

第一章 緒論

1-1 癌症

癌症又稱為惡性腫瘤 (malignant) ，是基因錯誤所引起的疾病，例如一些病毒會造成寄主細胞的染色體發生變異引發癌症，細胞變成異常且持續的自行分裂形成更多的細胞，當這些異常增生的細胞影響並侵犯正常的組織器官就會產生癌症。根據行政院衛生署的統計，惡性腫瘤在近二、三十年來，一直佔居國人十大死亡原因之首¹。

傳統的癌症療法有外科手術、放射線療法及化學療法等三種。化學療法中以藥物組合式療法 (combination therapy) 為例，此種療法是同時使用兩種以上具有不同作用機制的藥物，比起單獨使用一種藥物來的有效，其優點是可以提高療效並降低副作用²。一般的傳統抗癌藥物多具有細胞毒殺性，對正常細胞亦有影響而導致副作用的產生，會造成傷口不易復原、掉髮、胃腸道內皮的傷害、不孕症、畸胎、嘔吐及腎臟損傷等副作用³。

大部分傳統藥物具有破壞 DNA 的功能，有些藥物直接作用於 DNA，其它如抗代謝藥 (antimetabolites) 是抑制 DNA 合成所需的酵素而間接抑制 DNA。目前的癌症治療已進入分子標靶治療法 (molecular targeted therapeutics) 的新時代，這些藥物具有對在癌細胞內不正常或過度表現的分子作用標靶具有極高的選擇性³。

1-2 信號傳導路徑

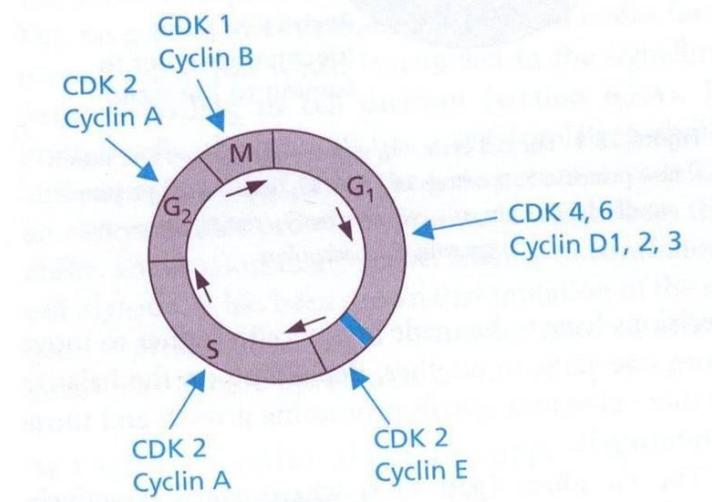
信號 (signals) 是指物理化學個體 (physicochemical entities) 受到外界刺激而交換信息，而這一連串交換信息的動作稱為信號傳導。細胞接收到信息後，會引起細胞內一連串錯綜複雜的反應，使得細胞做出回應，這些反應途徑稱為信號傳導路徑 (signal transduction pathway)⁴。信號傳導路徑分為 MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) 信號傳導路徑、PI3K / Akt 信號傳導路徑、NF- κ B 信號傳導路徑、TGF- β 信號傳導路徑...等⁵。

生物體內細胞週期 (cell cycle)、代謝 (metabolism) ...等皆須經由信號傳導來調控其反應機制，蛋白質之間的磷酸化作用在此扮演重要的調控角色。

細胞週期 (cell cycle) 是指能持續分裂的真核細胞從一次有絲分裂結束後生長，再到下一次分裂結束的循環過程。細胞的生長週期分為 G₁ 期 (Gap 1 growth phase, G₁ phase)、S 期 (synthesis phase, S phase)、G₂ 期 (Gap 2 mitosis preparation phase, G₂ phase) 以及 M 期 (Mitosis phase, M phase)。細胞在 G₁ 期體積增加並進行複製 DNA；在 S 期進行 DNA 的合成；在 G₂ 期，細胞會檢測所複製的 DNA 是否正確，並修復損壞的 DNA；在 M 期，細胞進行有絲分裂⁶。

細胞週期會受到細胞週期蛋白 (cyclins) 以及細胞週期蛋白依賴性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDKs) 調控。cyclins 與其相關激酶結合之後，會活化酵素使得細胞週期運轉。Cyclin D1, 2, 3-CDK4, 6 或 Cyclin E-CDK2 會大量表現在 G₁ 期；Cyclin E-CDK2 或 Cyclin A-CDK2 會大量表現在 S 期；Cyclin A-CDK2 會大量表現在 G₂ 期；

而 Cyclin B-CDK1 則會大量表現在 M 期 (圖一)⁷。



圖一、細胞週期調控⁷

當細胞受到外界刺激，例如荷爾蒙 (hormone) 或細胞激素...等胞外信號分子(signaling molecules)，會影響其基因表現 (gene expression)⁸。基因表現會受到信號分子調控，信號分子是利用配體 (ligand) 鍵結在細胞表面受體或細胞內的受體來調控基因表現⁹。且當信號分子改變基因表現，可同時活化多條不同的路徑，使得細胞走向細胞存活 (Survival)、細胞凋亡 (Apoptosis)、蛋白質合成 (Protein synthesis)、葡萄糖代謝 (Glucose metabolism) 或神經傳導 (Neuroscience) ...等路徑⁵。

信號傳導路徑和癌症的關係密切，當正常細胞喪失調控機制而導致細胞異常增生時，會形成癌細胞。以 PI3K / Akt 信號傳導路徑為例 (圖二)⁵，Akt 在調控代謝、細胞存活、轉錄及細胞週期的進展上扮演一個重要的角色。當 Akt 活化時，會使得其下游因子 (如 I κ B) 磷酸化，I κ B 磷酸化會造成 NF- κ B 活化，而活化的 NF- κ B 經由核轉位 (nuclear translocation) 機制進入細胞核中與 DNA 結合，調控基因表

現，進而影響細胞增殖及細胞凋亡⁵。而當 Akt 過度活化時，會使得 NF-κB 過度活化造成發炎，當正常細胞一直處於發炎的狀態時，會使得細胞異常增長而形成癌細胞。

傳統的抗癌藥劑以不同的作用機制來對抗細胞內不同的作用標靶，但是這些藥物具有細胞毒殺性(cytotoxic)，對正常細胞亦有影響而導致副作用的產生¹⁰。

真核細胞的死亡可分為細胞壞死 (Necrosis) 以及細胞凋亡 (Apoptosis)。細胞壞死是一種非計畫性的細胞死亡，通常是受到物理性或化學性的刺激，造成細胞內外物質崩解，使得胞器腫大、細胞膨脹而導致細胞膜破裂造成細胞死亡。細胞凋亡是一種計畫性的細胞死亡，指細胞受到生理性或病理性刺激時，而產生的細胞程序性死亡 (Programmed cell death) 過程。

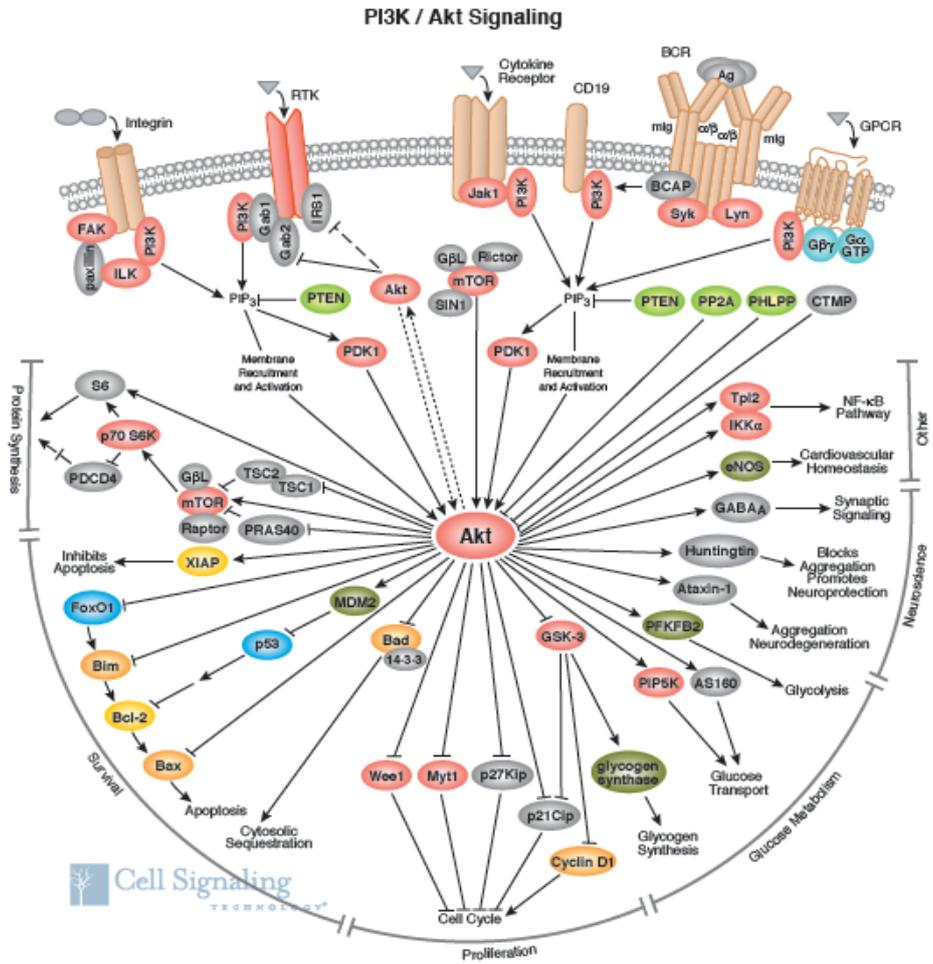
細胞凋亡是廣泛的生物學意義，會對細胞發展 (development)、分化 (differentiation)、增殖 (proliferation) 以及免疫系統功能的調控造成影響，可透過細胞凋亡路徑移除有缺陷且有害的細胞¹¹。

目前已知的細胞凋亡路徑分為外部的途徑 (extrinsic route) 以及內部的途徑 (intrinsic pathway)。外部的途徑指細胞受到外在因素影響而導致的細胞凋亡，外在因素分為三種，第一、細胞長期缺少生長因子或激素，第二、死亡活化蛋白 (death activator proteins) 鍵結在腫瘤壞死因子受體 (tumour necrosis factor receptors, TNF-R) 的細胞膜上，激發信號傳導而導致細胞凋亡，第三、免疫系統會產生T-淋巴細胞 (T-lymphocytes)，T-淋巴細胞會在體內循環尋找損壞的細胞，一旦發現這些損壞的細胞，淋巴細胞會穿入這些損壞細胞的細胞膜，注

入顆粒溶解酶 (granzyme) 而引發細胞凋亡。內部的途徑指細胞受到內在因素，如細胞長期曝曬在化學物質、藥物或氧化應力 (oxidative stress) ...等造成DNA受損而導致的細胞凋亡¹²。

細胞凋亡的調控因子包括p53、Bcl-2家族以及caspases。p53為腫瘤抑制蛋白，當p53的表現量增加會誘導細胞走向細胞凋亡路徑。Bcl-2家族分為前細胞凋亡(pro-apoptosis)蛋白以及抗細胞凋亡蛋白(anti-apoptosis)；前細胞凋亡蛋白包括Bax、Bad、Bak...等會誘發細胞凋亡，抗細胞凋亡蛋白包括Bcl-2、Bcl-xL、Mcl-1...等會抑制細胞走向細胞凋亡路徑。caspase (Cysteine aspartate protease) 為一種蛋白酶，在其活化部位有半胱氨酸 (Cysteine, Cys) 殘基，此殘基在催化反應機制上扮演重要的角色，因此當caspase活化時，會誘導細胞走向細胞凋亡路徑^{11, 12}。

目前抗癌藥劑的研究有很多是著重在信號傳導路徑中某一激酶(如 Akt、mTOR...等) 的抑制，藉由抑制其活化而誘導癌細胞走向細胞凋亡，達到癌症治療的效果。



Cell Signaling TECHNOLOGY

- | | |
|---|--------|
| ● Kinase | → |
| ● Phosphatase | — |
| ● Transcription Factor | →→ |
| ● Caspase | →— |
| ● Receptor | - - -> |
| ● Enzyme | - - - |
| ● Cyclin, pro-apoptotic | ⌋ |
| ● pro-survival | ⌋ |
| ● GAP / GEF | ⋯→ |
| ● GTPase | → |
| ● G-protein, ribosomal subunit | → |

圖二、PI3K / Akt 信號傳導路徑⁵

1-3 Akt

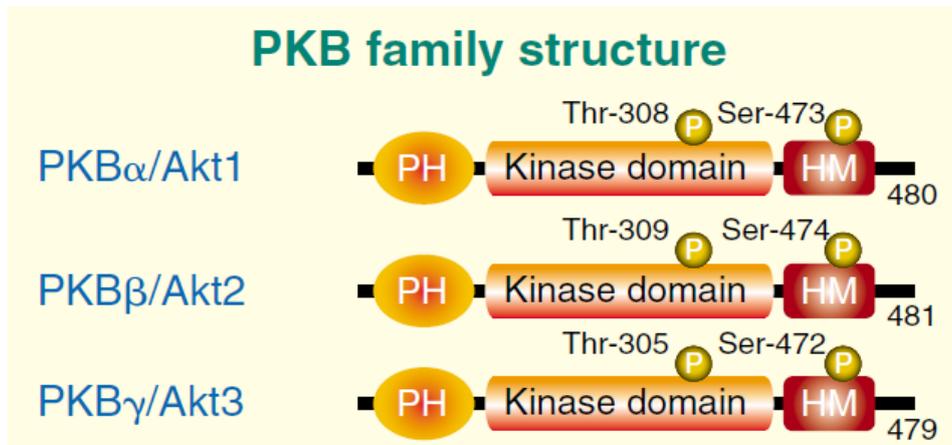
Akt，也被稱為蛋白激酶 B (protein kinase B，PKB)，是一個絲胺酸/蘇胺酸磷酸化轉移酶 (serine/threonine phosphoryl transferase) 及 PI3K (phosphoinositol-3 kinase) 的下游受器，屬於 AGC 家族，在調控代謝、細胞存活、轉錄及細胞週期的進展上扮演一個重要的角色¹³。

Akt的次家族包含PKB α /Akt1、PKB β /Akt2、PKB γ /Akt3這三個哺乳類基因。Akt的結構包括胺基端的pleckstrin homology (PH) 區域、中央激酶區域 (kinase domain)、以及羧基端的調節區域 (regulatory domain)，羧基端的調節區域包含hydrophobic motif (HM) 磷酸化部位[FxxF(S/T)Y] (Hanada et al., 2004)。

當細胞受到血小板衍生生長因子 (Platelet-derived growth factor，PDGF) (Franke et al., 1995)、表皮生長因子 (Epidermal growth factor，EGF)、纖維組織母細胞生長因子 (Fibroblast growth factor，FGF)、胰島素 (insulin) (Cross et al., 1995; Kohn et al., 1995) 或 pervanadate (Andjelkovic et al., 1996) 刺激，會造成PKB α /Akt1活化¹⁴。¹⁵

PKB α /Akt1的活化是藉由磷酸化激酶區域的308號蘇胺酸位置 (Thr308) 以及HM調節區域的473號絲胺酸 (Ser473) 位置；PKB β /Akt2的活化是藉由磷酸化激酶區域的309號蘇胺酸位置 (Thr309) 以及HM調節區域的474號絲胺酸 (Ser474) 位置；而PKB γ /Akt3則是藉由磷酸化激酶區域的305號蘇胺酸位置 (Thr305) 以及HM調節區域的472號絲胺酸 (Ser472) 位置 (圖三)¹⁶。

當 PKB α /Akt1 的活性增加造成 PKB β /Akt2 過度表現時會導致卵巢癌 (Ovarian cancer) 或乳癌 (Breast cancer) ； PKB β /Akt2 的過度表現會導致肝細胞癌 (Hepatocellular carcinoma) 或消化道癌 (Digestive tract cancer) ；PKB/Akt 過度表現會導致甲狀腺癌 (Thyroid cancer) ，而 PKB γ /Akt3 過度表現則會導致前列腺癌 (Prostate cancer) (圖四)¹⁶。



圖三、PKB/ Akt 結構¹⁶

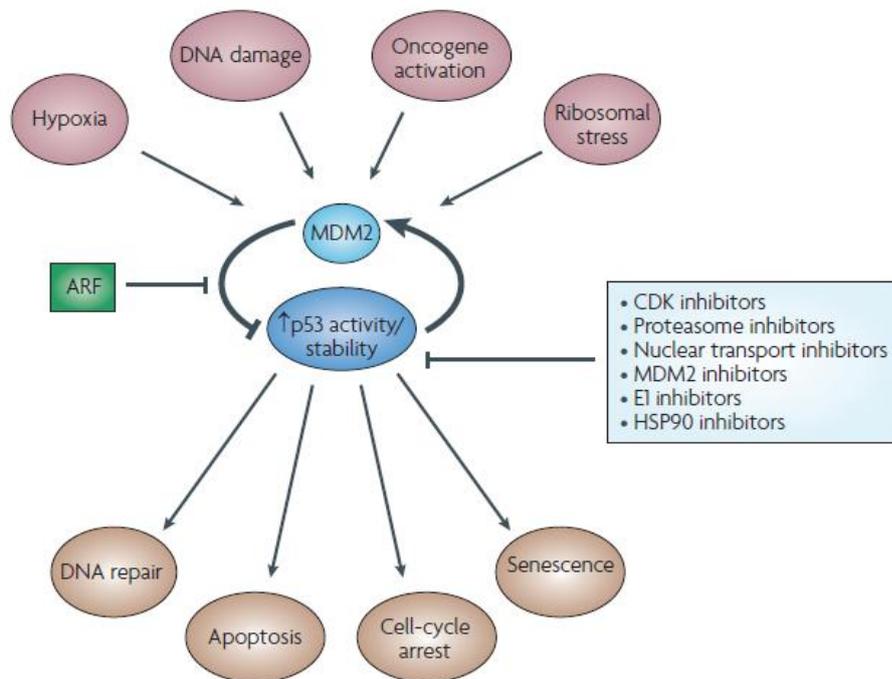
Cancer type	Type of alteration
Ovarian	Elevated PKB α activity PKB β amplification and overexpression
Breast	Elevated PKB α kinase activity PKB β amplification and overexpression
Hepatocellular carcinoma	PKB β overactivation
Digestive tract	PKB β overexpression and amplification
Thyroid	PKB overexpression and activation
Prostate	PKB γ overexpression Elevated PKB α activity

圖四、受 PKB/ Akt 影響的癌症類型¹⁶

1-4 p53

p53 又稱為腫瘤抑制蛋白 53 (tumor protein 53, TP53) ，是一個 DNA 鍵結轉錄因子 (DNA-binding transcription factor) ，亦是一個腫瘤抑制因子 (tumor suppressor) ，它有抑制細胞生長以及維持遺傳物質完整性的功能。在超過半數的人類癌症細胞中，皆發現 p53 基因的突變，由此可知 p53 在細胞週期的調控上扮演一個重要的角色^{17, 18}。

當正常細胞內的 DNA 受損、缺氧 (hypoxia) 、致癌基因過度表現 (oncogene overexpression) 以及核苷酸耗盡 (nucleotide depletion) 時，會提高 p53 穩定性而誘導細胞走向 DNA 修復、細胞凋亡、細胞週期休眠及衰老 (senescence) (圖五)¹⁷。

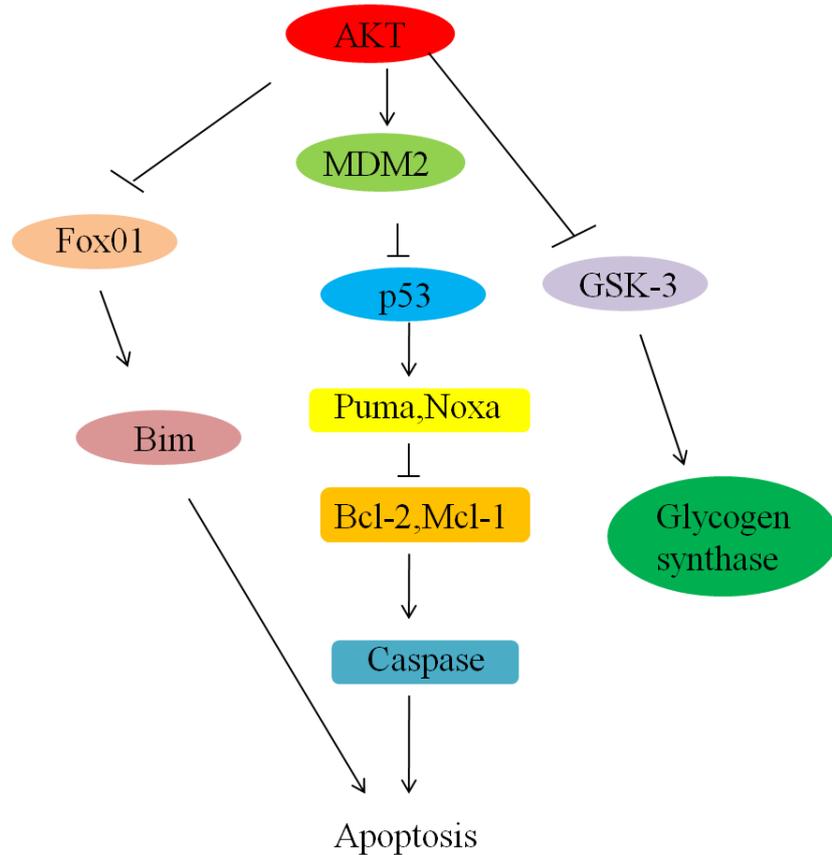


圖五、p53 信號傳導路徑¹⁷

p53 會活化細胞週期抑制基因 p21^{KIP} 以及前細胞凋亡蛋白 (pro-apoptotic protein) Bax、Noxa、Puma (p53 upregulated modulator of

apoptosis) 、APAF1 (Apoptotic Proteases Activating Factor) 和 Fas，並且會抑制血管新生 (angiogenesis)¹⁹。

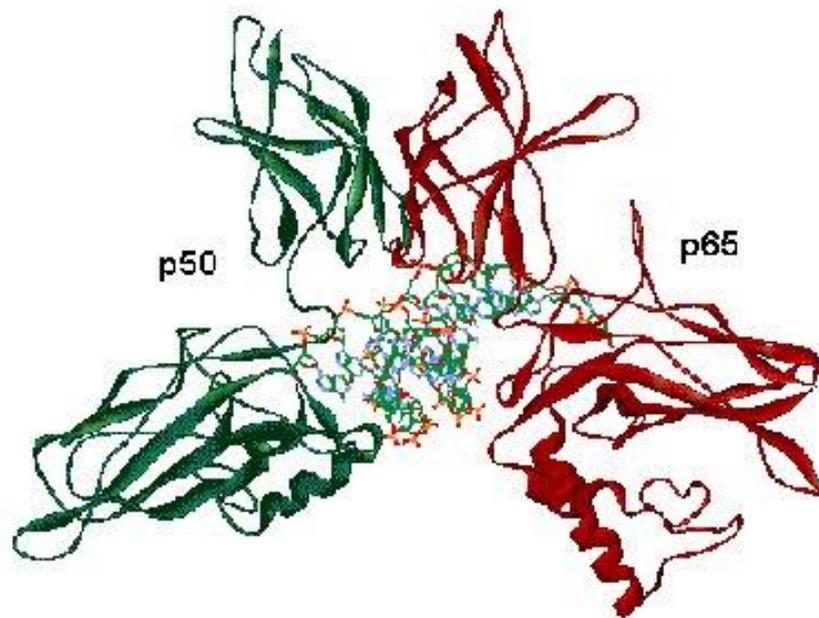
p53 藉由誘導 p21 活化而使得細胞週期在 G₁ 期時休眠；藉由誘導 Noxa 及 Puma 活化進而抑制 Bcl-2 及 Mcl-1 而使得 caspase 活化走向細胞凋亡 (圖六)²⁰。



圖六、細胞凋亡路徑²⁰

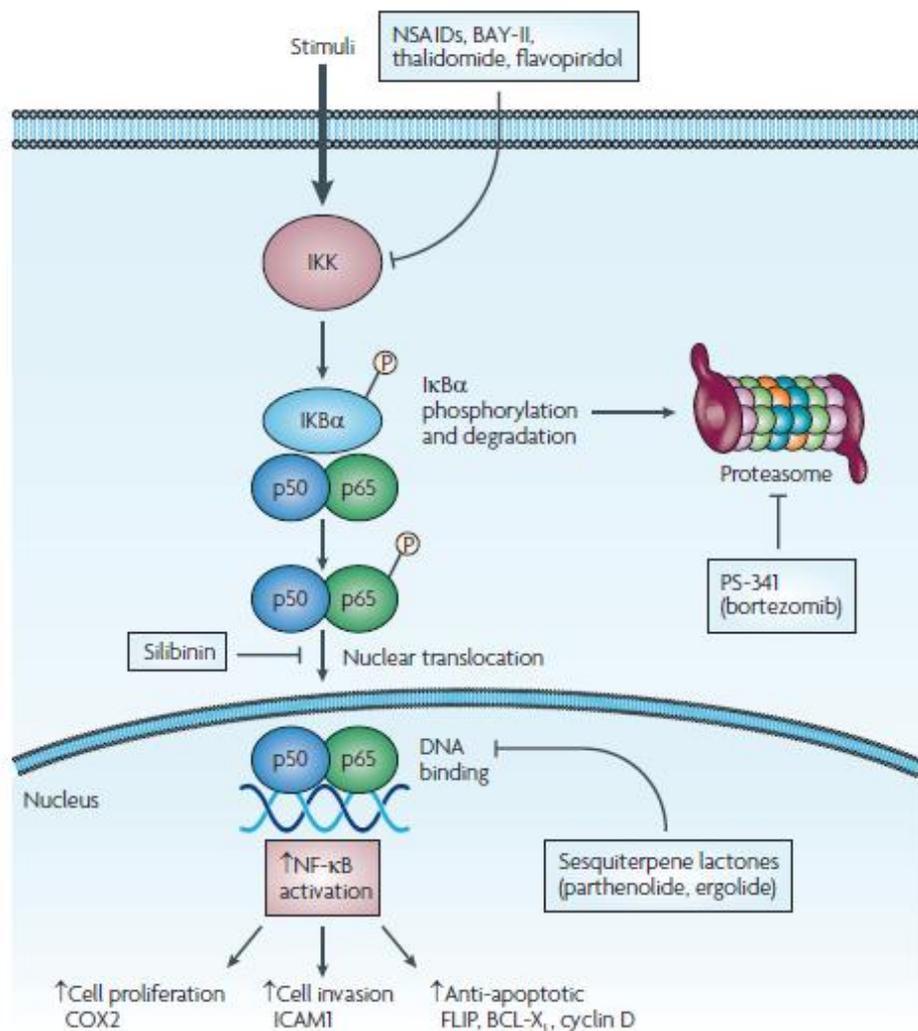
1-5 NF- κ B

核轉錄因子 (Nuclear factor kappa B, NF- κ B) 是一種蛋白質，其結構如圖七表示，為一種體內的生物誘導分子 (biological trigger)，在許多疾病的生理作用上扮演重要角色。其家族成員包括 p50、p52、p65 (RelA)、RelB 以及 c-Rel 這五種不同的相關結構蛋白質，NF- κ B 以 p50/p65 複合蛋白、p52/p52 複合蛋白、p52/RelB 複合蛋白、p65/p65 複合蛋白或 p50/c-Rel 複合蛋白...等存在。



圖七、NF- κ B 蛋白質分子結構圖

在正常細胞中，NF- κ B 與其抑制蛋白 I κ B 互相結合並存在於細胞質中。當細胞受到各種外來刺激，例如脂多醣 (Lipopolysaccharide, LPS)、腫瘤壞死因子 (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) ... 等，I κ B 激酶 (IKK) 會藉由信號傳導路徑磷酸化 I κ B，降解 I κ B 使得 NF- κ B 活化，活化的 NF- κ B 經由核轉位 (nuclear translocation) 機制進入細胞核中與 DNA 結合，調控基因表現，進而影響細胞增殖、細胞侵襲 (cell invasion) 及細胞凋亡 (圖八)¹⁷。

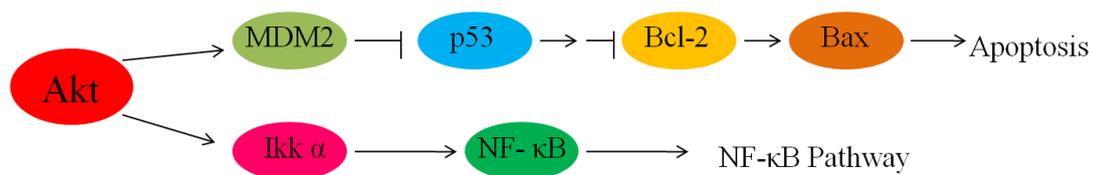


圖八、NF- κ B 信號傳導路徑¹⁷

1-6 Akt 抑制劑與研究動機

p53 以及 NF- κ B 信號傳導路徑在人類癌症扮演關鍵的角色¹⁷。而 Akt 在 p53 及 NF- κ B 之間扮演一個重要的角色，Akt 為一個絲胺酸/蘇胺酸磷酸化轉移酶，在細胞凋亡的調控上亦扮演重要角色。

活化的 Akt 會誘導 MDM2 活化進而抑制 p53 活化；亦會誘導 IKK α 活化進而活化 NF- κ B，使得細胞不走向細胞凋亡路徑（圖九）。設計 Akt 抑制劑，藉由抑制 Akt 來誘導 p53 活化及抑制 NF- κ B 活化，p53 活化和抑制 NF- κ B 可誘導細胞走向細胞凋亡。



圖九、Akt 誘導細胞走向細胞凋亡及 NF- κ B 路徑

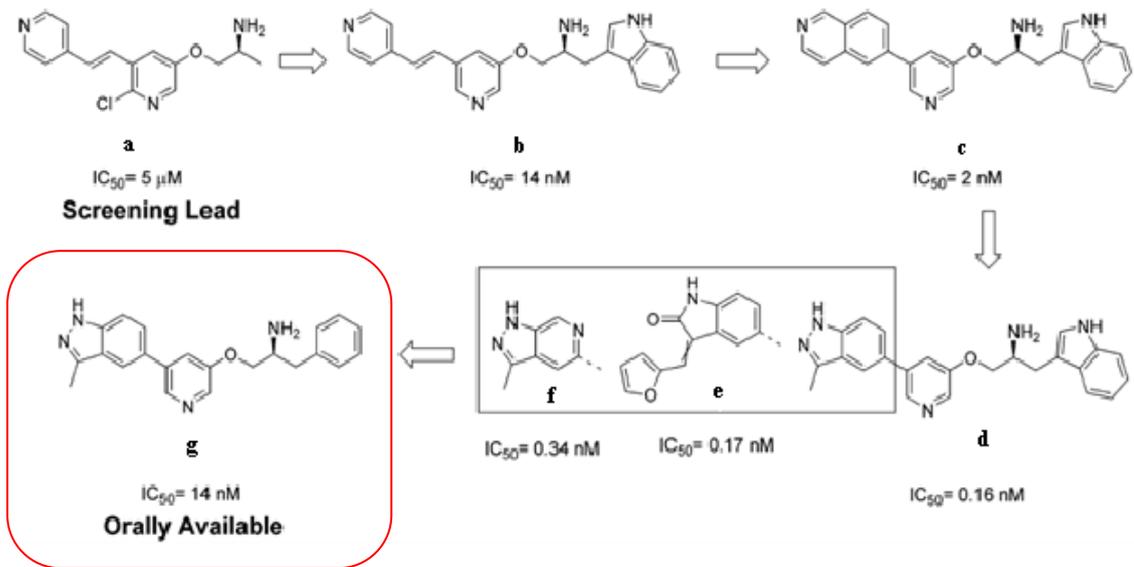
標靶藥物約可分為小分子藥物及蛋白藥物治療，本研究主要著重於小分子藥物的合成。癌症與信號傳導路徑的關係密切，當正常細胞喪失調控機制而導致細胞異常增生時，會形成癌細胞，因此信號傳導路徑上的激酶或蛋白可做為重要標靶。當小分子藥物和目標激酶或蛋白的活化部位以氫鍵、凡德瓦爾力、疏水性作用力或離子鍵...等形式形成鍵結時，會使得目標激酶或蛋白失去效用，進而中斷信號傳導的進行²²。

2010 年的一篇 Akt 文獻回顧指出 Akt、PKA 及 PKC 在 ATP 鍵結口袋裡有高度的相似性，且許多典型的 PKA 及 PKC 抑制劑證實可被當作 Akt 抑制劑²³。

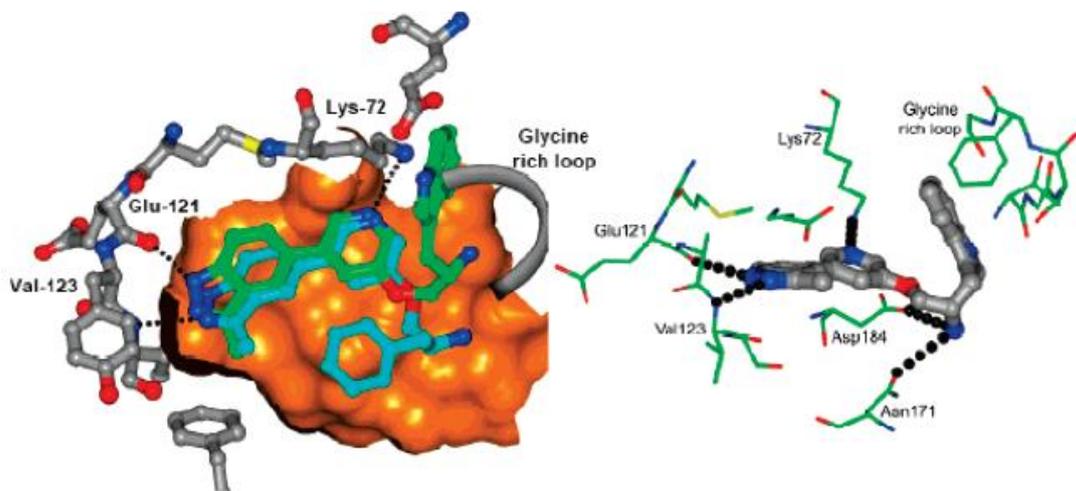
2007年Abbott實驗室在*J. Med. Chem.*發表一篇文獻，文獻中顯現出化合物**g** ($IC_{50}=14$ nM) (圖十) 為一個有效，有選擇性且可口服的Akt抑制劑。在此篇文獻中，作者首先利用高速藥物篩檢 (High Throughput Screening, HTS) 先篩選出化合物**a**這個前導化合物，一旦得知前導化合物的結構，便開始進行構效關係 (Structure-activity relationship, SAR) 的探討 (圖十)²¹。

Abbott 實驗室以化合物 **g** 和 PKA (protein kinase A) docking 的結果如圖十一顯示，分子模擬的結果顯示以吲哚 (indole) 為主架的化合物會鍵結在 PKA 的 glycine-rich loop 下面，使得對 Akt1 的抑制活性增加。結構上有一氫予體 (hydrogen donor) 和麩胺酸鹽殘基 (glutamate 121, Glu 121) 相互作用形成氫鍵；有一氫受體 (hydrogen acceptor) 和離胺酸殘基 (lysine 72, Lys 72) 相互作用形成氫鍵；亦有一氫鍵予體或受體會和天門冬醯胺酸殘基 (Asparagine 171, Asn 171) 及天門冬醯胺酸殘基 (Aspartic acid 184, Asp 184) 形成氫鍵；且有一疏水性基團會鍵結在疏水性口袋 (hydrophobic pocket)²¹。

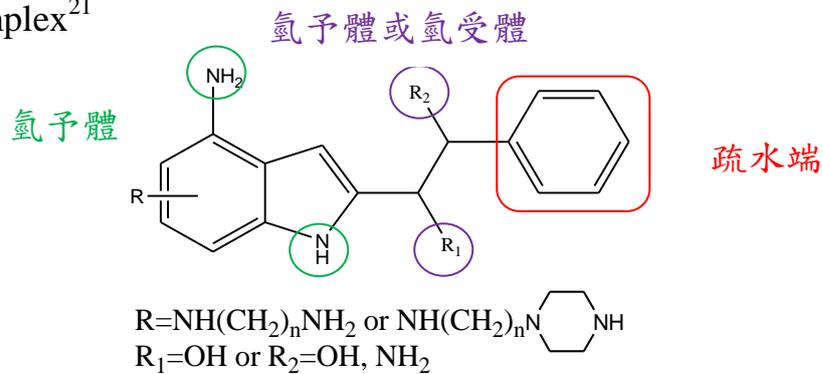
因此以此分子模擬結果為構思，設計第一系列以胺基吲哚 (Aminoindole) 為主架構 (圖十二) 的小分子抑制劑。



圖十、Abbott compound progression of Akt inhibitors²¹

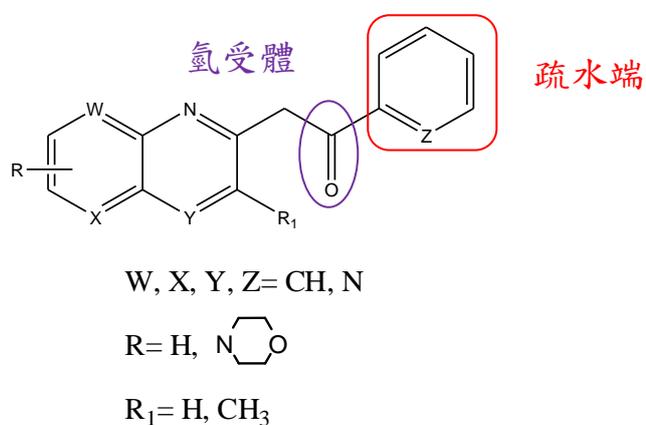


圖十一、X-ray structure of **d** bound to PKA (right) and overlap with **g** in protein complex²¹



圖十二、胺基吡啶系列化合物

1,5-萘啉 (1,5-naphthyridine) 衍生物為重要的雜環化合物，許多天然物的結構中都含有 1,5-萘啉環，也是許多合成藥物之重要中間體，且研究發現 1,5-萘啉衍生物具有抗瘧疾、消炎、抗癌...等生物活性³⁵。且 2010 一篇 Akt 文獻回顧指出 1,4-萘啉及 1,8-萘啉衍生物對 Akt 有不錯的抑制效果，因此第二系列以萘啉 (Naphthyridine) 為主架 (圖十三)，設計合成 Akt 抑制劑²³。



圖十三、萘啉系列化合物

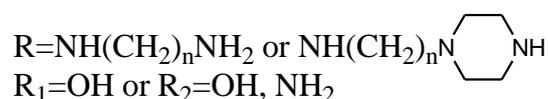
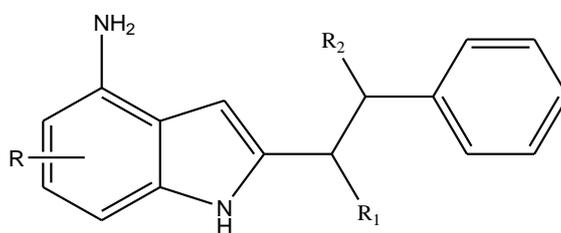
第二章 結果與討論

本論文設計以胺基吲哚為主架及以萘啶為主架兩大系列小分子 Akt 抑制劑。

本章節分為有機合成探討及生物活性兩大部分，有機合成探討分為第一系列及第二系列合成方法及實驗相關問題之討論。生物活性部分為 MTT 細胞毒殺結果及 Western Blotting (西方點墨法) 結果。

2-1 有機合成探討

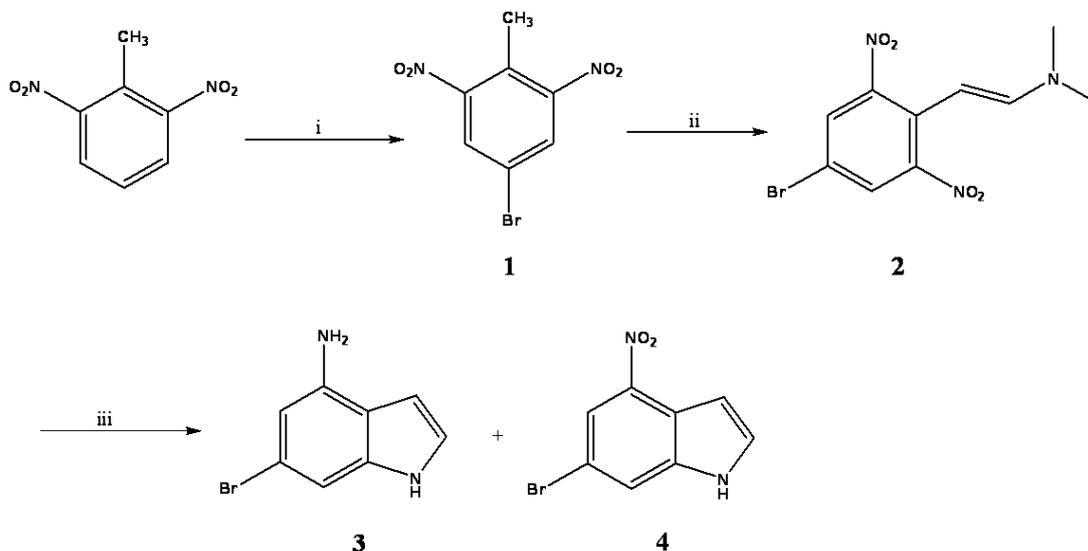
第一系列胺基吲哚化合物



2007 年 Abbott 實驗室在 *J. Med. Chem.* 發表一篇文獻，文獻中分子模擬的結果顯示以吲哚為主架的化合物會鍵結在 PKA 的 glycine-rich loop 下面，使得對 Akt1 的抑制活性增加²¹。以此分子模擬結果為構思，設計第一系列化合物。

首先合成以吲哚環為主體的 6-bromo-4-aminoindole (化合物 **3**) 及 6-bromo-4-nitroindole (化合物 **4**)，其合成方法如實驗流程一所示^{24, 25}，此反應的產率很低，且主要產物以化合物 **4** 為主。

實驗流程一：化合物 3 及化合物 4 之合成途徑



反應條件：

(i) NBS, H_2SO_4 , 80°C ; (ii) $(\text{Me})_2\text{NCH}(\text{OMe})_2$, DMF ; (iii) TiCl_3 .

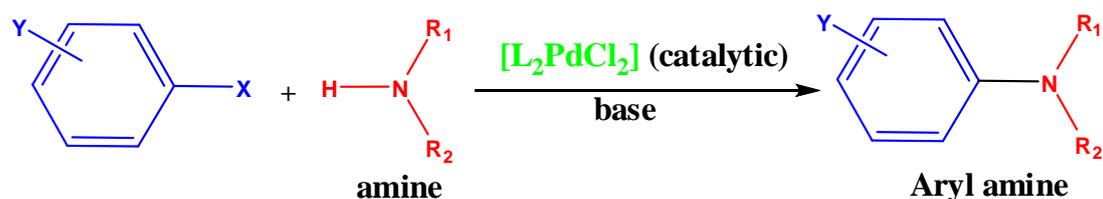
此反應首先取 2,6-dinitrotoluene 以濃硫酸 (H_2SO_4) 溶解，之後慢慢加入 *N*-bromosuccinimide (NBS) 進行自由基溴化反應，最後使用乙酸乙酯(ethyl ethanoate, EtOAc) 以及正己烷 (n-hexane) 做再結晶得到橘黃色的 4-Bromo-2,6-dinitrotoluene (化合物 1)²⁴。將化合物 1 與 *N,N*-Dimethylformamide dimethylacetal，在無水裝置下，用 *N,N*-二甲基甲醯胺 (*N,N*-dimethylformamide, DMF) 溶解，加熱迴流，最後利用二氯甲烷(dichloromethane, DCM) 以及正己烷做再結晶得到黑色片狀的 2-(4-bromo-2,6-dinitrophenyl)-*N,N*-dimethylethenamine (化合物 2)²⁵。起先在合成化合物 2 時，發現化合物 2 容易變質，初步懷疑是因為照光的關係而使得產物變質，因此之後以避光的方式下此反應，但是薄層色層分離 (thin layer chromatography, TLC) 點片的結果一樣，後來發現，當化合物 2 溶於有機溶劑太久且在沒有避光的情況下，會

造成其變質；此反應無法以管柱層析的方式純化，起先以管柱層析的方式純化，發現化合物 **2** 會在管柱裡面變質，猜測是因為化合物 **2** 和矽膠反應而造成其變質，因此之後此反應皆以再結晶的方式純化。接著取化合物 **2** 直接用 Titanium(III) chloride (TiCl_3) 溶解，在室溫下進行反應，期望得到 6-bromo-4-aminoindole (化合物 **3**)。起先在合成此反應時，是以 10% 鹽酸 (HCl) 當做溶劑，之後再加入 TiCl_3 反應，後來發現所購買的 TiCl_3 內含 12% 的鹽酸，接著以 TiCl_3 溶解直接反應，但是發現溶解度不好，後來嘗試先以甲醇溶解化合物 **2**，再加入 TiCl_3 反應，發現其反應性差，且有副產物產生，因此接下來此反應皆以 TiCl_3 直接溶解反應。一開始做此反應，在 TLC 片上顯示 $R_f = 0.4$ 及 $R_f = 0.3$ (20% EtOAc/Hexane) 的位置上有產物形成，但是 $R_f = 0.4$ 的量極少，而 $R_f = 0.3$ 的量較多，因此以管柱層析的方式純化出 $R_f = 0.3$ ，得到黃色的產物，期望它為化合物 **3**，送測 $^1\text{H NMR}$ 後，發現氫數不對，猜測其為 6-bromo-4-nitroindole (化合物 **4**)。實驗過程中發現加入 TiCl_3 後，會產生化合物 **3** 及化合物 **4**，而隨著反應時間的增長，化合物 **3** 的產量會增多，但是副產物亦會增多。最後利用管柱層析 (25% EtOAc/Hexane) 的方式取得白色的化合物 **3** 及黃色的化合物 **4**²⁵。

接著以化合物 **4** 與胺基進行反應，此反應使用布赫瓦爾德-哈特維格交叉耦合反應 (Buchwald-Hartwig cross-coupling) 期望合成化合物 **5-8** (表一)，其合成路徑如實驗流程三所示^{26, 27, 28, 29, 30, 31}。

布赫瓦爾德-哈特維格交叉耦合是利用鈀 (palladium, Pd) 催化芳基鹵化物 (aryl halides) 或三氟甲磺酸 (trifluoromethanesulfonates) 和胺 (amines) 之間的 C-N 鍵和 C-O 鍵³²。

布赫瓦爾德-哈特維格交叉耦合反應：

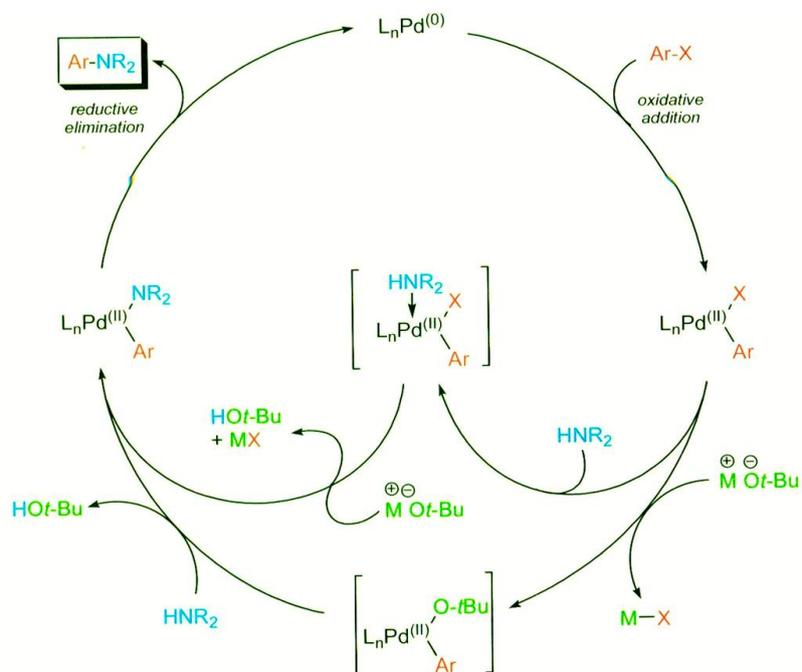


X = Cl、Br、I、OTf；Y = *o*、*m* or *p*-alkyl、phenacyl、amino、alkoxy；

R₁₋₂ = 1° or 2° aromatic or aliphatic；L = P(*o*-Tol)₃、BINAP、dppf、dba；

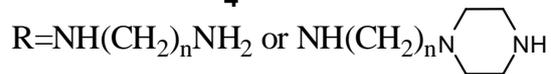
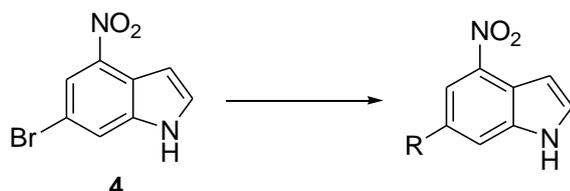
base: NaOt-Bu、LHMDS、K₂CO₃、Cs₂CO₃

此催化反應的第一步是利用 Pd⁽⁰⁾ 和芳基鹵化物進行氧化加成反應形成 Pd^(II)-芳基鹵化物，第二步利用強鹼攻擊 Pd^(II)-芳基鹵化物上的鹵素形成中間體，之後胺攻擊取代鹵的位置，最後進行還原消去反應。反應機制如圖十四所示³²：



圖十四、布赫瓦爾德-哈特維格交叉耦合反應機制³²

實驗流程三：推測化合物 **4** 上 amines 之合成途徑：



反應條件：

Amine, 1 mol % Pd_2dba_3 , 4 mol % ligand, 2.2 equiv. LiHMDS, THF, 65 °C.

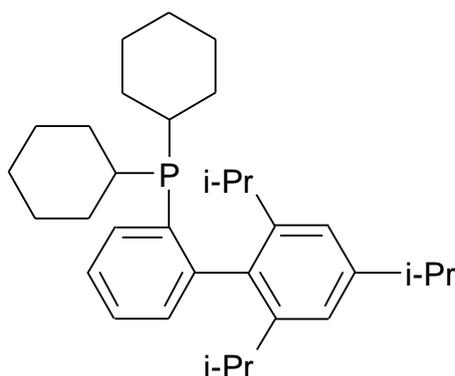
表一、期望得到化合物 **5-8**

Amine 結構	產物結構	化合物
		5
		6
		7
		8

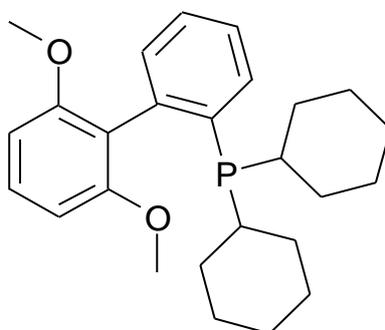
此反應是取化合物 **4** 溶於除水的 THF 與 1.2 當量 Ethylenediamine anhydrous 反應，再加入 1 mol% Pd₂dba₃、4 mol% ligand (2-Dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl) (圖十五) 及 2.2 當量的 LiHMDS (Lithium bis(trimethylsilyl)amide)，溫度控制在 65°C 下反應，期望得到化合物 **5**；但是 ¹H NMR 送測結果顯示不是原本所預想的化合物 **5**。後來拿化合物 **4** 溶於除水的 THF 與 *N*-(2-Aminoethyl) piperazine 反應，再加入 Pd₂dba₃、ligand 及 LiHMDS 反應，期望得到化合物 **6** 及化合物 **7**，但是這次使用的 *N*-(2-Aminoethyl) piperazine 包含一級胺和二級胺，導致產物多，分散產物的產量，送測 ¹H NMR 的圖譜因為量太少而導致苯環區無法判圖，而長鏈區因為可能還有反應物的 amine 存在，導致圖譜的 peak 很雜而無法判圖。因此接下來的反應都先以二級胺的為主。但是不論拿一級胺或是二級胺去下反應，都無法得到我們預想的化合物，因此後來改變反應的條件，期許能得到產物。首先先改變下反應加入起始物及反應物的順序，一開始的作法是將化合物 **4**、Pd₂dba₃ 及 ligand 加入圓底瓶中，再用除水的 THF 加以溶解，溫度控制在 65°C，再加入 LiHMDS 及 amine 反應。後來改為取一樣品瓶加入 LiHMDS 和 amine 反應，之後再另取一反應瓶加入化合物 **4**、Pd₂dba₃ 及 ligand 以除水的 THF 溶解，溫度控制在 65°C，再將樣品瓶中反應物打入反應瓶中反應，但結果依舊沒有得到預期的產物。後來嘗試改變溶劑，將溶劑由 THF 換成甲苯 (Toluene)，溫度控制在 90°C 反應，但是結果依舊。最後改變催化劑、base，及 ligand。首先先將催化劑由 Pd₂dba₃ 換成 Pd(OAc)₂ 反應；將 Base 由 LiHMDS 換成 t-BuOK；最後將 ligand 由

2-Dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl (圖十五) 換成 2-Dicyclohexylphosphino-2',6'-dimethoxybiphenyl (圖十六)^{26, 27, 28, 29, 30, 31}。但是不論怎麼改變條件，發現都無法合成出所預期的產物。後來嘗試使用微波反應，條件設定在 150 W，溫度設定在 180°C 反應，但是結果也是一樣。

初步推測是因為吡啶環四號位置上的硝基，這隻強拉電子基使得強鹼無法攻擊 Pd^(II)-芳基鹵化物上的鹵素形成中間體，因此胺無法攻擊取代鹼的位置，而導致反應無法進行。後來拿 6-bromo-indole 依相同的反應條件與胺進行微波反應，結果發現胺基依舊無法取代溴的位置。

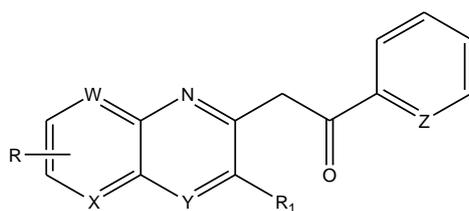


圖十五、2-Dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl



圖十六、2-Dicyclohexylphosphino-2',6'-dimethoxybiphenyl

第二系列 萘啶化合物

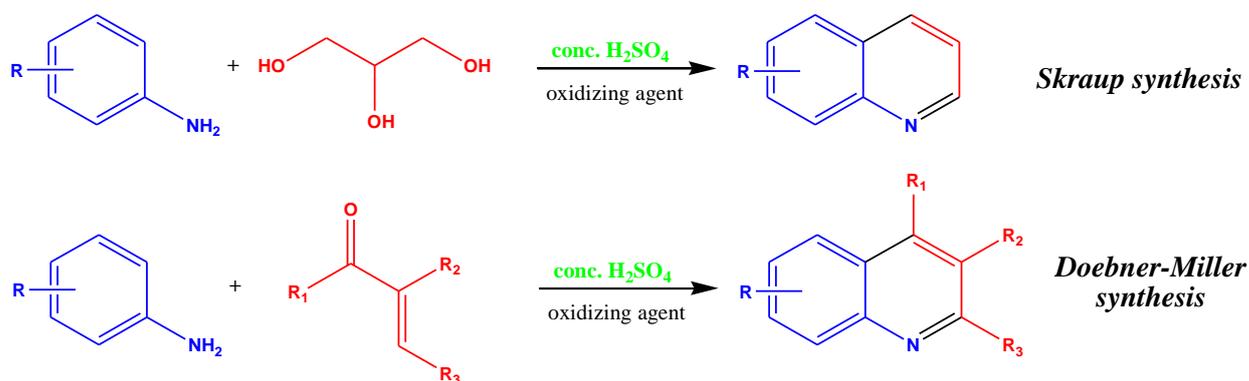


W, X, Y, Z = CH, N

R = H,

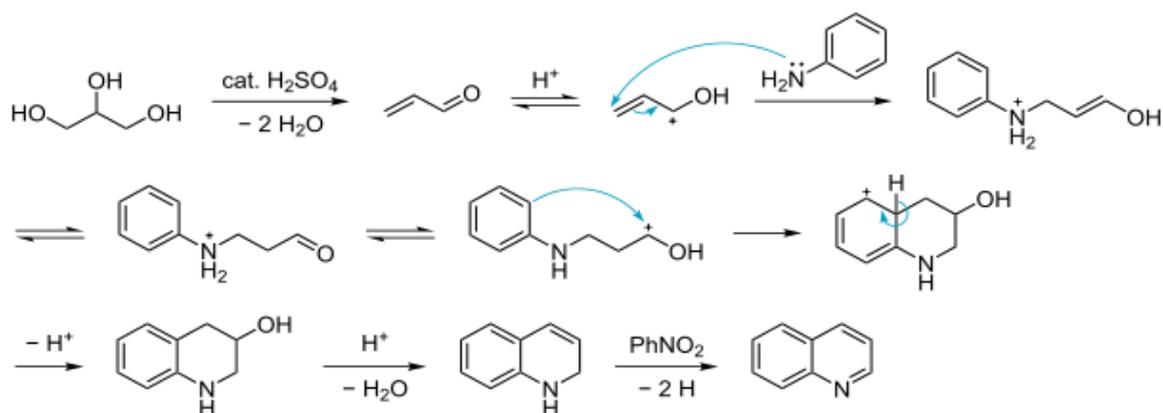
R₁ = H, CH₃

1,5-萘啶 (1,5-naphthyridine) 衍生物由 3-氨基吡啶 (3-aminopyridine) 衍生物使用斯克勞普和道柏諾-米勒喹啉合成 (Skraup and Doebner-Miller quinoline synthesis) 反應來合成³³。斯克勞普和道柏諾-米勒喹啉合成反應如圖十七所示³⁴：



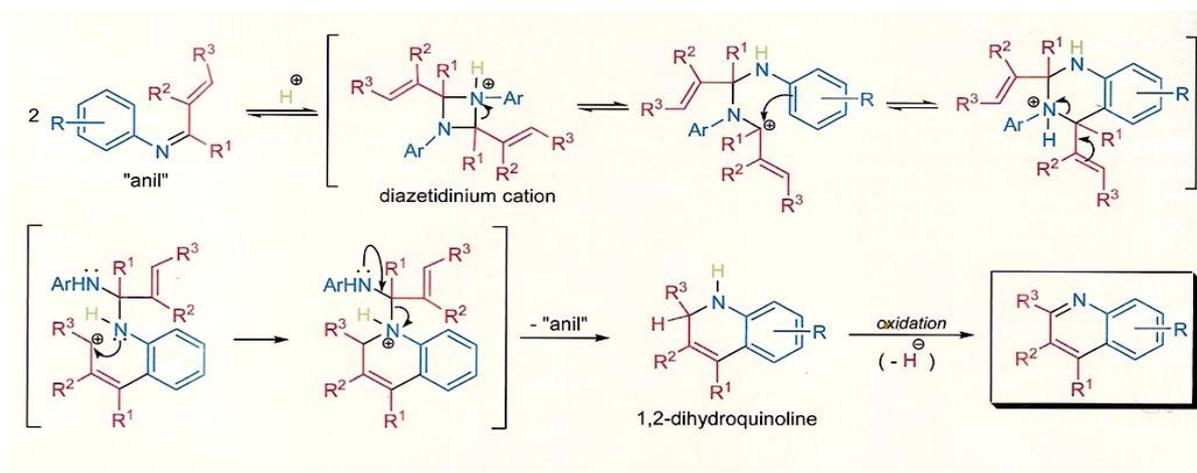
圖十七、斯克勞普和道柏諾-米勒喹啉合成³⁴

斯克勞普反應第一步先將丙三醇 (glycerol) 利用濃硫酸催化脫水形成丙烯醛 (acrolein)，之後丙烯醛在酸性的條件下和 3-氨基吡啶進行 1,4 加成反應 (1,4-addition)，最後利用氧化劑氧化形成喹啉 (quinoline)³⁴。1930 年 Cohn 的文章報導指出除了斯克勞普試劑外，加入硫酸亞鐵 (ferrous sulfate) 及硼酸 (boric acid, H₃BO₃) 使得反應較穩定且產率較高³⁶。斯克勞普反應機制如圖十八所示³⁷：



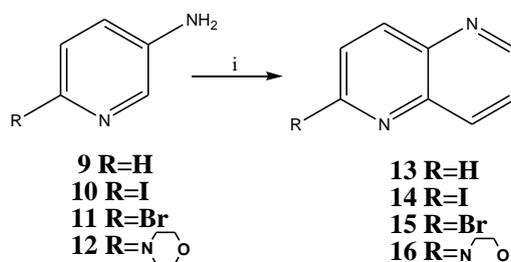
圖十八、斯克勞普反應機制³⁷

道柏諾-米勒反應是苯胺和 α,β -不飽和羰基化合物進行醛醇縮合反應 (aldol condensation) 來合成有取代之喹啉。道柏諾-米勒反應第一步是先將苯胺和羰基進行縮合反應形成 Schiff-base (anil)，第二步由兩個 anil 在酸性條件下形成 diazetidinium cation 這個中間物，第三步進行開環反應形成一碳陽離子，之後再與芳香環進行親電子取代反應，第四步先進行碳陽離子重排，再利用一號氮上的未共用電子對攻擊碳陽離子閉環，最後利用苯胺上胺基的未共用電子對攻擊脫去一 anil 形成 1,2-dihydroquinoline，第五步由 1,2-dihydroquinoline 進行質子的轉移 (氧化反應) 得到喹啉³⁴。道柏諾-米勒反應機制如圖十九所示³⁴。



圖十九、道柏諾-米勒反應機制³⁴

實驗流程一：

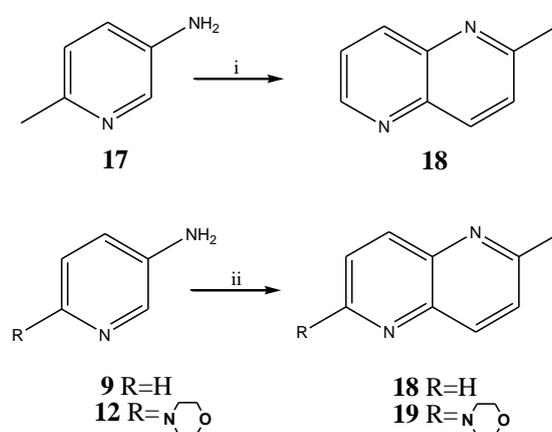


反應條件: (i) Glycerol, H_2SO_4 concentrated, sodium *m*-nitrobenzenesulfonate, H_3BO_3 , $FeSO_4 \cdot 7H_2O$.

1,5-萘啶 (**13**) 由斯克勞普反應合成，先取 3-氨基吡啶 (**9**) 以水溶解，加入丙三醇在樣品瓶中反應，另取一反應瓶，加入催化劑 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 、氧化劑 sodium *m*-nitrobenzenesulfonate 及硼酸以濃硫酸溶解，之後將樣品瓶中反應物打入此反應瓶反應，待反應完成，以 4M 氫氧化鈉 (sodium hydroxide, NaOH) 鹼化，pH 值調至 14，再以乙酸乙酯及水做萃取，最後以管柱層析純化出化合物 **13**。一開始做此反應，收反應時是先將 pH 值調至中性，在萃取時有機層會呈現凝膠狀，且不好分層，推測是因為含有丙三醇的關係所導致，萃取後會有許多副產物產生，推測是因為將 pH 值調至中性，而導致鹽類的產

生。後來發現在收反應時，將 pH 值調至 14，不但可以改善萃取時不好分層的問題，亦可阻止副產物的產生。亦用此條件合成出化合物 **14**、化合物 **15** 及化合物 **16**。在合成化合物 **14** 時，發現 TLC 片上有許多點，推測是因為起始物 5-Amino-2-iodopyridine 為一光敏感化合物，可能因為在反應過程中照到光，而使得其產物變雜，後來在避光的條件下，利用管柱層析的方式純化出化合物 **14**。而在合成化合物 **16** 時，點片時發現起始物在 TLC 片上顯現兩個點，原以為可能是起始物變質而導致，後來將起始物送測 $^1\text{H NMR}$ ，送測結果顯示起始物沒有變質，推測應該是起始物會和 TLC 片上的矽膠反應，而使得起始物在 TLC 片上顯現兩個點。由以上實驗結果發現，斯克勞普反應無法合成出有取代的口奈啶^{33, 35, 36,37, 38,39}。

實驗流程二:

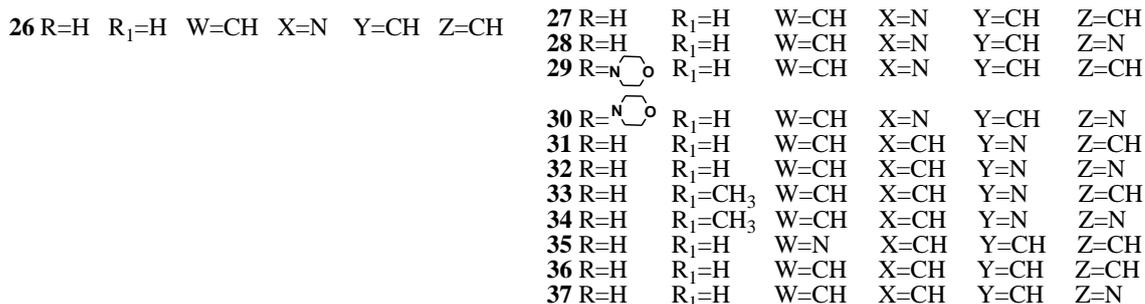
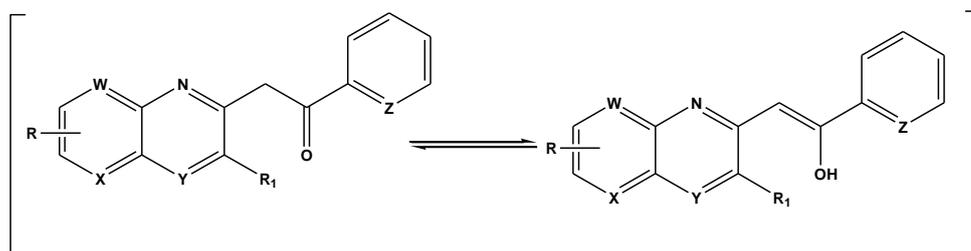
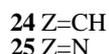
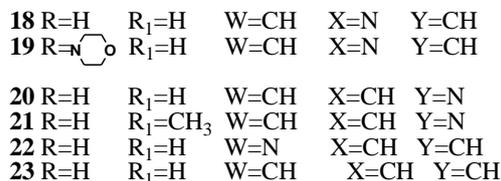
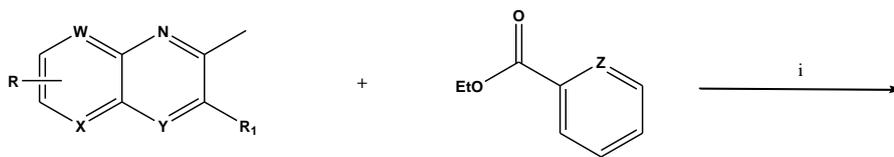


反應條件: (i) Glycerol, H_2SO_4 concentrated, sodium *m*-nitrobenzenesulfonate, H_3BO_3 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. (ii) Acetaldehyde, HCl concentrated, 0°C .

2-methyl-1,5-naphthyridine (**18**) 可使用反應條件一或反應條件二

來合成。反應條件一使用斯克勞普反應合成，取 3-amino-6-picoline (**17**) 以水溶解，加入丙三醇在樣品瓶中反應，另取一反應瓶，加入催化劑 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、氧化劑 sodium *m*-nitrobenzenesulfonate 及硼酸以濃硫酸溶解，之後將樣品瓶中反應物打入此反應瓶，溫度控制在 80~100 °C 反應，待反應完成，以 4M NaOH 鹼化，pH 值調至 14，再以乙酸乙酯及水做萃取，最後以管柱層析純化出化合物 **18**。反應條件二是使用道柏諾-米勒反應合成，取 3-aminopyridine (**9**) 以濃鹽酸溶解，在 0°C 下慢慢滴入乙醛 (acetaldehyde) 反應一小時後，加熱至迴流反應，待反應完成，以 4M NaOH 鹼化，pH 值調至 14，再以乙酸乙酯及水做萃取，最後以管柱層析純化出化合物 **18**。反應條件二的反應性較反應條件一的差，但是若要合成出在 1,5-吡啶環 2 號位置上有甲基取代的化合物 **19**，只能使用反應條件二來合成³³。

實驗流程三:



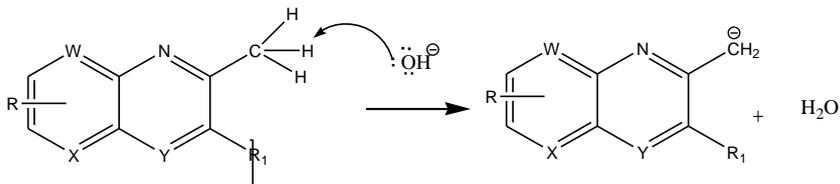
反應條件: (i) LiHMDS, THF, -78°C. (ii) NH₄Cl (aq.)

取化合物 **19** 和 ethyl benzoate (**24**) 以除水的 THF 溶解，利用冷凝器將溫度降至-78°C，慢慢滴入 LiHMDS 反應一小時，靜置室溫反應，待反應完成，加入 NH₄Cl 終止反應，以乙酸乙酯及水做萃取，最後以管柱層析純化，期許得到化合物 **26**。透過 ¹H NMR 的送測結果顯示，在 δ6.190 的位置有 singlet 的氫，因此判定這個結構可能是 enol form (**27**)，而不是原本假定的 keto form (**26**)。

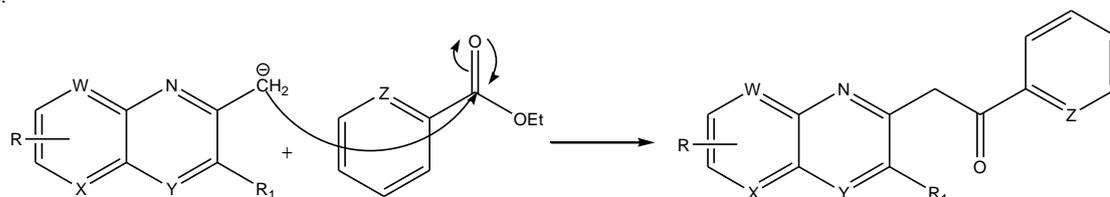
此反應是利用強鹼攻擊甲基上的氫，形成 CH₂ 陰離子，再以此陰離子攻擊 ethyl benzoate (**24**) 或 ethyl-2-pocilate (**25**) 羰基的位置形

成產物。反應機制如圖二十所示:

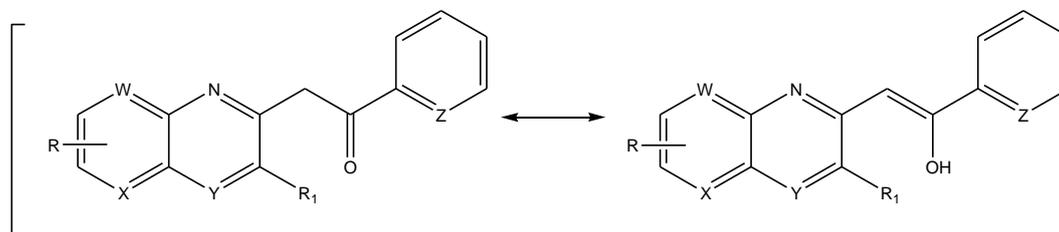
1.



2.



3.



圖二十、吡啶反應機制

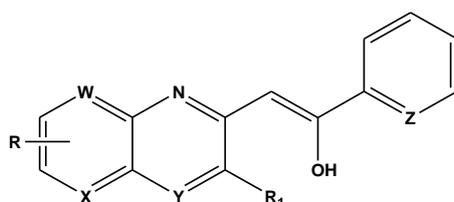
化合物 **27-37** 皆用此方法合成，且透過 $^1\text{H NMR}$ 的送測結果，在圖譜 $\delta 6-7$ 的位置皆有 singlet 的氫，因此判定此系列結構皆為 enol form。

在合成化合物 **28** 及化合物 **30** 的過程中，發現化合物 **27** 及化合物 **30** 對於溫度相當敏感，反應溫度要降至 -80°C ，反應才有可能進行。而化合物 **31** 及化合物 **32** 在加入 NH_4Cl 終止反應後，會有橘紅色固體析出，但是此固體仍須透過再結晶或是管柱層析的方式純化，並以化合物 **31** 及化合物 **32** 送測 $^{13}\text{C NMR}$ 的結果，更加確定此系列化合物 **27-37** 結構皆為 enol form。

。

2-2 生物活性

本論文合成茶啖系列化合物，並以這些化合物對 CL1-0 肺癌細胞進行細胞毒殺實驗及西方點墨法結果。細胞毒殺實驗結果如表二所示：

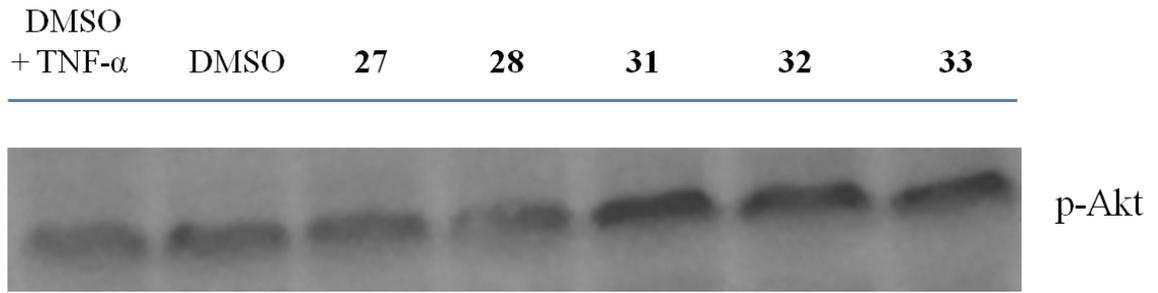


Compound	R	R ₁	W	X	Y	Z	細胞存活率
27	H	H	CH	N	CH	CH	>100 %
28	H	H	CH	N	CH	N	>100 %
29		H	CH	N	CH	CH	>100 %
31	H	H	CH	CH	N	CH	>100 %
32	H	H	CH	CH	N	N	>100 %
33	H	CH ₃	CH	CH	N	CH	>100 %
34	H	CH ₃	CH	CH	N	N	>100 %

表二、CL1-0 細胞毒殺

以茶啖為主架構合成出化合物 **27**、**28**、**29**、**31**、**32**、**33**、**34**，並以這些化合物對 CL1-0 肺癌細胞進行細胞毒殺實驗，實驗結果顯示其細胞存活率皆大於 100 %。

接著以化合物 **27**、**28**、**31**、**32**、**33** 進行西方點墨法實驗（圖二十一），以 DMSO 當作對照組，並以 TNF- α 誘導 Akt 活化，實驗結果顯示譜帶的顯色加深，代表 Akt 濃度未減少，因此這些衍生物對 Akt 皆無抑制效果。



圖二十一、西方點墨法

第三章 實驗部分

3-1 儀器設備及試藥來源

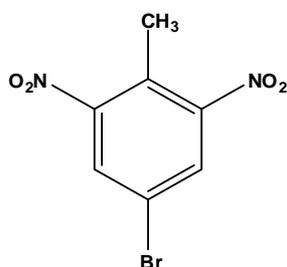
1. 有機合成所使用的一般試藥購自 Aldrich、Alfa Aesar、Acros、日本東京化成工業株式會社 TCI 及 Merck 藥廠。反應、萃取及沖提用的溶劑如正己烷、乙酸乙酯、二氯甲烷均為試藥級，購自景明化工股份有限公司。
2. 薄層色層分離 (thin layer chromatography) 使用德國默克藥廠 Silica gel 60 F₂₅₄ 型薄層色層分離片。利用紫外光燈 (UV light) 直接觀察。
3. 管柱層析分離 (column chromatography) 使用加拿大 SILICYCLE Silica gel 60-200 μm (70-230 mesh) 型矽膠。
4. 減壓濃縮使用 BÜCHI R114 迴旋蒸發儀和 EYELA A-1000S 循環水流抽氣機，室溫下真空度約為 25 mmHg。
5. 氫核磁共振光譜(¹H NMR)使用 Varian Unity 300 (300 MHz solars system)，碳核磁共振光譜(¹³C NMR)使用 Bruker 500 (500 MHz solars system)。測試樣品用氘氯仿 (CDCl₃)、丙酮 (Acetone-d₆) 為溶劑，以四甲基矽烷 (tetramethylsilane) 為內部基準 (internal standard)。化學位移以 ppm 為單位，*J* 代表偶合常數 (coupling constant)，單位為 Hz。分裂形式 (splitting pattern) 定義如下：s 表單峰 (singlet)；d 表雙重峰 (doublet)；t 表三重峰 (triplet)；m 表多重峰 (multiplet)。

6. 高解析質譜儀 (HRMS) 使用 Finnigan/Thermo Quest MAT 95XL 質譜儀。
7. 元素分析 (EA) 使用 Elementar vario EL III CHN-OS Rapid 元素分析儀。

3-2 化學合成

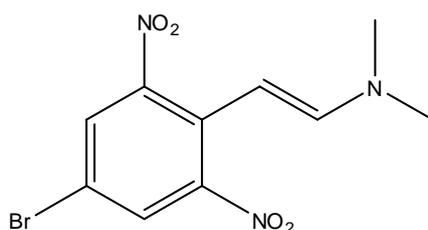
系列一

4-Bromo-2,6-dinitrotoluene (1)



取 2,6-dinitrotoluene (118.7 mg, 0.7 mmol) 置入雙口圓底瓶中，用 H_2SO_4 溶解，加熱至 80°C ，之後慢慢加入 NBS (173.0 mg, 1.0 mmol)，溫度控制在 $80\sim 90^\circ\text{C}$ 反應，等待反應完成後，在冰浴下，加水終止反應，加水後有固體析出。利用抽氣過濾取得固體，使用乙酸乙酯溶解此固體，再用無水硫酸鎂乾燥濃縮，最後利用乙酸乙酯以及正己烷做再結晶得到橘黃色固體。產率 94%， $R_f = 0.75$ (20% EtOAc/hexane). mp $86\sim 88^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.13 (2H, s), 2.53 (3H, s).

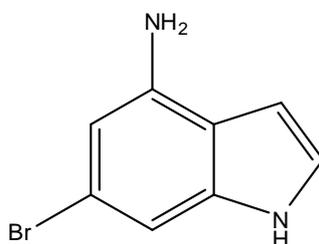
2-(4-bromo-2,6-dinitrophenyl)-*N,N*-dimethylethenamine (2)



取化合物 1 (501.7 mg, 1.9 mmol)，*N,N*-Dimethylformamide dimethylacetal (502.8mg, 4.2 mmol) 置入雙口圓底瓶中，在無水裝置下，用 DMF 溶解，加熱迴流 2 小時。待反應完成，先加入 NaHCO_3 終止反應，再用乙酸乙酯萃取有機層，以無水硫酸鎂乾燥濃縮，最後利用二氯甲烷以及正己烷做再結晶得到黑色片狀固體。產率 54%， $R_f = 0.5$

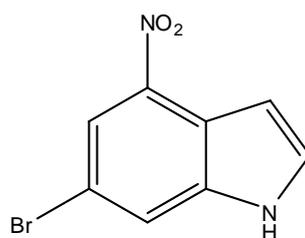
(20% EtOAc/hexane). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7.85 (2H, s), 6.48 (1H, d, $J=13.5$ Hz), 5.31 (1H, d, $J=13.8$ Hz), 2.87 (6H, s).

6-bromo-4-aminoindole (3)



取化合物 **2** (51.4 mg, 0.1 mmol) 置入圓底瓶中，用 TiCl_3 溶解，在室溫下反應，待反應結束後，加入 NaHCO_3 終止反應，再用乙酸乙酯萃取有機層，以無水硫酸鎂乾燥濃縮，濃縮後利用管柱層析分離得到白色片狀固體。 $R_f=0.5$ (20% EtOAc/hexane). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.10 (1H, s), 7.08 (1H, d, $J=3.3$ Hz), 7.01 (1H, d, $J=1.2$ Hz), 6.54 (1H, d, $J=1.2$ Hz), 6.43 (1H, m), 3.98 (2H, s).

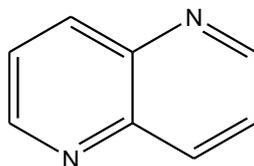
6-bromo-4-nitroindole (4)



取化合物 **2** (84.1 mg, 0.3 mmol) 置入圓底瓶中，用 TiCl_3 溶解，在室溫下反應，待反應結束後，加入 NaHCO_3 終止反應，再用乙酸乙酯萃取有機層，以無水硫酸鎂乾燥濃縮，濃縮後利用管柱層析分離得到黃色固體。產率 44%， $R_f=0.475$ (50% hexane/DCM). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.57 (1H, s), 8.28 (1H, d, $J=1.2$ Hz), 7.87 (1H, d, $J=1.5$ Hz), 7.48 (1H, d, $J=2.7$ Hz), 7.30 (1H, m).

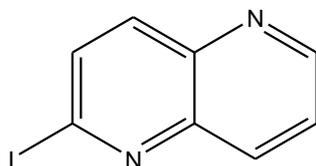
系列二

1,5-naphthyridine (13)



取 3-aminopyridine (121.1 mg, 1.3 mmol) 以水 (1.4 mL) 溶解，加入丙三醇 (0.8 mL) 在樣品瓶中反應，另取一反應瓶，加入催化劑 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (51.5 mg, 0.2 mmol)、氧化劑 sodium *m*-nitrobenzenesulfonate (494.1mg, 2.2 mmol) 及硼酸 (107.8 mg, 1.7 mmol) 以濃硫酸 (1.4 mL) 溶解，在加熱攪拌器上分別攪拌 30 分鐘後，將樣品瓶中反應物打入此反應瓶，溫度控制在 135°C 反應，反應 18 小時後，靜置室溫，在冰浴下，先加入 4 M NaOH 鹼化，pH 值調至 14，再以乙酸乙酯及水做萃取，最後以管柱層析純化出化合物 **13**。產率 18%， $R_f = 0.487$ (100% EtOAc). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 9.00 (2H, dd, $J=4.2, 1.5$ Hz), 8.44 (2H, d, $J=8.4$ Hz), 7.67 (2H, dd, $J=8.7, 3.9$ Hz).

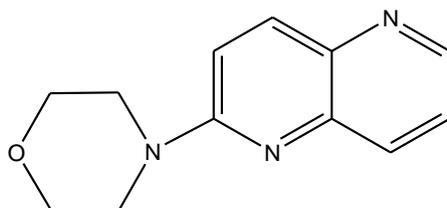
2-iodo-1,5-naphthyridine (14)



取 5-Amino-2-iodopyridine (103.6 mg, 0.5 mmol) 以水 (4.0 mL) 溶解，加入丙三醇 (1.0 mL) 在樣品瓶中反應，另取一反應瓶，加入催化劑 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (28.1 mg, 0.1 mmol)、氧化劑 sodium *m*-nitrobenzenesulfonate (429.3mg, 1.9 mmol) 及硼酸 (62.3 mg, 1.0

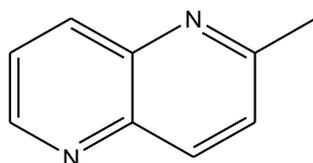
mmol) 以濃硫酸 (4.0 mL) 溶解，實驗步驟同化合物 **13**，溫度控制在 139°C。產率 9.6%， $R_f = 0.432$ (100% Chloroform). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.59 (1H, dd, $J=4.5, 1.5$ Hz), 8.05 (1H, d, $J=9.9$ Hz), 7.70 (1H, d, $J=8.4$ Hz), 7.45 (1H, dd, $J=8.4, 4.5$ Hz), 6.97 (1H, d, $J=9.6$ Hz).

4-(1,5-naphthyridin-2-yl)morpholine (**16**)



取 3-Amino-6-(4-morpholinyl)pyridine (100.5 mg, 0.6 mmol) 以水 (4.0 mL) 溶解，加入丙三醇 (1.0 mL) 在樣品瓶中反應，另取一反應瓶，加入催化劑 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (40.1 mg, 0.1 mmol)、氧化劑 sodium *m*-nitrobenzenesulfonate (261.9 mg, 1.2 mmol) 及硼酸 (88.4 mg, 1.4 mmol) 以濃硫酸 (4.0 mL) 溶解，實驗步驟同化合物 **13**，溫度控制在 137°C。產率 74%， $R_f = 0.525$ (100% Chloroform). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.64 (1H, dd, $J=4.8, 1.5$ Hz), 8.13 (1H, d, $J=9.3$ Hz), 7.99 (1H, d, $J=8.4$ Hz), 7.46 (1H, dd, $J=8.7, 4.2$ Hz), 7.18 (1H, d, $J=9.3$ Hz), 3.87 (4H, t, $J=6.3$ Hz), 3.75 (4H, t, $J=5.7$ Hz).

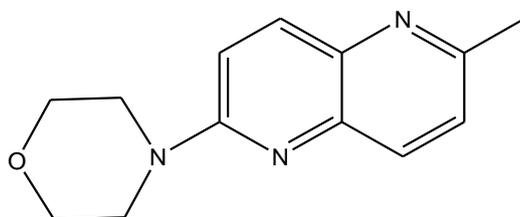
2-methyl-1,5-naphthyridine (**18**)



取 5-Amino-2-methylpyridine (105.0 mg, 1.0 mmol) 以水 (3.0 mL) 溶解，加入丙三醇 (0.8 mL) 在樣品瓶中反應，另取一反應瓶，加入

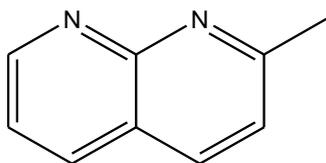
催化劑 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (75.6 mg, 0.3 mmol) 、氧化劑 sodium *m*-nitrobenzenesulfonate (503.7 mg, 2.2 mmol) 及硼酸 (106.6 mg, 1.7 mmol) 以濃硫酸 (4.0 mL) 溶解，實驗步驟同化合物 **13**，溫度控制在 139°C 。產率 76.7%， $R_f = 0.395$ (100% Chloroform). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.92 (1H, dd, $J=4.2, 1.5$ Hz), 8.35 (1H, d, $J=8.7$ Hz), 8.31 (1H, d, $J=9.3$ Hz), 7.62 (1H, dd, $J=8.4, 4.2$ Hz), 7.54 (1H, d, $J=8.7$ Hz), 2.98 (3H, s).

4-(6-methyl-1,5-naphthyridin-2-yl)morpholine (**19**)



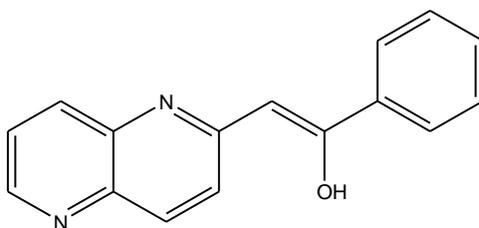
取 3-Amino-6-(4-morpholinyl)pyridine (93.0 mg, 0.5 mmol) 在 0°C 下，以濃鹽酸 (2.0 mL) 溶解，再慢慢滴入 acetaldehyde (10.2 mL)，反應 2 小時後，加熱迴流一小時，待反應完成，靜置室溫，在冰浴下，先加入 4 M NaOH 鹼化，pH 值調至 14，再以乙酸乙酯及水做萃取，最後以管柱層析純化出化合物 **19**。產率 43.7%， $R_f = 0.543$ (100% EtOAc). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 Hz) δ 8.06 (1H, dd, $J=9.3, 0.6$ Hz), 7.89 (1H, d, $J=8.7$ Hz), 7.35 (1H, d, $J=8.7$ Hz), 7.15 (1H, d, $J=9.3$ Hz), 3.86 (4H, t, $J=4.8$ Hz), 3.71 (4H, t, $J=5.7$ Hz), 2.69 (3H, s).

2-methyl-1,8-naphthyridine (22)



取 2-Amino-6-methylpyridine (107.0 mg, 1.0 mmol) 以水 (2.0 mL) 溶解，加入丙三醇 (0.8 mL) 在樣品瓶中反應，另取一反應瓶，加入催化劑 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (50.0 mg, 0.2 mmol)、氧化劑 sodium *m*-nitrobenzenesulfonate (343.0 mg, 1.5 mmol) 及硼酸 (130.0 mg, 2.1 mmol) 以濃硫酸 (2.0 mL) 溶解，實驗步驟同化合物 **13**，溫度控制在 95°C 。產率 33.6%， $R_f = 0.294$ (12.5% hexane/EtOAc). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 9.05 (1H, dd, $J=4.2, 2.1$ Hz), 8.12 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 8.05 (1H, d, $J=8.4$ Hz), 7.05 (1H, dd, $J=8.1, 4.5$ Hz), 7.36 (1H, d, $J=8.4$ Hz), 2.82 (3H, s).

2-(1,5-naphthyridin-2-yl)-1-phenylethenol (27)

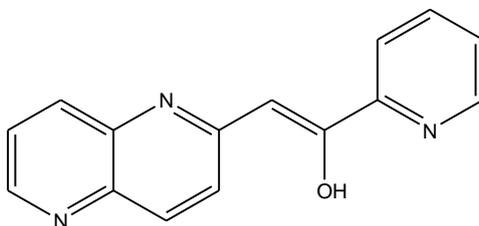


取化合物 **18** (164.3 mg, 1.1 mmol) 和 ethyl benzoate (**24**) (0.2 mL) 以除水的 THF 溶解，利用冷凝器將溫度降至 -78°C ，慢慢滴入 LiHMDS 反應一小時，靜置室溫反應，待反應完成，加入 NH_4Cl 終止反應，以乙酸乙酯及水做萃取，最後以管柱層析純化得到黃色的化合物 **27**。產率 11.7%， $R_f = 0.244$ (80% hexane/ Chloroform). mp $130-131^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.63 (1H, dd, $J=4.5, 1.5$ Hz), 7.94 (3H, m),

7.84 (1H, d, $J=6.3$ Hz), 7.47 (5H, m), 7.16 (1H, d, $J=9.3$ Hz), 6.19 (1H, s).

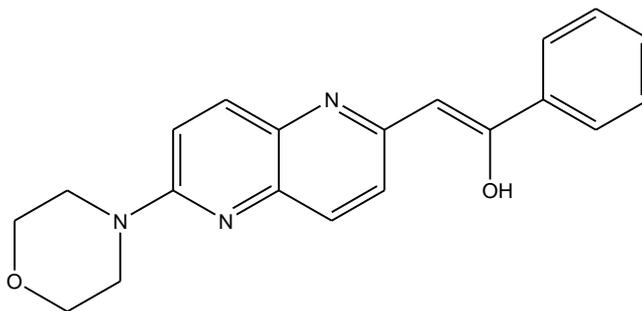
MS (EI) : m/z $[M]^+$: 248.1.

2-(1,5-naphthyridin-2-yl)-1-(pyridin-2-yl)ethanol (**28**)



取化合物 **18** (71.0 mg, 0.5 mmol) 和 ethyl-2-pocilate (**25**) (0.1 mL) 以除水的 THF 溶解，反應步驟同化合物 **27**，以 PLC 純化得到黃色的化合物 **28**。 $R_f=0.081$ (50% EtOAc /hexane). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.68 (2H, m), 8.14 (1H, dd, $J=8.1, 0.9$ Hz), 7.99 (1H, d, $J=9.3$ Hz), 7.87 (2H, m), 7.50 (1H, dd, $J=8.4, 4.5$ Hz), 7.38 (1H, dd, $J=7.5, 1.2$ Hz), 7.28 (2H, d, $J=5.4$ Hz), 6.93 (1H, s). MS (EI) : m/z $[M]^+$: 249.1.

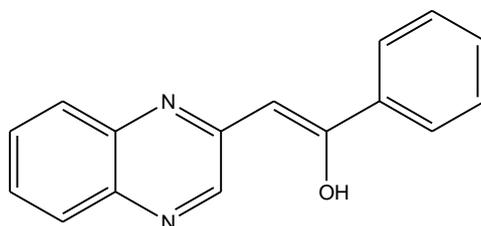
2-(7-morpholino-1,5-naphthyridin-3-yl)-1-phenylethenol (**29**)



取化合物 **19** (24.0 mg, 0.1 mmol) 和 ethyl benzoate (**24**) (0.02mL) 以除水的 THF 溶解，反應步驟同化合物 **27**，以管柱層析純化得到黃色的化合物 **29**。 $R_f=0.263$ (50% EtOAc /hexane). mp 155-156°C. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8.09 (1H, d, $J=8.7$ Hz), 7.93 (3H, m), 7.45

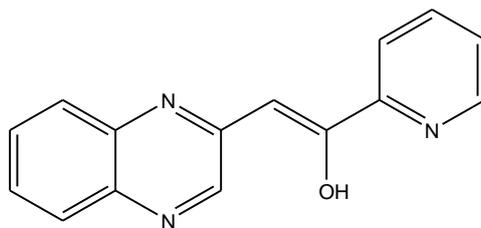
(5H, m), 6.45 (1H, s), 3.76 (8H, m). MS (EI) : m/z [M]⁺ : 333.2.

1-phenyl-2-(quinoxalin-2-yl)ethanol (**31**)



取 2-Methylquinoxaline (**20**) (0.2 mL) 和 ethyl benzoate (**24**) (0.1 mL) 以除水的 THF 溶解，反應步驟同化合物 **27**，加入 NH₄Cl 終止反應後，會有橘紅色固體析出，最後以管柱層析純化得到橘黃色的化合物 **31**。產率 10.4%， $R_f = 0.552$ (20% EtOAc /hexane). mp 158-159°C. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.47 (1H, s), 7.96 (2H, d, $J=4.8$ Hz), 7.85 (1H, d, $J=4.8$ Hz), 7.48 (6H, m), 6.28 (1H, s). ¹³C NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 182.20, 149.80, 147.66, 137.77, 137.35, 132.53, 131.12, 131.02, 129.20, 128.51, 126.58, 125.70, 119.65, 91.16. MS (EI) : m/z [M]⁺ : 248.1.

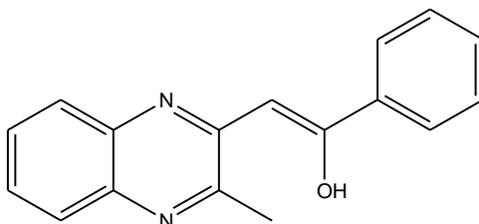
1-(pyridin-2-yl)-2-(quinoxalin-2-yl)ethanol (**32**)



取 2-Methylquinoxaline (**20**) (0.2 mL) 和 ethyl-2-pocilate (**25**) (0.1 mL) 以除水的 THF 溶解，反應步驟同化合物 **27**，加入 NH₄Cl 終止反應後，會有橘紅色固體析出，最後以管柱層析純化得到橘黃色的化合物 **32**。產率 21.5%， $R_f = 0.353$ (20% EtOAc /hexane). mp 174-175°C. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.69 (1H, d, $J=4.2$ Hz), 8.58 (1H, s), 8.12 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 7.87 (2H, m), 7.50 (4H, m), 7.39 (1H, s). ¹³C

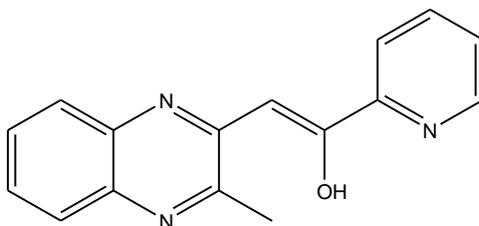
NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 179.23, 154.09, 149.91, 148.97, 148.25, 137.80, 137.05, 132.92, 131.05, 129.33, 126.17, 125.34, 121.07, 120.20, 91.76. MS (EI) : m/z [M]⁺ : 249.1.

2-(3-methylquinoxalin-2-yl)-1-phenylethenol (33)



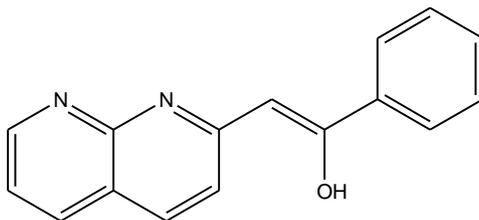
取 2,3-Dimethylquinoxaline (**21**) (112.0 mg, 0.7 mmol) 和 ethyl benzoate (**24**) (0.1 mL) 以除水的 THF 溶解，反應步驟同化合物 **27**，以管柱層析純化得到黃色的化合物 **33**。產率 24.2%， R_f = 0.429 (20% EtOAc /hexane). mp 131-132°C. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.973 (2H, d, J =4.5 Hz), 7.78 (1H, d, J =8.1 Hz), 7.49 (6H, m), 6.31 (1H, s), 2.66 (3H, s). m/z [M]⁺ : 262.1.

2-(3-methylquinoxalin-2-yl)-1-(pyridin-2-yl)ethanol (34)



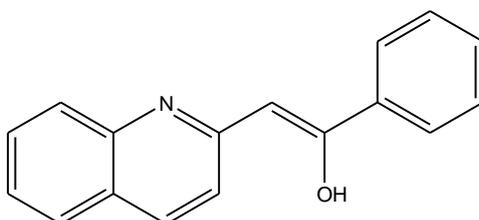
取 2,3-Dimethylquinoxaline (**21**) (110.0 mg, 0.7 mmol) 和 ethyl-2-pocilate (**25**) (0.1 mL) 以除水的 THF 溶解，反應步驟同化合物 **27**，以管柱層析純化得到橘黃色的化合物 **34**。產率 24.6%， R_f = 0.324 (50% EtOAc /hexane). mp 177-178°C. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.69 (1H, d, J =3.0 Hz), 8.15 (1H, d, J =4.2 Hz), 7.86 (2H, m), 7.438 (4H, m), 7.16 (1H, s), 2.74 (3H, s). m/z [M]⁺ : 263.1.

2-(1,8-naphthyridin-7-yl)-1-phenylethenol (**35**)



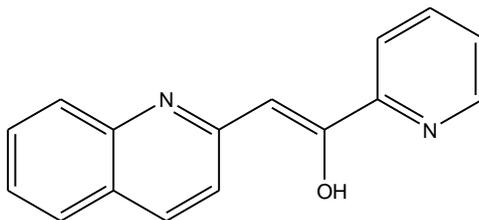
取化合物 **22** (48.0 mg, 0.3 mmol) 和 ethyl benzoate (**24**) (0.08 mL) 以除水的 THF 溶解，反應步驟同化合物 **27**，以管柱層析純化得到黃色的化合物 **35**。R_f = 0.429 (50% EtOAc /hexane). mp 169-170°C. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.53 (1H, d, *J*=4.8 Hz), 7.97 (2H, m), 7.73 (1H, d, *J*=7.5 Hz), 7.46 (4H, m), 7.14 (1H, d, *J*=7.8 Hz), 6.80 (1H, d, *J*=9.3 Hz), 6.09 (1H, s).

1-phenyl-2-(quinolin-2-yl)ethenol (**36**)



取化合物 **23** (0.1 mL) 和 ethyl benzoate (**24**) (0.1 mL) 以除水的 THF 溶解，反應步驟同化合物 **27**，以管柱層析純化得到黃色的化合物 **36**。R_f=0.545 (20% EtOAc /hexane). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7.96 (2H, m), 7.67 (1H, d, *J*=9.3 Hz), 7.457 (7H, m), 6.88 (1H, d, *J*=9.3 Hz), 6.09 (1H, s).

1-(pyridin-2-yl)-2-(quinolin-2-yl)ethenol (**37**)



取化合物 **23** (0.2 mL) 和 ethyl-2-pocilate (**25**) (0.1 mL) 以除水的 THF 溶解，反應步驟同化合物 **27**，以管柱層析純化得到黃色的化合物 **37**。R_f=0.118 (20% EtOAc /hexane). mp 148-149°C. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ8.66 (1H, d, *J*=4.5 Hz), 8.17 (1H, d, *J*=7.8 Hz), 7.82 (1H, dd, *J*=8.1, 1.8 Hz), 7.71 (1H, d, *J*=9.3 Hz), 7.53 (3H, m), 7.32 (2H, m), 6.99 (1H, d, *J*=9.3 Hz), 6.817 (1H, s).

3-3 生物活性

本研究合成第二系列化合物，並測試這些化合物抑制 Akt 活化的效果。生物活性測試部分與國立中興大學林季千老師合作，其材料及方法如下：

細胞株： Lung cancer cell CL1-0

I. MTT 細胞毒殺測試：

Seeding

將 CL1-0 細胞以 4×10^4 cell/well 濃度種於 24 孔洞的培養盤中(培養液為 DMEM)，並置於 37°C 的二氧化碳培養箱中培養 24 小時。

加藥處理

將培養 24 小時的 CL1-0 細胞於培養箱中取出，於每個孔洞中加入 1 μ L/well 藥物，將培養盤置於二氧化碳培養箱中，培養 24 小時，之後將培養液除去，並於每一孔洞分別加入 MTT 200 μ L，再將培養盤置於二氧化碳培養箱中培養 4 小時，有紫色結晶產生，之後吸掉上清液，各自以 600 μ L DMSO 溶解紫色結晶，均勻搖晃後，分別取 100 μ L 置入 96well 中，最後利用 ELISA，波長設定在 540 nm 來測其細胞存活率。

II. Western Blotting (西方點墨法)

Seeding

將 CL1-0 細胞以 5×10^5 cell/well 濃度種於 6 公分 dish，並置於 37°C 的二氧化碳培養箱中培養 24 小時。

加藥處理

將培養 24 小時的 CL1-0 細胞於培養箱中取出，於每個 dish 中加

入 3 μ L/well 藥物前處理 1 個小時，之後於每個 dish 中加入 6 μ L/well 的 TNF- α ，再將 dishes 置於二氧化碳培養箱中，培養 3 小時，爾後將上清液吸至離心管，以 PBS 清洗兩次，加入 1mL Trypsin 之後，置於二氧化碳培養箱培養 5 分鐘，將 dish 中的細胞液轉移至離心管，離心 5 分鐘，將上清液吸乾淨，加入 1 mL PBS，並轉移至 Eppendorf 離心五分鐘，去除上清液。將 Pellet 1X RIPA(contain 10% protease inhibitor) lysis，靜置冰上 20 至 30 分鐘，離心 20 分鐘 (1200 rpm)，接著取上清液 (蛋白)，進行蛋白定量。將蛋白、4*dye 及水依比例混合，跑膠體電泳 (8 % SDS Page、80V)，接著 Transfer (100 Ma，1 小時 30 分鐘)，之後以 5% milk in TBST Blocking，Blocking 1 小時後加入一抗 (p-Akt 1:1000)，24 小時後每 10 分鐘清洗一次，總共清洗三次，之後加入二抗 (rabbit, 1:3000)，24 小時後每 10 分鐘清洗一次，總共清洗三次，最後呈色。

第四章 結論

第一系列合成胺基吲哚衍生物，左半邊上胺基是使用布赫瓦爾德-哈特維格交叉耦合反應來合成，發現改變條件或是使用微波反應，皆無法合成出所預期的產物。初步推測是因為吲哚環四號位置上的硝基，這隻強拉電子基使得強鹼攻擊 Pd^(II)-芳基鹵化物上的鹵素形成中間體，因此胺無法攻擊取代鹼的位置，而導致此反應無法進行。並以 6-bromo-indole 作應證，依相同的反應條件與胺進行微波反應，結果發現胺基依舊無法取代溴的位置。

第二系列萘啶衍生物採用斯克勞普和道柏諾-米勒喹啉合成反應來合成，透過 ¹H NMR 氫譜圖的解讀，發現合成出來的結構不是原本預想的 keto form，而是以 enol form 的形式存在。

以萘啶為主架構合成出化合物 **27**、**28**、**29**、**31**、**32**、**33**、**34**，並以這些化合物對 CL1-0 肺癌細胞進行細胞毒殺實驗，實驗結果顯示其細胞存活率皆大於 100 %。

並以化合物 **27**、**28**、**31**、**32**、**33** 進行西方點墨法實驗，實驗結果顯示對 Akt 皆無抑制效果。

第五章 未來展望

本實驗以胺基吡啶衍生物以及萘啶衍生物對 Akt 進行構效關係的探討，第一系列胺基吡啶衍生物左半邊上胺基的實驗皆無法成功，期許未來可以找到一個雜環主架構能取代胺基吡啶，與右半邊疏水端結合，合成 Akt 抑制劑。

第二系列萘啶衍生物 **27-33** 對 Akt 進行構效關係的探討，結果皆對 Akt 無抑制效果，未來可以在羰基結構上接上不同的取代基，期許能成為潛在 Akt 抑制劑。

參考文獻

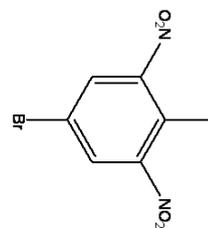
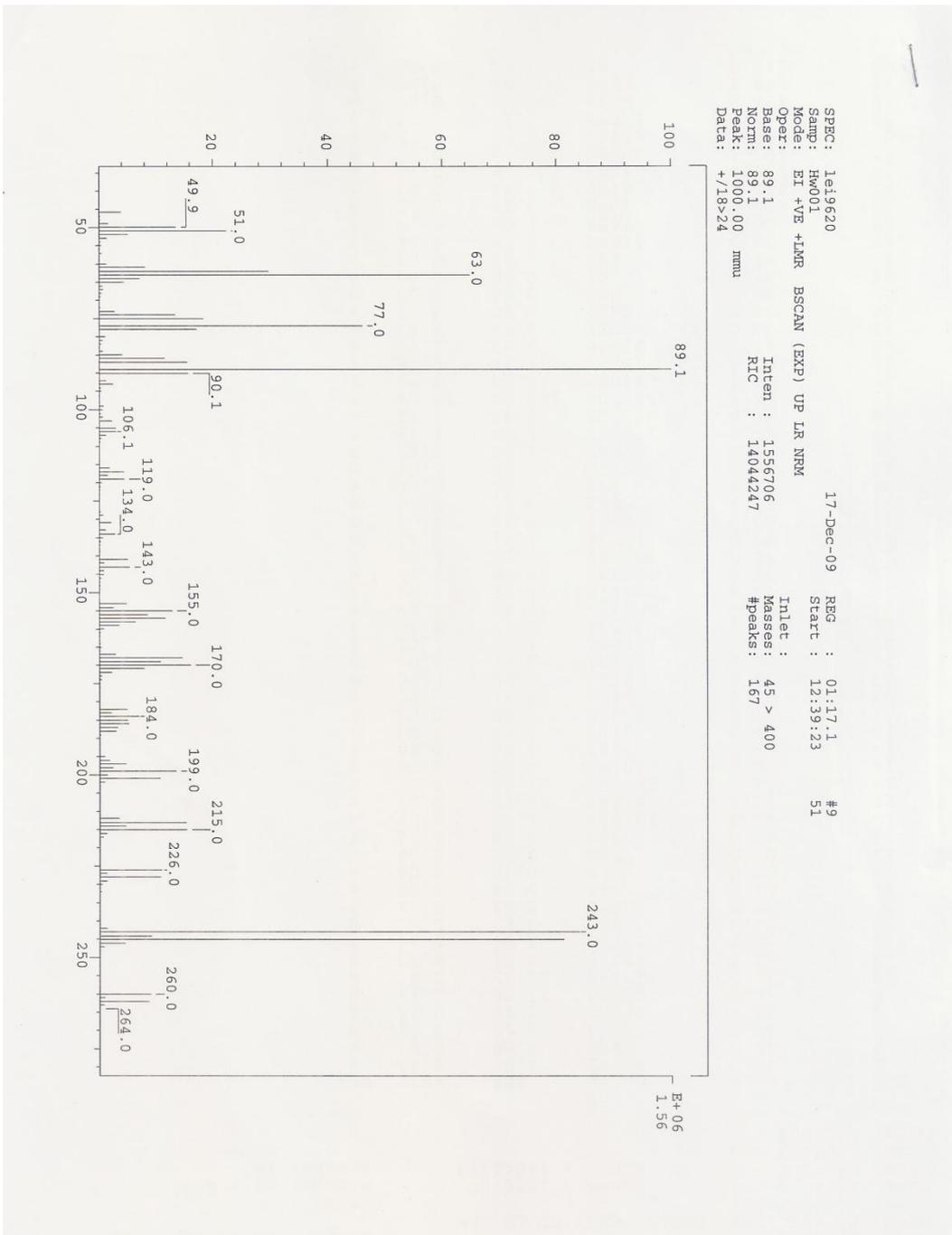
1. http://www.cancernews.com.tw/about_list.php?InfoID=35&parentno=18
2. Patrick G. L.(2005) *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 3/e, Oxford University press, Oxford, p.497.
3. Patrick G. L.(2005) *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 3/e, Oxford University press, Oxford, p.498.
4. Marks F. ; Klingmüller U. ; Muller-Decker K.(2008) *Cellular Signal Processing - An Introduction to the Molecular Mechanisms of Signal Transduction*, USA, Garland Science, p. 5.
5. *Cell signaling technology (2003) PI3K / Akt Signaling*.
6. Patrick G. L.(2005) *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 3/e, Oxford University press, Oxford, p.491.
7. Patrick G. L.(2005) *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 3/e, Oxford University press, Oxford, p.492.
8. McKee T. ; McKee J. R.(2002) *Biochemistry-The Molecular Basis of Life Third Edition*, New York, McGraw-Hill Higher Education, p. 549.
9. McKee T. ; McKee J. R.(2002) *Biochemistry-The Molecular Basis of Life Third Edition*, New York, McGraw-Hill Higher Education, p. 652.
10. Patrick G. L.(2005) *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 3/e, Oxford University press, Oxford, p.490.

11. Gewies, A. (2003) ApoReview-Introduction to Apoptosis.
12. Patrick G. L. (2005) An Introduction to Medicinal Chemistry, 3/e, Oxford University press, Oxford, p.494.
13. Li, Q. ; Li, T. ; Zhu, G. D. ; Gong, J. ; Claibone, A. ; Dalton, C. ; Luo, Y. ; Johnson, E. F. ; Shi, Y. ; Liu, X. ; Klinghofer, V. ; Bauch, J. L. ; Marsh, K. C. ; Bouska, J. J. ; Arries, S. ; Jong, R.D. ; Oltersdorf, T. ; Stoll, V. S. ; Jakob, G. G. ; Rosenberg, S. H. and Giranda, V. L. Discovery of trans-3,4'-bispyridinylethylenes as potent and novel inhibitors of protein kinase B (PKB/Akt) for the treatment of cancer: Synthesis and biological evaluation. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 16, 1679-1685.
14. Alessi, D. R. ; Andjelkovic, M. ; Caudwell, B. ; Cron, P. ; Morrice, N. ; Cohen, P. and Hemmings, B. A. Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and igf-1. *The EMBO J.* **1996**, 15, 6541-6551.
15. Kumar, C. C. and Madison, V. Akt crystal structure and Akt-specific inhibitors. *Oncogene* **2005**, 24, 7493-7501.
16. Fayard, E.; Tintignac, L.; Baudry, A.; Hemmings, B. Protein kinase B/Akt at a glance. *J. Cell Sci.* **2005**, 118, 5675-5678.
17. Dey, A.; Tergaonkar, V.; Lane, D.P. Double-edged swords as cancer therapeutics: simultaneously targeting p53 and NF-κB pathways. *Nature Reviews Drug Discovery*, **2007**, 7, 1031-1040.
18. Yu, J.; Zhang, L. The transcriptional targets of p53 in apoptosis control. *Biochem Biophys Res Commun* **2005**, 331, 851-858.

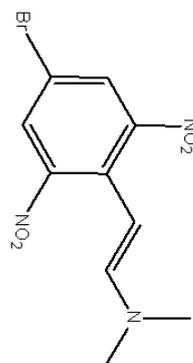
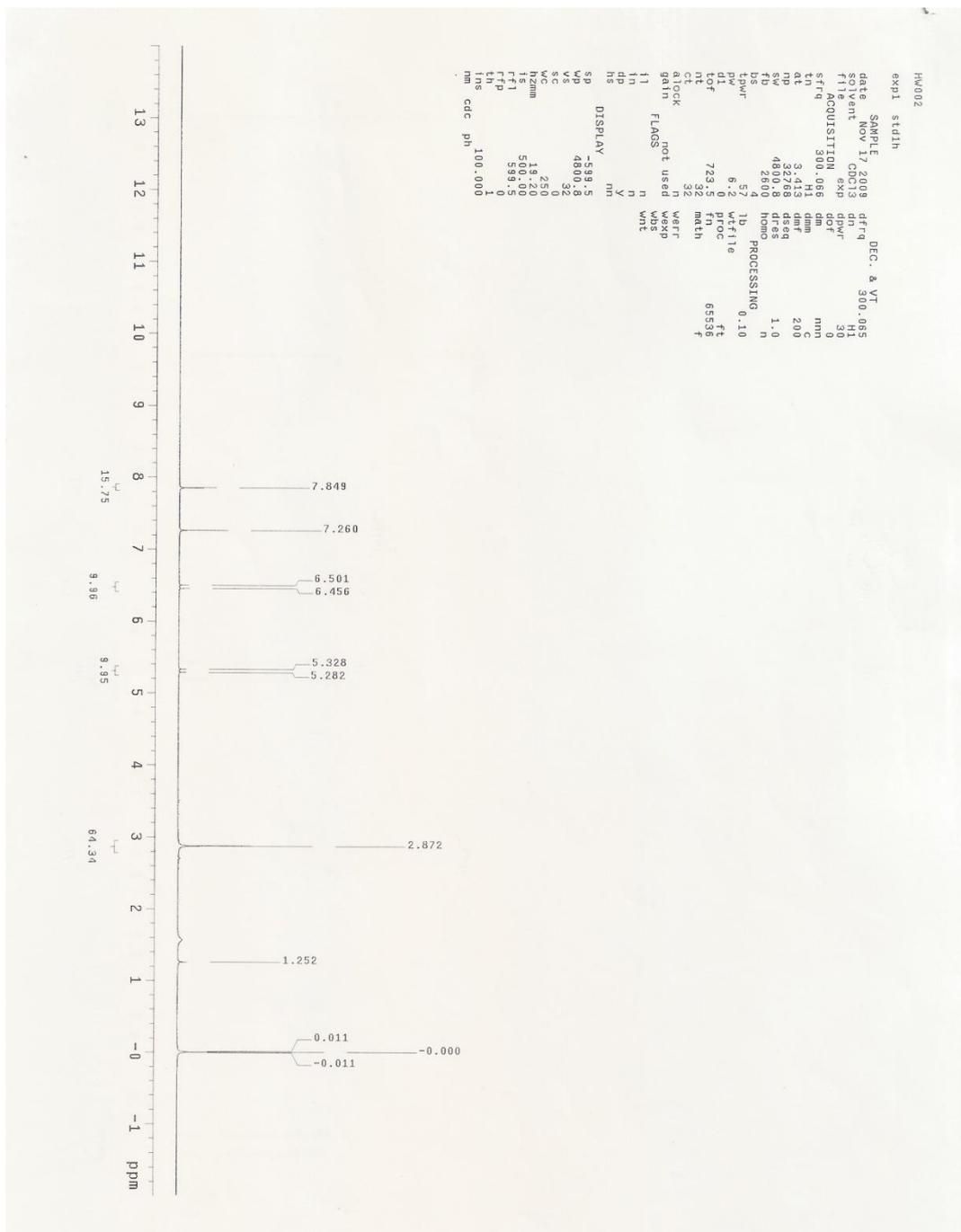
19. Villunger, A. ; Michalak, E. M. ; Coultas, L. ; Mullauer, F. ; Bock, G. ; Ausserlechner, M. J. ; Adams, J. M. ; Strasser A. p53- and Drug-Induced Apoptotic Responses Mediated by BH3-Only Proteins Puma and Noxa. *Science* **2003**, 302, 1036-1038.
20. PI3K / Akt Signaling *Nature reviews drug discovery* **2008**, 7, 1001-1012.
21. Zhu, G. D. ; Gandhi, V.B. ; Gong, J. ; Thomas, S. ; Woods, K. W. ; Song, X. ; Li, T. ; Diebold, R. B. ; Luo, Y. ; Liu, X. ; Guan, R. ; Klinghofer, V. ; Johnson, E. F. ; Bouska, J. ; Olson, A. ; Marsh, K. C. ; Stoll, V. S. ; Mamo, M. ; Polakowski, J. ; Campbell, T. J. ; Martin, R. L. ; Gintant, G. A. ; Penning, T. D. ; Li, Q. ; Rosenberg, S. H. and Giranda, V. L. Syntheses of Potent, Selective, and Orally Bioavailable Indazole-Pyridine Series of Protein Kinase B/Akt Inhibitors with Reduced Hypotension. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 2990-3003.
22. 李宜蓉, 合成轉錄因子NF-Kb小分子抑制劑並探討其構性關係. 東海大學碩士論文, **2011**.
23. Lindsley, C. W. The Akt / PKB Family of Protein Kinases: A Review of Small Molecule Inhibitors and Progress Towards Target Validation: A 2009 Update. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2010**, 10, 458-477.
24. Miroshnikova, O. V. ; Hudson, T. H. ; Gerena, L. ; Kyle, D. E. and Lin, A. J. Synthesis and Antimalarial Activity of New Isotebuquine Analogues. *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 889–896.

25. Ferlin, M. G. ; Chiarello, G. ; Gasparotto, V. ; Via, L. D. ; Pezzi, V. ; Barzon, L. ; Palù, G. and Castagliuolo, I. Synthesis and in Vitro and in Vivo Antitumor Activity of 2-Phenylpyrroloquinolin-4-ones. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 3417–3427.
26. Charles, M. D. ; Schultz, P. and Buchwald, S.L. Efficient Pd-Catalyzed Amination of Heteroaryl Halides. *Org. Lett.* **2005**, 7, 3965-3968.
27. Fors, B. P. ; Davis, N. R. and Buchwald, S.L. An Efficient Process for Pd-Catalyzed C-N Cross-Coupling Reactions of Aryl Iodides: Insight Into Controlling Factors. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 5766–5768.
28. Guo, D. ; Huang, H. ; Xu, J. ; Jiang, H. and Liu, H. Efficient Iron-Catalyzed N-Arylation of Aryl Halides with Amines. *Org. Lett.*, **2008**, 10, 4513–4516.
29. Wan, Y. ; Alterman, M. and Hallberg, A. Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Bromides Using Temperature-Controlled Microwave Heating. *SPECIAL TOPIC* **2002**, 11, 1597-1600.
30. Takahashi, T. ; Sakuraba, A. ; Hirohashi, T. ; Shibata, T. ; Hirose, M. ; Haga, Y. ; Nonoshita, K. ; Kanno, T. ; Ito, J. ; Iwaasa, H. ; Kanatani, A. ; Fukami, T. and Sato, N. Novel potent neuropeptide Y Y5 receptor antagonists: Synthesis and structure–activity relationships of phenylpiperazine derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 7501–7511.
31. Yasunari Monguchi, Y. ; Kitamoto, K. ; Ikawa, T. ; Maegawa, T. and

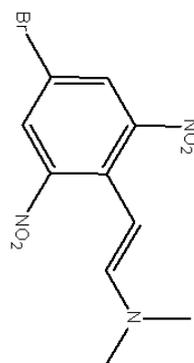
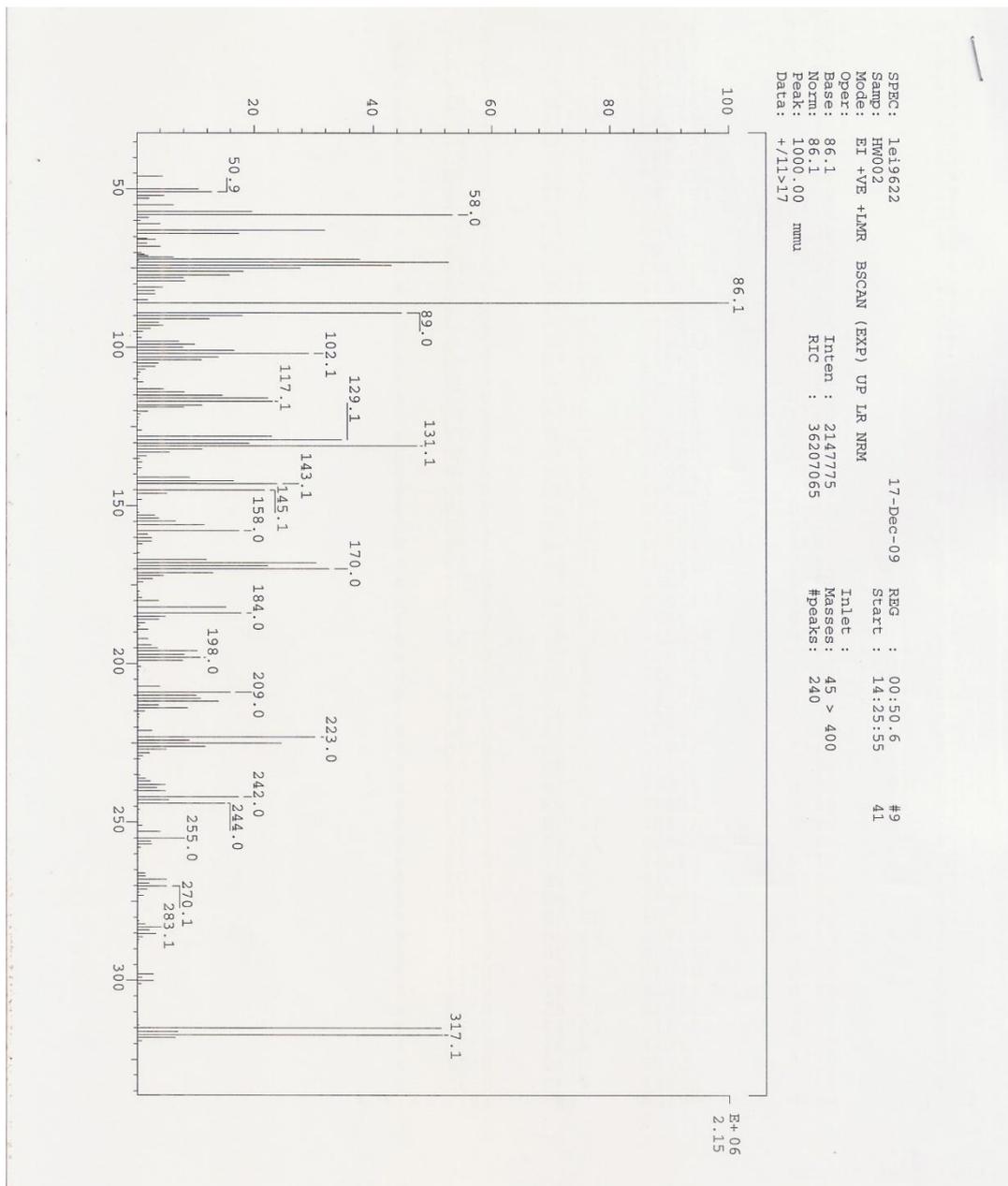
- Sajiki, H. Evaluation of Aromatic Amination Catalyzed by Palladium on Carbon: A Practical Synthesis of Triarylamines. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, 350, 2767-2777.
32. Kurti, L. and Czako, B. (2005) Strategic Applications Of Named Reactions In Organic Synthesis: Background And Detailed Mechanics: 250 Named Reactions, USA, Academic Press, p. 70.
33. Gellibert, F. ; Woolven, J. ; Fouchet, M. H. ; Mathews, N. ; Goodland, H. ; Lovegrove, V. ; Laroze, A. ; Nguyen, V. L. ; Sautet, S. ; Wang, R. ; Janson, C. ; Smith, W. ; Krysa, G. ; Boullay, V. ; Gouville, A. C. ; Huet, S. and Hartley, D. Identification of 1,5-Naphthyridine Derivatives as a Novel Series of Potent and Selective TGF- β Type I Receptor Inhibitors. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 4494–4506.
34. Kurti, L. and Czako, B. (2005) Strategic Applications Of Named Reactions In Organic Synthesis: Background And Detailed Mechanics: 250 Named Reactions, USA, Academic Press, p. 414.
35. *Patents* 一種多取代1,5-萘啶化合物的製備方法 **2009**
36. Manske, R. H. THE CHEMISTRY OF QUINOLINES. **1941**
37. wiki-Skraup quinoline synthesis mechanism
38. *Patents*-WO 02/062794 A2. **2002**
39. Li, X. ; Schenkel, L.B. and Kozlowski, M. C. Synthesis and Resolution of a Novel Chiral Diamine Ligand and Application to Asymmetric Lithiation–Substitution. *Org. Lett.*, **2000**, 2, 875–878.



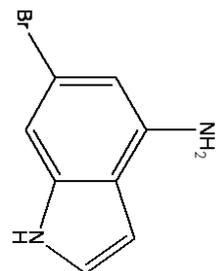
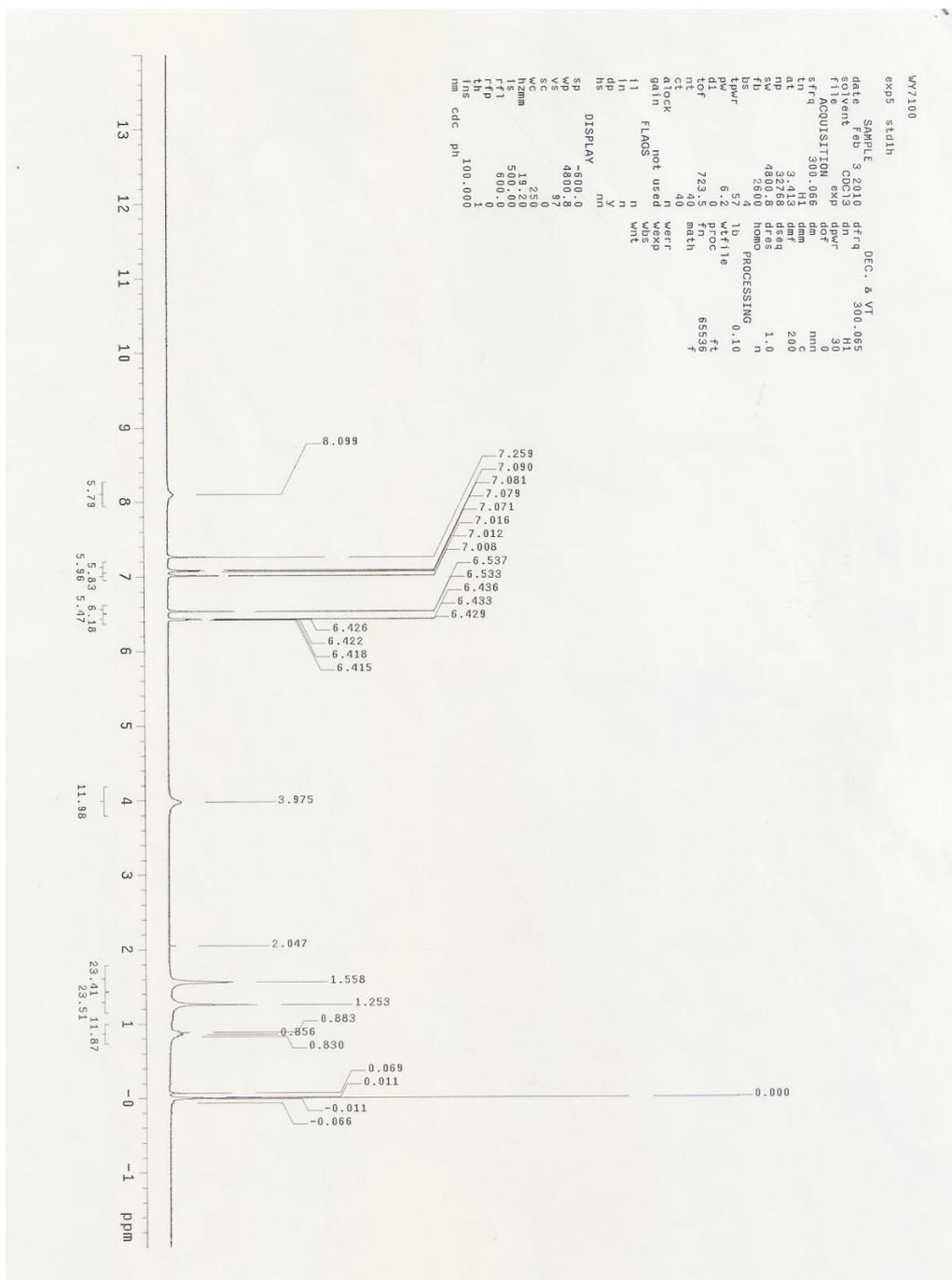
圖表 2: 化合物 1 的質譜圖



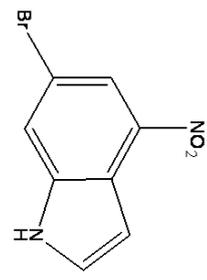
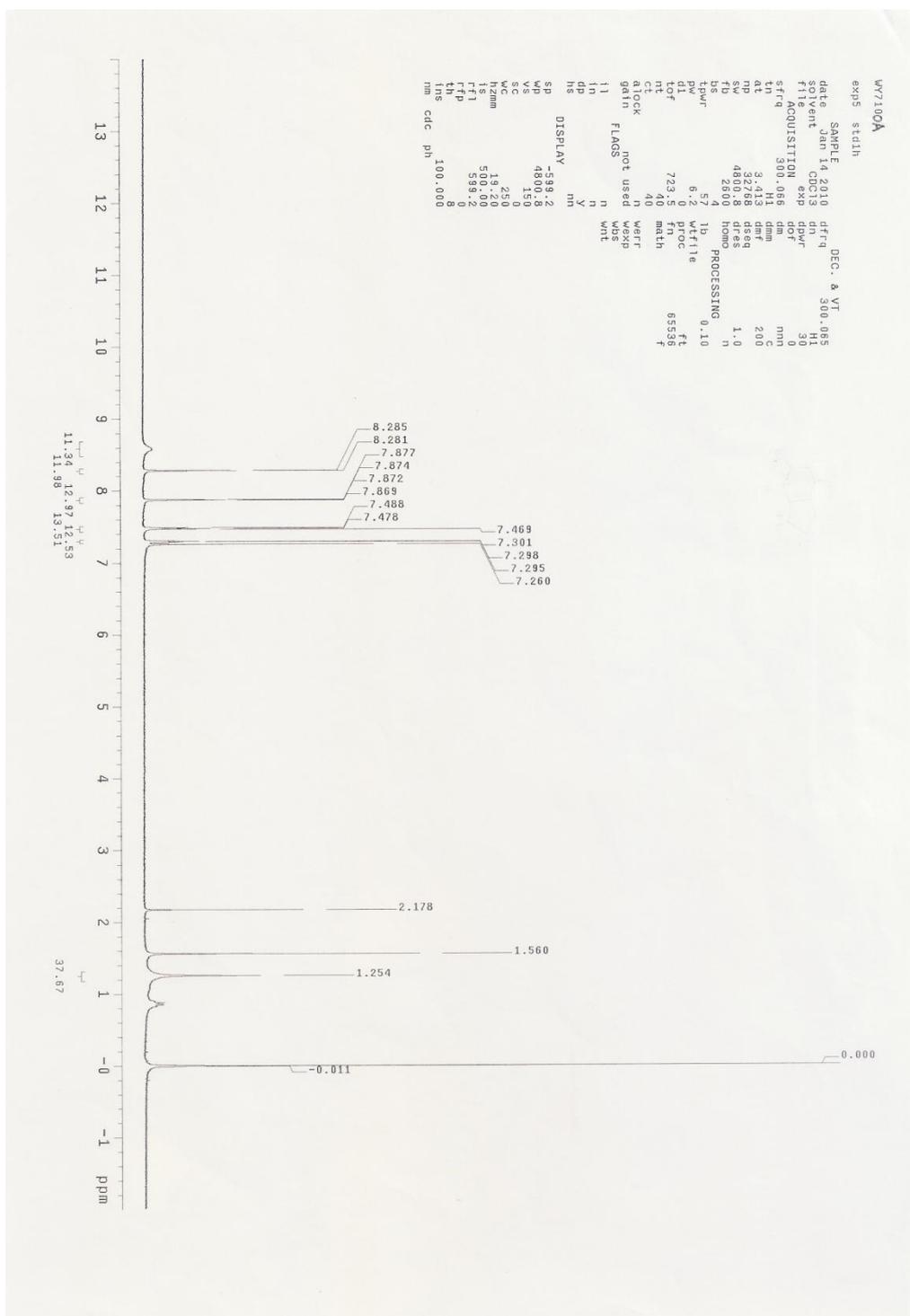
圖表 3: 化合物 2 的氫核磁共振光譜圖



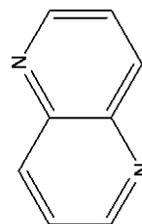
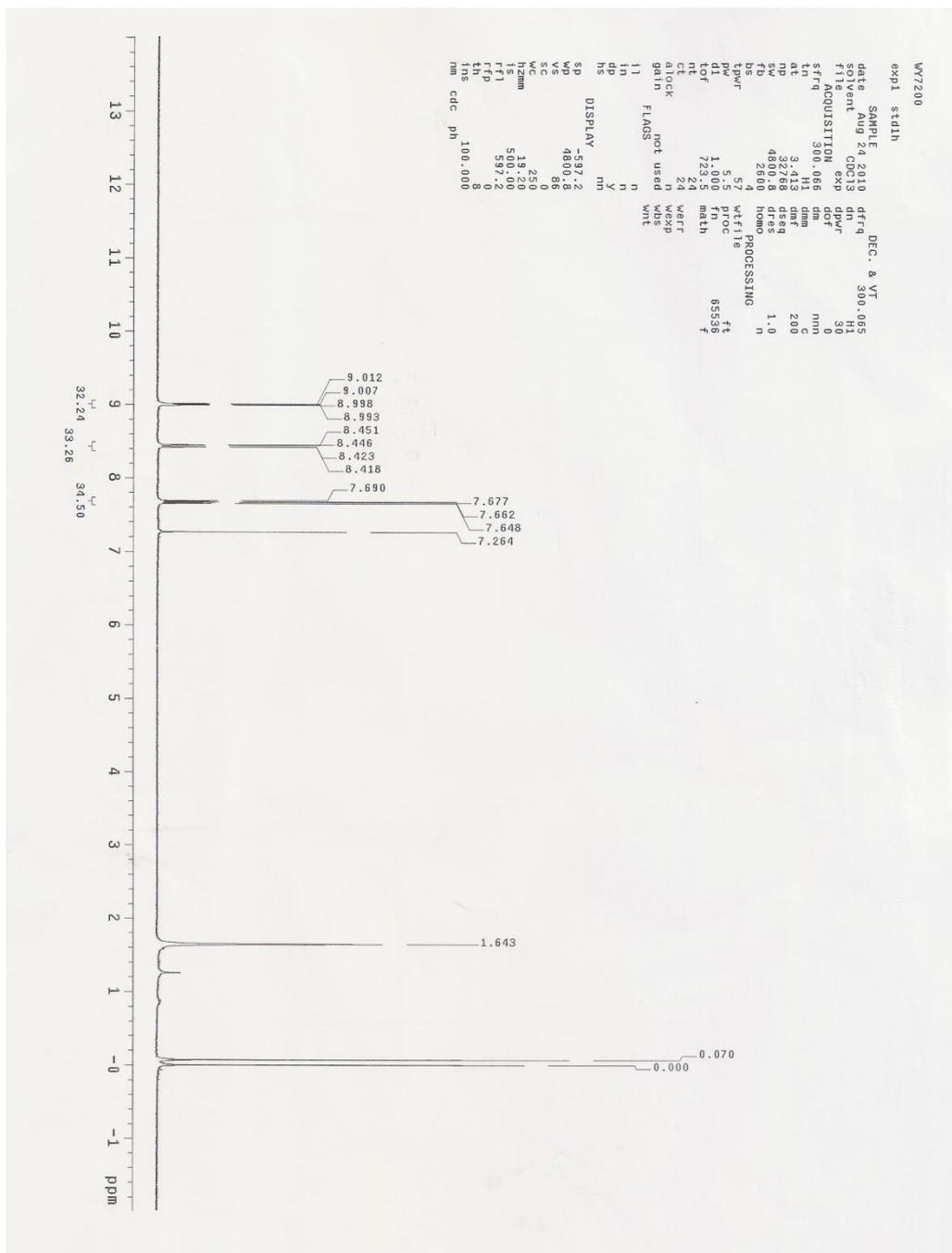
圖表 4: 化合物 2 的質譜圖



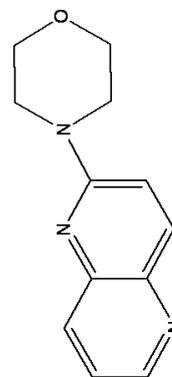
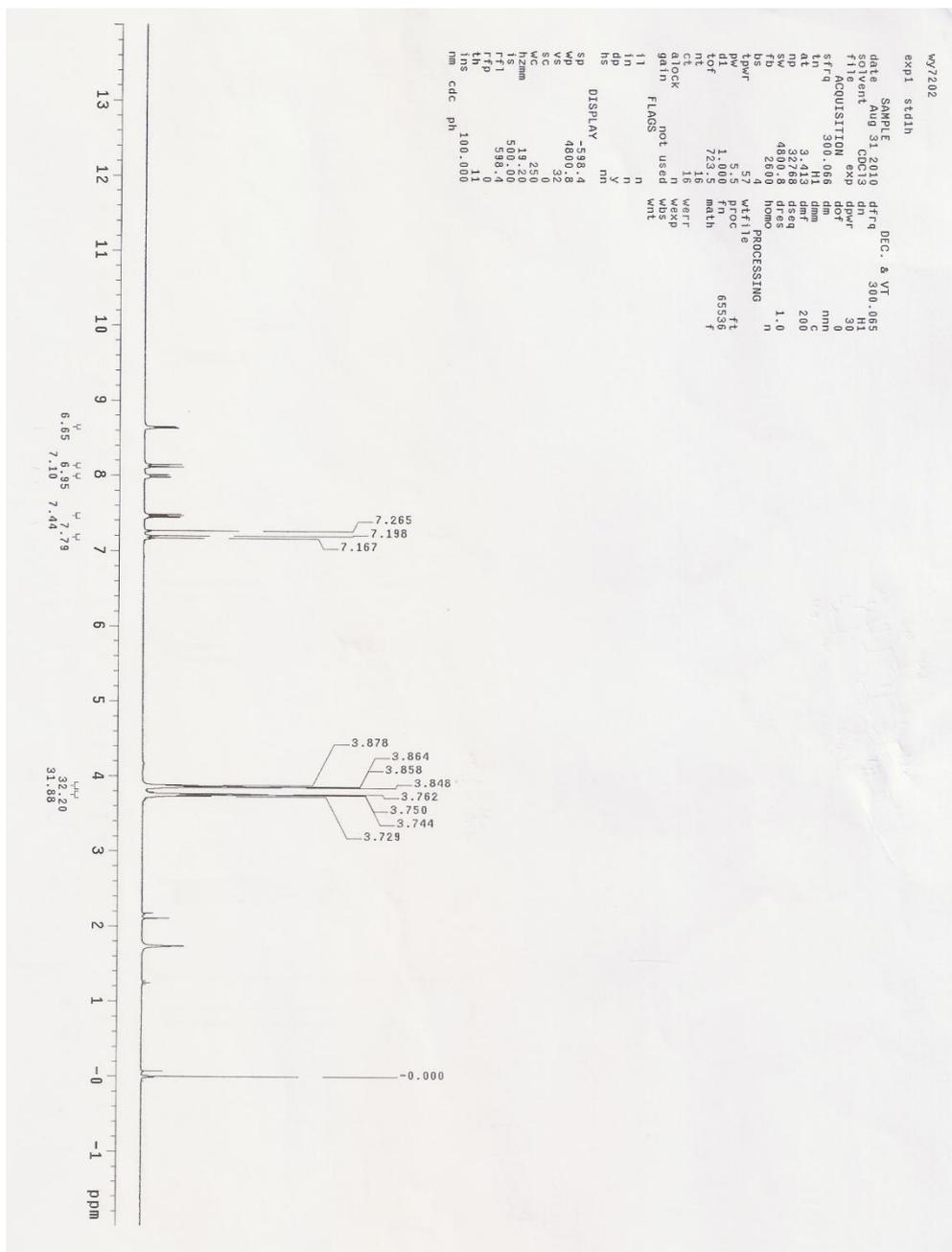
圖表 5: 化合物 3 的氫核磁共振光譜圖



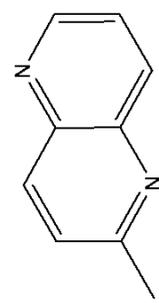
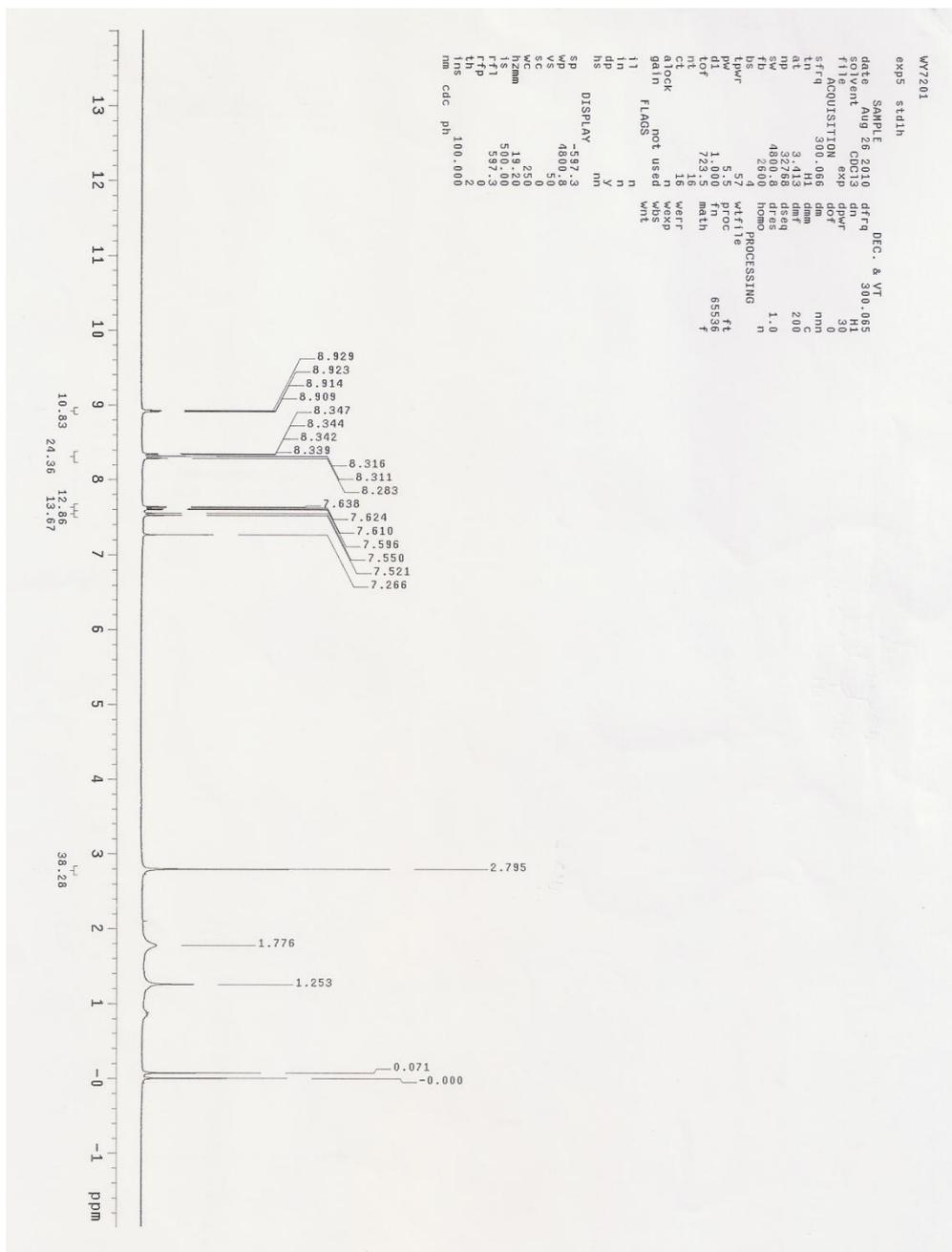
圖表 6: 化合物 4 的氫核磁共振光譜圖



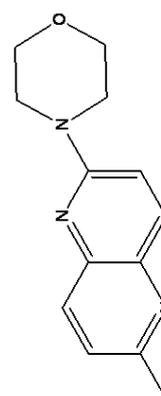
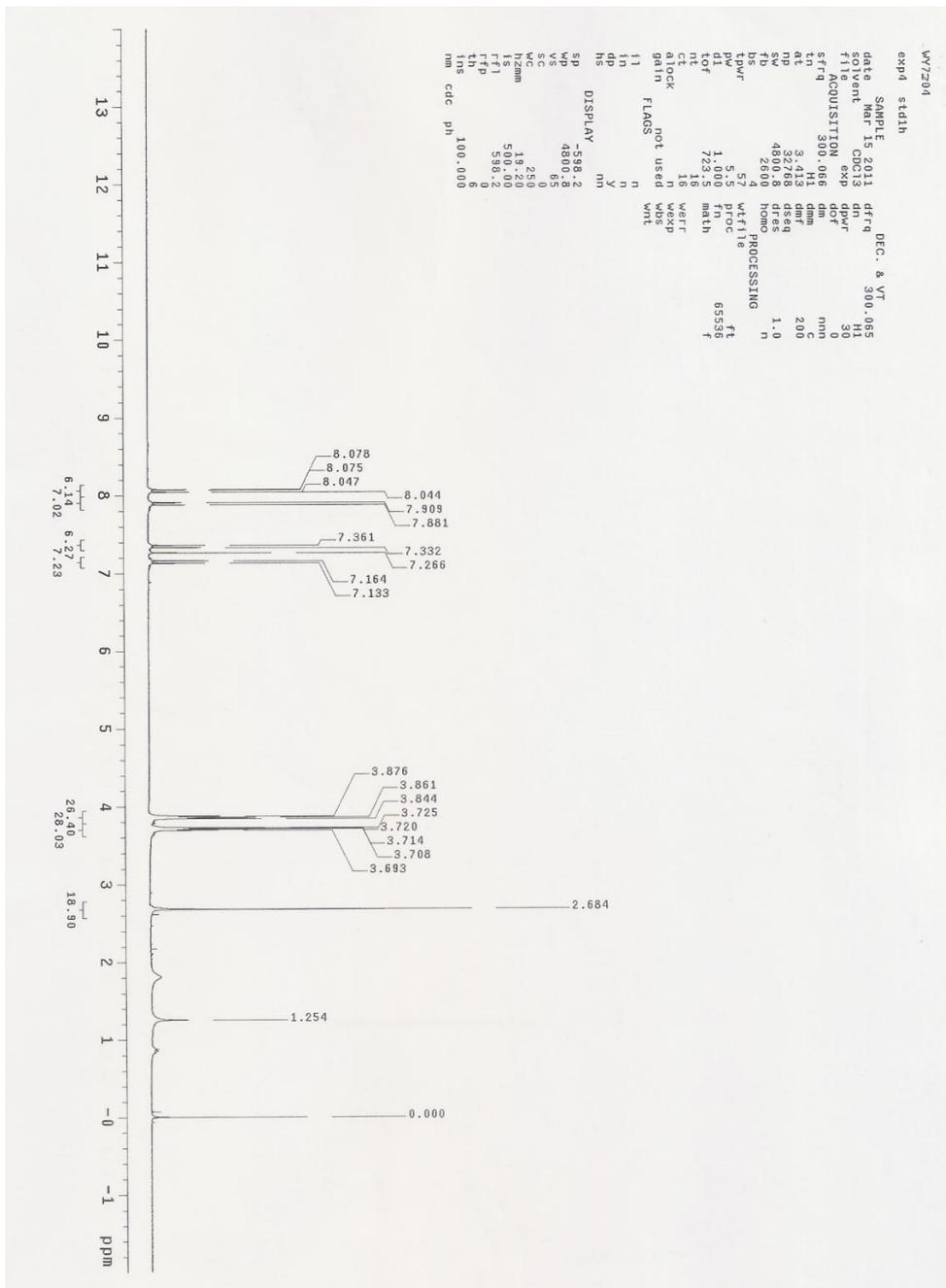
圖表 7: 化合物 13 的氫核磁共振光譜圖



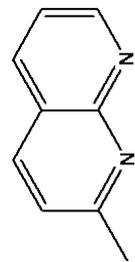
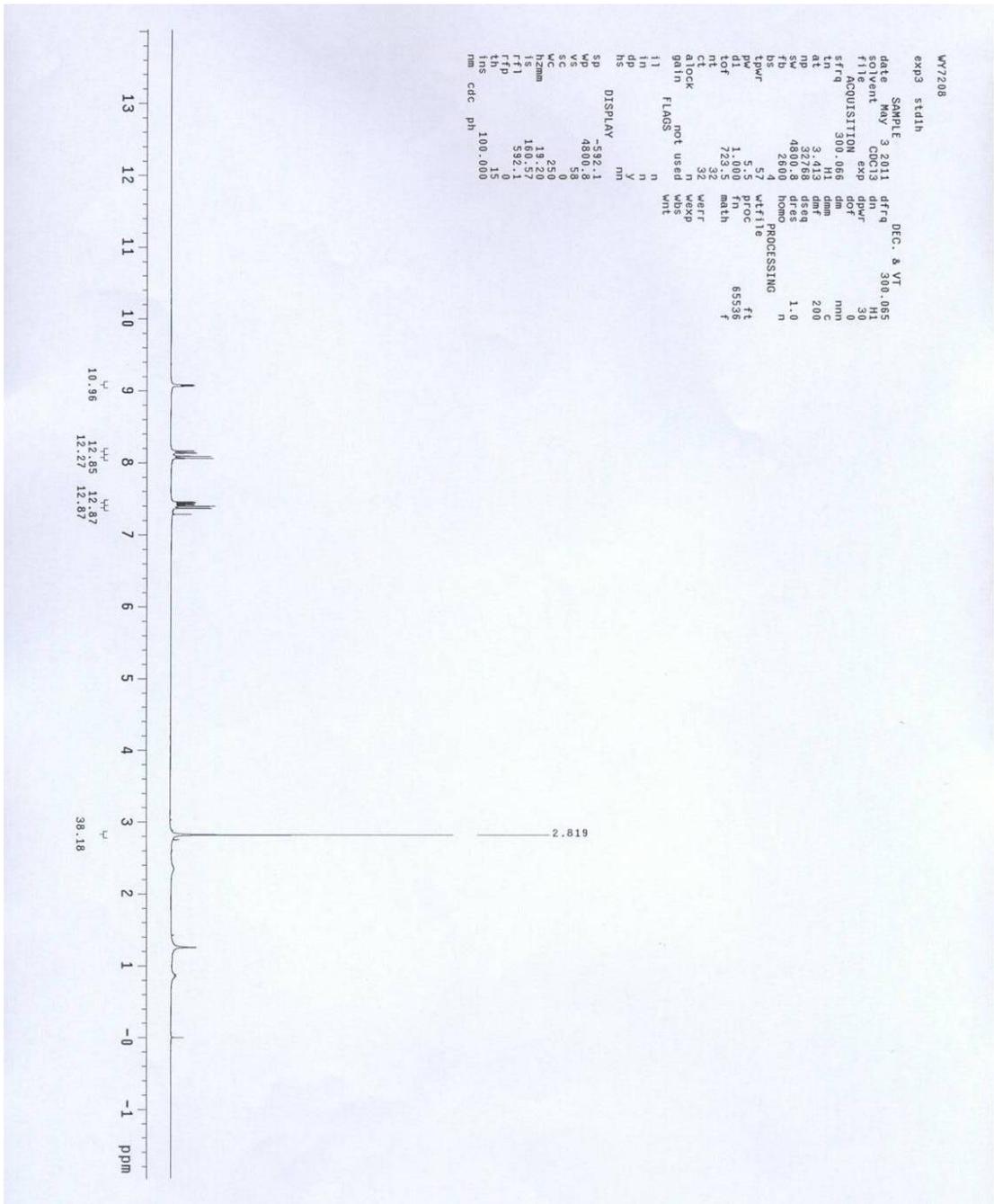
圖表 9: 化合物 16 的氫核磁共振光譜圖



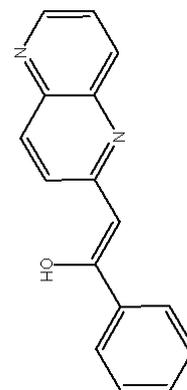
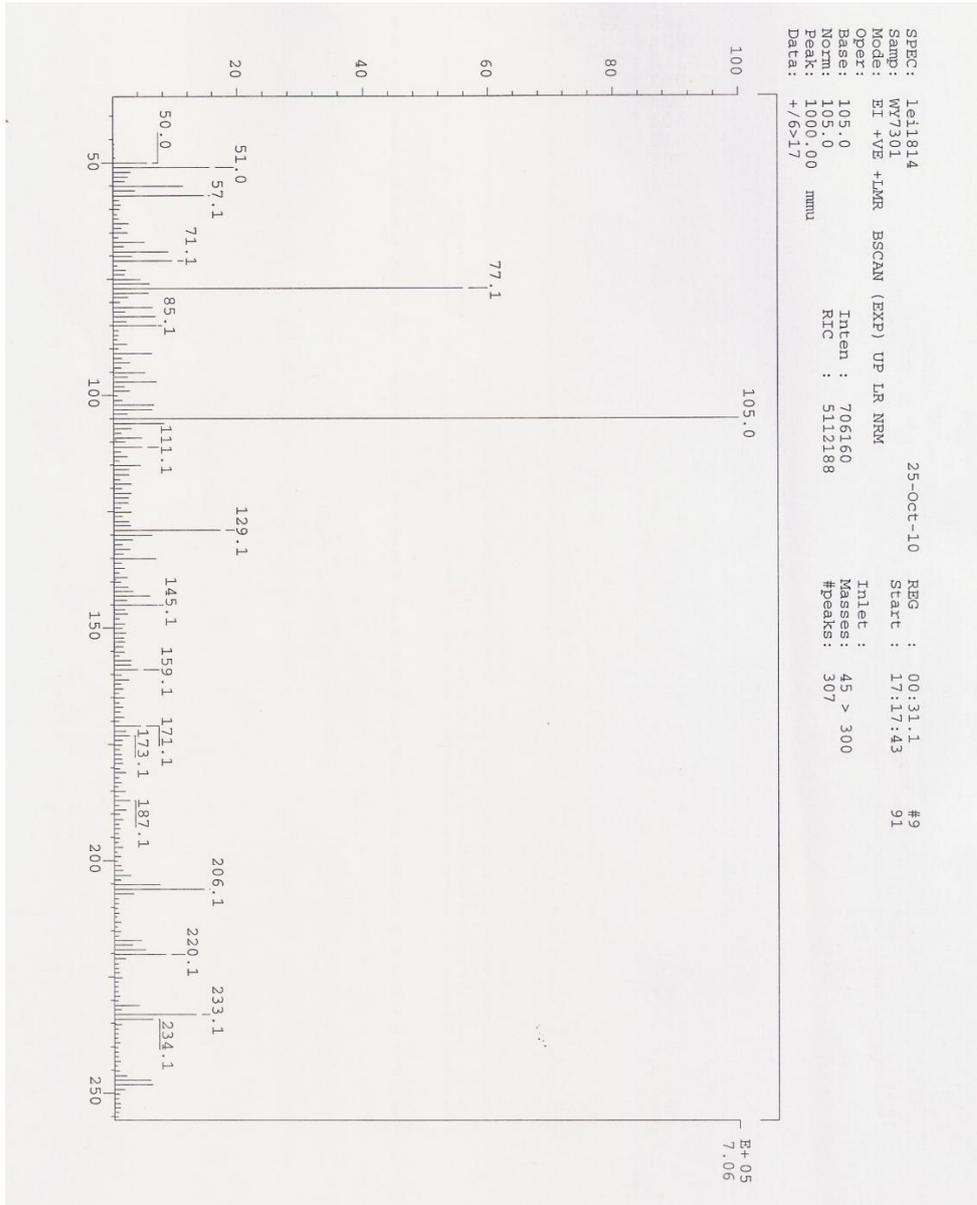
圖表 10: 化合物 18 的氫核磁共振光譜圖



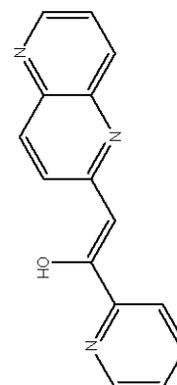
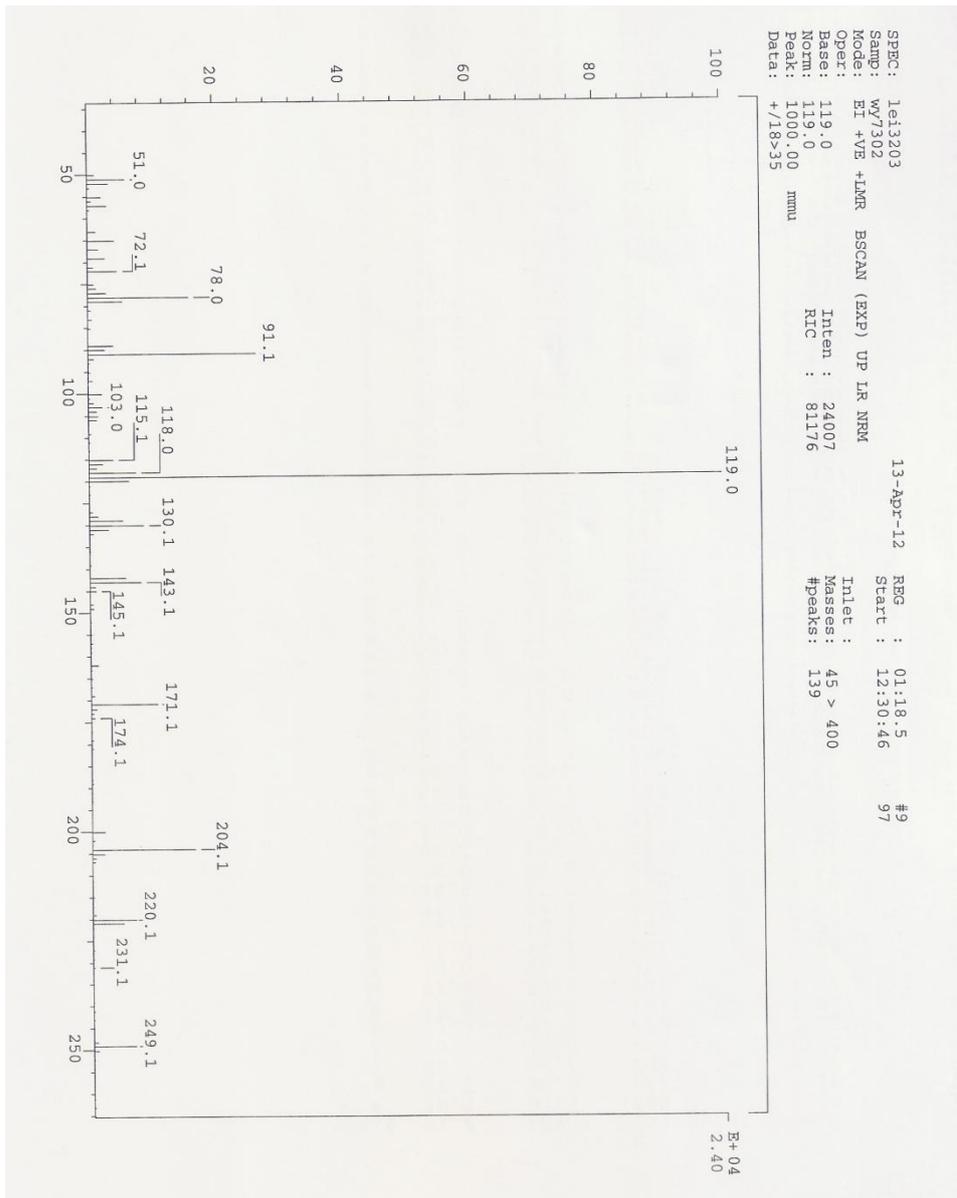
圖表 11: 化合物 **19** 的氫核磁共振光譜圖



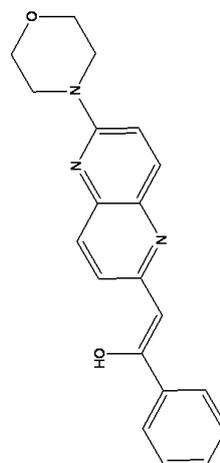
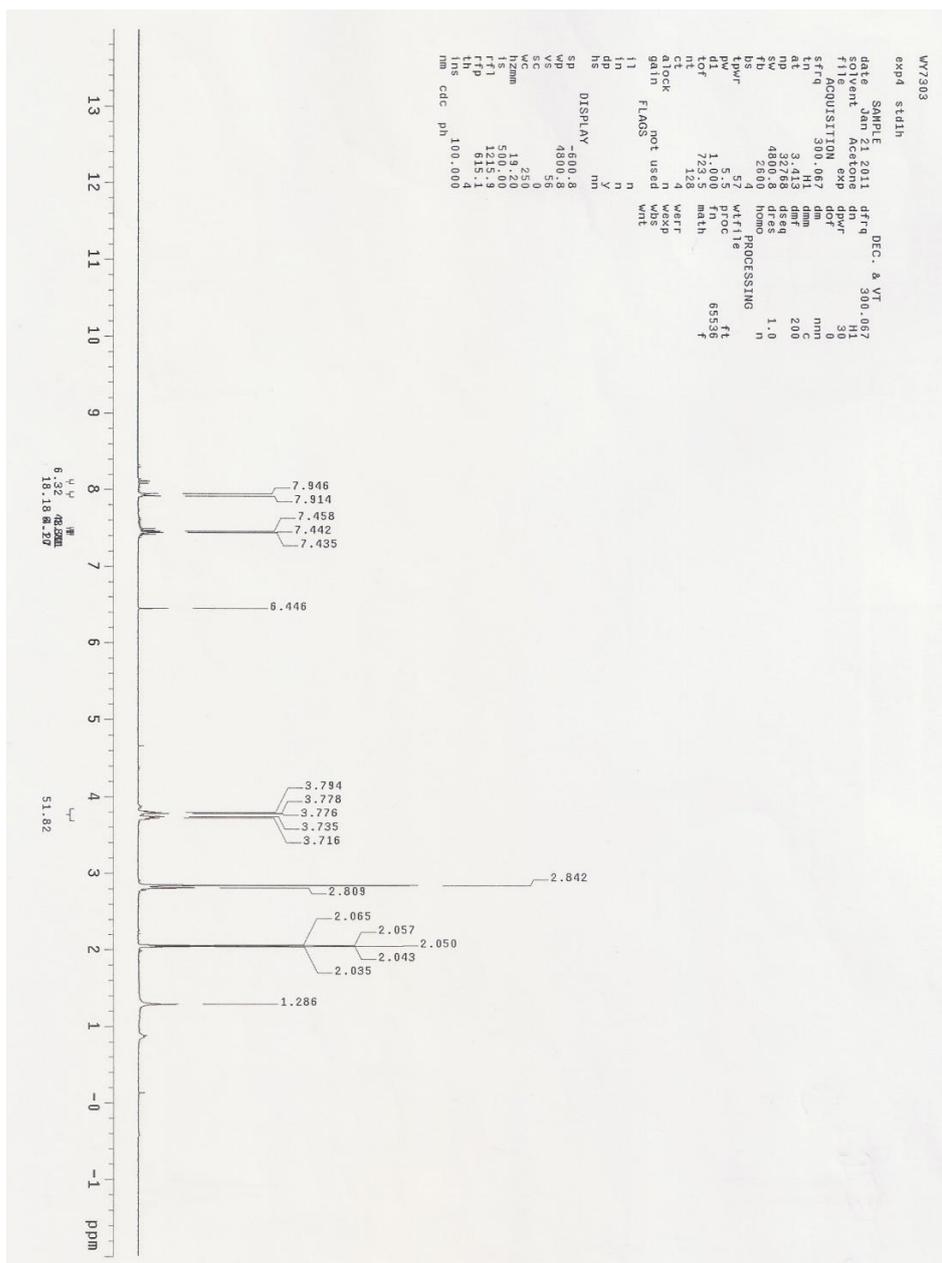
圖表 12: 化合物 **22** 的氫核磁共振光譜圖



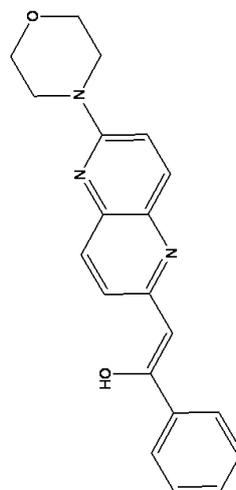
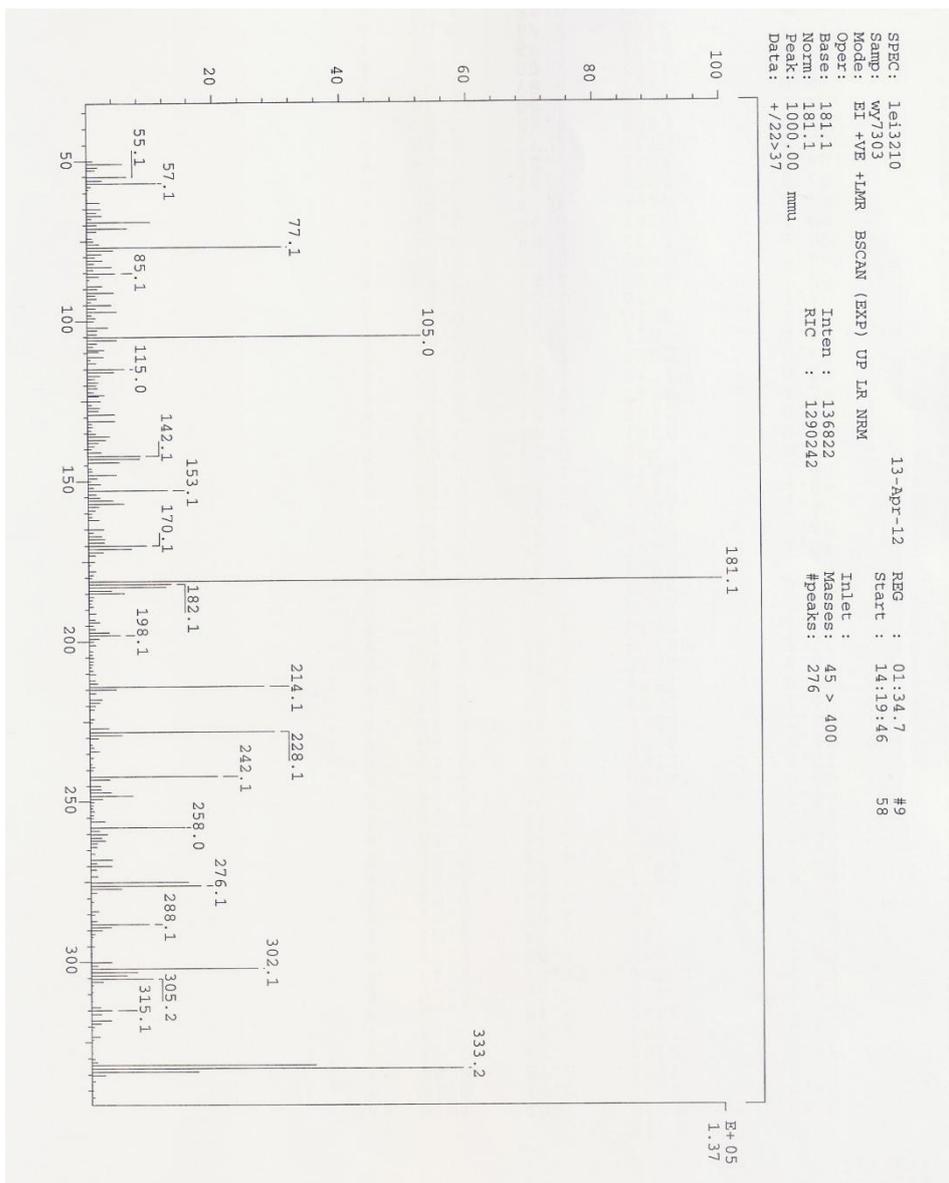
圖表 14: 化合物 27 的質譜圖



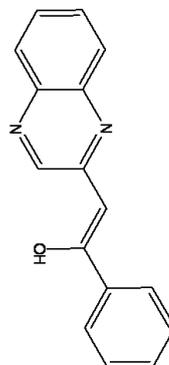
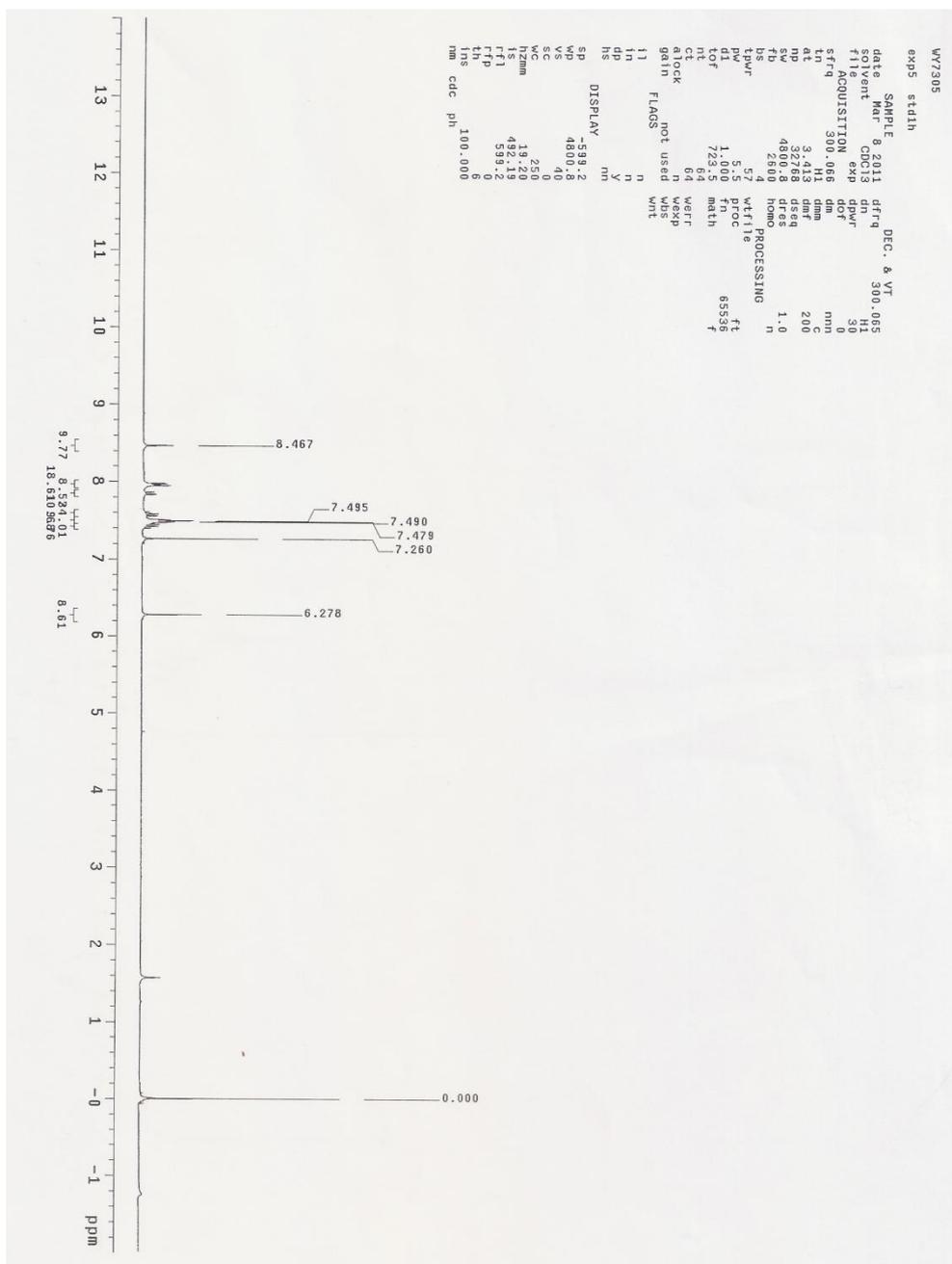
圖表 16: 化合物 28 的質譜圖



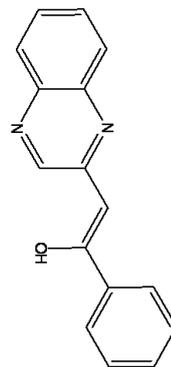
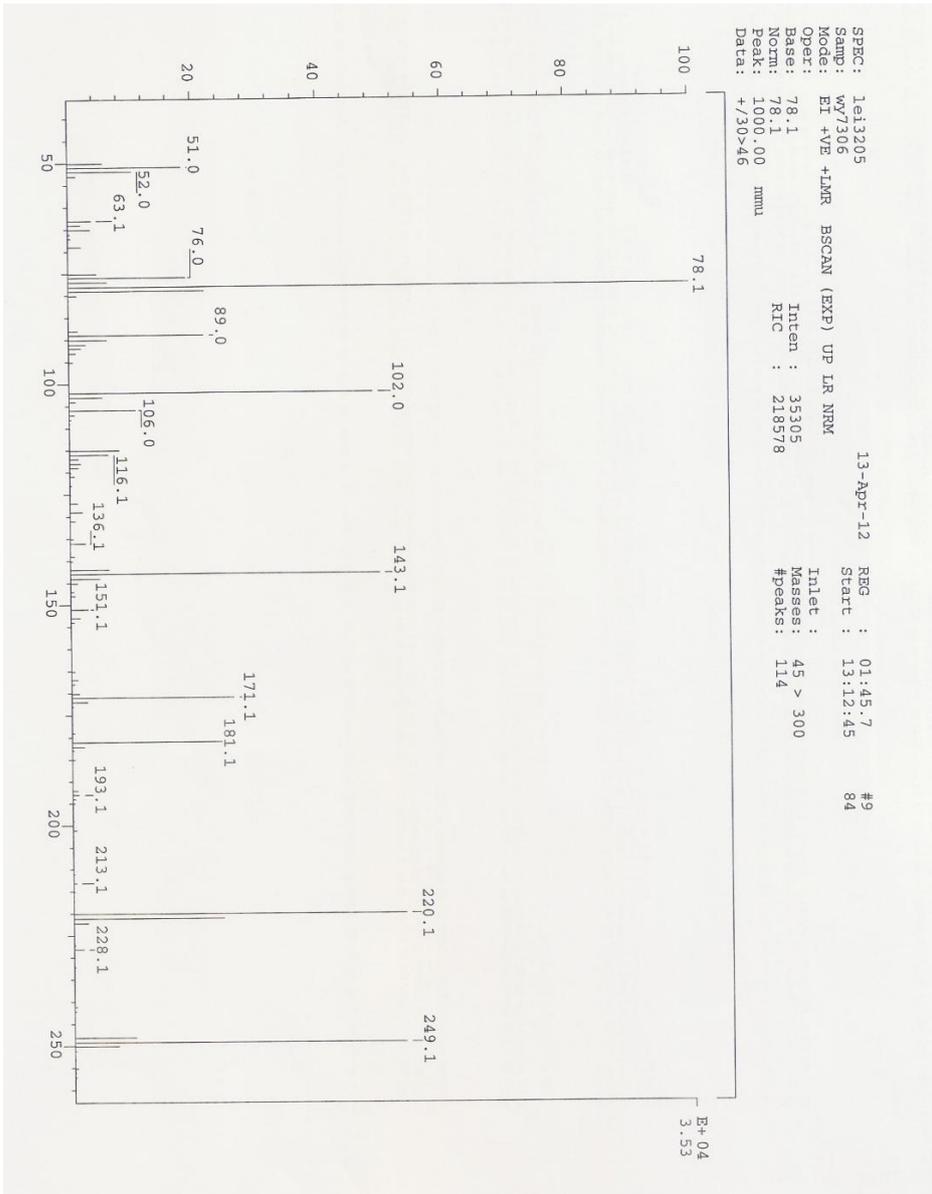
圖表 17: 化合物 29 的氫核磁共振光譜圖



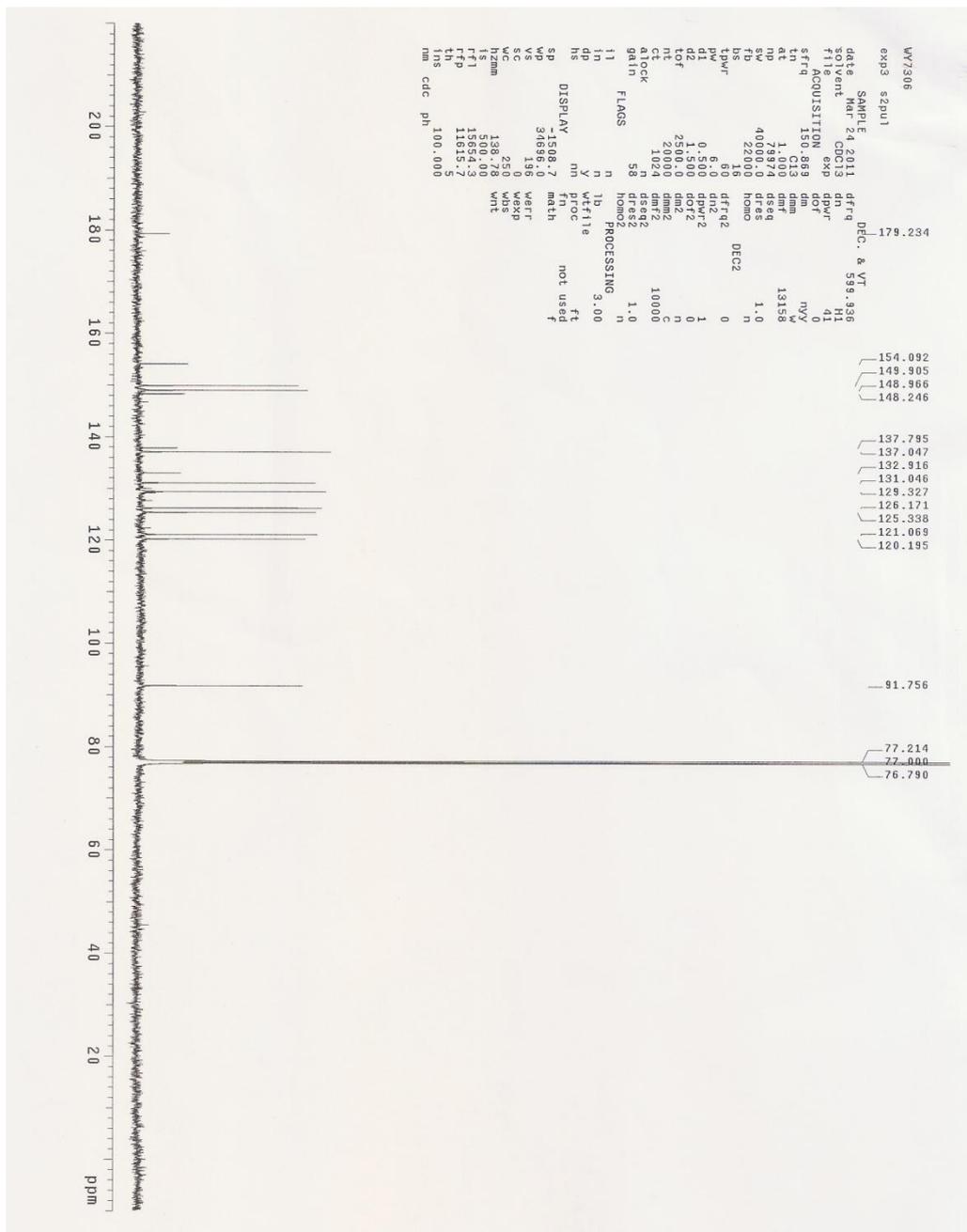
圖表 18: 化合物 29 的質譜圖

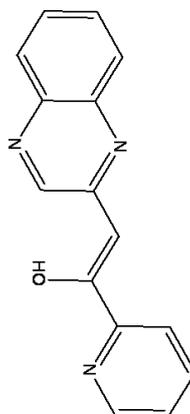
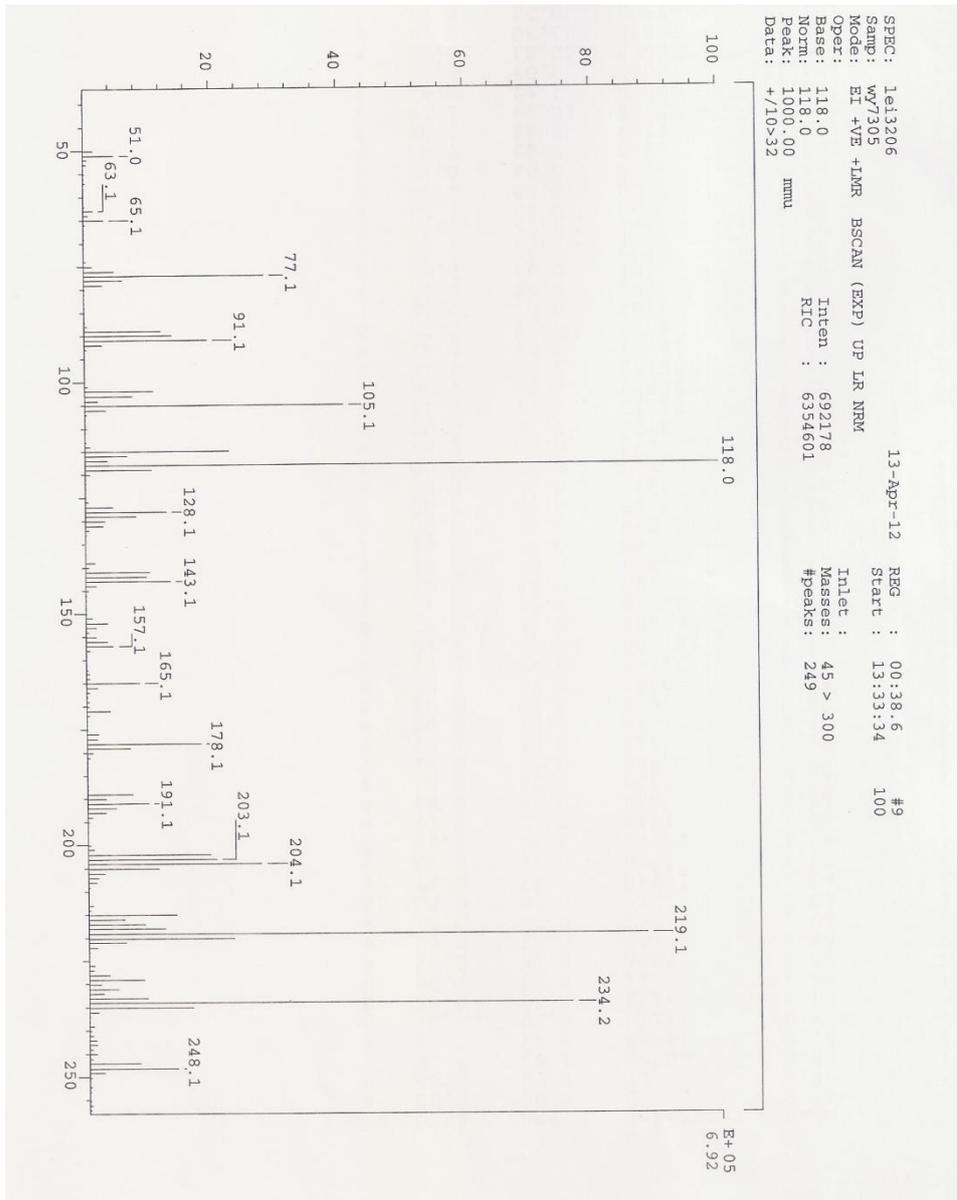


圖表 19: 化合物 **31** 的氫核磁共振光譜圖

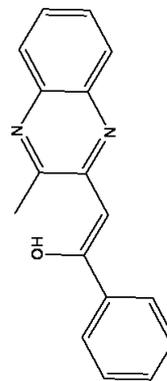
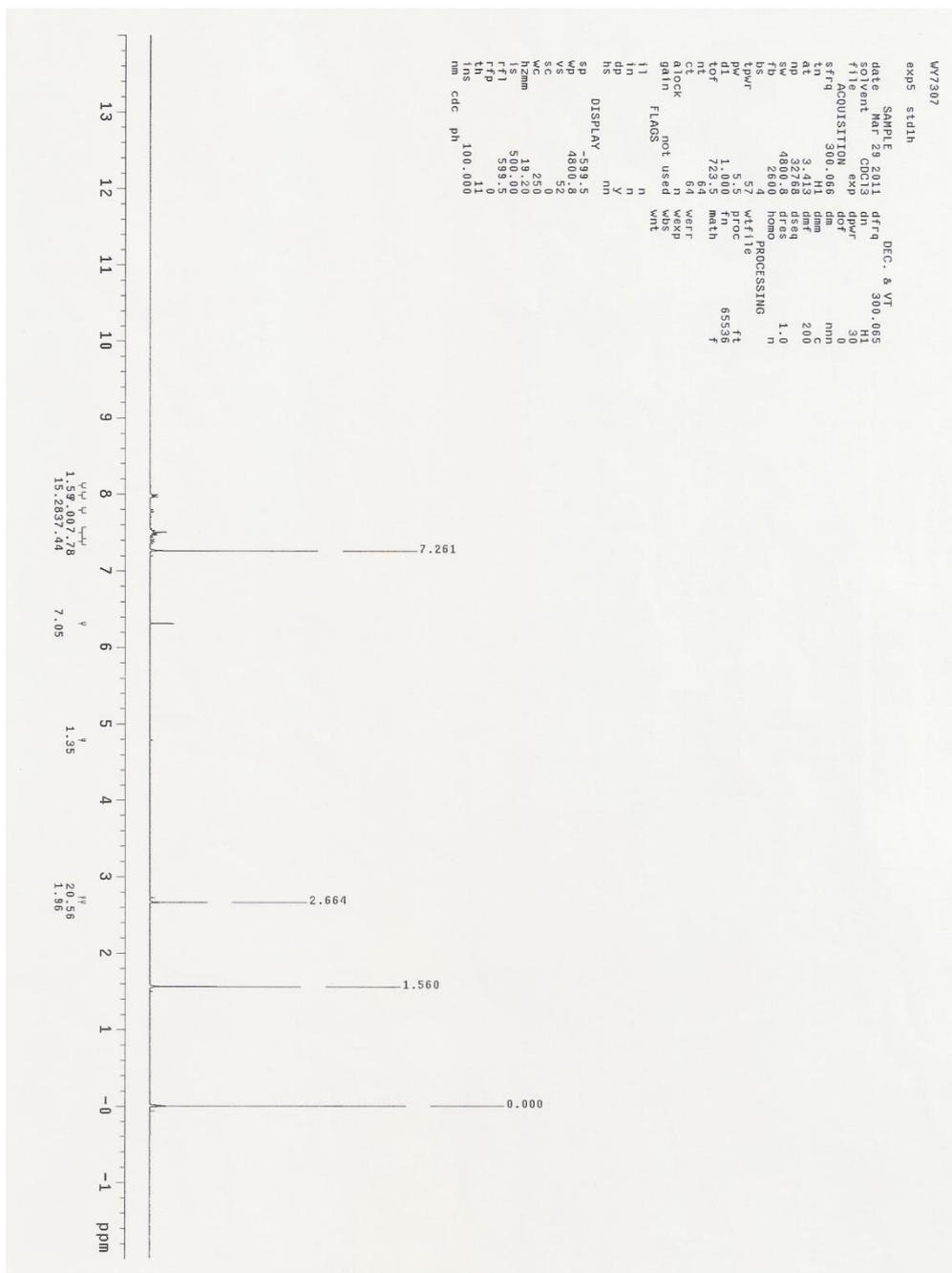


圖表 21: 化合物 31 的質譜圖

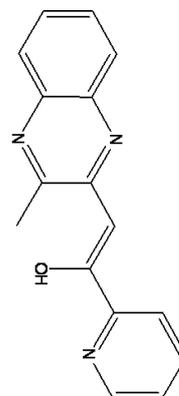
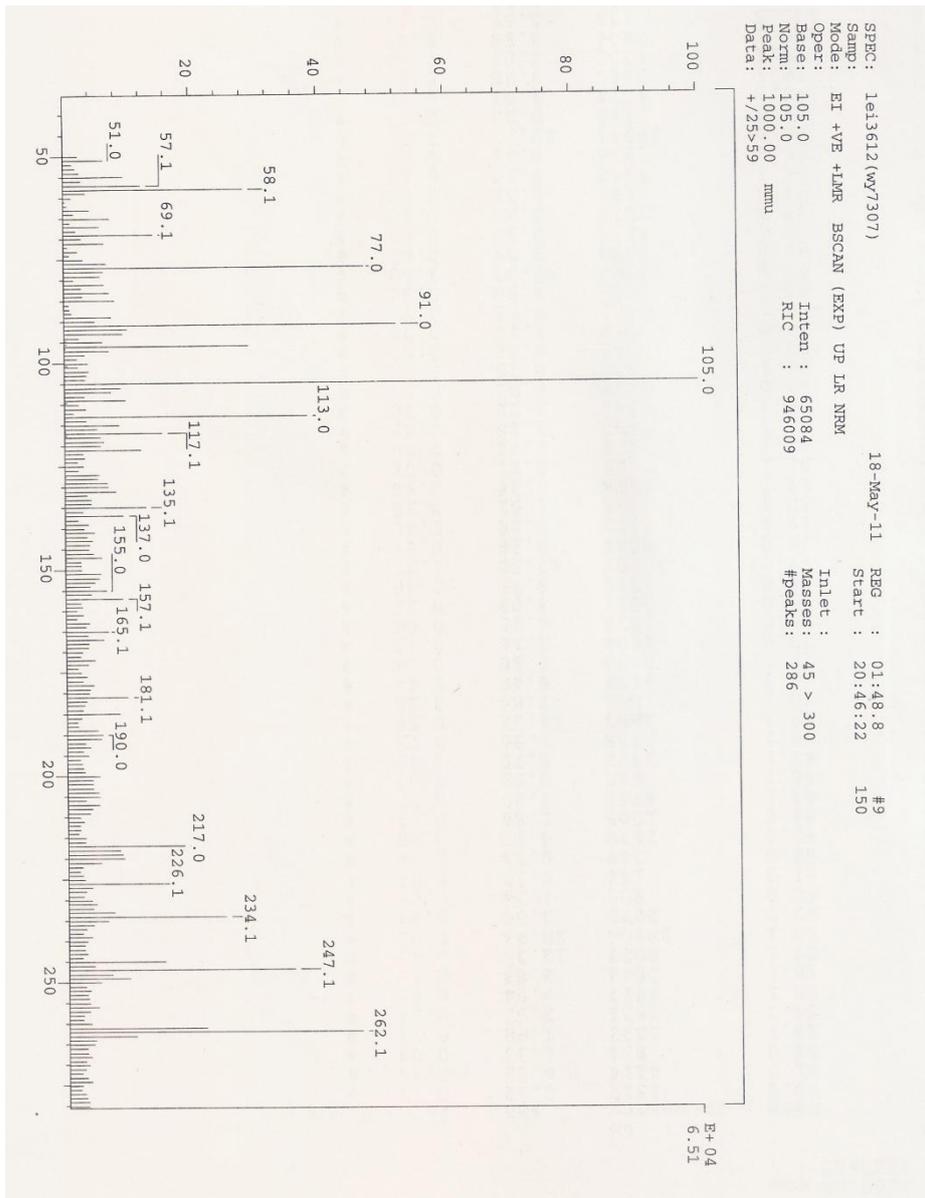




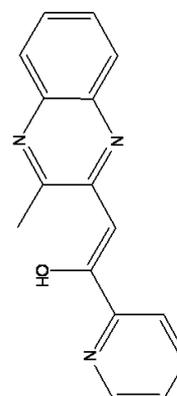
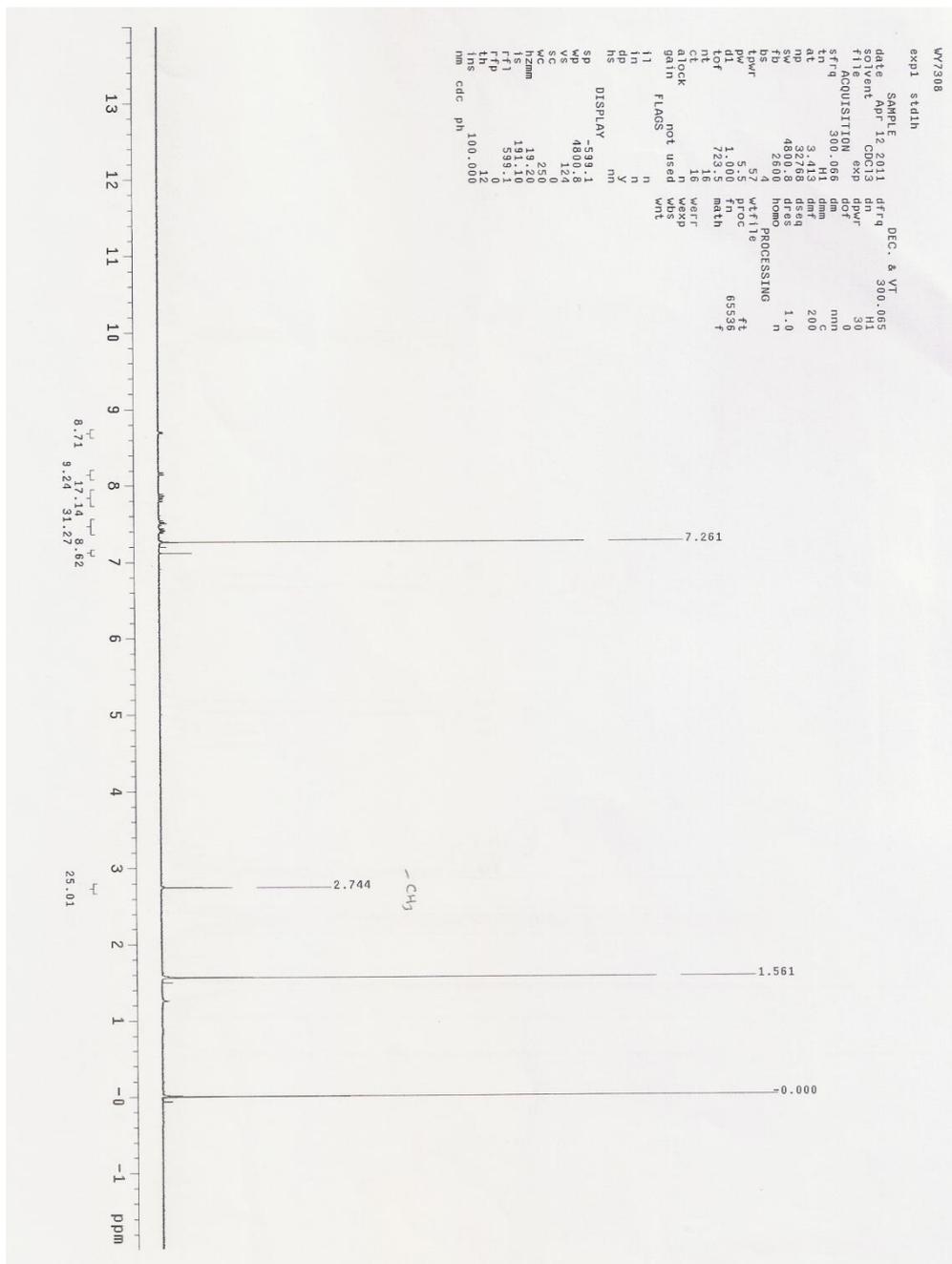
圖表 24: 化合物 32 的質譜圖



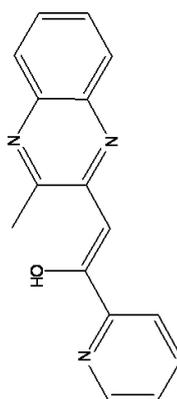
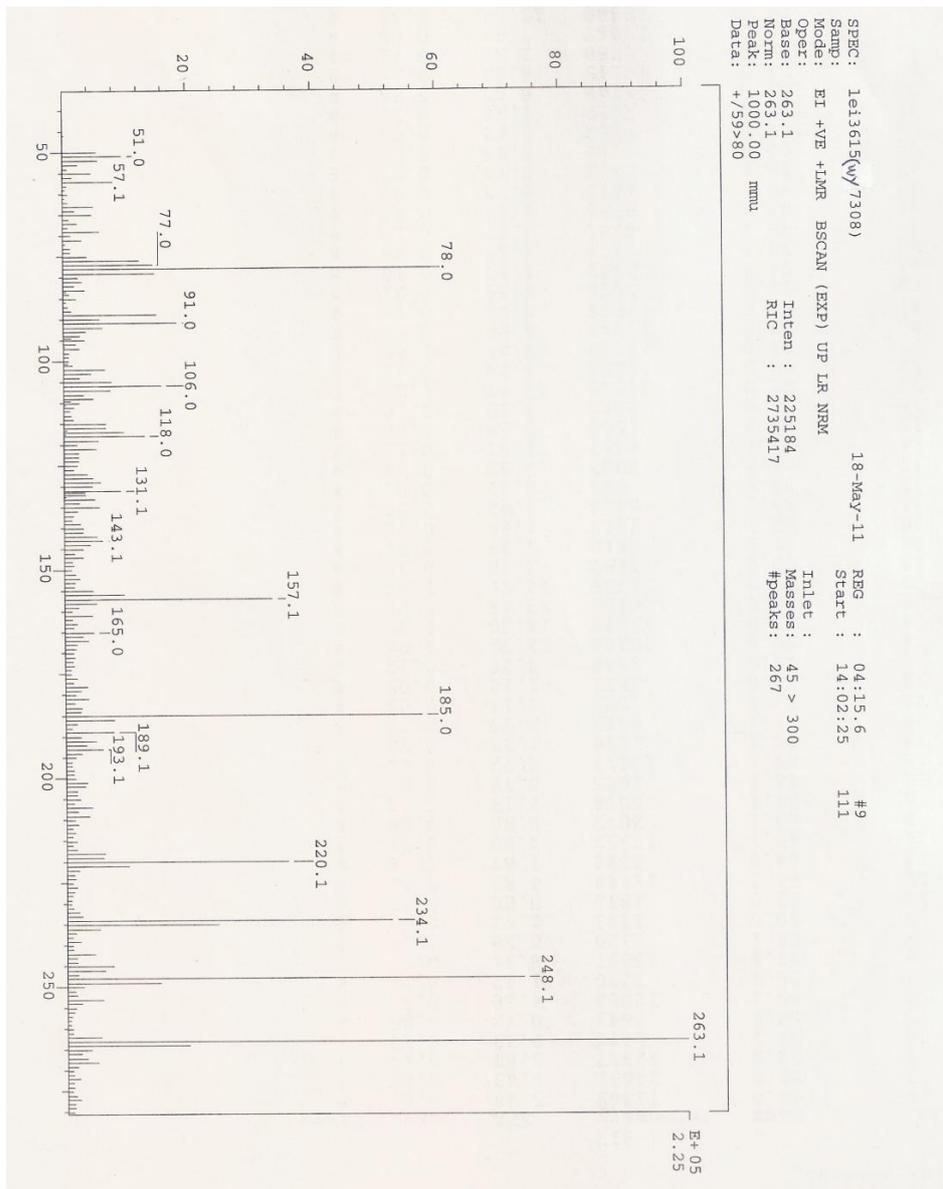
圖表 25: 化合物 **33** 的氫核磁共振光譜圖



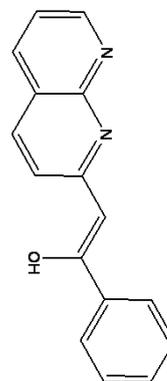
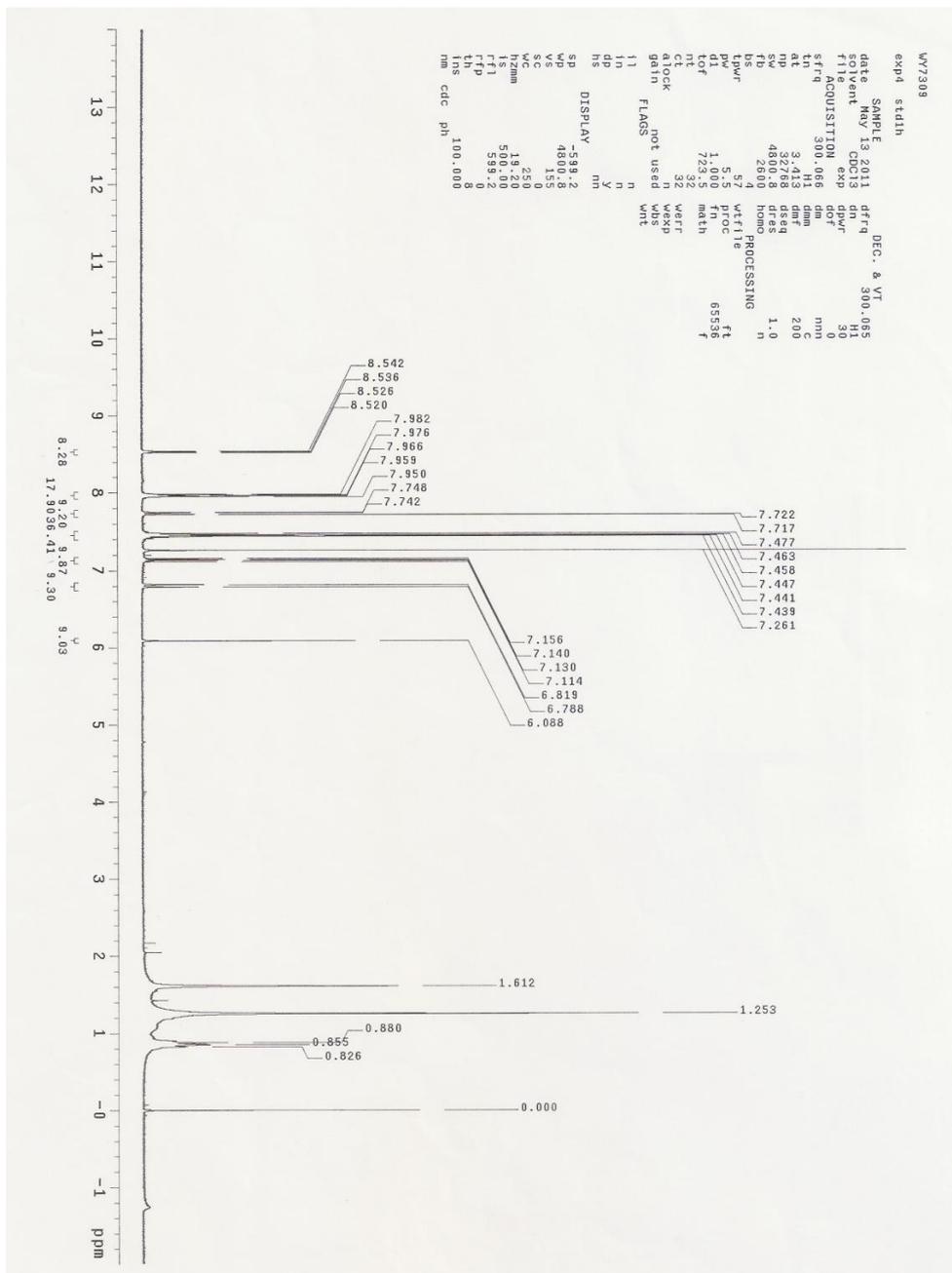
圖表 26: 化合物 33 的質譜圖



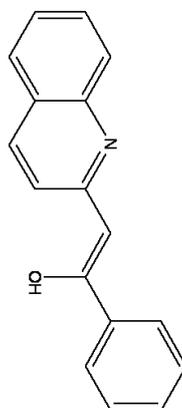
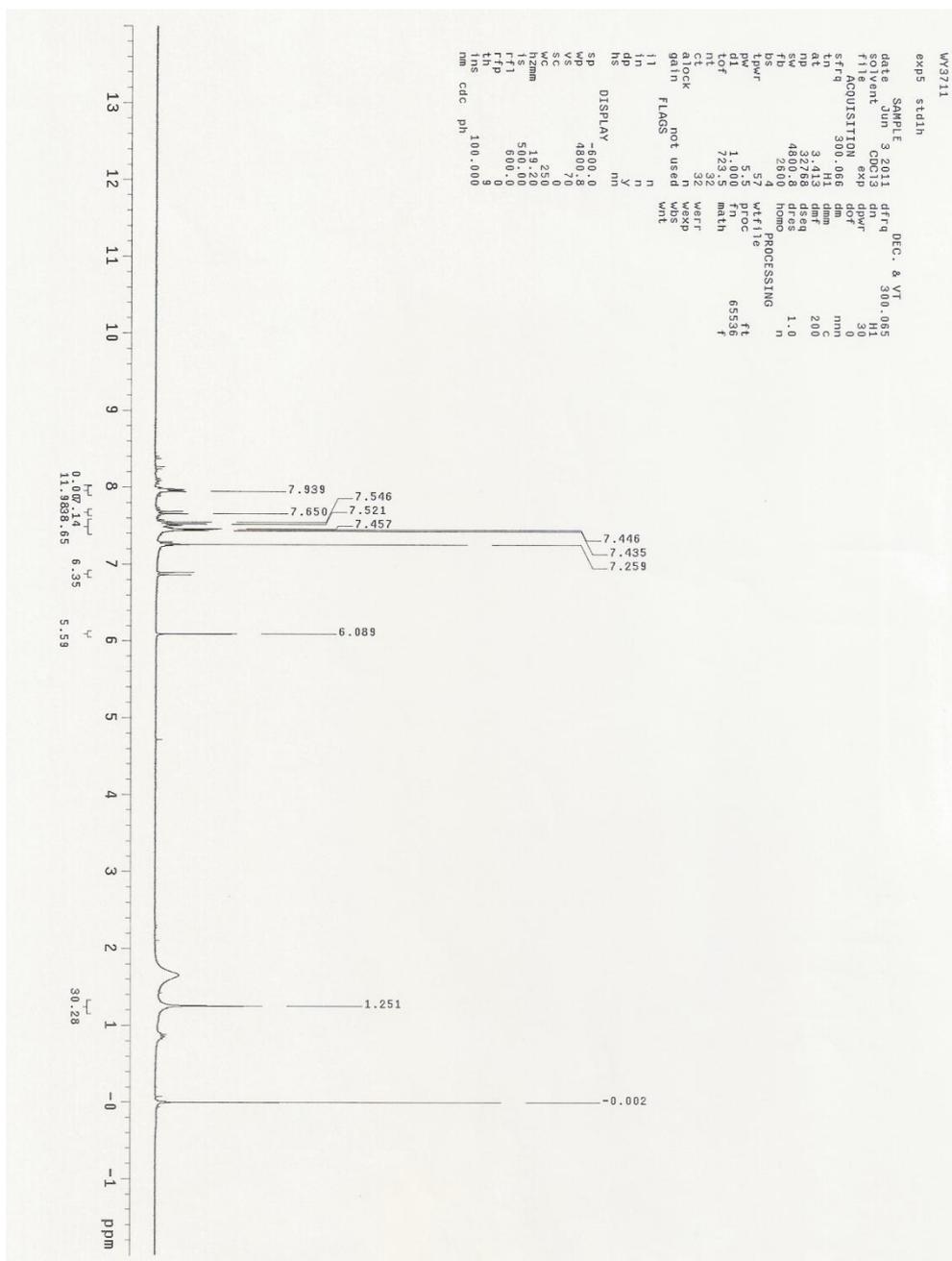
圖表 27: 化合物 **34** 的氫核磁共振光譜圖



圖表 28: 化合物 34 的質譜圖



圖表 29: 化合物 35 的氫核磁共振光譜圖



圖表 30: 化合物 **36** 的氫核磁共振光譜圖

