

ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบเชิงซ้อนทองแดงและอนุพันธ์ ของกรดคาร์บอกซิลิก

Antimicrobial Activity of Copper Complexes and Carboxylic Acid Derivatives

ดรุณี เพชรชี^{1*} อรุณรัตน์ วณิชชานนท์¹ และรัตนรุจิ พุ่มวิเศษ²

Darunee Patchee^{1*} Arunrut Vanichanon¹ and Rattananurji Pomwised²

บทคัดย่อ

ศึกษาการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนทองแดง 2 ชนิดคือ (1) $[Cu(H_2O)(PABA)_2]$ และ (2) $[Cu_2(tartaric)_2(H_2O)_2] \cdot 4H_2O$ วิเคราะห์โครงสร้างสารด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยว วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันพื้นฐานด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี และศึกษาแถบการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี พบว่าสารประกอบเชิงซ้อน (1) มีระบบโครงสร้างผลึกเป็นแบบออร์ทอโรโมนิก มีหมู่ปริภูมิแบบ $Pmc2$ และสารประกอบเชิงซ้อน (2) เป็นแบบโมโนคลินิก มีหมู่ปริภูมิแบบ $P2_1$ วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันพื้นฐาน พบว่าสารประกอบเชิงซ้อน (1) มีหมู่ฟังก์ชัน O-H N-H primary C=O C=C C-N และ C-H bending และสารประกอบเชิงซ้อน (2) มีหมู่ฟังก์ชัน O-H stretching C-H stretching carboxylic group stretching C-O-C และ Cu-O ศึกษาแถบการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร พบแถบการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 231 และ 740 นาโนเมตร ในสารประกอบเชิงซ้อน (1) และที่ความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 280 และ 603 นาโนเมตร ในสารประกอบเชิงซ้อน (2) สอดคล้องกับการทรานซิชันของอิเล็กตรอนภายในออร์บิทัลของลิแกนด์และการทรานซิชันของอิเล็กตรอนภายในออร์บิทัลของโลหะ ผลจากการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตและหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบเชิงซ้อนทั้ง 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์หกชนิด (*Staphylococcus aureus* *Bacillus subtilis* *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa*

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

² สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

* Corresponding author e-mail: darunee555sanjon@hotmail.com

Received: 22 September 2020, Revised: 3 December 2020, Accepted: 8 December 2020

Klebsiella pneumonia และ *Acinetobacter baumannii*) พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนทั้งสองมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ: ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน ทองแดง กรดคาร์บอกซิลิก

Abstract

The research studied the synthesis of two copper complexes; namely, (1) $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(\text{PABA})_2]$ and (2) $[\text{Cu}_2(\text{tartaric})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. The substance structure were analyzed by X-ray diffraction technique on a single crystal. Basic functional groups were analyzed using infrared spectroscopy and the light absorption bands were studied by UV-Visible Spectroscopy. It was found that the complexes (1) had an orthorhombic crystal system. There were $Pmc2$ intersection groups and complexes (2) were monoclinic. There were $P2_1$ intersection groups. For basic function group analysis, it was found that the complexes (1) had functional groups O-H, N-H primary, C=O, C=C, C-N and C-H bending, and complexes (2) had functional groups O-H stretching, C-H stretching, carboxylic group stretching, C-O-C and Cu-O. The research studied the absorption bands of a substance at a wavelength of 200-800 nm. The absorbance bands of the substance were found at the maximum wavelengths of 231 and 740 nm. in the complexes (1). Besides, at maximum wavelengths equaled to 280 and 603 nm. in complex compounds (2). This was corresponded to electron transitions within ligand orbitals and electron transitions inside metal orbitals. Results from the study of the inhibitory efficacy and the lowest concentrations of the two complex compounds at the concentration of 80 mg/mL. With six microorganisms (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* and *Acinetobacter baumannii*), it was found that both complexes had antimicrobial activity at a concentration equaled to 80 mg/mL.

Keywords: Antimicrobial activity, Complexes, Copper, Carboxylic acid

บทนำ

การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก สามารถนำไปประยุกต์ในงานด้านยาปฏิชีวนะ ยาต้านเชื้อราหรือแบคทีเรีย งานด้านอุตสาหกรรมที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และงานด้านอื่น ๆ อีกมากมาย ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารอินทรีย์ทั่วไป สาเหตุมาจากผลของการเกิดดีเลตของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะตอมของโลหะแทรนซิชันกับสารอินทรีย์ที่ทำให้ความถี่ของอะตอมโลหะแทรนซิชันลดน้อยลง เนื่องจากประจุบวกบางส่วนถูกใช้ร่วมกับหมู่ให้อิเล็กตรอนของสารอินทรีย์เพื่อสร้างพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์ และอิเล็กตรอนบางส่วนเกิดการเคลื่อนย้ายภายในวงทำให้อะตอมของโลหะแทรนซิชันที่อยู่ตรงกลางเกิดความถี่ไม่มีขั้วเพิ่มขึ้น จึงช่วยให้เกิดการแทรกซึมเข้าไปยังชั้นไขมันของผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ ส่งผลให้ไม่สามารถนำสารอาหารที่อยู่ภายในไปใช้ประโยชน์ได้ ทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หยุดชะงักและตายในที่สุด (Ashu *et al.* 2002) ตัวอย่างสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ สารประกอบเชิงซ้อนด้วยโลหะคอปเปอร์อะซิเตตกับลิแกนด์กรด 4-อะมิโนเบนโซอิก (กอร์โระ และคณะ, 2558) และสารประกอบเชิงซ้อน $[\text{Cu}(\text{BZC})_2(3,5\text{DNBZ})_2]$ มีประสิทธิภาพทำลายจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* (นิรุธสัมพันธ์ และคณะ, 2559)

ดังนั้นผู้วิจัยมีความสนใจในการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะคอปเปอร์กับลิแกนด์ที่เป็นอนุพันธ์ของกรดคาร์บอกซิลิก และศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* *B. subtilis* *E. coli* *P. aeruginosa* *K. pneumonia* และ *A. baumannii* และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อเป็นแนวทางในการนำสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมได้ใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ซึ่งอาจเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เพื่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อน

1.1 สังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนของคอปเปอร์คลอไรด์กับซาลิไซลาไมด์ และกรด 4-อะมิโนเบนโซอิก โดยละลายคอปเปอร์คลอไรด์น้ำหนัก 0.17 กรัม กรดซาลิไซลาไมด์น้ำหนัก 0.14 กรัม และกรด 4-อะมิโนเบนโซอิกน้ำหนัก 0.27 กรัม ด้วยน้ำผสมเอทานอลในอัตราส่วน 1:1 ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร คนสารด้วยเครื่องกวนสารที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง กรองสารละลายที่ได้ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน จนเกิดผลึกสีขาว

1.2 สังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนคอปเปอร์ซัลเฟตกับกรดทาร์ทาริก โดยละลายคอปเปอร์ซัลเฟตน้ำหนัก 0.25 กรัม และกรดทาร์ทาริกน้ำหนัก 0.30 กรัม ด้วยน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร คนสารด้วยเครื่องกวนสารที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง กรองสารละลายที่ได้ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน จนเกิดผลึกสีฟ้า

2. การศึกษาสมบัติต่าง ๆ ของสารประกอบเชิงซ้อน

2.1 การศึกษาสมบัติทางกายภาพ เช่น ลักษณะผลึก จุดหลอมเหลว และการละลาย

2.2 การศึกษาสมบัติทางเคมี เช่น การศึกษาองค์ประกอบและโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยว การดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี และยืนยันโครงสร้างด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี

3. การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี disc diffusion

ระบุตำแหน่งที่จะวางแผ่นกระดาษตาปลาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ทั้งหมด 4 ตำแหน่ง ใช้ไม้พันสำลีจุ่มลงในหลอดทดลองที่มีการปรับระดับความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 0.5 McFarland ปิดให้แห้งพอหมาด ๆ ข้างหลอดทดลอง นำมาเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA โดยการลากแบบถี่ ๆ เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์กระจายสม่ำเสมอ ทิ้งไว้ 5 นาที เพื่อให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างสารประกอบเชิงซ้อนหยดลงบนกระดาษตาปลา ตำแหน่งละ 10 ไมโครลิตร รอจนกระดาษตาปลาแห้ง คีบมาวางบนจานเพาะเชื้อที่ได้กำหนดตำแหน่งไว้แล้วกดเบา ๆ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยการวัดขนาดของโซนใส

4. หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบเชิงซ้อนในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี broth microdilution test

เตรียมสารประกอบเชิงซ้อนละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ให้มีความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมยาเจินตามัยซินให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบใน microtiter plate 96-well โดยใช้ไมโครปิเปตดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ลงในหลุมที่ 1 ถึง 12 หลุมละ 100 ไมโครลิตร โดยมีหลุมที่ 11 เป็น positive control และหลุมที่ 12 เป็น negative control ปิเปตสารประกอบเชิงซ้อนลงในหลุมแรก 200 ไมโครลิตร แล้วเจือจางแบบ 2 fold serial dilution จนถึงหลุมที่ 10 ปิเปตทิ้ง ซึ่งยาเจินตามัยซินทำเช่นเดียวกัน จากนั้นเติมเชื้อที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 McFarland ลงในหลุมที่ 1 ถึง 11 หลุมละ 100 ไมโครลิตร ปิดฝานำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบเชิงซ้อนในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยดูความขุ่นด้วยตาเปล่า

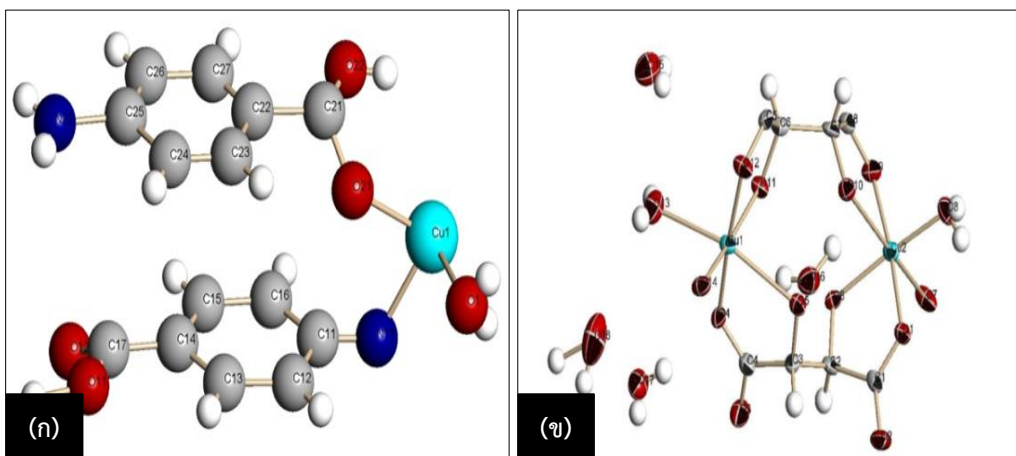
ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของสารประกอบเชิงซ้อน

การสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนคอปเปอร์คลอไรด์กับซาลิไซลาไมด์ และ 4-อะมิโนเบนโซอิก (สารประกอบเชิงซ้อน 1) ในสภาวะที่เหมาะสมใช้อัตราส่วน 1:1:2 ทำให้เกิดผลึกสีเขียว มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 423 องศาเซลเซียส ส่วนการสังเคราะห์สารประกอบเชิงซ้อนคอปเปอร์ซัลเฟตกับกรดทาร์ทาริก (สารประกอบเชิงซ้อน 2) ในสภาวะที่เหมาะสมใช้อัตราส่วน 1:1 ทำให้เกิดผลึกสีฟ้า มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 388 องศาเซลเซียส เมื่อนำสารทั้ง 2 ชนิดไปทดสอบความสามารถในการละลาย พบว่าละลายได้ในไดเมทิลซัลโฟไซด์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

2. ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีของสารประกอบเชิงซ้อน

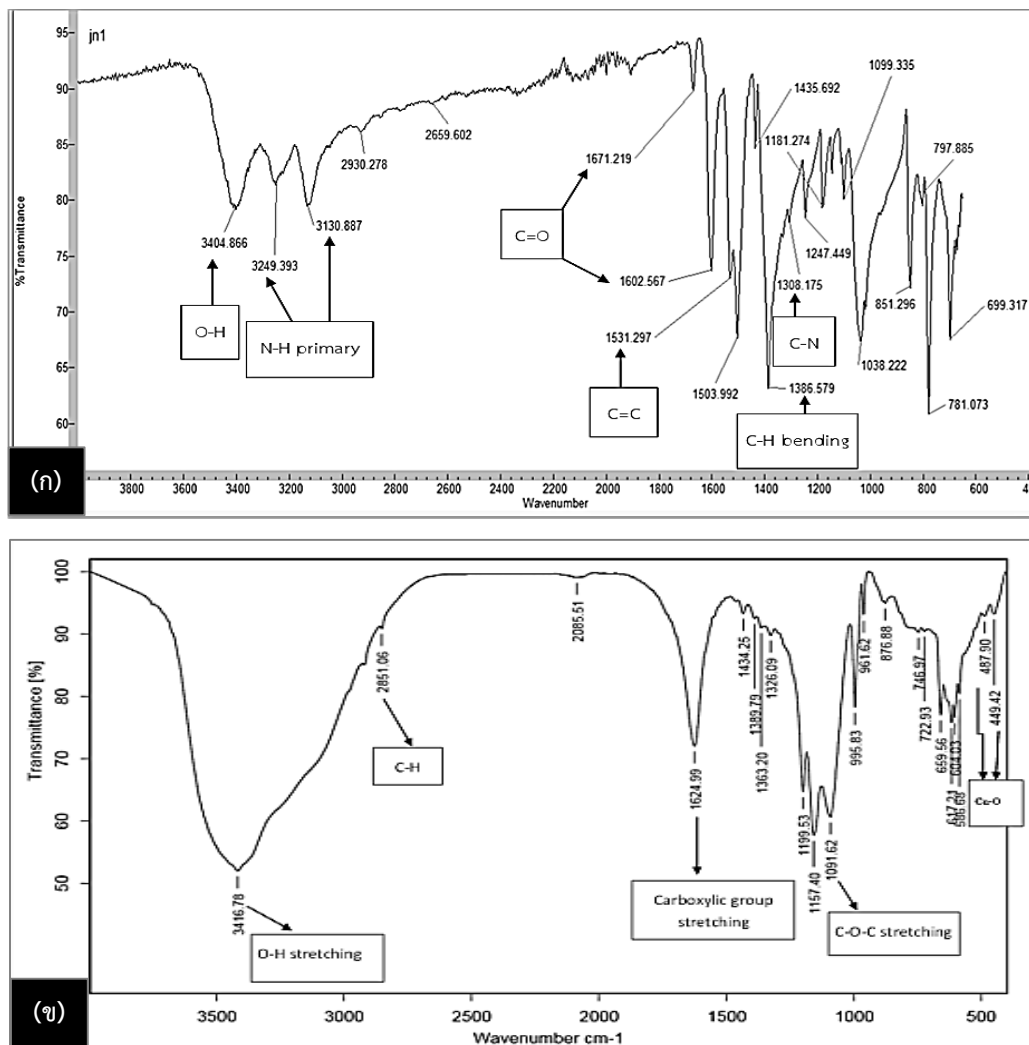
2.1 เทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยวของสารประกอบเชิงซ้อน 1 พบว่ามีสูตรโมเลกุล $C_{15}H_{15}CuNO_8$ หรือ $[Cu(H_2O)(PABA)_2]$ ดังภาพที่ 1 มีมวลโมเลกุล 400.82 กรัมต่อโมล มีระบบโครงสร้างผลึกเป็นแบบออร์ทอรอมบิก มีหมู่ปริภูมิแบบ $Pmc2_1$ จำนวนโมเลกุลในหน่วยเซลล์เท่ากับ 2 มีเซลล์พารามิเตอร์ คือ $a = 6.9176(7)\text{\AA}$ $b = 6.2167(5)\text{\AA}$ $c = 17.1603(18)\text{\AA}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90$ องศาเซลเซียส ส่วนสารประกอบเชิงซ้อน 2 พบว่ามีสูตรโมเลกุล $Cu_2C_8H_{16}O_{18}$ หรือ $[Cu_2(tartaric)_2(H_2O)_2] \cdot 4H_2O$ ดังภาพที่ 2 มีมวลโมเลกุล 527.29 กรัมต่อโมล มีระบบโครงสร้างผลึกแบบโมโนคลินิก มีหมู่ปริภูมิแบบ $P2_1$ จำนวนโมเลกุลในหน่วยเซลล์เท่ากับ 2 เซลล์พารามิเตอร์ คือ $a = 8.3728(4)\text{\AA}$ $b = 8.7629(4)\text{\AA}$ $c = 12.1529(6)\text{\AA}$ $\alpha = \gamma = 90$ $\beta = 104.539$ องศาเซลเซียส



ภาพที่ 1 โครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนเมื่อศึกษาด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยว

(ก) สารประกอบเชิงซ้อน 1 (ข) สารประกอบเชิงซ้อน 2

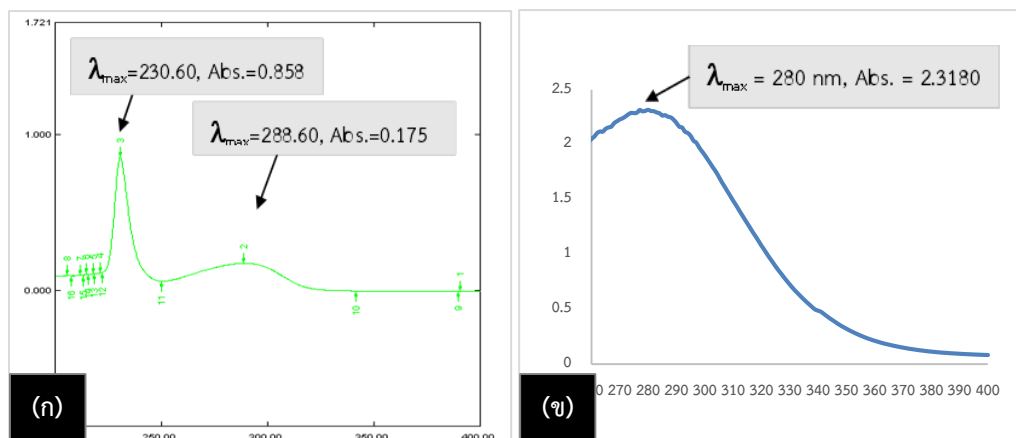
2.2 เทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโกปีของสารประกอบเชิงซ้อน 1 พบว่าการยืดของ N-H primary มีเลขคลื่นระหว่าง $3131\text{--}3250\text{ cm}^{-1}$ จากสเปกตรัมยืนยันองค์ประกอบของวงแอโรแมติกประกอบด้วยสัญญาณการยืดของ C=C มีเลขคลื่นระหว่าง $1531\text{--}1504\text{ cm}^{-1}$ สารประกอบเชิงซ้อน 2 พบว่าการยืดของ Cu-O มีเลขคลื่นระหว่าง $449\text{--}488\text{ cm}^{-1}$ และสัญญาณการยืดของ C-O-C ที่ตำแหน่ง 1092 cm^{-1} ซึ่งข้อมูลทั้งหมดแสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 สเปกตรัมสัญญาณหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบเชิงซ้อน

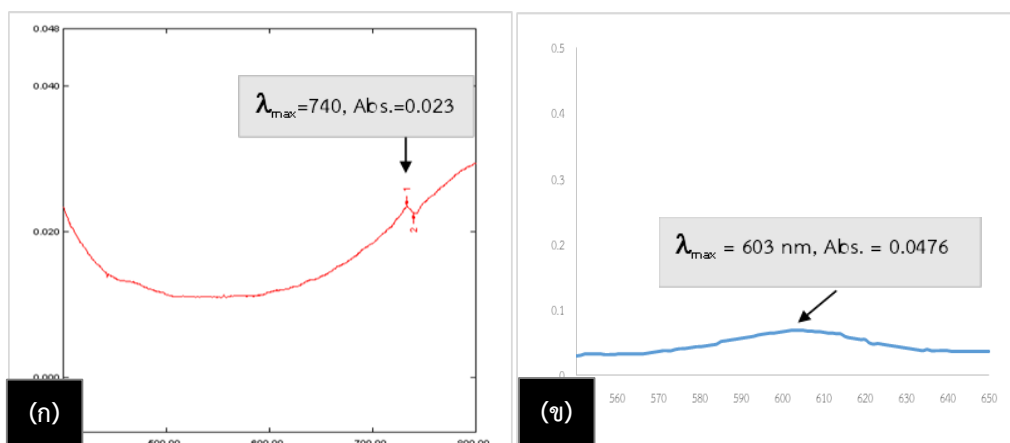
(ก) สารประกอบเชิงซ้อน 1 (ข) สารประกอบเชิงซ้อน 2

2.3 เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปีของสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 2 ดังภาพที่ 3 พบว่าสามารถดูดกลืนแสงในช่วงยูวีที่ความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 288 และ 280 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงในลักษณะทรานซิชันแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ ส่วนการดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล มีค่าความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 740 และ 603 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงในลักษณะ d-d transition ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 3 สเปกตรัมการแทรกนชิชั้นของสารประกอบเชิงซ้อนในช่วงยูวี

(ก) สารประกอบเชิงซ้อน 1 (ข) สารประกอบเชิงซ้อน 2

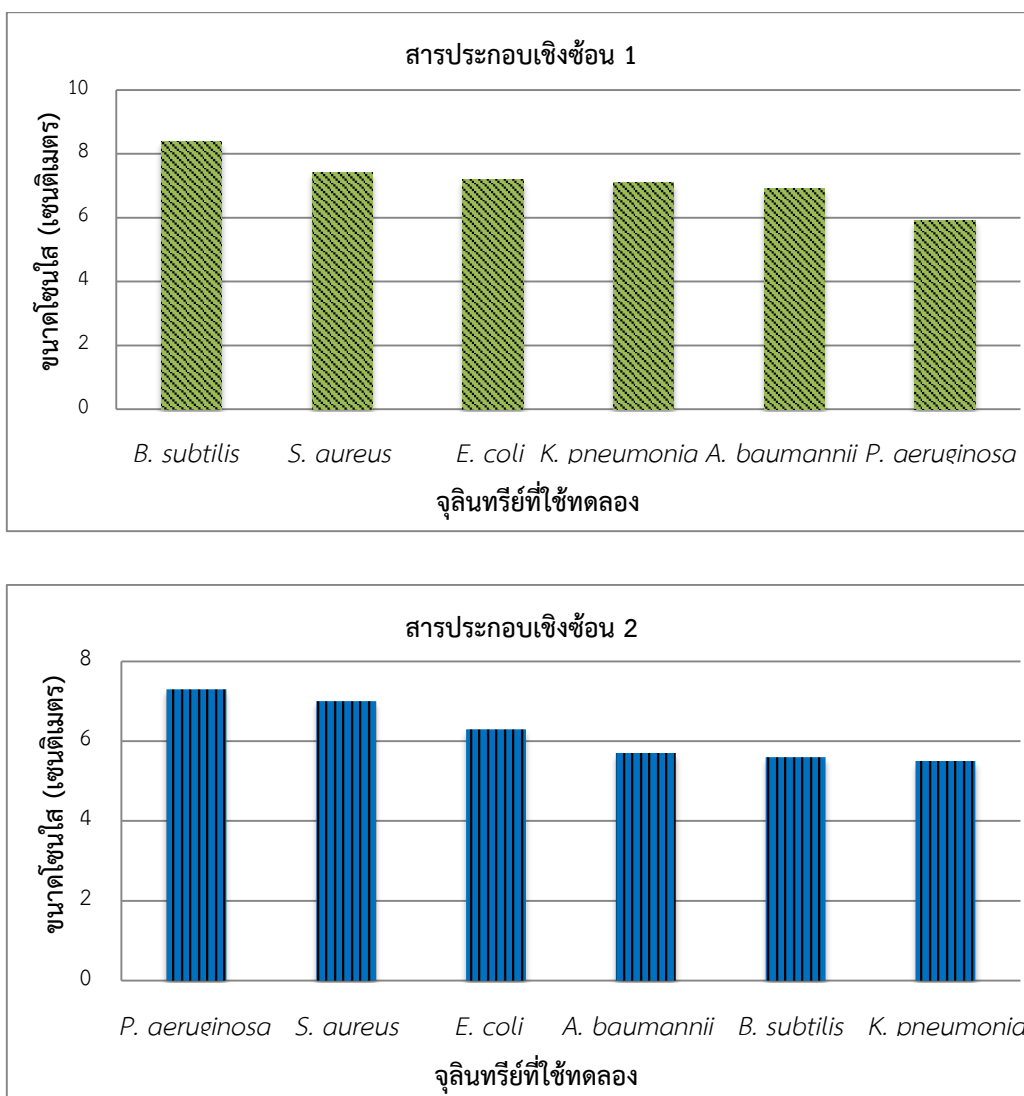


ภาพที่ 4 สเปกตรัมการแทรกนชิชั้นของสารประกอบเชิงซ้อนในช่วงวิสิเบิล

(ก) สารประกอบเชิงซ้อน 1 (ข) สารประกอบเชิงซ้อน 2

3. ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ที่ระดับความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนเท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการวัดขนาดโซนใส ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสารประกอบเชิงซ้อน 1 สามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* > *S. aureus* > *E. coli* > *K. pneumonia* > *A. baumannii* > *P. aeruginosa* สารประกอบเชิงซ้อน 2 สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* > *S. aureus* > *E. coli* > *A. baumannii* > *B. subtilis* > *K. pneumonia* ตามลำดับ ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบเชิงซ้อน

4. ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบเชิงซ้อนในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

จากการสังเกตความขุ่นด้วยตาเปล่า พบว่าสารประกอบเชิงซ้อน 1 มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ 1,000-5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *S. aureus* *B. subtilis* และ *E. coli* และที่ความเข้มข้น 5,001-10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* *K. pneumonia* และ *A. baumannii* สารประกอบเชิงซ้อน 2 มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ 1,000-5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* *B. subtilis* และ *A. baumannii* และที่ความเข้มข้น 5,001-10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *E. coli* *P. aeruginosa* และ *K. pneumonia* ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารประกอบเชิงซ้อนในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์	ค่า MIC (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	สารประกอบเชิงซ้อน 1	สารประกอบเชิงซ้อน 2
<i>S. aureus</i>	5,000	5,000
<i>B. subtilis</i>	5,000	5,000
<i>E. coli</i>	5,000	10,000
<i>P. aeruginosa</i>	10,000	10,000
<i>K. pneumonia</i>	10,000	10,000
<i>A. baumannii</i>	10,000	5,000

การอภิปรายผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์ข้อมูลสารประกอบเชิงซ้อน 1 พบว่ามีสูตรโมเลกุล $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(\text{PABA})_2]$ หรือ $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{CuNO}_8$ ตกผลึกอยู่ในระบบออร์โทโรห์มิก มีหมู่ปริภูมิแบบ *Pmc2* และจำนวนโมเลกุลในหน่วยเซลล์เท่ากับ 2 เซลล์พารามิเตอร์ที่พบ คือ $a = 6.9176(7)\text{\AA}$ $b = 6.2167(5)\text{\AA}$ $c = 17.1603(18)\text{\AA}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90$ องศาเซลเซียส (Rissanen *et al.* 1987) สารประกอบเชิงซ้อนเป็นสารประกอบที่เกิดจากไอออนของโลหะแทรนซิชันสร้างพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์กับกลุ่มของโมเลกุลหรือไอออนเชิงซ้อนที่มัลล้อมรอบซึ่งเรียกว่า ลิแกนด์ โดยไอออนของโลหะแทรนซิชันในที่นี้ คือ Cu^{2+} ทำหน้าที่เป็นอะตอมกลางสร้างพันธะโคออร์ดิเนตกับกลุ่มของโมเลกุลหรือไอออนเชิงซ้อน 3 อะตอม ได้แก่ ไนโตรเจน 1 อะตอม และออกซิเจน 2 อะตอม ซึ่งไนโตรเจน 1 อะตอมจากลิแกนด์กรด 4-อะมิโนเบนโซอิก 1 โมเลกุล และออกซิเจน 2 อะตอมจากกรด 4-อะมิโนเบนโซอิก 1 โมเลกุลกับน้ำ 1 โมเลกุล จากจำนวนลิแกนด์ที่เกิดพันธะระหว่างอะตอมกลางทำให้ทราบว่า

สารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ได้นี้มีเลขโคออร์ดิเนชันเท่ากับ 3 (Marzieh *et al.*, 2017) สารประกอบเชิงซ้อน 2 มีสูตรโมเลกุล $[\text{Cu}_2(\text{tartaric})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ หรือ $\text{Cu}_2\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_{18}$ ตกผลึกอยู่ในระบบโมโนคลินิก มีหมู่ปริภูมิแบบ $P2_1$ จำนวนโมเลกุลในหน่วยเซลล์เท่ากับ 2 มีเซลล์พารามิเตอร์ ดังนี้คือ $a = 8.3728(4)\text{\AA}$ $b = 8.7629(4)\text{\AA}$ $c = 12.1529(6)\text{\AA}$ $\alpha = \gamma = 90^\circ$ $\beta = 104.539^\circ$ องศาเซลเซียส (Lim *et al.*, 2009) โดยไอออนของโลหะทรานซิชันใน คือ Cu^{2+} ทำหน้าที่เป็นอะตอมกลางสร้างพันธะโคออร์ดิเนตกับกลุ่มโมเลกุลหรือไอออนเชิงซ้อน 6 อะตอม โดยสารประกอบเชิงซ้อนทองแดงมีโครงสร้างโมเลกุลแบบไดนิวเคลียร์ประกอบด้วยอะตอมคอปเปอร์ 2 อะตอม ซึ่งอะตอมของคอปเปอร์สร้างพันธะโคออร์ดิเนตกับกลุ่มโมเลกุลหรือไอออนเชิงซ้อน ได้แก่ 5 อะตอมออกซิเจนจากโมเลกุลกรดทาร์ทาริก และ 1 อะตอมออกซิเจนของน้ำ ซึ่งการเชื่อมต่อกันระหว่างอะตอมออกซิเจนของกรดทาร์ทาริกกับอะตอมคอปเปอร์เรียงกลายเป็นมอนอเมอร์หลาย ๆ มอนอเมอร์เรียงต่อกัน ดังนั้นจึงทำให้โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบเชิงซ้อนทองแดงมีลักษณะเป็นโพลิเมอร์ (Marzieh *et al.*, 2017) เมื่อวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบเชิงซ้อน 1 พบว่าที่ความถี่ 3405 cm^{-1} มีหมู่ฟังก์ชัน O-H ที่ความถี่ $3131\text{--}3250\text{ cm}^{-1}$ มีหมู่ฟังก์ชัน N-H primary ที่ความถี่ $1671\text{--}1603\text{ cm}^{-1}$ มีหมู่ฟังก์ชัน C=O stretching ที่ความถี่ $1531\text{--}1504\text{ cm}^{-1}$ มีหมู่ฟังก์ชัน C=C ที่ความถี่ 1308 cm^{-1} มีหมู่ฟังก์ชัน C-N และที่ความถี่ 1387 cm^{-1} มีหมู่ C-H bending (เย็นหทัย, 2549) และสารประกอบเชิงซ้อน 2 พบว่าที่ความถี่ 3417 cm^{-1} มีหมู่ฟังก์ชัน O-H stretching ที่ความถี่ 2851 cm^{-1} มีหมู่ฟังก์ชัน C-H stretching ที่ความถี่ $1390\text{--}1625\text{ cm}^{-1}$ มีหมู่ฟังก์ชัน carboxylic group ที่ความถี่ 1092 cm^{-1} มีหมู่ C-O-C และที่ความถี่ $449\text{--}488\text{ cm}^{-1}$ มีหมู่ Cu-O (Ian and John, 1989) การศึกษาดังกล่าวเป็นการสั่นพันธะของหมู่ฟังก์ชันภายในโมเลกุลของสารประกอบเชิงซ้อน เกิดจากการได้รับพลังงานที่เกี่ยวข้องกับการสั่นของพันธะภายในโมเลกุลตรงกับค่าความถี่ของรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงคลื่นอินฟราเรด ซึ่งการสั่นแบบยืดและแบบงอของแต่ละพันธะจะมีค่าความถี่เฉพาะผลที่ได้จากการฉายรังสีอินฟราเรดต่อโมเลกุลของสารประกอบเชิงซ้อนและวัดรังสีอินฟราเรดที่ผ่านออกมาจะปรากฏสัญญาณในรูปแบบสเปกตรัม (Sharma, 2006) เมื่อศึกษาแถบการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อน 1 และ 2 พบว่าที่ความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร ค่าความยาวคลื่นสูงสุด มีค่าเท่ากับ 288 และ 280 นาโนเมตร เป็นการดูดกลืนแสงในลักษณะทรานซิชันแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ ของโมเลกุลลิแกนด์ (Saif *et al.*, 2011) ส่วนที่ความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร มีค่าความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 740 และ 603 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงในลักษณะทรานซิชันแบบ d-d transition ของโลหะทรานซิชัน ลักษณะการทรานซิชันแบบ d-d transition ของสารประกอบเชิงซ้อนคอปเปอร์มีการดูดกลืนแสงช่วง 650-700 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงบริเวณแสงสีเหลืองทำให้เห็นสารประกอบเชิงซ้อนคอปเปอร์เป็นสีฟ้า (Sushil and Daisy, 1997) ส่วนอะตอมกลาง

ที่ใช้ในการสังเคราะห์ครั้งนี้ คือ คอปเปอร์เป็นสารประกอบ d^9 อยู่ในกลุ่มทรานซิชันในกลุ่ม d จึงทำให้เกิดลักษณะทรานซิชันแบบ $d-d$ transition (ทิริทัยา, 2549)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารประกอบเชิงซ้อนในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี disc diffusion ที่ระดับความเข้มข้นของเท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าจากการวัดขนาดของโซนใส ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน 1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* > *S. aureus* > *E. coli* > *K. pneumonia* > *A. baumannii* > *P. aeruginosa* ตามลำดับ และสารประกอบเชิงซ้อน 2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* > *S. aureus* > *E. coli* > *A. baumannii* > *B. subtilis* > *K. pneumonia* ดังนั้นความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนยิ่งมากขึ้นการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์จะสูงขึ้นด้วย (Manihshet *et al.*, 2011) จากนั้นนำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี minimal inhibitory concentration โดยดูความขุ่นด้วยตาเปล่า พบว่าสารประกอบเชิงซ้อน 1 มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ 1,000-5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *S. aureus* *B. subtilis* และ *E. coli* และที่ความเข้มข้น 5,001-10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *P. aeruginosa* *K. pneumonia* และ *A. baumannii* (Nair *et al.*, 2010) และที่ความเข้มข้นต่ำสุด 1,000-5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารประกอบเชิงซ้อน 2 สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* *B. subtilis* และ *A. baumannii* และที่ความเข้มข้น 5,001-10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *E. coli* *P. aeruginosa* และ *K. pneumonia* (กอร์อะ และคณะ, 2558) จากการศึกษางานวิจัยพบว่าสารประกอบเชิงซ้อนที่สังเคราะห์ได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้นั้นสาเหตุมาจากผลของการเกิดดีเลตของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะตอมของโลหะแทรนซิชันกับสารอินทรีย์ที่ทำให้ความมีขั้วของอะตอมโลหะแทรนซิชันลดน้อยลง เนื่องจากประจุบวกบางส่วนถูกใช้ร่วมกับหมู่ให้อิเล็กตรอนของสารอินทรีย์เพื่อสร้างพันธะโคออร์ดิเนตโคเวเลนต์และอิเล็กตรอน บางส่วนเกิดการเคลื่อนย้ายภายในวงทำให้อะตอมของโลหะแทรนซิชันที่อยู่ตรงกลางมีความเป็นขั้วลดลง ส่งผลต่อการแทรกซึมเข้าไปยังชั้นไขมันของผนังเซลล์แบคทีเรีย ส่งผลให้แบคทีเรียไม่สามารถนำสารอาหารที่อยู่ภายในไปใช้ประโยชน์ได้จึงทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงักและตายในที่สุด (Ashu *et al.*, 2002)

สรุปผลการวิจัย

การสังเคราะห์สารประกอบคอปเปอร์คลอไรด์กับซาลิไซลาไมด์ และ 4-อะมิโนเบนโซอิก (สารประกอบเชิงซ้อน 1) ในสภาวะที่เหมาะสมใช้อัตราส่วน 1:1:2 ทำให้เกิดผลึกสีเขียว และการสังเคราะห์สารประกอบคอปเปอร์ซัลเฟตกับกรดทาร์ทาริก (สารประกอบเชิงซ้อน 2) ในสภาวะที่เหมาะสมใช้อัตราส่วน 1:1 ทำให้เกิดผลึกสีฟ้า นำสารทั้ง 2 ชนิด ไปทดสอบความสามารถในการ

ละลาย พบว่าสามารถละลายได้ในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์บนผลึกเดี่ยว และเทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี พบว่าสารประกอบเชิงซ้อน 1 มีสูตรโมเลกุล $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(\text{PABA})_2]$ หรือ $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{CuNO}_8$ มีมวลโมเลกุล 400.82 กรัมต่อโมล มีระบบโครงสร้างผลึกเป็นแบบออร์ทอรอมิก มีหมู่ปริภูมิแบบ $Pmc2$ จำนวนโมเลกุลในหน่วยเซลล์เท่ากับ 2 มีเซลล์พารามิเตอร์ คือ $a = 6.9176(7)\text{\AA}$ $b = 6.2167(5)\text{\AA}$ $c = 17.1603(18)\text{\AA}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90$ องศาเซลเซียส มีหมู่ฟังก์ชัน O-H N-H primary C=O C=C C-N และ C-H bending สารประกอบเชิงซ้อน 2 มีสูตรโมเลกุล $[\text{Cu}_2(\text{tartaric})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ หรือ $\text{Cu}_2\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_{18}$ มีมวลโมเลกุล 527.29 กรัมต่อโมล มีระบบโครงสร้างผลึกแบบโมโนคลินิก มีหมู่ปริภูมิแบบ $P2_1$ จำนวนโมเลกุลในหน่วยเซลล์เท่ากับ 2 มีเซลล์พารามิเตอร์ $a = 8.3728(4)\text{\AA}$ $b = 8.7629(4)\text{\AA}$ $c = 12.1529(6)\text{\AA}$ $\alpha = \gamma = 90$ $\beta = 104.539$ องศาเซลเซียส มีหมู่ฟังก์ชัน O-H stretching C-H stretching carboxylic group stretching C-O-C และ Cu-O เมื่อศึกษาด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนทั้ง 2 ชนิด สามารถดูดกลืนแสงในช่วงยูวีที่ความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 288 และ 280 นาโนเมตร เป็นการดูดกลืนแสงในลักษณะทรานซิชันแบบ $\pi \rightarrow \pi^*$ ส่วนการดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล มีค่าความยาวคลื่นสูงสุดเท่ากับ 740 และ 603 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงในลักษณะ d-d transition เมื่อศึกษาประสิทธิภาพและหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสารประกอบเชิงซ้อน พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ควรได้รับการศึกษาต่อไปเพื่อเป็นยาด้านเชื้อจุลินทรีย์ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ศิริหทัย เพชรมั่ง ดร.อรุณรัศมี วัฒนพานนท์ และ ดร.รัตนรุจิ พุ่มวิเศษ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือ และตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องวิทยานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่อย่างดี และพี่ ๆ น้อง ๆ ภาควิชาจุลชีววิทยา และภาควิชาเคมี ที่เสียสละเวลาให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์พื้นฐาน (เคมี) มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตสงขลา และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ที่สนับสนุนให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์วิทยาศาสตร์เครื่องมือทางการวิเคราะห์และห้องปฏิบัติการที่ใช้สำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กอร์ธ บิลลี มณฑล เลิศวรปรีชา กุศล น้อยผา และหิรัญยา เพชรมั่ง. (2558). สเปกโทรสโกปี โครงสร้างและฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารเชิงซ้อนทองแดงกับลิแกนด์อนุพันธ์กรดเบนโซอิก. *วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ*, 18(2), 60-69.
- นิรุฒสิน นิสมิ หิรัญยา เพชรมั่ง และมณฑล เลิศวรปรีชา. (2559). ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารประกอบเชิงซ้อนทองแดงกับลิแกนด์ของอนุพันธ์กรดเบนโซอิก. *การประชุมวิชาการระดับชาติ เครือข่ายวิจัยสถาบันอุดมศึกษาทั่วประเทศ*. นครราชสีมา.
- เย็นหทัย แนนหนา. (2549). *สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์*. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- หิรัญยา เพชรมั่ง. (2549). *เคมีอินทรีย์ 2*. สงขลา: มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- Ashu, C., Ratan, S. and Singh, R. (2002). Tetraazamacrocyclic complexes of tin (ii) synthesis spectroscopy and biological screening. *Boletin de la Sociedad chilena de Quimica*, 47(3), 203-211.
- Ian, S.B. and John, F.H. (1989). *Inorganic chemistry principles and applications*. California: Benjamin-Cummings Pub Co.
- Lim, E.K, Teoh, S.G., Goh, S.M., Chng, C.D., Ng, C.H., fun, H.K., Rosli, M.M., Najimudin, N., Beh, H.H., Seow, L.J., Ismail, N., Lsmail, Z., Asmawi, Z. and Chea, Y.H. (2009). Characterization, nucleolytic, cytotoxic and antibacterial property of tetrakis (μ -4-chloro-2-nitrobenzoato-k₂O, O1) bis [aquacopper (II)], tetrakis (μ -2-chloro-6-fluorobenzoato-k₂O, O1) bis [aquacopper (II)] and tetrakis (μ -2-chlorobenzoato-k₂O, O1) bis [aquacopper (II)]. *Polyhedron*, 28, 1320-1330.
- Manihshet, A.H., Sarsamkar, S.K., Deodware, S.A., Kamble, V.N. and Asabe, M.R. (2011). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of new cobalt (II), nickel (II), and copper (II) complexes with 2-(2-hydroxy-1, 2-diphenylethylidene amino) benzoic acid. *Inorganic Chemistry Communications*, 14, 618-621.
- Araban, M., Tavafian, S.S., Zarandi, M.S., Hidarnia, R.A., Burri, A. and Montazer, A. (2017). A behavioral strategy to minimize air pollution exposure in pregnant women: a randomized controlled trial. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 22, doi: <https://doi.org/10.1186/s12199-017-0633-8>.
- Nair, M.S., Arih, D. and Joseyphus, R.S. (2010). Synthesis characterization antifungal antibacterial and DNA cleavage studies of some heterocyclic Schiff base metal complexes. *Journal of Saudi Chemical Society*, 16(1), 83-88.

- Rissanen, K., Valkonen, J., Kokonen, P. and Leskela, M. (1987). Structural and thermal Studies on Salicylato Complexes of Divalent Manganese Nickel Copper and Zinc. *Acta chemica Scandinavica*, 41(6), 299-309.
- Saif, M., Mahmoud, M., Mohamed, F. and Fouad, R. (2011). Synthesis and thermal studies of tetraaza Macrocyclic ligand and its transition metal complexes DNA binding affinity of copper complex. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(5), 1849-1855.
- Sharma, A.K. (2006). *Vishal's Kit Objective Chemistry*. (17nded). Arihant: Vishal Prakashan Mandir.
- Sushil, K.G. and Daisy, R. (1997) Template synthesis characterization and electrochemical studies of copper (II) macrocyclic complexes derived from 4-methyl-2, 6-di (formyl/benzoyl) phenol and diamines. *Transition metal chemistry*, 22(3), 225-228.