

การศึกษาเบื้องต้นสำหรับการหาปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อน
ระหว่างออกโซวานาเดียม (IV) กับกรด 1-ไฮดรอกซี-2-ไพริดีโนน-6-คาร์บอกซิลิก
ในสารละลายกรดอะซิติกโดยวิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตริก
Preliminary Study on Stoichiometric Determination of The Complex Ion
between Oxovanadium (IV) and 1-Hydroxy-2-Pyridinone-6-Carboxylic Acid
in Acetic Acid Solution Using Spectrophotometric Methods

สมศักดิ์ ศิริไชย¹ ไมโค ซีกเลอร์² และ ขจัดภัย ทิพย์ผ่อง³
Somsak Sirichai¹ Maiko Ziegler² and Khajadpai Thipyapong³

Received : May 20, 2021

Revised : June 13, 2021

Accepted : June 24, 2021

บทคัดย่อ

การหาปริมาณสัมพันธ์และการศึกษาความเป็นไปได้ในการเกิดไอออนเชิงซ้อนระหว่างออกโซวานาเดียม (IV) กับกรด 1-ไฮดรอกซี-2-ไพริดีโนน-6-คาร์บอกซิลิก (1,2-HOPO-6-carboxylic acid) ในสารละลายกรดอะซิติก 0.5 โมลาร์ ด้วยวิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตริกเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการพัฒนาเป็นอินซูลินเทียมชนิดใหม่ พบว่า ลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid เกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนกับออกโซวานาเดียม (IV) ไอออนได้สารละลายสีเหลืองอมเขียว ปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อนประเมินโดยวิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตริก 3 วิธี ได้แก่ วิธีความแปรผันต่อเนื่อง วิธีอัตราส่วนโมล และวิธีอัตราส่วนความชัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนปริมาณสัมพันธ์ของไอออนโลหะต่อลิแกนด์ในไอออนเชิงซ้อนนี้เท่ากับ 1:2

คำสำคัญ: ปริมาณสัมพันธ์ ไอออนเชิงซ้อน ออกโซวานาเดียม (IV) กรด 1-ไฮดรอกซี-2-ไพริดีโนน-6-คาร์บอกซิลิก
วิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตริก

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University
E-Mail: sirichai@go.buu.ac.th

² ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University
E-Mail: maiko.z@hotmail.com

³ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University
E-Mail: khajadpa@go.buu.ac.th

Abstract

Stoichiometry and feasibility study of complex ion between oxovanadium (IV) and 1-hydroxy-2-pyridinone-6-carboxylic acid (1,2-HOPO-6-carboxylic acid) in 0.5 M acetic acid was determined by spectrophotometric methods to use as preliminary information for development of a new insulin-mimetic compound. It was found that 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ligand coordinated to oxovanadium (IV) ion resulting in a greenish yellow solution. Stoichiometric ratio of the complex ion was estimated using 3 spectrophotometric methods, namely continuous variation, mole ratio and slope ratio methods. Experimental results showed that the stoichiometric ratio of metal ion and ligand in the complex ion was 1:2.

Keywords: Stoichiometry, Complex ion, Oxovanadium (IV), 1-hydroxy-2-pyridinone-6-carboxylic acid, Spectrophotometric methods

1. บทนำ

ธาตุวานาเดียมเป็นโลหะทรานซิชันมีเลขออกซิเดชันได้ตั้งแต่ +2 ถึง +5 วานาเดียมนอกจากนำมาใช้ประโยชน์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการทางอุตสาหกรรมแล้วยังเป็นธาตุที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตในกระบวนการฟอสโฟไรเลชันของเอนไซม์ [1] โดยมีแหล่งที่มาจากธรรมชาติ เช่น ปลา มะกอก เมล็ดธัญพืชต่าง ๆ ที่ไม่ขัดสี และพบว่ามีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้เกลือวานาดีลซัลเฟต (Vanadyl Sulfate) เพื่อออกฤทธิ์เลียนแบบฮอร์โมนอินซูลินได้ในการรักษาโรคเบาหวาน [2] แต่ข้อควรระวังคือ วานาเดียมอาจทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงเร็วเกินไป ซึ่งทำให้เกิดปัญหาตามมา สารประกอบของวานาเดียมเมื่อเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากอาจก่อให้เกิดโรคได้ ฤทธิ์ก่อโรคที่สำคัญที่สุดเกิดจากการระคายเคืองเยื่อเป็นหลัก เช่น เยื่อบุตา และเยื่อบุทางเดินหายใจ นอกจากนี้ยังดูดซึมเข้าไปสะสมในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการพัฒนาอินซูลินเทียมชนิดใหม่

2.2 ศึกษาความเป็นไปได้ในการเกิดไอออนเชิงซ้อนของ VO^{2+} ไอออนกับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid จากปริมาณสัมพันธ์ภายในโครงสร้างของไอออนเชิงซ้อนโดยการเปรียบเทียบผลจากวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี 3 วิธี ได้แก่ วิธีความแปรผันต่อเนื่อง วิธีอัตราส่วนโดยโมล และวิธีอัตราส่วนความเข้มข้น

3. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยในช่วงสองทศวรรษที่ผ่านมาได้เตรียมเกลือวานาดีลซัลเฟตเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชันหรือไอออนเชิงซ้อนกับลิแกนด์หลายชนิดแล้วพบว่าไอออนเชิงซ้อนของวานาดีลออกฤทธิ์เป็นอินซูลินเทียมได้ เช่น bis(maltolato)oxovanadium(IV) [3] bis(kojato)oxovanadium(IV) [3,4] bis(picolinato) oxovanadium(IV) [5] และ bis(acetylacetonato) oxovanadium(IV) [6] ไอออนเชิงซ้อนเหล่านี้ออกฤทธิ์ได้ยาวนานกว่าวานาดีลซัลเฟต เนื่องจากไอออนเชิงซ้อนมีขั้วน้อยกว่าวานาดีลไอออนจึงดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่าไอออนวานาดีลอิสระ โดยสารประกอบนี้เข้าสู่เซลล์เป้าหมายโดยการรับประทานแล้วผ่านไปยังระบบย่อยอาหารเมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดแล้วกระจายตัวไปถึงอวัยวะเป้าหมายจึงปลดปล่อยวานาดีลไอออนโดยการสลายตัวอย่างช้าๆ การใช้อินซูลินเทียมแบบรับประทานนี้มีข้อดีคือสะดวกและปลอดภัยจากการติดเชื้อมากกว่าวิธีฉีดอินซูลินแบบดั้งเดิม และเหมาะกับผู้ป่วยเดินทางไกลต้องใช้เวลานาน เช่น ผู้เดินทางทางเรือ ขาวประมง หรือผู้ป่วยเบาหวานทั่วไป ตามที่สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยฯ รายงานการพบผู้ป่วยเบาหวาน 3.5 ล้านคนในประเทศไทย และมีมูลค่าการรักษา 47,596 ล้านบาทต่อปี [7] การพัฒนาอินซูลินเทียมจึงเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานและช่วยในการประหยัดงบประมาณในการดูแลผู้ป่วยเหล่านี้

วานาเดียมที่มีเลขออกซิเดชัน +4 หรือออกโซวานาเดียม (IV) ไอออน และ +5 หรือวานาเดต (V) ไอออน เกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนได้กับแอนไอออนิกลิแกนด์ที่มีออกซิเจนเป็นอะตอมผู้ให้อิเล็กตรอน จากหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิเลต [8] ไฮดรอกซามेट [9] ฟีนอลเลท ฟอสเฟต [10] ฟอสโฟเนต [11] และแคทีคอลเลต [12,13] ส่วนลิแกนด์ที่มีอะตอมผู้ให้อิเล็กตรอนเป็นไนโตรเจนและซัลเฟอร์นั้น มีความเสถียรน้อยกว่าลิแกนด์ที่มีออกซิเจนเป็นอะตอมผู้ให้อิเล็กตรอน แต่กรดพิโคลินิกหรือกรดไพริดีน-2-คาร์บอกซิลิก ที่มีหมู่ฟังก์ชันของคาร์บอกซิลิกและไนโตรเจนของไพริดีน เกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนได้ดีกับออกโซวานาเดียม (IV) ไอออน หรือ VO^{2+} ไอออน เนื่องจากเกิดวงคีเลตที่ตำแหน่งอะตอมของไนโตรเจนและออกซิเจนได้ไอออนเชิงซ้อนที่เสถียร [14-15] เร็วๆ นี้มีการศึกษาโครงสร้างของไอออนเชิงซ้อนที่เตรียมได้จาก VO^{2+} ไอออน กับลิแกนด์ที่เป็นอะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต โดยมีการทำนายโครงสร้างว่าลิแกนด์อะดีโนซีนโมโนฟอสเฟตเกิดเป็นวงคีเลตแบบสี่เหลี่ยมที่มีอะตอมของออกซิเจนในหมู่ฟอสเฟตเป็นอะตอมผู้ให้อิเล็กตรอน จากการใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงและหายาก เช่น เทอร์โมกราวิเมตริก (TGA) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (TEM) และแบบการสแกน (SEM) เป็นต้น [16] แต่ก่อนหน้านี้มีการพิสูจน์โครงสร้างของไอออนเชิงซ้อนที่เตรียมจากไดออกโซวานาเดียม (V) กับไตรเดนเตตลิแกนด์ของไพราโซโลนหลายชนิด นอกจากการพิสูจน์โครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีแล้วยังมีการนำการคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์มาช่วยในการทำนายโครงสร้างที่เป็นไอโซเมอร์ของสารประกอบได้ละเอียดมากยิ่งขึ้นด้วย [17] ข้อมูลสำคัญในการสร้างแบบจำลองคอมพิวเตอร์คือปริมาณสัมพันธ์ของ VO^{2+} ไอออนกับลิแกนด์ที่รวมกันเป็นไอออนเชิงซ้อน โครงสร้างที่ทำนายได้จากการคำนวณทางคอมพิวเตอร์นั้นสามารถให้ข้อมูลในการคัดเลือกโมเลกุลหรือไอโซเมอร์ที่มีฤทธิ์ทางยาได้ เช่น ค่าความมีขั้วของโมเลกุลบอกถึงความสามารถในการละลายของยาในตัวทำละลายน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ ค่าคงที่สมดุลหรือค่าคงที่ความเสถียรทางเทอร์โมไดนามิกใช้บอกถึงความเสถียรของตัวยานั้น

ข้อมูลจากการคำนวณด้วยคอมพิวเตอร์ยังนำไปใช้ในการออกแบบการสังเคราะห์โมเลกุลหรือไอโซเมอร์ที่ต้องการได้ [18]

สารกลุ่มกรดไพริดีนคาร์บอกซิลิกและอนุพันธ์เป็นที่สนใจของนักเคมียา เนื่องจากสมบัติทางยาที่หลากหลาย และสังเคราะห์เป็นอนุพันธ์อื่นได้เป็นจำนวนมาก [14] ลิแกนด์กรด 1-ไฮดรอกซี-2-ไพริดิโนน-6-คาร์บอกซิลิก (1-hydroxy-2-pyridinone-6-carboxylic acid; 1,2-HOPO-6-carboxylic acid) เป็นอนุพันธ์ของกรดไพริดีนคาร์บอกซิลิกที่มีออกซิเจนเป็นอะตอมผู้ให้อิเล็กตรอนและเกิดเป็นวงคีเลตได้ [21] น่าจะเกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนกับวานาเดียม (IV) ในรูปฟอร์ม VO^{2+} ไอออนที่นำไปใช้เป็นอินซูลินเทียมได้ การวิจัยเริ่มต้นโดยการหาปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อน ซึ่งอาจหาได้จากโครงสร้างผลึกและวิธีทางสเปกโทรสโกปี เช่น แมสสเปกโทรสโกปี และยูวี - วิสเบิลสเปกโทรสโกปี ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและใช้เครื่องมือราคาถูกลงและมีใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป วิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตริกที่นิยมมี 3 วิธี [19,20] ดังนี้ วิธีที่ 1: วิธีความแปรผันต่อเนื่อง (Job's Method) วิธีนี้ Job เป็นผู้นำมาใช้ ภายหลังได้ปรับปรุงให้ดีขึ้นโดย Vosburgh และ Cooper ซึ่งใช้ได้กับการหาปริมาณสัมพันธ์ของสารที่เข้าทำปฏิกิริยากัน และเหมาะสมในการหาปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อนที่มีอัตราส่วนระหว่างโลหะกับลิแกนด์ต่าง ๆ ที่สถานะสมดุล วิธีที่ 2: วิธีอัตราส่วนโดยโมล (Mole - Ratio Method) วิธีนี้ได้พัฒนาขึ้นโดย Yoe และ Jones เป็นวิธีที่สามารถใช้ทดแทนหรือใช้ร่วมกับวิธีความแปรผันต่อเนื่อง เพื่อยืนยันปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อน และวิธีที่ 3: วิธีอัตราส่วนความชัน (Slope - Ratio Method) วิธีนี้ Harvey และ Manning เป็นผู้เสนอขึ้นมาใช้ในปี ค.ศ.1950 เป็นวิธีที่เหมาะสมในการศึกษาไอออนเชิงซ้อนที่มีความเสถียรต่ำและเป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดไอออนเชิงซ้อนเพียงชนิดเดียว โดยถือว่าถ้าใช้ลิแกนด์หรือไอออนโลหะมากเกินไป ไอออนเชิงซ้อนเกิดได้สมบูรณ์และการดูดกลืนแสงเป็นไปตามกฎของเบียร์ (Beer's Law) ในปฏิกิริยาที่มีผลิตภัณฑ์ขึ้นเพียงชนิดเดียว ผลการทดลองหาปริมาณสัมพันธ์โดยวิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตริกทั้งสามวิธีนี้มักสอดคล้องกัน

ในการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการพัฒนาอินซูลินเทียมชนิดใหม่และศึกษาความเป็นไปได้ในการเกิดไอออนเชิงซ้อนของ VO^{2+} ไอออนกับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid จากปริมาณสัมพันธ์ภายในโครงสร้างของไอออนเชิงซ้อน โดยการเปรียบเทียบผลจากวิธีสเปกโทรโฟโตเมตริก 3 วิธี ได้แก่ วิธีความแปรผันต่อเนื่อง วิธีอัตราส่วนโดยโมล และวิธีอัตราส่วนความชัน

4. การทดลอง

4.1 เครื่องมือและสารเคมี

เครื่องยูวี - วิสเบิล ไดโอด อาร์เรย์ สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV - Vis Diode Array Spectrophotometer) รุ่น 8453 UV - Vis ของบริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา เครื่องวัดพีเอช รุ่น PHI 34 ของบริษัท Beckman ประเทศสหรัฐอเมริกา วานาเดียมออกไซด์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต (Vanadium(IV) oxide sulfate pentahydrate, $VO_2SO_4 \cdot 5H_2O$, มวลโมเลกุล 253.08) ของบริษัท Riedel - Deltaen ประเทศเยอรมัน และกรด 1-ไฮดรอกซี-2-ไพริดิโนน-6-คาร์บอกซิลิก (1-hydroxy-2-pyridinone-6-carboxylic acid, $C_6H_5NO_4$ มวลโมเลกุล 155.02) สารสังเคราะห์ตามวิธีของ Yasarawan และคณะ [21]

4.2 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมของไอออนเชิงซ้อน

เตรียมสารละลาย 3 ชนิด ที่มีความเข้มข้นเท่ากัน โดยสารละลายชนิดที่ 1 คือสารละลายไอออนเชิงซ้อน เตรียมโดยผสมสารละลาย VO^{2+} ไอออน ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ 2 มิลลิลิตรกับสารละลายลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ 2 มิลลิลิตร และกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น สารละลายชนิดที่ 2 คือสารละลาย VO^{2+} เตรียมโดยผสมสารละลาย VO^{2+} ไอออน ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ 2 มิลลิลิตรและกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น สารละลายชนิดที่ 3 คือสารละลายลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid เตรียมเช่นเดียวกับสารละลาย VO^{2+} จากนั้นนำสารละลายทั้ง 3 ชนิดไปวัดการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 190 - 900 นาโนเมตร

4.3 การหาปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อนโดยวิธีความแปรผันต่อเนื่อง

วัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 190 - 900 นาโนเมตร ของสารละลายผสม VO^{2+} ไอออน ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์กับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีเศษส่วนโมลในช่วง 0 ถึง 1 จำนวน 25 ตัวอย่าง โดยมีเศษส่วนโมลของ VO^{2+} ไอออนต่างกันครั้งละ 0.05 - 0.1 แล้วทำให้ค่าเศษส่วนโมลรวมเท่ากับ 1 โดยการเติมสารละลายลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid แล้วเติมกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำข้อมูลที่ได้จากค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมมาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) กับเศษส่วนโมล (แกน x) แล้วลากเส้นสัมผัสกราฟจากทั้งสองด้านไปตัดกัน ค่าบนแกน x ของจุดตัดคือเศษส่วนโมลของโลหะกับลิแกนด์ที่เกิดเป็นไอออนเชิงซ้อน

4.4 การหาปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อนโดยวิธีอัตราส่วนโมล

เตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นของลิแกนด์คงที่และมีความเข้มข้นของไอออนโลหะต่างกัน โดยปิเปตสารละลายลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในคิวเวท แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 190 - 900 นาโนเมตร จากนั้นปิเปตสารละลาย VO^{2+} ไอออน ความเข้มข้น 0.125 โมลาร์ ใส่ในคิวเวทครั้งละ 5 ไมโครลิตรต่อการวัด 1 ครั้ง บันทึกค่าดูดกลืนแสง ทำซ้ำจนค่าดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากหรือคงที่แล้วจึงหยุดทำการทดลอง นำข้อมูลที่ได้จากความยาวคลื่นที่เหมาะสมเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) กับค่าเศษส่วนโมล (แกน x) จากนั้นลากเส้นสัมผัสกราฟ ค่าบนแกน x ของจุดตัดคือเศษส่วนโมลของโลหะกับลิแกนด์ที่เกิดเป็นไอออนเชิงซ้อน เช่นเดียวกับวิธีความแปรผันต่อเนื่อง

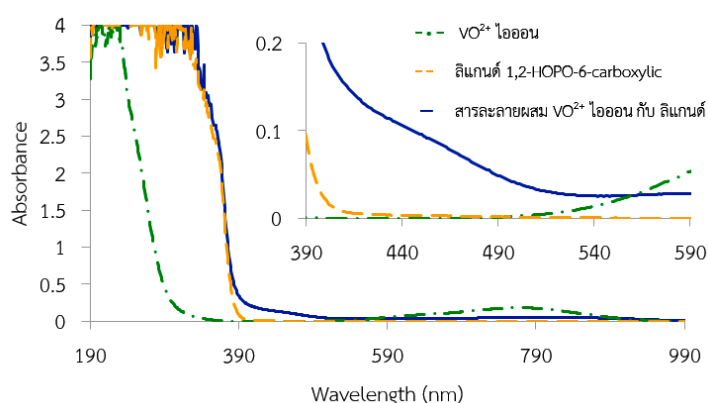
4.5 การหาปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อนโดยวิธีอัตราส่วนความชัน

เตรียมสารละลาย 2 ชุดที่มีปริมาตรเท่ากัน ดังนี้ สารละลายชุดที่ 1 เป็นของไอออนโลหะที่มีปริมาณคงที่และมากเกินไปที่เติมสารละลายลิแกนด์ปริมาณเล็กน้อยเพื่อให้มีความเข้มข้นต่ำๆ โดยปิเปตสารละลาย VO^{2+} ไอออน ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 6 ขวด จากนั้นปิเปตสารละลายลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ความเข้มข้น

0.05 โมลาร์ ปริมาตร 0, 200, 300, 400, 500 และ 600 ไมโครลิตรตามลำดับ ปีเปตรดอะซิดิก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ส่วนสารละลายชุดที่ 2 ทำเช่นเดียวกับสารละลายชุดที่ 1 แต่ใช้ลิแกนด์ที่มีปริมาณมากเกินไปและไอออนโลหะมีความเข้มข้นต่ำๆ โดยปีเปตรสารละลายลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 6 ขวด จากนั้นปีเปตรสารละลาย VO^{2+} ไอออน ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ปริมาตร 0, 200, 300, 400, 500 และ 600 ไมโครลิตรตามลำดับ เดิมกรดอะซิดิก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายทั้งสองชุดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตร ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้จากความยาวคลื่นที่เหมาะสมมาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (แกน y) กับปริมาตรของไอออน (แกน x) อัตราส่วนของความเข้มข้นที่แปรตามความเข้มข้นโลหะ (S_M) ต่อความเข้มข้นที่แปรตามความเข้มข้นลิแกนด์ (S_L) คือปริมาณสัมพันธ์ของลิแกนด์ต่อโลหะ (M:L)

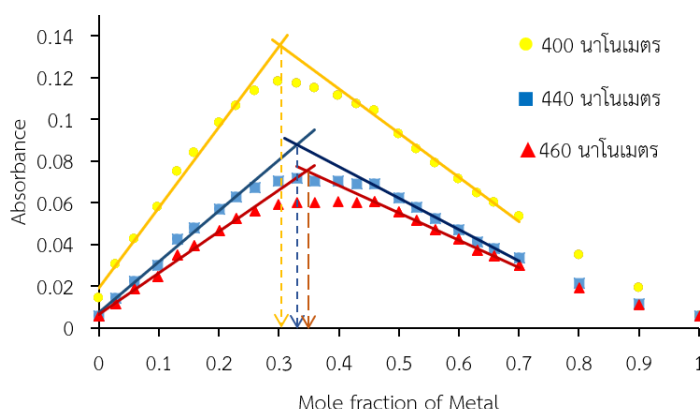
5. ผลและอภิปรายผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าสารละลายผสมของ VO^{2+} ไอออนกับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid มีสีเหลืองอมเขียวซึ่งแตกต่างจากสีของสารละลาย VO^{2+} ไอออนที่มีสีฟ้าอมน้ำเงินและสารละลายใสไม่มีสีของลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid สารละลายสีเหลืองอมเขียวนี้มีสมบัติเป็นไอออนเชิงซ้อนประกอบด้วยไอออนของโลหะทรานสิชันที่เกิดพันธะโคออร์ดิเนชันกับลิแกนด์ และพบว่ามีคุณสมบัติการดูดกลืนแสงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อทิ้งไว้เป็นเวลานาน เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงสารละลายสีฟ้าอมน้ำเงินของ VO^{2+} ไอออน สารละลายไม่มีสีของลิแกนด์ และสารละลายสีเหลืองอมเขียวของไอออนเชิงซ้อนในช่วงความยาวคลื่น 190 – 900 นาโนเมตร ได้สเปกตรัมแสดงในรูปที่ 1 พบว่าสเปกตรัมของสารละลาย VO^{2+} ไอออนมีการดูดกลืนแสงในช่วง 590 - 800 นาโนเมตร และมีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ที่ 787 นาโนเมตร สารละลายลิแกนด์มีการดูดกลืนแสงสูงในช่วง 190 - 390 นาโนเมตร และไม่ดูดกลืนแสงในช่วงแสงที่มองเห็นได้ตั้งแต่ความยาวคลื่นมากกว่า 390 นาโนเมตรเป็นต้นไป สารละลายของไอออนเชิงซ้อน สีเหลืองอมเขียวพบว่าดูดกลืนแสงได้ 2 ช่วง ในช่วง 590 - 800 นาโนเมตรมีการดูดกลืนแสงต่ำๆ ซึ่งเป็นช่วงเดียวกับการดูดกลืนแสงของสารละลาย VO^{2+} ไอออน แต่ไอออนเชิงซ้อนมีการดูดกลืนแสงต่ำกว่ามาก พบการดูดกลืนแสงอีกช่วงของไอออนเชิงซ้อนที่ 390-490 นาโนเมตร ในช่วงความยาวคลื่นนี้พบว่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย VO^{2+} ไอออนและสารละลายลิแกนด์ ช่วงความยาวคลื่นนี้จึงมีความสัมพันธ์กับการดูดกลืนแสงของไอออนเชิงซ้อนเท่านั้นเพราะไม่ถูกรบกวนจากสารตั้งต้นทั้งสองชนิดหรือมีการรบกวนน้อยมาก อย่างไรก็ตามจากสเปกตรัมไม่พบค่าการดูดกลืนสูงสุด (λ_{max}) ของสารละลายไอออนเชิงซ้อนในช่วงความยาวคลื่น 390 - 490 นาโนเมตร ในการทำการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตร



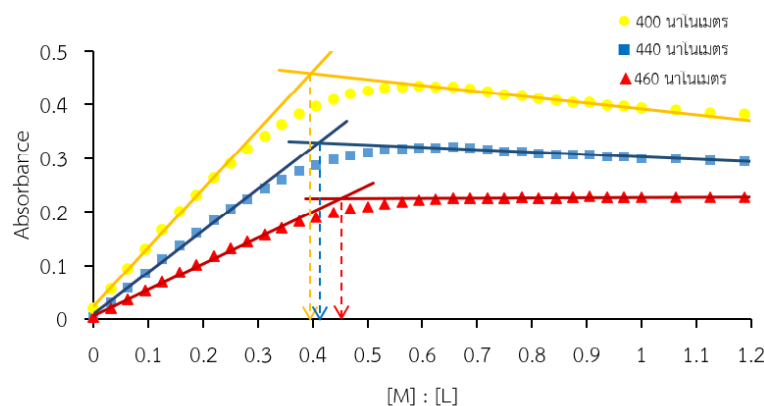
รูปที่ 1 การดูดกลืนแสงของสารละลาย VO^{2+} ไอออน (- - -) ลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid (- . -) และ สารละลายผสม VO^{2+} ไอออน กับ ลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid (—) ในสารละลายกรดอะซิติก

การหาปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อนโดยวิธีความแปรผันต่อเนื่องแสดงในรูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตรกับค่าเศษส่วนโมลของ VO^{2+} ไอออนระหว่าง 0.0 - 1.0 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงเกิดการเปลี่ยนแปลงแบ่งได้เป็น 3 ช่วง ช่วงที่ 1 อยู่ระหว่างค่าเศษส่วนโมล 0 ถึง 0.25 ที่มีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นโดยมีแนวโน้มเป็นเส้นตรง แล้วเปลี่ยนเป็นค่อนข้างคงที่ในช่วงที่ 2 ที่ค่าเศษส่วนโมลระหว่าง 0.3 - 0.45 หลังจากนั้นค่าการดูดกลืนแสงจึงมีแนวโน้มลดลงเป็นเชิงเส้นตรงในช่วงที่ 3 ตั้งแต่เศษส่วนโมลระหว่าง 0.45 - 0.7 ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นในช่วงที่ 1 แปรตามปริมาณ VO^{2+} ไอออนที่เติมลงไป เนื่องจากในช่วงนี้เศษส่วนโมลของไอออนโลหะมีน้อยกว่าเศษส่วนโมลลิแกนด์ ปริมาณลิแกนด์ที่มากเกินไปช่วยให้ไอออนเชิงซ้อนเกิดได้ดีโดยรอบจนสมดุลให้เคลื่อนไปในทิศทางที่ทำให้เกิดไอออนเชิงซ้อนมากขึ้น จึงมีแนวโน้มการเพิ่มเป็นเส้นตรงตามเศษส่วนโมลของ VO^{2+} ไอออนที่เพิ่มขึ้น ส่วนค่าการดูดกลืนแสงในช่วงที่ 2 มีค่าค่อนข้างคงที่เนื่องจากเศษส่วนโมลของไอออนโลหะและลิแกนด์มีค่าพอดีที่ทำให้เกิดไอออนเชิงซ้อนจำนวนมากจึงมีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด แต่ไม่เพิ่มขึ้นตามแนวโน้มในช่วงที่ 1 เพราะไอออนเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นนี้เข้าสู่สมดุลและเกิดการแตกตัวย้อนกลับเป็นสารตั้งต้น ทำให้ความเข้มข้นของไอออนเชิงซ้อนค่อนข้างคงที่ค่าการดูดกลืนแสงจึงเพิ่มขึ้นไม่มากนัก ช่วงที่ 3 เศษส่วนโมลไอออนโลหะระหว่าง 0.45 - 0.7 ขณะที่เศษส่วนโมลของลิแกนด์ลดลงเป็น 0.55 - 0.3 ความเข้มข้นของลิแกนด์จึงต่ำกว่าไอออนโลหะ ทำให้การเกิดไอออนเชิงซ้อนขึ้นกับเศษส่วนโมลของลิแกนด์ที่มีน้อยกว่า ค่าการดูดกลืนแสงจึงลดลงและมีแนวโน้มลดลงเป็นเส้นตรงโดยขึ้นกับเศษส่วนโมลของลิแกนด์ที่ลดลง เมื่อลากเส้นสัมพันธ์กราฟช่วงที่ 1 ไปตัดกับเส้นสัมพันธ์อีกเส้นจากช่วงที่ 3 ค่าที่อ่านได้บนแกน x ของจุดตัดแสดงถึงค่าเศษส่วนโมลของไอออนโลหะที่ทำให้เกิดไอออนเชิงซ้อนได้มากที่สุดซึ่งมีความสัมพันธ์กับเศษส่วนโมลของลิแกนด์ที่พอดีกับไอออนโลหะ จุดตัดบนแกน x ของยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตร มีค่าเศษส่วนโมลของไอออนโลหะต่อเศษส่วนโมลของลิแกนด์เท่ากับ 0.30:0.70, 0.33:0.67 และ 0.35:0.65 ตามลำดับ เมื่อปรับเป็นอัตราส่วนที่เป็นเลขลงตัวน้อยที่สุด พบว่าปริมาณสัมพันธ์ของ VO^{2+} ไอออนต่อลิแกนด์ (M:L) ที่เกิดเป็นไอออนเชิงซ้อนมีค่าเท่ากับ 1:2



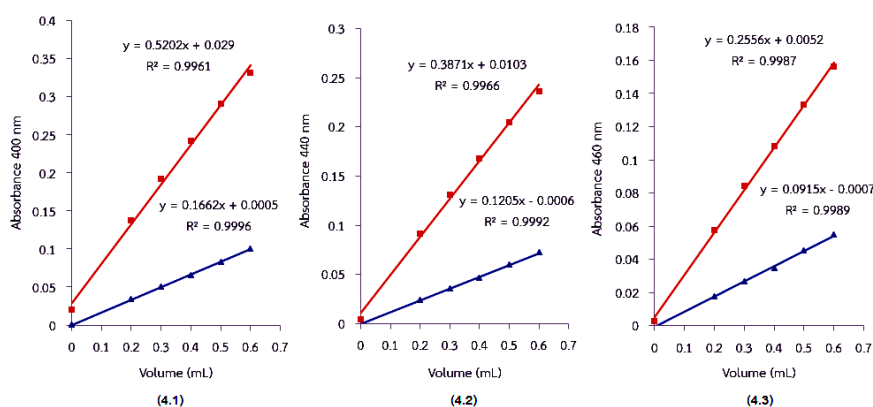
รูปที่ 2 การหาปริมาณสัมพันธ์ระหว่าง VO^{2+} ไอออน กับ ลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ที่ความยาวคลื่น 400 (●) 440 (■) และ 460 (▲) นาโนเมตร ในสารละลายกรดอะซิติกโดยวิธีความแปรผันต่อเนื่อง

ผลการทดลองการหาปริมาณสัมพันธ์ระหว่าง VO^{2+} ไอออนกับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid โดยวิธีอัตราส่วนโมลแสดงในรูปที่ 3 พบว่ากราฟระหว่างการดูดกลืนแสง (แกน y) ที่ได้จากความยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตรกับอัตราส่วนความเข้มข้นของ VO^{2+} ไอออนต่อความเข้มข้นของลิแกนด์ที่แสดงด้วย $[\text{M}]:[\text{L}]$ (แกน x) แตกต่างจากการวิจัยของ Sarma และคณะ [20] ซึ่งแกน x เป็นค่า $[\text{L}]:[\text{M}]$ เนื่องจากลิแกนด์ละลายน้ำได้น้อยจึงไม่สามารถเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้นได้ จำเป็นต้องใช้การเติมสารละลาย VO^{2+} ไอออนลงในสารละลายลิแกนด์ ดังนั้น ค่าแกน x จึงเป็น $[\text{M}]:[\text{L}]$ จากรูปที่ 3 พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนแสง 3 ช่วงคล้ายกับวิธีความแปรผันต่อเนื่อง ช่วงที่ 1 เกิดขึ้นเมื่อเติมสารละลาย VO^{2+} ไอออนลงในสารละลายลิแกนด์ พบว่ากราฟของทั้ง 3 ความยาวคลื่นมีการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงเมื่อค่า $[\text{M}]:[\text{L}]$ อยู่ระหว่าง 0 - 0.3 ช่วงที่ 2 พบการเบี่ยงเบนของเส้นกราฟเข้าสู่แนวแกน x ที่ $[\text{M}]:[\text{L}]$ มากกว่า 0.3 ถึง 0.6 และช่วงที่ 3 พบการดูดกลืนแสงมีค่าค่อนข้างคงที่และมีแนวโน้มเป็นเส้นตรงอีกแนวหนึ่ง ที่ $[\text{M}]:[\text{L}]$ มีค่ามากกว่า 0.6 แนวโน้มของกราฟในช่วงที่ 1 และช่วงที่ 2 ที่พบอธิบายได้เช่นเดียวกันกับวิธีความแปรผันต่อเนื่อง แต่ในช่วงที่ 3 ของวิธีอัตราส่วนโมลค่าการดูดกลืนแสงมีค่าค่อนข้างคงที่เนื่องจากปริมาณ VO^{2+} ไอออนเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและมีมากเกินไป ขณะที่ลิแกนด์มีปริมาณคงที่ค่าการดูดกลืนแสงจึงไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ค่า $[\text{M}]:[\text{L}]$ ที่อ่านได้จากแกน x ที่จุดตัดของเส้นสัมผัสกราฟช่วงที่ 1 และช่วงที่ 3 แสดง $[\text{M}]:[\text{L}]$ ที่ไอออนโลหะทำปฏิกิริยาพอดีกับลิแกนด์ ค่า $[\text{M}]:[\text{L}]$ ที่ได้จากความยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตรมีค่าใกล้เคียงกันคือ 0.40:1, 0.41:1 และ 0.45:1 เมื่อปรับให้ไอออนโลหะเป็นเลขลงตัวน้อยที่สุด พบว่า M:L เท่ากับ 1:2.5, 1:2.4 และ 1:2.2 และเมื่อปรับให้ลิแกนด์เป็นเลขลงตัวน้อยที่สุด พบว่ามีปริมาณสัมพันธ์ M:L เท่ากับ 1:2 ซึ่งสอดคล้องกับวิธีความแปรผันต่อเนื่อง



รูปที่ 3 การหาปริมาณสัมพันธ์ระหว่าง VO^{2+} ไอออนกับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ที่ความยาวคลื่น 400 (●) 440 (■) และ 460 (▲) นาโนเมตร ในสารละลายกรดอะซิติกโดยวิธีอัตราส่วนโมล

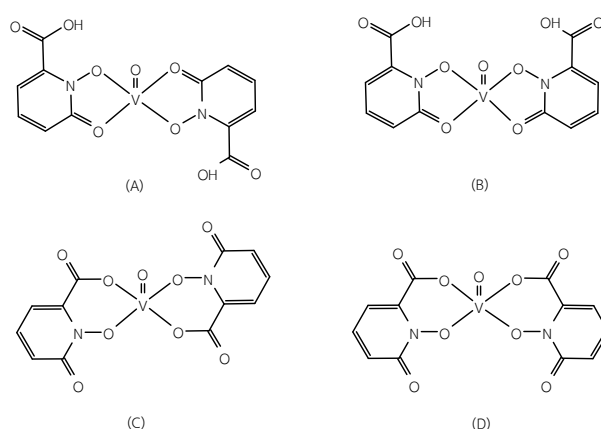
ผลการหาปริมาณสัมพันธ์ของไอออนเชิงซ้อนระหว่าง VO^{2+} ไอออนกับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ในสารละลายกรดอะซิติกโดยวิธีอัตราส่วนความเข้มข้นที่ความยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตร แสดงในรูปที่ 4 พบว่า ความชันที่ได้จากระบบที่มี VO^{2+} มากเกินพอ (S_M) ที่ความยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1662, 0.1205 และ 0.0915 ตามลำดับ และความชันที่ได้จากระบบที่มีลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ที่มากเกินพอ (S_L) ที่ความยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตร เท่ากับ 0.5202, 0.3871 และ 0.2556 ตามลำดับ เมื่อหาอัตราส่วนความชัน (S_L/S_M) ระหว่างเส้นตรงทั้ง 2 ที่ความยาวคลื่น 400, 440 และ 460 นาโนเมตร ได้ค่าอัตราส่วนความชันเท่ากับ 3.13, 3.12 และ 2.79 แสดงค่าปริมาณสัมพันธ์ของไอออนโลหะต่อลิแกนด์ (M:L) มีค่าใกล้เคียงกับ 1:3 ซึ่งค่าที่ได้แตกต่างจากวิธีความแปรผันต่อเนื่องและวิธีอัตราส่วนโมลที่มีปริมาณสัมพันธ์เท่ากับ 1:2



รูปที่ 4 การหาปริมาณสัมพันธ์ระหว่าง VO^{2+} ไอออนกับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ในสารละลายกรดอะซิติกโดยวิธีอัตราส่วนของความชัน (4.1) ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร (4.2) ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร (4.3) ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร ▲ VO^{2+} มากเกินพอ

■ ลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid มากเกินพอ

ปริมาณสัมพันธ์ของไอออนโลหะต่อลิแกนด์ตามวิธีอัตราส่วนความเข้มข้นที่แตกต่างจากสองวิธีแรกอาจเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดไอออนเชิงซ้อนนี้มีผลผลิตมากกว่า 1 ชนิด จึงทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ [19] เมื่อพิจารณาการเกิดพันธะโคออร์ดิเนชันจากหมู่ฟังก์ชัน HO-N COOH และ C=O ของลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid กับ VO^{2+} ไอออนแล้ว อาจเกิดไอออนเชิงซ้อนได้หลายแบบ โครงสร้างที่เป็นไปได้แสดงในรูปที่ 5 พันธะโคออร์ดิเนชันในโครงสร้าง 5A และ 5B เกิดจากหมู่ฟังก์ชัน HO-N และ C=O ปิดเป็นวงคีเลตห้าเหลี่ยมที่เป็นไอโซเมอร์กัน รูป 5A มีโครงสร้างแบบทราน รูป 5B มีโครงสร้างแบบซิส ส่วนอีก 2 โครงสร้างแสดงการเกิดเป็นวงคีเลตหกเหลี่ยมในรูป 5C และ 5D ที่เป็นทรานและซิสไอโซเมอร์เช่นกัน แต่เกิดจากหมู่ฟังก์ชัน HO-N และ COOH นอกจากนั้นในชุดสารละลายที่มีความเข้มข้นของ VO^{2+} ไอออนมากเกินไป ไอออนอาจเกิดการสลายตัวบางส่วน โดยเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในตัวทำละลายที่เป็นน้ำทำให้เกิดการเปลี่ยนเลขออกซิเดชันเป็นค่าอื่น [22] จึงเกิดการเบี่ยงเบนของผลการทดลองในวิธีอัตราส่วนความเข้มข้น



รูปที่ 5 โครงสร้างที่อาจเป็นไปได้ของไอออนเชิงซ้อนของ VO^{2+} กับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid

6. สรุปผลการทดลอง

ข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการพัฒนาอินซูลินเทียมชนิดใหม่ของไอออนเชิงซ้อนระหว่าง VO^{2+} ไอออนกับลิแกนด์ 1,2-HOPO-6-carboxylic acid ในสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ โดยการหาปริมาณสัมพันธ์ด้วยวิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตริก พบปริมาณสัมพันธ์จากวิธีความแปรผันต่อเนื่องและอัตราส่วนโมลมีค่า 1:2 เท่ากันทั้งสองวิธี ต่างจากวิธีอัตราส่วนความเข้มข้นที่มีค่า 1:3 เนื่องจากวิธีอัตราส่วนความเข้มข้นมีข้อจำกัดและใช้ได้ผลดีกับปฏิกิริยาที่มีผลผลิตเป็นสารเพียงชนิดเดียว และจากปริมาณสัมพันธ์ 1:2 พบว่าไอออนเชิงซ้อนนี้อาจมีได้หลายไอโซเมอร์ ดังนั้นวิธีอัตราส่วนความเข้มข้นจึงไม่เหมาะสมในการหาปริมาณสัมพันธ์ในงานวิจัยนี้ ไอออนเชิงซ้อนที่มีปริมาณสัมพันธ์เท่ากับ 1:2 เป็นสารละลายสีเหลืองอมเขียวแตกต่างไปจากสีของสารตั้งต้นทั้งสองชนิด สารละลายสีเหลืองอมเขียวนี้นี้มีความเสถียรดี เนื่องจากไม่พบการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อตั้งทิ้งไว้จึงเหมาะสมในการนำไปพัฒนาหาวิธีการสังเคราะห์เป็นสารบริสุทธิ์แล้วศึกษาการออกฤทธิ์เลียนแบบฮอร์โมนอินซูลินต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Rehder, D. (1991). The Bioinorganic Chemistry of Vanadium. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 30(2), 148–167.
2. Ramanadham, S., Mongold, J. J., Brownsey, R. W., Cros, G. H., & McNeill, J. H. (1989). Oral vanadyl sulfate in treatment of diabetes mellitus in rats. *Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 257(3), H904–H911.
3. Yuen, V., Caravan, P., Gelmini, L., Glover, N., McNeill, J., Setyawati, I. and Orvig, C., (1997). Glucose-lowering properties of vanadium compounds: Comparison of coordination complexes with maltol or kojic acid as ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 68(2), pp.109–16.
4. Dabroś, W., Nikiforuk, A. and Kordowiak, A., (2004). Morphology and biochemical activity of rat liver golgi complexes after pretreatment with bis(kojato)oxovanadium(IV) or kojic acid alone. *Polish Journal of Pathology: Official Journal of the Polish Society of Pathologists*, 55(3), pp.15-21.
5. Sakurai, H., Fujii, K., Watanabe, H. and Tamura, H., (1995). Orally Active and Long-Term Acting Insulin-Mimetic Vanadyl Complex: Bis(Picolinato)oxovanadium(IV). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 214(3), pp.1095–1101.
6. Makinen, M., and Brady, M., (2002). Structural Origins of the Insulin-mimetic Activity of Bis(acetylacetonato)oxovanadium(IV). *Journal of Biological Chemistry*, 277(14), pp.12215–12220.
7. สมาคมโรคเบาหวานอบรม ‘ทางเลือกใหม่รักษาเบาหวานชนิด 2’ เน้นผู้ป่วยเป็นศูนย์กลาง [Internet]. Hfocus.org เจาะลึกระบบสุขภาพ. 2021 [cited 13 June 2021]. Available from: <https://www.hfocus.org/content/2019/11/18016>
8. Kiss, T., Buglyó, P., Sanna, D., Micera, G., Decock, P. and Dewaele, D. (1995). Oxovanadium(IV) complexes of citric and tartaric acids in aqueous solution. *Inorganica Chimica Acta*, 239(1-2), pp.145–153.
9. Costa, J., Luz, S. and Gillard, R., (1995). Oxovanadium(IV) and amino acids—VIII. L-histidine derivatives and related ligands: A spectroscopic study. *Polyhedron*, 14(11), pp.1495–1515.
10. Messerschmidt, A. and Wever, R., (1996). X-ray structure of a vanadium-containing enzyme: chloroperoxidase from the fungus *Curvularia inaequalis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(1), pp.392–396.

11. Sanna, D., Micera, G., Buglyó, P. and Kiss, T., (1996). Oxovanadium(IV) complexes of ligands containing phosphonic acid moieties. *Journal of the Chemical Society, Dalton Trans.*, (1), pp.87–92.
12. Buglyó, P., Dessì, A., Kiss, T., Micera, G. and Sanna, D., (1993). Formation of tris-chelated vanadium(IV) complexes by interaction of oxovanadium(IV) with catecholamines, 3-(3,4-dihydroxyphenyl)alanine and related ligands in aqueous solution. *Journal of the Chemical Society, Dalton Trans.*, (13), pp.2057–2063.
13. Buglyó, P., Culeddu, N., Kiss, T. and Sanna, D., (1995). Vanadium (IV) and vanadium (V) complexes of deferoxamine B in aqueous solution. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 60(1), pp.45–59.
14. Idriss, K., Saleh, M., Sedaira, H., Seleim, M. and Hashem, E., (1991). Solution equilibria and stability of the complexes of pyridinecarboxylic acids: Complexation reaction of mercury(II) with 2-hydroxynicotinic acid. *Monatshefte Fur Chemie Chemical Monthly*, 122(6-7), pp.507–520.
15. Kiss, E., Petrohán, K., Sanna, D., Garribba, E., Micera, G. and Kiss, T. (2000). Solution speciation and spectral studies on oxovanadium(IV) complexes of pyridinecarboxylic acids. *Polyhedron*, 19(1), pp.55–61.
16. Naglah, A., Al-Omar, M., Bhat, M., Al-Wasidi, A., Alsuhaibani, A., El-Didamony, A. and Refat, M., (2019). Synthesis and Biological Evaluations of a Novel Oxidovanadium(IV) Adenosine Monophosphate Complex as Anti-Diabetic Agent. *Crystals*, 9(4), pp.208.
17. Mohammad, M., Maurya, R., Vishwakarma, P., Rajak, D., Malik, B., Jaget, P. and Bohre, P., (2017). Synthesis and Conjoint Experimental-DFT Characterization of Some Pyrazolone Functionalized Dioxovanadium (V) Schiff Base Complexes. *Journal of Theoretical and Computational Science*, 4(01), pp.152-164.
18. Lu W, Zhang R, Jiang H, Zhang H, Luo C., (2018). Computer-Aided Drug Design in Epigenetics. *Frontiers in Chemistry*.
19. Skoog DA., West DM, Holler FJ, Crouch SR., (2014) *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 9th ed. New York: Cengage Learning;
20. Sarma, L., Kumar, J., Reddy, K., Thriveni, T. and Reddy, A., (2006). Studies of zinc(II) in pharmaceutical and biological samples by extractive spectrophotometry: Using pyridoxal-4-phenyl-3-thiosemicarbazone as chelating reagent. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17(3); pp.463-472.

21. Yasarawan, N., Thipyapong, K., Sirichai, S. and Ruangpornvisuti, V., (2013). Synthesis of chromium(III) complex with 1-hydroxy-2-pyridinone-6-carboxylic acid as insulin-mimetic agent and its spectroscopic and computational studies. *Journal of Molecular Structure*, 1031, pp.144–151.
22. Badawy, W., Al-Kharafi, F., (1997). Electrochemical behaviour of vanadium in aqueous solutions of different pH. *Electrochimica Acta*. 42 (4): pp.579–586.