

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์และประเมินฤทธิ์ต้านมะเร็งของอนุพันธ์เพรกนินโนโลน

แหล่งเงิน ประเภททุนงบประมาณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปีงบประมาณ 2557
จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 300,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2556 ถึง 30 กันยายน 2557

หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์ชนิดใหม่ 56-67 จากเพรกนินโนโลน 7 โดยการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันที่วง A อะมิโนสเตียรอยด์ 56-67 ถูกนำมาประเมินฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของมนุษย์จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7, เซลล์มะเร็งเยื่อบุช่องปาก และกระพุ้งแก้มชนิด KB, เซลล์มะเร็งตับชนิด HepG-2, เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักชนิด HT-29, เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวในหนูชนิด P388 และ เซลล์ปกติจากไตของลิงชนิด Vero ด้วยวิธี MTT assay ผลการทดลองพบว่าอะมิโนสเตียรอยด์ 57, 58, 59, 60, 61, 64, 65 และ 66 แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง โดยเฉพาะในการศึกษานี้ อะมิโนสเตียรอยด์ 64 มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์มากที่สุด

นอกจากนั้น อะมิโนสเตียรอยด์ ออกซิม 69-73 ถูกสังเคราะห์จากเพรกนินโนโลน 7 แล้วนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง พบว่าอะมิโนสเตียรอยด์ ออกซิม 70 และ 71 แสดงผลการทดสอบที่น่าสนใจมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ KB, HepG2 และ P388

คำสำคัญ: เพรกนินโนโลน, สารอนุพันธ์, ความเป็นพิษต่อเซลล์, ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง

Research Title: Synthesis and Anticancer Evaluations of Pregnenolone Derivatives

Researcher: Asst. Professor Dr. Patchanee Charoenying

Faculty: Faculty of Science **Department:** Department of Chemistry

ABSTRACT

In this research, pregnenolone **7** was used as a starting template to develop new amino steroids. Ring-A modification of pregnenolone **7** resulted in the synthesis of amino steroid derivatives **56-67**. The amino steroids derivatives **56-67** were tested for their cytotoxicity evaluations against five cancer cell lines: human breast carcinoma cell line (MCF-7), oral human epidermal carcinoma cell line (KB), human hepatocellular carcinoma cell line (HepG-2), human colon adenocarcinoma cell line (HT-29), murine leukemia cell line (P388) and african green monkey kidney (Vero) using MTT assay. The results of the *in vitro* study showed that amino steroids **57, 58, 59, 60, 61, 64, 65** and **66** exhibited significant activity against all the cell lines and the derivative **64** as the most active compounds in all derivatives of pregnenolone **7**.

Furthermore, a series of amino steroid oximes **69-73** were synthesized from pregnenolone **7** and their cytotoxicity were evaluated. The results found that amino steroid oximes **70** and **71** exhibited the interesting results against KB, HepG2 and P388 cell lines.

Keywords: pregnenolone, derivatives, cytotoxicity, anticancer

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามความตั้งใจในระดับหนึ่งด้วยการสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประเภททุนงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ 2557 ที่พิจารณาเห็นคุณค่าของงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์

ขอขอบคุณ คุณณัฐพร มานะประดิษฐ์ ที่ช่วยทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ของสารสังเคราะห์

ขอขอบคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่เอื้อเพื่อความสะดวกตลอดการทำงานวิจัยนี้

พัชนี เจริญยิ่ง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
รายการคำย่อและสัญลักษณ์	VII
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	4
1.5 กรอบแนวความคิดในการทำวิจัย	5
1.6 คำสำคัญของการวิจัย	9
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	9
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	10
2.2 ประเภทของสเตียรอยด์	11
2.3 สมบัติทางเคมีของสเตียรอยด์	13
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 การทดลองทั่วไป	17
3.2 วิธีการทดลอง	17
3.3 เซลล์ไลน์ที่ใช้ในการทดสอบ	22
3.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	23
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Pregnenolone 7	25
4.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ของอะมิโนสเตียรอยด์ 56-67	40
4.3 การสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์ ออกซิม 69-73	43
4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ของ Pregnenolone oxime 68 และอะมิโนสเตียรอยด์ ออกซิม 69-73	48
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 การสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์ 56-67 จาก Pregnenolone 7	51
5.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ของอะมิโนสเตียรอยด์ 56-67	52
5.3 การสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์ ออกซิม จาก Pregnenolone 7	53

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ของ Pregnenolone oxime 68	53
และอะมีโนสเตียรอยด์ ออกซิม 69-73	
บรรณานุกรม	55
ประวัตินักวิจัย	57

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของ Pregnenolone 7 และอะมิโนสเตียรอยด์ 56-67 ต่อเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	41
4.2 ค่า IC ₅₀ ของ Pregnenolone 7 และอะมิโนสเตียรอยด์ 56-67	42
4.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของ Pregnenolone oxime 68 และอะมิโน สเตียรอยด์ ออกซิม 69-73 ต่อเซลล์ไลน์ชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	49
4.4 ค่า CC ₅₀ ของ Pregnenolone 7 , Pregnenolone oxime 68 และอะมิโนสเตียรอยด์ ออกซิม 69-73	49
5.1 แสดงผลได้ร้อยละของอะมิโนสเตียรอยด์ 56-67 (คำนวณเทียบจาก Pregnenolone 7)	51
5.2 แสดงผลได้ร้อยละของ Pregnenolone oxime 8 และอะมิโนสเตียรอยด์ ออกซิม 69-73 (คำนวณเทียบจาก Pregnenolone 7)	53

รายการคำย่อและสัญลักษณ์

^{13}C NMR	^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
DCM	Dichloromethane
ESMS	Electrospray Ionization Mass Spectroscopy
Hz	Hertz
IC ₅₀	50% Inhibitory concentration
CC ₅₀	50% Cytotoxicity concentration
IR	Infrared Spectroscopy
^1H NMR	^1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
m/z	Mass to charge ratio
4-NPC	4-Nitrophenyl chloroformate
ppm	Part per million
R _f	Retardation factor
TFA	Trifluoroacetic acid
ν_{max}	Frequency maximum
cm ⁻¹	per centimeter
δ	Chemical shift
J	Coupling constant