

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความสำคัญของการศึกษา

การที่สารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ในร่างกายทำงานผิดปกติอันเนื่องมาจากการไฮโดรไลซ์ที่เกี่ยวข้องกับโลหะเอนไซม์ ก็จะก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ขึ้นได้ เช่น โรคกระดูกพรุน โรคจิต โรคทางเดินหายใจ และโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ ดังนั้นการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ที่มีลิแกนด์แบบมัลติเดนเตต (Multidentate ligand) ขึ้น ทำให้ได้สารประกอบที่ช่วยยับยั้งเชื้อโรค และเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี จึงเป็นการวิจัยที่สำคัญเพราะว่าเกี่ยวข้องกับเคมีชีวอนินทรีย์ ซึ่งสัมพันธ์อยู่กับปฏิกิริยาเคมีในร่างกายมนุษย์ ซึ่งโลหะคู่ในสารประกอบเชิงซ้อนจะเป็นตำแหน่งที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (Active site) โดยจะมีสมบัติในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีที่ดี นอกจากนี้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีโลหะศูนย์กลางเป็นโลหะคู่ สามารถนำไปใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ ตลอดจนสามารถนำสารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ที่มีลิแกนด์แบบมัลติเดนเตตดังกล่าวมาเป็นแบบจำลองในห้องทดลองเพื่อศึกษาการทำหน้าที่เป็น active site ในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ของสารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ โดยแบบจำลองเลียนแบบธรรมชาติ (Biomimetics) ดังกล่าวนี้อาจจะเป็นแบบจำลองที่คล้ายกับการทำงานของเอนไซม์ในร่างกายมนุษย์มากที่สุด

มีคณบดีนักวิจัยหลายคณะที่ได้สังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ที่มีลิแกนด์ชนิดเดี่ยวและมัลติเดนเตต เพื่อต้องการศึกษาสมบัติ คุณลักษณะทางเคมี โครงสร้างเรขาคณิตของโมเลกุล เป็นแบบจำลองของเมทัลโลเอนไซม์ ตลอดจนการศึกษาสมบัติในทางจลนศาสตร์ของเอนไซม์ (Enzyme kinetic) มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัยนี้ ได้แก่

สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กกับ Uteroferrin ที่มี  $Fe^{(III)}/Fe^{(II)}$  เป็นโลหะคู่ พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนนี้มีสีชมพูและมีสมบัติเป็นเมทัลโลเอนไซม์ (Guddat *et al.*, 1999 และ Twitchett *et al.*, 1999) สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กที่เกิดคล้ายกับสารดังกล่าว ได้แก่ สารประกอบเชิงซ้อนที่มี  $Fe^{(III)}/Fe^{(II)}$  ทำหน้าที่เป็นตำแหน่งที่ว่องไวต่อปฏิกิริยาของโลหะเอนไซม์ชนิด Pig Purple Acid Phosphatase คณะผู้วิจัยได้ใช้โลหะแทรนซิชัน 5 ชนิด ที่มีเลขออกซิเดชันเป็น +2 ได้แก่  $Mn^{II}$ ,  $Ni^{II}$ ,  $Cu^{II}$  และ  $Zn^{II}$  โดยนำโลหะทั้ง 4 ชนิดเหล่านี้ไปแทนที่โลหะคู่ที่ตำแหน่ง  $Fe^{II}$  จากนั้นจึงนำสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะแทรนซิชันทั้ง 5 ชนิดที่สังเคราะห์ได้ไปศึกษาการไฮโดรไลซ์กับฟอสเฟต (Twitchett, *et al.*, 2002) ต่อมานักวิจัยคณะอื่นได้สังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนที่มีเหล็ก 4 อะตอมเป็นศูนย์กลางได้แก่  $(Fe_4(\mu-btppnol)_2(\mu-O)_2(\mu-OAc)_2)(BPh_4)_2 \cdot CH_3CN(H_2O)_{1/2}(MeOH)_{1/2}$  ก็เพื่อใช้เป็นแบบจำลองสำหรับโพลีนิวเคลียร์ของเหล็กเอนไซม์ ผลการศึกษาได้ทราบถึงตำแหน่งการเข้าโคออร์ดิเนตของลิแกนด์กับโลหะในลักษณะที่แตกต่างกัน สารประกอบเชิงซ้อนนี้มีสมบัติทางแม่เหล็กเป็นแบบแอนตี้เฟอร์โรแมกเนติก (Hom, *et al.*, 2001)

นอกจากนี้ยังมีนักวิจัยกลุ่มอื่น ได้สังเคราะห์ สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กอะตอมคู่ 2 ชนิด ได้แก่  $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BBPMP})(\mu\text{-OAc})_2]\text{ClO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  และ  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BBPMP})(\mu\text{-OAc})(\mu\text{-OH})\text{ClO}_4$  เพื่อใช้เป็นแบบจำลอง  $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$  ในการทำหน้าที่เป็นตำแหน่งที่ว่องไวต่อปฏิกิริยาของ Purple Acid Phosphatases โดยมีหมู่อะซิเตต เชื่อมโยง  $\text{Fe}^{\text{III}}$  และ  $\text{Fe}^{\text{II}}$  เข้าด้วยกัน สารประกอบเชิงซ้อนทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีบริเวณที่สามารถให้เอนไซม์เข้าไป เชื่อมโยงและอยู่ในสถานะออกซิไดซ์และรีดิวซ์ได้ (เมื่อ BBPMP เป็นไอออนลบของ 2,6-bis[2-hydroxy-benzyl)(2-pyridylmethyl)amino)methyl]-4-methylphenol) (Neves, *et al.*, 1996) ยังมีสารประกอบเชิงซ้อนที่ คณะวิจัยอื่น ได้สังเคราะห์ขึ้น ได้แก่  $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{L})_2(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)_2$  และ  $\text{Fe}_2\text{O}(\text{L})(\text{BzO})\text{ClO}_4$  (L= หมู่คาร์บอก ซิลเลต) มีหมู่คาร์บอกซิลเลตทำหน้าที่เป็นสะพานเชื่อมอะตอมของเหล็กทั้งสองอะตอม ทำให้โมเลกุลนี้ เสมือนหนึ่งเป็นแบบจำลองเลียนแบบธรรมชาติ(Biomimetics) ซึ่งเป็นต้นแบบของตำแหน่งที่ออกฤทธิ์ของ โปรตีนในร่างกายมนุษย์ชนิดอะตอมเหล็กคู่ และสามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทั่ว ๆ ไปได้ (Trukhan, *et al.*, 2000) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบเชิงซ้อนชนิดโลหะคู่แตกต่างกันแต่เกิดพันธะกับลิแกนด์ที่เหมือนกัน ได้แก่ การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะคู่  $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Zn}^{\text{II}}$  กับลิแกนด์ 2- bis{[(2-pyridylmethyl)-aminomethyl]-6-[2-hydroxy-benzyl)(2-pyridylmethyl)]aminomethyl}-4-methylphenol สารประกอบเชิงซ้อน ที่สังเคราะห์ได้จะเป็นตำแหน่งการออกฤทธิ์ของ uteroferrin และได้้นำสารประกอบนี้มาหาความสามารถ ในบริเวณตำแหน่งการออกฤทธิ์โดยเปรียบเทียบความสามารถในการออกฤทธิ์กับสารประกอบเชิงซ้อน ของโลหะคู่  $\text{Ga}^{\text{III}}/\text{Zn}^{\text{II}}$  ที่มีลิแกนด์เป็นชนิดเดียวกันกับ  $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Zn}^{\text{II}}$  พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ของ  $\text{Ga}^{\text{III}}/\text{Zn}^{\text{II}}$  มีความว่องไวในการเร่งปฏิกิริยามากกว่า (Smith *et al.*, 2008) นอกจากนี้การสังเคราะห์ สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสังกะสีเป็นโลหะคู่ ได้แก่  $[\text{Zn}_2(\text{HL}_1)(\text{CH}_3\text{COO})](\text{PF}_6) \cdot \text{H}_2\text{O}$  และ  $\text{Li}[\text{Zn}_2(\text{HL}_1)]_4(\text{PO}_4)_2(\text{PF}_6)_3 \cdot (\text{CH}_3\text{OH})$  สารประกอบเชิงซ้อนนี้ได้สังเคราะห์ขึ้นเพื่อเป็นแบบจำลองใน การศึกษาดำเนินการที่ว่องไวต่อปฏิกิริยากับเอนไซม์ฟอสโฟเอสเทอเรส (phosphoesterases) ผู้วิจัยได้ใช้ bis(4-nitrophenyl)phosphate (BNPP) เป็นซับสเตรต พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนที่มีโลหะคู่ของสังกะสี สามารถทำหน้าที่เป็นตำแหน่งที่ว่องไวต่อการออกฤทธิ์ที่ดีและให้ค่า  $K_{\text{cat}} = 1.26 \pm 0.06 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ . (เมื่อ  $\text{H}_3\text{L}_1 = [2-((2\text{-hydroxy-3-}((2\text{-hydroxyethyl})(\text{pyridin-2-ylmethyl})\text{amino})\text{methyl})\text{-5-methylbenzyl})(\text{pyridin-2-ylmethyl})\text{amino})\text{acetic acid}]$ ) : (Rebecca *et al.*, 2008) นอกจากนี้การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน โลหะคู่ของทองแดง ก็เกิดขึ้นได้ ได้แก่  $[\text{Cu}_2(\text{BPMP})(\text{OAc})_2]\text{-ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนที่มี โลหะคู่ของทองแดง ได้ทำหน้าที่เป็น active site เช่นกัน ซึ่งให้ค่า  $K_{\text{cat}} = 15 \text{ +/-} 1.5 \text{ min}^{-1}$ ,  $K(\text{M}) = 6.4 \text{ +/-} 1.8 \text{ mM}$  (เมื่อ H-BPMP = 2,6-bis[bis(pyridin-2-ylmethylamino)methyl]-4-methylphenol) : (Smith *et al.*, 2008) และการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน โลหะคู่ของ  $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Co}^{\text{II}}$  และ  $\text{Ga}^{\text{III}}/\text{Co}^{\text{II}}$  มีสูตรโมเลกุลเป็น  $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Co}^{\text{II}}(\text{BPBPMP})(\mu\text{-OAc})_2]\text{-ClO}_4$  และ  $[\text{Ga}^{\text{III}}\text{Co}^{\text{II}}(\text{BPBPMP})(\mu\text{-OAc})_2]\text{-ClO}_4$  ได้นำสารประกอบเชิงซ้อน ทั้ง 2 ชนิดที่สังเคราะห์ได้มาเป็นแบบจำลองเพื่อศึกษาการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์กับซับสเตรตชนิด

bis(2,4-dinitrophenyl)phosphate พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนทั้ง 2 ชนิดนี้ ทำหน้าที่เป็นบริเวณที่ออกฤทธิ์ได้ (เมื่อ  $H_2BPBMP$  คือ  $(2-bis\{(2-pyridyl-methyl)-aminomethyl\}-6-\{(2-hydroxy-benzyl)-(2-pyridyl-methyl)\}-aminomethyl]-4-methylphenol)$ ) : (Xavier *et al.*, 2009)

จะเห็นได้ว่าสารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ที่สังเคราะห์ขึ้นดังที่กล่าวมาส่วนใหญ่มีโลหะคู่ชนิด  $Fe^{III}Fe^{II}$ ,  $Fe^{III}/Zn^{II}$ ,  $Fe^{III}Co^{II}$ ,  $Ga^{III}/Zn^{II}$  และ  $Ga^{III}/Co^{II}$  เป็นบริเวณตำแหน่งการออกฤทธิ์ซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาของโปรตีนได้ ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้จะสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ที่มีลิแกนด์แบบมัลติเดนเตต ซึ่งคาดว่าเป็นโลหะเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่เป็นเมทัลโลเอนไซม์ของโปรตีนได้ และที่สำคัญคือสารประกอบเชิงซ้อนที่จะสังเคราะห์ขึ้นในงานวิจัยนี้ จะสามารถนำไปเป็นแบบจำลองเลียนแบบธรรมชาติของเมทัลโลเอนไซม์ในห้องทดลอง และใช้ในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการไฮโดรไลซ์โปรตีนได้ ตลอดจนสามารถนำสารประกอบเชิงซ้อนโลหะเอนไซม์ที่ได้ไปศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์ต่อไปได้

### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อสังเคราะห์ลิแกนด์  $H_2L$  และสารประกอบเชิงซ้อน  $M_1M_2L$  [เมื่อ  $H_2L = [3-carbamoylmethyl-pyridine-2-ylmethyl-amino)-methyl]-2-hydroxy-5-methyl-benzyl\}-(2-hydroxy-benzyl)-amino]-acetic acid ethyl ester$ ,  $L =$  ไอออนลบของ  $[3-Carbamoylmethyl-pyridine-2-ylmethyl-amino)-methyl]-2-hydroxy-5-methyl-benzyl\}-(2-hydroxy-benzyl)-amino]-acetic acid ethyl ester$  และ  $M_1 = Fe^{III}$  และ  $M_2 = Fe^{II}$ ,  $Cu^{II}$  หรือ  $Zn^{II}$ ]

2. เพื่อศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของสารประกอบเชิงซ้อน  $M_1M_2L$  ที่สังเคราะห์ได้ และตรวจหาลักษณะโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อน  $M_1M_2L$  ด้วยเทคนิคทางเคมี เช่น เทคนิค Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR), Infrared (IR), Ultraviolet และ Visible Spectroscopy (UV-Visible), Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) และ Mass Spectrometry (MS)

### ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยประกอบเป็น 2 ส่วน คือ การสังเคราะห์ลิแกนด์  $H_2L$  และการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน  $M_1M_2L$  ที่มี  $H_2L$  เป็นลิแกนด์มัลติเดนเตต (multidentate ligand) เริ่มต้นจากการสังเคราะห์สารประกอบตั้งต้น คือ 2-hydroxy-3-(hydroxymethyl)-5-methylbenzaldehyde (2) จากนั้นสังเคราะห์สารประกอบ 3-(chloromethyl)-2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde (3) สังเคราะห์ ethyl 2-((3-formyl-2-hydroxy-5-methylbenzyl) (benzyl) amino)acetate (4) สังเคราะห์ methyl 2-((2-hydroxy-5-methyl-3-((pyridin-2-ylmethylamino)methyl)benzyl)(2-hydroxy-benzyl)amino)acetate (5) สังเคราะห์  $[3-$

Carbamoylmethyl-pyridine-2-ylmethyl-amino)-methyl]-2-hydroxy-5-methyl-benzyl)-(2-hydroxy-benzyl)-amino]-acetic acid ethyl ester, H<sub>2</sub>L (6) และสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>L [การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>L จะใช้สารตั้งต้นซึ่งเป็นเกลือของเหล็ก สังกะสี และทองแดง ได้แก่ FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O และ Zn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส และ L = ไอออนลบของ [3-Carbamoylmethyl-pyridine-2-ylmethyl-amino)-methyl]-2-hydroxy-5-methyl-benzyl)-(2-hydroxy-benzyl)-amino]-acetic acid ethyl ester] จากนั้นศึกษาสมบัติทางเคมีและตรวจหาลักษณะโครงสร้างของสารประกอบโลหะเชิงซ้อน M<sub>1</sub>M<sub>2</sub>L โดยวิธีสเปกโทรสโกปี เช่น เทคนิค Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR), Infrared (IR), Ultraviolet and Visible Spectroscopy (UV-Vis) และ Mass Spectrometry (MS)

## นิยามศัพท์เฉพาะ

### 1. เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี (Spectroscopy Technique)

- ฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

เทคนิคทางด้านอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ตรวจสอบเกี่ยวกับโมเลกุลของสาร โดยอาศัยหลักการเกี่ยวกับการสั่นของโมเลกุล แสงอินฟราเรดช่วงกลาง (2.5 - 25 ไมโครเมตร) มีความถี่ตรงกับความถี่ของการสั่นของพันธะโคเวเลนต์ในโมเลกุลของสาร เมื่อสารตัวอย่างได้รับพลังงานจากคลื่นรังสีอินฟราเรดที่พอเหมาะ จะเกิดการสั่นของโมเลกุล ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าโมเมนต์ขั้วคู่ (Dipole moment) ของโมเลกุล ทำให้โมเลกุลเกิดการดูดกลืนแสง แล้ววัดแสงที่ส่งผ่านออกมาแสดงผลเป็นความสัมพันธ์ของความถี่ หรือเลขคลื่นกับค่าการส่งผ่านของแสง (%T) เรียกว่า IR สเปกตรัม ลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติเฉพาะ โมเลกุลของสารจึงสามารถดูดกลืนแสงอินฟราเรดได้ที่ความถี่ต่างกัน ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของพันธะ และน้ำหนักของอะตอมของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลนั้น ๆ (Thumanu และคณะ. 2009)

### 2. ลิแกนด์ (Ligand)

ลิแกนด์ หมายถึง อะตอม หรือ ฟังก์ชันนัลกรุป (Functional group) ที่สามารถจะเชื่อมต่อกับ อะตอมหรือไอออนกลาง ซึ่งโดยทั่วไปจะเป็นโลหะด้วยพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์ (Coordinate covalent bond) การจัดเรียงของลิแกนด์รอบ ๆ ศูนย์กลางนี้เรียกว่า คอมเพลกซ์ (Complex) (Lan S. Butler. 1989 : 364)

### 3. พันธะโคออร์ดิเนชัน (Coordination bond)

พันธะโคออร์ดิเนชัน หมายถึง พันธะระหว่างลิแกนด์กับโลหะอะตอมกลาง โดยที่ลิแกนด์จะใช้คู่อิเล็กตรอนสร้างพันธะกับโลหะ พันธะโคออร์ดิเนชันจัดเป็นพันธะโคเวเลนต์ เพราะใช้อิเล็กตรอนร่วมกันในการสร้างพันธะแต่ละอะตอมที่มีสัมพรรคภาพอิเล็กตรอนสูงกว่าหรือมีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมากกว่าจะให้อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวแก่อะตอมที่มีสัมพรรคภาพอิเล็กตรอนต่ำกว่า แล้วอะตอมที่ให้อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวไปแสดงประจวบ (Esmarch S. Gilreath, 1958 : 232)