สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบการดอะมิโน

นางสาววิลาวัลย์ อินทรัตน์

ปพ.
วท1978
2535

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2535

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reagent for Detection of Amino Acid

Miss. Wilawal Intaratana

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the

Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1992

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ สารเคมีที่ใช้ตรวจสอบกรดอะมิโน

โดย นางสาว วิลาวัลย์ อินทรัตน์

ภาควิชา เคมี

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

---------- หัวหน้าภาควิชาเคมี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์)

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

---------- ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ)

---------- กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์)

---------- กรรมการ

(อาจารย์ ตะวัน สุขน้อย)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาไทย		ก
บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญตาราง		ง
บทที่ 1	บทนำและทฤษฎี	1
บทที่ 2	การทดลอง	12
บทที่ 3	สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	20
ภาคผนวก		24
เอกสารอ้างอิง		38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	สารเคมีที่ใช้ตรวจสอบกรดอะมิโน
นักศึกษา	นางสาว วิลาวัลย์ อินทรัตน์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรวัฒน์ มงคลอัศวรัตน์
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2534

บทคัดย่อ

การตรวจสอบการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนมีความสำคัญมาก ในการศึกษาค้นคว้าวิจัยทางด้านชีวเคมี ตลอดจนนำไปประยุกต์ใช้ในด้านนิติเวชศาสตร์ นินไฮดริน เป็นสารที่ใช้กันอย่างกว้างขวางและให้ผลดีที่สุดในการตรวจสอบกรดแอลฟาอะมิโน ในปัจจุบัน สารที่ให้ผลในการตรวจสอบกรดแอลฟาอะมิโนที่มีประสิทธิภาพดีกว่านินไฮดริน คือ DFO

โครงงานพิเศษนี้จึงได้ ศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ DFO ขึ้น ซึ่งเตรียมได้จากปฏิกิริยาระหว่างลิวโคนิคแอซิดเพนตะไฮเดรต และ 1,2-ไดอะมิโนเบนซิน และได้ศึกษาปฏิกิริยาของอนุพันธ์ของDFO และอะลานิน พบว่าปฏิกิริยาเกิดผ่าน สารมัธยันตร์ 1,3-ไดโพลเอโซมีทายน์อิลีด ซึ่งพิสูจน์ได้โดยการเกิดปฏิกิริยา 1,3-ไดโพลลาร์ไซโคล แอดดิชัน กับ เอ็น-เมทิลมาลีอิไมด์ ให้ผลิตภัณฑ์ ไซโคลแอดดัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Reagent of Detection Amino Acid
Name	Miss. Wilawal Intaratana
Special Project Advisor	Dr. Theeravat Mongkolaussavaratana
Department	Chemistry
Acadamic Year	1991

Abstract

Qualitative and quantitative detection of α-amino acids is important in biochemical research and also in forensic science. Ninhydrin is the most successful and widely used chemical for the detection of α-amino acids. Recently, 1,8-diaza-9-fluorenone(DFO) has been shown to give better visualisation than ninhydrin.

This special project involves a study of the preparation of DFO analogue which is synthesised from leuconic acid pentahydrate and 1,2-diaminobenzene.

The reaction of DFO analogue with alanin gives 1,3-dipole azomethine ylide which can be trapped by N-methylmaliemide to give a cycloadducy.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาโครงงานพิเศษฉบับนี้ ผู้เสนอขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อิราวัณ มงคลดิลกรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาผู้ให้ความช่วยเหลือ แนะนำ ให้คำปรึกษาในระหว่างการทำโครงงานพิเศษ จนทำให้การดำเนินงานโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

กราบขอบพระคุณอาจารย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ และอาจารย์ ตะวัน สุขน้อย คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ ตลอดจนอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ตรวจทานและแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณนิทรา ค้าคล่อง และคุณสมศักดิ์ จำปาทิว ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการทดลอง ตลอดจนน้องธวัฒน์ชัย เกษสุรินทร์ชัย และเพื่อนๆทุกคนที่ช่วยเหลือในด้านการจัดพิมพ์

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุก ๆ คนในครอบครัว ที่ให้การสนับสนุน ตลอดจนกำลังใจในการศึกษาตลอดมา

วิลาวัลย์ อินทรัตน์

กุมภาพันธ์ 2535

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1 5

ตารางที่ 1.2 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำและทฤษฎี

กรดอะมิโน เป็นองค์ประกอบพื้นฐานของโปรตีน การตรวจหาและวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน เป็นสิ่งสำคัญมากในงานวิจัยค้นคว้าทางด้านชีวเคมี (biochemistry) เคมีอินทรีย์ (organic chemistry) และได้นำไปประยุกต์ใช้ในหลาย ๆ ด้าน เช่น นิติเวชศาสตร์ (forensic sceince)

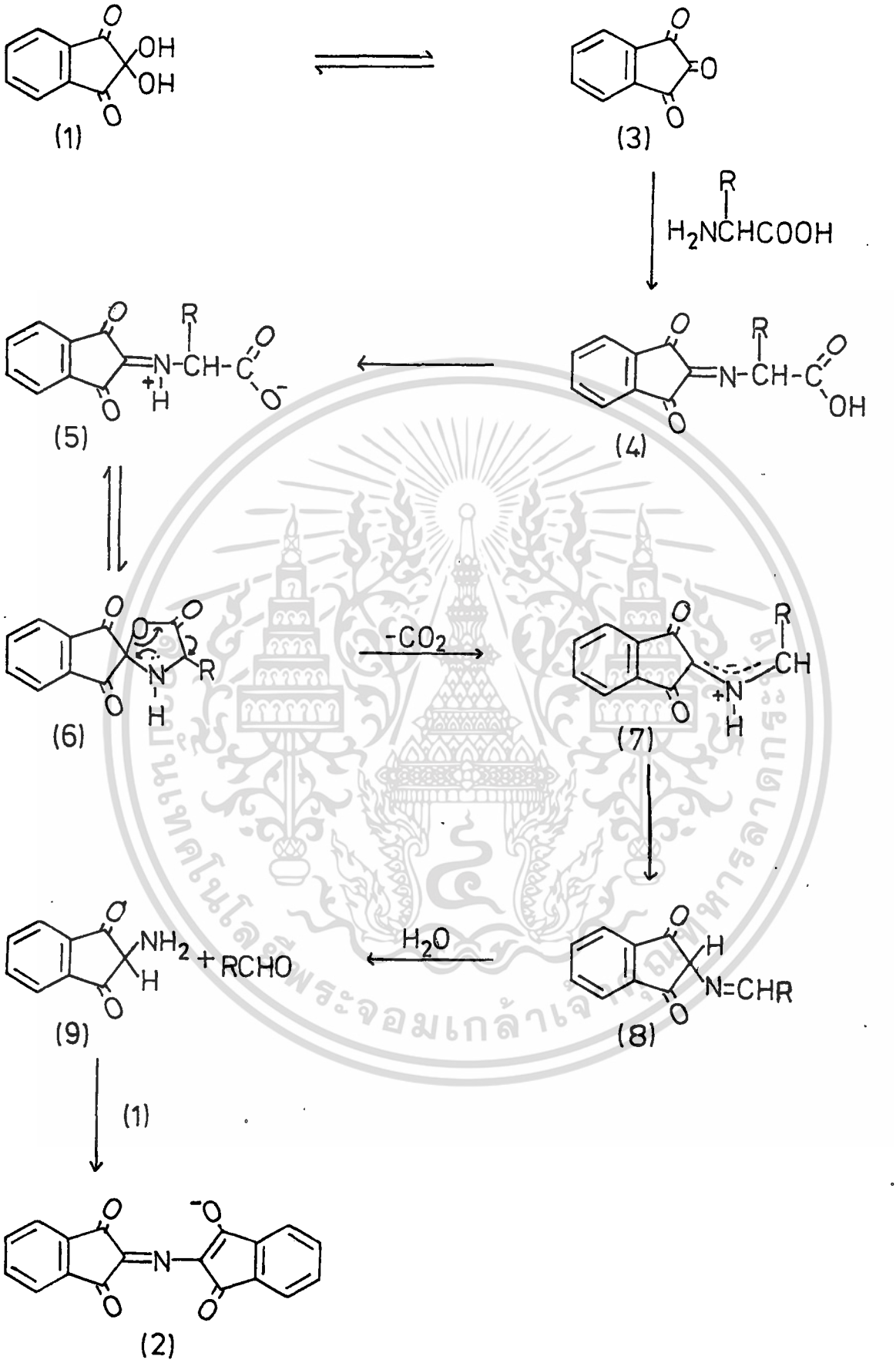
การตรวจสอบกรดอะมิโนมี 2 วิธี[1] คือ การตรวจสอบโดยการเกิดสี (Colorimetric Detection) และการตรวจสอบโดยการวาวแสง (Fluorimetric Detection) ปฏิกิริยาการเกิดสีและการวาวแสงของกรดอะมิโนนี้ได้นำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหารอยนิ้วมือ

สารเคมีตัวหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการตรวจสอบกรดอะมิโนโดยการให้สี คือ นินไฮดริน (ninhydrin)

นินไฮดริน (1) เป็นสารที่ใช้ในการตรวจสอบกรดแอลฟาอะมิโนที่ให้ผลดีที่สุด สังเคราะห์ขึ้นเป็นครั้งแรกในปี 1910 โดย Ruhemann[1]

นินไฮดรินมีชื่อทางเคมีเป็น triketohydrindene hydrate หรือ 1,2,3-indantrione monohydrate หรือ 2,2-dihydroxy-1,3-indandione เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนชนิดปฐมภูมิให้สารสีม่วงเรียกสารนี้ว่า Ruhemann's purple (2) { 2-[3-hydroxy-(1-oxo-inden-2-yl) imino]-1,3-indandione anion } [λ_{max} 404 และ 582 nm] กลไกของการเกิดปฏิกิริยานี้ มีความสำคัญมากในการศึกษาและตรวจสอบกรดอะมิโน จึงได้มีผู้เสนอกลไกไว้มากมาย ในบรรดากลไกเหล่านี้ กลไกล่าสุด[2] ที่ได้รับการยอมรับเป็นไปดังแผนภาพที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

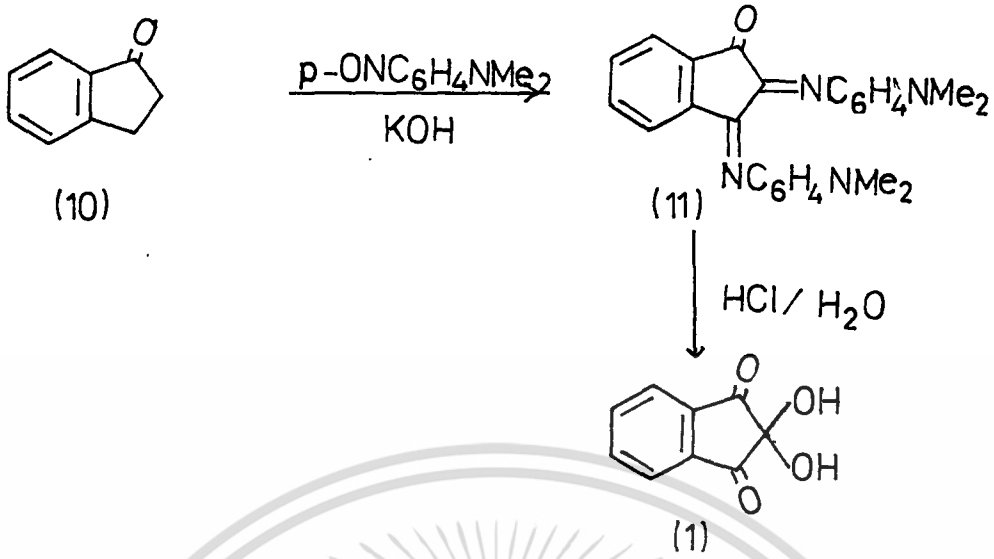
แผนภาพที่ 1

จะเห็นได้ว่า ninhydrin (1) ซึ่งอยู่ในสมดุลย์กับ 1,2,3-indantrione (3) เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน เกิดเป็น ชิฟ เบส (Schiff base , 4) แล้วเกิดปฏิกิริยาการสูญเสียแกสคาร์บอนไดออกไซด์ (decarboxylation) โดยเกิดผ่านสารทเทอร์ไอออน (zwitterion , 5) และสารมัธยันตร์ ออกซาโซลิดีน-5-โอน (oxazolidine-5-one , 6) ในการเกิดปฏิกิริยาการสูญเสียแกสคาร์บอนไดออกไซด์ของออกซาโซลิดีน-5-โอนนั้นเป็น 1,3-ไดโพลลาร์ไซโคลรีเวอร์ชัน ชนิดสเตอริโอสเปคสิฟิค (stereospecific 1,3-dipolar cycloreversion)ให้เอ็น-โปรโตเนตเตด 1,3-ไดโพล (N-protonated 1,3-dipole , 7) ซึ่งรับไฮโดรเจนไอออนจากน้ำ ให้อิมมีน (8) ไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ของอิมมีน (8) ให้อัลดีไฮด์และ 2-amino-1,3-indandione (9) จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาควบแน่น(condensation) กับนินไฮดรินอีก 1 โมเลกุล เกิดเป็น Ruhemann's purple (2)

จากการศึกษาทางจลน์ศาสตร์ของปฏิกิริยาข้างต้น[2] พบว่าทั้ง ninhydrin และกรดอะมิโน ต่างก็เป็นปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง ปฏิกิริยารวมเป็นปฏิกิริยาอันดับที่สอง ขั้นที่ศึกษาคือเริ่มที่ นิวคลีโอไฟล์ (nucleophile)เข้าแทนที่หมู่ไฮดรอกซี(hydroxy)ของนินไฮดริน และเมื่อเพิ่ม pH ความเข้มข้นของประจุลบของกรดอะมิโนจะเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยา แสดงว่า Ruhemann's purple มีความเสถียรที่ pH สูงๆ ซึ่งพบว่า เกิดขึ้นที่ pH สูงสุดระหว่าง 4.5-5.2 และถ้าหมู่เอมีนถูกโปรโตเนต ความเป็นนิวคลีโอไฟล์ จะลดลง แต่ถ้าหมู่คาร์บอนิลถูกโปรโตเนต ความเป็นนิวคลีโอไฟล์จะมากขึ้น ดังนั้นถ้าต้องการเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยา ต้องทำให้หมู่คาร์บอนิลถูกโปรโตเนต แต่หมู่เอมีนไม่ถูกโปรโตเนต และถ้าสารประกอบคาร์บอนิลนั้นมีคอนจูเกต (conjugate) ก็จะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นด้วย

ในปี 1910 Ruhemann ได้เริ่มสังเคราะห์นินไฮดริน โดยใช้วิธีของ Sachs และ Barschall[3] ดังแผนภาพที่ 2

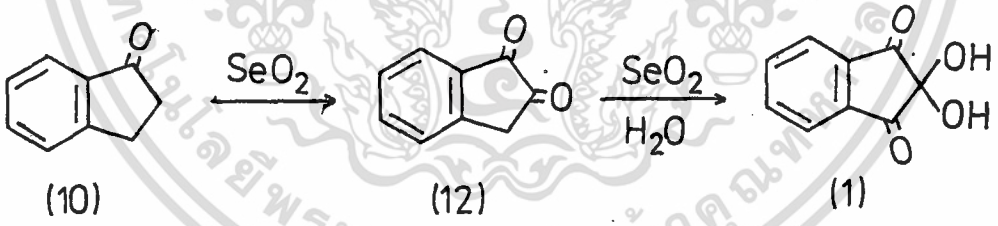
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(10) (11) (1)

แผนภาพที่ 2

การสังเคราะห์โดยวิธีของ Sachs และ Barschall ได้ผลผลิตต่ำ ในปี 1968 Neuzil[3] ได้ออกซิไดซ์ 1-indanone (10)ด้วยซีลีเนียมไดออกไซด์ ได้ผลผลิตประมาณ 79%



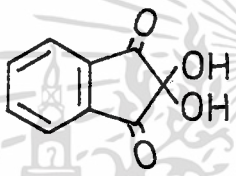
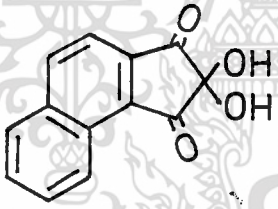
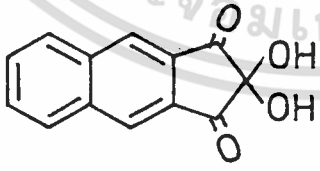
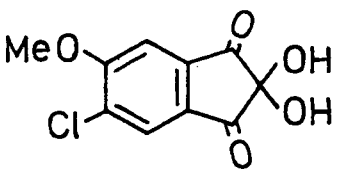
(10) (12) (1)

แผนภาพที่ 3

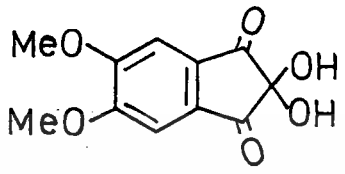
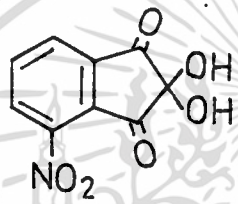
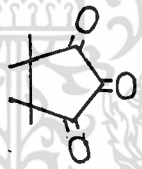
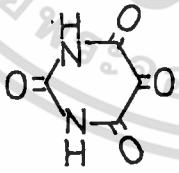
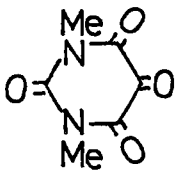
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมาได้มีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของนินไฮดริน และสารประกอบ 1,2,3-ไตรคีโทนขึ้นอีกมากมาย เพื่อใช้ในการตรวจสอบกรดอะมิโนให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 1.1

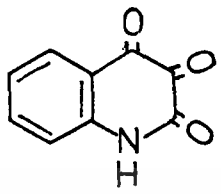
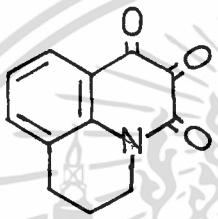
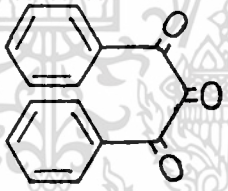
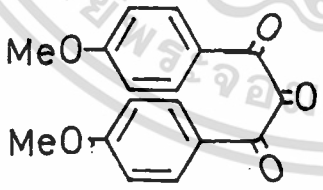
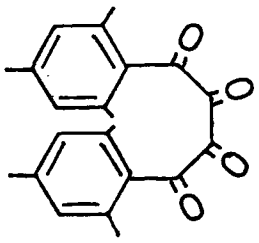
ตารางที่ 1.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของอนุพันธ์นินไฮดรินและสารประกอบไตรคีโทน

สารประกอบ	โครงสร้างทางเคมี	ชื่อ
1		Ninhydrin
2		Benzo[e]ninhydrin[3]
3		Benzo[f]ninhydrin[3]
4		5-Chloro-6-methoxy-ninhydrin[3]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบ	โครงสร้างทางเคมี	ชื่อ
5		5,6-Dimethoxyninhydrin[3]
6		4-Nitroninhydrin[3]
7		4,4,5,5-Tetramethylcyclo--pentanetrione[3]
8		Alloxan[3]
9		1,3-Dimethylalloxan[3]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบ	โครงสร้างทางเคมี	ชื่อ
10		Quinisatin[3]
11		1,8-Trimethylenequinisatin[3]
12		1,3-Diphenylpropanetrione[3]
13		1,3-Di-[4-methoxyphenyl]--propanetrione[3]
14		1,4-Di-[2,4,6-trimethyl--phenyl]-butanetraone[3]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

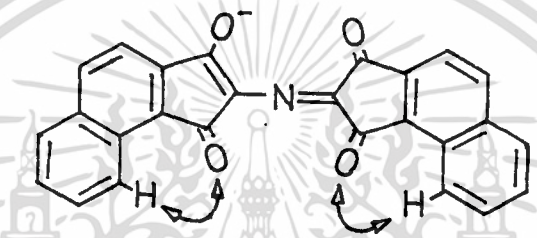
ได้มีการนำอนุพันธ์[3] ของนินไฮดรินในตารางที่ 1.1 ใช้ตรวจสอบกรดอะมิโน พบว่า มีความว่องไวพอ ๆ กับนินไฮดริน และเมื่อนำเอาอนุพันธ์นินไฮดรินเหล่านั้นมาทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีดังแสดงในตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 แสดงสีและความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตของผลิตภัณฑ์ระหว่างอนุพันธ์นินไฮดรินกับกรดอะมิโน

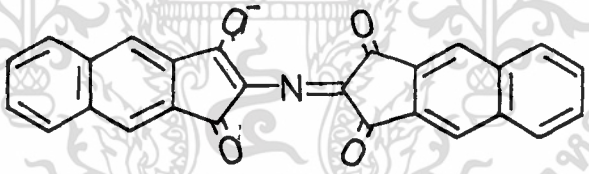
สารประกอบอนุพันธ์นินไฮดริน	สี	ความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต λ_{max} (นาโนเมตร)
1	ม่วงแดง	404,582
2	ชมพู	406,567
3	เขียวเข้ม	429,630
4	ม่วงแดง	408,580
5	ม่วงแดง	406,523
6	ม่วงแดง	409,580
8	แดง	582
10	ม่วงแดง	530

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 1.2 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจาก Benzo[e] ninhydrin กับกรดอะมิโนจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสั้น (hypsochromic shift) กว่าRuhemann's purple เนื่องจากผลของ steric interactionระหว่างโปรตอนตำแหน่งที่ 4 และหมู่คาร์บอนิล ซึ่งขัดขวางการเกิด delocalisation แต่ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจาก Benzo[f] ninhydrin ไม่มี steric interaction ดังกล่าว แต่มี conjugate เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นมาก (bathochromic shift)



(14)



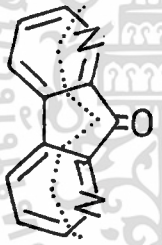
(15)

จากตารางที่ 1.2 จะสังเกตุเห็นว่าสารประกอบ cyclic vicinal triketones. (1-11) เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสี แต่สารประกอบ acyclic vicinal polyketones.(11-14) เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนจะให้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีสี เหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก ความแตกต่างของรูปร่างระหว่าง triketones ทั้งสอง cyclic vicinal triketones มีรูปร่างแบบ planar ในขณะที่ acyclic vicinal triketones มีรูปร่างแบบ non planar และมีมุมระหว่างหมู่คาร์บอนิล 90-180 องศา

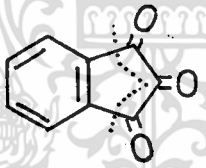
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า การแสวงหากำไร การนำไปเผยแพร่ต่อสาธารณะ หรือการดัดแปลงเนื้อหาในรูปแบบใดๆ ทั้งสิ้น

นินไฮดรินและ benzo[f] ninhydrin จะให้ผลในการตรวจสอบกรดอะมิโนคล้าย ๆ กัน และให้ผลดีกว่าการใช้ dimethoxyninhydrin เพียงเล็กน้อย สำหรับ benzo[e] ninhydrin และ alloxan นั้นให้ผลในการตรวจสอบใกล้เคียงกัน อีกทั้งยังให้ผลที่ดีกว่านินไฮดริน และ benzo[f] ninhydrin แต่การใช้ nitroninhydrin นั้นให้ผลไม่ดีนัก เนื่องจาก nitroninhydrin ทำปฏิกิริยากับ alanine หรือ glycine เกิดขึ้นเร็วมาก และสีที่มองเห็นจะเห็นอยู่เพียงประมาณ 2 วินาทีเท่านั้น

จะเห็นว่าอนุพันธ์นินไฮดรินที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อใช้ในการตรวจสอบกรดอะมิโนนั้นให้ผลใกล้เคียงกัน คือสีที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกันมากนัก จึงได้มีการศึกษาสารที่ให้ผลการตรวจสอบกรดอะมิโนที่มีประสิทธิภาพขึ้น โดยศึกษาสารที่มีโครงสร้างคล้าย กับนินไฮดริน โดยแทนที่ออกซิเจนของหมู่คาร์บอนิลที่ตำแหน่งที่ 1 และ 3 ด้วยไนโตรเจน จากการค้นคว้าพบว่า สารที่น่าจะศึกษา คือ 1,8-Diazafluren-9-one (DFO)[4](16)

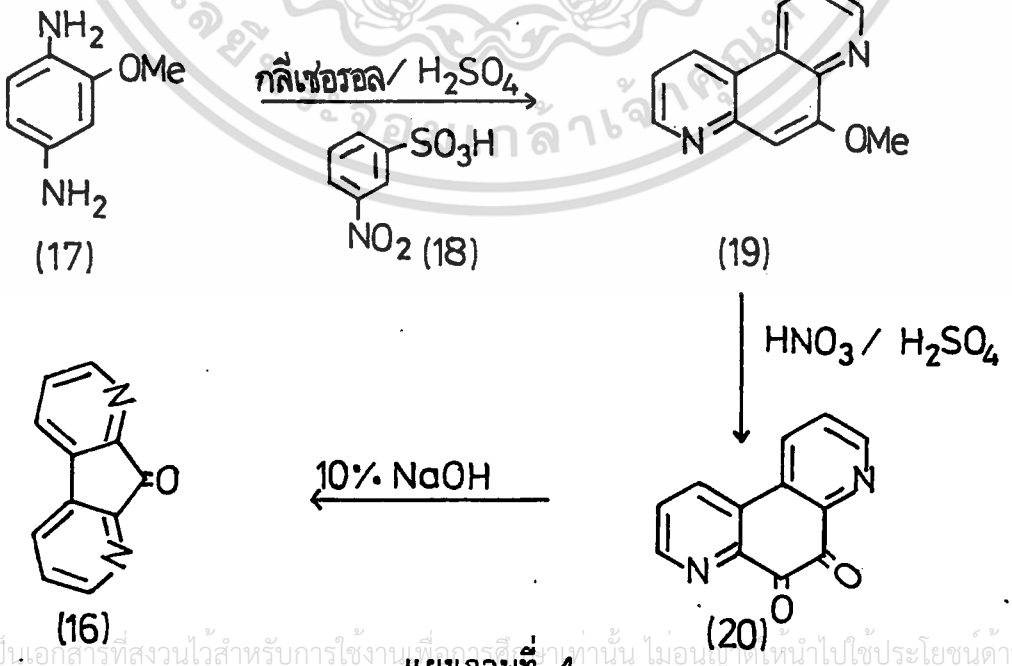


(16)



(3)

ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้ดังนี้

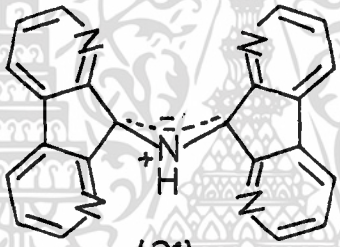


แผนภาพที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2-methoxy-1,4-phenylenediamine (17) ทำปฏิกิริยากับกลีเซอรอล ใน สารละลาย 60% กรดซัลฟุริก และใช้ m-nitrobenzenesulphonic acid (18) เป็น ตัวออกซิไดซ์ เกิดเป็น 5-methoxy-4,7-phenanthroline (19) ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ ด้วยกรดไนตริกและกรดซัลฟุริกให้ 4,7-phenanthroline 5,6-dione (20) จะเกิด การจัดเรียงตัวใหม่ในสภาวะเบส ได้เป็น DFO (16) [λ_{max} 370 nm]

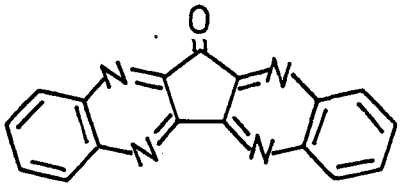
DFO ละลายในเมทานอลให้สารละลายสีเหลือง เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน หรือเอสเทอร์ของกรดอะมิโนจะได้สารละลายสีแดง [λ_{max} 578 และ 475 nm] สาร ละลายสีแดงนี้สามารถดูดแสงได้ [λ_{ex} 488 และ λ_{em} 560 nm] และมีความเสถียร ที่อุณหภูมิห้อง จากการศึกษาพบว่า สารที่สามารถดูดแสง คือ 1,3-ไดโพล (21) ซึ่งมีโครงสร้างดังนี้



(21)

วิธีการหนึ่งในการตรวจสอบว่าสารเกิดผ่าน โครงสร้าง 1,3-ไดโพล คือการ ใช้ ไดโพลลาโรไฟล์ เช่น เอ็น-เมทิลมาลีอิไมล์ จับกับ 1,3-ไดโพล ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา ระหว่าง DFO และกรดอะมิโน เกิดเป็น ไซโคลแอดดัก

ในการทำปัญหาพิเศษนี้ เป็นการสังเคราะห์สารที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับ DFO คือ คีโทน (22) ซึ่งมีอะตอมของไนโตรเจนและมีคอนจูเกตมากกว่า DFO โดยคาดว่าสาร คีโทน (22) จะให้ผลในการตรวจสอบกรดอะมิโน ดีกว่า DFO



(22)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	เกรด	บริษัท
ไมโอ-อินโอซิทอล	วิเคราะห์	Fluka
แมงกานีสคาร์บอเนต	วิเคราะห์	J.T.baker
1,2-ไดอะมิโน เบนซีน	วิเคราะห์	Fluka
อะลานิน	วิเคราะห์	Fluka
เอ็น-เมทิลมาลีอิไมด์	วิเคราะห์	Aldrich
ผงถ่าน(activated carbon)	วิเคราะห์	Merck
กรดไนตริก		
กรดไฮโดรคลอริค		
กรดซัลฟุริก		
สารละลายโพแทสเซียมอะซิเตดเข้มข้น 0.5 โมล/ลิตร		
สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 โมล/ลิตร		
สารละลายแบเรียมคลอไรด์เข้มข้น 0.2 โมล/ลิตร		
ไดออกเซน		
เอทานอล	เกรดวิเคราะห์	
เมทานอล	เกรดวิเคราะห์	
บิวทานอล	เกรดวิเคราะห์	
ซิลิกาเจล 60 จีเอฟ$_{254}$		**Merck**
ซิลิกาเจลชนิดที่ใช้กับคอลัมภ์โครมาโตรกราฟี คือ 60 จี		**Merck**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. Melting Point : Buchi 510 Melting Apparatus

2. Infrared Spectra : Jasco IR-810 Infrared Spectrophotometer

3. ^{1}H Nuclear Magnatic Resonance Spectra : Varian 60 MHz NMR Spectrometer

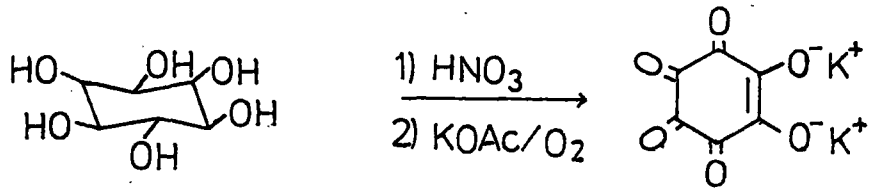
: Bruker 200 MHz NMR Spectrometer

4. Microanalysis : Perkin-Elmer 2400

5. Ultraviolet Spectra : Shimadzu 160 Ultraviolet Spectrophotomet

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารประกอบไดโพแทสเซียมโรไดโซเนต (Dipotassium Rhodizonate,25)



(23) (25)

เติมกรดไนตริกเข้มข้นจำนวน 100 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีไมโอ-อินโอซิทอลอยู่ 40 กรัม (0.222 โมล) รีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมงแล้วนำสารละลายที่ได้ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ผ่านอากาศลงในสารละลายโดยใช้เครื่องปั๊มอากาศพร้อมกับกวนไปด้วย เติมสารละลายโพแทสเซียมอะซิเตดเข้มข้นร้อยละ 50 จำนวน 70 มิลลิลิตรอย่างช้า ๆ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้ม แล้วเติมอีก 100 มิลลิลิตรอย่างรวดเร็ว ผ่านอากาศลงในสารละลายและกวนต่ออีก 90 ชั่วโมง กรองสารละลายผ่านเครื่องกรองสูญญากาศจะได้ของแข็งสีม่วงดำ ล้างตะกอนด้วยสารละลายโพแทสเซียมอะซิเตดเข้มข้นร้อยละ 50 จำนวน 50 มิลลิลิตร และเอทานอลจำนวน 30 มิลลิลิตร จะได้ผลิตภัณฑ์ 20 กรัม (ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 37)

UV(λ_{max}, nm) : 392.6

IR(ν_{max}, KBr, cm^{-1}) : 1450-1550

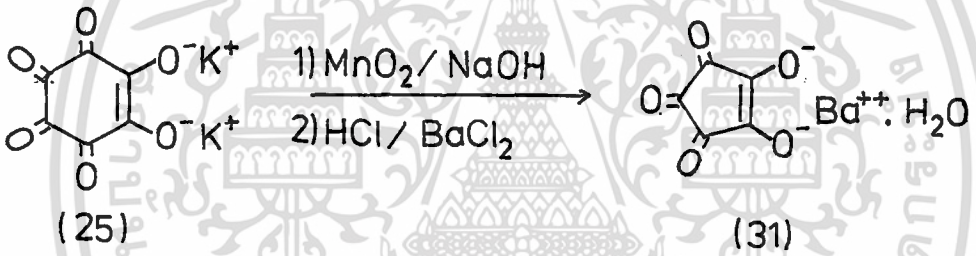
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง ทั้งส่วนหรือทั้งหมด ก่อนได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากเจ้าของลิขสิทธิ์ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารประกอบโครโคนิคแอซิดไตรไฮเดรต (Croconic acid trihydrate,32) แบ่งเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

1. การเตรียมแมงกานีสไดออกไซด์ที่ว่องไว (active manganese dioxide)

เผาแมงกานีสคาร์บอเนต (manganese(II)carbonate) ปริมาณ 70 กรัม ที่อุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 ชั่วโมงแล้วทิ้งให้เย็น แล้วเติมกรดไนตริก (2โมลลาร์) 250 มิลลิลิตร และกวนเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อไล่คาร์บอเนตที่เหลือออกไป จากนั้นนำมากรองแล้วล้างด้วยน้ำกลั่น อบตะกอนที่ได้ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง

2. เตรียมแบเรียมโครโคเนตโมโนไฮเดรต (Barium Croconate Monohydrate,31)



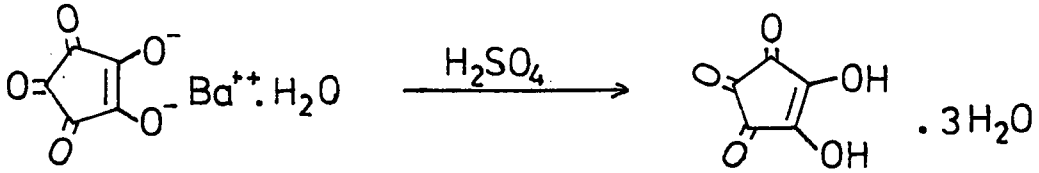
(25) (31)

เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์(1โมลลาร์) จำนวน 1 ลิตร ลงในขวดก้นกลม จากนั้นเติมแมงกานีสไดออกไซด์ที่เตรียมไว้ 56 กรัม (0.65 โมล) และไดโพแทสเซียมโรไดโซเนต 24.6 กรัม (0.10 โมล) กวนสารละลายผสมที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองสารละลายขณะร้อน จะได้สารละลายสีเหลืองเข้มและตะกอนสีดำ ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน 800 มิลลิลิตร และสารละลายแบเรียมคลอไรด์ (1.33 โมลาร์) จำนวน 150 มิลลิลิตรที่ร้อนกวนและให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ให้เย็นลงอย่างช้า ๆ จนถึงอุณหภูมิห้อง กรองสารละลายผ่านเครื่องกรองสูญญากาศ ได้ตะกอนสีเหลืองใส ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ในเดซิเคเตอร์ จะได้ผลิตภัณฑ์ 23 กรัม (ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 78)

IR(ν_{max}, KBr, cm^{-1}) : 3400, 1500-1600

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เตรียมโครโคนิคแอซิดไดรไฮเดรต (Croconic acid trihydrate,32)



(31) (32)

เติมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 6 จำนวน 50 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ซึ่งมีแบเรียมโครโคเนตโมโนไฮเดรต 15 กรัม (0.051 โมล) กวนและให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส แล้วกวนสารละลายต่ออีก 1 ชั่วโมง กรองตะกอนแบเรียมซัลเฟต ($BaSO_4$)ขณะร้อน ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน 10 มิลลิลิตร นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน จากนั้นเติมไดออกเซน 35 มิลลิลิตร เอทานอล 10 มิลลิลิตร และผงถ่าน 0.2 กรัม และกวน จากนั้นกรองสารละลายผสมด้วยกระดาษกรอง นำส่วนที่เป็นสารละลายมาระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน จนมีผลึกเกิดขึ้น ทิ้งสารละลายไว้ให้เย็น กรองผ่านเครื่องกรองสูญญากาศ ล้างตะกอนด้วยเอทานอล 5 มิลลิลิตร จะได้โครโคนิคแอซิดไตรไฮเดรตเป็นของแข็งสีเหลืองเข้ม (deep yellow) 4 กรัม (ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 40)

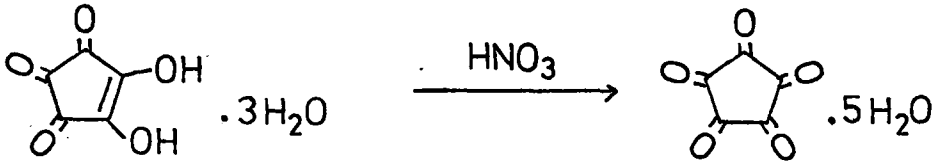
UV(λ_{max}, nm) : 298, 235

IR(ν_{max}, KBr, cm^{-1}) : 3400, 1660

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเตรียมสารประกอบลิวโคนิคแอซิดเพนตะไฮเดรต (Leuconic acid Pentahydrate ,24)



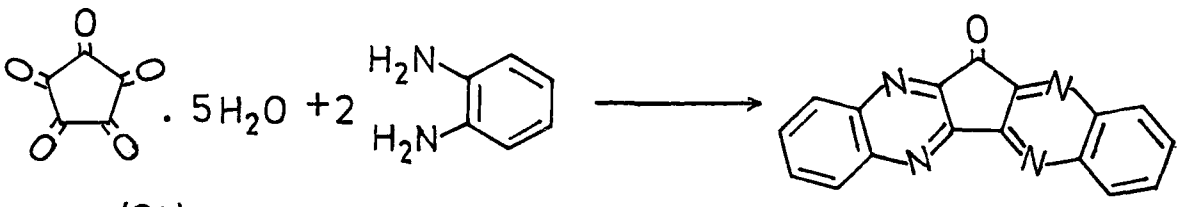
(32) (24)

เติมกรดไนตริกเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส จำนวน 30 มิลลิลิตร ลงในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร และเติมโครโคนิคแอซิดไฮไดรต 3.92 กรัม (0.02 โมล) อย่างช้าๆในอ่างน้ำเย็น กวน และผ่านอากาศโดยใช้เครื่องปั๊มผ่อากาศ จนกระทั่งสีเหลืองหายไป เติมน้ำแข็งผสมเอทานอล 30 มิลลิลิตรและกวนอีก 10 นาที กรองสารละลายผ่านเครื่องกรองสูญญากาศ จะได้ของแข็งสีขาว ล้างตะกอนด้วยเมทานอลที่เย็น 20 มิลลิลิตร เก็บตะกอนในเดซิเคเตอร์จนแห้ง จะได้ผลิตภัณฑ์ 3 กรัม (ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 65) จุดหลอมเหลว 122-123 องศาเซลเซียส

UV(λ_{max}, nm) : 328

IR(γ_{max}, KBr, cm^{-1}) : 3400, 1640

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(24) (22)

ละลายลิวโคนิคแอซิดเพนตะไฮเดรต 2 กรัม (8.898×10^{-3} โมล) ในสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 30 จำนวน 15 มิลลิลิตร ต้มและให้ความร้อนจนลิวโคนิคแอซิดเพนตะไฮเดรตละลายหมด จากนั้นเติมสารละลาย 1,2-ไดอะมิโนเบนซิน (1.739×10^{-3} โมล) ในสารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 30 จำนวน 10 มิลลิลิตร รีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปล่อยสารละลายไว้ให้เย็น กรองสารละลายผ่านเครื่องกรองสูญญากาศ ล้างตะกอนด้วยสารละลาย 30% เอทานอล จะได้สารสีเขียวแกมเหลือง 2 กรัม (ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 81)

ตกผลึกผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วย 2-บิวทานอลจะได้ผลึกสีเหลืองของคีโทน(22) 2 กรัม (ผลิตภัณฑ์ ร้อยละ 81) ตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยโครมาโทกราฟีประเภทชั้นบาง (คลอโรฟอร์ม)มีค่า R_f เท่ากับ 0.6

UV(λ_{max}, nm) : 416

IR(ν_{max}, KBr, cm^{-1}) : 2800-3100, 1740, 1500, 1360, 1070

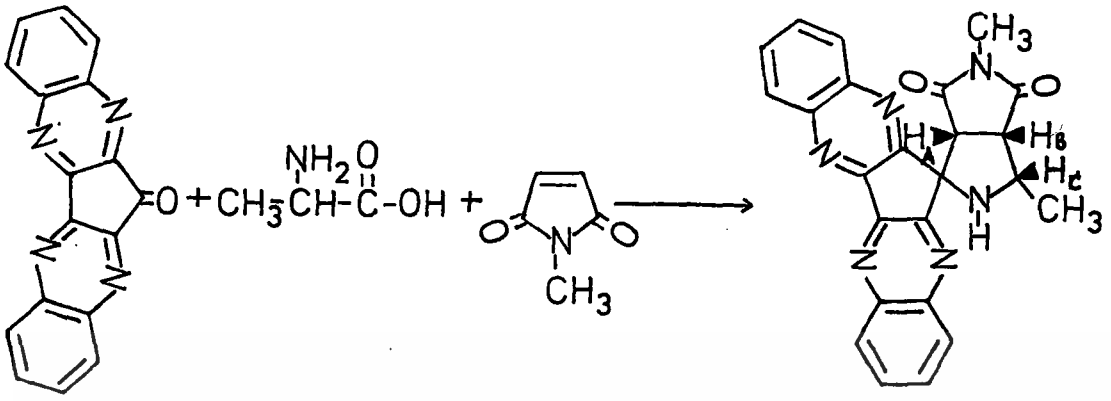
NMR(in $CDCl_3$ และ DMSO-d_6, ppm) : 7.6-8.7(2xm, 4H, ArH)

microanalysis $C_{17}H_8N_4O$ found : C,71.96;H,2.8;N,20.35

required: C,71.83;H,2.82;N,19.72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาไซโคลแอดดัก



(22) (34)

เติมสารละลายอะลานิน 106.9 มิลลิกรัม (1.2 มิลลิโมล)ในน้ำ 10 มิลลิลิตร ลงในสารละลายผสมระหว่างสารประกอบคีโทน(22) 284 มิลลิกรัม (1 มิลลิโมล) และเอ็น-เมทิลมาลีอิไมด์ 199.8 มิลลิกรัม (1.8 มิลลิโมล) ใน 2-บิวทานอล 50 มิลลิลิตร รีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทิ้งสารละลายไว้ให้เย็น ระเหยสารละลายผสมโดยใช้เครื่องระเหยแบบลดความดัน ได้ของเหลวหนืดสีน้ำตาล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมภ์โครมาโทกราฟี (คลอโรฟอร์มและเอกเซน-ในอัตราส่วน 5:1) ได้ผลิตภัณฑ์สีเหลืองอมเขียวของไซโคลแอดดัก (34) ได้ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 30

UV(λ_{max}, nm) : 484

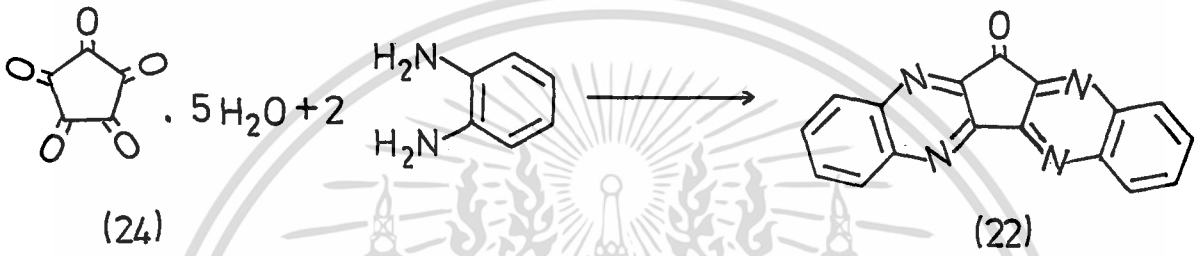
IR(ν_{max}, KBr, cm^{-1}) : 3289, 1700

NMR($CDCl_3$, ppm) : 7.7-8.5(2xm, 4H, ArH), 4.7(m, 1H, H_c), 3.82(t, 1H, H_B), 3.88(s, 1H, H_A), 3.2(s, 3H, NMe), 1.72(d, 3H, Me).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

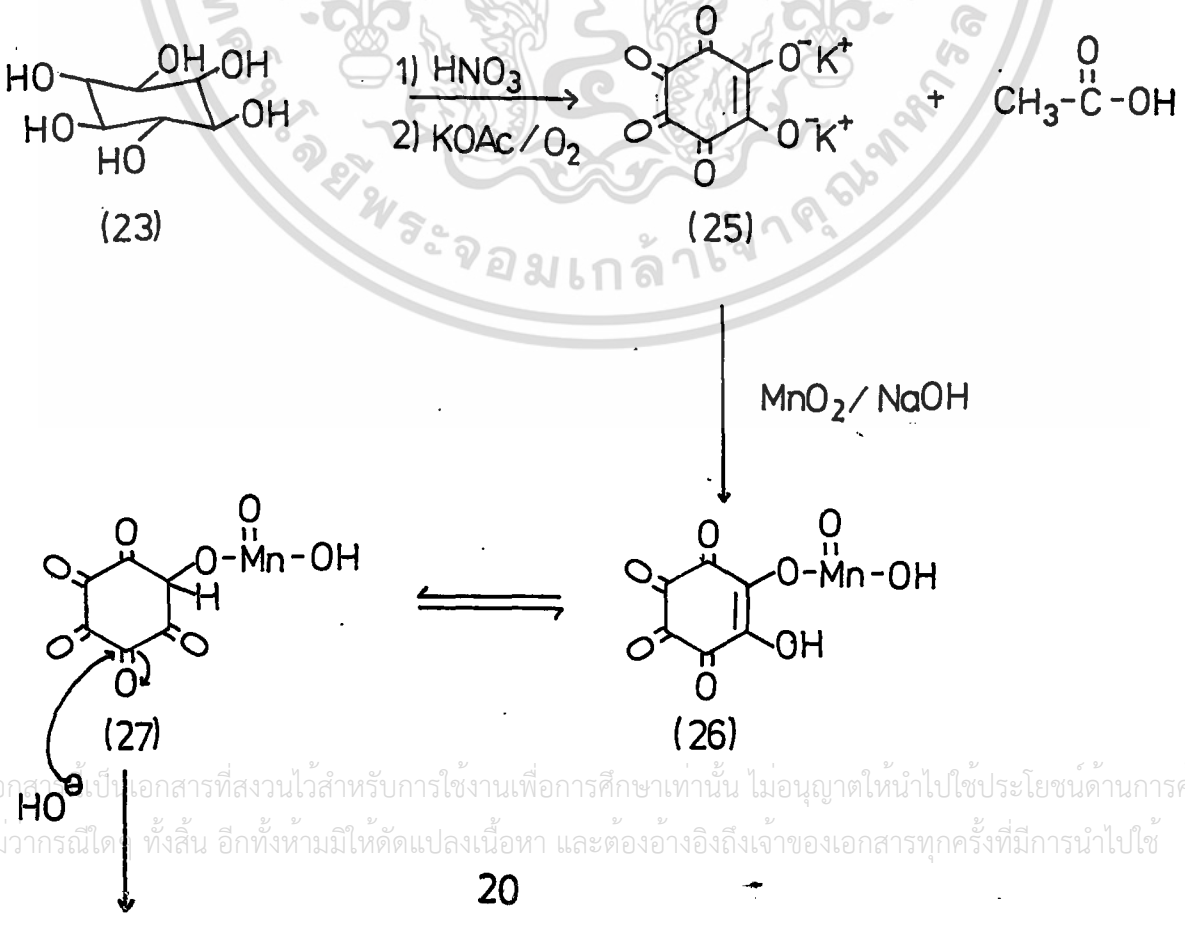
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการเตรียมคีโทน (22) เตรียมได้จากปฏิกิริยาระหว่างลิวโคนิคแอซิดเพนตะไฮเดรตและ 1,2 ไดอะมิโนเบนซินในอัตราส่วน 1:2 โดยใช้ 2-บิวทานอล เป็นตัวทำละลาย ดังแผนภาพที่ 5

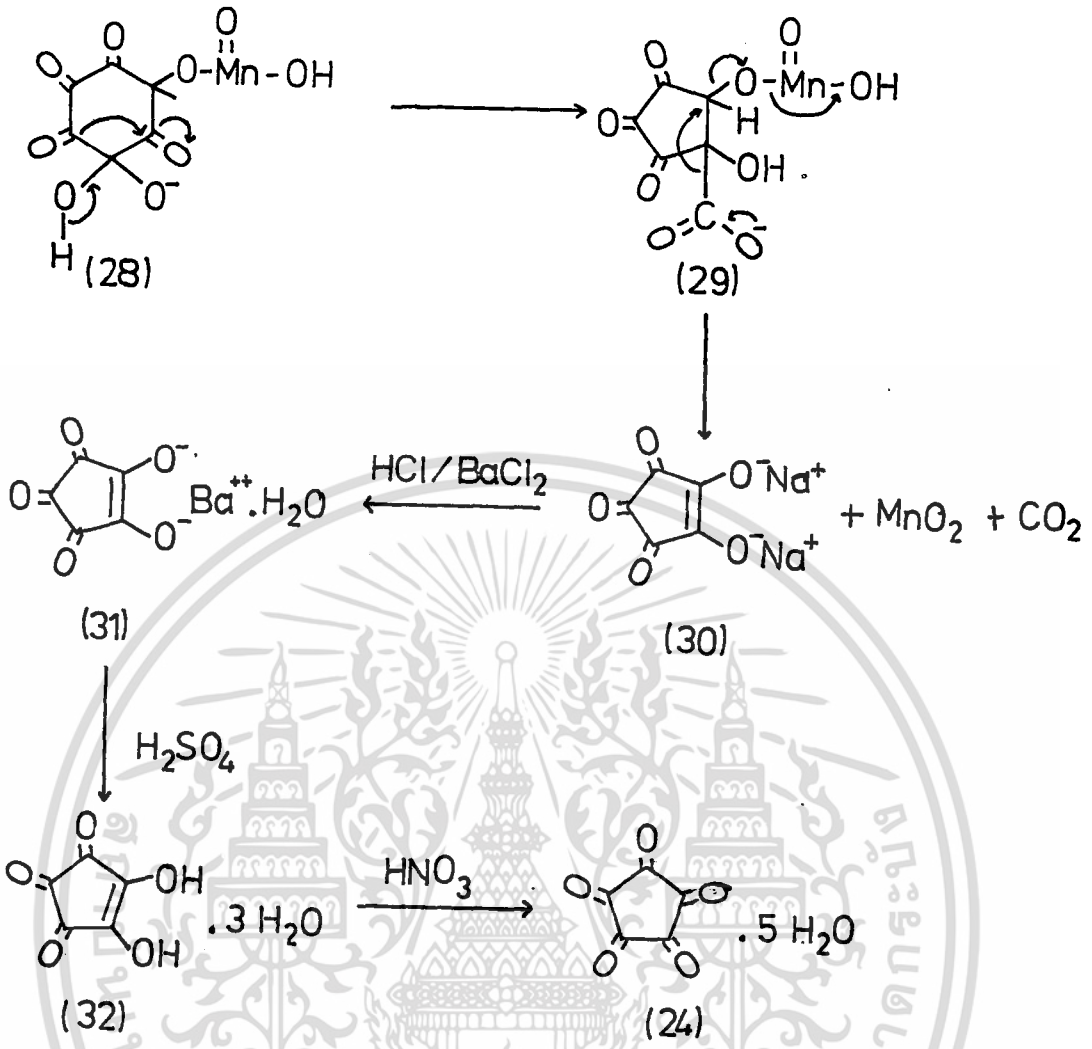


แผนภาพที่ 5

ในการทำโครงงานพิเศษนี้ได้เตรียมลิวโคนิคแอซิดเพนตะไฮเดรตขึ้นเอง โดยเตรียมจากไมโอ-อินโอซิทอล กลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในแผนภาพที่ 6



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



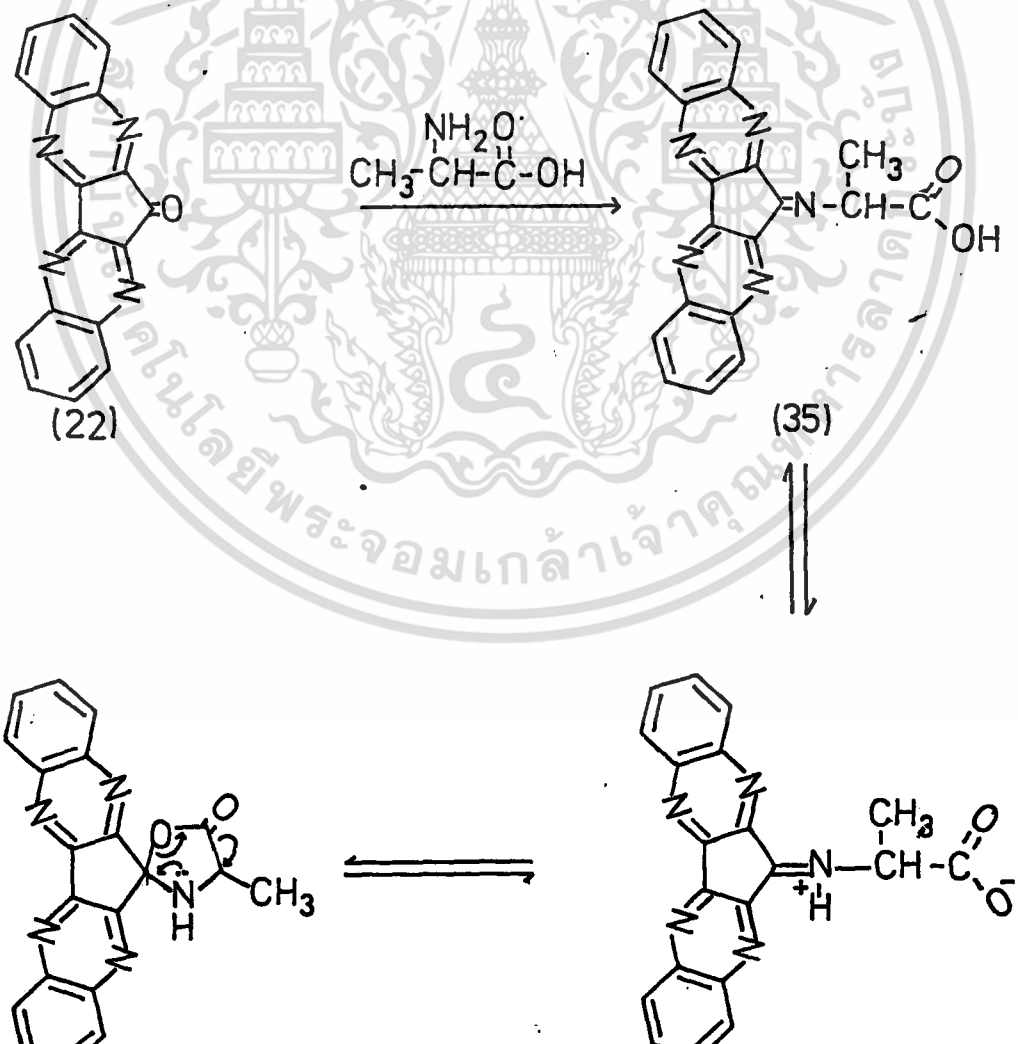
แผนภาพที่ 6

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ไมโอ-อินโอซิทอล (23) ด้วยกรดไนตริกและโพแทสเซียมอะซิเตดในบรรยากาศของออกซิเจนให้เกลือไดโพแทสเซียมโรไดโซเนต (25) และกรดอะซิติก จากนั้นไดโพแทสเซียมโรไดโซเนต(25)ถูกออกซิไดซ์ด้วยแมงกานีสไดออกไซด์ ในสภาวะเบสเกิดเป็นสารมัธยันตร์แมงกานีสเอสเทอร์(manganese ester interme diate , 26) เทาทอเมอไรส์ของ (26) ให้สารมัธยันตร์(27) ซึ่งจะเกิดการจัดเรียงตัวแบบเบนซิลิกแอซิด (benzilic acid-Type of rearrangement) โดยผ่านสารมัธยันตร์ (28)และ(29) ให้ไดโซเดียมโครโคเนต (30) คาร์บอนไดออกไซด์ และให้แมงกานีสไดออกไซด์กลับคืนมาซึ่งนำกลับไปใช้ใหม่ได้ โดยการนำไปเผาที่อุณหภูมิ 150

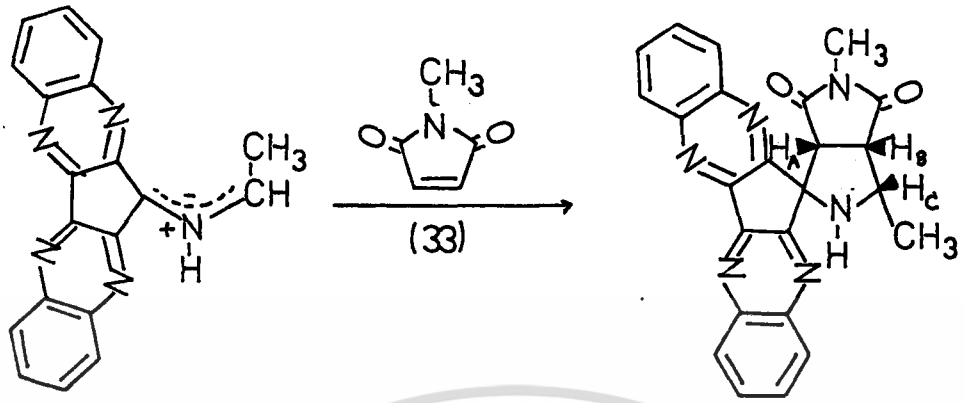
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 ชั่วโมง นำไดโซเดียมโครโคเนต (30) มาทำให้เป็นกลางโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นแล้วทำให้เป็นเกลือแบเรียมของกรดโครโคนิค โดยใช้แบเรียมคลอไรด์ ให้แบเรียมโครโคเนตโมโนไฮเดรต (31) ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ด้วยกรดซัลฟุริกเป็นโครโคนิคแอซิดไตรไฮเดรต(32)สุดท้าย ออกซิไดซ์โครโคนิคแอซิดไตรไฮเดรตด้วยกรดไนตริก ให้ลิวโคนิคแอซิดเพนตะไฮเดรต (24) ซึ่งเป็นสารสีขาว [λ_{max} 328 nm] ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 65

จากการศึกษาการเกิดปฏิกิริยา ไซโคลแอดดิชัน (cycoaddition) ระหว่างคีโทน (22) แอล-อะลานีน (L-alanine) และ เอ็น-เมทิลมาลีอิไมด์ (N-methyl maleimide,33) ใน 2-บิวทานอล ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าให้สารไซโคลแอดดัก (34) กลไกการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในแผนภาพที่ 7



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(38) (34)

แผนภาพที่ 7

คีโทน (22) ทำปฏิกิริยากับแอล-อะลานีน เกิดเป็นสารมัธยันตร์ ชิฟเบส(35) ชิฟเบสที่ได้เกิดปฏิกิริยาการสูญเสียคาร์บอนไดออกไซด์โดยเกิดผ่านสวิทเทอร์ไอออน (36) แล้วเกิดเป็นสารมัธยันตร์ ออกซาโซลิดีน-5-โอน (37) ในการเกิดปฏิกิริยาการสูญเสียคาร์บอนไดออกไซด์ของออกซาโซลิดีน-5-โอนนั้นเป็น1,3-ไดโพลลาร์ไซโคลรีเวอร์ชันชนิดสเตอริโอสเปคสิฟิก ให้ 1,3-ไดโพล (38)ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเอ็น-เมทิลมาลีอิไมด์(33) เป็น ไซโคลแอดดัก (34) ผลิตภัณฑ์ร้อยละ 30

สรุปได้ว่าปฏิกิริยาระหว่างกรดแอลฟาอะมิโน และคีโทน (22) เกิดผ่านสารมัธยันตร์ที่เป็น 1,3-ไดโพลซึ่งสามารถพิสูจน์ได้โดยการเกิดปฏิกิริยา 1,3-ไดโพลลาร์ไซโคลแอดดิชันได้ผลิตภัณฑ์เป็นไซโคลแอดดัก

คีโทนที่เตรียมได้ให้ผลในการตรวจสอบกรดอะมิโนไม่ดีเท่า DFO เนื่องจาก

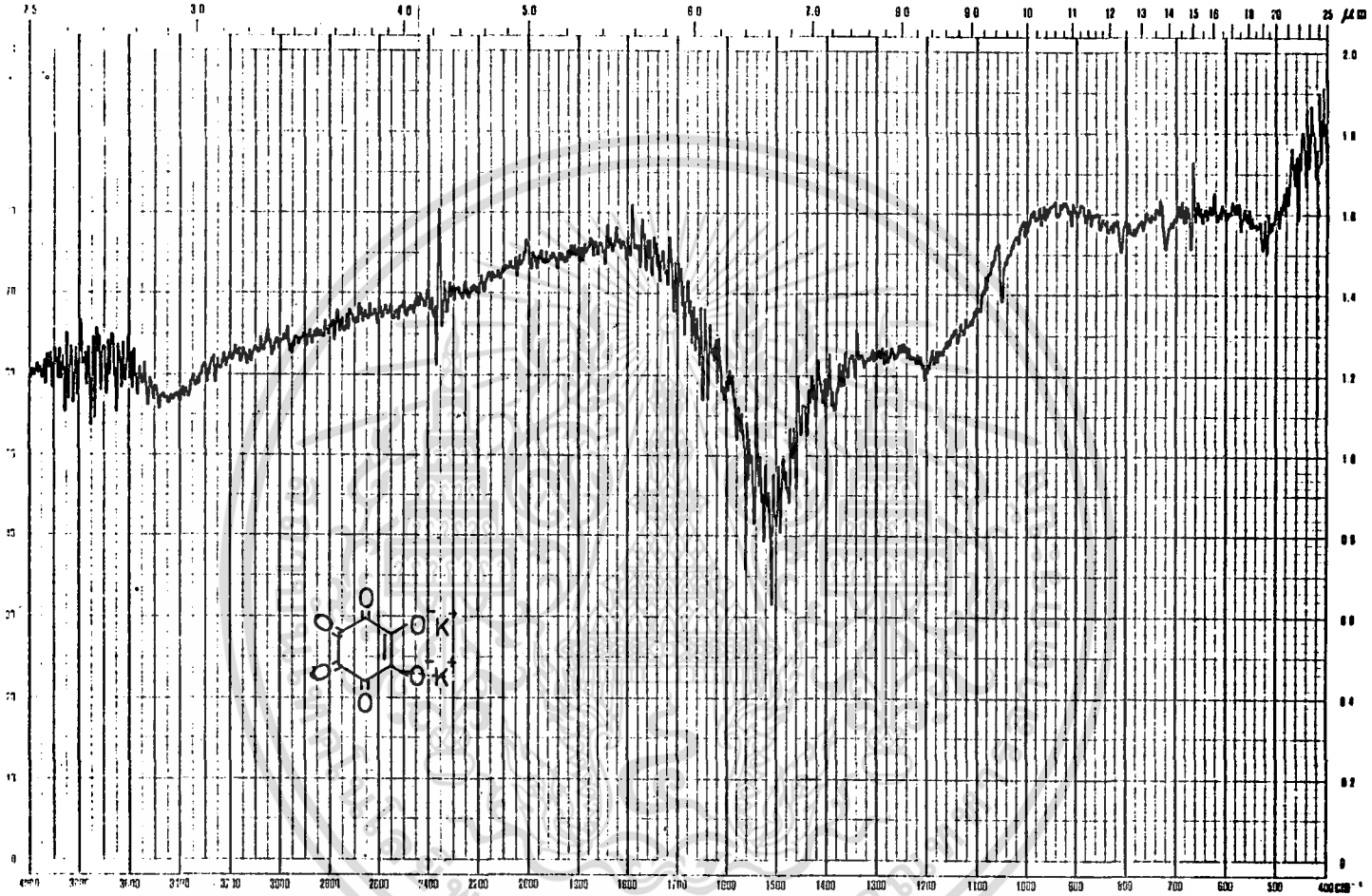
1.ความสามารถในการละลายของคีโทน ในอัลกอฮอล์ไม่ดีเท่า DFO

2.คีโทนทำปฏิกิริยากับกรดแอลฟาอะมิโนได้สารละลายสีเหลืองไม่มีการวาวแสง ความสามารถในการละลายของคีโตน ในอัลกอฮอล์ ละลายได้ไม่ดี

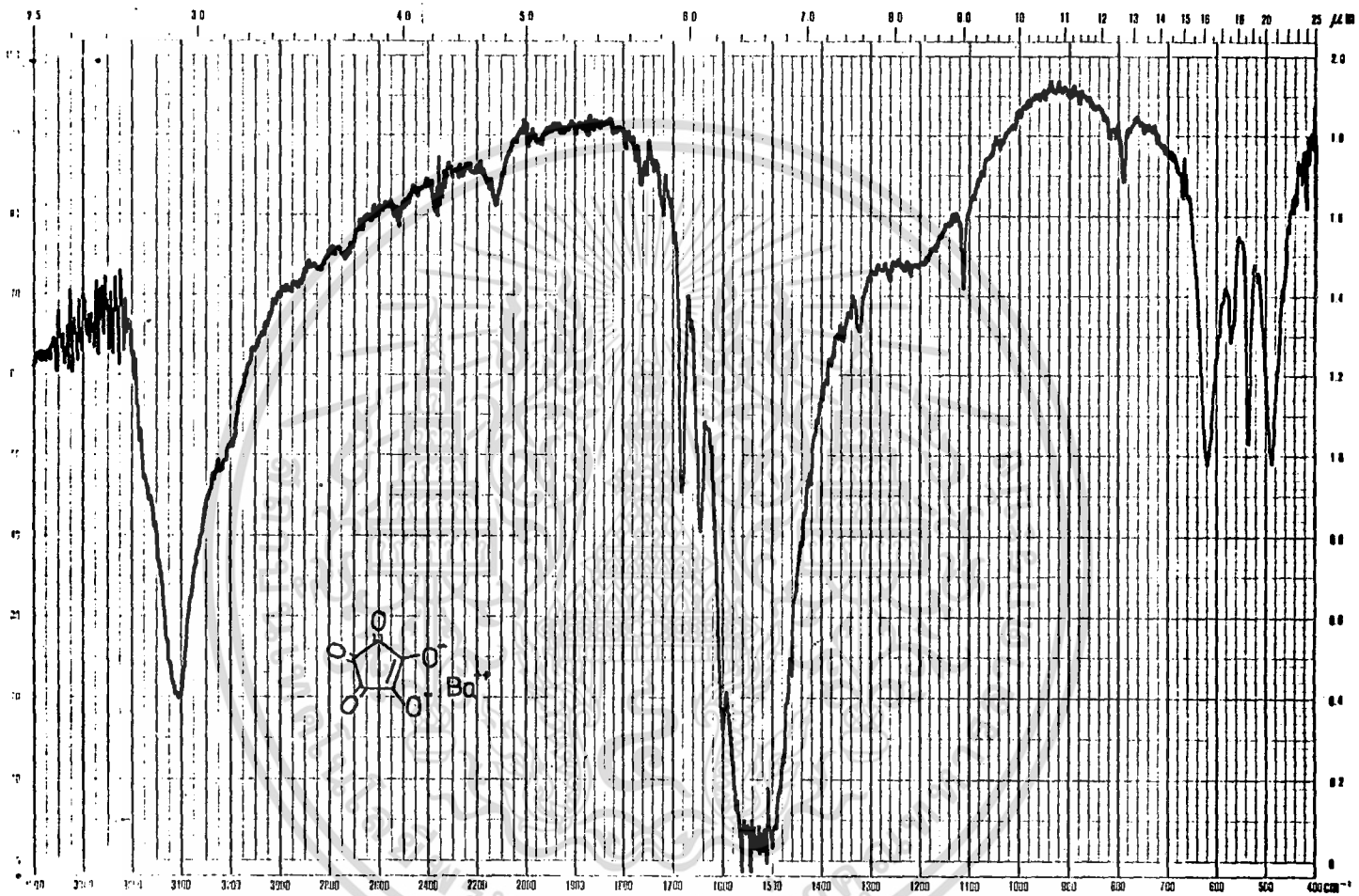
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

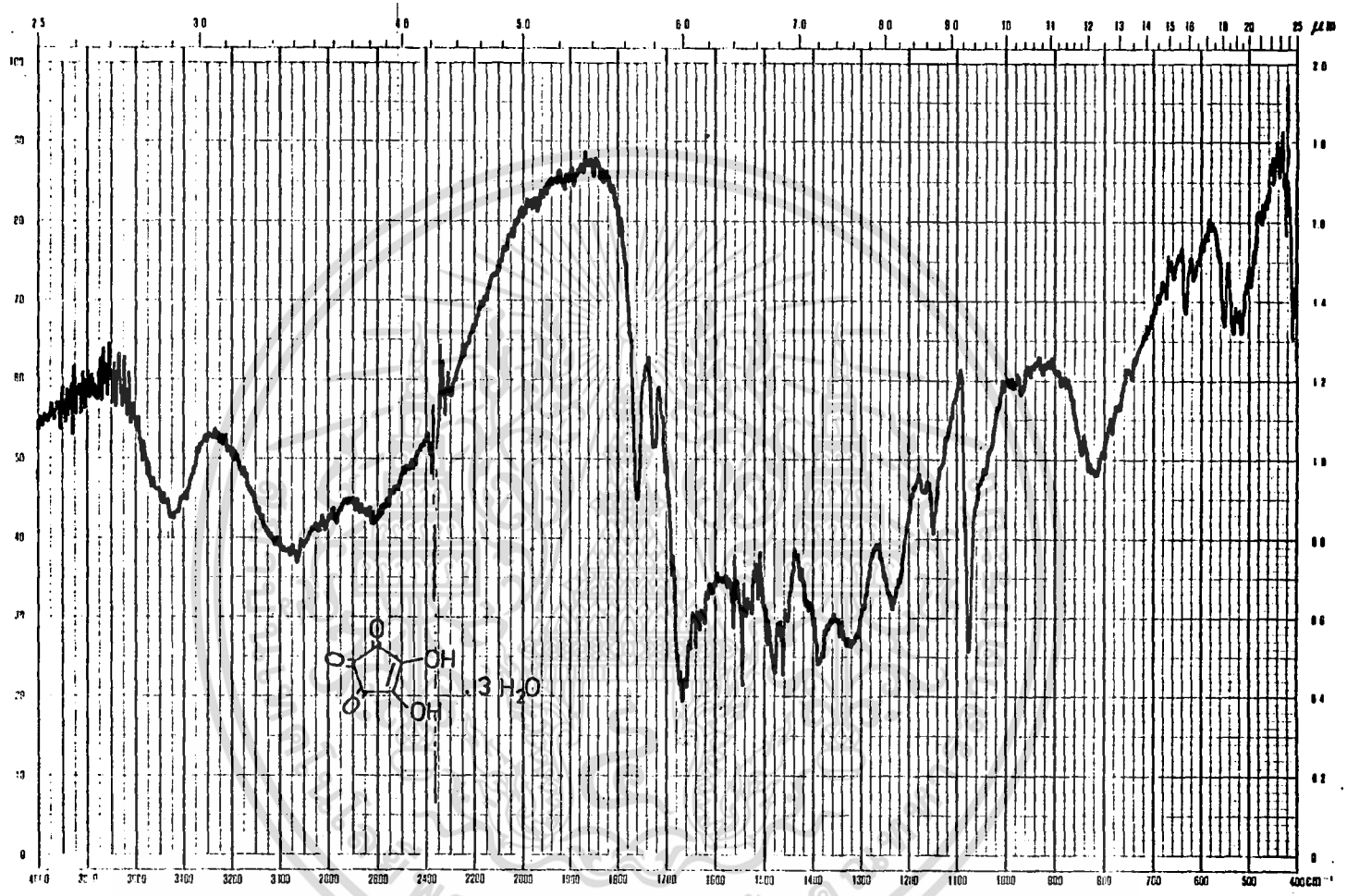
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



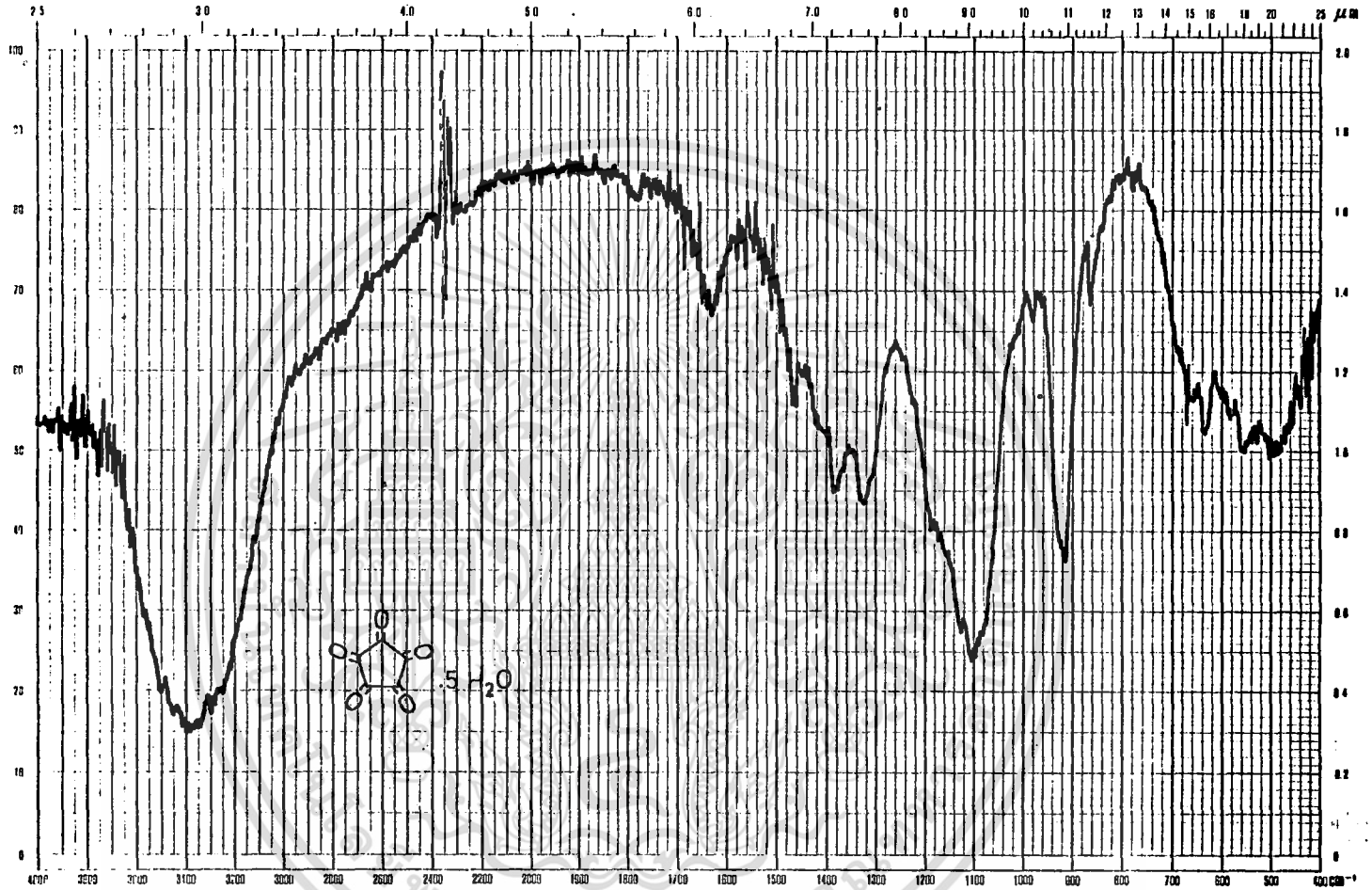
รูปที่ 1ก แสดงข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัมของ ไดโพแทสเซียมโรไดโซเนต(25)



รูปที่ 2ก แสดงข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัมของ แบเรียมโครโคเนตโมโนไฮเดรต(31)

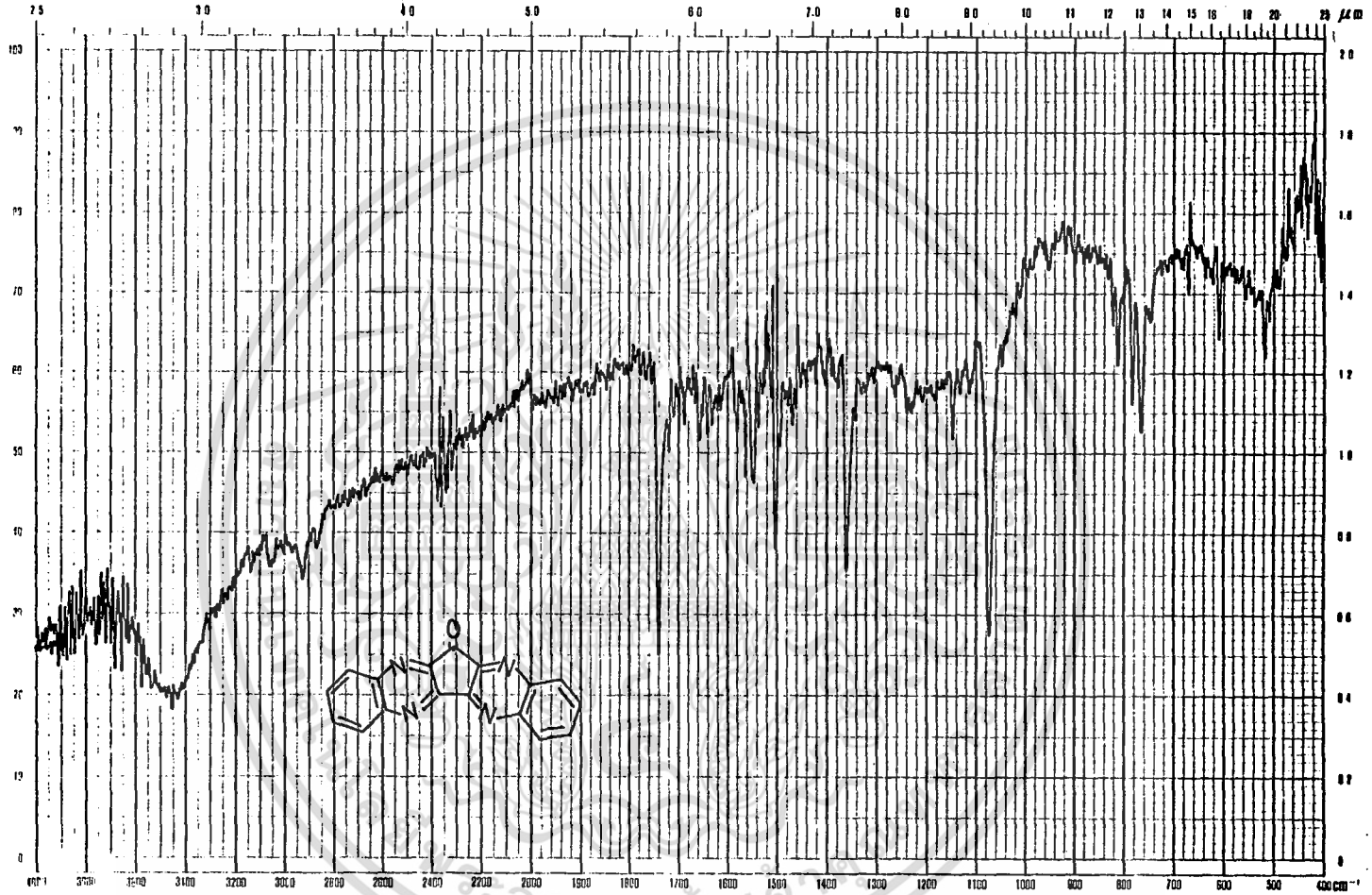


รูปที่ 3ก แสดงข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัมของ โครโคนิคแอซิดไดรไฮเดรต(32)

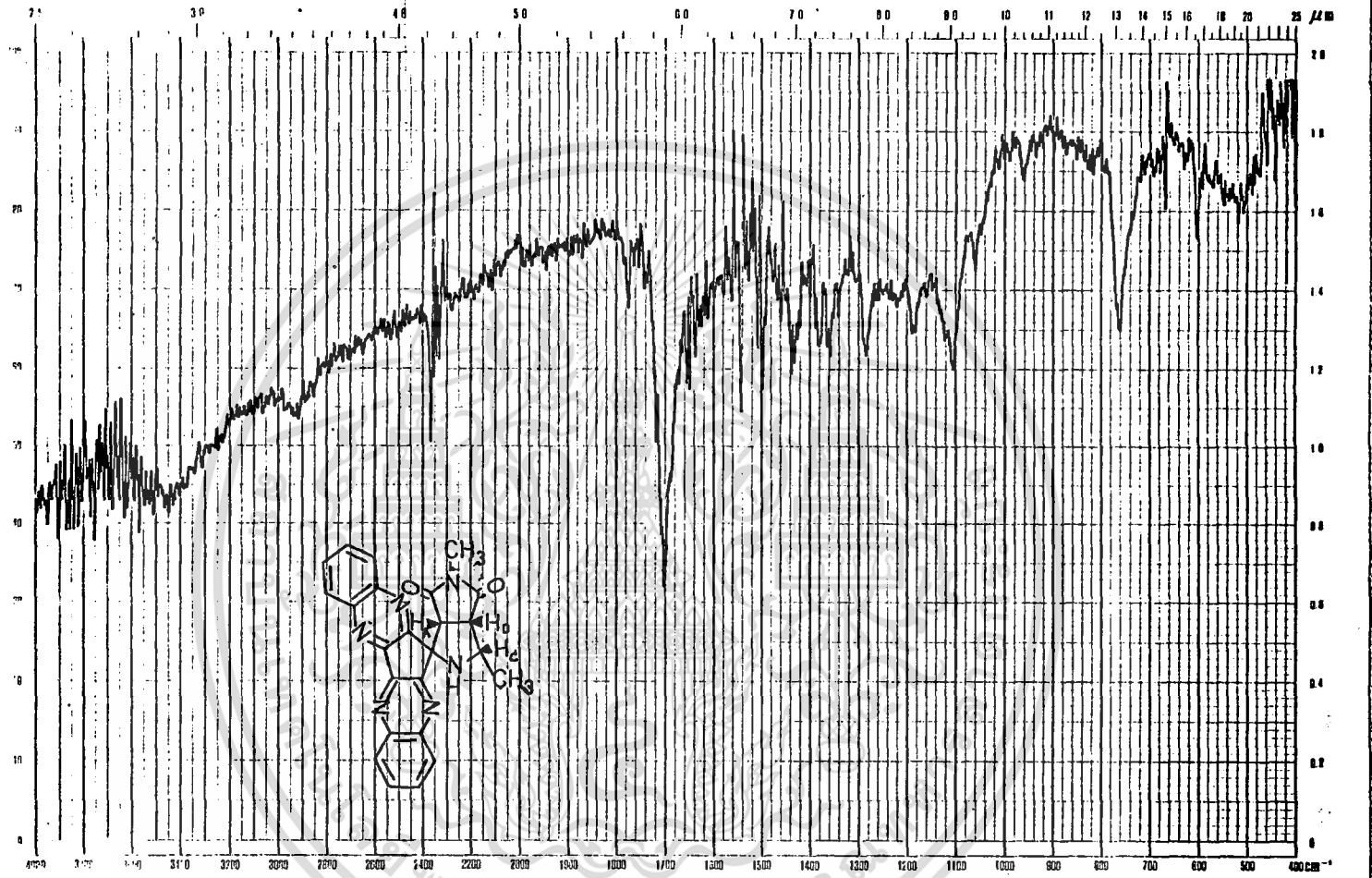


รูปที่ 4ก แสดงข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัมของ ลิวโคนิคแอซิด เมทะไฮเดรต(22)

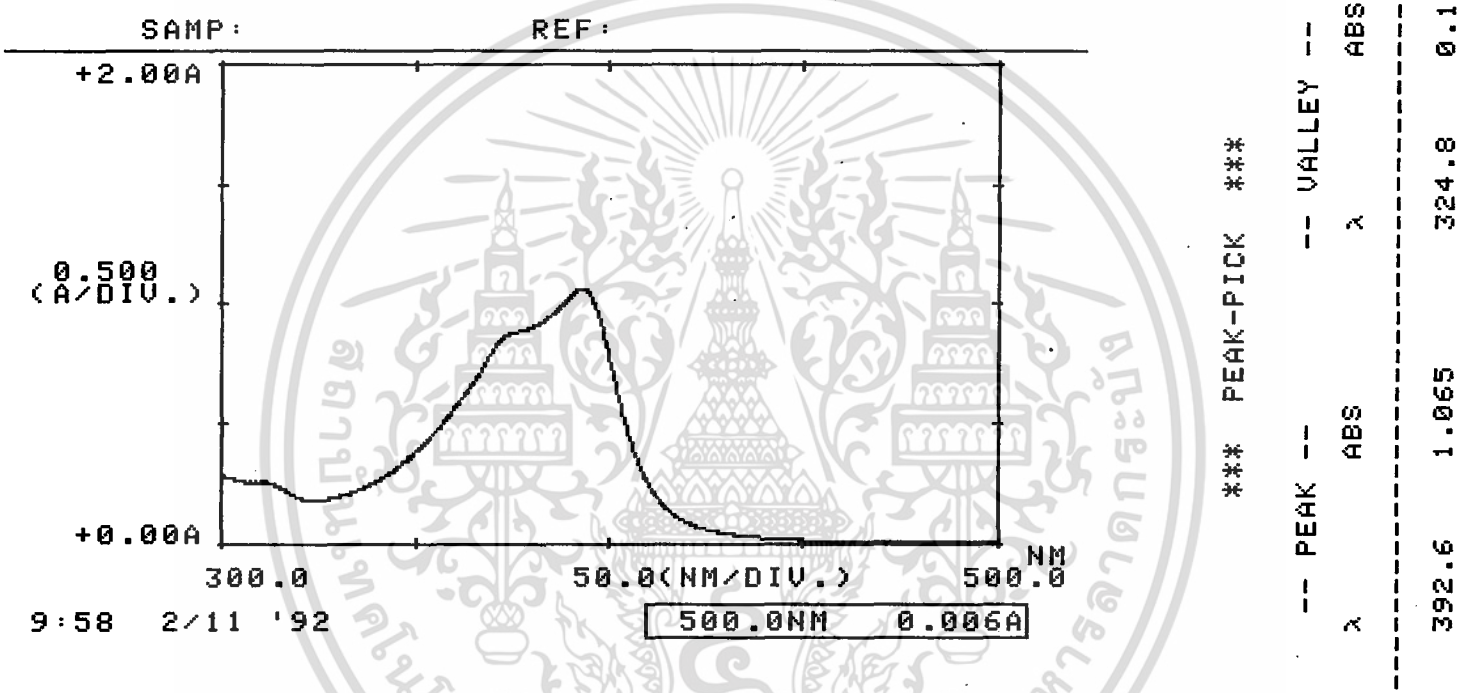
พระจอมเกล้าเจ้าคุณ



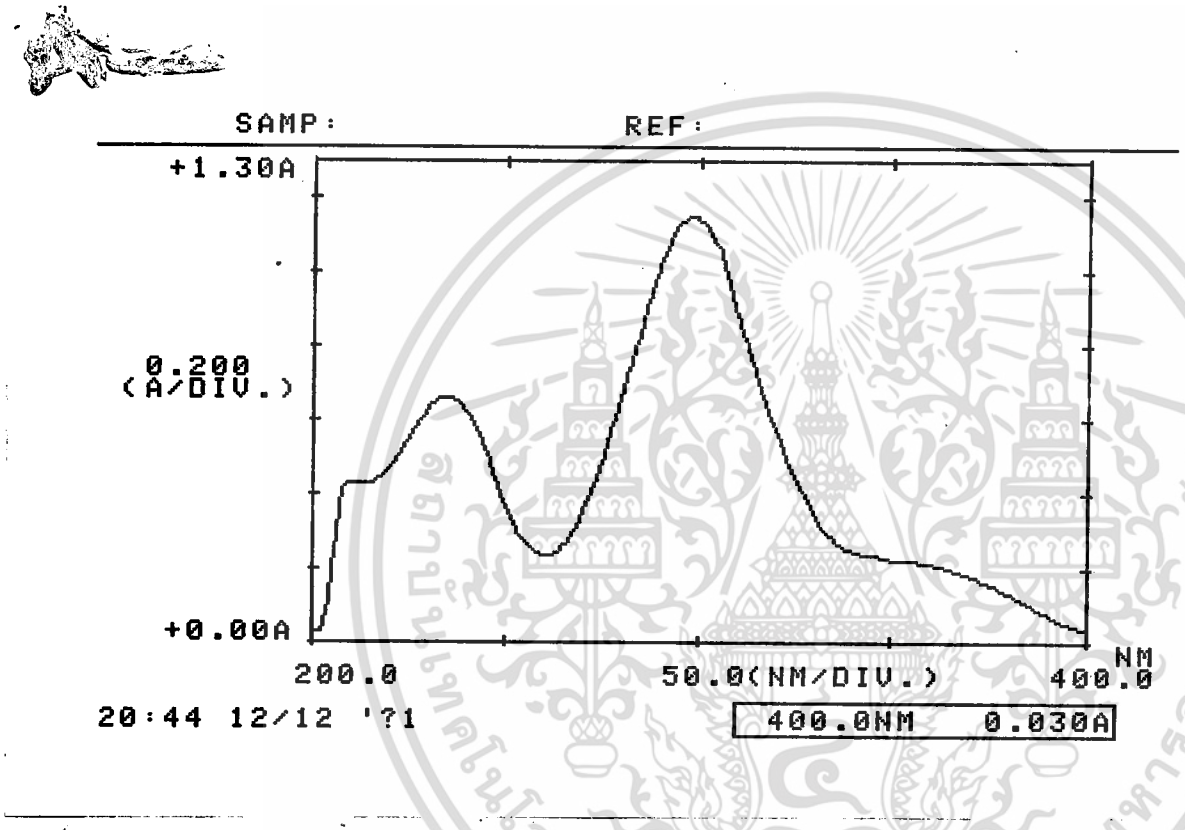
รูปที่ 5ก แสดงข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัมของ คีโทน(22)



รูปที่ 6ก แสดงข้อมูลอินฟราเรดสเปกตรัมของ ไซโคลแอดดัก(84)



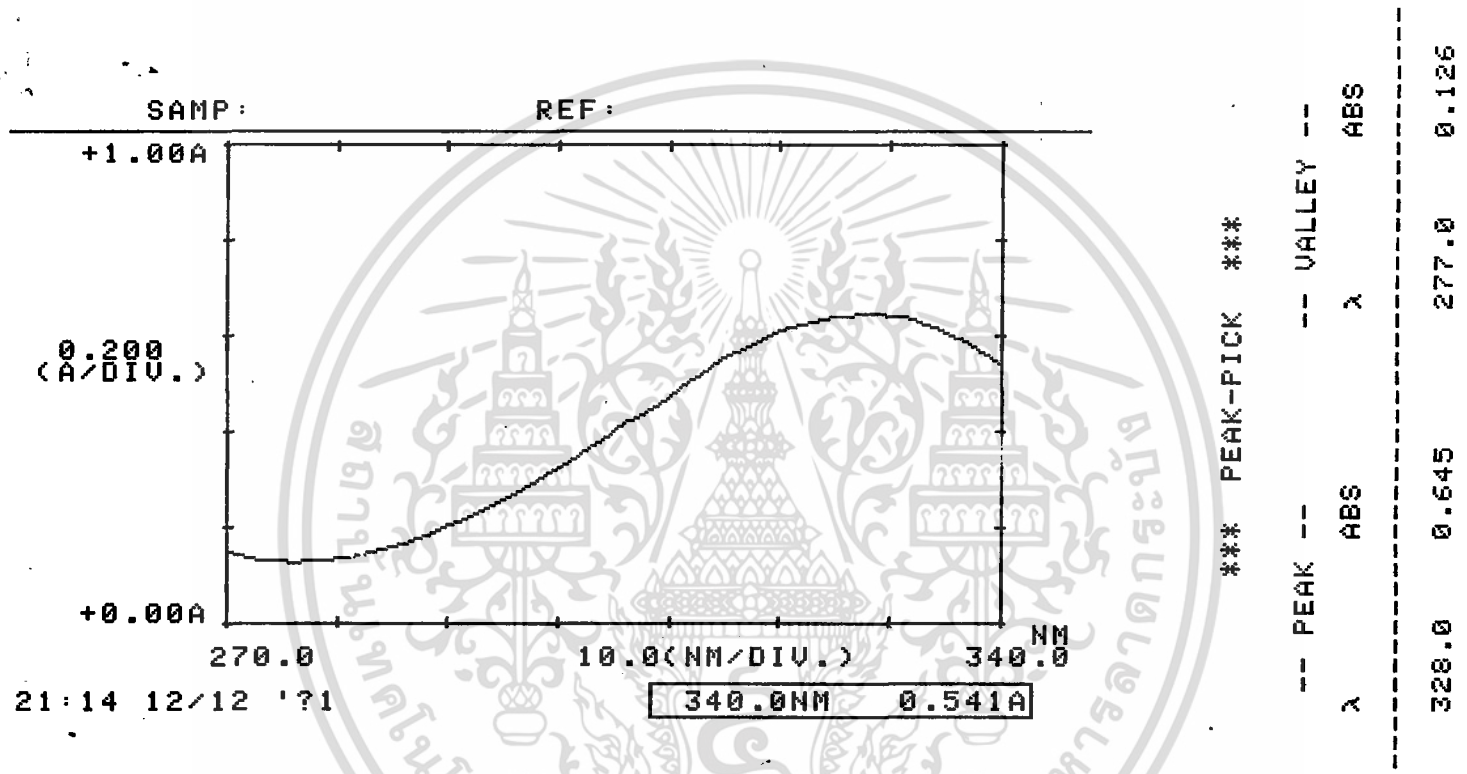
รูปที่ 1ข แสดงข้อมูลอัลตราไวโอเลตสเปกตรัมของ ไดโนแทสเซียมไรไดโอเนต(35)



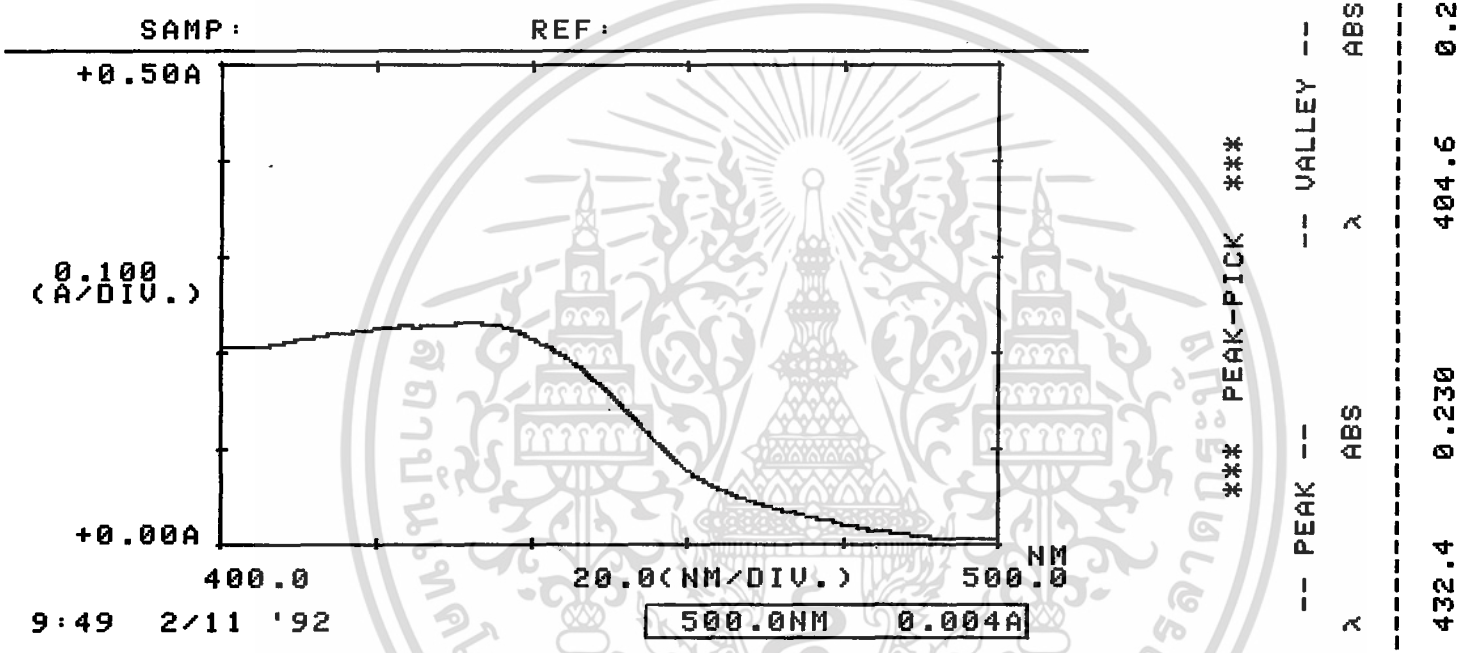
*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
298.0	1.152	261.0	0.236
235.0	0.661		

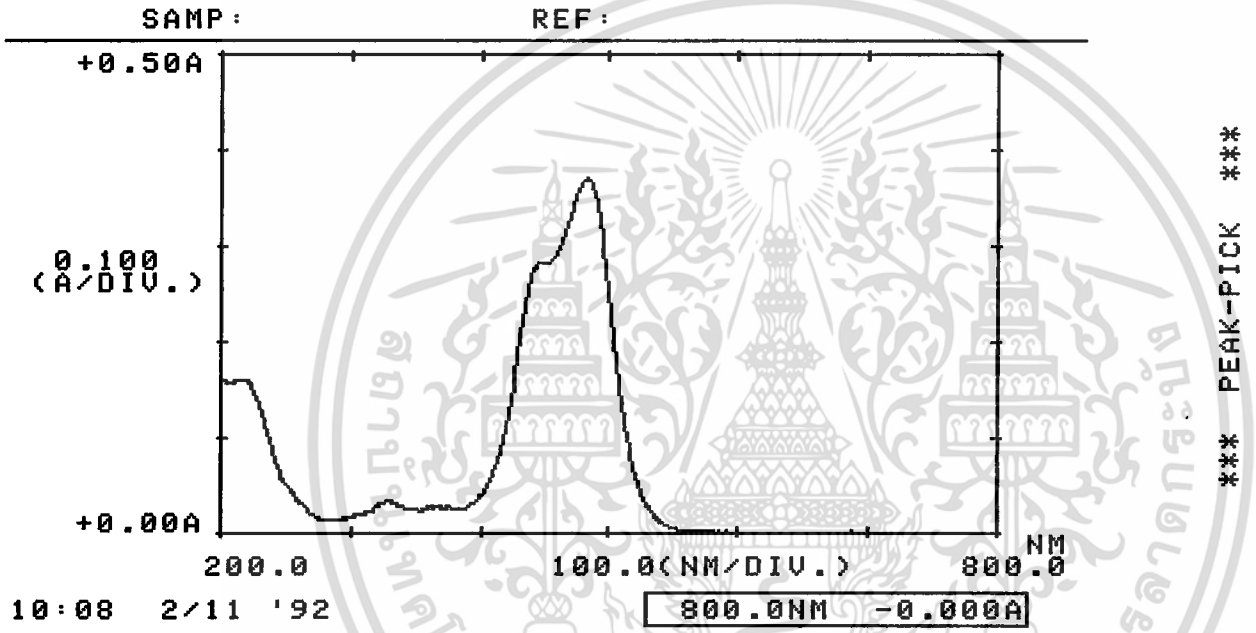
รูปที่ 3ข แสดงข้อมูลอัลตราไวโอเลตสเปกตรัมของ โครโคนิคแอซิดไตรไฮเดรต(32)



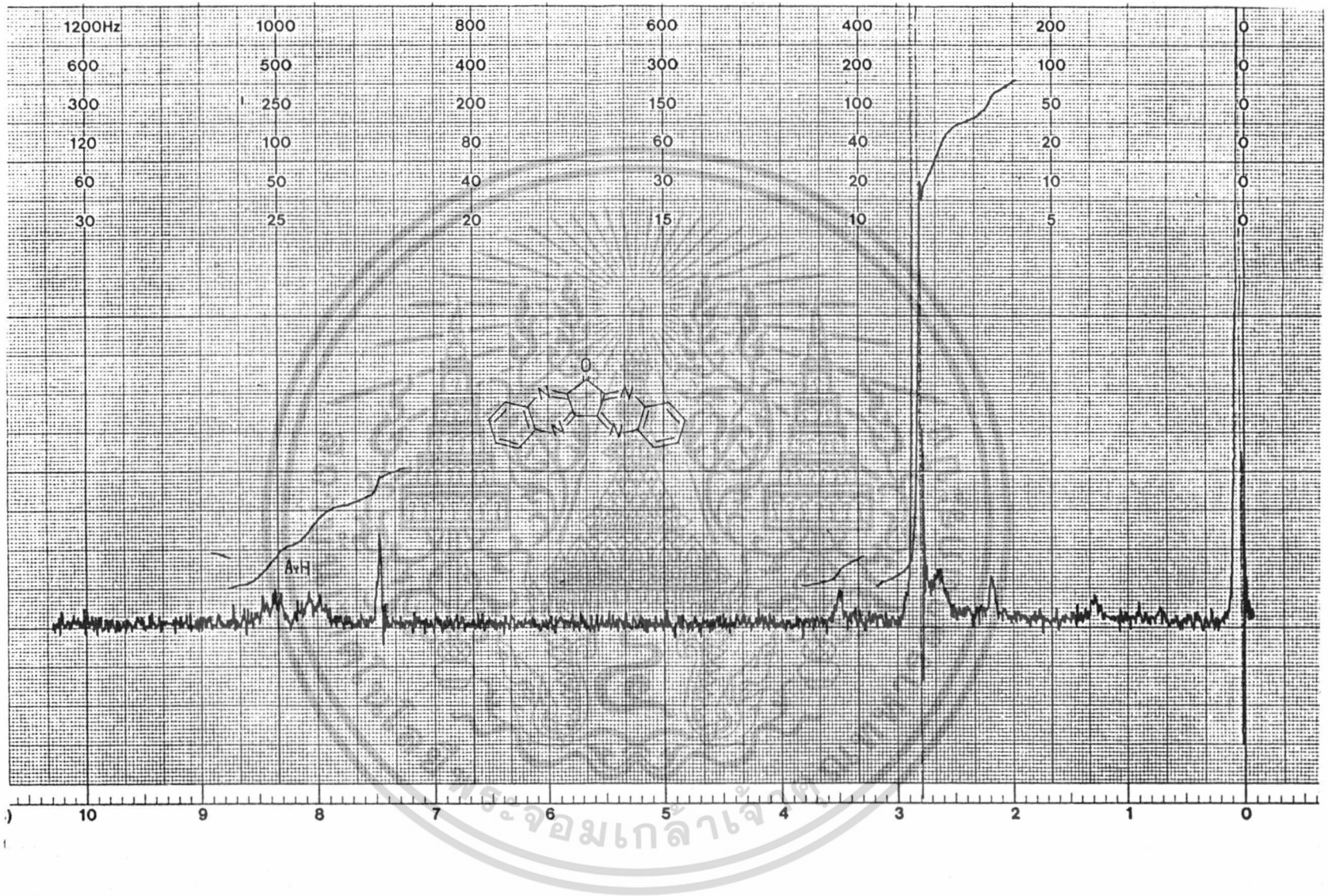
รูปที่ 4ข แสดงข้อมูลอัลตราไวโอเลตสเปกตรัมของ ลิวโคนิคแอซิดเพนตะไฮเดรต(24)



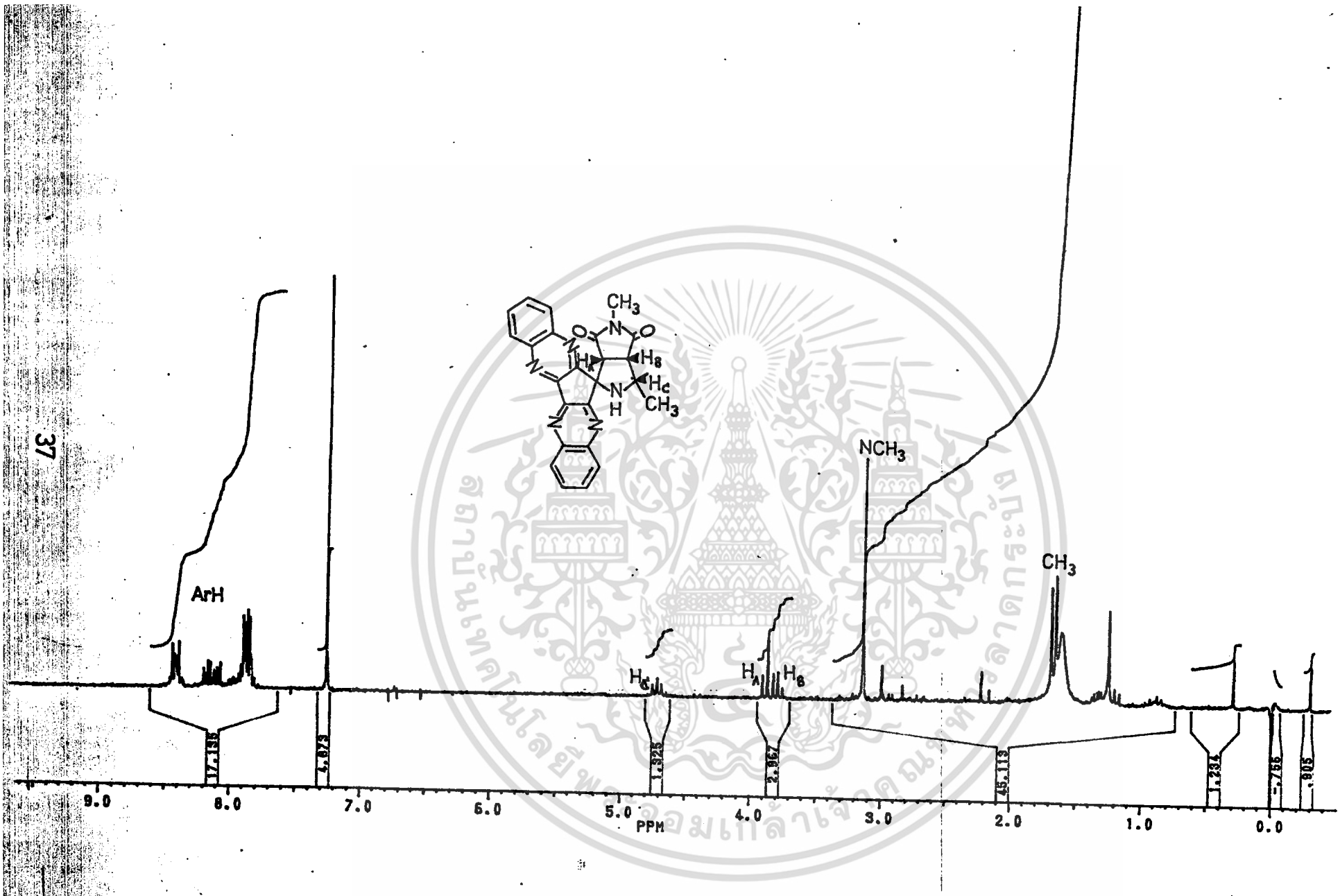
รูปที่ 5ข แสดงข้อมูลอัลตราไวโอเลตสเปกตรัมของ ตีโทน(22)



รูปที่ 6ข แสดงข้อมูลอัลตราไวโอเลตสเปกตรัมของ ไซโคลแอดดัก(34)



รูปที่ 5ค แสดงข้อมูลนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ ดีโทน(22)



รูปที่ 6ค แสดงข้อมูลนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ ไซโคลแอดดัก(34)

เอกสารอ้างอิง

1. Rosenthal, G.A. "Colorimetric and Fluorimetric Detection of Amino Acids" Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids pp. 573-575, J.W.Arrowsmith , Great Britain , 1985

2. Chnstopher James Lennard. "New Amino Acids Specific Fingerprint Reagents" Ph.D. Thesis , Department of Chemistry , Australi National University , 1986

3. Almog.J.,"Reagent for Chemistry Development of Latent Fingerprint; Vicinal Triketones-their Reaction with Amino Acids with Latent-Fingerprint on Paper "J.Forensic,Sci., Vol.32, No.6, Nov.1987, pp. 1565-1573

4. Mongkolaussavaratana , T, "New Reagent for the Detection of Amino Acids" Ph.D. Thesis , Queen's University of belfast, 1989

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า