผสมต่อไปจนข้ามคืน (ประมาณ 12 ชั่วโมง) จากนั้นจึงหยุดปฏิกิริยา และทำการสกัดสารผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีในหัวข้อ 2.3.1 โดยไม่ต้องทำการแยกสารด้วยเทคนิค column chromatography จากนั้นเก็บ crude ที่ได้แต่ละอุณหภูมิไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy

#### 2.3.4 การศึกษาผลของการเพิ่มตัวเร่งปฏิกิริยากรดคลอโรอะซิติก

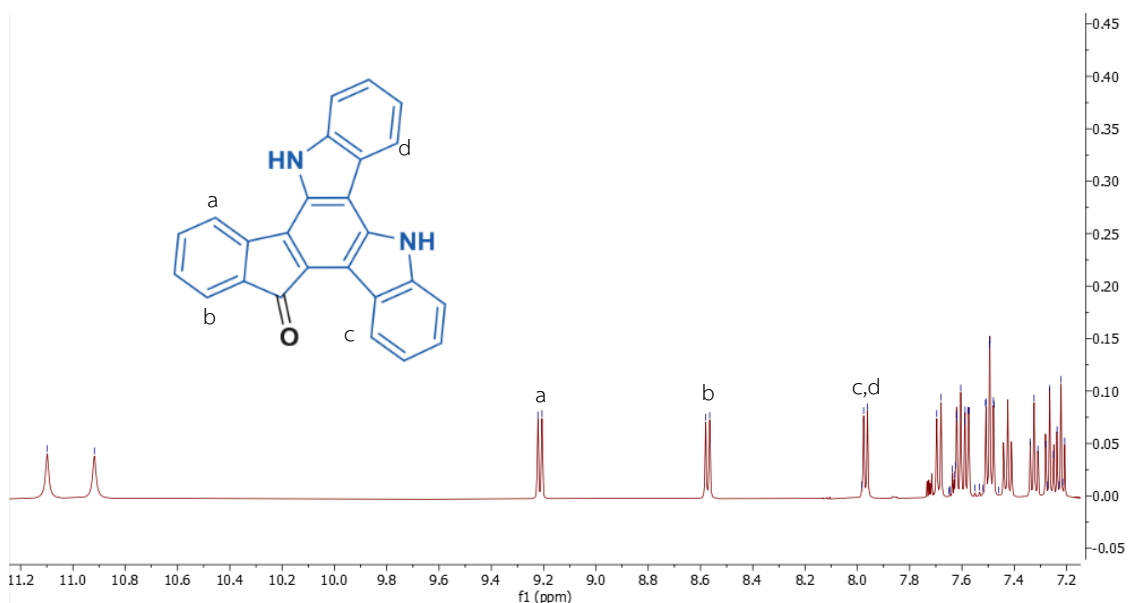
ทำการทดลองในลักษณะเดียวกันกับหัวข้อ 2.3.1 โดยใช้ indole ปริมาณ 0.468 g (4 mmol) กับ ninhydrin 0.178 g (1 mmol) และกรดอะซิติก 15 mL จากนั้นเติมกรด chloroacetic 6.1593 g (65 mmol) โดยนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที และคนให้สารละลายผสมต่อไปจนข้ามคืน (ประมาณ 12 ชั่วโมง) จากนั้นจึงหยุดปฏิกิริยา และทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีในหัวข้อ 2.3.1 และเก็บ crude ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy โดยไม่ต้องทำการแยกสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิค column chromatography

### บทที่ 3

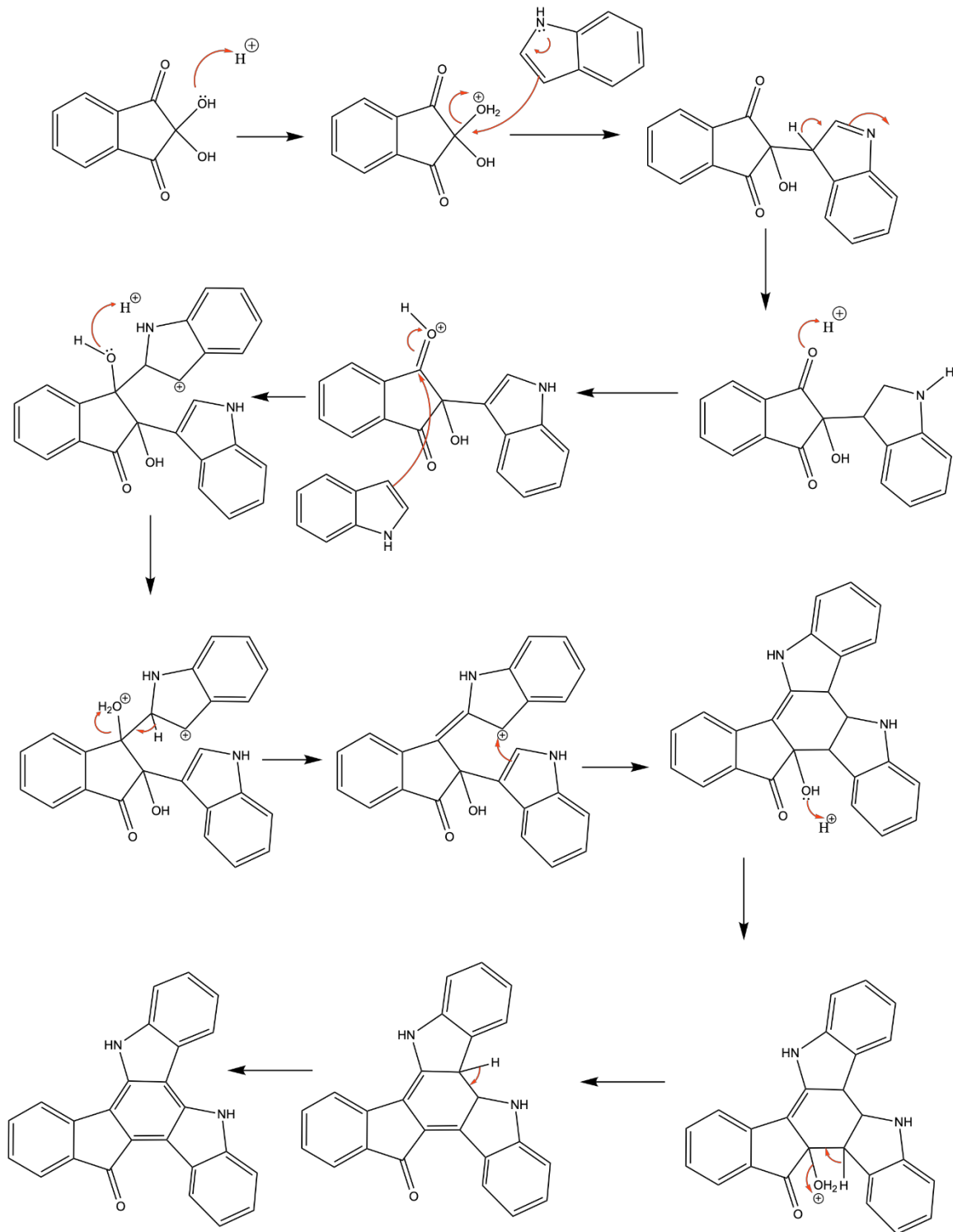
#### ผลทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

##### 3.1 การสังเคราะห์ diazatruxene ตามวิธีที่มีผู้เคยรายงานไว้

diazatruxene สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาควบนั่นระหว่าง indole และ ninhydrin โดยใช้กรดอะซิติก เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดย reflux ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการคนอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 18 ชั่วโมง ดังรูปที่ 11 จะได้สารละลายสีน้ำตาลแดงเข้ม แล้วนำไปสกัดด้วย dichloromethane เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ละลายในชั้นอินทรีย์ จากนั้นเติมน้ำเพื่อแยกกรดอะซิติก ให้มาอยู่ในชั้นน้ำ ทำการเก็บชั้นอินทรีย์แล้วนำไป rotary evaporation จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น crude สีน้ำตาลเข้ม จากนั้นแบ่ง crude ออกมาครึ่งหนึ่ง เพื่อนำไปแยกผลิตภัณฑ์โดยใช้เทคนิค column chromatography จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีดำนอง จากนั้นจึงไปคำนวณหาร้อยละของสารผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่ใน crude ทั้งหมด ด้วยการคำนวณ NMR yield โดยจะอธิบายหลักการคำนวณหาร้อยละผลผลิตในหน้าภาคผนวก จะได้ร้อยละผลผลิตของสารผลิตภัณฑ์เท่ากับ 11.68 ผลิตภัณฑ์ที่ได้สามารถพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารประกอบด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy (ใช้ความถี่ 500 MHz, acetone -  $\text{D}_6$  เป็นตัวทำละลาย) จาก  $^1\text{H-NMR}$  spectrometer ดังรูปที่ 10 พบสัญญาณของพีคที่สำคัญที่ chemical shift 10.92 และ 11.10 จะให้สัญญาณ singlet ทั้งคู่ ซึ่งเป็นโปรตอนของหมู่ amine และพบสัญญาณของพีคที่ chemical shift 7.97 (โปรตอนตำแหน่ง c และ d), 8.57 (โปรตอนตำแหน่ง b) และ 9.21 (โปรตอนตำแหน่ง a) ทั้งสามพีคจะให้สัญญาณ doublet ซึ่งเป็นของโปรตอนบนวงอะโรมาติกที่อยู่ใกล้กับหมู่ carbonyl ส่งผลให้เกิดการ deshield ทำให้ chemical shift มีค่าสูงขึ้น และพบสัญญาณโปรตอนบนวงอะโรมาติกที่ chemical shift 7.27 – 7.69 ppm จึงเป็นหลักฐานยืนยันได้ว่าได้ผลิตภัณฑ์เป็น diazatruxene



รูปที่ 10  $^1\text{H-NMR}$  ของ diazatruxene



รูปที่ 11 กลไกการสังเคราะห์ diazatruxene

### 3.2 การศึกษาปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยากรดอะซิติกที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ diazatruxene

เมื่อสามารถสังเคราะห์ diazatruxene ได้ด้วยวิธีที่เคยมีผู้รายงานไว้แล้ว ผู้วิจัยพบว่าปฏิกิริยายังมี ประสิทธิภาพไม่ดี เนื่องจากให้ผลผลิตต่ำและมี by-product เกิดขึ้นในปริมาณมาก เพื่อเป็นการศึกษาหา ภาวะที่ดีที่สุดจึงทำการปรับเปลี่ยนสภาวะต่างๆ ซึ่งในขั้นตอนนี้จะทำการปรับเปลี่ยนปริมาณกรดอะซิติก

ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาก่อน โดยกำหนดให้สัดส่วนของสารตั้งต้นมีค่าคงที่และเปลี่ยนปริมาณของกรดอะซิติก เป็น 5, 10 และ 15 mL ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะของ reaction mixture ที่ใช้ปริมาณกรดอะซิติกต่างกัน

ปริมาณกรดอะซิติก (mL)	ปริมาณสารตั้งต้น		ลักษณะของ reaction mixture	
	ปริมาณ indole (g, mmol)	ปริมาณ ninhydrin (g, mmol)	หลังให้ความร้อน 80 °C เวลา 15 นาที	หลังคนอย่างต่อเนื่อง ตลอดทั้งคืน
5	0.4683, 4	0.1783, 1	สารละลายสีเหลืองใส สารตั้งต้นละลาย ไม่หมด	สารละลายสีน้ำตาล เข้ม มีตะกอนสี เหลือง
10	0.4682, 4	0.1782, 1	สารละลายสีน้ำตาล แดงเข้ม มีไอน้ำเกาะที่ ขวดก้นกลม สาร ตั้งต้นละลายหมด	สารละลายสีน้ำตาล ใส มีตะกอนสีเหลือง เล็กน้อย
15	0.4683, 4	0.1782, 1	สารละลายสีน้ำตาล แดง สารตั้งต้นละลาย หมด	สารละลายสีน้ำตาล อมเหลือง มีตะกอนสี เหลืองมากที่สุด

จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปสกัดในลักษณะเดียวกับหัวข้อ 3.1 และทำการเก็บ crude ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy เพื่อทำการคำนวณหาร้อยละผลผลิตด้วยการทำ NMR yield จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณกรดอะซิติก 10 mL ให้ร้อยละผลผลิตมากที่สุดคือ 16.97 รองลงมาคือใช้กรดอะซิติกปริมาณ 15 mL มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 14.13 และเมื่อใช้กรดอะซิติกปริมาณ 5 mL ได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 10.12 สามารถอธิบายได้ว่า เมื่อใช้กรดอะซิติกปริมาณ 10 mL ให้ร้อยละผลผลิตมากที่สุด เนื่องจากปริมาณกรดอะซิติกที่ใช้เพียงพอแล้วที่จะไป protonated ให้โมเลกุล indole เข้ามาทำปฏิกิริยามากเพียงพอที่จะเกิดเป็น diazatruxene ในขณะที่ใช้ปริมาณกรดอะซิติก 15 mL อาจจะมีมากเกินไป จึงส่งผลให้อาจจะไปเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ตัวอื่น ซึ่งในที่นี่ผู้วิจัยไม่ได้ให้ความสนใจ เพราะไม่ใช่สารที่ผู้วิจัยต้องการ และจากร้อยละผลผลิตเมื่อใช้กรดอะซิติก 5 mL ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยจึงทำให้ไม่เพียงพอที่จะไป protonate ให้ indole เข้ามาทำปฏิกิริยาได้ ประกอบกับเมื่อใช้เวลาเพียง 15 นาที จึงอาจจะทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ยังไม่สมบูรณ์ ทำให้ได้ร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่น้อยกว่าปริมาณกรดอะซิติกอื่นๆ

### 3.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

ขั้นตอนนี้ทำการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิที่ต้องการคือ 80, 100 และ 120 °C แล้วให้ความร้อนเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการคนอย่างต่อเนื่องตลอดทั้งคืนที่อุณหภูมิห้อง โดยสามารถสังเกตลักษณะของสารที่แตกต่างกันได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลักษณะของ reaction mixture ที่ใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาแตกต่างกัน

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณสารตั้งต้น		ลักษณะของ reaction mixture	
	ปริมาณ indole (g, mmol)	ปริมาณ ninhydrin (g, mmol)	หลังให้ความร้อน เป็นเวลา 15 นาที	หลังคนอย่างต่อเนื่องตลอดทั้งคืน
80	0.4682, 4	0.1782, 1	สารละลายสีน้ำตาล สารตั้งต้นละลายหมด	สารละลายสีน้ำตาล แดง
100	0.4682, 4	0.1783, 1	สารละลายสีน้ำตาลแดง สารตั้งต้นละลายหมด	สารละลายสีน้ำตาล แดงเข้ม
120	0.4683, 4	0.1782, 1	สารละลายสีน้ำตาลแดง เข้ม สารตั้งต้นละลายหมด	สารละลายสีน้ำตาล เข้ม

จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปสกัดในลักษณะเดียวกับหัวข้อ 3.1 และทำการเก็บ crude ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy เพื่อทำการคำนวณหาร้อยละผลผลิตด้วยการทำ NMR yield จากผลการทดลองพบว่า ในแต่ละอุณหภูมิที่ใช้สังเคราะห์ ได้แก่ 80 100 และ 120 °C ให้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 49.44, 57.63 และ 84.52 ตามลำดับ จะพบว่าการสังเคราะห์ diazatruxene ที่อุณหภูมิ 120 °C ให้ร้อยละผลผลิตมากที่สุด เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่กรดอะซิติกเดือด (116 – 118 °C) จึงสามารถเร่งให้เกิดการ protonated ในระยะเวลา 15 นาทีได้ดีที่สุด ดังนั้นเมื่อปล่อยให้ทำปฏิกิริยาต่อที่อุณหภูมิห้องตลอดทั้งคืนจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้อย่างสมบูรณ์ส่งผลให้ได้รับร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ในขณะที่เมื่อใช้อุณหภูมิ 80 และ 100 °C อาจจะเป็นอุณหภูมิที่ไม่สูงพอที่จะทำให้กรดอะซิติกมีประสิทธิภาพในการ protonated ได้ดีที่สุดในที่สุด จึงทำให้ได้ร้อยละของผลผลิตที่น้อยลง

### 3.4 การศึกษาผลของกรดคลอโรอะซิติก

จากการทำการศึกษากรดอะซิติกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแล้ว ผู้วิจัยจึงเพิ่มกรดตัวอื่นเพื่อไปช่วยในการเร่งให้เกิดปฏิกิริยาโดยเลือกใช้เป็นกรดคลอโรอะซิติก ที่มีคุณสมบัติเป็นกรดที่แรงกว่ากรดอะซิติก โดยได้ทำการเติมกรดคลอโรอะซิติกประมาณ 65 mmol กับกรดอะซิติก 15 mL หลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 15 นาที สังเกตเห็นสารละลายมีสีน้ำตาลเข้ม จากนั้นทำการคนอย่างต่อเนื่องตลอดทั้งคืนที่อุณหภูมิห้องพบว่า สารละลายสีน้ำตาลอ่อน มีตะกอนสีน้ำตาลเล็กน้อย จากนั้นนำไปสกัดในลักษณะเดียวกับหัวข้อ 3.1 เพื่อเก็บ crude ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy และคำนวณหาร้อยละผลผลิตด้วยการทำ NMR yield พบว่าให้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 56.83 ซึ่งเมื่อเทียบกับผลการทดลองข้อ 3.2 และ 3.3

ที่ใช้กรดอะซิติกเพียงอย่างปริมาณ 15 mL อุณหภูมิ 80 °C พบว่าให้ร้อยละผลผลิตที่มากกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่ากรดคลอโรอะซิติกสามารถช่วยเร่งปฏิกิริยาได้ดีขึ้น เนื่องจากโครงสร้างของกรดคลอโรอะซิติกประกอบด้วยคลอรีน ซึ่งจะมีค่า electronegativity สูงกว่าไฮโดรเจนในโครงสร้างของกรดอะซิติก อิเล็กตรอนที่อยู่ในพันธะ Cl-C จึงถูกดึงออกจากอะตอมคาร์บอนมากกว่าอิเล็กตรอนในพันธะ H-C ดังนั้นคลอรีนจึงเป็น electron-withdrawing group จึงสามารถให้ร้อยละผลผลิตที่ดีกว่าการใช้กรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลอง

#### 4.1 สรุปผลการทดลอง

diazatruxene สามารถสังเคราะห์ได้จาก indole และ ninhydrin ในอัตราส่วน (4:1) โดยใช้กรดอะซิติกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อให้ได้ร้อยละผลผลิตที่มากที่สุดจึงทำการปรับเปลี่ยนหาสภาวะที่เหมาะสม โดยปริมาณอะซิติกที่เหมาะสมคือ 10 mL และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสังเคราะห์คือ 120 °C ได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 16.97 และ 84.52 ตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาผลการเติมกรดคลอโรอะซิติกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาร่วมกับกรดอะซิติกปริมาณ 15 mL ที่อุณหภูมิ 80 °C พบว่าได้ร้อยละผลผลิตเท่ากับ 56.83 ซึ่งมากกว่าการใช้กรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าทั้งชนิดของกรด ปริมาณกรด และอุณหภูมามีผลต่อการสังเคราะห์ diazatruxene

#### 4.2 ข้อเสนอแนะ

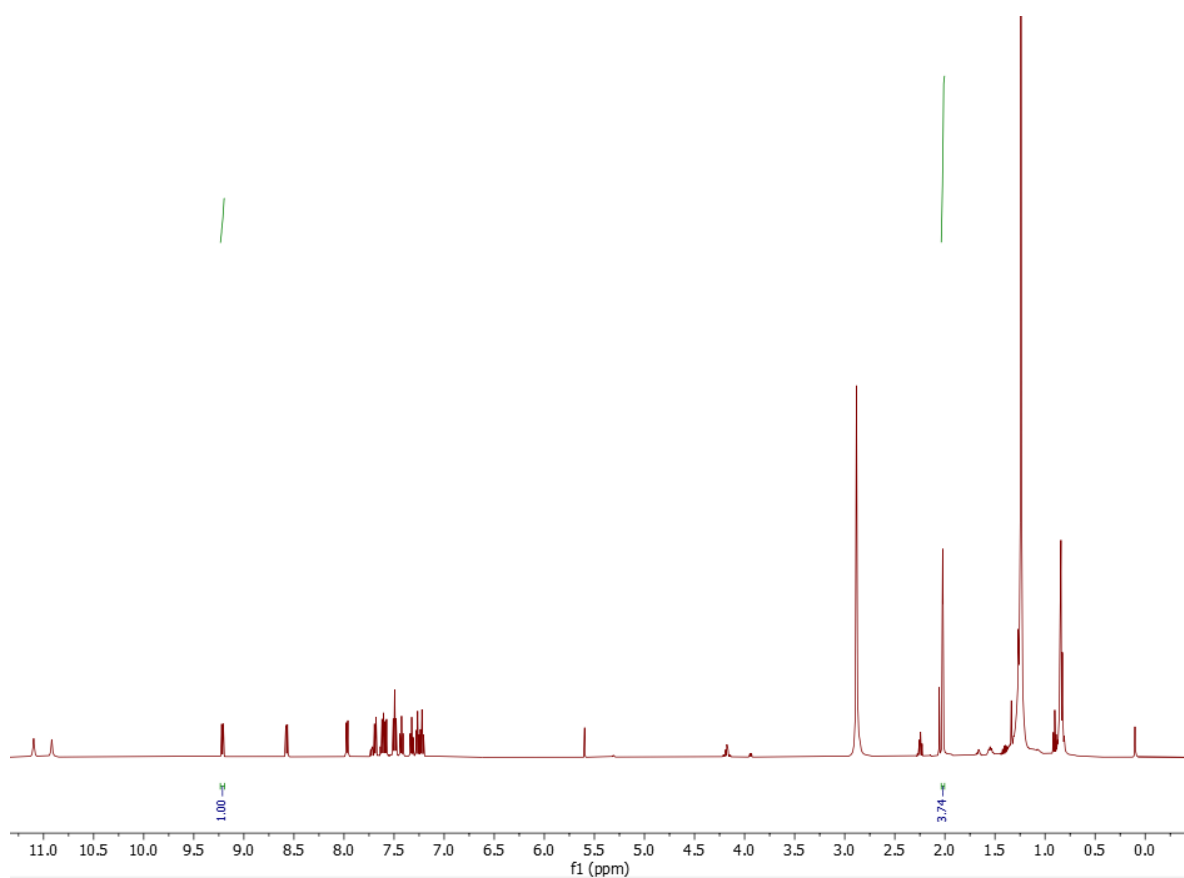
เนื่องจากสถานการณ์การแพร่ระบาดของเชื้อโรค COVID-19 มีความรุนแรงเพิ่มขึ้นอย่างมาก จึงทำให้จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยออกมาตรการปิดพื้นที่เป็นการชั่วคราวตั้งแต่วันที่ 11 เมษายน พ.ศ. 2564 จนถึงวันที่ 23 พฤษภาคม พ.ศ. 2564 จึงส่งผลให้ผู้วิจัยไม่สามารถไปทำการทดลองต่อได้ จึงสามารถหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์เพื่อให้ได้ร้อยละผลผลิตที่ดีที่สุดได้แต่เพียงเท่านี้ ดังนั้นหากทำการศึกษาเพิ่มเติมอาจจะทำการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนสารตั้งต้น indole : ninhydrin เท่า 2 : 1 เพื่อจะได้ให้เกิด diazatruxene เพียงผลิตภัณฑ์เดียว และอาจจะศึกษากรดชนิดอื่นเพิ่มเติม



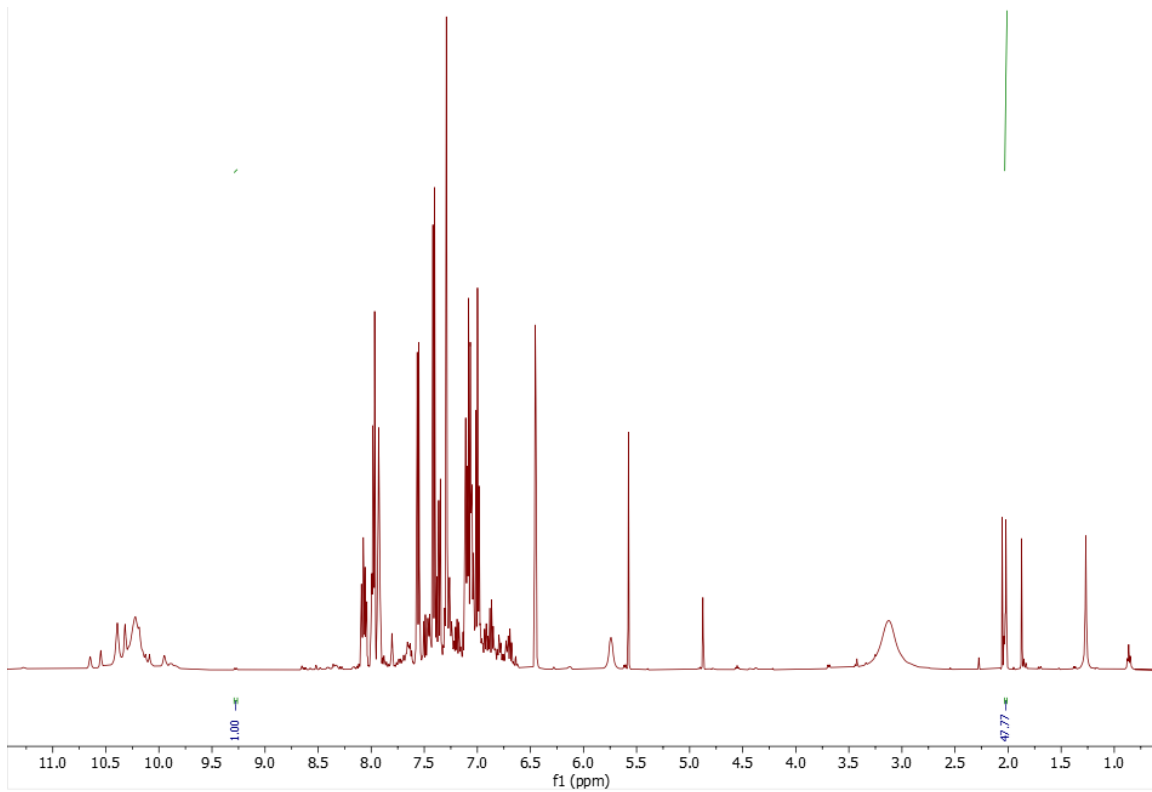
### ภาคผนวก

#### การคำนวณหาปริมาณของผลิตภัณฑ์จาก NMR spectrum (NMR yield)

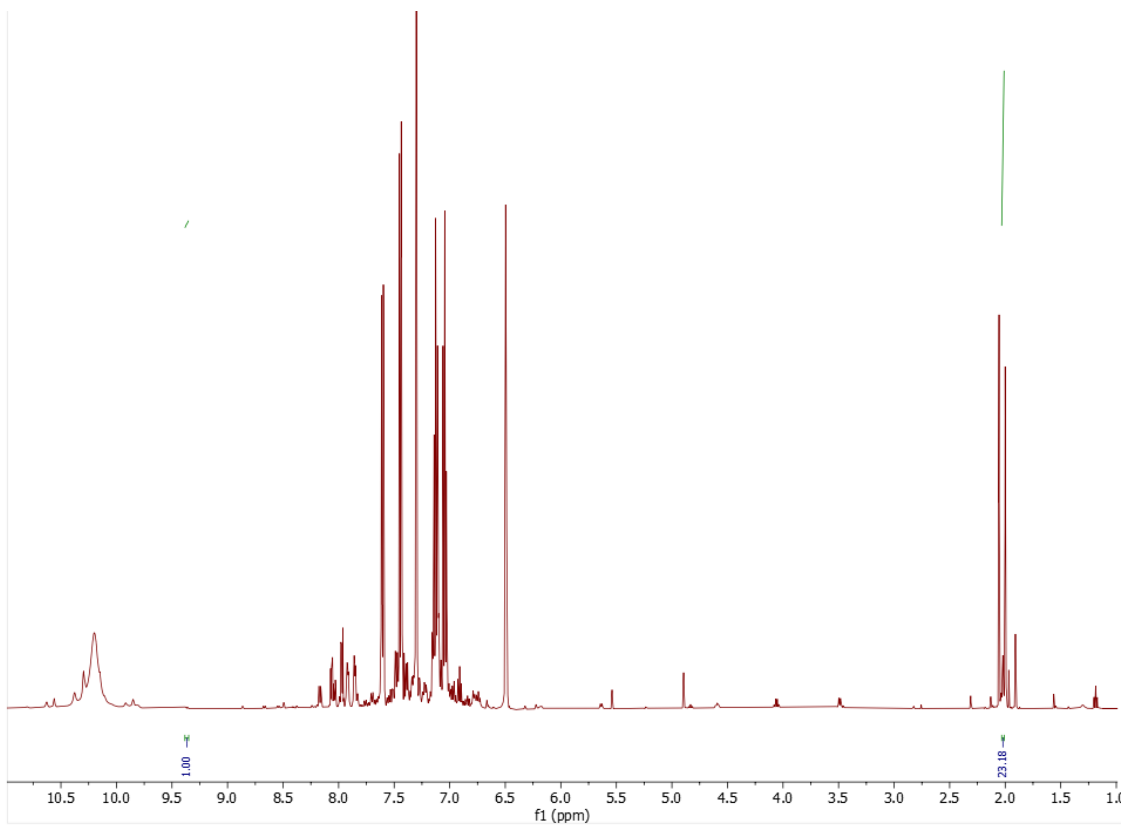
การหา NMR yield สามารถทำได้โดยการนำสาร crude ที่ได้จากการทดลองต่าง ๆ ที่มีน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.050 กรัม จากนั้นเติม acetone - D<sub>6</sub> ปริมาตร 0.5 mL แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค <sup>1</sup>H-MNR spectroscopy เมื่อได้สเปกตรัมแล้วทำการ integrate พีคที่มีลักษณะเฉพาะของ diazatruxene ซึ่งผู้วิจัยเลือก integrate สัญญาณที่ chemical shift 9.2 ppm ให้เท่ากับ 1.00 แล้วจึง integrate สัญญาณของ acetone - D<sub>6</sub> ที่ chemical shift 2.0 ppm ซึ่งจะได้ค่าพื้นที่ใต้กราฟของ acetone - D<sub>6</sub> ที่แตกต่างกันในแต่ละสเปกตรัม ดังนี้



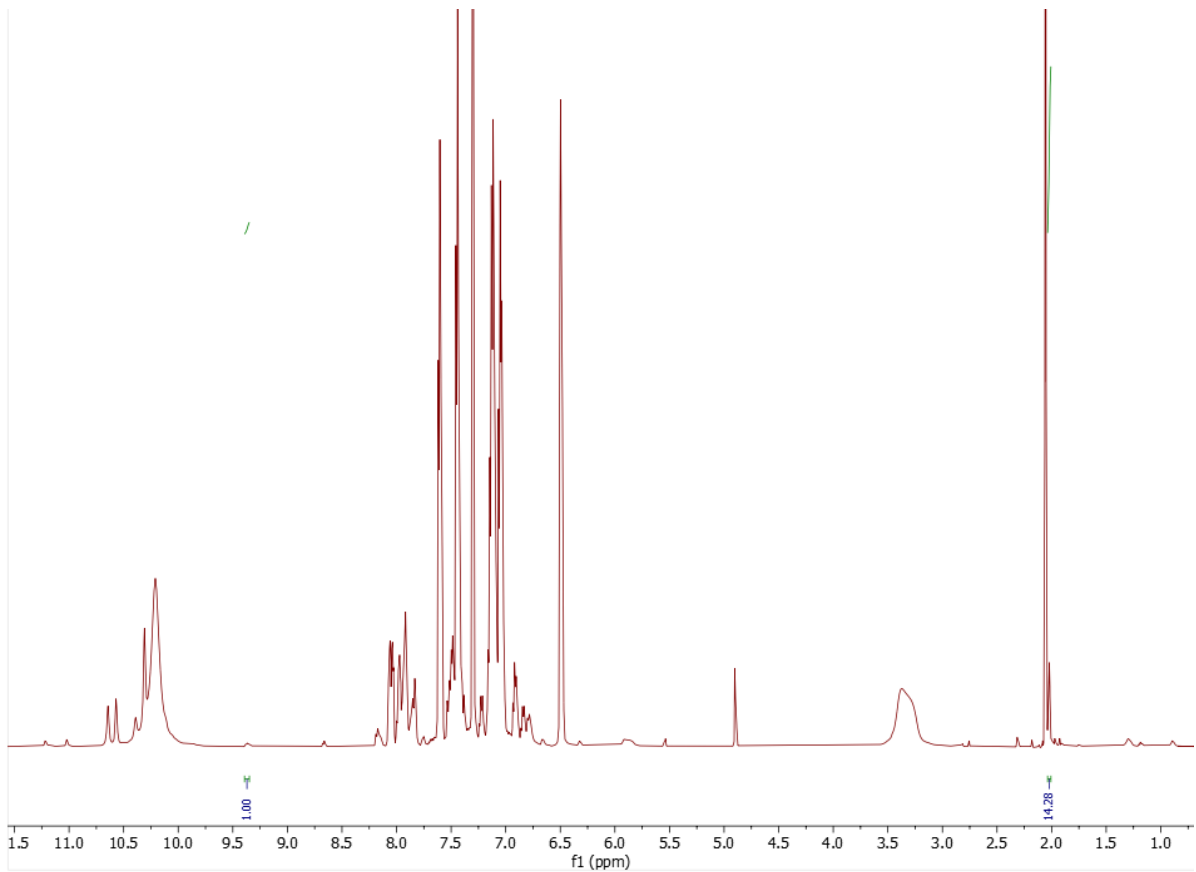
รูปที่ 12 พื้นที่ใต้กราฟ diazatruxene ต่อ acetone - D<sub>6</sub>



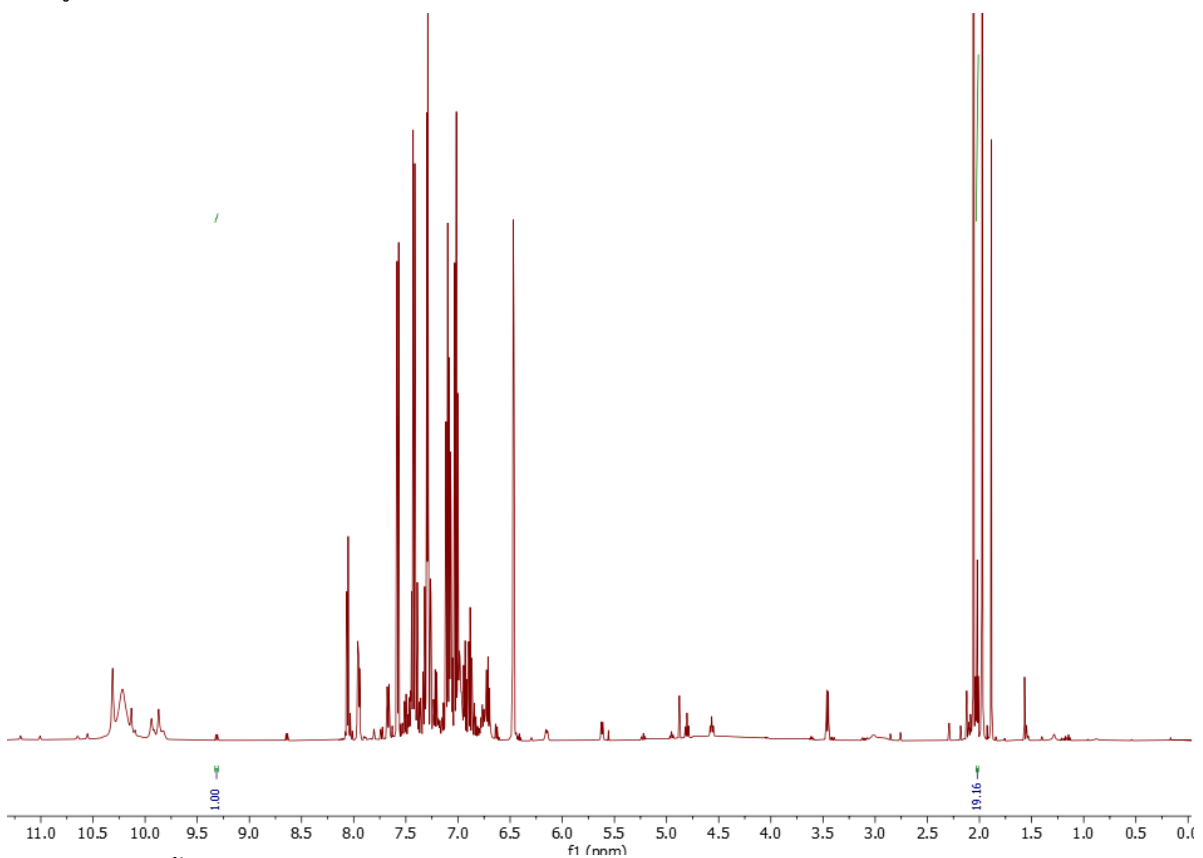
รูปที่ 13 พื้นที่ใต้กราฟ crude จากการสังเคราะห์ diazatruxene ต่อ acetone – D<sub>6</sub>



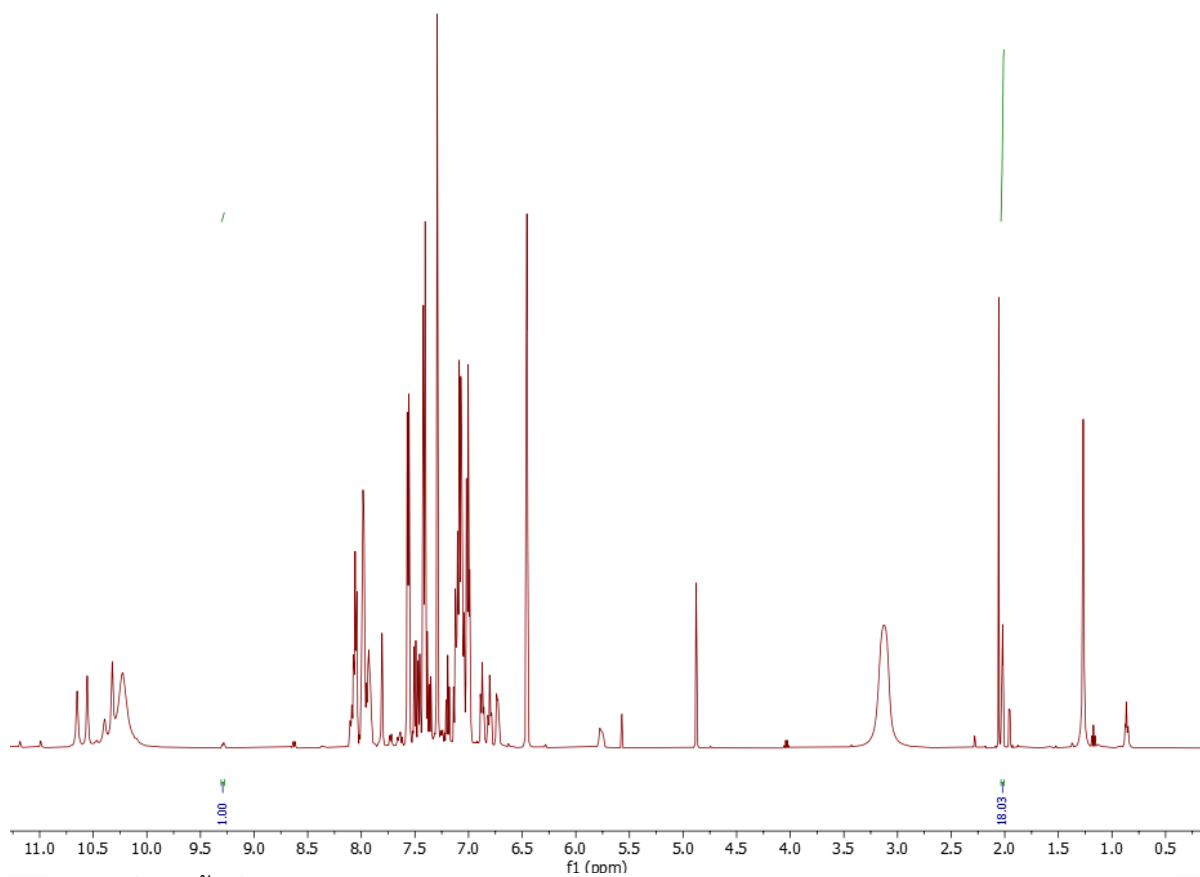
รูปที่ 14 พื้นที่ใต้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้กรดอะซิติก 5 mL ต่อ acetone – D<sub>6</sub>



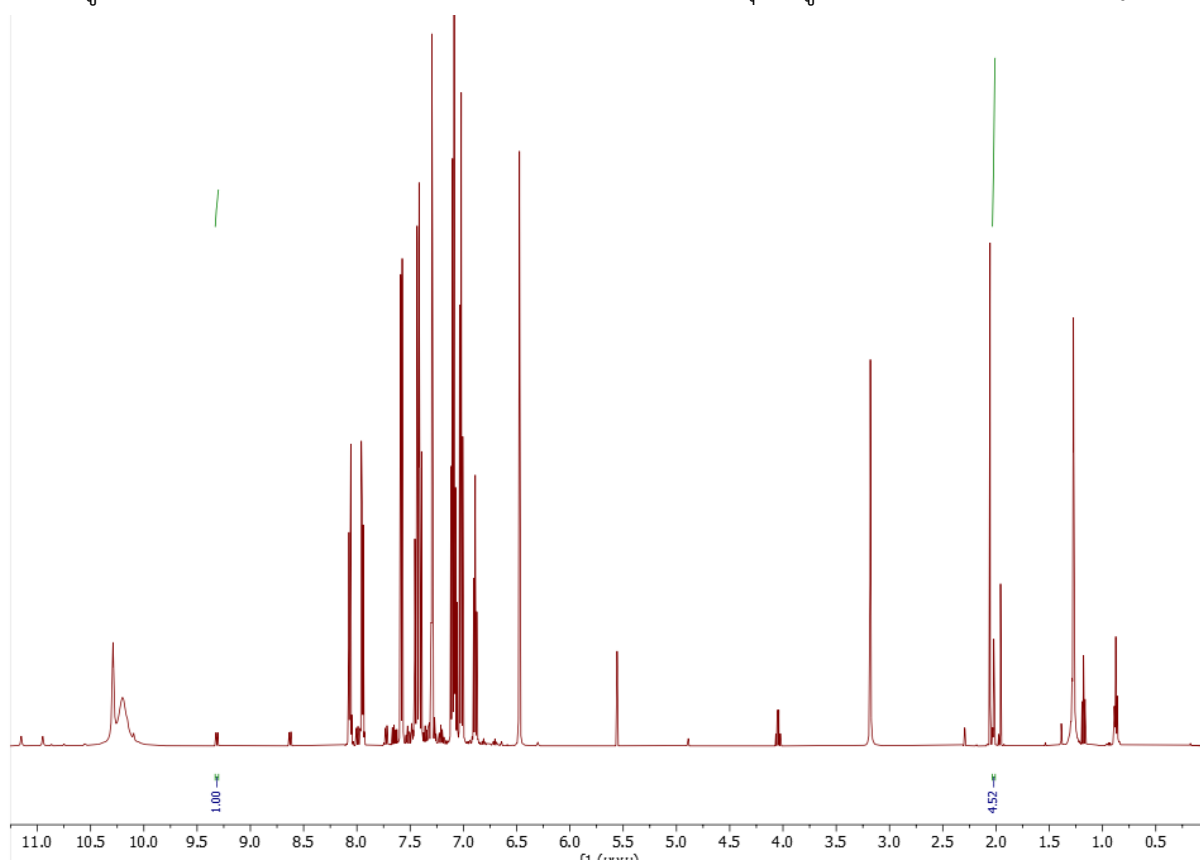
รูปที่ 15 พื้นที่ใต้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้กรดอะซิติก 10 mL ต่อ acetone - D<sub>6</sub>



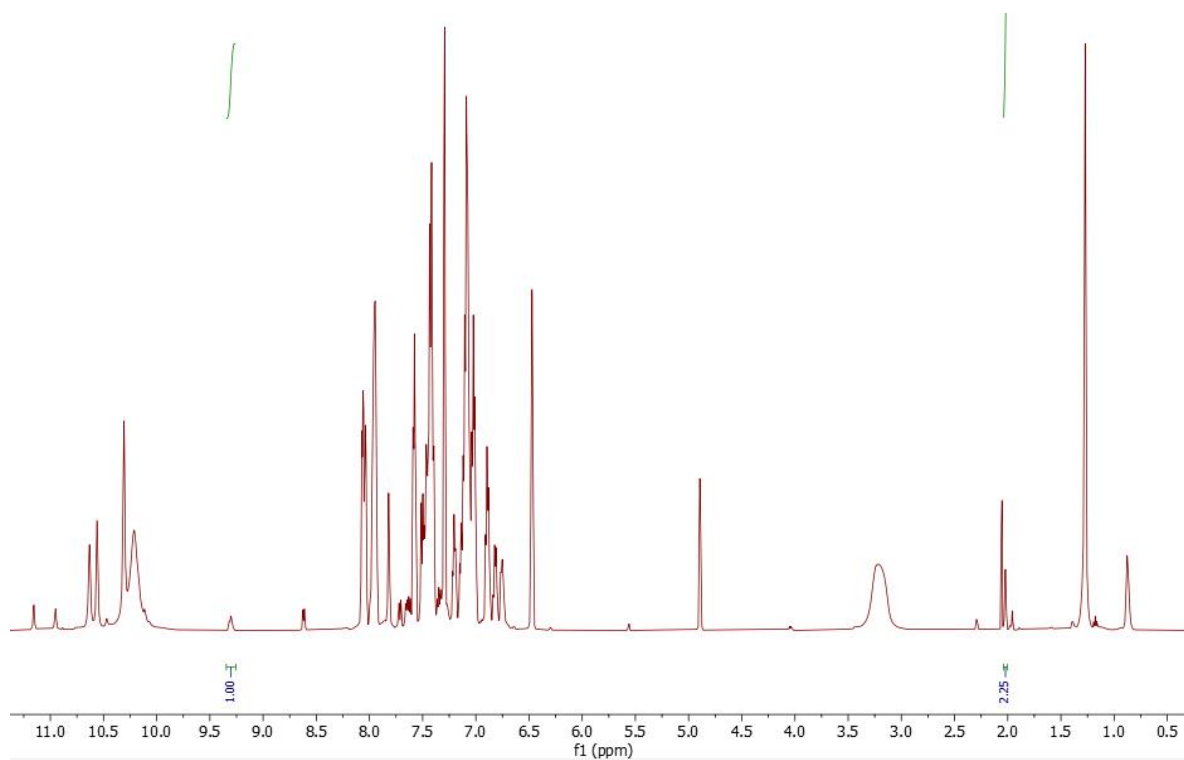
รูปที่ 16 พื้นที่ใต้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้กรดอะซิติก 15 mL ต่อ acetone - D<sub>6</sub>



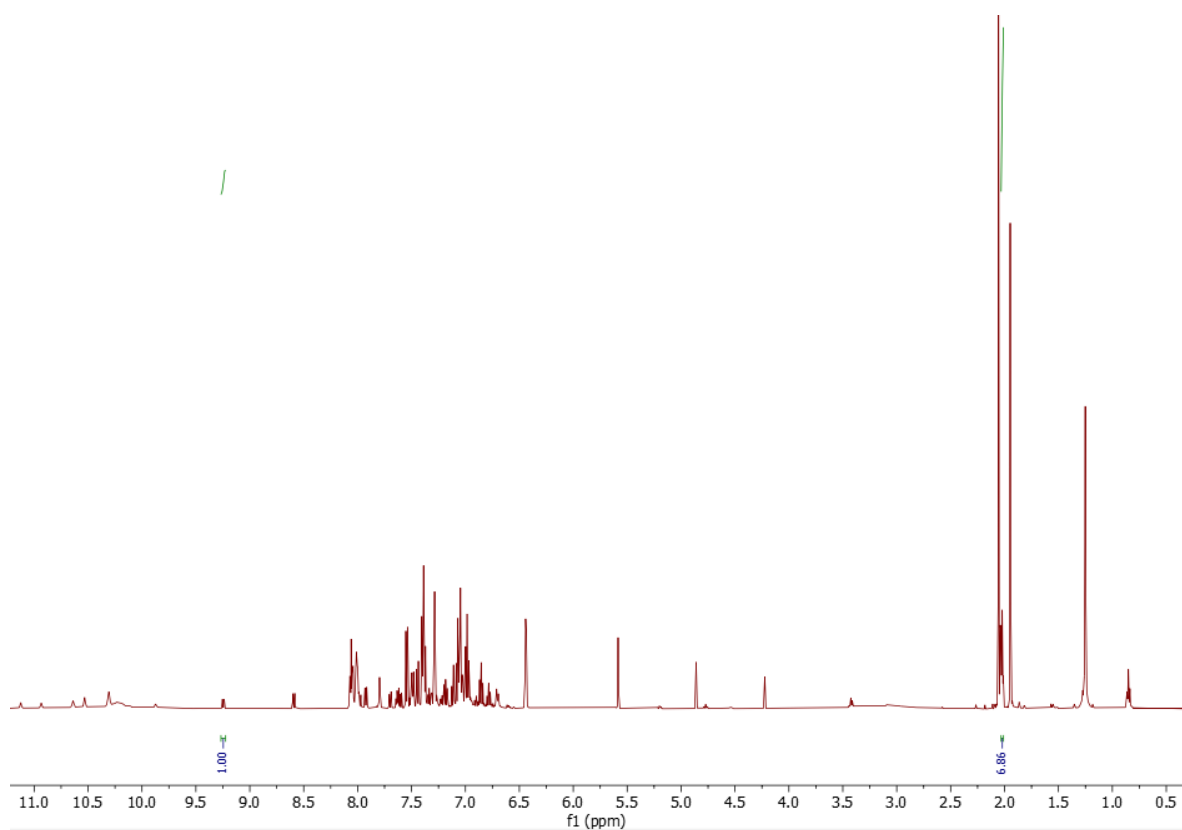
รูปที่ 17 พื้นที่ใต้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้อุณหภูมิ 80 °C ต่อ acetone - D<sub>6</sub>



รูปที่ 18 พื้นที่ใต้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้อุณหภูมิ 100 °C ต่อ acetone - D<sub>6</sub>



รูปที่ 19 พื้นที่ใต้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้อุณหภูมิ 120 °C ต่อ acetone – D<sub>6</sub>



รูปที่ 20 พื้นที่ใต้กราฟการสังเคราะห์ diazatruxene โดยใช้กรดคลอโรอะซิติกกับการดอะซิติกต่อ acetone – D<sub>6</sub>

## วิธีการคำนวณร้อยละผลผลิต

### ร้อยละผลผลิตของ diazatruxene ใน crude

จากการ integrated พีค NMR spectrum จะได้

$$\frac{\text{integration ของ std ตำแหน่งที่ 9.2 ppm}}{\text{integration ของ solvent ตำแหน่งที่ 2.0 ppm}} = \frac{1}{3.74} = 0.2674$$

$$\frac{\text{integration ของ sample ตำแหน่งที่ 9.2 ppm}}{\text{integration ของ solvent ตำแหน่งที่ 2.0 ppm}} = \frac{1}{47.77} = 0.0209$$

เนื่องจาก Standard คือ diazatruxene บริสุทธิ์ที่ทำการแบ่งมาจาก crude แล้วนำไปแยกด้วยเทคนิค column chromatography น้ำหนัก 0.0254 กรัม มีอัตราส่วน peak std ต่อ peak solvent (acetone – D<sub>6</sub>) เท่ากับ 0.02674

ถ้าอัตราส่วน peak sample (พีค crude จากการสังเคราะห์ diazatruxene) ต่อ peak solvent เท่ากับ 0.0209 จะมีน้ำหนักของสารใน sample เท่ากับ  $\frac{0.0209 \times 0.0254}{0.2674} = 1.988 \times 10^{-3}$  กรัม

ดังนั้น น้ำหนักของสารใน sample เท่ากับ  $1.988 \times 10^{-3}$  กรัม

ถ้าใส่ sample น้ำหนัก 0.0461 กรัม มีสารที่ต้องการ  $1.988 \times 10^{-3}$  กรัม

แสดงว่า มีสารที่ต้องการ  $\frac{1.988 \times 10^{-3}}{0.0461} \times 100 = 4.313\%$

สาร crude ทั้งหมดหนัก 9.705 กรัม มีสารที่ต้องการ 4.313% คิดเป็น  $9.705 \times \frac{4.313}{100} = 0.4186$  กรัม

ดังนั้น คำนวณหา ร้อยละของผลผลิต (%yield) ของ crude 5 ดังนี้

$$\% \text{yield ของ crude 5} = \frac{0.4186 \text{ g product}}{1.7810 \text{ g ninhydrin} \times \frac{1 \text{ mol ninhydrin}}{178.14 \text{ g ninhydrin}} \times \frac{358.4 \text{ g product}}{1 \text{ mol product}}} \times 100 = 11.68\%$$

### ร้อยละผลผลิตของ diazatruxene เมื่อสังเคราะห์โดยใช้กรดอะซิติก 5 mL

จากการ integrate พีค NMR spectrum จะได้

$$\frac{\text{peak ของ std ตำแหน่งที่ 9.2 ppm}}{\text{peak ของ solvent ตำแหน่งที่ 2.0 ppm}} = \frac{1}{3.74} = 0.2674$$

$$\frac{\text{peak ของ sample ตำแหน่งที่ 9.2 ppm}}{\text{peak ของ solvent ตำแหน่งที่ 2.0 ppm}} = \frac{1}{23.18} = 0.0431$$

เนื่องจาก Standard คือ diazatruxene บริสุทธิ์ที่ทำการแบ่งมาจาก crude แล้วนำไปแยกด้วยเทคนิค column chromatography น้ำหนัก 0.0254 กรัม มีอัตราส่วน peak std ต่อ peak solvent (acetone – D<sub>6</sub>) เท่ากับ 0.02674

ถ้าอัตราส่วน peak sample (พีค crude ของ diazatruxene ที่สังเคราะห์ในกรดอะซิติก 5 mL) ต่อ peak solvent เท่ากับ 0.0209 จะมีน้ำหนักของสารใน sample เท่ากับ  $\frac{0.0431 \times 0.0254}{0.2674} = 4.098 \times 10^{-3}$  กรัม

ดังนั้น น้ำหนักของสารใน sample เท่ากับ  $4.098 \times 10^{-3}$  กรัม

ถ้าใส่ sample น้ำหนัก 0.0980 กรัม มีสารที่ต้องการ  $4.098 \times 10^{-3}$  กรัม

แสดงว่า มีสารที่ต้องการ  $\frac{4.098 \times 10^{-3}}{0.0980} \times 100 = 4.182\%$

สาร crude จากการสังเคราะห์ diazatruxene ในกระโหลกชิติก 5 mL ทั้งหมดหนัก 0.8678 กรัม มีสารที่ต้องการ 4.313% คิดเป็น  $0.08678 \times \frac{4.182}{100} = 0.0363$  กรัม

ดังนั้น คำนวณหา ร้อยละของผลผลิต (%yield) ของ crude 5 ดังนี้

$$\% \text{yield ของ crude 5} = \frac{0.0363 \text{ g product}}{1.7810 \text{ g ninhydrin} \times \frac{1 \text{ mol ninhydrin}}{178.14 \text{ g ninhydrin}} \times \frac{358.4 \text{ g product}}{1 \text{ mol product}}} \times 100 = 10.12\%$$

สำหรับร้อยละผลผลิตของ diazatruxene ในสถานะต่างๆ จะแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงการคำนวณหาร้อยละผลผลิตของ diazatruxene ในแต่ละสภาวะต่างๆ

สาร	peak sample	peak acetone	peak sample/ acetone	น้ำหนักของสารใน sample (g)	น้ำหนัก ninhydrin (g)	น้ำหนัก sample (g)	มีสารที่ต้องการ (%)	น้ำหนัก sample ทั้งหมด (g)	คิดเป็น	% yield ผลิตภัณฑ์
กรดอะซิติก 10 mL	1.00	14.28	0.0700	0.006652	0.1782	0.0973	6.836	0.8902	0.0609	16.97
กรดอะซิติก 15 mL	1.00	19.16	0.0522	0.004958	0.1782	0.0962	5.153	0.9831	0.0507	14.13
อุณหภูมิ 80 °C	1.00	18.03	0.0555	0.005268	0.1782	0.0254	20.742	0.8545	0.1772	49.44
อุณหภูมิ 100 °C	1.00	4.52	0.2212	0.021015	0.1783	0.0886	23.719	0.8716	0.2067	57.63
อุณหภูมิ 120 °C	1.00	2.25	0.4444	0.042217	0.1783	0.1125	37.526	0.8079	0.3032	84.52
กรดคลอโรอะซิติก กับกรดอะซิติก	1.00	6.86	0.1458	0.013847	0.1783	0.0605	22.887	0.8908	0.2039	56.83



## เอกสารอ้างอิง

1. Benito-Hernandez, A.; El-Sayed, M. T.; Lopez Navarrete, J. T.; Ruiz Delgado, M. C.; Gomez-Lor, B.; Fused Donor-acceptor  $\pi$ -conjugated Diazatruxenones: Synthesis and Electronic Properties. *Organic Chemistry Frontiers*, **2018**, 5(11), 1748-1755.
2. Talarico, M.; Termine, R.; Garcia-Frutos, EM.; Omenat, A.; Serrano, JL.; Gomez-Lor, B.; Golemme, A., New Electrode-Friendly Triindole Columnar Phases with High Hole Mobility, *Chem. Mater.*, **2008**, 20, 6589-6591.
3. Lai, W. Y.; He, Q. Y.; Zhu, R.; Chen, Q. Q.; Huang, W., Kinked Star-Shaped Fluorene/Triazatruxene Co-oligomer Hybrids with Enhanced Functional Properties for High-Performance, Solution-Processed, Blue Organic Light-Emitting Diodes, *Adv. Funct. Mater.*, **2008**, 18, 265-276.
4. Gomez-Lor, B.; Hennrich, B.; Alonso, B.; Monge, A.; Gutierrez-Puebla, E.; Echavarren, A. M., Synthesis and Self-Association Properties of Functionalized C<sub>3</sub>-Symmetric Hexakis(psubstituted-phenylethynyl)triindoles, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 28, 9173-9177.
5. Gomez-Lor, B.; Hennrich, B.; Alonso, B.; Monge, A.; Gutierrez-Puebla, E.; Echavarren, A. M., A Redox-Active C<sub>3</sub>-Symmetric Triindole-Based Triazacyclophane, *Angew. Chem. Int Ed.*, **2006**, 45, 4491-4494.
6. Black, D.; Craig, D.; Kumar, N., Calix[4]indoles: New Macrocyclic Tetra(indolylmethylene) Compounds with 2,7-Linkages, *Tetrahedron Lett*, **1995**, 36, 8075-8078.
7. Chang, K. J.; Moon, D.; Lah, M. S.; Jeong, K. S., *Angew Chem Int Ed*, **2005**, 44, 7926-7929.
8. Suk, J. M.; Chae, M. K.; Kim, N.-K.; Kim, U.-I.; Jeong, K.-S., Indole-based macrocycles and oligomers binding anions, *Pure Appl Chem*, **2008**, 80, 599-608.
9. Mardia T. E.; Ludger W.; Andrea P.; Andreas H. J., Diazatruxenes from the Condensation Reaction of Indoles with Ninhydrin, *Heterocyclic Chem.*, **2017**, 54, 1077-1082.
10. Rangsit University, สารประกอบ Condensed Five – membered Heterocycles. Retrieved from. [http://old-book.ru.ac.th/e-book/c/CH324\(47\)/CH324-5.pdf?fbclid=IwAR0CKZprQK O2Gicx2B8-A6JMlppjCLHxtLUcTEXPiXyWBifEQH9Gz1xCC0](http://old-book.ru.ac.th/e-book/c/CH324(47)/CH324-5.pdf?fbclid=IwAR0CKZprQK O2Gicx2B8-A6JMlppjCLHxtLUcTEXPiXyWBifEQH9Gz1xCC0) (accessed 03.02.21)
11. ScienceDirect, I - Electrophilic Substitution Reactions on the Indole Ring. Retrieved from. <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/B9780126769500500067?token=C6FDC>

7BFD10AC185BC59593439460F2A53EF93F4DA2BBA74CC47F79E31D631C8C4D121AAB5  
3646D0D8C9A678021C4843 (accessed 03.02.21)

12. Sigma Aldrich, Ninhydrin. Retrieved from. [https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/151173?lang=en&region=TH&gclid=Cj0KCQiAvP6ABhCjARIsAH37rbTVKEpP\\_\\_plsDFbch5CQwTAwmR07NRCUMERAERP2kPvUfBib0SXnvlAahaKEALw\\_wcB](https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/151173?lang=en&region=TH&gclid=Cj0KCQiAvP6ABhCjARIsAH37rbTVKEpP__plsDFbch5CQwTAwmR07NRCUMERAERP2kPvUfBib0SXnvlAahaKEALw_wcB)  
(accessed 05.02.21)
13. วัลลภ เสมาทอง, การตรวจรอยลายนิ้วมือแฝงจากคราบเลือดบนกระดาษชนิดต่างๆ ด้วยเทคนิค  
นินไฮดริน, มหาวิทยาลัยศิลปากร, **2554**
14. Nadhipuram V. B., Medical Biochemistry, Academic Press, Canada, **2002**
15. Mardia T. E.; Sara N. S.; Alaadin E. S.; Shahenda M. E.; Selwan M. E.; Ghada S. H., DNA  
binding studies of novel diazatruxenones analogs as potential anticancer agents:  
Synthesis, antitumor investigation, DNA binding, SAR and molecular modeling  
calculation, Bioorganic Chemistry, **2020**, 104, 104323

### ประวัติผู้วิจัย

นางสาวสิริมาส แร่เพชร เกิดเมื่อวันที่ 3 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2541 ที่จังหวัดสุพรรณบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสงวนหญิง จังหวัดสุพรรณบุรี เมื่อปีการศึกษา 2559 เคยได้รับรางวัลเหรียญทองอันดับ 1 การประกวดโครงงานวิทยาศาสตร์ ระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย สาขาชีวภาพ สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ เมื่อ พ.ศ. 2558 รางวัลรองชนะเลิศอันดับ 1 การนำเสนอผลงานวิจัย ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) เมื่อ พ.ศ. 2559 และรางวัล Special award Pacific GLOBE science fair and annual conference (SCAD) เมื่อ พ.ศ. 2559 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2560 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 121 ตำบลบ้านดอน อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี รหัสไปรษณีย์ 72160 อีเมล sirimas.rae@gmail.com