ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเพรดนิโซโลนจากสารตั้งต้นคอร์-เทคโซโลนระหว่างเซลล์ตรึงและเซลล์อิสระด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบผสม
ชื่อผู้เขียน	นางสาวอรสร สารพันโชติวิทยา
เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต :	สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ :

รศ. ดร. จีรเดช มโนสร้อย	ประธานกรรมการ
รศ. ประสิทธิ์ ธราวิจิตรกุล	กรรมการ
รศ. ดร. อรัญญา มโนสร้อย	กรรมการ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการสังเคราะห์เพรดนิโซโลนจากสารตั้งต้นคอร์เทคโซโลนระหว่างเซลล์ตรึงและเซลล์อิสระด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบผสม ในการศึกษา จะใช้คอร์เทคโซโลนเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เพรดนิโซโลนโดยเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย (*Cunninghamella blakesleeana* ATCC 8688a-*Bacillus sphaericus* ATCC 13805, *Cunninghamella echinulata* SRP III-*Bacillus sphaericus* ATCC 13805, และ *Cunninghamella echinulata* SRP III-*Bacillus sphaericus* SRP III) จะทำให้เกิดปฏิกิริยา hydroxylation และ dehydrogenation เซลล์จะถูกเตรียมในรูปแบบต่าง ๆคือ เซลล์เชื้อราอิสระ-เซลล์เชื้อแบคทีเรียอิสระ, เซลล์เชื้อราอิสระ-เซลล์เชื้อแบคทีเรียตรึง, เซลล์เชื้อราตรึง-เซลล์เชื้อแบคทีเรียอิสระและเซลล์เชื้อราตรึง-เซลล์เชื้อแบคทีเรียตรึง และเพาะเลี้ยงเซลล์ทั้งแบบผสมและแบบเติมตามลำดับ ซึ่งในการทดลองส่วนแรกได้ศึกษาผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้นและรูปแบบการเตรียมเซลล์ที่มีผลต่อปริมาณการผลิต และในส่วนที่สองได้ทำการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีผลต่อปริมาณการผลิต

ผลการทดลองพบว่า 1) เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ yield ของไฮโดรคอร์ติโซนที่สังเคราะห์ได้สูงสุดโดยเชื้อราทั้งสองชนิด (*C. blakesleeana* ATCC 8688a และ *C. echinulata* SRP III) ทั้งแบบเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงพบว่าเชื้อราแบบเซลล์อิสระสามารถสังเคราะห์ไฮโดรคอร์ติโซนได้มากกว่าเซลล์เชื้อราแบบตรึงเมื่อใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน

2) สภาวะที่เชื้อรา *C. blakesleeana* ATCC 8688a สามารถสังเคราะห์ไฮโดรคอร์ติโซนได้มากที่สุดคือ การใช้เซลล์เชื้อราแบบอิสระปริมาณเริ่มต้น 6% (96 CFU/ml.) และเก็บตัวอย่างที่เวลา 72 ชั่วโมง โดยจะได้เปอร์เซ็นต์ yield 78.5% ส่วนสภาวะที่เชื้อรา *C. echinulata* SRP III สามารถสังเคราะห์ไฮโดรคอร์ติโซนได้มากที่สุดคือ การใช้เซลล์เชื้อราอิสระปริมาณเริ่มต้น 8% (32 CFU/ml.) และเก็บตัวอย่างที่เวลา 72 ชั่วโมง โดยจะได้เปอร์เซ็นต์ yield 59.3 %

3) ในกรณีการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ yield ของเพรดนิโซโลนที่สังเคราะห์ได้สูงสุดโดยเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด (*B. sphaericus* ATCC 13805 และ *B. sphaericus* SRP III) ทั้งแบบเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงพบว่าเชื้อแบคทีเรียแบบเซลล์ตรึงสามารถสังเคราะห์เพรดนิโซโลนได้มากกว่าเซลล์อิสระเมื่อใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน

4) สภาวะที่เซลล์เชื้อแบคทีเรีย *B. sphaericus* ATCC 13805 สามารถสังเคราะห์เพรดนิโซโลนได้มากที่สุดคือการใช้เซลล์เชื้อแบคทีเรียตรึงปริมาณเริ่มต้น 8% ($24x10^3$ CFU/ml.) และเก็บตัวอย่างที่เวลา 48 ชั่วโมง โดยจะได้เปอร์เซ็นต์ yield 98.8% ส่วนสภาวะที่เซลล์เชื้อแบคทีเรีย *B. sphaericus* SRP III สามารถสังเคราะห์เพรดนิโซโลนได้มากที่สุดคือการใช้เซลล์เชื้อแบคทีเรียตรึงปริมาณเริ่มต้น 4% ($40x10^3$ CFU/ml.) และเก็บตัวอย่างที่เวลา 96 ชั่วโมง โดยจะได้เปอร์เซ็นต์ yield 92.1%

5) จากผลการทดลองพบว่าสภาวะการเตรียมเซลล์ที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองคือการเตรียมเซลล์เชื้อราอิสระและเซลล์เชื้อแบคทีเรียตรึง โดยคู่เชื้อที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองคือ *C. blakesleeana* ATCC 8688a และ *B. sphaericus* ATCC 13805 ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์ yield ของเพรดนิโซโลนมากที่สุดทั้งในกรณีการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบผสมและแบบเติมตามลำดับโดยได้เปอร์เซ็นต์ yield เท่ากับ 59.2 % และ 72.5 % ตามลำดับ

6) เมื่อเปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบผสมและแบบการเติมตามลำดับของเชื้อแบคทีเรียทั้งสามคู่ ในรูปแบบการเตรียมเซลล์แบบเดียวกัน พบว่าสภาวะการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบเติมตามลำดับเป็นรูปแบบการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่เหมาะสมมากกว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบผสมในทุกกรณีของการเตรียมเซลล์

หมายเหตุ : งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนันสนุนการวิจัยในระดับบัณฑิตศึกษาบางส่วนจากสภาวิจัยแห่งชาติ

Thesis title	Comparative Study of Prednisolone Production from Cortexolone by Free and Immobilized Cells Using Mixed Culture Technique
Author	Miss Aurasorn Saraphanchotiwitthaya
M.Pharm.	Pharmaceutical Technology
Examination Commitee	Associate Prof. Dr. Jiradej Manosroi — Chairman
	Associate Prof. Prasit Tharawijitkul — Member
	Associate Prof. Dr. Aranya Manosroi — Member

Abstract

The objective of this experiment was to compare prednisolone production between free and immobilized cells using mixed culture technique.

A two-step bioconversion in one pot of cortexolone to its main metabolite, prednisolone, using fungal and bacterial cells (*Cunninghamella blakesleeana* ATCC 8688a-*Bacillus sphaericus* ATCC 13805, *Cunninghamella echinulata* SRP III-*Bacillus sphaericus* ATCC 13805, *Cunninghamella echinulata* SRP III-*Bacillus sphaericus* SRP III) via hydroxylation and dehydrogenation reactions was performed. Four mixed culture systems of free fungus-free bacteria, free fungus-immobilized bacteria, immobilized fungus-free bacteria and immobilized fungus-immobilized bacteria were performed by mixed and sequential culture technique.

The results indicated that 1) Both *C. blakesleeana* ATCC 8688a and *C. echinulata* SRP III in free form gave higher yield of hydrocortisone production than immobilized form.

2) The best culture conditions of *C. blakesleeana* ATCC 8688a giving maximum hydrocortisone yield of 75.5% was 6% of initial cells in free form (96 CFU/ml.), at 25°C, 72 hr.; whereas, *C. echinulata* SRP III with maximum hydrocortisone yield of 53.3 % was 8% of initial cells in free form (32 CFU/ml.), at 25 °C, 72 hr.

3) Both *B. sphaericus* ATCC 13805 and *B. sphaericus* SRP III in immobilized form had higher yield of prednisolone production than free form.

4) The best culture conditions of *B. sphaericus* ATCC 13805 giving maximum prednisolone yield of 98.8% was 25°C, 8% of initial cells in immobilized form ($24x10^3$ CFU/ ml.), at 25°C, 48 hr.; whereas, *B. sphaericus* SRP III with maximum prednisolone yield of 92.1% was 4% of initial cells in immobilized form ($40x10^3$ CFU/ ml.), at 25°C, 96 hr.

5) Prednisolone was succesfully produced by the mixed culture of free fungus and immobilized bacteria of *C. blakesleeana* ATCC 8688a and *B. sphaericus* ATCC 13805. This system gave the highest transformation activity for both mix and sequential culture technique with the yield of 59.2% and 72.5% respectively.

6) The sequential steps of starting from hydroxylation and followed by dehydrogenation, was found to be more efficient in prednisolone production than the mixed culture in one step.

Note : This work is partially supported by the grant from the National Research Council of Thailand (NRCT) under the graduate student program.