



การสังเคราะห์ Tetrahydro-beta-carboline และอนุพันธ์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2560

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การสังเคราะห์ Tetrahydro-beta-carboline และอนุพันธ์



โดย
นางสาวกุลจิรา บัวบาน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

SYNTHESIS OF TETRAHYDRO-BETA-CARBOLINE AND DERIVATIVES



By
MISS Koonchira BUABAN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Master of Science (ORGANIC CHEMISTRY)

Department of CHEMISTRY

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2017

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

58302201 : เคมีอินทรีย์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโท

คำสำคัญ : tetrahydro- β -carboline, 2,3-substituted tetrahydro- β -carboline, ยับยั้งเชื้อรา, ยับยั้งเซลล์มะเร็ง, ฤทธิ์ทางชีวภาพ

นางสาว กุลจิรา บัวบาน: การสังเคราะห์ Tetrahydro-beta-carboline และอนุพันธ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วยา พุทธรังค์

สารจำพวก tetrahydro- β -carboline (TH β Cs) และอนุพันธ์ เป็นสารประกอบอัลคาลอยด์ประเภทอินโดล ที่มีโครงสร้างเป็นวงวิวิธพันธ์ประกอบด้วยวง piperidine ที่เชื่อมต่อกับวงอินโดล สารจำพวก TH β Cs นี้สามารถพบได้ในธรรมชาติ โดยสกัดได้จากพืช เชื้อรา และสิ่งมีชีวิตทางทะเล และยังพบว่าสารในกลุ่ม TH β Cs จำนวนมากมีประโยชน์ในด้านชีวภาพที่หลากหลาย และใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆในปัจจุบันไม่ว่าจะเป็น การยับยั้งเอนไซม์ monoamine oxidase ชนิด A (MAO-A) ยากล่อมประสาท ต้านมะเร็ง ต้านเชื้อพลาสมาเดียมของโรคมะเร็ง และต้านเชื้อแบคทีเรีย จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะทำการสังเคราะห์ TH β Cs และอนุพันธ์ที่มีหมู่แทนที่บริเวณ C-1, N-2 และ C-3 ผ่านปฏิกิริยาที่สำคัญ คือ ปฏิกิริยา Pictet-Spengler, N-Alkylation หรือ N-Acylation เพื่อศึกษาสมบัติการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า 1-phenethyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole และ 1-(1-phenethyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)propan-1-one ให้ฤทธิ์ที่ดีในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง (Hep G2 และ HeLa) และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติน้อย (L929) โดยมีค่า IC₅₀ ในการต้านเซลล์มะเร็งระหว่าง 23.67-33.33 μ g/mL ยังพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อราในพืช 5 ชนิด ได้แก่ *Rhizopus sp.*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum* และ *Fusarium fujikuroi* และ 2-octyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole ที่ความเข้มข้น 1000 μ g/mL มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อราในพืชได้ 100% และเมื่อนำ TH β Cs ไปทดสอบฤทธิ์ในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชพบว่าไม่มีแนวโน้มในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชทุกความเข้มข้นเมื่อเทียบกับน้ำ เมื่อทำการทดสอบกับข้าวพันธุ์ กข49

58302201 : Major (ORGANIC CHEMISTRY)

Keyword : tetrahydro- β -carboline, 2,3-substituted tetrahydro- β -carboline, antiviral activity, anticancer activity, biological activities

MISS KOONCHIRA BUABAN : SYNTHESIS OF TETRAHYDRO-BETA-CARBOLINE AND DERIVATIVES THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR WAYA PHUTDHAWONG, Ph.D.

Tetrahydro- β -carbolines (TH β Cs) and derivatives are naturally occurring indole alkaloid which are heterocyclic structure consists of piperidine ring fused with indole ring. TH β Cs are widely distributed in natural products such as plants, fungi and marines. Many of these compounds exhibited a broad range of biological activity and pharmacological activities such as inhibit the monoamine oxidase (MAO-A), antidepressant drug, anticancer, anti-*Plasmodium falciparum* (Malaria) and antibacterial activities. Thus, our research group was interested in the synthesis of TH β Cs derivatives bearing the substituted at C-1, N-2 and C-3 using the Pictet-Spengler reaction followed by *N*-alkylation or *N*-acylation and evaluated for their biological activities. The results showed that 1-phenethyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole and 1-(1-phenethyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)propan-1-one displayed the highest cytotoxicity against two cancer cell lines (Hep G2 and HeLa) and showed weak activities against non-cancer cell line (L929) with IC₅₀ ranging from 23.67-33.33 μ g/mL. These compounds showed to inhibit 5 plant pathogenic fungi *Rhizopus sp.*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum* and *Fusarium fujikuroi* and at concentration of 1000 μ g/mL, 2-octyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole displayed 100% of inhibitory activity to the radial growth of fungus. However, these substituents had no activity to regulate plant growth on RD49 rice compared with water.

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วยา พุทธรังษี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูงสำหรับความกรุณาที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ความรู้ และความช่วยเหลืออันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์นี้ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. มุฮำหมัด นิยมเดชา ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และ อาจารย์ ดร. เกษศิริพันธ์ เอกสินีรักษ์ อาจารย์กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย เตโชวิศาล และ อาจารย์วิญญู ภักดี เป็นอย่างสูงสำหรับความกรุณาช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และความรู้ในการทดลองด้านการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ และขอขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ เป็นอย่างสูงที่ช่วยเหลือเอื้อเฟื้อในด้านสถานที่ อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการทดลองด้านการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ที่ให้ความอนุเคราะห์วิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยเครื่องมือ high resolution mass spectrometry (HRMS) ณ ห้องปฏิบัติการวิจัยเภสัชเคมี

ขอขอบคุณกลุ่มงานวิจัย Phutdhawong's organic synthesis research group ที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจตลอดช่วงเวลาที่ทำงานวิจัย สุดท้ายขอขอบพระคุณครอบครัว ที่เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุน ตลอดจนคำปรึกษาที่ดีในด้านต่างๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

กุลจิรา บัวบาน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	6
1.3 สมมติฐานของงานวิจัย.....	6
1.4 ขอบเขตงานวิจัย.....	6
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยนี้.....	7
1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	7
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	33
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	33
3.2 สารเคมีที่ใช้.....	34
3.3 วิธีการทดลอง.....	36
3.3.1 การสังเคราะห์วิธีที่ 1 ของ Tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์.....	37
3.3.2 การสังเคราะห์วิธีที่ 2 ของ Tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์.....	41
3.3.3 การสังเคราะห์วิธีที่ 3 ของ Tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์.....	72

3.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	79
3.4.1 ทดสอบการต้านเซลล์มะเร็งของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์โดยวิธี MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide].....	79
3.4.2 ทดสอบความเป็นพิษของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ต่อเซลล์เนื้อเยื่อ ...	80
3.4.3 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราในพืชของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์	80
3.4.4 การทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.....	82
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง	83
4.1 แผนการสังเคราะห์ที่ 1	83
4.2 แผนการสังเคราะห์ที่ 2	85
4.3 แผนการสังเคราะห์ที่ 3	92
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	95
4.4.1 ผลทดสอบการต้านเซลล์มะเร็ง และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์โดยวิธี MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)- 2,5-diphenyltetrazoliumbromide]	95
4.4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราในพืช	100
4.4.3 ผลการทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช	104
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	107
รายการอ้างอิง	109
ภาคผนวก.....	116
สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$	116
ประวัติผู้เขียน	155

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง MK-2 ที่ A-ring ของอนุพันธ์ tetrahydro- β -carboline-.....	16
ตารางที่ 2 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง MK-2 ของอนุพันธ์ tetrahydro- β -carboline-1-carboxylic acid	17
ตารางที่ 3 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง MK-2 ที่ตำแหน่งที่ 3 และ 4 ของอนุพันธ์ tetrahydro- β - carboline-1-carboxylic acid.....	17
ตารางที่ 4 แสดงการสังเคราะห์ 1,1-disubstituted tetrahydro- β -carbolines โดย I_2 เป็นตัวเร่ง ปฏิกิริยา.....	18
ตารางที่ 5 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง CDK4 ของ (biphenylcarbonyl)-tetrahydro- β -carboline ...	21
ตารางที่ 6 แสดงฤทธิ์ในการต้านโรคลิชมาเนียของ 2-(pyrimidin-2-yl)-1-phenyl-2,3,4,9- tetrahydro-1 <i>H</i> - β -carboline และอนุพันธ์.....	24
ตารางที่ 7 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งโรคลิชมาเนียซิส (Leishmaniasis) ของ indolylglyoxylamide และอนุพันธ์.....	25
ตารางที่ 8 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2).....	29
ตารางที่ 9 แสดงการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline ผ่านวิธีอัลตราโซนิก.....	31
ตารางที่ 10 แสดงสถานะการสังเคราะห์ 1-substituted TH β Cs.....	86
ตารางที่ 11 แสดงสถานะการสังเคราะห์ 1,2-substituted TH β Cs.....	88
ตารางที่ 12 แสดงผลการสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1 <i>H</i> -pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-2(9 <i>H</i>)-yl)(3- hydroxyphenyl) methanone (153o).....	90
ตารางที่ 13 แสดงผลการสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1 <i>H</i> -pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-2(9 <i>H</i>)-yl)(4-hydroxy phenyl)methanone (153p).....	91
ตารางที่ 14 ผลการสังเคราะห์ β -Carboline (167, 168).....	92
ตารางที่ 15 ผลการสังเคราะห์ 2,3,4,9-tetrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[3,4- <i>b</i>]indole-3-carboxylic acid (170).....	93

ตารางที่ 16 แสดงสภาวะในการสังเคราะห์ 1,2,3-substituted TH β Cs	94
ตารางที่ 17 แสดงผลทดสอบการต้านเซลล์มะเร็ง และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง	96
ตารางที่ 18 แสดง Zone of Inhibition (mm) ของ TH β Cs และอนุพันธ์ บนเชื้อราในพืช	100
ตารางที่ 19 แสดง Minimum inhibitory concentrations (mg/mL) ของ TH β Cs และอนุพันธ์ บนเชื้อราในพืช.....	101
ตารางที่ 20 แสดงผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อราในพืช ของ 2-octyl-2,3,4,9-tetrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[3,4- <i>b</i>]indole (153g)	103



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างของ auxin (2), melatonin (3) และ serotonin (4).....	1
ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของสารประกอบอินโดลที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ	2
ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างของสารประกอบอินโดลที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพทางการเกษตร	3
ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างของ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์.....	4
ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างของ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ...	5
ภาพที่ 6 โครงสร้างของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์	6
ภาพที่ 7 แสดงโครงสร้างของ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์.....	9
ภาพที่ 8 แสดงการสังเคราะห์ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ โดย Narayanan, K. และคณะ	10
ภาพที่ 9 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline แบบ enantioselective โดย Gremmen, C. และคณะ	11
ภาพที่ 10 แผนการสังเคราะห์ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ โดย Jiang, W. และคณะ.....	13
ภาพที่ 11 แผนการสังเคราะห์ 3,4-furane-annulated tetrahydro- β -carboline โดย Dardennes, E. และคณะ	14
ภาพที่ 12 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline แบบ solid-phase synthesis โดย Lee, S. และคณะ	15
ภาพที่ 13 สภาวะที่ใช้ทดลอง: (a) DMF, 120 °C, high pressure; (b) <i>i</i> -SOCl ₂ , MeOH, ii- aromatic aldehydes, reflux; (c) aminoethanol/aminopropanol, Et ₃ N, DMF, 120 °C; (d) methane sulphonylchloride, Pyridine, 0 °C.	20
ภาพที่ 14 การสังเคราะห์ (biphenylcarbonyl)-tetrahydro- β -carboline โดย Jenkins, P. R. และคณะ	21

ภาพที่ 15 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline ด้วยวิธี One-Pot Domino synthesis โดย Hiroaki, O. และคณะ	22
ภาพที่ 16 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 2-(pyrimidin-2-yl)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-β-carboline โดย Chauhan, M.S. P. และคณะ	23
ภาพที่ 17 แผนการสังเคราะห์ indolylglyoxylamide และอนุพันธ์ โดย Chauhan, M.S. P. และคณะ	25
ภาพที่ 18 สภาวะที่ใช้ทดลอง: (ii) R ¹ OCOCl, Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ , rt; (iv) R ³ Br หรือ 4-BnOBnBr, DIPEA, CH ₃ CN, reflux;(v) R ⁴ NCO, CH ₂ Cl ₂ ; (vi) LiOH, THF/H ₂ O (1:1), rt; (vii) 10% Pd/C, H ₂ , MeOH, rt, 4.5 hr.	27
ภาพที่ 19 การสังเคราะห์ tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์.....	28
ภาพที่ 20 การสังเคราะห์ 1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์ผ่านปฏิกิริยา Tsuji-Trost	28
ภาพที่ 21 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro-β-carboline โดย Spindler, A. และคณะ	29
ภาพที่ 22 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 4-Iodomethyl substituted tetrahydro-β-carboline โดย Wang, Q. และคณะ	30
ภาพที่ 23 แสดงการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro-β-carboline ผ่านวิธีอัลตราโซนิก.....	30
ภาพที่ 24 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ bistetrahydrocarboline โดย Lu, X. และคณะ	32
ภาพที่ 25 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline แผนการสังเคราะห์ที่ 1	37
ภาพที่ 26 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline แผนการสังเคราะห์ที่ 2	42
ภาพที่ 27 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline แผนการสังเคราะห์ที่ 3	72
ภาพที่ 28 ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline ตามแผนการสังเคราะห์ที่ 1..	83
ภาพที่ 29 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา Pictet-Spengler.....	84
ภาพที่ 30 ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline ตามแผนการสังเคราะห์ที่ 2..	85
ภาพที่ 31 ผลการสังเคราะห์ methyl 2-amino-3-(1H-indol-3-yl)propanoate (171).....	93
ภาพที่ 32 แสดงผลการสังเคราะห์ 1,3-substituted THβCs.....	94

ภาพที่ 33 ผลการสังเคราะห์ methyl 1-phenyl-9H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (174)
 95

ภาพที่ 34 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง และความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อของ (14), (14a)
 และ (14b) 99

ภาพที่ 35 แสดงผลของ Zone of Inhibition ในการยับยั้งเชื้อราในพืช 102

ภาพที่ 36 แสดงผลของ MIC (Minimum inhibitory concentrations) ในการยับยั้งเชื้อรา 103

ภาพที่ 37 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราในพืชของสาร (153g) ที่ความเข้มข้น 1000
 µg/mL..... 104

ภาพที่ 38 แสดงความยาวรากของข้าวพันธุ์ กข49 ในวันที่ 5 ที่ความเข้มข้น 0.0017-1.7 ppm ... 105

ภาพที่ 39 แสดงความยาวลำต้นของข้าวพันธุ์ กข49 ในวันที่ 5 ที่ความเข้มข้น 0.0017-1.7 ppm 106

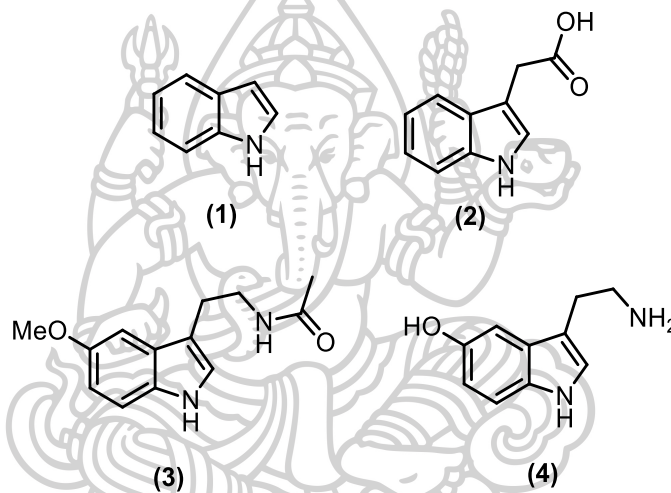


บทที่ 1

บทนำ

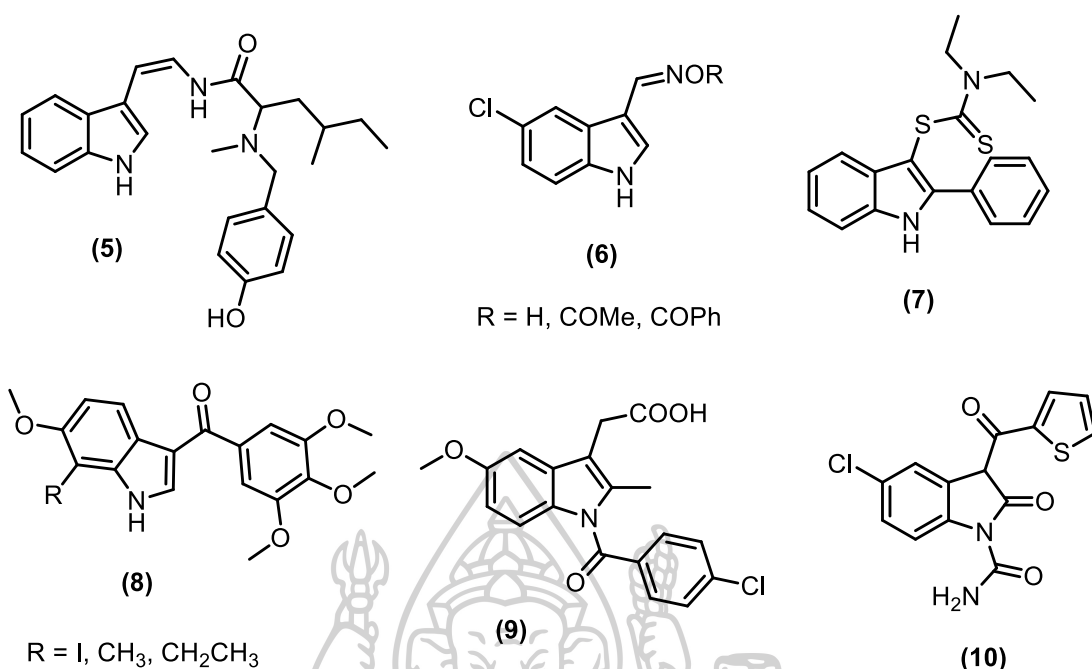
1.1 ที่มาและความสำคัญ

อินโดล (indole) (1) เป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทอะโรมาติกเฮเทอโรไซเคิลที่พบมากที่สุด ในธรรมชาติ ในปัจจุบันสารประกอบอินโดลได้ถูกค้นพบมากกว่า 4,100 ชนิด สามารถพบได้ในธรรมชาติทั้งในพืช เชื้อรา และสิ่งมีชีวิตทางทะเล สารอินทรีย์หลายชนิดที่พบในธรรมชาติที่มีวงอินโดลเป็นส่วนประกอบภายในโมเลกุล เช่น สารฮอร์โมน auxin (2) [1] melatonin (3), serotonin (4) [2] ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (ภาพที่ 1)



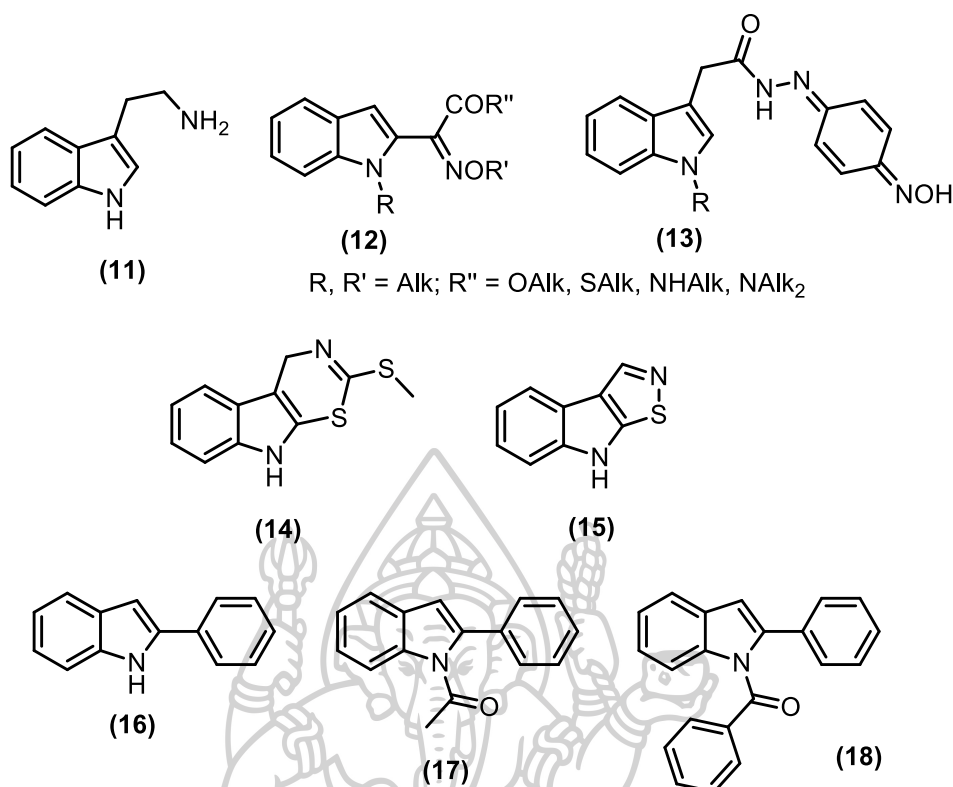
ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างของ auxin (2), melatonin (3) และ serotonin (4)

สารประกอบอินโดลพบว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย และได้นำมาใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆอีกด้วย (ภาพที่ 2) เช่น aragilamide (5) ทำการสกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง *Martensia fragilis* ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ [3] อนุพันธ์ของ 5-chloroindole (6) มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ [4] ยังพบว่า S-(2-Phenylindolyl-3)Diethyldithiocarbamate (7) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราได้ดีมากอีกด้วย [5] นอกจากนี้อนุพันธ์ของ BPR0L075 (8) [6] มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก (human cervical carcinoma, KB), เซลล์มะเร็งปอด (human lung cancer, H460) และเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (colorectal carcinoma, HT-29) ได้ดี indomethacin (9) และ tenidap (10) ยังใช้เป็นยาต้านการอักเสบอีกด้วย [7]



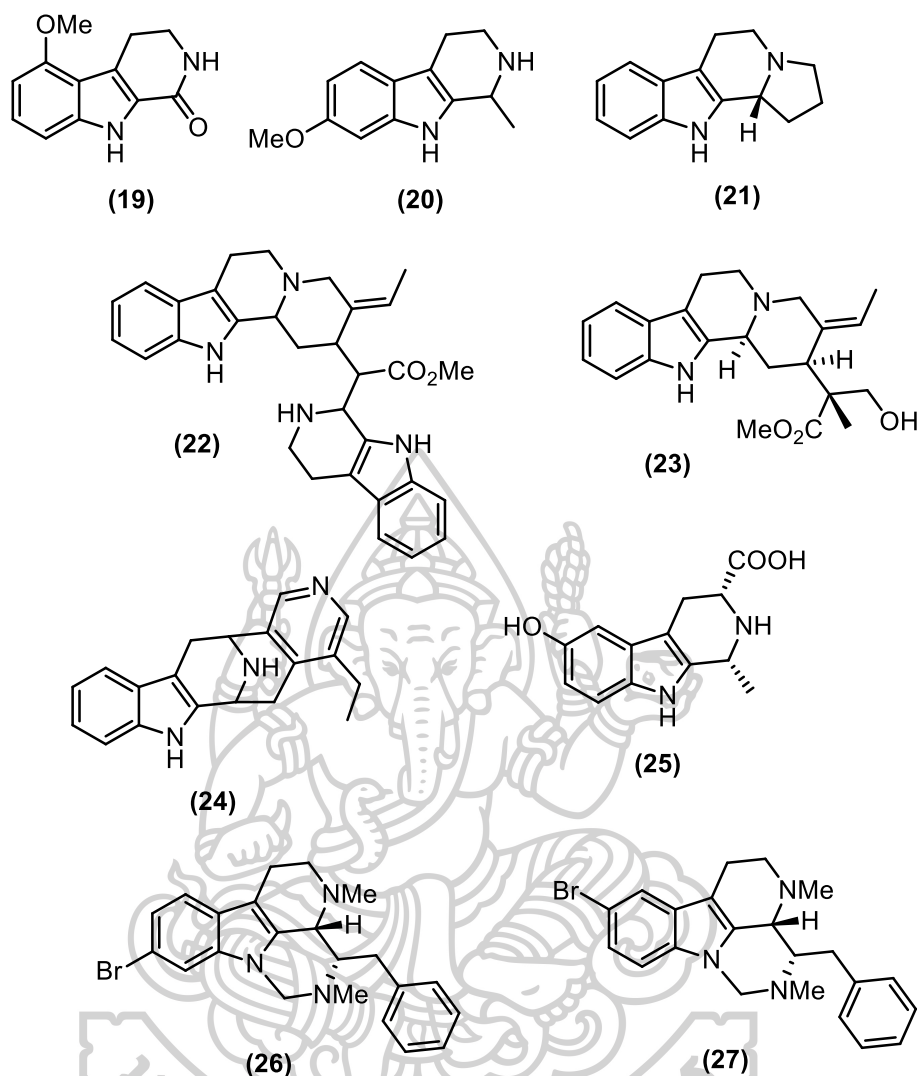
ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของสารประกอบอินโดลที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

นอกจากสารประกอบอินโดลจะเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจข้างต้นแล้ว อนุพันธ์ของสารประกอบอินโดลบางชนิดยังเป็นสารตั้งต้นที่มีความสำคัญในเคมีอินทรีย์สังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพทางด้านการเกษตรอีกด้วย (ภาพที่ 3) เช่น Tryptamine (11) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ auxin ถูกพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งโรคราน้ำค้างในข้าว [8] และยังพบว่าสารในกลุ่มนี้ยังมีฤทธิ์ในการป้องกัน และกำจัดโรคพืช (fungicidal activity) อีกด้วย เช่น อนุพันธ์ oxime ของ 2-substituted indoles (12) และ 3-substituted indoles (13) [4] นอกจากนี้ cyclobrassinin (14) และ brassilexin (15) มีฤทธิ์ในการยับยั้งโรคราสีเทา (*Botrytis cinerea*) [9] 2-Phenylindole (16) [10] มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ซึ่งก่อโรคในพืชตระกูลถั่วมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 34.6 µg/ml และ 1-Acetyl-2-phenylindole (17) และ 1-Benzoyl-2-phenylindole (18) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Pythium debaryanum* ที่ทำให้เกิดการเน่าของผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 15 และ 81 µg/ml ตามลำดับ



ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างของสารประกอบอินโดลที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพทางด้านการเกษตร

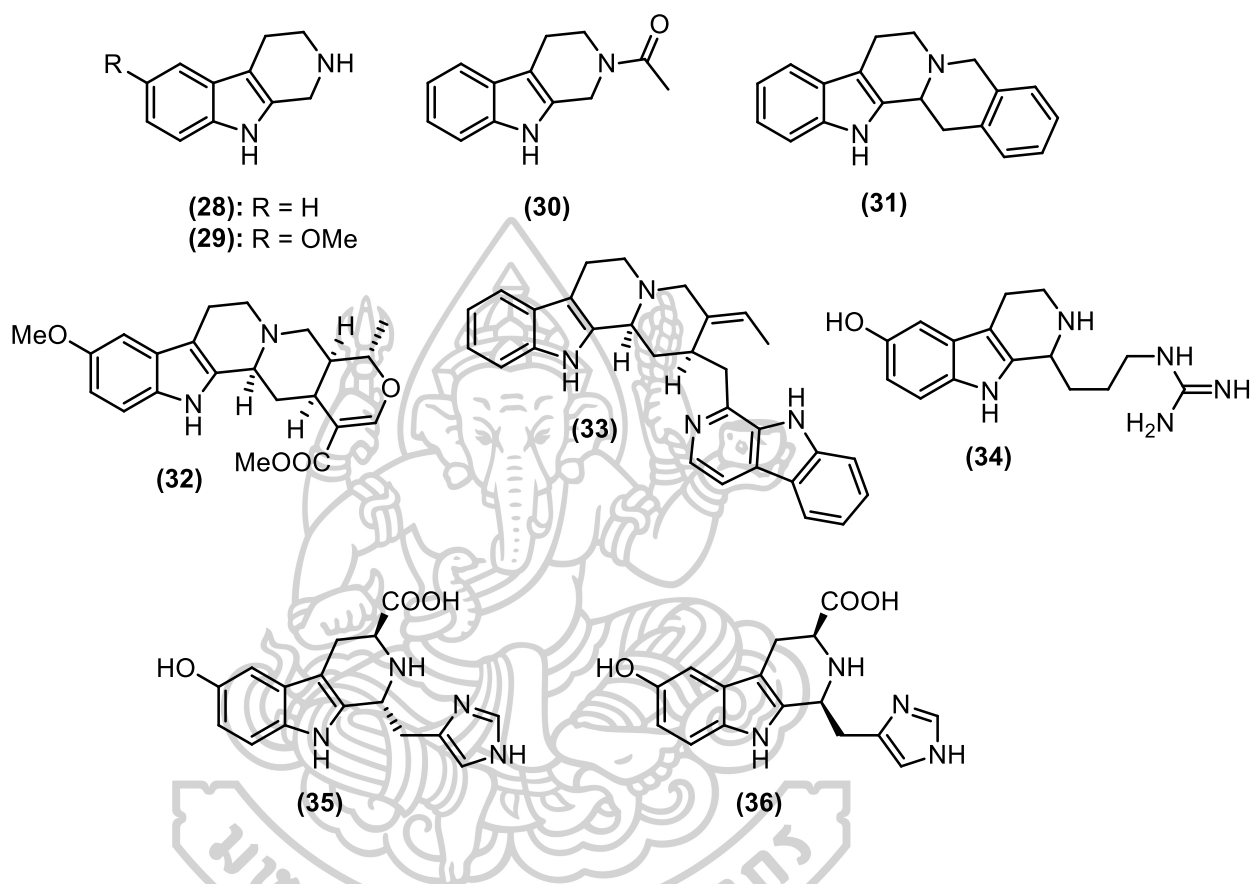
อนุพันธ์ของอินโดล ได้แก่ tetrahydro- β -carboline ซึ่งประกอบด้วยวง piperidine ที่เชื่อมต่อกับวงอินโดล สารในกลุ่มนี้สามารถพบได้ในธรรมชาติ เช่น พืช เชื้อรา และสิ่งมีชีวิตทางทะเล ยกตัวอย่างเช่น 5-methoxy-1-oxo-tetrahydro- β -carboline (19) สามารถสกัดได้จากพืช *Nothapodytes foetida* ในประเทศอินเดีย และยังสามารถสกัดได้จากรากของต้น *Alstonia venenata* R.Br. (Apocynaceae) [11] Tetrahydrohymine (20) สามารถสกัดได้จาก *Banisteriopsis caapi* ที่พบบริเวณอเมริกาใต้ [12] (+)-Harmicine (21), buchtienine (22) และ 16-(R)-19,20-E-isositsirikine (23) สามารถทำการสกัดได้จากใบของต้น *Kopsia griffithii* ในประเทศมาเลเซีย [13] suaveoline (24) สามารถสกัดได้จากพืช *Rauwolfia suaveolens* [14] และ Hyrtioerectine B (25) สามารถสกัดได้จากฟองน้ำทะเลสีแดง *Hyrtios erectus* [15] eudistomidins H (26) และ eudistomidins I (27) สกัดได้จากเพรียงหัวหอมทะเล *Eudistoma glaucus* ที่หมู่เกาะโอะกินะวะ ประเทศญี่ปุ่น [16] (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างของ 1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์

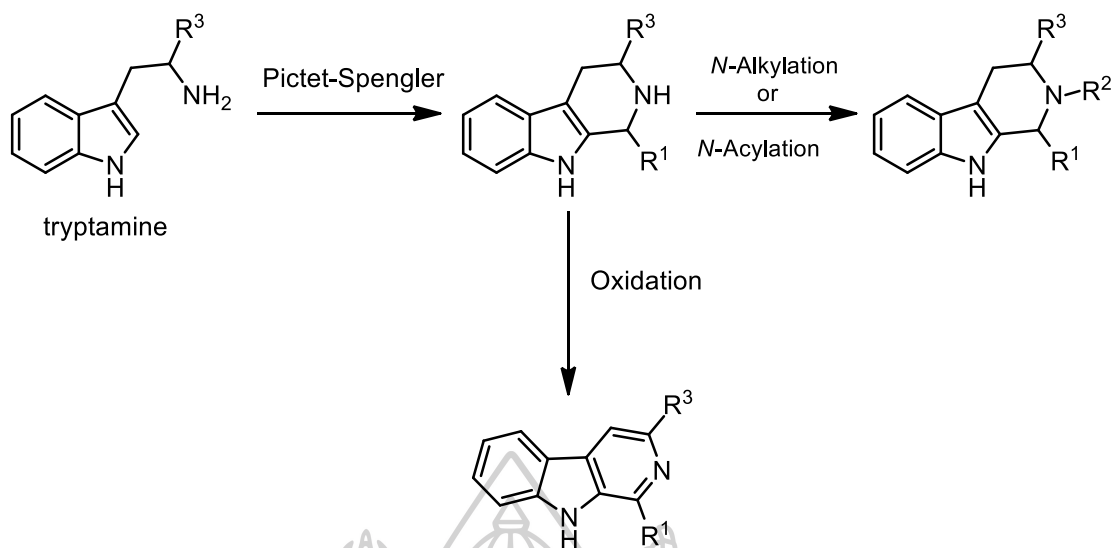
อนุพันธ์ของ tetrahydro-β-carboline พบว่ามีประโยชน์อย่างมากในด้านชีวภาพ และใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆในปัจจุบัน (ภาพที่ 5) ยกตัวอย่างเช่น Tryptoline (28) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ monoamine oxidase type A (MAO-A) [17] และยังใช้เป็นยากล่อมประสาทชนิดหนึ่ง นอกจากนี้ Pinoline (29) พบว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และยังมีฤทธิ์ในการยับยั้ง monoamine oxidase type A (MAO-A) [18] 2-acetyl-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline (30) สามารถทำการสกัดได้จากเชื้อรา *Fusarium incarnatum* (HKI0504) โดยพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) โดยมีค่า CC_{50} เท่ากับ $23.8 \mu\text{M}$ [19] descarbomethoxydihydrogambirtannine (31), aricin (32), usambarensin (33) มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อพลาสโมเดียมของโรคมalaria เรียกว่า $IC_{50} = 1.68, 0.69, 0.53 \mu\text{M}$ [20] และ hydroxytryptargine (34) สกัดได้จากต่อมพิษของแมงมุมชนิด *Parawixia bistriata* มีฤทธิ์ฆ่าแมลง (Insecticidal activity) ผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* ที่

LD₅₀ เท่ากับ 8 ng/g [21] ตามลำดับ hyrtioreticulins A (35) และ B (36) สามารถสกัดได้จาก ฟองน้ำทะเล *Hyrtios reticulatus* มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ ubiquitin-activating enzyme (E1) ด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.75 and 11 µg/mL ตามลำดับ [22]



ภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างของ 1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

จะเห็นได้ว่า tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์ มีโครงสร้าง และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะทำการสังเคราะห์ tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์ (ภาพที่ 6) โดยเริ่มทำการสังเคราะห์จาก tryptamine และ tryptophan methyl ester ผ่านปฏิกิริยาที่สำคัญ คือ ปฏิกิริยา Pictet-Spengler, N-Alkylation และ N-Acylation และทำการสังเคราะห์ β-carboline จาก 1-substituted tetrahydro-β-carboline ผ่านปฏิกิริยา oxidation เพื่อนำไปพัฒนาทางด้านโครงสร้าง และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป



ภาพที่ 6 โครงสร้างของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.) เพื่อศึกษา และพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์
- 2.) เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้
- 3.) เพื่อทดสอบสมบัตการเร่งการเจริญเติบโตของพืชของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline คาดว่าจะใช้ขั้นตอน และเวลาในการสังเคราะห์ที่น้อย ได้สารผลิตภัณฑ์ในปริมาณมาก และสามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดี

1.4 ขอบเขตงานวิจัย

ทำการสังเคราะห์ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์แล้วทำการวิเคราะห์โครงสร้างของผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี เพื่อนำไปทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ และความสามารถในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยนี้

สามารถหาวิธีการพัฒนาการสังเคราะห์ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพ อีกทั้งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายมากยิ่งขึ้น เพื่อพัฒนาเป็นยาต่อไปได้ในอนาคต

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

Abs	=	absorbance
anh. Na ₂ SO ₄	=	sodium sulphate anhydrous
Ar	=	argon
br	=	broad (NMR spectrum)
CC ₅₀	=	50% cytotoxicity concentration
CH ₂ Cl ₂	=	dichloromethane
CH ₃ COOH	=	acetic acid
°C	=	องศาเซลเซียส
d	=	doublet (NMR spectrum)
dd	=	doublet of doublet (NMR spectrum)
DMSO	=	dimethyl sulfoxide
Et ₃ N	=	triethylamine
equiv	=	equivalent
g	=	gram
hr	=	hour
H ₂ SO ₄	=	sulfuric acid
IC ₅₀	=	half maximal inhibitory concentration
LC ₅₀	=	lethal concentration, 50%
m	=	multiplet (NMR spectrum)
MeOH	=	methanol
mg/mL	=	milligram per milliliter
µg/mL	=	microgram per milliliter
mL	=	มิลลิลิตร
mmol	=	millimole

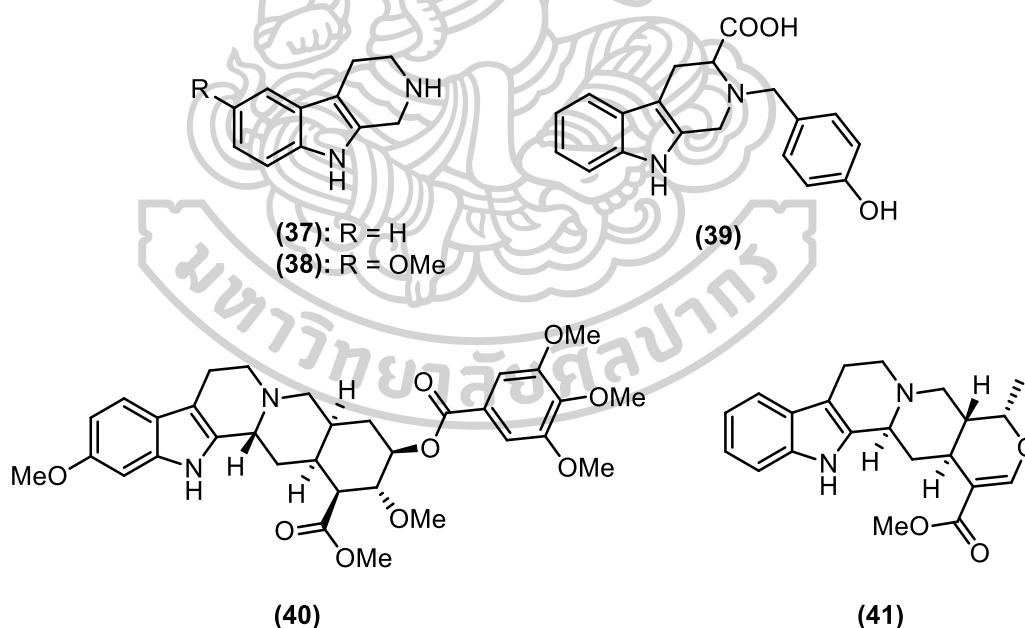
nm	=	nanometer
rt	=	room temperature
s	=	singlet (NMR spectrum)
t	=	triplet (NMR spectrum)
TLC	=	thin-layer chromatography



บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

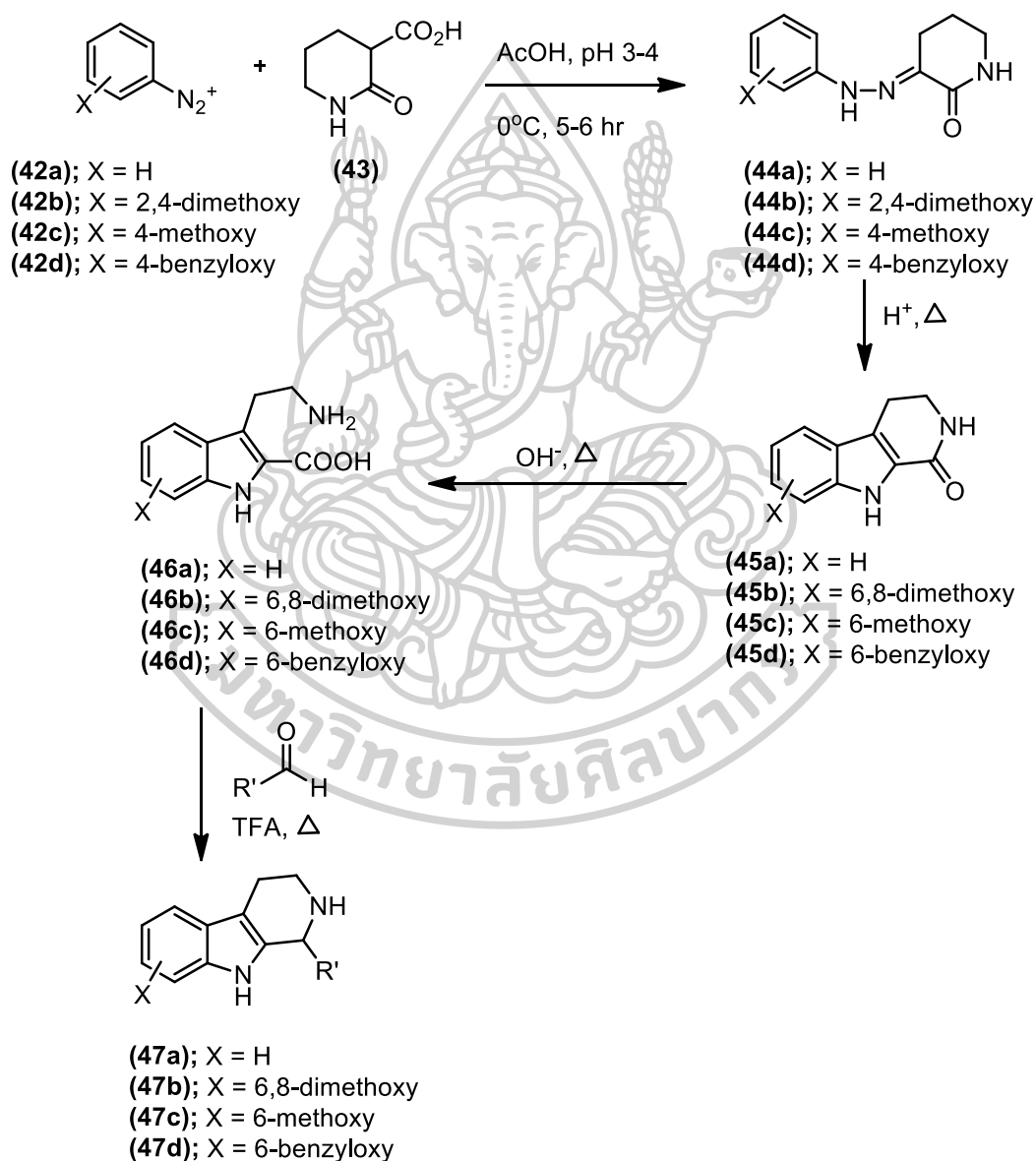
สารประกอบ tetrahydro- β -carboline ซึ่งเป็นสารประเภทหนึ่งในสารประกอบอินโดลีนนั้น พบว่ามีประโยชน์อย่างมากในด้านชีวภาพ และใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆอย่างแพร่หลาย ยกตัวอย่างเช่น Tryptoline (37) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ monoamine oxidase type A (MAO-A) [23] และยังใช้เป็นยากล่อมประสาทชนิดหนึ่ง นอกจากนี้ Pinoline (38) พบว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และยังมีฤทธิ์ในการยับยั้ง monoamine oxidase type A (MAO-A) [24] Callophycin A (39) สามารถทำการสกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง *Callophycus oppositifolius* ที่พบในประเทศออสเตรเลีย โดยพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งมะเร็งประสาทส่วนกลาง (SF-268) และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (HT-29) [25] Reserpine (40) ถูกค้นพบว่าใช้เป็นยากล่อมประสาทในทวีปแอฟริกา ซึ่งสามารถทำการสกัดได้จากรากของ *Rauwolfia serpentine* และ *Rauwolfia vomitoria* [26] Ajmalicine (41) สามารถสกัดได้จาก *Catharanthus roseus* โดยใช้เป็นยารักษาโรคความดันโลหิตสูง [27] (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 แสดงโครงสร้างของ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์

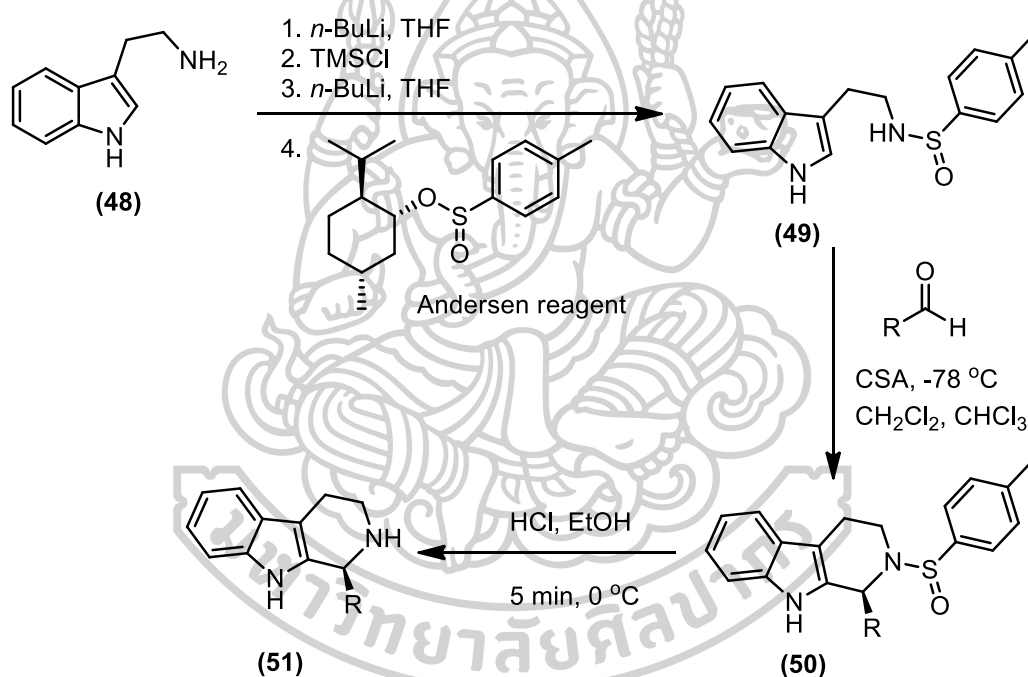
จากฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ จึงทำให้มีผู้วิจัยให้ความสนใจในการสังเคราะห์สารประเภทนี้อย่างหลากหลาย

ในปี 1990 Narayanan, K. และคณะ [25] ได้ทำการสังเคราะห์ 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ (ภาพที่ 8) จาก Tryptamine-2-carboxylic Acids ซึ่งทำการสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยา Pictet-Spengler โดยเริ่มจากนำ aryl diazonium salt (42) ทำปฏิกิริยากับ β -keto-acids (43) ผ่านปฏิกิริยา Japp-Klingemann ตามด้วยการปิดวงอินโดลได้เป็น tetrahydro- β -carboline (45) จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยา hydrolysis ได้สารประกอบ (46) สุดท้ายทำปฏิกิริยากับสารประกอบแอลดีไฮด์ต่างๆ และเกิดปฏิกิริยา decarboxylation ในสภาวะกรดเกิดเป็นสารประกอบ (47) และอนุพันธ์



ภาพที่ 8 แสดงการสังเคราะห์ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ โดย Narayanan, K.

ต่อมาในปี 2000 Gremmen, C. และคณะ [28] ได้พัฒนาการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline ให้ได้อิแนนทิโอเมอร์ไดอิมเมอร์หนึ่ง (enantioselective) ผ่านปฏิกิริยา Pictet-Spengler โดยใช้ *p*-tolylsulfinyl chiral auxiliary เป็นตัวควบคุมสเตอริโอเคมีของผลิตภัณฑ์ โดยเริ่มจากการนำ tryptamine (48) มาทำปฏิกิริยากับ Andersen reagent [(1*R*,2*S*,5*R*)-(5*S*)-menthyl *p*-toluene sulfinate] เกิดเป็น *R*-sulfonamide (49) (73%) จากนั้นนำมาทำการปิดวง β -carboline ด้วยปฏิกิริยา Pictet-Spengler condensations โดยใช้กรด 10-camphorsulfonic acid (CSA) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในตัวทำละลายผสม methylene chloride และ chloroform ที่อุณหภูมิต่ำ -78 °C จากนั้นกำจัด *p*-tolylsulfinyl chiral auxiliary ออกโดยใช้ hydrochloric acid ใน methanol ทำให้ได้อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline (51) (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline แบบ enantioselective โดย Gremmen, C. และคณะ

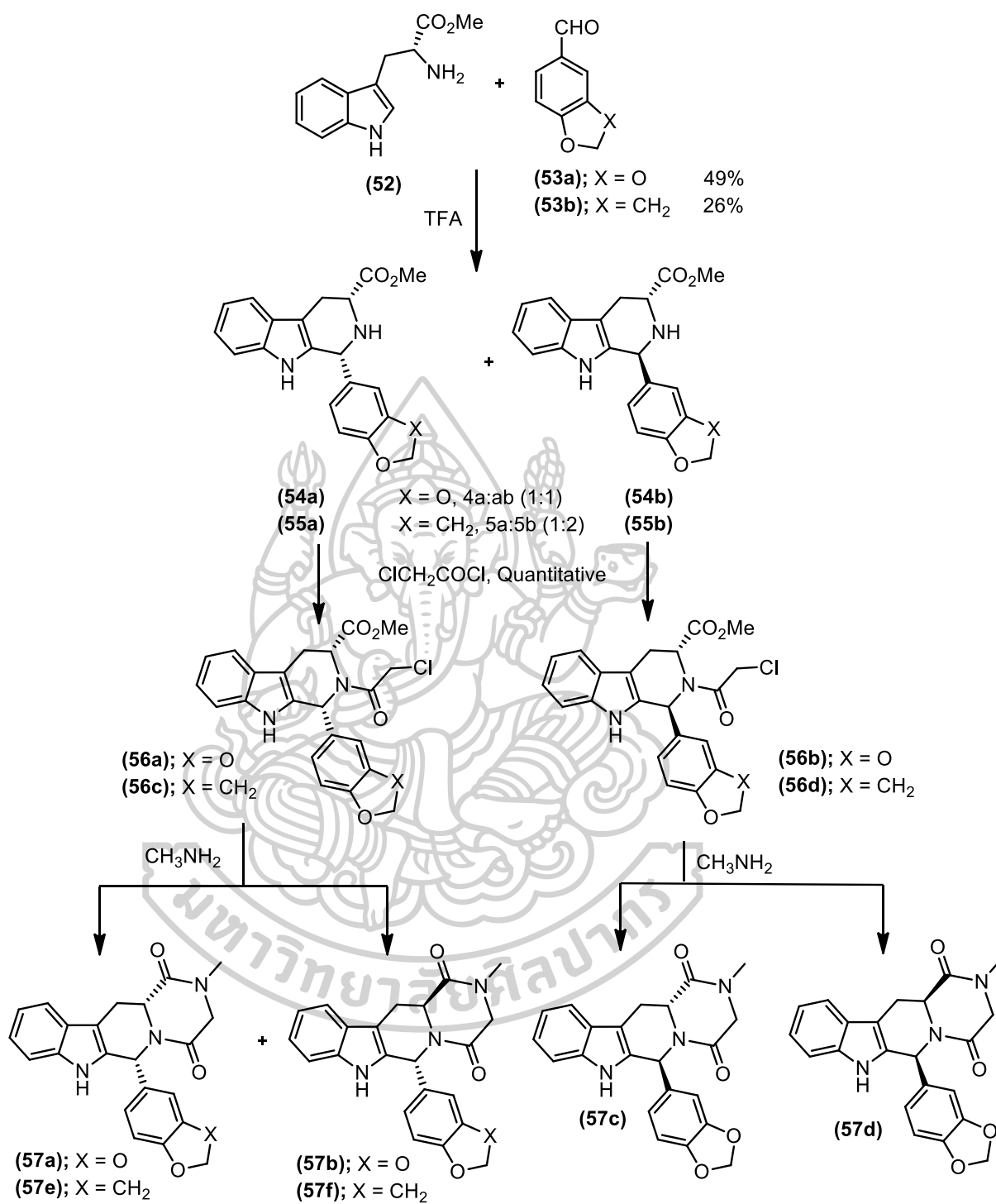
ในปี 2004 Jiang, W. และคณะ [29] ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (ภาพที่ 10) โดยเริ่มจากนำ D-tryptophan methyl ester ทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับ piperonal (53a) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น diastereomers (54a และ 54b) โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 25% และ 24% ตามลำดับ จากนั้นนำ (54a) ทำปฏิกิริยา condensation กับ chloroacetyl chloride ทำให้ได้สารหมายเลข (56a) จากนั้นทำปฏิกิริยา cyclization ด้วย *N*-methyl amine ในตัวทำละลายเมทานอล ที่อุณหภูมิต่ำ 50 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมงให้

diastereomers (57a) โดยร้อยละผลผลิตเท่ากับ 54 และให้ (57b) เล็กน้อยเพียง 1.1 % ถ้านำสารประกอบหมายเลข (56b) ทำปฏิกิริยา cyclization ด้วย *N*-methyl amine เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะให้สารประกอบหมายเลข (57c) แต่มีร้อยละผลผลิตน้อยลง (21%) และสารหมายเลข (57d) ที่ C-12 เป็น epimer กันมีร้อยละผลผลิตเพิ่มขึ้นถึง 18%

นอกจากนี้ผู้วิจัยได้นำ D-tryptophan methyl ester ทำปฏิกิริยา Pictet–Spengler กับ 2,3-dihydro-benzofuran-5-carbaldehyde (53b) จะได้สารประกอบหมายเลข (55a) และ (55b) 17% และ 9% ตามลำดับ ตามด้วยการทำปฏิกิริยา cyclization ด้วย *N*-methyl amine ในตัวทำละลายเมทานอล ที่อุณหภูมิ 50 °C และเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นเป็น 48 ชั่วโมง ได้สารประกอบ (57e) และ (57f) โดยมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 25% และ 38% ตามลำดับ

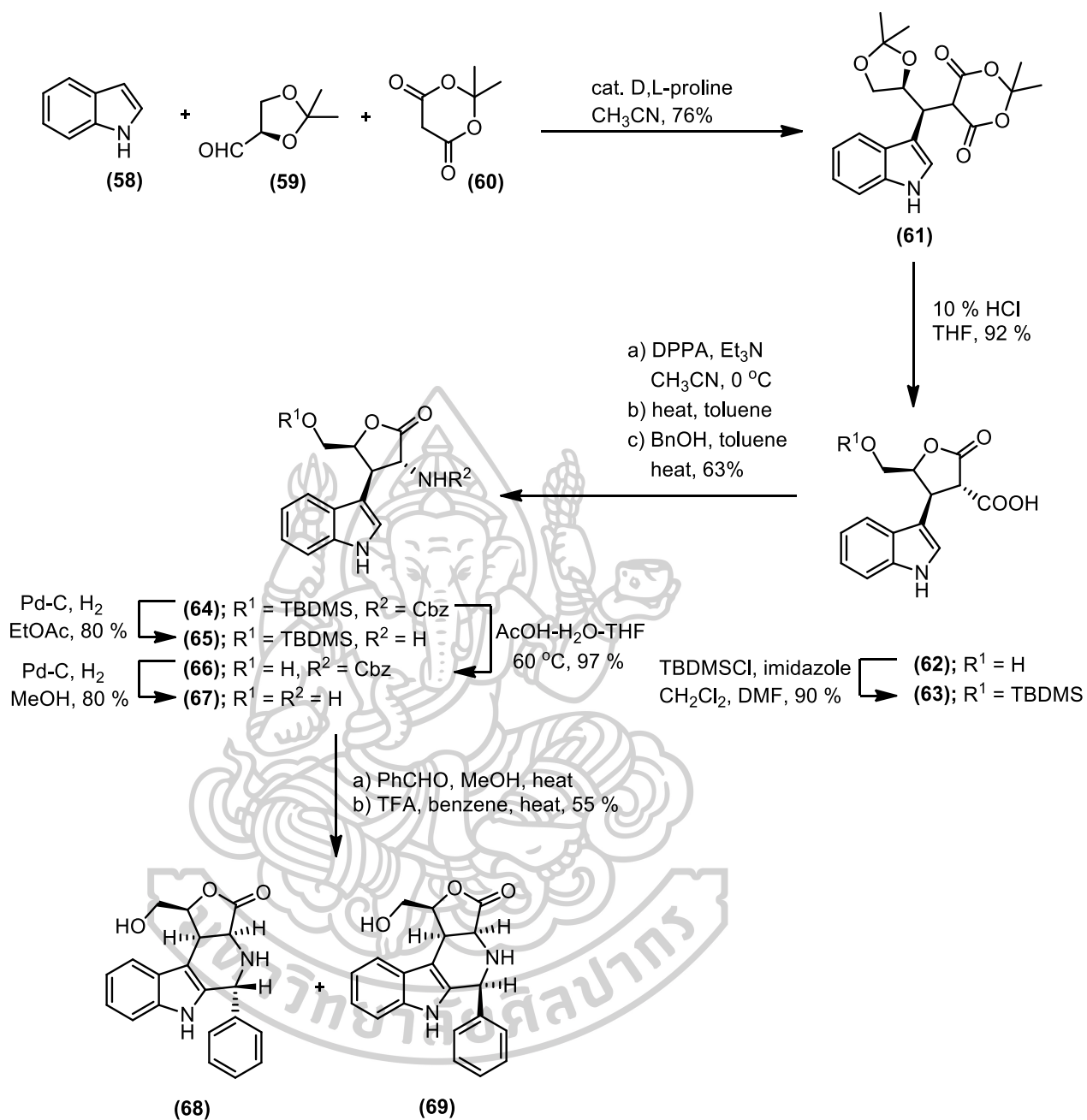
ในปี 2005 Dardennes, E. และคณะ [30] ได้ทำการสังเคราะห์ 3,4-furane-annulated tetrahydro- β -carboline (ภาพที่ 11) ผ่าน Chiral indolyl lactone-acid (62) ซึ่งได้มาจากการสังเคราะห์สองขั้นตอนโดยเริ่มจาก indole (58), 1,2,3-O-isopropylidene-Dglyceraldehyde (59) และ Meldrum's acid (60) หลังจากนั้นทำการปกป้องหมู่ไฮดรอกซิล และทำการเปลี่ยนหมู่คาร์บอกซิลด้วย diphenylphosphorylazide (DPPA) โดยใช้เบสเป็น triethylamine ตามด้วยการทำปฏิกิริยา Curtius Rearrangement จะทำให้ได้ isocyanate ตามด้วยการทำปฏิกิริยากับ benzyl alcohol ได้เป็น benzyl carbamate (64) จากนั้นทำปฏิกิริยา debenzylation ของ carbamate ให้ได้เป็น amine (65) ต่อมาทำการสังเคราะห์ chiral furaneannulated tryptamine (67) โดยทำปฏิกิริยา desilylation โดยใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาตามด้วยการทำปฏิกิริยา debenzylation ของสารหมายเลข (66) จากนั้นนำสารหมายเลข (67) ทำปฏิกิริยา Pictet–Spengler cyclisation กับ benzaldehyde จะได้เป็น diastereomeric tetrahydro- β -carbolines (68) (24%) และ (69) (31%)

ในปี 2006 Lee, S. และคณะ [31] ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline แบบ solid-phase synthesis โดยเริ่มจากนำ Fmoc-Trp(Boc)-OH ทำปฏิกิริยา esterification กับ SASRINTM resin จากนั้นทำการกำจัดหมู่ Fmoc ของ FmocTrp-loaded resins (70) และทำปฏิกิริยา amide coupling กับ Fmoc amino acid 12 ชนิด จะได้ dipeptides (71) ต่อมาทำปฏิกิริยา deprotection ของหมู่ Fmoc ตามด้วยปฏิกิริยา reductive amination โดยใช้ตัวทำละลายเป็น MeOH:DMF ในอัตราส่วน 1:1 และตามด้วยนำ secondary amine ที่ได้ทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ isocyanates โดยใช้เบสเป็น DIPEA สุดท้ายทำการกำจัด SASRINTM resin ออกแล้วทำปฏิกิริยา acyl-iminium formation และ intramolecular Pictet–Spengler cyclization ด้วย formic acid โดยไม่ใช้ตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 50 °C จะได้อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline ที่มีความบริสุทธิ์ และร้อยละผลผลิตสูง (ภาพที่ 12)



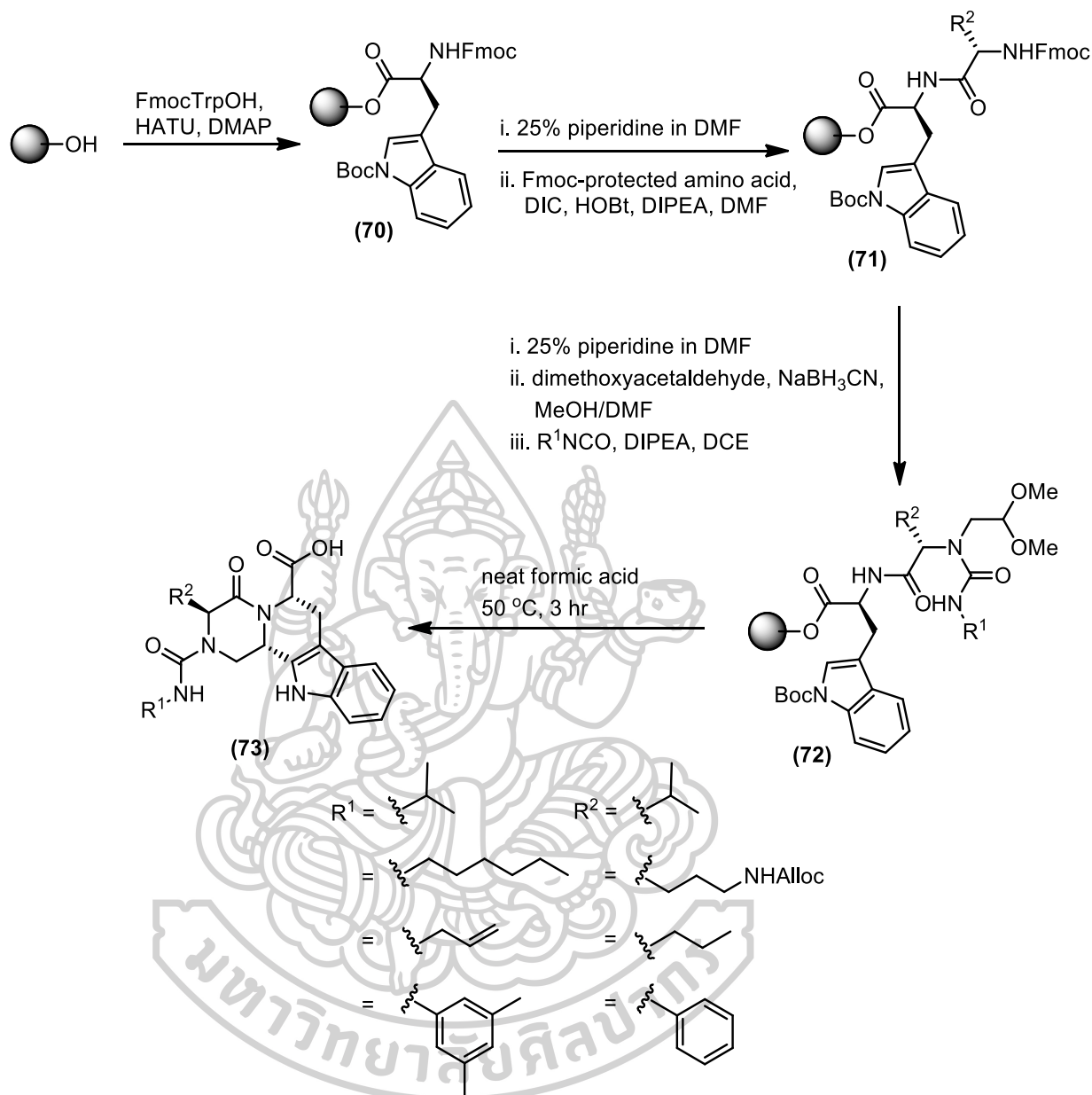
ภาพที่ 10 แผนการสังเคราะห์ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ โดย Jiang, W. และ

คณะ



ภาพที่ 11 แผนการสังเคราะห์ 3,4-furane-annulated tetrahydro-β-carboline โดย

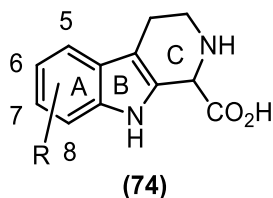
Dardennes, E. และคณะ



ภาพที่ 12 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline แบบ solid-phase synthesis โดย Lee, S. และคณะ

ต่อมาในปี 2007 Trujillo, I. J. และคณะ [32] ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้าง และฤทธิ์ของยา หรือ activity-structure relationship (SAR) ของอนุพันธ์ tetrahydro- β -carboline-1-carboxylic acid (74) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์เป้าหมายในการรักษาโรคข้อรูมาตอยด์ (mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 enzyme, MK-2) โดยผู้วิจัยเริ่มจากศึกษาที่ A-ring (ตารางที่ 1) พบว่า หมู่ methoxy ตำแหน่งที่ 6 ให้ฤทธิ์ที่ดีในการ

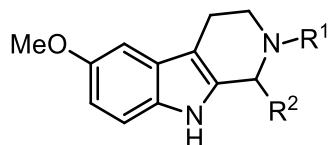
ยับยั้งเอนไซม์ MK-2 แต่ถ้าเพิ่มหมู่แทนที่บริเวณใกล้เคียงจะมีฤทธิ์แยลง แต่ถ้าหากแทนที่ตำแหน่งที่ 6 ด้วยหมู่ hydroxyl และ mestyl ester จะให้ฤทธิ์ที่ดีเช่นกันแต่น้อยกว่าหมู่ methoxy



ตารางที่ 1 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง MK-2 ที่ A-ring ของอนุพันธ์ tetrahydro- β -carboline-1-carboxylic acid

หมู่แทนที่	IC ₅₀ (μ M)
6-OMe	2.5
5-OMe	42
7-OMe	>200
8-OMe	>200
6-OMe, 7-OH	56
6-OMe, 5-OMe	>200
6-OH	4.5
6-CO ₂ Me	6.6
6-OAc	170
6-H	87
6-F	26
6-Cl	19

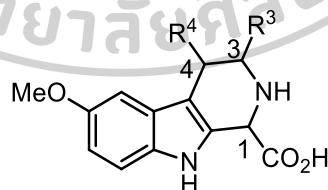
นอกจากนี้คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษการแทนที่ของไนโตรเจนในวง piperidine พบว่า เมื่อ R¹ เป็นหมู่แอลคิลหมู่เล็ก เช่น methyl หรือ ethyl จะให้ฤทธิ์ที่ดีกว่าหมู่แทนที่ที่เป็นหมู่แอลคิลหมู่ใหญ่ เช่น isopropyl และ benzyl อาจเนื่องมาจากหมู่แทนที่มีความกะทัดรัด และเมื่อทำการศึกษาหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง C-1 โดยทำการเปลี่ยนกรดคาร์บอกซิลิกเป็นหมู่แทนที่อื่น ๆ (R²) พบว่า methyl ester, primary amide, primary alcohol หรือ amine ทำให้มีฤทธิ์น้อยลง แสดงให้เห็นว่ากรดคาร์บอกซิลิกทำให้เกิด ionic interaction กับ MK-2 (ตารางที่ 2)



ตารางที่ 2 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง MK-2 ของอนุพันธ์ tetrahydro- β -carboline-1-carboxylic acid

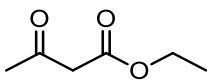
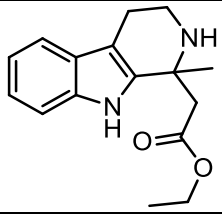
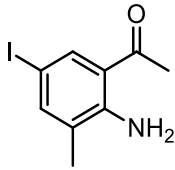
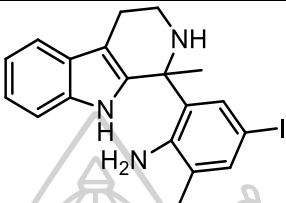
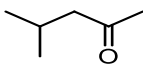
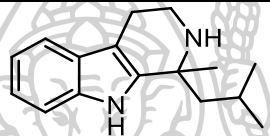
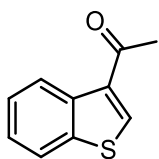
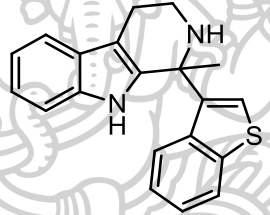
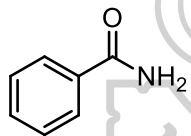
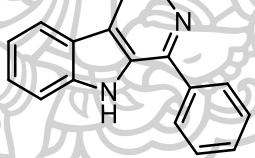
R ¹	R ²	MK-2 IC ₅₀ (μ M)
H	CO ₂ H	2.5
Me	CO ₂ H	1.0
Et	CO ₂ H	5.8
<i>i</i> Pr	CO ₂ H	170
Bn	CO ₂ H	130
H	CO ₂ Me	47
H	CO ₂ NH ₂	>200
H	CO ₂ OH	>200
H	CO ₂ NH ₂	>200
H	CONHOH	88

และการศึกษาหมู่แทนที่ตำแหน่งที่ 3 และ 4 โดยการเติมหมู่ methyl และ ethyl ที่ตำแหน่ง R⁴ ให้ฤทธิ์ในการยับยั้ง MK-2 ได้ดีกว่าการเติมที่ตำแหน่ง R³ ซึ่งการแทนที่ในตำแหน่ง R³ นั้นจะให้ฤทธิ์ที่ดีเมื่อหมู่แทนที่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนได้ (ตารางที่ 3)



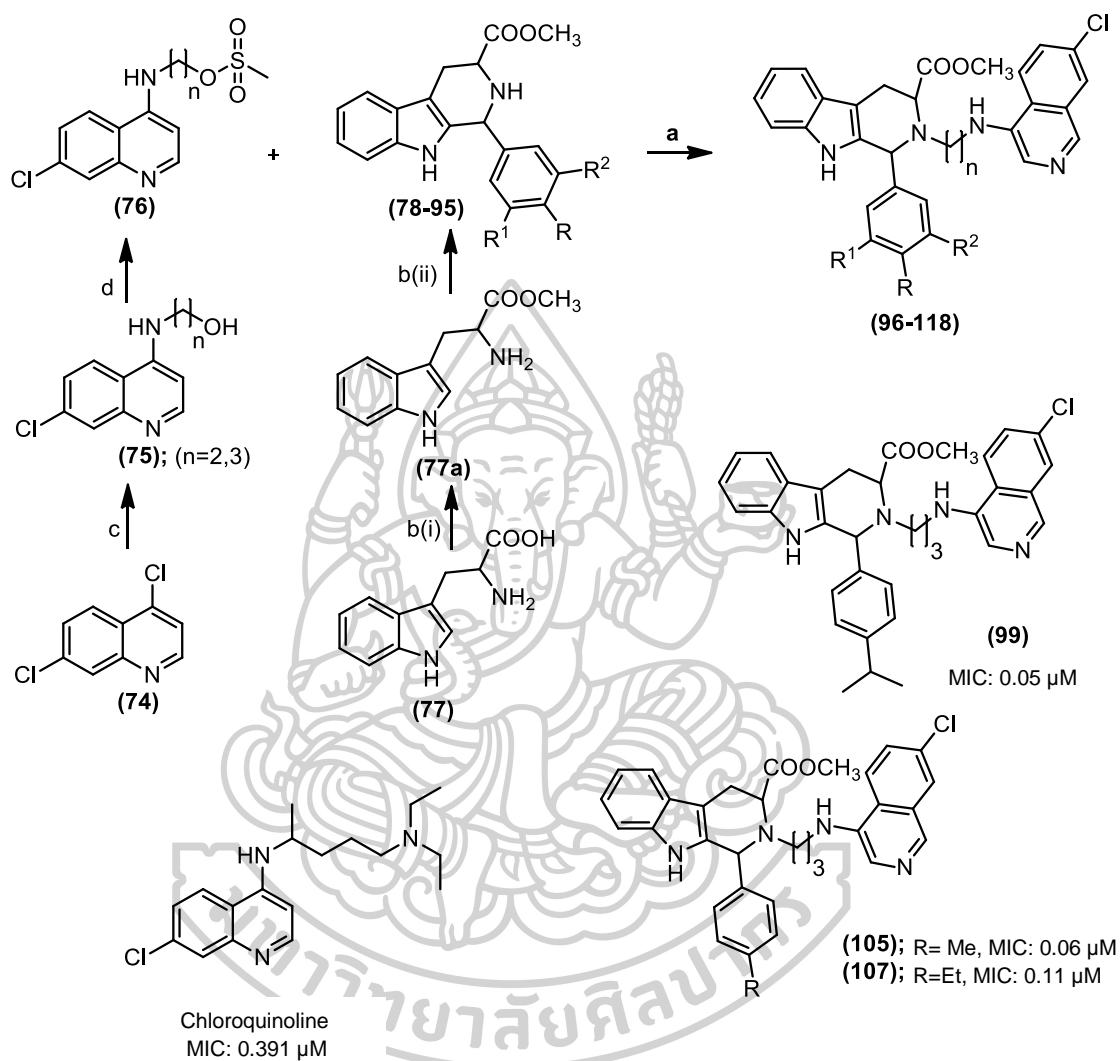
ตารางที่ 3 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง MK-2 ที่ตำแหน่งที่ 3 และ 4 ของอนุพันธ์ tetrahydro- β -carboline-1-carboxylic acid

R ³	R ⁴	MK-2 IC ₅₀ (μ M)
Me	H	2.2
Et	H	2.2
Bn	H	16

สารประกอบคีโตน	ผลิตภัณฑ์	ร้อยละ ผลผลิต	เวลาที่ใช้ (ชม.)
		72	8
		77	9
		64	8
		78	8
		44	11

ต่อมาในปี 2008 Chauhan, M. S. P. และคณะ [34] ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 2-[3-(7-Chloro-quinolin-4-ylamino)-alkyl]-1-(substituted phenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-bcarbolines โดยโครงสร้างประกอบด้วย 7-chloroquinoline (haemozoin inhibitor) ที่มีตำแหน่งที่ 4 เป็นหมู่ diamino alkyl เชื่อมกับตำแหน่ง N-2 ของ tetrahydro-β-carboline (DNA intercalator) ขั้นตอนการสังเคราะห์เริ่มจากนำ 7-chloroquinoline (**76**) ทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของ tetrahydro-β-carboline (**78-95**) ซึ่ง *cis* และ *trans* isomer ได้มาจากการทำปฏิกิริยาของ D/L tryptophan (**77**) กับ thionyl chloride ในตัวทำละลายเมทานอล ได้ methyl ester (**77a**) แล้วนำไปทำปฏิกิริยา Pictet–Spingler cyclization กับ aromatic aldehydes ต่างๆ และทำการทดสอบฤทธิ์การต้านโรคมาลาเรีย (antimalarial activity) โดยทดสอบการต้านปรสิต *Plasmodium*

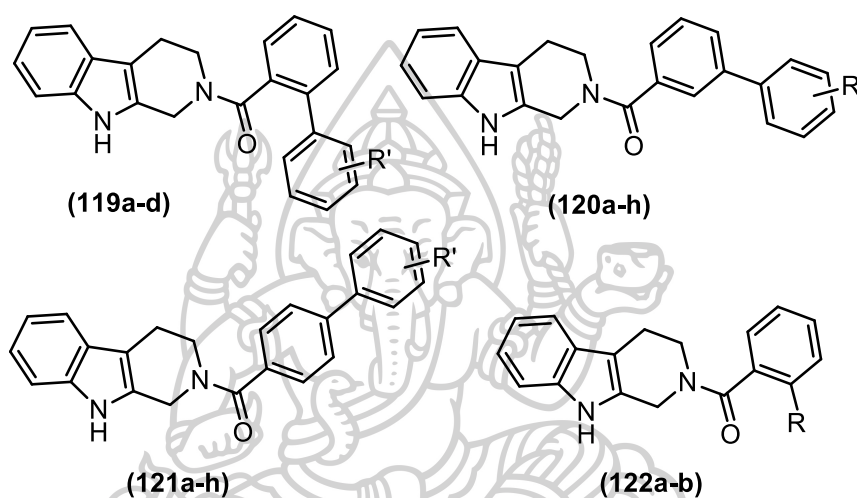
falciparum ที่ดื้อต่อยา chloroquine ในหลอดทดลอง (*in vitro*) โดยสารประกอบหมายเลข (92), (105) และ (107) มีค่า MIC ต่ำกว่ายา chloroquine ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.05–0.11 μM (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 สภาวะที่ใช้ทดลอง: (a) DMF, 120 °C, high pressure; (b) *i*-SOCl₂, MeOH, *ii*-aromatic aldehydes, reflux; (c) aminoethanol/aminopropanol, Et₃N, DMF, 120 °C; (d) methane sulphonylchloride, Pyridine, 0 °C.

ในปีเดียวกัน Jenkins, P. R. และคณะ [35] ทำการสังเคราะห์ (biphenylcarbonyl)-tetrahydro- β -carboline (ภาพที่ 14) โดยอนุพันธ์ของ *para*-biphenyl tetrahydro- β -carboline (121a-h) ให้ฤทธิ์ในการยับยั้ง Cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) ได้ดีที่สุด ซึ่งถ้ามี CDK4 มากเกินไปจะกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ทำให้เกิดโรคมะเร็งได้ โดยอนุพันธ์ของ *para*-biphenyl

(121d) ที่มีหมู่แทนที่ตำแหน่ง *para* เป็นหมู่เมทิลมีฤทธิ์ที่ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 9 μM นอกจากนี้ *ortho*-fluoro (121c) และ *para*-fluoro (121a) ให้ฤทธิ์ในการยับยั้ง CDK4 เท่ากับ 17 และ 12 μM ตามลำดับ ในส่วนอนุพันธ์ของ *meta*-biphenyl (120a-h) นั้นพบว่า *meta*-methyl (120e) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง CDK4 ได้ดีที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 11 μM) และอนุพันธ์ของ *ortho*-biphenyls (119a-d) นั้นพบว่า *ortho*-fluoro (119c) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง CDK4 ได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 19 μM (ตารางที่ 5)



ภาพที่ 14 การสังเคราะห์ (biphenylcarbonyl)-tetrahydro- β -carboline โดย Jenkins, P. R.

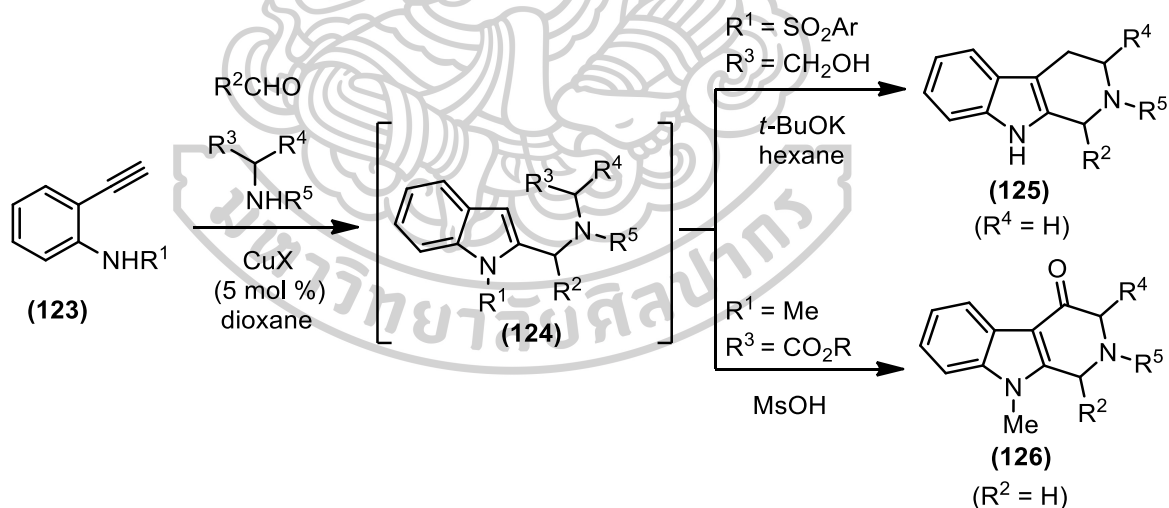
และคณะ

ตารางที่ 5 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง CDK4 ของ (biphenylcarbonyl)-tetrahydro- β -carboline

สารประกอบ	CDK4 inhibition $IC_{50}/\mu M$	สารประกอบ	CDK4 inhibition $IC_{50}/\mu M$
Fascaplysin	0.55	120h; R' = <i>o</i> -OMe	79 \pm 2.4
119a; R' = <i>p</i> -F	23 \pm 1.5	121a; R' = <i>p</i> -F	12 \pm 1.2
119b; R' = <i>m</i> -F	35 \pm 3	121b; R' = <i>m</i> -F	21 \pm 1.5
119c; R' = <i>o</i> -F	19 \pm 2	121c; R' = <i>o</i> -F	17 \pm 2
119d; R' = <i>m</i> -Me	26 \pm 2	121d; R' = <i>p</i> -Me	9 \pm 0.8
120a; R' = <i>p</i> -F	25 \pm 1	121e; R' = <i>m</i> -Me	25 \pm 3
120b; R' = <i>m</i> -F	27 \pm 1	121f; R' = <i>o</i> -Me	32 \pm 2
120c; R' = <i>o</i> -F	18 \pm 2.5	121g; R' = <i>m</i> -OMe	28 \pm 2

สารประกอบ	CDK4 inhibition IC ₅₀ /μM	สารประกอบ	CDK4 inhibition IC ₅₀ /μM
120d; R' = <i>p</i> -Me	24 ± 2	121h; R' = <i>o</i> -OMe	22 ± 1
120e; R' = <i>m</i> -Me	11 ± 1	122a; R' = 4-pyridyl	39 ± 3
120f; R' = <i>o</i> -Me	75 ± 3	122b; R' = 3-pyridyl	36 ± 4
120g; R' = <i>m</i> -OMe	33 ± 3		

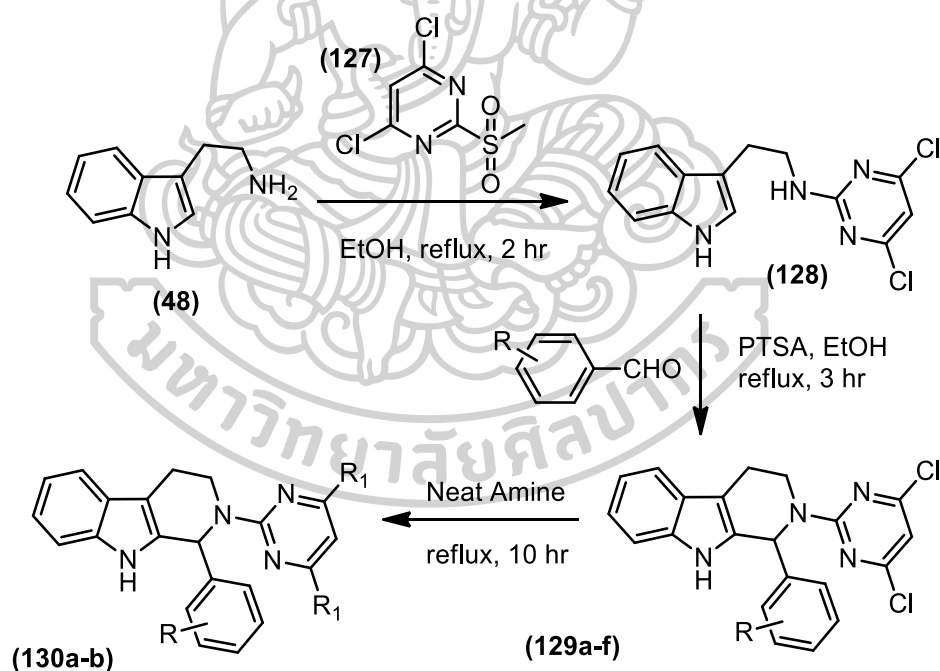
ต่อมาได้มีพัฒนาการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline ด้วยวิธี One-Pot Domino synthesis ขึ้นในปี 2009 โดย Hiroaki, O. และคณะ [36] (ภาพที่ 15) เริ่มจากนำ ethynylaniline, aldehyde และ secondary amine ทำปฏิกิริยา coupling เพื่อสร้าง indole formation โดยมี copper เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา แล้วตามด้วยการทำปฏิกิริยา nucleophilic cyclization ที่ตำแหน่งที่ 3 โดยใช้ *t*-BuOK:hexane จะได้อนุพันธ์ของ tetrahydro-β-carboline และถ้าใช้ MsOH จะให้อนุพันธ์ของ 4-Oxotetrahydro-β-carboline



ภาพที่ 15 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline ด้วยวิธี One-Pot Domino synthesis โดย Hiroaki, O. และคณะ

ในปี 2010 Chauhan, M.S. P. และคณะ [37] ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 2-(pyrimidin-2-yl)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-β-carboline (ภาพที่ 16) โดยนำ methane sulfonyl

(127) ทำปฏิกิริยา Nucleophilic substitution กับ tryptamine จะได้ *N*-(2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl)-4,6-dichloropyrimidin-2-amine (128) จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยา Pictet Spengler cyclization กับอนุพันธ์ต่างๆของ benzaldehyde ภายใต้สภาวะกรด จะให้อนุพันธ์ของ 2-(4,6-dichloropyrimidin-2-yl)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*- β -carboline (129a-f) และนำ amine มาทำปฏิกิริยา nucleophilic substitution ทำให้ได้อนุพันธ์ของ 2-(4,6-Diaminopyrimidin-2-yl)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*- β -carboline (130a-b) นอกจากนี้พบว่ามียฤทธิ์ในการยับยั้งโรคลิชมาเนีย (antileishmanial activity) ซึ่งเป็นโรคติดต่อโดยแมลง *Leishmania donovani* โดย 2-(4,6-Dichloropyrimidin-2-yl)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*- β -carboline (129b) ที่มีหมู่แทนที่บริเวณ C-1 เป็น 3,4-dimethoxyphenyl มีฤทธิ์ในการต้านโรคลิชมาเนีย (antileishmanial activity) ในระยะ amastigotes ได้ดีที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.93 mg/ml (ตารางที่ 6)

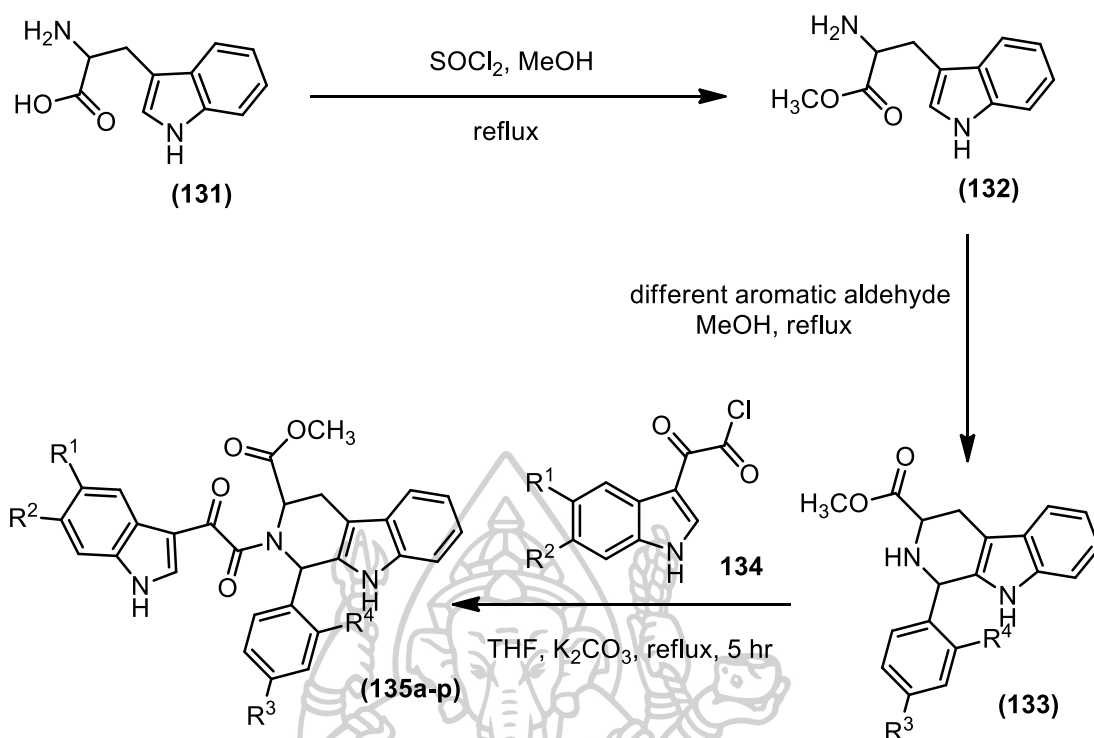


ภาพที่ 16 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 2-(pyrimidin-2-yl)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*- β -carboline โดย Chauhan, M.S. P. และคณะ

ตารางที่ 6 แสดงฤทธิ์ในการต้านโรคเลิชมาเนียของ 2-(pyrimidin-2-yl)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*- β -carboline และอนุพันธ์

สารประกอบ	Antiamastigote activity IC ₅₀ (mg/ml)
129a; R = 3,4,5-trimethoxy	3.81
129b; R = 3,4-dimethoxy	1.93
129c; R = 4-methoxy	3.57
129d; R = 3-bromo	7.79
129e; R = 4-ethyl	4.46
129f; R = 4-methyl	6.00
130a; R = 4-methoxy R ₁ = morpholine	4.48
130b; R = 3,4-dimethoxy R ₁ = morpholine	Not active
Pentamidine	12.11

Chauhan, M.S. P. และคณะ ยังได้ทำการสังเคราะห์ indolylglyoxylamide และอนุพันธ์ ขึ้นมาในปีเดียวกัน [38] โดย methyl ester (132) ได้มาจากการนำ D/L-tryptophan (131) ทำปฏิกิริยากับ thionyl chloride ในเมทานอล จากนั้นทำปฏิกิริยา Pictet–Spengler cyclization กับอะมาติกแอลดีไฮด์ต่างๆ ตามด้วยทำปฏิกิริยากับ indole oxalyl chloride (134) โดยใช้เบสเป็น K₂CO₃ ในตัวทำละลาย THF จะได้อนุพันธ์ของ indolylglyoxylamide (135a–p) (ภาพที่ 17) หลังจากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งโรคเลิชมาเนียซิส (Leishmaniasis) ในเชื้อ *Leishmania donovani* ระยะอะแมสตีโกต (amastigote) ในหลอดทดลอง (*in vitro*) (ตารางที่ 7) โดยพบว่าอนุพันธ์ของ indolylglyoxylamide (135a–p) มีค่า IC₅₀ อยู่ระหว่าง 3.79–8.04 μ M โดยมียาเทียบมาตรฐานเป็น sodium stilbogluconate และ pentamidine โดย indolylglyoxylamides (135i–p) ที่นำมาต่อกับ 5-bromoindole oxalyl chloride ให้ฤทธิ์ที่ดีกว่า โดยเฉพาะ indolylglyoxylamides (135o) และ (135p) ที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ chloro และ bromo แทนที่อยู่บนวงเบนซีน มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 4.02 μ M และ 4.09 μ M ตามลำดับ



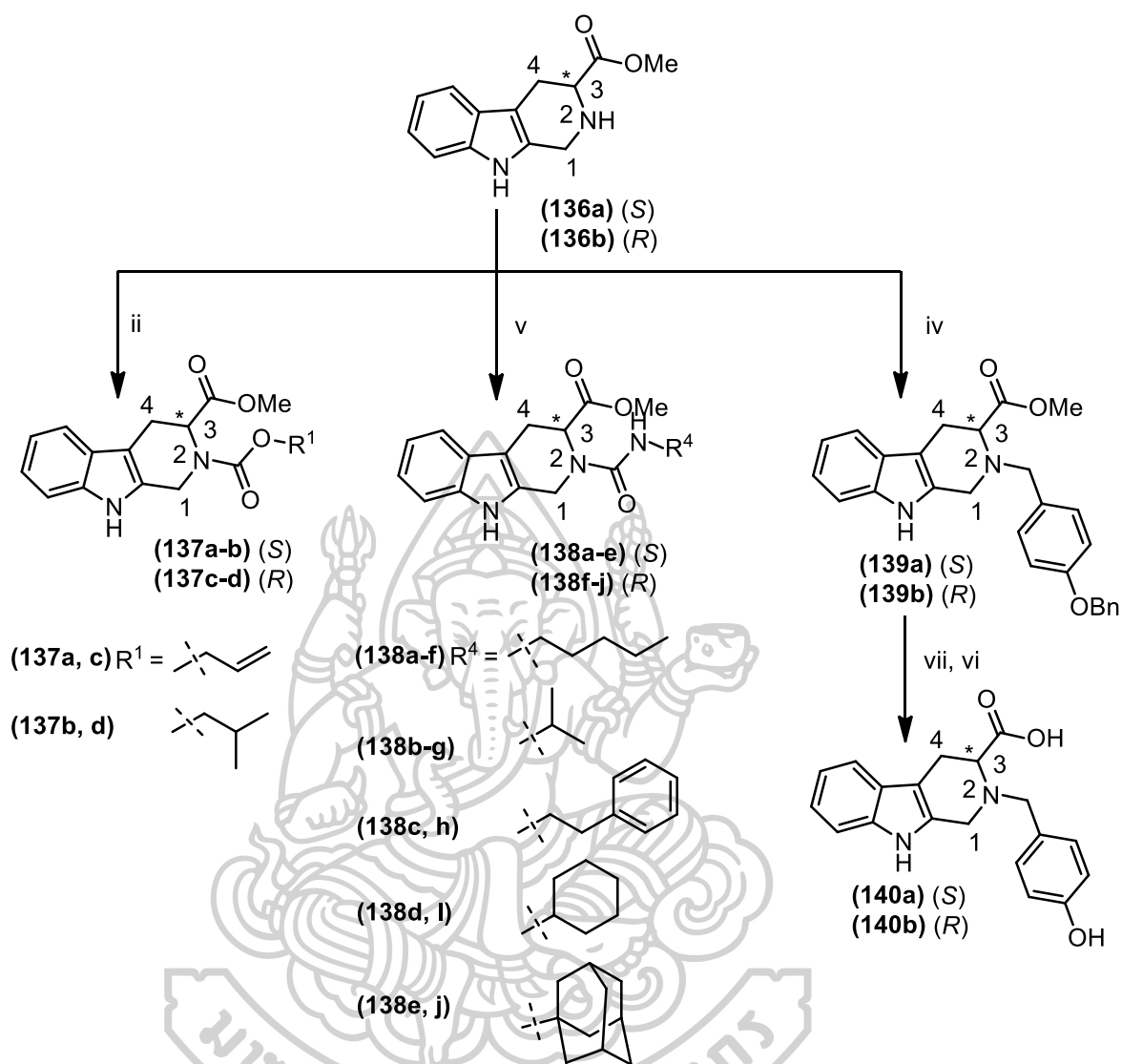
ภาพที่ 17 แผนการสังเคราะห์ indolyglyoxylamide และอนุพันธ์ โดย Chauhan, M.S. P. และคณะ

ตารางที่ 7 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งโรคลิชมาเนียซิส (Leishmaniasis) ของ indolyglyoxylamide และอนุพันธ์

Isomer	R^1	R^2	R^3	R^4	Antiamastigote activity IC_{50} (μM)
L/cis	H	H	CH_3	H	7.37
L/trans	H	H	CH_3	H	6.79
D/cis	H	H	C_2H_5	H	5.17
D/trans	H	H	C_2H_5	H	8.04
D/cis	H	H	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	H	6.74
D/trans	H	H	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	H	6.02
L/trans	H	H	Cl	H	4.36
L/trans	H	H	H	Br	3.79
L/cis	Br	H	CH_3	H	5.18

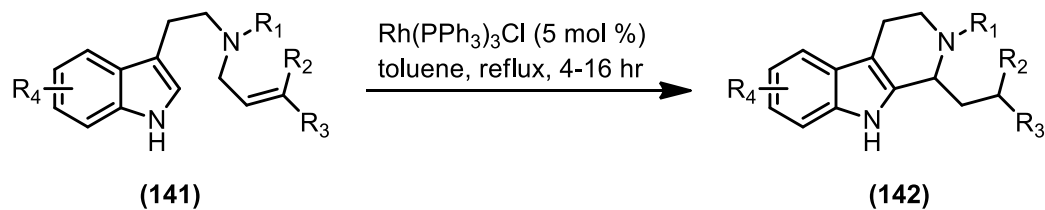
Isomer	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Antiamastigote activity IC ₅₀ (μM)
L/trans	Br	H	CH ₃	H	4.79
D/cis	Br	H	C ₂ H ₅	H	5.36
D/trans	Br	H	C ₂ H ₅	H	5.86
D/cis	Br	H	CH(CH ₃) ₂	H	3.91
D/trans	Br	H	CH(CH ₃) ₂	H	4.44
L/trans	Br	H	Cl	H	4.02
L/trans	Br	H	H	Br	4.09
Pentamidine					20.43
Sodium stilboglucanate					71.90

นอกจากนี้ Shen, L. และคณะ [39] ได้ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ callophycin A (**39**) ขึ้นในปี 2011 โดยทำการเปลี่ยนหมู่แทนที่บริเวณตำแหน่งที่ 2 และ 3 และนำอนุพันธ์ที่สังเคราะห์ได้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็ง โดยในการทดสอบด้วยวิธีการเหนี่ยวนำกัมมันตภาพของเอนไซม์ควิโนรีดักเตส (quinone reductase activity) ในเซลล์มะเร็งตับ Hepa 1c1c7 พบว่า *S*-isomer และ *R*-isomer ของอนุพันธ์ carboline urea (**138a**, **138f**) ที่มีหมู่แทนที่บริเวณตำแหน่งที่ 2 เป็นหมู่ pentyl มีร้อยละการอยู่รอดของเซลล์ (% survival) น้อยที่สุด คือ 7.8 กับ 12.7 ตามลำดับ ยังพบว่า *R*-isomer ของอนุพันธ์ carbamate (**136d**) ที่มีหมู่แทนที่เป็น Isobutyl ให้ผลในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ดีที่สุดในวิธีการยับยั้งการหลั่ง NO โดยเลี้ยงเซลล์ RAW 264.7 (Nitrite assay) กับฤทธิ์ในการยับยั้ง NFκB (NFκB luciferase assay) โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 2.8 และ 4.8 μM ตามลำดับ นอกจากนี้ *R*-isomer ของ (**138j**) ซึ่งมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ adamantyl มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF7) ด้วยวิธี sulforhodamine B ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 14.7 μM (ภาพที่ 18)



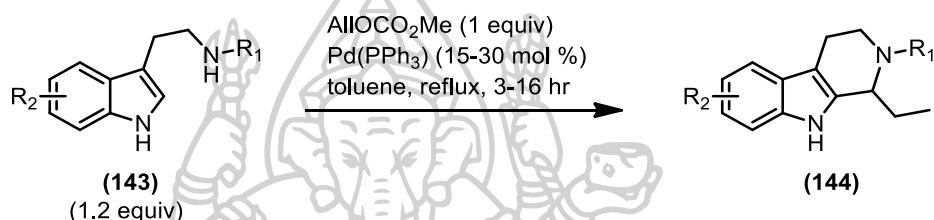
ภาพที่ 18 สภาวะที่ใช้ทดลอง: (ii) R¹OCOCl, Et₃N, CH₂Cl₂, rt; (iv) R³Br หรือ 4-BnOBnBr, DIPEA, CH₃CN, reflux; (v) R⁴NCO, CH₂Cl₂; (vi) LiOH, THF/H₂O (1:1), rt; (vii) 10% Pd/C, H₂, MeOH, rt, 4.5 hr.

ต่อมาในปี 2012 Ascic, E. และคณะ [27] ได้ทำการสังเคราะห์ tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์โดยใช้โลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยได้นำ Wilkinson's catalyst มาทำการสังเคราะห์ 1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์ (ภาพที่ 19)



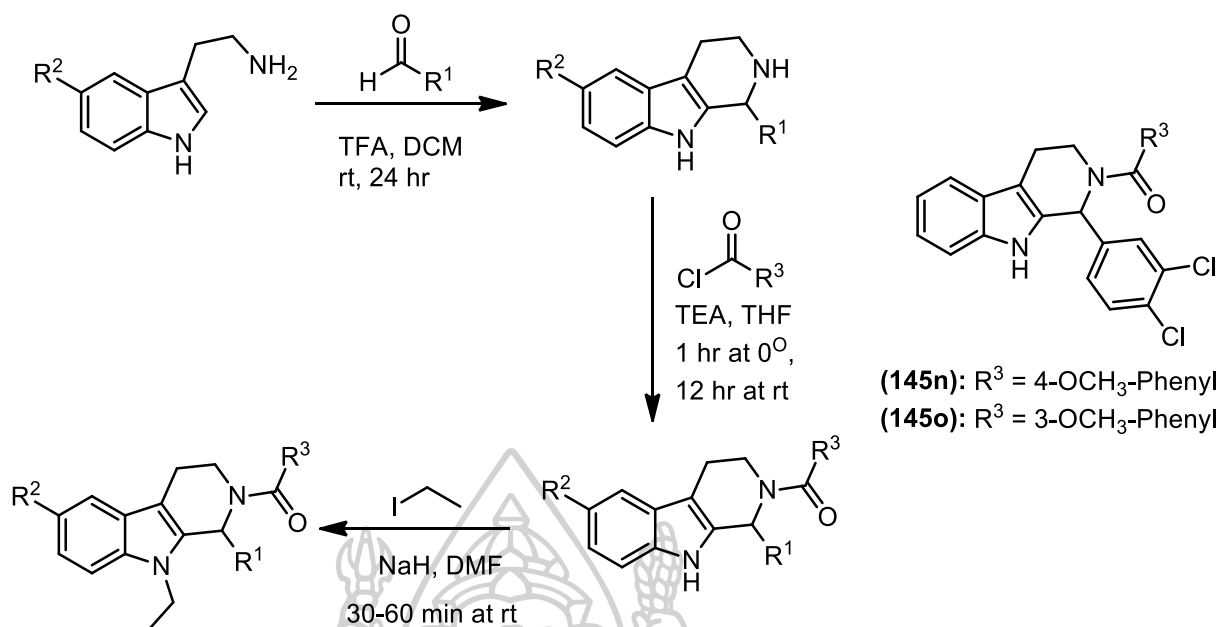
ภาพที่ 19 การสังเคราะห์ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์

Asci, E. และคณะยังได้ทำการสังเคราะห์ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ ผ่านปฏิกิริยา Tsuji-Trost โดยมี Pd เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 การสังเคราะห์ 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ผ่านปฏิกิริยา Tsuji-Trost

ในปีเดียวกัน Spindler, A. และคณะ [40] ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline โดยทำการเปลี่ยนหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 1, 2 และ 6 (ภาพที่ 21) ซึ่งเริ่มจากนำ tryptamine และ 5-methoxytryptamine ทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับอนุพันธ์ต่างๆของแอลดีไฮด์ จากนั้นทำปฏิกิริยา *N*-Acylation หรือ *N*-Alkylation โดยใช้เบสเป็น triethylamine แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้ง Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) ซึ่งเป็นโปรตีน efflux transporter ที่ทำการผลักยาออกจากเซลล์มะเร็ง พบว่าหมู่แทนที่ที่ต่างกันบริเวณตำแหน่ง R³ ให้ผลในการยับยั้ง Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) ไม่ต่างกัน และถ้าบริเวณ R¹ เป็นหมู่ฟีนิล (phenyl group) มีหมู่แทนที่เป็น Cl หรือ Br ที่ตำแหน่ง *meta* หรือ *para* จะให้ฤทธิ์ที่ดี โดยเฉพาะหมู่ 3,4-dichlorophenyl ซึ่งสารประกอบหมายเลข (145n, 145o) ที่มีหมู่แทนที่ตำแหน่ง R³ เป็น 4-OCH₃-Phenyl และ 3-OCH₃-Phenyl ตามลำดับ โดยเมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ด้วยการย้อมสี Hoechst 33342 มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.233 และ 0.237 μ M ตามลำดับ



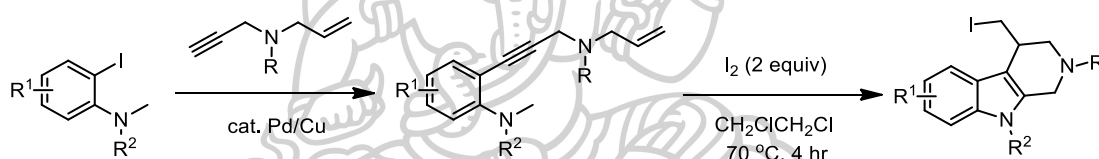
ภาพที่ 21 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline โดย Spindler, A. และคณะ

ตารางที่ 8 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2)

สาร	R^1	R^2	R^3	R^4	$\text{IC}_{50} \pm \text{SD} [\mu\text{M}]$
145a	phenyl	H	phenyl	H	2.78 ± 0.15
145b	3,4-OCH ₃ -phenyl	H	phenyl	H	3.62 ± 0.41
145c	3-CN-phenyl	H	phenyl	H	2.00 ± 0.18
145d	3,4-F-phenyl	H	phenyl	H	1.10 ± 0.10
145e	3-Cl-phenyl	H	phenyl	H	0.869 ± 0.068
145f	4-Cl-phenyl	H	phenyl	H	0.741 ± 0.123
145g	3,4-Cl-phenyl	H	phenyl	H	0.328 ± 0.055
145h	3,4-F-phenyl	H	4-Cl-phenyl	H	1.26 ± 0.30
145i	4-Br-phenyl	H	4-Cl-phenyl	H	1.78 ± 0.19
145j	3,4-Cl-phenyl	H	4-Cl-phenyl	H	1.03 ± 0.10
145k	3,4-Cl-phenyl	H	3,4-OCH ₃ -phenyl	H	0.698 ± 0.116
145l	3,4-F-phenyl	H	3,4-OCH ₃ -phenyl	H	1.10 ± 0.20
145m	3,4-Cl-phenyl	H	1-naphthyl	H	1.32 ± 0.23

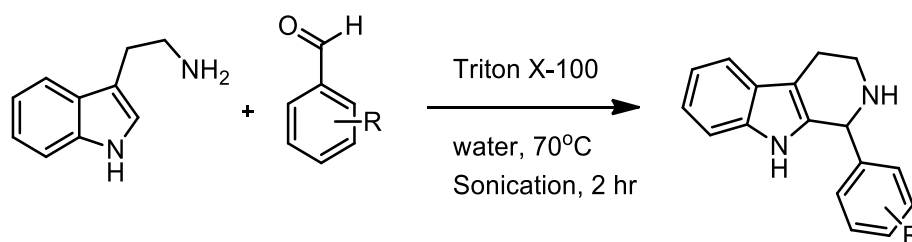
สาร	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	IC ₅₀ ± SD [μM]
145n	3,4-Cl-phenyl	H	4-OCH ₃ -phenyl	H	0.233 ± 0.044
145o	3,4-Cl-phenyl	H	3-OCH ₃ -phenyl	H	0.238 ± 0.044
145p	3,4-Cl-phenyl	OCH ₃	phenyl	H	0.382 ± 0.077
145q	3,4-Cl-phenyl	H	3-OCH ₃ -phenyl	ethyl	>> 10
Ko143					0.221 ± 0.024

ถัดมาในปี 2013 Wang, Q. และคณะ [41] ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 4-iodomethyl substituted tetrahydro-β-carboline (ภาพที่ 22) โดยนำอนุพันธ์ของ olefin ทำปฏิกิริยากับ alkyne ต่างๆ ผ่านปฏิกิริยา I₂-promoted cascade electrophilic cyclization ซึ่งอนุพันธ์ของ 4-iodomethyl substituted tetrahydro-β-carboline ที่ได้มีร้อยละผลผลิตสูงถึง 90%



ภาพที่ 22 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ 4-iodomethyl substituted tetrahydro-β-carboline โดย Wang, Q. และคณะ

ในปี 2016 Reddy, S. C. และคณะ [42] สังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro-β-carboline (ภาพที่ 23) โดยนำ tryptamine ทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ต่างๆของแอลดีไฮด์ผ่านปฏิกิริยา Pictet-Spengler โดยมี Triton X-100 (non-ionic surfactant) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาผ่านวิธีอัลตราโซนิก (ultrasonic irradiation) การพัฒนาการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro-β-carboline โดยวิธีนี้เป็นวิธีการสังเคราะห์ที่สะอาดและให้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณสูง



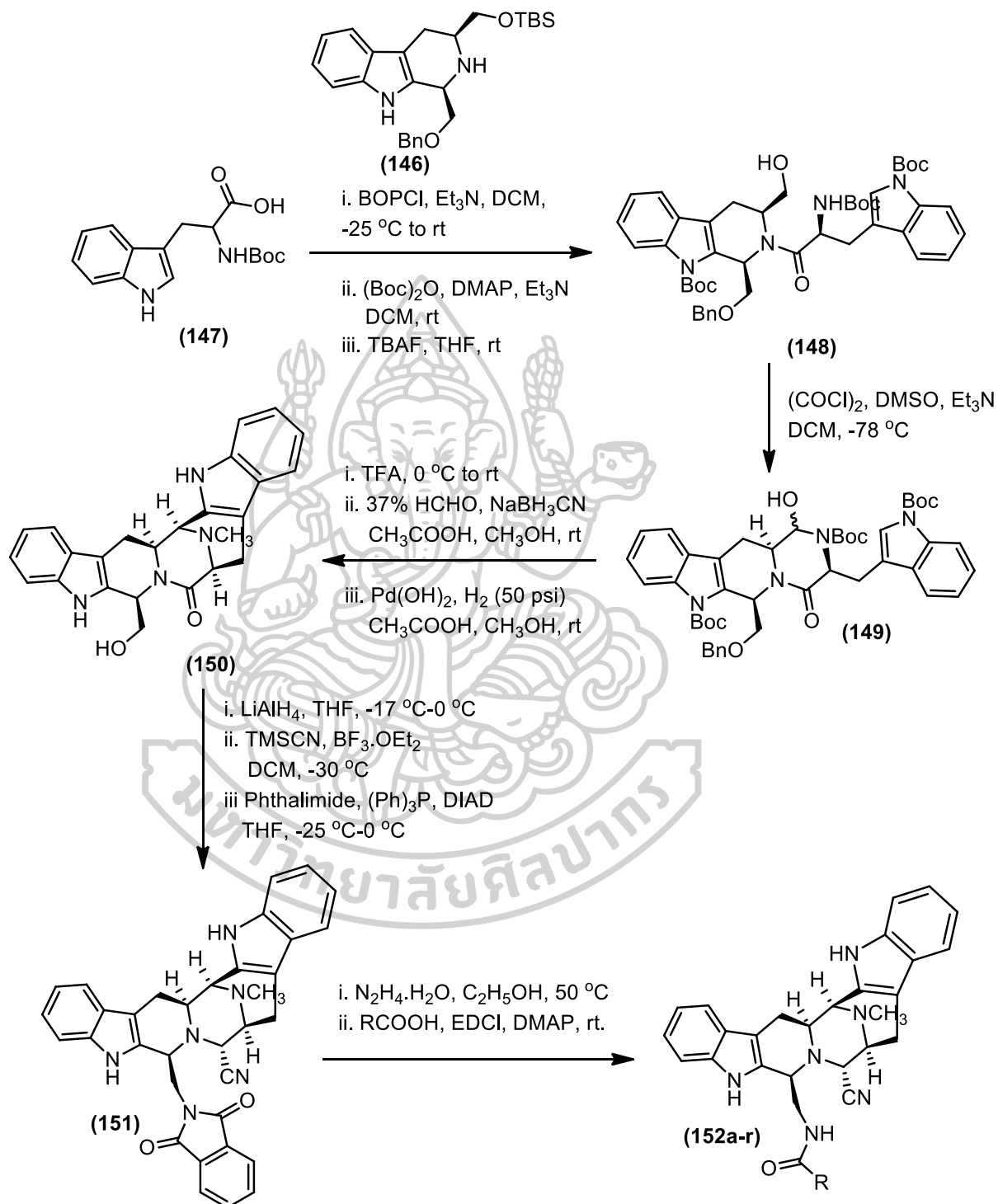
ภาพที่ 23 แสดงการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro-β-carboline ผ่านวิธีอัลตราโซนิก

ตารางที่ 9 แสดงการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline ผ่านวิธีอัลตราโซนิก

สาร	หมู่แทนที่	เวลา (ชั่วโมง)	ผลิถภัณฑ์ (%)	สาร	หมู่แทนที่	เวลา (ชั่วโมง)	ผลิถภัณฑ์ (%)
a	(4-Cl)Ph	2	92	j	(4-OH)(3-OMe)Ph	3	85
b	(4-Me)Ph	2	86	k	(4-Piperidiny)Ph	2	92
c	(4-NO ₂)Ph	4	94	l	2-Furyl	2	95
d	(4-OMe)Ph	2	89	m	2-Thiophenyl	2.5	85
e	(4-OH)Ph	2	88	n	2-Pyrrolyl	2	90
f	(4-N(CH ₃) ₂)Ph	3	84	o	4-Pyridinyl	2	93
g	(4-F)Ph	2	89	p	(2-Methyl)-4-Pyridinal	3	87
h	(2-Br)Ph	3	86	q	5-Indolyl	2	92
i	(2-OH)Ph	3	82	r	1,3-benzo[d]dioxole-5-yl	2	88

และในปี 2017 Lu, X. และคณะ [43] ทำการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ bistetrahydrocarboline (ภาพที่ 24) โดยทำปฏิกิริยา coupling ระหว่าง 1,3-*cis*-1,2,3,4-tetrahydrocarboline (146) และ *N*-Boc tryptophan (147) ตามด้วยปฏิกิริยา *N*-protection ที่หมู่ไนโตรเจนภายในวงอินโดลด้วย Boc₂O และทำการกำจัดหมู่ TBS ether ด้วย TBAF ทำให้ได้สารประกอบหมายเลข (148) ต่อมาทำปฏิกิริยา Swern oxidation เปลี่ยน alcohol ให้เป็น aldehyde แล้วเกิดการปัดวงกับ *N*-Boc ให้ hemiaminal (149) จากนั้นทำปฏิกิริยา intramolecular Pictet-Spengler cyclization ด้วย CF₃CO₂H ที่อุณหภูมิห้อง ตามด้วยทำปฏิกิริยา Reductive methylation และ catalytic hydrogenation ที่หมู่ O-benzyl ได้เป็น lactam (150) เมื่อนำสารประกอบหมายเลข (150) ทำปฏิกิริยา reduction ด้วย LiAlH₄ ในตัวทำละลาย THF และนำมาทำปฏิกิริยากับ TMSCN และ BF₃·Et₂O ในตัวทำละลาย methylene chloride เกิดเป็น heptacyclic amino nitrile จากนั้นทำปฏิกิริยา Mitsunobu reaction ได้ phthalimide (151) และจากนั้นทำการเปลี่ยนหมู่ phthalimide ให้เป็น amine ด้วย N₂H₄·H₂O และสุดท้ายทำปฏิกิริยา acylation กับกรดต่างๆได้เป็นอนุพันธ์ของ bistetrahydrocarboline และเมื่อนำอนุพันธ์ที่ได้ไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) กับ cell line ของมนุษย์ทั้งหกชนิดด้วยวิธี MTT assay โดย bistetrahydrocarboline ที่ปลายสายเป็น 2-pyridine amide และ

phthalimide (151) แสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง cell line ในมนุษย์ได้ทั้งหกชนิด โดยมีค่า IC_{50} อยู่ใน
ระดับ 10^{-8} M



ภาพที่ 24 แผนการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ bistetrahydrocarboline โดย Lu, X. และคณะ

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.1.1 เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance 300 MHz: Bruker 300
- 3.1.2 เครื่อง Stuart SMP2 melting point apparatus
- 3.1.3 เครื่อง UV-visible spectrometer: ELISA Microplate Reader
- 3.1.4 เครื่อง Mass spectrometer
- 3.1.5 เครื่อง Rotary evaporator: Buchi Rotavapor R-114
- 3.1.6 เครื่อง Vacuum pump: Tokyo Rikakikai Co., Ltd. model A-3S
- 3.1.7 เครื่องชั่งละเอียด (เทคนิค 4 ตำแหน่ง): Mettler Toledo model AB204
- 3.1.8 เครื่อง Hotplate and stirrer: Heidolph MR 3001
- 3.1.9 เครื่อง Ultrasonic Bath : Elmasonic S 30 H
- 3.1.10 Micropipette: Finnpiette, HH10711 ขนาด 1-10 μL , 20-200 μL และ 100-1000 μL
- 3.1.11 อุปกรณ์สำหรับเตรียมแผ่น preparative TLC: Desaga Brinkmann
- 3.1.12 TLC Silica gel 60 F₂₅₄ aluminium sheet, Merck
- 3.1.13 คอลัมน์
- 3.1.14 กระดาษกรอง: Advantec ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 110 mm และ 70 mm
- 3.1.15 เครื่องแก้วพื้นฐาน
- 3.1.16 ชุดกรองแบบลดความดัน
- 3.1.17 Parafilm
- 3.1.18 หลอด และเข็มฉีดยา
- 3.1.19 แม่เหล็ก
- 3.1.20 Clamp และ Clamp Holder
- 3.1.21 ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์และเชื้อ (CO₂ Incubator)
- 3.1.22 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow Cabinet)
- 3.1.23 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Automatic Autoclave)
- 3.1.24 96-well microplate
- 3.1.25 จานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)

3.2 สารเคมีที่ใช้

- 3.2.1 Acetic anhydride (BDH Analar)
- 3.2.2 Acetone (AR) (BDH Analar)
- 3.2.3 Acetonitrile (Riedel-de Haen)
- 3.2.4 Acetyl bromide (Fluka)
- 3.2.5 Aluminium chloride (Riedel-de Haen)
- 3.2.6 Ammonium acetate (Fluka)
- 3.2.7 Ammonium solution (Carlo erba)
- 3.2.8 Amphotericin B (Sigma-aldrich)
- 3.2.9 Argon gas (Masser Specialty Gas Co., Ltd.)
- 3.2.10 Benzaldehyde (Sigma-aldrich)
- 3.2.11 1-Bromooctane (Fluka)
- 3.2.12 1-Bromopentane (Aldrich)
- 3.2.13 Benzene (AR) (Merck)
- 3.2.14 Benzoyl Chloride (Fluka)
- 3.2.15 Benzyl chloride (Fluka)
- 3.2.16 Bromine
- 3.2.17 Bromoethane (May & Baker)
- 3.2.18 *N*-Bromosuccinamide (Sigma-aldrich)
- 3.2.19 2-chlorobenzyl chloride (Fluka)
- 3.2.20 Celite (Fluka)
- 3.2.21 Chloroform-d contains 1% v/v of TMS (Sigma-Aldrich)
- 3.2.22 Cinnamaldehyde (Fluka)
- 3.2.23 Crotyl chloride (Fluka)
- 3.2.24 1,2-Dichloroethane (QReC)
- 3.2.25 3-(3,5-Dimethylthiazol-2,5-diphenyltetra-zolium bromide) (MTT)
- 3.2.26 3,4-Dihydroxy benzaldehyde (Fluka)
- 3.2.27 3,4-Dimethoxybenzaldehyde (Fluka)
- 3.2.28 4-Dimethylaminopyridine (Merck)
- 3.2.29 Dichloromethane (distillation)

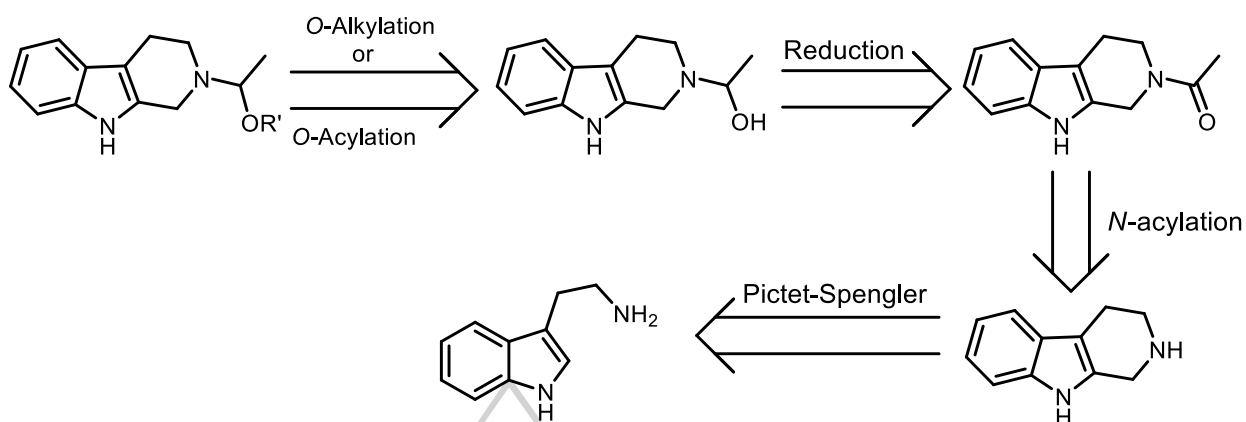
- 3.2.30 Diethyl ether (Labscan)
- 3.2.31 Dimethyl sulfoxide (BDH VWR Analytical)
- 3.2.32 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)
- 3.2.33 *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimide
- 3.2.34 *N,N*-Dimethylformamide (Merck)
- 3.2.35 Ethylacetate (distillation)
- 3.2.36 Ethyl bromoacetate
- 3.2.37 10% Fetal bovine serum
- 3.2.38 2-Furaldehyde (Fluka)
- 3.2.39 2-Furoyl chloride (Fluka)
- 3.2.40 37% Formaldehyde
- 3.2.41 Furfuryl alcohol (Fluka)
- 3.2.42 paraformaldehyde
- 3.2.43 Glacial acetic acid (Lab scan)
- 3.2.44 3-Hydroxybenzoic acid (Fluka)
- 3.2.45 4-Hydroxybenzoic acid (Fluka)
- 3.2.46 Hexane (distillation)
- 3.2.47 Hydrochloric acid (Lab-scan)
- 3.2.48 Hydrogen gas (Masser Specialty Gas Co., Ltd.)
- 3.2.49 Indole-3-acetic acid (Fluka)
- 3.2.50 Lithium aluminium hydride
- 3.2.51 3-Methoxybenzaldehyde (Fluka)
- 3.2.52 2-Methoxybenzaldehyde (Fluka)
- 3.2.53 5-Methoxy-2-nitrobenzoic acid (Acros)
- 3.2.54 5-Methoxytryptamine (Sigma-aldrich)
- 3.2.55 Methanol (distillation)
- 3.2.56 Methanol-d (Sigma-Aldrich)
- 3.2.57 Molecular sieve 3 Å
- 3.2.58 Molecular sieve 4 Å
- 3.2.59 Methyl indole-6-carboxylate (Fluka)
- 3.2.60 2-Nitro-benzoylchloride (Fluka)

- 3.2.61 4-Nitrobenzoyl chloride (BDH Analar)
- 3.2.62 Octanoyl chloride (Sigma-Aldrich)
- 3.2.63 10% Palladium on carbon (BDH Analar)
- 3.2.64 Phosphorous oxychloride (Fluka)
- 3.2.65 Potassium carbonate (Riedel-de Haen)
- 3.2.66 Potato Dextrose Agar (PDA)
- 3.2.67 Propionyl chloride (Fluka)
- 3.2.68 Sabouraud dextrose agar
- 3.2.69 Silica gel 60 (0.063-0.200 mm) สำหรับ column chromatography (Merck)
- 3.2.70 Silica gel 60 F254 containing gypsum สำหรับ preparative thin layer chromatography (Merck)
- 3.2.71 Sodium bicarbonate (Riedel-de Haen)
- 3.2.72 Sodium borohydride (Fluka)
- 3.2.73 Sodium hydroxide (Fluka)
- 3.2.74 Sodium sulfate anhydrous (Sigma-Aldrich)
- 3.2.75 Sulfuric acid (Carlo-erba)
- 3.2.76 Tetrahydrofuran (A.R.) (Lab-scan)
- 3.2.77 *p*-Toluenesulfonic acid (Carlo erba)
- 3.2.78 Triethylamine (Fluka)
- 3.2.79 Trifluoroacetic acid (Riedel-de Haen)
- 3.2.80 Tryptamine (Aldrich)
- 3.2.81 Tryptophane (Sigma-aldrich)
- 3.2.82 Xylene (Carlo Erba)
- 3.2.83 *p*-Xylene (BDH Analar)
- 3.2.84 ข้าวเปลือกพันธุ์ กข.49 (LOT NO. 590/60)

3.3 วิธีการทดลอง

ในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro- β -carboline จะเริ่มสังเคราะห์จาก tryptamine (1) โดยมีปฏิกิริยาที่สำคัญ คือ Pictet-Spengler reaction ผู้วิจัยได้เสนอแนวทางการสังเคราะห์ดังต่อไปนี้

3.3.1 การสังเคราะห์วิธีที่ 1 ของ Tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์

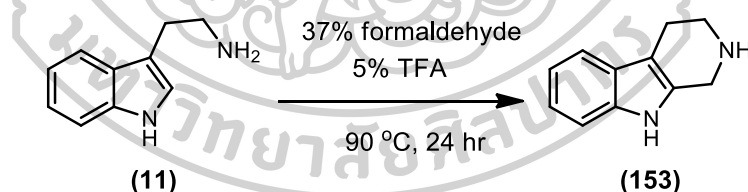


ภาพที่ 25 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline แผนการสังเคราะห์ที่ 1

นำ tryptamine ทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับ paraformaldehyde ในสภาวะกรด จากนั้นนำ tetrahydro-β-carboline ทำปฏิกิริยา N-acylation ตามด้วยปฏิกิริยา reduction เพื่อเปลี่ยนหมู่คาร์บอนิลให้เป็นแอลกอฮอล์ และนำไปทำปฏิกิริยา O-Alkylation หรือ O-Acylation กับ alkyl halide หรือ acyloyl halide ในสภาวะต่างๆ

การสังเคราะห์ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (153)

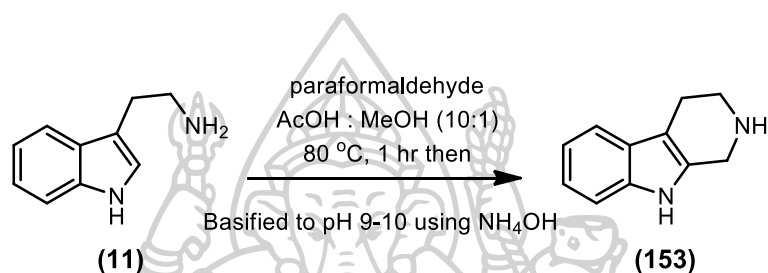
วิธีที่ 1



นำ tryptamine (11) (0.10 g, 0.62 mmol) ผสมกับ 5% trifluoroacetic acid ที่ละลายใน acetonitrile (10 mL) กวนของผสมและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 °C จากนั้นค่อยๆเติม 37% formaldehyde (0.02 mL, 0.62 mmol) ที่ละลายใน acetonitrile (2.50 mL) เป็นเวลา 30 นาที และทำการให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ต่อมาทำการสกัดด้วย ethyl acetate (50 mL) และนำชั้น organic phase มาสกัดด้วยสารละลายอิ่มตัว sodium bicarbonate (2x50 mL) ตามด้วยสกัดกับน้ำเกลือ (50 mL) ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel,

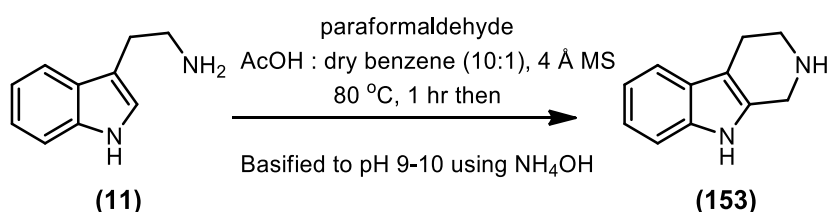
10% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.030 g, 24% yield); m.p. 185.9-187.5 °C (lit. 199-221 °C) [44]; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.75 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.18 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 4.01 (s, 2H), 7.09 (dt, *J* = 1.1, 7.1 Hz, 1H), 7.14 (dt, *J* = 1.3, 7.1 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.86 (br, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 22.5 (CH₂), 43.2 (CH₂), 43.9 (CH₂), 108.7 (C), 110.7 (CH), 117.9 (CH), 119.4 (CH), 121.5 (CH), 127.6 (C), 132.7 (C), 135.6 (C); ESI-MS [45] [M+H]⁺: 173.

วิธีที่ 2



นำ tryptamine (**11**) (0.22 g, 1.4 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ค่อยๆเติม paraformaldehyde (0.042 g, 1.4 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้อง และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 9-10 ทำการสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 10% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.22 g, 91% yield).

วิธีที่ 3

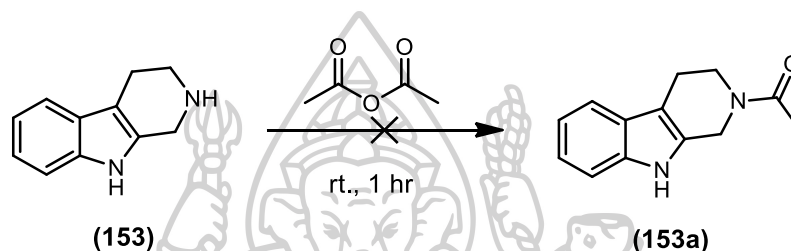


นำ tryptamine (**11**) (0.22 g, 1.4 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:dry benzene (10:1) ในขวดก้นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม paraformaldehyde (0.042 g, 1.4 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้อง

และทำการเติมสารละลาย 30% NH_4OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH_2Cl_2 ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 10% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.20 g, 86% yield).

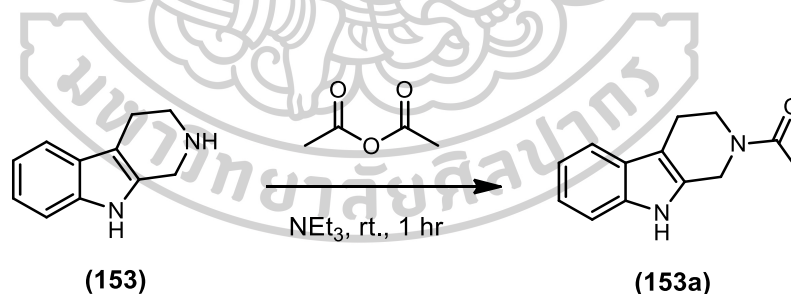
การสังเคราะห์ 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (**153a**)

วิธีที่ 1



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (1.0 g, 6.2 mmol) ละลายใน dry MeOH (20 mL) จากนั้นเติม acetic anhydride (1.00 mL, 10 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นสกัดด้วย CH_2Cl_2 ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ จากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

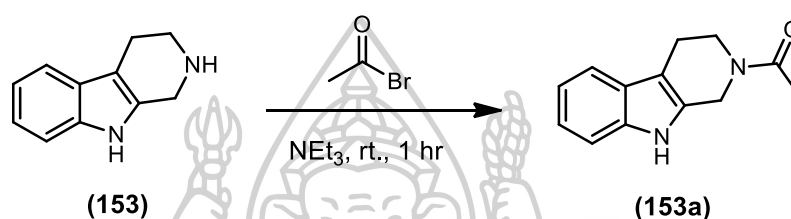
วิธีที่ 2



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (0.12 g, 0.67 mmol) ละลายใน dry MeOH (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.09 mL, 0.67 mmol) ตามด้วยทำการเติม acetic anhydride (0.32 mL, 1.3 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองตะกอนที่ได้ให้ 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (**153a**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.039 g, 27% yield); m.p. 217.2-218.3 °C (lit. 237-238 °C) [19]; rotamers 1/3 (from the duplicated triplet signal (^1H) at 3.83 and 3.92 ppm); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOD) δ (major rotamer) 2.23 (s, 3H), 2.84 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.83 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 4.75 (s, 2H), 6.98 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.02-7.10 (m, 1H), 7.29 (dd, $J = 4.0, 7.9$ Hz, 1H),

7.40 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 2.20 (s, 3H), 2.76 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.92 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 4.72 (s, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, MeOD) δ (*major rotamers*) 21.4 (CH₃), 22.7 (CH₂), 41.4 (CH₂), 46.1 (CH₂), 108.2 (C), 111.9 (CH), 118.5 (CH), 119.8 (CH), 122.2 (CH), 128.2 (C), 131.4 (C), 138.0 (C), 172.4 (C); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 21.9 (CH₃), 21.9 (CH₂), 45.4 (CH₂), 109.1 (C), 118.6 (CH), 119.9 (CH), 122.4 (CH), 130.8 (CH), 172.5 (C); ESI-MS [19] [M+H]⁺: 215.5.

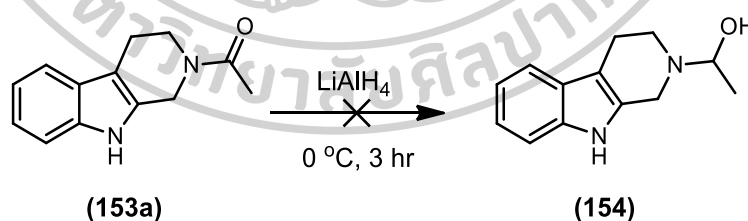
วิธีที่ 3



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (153) (0.15 g, 0.88 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (10 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.24 mL, 0.88 mmol) ตามด้วยทำการเติม acetyl bromide (0.13 mL, 1.8 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองตะกอนที่ได้ให้ 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (153a) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.079 g, 42% yield).

การพยายามสังเคราะห์ 1-(3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)ethanol (154)

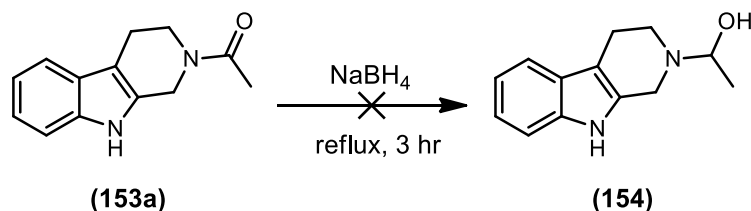
วิธีที่ 1



นำ 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (153a) (0.041g, 0.19 mmol) ในขวดก้นกลมขนาด 25 ml ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (Ar) เติม dry THF (5 mL) ลงไป กวนที่อุณหภูมิ 0 °C จากนั้นค่อยๆเติม LiAlH₄ (0.036 g, 0.96 mmol) ตั้งต่อเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายอิมิตัว sodium hydrogen carbonate (sat. NaHCO₃) ปริมาตร 10 ml จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ (3x20 ml) จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดัน

บรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 4:1 Hexane:EtOAc) พบว่าสารเกิดการสลายตัว

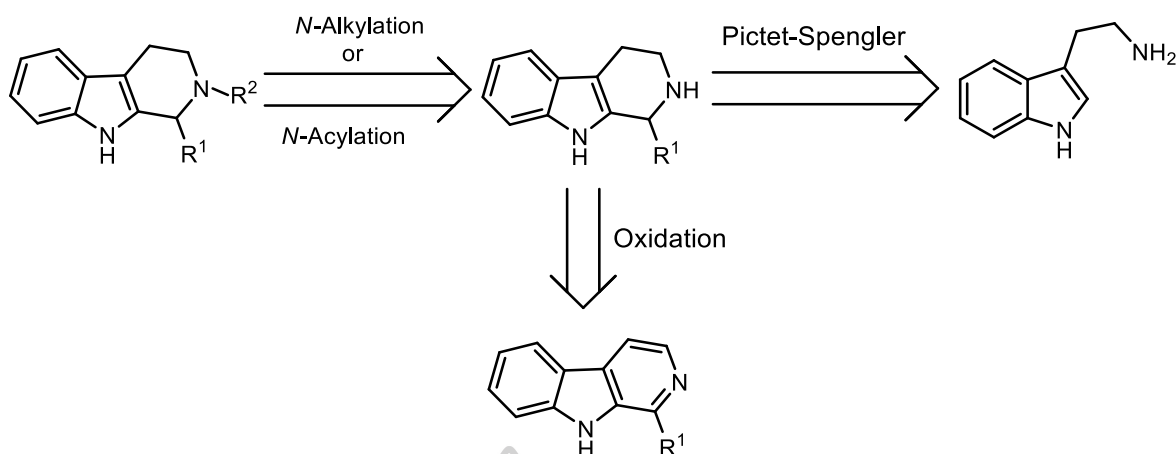
วิธีที่ 2



นำ 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (**153a**) (0.12 g, 0.54 mmol) ในขวดก้นกลมขนาด 25 mL ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (Ar) เติม dry THF (1 mL) จากนั้นค่อยๆเติม NaBH₄ (0.082 g, 2.2 mmol) ให้ความร้อนแล้วตั้งต่อเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการกรองผ่าน celite pad ล้างด้วย diethyl ether จากนั้นนำชั้น organic phase ไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 4:1 Hexane:EtOAc) พบว่าจากข้อมูล ¹H-NMR ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

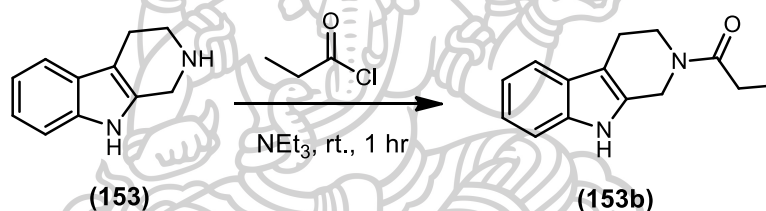
3.3.2 การสังเคราะห์วิธีที่ 2 ของ Tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์

จากการสังเคราะห์ Tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ในแผนการที่ 1 นั้นไม่ประสบความสำเร็จ เพราะ 1-(3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)ethanol (**154**) เกิดการสลายตัว ทำให้ผู้วิจัยเปลี่ยนแนวทางในการสังเคราะห์ ซึ่งผู้วิจัยจะนำ Tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler ระหว่าง tryptamine (**11**) กับแอลดีไฮด์ต่างๆ ในสภาวะกรด ไปทำปฏิกิริยา *N*-alkylation หรือ *N*-acylation และ oxidation เพื่อให้ได้อนุพันธ์ของ Tetrahydro- β -carboline และ β -carboline ตามลำดับ



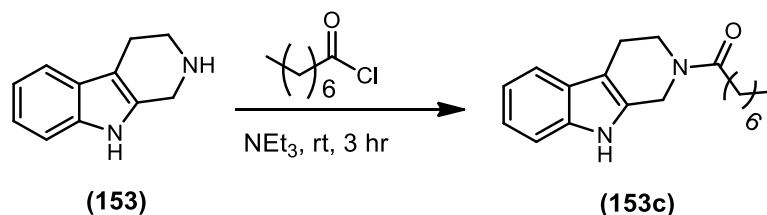
ภาพที่ 26 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline แผนการสังเคราะห์ที่ 2

การสังเคราะห์ 1-(3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)propan-1-one (153b)



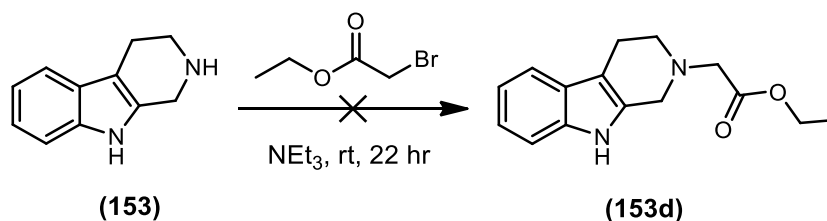
นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (153) (0.15 g, 0.87 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (10 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.18 mL, 1.3 mmol) ตามด้วยทำการเติม propionyl chloride (0.05 mL, 0.52 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองตะกอนที่ได้ให้ 1-(3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)propan-1-one (153b) เป็นของแข็งสีน้ำตาล (0.16 g, 78% yield); m.p. 203.7-204.1 °C (lit. 204-206 °C) [46]; rotamers 1/4 (from the duplicated triplet signal (¹H) at 3.79 and 3.97 ppm); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) (*major rotamer*) δ 1.24 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 2.51 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.86 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.79 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.82 (s, 2H), 7.09 (dt, *J* = 0.9, 7.6 Hz, 1H), 7.15 (dt, *J* = 1.5, 7.6 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 8.35 (br, 0.6H); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 2.43 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.81 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.97 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.66 (s, 2H), 7.95 (br, 0.4H); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) (*major rotamer*) δ 9.6 (CH₃), 22.0 (CH₂), 26.8 (CH₂), 40.5 (CH₂), 43.8 (CH₂), 107.8 (C), 111.0 (CH), 117.8 (CH), 119.5 (CH), 121.7 (CH), 126.8 (C), 130.6 (C), 136.2 (C), 173.2 (C); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 40.1 (CH₂), 43.0 (CH₂); HRESI-MS: calcd for C₁₄H₁₆N₂O [M+H]⁺: 229.1335, found: 229.1335.

การสังเคราะห์ 1-(3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)octan-1-one (153c)



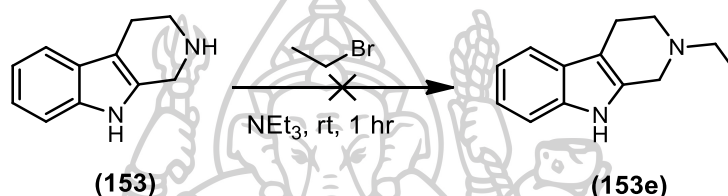
นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (153) (0.11 g, 0.62 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.13 mL, 0.93 mmol) ตามด้วยทำการเติม octanoyl chloride (0.21 mL, 1.2 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ 1-(3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)octan-1-one (153c) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.12 g, 41% yield); m.p. 149.9-150.0 °C; rotamers 1/3 (from the duplicated triplet signal (^1H) at 3.80 and 3.97 ppm); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) (*major rotamer*) δ 0.87 (t, $J = 1.5$ Hz, 3H), 1.20-1.50 (m, 10H), 2.48 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.86 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.80 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 4.82 (s, 2H), 7.09 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.16 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 8.40 (br, NH); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 2.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.97 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 4.67 (s, 2H), 7.94 (br, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) (*major rotamer*) δ 14.1 (CH_3), 22.1 (CH_2), 25.5 (CH_2), 29.2 (CH_2), 29.5 (2 CH_2), 31.7 (CH_2), 33.7 (CH_2), 40.5 (CH_2), 44.0 (CH_2), 111.0 (CH), 117.8 (CH), 119.5 (CH), 121.7 (CH), 127.0 (C), 129.0 (C), 130.7 (C), 136.2 (C), 172.5 (C); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 22.6 (CH_2), 43.6 (CH_2), 118.3 (CH), 119.8 (CH), 122.1 (CH); HRESI-MS: calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 299.2118, found: 299.2116.

การพยายามสังเคราะห์ ethyl 2-(3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)acetate (153d)



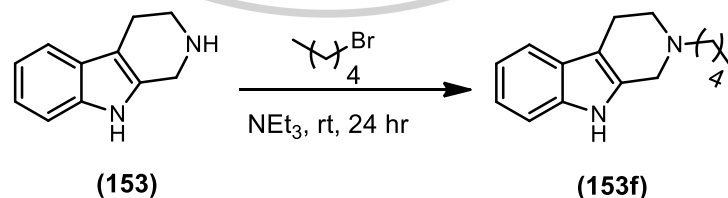
นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.12 g, 0.70 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.15 mL, 1.1 mmol) ตามด้วยเติม ethyl bromoacetate (0.15 mL, 1.4 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 22 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) พบว่าสารเกิดการสลายตัวขณะทำให้บริสุทธิ์

การพยายามสังเคราะห์ 2-ethyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153e**)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.12 g, 0.69 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.19 mL, 1.4 mmol) ตามด้วยทำการเติม bromoethane (0.16 mL, 2.1 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) พบว่าสารเกิดการสลายตัวขณะทำให้บริสุทธิ์

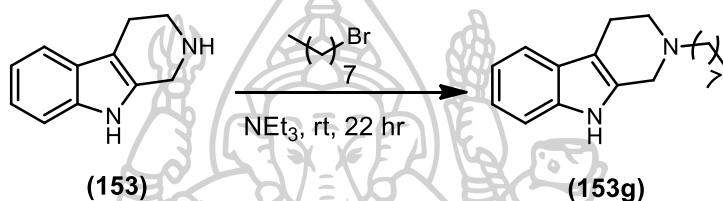
การสังเคราะห์ 2-pentyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153f**)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.12 g, 0.67 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.19 mL, 1.3 mmol) ตามด้วยทำการเติม 1-bromopentane (0.25 mL, 2.0 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 2-pentyl-

2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153f**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.091, 57% yield); m.p. 110.9-112.6 °C (lit. 119-120 °C) [47]; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.92 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.30-1.50 (m, 4H), 1.55-1.67 (m, 2H), 2.56-2.63 (m, 2H), 2.75-2.92 (m, 4H), 3.69 (s, 2H), 7.07 (dt, *J* = 1.4, 7.0 Hz, 1H), 7.12 (dt, *J* = 1.4, 7.0 Hz, 1H), 7.26-7.33 (m, 1H), 7.46 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.69 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 12.1 (CH₃), 19.4 (CH₂), 20.7 (CH₂), 25.3 (CH₂), 27.8 (CH₂), 48.6 (CH₂), 49.2 (CH₂), 56.0 (CH₂), 106.7 (C), 108.6 (CH), 116.0 (CH), 117.3 (CH), 119.3 (CH), 130.0 (C), 134.1 (C); ESI-MS [47] [M+H]⁺: 243.0.

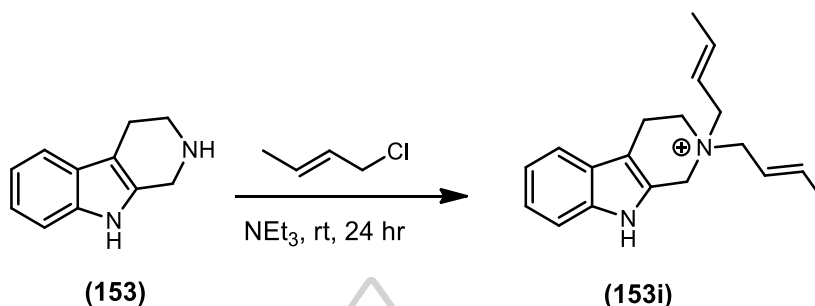
การสังเคราะห์ 2-octyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153g**)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.17 g, 0.99 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.28 mL, 1.9 mmol) ตามด้วยทำการเติม 1-bromooctane (0.34 mL, 2.9 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 22 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 2-octyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153g**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.039, 15% yield); m.p. 105.3-106.7 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.89 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H), 1.23-1.37 (m, 10H), 1.61, (qui, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.50-2.60 (m, 2H), 2.79-2.90 (m, 4H), 3.67 (s, 2H), 7.06 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.13 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.28 (dd, *J* = 1.4, 6.5 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* = 1.4, 6.5 Hz, 1H), 7.79 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) 14.1 (CH₃), 21.3 (CH₂), 22.7 (CH₂), 27.5 (CH₂), 27.6 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.6 (CH₂), 31.9 (CH₂), 50.5 (CH₂), 51.1 (CH₂), 57.9 (CH₂), 108.6 (C), 110.6 (CH), 117.9 (CH), 119.3 (CH), 121.3 (CH), 127.3 (CH), 131.9 (C), 136.1 (C); HRESI-MS: calcd for C₁₉H₂₈N₂ [M+H]⁺ : 285.2325, found: 285.2320.

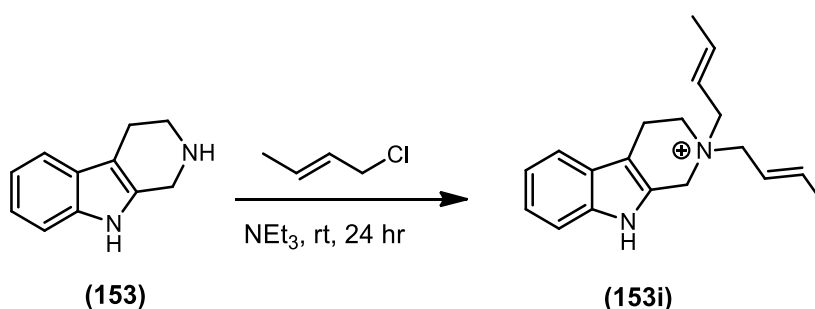
การสังเคราะห์ (E)-2-(but-2-en-1-yl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (153h)

วิธีที่ 1



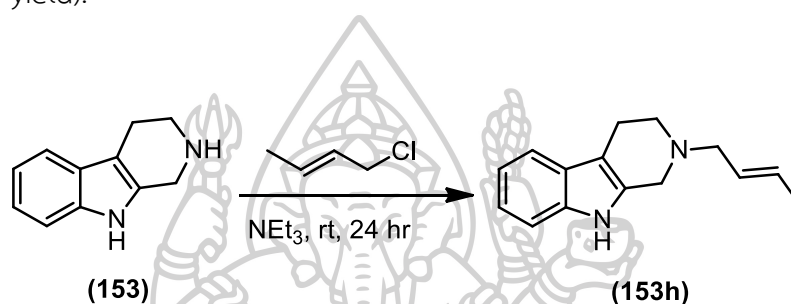
นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.13 g, 0.72 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.20 mL, 1.4 mmol) ตามด้วยทำการเติม crotyl chloride (0.21 mL, 2.2 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำขึ้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ 2,2-di((*E*)-but-2-en-1-yl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2-ium (**153i**) เป็นของหนืดสีน้ำตาล (0.039, 24% yield); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.79 (d, $J = 6.2$ Hz, 6H), 2.60-2.73 (m, 2H), 3.57 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.71-3.94 (m, 4H), 4.73 (s, 2H), 5.50 (dt, $J = 6.5, 15.1$ Hz, 2H), 6.04 (qd, $J = 6.7, 15.0$ Hz, 2H), 7.04, (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.12 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 11.62 (br, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 17.4 (CH_2), 18.5 (2 CH_3), 55.6 (CH_2), 55.7 (CH_2), 60.1 (2 CH_2), 103.1 (C), 112.2 (CH), 116.7 (2CH), 118.0 (CH), 119.4 (CH), 122.3 (CH), 124.4 (C), 125.4 (C), 136.8 (C), 141.9 (2CH); HRESI-MS: calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2^+$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 281.2012, found: 281.2010.

วิธีที่ 2



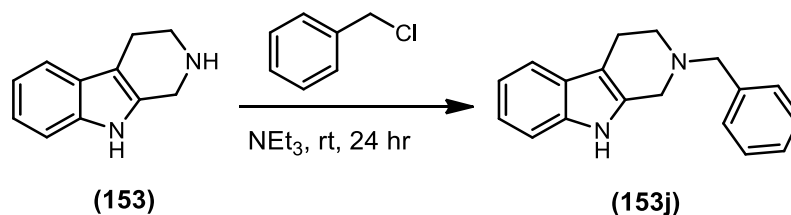
นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.0994 g, 0.058 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.01 mL, 0.081 mmol) ตามด้วยทำการเติม crotyl chloride (0.27 mL, 0.29 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 2,2-di(*E*-but-2-en-1-yl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2-ium (**153i**) เป็นของหนืดสีน้ำตาล (0.009, 55% yield).

วิธีที่ 3



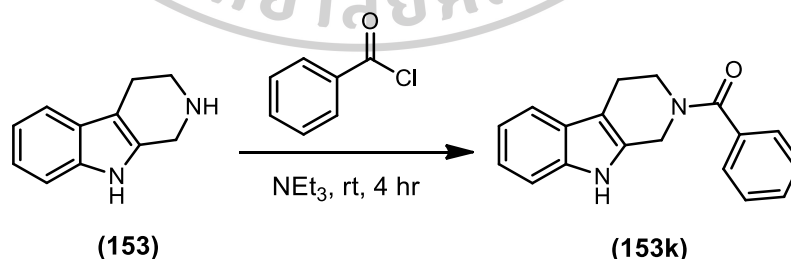
นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.31 g, 1.8 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.15 mL, 1.1 mmol) ตามด้วยทำการเติม crotyl chloride (0.26 mL, 2.7 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ (*E*)-2-(but-2-en-1-yl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153h**) เป็นของแข็งสีส้ม (0.098, 24% yield); m.p. 82.8-84.2 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.72 (d, *J* = 5.0 Hz, 3H), 2.83-2.90 (m, 4H), 3.15 (d, *J* = 5.0 Hz, 2H), 3.59 (s, 2H), 5.53-5.74 (m, 2H), 7.06 (dt, *J* = 1.4, 7.0 Hz, 1H), 7.11 (dt, *J* = 1.4, 7.0 Hz, 1H), 7.24 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.02 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 17.8 (CH₃), 21.1 (CH₂), 49.9 (CH₂), 50.5 (CH₂), 59.8 (CH₂), 108.3 (C), 110.7 (CH), 117.9 (CH), 119.3 (CH), 121.3 (CH), 126.8 (C), 127.2 (C), 127.5 (CH), 127.7 (CH), 129.6 (CH), 131.7 (C), 136.1 (C); HRESI-MS: calcd for C₁₅H₁₈N₂ [M+H]⁺ : 227.1543, found: 227.1543.

การสังเคราะห์ 2-benzyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (153j)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (0.050 g, 0.29 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.02 mL, 0.17 mmol) ตามด้วยทำการเติม benzyl chloride (0.05 mL, 0.44 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ 2-benzyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153j**) เป็นของหนืดสีเหลือง (0.012 g, 16% yield); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 2.83 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.93 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.66 (s, 2H), 3.78 (s, 2H), 7.07 (dt, $J = 1.3, 7.1$ Hz, 1H), 7.12 (dt, $J = 1.3, 7.1$ Hz, 1H), 7.27-7.44 (m, 6H), 7.47 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.66 (br, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 21.1 (CH_2), 50.2 (CH_2), 50.9 (CH_2), 61.9 (CH_2), 108.4 (C), 110.7 (CH), 117.9 (CH), 119.4 (CH), 121.4 (CH), 127.3 (CH), 128.4 (2CH), 129.2 (2CH), 131.7 (C), 136.0 (C), 138.2 (C); HREI-MS [46] [M]: 262.1456.

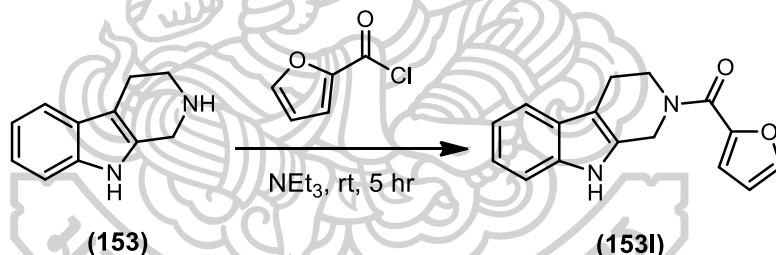
การสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanone (153k)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (0.12 g, 0.70 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.15 mL, 1.1 mmol) ตามด้วยทำการเติม benzoyl chloride (0.16 mL, 1.4 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate

anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไปประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ (3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(phenyl)methanone (**153k**) เป็นของหนืดสีเหลือง (0.093, 61% yield); rotamers 1/4 (from the duplicated singlet signal (¹H) at 4.46 and 4.89 ppm); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) (*major rotamer*) δ 2.88 (s, 2H), 3.66 (s, 2H), 4.89 (s, 2H), 7.00-7.13 (m, 2H), 7.18 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.31-7.61 (s, 6H), 8.95 (br, NH); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 4.07 (s, 2H), 4.46 (s, 2H), 8.34 (br, NH); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) (*major rotamer*) δ 22.1 (CH₂), 41.1 (CH₂), 46.1 (CH₂), 107.8 (C), 111.1 (CH), 117.8 (CH), 119.6 (CH), 121.8 (CH), 126.8 (C), 126.9 (2CH), 128.6 (2CH), 130.0 (C), 130.0 (CH), 136.0 (C), 136.3 (C), 171.6 (C); HRESI-MS C₁₈H₁₆N₂O [48] [M] : 276.1263.

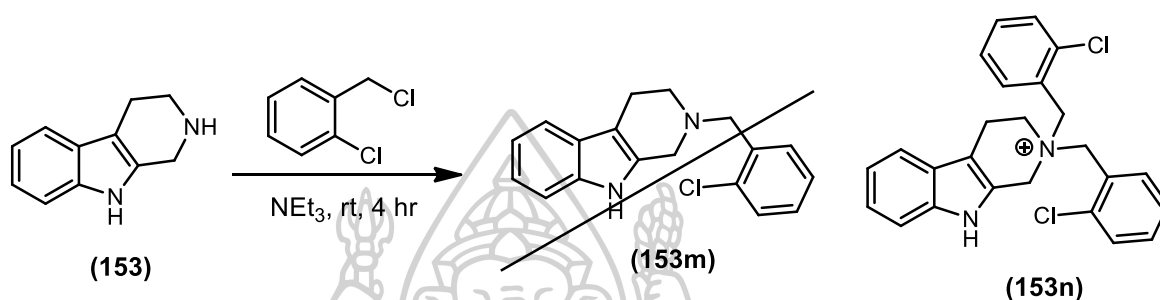
การสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(furan-2-yl)methanone (**153l**)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.092 g, 0.54 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.11 mL, 0.81 mmol) ตามด้วยทำการเติม 2-furoyl chloride (0.11 mL, 1.1 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไปประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ (3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(furan-2-yl)methanone (**153l**) เป็นของหนืดสีน้ำตาล (0.019, 13% yield); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.95 (s, 2H), 4.09 (br s, 2H), 4.92 (s, 2H), 6.51 (dd, *J* = 1.7, 3.4 Hz, 1H), 7.07 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 7.09 (dt, *J* = 1.3, 7.2 Hz, 1H), 7.15 (dt, *J* = 1.3, 7.4 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 8.40 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 20.4 (CH₂), 40.2 (CH₂), 43.5 (CH₂), 109.2

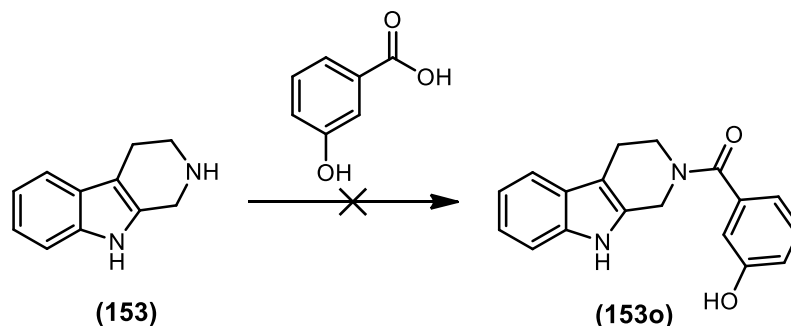
(CH), 109.6 (CH), 112.7 (C), 114.7 (CH), 116.0 (CH), 117.9 (CH), 120.1 (CH), 125.7 (C), 128.1 (C), 135.8 (C), 142.3 (CH), 146.1 (C), 158.4 (C); HRESI-MS: calcd for $C_{16}H_{14}N_2O_2$ $[M+H]^+$: 267.1128, found: 267.1128.

การพยายามสังเคราะห์ 2-(2-chlorobenzyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (153m)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (153) (0.17 g, 1.0 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.28 mL, 2.0 mmol) ตามด้วยทำการเติม 2-chlorobenzyl chloride (0.20 mL, 3.0 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH: CH_2Cl_2) จะได้ 2,2-bis(2-chlorobenzyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2-ium (153n) เป็นของแข็งสีส้ม (0.14, 12% yield); m.p. 125.7-127.0 °C; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 3.34 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.99 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 4.77 (d, J = 13.1 Hz, 2H), 5.21 (s, 2H), 5.24 (d, J = 13.1 Hz, 2H), 7.11 (dt, J = 1.0, 8.0 Hz, 1H), 7.21 (dt, J = 1.0, 8.0 Hz, 1H), 7.48-7.57 (m, 8H), 7.85-7.90 (m, 2H), 11.15 (br, NH); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 18.3 (CH_2), 53.2 (CH_2), 57.4 (CH_2), 60.6 ($2CH_2$), 102.3 (C), 112.7 (CH), 117.8 (CH), 120.1 (CH), 123.0 (CH), 124.0 (C), 124.4 (3C), 125.0 (C), 128.9 (2CH), 130.8 (2CH), 132.9 (2CH), 136.6 (2CH), 137.1 (2C); HRESI-MS: calcd for $C_{18}H_{17}N_2Cl$ $[M+H]^+$: 297.1154, found: 297.1044.

การพยายามสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(3-hydroxyphenyl) methanone (153o)



วิธีที่ 1

นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (0.10 g, 0.60 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.13 mL, 0.90 mmol) ตามด้วยทำการเติม 3-hydroxybenzoic acid (0.12 g, 0.90 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ จากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

วิธีที่ 2

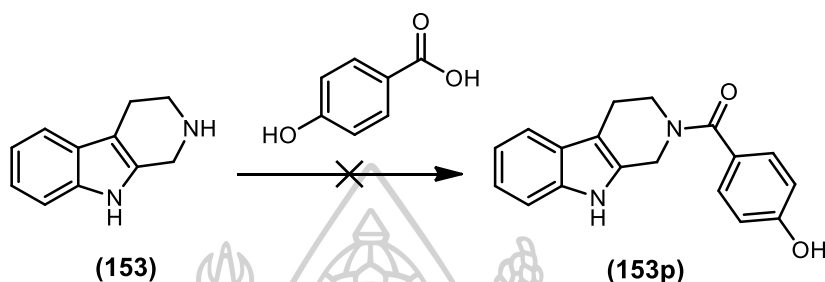
นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (0.092 g, 0.53 mmol) ละลายในตัวทำละลาย CH_2Cl_2 10 mL ทำการเติม DMAP (0.084 g, 0.69 mmol) จากนั้นเติม 3-hydroxybenzoic acid (0.080 g, 0.53 mmol) ต่อมาเติม DCC (0.14 g, 0.69 mmol) ที่อุณหภูมิห้อง ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลายออก สกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ จากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

วิธีที่ 3

ละลาย 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (0.17 g, 0.97 mmol) และ 3-hydroxybenzoic acid (0.14 g, 1.1 mmol) ในตัวทำละลาย xylene 10 mL กวนสารละลายเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการเติม POCl_3 (0.07 mL, 0.74 mmol) และ DMAP (0.019 g, 0.097 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 140°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลายออก เติม sat. NaHCO_3 10 mL สกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium

sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำจากข้อมูล ¹H-NMR ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

การพยายามสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(4-hydroxyphenyl)methanone (153p)



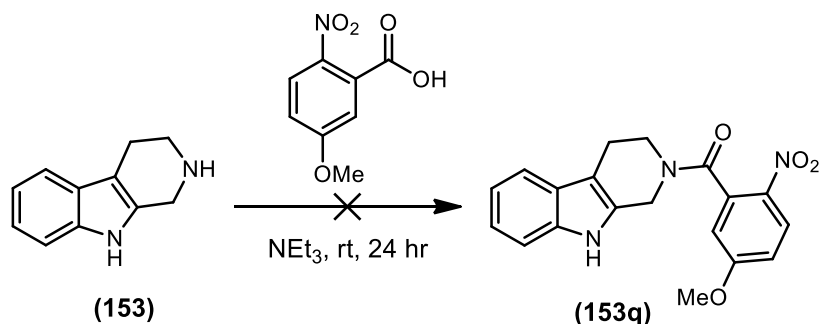
วิธีที่ 1

นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (0.19 g, 1.1 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.24 mL, 1.7 mmol) ตามด้วยทำการเติม 4-hydroxybenzoic acid (0.15 g, 1.1 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ จากข้อมูล ¹H-NMR ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

วิธีที่ 2

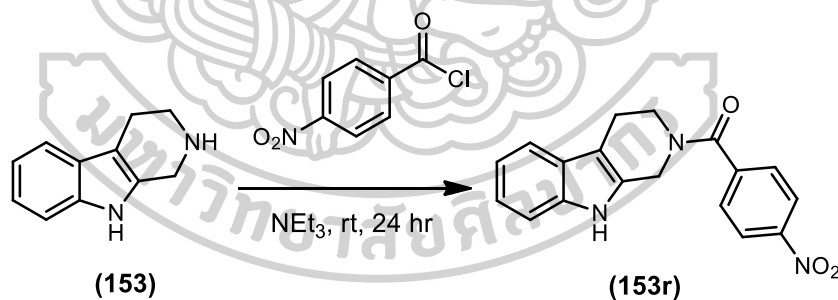
ละลาย 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (0.25 g, 1.4 mmol) และ 4-hydroxybenzoic acid (0.25 g, 1.6 mmol) ในตัวทำละลาย xylene 15 mL กวนสารละลายเป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการเติม POCl₃ (0.10 mL, 1.1 mmol) และ DMAP (0.024 g, 0.14 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ระเหยตัวทำละลายออก เติม sat. NaHCO₃ 10 mL สกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำจากข้อมูล ¹H-NMR ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

การพยายามสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(5-methoxy-2-nitrophenyl)methanone (153q)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.17 g, 0.98 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.20 mL, 1.5 mmol) ตามด้วยทำการเติม 5-methoxy-2-nitrobenzoic acid (0.29 g, 1.5 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ จากข้อมูล $^1\text{H-NMR}$ ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

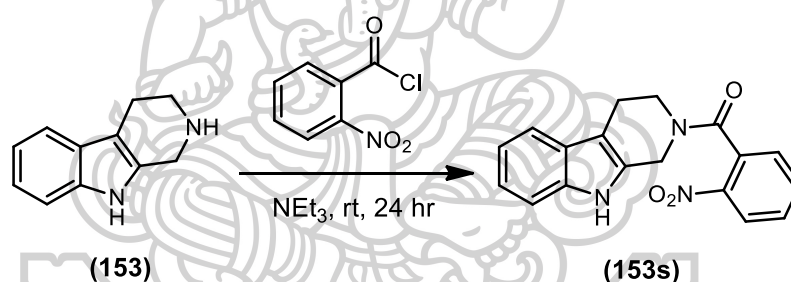
การสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(4-nitrophenyl)methanone (153r)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.24 g, 1.4 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.38 mL, 2.1 mmol) ตามด้วยทำการเติม 4-nitrobenzoyl chloride (0.52 g, 2.8 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ (3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(4-nitrophenyl) methanone (**153r**) เป็น

ของแข็งสีเหลือง (0.11 g, 25% yield); m.p. 209.8-212.8 °C; rotamers 1/3 (from the duplicated singlet signal (^1H) at 4.58 and 4.97 ppm); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) (*major rotamer*) δ 2.85 (s, 2H), 3.68 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 4.97 (s, 2H), 7.13 (dt, $J = 1.4, 7.7$ Hz, 1H), 7.20 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 8.11 (br, NH), 8.33 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 2.98 (s, 2H), 4.15 (br, 2H), 4.58 (s, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) (*major rotamer*) δ 22.1 (CH_2), 40.9 (CH_2), 45.9 (CH_2), 107.9 (C), 111.1 (CH), 117.9 (CH), 119.9 (CH), 122.3 (CH), 124.0 (2C), 127.9 (C), 128.0 (2CH), 129.3 (C), 136.3 (C), 142.2 (C), 148.6 (2CH), 169.1 (C); HRESI-MS: calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 322.1186, found: 322.1186.

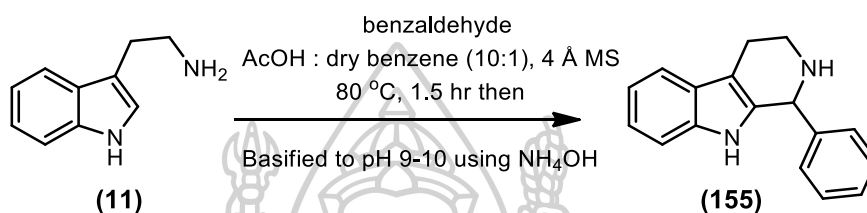
การสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(2-nitrophenyl) methanone (**153s**)



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) (0.085 g, 0.49 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.10 mL, 0.74 mmol) ตามด้วยทำการเติม 2-nitrobenzoyl chloride (0.81 mL, 0.98 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(2-nitrophenyl) methanone (**153s**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.020 g, 13% yield); m.p. 201.5-203.0 °C; rotamers 1/3 (from the duplicated singlet signal (^{13}C) at 20.9 and 21.6 ppm); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) (*major rotamer*) δ 2.75 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.47-3.65 (m, 2H), 4.40 (s, 2H), 7.06-7.16 (m, 2H), 7.33 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.41-7.47 (m, 2H), 7.61 (ddd, $J = 1.3, 7.5, 8.2$ Hz, 1H), 7.74 (td, $J = 1.3, 7.5$ Hz, 1H), 8.24 (dd, $J = 1.3, 8.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) (*major*

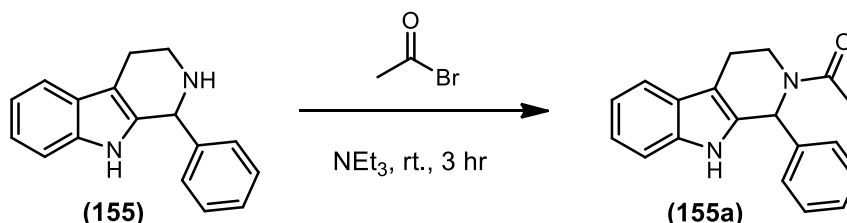
rotamer) δ 21.6 (CH₂), 40.7 (CH₂), 45.2 (CH₂), 107.8 (C), 111.1 (CH), 117.9 (CH), 119.7 (CH), 121.9 (CH), 124.9 (CH), 126.7 (C), 128.0 (CH), 129.3 (C), 130.0 (CH), 132.9 (C), 134.6 (CH), 136.3 (C), 145.4 (C), 167.5 (C); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 20.9 (CH₂), 40.6 (CH₂), 44.9 (CH₂), 119.8 (CH), 122.2 (CH), 124.8 (CH), 129.9 (CH), 145.1 (C), 167.2 (C); HRESI-MS: calcd for C₁₈H₁₅N₃O₃ [M+Na] : 344.1011, found: 344.1005.

การสังเคราะห์ mixture of 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (155)



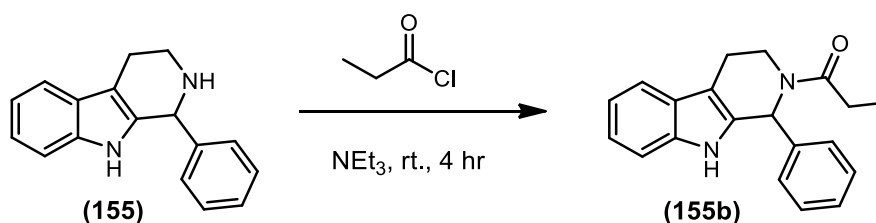
นำ tryptamine (11) (0.21 g, 1.3 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดกั่นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม benzaldehyde (0.16 mL, 1.5 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิต่ำ และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (155) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.25 g, 78% yield); m.p. 162.9-164.7 °C (lit. 160-161 °C) [49]; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.97 (br, 1H), 2.78-3.00 (m, 1H), 3.07-3.18 (m, 1H), 3.37 (dt, J = 3.9, 12.5 Hz, 1H), 5.17 (s, 1H), 7.10 (dt, J = 1.9, 6.9 Hz, 1H), 7.14 (dt, J = 1.9, 6.9 Hz, 1H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.27-7.37 (m, 5H), 7.52-7.56 (m, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 22.5 (CH₂), 42.9 (CH₂), 58.1 (CH), 110.2 (C), 110.8 (CH), 118.3 (CH), 119.4 (CH), 121.8 (CH), 127.4 (C), 128.2 (CH), 128.5 (2CH), 128.8 (2CH), 134.4 (C), 135.9 (C), 141.7 (C); ESI-MS [49] (M⁺): 271.1.

การสังเคราะห์ 1-(1-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)ethanone (155a)



นำ 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (155) (0.12 g, 0.47 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.29 mL, 1.2 mmol) ตามด้วยการเติม acetyl bromide (0.10 mL, 1.4 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ 1-(1-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)ethanone (155a) เป็นของแข็งสีน้ำตาล (0.025, 18% yield); m.p. 236.6-237.8 °C (lit. 266 °C) [50]; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 2.19 (s, 3H), 2.80-3.05 (m, 2H), 3.40-3.60 (m, 1H), 3.89 (dd, $J = 2.6, 12.9$ Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.13 (dt, $J = 1.1, 7.1$ Hz, 1H), 7.20 (dt, $J = 1.1, 7.1$ Hz, 1H), 7.28-7.40 (m, 5H), 7.54 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.94 (br, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 21.8 (CH_2), 22.1 (CH_3), 40.6 (CH_2), 51.6 (CH), 109.9 (C), 111.1 (CH), 118.1 (CH), 119.6 (CH), 122.2 (CH), 126.6 (CH), 128.1 (C), 128.5 (2CH), 128.8 (2CH), 131.7 (C), 136.2 (C), 139.9 (C), 169.1 (C); HRESI-MS: calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 291.1492, found: 291.1499.

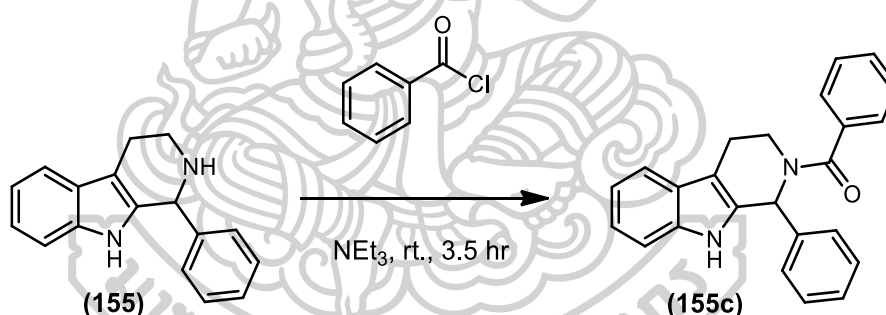
การสังเคราะห์ 1-(1-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)propan-1-one (155b)



นำ 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (155) (0.15 g, 0.59 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.05 mL, 0.35 mmol) ตามด้วยการเติม propionyl chloride (0.08 mL, 0.89 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium

sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 1-(1-phenyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)propan-1-one (**155b**) เป็นของแข็งสีขาว (0.11 g, 59% yield); m.p. 240.5-241.2 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.19 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 2.45 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.85-3.00 (m, 2H), 3.36-3.50 (m, 1H), 3.93 (dd, *J* = 3.7, 11.1 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.13 (dt, *J* = 1.2, 7.1 Hz, 1H), 7.19 (dt, *J* = 1.2, 7.1 Hz, 1H), 7.24-7.31 (m, 6H), 7.53 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 8.07 (br, NH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 9.5 (CH₃), 22.2 (CH₂), 26.9 (CH₂), 39.6 (CH₂), 51.7 (CH), 109.8 (C), 111.1 (CH), 118.1 (CH), 119.6 (CH), 122.1 (CH), 126.6 (C), 128.0 (CH), 128.5 (2CH), 128.8 (2CH), 131.9 (C), 136.3 (C), 140.1 (C), 172.4 (C); HRESI-MS: calcd for C₂₀H₂₀N₂O [M+H]⁺ : 305.1649, found: 305.1661.

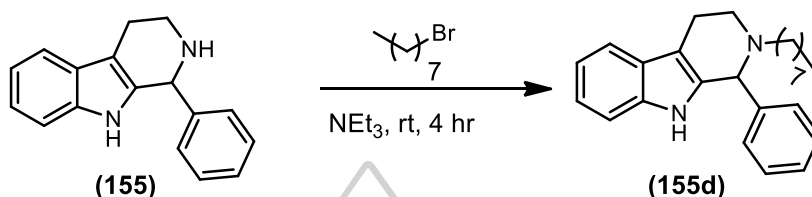
การสังเคราะห์ที่ phenyl(1-phenyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)methanone (**155c**)



นำ 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**155**) (0.34 g, 1.4 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.12 mL, 0.84 mmol) ตามด้วยทำการเติม benzoyl chloride (0.24 mL, 0.83 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง จากนั้นนำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ phenyl(1-phenyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)methanone (**155c**) เป็นของแข็งสีส้ม (0.15 g, 31% yield); m.p. 233.1-234.7 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.75-2.82 (m, 1H), 2.82-3.00 (m, 1H), 3.34 (t, *J* = 11.3 Hz, 1H), 3.72 (dd, *J* = 4.2, 9.5 Hz, 1H), 7.09-7.14 (m, 2H), 7.15-7.19 (m, 1H), 7.19-7.26 (m, 3H), 7.30-7.42 (m, 7H), 7.51 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 8.72 (br, NH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 22.3 (CH₂), 41.4 (CH₂), 52.3 (CH),

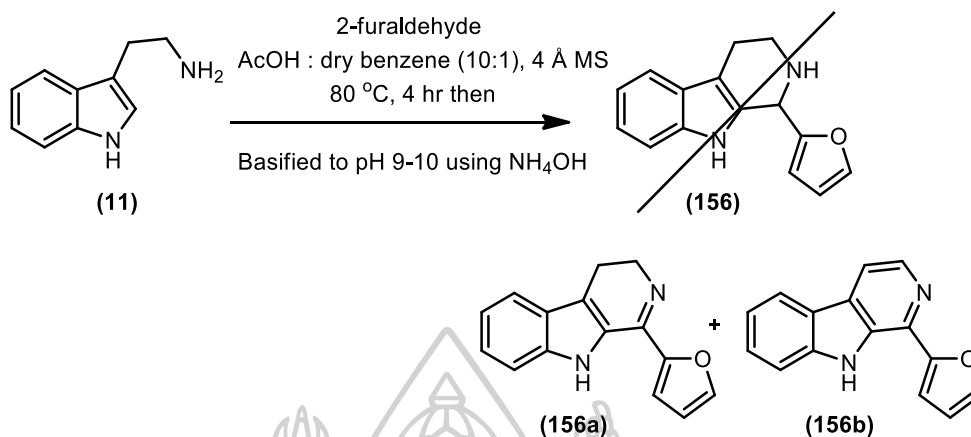
109.2 (C), 111.3 (CH), 118.0 (CH), 119.5 (CH), 122.0 (CH), 126.5 (C), 126.6 (2CH), 128.0 (2CH), 128.5 (2CH), 128.8 (2CH), 129.6 (CH), 136.3 (C), 136.4 (C), 136.4 (CH), 139.9 (C), 170.7 (C); HRESI-MS: calcd for $C_{24}H_{20}N_2O$ $[M+H]^+$: 353.1648, found: 353.1638.

การสังเคราะห์ 2-octyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (155d)



นำ 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (155) (0.087 g, 0.35 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.10 mL, 0.70 mmol) ตามด้วยทำการเติม 1-bromooctane (0.19 mL, 1.1 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 2-octyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (155d) เป็นของแข็งสีน้ำตาล (0.12 g, 93% yield); m.p. 88.9-90.5 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.86 (m, 3H), 1.10-1.34 (m, 11H), 1.53 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.30-2.42 (m, 1H), 2.54-2.66 (m, 1H), 2.73 (dq, *J* = 4.3, 9.2 Hz, 1H), 2.89 (dt, *J* = 1.2, 3.9 Hz, 1H), 2.92-3.05 (m, 1H), 3.27-3.36 (m, 1H), 4.63 (s, 1H), 7.00-7.11 (m, 2H), 7.12-7.17 (m, 1H), 7.28-7.43 (m, 5H), 7.46-7.55 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 14.2 (CH₃), 21.1 (CH₂), 26.8 (CH₂), 28.8 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.3 (CH₂), 29.4 (CH₂), 31.8 (CH₂), 46.3 (CH₂), 53.9 (CH₂), 62.7 (CH), 108.9 (C), 110.6 (CH), 118.5 (CH), 119.4 (CH), 121.6 (CH), 127.1 (C), 128.1 (CH), 128.6 (2CH), 129.3 (2CH), 134.6 (C), 136.3 (C), 140.9 (C); HRESI-MS: calcd for $C_{25}H_{32}N_2$ $[M+H]^+$: 361.2638, found: 361.2640.

การพยายามสังเคราะห์ mixture of 1-(furan-2-yl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (156)



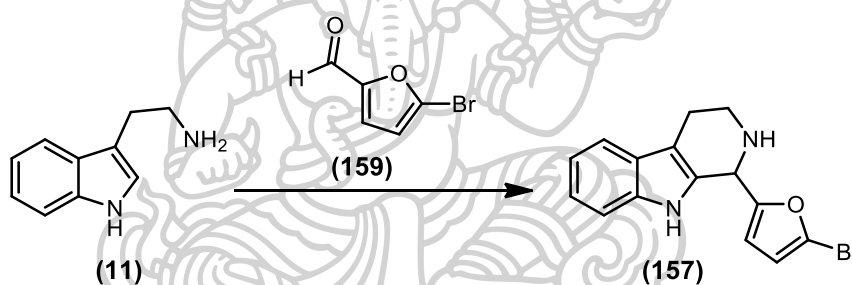
วิธีที่ 1

นำ tryptamine (11) (0.23 g, 1.3 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดกั่นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม 2-furaldehyde (0.14 mL, 1.6 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิต่ำ และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 1-(furan-2-yl)-4,9-dihydro-3*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (156a) เป็นของหนืดสีน้ำตาล (0.022 g, 7% yield); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.99 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.05 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.61 (dd, *J* = 1.7, 3.5 Hz, 1H), 7.18 (dt, *J* = 1.0, 8.0 Hz, 1H), 7.33 (dt, *J* = 1.0, 8.0 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 9.29 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 18.5 (CH₂), 46.6 (CH₂), 111.6 (2CH), 112.0 (CH), 118.8 (C), 119.6 (CH), 120.0 (CH), 124.3 (C), 125.0 (CH), 125.2 (C), 136.8 (C), 143.9 (CH), 148.4 (C), 150.8 (C); HRESI-MS: calcd for C₁₅H₁₂N₂O [M+H]⁺: 237.1022, found: 237.1028. และได้ 1-(furan-2-yl)-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (156b) เป็นของหนืดสีน้ำตาล (0.0063 g, 2% yield); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.67 (dd, *J* = 1.8, 3.5 Hz, 1H), 7.28-7.34 (m, 2H), 7.57-7.60 (m, 2H), 7.73 (dd, *J* = 0.7, 1.7 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.46 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 9.39 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 107.1 (CH), 110.0 (CH), 110.7 (CH), 112.0 (CH), 118.5 (CH), 119.7 (C), 120.1 (CH), 127.0 (CH), 128.6 (C), 129.7 (C), 131.8 (C), 137.3 (CH), 138.8 (C), 141.1 (CH), 152.9 (C); MS [51]: 234.

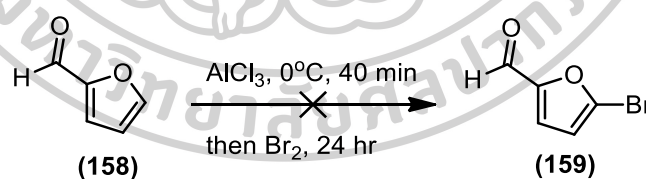
วิธีที่ 2

นำ Furaldehyde (0.14 g 0.15 mmol) ละลายใน dry benzene (11 mL) ในขวดก้นกลมที่มี 3 Å MS ทำการเติม tryptamine (**11**) (0.19 mg, 1.2 mmol) ที่ละลายใน dry benzene (11 mL) และ *p*-toluenesulfonic acid (11 mg) ให้ความร้อนกับสารละลายเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน (AR) ทำการกรองและนำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ และนำมาละลายใน dry THF (30 mL) จากนั้นทำการเติม 1.0 M hydrogen chloride ที่ละลายใน diethyl ether (3.0 mL, 3.0 mmol) ลงไป กวนสารละลายที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยา

การสังเคราะห์ mixture of 1-(5-bromofuran-2-yl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**157**)

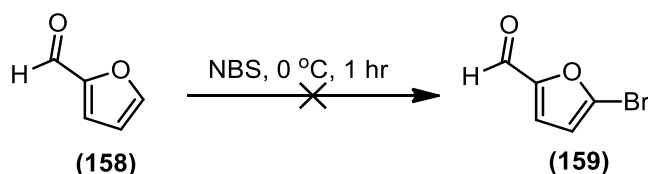


วิธีการเตรียม 5-bromofuran-2-carbaldehyde (**159**) วิธีที่ 1



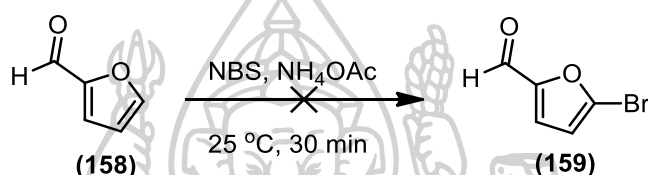
นำ 2-furaldehyde (**158**) (14 g, 0.14 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (16 mL) ค่อย ๆ เติม AlCl₃ (90 g, 0.67 mmol) ที่อุณหภูมิ 0 °C จากนั้นกวนสารละลายต่อเป็นเวลา 40 นาที แล้วค่อย ๆ เติม bromine (120 g, 0.75 mmol) แล้วทำการกวนสารละลายต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วค่อย ๆ เติมน้ำแข็งลงไป ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำเกลืออิ่มตัว (500 mL) และ 30% ether:hexane (800 mL) จากนั้นกวนจนตะกอนละลาย และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

วิธีที่ 2



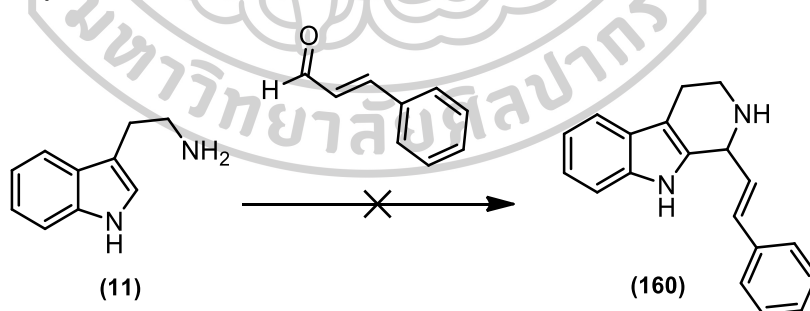
นำ 2-furaldehyde (**158**) (0.29 g, 2.9 mmol) ละลายใน DMF (14 mL) เติม *N*-Bromosuccinimide (NBS) (0.53 g, 2.9 mmol) ที่ละลายใน DMF (2.4 mL) ที่อุณหภูมิ 0 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำ (30 mL) แล้วกรองตะกอนที่ได้ พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

วิธีที่ 3



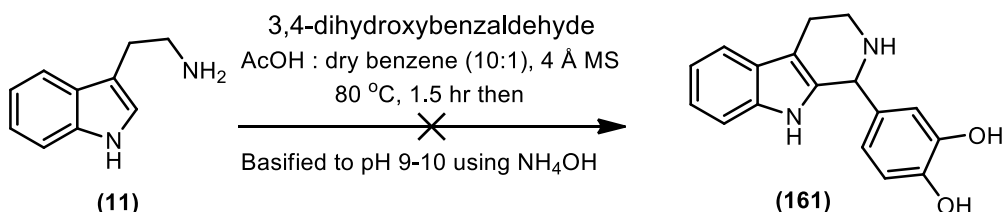
นำ 2-furaldehyde (**158**) (0.96 g, 10 mmol) ละลายใน ether (10 mL) เติม NBS (1.9 g, 11 mmol) จากนั้นเติม ammonium acetate (0.077 g, 1.0 mmol) ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองตะกอนที่ได้อ้างด้วยน้ำ และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

การพยายามสังเคราะห์ mixture of (*E*)-1-styryl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**160**)



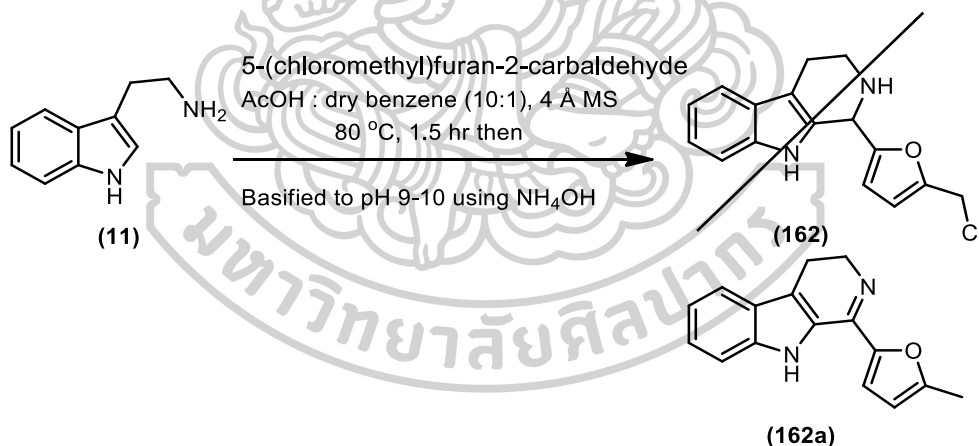
นำ tryptamine (**11**) (0.20 g, 1.3 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดก้นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม cinnamaldehyde (0.42 mL, 1.5 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิต่ำ และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

การพยายามสังเคราะห์ mixture of 4-(2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-yl)benzene-1,2-diol (161)



นำ tryptamine (11) (0.33 g, 1.9 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดกั่นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม 3,4-dihydroxybenzaldehyde (0.63 g, 2.3 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิต่ำ และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

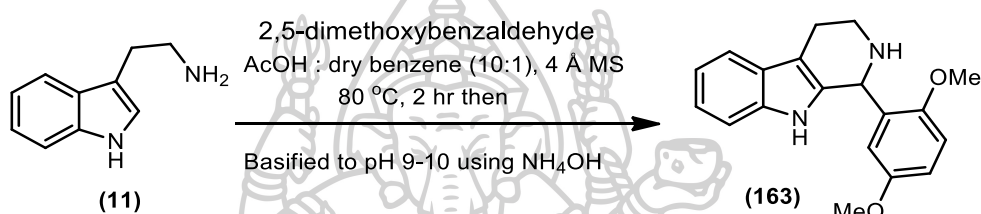
การพยายามสังเคราะห์ mixture of 1-(5-(chloromethyl)furan-2-yl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (162)



นำ tryptamine (11) (0.96 g, 5.9 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดกั่นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม 5-(chloromethyl)furan-2-carbaldehyde (1.0 g, 7.2 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิต่ำ และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 1-(furan-2-yl)-4,9-dihydro-3*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (162a) เป็นของหนืดสีน้ำตาล (0.025 g, 5% yield); ¹H-NMR (300 MHz,

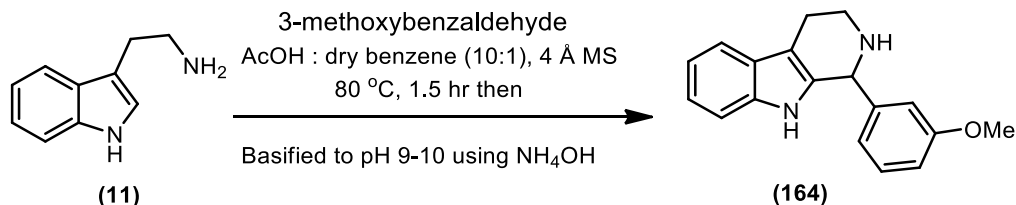
CDCl₃) δ 2.46 (s, 3H), 2.96 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.99 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.19 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.17 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.30-7.42 (m, 2H), 7.50 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 9.32 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 13.5 (CH₃), 18.6 (CH₂), 46.3 (CH₂), 108.6 (CH), 111.8 (CH), 114.7 (CH), 118.9 (CH), 119.5 (CH), 124.2 (C), 124.4 (C), 124.9 (CH), 125.3 (C), 136.9 (C), 148.2 (C), 155.2 (C), 172.5 (C); HREI-MS: calcd for C₁₆H₁₆N₂O [M+H]⁺ : 251.1179, found: 251.1182.

การสังเคราะห์ mixture of 1-(2,5-dimethoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (163)



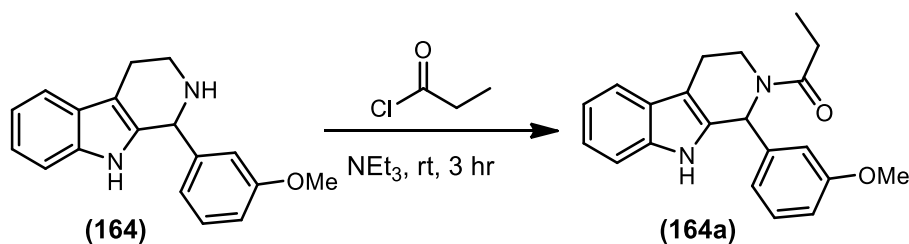
นำ tryptamine (11) (0.12 g, 0.71 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดก้นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม 2,5-dimethoxybenzaldehyde (0.16 g, 0.86 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้อง และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 1-(2,5-dimethoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (163) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (0.20 g, 92% yield); m.p. 132.2-133.6 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.87-2.92 (m, 2H), 3.15-3.25 (m, 1H), 3.29-3.39 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 5.65 (s, 1H), 6.68 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 6.80-6.93 (m, 2H), 7.10 (dt, *J* = 1.4, 7.1 Hz, 1H), 7.14 (dt, *J* = 1.4, 7.0 Hz, 1H), 7.22-7.24 (m, 1H), 7.52 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.83 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 21.1 (CH₂), 21.4 (CH₂), 41.0 (CH₂), 51.3 (CH), 55.8 (CH₃), 56.1 (CH₃), 109.6 (C), 110.9 (CH), 111.9 (CH), 113.9 (CH), 116.1 (CH), 118.3 (CH), 119.5 (CH), 121.9 (CH), 127.0 (C), 128.5 (C), 136.0 (C), 151.5 (C), 153.7 (C), 175.9 (C); HREI-MS: calcd for C₁₉H₂₀N₂O₂ [52] [M]⁺ : 308.1525, found: 308.1527.

การสังเคราะห์ mixture of 1-(3-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (164)



นำ tryptamine (11) (0.18 g, 1.1 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดกั่นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม 3-methoxybenzaldehyde (0.17 g, 1.4 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิต่ำ และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 1-(3-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (164) เป็นของแข็งสีเหลืองอมส้ม (0.21 g, 72% yield); m.p. 150.8-153.8 °C (lit. 154-156 °C) [53]; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.82-3.04 (m, 2H), 3.10-3.22 (m, 1H), 3.32-3.43 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 5.32 (s, 1H), 6.84-6.91 (d, *J* = 3.9 Hz, 3H), 7.11 (dt, *J* = 1.5, 7.0 Hz, 1H), 7.16 (dt, *J* = 1.5, 7.0 Hz, 1H), 7.22(d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.23-7.29 (m, 1H), 7.53 (dd, *J* = 2.0, 7.0 Hz, 1H), 7.80 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 21.3 (CH₂), 41.7 (CH₂), 55.3 (CH₃), 57.2 (CH), 109.8 (C), 111.0 (CH), 111.5 (CH), 114.2 (CH), 118.3 (CH), 119.6 (CH), 121.0 (CH), 122.1 (CH), 127.0 (C), 129.9 (CH), 132.3 (C), 136.1 (C), 140.9 (C), 160.1 (C); HRESI-MS: calcd for C₁₈H₁₈N₂O [M+H]⁺ : 279.1492, found: 279.1486.

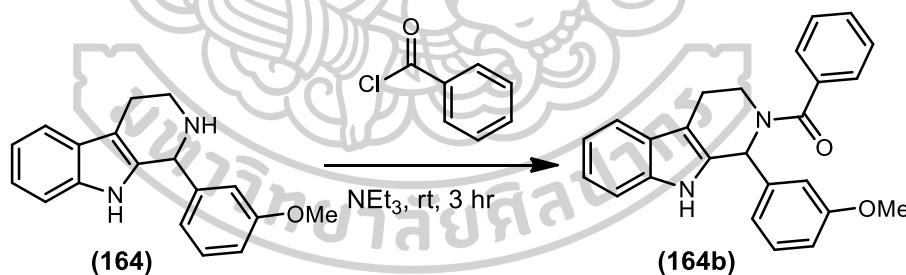
การสังเคราะห์ 1-(1-(3-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)propan-1-one (164a)



นำ 1-(3-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (164) (0.42 g, 1.5 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.13 mL, 0.90 mmol)

ตามด้วยทำการเติม propionyl chloride (0.20 mL, 2.25 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ 1-(1-(3-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)propan-1-one (**164a**) เป็นของแข็งสีส้ม (0.15 g, 30% yield); m.p. 207.5-208.2 °C; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 2.44 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.80-3.00 (m, 2H), 3.42 (dt, $J = 4.9, 10.7$ Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.92 (dd, $J = 4.9, 10.7$ Hz, 1H), 6.77-6.91 (m, 3H), 6.99 (s, 1H), 7.08-7.21 (m, 3H), 7.29 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.20 (br, NH); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 9.5 (CH_3), 22.2 (CH_2), 26.9 (CH_2), 39.7 (CH_2), 51.8 (CH), 55.3 (CH_3), 109.7 (C), 111.1 (CH), 113.4 (CH), 114.4 (CH), 118.1 (CH), 119.5 (CH), 121.1 (CH), 122.1 (CH), 126.6 (C), 129.4 (CH), 131.8 (C), 136.3 (C), 141.7 (C), 159.7 (C), 172.4 (C); HRESI-MS: calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 335.1754, found: 335.1754.

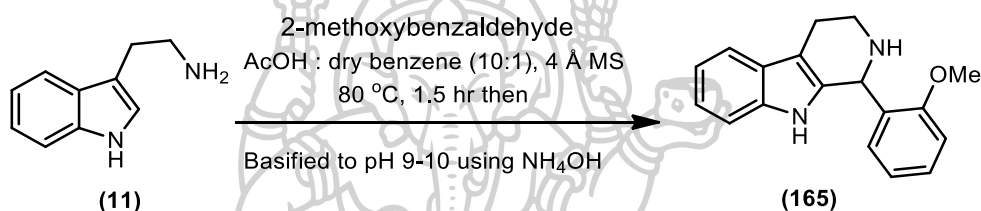
การสังเคราะห์ (1-(3-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(phenyl)methanone (**164b**)



นำ 1-(3-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**164**) (0.49 g, 1.8 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.25 mL, 1.1 mmol) ตามด้วยทำการเติม benzoyl chloride (0.30 mL, 2.7 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ (1-(3-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(phenyl)methanone (**164b**) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (0.17 g, 25% yield); m.p. 215.9-217.9 °C; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 2.72-2.86 (m, 1H), 2.86-3.03 (m, 1H), 3.35-3.50

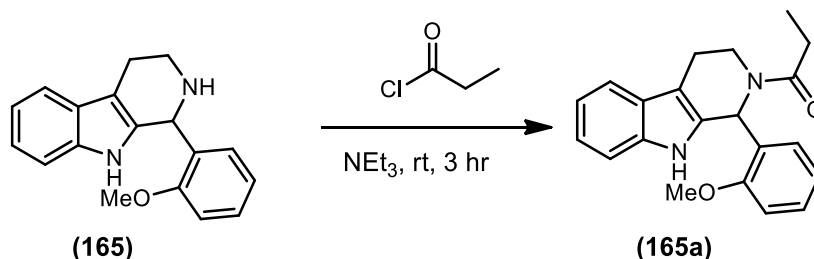
(m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.80 (m, 1H), 6.84 (dd, $J = 1.8, 8.2$ Hz, 1H), 6.91-7.14 (m, 3H), 7.15-7.18 (m, 1H), 7.20 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.37-7.45 (m, 6H), 7.53 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.12 (br, NH) ; ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 22.3 (CH_2), 41.6 (CH_2), 52.2 (CH), 55.3 (CH_3), 109.7 (C), 111.2 (CH), 113.6 (CH), 114.6 (CH), 118.2 (CH), 119.7 (CH), 121.1 (C), 122.3 (CH), 126.6 (2CH), 126.7 (CH), 128.6 (2CH), 129.5 (2CH), 129.6 (C), 131.2 (C), 136.4 (C), 141.5 (C), 159.9 (C), 170.7 (C); HRESI-MS: calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 383.1755, found: 383.1749.

การสังเคราะห์ mixture of 1-(2-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (165)



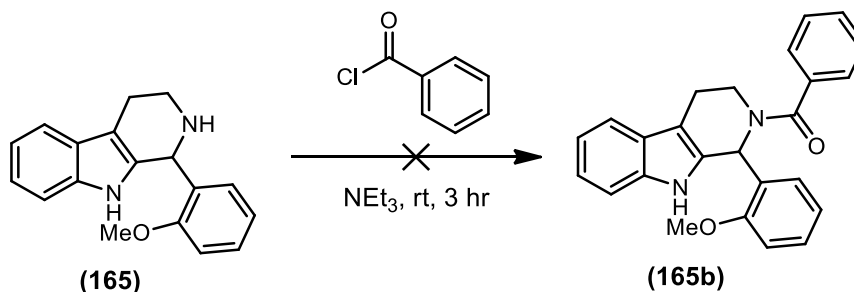
นำ tryptamine (11) (0.16 g, 0.93 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดก้นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม 2-methoxybenzaldehyde (0.16 g, 1.1 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้อง และทำการเติมสารละลาย 30% NH_4OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH_2Cl_2 ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% MeOH: CH_2Cl_2) จะได้ 1-(2-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (165) เป็นของแข็งสีส้ม (0.022 g, 9% yield); m.p. 97.8-99.3 °C (lit. 95-96 °C) [54]; ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.28 (br s, 1H), 2.81 (d, $J = 4.9$ Hz, 2H), 3.00-3.11 (m, 1H), 3.16-3.28 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 5.57 (s, 1H), 6.83 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.98 (dd, $J = 1.4, 7.5$ Hz, 1H), 7.06-7.18 (m, 3H), 7.26 (dd, $J = 1.5, 15.6$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.94 (s, NH); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 22.4 (CH_2), 41.7 (CH_2), 50.9 (CH_3), 55.5 (CH), 110.2 (C), 110.7 (CH), 110.8 (CH), 118.0 (CH), 119.2 (CH), 120.6 (CH), 121.4 (CH), 127.3 (C), 129.0 (CH), 129.2 (CH), 129.7 (C), 134.1 (C), 135.8 (C), 157.2 (C); EI-MS [54] $[\text{M}]^+$: 278.

การสังเคราะห์ 1-(1-(2-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)propan-1-one (165a)



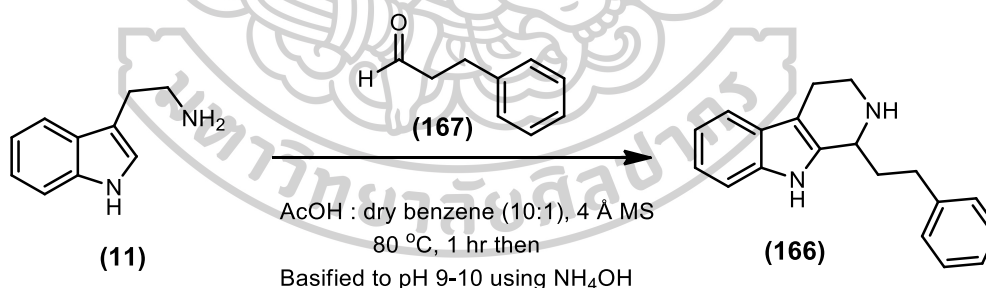
นำ 1-(2-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**165**) (0.064 g, 0.23 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.02 mL, 0.14 mmol) ตามด้วยทำการเติม propionyl chloride (0.01 mL, 0.34 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ 1-(1-(2-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)propan-1-one (**165a**) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (0.032 g, 42% yield); m.p. 193.4-195.4 °C; rotamers 1/1.1 (from the duplicated singlet signal (^1H) at 3.99 and 4.05 ppm); ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (major rotamer) 1.08 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 2.41-2.63 (m, 2H), 2.76-2.97 (m, 2H), 3.60-3.80 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 5.10-5.20 (m, 1H), 6.41 (s, 1H), 6.82-6.95 (m, 1H), 6.96-7.18 (m, 4H), 7.20-7.34 (m, 2H), 7.49 (dd, $J = 7.7, 11.5$ Hz, 1H), 8.61 (br, NH); δ (distinct peaks for minor rotamer) 1.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 2.21 (m, 2H), 3.15-3.26 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 4.24 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 8.42 (br, NH); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ (major rotamer) 9.5 (CH_3), 20.9 (CH_2), 26.6 (CH_2), 38.4 (CH_2), 50.9 (CH), 55.9 (CH_3), 107.9 (C), 110.0 (C), 110.8 (CH), 111.3 (CH), 118.3 (CH), 119.5 (CH), 121.6 (CH), 122.0 (CH), 126.5 (C), 127.4 (CH), 129.3 (CH), 132.3 (C), 135.9 (C), 155.9 (C), 174.0 (C); δ (distinct peaks for minor rotamer) 22.2 (CH_2), 27.3 (CH_2), 42.3 (CH_2), 48.2 (CH), 56.4 (CH_3), 110.9 (CH), 112.0 (CH), 117.9 (CH), 119.3 (CH), 121.2 (CH), 121.7 (CH), 126.8 (CH), 128.7 (CH), 133.7 (C), 135.8 (C), 156.7 (C), 172.7 (C).

การพยายามสังเคราะห์ (1-(2-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanone (165b)



นำ 1-(2-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**165**) (0.34 g, 1.2 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.10 mL, 0.72 mmol) ตามด้วยทำการเติม benzoyl chloride (0.21 mL, 1.8 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

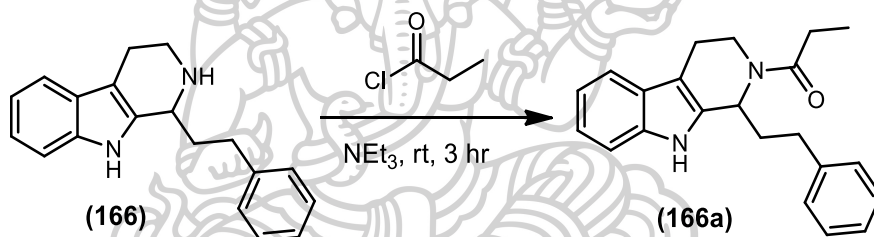
การสังเคราะห์ mixture of 1-phenethyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (166)



นำ Cinnamaldehyde (0.25 g 1.9 mmol) และ 1 mol% Pd ละลายใน dryMeOH 15 mL ทำการกวนสารภายใต้อุณหภูมิห้องภายใต้ H_2 gas เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทำการกรองสารละลายที่ได้และล้างด้วย MeOH ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, CH_2Cl_2) จะได้ 3-phenylpropanal (**167**) เป็นของหนืดไม่มีสี จากนั้นนำ tryptamine (**11**) (0.24 g, 1.5 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง $\text{AcOH}:\text{MeOH}$ (10:1) ในขวดกั้นกลมที่มี 4Å MS ค่อยๆเติม 3-phenylpropanal (0.23 g, 1.8 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้อง และทำการเติมสารละลาย 30% NH_4OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH_2Cl_2 ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) ทำการ

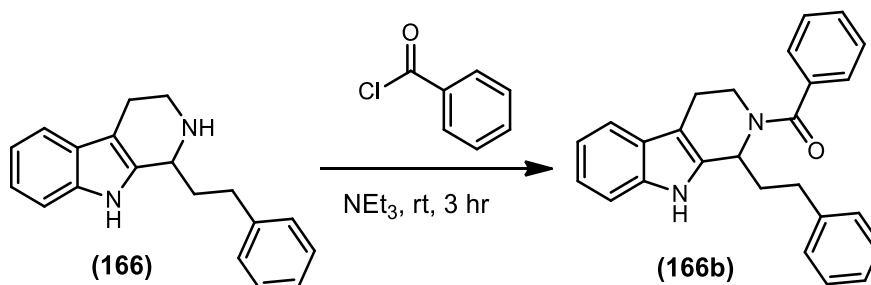
กรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 1-phenethyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**166**) เป็นของหนืดสีส้ม (0.096 g, 24 % yield); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.89-2.04 (m, 1H), 2.05-2.20 (m, 1H), 2.68-2.76 (m, 2H), 2.76-2.92 (m, 2H), 2.96-3.08 (m, 1H), 3.33 (td, *J* = 4.7, 12.8 Hz, 1H), 4.06 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.07 (dt, *J* = 1.3, 7.1 Hz, 1H), 7.12 (dt, *J* = 1.3, 7.0 Hz, 1H), 7.16-7.33 (m, 6H), 7.47 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.74 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 22.7 (CH₂), 29.7 (CH₂), 36.7 (CH₂), 42.4 (CH₂), 52.2 (CH), 109.1 (C), 110.7 (CH), 118.0 (CH), 119.0 (CH), 121.5 (CH), 126.0 (CH), 127.5 (C), 128.4 (2CH), 128.5 (2CH), 135.6 (C), 135.9 (C), 141.9 (C).

การสังเคราะห์ 1-(1-phenethyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)propan-1-one (**166a**)



นำ 1-phenethyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**166**) (0.020 g, 0.072 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.01 mL, 0.043 mmol) ตามด้วยทำการเติม propionyl chloride (0.02 mL, 0.11 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำขึ้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 1-(1-phenethyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)propan-1-one (**166a**) เป็นของหนืดสีเหลือง (0.0090 g, 39% yield); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.22 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 2.00-2.23 (m, 2H), 2.30-2.57 (m, 2H), 2.62-2.86 (m, 4H), 3.40-3.51 (m, 1H), 3.95-4.05 (m, 1H), 5.88 (dd, *J* = 5.5, 8.4 Hz, 1H), 7.04-7.34 (m, 8H), 7.43 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 8.42 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 9.7 (CH₃), 22.1 (CH₂), 26.9 (CH₂), 32.5 (CH₂), 36.1 (CH₂), 40.0 (CH₂), 49.2 (CH), 107.3 (C), 111.1 (CH), 117.9 (CH), 119.4 (CH), 121.7 (CH), 126.8 (C), 128.2 (2CH), 128.3 (2CH), 125.9 (CH), 134.7 (C), 136.1 (C), 141.6 (C), 173.2 (C).

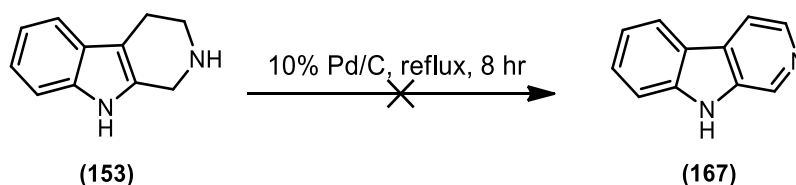
การสังเคราะห์ (1-phenethyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(phenyl) methanone (166b)



นำ 1-phenethyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**166**) (0.58 g, 2.1 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.18 mL, 1.3 mmol) ตามด้วยทำการเติม benzoyl chloride (0.37 mL, 3.2 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ (1-phenethyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(phenyl) methanone (**166b**) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (0.0099 g, 2% yield); m.p. 194.5-195.2 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.15-2.30 (m, 2H), 2.60-2.80 (m, 2H), 2.80-3.00 (m, 2H), 3.42-3.54 (m, 1H), 3.90 (dd, *J* = 4.8, 13.7 Hz, 1H), 5.99 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.04-7.27 (m, 8H), 7.38-7.49 (m, 6H), 8.63 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 22.3 (CH₂), 32.6 (CH₂), 36.3 (CH₂), 42.0 (CH₂), 49.5 (CH), 107.1 (C), 111.2 (CH), 117.9 (CH), 119.4 (CH), 121.8 (CH), 125.9 (CH), 126.5 (2CH), 126.6 (C), 128.3 (2CH), 128.5 (2CH), 128.7 (2CH), 129.6 (CH), 133.9 (C), 136.2 (C), 136.6 (C), 141.5 (C), 171.4 (C).

การสังเคราะห์ 9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (167)

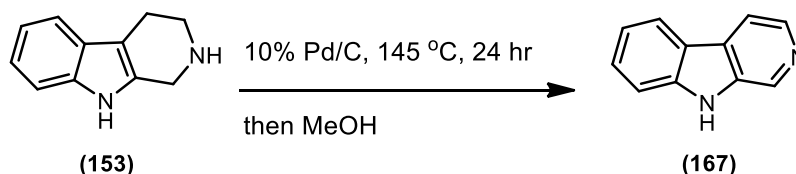
วิธีที่ 1



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.16 g, 0.94 mmol) ละลายใน benzene (6.2 mL) จากนั้นเติม 10% Pd/C ให้ความร้อนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วทำการกรองผ่าน celite นำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดัน

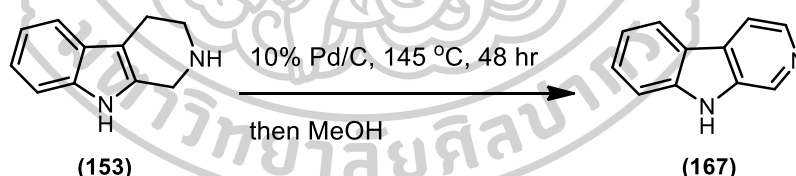
บรรยากาศต่ำ จากนั้นทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จากข้อมูล ¹H-NMR ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

วิธีที่ 2



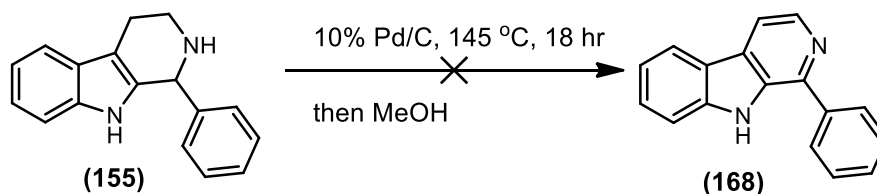
นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.12 g, 0.69 mmol) ละลายใน *p*-xylene (3.5 mL) จากนั้นเติม 10% Pd/C ทำการกวนสารละลายที่ 145 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วทำการเติม MeOH (6.94 mL) แล้วทำการกรองผ่าน celite นำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ จากนั้นทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**167**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.019 g, 17% yield); m.p. 187.3-188.6 °C (lit. 196 °C) [55]; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.27-7.35 (m, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.44 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 9.03 (s, 1H), 9.36 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 111.9 (CH), 114.9 (CH), 120.4 (CH), 121.2 (CH), 121.9 (CH), 128.9 (C), 129.6 (C), 132.8 (C), 136.0 (CH), 137.6 (CH), 140.9 (C); ESI-MS [55] [M+H]⁺: 169.

วิธีที่ 3



นำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) (0.12 g, 0.69 mmol) ละลายใน *p*-xylene (3.5 mL) จากนั้นเติม 10% Pd/C ทำการกวนสารละลายที่ 145 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วทำการเติม MeOH (6.94 mL) แล้วทำการกรองผ่าน celite นำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ จากนั้นทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ 9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**167**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.019 g, 33% yield).

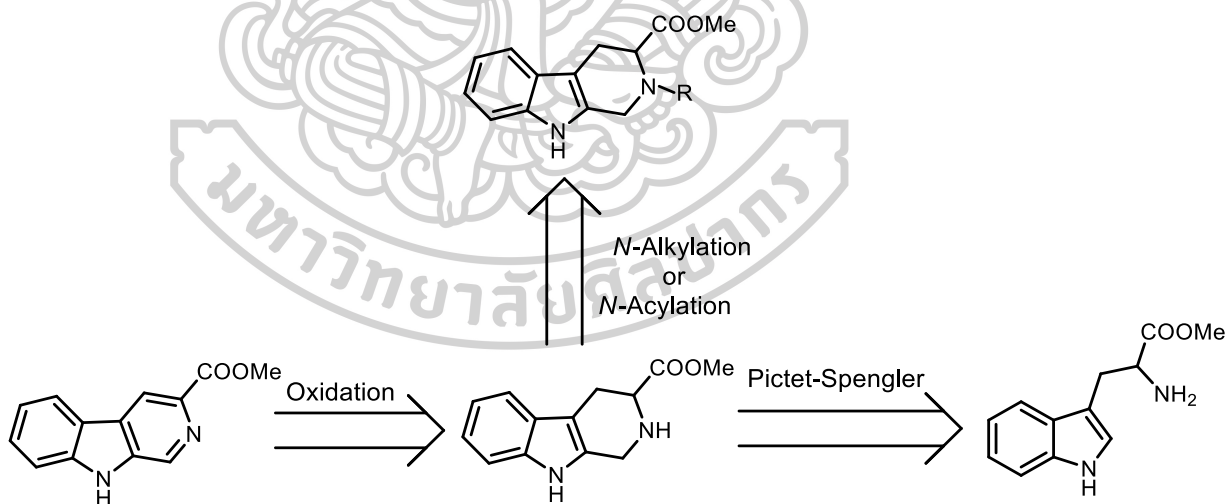
การพยายามสังเคราะห์ 1-phenyl-9H-pyrido[3,4-b]indole (168)



นำ 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (155) (0.051 g, 0.77 mmol) ละลายใน *p*-xylene (1.4 mL) จากนั้นเติม 10% Pd/C ทำการกวนสารละลายที่ 145 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วทำการกรองผ่าน celite นำไประเหยตัว ทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

3.3.3 การสังเคราะห์วิธีที่ 3 ของ Tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์

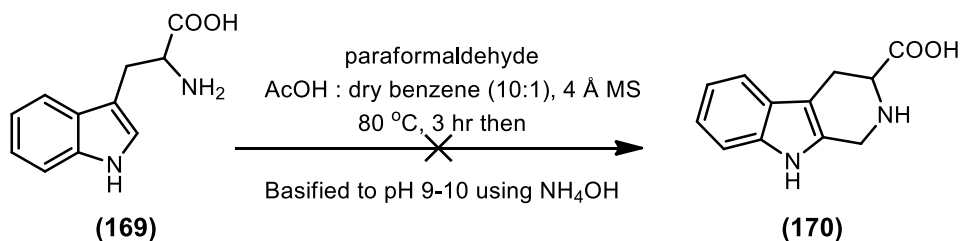
จากแผนการสังเคราะห์ที่ 2 นั้นจะทำการเปลี่ยนหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง C-1 และ N-2 ส่วนในแผนการสังเคราะห์ที่ 3 นั้นจะทำการศึกษาหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง C-1, N-2 และที่ตำแหน่ง C-3 เป็น methyl ester เพื่อทำการศึกษาว่าเมื่อแทนที่ที่ตำแหน่งที่ 3 แล้วจะมีผลต่อการออกฤทธิ์หรือไม่ โดยใช้ tryptophane methyl ester เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ Tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์



ภาพที่ 27 การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro- β -carboline แผนการสังเคราะห์ที่ 3

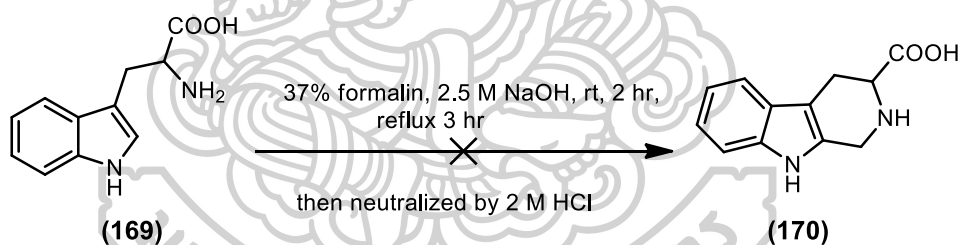
การพยายามสังเคราะห์ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylic acid

(170) วิธีที่ 1



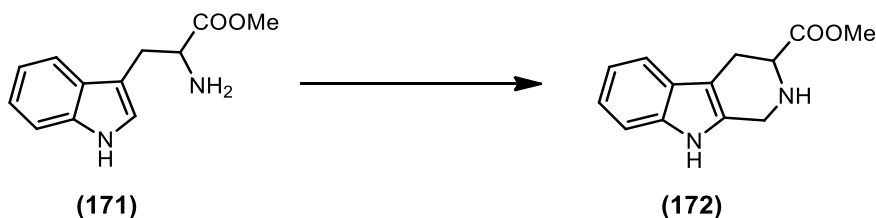
นำ tryptophan (169) (0.22 g, 1.1 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดกั้นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม paraformaldehyde (0.04 mL, 1.263 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิต่ำ และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 9-10 จากนั้นสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% MeOH:CH₂Cl₂) พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

วิธีที่ 2

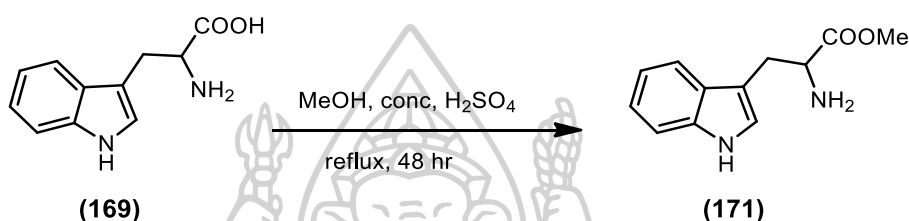


นำ tryptophan (169) (1.0 g, 4.9 mmol) ละลายใน 2.5 M NaOH (2 mL) ทำการกวนสารละลายจนกระทั่งตะกอนละลายจากนั้นค่อยๆเติม 37% formalin (0.20 mL, 5.5 mmol) กวนสารละลายที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิต่ำ และทำการเติม 2 M HCl จนสารละลายเป็นกลาง กรองตะกอนที่ได้ และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

การสังเคราะห์ methyl 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (172)

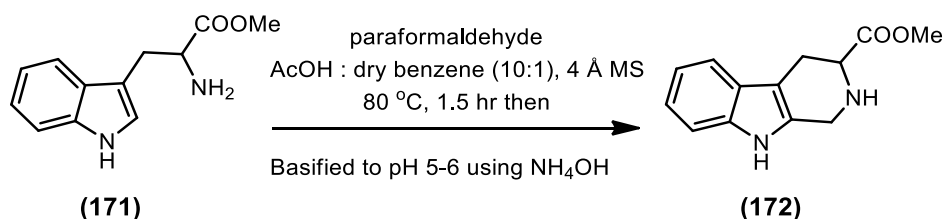


วิธีการเตรียม methyl 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate (171)



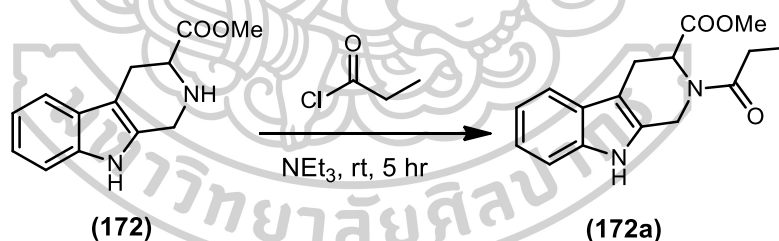
นำ tryptophan (**169**) (0.67 g, 3.2 mmol) มาละลายใน MeOH (20 mL) จากนั้นค่อยๆ หยด conc. H₂SO₄ (0.4 mL) และให้ความร้อนภายใต้บรรยากาศก๊าซอาร์กอน (Ar) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง และหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลายอิ่มตัว NaHCO₃ จนกระทั่งสารละลายไม่เกิดฟอง นำสารละลายที่ได้มาสกัดด้วย CH₂Cl₂ (3x30 mL) นำชั้น CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ จะได้ methyl 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate (**171**) เป็นของหนืดสีน้ำตาล (0.67 g, 94% yield); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.75 (br, 2H), 3.03 (dd, *J* = 7.7, 14.4 Hz, 1H), 3.27 (dd, *J* = 4.7, 14.4 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.83 (dd, *J* = 4.7, 7.7 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 7.10 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.17 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 8.64 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 29.7 (CH₂), 52.3 (CH₃), 52.8 (CH), 106.2 (C), 110.8 (CH), 118.2 (CH), 119.6 (CH), 121.9 (CH), 127.0 (CH), 135.8 (C), 139.8 (C), 174.0 (C); LRMS-ESI [56] [M+H]⁺: 219.0.

การสังเคราะห์ methyl 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (172)



นำ methyl 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate (**171**) (0.14 g, 0.66 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดก้นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม paraformaldehyde (0.024 g, 0.79 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้อง และทำการเติมสารละลาย 30% NH₄OH จนสารละลายมี pH 5-6 จากนั้นสกัดด้วย CH₂Cl₂ ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ methyl 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (**172**) เป็นของแข็งสีเหลือง (0.045 g, 29% yield); m.p. 171.8-173.6 °C (lit. 187.2-188.8 °C) [57]; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.05 (br, NH), 2.89 (tdd, *J* = 1.5, 4.2, 15.2 Hz, 1H), 3.14 (tdd, *J* = 1.5, 4.2, 15.2 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.81-3.85 (m, 1H), 4.08-4.30 (m, 2H), 7.10 (dt, *J* = 1.3, 7.0 Hz, 1H), 7.15 (dt, *J* = 1.3, 7.0 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.87 (br, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 24.2 (CH₂), 40.7 (CH₂), 51.1 (CH₃), 54.7 (CH), 105.5 (C), 109.8 (CH), 116.6 (CH), 118.2 (CH), 120.5 (CH), 126.0 (C), 130.6 (C), 135.0 (C), 172.7 (C); MS [57] [M+H]⁺: 231.0.

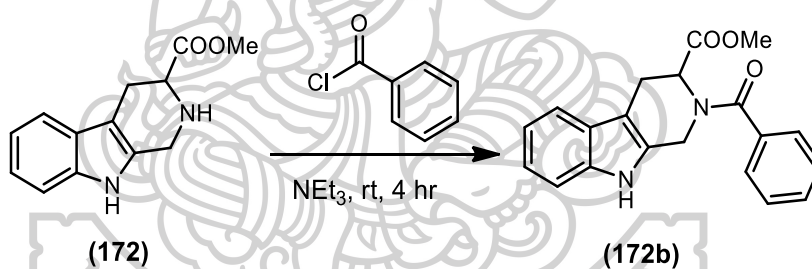
การสังเคราะห์ methyl 2-propionyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (**172a**)



นำ methyl 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (**172**) (0.015 g, 0.065 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.02 mL, 0.039 mmol) ตามด้วยทำการเติม propionyl chloride (0.02 mL, 0.098 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำชั้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ methyl 2-propionyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (**172a**) เป็นของหนืดสีเขียวย (0.0096 g, 52% yield); rotamers 1/1.5 (from the duplicated doublet signal (¹H) at 4.99 and 5.92 ppm); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ

(*major rotamer*) 1.24 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 2.40-2.58 (m, 2H), 3.00-3.20 (m, 1H), 3.49 (dd, $J = 15.6, 24.3$ Hz, 1H), 3.61 (s, 3H), 4.80 (s, 1H), 5.26 (dd, $J = 1.5, 17.0$ Hz, 1H), 5.96 (dd, $J = 1.5, 6.4$ Hz, 1H), 7.07-7.22 (m, 2H), 7.30-7.35 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.50 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.94 (br, 1H); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 3.63 (s, 3H), 4.42 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H), 4.99 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.18 (br, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ (*major rotamer*) 9.1 (CH_3), 22.9 (CH_2), 27.3 (CH_2), 41.4 (CH_2), 50.6 (CH), 52.4 (CH_3), 107.2 (C), 110.8 (CH), 118.3 (CH), 119.8 (CH), 122.3 (CH), 126.7 (C), 128.5 (C), 136.5 (C), 171.8 (C), 174.5 (C); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 9.3 (CH_3), 24.1 (CH_2), 27.2 (CH_2), 39.2 (CH_2), 52.8 (CH_3), 54.9 (CH), 105.2 (C), 110.9 (CH), 118.0 (CH), 119.6 (CH), 121.9 (CH), 129.7 (C), 136.4 (C), 171.2 (C), 174.2 (C); HRESI-MS: calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 287.1390, found: 287.1390.

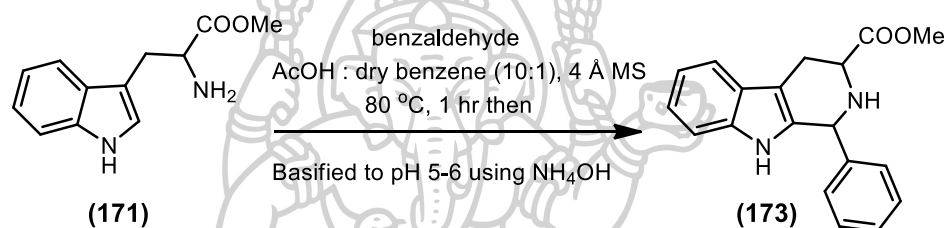
การสังเคราะห์ methyl 2-benzoyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (172b)



นำ methyl 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (172) (0.055 g, 0.24 mmol) ละลายใน CH_2Cl_2 (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.02 mL, 0.14 mmol) ตามด้วยทำการเติม benzoyl chloride (0.04 mL, 0.36 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH_2Cl_2 จากนั้นนำขึ้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ methyl 2-benzoyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (172b) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (0.043 g, 54% yield); m.p. 200.3-201.4 °C (lit. 218-219 °C [58];); rotamers 1/3 (from the duplicated doublet signal (^1H) at 4.92 and 6.03 ppm); ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (*major rotamer*) 3.12 (dd, $J = 5.7, 15.5$ Hz, 1H), 3.44 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 4.59 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 4.92 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 5.33 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 7.06-7.20 (m, 2H), 7.31-7.40 (m, 1H), 7.41-7.55 (m, 6H); δ

(distinct peaks for *minor rotamer*) 3.23 (dd, $J = 6.5, 16.0$ Hz, 1H), 3.53 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 6.03 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ (*major rotamer*) 23.8 (CH_2), 39.5 (CH_2), 52.7 (CH_3), 57.6 (CH), 105.1 (C), 111.1 (CH), 117.9 (CH), 119.4 (CH), 121.0 (CH), 121.9 (CH), 126.5 (2CH), 126.6 (C), 128.7 (CH), 129.1 (CH), 130.3 (C), 135.7 (C), 136.5 (C), 171.1 (C), 172.9 (C); δ (distinct peaks for *minor rotamer*) 23.0 (CH_2), 44.2 (CH_2), 51.3 (CH), 52.6 (CH_3), 110.9 (CH), 118.2 (CH), 119.6 (CH), 122.1 (CH); HRESI-MS: calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ [$\text{M}+\text{Na}$] : 357.12.15, found: 357.1203.

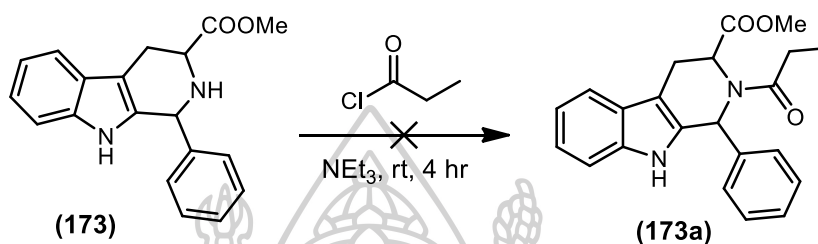
การสังเคราะห์ methyl 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (173)



นำ methyl 2-amino-3-(1H-indol-3-yl)propanoate (171) (0.29 g, 1.3 mmol) ละลายในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH (10:1) ในขวดกั่นกลมที่มี 4 Å MS ค่อยๆเติม benzaldehyde (0.16 mL, 1.6 mmol) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้สารละลายเย็นที่อุณหภูมิต่ำ และทำการเติมสารละลาย 30% NH_4OH จนสารละลายมี pH 5-6 จากนั้นสกัดด้วย CH_2Cl_2 ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na_2SO_4) ทำการกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 15% $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$) จะได้ methyl 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (173) เป็นของหนืดสีน้ำตาล (0.13 g, 34% yield); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (*cis isomer*) 3.11 (ddt, $J = 1.2, 6.9, 8.1$ Hz, 1H), 3.26 (ddt, $J = 1.0, 5.3, 8.0$ Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.94 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.23 (s, 1H), 7.04-7.10 (m, 2H), 7.11-7.19 (m, 1H), 7.20-7.27 (m, 4H), 7.49-7.94 (m, 1H), 7.65-7.76 (m, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ (*cis isomer*) 25.7 (CH_2), 52.1 (CH_3), 56.8 (CH), 58.6 (CH), 108.7 (C), 110.9 (CH), 118.1 (CH), 119.4 (CH), 121.8 (CH), 127.0 (C), 128.0 (CH), 128.4 (CH), 128.6 (2CH), 128.7 (CH), 134.6 (C), 136.1 (C), 140.7 (C), 173.2 (C); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (*trans isomer*) 3.01 (ddd, $J = 2.6, 7.7, 15.1$ Hz, 1H), 3.23 (ddd, $J = 1.9, 4.3, 15.1$ Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.94 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.11 (s, 1H), 7.04-7.10 (m, 2H), 7.11-7.19 (m, 1H), 7.27-7.45 (m, 4H), 7.49-7.94 (m, 1H), 7.82-7.97 (m, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz,

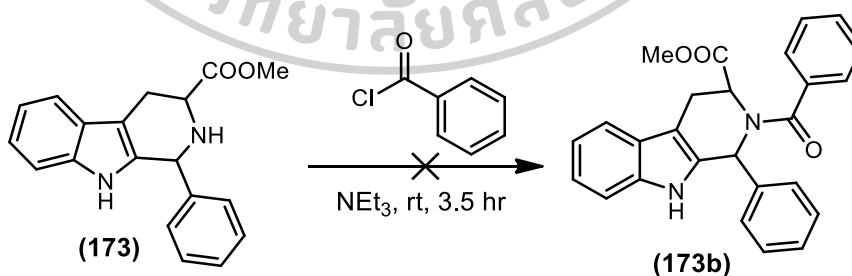
CDCl₃) δ (*trans isomer*) 24.7 (CH₂), 52.1 (CH₃), 52.3 (CH), 54.8 (CH), 108.3 (C), 110.9 (CH), 118.1 (CH), 119.5 (CH), 121.8 (CH), 126.9 (C), 128.0 (CH), 128.4 (CH), 128.6 (2CH), 128.7 (CH), 133.1 (C), 136.1 (C), 141.9 (C), 174.0 (C); EI-MS [49] [M+H]⁺: 307.

การพยายามสังเคราะห์ methyl 1-phenyl-2-propionyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (173a)



นำ methyl 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (173) (0.13 g, 0.43 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.03 mL, 0.26 mmol) ตามด้วยทำการเติม propionyl chloride (0.05 mL, 0.64 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำขึ้น organic phase ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันบรรยากาศต่ำ จากข้อมูล ¹H-NMR ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

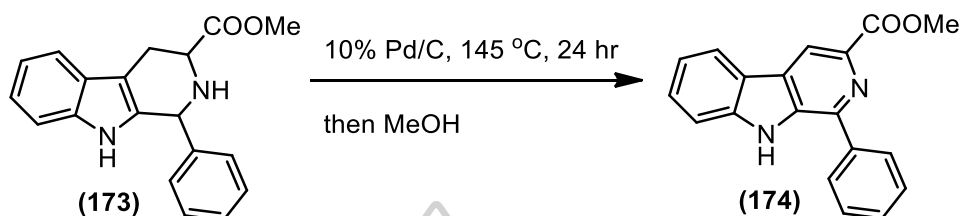
การพยายามสังเคราะห์ methyl 2-benzoyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (173b)



นำ methyl 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (173) (0.26 g, 0.84 mmol) ละลายใน CH₂Cl₂ (1 mL) จากนั้นเติม triethylamine (0.06 mL, 0.51 mmol) ตามด้วยทำการเติม propionyl chloride (0.013 mL, 1.3 mmol) ทำการกวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง นำมาสกัดด้วย CH₂Cl₂ จากนั้นนำขึ้น organic phase

ทำให้แห้งด้วย sodium sulphate anhydrous (anh. Na₂SO₄) กรองแล้วนำไประเหยตัวทำละลาย ออกจากได้ความดันบรรยากาศต่ำ จากข้อมูล ¹H-NMR ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

การสังเคราะห์ methyl 1-phenyl-9H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (174)



นำ methyl 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (173) (0.23 g, 0.69 mmol) ละลายใน *p*-xylene (5 mL) จากนั้นเติม 10% Pd/C ทำการกวน สารละลายที่ 145 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วทำการเติม MeOH (10 mL) แล้วทำการกรองผ่าน celite นำไประเหยตัวทำละลายออกจากได้ความดันบรรยากาศต่ำ จากนั้นทำให้บริสุทธิ์ด้วย column chromatography (silica gel, 5% MeOH:CH₂Cl₂) จะได้ methyl 1-phenyl-9H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylate (174) เป็นของหนืดสีเหลือง (0.0081 g, 4% yield); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 4.06 (s, 3H), 7.38 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.47 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.56-7.64 (m, 2H), 7.94 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 8.22 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.84 (br, NH), 8.88 (s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 52.7 (CH₃), 111.9 (CH), 116.9 (CH), 121.2 (CH), 122.0 (CH), 122.1 (C), 128.4 (2CH), 128.9 (CH), 129.2 (CH), 129.3 (2CH), 129.8 (C), 135.1 (C), 137.8 (C), 138.2 (C), 140.6 (C), 142.9 (CH), 166.9 (C); EI-MS [59] [M]⁺: 302.

3.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.4.1 ทดสอบการต้านเซลล์มะเร็งของ tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์โดยวิธี

MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide]

การทดสอบฤทธิ์ของ tetrahydro-β-carboline และอนุพันธ์ต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa, cervix carcinoma cell) และเซลล์มะเร็งตับ (HepG-2, human liver carcinoma) โดยวิธี MTT [3-(3,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay [60] ใช้ acridine orange เป็น positive control เลี้ยงเซลล์มะเร็งในอาหาร Dulbecco's modified eagle medium (DMEM) +10% fetal bovine serum ที่อุณหภูมิ 37 °C, 5% CO₂ ให้มีความหนาแน่น 1×10⁵ cells/mL ใน 96-well microplate ด้วยสารแต่ละชนิดที่ความ

เข้มข้น 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 $\mu\text{g/mL}$ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารใหม่ และเติม 400 $\mu\text{g/mL}$ MTT solution ปริมาตร 100 μL บ่มที่ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ถ่ายอาหารออก และเติม DMSO 100 $\mu\text{L/well}$ การเกิดสี formazan จะวัดโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm ด้วย ELISA reader ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แล้วคำนวณหาค่า IC₅₀ พร้อมทั้งคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่รอดชีวิต (% survival)

$$\% \text{survival} = \frac{\text{Test} - \text{Blank}}{\text{Reference} - \text{Blank}} \times 100$$

เมื่อ	% survival	=	เปอร์เซ็นต์เซลล์ที่รอดชีวิต
	Test	=	ค่าความดูดกลืนแสงของหลุมทดสอบ
	Blank	=	ค่าความดูดกลืนแสงของหลุม DMSO 20 %
	Reference	=	ค่าความดูดกลืนแสงของหลุมที่เซลล์รอด 100%

3.4.2 ทดสอบความเป็นพิษของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ต่อเซลล์เนื้อเยื่อ

ทำการเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อใต้ผิวหนังของหนู (L929, Mouse subcutaneous connective tissue) ที่อุณหภูมิ 37 °C, 5% CO₂ ให้มีความหนาแน่น 1×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ใน 96-well microplate ทำการทดสอบสารที่ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 $\mu\text{g/mL}$ บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปลี่ยนอาหารใหม่ และเติม 400 $\mu\text{g/mL}$ MTT solution ปริมาตร 100 μL บ่มที่ 37 °C, 5% CO₂ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ถ่ายอาหารออก และเติม DMSO 100 $\mu\text{L/well}$ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm ด้วย ELISA reader แล้วคำนวณหาค่า IC₅₀ พร้อมทั้งคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่รอดชีวิต (% survival)

3.4.3 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราในพืชของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์

ทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อราในพืชของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์กับเชื้อราทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ *Rhizopus sp.* (โรคเน่าและของผลไม้และผัก), *Bipolaris oryzae* (สาเหตุใบจุดสีน้ำตาล โรคเมล็ดต่าง และ โรคกล้าเน่าในกระบะเพาะกล้าข้าว), *Curvularia lunata* (โรคเมล็ดต่าง และ โรคกล้าเน่าในกระบะเพาะกล้าข้าว), *Fusarium semitectum* (โรคเมล็ดต่าง และ โรคกล้าเน่าในกระบะเพาะกล้าข้าว) และ *Fusarium fujikuroi* (โรคยอดฝักดาบ) ที่ทำการบ่มเพาะเลี้ยงบน Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia, India) ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน

3.4.3.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราด้วย Agar well diffusion method

ทำการละลาย tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์ด้วยเมทานอล ยกเว้น (2b) และ (2c) ละลายด้วยอะซีโตนให้ความเข้มข้นเท่ากับ 20 mg/mL จากนั้นทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ petri dish ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 cm จากนั้นเจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 mm แล้วหยดสารสกัดที่เตรียมไว้ ปริมาณ 50 μ L นำไปบ่มเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน นำออกมาอ่านผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone โดย negative control ใช้เป็นตัวทำละลาย และ amphotericin B ใช้เป็น positive control ทำทั้งหมด 2 ซ้ำ วิธีการนี้โดยทั่วไปใช้เป็นการตรวจสอบฤทธิ์ของสารในเบื้องต้น

3.4.3.2 หาความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum inhibitory concentration, MIC) ของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์

นำเชื้อราทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *Rhizopus sp.*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum* และ *Fusarium fujikuroi* มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเติม normal saline 5 mL ลงบนโคโลนีของเชื้อรา เขี่ยสปอร์เชื้อราและตรวจนับด้วย hemacytometer ที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการหยดสารลงใน 96-well microplate ความเข้มข้นจากหลุมแรกถึงหลุมที่ 11 อยู่ระหว่าง 2 mg/mL ถึง 1.953 μ g/mL ซึ่งทำ serial dilution ถ่ายสารละลายจากหลุมแรก 100 μ L ไปเรื่อยๆ โดยใช้ sabouraud dextrose broth Glucose Phenol red (SDBGP) ทำซ้ำ 3 ครั้ง เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน โดย negative control ใช้เป็นตัวทำละลาย และ amphotericin B ใช้เป็น positive control สังเกตความขุ่นโดยหลุมสุดท้ายที่ใสจะเป็นหลุมที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

3.4.3.3 ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา

ผสม (153g) ที่ความเข้มข้น 0, 100, 250, 500 and 1000 μ g/mL ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และทำการเทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ petri dish ปริมาณ 20 mL ใช้ amphotericin B เป็น positive control และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่มีสารเป็น negative control จากนั้นนำเชื้อราทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *Rhizopus sp.*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum* และ *Fusarium fujikuroi* มาวางไว้ตรงกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี พร้อมทั้งคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

$$IR (\%) = \frac{DC - DT}{DC} \times 100$$

เมื่อ	IR	=	การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา
	DC	=	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ไม่มีสาร
	DT	=	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีสาร ทดสอบ

3.4.4 การทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

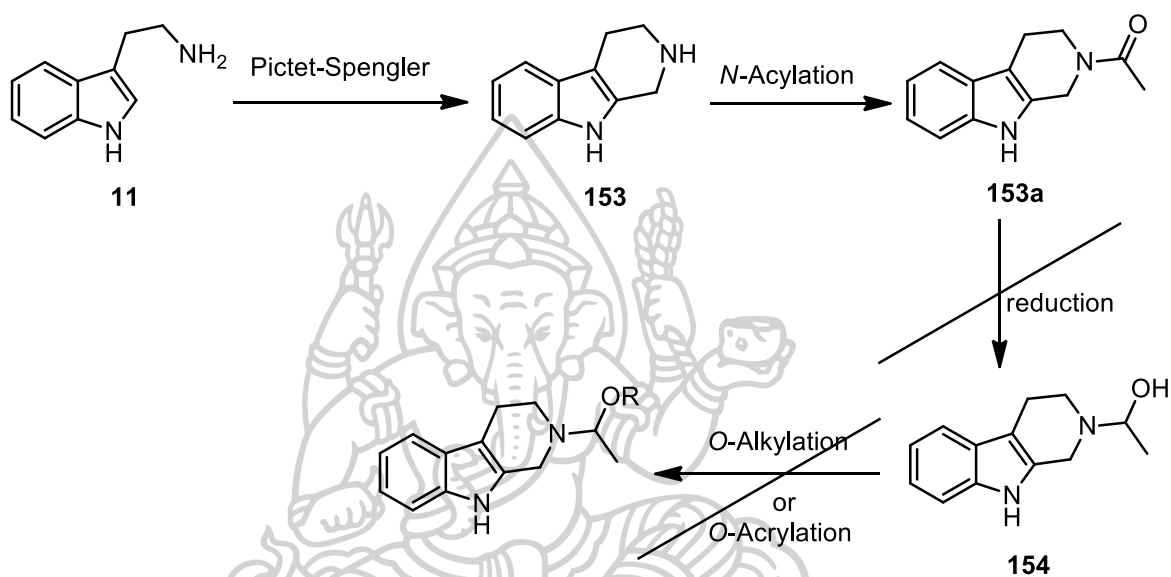
นำอนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline ที่ได้จากการสังเคราะห์ มาทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดและความยาวของราก และลำต้น เปรียบเทียบกับน้ำและ IAA การทดสอบเริ่มจากเตรียมข้าวเปลือกพันธุ์ กข.49 ที่รวบรวมโดยร้านชัยเจริญ ทำการรวบรวมวันที่ 18 พ.ย. 2559 (LOT NO. 590/60) มาล้างด้วยน้ำยาล้างจานเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน นำเมล็ดข้าวเปลือกที่ผ่านการล้างแล้ว มาแช่สารละลายที่ความเข้มข้น 1.7, 0.17, 0.017 และ 0.0017 ppm ปริมาตร 10 mL ที่ความเข้มข้นละ 20 เมล็ดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเมล็ดข้าวเปลือกมาวางลงบนจานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ที่บรรจุด้วยกระดาษกรอง 2 แผ่นที่ซุบสารละลายของสารที่ต้องการทดสอบ จากนั้นนำจานเลี้ยงเชื้อวางไว้ในตู้หมักในตู้ปฏิบัติการเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการวัดความยาวของราก และลำต้นโดยใช้ไม้บรรทัดในวันที่ 5 ของการเพาะเมล็ดข้าวและคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด (germination percentage)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด (germination percentage)} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดข้าวเปลือกที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดข้าวเปลือกที่ปลูกทั้งหมด}} \times 100$$

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

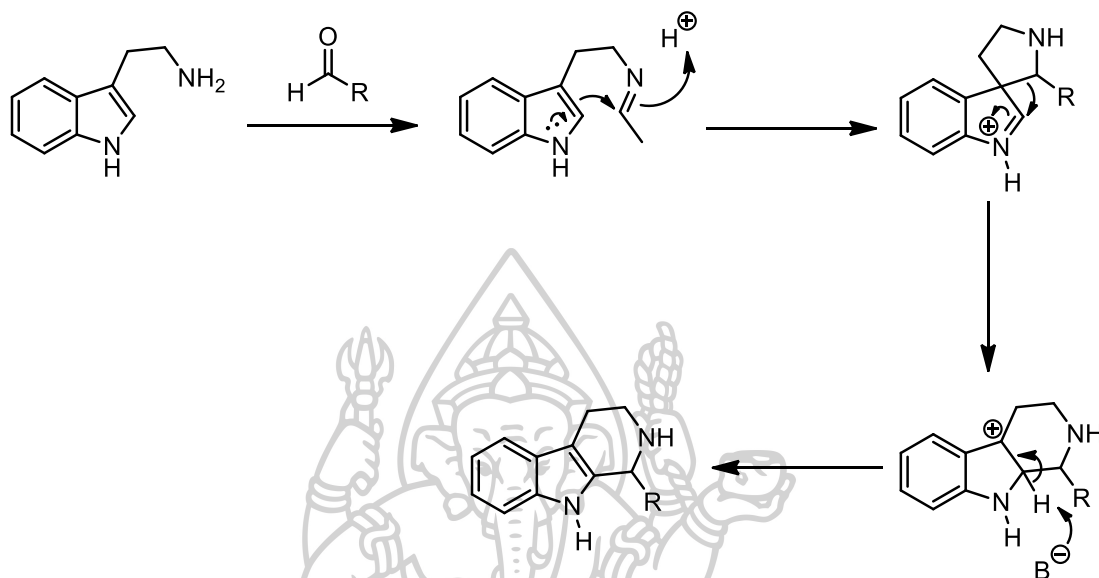
4.1 แผนการสังเคราะห์ที่ 1



ภาพที่ 28 ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline ตามแผนการสังเคราะห์ที่ 1

การสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline ตามแผนการสังเคราะห์ที่ 1 นั้น เริ่มทำการสังเคราะห์จากนำ tryptamine (11) มาทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับ 37% formaldehyde ในสภาวะกรด ในตัวทำละลาย CH_3CN และให้ความร้อนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าให้ร้อยละผลิตภัณฑ์เพียง 24% จึงเปลี่ยนมาใช้ paraformaldehyde ในสารละลายผสมระหว่าง $\text{AcOH}:\text{MeOH}$ ในอัตราส่วน 10:1 ทำให้เกิดการปิดวงได้ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (2) ในปริมาณ 91% ยืนยันได้จาก $^1\text{H-NMR}$ พบสัญญาณ triplet 2 โปรตอน ที่ 2.77 ppm เป็นของ CH_2 ที่เกิดจากการปิดวง กลไกการเกิดปฏิกิริยา Pictet-Spengler [61] จะเกิดผ่าน iminium ion ตามด้วยปฏิกิริยา electrophilic addition ของวง tryptamine ที่ตำแหน่งที่ 3 ทำให้

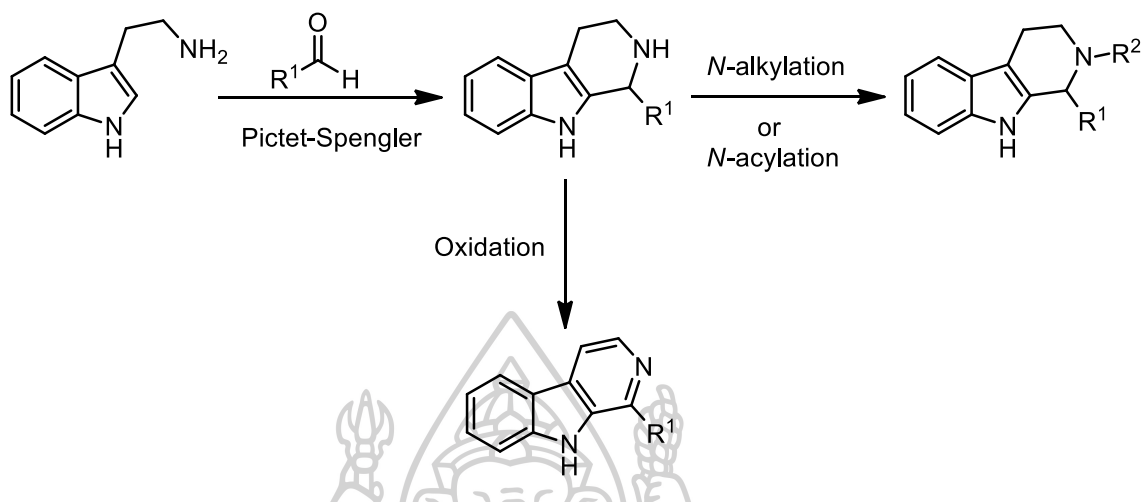
เกิด spiroindolenine จากนั้นเกิด rearrangement เข้าทำปฏิกิริยาที่ตำแหน่งที่ 2 ตามด้วยปฏิกิริยา deprotonation โดยเบสทำให้เกิดการปิดวงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (ภาพที่ 29)



ภาพที่ 29 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยา Pictet-Spengler

ต่อมานำไปทำปฏิกิริยา *N*-Acrylation กับ acetic anhydride ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยา คาดว่าน่าจะเกิดจาก acetic anhydride ที่ใช้เก่าอาจเกิดการสลายตัว แต่ถ้าใช้ NEt_3 เป็นเบสจะได้ 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (**153a**) 27% ผลิตภัณฑ์ จากนั้นผู้วิจัยนำ 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (**153a**) มาพยายามทำปฏิกิริยา reduction โดยใช้ LiAlH_4 และ NaBH_4 เป็นตัวรีดิวซ์ (reducing agent) เพื่อเปลี่ยนหมู่ ketone เป็นหมู่ alcohol พบว่าสารเกิดการสลายตัวขณะทำให้บริสุทธิ์ ทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์ 1-(3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)ethanol (**154**) จึงไม่สามารถนำไปทำปฏิกิริยา *O*-Alkylation หรือ *O*-Acrylation

4.2 แผนการสังเคราะห์ที่ 2

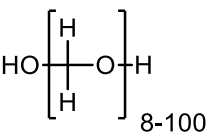
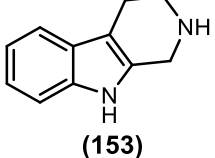
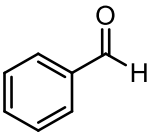
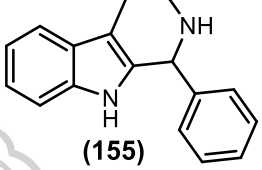
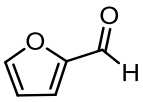
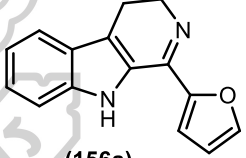
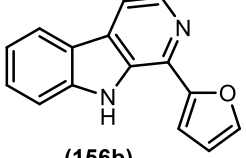
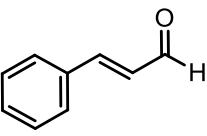
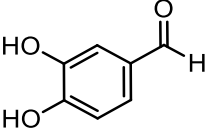


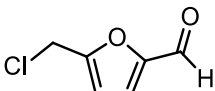
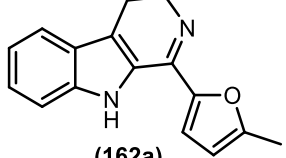
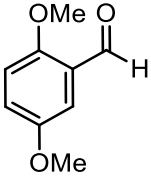
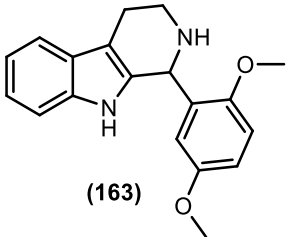
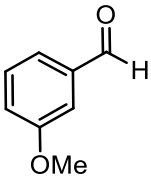
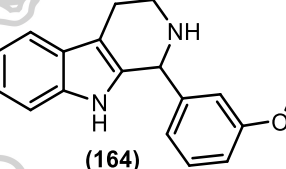
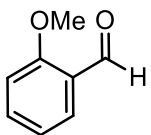
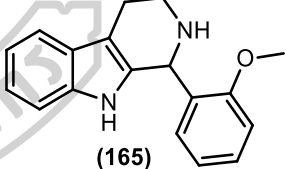
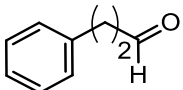
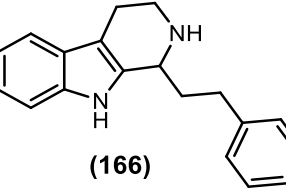
ภาพที่ 30 ผลการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ Tetrahydro-β-carboline ตามแผนการสังเคราะห์ที่ 2

แผนการสังเคราะห์ที่ 2 นั้นจะทำการสังเคราะห์ THβCs บนตำแหน่งที่ 1 และ 2 เริ่มจากนำ tryptamine (11) มาทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับแอลดีไฮด์ชนิดต่างๆ (ตารางที่ 10) ในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH ในอัตราส่วน 10:1 ทำให้เกิดการปิดวงได้ 1-substituted THβCs โดยให้ร้อยละผลผลิตสูง 72-92% ยกเว้นเมื่อทำปฏิกิริยากับ 2-methoxybenzaldehyde และ 3-phenylpropanal ให้ร้อยละผลผลิตเพียง 9% และ 24% ตามลำดับ อาจมาจาก 2-methoxybenzaldehyde มีหมู่ให้อิเล็กตรอนที่ตำแหน่ง ortho ทำให้ลดความสามารถในการเป็นอิเล็กโตรไฟล์ของหมู่อัลดีไฮด์ลง จึงทำให้ยากต่อการเกิดปฏิกิริยา และ 3-phenylpropanal อาจเกิดการสลายตัวระหว่างทำปฏิกิริยา จึงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ปริมาณน้อย และถ้านำ tryptamine (11) ทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับ 2-furaldehyde ในสภาวะกรดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ เกิดเป็น 1-(furan-2-yl)-4,9-dihydro-3H-pyrido[3,4-b]indole (156a) และ 1-(furan-2-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indole (156b) ที่มีโครงสร้างเป็นวงอะโรมาติกซึ่งมีความเสถียรมากกว่า ยืนยันจากข้อมูล ¹H-NMR โดยสาร (156a) ไม่พบสัญญาณ singlet 1 โปรตอนของ C-1 พบเพียงสัญญาณ triplet 2 โปรตอน ที่ 2.99 และ 4.05 ppm และสาร (156b) พบสัญญาณ doublet 1 โปรตอน ที่ 4.05 และ 2.99 ppm ของ C-3 และ C-4 เท่านั้น ต่อมาทำการเติมหมู่โบรมีนไปที่ตำแหน่งที่ 2 ของ 2-furaldehyde พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาจึงไม่สามารถทำสังเคราะห์ต่อได้ นอกจากนี้เมื่อนำ tryptamine (11) ทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับ

cinnamaldehyde ในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาเช่นเดียวกับทำปฏิกิริยากับ 3,4-dihydroxybenzaldehyde ที่เป็นสารประกอบฟีนอล อาจเกิดปฏิกิริยาสะเทินกับสารละลาย 30% NH_4OH ในขั้นตอนการหยุดปฏิกิริยา ทำให้เกิดเป็นฟีนอกไซด์ไอออน แล้วละลายอยู่ในชั้นน้ำขณะทำการสกัด จึงทำให้ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

ตารางที่ 10 แสดงสภาวะการสังเคราะห์ 1-substituted TH β Cs

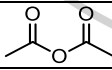


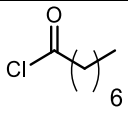
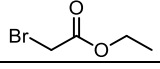

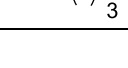
แอลดีไฮด์	สภาวะการทำปฏิกิริยา	ผลิตภัณฑ์	% ผลิตภัณฑ์
	AcOH : dry MeOH (10:1), 4 Å MS 80 °C, 2.0 hr then Basified to pH 9-10 using NH_4OH	 (153)	91
	AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS 80 °C, 1.5 hr then Basified to pH 9-10 using NH_4OH	 (155)	78
	AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS 80 °C, 1.5 hr then Basified to pH 9-10 using NH_4OH	 (156a)  (156b)	7 2
	AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS 80 °C, 1.0 hr then Basified to pH 9-10 using NH_4OH	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-
	AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS 80 °C, 1.5 hr then Basified to pH 9-10 using NH_4OH	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-

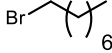

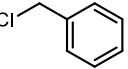
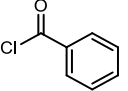
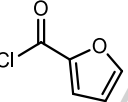
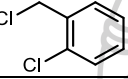
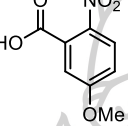
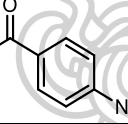
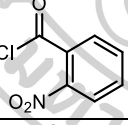
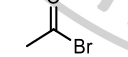
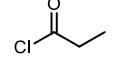
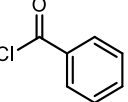
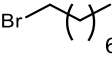
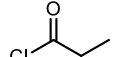
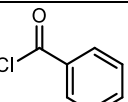
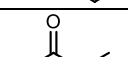
แอลดีไฮด์	สภาวะการทำปฏิกิริยา	ผลิตภัณฑ์	% ผลิตภัณฑ์
	AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS 80 °C, 1.5 hr then Basified to pH 9-10 using NH ₄ OH	 (162a)	5
	AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS 80 °C, 1.5 hr then Basified to pH 9-10 using NH ₄ OH	 (163)	92
	AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS 80 °C, 1.5 hr then Basified to pH 9-10 using NH ₄ OH	 (164)	72
	AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS 80 °C, 1.5 hr then Basified to pH 9-10 using NH ₄ OH	 (165)	9
	AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS 80 °C, 1 hr then Basified to pH 9-10 using NH ₄ OH	 (166)	24

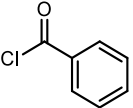
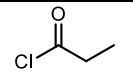
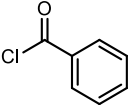
ต่อมา นำ 1-substituted TH β Cs ไปทำปฏิกิริยา *N*-Acylation หรือ *N*-Akylation กับ alkyl halide หรือ acyl halide ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.5-24 ชั่วโมง (ตารางที่ 11) ใช้ NEt₃ เป็นเบส

จะได้ 1,2-substituted TH β Cs ให้ร้อยละผลผลิต 2-93% นอกจากนี้เมื่อนำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153**) ทำปฏิกิริยา *N*-Akylation กับ 3 เท่าของ crotyl chloride โดยใช้ NEt₃ จำนวน 2 เท่าของสารตั้งต้น จะให้ 2,2-di((*E*)-but-2-en-1-yl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-*b*]indol-2-ium (**153i**) 24% จึงทำการเปลี่ยนสถานะที่ใช้เป็น NEt₃ 1.5 เท่า และใช้ crotyl chloride 0.6 เท่า ในระยะเวลาเท่ากันทำให้ได้ (*E*)-2-(but-2-en-1-yl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-*b*]indole (**153h**) ที่ต้องการ มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 24% ยังพบว่าเมื่อนำ 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) ทำปฏิกิริยากับ 2 เท่าของ 2-chloridebenzyl chloride โดยใช้ NEt₃ 3 เท่า จะเกิด 2,2-bis(2-chlorobenzyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-*b*]indol-2-ium (**153n**) แทน และเมื่อทำการสังเคราะห์ (1-(2-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanone (**165b**) จาก 1-(2-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-*b*]indole (**165**) และ benzoyl chloride ในสถานะเบสที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยา อาจเนื่องมาจากความเกะกะของหมู่ methoxy บนวงเบนซีนของสารตั้งต้น ทำให้ benzoyl chloride ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยา ยืนยันจากข้อมูล ¹H-NMR ไม่พบสัญญาณของสารผลิตภัณฑ์

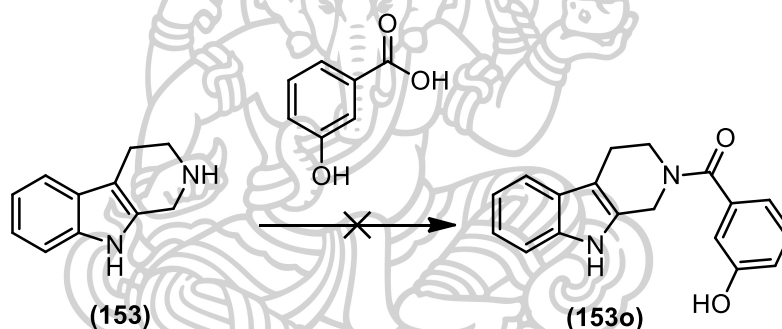
ตารางที่ 11 แสดงสถานะการสังเคราะห์ 1,2-substituted TH β Cs

สารตั้งต้น	alkyl halide หรือ acyl halide	NEt ₃ (eq)	เวลา (ชั่วโมง)	ผลิตภัณฑ์	% ผลิตภัณฑ์
(153)		1	1	(153a)	27
		1	1		42
		1.5	1	(153b)	78
		1.5	3	(153c)	41
		1.5	22	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-
		2	1	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-
		2	24	(153f)	57

สารตั้งต้น	alkyl halide หรือ acyl halide	NEt ₃ (eq)	เวลา (ชั่วโมง)	ผลิตภัณฑ์	% ผลิตภัณฑ์
(153)		2	22	(153g)	15
		2	24	(153i)	24
		0.6	24	(153h)	24
		0.6	24	(153j)	16
		1.5	4	(153k)	61
		1.5	5	(153l)	13
		3	4	(153n)	12
		1.5	24	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-
		1.5	24	(153r)	25
	1.5	24	(153s)	13	
(155)		1.2	3	(155a)	18
		0.6	4	(155b)	59
		0.6	3.5	(155c)	31
		2	4	(155d)	93
(164)		0.6	3	(164a)	30
		0.6	3	(164b)	25
(165)		0.6	3	(165a)	42

สารตั้งต้น	alkyl halide หรือ acyl halide	NEt ₃ (eq)	เวลา (ชั่วโมง)	ผลิตภัณฑ์	% ผลิตภัณฑ์
(165)		0.6	3	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-
(166)		0.6	3	(166a)	39
		0.6	3	(166b)	2

ตารางที่ 12 แสดงผลการสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(3-hydroxyphenyl) methanone (153o)

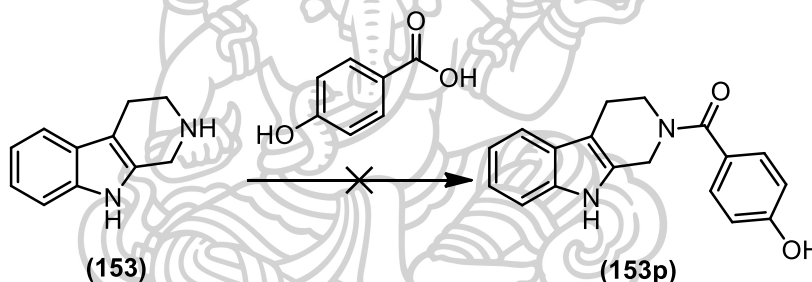


วิธี	สภาวะการทำปฏิกิริยา
1	NEt ₃ , CH ₂ Cl ₂ , rt 24 hr.
2	DMAP, DCC, CH ₂ Cl ₂ , rt 24 hr.
3	POCl ₃ , DMAP, xylene, reflux 3 hr.

เมื่อนำสารประกอบ (153) ทำปฏิกิริยากับ 3-hydroxybenzoic acid โดยใช้เบสเป็น NEt₃ พบว่าไม่เกิดเป็น (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(3-hydroxyphenyl) methanone (153o) อาจเป็นผลมาจากหมู่คาร์บอกซิลของ 3-hydroxybenzoic acid ที่มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาน้อย จึงได้ลองทำการเปลี่ยนสภาวะการทดลองเป็นนำสารประกอบ (153) ทำปฏิกิริยากับ 3-hydroxybenzoic acid โดยใช้ dicyclohexylcarbodiimide (DCC) เป็น

coupling reagent และใช้ 4-dimethylaminopyridine (DMAP) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ก็พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาเช่นกัน จึงทำเปลี่ยนสภาวะการทดลองอีกครั้ง โดยทำการสังเคราะห์แบบ one-pot เริ่มจากนำสารตั้งต้น และ 3-hydroxybenzoic acid ละลายใน xylene จากนั้นเติม POCl₃ และ DMAP ให้ความร้อนแก่สารละลายเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อทำการเปลี่ยนหมู่คาร์บอกซิลของ 3-hydroxybenzoic acid ให้เป็นแอซิดคลอไรด์ ที่มีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาเช่นกัน (ตารางที่ 12) จึงทำการเปลี่ยนเป็น 4-hydroxybenzoic acid พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเช่นกัน (ตารางที่ 13) และยังพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้เมื่อทำปฏิกิริยากับ ethyl bromoacetate และ bromoethane เกิดการสลายตัวขณะทำให้บริสุทธิ์ และ 5-methoxy-2-nitrobenzoic acid นั้นไม่เกิดปฏิกิริยา คาดว่าสภาวะที่ใช้ทดลองอาจไม่เหมาะสม

ตารางที่ 13 แสดงผลการสังเคราะห์ (3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(4-hydroxy phenyl)methanone (153p)

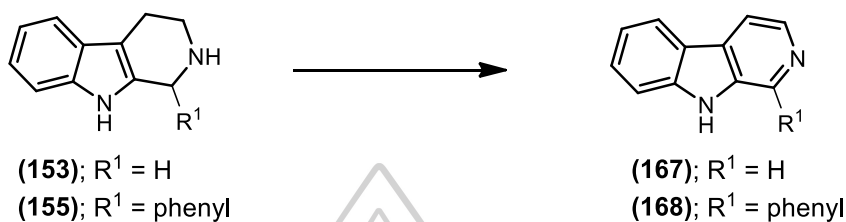


วิธี	สภาวะการทำปฏิกิริยา
1	NEt ₃ , CH ₂ Cl ₂ , rt 24 hr.
2	POCl ₃ , DMAP, xylene, reflux 3 hr.

และยังทำการสังเคราะห์ β -Carboline (**167**, **168**) (ตารางที่ 14) ผ่านปฏิกิริยา oxidation เริ่มจากนำ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153**) ละลายในตัวทำละลาย benzene จากนั้นเติม 10% Pd/C ให้ความร้อนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ จึงทำการเปลี่ยนสภาวะที่ใช้ทดลองมาเป็นใช้ตัวทำละลาย *p*-xylene และใช้ในปริมาณที่ลดลง ให้ความร้อนกับสารละลายที่อุณหภูมิ 145 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าได้ 9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**167**) 17% จึงเพิ่มเวลาการทดลองเป็น 48 ชั่วโมง พบว่าได้ร้อยละผลผลิตที่สูงขึ้นเป็น 33% และเมื่อนำ 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**155**) ทำปฏิกิริยา oxidation กับ 10%

Pd/C ให้ความร้อนเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการอาจเนื่องมาจากใช้เวลานาน และอุณหภูมิไม่เหมาะสมทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการสลายตัว

ตารางที่ 14 ผลการสังเคราะห์ β -Carboline (167, 168)



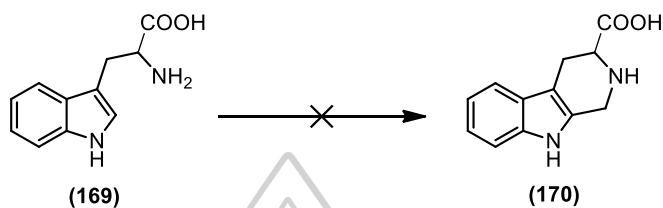
สารตั้งต้น	สภาวะที่ใช้ทดลอง	เวลา (ชั่วโมง)	ผลิตภัณฑ์	% ผลิตภัณฑ์
(153)	10% Pd/C, reflux	8	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-
	10% Pd/C, 145 °C then MeOH	24	(167)	17
	10% Pd/C, 145 °C then MeOH	48		33
(155)	10% Pd/C, 145 °C then MeOH	18	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-

4.3 แผนการสังเคราะห์ที่ 3

ในแผนการสังเคราะห์ที่ 3 นี้ จะทำการสังเคราะห์ TH β Cs ที่มีหมู่แทนที่บริเวณตำแหน่งที่ 1, 2 และ 3 เพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ตำแหน่งที่ 3 ว่ามีผลต่อการออกฤทธิ์หรือไม่ โดยเริ่มต้นการสังเคราะห์จาก tryptophan (169) โดยในการสังเคราะห์ 1,3-substituted TH β Cs (ตารางที่ 15) ถ้านำ tryptophan (169) ทำปฏิกิริยากับ paraformaldehyde ผ่านปฏิกิริยา Pictet-Spengler ในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH ในอัตราส่วน 10:1 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาเป็น 2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole-3-carboxylic acid (170) จึงทำการเปลี่ยนสภาวะที่ใช้ทดลองเป็นน้ำ tryptophan (169) ละลายใน 2.5 M NaOH แทน ทำการกวนสารละลายจนกระทั่งตะกอนละลายจากนั้นค่อยๆเติม 37% formalin กวนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม 2 M HCl จนสารละลายเป็นกลาง พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาเช่นกัน

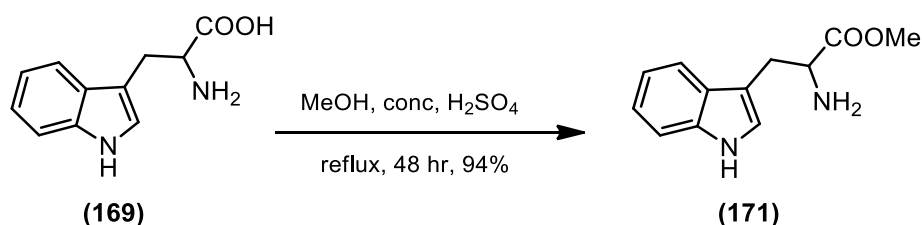
อาจเป็นผลมาจากความเป็นกรด-เบสของปฏิกิริยามีผลต่อหมู่คาร์บอกซิลิกของสารตั้งต้นจึงทำให้ไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

ตารางที่ 15 ผลการสังเคราะห์ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylic acid (170)



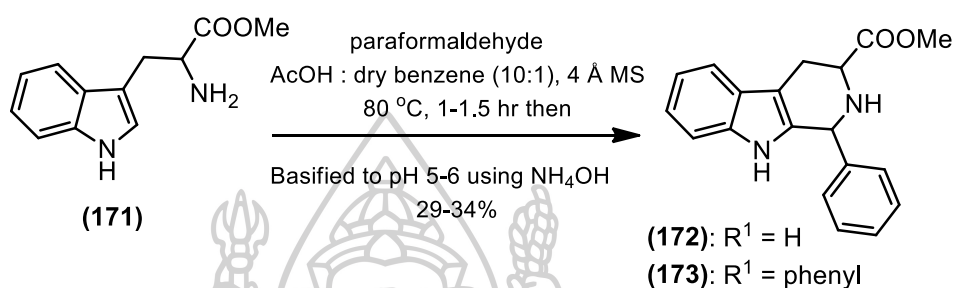
วิธี	สภาวะที่ใช้ทดลอง
1	Paraformaldehyde AcOH : dry benzene (10:1), 4 Å MS, 80 °C, 3 hr then Basified to pH 9-10 using NH ₄ OH
2	37% formalin 2.5 M NaOH, rt, 2 hr., reflux 3 hr then neutralized by 2 M HCl

จึงทำการปกป้องหมู่คาร์บอกซิลิกของสารตั้งต้น โดยทำปฏิกิริยา esterification ด้วยตัวละลายเมทานอล และ conc. H₂SO₄ ให้ความร้อนภายใต้บรรยากาศก๊าซ Argon เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้เป็น methyl 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate (171) ให้ร้อยละผลผลิตสูงถึง 94% (ภาพที่ 31)



ภาพที่ 31 ผลการสังเคราะห์ methyl 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate (171)


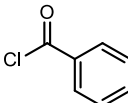

จากนั้นทำการปิดวงผ่านปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับ paraformaldehyde (ภาพที่ 32) ได้ methyl 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (172) ให้ร้อยละผลผลิตสูง 29% และเมื่อนำ methyl 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate (171) ปิดวงกับ benzaldehyde ให้ methyl 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (173) 34%

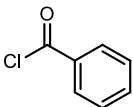


ภาพที่ 32 แสดงผลการสังเคราะห์ 1,3-substituted THβCs

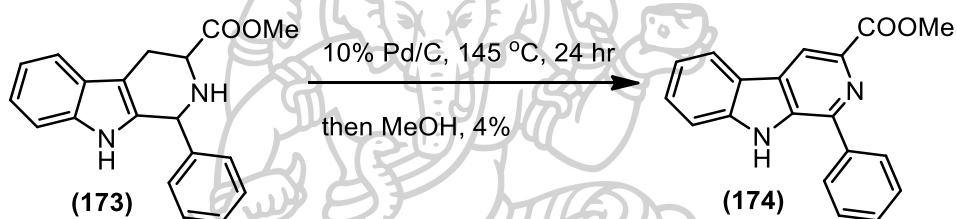
จากนั้นนำ 1,3-substituted THβCs ทำปฏิกิริยา *N*-Acylation กับ acyl halide ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง (ตารางที่ 16) ใช้ NEt₃ เป็นเบสจะได้ 1,2,3-substituted THβCs ให้ร้อยละผลผลิต 52-54% นอกจากนี้ นำ methyl 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (173) ทำปฏิกิริยากับ propionyl chloride และ benzoyl chloride โดยใช้ NEt₃ 0.6 เท่าของสารตั้งต้นพบว่าผลิตภัณฑ์เกิดการสลายตัว ไม่เกิดเป็น 1-phenyl-2-propionyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (173a) และ methyl 2-benzoyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (173b)

ตารางที่ 16 แสดงสภาวะในการสังเคราะห์ 1,2,3-substituted THβCs

สารตั้งต้น	alkyl halide หรือ acyl halide	NEt ₃ (eq)	เวลา (ชั่วโมง)	ผลิตภัณฑ์	% ผลิตภัณฑ์
(172)		0.6	5	(172a)	52
		0.6	4	(172b)	54
(173)		0.6	4	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-

สารตั้งต้น	alkyl halide หรือ acyl halide	NEt ₃ (eq)	เวลา (ชั่วโมง)	ผลิตภัณฑ์	% ผลิตภัณฑ์
(173)		0.6	3.5	ไม่เกิดปฏิกิริยา	-

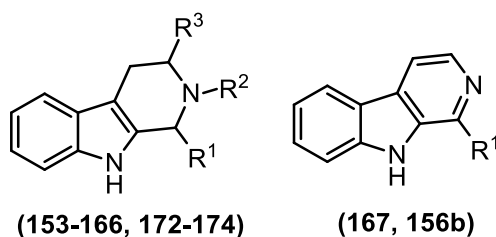
และเมื่อนำ methyl 1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (173) ทำปฏิกิริยา oxidation กับ 10% Pd/C ที่อุณหภูมิ 145 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าได้ methyl 1-phenyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (174) เพียง 4% เท่านั้นอาจเกิดจากเวลาที่ใช้ตั้งปฏิกิริยาไม่เหมาะสม (ภาพที่ 33)






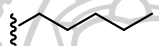

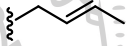

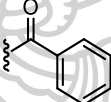
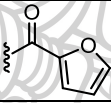
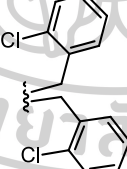
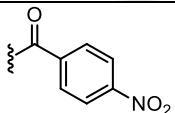
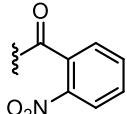





ภาพที่ 33 ผลการสังเคราะห์ methyl 1-phenyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (174)

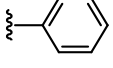
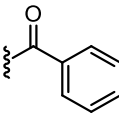
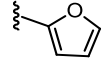
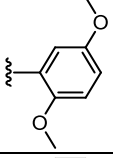
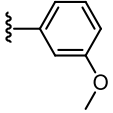
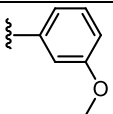
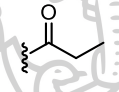
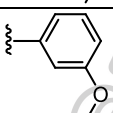
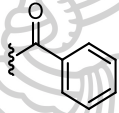
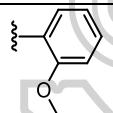
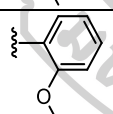
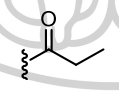
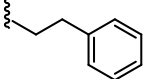
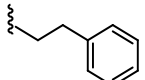
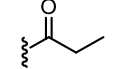
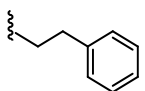
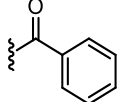

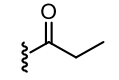

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

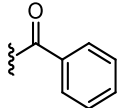

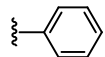

4.4.1 ผลทดสอบการต้านเซลล์มะเร็ง และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงของ tetrahydro- β -carboline และอนุพันธ์โดยวิธี MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide]



ตารางที่ 17 แสดงผลทดสอบการต้านเซลล์มะเร็ง และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง

สาร	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (µg/mL)		
				Hep G2	Hela	L929
(153)	H	H	H	122.00	88.66	53.00
(153a)	H		H	67.00	153.19	82.00
(153b)	H		H	57.78	88.61	145.00
(153c)	H		H	nd*	221.37	76.00
(153f)	H		H	50.67	81.14	10.00
(153g)	H		H	nd*	135.98	11.00
(153h)	H		H	85.00	123.13	54.63
(153j)	H		H	44.20	41.50	30.00
(153k)	H		H	24.00	82.04	40.00
(153l)	H		H	64.00	58.67	54.20
(153n)	H		H	26.67	25.00	16.71
(153r)	H		H	178.79	147.51	117.94
(153s)	H		H	123.92	84.15	102.65
(155)		H	H	90.68	37.07	38.00
(155a)			H	600.00	72.43	122.77
(155b)			H	111.22	219.23	237.29

สาร	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (µg/mL)		
				Hep G2	Hela	L929
(155c)			H	100.63	210.79	190.58
(156b)		-	H	61.54	98.78	18.43
(163)		H	H	92.59	148.31	98.55
(164)		H	H	89.74	100.85	240.79
(164a)			H	143.04	35.32	171.33
(164b)			H	149.43	172.78	275.87
(165)		H	H	53.74	62.75	109.29
(165a)			H	156.56	39.72	125.92
(166)		H	H	27.84	23.67	138.38
(166a)			H	23.79	33.33	109.38
(166b)			H	79.48	115.76	116.29
(167)	H	-	H	139.95	62.67	22.33
(172)	H	H		128.25	147.11	182.07
(172a)	H			61.59	124.25	126.99

สาร	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (µg/mL)		
				Hep G2	Hela	L929
(172b)	H			125.15	200.20	188.67
(174)		H		181.25	137.39	68.14
Acridine orange				6.36	4.11	7.24

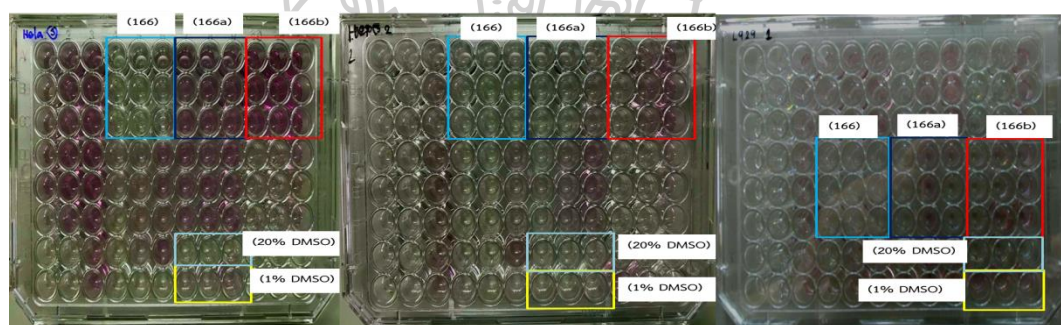
* nd; not detect

** ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ยของการทดสอบ 3 ซ้ำ

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa, cervix carcinoma cell) เซลล์มะเร็งรังไข่ (Hep G2, human liver carcinoma) และความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อ (L929, mouse subcutaneous connective tissue) โดยวิธี MTT [3-(3,5-dimethylthiazol-2,5-diphenyltetrazolium bromide)] assay เป็นการใช้สาร tetrazolium salt ซึ่งถูกเอนไซม์ในไมโทคอนเดรียเปลี่ยนเป็นผลึกสีม่วงที่ไม่ละลายน้ำ (violet formazan crystal) ในกรณีที่เซลล์ตายจะทำให้เอนไซม์เสียหายไปด้วย จึงสามารถหาปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตได้ โดยการตรวจวัดต้องละลาย formazan crystal แล้วนำไปวัดที่ความยาวคลื่น 540 nm โดยผลการทดสอบพบว่าอนุพันธ์บางตัวมีฤทธิ์ที่ดีการต้านเซลล์มะเร็ง โดยบริเวณตำแหน่งที่ 1 ถ้าหมู่แทนที่เป็นวงอะโรมาติกจะให้ฤทธิ์ที่ดีกว่า โดย 1-(2-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**165**) และ 1-(3-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**164**) ที่มีหมู่ OMe บนวงอะโรมาติกในตำแหน่ง *ortho* และ *meta* มีฤทธิ์ต้านมะเร็งที่ดี และความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อ L929 น้อย แต่ถ้ามีหมู่ OMe แทนที่อยู่ 2 หมู่บนวงเบนซีนจะให้ฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งลดลง และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ L929 มีค่าสูงขึ้นอีกด้วย อย่างเช่น 1-(2,5-dimethoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**163**) ถ้าเป็น 1-phenethyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**166**) ที่ตำแหน่งที่ 1 ต่อกับแอลคิลสายยาวแล้วปลายสายเป็นวงอะโรมาติกจะให้ฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งดีที่สุด มีค่า IC₅₀ (half maximal inhibitory concentration) ในการต้านเซลล์มะเร็ง HeLa และ HepG2 เท่ากับ 23.67 และ 27.84 µg/mL ตามลำดับ และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติก็มีค่าน้อยอีกด้วย

ในส่วนของ 1,2-substituted THβCs พบว่าบริเวณตำแหน่งที่ 1 เป็นไฮโดรเจน และตำแหน่งที่ 2 เป็นหมู่แอลคิลให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งในระดับปานกลาง แต่เป็นพิษต่อเซลล์

ปกติสูง และ 2,2-bis(2-chlorobenzyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2-ium (153n) ที่มีการแทนที่ของหมู่ 2-chlorobenzyl จำนวน 2 หมู่ตรงตำแหน่งที่ 2 ให้ฤทธิ์ที่ดีในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง แต่ก็มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ L929 สูงอีกด้วย มีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 16.71-26.67 $\mu\text{g/mL}$ ในส่วนของ aromatic amide (153k, 153l) พบว่าให้ฤทธิ์ที่ดีกว่า โดย (3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)(phenyl)methanone (153k) ที่มีหมู่แทนที่ตรงตำแหน่งไนโตรเจนเป็นหมู่ benzoyl ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง Hep G2 และ HeLa ได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 24.00 และ 82.04 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ในส่วนของ aliphatic amide (153a-153c) นั้นให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลดลง เช่นตำแหน่งที่ 2 เป็นหมู่ propionyl (153b) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งในระดับปานกลางมีค่าระหว่าง 57.78-88.61 $\mu\text{g/mL}$ แต่ความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติมีค่าน้อยมีค่า IC_{50} มากกว่า 100 $\mu\text{g/mL}$ จึงทำการเลือกตำแหน่งที่ 2 เป็นหมู่ benzoyl และหมู่ propionyl ที่ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ดี และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติน้อยมาทำการสังเคราะห์อนุพันธ์อื่นๆต่อไป



ภาพที่ 34 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง และความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อของ (14), (14a) และ (14b)

จากการศึกษาผลของโครงสร้างตำแหน่งที่ 1 และ 2 ต่อการออกฤทธิ์ พบว่า บริเวณตำแหน่งที่ 1 ที่เป็นวงอะโรมาติก และตำแหน่งที่ 2 เป็นหมู่ benzoyl หรือหมู่ propionyl มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติลดลง และให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลดลง จึงทำการศึกษาต่อ พบว่าที่ตำแหน่งที่ 1 มีหมู่ 3-methoxyphenyl (164a) และ 2-methoxyphenyl (165a) และที่ตำแหน่ง *N*-2 เป็นหมู่ propionyl ให้ฤทธิ์ที่ดีในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง HeLa มีค่า IC_{50} เท่ากับ 35.32 และ 39.72 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ และพบว่า ถ้าตำแหน่งที่ 1 เป็นหมู่ ethylbenzene และตำแหน่งที่ 2 เป็นหมู่ propionyl (166a) ให้ฤทธิ์ที่ดีที่สุดในการยับยั้งเซลล์มะเร็งมีค่าระหว่าง 23.79-33.33 $\mu\text{g/mL}$

ต่อมาเมื่อทำการศึกษาผลของหมู่แทนที่ในตำแหน่งที่ 3 ต่อการออกฤทธิ์ พบว่าเมื่อหมู่แทนที่เป็น methyl ester ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลดลง มีเพียง methyl 2-propionyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate (**172a**) ที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง Hep G2 ในระดับปานกลาง และสุดท้ายเมื่อทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง และความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของ β -carboline และอนุพันธ์ที่ได้มาจากการทำปฏิกิริยา oxidation ของ 1-substituted TH β Cs พบว่าให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปานกลาง และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติสูงถึง 18.43-22.33 $\mu\text{g/mL}$

4.4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราในพืช

ตารางที่ 18 แสดง Zone of Inhibition (mm) ของ TH β Cs และอนุพันธ์ บนเชื้อราในพืช

สาร	Zone of Inhibition (mm)				
	<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Fusarium fujikuroi</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Cuvularia lutana</i>	<i>Rhizopas Sp.</i>
(153)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
(153a)	0.0	0.0	1.0 \pm 0.0	0.0	-
(153b)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
(153c)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
(153f)	1.0 \pm 0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
(153g)	1.0 \pm 0.0	1.0 \pm 0.0	1.0 \pm 0.1	1.5 \pm 0.1	3.0
(153i)	1.0 \pm 0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
(153j)	0.0	0.0	0.0	1.0 \pm 0.0	0.0
(153k)	3.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.0	2.0 \pm 0.0	3.0 \pm 0.0	7.0
(153l)	6.0 \pm 0.0	2.0 \pm 0.1	2.5 \pm 0.1	2.5 \pm 0.2	4.0
(153n)	7.0 \pm 0.1	0.0	0.0	1.0 \pm 0.0	0.0
(155)	0.0	0.0	0.0	1.0 \pm 0.0	0.0
(155a)	0.0	0.0	2.0 \pm 0.1	0.0	2.0
(155b)	3.5 \pm 0.1	0.0	2.0 \pm 0.0	1.0 \pm 0.0	-

สาร	Zone of Inhibition (mm)				
	<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Fusarium fujikuroi</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Cuvularia lutana</i>	<i>Rhizopas Sp.</i>
(156b)	0.0	0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	0.0
(163)	1.0 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	-
(164)	6.0 ± 0.1	0.0	0.0	0.0	-
(165)	2.5 ± 0.3	0.0	0.0	4.0 ± 0.0	-
(166)	4.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	0.0	2.0 ± 0.0	-
(167)	2.0 ± 0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
(172)	0.0	0.0	0.0	0.0	-
(174)	1.5 ± 0.1	0.0	0.0	2.0 ± 0.1	-
Amphotericin B	2.1 ± 0.1	nd	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.1	-

* -; not test, ** nd; not detect

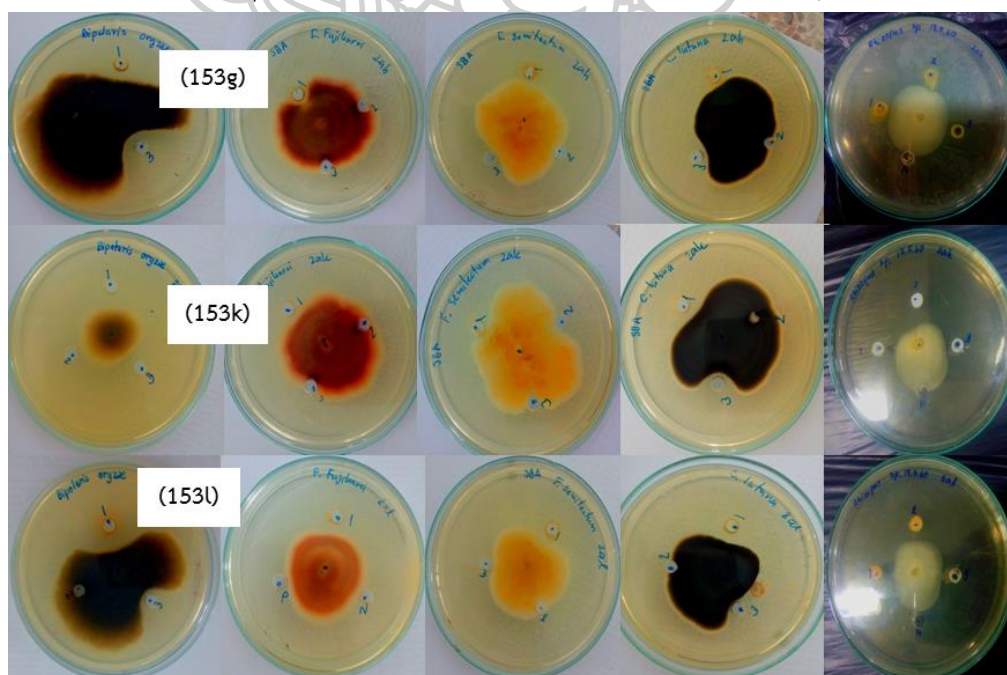
ตารางที่ 19 แสดง Minimum inhibitory concentrations (mg/mL) ของ THβCs และอนุพันธ์บนเชื้อราในพืช

สาร	Minimum inhibitory concentrations (mg/mL)			
	<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Fusarium fujikuroi</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Cuvularia lutana</i>
(153a)	-	-	0.87 ± 0.0	-
(153f)	0.11 ± 0.0	-	-	-
(153g)	0.028 ± 0.0	nd	nd	0.20 ± 0.0
(153i)	0.22 ± 0.1	-	-	-
(153j)	-	-	-	0.25 ± 0.0
(153k)	0.20 ± 0.1	nd	nd	0.52 ± 0.0
(153l)	0.40 ± 0.0	0.40 ± 0.0	nd	0.25 ± 0.0
(153n)	0.11 ± 0.0	-	-	0.50 ± 0.0
(155)	-	-	-	0.55 ± 0.1
(155a)	-	-	nd	-

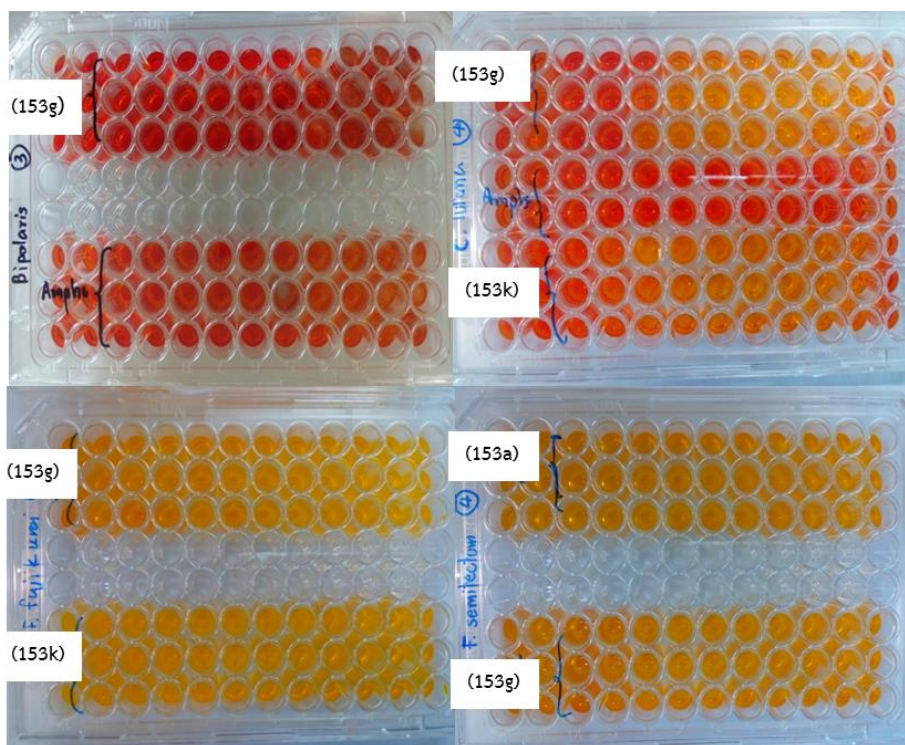
สาร	Minimum inhibitory concentrations (mg/mL)			
	<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Fusarium fujikuroi</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Cuvelaria lutana</i>
(155b)	0.21 ± 0.0	-	1.70 ± 0.0	0.27 ± 0.0
(156b)	-	-	0.88 ± 0.3	0.03 ± 0.0
(167)	0.11 ± 0.0	-	-	-
Amphotericin B	0.78 ± 0.0	nd	nd	0.33 ± 0.1

* -; not test, ** nd; not detect

เมื่อทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อราในพืชเบื้องต้นของ TH β Cs และอนุพันธ์กับเชื้อราทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ *Rhizopus sp.*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum* และ *Fusarium fujikuroi* ที่ทำการบ่มเพาะเลี้ยงบน Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 7 วัน พบว่า 1-substituted TH β Cs และ β -carboline ให้ฤทธิ์ไม่ดีในการยับยั้งเชื้อราในพืช และเมื่อศึกษาผลของหมู่แทนที่ตำแหน่ง N-2 ต่อผลในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราพบว่าให้ฤทธิ์ได้ดีขึ้น ซึ่งหมู่ alkyl amine (153g) และ aromatic amide (153k) และ (153l) มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราในพืชได้ทั้ง 5 ชนิด โดยมี Zone of Inhibition ระหว่าง 1.0-7.0 mm และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อรา (MIC, Minimum inhibitory concentrations) ระหว่าง 0.03-0.52 mg/mL ซึ่งให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อราในพืชดีกว่ายาที่ใช้ทดสอบ Amphotericin B



ภาพที่ 35 แสดงผลของ Zone of Inhibition ในการยับยั้งเชื้อราในพืช



ภาพที่ 36 แสดงผลของ MIC (Minimum inhibitory concentrations) ในการยับยั้งเชื้อรา

4.4.2.1 ทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา

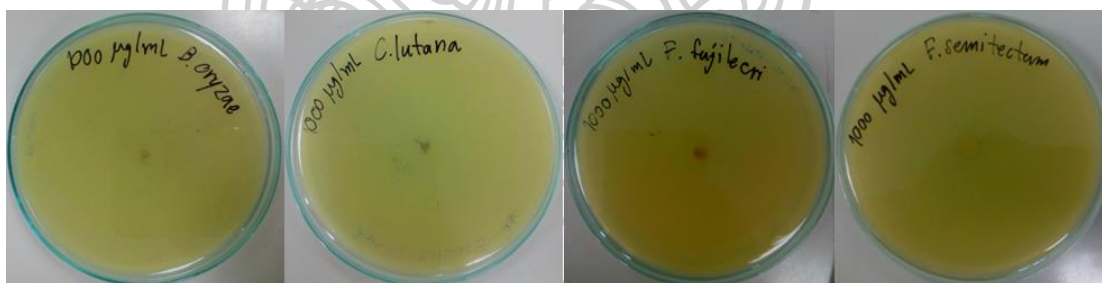
ตารางที่ 20 แสดงผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อราในพืช ของ 2-octyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (153g)

สารประกอบ	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (mm)			
		<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Fusarium fujikuroi</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Cuvularia lutana</i>
None (control)	-	77.7 ± 0.15	54.8 ± 0.08	51.7 ± 0.23	50.0 ± 0.27
 (153g)	1000	NG* (100%)	NG* (100%)	NG* (100%)	NG* (100%)
	500	8.5 ± 0.05 (89.1%)	13.0 ± 0.35 (76.3%)	9.0 ± 0.07 (82.6%)	9.0 ± 0.12 (82.0%)
	250	14.3 ± 0.11 (81.7%)	22.3 ± 0.08 (59.4%)	30.8 ± 0.04 (40.6%)	19.8 ± 0.11 (60.5%)

	100	24.8 ± 0.13 (68.2%)	34.3 ± 0.04 (37.4%)	59.0 ± 0.21 (-14.0%)	30.0 ± 0.07 (40.0%)
Amphotericin B	0.6	33.0 ± 0.14 (57.6%)	56.8 ± 0.04 (-3.7%)	24.5 ± 0.17 (52.7%)	40.3 ± 0.08 (19.5%)

* NG; no growth

จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อราในพืชเบื้องต้นของ TH β Cs พบว่า 2-octyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (**153g**) ให้ฤทธิ์ที่ดีในการต้านเชื้อราในพืช จึงได้นำอนุพันธ์ (**153g**) ทำการศึกษาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราในพืชต่อไป โดยจะผสม (**153g**) ความเข้มข้น 0, 100, 250, 500 and 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และนำเชื้อรามาวางไว้ตรงกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน พบว่าสาร (**153g**) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 4 ชนิด โดยที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุด มีค่าการยับยั้ง 100% รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 500 และ 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ มีค่าการยับยั้งเฉลี่ย 82.5% และ 60.55% ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อราในพืชน้อยที่สุด

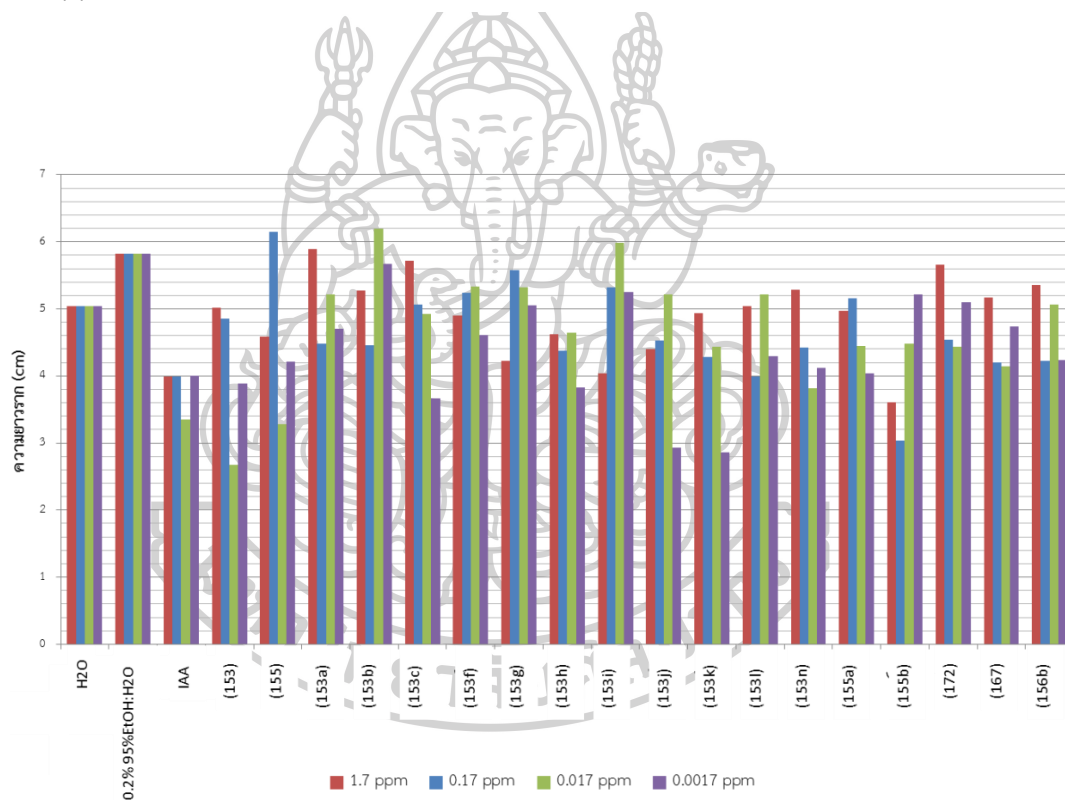


ภาพที่ 37 ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราในพืชของสาร (**153g**) ที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$

4.4.3 ผลการทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

จากการศึกษาความสามารถในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยทดสอบกับข้าวพันธุ์ กข49 โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดและความยาวของราก และลำต้น เปรียบเทียบกับน้ำและ IAA ซึ่ง IAA (3-Indoleacetic acid) เป็นฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซิน ที่กระตุ้นการเจริญเติบโต ทำให้มีการแบ่งเซลล์ และยืดตัวของเซลล์ โดยปกติแล้วพืชจะตอบสนองต่อปริมาณออก

ชินไม่เท่ากัน ลำต้นต้องการออกซินสูงกว่าในราก ถ้าสูงเกินไปจะยับยั้งการเติบโต และเป็นพิษต่อพืช โดยทำให้อวัยวะของพืชมีการเติบโตที่ไม่สัมพันธ์กัน เช่นแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นแต่เซลล์ไม่ขยายขนาด การเจริญของพืชลดลง และหยุดไปในที่สุดเพราะออกซินที่สูงเกินไปจะกระตุ้นให้พืชสร้างเอทิลีนออกมา และไปกุดการยืดขยายตัวของเซลล์ โดยทั่วไปแล้วความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับลำต้นจะอยู่ในช่วง 10^{-4} - 10^{-5} โมลาร์ (17-1.7 ppm) ในส่วนของรากนั้นจะต้องการออกซินในปริมาณที่น้อยมาก คือ 10^{-10} - 10^{-11} โมลาร์ (1.7×10^{-5} - 1.7×10^{-6} ppm) พบว่าอนุพันธ์ของ TH β CS ไม่มีฤทธิ์ในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชทุกความเข้มข้นเมื่อเทียบกับน้ำ แต่อนุพันธ์ *N*-Propionyl (153b) ที่ความเข้มข้น 0.017 ppm ให้ความยาวลำต้นและรากมากกว่าน้ำที่ความยาวในช่วง 3.35-6.20 เซนติเมตร



ภาพที่ 38 แสดงความยาวรากของข้าวพันธุ์ กข49 ในวันที่ 5 ที่ความเข้มข้น 0.0017-1.7 ppm

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้พยายามสังเคราะห์อนุพันธ์ของ tetrahydro- β -carboline ในแผนการสังเคราะห์ที่ 1 นั้นเริ่มทำการสังเคราะห์จากการนำ tryptamine (11) มาทำปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับ formaldehyde ในสารละลายผสมระหว่าง AcOH:MeOH ในอัตราส่วน 10:1 ทำให้เกิดการปิดวงได้ 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (153) ในปริมาณ 91% ต่อมานำไปทำปฏิกิริยา *N*-Acylation กับ acetyl bromide ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และใช้ NEt_3 เป็นเบสจะได้ 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (153a) 42% จากนั้นทำปฏิกิริยา reduction โดยใช้ LiAlH_4 และ NaBH_4 เป็นตัวรีดิวซ์ (reducing agent) พบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาที่ต้องการ ทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์ 1-(3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)ethanol (154) จึงไม่สามารถนำไปทำปฏิกิริยา *O*-Alkylation หรือ *O*-Acylation ต่อได้

ในแผนการสังเคราะห์ที่ 2 และ 3 นั้น ผู้วิจัยต้องการสังเคราะห์ TH β Cs และอนุพันธ์ โดยเริ่มต้นการสังเคราะห์จาก tryptamine (11) หรือ methyl 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate (171) มาทำการปิดวงผ่านปฏิกิริยา Pictet-Spengler กับแอลดีไฮด์ต่างๆ ในสารละลายกรด จะให้ 1-substituted TH β Cs ในปริมาณ 9-92% และ 1,3-substituted TH β Cs ในปริมาณ 29-34% จากนั้นทำการเติมหมู่แทนที่ไปที่ตำแหน่ง N-2 ด้วย alkyl halide หรือ acyl halide โดยใช้ NEt_3 เป็นเบส ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.5-24 ชั่วโมง จะได้อนุพันธ์ของ TH β Cs ปริมาณ 2-92% และถ้านำ 1-substituted TH β Cs มาทำปฏิกิริยา oxidation ด้วย 10% Pd/C ให้อนุพันธ์ของ β -carboline ปริมาณ 4-7% ตามลำดับ

จากผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ในการทดสอบการต้านเซลล์มะเร็ง และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงโดยวิธี MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide] พบว่าในการแทนที่ตำแหน่งที่ 1 หมู่ ethylbenzene ให้ฤทธิ์ที่ดีที่สุด และในตำแหน่งที่ 2 พวก *N*-acylamide ให้ฤทธิ์ที่ดีที่สุด โดยเฉพาะหมู่ benzoyl และหมู่ propionyl ส่วนในตำแหน่งที่ 3 ที่เป็น methyl ester ให้ฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งลดลง ซึ่ง 1-phenethyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (166) และ 1-(1-phenethyl-3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)propan-1-one (166a) ให้ฤทธิ์ที่ดีในการยับยั้ง

เซลล์มะเร็ง และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติด้วย โดยมีค่า IC_{50} ในการต้านเซลล์มะเร็งอยู่ระหว่าง 23.67-33.33 $\mu\text{g/mL}$ นอกจากนี้ 1-(2-methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**165**), 1-(3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)propan-1-one (**153b**) และ (1-phenethyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl) methanone (**166b**) มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติด้วย และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปานกลาง มีค่าระหว่าง 53.74-115.76 $\mu\text{g/mL}$ และ 2-benzyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153j**), (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanone (**154k**), (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(furan-2-yl)methanone (**153l**) และ 2,2-bis(2-chlorobenzyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2-ium (**153n**) มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติสูง แต่ให้ฤทธิ์ที่ดีในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง

นอกจากนี้เมื่อนำ TH β Cs และอนุพันธ์ ไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราในพืช 5 ชนิด ได้แก่ *Rhizopus sp.*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium semitectum* และ *Fusarium fujikuroi* พบว่า 2-octyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153g**), (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl) methanone (**153k**) และ (3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(furan-2-yl)methanone (**153l**) มีแนวโน้มในการต้านเชื้อราในพืชได้ทั้ง 5 ชนิด โดยมี Zone of Inhibition ระหว่าง 0.10-0.60 cm และมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ประมาณ 0.03-0.52 mg/mL และในการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อราในพืชของ 2-octyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indole (**153g**) พบว่าที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/mL}$ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 100% และในส่วนของความสามารถในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่ทดสอบกับข้าวพันธุ์ กข49 ในวันที่ 5 ที่ความเข้มข้น 0.0017-1.7 ppm พบว่าทุกอนุพันธ์ไม่มีฤทธิ์ในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชทุกความเข้มข้นเมื่อเทียบกับน้ำ แต่ 1-(3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)propan-1-one (**153b**) ให้ความยาวลำต้นและรากมากกว่าน้ำที่ความยาวในช่วง 3.35-6.20 เซนติเมตร ที่ความเข้มข้น 0.017 ppm

รายการอ้างอิง

1. Went, F.W., *On growth-accelerating substances in the coleoptile of Avena sativa*. Proc. Kon. Ned. Akad. Wet. , 1962. **30**: p. 10-19.
2. Erland, L.A.M., S. J.; Reiter, R. J.; Saxena, P. K. , *A new balancing act: The many roles of melatonin and serotonin in plant growth and development*. Plant Signal Behav. , 2015. **10**(11): p. e1096469.
3. Takamatsu, S.H., T. W.; Rajbhandari, I.; Gerwick, W. H.; Hamann, M. T.; Nagle, D. G. , *Marine natural products as novel antioxidant prototypes*. J Nat Prod., 2003. **66**(5): p. 605–608.
4. Abele, E.A., R.; Dzenitis, O.; Lukevics, E. , *Indole and Isatin Oximes: Synthesis, Reactions, and Biological Activity*. Chem Heterocycl Compd. , 2003. **39**(1): p. 3–35.
5. Skii, N.M.P.M., I. V.; Drozd, V. N. , *New Derivatives of Indole. Synthesis of S-(Indolyl-3) Diethyl Dithiocarbamates*. Chem. Heterocycl. Comp., 1997. **33**: p. 1475-1476.
6. Wu, Y.S.C., M. S.; Chang, J. Y.; Sun, H. Y.; Kuo, F. M.; Kuo, C. C.; Chen, Y. J.; Chang, C. Y.; Hsiao, C. L.; Liou, J. P.; Chen, C. P.; Yao, H. T.; Chiang, Y. K.; Tan, U. K.; Chen, C. T.; Chu, C. Y.; Wu, S. Y.; Yeh, T. K.; Lin, C. Y.; Hsieh, H. P., *Synthesis and Evaluation of 3-Aroylindoles as Anticancer Agents: Metabolite Approach*. J. Med. Chem., 2009. **52**(15): p. 4941–4945.
7. Liu, Z.T., L.; Zhu, H.; Xu, T.; Qiu, C.; Zheng, S.; Gu, Y.; Feng, J.; Zhang, Y.; Liang, G. , *Design, Synthesis, and Structure–Activity Relationship Study of Novel Indole-2-carboxamide Derivatives as Anti-inflammatory Agents for the Treatment of Sepsis*. J. Med. Chem., 2016. **59**(10): p. 4637–4650.
8. Ueno, M.S., H.; Kihara, J.; Honda, Y.; Arase, S. , *Increased tryptophan decarboxylase and monoamine oxidase activities induce Sekiguchi lesion formation in rice infected with Magnaporthe grisea*. Plant J., 2003. **36**(2): p. 215-228.
9. Pedras, M.S.H., S.; Snitynsky, R. B., *Detoxification of cruciferous phytoalexins in*

- Botrytis cinerea*: Spontaneous dimerization of a camalexin metabolite. *Phytochemistry*, 2011. **72**(2-3): p. 199-206.
10. Ahmed, S.A., A., *fungicidal activity of indole derivatives against some plant pathogenic fungi*. *Pestic. Sci.*, 2010. **35**(4): p. 431-440. .
 11. Das, B.A., G.; Kashinatham, A.; Madhusudhan, P. , *Occurrence of 5-methoxy-1-oxo-tetrahydro-beta carbonyl in Indian Nothapodytes foetida, an important clue to the biogenetic formation of camptothecins*. *Nat. Prod. Lett.*, 1998. **11**: p. 285-289.
 12. Callaway, C.J., *Various alkaloid profiles in decoctions of Banisteriopsis caapi*. *J Psychoactive Drugs*, 2005. **37**(2): p. 151-155.
 13. Kam, S.T.S., M. K. , *Alkaloids from Kopsia griffithii*. *Phytochemistry*, 1998. **47**(1): p. 145-147.
 14. Majumdar, P.S.P., P.; Poisson, J., *The structure of suaveoline, a new alkaloid from Rauwolfia suaveolens S. Moore (apocynaceae)*. *Tetrahedron Letters*, 1972. **13**(16): p. 1563-1566.
 15. Youssef, D.T.A., *Hyrtioerectines A-C, Cytotoxic Alkaloids from the Red Sea Sponge Hyrtios erectus*. *Journal of Natural Products*, 2005. **68**(9): p. 1416-1419.
 16. Suzuki, T., T. Kubota, and J.i. Kobayashi, *Eudistomidins H-K, new β -carboline alkaloids from the Okinawan marine tunicate Eudistoma glaucus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2011. **21**(14): p. 4220-4223.
 17. Rommelspacher, H.C., C.; Coper, H. , *Pharmacological properties of tetrahydronorharmine (Tryptoline)*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* , 1977. **298**(2): p. 83-91.
 18. Airaksinen, M.M.H., J. T.; Ho, B. T.; Taylor. D.; Walker, K. , *The Uptake of 6-Methoxy-1,2,3,4-Tetrahydro-Beta-Carboline and Its Effect on 5-Hydroxytryptamine Uptake and Release in Blood Platelets*. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1978. **43**(5): p. 375-380.
 19. Ding, L.D., M. H.; Hertweck, C. , *Cytotoxic Alkaloids from Fusarium incarnatum Associated with the Mangrove Tree Aegiceras corniculatum*. *J. Nat. Prod.*, 2012. **75**(4): p. 617-621.
 20. Passemar, C.S., M.; Soh, P. N.; Linas, M. D.; Ahond, A.; Poupat, C.; Benoit, V. F. ,

- Indole and aminoimidazole moieties appear as key structural units in antiplasmodial molecules.* Phytomedicine., 2011. **18**(13): p. 1118-1125.
21. Cesar, M.M.L.T., F. C.; Marques, R. M.; Silva, V. J. G.; Mendes, A. M.; Rittner, R.; Palma, S. M., *Structure Determination of Hydroxytryptargine: A New Tetrahydro- β -Carboline Toxin from the Venom of the Spider Parawixia bistriata.* Helvetica Chimica Acta. , 2005. **88**(4): p. 796–801.
 22. Yamanokuchi, R., et al., *Hyrtioreticulins A–E, indole alkaloids inhibiting the ubiquitin-activating enzyme, from the marine sponge Hyrtios reticulatus.* Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2012. **20**(14): p. 4437-4442.
 23. Ovenden, P.B.S.N., L. J.; Liptrol, H. C.; Willis, H. R.; Tapiolas, M. D.; Wright, D. A.; Motti, A. C. , *Callophycin A, a cytotoxic tetrahydro- β -carboline from the red alga Callophycus oppositifolius.* Phytochemistry Letters. , 2011. **4**(2): p. 69-71.
 24. Baumeister, A.A.H., M. F.; Uzelac, S. M. , *The myth of reserpine-induced depression: role in the historical development of the monoamine hypothesis.* J Hist Neurosci. , 2003. **12**(2): p. 207-220.
 25. Narayanan, K.S., L.; Cook, M. J. , *Carboxyl-mediated Pictet-Spengler reaction. Direct synthesis of 1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolines from tryptamine-2-carboxylic acids.* J. Org. Chem., 1991. **56**(1): p. 359–365.
 26. Kumar, R.G., L.; Pal, P.; Khan, S.; Singh, N.; Katiyar, B. S.; Meena, S.; Sarkar, J.; Sinha, S.; Kanaujiya, K. J.; Lochab, S.; Trivedi, K. A.; Chauhan, M.S. P. , *Synthesis and cytotoxicity evaluation of (tetrahydro- β -carboline)-1,3,5-triazine hybrids as anticancer agents.* European Journal of Medicinal Chemistry., 2010. **45**(6): p. 2265-2276.
 27. Ascic, E.H., L. C.; Le Quement, T. S.; Nielsen, E. T. , *Synthesis of tetrahydro- β -carbolines via isomerization of N-allyltryptamines: a metal-catalyzed variation on the Pictet–Spengler theme.* Chem. Commun. , 2012. **48**(27): p. 3345–3347.
 28. Gremmen, C.W., B.; Wanner, J. M.; Koomen, G. , *Enantiopure Tetrahydro- β -carbolines via Pictet–Spengler Reactions with N-Sulfinyl Tryptamines.* Org. Lett., 2000. **2**(13): p. 1955–1958.
 29. Jiang, W., et al., *Synthesis and SAR of tetracyclic pyrroloquinolones as phosphodiesterase 5 inhibitors.* Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2004. **12**(6): p.

- 1505-1515.
30. Dardennes, E., et al., *Diastereocontrolled multicomponent pathway to 3,4-heterocycle-annulated tetrahydro- β -carbolines*. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005. **16**(7): p. 1329-1339.
 31. Lee, S.-C., et al., *Preparation of pilot library with tetrahydro- β -carboline alkaloid core skeleton using tandem intramolecular Pictet–Spengler cyclization*. *Tetrahedron Letters*, 2006. **47**(38): p. 6843-6847.
 32. Trujillo, J.I., et al., *Novel tetrahydro- β -carboline-1-carboxylic acids as inhibitors of mitogen activated protein kinase-activated protein kinase 2 (MK-2)*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2007. **17**(16): p. 4657-4663.
 33. Lingam, Y., et al., *The synthesis of 1,1-disubstituted tetrahydro- β -carbolines induced by iodine*. *Tetrahedron Letters*, 2007. **48**(40): p. 7243-7245.
 34. Gupta, L., et al., *Synthesis of 2-[β -(7-Chloro-quinolin-4-ylamino)-alkyl]-1-(substituted phenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H- β -carbolines as a new class of antimalarial agents*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008. **18**(11): p. 3306-3309.
 35. Jenkins, P.R., et al., *Design, synthesis and biological evaluation of new tryptamine and tetrahydro-beta-carboline-based selective inhibitors of CDK4*. *Bioorg. Med. Chem.*, 2008. **16**(16): p. 7728–7739.
 36. Ohta, Y.O., S.; Fujii, N.; Ohno H., *Facile synthesis of 1,2,3,4-tetrahydro-beta-carbolines by one-pot domino three-component indole formation and nucleophilic cyclization*. *Org Lett.*, 2009. **11**(9): p. 1979-1982.
 37. Kumar, R.K., S.; Verma, A.; Srivastava, S.; Viswakarma P.; Gupta, S.; Meena, S.; Singh, N.; Sarkar, J.; Chauhan, M.S. P., *Synthesis of 2-(pyrimidin-2-yl)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-b-carbolines as antileishmanial agents*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2010. **45**(8): p. 3274-3280.
 38. Chauhan, S.S., et al., *Synthesis and biological evaluation of indolyl glyoxylamides as a new class of antileishmanial agents*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010. **20**(21): p. 6191-6194.
 39. Shen, L.P., E. J.; Kondratyuk, T. P.; Guendisch, D.; Marler, L.; Pezzuto, J. M.; Wright, A. D.; Sun, D., *Design, synthesis, and biological evaluation of callophycin*

- A and analogues as potential chemopreventive and anticancer agents.* . Bioorg Med Chem. , 2011. **19**(21): p. 6182-6195. .
40. Spindler, A., K. Stefan, and M. Wiese, *Synthesis and Investigation of Tetrahydro- β -carboline Derivatives as Inhibitors of the Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2)*. Journal of Medicinal Chemistry, 2016. **59**(13): p. 6121-6135.
 41. !!! INVALID CITATION !!! .
 42. Ramana, V.P.S., P.; Krishna, S. B.; Reddy, M. K. K.; Mohan, G.; Reddy, S. C. , *Ultrasound-Promoted Synthesis of Tetrahydro- β -Carbolines Using Triton-X 100 Catalyst via Pictet-Spengler Reaction.* . Can Chem Trans., 2016. **4**(3): p. 415-424.
 43. Lu, X., et al., *Synthesis and cytotoxicity of a novel series of saframycin-ecteinasidin analogs containing tetrahydro- β -carboline moieties*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2017. **135**: p. 260-269.
 44. Dóra, L.C., O., *The reduction of 1,2,3,4-tetrahydro-1-oxo-beta-carboline*. Acta Pharm Hung., 1968. **38**(2): p. 78-83.
 45. Qi, H.S.Z., S.; Yang, H. L.; Qian, Y. P., *Antifouling and antibacterial compounds from the gorgonians Subergorgia suberosa and Scleroderma gracillia*. Natural Product Research, 2008. **22**(2): p. 154-166.
 46. Pumphrey, L.A.D., H.; Driver, G. T., *RhII2-Catalyzed Synthesis of α -, β -, or δ -Carbolines from Aryl Azides*. Angew. Chem., 2012. **51**(24): p. 5920-5923.
 47. Zaragoza, F.S., H., *(Cyanomethyl)trialkylphosphonium Iodides: Efficient Reagents for the Intermolecular Alkylation of Amines with Alcohols in Solution and on Solid Phase*. J. Org. Chem., 2001. **66**: p. 2518-2521.
 48. Aubry, C.W., J, A.; Jenkins, R. P.; Mahale, S.; Chaudhuri, B.; Maréchal, D, J.; Sutcliffe, J. M., *Design, synthesis and biological activity of new CDK4-specific inhibitors, based on foscarnin*. Org. Biomol. Chem., 2006. **4**(5): p. 787-801
 49. Saha, B.S., S.; Sawant, D.; Kundu, B., *Water as an efficient medium for the synthesis of tetrahydro- β -carbolines via Pictet-Spengler reactions*. Tetrahedron Letters, 2007. **48**(8): p. 1379-1383.
 50. Freter, K.H., H. H.; Metz, H.; Schroeder, H. D.; Zeile, K., *Reactions of 1-aryl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolines in acid solution*. Justus Liebigs Annalen der Chemie., 1965. **684**: p. 159-187.

51. Kanamori, H.M., K.; Kinae, N.; Tomita, I., *The Formation of the Mutagenic Substances in the Reaction between L-Ascorbic Acid and L-Tryptophan*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1980. **28**(10): p. 3143-3144.
52. Shen, Y.C.C., C. Y.; Hsieh, P. W.; Duh, C. Y.; Lin, Y. M.; Ko, C. L., *The preparation and evaluation of 1-substituted 1,2,3,4-tetrahydro- and 3,4-dihydro-beta-carboline derivatives as potential antitumor agents*. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). , 2005. **53**(1): p. 32-36.
53. Cheve, G.D., P.; Fruchart, J.; Teissier, E.; Poupaert, J.; Lesieur, D., *Antioxidant activity of pinoline analogues in the LDL oxidation model*. J. Med. Chem., 2002. **11**(7): p. 361-379.
54. Barbero, M., et al., *o-Benzenedisulfonylimide as a reusable acid catalyst for an easy, efficient, and green synthesis of tetrahydroisoquinolines and tetrahydro-β-carbolines through Pictet–Spengler reaction*. Tetrahedron Letters, 2010. **51**(48): p. 6356-6359.
55. Parameswaran, S.P.N., G. C.; Hegde, R. V., *Secondary Metabolites from the Sponge Tedania anhelans: Isolation and Characterization of Two Novel Pyrazole Acids and Other Metabolites*. J. Nat. Prod., 1997. **60**(8): p. 802–803.
56. Airiau, E.G., N.; Mann, A.; Salvadori, J.; Taddei, M., *Four-component reactions toward fused heterocyclic rings*. Org Lett., 2009. **11**(22): p. 5314-5317.
57. Ikeda, R.I., T.; Iida, T.; Okabayashi, T.; Nishi, E.; Kurosawa, M.; Sakai, N.; Konakahara, T., *3-Benzylamino-β-carboline derivatives induce apoptosis through G2/M arrest in human carcinoma cells HeLa S-3*. Eur. J. Med. Chem., 2011. **46**(2): p. 636-646.
58. Tripathi Ch, R., G.K. Patnaik, and A.K. Saxena, *Synthesis and SAR studies in 2-substituted 1,2,3,4-tetrahydro-9H-pyrido-[3,4-b]indole-3-carboxylic acids. A new class of potent antiulcer agents*. Indian Journal of Chemistry - Section B Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 1989. **28**(4): p. 333-337.
59. Dong, J., et al., *Efficient and practical one-pot conversions of n-tosyltetrahydroisoquinolines into isoquinolines and of N-tosyltetrahydro-β-carbolines into β-carbolines through tandem β-elimination and aromatization*.

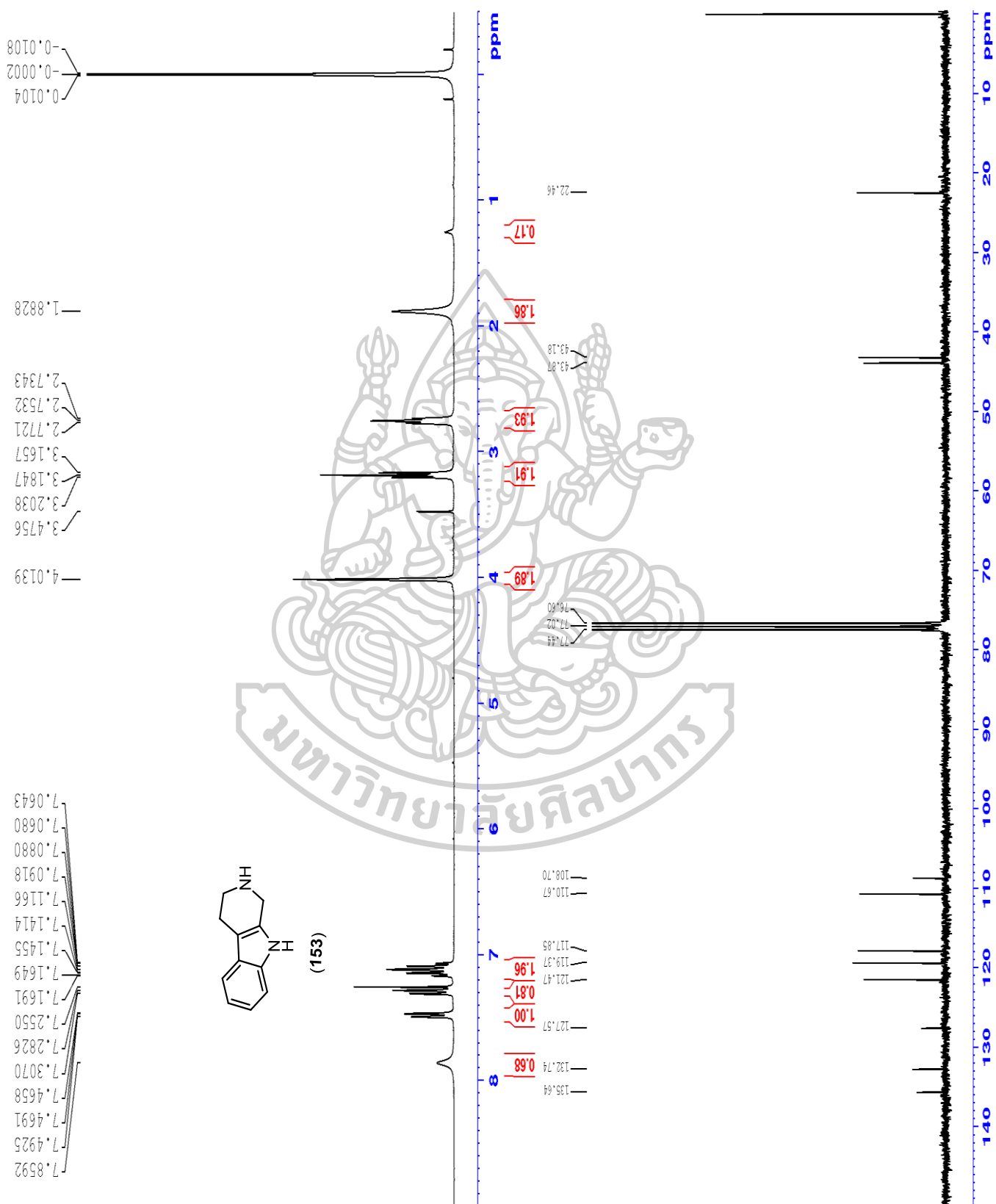
- European Journal of Organic Chemistry, 2010(36): p. 6987-6992.
60. Mosmann, T., *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*. J Immunol Methods, 1983. **65**(1-2): p. 55-63.
61. Joachim, S., et al., *The Pictet–Spengler Reaction in Nature and in Organic Chemistry*. Angewandte Chemie International Edition, 2011. **50**(37): p. 8538-8564.

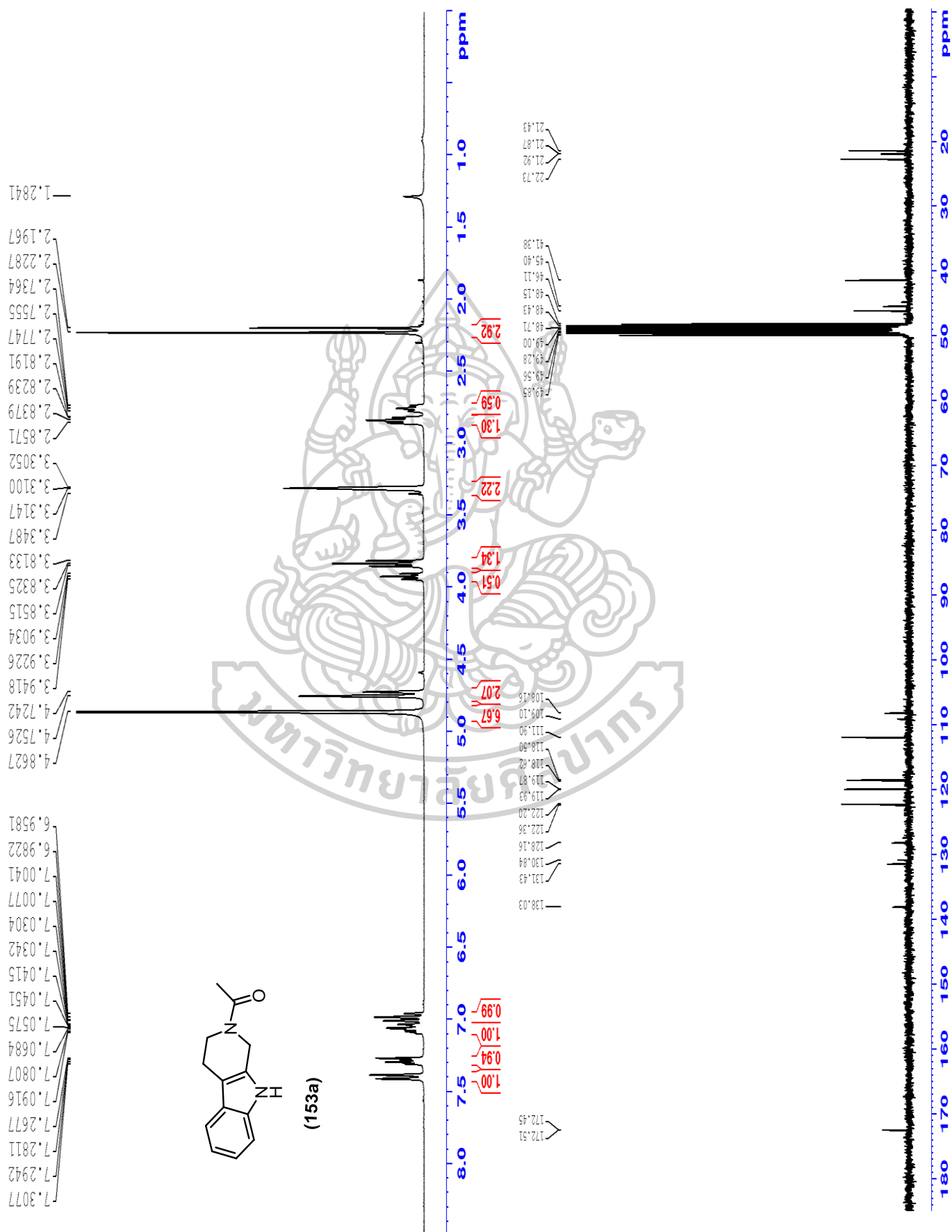


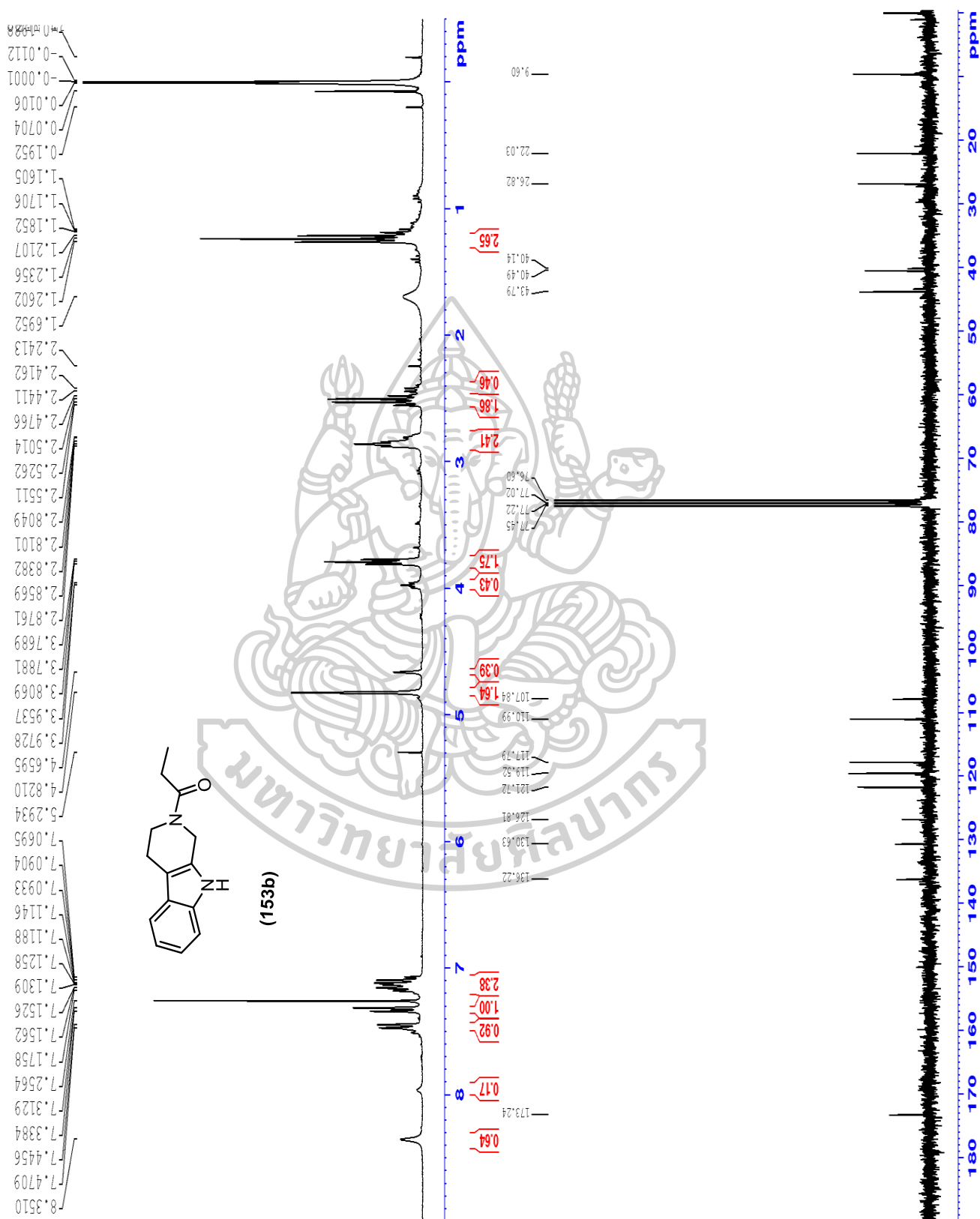


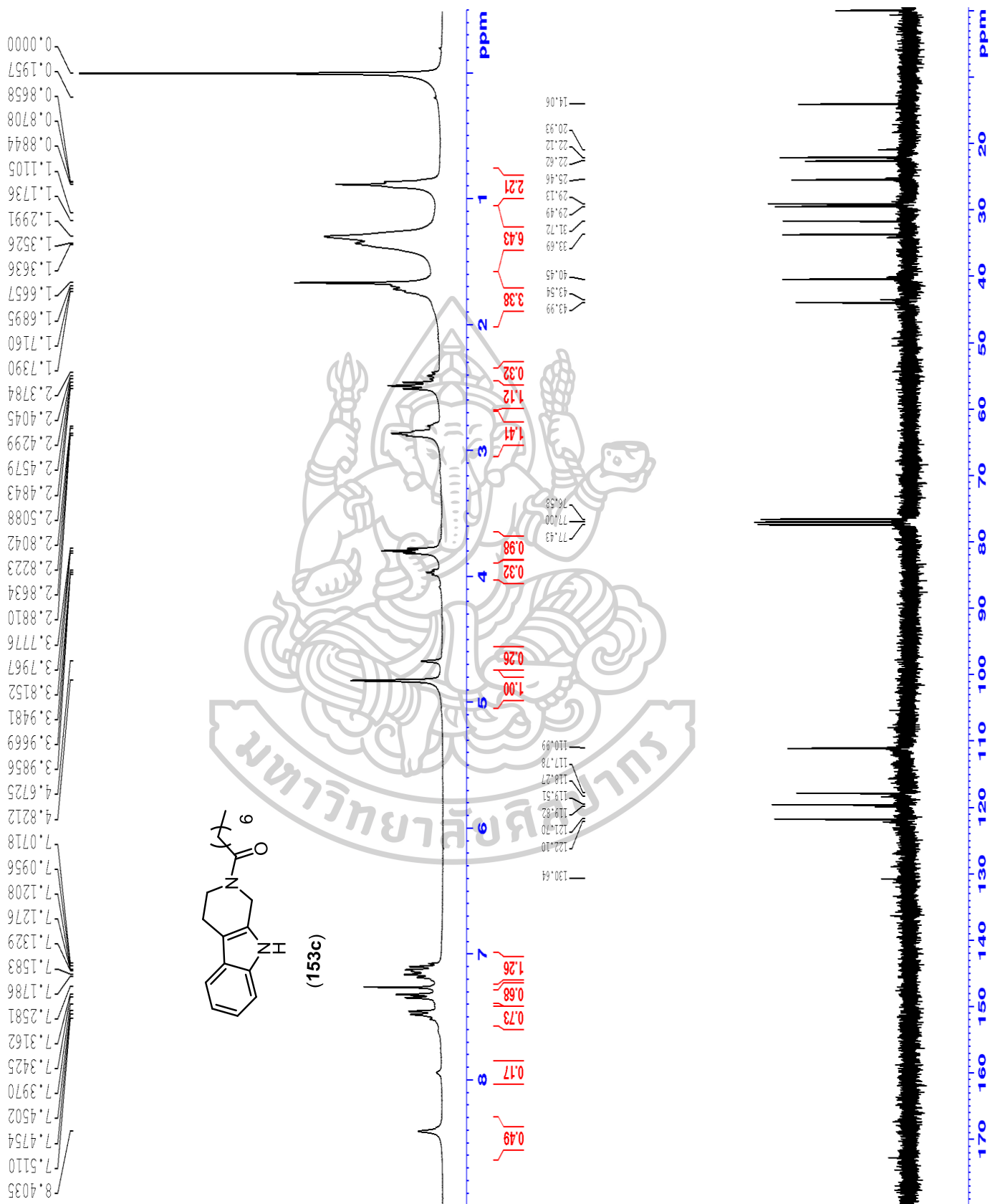
ภาคผนวก

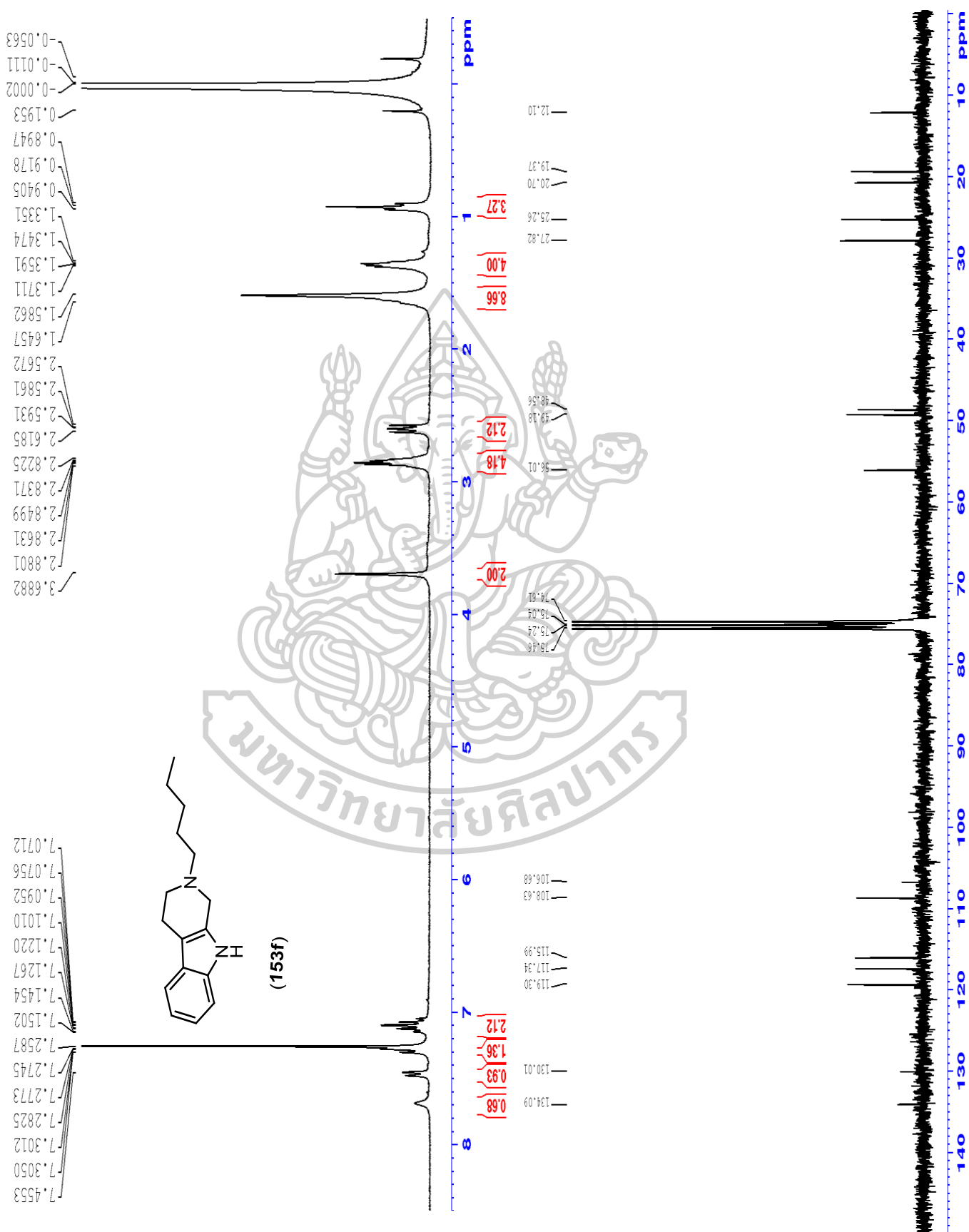
สเปกตรัม $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$

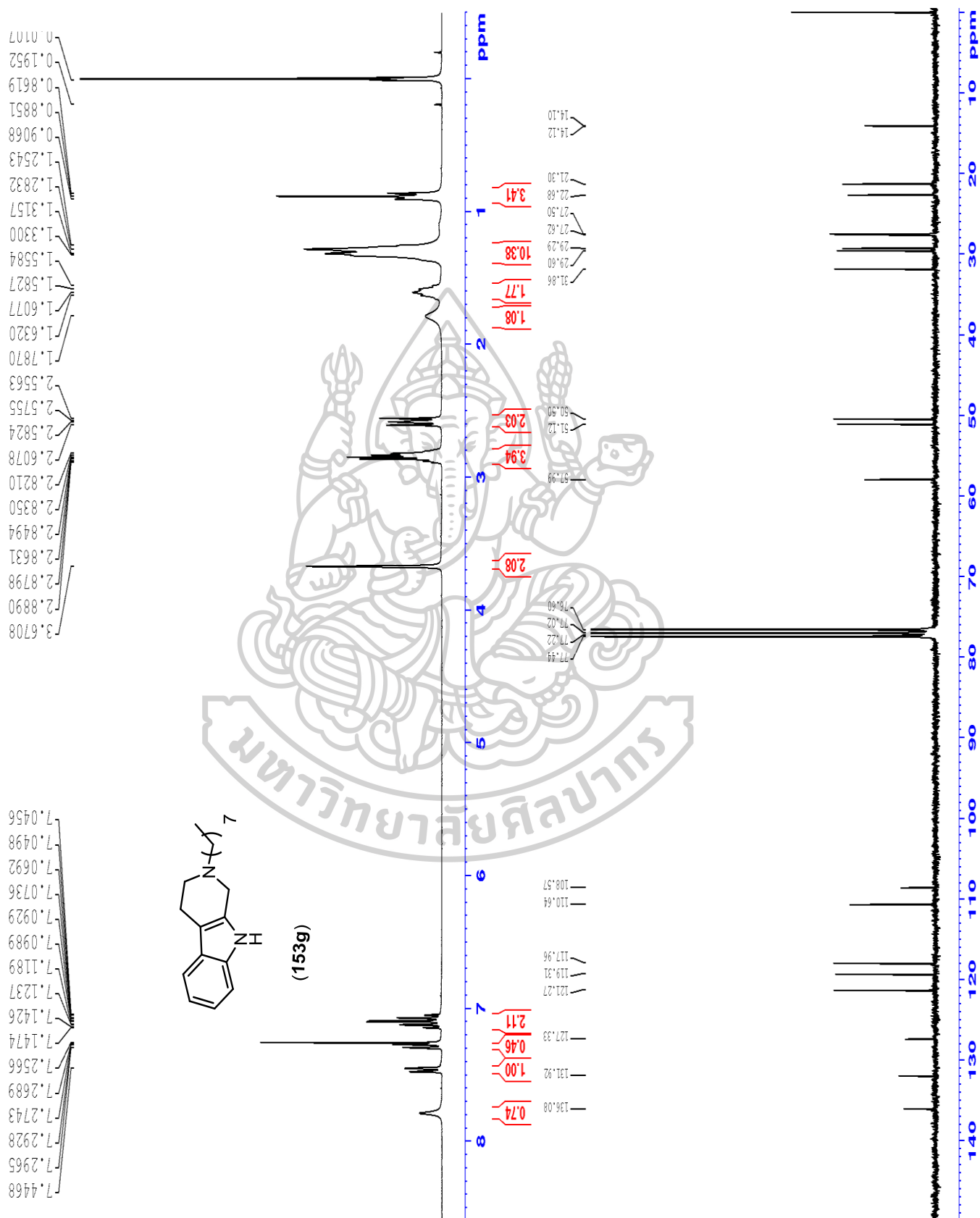


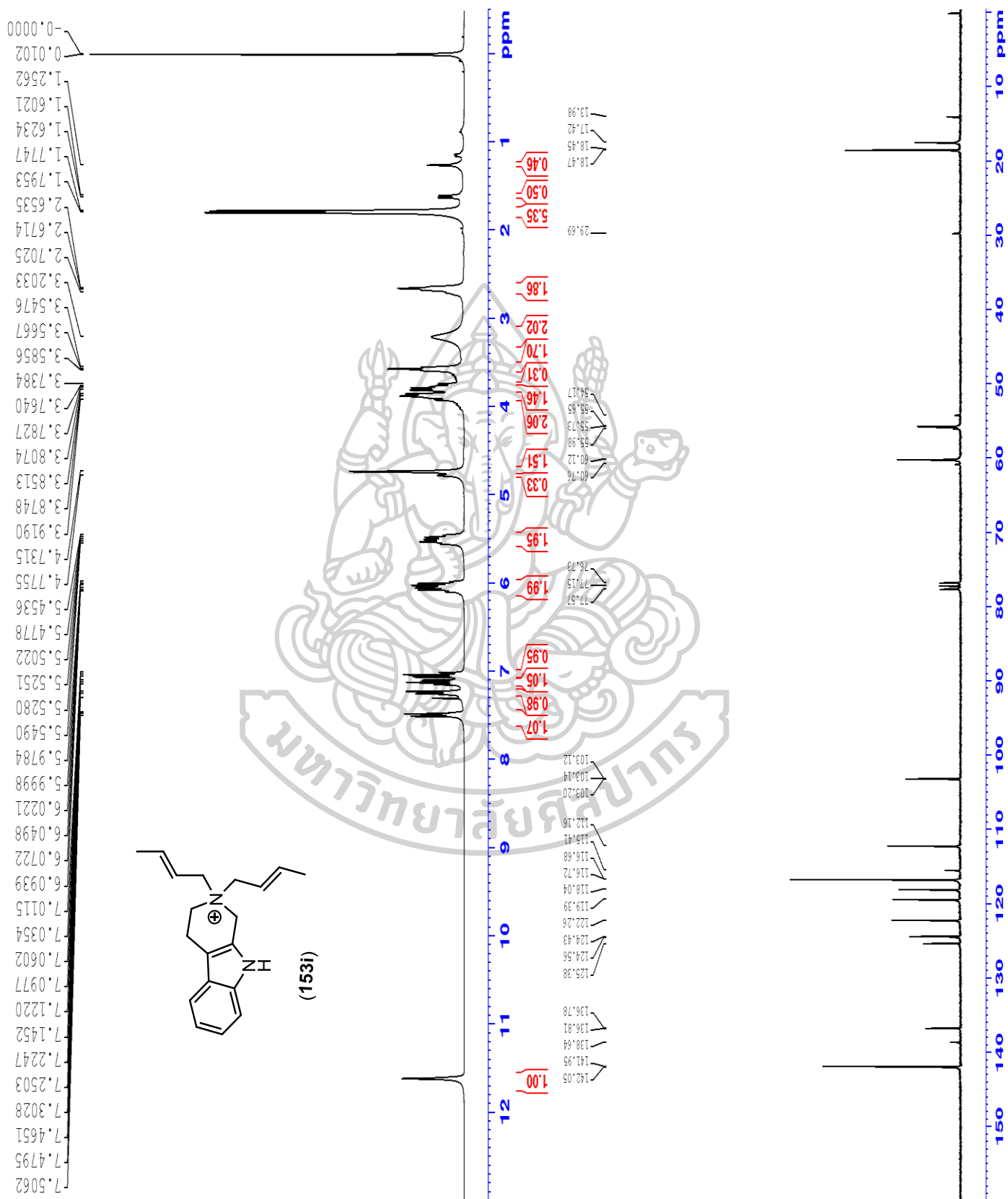


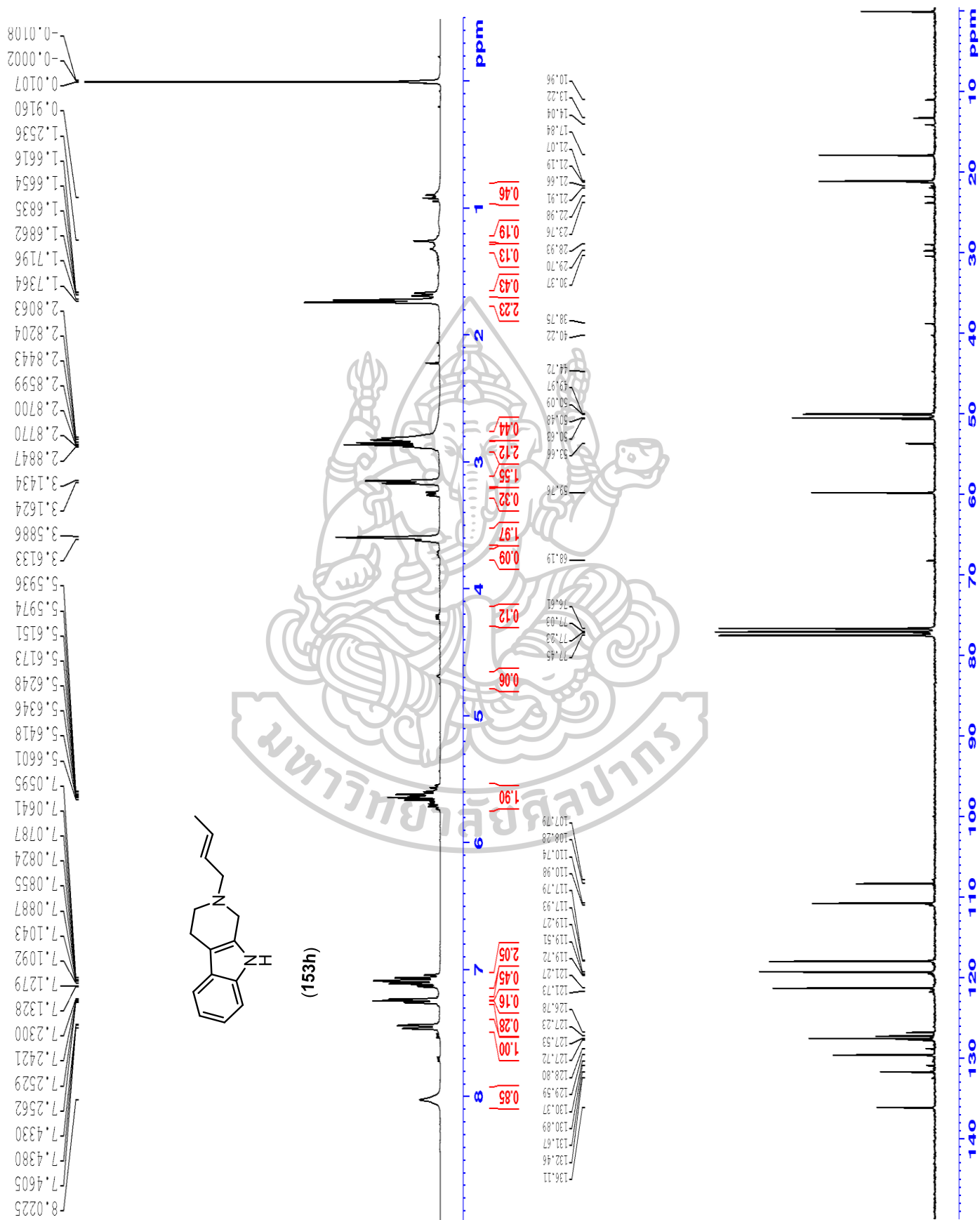


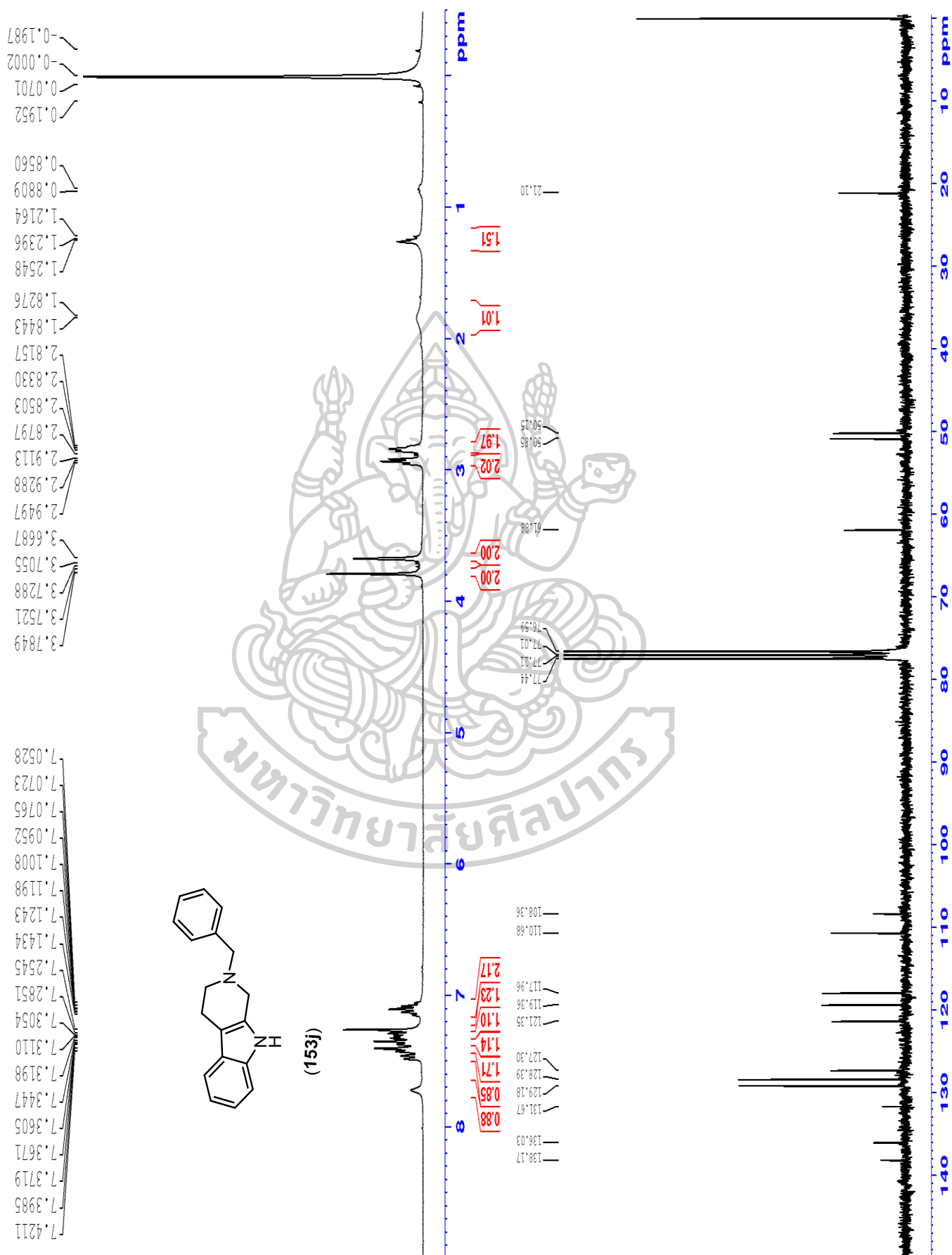


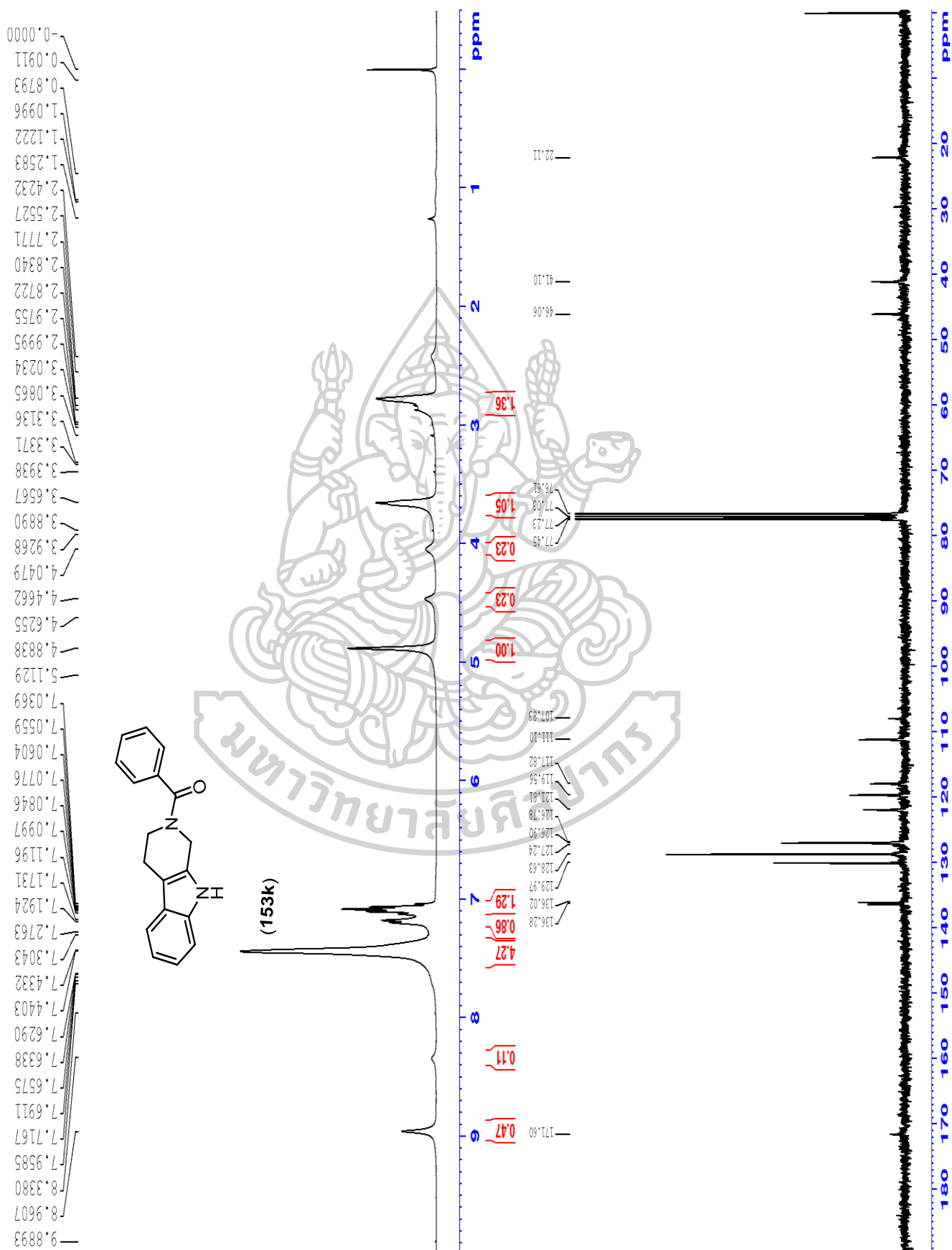


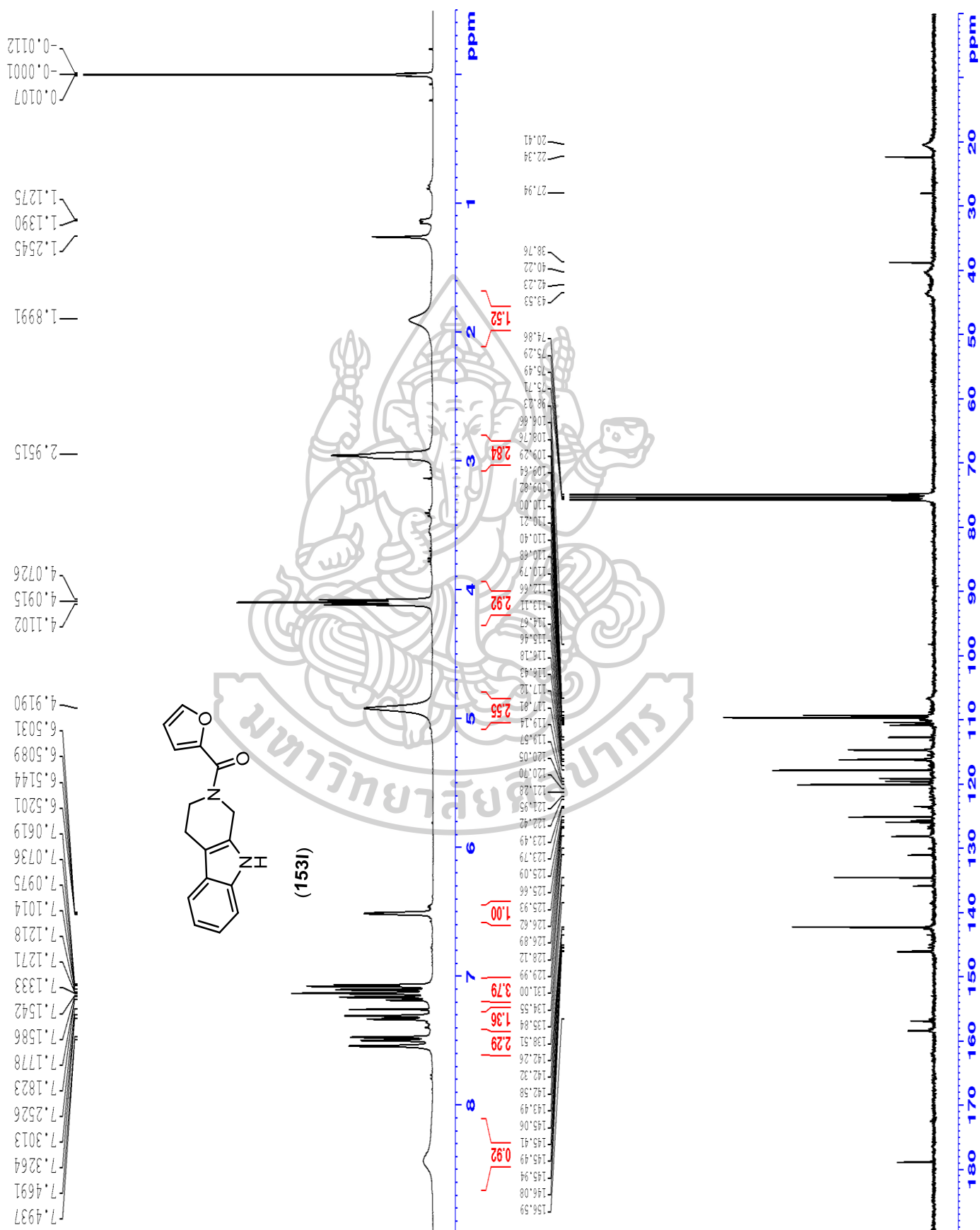


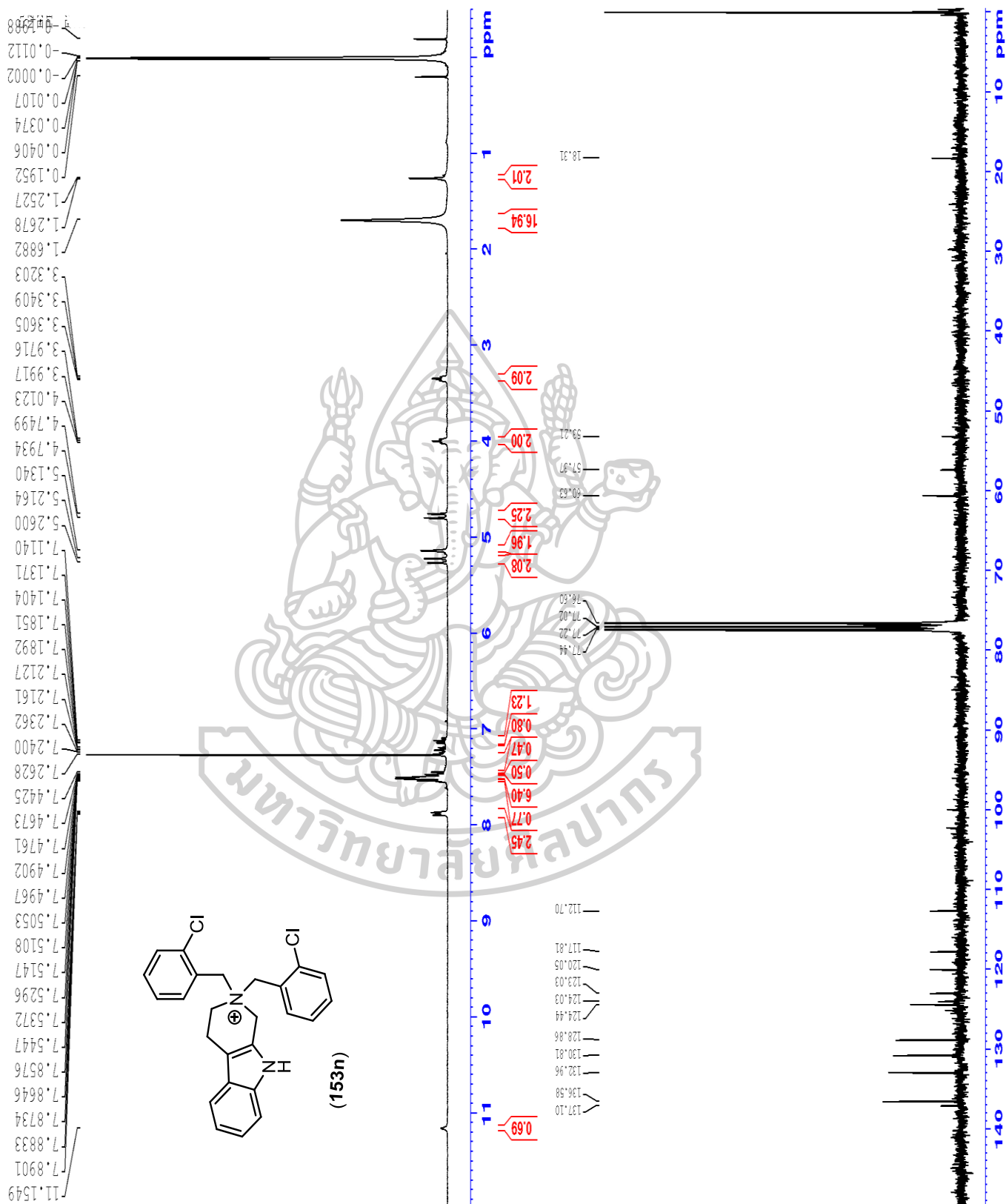


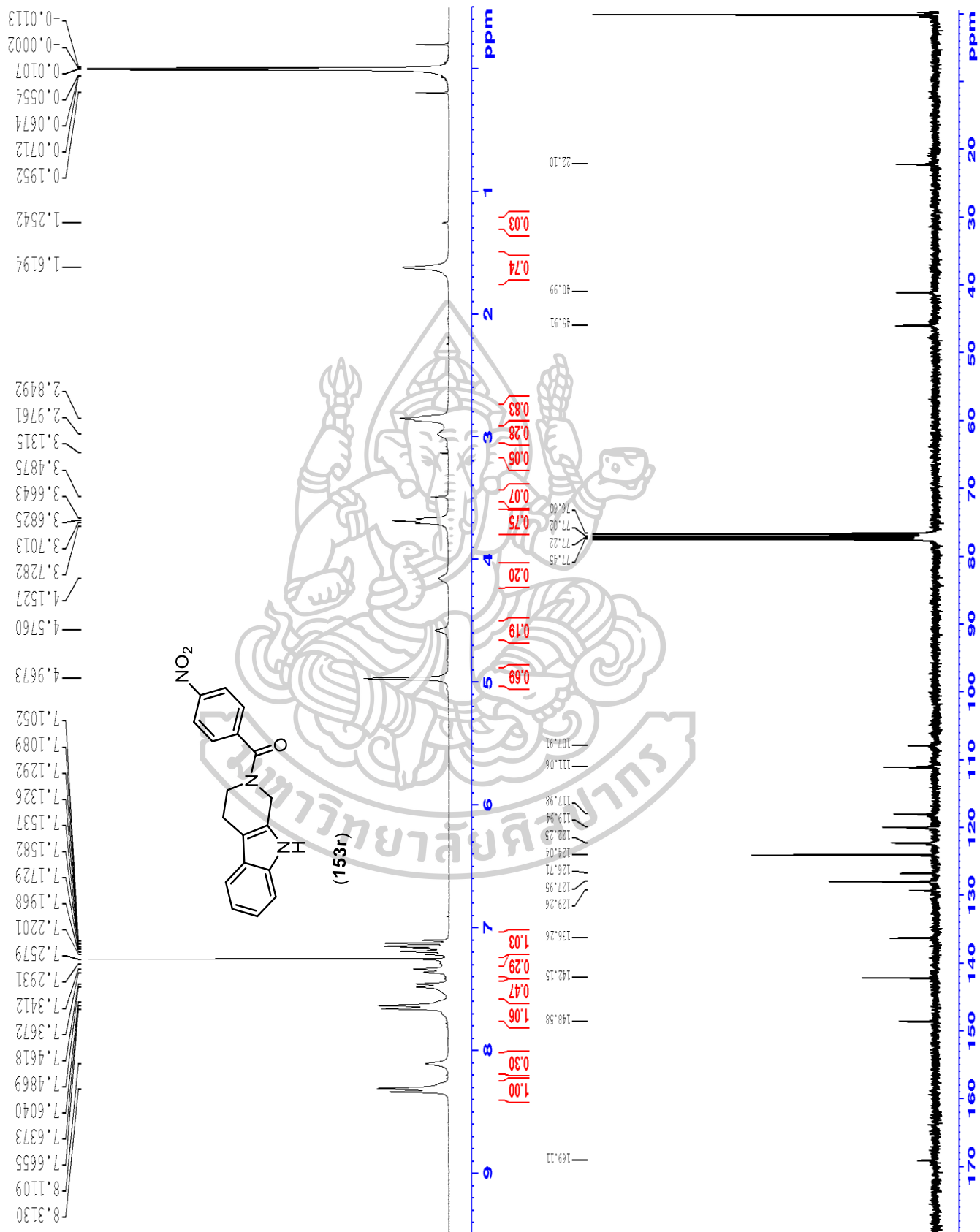


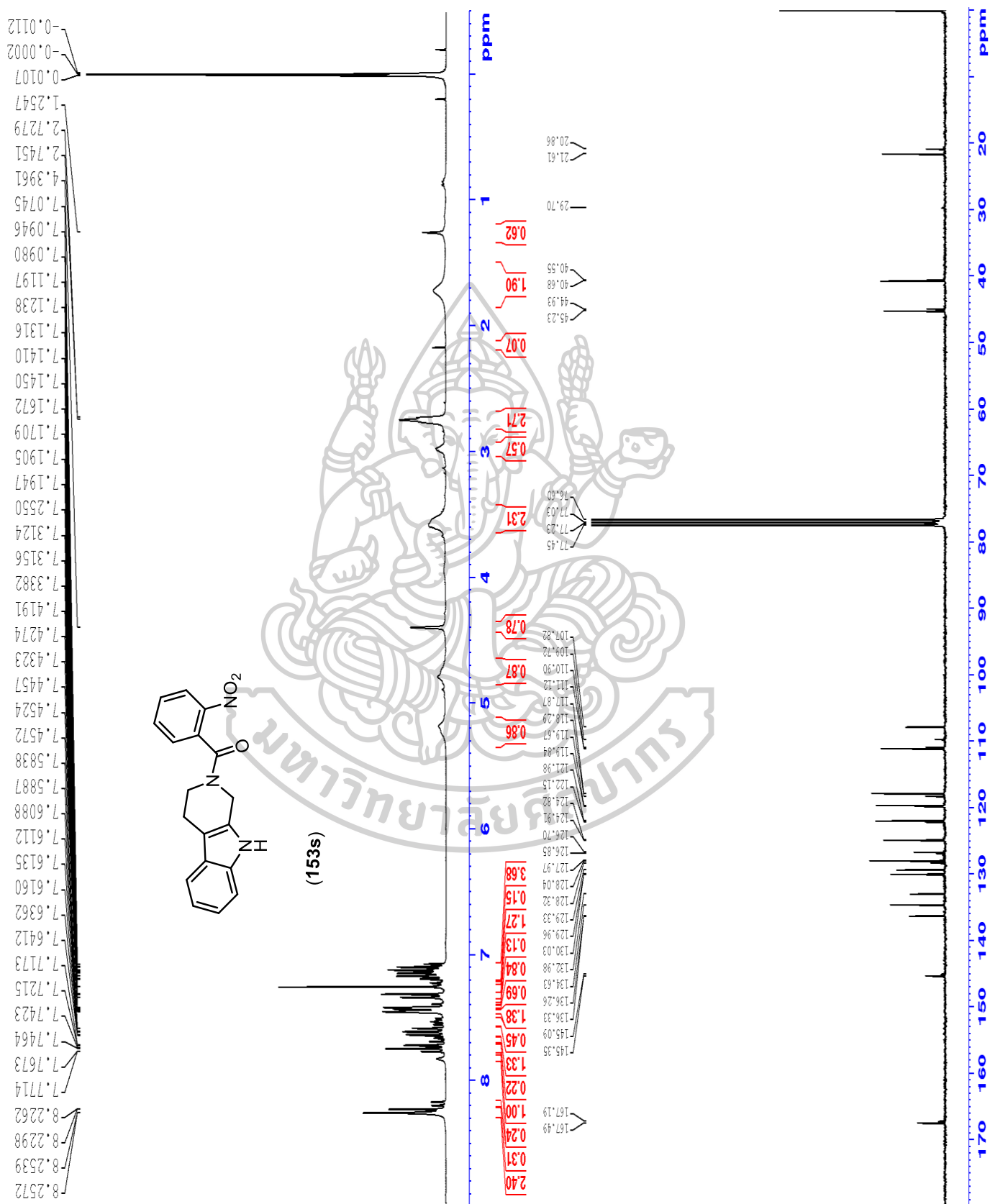


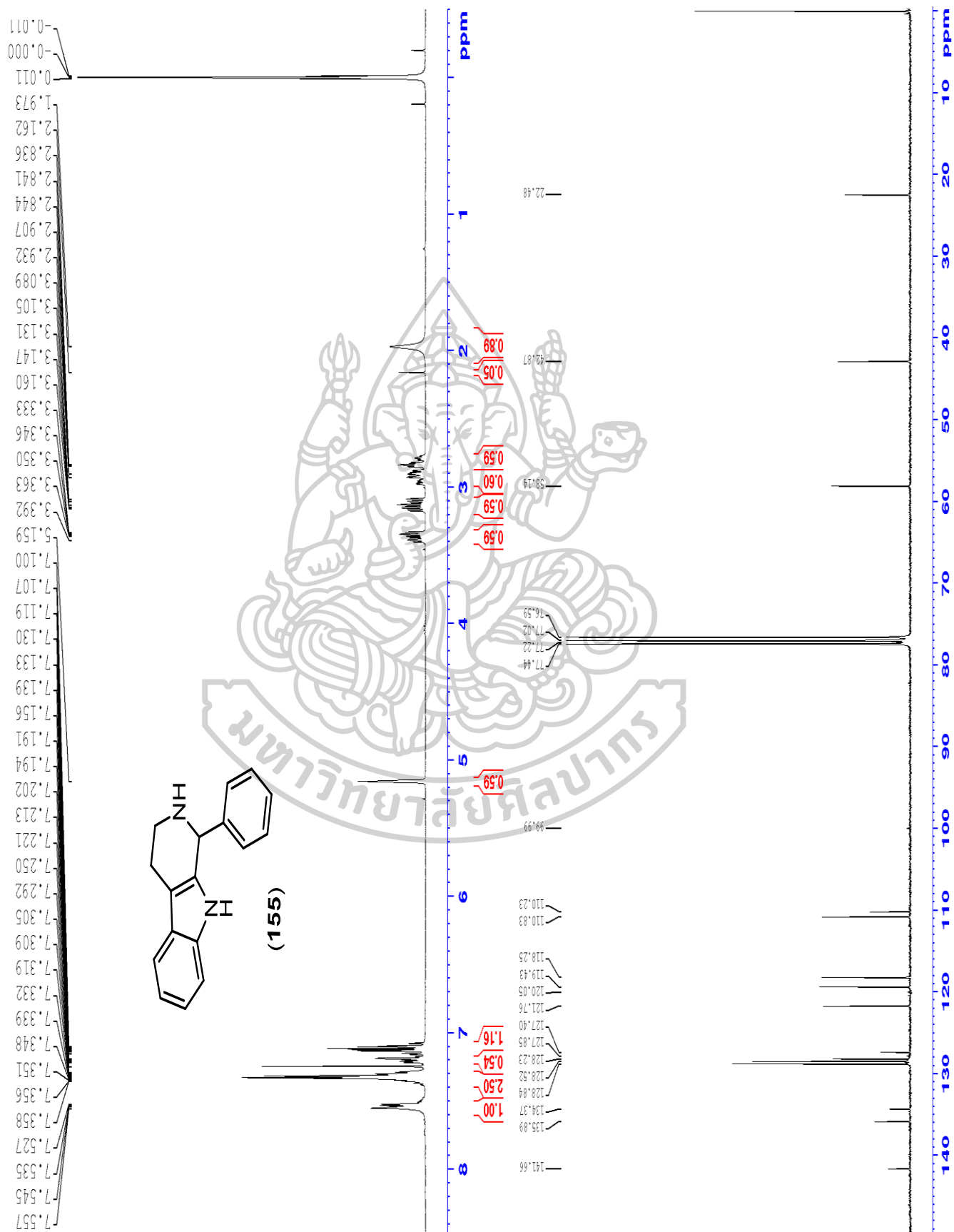


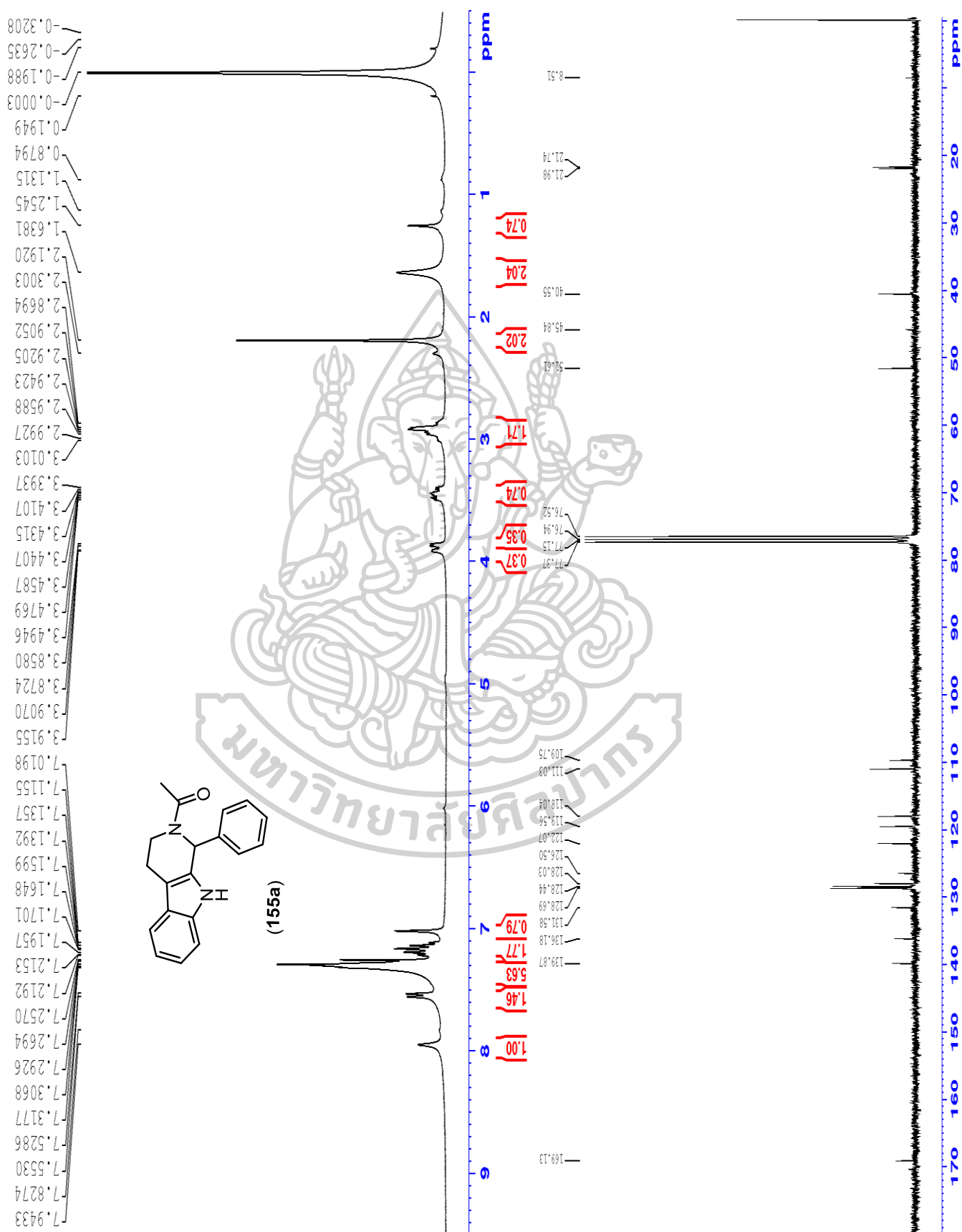


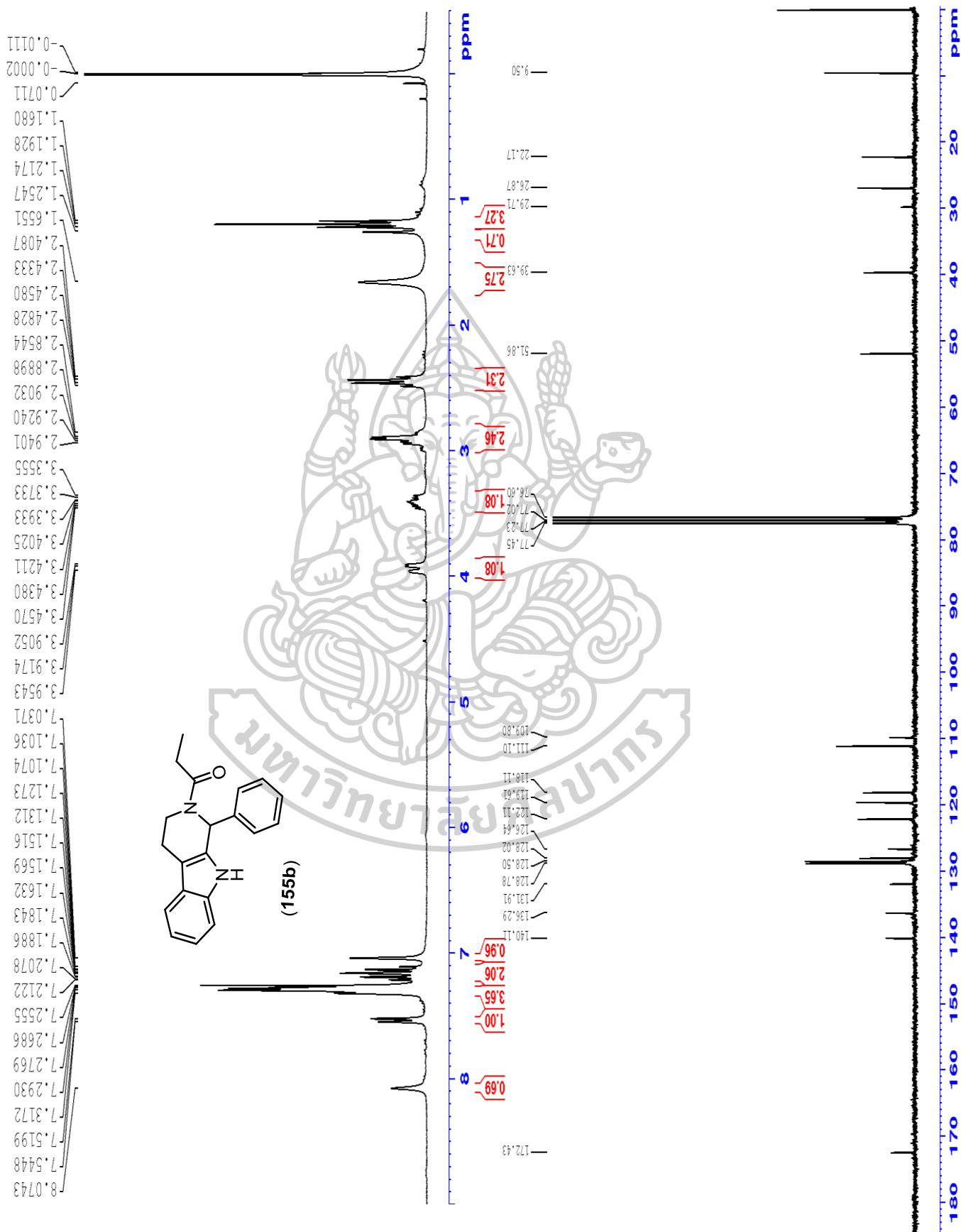


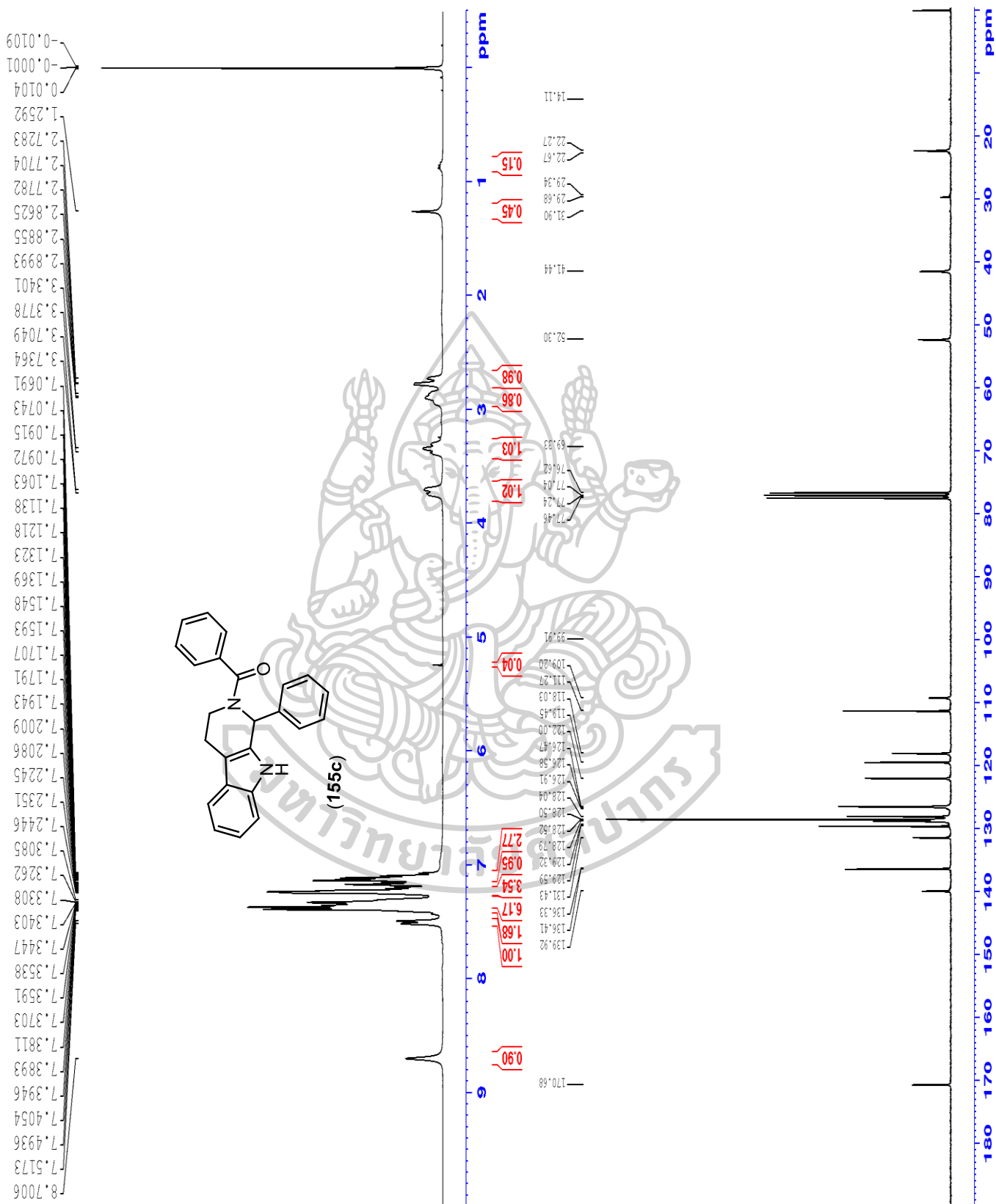


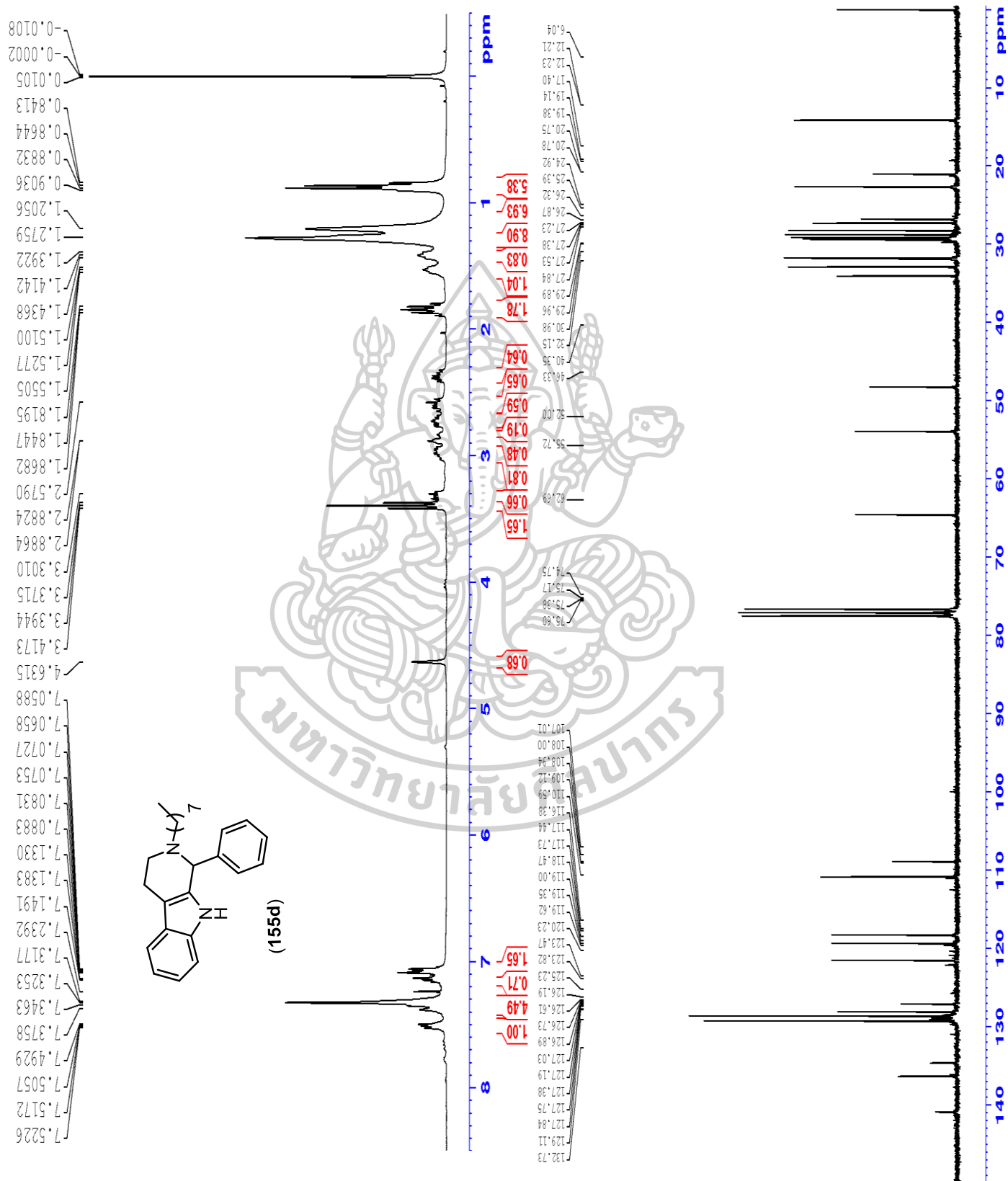


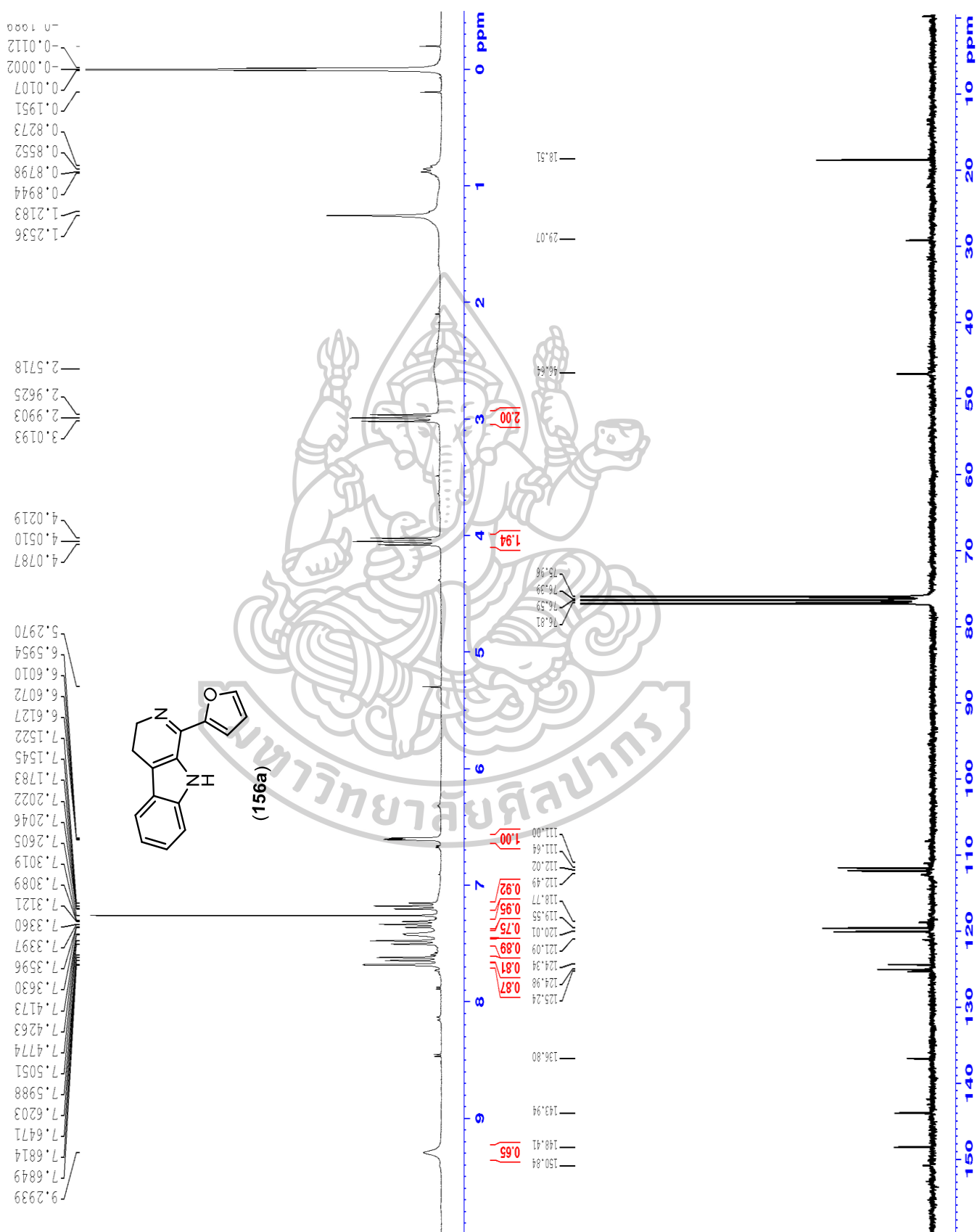


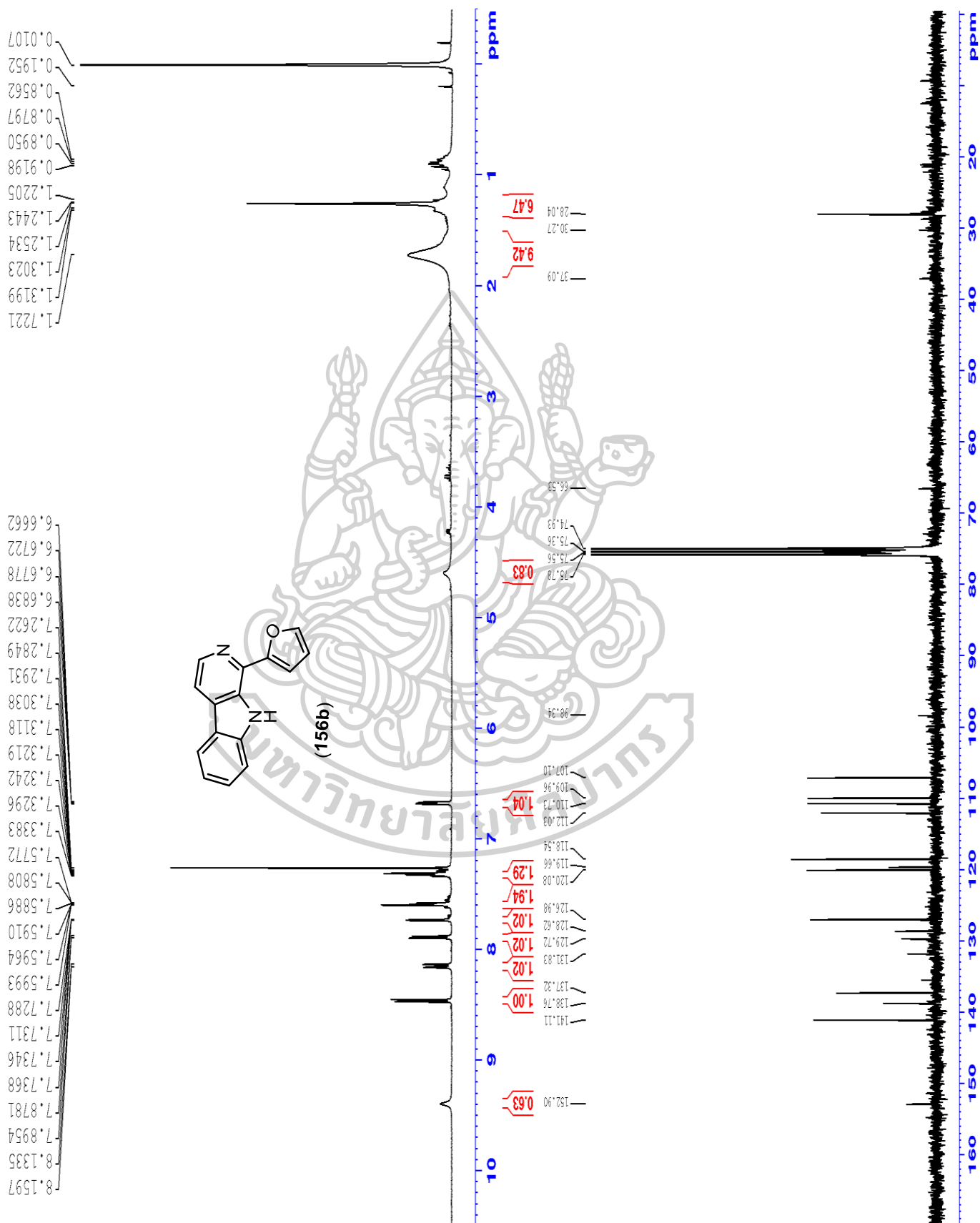


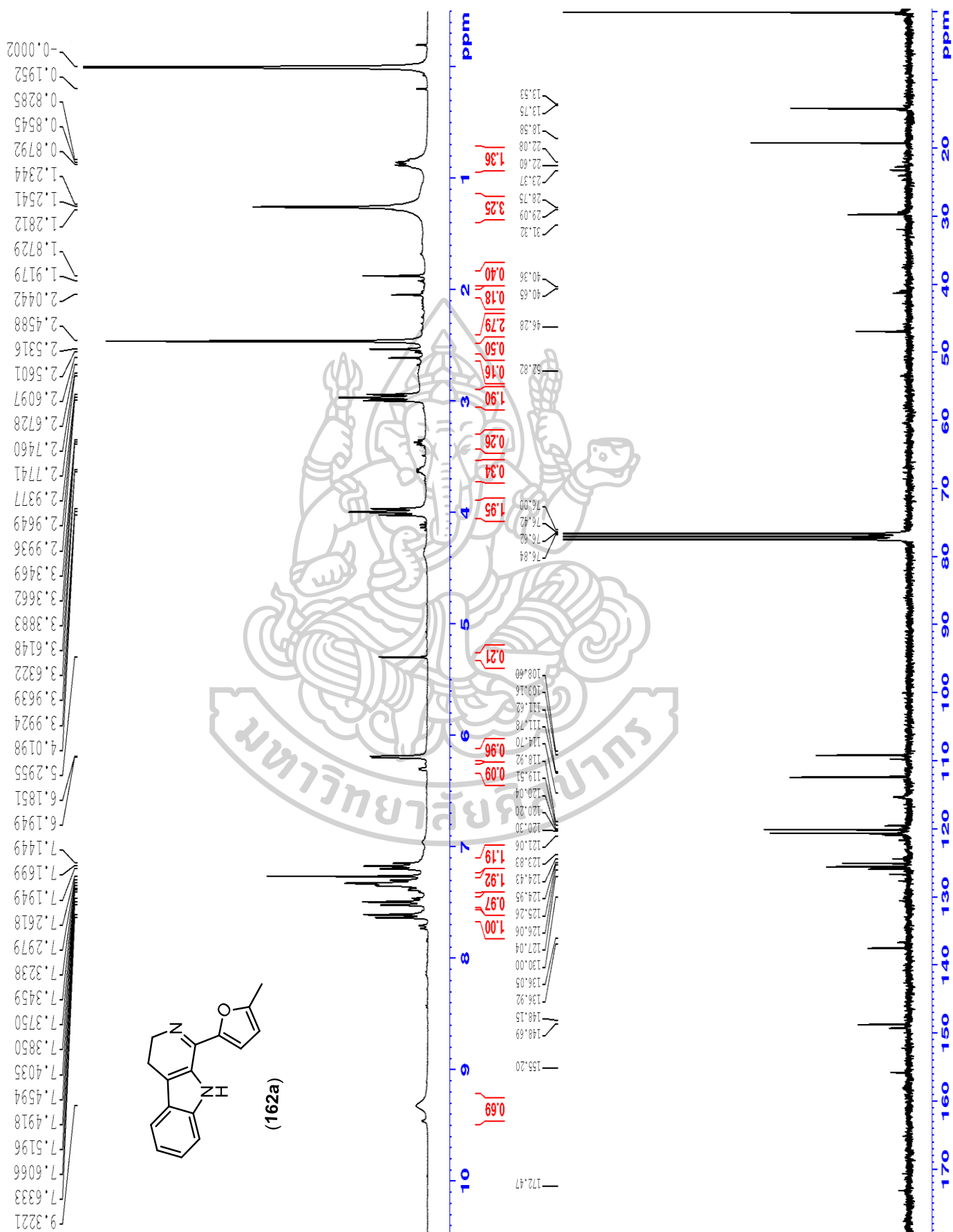


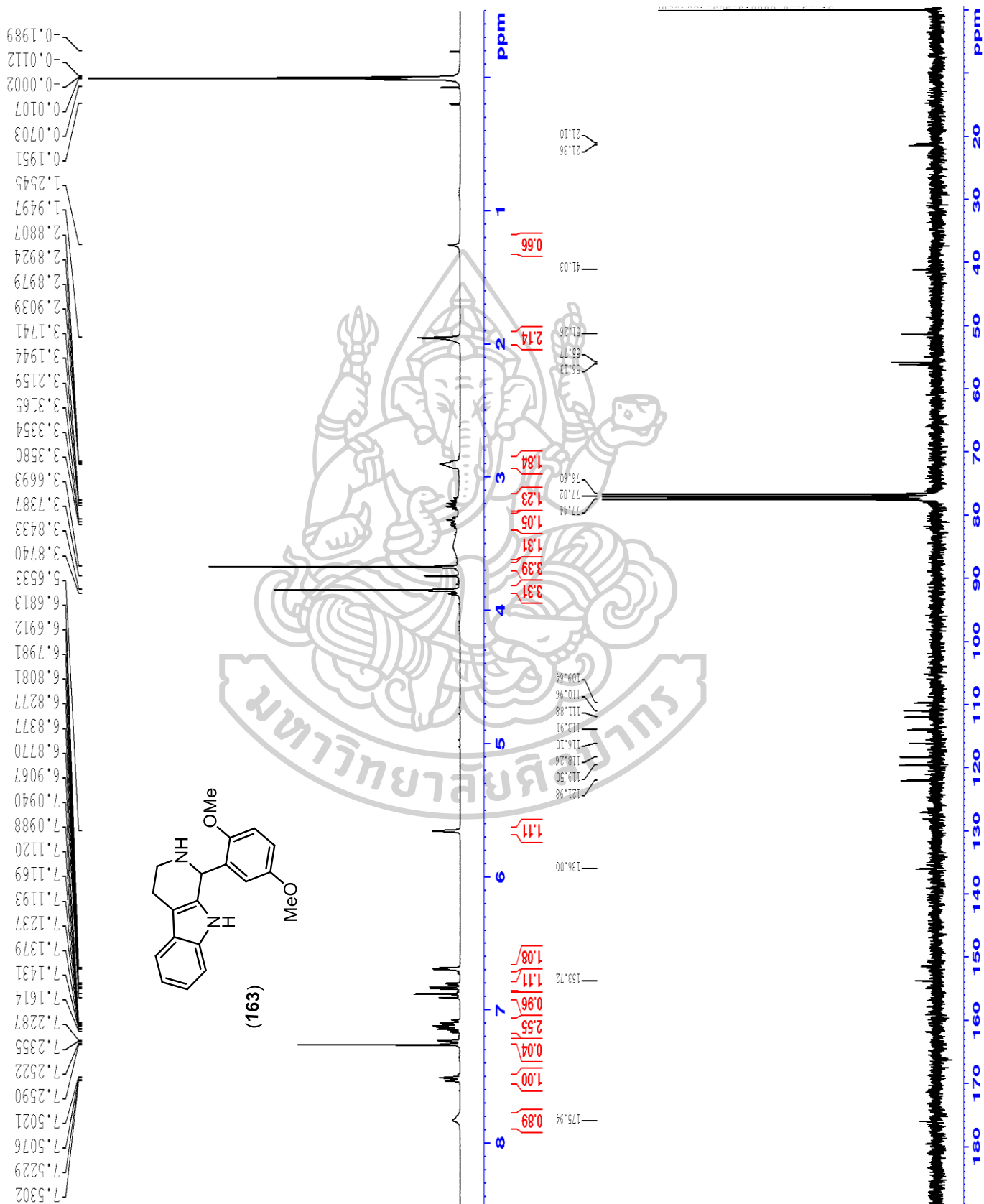


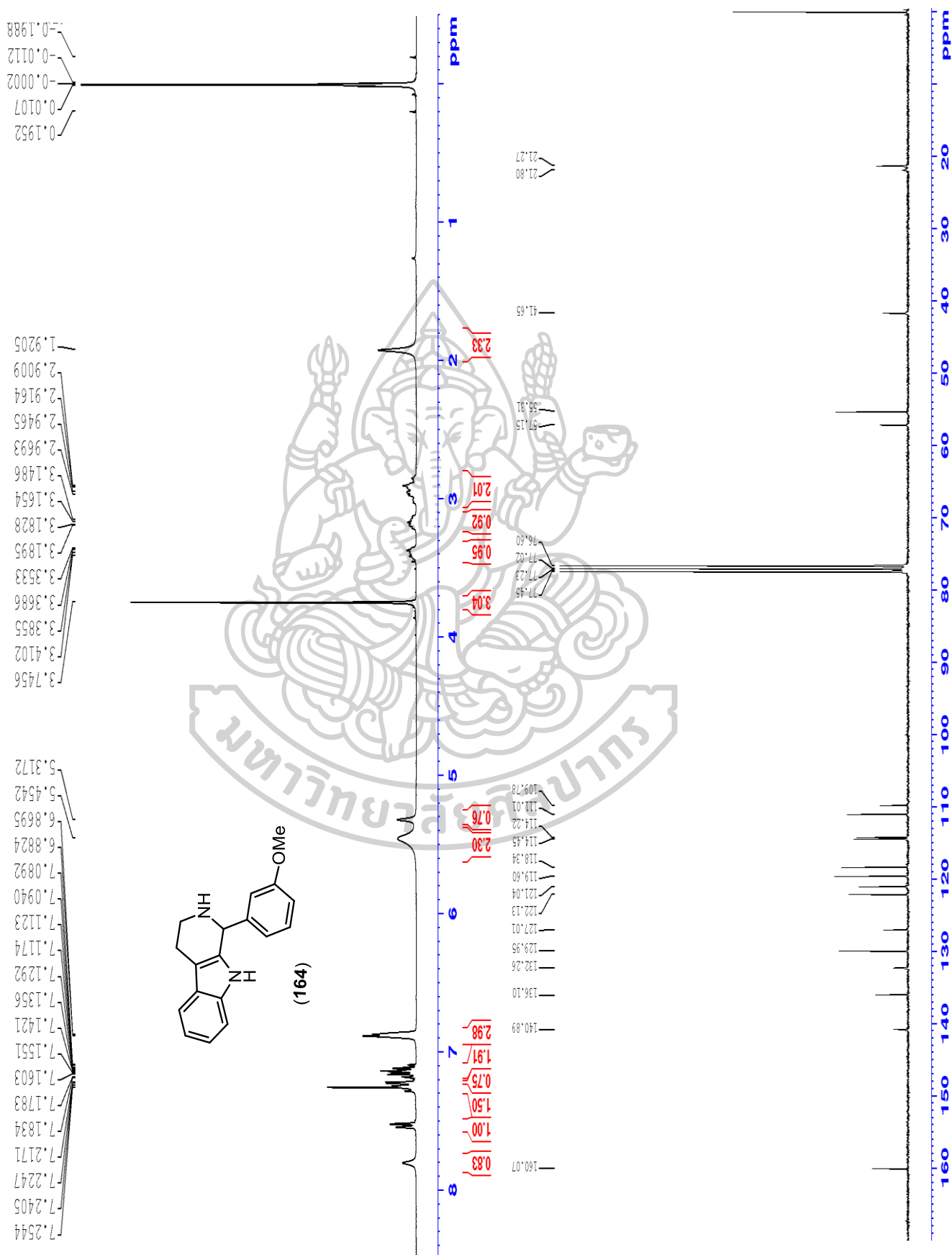


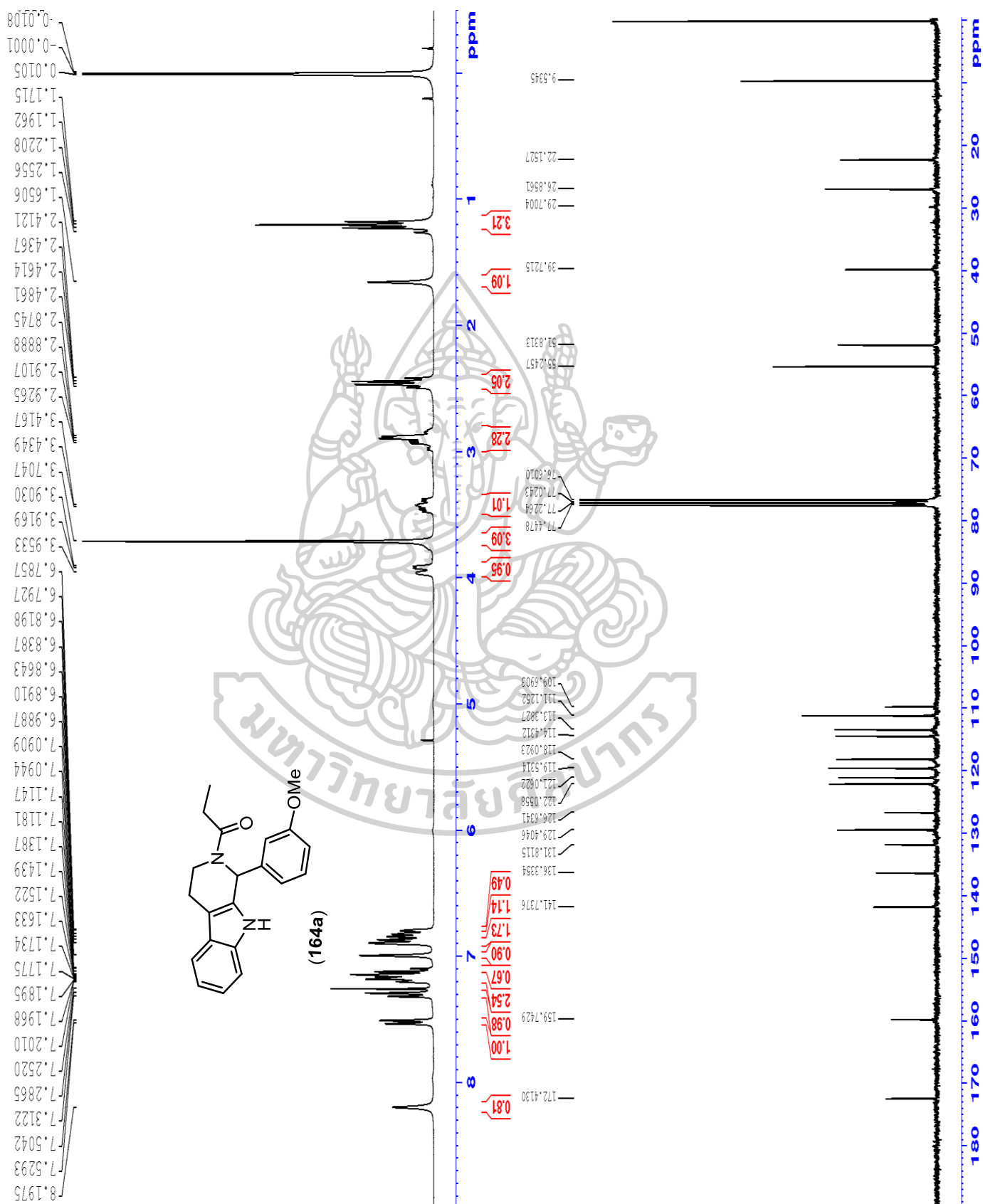


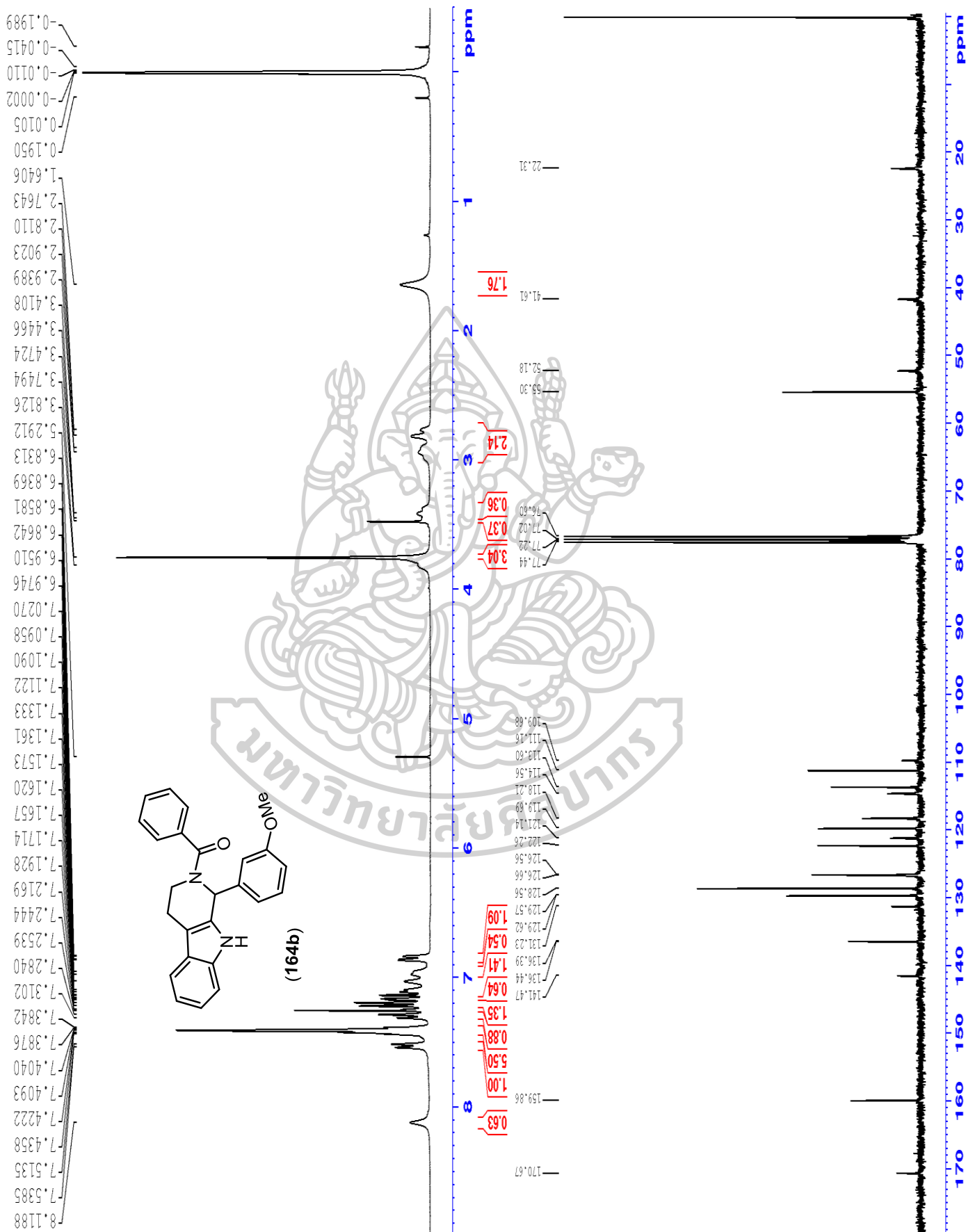


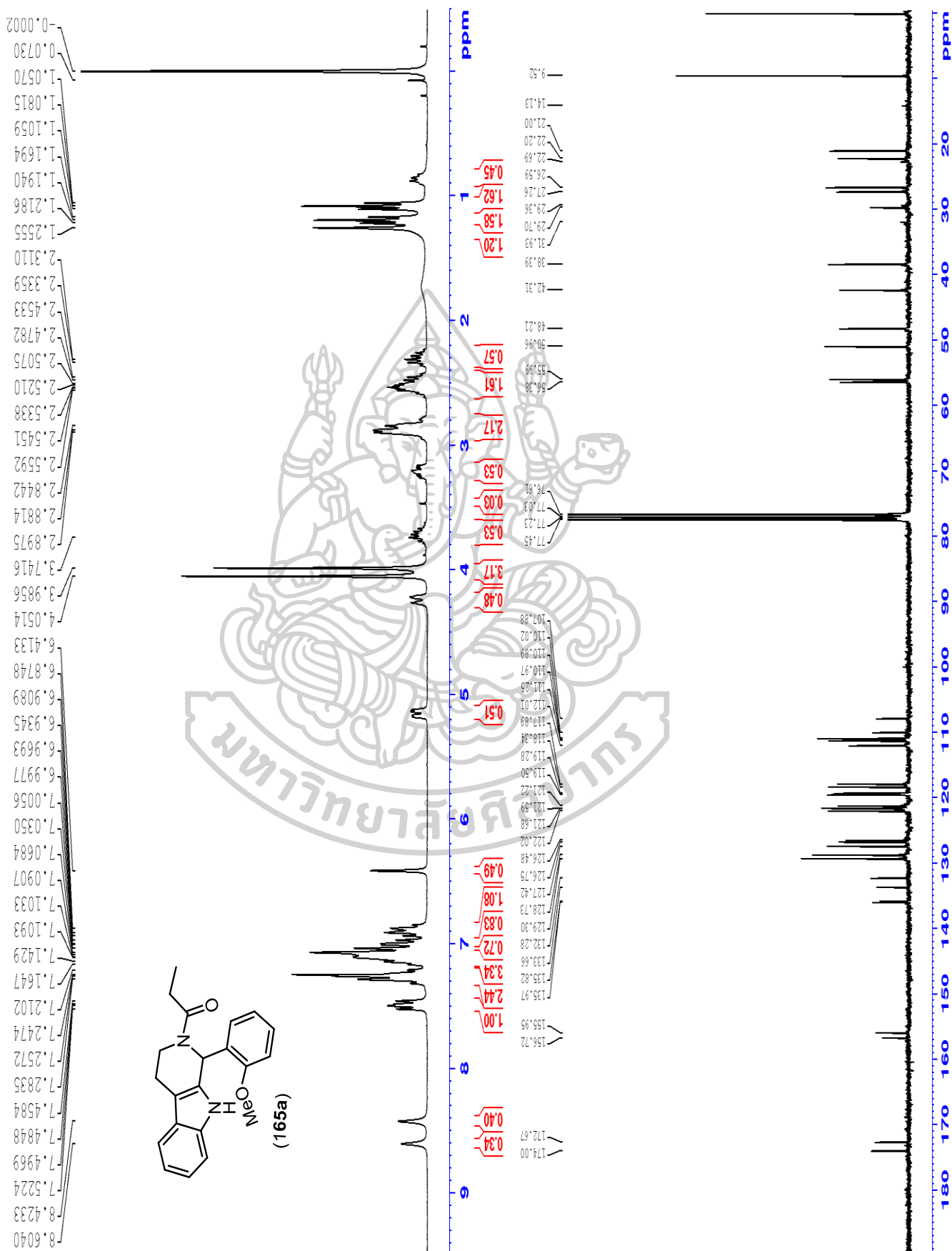




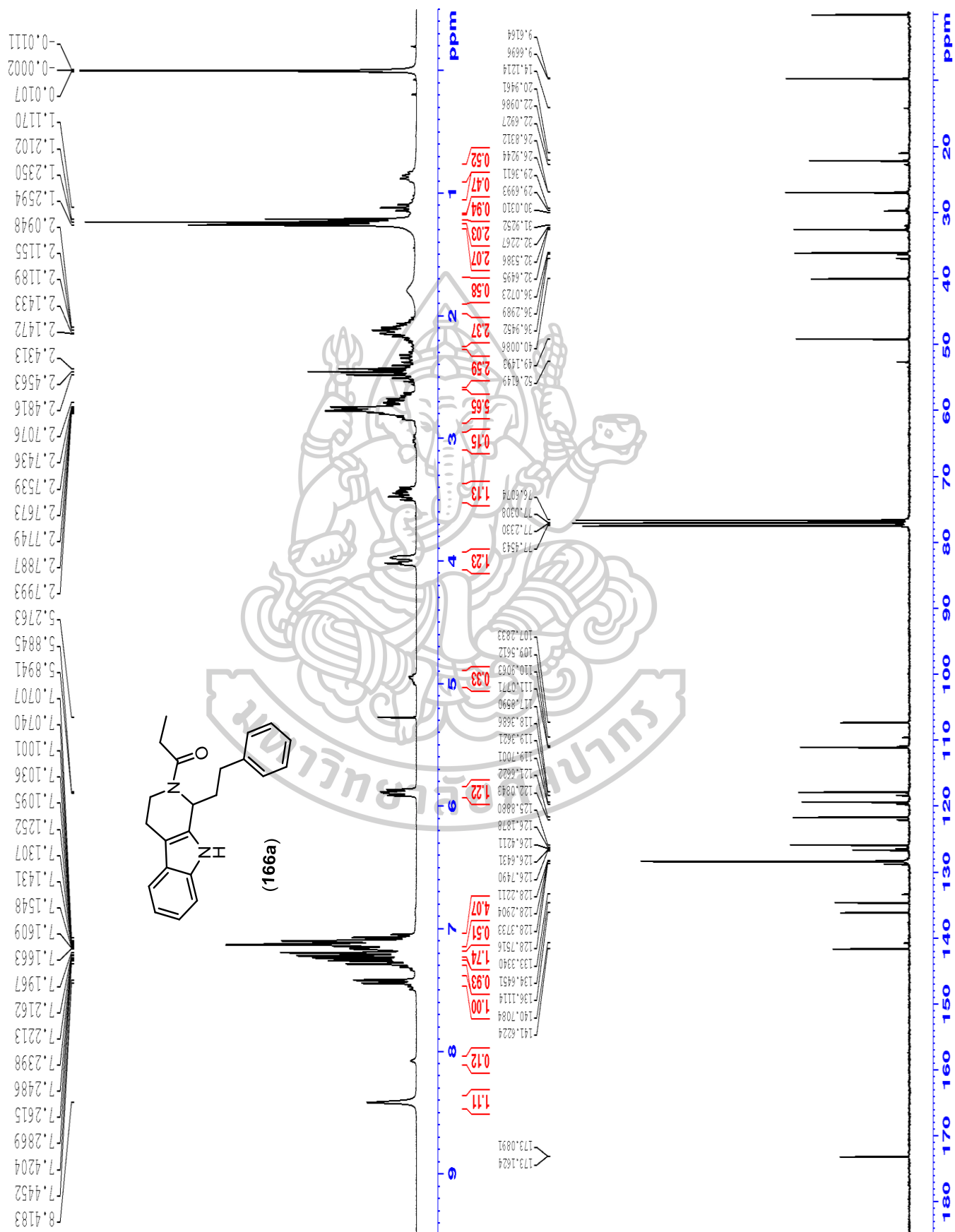


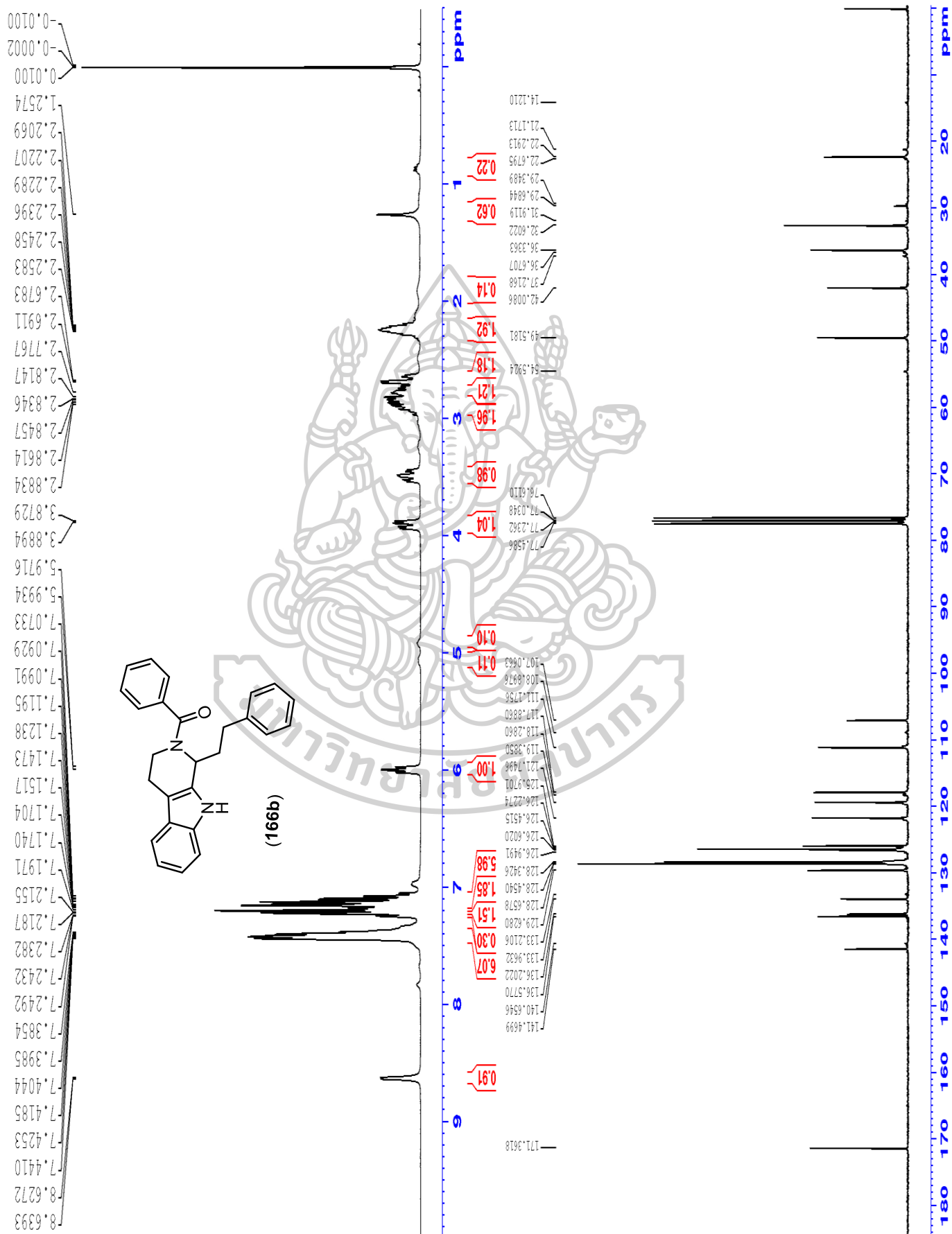


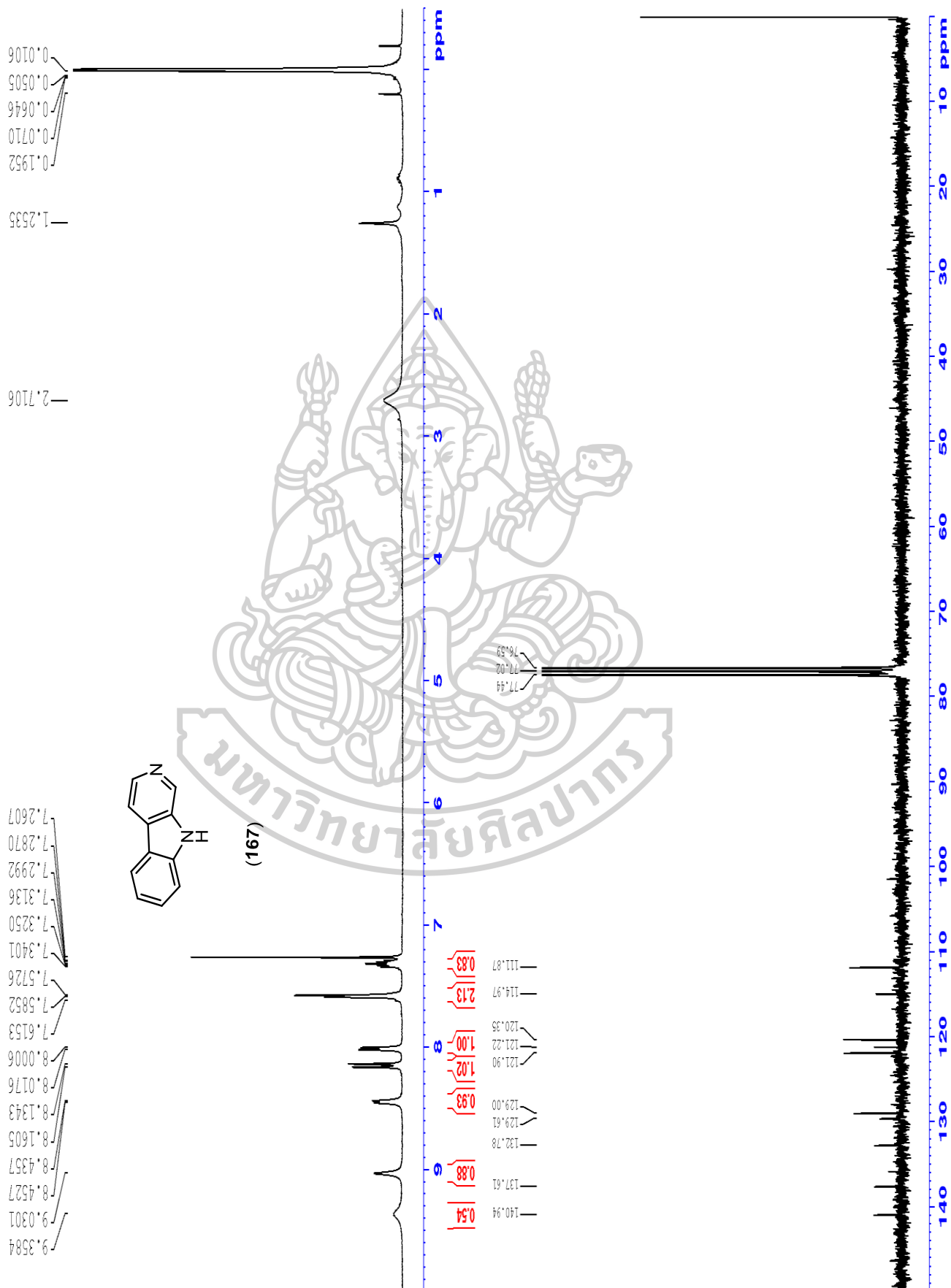


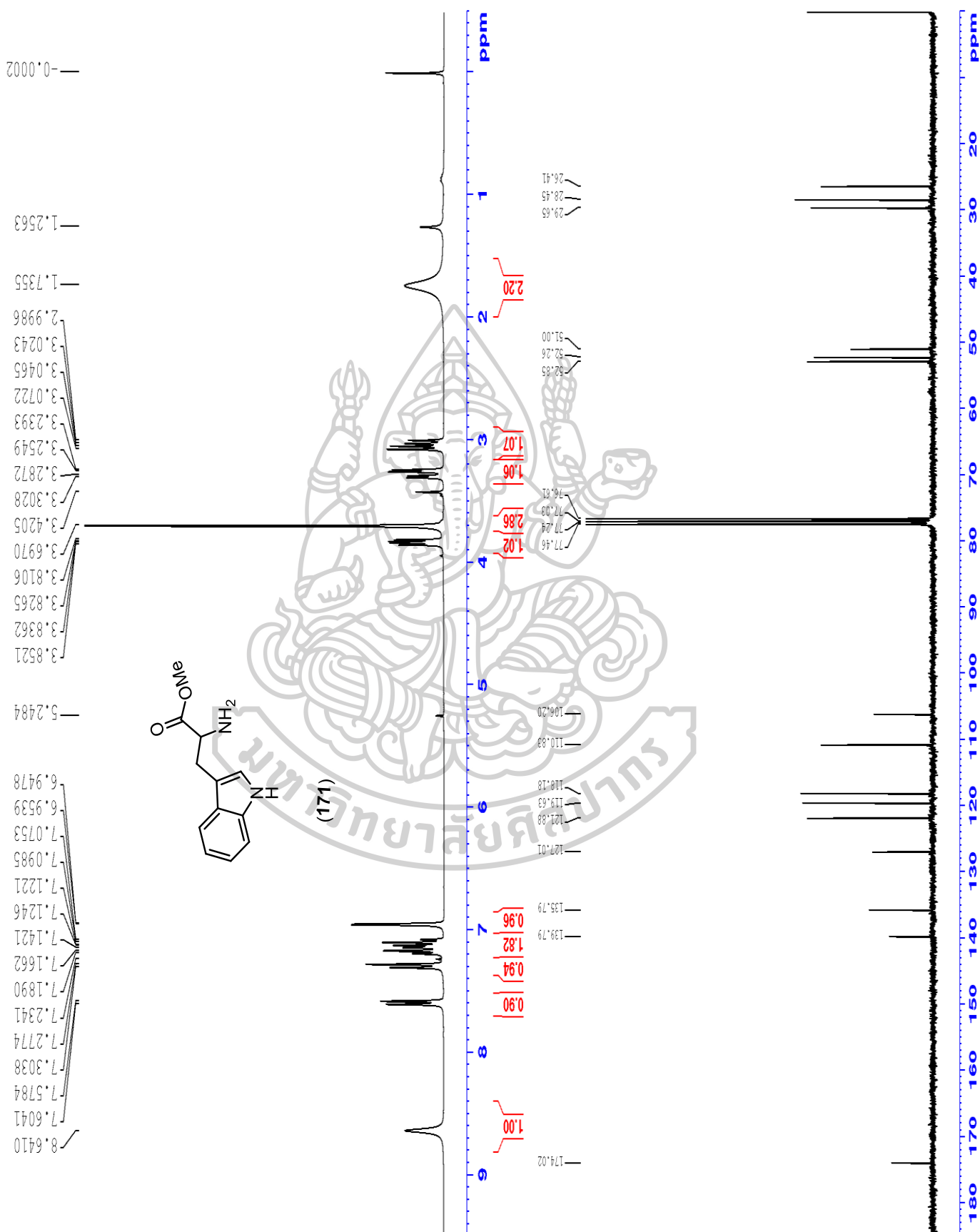


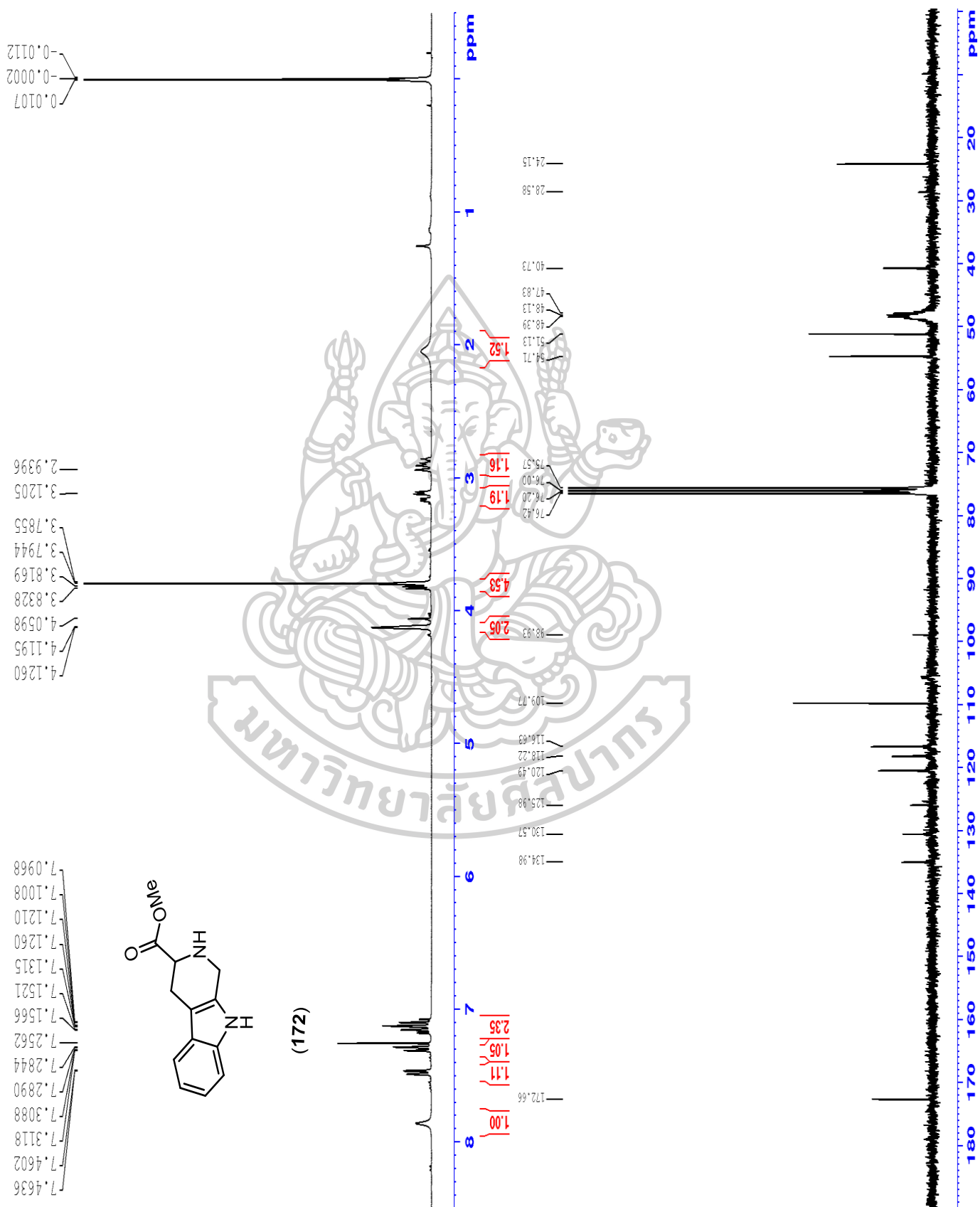


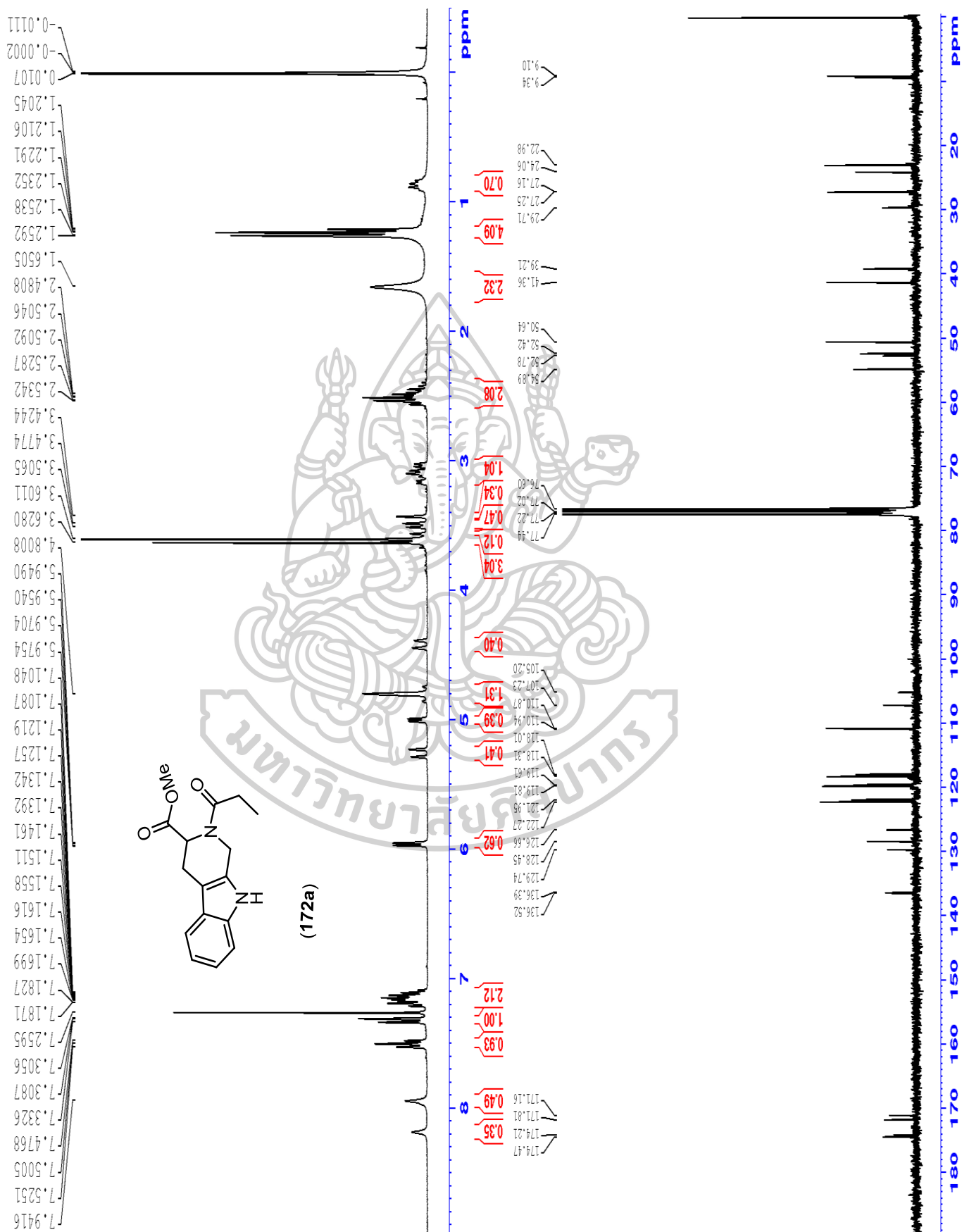


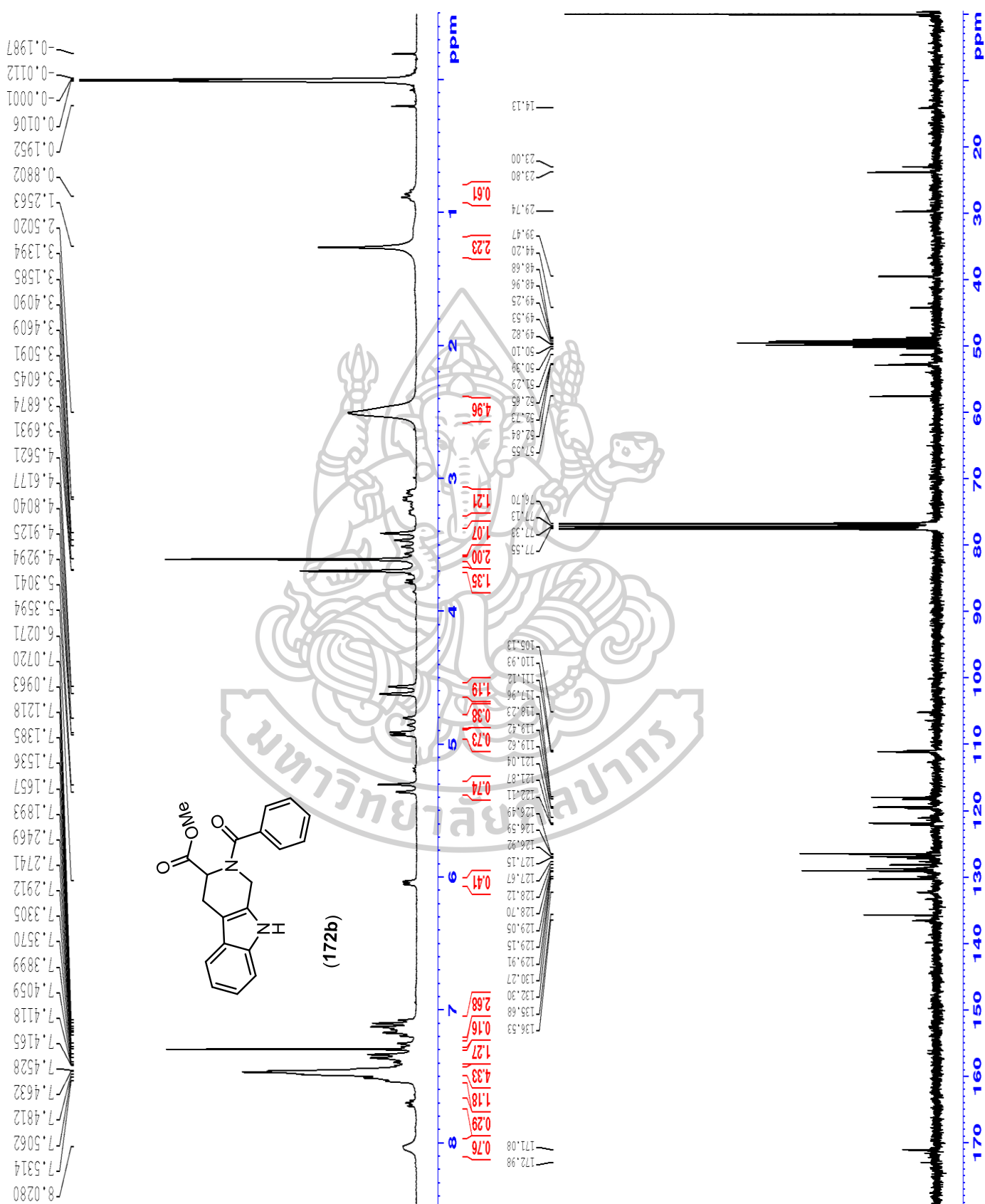


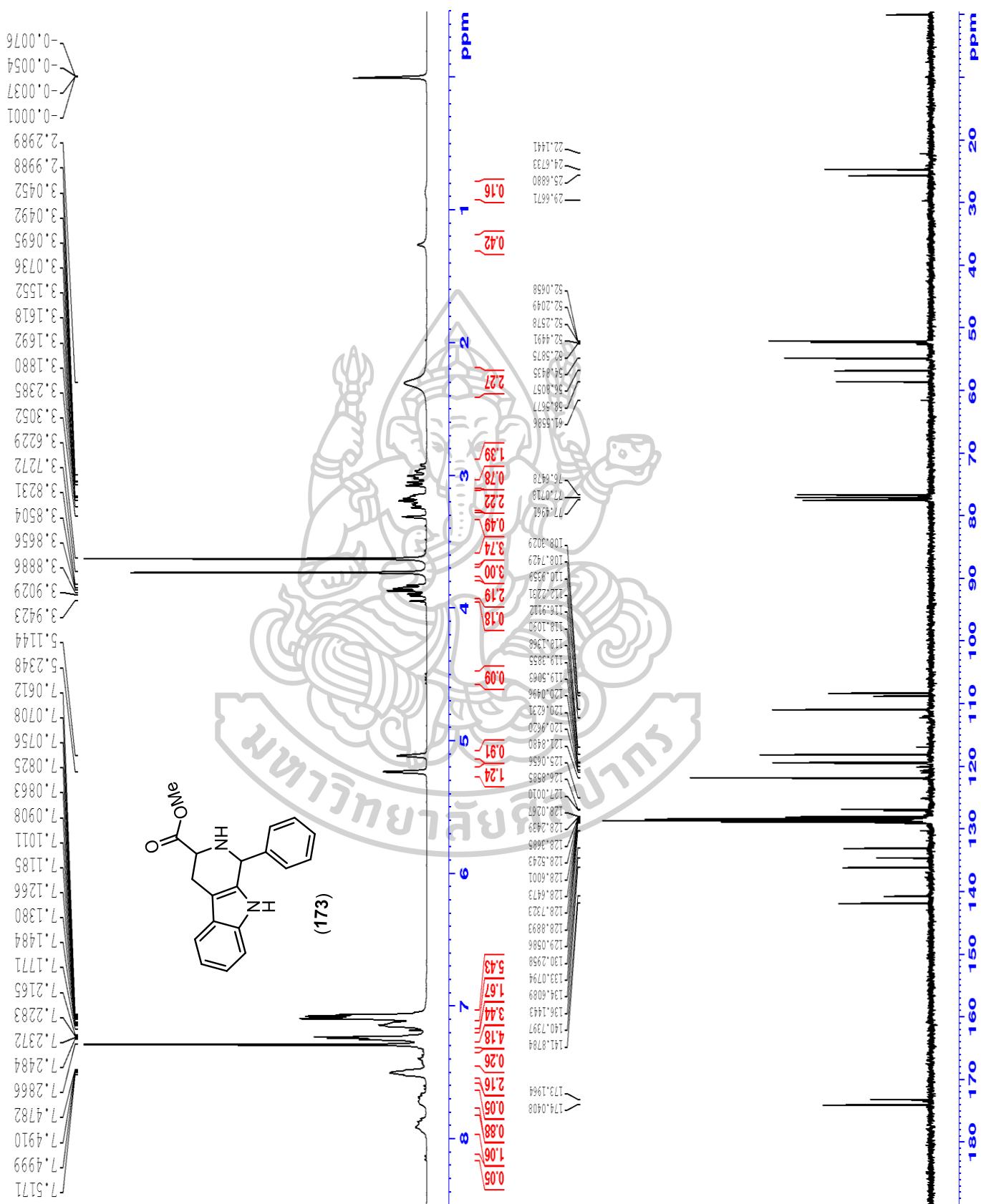


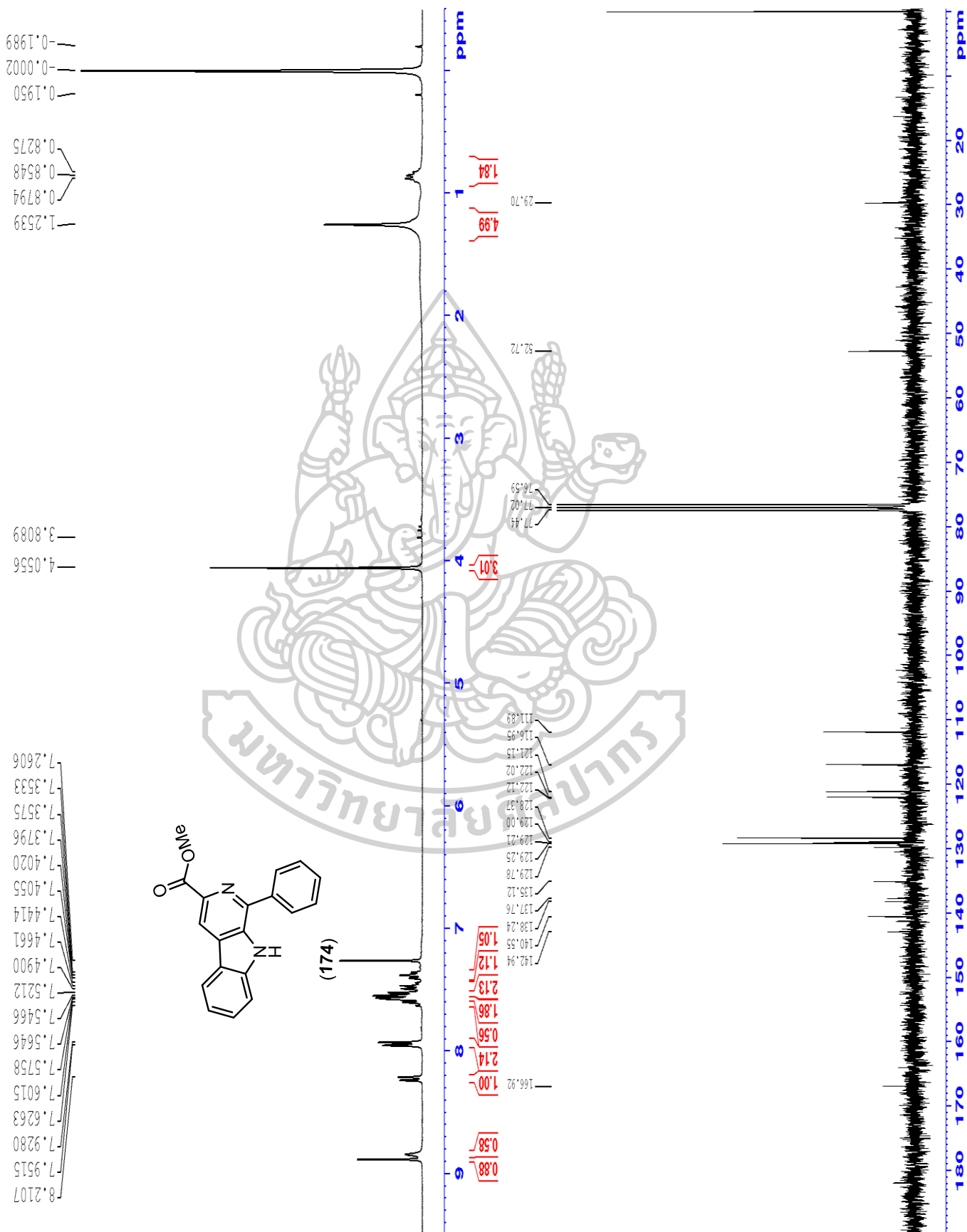












ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	กุลจิรา บัวบาน
วัน เดือน ปี เกิด	8 กรกฎาคม 2536
สถานที่เกิด	กาญจนบุรี
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2557 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2558 ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	31 ม.2 ต.ตะคร้ำเอน อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี 71130
ผลงานตีพิมพ์	Koonchira Buaban, Thongchai Taechowisan, Weerachai Phutdhawong, Waya Phutdhawong, “Synthesis and cytotoxicity evaluation of tetrahydro- β -carboline derivatives”, Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2018) (2018)

