



การสังเคราะห์และการศึกษาสมบัติทางสเปกโทรสโกปีของอนุพันธ์เอซาบอดีปชนิดใหม่ที่คายแสง  
ในช่วงใกล้อินฟราเรดสำหรับการตรวจจับไอออนโลหะ



โดย  
นายคณัย พลายสฤติย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การสังเคราะห์และการศึกษาสมบัติทางสเปกโทรสโกปีของอนุพันธ์เอซาบอดีปีชนิดใหม่ที่  
คายแสงในช่วงใกล้อินฟราเรดสำหรับการตรวจจับไอออนโลหะ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต  
ภาควิชาเคมี  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร  
ปีการศึกษา 2565  
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

SYNTHESIS AND APPLICATION OF NOVEL NEAR INFRARED AZA-BODIPY-BASED  
FLUORESCENCE SENSORS FOR METAL IONS DETECTION



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for Master of Science (CHEMISTRY)  
Department of CHEMISTRY  
Graduate School, Silpakorn University  
Academic Year 2022  
Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	การสังเคราะห์และการศึกษาสมบัติทางสเปกโทรสโกปีของอนุพันธ์ เอซาบอดีปีชนิดใหม่ที่คายแสงในช่วงใกล้อินฟราเรดสำหรับการ ตรวจจับไอออนโลหะ
โดย	นายदनัย พลายสฤติย์
สาขาวิชา	เคมี แผนก ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชชาชีวะ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. กฤษ เศรษฐธูการ

---

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกอร ระย้านิล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
(ศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชชาชีวะ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ดร. กฤษ เศรษฐธูการ)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก  
(ดร. ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง)

620720052 : เคมี แผน ก แบบ ก 2 ปริญญามหาบัณฑิต

คำสำคัญ : ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์, ไอออนทอง, เอซาบอดีปี

นาย ดนัย พลายสถิตย์: การสังเคราะห์และการศึกษาสมบัติทางสเปกโทรสโกปีของอนุพันธ์ เอซาบอดีปีชนิดใหม่ที่คายแสงในช่วงใกล้อินฟราเรดสำหรับการตรวจจับไอออนโลหะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชชีวะ

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ชนิดใหม่ที่มีความสามารถในการตรวจจับไอออนทองถูกสังเคราะห์มาจากอนุพันธ์ของโบรอนไดโพรโรมีทีน (บอดีปี) โดยนำไปทำปฏิกิริยากับหมู่ไพโรพินซึ่งทำหน้าที่เป็นไอออนฟอร์ ทั้งนี้อนุพันธ์ที่ถูกสังเคราะห์จะถูกนำมาวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ( $^1\text{H NMR}$ ,  $^{13}\text{C NMR}$  และ MS) โดยสารเซ็นเซอร์ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นแสดงการเปลี่ยนแปลงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “ปิด-เปิด” เมื่อมีการเติมไอออนทองลงไปและสามารถตรวจวัดไอออนทองได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ โดยสารเซ็นเซอร์คายแสงความเข้มสูงสุดที่ความยาวคลื่น 713 นาโนเมตร และแสดงการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเซ็นเซอร์จากสารละลายสีเขียวเป็นสีเหลืองซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า นอกจากนี้สารเซ็นเซอร์ยังสามารถตรวจจับไอออนทองได้ถึงแม้ว่าจะมีไอออนโลหะรบกวนชนิดอื่นๆ ปะปนอยู่ เช่น  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$  และ  $\text{Na}^+$



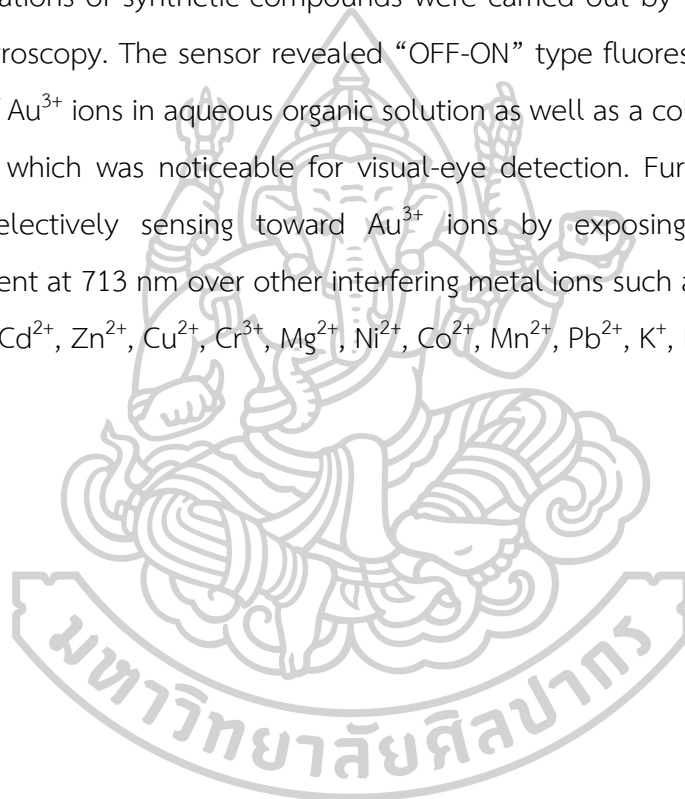
620720052 : Major (CHEMISTRY)

Keyword : Fluorescence sensor, gold ion, aza-BODIPY

MR. DANAI PLAISATHIT : SYNTHESIS AND APPLICATION OF NOVEL NEAR INFRARED AZA-BODIPY-BASED FLUORESCENCE SENSORS FOR METAL IONS DETECTION

THESIS ADVISOR : PROFESSOR DR. NANTANIT WANICHACHEVA

A new highly selective fluorescent sensor for  $\text{Au}^{3+}$  ion was synthesized based on boron dipyrromethene as a fluorophore covalently bound to propynes. The characterizations of synthetic compounds were carried out by  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR and Mass spectroscopy. The sensor revealed “OFF-ON” type fluorescence behavior upon addition of  $\text{Au}^{3+}$  ions in aqueous organic solution as well as a color change from green to yellow, which was noticeable for visual-eye detection. Furthermore, this sensor showed selectively sensing toward  $\text{Au}^{3+}$  ions by exposing significant emission enhancement at 713 nm over other interfering metal ions such as  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$  and  $\text{Na}^+$ .



## กิตติกรรมประกาศ

ในการทำงานวิจัยนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. นันทินิตย์ วานิชชีวะ อาจารย์ที่ปรึกษาและ อาจารย์ ดร. กฤษ เศรษฐการ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยร่วมเป็นอย่างสูง สำหรับความกรุณาที่มีต่อผู้วิจัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ทำให้งานวิจัยมีความสมบูรณ์มากขึ้น ตลอดจนกำลังใจและประสบการณ์ดีๆ ที่มอบให้

ขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกอร ระย้านิล ประธานกรรมในการสอบวิทยานิพนธ์และอาจารย์ ดร. ธนศาสตร์ สุขศรีเมือง ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์นี้

ขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัฒนาวิศว์ สว่างลาภ ที่ช่วยอนุเคราะห์สารละลายไอออนทองมาให้เพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้

ขอบพระคุณครอบครัว สำหรับความรัก ความห่วงใย รวมถึงการสนับสนุนในทุก ๆ เรื่อง ซึ่งเป็นกำลังใจอันดีเยี่ยมสำหรับผู้วิจัย

ขอบคุณสมาชิก nw sensors research lab ที่คอยให้คำปรึกษาและคำแนะนำในเรื่องงานวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงได้

ขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทความรู้แก่ผู้วิจัย ทั้งในด้านวิชาการและการดำเนินชีวิต

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำสำนักงานภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานเอกสาร อีกทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และสารเคมีในงานวิจัย

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าว ทางผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งและระลึกถึงความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณมา

นาย ดนัย พลายนิตย์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	4
1.3 สมมติฐานของงานวิจัย.....	4
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
บทที่ 2.....	5
บทที่ 3.....	15
3.1 อุปกรณ์.....	15
3.2 สารเคมี.....	16
บทที่ 4.....	18
4.1 การสังเคราะห์สารเซนเซอร์ aza-BDP-Pro.....	18
4.1.1 การสังเคราะห์สารประกอบ chalcone 3.....	19
4.1.2 การสังเคราะห์สารประกอบ nitro-chalcone 4.....	19
4.1.3 การสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrole 5.....	20
4.1.4 การสังเคราะห์ aza-BODIPY 6.....	21



4.1.5 การสังเคราะห์เซนเซอร์ aza-BDP-Pro .....	22
4.2 การทดสอบประสิทธิภาพเซนเซอร์ .....	23
4.2.1 การเตรียมสารละลายไอออนทอง .....	23
4.2.2 การทดสอบหาสัดส่วนของน้ำและตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนทอง 24	
4.2.3 การทดสอบเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซนเซอร์กับไอออนทอง .....	25
4.2.4 การทดสอบความไวของเซนเซอร์ (Sensitivity).....	25
4.2.5 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Selectivity).....	26
4.2.6 การทดสอบความสามารถในการแข่งขัน (competitive).....	27
4.2.7 การศึกษาหาสัดส่วนการจับกันระหว่างสารเซนเซอร์และไอออนทองโดยวิธี Job's Method .....	28
4.2.8 การศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนทองภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต .....	29
4.2.9 การศึกษาหาความเป็นพิษของ aza-BDP-Pro ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต .....	29
4.2.10 การศึกษากลไกการตรวจจับไอออนทองของ aza-BDP-Pro ด้วยเทคนิค IR spectroscopy .....	30
บทที่ 5 .....	30
5.1 การยืนยันโครงสร้างของเซนเซอร์ทอง aza-BDP-Pro .....	31
5.1.1 โครงสร้างทางเคมีของ chalcone 3.....	32
5.1.2 โครงสร้างทางเคมีของ nitro-chalcone 4 .....	35
5.1.3 โครงสร้างทางเคมีของ Dipyrrole 5 .....	38
5.1.4 โครงสร้างทางเคมีของ aza-BODIPY 6.....	39
5.1.5 โครงสร้างทางเคมีของ aza-BDP-Pro .....	42
5.2 ผลการทดสอบความสามารถในการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซนเซอร์ .....	45
5.2.1 ผลการทดสอบสารละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนทอง .....	46

5.2.2 ผลการทดสอบสมบัติการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์ aza-BDP-Pro ในภาวะที่มีไอออนทอง.....	47
5.2.3 ผลการทดสอบเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซนเซอร์ aza-BDP-Pro กับไอออนทอง.....	48
5.2.4 ผลการทดสอบความไว (Sensitivity) ของ aza-BDP-Pro ในสภาวะที่มีไอออนทอง .....	49
5.2.5 ผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) ของเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro ในสภาวะที่มีไอออนทองเทียบกับไอออนอื่นๆ.....	51
5.2.6 ภาพถ่ายของสารละลายเซนเซอร์ aza-BDP-Pro ในสภาวะที่มีไอออนทองเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ .....	53
5.2.7 ผลการทดสอบความสามารถในการแข่งขัน (competitive) ของเซนเซอร์ aza-BDP-Pro ในสภาวะที่มีไอออนอื่นๆ.....	53
5.2.8 ผลการศึกษาอัตราส่วนการจับกันของไอออนทองและเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro โดยวิธี Job's Method.....	55
5.2.9 ผลการศึกษาศามารถในการตรวจจับไอออนทองภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต.....	56
5.2.10 ผลการศึกษาหาความเป็นพิษของ aza-BDP-Pro ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต .....	57
5.2.11 ผลการศึกษากลไกการตรวจจับไอออนทองของ aza-BDP-Pro ด้วยเทคนิค IR spectroscopy .....	57
บทที่ 6 .....	59
รายการอ้างอิง .....	60
ประวัติผู้เขียน .....	67

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ตารางเปรียบเทียบคุณสมบัติของฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนทองที่ รายงานก่อนหน้านี้ .....	14
ตารางที่ 2 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับการศึกษากาย fluorescence spectroscopy ของ aza- BDP-Pro .....	24
ตารางที่ 3 สรุปผลการทดลองของเซนเซอร์ aza-BDP-Pro.....	59



## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 รูปแสดงโครงสร้างของ aza-BODIPY.....	4
ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและสีของเซนเซอร์ A หลังจากตรวจวัดไอออนทอง ( $Au^+$ และ $Au^{3+}$ ).....	5
ภาพที่ 3 โครงสร้างของเซนเซอร์ B และภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ B ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต .....	6
ภาพที่ 4 โครงสร้างของเซนเซอร์ C และภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ C ในการตรวจจับไอออนทองในหนู .....	7
ภาพที่ 5 โครงสร้างของเซนเซอร์ D และภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ D ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต .....	7
ภาพที่ 6 โครงสร้างของเซนเซอร์ I และภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ I ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต .....	8
ภาพที่ 7 โครงสร้างของเซนเซอร์ M และกลไกการตรวจจับไอออนปรอทของเซนเซอร์ .....	8
ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซนเซอร์ E หลังจากตรวจจับไอออนทองแล้ว .....	9
ภาพที่ 9 โครงสร้างของเซนเซอร์ F.....	9
ภาพที่ 10 โครงสร้างของเซนเซอร์ J และ ภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ J ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต .....	10
ภาพที่ 11 โครงสร้างของเซนเซอร์ K และ ภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ K ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต .....	11
ภาพที่ 12 โครงสร้างของเซนเซอร์ L .....	11
ภาพที่ 13 โครงสร้างของเซนเซอร์ G และ ภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ G ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต.....	12
ภาพที่ 14 โครงสร้างของเซนเซอร์ H และ ภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ H ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต.....	13

ภาพที่ 15 โครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนทองที่มีการรายงานก่อนหน้า	13
.....	
ภาพที่ 16 เส้นทางการสังเคราะห์เซนเซอร์ aza-BDP-Pro.....	18
ภาพที่ 17 แผนผังการสังเคราะห์สารประกอบ chalcone 3 .....	19
ภาพที่ 18 แผนผังการสังเคราะห์สารประกอบ nitro-chalcone 4.....	19
ภาพที่ 19 แผนผังการสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrole 5.....	20
ภาพที่ 20 แผนผังการสังเคราะห์ aza-BODIPY 6.....	21
ภาพที่ 21 แผนผังการสังเคราะห์ aza-BDP-Pro.....	22
ภาพที่ 22 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ chalcone 3.....	32
ภาพที่ 23 <sup>1</sup> H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone 3 .....	32
ภาพที่ 24 <sup>13</sup> C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone 3 .....	33
ภาพที่ 25 DEPT-135 <sup>13</sup> C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone 3.....	33
ภาพที่ 26 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ chalcone 3 .....	34
ภาพที่ 27 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ nitro-chalcone 4 .....	35
ภาพที่ 28 <sup>1</sup> H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone 4.....	35
ภาพที่ 29 <sup>13</sup> C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone 4 .....	36
ภาพที่ 30 DEPT-135 <sup>13</sup> C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone 4.....	36
ภาพที่ 31 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ nitro-chalcone 4.....	37
ภาพที่ 32 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ Dipyrrole 5 .....	38
ภาพที่ 33 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ Dipyrrole 5.....	38
ภาพที่ 34 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ aza-BODIPY 6.....	39
ภาพที่ 35 <sup>1</sup> H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BODIPY 6 .....	40
ภาพที่ 36 <sup>13</sup> C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BODIPY 6 .....	40
ภาพที่ 37 DEPT-135 <sup>13</sup> C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BODIPY 6.....	41

ภาพที่ 38 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ aza-BODIPY 6 ..... 42

ภาพที่ 39 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ aza-BDP-Pro ..... 42

ภาพที่ 40 <sup>1</sup>H NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Pro..... 43

ภาพที่ 41 <sup>13</sup>C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Pro..... 43

ภาพที่ 42 DEPT-135 <sup>13</sup>C NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Pro ..... 44

ภาพที่ 43 รูปแสดง HR-ESI MS ของสารประกอบ aza- BDP-Pro..... 44

ภาพที่ 44 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ aza- BDP-Pro ..... 45

ภาพที่ 45 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง fluorescence intensity ( $\lambda_{ex}$  = 670 nm และ  $\lambda_{em}$  = 713 nm) กับ อัตราน้ำในสารละลายเซ็นเซอร์โดยตรวจวัดก่อนและหลังการเติมไอออนทอง 195  $\mu$ M..... 46

ภาพที่ 46 การดูดกลืนแสงของสารละลายเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro (19  $\mu$ M) ในสารละลาย ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ในระหว่างที่มีการไทเทรตไอออนทองลงไปในสารละลายเซ็นเซอร์; [Au<sup>3+</sup>]: a: 0 mM, b: 0.033 mM, c: 0.067 mM, d: 0.10 mM, e: 0.13 mM, f: 0.17 mM, g: 0.21 mM, h: 0.24 mM, i: 0.27 mM, j: 0.30 mM, k: 0.33 mM, l: 0.37 mM, m: 0.40 mM, n: 0.43 mM and o: 0.47 mM..... 47

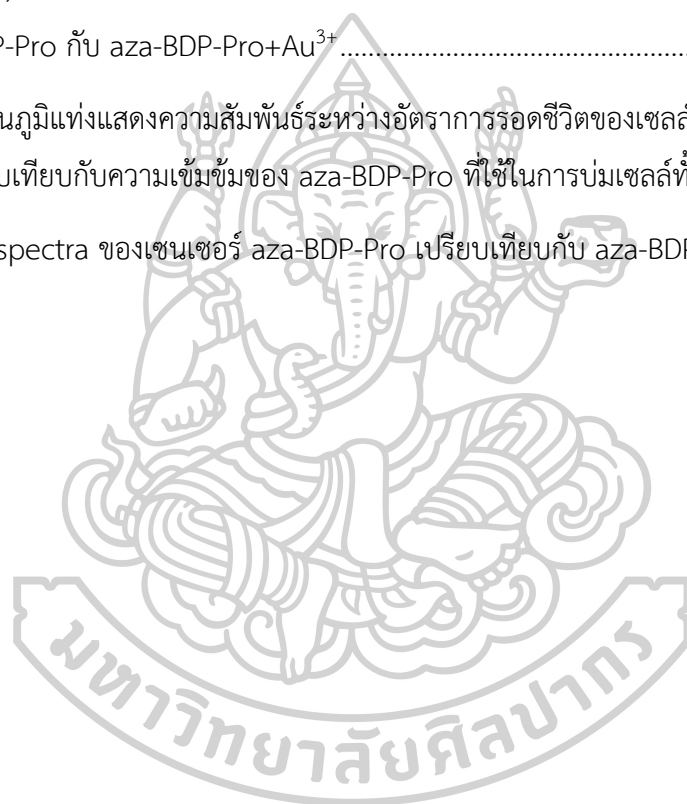
ภาพที่ 47 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง florescence intensity กับเวลาที่วัดหลังเติมไอออนทอง 195  $\mu$ M ในสารละลายเซ็นเซอร์ 19  $\mu$ M ใน ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ( $\lambda_{ex}$  = 670 nm และ  $\lambda_{em}$  = 713 nm)..... 49

ภาพที่ 48 การคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex}$  = 670 nm) ของเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro (19  $\mu$ M) ใน ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ก่อนและหลังเติมไอออนทองที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 0.12 mM, c: 0.16 mM, d: 0.19 mM, e: 0.23 mM, f: 0.27 mM and g: 0.31 mM..... 50

ภาพที่ 49 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex}$  = 670 nm และ  $\lambda_{em}$  = 713 nm) ของเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro (19  $\mu$ M) ในสารละลายผสม ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ในสภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือคลอไรด์ชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน..... 51

ภาพที่ 50 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์( $\lambda_{ex}$  = 670 nm) ของเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro (19  $\mu$ M) ในสารละลายผสม ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ในสภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือคลอไรด์ชนิดต่างๆเข้มข้น 0.35 mM..... 52

ภาพที่ 51 ภาพถ่ายการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเซนเซอร์ aza-BDP-Pro ในสารละลาย ACN:H <sub>2</sub> O (1:1 v/v) + triton X-100 หลังจากมีการเติมไอออนทองและไอออนโลหะชนิดอื่นๆ ลงไปในสารละลาย .....	53
ภาพที่ 52 การทดสอบความสามารถในการดักจับไอออนทองของ aza-BDP-Pro.....	54
ภาพที่ 53 การศึกษาอัตราส่วนการจับกันของไอออนทองและ aza-BDP-Pro.....	55
ภาพที่ 54 a) ภาพถ่ายการเรืองแสงภายในเซลล์ U251 และ เซลล์ HaCaT ที่ถูกบ่มด้วยสภาวะที่แตกต่างกัน, b) กราฟเปรียบเทียบความเข้มของการคายแสงของเซลล์ U251 และ HaCaT ที่ถูกบ่มด้วย aza-BDP-Pro กับ aza-BDP-Pro+Au <sup>3+</sup> .....	56
ภาพที่ 55 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ U251 และเซลล์ HaCaT เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ aza-BDP-Pro ที่ใช้ในการบ่มเซลล์ทั้ง 2 ชนิด.....	57
ภาพที่ 56 IR spectra ของเซนเซอร์ aza-BDP-Pro เปรียบเทียบกับ aza-BDP-Pro+Au <sup>3+</sup> .....	58



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

จากการพัฒนาในด้านเทคโนโลยีและการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรม ความต้องการที่จะใช้ทรัพยากรต่างๆ จึงเพิ่มสูงขึ้นอย่างก้าวกระโดดและหนึ่งในทรัพยากรที่เป็นที่สำคัญคือโลหะหนัก โดยโลหะหนักนั้นได้ถูกใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในแวดวงต่างๆ เช่น ในด้านอุตสาหกรรมโลหะหนักได้ถูกใช้ในการผลิตสิ่งต่างๆ อาทิ สี พลาสติก ถ่านไฟฉาย หรืออุปกรณ์คอมพิวเตอร์ต่าง สำหรับในด้านการเกษตรมีการใช้โลหะหนักเป็นส่วนประกอบของปุ๋ยและยาฆ่าแมลง นอกจากนี้โลหะหนักถูกใช้เป็นส่วนประกอบในอุปกรณ์ทางการแพทย์ และ ยังถูกใช้ในการกระบวนการผลิตยาและเครื่องสำอางบางชนิดอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามสิ่งที่เกิดขึ้นควบคู่ไปพร้อมกับการผลิตสิ่งต่างๆคือของเสียจากโลหะหนักเหล่านั้น ซึ่งส่งผลให้เกิดการปล่อยของเสียออกสู่สิ่งแวดล้อมตามมา และของเสียจากโลหะหนักเหล่านั้นจะกลายเป็นมลพิษที่แทรกซึมไปทุกที่และกลับมาทำร้ายมนุษย์ในที่สุด

ทองเป็นโลหะที่มีคุณค่ามากที่สุดชนิดหนึ่ง และถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่างๆ ตั้งแต่สมัยโบราณทองมักจะถูกนำมาใช้ทำเป็นสิ่งประดับ เนื่องจากทองมีสีที่สวยงามเป็นเอกลักษณ์และสามารถนำมาแปรรูปได้ง่าย นอกจากนี้ทองยังถูกนำไปใช้ประโยชน์ในหลากหลายด้าน เช่น ในทางการแพทย์ทองถูกนำมาใช้ทั้งเป็นส่วนหนึ่งของอุปกรณ์และถูกใช้ในการรักษาโรคบางชนิด เช่น Rheumatoid arthritis (RA) [1, 2], asthma [3] และ โรคอื่นๆอีกมากมาย นอกจากนี้ทองยังถูกใช้ในการต้านอนุมูลอิสระจึงถูกนำมาใช้ในด้านความสวยความงามอีกด้วย [4] และทองยังถูกนำมาใช้เป็นองค์ประกอบหลักของอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์เนื่องจากทองมีความสามารถในการนำไฟฟ้าที่ดี และในห้องทดลองเคมีก็มีการใช้ทองเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ทางเคมีอินทรีย์ [5-8] ทองยังถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลายในทางชีววิทยาและสิ่งแวดล้อม เช่น เป็นสารนำส่งตัวยา (drug delivery) [9], เป็นสารต้านมะเร็ง (anticancer agent) [10, 11], เป็นสารต้านแบคทีเรีย (antibiotics) [12, 13], การพิมพ์ภาพทางชีววิทยา (bioimaging) [14] และใช้ในระบบแยกบริสุทธิ์น้ำ (water purification system) [15] แต่การใช้งานทองนั้นได้ถูกจำกัดโดยความเป็นพิษของทองเนื่องจากไอออนทองโดยเฉพาะในรูปของ  $Au^{3+}$  เป็นรูปแบบที่มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา มีความเป็นพิษต่อมนุษย์และเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยสามารถจับกับโปรตีนและ DNA ได้ นอกจากนี้ยังทำลายตับ ไต รวมไปถึงระบบประสาทส่วนปลาย (peripheral nervous system) [16-21] นอกจากนี้ไอออนทองและทองคำนาโนยังถูกพบว่าเป็นอันตรายต่อพืช [22-27] และระบบนิเวศในแหล่งน้ำ [28] ถึงแม้ว่าทองในปริมาณน้อยนั้นจะมีความอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและ



สิ่งแวดล้อมต่ำ แต่ไอออนทองนั้นสามารถสะสมตัวในร่างกายมนุษย์และสามารถส่งผลเสียในระยะยาวได้

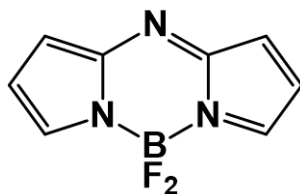
มีเทคนิคมากมายสามารถใช้เพื่อการหาปริมาณของไอออนของทองที่มีปริมาณเล็กน้อย เช่น การวิเคราะห์โดยเทคนิคทาง spectroscopy เช่น atomic absorption spectrometry (AAS) [29-31], Inductively coupled plasma - optical emission spectrometry (ICP-OES) [32] หรือการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า [33, 34] แต่เทคนิคเหล่านั้นกลับถูกจำกัดด้วยเงื่อนไขมากมายเช่น การเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อน, ความจำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่ราคาแพงและใช้งานยุ่งยาก, ค่าดำเนินการที่ราคาแพง นอกจากนี้บางเทคนิคยังทำลายสารตัวอย่างอีกด้วยการใช้เทคนิคเหล่านี้เพื่อตรวจวัดไอออนทองด้วยเทคนิคเหล่านี้จึงไม่มีประสิทธิภาพดีเท่าที่ควร ในทางกลับกันงานวิจัยนี้ได้นำเสนอการใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์เพื่อตรวจจับไอออนทอง โดยเทคนิคนี้เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และ ราคาถูก โดยมีความไว (Sensitivity) และ ความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) ต่อไอออนที่สนใจสูงมาก

สำหรับส่วนประกอบของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มีองค์ประกอบหลัก 2 ส่วนคือ 1) ฟลูออโรฟออร์ (fluorophore) เป็นส่วนที่ให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ 2) ไอออนโนฟออร์ (Ionophore) เป็นส่วนที่ใช้ดักจับ หรือทำปฏิกิริยากับไอออน ซึ่งส่วนประกอบทั้งสองจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโควาเลนต์ โดยฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์มี 2 ชนิด คือ 1) เปิด-ปิด (on-off) เซ็นเซอร์สามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ได้ แต่เมื่อเซ็นเซอร์จับกับไอออนทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ลดลง 2) ปิด-เปิด (off-on) เซ็นเซอร์ไม่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ เมื่อเซ็นเซอร์จับกับไอออนทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้น

ด้วยความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับหมู่ แอลไคน์ (alkyne) ได้อย่างเฉพาะเจาะจง (alkynophilicity) ของไอออนทอง หมู่ propargyl ซึ่งมีหมู่ terminal alkyne เป็นองค์ประกอบจึงถูกเลือกนำมาใช้เป็นไอออนโนฟออร์ โดยหมู่แอลไคน์นั้นมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับไอออนทองได้อย่างจำเพาะเจาะจงเนื่องจากระบบไพ (π-system) ของหมู่แอลไคน์สามารถเกิดปฏิสัมพันธ์ (interaction) กับไอออนทองได้อย่างเฉพาะเจาะจงผ่านการให้อิเล็กตรอนจาก π-bonding orbital ของหมู่แอลไคน์ไปยัง d-orbitals ของไอออนทองที่วางอยู่ควบคู่ไปกับการเกิด π-backbonding จากไอออนทอง นอกจากนี้หมู่แอลไคน์ซึ่งอุดมไปด้วยอิเล็กตรอนยังมีแรงดึงดูดทางไฟฟ้ากับไอออนทองซึ่งขาดแคลนอิเล็กตรอนอีกด้วยอีกด้วย ส่งผลให้แอลไคน์สามารถตรวจจับไอออนทองได้อย่างจำเพาะเจาะจงผ่านกระบวนการกระตุ้นหมู่แอลไคน์ (alkyne activation process) ของไอออนทอง ซึ่งจะนำไปสู่การเกิดปฏิกิริยาการเติมของหมู่ nucleophilic addition) บนหมู่แอลไคน์ที่ถูกกระตุ้นแล้ว [35, 36] และส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันจากหมู่ alkyne กลายเป็นหมู่ ketone หรืออาจเกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างอื่นๆ โดยได้มีการรายงานไว้ในปี 2010 โดยคุณ

Ming Dong และคณะ [37] ว่าได้มีการสังเคราะห์สารฟลูออเรสเซนต์จากอนุพันธ์ของ 1,8-naphthalimide และหมู่ alkyne โดยเซนเซอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถตรวจจับไอออนทองและไอออนปรอทได้ในสถานะที่ต่างกัน โดยสำหรับการตรวจจับไอออนทองนั้นเซนเซอร์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนต์จาก 509 nm เป็น 473 nm และเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน นอกจากนี้คุณ Ming Dong และคณะยังทำการพิสูจน์การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของเซนเซอร์หลังจากที่มีการตรวจจับไอออนทองและไอออนปรอทโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  NMR และ MS และพบว่าหลังจากที่เซนเซอร์ตรวจจับไอออนทองแล้วส่วนของ terminal alkyne จะถูกเปลี่ยนเป็นหมู่ ketone นอกจากนี้ยังมีเซนเซอร์ทองชนิดอื่นถูกรายงานว่าใช้หมู่ alkyne เป็นไอออนโพรฟอร์ โดยใช้ฟลูออโรฟอร์ที่แตกต่างกันดังนี้ rhodamine [38-41], apocoumarin [42], fluorescein [43], BODIPY [44, 45], Rhodol [46], naphthalimide [47], tetraphenylethylene [48] and [5]Helicene [49]

โดยในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์โดยใช้ aza-BODIPY (มีโครงสร้างดังภาพที่ 1 เป็นฟลูออโรฟอร์และใช้หมู่ propargyl เป็นไอออนโพรฟอร์ โดย aza-BODIPY นั้นเป็นฟลูออโรฟอร์ที่ถูกใช้สำหรับตรวจจับไอออนโลหะชนิดต่างๆ อย่างแพร่หลาย เช่น ไอออนทองแดง [50-52], ไอออนแคดเมียม [53] และ ไอออนปรอท [54] เป็นต้น และ aza-BODIPY ยังถูกใช้เป็นฟลูออโรฟอร์สำหรับการตรวจจับแอนไอออน (anion) ที่มีพิษอีกด้วย [55, 56] และเนื่องจาก aza-BODIPY นั้นมีส่วนประกอบที่เรียกว่าสะพานโบรอน (Boron bridge) ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มความแข็งแรง (rigidity) ให้กับโครงสร้างของเซนเซอร์ [57, 58] และส่งผลให้เซนเซอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของ aza-BODIPY นั้นมีความทนทานต่อแสง (photostability) และสารเคมี (chemical stability) ที่สูง ยิ่งไปกว่านั้น aza-BODIPY เป็นฟลูออโรฟอร์ที่คายสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในช่วงใกล้อินฟราเรด ซึ่งเป็นช่วงของคลื่นที่มีพลังงานต่ำจึงไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต และการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในช่วงใกล้อินฟราเรดจะสามารถหลีกเลี่ยงการรบกวนสัญญาณจากการเกิดการคายแสงที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ (autofluorescence) ซึ่งคายแสงในช่วง UV-visible light และสามารถหลีกเลี่ยงการถูกดูดกลืนจากออร์แกเนลล์ (organelle) ภายในเซลล์ ซึ่งทั้ง 2 อย่างนี้เป็นปัญหาหลักในการศึกษาภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต ดังนั้น aza-BODIPY จึงเหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในงาน ด้านชีวภาพ วิทยาศาสตร์ทางยา และ ใช้ศึกษาหาไอออนโลหะในเซลล์สิ่งมีชีวิต



ภาพที่ 1 รูปแสดงโครงสร้างของ aza-BODIPY

## 1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อออกแบบและสังเคราะห์เซ็นเซอร์ที่มีคุณสมบัติในการเรืองแสงในช่วงใกล้อินฟราเรดที่มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจจับไอออนโลหะ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพด้วยเทคนิคทางฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปีอย่างมีประสิทธิภาพ

## 1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

คาดว่าเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นสามารถตรวจจับไอออนโลหะโดยมีความจำเพาะเจาะจงสูง (high selectivity) และมีความไวสูง (high sensitivity) โดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหา (detection limit) ที่ต่ำ และมีความสามารถในการแข่งขันการตรวจจับไอออนทองในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ ปะปนอยู่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ตรวจจับไอออนทองในตัวอย่างเซลล์สิ่งมีชีวิตได้

## 1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

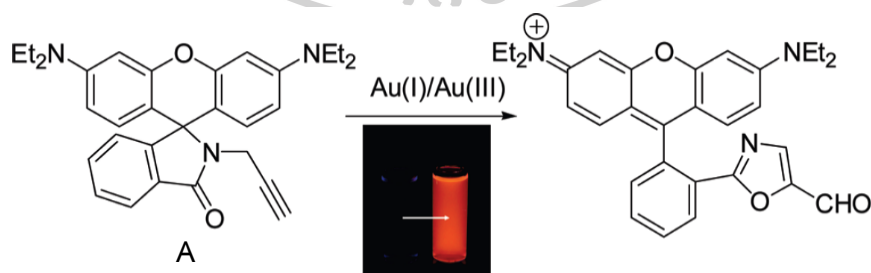
- 1.) สังเคราะห์และแยกบริสุทธิ์สารเซ็นเซอร์สำหรับการตรวจจับไอออนทอง
- 2.) นำเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบสมบัติการเรืองแสง (fluorescence properties) ในสารละลายอินทรีย์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ
- 3.) สามารถนำเซ็นเซอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นไปประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรม

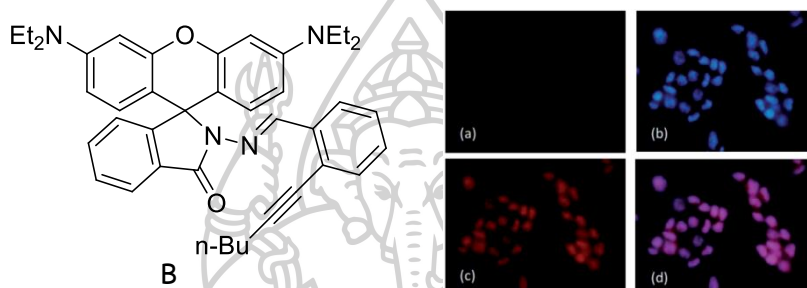
การนำสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์มาใช้เพื่อติดตามหรือตรวจจับไอออนโลหะหนัก เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมจากนักวิจัยอย่างแพร่หลาย โดยผู้วิจัยหลายคณะได้พยายามที่จะพัฒนา ประสิทธิภาพของสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์ให้ดีขึ้น โดยมุ่งเน้นให้เซนเซอร์มีขั้นตอนการ สังเคราะห์ที่สั้นลง ใช้สารตั้งต้นที่ราคาถูกลง เพิ่มความไว (sensitivity) ในการตรวจจับไอออน โลหะหนักที่สนใจและเพิ่มความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ต่อไอออนโลหะเป้าหมายสูงขึ้น รวมทั้ง การนำเซนเซอร์ไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยแขนงอื่นๆ โดยสำหรับการตรวจจับไอออนทองนั้นหมู่ alkyne ได้ถูกใช้เป็นไอโอโนฟอร์สำหรับฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์เพื่อใช้ในการดักจับไอออนทองมี รายงานไว้ในงานวิจัยหลายฉบับซึ่งมีการใช้ร่วมกับฟลูออโรฟอร์หลายชนิด เช่น Rhodamine, apocoumarin, Fluorescein, Rhodol, naphthalimide, tetraphenylethylene, [5]Helicene และ BODIPY เป็นต้น

งานวิจัยฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับการตรวจจับไอออนทองหลายฉบับที่ใช้ rhodamine เป็นฟลูออโรฟอร์ ซึ่งมีการทำงานของเซนเซอร์ที่แสดงเป็นแบบ “ปิด-เปิด” โดยในปี ค.ศ. 2009 O.A. Egorova และคณะ [38] ได้นำ rhodamine B มาทำปฏิกิริยากับ propargylamine ได้เป็น สารประกอบ Spirolactam A โดยผ่านการสังเคราะห์เพียง 2 ขั้นตอน และเซนเซอร์นี้ถูกใช้เป็น เซ็นเซอร์ในการดักจับไอออนทองในรูป  $Au^{1+}$ ,  $Au^{3+}$  ในสารละลายผสมระหว่างบัฟเฟอร์ PBS กับ ACN อัตราส่วน 1:1 (v/v) ที่ pH 7.2 โดยเซนเซอร์จะเปลี่ยนจากสารละลายใสเป็นสีชมพูและแสดง สัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในช่วงสีส้มที่มีความยาวคลื่น 582 nm มีค่าขีดจำกัดการตรวจหา (detection limit) อยู่ที่ 0.4 ppm



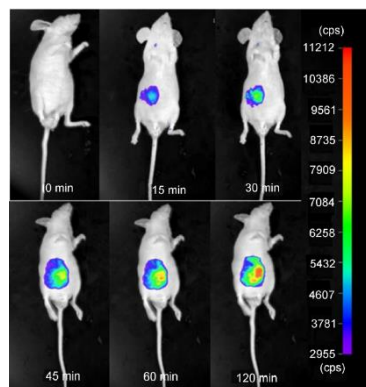
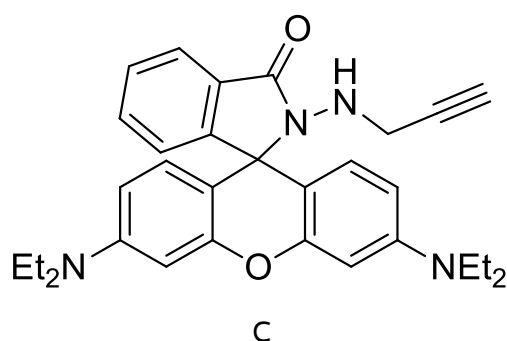
ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและสีของเซนเซอร์ A หลังจากตรวจวัดไอออนทอง ( $Au^{+}$  และ  $Au^{3+}$ )

ในปี ค.ศ. 2013 M. Emrulloğlu และคณะ [39] ได้ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์โดยนำ rhodamine hydrazide มาทำปฏิกิริยากับ 2-alkynylbenzaldehyde ได้เซ็นเซอร์ B เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ในสารละลายผสมระหว่างบัฟเฟอร์ HEPES กับ  $\text{CH}_3\text{CN}$  pH 7.0 อัตราส่วน 1:1 v/v โดยเซ็นเซอร์จะเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูและแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 580 nm พบว่าเซ็นเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างรวดเร็วโดยใช้เวลาในการให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์น้อยกว่า 1 นาที และมีความไวที่สูง โดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 0.6 ppm และมีค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 1-100  $\mu\text{M}$  นอกจากนี้เซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้



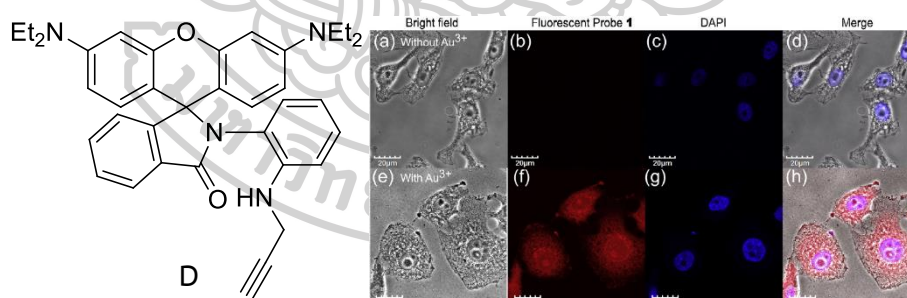
ภาพที่ 3 โครงสร้างของเซ็นเซอร์ B และภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ B ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต

ในปี ค.ศ. 2014 F. Song และคณะ [40] ได้ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ C โดยใช้อนุพันธ์ของ rhodamine B เป็นฟลูออโรฟอร์มาทำปฏิกิริยากับ propargyl bromide ได้เซ็นเซอร์ C เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ในสารละลายผสมระหว่างบัฟเฟอร์ PBS กับ EtOH pH 7.4 อัตราส่วน 1:1 (v/v) โดยเซ็นเซอร์จะเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูและแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 578 nm พบว่าเซ็นเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะสูง โดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 36 ppb และมีค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 0-196 ppb พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้โดยทางผู้วิจัยได้นำไปทำการพิมพ์ภาพทางชีวภาพ (bioimaging) กับเซลล์สิ่งมีชีวิตและหนู



ภาพที่ 4 โครงสร้างของเซนเซอร์ C และภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ C ในการตรวจจับไอออนทองในหนู

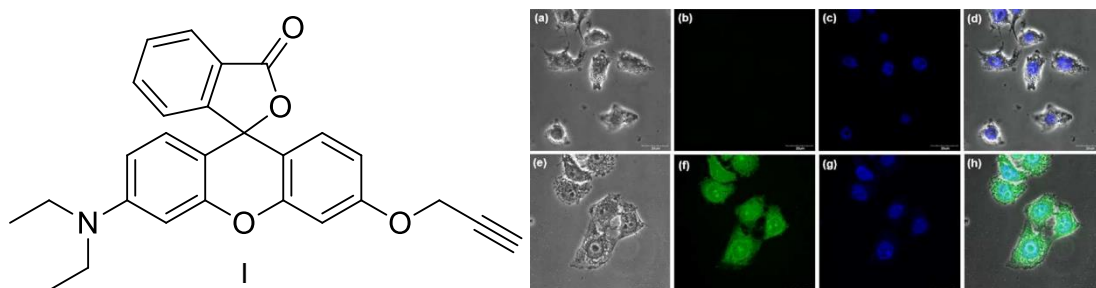
ในปี ค.ศ. 2017 P. Srisuratsiri และคณะ [41] ทำการสังเคราะห์เซนเซอร์ D โดยผ่านปฏิกิริยาเพียง 2 ขั้นตอน โดยเกิดปฏิกิริยา coupling ของ rhodamine กับ o-phenylenediamine จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับ propargyl bromide เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ในสารละลายผสมระหว่าง EtOH กับ  $\text{H}_2\text{O}$  อัตราส่วน 1:1 (v/v) โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 583 nm พบว่าเซนเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะสูงโดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 10.5 nM หรือ 2.1 ppb พบว่าเซนเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้



ภาพที่ 5 โครงสร้างของเซนเซอร์ D และภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ D ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต

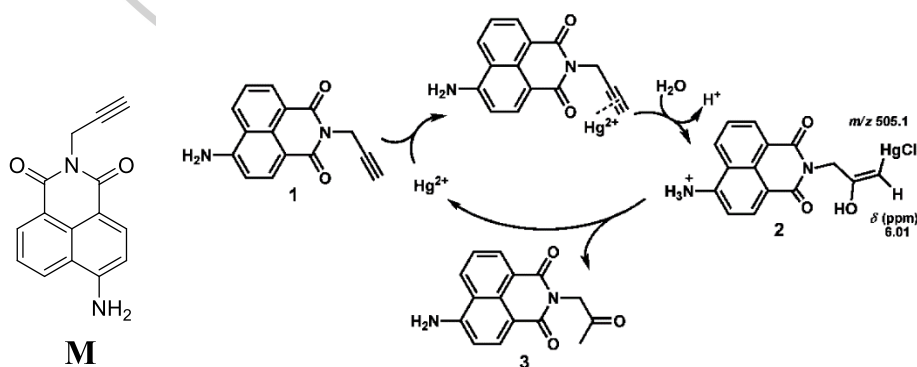
ในปี ค.ศ. 2016 K. Wechakorn และคณะ [46] ได้สังเคราะห์เซนเซอร์ I โดยใช้อนุพันธ์ของ rhodamine มาทำปฏิกิริยากับ propargyl bromide เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ในสารละลายผสมระหว่าง DMSO กับ  $\text{H}_2\text{O}$  อัตราส่วน 60% v/v โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 526 nm พบว่าเซนเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะ

สูงโดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 7 ppb และมีค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 20-95  $\mu\text{M}$  พบว่า เซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้



ภาพที่ 6 โครงสร้างของเซ็นเซอร์ I และภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ I ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต

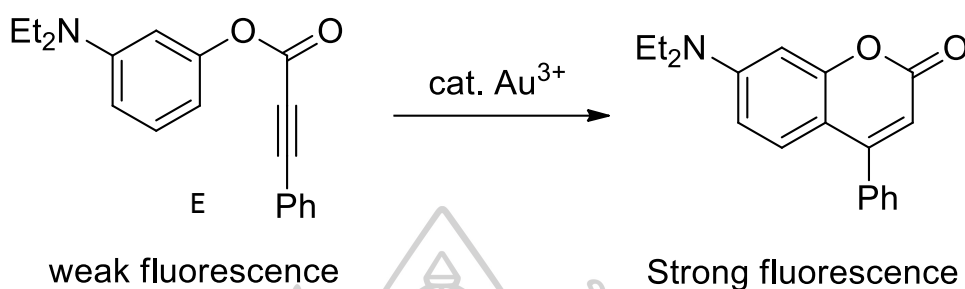
นอกจาก Rhodamine ยังมีงานวิจัยอีกหลายฉบับที่นำฟลูออโรฟอร์ชนิดอื่นๆ มาสังเคราะห์เป็นฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนทองโดยส่วนใหญ่มีการทำงานของเซ็นเซอร์เป็นแบบ “ปิด-เปิด” เช่นกัน โดยในปี ค.ศ. 2010 M. Dong และคณะ [37] ได้ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ M ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ naphthalimide เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) และไอออนปรอท ( $\text{Hg}^{2+}$ ) โดยในการตรวจจับไอออนทองจะเกิดในสารละลายผสมระหว่าง MeOH กับ  $\text{H}_2\text{O}$  อัตราส่วน 95:5 v/v ที่ pH 9 เมื่อเซ็นเซอร์ตรวจจับกับไอออนของทองหรือไอออนปรอทแล้ว โครงสร้าง terminal alkyne ภายในเซ็นเซอร์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นหมู่ ketone ซึ่งสามารถยืนยันผลได้โดยใช้  $^1\text{H NMR}$ ,  $^{13}\text{C NMR}$  และ MS



ภาพที่ 7 โครงสร้างของเซ็นเซอร์ M และกลไกการตรวจจับไอออนปรอทของเซ็นเซอร์

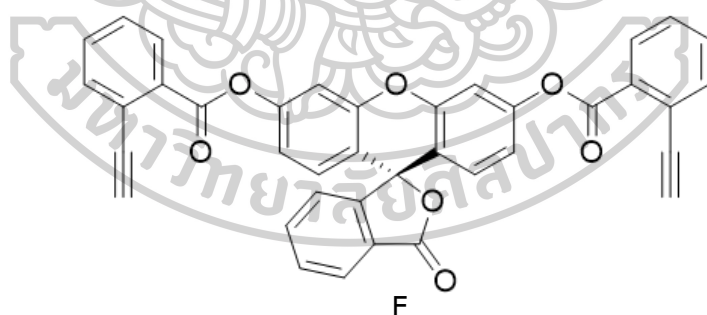
ในปี ค.ศ. 2010 J.H. Do และคณะ [42] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์ E โดยการนำ 3-(diethylamino)phenol ปฏิกริยากับ phenylpropionic acid เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดไอออนทอง

(Au<sup>3+</sup>) ใน EtOH โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 488 nm พบว่าเซ็นเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะสูงโดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 64 ppb และมีค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 20-100 ppb พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซ็นเซอร์ E หลังจากตรวจจับไอออนทองแล้ว

ในปี ค.ศ.2012 H. Seo และคณะ [43] สังเคราะห์เซ็นเซอร์ F โดยนำอนุพันธ์ของ fluorescein มาทำปฏิกิริยากับ 2-(ethynyl)benzoate เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดไอออนทอง (Au<sup>3+</sup>) ในสารละลายผสมระหว่างบัฟเฟอร์ 5 mM HEPES pH 7.4 ที่มี 0.25% DMSO อยู่โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 508 nm พบว่าเซ็นเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะสูงโดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 0.4 μM หรือ 12 ppb พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้

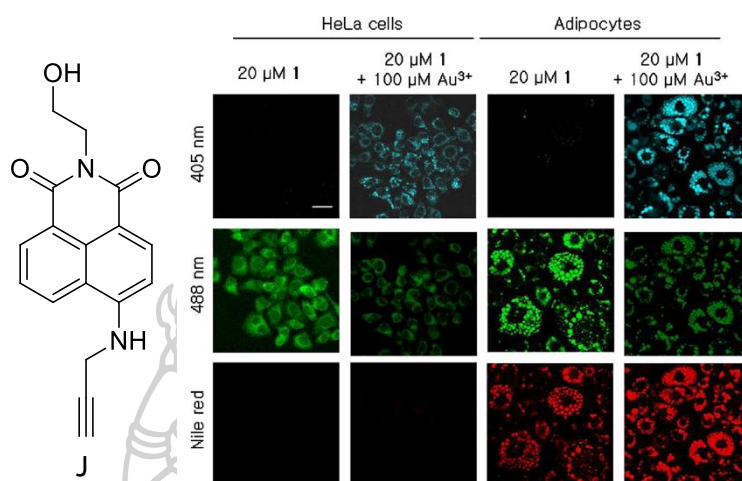


ภาพที่ 9 โครงสร้างของเซ็นเซอร์ F

ในปี ค.ศ. 2013 J.Y. choi และคณะ [47] ได้ทำการสังเคราะห์เซ็นเซอร์ J ซึ่งเกิดจากการนำ 4-bromo-1,8-naphthalic acid anhydride มาทำปฏิกิริยากับ 2-ethanolamine จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับ propargyl bromide ได้เซ็นเซอร์ J เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดไอออนทอง (Au<sup>3+</sup>) ในสารละลายผสมระหว่าง EtOH กับ PBS buffer 4% (v/v) pH 7.4 โดยเซ็นเซอร์จะคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 527 nm แล้วจะค่อยๆ ลดลงเมื่อเติมไอออนทองลงไป

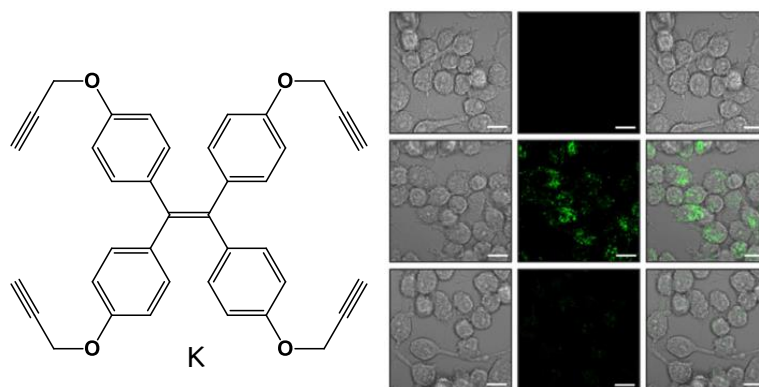


เซนเซอร์ และคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นใหม่ 471 nm นอกจากนี้เซนเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะสูงโดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 8.44  $\mu\text{M}$  และมีค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 0-60  $\mu\text{M}$  และพบว่าเซนเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้



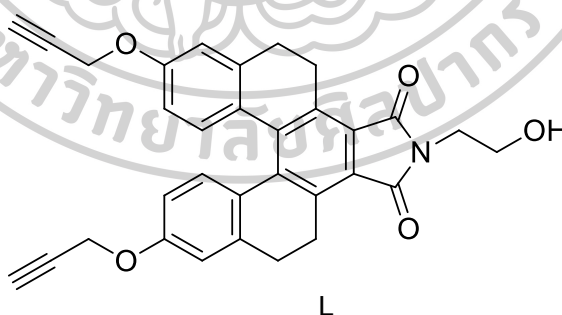
ภาพที่ 10 โครงสร้างของเซนเซอร์ J และ ภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ J ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต

ในปี ค.ศ. 2019 N.H. Kim และคณะ [48] ได้ทำการสังเคราะห์เซนเซอร์ K ขึ้นโดยใช้ tetraphenylethylene (TPE) เป็นฟลูออโรฟอร์ และใช้หมู่ propargyl เป็นไอออนโพร โดยเซนเซอร์ K สามารถตรวจวัดไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ได้อย่างมีประสิทธิภาพในสารละลายผสมระหว่าง EtOH กับ  $\text{H}_2\text{O}$  (3:7 v/v) โดยเซนเซอร์จะคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 486 nm ซึ่งเซนเซอร์ L มีการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์แบบ “เปิด-ปิด” นอกจากนี้เซนเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะสูงโดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 0.1  $\mu\text{M}$  หรือ 0.03 ppm และพบว่าเซนเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้



ภาพที่ 11 โครงสร้างของเซนเซอร์ K และ ภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ K ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต

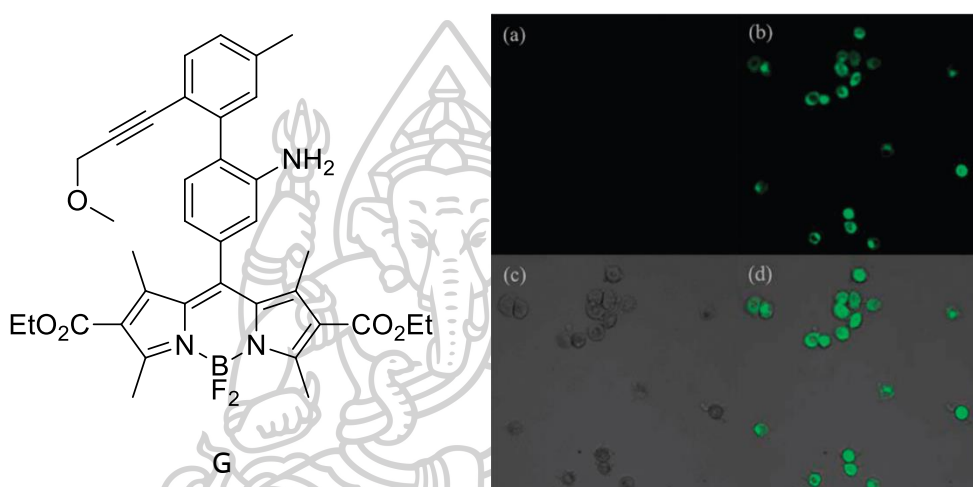
ในปี ค.ศ. 2021 P. Sinthuprasert และคณะ [49] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์ L โดยเริ่มสังเคราะห์จากสารตั้งต้น M202 ซึ่งมี [5]Helicene เป็นองค์ประกอบผ่านปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน ได้เซนเซอร์ L ออกมาในที่สุด โดยเซนเซอร์ L มี [5]Helicene เป็นฟลูออโรฟอร์และมีหมู่ propargyl เป็นไอออนโอฟอร์ โดยเซ็นเซอร์ L สามารถตรวจจับไอออนทองได้ใน HEPES buffer (5 mM, pH 7.2) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยคายสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่มีความยาวคลื่น 530 nm ซึ่งเซ็นเซอร์ L มีการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนส์แบบ “เปิด-ปิด” และพบว่าเซ็นเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะสูงและความไวสูงโดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 0.16  $\mu\text{M}$  หรือ 32 ppb และพบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในแหล่งน้ำธรรมชาติได้



ภาพที่ 12 โครงสร้างของเซนเซอร์ L

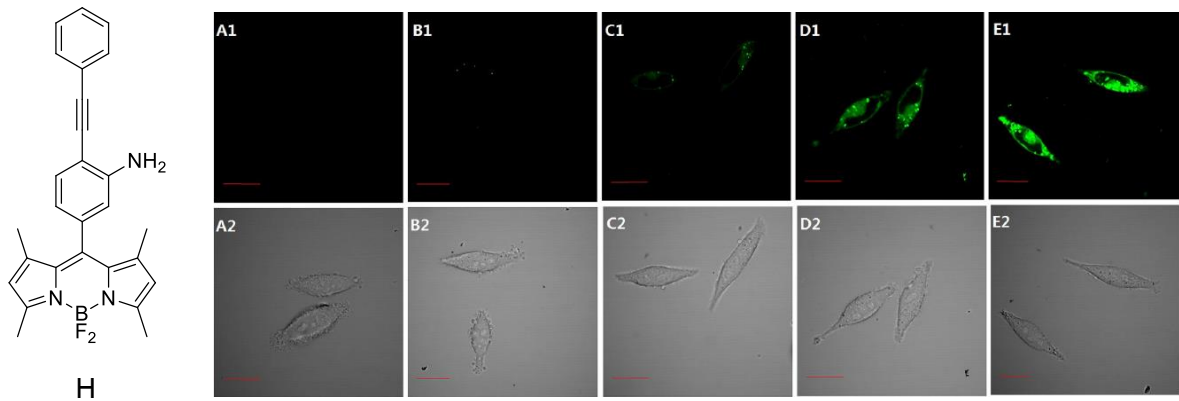
นอกจากนั้นยังมีรายงานว่ามีเซนเซอร์ทองที่ใช้ BODIPY ซึ่งมีโครงสร้างใกล้เคียงกับ aza-BODIPY ที่ถูกใช้ในงานวิจัยนี้เป็นฟลูออโรฟอร์ โดยในปี ค.ศ. 2012 J.B. Wang และคณะ [44] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์ G ดังแสดงในภาพที่ 13 โดยเริ่มสังเคราะห์จาก 2-bromo-1-iodo-4-methylbenzene ผ่านปฏิกิริยา Sonogashiri coupling hydroxy methylation, boronization,

Suzuki coupling และเกิดปฏิกิริยา condensation โดยมี TFA เป็นตัวเร่ง จากนั้นเกิดปฏิกิริยา reduction โดยใช้  $\text{SnCl}_2$  ได้เซ็นเซอร์ดังแสดงในภาพที่ 1 เพื่อใช้สำหรับการตรวจจับไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ในสารละลายผสมระหว่างบัฟเฟอร์ PBS กับ EtOH pH 7.4 อัตราส่วน 1:1 (v/v) โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 511 nm ซึ่งเป็นเซ็นเซอร์ที่การให้สัญญาณแบบ “ปิด-เปิด” พบว่าเซ็นเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะสูงโดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 63 ppb และมีค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.1-0.6  $\mu\text{M}$  พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้

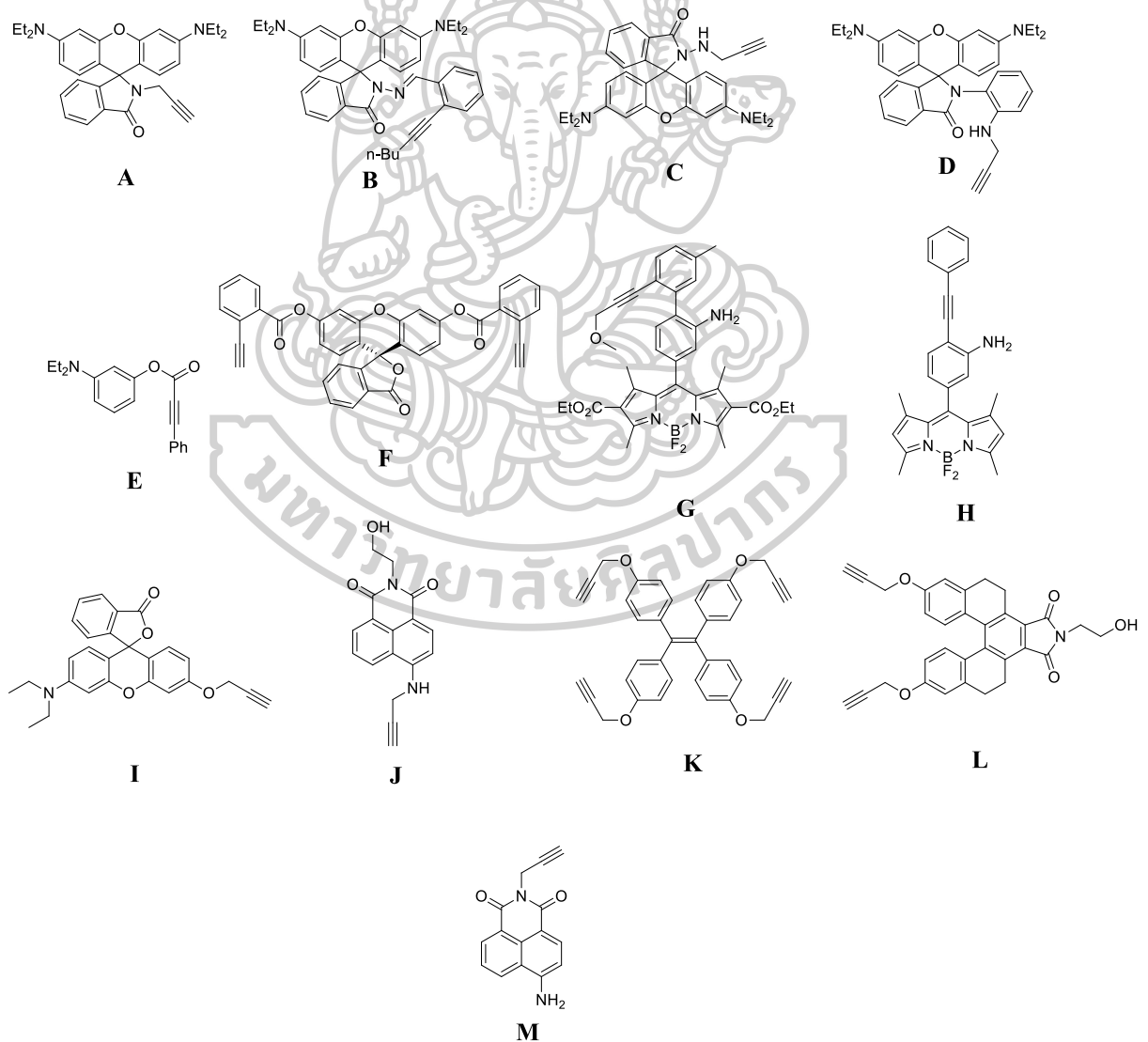


ภาพที่ 13 โครงสร้างของเซ็นเซอร์ G และ ภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซ็นเซอร์ G ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต

ในปี ค.ศ. 2016 Y. Wang และคณะ [45] ได้สังเคราะห์เซ็นเซอร์ H ดังแสดงในภาพที่ 13 โดยสังเคราะห์จาก 4-bromo-3-nitro-benzaldehyde ผ่านปฏิกิริยา Sonogashiri coupling จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับ 2,4-dimethyl-pyrrole โดยใช้ปฏิกิริยา condensation ซึ่งมี TFA เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากนั้นเกิดปฏิกิริยา reduction โดยใช้  $\text{SnCl}_2$  ได้เซ็นเซอร์ดังแสดงในภาพที่ 14 เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ในสารละลายผสมระหว่างบัฟเฟอร์ PBS กับ EtOH pH 7.4 อัตราส่วน 1:1 (v/v) โดยแสดงสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 518 nm ซึ่งเป็นเซ็นเซอร์ที่การให้สัญญาณแบบ “ปิด-เปิด” พบว่าเซ็นเซอร์สามารถเกิดอันตรกิริยากับไอออนทองได้อย่างมีความจำเพาะสูงโดยมีค่าขีดจำกัดการตรวจหาอยู่ที่ 100 nM และมีค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 0-12  $\mu\text{M}$  พบว่าเซ็นเซอร์ชนิดนี้สามารถนำไปประยุกต์หาไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตและในเลือดได้



ภาพที่ 14 โครงสร้างของเซนเซอร์ H และ ภาพถ่ายเรืองแสงสำหรับการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ H ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต



ภาพที่ 15 โครงสร้างของฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนทองที่มีการรายงานก่อนหน้า

Au <sup>3+</sup> Sensor	Operation mode	working system	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	Sensitivity (ppm)	References
A	Turn-ON	CH <sub>3</sub> CN/PBS buffer (1:1, v/v, pH 7.2)	530/582	0.4	[38] (2010)
B	Turn-ON	CH <sub>3</sub> CN/HEPES buffer (1:1, v/v, pH 7.0)	500/580	0.6	[39] (2013)
C	Turn-ON	EtOH/PBS buffer (20 mM, 1:1, v/v, pH 7.4)	553/578	0.036	[40] (2014)
D	Turn-ON	EtOH/H <sub>2</sub> O (1:1, v/v)	520/583	0.0021	[41] (2017)
E	Turn-ON	EtOH	390/488	0.064	[42] (2010)
F	Turn-ON	DMSO/HEPES buffer (5 mM, 0.25%, v/v, pH 7.4)	470/508	0.012	[43] (2012)
G	Turn-ON	EtOH/PBS buffer (0.01M, 1:1, v/v, pH 7.4)	480/511	0.063	[44] (2012)
H	Turn-ON	EtOH/PBS buffer (0.02 M, 1:1, v/v, pH 7.4)	480/518	0.044	[45] (2016)
I	Turn-ON	DMSO/H <sub>2</sub> O (60%, v/v)	480/526	0.007	[46] (2016)
J	Turn-ON	EtOH/PBS buffer (4%, v/v, pH 7.4)	364/471	2.48	[47] (2013)
K	Turn-OFF	EtOH/H <sub>2</sub> O (3:7, v/v)	300/486	0.03	[48] (2019)
L	Turn-OFF	HEPES buffer (5 mM, pH 7.2)	373/530	0.032	[49] (2021)

ตารางที่ 1 ตารางเปรียบเทียบคุณสมบัติของฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนทองที่  
รายงานก่อนหน้านี้

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.1 อุปกรณ์

1. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance 300 MHz: Bruker 300
2. เครื่อง Mass spectrometer: ESI-FT-ICR (High resolution) Bruker BioAPEX 70e spectrometer
3. เครื่อง UV-visible spectrometer: Agilent-Cary 60
4. เครื่อง Fluorescence spectrometer: Perkin Elmer Luminescence spectrometer model LS-50B
5. เครื่อง FT-IR spectrometer: PerkinElmer Frontier
6. เครื่อง Rotary evaporator: Buchi Rotavapor R-114
7. เครื่อง Vacuum pump: Tokyo Rikakikai Co., Ltd. model A-3S
8. Hot air oven: Binder model ED115 (E2)
9. เครื่องชั่งละเอียด (เทคนิค 4 ตำแหน่ง): Denver instrument model S-234
10. เครื่องชั่งละเอียด (เทคนิค 4 ตำแหน่ง): Mettler Toledo model AB204 1.8
11. Hotplate and stirrer: Framo model M21/1
12. Micropipette: Finnpipette, HH10711 ขนาด 1-10  $\mu\text{L}$
13. TLC Silica gel 60 F254 aluminium sheet, Merck
14. กระจกทรง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 110 mm
15. กระจกทรง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 mm
16. TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub> aluminium sheet, Merck
17. อุปกรณ์สำหรับเตรียมแผ่น TLC: Desaga Brinkmann
18. ชุดกรองแบบลดความดัน
19. เครื่องแก้วพื้นฐาน
20. Clamp และ clamp holder

## 3.2 สารเคมี

1. Acetonitrile: LAB-SCAN
2. Aluminum chloride, anhydrous: Strem chemical ( $M_W = 133.34$  g/mol)
3. Ammonium acetate: AR/ACS ( $M_W = 77.08$  g/mol)
4. Argon gas: Masser Specialty Gas Co., Ltd. (99.999 %)
5. Anhydrous sodium sulfate: Merck (142.04 g/mol)
6. Barium chloride dehydrate: Sigma-Aldrich (99 %,  $M_W = 255.43$ g/mol)
7. Boron trifluoride diethyl etherate: ACROS (48%,  $M_W = 141.93$  g/mol )
8. 1-Buthanol: BHD
9. Anhydrous cadmium chloride: Fluka ( $M_W = 183.31$  g/mol)
10. Calcium chloride dehydrate: Carlo erba ( $M_W = 147.01$ g/mol)
11. Chloroform-*d*: (contains 1% v/v of TMS): Sigma-Aldrich (99.8 atom %D)
12. Chromium(II) chloride, anhydrous: Strem chemical ( $M_W = 122.90$  g/mol)
13. Cobalt(II) chloride, anhydrous: Strem chemical ( $M_W = 129.84$  g/mol)
14. Cupric chloride dehydrate: Fluka ( $M_W = 170.48$  g/mol)
15. De-ionized water: Department of chemistry, Silpakorn University
16. Dichloromethane (distillation)
17. Dichloromethane: (for analysis): Merck (99.8%)
18. Ethanol (absolute for analysis): Merck
19. Ethylacetate (distillation)
20. Gold(III) chloride trihydrate: SIGMA-ALDRICH ( $M_W = 383.83$  g/mol)
21. Hydrogen gas: Masser Specialty Gas Co., Ltd. (99.999 %)
22. Iron(III) chloride, anhydrous: Strem chemical ( $M_W = 162.22$  g/mol)
23. Lead chloride: Unilab ( $M_W = 278.10$ g/mol)
24. Anhydrous lithium chloride: Fluka ( $M_W = 42.39$  g/mol)
25. Magnesium chloride hexahydrate: Fluka ( $M_W = 203.31$  g/mol)
26. Manganese chloride monohydrate: Sigma-Aldrich ( $M_W = 143.86$  g/mol)
27. Mercuric chloride: Carlo erba ( $M_W = 471.50$  g/mol)
28. Methanol (for analysis): Merck (99.9%)

29. 4'-Methoxyacetophenone: Fluka ( $\geq 99.0\%$ ,  $M_w = 365.69$  g/mol)
30. Nickel chloride hexahydrate: Fluka ( $M_w = 237.71$  g/mol)
31. *N,N*-Diisopropylethylamine: Sigma-Aldrich ( $> 99.0\%$ ,  $M_w = 129.24$  g/mol)
32. 3-nitrobenzaldehyde: Fluka ( $\geq 95.0\%$ ,  $M_w = 150.17$  g/mol)
33. Nitromethane: Fluka ( $\geq 98.0\%$ ,  $M_w = 61.04$  g/mol)
34. Palladium on activated charcoal: Merck (10% Pd)
35. Potassium carbonate: QreC ( $M_w = 138.21$  g/mol)
36. Potassium chloride: Fluka ( $M_w = 74.55$  g/mol)
37. Potassium hydroxide: Fluka ( $M_w = 56.11$  g/mol)
38. Propargyl bromide: Sigma-Aldrich (80 wt.% in toluene,  $M_w = 118.96$  g/mol)
39. Silver chloride: Strem chemical ( $M_w = 143.32$  g/mol)
40. Sodium hydrogen carbonate: Ajax Finechem (Univar) ( $M_w = 84.01$  g/mol)
41. Sodium chloride: ( $M_w = 58.5$  g/mol)
42. Sodium sulfate anhydrous: Sigma-Aldrich (99.0%)
43. Triton X-100
44. Zinc chloride: Strem chemical ( $M_w = 136.28$  g/mol)



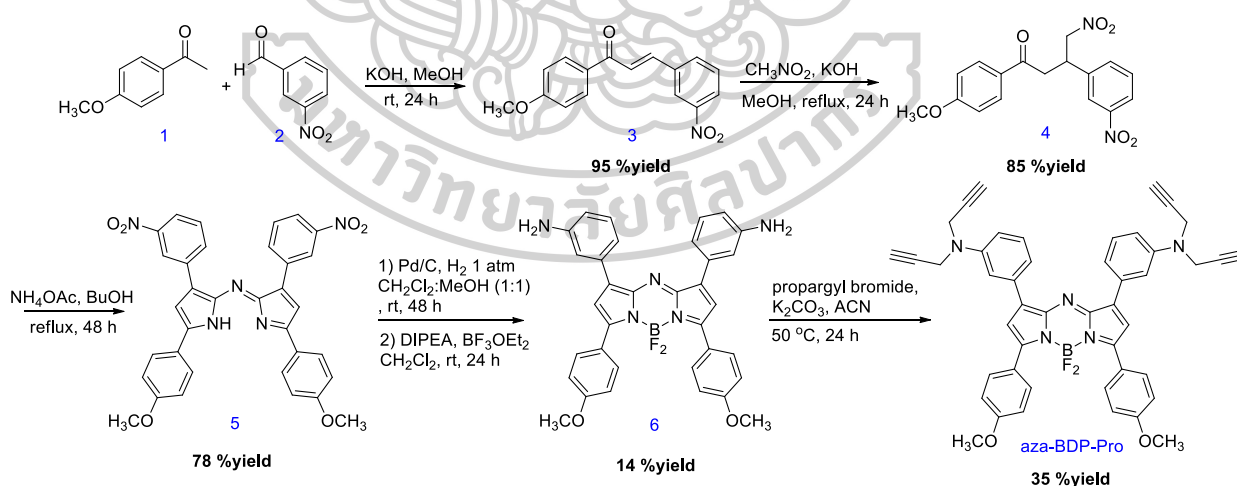


## บทที่ 4

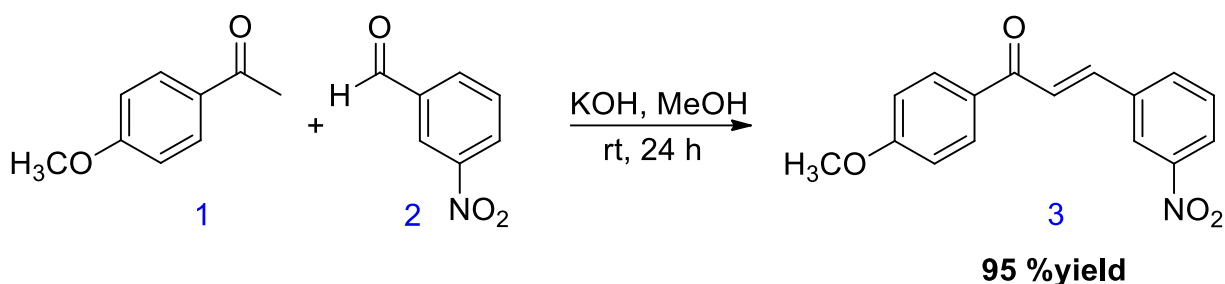
### การทดลอง

#### 4.1 การสังเคราะห์สารเซนเซอร์ aza-BDP-Pro

ในงานวิจัยนี้สารฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์ aza-BDP-Pro ได้ถูกสังเคราะห์ขึ้น โดยเซนเซอร์ aza-BDP-Pro ประกอบไปด้วย aza-BODIPY ซึ่งทำหน้าที่เป็นฟลูออโรฟอร์ และเชื่อมต่อกับหมู่ propargyl ซึ่งทำหน้าที่เป็นไอออโนฟอร์ด้วยพันธะ covalent ขั้นตอนการสังเคราะห์นั้นเริ่มจากการสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ชนิด aza-BODIPY โดยวิธีการสังเคราะห์ aza-BODIPY ได้ศึกษาตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ [50, 51, 53, 55] โดยเริ่มจากสังเคราะห์สารประกอบชนิด **chalcone 3** ผ่านปฏิกิริยา aldol condensation จากนั้นนำสารประกอบ **chalcone 3** ไปทำปฏิกิริยา 1,4-Michael addition กับ nitromethane ได้สารประกอบ **nitro-chalcone 4** ตามด้วยการสังเคราะห์วง **dipyrrole 5** แล้วนำมาทำปฏิกิริยา reduction และ complexation กับ  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  ได้เป็นสารประกอบโบรอนที่เรียกว่า **aza-BODIPY 6** ซึ่งเป็นฟลูออโรฟอร์ จากนั้นนำส่วนฟลูออโรฟอร์ที่ได้มาทำปฏิกิริยา N-alkylation กับ propargyl bromide ได้เซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ดังแสดงในภาพที่ 16



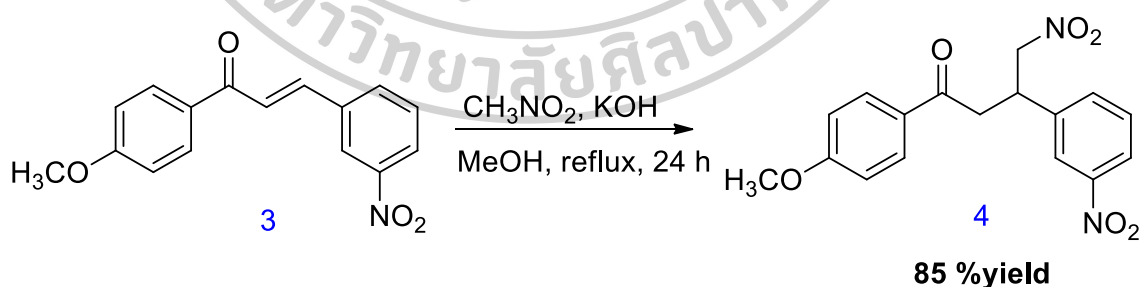
## 4.1.1 การสังเคราะห์สารประกอบ chalcone 3



ภาพที่ 17 แผนผังการสังเคราะห์สารประกอบ chalcone 3

วิธีการสังเคราะห์ **chalcone 3** ได้ศึกษาตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ [50, 51, 53, 55] โดยเริ่มจากการชั่ง 3-nitro benzaldehyde 10.00 กรัม (66.59 mmol) และ 4-methoxy acetophenone 10.00 กรัม (66.67 mmol) ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 250 mL จากนั้นละลายด้วย MeOH ปริมาตร 200 mL และเติม KOH ปริมาณ 3.60 กรัม (90.0 mmol) ซึ่งทำหน้าที่เป็นเบสลงไปในสารละลาย จากนั้นกวนปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นตะกอนของแข็งสีเหลืองอ่อนเกิดขึ้น เมื่อครบกำหนดเวลาทำการแยกส่วนที่ไม่ละลายในตัวทำละลายออกด้วยการกรองแบบลดความดันและล้างตะกอนด้วย MeOH เย็น ได้สารผลิตภัณฑ์ **chalcone 3** ซึ่งเป็นของแข็งสีขาวปริมาณ 17.80 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้เท่ากับ 95% (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนถัดไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์)

## 4.1.2 การสังเคราะห์สารประกอบ nitro-chalcone 4

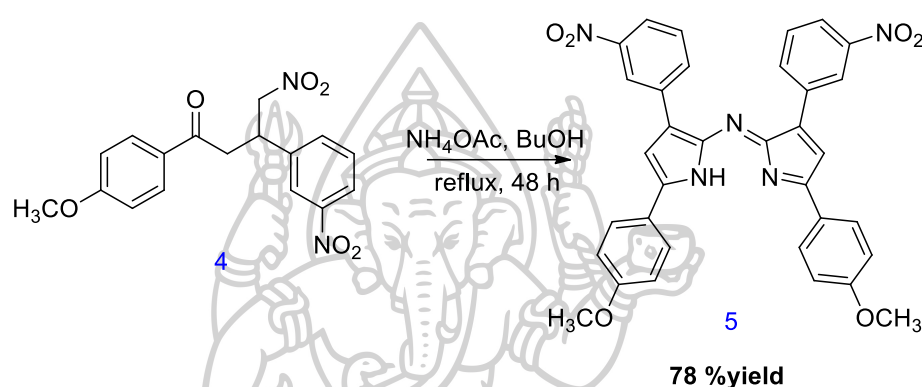


ภาพที่ 18 แผนผังการสังเคราะห์สารประกอบ nitro-chalcone 4

วิธีการสังเคราะห์ **nitro-chalcone 4** ได้ศึกษาตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ [50, 51, 53, 55] เริ่มจากชั่ง **chalcone 3** ปริมาณ 10.0 กรัม (35.3 mmol) ใส่ในขวดก้นกลมปริมาตร 250 mL ละลายด้วย MeOH ปริมาตร 150 mL จากนั้นเติม KOH ซึ่งทำหน้าที่เป็นเบสปริมาณ 2.33 กรัม (38.8 mmol) และ nitromethane ปริมาตร 50 mL (0.88 mol) ลงไปในสารละลายและ

รีฟลักซ์ (reflux) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นตะกอนสีน้ำตาลอ่อนเกิดขึ้น เมื่อครบกำหนดเวลาทำให้สารละลายเย็นลง และแยกส่วนที่ไม่ละลายในตัวทำละลายออกด้วยการกรองแบบลดความดันและล้างตะกอนด้วย MeOH เย็นได้สารผลิตภัณฑ์ nitro-chalcone **4** เป็นของแข็งสีเทา ปริมาณ 10.25 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้ 85% (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์)

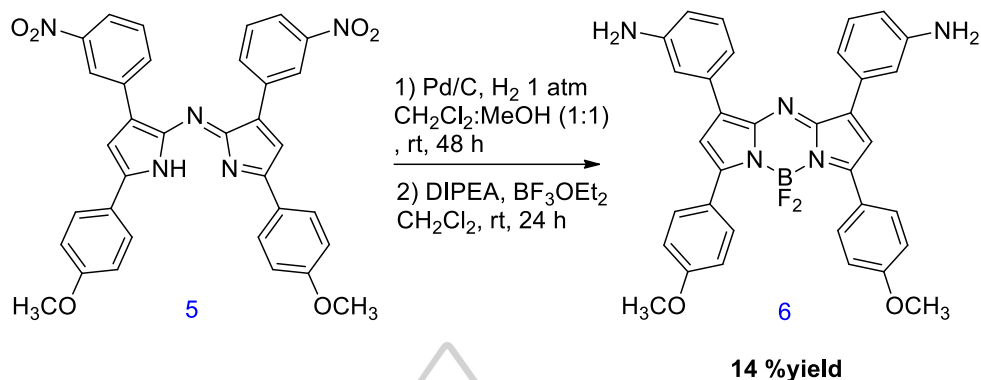
#### 4.1.3 การสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrole **5**



ภาพที่ 19 แผนผังการสังเคราะห์สารประกอบ dipyrrole **5**

วิธีการสังเคราะห์ dipyrrole **5** ได้ศึกษาตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ [50, 51, 53, 55] เริ่มจากซิง nitro-ketone **4** ปริมาณ 5.02 กรัม (14.6 mmol) ใส่ในขวดก้นกลมปริมาตร 250 mL ละลายด้วย n-BuOH ปริมาตร 150 mL จากนั้นเติม NH<sub>4</sub>OAc ปริมาณ 21.29 กรัม (276 mmol) ลงไปในสารละลาย จากนั้นรีฟลักซ์ (reflux) เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นว่ามีตะกอนสีดำเกิดขึ้น เมื่อครบกำหนดเวลาทำให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้องและจึงกำจัดตัวทำละลายออกให้เหลือเพียง 25% ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วเติม MeOH เย็นลงไป ในขณะที่ตั้งในภาชนะที่มีน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิต่ำประมาณ 30 นาที จะสังเกตเห็นตะกอนเกิดมากขึ้น นำมากรองแบบลดความดันเพื่อแยกเอาตะกอนออกมาและล้างตะกอนด้วย MeOH เย็น ได้สารประกอบ dipyrrole **5** ซึ่งเป็นของแข็งสีดำ 3.27 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้ 78% (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์)

## 4.1.4 การสังเคราะห์ aza-BODIPY 6



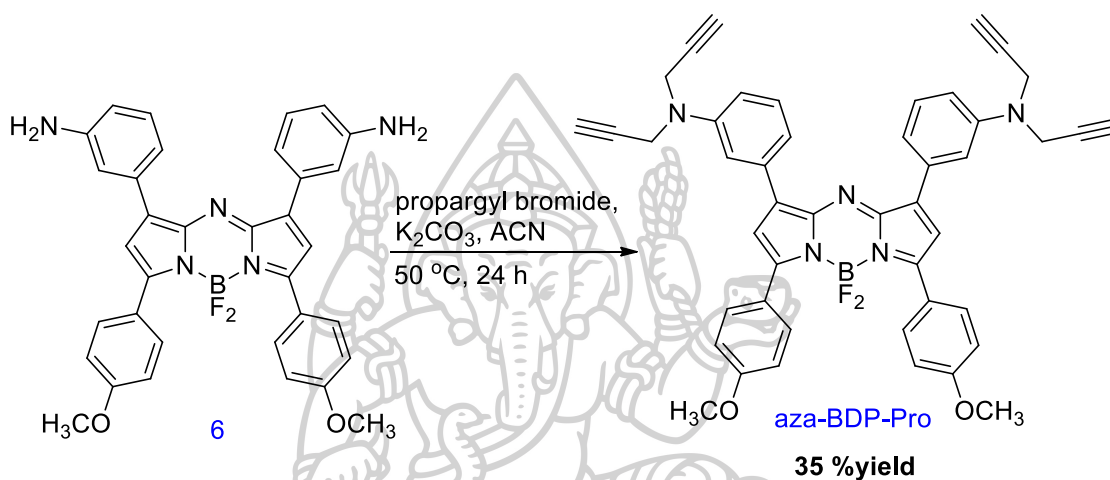
ภาพที่ 20 แผนผังการสังเคราะห์ aza-BODIPY 6

วิธีการสังเคราะห์ aza-BODIPY 6 ได้ศึกษาตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ [52,53,55,57] เริ่มจากซิ่ง dipyrrole 5 1.0051 กรัม (1.67 mmol) ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 100 mL ละลายด้วย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  20 mL และ MeOH 20 mL จากนั้นเติม Pd/C ปริมาณ 0.019 กรัม (0.18 mmol) กวนภายใต้บรรยากาศของก๊าซไฮโดรเจน (hydrogen atmosphere) ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้ม จากนั้นกรองแบบลดความดันเพื่อแยกผงคาร์บอนออก แล้วล้างด้วย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  เย็นสลับกับ MeOH เย็น จนสารละลายเป็นสีฟ้าอ่อน กำจัดตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ได้ของแข็งสีน้ำเงินเข้ม 0.5601 กรัม (นำไปใช้ในปฏิกิริยาขั้นตอนต่อไปโดยไม่ผ่านการแยกบริสุทธิ์)

จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ปริมาณ 282.8 มิลลิกรัม ใส่ขวดก้นกลมขนาด 100 mL ละลายด้วย dry  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  30 mL จากนั้นเติม *N,N*-diisopropylethylamine ( $\text{Pr}_2\text{EtN}$ , DIPEA) ปริมาณ 1.10 mL (6.3 mmol) ทำการกวนภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา จึงเติม boron trifluoride etherate 48% w/v ( $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ) ลงไปในสารละลายปริมาณ 1.4 mL (4.8 mmol) จากนั้นทำการกวนภายใต้บรรยากาศอาร์กอนที่อุณหภูมิห้องเป็น 48 ชั่วโมง สารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเข้มเป็นสีเขียวเข้ม เมื่อครบกำหนดเวลานำไปสกัดด้วยสารละลายอิมิตัวของ โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (sat.  $\text{NaHCO}_3$ ) 50 mL จำนวน 3 ครั้ง ตามด้วยสารละลายอิมิตัวของ โซเดียมคลอไรด์ (brine) ปริมาณ 30 มิลลิลิตร จำนวน 1 ครั้ง โดยเก็บชั้น  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ที่ได้กำจัดน้ำออกโดยเติม anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ลงไปปริมาณเล็กน้อยและกำจัด  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator แล้วจึงแยกบริสุทธิ์สารด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้สารละลายผสมระหว่าง

เอทิลอะซิเตตและไดคลอโรมีเทน (EtOAc:Dichloromethane) ในอัตราส่วน 5:95 (v/v) เป็น mobile phase ได้สารประกอบ **aza-BODIPY 6** เป็นของแข็งสีขาวเข้ม 0.074 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของทั้ง 2 ขั้นตอนได้ 14%

#### 4.1.5 การสังเคราะห์เซนเซอร์ **aza-BDP-Pro**



ภาพที่ 21 แผนผังการสังเคราะห์ **aza-BDP-Pro**

วิธีการสังเคราะห์ **aza-BDP-Pro** ได้ศึกษาตามวิธีของ Srisuratsiri และคณะ [41] และ Wechakorn และคณะ [46] เริ่มต้นจากซิ่ง **aza-BODIPY 6** ปริมาณ 101.9 mg (0.17 mmol) ในขวดก้นกลมขนาด 25 mL ละลายด้วย dry ACN 4 mL จากนั้นเติม  $\text{K}_2\text{CO}_3$  0.058 g (4.2 mmol) และ propargyl bromide 0.40 mL (3.6 mmol) นำไป stir ที่อุณหภูมิ  $50^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองเพื่อแยก  $\text{K}_2\text{CO}_3$  ออก และทำให้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเอทิลอะซิเตตและเฮกเซน (EtOAc:Hexane) ในอัตราส่วน 1:3 (v/v) เป็น mobile phase ได้สารประกอบ **aza-BDP-Pro** เป็นของแข็งสีขาวเข้ม 43.7 mg คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตได้ 35% โดยเส้นทางสังเคราะห์แสดงดังภาพที่ 21

## 4.2 การทดสอบประสิทธิภาพเซนเซอร์

การศึกษาคุณสมบัติในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนซ์ของฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** เริ่มต้นโดยการตรวจสอบ ตรวจสอบหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด (excitation spectrum) และความยาวคลื่นที่มีการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์สูงที่สุด (emission spectrum) ของฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์ในสารละลายอินทรีย์ และสารละลายผสมที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ผสมน้ำกับ triton X-100 เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์การตรวจจับไอออนทอง และศึกษาเวลาที่ **aza-BDP-Pro** ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์กับไอออนทอง หลังจากได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์การตรวจจับไอออนทองแล้วขั้นตอนต่อมาคือ การศึกษาความสามารถในการดักจับไอออนทองด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีเพื่อศึกษาความไวในการวิเคราะห์การตรวจจับไอออนทอง (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจงต่อการตรวจจับไอออนทองเปรียบเทียบกับไอออนโลหะรบกวนชนิดอื่นๆ (selectivity) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาการดักจับไอออนทองในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ (competitive) และศึกษาหาอัตราส่วนในการตรวจจับระหว่างฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์และไอออนทองโดยวิธี Job's Method นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนทองภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต ความเป็นพิษต่อเซลล์สิ่งมีชีวิตของฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์ และ ศึกษากลไกในการตรวจจับไอออนทองโดยเทคนิค IR spectroscopy

### 4.2.1 การเตรียมสารละลายไอออนทอง

สำหรับการละลายไอออนทองที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้ถูกเตรียมขึ้นจากเกลือทอง  $\text{HAuCl}_4$  โดยเริ่มจากชั่งเกลือของไอออนทองมา 1.00 g และละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water (DI water)) ให้มีปริมาตร 10.00 mL แล้วจึงนำมาเจือจางต่อให้มีความเข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10.00 mL

4.2.2 การทดสอบหาสัดส่วนของน้ำและตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนทอง สำหรับการทดสอบความตัวละลายที่เหมาะสมของเซนเซอร์โดยการศึกษาด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนส์สเปกโทรสโกปีนั้นจะทำการศึกษาสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่เปลี่ยนแปลงไปหลังจากที่มีการเติมไอออนทองที่มากเกินพอลงในสารละลายเซนเซอร์ที่มีสัดส่วนน้ำต่างๆ โดยปีเปิดสารละลายเซนเซอร์ในตัวทำละลายที่มีสัดส่วนของน้ำต่างกันที่ปริมาตร 3.00 mL แล้วตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่เกิดขึ้นก่อนมีการเติมไอออนทอง จากนั้นจึงเติมสารละลายไอออนทองที่เตรียมไว้มากเกินพอลงไปในการละลายเซนเซอร์ที่มีสัดส่วนน้ำแตกต่างกัน แล้วจึงตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่เปลี่ยนแปลงไปหลังการเติมไอออนทองอีกครั้ง

#### 1) การเตรียมสารละลายเซนเซอร์

เตรียมสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ให้มีความเข้มข้นเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-3}$  M ในสารละลาย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางลง 10 เท่าด้วยตัวทำละลาย acetonitrile ปริมาตร 10.00 mL และนำมาเจือจางอีก 10 เท่า ในสารละลายเซนเซอร์ที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำแตกต่างกัน (0, 10, 20, 30, ..., 90 เปอร์เซ็นต์) ใน acetonitrile ปริมาตร 10.00 mL โดยเติม triton X-100 2.0  $\mu\text{L}$  จนสุดท้ายสารละลายเซนเซอร์มีความเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-5}$  M ที่ปริมาตร 10.00 mL

#### 2) การทดสอบ

นำสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ที่เตรียมไว้ไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ที่เกิดขึ้นเมื่อมีการเติมสารละลายไอออนทองเทียบกับสารละลายที่มีสัดส่วนของน้ำต่างกัน โดยมีค่าพารามิเตอร์ดังตารางที่ 2

สารละลายเซนเซอร์	aza-BDP-pro
	ACN:H <sub>2</sub> O + triton X-100 (1:1 v/v)
$\lambda_{\text{ex}}$ (nm)	670
scanspeed (nm/min)	300
Slit width ex/em (nm)	10.0/20.0
ช่วงความยาวคลื่นที่ศึกษา (nm)	670-800

ตารางที่ 2 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ สำหรับการศึกษาด้าน fluorescence spectroscopy ของ **aza-BDP-Pro**

#### 4.2.3 การทดสอบเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซนเซอร์กับไอออนทอง

สำหรับการศึกษาเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซนเซอร์กับไอออนทองโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปี จะศึกษาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการเติมไอออนทองที่มากเกินพอลงไปในการละลายเซนเซอร์ โดยเริ่มจากปิเปตสารละลายเซนเซอร์ปริมาตร 3.00 mL จากนั้นเติมสารละลายไอออนทองที่เตรียมไว้ ปริมาณ 50.0  $\mu\text{L}$  ลงไปในสารละลายเซนเซอร์ แล้วจึงวัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เวลาต่างๆ ทุกๆ 1 นาที

##### 1) การเตรียมสารละลายเซนเซอร์

เตรียมสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ให้มีความเข้มข้นเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-3}$  M ในสารละลาย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางลง 10 เท่าด้วยตัวทำละลาย acetonitrile ปริมาตร 10.00 mL และนำมาเจือจางอีก 10 เท่าในสารละลาย  $\text{ACN:H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) + 2.0  $\mu\text{L}$  triton X-100 จนสุดท้ายสารละลายเซนเซอร์มีความเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-5}$  M ที่ปริมาตร 10.00 mL

##### 2) การทดสอบ

นำสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ที่เตรียมไว้ไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นหลังจากมีการเติมสารละลายไอออนทองที่เวลาต่างๆ โดยมีค่าพารามิเตอร์ดังแสดงในหัวข้อที่ 4.2.1.2 (ดังตารางที่ 2)

#### 4.2.4 การทดสอบความไวของเซนเซอร์ (Sensitivity)

การทดสอบความไวของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีนั้น จะทำการศึกษาสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซนเซอร์ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการเติมไอออนทองเพิ่มขึ้น โดยปิเปตสารละลายเซนเซอร์ที่ถูกเตรียมไว้ปริมาตร 3.00 mL แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นก่อนมีการเติมไอออนทอง จากนั้นจึงไทเทรตสารละลายไอออนทองลงไปในการละลายเซนเซอร์ แล้ววัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังการเติมไอออนทองในแต่ละครั้ง



#### 1) การเตรียมสารละลายเซนเซอร์

เตรียมสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ให้มีความเข้มข้นเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-3}$  M ในสารละลาย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางลง 10 เท่าด้วยตัวทำละลาย acetonitrile ปริมาตร 10.00 mL และนำมาเจือจางอีก 10 เท่าในสารละลาย  $\text{ACN:H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) + 2.0  $\mu\text{L}$  triton X-100 จนสุดท้ายสารละลายเซนเซอร์มีความเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-5}$  M ที่ปริมาตร 10.00 mL

#### 2) การทดสอบ

นำสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ที่เตรียมไว้ไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นเมื่อมีการไทเทรตสารละลายไอออนทองที่ละ 10  $\mu\text{L}$  และรอให้เกิดปฏิกิริยา 5 นาที โดยมีค่าพารามิเตอร์ดังแสดงในหัวข้อที่ 4.2.1.2 (ดังตารางที่ 2)

#### 4.2.5 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Selectivity)

สำหรับการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของเซนเซอร์โดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีด้วยการวัดสัญญาณจากการไทเทรตด้วยสารละลายไอออนทองลงในสารละลายเซนเซอร์ ปริมาตร 3.00 mL เทียบกับสัญญาณจากการไทเทรตด้วยสารละลายไอออนรบกวนอื่นๆ ในสารละลายเซนเซอร์ที่ถูกเตรียมในลักษณะเดียวกัน

#### 1) การเตรียมสารละลายเซนเซอร์

เตรียมสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ให้มีความเข้มข้นเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-3}$  M ในสารละลาย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางลง 10 เท่าด้วยตัวทำละลาย acetonitrile ปริมาตร 10.00 mL และนำมาเจือจางอีก 10 เท่าในสารละลาย  $\text{ACN:H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) + 2.0  $\mu\text{L}$  triton X-100 จนสุดท้ายสารละลายเซนเซอร์มีความเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-5}$  M ที่ปริมาตร 10.00 mL

#### 2) การเตรียมสารละลายไอออนโลหะอื่น ๆ

ในการทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) ของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ในสารละลาย  $\text{ACN:H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) + Triton X-100 ไอออนโลหะชนิดต่างๆ จะถูกเตรียมจากเกลือคลอไรด์ของโลหะชนิดนั้นๆ โดยให้มีความเข้มข้น 10 mM ที่ปริมาตร 10.00 mL ไอออนที่ใช้ในการทดสอบไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ), ไอออนทองแดง ( $\text{Cu}^{2+}$ ), ไอออนตะกั่ว ( $\text{Pb}^{2+}$ ), ไอออนปรอท ( $\text{Hg}^{2+}$ ),

ไอออนเงิน ( $\text{Ag}^+$ ), ไอออนเหล็ก ( $\text{Fe}^{3+}$ ), ไอออนอลูมิเนียม ( $\text{Al}^{3+}$ ), ไอออนสังกะสี ( $\text{Zn}^{2+}$ ), ไอออนแคดเมียม ( $\text{Cd}^{2+}$ ), ไอออนนิกเกิล ( $\text{Ni}^{2+}$ ), ไอออนโพแทสเซียม ( $\text{K}^+$ ), ไอออนแมงกานีส ( $\text{Mn}^{2+}$ ), ไอออนโคบอลต์ ( $\text{Co}^{2+}$ ), ไอออนลิเทียม ( $\text{Li}^+$ ), ไอออนแมกนีเซียม ( $\text{Mg}^{2+}$ ), ไอออนแบเรียม ( $\text{Ba}^{2+}$ ), ไอออนโซเดียม ( $\text{Na}^+$ ), ไอออนแคลเซียม ( $\text{Ca}^{2+}$ ) และไอออนโครเมียม ( $\text{Cr}^{2+}$ )

### 3) การทดสอบ

นำสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ที่เตรียมไว้ไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นเมื่อมีการไทเทรตสารละลายไอออนทอง และไอออนอื่น ๆ โดยมีค่าพารามิเตอร์ดังแสดงในหัวข้อที่ 4.2.1.2 (ดังตารางที่ 2)

#### 4.2.6 การทดสอบความสามารถในการแข่งขัน (competitive)

สำหรับการทดสอบความสามารถในการแข่งขันโดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีด้วยการวัดสัญญาณจากการเติมสารละลายไอออนทองลงไปในการละลายเซนเซอร์ปริมาตร 3.00 mL เทียบกับสัญญาณจากการเติมสารละลายไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ ไปในการละลายเซนเซอร์ที่มีการเติมไอออนทองลงไป

##### 1) การเตรียมสารละลายเซนเซอร์

เตรียมสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ให้มีความเข้มข้นเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-3}$  M ในสารละลาย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางลง 10 เท่าด้วยตัวทำละลาย acetonitrile ปริมาตร 10.00 mL และนำมาเจือจางอีก 10 เท่าในสารละลาย  $\text{ACN}:\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) + 2.0  $\mu\text{L}$  triton X-100 จนสุดท้ายสารละลายเซนเซอร์มีความเข้มข้น  $1.9 \times 10^{-5}$  M ที่ปริมาตร 10.00 mL

##### 2) การเตรียมสารละลายไอออนอื่นๆ

ในการทดสอบความสามารถในการแข่งขัน (competitive) ของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ในสารละลาย  $\text{ACN}:\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) + Triton X-100 ไอออนโลหะชนิดต่างๆ จะถูกเตรียมจากเกลือคลอไรด์ของโลหะชนิดนั้นๆ โดยให้มีความเข้มข้น 10 mM ที่ปริมาตร 10.00 mL ไอออนที่ใช้ในการทดสอบไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ), ไอออนทองแดง ( $\text{Cu}^{2+}$ ), ไอออนตะกั่ว ( $\text{Pb}^{2+}$ ), ไอออนปรอท ( $\text{Hg}^{2+}$ ), ไอออนเงิน ( $\text{Ag}^+$ ), ไอออนเหล็ก ( $\text{Fe}^{3+}$ ), ไอออนอลูมิเนียม ( $\text{Al}^{3+}$ ), ไอออนสังกะสี ( $\text{Zn}^{2+}$ ), ไอออนแคดเมียม ( $\text{Cd}^{2+}$ ), ไอออนนิกเกิล ( $\text{Ni}^{2+}$ ), ไอออนโพแทสเซียม ( $\text{K}^+$ ), ไอออนแมงกานีส ( $\text{Mn}^{2+}$ ), ไอออน

โคบอลต์ ( $\text{Co}^{2+}$ ), ไอออนลิเทียม ( $\text{Li}^+$ ), ไอออนแมกนีเซียม ( $\text{Mg}^{2+}$ ), ไอออนแบเรียม ( $\text{Ba}^{2+}$ ), ไอออนโซเดียม ( $\text{Na}^+$ ), ไอออนแคลเซียม ( $\text{Ca}^{2+}$ ) และไอออนโครเมียม ( $\text{Cr}^{2+}$ )

### 3) การทดสอบ

นำสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นหลังจากมีการเติมสารละลายไอออนทองไว้ 30 นาที จากนั้นเติมไอออนอื่นๆลงไปและวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้น โดยมีค่าพารามิเตอร์ดังแสดงในหัวข้อที่ 4.2.1.2 (ดังตารางที่ 2) จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Normalized fluorescence intensity ในแนวแกน Y และชนิดของสารต่างๆ ในแกน X

### 4.2.7 การศึกษาหาสัดส่วนการจับกันระหว่างสารเซนเซอร์และไอออนทองโดยวิธี Job's Method

สำหรับการศึกษาหาสัดส่วนการจับกันระหว่างสารเซนเซอร์และไอออนทองโดยวิธี Job's Method โดยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีด้วยการวัดสัญญาณของสารละลายเซนเซอร์ใน  $\text{ACN:H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) + triton X-100 ที่มีอัตราส่วนของไอออนทองและสารเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** แตกต่างกันโดยวัดสัญญาณทั้งก่อนและหลังเติมไอออนทอง

#### 1) การเตรียมสารละลายเซนเซอร์

เตรียมสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** เข้มข้นในสารละลาย  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ปริมาตร 10 mL จากนั้นเจือจางลง 10 เท่าในสารละลาย acetonitrile ปริมาตร 10.00 mL นำมาเจือจางอีก 10, 11, 13, 15, 17, 20, 25, 33, 50 และ 100 เท่า ในสารละลาย  $\text{ACN:H}_2\text{O}$  + triton X-100 โดยให้สารละลายเซนเซอร์ทุกความเข้มข้นมีปริมาตร 3.00 mL

#### 2) การทดสอบ

นำสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ที่ความเข้มข้นต่างๆไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นก่อนมีการเติมไอออนทองลงไป ในสารละลาย หลังจากนั้นเติมสารละลายไอออนทองความเข้มข้น 10 mM ปริมาตร 0, 0.7, 1.5, 2.6, 4, 6, 9, 14, 24 และ 54  $\mu\text{L}$  ลงไปในสารละลายเซนเซอร์ตามลำดับ และรอเวลา 30 นาทีแล้วจึงตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อีกครั้ง โดยมีค่าพารามิเตอร์ดังนี้กำหนดค่าความยาวคลื่นกระตุ้น (excited wavelength:  $\lambda_{\text{ex}}$ ) เท่ากับ 670 nm ความเร็วที่ใช้ใน

การสแกน (scan speed) 300 nm/min ความกว้างของสลิต (slit width) 10/20 nm และช่วงความยาวคลื่นที่ศึกษา คือ 700-725 nm

#### 4.2.8 การศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนทองภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต

##### 1) ขั้นตอนการบ่มเซลล์สิ่งมีชีวิต

เซลล์ Human glioblastoma astrocytoma (U251, ATCC) และ human immortalized keratinocyte (HaCaT, ATCC) ถูกเลี้ยงใน Dulbecco's Modified Eagle Medium/High glucose (DMEM/HIGH GLUCOSE, GE healthcare Life Sciences HyClone Laboratories) ที่มีการเติมด้วย 10 % fetal bovine serum (FBS, Gibco) และ 1% Penicillin Streptomycin Solution (CORNING) ในคนโทเลี้ยงเชื้อ (Culture flask) ขนาด 75 ตารางเซนติเมตร และเซลล์ทั้ง 2 ชนิดถูกบ่มในตู้อบความชื้น (humidified incubator) ที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้ 5% CO<sub>2</sub>

##### 2) ขั้นตอนการวิเคราะห์ไอออนทองภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต

เซลล์ทั้ง 2 ชนิดถูกเพาะใน 8-well Chambered Coverglass ด้วย non-removable wells (Nunc Lab-Tek II Chamber Slide) ด้วยความเข้มข้น  $7 \times 10^3$  เซลล์ต่อ 1 หลุมและถูกบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ภายใต้ 5% CO<sub>2</sub> เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นกำจัดตัวกลางในการบ่มเซลล์ออกและนำเซลล์ไปบ่มในสารละลาย HAuCl<sub>4</sub> ความเข้มข้น 100  $\mu$ M ใน 5% FBS/DMEM เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงล้างเซลล์ด้วย PBS buffer ทั้งหมด 3 ครั้งเพื่อล้างเอาไอออนทองส่วนเกินออกก่อนที่จะนำไปบ่มในสารละลาย aza-BDP-Pro ความเข้มข้น 50  $\mu$ M ใน 5% FBS/DMEM หลังจากบ่มเป็นเวลา 15 นาที ล้างเซลล์ด้วย PBS buffer ทั้งหมด 3 ครั้งก่อนจะนำไปเซลล์ที่ล้างแล้วไปถ่ายภาพเรืองแสงใต้กล้องจุลทรรศน์ Laser Scanning Confocal Microscope (LSCM, Nikon A1Rsi) โดยที่ aza-BDP-Pro ถูกกระตุ้นที่ 640 nm

#### 4.2.9 การศึกษาหาความเป็นพิษของ aza-BDP-Pro ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต

สำหรับการศึกษาความเป็นพิษภายในเซลล์สิ่งมีชีวิตของ aza-BDP-Pro เซลล์ U251 และ HaCaT ถูกเพาะใน 96-well cell culture plates ที่มีความเข้มข้น  $1 \times 10^4$  เซลล์ต่อ 1 หลุม และ

ถูกบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นกำจัดตัวกลางในการบ่มเซลล์ออกและนำเซลล์ไปบ่มในสารละลาย **aza-BDP-Pro** ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100) หลังจากบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นความเป็นพิษภายในเซลล์ถูกวิเคราะห์โดยเทคนิค MTT โดยหลังจากเซลล์ถูกบ่มด้วย **aza-BDP-Pro** ถูกล้างด้วย PBS buffer ทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วจึงนำไปบ่มด้วย methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (200  $\mu$ L, 0.5 mg/mL, Sigma-Aldrich) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นแทนที่ตัวกลางที่ใช้ในการบ่มด้วย DMSO และความเป็นพิษของเซลล์ถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-vis absorption โดยได้ผลเป็นการดูดกลืนแสงของสาร formazan ที่ความยาวคลื่น 560 nm โดยใช้ microplate reader (BMG Labtech/SPECTRO star Nano)

#### 4.2.10 การศึกษากลไกการตรวจจับไอออนทองของ **aza-BDP-Pro** ด้วยเทคนิค IR spectroscopy

สำหรับการศึกษากลไกการตรวจจับไอออนทองของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** สารละลายผสมระหว่าง **aza-BDP-Pro** ความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 5 mL (1 eq) ในตัวทำละลาย ACN กับสารละลายไอออนทองความเข้มข้น 10 mM ปริมาตร 0.4 mL (8 eq) ถูกเตรียมขึ้นและนำปริมาตร 1 mL ถูกเติมลงไปในการผสมแล้วจึงกวนสารละลายที่ได้เป็นเวลา 48 ชั่วโมงจนสังเกตเห็นว่าสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายออร์แกนิกแห้งโดยใช้เวลาประมาณ 5 วัน หลังจากนั้นจึงสกัดแยกสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วย DCM ทั้งหมด 3 ครั้ง และเป่าให้แห้งด้วยเครื่องเป่าลมร้อน แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค IR spectroscopy

## บทที่ 5

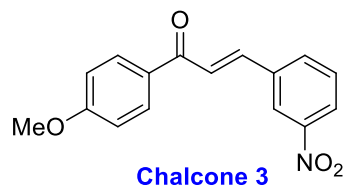
### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์ตามวิธีการทดลองที่ได้กล่าวไว้ พบว่าได้ฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์ชนิดใหม่ที่เรียกว่า **aza-BDP-Pro** จากนั้นนำเซนเซอร์ที่สังเคราะห์ได้มาศึกษาเพื่อยืนยันโครงสร้างของสารเซนเซอร์ด้วยเทคนิค nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) และ high resolution mass spectroscopy (HR-ESI MS) เพื่อยืนยันโครงสร้างของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้ จากนั้นนำเซนเซอร์ที่ผ่านการยืนยันโครงสร้างแล้วไปศึกษาคุณสมบัติการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ของฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์การดักจับไอออนทอง เวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเซนเซอร์กับไอออนทอง ความสามารถในการดักจับไอออนทองด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนต์สเปกโทรสโกปีเพื่อศึกษาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจงต่อไอออนทอง (selectivity) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาการดักจับไอออนทองในสภาวะที่มีไอออนรบกวนอื่น (competitive) และมีการศึกษาสัดส่วนระหว่างไอออนทองและเซนเซอร์โดยวิธี Job's method และศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต และความเป็นพิษของ **aza-BDP-Pro** ต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต นอกจากนี้กลไกในการตรวจจับไอออนทองของ **aza-BDP-Pro** ยังได้ถูกศึกษาด้วยเทคนิค IR spectroscopy

### 5.1 การยืนยันโครงสร้างของเซนเซอร์ทอง aza-BDP-Pro

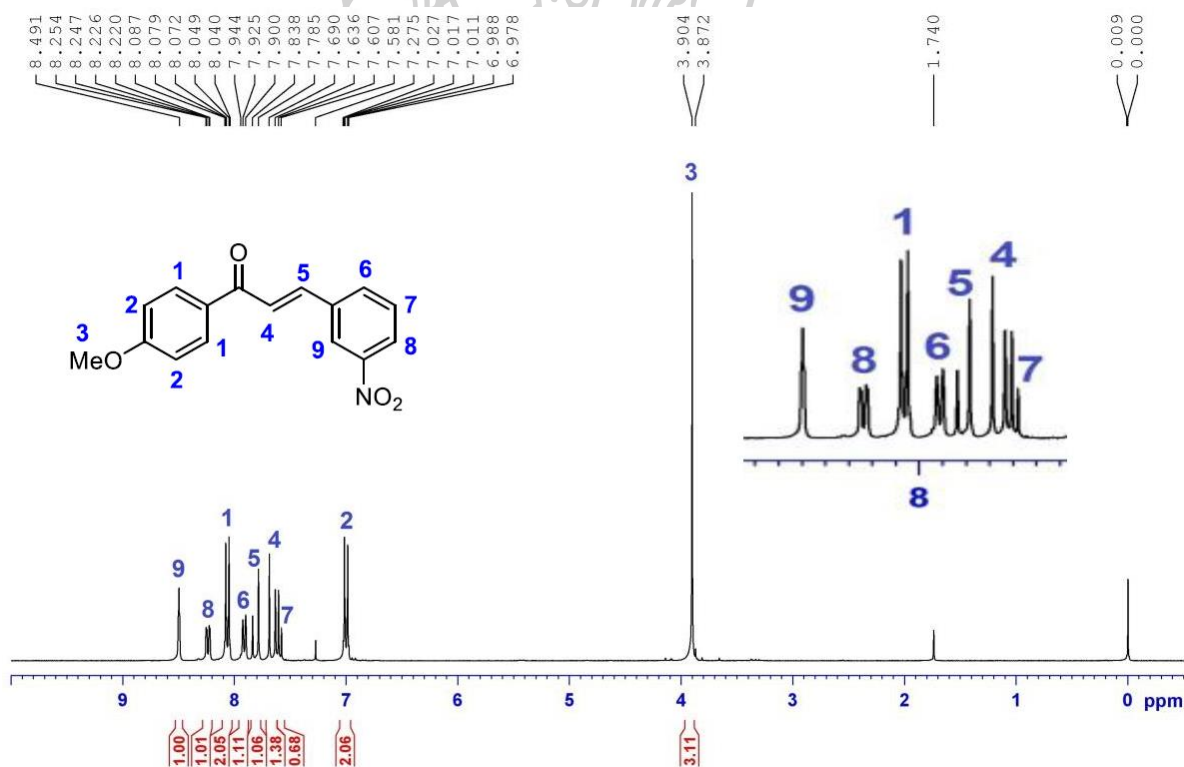
การสังเคราะห์ฟลูออโรฟอร์ **aza-BDP-Pro** ต้องสังเคราะห์ผ่านสารตัวกลางที่เรียกว่า aza-BODIPY โดยสังเคราะห์ตาม Wanichacheva และคณะ [50, 51, 53, 55] เริ่มจากการสังเคราะห์สารประกอบชนิด **chalcone 3** โดยผ่านปฏิกิริยา aldol condensation จากนั้นทำปฏิกิริยา 1,4-michael addition ได้สารประกอบ **nitro-chalcone 4** ตามด้วยการสร้างวง dipyrrole และทำปฏิกิริยากับ  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$  เพื่อสร้างเป็นสารประกอบโบรอนเรียกว่า aza-BODIPY ในขั้นตอนสุดท้ายทำปฏิกิริยา N-alkylation กับ propargyl bromide ได้ **aza-BDP-Pro** ในที่สุดโดยที่สารประกอบที่เกิดขึ้น ในแต่ละขั้น ตอนได้มีการยืนยันโครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีและมีการเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบแต่ละชนิดดังนี้

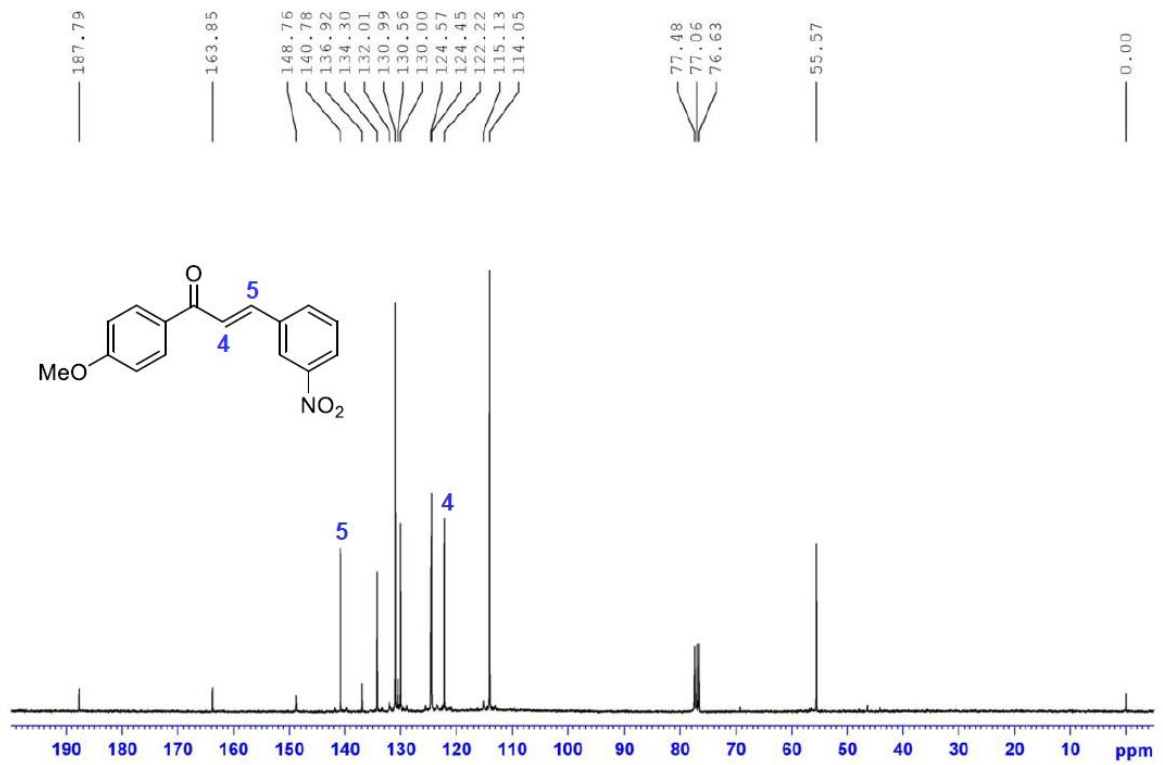
## 5.1.1 โครงสร้างทางเคมีของ chalcone 3



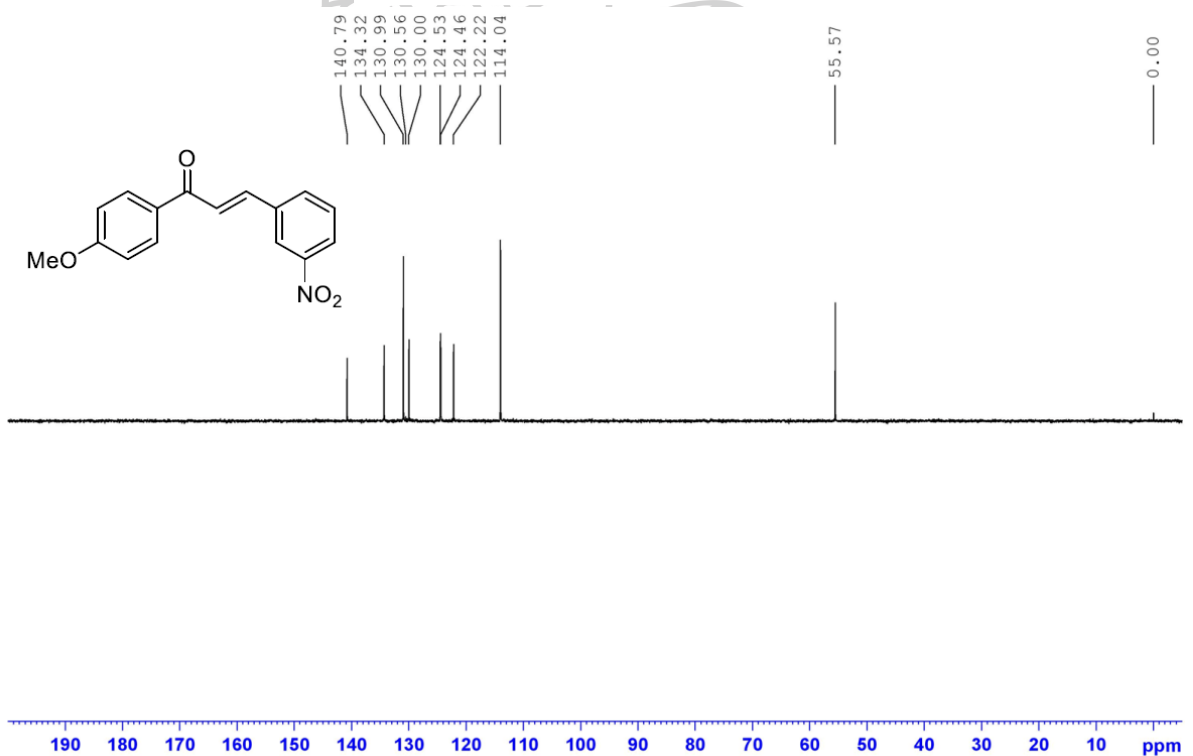
## ภาพที่ 22 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ chalcone 3

โครงสร้างทางเคมีของ **chalcone 3** สามารถยืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี ดังนี้  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.90 (s, 3H), 7.01 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.61 (t,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.67 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H), 7.81 (d,  $J = 15.9$  Hz, 1H), 7.91 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.06 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H), 8.22 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 8.50 (s, 1H) ppm (ภาพที่ 23);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  55.6 ( $\text{CH}_3$ ), 77.1 (C), 114.1 (2CH), 122.2 (CH), 124.6 (2CH), 130.0 (2CH), 134.3 (CH), 134.3 (CH), 136.9 (C), 140.8 (CH), 148.8 (C), 163.9 (C), 187.8 (C=O) ppm (ภาพที่ 24-25)

ภาพที่ 23  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone 3



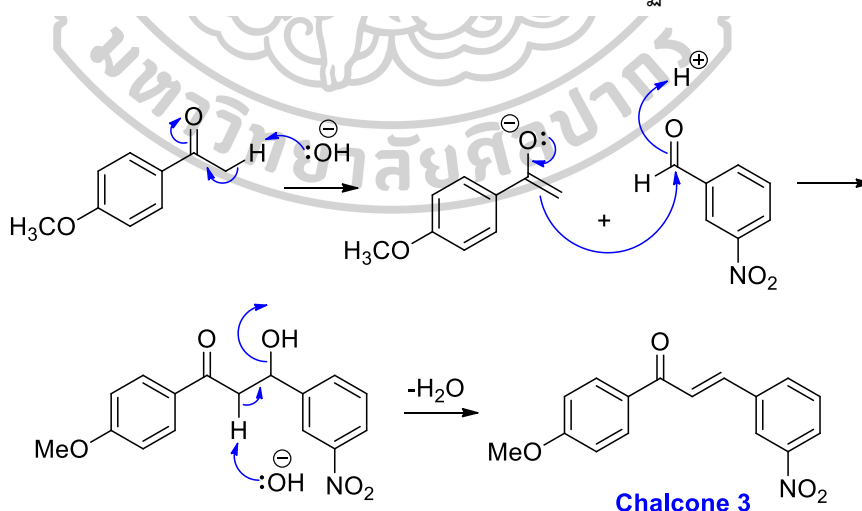
ภาพที่ 24  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone 3



ภาพที่ 25 DEPT-135  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ chalcone 3

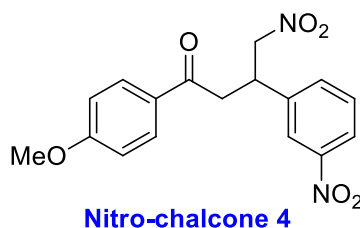


ในการสังเคราะห์สารประกอบ aza-BODIPY (6) สังเคราะห์ตามวิธีของ Wanichacheva และคณะ [50, 51, 53, 55] และทำการตรวจสอบเปรียบเทียบระหว่างสเปกตรัมในการยืนยันโครงสร้างทางเคมีที่ได้จากการสังเคราะห์กับสเปกตรัมที่มีการรายงานไว้ตามเอกสารอ้างอิง [50, 51, 53, 55] โดยเริ่มจากสารตัวกลางชนิดแรกคือ สารประกอบ **Chalcone 3** เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบและผล  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ **Chalcone 3** ดังแสดงในภาพที่ 23 แสดงให้เห็นลักษณะสัญญาณของโปรตอน 9 กลุ่ม แต่มีสัญญาณสองกลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้อย่างชัดเจนดังนี้ สัญญาณของโปรตอนที่ปรากฏบนตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) ที่ 7.81 และ 7.91 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ตามลำดับ ถือว่าปรากฏสัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าอะลิฟาติกโปรตอนบนแอลคีนทั่วไป หรือมีค่า  $\delta$  มากกว่าเมื่อเทียบกับอะลิฟาติกโปรตอนบนแอลคีนทั่วไป (โดยปกติมีค่า  $\delta$  4.5-6.5 ppm) เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากหมู่ไนโตรเบนวงเบนซีนของสารตั้งต้นชนิด 3-nitrobenzaldehyde และหมู่คาร์บอนิลของสารตั้งต้นชนิด 4-methoxy acetophenone นอกจากนี้สัญญาณมีลักษณะเป็น doublet และมีค่า coupling constant ( $J$ ) เท่ากับ 16.2 และ 15.9 Hz ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการ coupling ซึ่งกันและกันของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ในทำนองเดียวกับ  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมดังแสดงในภาพที่ 24-25 พบว่ามีสัญญาณคาร์บอนของ CH ปรากฏที่  $\delta$  122.2 และ 140.8 ppm ซึ่งเกิดจากคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ตามลำดับ โดยผลที่ปรากฏสอดคล้องกับผลของ  $^1\text{H}$  NMR และ  $^{13}\text{C}$  NMR ที่ได้มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ [50, 51, 53, 55] จึงสามารถยืนยันได้ว่า สารประกอบ **Chalcone 3** เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ โดยเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 26



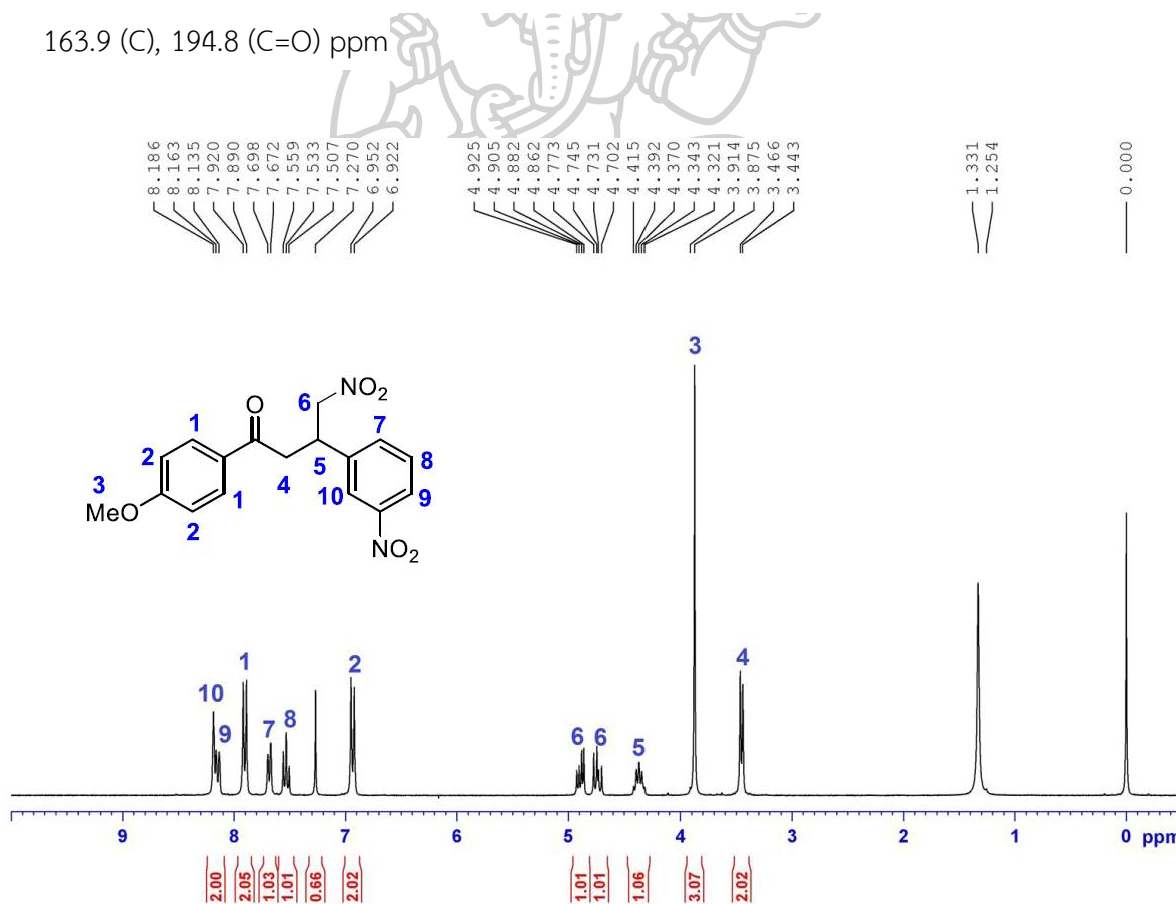
ภาพที่ 26 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ **chalcone 3**

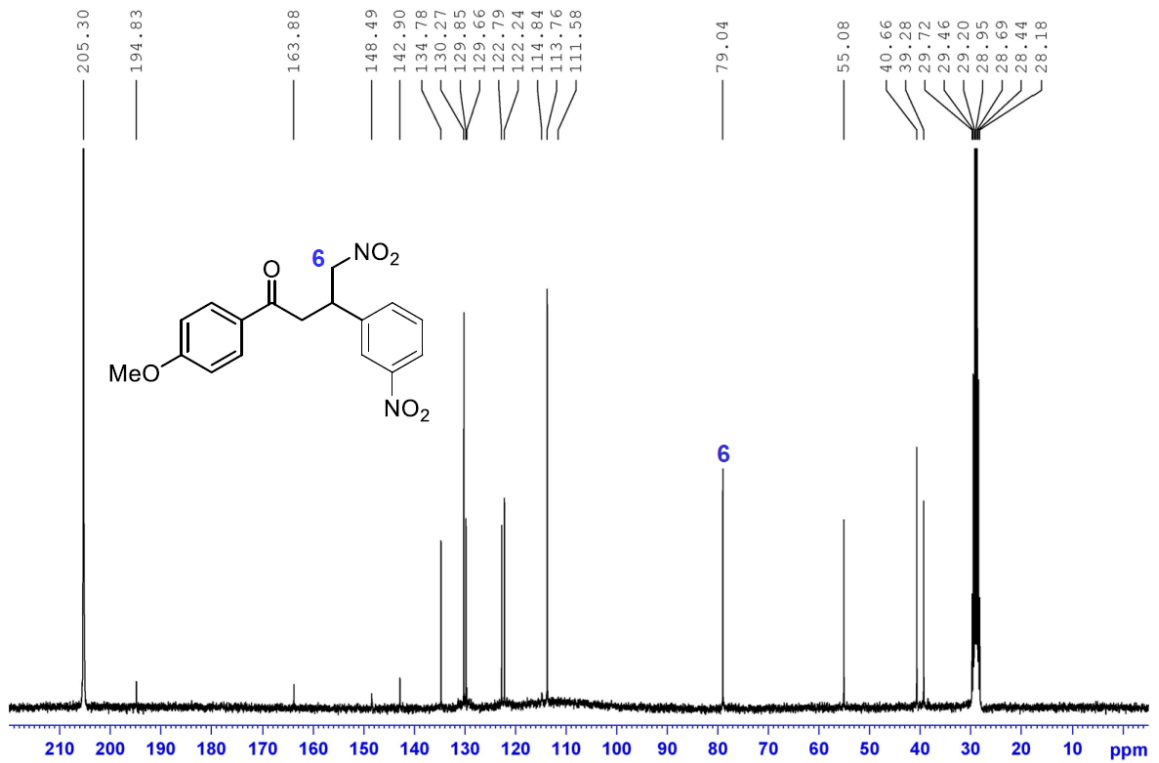
## 5.1.2 โครงสร้างทางเคมีของ nitro-chalcone 4



## ภาพที่ 27 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ nitro-chalcone 4

โครงสร้างทางเคมีของ nitro-chalcone 4 สามารถยืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี ดังนี้  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.45 (d,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 4.32-4.42 (m, 1H), 4.70-4.75 (m, 1H), 4.86-4.93 (m, 1H), 6.94 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H), 7.53 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.68 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.91 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H), 8.15 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 8.19 (s, 1H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  39.8 (CH), 40.7 ( $\text{CH}_2$ ), 55.1 ( $\text{CH}_3$ ), 79.0 ( $\text{CH}_2$ ), 113.8 (2CH), 122.2 (CH), 122.8 (CH), 129.7 (C), 129.9 (CH), 130.3 (2CH), 134.8 (CH), 142.9 (C), 148.5 (C), 163.9 (C), 194.8 (C=O) ppm

ภาพที่ 28  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone 4

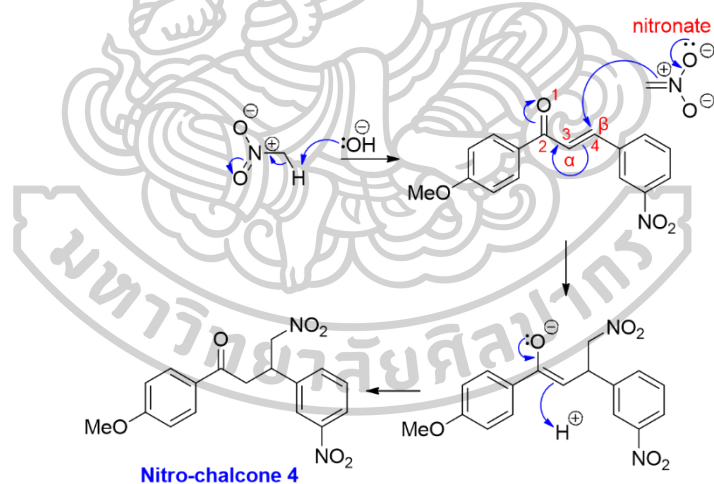


ภาพที่ 29  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone 4



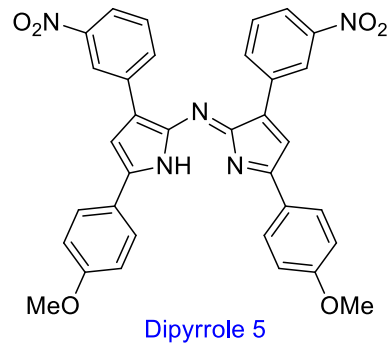
ภาพที่ 30 DEPT-135  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ nitro-chalcone 4

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบ **nitro-chalcone 4** และผล  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมดังแสดงในภาพที่ 28 พบว่ามีการแสดงลักษณะสัญญาณของโปรตอน 10 กลุ่ม แต่มีสัญญาณสองกลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้อย่างชัดเจนดังนี้ สัญญาณของโปรตอนที่ปรากฏ ณ ตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) ที่ 4.70-4.75 และ 4.86-4.93 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ทั้งสองตัว ถือว่าปรากฏสัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าอะลิฟาติกโปรตอนทั่วไป หรือมีค่า  $\delta$  มากกว่าเมื่อเทียบกับอะลิฟาติกโปรตอนทั่วไป เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากหมู่ไนโตรของสารตั้งต้นชนิด nitromethane นอกจากนี้สัญญาณมีลักษณะเป็น multiplet ซึ่งเกิดจากการ coupling ซึ่งกันและกันของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และ เกิดการ coupling กับโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 อีกด้วย ในทานองเดียวกับ  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัม ดังแสดงในภาพที่ 29-30 พบว่ามีสัญญาณคาร์บอนของ  $\text{CH}_2$  ปรากฏที่  $\delta$  79.0 ppm ซึ่งเกิดจากคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 โดยผลที่ปรากฏสอดคล้องกับผลของ  $^1\text{H}$  NMR และ  $^{13}\text{C}$  NMR ที่ได้มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ [50, 51, 53, 55] จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารประกอบ **nitro-chalcone 4** เกิดขึ้น จริงจากการสังเคราะห์โดยเสนอกกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 31



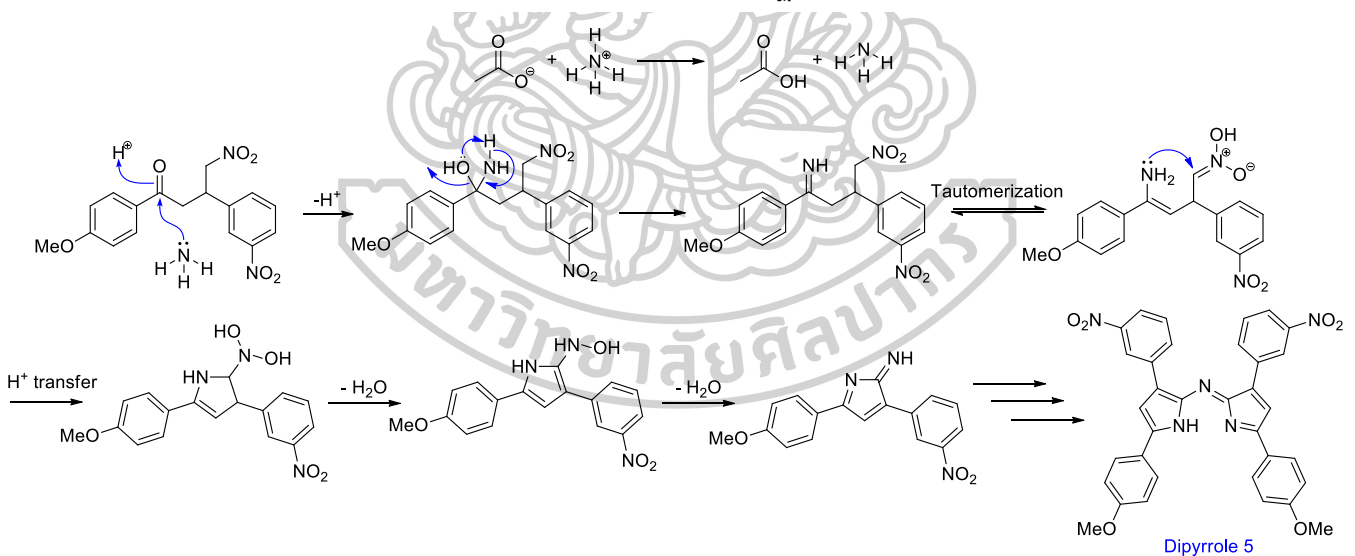
ภาพที่ 31 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ **nitro-chalcone 4**

### 5.1.3 โครงสร้างทางเคมีของ Dipyrrole 5



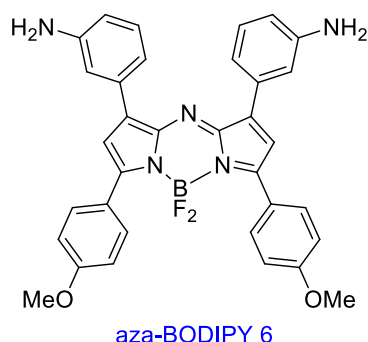
ภาพที่ 32 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ Dipyrrole 5

สารประกอบ **Dipyrrole 5** ไม่สามารถยืนยันโครงสร้างได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี เนื่องจากสารประกอบไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีทุกชนิด แต่พบว่าเมื่อนำไปทำปฏิกิริยาต่อได้สารผลิตภัณฑ์ที่สามารถยืนยันโครงสร้างได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าสารประกอบ **Dipyrrole 5** สามารถสังเคราะห์ได้จริงและมีการเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 33



ภาพที่ 33 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ Dipyrrole 5

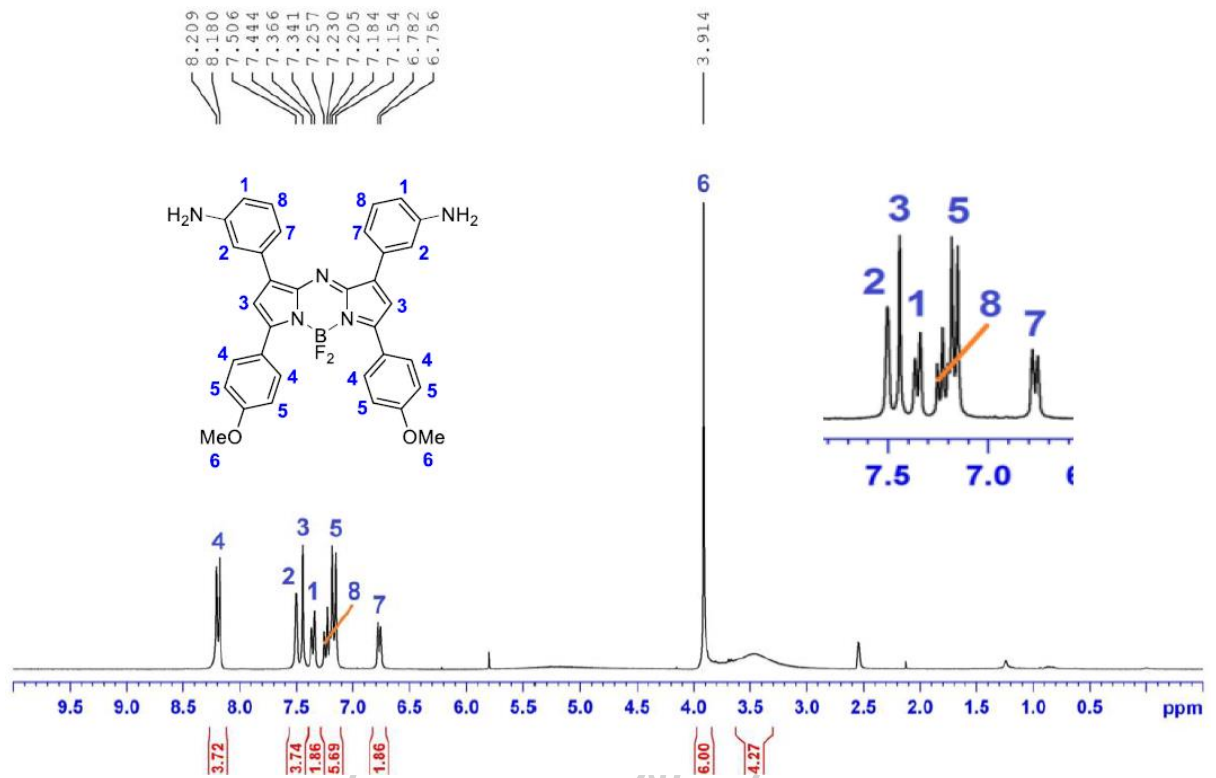
## 5.1.4 โครงสร้างทางเคมีของ aza-BODIPY 6



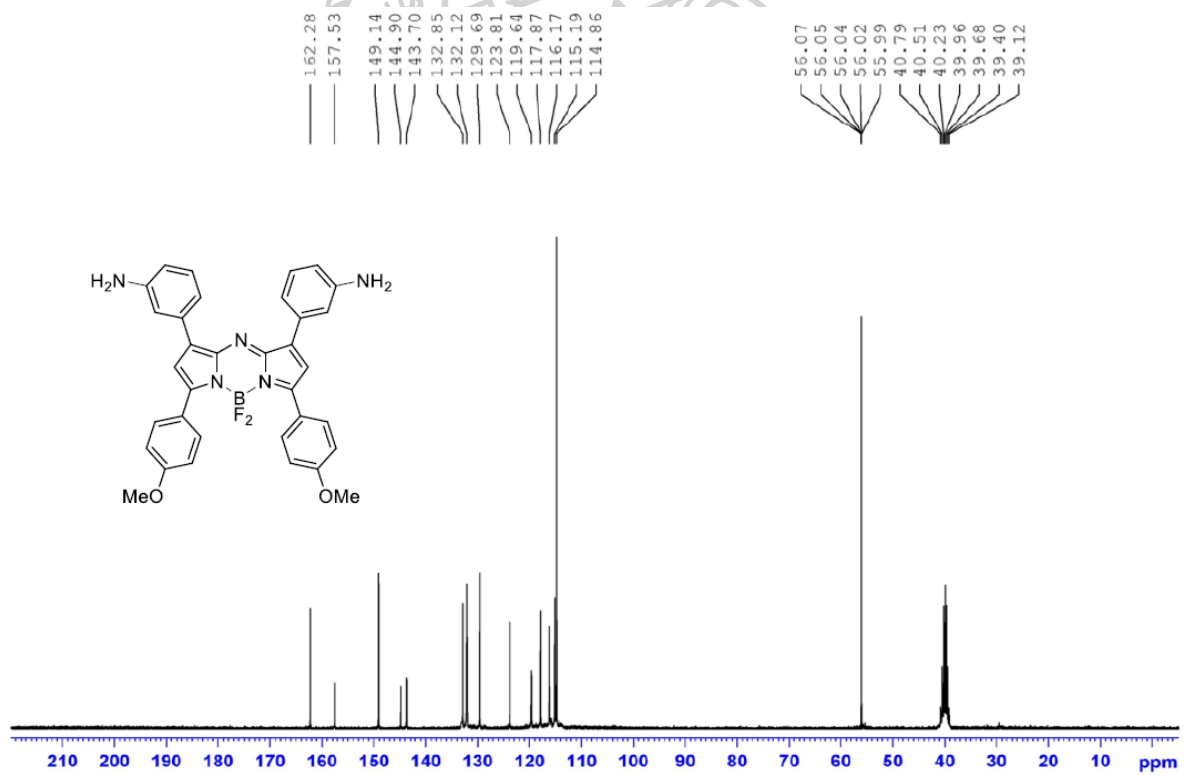
ภาพที่ 34 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ aza-BODIPY 6

โครงสร้างทางเคมีของ aza-BODIPY 6 สามารถยืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี ดังนี้  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  3.91 (s, 6H), 6.77 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.15-7.28 (m, 6H), 7.35 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.44 (s, 2H), 7.51 (s, 2H), 8.19 (d,  $J = 8.7$  Hz, 4H) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  56.0 (2 $\text{CH}_3$ ), 114.9 (5CH), 115.2 (2CH), 116.2 (2CH), 117.9 (2CH), 119.6 (CH), 123.8 (2C), 129.7 (4CH), 132.1 (2CH), 132.9 (2C), 143.7 (2C), 144.9 (2C), 149.1 (2C), 157.5 (2C), 162.3 (2C) ppm

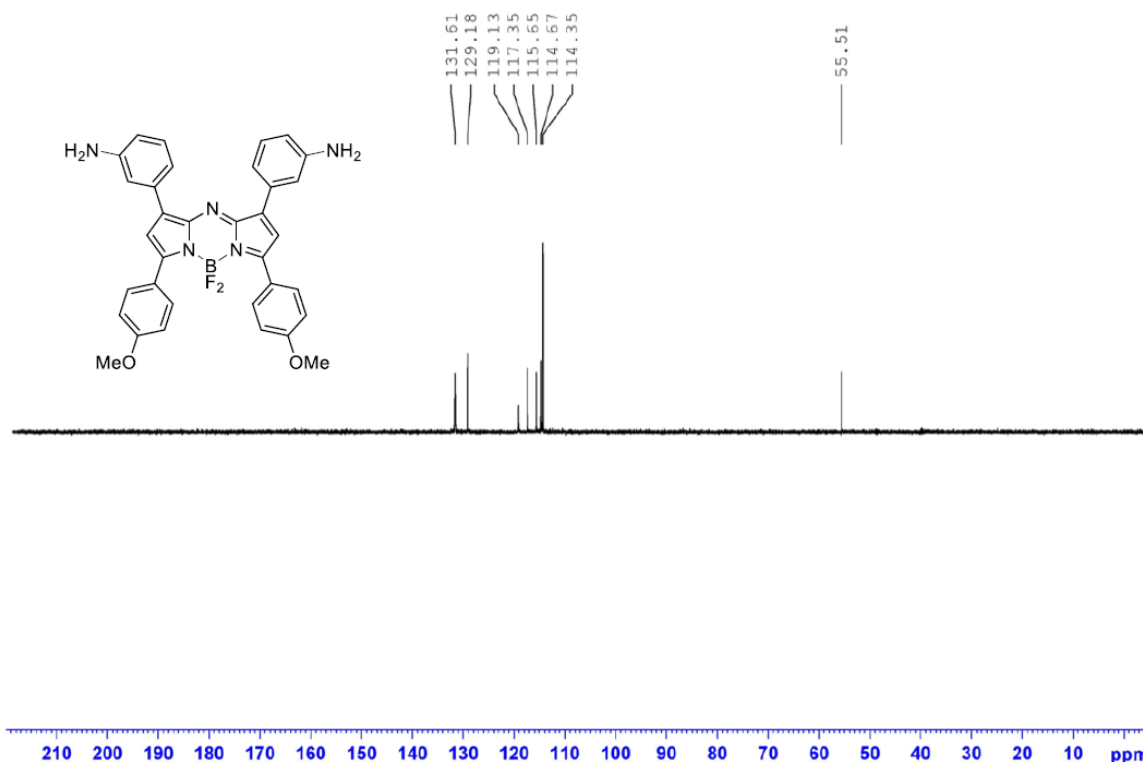




ภาพที่ 35  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BODIPY 6



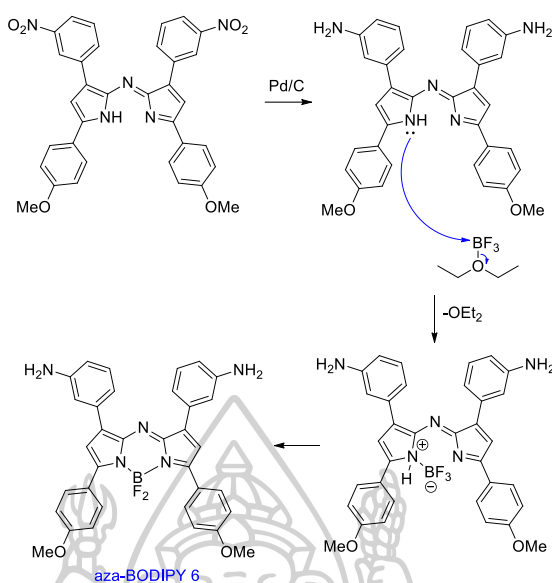
ภาพที่ 36  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BODIPY 6



ภาพที่ 37 DEPT-135  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BODIPY 6

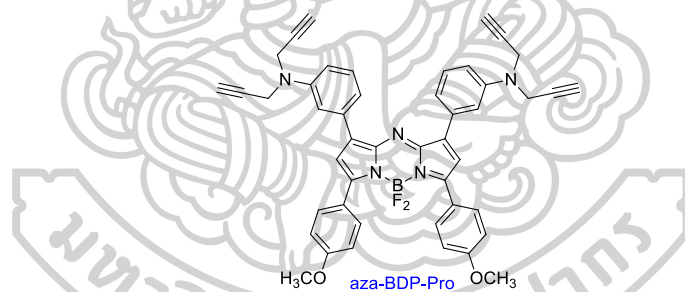
เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของสารประกอบ aza-BODIPY 6 ดังแสดงในภาพที่ 34 และ  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมดังแสดงในภาพที่ 35 แสดงให้เห็นสัญญาณของโปรตอนที่แตกต่างกันหลายกลุ่มมาก เนื่องจากมีโครงสร้างขนาดใหญ่ แต่มีสัญญาณ 2 กลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างได้อย่างชัดเจนโดยมีลักษณะเป็น singlet และปรากฏสัญญาณบริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าอะลิฟาติกโปรตอนบนแอลคีนทั่วไป โดยสัญญาณของโปรตอนกลุ่มแรกที่ปรากฏ ณ ตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) ที่ 7.44 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และสัญญาณที่ค่า  $\delta$  เท่ากับ 7.51 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 โดยที่สัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 จะปรากฏสัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่า สัญญาณของโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากอะตอมไนโตรเจนและวงเบนซีน ซึ่งมีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอน จึงสามารถยืนยันได้ว่าสารประกอบ aza-BODIPY 6 เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ และได้มีการเปรียบเทียบผลที่ได้จากการทดลองที่กับผลของ  $^1\text{H}$  NMR และ  $^{13}\text{C}$  NMR ที่ได้มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ [50, 51, 53, 55] และมีการเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในภาพที่ 38 ในทางตรงกันข้ามหากสารประกอบ aza-BODIPY 6 ไม่เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ควรจะพบสัญญาณของโปรตอนที่มีลักษณะเป็น singlet ณ บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำเพียง 1 สัญญาณเท่านั้น





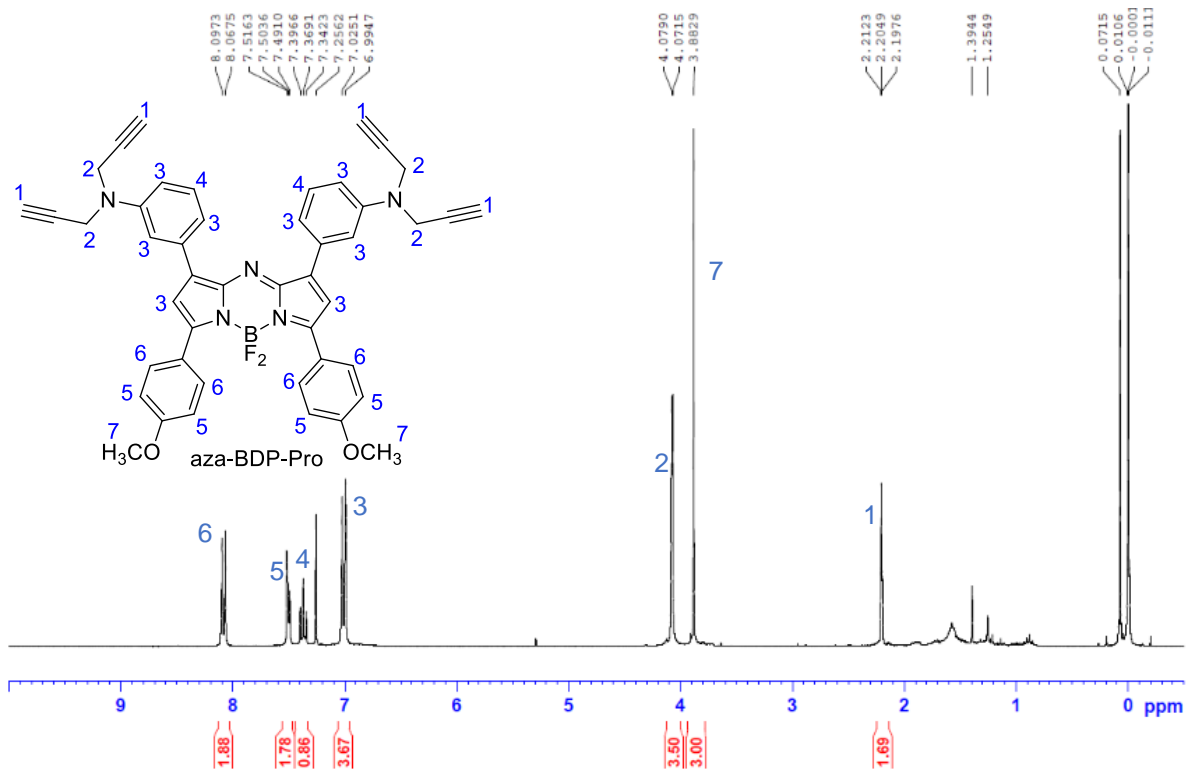
ภาพที่ 38 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ aza-BODIPY 6

### 5.1.5 โครงสร้างทางเคมีของ aza-BDP-Pro

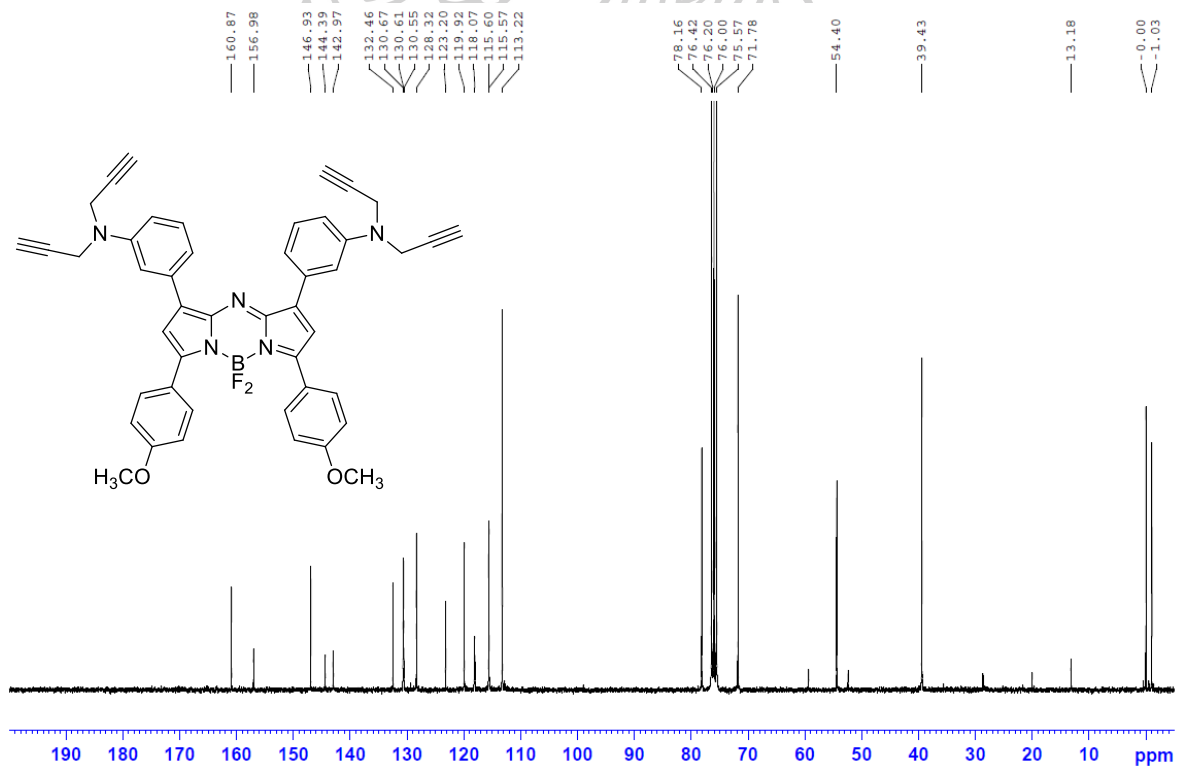


ภาพที่ 39 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ aza-BDP-Pro

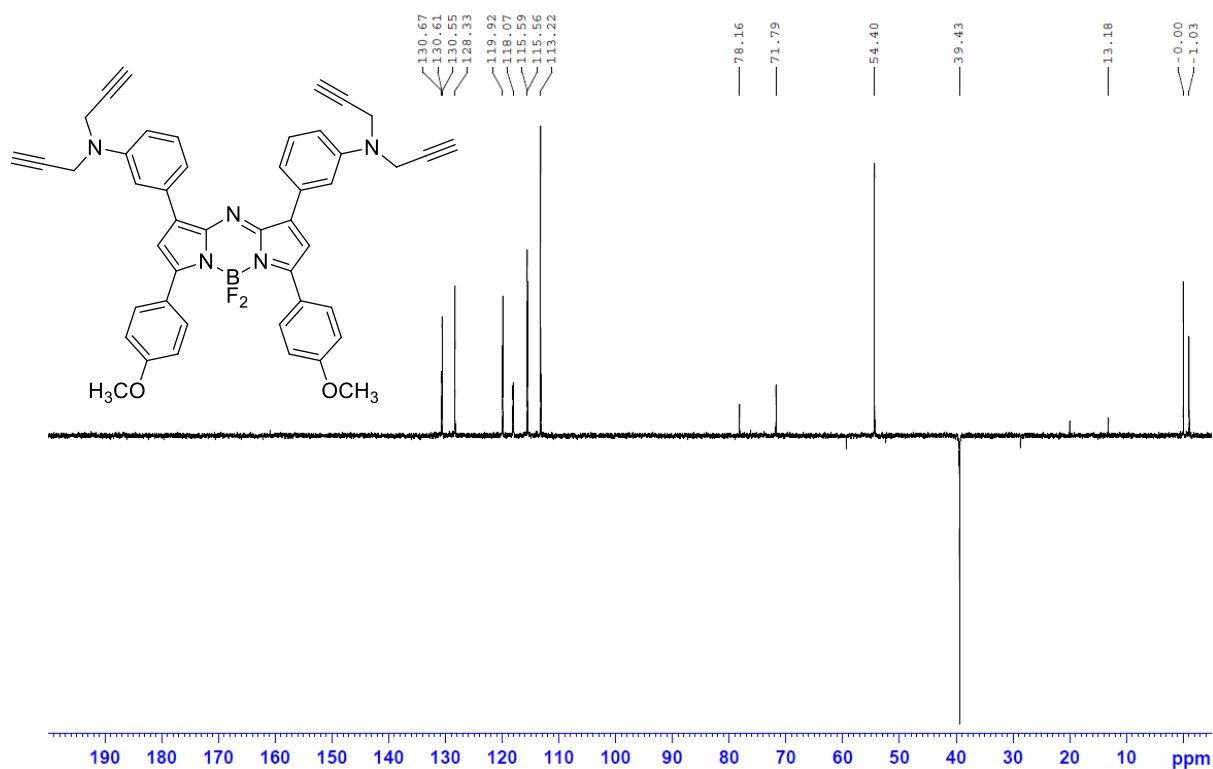
โครงสร้างทางเคมีของ aza-BDP-Pro สามารถยืนยันโครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี ดังนี้ <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.20 (s, 4H), 3.89 (s, 6H), 4.08 (d, *J* = 2.3 Hz, 8H), 7.01 (d, *J* = 7.1 Hz, 8H), 7.37 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.50 (m, 4H), 8.09 (d, *J* = 9.0 Hz, 4H) ppm; <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 39.4 (CH<sub>2</sub>), 54.4 (CH<sub>3</sub>), 72.8 (CH), 79.2 (CH), 54.4 (4CH<sub>3</sub>), 71.78 (4CH), 78.16 (4C), 113.2 (5CH), 115.6 (2CH), 118.1 (2CH), 119.9 (CH), 123.2 (2C), 128.3 (4CH), 130.6 (2CH), 132.4 (2C), 143.0 (2C), 144.4 (2C), 146.9 (2C), 157.0 (2C), 160.9 (2C) ppm; HR-ESI MS จากการคำนวณ C<sub>46</sub>H<sub>36</sub>BF<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> (M+H)<sup>+</sup> 739.2930 m/z จากการทดสอบ 739.2930 m/z



ภาพที่ 40  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Pro



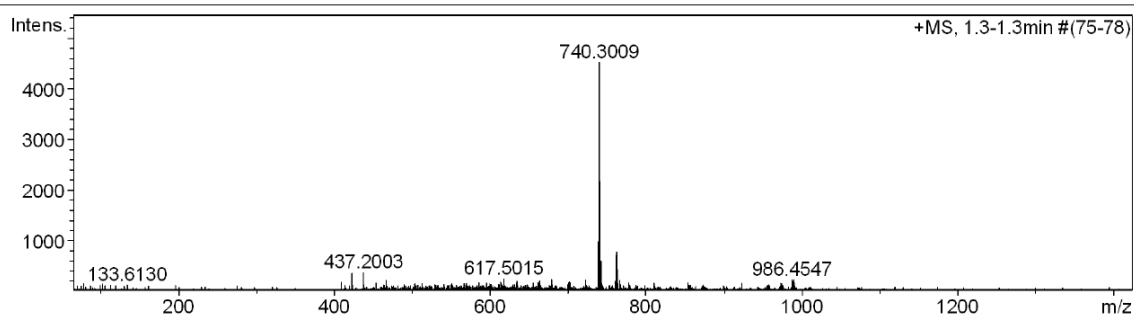
ภาพที่ 41  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Pro



ภาพที่ 42 DEPT-135  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของสารประกอบ aza-BDP-Pro

#### Acquisition Parameter

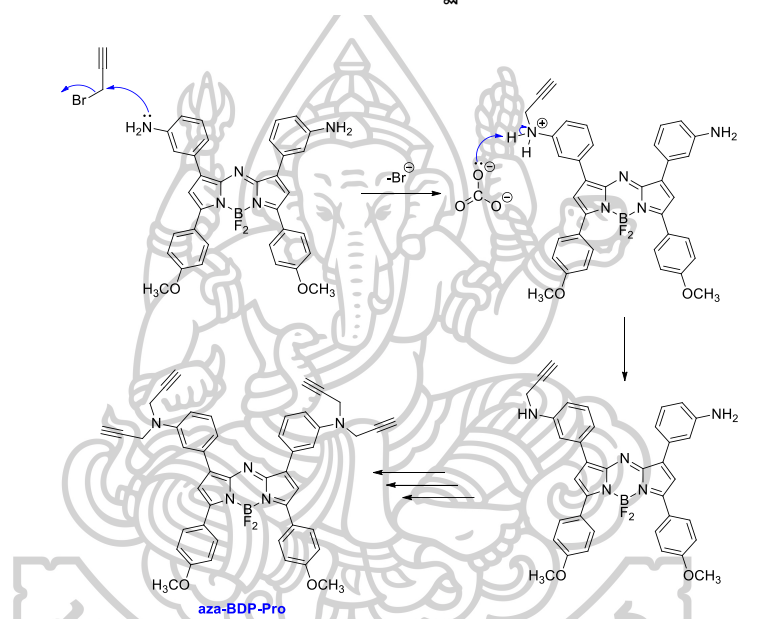
Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Corrector Fill	50 V
Scan Range	n/a	Capillary Exit	190.0 V	Set Pulsar Pull	337 V
Scan Begin	50 m/z	Hexapole RF	600.0 V	Set Pulsar Push	337 V
Scan End	3000 m/z	Skimmer 1	70.0 V	Set Reflector	1300 V
		Hexapole 1	25.0 V	Set Flight Tube	9000 V
				Set Detector TOF	2295 V



ภาพที่ 43 รูปแสดง HR-ESI MS ของสารประกอบ aza-BDP-Pro

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของสารประกอบ aza-BDP-Pro และผล  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมดังแสดงในภาพที่ 40 พบว่ามีการแสดงลักษณะสัญญาณของโปรตอน 7 กลุ่ม แต่มีสัญญาณสองกลุ่มที่สามารถยืนยันโครงสร้างที่แน่นอนได้อย่างชัดเจนดังนี้ สัญญาณของโปรตอนที่ปรากฏ ณ ตำแหน่ง chemical shift ( $\delta$ ) ที่ 2.20 และ 4.08 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณที่เกิดจากโปรตอนบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และตำแหน่งที่ 2 ซึ่งเป็นสัญญาณของหมู่ terminal alkyne กับอะลิฟาติก alkane ที่ถือว่าเป็นปรากฏ

สัญญาณที่บริเวณสนามแม่เหล็กต่ำกว่าอะลิฟาติกโปรตอนทั่วไป หรือมีค่า  $\delta$  มากกว่าเมื่อเทียบกับอะลิฟาติกโปรตอนทั่วไป เนื่องจากการได้รับอิทธิพลจากอะตอมไนโตรเจน ซึ่งสัญญาณทั้งสองเป็นสัญญาณของหมู่ propargyl ที่ถูกนำมาต่อกับโครงสร้าง aza-BODIPY หลักผ่านปฏิกิริยา N-alkylation ในหนองเดียวกับ  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมดังแสดงในภาพที่ 41-42 พบว่ามีสัญญาณคาร์บอนของ  $\text{CH}_2$  ปรากฏที่  $\delta$  39.3 ppm ซึ่งเกิดจากคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 นอกจากนี้จากการคำนวณค่า  $m/z$  ของ [aza-BDP-Pro+H] $^+$  ยังมีค่าเท่ากับ 740.3003 ซึ่งตรงกับผลที่ได้จาก HR-ESI MS คือ 740.3009 ดังแสดงในภาพที่ 43 อีกด้วย ดังนั้นจึงสามารถยืนยันได้ว่าสารประกอบ aza-BDP-Pro เกิดขึ้นจริงจากการสังเคราะห์ โดยเสนอกลไกการเกิดปฏิกิริยาดังภาพที่ 44



ภาพที่ 44 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบ aza-BDP-Pro

## 5.2 ผลการทดสอบความสามารถในการดูดกลืนแสงและการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซ็นเซอร์

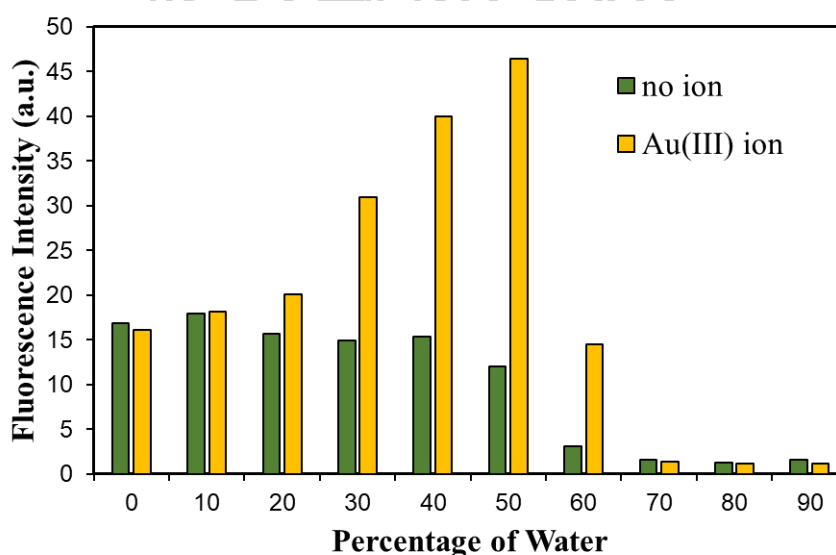
หลังจากยืนยันโครงสร้างของฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro ที่สังเคราะห์ได้ จากนั้นเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro จะถูกนำมาศึกษาประสิทธิภาพในการทำงานเกี่ยวกับการตรวจจับไอออนทอง ด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรสโกปีในสภาวะตัวทำละลายต่างๆ เพื่อหาความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และความจำเพาะเจาะจงในการตรวจจับไอออนทอง (selectivity) ของเซ็นเซอร์เปรียบเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ รวมทั้งนำไปศึกษาถึงประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนทองในสภาวะที่มีไอออนโลหะรบกวนอื่นๆ ปะปนอยู่ในสารละลายเซ็นเซอร์ (competitive) และศึกษาหาอัตราส่วนในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเซ็นเซอร์และไอออนทองโดยใช้เทคนิค Job's plot นอกจากนี้ยังนำเซ็นเซอร์ไปศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนทองภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต

และความเป็นพิษของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต และศึกษากลไกในการตรวจจับไอออนทองของเซนเซอร์โดยเทคนิค IR spectroscopy

โดยการนำเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ที่สังเคราะห์ที่ได้มาศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจจับไอออนทองและไอออนโลหะ ربกวนชนิดต่างๆ ในสารละลาย acetonitrile ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ ทั้งนี้ไอออนทอง ไอออนของโลหะทรานซิชัน ไอออนของโลหะอัลคาไลน์ และไอออนของโลหะอัลคาไลน์เอิร์ท ได้ถูกเตรียมจากไอออนโลหะของเกลือคลอไรด์แต่ละชนิดละลายในน้ำที่ปราศจากไอออน (DI water)

### 5.2.1 ผลการทดสอบสารละลายที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอออนทอง

การทดสอบสมบัติในการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ศึกษาในตัวทำละลายผสมระหว่างน้ำกับ acetonitrile ที่อัตราส่วน 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1 โดยติดตามสเปกตรัมการเรืองแสงของสารละลายเซนเซอร์ทั้งก่อนมีการเติมไอออนทองและหลังมีการเติมไอออนทองโดยผลการทดลองได้แสดงดังภาพที่ 45



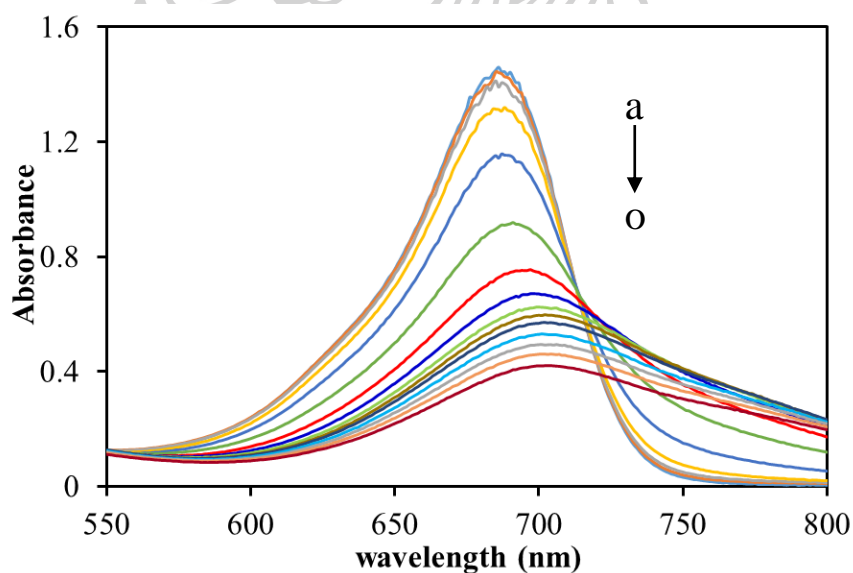
ภาพที่ 45 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง fluorescence intensity ( $\lambda_{ex} = 670 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{em} = 713 \text{ nm}$ ) กับ อัตราน้ำในสารละลายเซนเซอร์โดยตรวจวัดก่อนและหลังการเติมไอออนทอง

195  $\mu\text{M}$

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 45 แสดงให้เห็นว่าที่อัตราส่วน ACN:H<sub>2</sub>O เท่ากับ 5:5 (v/v) หรือ 1:1 (v/v) น้ำใน acetonitrile นั้นสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์หลังเติมไอออนทองลงไป สารละลายเซนเซอร์มีความเข้มของสัญญาณสูงที่สุดและมีความแตกต่างของความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ก่อนเติมไอออนทองและหลังเติมไอออนทองมากที่สุด นั้นได้แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนของตัวทำละลาย ACN:H<sub>2</sub>O ที่เหมาะสมสำหรับการนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ ของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** คือ ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v)

### 5.2.2 ผลการทดสอบสมบัติการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ในภาวะที่มีไอออนทอง

การดูดกลืนแสงของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ได้ศึกษาในตัวทำละลาย ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 โดยได้ศึกษาการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล (UV-Vis absorption) ด้วยการติดตามสเปกตรัมของการดูดกลืน (absorption spectra) ของสารละลายเซนเซอร์ที่มีความเข้มข้น 19  $\mu$ M และใช้ไอออนทองในรูปของเกลือคลอไรด์ โดยผลการทดลองได้แสดงในภาพที่ 46

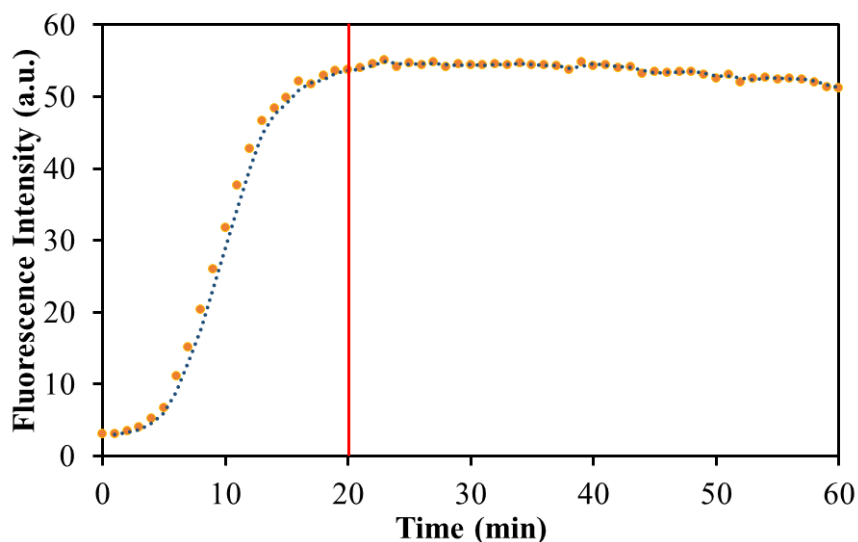


ภาพที่ 46 การดูดกลืนแสงของสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** (19  $\mu$ M) ในสารละลาย ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ในระหว่างที่มีการไทเทรตไอออนทองลงไป สารละลายเซนเซอร์; [Au<sup>3+</sup>]: a: 0 mM, b: 0.033 mM, c: 0.067 mM, d: 0.10 mM, e: 0.13 mM, f: 0.17 mM, g: 0.21 mM, h: 0.24 mM, i: 0.27 mM, j: 0.30 mM, k: 0.33 mM, l: 0.37 mM, m: 0.40 mM, n: 0.43 mM and o: 0.47 mM.

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 46 พบว่าการตรวจจับไอออนทองของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** แสดงสัญญาณการดูดกลืนในช่วงยูวี-วิสิเบิล (UV-Vis absorption) แบบระบบ ON-OFF โดยพบว่าก่อนมีการไทเทรตไอออนทองลงไปในการละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** เซนเซอร์สามารถดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 680 nm แต่เมื่อมีความเข้มข้นของไอออนทองในการละลายเซนเซอร์มากขึ้นความเข้มของสัญญาณการดูดกลืนแสงของเซนเซอร์จะลดลงตามความเข้มข้นของไอออนทองที่ถูกเติมลงไป ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้นนี้ส่งผลให้สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเซนเซอร์ได้ด้วยตาเปล่าโดยเปลี่ยนจากสารละลายสีเขียวเข้มเป็นสารละลายสีเหลือง

### 5.2.3 ผลการทดสอบเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** กับไอออนทอง

การทดสอบเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** กับไอออนทอง ได้ศึกษาในตัวทำละลาย ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 โดยศึกษาด้วยวิธีการติดตามสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่สารละลายเซนเซอร์คายออกมาที่ความยาวคลื่น 713 nm ทุกๆ 1 นาทีหลังจากมีการเติมไอออนทองที่มากเกินไปลงในสารละลายเซนเซอร์ โดยใช้สารละลายเซนเซอร์มีความเข้มข้นเข้มข้น 19  $\mu$ M และสารละลายไอออนทองเข้มข้น 195  $\mu$ M ผลการทดลองได้แสดงดังภาพที่



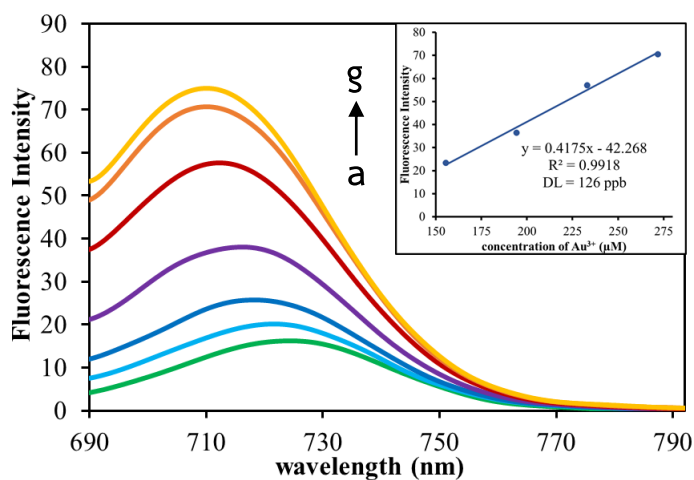
ภาพที่ 47 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง fluorescence intensity กับเวลาที่วัดหลังเติมไอออนทอง 195  $\mu\text{M}$  ในสารละลายเซ็นเซอร์ 19  $\mu\text{M}$  ใน ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ( $\lambda_{\text{ex}} = 670 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 713 \text{ nm}$ )

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 47 พบว่าหลังจากที่มีการเติมไอออนทองลงไป ในสารละลายเซ็นเซอร์สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซ็นเซอร์จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ในช่วง 0 ถึง 20 นาทีที่มีการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์อย่างรวดเร็ว แต่ภายหลังจากเวลา 20 นาทีเป็นต้นไป การเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่เซ็นเซอร์คายออกมาค่อนข้างคงที่ ซึ่งเกิดจากการที่เซ็นเซอร์ **aza-BDP-Pro** กับไอออนทองทำปฏิกิริยาจนถึงจุดสมดุล

#### 5.2.4 ผลการทดสอบความไว (Sensitivity) ของ **aza-BDP-Pro** ในสภาวะที่มีไอออนทอง

จากการทดสอบความไวของเซ็นเซอร์กับไอออนทอง ได้ศึกษาในตัวทำละลาย ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 โดยการติดตามสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission spectra) ของสารละลายเซ็นเซอร์ขณะที่มีการไทเทรตไอออนทองลงไป ในสารละลายเซ็นเซอร์ เมื่อกำหนด  $\lambda_{\text{ex}}$  เท่ากับ 670 nm ความเข้มข้นของเซ็นเซอร์ **aza-BDP-Pro** เท่ากับ 19  $\mu\text{M}$  และใช้ไอออนทองในรูปของเกลือคลอไรด์ ผลการทดลองได้แสดงดังภาพที่ 48



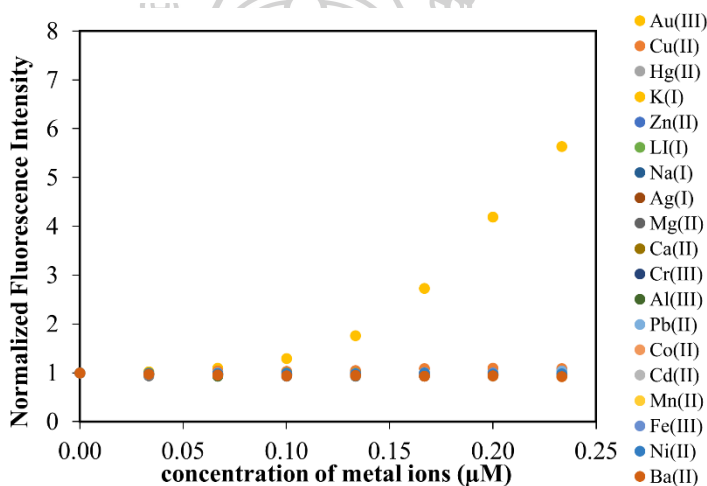


ภาพที่ 48 การคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{ex} = 670 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ **aza-BDP-Pro** ( $19 \mu\text{M}$ ) ใน ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ก่อนและหลังเติมไอออนทองที่ความเข้มข้นต่างๆ a: 0 M, b: 0.12 mM, c: 0.16 mM, d: 0.19 mM, e: 0.23 mM, f: 0.27 mM and g: 0.31 mM

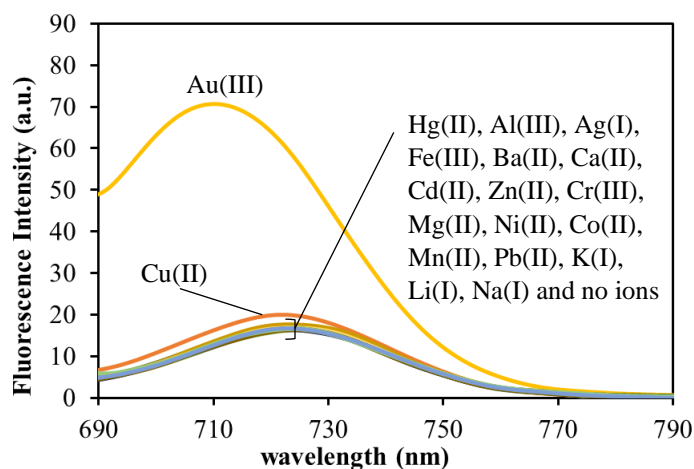
จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 48 แสดงให้เห็นว่าการตรวจจับไอออนทองของเซ็นเซอร์ **aza-BDP-Pro** มีลักษณะการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์แบบระบบ “OFF-ON” โดยพบว่าในสภาวะที่ไม่มีการเติมไอออนทองลงไปในการละลายเซ็นเซอร์ เซ็นเซอร์ **aza-BDP-Pro** จะมีการคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ต่ำมาก แต่ภายหลังการไทเทรตไอออนทองที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงไปในการละลายเซ็นเซอร์ พบว่าเซ็นเซอร์จะแสดงสัญญาณคายแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของไอออนทองที่ถูกเติมลงไปและมีการ shift ของ  $\lambda_{max}$  จาก 725 nm ไปจนถึง 709 nm และจากการคำนวณค่าขีดจำกัดการตรวจหา (detection limit) ด้วยเทคนิค 3SD/slope พบว่าค่าขีดจำกัดการตรวจหา มีค่าเท่ากับ 126 ppb

### 5.2.5 ผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Selectivity) ของเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro ในสถานะที่มีไอออนทองเทียบกับไอออนอื่นๆ

การทดสอบการคายแสงของเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro ได้ศึกษาในตัวทำละลาย ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ในสถานะที่มีการเติมไอออนชนิดต่างๆลงในสารละลายเซ็นเซอร์ ได้แก่ ไอออนทอง (Au<sup>3+</sup>) ไอออนทองแดง (Cu<sup>2+</sup>) ไอออนตะกั่ว (Pb<sup>2+</sup>) ไอออนปรอท (Hg<sup>2+</sup>) ไอออนเงิน (Ag<sup>+</sup>) ไอออนเหล็ก (Fe<sup>3+</sup>) ไอออนอลูมิเนียม (Al<sup>3+</sup>) ไอออนสังกะสี (Zn<sup>2+</sup>) ไอออนแคดเมียม (Cd<sup>2+</sup>) ไอออนนิกเกิล (Ni<sup>2+</sup>) ไอออนโพแทสเซียม (K<sup>+</sup>) ไอออนแมงกานีส (Mn<sup>2+</sup>) ไอออนโคบอลต์ (Co<sup>2+</sup>) ไอออนลิเทียม (Li<sup>+</sup>) ไอออนแมกนีเซียม (Mg<sup>2+</sup>) ไอออนแบเรียม (Ba<sup>2+</sup>) ไอออนโซเดียม (Na<sup>+</sup>) ไอออนแคลเซียม (Ca<sup>2+</sup>) ไอออนโครเมียม (Cr<sup>2+</sup>) โดยไอออนทั้งหมดได้ถูกเตรียมจากเกลือคลอไรด์ ผลการทดลองได้แสดงดังภาพที่ 49 และ 50



ภาพที่ 49 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 670 \text{ nm}$  และ  $\lambda_{\text{em}} = 713 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro (19  $\mu\text{M}$ ) ในสารละลายผสม ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ในสถานะที่มีไอออนโลหะของเกลือคลอไรด์ชนิดต่างๆ ในปริมาณที่ต่างกัน



ภาพที่ 50 การคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ ( $\lambda_{\text{ex}} = 670 \text{ nm}$ ) ของเซ็นเซอร์ **aza-BDP-Pro** ( $19 \mu\text{M}$ ) ในสารละลายผสม ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ในสภาวะที่มีไอออนโลหะของเกลือคลอไรด์ชนิดต่างๆเข้มข้น  $0.35 \text{ mM}$

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 49 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Normalized fluorescence intensity (แกน y) ที่ความยาวคลื่น  $713 \text{ nm}$  กับความเข้มข้นของไอออนชนิดต่างๆ (แกน x) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอออนทองเพิ่มขึ้น ค่า Normalized fluorescence intensity มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ในขณะที่สัญญาณการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์หลังเติมไอออนทองแดง ( $\text{Cu}^{2+}$ ) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับการเปลี่ยนแปลงของไอออนทองและไอออนอื่นๆ ได้แก่ ไอออนตะกั่ว ( $\text{Pb}^{2+}$ ) ไอออนปรอท ( $\text{Hg}^{2+}$ ) ไอออนเงิน ( $\text{Ag}^+$ ) ไอออนเหล็ก ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ไอออนอลูมิเนียม ( $\text{Al}^{3+}$ ) ไอออนสังกะสี ( $\text{Zn}^{2+}$ ) ไอออนแคดเมียม ( $\text{Cd}^{2+}$ ) ไอออนนิกเกิล ( $\text{Ni}^{2+}$ ) ไอออนโพแทสเซียม ( $\text{K}^+$ ) ไอออนแมงกานีส ( $\text{Mn}^{2+}$ ) ไอออนโคบอลต์ ( $\text{Co}^{2+}$ ) ไอออนลิเทียม ( $\text{Li}^+$ ) ไอออนแมกนีเซียม ( $\text{Mg}^{2+}$ ) ไอออนแบเรียม ( $\text{Ba}^{2+}$ ) ไอออนโซเดียม ( $\text{Na}^+$ ) ไอออนแคลเซียม ( $\text{Ca}^{2+}$ ) ไอออนโครเมียม ( $\text{Cr}^{2+}$ ) แทบจะไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแต่อย่างใด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 50 ซึ่งเป็นสเปกตรัมของการคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence emission spectra) ของสารละลายเซ็นเซอร์ในสภาวะที่มีการเติมไอออนโลหะต่างๆ ที่ความเข้มข้นประมาณ  $0.35 \text{ mM}$  โดยพบว่ามีเพียงไอออนทองเท่านั้นที่ส่งผลให้สารละลายเซ็นเซอร์คายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่ไอออนทองแดงส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์เล็กน้อย และไอออนโลหะอื่นๆ นั้นไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณเช่นเดียวกับผลการทดลองที่แสดงในภาพที่ 49 จึงสามารถสรุปได้ว่า

เซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** มีความจำเพาะเจาะจงต่อการตรวจจับไอออนทองสูงเหนือกว่าไอออนโลหะชนิดอื่นๆ อีก 18 ชนิด

5.2.6 ภาพถ่ายของสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ในสภาวะที่มีไอออนทองเปรียบเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่นๆ



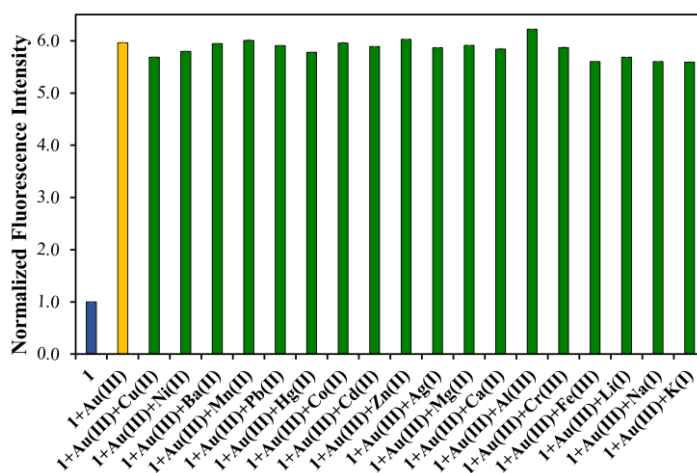
ภาพที่ 51 ภาพถ่ายการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ในสารละลาย ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 หลังจากมีการเติมไอออนทองและไอออนโลหะชนิดอื่นๆ ลงไปในสารละลาย

จากภาพถ่ายการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเซนเซอร์แสดงให้เห็นว่าเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** มีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจจับไอออนทองสูงเมื่อเทียบกับไอออนรบกวนชนิดอื่น โดยจะเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีเขียวเป็นสีเหลืองหลังจากที่มีการเติมไอออนทองลงไป ในขณะที่การเติมไอออนรบกวนอื่นๆ ลงไปในสารละลายจะไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงใดๆ โดยสีของสารละลายยังคงเป็นสีเขียวดังเดิม

5.2.7 ผลการทดสอบความสามารถในการแข่งขัน (competitive) ของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ในสภาวะที่มีไอออนอื่นๆ

การทดสอบการความสามารถในการแข่งขันของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ได้ศึกษาในตัวทำละลาย ACN:H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) + triton X-100 ในสภาวะที่มีไอออนทอง ปะปนกับไอออนรบกวนอื่นๆ ได้แก่ ไอออนทองแดง (Cu<sup>2+</sup>) ไอออนตะกั่ว (Pb<sup>2+</sup>) ไอออนปรอท (Hg<sup>2+</sup>) ไอออนเงิน (Ag<sup>+</sup>) ไอออนเหล็ก (Fe<sup>3+</sup>) ไอออนอลูมิเนียม (Al<sup>3+</sup>) ไอออนสังกะสี (Zn<sup>2+</sup>) ไอออนแคดเมียม (Cd<sup>2+</sup>) ไอออนนิกเกิล (Ni<sup>2+</sup>) ไอออนโพแทสเซียม (K<sup>+</sup>) ไอออนแมงกานีส (Mn<sup>2+</sup>) ไอออนโคบอลต์ (Co<sup>2+</sup>) ไอออนลิเทียม (Li<sup>+</sup>) ไอออนแมกนีเซียม (Mg<sup>2+</sup>) ไอออนแบเรียม (Ba<sup>2+</sup>) ไอออนโซเดียม (Na<sup>+</sup>) ไอออนแคลเซียม (Ca<sup>2+</sup>) ไอออนโครเมียม (Cr<sup>2+</sup>) โดยมีปริมาณไอออนรบกวนอื่นๆ มากกว่าปริมาณของไอออนทอง 5

เท่า ซึ่งผลการทดลองแสดงในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Normalized fluorescence intensity (แกน y) กับชนิดของไอออนรบกวน (แกน x) ผลการทดลองได้แสดงดังภาพที่ 52

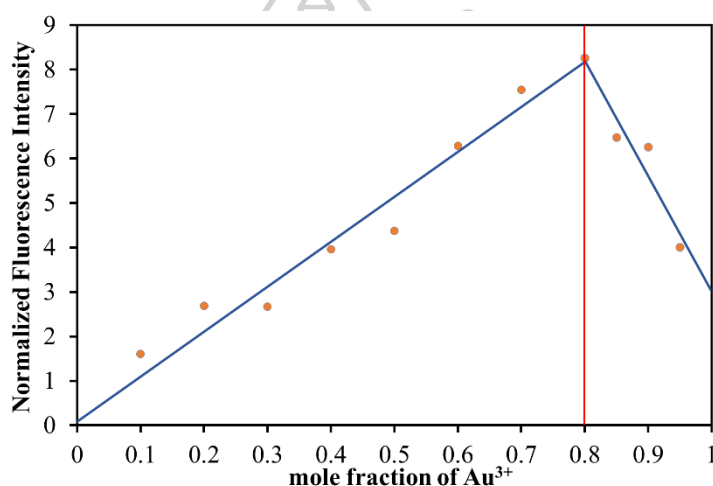


ภาพที่ 52 การทดสอบความสามารถในการดักจับไอออนทองของ aza-BDP-Pro

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 52 พบว่าความสามารถในการตรวจจับไอออนทองในสถานะที่มีไอออนรบกวนอื่นๆ ปะปนอยู่ในสารละลายด้วยนั้นไม่ได้เปลี่ยนแปลงไปอย่างเห็นได้ชัด หลังจากมีการเติมไอออนรบกวนอื่นๆ อีก 18 ชนิดซึ่งมีความเข้มข้นมากกว่าทองถึง 5 เท่าลงไป ในสารละลายเซนเซอร์ที่มีการเติมไอออนทองอยู่ก่อนแล้ว ไม่ทำให้สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของสารละลายเซนเซอร์เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน สารละลายเซนเซอร์ยังคงคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลักษณะชนิด "OFF-ON" และมีความเข้มของสัญญาณใกล้เคียงกับกรณีที่ไม่มีการเติมไอออนรบกวนใดๆ

### 5.2.8 ผลการศึกษาอัตราส่วนการจับกันของไอออนทองและเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro โดยวิธี Job's Method

การศึกษาอัตราส่วนการจับกันของไอออนทองและสารเซ็นเซอร์ aza-BDP-Pro ทำได้โดยเตรียมสารละลายเซนเซอร์ ที่ผสมไอออนทองที่อัตราส่วนต่างๆ (1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 และ pure sensor) โดยให้ความเข้มข้นรวมของทุกอัตราส่วนเท่ากับ 46  $\mu\text{M}$  แล้วจึงนำไปวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ทั้งก่อนและหลังเติมไอออนทอง ซึ่งผลการทดลองแสดงในรูปของกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง Normalized fluorescence intensity (แกน y) กับอัตราส่วนโดยโมลของไอออนทอง (แกน x) ดังแสดงในภาพที่ 53

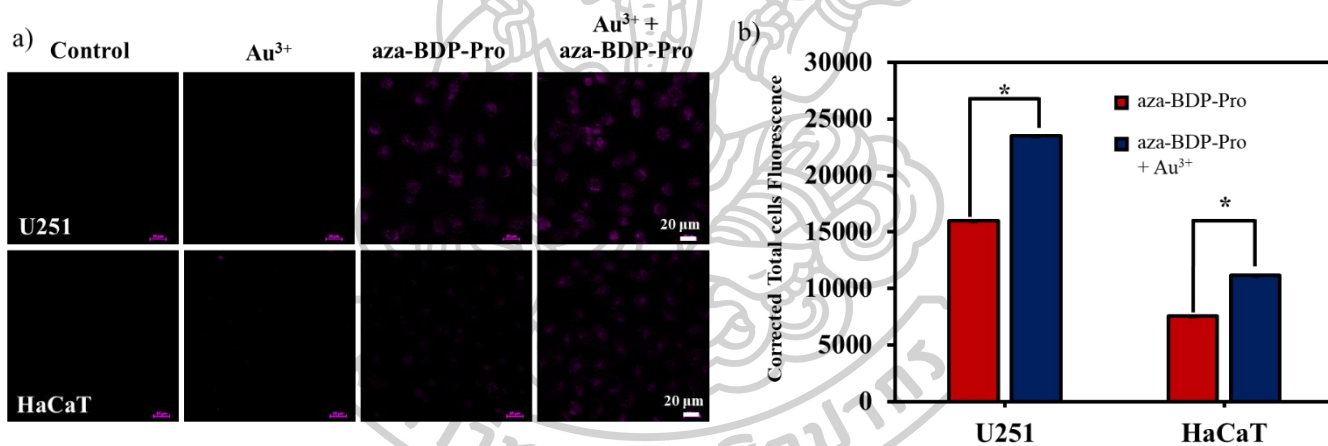


ภาพที่ 53 การศึกษาอัตราส่วนการจับกันของไอออนทองและ aza-BDP-Pro

จากผลการทดลองในภาพที่ 53 แสดงถึงสัญญาณ Normalized fluorescence intensity ของสารละลายผสมระหว่างเซนเซอร์กับไอออนทองที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่าอัตราส่วนที่ให้สัญญาณ Normalized fluorescence intensity สูงที่สุดคือที่ 4:1 Au<sup>3+</sup> : aza-BDP-Pro ซึ่งเป็นจุดตัดของกราฟพอดี จึงสามารถสรุปได้ว่า aza-BDP-Pro 1 โมล สามารถทำปฏิกิริยาพอดีกับไอออนทอง 4 โมล

### 5.2.9 ผลการศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนทองภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต

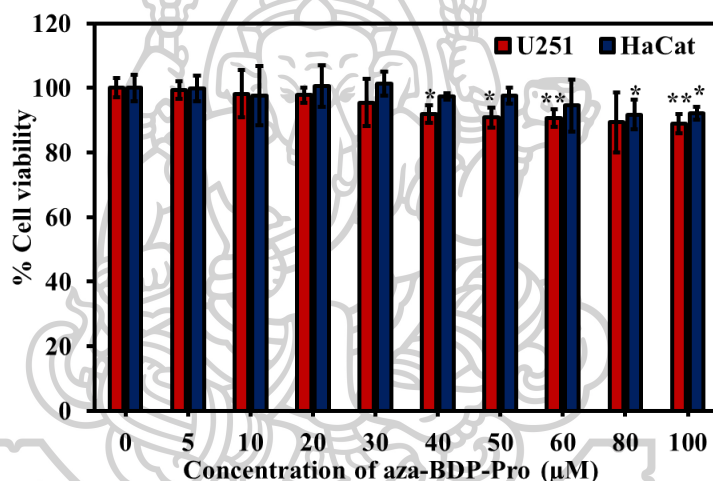
สำหรับการศึกษาความสามารถในการตรวจจับไอออนทองภายในเซลล์สิ่งมีชีวิตเซลล์ได้ใช้เทคนิค confocal microscopy ในการวิเคราะห์ โดยเซลล์ทั้ง 2 ชนิดจากถูกบ่มในสถานะที่แตกต่างกันและถูกถ่ายภาพฟลูออเรสเซนซ์เพื่อนำมาเปรียบเทียบกัน โดยจากภาพที่ 54a แสดงให้เห็นว่าเมื่อเซลล์ U251 และเซลล์ HaCaT ถูกบ่มในสถานะที่มี aza-BDP-Pro และ ไอออนทองนั้นจะสามารถคายแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับในสถานะที่ถูกบ่มด้วย aza-BDP-Pro หรือไอออนทองเพียงอย่างเดียว โดยผลของการคายแสงได้ถูกวัดและแสดงออกมาเป็นกราฟในภาพที่ 54b โดยจากกราฟได้แสดงให้เห็นว่าในสถานะที่ทั้งเซลล์ U251 และเซลล์ HaCaT นั้นถูกบ่มด้วยมี aza-BDP-Pro และ ไอออนทองจะสามารถคายสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความเข้มสูงกว่าอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับสถานะที่เซลล์ทั้ง 2 ชนิดถูกบ่มด้วย aza-BDP-Pro เพียงอย่างเดียว



ภาพที่ 54 a) ภาพถ่ายการเรืองแสงภายในเซลล์ U251 และ เซลล์ HaCaT ที่ถูกบ่มด้วยสถานะที่แตกต่างกัน, b) กราฟเปรียบเทียบความเข้มของการคายแสงของเซลล์ U251 และ HaCaT ที่ถูกบ่มด้วย aza-BDP-Pro กับ aza-BDP-Pro+Au<sup>3+</sup>

### 5.2.10 ผลการศึกษาหาความเป็นพิษของ aza-BDP-Pro ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต

สำหรับการศึกษาหาความเป็นพิษของ aza-BDP-Pro ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต U251 และ HaCaT ได้ใช้เทคนิค MTT ในการวิเคราะห์โดยเซลล์ U251 และ HaCaT ได้ถูกบ่มในสารละลาย aza-BDP-Pro ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80 และ 100  $\mu\text{M}$ ) โดยจากแผนภูมิแท่งดังแสดงในภาพที่ 55 แสดงให้เห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของ aza-BDP-Pro เพิ่มขึ้นอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ทั้ง 2 ชนิดจะลดลงเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามที่สภาวะการบ่มที่มี aza-BDP-Pro สูงที่สุด (100  $\mu\text{M}$ ) อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ทั้ง 2 ชนิดยังคงสูงกว่า 80% อยู่ นั่นแสดงให้เห็นว่า aza-BDP-Pro นั้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ และเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิต



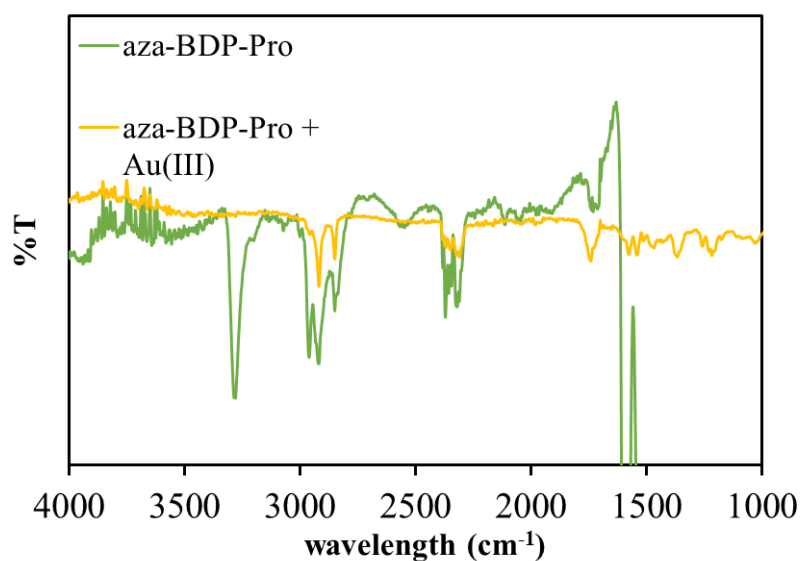
ภาพที่ 55 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ U251 และเซลล์ HaCaT เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ aza-BDP-Pro ที่ใช้ในการบ่มเซลล์ทั้ง 2 ชนิด

### 5.2.11 ผลการศึกษากลไกการตรวจจับไอออนทองของ aza-BDP-Pro ด้วยเทคนิค IR spectroscopy

สำหรับการศึกษากลไกการตรวจจับไอออนทองของ aza-BDP-Pro ตัวอย่างสารผลิตภัณฑ์ระหว่าง aza-BDP-Pro และ ไอออนทองได้ถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิค IR spectroscopy โดยเปรียบเทียบกับ aza-BDP-Pro ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับไอออนทอง โดยจากศึกษางานวิจัยฟลูออเรสเซนซ์เซนเซอร์สำหรับตรวจจับไอออนทองที่ได้ตีพิมพ์ก่อนหน้านี้ทำให้ผู้วิจัยคาดหวังว่าหลังจากที่ aza-BDP-Pro ทำปฏิกิริยากับไอออนทองแล้วโครงสร้างในส่วนของ terminal alkyne ของ aza-BDP-Pro จะเปลี่ยนเป็นหมู่ ketone และมีกลไกการตรวจจับไอออนทองเหมือนกับที่คุณ Ming



Dong และคณะ [37] ได้รายงานเอาไว้ โดยกราฟของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ควรปรากฏพีคที่บริเวณ  $1600-1800\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นพีคของหมู่ ketone และไม่ควรมีปรากฏพีคที่บริเวณ  $3300\text{ cm}^{-1}$  และ  $2100-2200\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นพีคของ C-H stretching ของหมู่ terminal alkyne และพีคของหมู่ alkyne ตามลำดับ โดยจากผลการทดลองที่ได้ดังแสดงในภาพที่ 56 พบว่าสเปกตรัมของสารผลิตภัณฑ์ไม่ปรากฏพีคที่บริเวณ  $3300\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นพีคของ C-H stretching ของ terminal alkyne ดังที่คาดไว้ และปรากฏพีคที่บริเวณ  $1700-1800\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งคาดว่าเป็นพีคของหมู่ ketone แต่พีคที่ปรากฏนั้นมี intensity ต่ำกว่าพีคของหมู่ ketone ทั่วไปมาก และตำแหน่งของพีคยังใกล้เคียงกับ พีคของ C=C stretching ของสารตั้งต้นอีกด้วย อีกทั้งพีคที่บริเวณ  $2100-2200\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งเป็นบริเวณเดียวกันกับพีคของหมู่ alkyne (C≡C stretching) ยังคงปรากฏอยู่ จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า aza-BDP-Pro นั้นตรวจจับไอออนทองโดยใช้หมู่ terminal alkyne เนื่องจากพีคของ C-H stretching ของ terminal alkyne ที่บริเวณ  $3300\text{ cm}^{-1}$  ไม่ปรากฏขึ้นในสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์ระหว่าง aza-BDP-Pro กับไอออนทอง แต่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอาจแตกต่างจากที่คาดเอาไว้ หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอาจเกิดขึ้นอย่างช้าๆ



ภาพที่ 56 IR spectra ของเซนเซอร์ aza-BDP-Pro เปรียบเทียบกับ aza-BDP-Pro+Au<sup>3+</sup>

## บทที่ 6

## สรุปผลการทดลอง

วิทยานิพนธ์นี้สามารถสังเคราะห์ฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์ชนิดใหม่ที่ชื่อว่า **aza-BDP-Pro** ซึ่งสามารถตรวจจับไอออนทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ได้ โดย **aza-BDP-Pro** ประกอบด้วยฟลูออโรฟอร์ที่ชื่อว่า aza-BODIPY สามารถคายสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ในย่านใกล้อินฟราเรดซึ่งมีความสามารถในการทะลุทะลวงเนื้อเยื่อสูงและมีความเป็นอันตรายต่อเซลล์สิ่งมีชีวิตต่ำ และไอออโนฟอร์เป็นหมู่ propargyl ซึ่งสามารถตรวจจับไอออนทองได้อย่างเฉพาะเจาะจง จากผลการทดสอบความสามารถในการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์เมื่อตรวจจับไอออนทองแสดงดังตารางที่ 3

Sensor	aza-BDP-Pro
ชนิดของไอออน	$\text{Au}^{3+}$
สถานะที่ทำงาน	ในสารละลาย ผสมระหว่าง ในสารละลายผสมระหว่าง ACN:H <sub>2</sub> O อัตราส่วน 1:1 v/v
$\lambda_{\text{ex}}$ (nm)	670
$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	713
Detection limit	126 ppb
Ratio [sensor:ion(s)]	1:4

ตารางที่ 3 สรุปผลการทดลองของเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro**

เซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ที่สังเคราะห์ได้นั้นสามารถตรวจจับไอออนทองในสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบได้อย่างจำเพาะเจาะจงเมื่อเปรียบเทียบกับไอออนโลหะชนิดอื่นๆ ถึง 18 ชนิด นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** ยังสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าโดยสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ยิ่งไปกว่านั้นเซนเซอร์ **aza-BDP-Pro** สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจจับไอออนทองในเซลล์สิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ และมีความเป็นพิษต่อเซลล์สิ่งมีชีวิตต่ำ

## รายการอ้างอิง

1. Bullock, J., et al., *Rheumatoid arthritis: a brief overview of the treatment*. Medical Principles and Practice, 2018. **27**(6): p. 501-507.
2. Brown, D. and W. Smith, *The chemistry of the gold drugs used in the treatment of rheumatoid arthritis*. Chemical Society Reviews, 1980. **9**(2): p. 217-240.
3. Evans, D.J., et al., *Cyclosporin as an oral corticosteroid sparing agent in stable asthma*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2000(4).
4. Cao, M., et al., *Gold nanomaterials in consumer cosmetics nanoproducts: Analyses, characterization, and dermal safety assessment*. Small, 2016. **12**(39): p. 5488-5496.
5. Hashmi, A.S.K. and M. Rudolph, *Gold catalysis in total synthesis*. Chemical Society Reviews, 2008. **37**(9): p. 1766-1775.
6. Marion, N. and S.P. Nolan, *N-Heterocyclic carbenes in gold catalysis*. Chemical Society Reviews, 2008. **37**(9): p. 1776-1782.
7. Price, C.A., et al., *The success story of gold-based catalysts for gas-and liquid-phase reactions: a brief perspective and beyond*. Frontiers in Chemistry, 2019. **7**: p. 691.
8. Carabineiro, S.A., *Supported gold nanoparticles as catalysts for the oxidation of alcohols and alkanes*. Frontiers in Chemistry, 2019. **7**: p. 702.
9. Dreaden, E.C., et al., *Size matters: gold nanoparticles in targeted cancer drug delivery*. Therapeutic delivery, 2012. **3**(4): p. 457-478.
10. Yeo, C.I., K.K. Ooi, and E.R. Tiekink, *Gold-based medicine: a paradigm shift in anti-cancer therapy?* Molecules, 2018. **23**(6): p. 1410.
11. Yue, S., et al., *Recent advances of gold compounds in anticancer immunity*. Frontiers in Chemistry, 2020. **8**: p. 543.
12. Burygin, G., et al., *On the enhanced antibacterial activity of antibiotics mixed with gold nanoparticles*. Nanoscale research letters, 2009. **4**(8): p. 794-801.
13. Wang, Y., et al., *Antibacterial properties and mechanisms of gold-silver nanocages*. Nanoscale, 2016. **8**(21): p. 11143-11152.

14. Wu, Y., et al., *Gold nanoparticles in biological optical imaging*. Nano Today, 2019. **24**: p. 120-140.
15. Pantapasis, K. and A.M. Grumezescu, *Gold nanoparticles: advances in water purification approaches*, in *Water purification*. 2017, Elsevier. p. 447-477.
16. Nyarko, E., et al., *In vitro toxicity of palladium (II) and gold (III) porphyrins and their aqueous metal ion counterparts on Trypanosoma brucei brucei growth*. Chemico-biological interactions, 2004. **148**(1-2): p. 19-25.
17. Murphy, C.J., et al., *Gold nanoparticles in biology: beyond toxicity to cellular imaging*. Accounts of chemical research, 2008. **41**(12): p. 1721-1730.
18. Boisselier, E. and D. Astruc, *Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity*. Chemical society reviews, 2009. **38**(6): p. 1759-1782.
19. Alkilany, A.M. and C.J. Murphy, *Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far?* Journal of nanoparticle research, 2010. **12**(7): p. 2313-2333.
20. Taylor, U., et al., *Toxicity of gold nanoparticles on somatic and reproductive cells*, in *Nano-biotechnology for biomedical and diagnostic Research*. 2012, Springer. p. 125-133.
21. Tiedemann, D., et al., *Reprotoxicity of gold, silver, and gold-silver alloy nanoparticles on mammalian gametes*. Analyst, 2014. **139**(5): p. 931-942.
22. Rodriguez, E., et al., *Potential of Chilopsis linearis for gold phytomining: using XAS to determine gold reduction and nanoparticle formation within plant tissues*. International Journal of Phytoremediation, 2007. **9**(2): p. 133-147.
23. Sharma, N.C., et al., *Synthesis of plant-mediated gold nanoparticles and catalytic role of biomatrix-embedded nanomaterials*. Environmental science & technology, 2007. **41**(14): p. 5137-5142.
24. Binder, B.M., et al., *The effects of Group 11 transition metals, including gold, on ethylene binding to the ETR1 receptor and growth of Arabidopsis thaliana*. FEBS letters, 2007. **581**(26): p. 5105-5109.
25. Starnes, D.L., A. Jain, and S.V. Sahi, *In planta engineering of gold nanoparticles of desirable geometries by modulating growth conditions: an environment-*

- friendly approach*. Environmental science & technology, 2010. **44**(18): p. 7110-7115.
26. Shah, V. and I. Belozerovala, *Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds*. Water, air, and soil pollution, 2009. **197**(1): p. 143-148.
  27. Taylor, A.F., et al., *Investigating the toxicity, uptake, nanoparticle formation and genetic response of plants to gold*. PLOS one, 2014. **9**(4): p. e93793.
  28. Nam, S.-H., et al., *Derivation of guideline values for gold (III) ion toxicity limits to protect aquatic ecosystems*. Water research, 2014. **48**: p. 126-136.
  29. Özdemir, C., et al., *Determination of gold and palladium in environmental samples by FAAS after dispersive liquid-liquid microextraction pretreatment*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2014. **20**(6): p. 4059-4065.
  30. Krawczyk, M. and H. Matusiewicz, *Determination of gold by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry with chemical vapor generation*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2013. **24**: p. 749-757.
  31. Unsal, Y.E., M. Tuzen, and M. Soylak, *Flame atomic absorption spectrometric determination of gold after solid-phase extraction of its 2-aminobenzothiazole complex on Diaion SP-207*. Journal of AOAC International, 2016. **99**(2): p. 534-538.
  32. Rahman, M.M., et al., *Selective determination of gold (III) ion using CuO microsheets as a solid phase adsorbent prior by ICP-OES measurement*. Talanta, 2013. **104**: p. 75-82.
  33. Kasper, A.C., et al., *Electrochemical study of gold recovery from ammoniacal thiosulfate, simulating the PCBs leaching of mobile phones*. Electrochimica Acta, 2018. **259**: p. 500-509.
  34. Wu, Y. and R.Y. Lai, *Electrochemical gold (III) sensor with high sensitivity and tunable dynamic range*. Analytical chemistry, 2016. **88**(4): p. 2227-2233.
  35. Halliday, C.J. and J.M. Lynam, *Gold-alkynyls in catalysis: alkyne activation, gold cumulenes and nuclearity*. Dalton Transactions, 2016. **45**(32): p. 12611-12626.

36. Shapiro, N.D. and F.D. Toste, *Synthesis and structural characterization of isolable phosphine coinage metal  $\pi$ -complexes*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008. **105**(8): p. 2779-2782.
37. Dong, M., Y.-W. Wang, and Y. Peng, *Highly selective ratiometric fluorescent sensing for Hg<sup>2+</sup> and Au<sup>3+</sup>, respectively, in aqueous media*. Organic letters, 2010. **12**(22): p. 5310-5313.
38. Egorova, O.A., et al., *Reaction-based fluorescent sensing of Au (I)/Au (III) species: mechanistic implications on vinylgold intermediates*. Organic Letters, 2010. **12**(3): p. 401-403.
39. Emrulloğlu, M., E. Karakuş, and M. Üçüncü, *A rhodamine based "turn-on" chemodosimeter for monitoring gold ions in synthetic samples and living cells*. Analyst, 2013. **138**(13): p. 3638-3641.
40. Song, F., et al., *A turn-on fluorescent probe for Au<sup>3+</sup> based on rodamine derivative and its bioimaging application*. Science China Chemistry, 2014. **57**(7): p. 1043-1047.
41. Srisuratsiri, P., et al., *Reversible rhodamine-alkyne Au<sup>3+</sup>-selective chemosensor and its bioimaging application*. Tetrahedron Letters, 2017. **58**(32): p. 3194-3199.
42. Do, J.H., et al., *A Rationally Designed Fluorescence Turn-On Probe for the Gold(III) Ion*. Organic Letters, 2010. **12**(5): p. 932-934.
43. Seo, H., et al., *A Reaction-Based Sensing Scheme for Gold Species: Introduction of a (2-Ethynyl)benzoate Reactive Moiety*. Organic Letters, 2012. **14**(19): p. 5062-5065.
44. Wang, J.-B., et al., *A novel fluorescent probe for Au (III)/Au (I) ions based on an intramolecular hydroamination of a Bodipy derivative and its application to bioimaging*. Chemical Communications, 2012. **48**(5): p. 744-746.
45. Wang, Y., et al., *A novel Bodipy-based fluorescent probe for Au<sup>3+</sup> ions with high selectivity and its application to bioimaging*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2016. **226**: p. 364-369.
46. Wechakorn, K., et al., *Rhodol-based fluorescent probe for Au<sup>3+</sup> detection and its application in bioimaging*. RSC advances, 2016. **6**(29): p. 24752-24755.

47. Choi, J.Y., et al., *Highly selective ratiometric fluorescent probe for Au<sup>3+</sup> and its application to bioimaging*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2013. **49**: p. 438-441.
48. Kim, N.H., et al., *A highly sensitive and fast responsive fluorescent probe for detection of Gold (III) ions based on the AIEgen disaggregation*. *Dyes and Pigments*, 2019. **160**: p. 647-653.
49. Sinthuprasert, P., et al., *[5] Helicene-Scaffold Fluorescence Sensing for Selective Detection of Au 3+ Ions and Gold Nanoparticle*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2021. **32**: p. 852-859.
50. Tachapermpon, Y., et al., *Near-infrared aza-BODIPY fluorescent probe for selective Cu 2+ detection and its potential in living cell imaging*. *Dalton Transactions*, 2017. **46**(46): p. 16251-16256.
51. Praikaew, P., et al., *Near-IR aza-BODIPY-based probe for the selective simultaneous detection of Cu<sup>2+</sup> in aqueous buffer solutions and its application in biological samples*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2020. **400**: p. 112641.
52. Zuo, J., et al., *Near-infrared fluorescent amphiphilic Aza-BODIPY dye: Synthesis, solvatochromic properties, and selective detection of Cu<sup>2+</sup>*. *Dyes and Pigments*, 2020. **183**: p. 108714.
53. Piyanuch, P., et al., *Rapid and visual detection of Cd<sup>2+</sup> based on aza-BODIPY near infrared dye and its application in real and biological samples for environmental contamination screening*. *Journal of Hazardous Materials*, 2021. **409**: p. 124487.
54. Liu, S., et al., *A class of wavelength-tunable near-infrared aza-BODIPY dyes and their application for sensing mercury ion*. *Dyes and Pigments*, 2014. **103**: p. 145-153.
55. Piyanuch, P., et al., *A Near-Infrared Fluorescence Chemosensor Based on Isothiocyanate-Aza-BODIPY for Cyanide Detection at the Parts per Billion Level: Applications in Buffer Media and Living Cell Imaging*. *ChemPlusChem*, 2019. **84**(3): p. 252-259.

56. Dvivedi, A., S. Kumar, and M. Ravikanth, *Nucleophilic addition of CN<sup>-</sup> ion to CN bond of aza-BODIPY leading to turn-on fluorescence sensor*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016. **224**: p. 364-371.
57. Kamkaew, A. and K. Burgess, *Aza-BODIPY dyes with enhanced hydrophilicity*. *Chemical Communications*, 2015. **51**(53): p. 10664-10667.
58. Pewklang, T., et al., *Aza-BODIPY probe for selective visualization of cyclooxygenase-2 in cancer cells*. *RSC advances*, 2019. **9**(24): p. 13372-13377.







## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	दनัย พลายสถิตย์
วัน เดือน ปี เกิด	14 สิงหาคม 2539
สถานที่เกิด	นครปฐม
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2558 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเอกเคมี เกียรตินิยมอันดับ 1 จากมหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2562 ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเอก เคมี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	168 หมู่ 4 ตำบลธรรมศาลา อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000
รางวัลที่ได้รับ	พ.ศ. 2558-2562 ได้รับทุนการศึกษาในระดับปริญญาตรีของโครงการพัฒนา และ ส่งเสริมผู้มีความสามารถทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) พ.ศ. 2562-2565 ได้รับทุนการศึกษาในระดับปริญญาโทของโครงการพัฒนา และ ส่งเสริมผู้มีความสามารถทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.)

