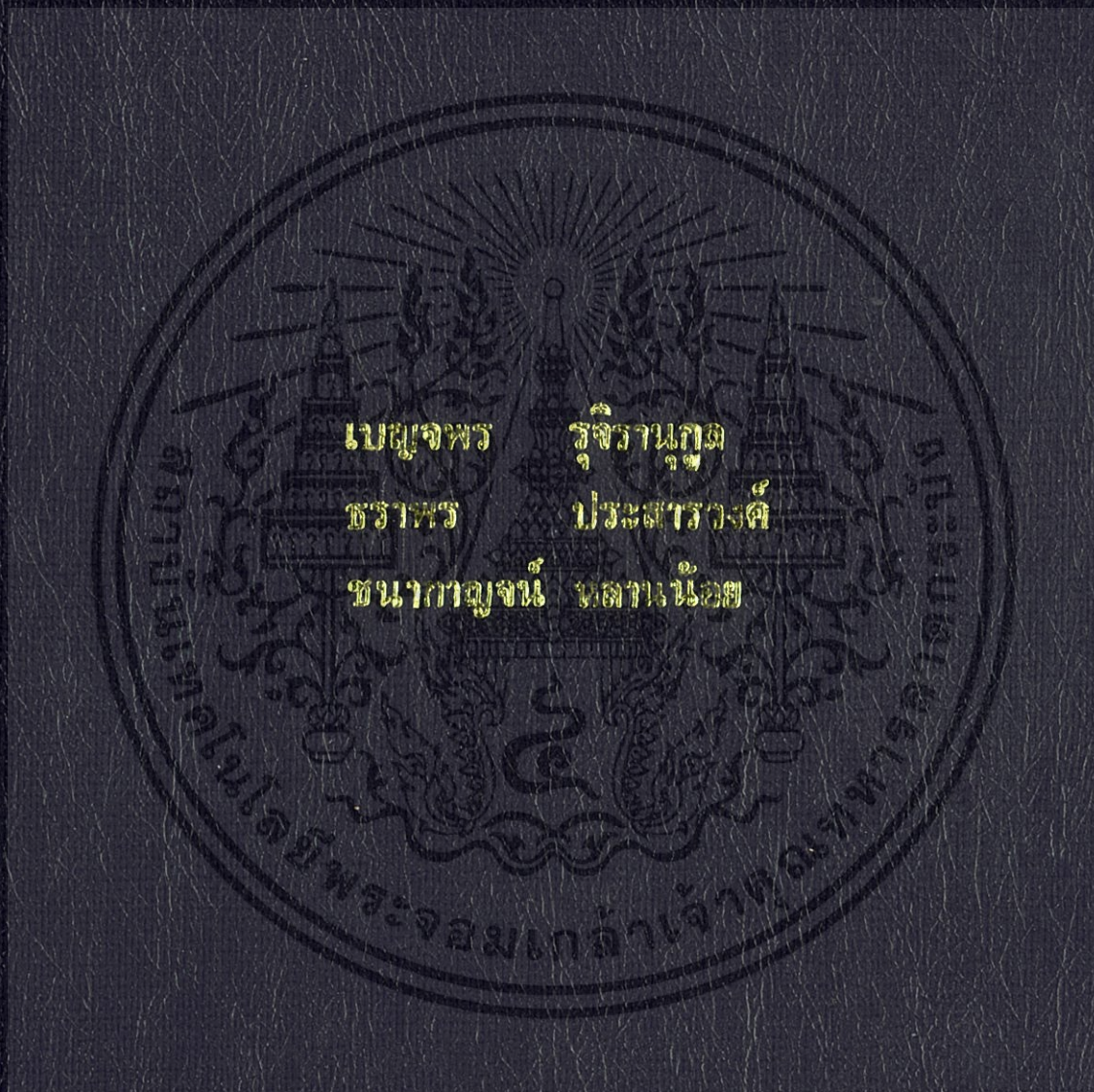


การสังเคราะห์และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของคอเลสเตอรอล  
ที่มีหมู่อะมิโนในตำแหน่งที่ 3

Synthesis and Antimicrobial Activity of C-3 Amino Cholesterol



โครงการพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยภายใต้การกำกับดูแลของคณะแพทยศาสตร์ วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ  
คณะแพทยศาสตร์บูรณาการ  
คณะแพทยศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา ๒๕๕๘

การสังเคราะห์และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของคอเลสเตอรอล  
ที่มีหมู่อะมิโนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3

Synthesis and Antimicrobial Activity of C-3 Amino Cholesterol



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2555

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**SYNTHESIS AND ANTIMICROBIALACTIVITY  
OF C-3 AMINO CHOLESTEROL**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
IN INDUSTRIAL CHEMISTRY  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2012**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การสังเคราะห์และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของคอเลสเตอรอล ที่มีหมู่อะมิโนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 Synthesis and Antimicrobial Activity of C-3 Amino Cholesterol	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวเบญจพร นางสาวธราพร นางสาวชนากาญจน์	รุจิรานุกูล ประสารวงค์ หลานน้อย
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต	
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง	

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
อุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2555

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ภัทรชวรุท มนต์วิเศษ	
ผศ.ดร.สุภารัตน์ รักชลธิ์	
ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

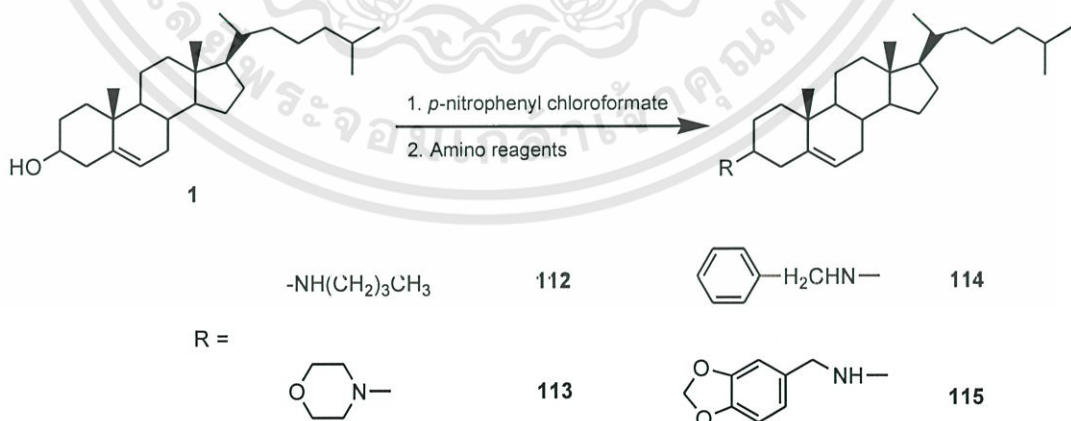
หัวข้อโครงการพิเศษ การสังเคราะห์และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของคอเลสเทอรอล  
ที่มีหมู่อะมิโนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3

ชื่อนักศึกษา นางสาวเบญจพร รุจิรานุกูล  
นางสาวธราพร ประसारวงค์  
นางสาวชนากาญจน์ หลานน้อย

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต  
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม  
ปีการศึกษา 2555  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการสังเคราะห์อนุพันธ์อะมิโนสเตียรอยด์ชนิดใหม่ 112-115 โดยการเปลี่ยนหมู่แทนที่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของคอเลสเทอรอล 1 แนวทางการสังเคราะห์เริ่มจากการเปลี่ยนคอเลสเทอรอล 1 เป็นคอเลสเทอรอล คาร์บอนेट จากนั้นนำคอเลสเทอรอล คาร์บอนेटทำปฏิกิริยากับอะมิโนรีเอเจนต์ได้เป็นอะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 มีผลได้ร้อยละอยู่ในระดับดี โครงสร้างของอะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 ถูกพิสูจน์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี อะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 ถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคนิมนุษย์โดยวิธี Disc diffusion method ผลการทดลองพบว่า สาร 112 มีผลยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (VRSA) 20622 แสดงบริเวณที่เชื้อถูกยับยั้งในระดับปานกลาง



**Title** Synthesis and Antimicrobial Activity of C-3 Amino Cholesterol

**Students** Miss Benjaporn Rujiranukul  
Miss Tharaporn Prasanwong  
Miss Chanakan Lanno

**Degree** Bachelor of Science

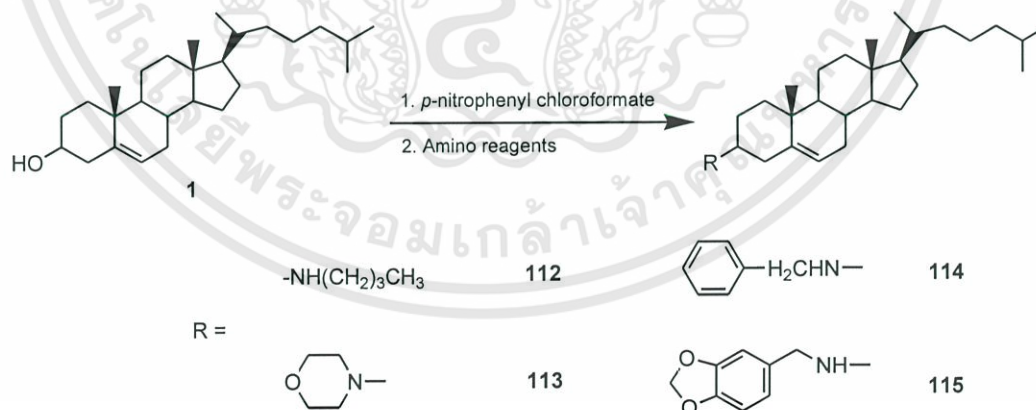
**Major Program** Industrial Chemistry

**Academic Year** 2012

**Advisor** Asst. Prof. Dr. Patchanee Charoenying

### ABSTRACT

In this research, the synthesis of new amino steroids derivatives **112-115** substituted in the position 3 of the cholesterol **1** is described. The synthetic scheme consists of transformation of cholesterol **1** into the cholesterol carbonate followed by reaction with amino reagents to obtain the corresponding amino derivatives **112-115** in good yield. The structures of these compounds were elucidated by spectroscopic techniques. These derivatives were evaluated for their *in vitro* antimicrobial properties against human pathogens by Disc diffusion method. The results found that amino steroid **112** showed a moderate zone of inhibition against strain *Staphylococcus aureus* (VRSA) 20622.



## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จด้วยดีได้ด้วยความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง อาจารย์ที่ปรึกษาผู้ควบคุมโครงการพิเศษที่ให้คำแนะนำในการค้นคว้าการทำงานทดลอง การรวบรวม และเรียบเรียงข้อมูล ตรวจสอบให้มีความสมบูรณ์ และช่วยเหลือในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ ผู้ทำการวิจัยจึงกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ภัทรวรุฒ มนต์วิเศษ และ ผศ.ดร.สุภารัตน์ รักชลธิ กรรมการสอบโครงการพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำ ข้อชี้แนะ และตรวจสอบข้อมูลต่างๆ ในโครงการพิเศษฉบับนี้ ให้มีถูกต้องความสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้ความรู้ คำแนะนำ รวมทั้งให้ข้อเสนอแนะต่างๆ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกทั้งในด้านอุปกรณ์ และสารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษนี้

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณครอบครัวอันเป็นที่รักยิ่ง สำหรับการสนับสนุนส่งเสริมด้านการศึกษาและกำลังใจที่ดีในการทำโครงการพิเศษจนสำเร็จสมบูรณ์

สำหรับประโยชน์ที่เกิดจากโครงการพิเศษฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้แก่บิดามารดา อันเป็นที่เคารพยิ่ง ตลอดจนครูบาอาจารย์ทุกท่านที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และประสบการณ์ที่มีค่าให้แก่ข้าพเจ้า

นางสาวเบญจพร	รุจิรานุกูล
นางสาวธราพร	ประสารวงศ์
นางสาวชนากาญจน์	หลานน้อย

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	VIII
รายการคำย่อ	IX
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	4
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	6
2.1 สเตียรอยด์	6
2.2 สเตียรอยด์ที่พบในธรรมชาติ	7
2.2.1 Sterol	7
2.2.1.1 Sterol จากสัตว์ในกลุ่มสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลัง	8
2.2.1.2 Sterol จากพืช	9
2.2.1.3 Sterol จากยีสต์	9
2.2.2 Bile acid	10
2.2.3 สเตียรอยด์ฮอร์โมน (Steroid hormone)	10
2.2.4 Cardiac glycosides	11
2.2.5 Sapogenins	12
2.3 ประโยชน์และโทษของสเตียรอยด์	12
2.4 ยาในกลุ่มสเตียรอยด์	15

## สารบัญ (ต่อ)

2.4.1 Corticosteroids	15
2.4.2 ฮอร์โมนเพศ	18
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	<b>28</b>
3.1 สารเคมี	28
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	28
3.3 การทดลองทั่วไป	29
3.4 ขั้นตอนการวิจัย	30
ขั้นตอนที่ 1 การเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลของ Cholesterol 1 ที่คาร์บอน ตำแหน่งที่ C-3 ให้เป็นหมู่หลุดออกโดยใช้รีเอเจนต์ คือ <i>p</i> -nitrophenyl chloroformate	30
ขั้นตอนที่ 2 การสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์โดยการทำปฏิกิริยาระหว่าง สาร 111 กับอะมิโนรีเอเจนต์	31
3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion Method	32
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล</b>	<b>34</b>
4.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Cholesterol 1	34
4.1.1 การสังเคราะห์ 4-Nitrophenyl-cholestene-carbonate 111	36
4.1.2 การสังเคราะห์ 3-Butylamino-5-cholestene 112	39
4.1.3 การสังเคราะห์ 3-Morpholino-5-cholestene 113	42
4.1.4 การสังเคราะห์ 3-Benzylamino-5-cholestene 114	44
4.1.5 การสังเคราะห์ 3-Piperonylamino-5-cholestene 115	47
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์	50
<b>บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	<b>52</b>
5.1 ผลของการสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์	52
5.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์	53

## สารบัญ (ต่อ)

5.3 ข้อเสนอแนะ	53
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก	56



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของอะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 เปรียบเทียบกับ Cholesterol 1	51
5.1 ผลได้ร้อยละของอะมิโนสเตียรอยด์	52



## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
3.1 การทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion method	33
3.2 วิธีวัดบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์ (Clear zone)	33
4.1 สเปกตรัม <sup>1</sup> H NMR ของ Cholesterol 1	35
4.2 สเปกตรัม <sup>13</sup> C NMR ของ Cholesterol 1	35
4.3 แผ่นทินเลเซอร์โครมาโทกราฟีของสาร 111 เปรียบเทียบกับ Cholesterol 1	36
4.4 สเปกตรัม FT-IR ของ 4-Nitrophenyl-cholestene-carbonate 111	37
4.5 สเปกตรัม <sup>1</sup> H NMR ของ 4-Nitrophenyl-cholestene-carbonate 111	38
4.6 สเปกตรัม <sup>13</sup> C NMR ของ 4-Nitrophenyl-cholestene-carbonate 111	39
4.7 สเปกตรัม FT-IR ของ 3-Butylamino-5-cholestene 112	40
4.8 สเปกตรัม <sup>1</sup> H NMR ของ 3-Butylamino-5-cholestene 112	41
4.9 สเปกตรัม <sup>13</sup> C NMR ของ 3-Butylamino-5-cholestene 112	41
4.10 สเปกตรัม FT-IR ของ 3-Morpholino-5-cholestene 113	43
4.11 สเปกตรัม <sup>1</sup> H NMR ของ 3-Morpholino-5-cholestene 113	44
4.12 สเปกตรัม <sup>13</sup> C NMR ของ 3-Morpholino-5-cholestene 113	44
4.13 สเปกตรัม FT-IR ของ 3-Benzylamino-5-cholestene 114	45
4.14 สเปกตรัม <sup>1</sup> H NMR ของ 3-Benzylamino-5-cholestene 114	46
4.15 สเปกตรัม <sup>13</sup> C NMR ของ 3-Benzylamino-5-cholestene 114	47
4.16 สเปกตรัม FT-IR ของ 3-Piperonylamino-5-cholestene 115	48
4.17 สเปกตรัม <sup>1</sup> H NMR ของ 3-Piperonylamino-5-cholestene 115	49
4.18 สเปกตรัม <sup>13</sup> C NMR ของ 3-Piperonylamino-5-cholestene 115	49

## รายการคำย่อ

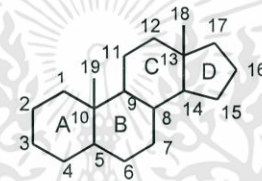
$^{13}\text{C}$ NMR	$^{13}\text{C}$ Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
$\delta$	Chemical shift
DCM	Dichloromethane
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DCC	<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimide
MIF	Migration inhibitory factor
TDI	Toluene diisocyanate
DMAP	4-dimethylaminopyridine
TDI	Toluene diisocyanate
<i>m</i> -CPBA	<i>meta</i> -Chloroperoxybenzoic acid
BPO	benzoyl peroxide
ODN	Oligodeoxynucleotide
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
$^1\text{H}$ NMR	$^1\text{H}$ Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
KBr	Potassium bromide
ppm	Part per million
$R_f$	Retention Factor
TLC	Thin Layer Chromatography

# บทที่ 1

## บทนำ

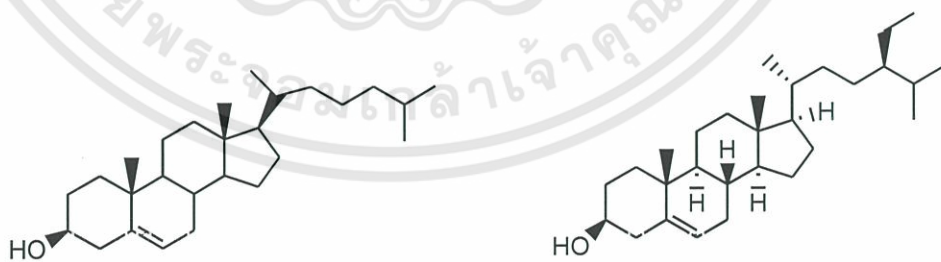
### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

สเตียรอยด์เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มี Perhydrocyclopentanophenanthrene เป็นโครงสร้างหลักประกอบไปด้วยวงแหวนต่อกัน 4 วงคือ วง A B C และ D ส่วนของวงแหวน A B และ C ที่ต่อกันเรียกว่า perhydrophenanthrene ring และวงแหวน D เรียกว่า cyclopentyl ring ดังแสดงในรูปที่ 1.1



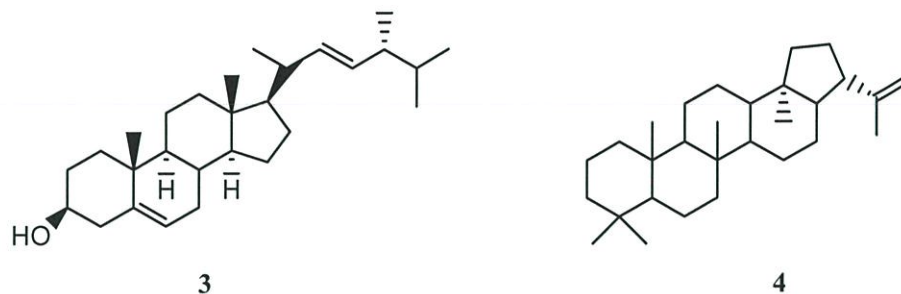
รูปที่ 1.1 โครงสร้างของ Perhydrocyclopentanophenanthrene

สเตียรอยด์เป็นกลุ่มของสารประกอบที่พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ เช่น Cholesterol 1 พบได้ในผนังเซลล์ของทุกเนื้อเยื่อในร่างกาย แต่จะสะสมอยู่มากในบริเวณ เช่น ตับ ไชสันหลัง สมอง และผนังหลอดเลือดแดง Sitosterol 2 เป็น sterols และ stanols ของพืช ซึ่งจะมีโครงสร้างคล้าย Cholesterol 1 และ Ergosterol 3 พบได้ในเชื้อรา และเป็นส่วนประกอบของยีสต์และเชื้อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา ซึ่งทำหน้าที่เดียวกับ Cholesterol 1 ในเซลล์สัตว์ Hopanoids 4 พบได้ในแบคทีเรียยูแคริโอต โดยมีหน้าที่ปรับปรุงความแข็งแรงของเยื่อหุ้มเซลล์

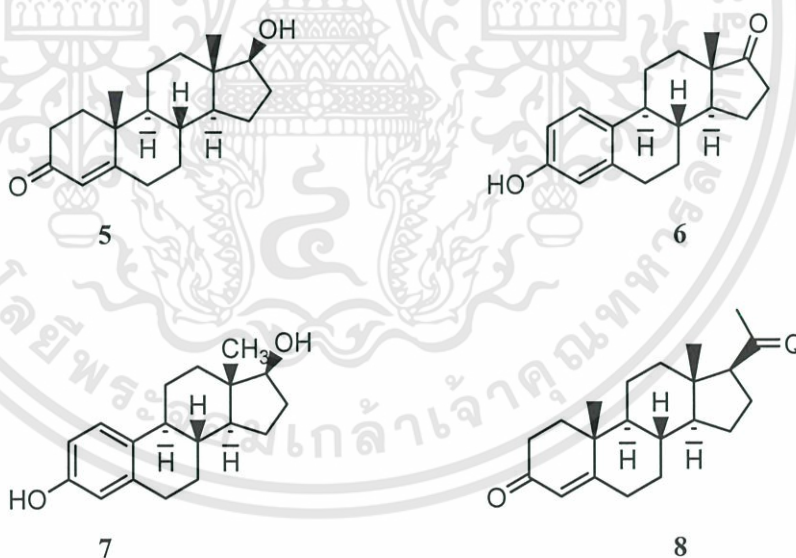


1

2



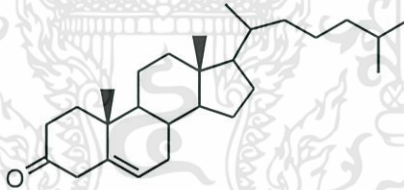
จากรายงานการวิจัยพบว่าสเตียรอยด์มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตเป็นอย่างมากเช่น Testosterone 5 เป็นฮอร์โมนเพศชายที่ทำหน้าที่ควบคุมการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์ การพัฒนาของกล้ามเนื้อ และเสียงของเพศชาย Estrone 6 และ Estradiol 7 เป็นกลุ่มของเอสโตรเจนหรือฮอร์โมนเพศหญิง ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างและการลอกหลุดของเยื่อบุมดลูกก่อนและหลังมีประจำเดือน Progesterone 8 เป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการตั้งครรภ์ ทำหน้าที่ควบคุมเยื่อบุผนังมดลูกในระหว่างที่มีการตั้งครรภ์หรือมีประจำเดือน Phytosterol เป็นสารที่พบได้ในพืช เช่น  $\beta$ -Sitosterol 2 มีโครงสร้างทางเคมีคล้าย Cholesterol 1 จึงช่วยยับยั้งการดูดซึม Cholesterol 1 ในอาหารที่ดูดซึมเข้าไปไม่ให้เข้าสู่กระแสเลือด โดยกลไกการเข้าไปแทนที่ตัวรับ Cholesterol 1 ทำให้มีระดับ Cholesterol 1 ในกระแสเลือดลดลง เป็นผลให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจลดลง



ปัจจุบันมีการนำสเตียรอยด์ไปใช้ประโยชน์ในหลายๆด้าน เช่น ในทางการแพทย์ นำไปใช้ทดแทนการขาดฮอร์โมนจากต่อมหมวกไต ที่มีสาเหตุมาจากความบกพร่องของต่อมหมวกไต และต่อมได้สมองส่วนหน้า ควบคุมอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็ง เช่น โรคหืด โรคหอบ การแพ้ยาและโรคผื่นคันตามผิวหนังที่เกิดจากการแพ้ หรือใช้ในการรักษาโรคข้ออักเสบ โรคมะเร็งบางชนิดได้แก่ Lymphoblastic Leukemia และมะเร็งเต้านม เป็นต้น ซึ่งในทางการแพทย์ยุคแรกการรักษาโรคต่างๆ

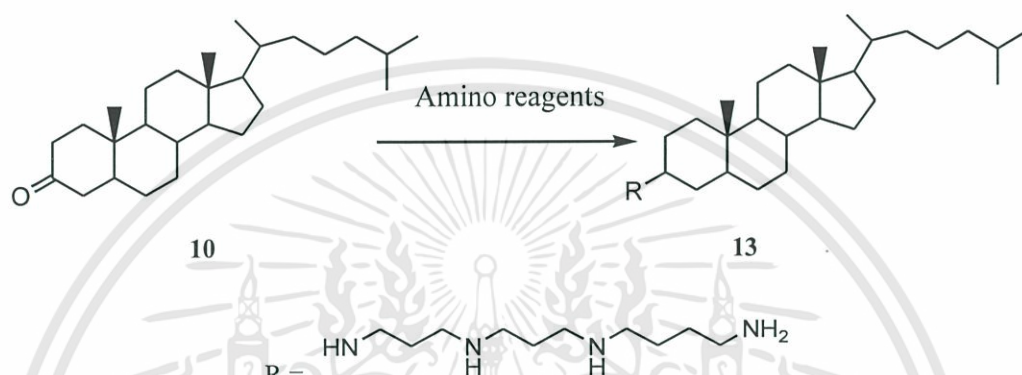
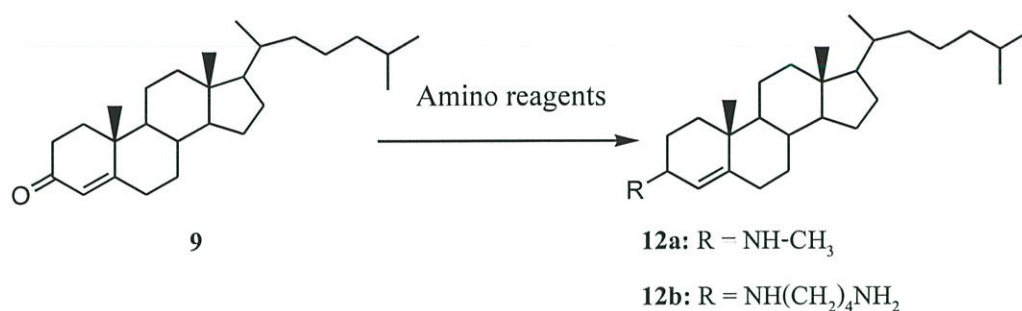
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิยมรักษาด้วยสเตียรอยด์ธรรมชาติที่สกัดมาจากพืชหรือสัตว์โดยตรง แต่เนื่องจากสเตียรอยด์ที่มีในธรรมชาตินั้นมีปริมาณน้อย หากนำพืชหรือสัตว์มาสกัดแยกสเตียรอยด์ธรรมชาติด้วยเทคนิคทางเคมีอินทรีย์เพื่อให้ได้สเตียรอยด์ในรูปสารบริสุทธิ์จะต้องใช้พืชและสัตว์เป็นจำนวนมากจึงจะเพียงพอต่อความต้องการเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนของผู้ป่วยที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลทางธรรมชาติและมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ด้วยเหตุนี้การนำสเตียรอยด์มาใช้ในทางการแพทย์จึงนิยมกระทำโดยวิธีการสังเคราะห์สเตียรอยด์ชนิดใหม่ โดยการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชัน หรือการเพิ่มหมู่แทนที่บนส่วนของวงแหวน หรือสายโซ่ด้านข้างของสเตียรอยด์ ซึ่งจะมีผลทำให้สมบัติต่างๆ ของสเตียรอยด์เปลี่ยนแปลงไป เช่น สมบัติทางกายภาพ ได้แก่ สี ลักษณะผลึก การจัดเรียงตัวของผลึก สมบัติทางเคมี ได้แก่ สภาพขี้ การละลายน้ำ เป็นต้น และการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในสิ่งมีชีวิต แม้ว่าสเตียรอยด์ที่สังเคราะห์ใหม่จะมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่ใกล้เคียงกัน แต่กลไกการออกฤทธิ์แตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง สเตียรอยด์จึงเป็นสารที่น่าสนใจอย่างมากกับนักวิจัยที่นิยมนำมาเป็นสารตั้งต้นและศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างสเตียรอยด์สังเคราะห์กับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ทั้งนี้ความแตกต่างของสเตียรอยด์แต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับหมู่ฟังก์ชัน หรือหมู่แทนที่บนสายโซ่ที่เกาะอยู่รอบนิวเคลียสหลักของสเตียรอยด์ เช่นงานวิจัยของ C. Salmi และคณะ [1] ได้สังเคราะห์อนุพันธ์อะมิโนสเตียรอยด์ โดยการสังเคราะห์จะเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของ 4-cholesten-3-one **9** Cholestan-3-one **10** และ 5-cholesten-3-one **11** ที่มีหมู่คาร์บอนิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 เป็นหมู่อะมิโนและพอลิอะมิโน



11

เมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคนิมนุษย์ พบว่าอนุพันธ์อะมิโนสเตียรอยด์ **12a**, **12b** และ **13** มีประสิทธิภาพสูงสุดในการแสดงฤทธิ์ต่อต้านยีสต์และเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า จากโครงสร้างที่แตกต่างกัน จะส่งผลให้สมบัติต่างๆ แตกต่างกันด้วยดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น



ความสนใจของงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาแนวทางการปรับเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันที่อยู่บนโครงสร้างหลักของ Cholesterol 1 โดยมีหมู่ฟังก์ชันหลัก คือ หมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 ของวงแหวน A และพันธะคู่ที่ตำแหน่ง C-5 และ C-6 ของวงแหวน B โดยวิธีการสังเคราะห์จะเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 ให้เป็นหมู่อะมิโน โดยเลือกทำปฏิกิริยากับอะมิโนรีเอเจนต์ เช่น เอมีนที่ประกอบด้วยสายโซ่ยาว (long chain amino reagents) และ/หรือ แอโรมาติกเอมีน (aromatic amine reagents) วิเคราะห์โครงสร้างของอนุพันธ์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านการต้านเชื้อจุลินทรีย์ [2]

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์จาก Cholesterol 1
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของอะมิโนสเตียรอยด์

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. เปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของ Cholesterol 1 คือหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 เป็นหมู่อะมิโน โดยการทำปฏิกิริยากับอะมิโนรีเอเจนต์
2. ตรวจสอบโครงสร้างของสารผลิตภัณฑ์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

### 3. ตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของอะมิโนสเตียรอยด์

#### 1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์ชนิดใหม่จากการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันของ Cholesterol 1
2. ทราบถึงโครงสร้างของอะมิโนสเตียรอยด์ ซึ่งจัดเป็นสเตียรอยด์สังเคราะห์ชนิดใหม่
3. อะมิโนสเตียรอยด์ที่สังเคราะห์ได้อาจมีฤทธิ์ในด้านการต้านเชื้อจุลินทรีย์
4. สามารถนำแนวทางการสังเคราะห์ไปพัฒนาต่อยอดในการสังเคราะห์สเตียรอยด์ชนิดใหม่ได้



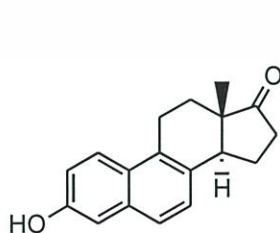
## บทที่ 2

# ทฤษฎีและเอกสารที่เกี่ยวข้อง

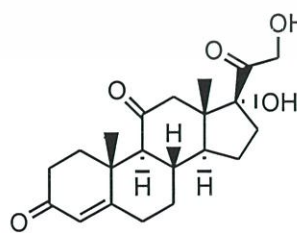
### 2.1 สเตียรอยด์ [3]

สเตียรอยด์ เป็นสารที่พบได้ทั่วไปในสิ่งมีชีวิตทั้งพืช และสัตว์ การค้นพบสเตียรอยด์เริ่มจากการสกัดจากพืช หรือเนื้อเยื่อของสัตว์ด้วยตัวทำละลายอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม หรือเบนซีน เป็นต้น ซึ่งพบว่าเป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติคล้ายกับไขมัน สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ และไม่ละลายน้ำ โครงสร้างของสเตียรอยด์เป็น polycyclic hydrocarbon ที่มีความไม่ยืดหยุ่น (rigid) และมีความจำเพาะเจาะจงสูง (specific) โดยมีโครงสร้างคาร์บอนเป็นวงแหวน 4 วง เชื่อมต่อกันเป็น โครงสร้างหลัก ความแตกต่างของชนิดสเตียรอยด์จะแปรผันไปตามหมู่ฟังก์ชันที่ติดอยู่กับวงแหวนเหล่านี้ นั่นคือ แม้ว่าสูตรโครงสร้างของสเตียรอยด์จะคล้ายคลึงกัน แต่ก็มีการออกฤทธิ์ที่เฉพาะเจาะจง และแตกต่างออกไปอย่างสิ้นเชิง ทำให้มีสเตียรอยด์ที่แตกต่างกันนับร้อยชนิดที่สามารถตรวจพบได้ในสิ่งมีชีวิต

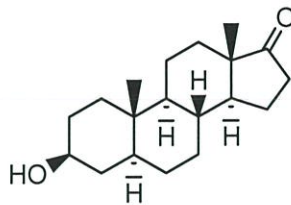
ในทางสรีรวิทยา และทางการแพทย์ สารสเตียรอยด์ที่สำคัญส่วนใหญ่ เช่น สเตียรอยด์ฮอร์โมน สเตียรอยด์ฮอร์โมนที่พบในสัตว์มีปริมาณค่อนข้างน้อย จึงไม่สามารถใช้เป็นแหล่งสำคัญของสารดังกล่าวได้ ในปลายทศวรรษของปี ค.ศ.1930 ได้มีการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์สเตียรอยด์หลายชนิดขึ้น สเตียรอยด์ฮอร์โมนตัวแรกที่ได้จากการสังเคราะห์ คือ Equilenin 14 และถูกบันทึกไว้โดย W.E.Bachmann ในปี ค.ศ.1939 R.B.Woodward ได้รายงานการสังเคราะห์ Cortisone 15 ต่อมาในปี ค.ศ.1951 Sir Robert Robinson และ J.W. Cornforth ได้อธิบายการสังเคราะห์ Epiandrosterone 16 และในปี ค.ศ.1953 การสังเคราะห์สารดังกล่าวในปริมาณมากอาจใช้การสังเคราะห์แบบกึ่งสังเคราะห์ (semi-synthesis) ซึ่งเป็นการสังเคราะห์ที่เริ่มจากสารตั้งต้นในธรรมชาติ ซึ่งมีขั้นตอนการสังเคราะห์ และค่าใช้จ่ายในการสังเคราะห์น้อยกว่า ปัจจุบันสเตียรอยด์ในพืชได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีปริมาณสารตั้งต้นค่อนข้างสูง



14

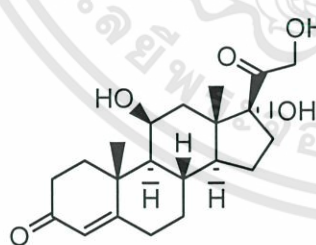


15

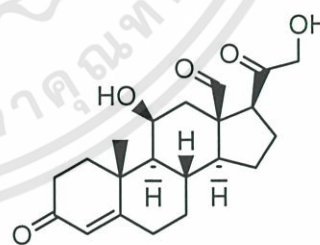


16

สเตียรอยด์ที่เป็นแม่แบบชนิดแรก คือ Cholesterol 1 เป็นสารประกอบประเภทสเตียรอยด์ แอลกอฮอล์การตรวจสอบสูตรโครงสร้างทางเคมีของ Cholesterol 1 ได้รับความสนใจและให้ความสำคัญมากขึ้น เนื่องจากสารดังกล่าวมีอยู่ทั่วไปในเนื้อเยื่อต่างๆของสัตว์มีกระดูกสันหลัง โดยพบสารเหล่านี้มีอยู่มากในส่วนของสมอง ไขสันหลัง และน้ำ ซึ่งพบประมาณ 17 เปอร์เซ็นต์ของเนื้อสมอง ในส่วนของ solid matter ซึ่งเป็น Cholesterol 1 อิสระ นอกจากนี้ยังพบ Cholesterol 1 ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เช่น protozoa และ sponges และยังพบในพืชได้ในบางชนิด เช่น *Rhodophyta* sp. ในกลุ่ม Chlorophyta และ Phaeophyta เป็นต้นสเตียรอยด์ฮอร์โมนในร่างกายส่วนใหญ่จะถูกสังเคราะห์ขึ้นจาก Cholesterol 1 จากกระบวนการชีวสังเคราะห์สเตียรอยด์ที่ถูกสร้างขึ้นมีหลักๆ 2 ชนิด คือ Cortisol 17 และ Aldosterone 18 จะถูกหลั่งออกมาจากต่อมหมวกไตวันละประมาณ 20-30 มิลลิกรัม ซึ่งจะมากหรือน้อยต่างกันตามช่วงเวลาโดยจะถูกสร้างสูงสุดตอนต้นนอน และต่ำสุดตอนหลับ เรียกว่า Diurnal Pattern นอกจากนี้เมื่อออกกำลังกายภาวะที่ร่างกายมีความเครียด วิตกกังวล ซึมเศร้า มีบาดแผล ได้รับการผ่าตัด ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ ร่างกายจะหลั่งฮอร์โมนออกมาเพิ่มขึ้นเพื่อควบคุมสภาวะเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน ผลต่อความสมดุลของเกลือแร่ อิเล็กโทรไลต์ และน้ำ มีฤทธิ์บรรเทาอาการอักเสบเนื่องจากมีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกัน ผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดผลต่อการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ กล้ามเนื้อกระดูก



17



18

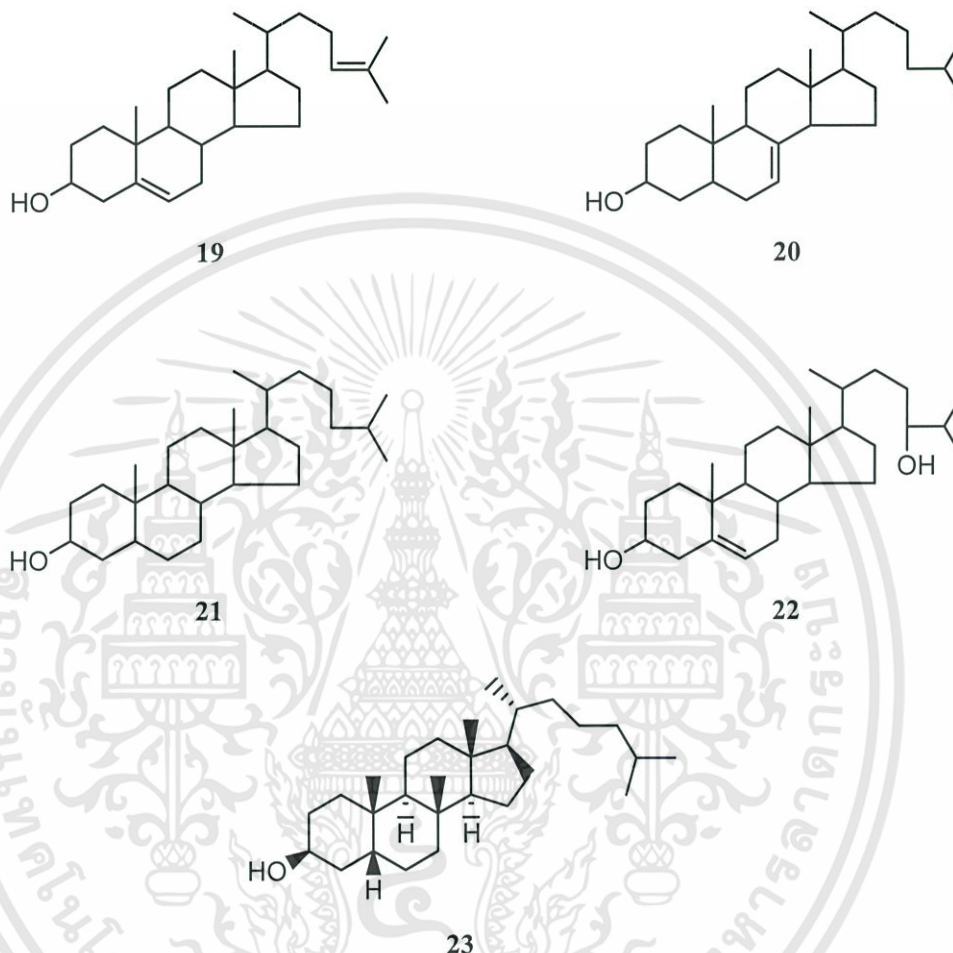
## 2.2 สเตียรอยด์ที่พบในธรรมชาติ[4]

### 2.2.1 Sterol

Cholesterol 1 เป็น sterol ชนิดหนึ่งที่พบมากในธรรมชาติ พบได้ในสัตว์ทั้งกลุ่มมีกระดูกสันหลังและไม่มีกระดูกสันหลัง รวมทั้งในพืชด้วย โดยพบร่วมกับสเตียรอยด์ในกลุ่ม sterol ชนิด

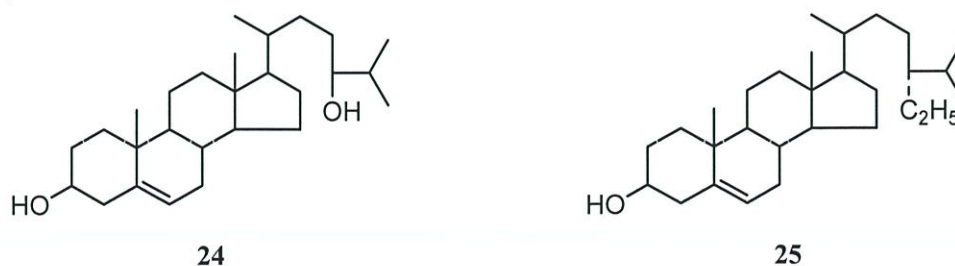
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่นๆ เช่น Desmosterol **19** Lathosterol **20** Choprostanol **21** และ Cerebrosterol **22** ขั้นตอนที่สำคัญในชีวสังเคราะห์ของ Cholesterol **1** คือการเปลี่ยน acetate เป็น Squalene การเกิดปฏิกิริยา cyclization ของ Squalene เป็น Lanosterol **23** และปฏิกิริยา demethylation ของ Lanosterol **23** เป็น Cholesterol **1**

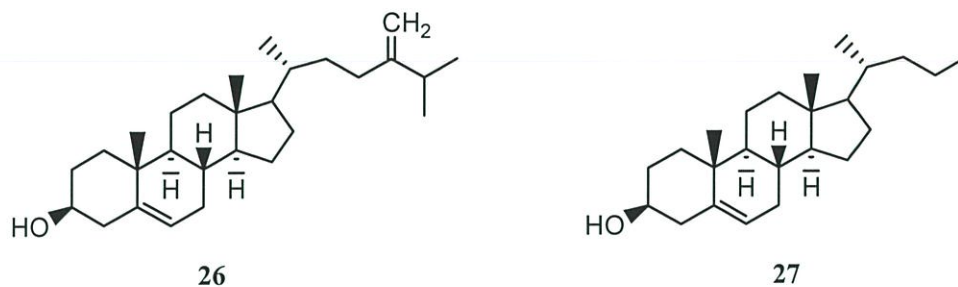


### 2.2.1.1 Sterol จากสัตว์ในกลุ่มสัตว์ทะเลที่ไม่มีกระดูกสันหลัง

Sterol ในสัตว์ และพืชชั้นต่ำกำลังเป็นที่น่าสนใจในปัจจุบัน สารประกอบส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายกับ Cholesterol **1** แต่มีจำนวนอะตอมคาร์บอนที่ side chain เพิ่มขึ้นจาก 8 อะตอมเป็น 9 อะตอม โดยมี methyl group มาต่อเพิ่มที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 24 เช่น Spongesterol **24** Clionasterol **25** 24-Methylenecholesterol **26** และ Fucosterol **27**

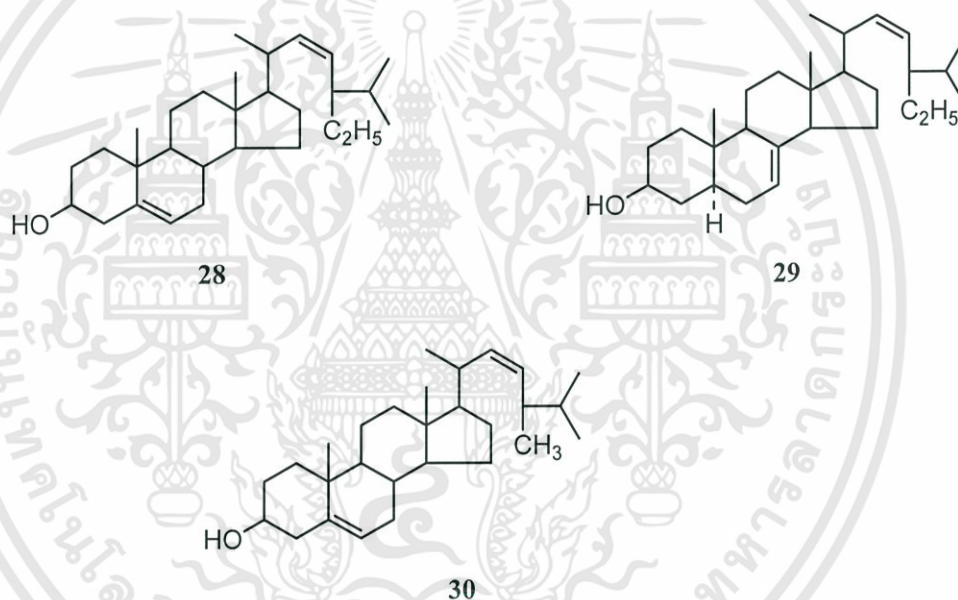


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



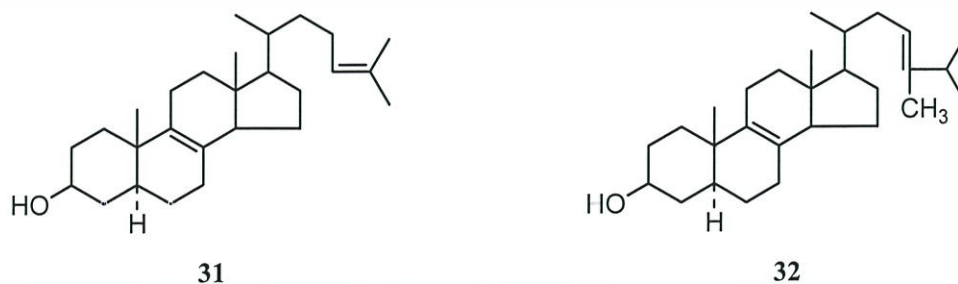
### 2.2.1.2 Sterol จากพืช

Sitosterol 2 และ Stigmasterol 28 เป็น sterol ที่พบมากในพืช ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน สารเหล่านี้มีคาร์บอนบนสายโซ่ด้านข้าง (sidechain) 9 หรือ 10 อะตอม เช่น Stigmasterol 28  $\alpha$ -Spinasterol 29 และ Brassicasterol 30

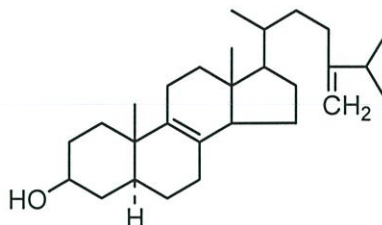


### 2.2.1.3 Sterol จากยีสต์

Ergosterol 3 และ Zymosterol 31 เป็น sterols ที่พบมากในยีสต์ นอกจากนี้ยังพบ Ascosterol 32 และ Fecosterol 33 ด้วย



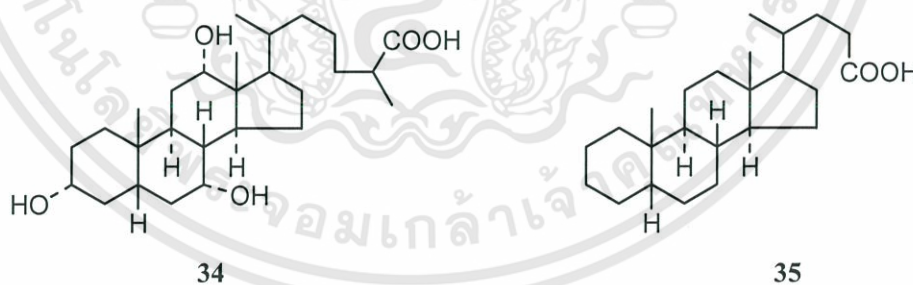
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



33

### 2.2.2 Bile acid

Bile acid สามารถแยกได้จากน้ำดีของสัตว์ชั้นสูง ซึ่งอาจพบอยู่ในรูปเกลือโซเดียม (sodium salt) โดยเป็น peptidic conjugate กับ taurine และ glycine โครงสร้างของ bile acid มีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นแบบ  $\alpha$ -configuration และการเชื่อมกันของวง A และ B เป็นแบบ *cis* โดยสายโซ่ด้านข้าง (side chain) มีคาร์บอน 5 อะตอม และมีหมู่ carboxylic acid ด้วย สารในกลุ่ม bile acids นี้มีลักษณะทิศทาง (orientation) ของสายโซ่ด้านข้างและทิศทางของหมู่เมทิลในตำแหน่งการเชื่อมกันของวงแหวน B/C และ C/D เหมือนกับ Cholesterol 1 แบ่งสารในกลุ่มนี้ได้เป็น 2 แบบ คือ คาร์บอนตำแหน่ง C-27,28 acid และ C-24 acid พบ C-27,28 acid ในน้ำดีของสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำและสัตว์เลื้อยคลาน เช่น  $25\alpha$  และ  $25\beta$ -isomer ของ  $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ -trihydroxycoprostanic acid 34 เช่น น้ำดีที่พบในเต่าจะประกอบด้วย tetrahydroxysterocolanic และ tetrahydroxyisosterocolanic acid ( $C_{27}H_{46}O_6$ ) น้ำดีที่พบในธรรมชาติส่วนใหญ่จะอยู่ในรูป substituted ของ Cholanic acid 35 โดยเกลือของ bile acid มีแรงดึงผิวของน้ำค่อนข้างต่ำและสามารถใช้เป็น emulsifying agent ได้ โดยทั่วไป น้ำดีผลิตจากตับและสังเคราะห์จาก Cholesterol 1



34

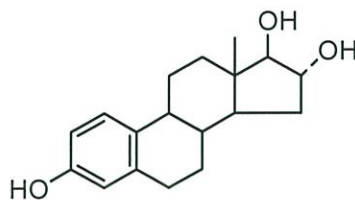
35

### 2.2.3 สเตียรอยด์ฮอร์โมน (Steroid hormone)

ฮอร์โมนเป็นสารที่หลังจากต่อมไร้ท่อและสามารถควบคุมการทำงานของร่างกายได้ สเตียรอยด์ที่เป็นฮอร์โมนเพศสามารถแบ่งได้เป็นกลุ่มต่างๆ ได้แก่ กลุ่มฮอร์โมนเพศหญิง (female sex hormone) เช่น Estrogen (Estradiol 7 Estrone 6 และ Estriol 36) กลุ่ม progestational hormones เช่น Progesterone 8 และกลุ่มฮอร์โมนเพศชาย (male sex hormones) หรือ androgen เช่น Testosterone 5 ส่วน estrogen ที่พบในธรรมชาติแตกต่างจากสเตียรอยด์ฮอร์โมนตัวอื่นๆ คือ มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

aromatic ring ที่วง A ไม่มี methyl group ที่คาร์บอนตำแหน่ง C-10 และมี keto หรือหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่ง 16 หรือ 17

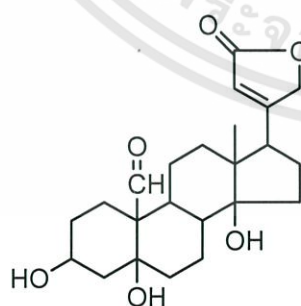


36

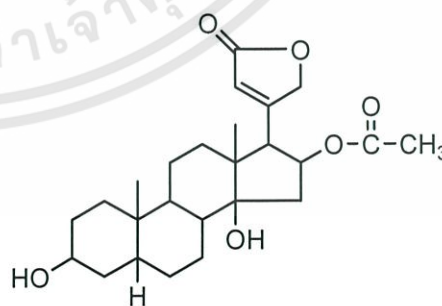
กลุ่ม adrenocortical hormones มีจำนวนอะตอมคาร์บอน 21 อะตอม มีหมู่คีโตที่คาร์บอนตำแหน่ง C-3 และ C-20 พันธะคู่ที่คาร์บอนตำแหน่ง 4 และ 5 และที่คาร์บอนตำแหน่ง C-21 มีหมู่ไฮดรอกซิลสารประกอบเหล่านี้แบ่งเป็นกลุ่ม glucocorticoids เช่น Cortisone 15 และ Hydrocortisone และกลุ่ม mineralocorticoids เช่น Aldosterone 18

#### 2.2.4 Cardiac glycosides

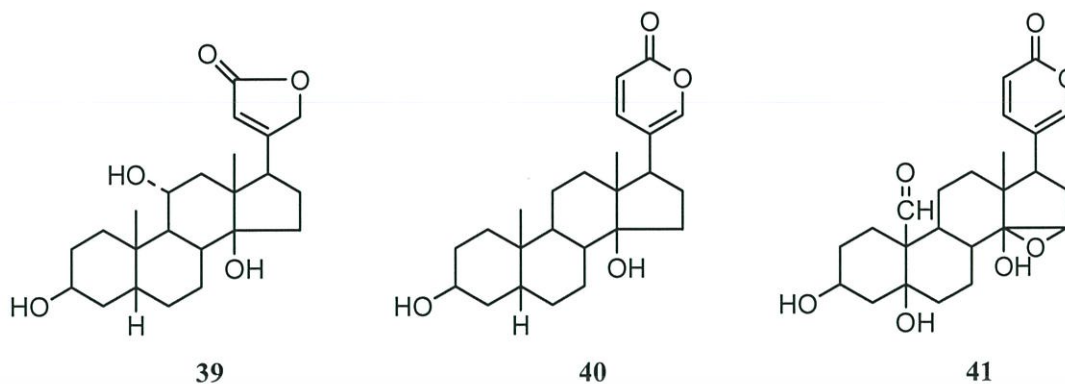
สเตียรอยด์ในกลุ่มนี้มีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจซึ่งเรียกว่า cardiac-active (cardiotonic) สารประกอบ cardiac glycosides แยกได้จากพืชที่อยู่ในเขตร้อน และสามารถพบได้ในเขตแอฟริกาและอเมริกาใต้ ชาวพื้นเมืองใช้เตรียมลูกคอกออาบาพิช อาจพบบางตัวในน้ำลายคางคก สารในกลุ่ม aglycone แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ cardenolides และ bufadienolides กลุ่ม cardenolides เป็น C-23 steroids ซึ่งมี side chain ของ  $\alpha, \beta$ -unsaturated five-membered lactone ring และมี hydroxyl group ที่ตำแหน่ง C-14 ส่วนกลุ่ม bufadienolides เป็น C-24 steroid มี side chain เป็นพันธะคู่ 2 พันธะ ใน six-membered lactone ring และมี  $14\beta$ -hydroxyl group ในโมเลกุล เช่น Strophanthidin 37 Oieandrinencardenolides 38 Sarmentogenin 39 Bufalin 40 Marinobufarin 41



37

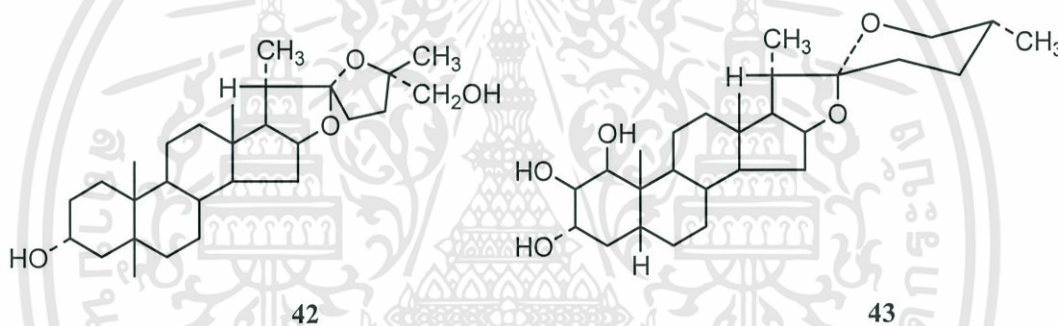


38



### 2.2.5 Saponinins

ไกลโคไซด์ของพืชที่สามารถทำให้เกิดฟองได้ในน้ำเรียกว่า saponin ตัวอย่างเช่น digitoxin ใช้ในปฏิกิริยาตกตะกอนของสารในกลุ่ม  $3\beta$ -hydroxy steroid สารในกลุ่ม saponin ที่ไม่มีน้ำตาลเกาะอยู่ เช่น Cholegenin 42 และ Tokorogenin 43



### 2.3 ประโยชน์และโทษของสเตียรอยด์[5]

การนำสเตียรอยด์มาใช้ให้ถูกต้องตามหลักวิชาการจะเกิดประโยชน์อย่างมากสเตียรอยด์นำมาใช้ในทางการแพทย์เพื่อประโยชน์ในการรักษา ดังต่อไปนี้

- ใช้เพื่อทดแทนการขาดฮอร์โมน โดยปกติจะใช้สเตียรอยด์เพื่อทดแทนการขาดฮอร์โมนจากต่อมหมวกไตที่มีสาเหตุมาจากความบกพร่องของต่อมหมวกไตและต่อมใต้สมองส่วนหน้า
- ใช้รักษาโรคต่างๆ สเตียรอยด์จะถูกใช้เมื่อใช้ยาอื่นไม่ได้ผล หรือโรคนั้นไม่อาจควบคุมด้วยยาอื่น เนื่องจากมีอาการข้างเคียงสูง

วัตถุประสงค์ที่นำสเตียรอยด์ไปใช้เพื่อบรรเทาอาการอักเสบและ/หรือกดภูมิคุ้มกันในโรคต่างๆนั้น เช่น

โรคภูมิแพ้เมื่อใช้สเตียรอยด์ในโรคภูมิแพ้จะให้ผลดีและรวดเร็วในการควบคุมอาการหลายอย่างที่เกี่ยวเนื่องกับโรคภูมิแพ้ เช่น โรคหืด ไข้หวัดเรื้อรังชนิดแพ้อากาศใช้ละอองพาง เป็นต้น การแพ้ยาและโรคผื่นคันตามผิวหนังที่เกิดจากการแพ้แต่เนื่องจากยามีอันตรายจากการใช้สูงจึงควรเก็บ

จึงควรเก็บไว้ใช้ในกรณีที่เป็นจริงๆ และใช้ในระยะเวลาสั้น เช่น เป็นโรคหวัด คัดจมูกเรื้อรังชนิด  
เพื่ออากาศ ที่ใช้ยาต้านฮีสตามีนไม่ได้ผล หรือเป็นโรคหืดที่ใช้ยาขยายหลอดลมแล้วไม่ได้ผล

โรคผิวหนัง สเตียรอยด์สามารถลดอาการทางผิวหนังที่เกิดจากการแพ้ การอักเสบ และโรค  
ผิวหนังที่ทำให้เกิดอาการคันต่างๆ แต่การใช้ยาสเตียรอยด์ไม่ใช่เป็นการรักษาที่ต้นเหตุ เป็นเพียง  
ยับยั้งอาการคัน และอาการอักเสบที่เกิดจากเชื้อรา ดังนั้นเมื่อหยุดยาที่จะกลับมาเป็นอีก และอาจมี  
ผลทำให้การติดเชื้อลุกลามได้ เพราะสเตียรอยด์มีผลในการกดภูมิคุ้มกันของร่างกาย

โรคตา สเตียรอยด์ใช้ได้ผลในการรักษาโรคของตาที่เกิดจากอาการแพ้ เช่น อาการเคืองตา  
เนื่องจากการแพ้สารบางชนิด ที่ไม่ใช่เกิดจากการติดเชื้อ ซึ่งแพทย์มักรักษาด้วยการใช้ยาหยอดตา  
ดังนั้นจึงห้ามใช้ยาที่มีส่วนผสมของสเตียรอยด์ ในกรณีติดเชื้อและยาไม่มีผลในการรักษาต่อ  
กระจก นอกจากนี้หากใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน อาจให้ความดันในลูกตาสูงขึ้นจนเกิดเป็นโรคต้อ  
หินได้

โรคข้ออักเสบชนิดรูมาตอยด์ การรักษาโรคนี้ ปกติจะใช้ยาต้านการอักเสบชนิดที่ไม่ใช่  
สเตียรอยด์ก่อน หากมีอาการอักเสบที่รุนแรง แพทย์อาจพิจารณาให้สเตียรอยด์เพื่อบรรเทาอาการ  
เฉพาะครั้ง กรณีที่มีการอักเสบเฉพาะบางข้อนั้น การฉีดสเตียรอยด์เข้าข้ออาจช่วยลดการอักเสบได้  
ในระยะแรก

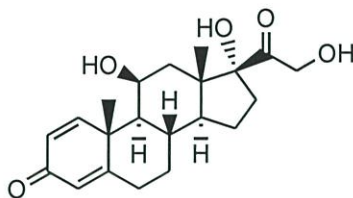
เนื่องจากสเตียรอยด์เป็นยา ซึ่งอาจมีผลต่อระบบต่างๆ ในร่างกายแบบทุกระบบ การ  
ใช้สเตียรอยด์อาจนำไปสู่อันตรายมากมายหลายประการ ได้แก่

- การติดเชื้อ การใช้สเตียรอยด์ในปริมาณมาก มีผลกดภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้เกิด  
การติดเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และโดยเฉพาะเชื้อราได้ง่าย นอกจากนี้สเตียรอยด์อาจบดบังอาการแสดง  
ของโรคติดเชื้อ ทำให้ตรวจพบโรคเมื่ออาการรุนแรงแล้ว

- กฎการทำงานของระบบที่ควบคุมการหลั่งฮอร์โมน ระบบที่ทำหน้าที่ควบคุมการหลั่ง  
สเตียรอยด์ฮอร์โมน ประกอบด้วย ฮอร์โมนที่สำคัญในร่างกาย 3 แห่งด้วยกัน คือ ไฮโปทาลามัส  
(Hypothalamus) ต่อมพิทูตารี (Pituitary gland) และต่อมหมวกไต (Adrenal gland) ในภาวะที่มี  
ระดับของ Cortisol 17 ในเลือดสูง จะมีการกระตุ้นจากไฮโปทาลามัสไปยังต่อมหมวกไตให้ลดการ  
สร้างสเตียรอยด์ ในทางตรงกันข้ามถ้าระดับของ Cortisol 17 ต่ำจะมีผลกระตุ้นให้ต่อมหมวกไต  
สร้างฮอร์โมนนี้เพิ่มขึ้น

- การใช้สเตียรอยด์ปริมาณมาก จะไปกีดการทำงานของระบบฮอร์โมนที่ทำหน้าที่สร้าง และ  
ควบคุมการหลั่งฮอร์โมนชนิดนี้ ซึ่งจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของยาที่ได้รับ และระยะเวลา  
ในการใช้ยา เช่น ถ้าให้สเตียรอยด์ในขนาดที่เทียบเท่ากับ Prednisolone 44 5 มิลลิกรัมต่อวัน  
ค่อนข้างจะไม่มีผลในการกีดการทำงานของระบบนี้เลย แต่ถ้าให้ปริมาณเทียบเท่ากับ Prednisolone 44  
15 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลานานกว่า 1-2 เดือน จะมีผลต่อการกีดการสร้างฮอร์โมนได้มาก ทำให้

เมื่อหยุดใช้ยาแล้ว ไม่สามารถสร้างฮอร์โมนนี้ได้เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย โดยเฉพาะเมื่อร่างกายอยู่ในภาวะเครียด



44

- แผลในกระเพาะอาหาร สเตียรอยด์มีผลทำให้เยื่อกระเพาะอาหารบางลง และยับยั้งการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ทดแทนเนื้อเยื่อเก่าที่หลุดไป นอกจากนี้ ในผู้ป่วยบางรายยังพบว่า มีการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้นด้วย การใช้สเตียรอยด์อาจทำให้กระเพาะอาหารทะลุ หรือเลือดออกในกระเพาะอาหารได้โดยไม่มีอาการปวดมาก่อน

- ผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง สเตียรอยด์อาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงบุคลิกภาพ และอารมณ์ของผู้ใช้ได้ การใช้ยาปริมาณมากจะทำให้เกิดอารมณ์เป็นสุข จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผู้ใช้มีอาการติดยา

- กระดูกผุ (Osteoporosis) การใช้สเตียรอยด์ติดต่อกันเป็นเวลานาน มีผลทำให้กระดูกผุได้ ดังนั้นผู้ที่มิแน่วโน้มที่จะเกิดกระดูกผุอยู่แล้ว เช่น ผู้สูงอายุ คนที่เป็นโรคไขกระดูก ควรหลีกเลี่ยงการใช้ยาติดต่อกันเป็นเวลานาน

- ยับยั้งการเจริญเติบโตของร่างกาย เนื่องจากสเตียรอยด์มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเด็ก การใช้ยาปริมาณมากในเด็ก จึงไม่ให้อายุติดต่อกันเป็นเวลานาน แต่จะให้ยาแบบวันเว้นวัน เพราะจะทำให้มีฤทธิ์หรืออาการไม่พึงประสงค์น้อยกว่า

- ทำให้ระดับโพแทสเซียมในเลือดต่ำ ผลของสเตียรอยด์ทำให้ร่างกายสูญเสียเกลือโพแทสเซียมทางปัสสาวะมาก ซึ่งป้องกันได้โดยลดการกินโซเดียม และกินอาหารที่มีโพแทสเซียมสูงแทน ผู้ที่มีระดับโพแทสเซียมต่ำมากอาจมีผลทำให้เกิดอาการอ่อนเพลีย กล้ามเนื้อไม่มีแรงและหัวใจเต้นผิดจังหวะหรือหยุดเต้นได้

- ทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรง การใช้สเตียรอยด์เป็นระยะเวลาสั้น จะทำให้มีอาการอ่อนแรงของกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกล้ามเนื้อบริเวณต้นขาและแขน ซึ่งเมื่อลดปริมาณของยาลงจะมีผลทำให้อาการดีขึ้น

- ผลต่อตา ยาหยอดตาบางชนิดมีส่วนผสมของสเตียรอยด์ หากใช้ไปนานๆ อาจทำให้ความดันลูกตาสูงขึ้น และมีโอกาสติดเชื้อได้ง่าย บางรายอาจทำให้ตาบอดได้

- ผลต่อผิวหนัง สเตียรอยด์ในรูปของยาทาภายนอก มีผลทำให้ผิวหนังบางเป็นรอยแตก และมีลักษณะเป็นมัน การใช้สเตียรอยด์ที่สูตรโครงสร้างมีฟลูออไรด์เป็นองค์ประกอบ ถ้าทาบริเวณ

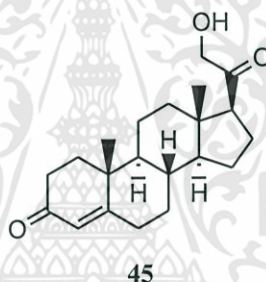
ใบหน้าอาจทำให้ใบหน้ามีผื่นแดง และมีอาการอักเสบของผิวหนังรอบๆ ในบางรายอาจมีผิวหนังคันด้วย

## 2.4 ยาในกลุ่มสเตียรอยด์ [4]

ยาในกลุ่มสเตียรอยด์แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ตามการออกฤทธิ์ คือ กลุ่มฮอร์โมน Corticosteroids ฮอร์โมนเพศ และฮอร์โมนเพื่อคุมกำเนิด

### 2.4.1 Corticosteroids แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. กลุ่ม Glucocorticoids มีผลต่อการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้ ได้แก่ Cortisone 15 และ Cortisol 17
2. กลุ่ม Mineralocorticoids มีฤทธิ์ทำให้มีการคั่งของเกลือ โซเดียมและน้ำ ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้ ได้แก่ Aldosterone 18 และ Deoxycorticosterone 45



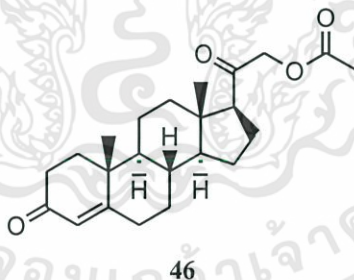
ฮอร์โมนทั้งสองกลุ่มนี้ มีประโยชน์ที่ใช้โดยตรงในคนที่ป่วยเป็นโรค เนื่องจากการขาดฮอร์โมน จึงใช้เป็นฮอร์โมนทดแทน แต่ Glucocorticoids ยังมีฤทธิ์ในการรักษา หรือระงับอาการอักเสบ โดยมีกลไกทำให้ผนังของไลโซโซมคงทนไม่แตกง่าย ยับยั้งการออกฤทธิ์ของ Migration inhibitory factor (MIF) ของ macrophages และลดการซึมผ่านของหลอดเลือด ฮอร์โมนกลุ่ม Glucocorticoids มีประโยชน์ใช้ในการช่วยบรรเทาอาการของโรคเท่านั้น โดยที่ไม่ได้รักษาที่สาเหตุของโรค ซึ่งฮอร์โมนกลุ่มนี้ใช้ในโรคข้ออักเสบ เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคข้อเสื่อม และโรคไตเนโฟรติก โรคภูมิต้านทานตนเอง เช่น โรค lupus โรคภูมิแพ้ เช่น โรคไข้ละอองฟาง ลมพิษ แพ้ยา ลมพิษยักษ์ และปฏิกิริยาภูมิแพ้ โรคหืดหอบในกรณีหอบหืดต่อเนื่อง และเรื้อรังที่มีอาการรุนแรงเท่านั้น โรคผิวหนัง เช่น โรคผิวหนังอักเสบ โรคสะเก็ดเงิน โรคผื่นภูมิแพ้ทางผิวหนัง และโรคคัน โรคมะเร็งบางชนิด เช่น โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งเต้านม โรคตา เช่น โรคภูมิแพ้ทางตาต่างๆ โรคอื่นๆ เช่น โรคซาร์คอยด์ โรคเกล็ดเลือดต่ำ โรคโลหิตจาง และการผ่าตัดปลูกถ่ายอวัยวะเพื่อป้องกันการปฏิเสธอวัยวะที่ปลูกถ่ายเข้าไป

ในปัจจุบันได้มีการสังเคราะห์ Glucocorticoids ให้มีฤทธิ์ในการรักษาดีขึ้น มีผลข้างเคียงน้อยลง โดยเตรียมในรูปเอสเทอร์ของฟอสเฟต และเฮมิซัคซิเนต (hemisuccinate) ซึ่งออกฤทธิ์ได้เร็ว แต่ทั้งหมดฤทธิ์เร็วด้วย ส่วนในรูปของไดอะซิเตท อะเซโทไนด์ และเทอร์เทียร-บิวทิลอะซิเตท จะถูกดูดซึมได้ช้าแต่มีฤทธิ์อยู่ได้นาน ในการสังเคราะห์ Glucocorticoids ที่ใช้ในปัจจุบัน มีการเพิ่มพันธะคู่ที่ C-1 และ C-2 ซึ่งมีฤทธิ์เพิ่มคาร์โบไฮเดรต และเก็บรักษาโซเดียม เมื่อเพิ่มฟลูออรีนหรือคลอรีนที่ตำแหน่ง C-9 จะเพิ่มฤทธิ์ทุกประเภทของยากลุ่มนี้ และเมื่อเกิดเมทิลเลชันหรือไฮดรอกซิลเลชันที่ C-16 จะลดการเก็บรักษาโซเดียม และช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยารีดักชันที่คาร์บอนตำแหน่ง C-20 จะเห็นว่า Glucocorticoids ในปัจจุบันมีคุณสมบัติด้านการอักเสบเพิ่มมากขึ้น และเก็บรักษาเกลือลดน้อยลง

ตัวอย่างฮอร์โมนกลุ่ม Glucocorticoids และ Mineralocorticoids ที่ใช้ในการรักษา ได้แก่

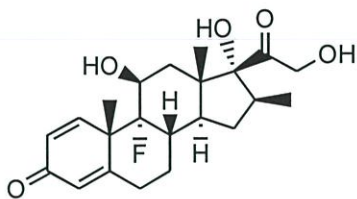
1. Cortisol 17 อาจได้จากธรรมชาติหรือการสังเคราะห์ ใช้เป็นยาต้านการอักเสบ ใช้ทางผิวหนังในคนไข้โรคผิวหนัง เมื่ออยู่ในรูปของแอสซิเตทใช้ฉีดเข้าเส้นหรือกล้ามเนื้อ เมื่ออยู่ในรูปของซัคซิเนต (succinate) นอกจากนี้ยังใช้ในคนไข้ที่เป็น Shock-like syndromes ซึ่งเนื่องมาจากภาวะต่อมหมวกไตบกพร่อง โรคภูมิไวเกิน โรคหอบหืด โรค lupus และการติดเชื้อที่รุนแรง

2. Cortisone 15 ได้จากธรรมชาติหรือการสังเคราะห์ มีฤทธิ์เหมือน Cortisol 17 แต่มีความแรงน้อยกว่า Cortisol 17 เมื่ออยู่ในรูปของแอสซิเตท โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อใช้ร่วมกับ Deoxycorticosterone acetate 46 จะใช้ในภาวะต่อมหมวกไตบกพร่อง นอกจากนี้ยังใช้ในยับยั้งการหลั่งของต่อมหมวกไตส่วนนอกใน bilateral hyperplasia



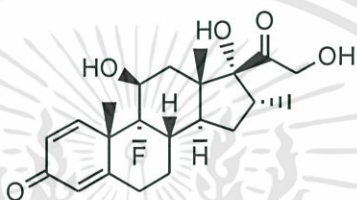
3. Prednisolone 44 มีฤทธิ์เป็น Mineralocorticoid น้อยกว่า Cortisol 17 และ Cortisone 15 เมื่ออยู่ในรูปของบิวทิลฟอสเฟตใช้ในการรักษาข้อต่ออักเสบ และอาการบวมอักเสบของข้อต่อ โดยฉีดเข้าข้อต่อซินโนเวียล (synovial joint) ใช้รักษาการอักเสบของชีสต์ และการอักเสบของเนื้อเยื่ออ่อน โดยเฉพาะที่เมื่ออยู่ในรูปของอะซิเตทสามารถให้โดยการรับประทานได้

4. Betamethasone 47 มีฤทธิ์เป็น anti-rheumatic agent สูงและไม่มีฤทธิ์เป็น Mineralocorticoid



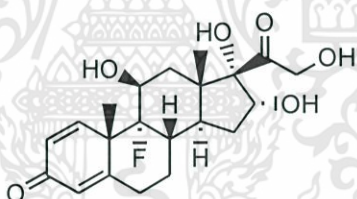
47

5. Dexamethasone 48 มีฤทธิ์เช่นเดียวกับ Betamethasone 47 เมื่ออยู่ในรูปเกลือโซเดียม ฟอสเฟต สามารถฉีดเข้าเส้นได้



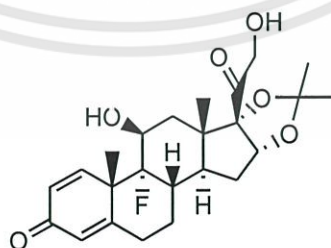
48

6. Triamcinolone 49 ใช้เป็น anti-rheumatic agent แต่เกือบจะไม่มีฤทธิ์เป็น Mineralocorticoid



49

7. Triamcinolone acetonide 50 ใช้ในการรักษาโรคคัน โรคข้ออักเสบ อาการบวมอักเสบ ของข้อต่อที่หัวไหล่ และโรคเอ็นอักเสบ

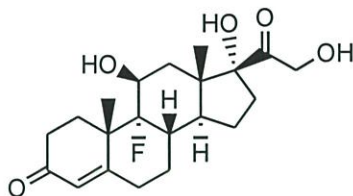


50

8. Fludrocortisone 51 เมื่ออยู่ในรูปเอซิติเตท ใช้เช่นเดียวกับ Cortisol 17 เมื่ออยู่ในรูปของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

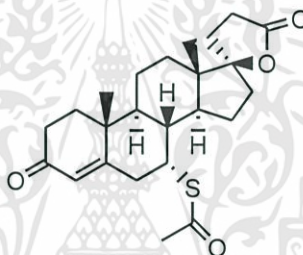
เฮมิซัคซิเนต (hemisuccinate) ใช้รักษาอาการแพ้ และอักเสบของตา



51

9. Deoxycorticosterone 45 เมื่ออยู่ในรูปแอซิดเทท ใช้รักษาโรคแอดดิสัน

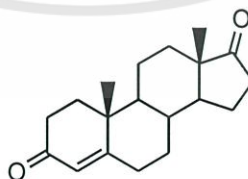
10. Spironolactone 52 ให้ฤทธิ์ขับปัสสาวะ ขจัดน้ำและโซเดียมออกจากไต โดยไม่มีการสูญเสียโพแทสเซียม ใช้รักษาผู้ป่วยที่ผลิต Aldosterone 15 ในร่างกายมากผิดปกติ



52

#### 2.4.2 ฮอโรโมนเพศ

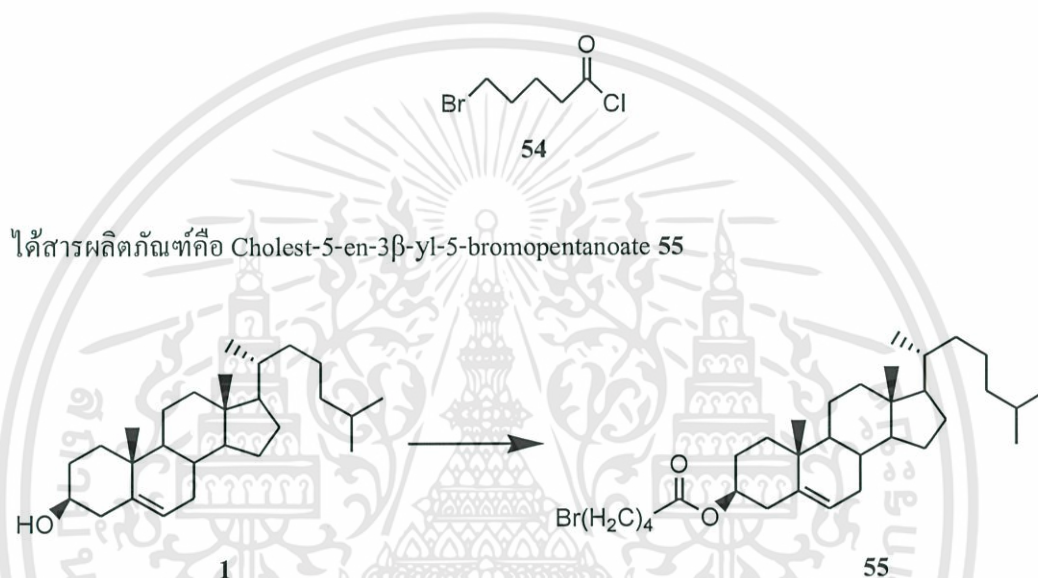
← ฮอโรโมนเพศชาย ได้แก่ Androgens ซึ่งสังเคราะห์จากอวัยวะ รังไข่ และต่อมหมวกไต Androgens ประกอบด้วย Testosterone 5 และ Androsterone 53 เป็นต้น Testosterone 5 มีหน้าที่ในการพัฒนา และควบคุมลักษณะทางเพศของเพศชาย ใช้เป็นฮอโรโมนทดแทนในอวัยวะเพศชาย นอกจากนี้แล้ว Testosterone 5 ยังเป็น Androgen ตัวหนึ่งที่ทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน และรักษาไนโตรเจนในร่างกายด้วย ในปัจจุบันมีการดัดแปลง Testosterone 5 ให้มีผลในการรักษาคีขึ้น



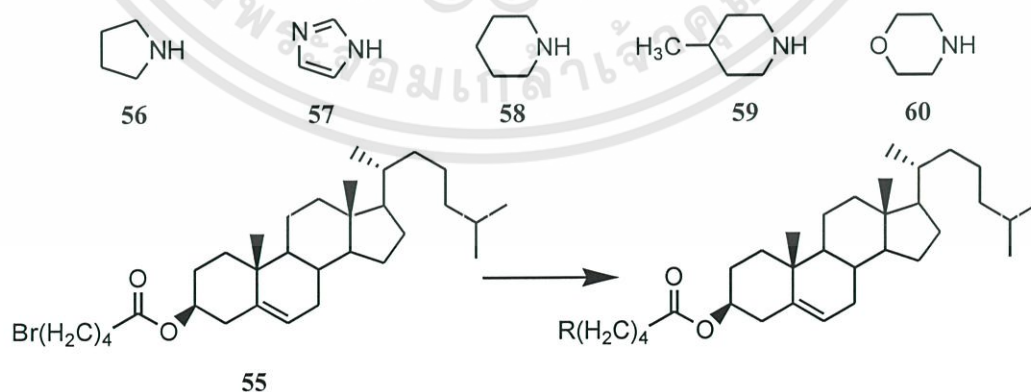
53

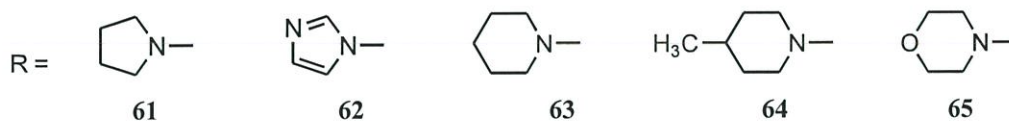
## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

M. Gao และคณะ[6] ได้ทำการศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Cholesterol 1 คาร์บอนไอโซโทป 11 ที่มีประจุบวกชนิดใหม่ เพื่อใช้ในการตรวจเอกซเรย์ ด้วยโพซิตรอนที่มีศักยภาพในการถ่ายภาพการนำส่งยีนในมะเร็ง โดยให้ Cholesterol 1 เกิดปฏิกิริยาเอซิลเลชัน (Acylation) กับ 5-bromopentanoyl chloride 54 ที่หมู่ไฮดรอกซิลของคาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 โดยมี triethylamine ทำหน้าที่เป็นเบส

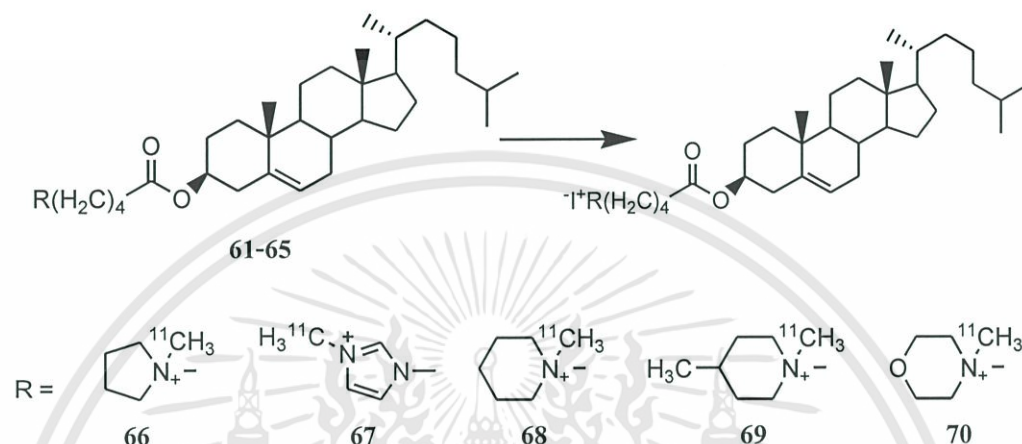


จากนั้นให้ Cholest-5-en-3 $\beta$ -yl-5-bromopentanoate 55 เกิดปฏิกิริยาแอลคิลเลชันกับเฮทเทอโรไซคลิกเอมีน 5 ชนิด ได้แก่ Pyrrolidine 56 Imidazole 57 Piperidine 58 4-Methylpiperidine 59 และ Morpholine 60 โดยมี  $K_2CO_3$  ทำหน้าที่เป็นเบส

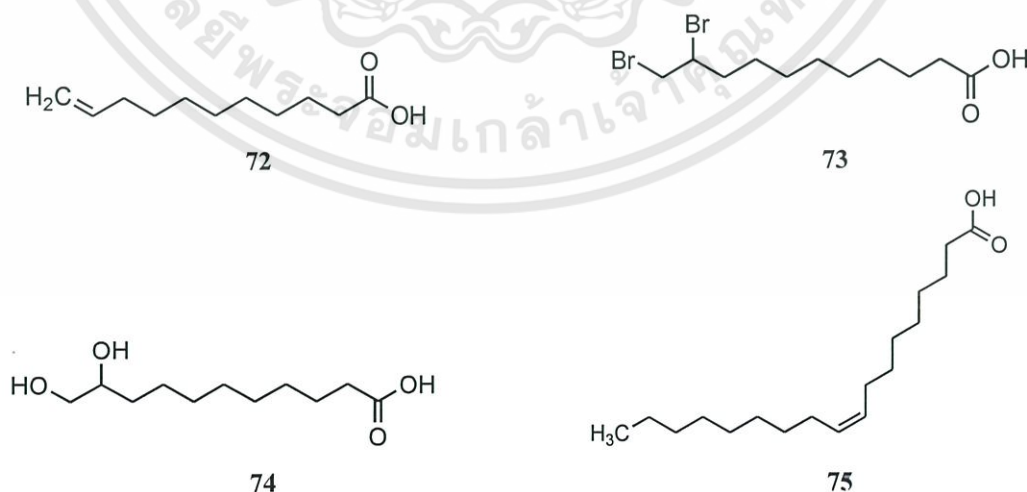




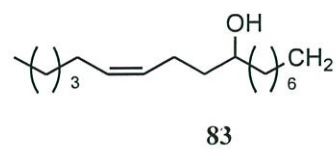
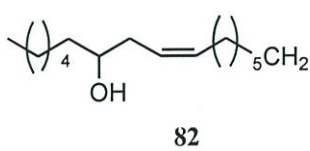
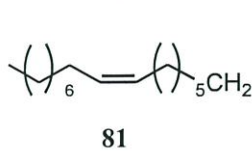
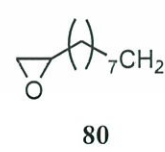
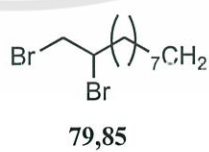
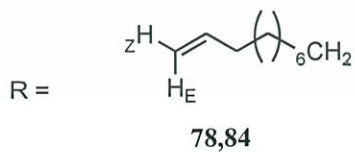
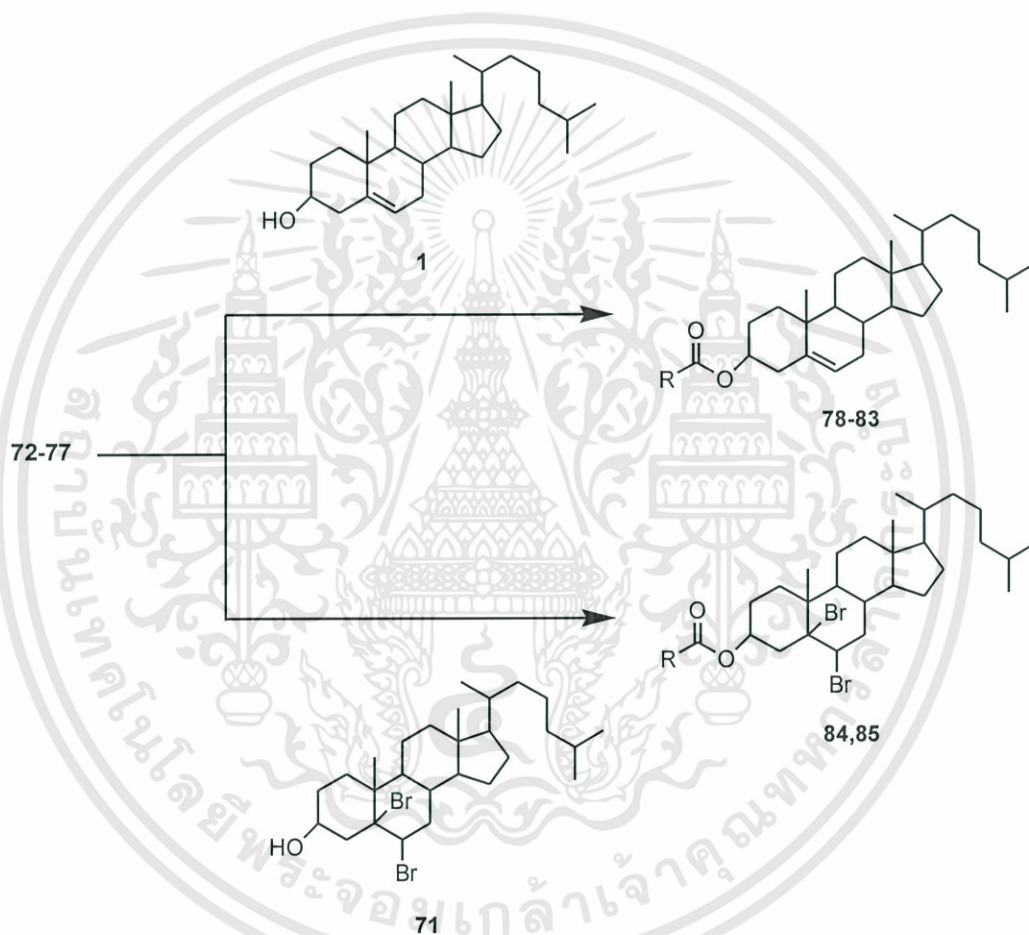
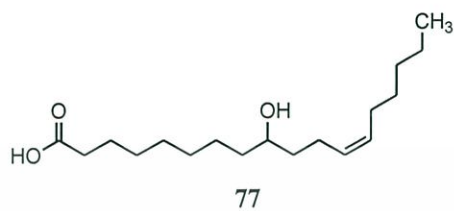
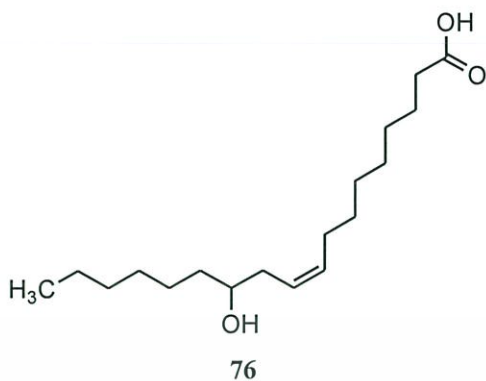
จากนั้นให้เกิดปฏิกิริยาต่อกับ [ $^{11}\text{C}$ ] methyl iodide



M. R. Bandy และคณะ [7] ได้ทำการศึกษาด้านเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยทำการทดสอบกับอนุพันธ์ของ Cholesterol 1 และอนุพันธ์ของ Dibromocholesterol 71 ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันกับกรดไขมันสายโซ่ยาว 6 ชนิด ได้แก่ undec-10-enoic acid 72 10,11-dibromo-undecanoic acid 73 10,11-epoxy-undecanoic 74 (9Z)-octadec-9-enoic 75 (9Z,12R)-12-hydroxyoctadec-9-enoic 76 และ (9R,12Z)-9-hydroxyoctadec-12-enoic 77 โดยประยุกต์ใช้ *N,N*-Dicyclohexylcarbodiimide (DCC) เป็นสารคู่ควบ (coupling agent) และใช้ 4-dimethylaminopyridine (DMAP) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



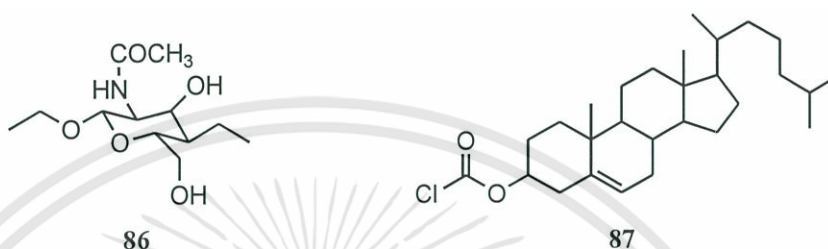
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



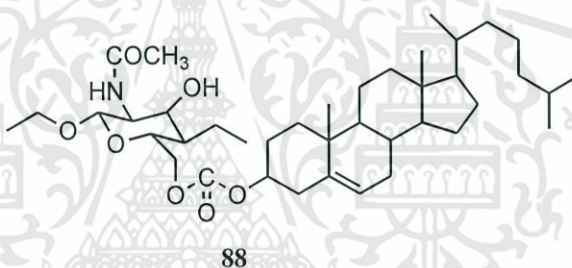
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า สาร 82 และ 83 ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์การต้านเชื้อรา และสาร 78, 80, 82 และ 85 ให้สารผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

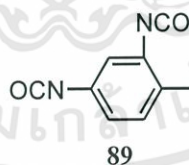
Y. Tong และคณะ[8] ได้ทำการศึกษาการสังเคราะห์พอลิเมอร์ร่อยประดับจาก Chitin 86 ให้สามารถจดจำ Cholesterol 1 ได้ โดยให้ Chitin 86 เกิดปฏิกิริยากับ Cholesteryl chloroformate 87



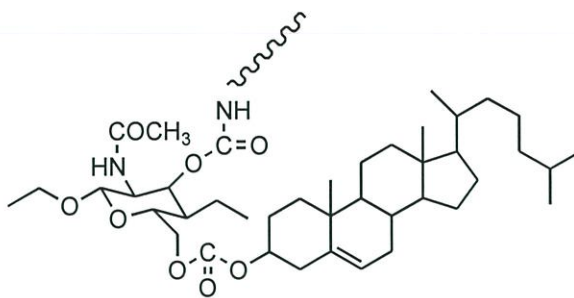
ได้สารผลิตภัณฑ์คือ Cholesteryl chitin carbonate (Chitin-Chol) 88



จากนั้นทำการสังเคราะห์พอลิเมอร์ร่อยประดับโมเลกุล Cholesterol 1 โดยให้ Chitin-Chol 88 ทำการเชื่อมโยงกับ Toluene diisocyanate (TDI) 89

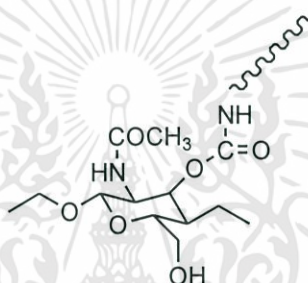


ได้สารผลิตภัณฑ์คือ Crosslinked Chitin-Chol 90



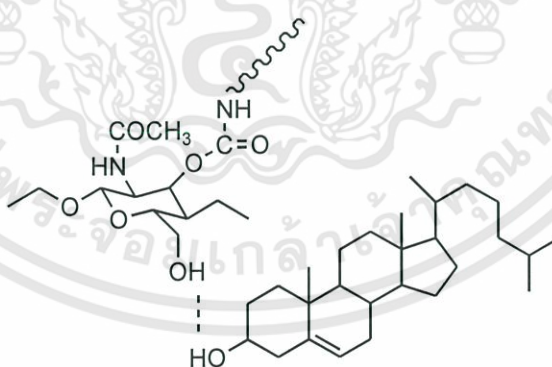
90

ทำปฏิกิริยาต่อกับ 1M โซเดียมไฮดรอกไซด์ ในเมทานอล ได้สารผลิตภัณฑ์คือ MIP-H 91 ซึ่งเป็นพอลิเมอร์รอยประทับโมเลกุล Cholesterol 1



91

จากนั้นทดสอบการจดจำ Cholesterol 1 ของ MIP-H 91 โดยให้ MIP-H 92 ทำปฏิกิริยากับ Cholesterol 1 ได้สารผลิตภัณฑ์คือ NIP-H 92

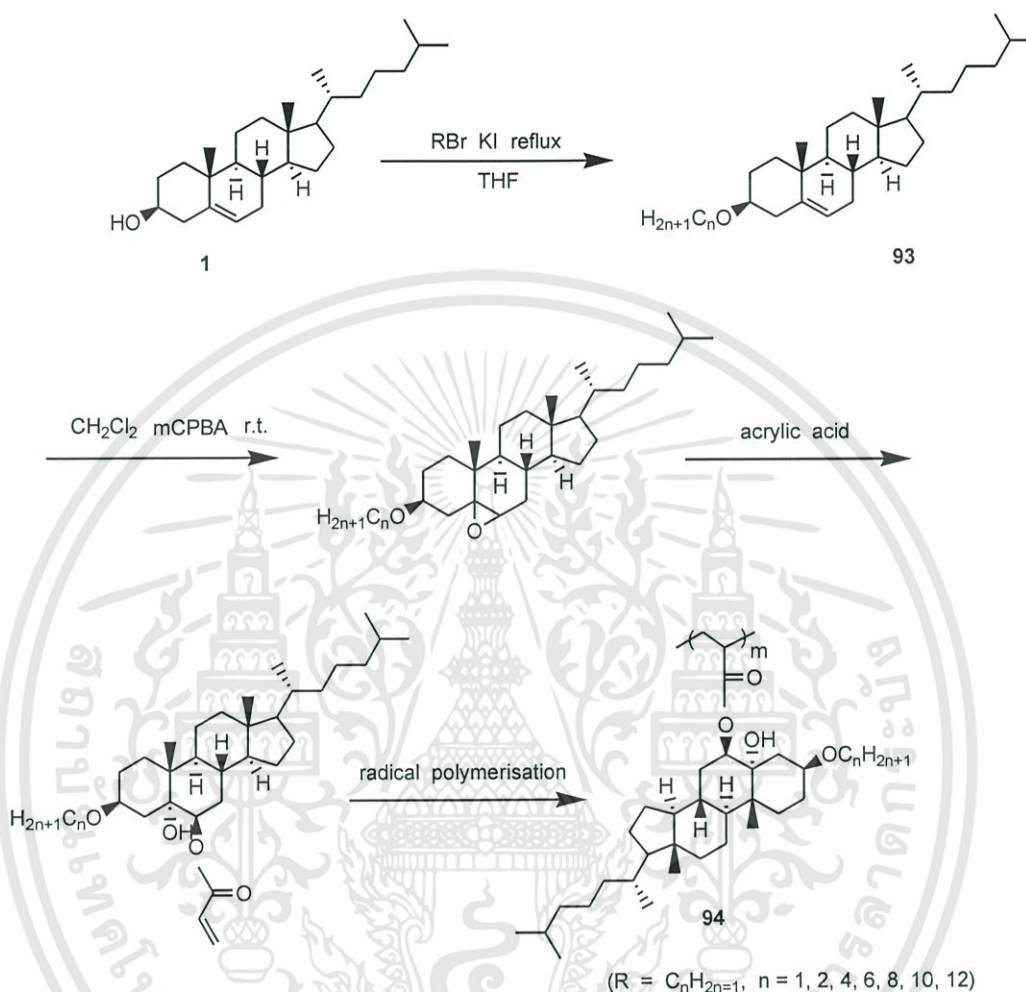


92

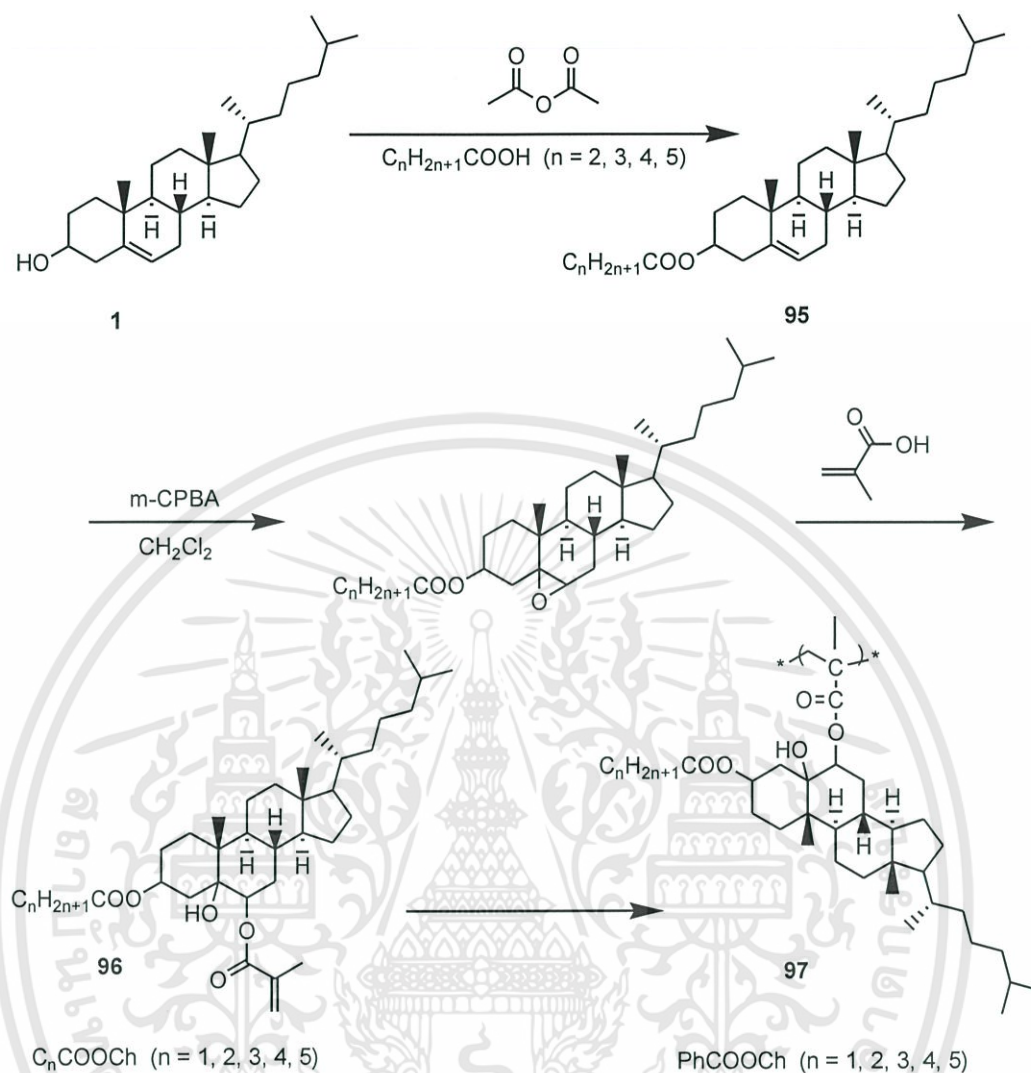
B. Wang และคณะ[9] ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ Cholesterol 1 เพื่อศึกษาสมบัติของสายโซ่ด้านข้าง Cholesterol 1 ชนิดใหม่ โดยสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาแอลคิลเลชัน Cholesterol 1 ที่มี hydroxyl group ที่ตำแหน่งที่ C-3 กับสารประกอบ aliphatic bromide ได้เป็นสาร 93 จากนั้นพันธะคู่ระหว่างตำแหน่ง C-5 และ C-6 ในอนุพันธ์ Cholesterol 1 นี้จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นวงอีพอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

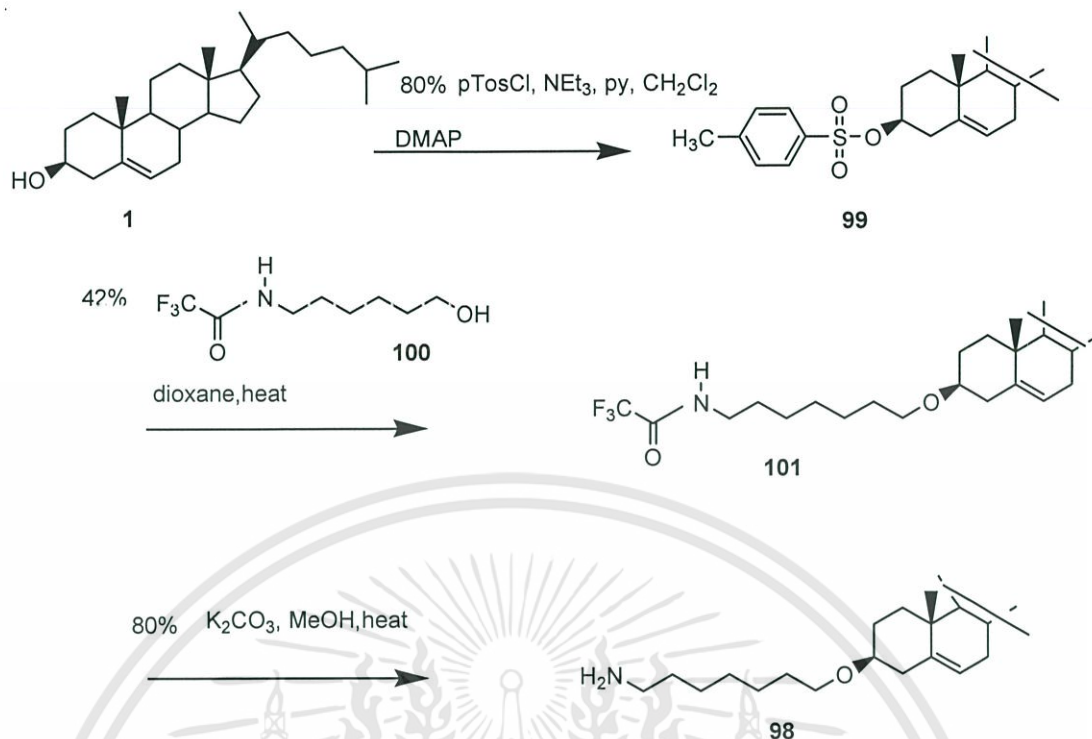
ไซค์ โดยใช้ *m*-CPBA แล้วตามด้วยปฏิกิริยาเปิดวงด้วย acrylic acid และทำปฏิกิริยา radical polymerization ที่ตำแหน่งพันธะคู่ของ acrylic acid ได้เป็นสารผลิตภัณฑ์ 94



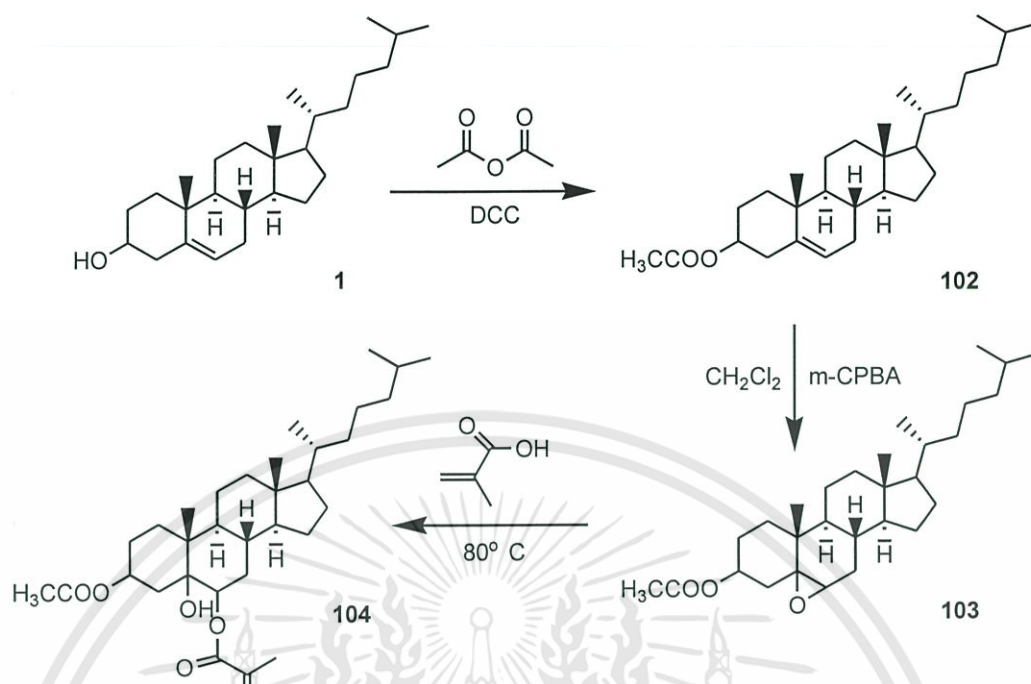
Y. L. Yu และคณะ[10] ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Cholesterol 1 เพื่อศึกษาสมบัติของสายไซค์ด้านข้าง โดยขั้นแรกเกิด esterification ที่ตำแหน่งที่ C-3 ของ Cholesterol 1 โดยใช้ acetic anhydride และ fatty acid เกิดเป็น Cholesteryl acetate 95 จากนั้นพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนตำแหน่ง C-5 และ C-6 จะถูกออกซิไดซ์เป็นวงอีพอกไซค์โดยใช้ *m*-CPBA และเปิดวงอีพอกไซค์ด้วย methacrylic acid ได้สาร 96 จากนั้นทำปฏิกิริยาเกิด radical polymerization ใช้ Chlorobenzene และ BPO เป็นตัวริเริ่มปฏิกิริยา ได้สาร 97 ซึ่งพบว่าพอลิเมอร์มี  $T_g$  ลดลงเมื่อความยาวของสายไซค์เพิ่มขึ้นและอุณหภูมิการสลายตัวเพิ่มขึ้นตามจำนวนการเพิ่มขึ้นของจำนวนคาร์บอน



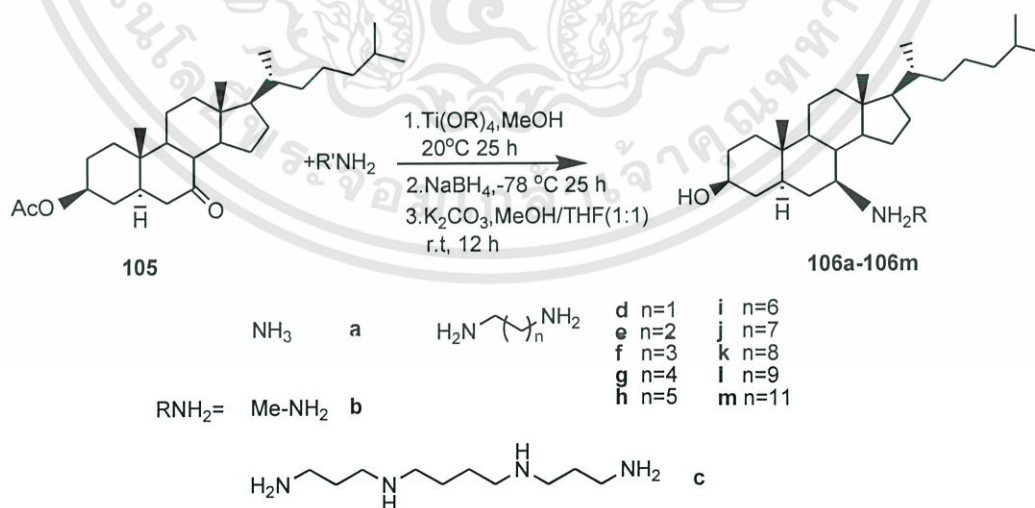
A. Zimmer และคณะ[11] ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Cholesterol **1** เพื่อปรับเปลี่ยนไขมันประจุบวก สำหรับการขนส่งและลำเลียงสารพันธุกรรม ซึ่งจะสังเคราะห์ Cholest-5-en-3 $\beta$ -yl-6-aminohexyl ether **98** (AH-Chol) โดย AH-Chol **98** ถูกนำมาใช้เพื่อเตรียมไลโปโซมประจุบวก ซึ่งขั้นแรก Cholesterol **1** ถูกเปลี่ยนเป็น Cholest-5-en-3 $\beta$ -yl *p*-toluenesulfonate **99** และทำปฏิกิริยากับ (6-hydroxyhexyl) trifluoroacetamide **100** ได้เป็น Cholest-5-en-3 $\beta$ -yl-6-trifluoroacetic acid amidohexyl ether **101** จากนั้นทำปฏิกิริยา deprotection ของสาร **101** ที่สถานะเบสในเมทานอล เป็น Cholest-5-en-3 $\beta$ -yl-6-aminohexyl ether **98** ไลโปโซมประกอบด้วย phospholipon 90H และอนุพันธ์ Cholesterol **1** ประจุบวกในอัตราส่วนเท่าๆ กัน ไลโปโซมเตรียมโดยทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากการดูดน้ำกลับเข้าไปใหม่ (rehydration) ของฟิล์มไขมันแห้ง สารพันธุกรรม (ODN) ถูกดูดซับไปที่ไลโปโซมประจุบวกอย่างมีประสิทธิภาพมาก



Y. L. Yu และคณะ[12] ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ Cholesterol 1 จากการจัดเรียงโมเลกุล  
 อย่างเป็นระเบียบสามารถสร้างแผ่นแก้วได้หลังจากการได้รับความร้อนสูงกว่าจุดหลอมเหลว และ  
 เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง โดยผลึกเดี่ยวที่จัดเรียงขึ้นในสถานะของแข็งสามารถนำมาประกอบกับพันธะ  
 ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลและแรงแวนเดอร์วาลส์ระหว่างโมเลกุลได้ การสังเคราะห์เริ่มต้น  
 จาก Cholesterol 1 หมู่ไฮดรอกซิลของ Cholesterol 1 ถูก protect ในขั้นแรกโดย esterifying กับ  
 acetic anhydride เกิดเป็น cholesteryl acetate 102 จากนั้นพันธะคู่ในโครงสร้าง Cholesterol 1 จะ  
 เปลี่ยนเป็นอีพอกไซด์ โดยการทำปฏิกิริยากับ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  และ *m*-CPBA ได้เป็น 5,6-oxy-cholesteryl  
 acetate 103 และในขั้นสุดท้าย epoxy group จะถูกเปิดวงโดยใช้ methacrylic acid ได้ 5-hydroxyl-6-  
 methacrylate-cholesteryl acetate 104



C. Loncle และคณะ[13] ได้ทำการสังเคราะห์ชุดของ 7-amino และ polyaminosterol จาก 3 $\beta$ -acetoxy-7-keto-5 $\alpha$ -cholestane **105** ผ่านปฏิกิริยา Titanium reductive amination โดยการทำปฏิกิริยากับ Ti(OR)<sub>4</sub> และ NaBH<sub>4</sub> ได้ผลิตภัณฑ์ **106a-106m** พบว่ามีคุณสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ มีประสิทธิภาพสูงในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ที่แสดงผลคล้ายกับ *Streptococcus aureus* และ *Streptococcus faecalis* และต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ที่แสดงผลคล้ายกับแบคทีเรีย *Escherichia coli*



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

## วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 สารเคมี

	เกรด	บริษัท
1. Cholesterol	วิเคราะห์	Fluka
2. <i>p</i> -nitrophenyl chloroformate	วิเคราะห์	Fluka
3. Hexane	การค้า	Zen point
4. Dichloromethane	วิเคราะห์	Fisher scientific
5. Ethyl acetate	การค้า	Zen point
6. Methanol	การค้า	Zen point
7. Acetone	การค้า	Zen point
8. Pyridine	วิเคราะห์	Fisher scientific
9. Ethanol	วิเคราะห์	Fisher scientific
10. Anhydrous sodium sulfate	วิเคราะห์	Fisher scientific
11. Siliga gel 60 0.04-0.06 mm	วิเคราะห์	Scharlau GE0048
12. Anisaldehyde	วิเคราะห์	Fisher scientific
13. Sulfuric acid	วิเคราะห์	Fisher scientific
14. Butylamine	วิเคราะห์	Fluka
15. Morpholine	วิเคราะห์	Fluka
16. Benzylamine	วิเคราะห์	Fluka
17. Piperonylamine	วิเคราะห์	Fluka

#### 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องแก้วที่ใช้สำหรับการทดลองทางเคมีอินทรีย์
2. หลอดทดลอง (Test tube) ขนาด 16 × 160 มิลลิเมตร
3. ขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial) ขนาด 1.8 × 4.1 มิลลิเมตร
4. หลอดหยด (Dropper)
5. Glass column สำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. หลอดแคปพิลารี (Capillary tube)
7. สำลี (Cotton)
8. กระดาษฟรอยด์ (Aluminium foil sheet)
9. ช้อนตักสาร (Spatular)
10. แท่งแม่เหล็ก (Magnetic bar)
11. แผ่นทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC aluminium sheet, silica gel F<sub>254</sub> Merck)
12. Stand and Clamp
13. ไมโครปิเปต (Micropipette)
14. ตู้อบ (Hot air oven)
15. แผ่นให้ความร้อน (Hot plate)
16. เครื่องปั่นกวนสารละลาย (Stirrer)
17. เครื่องชั่งสาร (Denver Instrument Company) รุ่น TC-254 (Max 250 g, d 0.1 mg)
18. เครื่องระเหยสุญญากาศ (Evaporator) BÜCHI รุ่น Rotavap R-114
19. เครื่องฟูเรียทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด Perkin Elmer รุ่น Spectrum GX 60237
20. เครื่องฟูเรียทรานส์ฟอร์มนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ BRUKER รุ่น Avance DPX 300 ความถี่ 300 เมกะเฮิรต์

### 3.3 การทดลองทั่วไป

ตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ hexane, dichloromethane (DCM), ethyl acetate และ methanol ที่ใช้สำหรับการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟีเป็นเกรดทางการค้าถูกนำมาผ่านกระบวนการกลั่นก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง ส่วนสารเคมีที่ได้จากการซื้อจะนำมาใช้โดยปราศจากการทำสารให้บริสุทธิ์

ตัวทำละลายพริดีนที่ใช้ในการทดลอง ถูกนำมาผ่านกระบวนการกลั่นที่อุณหภูมิ 115-116 องศาเซลเซียส และเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อดูดน้ำ ระยะเวลาในการใช้ 30 วัน

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีทำให้ปรากฏบนแผ่น aluminium sheet silica gel F<sub>254</sub> Merck ตรวจสอบจุดของสารผลิตภัณฑ์ด้วยการดูกลิ่นแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และ/หรือโดยการย้อมด้วย anisaldehyde reagent แล้วให้ความร้อนแผ่น TLC บนแผ่นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

สเปกตรัมของ <sup>1</sup>H NMR และ <sup>13</sup>C NMR บันทึกโดยเครื่องฟูเรียทรานส์ฟอร์มนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ BRUKER รุ่น Avance DPX 300 ความถี่ 300 เมกะเฮิรต์ การเตรียมสารตัวอย่างจะละลายด้วยตัวทำละลาย CDCl<sub>3</sub> จะปรากฏตำแหน่งสัญญาณของ CHCl<sub>3</sub> ที่ δ 7.25 ppm สำหรับ

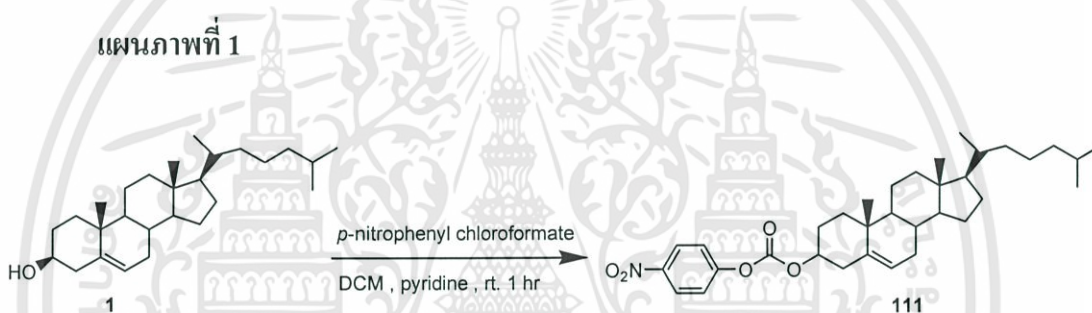
สเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR และที่  $\delta$  77.5 ppm สำหรับสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR และ  $\text{CD}_3\text{OH}$  ที่  $\delta$  4.80 ppm สำหรับสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR และที่  $\delta$  49.0 ppm สำหรับสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR

อินฟราเรดสเปกตรัมบันทึกโดยเครื่องฟูเรียรทรานส์ฟอร์มอินฟราเรด Perkin Elmer รุ่น Spectrum GX 60237 โดยใช้ KBr เป็นวัสดุในการทำหน้าต่างเซลล์ และทำการบันทึกที่ความถี่ 4,000-400  $\text{cm}^{-1}$

### 3.4 ขั้นตอนการวิจัย

แนวทางการสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์ แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนดังนี้

**ขั้นตอนที่ 1** เลือกสารตั้งต้นคือ Cholesterol 1 ทำการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลของ Cholesterol 1 ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 ให้เป็นหมู่หาคอกออกโดยใช้รีเอเจนต์ คือ *p*-nitrophenyl chloroformate



1. ชั่ง Cholesterol 300.0 มิลลิกรัม (0.77 มิลลิโมล) ใส่ในขวดก้นกลมซึ่งภายในมีแท่งแม่เหล็ก และวางอยู่บนเครื่องปั่นกวน จากนั้นเติม DCM 15 มิลลิลิตร และ pyridine 1.5 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวน จนกระทั่ง Cholesterol 1 ละลายหมด

2. ชั่ง *p*-nitrophenyl chloroformate 302.3 มิลลิกรัม (1.5 มิลลิโมล) ใส่ในขวดก้นกลมในข้อ 1 แล้วทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้อง

3. ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีโดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง hexane : ethyl acetate อัตราส่วนเท่ากับ 7 : 3 โดยปริมาตร เปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นกับ Cholesterol 1 สังเกตการเกิดปฏิกิริยา โดยพิจารณาจากสารตั้งต้นเจือจางมากที่สุด จนผลการทดสอบของสารตั้งต้นไม่มีการเปลี่ยนแปลง

4. หยุดการปั่นกวน และนำสารที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจะได้ของผสมเป็นของแข็งสีขาว

5. ทำการแยกสารผสมให้มีความบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง hexane : ethyl acetate โดยที่ผลรวมของอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 100 เริ่มต้นจากสารละลายไม่มีขี้คือ hexane : ethyl acetate เป็น 100 : 0 แล้วค่อยๆเพิ่มความเข้มข้นขี้ของตัวทำ

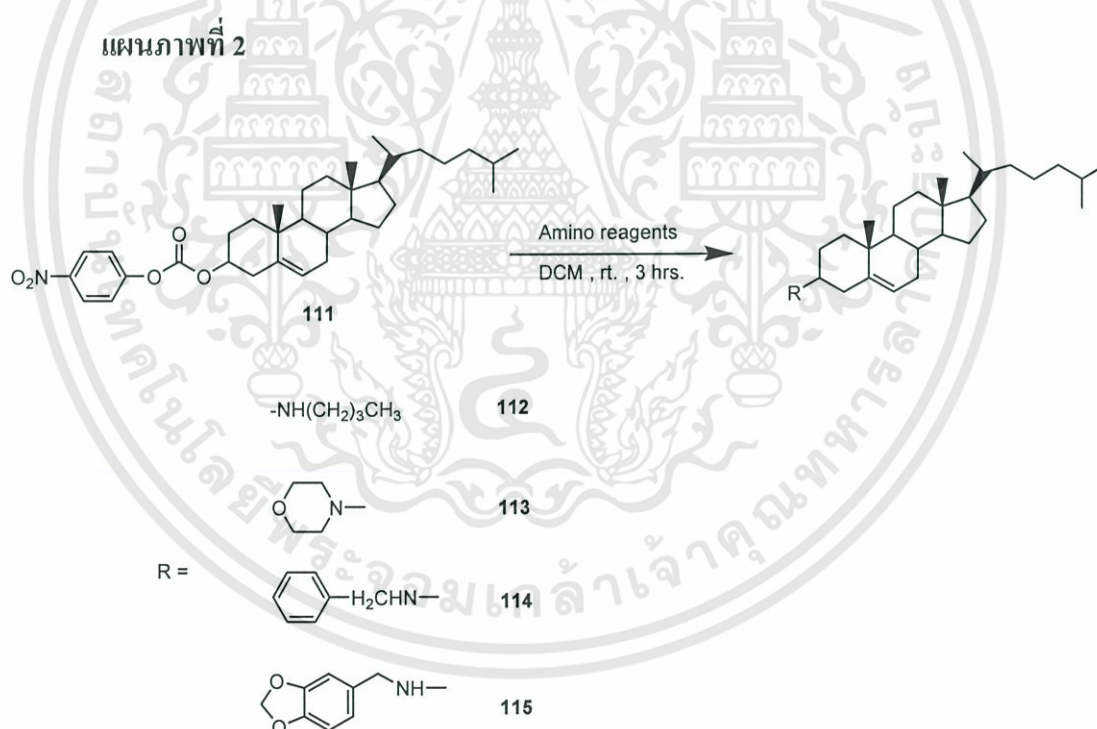
ละลาย โดยเพิ่มปริมาตรของ ethyl acetate จาก 0 เป็น 2, 4, 6, 8, 10, 12,... พร้อมกับลดปริมาตรของ hexane จาก 100 เป็น 98, 96, 94, 92, 90, 88,... ตามลำดับ

6. ตรวจสอบสารที่ออกมาจากคอลัมน์ด้วยเทคนิคThin Layer Chromatography โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง hexane : ethyl acetate เป็น 7 : 3 โดยปริมาตร เปรียบเทียบกับสารตั้งต้น พิจารณาจากจุดของสารที่เกิดขึ้นจากหลอดทดลองของสารละลายที่เก็บได้ที่ค่า  $R_f$  เดียวกัน การดูกลิ่นรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และการให้สีกับ anisaldehyde reagent สีเดียวกันให้เก็บรวมไว้ด้วยกันในขวดกันกลม

7. นำสารละลายที่เก็บรวมในขวดกันกลมมาทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

8. นำสารผลิตภัณฑ์มาตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทสโกปี

ขั้นตอนที่ 2 การสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์โดยการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร 111 กับอะมิโนรีเอเจนต์



1. ละลายสาร 4-Nitrophenyl-cholestene-carbonate 111 ใน DCM 15 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งละลายหมด

2. เติม butylamine 118.92 ไมโครลิตร (1.2 มิลลิโมล) และทำการปั่นกวนต่อที่อุณหภูมิห้อง

3. ตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีทุก 1 ชั่วโมง โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง hexane : ethyl acetate เป็น 7 : 3 โดยปริมาตรเทียบกับ 4-Nitrophenyl-cholestene-carbonate 111 จนกระทั่งมีจุดของสารอื่นนอกเหนือจากสารตั้งต้นเกิดขึ้น

4. หยดการปั่นกววน และนำของผสมไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

5. ทำการแยกสารที่สังเคราะห์ได้ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยที่สารละลายที่ใช้เป็นสารละลายผสมระหว่าง hexane : ethyl acetate โดยที่ผลรวมของอัตราส่วนโดยปริมาตรเป็น 100 เริ่มต้นจากสารละลายไม่มีขั้ว คือ hexane : ethyl acetate เป็น 100 : 0 แล้วค่อยๆ เพิ่มขั้วของสารละลาย โดยเพิ่มปริมาตรของ ethyl acetate จาก 0 เป็น 2, 5, 7, 10, 12, 15,... และลดปริมาตร hexane จาก 100 เป็น 98, 95, 93, 90, 88, 85,... ตามลำดับ

6. ตรวจสอบสารที่ออกมาจากคอลัมน์ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง hexane : ethyl acetate เป็น 7 : 3 โดยปริมาตร เปรียบเทียบกับสารตั้งพิจารณาจากจุดของสารที่เกิดขึ้นจากหลอดของสารละลายที่เก็บได้ที่ค่า  $R_f$  เดียวกัน การดูกลิ่นรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และการให้สีกับ anisaldehyde reagent ก็เดียวกันให้เก็บรวมไว้ด้วยกันในขวดกันกลม

7. นำสารละลายที่เก็บรวมไว้ในขวดกันกลมมาทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

8. นำของแข็งที่ได้จากการระเหยด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศมาตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทสโกปี

9. นำสารผลิตภัณฑ์ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

10. เริ่มทำการสังเคราะห์ใหม่ตั้งแต่ข้อที่ 1 ถึง 9 โดยเปลี่ยนอะมิโนรีเอเจนต์ในข้อที่ 2 จาก butylamine เป็นอะมิโนรีเอเจนต์ ดังต่อไปนี้

- Morpholine ปริมาตร 104.96 ไมโครลิตร (1.2 มิลลิโมล)
- Benzylamine ปริมาตร 131.07 ไมโครลิตร (1.2 มิลลิโมล)
- Piperonylamine ปริมาตร 149.41 ไมโครลิตร (1.2 มิลลิโมล)

### 3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion Method

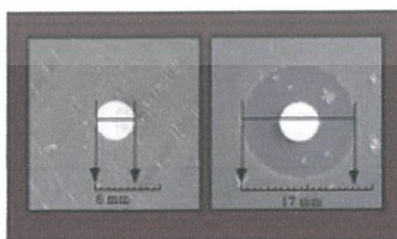
การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยใช้วิธี Disc diffusion method (ตัวอย่างแสดงดังรูปที่ 3.1) ดัดแปลงมาจากวิธีของ Bauer และคณะ[14] โดยมีวิธีการทดสอบดังนี้ คือ นำจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่เก็บไว้บน Trypticase Soy Agar (อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ประกอบด้วยเคซีนและถั่วเหลือง) เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Brain Heart Infusion Broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำจุลินทรีย์ที่บ่มเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะได้มาปรับความขุ่นที่ 660 นาโนเมตร เพื่อให้ได้ความขุ่นเทียบเท่ากับความขุ่นของ McFarland เบอร์ 0.5 ซึ่งเทียบเท่ากับจำนวนแบคทีเรีย  $10^5$ - $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิเมตร แล้วจึงนำจุลินทรีย์ที่เตรียมได้ไปเพาะลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Mueller Hinton Agar อยู่โดยการป้ายลงบนหน้าวุ้นให้ทั่ว 3 ครั้ง ทำให้ได้จานอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ บนหน้าวุ้น ละลายสารตัวอย่างด้วย DMSO (dimethyl sulfoxide) ความเข้มข้น 20 mg/mL หลังจากนั้นนำแผ่นดิสก์ขนาด 0.6 เซนติเมตร ชุบสารตัวอย่างและนำมาวางบนผิววุ้นที่มีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ บ่มทิ้งไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ใช้ Penicillin และ Amoxicillin เป็นตัวยาเปรียบเทียบ ในแต่ละชุดการทดลองจะใช้ DMSO เป็นวิธีการควบคุม



รูปที่ 3.1 การทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion method

การวิเคราะห์ผลพิจารณาจากบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์ที่ชุบตัวยาหรือสารตัวอย่าง (clear zone) ซึ่งหมายถึงบริเวณที่เชื้อถูกยับยั้ง (รูปที่ 3.2) ถ้าบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 2 มิลลิเมตร แต่น้อยกว่า 5 มิลลิเมตร แสดงว่า สารทดสอบมีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่ทดสอบในระดับอ่อน (weak) ถ้าบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์มากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร แต่น้อยกว่า 8 มิลลิเมตร แสดงว่าสารทดสอบมีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่ทดสอบในระดับปานกลาง (moderate) และถ้าบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์มากกว่าหรือเท่ากับ 8 มิลลิเมตร แสดงว่า สารทดสอบมีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่ทดสอบในระดับดี (good)



รูปที่ 3.2 วิธีวัดบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์ (Clear zone)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

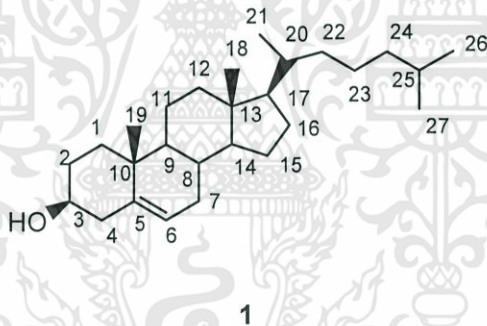
## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการสังเคราะห์อนุพันธ์อะมิโนสเตียรอยด์ชนิดใหม่ของ Cholesterol 1 โดยการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันได้แก่ หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ C-3 ของ Cholesterol 1 เป็นหมู่อะมิโน โดยการทำปฏิกิริยากับอะมิโนรีเอเจนต์ และศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้

#### 4.1 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Cholesterol 1

สเตียรอยด์ที่ใช้เป็นสารตั้งต้นคือ Cholesterol 1 เมื่อทำการพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิค  $^1\text{H}$  NMR และ  $^{13}\text{C}$  NMR ได้ผลดังต่อไปนี้



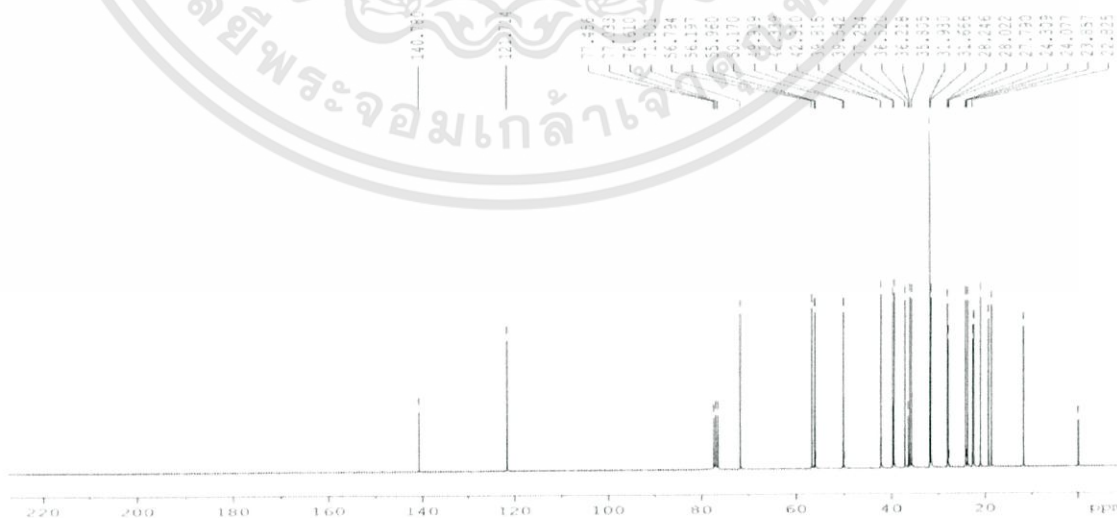
P. Muhr และคณะ[15] ได้ทำการพิสูจน์โครงสร้างของ Cholesterol 1 โดยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ พบว่า  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  1.76 (2H, H-1), 1.68 (2H, H-2), 3.73 (1H, H-3), 2.49 (2H, H-4), 5.32 (1H, H-6), 1.87 (2H, H-7), 1.38 (1H, H-8), 0.87 (1H, H-9), 0.37 (2H, H-11), 1.07 (2H, H-12), 0.86 (1H, H-14), 1.47 (2H, H-15), 1.75 (2H, H-16), 1.01 (1H, H-17), 0.59 (3H, H-18), 0.97 (3H, H-19), 1.31 (1H, H-20), 0.88 (3H, H-21), 0.97 (2H, H-22), 1.11 (2H, H-23), 1.03 (2H, H-24), 1.45 (1H, H-25), 0.79 (3H, H-26) และ 0.79 (3H, H-27) และ N. V. Kovganko และคณะ[16] ทำการพิสูจน์โครงสร้างของ Cholesterol 1 โดยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ พบว่า  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  37.2 (C-1), 31.6 (C-2), 71.5 (C-3), 42.2 (C-4), 140.8 (C-5), 121.7 (C-6), 31.8 (C-7), 31.8 (C-8), 50.0 (C-9), 37.0 (C-10), 21.1 (C-11), 39.7

(C-12), 42.2 (C-13), 56.0 (C-14), 24.2 (C-15), 27.9 (C-16), 56.1 (C-17), 11.8 (C-18), 19.4 (C-19), 35.7 (C-20), 18.7 (C-21), 36.0 (C-22), 23.8 (C-23), 39.5 (C-24), 28.2 (C-25), 22.4 (C-26) และ 22.7 (C-27) เมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของ Cholesterol 1 จากบริษัท Fluka ได้ผล  $^1\text{H}$  NMR และ  $^{13}\text{C}$  NMR สอดคล้องกับรายงานการวิจัย



รูปที่ 4.1  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ Cholesterol 1

จากรูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัม  $^1\text{H}$  NMR ของ Cholesterol 1  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3.52 (1H, m, H-3), 5.34 (1H, d, H-6), 2.25 (2H, s, H-18), 1.00 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, s, H-21), 0.85 (3H, d, H-26) และ 0.87 (3H, s, H-27) โปรตอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 2.03 ถึง 1.06 ppm เป็นของ methylene และ methyne



รูปที่ 4.2  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ Cholesterol 1

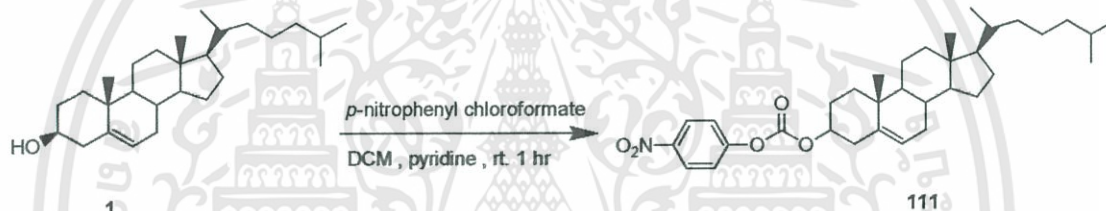
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR ของ Cholesterol 1  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz) :  $\delta$  71.80 (C-3), 140.77 (C-5), 121.71 (C-6), 50.17 (C-9), 56.79 (C-14), 56.19 (C-17), 11.87 (C-18), 19.40 (C-19), และ 18.73 (C-21) , 22.57 (C-26) และ 22.82 (C-27) คาร์บอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 42.33 ถึง 21.03 ppm เป็นของ methylene และ methyne

#### 4.1.1 การสังเคราะห์ 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate 111

การสังเคราะห์เริ่มจากการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของ Cholesterol 1 ให้เป็นหมู่หัตถ์ออกโดยใช้รีเอเจนต์ คือ *p*-nitrophenyl chloroformate ดังแสดงในแผนภาพที่ 4.1

แผนภาพที่ 4.1



เมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายเป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วน 70 : 30 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะปรากฏจุดสีเขียวของสารผลิตภัณฑ์ ดังรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าสารผลิตภัณฑ์มีขั้วต่ำกว่าสารตั้งต้น



รูปที่ 4.3 แผ่นทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีของสาร 111 เปรียบเทียบกับ Cholesterol 1

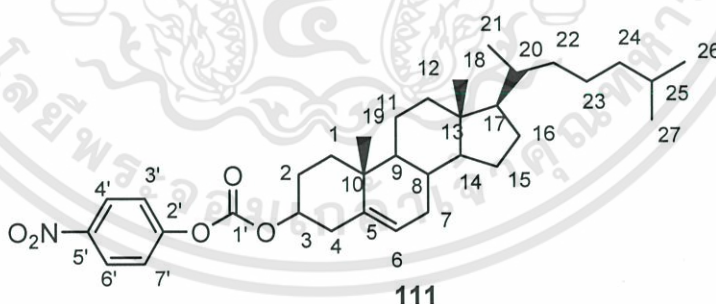
r หมายถึง สารตั้งต้น ; r+p หมายถึง จุดผสมระหว่างสารตั้งต้นและสารผลิตภัณฑ์ ;  
p หมายถึง สารผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ไปทำให้บริสุทธิ์ โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลาย เป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วนเท่ากับ 100 : 0 มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.71 สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็ง สีขาว ผลได้ร้อยละคิดเป็น 70.08 ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของ 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate **111** สรุปได้ดังนี้ จากรูปที่ 4.4 FT-IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  : 3182 (CH  $\text{sp}^2$  stretch ), 2922-2851 (CH stretch ของหมู่  $\text{CH}_2$  และ  $\text{CH}_3$ ), 1765 (C=O stretch ของหมู่คาร์บอเนต), 1633-1492 (C=C stretch ของเอโรมาติก) และ 1268 (C-O stretch)

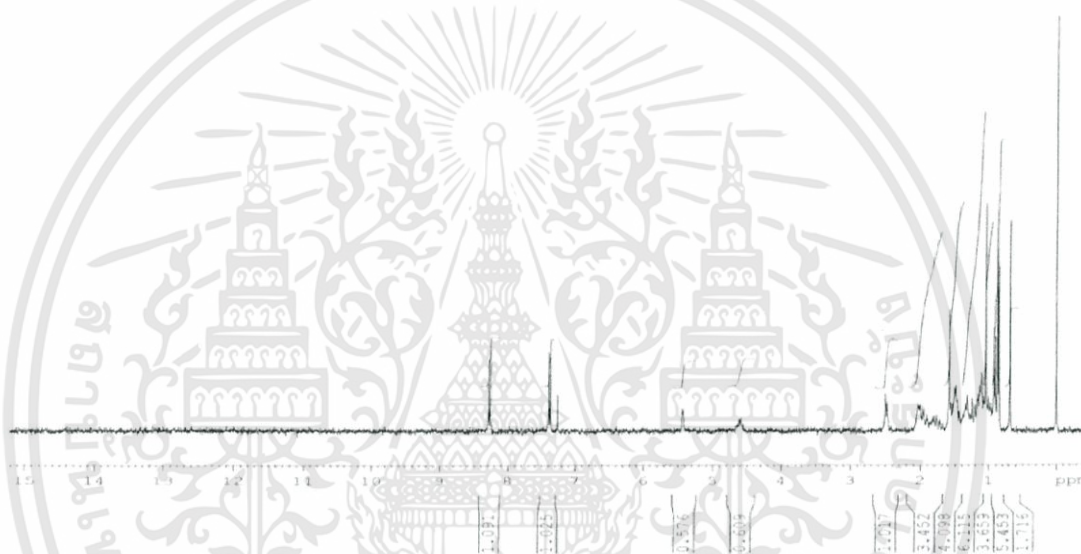


รูป 4.4 FT-IR สเปกตรัมของ 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate **111**



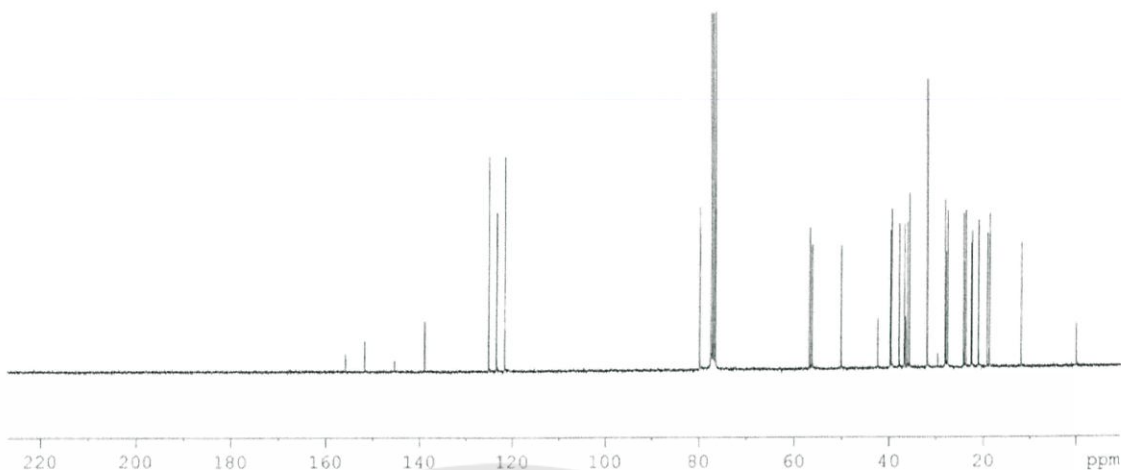
เมื่อเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของ Cholesterol **1** ให้เป็นหมู่คาร์บอเนต จาก  $^1\text{H}$  NMR ตำแหน่งสัญญาณของโปรตอนของคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (H-3) ที่  $\delta$  3.52 ppm เคลื่อนที่ไปที่สนามแม่เหล็กต่ำกว่าที่  $\delta$  4.61 ppm เนื่องจากได้รับอิทธิพลของหมู่คาร์บอเนตที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอน ทำให้โปรตอนมีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนลดลง มีผลให้โปรตอนเกิดเรโซแนนซ์ที่

สนามแม่เหล็กต่ำกว่า และที่  $\delta$  7.38 และ 8.27 ppm แสดงพีคลักษณะเฉพาะของวงแหวนโรมาติก ชนิดหมู่แทนที่ disubstituted ของเบนซีนแบบพารา ส่วนตำแหน่งสัญญาณของ  $^{13}\text{C}$  NMR ของคาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 ที่  $\delta$  71.80 ppm เคลื่อนไปที่สนามต่ำกว่าที่  $\delta$  79.88 ppm จากรูปที่ 4.5 แสดงสเปกตรัมของ  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร **111** พบสัญญาณที่  $^1\text{H}$  NMR  $\delta$  4.61 (1H, m, H-3), 2.49 (2H, d, H-4), 5.44 (1H, br.d, H-6), 0.68 (1H, s, H-18), 1.04 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, H-21), 0.85 (3H, d, H-26), 0.89 (3H, d, H-27), 7.38 (2H, d,  $J_{3,4} = 9.2$  Hz, H-3' และ H-7'), 8.27 (2H, d,  $J_{4,3} = 9.2$  Hz, H-4' และ H-6') และโปรตอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 2.01-1.08 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene และ methyne



รูปที่ 4.5  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate **111**

รูปที่ 4.6 แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz) ของสาร **111** พบสัญญาณที่  $\delta$  79.88 (C-3), 139.03 (C-5), 123.54 (C-6), 50.22 (C-9), 56.85 (C-14), 56.38 (C-17), 11.94 (C-18), 19.30 (C-19), 18.81 (C-21), 155.83 (C-1'), 145.50 (C-2'), 121.77 (C-3' และ C-7'), 125.26 (C-4' และ C-6'), 151.83 (C-5') และสัญญาณที่ปรากฏอยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 42.48 ถึง 21.18 ppm เป็นของหมู่ methylene และ methyne

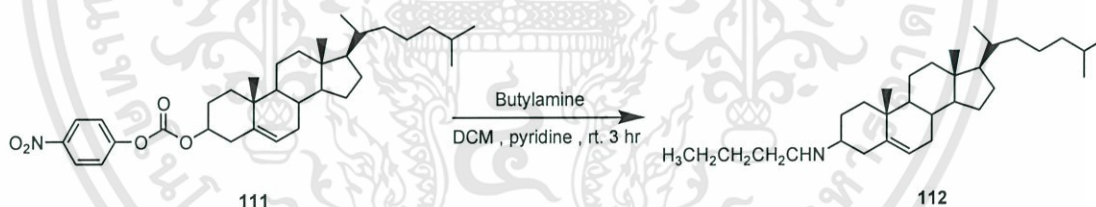


รูปที่ 4.6  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate **111**

#### 4.1.2 การสังเคราะห์ 3-Butylamino-5-cholestene **112**

สาร **112** เตรียมจาก 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate **111** ทำปฏิกิริยากับ butylamine โดยใช้ DCM เป็นตัวทำละลาย

แผนภาพที่ 4.2

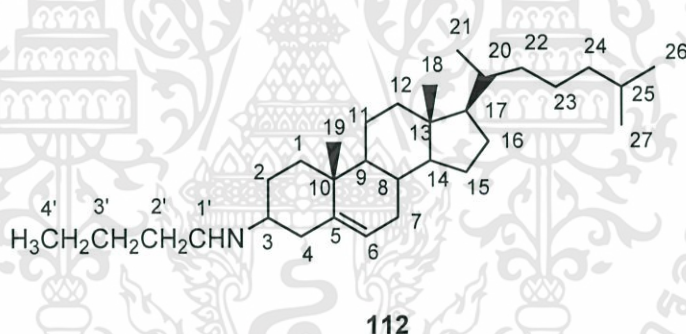


จากการทดลองพบว่าเมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายเป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วน 70 : 30 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะปรากฏจุดสีม่วงและเปลี่ยนเป็นสีม่วงปนเทาของสารผลิตภัณฑ์ มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.58 พบว่าสารผลิตภัณฑ์มีขั้วสูงกว่าสารตั้งต้น เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ไปทำให้บริสุทธิ์ โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายเป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วนเท่ากับ 95 : 5 สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว ผลได้ร้อยละคิดเป็น 93.37 ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของ 3-Butylamino-5-cholestene **112** สรุปได้ดังนี้ รูปที่ 4.7 แสดงสเปกตรัม FT-IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  : 3363 (N-

H stretch ของเอมีน), 3190 (CH  $sp^2$  stretch), 2852-2927 (C-H stretch ของ  $CH_2$  และ  $CH_3$ ), 1694 (C=C stretch) และ 1468 ( $CH_2$  bend)



รูปที่ 4.7 FT-IR สเปกตรัมของ 3-Butylamino-5-cholestene 112



เมื่อเปลี่ยนหมู่คาร์บอนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของสาร 111 ให้เป็นหมู่เอมีน พบตำแหน่งสัญญาณของ  $^1H$  NMR ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (H-3) ที่  $\delta$  4.61 ppm เคลื่อนที่ไปที่สนามแม่เหล็กสูงกว่าที่  $\delta$  4.48 ppm เนื่องจากได้รับอิทธิพลของไนโตรเจนอะตอมของหมู่เอมีนที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอนน้อยกว่าหมู่คาร์บอนเนต โดยเปรียบเทียบจากความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนระหว่างออกซิเจนและไนโตรเจน ซึ่งไนโตรเจนมีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนได้น้อยกว่าทำให้โปรตอนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมากขึ้น มีผลให้โปรตอนเกิดการเรโซแนนซ์ที่สนามแม่เหล็กสูงกว่าเดิม และตำแหน่งสัญญาณของ  $^{13}C$  NMR ของคาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 ที่  $\delta$  79.88 ppm เคลื่อนที่ไปที่สนามสูงกว่าที่  $\delta$  74.24 ppm จากรูปที่ 4.8 แสดงสเปกตรัมของ  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ) ของสาร 112 พบสัญญาณที่  $\delta$  4.48 (1H, m, H-3), 5.37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1H, br.d, H-6), 3.16 (2H, br.d, H-1'), 0.67 (3H, s, H-18), 1.00 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, H-21), 0.85 (3H, d, H-26) และ 0.87 (3H, d, H-27) โปรตอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 2.34 ถึง 1.07 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene และ methyne



รูปที่ 4.8  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 3-Butylamino-5-cholestene **112**

รูปที่ 4.9  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ 3-Butylamino-5-cholestene **112**

รูปที่ 4.9 แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz) ของสาร **112** พบสัญญาณที่  $\delta$  74.24 (C-3), 139.97 (C-5), 122.42 (C-6), 50.15 (C-9), 56.79 (C-14), 56.28 (C-17), 11.89 (C-18), 19.35 (C-19), 18.77

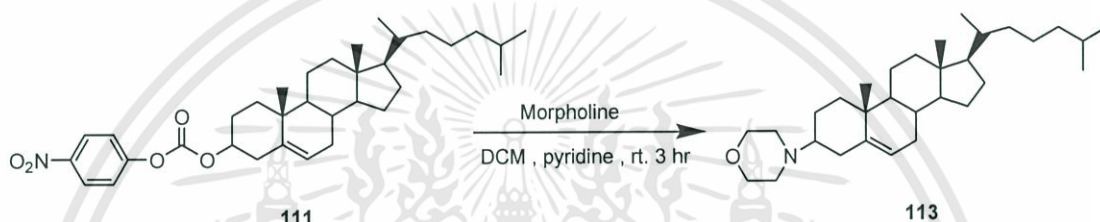
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(C-21) คาร์บอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 42.40 ถึง 19.92 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene และ methyne

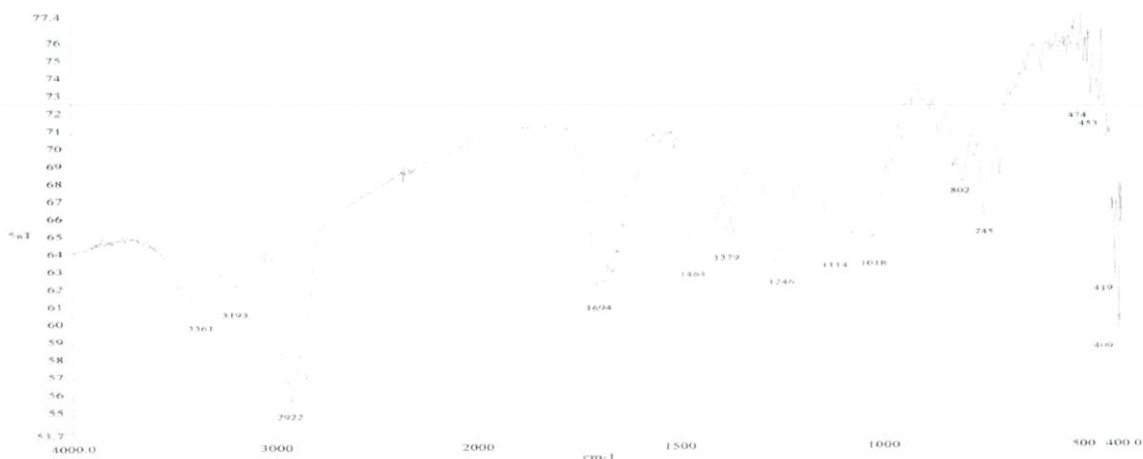
#### 4.1.3 การสังเคราะห์ 3-Morpholino-5-cholestene 113

สาร 113 เตรียมจาก 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate 111 ทำปฏิกิริยากับ morpholine โดยใช้ DCM เป็นตัวทำละลาย

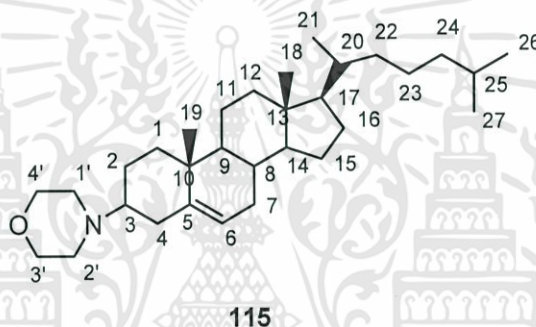
แผนภาพที่ 4.3



จากการทดลองพบว่าเมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทีนเลเซอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายเป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วน 70 : 30 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะปรากฏจุดม่วงและเปลี่ยนเป็นสีม่วงปนเทาของสารผลิตภัณฑ์ มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.46 พบว่าสารผลิตภัณฑ์มีจุดสูงกว่าสารตั้งต้น เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ไปทำให้บริสุทธิ์ โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายเป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วนเท่ากับ 93 : 7 ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว ผลได้ร้อยละคิดเป็น 91.31 ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของ 3-Morpholino-5-cholestene 113 สรุปได้ดังนี้ รูปที่ 4.10 แสดงสเปกตรัม FT-IR (KBr) $\text{cm}^{-1}$  : 3193 (CH  $\text{sp}^2$  stretch), 2922 (C-H stretch ของ  $\text{CH}_2$  และ  $\text{CH}_3$ ), 1694 (C=C stretch), 1464 ( $\text{CH}_2$  bend), 1379 ( $\text{CH}_3$  bend) และ 1246 (C-O stretch)

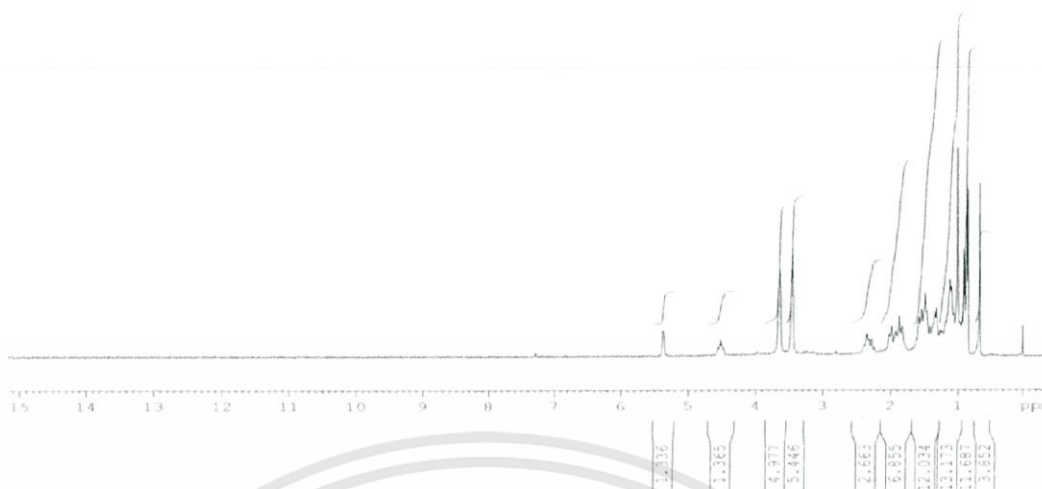


รูปที่ 4.10 FT-IR สเปกตรัมของ 3-Morpholino-5-cholestene 113



เมื่อเปลี่ยนหมู่คาร์บอเนตที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของ 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate 111 ให้เป็นหมู่อะมิโน พบตำแหน่งสัญญาณของ  $^1\text{H}$  NMR ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (H-3) ที่  $\delta$  4.61 ppm เคลื่อนที่ไปที่สนามแม่เหล็กสูงกว่าที่  $\delta$  4.52 ppm เนื่องจากได้รับอิทธิพลของหมู่อะมิโนที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอนน้อยกว่าหมู่คาร์บอเนตทำให้โปรตอนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมากขึ้น มีผลให้โปรตอนเกิดการเรโซแนนซ์ที่สนามแม่เหล็กสูงกว่าเดิม และตำแหน่งสัญญาณของ  $^{13}\text{C}$  NMR ของคาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 ที่  $\delta$  79.88 ppm เคลื่อนที่ไปที่สนามสูงกว่าที่  $\delta$  75.11 ppm จากรูปที่ 4.11 แสดงสเปกตรัมของ  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร 113 พบสัญญาณที่  $\delta$  4.52 (1H, m, H-3), 5.38 (1H, br.d, H-6), 0.67 (3H, s, H-18), 1.01 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, H-21), 0.85 (3H, d, H-26), 0.87 (3H, d, H-27), 3.64 (4H, s, H-3' และ H-4'), 3.46 (4H, s, H-1' และ H-2') และโปรตอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 2.36 ถึง 1.11 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene และ methyne

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 3-Morpholino-5-cholestene 113



รูปที่ 4.12  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ 3-Morpholino-5-cholestene 113

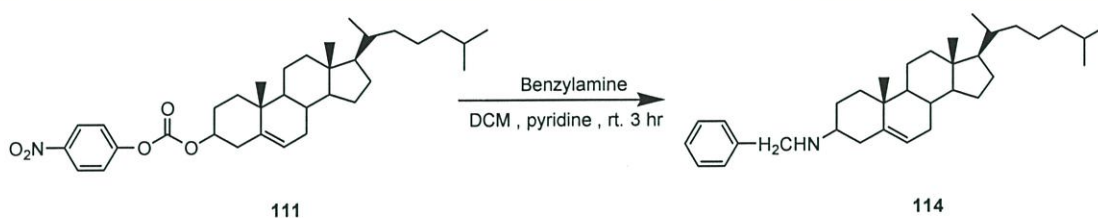
รูปที่ 4.12 แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz) ของสาร **113** พบสัญญาณที่  $\delta$  75.11 (C-3), 139.82 (C-5), 122.53 (C-6), 50.12 (C-9), 56.75 (C-14), 56.26 (C-17), 11.88 (C-18), 19.35 (C-19), 18.76 (C-21) และคาร์บอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 44.09 ถึง 21.10 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene และ methyne

#### 4.1.4 การสังเคราะห์ 3-Benzylamino-5-cholestene 114

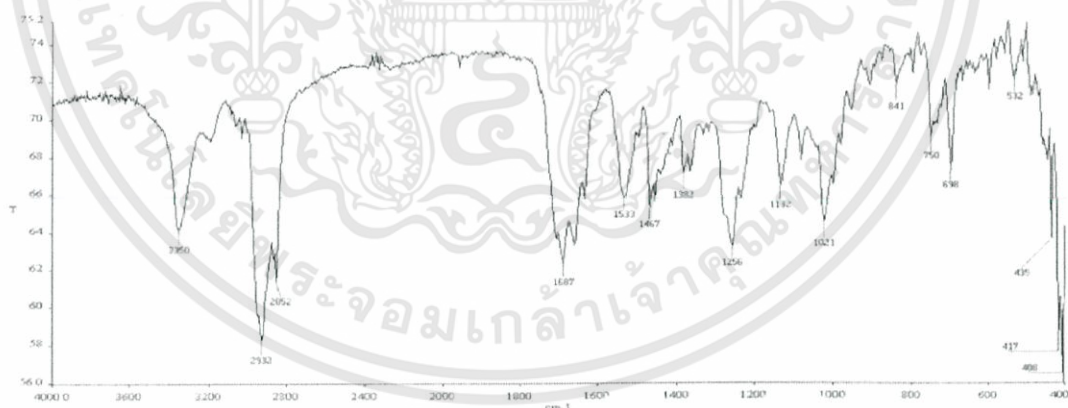
สาร **114** เตรียมจาก 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate **113** ทำปฏิกิริยากับ benzylamine โดยใช้ DCM เป็นตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

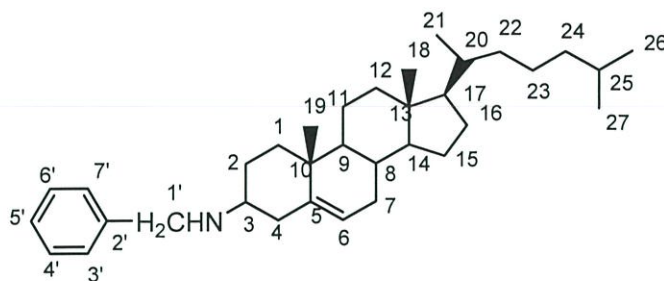
## แผนภาพที่ 4.4



จากการทดลองพบว่าเมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายเป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วน 70 : 30 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะปรากฏจุดสีม่วง เปลี่ยนเป็นสีม่วงน้ำเงินของสารผลิตภัณฑ์ มีค่าเท่ากับ  $R_f$  0.25 พบว่าสารผลิตภัณฑ์มีขั้วสูงกว่าสารตั้งต้น เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ไปทำให้บริสุทธิ์ โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายเป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วนเท่ากับ 90 : 10 ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว ผลได้ร้อยละคิดเป็น 91.48 ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของ 3-Benzylamino-5-cholestene 114 สรุปได้ดังนี้ รูปที่ 4.13 แสดงสเปกตรัม FT-IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  : 3350 (NH stretch), 2852-2932 (C-H stretch ของ  $\text{CH}_2$  และ  $\text{CH}_3$ ), 1687 (C=C stretch), 1533-1464 (C=C stretch ของเอโรมาติก) และ 1382 ( $\text{CH}_3$  bend)



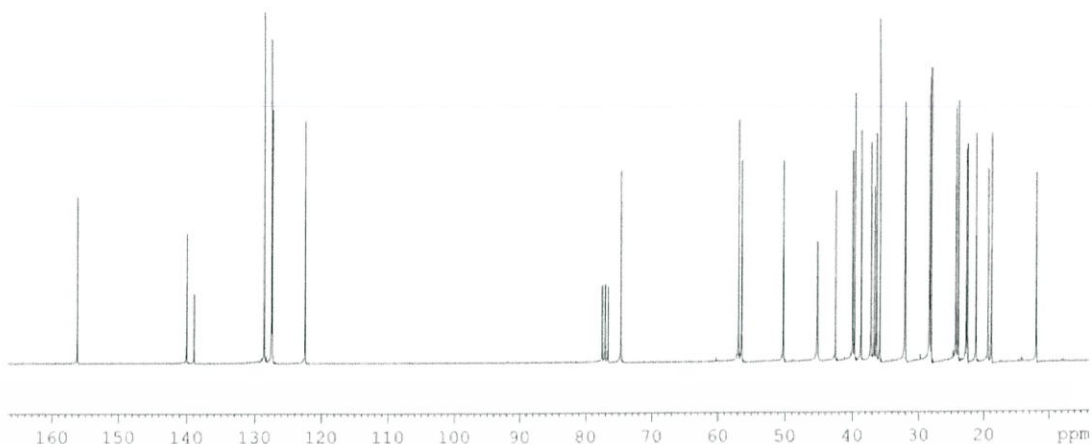
รูปที่ 4.13 FT-IR สเปกตรัมของ 3-Benzylamino-5-cholestene 114



114

เมื่อเปลี่ยนหมู่คาร์บอนेटที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของ 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate **111** ให้เป็นหมู่อะมิโน พบตำแหน่งสัญญาณของ  $^1\text{H}$  NMR ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (H-3) ที่  $\delta$  4.61 ppm เคลื่อนที่ไปที่สนามแม่เหล็กสูงกว่าที่  $\delta$  4.52 ppm เนื่องจากได้รับอิทธิพลของหมู่อะมิโนที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอนน้อยกว่าหมู่คาร์บอนेट ทำให้โปรตอนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนมากขึ้น มีผลให้โปรตอนเกิดการเรโซแนนซ์ที่สนามแม่เหล็กสูงกว่าเดิม และตำแหน่งสัญญาณของ  $^{13}\text{C}$  NMR ของคาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 ที่  $\delta$  79.88 ppm เคลื่อนที่ไปที่สนามสูงกว่าที่  $\delta$  75.11 ppm จากรูปที่ 4.14 แสดงสเปกตรัมของ  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร **114** พบสัญญาณที่  $\delta$  4.52 (1H, m, H-3), 5.36 (1H, br.d, H-6), 0.67 (3H, s, H-18), 1.10 (3H, s, H-19), 0.99 (3H, d, H-21), 0.86 (3H, d, H-26), 0.91 (3H, d, H-27), 4.13 (2H, d, H-1') และ 7.26 (5H, s, H-2', 3', 4', 5', 6' และ 7') โปรตอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 2.35 ถึง 1.23 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene และ methyne

รูปที่ 4.14  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 3-Benzylamino-5-cholestene **114**



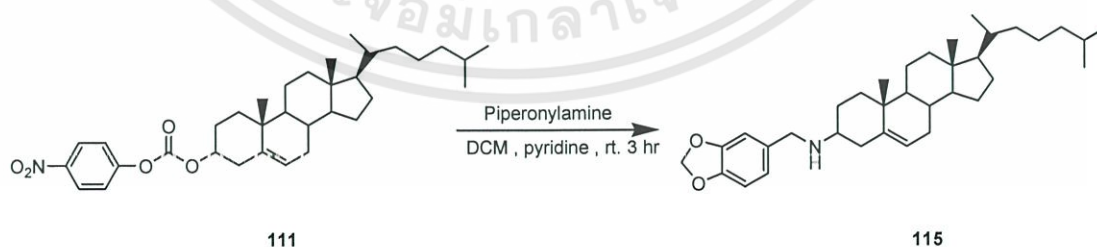
รูปที่ 4.15  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ 3-Benzylamino-5-cholestene 114

รูปที่ 4.15 แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz) ของสาร 114 พบสัญญาณที่  $\delta$  42.24 (C-4), 74.70 (C-3), 139.99 (C-5), 122.47 (C-6), 50.29 (C-9), 56.89 (C-14), 56.45 (C-17), 11.94 (C-18), 19.35 (C-19), 18.84 (C-21), 138.92 (C-2'), 128.61 (C-3' และ C-7'), 127.50 (C-4' และ C-6') และ 127.36 (C-5') และคาร์บอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 42.49 ถึง 21.19 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene และ methyne

#### 4.1.5 การสังเคราะห์ 3-Piperonylamino-5-cholestene 115

สาร 115 เตรียมจาก 4-Nitrophenyl-5-cholestene-carbonate 111 ทำปฏิกิริยากับ piperonylamine โดยใช้ DCM เป็นตัวทำละลาย

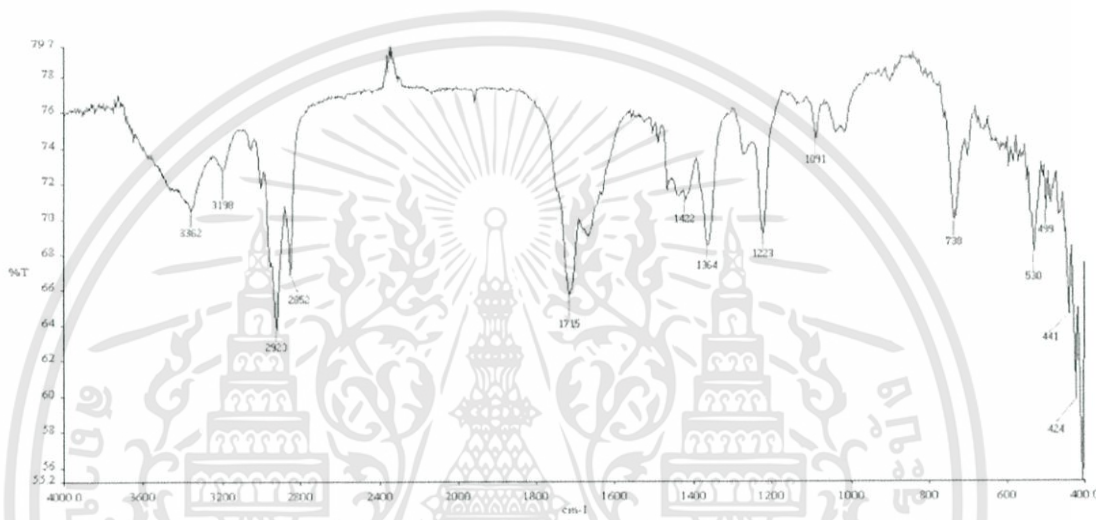
แผนภาพที่ 4.5



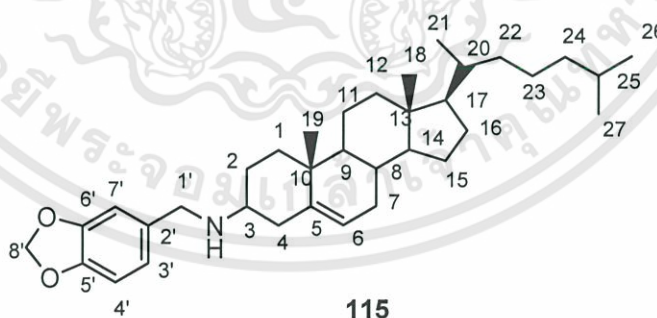
จากการทดลองพบว่าเมื่อทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลาย เป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วน 80 : 20 ทดสอบด้วย anisaldehyde reagent จะปรากฏจุดสีม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเปลี่ยนเป็นสีม่วงเทาของสารผลิตภัณฑ์ มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.69 พบว่าสารผลิตภัณฑ์ที่มีขั้วสูงกว่าสารตั้งต้น เมื่อนำสารผลิตภัณฑ์ไปทำให้บริสุทธิ์ โดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายเป็น hexane : ethyl acetate อัตราส่วนเท่ากับ 90 : 10 ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีขาว ผลได้ร้อยละคิดเป็น 89.51 ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีของ 3-Piperonylamino-5-cholestene **115** สรุปได้ดังนี้ รูปที่ 4.16 แสดงสเปกตรัม FT-IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  : 3362 (N-H stretch), 3198 (CH  $\text{sp}^2$  stretch), 2852-2923 (C-H stretch ของ  $\text{CH}_2$  และ  $\text{CH}_3$ ), 1422 ( $\text{CH}_2$  bend), 1379 ( $\text{CH}_3$  bend) และ 1223 (C-O stretch)



รูปที่ 4.16 FT-IR สเปกตรัมของ 3-Piperonylamino-5-cholestene **115**

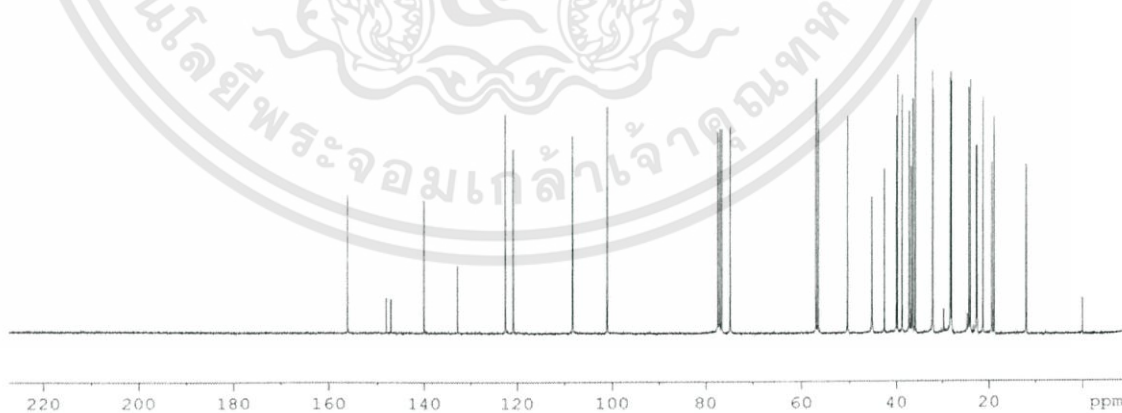


เมื่อเปลี่ยนหมู่คาร์บอนेटที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของ 4-Nitrophenyl-cholestene-carbonate **111** ให้เป็นหมู่อะมิโน พบตำแหน่งสัญญาณของ  $^1\text{H NMR}$  ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (H-3) ที่  $\delta$  4.61 ppm เคลื่อนที่ไปที่สนามแม่เหล็กสูงกว่าที่  $\delta$  4.52 ppm เนื่องจากได้รับอิทธิพลของหมู่อะมิโนที่เป็นหมู่ดึงอิเล็กตรอนน้อยกว่าหมู่คาร์บอนेट ทำให้โปรตอนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 มีความหนาแน่นของ

อิเล็กตรอนมากขึ้น มีผลให้โปรตอนเกิดการเรโซแนนซ์ที่สนามแม่เหล็กสูงกว่าเดิม และตำแหน่งสัญญาณของ  $^{13}\text{C}$  NMR ของคาร์บอนตำแหน่งที่ C-3 ที่  $\delta$  79.88 ppm เคลื่อนที่ไปที่สนามสูงกว่าที่  $\delta$  74.81 ppm จากรูปที่ 4.17 แสดงสเปกตรัมของ  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ของสาร **115** พบสัญญาณที่  $\delta$  4.52 (1H, m, H-3), 5.38 (1H, br.d, H-6), 0.67 (3H, s, H-18), 1.00 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, H-21), 0.85 (3H, d, H-26), 0.87 (3H, d, H-27), 4.25 (2H, br.d, H-1'), 6.77 (1H, s, H-3'), 6.73 (2H, s, H-4' และ H-7'), 5.93 (2H, s, H-8') และโปรตอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 2.35 ถึง 1.13 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene และ methyne



รูปที่ 4.17  $^1\text{H}$  NMR สเปกตรัมของ 3-Piperonylamino-5-cholestene **115**



รูปที่ 4.18  $^{13}\text{C}$  NMR สเปกตรัมของ 3-Piperonylamino-5-cholestene **115**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.18 แสดงสเปกตรัม  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz) ของสาร 115 พบสัญญาณที่  $\delta$  74.81 (C-3), 140.06 (C-5), 122.54 (C-6), 50.36 (C-9), 21.24 (C-11), 56.95 (C-14), 56.51 (C-17), 11.97 (C-18), 19.38 (C-19), 18.87 (C-21), 25.57 (C-26), 22.78 (C-27), 101.06 (C-1') และคาร์บอนที่อยู่ในช่วงค่า  $\delta$  เท่ากับ 45.15 ถึง 24.05 ppm เป็น multiplet ของหมู่ methylene และ methyne

## 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

อะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 ถูกนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น ซึ่งประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อราประเภทยีสต์รวมทั้งหมด 13 ชนิด เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *Streptococcus milleri* group *Staphylococcus coagulase* negative *Staphylococcus aureus* (MRSA) 20625 *Staphylococcus aureus* (MRSA) 20626 *Staphylococcus aureus* (MRSA) 20627 *Staphylococcus aureus* (MRSA) 20633 *Staphylococcus aureus* (MRSA) 20636 *Staphylococcus aureus* (VRSA) 20622 *Staphylococcus aureus* (VRSA) 20623 *Staphylococcus aureus* (VRSA) 20683 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ส่วนแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *Bordetella pertussis* และยีสต์ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยใช้วิธีทดสอบแบบ Disc diffusion method เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกกลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อทางช่องปาก การอักเสบของผิวหนัง ปอดบวม เยื่อหูหัวใจอักเสบและเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือด พบได้ที่ผิวหนัง จมูก การกระจายเชื้อโดยการสัมผัสและผ่านทางลมหายใจ ปัจจุบันพบว่าเชื้อกลุ่ม *Staphylococcus* คือตัวยา methicillin (MRSA) และ vancomycin (VRSA) เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *B. pertussis* เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคไอกรนในมนุษย์ ส่วนเชื้อรากลุ่มยีสต์ *C. albicans* ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร ผลการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของอะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 แสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115 เปรียบเทียบกับ Cholesterol 1

เชื้อ	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)						
	P	A	1	112	113	114	115
<i>S. milleri</i> group	24	27	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
<i>S. coag</i> negative	21	21	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
<i>B. pertussis</i>	17	16	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
<i>S. aureus</i> (MRSA) 20625	19	16	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
<i>S. aureus</i> (MRSA) 20626	22	18	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
<i>S. aureus</i> (MRSA) 20627	13	13	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
<i>S. aureus</i> (MRSA) 20633	20	27	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
<i>S. aureus</i> (MRSA) 20636	16	16	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
<i>S. aureus</i> (VRSA) 20622	45	32	< 8	8	< 8	< 8	< 8
<i>S. aureus</i> (VRSA) 20623	12	16	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
<i>S. aureus</i> (VRSA) 20683	23	28	14	9	8	< 8	< 8
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	37	39	29	28	28	8	8
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	27	20	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8

P = Penicillin, A = Amoxicillin

ผลการทดลองแสดงรูปในภาคผนวก พบว่า Cholesterol 1 และสาร 112-115 ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. milleri* group *S. coagulase* negative *S. aureus* (MRSA) 20625 *S. aureus* (MRSA) 20626 *S. aureus* (MRSA) 20627 *S. aureus* (MRSA) 20633 *S. aureus* (MRSA) 20636 *S. aureus* (VRSA) 20622 *S. aureus* (VRSA) 20623 *B. pertussis* และ *C. albicans* ATCC 10231 ยกเว้นสาร 112 มีผลยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (VRSA) 20622 ในระดับปานกลางพบบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์เท่ากับ 8 มิลลิเมตร Cholesterol 1 มีผลยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (VRSA) 20683 และ *S. aureus* ATCC 25923 ในระดับที่ดี พบบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์เท่ากับ 14 และ 29 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เป็นหมู่ aminobutyl และ morpholino พบว่ามีฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (VRSA) 20683 ลดลง โดยพบบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์เท่ากับ 9 และ 8 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 พบว่า สาร 112 และ 113 ให้ฤทธิ์การต้านเชื้อใกล้เคียงกับ Cholesterol 1 พบบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์เท่ากับ 28 มิลลิเมตร ในขณะที่สาร 114-115 มีผลต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ลดลงพบบริเวณใสรอบแผ่นดิสก์เท่ากับ 8 มิลลิเมตร

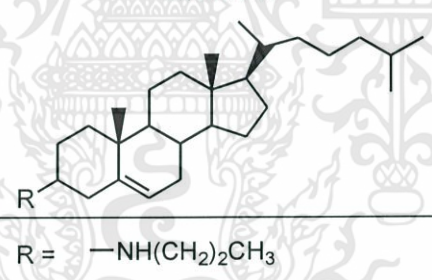

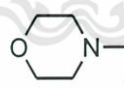
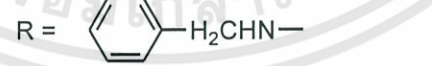
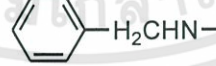
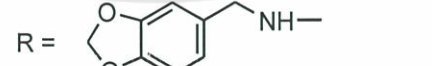
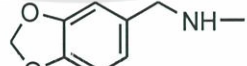
## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 ผลของการสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์

อะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของ Cholesterol 1 ให้เป็นหมู่อะมิโน การสังเคราะห์จะเตรียมผ่าน สารตัวกลางคือ 4-Nitrophenyl-cholestene-carbonate 111 สามารถสังเคราะห์สาร 111 ผลได้ร้อยละคิดเป็น 70.08 จากแผนภาพที่ 4.1 ในขั้นตอนการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลของ Cholesterol 1 ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ให้เป็นหมู่หลุดออก โดยใช้รีเอเจนต์คือ 4-Nitrophenyl chloroformate ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันเอซิลคลอไรด์ที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยากับความชื้นในอากาศ ทำให้สาร 111 ทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้กลับมาเป็นสารตั้งต้น Cholesterol 1 มีผลทำให้ได้สาร 111 ลดลง จากนั้นนำสาร 111 ทำปฏิกิริยากับสารประกอบเอมีน ผลได้ร้อยละของอะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 แสดงในตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 ผลได้ร้อยละของอะมิโนสเตียรอยด์

สาร	โครงสร้าง	ผลได้ร้อยละ
112	 R = $-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	93.37
113	 R = 	91.31
114	 R = 	91.48
115	 R = 	89.51

จากการทดลองพบว่าผลได้ร้อยละของอะมิโนสเตียรอยด์ ที่สังเคราะห์ได้โดยการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชัน แสดงว่าการสังเคราะห์อะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 ผ่านสารตัวกลาง คือ 4-Nitrophenyl-cholestene-carbonate 111 เป็นวิธีที่ทำให้ผลได้ร้อยละของอะมิโนสเตียรอยด์อยู่ในระดับที่สูง ทั้งนี้เนื่องจากการมีหมู่คาร์บอนเป็นหมู่หลุดออกที่ตัวเอง

## 5.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์

อะมิโนสเตียรอยด์ 112-115 ถูกนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น ซึ่งประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อราประเภทยีสต์ รวมทั้งหมด 13 ชนิด เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *S. milleri group* *S. coagulase negative* *S. Aureus* (MRSA) 20625 *S. aureus* (MRSA) 20626 *S. aureus* (MRSA) 20627 *S. aureus* (MRSA) 20633 *S. aureus* (MRSA) 20636 *S. aureus* (VRSA) 20622 *S. aureus* (VRSA) 20623 *S. aureus* (VRSA) 20683 *S. aureus* ATCC 25923 ส่วนแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *B. pertussis* และยีสต์ *C. albicans* ATCC 10231 โดยใช้วิธีทดสอบแบบ Disc diffusion method พบว่าเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เป็นหมู่ aminobutyl เป็นสาร 112 มีผลยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (VRSA) 20622 ในระดับปานกลางในขณะที่เปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เป็นหมู่ aminobutyl และ morpholino พบว่ามีฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (VRSA) 20683 ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ cholesterol 1 และเมื่อทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 พบว่า สาร 112 และ 113 ให้ฤทธิ์การต้านเชื้อใกล้เคียงกับ cholesterol 1

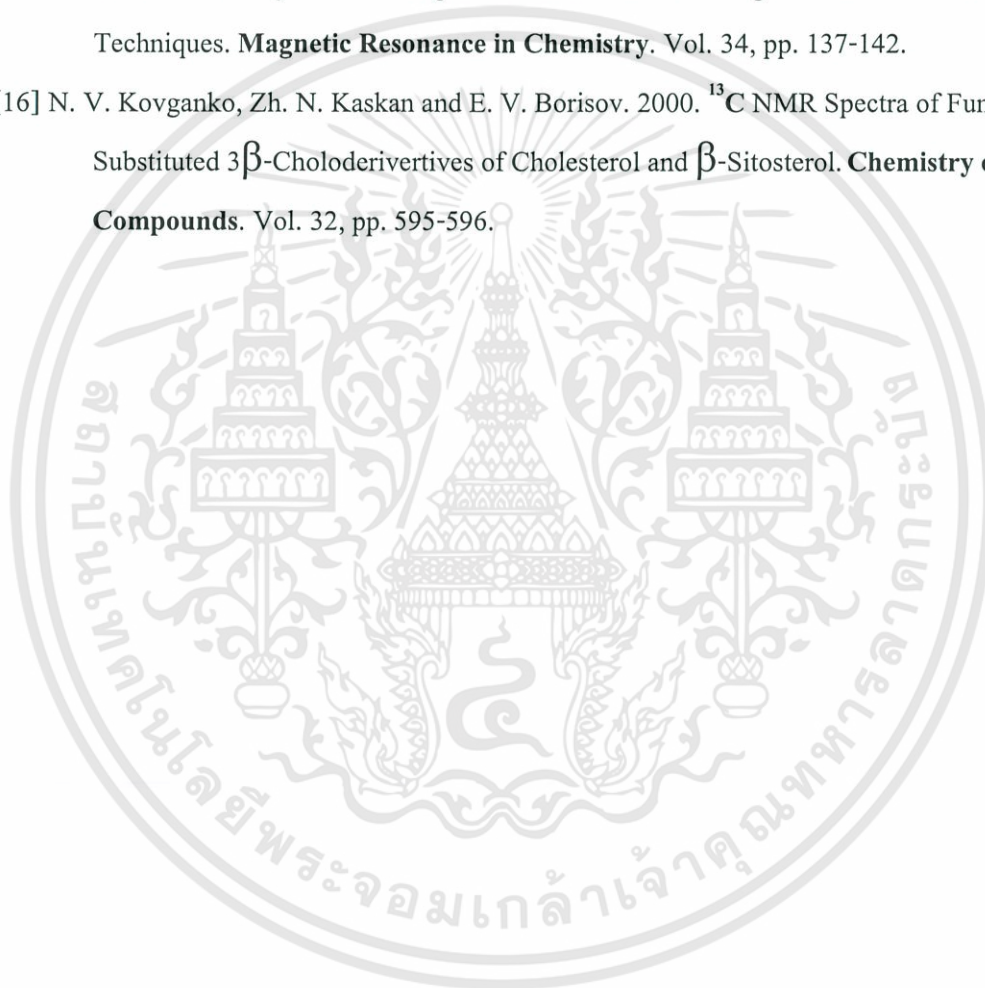
## 5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ขั้นตอนการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลของ Cholesterol 1 ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ให้เป็นหมู่หลอดออก ควรเตรียมสารอย่างรวดเร็ว ไม่ควรให้ *p*-nitrophenyl chloroformate สัมผัสกับอากาศนานๆ และควรกำจัดความชื้นของอุปกรณ์ที่นำมาใช้ในการทดลอง
2. เนื่องจากการทดลองใช้ DCM เป็นตัวทำละลาย เมื่อ DCM ระเหยจะมีหยดน้ำเกิดขึ้น ซึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้สภาวะมีความชื้นเกิดขึ้น จึงควรเปลี่ยนตัวทำละลายจาก DCM เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่น
3. การสูญเสียสาร 111 ขณะขั้นตอนการทำสาร 111 ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีควรทำการแยกสารอย่างรวดเร็วโดยการใช้เทคนิคที่เรียกว่า Quick column chromatography

## เอกสารอ้างอิง

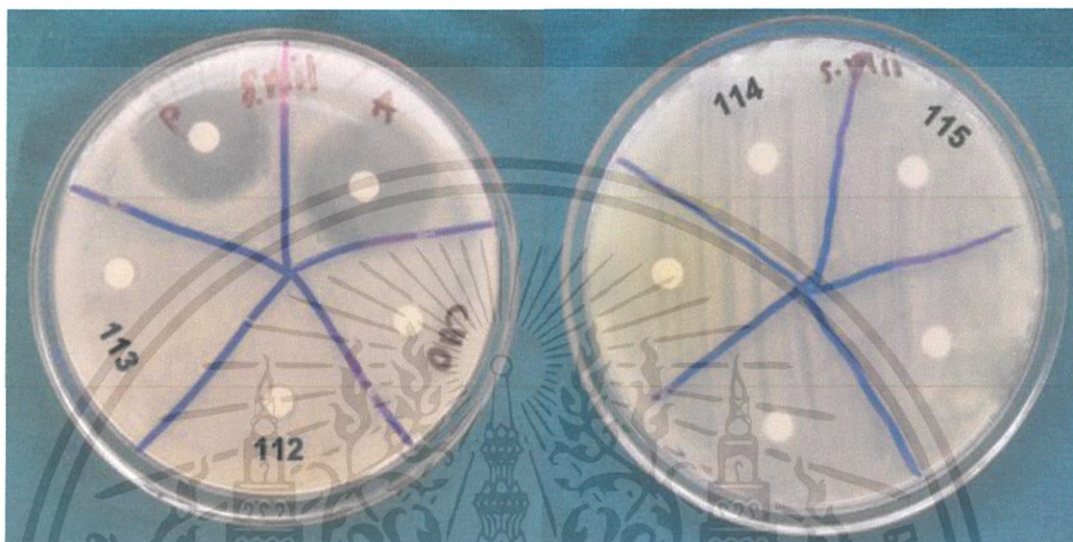
- [1] C. Salmi, C. Loncle, N. Vidal, Y. Letourneux and J. Mi. Brunel. 2008. New stereoselective titanium reductive amination synthesis of 3-amino and polyaminosterol derivatives possessing antimicrobial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 43, pp. 540-547.
- [2] M. W. King. 2012. **Steroid**. Online. Available: <http://th.wikipedia.org/wiki/สเตียรอยด์>.
- [3] D. Kritchevsky. 1985. **Cholesterol**. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- [4] จีระเดช มโนสร้อย, อรัญญา มโนสร้อย และ พัฒนาศรี พลากิจ. 2545. การผลิตด้วยสเตียรอยด์. เชียงใหม่. โรงพิมพ์คลองท่า.
- [5] กำพล ศรีวัฒนกุล. 2541. คู่มือการใช้ยาฉบับสมบูรณ์. พิมพ์ครั้งที่ 3. บริษัท สกายบุ๊กส์ จำกัด. กรุงเทพฯ
- [6] M. Gao, M. W.K. D. Miller, G. W. Sledge, G. D. Hutchins and Q. H. Zheng. 2010. Facile synthesis of carbon-11-labeled cholesterol-based cationic lipids as new potential PET probes for imaging of gene delivery in cancer. **Steroids**. Vol. 75, pp. 715-720.
- [7] M. R. Bandy, N. N. Farshori, A. Ahma, A. U. Khan and A. Rauf. 2010. Synthesis and characterization of novel fatty acid analogs of cholesterol: In vitro antimicrobial activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Vol. 45, pp. 1459-1464.
- [8] Y. Tong, H. Guan, S. Wang, J. Xu and C. He. 2011. Syntheses of chitin-based imprinting polymers and their binding properties for cholesterol. **Carbohydrate Research**. Vol. 346, pp. 495-500.
- [9] B. Wang, H. Du and J. Zhang. 2011. Synthesis and characterization of new types of side chain cholesteryl polymers. **Steroids**. Vol. 76, pp. 204-209.
- [10] Y. L. Yu, J.W. Bai and J. H. Zhang. Synthesis and characterization of side-chain cholesterol derivatives based on double bond. **Molecular Structure**. Vol. 1019, pp. 1-6.
- [11] A. Zimmer, S. A. A. Aziz, M. Gilbert, D. Werner and C. R. Noe. 1999. Synthesis of cholesterol modified cationic lipids for liposomal drug delivery of antisense oligonucleotides. **Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. Vol. 41, pp. 175-178.
- [12] Y. L. Yu, H. Y. Du and J. H. Zhang. 2011. Self-assembly of novel cholesterol derivative based on hydrogen bond. **Molecular Structure**. Vol. 1005, pp. 107-112.

- [13] C. Loncle, C. Salmi, Y. Letourneux and J. M. Brunel. 2007. Synthesis of new 7-aminosterol squalamine analogues with high antimicrobial activities through a stereoselective titanium reductive amination reaction. **Tetrahedron**. Vol. 63, pp. 12968-12974.
- [14] A. W. Bauer, W. M. M. Kirby, J. C. Sherris and M. Truck. 1966. Antibiotic Suptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **American Journal Clinical Pathology**. Vol. 45, pp. 493-496.
- [15] P. Muhr, W. Likussar and M. S. Zsilavec. 1996. Structure Investigation and Proton and Carbon-13 Assignments of Digitonin and Cholesterol using Multidimensional NMR Techniques. **Magnetic Resonance in Chemistry**. Vol. 34, pp. 137-142.
- [16] N. V. Kovganko, Zh. N. Kaskan and E. V. Borisov. 2000.  $^{13}\text{C}$  NMR Spectra of Functionally Substituted  $3\beta$ -Choloderivertives of Cholesterol and  $\beta$ -Sitosterol. **Chemistry of Natural Compounds**. Vol. 32, pp. 595-596.





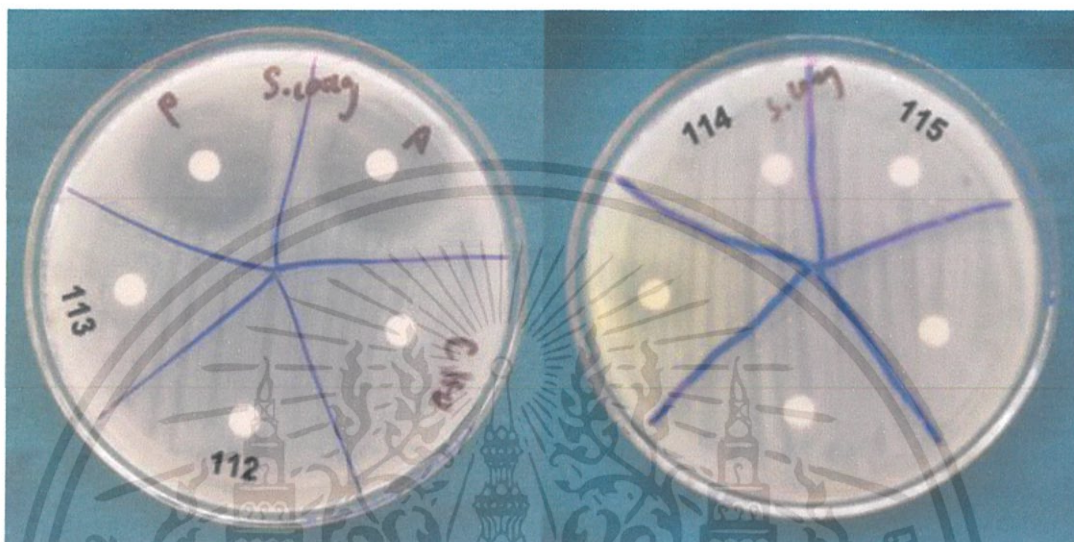
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ผ.1 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S.millieri* group ของอะมิโนสเตรปโตมัยซิน 112-115

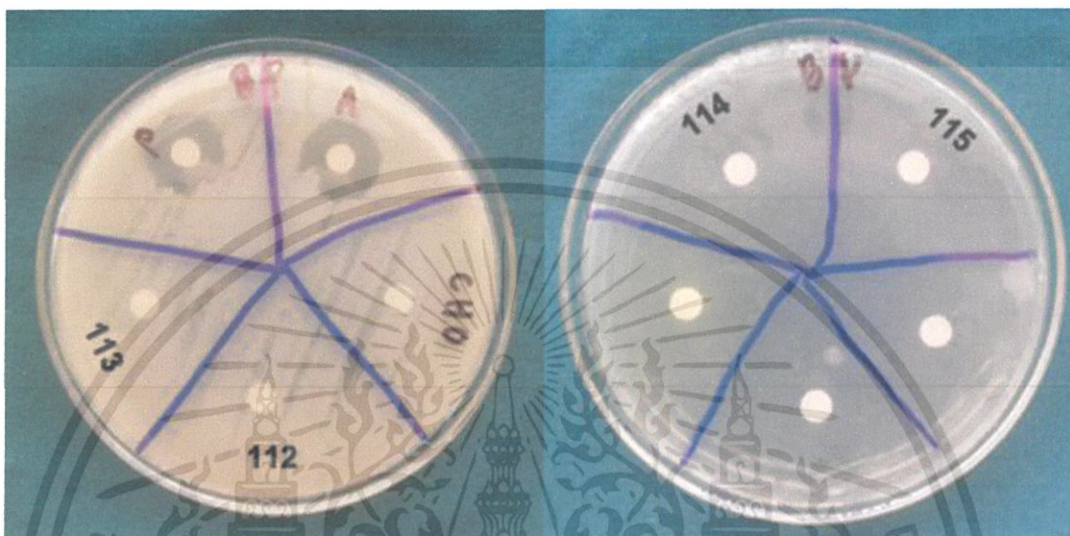
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ผ.2 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. coag* negative ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115  
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

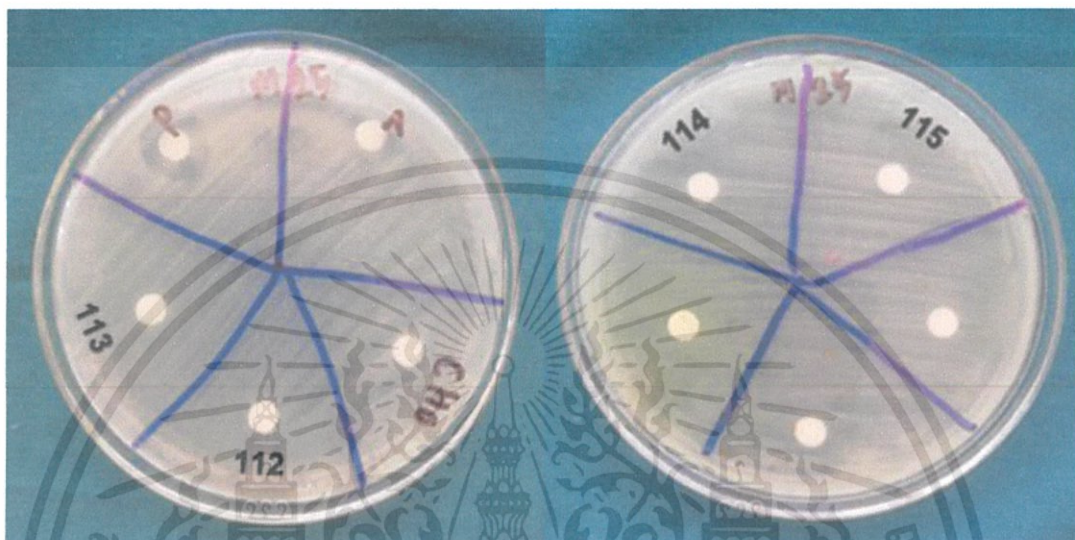
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ผ.3 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *B. pertussis* ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115

เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol I (CHO)

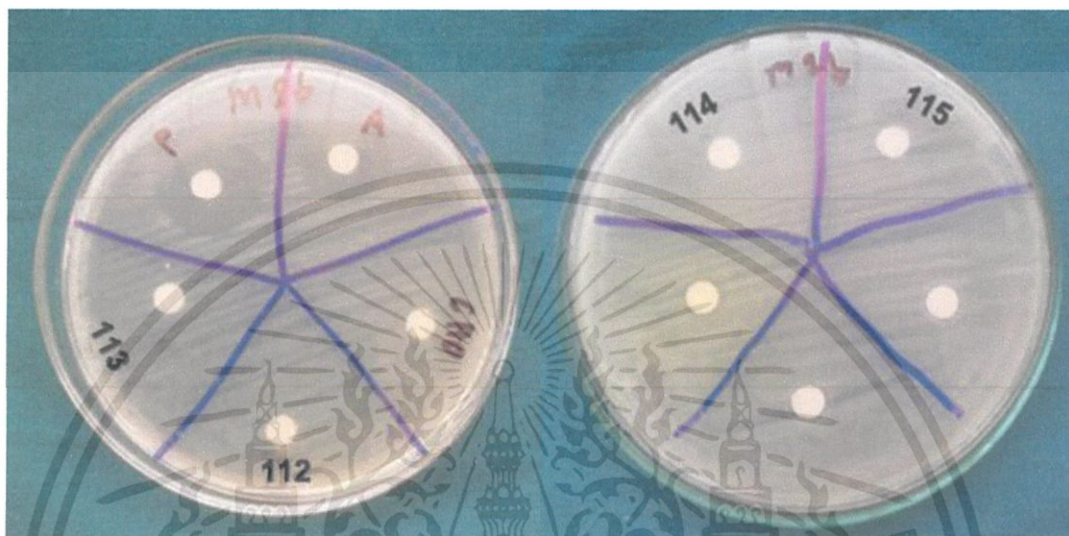
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ผ.4 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (MRSA) 20625 ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115

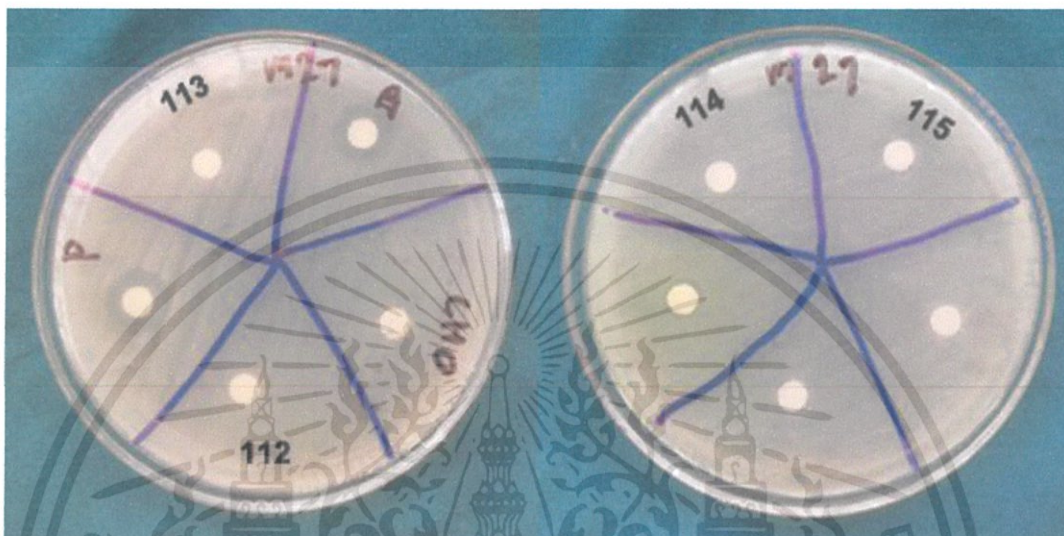
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



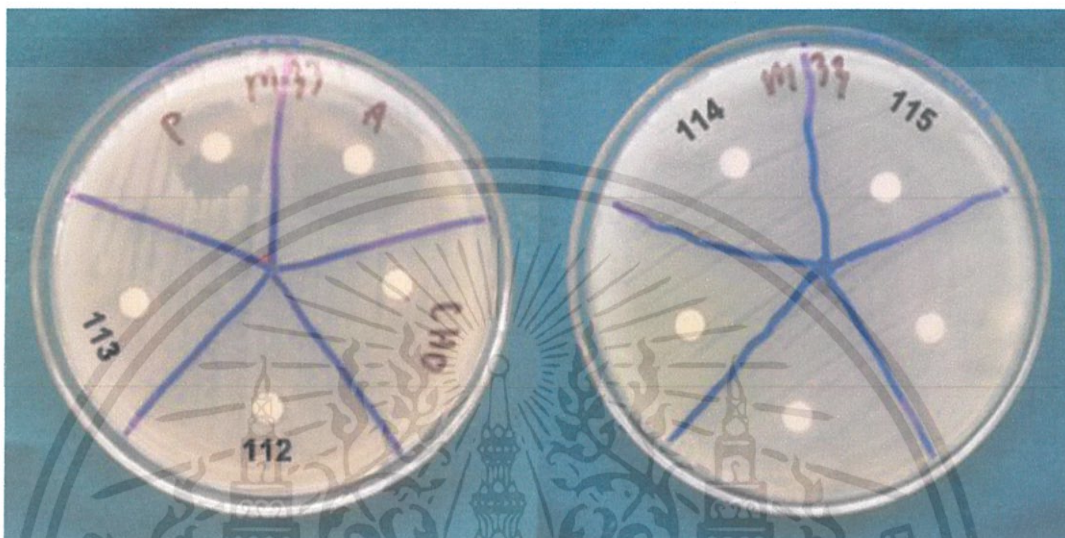
รูป ผ.5 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (MRSA) 20626 ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115  
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ผ.6 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (MRSA) 20627 ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115  
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

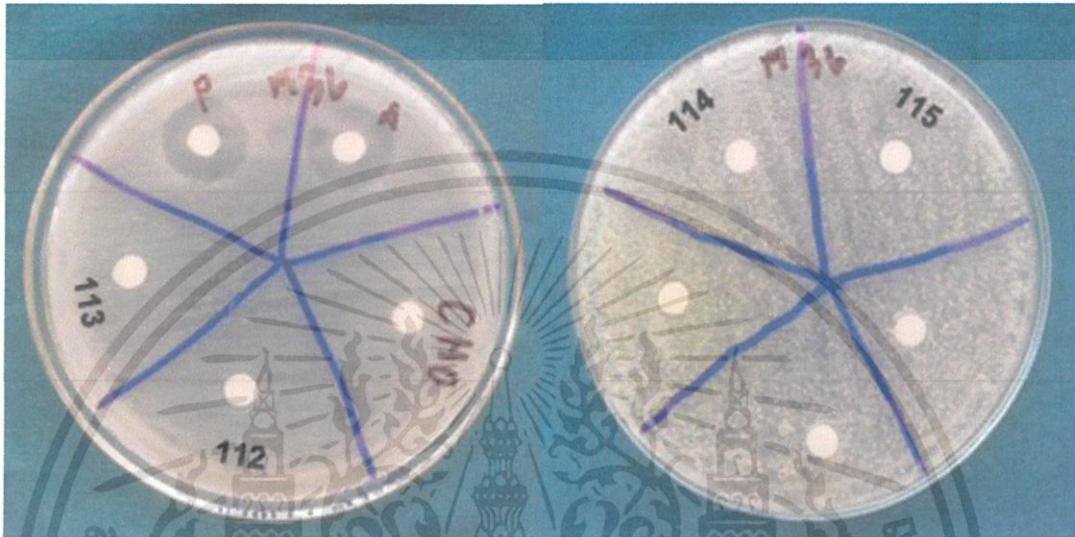
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปผ.7 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (MRSA) 20633 ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115

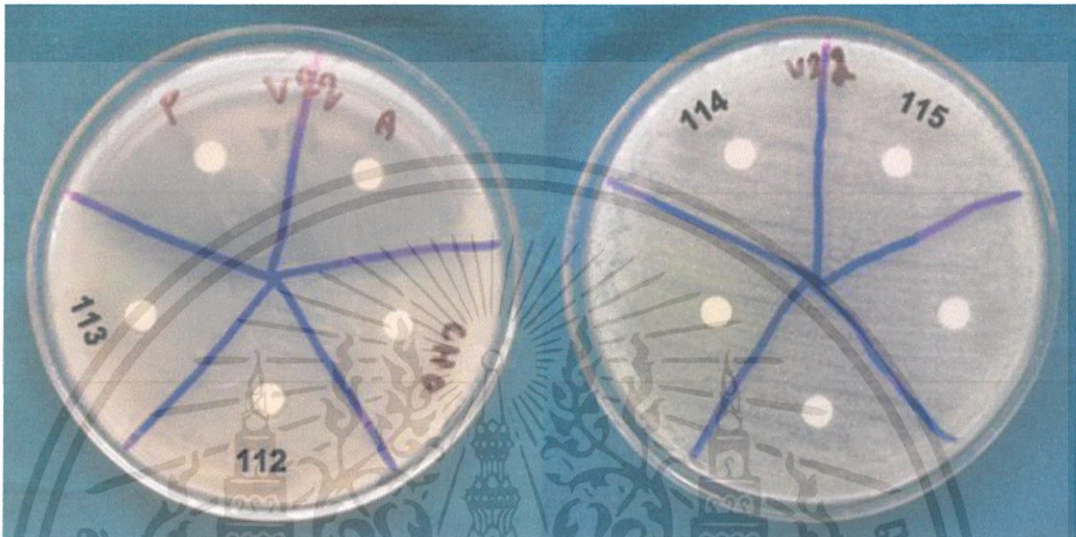
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



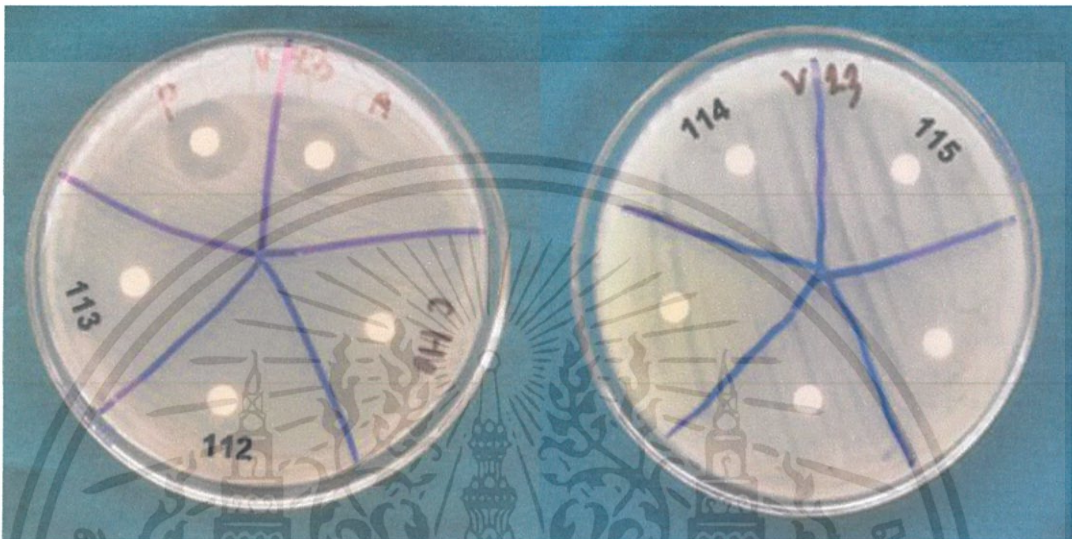
รูป ผ.8 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (MRSA) 20636 ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115  
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



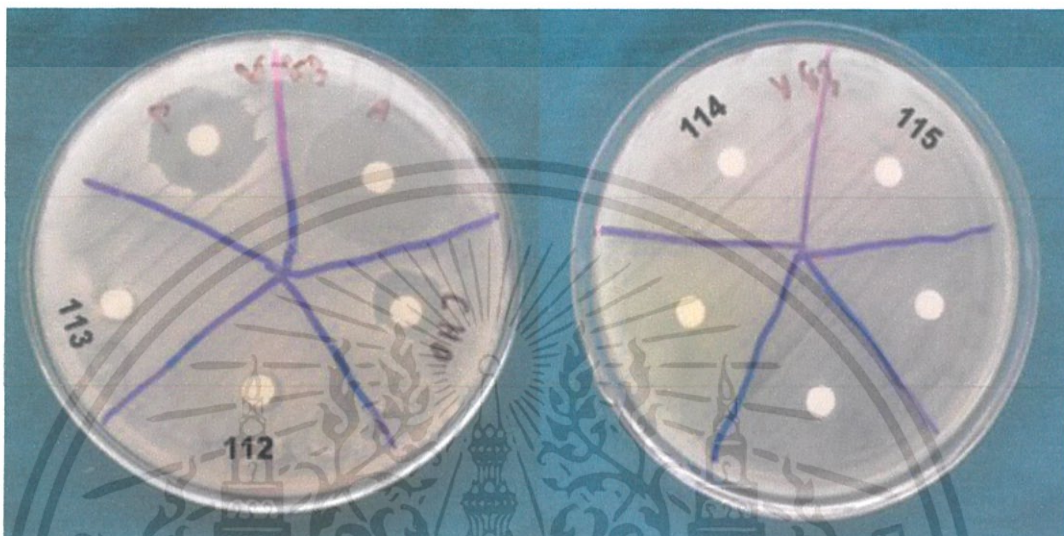
รูป ผ.9 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (VRSA) 20622 ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115  
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ผ.10 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (VRSA) 20623 ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115  
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

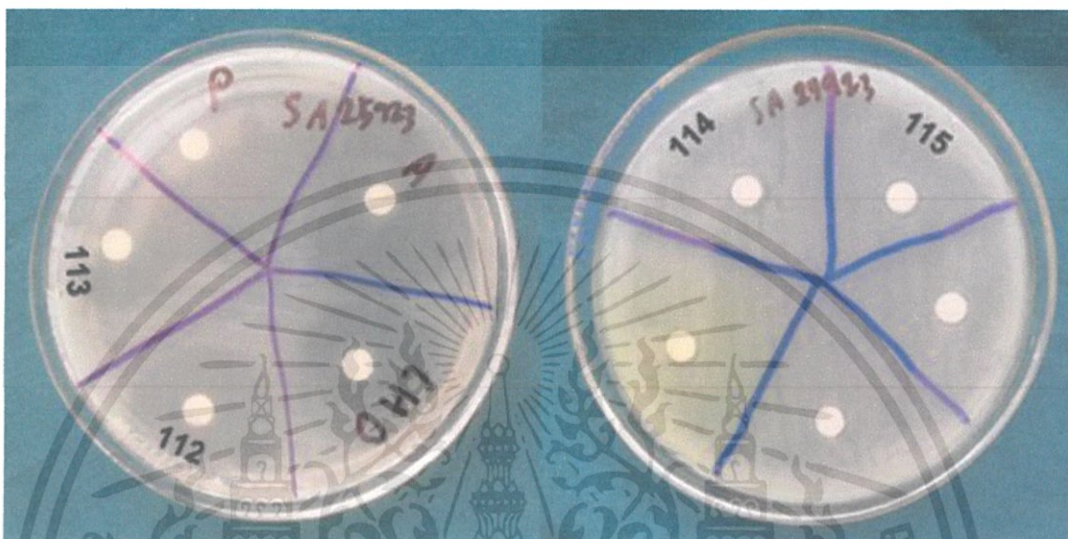
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ผ.11 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* (VRSA) 20683 ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115

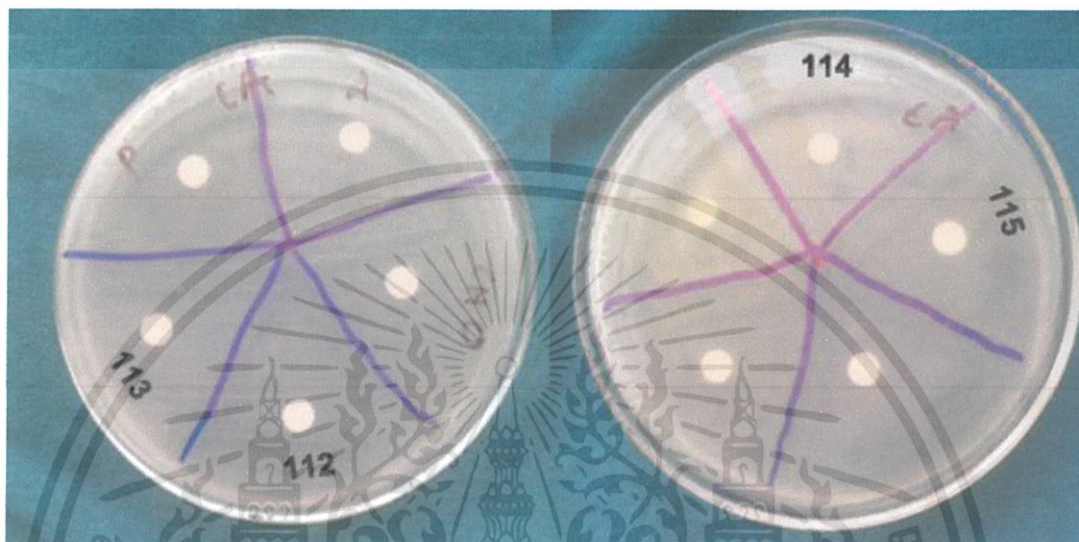
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ผ.12 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ของอะมิโนสเตรอยด์ 112-115  
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป ผ.13 ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 ของอะมิโนสเตียรอยด์ 112-115  
เปรียบเทียบกับ Penicillin (P), Amoxicillin (A) และ Cholesterol 1 (CHO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้