



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การปรับปรุงโครงสร้างของสารกรองรังสียูวีในกลุ่มซินนามेटและไดเบนโซอิลมีเทน

โดย

ดร.ธิดีพันธ์ กาพย์เกิด

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พฤษภาคม 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การปรับปรุงโครงสร้างของสารกรองรังสียูวีในกลุ่มซินนาเมตและไดเบนโซอิล
มีเทน

ผู้วิจัย

ดร.ธิดินันท์ กาพย์เกิด

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นักวิจัยที่ปรึกษา

รศ.ดร.ศุภศร วณิชเวชารุ่งเรือง

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	3
Executive summary	5
บทที่ 1 บทนำ	9
บทที่ 2 วิธีการทดลอง	11
2.1. วัสดุและสารเคมี	12
2.2. เครื่องมือและอุปกรณ์	11
2.3. การสังเคราะห์อนุพันธ์กรดซินนามิก	
2.4. การสังเคราะห์ไซโคลเดกตรินที่มีอนุพันธ์กรดซินนามิกเป็นหมู่แทนที่	13
2.5. การสังเคราะห์อนุพันธ์ซินนามेट	13
2.6. การศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวี	13
2.6.1 ศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ซินนามेटที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน	13
2.6.2 ศึกษาการเกิด inclusion complex ของอนุพันธ์ซินนามेटที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน	13
2.6.3 ศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ซินนามेटที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ	14
2.7. การศึกษาเสถียรภาพต่อการดูดกลืนรังสียูวี	14
2.8. การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์กรดซินนามิก อนุพันธ์ซินนามेट และอนุพันธ์ไซโคลเดกตริน	14
2.9. การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทน	14
2.10. การศึกษาเสถียรภาพของอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนต่อรังสียูวีเอ	15
บทที่ 3 ผลการทดลอง	
3.1. การสังเคราะห์อนุพันธ์กรดซินนามิก	16
3.2. การสังเคราะห์ไซโคลเดกตรินที่มีอนุพันธ์กรดซินนามิกเป็นหมู่แทนที่	17
3.3. การสังเคราะห์อนุพันธ์ซินนามेट	20
3.4. การศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวี	22
3.4.1 ศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ซินนามेटที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน	22
3.4.2 ศึกษาการเกิด inclusion complex ของอนุพันธ์ซินนามेटที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน	23
3.4.3 ศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ซินนามेटที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ	
การศึกษาเสถียรภาพต่อการดูดกลืนรังสียูวี	28

	หน้า
3.5	การศึกษาเสถียรภาพต่อรังสียูวี 29
3.5.1	การศึกษาเสถียรภาพของหมู่ซินนามิลที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน 29
3.5.2	การศึกษาเสถียรภาพของอนุพันธ์ซินนามิตที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ 30
3.6	การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ 31
3.6.1	การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของซินนามิตที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน 31
3.6.2	การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ซินนามิต 31
3.7	การสังเคราะห์อนุพันธ์ไคเบนโซอิลมีเรน 32
3.8	การศึกษาเสถียรภาพของอนุพันธ์ไคเบนโซอิลมีเรนต่อรังสียูวีเอ 35
บทที่ 4	สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 36
ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต 37	
Output จากโครงการวิจัย 38	
เอกสารอ้างอิง 39	
ภาคผนวก 39	
S1	¹ H-NMR spectra ของกรดซินนามิกและอนุพันธ์ซินนามิต 42
S2	¹ H-NMR spectra ของอนุพันธ์ซินนามิกที่ติดลงบนวงไซโคลเดกตริน 51
S3	DSC Chromatogram 55
S4	EI-MS spectra 57
S5	¹ H-NMR spectra concentration dependences ของสารประกอบ 13 59
ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการเรื่อง Synthesis and photostability of methoxycinnamic acid modified cyclodextrin S1	
Abstract เสนอผลงานวิจัยเรื่อง Photostability of Beta-Cyclodextrin Modified with Methoxy Cinnamic Acids S2	
Abstract เสนอผลงานวิจัยเรื่อง Methoxycinnamic acids Modified Cyclodextrins S3	
Proceeding เสนอผลงานวิจัยเรื่อง Calculation of partition coefficient (Log P) of synthesized cinnamic acid and cinnamate derivatives S4	

สารบัญรูป

	หน้า
Figure 1 Absorption (red) and emission (blue) spectra of 66 ppm of beta-CD modified with methoxycinnamic acid in DMSO and 150 ppm of pCMACD and 246CMGCD (green) compared to their parent methoxycinnamic acids (black) in DMSO	23
Figure 2 Absorption spectrum of 13-17 (1×10^{-5} mM) in 10% DMSO (solid line) and DMSO (dashed line). (1= pCMACD, 2= pCMBCD, 3=245CMBCD, 4=246CMBCD and 5=246CMGCD)	23
Figure 3 (a) ^1H ROESY spectrum of 13 (0.03 mM) in a 10% DMSO- d_6 -D ₂ O solution at 27 °C with a mixing time of 800 ms. (b) possible structure of 13 .	24
Figure 4 (a) ^1H ROESY spectrum of 15 (0.03 mM) in a D ₂ O solution at 27 °C with a mixing time of 800 ms. (b) possible structure of 15 .	25
Figure 5 ^1H -NMR spectra of 15 (a) 0.07m (b) 0.15 and (c) 0.2 mM in 10% DMSO- d_6 -D ₂ O 27 °C.	26
Figure 6 ^1H ROESY spectrum of 16 (0.03 mM) in a D ₂ O solution at 27 °C with a mixing time of 800 ms. (b) possible structure of 16 .	27
Figure 7 Proposed structure of intermolecular complexation (left) and intramolecular complexation (right).	28
Figure 8 Normalized absorption of cinnamic acid derivatives and cinnamates derivatives in methanol	29
Figure 9 Photostability of 1×10^{-5} M 13-17 in a 10% DMSO solution compared to their parent cinnamic acids; pCA = 4-methoxycinnamic acid, 245CA = 2,4,5-trimethoxy-cinnamic acid and 246CA = 2,4,6-trimethoxycinnamic acid; 1 = pCMACD, 2 = pCMBCD, 3 =245CMBCD, 4 =246CMBCD and 5 =246CMGCD.	30
Figure 10 Photostability of 3×10^{-5} M of cinnamate derivatives in methanol.	30
Figure 11 Percent cell available against to cinnamate derivatives.	32
Figure 12 Percent cell available against to of 0.25 mg/mL of cinnamate derivatives compared to parent cinnamic acid.	32
Figure 13 ^1H -NMR spectrum of 3-hydroxy-4'-bromodibenzoylmethane (0.45 % yield)	34
Figure 14 ^1H -NMR spectrum of 4-hydroxy-4'-bromodibenzoylmethane (2.17% yield)	34

Figure 15 Absorption spectra of 2×10^{-5} M of commercial dibenzoylmethane (DBM), DBM3 and DBM4 in methanol.

35

Figure 16 Photostability of (1×10^{-5} M) DBM, DBM3 and DBM4 in methanol.

35

สารบัญตาราง

	หน้า
Table 1. Chemical Structure of cinnamic acid derivatives	12
Table 2. Name nomenclatures and percent yield of cinnamic acid derivertives	16
Table 3. Chemical Structures and molecular weight of cyclodextrins modified cinnamic acids	18
Table 4. Name nomenclatures and percent yield of cinnamate derivertives	21
Table 5. IC ₅₀ value of 1 , 3 and 5 of human skin cancer cells compared to their parent cinnamic acids.	31

รหัสโครงการ : MRG5180279

ชื่อโครงการ การปรับปรุงโครงสร้างของสารกรองรังสียูวีในกลุ่มซินนามิตและไดเบนโซอิลมีเทน

ชื่อนักวิจัย ดร. ธิตินันท์ กาพย์เกิด

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ถ. พหลโยธิน จตุจักร กทม. 10900 E-mail Address : fscitnm@ku.ac.th

นักวิจัยที่ปรึกษา: รศ.ดร.ศุภสร วณิชเวชรุ่งเรือง

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระยะเวลาโครงการ 2 ปี: 15 พ.ค. 2551-14 พ.ค. 2553

(บทคัดย่อ)

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์กรดซินนามิกที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ 12 ชนิด โดยเลือกหมู่แทนที่ methoxy 3 ชนิดที่มีขนาดและความเสถียรต่อแสงต่างกันมาทำเป็นอนุพันธ์กับวงไฮโคลเดกตรินได้ 5 ชนิด เมื่อนำอนุพันธ์ซินนามิตที่ติดลงบนไฮโคลเดกตรินขนาดต่างๆกันมาทดสอบการดูดกลืนรังสียูวี พบว่าดูดกลืนรังสีช่วงยูวีเอและบีได้ดีเหมือนกับกรดซินนามิกเริ่มต้น และเมื่อทดสอบเสถียรภาพต่อรังสียูวีบี พบว่าหมู่ซินนามิตที่มีขนาดพอดีกับวงไฮโคลเดกตรินจะมีเสถียรภาพต่อรังสียูวีบีเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิด inclusion complex เข้าไปในวงไฮโคลเดกตริน ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค ROESY และเมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่าซินนามิตที่ติดลงบนไฮโคลเดกตรินมีความเป็นพิษลดลงเมื่อเทียบกับกรดซินนามิกเริ่มต้น นอกจากนี้นำกรดซินนามิกอีก 9 ชนิด ที่มีชนิดและตำแหน่งหมู่แทนที่ต่างๆกัน มาทำเป็นอนุพันธ์ซินนามิต เมื่อศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีพบว่าซินนามิตทั้ง 9 ชนิดสามารถดูดกลืนรังสียูวีบีได้ดี และบางชนิดสามารถดูดกลืนรังสียูวีเอช่วงต้นได้ ได้แก่หมู่แทนที่ 4-hydroxyl และ 4-nitro group เมื่อทดสอบเสถียรภาพต่อรังสียูวีบี พบว่าซินนามิตที่มีหมู่แทนที่ทุกชนิดที่ตำแหน่งที่ meta เสถียรที่สุด ถัดมาคือ para และ ortho ตามลำดับ โดยที่ชนิดของหมู่แทนที่เสถียรมากที่สุดคือ hydroxyl group ซึ่งเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน ขณะที่หมู่ดึงอิเล็กตรอน nitro และ fluoro มีความเสถียรต่อแสงน้อยกว่า เมื่อนำอนุพันธ์ซินนามิตไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่า มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าอนุพันธ์ซินนามิกเริ่มต้น และหมู่แทนที่ที่มีความเป็นพิษน้อยที่สุดคือหมู่ hydroxyl group

(คำหลัก): กรดซินนามิก ซินนามิต ไฮโคลเดกตริน สารกรองรังสียูวี โฟโตไอโซเมอร์ไรเซชัน

Project Code : MRG5180279

Project Title : Structure Modification of Cinnamates and Dibenzoylmethanes UV-Filters

Investigator : Thitinun Karpkird, Ph.D

Department of Chemistry, Faculty of Science, Kasetsart University
Phahonyothin Rd. Chatuchak Bangkok 10900

Mentor: Assoc. Prof. Supason Wanichweacharungruang, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science,
Chulalongkorn University, Phayathai, Bangkok 10330

Project Period : 2 Years: 15 May 2008- 14 May 2010

Abstract:

Various cyclodextrins, alpha, beta and gamma, were esterified with 4-methoxy-, 2,4,5- and 2,4,6- trimethoxycinnamic acids. Upon esterification with beta-cyclodextrin, the photostability of 2,4,5-trimethoxycinnamate increased while no improvement was observed for 4-methoxycinnamate and 2,4,6-trimethoxycinnamate. However, increase in the photostability of 4-methoxycinnamoyl moiety could be observed when esterified with alpha-CD and that of 2,4,6-trimethoxycinnamoyl moiety could be observed after being esterified with gamma-CD. These photostability data together with the 2D-NMR analyses indicated that the 4-methoxycinnamoyl, 2,4,5-trimethoxycinnamoyl and 2,4,6-trimethoxy cinnamoyl moieties could enter the alpha-CD, the beta-CD, and the gamma-CD cavities, respectively. Moreover, nine cinnamate derivatives were esterified with 2-ethylhexanol. The UV-profile of these nine cinnamates derivatives show absorption in UVB region. The photostability test indicated that all meta substituents show more stable than para-, and ortho- substitution, respectively. The cytotoxic test against human cancer cells was studied. As a result, all parent cinnamic acids show less toxic than cinnamate derivatives probably due to more polarity of cinnamic acids could not penetrate into cell membrane as well as less polarity of 2-ethylhexyl moiety of cinnamates. In addition, cinnamate with hydroxyl group display less toxic than other electron withdrawing groups.

Keywords : cinnamic acid, cinnamates, cyclodextrins, UV-filters, photoisomerization

Abstract:

Various cyclodextrins, alpha, beta and gamma, were esterified with 4-methoxy-, 2,4,5- and 2,4,6- trimethoxycinnamic acids. Upon esterification with beta-cyclodextrin, the photostability of 2,4,5-trimethoxycinnamate increased while no improvement was observed for 4-methoxycinnamate and 2,4,6-trimethoxycinnamate. However, increase in the photostability of 4-methoxycinnamoyl moiety could be observed when esterified with alpha-CD and that of 2,4,6-trimethoxycinnamoyl moiety could be observed after being esterified with gamma-CD. These photostability data together with the 2D-NMR analyses indicated that the 4-methoxycinnamoyl, 2,4,5-trimethoxycinnamoyl and 2,4,6-trimethoxy cinnamoyl moieties could enter the alpha-CD, the beta-CD, and the gamma-CD cavities, respectively. Moreover, nine cinnamate derivatives were esterified with 2-ethylhexanol. The UV-profile of these nine cinnamates derivatives show absorption in UVB region. The photostability test indicated that all meta substituents show more stable than para-, and ortho- substitution, respectively. The cytotoxic test against human cancer cells was studied. As a result, all parent cinnamic acids show less toxic than cinnamate derivatives probably due to more polarity of cinnamic acids could not penetrate into cell membrane as well as less polarity of 2-ethylhexyl moiety of cinnamates. In addition, cinnamate with hydroxyl group display less toxic than other electron withdrawing groups.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์กรดซินนามิกที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ 12 ชนิด โดยเลือกหมู่แทนที่ methoxy 3 ชนิดที่มีขนาดและความเสถียรต่อแสงต่างกันมาทำเป็นอนุพันธ์กับวงไซโคลเดกตรินได้ 5 ชนิด เมื่อนำอนุพันธ์ซินนามาเมตที่ติดลงบนไซโคลเดกตรินขนาดต่างๆกันมาทดสอบการดูดกลืนรังสียูวี พบว่าดูดกลืนรังสีช่วงยูวีเอและบีได้ดีเหมือนกับกรดซินนามิกเริ่มต้น และเมื่อทดสอบเสถียรภาพต่อรังสียูวีบี พบว่าหมู่ซินนามาโมอิลที่มีขนาดพอดีกับวงไซโคลเดกตรินจะมีเสถียรภาพต่อรังสียูวีบีเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิด inclusion complex เข้าไปในวงไซโคลเดกตริน ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค ROESY และเมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่าซินนามาโมอิลที่ติดลงบนไซโคลเดกตรินมีความเป็นพิษลดลงเมื่อเทียบกับกรดซินนามิกเริ่มต้น นอกจากนี้นำกรดซินนามิกอีก 9 ชนิด ที่มีชนิดและตำแหน่งหมู่แทนที่ต่างๆกัน มาทำเป็นอนุพันธ์ซินนามาเมต เมื่อศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีพบว่าซินนามาเมตทั้ง 9 ชนิดสามารถดูดกลืนรังสียูวีบีได้ดี และบางชนิดสามารถดูดกลืนรังสียูวีเอช่วงต้นได้ ได้แก่หมู่แทนที่ 4-hydroxyl และ 4-nitro group เมื่อทดสอบเสถียรภาพต่อรังสียูวีบี พบว่าซินนามาเมตที่มีหมู่แทนที่ทุกชนิดที่ตำแหน่งที่ meta เสถียรที่สุด ถัดมาคือ para และ ortho ตามลำดับ โดยที่ชนิดของหมู่แทนที่เสถียรมากที่สุดคือ hydroxyl group ซึ่งเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน ขณะที่หมู่ดึงอิเล็กตรอน nitro และ fluoro มีความ

เสถียรต่อแสงน้อยกว่า เมื่อนำอนุพันธ์ซินนามेटไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่า มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าอนุพันธ์ซินนามิกเริ่มต้น และหมู่แทนที่ที่มีความเป็นพิษน้อยที่สุดคือหมู่ hydroxyl group

หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary)

ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การปรับปรุงโครงสร้างของสารกรองรังสียูวีในกลุ่มซินนามेटและ
ไดเบนโซอิลมีเทน

(ภาษาอังกฤษ) Structural Modification of Cinnamate and
Dibenzoylmethane UV-filters

หัวหน้าโครงการวิจัย	ดร.ธิตินันท์ กาพย์เกิด (Thitinun Karpkird, Ph.D.)
คุณวุฒิ	ปริญญาเอก (เคมี)
ตำแหน่ง	อาจารย์
หน่วยงานต้นสังกัด	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 50 ถ. พหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กทม. 10900
โทรศัพท์/โทรสาร	โทรศัพท์ 02-562-5555 ต่อ 2134 โทรสาร 02-562-5555 ต่อ 2119
Email	fscitnm@ku.ac.th

นักวิจัยที่ปรึกษา	รศ.ดร.ศุภสร วณิชเวชารุ่งเรือง (Assoc. Prof. Supason Wanichweacharunguang, Ph.D)
คุณวุฒิ	Ph.D (Chemistry)
ตำแหน่ง	อาจารย์
หน่วยงานต้นสังกัด	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กทม. 10330
โทรศัพท์/โทรสาร	0-2218-7634
Email	psupason@chula.ac.th

ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา

การป้องกันอันตรายจากรังสียูวีที่นิยมในปัจจุบันวิธีหนึ่งคือการใช้สารกันแดด ที่นิยมใช้คือ 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate เป็นสารกรองรังสียูวีบี และ dibenzoylmethane เป็นสารกรองรังสียูวีเอ ซึ่งปัญหาของสารกันแดดที่พบในปัจจุบันคือ เสถียรภาพของสารเหล่านี้ลดลงเมื่อถูกกลืนรังสียูวี โดยการเปลี่ยนรูปแบบของโครงสร้างหรือเกิดเป็นสารประกอบชนิดอื่น ซึ่งมีประสิทธิภาพในการดูดกลืนรังสียูวีลดลง มีผู้วิจัยศึกษาการปรับปรุงโครงสร้างของสารประกอบทั้งสองชนิดนี้แต่ยังมีไม่มากนักและยังไม่ให้ผลดีเท่าที่ควร กล่าวคือซินนามेटและไดเบนโซอิลมีเทนที่ทำการปรับปรุงโครงสร้างบางตำแหน่งยังไม่เสถียรต่อรังสียูวีเท่าที่ควร นอกจากนี้ยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาถึงผลของชนิดและตำแหน่งของหมู่แทนที่ของอนุพันธ์ซินนามेट ตลอดจนมี

ผู้วิจัยศึกษาถึงการนำไซโคลเดกตรินซึ่งเป็นโอลิโกเมอร์ของน้ำตาลที่ได้จากธรรมชาติ มาใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารกรองรังสียูวีบางชนิด โดยสารกรองรังสียูวีจะเกิดแรงยึดเหนี่ยวชั่วคราวในช่องว่างของไซโคลเดกตริน ช่วงระยะเวลาหนึ่ง แต่แรงยึดเหนี่ยวดังกล่าวไม่เสถียรเมื่อสารประกอบเชิงซ้อนอยู่ในสารละลายทำให้สารกรองรังสียูวีหลุดออกและเปลี่ยนโครงสร้างเมื่อถูกกลืนรังสียูวี ทำให้ประสิทธิภาพในการดูดกลืนรังสียูวีลดลงเช่นเดิม ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาคุณสมบัติการดูดกลืนรังสียูวีและเสถียรภาพของซินนามิตและไอบีนโซลมีเรนที่ปรับปรุงโครงสร้างและนำสารกรองรังสียูวีที่ปรับปรุงโครงสร้างแล้วบางชนิดมาติดลงบนไซโคลเดกตรินโดยทำให้เกิดพันธะถาวร โดยคาดว่าจะช่วยเพิ่มเสถียรภาพในการดูดกลืนรังสียูวีได้มากขึ้น

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีและความเสถียรต่อแสงของอนุพันธ์ซินนามิตที่มีหมู่แทนที่ต่าง ๆ
2. ศึกษาผลของไซโคลเดกตรินที่มีต่อเสถียรภาพของหมู่ซินนามิต
3. ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ซินนามิตที่มีไซโคลเดกตรินและไม่มีไซโคลเดกตริน
4. ศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีและความเสถียรต่อแสงของอนุพันธ์ไอบีนโซลมีเรน

ระเบียบวิธีวิจัย

1. สังเคราะห์อนุพันธ์กรดซินนามิก
2. สังเคราะห์ไซโคลเดกตรินที่มีอนุพันธ์ของกรดซินนามิกเป็นหมู่แทนที่
3. สังเคราะห์อนุพันธ์ซินนามิต
4. ศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ไซโคลเดกตรินและอนุพันธ์ซินนามิต รวมทั้งศึกษาการเกิด inclusion complex ของหมู่ซินนามิตที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน
5. ศึกษาเสถียรภาพของอนุพันธ์ไซโคลเดกตรินและอนุพันธ์ซินนามิต
6. ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ไซโคลเดกตรินและอนุพันธ์ซินนามิต
7. สังเคราะห์อนุพันธ์ไอบีนโซลมีเรน
8. ศึกษาเสถียรภาพของอนุพันธ์ไอบีนโซลมีเรนต่อรังสียูวีเอ
9. สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการสังเคราะห์กรดซินนามิกทั้งหมด 12 ชนิดที่มีหมู่แทนที่ต่าง ๆ กัน ได้แก่ หมู่ให้อิเล็กตรอน methoxy ($-\text{OCH}_3$) และ hydroxy group ($-\text{OH}$) หมู่ดึงอิเล็กตรอน nitro ($-\text{NO}_2$) และ fluoro group ($-\text{F}$) ที่ตำแหน่งต่างกันได้แก่ ortho meta และ para จากนั้นได้เลือกกรดซินนามิกที่มีหมู่แทนที่ methoxy ที่มีขนาดต่างกัน ได้แก่ 4-methoxycinnamic acid มีขนาดเล็กที่สุด ถัดมาคือ 2,4,5-trimethoxycinnamic acid และ 2,4,6-trimethoxycinnamic acid มี

ขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับ มาติดลงบนไซโคลเดกตรินที่มีขนาดต่างๆ เช่นกัน ได้แก่ alpha- beta- และ gamma- เพื่อศึกษาเสถียรภาพต่อไป เนื่องจากการศึกษาถึงเสถียรภาพของอนุพันธ์กรดซินนามิกที่มี methoxy group เป็นหมู่แทนที่มาก่อนหน้านี้แล้ว และนำอนุพันธ์กรดซินนามิกที่เหลืออีก 9 ชนิด เตรียมเป็นเอสเทอร์กับ 2-ethylhexanol เนื่องจากสารกรรงรังสียูวีในห้องทดลองใช้หมู่นี้เป็นหมู่แทนที่ จากนั้นนำอนุพันธ์กรดซินนามิกทั้งหมดมาศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวี ได้ผลการทดลองดังนี้

การศึกษาสมบัติของอนุพันธ์กรดซินนามิกที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน

1. ศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีของใน DMSO และ 10%DMSO-H₂O พบว่าสารประกอบดังกล่าวสามารถดูดกลืนรังสียูวีในช่วงที่เป็นอันตรายได้ดี นอกจากนี้ความมีขั้วที่ต่างกันของตัวทำละลายสองชนิดสามารถใช้อธิบายการเกิด inclusion complex ของหมู่ methoxycinnamoyl กับวง cyclodextrin ได้ กล่าวคือ ในกรณี beta-cyclodextrin พบว่าการดูดกลืนรังสียูวีของหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl เกิด red shift เมื่อเพิ่มขั้วของตัวทำละลาย แสดงให้เห็นว่าหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl อยู่นอกวง beta-cyclodextrin ขณะที่การดูดกลืนรังสียูวีของสารประกอบอื่นๆเกิด blue shift เมื่อเพิ่มขั้วของตัวทำละลาย แสดงให้เห็นว่าหมู่ 4-methoxycinnamoyl ของ **13** และ **14** อยู่ในวง alpha- และ beta-cyclodextrin หมู่ 2,4,5-trimethoxycinnamoyl อยู่ในโพรงของ beta-cyclodextrin และหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl อยู่ในโพรงของ gamma-cyclodextrin แต่ในกรณีของสารประกอบ **14** การดูดกลืนรังสียูวีในตัวทำละลายทั้งสองมีลักษณะคล้ายกัน สามารถสรุปได้ว่าหมู่ p-methoxycinnamoyl ดังกล่าวอาจจะเคลื่อนที่เข้า-ออก โพรง beta-cyclodextrin ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้ลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีมีลักษณะคล้ายกัน

2. ศึกษาความเสถียรต่อรังสียูวีใน 10%DMSO-H₂O พบว่า methoxycinnamoyl ที่มีขนาดพอดีกับวง cyclodextrin มีความเสถียรมากขึ้นเมื่อเทียบกับกรดซินนามิกเริ่มต้นที่ยังไม่ได้ติดลงบนไซโคลเดกตริน

3. ศึกษาตำแหน่งการเกิด inclusion complex ของหมู่ methoxycinnamoyl กับวง cyclodextrin โดยเทคนิค 2D-NMR ROESY ใน D₂O พบว่าสามารถเห็น correlation ระหว่างหมู่ 4-methoxycinnamoyl กับวง alpha-cyclodextrin หมู่ 2,4,5-trimethoxy เห็น correlation กับวง beta-cyclodextrin แสดงให้เห็นว่าหมู่ cinnamoyl ทั้งสองหมู่ที่กล่าวมา สามารถเข้าไปอยู่ในโพรงของ cyclodextrin ที่มีขนาดเหมาะสมได้ และเห็น correlation ของหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl เพียงครั้งหนึ่งกับวง beta-cyclodextrin แสดงให้เห็นว่าวง beta-cyclodextrin มีขนาดเล็กเกินไปสำหรับหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl ซึ่งมีความเกะกะมาก แต่เมื่อวิเคราะห์โดยใช้ gamma-cyclodextrin ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น พบว่าการละลายในน้ำน้อยมาก จึงไม่สามารถวิเคราะห์ได้

4. ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าเมื่อติดหมู่ methoxycinnamoyl ลงบน cyclodextrin แล้วมีความเป็นพิษน้อยกว่ากรดซินนามิกเริ่มต้น อาจจะเนื่องมาจากขนาดที่ใหญ่ขึ้นทำให้ซึมผ่านชั้นผนังเซลล์ได้ยาก จึงมีความเป็นพิษลดลง

การศึกษาสมบัติของอนุพันธ์ 2-ethylhexylcinnamate

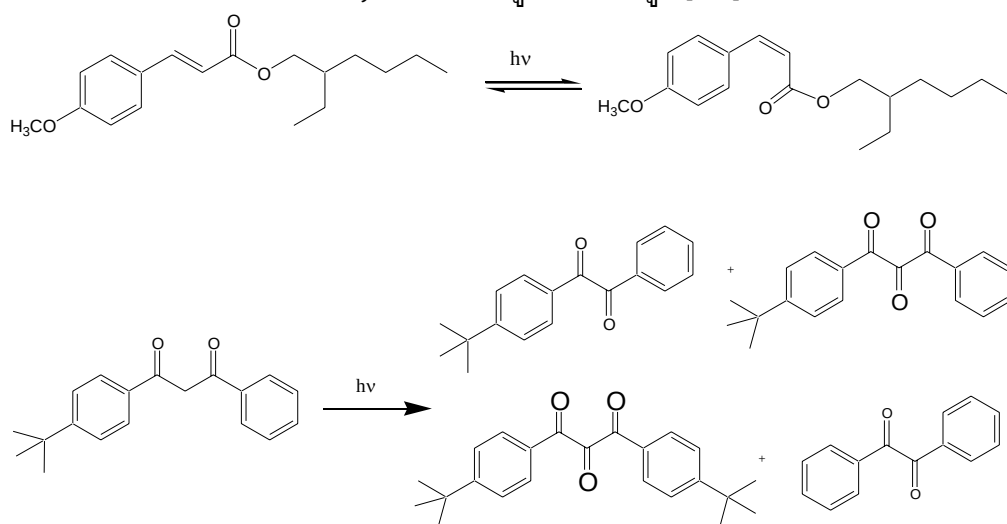
1. ศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีพบว่าอนุพันธ์ทั้ง 9 ชนิดสามารถดูดกลืนรังสีช่วงยูวีได้ดี มีบางชนิดเช่น 4-hydroxy และ 4-nitro สามารถดูดกลืนครอบคลุมถึงช่วงต้นของรังสียูวีเอได้
2. ศึกษาความเสถียรต่อรังสียูวีพบว่าตำแหน่งของหมู่แทนที่มีผลต่อความเสถียรมากกว่าชนิดของหมู่แทนที่ กล่าวคืออนุพันธ์ซินนามेटที่มีหมู่แทนที่ทุกชนิดที่ตำแหน่ง meta มีความเสถียรต่อรังสียูวีมากกว่าหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง para และ ortho ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลของหมู่แทนที่พบว่า hydroxy ค่อนข้างเสถียรมากกว่าอนุพันธ์ซินนามेटที่มีหมู่ nitro และ fluoro
3. เมื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่าอนุพันธ์กรดซินนามิกมีความเป็นพิษน้อยกว่าอนุพันธ์ซินนามेटที่อยู่ในรูปเอสเทอร์ เนื่องจากความมีขั้วของกรดซินนามิกมากกว่า ดังนั้นความสามารถในการแทรกซึมผ่านชั้นผนังเซลล์ลดลง จึงมีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่าอนุพันธ์ซินนามेट

นอกจากนี้ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนตามที่ได้เสนอไป 2 วิธีแต่พบปัญหาในการสังเคราะห์คือไม่สามารถสังเคราะห์ได้ผลิตภัณฑ์ตามต้องการ มีสารตั้งต้นเหลืออยู่ จึงได้เปลี่ยนวิธีการสังเคราะห์ใหม่เป็นวิธีที่ 3 คือใช้เบสที่มีความแรงมากขึ้นคือ LiHMDS ได้อนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทน 2 ชนิดคือ 3-hydroxy-4'-bromo-dibenzoylmethane (DBM3, 0.45 % yield) และ 4-hydroxy-4'-bromodibenzoylmethane (DBM4, 2.17% yield) แต่มี %yield น้อยมาก ไม่สามารถนำไปทำปฏิกิริยาต่อกับ cyclodextrin ตามที่เสนอไว้ได้ จึงได้นำมาเมื่อศึกษาเสถียรภาพเปรียบเทียบกับ DBM ที่ใช้ในท้องตลาด โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ฉายรังสียูวีเอเป็นเวลา 15 30 และ 60 นาที จึงนำไปวัดการดูดกลืนรังสียูวีที่ความยาวคลื่นที่สูงที่สุด (λ_{max}) พบว่า **DBM3** มีเสถียรภาพใกล้เคียงกับ **DBM** ส่วน **DBM4** มีความเสถียรลดลง ทั้งนี้จะเนื่องมาจากเมื่อเปลี่ยนหมู่ OCH_3 (ใน **DBM**) เป็น OH แล้วมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยามากขึ้น จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาและสลายตัวเมื่อโดนแสงยูวีได้ง่ายขึ้น

บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบันมีรายงานการวิจัยพบว่า แสงแดดซึ่งมีรังสียูวีเป็นองค์ประกอบนั้น เป็นสาเหตุสำคัญในการทำลายเซลล์ต่างๆในร่างกาย โดยเฉพาะเซลล์ผิวหนัง ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิด การไหม้บนผิวหนัง การเกิดริ้วรอย การลดลงของภูมิคุ้มกัน ตลอดจนการเกิดมะเร็งผิวหนัง รังสียูวีบี (280-320 nm) พบว่าสามารถทำลายดีเอ็นเอได้โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของส่วนประกอบของดีเอ็นเอ ทำให้การทำงานของดีเอ็นเอผิดปกติ ส่วน รังสียูวีเอ (320-400 nm) พบว่าสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจนซึ่งว่องไวในการทำปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์ในร่างกายต่อไป ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งผิวหนัง [1-3] การป้องกันรังสียูวีที่นิยมวิธีหนึ่งคือการใช้สารกันแดด สารกรองรังสียูวีซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญใน สารกันแดด ได้แก่ 2-เอทิลเฮกซิลพาราเมทอกซีซินนามเตต (2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate) ซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดกลืนรังสียูวีบี (280-320 nm) ได้เป็นอย่างดี 4-บิวทิลไดเบนโซอิลมีเทน (4-butylidibenzoylmethane) เป็นสารกรองรังสียูวีเอ ที่นิยมใช้อยู่ใน ท้องตลาดปัจจุบัน นอกจากนี้มีการสังเคราะห์สารประกอบในกลุ่มซินนามเตตอื่นๆ ซึ่ง สารประกอบซินนามเตตบางตัวสามารถดูดกลืนได้ทั้งรังสียูวีบี และรังสียูวีเอ (320-400 nm) แต่มี ผู้วิจัยพบว่า 2-เอทิลเฮกซิลพาราเมทอกซีซินนามเตต สามารถเปลี่ยนโครงสร้างแบบทราน (trans-configuration) ไปเป็นซิส (cis-configuration) หลังจากดูดกลืนรังสียูวี ทำให้ ประสิทธิภาพของการดูดกลืนรังสียูวีลดลงมาก ในทำนองเดียวกัน 4-บิวทิลไดเบนโซอิลมีเทน สลายตัวให้ผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นๆ ได้หลังจากดูดกลืนรังสียูวี [4-6] ดังสมการ



Nogueira M.A. และคณะ [7] ปรับปรุงโครงสร้างของไดเบนโซอิลมีเทนโดยการเติมหมู่ แอลคิลระหว่างหมู่คาร์บอนิล พบว่าอนุพันธ์ของไดเบนโซอิลมีเทนดังกล่าวยังคงไม่เสถียรต่อแสง ยูวี แต่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ ดังนั้นจึงมีรายงานการวิจัยที่พยายามจะเพิ่ม เสถียรภาพของสารกรองรังสียูวีเหล่านี้โดยใช้ไซโคลเดกสตริน (cyclodextrin) ซึ่งเป็นสารประกอบ ที่ได้จากแป้ง มีลักษณะเป็นโค่น มีโพรงตรงกลาง เกิดจากการที่น้ำตาลกลูโคสมาต่อกัน 6 7

หรือ 8 โมเลกุล ซึ่งสารกรองรังสียูวีเหล่านี้สามารถเกิดแรงยึดเหนี่ยวกับไซโคลเดกตรินเมื่อเข้าไปอยู่ในโพรงได้ และไม่ทำให้เกิดการแพ้หรือความเป็นพิษกับร่างกายมนุษย์ Syamala M. S. และคณะ [8] ศึกษาการเกิด ทราน-ซิส โพโตไอโซเมอไรเซชัน (photoisomerization) ของอนุพันธ์ของซินนาเมตโดยมีเบต้า-ไซโคลเดกตรินเป็นองค์ประกอบ พบว่า ไม่มีความแตกต่างของอัตราการเปลี่ยนคอนฟิกูเรชันจากทรานเป็นซิสในสภาวะที่มีไซโคลเดกตรินและไม่มีไซโคลเดกตริน เช่นเดียวกันกับ Biloto D.N. และคณะ [9] ได้ศึกษาผลของการใช้เบต้าไซโคลเดกตรินในการเพิ่มเสถียรภาพของบิวทิลเมทิลไดเบนโซอิลมีเทน ซึ่งเป็นสารกรองรังสียูวีที่นิยมใช้ในท้องตลาด พบว่าเบต้าไซโคลเดกตรินไม่สามารถเพิ่มเสถียรภาพของสารกรองรังสียูวีดังกล่าวได้ เนื่องจากการเกิดแรงยึดเหนี่ยวของสารกรองรังสียูวีและไซโคลเดกตรินลดลงเมื่ออยู่ในสารละลาย ทำให้สารกรองรังสียูวีเหล่านี้อยู่ในโพรงของไซโคลเดกตรินได้ช่วงเวลาหนึ่งและหลุดออก จึงมีผลทำให้สารเหล่านี้เปลี่ยนโครงสร้างเมื่อถูกคลื่นรังสียูวีได้ นอกจากนี้ Scalia S. และคณะ [10-11] ศึกษาผลของการใช้ไซโคลเดกตรินเพิ่มเสถียรภาพของ 4-เมทิลเบนซิลิดีนแคมฟอร์ (4-methylbenzylidene camphor) ซึ่งเป็นสารกรองรังสียูวีที่นิยมอีกชนิดหนึ่ง พบว่า 4-เมทิลเบนซิลิดีนแคมฟอร์ ที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไซโคลเดกตรินมีเสถียรภาพเพิ่มขึ้นสามเท่า เมื่อศึกษาการซึมผ่านผิวหนังพบว่าไซโคลเดกตรินไม่มีผลต่อการช่วยลดการซึมผ่านผิวหนังของสารดังกล่าว

จากงานวิจัยที่กล่าวมานี้พบว่า มีผู้ศึกษาการปรับปรุงโครงสร้างของสารกรองรังสียูวีโดยเตรียมเป็นอนุพันธ์ต่างๆ [12] ยังไม่มากและยังได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร งานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งศึกษาการเพิ่มเสถียรภาพของสารกรองรังสียูวี โดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไซโคลเดกตริน ซึ่งเป็นการเกิดแรงยึดเหนี่ยวช่วงระยะเวลาหนึ่ง และหลุดออกมา ทำให้สารกรองรังสียูวีดังกล่าวยังคงมีการสลายตัวหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และซึมผ่านชั้นผิวหนัง [13-14] มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการกรองรังสียูวีลดลงเช่นเดิม ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษา การเตรียมอนุพันธ์ของซินนาเมตและไดเบนโซอิลมีเทนขึ้นมาใหม่ และนำอนุพันธ์ของสารประกอบดังกล่าวบางชนิดมาติดลงบนไซโคลเดกตรินโดยการทำให้เกิดพันธะอย่างถาวร โดยคาดว่าจะทำให้การเพิ่มเสถียรภาพในการกรองรังสียูวีได้มากขึ้นกว่าเดิม และเนื่องจากสารประกอบดังกล่าวมีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น จะทำให้ลดการซึมผ่านลงสู่ชั้นผิวหนังได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีและความเสถียรต่อแสงของอนุพันธ์ซินนาเมตที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ
2. ศึกษาผลของไซโคลเดกตรินที่มีต่อเสถียรภาพของหมู่ซินนาเมต
3. ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ซินนาเมตที่มีไซโคลเดกตรินและไม่มีไซโคลเดกตริน
4. ศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีและความเสถียรต่อแสงของอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทน

บทที่ 2

วิธีทดลอง

2.1. วัสดุและสารเคมี

- 1) 2-hydroxybenzaldehyde (Acros)
- 2) 3-hydroxybenzaldehyde (Acros)
- 3) 4-hydroxybenzaldehyde (Acros)
- 4) 2-nitrobenzaldehyde (Acros)
- 5) 3-nitrobenzaldehyde (Acros)
- 6) 4-nitrobenzaldehyde (Acros)
- 7) 2-fluorobenzaldehyde (Acros)
- 8) 3-fluorobenzaldehyde (Acros)
- 9) 4-fluorobenzaldehyde (Acros)
- 10) malonic acid (Fluka)
- 11) pyridine (Acros)
- 12) piperidine (Sigma)
- 13) alpha-cyclodextrin (Aldrich)
- 14) beta-cyclodextrin (Aldrich)
- 15) gamma-cyclodextrin (Thai Isekyi)
- 16) 4-(dimethylamino) pyridine (DMAP) (Sigma)
- 17) dichloromethane, ethylacetate, hexane, pentane, methanol, ethanol, dimethylsulfoxide, N,N-dimethylformamide (AR grade, Labscan)
- 18) 2-ethylhexanol (Fluka)
- 19) conc.HCl (Acros)
- 20) Lithium bis(trimethylsilyl)amide (LiHMDS) (Acros)
- 21) 2-hydroxybenzoic acid (Acros)
- 22) 3-hydroxybenzoic acid (Acros)
- 23) 4-hydroxybenzoic acid (Acros)
- 24) 4-tert-butylacetophenone (Acros)
- 25) 4-bromoacetophenone (Acros)
- 26) oxalylchloride (Acros)
- 27) Sodiumhydroxide (Acros)
- 28) chloroform-d (CDCl_3) (Arenda)
- 29) dimethylsulfoxide- d_6 ($\text{DMSO-}d_6$) (Arenda)
- 30) deuteriumoxide (D_2O) (Arenda)

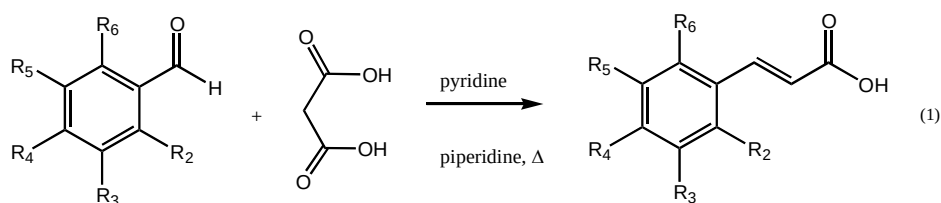
2.2. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) Thin-Layer Chromatography
- 2) VARIAN^{unity} INOVA 400 MHz Nuclear Magnetic Resonance (NMR)
- 3) Perkin Elmer, DSC 7 Differential Scanning Calorimeter
- 4) UV-Vis spectrophotometer (Perkin-Elmer, CT, USA)
- 5) quartz cell (light path 10 mm)

วิธีการทดลอง

2.3. การสังเคราะห์อนุพันธ์กรดซินนามิก

สังเคราะห์อนุพันธ์กรดซินนามิก โดยใช้ปฏิกิริยา Knoevenagel Condensation [15] ระหว่างอนุพันธ์ benzaldehyde ที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ ทำปฏิกิริยากับ malonic acid โดยมี pyridine เป็นตัวทำละลายและ piperidine เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา รีฟลักซ์ 3.5 ชั่วโมงที่ 70 °C ตามสมการ



โครงสร้างของอนุพันธ์กรดซินนามิก แสดงใน Table 1

วิเคราะห์และยืนยันโครงสร้างของอนุพันธ์กรดซินนามิกที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค ¹H-NMR

Table 1 Chemical Structure of cinnamic acid derivatives

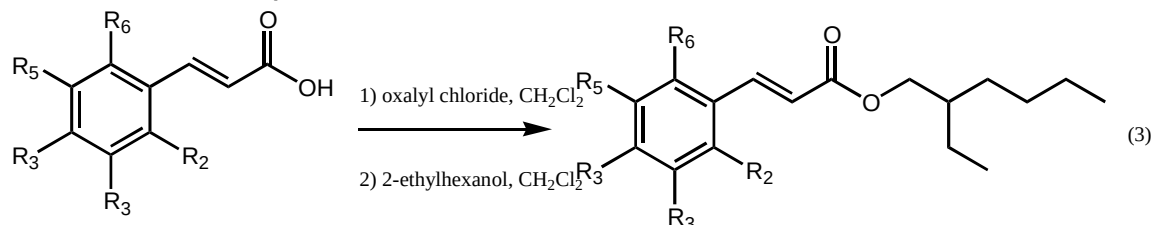
cpds	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
1	H	H	OCH ₃	H	H
2	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H
3	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃
4	OH	H	H	H	H
5	H	OH	H	H	H
6	H	H	OH	H	H
7	F	H	H	H	H
8	H	F	H	H	H
9	H	H	F	H	H
10	NO ₂	H	H	H	H
11	H	NO ₂	H	H	H
12	H	H	NO ₂	H	H

2.4 การสังเคราะห์ไซโคลเดกตรินที่มีอนุพันธ์ของชินนามิกเป็นหมู่แทนที่



นำอนุพันธ์กรดซินนามิก **1-3** ทำปฏิกิริยา esterification กับ cyclodextrin โดยใช้ DMAP เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และ pyridine ทำปฏิกิริยาที่ 0 °C (สมการ 2) หยุดปฏิกิริยาโดยการเติม acetone แล้วกรองตะกอนที่ได้ ออก นำตะกอนที่ได้ละลายในน้ำกลั่นแล้วเติม methanol จะได้ตะกอนอนุพันธ์ไซโคลเดกตริน ที่มีหมู่ชินนามาเมตติดอยู่ (สารประกอบ **13-17**)[16] ยืนยันโครงสร้างโดยใช้เทคนิค $^1\text{H-NMR}$ DSC และ Mass spectrometry

2.5 การสังเคราะห์อนุพันธ์ชินนามาเมต



นำอนุพันธ์กรดซินนามิก **4-12** ทำปฏิกิริยากับ oxalyl chloride ในไดคลอโรมีเทน โดยคนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ระบาย oxalyl chloride ที่มากเกินไปออกโดยใช้เครื่องระเหยสูญญากาศ เติม 2-ethylhexanol ในไดคลอโรมีเทน คนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (สมการ 3) ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography (ได้สารประกอบ **18-26**) ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$

2.6. การศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวี

2.6.1 การศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ชินนามาเมตที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน

เตรียมอนุพันธ์กรดซินนามิกและอนุพันธ์ชินนามาเมตในเมทานอล และไซโคลเดกตรินที่มีหมู่ชินนามิกใน 10% DMSO-น้ำ และ DMSO ความเข้มข้นประมาณ 10^{-5} M วัดการดูดกลืนรังสียูวีด้วยเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer

2.6.2 การศึกษาการเกิด inclusion complex ของอนุพันธ์ชินนามาเมตที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน

ศึกษาด้วยเทคนิค 2D-NMR ได้แก่ ROESY ในตัวทำละลาย D_2O

2.6.3 การศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ซินนามาเมตที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ

เตรียมอนุพันธ์กรดซินนามิกและอนุพันธ์ซินนามาเมตในเมทานอล ความเข้มข้นประมาณ 10^{-5} M วัดการดูดกลืนรังสียูวีด้วยเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer

2.7. การศึกษาเสถียรภาพของสารที่สังเคราะห์ได้ต่อการดูดกลืนรังสียูวี

เตรียมสารละลายอนุพันธ์กรดซินนามิกและซินนามาเมตในเมทานอล และซินนามิกที่ต่อกับไซโคลเดกตรินและไม่มีหมู่ไซโคลเดกตริน (1-3 และ 12-15) ใน 10%DMSO-H₂O ฉายรังสียูวีเป็นเวลา 5, 10, 15 และ 30 นาที วัดการดูดกลืนรังสียูวีที่ตำแหน่ง $\lambda_{\max}$ คำนวณ %Photostability ตามสมการ (4)

$$\% \text{Photostability} = [(\text{absorbance at } x \text{ นาที}) / (\text{absorbance at } 0 \text{ นาที})] \times 100 \quad (4)$$

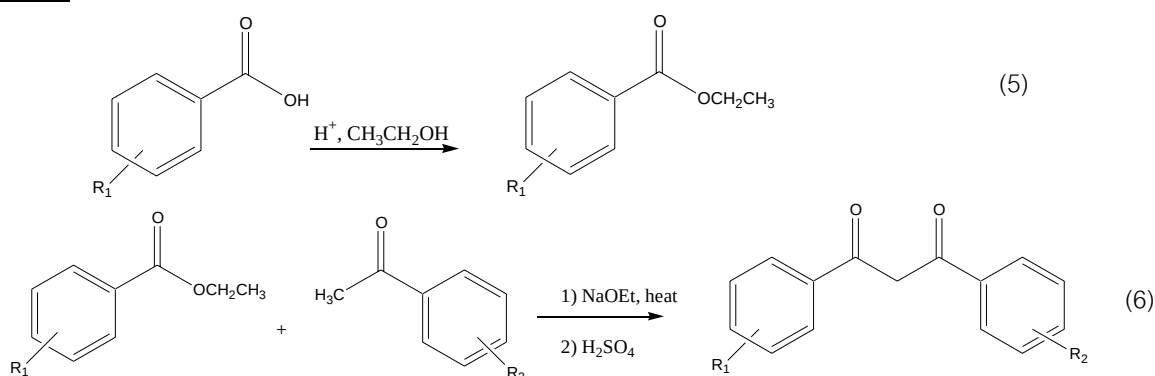
2.8. การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์กรดซินนามิกและซินนามาเมตและอนุพันธ์ไซโคลเดกตริน

ศึกษาความเป็นพิษด้วยวิธี MTT assay [17] โดยใช้ human melanoma A-375 cells เปรียบเทียบ โดยผลที่ได้จะทำการวัดหลังจากใส่ MTT ไปแล้ว 72 ชั่วโมง โดยเทคนิค UV-VIS spectrophotometer ซึ่งค่าที่ได้จะสัมพันธ์กับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (cell growth via measuring metabolic activity in viable cells)

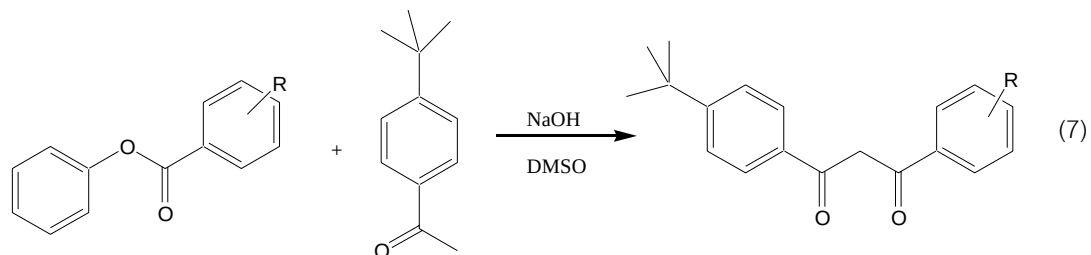
2.9 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเนน

2.9.1 เตรียมอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเนนด้วยปฏิกิริยาระหว่าง ethylbenzoate กับ 4-tertbutylacetophenone ใน NaOEt (สมการ 5, 6) [18]

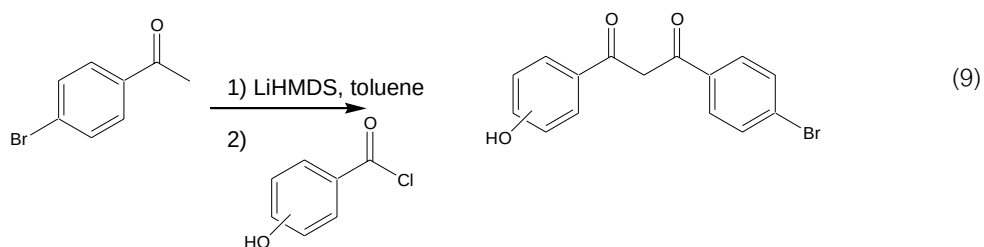
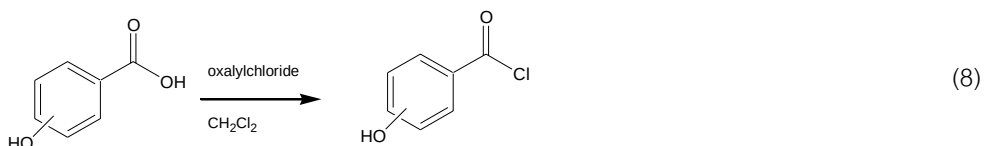
วิธีที่ 1



2.9.2 เตรียมอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเนนด้วยปฏิกิริยาระหว่าง phenylbenzoate กับ 4-tertbutylacetophenone ใน NaOH และ DMSO (สมการ 7) [19]

วิธีที่ 2

2.9.3 เตรียมอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนจากปฏิกิริยาระหว่าง benzoylchloride กับ 4-bromoacetophenone โดยมีเบส LiHMDS เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

วิธีที่ 3

ยืนยันโครงสร้างของสารที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$

2.10 การศึกษาเสถียรภาพของอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนต่อรังสียูวีเอ

เตรียมสารละลายอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนในเมทานอล ความเข้มข้นประมาณ 10^{-5} M ฉายรังสียูวีเอเป็นเวลา 0 15 30 และ 60 นาที วัดการดูดกลืนรังสียูวีที่ λ_{max} คำนวณ %Photostability ตามสมการ (4)

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ซินนามิก แอซิด

สังเคราะห์อนุพันธ์กรดซินนามิกได้ 12 ชนิด แสดงใน Table2 $^1\text{H-NMR}$ spectra แสดงในภาคผนวก

Table 2 Name nomenclatures and percent yield of cinnamic acid derivatives

cpds	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	ชื่อ	%yield
1	H	H	OCH ₃	H	H	4-methoxycinnamic acid	78
2	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	2,4,5-trimethoxycinnamic acid	70
3	OCH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	2,4,6-trimethoxycinnamic acid	75
4	OH	H	H	H	H	2-hydroxycinnamic acid	82
5	H	OH	H	H	H	3-hydroxycinnamic acid	70
6	H	H	OH	H	H	4-hydroxycinnamic acid	72
7	F	H	H	H	H	2-fluorocinnamic acid	50
8	H	F	H	H	H	3-fluorocinnamic acid	76
9	H	H	F	H	H	4-fluorocinnamic acid	80
10	NO ₂	H	H	H	H	2-nitrocinnamic acid	79
11	H	NO ₂	H	H	H	3-nitrocinnamic acid	75
12	H	H	NO ₂	H	H	4-nitrocinnamic acid	60

2-hydroxycinnamic acid (**4**) white solid (82% yield); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ (ppm): 7.83-7.79 (d, J=16Hz, 1H), 7.55-7.53 (d, J=8Hz, 1H), 7.22- 7.18 (t, 1H), 6.90-6.88 (d, J=8Hz, 2H), , 6.82- 6.78 (t, 1H), 6.52-6.47 (d, J=16Hz, 1H)

3-hydroxycinnamic acid (**5**) light brown solid (70% yield); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ (ppm): 7.50- 7.46 (d, J=16Hz, 1H), 7.21-7.17 (t, 1H), 7.08-7.06 (d, J=8Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.83- 6.81(d, J=8Hz, 1H), 6.41-6.37 (d, J=16Hz, 1H)

4-hydroxycinnamic acid (**6**) white solid (72% yield); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ (ppm): 7.51-7.49 (d, J=8Hz, 2H), 7.50-7.46 (d, J=16.00 Hz, 1H), 6.78-6.76 (d, J=8Hz, 2H), 6.28-6.24 (d, J=16 Hz, 1H)

2-fluorocinnamic acid (**7**) white solid (50% yield); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ (ppm): 7.79-7.75 (dd, 1H), 7.66- 7.62 (d, J=16 Hz, 1H), 7.46- 7.41 (dd, 1H), 7.24-7.21 (m, 2H), 6.57-- 6.53 (d, J=16 Hz, 1H)

3-fluorocinnamic acid (**8**) white solid (76% yield); $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 7.59-7.55 (d, $J=16.00$ Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.50-7.48 (d, $J=8$ Hz, 2H), 7.45-7.39 (dd, 1H), 7.23-7.19 (t, 1H), 6.61-6.57 (d, $J=16.00$ Hz, 1H)

4-fluorocinnamic acid (**9**) white solid (80% yield); $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 7.72- 7.68 (dd, 2H), 7.58- 7.54 (d, $J=16$ Hz, 1H), 7.20-7.16 (dd, 2H), 6.45-6.41 (d, $J=16$ Hz, 1H)

2-nitrocinnamic acid (**10**) white solid (79% yield); $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 8.06-8.04 (d, $J=8$ Hz, 1H), 7.92-7.90 (d, $J=8$ Hz, 1H), 7.87-7.83 (d, $J=16$ Hz, 1H), 7.78-7.74 (t, 1H), 7.67-7.63 (t, 1H), 6.53-6.49 (d, $J=16$ Hz, 1H)

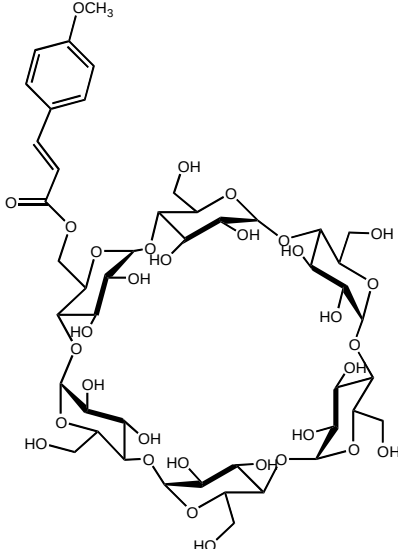
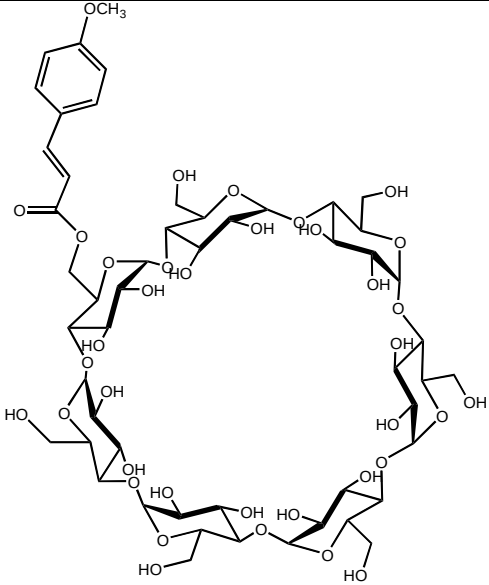
3-nitrocinnamic acid (**11**) light brown solid (75% yield); $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 8.49 (s, 1H), 8.23- 8.20, 8.17-8.15 (dd, $J=8$ Hz, 2H), 7.73-7.69 (d, $J=16$ Hz, 1H), 7.71-7.69 (d, $J=8$ Hz, 1H), 6.74-6.70 (d, $J=16$ Hz, 1H)

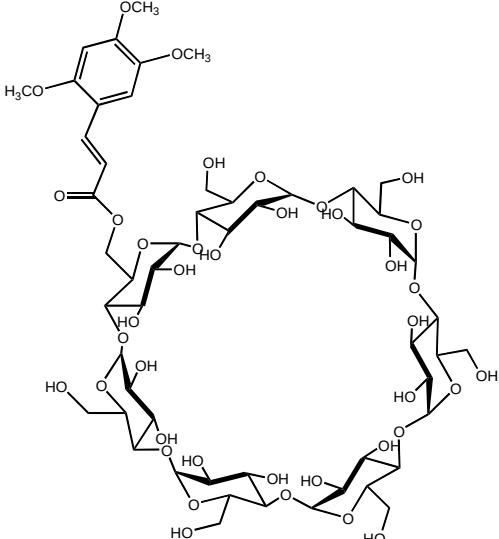
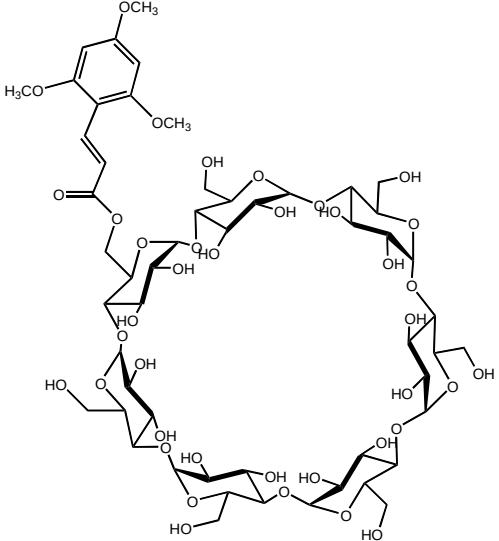
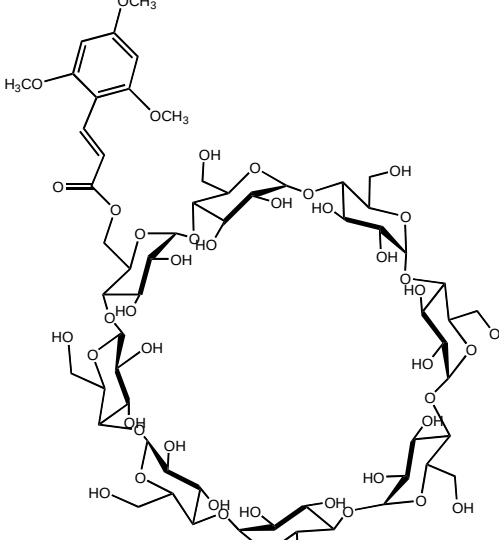
4-nitrocinnamic acid (**12**) white solid (60% yield); $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 8.22-8.20 (d, $J=8$ Hz, 2H), 7.94-7.92 (d, $J=8$ Hz, 2H), 7.68-7.64 (d, $J=16$ Hz, 1H), 6.72-6.68 (d, $J=16$ Hz, 1H)

3.2. การสังเคราะห์ไซโคลเดกตรินที่มีอนุพันธ์ของซินนามิกเป็นหมู่แทนที่

จากการเตรียมอนุพันธ์ไซโคลเดกตรินที่มีหมู่ซินนามิก ได้อนุพันธ์ไซโคลเดกตริน 5 ชนิด (Table 3) วิเคราะห์และยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$, MS และ DSC (ภาคผนวก) จาก $^1\text{H-NMR}$ สามารถยืนยันโครงสร้างของ **pCMBCD**, **245CMBCD** และ **246CMBCD** ได้จากค่า integral ที่สอดคล้องกันระหว่างจำนวน cyclodextrin และ cinnamoyl moiety ผลจาก Mass spectroscopy พบว่าอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้มีผลสอดคล้องกับผลที่ได้จาก $^1\text{H-NMR}$ และจากการคำนวณมวลโมเลกุล ซึ่งผลที่วิเคราะห์ได้เป็นมวลโมเลกุลที่รวมไอออนของโซเดียมจากน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายผสมอยู่ และผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย DSC สามารถยืนยันได้ว่าอนุพันธ์ที่เตรียมได้มีหมู่ cinnamoyl ที่ติดบน cyclodextrin เนื่องจากให้ลักษณะกราฟที่ต่างจาก cinnamic acid เริ่มต้น

Table 3 Chemical Structures and molecular weight of cyclodextrins modified cinnamic acids

cpds	% yield	Molecular weight (m/z +Na ⁺)	Structure
<i>p</i> -methoxycinnamoyl- α -cyclodextrin (pCMACD;13)	15.43%	1155.524 (Calculated mass 1156.00)	
<i>p</i> -methoxycinnamoyl- β -cyclodextrin (pCMBCD;14)	55.09%	ยังไม่ สามารถ วิเคราะห์ได้ เนื่องจาก สารไม่ ละลายในน้ำ กำลังเน้น การหัตว์ทำ ละลายที่ เหมาะสม (calculated mass 1318.14)	
2,4,5-trimethoxycinnamoyl- β -cyclodextrin (245CMBCD; 15)	72.95%	1377.677 (calculated mass 1378.20)	

			
2,4,6-trimethoxycinnamoyl- β -cyclodextrin (246CMB ; 16)	16.03%	1378.199 (calculated mass 1378.20)	
2,4,6-trimethoxycinnamoyl- γ -cyclodextrin (246CMG ; 17)	29.50%	1539.617 (calculated mass 1540.34)	

α -cyclodextrin-4-methoxycinnamate (**13**) white solid (15 %yield); ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7.80-7.77 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.79-7.75 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.21-7.19 (d, J =

8.0 Hz, 2H), 6.46-6.42 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 5.06-5.05 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 3.97-3.87 (t, 24H), 3.68-3.64 (t, 6H), 3.58-3.57 and 3.56-3.55 (d, $J = 4.0$ MHz, 12H); EIMS calculated for $[13+Na]^+$ 1156.00 found: 1155.524.

β -cyclodextrin-4-methoxycinnamate (**14**) white solid (55 %yield); 1H NMR (400 MHz, 50% DMSO- d_6 : D_2O) δ 7.91-7.86 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 7.87-7.85 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.30-7.28 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.71-6.67 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 5.21-5.20 (d, $J = 4.0$ Hz, 7H), 4.11 (s, 3H), 4.03-3.91 (m, 28H), 3.79-3.72 (m, 14H); EIMS calculated for $[14+Na]^+$ 1318.14 found: 1317.50

β -cyclodextrin-2,4,5-trimethoxycinnamate (**15**) pale yellow solid (73 %yield); 1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7.84-7.80 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.36-6.32 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 5.10-5.09 (d, $J = 4.0$ Hz, 7H), 3.96-3.82 (m, 28H), 3.70-3.60 (m, 14H); EIMS calculated for $[15+Na]^+$ 1378.20 found: 1377.677

β -cyclodextrin-2,4,6-trimethoxycinnamate (**16**) white solid (16 %yield); 1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7.04-7.02 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 6.33-6.32 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 6.12-6.09 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.01-3.39 (m, 28H), 3.70-3.60 (m, 14H); EIMS calculated for $[16+Na]^+$ 1378.20 found: 1378.199

γ -cyclodextrin-2,4,6-trimethoxycinnamate (**17**) white solid (30 %yield); 1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7.82-7.77 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.56-6.52 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.22 (s, 2H), 5.15-5.14 (d, $J = 4.0$ Hz, 8H), 3.99-3.88 (m, 41H), 3.71-3.63 (m, 16H); EIMS calculated for $[17+Na]^+$ 1540.34 found: 1539.617

3.3. การสังเคราะห์อนุพันธ์ซินนาเมต

สังเคราะห์อนุพันธ์ซินนาเมต 9 ชนิด ชื่อ โครงสร้างและเปอร์เซ็นต์ผลึกภัณฑ์แสดงใน Table 4 ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค 1H -NMR (แสดงในภาคผนวก)

Table 4 Name nomenclatures and percent yield of cinnamate derivatives

cpds	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	နာမ	%yield
18	OH	H	H	H	H	2-ethylhexyl-2-hydroxycinnamate	45%
19	H	OH	H	H	H	2-ethylhexyl-3-hydroxycinnamate	65%
20	H	H	OH	H	H	2-ethylhexyl-4-hydroxycinnamate	60%
21	F	H	H	H	H	2-ethylhexyl-2-fluorocinnamate	60%
22	H	F	H	H	H	2-ethylhexyl-3-fluorocinnamate	57%
23	H	H	F	H	H	2-ethylhexyl-4-fluorocinnamate	51%
24	NO ₂	H	H	H	H	2-ethylhexyl-2-nitrocinnamate	55%
25	H	NO ₂	H	H	H	2-ethylhexyl-3-nitrocinnamate	60%
26	H	H	NO ₂	H	H	2-ethylhexyl-4-nitroxycinnamate	56%

2-ethylhexyl-2-hydroxycinnamate (**18**) yellow oil (45% yield) ¹H-NMR (CDCl₃) δ(ppm): 8.11-8.07 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.45-7.44 (d, J=8 Hz, 1H), 7.23-7.20 (t, 1H), 6.92-6.90 (d, J=8 Hz, 1H), 6.89- 6.85 (t, 1H), 6.70-6.65 (d, J = 16.0 Hz, 1H)

2-ethylhexyl-3-hydroxycinnamate (**19**) yellow oil (65% yield) ¹H-NMR (CDCl₃) δ(ppm): 7.62-7.58 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.25- 7.21 (dd, 1H), 7.08-7.06 (d, J=8Hz, 1H), 7.00 (s, 1H) 6.87-6.85 (d, J=8 Hz, 1H), 6.41-6.37 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 1.64-0.86 (m, 15H)

2-ethylhexyl-4-hydroxycinnamate (**20**) pale yellow oil (60% yield) ¹H-NMR (CDCl₃) δ(ppm): 7.56-7.52 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.33-7.31 (d, J=8 Hz, 2H), 6.80-6.78(d, J=8 Hz, 2H), 6.23-6.19 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 4.05- 4.03 (dd, 2H), 1.59-0.79 (m, 15H)

2-ethylhexyl-2-fluorocinnamate (**21**) yellow oil (60% yield) ¹H-NMR (CDCl₃) δ(ppm): 7.80- 7.76 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.54-7.50 (t, 1H), 7.35-7.30 (dd, 1H); 7.15-7.12 (t, 1H); 7.10-7.05 (dd, 1H), 6.54-6.50 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 4.18-4.16 (d, J=8 Hz, 2H); 1.67-0.86 (m, 15H)

2-ethylhexyl-3-fluorocinnamate (**22**) yellow oil (57% yield) ¹H-NMR (CDCl₃) δ(ppm):7.80-7.76 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.54- 7.50 (t, 1H)), 7.35-7.30 (dd, 1H)), 7.15- 7.12 (t, 1H), 7.10-7.05 (dd, 1H)), 6.54-6.50 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 4.18-4.17 (d, 2H), 1.69-0.86 (m, 15H)

2-ethylhexyl-4-fluorocinnamate (**23**) yellow oil (51% yield) ¹H-NMR (CDCl₃) δ(ppm): 7.63- 7.59 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.51-7.47 (dd, 2H), 7.07, 7.03, 6.36, 6.32, 4.18, 4.16, 1.58, 0.86,

2-ethylhexyl-2-nitrocinnamate (**24**) yellow oil (55% yield) ¹H-NMR (CDCl₃) δ(ppm): 7.56-7.52 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.29-7.25 (dd, J=7.79 Hz, 1H), 7.19-7.15 (t, 1H)), 7.12 (d, J=9

Hz, 1H), 7.01-6.96 (t, 1H), 6.37-6.33 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 4.06-4.03 (dd, 2H), 1.58-0.80 (m, 15H)

2-ethylhexyl-3-nitrocinnamate (**25**) yellow oil (60% yield) $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 8.37 (s, 1H), 8.22-8.20 (d, $J=8$ Hz, 1H), 7.82, 7.80 (d, $J=8$ Hz, 1H), 7.70-7.66 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.58-7.54 (t, 1H), 6.57-6.53 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 4.14-4.12 (d, $J=8$ Hz, 2H), 1.65-0.87 (m, 15H)

2-ethylhexyl-4-nitroxycinnamate (**26**) yellow oil (56% yield) $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 8.17-8.15 (d, $J=8$ Hz, 1H), 7.64-7.60 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.61-7.59 (d, $J=8$ Hz, 1H), 6.51-6.47 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 4.08-4.06 (dd, 2H), 1.61- 0.81 (m, 15H)

3.4. การศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีของสารประกอบที่สังเคราะห์ได้

3.4.1 การดูดกลืนรังสียูวีของไซโคลเดกตรินที่มีหมู่ซินนามอยล์

จากการศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ซินนามเมตที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน (Figure 1) พบว่าสารประกอบ **13** **14** **16** และ **17** ดูดกลืนในช่วงรังสียูวีบี (280–320 nm) ขณะที่สารประกอบ **15** ดูดกลืนได้ทั้งรังสียูวีบีและรังสียูวีเอ (320–400 nm) ลักษณะการจัดตัวของหมู่ซินนามเมตกับไซโคลเดกตรินสามารถวิเคราะห์ได้จากการ shift ของ absorption spectrum เนื่องจากผลของตัวทำละลาย พบว่าการดูดกลืนรังสียูวีของสารประกอบ **16** เกิด red shift เมื่อเพิ่มขั้วของตัวทำละลาย แสดงให้เห็นว่าหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl อยู่ในอวกว beta-cyclodextrin ขณะที่การดูดกลืนรังสียูวีของสารประกอบ **13** **14** **15** และ **17** เกิด blue shift เมื่อเพิ่มขั้วของตัวทำละลาย แสดงให้เห็นว่าหมู่ 4-methoxycinnamoyl ของ **13** และ **14** อยู่ในวง alpha- และ beta-cyclodextrin หมู่ 2,4,5-trimethoxycinnamoyl อยู่ในโพรงของ beta-cyclodextrin และหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl อยู่ในโพรงของ gamma-cyclodextrin แต่ในกรณีของสารประกอบ **14** การดูดกลืนรังสียูวีในตัวทำละลายทั้งสองมีลักษณะคล้ายกัน สามารถสรุปได้ว่าหมู่ p-methoxycinnamoyl ดังกล่าวอาจจะเคลื่อนที่เข้า-ออก โพรง beta-cyclodextrin ทำให้ลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีมีลักษณะคล้ายกัน

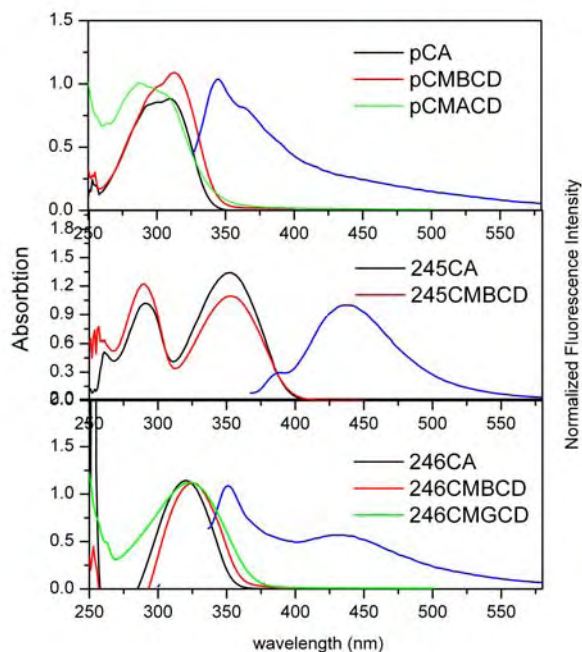


Figure 1 Absorption (red) and emission (blue) spectra of 66 ppm of beta-CD modified with methoxycinnamic acid in DMSO and 150 ppm of pCMACD and 246CMGCD (green) compared to their parent methoxycinnamic acids (black) in DMSO

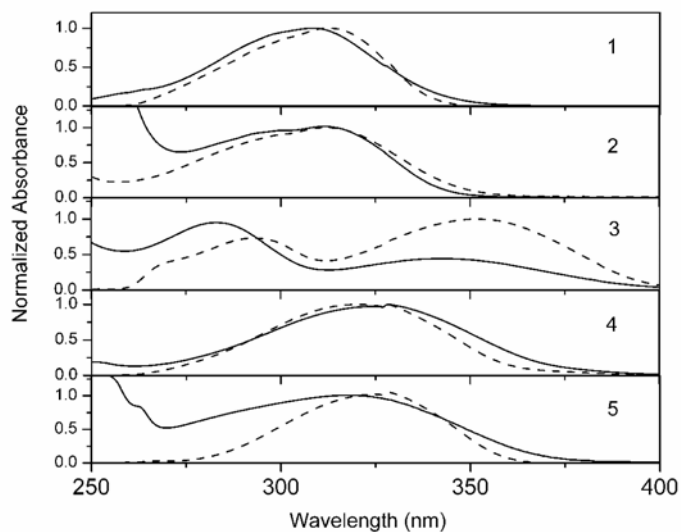


Figure 2. Absorption spectrum of **13-17** (1×10^{-5} mM) in 10% DMSO (solid line) and DMSO (dashed line). (1= pCMACD, 2= pCMBCD, 3=245CMBCD, 4=246CMBCD and 5=246CMGCD)

3.4.2 การศึกษาการเกิด inclusion complex อนุพันธ์ซินนาเมตที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน

ตำแหน่งของหมู่ซินนาโมอิลต่างๆ ที่ติดบนวงไซโคลเดกตรินขนาดต่างๆ วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค 2D-NMR ROESY เมื่อวิเคราะห์ ROESY spectrum ของหมู่ 4-methoxycinnamoyl ที่ติดลงบน alpha-cyclodextrin ใน D_2O (**13**) พบ correlation ระหว่างพีค H3 ของ alpha-CD

กับ Hb/Hb' ของ 4-methoxycinnamoyl moiety (cross-peaks A) และ H5 protons ของ alpha-CD กับ H5 protons of alpha-CD and both Ha/Ha' and Hb/Hb' protons ของ 4-methoxycinnamoyl moiety (cross-peaks C and B, Figure 3) ซึ่ง correlation ที่พบนี้บ่งชี้ให้เห็นว่าหมู่ 4-methoxycinnamoyl อยู่ในวง alpha-CD ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง photostability ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรดซินนามิกที่ไม่ได้ติดลงบนวงไซโคลเดกซ์ทริน

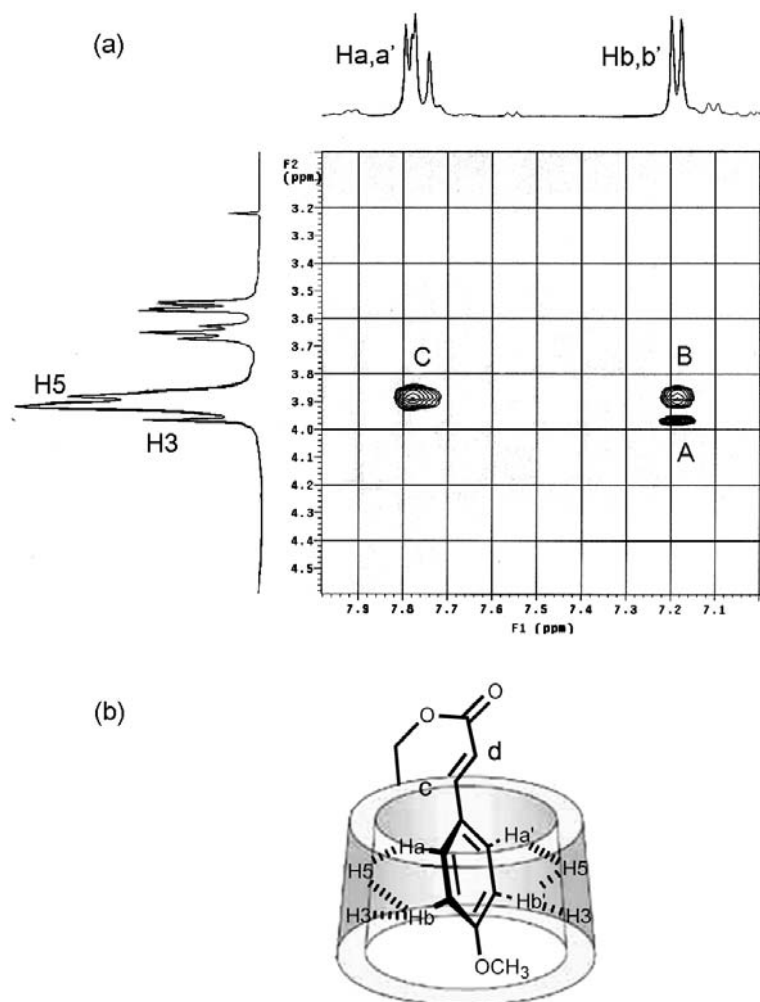


Figure 3 (a) ^1H ROESY spectrum of **13** (0.03 mM) in a 10% DMSO- d_6 - D_2O solution at 27°C with a mixing time of 800 ms. (b) possible structure of **13**.

ในกรณีของ 4-methoxycinnamoyl ที่ติดลงบน beta-cyclodextrin (**14**) พบว่าสารประกอบนี้ไม่สามารถละลายในน้ำ และ 10%DMSO- H_2O ได้ ละลายใน DMSO เท่านั้นจึงไม่พบ correlation ระหว่างหมู่ cinnamoyl กับ beta-cyclodextrin แต่จากผลการทดลอง photostability พบว่ามีเสถียรภาพใกล้เคียงกับ 4-methoxycinnamic acid จึงคาดว่าหมู่ 4-methoxycinnamoyl อาจจะเข้าไปอยู่ในวง beta-cyclodextrin แต่วงมีขนาดใหญ่ และเป็นไปได้ที่จะอยู่นอกวงในกรณีที่ตัวทำละลายเป็น DMSO เนื่องจาก DMSO สามารถทำหน้าที่เป็น guest เข้าไปอยู่ในวงได้เช่นกัน ทำให้การเปลี่ยนคอนฟิเกอเรนซ์จาก trans ไปเป็น cis ยังคงเกิดขึ้นได้

ROESY spectrum ของ 2,4,5-trimethoxy-cinnamoyl-beta-CD (**15**) ใน D_2O (Figure 4) พบ correlation ระหว่าง H3 proton ของ beta-CD กับ Hb proton ของ 2,4,5-trimethoxycinnamoyl (cross-peak B) และ cross-peak A แสดง correlation ระหว่าง H5 proton ของ beta-CD และ Ha proton ของ 2,4,5-trimethoxycinnamoyl moiety ซึ่งบ่งชี้ว่าหมู่ 2,4,5-trimethoxycinnamoyl อยู่ในวง beta-CD นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของความเข้มข้น (concentration dependence) ของสารประกอบ **13** ใน D_2O พบว่าพีคโปรตอนของหมู่ cinnamoyl ทั้งหมดเกิด upfield shift แสดงถึงการเกิด intermolecular complexation โดยที่หมู่ 2,4,5-trimethoxycinnamoyl moiety อยู่ในวง beta-CD ของโมเลกุลถัดไป เกิดเป็นโพลิเมอร์เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (Figure 5) [20-21]

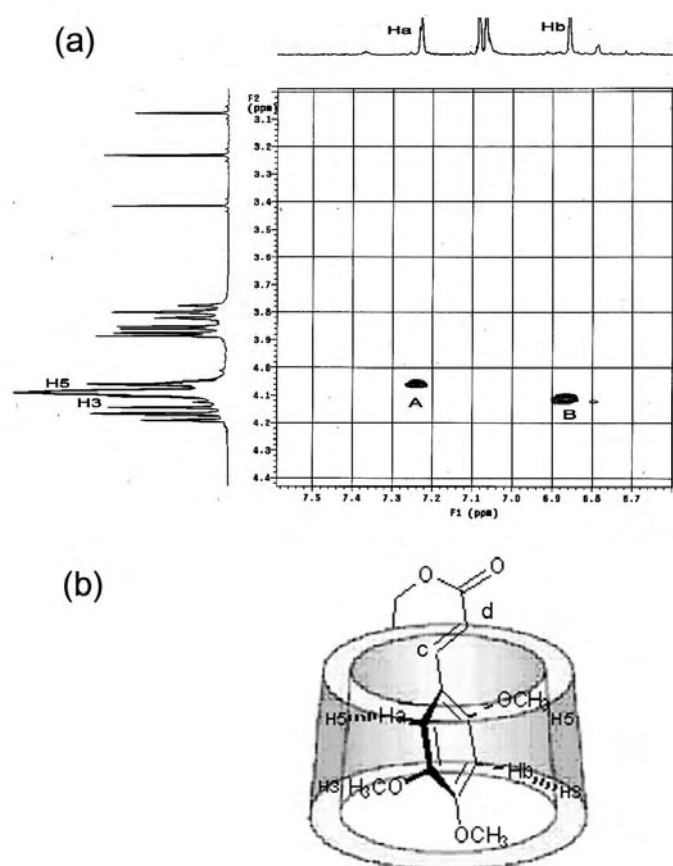


Figure 4. (a) 1H ROESY spectrum of **15** (0.03 mM) in a D_2O solution at 27 $^{\circ}C$ with a mixing time of 800 ms. (b) possible structure of **15**.

นอกจากนี้ศึกษา concentration dependence ของ **13-15** ใน DMSO เนื่องจากสารประกอบเหล่านี้สามารถละลายได้มากขึ้น สามารถใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นได้ จากผลการทดลองพบว่า เกิด upfield shift และ broad ของพีค cinnamoyl ทั้งหมดเช่นกัน แสดงว่า intermolecular complex สามารถเกิดได้ใน DMSO (ภาคผนวก Figure S37-S38) ซึ่งการเกิด

intermolecular complex นี้มีผู้ศึกษากับ 6-aminocinnamoyl- α -CD ในน้ำ [22] และให้ผลในทำนองเดียวกัน

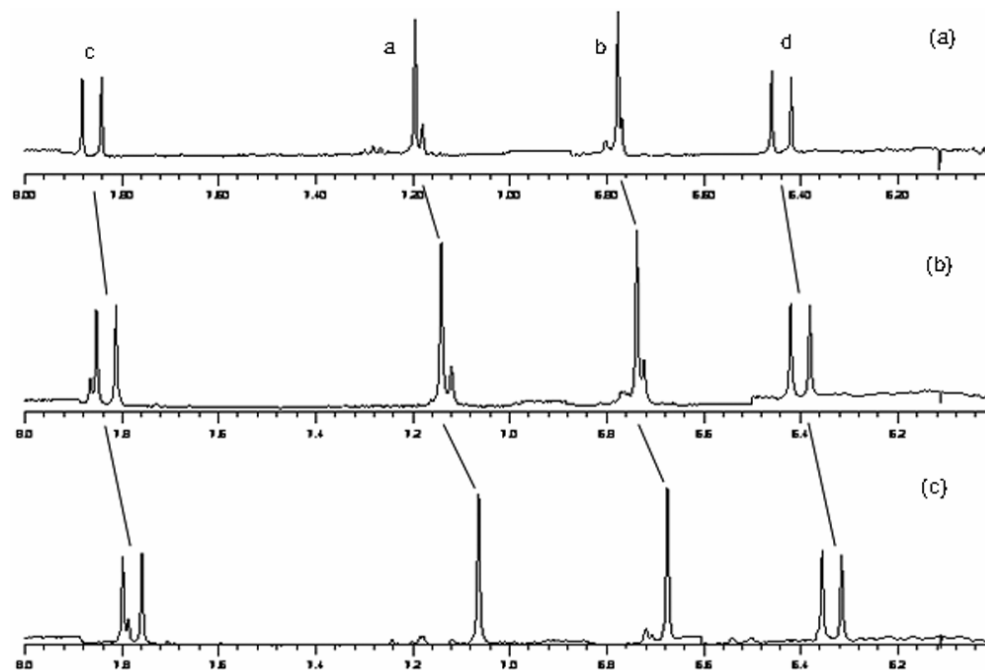


Figure 5. ^1H -NMR spectra of **15** (a) 0.07m (b) 0.15 and (c) 0.2 mM in 10% $\text{DMSO}-d_6$ - D_2O 27 $^{\circ}\text{C}$.

ROESY ของ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl-beta-cyclodextrin (**16**) ในน้ำ แสดงใน Figure 6 พบ correlation ของ Ha and Ha' protons of 2,4,6-trimethoxycinnamoyl moiety and the H5 proton of beta-CD (cross-peak A) แสดงใน Figure 6 แสดงให้เห็นว่าครึ่งหนึ่งของส่วนวงแอโรมาติกเข้าไปอยู่ในวง beta-cyclodextrin ซึ่งสอดคล้องกับขนาดของวงและหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl จากการคำนวณด้วยวิธี semi-empirical AM1

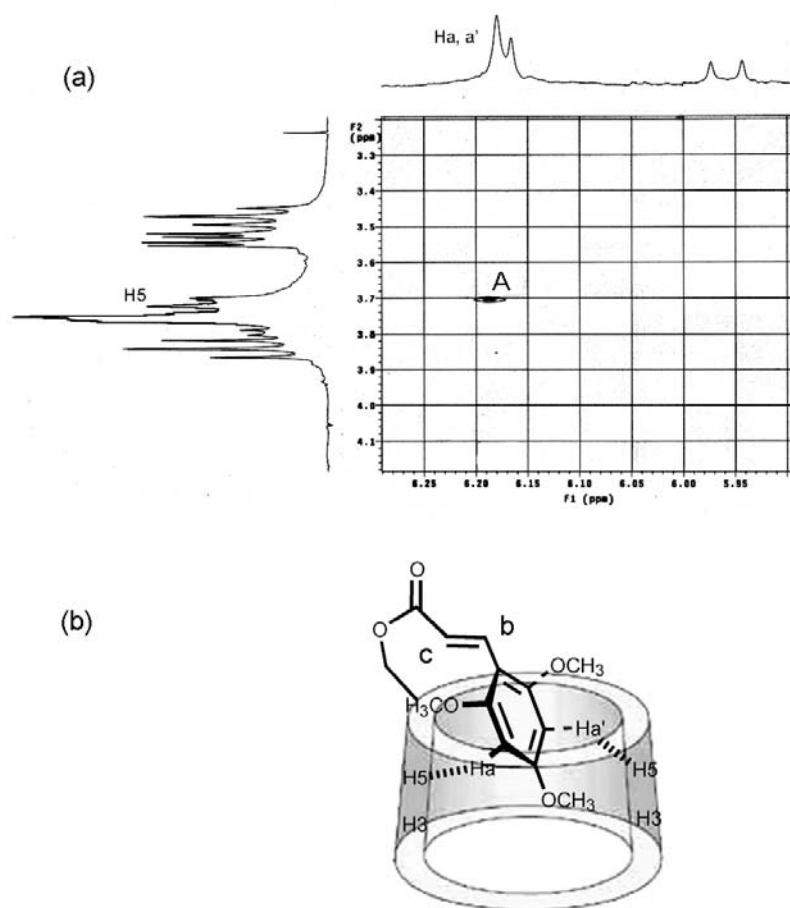


Figure 6 ^1H ROESY spectrum of **16** (0.03 mM) in a D_2O solution at 27°C with a mixing time of 800 ms. (b) possible structure of **16**.

เมื่อนำหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl ติดลงบน gamma-cyclodextrin (**17**) ที่มีขนาดโพรงใหญ่ขึ้น พบว่าการละลายใน D_2O ลดลงมาก ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ correlation ด้วยเทคนิค ROESY ได้ เมื่อใช้ตัวทำละลาย 10% $\text{DMSO}-d_6$ - D_2O ไม่พบ correlation ระหว่างหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl กับวง gamma-cyclodextrin ในเบื้องต้นสามารถสรุปได้ว่าอาจจะเกิด inclusion complex แต่ไม่เสถียรเนื่องจากขนาดของวง gamma-cyclodextrin มีขนาดใหญ่กว่าหมู่ 2,4,6-trimethoxycinnamoyl นอกจากนี้เมื่อศึกษา concentration dependence พบว่าไม่มีการ shift ของพีคใดๆ เมื่อเพิ่มความเข้มข้น ดังนั้นสามารถสรุปได้เบื้องต้นว่า สารประกอบ **17** ไม่เกิด intermolecular complexation (Figure 7)

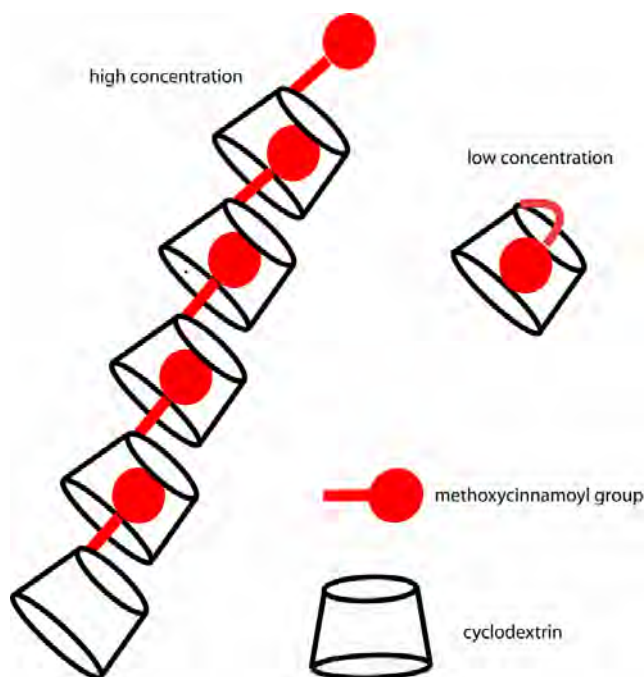


Figure 7. Proposed structure of intermolecular complexation (left) and intramolecular complexation (right).

3.4.3 การศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ซินนาเมตที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ

จากการศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ซินนาเมตที่มีหมู่แทนที่ต่างๆกันในเมทานอล (Figure 8) พบว่าการดูดกลืนรังสียูวีของอนุพันธ์ซินนาเมตมีรูปร่างคล้ายกับอนุพันธ์กรดซินนามิกเริ่มต้น แต่สเปกตรัมมีการ shift ไปที่ความยาวคลื่นยาวกว่า (red shift) ประมาณ 5-10 nm) เนื่องจากการต่อของหมู่ alkyl ทำให้ระดับพลังงานที่แตกต่าง (energy gap) ระหว่าง ground state กับ excited state แคบลง จึงดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นยาวขึ้น เมื่อพิจารณาผลของหมู่แทนที่ พบว่า หมู่แทนที่ที่เป็น hydroxyl group ส่วนใหญ่มีลักษณะการดูดกลืนแสงที่สองช่วงความยาวคลื่นอย่างชัดเจน ส่วนหมู่แทนที่ nitro group มีการดูดกลืนที่ความยาวคลื่นต่ำเป็นหลัก และที่ความยาวคลื่นยาวขึ้นมีลักษณะการดูดกลืนเป็น shoulder โดยทั้ง hydroxyl และ nitro group ดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-350 nm ซึ่งอยู่ในช่วงรังสียูวีบี และเอ (ส่วนต้น) ส่วนอนุพันธ์ซินนาเมตที่มีหมู่แทนที่ที่เป็น fluoro group มีลักษณะการดูดกลืนแสงเป็นพีคเดี่ยว (single band) ที่ความยาวคลื่นช่วง 200-320 nm จัดเป็นช่วงยูวีบี

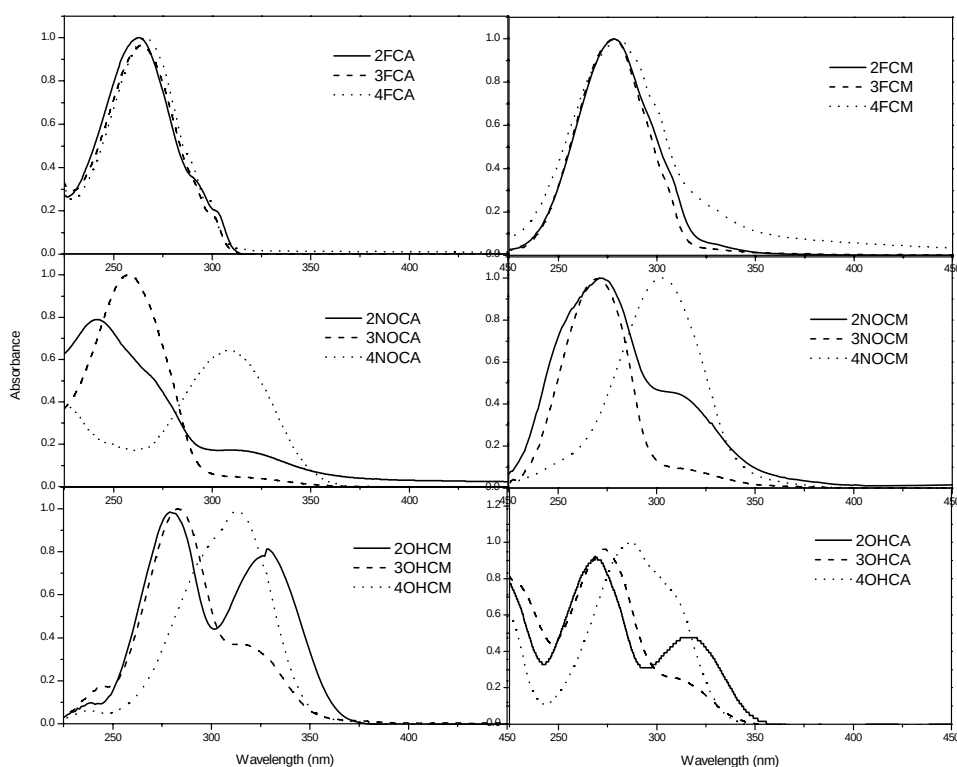


Figure 8 Normalized absorption of cinnamic acid derivatives and cinnamates derivatives in methanol

3.5. การศึกษาเสถียรภาพต่อรังสียูวี

3.5.1 การเสถียรภาพของหมู่ซินนามอยล์ที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน

จากการศึกษาเสถียรภาพของหมู่ซินนามอยล์ที่ติดลงบนไซโคลเดกตรินที่มีขนาดต่างกัน ต่อรังสียูวีบีใน 10%DMSO-H₂O (Figure 9) พบว่า หมู่ 2,4,5-trimethoxycinnamoyl ที่ติดลงบน beta-cyclodextrin เสถียรกว่า 2,4,5-trimethoxycinnamic acid และ หมู่ 4-methoxycinnamoyl ที่ติดลงบน alpha-cyclodextrin เสถียรกว่า ที่ติดลงบน beta-cyclodextrin และ 4-methoxycinnamic acid แสดงให้เห็นว่าเมื่อหมู่ cinnamoyl เข้าไปอยู่ในวง cyclodextrin ที่มีขนาดเหมาะสม จะทำให้มีความเสถียรต่อรังสียูวีบีมากขึ้น

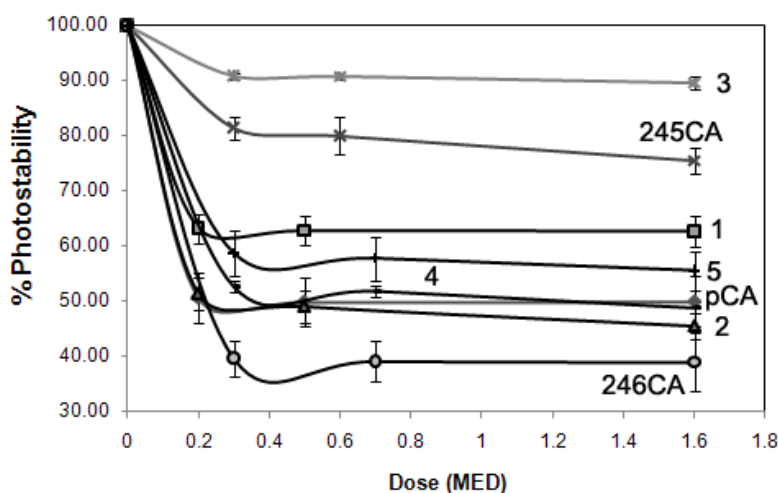


Figure 9. Photostability of 1×10^{-5} M 13-17 in a 10% DMSO solution compared to their parent cinnamic acids; pCA = 4-methoxycinnamic acid, 245CA = 2,4,5-trimethoxycinnamic acid and 246CA = 2,4,6-trimethoxycinnamic acid; 1= pCMACD, 2= pCMBCD, 3=245CMBCD, 4=246CMBCD and 5=246CMGCD.

3.5.2 การเสถียรภาพของอนุพันธ์ซินนามาเมตที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ

จากผลการศึกษาเสถียรภาพของอนุพันธ์ซินนามาเมตในเมทานอล (Figure 10) สามารถเรียงลำดับความเสถียรต่อรังสียูวีได้ตามนี้ $3\text{OH} > 3\text{NO} > 4\text{OH} > 4\text{NO} > 2\text{OH} > 3\text{F} > 2\text{NO} > 3\text{F} > 2\text{F}$ เมื่อพิจารณาผลของตำแหน่งของหมู่แทนที่ พบว่าซินนามาเมตที่มีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งที่ 3 (meta-) มีความเสถียรที่สุด ถัดมาคือตำแหน่ง 4 (para-) และตำแหน่ง 2 (ortho-) มีความเสถียรต่ำที่สุด ในทุกๆชนิดของหมู่แทนที่ เช่นเดียวกับงานวิจัยที่ผ่านมาเมื่อแทนที่ด้วยหมู่ methoxy group (OCH_3) [23] เมื่อพิจารณาผลของชนิดหมู่แทนที่พบว่า hydroxyl group เสถียรกว่า nitro และ fluoro ตามลำดับ สามารถสรุปได้เบื้องต้นว่าหมู่ให้อิเล็กตรอนมีผลทำให้อนุพันธ์ซินนามาเมตเสถียรกว่าหมู่ดึงอิเล็กตรอน

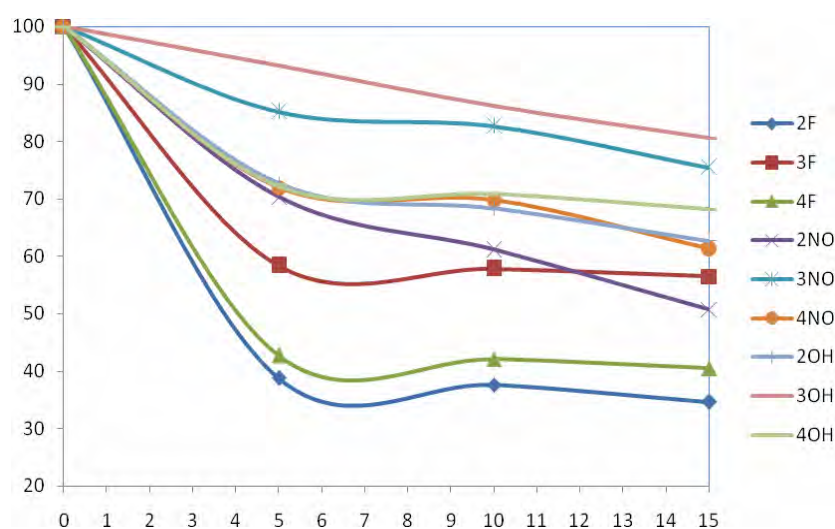


Figure 10 Photostability of 3×10^{-5} M of cinnamate derivatives in methanol.

3.6 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์

3.6.1 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ซินนามาเมตที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน

จากผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ซินนามิกที่ติดกับวงไซโคลเดกตรินเมื่อเปรียบเทียบกับกรดซินนามิกเริ่มต้น ต่อเซลล์มะเร็งผิวหนัง Human melanoma A-375 cells (Table 5) พบว่าเมื่อติดหมู่ cinnamoyl ลงบนไซโคลเดกตรินแล้วมีความเป็นพิษกับเซลล์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรดซินนามิกเริ่มต้น จะเห็นได้จากค่า IC_{50} ที่เพิ่มขึ้น

Table 5 IC_{50} value of **1**, **3** and **5** of human skin cancer cells compared to their parent cinnamic acids.

compounds	IC_{50} (mM)
pCA	2.46±0.27
245CA	1.36±0.04
246CA	2.13±0.16
pCMACD (13)	> 2 ²
245CMBCD (15)	4.50±0.54
246CMGCD (17)	> 5 ¹
OMC ¹	0.72±0.15

¹OMC (octyl-*p*-methoxycinnamate) is used as a commercial UVB filter.

² maximum concentration used in this test.

3.6.2 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ซินนามาเมต

นอกจากนี้ยังทำการทดสอบความเป็นพิษของอนุพันธ์ซินนามาเมตที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ โดยใช้ความเข้มข้นต่างกัน 3 ความเข้มข้น (Figure 11) พบว่าที่ความเข้มข้น 0.0025 mg/mL ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ที่ความเข้มข้น 0.025 mg/mL อนุพันธ์ซินนามาเมตที่มีหมู่ hydroxyl group มีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยที่สุด ใกล้เคียงกับ OMC (2-ethylhexyl-*p*-methoxycinnamate) ซึ่งเป็นสารกรองรังสียูวีที่ใช้ในท้องตลาด ขณะที่หมู่แทนที่ nitro และ fluoro group มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่า ที่ความเข้มข้น 0.25 mg/mL พบว่าสารทุกตัว มีผลทำให้เซลล์ตายมากกว่า 50% จึงถือว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์มาก

เมื่อพิจารณาความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ซินนามาเมตเปรียบเทียบกับกรดซินนามิก (Figure 12) เริ่มต้นพบว่า กรดซินนามิกส่วนใหญ่เป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่าซินนามาเมต โดยที่เซลล์มีการรอดชีวิตมากกว่า 50% เมื่อทดสอบด้วยอนุพันธ์กรดซินนามิกที่ความเข้มข้น 0.25 mg/mL แต่เมื่อทดสอบด้วยอนุพันธ์ซินนามาเมตที่ 0.25 mg/mL เซลล์มีการรอดชีวิตน้อยกว่า 50% เนื่องจากความมีขั้วของอนุพันธ์ซินนามาเมตมีขั้วมากกว่ากรดซินนามิก ทำให้การซึมผ่านชั้น cell membrane ทำได้ง่ายกว่าจึงมีพิษมากกว่า ยกเว้น *p*-methoxycinnamic acid เป็นพิษมากกว่า OMC

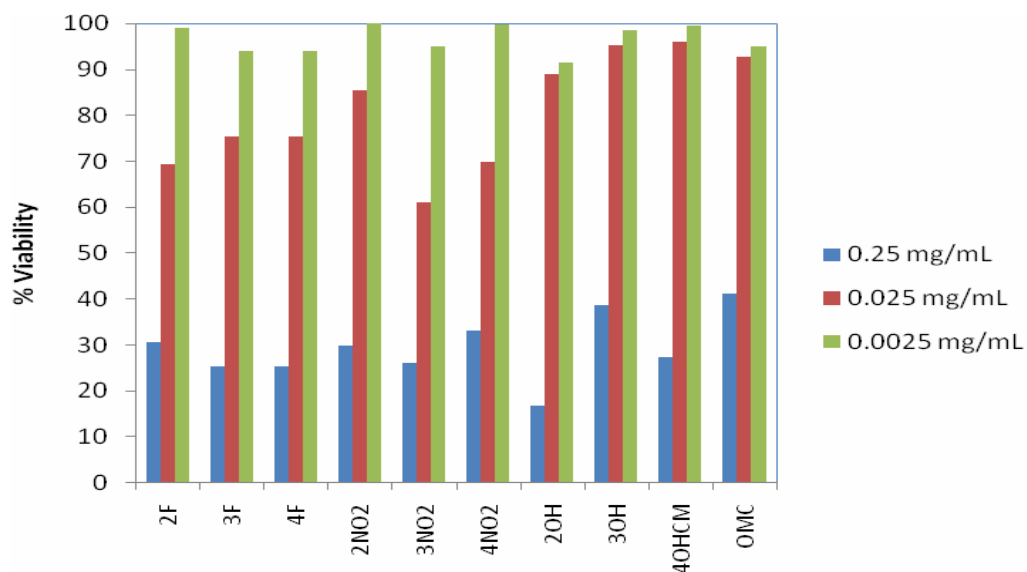


Figure 11 Percent cell available against to cinnamate derivatives.

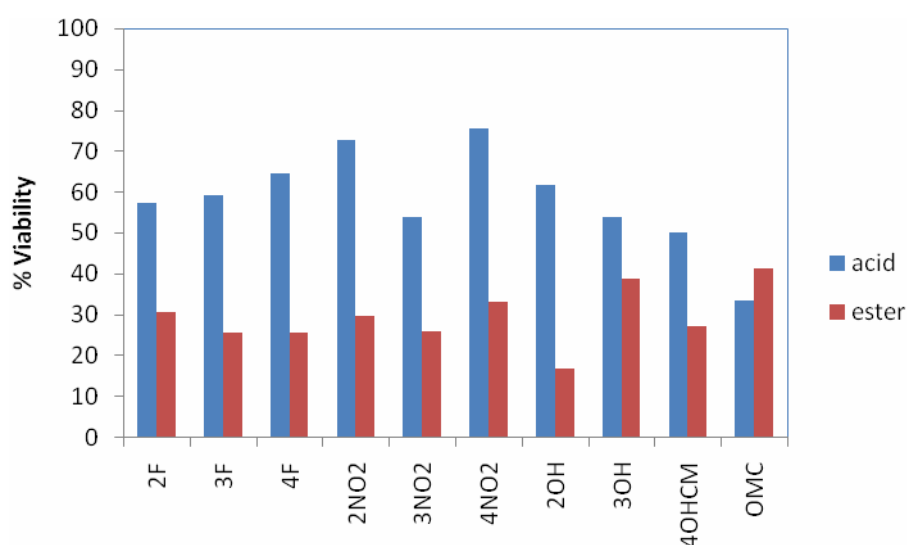
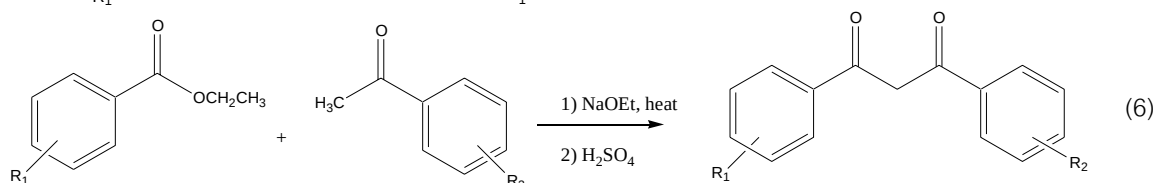
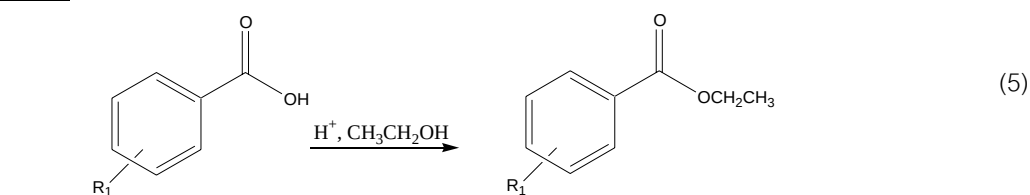


Figure 12 Percent cell available against to of 0.25 mg/mL of cinnamate derivatives compared to parent cinnamic acid.

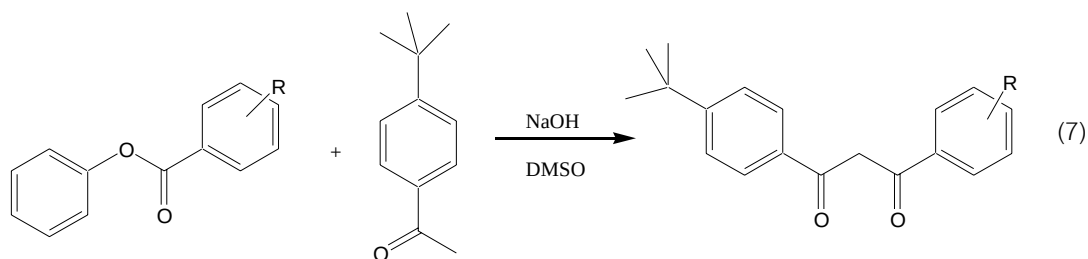
3.7 การสังเคราะห์อนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทน

3.7.1 เตรียมอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนด้วยปฏิกิริยาระหว่าง ethylbenzoate กับ 4-tertbutylacetophenone ใน NaOEt (สมการ 5, 6)

วิธีที่ 1

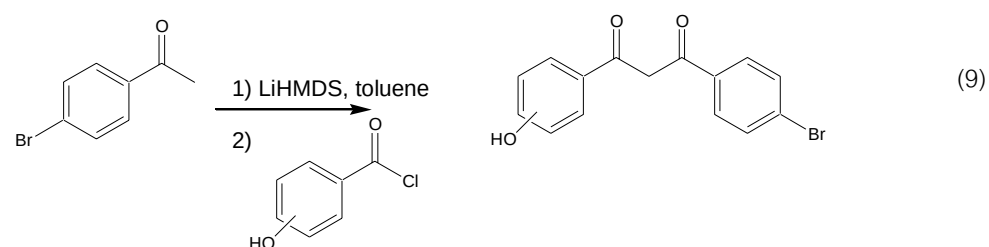
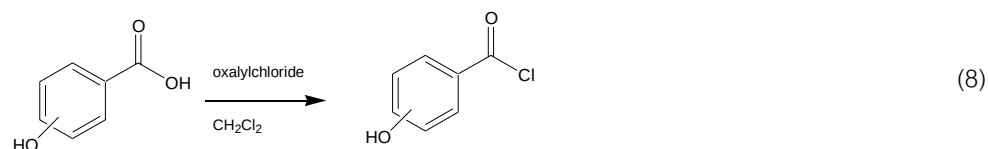
ไม่สามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนได้จากปฏิกิริยานี้ เมื่อทำการวิเคราะห์พบสารตั้งต้นเหลืออยู่ไม่เกิดผลิตภัณฑ์ตามต้องการ

3.7.2 เตรียมอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนด้วยปฏิกิริยาระหว่าง phenylbenzoate กับ 4-tertbutylacetophenone ใน NaOH และ DMSO (สมการ 7)

วิธีที่ 2

ไม่สามารถสังเคราะห์อนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนได้จากปฏิกิริยานี้ เมื่อทำการวิเคราะห์พบสารตั้งต้นเหลืออยู่ไม่เกิดผลิตภัณฑ์ตามต้องการ

3.7.3 เตรียมอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเทนจากปฏิกิริยาระหว่าง benzoylchloride กับ 4-bromoacetophenone โดยมีเบส LiHMDS เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

วิธีที่ 3

ได้ผลิตภัณฑ์ 2 ชนิด ได้แก่ 3-hydroxy-4'-bromo-dibenzoylmethane (DBM3) และ 4-hydroxy-4'-bromodibenzoylmethane (DBM4) ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ (Figure 13-14)

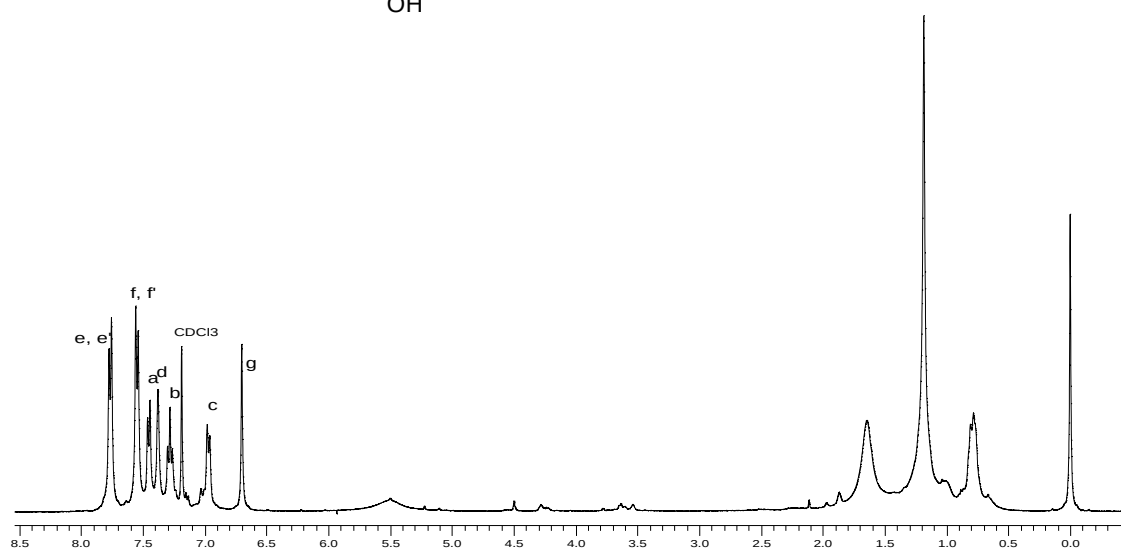
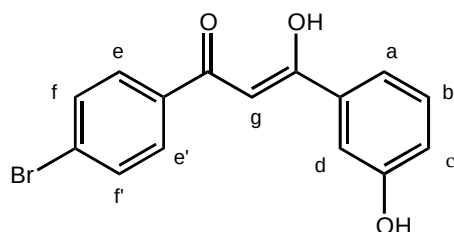


Figure 13 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of 3-hydroxy-4'-bromodibenzoylmethane (0.45 % yield)

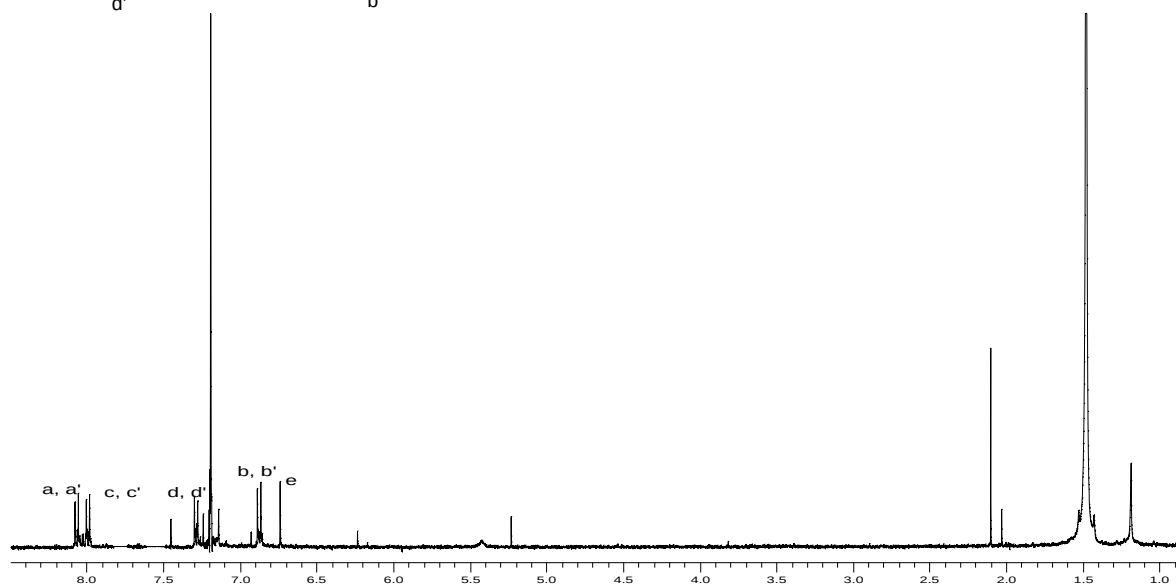
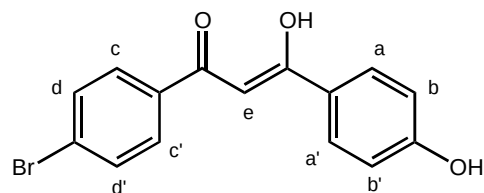


Figure 14 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of 4-hydroxy-4'-bromodibenzoylmethane (2.17% yield)

3.8. การศึกษาเสถียรภาพของอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเธนต่อรังสียูวีเอ

ศึกษาลักษณะการดูดกลืนรังสียูวีของสารประกอบ **DBM3** และ **DBM4** ที่สังเคราะห์ได้ เปรียบเทียบกับ dibenzoylmethane (**DBM**) ที่ใช้ในท้องตลาด โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าลักษณะการดูดกลืนของ **DBM4** คล้ายกับ **DBM** คือดูดกลืนช่วงรังสียูวีเอ 320-400 nm เนื่องจากมีหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งที่ 4 ทั้งสองข้างเหมือนกัน ส่วนการดูดกลืนรังสียูวีของ **DBM3** พบว่ามีช่วงการดูดกลืนที่กว้างกว่า คือสามารถดูดกลืนรังสียูวีได้ตั้งแต่ 300 nm ซึ่งเป็นช่วงรังสียูวีบี จนถึง 400 nm ซึ่งครอบคลุมช่วงยูวีเอด้วย ดังนั้นจะเห็นว่าอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเธนที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่คือ **DBM3** สามารถดูดกลืนรังสียูวีได้ในช่วงกว้างกว่าสารที่ใช้ในท้องตลาด

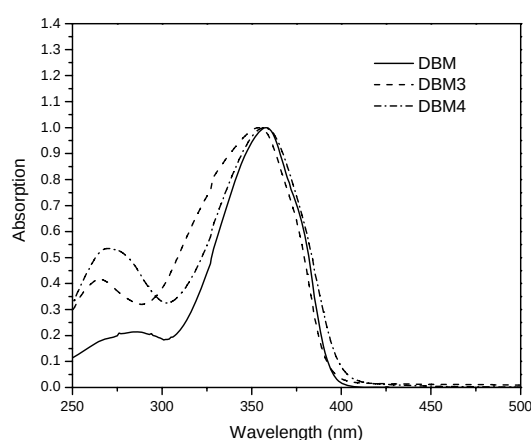


Figure 15 Absorption spectra of 2×10^{-5} M of commercial dibenzoylmethane (**DBM**), **DBM3** and **DBM4** in methanol.

เมื่อศึกษาเสถียรภาพของอนุพันธ์ไดเบนโซอิลมีเธน **DBM3** และ **DBM4** เปรียบเทียบกับ **DBM** ที่ใช้ในท้องตลาด ในเมทานอล ฉายรังสียูวีเอเป็นเวลา 15 30 และ 60 นาที นำไปวัดการดูดกลืนรังสียูวีที่ความยาวคลื่นที่สูงที่สุด ($\lambda_{\max}$) พบว่า **DBM3** มีเสถียรภาพใกล้เคียงกับ **DBM** ส่วน **DBM4** มีความเสถียรลดลง ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากเมื่อเปลี่ยนหมู่ OH มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยามากขึ้น จึงทำให้เกิดการสลายตัวเมื่อโดนแสงยูวีได้ง่ายขึ้น (จะใช้หมู่ OH เป็นหมู่เชื่อมต่อกับไซโคลเดกตรินในขั้นตอนต่อไป จะทำให้มีความว่องไวลดลง)

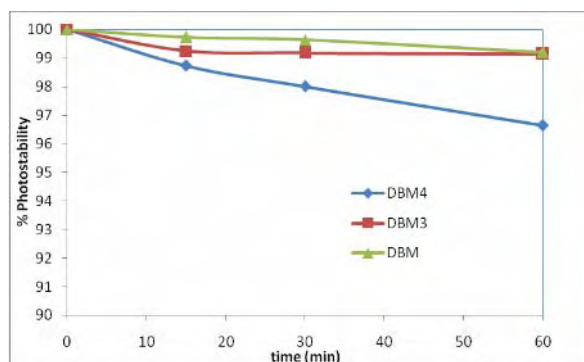


Figure 16 Photostability of (1×10^{-5}) **DBM**, **DBM3** and **DBM4** in methanol.

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

สามารถสังเคราะห์กรดซินนามิกที่มีหมู่แทนที่ต่างๆ ได้ 12 ชนิด โดยเลือก 3 ชนิดที่มีความเสถียรต่อแสงต่างกันมาทำเป็นอนุพันธ์กับวงไซโคลเดกตรินได้ 5 ชนิด เมื่อนำอนุพันธ์ซินนามेटที่ติดลงบนไซโคลเดกตรินขนาดต่างๆกันมาทดสอบการดูดกลืนรังสียูวี พบว่าดูดกลืนรังสีช่วงยูวีเอและบีได้ดีเหมือนกับกรดซินนามิกเริ่มต้น และเมื่อทดสอบเสถียรภาพต่อรังสียูวีบี พบว่าหมู่ซินนามอิลที่มีขนาดพอดีกับวงไซโคลเดกตรินจะมีเสถียรภาพต่อรังสียูวีเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิด inclusion complex เข้าไปในวงไซโคลเดกตริน ยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิค ROESY และเมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่าซินนามอิลที่ติดลงบนไซโคลเดกตรินมีความเป็นพิษลดลงเมื่อเทียบกับกรดซินนามิกเริ่มต้น

นอกจากนี้นำกรดซินนามิกอีก 9 ชนิด ที่มีชนิดและตำแหน่งหมู่แทนที่ต่างๆกัน มาทำเป็นอนุพันธ์ซินนามेट โดยมีหมู่ alkyl เป็นหมู่ 2-ethylhexyl เมื่อศึกษาการดูดกลืนรังสียูวีพบว่าซินนามेटทั้ง 9 ชนิดสามารถดูดกลืนรังสียูวีบีได้ดี และมีบางชนิดสามารถดูดกลืนรังสียูวีเอช่วงต้นได้ ได้แก่หมู่แทนที่ที่เป็น 4-hydroxyl และ 4-nitro group เมื่อทดสอบเสถียรภาพต่อรังสียูวีบี พบว่าซินนามेटที่มีหมู่แทนที่ทุกชนิดที่ตำแหน่งที่ 3 (meta) เสถียรที่สุด ถัดมาคือ 4 (para) และ 2 (ortho) ตามลำดับ โดยที่ชนิดของหมู่แทนที่เสถียรมากที่สุดคือ hydroxyl group ซึ่งเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน ขณะที่หมู่ดึงอิเล็กตรอน nitro และ fluoro มีความเสถียรต่อแสงน้อยกว่า เมื่อนำอนุพันธ์ซินนามेटไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่า หมู่แทนที่ hydroxyl ที่เป็นหมู่ให้อิเล็กตรอนมีแนวโน้มเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่าหมู่แทนที่ที่ดึงอิเล็กตรอน

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

เนื่องจากในงานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาและปรับปรุงโครงสร้างของอนุพันธ์กรดซินนามิก และซินนามेटที่มีหมู่แทนที่ต่าง ๆ กัน ดังนั้นสามารถนำไปศึกษา Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) โดยเปรียบเทียบผลที่ได้จากการทดลองให้ห้องปฏิบัติการและจากการคำนวณทางคอมพิวเตอร์ เพื่อนำไปสร้างสมการการทำนายความเป็นพิษของสารประกอบกลุ่มนี้ และกลุ่มที่เกี่ยวข้องได้ต่อไป นอกจากนี้สามารถพัฒนาอนุพันธ์ไซโคลเดกตรินที่มีหมู่กรองรังสียูวีไปใช้ในเครื่องสำอางต่อไปได้เนื่องจากมีความเป็นพิษน้อยกว่าสารกรองรังสียูวีที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน และในส่วนของซินนามेटในอนาคตจะมีการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเชิงแสงต่อไป

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่มที่ เลขที่ และหน้า) หรือผลงานตามที่คาดไว้ในสัญญาโครงการ
Thitinun Karpkird, Supason Wanichweacharunguang, “**Synthesis and photostability of methoxycinnamic acid modified cyclodextrin**” Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 212 (2010) 56-61.
2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์
 - เชิงพาณิชย์ (มีการนำไปผลิต/ขาย/ก่อให้เกิดรายได้ หรือมีการนำไปประยุกต์ใช้โดยภาคธุรกิจ/บุคคลทั่วไป)
 - ยังไม่มี
 - เชิงนโยบาย (มีการกำหนดนโยบายองงานวิจัย/เกิดมาตรการใหม่/เปลี่ยนแปลงระเบียบข้อบังคับหรือวิธีทำงาน)
 - ยังไม่มี
 - เชิงสาธารณะ (มีเครือข่ายความร่วมมือ/สร้างกระแสมความสนใจในวงกว้าง)
 - ยังไม่มี
 - เชิงวิชาการ (มีการพัฒนาการเรียนการสอน/สร้างนักวิจัยใหม่)
 - สร้างนักวิจัยระดับปริญญาตรี 1 คน
 - หัวข้อปัญหาพิเศษ “การสังเคราะห์อนุพันธ์ไคเบนโซอิลมีเซนเพื่อใช้เป็นสารกรองรังสียูวี”
3. อื่นๆ (เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ หนังสือ การจดสิทธิบัตร)
 - นำเสนอผลงานแบบ poster ในหัวข้อ “**Photostability of Beta-Cyclodextrin Modified with Methoxy Cinnamic Acids**” ในงานประชุมวิชาการ XXII IUPAC Symposium on Photochemistry, Gothenburg, Sweden July 28- August 1, 2008
 - นำเสนอผลงานแบบ poster ในหัวข้อ “**Methoxycinnamic acids Midified Cyclodextrins**” ในงานประชุมวิชาการ The 6th International Symposium on Advance Material in Asia-Pacific Rim (6th ISAMAP), Bangkok, Thailand 21-23 November 2009
 - นำเสนอผลงานแบบ poster ในหัวข้อ “**Calculation of partition coefficient (Log P) of synthesized cinnamic acid and cinnamate derivatives**” ในงานประชุมวิชาการ Pure and Applied Chemistry International Conference 2010, Ubon Ratchathani, Thailand 21-23 January 2010

เอกสารอ้างอิง

1. Poon, T. S., Barnetson, R. S., Halliday, G. M. Sunlight-induced immunosuppression in humans is initially because of UVB, then UVA, followed by interactive effects. *J. Invest. Dermatol.*, **2005**, *125*, 840-846.
2. Kuchel, J. M., Barnetson, R. S., Halliday, G. M. Cyclobutane pyrimidine dimer formation is a molecular trigger for solar-simulated ultraviolet radiation-induced suppression of memory immunity in humans. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2005**, *4*, 577-582.
3. Mouret, S., Baudouin, C., Charveron, M., Favier, A., Cadet, J., Douki, T. Cyclobutane pyrimidine dimers are predominant DNA lesions in whole human skin exposed to UVA radiation. *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A.* **2006**, *103*, 13765-13770.
4. Wahlberg, N. T., Stenhagen, N., Larko, G., Rosen, O., Wennberg, A., Wennerström, O. (1999) Changes in ultraviolet absorption of sunscreens after ultraviolet irradiation. *J. Invest. Dermatol.* **113**: 547-553.
5. Watanabe, H., Shimizu, T., Nishihira, J., Abe, R., Nakayama, T., Taniguchi, M., Sabe, H., Ishibashi, T., Sayre, R. M., Dowdy, J. C. Photostability testing of Avobenzone. *Cosmet. Toil.* **1999**, *114*, 85-91.
6. Pattanaargson, S., Munhapol, T., Hirunsupachot, P., Luangthongaram, P. () Photoisomerization of octylmethoxycinnamate, *J. Photochem. Photobiol. A.*, **2004**, *161*, 269-274.
7. Nogueira, M. A., Magalhaes, E. G., Magalhaes, A. F., Biloti, Debora, N., Laverde, A., Pessine, F., Carvalho, J. E., Kohn, L. K., Antonio, M. A., Marsaioli, A. J., A Novel Sunscreen Agent Having Antimelanoma Activity, *Il Farmaco*, **2003**, *58*, 1163-1169.
8. Syamala, M. S., Devanathan, S., Ramamwrthy, V., Modification of the Photochemical Behavior of Organic Molecules by Cyclodextrin: Geometric Isomerization of Stilbenes and Alkyl Cinnamates, *J. Photochem.*, **1986**, *34*, 219-229.
9. Biloti, D.N., Reis dos, M.M., Ferreira, M.M.C., Pessine, F.B.T. "Photochemical behavior under UVA radiation of β -cyclodextrin included Parsol 1789 with a chemometric approach" *J. Mol. Struc.*, **1999**, *480-481*, 557-561.

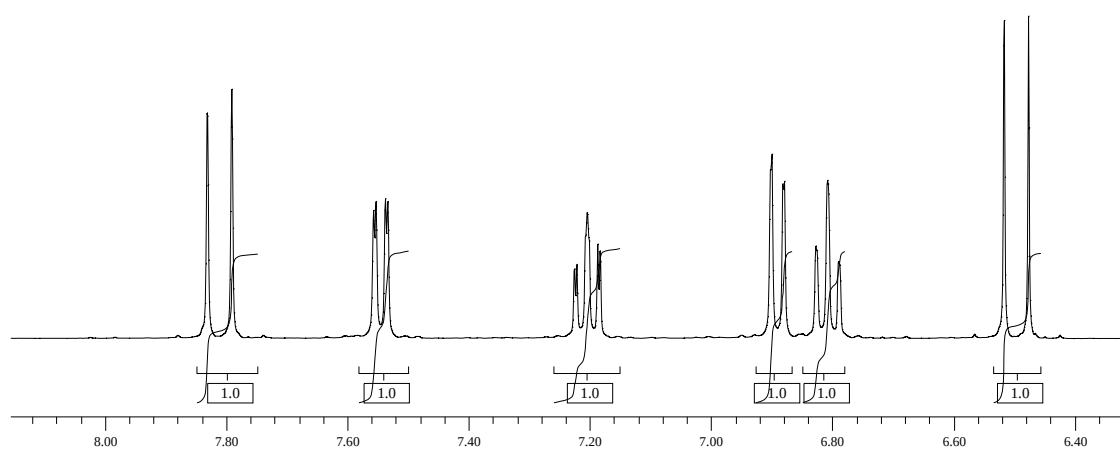
10. Scalia, S., Villani, S., Scatturin, A., Vandelli, M. A., Forni, F. "Complexation of the Sunscreen agent, butyl-methyldibenzoylmethane, with hydroxypropyl- β -cyclodextrin" *Int. J. Pharm.*, **1998**, *175*, 205-213.
11. Scalia, S., Tursilli, R., Iannuccelli, V. "Complexation of the sunscreen agent, 4-methylbenzylidene camphor with cyclodextrins: Effect on photostability and human stratum corneum penetration" *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2007**, *44*, 29-34.
12. Monhaphol, T., Albinsson, B., Supason Patta-argson, 2-Ethylhexyl-2,4,5-trimethoxycinnamate and di-(2-ethylhexyl)-2,4,5-trimethoxybenzalmalonate as novel UVA filters, *J. Pharm. Pharmacol.*, **2007**, *59*, 279-288.
13. Simeoni, S., Scalia, S. Benson, H. A.E, Influence of cyclodextrins on in vitro human skin absorption of the sunscreenm, butyl-methoxydibenzoylmethane, *Int. J. Pharm.*, 2004, *280*, 163-171.
14. Arima. H., Miyaji, T., Irie, T., Hirayama, F., Uekama, K., Enhancing effect of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on cutaneous penetration and activation of ethyl 4-biphenyl acetate in hairless mouse skin, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **1998**, *6*, 53-59.
15. Koo, J., Fish, M. S., Walker, G. N., Blake, J., 2,3-Dimethoxycinnamic acid, *Org. Syn. Coll.* **1994**, *4*, 327-328.
16. Chan, W.-K., Yu, W.-Y., Che, C-M., Wong, M. K., A cyclodextrin-modified ketoester for stereoselective epoxidation of alkenes, *J. Org. Chem.* **2003**, *68* 6576-6582.
17. Diaz, C., Vargas, E, , Gatjens-Boniche, O., Cytotoxic effect induced by retinoic acid loaded into galactosyl-sphingosine containing liposomes on human hepatoma cell lines, *Int. J. Pharm.*, **2006**, *325*, 108-115.
18. Magnani, A., McElvain, S. M., Dibenzoylmethane, *Org. Syn.*, **1940**, *20*, 32.
19. Hubaud, J.-C. et al, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **2008**, *92*, 103-109.
20. Miyauchi, M., Harada, A., Construction of Supramolecular Polymers with Alternating α -, β -Cyclodextrin Units Using conformational Change Induced by Competitive Guests, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 11418-11419.
21. Hoshino, T., Miyauchi, M. Kawaguchi, Y., Yamaguchi, H., Harada, A. Daisy Chain Necklace: Tris[2]rotaxane Containing Cyclodextrins, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 9876-9877.
22. Miyauchi, M., Hoshino, T., Yamaguchi, H., Kamitori, S., Harada, A., A [2]Rotaxane Capped by a cyclodextrin and a Geust: Formation of Supramolecular [2]Rotaxane Polymer, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *126*, 2034-2035.

23. Monhaphol, T., Albinsson, B., Wanichwecharungruang, S. P., 2-Ethylhexyl-2,4,5-trimethoxycinnamate and di-(2-ethylhexyl)-2,4,5-trimethoxybenzalmalonate as novel broadband UV filters, *J. Pharm. Pharmacol.* **2007**, 59, 279-288.

ภาคผนวก

1. ^1H -NMR spectra ของอนุพันธ์กรดซินนามิกและอนุพันธ์ซินนามेट7.831
7.791
7.556

2-hydroxycinnamic acid

Figure S1 ^1H -NMR spectrum of **4** in $\text{DMSO}-d_6$ (400 MHz).7.505
7.465
7.211

3-hydroxycinnamic acid

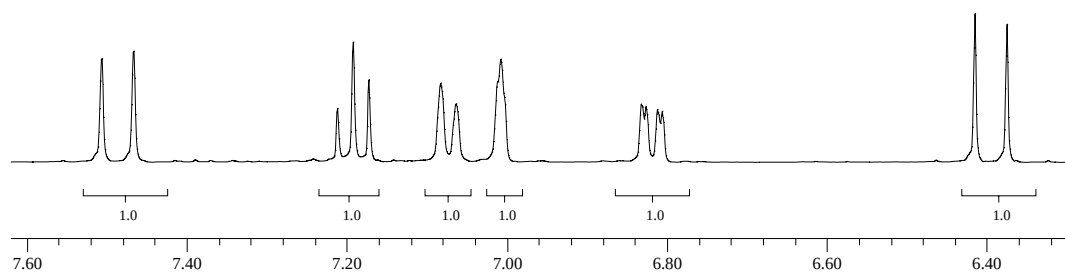


Figure S2 ^1H -NMR spectrum of **5** in $\text{DMSO}-d_6$ (400 MHz).

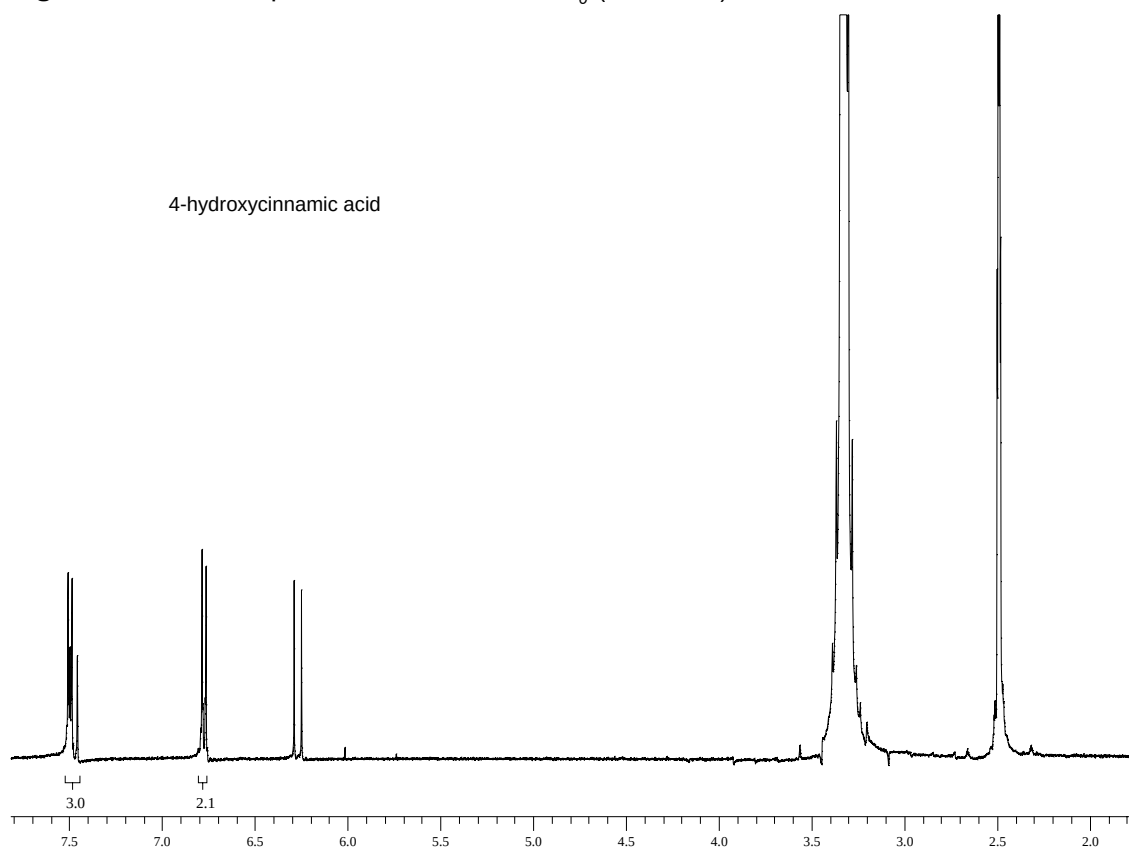


Figure S3 ^1H -NMR spectrum of **6** in $\text{DMSO}-d_6$ (400 MHz).

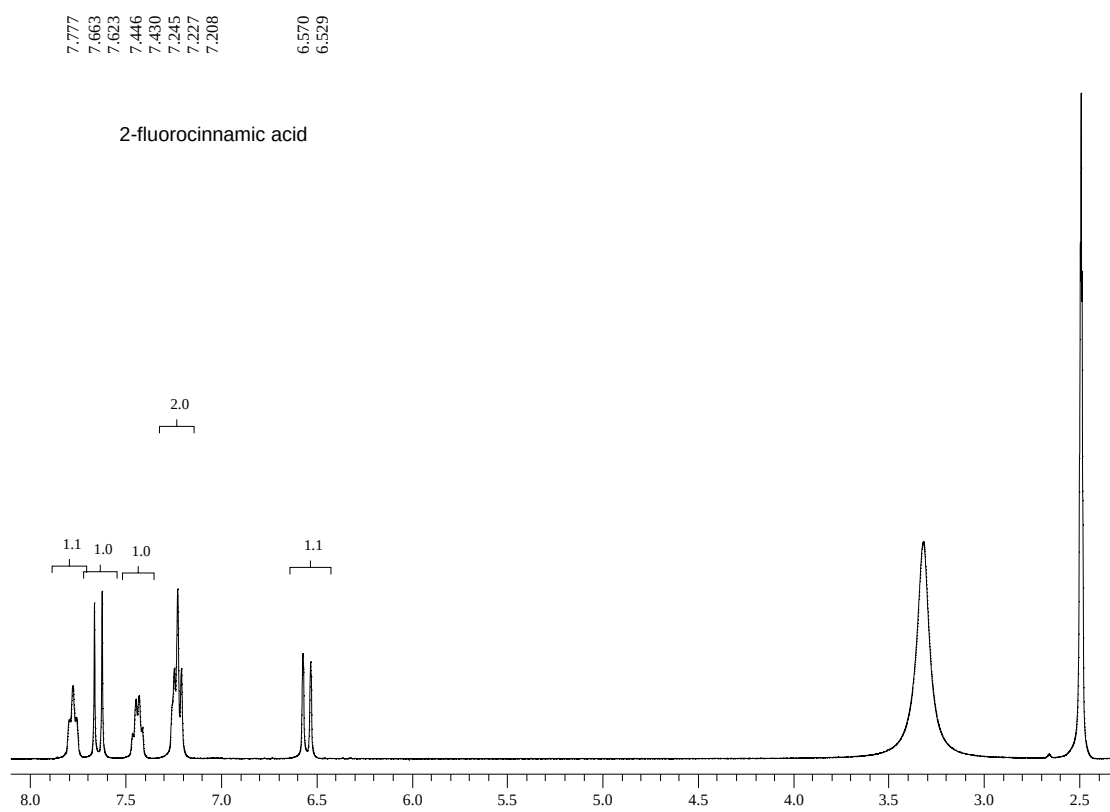


Figure S4 ^1H -NMR spectrum of **7** in $\text{DMSO}-d_6$ (400 MHz).

7.591
7.550
7.506
7.486
7.452
7.397

3-fluorocinnamic acid

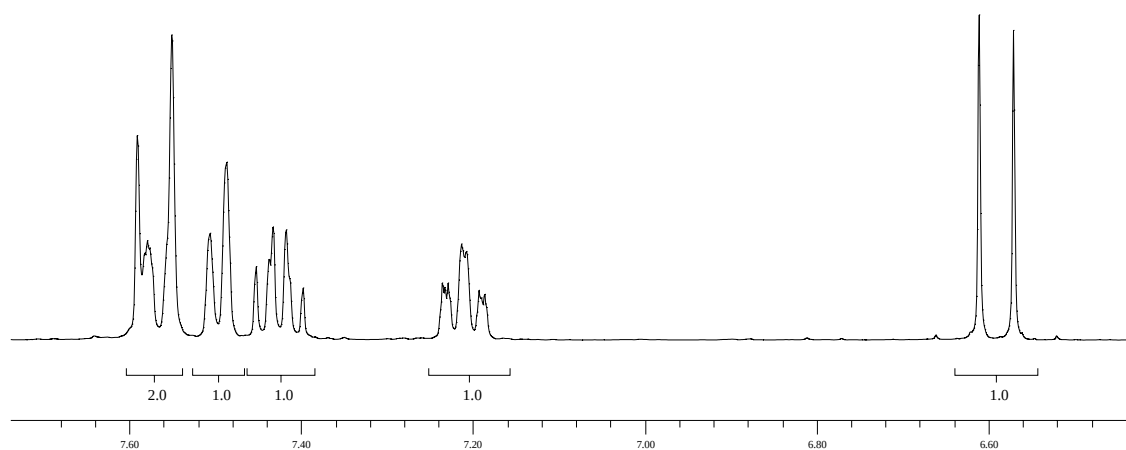


Figure S5 ¹H-NMR spectrum of **8** in DMSO-*d*₆ (400 MHz).

7.718
7.704
7.683
7.576
7.536
7.205
7.183
7.160

4-fluorocinnamic acid

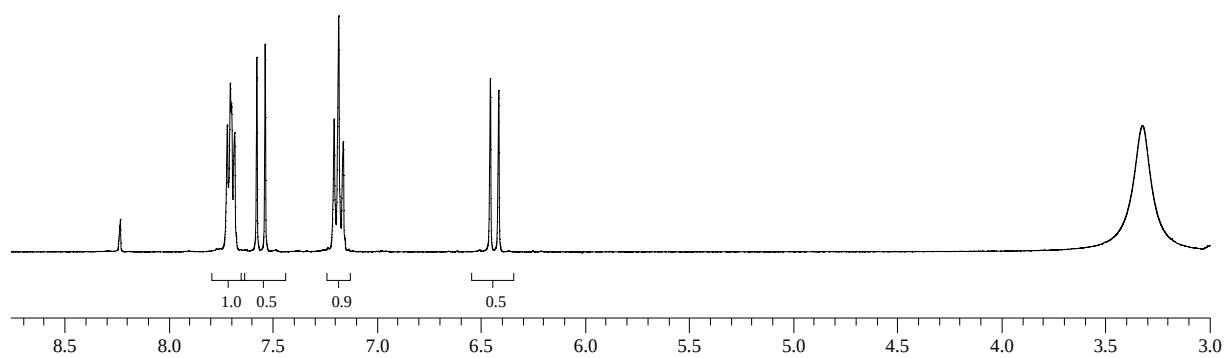


Figure S6 ¹H-NMR spectrum of **9** in DMSO-*d*₆ (400 MHz).

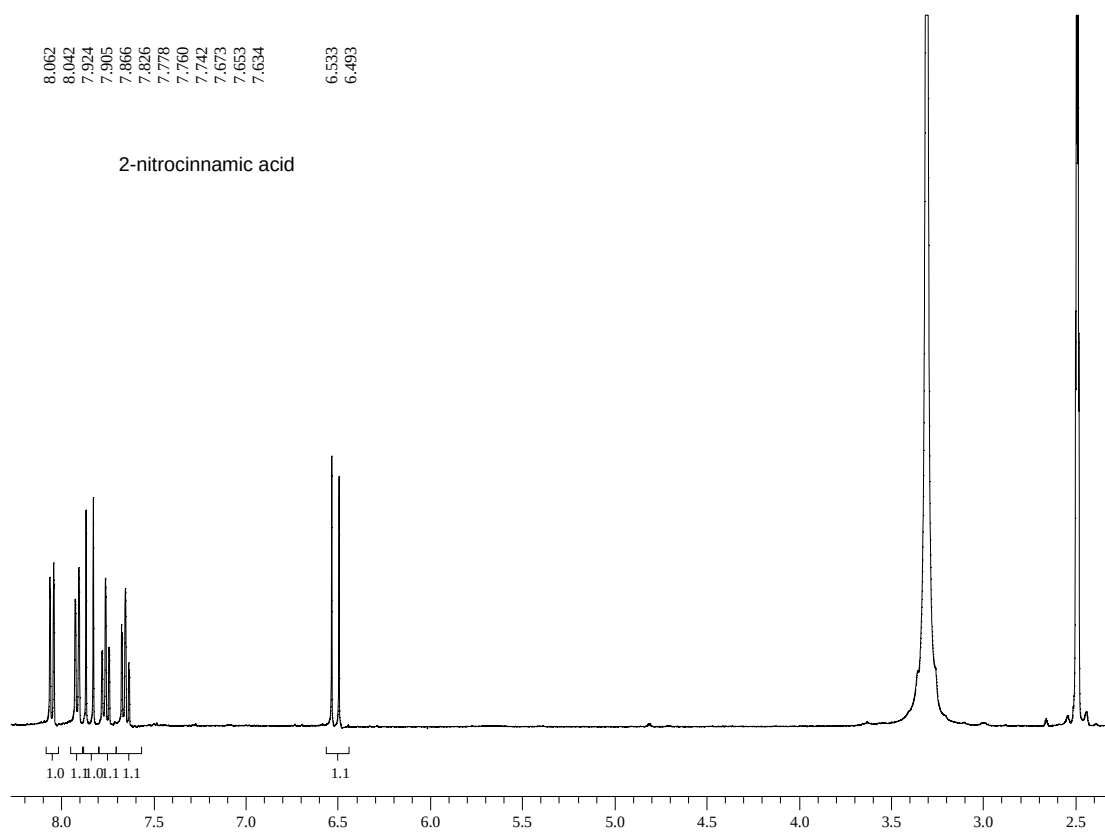


Figure S7 ^1H -NMR spectrum of **10** in $\text{DMSO-}d_6$ (400 MHz).

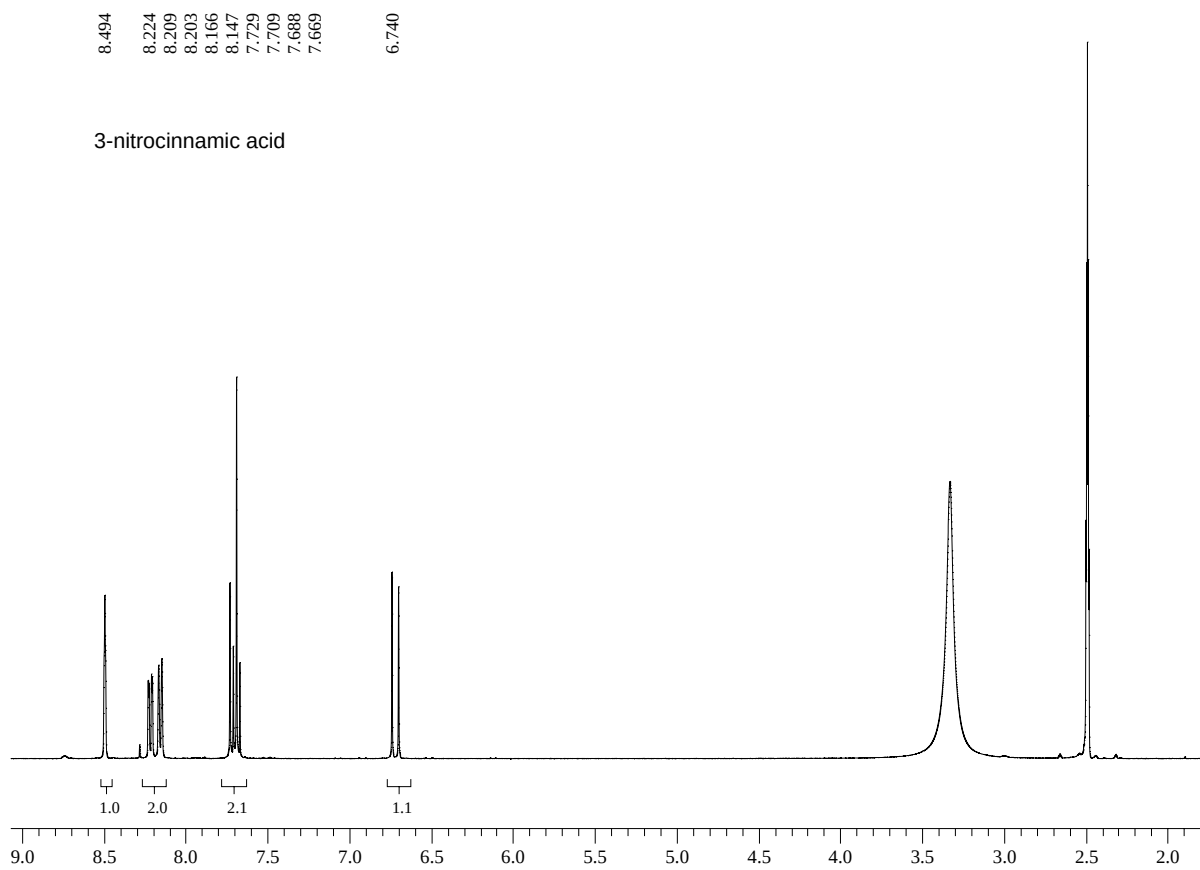


Figure S8 ^1H -NMR spectrum of **11** in $\text{DMSO-}d_6$ (400 MHz).

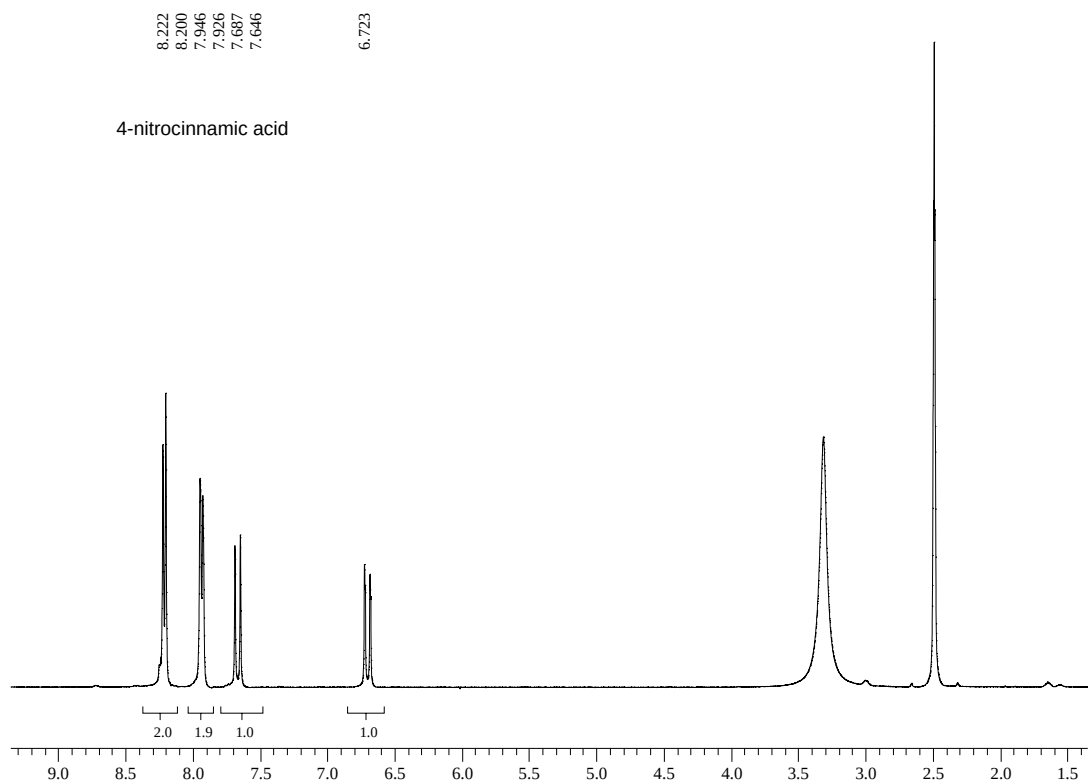


Figure S9 ^1H -NMR spectrum of **12** in $\text{DMSO}-d_6$ (400 MHz).

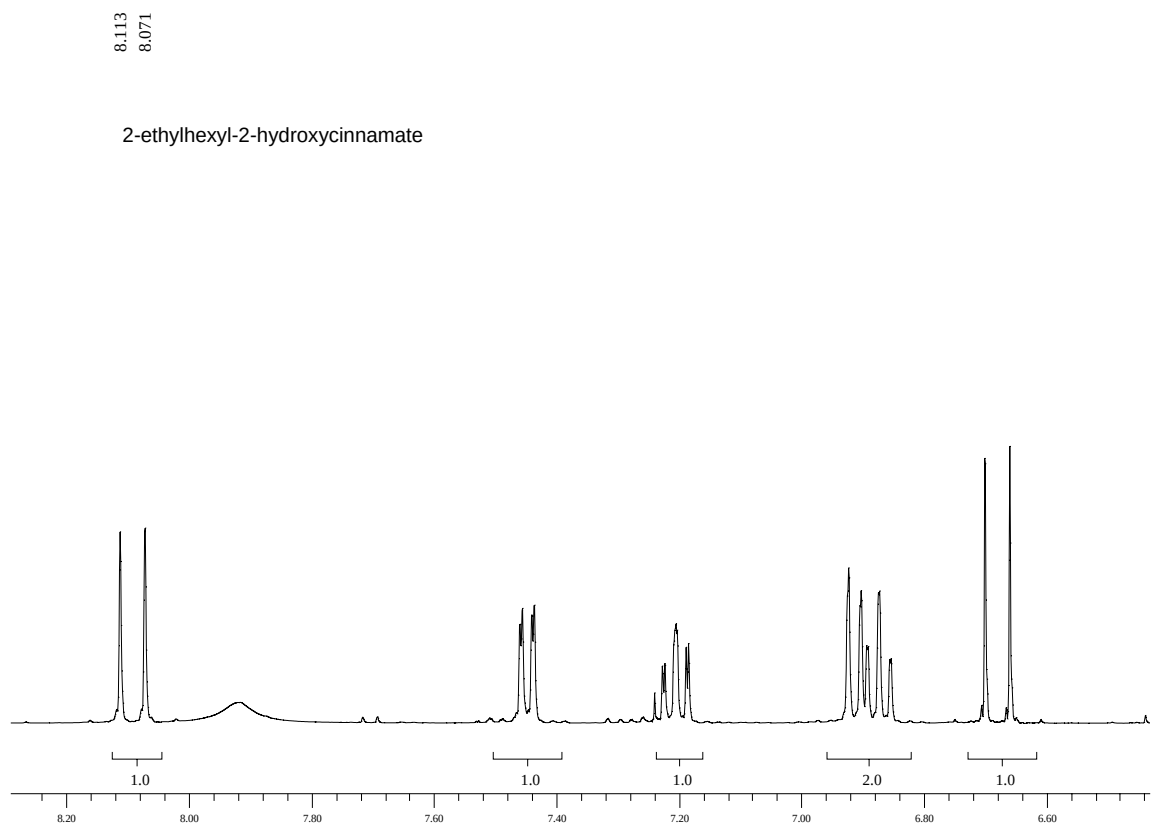


Figure S10 ^1H -NMR spectrum of **18** in CDCl_3 (400 MHz).

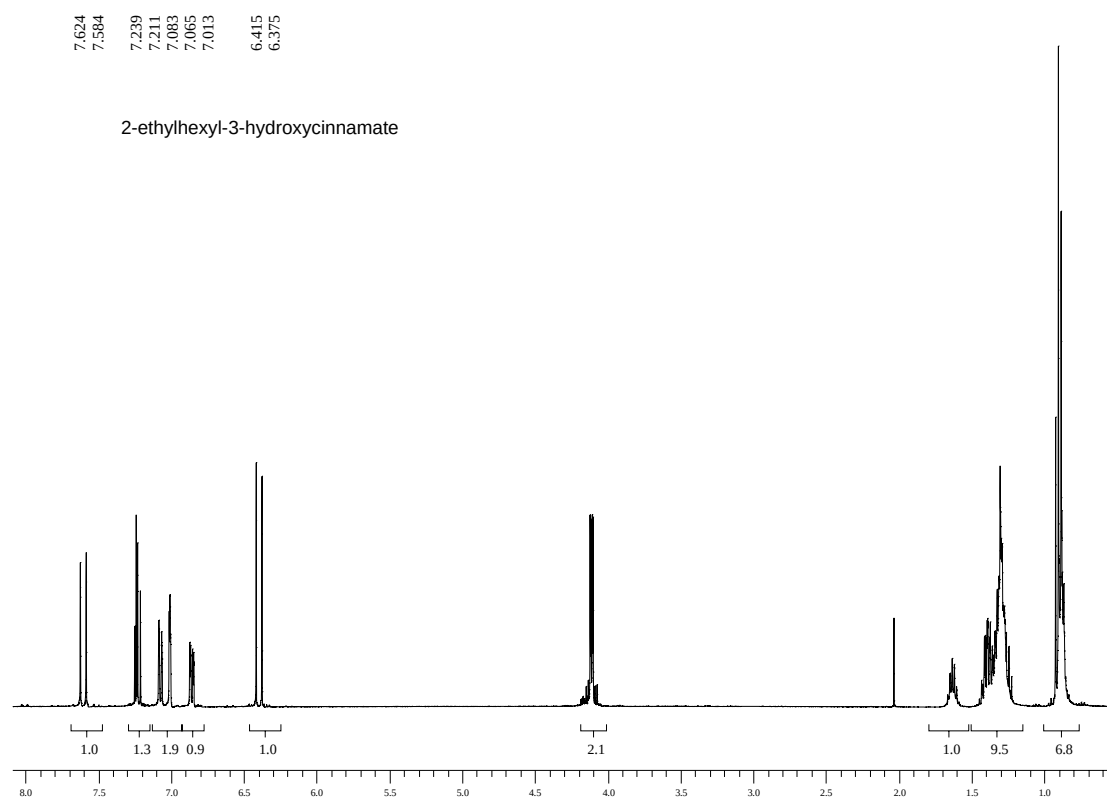


Figure S11 ^1H -NMR spectrum of **19** in CDCl_3 (400 MHz).

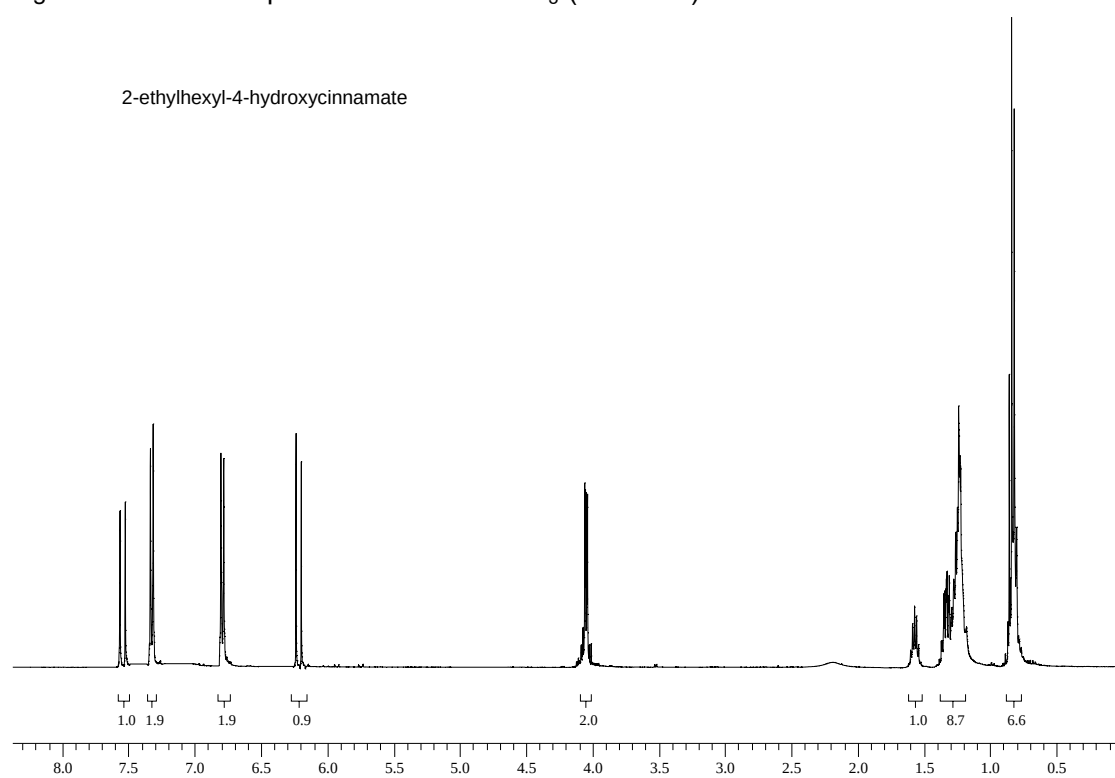


Figure S12 ^1H -NMR spectrum of **20** in CDCl_3 (400 MHz).

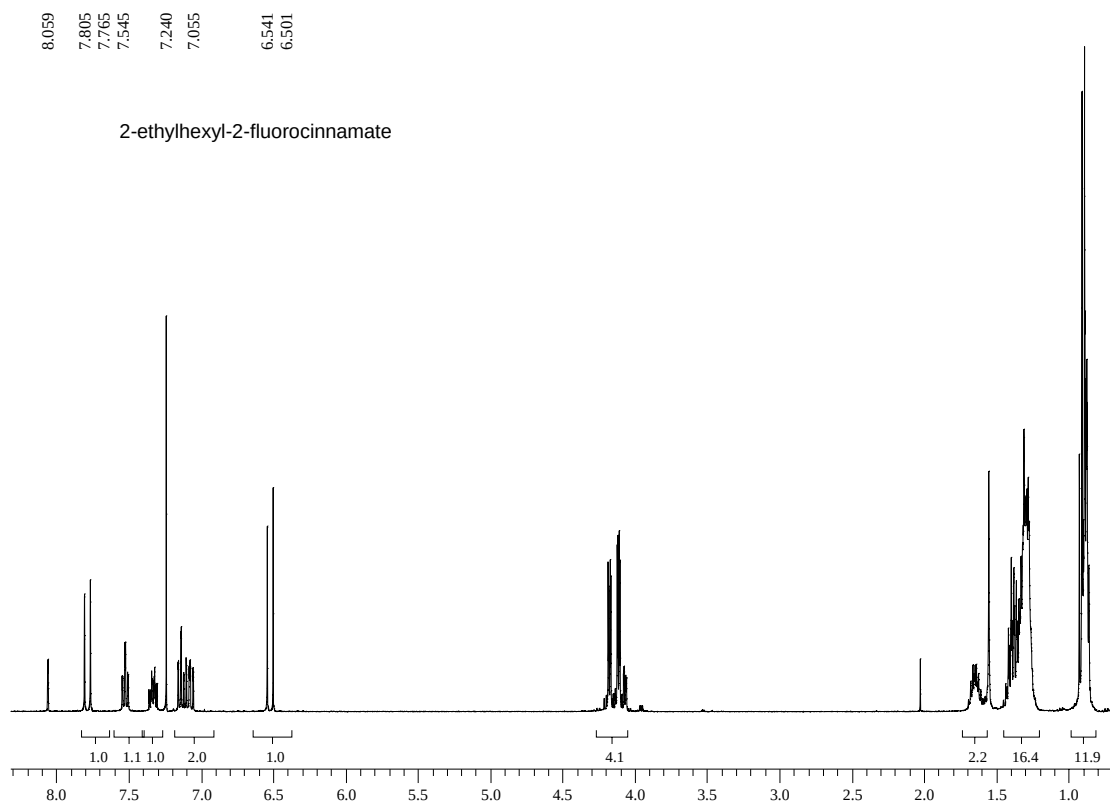


Figure S13 ^1H -NMR spectrum of **21** in CDCl_3 (400 MHz).

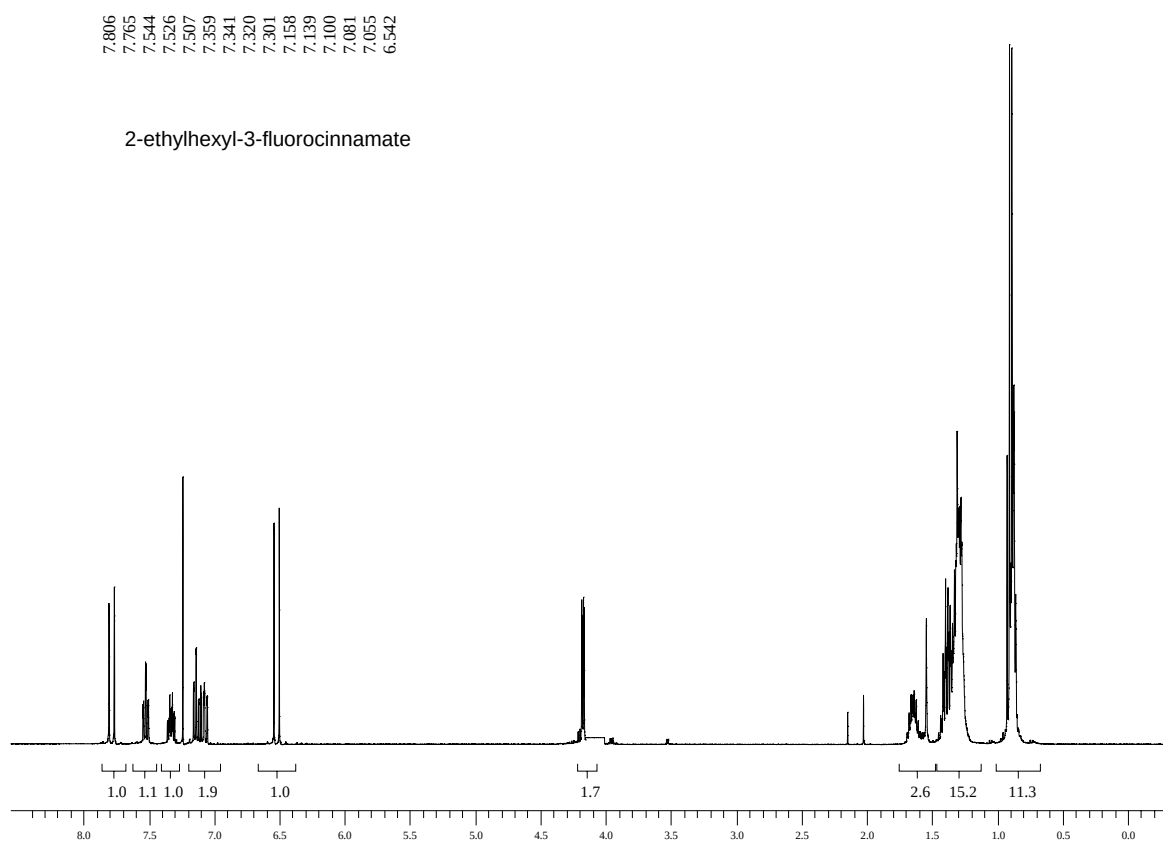


Figure S14 ^1H -NMR spectrum of **22** in CDCl_3 (400 MHz).

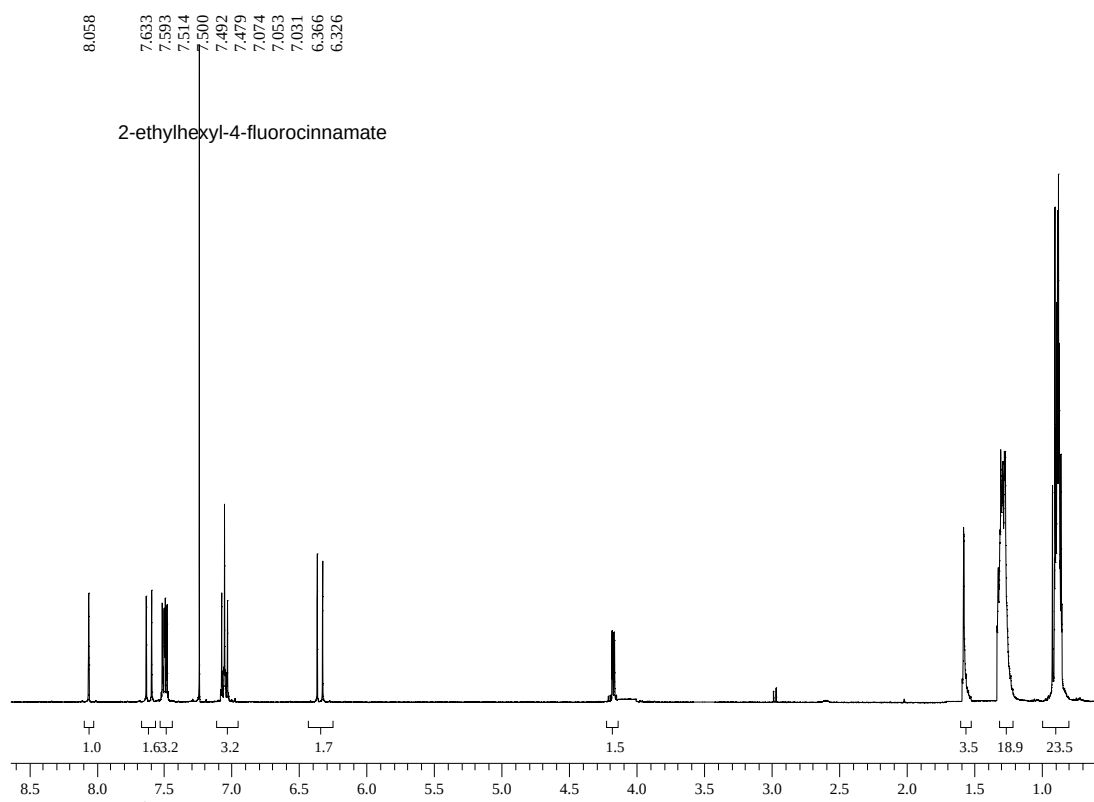


Figure S15 ^1H -NMR spectrum of **23** in CDCl_3 (400 MHz).

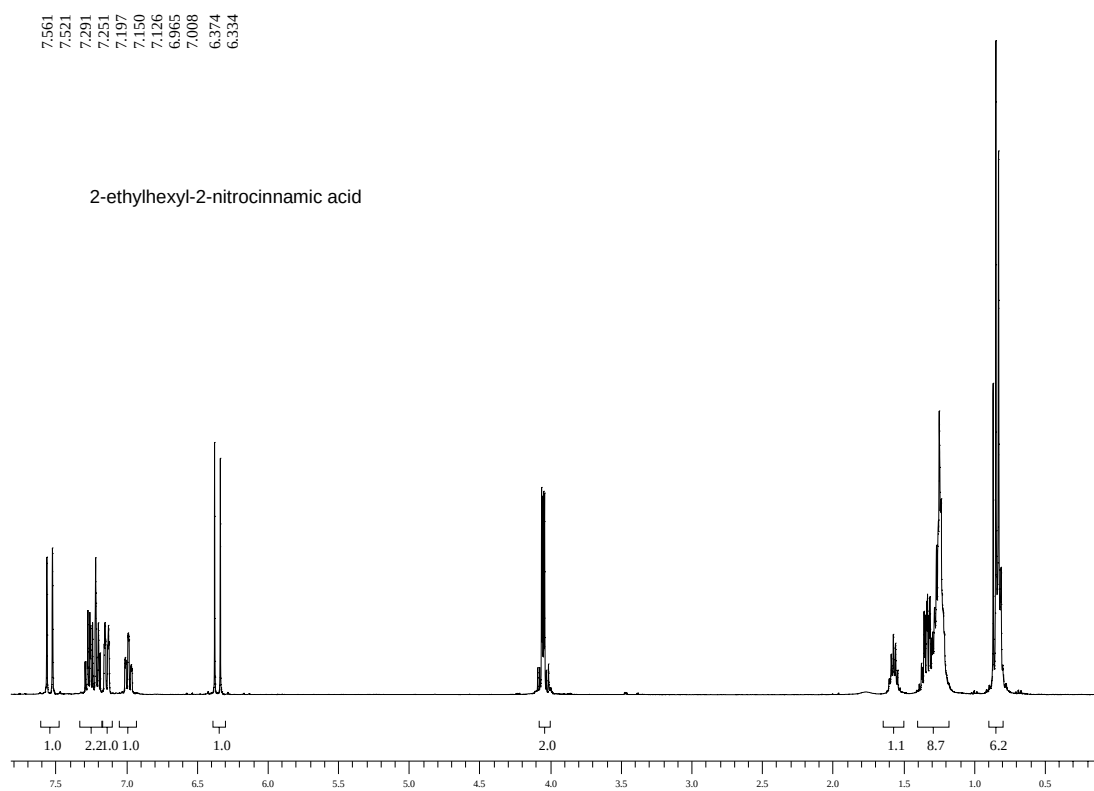


Figure S16 ^1H -NMR spectrum of **24** in CDCl_3 (400 MHz).

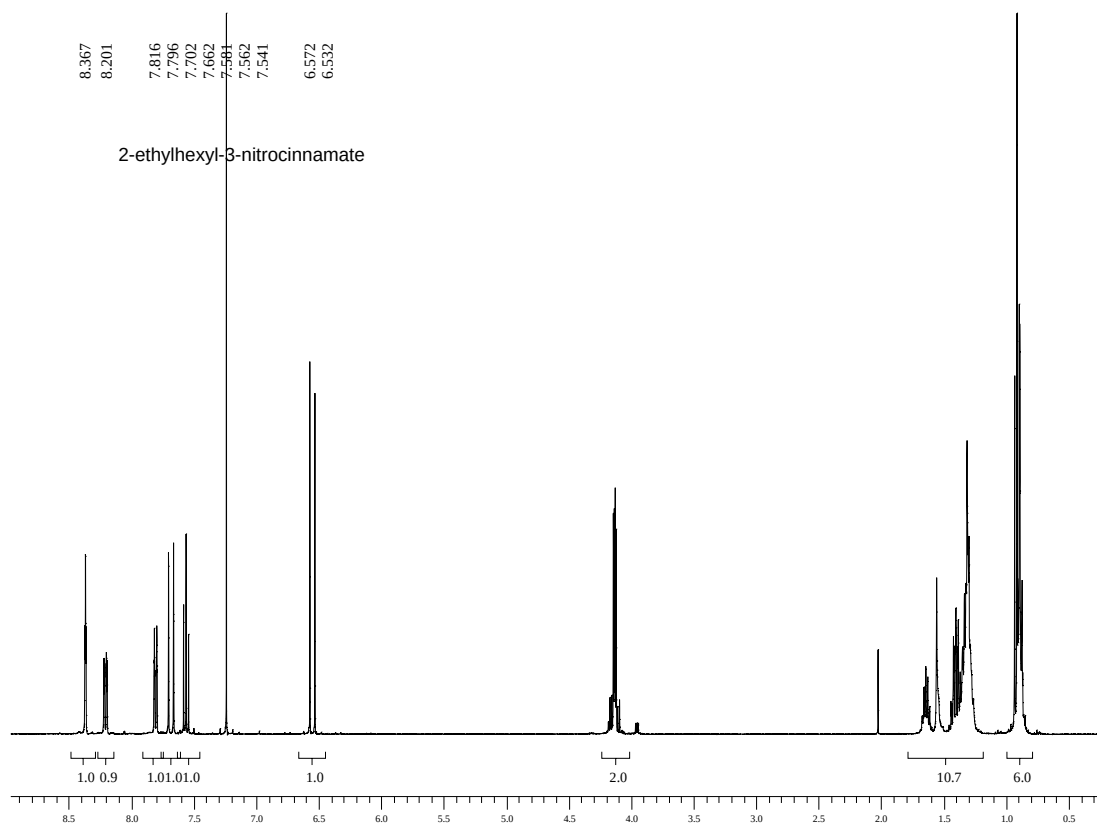


Figure S17 ^1H -NMR spectrum of **25** in CDCl_3 (400 MHz).

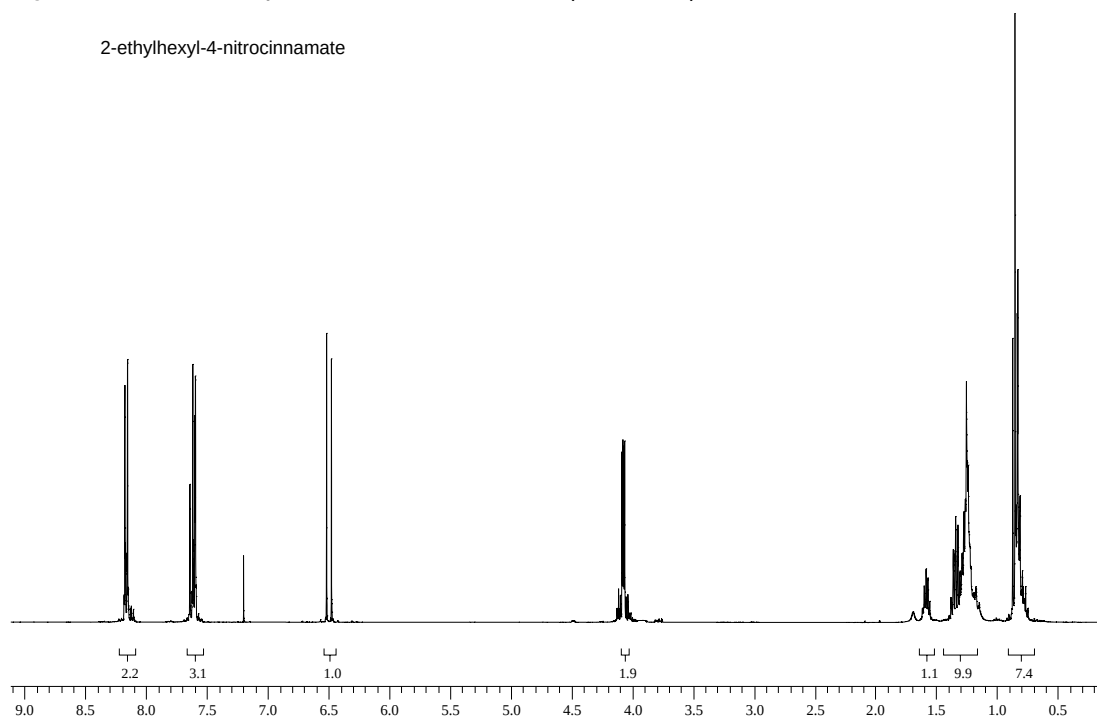


Figure S18 ^1H -NMR spectrum of **26** in CDCl_3 (400 MHz).

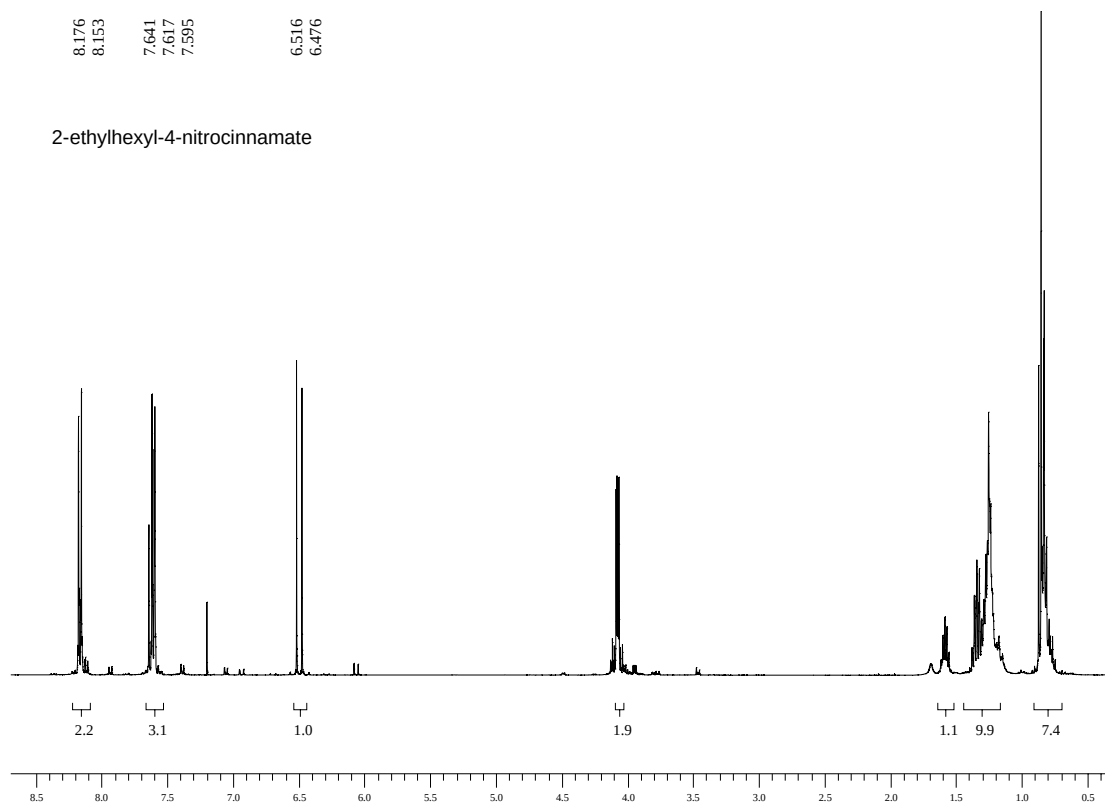


Figure S19 ^1H -NMR spectrum of **27** in CDCl_3 (400 MHz).

S2. NMR Spectra ของอนุพันธ์ซินนามิกที่ติดลงบนไซโคลเดกตริน

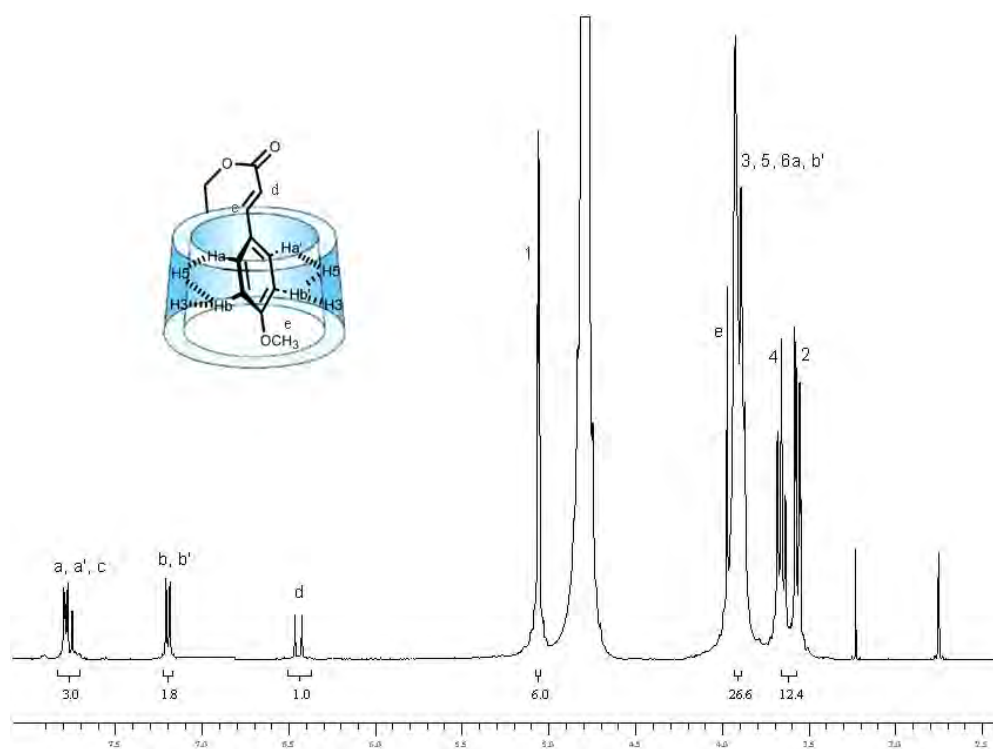


Figure S20. ^1H -NMR spectrum of **13** in D_2O

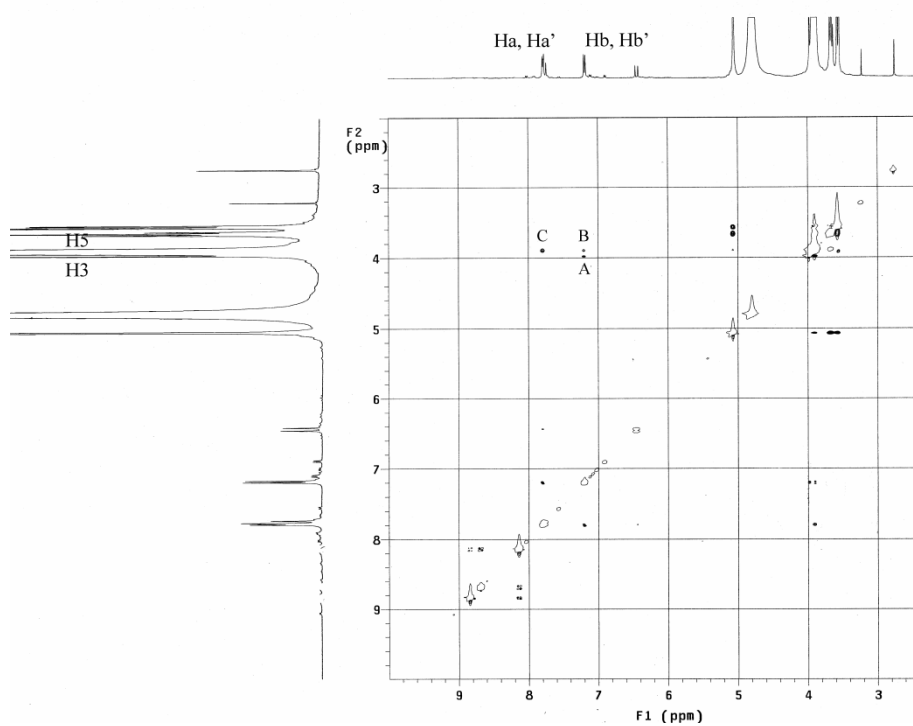


Figure S21. ROESY spectrum of **13** in D₂O.

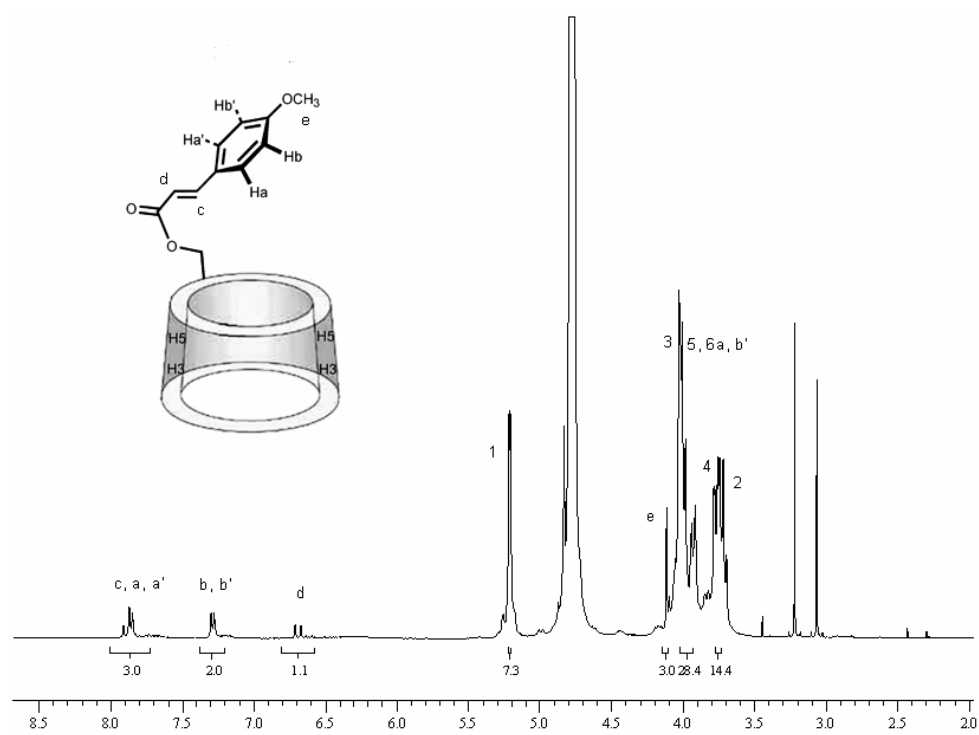


Figure S22. ¹H-NMR of **14** in 50%D₂O-DMSO-d₆.

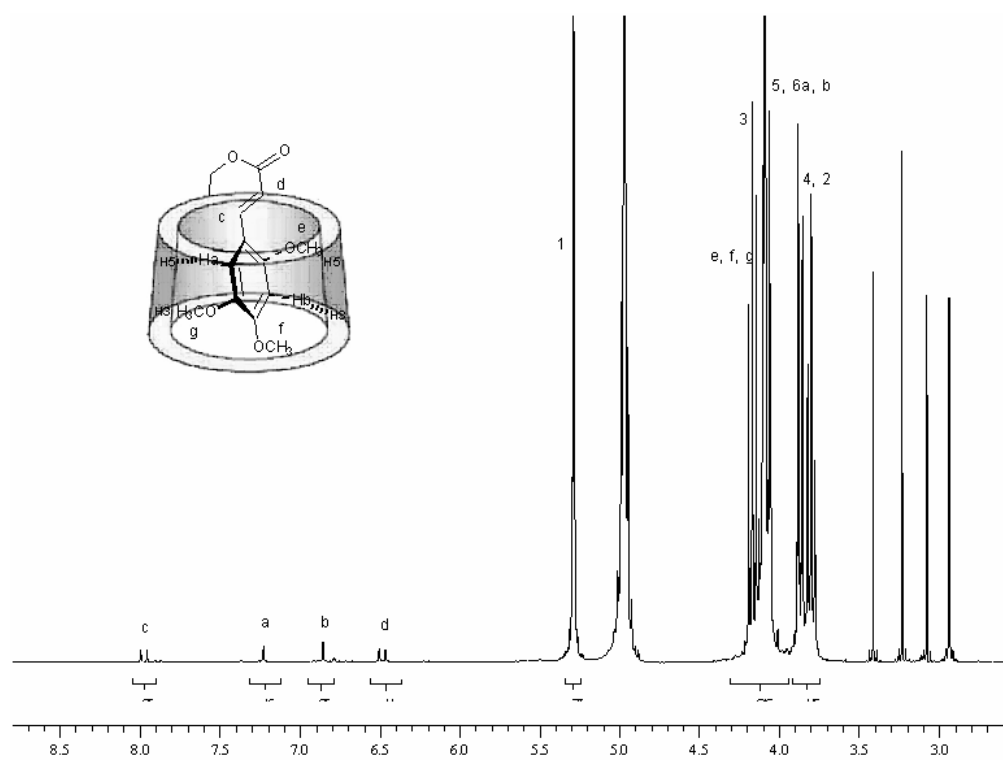


Figure S23. ^1H -NMR of **15** in D_2O .

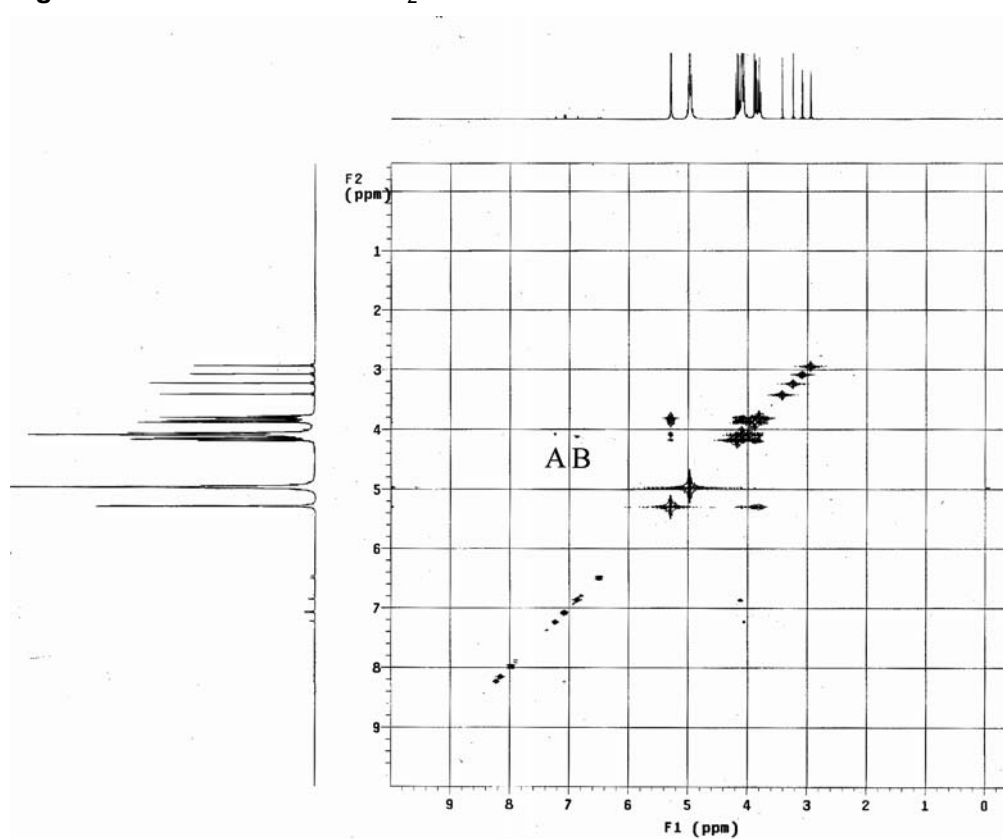
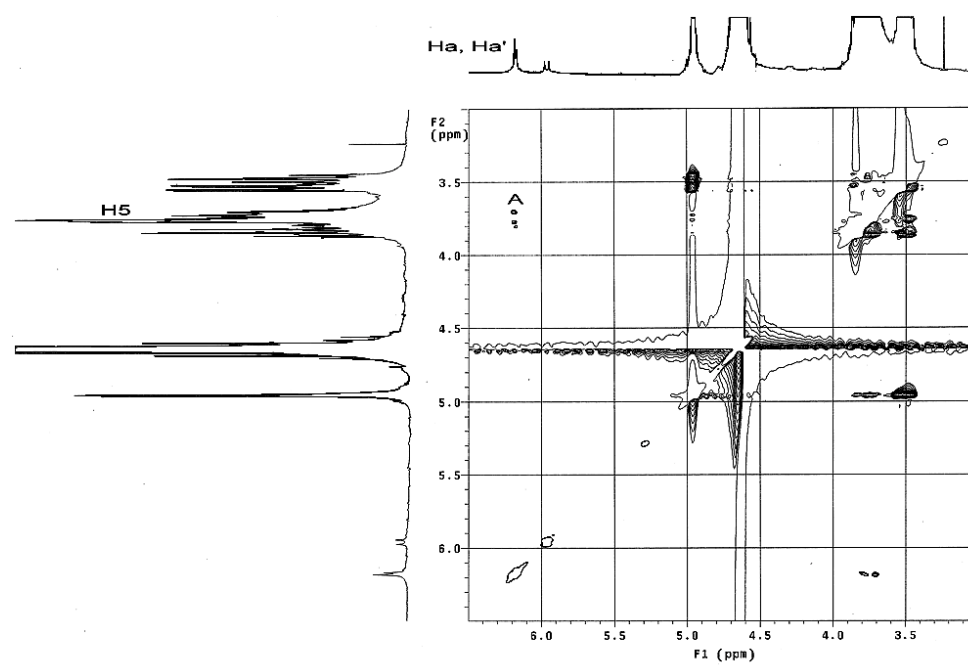
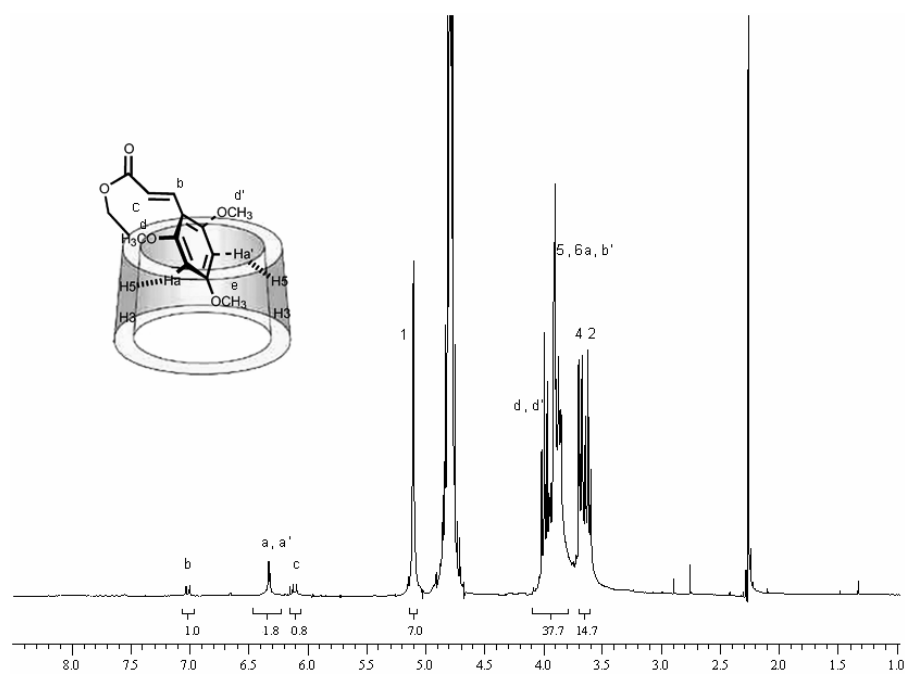


Figure S24. ROESY spectrum of **15** in D_2O .



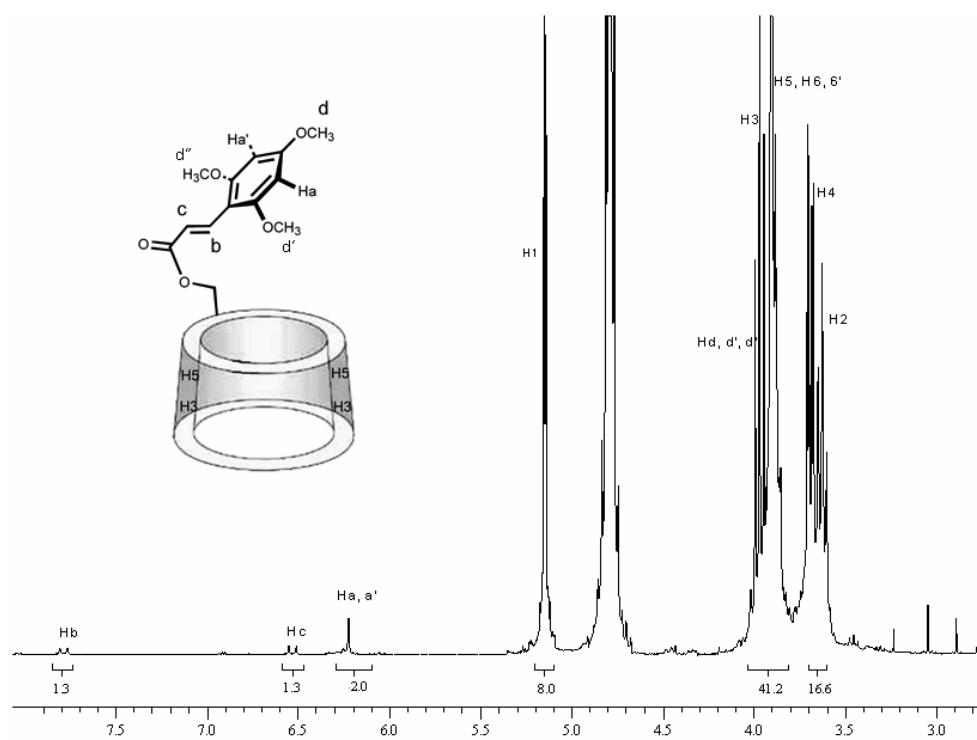


Figure S27. ^1H -NMR spectrum of **17** in 10% D_2O

S3. DSC Thermograms

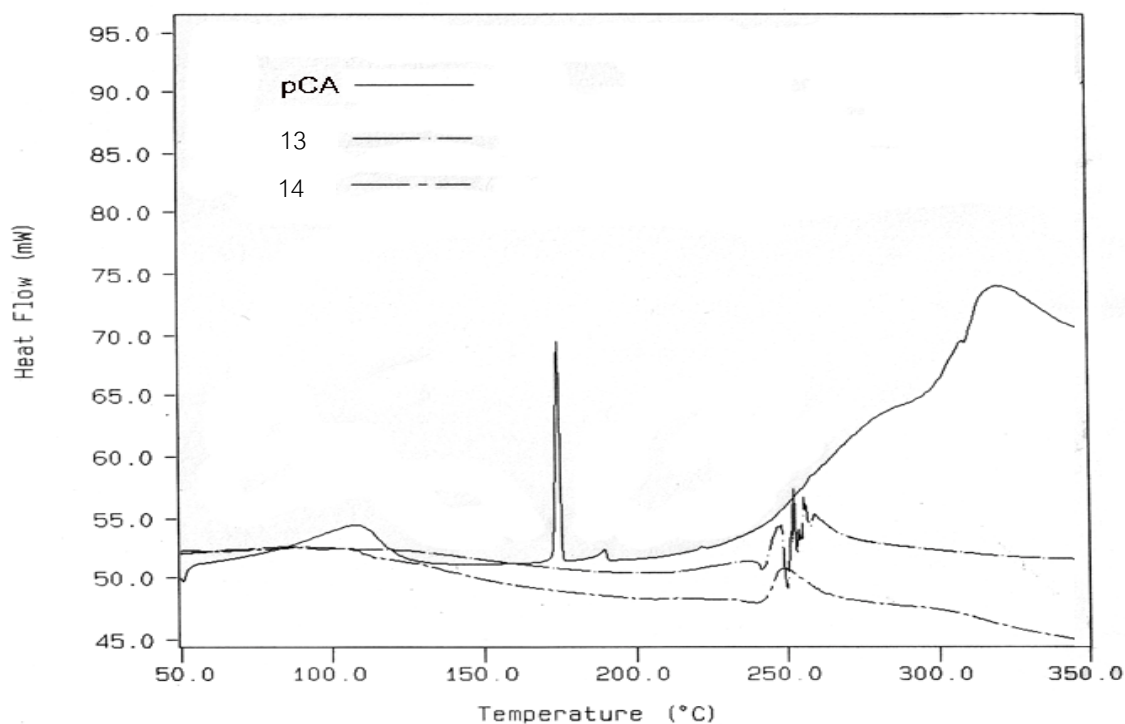


Figure S28. DSC thermogram of *p*-methoxycinnamaic acid (pCA) compared to *p*-methoxycinnamoylcyclodextrin derivatives **13** and **14**.

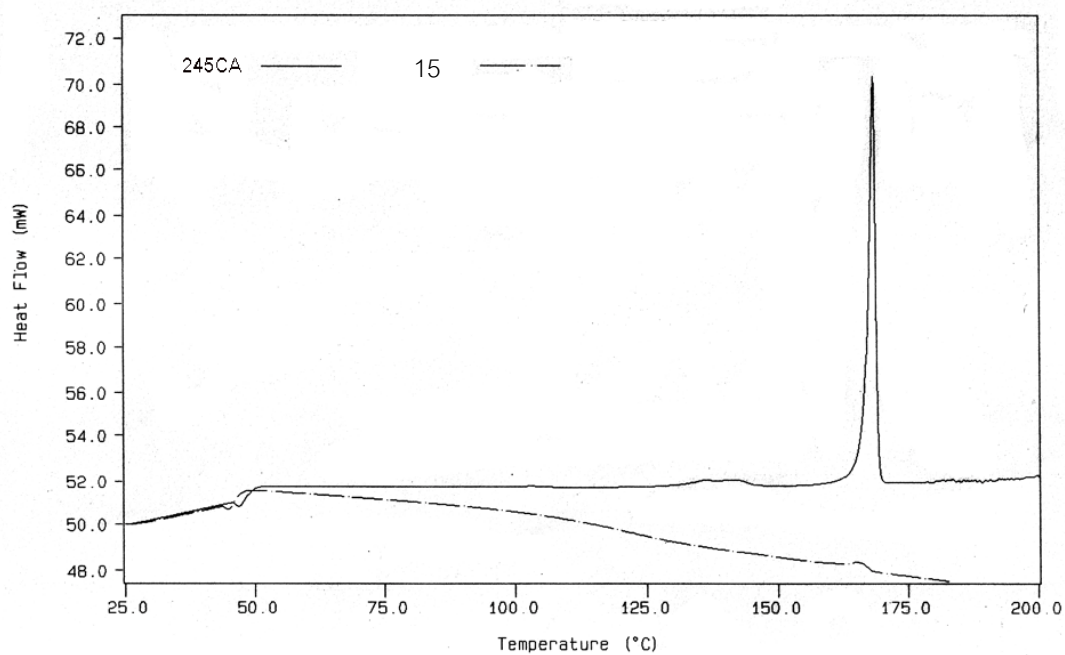


Figure S29. DSC thermogram of 2,4,5-trimethoxycinnamic acid and cyclodextrin derivative **15**.

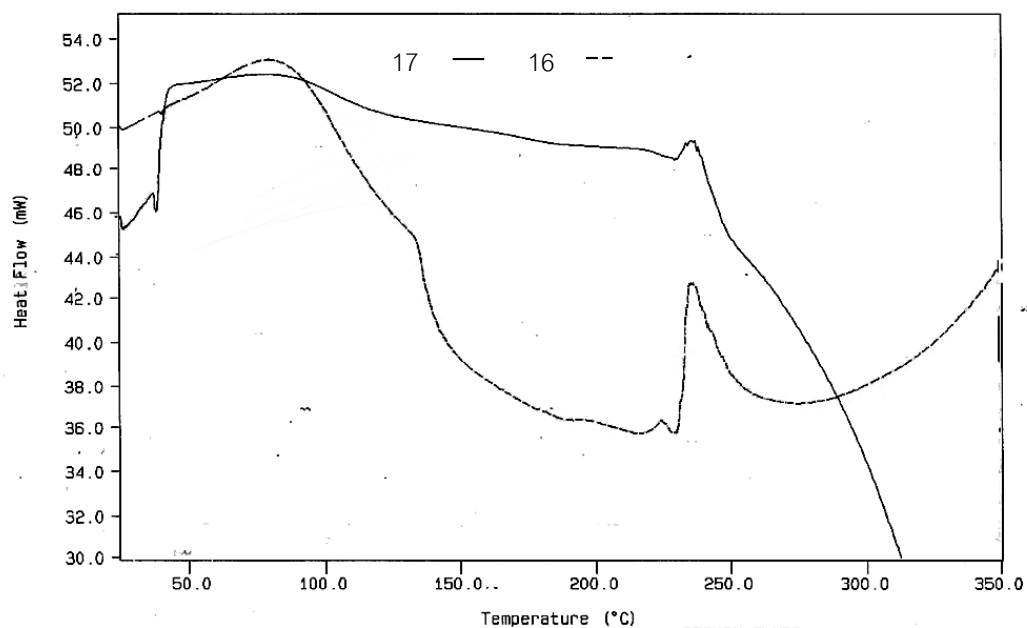


Figure S30. DSC thermogram of 2,4,6-trimethoxycinnamoyl cyclodextrin derivative **16** and **17**.

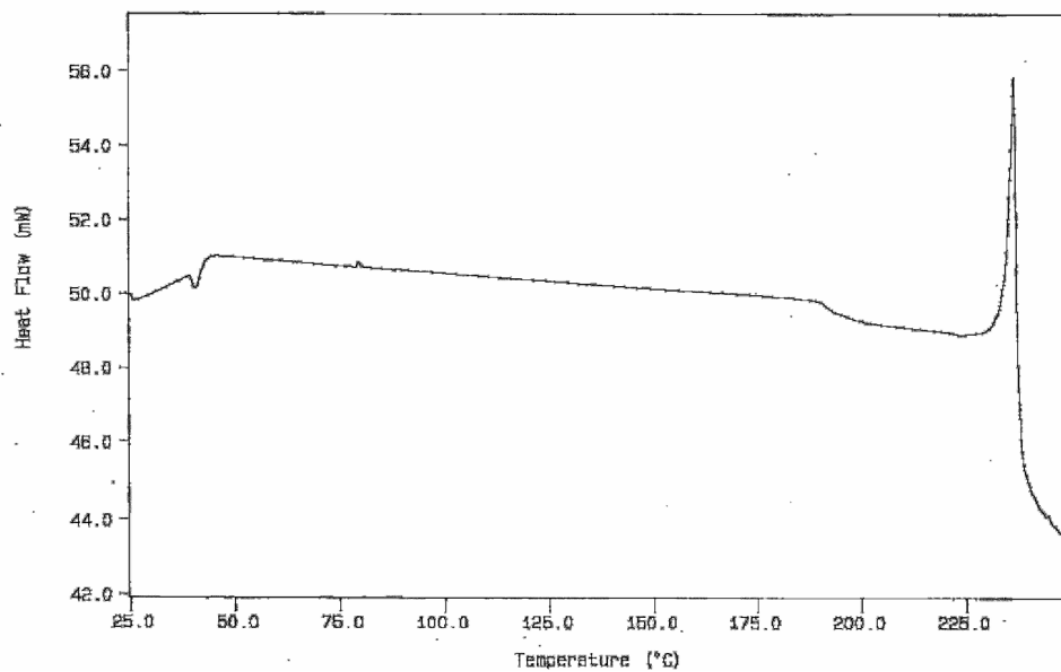


Figure S31. DSC thermogram of 2,4,6-trimethoxycinnamic acid.

S4. EI-MS spectra

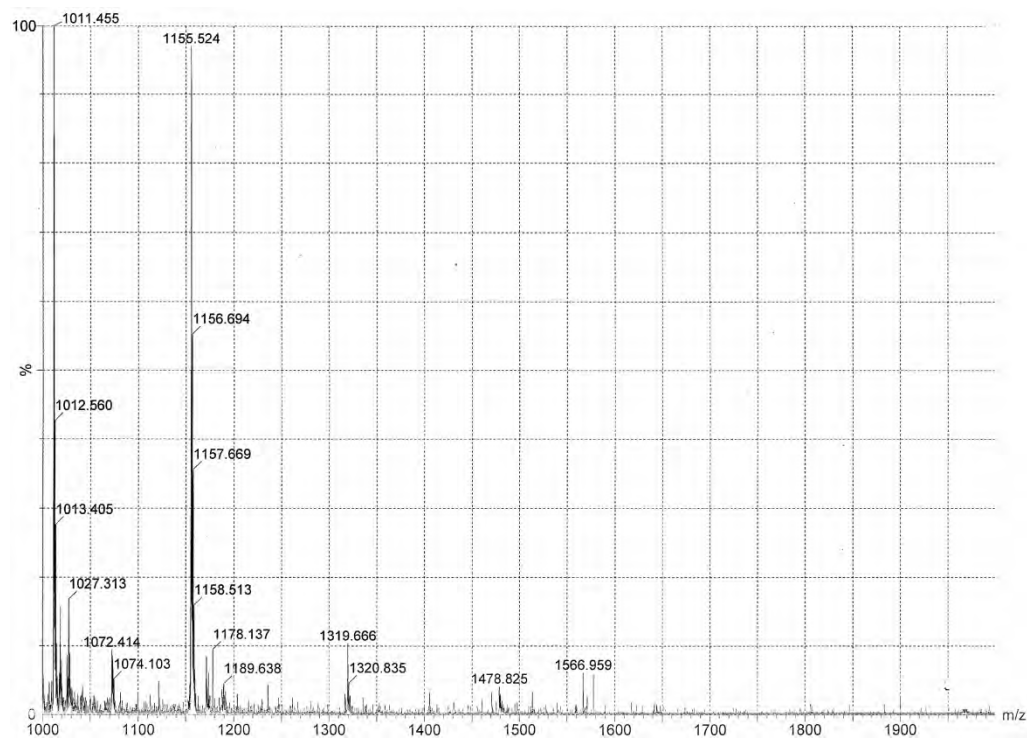


Figure S32. EI-MS spectrum of **13**.

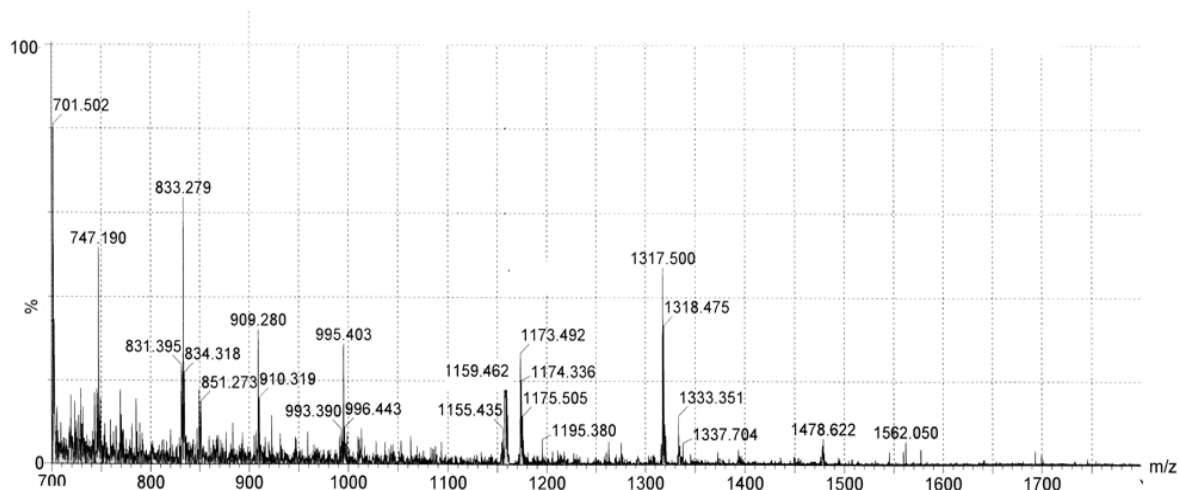


Figure S33. EI-MS spectrum of 14

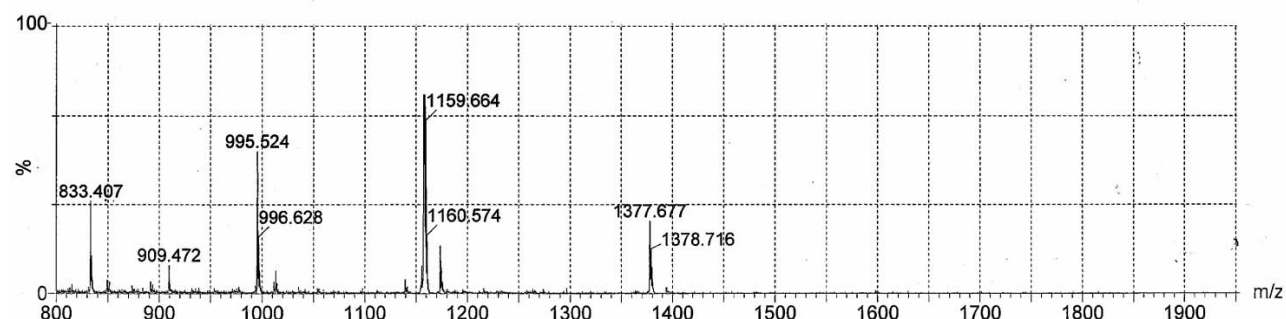


Figure S34. EI-MS spectrum of 15.

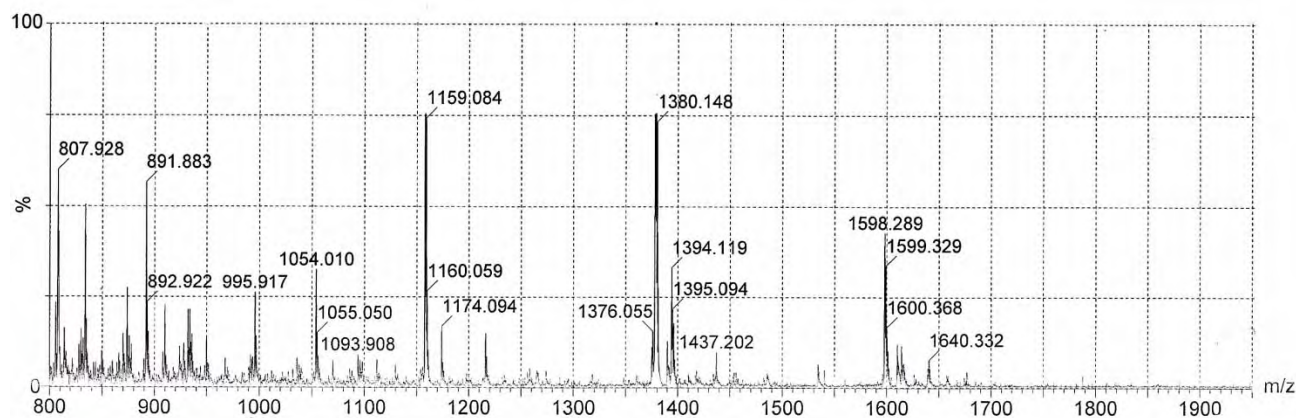


Figure S35. EI-MS spectrum of 16.

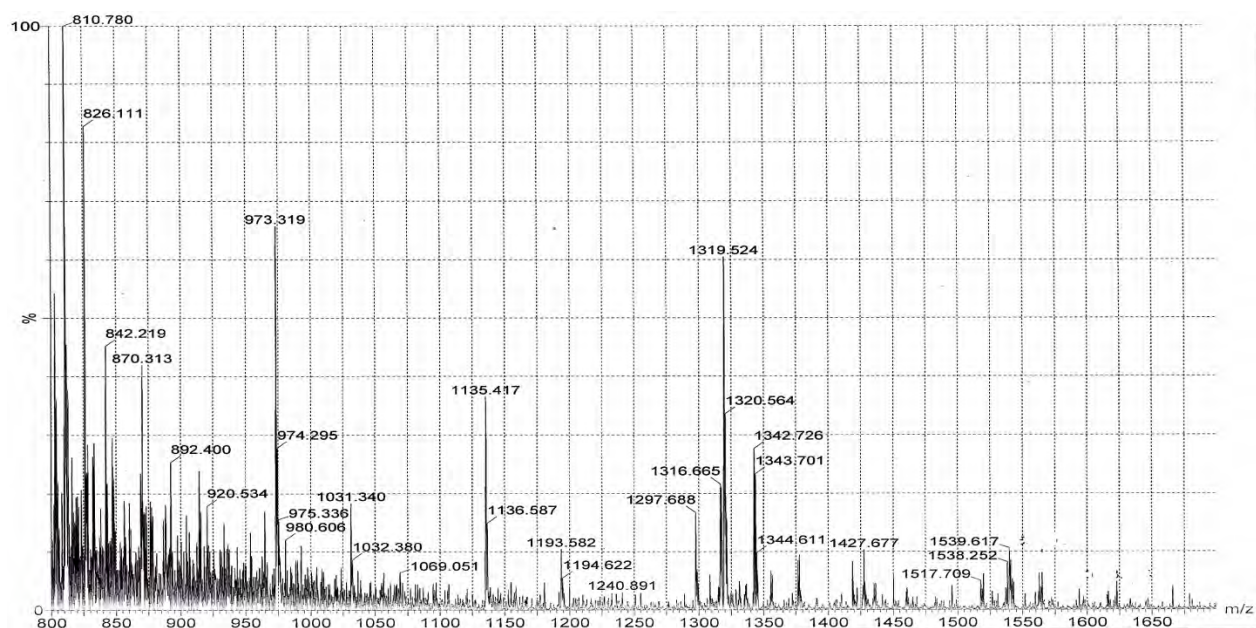


Figure S36. EI-MS spectrum of 17.

S5. ^1H -NMR spectra concentration dependences ของสารประกอบ 13

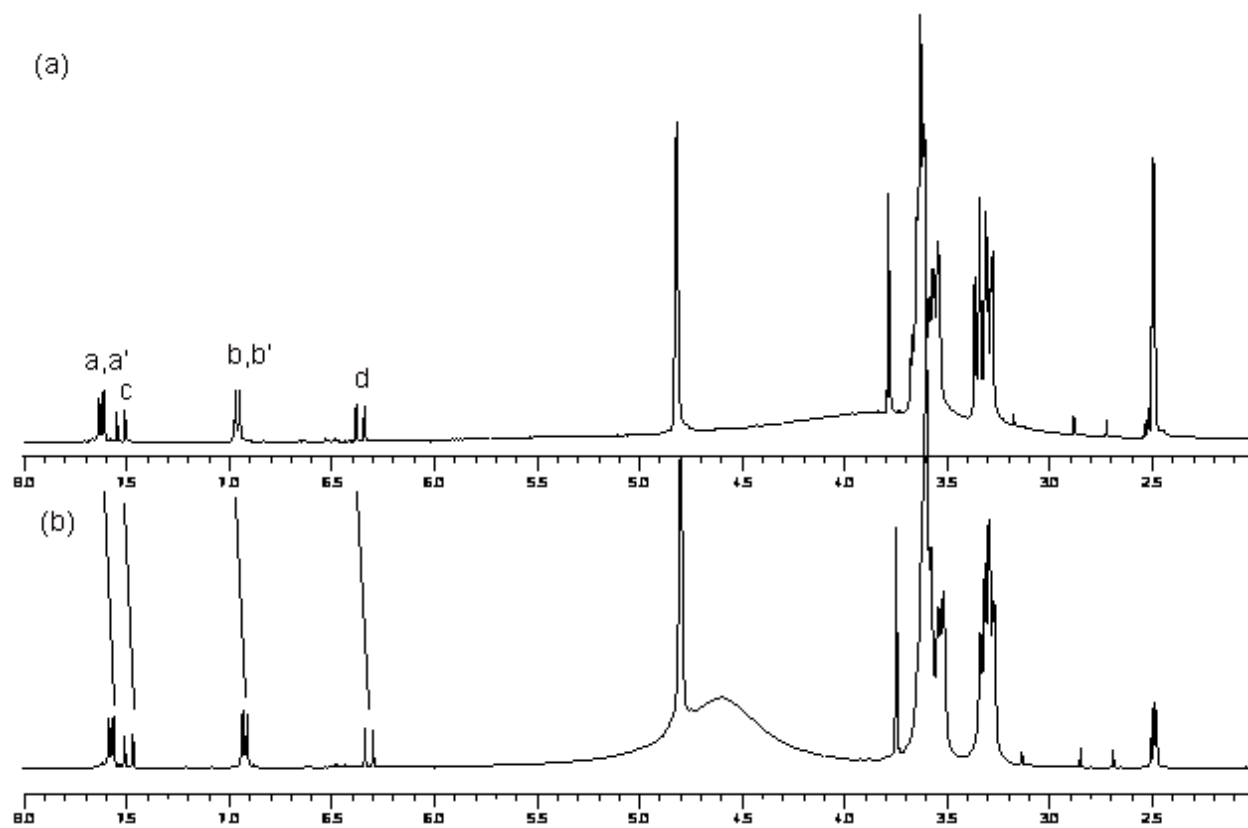


Figure S37. ^1H -NMR spectra of 13 in $\text{DMSO}-d_6$ at (a) 0.04 mM and (b) 0.3 mM.

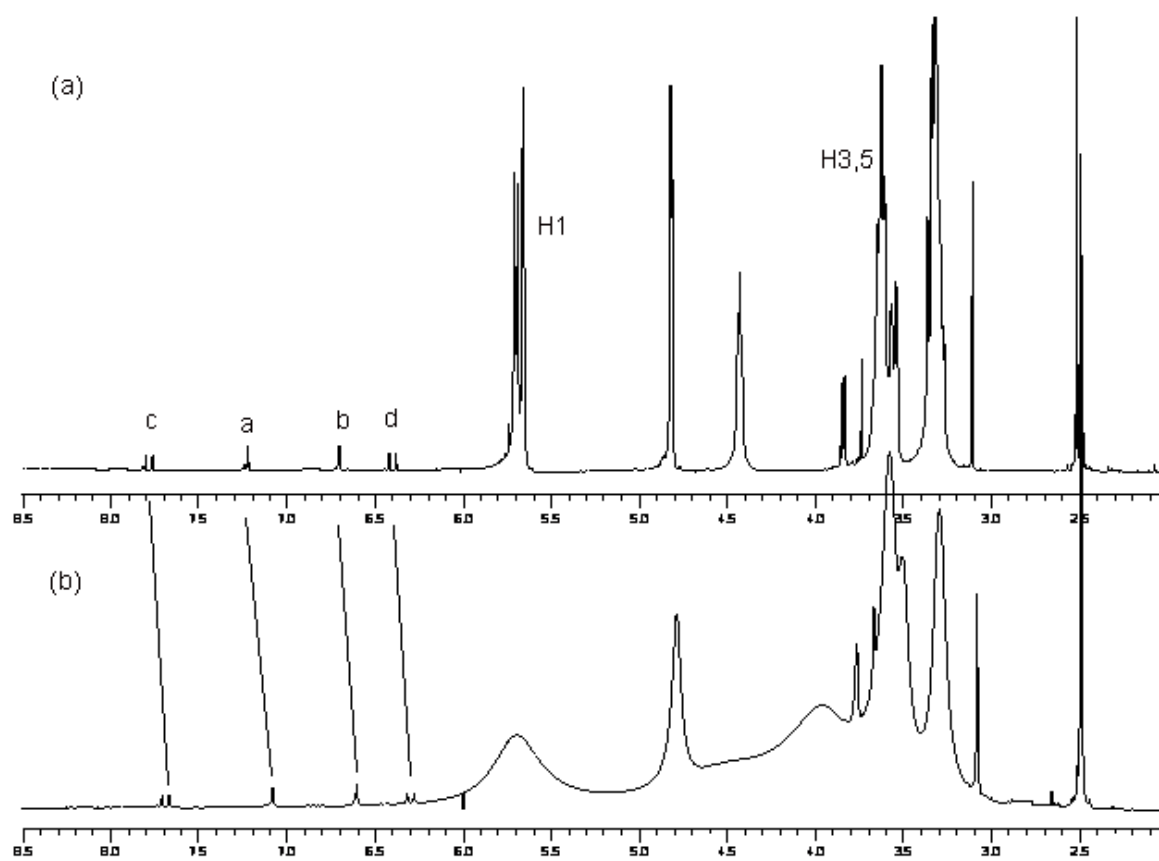


Figure S38. ^1H -NMR spectra of **13** in $\text{DMSO}-d_6$ at (a) 0.07 mM and (b) 0.7 mM.