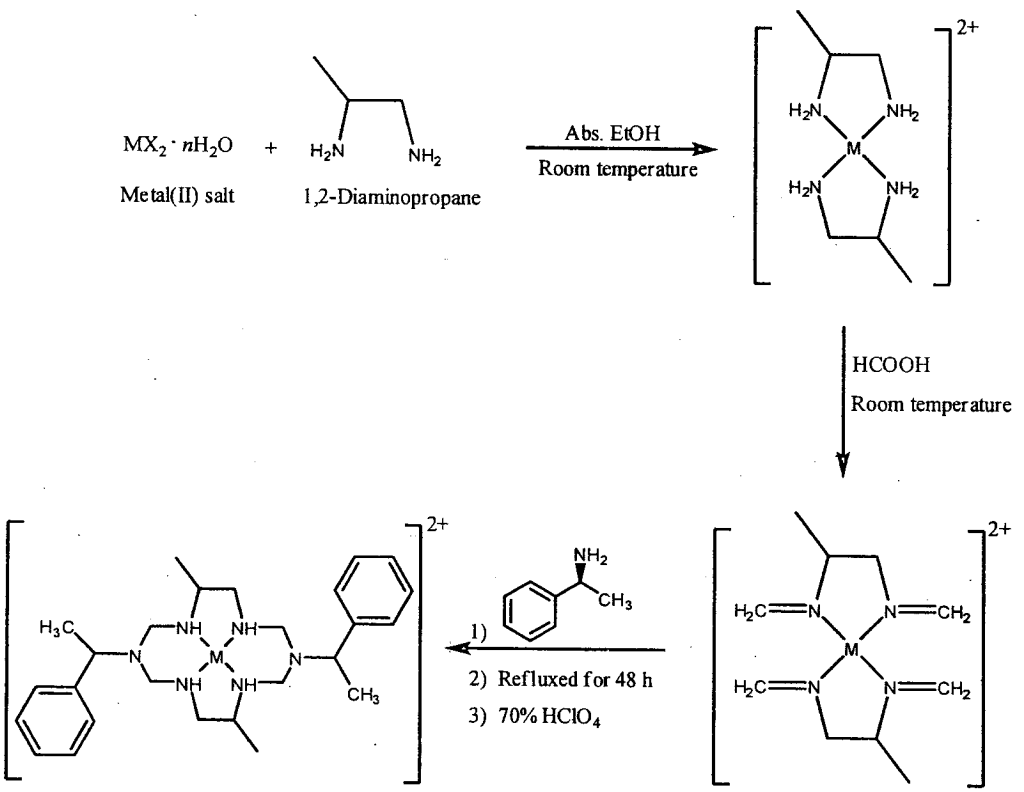
บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลผู้วิจัยแบ่งเป็น 3 ตอน คือ ตอนที่ 1 สังเคราะห์สารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ ตอนที่ 2 ศึกษาสมบัติทางกายภาพ และเทคนิคทางสเปกโทสโกปีของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่สังเคราะห์ได้ และตอนที่ 3 ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวก และแกรมลบกับสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

ตอนที่ 1 สังเคราะห์สารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

สารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ที่สังเคราะห์ได้มีทั้งหมด 2 โครงสร้าง ประกอบด้วย $[Cu(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ **(1)** และ $[Ni(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ **(2)** ถูกสังเคราะห์โดยการรีฟลักซ์สารละลายเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างเกลือของโลหะคอปเปอร์(II) หรือนิกเกิล(II), 1,2-ไดอะมิโนโพรเพน ฟอร์มัลดีไฮด์ และเอลฟา-เมทิลเบนซิลลามีน อัตราส่วนโดยโมลที่ใช้ทำปฏิกิริยาเท่ากับ 1:2:4:2 โดยมีกลไกการเกิดปฏิกิริยา (Mechanism reaction) ดังภาพที่ 14



ภาพที่ 14 กลไกปฏิกิริยาของสารประกอบโคออร์ดิเนชัน **1** และ **2** เมื่อ M คือ Cu^{2+} และ Ni^{2+}

อธิบายกลไกการสังเคราะห์สารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

จากภาพที่ 14 กลไกปฏิกิริยาการสังเคราะห์สารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ เริ่มต้นจากการนำเกลือของโลหะคอปเปอร์(II) หรือนิกเกิล(II) ทำปฏิกิริยากับ 1,2-ไดอะมิโนโพรเพน จะเกิดการสร้างพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์ระหว่างอะตอมไนโตรเจนทั้ง 4 อะตอมกับโลหะแทรนซิชัน ทำให้รอบไอออนโลหะแทรนซิชันมีรูปทรงทางเรขาคณิตแบบสี่เหลี่ยมแบนราบ (Square Planar) จากนั้นอิเล็กตรอนคู่อิสระของเอมีนหรือที่เรียกว่า นิวคลีโอไฟล์ (Nucleophile) คือ $:NH_2R$ จะเข้าทำปฏิกิริยากับฟอร์มัลดีไฮด์ในช่วงของการเกิดสารมัธยันต์ (Intermediate) ทำให้สีของสารละลายเข้มขึ้น เช่น ในกรณีของโลหะคอปเปอร์(II) จะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีม่วงเข้ม และโลหะนิกเกิล(II) จะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินใสเป็นสีน้ำเงินฟ้าเป็นต้น โดยเกิดเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันประเภทอิมีน (Imine) คือ $N=CH_2$ และมีการสูญเสียโมเลกุลของน้ำ (H_2O) จำนวน 4 โมเลกุล พบว่าโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าวไม่มีความเสถียร จึงมีการเติมเอมีนชนิดปฐมภูมิเข้าไปเพื่อเป็นโซ่ด้านข้าง (Side Chain) ในงานวิจัยได้เลือกใช้แอลฟา-เมทิลเบนซิลลามีนเป็นโซ่ด้านข้าง โดยที่อะตอมไนโตรเจนของเอมีนชนิดปฐมภูมิจะสร้างพันธะโคเวเลนต์กับหมู่เมทิลลีน ทำให้เกิดเป็นวงภายในขนาด 6 เหลี่ยมในลักษณะ -C-N-C- ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนโพลีเอซาวงใหญ่

ตอนที่ 2 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่สังเคราะห์ได้

สารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ที่สังเคราะห์ได้ทั้ง 2 โครงสร้าง มีความเสถียรที่อุณหภูมิห้อง และละลายในตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด คือ อะซีโตไนไตรล์ (MeCN) ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) อะซีโตน และไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) เป็นต้น

สมบัติทางกายภาพของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ ประกอบด้วย มวลโมเลกุล สี จุดหลอมเหลว และร้อยละผลผลิตที่ได้ (%Yield) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สี จุดหลอมเหลว ร้อยละผลผลิตของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

สารประกอบเชิงซ้อน	มวลโมเลกุล	สี	จุดหลอมเหลว (°C)	ร้อยละผลผลิต
$[Cu(C_{28}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ **(1)**	602.3	ชมพู	~ 259	55
$[Ni(C_{28}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ **(2)**	597.3	เหลือง	~ 277	38

เมื่อ L คือ 6,13-ไดเมทิล-3,10-บิส(1-ฟีนิลเอทิล)-1,3,5,8,10,12-เฮกซะเอซาไซโคลเตตระเดคเคน

การศึกษาปริมาณเปอร์เซ็นต์ธาตุคาร์บอน (C) ธาตุไฮโดรเจน (H) ธาตุไนโตรเจน (N) และออกซิเจน (O)

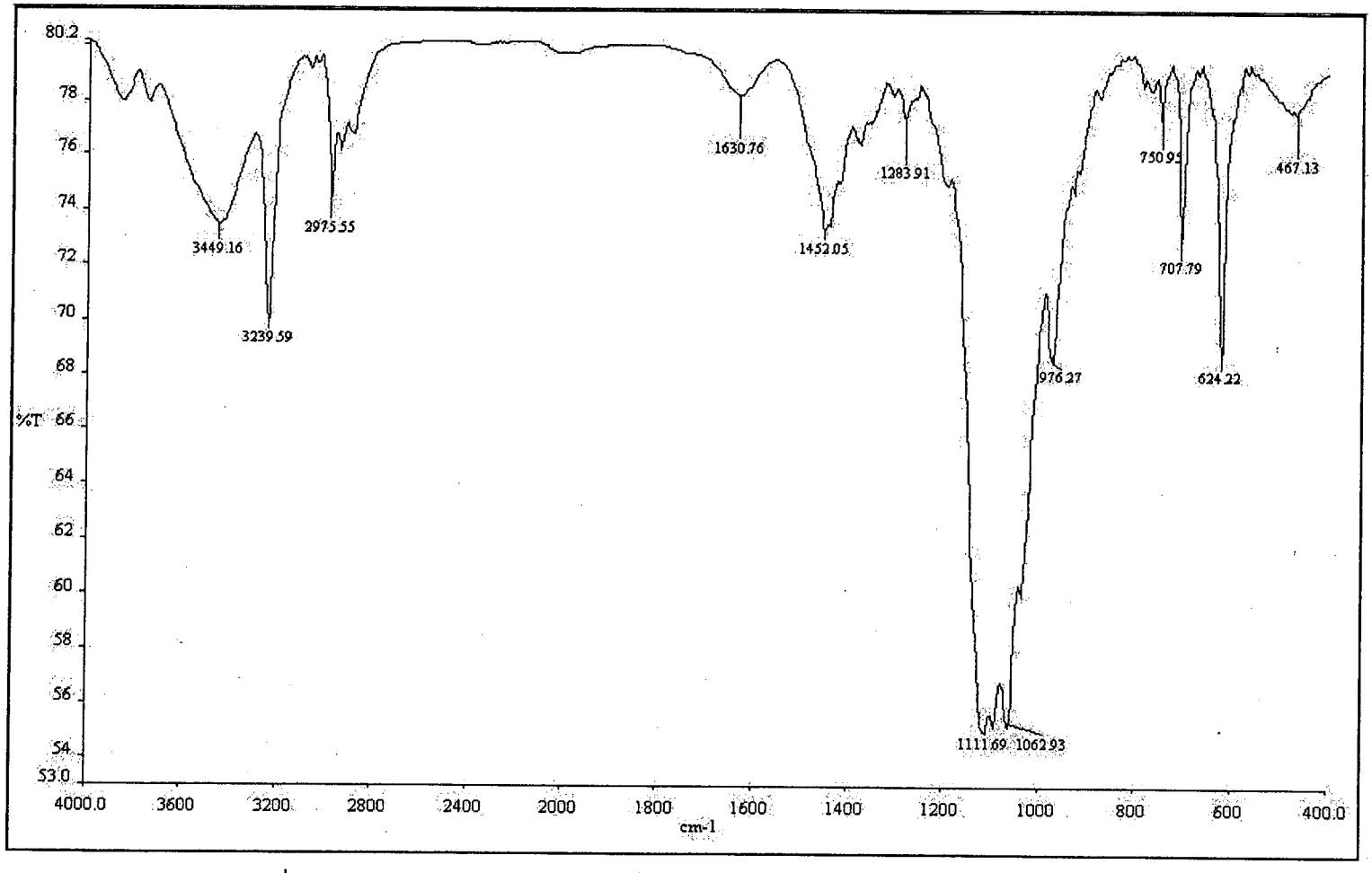
การหาเปอร์เซ็นต์ที่มีอยู่ในสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ ใช้หลักการอาศัยการเผาไหม้อย่างรวดเร็วอย่างรวดเร็ว (Flash Combustion) เพื่อเปลี่ยนธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ในตัวอย่างไปเป็นแก๊สที่สัมพันธ์กับธาตุนั้น ๆ อย่างมีสัดส่วนที่แน่นอน กล่าวคือ ธาตุไนโตรเจนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแก๊สไนโตรเจน (N_2) ธาตุคาร์บอนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และธาตุไฮโดรเจนจะถูกเปลี่ยนเป็นไอน้ำ (H_2O) จากนั้นจึงแยกแก๊สผสมออกจากกันเพื่อหาปริมาณแก๊สแต่ละชนิดต่อไป โครงการวิจัยในครั้งนี้ได้นำสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์โพลีเอซาวงใหญ่ไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และออกซิเจน จำนวน 2 โครงสร้าง คือ สารประกอบโคออร์ดิเนชัน **1** และ **2** ได้ข้อมูลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และออกซิเจน ของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

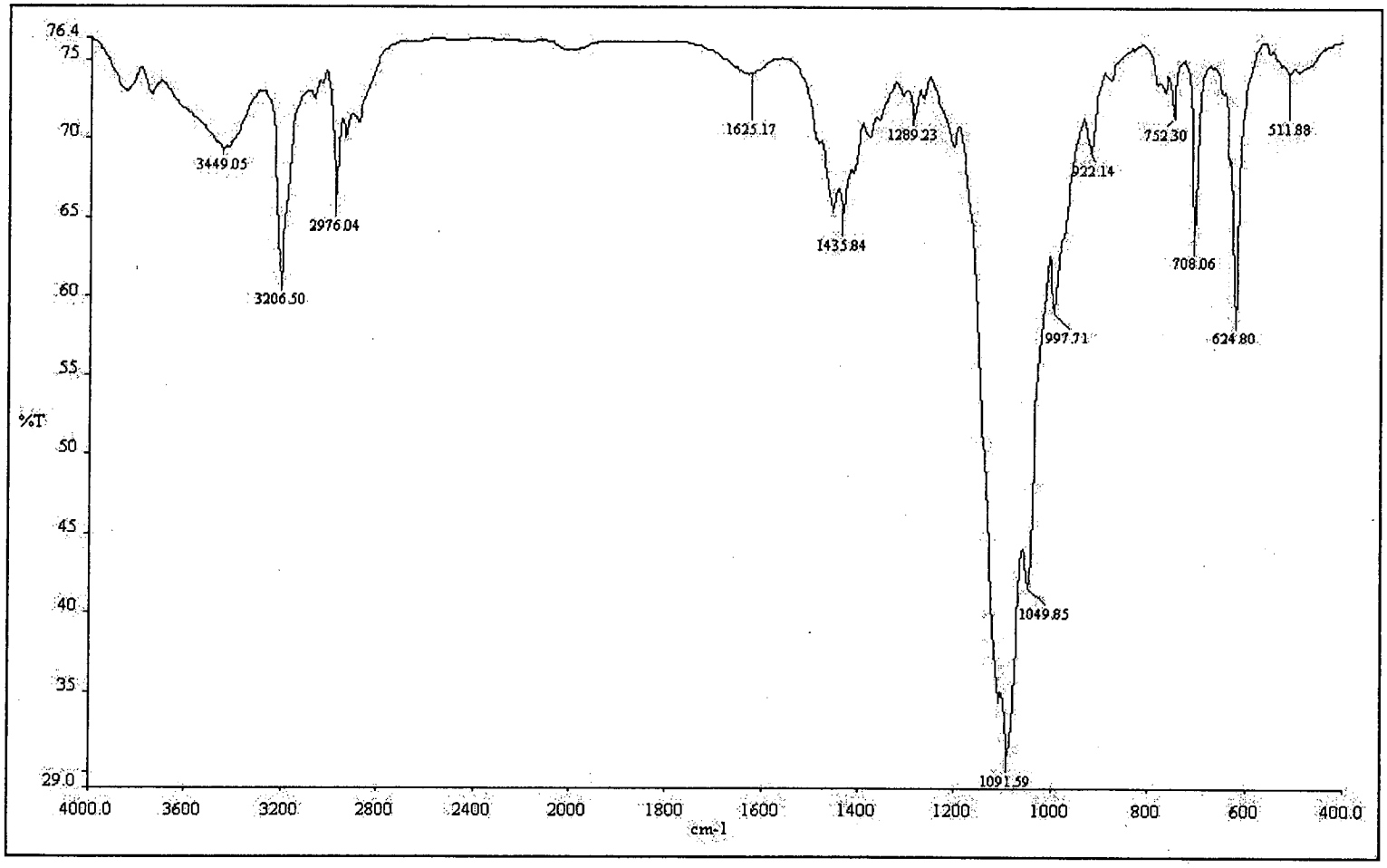
สารประกอบโคออร์ดิเนชัน	เปอร์เซ็นธาตุที่พบจากเครื่องมือ (จากการคำนวณ)			
	C	H	N	O
$[Cu(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (1)	43.46 (43.30)	5.83 (5.87)	12.04 (12.01)	23.05 (23.09)
$[Ni(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (2)	44.89 (44.91)	6.05 (6.08)	12.06 (12.08)	20.05 (20.09)

การศึกษาสมบัติทางสเปกโทรสโกปีด้วยเทคนิคอินฟราเรดเปกโทรสโกปี

สเปกตรัมอินฟราเรดของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ทั้ง 2 โครงสร้าง ในอินฟราเรดสเปกตรัมไม่ปรากฏแถบการดูดกลืนของหมู่คาร์บอนิล (C=O) ที่มาจากโมเลกุลแอลดีไฮด์แต่จะปรากฏแถบการดูดกลืนใหม่ที่แหลม (Sharp) และความเข้มปานกลาง (Medium) อยู่ในช่วงเลขคลื่น 3229 - 3206 cm^{-1} เป็นการสั่นพันธะ N-H แบบยืดหดของเอมีนชนิดทุติยภูมิ (Secondary Amine) แถบการดูดกลืนอินฟราเรดในช่วง 2976 และ 1452 - 1435 cm^{-1} ของสารประกอบโคออร์ดิเนชันโพลีเอซาวงใหญ่ทั้ง 2 โครงสร้างเป็นการสั่นพันธะ C-H แบบยืดหด และแบบงอ ตามลำดับ (Mohammed and et al. 1995 : 1278) สำหรับการสั่นพันธะCl-O ของไอออนเปอร์คลอเรต แบบยืดหดจะปรากฏ 2 แถบการดูดกลืนในช่วงเลขคลื่น 1111 - 1091 และ 1062 - 1049 cm^{-1} (Ahmad, Shahab and Sididiqi. 2011 : 764) และบริเวณเลขคลื่น 624 cm^{-1} เป็นการสั่นพันธะ Cl-O ของไอออนเปอร์คลอเรตแบบงอ สำหรับการสั่นพันธะ M - N และ M - Cl จะปรากฏบริเวณเลขคลื่น 511 และ 467 cm^{-1} ตามลำดับ (Jeong and et al. 2008 : 745)



ภาพที่ 15 สเปกตรัม FT-IR ของสารประกอบโคออร์ดิเนชัน $[Cu(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ **(1)**



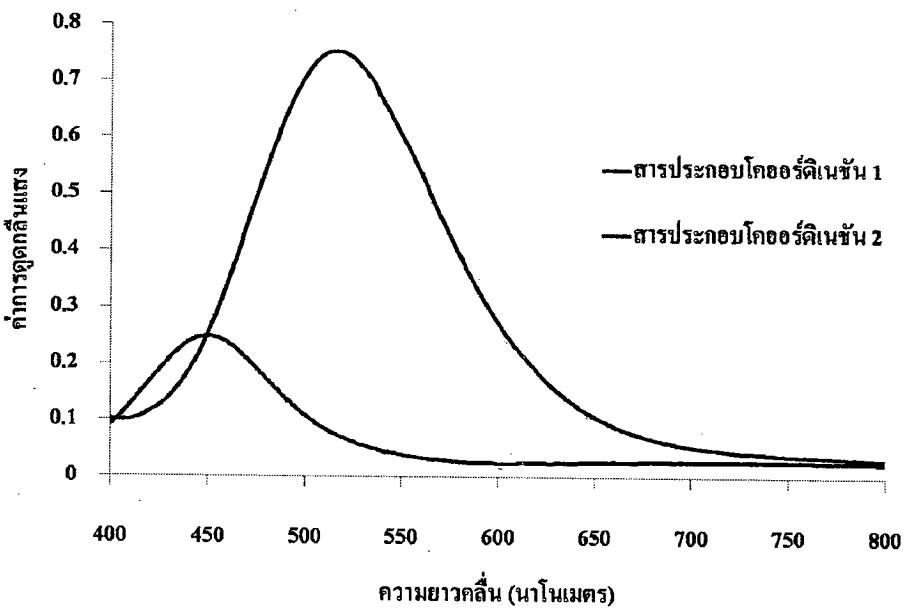
ภาพที่ 16 สเปกตรัม FT-IR ของสารประกอบโคออร์ดิเนชัน $[Ni(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ **(2)**

การศึกษาสมบัติทางสเปกโทรสโกปีด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

สารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ทั้ง 2 โครงสร้าง เตรียมในรูปสารละลาย โดยละลายในตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ปรากฏความยาวคลื่นแถบการดูดกลืนสูงสุด ดังตารางที่ 4 แสดงแถบการดูดกลืนของสารประกอบโคออร์ดิเนชันแต่ละชนิดเพียงพีคเดียว แสดงว่าเกิดการแทรนซิชันแบบ *d* - *d* transition ดังภาพที่ 17

ตารางที่ 4 ข้อมูลสเปกตรัมวิสิเบิลของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

สารประกอบโคออร์ดิเนชัน	ความยาวคลื่น (nm)
$[Cu(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (1)	516
$[Ni(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (2)	450



ภาพที่ 17 วิสิเบิลสเปกตรัมของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

การศึกษาสมบัติทางสเปกโทรสโกปีด้วยลิควิด โครมาโทกราฟี - แมสสเปกโทรสโกปี

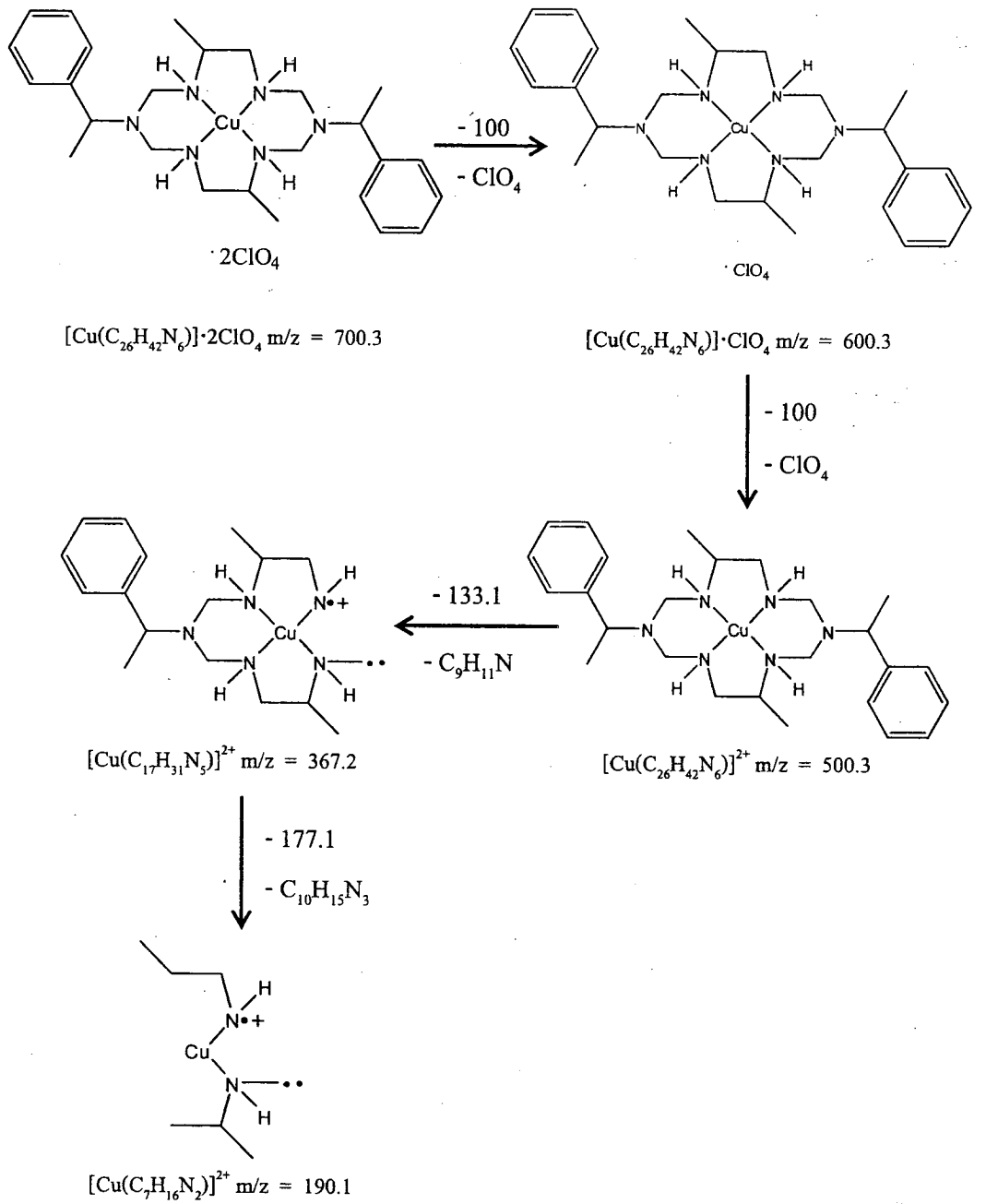
LC-MS เป็นเทคนิคที่ควบคู่กันระหว่างการแยกสารด้วย LC โดยใช้หลักการแยกตามคุณสมบัติทางเคมีของสารแต่ละชนิด เช่น มีขั้ว (Polar) ไม่มีขั้ว (non polar) ความเป็นกรดเบส และอาศัยเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ คือของแข็งที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ กับ เฟสเคลื่อนที่ คือตัวทำละลายเคลื่อนที่หรือตัวที่นำพาสารเข้าและออกจากคอลัมน์นั้นเอง หัวใจสำคัญของการแยกสารจะอาศัยหลักการ "Like Dissolves Like" ส่วน Mass Spectrometer โดยใช้หลักการทำให้สารเกิดการแตกตัวเป็นไอออนและวัดค่ามวลต่อประจุ (*m/z*) ดังนั้นเมื่อนำเครื่อง LC และ เครื่อง Mass Spectrometer มาใช้ร่วมกันจะต้องมีตัวค่อยเชื่อมความสัมพันธ์ให้สามารถทำงานร่วมกันได้ ซึ่งเรียกว่าระบบ Interface

เตรียมสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ทั้งสองในรูปสารละลายโดยละลายในตัวทำละลายอะซีโตไนไตรล์ วิเคราะห์โดยเทคนิค ESI (Electron spray ionization) ศึกษาในโหมด positive พบว่า ข้อมูล ESI-MS มีพีคเกิดขึ้นเป็นคู่แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างมีความเสถียรเมื่ออยู่ในรูปสารละลาย ดังภาพที่ 18 และ ภาพที่ 19 สเปกตรัมแมส ESI จะช่วยยืนยันสูตรโมเลกุลของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่ได้ การแตกตัวของพีคต่าง ๆ ของสารประกอบโคออร์ดิเนชันและค่า *m/z* แสดงดังแผนภาพที่ 1 ในสารประกอบโคออร์ดิเนชันคอปเปอร์(II) จะมีสัญญาณความเข้มพีคสูงสุด (100%) ที่ *m/z* เท่ากับ 600.3 สอดคล้องกับ $[Cu\text{-}2ClO_4]^{2+}$ และแผนภาพที่ 2 ในสารประกอบโคออร์ดิเนชันนิกเกิล(II) จะมีสัญญาณความเข้มพีคสูงสุด (100%) ที่ *m/z* เท่ากับ 595.3 สอดคล้องกับ $[Cu\text{-}2ClO_4]^{2+}$

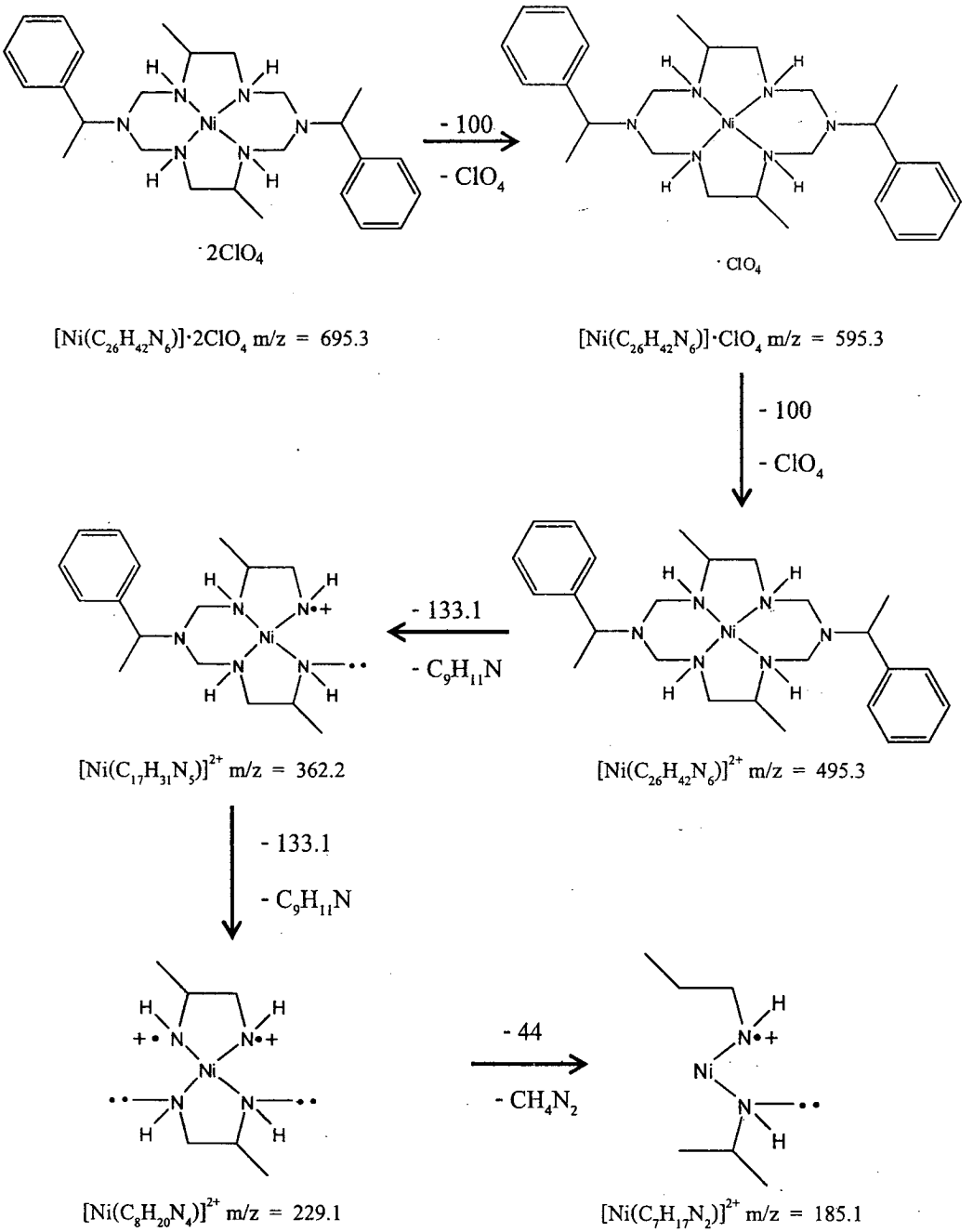
ตารางที่ 5 ข้อมูลสเปกตรัมแมสของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

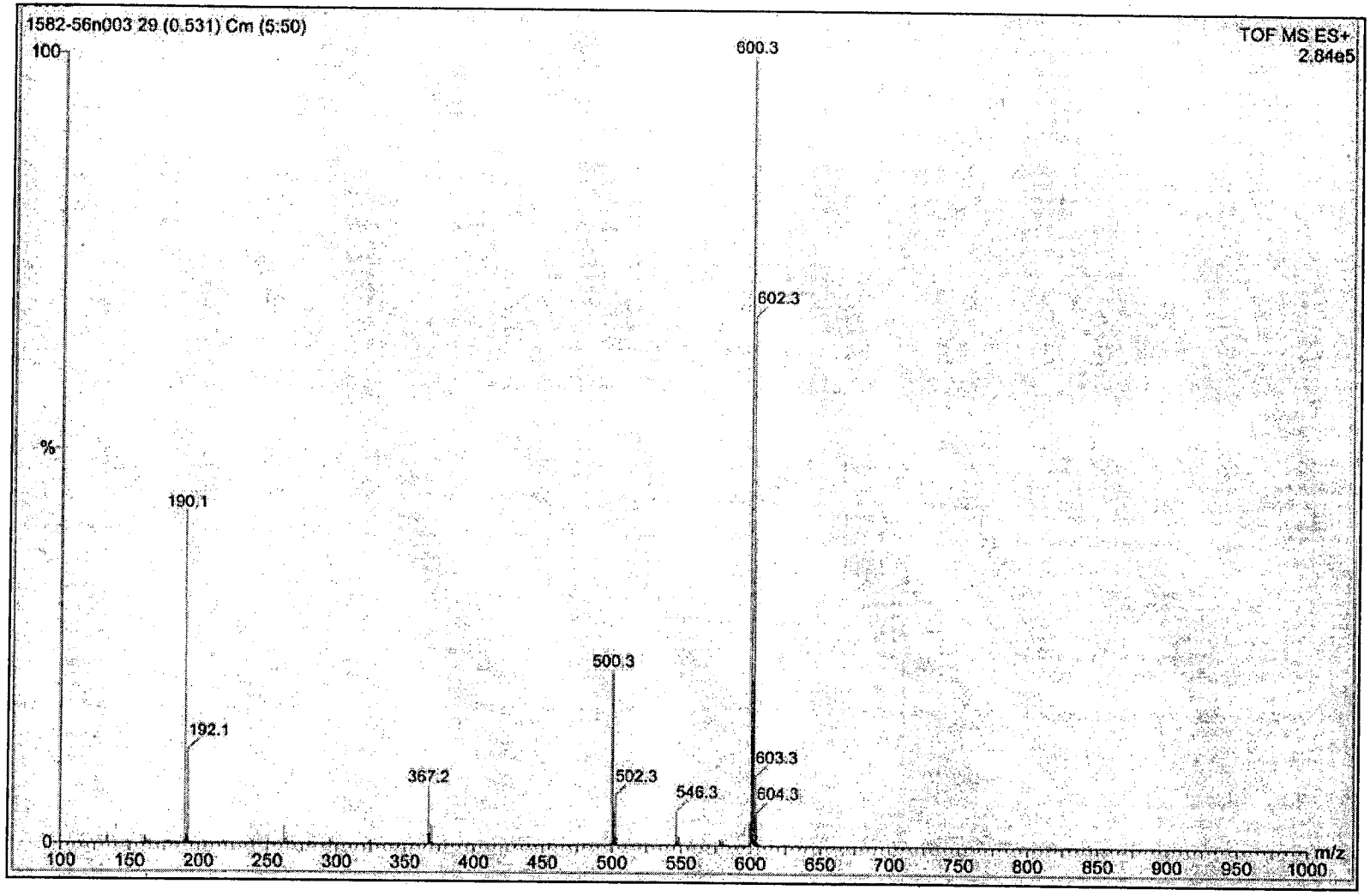
สารประกอบโคออร์ดิเนชัน	ไอออนเริ่มต้น	การแตกตัว (*m/z*)		ข้อมูลไอออนการแตกตัว (*m/z*)
		คำนวณ	พบ	
$[Cu(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (1)	$[M\text{-}ClO_4]^+$	602.3	600.3	500.3, 367.2, 367.2, 190.1
$[Ni(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (2)	$[M\text{-}ClO_4]^+$	597.3	595.3	495.3, 362.2, 229.1, 185.1

แผนภาพที่ 1 การแตกตัวของสารประกอบโคออร์ดิเนชันคอปเปอร์(II) สอดคล้องกับพีคที่ปรากฏมวลต่อโมเลกุล (m/z) ดังนี้

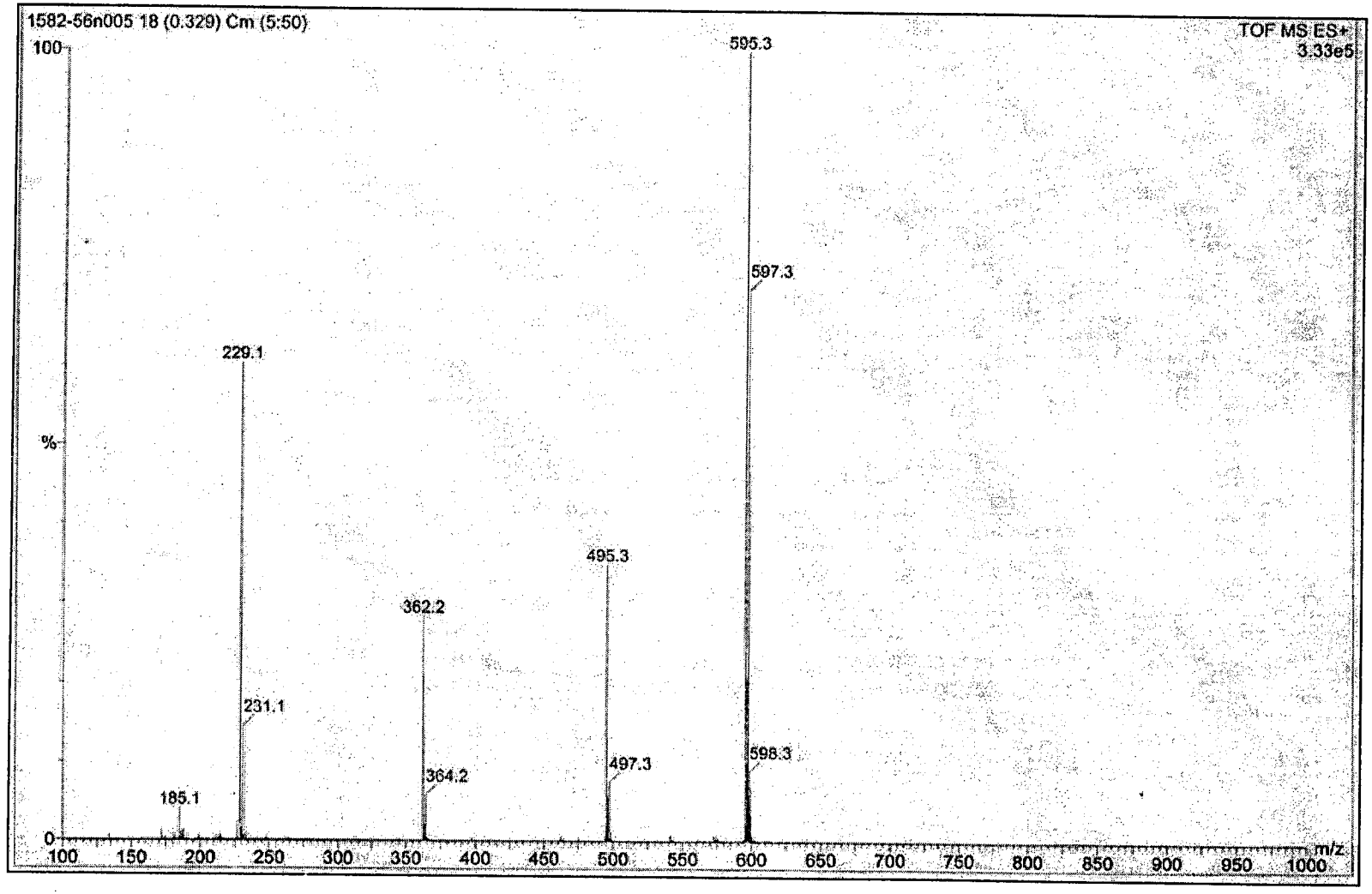


แผนภาพที่ 2 การแตกตัวของสารประกอบโคออร์ดิเนชันนิกเกิล(II) สอดคล้องกับพีคที่ปรากฏมวลต่อโมเลกุล (m/z) ดังนี้





ภาพที่ 18 แมสสเปกตรัมของสารประกอบโคออร์ดิเนชัน $[Cu(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ **(1)**



ภาพที่ 19 แมสสเปกตรัมของสารประกอบโคออร์ดิเนชัน $[Ni(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ **(2)**

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

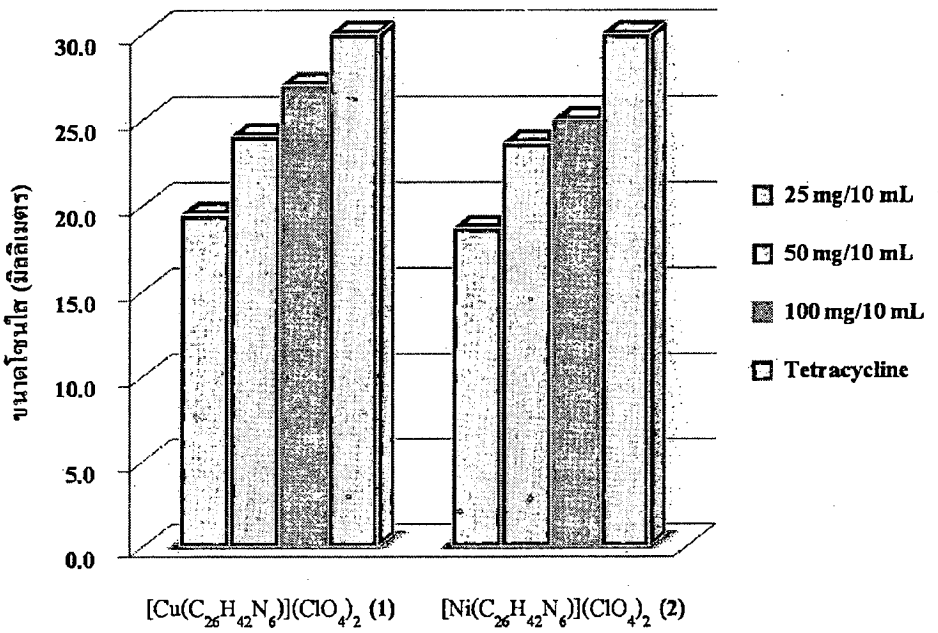
การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ผู้วิจัยได้ทำการทดลองที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อ 10 มิลลิลิตร โดยใช้ตัวทำละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์เป็นตัวควบคุม แต่ละความเข้มข้นทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำมาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Derivative ; *SD.*) โดยใช้เวลาในการบ่มเพาะเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดขนาดโซนใส (มิลลิเมตร) ของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่ ผลการทดลองตารางที่ 6 และตารางที่ 7

ตารางที่ 6 ขนาดโซนใสของการยับยั้งการเติบโตแบคทีเรีย *E. coli* และ (มิลลิเมตร ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

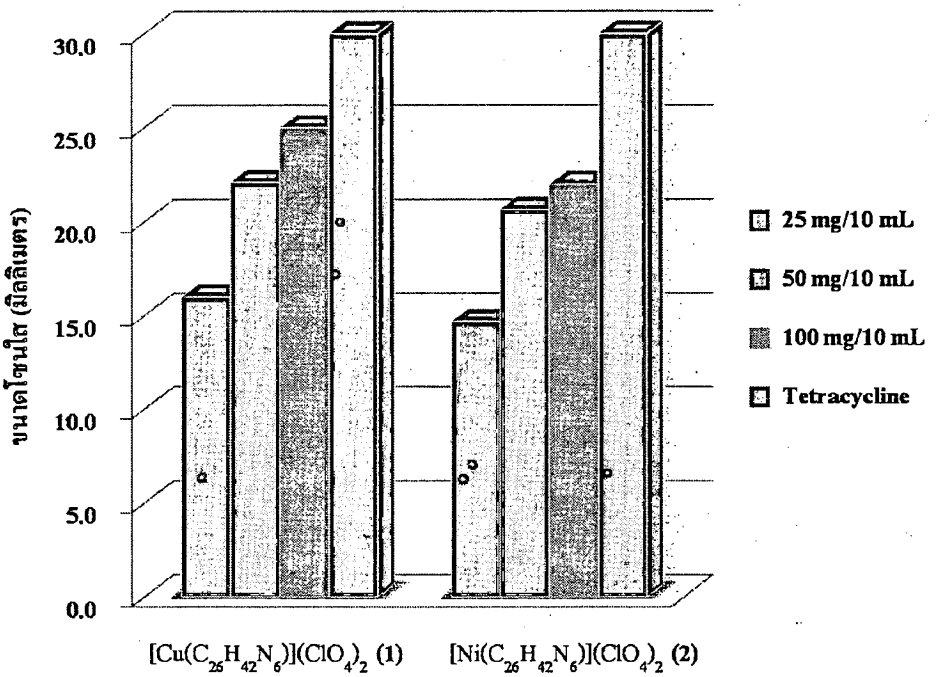
สารประกอบโคออร์ดิเนชัน	ขนาดโซนใส (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	25 mg/10 mL	50 mg/10 mL	100 mg/10 mL	Tetracycline
$[Cu(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (1)	19. 50 ± 0.58	24.07 ± 0.58	27.00 ± 0.00	30.00 ± 0.00
$[Ni(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (2)	18.70 ± 0.58	23.67 ± 0.58	25.00 ± 0.00	30.00 ± 0.00

ตารางที่ 7 ขนาดโซนใสของการยับยั้งการเติบโตแบคทีเรีย *S. aureus* และ (มิลลิเมตร ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่

สารประกอบโคออร์ดิเนชัน	ขนาดโซนใส (มิลลิเมตร) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน			
	25 mg/10 mL	50 mg/10 mL	100 mg/10 mL	Tetracycline
$[Cu(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (1)	16. 00 ± 0.21	22.12 ± 0. 15	25.00 ± 0. 40	30.00 ± 0.00
$[Ni(C_{26}H_{42}N_6)](ClO_4)_2$ (2)	14.70 ± 0. 08	20.67 ± 0.5 0	22.00 ± 0.00	30.00 ± 0.00



ภาพที่ 20 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่



ภาพที่ 21 การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่มีลิแกนด์พอลีเอซาวงใหญ่