



## การออกแบบการสังเคราะห์และฤทธิ์การยับยั้งโคลีนเอสเทอเรสของอนุพันธ์อินโดล เพื่อใช้รักษาโรคอัลไซเมอร์

### Design, Synthesis and Biological Evaluation of Indole Derivatives as Cholinesterase Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease

ชญามน จันทนา<sup>1</sup>, กรรณิการ์ ละอองทอง<sup>1</sup>, กัมปนาท ฉายจรัส<sup>2</sup>, อนันต์ อธิพรชัย<sup>1</sup> และ จเร จรัสจรรณพงศ์<sup>1\*</sup>

Chayamon Chantana<sup>1</sup>, Kannika La-ongthong<sup>1</sup>, Kampanart Chayajarus<sup>2</sup>, Anan Athipornchai<sup>1</sup>  
and Jaray Jaratjaroonphong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

<sup>2</sup>ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

Received : 2 February 2020

Revised : 8 April 2020

Accepted : 10 April 2020

#### บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบและสังเคราะห์สารอนุพันธ์อินโดล 3 กลุ่ม ได้แก่ เอ็น-(เอ็น-พิเพอริดีลเอทิล)อินโดล เอ็น-(เอ็น-ไพโรโรลิดีนเอทิล)อินโดล และเอ็น-(คลอโรแอลคิล)อินโดล ด้วยวิธีการที่ง่ายภายใต้สภาวะการทดลองที่ไม่รุนแรง ได้สารสังเคราะห์จำนวน 22 โครงสร้างในร้อยละผลึกภัณฑ์ปานกลางถึงสูง นอกจากนี้ได้นำสารสังเคราะห์ทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสซึ่งเกี่ยวข้องกับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ พบว่า สาร 5-โบรโม-1-(3-คลอโรไพโรลิด)-1-เฮกซ์-อินโดล (JJIN-3d) สามารถยับยั้งเอ็นไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ร้อยละ  $73.53 \pm 0.30$  ซึ่งสาร JJIN-3d นี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้นแบบที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเป้าหมายและมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นยาชนิดใหม่สำหรับรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้

**คำสำคัญ** : อนุพันธ์อินโดล ; ฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์โคลีนเอสเทอเรส ; โรคอัลไซเมอร์

\*Corresponding author. E-mail : jaray@buu.ac.th



## Abstract

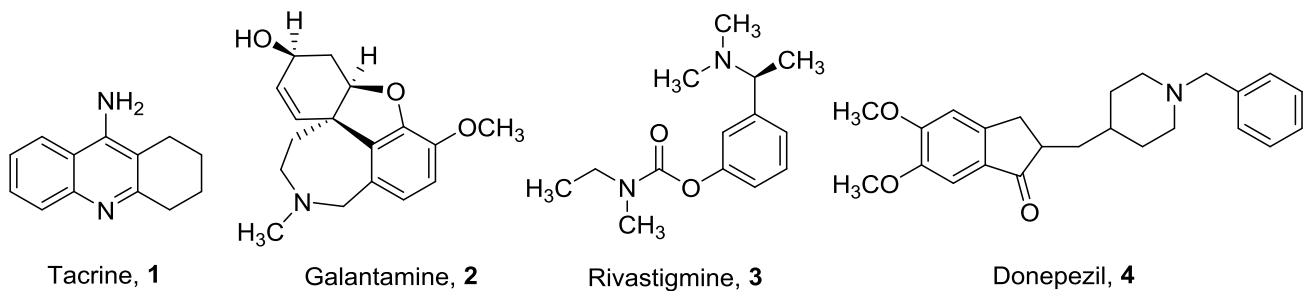
In this research, three groups of indole derivatives such as *N*-(*N*-piperidylethyl)indoles, *N*-(*N*-pyrrolidylethyl)indoles and *N*-(chloroalkyl)indoles were designed and efficiently synthesized by a simple method under mild reaction conditions to afford twenty-two compounds in moderate to excellent yields. Furthermore, all synthesized compounds were evaluated for their acetylcholinesterase inhibitory activity that contributes to Alzheimer's disease. The results found that 5-bromo-1-(3-chloropropyl)-1*H*-indole (JJIN-3d) showed promising acetylcholinesterase inhibitory activity with %inhibition value of  $73.53 \pm 0.30$ . Thus, the compound JJIN-3d could potentially be a lead compound for the development of a novel drug for the treatment Alzheimer's disease.

**Keywords :** indole derivatives ; acetylcholinesterase inhibitory activity ; Alzheimer's disease

## บทนำ

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease หรือ AD) เป็นโรคการเสื่อมของระบบประสาทในสมองชนิดเรื้อรัง (neurodegenerative disorder) ที่ค่อย ๆ มีอาการหนักขึ้นตามเวลา โดยอาจแบ่งลักษณะอาการของผู้ป่วยได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ผู้ป่วยที่จำเหตุการณ์ปัจจุบันไม่ค่อยได้ ผู้ป่วยที่มีภาวะทางจิตร่วมซึ่งมักปัญหาทางพฤติกรรม และผู้ป่วยที่ไม่สามารถดูแลตนเองได้ เป็นต้น (Burns & Iliffe, 2009) องค์การอัลไซเมอร์ระหว่างประเทศ (Alzheimer's Disease International; ADI) ได้สำรวจข้อมูลจาก 32 ประเทศและประมาณการณั้ไว้ว่า มีผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ที่เกิดสภาวะการเสื่อมของสมอง (dementia) ประมาณ 50 ล้านคน และอาจมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นถึง 152 ล้านคนในปี ค.ศ. 2050 (Alzheimer's Disease International, 2019) ในประเทศไทยโรคอัลไซเมอร์จัดเป็นหนึ่งในเจ็ดอันดับแรกของโรคไม่ติดต่อที่พบบ่อยในผู้สูงอายุตั้งแต่อายุ 60 ปี ขึ้นไป และเป็นสาเหตุอันดับหนึ่งของอาการสมองเสื่อมในวัยสูงอายุ (Institute of Neurology, 2019) ผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์จะเกิดสภาวะการเสื่อมของสมอง (dementia) ทำให้ผู้ป่วยมีปัญหาสูญเสียความทรงจำและการเรียนรู้ซึ่งส่งผลกระทบต่อการใช้ชีวิตประจำวัน ตลอดจนจนเป็นภาระแก่ครอบครัวผู้ดูแลผู้ป่วย สำหรับสาเหตุของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ยังไม่ทราบแน่ชัด นักวิทยาศาสตร์ตั้งสมมติฐานสาเหตุของโรคไว้หลายอย่าง แต่สาเหตุหนึ่งทีเชื่อว่าอาจก่อให้เกิดโรคอัลไซเมอร์นั้นเกี่ยวข้องกับ การถูกทำลายของสารสื่อประสาทแอซิทิลโคลีน (acetylcholine หรือ ACh) โดยเอนไซม์แอซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (acetylcholinesterase; AChE) และเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรส (butyrylcholinesterase หรือ BChE) ส่งผลให้ปริมาณของสารสื่อประสาทในสมองลดลง เมื่อโรคมีการดำเนินต่อไปจะพบการตายของเซลล์ประสาทในบริเวณสมองส่วนหน้าส่งผลผู้ป่วยเกิดการสูญเสียความจำในที่สุด (Lomlim & Nounnai, 2011) ด้วยเหตุนี้แพทย์และนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลกได้พยายามศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแนวทางในการบำบัดรักษาหรือป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ อย่างไรก็ตาม จนถึงปัจจุบันพบว่าไม่สามารถรักษาโรคอัลไซเมอร์ให้หายขาดได้ ทำได้เพียงการชะลออาการของผู้ป่วยเท่านั้น ยาที่ได้รับการรับรองให้ใช้เพื่อบำบัดรักษาผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ มี 4 ชนิด ได้แก่ ยา Tacrine (1) ยา Galanthamine (2) ยา Rivastigmine (3) และ ยา Donepezil (4) (ภาพที่ 1) โดยยาทั้ง 4 ชนิดนี้ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ทำให้การทำลายสารสื่อประสาท

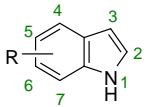
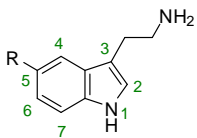
แอซิติลโคลีน (ACh) ลดลง อย่างไรก็ตามยาทั้ง 4 ชนิด ส่งผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยอัลไซเมอร์อย่างมาก เช่น ยา Galanthamine (2) มีผลข้างเคียงทำให้ผู้ป่วยมีน้ำหนักลดลง ยา Rivastigmine (3) ทำให้เกิดการเวียนศีรษะ มึนงงได้ เป็นต้น (Sukying, 2012) ดังนั้นจึงได้มีความพยายามหาสารชนิดใหม่ๆ ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส เพื่อนำไปสู่การการค้นพบยาในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น แต่แสดงผลข้างเคียงน้อยหรือไม่มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย



### ภาพที่ 1 ยารักษาผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ที่ใช้ในทางคลินิก

Khorana และคณะ (2012) ได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส (AChE) ของสารประกอบอินโดลชนิดต่าง ๆ เปรียบเทียบกับสาร 5-methoxytryptamine และสาร 5-hydroxytryptamine (หรือ serotonin) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่สำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) ของสัตว์ ผลการทดสอบพบว่า สารประกอบอินโดลที่ไม่มีหมู่แทนที่ ethylamine ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ) บนตำแหน่งของวงอินโดลจะแสดงฤทธิ์ยับยั้งได้ระดับต่ำถึงปานกลาง ( $\% \text{Inhibition} = 4.26 \pm 2.41$  ถึง  $36.82 \pm 5.59$ ) ในขณะที่สารประกอบอินโดลอนุพันธ์ของ Tryptamine ที่มีหมู่แทนที่ ethylamine ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ) บนตำแหน่ง 3 ของวงอินโดล พบการแสดงฤทธิ์ยับยั้งได้ดีกว่า โดยที่อนุพันธ์ของ Tryptamine ซึ่งมีหมู่แทนที่ methoxy ( $-\text{OCH}_3$ ) บนตำแหน่งที่ 5 ของวงอินโดลจะแสดงฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสเพียงร้อยละ  $7.19 \pm 3.02$  แต่เมื่อนำสาร serotonin ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ Tryptamine ที่มีหมู่แทนที่ hydroxy ( $-\text{OH}$ ) ที่บนตำแหน่งที่ 5 ของวงอินโดลมาทดสอบกลับพบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสเพิ่มขึ้นถึงระดับร้อยละ  $62.59 \pm 3.74$  (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Acetylcholinesterase ของสารประกอบ Indole ที่ความเข้มข้น  $10^{-4}$  M

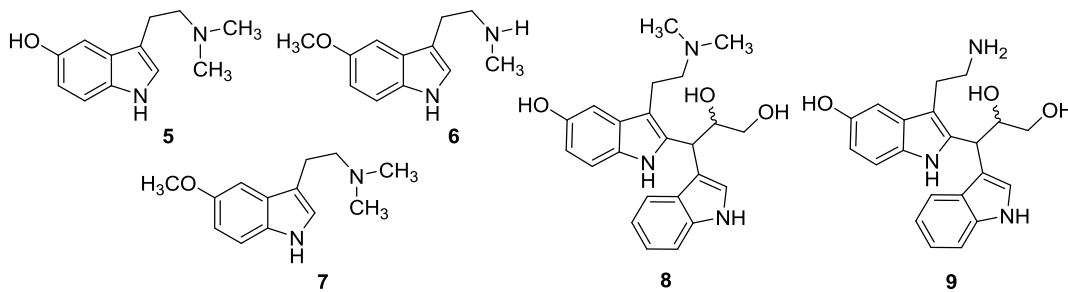
สารประกอบ Indole	R	% Inhibition ( $\pm$ SD)	R	% Inhibition ( $\pm$ SD)
	4-OCH <sub>3</sub>	9.24 $\pm$ 4.03	6-COOH	28.50 $\pm$ 4.42*
	5-OCH <sub>3</sub>	4.26 $\pm$ 2.41	7-COOH	23.35 $\pm$ 7.62*
	6-OCH <sub>3</sub>	11.41 $\pm$ 2.20	4-OH	19.04 $\pm$ 5.87
	7-OCH <sub>3</sub>	8.17 $\pm$ 3.07	5-OH	7.33 $\pm$ 4.10
	4-COOH	36.82 $\pm$ 5.59*	2-CH <sub>3</sub>	17.97 $\pm$ 6.10
	5-COOH	29.05 $\pm$ 3.86*		
	5-OCH <sub>3</sub>	7.19 $\pm$ 3.02	5-OH	62.59 $\pm$ 3.74
ยา Galanthamine (2)	-	100.00 $\pm$ 0.00**		

\* = % Inhibition at concentration  $6.2 \times 10^{-4}$  M

\*\* = % Inhibition at concentration  $3.4 \times 10^{-4}$  M; IC<sub>50</sub> =  $0.60 \pm 0.01$   $\mu$ M

เมื่อเร็ว ๆ นี้ นักวิจัยได้ศึกษาสารสกัดจากเปลือกของต้น *Tetrapterys mucronata* ซึ่งพบได้ในประเทศบราซิล (Queiroz *et al.*, 2014) โดยนำเปลือกของต้นพืชชนิดนี้มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล จากนั้นได้นำสารสกัดหยาบเอทานอลที่ได้ไปแยกบริสุทธิ์แล้วนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส ผลการศึกษาพบว่า แยกสารได้ 22 ชนิด ซึ่งเป็นสารชนิดใหม่ 6 ชนิด และมีสารเพียง 5 ชนิดจาก 22 ชนิด เท่านั้นที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส ได้แก่ สาร 5-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamine (bufotenine) (5) สาร 5-methoxy-*N*-methyltryptamine (6) สาร 5-methoxy-*N,N*-dimethyltryptamine (7) และสารชนิดใหม่ dimeric indolic alkaloids (mucronatin A (8) และ mucronatin B (9)) โดยตารางที่ 2 แสดงโครงสร้างและค่าการยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัด 5-9 เปรียบเทียบยา tricine และยา galanthamine (IC<sub>50</sub> =  $2.4 \pm 0.2$   $\mu$ M และ  $0.09 \pm 0.02$   $\mu$ M ตามลำดับ) พบว่า สารสกัดอนุพันธ์อินโดล 5-9 มีค่าการยับยั้ง (IC<sub>50</sub>) ต่ำกว่า 15  $\mu$ M

ตารางที่ 2 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase ที่สกัดจากเปลือกต้น *Tetrapterys mucronata*

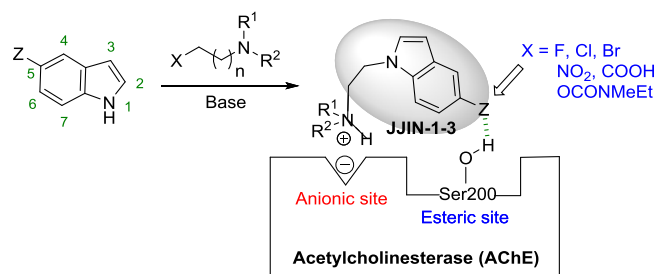


สารที่แยกได้จากธรรมชาติ	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>a</sup>	สารที่แยกได้จากธรรมชาติ	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>a</sup>
5	11.4 ± 0.2	8	11.7 ± 0.4
6	12.5 ± 0.3	9	12.7 ± 0.3
7	14.0 ± 0.2		
ยา Tacrine (1) <sup>b</sup>	0.09 ± 0.02	ยา Galanthamine (2) <sup>b</sup>	2.4 ± 0.2

<sup>a</sup> means ± standard deviations obtained from three independent experiments

<sup>b</sup> Positive control

จากตัวอย่างงานวิจัยข้างต้น พบว่าสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและสารสังเคราะห์อนุพันธ์อินโดลแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยค่าทดสอบในระดับดีและใกล้เคียงกับตัวยามาตรฐาน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจออกแบบและสังเคราะห์สารอนุพันธ์อินโดล พร้อมทั้งศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรสของสารสังเคราะห์เหล่านั้น (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การออกแบบสังเคราะห์อนุพันธ์อินโดล JJIN-1-3



## วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนทั่วไปในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ เอ็น-(เอ็น-ไพโรลิดิลเอทิล)อินโดล JJIN-1

ซึ่ง  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  1.6291 g (5 equiv.) ในขวดก้นกลมขนาด 5 mL เติมหิวทำละลาย DMF 1 mL กวนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นค่อยๆ เติมหาสารประกอบอินโดล 1.0 mmol และสารละลาย *N*-(2-chloroethyl)pyrrolidine hydrochloride (11) 0.3402 g (2.0 mmol) ในตัวทำละลาย DMF 1.5 mL ตามลำดับ กวนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินแลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography หรือ TLC) โดยเปรียบเทียบกับ สารประกอบอินโดลที่ใช้เป็นสารตั้งต้น เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดหยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำ ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate (2x20 mL) ตามด้วย น้ำ (10 mL) และสารละลายอิ่มตัวของ NaCl (10 mL) ตามลำดับ นำชั้น Ethyl acetate มาทำให้แห้งด้วย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydrous กรองและนำสารละลายไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้ crude product นำ crude product ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค radial chromatography โดยใช้ตัวทำละลาย hexane (50 mL) ตามด้วย 20%, 40%, 50%, 60% และ 90% EtOAc ใน hexane ตามลำดับ เพื่อแยกสารผลิตภัณฑ์สาร JJIN-1 ที่ได้ให้บริสุทธิ์ นำ fraction ของผลิตภัณฑ์ที่แยกได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่องดูดสุญญากาศ

1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-1a); ของหนืดสีเหลืองอ่อน (0.1725 g, 80%);  $R_f=0.26$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.68 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.42 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.26 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.19 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H), 7.16 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.54 (d,  $J = 2.9$  Hz, 1H), 4.33 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.94 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.61 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H), 1.84 (brm, 4H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  135.9, 128.7, 128.1, 122.1, 121.6, 120.0, 109.3, 101.4, 55.0, 54.4, 45.5, 23.5

1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1H-indole-5-carboxylic acid (JJIN-1b); ของแข็งสีขาวขุ่น (0.2580 g, >99%);  $R_f=0.37$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ 3 ครั้ง;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.56 (s, 1H), 8.44 (brs, 1H), 7.93 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 6.67 (brs, 1H), 4.52 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 2.95 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 2.70 (brs, 4H), 1.76 (brs, 4H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  139.0, 127.6, 126.3, 123.2, 122.4, 111.8, 103.0, 79.7, 63.8, 54.5, 52.1, 23.7

5-fluoro-1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-1c); ของหนืดสีเหลืองอ่อน (0.2269 g, 98%);  $R_f=0.30$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.31-7.27 (brm, 2H), 7.27 (d,  $J = 2.16$  Hz, 1H), 6.97 (ddd,  $J = 9.0, 9.0, 1.6$  Hz, 1H), 6.46 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 4.30 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.92 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.59 (brs, 4H), 1.82 (brs, 4H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  157.8 ( $J = 233.0$  Hz,  $C_F$ ), 132.6, 129.6, 128.8 ( $J = 9.9$  Hz,  $C_F$ ), 110.5 ( $J = 26.2$  Hz,  $C_F$ ), 110.0 ( $J = 5.5$  Hz,  $C_F$ ), 105.6 ( $J = 23.1$  Hz,  $C_F$ ), 101.2, 55.7, 54.4, 45.9, 23.5

5-nitro-1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-1d); ของแข็งสีเหลือง (0.2567 g, 99%);  $R_f=0.26$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.53 (s, 1H), 8.07 (brd, 1H), 7.37 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 7.32 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 6.64 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 4.32 (t,  $J = 4.8$  Hz, 2H), 2.92 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 2.58 (brs,



4H), 1.78 (brs, 4H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  138.9, 131.3, 118.3, 117.2, 109.2, 104.1, 68.6, 55.6, 54.4, 46.2, 23.5

*5-methoxy-1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-1e)*; ของแข็งสีเหลืองอ่อน (0.2436 g, >99%);  $R_f=0.29$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.29 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.13 (dd,  $J = 6.5, 2.6$ , 2H), 6.92 (dd,  $J = 8.8, 2.3$  Hz, 1H), 6.45 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 4.27 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.90 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 2.59 (brs, 4H), 1.82 (brs, 4H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  154.0, 131.3, 129.0, 128.5, 111.9, 110.0, 102.7, 100.8, 56.0, 55.8, 54.3, 45.9, 23.5

*6-fluoro-1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-1f)*; ของเหลวหนืดสีเหลืองอ่อน (0.2023 g, 87%);  $R_f=0.30$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.55 (dd,  $J = 8.6, 5.42$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J = 3.08$  Hz, 1H), 7.08 (dd,  $J = 9.92, 1.64$  Hz, 1H), 6.91 (ddd,  $J = 9.3, 8.9, 2.2$  Hz, 1H), 6.50 (d,  $J = 3.05$  Hz, 1H), 4.23 (t,  $J = 7.32$  Hz, 2H), 2.89 (t,  $J = 7.32$  Hz, 2H), 2.59 (brs, 4H), 1.83 (brs, 4H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  159.8 ( $J = 235.7$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 136.1, 128.6 ( $J = 3.4$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 125.1, 121.7 ( $J = 10.1$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 108.1 ( $J = 24.4$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 101.5, 95.8 ( $J = 26.1$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 55.5, 54.3, 45.8, 23.5

*1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1H-indol-5-yl ethyl(methyl) carbamate (JJIN-1g)*; ของเหลวหนืดสีเขียวอ่อน (0.2533 g, 80%);  $R_f = 0.39$  เมื่อใช้ 50% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ 2 ครั้งและ 5% MeOH ใน EtOAc เป็นตัวเคลื่อนที่ 3 ครั้ง;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.32 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.17 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 6.98 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 6.45 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 4.29 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.48 (q,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 3.07 (brd, 3H), 2.91 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 2.59 (brs, 4H), 1.80 (brs, 4H), 1.38-1.15 (br m, 3H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  162.3, 144.9, 133.6, 129.1, 128.6, 115.9, 112.9, 109.4, 101.1, 58.5, 54.7, 44.3, 43.9, 36.1, 25.9, 24.2, 13.2

#### ขั้นตอนทั่วไปในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ เอ็น-เอ็น-พีเพอริดีลเอทิลอินโดล JJIN-2

ชั่ง  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  1.6291 g (5 equiv.) ในขวดกั้นกลมขนาด 5 mL เติมตัวทำละลาย DMF 1 mL กวนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นค่อยๆ เติมสารประกอบอินโดล 1.0 mmol และสารละลาย *N*-(2-chloroethyl)piperidine hydrochloride 0.3682 g (2.0 mmol) ในตัวทำละลาย DMF 1.5 mL ตามลำดับ กวนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินแลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography หรือ TLC) โดยเปรียบเทียบกับ สารประกอบอินโดลที่ใช้เป็นสารตั้งต้น เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดหยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำ ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate (2x20 mL) ตามด้วย น้ำ (10 mL) และสารละลายอิ่มตัวของ NaCl (10 mL) ตามลำดับ นำชั้น Ethyl acetate มาทำให้แห้งด้วย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydrous กรองและนำสารละลายไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้ crude product นำ crude product ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค radial chromatography โดยใช้ตัวทำละลาย hexane (50 mL) ตามด้วย 20%, 40%, 50%, 60% และ 90% EtOAc ใน hexane ตามลำดับ เพื่อแยกสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ให้บริสุทธิ์ นำ fraction ของผลิตภัณฑ์ที่แยกได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่องดูดสุญญากาศ



*1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-2a)*; ของหนีดสีเหลืองอ่อน (0.1044 g, 73%);  $R_f = 0.41$  เมื่อใช้ 40% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.67(d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.41 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.25 (ddd,  $J = 7.6, 7.6, 0.8$  Hz, 1H), 7.18-7.13 (m, 2H), 6.53 (d,  $J = 2.9$  Hz, 1H), 4.30 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 2.75 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.51 (brs, 4H), 1.65 (q,  $J = 5.5$  Hz, 4H), 1.51 (brt, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  136.0, 128.6, 128.0, 121.5, 121.0, 119.4, 109.3, 101.2, 58.5, 54.9, 44.1, 25.9, 24.2

*1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1H-indole-5-carboxylic acid (JJIN-2b)*; ของแข็งสีขาวขุ่น (0.2721 g, >99%);  $R_f = 0.37$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่ 3 ครั้ง;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  10.02 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.42 (brs, 1H), 7.92 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.30 (d,  $J = 2.6$  Hz, 1H), 6.65 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 4.50 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 2.82 (t,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 2.57 (brs, 4H), 1.76 (brs, 4H), 1.63 (brt,  $J = 5.5$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  139.0, 127.6, 126.3, 123.2, 122.4, 111.8, 103.0, 79.7, 62.4, 57.5, 54.7, 54.4, 26.1, 24.4

*5-fluoro-1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-2c)*; ของหนีดสีเหลืองอ่อน (0.0734 g, 66%);  $R_f = 0.36$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.31-7.29 (m, 2H), 7.21 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 6.99 (ddd,  $J = 9.0, 9.0, 2.2$  Hz, 1H), 6.47 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 4.26 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 2.73 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 2.48 (brs, 4H), 1.64 (m, 4H), 1.49 (brd,  $J = 4.9$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  157.8 ( $J = 232.3$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 132.7, 129.7, 128.7 ( $J = 10.3$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 109.9 ( $J = 3.6$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 109.7 ( $J = 20.2$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 105.6 ( $J = 23.2$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 101.1, 58.5, 54.9, 44.5, 25.9, 24.2

*5-nitro-1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-2d)*; ของหนีดสีเหลืองอ่อน (0.2683 g, 98%);  $R_f = 0.26$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.56 (s, 1H), 8.10 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.39 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 6.66 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 4.30 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 2.73 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 2.47 (brs, 4H), 1.60 (brt,  $J = 5.1$  Hz, 4H), 1.46 (brd,  $J = 4.6$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  131.4, 127.7, 118.2, 117.2, 109.2, 104.0, 68.6, 58.5, 54.9, 44.8, 25.9, 24.1

*5-methoxy-1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-2e)*; ของแข็งสีเหลืองอ่อน (0.0228 g, 55%);  $R_f = 0.30$  เมื่อใช้ 80% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.28 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.12 (dd,  $J = 9.2, 2.2$  Hz, 1H), 7.06 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 6.98-6.88 (m, 1H), 6.43 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 4.24 (dt,  $J = 7.3, 5.9$  Hz, 2H), 3.87 (brd,  $J = 2.5$  Hz, 3H), 2.81 (dt,  $J = 7.3, 5.9$  Hz, 2H), 2.51 (brd, 4H), 1.48 (brd, 4H), 1.28 (brs, 2H, 2XCH ของวง piperidine);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  154.0, 131.3, 128.6, 113.2, 111.8, 107.9, 102.6, 102.6, 100.7, 58.6, 55.9, 44.4, 25.9, 24.2

*6-fluoro-1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1H-indole (JJIN-2f)*; ของเหลวหนีดสีเหลืองอ่อน (0.0649 g, 71%);  $R_f = 0.29$  เมื่อใช้ 40% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.55 (dd,  $J = 7.9, 5.5$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.08 (d,  $J = 9.8$  Hz, 1H), 6.90 (ddd,  $J = 8.1, 2.0$  Hz, 1H), 6.50 (brt,  $J = 1.4$  Hz, 1H), 4.23 (brt,  $J =$





6.9 Hz, 2H), 2.73 (brt,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 2.49 (brs, 4H), 1.64 (brt,  $J = 5.1$  Hz, 4H), 1.49 (brd,  $J = 4.6$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  159.8 ( $J = 235.7$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 136.0, 128.5 ( $J = 3.5$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 125.0, 121.6 ( $J = 10.1$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 108.0 ( $J = 24.5$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 101.4, 95.7 ( $J = 26.1$  Hz,  $\text{C}_F$ ), 58.4, 54.9, 44.4, 25.9, 24.2

1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1H-indol-5-yl ethyl(methyl)Carbamate (JJIN-2g); ของเหลวหนืดสีเขียวอ่อน (0.3290 g, >99%);  $R_f = 0.31$  เมื่อใช้ 20% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลือบที่ 2 ครั้งและ 5% MeOH ใน EtOAc เป็นตัวเคลือบที่ 3 ครั้ง;  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.25 (s, 1H), 7.21 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.04 (d,  $J = 2.9$  Hz, 1H), 6.88 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.33 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 4.07 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.34 (q,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 2.93 (brd, 3H), 2.54 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 2.31 (brs, 4H), 1.49 (brt,  $J = 5.2$  Hz, 4H), 1.34 (brd,  $J = 4.4$  Hz, 2H), 1.13 (m, 3H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  145.0, 133.7, 129.0, 128.7, 119.1, 116.1, 113.1, 109.4, 101.3, 58.5, 54.3, 46.0, 44.0, 33.8, 23.5, 13.3

### ขั้นตอนทั่วไปในการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ เอ็น-(คลอโรแอลคิล)อินโดล JJIN-3

ซึ่ง sodium hydride 5 equiv. ในขวดกั้นกลมขนาด 5 mL เติมตัวทำละลาย DMF 1 mL กวนสารละลายด้วยเครื่อง magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นค่อยๆ เติมสารประกอบอินโดล 1.0 mmol และสารละลาย 1-bromo-3-chloropropane 0.3149 g (2.0 mmol) ในตัวทำละลาย DMF 1.5 mL ตามลำดับ กวนสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบปฏิกิริยาด้วยเทคนิคทินแลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography หรือ TLC) โดยเปรียบเทียบกับ สารประกอบอินโดลที่ใช้เป็นสารตั้งต้น เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดหยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำ ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate (2x20 mL) ตามด้วย น้ำ (10 mL) และสารละลายอิ่มตัวของ NaCl (10 mL) ตามลำดับ นำชั้น Ethyl acetate มาทำให้แห้งด้วย  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydrous กรองและนำสารละลายไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ ได้ crude product นำ crude product ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค radial chromatography โดยใช้ตัวทำละลาย hexane (50 mL) ตามด้วย 20%, 40%, 50%, 60% และ 90% EtOAc ใน hexane ตามลำดับ เพื่อแยกสารผลิตภัณฑ์ที่ได้ให้บริสุทธิ์ นำ fraction ของผลิตภัณฑ์ที่แยกได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่องดูดสุญญากาศ

1-(3-chloropropyl)-1H-indole (JJIN-3a); ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดง (0.1763 g, 91%);  $R_f = 0.82$  เมื่อใช้ 20% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลือบที่  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.80-7.68 (m, 1H), 7.45 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.38-7.27 (m, 1H), 7.26-7.14 (m, 2H), 6.60 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 4.39 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 3.56 (t,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 2.40-2.28 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  136.0, 128.9, 128.2, 121.8, 121.3, 119.7, 109.5, 101.7, 43.0, 42.0, 32.8

1-(3-chloropropyl)-5-fluoro-1H-indole (JJIN-3b); ของเหลวหนืดสีเหลืองแดง (0.1482 g, 70%);  $R_f = 0.70$  เมื่อใช้ 20% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลือบที่  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.34-7.26 (m, 2H), 7.19 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H), 6.99 (td,  $J = 9.0, 2.4$  Hz, 1H), 6.48 (dd,  $J = 3.1, 1.0$  Hz, 1H), 4.35 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.46 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.32-2.25 (m, 2H);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  157.9 ( $J_{CF}^1 = 232$  Hz), 132.6, 129.6, 128.9 ( $J_{CF}^3 = 10$  Hz), 110.1 ( $J_{CF}^2 = 28$  Hz), 109.8, 105.8 ( $J_{CF}^2 = 23$  Hz), 101.5 ( $J_{CF}^3 = 5$  Hz), 43.1, 41.8, 32.6



1-(3-chloropropyl)-5-chloro-1H-indole (*JJIN-3c*); ของแข็งสีเหลือง (0.2121 g, 92%);  $R_f=0.75$  เมื่อใช้ 20% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.61 (d,  $J = 1.8$  Hz, 1H), 7.31 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.21-7.15 (m, 2H), 6.47 (dd,  $J = 3.1, 1.0$  Hz, 1H, ArH), 4.35 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.46 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.33-2.24 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  134, 129.7, 129.4, 125.3, 122.0, 120.5, 110.3, 101.3, 43.1, 41.7, 32.6

5-bromo-1-(3-chloropropyl)-1H-indole (*JJIN-3d*); ของเหลวหนืดสีเหลือง (0.2399 g, 88%);  $R_f=0.78$  เมื่อใช้ 20% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.76-6.45 (m, 5H), 4.33 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.44 (t,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 2.32-2.24 (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  134.4, 130.2, 129.0, 124.3, 123.4, 112.7, 110.6, 101.0, 42.9, 41.6, 32.4

1-(3-chloropropyl)-6-bromo-1H-indole (*JJIN-3e*); ของเหลวหนืดสีน้ำตาลแดง (0.2344 g, 86%);  $R_f=0.72$  เมื่อใช้ 20% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.54 (s, 1H), 7.51 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.24 (dd,  $J = 8.4, 1.7$  Hz, 1H), 7.13 (d,  $J = 3.2$  Hz, 1H), 6.50 (dd,  $J = 3.2, 1.0$  Hz, 1H), 4.32 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.47 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.34-2.24 (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  136.7, 128.8, 127.6, 122.8, 122.3, 115.4, 112.3, 101.8, 43.0, 41.7, 32.5

1-(3-chloropropyl)-5-nitro-1H-indole (*JJIN-3f*); ของเหลวหนืดสีเหลืองน้ำตาล (0.1743 g, 73%);  $R_f=0.55$  เมื่อใช้ 20% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.62 (d,  $J = 2.17$  Hz, 1H), 8.15 (dd,  $J = 9.0, 2.2$  Hz, 1H), 7.43 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.31 (d,  $J = 3.2$  Hz, 1H), 6.73 (dd,  $J = 3.2, 1.0$  Hz, 1H), 4.29 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.48 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.35-2.28 (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  141.8, 138.8, 131.1, 127.8, 118.3, 117.4, 109.2, 104.4, 43.3, 41.4, 32.5

5-bromo-1-(4-bromobutyl)-1H-indole (*JJIN-3g*); ของเหลวหนืดสีน้ำตาล (0.1324 g, 40%);  $R_f=0.69$  เมื่อใช้ 20% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.77 (s, 1H), 7.32 (dd,  $J = 10.5, 1.9$  Hz, 1H), 7.23 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.11 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H), 6.46 (dd,  $J = 3.1, 1.0$  Hz, 1H), 4.16 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.39 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 2.10-1.98 (m, 2H), 1.91-1.80 (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  134.6, 130.3, 128.9, 124.4, 112.7, 115.4, 110.8, 101.0, 45.7, 33.0, 29.9, 28.8

1-(5-bromo-1-(3-chloropropyl)-1H-indol-3-yl)-2,2,2-trifluoroethan-1-one (*JJIN-3h*); ของแข็งสีน้ำตาลอ่อน (0.2945 g, 80%);  $R_f=0.45$  เมื่อใช้ 20% EtOAc ใน hexane เป็นตัวเคลื่อนที่;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.60 (s, 1H), 7.98 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 7.52 (dd,  $J = 8.7, 2.0$  Hz, 1H), 7.35 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 4.47 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 3.53 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 2.43-2.34 (m, 2H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.7 ( $J_{\text{CF}}^2 = 33$  Hz), 137.9 ( $J_{\text{CF}}^3 = 4$  Hz), 135.2, 128.6, 127.9, 125.5 ( $J_{\text{CF}}^4 = 6$  Hz), 117.9, 116.8 ( $J_{\text{CF}}^1 = 290$  Hz), 111.6, 109.3 ( $J_{\text{CF}}^4 = 3$  Hz), 44.4, 41.0, 31.9

**การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสของสาร JJIN-1 – JJIN3**

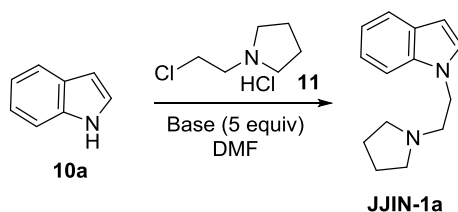
การยับยั้งเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส ถูกวิเคราะห์และติดตามผลด้วยวิธีทางสเปกโตรโฟโตเมตรีโดยใช้ อะซีทิล ไธโอโคลีน ไอโอไดด์ เป็นสารตั้งต้น โดยวิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่ปรับปรุงมาจากวิธีการของ Ellman (Ellman *et. al.*, 1961) การทดลองจะใช้ถาดหลุมชนิด 96 หลุม โดยเริ่มแรกใส่ฟอสเฟตบัพเฟอร์ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ pH 8.0 ปริมาตร 140 มิลลิลิตร ตามด้วย 20 มิลลิลิตรของสารละลายเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส (0.2 U/mL) และ 20 มิลลิลิตรของสารตัวอย่างที่ละลายใน 80% เมทานอล จากนั้นบ่มสารผสมดังกล่าวเป็นเวลา 15 นาที สุดท้ายเติม 20 มิลลิลิตรของสารละลายผสม 5 มิลลิโมลาร์ สารละลาย 5,5'-ไดไทโอไบซ[2-ไนโตรเบนโซอิก แอซิด] ที่มีโปรตีนมาตรฐาน bovine serum albumin (BSA) อยู่ 0.1% และ 5 มิลลิโมลาร์ สารละลายอะซีทิลโคลีน ไอโอไดด์ ในอัตราส่วน 5 ต่อ 1 นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microtiter plate reader (Sunrise, Tecan) ทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส โดยใช้ กาแลนทามีน เป็นสารอ้างอิงมาตรฐาน และทุกๆ การทดลองจะทำซ้ำ 3 ครั้ง

**ผลการวิจัย**

**การสังเคราะห์สารอนุพันธ์อินโดล JJIN-1 และ JJIN-2**

งานวิจัยเริ่มต้นด้วยการศึกษาหาสภาวะทางเคมีที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ เอ็น-(เอ็น-ไพโรลิดิลเอทิล)อินโดล JJIN-1 โดยการทำปฏิกิริยา เอ็น-แอลคิลเลชันของอินโดลด้วยสารให้หมู่แอลคิล (alkylating agent) คือ *N*-(2-chloroethyl)-pyrrolidine hydrochloride (11) ภายใต้สภาวะเบส ได้แก่ โพแทสเซียมคาร์บอเนต (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) โซเดียมไฮไดรด์ (NaH) และ ซีเซียมคาร์บอเนต (Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ในตัวทำละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) ตารางที่ 3 แสดงผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้อัตราส่วนของสารตั้งต้นอินโดลต่อสารให้หมู่แอลคิล ต่อเบส Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1 : 2 : 5) จะได้ผลิตภัณฑ์ JJIN-1a ในร้อยละผลิตภัณฑ์สูงสุด (80%, ลำดับที่ 3 ในตาราง 3)

**ตารางที่ 3** การหาสภาวะเบสที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ เอ็น-(เอ็น-ไพโรลิดิลเอทิล)อินโดล JJIN-1a

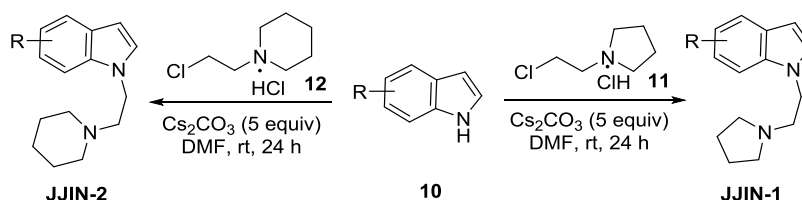


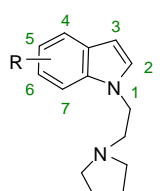
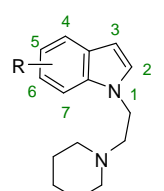
ลำดับ	เบส (5 equiv)	ตัวทำละลาย	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (ชั่วโมง)	ร้อยละผลิตภัณฑ์ (%)
1	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	DMF	90	24	ปริมาณน้อย
2	NaH	DMF (dry)	rt	3	75
3	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	DMF	rt	24	80

เมื่อได้สภาวะเคมีที่เหมาะสมแล้ว จากนั้นนำไปใช้สังเคราะห์อนุพันธ์ JJIN-1 ผลการทดลอง พบว่าสามารถสังเคราะห์สารผลิตภัณฑ์อนุพันธ์ JJIN-1 ได้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูง (80 – >99%, ลำดับที่ 1-7 ในตารางที่ 4) ทั้งในกรณีที่ใช้สารตั้งต้นอินโดลที่มีหมู่แทนที่ชนิดหมู่ดึงอิเล็กตรอนบนตำแหน่งที่ 5 หรือ 6 ได้แก่ หมู่คาร์บอกซิล (-COOH) หมู่ฟลูออโร (-F) หมู่ไนโตร (-NO<sub>2</sub>) เป็นต้น (ลำดับที่ 2-4 และ 6) และใช้สารตั้งต้นอินโดลที่มีหมู่แทนที่ชนิดหมู่ให้อิเล็กตรอนบนตำแหน่งที่ 5 ได้แก่ หมู่เมทอกซี (-OCH<sub>3</sub>) และหมู่ เอ็น-เมทิล-เอ็น-เอทิลคาร์บอไมอิด (-OCON(Me)Et) เป็นต้น (ลำดับที่ 5 และ 7)

การสังเคราะห์อนุพันธ์ เอ็น-(เอ็น-พิเพอริดีลเอทิล)อินโดล JJIN-2 ดำเนินการสังเคราะห์ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ JJIN-1 แต่เปลี่ยนสารให้หมู่แอลคิลจากสาร *N*-(2-chloroethyl)pyrrolidine hydrochloride (11) เป็นสาร *N*-(2-chloroethyl)piperidine hydrochloride (12) จากผลการทดลอง พบว่าสามารถสังเคราะห์สารผลิตภัณฑ์อนุพันธ์ JJIN-2a-g ได้ร้อยละผลิตภัณฑ์ปานกลางถึงสูง (55 - >99%, ลำดับที่ 8-14 ในตารางที่ 4)

**ตารางที่ 4** การสังเคราะห์และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Acetylcholinesterase ของอนุพันธ์อินโดล JJIN-1 และ JJIN-2



ลำดับ	สารประกอบอินโดล	R		% Yield	% Inhibition (±SD)
1		H	JJIN-1a	80	ND
2		5-COOH	JJIN-1b	>99	63.2±2.25
3		5-F	JJIN-1c	98	31.60±0.33
4		5-NO <sub>2</sub>	JJIN-1d	99	8.66 ± 0.22
5		5-OCH <sub>3</sub>	JJIN-1e	>99	14.39 ± 0.41
6		6-F	JJIN-1f	87	ND
7		5-OCON(Me)Et	JJIN-1g	80	51.45±2.69
8			H	JJIN-2a	73
9		5-COOH	JJIN-2b	>99	57.63 ± 0.23
10		5-F	JJIN-2c	66	50.09 ± 0.61
11		5-NO <sub>2</sub>	JJIN-2d	98	54.84 ± 0.38
12		5-OCH <sub>3</sub>	JJIN-2e	55	ND
13		6-F	JJIN-2f	71	39.58 ± 0.18
14		5-OCON(Me)Et	JJIN-2g	>99	22.95 ± 0.35

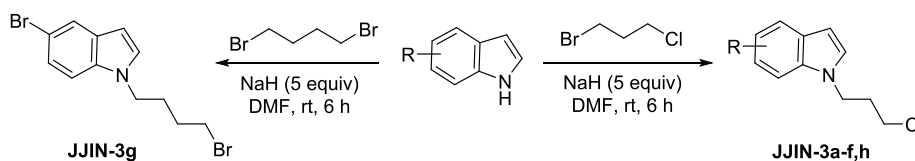
ND = Not determine <sup>a</sup> ผลการศึกษาในงานวิจัยของ Khorana และคณะ (2012)

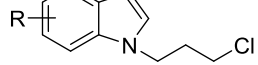
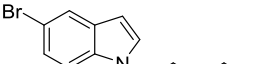
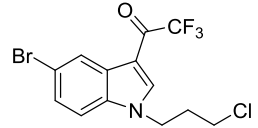
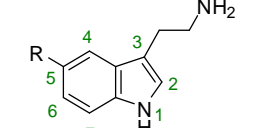
<sup>b</sup> % Inhibition (±SD) ของ positive control (ยา Galanthamine (2)) = 100.00 ± 0.00

การสังเคราะห์สารอนุพันธ์อินโดล JJIN-3

การสังเคราะห์สารอนุพันธ์ เอ็น-(คลอโรโพรพิล)อินโดล JJIN-3 ดำเนินการสังเคราะห์ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ JJIN-1 โดยใช้สารให้หมู่แอลคิล คือ 1-bromo-3-chloropropane หรือ 1,4-dibromopropane และใช้เบสโซเดียมไฮไดรด์ในตัวทำละลาย DMF ที่อุณหภูมิห้อง จากผลการทดลอง พบว่าสามารถสังเคราะห์สารผลิตภัณฑ์ JJIN-3a-h ได้ร้อยละผลิตภัณฑ์ปานกลางถึงสูง (ตารางที่ 5)

**ตารางที่ 5** การสังเคราะห์และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ Acetylcholinesterase ของอนุพันธ์อินโดล JJIN-3



ลำดับ	สารประกอบอินโดล	R		% Yield	% Inhibition (±SD)
1		H	JJIN-3a	91	67.26 ± 0.37
2		5-F	JJIN-3b	70	22.52 ± 0.41
3		5-Cl	JJIN-3c	93	13.11 ± 0.50
4		5-Br	JJIN-3d	79	73.53 ± 0.30
5		6-Br	JJIN-3e	86	30.47 ± 0.28
6		5-NO <sub>2</sub>	JJIN-3f	73	28.84 ± 0.43
7		-	JJIN-3g	40	32.97 ± 0.25
8		-	JJIN-3h	80	8.98 ± 0.25
9		5-OCH <sub>3</sub>	5-Methoxytryptamine	-	7.19 ± 3.02 <sup>a</sup>
10		5-OH	Serotonin	-	62.59 ± 3.74 <sup>a</sup>

ND = Not determine

<sup>a</sup> ผลการศึกษาในงานวิจัยของ Khorana และคณะ (2012)

<sup>b</sup> % Inhibition (±SD) ของ positive control (ยา Galanthamine (2)) = 100.00 ± 0.00



### ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารอนุพันธ์อินโดล JJIN-1 JJIN-2 และ JJIN-3

เพื่อศึกษาแนวทางการนำสารสังเคราะห์อนุพันธ์ เอ็น-(เอ็น-ไพโรลิดิลเอทิล)อินโดล JJIN-1 สารอนุพันธ์ เอ็น-(เอ็น-พิเพอริดิลเอทิล)อินโดล JJIN-2 และสารอนุพันธ์ เอ็น-(คลอโรแอลคิล)อินโดล JJIN-3 ไปใช้ประโยชน์ งานวิจัยจึงได้นำสารที่สังเคราะห์ได้ทั้งหมด (JJIN-1a-g, JJIN-2a-g และ JJIN-3a-h) ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอสทิลโคลีนเอสเทอเรสซึ่งเป็นกลไกหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ โดยผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4-5

### วิจารณ์ผลการวิจัย

#### การสังเคราะห์สารอนุพันธ์อินโดล JJIN-1

จากผลการศึกษาหาสภาวะเคมีที่เหมาะสมในตารางที่ 3 ด้วยปฏิกิริยา เอ็น-แอลคิลเลชันของสารตั้งต้นอินโดลและสารให้หมู่แอลคิล *N*-(2-chloroethyl)pyrrolidine hydrochloride (11) พบว่า ชนิดของเบสและอุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยามีผลต่อร้อยละผลิตภัณฑ์ของสารสังเคราะห์ โดยเมื่อใช้เบสโพแทสเซียมคาร์บอเนตในตัวทำละลาย DMF ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะเกิดผลิตภัณฑ์ในปริมาณน้อยมาก (ตารางที่ 3 ลำดับที่ 1) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโพแทสเซียมคาร์บอเนตเป็นเบสอ่อนเกินไปสำหรับปฏิกิริยานี้ แต่เมื่อเปลี่ยนเบสเป็นโซเดียมไฮไดรด์และกวนปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าสามารถสังเคราะห์ได้สารผลิตภัณฑ์อนุพันธ์ JJIN-1a ในร้อยละผลิตภัณฑ์สูง (75%, ลำดับที่ 2 ในตารางที่ 3) ต่อมาการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ เอ็น-(เอ็น-ไพโรลิดิลเอทิล)อินโดล JJIN-1a-g ด้วยปฏิกิริยา เอ็น-แอลคิลเลชันของสารตั้งต้นอินโดลและสารให้หมู่แอลคิล *N*-(2-chloroethyl)pyrrolidine hydrochloride (11) ภายใต้สภาวะเบสซีเซียมคาร์บอเนต (CsCO<sub>3</sub>) หรือโซเดียมไฮไดรด์ (NaH) ในตัวทำละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (DMF) พบว่าสามารถสังเคราะห์สารผลิตภัณฑ์อนุพันธ์ JJIN-1a-g ได้ร้อยละผลิตภัณฑ์สูง นอกจากนี้ยังพบว่าชนิดของหมู่แทนที่บนตำแหน่งที่ 5 ของวงอินโดลไม่มีผลต่อปฏิกิริยา (ลำดับที่ 2-7 ในตารางที่ 4) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับอินโดลที่มีหมู่แทนที่เป็นฟลูออรีนบนตำแหน่งที่ 5 (5-fluoroindole) และตำแหน่งที่ 6 (6-fluoroindole) พบว่าจะให้สารผลิตภัณฑ์ JJIN-1c (98%) และ JJIN-1f (87%) ตามลำดับ โดยร้อยละผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญนี้ อาจเนื่องจากสมบัติทางอิเล็กทรอนิกส์ของหมู่ดึงอิเล็กตรอนฟลูออรีน ที่หากอยู่บนตำแหน่งที่ 5 ของวงอินโดลจะส่งอิทธิพลช่วยให้การแตกพันธะ N-H ของวงเกิดได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้แอนไอออนที่เกิดขึ้นสามารถถูกเสริมเสถียรภาพด้วยฟลูออรีนบนตำแหน่งที่ 5 นี้ ในขณะที่ฟลูออรีนบนตำแหน่งที่ 6 จะไม่มีผลต่อการเสริมเสถียรภาพแอนไอออนที่เกิดขึ้น

#### การสังเคราะห์สารอนุพันธ์อินโดล JJIN-2 และ JJIN-3

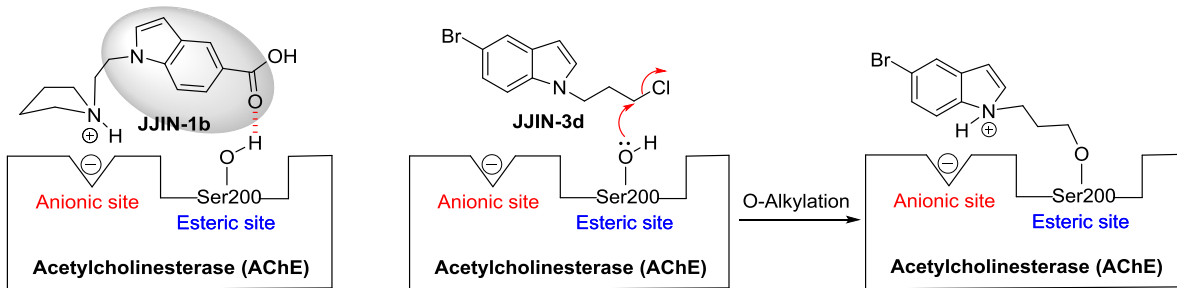
การสังเคราะห์อนุพันธ์ เอ็น-(เอ็น-พิเพอริดิลเอทิล)อินโดล JJIN-2 ดำเนินการสังเคราะห์ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ JJIN-1 แต่ใช้สารให้หมู่แอลคิลจากสาร *N*-(2-chloroethyl)piperidine hydrochloride (12) ซึ่งพบว่าสามารถสังเคราะห์สารผลิตภัณฑ์อนุพันธ์ เอ็น-(เอ็น-พิเพอริดิลเอทิล)อินโดล JJIN-2a-g ได้ร้อยละผลิตภัณฑ์ใกล้เคียงหรือต่ำกว่ากรณีที่ใช้สาร 11 เป็นสารให้หมู่แอลคิล ทั้งนี้อาจมาจากสาร 12 ที่โครงสร้างประกอบด้วยวงหกเหลี่ยมของ piperidine ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าสาร 11 ที่โครงสร้างประกอบด้วยวงห้าเหลี่ยมของ pyrrolidine ทำให้เกิดความเกะกะในการเข้าทำปฏิกิริยามากกว่าจึงส่งผลให้เกิดสารผลิตภัณฑ์ในร้อยละที่ใกล้เคียงกันหรือต่ำกว่า สำหรับการสังเคราะห์สารอนุพันธ์ เอ็น-(คลอโร



แอลคิลอินโดล JJIN-3 ได้ดำเนินการสังเคราะห์ด้วยวิธีการเดียวกันโดยใช้สารให้หมู่แอลคิล 1-bromo-3-chloropropane หรือ 1,4-dibromopropane และใช้เบสโซเดียมไฮไดรด์ในตัวทำละลาย DMF ที่อุณหภูมิห้อง และใช้เวลาที่ลดลงเหลือเพียง 6 ชั่วโมง จากผลการทดลอง พบว่า ในกรณีปฏิกิริยาของสาร 1-bromo-3-chloropropane ได้ผลิตภัณฑ์ JJIN-3 ในร้อยละที่สูง อาจเนื่องจากโบรมีน (-Br) เป็นหมู่หลุดออก (leaving group) ที่ดีกว่าคลอรีน (-Cl) นอกจากนี้จากผลการศึกษาพบว่าชนิดของอินโดลไม่มีผลต่อการเกิดผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญ โดยสารตั้งต้นอินโดลที่ไม่มีหมู่แทนที่และสารตั้งต้นอินโดลที่มีหมู่แทนที่ 5-chloroindole ให้ร้อยละผลิตภัณฑ์ที่สูงกว่าเมื่อใช้สารตั้งต้นอินโดลชนิดอื่นๆ เมื่อเปลี่ยนชนิดของสารให้หมู่แอลคิลเป็นสาร 1,4-dibromopropane ซึ่งมีหมู่โบรมีนบนด้านปลายทั้งสองข้างนำมาทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น 5-bromoindole พบว่าได้ผลิตภัณฑ์ JJIN-3g เพียงร้อยละ 40 ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีโบรมีนอะตอมในโครงสร้างซึ่งวงเวต่อปฏิกิริยาเกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงอื่นๆ ได้ด้วย

#### ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเตอเรสของสารอนุพันธ์อินโดล JJIN-1 JJIN-2 และ JJIN-3

จากผลการทดลองการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแอซิติลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) ของสารอนุพันธ์สังเคราะห์ JJIN-1a-g, JJIN-2a-g, และ JJIN-3a-h พบว่าในกรณีของสารอนุพันธ์ JJIN-1 และ JJIN-2 ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกันโดยประกอบด้วยวงห้าเหลี่ยม pyrrolidine และวงหกเหลี่ยม piperidine ตามลำดับ พบว่า สาร JJIN-1b ซึ่งมีหมู่แทนที่ carboxyl บนตำแหน่งที่ 5 ของวงอินโดลแสดงร้อยละการยับยั้งได้ดีที่สุด ( $63.2 \pm 2.25$ ) ทั้งนี้สามารถอธิบายปฏิกิริยาระหว่างสารและเอนไซม์ได้ด้วยภาพที่ 3 โดยวง pyrrolidine เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมสารละลายจะเกิดเป็นเกลือแอมโมเนียมทำให้จับกับส่วนที่เป็น anionic site ของเอนไซม์ AChE ได้ แต่ถ้าเปลี่ยนเป็นวงมีขนาดใหญ่ขึ้น เช่น วง piperidine อาจทำให้การจับกับ anionic site เกิดขึ้นได้ไม่ดี ขณะที่มีการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่แทนที่ carboxyl บนตำแหน่งที่ 5 ของวงอินโดลกับเอนไซม์ AChE ที่บริเวณ esteric site ซึ่งใช้หมู่ไฮดรอกซิลของกรดอะมิโน Serine ลำดับที่ 200 บนสายพอลิโซเฟปไทด์ ด้วยปัจจัย สันนิษฐานดังกล่าว จึงทำให้สาร JJIN-1b สามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ได้ดี ในขณะที่สารอนุพันธ์ JJIN-3 ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างโมเลกุลต่างจากสารอนุพันธ์ JJIN-1 และ JJIN-2 โดยที่หมู่ pyrrolidine หรือ piperidine จะถูกแทนที่ด้วยอะตอมคลอรีนหรือโบรมีน จากผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE ของสาร JJIN-3 พบว่า กรณีที่ไม่มีหมู่แทนที่บนวงอินโดล (JJIN-3a) และมีหมู่แทนที่โบรมีนบนตำแหน่งที่ 5 และมีหมู่ 3-chloropropyl ต่ออยู่กับไนโตรเจนของวงอินโดล (JJIN-3d) ให้ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ AChE ได้มากกว่าร้อยละ 65 โดยสาร JJIN-3d จะแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ AChE สูงที่สุดในร้อยละ  $73.53 \pm 0.30$  สำหรับกลไกในการยับยั้งเอนไซม์ AChE ของสาร JJIN-3d คาดว่าน่าจะเกิดผ่านกลไกที่แตกต่างจากกลไกของสาร JJIN-1b กล่าวคือ ในกรณีสาร JJIN-3d ซึ่งไม่มีหมู่ pyrrolidine หรือ piperidine ที่สามารถเกิดเป็นเกลือและจับกับ anionic site ของเอนไซม์ AChE ได้ แต่หมู่ chloropropyl ของสาร JJIN-3d สามารถเกิดปฏิกิริยา O-alkylation กับหมู่ไฮดรอกซิลของกรดอะมิโน Serine ลำดับที่ 200 ของบริเวณ esteric site ของเอนไซม์ AChE ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ภาพแสดงการยับยั้งเอนไซม์ Acetylcholinesterase (AChE) ของสาร JJIN-1b และ JJIN-3d

### สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบและสังเคราะห์สารอนุพันธ์อินโดล 3 กลุ่ม ได้แก่ เอ็น-(เอ็น-พิเพอริดีลเอทิล)อินโดล JJIN-1 สาร เอ็น-(เอ็น-ไพโรลิดิลเอทิล)อินโดล JJIN-2 และสาร เอ็น-(คลอโรแอลคิล)อินโดล JJIN-3 ด้วยปฏิกิริยา เอ็น-แอลคิลเลชันของสารตั้งต้นอินโดลชนิดต่างๆ กับสารให้หมู่แอลคิลภายใต้สภาวะเบสซึ่งเชื่อมคาร์บอนเนตในตัวทำละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าให้สารผลิตภัณฑ์ที่ติดอยู่ในร้อยละผลิตภัณฑ์ปานกลางถึงสูง นอกจากนี้เมื่อนำสารสังเคราะห์ทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสซึ่งเกี่ยวข้องกับการบำบัดรักษาโรคอัลไซเมอร์ พบว่า ในบรรดาสารสังเคราะห์ทั้งหมด สาร 5-bromo-1-(3-chloropropyl)-1H-indole (JJIN-3d) สามารถยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้สูงที่สุด (%Inhibition  $73.53 \pm 0.30$ ) ผ่านการเกิดปฏิกิริยสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลของสาร JJIN-3d กับเอนไซม์เป้าหมาย จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่า สาร JJIN-3d นี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้นแบบที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรสและมีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นยาชนิดใหม่สำหรับรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 112/2561 และหน่วยวิจัยสารสังเคราะห์และอนุพันธ์สังเคราะห์จากธรรมชาติเพื่อการค้นหาตัวยา มหาวิทยาลัยบูรพา ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.) และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ทุนนางสาวชฎามณ จันทนา และได้รับการสนับสนุนจากหน่วยบริการนวัตกรรมทางวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา (SIF-IN-621014)

### เอกสารอ้างอิง

Alzheimer's Disease International. (2019). *World Alzheimer Report 2019: Attitudes to dementia*. Retrieved January 29, 2020, from <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2019.pdf>

Burns, A., & Iliffe, S. (2009). Alzheimer's disease. *British Medical Journal*, 338, 467-471.





- Institute of Neurology, Department of Medical Services, Ministry of Public Health. (2019). Retrieved January 29, 2020, from <https://pr.moph.go.th/?url=pr/detail/2/02/132212>
- Khorana, N., Changwichit, K., Ingkaninan, K., & Utsintong, M. (2012). Prospective acetylcholinesterase inhibitory activity of indole and its analogs. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 22, 2885-2888.
- Lomlim, L., & Nounnai, T. (2011). A new approach to the development of acetylcholine esterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, 6, 157-173. (in Thai)
- Queiroz, M.M.F., Queiroz, E.F., Zeraik, M.L., Ebrahimi, S.N., Marcourt, L., Cuendet, M., Castro-Gamboa, I., Hamburger, M., Bolzani, V. da. S., & Wolfender, J.-L. (2014). Chemical composition of the bark of *Tetrapteryx mucronata* and identification of acetylcholinesterase inhibitory constituents. *Journal of Natural Product*, 77, 650-656.
- Sukying, C. (2012). Dementia. In M. Lortrakul, & P. Sukhanit. (Eds.), *Psychiatry*. (pp. 80-94). Bangkok: Sawichankan Printing. (in Thai)