

Project Code : RSA5580031
Project Title : การตรวจวัดแอนไอออนและกรดอะมิโนด้วยเทคนิคการถูกแทนที่ของอินดิเคเตอร์ โดยใช้สารประกอบโคออร์ดิเนชันชนิดไดนิวเคลียร์ของ Cu^{2+} และ Zn^{2+} กับลิแกนด์ประเภท bis-tripodal amine และสีย้อม
Investigator : ผศ. ดร. จอมใจ สุกใส
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ. ชลบุรี
E-mail Address : c.suksai@yahoo.com
Project Period : 3 ปี

Abstract

The dinuclear Zn(II) complex of anthracene based tripodal tetramine **Zn₂L** was synthesized, and its sensing abilities towards anions was investigated using the indicator displacement assay (IDA) approach with four complexometric indicators: pyrocatechol violet (**PV**), bromopyrogallol red (**BPG**), methylthymol blue (**MTB**) and xylenol orange (**XO**). UV-vis spectrophotometry results indicated that the **Zn₂L –MTB** ensemble sensor could discriminate the pyrophosphate anion (PPi) from other phosphate containing anions. ¹H and ³¹P NMR spectroscopy as well as DFT calculations confirmed that PPi bound to **Zn₂L** in a 2 : 2 manner. Both NMR spectroscopy and UV-vis spectrophotometry suggested that the two bulky tripodal tetramine units in **Zn₂L** played an important role to provide the ensemble cleft for **MTB**, giving rise to an ensemble that could be displaced exclusively by PPi. The detection limit of **PPi** for the reported IDA system was 0.3 μM in 20% (v/v) water–acetonitrile buffered at pH 7.4 with HEPES.

The dinuclear complexes of Cu^{2+} and Zn^{2+} with *p-tert*-butylcalix[4]arenes based ligands containing tripodal amine (**L1** and **L2**), have been synthesized. Two copper(II) chloride complexes of ligand **L1** (**CuL1**) and **L2** (**CuL2**) can be obtained as the green solid in 42 % and 58 % yields, respectively. The zinc(II) perchlorate complexes of ligand **L1** (**ZnL1**) and **L2** (**ZnL2**) can be synthesized and obtained as white solids in 71% and 67% yields, respectively. The sensing applications of **CuL1**, **CuL2**, **ZnL1** and **ZnL2** as M-IDA receptors for anions and α -amino acids have investigated in 80% (v/v) $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ in 10 mM HEPES buffer pH 7.4 . Four complexometric indicators are chosen as the reporting indicators; pyrocatechol violet (**PV**), pyrogallol red (**PGR**), methythymol blue (**MTB**) and 4-(2-pyridylazoresorcinol) (**PAR**). From the screening test results showed that only **ZnL2** could be used as IDA receptors for **PPi** and **His** by changing indicators. It was found that **[ZnL2•PGR]** ensemble could discriminate **PPi** from the other phosphate containing anions in which **PPi** could replace the bound **PGR** from the ensemble structure and form the adduct complex **[ZnL2•PPi]**. Whereas **[ZnL2•2PV]** ensemble could sense **His** selectively in which His could replace the bound **PV** from the ensemble and pull out zinc(II) ions from the **ZnL2** giving the **[Zn(His)₂]** species and liberating free **L2** in the solution. In this research, there are four influence factors to control the selective sensing of anionic guest molecules under IDAs approach; (i) the nature of metal ions, (ii) spacer flexibility, (iii) topological structure of indicators and (iv) the coordination chemistry of receptor and guest molecules.

The di-tripodal amine calix[4]arene, **L1**, was successfully synthesized and used as an ion carrier in poly(vinyl chloride) (PVC) membrane electrodes. Compound **L1** was employed to demonstrate a new concept in anion sensing by preparing an allosteric PVC membrane that can respond selectively to a certain anion in the presence of a metal effector. Membranes containing compounds **L1** and potassium tetrakis(p-chlorophenyl)borate (KTPClPB) as an ionic additive showed Donnan exclusion failure upon measuring the potential (EMF) responses of Cu^{2+} and responded to the co-anion by giving negative EMF changes, while membranes containing compound **L2**, an anthracene-based mono-tripodal amine ligand, gave positive potentials to most metal ions. Upon preconditioning of the membranes containing **L1** and 75 mol% KTPClPB in CuCl_2 , the membranes showed the highest selectivity towards thiocyanate with a near Nernstian slope of $-59.6 \text{ mV decade}^{-1}$, a 10^{-5} to 10^{-2} M linear range, and a detection limit of $4.4 \times 10^{-6} \text{ M}$. The best allosteric membrane can be used in the pH range 3–7 with good reversibility, and also applied to indirectly determine the concentration of Fe^{3+} in aqueous solution.

Keywords : Ionophore, Ion selective electrode, Indicator displacement assay, pyrophosphate anion, histidine, thiocyanate

บทคัดย่อ

ได้สังเคราะห์สารประกอบโคออร์ดิเนชันชนิดไดนิวเคลียร์ของลิแกนด์ที่เป็นอนุพันธ์ของแอนทราซีนที่มีหมู่ไทโรโพลอลเอมีนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล (Zn_2L) เพื่อนำมาใช้ในการตรวจวัดแอนไอออนด้วยเทคนิคการถูกแทนที่ของอินดิเคเตอร์ (IDA) และใช้อินดิเคเตอร์ไฟโรแคทีคอลไวโอเลต (PV) โบรโมไฟโรกลลอล เรด (BPG) เมทิลไทมอล บลู (MTB) และไซลีโนล ออเรนจ์ (XO) เป็นหน่วยให้สัญญาณเชิงแสง จากการศึกษาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลพบว่าเอนไซม์เบิล Zn_2L -MTB สามารถตรวจวัดแอนไอออนไพโรฟอสเฟต (PPi) ได้เป็นอย่างดีโดยไอออนลบฟอสเฟตชนิดอื่น ๆ ไม่สามารถรบกวนการตรวจวัดได้ จากการพิสูจน์โครงสร้างของสารประกอบของ Zn_2L กับ PPi ที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิค ^1H , ^{31}P NMR และการคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์พบว่าสารประกอบโคออร์ดิเนชันที่เกิดขึ้นมีอัตราส่วนของ PPi : Zn_2L คือ 2 : 2 การตรวจวัด PPi ด้วยเอนไซม์เบิล Zn_2L -MTB มีขีดจำกัดของการตรวจวัดคือ $0.3 \mu\text{M}$ โดยใช้สารละลายผสม 20% (v/v) น้ำ-อะซิโตรไนไตรล์ ในสารละลาย HEPES บัฟเฟอร์ pH 7.4 เป็นตัวทำละลาย

ได้สังเคราะห์สารประกอบโคออร์ดิเนชันชนิดไดนิวเคลียร์ของไอออน Cu^{2+} และ Zn^{2+} กับลิแกนด์ที่เป็นอนุพันธ์ของคาลิกซ์[4]แอรีนที่มีหมู่ไทโรโพลอลเอมีนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล (CuL1 , CuL2 , ZnL1 และ ZnL2) เพื่อนำมาใช้เป็นรีเซบเตอร์สำหรับการตรวจวัดแอนไอออนและกรดอะมิโนด้วยเทคนิคการถูกแทนที่ของอินดิเคเตอร์ โดยใช้สารละลายผสม 20% (v/v) น้ำ-อะซิโตรไนไตรล์ ในสารละลาย HEPES บัฟเฟอร์ pH 7.4 เป็นตัวทำละลาย และใช้อินดิเคเตอร์ไฟโรแคทีคอลไวโอเลต (PV) โบรโมไฟโรกลลอล เรด (BPG) เมทิลไทมอล บลู (MTB) และ 4-(2-ไพริดีลเอโซเรโซซินอล) (PAR) เป็นหน่วยให้สัญญาณเชิงแสง จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์เบิล $[\text{ZnL2} \cdot \text{PGR}]$ สามารถตรวจวัดไพโรฟอสเฟตแอนไอออน (PPi) ได้อย่างจำเพาะเจาะจง โดย PPi สามารถเข้าไปแทนที่ PGR ในโครงสร้างของเอนไซม์เบิล $[\text{ZnL2} \cdot \text{PGR}]$ และได้สารประกอบ $[\text{ZnL2} \cdot \text{PPi}]$ เป็นผลิตภัณฑ์ ในขณะที่เอนไซม์เบิล $[\text{ZnL2} \cdot 2\text{PV}]$ สามารถตรวจวัดกรดอะมิโนฮิสทีดีน (His) ได้อย่างจำเพาะเจาะจง โดยที่ His สามารถเข้าไปแทนที่อินดิเคเตอร์ PV ในโครงสร้างของเอนไซม์เบิลได้แล้ว His ยังสามารถเข้าไปแทนที่ลิแกนด์ L2 ในโครงสร้างของสารประกอบ ZnL2 และได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบ $[\text{Zn}(\text{His})_2]$ และลิแกนด์ L2 ในรูปอิสระอยู่ในสารละลาย จากงานวิจัยนี้พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดเกสต์โมเลกุลด้วยเทคนิคการถูกแทนที่ของอินดิเคเตอร์ ได้แก่ ธรรมชาติของไอออนโลหะ ความยืดหยุ่นของสายสเปซเซอร์ โครงสร้างของอินดิเคเตอร์ และสมบัติทางเคมีของสารประกอบโคออร์ดิเนชันระหว่างรีเซบเตอร์และโมเลกุลของเกสต์

ได้ทำการสังเคราะห์สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของคาลิกซ์[4]แอรีนที่หมู่ไทรโพรดอลเอมีนเป็นองค์ประกอบภายในโมเลกุล (**L1**) เพื่อนำมาพัฒนาเป็นเมมเบรนอิเล็กโทรดสำหรับการตรวจวัดไอออน SCN^- และ Fe^{3+} เมมเบรนอิเล็กโทรดดังกล่าวเตรียมได้จากไอโอโนฟอร์ **L1** โดยมี potassium tetrakis(p-chlorophenyl)borate (KTPCIPB) เป็นไอออนิกแอดดีทีฟ จากการศึกษาพบว่าอิเล็กโทรดที่เตรียมได้แสดงผลของ Donnan exclusion failure ในการตอบสนองการตรวจวัดไอออน Cu^{2+} เมื่อมีไอออนลบอยู่ในระบบเนื่องจากค่าศักย์ไฟฟ้าที่ตรวจวัดมีค่าลดลง เมื่อนำเมมเบรนอิเล็กโทรดที่เตรียมได้จากไอโอโนฟอร์ **L1** กับสารประกอบ CuCl_2 มาใช้ตรวจวัดไอออนลบพบว่ามีความจำเพาะเจาะจงในการตรวจวัดไอออนไทโอไซยาเนต (SCN^-) ได้เป็นอย่างดี ให้ค่า Nernstian slope เท่ากับ $-59.6 \text{ mV decade}^{-1}$ ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดอยู่ที่ความเข้มข้น $10^{-5} - 10^{-2} \text{ M}$ ค่า pH ที่เหมาะสมในการตรวจวัดคือ 3-7 และมีขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ $4.4 \times 10^{-6} \text{ M}$ นอกจากนี้ยังนำอิเล็กโทรดดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดไอออน Fe^{3+} ในสารละลายแบบวิธีทางอ้อมได้อีกด้วย

คำสำคัญ : ไอโอโนฟอร์, เมมเบรนอิเล็กโทรดสำหรับการตรวจวัดไอออน, เทคนิคการถูกแทนที่ของอินดิเคเตอร์, โพโรฟอสเฟตแอนไอออน, ฮิสทิดีน, ไทโอไซยาไนด์