3. วิธีดำเนินการวิจัย

Methodology

3.1 ประเภทของข้อมูล

ข้อมูลที่ได้มาจากการประมวลผลทางเคมีคำนวณโดยใช้เครื่องประมวลผล และข้อมูลจากการทดลองทางเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์

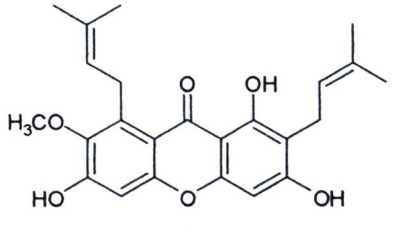
3.2 วิธีเก็บข้อมูล

ข้อมูลส่วนใหญ่มาจากการคำนวณเชิงทฤษฎีทางด้านเคมีคำนวณ และทางการทดลองทางเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ โดยมีขั้นตอนดังนี้

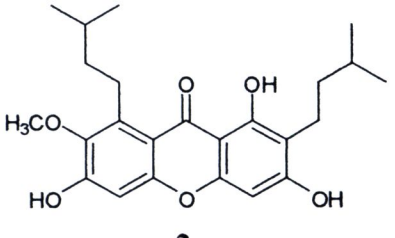
- ศึกษาโครงสร้างของอนุพันธ์แมงโกสทินโดยวิธีเคมีคำนวณ
- เตรียมแอล-แอสพาราจีน แอล-กรดแอสปาร์ติก แอล-ฮีสติดีน แอล-ลิวซีน และแอล-ฟีนิลอะลานีน ให้อยู่ในรูปเกลือเตตระบิวทิลแอมโมเนียม
- ศึกษาสมบัติการจับของอนุพันธ์แมงโกสทินกับแอล-แอสพาราจีน แอล-กรดแอสปาร์ติก แอล-ฮีสติดีน แอล-ลิวซีน และแอล-ฟีนิลอะลานีน โดยการทดลองทางเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี และโดยวิธีเคมีคำนวณ

3.3 วิธีวิเคราะห์

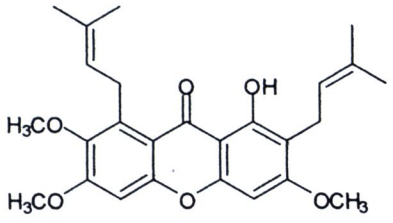
เปรียบเทียบค่าต่างๆ ที่ได้จากการคำนวณ และจากการทดลอง พิจารณาในแง่ของความถูกต้อง โดยพิจารณาจากตัวแปรต่างๆ โดยอนุพันธ์แมงโกสทินที่ถูกศึกษาได้แก่ α-mangostin, **1**, tetrahydro-α-mangostin, **2** และ 3,6-dimethyoxy-α-mangostin, **3** ดังแสดง



1



2



3

3.3.1 การวิเคราะห์โดยใช้วิธีเคมีคำนวณ

วิเคราะห์โครงสร้างที่เหมาะสมของอนุพันธ์แมงโกสทิน **1**, **2** และ **3** และสารประกอบเชิงซ้อนของอนุพันธ์แมงโกสทิน **1**, **2** และ **3** กับแอล-แอสพาราจีน แอล-กรดแอสปาร์ติก แอล-ฮีสติดีน แอล-ลิวซีน และแอล-ฟีนิลอะลานีน โดยการคำนวณจากวิธีทางทฤษฎีเดนซิตีฟังก์ชันนัล (DFT) การคำนวณกระทำโดยใช้ Becke's three-parameter exchange functional [19] ร่วมกับ Lee-Yang-Parr correlation functional (B3LYP) [20] โครงสร้างที่เหมาะสมทุกโครงสร้างทำการคำนวณทางโมเลกุลลาร์ออร์บิตัล (MO) ที่ทฤษฎีระดับ B3LYP/6-31G(d) ซึ่งการคำนวณเหล่านี้ทำโดยใช้โปรแกรม GAUSSIAN03 [21] และโปรแกรม GaussView3 ใช้เพื่อติดตาม และแสดงโครงสร้างของสารประกอบและสารประกอบเชิงซ้อนที่เปลี่ยนแปลงไปซึ่งได้จากข้อมูลที่คำนวณแล้วจากโปรแกรม GAUSSIAN03 รูปแสดงโครงสร้างของโมเลกุลได้จากโปรแกรม GaussView3 และโปรแกรม MERCURY1.4.1 [22]

ค่า standard enthalpy change (ΔH^{O}_{298}) และ standard Gibbs free energy change (ΔG^{O}_{298}) ของทุกๆ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ได้จากการคำนวณค่า frequency ที่ทฤษฎีระดับ B3LYP/6-31G(d) และ zero point vibration energy (ZPVE) correction ค่าคงที่การเสียโปรตอน (K) ที่ 298.15 K และ 1 ความดันบรรยากาศ สำหรับทุกปฏิกิริยาคำนวณจากสมการทางเทอร์โมไดนามิกส์ คือ

$$\Delta G^{O} = - RT \ln K \qquad (3.1)$$

3.3.2 การวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี

วิเคราะห์หาสมบัติการจับกับกรดอะมิโนของอนุพันธ์แมงโกสทิน **1**, **2** และ **3** กับแอล-แอสพาราจีน แอล-กรดแอสปาร์ติก แอล-ฮีสติดีน แอล-ลิวซีน และแอล-ฟีนิลอะลานีน โดยใช้เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ไตเตรชัน (NMR titration) ในตัวทำละลาย

dimethylsulfoxide-d_6 (DMSO-d_6) เพื่อสังเกตค่า chemical shift ของโปรตอนที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดอะมิโนขณะทำการไตเตรต และนำผลที่ได้มาหาค่าคงที่การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (K) โดยใช้โปรแกรม EQNMR [23]

ค่าคงที่ของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสามารถบอกถึงความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น ซึ่งขึ้นอยู่กับแรงกระทำระหว่างลิแกนด์ (L) กับไอออนโลหะ หรือไอออนลบ หรือโมเลกุลที่เป็นกลางนั้นๆ (M) เมื่อพิจารณาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (ML)

$$M + L \underset{}{\overset{K}{\rightleftharpoons}} ML \qquad (3.2)$$

ดังนั้นค่าคงที่ของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (K) เขียนได้เป็น

$$K = \frac{[ML]}{[M][L]} \qquad (3.3)$$

เมื่อผสม M กับ L แล้วเกิดสารประกอบเชิงซ้อนขึ้นนั้น จะเกิดการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งของสัญญาณ NMR ไปจากตำแหน่งเดิมเมื่อมี M หรือ L อิสระเพียงอย่างเดียว ซึ่งเรียกว่า chemical induced shift

การหาค่า K โดยโปรแกรม EQNMR นั้นสามารถทำได้โดยวิธีการ iteration กล่าวคือเริ่มคำนวณค่าความเข้มข้นของ M ก่อน แล้วนำไปแทนค่าเพื่อให้ได้ค่า [L] นำค่า [L] ที่ได้คำนวณหาค่า [M] ต่อไปอีก กระทำเช่นนี้ซ้ำๆ กันจนค่าที่เบี่ยงเบนเข้าหากัน และอาศัยค่าสัดส่วนโมลและค่า chemical shift จากการทดลองประกอบเพื่อให้ค่า K ที่ได้มีความถูกต้องที่สุด