ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การสังเคราะห์เพรดนิโซโลนโดยใช้เซลล์แบคทีเรียตรึงในระบบของเหลวสองวัฏภาค
ชื่อผู้เขียน	นายพัฒนา ศรีพลากิจ
เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชาเภสัชเคมี
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	อ. ดร. สุรพล นธการกิจกุล ประธานกรรมการ
	รศ. ดร. จีรเดช มโนสร้อย กรรมการ
	รศ. ดร. ด้วง พุธศุกร์ กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสังเคราะห์เพรดนิโซโลนจากสารตั้งต้นไฮโดรคอร์ติโซนโดยใช้เซลล์แบคทีเรียตรึงในระบบของเหลวสองวัฏภาค เซลล์แบคทีเรียที่เลือกใช้มี 3 ชนิดคือ *Bacillus sphaericus* ATCC 13805, *Bacillus sphaericus* SRP III และ *Arthrobacter simplex* ATCC 6946 โดยทำการศึกษาปริมาณเพรดนิโซโลนที่ได้จากเซลล์อิสระเปรียบเทียบกับเซลล์ตรึง การนำเซลล์ตรึงกลับมาใช้ใหม่ทั้งในวัฏภาคน้ำและระบบของเหลวสองวัฏภาค และการเพิ่มความเข้มข้นไฮโดรคอร์ติโซนในระบบของเหลวสองวัฏภาค รวมถึงการเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์ของทั้งสองระบบ จากผลการวิจัยพบว่า ในวัฏภาคน้ำนั้น จำนวนเซลล์เริ่มต้นสำหรับการตรึงมีผลต่อปริมาณเพรดนิโซโลนที่เกิดขึ้น เซลล์ตรึง *B. sphaericus* ATCC 13805 และ *B. sphaericus* SRP III สามารถผลิตเพรดนิโซโลนได้ 91.80 และ 80.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าเซลล์อิสระ 5-15 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น *A. simplex* ATCC 6946 ให้ผลตรงข้าม ส่วนในระบบของเหลวสองวัฏภาคนั้น เซลล์ตรึงมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากเซลล์อิสระมากนัก และปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จะขึ้นอยู่กับชนิดตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งพบว่า n-decane เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับเซลล์ตรึง *B. sphaericus* ATCC 13805 และเซลล์อิสระ *A. simplex* ATCC 6946 ซึ่งสามารถสังเคราะห์เพรดนิโซโลนสูงสุดได้ 81.80 และ 84.40 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 48 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ

สำหรับ butyl acetate นั้น เซลล์ตรึง *B. sphaericus* ATCC 13805, *B. sphaericus* SRP III และ *A. simplex* ATCC 6946 สามารถสังเคราะห์เพรดนิโซโลนสูงสุดได้ 87.60, 70.60 และ 88.30 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 144, 120 และ 144 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน cyclohexane หรือกลุ่มอัลกอฮอล์เช่น amyl alcohol, lauryl alcohol และ n-decyl alcohol ผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้จะต่ำกว่า 30 เปอร์เซ็นต์หรือไม่เกิดขึ้นเลย เมื่อนำเซลล์ตรึงกลับมาใช้ใหม่ทั้งในวัฏภาคน้ำและระบบของเหลวสองวัฏภาคพบว่าผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้จะน้อยลง 3-20 เปอร์เซ็นต์ การเพิ่มความเข้มข้นไฮโดรคอร์ติโซนหรืออัตราส่วน n-decane ในระบบของเหลวสองวัฏภาคมีผลทำให้ปริมาณผลิตภัณฑ์ไฮโดรคอร์ติโซนที่สังเคราะห์ได้ลดลง 2 เท่า และมีสารตั้งต้นเหลือในระบบ ในทางตรงข้ามการใช้สารตั้งต้นปริมาณน้อยกลับทำให้เกิดเพรดนิโซโลนที่สูงกว่า การเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์แบคทีเรียในวัฏภาคน้ำแตกต่างจากในระบบของเหลวสองวัฏภาคอย่างสิ้นเชิง วิธีการตรึงโดยใช้ calcium alginate ไม่สามารถป้องกันการหลุดออกของเซลล์ได้ เมื่อเปรียบเทียบเซลล์แบคทีเรียตรึงทั้ง 3 ชนิดพบว่าทั้ง *B. sphaericus* ATCC 13805 และ *A. simplex* ATCC 6946 มีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์เพรดนิโซโลนในวัฏภาคน้ำสูงกว่าในระบบของเหลวสองวัฏภาค 5-30 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *B. sphaericus* SRP III มีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำกว่า ผลจากการศึกษาวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตวัตถุดิบยาหรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Thesis Title	Synthesis of Prednisolone by Using Immobilized Microbial Cell in Two-Liquid-Phase System	
Author	Mr. Pattana Sripalakit	
M.Pharm.	Pharmaceutical Chemistry	
Examining Committee	Instructor Dr. Surapol Natakankitkul	Chairman
	Associate Prof. Dr. Jiradej Manosroi	Member
	Associate Prof. Dr. Duang Buddhasukh	Member

Abstract

The synthesis of prednisolone by using immobilized microbial cells in two-liquid-phase system was studied. Three bacterial strains used were *Bacillus sphaericus* ATCC 13805, *Bacillus sphaericus* SRP III and *Arthrobacter simplex* ATCC 6946. The free cells, immobilized cells and the reusing of immobilized cells in aqueous and two-liquid-phase systems, the increasing hydrocortisone concentration in two-liquid-phase system were compared in the prednisolone synthesis. The changing of cell numbers in both systems was also studied. In aqueous phase, the initial amount of cells for immobolization had an effect on prednisolone synthesis, the immobilized cells of *B. sphaericus* ATCC 13805 and *B. sphaericus* SRP III being able to produce prenisolone with the yields of 91.80 and 80.10% respectively which were about 5-15% higher than free form except *A. simplex* ATCC 6946. In two-liquid-phase system, the efficiency of immobilized and free cells were not different. Prednisolone synthesis depended on types of organic solvent. n-Decane was the most suitable organic solvent for immobilized cells of of *B. sphaericus*

ATCC 13805 and free *A. simplex* ATCC 6946 which gave the maximum prednisolone synthesis with the yields of 81.80 and 84.40% at 48 and 6 hours, respectively. For butyl acetate, immobilized cells of *B. sphaericus* ATCC 13805, *B. sphaericus* SRP III and *A. simplex* ATCC 6946 could produce prednisolone with maximum yields of 81.60, 70.60 and 83.30% with long optimal incubation time of 144, 120 and 144 hours, respectively. For cyclohexane or alcohols such as amyl alcohol, lauryl alcohol and a-decyl alcohol, the product formation is rather low (0-30%). The production of prednisolone decreased about 3-20% when reusing the immobilized cells. Increasing of substrate concentration, hydrocortisone, or n-decane ratio gave 2 times lower prednisolone synthesis and hydrocortisone remained. The change of bacterial amount in aqueous phase was completely different from two-liquid-phase system. The immobilization, using calcium alginate as carrier, could not prevent the leakage, hence the active cells were both in immobilized and free forms. In comparison of three types of immobilzed bacterial cell, the efficiency of *B. sphaericus* ATCC 13805 and *B. sphaericus* SRP III for the prednisolone synthesis in aqueous phase was 5-30% higher than two-liquid-phase system whereas *B. sphaericus* SRP III gave lower activity. The results of this study can be further applied in the production of pharmaceutical raw materials and other products.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University