

ชื่อโครงการ การสังเคราะห์และฤทธิ์ทางชีวภาพของอะมิโนสเตรอยด์
แหล่งเงิน ประเภททุนงบประมาณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปีงบประมาณ 2556
จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 250,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2556 ถึง 30 กันยายน 2557
หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์อะมิโนสเตรอยด์ชนิดใหม่ 58-67 จากเพรกนินโนโลน 1 โดยการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันที่วง A อะมิโนสเตรอยด์ 58-67 ถูกนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อเกิดโรคต่อมนุษย์ในสถานะจำลอง จากการทดลองพบว่าอะมิโนสเตรอยด์ 58-67 ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมด อะมิโนสเตรอยด์ 58-67 ถูกนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ของมนุษย์ จากการทดลองพบว่า อะมิโนสเตรอยด์ 58, 59, 60, 61, 64, 65 และ 66 แสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ของมนุษย์ โดยเฉพาะในการศึกษานี้ อะมิโนสเตรอยด์ 64 มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด

นอกจากนั้น อนุพันธ์อะมิโนเอไมด์ 84-90 ถูกสังเคราะห์จากกรดคีโนโคลิก 7 และถูกนำมาประเมินฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ อนุพันธ์อะมิโนเอไมด์ 84-90 ถูกนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 30 ชนิด ยีสต์ 3 ชนิด และ เชื้อรา 2 ชนิดด้วยวิธี disc diffusion จากการทดลองพบว่า อนุพันธ์อะมิโนเอไมด์ 84-90 มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus milleri* group, *Streptococcus mutan*, *Staphylococcus coagulase negative*, *Corynebacterium diphtheriae* and Vancomycin Resistance *S. aureus* (VRSA) โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 1.56-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ อนุพันธ์อะมิโนเอไมด์ 84-90 ไม่มีฤทธิ์ในการต้านยีสต์และเชื้อราทดสอบทั้งหมด

คำสำคัญ: อะมิโนสเตรอยด์, ความเป็นพิษต่อเซลล์, ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

Research Title: Synthesis and Bioactivities of Amino Steroids
Researcher: Asst. Professor Dr. Patchanee Charoenying
Faculty: Faculty of Science **Department:** Department of Chemistry

ABSTRACT

In this research, pregnenolone **1** was used as a starting template to develop new amino steroids. Ring-A modification of pregnenolone **1** resulted in the synthesis of amino derivatives **58-67**. These derivatives were evaluated for their *in vitro* antimicrobial properties against human pathogens. The results found that these derivatives did not show any significant activity against human pathogens. The amino steroids derivatives **58-67** were also tested for their cytotoxic activity against five human cell lines. The results of the *in vitro* study showed that amino steroids **58, 59, 60, 61, 64, 65** and **66** exhibited significant activity against all the cell lines and derivative **64** as the most active compounds in all derivatives of pregnenolone **1**.

Furthermore, a series of amino amides of chenodeoxycholic acid **84-90** were synthesized from chenodeoxycholic acid **7** and their antimicrobial activities were evaluated. The synthesized compounds were tested *in vitro* against 30 bacteria, 3 yeast and 2 fungi strains by disc diffusion method. All compounds exhibited the highest antibacterial activity against *Streptococcus milleri* group, *Streptococcus mutan*, *Staphylococcus coagulase negative*, *Corynebacterium diphtheriae* and Vancomycin Resistance *S. aureus* (VRSA). The MIC values of selected bacterial strains tested ranged from 1.56-100 µg/mL. Unfortunately, no antifungal activity observed against tested strains of yeasts and fungi.

Keywords: amino steroids, cytotoxicity, antimicrobial

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามความตั้งใจในระดับหนึ่งด้วยการสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประเภททุนงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ 2556 ที่พิจารณาเห็นคุณค่าของงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย คุณณัฐกร อ่อนแสง และ คุณพลวัฒน์ อุ่นเรือน ที่อดทนต่อการทำงานนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นันทนา อรุณฤกษ์ สาขาโษษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อจุลินทรีย์

ขอขอบคุณ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่เอื้อเฟื้อความสะดวกตลอดการทำงานวิจัยนี้

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 วัตถุประสงค์ของการทดลอง	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	4
1.5 กรอบแนวความคิดในการทำวิจัย	5
1.6 คำสำคัญของการวิจัย	8
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	9
2.2 สเตียรอยด์ที่พบในธรรมชาติ	10
2.3 ประเภทของสเตียรอยด์	12
2.4 ประโยชน์และโทษของสเตียรอยด์	14
2.5 สเตียรอยด์ที่ใช้เป็นสารตั้งต้น	16
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	16
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 การทดลองทั่วไป	21
3.2 วิธีการทดลอง	21
3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion method	27
3.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	28
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Pregnenolone 1	31
4.2 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Chenodeoxycholic acid 7	43
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์	49
4.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	55
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 การสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์ 58-67 จาก Pregnenolone 1	58
5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของอะมิโนสเตียรอยด์ 58-67	59

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์อะมีโนสเตียรอยด์ 58-67	59
5.4 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Chenodeoxycholic acid 7	60
5.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของอนุพันธ์ของ Chenodeoxycholic acid 7	61
5.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของอนุพันธ์ Chenodeoxycholic acid 7	61
บรรณานุกรม	62
ภาคผนวก	65
ประวัตินักวิจัย	80

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ Chenodeoxycholic acid 7 และอนุพันธ์เดี่ยวรอยด์ 84-90	53
4.1 (ต่อ) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ Chenodeoxycholic acid 7 และอนุพันธ์เดี่ยวรอยด์ 84-90	54
4.2 ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ของ Pregnenolone 1 และอะมิโนสเตียรอยด์ 58-67 ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	56
4.3 ค่า IC ₅₀ ของอะมิโนสเตียรอยด์ 58-67	57

รายการคำย่อและสัญลักษณ์

^{13}C NMR	^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
DCM	Dichloromethane
DIC	<i>N,N</i> -diisopropylcarbodiimide
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	Dimethyl sulfoxide
ESMS	Electrospray Ionization Mass Spectroscopy
Hz	Hertz
IC ₅₀	Inhibitory concentration 50%
IR	Infrared Spectroscopy
^1H NMR	^1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
m/z	Mass to charge ratio
MIC	Minimum Inhibition Concentration
ppm	Part per million
R _f	Retardation factor
TFA	Trifluoroacetic acid
ν_{max}	Frequency maximum
cm ⁻¹	per centimeter
δ	Chemical shift
<i>J</i>	Coupling constant