

การสังเคราะห์ คุณสมบัติ และการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย
ของสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก(III)-เหล็ก(II)
และเหล็ก(III)-สังกะสี(II) กับลิแกนด์มัลติเดนเตท
Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of
Iron(III)-Iron(II) and Iron(III)-Zinc(II) Complexes
with a Multidentate Ligand

อานอบ คันทะชา *

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง
ตำบลบ้านพร้าว อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง 93210

Anob Kantacha *

Department of Chemistry, Faculty of Science, Thaksin University, Patthalung Campus,
Ban Phrao, Pa Phayom, Phatthalung 93210

บทคัดย่อ

สังเคราะห์ลิแกนด์มัลติเดนเตท H_2L เมื่อ H_2L คือ 2-[(บิส-ไพริดีล-2-อิลเมทิล-อะมิโน)-เมทิล]-6-[(2-ไฮดรอกซิล-เบนซิล)-(4-อิมิดาโซล-1-อิล-บิวทิล)-อะมิโน]-เมทิล-4-เมทิล-ฟีนอล และสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน M_1M_2L ได้จากสารตั้งต้นซึ่งเป็นเกลือของเหล็ก(III) และเหล็ก(II) สำหรับสารประกอบเชิงซ้อน 1 และเหล็ก(III) และสังกะสี(II) สำหรับสารประกอบเชิงซ้อน 2 ทำปฏิกิริยากับลิแกนด์ H_2L ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ผลจากการศึกษาสมบัติทางเคมีและตรวจหาลักษณะโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 2 โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี เช่น ฟลูออโรสเปกโตรเมทรีอินฟราเรด ลิกนด์โครมาโทกราฟี แมสสเปกโตรเมทรี และยูวี-วิสิเบิล พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองชนิดมีสูตรโมเลกุลเป็น $[Fe^III Fe^II(L)(\mu-O)-(H_2O)_2](ClO_4) \cdot H_2O$ (1) และ $[Fe^III Zn^II(L)(\mu-O)(H_2O)](ClO_4)$ (2) และได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบเชิงซ้อนเทียบกับลิแกนด์ที่สังเคราะห์ได้ โดยใช้แบคทีเรียชนิดคือ *S. aureus* และ *E. coli* ผลจากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแสดงให้เห็นว่าสารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดดีกว่าลิแกนด์ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันและผลยับยั้งแบคทีเรียเมื่อเทียบกับเตตระซัยคลิน พบว่าที่ความเข้มข้นสูง ๆ สารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองชนิดให้ประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียใกล้เคียงกับเตตระซัยคลิน

คำสำคัญ : ลิแกนด์พอลิเดนเตท; สเตปพิโลคอคคัส ออเรียส; เอสเชอริเชีย โคลิ; ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย

*ผู้รับผิดชอบบทความ : k_anob@hotmail.com

Abstract

2-[(Bis-pyridin-2-ylmethyl-amino)-methyl]-6-[[2-(hydroxy-benzyl)-(4-imidazol-1-yl-butyl)-amino]-methyl]-4-methyl-phenol (H_2L), which is a multipolydentate ligand and cationic complexes of $[M_1M_2L(\mu-O)(H_2O)_2]^+$ have been synthesized (where M_1M_2 are Fe(III)-Fe(II) for complex 1 and Fe(III)-Zn(II) for complex 2 and L is the anion of 2-[(Bis-pyridin-2-ylmethyl-amino)-methyl]-6-[[2-(hydroxy-benzyl)-(4-imidazol-1-yl-butyl)-amino]-methyl]-4-methyl-phenol. The reaction was set up at temperature $60^\circ C$. Two complexes were studied the physical and chemical properties and have been characterized using FT-IR, LC-MS with methanol solvent and UV-Vis techniques. Molecular formula of two complexes is $[Fe^{III}Fe^{II}(L)(\mu-O)(H_2O)_2](ClO_4) \cdot H_2O$ (1) and $[Fe^{III}Zn^{II}(L)(\mu-O)(H_2O)](ClO_4)$ (2). The complexes and a multidentate ligand were tested for *in vitro* antibacterial activity against gram-positive bacteria, *S.aureus* and gram-negative bacteria, *E.coli*. The antibacterial activity was assessed by measuring the growth inhibition zones diameters. As a result, both complexes possess superior antibacterial activity than only multidentate ligand as the same concentration. An antibacterial effect is compared to tetracycline. It was found that the antibacterial activity is closed to tetracycline as two complexes have more concentration.

Keywords: polydentate ligand; *Staphylococcus aureus*; *Escherichai coli*; antibacterial activity

1. บทนำ

Purple acid phosphatases (PAPs) คือ เมทัลโลเอนไซม์ไดนิวเคลียร์ Fe(III)-M(II) เมื่อ M คือ Fe(II), Zn(II), Mn(II) และ Co(II) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของฟอสเฟตเอสเทอร์ ประกอบด้วย นิวคลีโอไซด์ ไดฟอสฟาเตส ไตรฟอสฟาเตส และแอริลฟอสฟาเตส ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ($pH = 5-6$) [1] ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีชมพู (Pink) ไปเป็นสีม่วง (purple) เนื่องจากเกิดการแทนที่แบบ charge transfer จาก tyrosinate $\rightarrow$ Fe(III) บริเวณความยาวคลื่นประมาณ 560 นาโนเมตร [2] พบได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (mammalian) พืช (plant) และจุลินทรีย์ (microorganism) [3,4] ในกลุ่มสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมจะมี PAPs หรือ tartrate-resistant acid

phosphatases (TRAPs) เป็นมอนอเมอร์ิก โกลโคโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 35,000 ดาลตัน (Da) ประกอบด้วยโลหะ Fe(III)-Fe(II) บริเวณเร่ง (active site) ในทางตรงกันข้ามงานวิจัยที่มีการศึกษาเอนไซม์กันมากในพืช คือ kidney bean ประกอบด้วยเมทัลโลโปรตีนของโลหะ Fe(III)-Zn(II) ที่มีมวลโมเลกุล 111,000 ดาลตัน [5] ในร่างกายของคน tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) หรือ 5 acid phosphatase, purple acid phosphatase หรือ uteroferrin เป็นเมทัลโลไฮโดรเลสในสภาวะกรดจะจับกับโบนิวเคลียร์ของโลหะเหล็กบริเวณเร่ง [6,7] เอนไซม์ TRAP มี 2 ส่วน คือ N-glycosylation sites และ N-glycosylated polypeptide มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 35,000-37,000 ดาลตัน [8] โดยแยกออกเป็น

2 แบบ คือ มวลโมเลกุล 21,000-23,000 ดาลตัน เป็นของ N-terminal domain disulfide-linked และมวลโมเลกุล 16,000-17,000 ดาลตัน เป็นของ C-terminal domain

ไดนิวเคลียร์ของโลหะตรงกลางที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้รายงานไว้ในรูปทั่วไปคือ Fe(III)-M(II) เมื่อ M(II) คือ โลหะ Fe(II), Zn(II) และ Mn(II) โดยไอออน Fe(III) จะถูกโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์ด้วยกรดอะมิโนไทโรซีน ฮิสติดีน และมอนอเดนเตตของหมู่อะซีเตต (Asp-COO⁻) ของกรดแอสปาร์ติก ในขณะที่ไอออนโลหะ(II) จะถูกโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์ด้วยลิแกนด์ฮิสติดีน และแอสพาราจีน โดยไอออนโลหะทั้งสองจะเชื่อมกันในลักษณะ μ -1,1 โดยลิแกนด์แอสปาร์เตต ลิแกนด์มอนอเดนเตตทำหน้าที่เป็นสะพานเชื่อม (bridge) คือหมู่คาร์บอกซิลเลตของลิแกนด์แอสปาร์เตต [9] นอกจากนี้ สารประกอบเชิงซ้อน Fe(III)-M(II) ยังถูกนำมาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียอีกด้วย เช่น งานวิจัย Sönmez และคณะ (2010) [11] ได้นำสารประกอบเชิงซ้อนโลหะคอปเปอร์(II) นิกเกิล(II) โคบอลต์(II) และเหล็ก(II) กับลิแกนด์พอลิเดนเตต ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans* เป็นต้น พบว่า จะให้ประสิทธิภาพการยับยั้งสูง โดยเฉพาะโลหะคอปเปอร์(II) และโคบอลต์(II)

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{III}-Fe^{II} และ Fe^{III}-Zn^{II} ซึ่งเตรียมได้จากการนำเกลือของโลหะ (Fe^{III} และ Fe^{II}) และเกลือของโลหะ (Fe^{III} และ Zn^{II}) ทำปฏิกิริยากับลิแกนด์พอลิเดนเตต H₂L ศึกษาคุณลักษณะด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี จากนั้นนำไปศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียเปรียบเทียบกับเตตระซัยคลินเป็นมาตรฐาน

2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 อุปกรณ์

ได้แก่ (1) ปีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร (2) หลอดหยด (3) แท่งแก้วคนสาร (4) กระจกนาฬิกา (5) จุกยาง (6) ปิเปต ขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร (7) กระดาษฟิเอช ยี่ห้อ Indicator sticks (8) เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius (9) เตาให้ความร้อน (10) ขวดกั่นกลม ขนาด 50 มิลลิลิตร (11) แท่งแม่เหล็กคนสาร (12) กระดาษฟิเอช (13) เตาอบ (14) ชุดรีฟลักซ์สาร และ (15) กระดาษกรอง

2.2 สารเคมี

ได้แก่ (1) 2,6-บิส(ไฮดรอกซิลเมทิล)-4-เมทิล ฟีนอล บริษัท Aldrich ความบริสุทธิ์ 95 % (2) คลอโรฟอร์ม บริษัท Aldrich ความบริสุทธิ์ ≥ 99 % (3) 1-(3-อะมิโนโพรพิล)อิมิดาโซล บริษัท Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์ ≥ 97 % (4) 2-ฟิรีดิน คาร์บอกซิลอัลดีไฮด์ บริษัท Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์ ≥ 99 % (5) โซเดียมเปอร์คลอเรต บริษัท Aldrich ความบริสุทธิ์มากกว่า 96 % เกรด ACS reagent (6) เอทานอล บริษัท Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์มากกว่า ≥ 99.5 % เกรด ACS reagent (7) กรดไฮโดรคลอริก บริษัท Sigma-Aldrich เกรด ACS reagent (8) โพแทสเซียม ไฮดรอกไซด์ บริษัท Sigma-Aldrich เกรด ACS reagent (9) ซาลิซิลอัลดีไฮด์ บริษัท Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์ ≥ 98 % (10) ไดคลอโรมีเทน บริษัท Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์มากกว่า ≥ 99.7 % เกรด ACS reagent (11) โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต บริษัท Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์มากกว่า 95 % (12) โซเดียมซัลเฟต ปราศจากน้ำ (Anhydrous) บริษัท Sigma-Aldrich เกรด ACS reagent (13) โซเดียม บอโรไฮไดรด์ บริษัท Aldrich ความบริสุทธิ์มากกว่า 96 % (14) โซเดียมอะซีเตต ไตรไฮเดรต บริษัท Aldrich

ความบริสุทธิ์มากกว่า 99 % เกรด Reagent (15) ไตรเอทิลลามีน บริษัท Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์มากกว่า 99 % (16) เมทานอล บริษัท Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์มากกว่า 99.5 % เกรด ACS reagent (17) 2-อะมิโนเมทิลพริดีน บริษัท Aldrich ความบริสุทธิ์มากกว่า 99 % (18) เหล็ก(III) คลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต บริษัท Aldrich ความบริสุทธิ์ 97 % เกรด Reagent (19) เหล็ก(II) คลอไรด์ เตตระไฮเดรต บริษัท Aldrich ความบริสุทธิ์ 97 % เกรด Reagent และ (20) สังกะสี(II) อะซีเตต ไดไฮเดรต บริษัท Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์ 99.9 %

2.3 เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์

2.3.1 ฟูเรียร์ทรานสฟอร์ม-อินฟราเรด สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (FT-IR) ยี่ห้อ Perkin-Elmer รุ่น Spectrum One เตรียมโดยวิธีอัดสารตัวอย่างเป็นแผ่น (Disc) โดยผสมสารตัวอย่างกับโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) แล้วนำไปวิเคราะห์ในช่วงเลขคลื่น $4,000-400\text{ cm}^{-1}$

2.3.2 ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1601 เตรียมสารโดยละลายในตัวทำละลายเมทานอล จากนั้นนำไปวิเคราะห์ในช่วงแสงที่ตามองเห็น (visible) ช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 200-800 นาโนเมตร

2.3.3 ลิควิด โครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (LC-MS) ยี่ห้อ LC: Waters Alliance 2690 และ MS: Micromass LCT เตรียมสารโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายและทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออนด้วยวิธี electro spray ionization (ESI)

2.4 วิธีการวิจัย

2.4.1 ตอนที่ 1

เตรียมลิแกนด์ สารประกอบเชิงซ้อน และศึกษาคุณลักษณะด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

(1) เตรียมลิแกนด์ของสารประกอบ 2-[(3-

ไพราโซลิล-โพรพิลอะมิโน)-เมทิล]-ฟีนอล

ชั่งน้ำหนัก 1-(3-อะมิโนโพรพิล)อิมิดาโซล จำนวน 3.57 กรัม ละลายในโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมลาร์ จากนั้นเติมสารละลายดังกล่าวลงในซาลิซิลอัลดีไฮด์ ปริมาตร 3.19 มิลลิลิตร ที่ละลายอยู่ในเอทานอล 50 มิลลิลิตร คนสารละลาย 15 นาที ได้สารละลายสีเหลืองขุ่น จากนั้นเติมเมทานอลลงไป 30 มิลลิลิตร คนสารละลายต่อเนื่องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้มาเติมโซเดียม บอโรไฮไดรไรด์ จำนวน 2.00 กรัม ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส คนสารละลายเป็นเวลา 20 นาที ปรับ pH ของสารละลายเท่ากับ 4 ด้วยกรดอะซิติก นำสารละลายที่ได้ระเหยตัวทำละลายออกได้ตะกอนสีขาว นำตะกอนที่ได้ผสมกับน้ำกลั่น ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ทำการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนจำนวน 4 ครั้ง ครั้งละ 50 มิลลิลิตร นำสารละลายชั้นอินทรีย์มาสกัดด้วยโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตอิ่มตัว จำนวน 4 ครั้ง ครั้งละ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายชั้นอินทรีย์มาเติมโซเดียมซัลเฟต (ปราศจากน้ำ) กรองสารละลายที่ได้และนำสารละลายระเหยตัวทำละลายออก จะได้ลิแกนด์ 2-[(3-ไพราโซลิล-โพรพิลอะมิโน)-เมทิล]-ฟีนอล

(2) เตรียมลิแกนด์ของสารประกอบ 2,6-บิส(คลอโรเมทิล)-4-เมทิล ฟีนอล

ละลาย 2,6-บิส(ไฮดรอกซีเมทิล)-4-เมทิล ฟีนอล น้ำหนัก 5.00 กรัม ในกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้นและคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คนสารละลายที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ทำการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (3×50 มิลลิลิตร) นำสารละลายชั้นอินทรีย์เติมโซเดียมซัลเฟต (ปราศจากน้ำ) กรองสารละลายที่ได้ จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วยวิธีการระเหยตัวทำละลายแบบลดความดันจะได้ลิแกนด์ 2,6-บิส(คลอโร

เมทิล)-4-เมทิล ฟีนอล

(3) เตรียมลิแกนด์ของสารประกอบ 2,2'-ไดฟิโคลามีน

ชั่งน้ำหนัก 2-(อะมิโนเมทิล)พริดีน น้ำหนัก 2.70 กรัม ละลายในโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ นำสารละลายนี้เติมลงใน 2-พริดีน คาร์บอกซิลอัลดีไฮด์ ที่ละลายอยู่ในเอทานอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร คนสารละลายเป็นเวลา 30 นาที ได้สารละลายสีเหลืองขุ่น จากนั้นเติมเมทานอลลงไป 30 มิลลิลิตร คนสารละลายต่อเนื่องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติมน้ำโซเดียม บอโรไฮไดรด์ จำนวน 2 กรัม ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส จากนั้นปรับ pH ของสารละลายให้เท่ากับ 4 ด้วยกรดอะซิติก นำสารละลายที่เตรียมแล้วมาทำละลายด้วยวิธีการระเหยตัวทำละลายแบบลดความดัน จะได้ตะกอนสีขาว เติมน้ำ ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ลงในตะกอนสีขาว แล้วสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (4 x 50 มิลลิลิตร) จากนั้นนำสารละลายชั้นอินทรีย์สกัดด้วยสารละลายอิมัลชันโซเดียมไฮดรอกไซด์คาร์บอเนต (4 x 30 มิลลิลิตร) นำสารละลายชั้นอินทรีย์มาเติมโซเดียมซัลเฟต (ปราศจากน้ำ) กรองสารละลายที่ได้ แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออก จะได้ลิแกนด์ 2,2'-ไดฟิโคลามีน

(4) เตรียมลิแกนด์ของสารประกอบ 2-[[[bis-พริดีน-2-อิลเมทิล-อะมิโน)-เมทิล]-6-[[[2-ไฮดรอกซี-เบนซิล)-(4-อิมิดาโซล-1-อิล-บิวทิล)-อะมิโน]-เมทิล]-4-เมทิล-ฟีนอล หรือ (H₂L)

น้ำหนัก 2-[[[3-ไพราโซลอล-โพรพิลอะมิโน)-เมทิล]-ฟีนอล, 2,6-บิส(คลอโรเมทิล)-4-เมทิล ฟีนอล และ 2,2'-ไดฟิโคลามีน (เตรียมได้จากการทดลองข้อ 1-3) ละลายในอะซิโตนไตรล์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร คนสารละลายเวลา 4 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลายออก จากนั้นเติมสารละลายอิมัลชันโซเดียมไฮดรอกไซด์คาร์บอเนต และสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน

(3 x 25 มิลลิลิตร) นำสารละลายชั้นอินทรีย์เติมโซเดียมซัลเฟต (ปราศจากน้ำ) กรองสารละลายที่ได้ แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออก จะได้ลิแกนด์ 2-[[[bis-พริดีน-2-อิลเมทิล-อะมิโน)-เมทิล]-6-[[[2-ไฮดรอกซี-เบนซิล)-(4-อิมิดาโซล-1-อิล-บิวทิล)-อะมิโน]-เมทิล]-4-เมทิล-ฟีนอล

(5) สังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน Fe^{III}Fe^{II}L (1) และ Fe^{III}Zn^{II}L (2)

สารประกอบเชิงซ้อน 1 : น้ำลิแกนด์ H₂L จำนวน 0.08 กรัม ละลายในตัวทำละลายเมทานอล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติมหλεκ(III) คลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต ปริมาณ 0.05 กรัม และเหล็ก(II) คลอไรด์ เตตระไฮเดรต จะได้สารละลายสีม่วงดำ จากนั้นเติมน้ำโซเดียมอะซิเตต ไตรไฮเดรต 0.11 กรัม คนสารละลายที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมน้ำโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ คนสารละลายต่อเนื่องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง กรองสารละลาย ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จะได้ผงสีม่วง ได้ร้อยละผลผลิต (% yield) เท่ากับ 35

ศึกษาคุณลักษณะด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ ฟลูออโรเมตริกสเปกโตรเมตริก ยูวี-วิสิเบิล และลิก วิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปี

สารประกอบเชิงซ้อน 2 : สังเคราะห์แบบเดียวกับสารประกอบเชิงซ้อน 1 โดยเปลี่ยนจากเหล็ก(II) คลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต เป็นสังกะสี(II) อะซิเตต ไดไฮเดรต จะได้ผงสีม่วง-น้ำตาล ได้ร้อยละผลผลิต เท่ากับ 45

2.4.2 ตอนที่ 2 ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของลิแกนด์ และสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 2

(1) แบคทีเรียที่ใช้ คือ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก และ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ได้จากสาขาวิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

(2) นำแบคทีเรียมาลากให้ได้โคโลนีเดี่ยว ๆ โดยวิธี streak plate บนอาหารแข็ง (nutrient agar, NA) แล้วนำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

(3) เตรียมแบคทีเรียสำหรับศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย โดย disc diffusion method ดังนี้

(3.1) เตรียมหัวเชื้อ (inoculum) ดังนี้

(3.1.1) ใช้ลูป (loop) เชี่ยวแบคทีเรียแต่ละชนิด 3-5 โคโลนี ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเหลว (nutrient broth, NB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

(3.1.2) นำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

(3.1.3) เปรียบเทียบความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 Mcfarland standard จะได้แบคทีเรียตามที่ต้องการ

(3.2) เพาะแบคทีเรีย (inoculation)

(3.2.1) ใช้สำลีพันปลายไม้ที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ชุบแบคทีเรียจากการเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรีย กดค้างหลอดไม่ให้สำลีชุ่มเกินไป เพื่อลดจำนวนเชื้อที่มีมากเกินไป

(3.2.2) กวาดเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารแข็ง และทิ้งผิวหน้าอาหารให้แห้งประมาณ 3-5 นาที

(3.3) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของลิแกนด์ และสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 2

(3.3.1) เตรียมลิแกนด์ และสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 2 ที่มีความเข้มข้น 20, 40 และ 80 มิลลิกรัมต่อ 10 มิลลิลิตร ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย

(3.3.2) นำกระดาษตาปลา (paper disc) มาตรฐานขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

หยดสารที่เตรียมไว้ ด้วยไมโครปิเปตอัตโนมัติ (auto pipette) ปริมาตร 20 μ L มาวางบนผิวหน้าอาหารแข็ง

(3.3.3) นำกระดาษตาปลา ขนาดเดียวกัน หยดเมทานอลมาวางบนผิวหน้าอาหารแข็ง เพื่อเป็นชุดควบคุม (control)

(3.3.4) นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปบ่มในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยการคว่ำจานเพาะเชื้อ

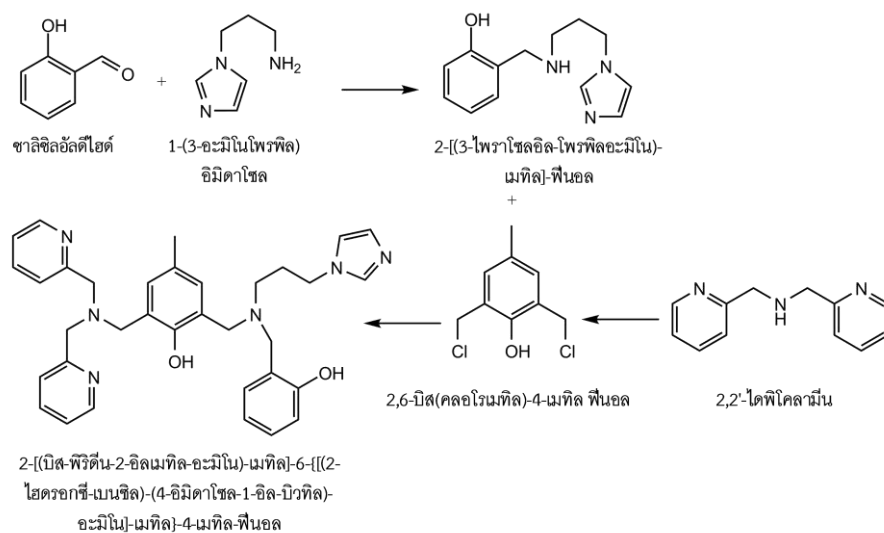
(3.4) ตรวจสอบบันทึกผลการทดลองวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การสังเคราะห์ลิแกนด์และสารประกอบเชิงซ้อน

ลิแกนด์ 2-[(บิส-ไพริดีล-2-อิลเมทิล-อะมิโน)-เมทิล]-6-[[2-ไฮดรอกซิล-เบนซิล)-(4-อิมิดาโซล-1-อิล-บิวทิล)-อะมิโน]-เมทิล]-4-เมทิล-ฟีนอล (H_2L) เริ่มต้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่างซาลิซิลอัลดีไฮด์กับ 1-(3-อะมิโนโพรพิล)อิมิดาโซล เกิด Schiff base) ระหว่างหมู่อัลดีไฮด์กับหมู่เอมีน ได้สารประกอบ 2-[(3-ไพโรโซลิล-โพรพิลอะมิโน)-เมทิล]-ฟีนอล จากนั้นนำลิแกนด์ดังกล่าว และ 2,2'-ไดฟีโกลามีนทำปฏิกิริยากับ 2,6-บิส(คลอโรเมทิล)-4-เมทิลฟีนอล ได้สารประกอบของลิแกนด์ H_2L ดังรูปที่ 1

การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน M_1M_2L ทั้งสองชนิด ผู้วิจัยพยายามหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง เพื่อให้ได้ผลึกเดี่ยว สำหรับนำไปวิเคราะห์หาโครงสร้างผลึกด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยว แต่ไม่ประสบความสำเร็จ ผู้วิจัยจึงใช้ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีในการเสนอโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าว

รูปที่ 1 ขั้นตอนการสังเคราะห์ลิแกนด์พอลิเดนเตทของ H_2L

3.2 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันของลิแกนด์ H_2L และสารประกอบเชิงซ้อน $Fe^{III}-Fe^{II}$ และ $Fe^{III}-Zn^{II}$ ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

แถบสเปกตรัมอินฟราเรดของลิแกนด์ H_2L แสดงให้เห็นถึงการสั่นพันธะของ $C=N$ แบบยืด-หด และไม่ปรากฏแถบการดูดกลืนบริเวณ $3,250-3,350$ และ $1,700\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นการสั่นพันธะของ $C=O$ และ $N-H$ ของหมู่อะมิโน ยืนยันว่าซาลิซิลัลดีไฮด์ เกิดปฏิกิริยาควบแน่น (condensation) กับ 1-(3-อะมิโนไพโรลิดีน)อิมิดาโซล นอกจากนี้บริเวณเลขคลื่น $3,400\text{ cm}^{-1}$ แถบการดูดกลืนของสเปกตรัมจะกว้าง (broad) และความเข้มต่ำ (low intensity) แสดงให้เห็นถึงการสั่นพันธะของ $O-H$ เป็นการสั่นแบบยืด-หดของวงฟีนอลิก บริเวณเลขคลื่น $3,017\text{ cm}^{-1}$ เป็นแถบการดูดกลืนแสงของพันธะ $CH-sp^2$ ที่เลขคลื่น $1,597\text{ cm}^{-1}$ เป็นแถบการดูดกลืนแสงของพันธะ $C=C$ ที่เลขคลื่น $1,459\text{ cm}^{-1}$ เป็นแถบการดูดกลืนแสงของพันธะ $O-H$ เป็นสั่นแบบงอในระนาบ (in-of-plane) ที่เลขคลื่น $1,101, 1,041\text{ cm}^{-1}$ เป็นแถบการดูดกลืนแสงของ

พันธะ $C-O$ ที่เลขคลื่น $1,249\text{ cm}^{-1}$ เป็นแถบการดูดกลืนแสงของหมู่ CH_2 ที่เลขคลื่น 866 cm^{-1} เป็นแถบการดูดกลืนแสงของหมู่พันธะ $=CH$ และ 757 cm^{-1} เป็นแถบการดูดกลืนแสงของพันธะ $C-H$ เป็นสั่นแบบงอกระนาบ (out-of-plane) สอดคล้องกับงานวิจัยของอานอบ และคณะ [10]

สเปกตรัมอินฟราเรดของสารประกอบเชิงซ้อน $Fe^{III}-Fe^{II}$ และ $Fe^{III}-Zn^{II}$ แถบการดูดกลืนในช่วงเลขคลื่น $445-470$ และ $420-426\text{ cm}^{-1}$ เป็นการสั่นพันธะแบบยืด-หดของ $M-N$ และ $M-O$ ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sönmez และคณะ (2010) และ Neves และคณะ [11,12]

3.3 การศึกษาสมบัติทางสเปกโทรสโกปีของสารประกอบเชิงซ้อน $Fe^{III}-Fe^{II}$ และ $Fe^{III}-Zn^{II}$ ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

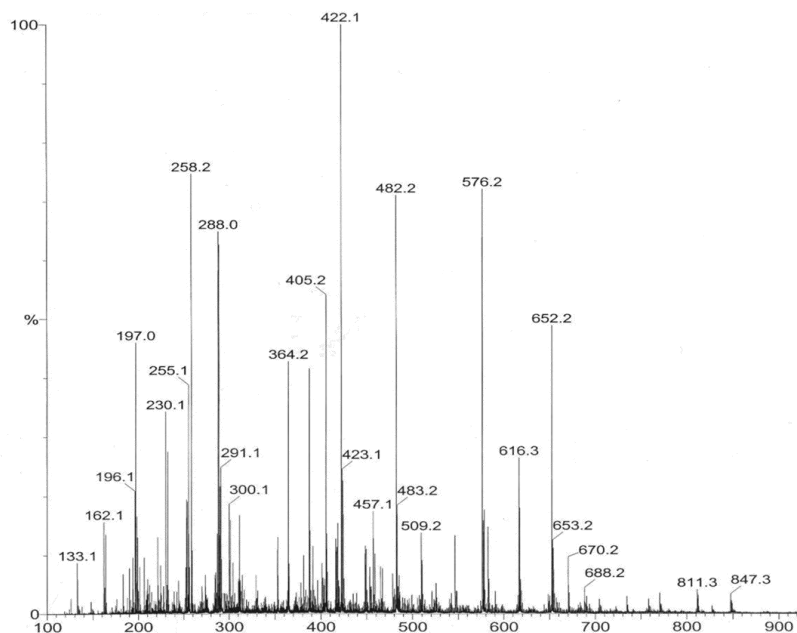
สารประกอบเชิงซ้อน $Fe^{III}-Fe^{II}$ และ $Fe^{III}-Zn^{II}$ กับลิแกนด์มัลติเดนเตตถูกเตรียมเป็นสารละลายโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย และตรวจวัดในช่วงความยาวคลื่น $200-400$ นาโนเมตร ปรากฏค่าความยาวคลื่นสูงสุด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนสูงสุดของสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{III}-Fe^{II} และ Fe^{III}-Zn^{II} กับลิแกนด์มัลติเดนเตต

สารประกอบเชิงซ้อน	ความยาวคลื่นสูงสุด ($\lambda_{\max}$) (nm)	ค่าการดูดกลืนแสง
[Fe ^{III} Fe ^{II} (L)(μ -O)(H ₂ O) ₂](ClO ₄)·H ₂ O (1)	218	1.68
	262	0.97
[Fe ^{III} Zn ^{II} (L)(μ -O)(H ₂ O)](ClO ₄) (2)	218	1.62
	255	0.87

สเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 262 นาโนเมตรในสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 255 นาโนเมตรในสารประกอบเชิงซ้อน 2 แสดงให้เห็นถึงการเกิดแทรนซิชันแบบ $n \rightarrow \pi^*$ และพีคค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 218 นาโนเมตรในสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 2 แสดงให้เห็นถึงการเกิดแทรนซิชันแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ ของวงเบนซีนในโมเลกุลของลิแกนด์ H₂L โดยสเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อนมีลักษณะ

ที่ใกล้เคียงกันสอดคล้องกับงานวิจัยของ Athanassios และคณะ [13] จากข้อมูลสเปกตรัมวิสิเบิล พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนของ Fe^{III}-Fe^{II} (1) ไม่มีแถบการดูดกลืนของ $d-d$ แทรนซิชัน เพราะโลหะ Fe^{III} เป็นสารประกอบ d^5 จะเป็นแทรนซิชันแบบต้องห้าม ทำให้ความเข้มของแถบการดูดกลืนต่ำมาก โดยแถบการดูดกลืนที่ปรากฏค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเกิดขึ้นที่ 454 นาโนเมตร เนื่องจากแนวโน้มของไอออนชนิดไตรวาเลนต์ (Fe^{III}) เกิดการแทรนซิชันแบบชาร์จ์ ทรานสเฟอร์ระหว่างโลหะแทรนซิชันไปยังลิแกนด์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pilipenko และคณะ [14] สำหรับสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{III}-Zn^{II} (2) ปรากฏค่าการดูดกลืนสูงสุดที่ 469 นาโนเมตร ไม่มีแถบการดูดกลืนของ $d-d$ แทรนซิชัน เช่นเดียวกับสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{III}-Fe^{II} (1) เนื่องจากโลหะ Zn^{II} เป็นสารประกอบ d^{10} ไม่มี $d-d$ แทรนซิชัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Asadi และคณะ [15]



รูปที่ 2 แมสสเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อน [Fe^{III}Fe^{II}(L)(μ -O)(H₂O)₂](ClO₄)·H₂O (1)

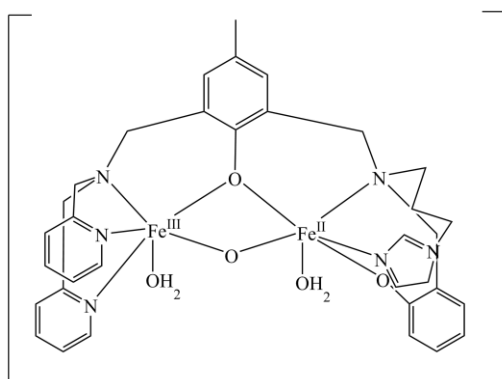
3.4 การศึกษาข้อมูลการแตกของโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อน $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Fe}^{\text{II}}$ และ $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Zn}^{\text{II}}$ ด้วยเทคนิคแมสสเปกโทรสโกปี

แมสสเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อน $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Fe}^{\text{II}}$ ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ทำให้เกิดการแตกตัวเป็นไอออนด้วยวิธี electrospray ionization (ESI) จากรูปที่ 2 แสดงข้อมูลการแตกของโครงสร้างที่สำคัญ 4 ครั้ง ดังนี้

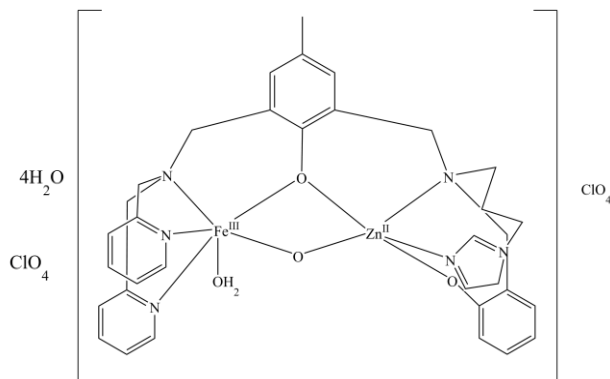
$$m/z = 847.3 \rightarrow [\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L})(\mu\text{-O})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$$

$$m/z = 811.3 \rightarrow [\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)$$

$$m/z = 688.2 \rightarrow [\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]$$



(ก)



(ข)

รูปที่ 3 โครงสร้างที่คาดว่าจะได้ (ก) $[\text{Fe}_2(\text{L})(\mu\text{-O})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ และ (ข) $[\text{Fe}_2\text{Zn}_2(\text{L})_2(\mu\text{-O})(\mu\text{-OH})(\text{OAc})_2] \cdot \text{ClO}_4$

3.5 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus*

การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* พบว่าขนาดของวงใสซึ่งเป็นบริเวณที่มีการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของลิแกนด์สารตั้งต้นและสารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ (รูปที่ 4 และ 5) โดยเรียงลำดับประสิทธิภาพการยับยั้ง ดังนี้ 2,6-บิส(คลอโร

$$m/z = 670.2 \rightarrow [\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L})]$$

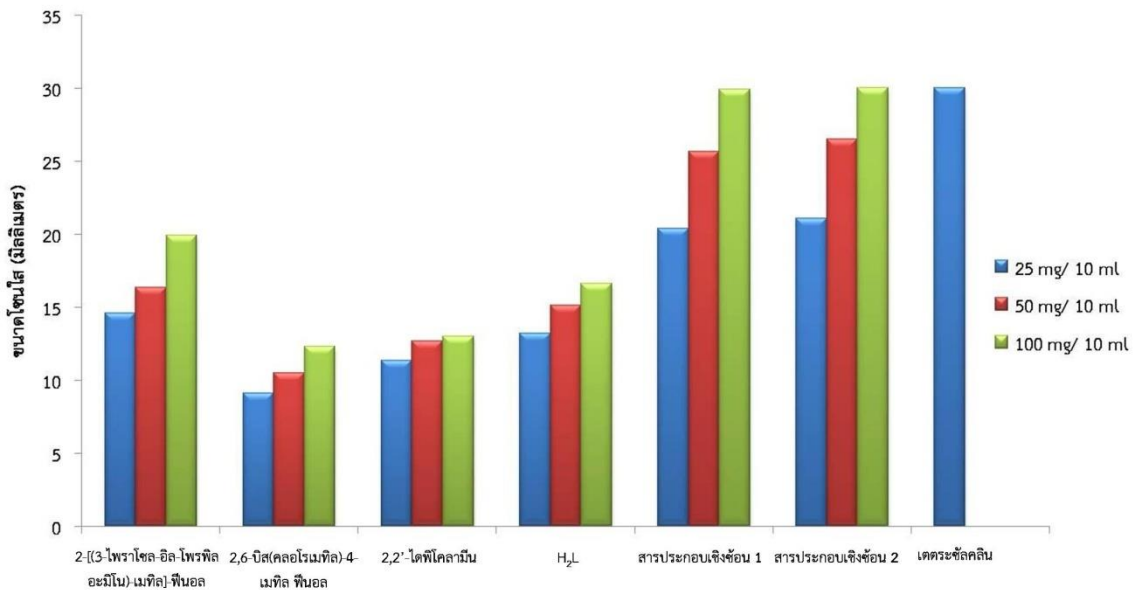
แมสสเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อน $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Zn}^{\text{II}}$ แสดงข้อมูลการแตกของโครงสร้างที่สำคัญ ดังนี้

$$m/z = 798.2 \rightarrow [\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}(\text{L})(\mu\text{-O})(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)$$

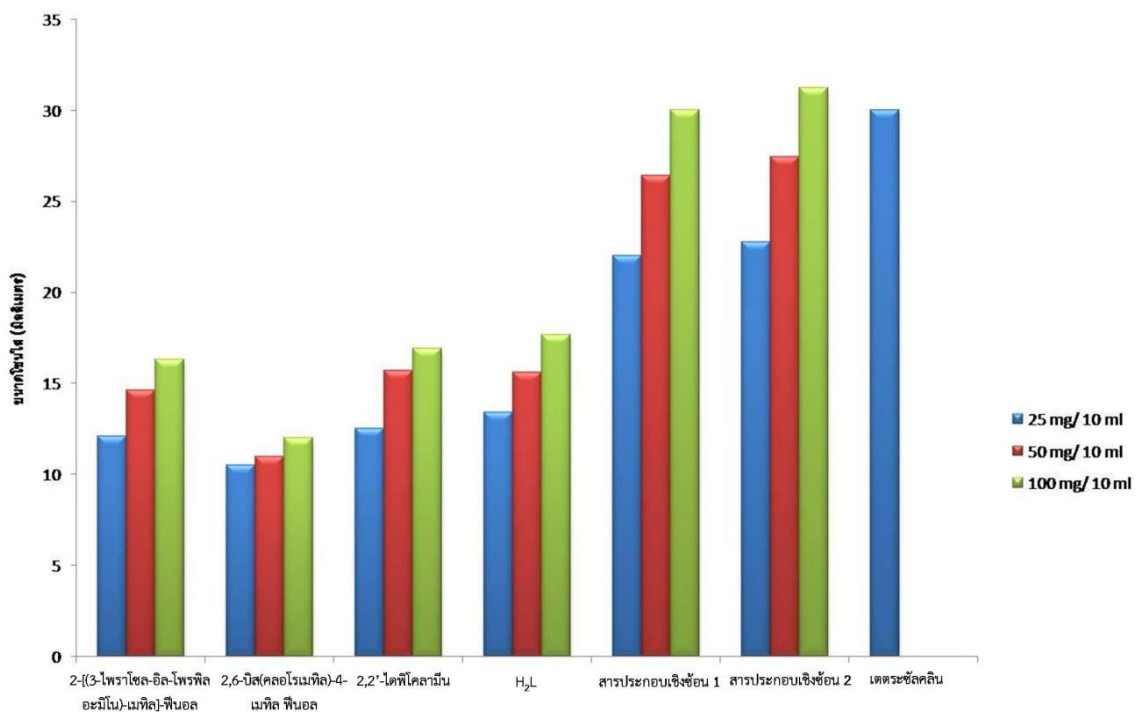
$$m/z = 657.2 \rightarrow [\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}(\text{L})]$$

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีดังกล่าวข้างต้น ทำให้ผู้วิจัยสามารถทำนายโครงสร้างที่คาดว่าจะได้และสูตรทางเคมีของสารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Fe}^{\text{II}}$ (1) คือ $[\text{Fe}_2(\text{L})(\mu\text{-O})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ และสารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Zn}^{\text{II}}$ (2) คือ $[\text{Fe}_2\text{Zn}_2(\text{L})_2(\mu\text{-O})(\mu\text{-OH})(\text{OAc})_2] \cdot \text{ClO}_4$ ดังรูปที่ 3

เมทิล)-4-เมทิล ฟีนอล < 2,2'-ไดฟีโคลามีน < 2-[(3-ไพราโซล-อิล-โพรพิลอะมิโน)-เมทิล]-ฟีนอล < H_2L < สารประกอบเชิงซ้อน 1 $\approx$ สารประกอบเชิงซ้อน 2 ในแบคทีเรียทั้งสองชนิด เมื่อความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนยิ่งเพิ่มมากขึ้น การยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียก็จะสูงขึ้นเช่นกัน ดังนั้นปริมาณของสารประกอบเชิงซ้อนจะแปรผันตรงกับขนาดโซนใสในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว และเมื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียเทียบกับลิแกนด์อิสระ พบว่าสาร



รูปที่ 4ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 2



รูปที่ 5ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย *E. coli* ของสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 2

ประกอบเชิงซ้อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งที่ดีกว่าเมื่อใช้ที่ความเข้มข้นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม

กรณีนี้ใช้ตัวทำลายเมทานอลเป็นตัวควบคุม พบว่าตัวทำลายไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ

แบคทีเรีย จากงานวิจัยของ Ashu และคณะ [16] ได้อธิบายว่าสาเหตุที่สารประกอบเชิงซ้อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งดีกวาลิแกนดอันเนื่องมาจากผลของการเกิดคีเลตของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะตอมของโลหะแทรนซิชันกับลิแกนด์ที่ทำให้ความมีขั้วของอะตอมโลหะแทรนซิชันลดน้อยลง เนื่องจากประจุบวกบางส่วนถูกใช้ร่วมกับหมู่ให้อิเล็กตรอนของลิแกนด์เพื่อสร้างพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์และอิเล็กตรอนบางส่วนเกิดการเคลื่อนย้ายภายในวงทำให้อะตอมของโลหะแทรนซิชันที่อยู่ตรงกลางเกิดความไม่มีขั้วเพิ่มขึ้น จึงช่วยให้เกิดการแทรกซึมเข้าไปยังชั้นไขมันของผนังเซลล์แบคทีเรียได้ ส่งผลให้แบคทีเรียไม่สามารถนำสารอาหารที่อยู่ภายในตัวไปใช้ประโยชน์ได้ ทำให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียหยุดชะงัก และตายในที่สุด ซึ่งเมื่อศึกษาจากผนังเซลล์แบคทีเรียทั้งสองชนิดพบว่าผนังเซลล์ของ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบมีขนาดของผนังเซลล์เท่ากับ 10 นาโนเมตร ส่วนผนังเซลล์ของ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีขนาดผนังเซลล์เท่ากับ 20-80 นาโนเมตร ซึ่งจากเหตุผลดังกล่าวทำให้ผลจากการทดลองฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดแกรมลบดีกว่าแกรมบวก เนื่องจากขนาดของความหนาของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบน้อยกว่าขนาดความหนาของแบคทีเรียชนิดแกรมบวกจึงทำให้การแทรกซึมของสารประกอบเชิงซ้อนเข้าไปยังชั้นไขมันของผนังเซลล์แบคทีเรียมีการแทรกซึมได้ดีกว่า

4. สรุป

ผู้วิจัยได้สังเคราะห์และศึกษาคุณลักษณะของสารประกอบเชิงซ้อนโลหะคู่ 2 ชนิด ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของเกลือโลหะ $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Fe}^{\text{II}}$ (1) และ $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Zn}^{\text{II}}$ (2) ทำปฏิกิริยากับลิแกนด์ H_2L คือ 2-[(ปิ-ฟิรดิน-2-

อิลเมทิล-อะมิโน)-เมทิล]-6-[[2-ไฮดรอกซิล-เบนซิล)-(4-อิมิดาโซล-1-อิล-บิวทิล)-อะมิโน]-เมทิล]-4-เมทิล-ฟีนอล จากนั้นศึกษาสมบัติทางเคมีและตรวจหาลักษณะโครงสร้างโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองชนิด มีสูตรเคมีเป็น $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L})(\mu\text{-O})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1) และ $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Zn}^{\text{II}}(\text{L})(\mu\text{-O})(\text{H}_2\text{O})](\text{ClO}_4)$ (2) จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ของสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าวเปรียบเทียบกับลิแกนด์แสดงให้เห็นว่าสารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ดีกว่าลิแกนด์ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์เลี้ยงแบคทีเรีย และสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ เครื่องแก้ววิทยาศาสตร์ เครื่องมือทางการวิเคราะห์ ห้องปฏิบัติการเคมี สารเคมี และตัวทำละลายบางชนิดสำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

6. รายการอ้างอิง

- [1] Neves, A. and Macos, A.B., 1996, $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ and $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Fe}^{\text{II}}$ complexes as synthetic analogues for the oxidized and reduced forms of purple acid phosphatases, *Inorg. Chem.* 35: 2360-2368.
- [2] Klabunde, T., Sträter, N., Fröhlich, R., Witzel, H. and Krebs, B., 1996, Mechanism of Fe(III)-Zn(II) purple acid phosphatase based on crystal structures,

- J. Mol. Biol. 259: 737-748.
- [3] Schenk, G., Guddat, L.W., Ge, Y., Carrington, L.E., Hume, D.A., Hamilton, S. and DeJersey, J., 2000, Identification of mammalian-like purple acid phosphatases in a wide range of plants, *Gene*. 250: 117-125.
- [4] Schenk, G., Korsinczky, M.L.J., Hume, D. A., Hamilton, S. and DeJersey, J., 2000, Purple acid phosphatases from bacteria: similarities to mammalian and plant enzymes, *Gene* 255: 419-424.
- [5] Waratrujiwong, T., Krebs, B., Spener, F. and Visoottiviseth, P., 2005, Recombinant purple acid phosphatase isoform 3 from sweet potato is an enzyme with a diiron metal center, *FEBS J.* 273: 1649-1659.
- [6] Janckila, A.J. and Yam, L.T., 2009, Biology and clinical significance of tartrate-resistant acid phosphatases: New perspectives on an old enzyme, *Calcif. Tissue Int.* 85: 465-483.
- [7] Oddie, G.W., Schenk, G., Angel, N.Z., Walsh, N., Guddat, L.W., de Jersey, J., Cassady, A.I., Hamilton, S.E. and Hume, D.A., 2000, Structure, function, and regulation of tartrate-resistant acid phosphatase, *Bone* 27: 575-584.
- [8] Ek-Rylander, B., Bill, P., Norgard, M., Nilsson, S. and Andersson, G., 1991, Cloning, sequence, and developmental expression of a type 5, tartrate-resistant, acid phosphatase of rat bone, *J. Biol. Chem.* 266: 24684-24689.
- [9] Xavier, F.R., Neves, A., Casellato, A., Peralta, R.A., Bortoluzzi, A.J., Szpoganicz, B., Severino, P.C., Terenzi, H., Tomkowicz, Z., Ostrovsky, S., Haase, W., Ozarowski, A., Krzystek, J., Telser, J., Schenk, G. and Gahan, L.R., 2009, Unsymmetrical $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Co}^{\text{II}}$ and $\text{Ga}^{\text{III}}\text{Co}^{\text{II}}$ complexes as chemical hydrolases: Biomimetic models for purple acid phosphatases (PAPs), *Inorg. Chem.* 48: 7905-7921.
- [10] อานอบ คันทะชา, สุรัชย์ คงชู และสิรินาฏ ชูเศษ, 2557, การสังเคราะห์และคุณลักษณะของสารประกอบเชิงซ้อนเหล็กและสังกะสีกับลิแกนด์มัลติเดนเตต, ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22: 79-88.
- [11] Sönmez, M., Celebi, M. and Berber, I., 2010, Synthesis, spectroscopic and biological studies on the new symmetric Schiff base derived from 2,6-diformyl-4-methylphenol with N-aminopyrimidine, *Eur. J. Med. Chem.* 45: 1935-1940.
- [12] Neves, A., Macros, A.B., Drago, V., Griesar, K. and Haase, W., 1995, A new asymmetric N5O2-donor binucleating ligand and its first $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}$ complex as a model for the redox properties of uterferrin, *Inorg. Chim. Acta.* 237: 131-135.
- [13] Athanassios, K.B., Robyn, E.A., Sarah, J.S., Ruth, E.M., Mark, J.R., Gerhard, S., Allan, G.B., Lyall, R.H. and Lawrence, R.G., 2007, Synthesis and characterization of the tetranuclear iron(III) complex of a new

- asymmetric multidentate ligand: A structural model for purple acid phosphatases, Dalton Trans. 44: 5132-5139.
- [14] Pilipenko, A.T., Savranskii, L.I. and D'yachenko, N.A., 1973, Charge transfer bands in the electronic spectra of Fe(III) complexes with several oxygen-containing ligands, J. Appl. Spectros. 19: 882-886.
- [15] Asadi, M., Absalana, G. and Zamanpour, A., 2011, Cobalt(II), Nickel(II), Copper(II) and Zinc(II) complexes with new tetraaza Schiff base ligands: Synthesis, characterization and thermodynamic studies, J. Iran Chem. Soc. 8: 1073-1081.
- [16] Ashu, C., Ratan, S. and Singh, R., 2002, Tetraazamacrocyclic complexes of tin(II): Synthesis spectroscopy and biological screening, J. Chil. Chem. Soc. 47: 203-211.