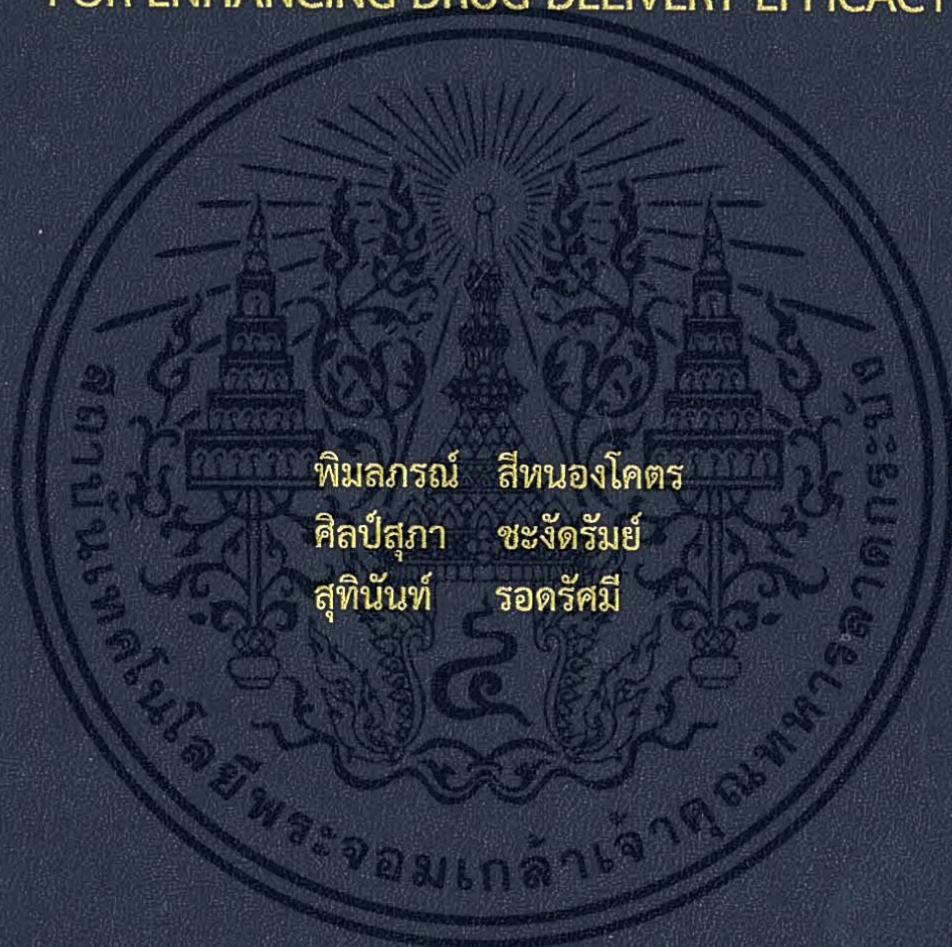


การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบด้วย  
สารประกอบไฮโดรฟลูออรีนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการนำส่งยา

CELLULAR UPTAKE OF GOLD NANOPARTICLES  
COATED BY FLUORINE-TERMINATED LIGANDS  
FOR ENHANCING DRUG DELIVERY EFFICACY



พิมลภรณ์ สีทองโคตร  
ศิลป์สุภา ชะงัดรัมย์  
สุทินันท์ รอดรัมย์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2559

การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบด้วย  
สารประกอบไฮโดรฟลูออรีนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการนำส่งยา

CELLULAR UPTAKE OF GOLD NANOPARTICLES  
COATED BY FLUORINE-TERMINATED LIGANDS  
FOR ENHANCING DRUG DELIVERY EFFICACY



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CELLULAR UPTAKE OF GOLD NANOPARTICLES  
COATED BY FLUORINE-TERMINATED LIGANDS  
FOR ENHANCING DRUG DELIVERY EFFICACY



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTIAL CHEMISTRY)  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2016




เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบด้วยสารประกอบไฮโดรฟลูออรีนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการนำส่งยา  
Cellular Uptake of Gold Nanoparticles Coated by Fluorine-Terminated Ligands for Enhancing Drug Delivery Efficacy

ชื่อนักศึกษา นางสาวพิมลภรณ์ สีหนองโคตร รหัสนักศึกษา 56050554  
นางสาวศิลป์สุภา ชะงัดรัมย์ รหัสนักศึกษา 56050622  
นางสาวสุทินันท์ รอดรัมย์ รหัสนักศึกษา 56050631

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชา เคมี  
ปีการศึกษา 2559  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เขิงชั้น ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.เอกรัฐ เดชศรี กรรมการ	
ผศ.ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่เคลือบด้วยสารประกอบไฮโดรฟลูออรีนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการนำส่งยา		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิมลภรณ์	สีหนองโคตร	รหัสนักศึกษา 56050554
	นางสาวศิลป์สุภา	ชะงัดรัมย์	รหัสนักศึกษา 56050622
	นางสาวสุทินันท์	รอดรัมย์	รหัสนักศึกษา 56050631
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง		

### บทคัดย่อ

ในปัจจุบันอัตราการเสียชีวิตเนื่องมาจากโรคมะเร็งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุก ๆ ปี แต่ทางเลือกในการรักษาโดยวิธีเคมีบำบัดมีข้อจำกัดในการรักษา เช่น ความสามารถในการละลายน้ำต่ำ การดูดซึมของยาเข้าสู่ร่างกายไม่ดี และมีผลข้างเคียงกับผู้ป่วย งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาระบบนำส่งยาที่มีความสามารถในการ เข้าสู่เซลล์ และมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยใช้อนุภาคนาโนทองที่เคลือบด้วยสารประกอบไฮโดรฟลูออรีนที่มีหมู่ปลายเป็นตัวนำส่ง ในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย การสังเคราะห์ทองที่เป็นแกนกลาง ซึ่งทำได้ด้วยวิธีของ Turkevich และวิธีของ Brust-Shiffrin จะทำให้ได้อนุภาคนาโนทองขนาด 15 และ 2 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยวิธีของ Turkevich จะใช้โซเดียมซิเตรท (Trisodium citrate;  $\text{Na}_3\text{Ct}$ ) เป็นตัวรีดิวซ์และเป็นตัวเคลือบ พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของ  $\text{HAuCl}_4:\text{Na}_3\text{Ct}$  คือ 0.06:1 เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร พบว่าให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดคือ 0.767 ส่วนวิธีของ Brust-Shiffrin จะใช้โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sodium borohydride;  $\text{NaBH}_4$ ) เป็นตัวรีดิวซ์ และใช้โดเดเคนไทออล (1-Dodecanethiol) เป็นตัวเคลือบ และส่วนที่เป็นตัวเคลือบหรือลิแกนด์ได้ทำการสังเคราะห์ลิแกนด์ 2 ตัว คือ ลิแกนด์ 1a และ 2a ซึ่งลิแกนด์ 1a ไม่สามารถสังเคราะห์ได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองได้สำเร็จ แต่ไม่สามารถสังเคราะห์ลิแกนด์ที่เป็นตัวเคลือบได้

**คำสำคัญ:** การเข้าสู่เซลล์ การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง ระบบนำส่งยา สารประกอบไฮโดรฟลูออรีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Title</b>	Cellular Uptake of Gold Nanoparticles Coated by Fluorine-Terminated Ligands for Enhancing Drug Delivery Efficacy		
<b>Students</b>	Miss Pimonporn	Seenongkhot	Student ID 56050554
	Miss Sinsupa	Changadram	Student ID 56050622
	Miss Sutinun	Rodradsamee	Student ID 56050631
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)		
<b>Department</b>	Chemistry		
<b>Faculty</b>	Science		
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
<b>Academic Year</b>	2016		
<b>Advisor</b>	Asst.Prof.Dr.Saowapak Teerasong		

### Abstract

The death from cancer is increasing every year and chemotherapy has a number of limitations for treatment of cancer such as low water solubility of drugs, poor absorption of drugs into the body and adverse side effects. This project is focused on the development of a drug delivery system that is capable of effectively entering into cells by using gold nanoparticles (AuNPs) coated with hydrofluorine compounds as a drug carrier. The AuNPs consist of the AuNPs cores and the coating ligands. The AuNPs cores were synthesized using Turkevich method and Brust-Shiffrin method to produce 15 nm and 2 nm nanoparticles. Turkevich method used trisodium citrate ( $\text{Na}_3\text{Ct}$ ) as a reducing agent and capping agent. It was found that the optimal ratio of  $\text{HAuCl}_4:\text{Na}_3\text{Ct}$  was of 0.06:1 when monitored by using UV-Visible Spectroscopy. The highest absorbance at 520 nm was of 0.767. Brust-Shiffrin method used sodium borohydride ( $\text{NaBH}_4$ ) as a reducing agent and 1-dodecanethiol as a capping agent. The coating ligands were composed with two segments which are ligands 1a and 2a. The ligand 1a was unsuccessful. In summary, the synthesis of gold core was achieved, while the synthesis of the coating ligand was unsuccessful.

**Keyword:** cellular uptake, drug delivery, gold nanoparticles synthesis, hydrofluorine compound

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จขึ้นตามความมุ่งหวังของคณะผู้เขียนได้ เนื่องจากความอนุเคราะห์และสนับสนุนของอาจารย์ที่ปรึกษาของคณะผู้เขียนทั้งสองท่าน ท่านแรก ขอขอบคุณ ผศ.ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง ที่กรุณารับเป็นที่ปรึกษาและเสียสละเวลาให้คำปรึกษาในการทำงานวิจัย ตรวจสอบแก้ไขความเรียบร้อยตลอดจนให้คำแนะนำทางวิชาการที่ดีเสมอมา อีกท่านขอขอบคุณ ผศ.ดร.อภิวัฒน์ ชมภูสอ อาจารย์ ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง สำหรับการให้คำปรึกษา รวมทั้งให้คำแนะนำเกี่ยวกับหัวข้องานวิจัย และได้อำนวยความสะดวกให้คณะผู้เขียนได้ทำการทดลองวิจัย รวมไปถึงคำแนะนำวิธีการต่างๆ ในการทดลองในงานวิจัย และแนวทางในการเขียนงานวิจัยที่เป็นประโยชน์ต่อการจัดทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณรจนา จำกั๊ด ผู้ประสานงานประจำสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยติดต่อประสานงาน เกี่ยวกับเอกสารการเดินทางเรื่องงานวิจัยและคอยให้คำแนะนำ และขอขอบคุณพี่ๆ บัณฑิตปริญญาโท บัณฑิตปริญญาเอก ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหงทุกท่าน ที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำวิธีการต่างๆ สำหรับการทดลองในงานวิจัย

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาที่คอยสนับสนุนด้านการเรียนและคอยให้กำลังใจจนการเรียนผ่านพ้นไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ ภาควิชาเคมีทุกคนที่คอยให้กำลังใจ และความช่วยเหลือต่างๆ เสมอมา และขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่าน และสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาให้แก่คณะผู้เขียนจนกระทั่งมีวันนี้ได้

พิมลภรณ์ สีหนองโคตร

ศิลป์สุภา ชะงัดรัมย์

สุทินันท์ รอดรัมย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญรูป.....	ฉ
คำย่อ/สัญลักษณ์.....	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b>	<b>4</b>
2.1 ระบบนำส่งยา.....	4
2.2 ระบบนำส่งยาโดยใช้อนุภาคนาโนทอง.....	5
2.2.1 สมบัติของทองและอนุภาคนาโนทอง.....	5
2.2.2 พื้นที่ผิวต่อปริมาตร.....	6
2.2.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง.....	6
2.3 การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทอง.....	9
2.4 การตรวจสอบเอกลักษณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์.....	10
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	18
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....</b>	<b>21</b>
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....</b>	<b>30</b>
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....</b>	<b>42</b>
เอกสารอ้างอิง.....	44
ภาคผนวก.....	46
ภาคผนวก ก.....	47
ภาคผนวก ข.....	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 แสดงปริมาณของสารละลาย อุณหภูมิและเวลาของสารละลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง.....	23
3.2 แสดงปริมาณของสารละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธี Brust-Schiffirin.....	24
4.1 แสดงปริมาณของสารละลาย อุณหภูมิ เวลาและการเปลี่ยนแปลงของสารละลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีของ Turkevich.....	31
4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของสารละลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีของ Turkevich เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน.....	31
4.3 แสดงผลการละลายและการกรองอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ด้วยวิธีของ Brust-Schiffirin ผ่าน Syringe filter membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร.....	33
4.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ TETA ที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 mM ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร.....	48
4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ TETA-CF <sub>3</sub> ที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 mM ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร.....	49
4.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ F1-BOC ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 mM ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร.....	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1 แสดงภาพรวมของงานวิจัยที่จะดำเนินการโดยอนุภาคนาโนทองที่จะสังเคราะห์ขึ้นทั้งหมด 4 อนุภาค ซึ่งมีปริมาณของฟลูออรีนที่แตกต่างกัน ได้แก่ AuNP1:F0, AuNP2:F3, AuNP3:F5, AuNP4:F7 มีปริมาณฟลูออรีนที่หมู่ปลาย 0, 3, 5 และ 7 ตามลำดับ.....	3
2.1 อนุภาคนาโนที่ใช้ในระบบนำส่งยา ได้แก่ เดนไดรเมอร์ โลโปโซม ไมเซลล์ และอนุภาคนาโนทอง.....	5
2.2 การสังเคราะห์พลาสมอนของอนุภาคทรงกลม.....	6
2.3 การประมาณจำนวนอะตอมของอนุภาคนาโนทองที่มีขนาดต่างกัน.....	6
2.4 แสดงอนุภาคของทองที่อยู่ในรูปคอลลอยด์ (colloid) ที่มีขนาด และรูปร่างที่ต่างกัน ขึ้นกับอัตราส่วนของตัวรีดิวซ์และสารตั้งต้น.....	7
2.5 (ก-จ) ภาพที่ได้จาก TEM แสดงอนุภาคนาโนทองที่มีอัตราส่วนระหว่าง ไตรโซเดียมซิติเรตต่อทองแตกต่างกัน โดยความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิติเรตที่สูงจะได้อนุภาคนาโนของทองที่มีขนาดเล็ก (ฉ) แสดงขนาดของอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นกับอัตราส่วนระหว่างไตรโซเดียมซิติเรตต่อทอง.....	8
2.6 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองโดยวิธี Brust-Schiffrin และแสดงภาพ (Transmission Electron Micrographs) TEM ของอนุภาคนาโนทองที่มีลิแกนด์ติดอยู่ (ข) ภาพกำลังขยายต่ำ (ค) ภาพกำลังขยายสูง.....	8
2.7 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองที่ได้จากปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนลิแกนด์.....	9
2.8 แสดงผลของขนาดของอนุภาคต่อการเข้าสู่เซลล์.....	10
2.9 การจัดตัวของ nuclei เมื่ออยู่ในสภาวะต่างๆ.....	11
2.10 NMR Spectrum.....	12
2.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (Wavelength) .....	13
2.12 องค์ประกอบของเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer.....	14
2.13 Double beam spectrophotometer.....	14
2.14 หลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน.....	15
2.15 ภาพโครงสร้างของนาโนที่ได้จากเครื่อง TEM.....	16
2.16 แสดงการแพร่ผ่านเมมเบรนของสารละลาย L และ R.....	17
2.17 ตัวอย่างของเครื่องมือ ICP-MS รุ่น Agilent 7500.....	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.18 กระบวนการของการวิเคราะห์ด้วย ICP-MS.....	18
2.19 การผลิตสารประกอบคล้ายไกลโคลิพิดโดยใช้ amphiphilic glycosides กับ perfluoroalkyl chain ที่ต่างกัน และเซลล์ B16.....	19
2.20 วิธีการสังเคราะห์ Fluorinated dendrimer.....	20
3.1 แสดงโครงสร้างลิแกนด์ 1a.....	24
3.2 โครงสร้างของลิแกนด์ 2a.....	27
4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนทองและความยาวคลื่น (นาโนเมตร).....	32
4.2 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 1.....	34
4.3 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 1.....	35
4.4 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 2.....	36
4.5 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 2.....	37
4.6 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 2.....	38
4.7 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 3.....	39
4.8 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 4.....	40
4.9 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 4.....	41
4.10 สีของสารละลาย TETA ที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบนินไฮดริน.....	47
4.11 ค่าการดูดกลืนแสงของ TETA ที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 mM.....	48
4.12 สีของสารละลาย TETA-CF <sub>3</sub> ที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบนินไฮดริน.....	49
4.13 ค่าการดูดกลืนแสงของ TETA-CF <sub>3</sub> ที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 mM.....	50
4.14 สีของสารละลาย F1-BOC ที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบนินไฮดริน.....	51
4.15 ค่าการดูดกลืนแสงของ F1-BOC ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 mM.....	51

## คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
TEM	กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน
MeOH	เมทานอล
DCM	ไดคลอโรมีเทน
MsCl	มีเทนซัลโฟนิลคลอไรด์
TETA	ไตรเอทิลีนเตตระเอมีน
BOC <sub>2</sub> O	ได-เทอร์ท-บิวทิล ไดคาร์บอเนต
DMF	ไดเมทิลฟอร์มาไมด์
Et <sub>2</sub> O	ไดเอทิลอีเทอร์
TOAB	เตตระออกทิลแอมโมเนียมโบรไมด์
NEt <sub>3</sub> (TFA)	ไตรเอทิลามีน
THF	เตตระไฮโดรฟิวแรน
Trt-SH	ไตรทิลไทออล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันอัตราการเสียชีวิตเนื่องจากโรคมะเร็งมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นทุกๆ ปี นับว่าเป็นปัญหาด้านสุขภาพปัญหาหนึ่งที่ส่งผลต่อคุณภาพชีวิตของมนุษย์เป็นอย่างมาก จากรายงานสถิติสาธารณสุข สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าในปี พ.ศ. 2555 ประเทศไทยมีจำนวนผู้เสียชีวิตจากโรคมะเร็งถึง 63,272 ราย และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นทุกๆ ปี [1] จึงมีความจำเป็นที่นักวิจัยควรจะต้องตื่นตัวในการพัฒนาการรักษาโรคมะเร็งเพื่อเพิ่มโอกาสในการรักษาโรคในอนาคต เนื่องจากในปัจจุบันมีการพัฒนาทางด้านนาโนเทคโนโลยีอย่างรวดเร็ว ทำให้มีงานวิจัยด้านการพัฒนาระบบนำส่งยาที่จะนำพายารักษาโรคไปยังเซลล์เป้าหมาย เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการรักษา ลดปริมาณยาที่ใช้ และลดผลข้างเคียงของยารักษาโรคมะเร็งต่อเซลล์ปกติได้ ระบบนำส่งในระดับนาโนได้รับการพัฒนากันอย่างแพร่หลายและมีหลายรูปแบบ เช่น ลิโปโซม พอลิเมอร์โซม ไมเซลล์ และอนุภาคระดับนาโนของโลหะ เป็นต้น ซึ่งตัวนำส่งในระดับนาโนหลายชนิด ได้ถูกนำมาใช้รักษาโรคมะเร็งแล้ว เช่น Doxil/Caelyx, Abraxane, DaunoXome เป็นต้น [2] อย่างไรก็ตามในการพัฒนาระบบนำส่งมีหลายปัจจัยที่จะต้องพิจารณา เพื่อให้ได้ระบบนำส่งที่ดี เช่น ขนาดของระบบนำส่ง ความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ ความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์เป้าหมาย ความสามารถในการละลาย ประสิทธิภาพในการบรรจุยา ความสามารถในการปลดปล่อยยา ความเสถียรของระบบนำส่งและความมีพิษของตัวนำส่ง เป็นต้น

จากปัจจัยเบื้องต้นที่กล่าวมา ปัญหาสำคัญที่ทำให้ประสิทธิภาพในการนำส่งต่ำก็คือการเข้าสู่เซลล์เป้าหมายได้ต่ำ เนื่องจากขนาดของระบบนำส่งที่ไม่เหมาะสม กล่าวคือถ้ามีขนาดใหญ่ในระดับไมครอนจะเจอปัญหา ความเสถียรและการเข้าสู่เซลล์ต่ำ แต่ถ้ามีขนาดเล็กเกินไป (~1-5 นาโนเมตร) ก็จะถูกขับออกจากร่างกายได้อย่างรวดเร็วผ่านระบบไต คุณสมบัติที่พื้นผิวของระบบนำส่งความสามารถในการดัดแปลงระบบนำส่งเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติที่พื้นผิวทำได้ยาก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาระบบนำส่งที่มีคุณสมบัติ ที่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อเพิ่มโอกาสในการนำยาไปยังเซลล์เป้าหมาย ซึ่งจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดีขึ้น

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาระบบนำส่งยาที่มีความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ และมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยใช้ อนุภาคนาโนทองที่เคลือบด้วยสารประกอบไฮโดรฟลูออรีนที่มีหมู่ปลายเป็นตัวนำส่ง โดยสารประกอบฟลูออโรคาร์บอนจะช่วยเพิ่มความสามารถในการจับกับผนังเซลล์ และยังช่วยเสริมการเข้าสู่เซลล์โดยผ่านชั้นไขมันของผนังเซลล์ (cell membranes) รวมทั้งเอนโดโซม (endosomes) และไลโซโซม (lysosomes) ได้ดี [3, 4] ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้จึงสนใจที่จะพัฒนาระบบนำส่งโดยใช้สารประกอบฟลูออรีนเป็นตัวช่วยส่งเสริมการเข้าสู่เซลล์และศึกษาปริมาณฟลูออรีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เหมาะสมต่อการเข้าสู่เซลล์ โดยอนุภาคนาโนทอง จะประกอบไปด้วยองค์ประกอบ 2 ส่วน ได้แก่ แกนกลางที่เป็นทอง ซึ่งจะมีขนาดประมาณ 2 นาโนเมตร ซึ่งทองขนาด 2 นาโนเมตร จะมีพื้นที่ผิวสูง จึงสามารถบรรจุลิแกนด์หรือตัวเคลือบได้ปริมาณมาก และส่วนตัวเคลือบจะเป็นสารอินทรีย์ที่มีหมู่ปลายเป็นสารประกอบฟลูออรีน ซึ่งระบบนำส่งที่มีอนุภาคนาโนทองเป็นตัวนำส่งมีข้อดีหลายประการ ได้แก่

1. อนุภาคทองในระดับนาโนจะสังเคราะห์ได้ง่าย มีความเสถียร และสามารถควบคุมขนาดของทองได้ ตั้งแต่ 2 -150 นาโนเมตร
2. ลิแกนด์ที่เคลือบทองสามารถออกแบบได้หลากหลายตามความต้องการในการใช้งานได้ โดยสังเคราะห์ลิแกนด์ที่มีหมู่ไทออลเป็นหมู่ปลาย ซึ่งลิแกนด์ที่สังเคราะห์ขึ้นนี้จะ ช่วยเพิ่มความเสถียรของทอง เพิ่มการละลาย มีพิษน้อย และเพิ่มการเข้ากันได้ทางชีวภาพ
3. อนุภาคทองสามารถปรับเปลี่ยนคุณสมบัติในระดับนาโนได้ง่าย ผ่านปฏิบัติการแลกเปลี่ยนลิแกนด์ จึงสามารถเพิ่มหมู่ฟังก์ชันที่ทำหน้าที่ ต่างๆได้ เช่น การบรรจุยาผ่านพันธะเคมี การเพิ่มตัวนำส่งไปยังเป้าหมายทั้งเซลล์เป้าหมายและออร์แกเนลล์เป้าหมายได้

4. อนุภาคทองที่ใช้เป็นแกนกลางมีความเป็นพิษต่ำ

ในงานวิจัยนี้ จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนหลัก ได้แก่

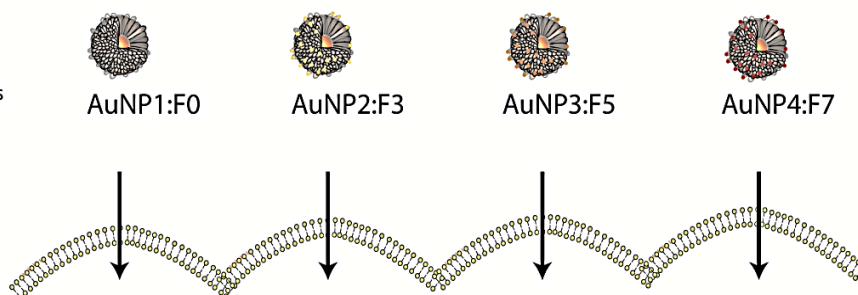
1. การสังเคราะห์อนุภาคทองที่มีตัวเคลือบ เป็นสารประกอบฟลูออรีนเป็นหมู่ปลาย ในขั้นนี้ จะประกอบไปด้วย การสังเคราะห์ ทองที่เป็นแกนกลาง การสังเคราะห์ตัวเคลือบ และ การเตรียมอนุภาคนาโนทอง ผ่านปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนลิแกนด์ โดยสารประกอบฟลูออรีนที่จะศึกษา จะมีจำนวนฟลูออรีนต่างกัน ได้แก่ 3 ตัว 5 ตัว และ 7 ตัว เพื่อวิเคราะห์ว่าตัวเคลือบใดที่มีความเสถียร และมีโอกาสที่จะพัฒนาไปเป็นระบบนำส่งยาได้

2. การศึกษาการเข้าสู่เซลล์ เมื่อสังเคราะห์อนุภาคนาโนแล้วจะนำมาทดสอบการเข้าสู่เซลล์ โดยจะศึกษาในเซลล์ MCF-7 (มะเร็งเต้านม) และเซลล์ HEK293 (เซลล์ปกติ) เพื่อศึกษาความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่มีตัวเคลือบแตกต่างกัน ว่ามีประสิทธิภาพ การเข้าสู่เซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ เหมือนหรือแตกต่างกัน รวมทั้ง การศึกษากลไกการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทอง เพื่อที่จะพัฒนาเป็นระบบนำส่งยาและดีเอ็นเอต่อไปในอนาคต ภาพรวมของงานวิจัยแสดงดังรูปที่ 1.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Synthesis

1. Synthesis of gold core
  2. Synthesis of ligands
  3. Fabrication of fluorine-terminated gold nanoparticles
- Characterized by NMR, IR, Mass spectroscopy, TEM, zeta sizer



## Cellular uptake

1. Cellular uptake in MCF-7
  2. Cellular uptake in HEK-293
- Characterized by ICP-MS, TEM

รูปที่ 1.1 แสดงภาพรวมของงานวิจัยที่จะดำเนินการโดยอนุภาค นาโนทองที่จะสังเคราะห์ขึ้นทั้งหมด 4 อนุภาค ซึ่งมีปริมาณของฟลูออรีนที่แตกต่างกัน ได้แก่ AuNP1:F0, AuNP2:F3, AuNP3:F5 และ AuNP4:F7 มีปริมาณฟลูออรีนที่หมู่ปลาย 0, 3, 5 และ 7 ตามลำดับ

## 1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

- 1.2.1 เพื่อสังเคราะห์อนุภาค นาโนทองที่ใช้สารประกอบไฮโดรฟลูออรีนเป็นหมู่ปลายและทดสอบความเสถียรของอนุภาคนาโนทองในอาหารเลี้ยงเชื้อ
- 1.2.2 ศึกษาประสิทธิภาพการเข้าสู่เซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และเซลล์ปกติ (HEK293)
- 1.2.3 เพื่อศึกษากลไกการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนที่สังเคราะห์ขึ้น

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 สังเคราะห์ลิแกนด์ที่มีหมู่ฟลูออรีนเป็นหมู่ปลาย
- 1.3.2 สังเคราะห์อนุภาคนาโนทองที่มีขนาด 2 นาโนเมตร และทำปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยน ลิแกนด์ ซึ่งจะทำให้ได้อนุภาคนาโนทอง 4 ชนิด
- 1.3.3 ทดลองการเข้าสู่เซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ เพื่อให้ได้อนุภาคที่เหมาะสมและมีความจำเพาะเจาะจงกับเซลล์มะเร็ง
- 1.3.4 ศึกษากลไกการเข้าสู่เซลล์

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้ระบบนำส่งที่มีประสิทธิภาพในการเข้าสู่เซลล์มะเร็งได้ดี เพื่อใช้เป็นตัวนำส่งยาในอนาคต
- 1.4.2 ได้ทราบขนาดของตัวเคลือบและคุณสมบัติของตัวเคลือบที่เหมาะสมในการเข้าสู่เซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

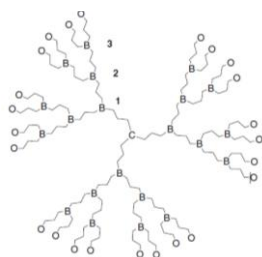
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ระบบนำส่งยา

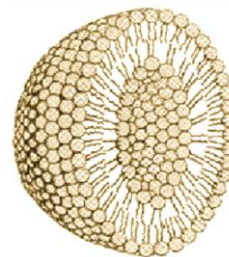
ระบบนำส่งยาคือการนำส่งยาโดยอาศัยตัวนำส่งยาไปยังเป้าหมาย เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการรักษา ปัจจุบันมีการพัฒนาการรักษาโรคด้วยวิธีที่หลากหลาย เพื่อเป็นทางเลือกในการรักษา การรักษาโดยใช้วิธีเคมีบำบัด มีข้อจำกัดในการรักษา ซึ่งข้อจำกัดนี้อาจมาจากคุณสมบัติของตัวยาเอง เช่น ความสามารถในการละลายน้ำต่ำ และการดูดซึมของยาเข้าไปในร่างกายได้ไม่ดี และในบางครั้งจะมีผลข้างเคียงกับผู้ป่วย เช่น ผมร่วง กัดไขกระดูก คลื่นไส้ เป็นพิษต่อหัวใจ เป็นต้น ดังนั้นในช่วงหลายปีที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาการนำส่งยาโดยใช้ตัวนำส่ง การมีระบบนำส่งจะมีข้อดีหลายประการ ได้แก่ เพิ่มการละลายของยาและเพิ่มการดูดซึมของตัวยา สามารถป้องกันตัวยา ไม่ให้เสียสภาพก่อนถึงเป้าหมาย และสามารถควบคุมการปลดปล่อยได้ เป็นต้น ซึ่งจะช่วยลดพิษของตัวยาและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา [5]

วัสดุในระดับนาโนที่ใช้ในระบบนำส่งยาถูกออกแบบให้สามารถนำส่งยาไปยังเป้าหมายภายในร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีอยู่หลายรูปแบบ ได้แก่ ไลโปโซม (liposomes) ไมเซลล์ (Micelles) เดนไดรเมอร์ (Dendrimer) และอนุภาคนาโนทอง (Gold nanoparticles) [2] เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 2.1 อนุภาคที่มีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตร ถูกนำมาใช้ในระบบนำส่งยา เนื่องจากมีขนาดเล็กและสามารถซึมผ่านช่องว่างของหลอดเลือดได้ และสามารถคงอยู่ภายในร่างกายได้นาน โดยไม่ถูกกำจัดออกจากร่างกายก่อนถึง ภาวะเป้าหมาย ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย สามารถขับออกจากร่างกายได้ และสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ เป็นต้น

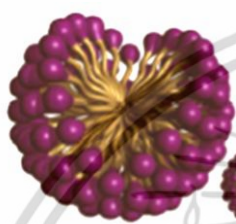
ระบบนำส่งยาที่ดีนั้นจะต้องมีขนาดที่ไม่ ใหญ่จนเกินไป ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ปกติ (nontoxic) และร่างกาย สามารถขับออกได้ สามารถปรับปรุงปรับปรุงพื้นผิว (functionalization) เพื่อให้มีคุณสมบัติเหมาะสมกับการใช้งาน มีความเข้ากันได้กับร่างกาย (biocompatibility) และสามารถคงตัวอยู่ภายในร่างกายได้นานพอ โดยที่ไม่ถูกกำจัดออกจากร่างกายก่อนถึงภาวะเป้าหมาย



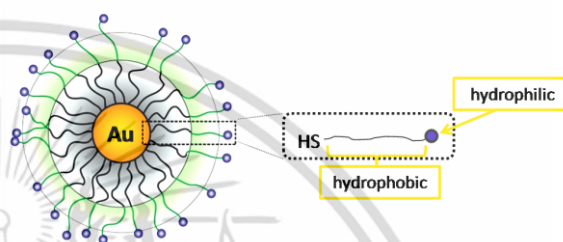
เดนไดรเมอร์ (Dendrimer)



ไลโปโซม (Liposomes)



ไมเซลล์ (Micelles)



อนุภาคนาโนทอง (Gold nanoparticles)

รูปที่ 2.1 อนุภาคนาโนที่ใช้ในระบบนำส่งยา ได้แก่ เดนไดรเมอร์ ไลโปโซม ไมเซลล์ และอนุภาคนาโนทอง

## 2.2 ระบบนำส่งยาโดยใช้อนุภาคนาโนทอง

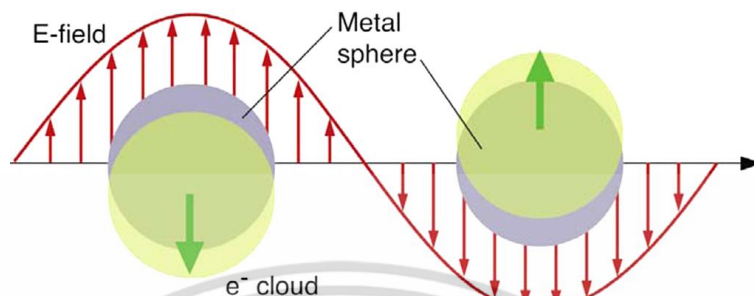
อนุภาคนาโนทองมีคุณสมบัติที่ดีหลายประการ ที่จะนำมาใช้เป็นตัวนำส่งยา ประการแรกคืออนุภาคนาโนทองสามารถสังเคราะห์ได้ง่าย และสามารถควบคุมขนาดได้ตั้งแต่ 1-150 นาโนเมตร [6] ซึ่งขึ้นอยู่กับวิธีที่สังเคราะห์ ประการที่สองคืออนุภาคนาโนทองไม่เป็นพิษต่อร่างกายและมีความเข้ากันได้กับร่างกาย ประการที่สามคือ การปรับปรุงพื้นผิวของอนุภาคนาโนทอง สามารถทำได้ง่าย ซึ่งจะทำให้อนุภาคนาโนทองเหมาะสมกับการประยุกต์ใช้งาน

### 2.2.1 สมบัติของทองและอนุภาคนาโนทอง

ทองเป็นโลหะที่ไม่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจึงทนต่อการผุกร่อนและไม่เกิดสนิม นอกจากนี้ทองยังมีคุณสมบัติที่ดี เช่น นำไฟฟ้า สะท้อนความร้อนได้ดี เป็นต้น [7] ทองที่มีขนาดใหญ่และอนุภาคนาโนทองมีค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถอธิบายด้วยปรากฏการณ์เซอร์เฟจ พลาสมอนเรโซแนนซ์ เป็นคลื่นความหนาแน่นของประจุที่เกิดจากการสั่นของอิเล็กตรอนอิสระที่มีลักษณะการสั่นแบบพร้อมเพียงกัน ทั้งนี้ความถี่ของการสั่นนั้นขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของอิเล็กตรอน (electron density) ขนาดและรูปแบบการกระจายตัวของประจุ (charge distribution) ด้วย ซึ่งปรากฏการณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

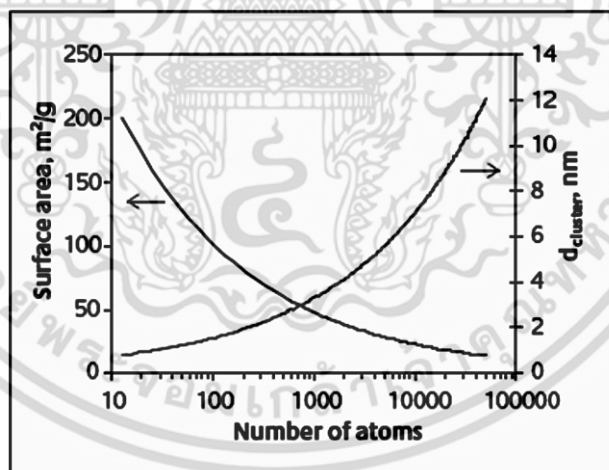
ดังกล่าวที่เกิดขึ้นจะเกิดตรงบริเวณผิวรอยต่อกับสารไดอิเล็กทริก เช่น ทองกับสารละลายหรืออากาศ ซึ่งจะส่งผลต่อ ขนาด ความกว้างและยอดคลื่นของสเปกตรัมพลาสมอน เรโซแนนซ์ของวัสดุต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 การสั่นของพลาสมอนของอนุภาคทรงกลม [7]

### 2.2.2 พื้นที่ผิวต่อปริมาตร

อนุภาคนาโนทองที่มีขนาดเล็ก จะมีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตร (Surface to volume) สูง เมื่อเทียบกับทองชนิดเดียวกันแต่มีขนาดที่ใหญ่กว่า [8] ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ดังนั้นจึงสามารถบรรจุลิแกนด์หรือยาได้ปริมาณสูง ส่งผลให้ประสิทธิภาพการนำยามีประสิทธิภาพดีขึ้นด้วย



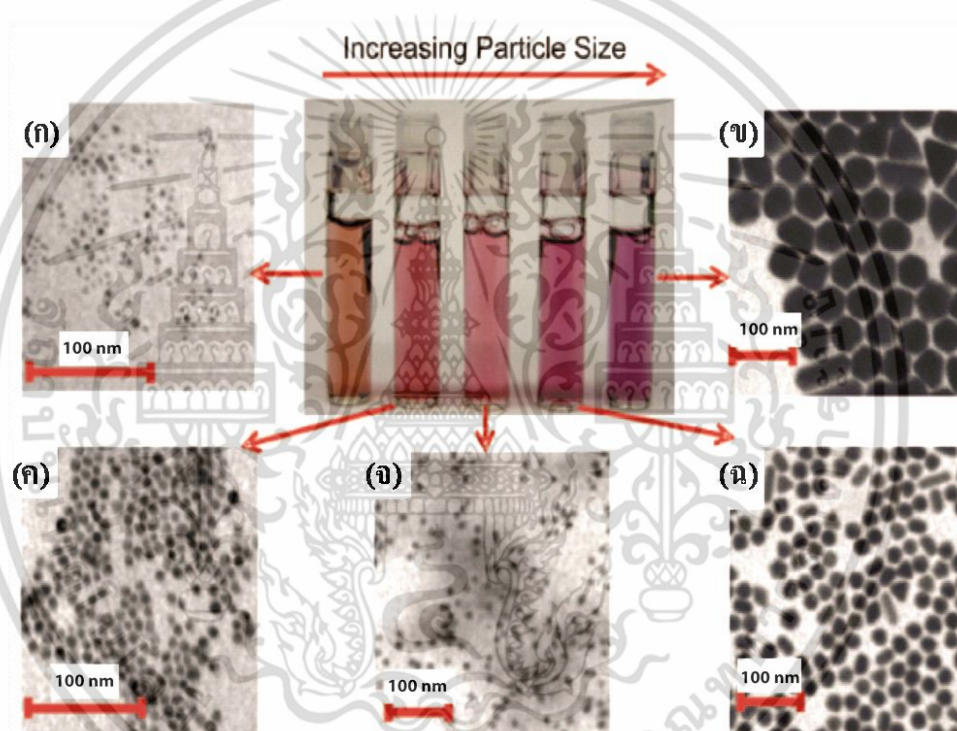
รูปที่ 2.3 การประมาณจำนวนอะตอมของอนุภาคนาโนทองที่มีขนาดต่างกัน [8]

### 2.2.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองแบบคอลลอยด์ (colloid) จะสามารถสังเคราะห์ได้หลายวิธี แต่ในที่นี้จะกล่าวถึงการสังเคราะห์ 2 วิธี ได้แก่ Turkevich method และ Brust-Schiffrin method

Turkevich method เป็นวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนทอง ที่มีขนาดประมาณ 10-100 นาโนเมตร [9] อนุภาคที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้จะมีลักษณะเป็นทรงกลมและมีการกระจายตัวแบบเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

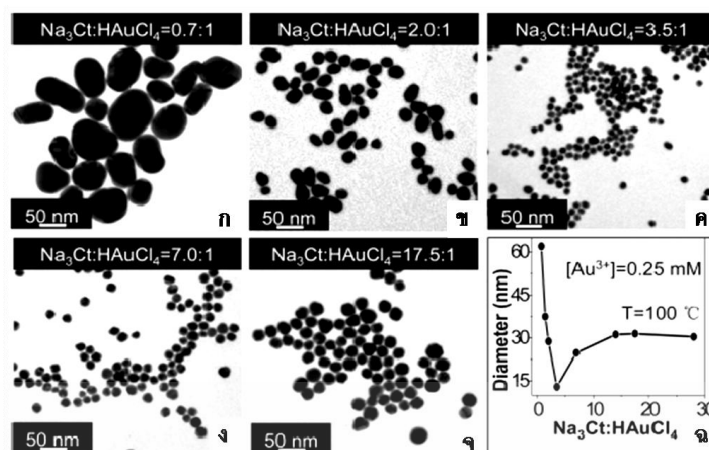
monodisperse หลักการพื้นฐานของวิธีการ Turkevich เป็นการรีดิวซ์ไอออนของทอง โดยการเติมตัวรีดิวซ์ในระหว่างการเกิดปฏิกิริยา โดยอัตราส่วนของทองไอออนต่อตัวรีดิวซ์ จะส่งผลให้ได้อนุภาคของทองที่มีขนาดแตกต่างกัน การเตรียมด้วยวิธี Turkevich มีข้อดีคือสามารถเตรียมอนุภาคของทองได้หลากหลายขนาด ตั้งแต่ 10-100 นาโนเมตร ปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุภาคของทอง อาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (reduction reaction) ของสารละลายทอง ( $\text{HAuCl}_4$ ,  $\text{Au}^{3+}$ ) เพื่อเปลี่ยนไอออนของทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) เป็นอะตอมของทอง ( $\text{Au}^0$ ) โดยใช้ตัวรีดิวซ์ (reducing agent) คือ ไตรโซเดียมซิเตรท (Trisodium citrate,  $\text{Na}_3\text{Ct}$ ) ซึ่งจะทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่ไอออนของทอง เมื่ออะตอมของทอง ( $\text{Au}^0$ ) ที่เกิดขึ้น จะเกิดการรวมตัวกันกลายเป็น อนุภาคที่มีขนาดเล็ก และแขวนลอยอยู่ในสารละลาย [10] ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงอนุภาคของทองที่อยู่ในรูปคอลลอยด์ (colloid) ที่มีขนาดและรูปร่างที่ต่างกัน ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของตัวรีดิวซ์และสารตั้งต้น [10]

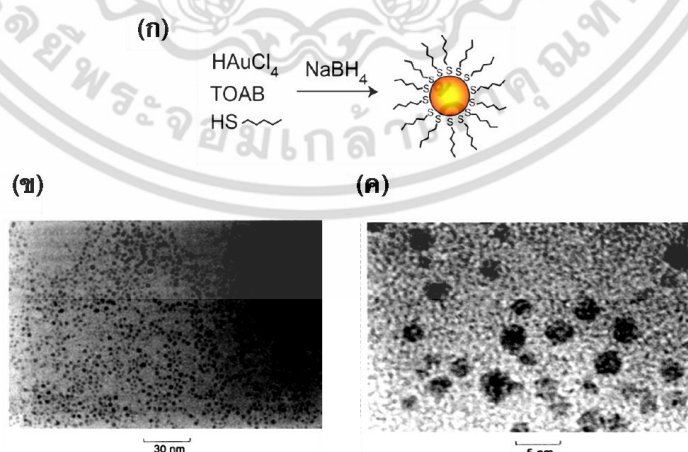
การควบคุมขนาดของอนุภาคโดยทั่วไป ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น สารลดแรงตึงผิว อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารละลายของทอง ( $\text{HAuCl}_4$ ) และความเข้มข้นของตัวรีดิวซ์ ตัวอย่างเช่น รูปที่ 2.5 แสดงผลของความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรท ( $\text{Na}_3\text{Ct}$ ) ต่อขนาดของอนุภาคทองที่สังเคราะห์ได้ โดยความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรทจะมีผลต่อ อัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยารีดักชัน พบว่า ถ้าใช้ไตรโซเดียมซิเตรทที่มีความเข้มข้นสูงจะได้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าไตรโซเดียมซิเตรทที่มีความเข้มข้นต่ำ [11]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 (ก-จ) ภาพที่ได้จาก TEM แสดงอนุภาคนาโนทองที่มีอัตราส่วนระหว่างไตรโซเดียมซิติเรตต่อทองแตกต่างกัน โดยความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิติเรตที่สูงจะได้อนุภาคนาโนทองที่มีขนาดเล็ก และ (ฉ) แสดงขนาดของอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการสังเคราะห์ที่ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างไตรโซเดียมซิติเรตต่อทอง [11]

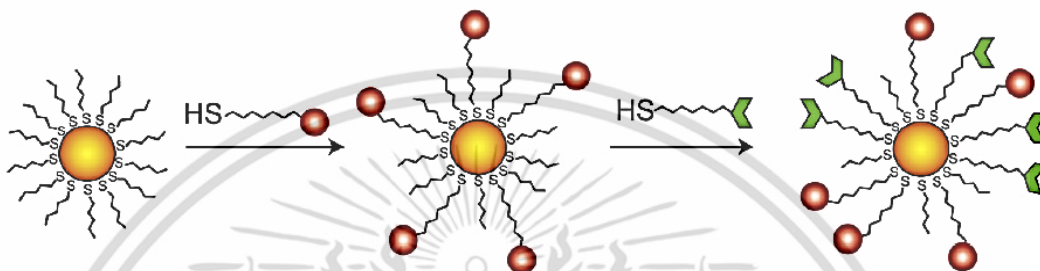
Brust-Schiffrin method เป็นวิธีการเตรียมอนุภาคนาโนทองแบบทรงกลม ที่มีขนาดตั้งแต่ 2-6 นาโนเมตร และมีการกระจายตัวแบบ monodisperse [12] ข้อดีของวิธี Brust-Schiffrin คืออนุภาคที่ได้จะมีขนาดเล็ก มีพื้นที่ผิวสูง และละลายในสารละลายอินทรีย์ ซึ่งสามารถนำไปปรับปรุงพื้นผิวโดยการแลกเปลี่ยนลิแกนด์ได้ Brust และคณะได้สังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง (AuCl<sub>4</sub><sup>-</sup>) ด้วยวิธี Two-phase หรือวิธี Brust-Schiffrin จากผลการทดลองพบว่า อัตราส่วนระหว่างทองกับสารประกอบไทออลมีผลต่อขนาดของอนุภาคของทองและอนุภาคนาโนทองที่ได้จากการสังเคราะห์ มีขนาดประมาณ 2-6 นาโนเมตร ดังแสดงในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง โดยวิธี Brust-Schiffrin และแสดงภาพ จาก TEM (Transmission Electron Micrographs) ของอนุภาคนาโนทอง ที่มีลิแกนด์ติดอยู่ (ข) ภาพกำลังขยายต่ำ และ (ค) ภาพกำลังขยายสูง [12]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนลิแกนด์ (Placed-exchange reaction) เป็นการปรับปรุงพื้นผิว (functionalization) ให้กับอนุภาคของทอง เพื่อให้เหมาะสมกับการใช้งานหรือเพิ่มประสิทธิภาพให้กับตัวนำส่ง ดังแสดงในรูปที่ 2.7 อนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ขึ้นในขั้นต้นจะสามารถนำมาทำปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนลิแกนด์ระหว่างไทออล (Thiol ligands) ที่ติดอยู่บนพื้นผิวของอนุภาคนาโนทองกับลิแกนด์ภายนอก กระบวนการนี้เป็นกระบวนการที่สำคัญในการเตรียมอนุภาคของทองให้มีคุณสมบัติตามที่ต้องการได้ [13]



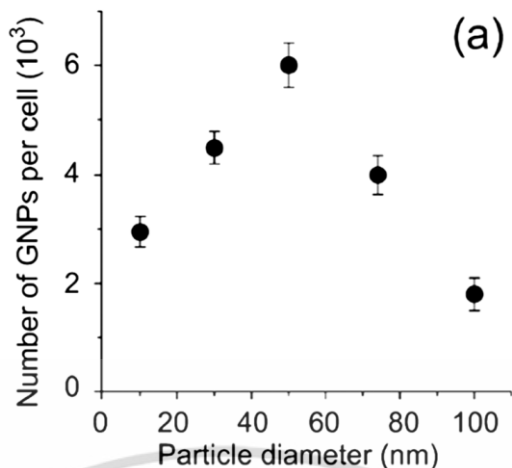
รูปที่ 2.7 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองที่ได้จากปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนลิแกนด์ [13]

### 2.3 การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทอง

ในปัจจุบันได้มีการนำอนุภาคนาโนทอง มาประยุกต์ใช้ในด้านชีวการแพทย์อย่างกว้างขวาง เช่น การวินิจฉัยโรค การฆ่าเซลล์ด้วยความร้อน การนำส่งยีน การนำส่งยา หรือ แม้กระทั่งการใช้ทองเป็นยารักษาโรค เช่น มะเร็ง และโรครูมาตอยด์ [14] การศึกษาอันตรกิริยาของอนุภาคนาโนทอง กับเซลล์ก็เป็นหนึ่งในงานวิจัยที่ได้รับความสนใจอย่างมาก เช่น การศึกษาการเข้าสู่เซลล์ การกระจายตัวไปยังอวัยวะต่างๆ หรือแม้กระทั่งการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ การปรับปรุงคุณสมบัติของทองจะขึ้นอยู่กับลิแกนด์หรือตัวเคลือบที่อยู่บนพื้นผิวของทอง ซึ่งสามารถออกแบบผ่านการสังเคราะห์เชิงเคมีอินทรีย์ได้ การเข้าสู่เซลล์อย่างมีประสิทธิภาพของอนุภาคนาโนทองจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการนำอนุภาคนาโนทองไปใช้ในเชิงชีวการแพทย์ ในปัจจุบันการควบคุมการเข้าสู่เซลล์ได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีหลายปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดประสิทธิภาพการเข้าสู่เซลล์ ดังนี้

1. ขนาดของอนุภาคนาโน Chan W. และคณะได้ศึกษาการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทอง ที่มีขนาด 14, 30, 50, 74 และ 100 นาโนเมตร พบว่าอนุภาคนาโนทองที่มีขนาด 50 นาโนเมตร สามารถเข้าสู่เซลล์ฮีลา (HeLa cells) ได้ดีที่สุด ดังรูปที่ 2.8 ทางคณะวิจัยได้อธิบายว่าซีรัมโปรตีนที่เคลือบที่อนุภาคทองมีผลต่อการเข้าสู่เซลล์ด้วย [15]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 แสดงผลของขนาดของอนุภาคต่อการเข้าสู่เซลล์ [15]

2. รูปร่างของอนุภาคนาโน Barctzak และคณะได้รายงานการเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทองที่มีรูปร่างต่างๆ ได้แก่ ทรงกลม ทรงแท่ง ทรงกลวง พบว่าทรงกลมสามารถเข้าสู่เซลล์ได้ดี ที่สุดคือสามารถเข้าสู่เซลล์ได้ถึง 2400 อนุภาค ส่วนทรงแท่งเข้าสู่เซลล์ได้ 2200 อนุภาค และทรงกลวงเข้าสู่เซลล์ได้น้อยที่สุดคือ 200 อนุภาค [16]

นอกจากนี้ตัวเคลือบหรือลิแกนด์บนอนุภาคทองยังเป็นตัวกำหนดประสิทธิภาพการเข้าสู่เซลล์ด้วย ลิแกนด์ที่ใช้เคลือบทองมีประโยชน์หลายประการ เช่น สามารถใช้เป็นตัวเพิ่มคุณสมบัติของทองและเป็นตัวเพิ่มความเสถียรให้แก่ทอง ซึ่งลิแกนด์ที่ใช้เคลือบทองจะให้เคลือบผ่าน 2 วิธีการ ได้แก่ การดูดซับ (adsorption) และการดูดซับทางเคมี (chemisorption) การดูดซับอาจเกิดผ่านแรงไฮโดรโฟบิก แรงทางไฟฟ้าสถิต ส่วนการดูดซับทางเคมีจะเกิดผ่านพันธะซัลเฟอร์ ซึ่งพันธะ S-Au จะเป็นพันธะชนิดโคเวเลนต์ ซึ่ง การเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนทอง โดยทั่วไปจะเกิดจากตัวเคลือบที่มีประจุบวกซึ่งจะสามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ดี เนื่องจากเซลล์มีผนังเซลล์เป็นประจุลบ โดยลิแกนด์ที่นิยมใช้ส่วนใหญ่จะเป็นสารกลุ่มควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (quaternary ammonium) ถึงแม้ว่าสารกลุ่มนี้จะเข้าสู่เซลล์ได้ดี แต่ก็มีพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ติดเปปไทด์ โอลิโกนิวคลีโอไทด์ แอนติบอดีเข้าไป เพื่อทำให้การเข้าสู่เซลล์ ได้ดียิ่งขึ้น แต่วิธีการเหล่านี้ อาจมีความยุ่งยากในการสังเคราะห์ และอาจจะประสบปัญหาความเสถียรของอนุภาคได้ [14] เมื่อเร็วๆ นี้ ได้มีรายงานเกี่ยวกับการใช้สารประกอบฟลูออรีน เพื่อใช้เป็นลิแกนด์และทำให้ความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ได้ดีขึ้นและสามารถนำมาใช้เป็นตัวนำส่งดีเอ็นเอได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงอีกด้วย [17]

## 2.4 การตรวจสอบเอกลักษณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

### 2.4.1 เทคนิคนิวเคลียร์ แมกเนติก เรโซแนนซ์ (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy; NMR)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคนิคนี้เป็นเทคนิคที่สำคัญที่สุดและได้รับความนิยม มากที่สุดในการนำไปใช้หาโครงสร้างของสารอินทรีย์ในปัจจุบัน เครื่องมือชนิดนี้มีจำหน่ายในท้องตลาดเป็นครั้งแรกในช่วงทศวรรษที่ 1950 ทฤษฎีของ NMR คือ nuclei จะเกิดการหมุน (spinning) อยู่ตลอดเวลา เพราะ nuclei มีประจุ ซึ่งประจุที่อยู่ในขณะหมุน (spinning charges) จะสร้างสนามแม่เหล็ก และจะประพฤติตัวเป็นเหมือนแท่งแม่เหล็กอันเล็กๆ ซึ่ง nuclei ที่สำคัญที่ใช้ในการศึกษาหาโครงสร้างของสารอินทรีย์คือ  $^1\text{H}$  และ  $^{13}\text{C}$  (spin $\neq$ 0) แต่สำหรับ  $^{12}\text{C}$  และ  $^{16}\text{O}$  ที่มีอยู่ในปริมาณมากในธรรมชาติ แต่ไม่สามารถให้ spectrum ได้ เนื่องจากไม่มี spin (spin=0) เมื่อ nuclei ที่กำลังหมุนผ่านเข้าไปในสนามแม่เหล็กกำลังสูง nuclei เหล่านั้นจะเรียงตัวไปในทิศทางเดียวกันกับสนามหรือจะมีทิศทางตรงกันข้ามกับสนาม ดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 การจัดตัวของ nuclei เมื่ออยู่ในสถานะต่างๆ [18]

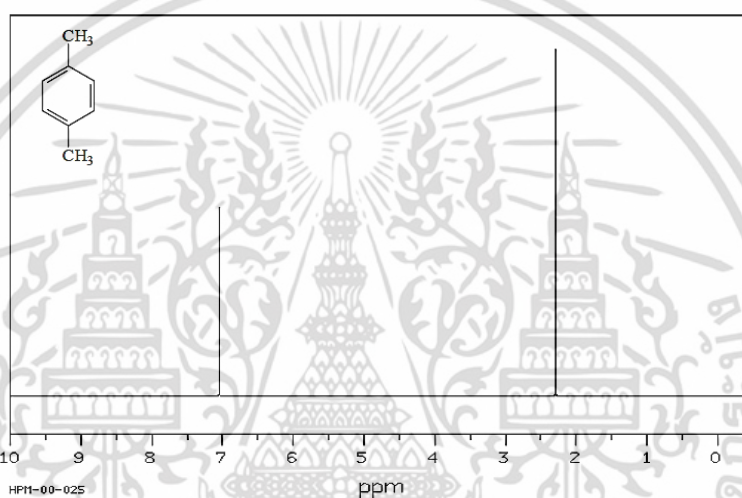
nuclei ที่วางตัวไปในทิศทางเดียวกันกับสนามจะมีพลังงานต่ำกว่า nuclei ที่มีทิศทางตรงกันข้ามกับสนามเล็กน้อย เมื่อเราให้พลังงานในช่วงความถี่คลื่นวิทยุ (radio frequency; RF) เข้าไป จะไปกระตุ้น nuclei ที่อยู่ในระดับพลังงานที่ต่ำ (lower energy state) ให้ขึ้นไปอยู่บนระดับพลังงานที่สูงกว่า (อาจเรียกว่า spin เกิดการ "flip") ความห่างของระดับพลังงาน (energy gap) ทั้งสองระดับดังกล่าวขึ้นอยู่กับความแรงของสนามแม่เหล็กที่ใส่เข้าไป ถ้าสนามแม่เหล็กที่ใส่แรงมาก จะทำให้ระยะห่างมีมากขึ้น ความแรงของสนามแม่เหล็กที่ให้จะอยู่ในช่วง 1.4 ถึง 4.0 tesla (T) (ถ้าเปรียบเทียบกับความแรงของสนามแม่เหล็กโลกจะมีเพียง 0.0007 T) ด้วยความแรงของสนามแม่เหล็กดังกล่าวจะทำให้ความห่างของระดับพลังงานเทียบเท่ากับ 60-600 MHz (megahertz;  $1\text{MHz}=10^6$  Hertz หรือ  $10^6$  รอบ/วินาที) หรือเท่ากับ  $6-60 \times 10^6$  kcal/mol เมื่อเราคิดในเชิงเคมี ถึงแม้ว่าความแตกต่างระหว่างระดับพลังงานจะต่ำแต่เทคนิคนี้ก็ให้ความแม่นยำที่สูง

### 1) การวัด NMR spectrum (Measuring of NMR spectrum)

โดยปกติ  $^1\text{H}$  NMR spectrum ของสารตัวอย่างใดๆ ทำได้โดยการนำเอาสารตัวอย่างนั้นมาประมาณ 2-3 มิลลิกรัม มาละลายในตัวทำละลายที่ไม่มี  $^1\text{H}$  อยู่ เช่น  $\text{CCl}_4$  หรือตัวทำละลายที่มี

การแทนที่ไฮโดรเจน (H) ด้วย deuterium (D) แล้ว ซึ่งเราเรียกว่า deuterated solvent เช่น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่โดยนักวิชาการไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$  แล้วใส่สารอ้างอิง (reference) ลงไปด้วย โดยทั่วไปจะเป็น tetramethylsilane (TMS;  $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ ) นำเอาสารละลายที่ได้มาบรรจุหลอดแก้วผนังบาง ซึ่งโดยปกติจะทำด้วย quartz หลังจากนั้นนำหลอดใส่ลงไปใน radio frequency coil ซึ่งจะวางอยู่ระหว่างขั้วแม่เหล็กกำลังสูง ทำให้ nuclei เกิดการวางตัวแบบขนานหรือสวนทางกับสนามแม่เหล็ก หลังจากนั้นเราจะเพิ่มพลังงานให้แก่ nuclei ไปเรื่อยๆ โดยใช้ RF coil จนกระทั่งมีพลังงานเท่ากับความแตกต่างของระดับพลังงาน ณ จุดนี้ nuclei ก็ จะ absorb พลังงานเข้าไป ทำให้ nuclei เคลื่อนที่จากระดับพลังงานต่ำไปสู่ระดับพลังงานที่สูงกว่า ปรากฏการณ์นี้เราเรียกว่าเกิด การ resonance ซึ่งจะเรียกเต็มๆ ว่า nuclear magnetic resonance การพลอตระหว่างพลังงานที่ถูกดูดโดย nuclei ของสารตัวอย่างกับความถี่ของ RF coil ที่ให้ จะได้เป็น NMR spectrum ดังรูปที่ 2.10



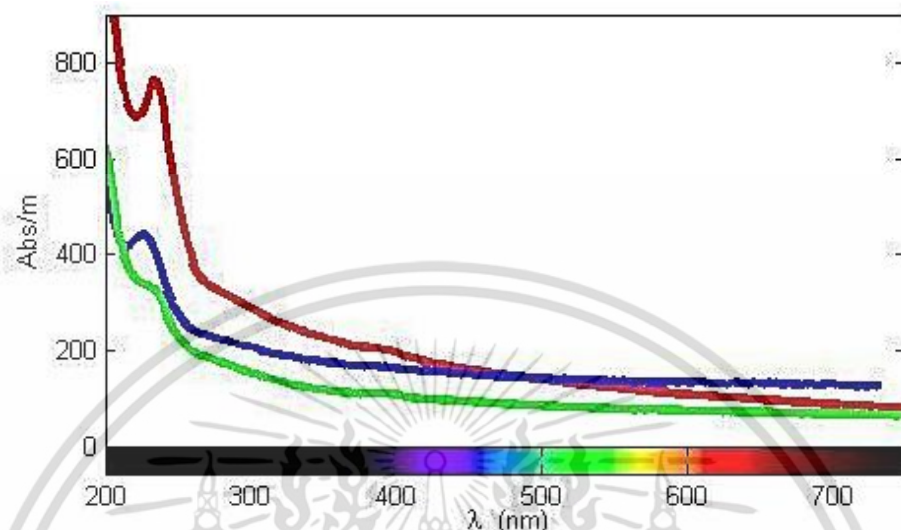
รูปที่ 2.10 NMR Spectrum [18]

ในทางทฤษฎีจะให้สนามแม่เหล็ก (Applied magnetic field) คงที่และจะแปรค่า RF frequency แต่ในทางปฏิบัติเราจะให้ RF frequency คงที่ แต่จะแปรค่าความแรงของสนามแม่เหล็กแทน เมื่อเกิดการ absorb เราจะทำการวัดค่าความแรงของสนามแม่เหล็กแล้วจึงแปลงให้อยู่ในรูปความถี่แทน spectrum โดยทั่วไปจะถูกบันทึกในลักษณะนี้ ซึ่งโดยทั่วไปความแรงของสนามแม่เหล็กจะเพิ่มจากขวาไปซ้าย

#### 2.4.2 เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-Vis spectroscopy)

UV-Vis spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์สารโดยอาศัยหลักการดูดกลืนรังสีของสารที่อยู่ในช่วง Ultra violet (UV) และ Visible (Vis) ความยาวคลื่นประมาณ 190-1000 นาโนเมตร ส่วนใหญ่เป็น สารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน หรือสารอนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สารแต่ละชนิดจะดูดกลืนรังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต่างกันและปริมาณการดูดกลืนรังสีก็ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารนั้น การดูดกลืนแสงของสารต่างๆ เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร จึงเอกลักษณะนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถวิเคราะห์ได้ในเชิงคุณภาพและปริมาณ เป็นเทคนิคที่ให้สภาพไวที่ดี และใช้กันอย่างแพร่หลาย ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (Wavelength) ซึ่งเรียกว่า Spectrum ดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (Wavelength) [19]

ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ประกอบด้วย

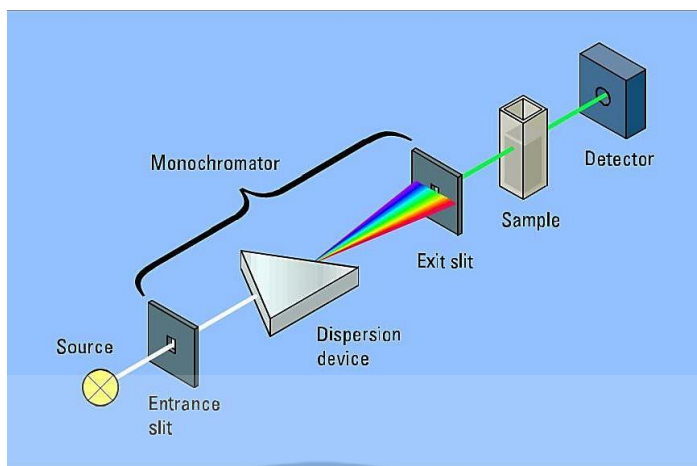
1. Light source แหล่งกำเนิดรังสีเป็นส่วนที่ให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ ารออกมาอย่างต่อเนื่องและคงที่ รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอ หลอดกำเนิดรังสีมีหลายชนิดตามความยาวคลื่นรังสีที่เปล่งออกมา เช่น ช่วง UV จะใช้หลอด H<sub>2</sub> และ D<sub>2</sub> lamp ให้ความยาวคลื่นในย่าน 160-380 นาโนเมตร และช่วง visible ใช้หลอด Tungsten/halogen ให้ความยาวคลื่นในช่วง 240-2500 นาโนเมตร เป็นต้น

2. Monochromator เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงโดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสง ซึ่งเป็นพอลิโครเมติก ให้เป็นแสงโมโนโครเมติก ซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ หรือมีความยาวคลื่นเดียวใช้ฟิลเตอร์ปริซึมหรือเกรตติง

3. Cell sample เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง บางครั้งอาจเรียกว่า Cuvette ที่ใช้กันทั่วไป ได้แก่ เซลล์ที่ทำด้วยแก้วจะใช้ได้เฉพาะช่วงวิสิเบิล เพราะแก้วจะดูดกลืนรังสีในช่วงยูวีได้ ส่วนเซลล์ที่ทำด้วยซิลิกา และควอตซ์ใช้ได้ทั้งช่วงยูวีและวิสิเบิล

4. Detector ทำหน้าที่ในการวัดความเข้มของรังสีที่ถูกดูดกลืนโดยการแปลงพลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้า เครื่องวัดรังสีมีหลายชนิดที่นิยม ได้แก่ Photomultiplier tube และเครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด Silicon diode detector

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

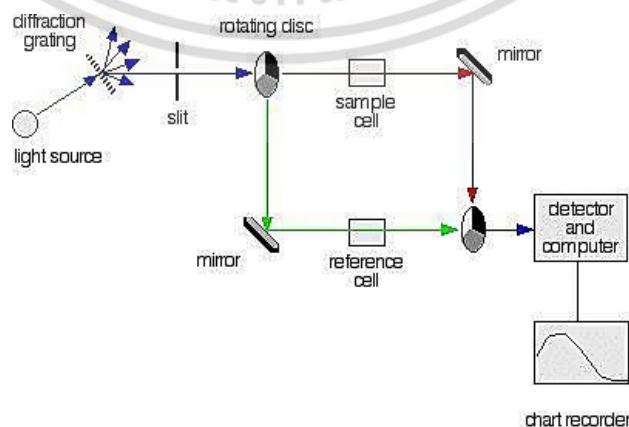


รูปที่ 2.12 องค์ประกอบของเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer [19]

เครื่อง Spectrophotometer ที่ใช้โดยทั่วไป แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. Single-Beam spectrophotometer เมื่อลำรังสีออกจากแหล่งกำเนิดรังสีจะผ่านเลนส์โมโนโครเมเตอร์ที่เป็น Grating ผ่านสารตัวอย่าง แล้วจึงเข้าสู่อุปกรณ์ตรวจจับ สัญญาณ เนื่องจากสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ประเภทนี้ใช้ลำรังสีเพียงลำเดียวผ่านจากโมโนโครเมเตอร์ไปสู่สารละลายที่ต้องการวัด ลำรังสีนี้จะเข้าสู่อุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณเลย การวัดแต่ละครั้งจึงต้องใช้เซลล์ 2 เซลล์ให้ลำรังสีผ่านสลับกัน ดังรูปที่ 2.12

2. Double-Beam Spectrophotometer ลำรังสีจะผ่านโมโนโครเมเตอร์ 2 ครั้งด้วยกัน ทำให้ได้ลำรังสีความยาวคลื่นเดียวอย่างมีประสิทธิภาพและความละเอียดมากขึ้น เมื่อออกจาก Exit slit แล้ว ลำรังสีจะไปสู่อุปกรณ์ตัดลำรังสี (Beam chopper) ก็จะสะท้อนไปผ่านสารตัวอย่าง ในขณะที่เดียวกันลำรังสีจะผ่านไปยังสารอ้างอิง โดยลำรังสีลำเดียวที่ผ่านโมโนโครเมเตอร์จะถูกอุปกรณ์ตัดลำรังสีแยกออกเป็นลำรังสีสองลำที่มีความเข้มเท่ากันตลอดเวลา เมื่อลำรังสีทั้งสองนี้ไปตกกระทบ phototube ความแตกต่างของความเข้มจะกลายเป็นสัญญาณส่งต่อไปยังอุปกรณ์บันทึกสัญญาณต่อไปในการใช้สเปคโตรโฟโตมิเตอร์แบบลำรังสีคู่ ดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 Double beam spectrophotometer [19]

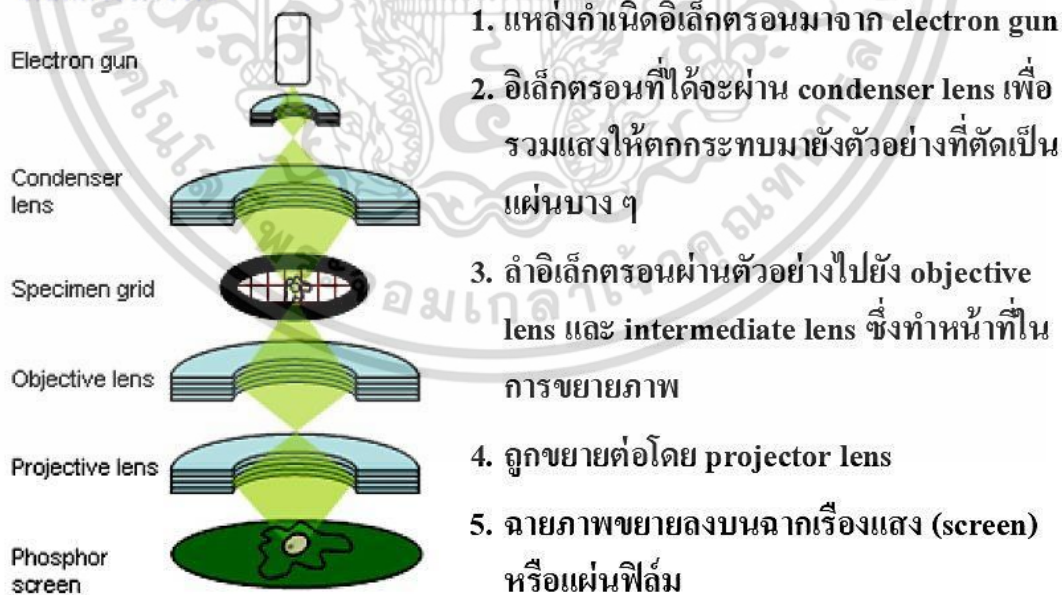
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.4.3 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope; TEM)

เป็นเครื่องมือที่อาศัยลำแสงอิเล็กตรอนส่องผ่านตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างและตัดให้มีลักษณะบางเป็นพิเศษ 60-90 นาโนเมตร ซึ่งมีกำลังขยายสูงมากถึง 620,000 เท่า และใช้ศึกษาโครงสร้างหรือองค์ประกอบของเซลล์ต่าง ๆ และตัวอย่างทางวัสดุศาสตร์ โดย เอิร์นสต์ รุสกา เป็นผู้สร้างสำเร็จเป็นคนแรก ในปี ค.ศ.1932 และใช้ในการศึกษาโครงสร้างภายในของเซลล์โดยลำแสงอิเล็กตรอนจะส่องผ่านเซลล์ หรือวัตถุตัวอย่างที่ศึกษา ซึ่งต้องมีลักษณะบางเป็นพิเศษ ขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างที่ศึกษายุ่งยาก

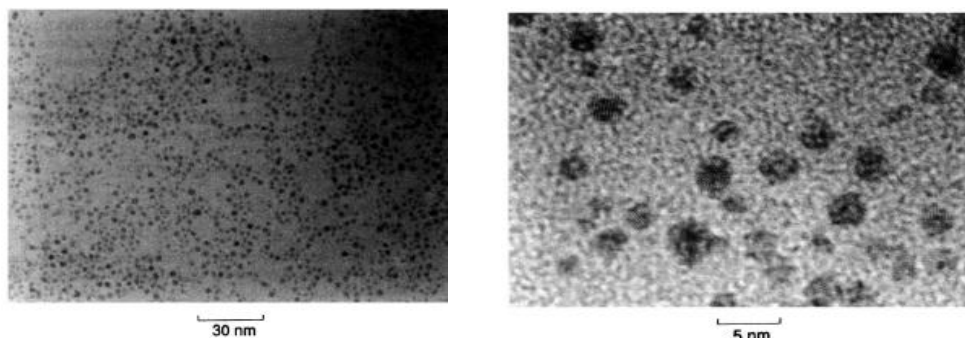
หลักการทำงานของ TEM คือลำแสงอิเล็กตรอนที่เกิดจากการผ่านกระแสไฟฟ้าแรงสูงเข้าไปในขดลวดทังสเตน (Tungsten filament) ทำให้มีอิเล็กตรอนวิ่งออกมาจากส่วนปลายของ filament จากนั้นจะวิ่งตรงไปยังวัตถุ ซึ่งลำแสงอิเล็กตรอนที่วิ่งผ่านวัตถุจะวิ่งไปยังเลนส์ใกล้วัตถุ (Objective lens) และจะถูกขยายสัญญาณให้ใหญ่ขึ้นโดย Objective lens สุดท้ายอิเล็กตรอนจะไปกระตุ้นโมเลกุลของซิงค์ซัลไฟด์ (Zinc sulfide) ที่ฉาบอยู่บนฉากรับภาพ (Fluorescence screen) ทำให้เกิดเป็นภาพ 2 มิติ โดยที่วัตถุที่มีค่าเลขอะตอม (Atomic number) มากนั้น ภาพที่ได้จะเห็นเป็นสีดำ ส่วนวัตถุที่มีค่าเลขอะตอมน้อย ภาพที่เห็นจะเป็นสีขาว ดังรูปที่ 2.14 และ 2.15

#### หลักการทำงาน



รูปที่ 2.14 หลักการทำงานของ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน [20]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.15 ภาพโครงสร้าง นาโนทง ที่ได้จากเครื่อง TEM [20]

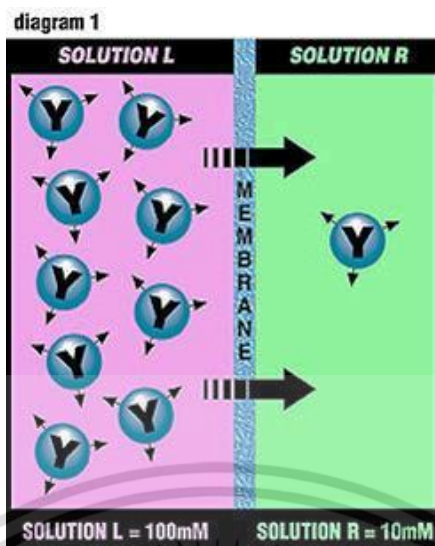
#### 2.4.4 Cellu Sep dialysis membrane

Cellu-Sep เป็นเยื่อคอตตอนบริสุทธิ์ที่ทำจากเซลลูโลส (cellulose) ลักษณะเป็นรูพรุนขนาดสม่ำเสมอ ขนาดของรูพรุนขึ้นอยู่กับชนิดของ Cellu-Sep มีคุณสมบัติเป็น Semi permeable membrane กล่าวคือเยื่อ Cellu-Sep จะให้สารที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็กสามารถแพร่ผ่านรูพรุนของ Cellu-Sep ในขณะที่สารน้ำหนักโมเลกุลมากจะไม่สามารถแพร่ผ่านได้ เพื่อแยกสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและใหญ่ออกจากกันโดยใช้ถุงเยื่อเซลลูโลส เช่นเดียวกับหลักการ “ไดอะไลซิส (Dialysis)” ซึ่งการแพร่จะเกิดขึ้นเนื่องความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ 2 สารละลายที่พื้นผิวของเมมเบรน ปัจจัยที่มีผลต่อการการแพร่ผ่านเมมเบรนคืออุณหภูมิ ความหนืด และอัตราการผสมกันของสารละลาย ใช้แยกสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลเล็ก เช่น เกลือแร่และอิเล็กโทรไลต์ออกจากสารชีวโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรตหรือ DNA เป็นต้น

ขั้นตอนการทำ Cellu-Sep

1. สวมถุงมือ ทำการตัด dialysis membrane ตามความยาวที่ต้องการและนำไปแช่ในน้ำกลั่น 15 นาที
2. ให้ความร้อนเมมเบรนเป็นเวลา 30 นาที ก่อนตัด โดยนำไปปั่นกวนใน 10 mM NaHCO<sub>3</sub> ที่อุณหภูมิ 80°C
3. นำเมมเบรนไปจุ่มในสารละลาย 10 mM Na<sub>2</sub>EDTA 30 นาที
4. นำเมมเบรนมาจุ่มด้วยน้ำกลั่นและปั่นกวน 30 นาทีที่อุณหภูมิ 80°C
5. ทิ้งให้เมมเบรนให้เย็นตัวลงและเก็บในสารละลายเอทานอล 20-50% ในตู้เย็น

เมื่อเมมเบรนเปียก Cellu-Sep จะไวต่อจุลินทรีย์และฟังไจ จุลินทรีย์บางชนิดเจริญเติบโตในสภาวะชื้นทำให้สมบัติการแพร่เสียไป ลดปริมาณ ผลผลิตภัณฑ์ลงและทำให้ตัวอย่างติดเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นไม่ควรทิ้งเมมเบรนไว้โดยไม่มี การป้องกันของแบคทีเรียและฟังไจ



รูปที่ 2.16 แสดงการแพร่ผ่านเมมเบรนของสารละลาย L และ R [21]

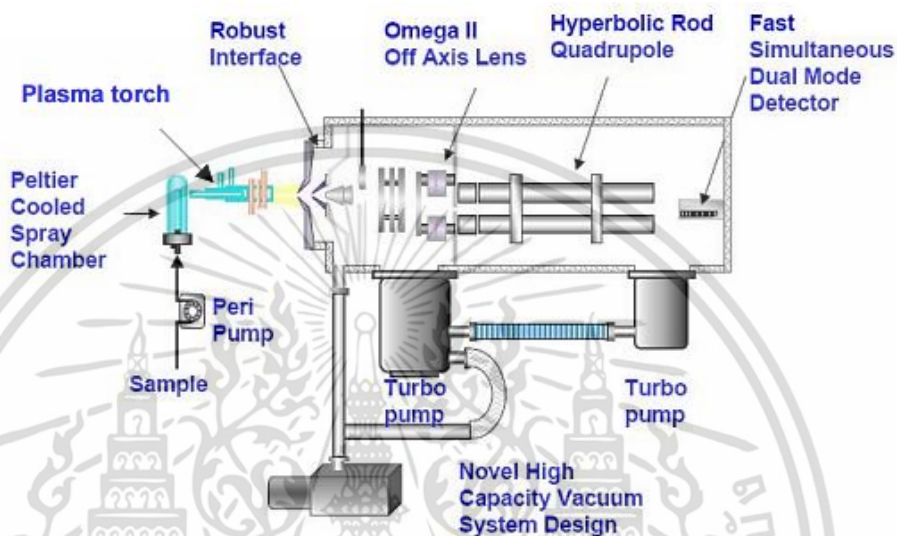
จากรูปที่ 2.16 การแทรกของโมเลกุล Y จากสารละลาย L ที่อยู่ด้านซ้ายไปยังสารละลาย R ที่อยู่ด้านขวา จะขึ้นอยู่กับความถี่ของการชนกันระหว่างโมเลกุล อัตราการแพร่ผ่านเมมเบรนทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ 2 สารละลายแตกต่างกันมาก

#### 2.4.5 Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS)

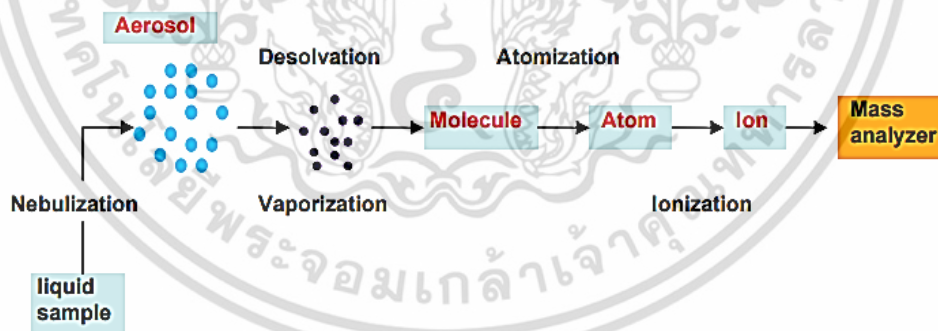
Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) เป็นหนึ่งในวิธีการวิเคราะห์ธาตุ (elemental analysis) โดยหลักการของอะตอมมิคสเปกโทรสโกปี (atomic spectroscopy) เป็นการวิเคราะห์ โดยอาศัยกระบวนการคายพลังงานของอะตอม (atomic emission) กระบวนการของการวิเคราะห์ ด้วยวิธี ICP-MS เป็นการไหลพลังงานจากพลาสมาในการยิงอิเล็กตรอนไหลหลุดจากวงแหวนรอบนอกของอะตอม ทำให้เกิดไอออนประจุบวกของสารตัวอย่าง ไอออนนี้จะถูกแยกและวัดด้วยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ ซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของตัวอย่าง ICP เป็นแหล่งกำเนิดการกระตุ้น อุณหภูมิสูงที่เกิดกระบวนการกำจัดตัวทำละลาย (desolvation) ออกจากสารละลายตัวอย่างและระเหยสารตัวอย่าง ไหมอยู่ในรูปไอ (vaporization) ซึ่งไอของโมเลกุลเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนใหม่เป็นอะตอม (atomization) แล้วต่อมาเกิดการแตกตัวเป็นไอออน (ionization) ซึ่งไอออนของตัวอย่างที่เกิดขึ้นนี้สามารถตรวจวัดด้วยวิธีทางสเปกโทรเมตรี 2 ชนิด คือ Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES) หรือที่เรียกว่า Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) ซึ่งทำการตรวจวัดความยาวคลื่นที่อะตอมคายพลังงานออกมาในรูปแสง และวิธี ICP-MS ทำการตรวจวัดไอโซโทป (isotopes) ของธาตุตามอัตราส่วนของมวลต่อประจุ (mass-to-charge ratio, m/e) ด้วยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องมือ ICP-MS ประกอบด้วยระบบนำส่งตัวอย่าง (sample introduction system) แหล่งกำเนิดพลาสมา (plasma sources) รอยต่อ (interface) เครื่องวิเคราะห์มวล (mass analyzer) เครื่องตรวจวัดและบันทึกผล (detector and recorder) ดังรูปที่ 2.17 เป็นตัวอย่างของเครื่องมือ ICP-MS รุ่น Agilent 7500 และรูปที่ 2.18 เป็นแผนภาพแสดงถึงกระบวนการที่เกิดขึ้นในส่วนต่าง ๆ ของการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ ICP-MS



รูปที่ 2.17 ตัวอย่างของ เครื่องมือ ICP-MS รุ่น Agilent 7500 [22]

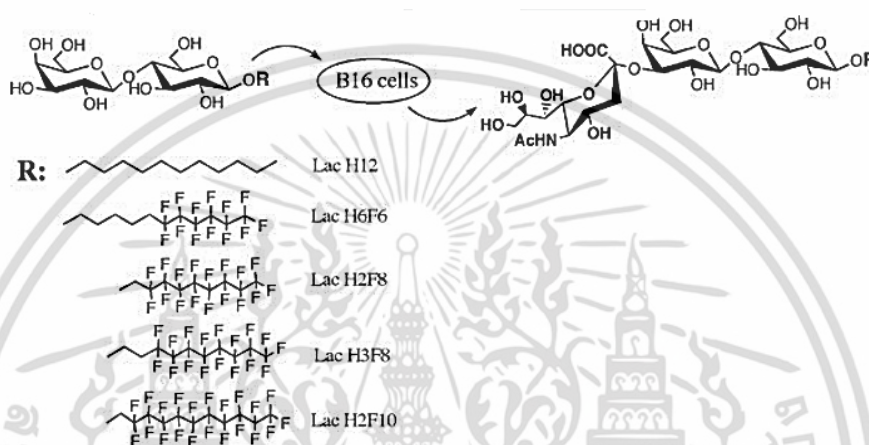


รูปที่ 2.18 กระบวนการของการวิเคราะห์ด้วย ICP-MS [22]

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kenichi H. และคณะ [3] ได้ศึกษาผลของฟลูออรีนอะตอมต่อการเข้าสู่เซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลือง โดยการใช้สารประกอบกลุ่ม แอมฟิฟิลิก ไกลโคไซด์ (Amphiphilic glycosides; AG) โดยได้สังเคราะห์สารประกอบ AG ที่มีจำนวนฟลูออรีนต่างกัน ได้แก่  $\text{LacH}_6\text{F}_6$ ,  $\text{LacH}_2\text{F}_8$ ,  $\text{LacH}_3\text{F}_8$ ,  $\text{LacH}_2\text{F}_{10}$  ซึ่งการทดลองแรกได้ศึกษาการผ่านเข้าสู่ Phosphatidylcholine liposome ซึ่งเป็นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

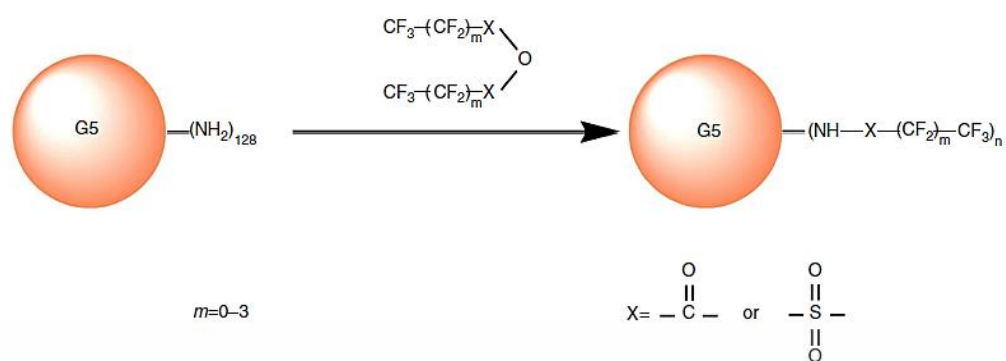
โมเดลของเซลล์ โดยการผสมสารประกอบ AG ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  (5 มิลลิลิตร) ลงในลิโปโซม 2 mM (5 มิลลิลิตร) และบ่มภายใต้สภาวะเลี้ยงเชื้อ (5%  $\text{CO}_2$  ที่ 37°C) เป็นเวลา 48 ชั่วโมงแล้ว ตรวจวัดปริมาณ AG โดยเทคนิค HPTLC พบว่ามีไกลโคไซด์ที่ติดฟลูออรีนสามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ โดย  $\text{LacH}_6\text{F}_6$  ที่มี  $\text{CF}_2$  6 หน่วยเข้าสู่เซลล์ได้มากที่สุด หลังจากนั้นศึกษาการเข้าสู่เซลล์ มะเร็งต่อมน้ำเหลืองของหนู โดยมีแลคโตไซด์ที่ติดด้วยฟลูออรีนในปริมาณที่ต่างกัน ได้แก่  $\text{LacH}_6\text{F}_6$ ,  $\text{LacH}_2\text{F}_8$ ,  $\text{LacH}_3\text{F}_8$  และ  $\text{LacH}_2\text{F}_{10}$  พบว่าเมื่อปริมาณฟลูออรีนของหาง Perfluoroalkyl เพิ่มขึ้นปริมาณของแลคโตไซด์ที่พบในเซลล์จะเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 2.19



รูปที่ 2.19 การผลิตสารประกอบคล้ายไกลโคลิพิดโดยใช้ amphiphilic glycosides กับ perfluoroalkyl chain ที่ต่างกันและเซลล์ B16 [3]

Mingming W. และคณะ [17] ได้ทำการศึกษาคำการเข้าสู่เซลล์ของ Fluorinated dendrimer ซึ่งได้จากการนำ G5 PAMAM มาทำปฏิกิริยากับ Perfluoro acid anhydrides ที่อุณหภูมิห้อง ได้ผลิตภัณฑ์เป็น Fluorinated dendrimer ซึ่งปริมาณกรด Perfluoro ที่ติดกับ G5 dendrimer สามารถวิเคราะห์โดยวิธี ninhydrin assay วัสดุที่ได้จะเรียกว่า G5-F3<sub>26</sub>, G5-F3<sub>44</sub>, G5-F5<sub>36</sub>, G5-F5<sub>48</sub>, G5-F7<sub>49</sub>, G5-F7<sub>68</sub>, G5-F9<sub>38</sub> และ G5-F9<sub>54</sub> ตามลำดับ จากนั้นนำมาทดสอบการพาดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์กับเซลล์ HEK293 โดยใช้ดีเอ็นเอของโปรตีนเรืองแสงสีเขียว (EGFP) พบว่า Heptafluorobutyric acid-modified dendrimers (G5-F7<sub>68</sub> และ G5-F7<sub>49</sub>) เข้าสู่เซลล์ HEK293 ได้มากกว่า Fluorinated dendrimers ตัวอื่น ดังนั้นจึงศึกษาเฉพาะการเข้าสู่เซลล์ของ G5-F7<sub>68</sub> และ G5-F7<sub>49</sub> พบว่าประสิทธิภาพในการเข้าสู่เซลล์เพิ่มขึ้นจาก 21.8% เป็น 69.9% และเพิ่มขึ้นเป็น 97.1% ใน G5-F7<sub>49</sub> และ G5-F7<sub>68</sub> ตามลำดับ ในเซลล์ HEK293 ซึ่ง G5-F7<sub>68</sub> เข้าสู่เซลล์ได้มากกว่า Lipofectamine 2000 (70.8%) ที่เป็น transfection reagents เชิงพาณิชย์ นอกจากนี้ G5-F7<sub>68</sub> และ G5-F7<sub>49</sub> ยังมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ (มากกว่า 90% เซลล์ยังมีชีวิต) ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า G5-F7<sub>68</sub> เป็นตัวนำส่งที่มีประสิทธิภาพสูงแม้ในตัวกลางที่มี FBS 50% และมีความเข้ากันได้กับเซลล์ ดังรูปที่ 2.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.20 วิธีการสังเคราะห์ Fluorinated dendrimer [17]



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 อุปกรณ์และสารเคมีในงานวิจัย

##### 3.1.1 สารเคมี

- 1) Chloroauric acid ( $\text{HAuCl}_4$ )
- 2) Sodium Borohydride ( $\text{NaBH}_4$ )
- 3) Trisodium citrate ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_3\text{Ct}$ )
- 3) Tetraoctylammonium bromide (TOAB)
- 4) Dodecanethiol
- 5) Mercaptoundecanoic acid
- 6) Trityl chloride
- 7) Di-tert-butyl dicarbonate ( $\text{BOC}_2\text{O}$ )
- 8) Triethylene tetramine (TETA)
- 9) Triethylamine ( $\text{Net}_3$ )
- 10) Dicyclohexylcarbodiimide
- 11) Trifluoroacetic anhydride
- 12) Pentafluoropropionic anhydride
- 13) Heptafluorobutyric anhydride
- 14) Trifluoroacetic acid (TFA)
- 15) Triisopropylsilane (TIPS)
- 16) Organic solvents e.g. ethylacetate, hexanes, dichloromethane, acetone
- 17)  $\text{CDCl}_3$
- 18) น้ำกลั่นปราศจากไอออน (Deionization water)
- 19)  $\text{D}_2\text{O}$

##### 3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) บีกเกอร์ (ขนาด 25, 50, 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร)
- 2) ขวดรูปชมพู่ (ขนาด 125, 250 และ 500 มิลลิลิตร)
- 3) ขวดก้นกลม (ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร)
- 4) ขวดวัดปริมาตร (ขนาด 100 มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 5) หลอดทดลอง
- 6) คอลัมน์สำหรับแยกสาร
- 7) กระบอกตวง
- 8) กรวยแยกสาร
- 9) กรวยกรอง
- 10) ไมโครปิเปต
- 11) หลอดหยด
- 12) ซ้อนตักสาร
- 13) แท่งแก้วคนสาร
- 14) ขวดไวโอล
- 15) หลอด NMR
- 16) หลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์
- 17) คิวเวตพลาสติก
- 18) Syringe filter 0.45  $\mu\text{m}$
- 19) เครื่องระเหยแบบสูญญากาศ
- 20) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง – Shimadzu Aux 220, Japan
- 21) เครื่องปั่นกวน – Stirring hotplate HS0707V2, Thailand
- 22) เครื่องปั่นเหวี่ยง – Centrifuge Kubota 3700, 3740, Japan
- 23) เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ – Hitachi u2900, Japan

### 3.2 การทดลอง

การดำเนินงานวิจัยนี้จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่

1. การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง
2. สังเคราะห์ลิแกนด์ 2 ตัวเพื่อศึกษาการเข้าสู่เซลล์ของฟลูออรีน

#### 3.2.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองที่เคลือบด้วยสารประกอบไฮโดรฟลูออรีน

##### 3.2.1.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีของ Turkevich

###### 1) การเตรียมสารละลาย $\text{HAuCl}_4$

ชั่งน้ำหนักทอง ครึ่งสลึงได้เท่ากับ 1.8832 กรัม (9.56  $\mu\text{mol}$ ) จากนั้นเตรียมกรดกัดทอง (Aqua Regia) จากสารละลาย  $\text{HNO}_3\text{:HCl}$  ในอัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร พร้อมทั้งให้ความร้อนจนสารละลายเดือด โดยค่อยๆเติมกรดกัดทองลงไปปริมาตร 12 มิลลิลิตร เมื่อสังเกตเห็นตะกอนสีขาวเกิดขึ้นให้เติมกรดกัดทองเพิ่มลงไป หลังจากนั้นเติมสารละลาย  $\text{HCl}$  เพื่อกำจัด  $\text{HNO}_3$  ส่วนเกินออกไป จะได้สารละลาย  $\text{HAuCl}_4$  ที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**หมายเหตุ** อุปกรณ์ทุกอย่างที่ใช้ในการละลายทองต้องกลั้วด้วยกรดกัดทองก่อนทำการทดลองด้วย

2) การเตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรท ( $\text{Na}_3\text{Ct}$ ) ความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ซิงโซเดียมซิเตรทมา 1.4705 กรัม (5 mmol) ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3) การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

ปิเปตสารละลายทองด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร (0.25 mmol) เติมน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ  $100^\circ\text{C}$  จึงเติมสารละลายโซเดียมซิเตรทความเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 5 มิลลิลิตร สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสารละลาย

ทำการทดลองในทำนองเดียวกับข้างต้น แต่เปลี่ยนปริมาตรของสารละลาย  $\text{HAuCl}_4$  ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาตรของสารละลาย อุณหภูมิและเวลาของสารละลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

ครั้งที่	ปริมาตรของสารละลาย (มิลลิลิตร)			อุณหภูมิ ( $^\circ\text{C}$ )	เวลา (นาที่)
	ทอง	น้ำกลั่น	50 mM โซเดียมซิเตรท		
1	0.1	200	5	100	2.00
2	0.2	200	5	100	0.47
3	0.3	200	5	100	0.32
4	0.4	200	5	100	5.00
5	0.5	200	5	100	11.27

3.2.1.2 การเตรียมอนุภาคนาโนทองด้วยวิธี Brust-Schiffrin

เตรียมส่วนที่ 1 โดยซังสารละลายไฮโดรเจนเตตระคลอโรออเรต (Hydrogen tetrachloroaurate;  $\text{HAuCl}_4$ ) 0.1201 กรัม (0.305 mmol) ใส่ในขวดก้านกลม ละลายด้วยน้ำกลั่น 11 มิลลิลิตร ปั่นกวนเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ซังสารละลายเตตระออกทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (Tetraoctylammoniumbromide; TOAB) 0.8 กรัม (1.46 mmol) ละลายด้วยโทลูอีน (Toluene) 30 มิลลิลิตร เติมลงในส่วนที่ 1 ปั่นกวนเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม 1-โดเดเคนไทออล (1-Dodecanethiol) 0.07 มิลลิลิตร ปั่นกวนเป็นเวลา 15 นาที เติมนโซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sodium borohydride;  $\text{NaBH}_4$ ) 0.14 กรัม (0.347 mmol) ละลายในน้ำ 9 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

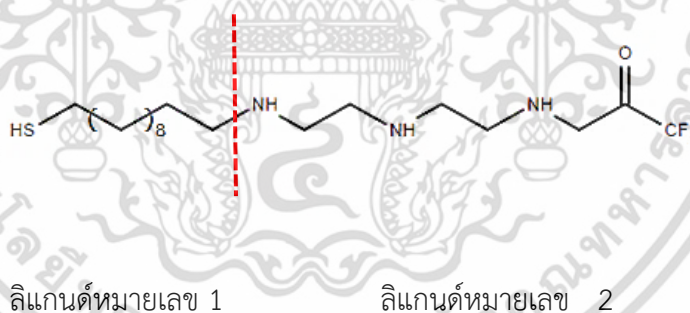
แล้วเทลงอย่างรวดเร็ว ปั่นกวนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติสารละลายลงในกรวยแยก (Separatory funnel) แยกเอาเฉพาะชั้นของสารละลายโทลูอิน แล้วนำไประเหยสารให้แห้ง เติเมทานอล (Ethanol) 146 มิลลิลิตร (2.5 M) ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนในตู้เย็น เติเมทานอลทิ้งแล้วระเหยให้แห้ง

ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณของสารละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง ด้วยวิธี Brust-Schiffrin

สาร	ความเข้มข้น (mmol)	ปริมาณที่ใช้
1.HAuCl <sub>4</sub>	0.305	0.1201 g
2.TOAB	1.46	0.8 g
3.Dodecanethiol	0.347	0.07 mL
4.NaBH <sub>4</sub>	3.7	0.14 g
5.Ethanol	2.5 M	146 mL

### 3.2.1.3 การสังเคราะห์ลิแกนด์ (1a)

ลิแกนด์ที่ใช้เคลือบทอง ตัวแรกที่ใช้ศึกษาผลของฟลูออรีนในการเข้าสู่เซลล์ แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ลิแกนด์หมายเลข 1 และลิแกนด์หมายเลข 2 ที่เป็นสารประกอบเอมีน

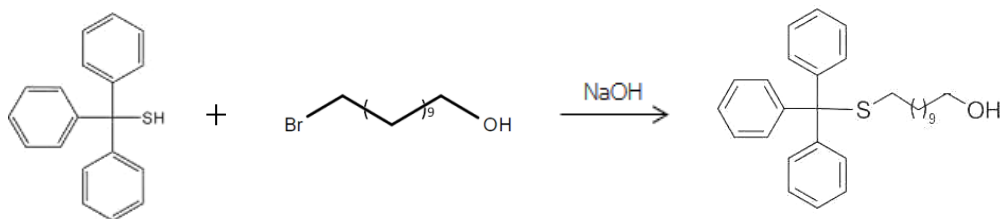


รูปที่ 3.1 แสดงโครงสร้างลิแกนด์ 1a

#### 1) การสังเคราะห์ลิแกนด์หมายเลข 1

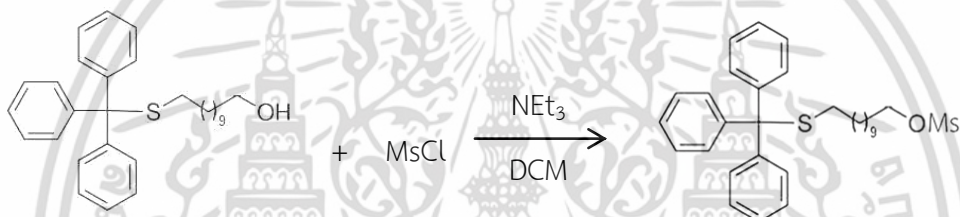
ชั่ง Trt-SH 12.3 กรัม (44.5 mmol) ใส่ในขวดก้นกลม เติเมโทลูอิน 50 มิลลิลิตร เอทานอล 50 มิลลิลิตร ปั่นกวนจากนั้นชั่ง BrC<sub>11</sub>H<sub>22</sub>OH 11.2 กรัม (44.5 mmol) แล้วเติม NaOH 2.67 กรัม (36.08 mmol) ที่ละลายอยู่ในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ปั่นกวนทิ้งไว้ ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (20%EtOAc:Hexane) และนำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค <sup>1</sup>H-NMR จะได้ TrtS-C<sub>11</sub>OH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



.....3.1

ซึ่ง TrtS-C<sub>11</sub>-OH 1.5 กรัม (3.36 mmol) ใส่ในขวดก้นกลม ละลายด้วย DCM 20 มิลลิลิตร จากนั้นเติม MsCl 0.577 กรัม (5.04 mmol) และเติม NEt<sub>3</sub> 0.7 มิลลิลิตร ระเหย solvent ออก เติม DCM 20 มิลลิลิตร สกัดด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เก็บชั้น DCM, สกัดด้วย NaCl 20 มิลลิลิตร เก็บชั้น DCM จากนั้นเติม Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> กรองเอาสารละลายแล้วนำไประเหย solvent ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (20%EtOAc : Hexane) และนำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค <sup>1</sup>H-NMR

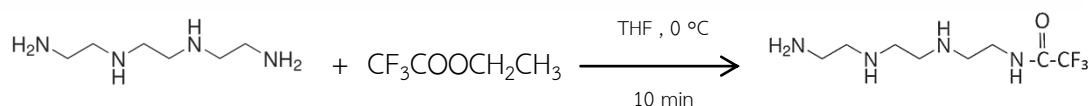


.....3.2

ลิแกนด์หมายเลข 1

## 2) การสังเคราะห์ลิแกนด์หมายเลข 2

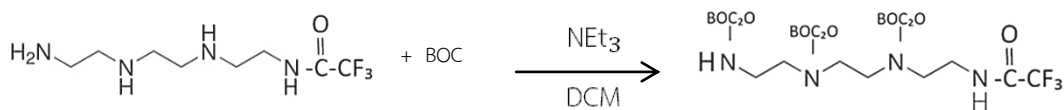
ซึ่ง TETA 5 กรัม (20.37 mmol) ลงในขวดก้นกลม ละลายด้วย THF 34 มิลลิลิตร ปั่นกวน 15 นาที จากนั้นเติม CF<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> 2.893 กรัม (20.37 mmol) ปั่นกวนต่อไปอีก 10 นาที ทำที่สภาวะ 0°C นำไประเหย solvent ออกให้แห้ง ทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (DCM:MeOH) และนำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค <sup>1</sup>H-NMR ผลที่ได้คือสารไม่ทำปฏิกิริยาต่อกัน จึงทำปฏิกิริยาใหม่โดยเปลี่ยนตัวทำละลายและเปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้



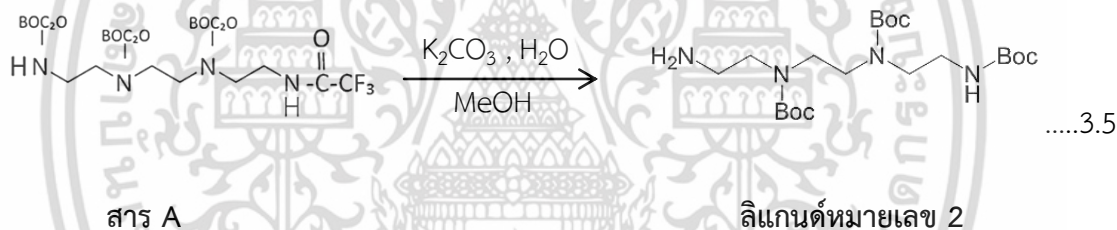
.....3.3

ซึ่ง TETA-CF<sub>3</sub> 2 กรัม (8.36 mmol) ละลายใน DCM 80 มิลลิลิตร ในขวดก้นกลมทำให้เย็นที่ 0°C ปั่นกวน 10 นาที จากนั้นเติม BOC<sub>2</sub>O 6.89 กรัม (31.60 mmol) และเติม NEt<sub>3</sub> 10 มิลลิลิตร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปั่นกวนทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จะได้สาร A ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (10%MeOH:DCM) และนำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$

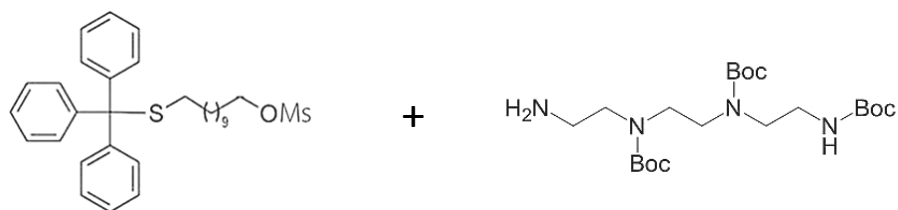


ซังสาร A 2.2 กรัม (4.16 mmol) ใส่ในขวดก้นกลม ละลายด้วยเมทานอล 18 มิลลิลิตร เติม โพแทสเซียมคาร์บอเนต ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) 4.437 กรัม (32.10 mmol) เติมน้ำกลั่น 88 ไมโครลิตร ภายใต้สภาวะ  $50^\circ\text{C}$  ปั่นกวนทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วเติมเมทานอล 50 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง นำไประเหย solvent ออกให้แห้ง จะได้สาร  $\text{NH}_2\text{-Boc-triethylamine}$  และทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (10% MeOH:DCM) นำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$



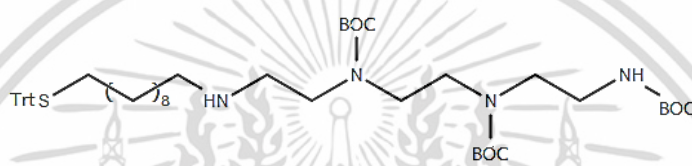
นำลิแกนด์หมายเลข 1 ทำปฏิกิริยากับ ลิแกนด์หมายเลข 2 ได้สารประกอบเอไมด์ตามขั้นตอนดังนี้

ซังลิแกนด์หมายเลข 1 มา 0.3200 กรัม (0.61 mmol) ลงในขวดก้นกลม ละลายด้วย DMF 10 มิลลิลิตร เติมลิแกนด์หมายเลข 2 0.2652 กรัม (0.61 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ  $85^\circ\text{C}$  ปั่นกวนทิ้งไว้ข้ามคืน นำสารออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเทสารลงในปีกเกอร์ที่มีน้ำแข็งและน้ำอยู่ 100 มิลลิลิตร สกัดด้วย DCM 25 มิลลิลิตร โดยเก็บชั้นน้ำ ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง และทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (20%EtOAc:Hexane) นำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$



ลิแกนด์หมายเลข 1

ลิแกนด์หมายเลข 2

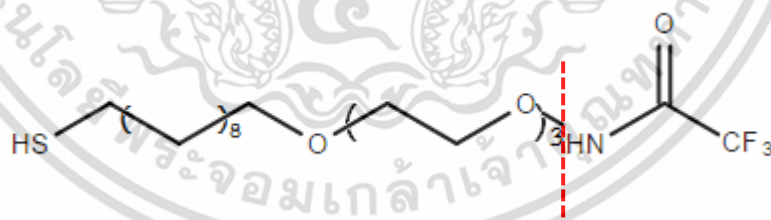
85°C  
DMF

ลิแกนด์ 1a

.....3.6

## 3.2.1.4 การสังเคราะห์ลิแกนด์ 2a

ลิแกนด์ตัวที่สองที่ใช้ศึกษาผลของฟลูออรีนในการเข้าสู่เซลล์แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ลิแกนด์หมายเลข 3 และลิแกนด์หมายเลข 4



ลิแกนด์หมายเลข 3

ลิแกนด์หมายเลข 4

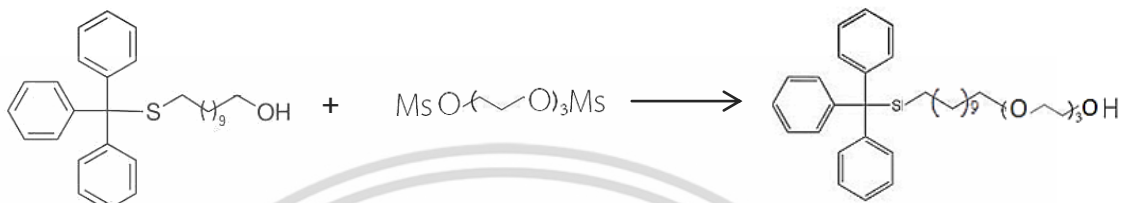
## รูปที่ 3.2 โครงสร้างของลิแกนด์ 2a

## 1) การสังเคราะห์ลิแกนด์หมายเลข 3

ชั่ง TrtS-C<sub>11</sub>-OH 3.34 กรัม (7.49 mmol) ใส่ในขวดก้นกลม ละลายด้วย THF 20 มิลลิลิตร

จากนั้นเติม NaOH 0.309 กรัม (7.725 mmol) ที่ละลายอยู่ในน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร reflux ไว้ 1 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 90°C จากนั้นเติม  $\text{MsO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3\text{Ms}$  2.28 กรัม (10.04 mmol) ปั่นกวนทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ระเหย solvent ให้แห้งจากนั้นเติม DCM 30 มิลลิลิตร สกัดด้วย 0.1 M HCl 20 มิลลิลิตร,  $\text{NaHCO}_3$  20 มิลลิลิตร, NaCl 20 มิลลิลิตร เก็บชั้น DCM เติม  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  กรองเอาสารละลายและระเหย solvent ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (20-50%EtOAc:Hexane) นำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$

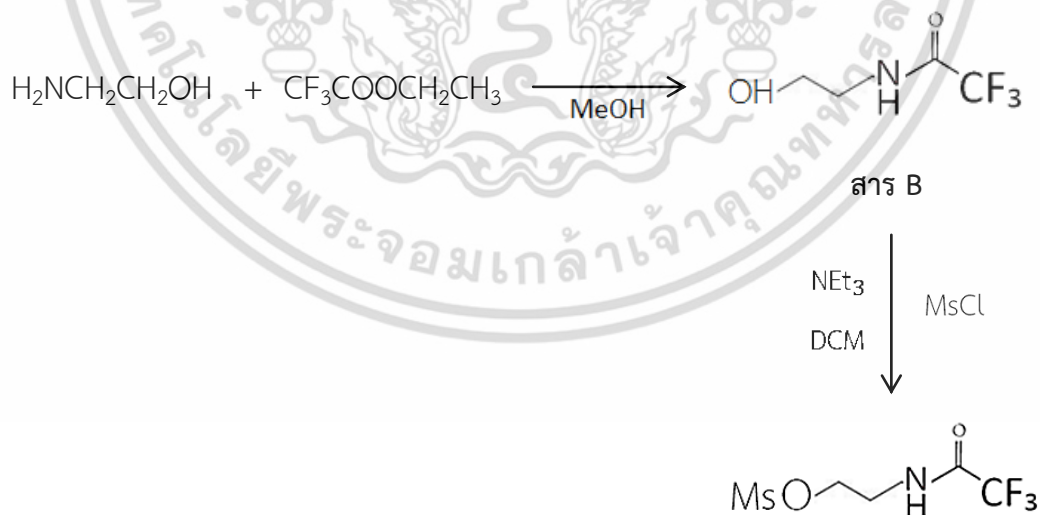


ลิแกนด์หมายเลข 3

.....3.7

## 2) การสังเคราะห์ลิแกนด์หมายเลข 4

ซึ่ง Ethanolamine 2 กรัม (32.78 mmol) ใส่ขวดกั่นกลม ละลายด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติม ethyl trifluoroacetate 5.12 กรัม (36.058 mmol) ปั่นกวนทิ้งไว้ เซ็ค TLC 100% EtOAc ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (50%EtOAc:Hexane) จากนั้นนำ สาร B มาทำปฏิกิริยากับ  $\text{MsCl}$  ในอัตราส่วน 1:1 ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (50%EtOAc:Hexane)



ลิแกนด์หมายเลข 4 .....3.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

ในบทนี้จะกล่าวถึงผลการทดลองซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองและการสังเคราะห์ลิแกนด์ อนุภาคนาโนทองวิเคราะห์โดยการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีและลิแกนด์จะพิสูจน์เอกลักษณ์โดยนิวเคลียร์ แมกเนติก เรโซแนนซ์ พร้อมทั้งอภิปรายผลการทดลองที่ได้ตามลำดับ

#### 4.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองที่เคลือบด้วยสารประกอบไฮโดรฟลูออรีน

##### 4.1.1 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธี Turkevich






การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง ด้วยวิธีของ Turkevich จะเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารละลายทอง ( $\text{HAuCl}_4$ ,  $\text{Au}^{3+}$ ) เพื่อเปลี่ยนไอออนของทอง ( $\text{Au}^{3+}$ ) ให้เป็นอะตอมของทอง ( $\text{Au}^0$ ) โดยใช้ไตรโซเดียมซิเตรท (Trisodium citrate,  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) เป็นตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) และเป็นตัวเคลือบทอง (Stabilizing agent) ในการทดลองจะใช้สารละลายทองในปริมาตรที่ต่างกัน คือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ (อัตราส่วนระหว่างสารละลายทองและโซเดียมซิเตรทเท่ากับ 0.02:1, 0.05:1, 0.06:1, 0.08:1 และ 0.1:1 ตามลำดับ) จากนั้นนำอนุภาคนาโนทองที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ที่ความยาวคลื่น ในช่วง 250-700 นาโนเมตร

ผลการทดลองพบว่าสารละลายทองปริมาตร 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิลิตร สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองได้ เนื่องจากความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรทมากพอที่จะไป รีดิวซ์และเคลือบอนุภาคนาโนทอง ทำให้ได้อนุภาคนาโนทองที่มีขนาดเล็ก ซึ่งมีสีแดงใส สีแดงและสีแดงเข้ม ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.1 โดยสารละลายทองปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ได้อนุภาคนาโนทองที่มีสีเข้มที่สุด และเมื่อตั้งทิ้งไว้ 5 วัน อนุภาคนาโนทองไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังตารางที่ 4.2 ส่วนสารละลายทองปริมาตร 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร ไม่สามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองได้ เนื่องจากความเข้มข้นของไตรโซเดียมซิเตรทอาจไม่เพียงพอ ทำให้ได้อนุภาคทองที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งมีสีน้ำตาล และเมื่อตั้งทิ้งไว้ 5 วันอนุภาคทองเกิดการตกตะกอน

เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ที่ความยาวคลื่น ในช่วง 250-700 นาโนเมตร พบว่าเมื่อใช้ไตรโซเดียมซิเตรทเท่ากันแต่ใช้สารละลายทองปริมาตร 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร ให้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.196, 0.456, 0.767, 0.106 และ 0.027 ตามลำดับ ดังนั้นเมื่อใช้สารละลายทอง 0.3 มิลลิลิตร ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือ 0.767 ดังรูปที่ 4.1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนระหว่างทองและซิเตรทที่เหมาะสมคือ 0.06:1 โดยปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

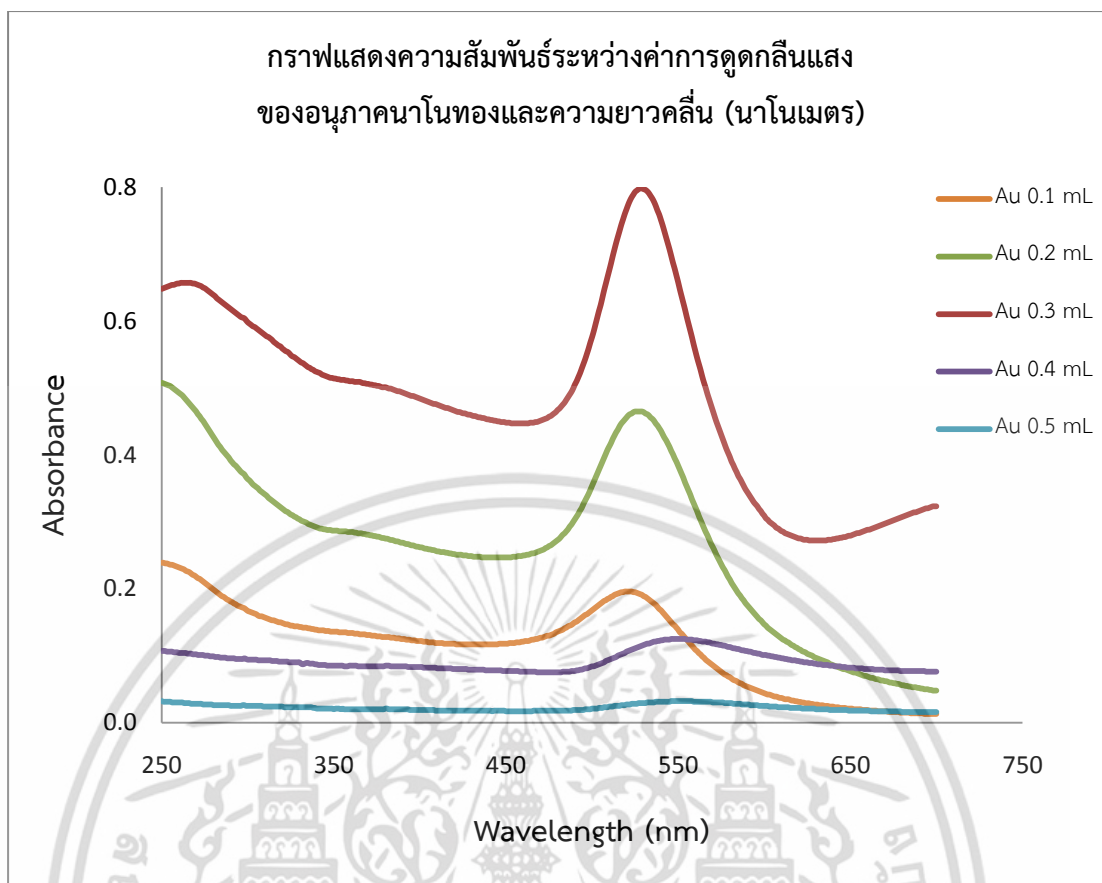
ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณของสารละลาย อุณหภูมิ เวลาและการเปลี่ยนแปลงของสารละลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีของ Turkevich

ครั้งที่	ปริมาณของสารละลาย (มิลลิลิตร)			อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	การเปลี่ยนแปลงของสารละลาย	
	ทอง	น้ำกลั่น	50 mM โซเดียมซิเตรต				
1	0.1	200	5	100	2.00	สีเหลือง → สีแดงใส	
2	0.2	200	5	100	0.47	สีเหลือง → สีแดง	
3	0.3	200	5	100	0.32	สีเหลือง → สีแดงเข้ม	
4	0.4	200	5	100	5.00	สีเหลือง → สีน้ำตาล	
5	0.5	200	5	100	11.27	สีเหลือง → สีน้ำตาล	

ตารางที่ 4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของสารละลายในการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีของ Turkevich เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

ครั้งที่	ปริมาณของสารละลาย (มิลลิลิตร)			อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	การเปลี่ยนแปลงของสารละลาย
	ทอง	น้ำกลั่น	50 mM โซเดียมซิเตรต			
1	0.1	200	5	100	2.00	ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง
2	0.2	200	5	100	0.47	ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง
3	0.3	200	5	100	0.32	ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง
4	0.4	200	5	100	5.00	เกิดการตกตะกอน
5	0.5	200	5	100	11.27	เกิดการตะตะกอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของอนุภาคนาโนทองและความยาวคลื่น (นาโนเมตร)

#### 4.1.2 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีของ Brust-Schiffrin

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองด้วยวิธีของ Brust-Schiffrin เป็นการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองที่มีขนาดเล็กกว่าวิธีของ Turkevich ซึ่งจะใช้โดเดเคนไทออล (Dodecanethiol,  $C_{12}H_{26}S$ ) เป็นตัวเคลือบทองไว้ และใช้โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sodium borohydride,  $NaBH_4$ ) เป็นตัวรีดิวซ์ ได้อนุภาคนาโนทองสีดำ จากนั้นนำไปทดสอบการละลายด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทน (DCM) พบว่าอนุภาคนาโนทองสามารถละลายได้ดีในสารละลายไดคลอโรมีเทน ซึ่งคุณสมบัติการละลายของอนุภาคจะขึ้นอยู่กับตัวเคลือบ ในการกรองอนุภาคนาโนทองผ่าน Syringe filter membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร พบว่ามีบางอนุภาคติดอยู่บน Syringe filter membrane ดังตารางที่ 4.3

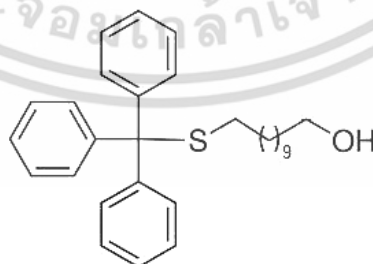
ตารางที่ 4.3 แสดงผลการละลายและการ กรองอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ด้วยวิธีของ Brust-Schiffrin ผ่าน Syringe filter membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

การทดสอบ	ผลการทดลอง	
ละลายอนุภาคนาโนทอง ด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทน		อนุภาคนาโนทองสามารถ ละลายได้ในสารละลาย ไดคลอโรมีเทน
กรองอนุภาคนาโนทองผ่าน Syringe filter membrane ขนาด 0.45 $\mu\text{m}$		มีบางอนุภาคติดอยู่บน Syringe filter membrane

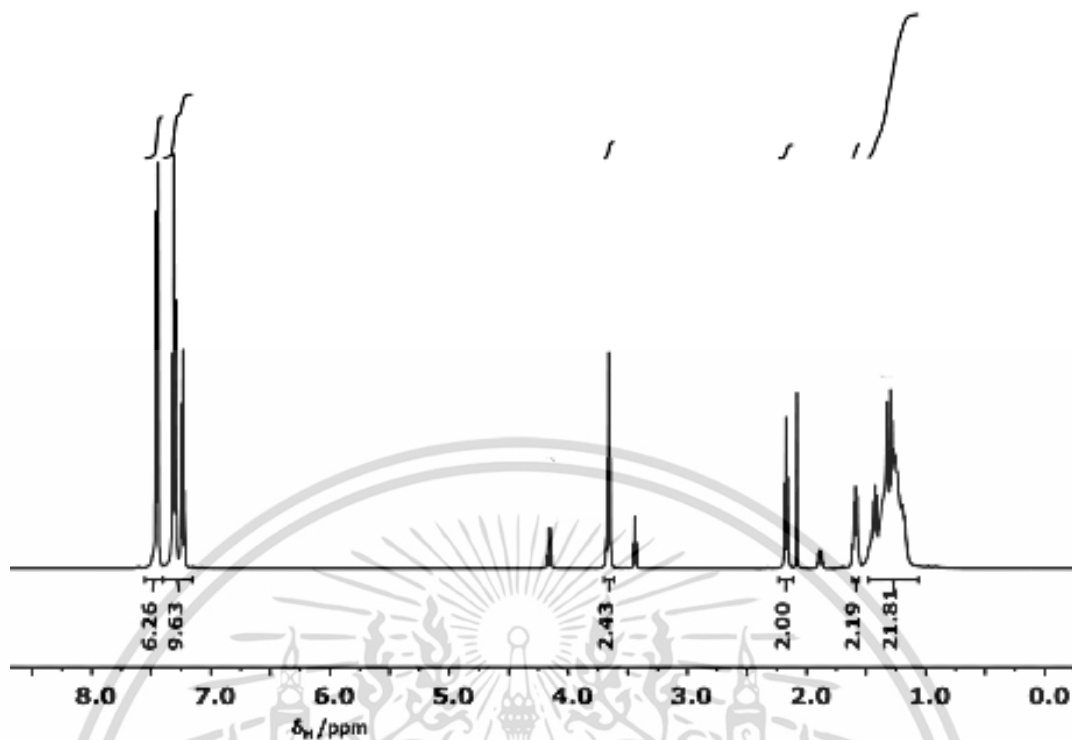
#### 4.1.3 การสังเคราะห์ลิแกนด์ 1a

##### 1) ลิแกนด์หมายเลข 1

การสังเคราะห์ลิแกนด์ 1a แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ หมายเลขหนึ่งเป็น  $\text{TrtSC}_{11}\text{OH}$  และ หมายเลขสองเป็นเอมีน ซึ่งการสังเคราะห์ลิแกนด์หมายเลข 1 ทำได้โดยนำ  $\text{Trt-SH}$  ทำปฏิกิริยากับ  $\text{BrC}_{11}\text{H}_{22}\text{OH}$  จากนั้นทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (20%EtOAc:Hexane) จะได้สาร  $\text{TrtS-C}_{11}\text{OH}$  ที่มีลักษณะเป็น oil สีเหลือง และนำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  ผลจากสเปกตรัม NMR พบสัญญาณดังนี้  $^1\text{H NMR } \delta$  7.45-7.40 (6H, dd, ArH), 7.34-7.19 (9H, m, ArH), 3.66 (2H, t,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2.16 (2H, t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 1.59 (2H, qn,  $\text{CH}_2$ ) และ 1.44-1.20 (16H, m,  $\text{CH}_2$ ) ดังรูปที่ 4.2 แสดงว่าได้สาร  $\text{TrtS-C}_{11}\text{OH}$  ที่ต้องการ

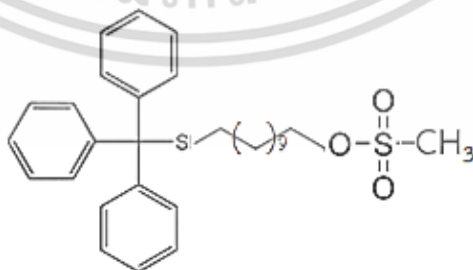


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 1

จากนั้นนำ  $\text{TrtS-C}_{11}\text{-OH}$  ทำปฏิกิริยากับ  $\text{MsCl}$  ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (20%EtOAc:Hexane) ได้สารที่มีลักษณะเป็น oil สีเหลือง และนำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  ผลจากสเปกตรัม NMR พบสัญญาณดังนี้  $^1\text{H NMR}$   $\delta$  7.40 (6H, dd, ArH), 7.33-7.20 (9H, m, ArH), 4.19 (2H, t,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 2.95 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 2.09 (2H, t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ) และ 1.40-1.30 (16H, m,  $\text{CH}_2$ ) ดังรูปที่ 4.3 แสดงว่าได้สาร  $\text{TrtS-C}_{11}\text{OMs}$  หรือลิแกนด์หมายเลข 1 ที่ต้องการ



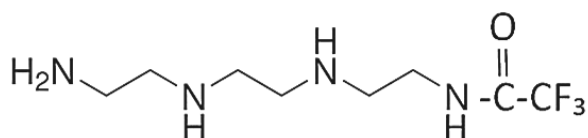
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



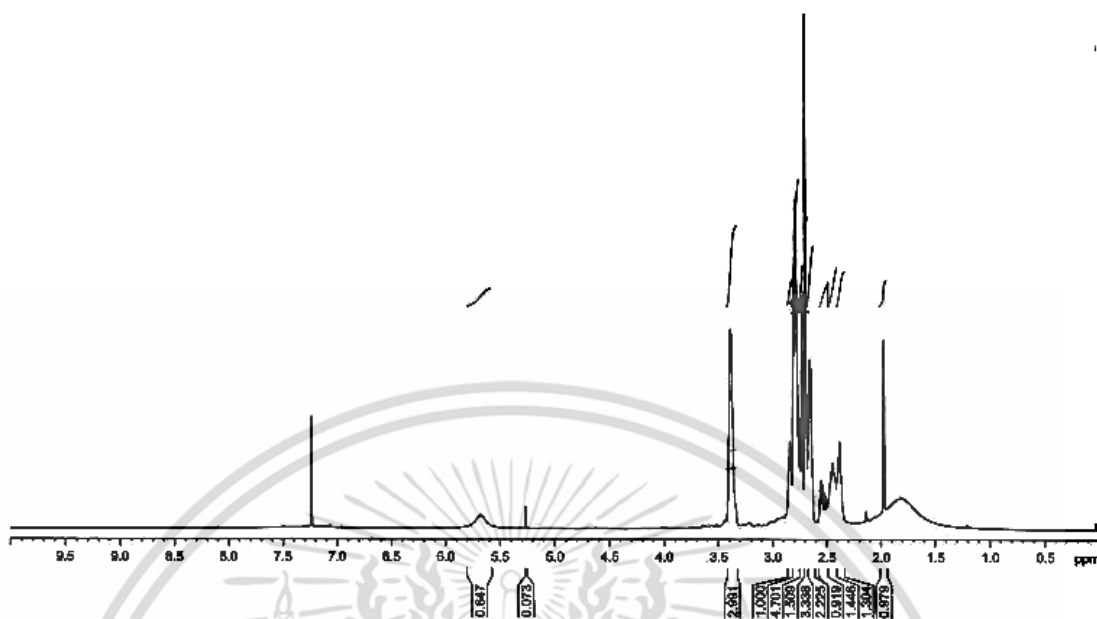
รูปที่ 4.3 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 1

## 2) ลิแกนด์หมายเลข 2

สังเคราะห์ลิแกนด์หมายเลข 2 โดยใช้สารละลายเตตระไฮโดรฟูแรน (Tetrahydrofuran, THF) เป็นตัวทำละลาย และทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ  $0^{\circ}\text{C}$  ไม่สามารถสังเคราะห์ได้ จึงทำการสังเคราะห์ใหม่โดยเปลี่ยนตัวทำละลายเป็นสารละลายเมทานอล (Methanol) และทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ  $-78^{\circ}\text{C}$  สามารถสังเคราะห์สาร TETA- $\text{CF}_3$  ได้ ซึ่งสารมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวเหลือง จากสเปกตรัม NMR พบสัญญาณดังนี้  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  3.40-3.31 (2H, dd,  $\text{CH}_2$ ), 2.85-2.60 (8H, m,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 2.50-2.30 (2H, dd,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ) และ 1.97 (1H, s,  $\text{NH}_2$ ) ดังรูปที่ 4.4 แสดงว่าได้สาร TETA- $\text{CF}_3$  ที่ต้องการ

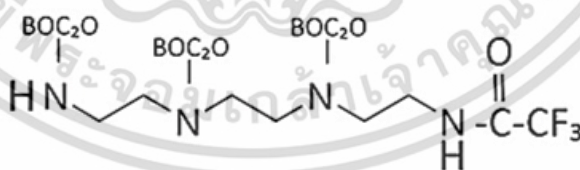


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

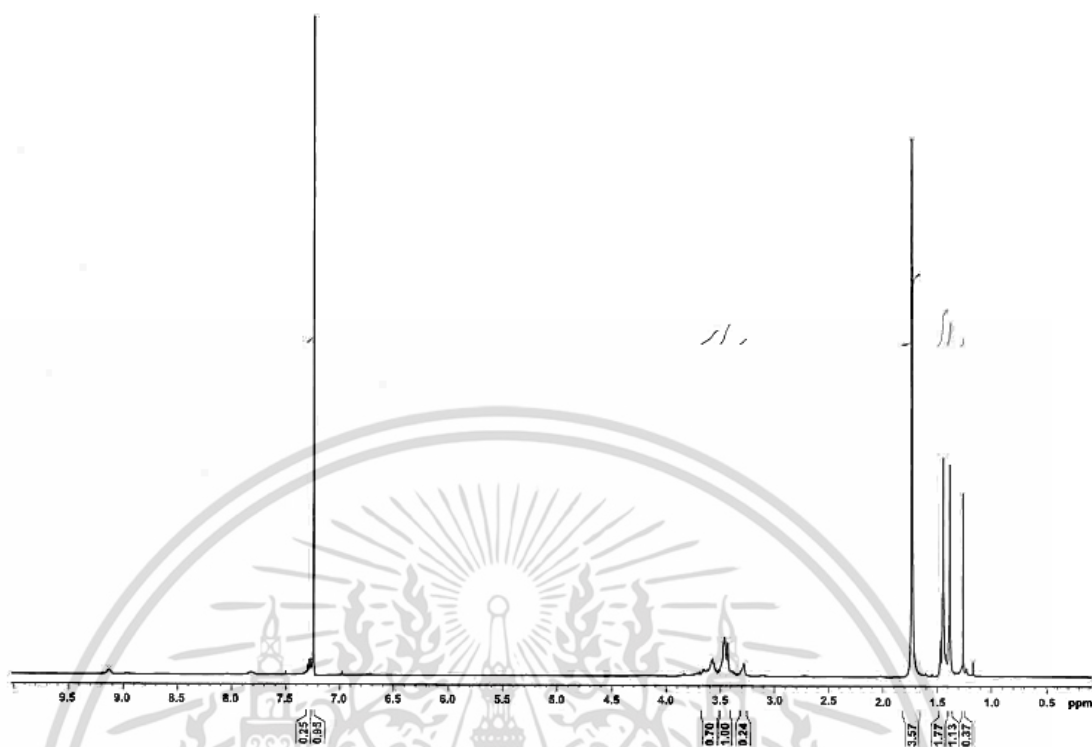


รูปที่ 4.4 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 2

จากนั้นนำ TETA- $\text{CF}_3$  มาทำปฏิกิริยากับ  $\text{BOC}_2\text{O}$  จะได้สาร A ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (10%MeOH:DCM) และนำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  จะได้สารที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวเหลือง ผลจากสเปกตรัม NMR พบสัญญาณดังนี้  $^1\text{H NMR } \delta$  3.80 (8H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.40-3.20 (2H, dd,  $\text{CH}_2\text{NHCOCF}_3$ ) และ 1.7 (9H, s,  $\text{BOC}_2\text{O}$ ) ดังรูปที่ 4.5 แสดงว่า ได้สาร A ที่ต้องการ

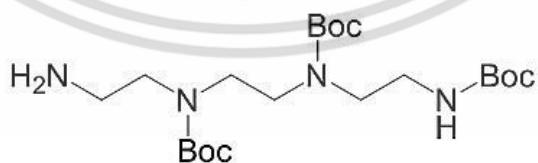


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

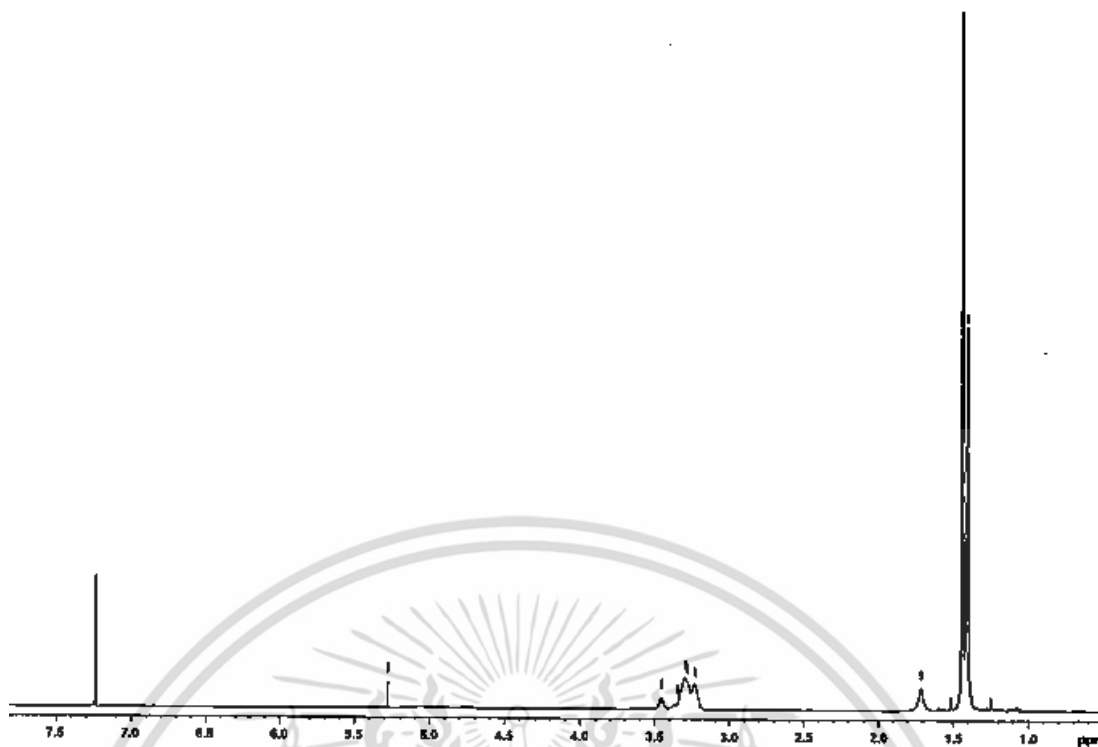


รูปที่ 4.5 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 2

จากนั้นนำสาร A ทำปฏิกิริยากับ  $K_2CO_3$  เพื่อ deprotect หมู่  $COCF_3$  ออกไปและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (10% MeOH:DCM) นำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1H$ -NMR จะได้สารที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวเหลือง ผลจากสเปกตรัม NMR พบสัญญาณดังนี้  $^1H$  NMR  $\delta$  3.35-3.20 (8H, dd,  $CH_2$ ) และ 1.4 (2H, dd,  $NH_2$ ) ดังรูปที่ 4.6 แสดงว่าได้สาร  $NH_2$ -Boc-triethylene tetramine ที่ต้องการ

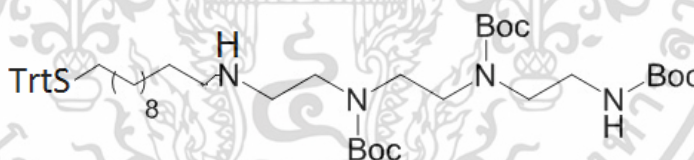


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 2

เมื่อได้ลิแกนด์หมายเลข 1 และ 2 แล้ว จากนั้นก็นำมาทำปฏิกิริยากัน ซึ่งผลที่ได้คือสารมีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาล ไม่สามารถสังเคราะห์ได้

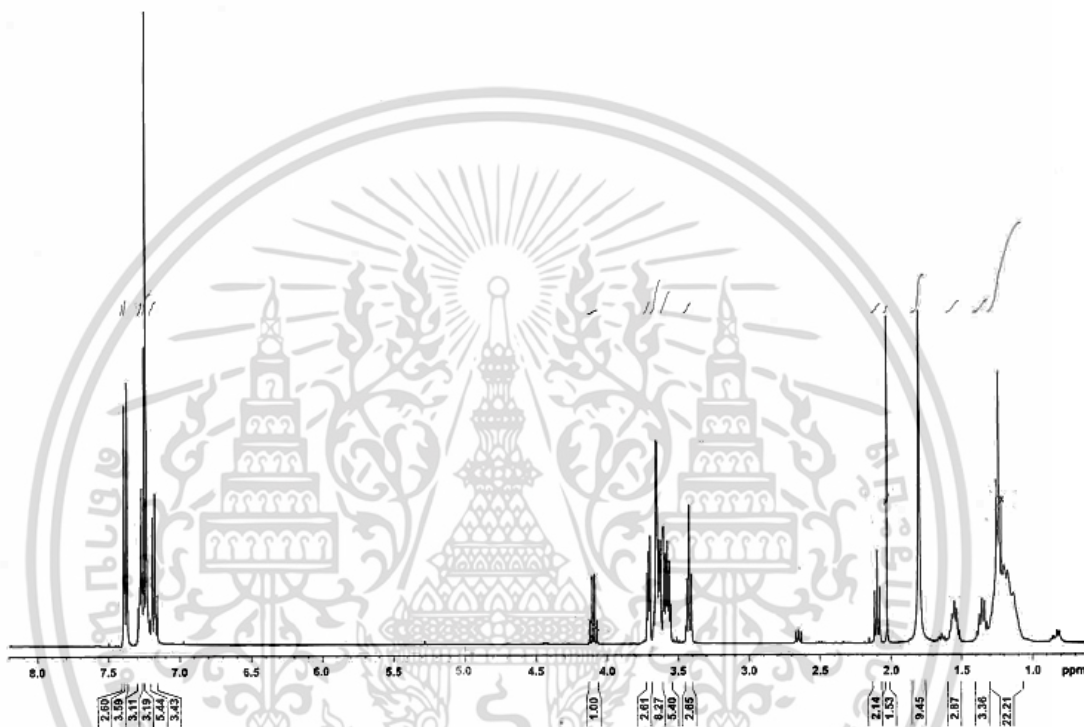
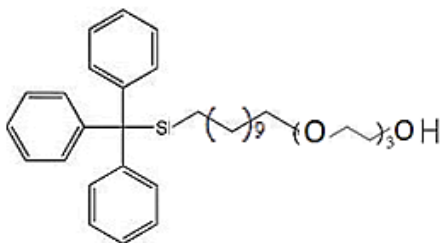


#### 4.1.4 การสังเคราะห์ลิแกนด์ 2a

##### 1) ลิแกนด์หมายเลข 3

การสังเคราะห์ลิแกนด์ 2a แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือลิแกนด์หมายเลข 3 และ 4 โดยลิแกนด์หมายเลข 3 สังเคราะห์ได้โดยนำสาร  $\text{TrtSC}_{11}\text{OH}$  มาทำปฏิกิริยากับ  $\text{MsO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3\text{MS}$  ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (20-50%EtOAc:Hexane) นำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  จะได้สารที่มีลักษณะเป็น oil สีเหลือง ผลจากสเปกตรัม NMR พบสัญญาณดังนี้  $^1\text{H NMR}$   $\delta$  7.49 (6H, dd, ArH), 7.40-7.29 (9H, m, ArH), 3.79-3.60 (12H, m,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.48-3.39 (2H, t,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 2.18 (2H, t,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 1.68-1.60 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ) และ 1.43-1.11 (16H, m,  $\text{CH}_2$ ) ดังรูปที่ 4.7 แสดงว่าได้ลิแกนด์หมายเลข 3 ที่ต้องการ

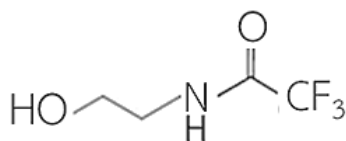
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



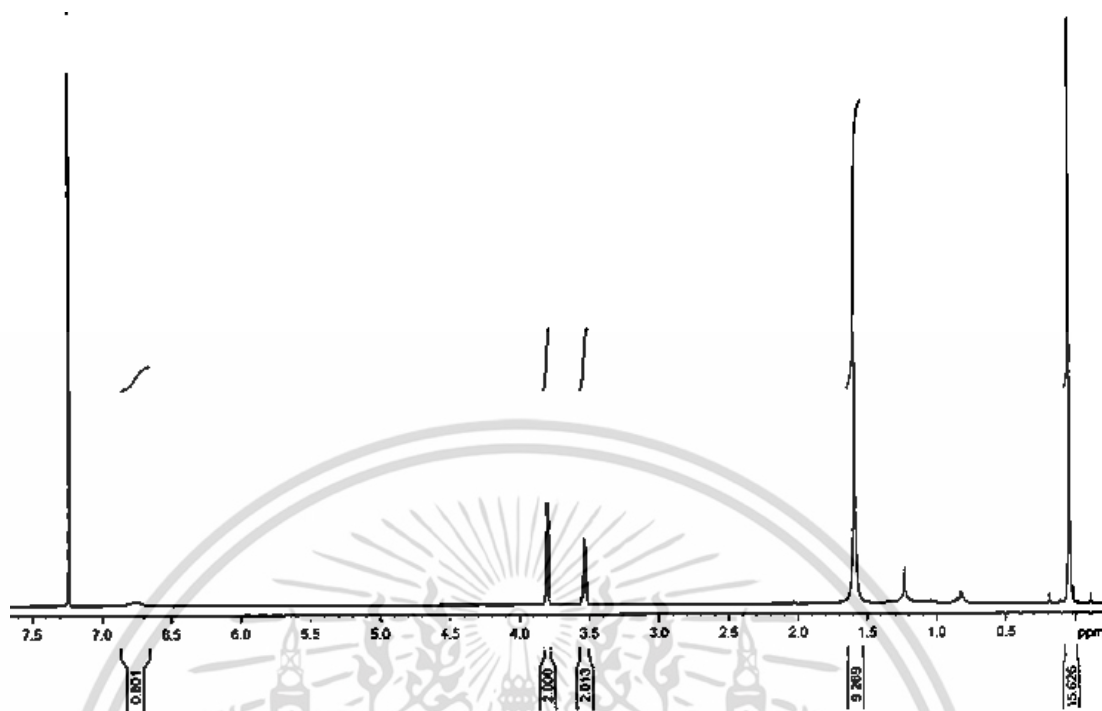
รูปที่ 4.7 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 3

## 2) ลิแกนด์หมายเลข 4

ลิแกนด์หมายเลข 4 สังเคราะห์ได้โดยการนำสาร ethanolamine มาทำปฏิกิริยากับ ethyl trifluoroacetate ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (50%EtOAc:Hexane) จะได้สารที่มีลักษณะเป็น oil สีเหลือง จากสเปกตรัม NMR พบสัญญาณดังนี้  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  3.80 (2H, t,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.59-3.50 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ) และ 1.60 (1H, s, NH) ดังรูปที่ 4.8 แสดงว่าได้สาร B ที่ต้องการ

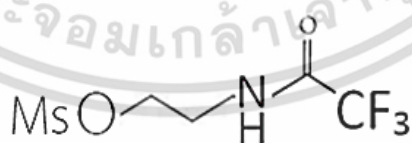


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

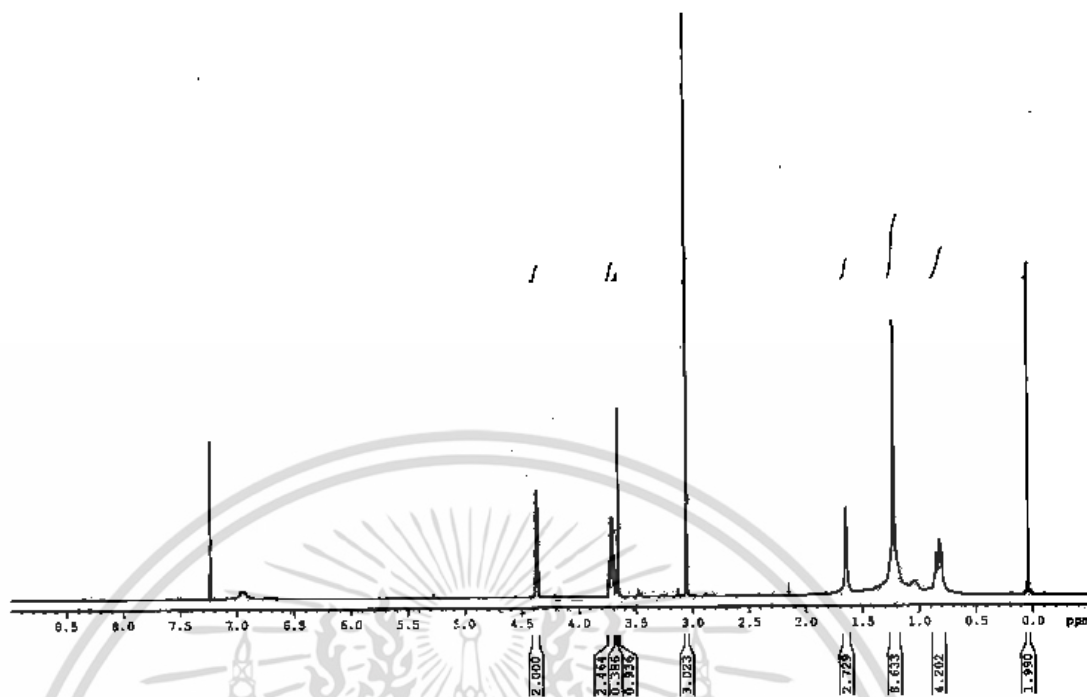


รูปที่ 4.8 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 4

จากนั้นนำสาร B มาทำปฏิกิริยากับ MsCl ในอัตราส่วน 1:1 ทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (50%EtOAc:Hexane) นำไปวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เทคนิค  $^1\text{H-NMR}$  จะได้สารที่มีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาล จากสเปกตรัม NMR พบสัญญาณดังนี้  $^1\text{H NMR } \delta$  4.40-4.35 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{OMs}$ ), 3.75-3.69 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ) และ 3.09 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ) ดังรูปที่ 4.9 แสดงว่าได้ลิแกนด์หมายเลข 4 ที่ต้องการ

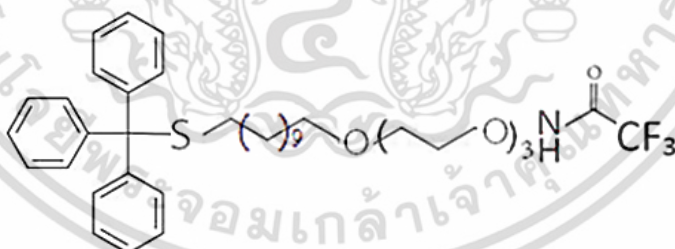


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 NMR spectrum ของลิแกนด์หมายเลข 4

ในขั้นตอนสุดท้ายของการสังเคราะห์ลิแกนด์ 2a ที่นำลิแกนด์หมายเลข 3 และ 4 มาทำปฏิกิริยากันอยู่ระหว่างรอการสังเคราะห์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ สังเคราะห์อนุภาคนาโนทองที่เคลือบด้วยสารประกอบไฮโดรฟลูออรีนที่หมู่ปลายเป็นตัวนำส่ง เพื่อศึกษาผลของฟลูออรีนในการเข้าสู่เซลล์ ในงานวิจัยนี้ จะแบ่งออกเป็นสองส่วน คือการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองเป็นแกนกลางและการสังเคราะห์ลิแกนด์ที่เป็นสารอินทรีย์ซึ่งมีหมู่ปลายเป็นสารประกอบฟลูออรีน

การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง แบบคอลลอยด์ (colloid) สามารถสังเคราะห์ได้ 2 วิธี ได้แก่ วิธีของ Turkevich และวิธีของ Brust-Schiffrin

วิธีของ Turkevich จะอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของสารละลายทอง โดยใช้ไซโตเดียมซิทเรตเป็นตัวรีดิวซ์ และเป็นตัวเคลือบทอง ในการทดลองจะใช้สารละลาย  $\text{HAuCl}_4$  ในปริมาตรที่ต่างกันคือ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ที่ความยาวคลื่นในช่วง 250-700 โนเมตร พบว่าสารละลายทอง ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ให้สีเข้มที่สุด และให้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุดคือ 0.767 ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน อนุภาคนาโนทองไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

วิธีของ Brust-Schiffrin เป็นการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง ที่มีขนาดเล็กกว่าวิธีของ Turkevich ซึ่งจะใช้โธเดเคนไทออลเป็นตัวเคลือบทอง และใช้ไซโตเดียมโบโรไฮไดรด์เป็นตัวรีดิวซ์ ได้อนุภาคนาโนทองสีดำ

การสังเคราะห์ลิแกนด์ที่เป็นสารอินทรีย์ที่มีหมู่ปลายเป็นสารประกอบฟลูออรีน

การสังเคราะห์ลิแกนด์ 1a แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ลิแกนด์หมายเลข 1 เป็น  $\text{TrtSC}_{11}\text{OH}$  และหมายเลข 2 เป็นเอมีน ซึ่งสามารถสังเคราะห์ลิแกนด์หมายเลข 1 และ 2 ได้ตามต้องการ

เมื่อนำลิแกนด์หมายเลข 1 และ 2 มาทำปฏิกิริยากัน ผลที่ได้คือ สารไม่เกิดปฏิกิริยา ทำให้ไม่ได้ลิแกนด์ 1a ที่ต้องการ

การสังเคราะห์ลิแกนด์ 2a แบ่งออกเป็นสองส่วนคือ ลิแกนด์หมายเลข 3 เป็น  $\text{TrtSC}_{11}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{OH}$  และหมายเลข 4 เป็นเอมีน ซึ่งสามารถสังเคราะห์ลิแกนด์หมายเลข 3 และ 4 ได้ตามต้องการ

ในขั้นตอนสุดท้ายของการสังเคราะห์ลิแกนด์ 2a ที่นำลิแกนด์หมายเลข 3 และ 4 มาทำปฏิกิริยากัน ยังไม่ได้ทำการสังเคราะห์

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

นำลิแกนด์หมายเลข 3 และ 4 มาทำปฏิกิริยากัน เมื่อทำสำเร็จแล้วจะนำไปทำปฏิกิริยากับอนุภาคนาโนทอง แล้วจึงทดสอบการเข้าสู่เซลล์ต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข. 2556. รายงานข้อมูลทรัพยากรสาธารณสุข ประจำปี 2555. นนทบุรี : สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข
2. Peer, D. Karp, J. M. Hong, S. Farokhzad, O. C. Margalit, R. and Langer, R. 2007. “Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy.” *Nat. Nanotechnol.* 2 : 751-760.
3. Kasuya, M. C. Z. Nakano, S. Katayama, R. and Hatanaka, K. 2011. “Evaluation of the hydrophobicity of perfluoroalkyl chains in amphiphilic compounds that are incorporated into cell membrane.” *J. Fluorine Chem.* 132(3) : 202–206.
4. Neil, E. and Marsh, G. 2000. “Towards the nonstick egg: designing fluorous proteins.” *Chem. Biol.* 7(7) : R153-R157.
5. Langer, R. 1998. “Drug delivery and targeting.” *Nature.* 392: 5-10.
6. Duncan, B. Kim, C. and Rotello, V. M. 2010. “Gold nanoparticle platforms as drug and biomacromolecule delivery systems.” *J. Control.* 148(1) : 122-127.
7. Jain, P. K. El-Sayed, I. H. and El-Sayed, M. A. 2007. “Au nanoparticles target cancer.” *Nano today.* 2(1) : 18-29.
8. Klabunde, K. J. Stark, J. Koper, O. Mohs, C. Park, D. G. Decker, S. Jiang, Y. Lagadic, I. and Zhang, D. 1996. “Nanocrystals as Stoichiometric Reagents with Unique Surface Chemistry.” *J. Phys. Chem.* 100(30) : 12142-12153.
9. Link, S. and El-Sayed, M. A. 1999. “Spectral Properties and Relaxation Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver Nanodots and Nanorods.” *J. Phy. Chem. B.* 103(40) : 8410-8426.
10. Murphy, C. J. Gole, A. M. Stone, J. W. Sisco, P. N. Alkilany, A. M. and Goldsmith, E. C. 2008. “Gold Nanoparticles in Biology: Beyond Toxicity to Cellular Imaging.” *Acc. Chem.* 41(12) : 1721-1730.
11. Ji, X. Song, X. Li, J. Bai, Y. Yang, W. and Peng, X. 2007. “Size Control of Gold Nanocrystals in Citrate Reduction: The Third Role of Citrate.” *J. Am. Chem. Soc.* 129(45) : 13939-13948.
12. Brust, M. Walker, M. Bethell, D. Schiffrin, D. J. and Whyman, R. 1994. “Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system.” *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 7 : 801-802.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. Rana, S. Bajaj, A. Mout, R. and Rotello, V. M. 2012. "Monolayer coated gold nanoparticles for delivery applications." *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64(2) : 200-216.
14. Dykman, L. A. and Khlebtsov, N. G. 2014. "Uptake of engineered gold nanoparticles into mammalian cells." *Chem. Rev.* 114(2) : 1258-1288.
15. Chithrani, B. D. Ghazani, A. A. and Chan, W. C. W. 2006. "Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells." *Nano Lett.* 6(4) : 662-668.
16. Bartczak, D. Muskens, O. L. Nitti, S. Sanchez-Elsner, T. Millar, T. M. and Kanaras, A. G. 2011. "Interactions of human endothelial cells with gold nanoparticles of different morphologies." *Small.* 8(1) : 122-130.
17. Wang, M. Liu, H. Li, L. and Cheng, Y. 2014. "A fluorinated dendrimer achieves excellent gene transfection efficacy at extremely low nitrogen to phosphorus ratios." *Nat. Comm.* 5 : 1-8.
18. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2016. **Spectroscopy and Structural Determination.** [Online]. Available : [http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course\\_info/2302265/Spectro.pdf](http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302265/Spectro.pdf).
19. ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง. 2016. **UV-Visible spectrophotometer.** [Online]. Available : <http://mfu.ac.th/center/stic/spectroscopy-chem-analysis-instrument>.
20. จักรพันธ์ ถาวรธิดา และจันทนีย์ นพรัตน์อากกุล. 2016. **กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน.** [Online]. Available : <http://science.buu.ac.th/part/mc/uploads/home/EM.pdf>.
21. Immunosystem. 2016. **Cellu Sep dialysis membrane.** [Online]. Available : <http://www.immunosystem.co.kr>.
22. ลาวัลย์ ศรีพงษ์. 2552. "เทคนิค ICP-MS ในงานเภสัชวิเคราะห์." *วารสารไทยเภสัชชนิพนธ์.* 4(3) : 1-19.
23. Krishnendu, S. Sarit, S. A. Chaekyu, K. Xiaoning, L. and Vincent, M. R. 2012. "Gold Nanoparticles in Chemical and Biological Sensing" *PMC Journals.* 112(5) : 2739-2779.
24. Nanocomputer. 2016. **Nanoparticles Eradicate Pre Cancerous Cells In The Liver.** [Online]. Available : <http://nanocomputer.com>.
25. กระทรวงศึกษาธิการ. 2552. **นาโนเทคโนโลยีกับการรักษาโรคมะเร็ง.** [Online]. Available : <http://www.moe.go.th/moe/th/news/detail.php>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



## ภาคผนวก

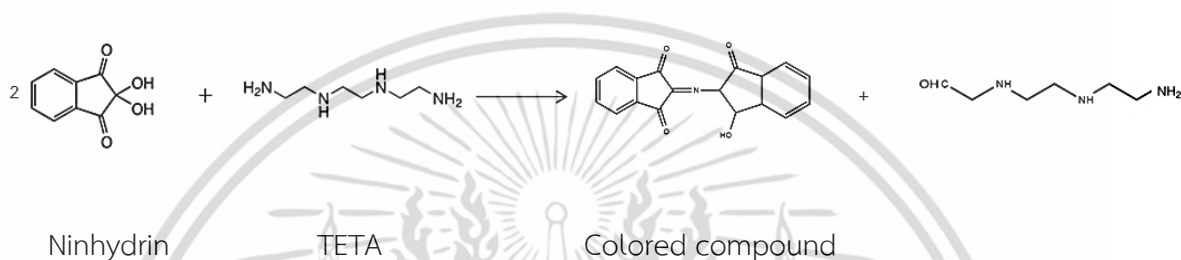
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การศึกษาการหาปริมาณ free amine ในลิแกนด์

ในการศึกษาหาปริมาณ free amine ในลิแกนด์โดยทำปฏิกิริยากับนินไฮดริน เพื่อดูปริมาณเอมีนที่ไม่เกิดปฏิกิริยา ยกับอนุภาคนาโนทอง ซึ่งผลที่ได้จะนำมาทำเป็นกราฟมาตรฐาน สำหรับใช้เปรียบเทียบกับผลในขั้นตอนสุดท้ายหลังจากที่นำอนุภาคนาโนทองเคลือบด้วยลิแกนด์เรียบร้อยแล้ว

#### 4.3.1 TETA + Ninhydrin



หาปริมาณเอมีนของสารละลายไตรเอทิลีนเตตระมีน (Triethylenetetramine, TETA) โดยการทำปฏิกิริยากับสารประกอบนินไฮดริน (Ninhydrin) ได้สารละลายสีม่วง ดังรูปที่ 4.10 จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี ที่ความยาวคลื่น ในช่วง 250-700 นาโนเมตร พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไตรเอทิลีนเตตระมีนเพิ่มขึ้นทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากมีปริมาณ free amine ให้ทำปฏิกิริยากับ สารประกอบนินไฮดริน เพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.11

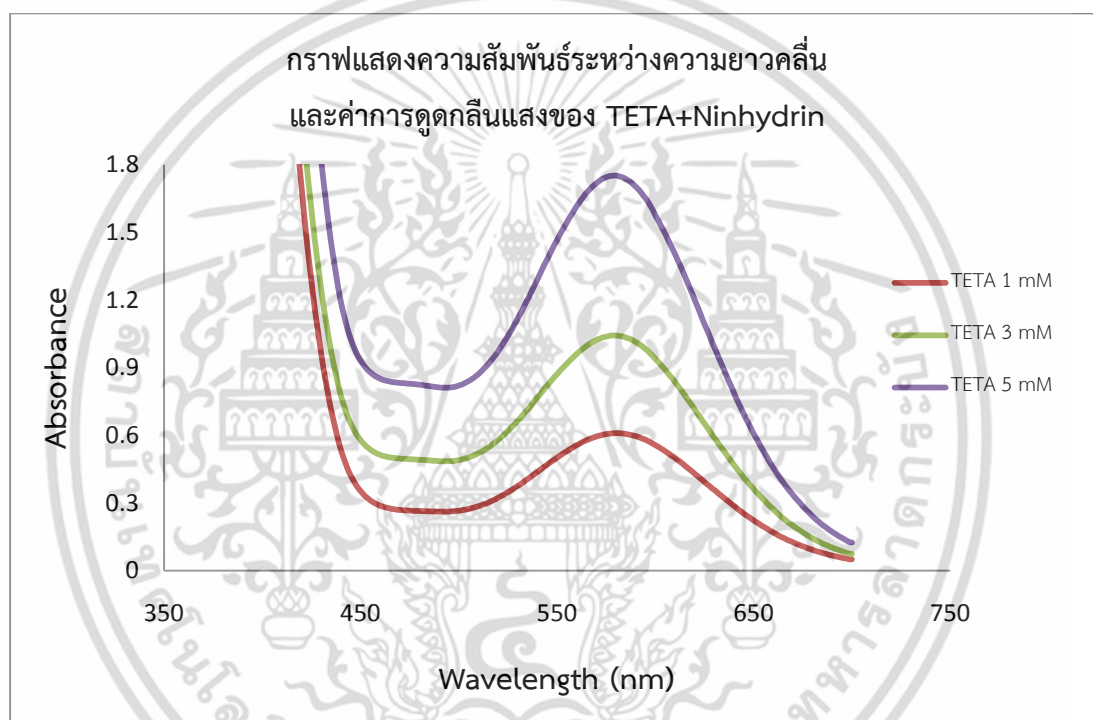


รูปที่ 4.10 สีของสารละลาย TETA ที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบนินไฮดริน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

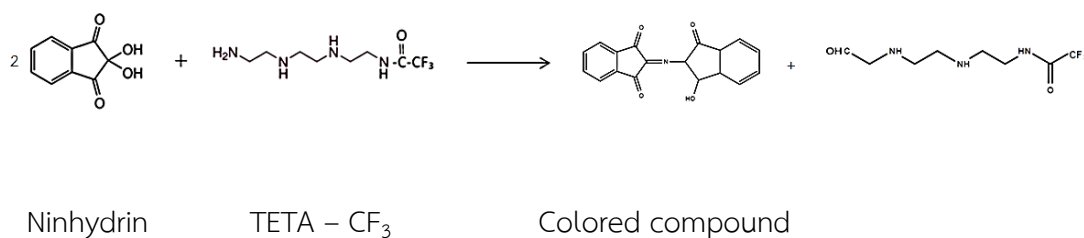
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ TETA ที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 mM ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

สารละลาย TETA		สารละลาย เอทานอล (มิลลิลิตร)	เงื่อจาง (เท่า)	ความยาวคลื่น (nm)	ค่าการดูดกลืนแสง
ความเข้มข้น (mM)	ปริมาตร (มิลลิลิตร)				
1	0.5	2	4	570	0.594
3	0.5	2	4	570	1.023
5	0.5	2	4	570	1.718



รูปที่ 4.11 ค่าการดูดกลืนแสงของ TETA ที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 mM

#### 4.3.2 TETA-CF<sub>3</sub> + Ninhydrin



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หาปริมาณเอมีนของสารละลาย TETA-CF<sub>3</sub> โดยการทำปฏิกิริยากับสารประกอบนินไฮดริน (Ninhydrin) ได้สารละลายสีเหลืองใส สีม่วง และสีม่วงแดง ดังรูปที่ 4.12 จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี ที่ความยาวคลื่น ในช่วง 250-700 นาโนเมตร พบว่าเมื่อความเข้มข้น ของ สารละลาย TETA-CF<sub>3</sub> เพิ่มขึ้นทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นด้วย เนื่องจากมีปริมาณ free amine ให้ทำปฏิกิริยากับ สารประกอบนินไฮดริน เพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.13



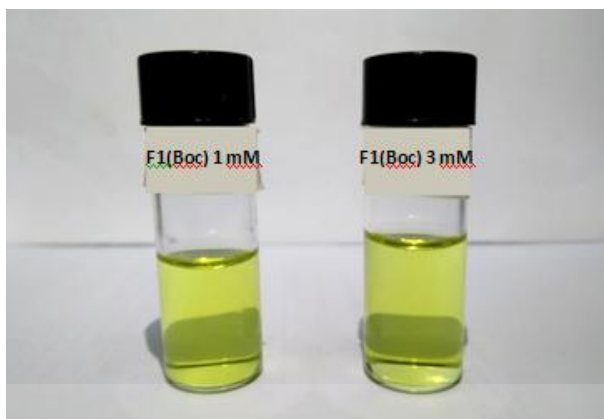
รูปที่ 4.12 สีของสารละลาย TETA-CF<sub>3</sub> ที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบนินไฮดริน

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ TETA-CF<sub>3</sub> ที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 mM ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

สารละลาย TETA-CF <sub>3</sub>		สารละลายเอทานอล (มิลลิลิตร)	เจือจาง (เท่า)	ความยาวคลื่น (nm)	ค่าการดูดกลืนแสง
ความเข้มข้น (mM)	ปริมาตร (มิลลิลิตร)				
1	0.5	2	4	570	0.245
3	0.5	2	4	570	0.617
5	0.5	2	4	570	0.737

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





รูปที่ 4.14 สีของสารละลาย F1-BOC ที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบนินไฮดริน

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ F1-BOC ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 mM ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

สารละลาย F1-BOC		สารละลาย เอทานอล (มิลลิลิตร)	เจือจาง (เท่า)	ความยาวคลื่น (nm)	ค่าการดูดกลืนแสง
ความเข้มข้น (mM)	ปริมาตร (มิลลิลิตร)				
1	0.5	2	4	570	0.016
3	0.5	2	4	570	0.040



รูปที่ 4.15 ค่าการดูดกลืนแสงของ F1-BOC ที่ความเข้มข้น 1 และ 3 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### ตัวอย่างการคำนวณปริมาณสาร

- 1) คำนวณหา aqua regia ที่ใช้ละลายทอง  
ถ้าทอง 10 กรัม ใช้ aqua regia 63 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ทองหนัก } 1.8332 \text{ กรัม ต้องใช้ aqua regia} &= \frac{1.8332 \times 63}{10} \\ &= 12 \text{ มิลลิลิตร} \end{aligned}$$

ดังนั้น ต้องใช้ aqua regia 12 มิลลิลิตรในการละลายทอง 1.8332 กรัม

- 2) เตรียมโซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 50 mM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร  
มวลโมเลกุลของโซเดียมซัลเฟต เท่ากับ 294

$$\begin{aligned} \text{ใช้สูตร } \frac{CV}{1000} &= \frac{g}{Mw} \\ \frac{50 \text{ mM} \times 100}{1000} &= \frac{g}{294} \end{aligned}$$

$$g = 1,470 \times 10^{-3} = 1.47 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ต้องชั่งโซเดียมซัลเฟต 1.47 กรัมละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร  
จึงจะได้โซเดียมซัลเฟตเข้มข้น 50 mM

- 3) คำนวณปริมาณสาร  $\text{BrC}_{11}\text{OH}$  ที่ทำปฏิกิริยากับ Trt-SH ในอัตราส่วน 1:1  
มวลโมเลกุลของ Trt-SH เท่ากับ 276.4  
มวลโมเลกุลของ  $\text{BrC}_{11}\text{OH}$  เท่ากับ 251.21

$$\begin{aligned} \text{ชั่ง Trt-SH มา } 12.3 \text{ กรัม คิดเป็นความเข้มข้นได้จากสูตร } n &= \frac{g}{Mw} \\ &= \frac{12.3}{276.4} \\ &= 44.5 \text{ mM} \end{aligned}$$

คิดปริมาณของ  $\text{BrC}_{11}\text{OH}$  ให้เป็นอัตราส่วน 1:1 กับ Trt-SH

โดยคิดได้จาก  $1 \times 44.5 = 44.5 \text{ mM}$

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้นหาปริมาณของ BrC}_{11}\text{OH ได้จากสูตร } n &= \frac{g}{Mw} \\ 44.5 &= \frac{g}{251.21} \end{aligned}$$

$$g = 11.2 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ต้องชั่ง BrC<sub>11</sub>OH 11.2 กรัม มาทำปฏิกิริยากับ Trt-SH ในอัตราส่วน 1:1

- 4) คำนวนปริมาณสาร TrtSC<sub>11</sub>OH ที่ทำปฏิกิริยากับ MsCl ในอัตราส่วน 1:1.5

มวลโมเลกุลของ TrtSC<sub>11</sub>OH เท่ากับ 446

มวลโมเลกุลของ MsCl เท่ากับ 114.5

$$\begin{aligned} \text{ชั่ง TrtSC}_{11}\text{OH มา 1.13 กรัม คิดเป็นความเข้มข้นได้จากสูตร } n &= \frac{g}{Mw} \\ &= \frac{1.13}{446} \\ &= 2.53 \text{ mM} \end{aligned}$$

คิดปริมาณของ MsCl ให้เป็นอัตราส่วน 1:1.5 กับ TrtSC<sub>11</sub>OH

โดยคิดได้จาก  $1.5 \times 2.53 = 3.80 \text{ mM}$

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้นหาปริมาณของ MsCl ได้จากสูตร } n &= \frac{g}{Mw} \\ 3.80 &= \frac{g}{114.5} \\ g &= 0.44 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ดังนั้น ต้องชั่ง MsCl 0.44 กรัม มาทำปฏิกิริยากับ TrtSC<sub>11</sub>OH ในอัตราส่วน 1:1.5

- 5) คำนวนปริมาณสาร TrtSC<sub>11</sub>OH ที่ทำปฏิกิริยากับ NEt<sub>3</sub> ในอัตราส่วน 1:1.5

มวลโมเลกุลของ TrtSC<sub>11</sub>OH เท่ากับ 446

มวลโมเลกุลของ NEt<sub>3</sub> เท่ากับ 101

$$\begin{aligned} \text{ชั่ง TrtSC}_{11}\text{OH มา 1.13 กรัม คิดเป็นความเข้มข้นได้จากสูตร } n &= \frac{g}{Mw} \\ &= \frac{1.13}{446} \\ &= 2.53 \text{ mM} \end{aligned}$$

คิดปริมาณของ NEt<sub>3</sub> ให้เป็นอัตราส่วน 1:1.5 กับ TrtSC<sub>11</sub>OH

โดยคิดได้จาก  $1.5 \times 2.53 = 3.80 \text{ mM}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้นหาปริมาณของ } \text{NEt}_3 \text{ ได้จากสูตร } n &= \frac{g}{Mw} \\ 3.80 &= \frac{g}{101} \\ g &= 0.38 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ดังนั้น ต้องชั่ง  $\text{NEt}_3$  0.38 กรัม มาทำปฏิกิริยากับ  $\text{TrtSC}_{11}\text{OH}$  ในอัตราส่วน 1:1.5

6) เตรียมนินไฮดรินเข้มข้น 1 M ปริมาตร 4 มิลลิลิตร

มวลโมเลกุลของนินไฮดริน เท่ากับ 178

$$\text{ใช้สูตร } \frac{CV}{1000} = \frac{g}{Mw}$$

$$\frac{1 \text{ M} \times 4}{1000} = \frac{g}{178}$$

$$g = 0.712 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ต้องชั่ง นินไฮดริน 0.712 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 4 มิลลิลิตร จึงจะได้โซเดียมไซเตรทเข้มข้น 1 M

7) เตรียม TETA- $\text{CF}_3$  เข้มข้น 1 mM ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

มวลโมเลกุลของ TETA- $\text{CF}_3$  เท่ากับ 432

ในขั้นแรกเตรียม TETA- $\text{CF}_3$  ความเข้มข้น 10 mM เนื่องจากปริมาณสารน้อยทำให้ชั่งยาก

$$\text{ใช้สูตร } \frac{CV}{1000} = \frac{g}{Mw}$$

$$\frac{10 \text{ mM} \times 1}{1000} = \frac{g}{432}$$

$$g = 0.0043 \text{ กรัม}$$

จะได้ TETA- $\text{CF}_3$  ความเข้มข้น 10 mM จากนั้นเจือจางโดยการปิเปต TETA

โดยใช้สูตร  $C_1V_1 = C_2V_2$

$$10 \times V_1 = 1 \times 1$$

$$V_1 = 0.1 \text{ มิลลิลิตร}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น จะได้ว่าต้องชั่ง TETA-CF<sub>3</sub> 0.0043 กรัม ละลายในเอทานอล จากนั้นปรับปริมาตร เป็น 1 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10 mM จากนั้นปิเปต TETA-CF<sub>3</sub> มา 0.1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้เป็น 1 มิลลิลิตร จะได้ TETA-CF<sub>3</sub> ที่มีความเข้มข้น 1 mM



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้