

ตัวตรวจจับฟลูออไรด์อย่างจำเพาะเจาะจงที่ได้จากอนุพันธ์อิมิน-ฟีนอล

A Selective Fluoride Sensor Derived from Imine-Phenol Derivative

ภูมिरัตน์ นุสุวรรณ¹, แพน ทองเรือง^{1*}, ปิยะดา จิตรตั้งประเสริฐ¹, เข้ม พุ่มสะอาด² และ มะยุโซะ กุโน¹

Phoomirut Nusuwan¹, Pan Tongraung^{1*}, Piyada Jittangprasert¹, Kem Pumsa-ard² and Mayuso Kuno¹

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

²ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

²Department of Physics, Faculty of Science, Srinakharinwirot University

Received : 8 March 2016

Accepted : 31 May 2016

Published online : 15 June 2016

บทคัดย่อ

ตัวตรวจจับไอออนลบ 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-4-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L) ที่มีหมู่ 2-iminephenol เป็นหน่วยจับไอออนลบ และมีหมู่ phenylazo เป็นหน่วยให้สัญญาณทางแสง สามารถสังเคราะห์ได้ง่ายเพียง 2 ขั้นตอน และให้ร้อยละของผลผลิตสูง เมื่อทำการศึกษากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนลบชนิดต่างๆ โดยใช้เทคนิค UV-Visible spectrophotometry ในตัวทำละลายอะซิโตนไทรคลอไรด์ พบว่าตัวตรวจจับนี้เลือกจับอย่างจำเพาะเจาะจงกับ $F^- >> CH_3COO^- > H_2PO_4^-$ โดยเกิดพีคใหม่ที่ความยาวคลื่น 468.5 นาโนเมตร และสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีเหลืองเข้ม มีอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง L กับ F^- เป็น 1:2 ในขณะที่อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง L กับ CH_3COO^- และ L กับ $H_2PO_4^-$ มีค่าเป็น 1:1 สำหรับค่าคงที่การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (K_{ass}) ที่คำนวณโดยใช้ข้อมูลจากการไทเทรตด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometry ของ L กับ F^- , CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$ มีค่าเท่ากับ $(1.89 \pm 0.12) \times 10^8 M^{-2}$, $(3.50 \pm 0.28) \times 10^4 M^{-1}$ และ $(2.67 \pm 0.40) \times 10^4 M^{-1}$ ตามลำดับ และจากข้อมูลของการไทเทรตด้วยเทคนิค 1H NMR สามารถยืนยันการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่าง L กับ F^- ได้ โดยพบว่าเกิดการ deprotonation ของโปรตอนในหมู่ไฮดรอกซีของฟีนอล นอกจากนี้เมื่อทำการศึกษากการเกิดสารประกอบที่เกิดขึ้นระหว่าง L กับไอออนลบโดยใช้การคำนวณทางเคมีเชิงคอมพิวเตอร์ด้วยระเบียบวิธีคำนวณ B3LYP/6-31G(d,p) พบว่าพลังงานการจับที่เกิดขึ้นระหว่าง L กับ F^- เป็นแบบ 1:2 ในขณะที่ CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$ เป็นแบบ 1:1 โดยให้ค่าพลังงานเท่ากับ -144.59, -37.30 และ -31.71 kcal/mol ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าผลการคำนวณที่ได้ทางเคมีคอมพิวเตอร์มีความสอดคล้องกับผลการทดลองเป็นอย่างดี

คำสำคัญ : เซ็นเซอร์ไอออนลบ ฟลูออไรด์ พันธะไฮโดรเจน เคมีคอมพิวเตอร์

*Corresponding author. E-mail : ptongraung@gmail.com

Abstract

Anion sensor, 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-2-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L) bearing a 2-iminephenol group as a binding unit and a phenylazo group as a signaling unit was synthesized in high yield by two simple steps. Complexations of sensor L with various anions were carried out by UV-visible spectrophotometry in acetonitrile solvent. The results indicated that the sensor L showed high selectivity for fluoride over other anions ($F^- \gg CH_3COO^- > H_2PO_4^-$). The pale yellow solution was observed to have turned dark yellow in color with a new band at 468.5 nm. The stoichiometry of complex between L and F^- was 1:2 while the stoichiometries of complexes between L and CH_3COO^- or $H_2PO_4^-$ were 1:1. The association constants of L towards F^- , CH_3COO^- and $H_2PO_4^-$ were calculated to be $(1.89 \pm 0.12) \times 10^8 M^{-2}$, $(3.50 \pm 0.28) \times 10^4 M^{-1}$ and $(2.67 \pm 0.40) \times 10^4 M^{-1}$, respectively using the UV-visible titration data. The presence of hydrogen bonding interaction between L and F^- was confirmed by 1H NMR titration results which displayed deprotonation of the OH proton of phenol. Furthermore, the interaction between L and anions were evaluated by computational chemistry using B3LYP/6-31G(d,p) level of calculation. The results confirmed that the formation between L and anion are 1:2 for F^- and 1:1 for CH_3COO^- and $H_2PO_4^-$. The binding energies are -144.59, -37.30 and -31.71 kcal/mol for L- F^- , L- CH_3COO^- and L- $H_2PO_4^-$ systems, respectively. The calculation is in a relatively good agreement with the experimental results.

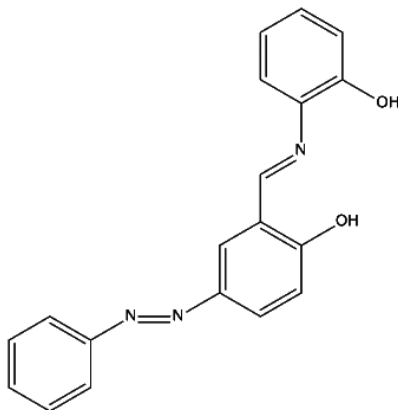
Keyword: Anion sensor, Fluoride, Hydrogen bond, Computational Chemistry

บทนำ

การออกแบบสังเคราะห์ซูพราโมเลกุล (supramolecule) ที่มีสมบัติในการตรวจจับไอออนลบได้รับความสนใจและมีการพัฒนาเป็นไปอย่างมากในหลายสิบปีที่ผ่านมา (Hoop *et al.*, 1996; Kondo *et al.*, 2002; Esteban-Go´mez *et al.*, 2005; Ghosh&Adhikari, 2006; Kaewtong, 2010) เนื่องจากไอออนลบมีบทบาท และหน้าที่สำคัญหลายด้านต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ทั้งด้านชีววิทยา (biology) ด้านยารักษาโรค (medicine) และด้านสิ่งแวดล้อม (environment) (Tavallali *et al.*, 2012) โดยเฉพาะแหล่งกำเนิดไอออนลบที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ ทั้งจากของเสียในโรงงานอุตสาหกรรม จากกิจกรรมเกษตรกรรม จากครัวเรือนที่ปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดผลกระทบมากมาย นักวิจัยจึงให้ความสำคัญกับเคมีซูพราโมเลกุลาร์ (supramolecular chemistry) เพื่อออกแบบโมเลกุลที่สามารถจดจำและเลือกจับอย่างจำเพาะเจาะจงหรือติดตามกระบวนการต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง รวมถึงการพัฒนาเป็นเซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดไอออนลบ ในงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการรายงานการใช้ตัวจับไอออนลบที่มีหมู่เอไมด์ (amide) (Shao *et al.*, 2008) หมู่ยูเรีย (urea) (Esteban-Go´mez *et al.*, 2005) หมู่ไทโอยูเรีย (thiourea) (Gunnlaugsson *et al.*, 2003; Tongraung *et al.*, 2007; Davaraj *et al.*, 2009) หมู่ไพร์โรล (pyrrole) (Hong & Lee, 2012) หมู่ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamide) (Chen & Chen, 2004) และหมู่ไฮดรอกซีของฟีนอลซึ่งสามารถใช้เป็นตัวจับไอออนลบได้ (Hijji *et al.*, 2009; Dalapati *et al.*, 2011) โดยในงานวิจัยดังกล่าวจะออกแบบโมเลกุลที่สามารถเลือกจับกับไอออนลบที่มีความแรงของเบสที่แรง โดยอาศัยการเกิดพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding interaction) แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงสัญญาณทางแสงที่ต้องติดตามด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี เช่น ยูวีวิสิเบิล (UV-visible) ฟลูออเรสเซนซ์

(fluorescence) หรือเกิดสีที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าโดยไม่ต้องอาศัยเครื่องมือในการตรวจวัดทั้งนี้ขึ้นกับหน่วยให้สัญญาณ (signaling unit) อย่างไรก็ตามงานวิจัยเหล่านั้นส่วนใหญ่ยังคงสังเคราะห์โมเลกุลโดยใช้วิธีหลายขั้นตอน มีความยุ่งยากและได้ร้อยละของผลผลิตที่น้อย

งานวิจัยนี้จึงสนใจออกแบบ และสังเคราะห์โมเลกุลที่มีความสามารถในการตรวจจับฟลูออโรไรด์ซึ่งเป็นไอออนลบที่มีบทบาทสำคัญในชีวิตมนุษย์ มีทั้งประโยชน์และโทษ เช่น การใช้ฟลูออไรด์ในผลิตภัณฑ์สุขภาพประเภทต่างๆ ทั้งอาหาร น้ำยาสีฟัน และน้ำยารักษาฟัน เพื่อหวังผลในการป้องกันฟันผุ แต่ถ้าได้รับในปริมาณมากเกินไปก็จะส่งผลเสียต่อสุขภาพฟันและกระดูก โดยในงานวิจัยก่อนหน้านี้ (Muensri *et al.*, 2013) คณะผู้วิจัยได้รายงานการสังเคราะห์ตัวตรวจจับฟลูออไรด์ชนิด 1,3-bis[(p-trifluoromethylphenyl)sulfonamido]methylbenzene ซึ่งมีความสามารถเลือกจับกับฟลูออไรด์อย่างจำเพาะเจาะจง และมีค่าคงที่การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่สูง อย่างไรก็ตามโมเลกุลเช่นเซอร์ดังกล่าวยังไม่สามารถติดตามการตรวจวัดโดยการเปลี่ยนสีที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจออกแบบและสังเคราะห์ตัวตรวจจับไอออนลบชนิดใหม่ได้แก่ 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-4-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L) ซึ่งมีหน่วยจับไอออนลบคือ 2-iminephenol และมีหมู่ phenylazo เป็นหน่วยให้สัญญาณทางแสง (โครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 1) ที่สามารถสังเคราะห์ได้ไม่ยุ่งยากและให้ร้อยละของผลผลิตสูง เพื่อนำมาใช้เป็นตัวตรวจจับฟลูออไรด์และสามารถติดตามการเปลี่ยนสีที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า



ภาพที่ 1 โครงสร้างของ 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-4-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L)

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและสารเคมี

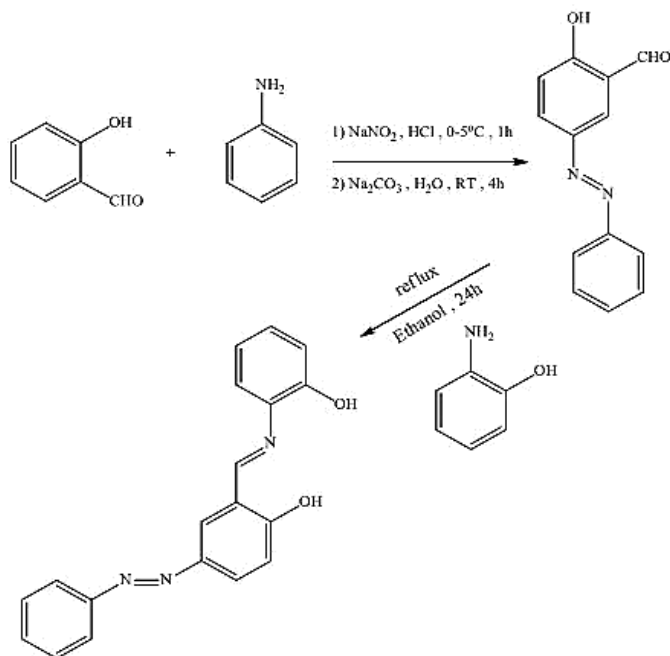
1. เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectrometers 300 MHz รุ่น AVANCE 300 FT จากบริษัท Bruker ใช้สำหรับบันทึกข้อมูล ^1H NMR และ ^{13}C NMR
2. เครื่อง UV-Visible spectrophotometer รุ่น UV - 2401PC จากบริษัท Shimadzu ใช้สำหรับบันทึกสเปกตรัมการดูดกลืนแสง
3. เครื่อง Electron ionization-mass spectrometer (EI-MS) รุ่น Polaris Q จากบริษัท Thermo Finnigan ใช้สำหรับบันทึกสเปกตรัมมวล
4. เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น NewClassic MF จากบริษัท MettlerToledo

5. เกลือของไอออนลบชนิดต่างๆ ได้แก่ tetrabutylammonium chloride, tetrabutylammonium phosphate และ tetrabutylammonium iodide จากบริษัท Acros Organics สำหรับ tetrabutylammonium fluoride และ tetrabutylammonium acetate จากบริษัท Aldrich

6. สารเคมีอื่นๆและตัวทำละลายที่ใช้ในงานวิจัยนี้ทั้งหมดเป็นประเภทสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี (AR grade) จากบริษัท Fluka, BDH, Carlo Erba และ Merck

การเตรียมสาร 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-4-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L)

นำ aniline 0.025 mol มาละลายด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการกวนภายใต้ อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส ในระหว่างการกวนเติมกรด HCl เข้มข้นปริมาตร 3 มิลลิลิตรอย่างช้าๆ และเติมสารละลาย NaNO_2 เข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมงจนกระทั่ง สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แล้วค่อยๆเติมสารละลายผสมระหว่าง salicylaldehyde 0.025 mol และ NaCO_3 0.085 mol ปริมาตร 75 มิลลิลิตรภายในระยะเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการกวนสารละลายต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะเกิดตะกอนสีเหลืองอ่อน ทำการกรองและเก็บตะกอนที่ได้ในโถดูดความชื้น จากนั้นนำตะกอนที่สังเคราะห์ได้ 5 mmol ผสม กับ 2-hydroxyaniline 5 mmol ในเอทานอลปริมาตร 40 มิลลิลิตร ทำการ reflux เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้ตะกอนสีเหลืองอ่อน กรองและเก็บตะกอนของโมเลกุล (L) ไว้ในโถดูดความชื้น การสังเคราะห์แสดงดังแผนภาพในภาพที่ 2 (Shao, 2010) (73.88%); $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 7.17\text{-}6.92$ (m, 4H, ArH), 7.57 (d, 1H, ArH), 7.99-7.52 (m, 5H, ArH), 8.23 (d, 1H, ArH), 9.19 (s, 1H, ArH), 10.03 (s, 1H, CH), 10.36 (s, 1H, OH), 14.93 (s, 1H, OH). $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 114.98, 117.04, 118.98, 119.63, 119.69, 120.24, 122.61, 127.18, 129.05, 129.73, 129.86, 131.13, 133.13, 144.35, 151.31, 152.53, 160.69, 167.45, 191.28$. LRMS-TOF: m/z 318.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (คำนวณสำหรับ $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$: 317.34 g/mol) โดยลักษณะสเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ ของ L ที่สังเคราะห์ที่ได้นี้แสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 2 แผนภาพการสังเคราะห์ 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-4-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L)

การศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของสาร L กับไอออนลบต่างๆ โดยวิธี UV-Vis spectrophotometry
เตรียมสารละลาย L ที่สังเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้น 0.025 mM และสารละลายไอออนลบชนิดต่างๆ ได้แก่ F^- , CH_3COO^- , $H_2PO_4^-$, Cl^- และ I^- ที่ความเข้มข้น 0.50 mM ในตัวทำละลาย CH_3CN จากนั้นนำสารละลาย L กับสารละลายไอออนลบแต่ละชนิดมาผสมกันที่อัตราส่วนจำนวนโมลระหว่าง L:ไอออนลบ เท่ากับ 1:10 แล้วนำสารละลายผสมที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร บันทึกสเปกตรัมการดูดกลืนแสงพร้อมทั้งเปรียบเทียบข้อมูลจากสเปกตรัมที่ได้เมื่อใช้ไอออนลบชนิดต่างๆ

การศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสาร L กับไอออนลบต่างๆ โดยวิธี UV-Vis spectrophotometry

ผสมสารละลาย L ที่สังเคราะห์ได้และสารละลาย F^- เข้มข้น 0.10 mM ในตัวทำละลาย CH_3CN ในอัตราส่วนจำนวนโมลต่างๆ โดยให้จำนวนโมลรวมของแต่ละสารละลายผสมเท่ากับ 4×10^{-4} mmol จากนั้นนำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 468.5 นาโนเมตร สร้างกราฟระหว่างเศษส่วนโมลของ L กับค่าการดูดกลืนแสง (Job's plot) เพื่อหาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ทำการทดลองซ้ำแต่เปลี่ยนจากสารละลาย F^- เป็นสารละลายไอออนลบชนิดอื่น ได้แก่ CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$

การศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสาร L กับไอออนลบต่างๆ โดยการไทเทรตด้วยวิธี UV-Vis spectrophotometry

เตรียมสารละลาย L ที่สังเคราะห์ได้ที่มีความเข้มข้น 0.025 mM ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย F^- ความเข้มข้น 3.0 mM ใน CH_3CN ปริมาตรครั้งละ 0.010 มิลลิลิตร โดยมีอัตราส่วนจำนวนโมลของ F^- อยู่ในช่วง 0.0 - 12.0 เท่า บันทึกสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 468.5 นาโนเมตรที่แต่ละอัตราส่วนโมล ทำการทดลองซ้ำแต่เปลี่ยนจากสารละลาย F^- เป็นสารละลาย CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$ ในอัตราส่วนจำนวนโมลของไอออนลบ อยู่ในช่วง 0.0 - 10.0 เท่า และ 0.0 - 6.0 เท่า ตามลำดับ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณค่าคงที่การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนด้วยวิธี nonlinear least-square curve-fitting (Zimmermann-Dimer & Machado, 2009)

การศึกษาอิทธิพลของน้ำที่มีต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสาร L กับ F^- โดยวิธี UV-Vis spectrophotometry

เตรียมสารละลายผสมระหว่างสารละลาย L ที่ความเข้มข้น 0.025 mM และสารละลาย F^- ที่ความเข้มข้น 0.5 mM โดยใช้ตัวทำละลาย CH_3CN นำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร และบันทึกสเปกตรัมที่ได้ จากนั้นนำสารละลายผสมมาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร บันทึกสเปกตรัมที่ได้ เปรียบเทียบข้อมูลจากสเปกตรัมที่ได้ระหว่างก่อนและหลังเติมน้ำ

การศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสาร L กับ F^- โดยวิธี 1H NMR spectroscopy

เตรียมสารละลาย L ที่สังเคราะห์ได้เข้มข้น 10.00 mM ในตัวทำละลาย $DMSO-d_6$ ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร บันทึก 1H NMR สเปกตรัม และค่า chemical shift ของหมู่ไฮดรอกซิล (OH) จากนั้นเติมสารละลาย F^- ความเข้มข้น 100 mM ในตัวทำละลาย $DMSO-d_6$ ปริมาตรครั้งละ 10 ไมโครลิตร โดยมีอัตราส่วนจำนวนโมลของ F^- ต่อ L อยู่ในช่วง 0.0-1.0 เท่า จากนั้นบันทึก 1H NMR สเปกตรัมและค่า chemical shift ของหมู่ไฮดรอกซิลในแต่ละอัตราส่วนโมล เปรียบเทียบข้อมูลที่ได้จากการ

ไทเทรตในแต่ละอัตราส่วนจำนวนโมล ทำการทดลองซ้ำแต่เปลี่ยนจากสารละลาย F^- เป็นสารละลายไอออนลบ CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$

การศึกษาโครงสร้างที่เป็นไปได้ทั้งหมดและพลังงานการจับที่เกิดขึ้นกับโครงสร้างของโมเลกุลเซ็นเซอร์ (L) กับไอออนลบต่างๆด้วยระเบียบวิธี B3LYP/6-31G (d,p)

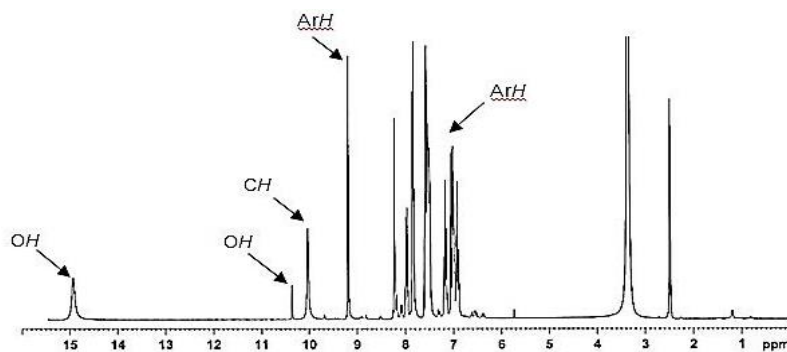
การศึกษาโครงสร้างที่เป็นไปได้ทั้งหมดของโมเลกุลเซ็นเซอร์ (L) และโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสาร L กับไอออนลบ 3 ชนิด ได้แก่ F^- , $H_2PO_4^-$ และ CH_3COO^- ใช้ระเบียบวิธีการคำนวณ B3LYP/6-31G(d,p) ด้วยโปรแกรม Gaussian 09 ซึ่งทำงานบนระบบปฏิบัติการลินุกซ์ เพื่อหาโครงสร้างที่เสถียรและการเกิดอันตรกิริยาที่เหมาะสมระหว่างสาร L กับไอออนลบแต่ละชนิดโดยการคำนวณพลังงานการจับ ดังสมการ (1)

$$\Delta E(AB) = E(AB) - E(A) - E(B) \quad (1)$$

- เมื่อ $\Delta E(AB)$ คือ พลังงานการจับที่เกิดขึ้นระหว่าง A กับ B
 $E(AB)$ คือ พลังงานของโครงสร้างของโมเลกุลที่เกิดอันตรกิริยาของ A และ B
 $E(A)$ คือ พลังงานของโมเลกุล A
 $E(B)$ คือ พลังงานของโมเลกุล B

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

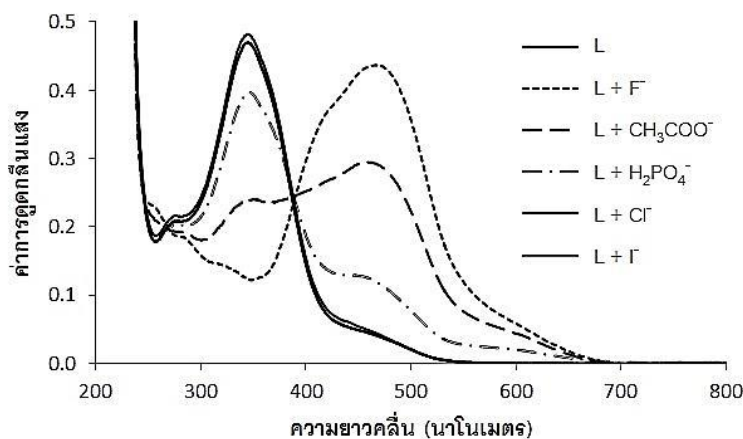
ในการสังเคราะห์ 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-4-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L) สามารถสังเคราะห์ได้ใน 2 ขั้นตอน โดยขั้นตอนที่ 1 เป็นการสังเคราะห์ 5-phenylimine-2-hydroxybenzaldehyde จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง 2-hydroxybenzaldehyde กับ aniline และขั้นตอนที่ 2 เป็นการสังเคราะห์ตัวตรวจจับ 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-4-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L) จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง 5-phenylimine-2-hydroxybenzaldehyde กับ 2-aminophenol ถึงแม้ว่าจะเคยมีรายงานการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนโดยมี L เป็นลิแกนด์ (Refat *et al.*, 2010) แต่ยังไม่เคยมีรายงานการนำลิแกนด์ L มาใช้เป็นตัวตรวจจับไอออนลบมาก่อน โดยผลการพิสูจน์โครงสร้างของตัวตรวจจับ L ด้วยเทคนิค ^1H-NMR ^{13}C NMR และ Mass spectrometry พบว่าให้ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับโครงสร้างของ L โดยสเปกตรัม 1H NMR ของ L แสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 สเปกตรัม 1H NMR ของ L

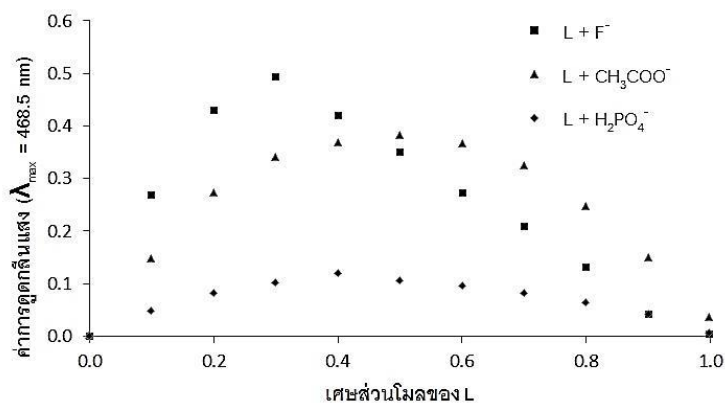
เทคนิค UV-Visible spectrophotometry

ผลการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของโมเลกุล L กับไอออนลบชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค UV-Visible spectrophotometry พบว่าความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของ L อยู่ที่ 344 นาโนเมตรในตัวทำละลาย CH_3CN ซึ่งสอดคล้องกับการทรานซิชันของอิเล็กตรอนแบบ $\pi-\pi^*$ ของหมู่โครโมฟอร์ และเมื่อเติมไอออนลบลงในตัวตรวจจับ L ผลการทดลองพบว่าสเปกตรัมเกิด bathochromic shift โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 344 นาโนเมตรมีค่าลดลง และเกิดพีคใหม่ที่ความยาวคลื่น 468.5 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 4 โดยสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนไปเป็นสีเหลืองเข้มเมื่อเติม F^- , CH_3COO^- และ H_2PO_4^- ในขณะที่การเติม Cl^- และ I^- ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง แสดงให้เห็นว่าตัวตรวจจับ L สามารถเลือกจับกับไอออนลบที่มีความแรงของเบสที่แรง ได้แก่ F^- , CH_3COO^- และ H_2PO_4^- โดยเกิดอันตรกิริยาแบบพันธะไฮโดรเจน แต่ไม่เลือกจับกับไอออนลบที่เป็นเบสที่อ่อน (Cl^- และ I^-) ผลจากสเปกตรัมในภาพที่ 4 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าสเปกตรัมของ F^- เกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด แสดงถึงความสามารถของโมเลกุล L ในการเลือกจับกับไอออนลบที่มีรูปร่างทรงกลมมากกว่าสามเหลี่ยมแบนราบ (CH_3COO^-) และทรงสี่หน้า (H_2PO_4^-) โดยการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลมาจากการเกิด Intramolecular charge transfer (ICT) (Gunnlaugsson *et al.*, 2003)



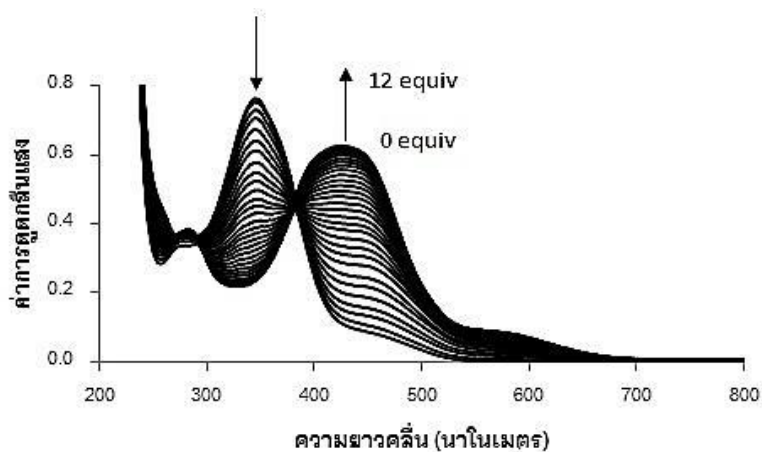
ภาพที่ 4 สเปกตรากการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวตรวจจับ L อัตราความเข้มข้น 0.025 mM และของสารละลาย L เมื่อเติม F^- , CH_3COO^- , H_2PO_4^- , Cl^- และ I^- ความเข้มข้น 0.5 mM (10 mol equiv) ในตัวทำละลาย CH_3CN

จากการศึกษาหาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ L กับ F^- , CH_3COO^- และ H_2PO_4^- ด้วยวิธี continuous variation พบว่าอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของตัวตรวจจับ L กับ F^- มีค่าเท่ากับ 1:2 ในขณะที่อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ L กับ CH_3COO^- และ L กับ H_2PO_4^- มีค่าเท่ากับ 1:1 ดังแสดงในภาพที่ 5



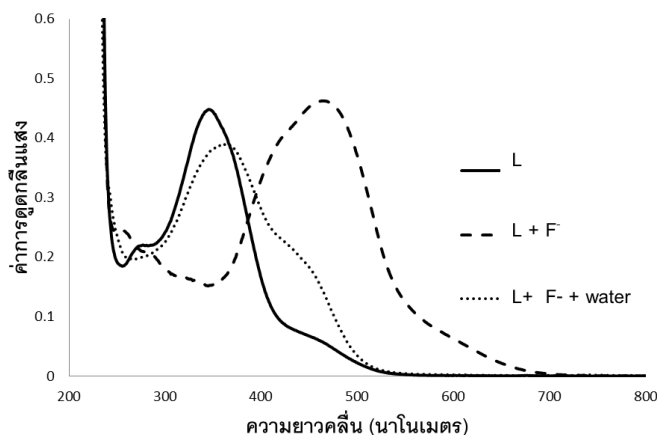
ภาพที่ 5 กราฟแสดงเศษส่วนโมลของตัวตรวจจับ L กับไอออนลบ F^- , CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$ โดยวิธี continuous variation (ความเข้มข้น 0.10 mM ในตัวทำละลาย CH_3CN)

ภาพที่ 6 แสดงตัวอย่างสเปกตรัมการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงที่แปรตามความเข้มข้นของไอออนลบ F^- ที่เติมลงไปโดยวิธีการไทเทรตด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิล เมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาคำนวณค่าคงที่การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนด้วยวิธี nonlinear least-square curve-fitting พบว่า L สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ F^- ได้ดีกว่า CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$ โดยมีค่าคงที่ของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนเท่ากับ $(1.89 \pm 0.12) \times 10^8 M^{-2}$, $(3.50 \pm 0.28) \times 10^4 M^{-1}$ และ $(2.67 \pm 0.40) \times 10^4 M^{-1}$ ตามลำดับ



ภาพที่ 6 สเปกตรัมการเพิ่มขึ้นของค่าดูดกลืนแสงเมื่อมีการเติมสารละลาย F^- (0-12 equiv) ในสารละลาย L ที่ระดับความเข้มข้น 0.025 mM ในตัวทำละลาย CH_3CN

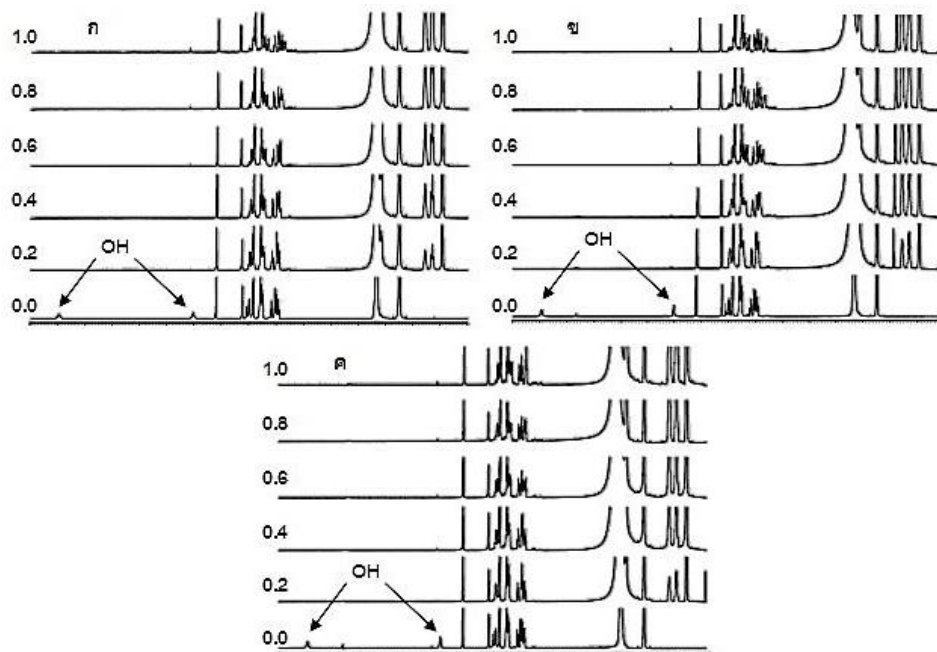
โดยสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุล L ที่สังเคราะห์ขึ้นนี้กับไอออนลบ F^- , CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$ เป็นอันตรกิริยาแบบพันธะไฮโดรเจน ซึ่งสามารถยืนยันได้จากการเติมน้ำซึ่งมีความเป็นขั้วสูงลงในสารประกอบเชิงซ้อนของ L กับ F^- ผลการทดลองพบว่าสีสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเข้มกลับมาเป็นสีเหลืองอ่อน แสดงว่าน้ำเกิดปฏิกิริยาแข่งขันในการเกิดพันธะไฮโดรเจนกับ L แทนไอออนลบ ทำให้สารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง L กับ F^- เกิดการแตกออกแล้วเปลี่ยนกลับมาเป็นรูป L อิสระ ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนที่ความยาวคลื่น 468.5 นาโนเมตรมีค่าลดลง ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 สเปกตรารการดูดกลืนแสงของ L อีสารความเข้มข้น 0.025 mM ในตัวทำละลาย CH_3CN (L) และเมื่อเติม F^- ความเข้มข้น 0.5 mM ในตัวทำละลาย CH_3CN (L + F^-) และเมื่อเติมน้ำลงในสารละลายผสมระหว่าง $\text{L} + \text{F}^-$ (L + F^- + water)

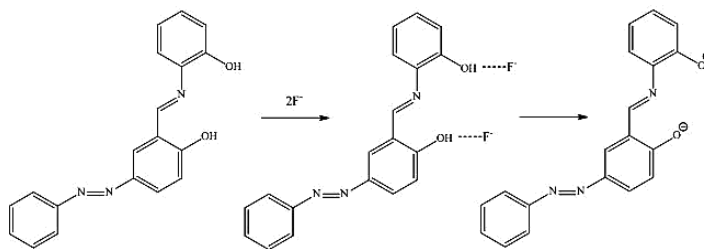
เทคนิค ^1H NMR titrations

การศึกษาอันตรกิริยาระหว่าง L กับ F^- , CH_3COO^- และ H_2PO_4^- อีกวิธีหนึ่งคือการไทเทรตด้วยเทคนิค ^1H -NMR ซึ่งให้ผลการทดลองสอดคล้องกับข้อมูลจากเทคนิคยูวีวิสิเบิล ที่ยืนยันการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่าง L กับไอออนลบ โดยเมื่อเติมไอออนลบที่อัตราส่วนโมล 0.2 ลงในสารละลาย L จะเห็นได้ว่าโปรตอนในหมู่ไฮดรอกซีของฟีนอลหายไป เนื่องจากเกิด deprotonation ลักษณะเช่นนี้เรียกว่าการเกิด through-space effects ส่งผลให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่เข้าไปในวง aromatic ทำให้ aromatic proton (ArH) มีการ shift ไปทาง upfield ลักษณะเช่นนี้เรียกว่าเกิด through-bond effects (Boiocchi *et al.*, 2004; Gunnlangsson *et al.*, 2005; Amendola, 2006) ดังแสดงในภาพที่ 8

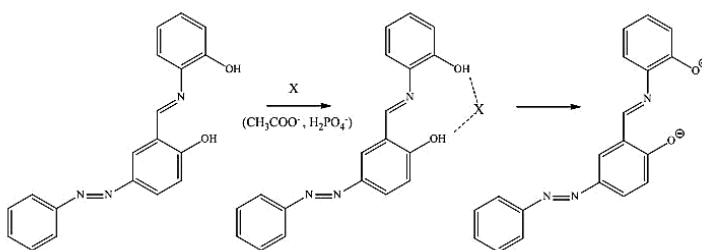


ภาพที่ 8 สเปกตราร ^1H NMR ของสารละลาย L เมื่อเติม (ก) F^- (ข) CH_3COO^- และ(ค) H_2PO_4^- ในอัตราส่วนโมล 0.0 - 1.0 เท่า

จากข้อมูลของเทคนิคยูวีวิสิเบิลและ ^1H NMR titration ที่ยืนยันการเกิดพันธะไฮโดรเจนของ L กับไอออนลบ จึงสามารถเขียนกลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เป็นไปได้ระหว่าง L กับ F^- ดังแสดงในภาพที่ 9 และระหว่าง L กับ CH_3COO^- และ H_2PO_4^- ดังแสดงในภาพที่ 10



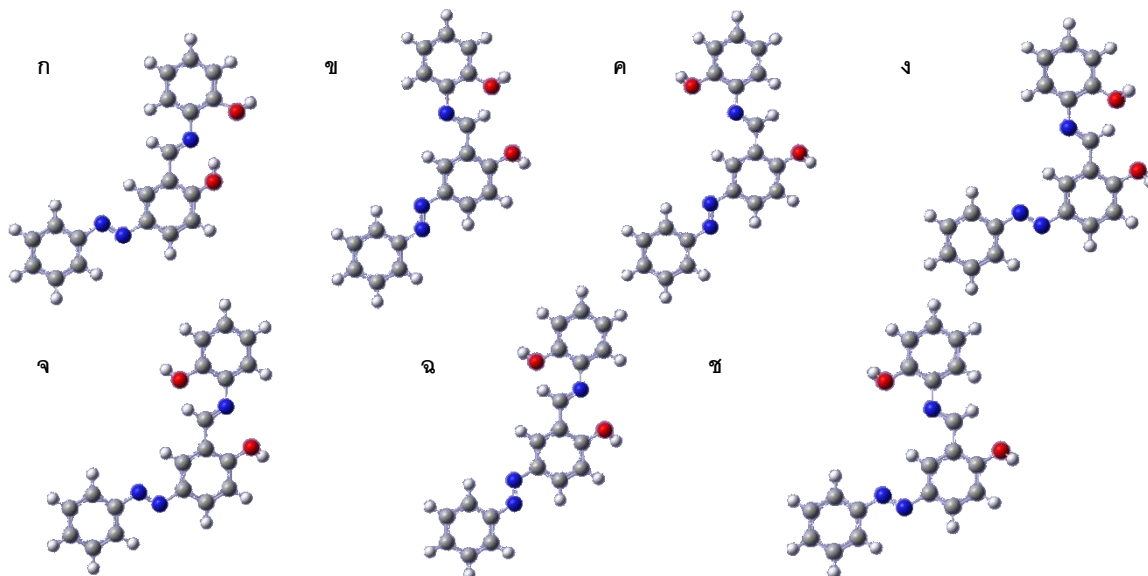
ภาพที่ 9 โครงสร้างการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เป็นไปได้ระหว่างตัวตรวจจับ L กับ F^-



ภาพที่ 10 โครงสร้างการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เป็นไปได้ระหว่างตัวตรวจจับ L กับ CH_3COO^- และ H_2PO_4^-

เทคนิคการคำนวณทางเคมีควอนตัม

จากการศึกษาโครงสร้างที่เป็นไปได้ทั้งหมดของ 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-2-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L) ด้วยระเบียบวิธี B3LYP/6-31G(d,p) พบว่ามีโครงสร้างทั้งหมด 7 โครงสร้าง ดังแสดงในภาพที่ 11 ซึ่งในโครงสร้างแต่ละชนิดจะมีค่าพลังงานสัมพัทธ์ในการเกิดโครงสร้าง L ดังแสดงในตารางที่ 1

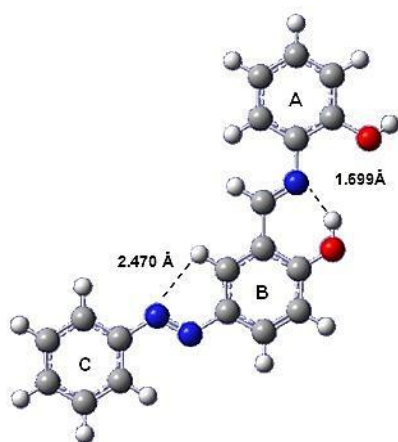


ภาพที่ 11 โครงสร้างที่เป็นไปได้ของ 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-2-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L)

ตารางที่ 1 พลังงานสัมพัทธ์ (kcal/mol) ของโครงสร้าง L ที่ได้จากการคำนวณด้วยระเบียบวิธี B3LYP/6-31G(d,p)

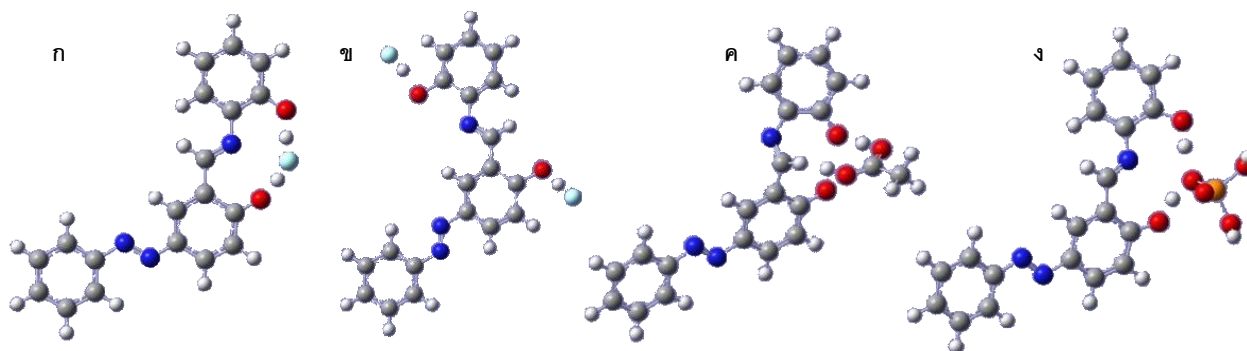
ตัวแปร	โครงสร้าง L (kcal/mol)						
	ก	ข	ค	ง	จ	ฉ	ช
พลังงานสัมพัทธ์	0.00	11.44	11.69	11.87	12.18	15.00	15.19

จากตารางที่ 1 พบว่าโครงสร้างที่เป็นไปได้ทั้งหมดสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 มีโครงสร้าง ก โครงสร้างเดียวและให้พลังงานต่ำที่สุด แสดงว่ามีความเสถียรที่สุดในกลุ่มที่ 2 มี 4 โครงสร้างได้แก่ โครงสร้าง ข ค ง และ จ ซึ่งให้ค่าพลังงานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 11.44-12.18 kcal/mol และกลุ่มที่ 3 มี 2 โครงสร้างซึ่งให้ค่าพลังงานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 15.00-15.19 kcal/mol เมื่อพิจารณาลักษณะโครงสร้างภายในโมเลกุลพบว่าโครงสร้าง ก มีความเสถียรที่สุด เนื่องจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลระหว่าง OH ของวง B กับ N ของวง A นอกจากนี้ยังพบว่ามีพันธะไฮโดรเจนระหว่าง H ของวง B กับ N ของวง C อีกด้วย (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 โครงสร้าง 11(ก) ที่มีความเสถียรมากที่สุด

ในการศึกษาโครงสร้างการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง L กับไอออนลบชนิดต่างๆ ได้แก่ F^- , CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$ ด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ B3LYP/6-31G(d,p) พบว่าโครงสร้างและพลังงานการจับที่เกิดขึ้นกับโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง L กับ F^- มี 2 แบบ คือ แบบ 1:1 (13ก) และ 1:2 (13ข) เมื่อพิจารณาค่าพลังงานการจับสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นมีค่าเท่ากับ -109.26 และ -144.59 kcal/mol ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่าพลังงานการจับในแบบ 1:2 มีค่าพลังงานที่เสถียรมากกว่าแบบ 1:1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองโดยวิธี continuous variation ส่วนโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง L กับ CH_3COO^- (13ค) และ $H_2PO_4^-$ (13ง) เป็นแบบ 1:1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองโดยวิธี continuous variation เช่นเดียวกัน ดังนั้นจะเห็นได้ว่า รูปร่าง ขนาด และค่าอิเล็กทรอนิกส์ของไอออนลบส่งผลต่อพลังงานการจับกับ L โดยพลังงานการจับที่เกิดขึ้นของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง L กับ F^- ดีที่สุดซึ่งมีค่าพลังงานการจับที่ต่ำที่สุดเท่ากับ -144.59 kcal/mol รองลงมาคือ CH_3COO^- และ $H_2PO_4^-$ ซึ่งมีค่าพลังงานการจับเท่ากับ -37.30 และ -31.71 kcal/mol ตามลำดับ



ภาพที่ 13 โครงสร้างการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง L กับไอออนลบ ได้แก่ (ก) F^- แบบ 1:1 (ข) F^- แบบ 1:2 (ค) CH_3COO^- และ (ง) $H_2PO_4^-$

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการนำ 2-((E)-((2-hydroxyphenyl)imino)methyl)-4-((E)-phenyldiazenyl)phenol (L) มาใช้เป็น ตัวตรวจจับสำหรับไอออนลบ โดยโมเลกุล L นี้สามารถสังเคราะห์ได้ง่ายเพียง 2 ขั้นตอน อีกทั้งยังได้ร้อยละผลผลิตสูงและมี ประสิทธิภาพในการตรวจจับ F^- โดยเกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีเหลืองเข้มที่ชัดเจน มีค่าคงที่การ เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสูงที่สุดเท่ากับ $(1.89 \pm 0.12) \times 10^8 M^{-2}$ โดยอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างตัวตรวจจับ L กับ F^- เป็น 1:2 ขณะที่อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างตัวตรวจจับ L กับ CH_3COO^- หรือ $H_2PO_4^-$ เป็น 1:1 ผลของ ^1H-NMR titration สามารถยืนยันการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวตรวจจับ L กับไอออนลบ นอกจากนี้ในการศึกษา โครงสร้างและอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง L กับไอออนลบด้วยระเบียบวิธีการคำนวณ B3LYP/6-31G(d,p) พบว่าพลังงานการ จับที่เกิดขึ้นระหว่าง L กับ F^- มีค่าพลังงานต่ำที่สุดซึ่งบ่งบอกถึงการจับกันได้ดีที่สุดระหว่างโมเลกุลเซ็นเซอร์ L กับ F^- เมื่อเปรียบเทียบกับไอออนลบชนิดอื่น คือ CH_3COO^- หรือ $H_2PO_4^-$ ซึ่งผลการคำนวณที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการทดลอง เป็นอย่างดี

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปีงบประมาณ 2557 และเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2559

เอกสารอ้างอิง

- Amendola, V., Esteban-Gómez, D., Fabbrizzi, L., & Licchelli, M. (2006). What Anions do to N-H-Containing Receptors. *Accounts of Chemical Research*, 39, 343-353.
- Boiocchi, M., Boca, L.D., Gómez, D.E., Fabbrizzi, L., Licchelli, M., & Monzani, E. (2004). Nature of Urea-Fluoride Interaction: Incipient and Definitive Proton Transfer. *Journal of the American Chemical Society*, 126, 16507-16514.

- Chen, C-F., & Chen, Q-Y. (2004). A Tetra-sulfonamide Derivative Bearing Two Dansyl Groups Designed as A New Fluoride Selective Fluorescent Chemosensor. *Tetrahedron Letters*, 45, 3957-3960.
- Dalapati, S., Alam, M.A., Jana, S., & Guchhait, N. (2011). Naked-eye Detection of F⁻ and AcO⁻ Ions by Schiff Base Receptor. *Journal of Fluorine Chemistry*, 132, 536-540.
- Davaraj, S., Saravanakumar, D., & Kandaswamy, M. (2009). Dual Responsive Chemosensors for Anion and Cation: Synthesis and Studies of Selective Chemosensor for F⁻ and Cu(II) Ions. *Sensors and Actuators B*, 136, 13-19.
- Esteban-Go´mez, D., Fabbrizzi, L., & Licchelli, M. (2005). Why, on Interaction of Urea-Based Receptors with Fluoride, Beautiful Colors Develop. *The Journal of Organic Chemistry*, 70, 5717-5720.
- Ghosh, K., & Adhikari, S. (2006). Colorimetric and Fluorescence Sensing of Anions Using Thiourea Based Coumarin Receptors. *Tetrahedron Letters*, 47, 8165-8169.
- Gunnlangsson, T., Kruger, P. E., Jensen, P., Tierney, J., Ali, H.D.P., & Hussey, G.M. (2005). Colorimetric “Naked Eye” Sensing of Anions in Aqueous Solution. *Journal of Organic Chemistry*, 70, 10875-10878.
- Gunnlaugsson, T., Kruger, P.E., Lee, T.C., Parkesh, R., Pfeffer, F.M., & Hussey, G.M. (2003). Dual Responsive Chemosensors for Anions: The Combination of Fluorescent PET (Photoinduced Electron Transfer) and Colorimetric Chemosensors in A Single Molecule. *Tetrahedron Letters*, 44, 6575-6578.
- Hijji, Y. M., Barare, B., Kennedy, A.P., & Butcher, R. (2009). Synthesis and Photophysical Characterization of A Schiff Base as Anion Sensor. *Sensors and Actuators B*, 136, 297-302.
- Hong, S-J., & Lee, C-H. (2012). Nitrovinyl Substituted Calix[4]pyrrole as A Unique, Reaction-Based Chemosensor for Cyanide Anion. *Tetrahedron Letters*, 53, 3119-3122.
- Hoop, M.A.G.T., Cleven, R.F.M.J., Staden, J.J.V., & Neele, J. (1996). Analysis of Fluoride in Rain Water Comparison of Capillary Electrophoresis with Ion Chromatography and Ion-Selective Electrode Potentiometry. *Journal of Chromatography A*, 739, 241-248.
- Kaewtong, C. (2010). Supramolecular Chemistry; Cation and Anion Sensors. *Science Journal Ubon Ratchathani University*, 52-59. (in Thai)
- Kondo, S-I., Suzuki, T., & Yano, Y. (2002). Effect of Hydroxyl Groups in Receptors Bearing Disulfonamide on Anion Recognition in Acetonitrile-*d*₃. *Tetrahedron Letters*, 43, 7059-7061.
- Muensri, P., Tongraung, P., Pingaew, R., Pumsa-ard, K., & Jittangprasert, P. (2013). Synthesis of Bissulfonamide Derivative for Fluoride Sensor. *Srinakharinwirot Science Journal*, 29, 83-94. (in Thai)
- Refat, M.S., El-Deen, I.M., Amin, R.R., & El-Ghol, S. (2010). Spectroscopic Studies and Biological Evaluation of Some Transition Metal Complex of A Novel Schiff Base Ligands Derived From 5-arylaazo-salicyladehtde and o-aminophenol. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 92, 1093-1110.

- Shao, J. (2010). A Novel Colorimetric and Fluorescence Anion Sensor with a Urea Group as Binding and a Coumarin Group as Signal Unit. *Dyes and Pigments*, 87, 272-276.
- Shao, J., Qiao, Y-H., Lin, H., & Lin, H-K. (2008). A Turn-On Fluorescent Anion Receptor Based on N,N'-di- β -Naphthyl-1,10-phenanthroline-2,9-diamide. *Journal of Luminescence*, 128, 1985-1988.
- Tavallali, H., Rad, G.D., Parhami, A., & Abbasiyan, E. (2012). A New Application of Bromopyrogallol Red as A Selective and Sensitive Competition Assay for Recognition and Determination of Acetate Anion in DMSO/Water Media. *Dyes and Pigments*, 94, 541-547.
- Tongraung P., Pansanit, A., Yuanboonlim, W., & Tiyasri, S. (2007). Anion Sensing by N,N-(m-xylylene)-bis-[N-(p-nitrophenyl)]ditthiourea. *Srinakharinwirot Science Journal*, 29, 32-46. (in Thai)
- Zimmermann-Dimer, L.M., & Machado, V.G. (2009). Chromogenic Anionic Chemosensors Based on Protonated Merocyanine Solvatochromic Dyes: Influence of the Medium on the Quantitative and Naked-eye Selective Detectin of Anionic Species. *Dyes and Pigments*, 82, 187-195.