

東 海 大 學 應 用 化 學 研 究 所

碩 士 論 文

設計與合成以醯胺與胺基為橋樑串聯苯甲醯胺之衍生物並探討其對IKK beta的抑制活性

**Design and synthesis of amide / amine bridged
benzamide derivatives and establishing their IKK
beta inhibitory activity**

指導教授：吳兩珊 博士

研究生：張瀚之 撰

中華民國一百零三年十一月

東海大學碩士班研究生

論文指導教授推薦書

化學系 碩士班 張瀚之 君所提之論文

設計與合成以醯胺與胺基為橋樑串聯苯甲醯胺之
衍生物並探討其對 IKK beta 的抑制活性

Design and synthesis of amide / amine bridged benzamide derivatives and establishing their IKK beta inhibitory activity

係由本人指導撰述，同意提付審查。

指導教授  (簽章)

103 年 11 月 27 日

東海大學碩士班研究生
論文口試委員審定書

化學系 碩士班 張瀚之 君所提之論文

設計與合成以醯胺與胺基為橋樑串聯苯甲醯胺之
衍生物並探討其對 IKK beta 的抑制活性

Design and synthesis of amide / amine bridged benzamide
derivatives and establishing their IKK beta inhibitory activity

論文口試委員會 召集人 胡名志 (簽章)

委員

黃瑞洲
林季平

中華民國 103 年 11 月 27 日

謝誌

此榮耀獻給我的父親與母親，以及其他支持我的朋友們

當我在下筆寫這份謝誌時，才真正意識到我即將畢業。時間飛逝，三年的日子發生了很多事情，有些讓人歡笑、快樂，每次不經意想起時都掩藏不住臉上的愉悅；有些讓人緊張、難過，每每也使得我腳步不自主地加快。這些都是讓我成長的時刻，體驗人生的瞬息萬變及悲歡喜樂，無論是誰，我都想要感謝。

首先我要感謝我的父母，讓我在求學過程中無後顧之憂，給予我最大的後盾與支持。我也要感謝我的指導教授吳雨珊老師，老師在我心中始終是一位親切、沒有距離感的大姐姐，謝謝老師這些日子的諄諄教誨，在我的課業與人際都給了我很多受用的建議。感謝楊定亞老師與中興大學的林季千老師，在口試時對於我的研究內容給予我受益良多的意見，使我的論文能更加完整。另外我也要感謝林季千老師實驗室的李宜蓉學姊，在百忙之中還願意抽空替我操作生物實驗與修改論文，使我的論文如期完成，非常感謝。

另外我要特別感謝實驗室的另外兩個夥伴：巾妤與世淵。他們在我研究所的求學生涯中扮演著非常重要的腳色，時常能一語突破我思考上盲點、一針見血我釐不清的問題，並且在人生低潮時能夠互相陪伴取暖，快樂時能夠互相分享炫耀。其中尤其要感謝世淵，無論在研究方面、課業方面、價值觀方面，都讓我受益良多，從你身上我學習到很多我自己缺乏的特質，非常感謝你們兩個的日夜相陪。

實驗室的學長姐們：志遠、正鴻與緬煒，感謝你們的教導與意見，使我在實驗操作方面能更快上手。昌甫、翰維及鈞彥，感謝有你們的陪伴，讓我的實驗室生活增添了不少的歡樂。而學弟妹們：昕銓、昀臻、育蓉、海辰、季臻、佳樺、珮臻、貫中、秉安、家瑋、珮琪、薇安、嘉威、文凱，是你們交織成在我心中實驗室生活的那一幅畫，感謝你們的陪伴之外也祝福你們在求學道路上順遂平安。

最後，我想感謝我的女朋友一聿茹，儘管相隔百里，妳還是不忘在我很多重要時刻給予我支持與叮嚀，謝謝一路上有妳的陪伴，使我更加堅定，無所畏懼。

Do not go gentle into that good night ,
Old age should burn and rave at close of day ;
Rage, rage against the dying of the light .

Dylan Thomas, 1914~1953

瀚之 2014 年 11 月

中文摘要

NF- κ B是一個核轉錄因子，當細胞受到刺激時，NF- κ B會透過其訊號傳遞路徑的活化，進入細胞核與DNA結合，促使DNA進行過度的表達，而嚴重時則會導致腫瘤與癌症的發生。我們將IKK β 當作欲抑制的對象，其為NF- κ B訊號傳遞路徑中的一個關鍵蛋白質，此研究利用本實驗室所篩選出來的化合物WY5107作為前導化合物，WY5107為一IKK β 的良好抑制劑，為了達到更好的IKK β 抑制活性，我們將其與另一良好的IKK β 抑制劑IMD-0354以不同的橋樑結構相連，IMD-0354為一小分子ATP競爭抑制劑，能選擇性的針對IKK β 形成鍵結。我們期待這些化合物對於IKK β 有更良好的抑制活性，由生物實驗結果發現，化合物Methyl 4-((3-(4-nitrobenzamido) phenyl)amino) benzoate (8) 具有良好的IKK β 抑制活性；而綜合生物實驗結果，推測在四環化合物附近有能夠形成疏水性交互作用力的胺基酸，可以與酯基形成交互作用力；另外，以胺基橋樑修飾的化合物較以二級醯胺鍵橋樑修飾的化合物，抑制活性來的更為良好。

Abstract

NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) is a protein complex that controls transcription of DNA. When it is activated excessively, enhanced expression of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α , lead to inflammatory and autoimmune diseases. The target was IKK β , which play an key role in NF- κ B signal pathway. We selected WY5107, which was designed from our Lab and has good inhibitory activity of IKK β . In order to achieve better IKK β inhibitory activity, we synthesis different bridges link WY5107 and another IKK β inhibitor, IMD-0354, as a small-molecule, ATP-competitive inhibitor selectively targeting IKK β kinase activity. And with the results of biological experiment, within all analogs synthesized, compound (8) exhibited the best IKK β inhibitory activity. The SAR results showed that amino acids near the tetracyclic compounds which can form hydrophobic interaction, and the compounds modified by amine bridge exhibited better IKK β inhibitory activity than amide bridged analogs.

目錄

中文摘要.....	I
Abstract.....	II
目錄.....	III
表目錄.....	VII
圖目錄.....	VIII
第一章 緒論.....	1
1.1 NF- κ B 的結構與功能.....	2
1.2 NF- κ B 的訊號傳遞路徑.....	4
1.3 NF- κ B 的抑制途徑.....	6
第二章 研究動機與實驗設計.....	9
第三章 實驗材料與方法.....	19
3.1 化學試藥、溶劑與儀器介紹.....	19
3.2 有機合成.....	21
3.2.1 第一系列合成.....	21
3.2.2 第二系列合成.....	48
3.3 生物實驗.....	59
3.4 分子對接軟體操作.....	61
第四章 結果與討論.....	62
4.1 有機合成的探討.....	62
4.1.1 化合物(8)、(9)的合成.....	63
4.1.2 化合物(14)、(15)的合成.....	65
4.1.3 化合物(16a)、(16b)、(16c)及(16d)的合成.....	67
4.1.4 化合物(25)的合成.....	70
4.1.4 化合物(27a)、(27b)、(29a)與(29b)的合成.....	71
4.2 生物活性.....	73
第五章 結論.....	80
未來展望.....	81
參考文獻.....	83
圖譜	
Methyl 4-aminobenzoate (5) 氫譜圖.....	86
Methyl 4-aminobenzoate (5) 碳譜圖.....	87
Methyl 4-aminobenzoate (5) 質譜圖.....	88
Methyl 4-((3-nitrophenyl)amino)benzoate (6) 氫譜圖.....	89
Methyl 4-((3-nitrophenyl)amino)benzoate (6) 碳譜圖.....	90
Methyl 4-((3-nitrophenyl)amino)benzoate (6) 質譜圖.....	91
Methyl 4-((3-aminophenyl)amino)benzoate (7) 氫譜圖.....	92

Methyl 4-((3-aminophenyl)amino)benzoate (7) 碳譜圖.....	93
Methyl 4-((3-aminophenyl)amino)benzoate (7) 質譜圖.....	94
Methyl 4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoate (8) 氫譜圖.....	95
Methyl 4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoate (8) 碳譜圖.....	96
Methyl 4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoate (8) 質譜圖.....	97
4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoic acid (9) 氫譜圖.....	98
Methyl 3-aminobenzoate (11) 氫譜圖.....	99
Methyl 3-aminobenzoate (11) 碳譜圖.....	100
Methyl 3-aminobenzoate (11) 質譜圖.....	101
Methyl 3-(3-nitrobenzamido)benzoate (12) 氫譜圖.....	102
Methyl 3-(3-nitrobenzamido)benzoate (12) 碳譜圖.....	103
Methyl 3-(3-nitrobenzamido)benzoate (12) 質譜圖.....	104
Methyl 3-(3-aminobenzamido)benzoate (13) 氫譜圖.....	105
Methyl 3-(3-aminobenzamido)benzoate (13) 碳譜圖.....	106
Methyl 3-(3-aminobenzamido)benzoate (13) 質譜圖.....	107
Methyl 3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoate (14) 氫譜圖.....	108
Methyl 3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoate (14) 碳譜圖.....	109
Methyl 3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoate (14) 質譜圖.....	110
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoic acid (15) 氫譜圖.....	111
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoic acid (15) 質譜圖.....	112
Methyl 3-(4-nitrobenzamido)benzoate (18) 氫譜圖.....	113
Methyl 3-(4-nitrobenzamido)benzoate (18) 碳譜圖.....	114
Methyl 3-(4-nitrobenzamido)benzoate (18) 質譜圖.....	115
3-(4-nitrobenzamido)benzoic acid (19) 氫譜圖.....	116
3-(4-nitrobenzamido)benzoic acid (19) 碳譜圖.....	117
3-(4-nitrobenzamido)benzoic acid (19) 質譜圖.....	118
3-nitro-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (20a) 氫譜圖.....	119
3-nitro-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (20a) 碳譜圖.....	120
3-nitro-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (20a) 質譜圖.....	121
N-(3,5-dimethylphenyl)-3-nitrobenzamide (20b) 氫譜圖.....	122
N-(3,5-dimethylphenyl)-3-nitrobenzamide (20b) 碳譜圖.....	123
N-(3,5-dimethylphenyl)-3-nitrobenzamide (20b) 質譜圖.....	124
3-nitro-N-phenylbenzamide (20c) 氫譜圖.....	125
3-nitro-N-phenylbenzamide (20c) 碳譜圖.....	126
3-nitro-N-phenylbenzamide (20c) 質譜圖.....	127
3-amino-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (21a) 氫譜圖.....	128
3-amino-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (21a) 質譜圖.....	129
3-amino-N-(3,5-dimethylphenyl)benzamide (21b) 氫譜圖.....	130

3-amino-N-(3,5-dimethylphenyl)benzamide (21b) 碳譜圖.....	131
3-amino-N-(3,5-dimethylphenyl)benzamide (21b) 質譜圖.....	132
3-amino-N-phenylbenzamide (21c) 氫譜圖.....	133
3-amino-N-phenylbenzamide (21c) 碳譜圖.....	134
3-amino-N-phenylbenzamide (21c) 質譜圖.....	135
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-benzamide (16a) 氫譜圖.....	136
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-benzamide (16a) 碳譜圖.....	137
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-benzamide (16a) 質譜圖.....	138
N-(3,5-dimethylphenyl)-3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-benzamide (16b) 氫譜 圖.....	139
N-(3,5-dimethylphenyl)-3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-benzamide (16b) 碳譜 圖.....	140
N-(3,5-dimethylphenyl)-3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-benzamide (16b) 質譜 圖.....	141
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-phenylbenzamide (16c) 氫譜圖.....	142
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-phenylbenzamide (16c) 碳譜圖.....	143
Benzene-1,3-diamine (23) 氫譜圖.....	144
Benzene-1,3-diamine (23) 碳譜圖.....	145
Benzene-1,3-diamine (23) 質譜圖.....	146
N-(3-aminophenyl)-3-nitrobenzamide (24) 氫譜圖.....	147
N-(3-aminophenyl)-3-nitrobenzamide (24) 碳譜圖.....	148
N-(3-aminophenyl)-3-nitrobenzamide (24) 質譜圖.....	149
3-nitro-N-(3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)phenyl)benzamide (16d) 氫譜圖.....	150
3-nitro-N-(3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)phenyl)benzamide (16d) 碳譜圖.....	151
3-nitro-N-(3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)phenyl)benzamide (16d) 質譜圖.....	152
N-(furan-2-ylmethyl)-4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzamide (25) 氫譜 圖.....	153
4-((3-nitrophenyl)amino)benzoic acid (26) 氫譜圖.....	154
4-((3-nitrophenyl)amino)benzoic acid (26) 碳譜圖.....	155
4-((3-nitrophenyl)amino)benzoic acid (26) 質譜圖.....	156
N-(furan-2-ylmethyl)-4-((3-nitrophenyl)amino)benzamide (27a) 氫譜圖.....	157
N-(furan-2-ylmethyl)-4-((3-nitrophenyl)amino)benzamide (27a) 碳譜圖.....	158
N-(furan-2-ylmethyl)-4-((3-nitrophenyl)amino)benzamide (27a) 質譜圖.....	159
4-((3-nitrophenyl)amino)-N-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)- benzamide (27b) 氫譜圖.....	160

4-((3-nitrophenyl)amino)-N-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)-benzamide (27b) 碳譜圖.....	161
3-(3-nitrobenzamido)benzoic acid (28) 氮譜圖.....	162
N-(furan-2-ylmethyl)-3-(3-nitrobenzamido)benzamide (29a) 氮譜圖.....	163
N-(furan-2-ylmethyl)-3-(3-nitrobenzamido)benzamide (29a) 碳譜圖.....	164
N-(furan-2-ylmethyl)-3-(3-nitrobenzamido)benzamide (29a) 質譜圖.....	165
3-nitro-N-(3-((2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)carbamoyl)phenyl)-benzamide (29b) 氮譜圖.....	166
3-nitro-N-(3-((2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)carbamoyl)phenyl)-benzamide (29b) 碳譜圖.....	167
3-nitro-N-(3-((2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)carbamoyl)phenyl)-benzamide (29b) 質譜圖.....	168

表目錄

表 2.1: 50 μM 下苯甲醯苯胺衍生物對於 NF- κB 的抑制率與 IC50 值..	15
表 2.2: 50 μM 下苯甲醯苯胺衍生物對於 NF- κB 的抑制率與 IC50 值..	17
表 2.3: 50 μM 下苯甲醯苯胺衍生物對於 NF- κB 的抑制率與 IC50 值..	18
表 3.1: 化學試劑.....	20
表 4.1: 50 μM 濃度下衍生物對 NF- κB 之抑制率.....	73

圖目錄

圖 1.1: NF- κ B 與癌症、腫瘤的關係圖.....	1
圖 1.2: NF- κ B 與其相關疾病示意圖.....	3
圖 1.3: NF- κ B 訊號傳遞路徑.....	5
圖 1.4:阻斷 NF- κ B 訊號傳遞路徑的 5 種方法.....	8
圖 2.1:具有抑制 NF- κ B 活性的天然物.....	9
圖 2.2: IMD-0354 與 WY5107 的結構.....	10
圖 2.3:IKK 分別與 ATP、IMD-0354 的結合模型.....	11
圖 2.4 A):IMD-0354(右)與苯甲醯胺衍生物(左)與 IKK β 的 docking 位置 示意圖.....	12
圖 2.5:進行最小位能分析後的四環化合物.....	14
圖 2.6:將 WY5107 與 IMD-0354 以兩種橋樑相連在一起.....	15
圖 2.7:對調 WY5107 中間二級醯胺鍵之碳原子與氮原子.....	16
圖 2.8:最終產物之結構.....	17
圖 2.9:改變取代基之四環最終產物.....	18
圖 4.1:目標產物結構圖.....	62
圖 4.2: Buchwald–Hartwig 偶聯反應的反應機制.....	64
圖 4.3:鹼性條件下水解醯胺鍵.....	66

圖4.4:兩化合物的結構與其分別對於IKK β 的IC ₅₀ 值.....	77
圖4.5:化合物 (27a) 與 (25) 的結構差異圖.....	78
圖 6.1:保留 OH 取代基的四環化合物.....	81

第一章 緒論

惡性腫瘤又稱為癌症，泛指人體內細胞異常增生而影響其他細胞、組織與臟器，使其受損或萎縮，會有疼痛、食慾不振、夜間盜汗、體種減輕等初期症狀，而較為嚴重時則會有劇烈疼痛、咳血、器官出血等病狀，更甚為死亡。惡性腫瘤在年度十大死因中高居第一，其在人體的任何組織與器官中皆有可能會發生¹。

人體細胞的增生與凋亡，在正常狀態下是經過訊號傳遞路徑所調控的，若是在一連串的訊號傳遞路徑有任何一個環節發生異常，則有可能會產生腫瘤。其中，Nuclear Factor kappaB (NF- κ B) 的過度表現，即為細胞異常增生的主要原因之一：在人體細胞受到刺激之後，會活化細胞內的NF- κ B而引起發炎反應，若是發炎狀態一直持續著，最後可能會產生癌症，且NF- κ B活化之後也會產生抗細胞凋亡蛋白，使細胞自然凋亡的途徑受阻，致使細胞沒有辦法減少，總觀而言即為細胞的異常增生，也是腫瘤的產生，如圖 1.1 所示。

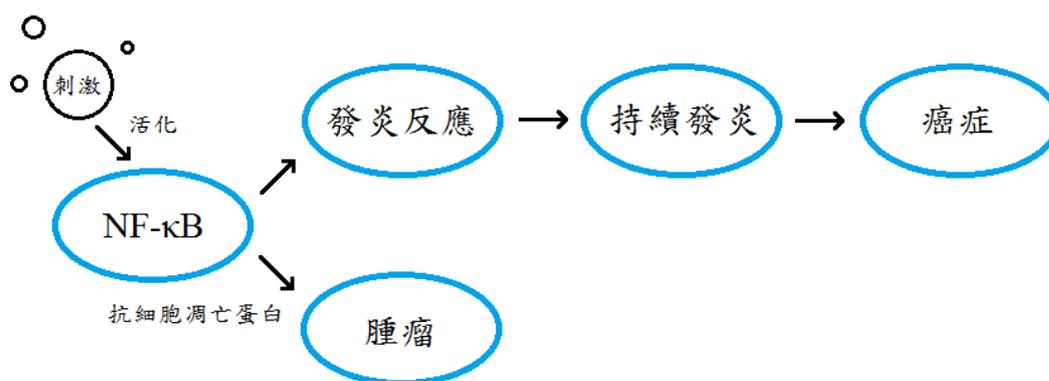


圖 1.1、NF- κ B 與癌症、腫瘤的關係圖。

1.1 NF- κ B 的結構與功能

NF- κ B存在於幾乎所有類型的動物細胞之中，為一個重要的轉錄因子 (transcription factor)，在穩定狀態下與抑制性蛋白I κ B結合，以非活化的狀態存在於細胞質中。而諸多刺激將會使NF- κ B活化，例如：細胞因子、自由基、紫外線照射、氧化LDL及細菌²。若NF- κ B受刺激而活化，NF- κ B將會進入細胞核之中，與DNA上 κ B序列 (enhance region of κ B-responsive genes) 結合，進行基因表現。NF- κ B也可調控細胞激素 (cytokines)、趨化激素 (chemokines)、以及黏附分子 (adhesion molecules) 的表現³。當細胞受到刺激時，這些激素將會被釋放出來，進而影響細胞的生長、活化、發炎、免疫力、組織修補或組織纖維化等功能。也因此NF- κ B與許多疾病有關，例如：發炎反應、關節炎、氣喘、動脈硬化、自身免疫疾病及癌症等^{4,5,6}，其相關疾病如圖1.2所示。

NF- κ B為二聚物 (dimer)，是由五種不同的次單元體 (subunits) 所組成的，這些次單元體為Rel家族的成員，分別為：p50、p52、p65 (Rel A)、Rel B 與 c-Rel，它們可以組成一個多變的同種雙體 (Homodimers) 或異種雙體 (Heterodimers)^{7,8,9}，而其中最常見的活化形式是以 RelA/p50 所構成的異種雙體^{10,11}。此五種蛋白質的胺基酸序列有一部分區域是相同的，稱為Rel homology region (RHR)¹²，

使得這些成員的胺基酸序列有著45%以上的相似度（約為300個胺基酸序列）。RHR在NF- κ B活化後，會結合在基因的kappaB位置上，透過目標基因上的啟動子（promoter）或促進子（enhancer）來調控目標基因的表現，而有不一樣的轉譯結果¹³。

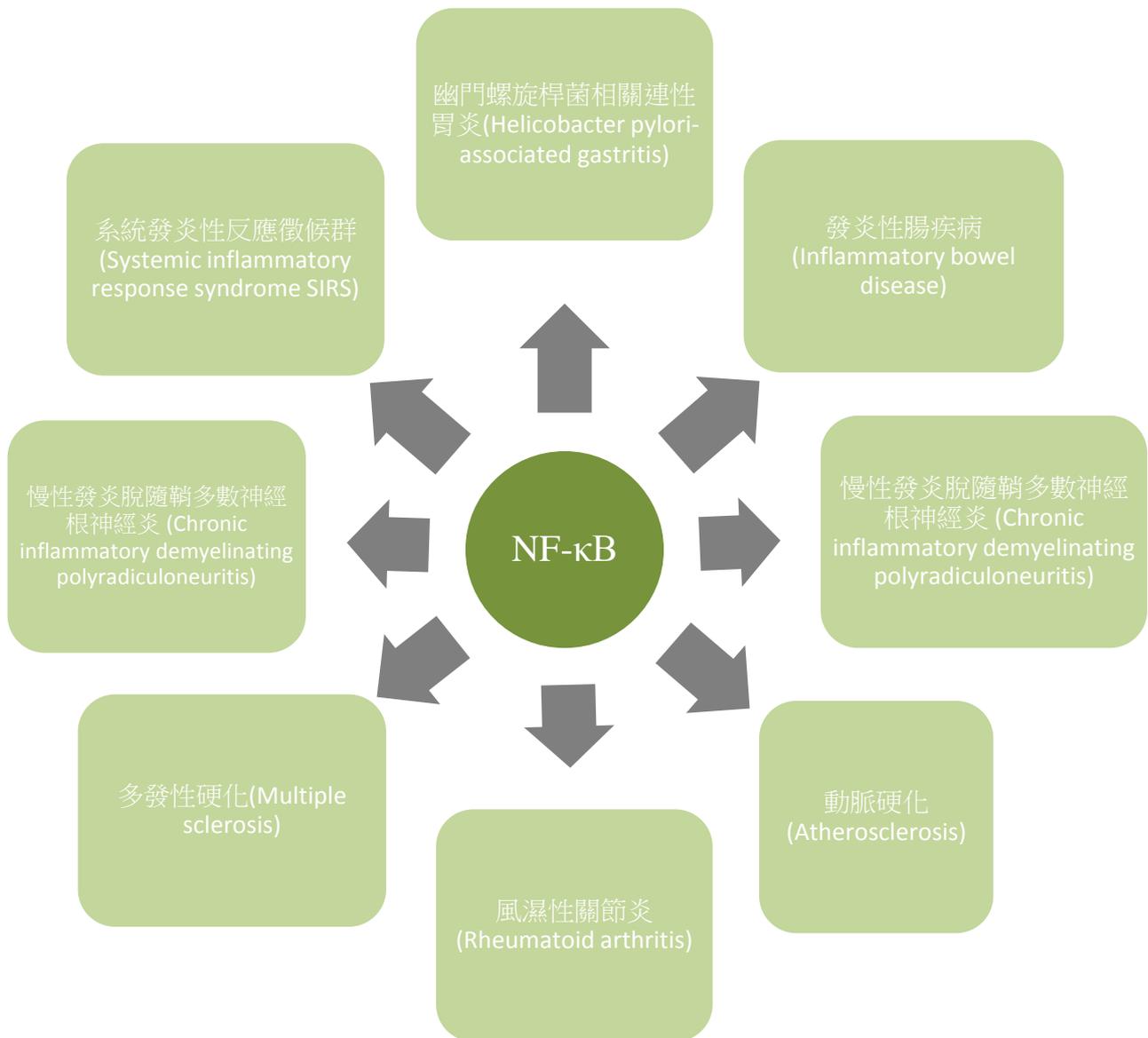


圖 1.2、NF- κ B 與其相關疾病示意圖。

1.2 NF- κ B 的訊號傳遞路徑

一般情況下 NF- κ B 與抑制性蛋白 (I κ B family) 結合著，以非活化的狀態存在於細胞質中，當細胞受到外來刺激如紫外線、病毒與細菌的產物 (LPS)、壓力因子 (stress)、細胞素 (IL-1, TNF- α) 時，I κ B α 蛋白分子上的 Ser-32 與 Ser-36 兩個特定胺基酸會先被活化的 IKK (I κ B kinase) 磷酸化 (phosphorylation)，使得 I κ B α 上的 lys-21 與 lys-22 很快被泛素作用 (ubiquitination)，隨後就被 26S 蛋白酶體 (proteasome) 辨識出來而將 I κ B α 降解 (degradation)。降解過後，NF- κ B 轉變成活化狀態，能夠進入 (translocation) 細胞核之中，並且辨識目標基因上 κ B 序列，與之結合，活化該基因的表現¹⁴，其訊號傳遞路徑之過程如圖 1.3 所示。

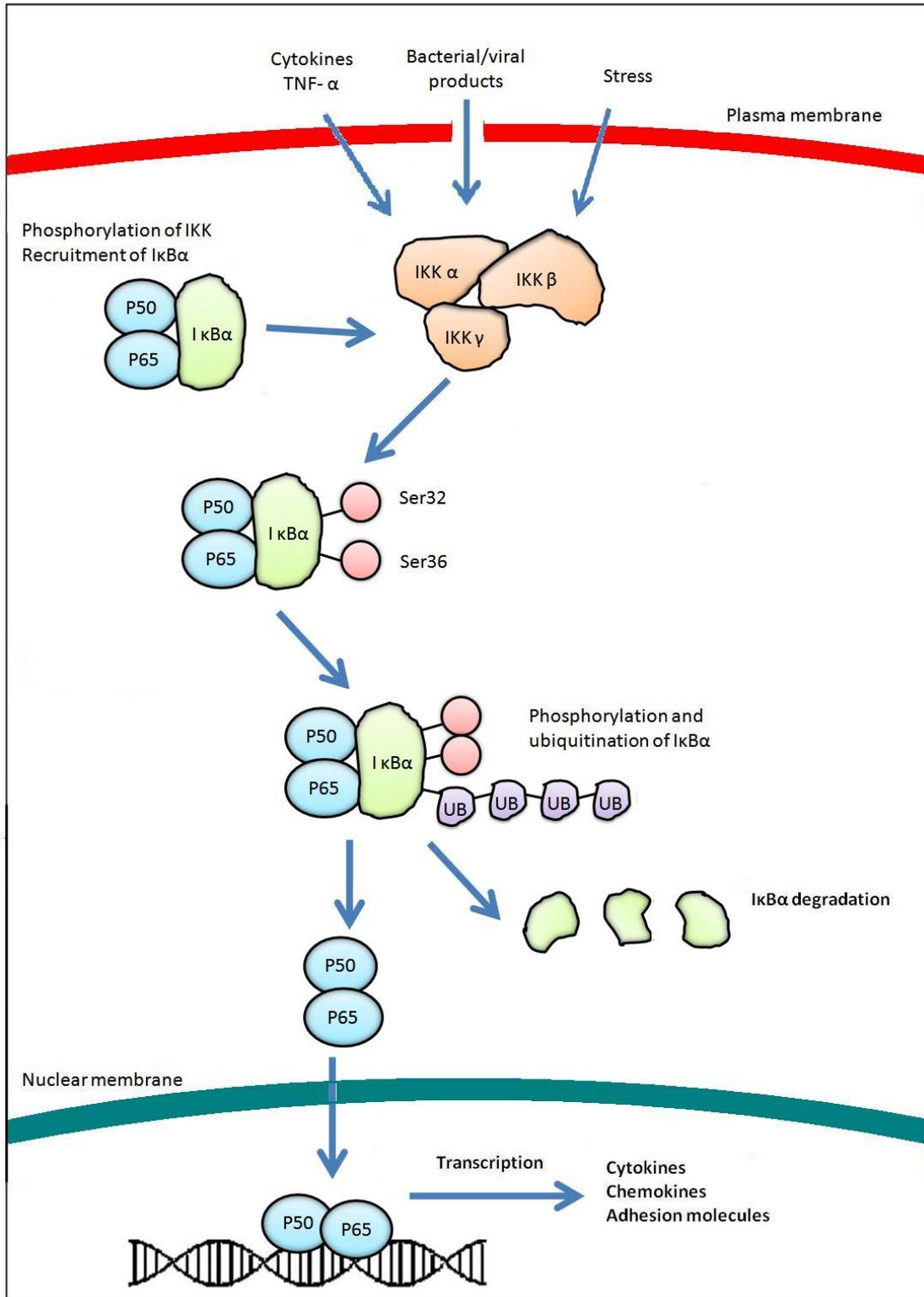


圖 1.3、NF-κB 訊號傳遞路徑。

1.3 NF- κ B 的抑制途徑

在未受到外來刺激的情況下，NF- κ B與I κ B蛋白質結合，以尚未活化的型態存在於細胞質中。不同的I κ B分別有特定的交互作用對象，如：I κ B- β 是與p50/c-Rel形成的NF- κ B二聚體形成交互作用，而I κ B- α 則是對p50/p65與p65/p65所形成的NF- κ B二聚體具有專一性交互作用，但並不能與p50/p50所形成的NF- κ B二聚體有交互作用之結合。基因的 I κ B- α 啟動子中含有NF- κ B site，因此NF- κ B在活化後其基因行轉錄作用（transcription）而產生I κ B- α mRNA，其再經由轉譯作用（translation）而合成I κ B- α 蛋白。其中I κ B- α 與NF- κ B之間的作用力高於NF- κ B與DNA之間的作用力，所以當I κ B- α 進入細胞核後，會將細胞核中已被活化的NF- κ B帶回細胞質，阻止NF- κ B與DNA的結合，且I κ B- α 被降解後，NF- κ B只會短暫活化基因表現。I κ B- β 啟動子中並沒有NF- κ B site，所以NF- κ B活化後不會有I κ B- β 蛋白產生，以致I κ B- β 在被降解後，會使NF- κ B持續活化基因的表現。

NF- κ B 的活化除了與發炎反應有關之外，也會影響癌症的形成，如：細胞凋亡（apoptosis）。細胞凋亡與細胞壞死不同，細胞凋亡為正常細胞受到外在刺激後，在基因調控下所產生的自然死亡；而細胞壞死則是正常細胞受到損傷後，而導致細胞死亡。正常狀況下，細胞若是沒有受到損害壞死，最終都會進入細胞凋亡的程序，此程序在進行

時，能夠偵測到富含胱氨酸（cysteine）結構的蛋白質，其能夠促使細胞凋亡的作用，稱為 caspase。但 NF- κ B 的活化，會促使 cIAPs（caspase inhibitors of apoptosis proteins）、XIAP（X-linked inhibitor of apoptosis）、Bcl-x（B cell lymphoma x）、以及 Bcl-2（B cell lymphoma 2）的表現，此表現會抑制 caspase 蛋白的活化，使得細胞凋亡無法正常進行^{15,16}。所以 NF- κ B 會導致細胞免受於 caspase 蛋白所進行的細胞凋亡程序¹⁷，其中若是 NF- κ B 過度表現，則會導致腫瘤的產生。

由上述所知，NF- κ B對於發炎反應與免疫疾病的調控，扮演著非常重要的關鍵腳色，若是當NF- κ B誘發細胞進行異常增生，發炎、腫瘤與癌症也會隨之而來。所以阻斷NF- κ B的訊號傳遞路徑已經變成很多研究單位致力的目標，而大致上要阻斷此路徑的方法，可以歸納出以下五點，如圖1.4所示。

- (1) 阻止IKK complex被活化。
- (2) 抑制I- κ B被磷酸化。
- (3) 防止I- κ B被降解。
- (4) 阻礙活化的NF- κ B（translocation）進入細胞核內。
- (5) 在未與DNA結合前，阻止NF- κ B與其結合。

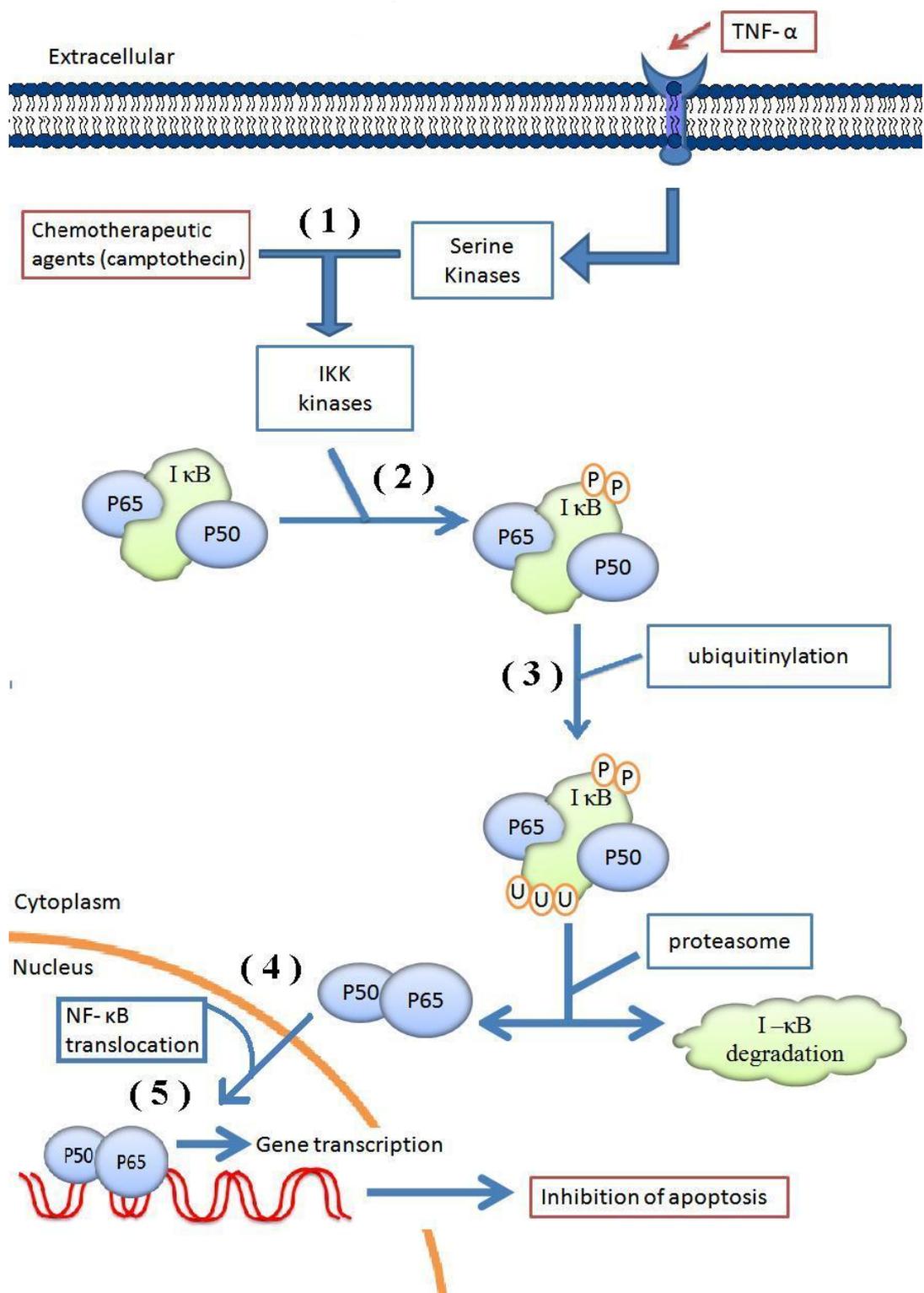


圖 1.4、阻斷 NF-κB 訊號傳遞路徑的 5 種方法。

第二章 研究動機與實驗設計

目前對於NF- κ B抑制藥物的研究在近幾年已有多方面的成果：環境中有部分的天然物已經被證實了具有抑制NF- κ B之活性的功效，如圖2.1所示。其中芹黃素（Apigenin）證實能夠抑制乳腺癌¹⁸，薑黃素（Curcumin）則會透過抑制IKK蛋白質的活性而中斷NF- κ B訊號傳遞路徑來抑制其活性，達到抗發炎與抗癌的效果¹⁹。從洋蔥單離出來的DDMP與從大蒜中單離出來的thiacremonone分別都能藉由抑制NF- κ B活化誘導細胞之凋亡，來抑制大腸癌細胞的生長^{20,21}；除了天然物之外，由日本公司MMD所開發出的化合物IMD-0354，能夠藉由與IKK β 的ATP活化位置競爭使得IKK β 失去活性，進而抑制NF- κ B活性²²，如圖2.2所示。

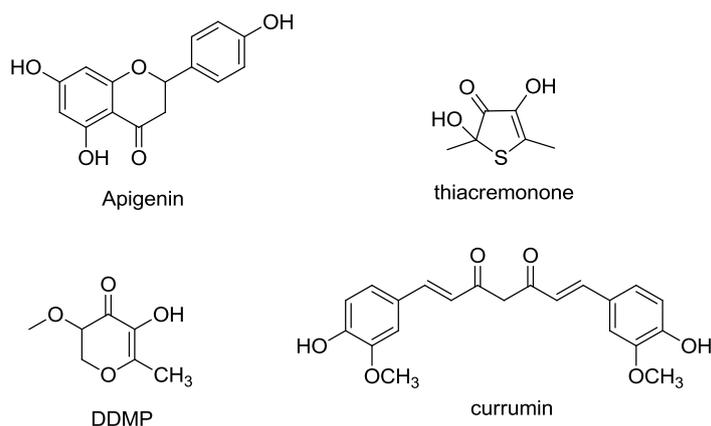


圖 2.1、具有抑制 NF- κ B 活性的天然物。

本研究係以WY5107作為前導化合物，並將結構延伸或置換，以探討其活性的增益，而WY5107為李宜蓉學姊，以IMD-0354為前導化合物所設計合成的²³，如圖2.2所示。

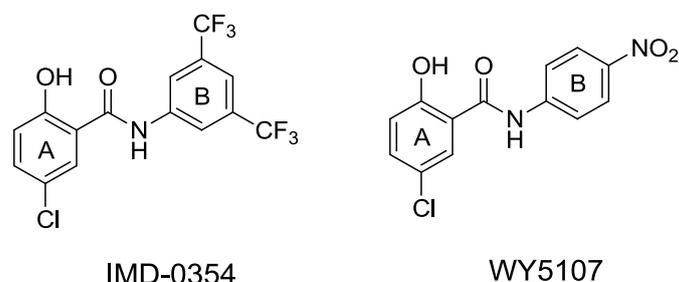


圖2.2、IMD-0354與WY5107的結構

IMD-0354 (3,5-Bis-trifluoromethylphenyl)-5-chloro-2-hydroxyl-benzamide)，於2002年由日本公司Medical Molecular Design發表專利，為小分子抑制劑，能夠有效的抑制IKK β ，因而阻斷IKK複合體的活化²²。而在2005年Blood期刊中²⁴發表了IKK β 與IMD-0354的結合模型，其IMD-0354所結合的位置，與IKK β 進行磷酸化時，ATP結合的位置非常相近，且由結合部位的結果中可以發現，IMD-0354在活化部位中可能與Lys44有交互作用力，因此可以推論IMD-0354與ATP競爭相同的活化位置，進而阻斷IKK複合體的活化，如圖2.3所示。根據文獻中顯示，IMD-0354若被應用於抑制人類乳癌細胞、大腸直腸癌與人類腫瘤肥大細胞，皆有良好的效果²⁴。

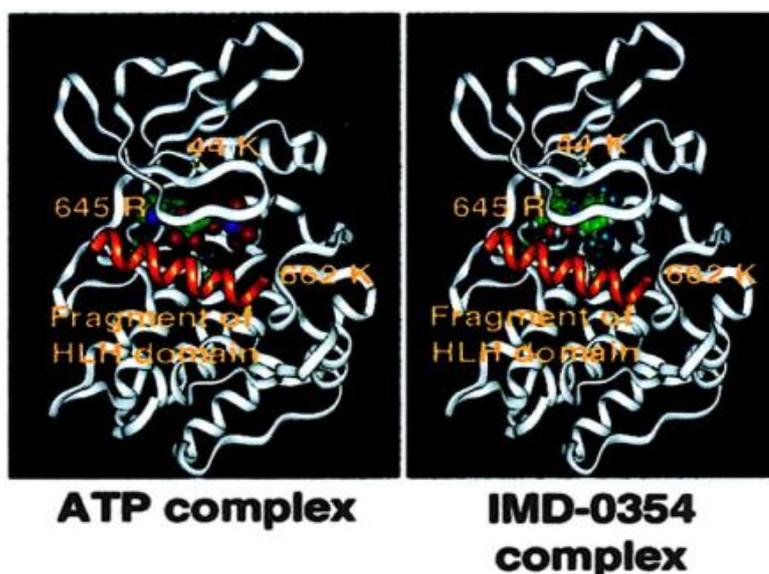


圖2.3、IKK分別與ATP、IMD-0354的結合模型²⁵

IMD-0354的結構為一醯胺鍵連接兩個苯環，A環的二號位置為羥基，五號位置為氯基，B環的三號與五號位置皆為三氟甲基。二級醯胺鍵上有一個氫鍵提供者（胺基上的氫原子）與一個氫鍵接受者（碳上的氧原子），其能與IKK β 形成氫鍵交作用力。A環上的羥基有可能與IKK β 形成氫鍵，而B環上的三氟甲基則有可能與IKK β 形成疏水性或氫鍵交作用力。上述這些可能形成的交作用力可以促使IMD-0354與IKK β 競爭ATP的結合部位，與IKK β 結合，而抑制IKK β 的磷酸化。

WY5107結構與IMD-0354很相近，A環上的取代基一樣，而B環上的取代基則是將兩個三氟甲基置換成在四號位置上為一個硝基，其對於NF- κ B的抑制活性大於100%，且WY5107的IC₅₀=2.1 μ M，與IMD-0354的IC₅₀=1.2 μ M之抑制效果都非常良好。我們將苯甲醯苯胺

衍生物（包含WY5107）與IMD-0354兩個化合物透過Discovery Studio的Libdock program軟體進行與IKK β 蛋白質的分子對接，發現其為兩個完全不同的活化位置，如圖2.4所示。

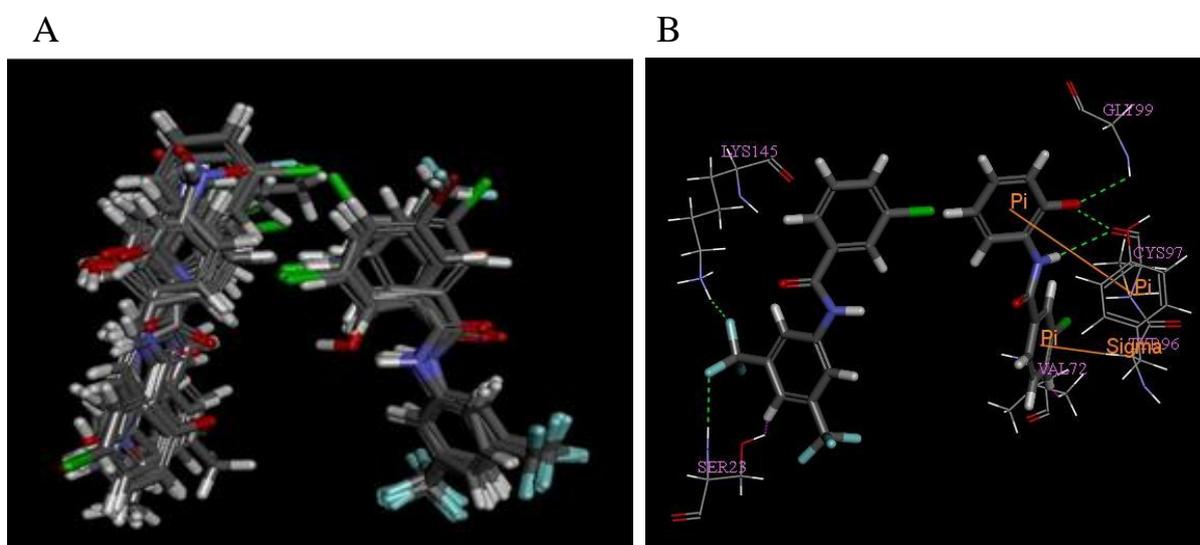


圖2.4、A). IMD-0354 (右) 與苯甲醯胺衍生物 (左) 與IKK β 的docking位置示意圖，其顯示為兩個完全不同的活化位置；B). IMD-0354 (左) 與苯甲醯胺衍生物 (右) 與IKK β 之間的關鍵交互作用力。

而根據分子對接的結果與文獻中的結論，產生了我們所設計之化合物的想法：Stephen W. Fesik團隊將能夠與RPA蛋白質鍵結，且鍵結位置非常相近的兩個化合物連接在一起，形成一個較大的化合物，此化合物能夠同時與兩個鍵結位置形成交互作用力，並且擁有非常好的抑制活性²⁶。而我們所選擇的化合物IMD-0354與WY5107兩個化合物除了都能與IKK β 形成交互作用力之外，根據分子對接的結果顯示它們與IKK β 的鍵結位置非常相近。因此，我們想以不同的橋樑結構

(胺基與二級醯胺鍵) 將WY5107與IMD-0354相連在一起，期待相連在一起的衍生物能夠達到更佳良好的IKK β 抑制活性。

橋樑的選定為胺基與二級醯胺鍵兩種不一樣的橋樑，此兩種橋樑皆含有能夠形成氫鍵交互作用力的結構：胺基橋樑為一個二級胺結構，在氮上面鍵結一個氫原子，為氫鍵的提供者；而二級醯胺鍵橋樑含有一個碳原子與氮原子，在碳的位置以雙鍵鍵結一個氧原子，為氫鍵的接受者，在氮上面相連一個氫原子，為氫鍵的提供者。二級醯胺鍵橋樑除了較胺基橋樑多了一個氫鍵接受者之外（碳原子上的氧原子），長度也較胺基橋樑多了一個碳原子，故在橋樑的選定方面，除了可以探討多了一個氫鍵接受者是否會造成對IKK β 抑制活性的差異之外，也能比較橋樑結構的長度是否會對於IKK β 抑制活性造成其他影響。另外，二級醯胺鍵橋樑的轉曲幅度並沒有胺基橋樑結構的轉曲幅度來的大，亦有可能會造成其他IKK β 抑制活性的影響。

我們利用分子對接的結果圖得知，橋樑結構的位置之選定應該為IMD-0354與W5107兩化合物之A環的鄰位或是間位，而對位因為角度相差太遠，所以不予考慮。我們透過使用ChemDRAW 3D，將IMD-0354與WY5107連在一起的四環結構進行最小位能的結構分析，其結果如圖2.5所示，其中圖A與B中的橋樑為胺基，而圖A的橋樑結構接於WY5107的間位與IMD-0354的間位；圖B的胺基橋樑則是接於

WY5107的間位與IMD-0354的對位。結果顯示，圖A的結構因為都是從間位延伸，可能導致結構之立體阻礙較大，而會使的其中一邊的結構往上翻轉，但圖B的則依然保持著原先預期的結構。另外，圖C與圖D的橋樑則是二級醯胺鍵，結果顯示圖D中的橋樑結構分別接於WY5107的間位與IMD-0354的鄰位，其整體結構也有可能會因為立體阻礙的關係，導致兩邊的結構出現一前一後的現象；而圖C的橋樑結構則是分別接於WY5107與IMD-0354的間位，結果顯示能夠保有原先預期的結構角度。

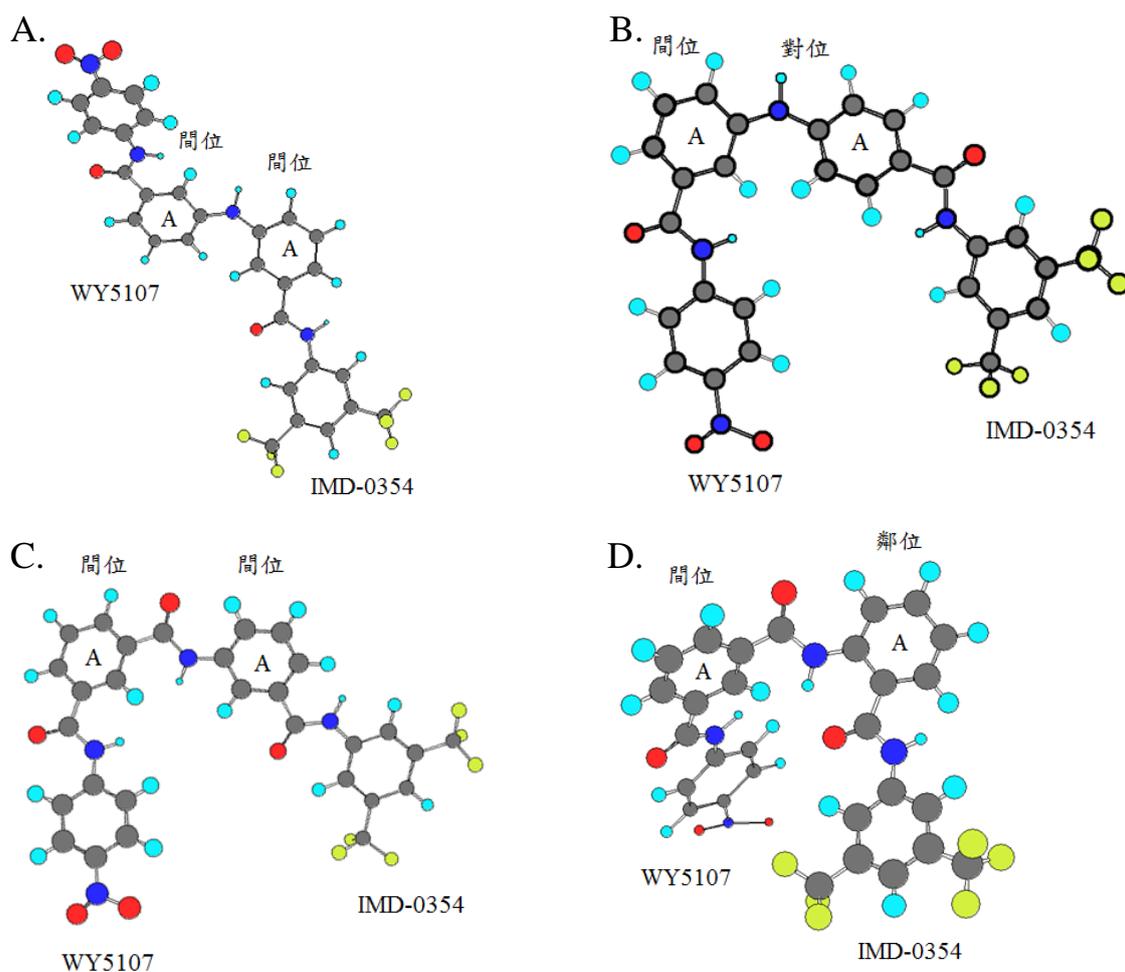


圖2.5、進行最小位能分析後的四環化合物

因此，根據最小位能的分析結果，我們將橋樑結構選定的位置，於圖2.6表示。

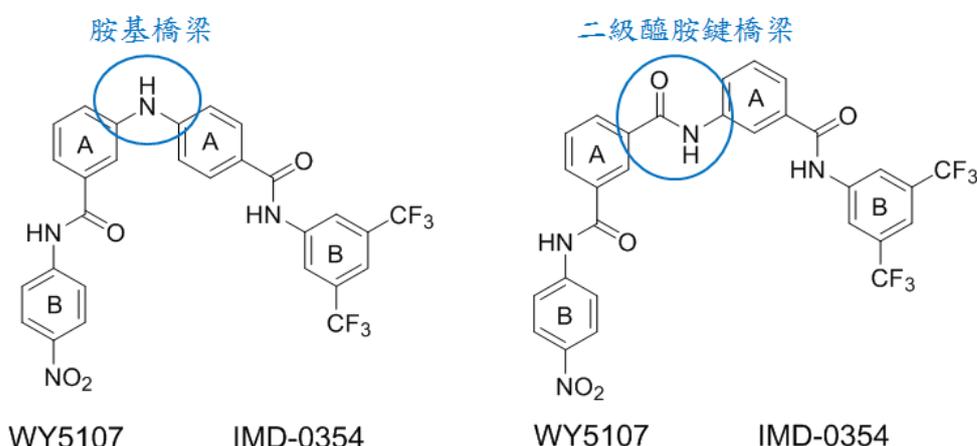


圖2.6、將WY5107與IMD-0354以兩種橋樑相連在一起。左為胺基橋樑，右為二級醯胺鍵橋樑。

除此之外，由學長姐論文中的比較結果中指出²⁷，在WY4102結構中若將A環上的取代基（2-OH, 5-Cl）分別去除，雖然增加了其IC₅₀的濃度，但是依然具有不錯的IKKβ的抑制活性，如表2.1所示。我們將原本3-Cl取代基的位置選擇為連接橋樑的位置，期望產物能具有良好的IKKβ抑制活性，而2-OH取代基因為合成上的困難，故將其省略。

表2.1、50 μM下苯甲醯苯胺衍生物對於NF-κB的抑制率與IC₅₀值²⁷。

編號	A環	B環	% inhibition of NF-κB (50 μM)	IC ₅₀ (μM)
*WY4102	3,5-CF ₃	2-OH, 5-Cl	>100	1.2±0.5
*WY4114	3,5-CF ₃	2-OH	>100	13.1±1.6
*WY4116	3,5-CF ₃	3-Cl	>100	9.8±1.2

另外，於WY5107的B環，是以對位的4-nitroaniline進行耦合反應形成醯胺鍵結構，但因為硝基為一強拉電子基，會降低苯環中的電子雲密度，進而降低苯環上對位的一級胺之親核性攻擊力，故在此將WY5107之部分的中間二級醯胺鍵的碳原子與氮原子對調，使得原本的初始物4-nitroaniline變成4-nitrobenzoic acid，如圖2.7所示。

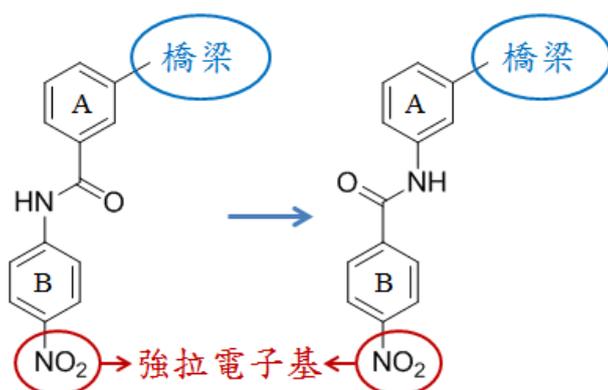


圖2.7、對調WY5107中間二級醯胺鍵之碳原子與氮原子。

這樣的改變使得形成WY5107中間醯胺鍵的耦合反應更容易進行，因為B環的對位硝基會將羧酸的電子密度降低，令羧酸基更容易被親核性攻擊。而根據文獻中描述，將苯甲醯苯胺化合物中間的醯胺鍵對調之後，其對於IKK β 仍然具有良好的抑制活性，如表2.2所示。故為了提高化合物產率，我們將醯胺鍵結構進行對調。

表2.2、50 μM 下苯甲醯苯胺衍生物對於NF- κB 的抑制率與 IC_{50} 值²⁷。

編號	A環	B環	% inhibition of NF- κB (50 μM)	IC_{50} (μM)
*IMD-0354	2-OH, 5-Cl	3,5-CF ₃	>100	1.2 \pm 0.3
*WY4102	3,5-CF ₃	2-OH, 5-Cl	>100	1.2 \pm 0.5

除此之外，於IMD-0354的B環上，取代基為3,5-CF₃，為強拉電子基，會使得IMD-0354之B環上的一級胺基電子雲密度降低，造成親核性取代反應的產率下降。而根據分子對接的結果顯示，IKK β 只會與IMD-0354之B環上的其中一個三氟甲基形成交互作用力，固為了使反應更利於進行，我們將IMD-0354的B環上的三氟甲基取代基去除一個，將拉電子的效益降低，進而提高IMD-0354之B環上的一級胺基之親核性攻擊力。而最終產物的化合物結構，如圖2.8所示。

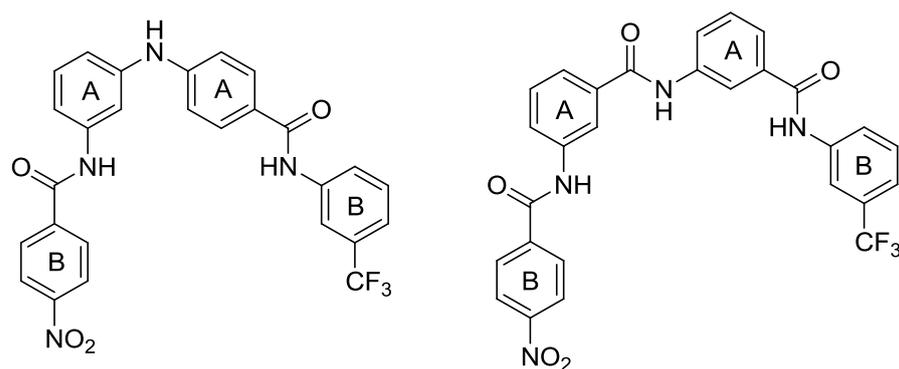


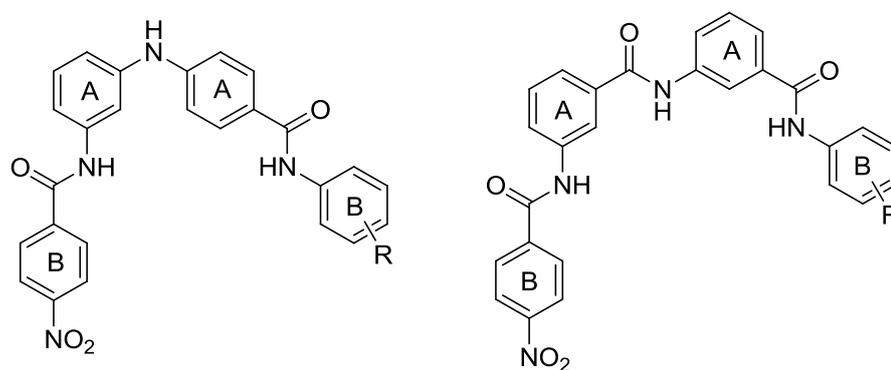
圖2.8、最終產物之結構。

最後，引用了學長姐碩士論文的生物活性數據²⁸，發現若是在IMD-0354的B環上以其他如3,5-CH₃，或是沒有任何取代基時，都有

不錯的抑制活性，如表2.3所示。故在有機合成的部分，除了合成IMD-0354之B環上有單一個三氟甲基取代基外，也和成了其他取代基如：3,5-CH₃、3-NO₂，與沒有取代基的苯環，比較他們之間的生物抑制活性之關聯性。如圖2.9所示。

表2.3、50 μM下苯甲醯苯胺衍生物對於NF-κB的抑制率與IC₅₀值²⁸。

編號	A環	B環	% inhibition of NF-κB (50 μM)
*3111	2-OH, 5-Cl	3,5-CH ₃	667.8
*3115	2-OH, 5-Cl	H	483.6



R= 3-CF₃, 3,5-CH₃, 3-NO₂, H

圖2.9、改變取代基之四環最終產物

第三章 實驗材料與方法

3.1 化學試藥、溶劑與儀器介紹：

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 及德國默克藥廠。反應、萃取及沖提用的溶劑如正己烷 (hexane)、乙酸乙酯 (EA)、二氯甲烷 (DCM)、甲醇 (MeOH) 均為試藥級，購自景明化工股份有限公司與友和貿易股份有限公司。
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. 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 (^{13}C NMR) 使用 Bruker 500 (500 MHz solars system)。測試樣品用氘氯仿 (CDCl_3)、二甲基亞風 ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 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 代表耦合常數 (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)。

5. 高解析質譜儀 (HRMS) 使用Finnigan/Thermo Quest MAT 95XL 質譜儀。

6. 高效能液相層析儀 (HPLC) 使用日本 Hitachi 5110 Quat Pump, Hitachi 5210 Autosampler, Hitachi 5310 Column Oven, Hitachi 5420 UV/VIS Detector.

7. 化學試藥

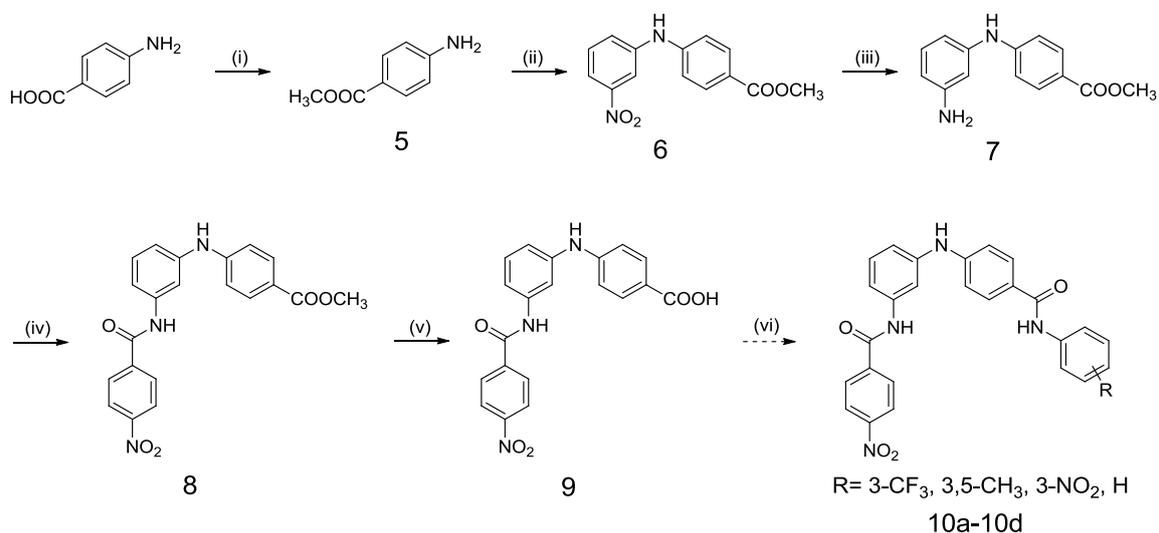
IUPAC 命名	簡稱	CAS NO.
Acetic acid	AcOH	64-19-7
Hydrochloric acid	HCl	7647-01-0
Sodium bicarbonate	NaHCO ₃	144-55-8
Sulfuric acid	H ₂ SO ₄	7664-93-9
4-Dimethylaminopyridine	DMAP	1122-58-3
Dimethylformamide	DMF	68-12-2
N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethyl-carbodiimide hydrochloride	EDCI	25952-53-8
Hydroxybenzotriazole	HOBt	2592-95-2
Methanol	MeOH	67-56-1
Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0)	Pd ₂ (dba) ₃	51364-51-3
Tri-tert-butylphosphine	P(tBu) ₃	13716-12-6
Potassium <i>tert</i> -butoxide	KOtBu	865-47-4
Triethylamine	Et ₃ N	121-44-8
Ethanol	EtOH	64-17-5

3.2 有機合成

3.2.1 第一系列合成：

本系列的合成以橋樑的不同分為兩個部分，第一部分為胺基橋樑的合成，先以甲醇（CH₃OH）與硫酸（H₂SO₄）形成酯基保護羧酸，以 Buchwald–Hartwig 偶聯反應將兩個苯環以 NH 的結構相連、使用鐵粉（Fe）與醋酸（AcOH）還原硝基，使其變成胺基，再以親核性取代反應接上醯氯化過後的基團，之後用 KOH 去掉酯類保護基，並在最後以耦合試劑（HOBt、DAMP、EDCI）接上含有不同取代基的第四個苯環，但因為化合物（6）之產率過低，使得後面產物的累量非常不易，故沒有成功合成出化合物 10a-10d。合成步驟如下所示：

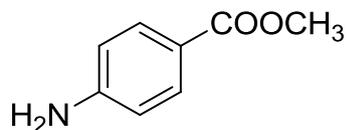
Scheme 1 :



Reagents and conditions :

(i) H₂SO₄, MeOH, reflux. (ii) 1-Bromo-3-nitrobenzene, Pd₂(dba)₃, P(tBu)₃, KOtBu, xylene, reflux. (iii) Fe, AcOH, H₂O, EtOH, 50°C. (iv) 4-Nitrobenzoyl chloride, Et₃N, DCM, reflux. (v) KOH, H₂O, acetone, 50°C. (vi) HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

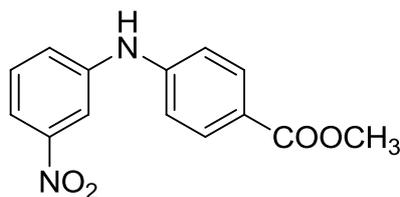
Methyl 4-aminobenzoate (5) :



取 4-Aminobenzoic acid (100 mg, 0.729 mmol) 於圓底瓶內，加入 5 mL 的甲醇將其溶解，再慢慢加入 H_2SO_4 (1 mL, 18.76 mmol)，加熱迴流反應 4 小時，反應完先降溫，以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO_3) 溶液及水 (H_2O) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到乳黃色固體 105.79 mg，產率為 96.0%。

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 7.85 (d, $J=5.8$ Hz, 2 H), 6.64 (d, $J=6.0$ Hz, 2 H), 3.83 (s, 3 H, CH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 167.15, 150.73, 131.56, 119.70, 113.79, 51.59 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 151.1.

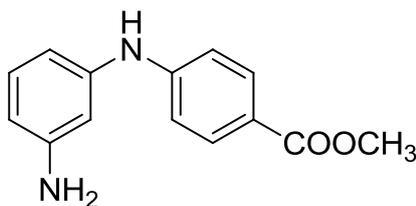
Methyl 4-((3-nitrophenyl)amino)benzoate (6) :



取 Methyl 4-aminobenzoate (100 mg, 0.367 mmol) 與 1-Bromo-3-nitrobenzene (122 mg, 0.604 mmol) 於圓底瓶內，通入氮氣，加入 5 mL 的 *o*-xylene，使其微微溶解，再加入 Potassium tert-butoxide (70 mg, 0.624 mmol)，此時溶劑從淡黃色漸漸變成深褐色，加入 Tri-tert-butylphosphine (0.1 mL, 0.412 mmol)，最後加入 Tris (dibenzylideneacetone)dipalladium(0) (1 mg, 0.0011 mmol)，加熱迴流反應 36 小時，待降溫之後加入 3 mL 的 1 M 鹽酸溶液中中和，以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 30 mL 的水 (H₂O) 萃取五次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，並且以矽藻土 (celite) 抽氣過濾去除鈰金屬，以旋轉濃縮機將溶劑抽乾，以乙酸乙酯 (EA) : 正己烷 (hexane) : 二氯甲烷 (DCM) = 1 : 6 : 1 進行管柱層析分離純化，得到亮黃色固體 44.26 mg，產率為 44.3%。

¹H NMR (d₆-DMSO, 300 MHz) : δ 9.26 (s, 1 H), 7.90–7.92 (m, 1 H), 7.88 (d, J=5.8 Hz, 2 H), 7.76 (d, J=7.2, 2.1 Hz, 1 H), 7.57–7.62 (m, 3 H), 7.19 (d, J=5.8 Hz, 2 H), 3.80 (s, 3H, CH₃) ; ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) : δ 166.62, 149.26, 145.83, 142.69, 131.63, 130.28, 124.23, 123.26, 116.75, 116.24, 112.97 ; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 272.1. m.p. 210°C

Methyl 4-((3-aminophenyl)amino)benzoate (7) :

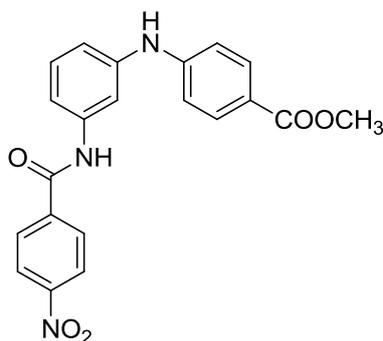


取 Methyl 4-((3-nitrophenyl)amino)benzoate (50 mg, 0.207 mmol)

於圓底燒瓶中，加入 10 mL 的 EtOH 將其溶解，再加入已先混合好的 AcOH/H₂O=4 mL/2 mL，最後加入鐵粉（約 500 mg, 8.954 mmol），加熱到 50°C 反應 2.5 小時，待降溫後用 10 mL 乙酸乙酯（EA）、10 mL 飽和食鹽水、5 mL 二氯甲烷（DCM）萃取三次，使用無水硫酸鎂（Magnesium sulfate hydrate）除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，以乙酸乙酯（EA）：正己烷（hexane）=1：3 進行管柱層析分離純化，得到褐色油狀物體 43.93 mg，產率為 87.6%。

¹H NMR (d₆-DMSO, 300 MHz) : δ 8.52 (s, 1 H), 7.76 (d, J=8.7, 2 H), 7.01 (d, J=8.7, 2 H), 6.94 (t, J=8.0 Hz, 1 H), 6.42 (s, 1 H), 6.32 (d, J=7.5 Hz, 1 H), 6.22 (d, J=8.1 Hz, 1 H), 5.10 (s, 2 H), 3.77 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) : δ 166.98, 148.01, 147.41, 141.92, 131.39, 130.32, 120.95, 114.88, 113.77, 110.71, 110.10, 106.67; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 242.1.

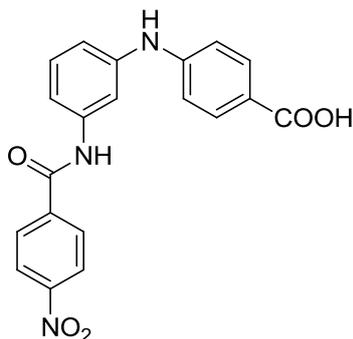
Methyl 4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoate (8) :



取 4-Nitrobenzoyl chloride (18.6 mg, 0.10 mmol) 於圓底瓶中，加入 5 mL 的二氯甲烷 (DCM) 將其溶解，再慢慢加入混合好的 Methyl 4-((3-aminophenyl)amino)benzoate (20 mg, 0.051 mmol)、30 μ L 的 Et_3N 與 2 mL 的二氯甲烷，加熱迴流反應 2 小時，待降溫後先以飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO_3) 溶液調成鹼性，再用 10 mL 乙酸乙酯 (EA)、與 10 mL 水 (H_2O) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到黃色固體 30.21 mg，產率為 77.2%。

^1H NMR (d_6 -DMSO, 300 MHz) : δ 9.88 (s, 1 H), 8.37 (d, $J=8.7$ Hz, 2 H), 8.23 (d, $J=9.3$ Hz, 2 H), 8.11 (s, 1 H), 7.87–7.90 (m, 3 H), 7.43 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H), 7.32 (t, $J=8.1$ Hz, 1 H), 7.19 (d, $J=8.7$ Hz, 2 H), 7.02 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H), 3.82 (s, 3H, CH_3) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 166.86, 149.81, 147.23, 142.07, 140.35, 138.38, 131.51, 130.18, 128.26, 124.09, 121.83, 116.27, 115.33, 114.21, 111.47 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 391.1. m.p. 214 $^\circ\text{C}$

4-((3-(4-Nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoic acid (9) :

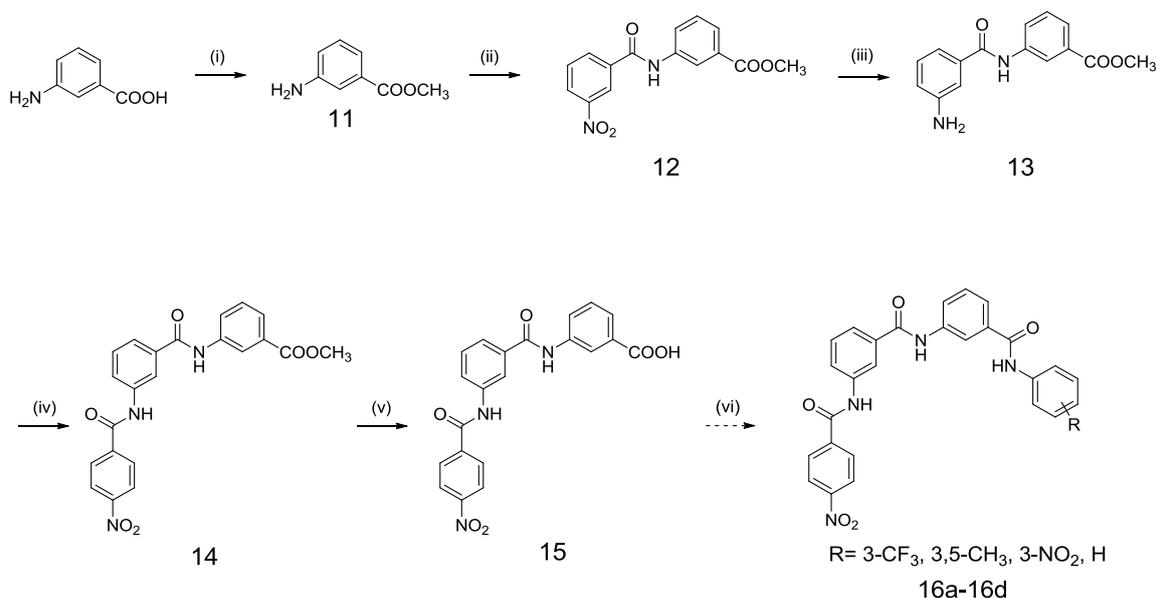


取 Methyl 4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoate (20 mg, 0.053 mmol) 於圓底燒瓶中，加入 5 mL 的 acetone 將其溶解，再加入蒸餾水 3 mL，最後加入 KOH (150 mg, 2.673 mmol)，加熱到約 50°C 反應 12 小時，待降溫後用 1 M 的鹽酸將 PH 值調成弱酸性，用 15 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 水 (H₂O) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，以乙酸乙酯 (EA) : 正己烷 (hexane) = 1 : 3 進行管柱層析分離純化，得到黃色固體 12.64 mg，產率為 63.2%。

¹H NMR (d₆-acetone, 300 MHz) : δ 9.87 (s, 1 H), 8.37 (d, J=9.0 Hz, 2 H), 8.23 (d, J=9.3 Hz, 2 H), 8.09 (s, 1 H), 7.89–7.93 (m, 3 H), 7.44 (d, J=8.1 Hz, 1 H), 7.32 (t, J=8.1 Hz, 1 H), 7.20 (d, J=8.7 Hz, 2 H), 7.02 (d, J=8.1 Hz, 1 H). decomp. 287°C

而本系列的第二部分是二級醯胺鍵橋樑之產物，先以甲醇 (MeOH) 與硫酸 (H₂SO₄) 形成酯基保護羧酸，以耦合反應將兩個苯環以二級醯胺鍵的結構相連、使用鐵粉 (Fe) 與醋酸 (AcOH) 還原硝基，使其變成胺基，再以親核性取代反應接上醯氯化過後的基團，最後用 KOH 去掉酯類保護基，並在最後以耦合試劑 (HOBt、DAMP、EDCI) 接上含有不同取代基的第四個苯環，但因為化合物 (15) 之溶解度非常差，非常不利於反應進行，故沒有成功合成出化合物 16a-16d。合成步驟如下所示：

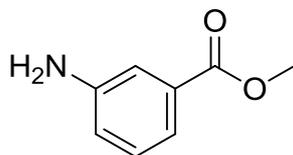
Scheme 2 :



Reagents and conditions :

(i) H₂SO₄, MeOH, reflux. (ii) HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux. (iii) Fe, AcOH, H₂O, EtOH, 100°C. (iv) 4-Nitrobenzoyl chloride, DCM, reflux. (v) KOH, H₂O, acetone, r.t. (vi) HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

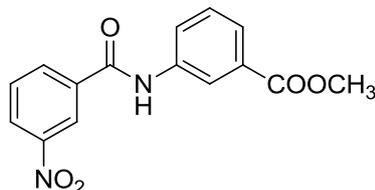
Methyl 3-aminobenzoate (11) :



取 3-Aminobenzoic acid (100.0 mg, 0.729 mmol) 於圓底瓶內，加入 5 mL 的甲醇將其溶解，再慢慢加入 H_2SO_4 (1 mL, 18.76 mmol)，加熱迴流反應 1.5 小時，反應完先降溫，以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO_3) 溶液及水 (H_2O) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到乳白色固體 107.55 mg，產率為 97.6%。

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 7.41 (t, $J=7.8$, 1.2 Hz, 1 H), 7.34 (t, $J=2.4$ Hz, 1 H), 7.20 (t, $J=8.1$ Hz, 1 H), 6.85 (d, $J=9.0, 2.6, 0.9$ Hz, 1 H), 3.88 (s, 3 H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 167.23, 146.46, 130.89, 129.11, 119.43, 119.30, 115.59, 51.90 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 151.1.

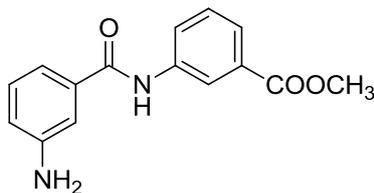
Methyl 3-(3-nitrobenzamido)benzoate (12) :



取 3-Nitrobenzoic acid (100 mg, 0.60 mmol) 於反應瓶中，加入 15 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，並加入 HOBt (125.8 mg, 0.93 mmol)、DMAP (112.5 mg, 0.92 mmol) 與 EDCI (141.6 mg, 0.74 mmol)，室溫下攪拌 30 分鐘，再加入已溶於 10 mL DCM 的 Methyl 3-aminobenzoate (92.5 mg, 0.61 mmol)，迴流攪拌 12 小時，反應完先降溫，先以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液萃取三次，再以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的 1 M 鹽酸水溶液 (HCl) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到乳白色固體 150.62 mg，產率為 83.6%。

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ 8.74 (t, J=1.2 Hz, 1 H), 8.41 (d, J=8.4, 2.3, 1.2 Hz, 1 H), 8.28 (d, J=7.8, 1.8, 0.9 Hz, 1 H), 8.20 (t, J=1.8 Hz, 1 H), 8.04 (d, J=8.1, 1.2 Hz, 1 H), 7.86 (d, J=7.8, 0.9 Hz, 1 H), 7.72 (t, J=8.1 Hz, 1 H), 7.48 (t, J=8.1 Hz, 1 H), 3.92 (s, 3 H) ; ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) : δ 166.52, 163.40, 148.25, 137.51, 136.14, 133.40, 130.18, 129.40, 126.58, 126.21, 124.94, 121.88, 121.39, 120.28, 109.30 ; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 300.1. m.p. 170~172°C

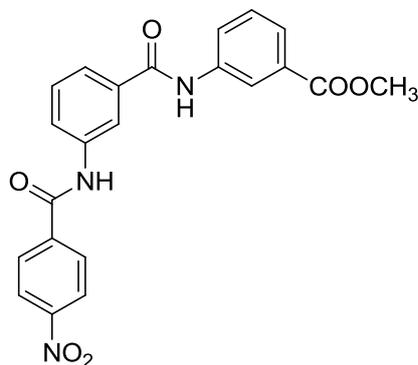
Methyl 3-(3-aminobenzamido)benzoate (13) :



取 Methyl 3-(3-nitrobenzamido)benzoate (51.2 mg, 0.17 mmol) 於圓底燒瓶中，加入 10 mL 的 EtOH 將其溶解，再加入已先混合好的 AcOH/H₂O=2 mL/2 mL，最後加入鐵粉 (約 95.0 mg, 1.70 mmol)，加熱到 100°C 反應 30 分鐘，待降溫後加入飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液將 Fe 析出，使用抽氣過濾將析出的 Fe 去除，將溶液以旋轉濃縮機抽乾溶劑，加入蒸餾水 (H₂O) 50 mL 與 30 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到褐色固體 38.78 mg，產率為 84.4%。

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ 8.13 (d, J=7.8 Hz, 2 H), 7.80 (d, J=7.8 Hz, 1 H), 7.44 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.26-7.18 (m, 4 H), 6.83 (d, J=7.8 Hz, 1 H), 3.91 (s, 3 H) ; ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) : δ 207.10, 166.71, 166.07, 147.03, 138.23, 135.74, 130.88, 129.68, 129.23, 125.43, 124.62, 120.97, 118.43, 116.33, 113.78 ; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 270.1. m.p. 148~151°C

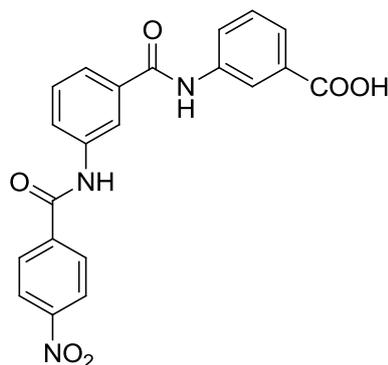
Methyl 3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoate (14) :



取 4-Nitrobenzoyl chloride (32.1 mg, 0.17 mmol) 於圓底瓶中，加入 10 mL 的二氯甲烷 (DCM) 將其溶解，再慢慢加入混合好的 Methyl 3-(3-aminobenzamido)benzoate (48.4 mg, 0.18 mmol)、30 μ L 的 Et_3N 與 10 mL 的二氯甲烷，加熱迴流反應 5 小時，待降溫後以 60 mL 飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO_3) 溶液與 20 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到乳白色固體 56.82 mg，產率為 79.7%。

^1H NMR (d_6 -DMSO, 300 MHz) : δ 10.79 (s, 1 H), 10.53 (s, 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.40 (d, $J=7.2$ Hz, 2 H), 8.35 (s, 1 H), 8.22 (d, $J=6.9$ Hz, 2 H), 8.09 (d, $J=8.7$ Hz, 1 H), 8.04 (d, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.78 (d, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.71 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H), 7.86-7.50 (m, 2 H), 3.88 (s, 3 H) ;
 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 166.16, 165.64, 164.11, 149.29, 140.30, 139.57, 138.96, 135.31, 130.07, 129.32, 129.21, 128.89, 124.79, 124.34, 123.68, 123.22, 120.84, 120.14, 52.28 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 419.2. m.p. 230°C

3-(3-(4-Nitrobenzamido)benzamido)benzoic acid (15) :



先將 KOH (150 mg, 2.673 mmol) 溶於 15 mL 丙酮 (acetone) 與 10 mL 的蒸餾水 (H₂O) 中，再將已經溶解於 10 mL 丙酮 (acetone) 的 Methyl 3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoate (50.2 mg, 0.12 mmol)，室溫攪拌 36 小時，以 50 mL 飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液與 15 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取兩次後，將收集的水層以 1 M 的鹽酸 (HCl) 將 pH 值調成弱酸性，再以 50 mL 蒸餾水 (H₂O) 與 20 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到白色固體 33.27 mg，產率為 68.4%。

¹H NMR (d₆-DMSO, 300 MHz) : δ 12.97 (s, 1 H), 10.78 (s, 1 H), 10.48 (s, 1 H), 8.43 (s, 1 H), 8.40 (d, J=8.7 Hz, 2 H), 8.34 (s, 1 H), 8.30 (d, J=9.0 Hz, 2 H), 8.04 (d, J=6.6 Hz, 2 H), 7.78 (d, J=9.0 Hz, 1 H), 7.69 (d, J=9.0 Hz, 1 H), 7.56 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.49 (t, J=7.8 Hz, 1 H); MS(EI) : m/z [M]⁺ : 404.2. decomp. 350°C

因為 scheme 2 的化合物 (15) 之溶解度太低，所以我們設計了新的 scheme 3 與 scheme 4：此兩條 scheme 分別是將最終產物以中間的二級醯胺鍵拆開來分為兩個部分的合成，左邊部分與右邊部分，如圖 3.1 所示。而最後進行最終產物的合成反應則寫在 scheme 4 中。

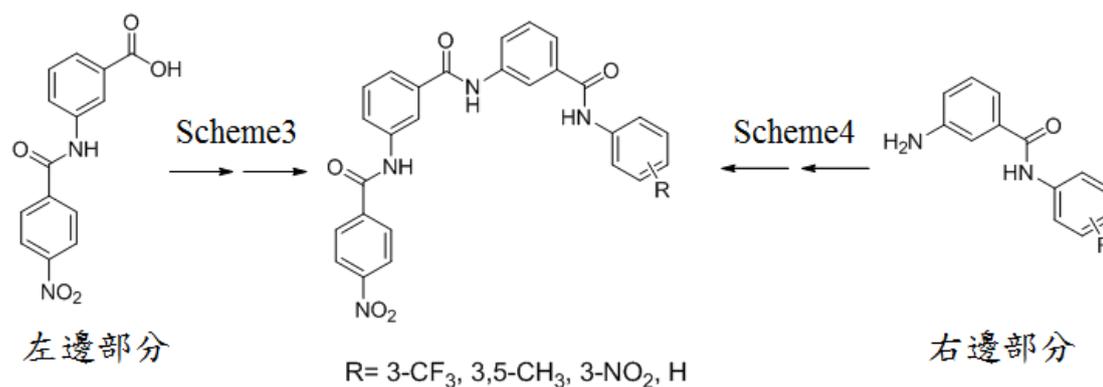
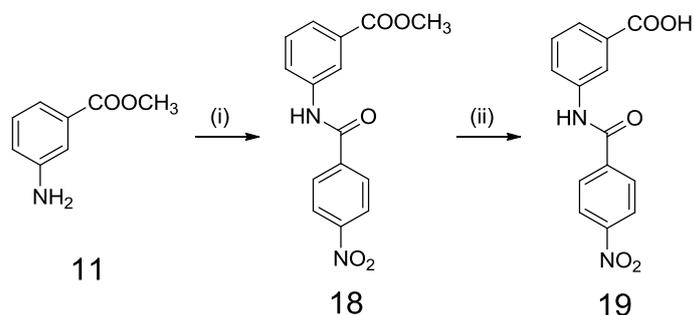


圖 3.1、產物以左右兩個部分為起始進行合成。

首先為左邊的部分，先將化合物 (11) 以親核性取代反應接上醯基化過後的基團，形成化合物 (18)，再以 KOH 去掉酯類保護基，使其裸露出羧酸。

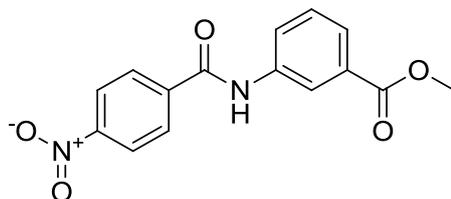
Scheme 3 :



Reagents and conditions :

(i) 4-Nitrobenzoyl chloride, Et₃N, DCM. (ii) KOH, H₂O, acetone.

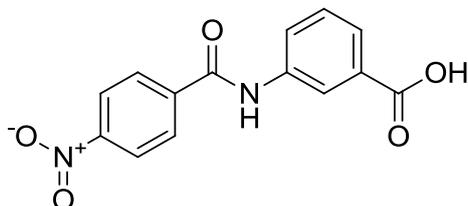
Methyl 3-(4-nitrobenzamido)benzoate (18) :



取 4-Nitrobenzoyl chloride (102.7 mg, 0.55 mmol) 於圓底瓶中，加入 20 mL 的二氯甲烷 (DCM) 將其溶解，再慢慢加入混合好的 Methyl 3-aminobenzoate (86.3 mg, 0.57 mmol)、30 μ L 的 Et_3N 與 10 mL 的二氯甲烷，室溫攪拌反應 12 小時，反應完後以 60 mL 飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO_3) 溶液與 20 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取兩次，再使用 60 mL 的 1 M 鹽酸 (HCl) 水溶液與 20 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取兩次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到淡黃色固體 141.04 mg，產率為 85.4%。

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 8.36 (d, $J=9.0$ Hz, 2 H), 8.17 (s, 1 H), 8.08-8.04 (m, 4 H), 7.88 (d, $J=6.6$ Hz, 1 H), 7.49 (t, $J=6.6$ Hz, 1 H), 3.93 (s, 3 H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 166.46, 163.71, 149.87, 140.05, 137.42, 131.15, 129.48, 128.30, 126.29, 124.80, 124.11, 121.23, 52.39 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 300.1. m.p. 194~196 $^\circ\text{C}$

3-(4-Nitrobenzamido)benzoic acid (19) :

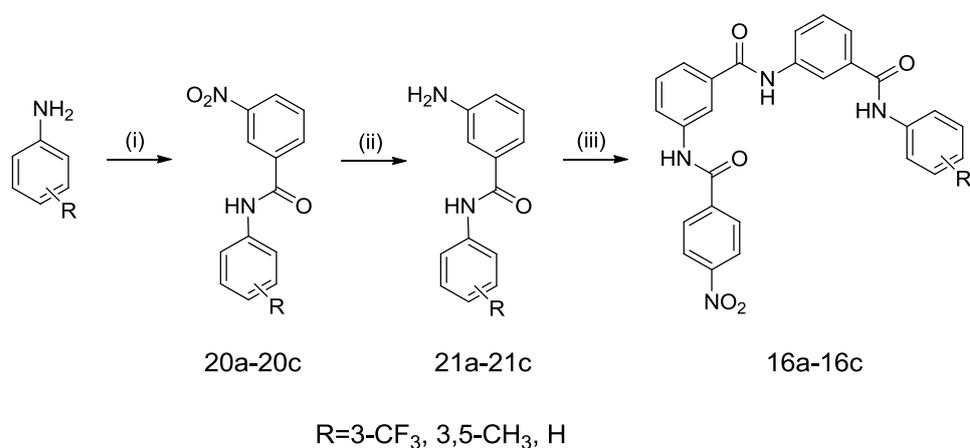


先將 KOH (150 mg, 2.673 mmol) 溶於 15 mL 丙酮 (acetone) 與 10 mL 的蒸餾水 (H₂O) 中，再將已經溶解於 10 mL 丙酮 (acetone) 的 Methyl 3-(4-nitrobenzamido)benzoate (50.6 mg, 0.17 mmol)，室溫攪拌 48 小時，以 50 mL 飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液與 15 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取兩次後，將收集的水層以 1 M 的鹽酸 (HCl) 將 pH 值調成弱酸性，再以 50 mL 蒸餾水 (H₂O) 與 20 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到淡黃色固體 42.68 mg，產率為 87.7%。

¹H NMR (d₆-DMSO, 300 MHz) : δ 13.1 (s, 1 H), 10.74 (s, 1 H), 8.42-8.37 (m, 3 H), 8.21 (d, J=7.5 Hz, 2 H), 8.04 (d, J=8.1 Hz, 1 H), 7.72 (d, J=7.8 Hz, 1 H), 7.51 (t, J=7.8 Hz, 1 H) ; ¹³C NMR (DMSO, 150 MHz) : δ 208.51, 167.17, 164.12, 149.29, 140.33, 139.00, 131.36, 129.33, 125.00, 124.56, 123.65, 121.27 ; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 286.1. decomp. 286°C

接下來為右邊部分的合成：先以耦合反應將羧酸端與胺端基團形成二級醯胺鍵相連，再使用 Fe 與 AcOH 還原硝基成胺基，最後將 scheme 3 的左邊部分產物與此 scheme 的產物以耦合反應相連，即為此系列之最終產物。

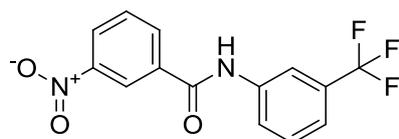
Scheme 4 :



Reagents and conditions :

(i) 3-Nitrobenzoic acid, HOBT, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux. (ii) Fe, AcOH, H₂O, EtOH, reflux. (iii) 3-(4-Nitrobenzamido)benzoic acid, HOBT, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

(i) 以 3-nitro-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (20a) 為例：

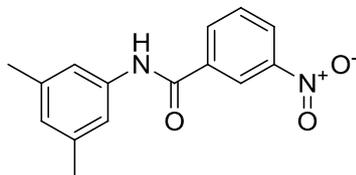


取 3-Nitrobenzoic acid (1 eq) 於反應瓶中，加入 10 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，再加入 HOBt (1.5 eq)、DMAP (1.5 eq) 與 EDCI (1.2 eq)，室溫下攪拌 30 分鐘，再加入已溶於 5 mL DCM 的 3-(Trifluoromethyl)aniline (1 eq)，迴流攪拌 6 小時，反應完先降溫，先以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 30 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO_3) 溶液萃取三次，再以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 30 mL 的 1 M 鹽酸水溶液 (HCl) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到淡黃色固體，產率為 78.3%。

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 9.10 (s, 1 H), 8.73 (t, $J=1.8$ Hz, 1 H), 8.36 (d, $J=8.4, 2.4, 1.2$ Hz, 1 H), 8.29 (d, $J=7.8, 1.5$ Hz, 1 H), 7.99 (s, 1 H), 7.89 (d, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.66 (t, $J=8.1$ Hz, 1 H), 7.47 (t, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.41 (d, $J=8.1$ Hz, 1 H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 163.75, 148.12, 138.12, 136.01, 133.64, 131.43 ($J=32.1$ Hz), 130.07, 129.65, 126.52, 123.74 ($J=270.6$ Hz), 123.69, 122.08, 121.56 ($J=3.45$ Hz), 117.37 ($J=3.45$ Hz) ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 310.1. m.p. 126~128°C

以下為另外兩個產物的化學位移與物化特性：

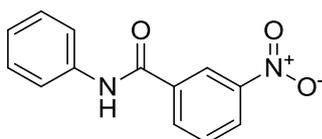
N-(3,5-Dimethylphenyl)-3-nitrobenzamide (20b) :



乳黃色固體，產率為 65.6%。

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 8.67 (t, $J=1.8$ Hz, 1 H), 8.38 (d, $J=8.1, 2.1, 0.9$ Hz, 1 H), 8.24 (d, $J=7.8, 1.5, 0.9$ Hz, 1 H), 7.99 (s, 1 H), 7.68 (t, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.27 (s, 2 H), 6.83 (d, $J=0.6$ Hz, 1 H), 2.32 (s, 6H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 163.16, 148.20, 138.97, 137.01, 136.67, 133.33, 130.06, 127.00, 126.27, 121.73, 118.22, 118.10 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 270.2. m.p. 182°C

3-Nitro-N-phenylbenzamide (20c) :

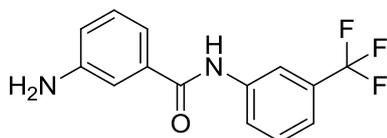


深黃色固體，產率為 69.1%。

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 8.70 (s, 1 H), 8.52 (s, 1 H), 8.36 (d, $J=7.5$ Hz, 1 H), 8.25 (d, $J=7.5$ Hz, 1 H), 7.68-7.63 (m, 3 H), 7.37 (t, $J=7.5$ Hz, 1 H), 7.18 (t, $J=7.5$ Hz, 1 H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 163.45, 148.14, 137.36, 136.56, 133.48, 129.99, 129.14, 126.27, 125.16, 121.95, 120.59 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 242.1. m.p. 156°C

(ii) 以 3-Amino-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (21a) 為

例：

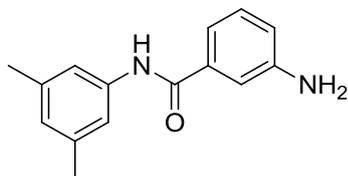


取 3-Nitro-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (1 eq) 於圓底燒瓶中，加入 10 mL 的 EtOH 將其溶解，再加入已先混合好的 AcOH/H₂O=2 mL/2 mL，最後加入鐵粉 (10 eq)，加熱到 100°C 反應 30 分鐘，待降溫後加入飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液將 Fe 析出，使用抽氣過濾將析出的 Fe 去除，將溶液以旋轉濃縮機抽乾溶劑，加入蒸餾水 (H₂O) 50 mL 與 30 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到深褐色油狀物體，產率為 88.3%。

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ 8.07 (s, 1 H), 7.93 (s, 1 H), 7.85 (d, J=8.1 Hz, 1 H), 7.46 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.38 (d, J=7.5 Hz, 1 H), 7.24 (t, J=7.5 Hz, 1 H), 7.19-7.15 (m, 2 H), 6.84 (d, J=7.5 Hz, 1 H), 3.34 (s, 2 H); MS (EI) : m/z [M]⁺ : 280.1.

以下為另外兩個產物的化學位移與物化特性：

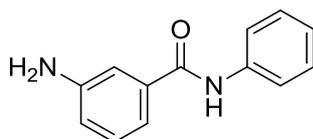
3-Amino-N-(3,5-dimethylphenyl)benzamide (21b) :



深褐色固體，產率為 86.2%。

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 7.72 (s, 1 H), 7.26-7.20 (m, 3 H), 7.19 (t, $J=1.8$ Hz, 1 H), 7.17 (d, $J=7.8, 1.8, 1.2$ Hz, 1 H), 6.82 (d, $J=7.8, 2.4, 1.2$ Hz, 1 H), 6.79 (s, 1 H), 3.83 (s, 2 H), 2.32 (s, 6H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 165.86, 146.95, 138.74, 137.76, 136.31, 129.57, 126.18, 118.11, 117.84, 116.23, 113.75 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 240.2. m.p. 145~148°C

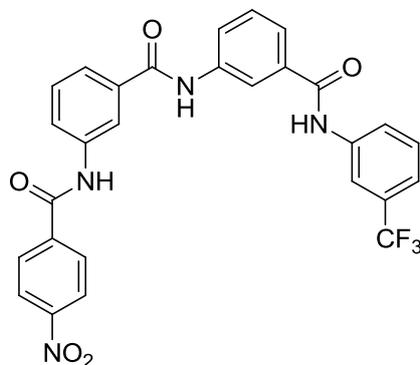
3-Amino-N-phenylbenzamide (21c) :



深褐色固體，產率為 85.9%。

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) : δ 7.93 (s, 1 H), 7.62 (d, $J=7.5, 1.2$ Hz, 2 H), 7.34 (t, $J=7.2$ Hz, 2 H), 7.21 (t, $J=7.5$ Hz, 1 H), 7.18-7.10 (m, 3 H), 6.80 (d, $J=7.8, 2.4, 1.5$ Hz, 1 H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) : δ 165.94, 146.99, 137.94, 136.18, 129.63, 129.07, 124.45, 120.10, 118.22, 116.26, 113.78 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 212.1. m.p. 112~114°C

(iii) 以 3-(3-(4-Nitrobenzamido)benzamido)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-benzamide (16a) 為例：

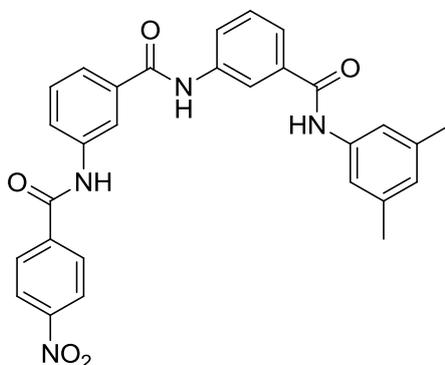


取 3-(4-Nitrobenzamido)benzoic acid (1 eq) 於反應瓶中，加入 10 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，再加入 HOBt (1.5 eq)、DMAP (1.5 eq) 與 EDCI (1.2 eq)，室溫下攪拌 30 分鐘，再加入已溶於 5 mL DCM 的 3-Amino-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (1 eq)，迴流攪拌 16 小時，反應完先降溫，觀察瓶中有固體析出，並以離心收集，最後以 45 mL 的 DCM、45 mL 的蒸餾水、45 mL 的 Acetone 各清洗兩次，得到淡褐色固體，產率為 51.2%。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$, 300 MHz) : δ 10.80 (s, 1 H), 10.61 (s, 1 H), 10.54 (s, 1 H), 8.41-8.37 (m, 4 H), 8.25-8.22 (m, 3 H), 8.09-8.02 (m, 3 H), 7.79 (d, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.73 (d, $J=8.4$ Hz, 1 H), 7.61-7.52 (m, 3 H), 7.46 (d, $J=6.9$ Hz, 1 H) ; $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO, 150 MHz) : δ 165.97, 165.61, 164.07, 149.27, 140.28, 139.97, 139.40, 138.96, 135.37, 135.13, 129.92, 129.29, 128.86, 128.80, 123.76, 123.63, 123.16, 122.79, 120.14, 119.96, 116.33, 116.30 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 548.1. m.p. 274~275°C

以下為另外兩個產物的化學位移與物化特性：

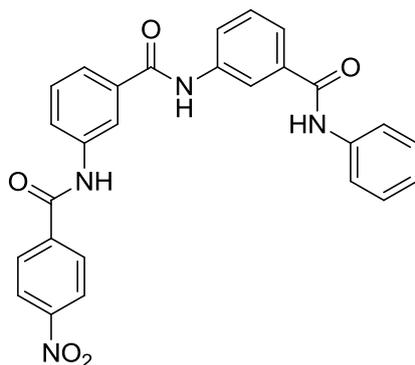
N-(3,5-Dimethylphenyl)-3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-benzamide (16b) :



以乙酸乙酯 (EA) : 正己烷 (hexane) = 2 : 3 進行管柱層析分離純化，以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到白色固體，產率為 43.4%。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{d}_6\text{-DMSO}$, 300 MHz) : δ 10.80 (s, 1 H), 10.51 (s, 1 H), 10.12 (s, 1 H), 8.39 (d, $J=8.4$ Hz, 2 H), 8.36 (s, 1 H), 8.23 (d, $J=8.4$ Hz, 2 H), 8.05-7.99 (m, 2 H), 7.79 (d, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.68 (d, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.59-7.48 (m, 3 H), 7.41 (s, 2 H), 6.75 (s, 1 H), 2.27 (s, 6H) ; $^{13}\text{C NMR}$ (DMSO, 150 MHz) : δ 165.56, 165.44, 164.06, 149.26, 140.28, 139.28, 139.01, 138.95, 137.53, 135.78, 135.41, 129.29, 128.85, 128.65, 125.21, 123.63, 123.25, 123.16, 122.65, 120.15, 119.95, 118.11, 21.16 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 508.1. m.p. 263°C

3-(3-(4-Nitrobenzamido)benzamido)-N-phenylbenzamide (16c) :

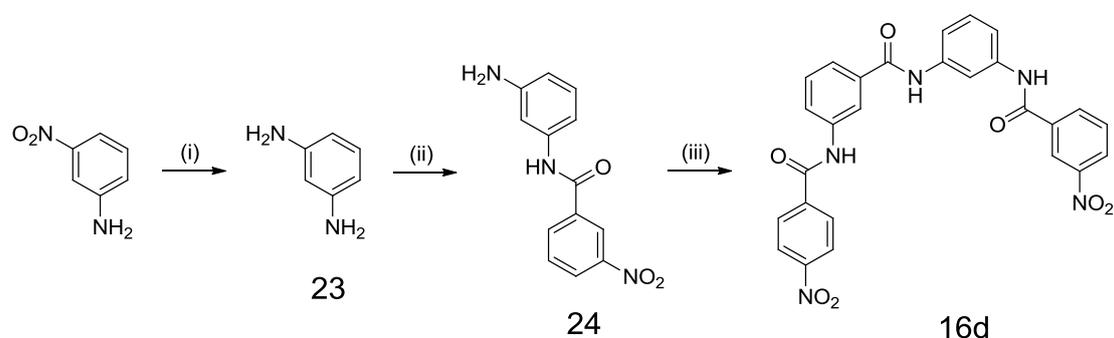


觀察瓶中有固體析出，並以離心收集，最後以 45 mL 的 DCM、45 mL 的蒸餾水、45 mL 的 Acetone 各清洗兩次，得到淡褐色固體，產率為 44.7%。

^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$, 300 MHz) : δ 10.79 (s, 1 H), 10.52 (s, 1 H), 10.29 (s, 1 H), 8.41 (m, 4 H), 8.23 (d, $J=9.0$ Hz, 2 H), 8.03 (d, $J=8.1$ Hz, 2 H), 7.80-7.77 (m, 3 H), 7.70 (d, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.59-7.50 (m, 2 H), 7.36 (t, $J=7.5$ Hz, 2 H), 7.11 (t, $J=7.5$ Hz, 1 H) ; ^{13}C NMR (DMSO, 150 MHz) : δ 165.59, 164.09, 149.28, 140.29, 139.32, 139.18, 138.96, 135.71, 135.41, 129.31, 128.88, 128.72, 128.66, 123.67, 123.31, 123.17, 122.70, 120.33, 120.15, 119.94. m.p. 306°C

最後，取代基為 3-NO₂ 的化合物並不適合 scheme 4 的合成方式，因為 scheme 4 中的 (ii) 步驟是以 Fe/AcOH 還原硝基，所以若是以 scheme 4 來合成取代基為 3-NO₂ 的最終產物，3-NO₂ 會一併在 (ii) 步驟時被還原，故將連接 3-NO₂ 的苯環之醯胺鍵，碳原子與氮原子對調，合成出另一個結構上稍有不同的化合物，並收錄於 scheme 5。

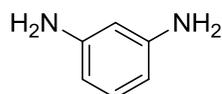
Scheme 5 :



Reagents and conditions :

(i) Fe, AcOH, H₂O, EtOH, 100°C. (ii) 3-Nitrobenzoic acid, HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF. (iii) 3-(4-Nitrobenzamido)benzoic acid, HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

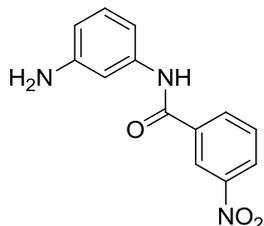
Benzene-1,3-diamine (23) :



取 3-Nitroaniline (50.3 mg, 0.36 mmol) 於圓底燒瓶中，加入 10 mL 的 EtOH 將其溶解，再加入已先混合好的 AcOH/H₂O=2 mL/2 mL，最後加入鐵粉 (約 97.0 mg, 1.74 mmol)，加熱到 100°C 反應 30 分鐘，待降溫後加入飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液將 Fe 析出，使用抽氣過濾將析出的 Fe 去除，將溶液以旋轉濃縮機抽乾溶劑，加入蒸餾水 (H₂O) 50 mL 與 30 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到淡褐色油狀物體 38.46 mg，產率為 98.8%。

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ 6.94 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 6.13 (d, J=2.1, 0.6 Hz, 1 H), 6.11 (d, J=2.1, 0.6 Hz, 1 H), 6.03 (t, J=2.1 Hz, 1 H), 3.55 (s, 4 H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) : δ 147.47, 130.19, 105.97, 101.89 ; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 108.1.

N-(3-Aminophenyl)-3-nitrobenzamide (24) :

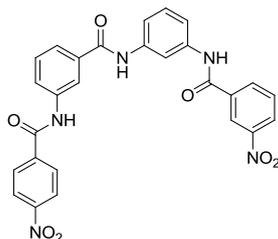


取 3-Nitrobenzoic acid (50.1 mg, 0.30 mmol) 於反應瓶中，加入 10 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，再加入 HOBt (61.2 mg, 0.45 mmol)、DMAP (55.0 mg, 0.45 mmol) 與 EDCI (70.4 mg, 0.37 mmol)，室溫下攪拌 30 分鐘，再將其慢慢加入已溶於 3 mL DCM 的 Benzene-1,3-diamine (66.3 mg, 0.61 mmol)，室溫攪拌 5 小時，反應完先降溫，先以 10 mL 乙酸乙酯(EA)與 10 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液萃取三次，再以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的 1 M 鹽酸水溶液 (HCl) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，以乙酸乙酯 (EA): 正己烷 (hexane) = 2 : 3 進行管柱層析分離純化，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到黃色固體 40.21 mg，產率為 52.1%。

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ 8.66 (s, 1 H), 8.35 (d, J=7.8 Hz, 1 H), 8.21 (d, J=7.5 Hz, 1 H), 8.15 (s, 1 H), 7.65 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.23 (s, 1 H), 7.11 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 6.84 (d, J=7.8 Hz, 1 H), 6.38 (d, J=7.8 Hz, 1 H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) : δ 163.10, 148.23, 147.30, 138.23, 136.69, 133.28, 130.12, 129.96, 126.34, 121.74, 111.95, 110.18, 106.90 ; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 257.1. m.p. 153°C

3-Nitro-N-(3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)phenyl)benzamid

(16d):



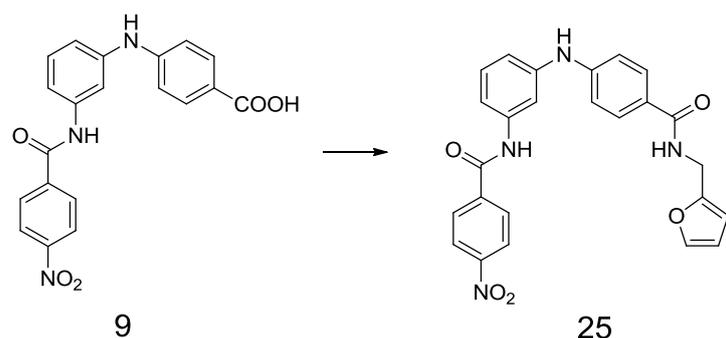
取 3-(4-Nitrobenzamido)benzoic acid (50.3 mg, 0.18 mmol) 於反應瓶中，加入 10 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，再加入 HOBt (36.0 mg, 0.27 mmol)、DMAP (32.2 mg, 0.26 mmol) 與 EDCI (43.2 mg, 0.26 mmol)，室溫下攪拌 30 分鐘，再慢慢加入已溶於 5 mL DCM 的 N-(3-Aminophenyl)-3-nitrobenzamide (45.2 mg, 0.18 mmol)，迴流攪拌 10 小時，反應完先降溫，以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 20 mL 的 1 M 鹽酸水溶液 (HCl) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，以乙酸乙酯 (EA): 正己烷 (hexane) = 1 : 3 進行管柱層析分離純化，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到白色固體 19.39 mg，產率為 20.5%。

^1H NMR (d_6 -DMSO, 300 MHz) : δ 10.78 (s, 1 H), 10.65 (s, 1 H), 10.39 (s, 1 H), 8.80 (s, 1 H), 8.43-8.32 (m, 6H), 8.21 (d, $J=9.0$ Hz, 2 H), 8.03 (d, $J=7.5$ Hz, 1 H), 7.84 (t, $J=7.8$ Hz, 1 H), 7.76 (d, $J=7.5$ Hz, 1 H), 7.57-7.51 (m, 3 H), 7.35 (t, $J=8.4$ Hz, 1 H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3) : δ 165.48, 164.05, 163.37, 149.26, 147.74, 140.29, 139.41, 138.90, 138.87, 136.29, 135.68, 134.26, 130.18, 129.65, 129.28, 128.74, 126.18, 123.63, 123.45, 123.19, 122.49, 120.12, 116.41, 116.20, 112.93 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 525.1. decomp. 220°C

3.2.2 第二系列合成：

因為根據第一系列的化合物（8）與（9）之生物活性實驗結果，得知以胺基橋樑所相連的三環化合物，並在苯環上有一酯基修飾時，其對於 IKK β 有良好的抑制活性，而若是以羧酸基修飾時，其抑制活性較為低一點。因此我們想將另外一個能與 IKK β 形成交互作用力的 NO.352 化合物以醯胺鍵鍵結於化合物（9）的羧酸位置，探討其抑制活性。另外，我們也找到另一個能與 IKK β 形成交互作用力的 NO.346 化合物，將其與 NO.352 分別接在胺基橋樑與二級醯胺鍵橋樑上，探討 WY5107 相對位置的重要性與 NO.353 及 NO.346 之間的影响。於 scheme 6 的合成，將化合物（9）以耦合反應接上 NO.352 化合物，形成化合物（25）。其反應步驟如下：

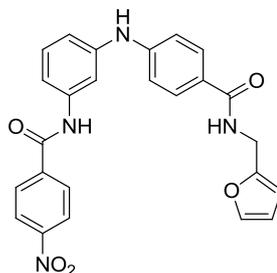
Scheme 6：



Reagents and conditions：

Furan-2-ylmethanamine, HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

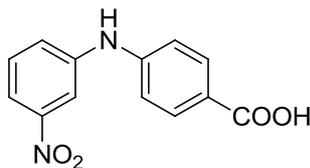
N-(furan-2-ylmethyl)-4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzamide (25) :



取 4-((3-(4-Nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoic acid (21.3 mg, 0.06 mmol) 於反應瓶中，加入 10 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，再加入 HOBt (11.4 mg, 0.08 mmol)、DMAP (10.3 mg, 0.08 mmol) 與 EDCI (13.8 mg, 0.07 mmol)，室溫下攪拌 30 分鐘，再加入已溶於 3 mL DCM 的 Furan-2-ylmethanamine (5.62 μ L, 0.08 mmol)，迴流攪拌 12 小時，反應完先降溫，先以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液萃取三次，再以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的 1 M 鹽酸水溶液(HCl)萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，以乙酸乙酯 (EA)：正己烷 (hexane) = 1：3 進行管柱層析分離純化，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到橘黃色固體 13.2 mg，產率為 51.2%。

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ 8.30 (d, J=8.7 Hz, 2 H), 8.05 (d, J=9.0 Hz, 2 H), 7.64 (d, J=8.4 Hz, 2 H), 7.37 (s, 1 H), 7.31 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.23 (d, J=8.4 Hz, 1 H), 7.03 (d, J=8.7 Hz, 2 H), 6.92 (d, J=9.0, 1 H), 6.35-6.33 (m, 1 H), 6.27 (d, J=3.0 Hz, 1 H), 6.05 (s, 1 H), 4.60 (d, J=5.4 Hz, 2 H). decomp. 216°C

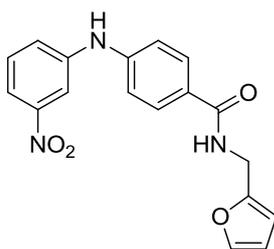
4-((3-Nitrophenyl)amino)benzoic acid (26) :



取 Methyl 4-((3-nitrophenyl)amino)benzoate (50 mg, 0.21 mmol) 於圓底瓶中，加入 10 mL 的 acetone 將其溶解，再加入蒸餾水 5 mL ，最後加入 KOH (150 mg, 2.67 mmol) ，加熱到約 50°C 反應 12 小時，以 50 mL 飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液與 15 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取兩次後，將收集的水層以 1 M 的鹽酸(HCl)將 pH 值調成弱酸性，再以 50 mL 蒸餾水 (H₂O) 與 20 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到深黃色油狀物體 43.65 mg ，產率為 80.5% 。

¹H NMR (d₆-acetone, 300 MHz) : δ 8.42 (s, 1 H), 8.04 (s, 1 H), 7.99 (d, J=8.7 Hz, 2 H), 7.80 (d, J=6.6 Hz, 1 H), 7.66 (d, J=6.6 Hz, 1 H), 7.59 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.27 (d, J=8.7 Hz, 2 H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) : δ 166.96, 148.66, 146.38, 143.34, 131.24, 130.70, 123.59, 122.31, 115.69, 115.09, 111.40 ; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 258.1.

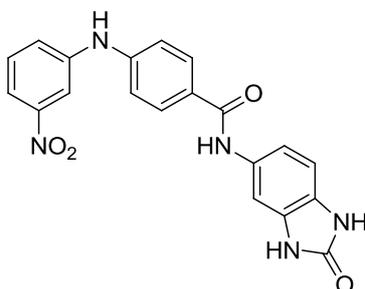
N-(Furan-2-ylmethyl)-4-((3-nitrophenyl)amino)benzamide (27a) :



取 4-((3-Nitrophenyl)amino)benzoic acid (21.7 mg, 0.08 mmol) 於反應瓶中，加入 10 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，再加入 HOBt (18.8 mg, 0.14 mmol)、DMAP (17.0 mg, 0.14 mmol) 與 EDCI (19.3 mg, 0.10 mmol)，室溫下攪拌 30 分鐘，再加入已溶於 3 mL DCM 的 Furan-2-ylmethanamine (7.49 μ L, 0.08 mmol)，迴流攪拌 18 小時，反應完先降溫，先以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液萃取三次，再以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的 1 M 鹽酸水溶液 (HCl) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，以乙酸乙酯 (EA)：正己烷 (hexane) = 1：3 進行管柱層析分離純化，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到橘黃色固體 14.30 mg，產率為 53.0%。

¹H NMR (d₆-DMSO, 300 MHz) : δ 9.07 (s, 1 H), 8.78 (s, 1 H), 7.88- 7.83 (m, 3 H), 7.72-7.60 (m, 1 H), 7.57-7.53 (m, 3 H), 7.17 (d, J=8.7 Hz, 2 H), 6.39 (d, J=1.8 Hz, 1 H), 6.26 (d, J=3.3 Hz, 1 H), 4.45 (d, J=5.4 Hz, 2 H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) : δ 166.43, 151.22, 149.29, 144.65, 143.15, 142.33, 130.24, 128.90, 127.41, 123.69, 117.11, 116.34, 112.28, 110.53, 107.71, 37.00 ; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 337.1. m.p. 153°C

4-((3-Nitrophenyl)amino)-N-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)benzamide (27b) :

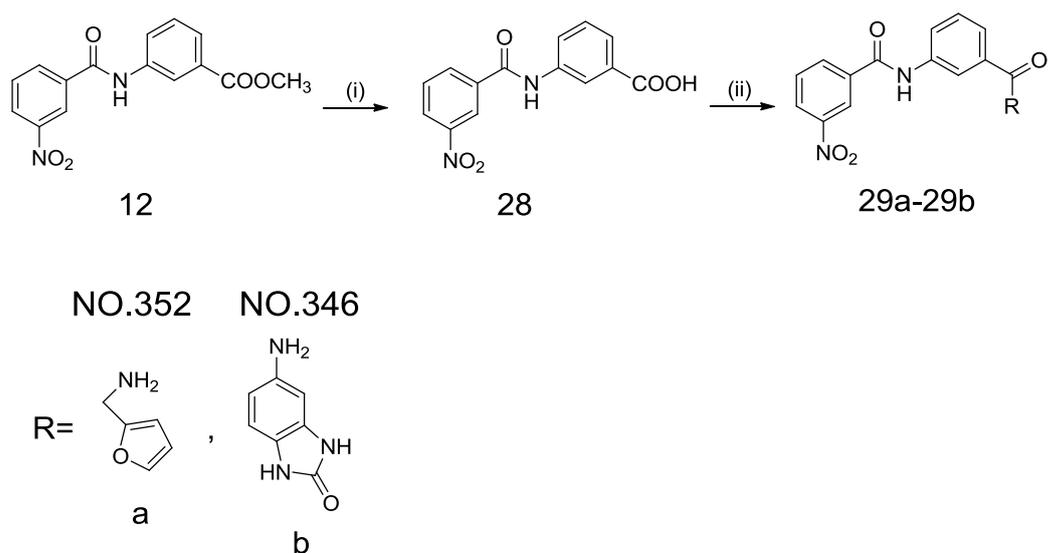


取 4-((3-Nitrophenyl)amino)benzoic acid (20.6 mg, 0.08 mmol) 於反應瓶中，加入 10 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，再加入 HOBt (18.9 mg, 0.14 mmol)、DMAP (18.1 mg, 0.15 mmol) 與 EDCI (20.1 mg, 0.10 mmol)，室溫下攪拌 30 分鐘，再加入已溶於 3 mL DCM 的 5-Amino-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-one (11.90 mg, 0.08 mmol)，迴流攪拌 22 小時，反應完先降溫，先以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液萃取三次，再以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的 1 M 鹽酸水溶液 (HCl) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到亮黃色固體 15.33 mg，產率為 49.2%。

¹H NMR (d₆-DMSO, 300 MHz) : δ 10.58 (s, 1 H), 9.94 (s, 1 H), 9.19 (s, 1 H), 7.95-7.92 (m, 3 H), 7.74-7.68 (m, 1 H), 7.57-7.55 (m, 3 H), 7.28-7.22 (m, 3 H), 6.87 (d, J=8.7 Hz, 1 H); ¹³C NMR (CDCl₃) : δ 164.59, 155.64, 148.74, 144.94, 143.90, 133.01, 130.77, 129.60, 129.39, 127.08, 125.81, 123.71, 116.23, 114.64, 113.14, 110.50, 108.18, 101.86. decomp. 196°C

Scheme 8 為 NO.352 與 NO.346 接上二級醯胺鍵橋樑的合成，首先將化合物 (12) 以 KOH 去酯化，裸露出羧酸基，再分別將 NO.352 與 NO.346 以耦合反應形成醯胺鍵接上，其反應步驟如下：

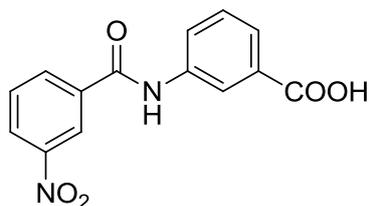
Scheme 8 :



Reagents and conditions :

(i) KOH, H₂O, acetone, r.t. (ii) HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

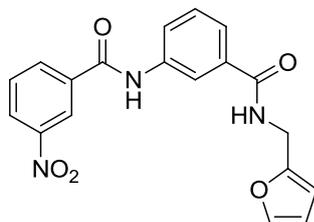
3-(3-Nitrobenzamido)benzoic acid (28) :



先將 KOH (150 mg, 2.673 mmol) 溶於 15 mL 丙酮 (acetone) 與 10 mL 的蒸餾水 (H₂O) 中，再將已經溶解於 10 mL acetone 的 Methyl 3-(3-nitrobenzamido)benzoate (50.1 mg, 0.17 mmol)，室溫攪拌 36 小時，以 50 mL 飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液與 20 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取兩次後，將收集的水層以 1 M 的鹽酸 (HCl) 將 pH 值調成弱酸性，再以 50 mL 蒸餾水 (H₂O) 與 20 mL 乙酸乙酯 (EA) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水，過濾之後以旋轉濃縮機抽乾溶劑，得到白色油狀物體 39.22 mg，產率為 80.6%。

¹H NMR (d₆-DMSO, 300 MHz) : δ 13.05 (s, 1 H), 10.77 (s, 1 H), 8.83 (t, J=2.1 Hz, 1 H), 8.47-8.42 (m, 3 H), 8.08 (d, J=6.9 Hz, 1 H), 7.85 (t, J=8.1 Hz, 1 H), 7.72 (d, J=7.8 Hz, 1 H), 7.51 (t, J=7.8 Hz, 1 H).

N-(Furan-2-ylmethyl)-3-(3-nitrobenzamido)benzamide (29a) :

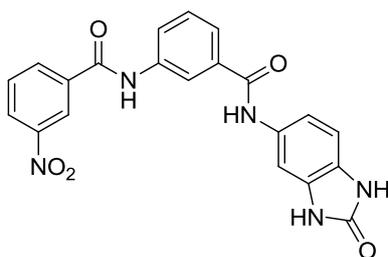


取 3-(3-Nitrobenzamido)benzoic acid (22.4 mg, 0.08 mmol) 於反應瓶中，加入 10 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，再加入 HOBt (18.9 mg, 0.14 mmol)、DMAP (17.2 mg, 0.14 mmol) 與 EDCI (19.7 mg, 0.10 mmol)，室溫下攪拌 30 分鐘，再加入已溶於 3 mL DCM 的 Furan-2-ylmethanamine (7.50 μ L, 0.08 mmol)，迴流攪拌 15 小時，反應完先降溫，先以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液萃取三次，再以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的 1 M 鹽酸水溶液 (HCl) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，以乙酸乙酯 (EA): 正己烷 (hexane) = 1 : 3 進行管柱層析分離純化，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到乳白色固體 18.03 mg，產率為 61.7%。

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ 9.20 (s, 1 H), 8.73 (t, J=2.1 Hz, 1 H), 8.32 (d, J=8.4, 2.25, 0.9 Hz, 1 H), 8.26 (d, J=7.8, 1.5 Hz, 1 H), 8.04 (s, 1 H), 8.00 (d, J=8.1 Hz, 1 H), 7.61 (t, J=8.1 Hz, 1 H), 7.46 (d, J=7.5 Hz, 1 H), 7.36 (t, J=7.8 Hz, 1 H), 7.32 (s, 1 H), 6.72 (s, 1 H), 6.29 (d, J=3, 2.1 Hz, 1 H), 6.21 (d, J=3.3 Hz, 1 H), 4.49 (d, J=5.4 Hz, 2 H) ;
¹³C NMR (CDCl₃) : δ 165.95, 163.40, 152.39, 147.77, 142.04, 138.79,

135.98, 134.86, 134.24, 130.27, 128.69, 126.34, 123.28, 122.63, 122.44, 120.07, 110.49, 106.87, 36.09 ; MS (EI) : m/z [M]⁺ : 365.1. m.p. 162°C

3-Nitro-N-(3-((2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)carbamoyl)phenyl)benzamide (29 b) :



取 3-(3-Nitrobenzamido)benzoic acid (21.2 mg, 0.07 mmol) 於反應瓶中，加入 10 mL 的 DCM 與 1 mL 的 DMF 將其溶解，再加入 HOBt (19.0 mg, 0.14 mmol)、DMAP (18.4 mg, 0.15 mmol) 與 EDCI (20.7 mg, 0.11 mmol)，室溫下攪拌 30 分鐘，再加入已溶於 3 mL DCM 的 5-Amino-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-one (12.03 mg, 0.08 mmol)，迴流攪拌 24 小時，反應完先降溫，先以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的飽和碳酸氫鈉鹽 (NaHCO₃) 溶液萃取三次，再以 10 mL 乙酸乙酯 (EA) 與 10 mL 的 1 M 鹽酸水溶液 (HCl) 萃取三次，使用無水硫酸鎂 (Magnesium sulfate hydrate) 除水並且過濾，再使用旋轉濃縮機將溶劑抽乾，得到乳黃色固體 16.24 mg，產率為 55.6%。

¹H NMR (d₆-DMSO, 300 MHz) : δ 10.80 (s, 1 H), 10.61 (s, 1 H), 10.54 (s, 1 H), 10.18 (s, 1 H), 8.85 (s, 1 H), 8.47-8.45 (m, 2 H), 8.29

(s, 1 H), 8.06 (d, J=7.2 Hz, 1 H), 7.86 (t, J=7.2 Hz, 1 H), 7.73 (d, J=6.9 Hz, 1 H), 7.59-7.54 (m, 2 H), 7.27 (d, J=7.8 Hz, 1 H), 6.90 (d, J=7.8 Hz, 1 H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3) : δ 165.26, 163.71, 155.71, 147.89, 138.96, 136.07, 135.95, 134.48, 132.79, 130.45, 129.68, 128.85, 126.49, 126.17, 123.60, 123.26, 122.72, 120.34, 113.47, 108.39, 102.16 ; MS (EI) : m/z $[\text{M}]^+$: 415.1. decomp. 231~233°C

3.3 生物實驗

本研究合成三系列化合物，並測試這些化合物抑制 NF- κ B 活性之效果。其活性部分與中興大學林季千老師實驗室合作進行肺癌細胞 CL1-0 培養，並由李宜蓉學姊協助測試生物活性，以下為實驗材料與方法：

細胞株

以 NF- κ B 轉染之肺癌細胞株 CL1-0

Seeding

將 CL1-0 細胞以 4×10^4 / 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 $100 \mu\text{g} / \text{mL}$ 的 TNF- α ，再將培養盤置於二氧化碳培養箱中，培養五小時，之後將培養液除去，再以磷酸緩衝液 (PBS) 清洗兩次，並於每一孔洞中加入 $40 \mu\text{L}$ lysis buffer，使細胞漂浮後將細胞取至 eppendorf，並將 Luciferase assay substrate 依比例加入 eppendorf，進行冷光測試。

抑制率公式

衍生物對 NF-κB 抑制百分比計算公式：

$$1 - \left\{ \frac{(\text{data} - D)}{[(D+T) - D]} \right\} \times 100\%$$

D：螢光背景值。細胞中加入 DMSO 時，NF-κB Luciferase 螢光強度之平均值。

D+T：細胞經 TNF-α 誘導後的螢光強度。細胞中加入 DMSO 與 TNF-α 時，NF-κB Luciferase 螢光強度之平均值。

data：細胞經 TNF-α 誘導，並加入待測樣品後之螢光強度。

3.4 分子對接軟體操作

Discovery Studio 3.1 Client :

將要塞入蛋白質的化合物結構先以 ChemDraw 畫出結構，存成 mol 檔案，並透過 WordPad 開啟 mol 檔案，更改檔案名稱並存檔。之後開啟 Discovery Studio 3.1 Client，將 IKK β 蛋白質的 PDB 檔案 3RZF 與 mol 檔案分別導入不同的視窗，將導入的 mol 檔點選 Small Molecules，選擇 Full Minimization，參數中將 Parallel Processing 的 False 改成 True，並點選 Run。另外於 3RZF 檔中挑選欲當成圓心的胺基酸，點選 Receptor-Ligand Interaction，選擇 From Current Selection，此時會在選擇的胺基酸的位置出現一顆球，可以更改球之半徑。最後將 mol 檔複製並貼到 3RZF 檔中，全選後點選 Receptor-Ligand Interaction，選擇 Dock Ligands (CDOCKER)，參數中的 Input Ligands 選擇 mol 檔，Parallel Processing 的 False 改成 True，並點選 Run 即開始進行所有分子對接的計算。計算完畢後，結果會直接出現在一個新的視窗。

第四章 結果與討論

4.1 有機合成的探討

首先，第一系列為將 WY5107 與 IMD-0354 透過二級醯胺鍵的橋樑結構相連在一起，並且置換 IMD-0354 之 B 環的取代基，探討結構與活性關係。另外，第二系列為合成出對於 IKK β 能有更好抑制效果之抑制劑，我們從實驗室的資料庫中篩選了兩個能與 IKK β 形成氫鍵交互作用力的結構，並且接上不一樣的橋樑結構，進行探討。目標產物如下圖所示：

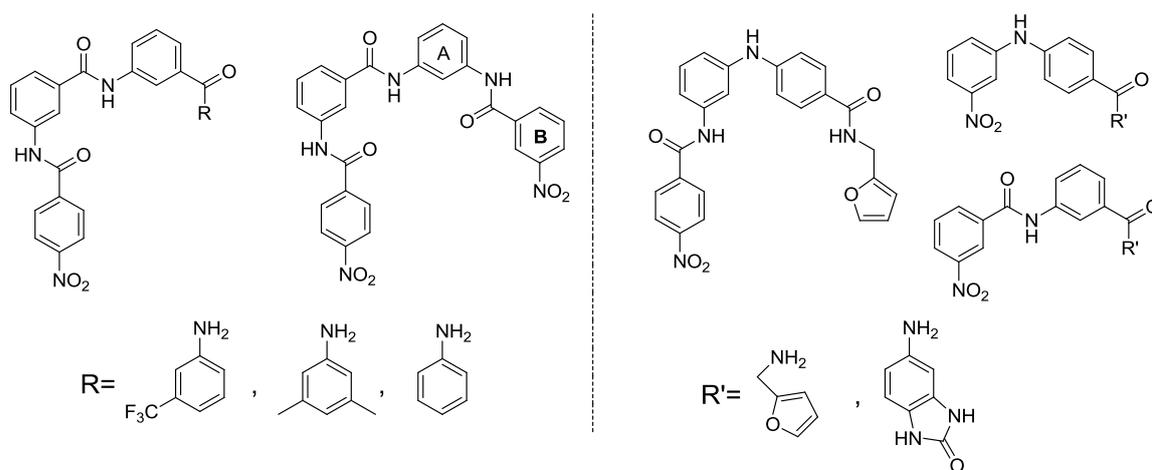
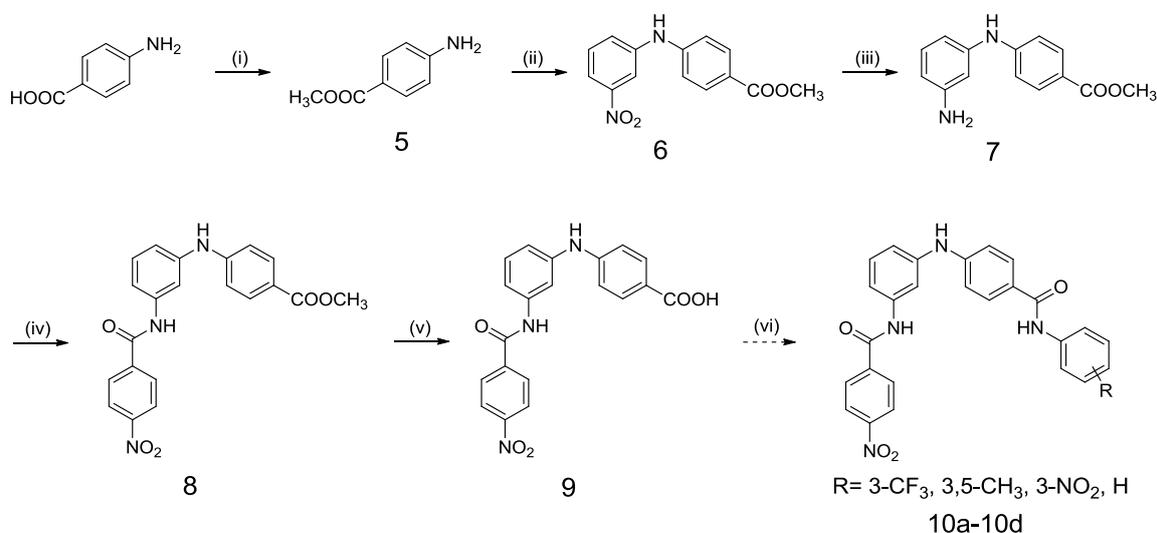


圖 4.1、目標產物結構圖

化合物 (8) 與 (9) 的合成：



Reagents and conditions :

(i) H₂SO₄, MeOH, reflux. (ii) 1-Bromo-3-nitrobenzene, Pd₂(dba)₃, P(tBu)₃, KOtBu, xylene, reflux. (iii) Fe, AcOH, H₂O, EtOH, 50°C. (iv) 4-Nitrobenzoyl chloride, Et₃N, DCM, reflux. (v) KOH, H₂O, acetone, 50°C. (vi) HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

Scheme 1、第一系列化合物 (8) 與化合物 (9) 的合成

在合成 scheme 1 的時候，首先以苯甲酸苯胺為起始物，並在冰浴下使用 H₂SO₄ 與 MeOH 進行羧酸的保護，形成酯基，而後透過 Buchwald–Hartwig 偶聯反應（圖 4.1）將胺端與溴基以 NH 的結構將兩個苯環相連在一起，此步驟的溶劑原先是用甲苯，但是幾乎沒有反應，所以逐漸換成沸點較高的溶劑，待換到 xylene 時反應最佳。之後用鐵粉與 AcOH 還原硝基，收反應時因為鐵粉會溶於酸，不溶於鹼，所以要在萃取前將反應溶劑的 pH 值以飽和的小蘇打水溶液調整成弱鹼性，此時會放熱且鐵粉會析出，先將析出的鐵粉以抽氣過濾去除後再進行萃取。下一步為接上第三個環，將已經帶有醯氣的苯環先

溶於除水的 DCM，並快速加入胺端起始物，鹵氣初始物很容易與空氣中的水分子反應形成羧酸，所以下反應過程盡量快速，反應完加入蒸餾水將多餘的鹵氣初始物變成羧酸，使用飽和小蘇打水溶液萃取，可以將帶有羧酸的起始物連同水層一起去掉。最後用 KOH 去除酯基保護基，反應完因為產物極性變大，以管柱分離時產物會留在原點，其他有機化合物會隨著展開液流出。而化合物 10a-10d 的合成，因為化合物 (6) 的產率很低，進行到後面的合成時往往產物所剩無幾，故沒有辦法以此 scheme 合成出化合物 10a-10d。

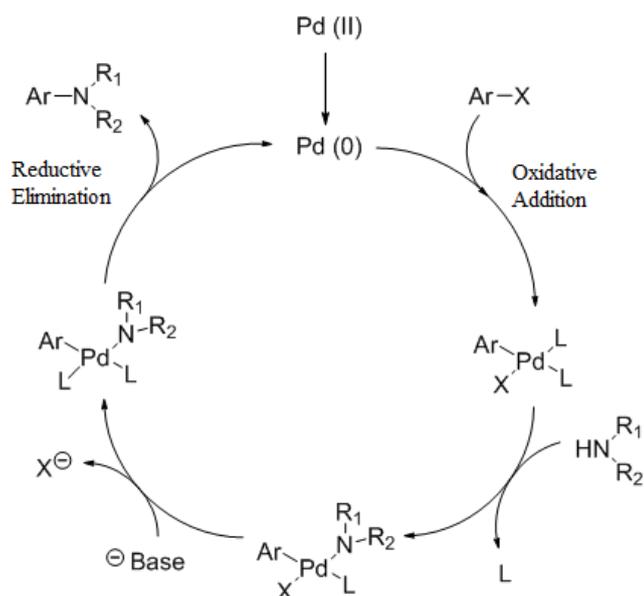


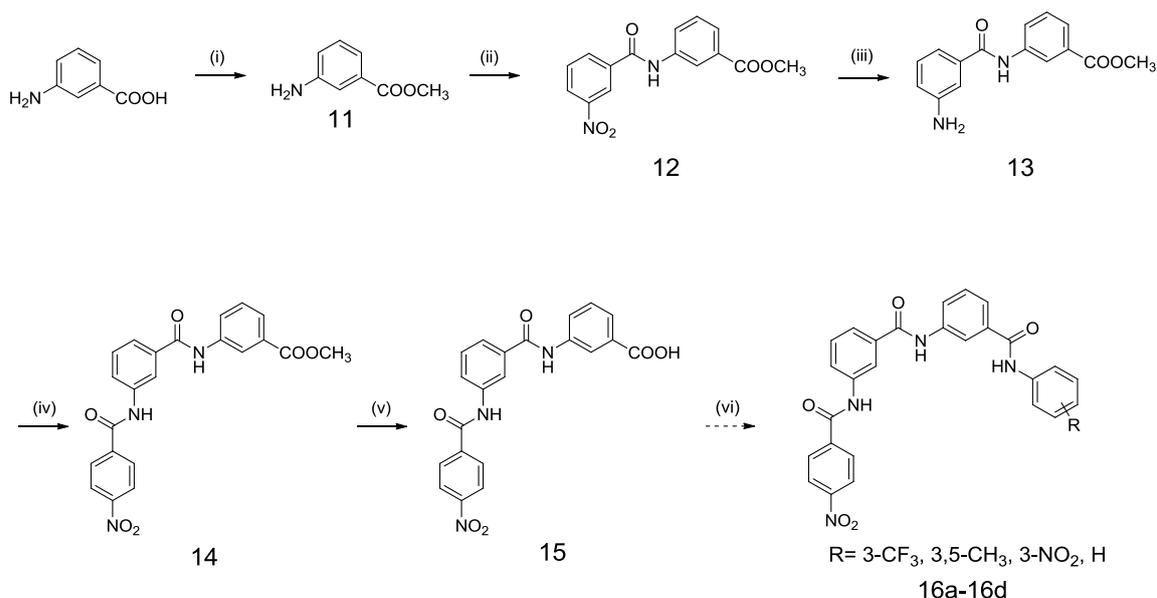
圖 4.2、Buchwald-Hartwig 偶聯反應的反應機制。

Buchwald-Hartwig 偶聯反應可分為四個步驟：(1) 氧化加成反應 (Oxidative Addition)：芳香基鹵化物與 Pd^0 進行氧化加成後，形成四配位的 Pd^{II} ；(2) 二級胺鍵結在 Pd 上，並脫去一個配位基 (ligand)；(3) 鹼 (Base) 將 Pd 上的鹵素 (X) 轉移離去，並隨後在 Pd 上取代

一個配位基；(4)脫去 (Reductive Elimination)：形成三級胺芳香環產物，而 Pd^{II} 將會還原成 Pd⁰，並進入下一個循環中。

化合物 (14) 與化合物 (15) 的合成：

合成完 scheme 1 之後，想要將 Buchwald–Hartwig 反應的 NH 結構改成長度更長、且多了一個氫鍵接受者（羥基上的氧原子）的二級醯胺鍵，以觀察其對於 IKK β 的抑制活性是否有所影響，所以改變了起始物與反應步驟，其反應流程如以下所示。



Reagents and conditions :

(i) H₂SO₄, MeOH, reflux. (ii) 3-Nitrobenzoic acid, HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux. (iii) Fe, AcOH, H₂O, EtOH, 100°C. (iv) 4-Nitrobenzoyl chloride, DCM, reflux. (v) KOH, H₂O, acetone, r.t. (vi) HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

scheme 2、第一系列化合物 (14) 與化合物 (15) 的合成步驟

一開始選用間位的苯甲酸苯胺，先在冰浴下以 H₂SO₄ 與 MeOH 進行羧酸的保護，形成酯基。再使用活化試劑 HOBt、DMAP、EDCI

的耦合反應將上一步驟產物的胺端與另一環的羧酸相連，形成二級醯胺鍵，這一步驟要先將羧酸以活化試劑反應形成容易行親核性取代的結構，再將溶於 DCM 的胺端慢慢加入，並以迴流進行反應。之後使用鐵粉將苯環上的硝基還原成胺基。在無水 DCM 溶劑下與 4-硝基氯苯行親核性取代反應，最後再使用 KOH 將苯環上的酯類保護基去掉形成羧酸，這一步驟應避免將固體 KOH 加入已經溶於溶劑的初始物，KOH 瞬間濃度過高，推測會將化合物 (14) 的醯胺鍵切斷 (圖 4.3)，根據分離過後的 NMR 圖譜顯示，會形成一個雙苯環結構與單苯環結構。而最後的化合物 16a-16d，因為化合物 (15) 的溶解度非常差，不利於下一步的耦合反應，故化合物 16a-16d 無法以這條 scheme 合成。

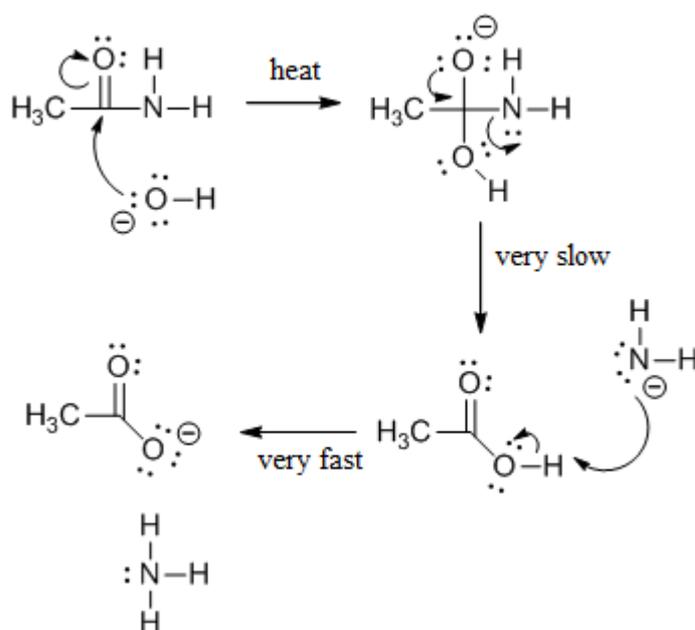
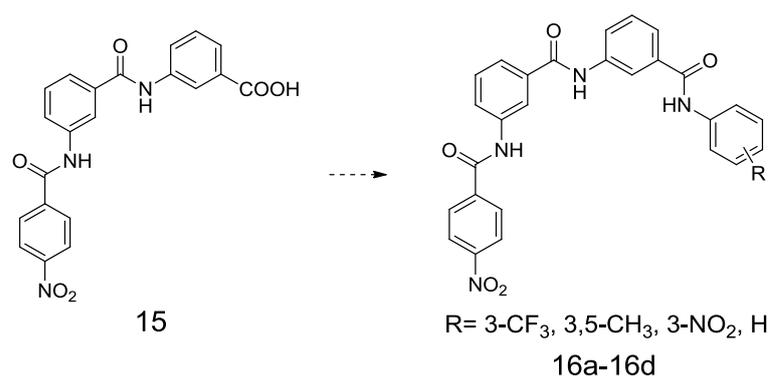


圖 4.3、鹼性條件下水解醯胺鍵

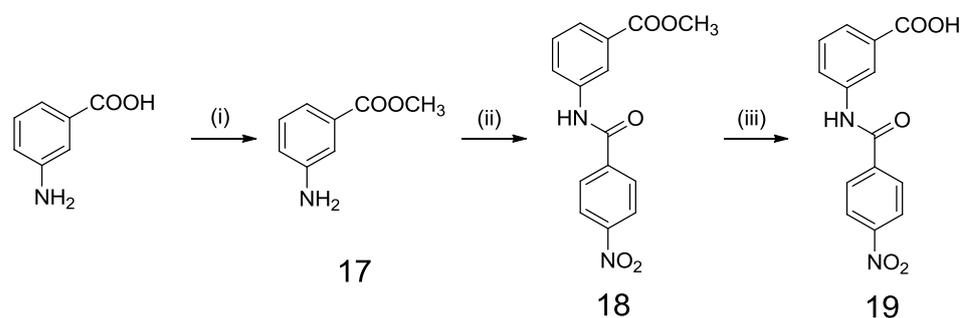
化合物 (16a)、(16b)、(16c)、(16d) 的合成：

我們設計了四個四環類似物，透過右邊的 B 環上取代基的不同，藉以探討其交互作用力之機制。一開始我們欲以化合物 (15) 藉由耦合反應合成出產物，其反應流程如下：



Reagents and conditions : HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

但是在反應前發現化合物 (15) 不太溶於 DMF 之中，推測可能是含有兩個醯胺鍵與羧酸使其極性大，使得反應不利進行。故我們改變整個合成途徑，其合成步驟拆成三部分，如下圖為左半邊化合物的合成：

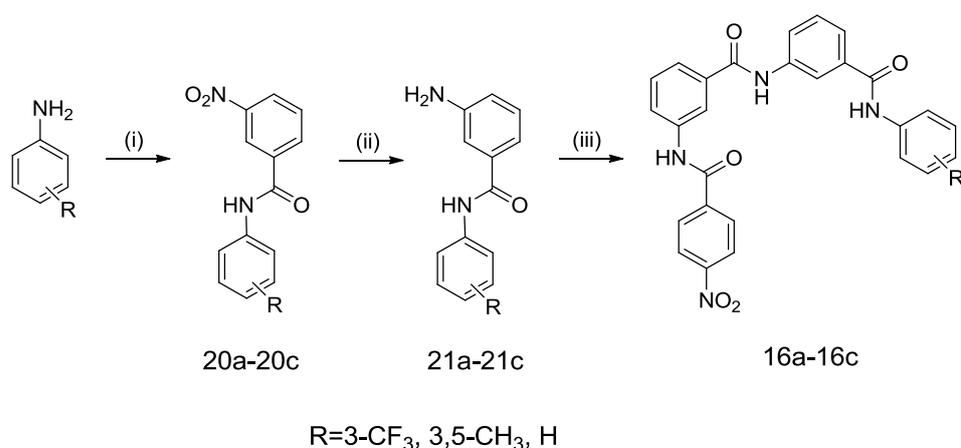


Reagents and conditions :

(i) H₂SO₄, MeOH, reflux. (ii) 4-Nitrobenzoyl chloride, Et₃N, DCM. (iii) KOH, H₂O, acetone.

Scheme 3、第一系列左半邊化合物 (19) 的合成

左半邊的結構先以 H_2SO_4 與 MeOH 將羧酸形成酯類以保護，透過親核性取代反應將初始物的胺端與另一醯氯初始物形成二級醯胺鍵，最後再用 KOH 去酯基，待 scheme 4 與 scheme 5 合成完後，最後再將兩邊以活化試劑（ HOBT 、 DMAP 、 EDCI ）相連在一起，形成四環化合物。

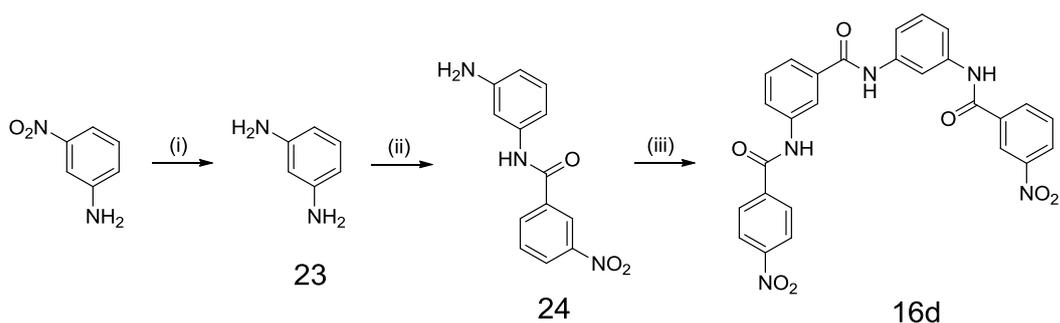


Reagents and conditions :

(i) 3-Nitrobenzoic acid, HOBT , DMAP , EDCI , DCM , DMF , reflux. (ii) Fe , AcOH , H_2O , EtOH , Δ . (iii) 3-(4-Nitrobenzamido)benzoic acid, HOBT , DMAP , EDCI , DCM , DMF , reflux.

Scheme 4. 第一系列化合物 16a、16b 與 16c 的合成路徑

先將起始物的胺端以活化試劑（ HOBT 、 DMAP 、 EDCI ）與另一初始物的羧酸相連，再使用鐵粉將苯環上的硝基還原成胺基，最後一樣透過活化試劑（ HOBT 、 DMAP 、 EDCI ）與化合物（19）的羧酸形成二級醯胺鍵。而化合物（16d）因為在合成第二步驟時，鐵粉會將兩邊的硝基都還原成胺基，致使我們所想保留的其中一個硝基取代基消失，所以我們將醯胺鍵的碳、氮原子調換，如下圖所示：



Reagents and conditions :

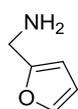
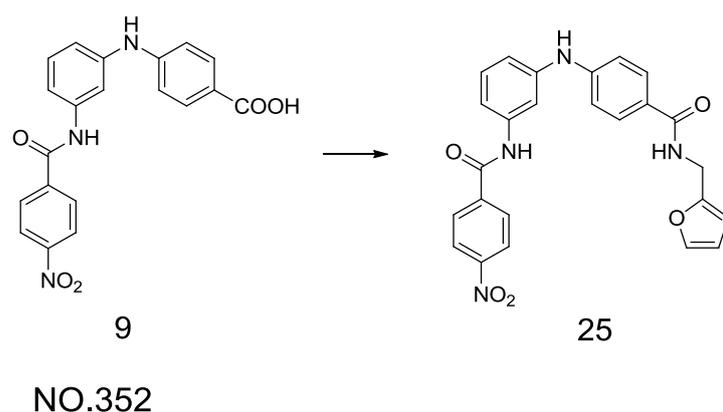
(i) Fe, AcOH, H₂O, EtOH, Δ. (ii) 3-Nitrobenzoic acid, HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF. (iii) 3-(4-Nitrobenzamido)benzoic acid, HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

Scheme 5、化合物 (16d) 的合成路徑

因為要保留其中一個硝基，所以不能使用鐵粉進行還原反應，所以一開始先將一間位有硝基與胺基取代基的苯環以鐵粉還原成一苯環上帶有兩胺基取代基的結構，為化合物 (23)。而下一步驟為了讓產物只有一邊的胺基有合成上二級醯胺鍵，所以一開始先將羧酸化合物以活化試劑 (HOBt、DMAP、EDCI) 活化半小時，另一邊化合物 (23) 溶於 DCM 之中，之後將已經活化好的羧酸化合物用滴管慢慢加入，並且為了控制盡量不要有副產物的產生，而將當量數控制在化合物 (23) : 羧酸化合物 = 2 : 1 的比例，這樣即可以得到只有一邊有形成二級醯胺鍵的化合物 (24)，最後再利用活化試劑 (HOBt、DMAP、EDCI) 的方式將化合物 (19) 與化合物 (24) 相連在一起，即產生最終化合物 (16d)。

化合物 (25) 的合成：

Scheme 6 為以生物活性測試中，具有最好活性的化合物 (8) 與化合物 (9)，將結構中的酯基或羧酸基延伸出其他結構，探討結構上的改變是否對於抑制活性有其他的影響。延伸的結構選由 Discovery Studio 的 Libdock program 軟體所篩選的 NO.352 化合物，其結構能與 IKK β 形成氫鍵交互作用力。其中因為化合物 (9) 的累量很困難，而 NO.352 因為結構上的胺基上連結一個碳鏈，較其他結構擁有良好的親核性攻擊力，故選擇 NO.352 從羧酸基向外延伸。



Reagents and conditions :

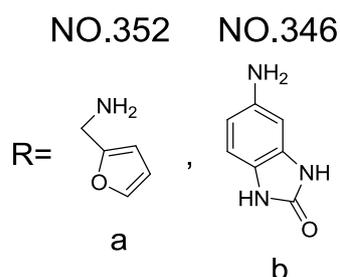
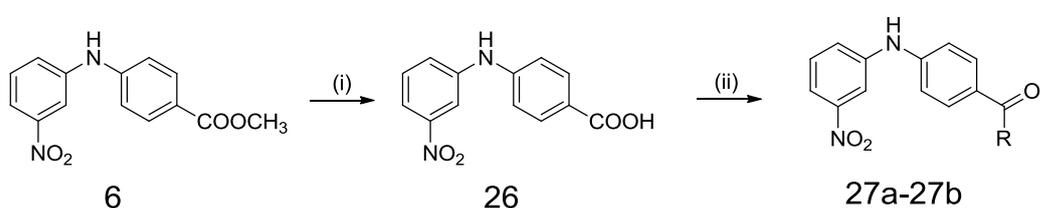
Furan-2-ylmethanamine, HOBt, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

Scheme 6、化合物 (25) 的合成路徑

此 scheme 先將羧酸端以耦合試劑活化後，再加入胺端形成二級醯胺鍵，反應完成後，利用酸鹼萃取將多餘的羧酸端與胺端初始物去除，即可初步分離。

化合物 (27a)、(27b)、(29a) 與 (29b) 的合成：

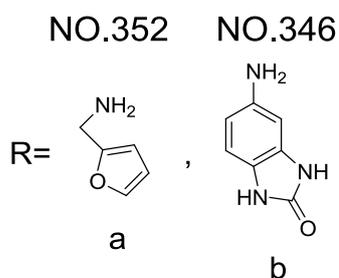
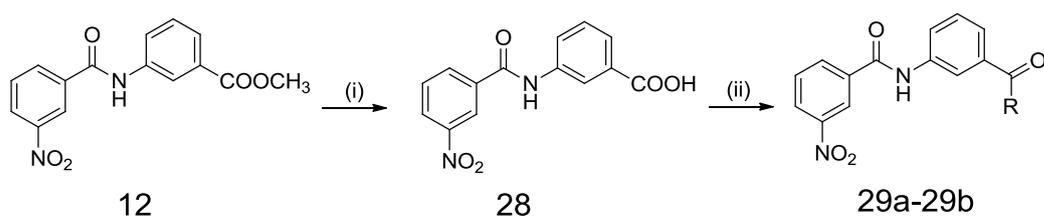
Scheme 7 與 scheme 8 的產物係透過 Discovery Studio 的 Libdock program 軟體所篩選，為 NO.352 與 NO.346，其結構能與 IKK β 形成氫鍵交互作用力，所以為了探討其對於 IKK β 的抑制活性之影響，所以設計了以下合成步驟：



Reagents and conditions :

(i) KOH, H₂O, acetone, 50°C. (ii) HOBT, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

Scheme 7、第二系列化合物 (27a) 與 (27b) 的合成路徑



Reagents and conditions :

(i) KOH, H₂O, acetone, r.t. (ii) HOBT, DMAP, EDCI, DCM, DMF, reflux.

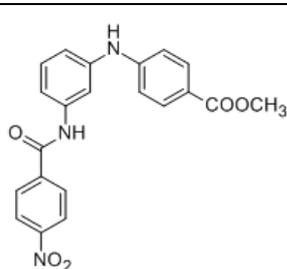
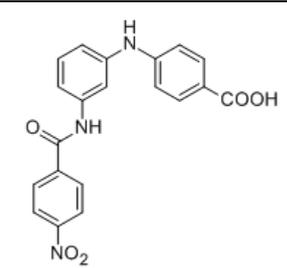
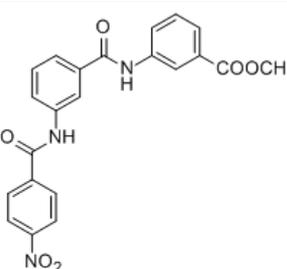
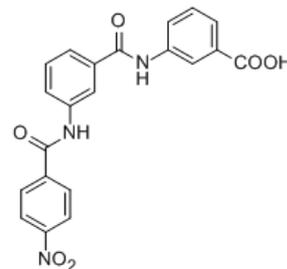
Scheme 8、第二系列化合物 (29a) 與 (29b) 的合成步驟

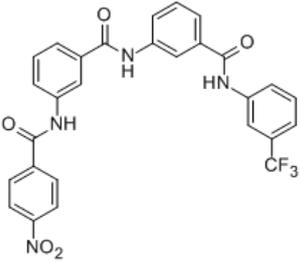
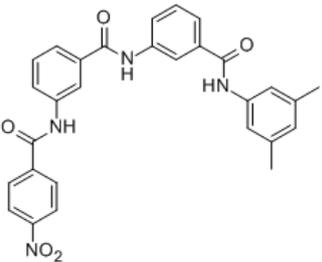
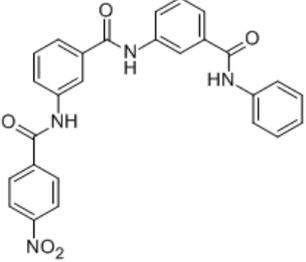
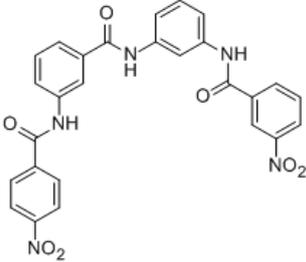
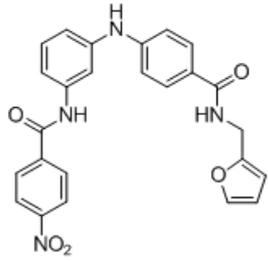
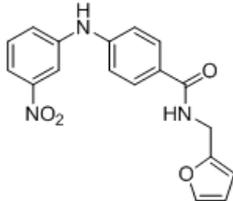
此兩條 scheme 的反應步驟為先將苯環上的酯基保護基去掉之後形成羧酸，再以活化試劑 (HOBT、DMAP、EDCI) 與我們篩選出來兩個基團 (NO.352、NO.346) 的胺端進行耦合反應形成二級醯胺鍵。反應完多餘的胺端起始物可以透過萃取時加入 1 M 的鹽酸水溶液來去除，其胺端在酸性環境下會形成 NH₃⁺COO⁻的鹽類，僅會溶於水層，故利用這樣的條件多萃取幾次即可將其去除。

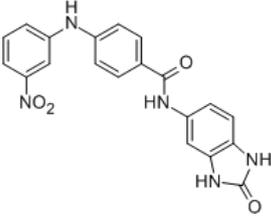
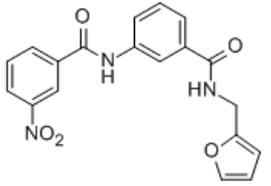
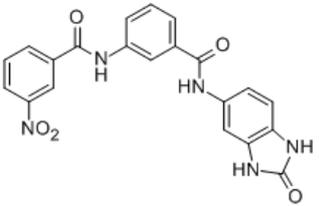
4.2 生物活性

本研究合成之化合物為針對IKK β 的抑制劑，成功合成出13個化合物，並進行生物活性測試，其結果如表4.1所示。

表4.1、50 μ M 濃度下衍生物對 NF- κ B 之抑制率

編號	結構	抑制率(%)
(8)		94.08%
(9)		82.38%
(14)		78.70%
(15)		23.14%

(16a)		76.66%
(16b)		76.33%
(16c)		47.47%
(16d)		51.48%
(25)		70.68%
(27a)		57.26%

(27b)		30.46%
(29a)		55.42%
(29b)		54.17%

比較化合物 (16a)、(16b)、(16c)、(16d) 四個四環化合物的生物活性，此四個化合物為將WY5107與IMD-0354透過二級醯胺鍵橋樑鍵結在一起，並在取代基做些微的修飾。結果發現，當結構上橋樑右側終端苯環的取代基為3-CF₃與3,5-CH₃時，其對於NF-κB之抑制活性為76%左右；而取代基為3-NO₂時，其抑制活性約只有47.5%，推測在此苯環附近可能需要疏水性之交互作用力，因而導致以硝基取代的化合物 (16d) 的抑制活性較低。此外，比較化合物 (16d) 與化合物 (29b)，在結構上化合物 (29b) 的長度較化合物 (16d) 來的短，而終端結構皆為能夠形成多個氫鍵的取代：如化合物 (29b) 為帶有一個C=O的咪唑，而化合物(16d)為一對位硝基苯環，推測化合

物 (29b) 的抑制活性之所以與化合物 (16d) 差不多的原因，可能是因為化合物 (29b) 的結構相似於 (16d)，其中一端皆為間位硝基苯環，而此苯環附近可能需要疏水性之交互作用力，因此化合物 (29b) 的抑制效果並不顯著。而化合物 (16c) 則是接一個沒有取代的苯環，也能提供一部分的疏水性交互作用力²⁹，因此活性較化合物 (16d) 來的高一些。同時我們透過實驗結果發現，第一系列所合成的四環化合物 (16a) 的抑制活性不如WY5107與IMD-0354兩個化合物，很有可能是以下幾個原因：1. 因為化合物結構的設計，將WY5107與IMD-0354結構上的Cl與OH去除，使之位置沒有辦法與IKK β 形成交互作用力，進而降低抑制活性²⁷；2. IMD-0354具有兩個三氟甲基，而化合物 (16a) 只有一個，則IMD-0354所形成的疏水性交互作用力較化合物 (16a) 來的好，因此IMD-0354的抑制活性較高。而化合物 (16a) 之活性較WY5107來的低的原因，可能與上述第一點與第二點相同。此外，根據HyunahChoo團隊所設計與合成的化合物之主結構與本研究之化合物相比，我們可以從中得知化合物的大小如HyunahChoo團隊的化合物，是能夠進入IKK β 鍵結部位，所以並沒有化合物太大無法進入的鍵結部位問題，如圖4.4所示。

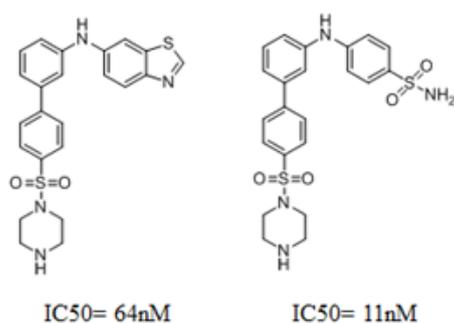


圖 4.4、兩化合物的結構與其分別對於 IKK β 的 IC₅₀ 值

另外，比較化合物 (27a)、(27b)、(29a)、(29b)，由這四個化合物的生物活性結果中推測，胺基橋樑與二級醯胺鍵橋樑在這四個化合物的生物活性中並沒有特別顯著的差異，唯化合物 (27b) 的抑制率最低，為30%左右，其他三個化合物皆為54~57%，之所以會導致化合物 (27b) 的抑制活性較低的原因我們尚不確定。

除此之外，比較化合物 (25) 與 (8)、(9)，化合物 (25) 的結構為以胺基做為橋樑，並在橋樑右側的四號位置以二級醯胺鍵向外延伸一個甲基咪喃結構。根據生物實驗的結果發現，化合物 (25) 對於NF- κ B的抑制活性並沒有如化合物 (8) 與 (9) 來的好，因此推測儘管化合物 (25) 結構中的咪喃部分也能提供水性交互作用力，但因為咪喃結構較酯基與羧酸基大，使得化合物 (25) 整體結構較不易進入鍵結部位，進而導致活性下降。

之後，比較化合物 (27a) 與化合物 (25)，發現化合物 (25) 的抑制活性較高，而兩者結構上的差異為胺基橋樑左側的苯環之三號位置向外延伸的結構，化合物 (27a) 為一個硝基，而化合物 (25) 則

是一個醯胺鍵連接一個對位硝基之苯環，如圖4.5所示。因此我們可以得知，化合物（25）結構上多出來的對位硝基苯環能夠提供更為良好的鍵結，進而提升化合物（25）的抑制活性。

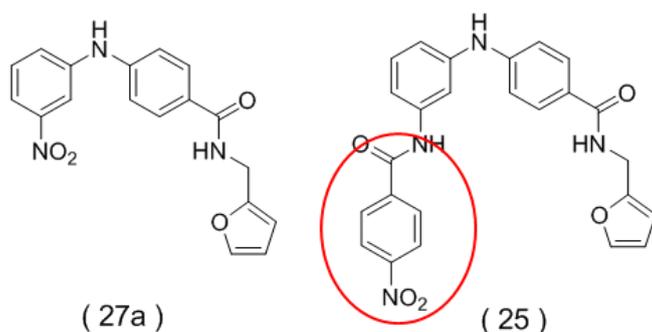


圖4.5、化合物（27a）與（25）的結構差異圖

最後，比較化合物（8）、（9）、（14）、（15），結果發現，當橋樑結構為胺基時，橋樑右側苯環上的取代基，甲酯基的抑制活性會高於羧酸基，此結果與橋樑結構為二級醯胺鍵時一樣，可以推測當橋樑右側苯環保留酯基此種疏水性取代基時，其與IKK β 能有較好的交互作用力。其中，化合物（8）具有最好的抑制活性，為94.1%，推測在酯基附近有能夠形成疏水性交互作用力的胺基酸，可以與酯基形成疏水性交互作用力。而化合物（9）卻也擁有82.4%的抑制活性，因此在這一鍵結位置中，除了疏水性胺基酸之外，推測附近位置也有能夠與羧酸形成氫鍵或靜電交互作用力的胺基酸。另外，化合物（14）與（15）中間的二級醯胺鍵結使整體結構比化合物（8）、（9）還要長，而酯基與羧酸基團也因在苯環上取代位置不同而跟化合物（8）、（9）在有些許鍵結位置之差異。化合物（15）的抑制活性最低，只有

23.1%，推測導致活性下降的原因很有可能是因為化合物（15）長度較長，而且延伸至一個疏水性鍵結之口袋。

第五章 結論

由生物實驗的結果得知，將化合物 IMD-0354 與 WY5107 以二級醯胺鍵橋樑相連時，四環化合物（16a）的抑制活性並沒有較 IMD-0354 與 WY5107 兩個雙環化合物還要好，原因有可能是因為：

1. 我們捨去了原本結構上的 OH 與 Cl；
2. 四環化合物結構過大；
3. 化合物（16a）只有單一個三氟甲基，以上三個理由都有可能降低化合物（16a）與 IKK β 形成交互作用力的程度，進而降低抑制活性。

而我們由化合物（8）、（9）、（14）、（15）的生物結果比較中發現，以胺基橋樑修飾的化合物（8）具有最高的抑制活性，為 94%，其中根據最低位能分析 3D 結構，得知在兩個結果：1. 胺基橋樑的修飾較二級醯胺鍵橋樑的修飾來的好；2. 若是以胺基橋樑修飾，終端結構的酯基與羧酸基分別都可以形成交互作用力；而若是以二級醯胺鍵橋樑修飾，終端結構只有酯基具有較高的活性。另外，比較化合物（25）與（8），發現化合物（25）的終端結構為呋喃，可以提供更好的疏水性交互作用力，但生物活性的結果中，化合物（25）的活性並沒有化合物（8）來的好，因此推測有可能是因為呋喃的結構較酯基大，使得整體結構較不易進入活化部位。最後，比較（27a）與化合物（25），得知有化合物（25）所多出來的對位硝基苯環結構，能夠透過增加交互作用力，進而提高抑制活性。

未來展望

透過此研究的化合物之生物活性實驗，化合物（8）具有最好的 IKK β 抑制效果，為 94% 左右，但是依舊不如 IMD-0354 與 WY5107，因此在未來可以嘗試將當初捨去的 OH 取代基保留，探討其對於抑制活性的影響，如圖 6.1 所示。

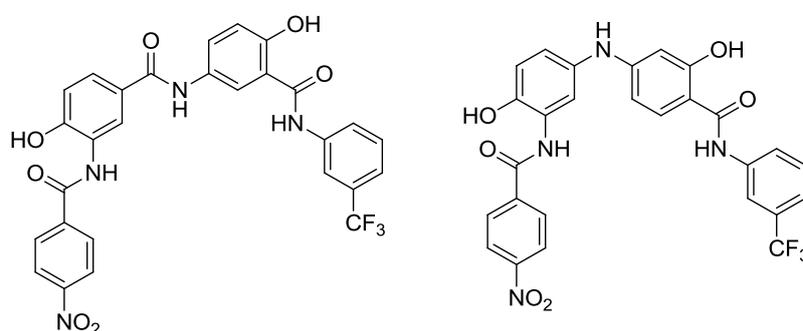


圖 6.1、保留 OH 取代基的四環化合物

除此之外，未來可以如化合物（25），將A環與C環之間的橋樑結構固定為胺基橋樑，如圖6.2所示。

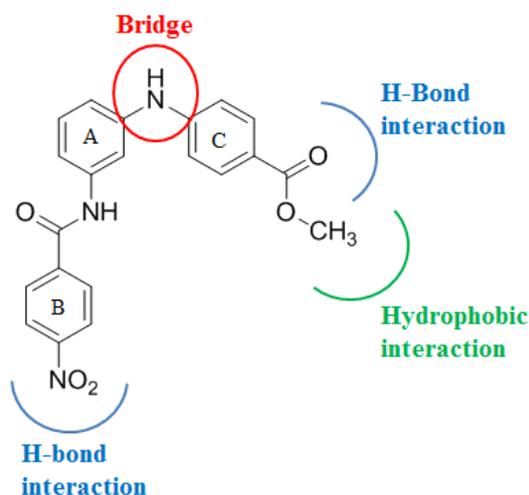
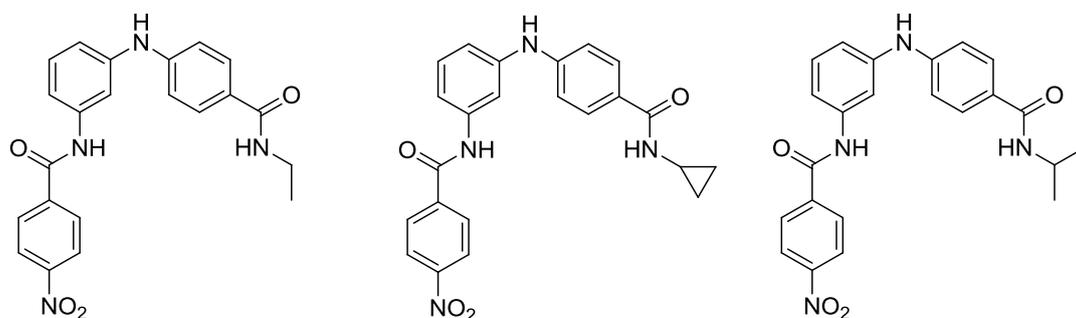


圖6.2、化合物與IKK β 所形成的主要交互作用力

而B環的四號位置之硝基有助於提高化合物與IKK β 之間形成的

交互作用力，另外，C環之四號位置能夠以醯胺鍵之結構向外延伸其他小分子的疏水性取代基，如乙基、環丙烷等等。期待未來可以合成其他類似此種設計之組別，並探討其結構活性關係。

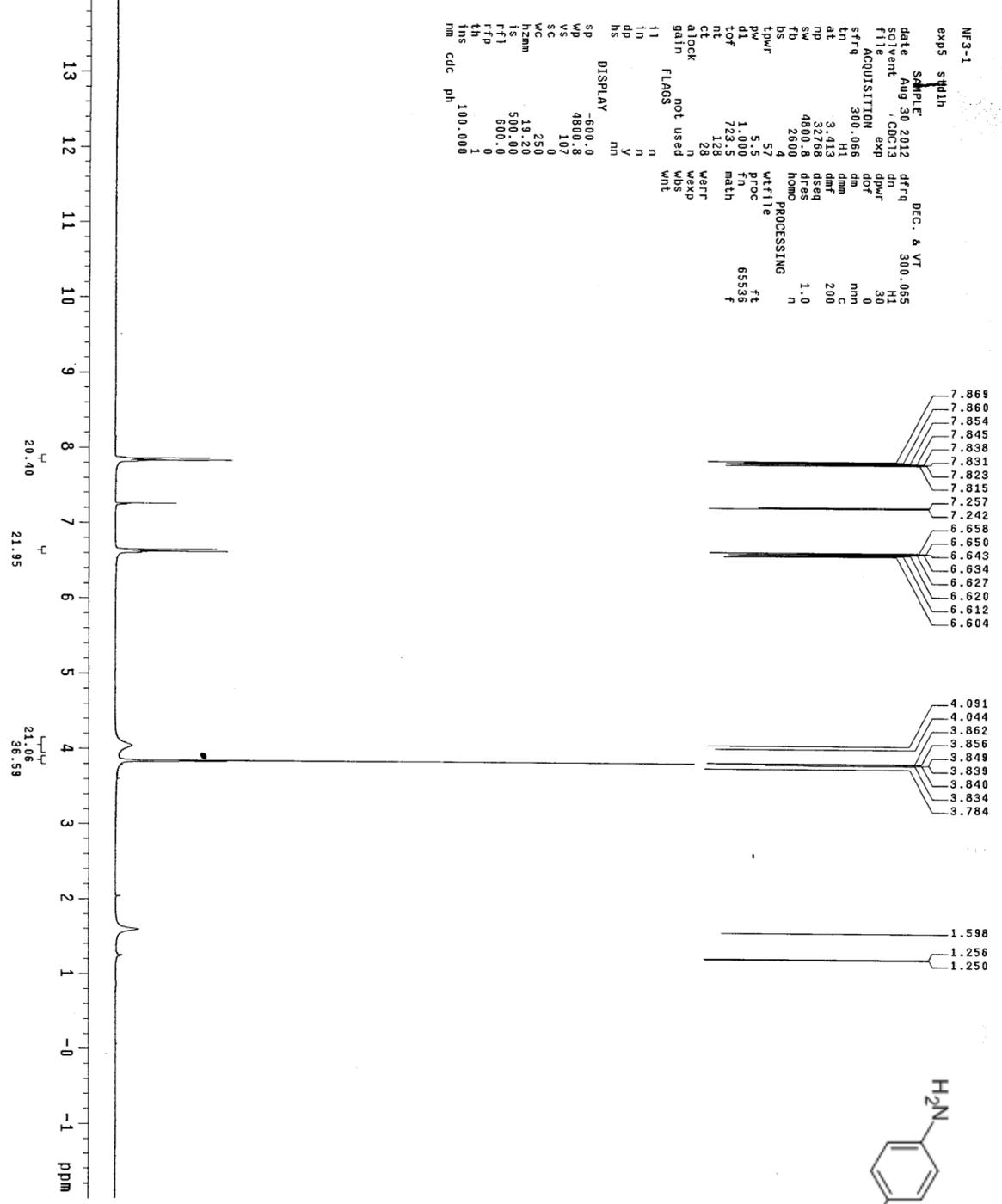


參考文獻：

1. 行政院衛生署, 101 年國人十大死因惡性腫瘤連續 31 年第一名, <http://www.kmtth.org.tw/dept/hosptl/News/Details.aspx?id=6574016302955695491&itemId=2>.
2. Siomek, A., NF-kappaB signaling pathway and free radical impact. *Acta biochimica Polonica* **2012**, 59 (3), 323-31.
3. Morwick, T.; Berry, A.; Brickwood, J.; Cardozo, M.; Catron, K.; DeTuri, M.; Emeigh, J.; Homon, C.; Hrapchak, M.; Jacober, S.; Jakes, S.; Kaplita, P.; Kelly, T. A.; Ksiazek, J.; Liuzzi, M.; Magolda, R.; Mao, C.; Marshall, D.; McNeil, D.; Prokopowicz, A., 3rd; Sarko, C.; Scouten, E.; Sledziona, C.; Sun, S.; Watrous, J.; Wu, J. P.; Cywin, C. L., Evolution of the thienopyridine class of inhibitors of IkappaB kinase-beta: part I: hit-to-lead strategies. *Journal of medicinal chemistry* **2006**, 49 (10), 2898-908.
4. Makarov, S. S., NF-kappa B in rheumatoid arthritis: a pivotal regulator of inflammation, hyperplasia, and tissue destruction. *Arthritis research* **2001**, 3 (4), 200-6.
5. Edwards, M. R.; Bartlett, N. W.; Clarke, D.; Birrell, M.; Belvisi, M.; Johnston, S. L., Targeting the NF-kappaB pathway in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacology & therapeutics* **2009**, 121 (1), 1-13.
6. Gareus, R.; Kotsaki, E.; Xanthoulea, S.; van der Made, I.; Gijbels, M. J.; Kardakaris, R.; Polykratis, A.; Kollias, G.; de Winther, M. P.; Pasparakis, M., Endothelial cell-specific NF-kappaB inhibition protects mice from atherosclerosis. *Cell metabolism* **2008**, 8 (5), 372-83.
7. Li, X.; Stark, G. R., NFkappaB-dependent signaling pathways. *Experimental hematology* **2002**, 30 (4), 285-96.
8. Hayden, M. S.; Ghosh, S., Signaling to NF-kappaB. *Genes & development* **2004**, 18 (18), 2195-224.
9. Wu, Z. H.; Miyamoto, S., Many faces of NF-kappaB signaling induced by genotoxic stress. *Journal of molecular medicine* **2007**, 85 (11), 1187-202.
10. Baeuerle, P. A., IkappaB-NF-kappaB structures: at the interface of inflammation control. *Cell* **1998**, 95 (6), 729-31.
11. Cramer, P.; Muller, C. W., A firm hand on NFkappaB: structures of the IkappaBalpha-NFkappaB complex. *Structure* **1999**, 7 (1), R1-6.
12. Muller, C. W.; Harrison, S. C., The structure of the NF-kappa B p50:DNA-complex: a starting point for analyzing the Rel family. *FEBS letters* **1995**, 369 (1), 113-7.
13. Roshak, A. K.; Callahan, J. F.; Blake, S. M., Small-molecule inhibitors of

- NF-kappaB for the treatment of inflammatory joint disease. *Current opinion in pharmacology* **2002**, 2 (3), 316-21.
14. Liang, Y.; Zhou, Y.; Shen, P., NF-kappaB and its regulation on the immune system. *Cellular & molecular immunology* **2004**, 1 (5), 343-50.
 15. Zarnegar, B. J.; Wang, Y.; Mahoney, D. J.; Dempsey, P. W.; Cheung, H. H.; He, J.; Shiba, T.; Yang, X.; Yeh, W. C.; Mak, T. W.; Korneluk, R. G.; Cheng, G., Noncanonical NF-kappaB activation requires coordinated assembly of a regulatory complex of the adaptors cIAP1, cIAP2, TRAF2 and TRAF3 and the kinase NIK. *Nature immunology* **2008**, 9 (12), 1371-8.
 16. Mahoney, D. J.; Cheung, H. H.; Mrad, R. L.; Plenchette, S.; Simard, C.; Enwere, E.; Arora, V.; Mak, T. W.; Lacasse, E. C.; Waring, J.; Korneluk, R. G., Both cIAP1 and cIAP2 regulate TNFalpha-mediated NF-kappaB activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2008**, 105 (33), 11778-83.
 17. Dutta, J.; Fan, Y.; Gupta, N.; Fan, G.; Gelinas, C., Current insights into the regulation of programmed cell death by NF-kappaB. *Oncogene* **2006**, 25 (51), 6800-16.
 18. Mafuvadze, B.; Liang, Y.; Besch-Williford, C.; Zhang, X.; Hyder, S. M., Apigenin induces apoptosis and blocks growth of medroxyprogesterone acetate-dependent BT-474 xenograft tumors. *Hormones & cancer* **2012**, 3 (4), 160-71.
 19. Kim, S. G.; Veena, M. S.; Basak, S. K.; Han, E.; Tajima, T.; Gjertson, D. W.; Starr, J.; Eidelman, O.; Pollard, H. B.; Srivastava, M.; Srivatsan, E. S.; Wang, M. B., Curcumin treatment suppresses IKKbeta kinase activity of salivary cells of patients with head and neck cancer: a pilot study. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2011**, 17 (18), 5953-61.
 20. Ban, J. O.; Hwang, I. G.; Kim, T. M.; Hwang, B. Y.; Lee, U. S.; Jeong, H. S.; Yoon, Y. W.; Kimz, D. J.; Hong, J. T., Anti-proliferate and pro-apoptotic effects of 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyranone through inactivation of NF-kappaB in human colon cancer cells. *Archives of pharmacal research* **2007**, 30 (11), 1455-63.
 21. Ban, J. O.; Yuk, D. Y.; Woo, K. S.; Kim, T. M.; Lee, U. S.; Jeong, H. S.; Kim, D. J.; Chung, Y. B.; Hwang, B. Y.; Oh, K. W.; Hong, J. T., Inhibition of cell growth and induction of apoptosis via inactivation of NF-kappaB by a sulfurcompound isolated from garlic in human colon cancer cells. *Journal of pharmacological sciences* **2007**, 104 (4), 374-83.
 22. Muto, S. N., T.; Sotome, T.; Itai, A., Inhibitors against the production and release of inflammatory cytokines. Patents WO02 / 49532 A1. **2004**.
 23. 李宜蓉, 合成轉錄因子 NF-κB 小分子抑制劑並探討其構效關係, 碩士論文, 東海大學, 台中. **2011**.

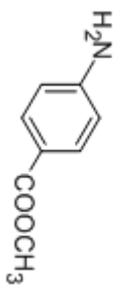
24. Hayakawa, Y.; Maeda, S.; Nakagawa, H.; Hikiba, Y.; Shibata, W.; Sakamoto, K.; Yanai, A.; Hirata, Y.; Ogura, K.; Muto, S.; Itai, A.; Omata, M., Effectiveness of IkappaB kinase inhibitors in murine colitis-associated tumorigenesis. *Journal of gastroenterology* **2009**, *44* (9), 935-43.
25. Tanaka, A.; Konno, M.; Muto, S.; Kambe, N.; Morii, E.; Nakahata, T.; Itai, A.; Matsuda, H., A novel NF-kappaB inhibitor, IMD-0354, suppresses neoplastic proliferation of human mast cells with constitutively activated c-kit receptors. *Blood* **2005**, *105* (6), 2324-31.
26. Frank, A. O.; Feldkamp, M. D.; Kennedy, J. P.; Waterson, A. G.; Pelz, N. F.; Patrone, J. D.; Vangamudi, B.; Camper, D. V.; Rossanese, O. W.; Chazin, W. J.; Fesik, S. W., Discovery of a potent inhibitor of replication protein a protein-protein interactions using a fragment-linking approach. *Journal of medicinal chemistry* **2013**, *56* (22), 9242-50.
27. 謝正鴻, 合成 IMD-0354 衍生物以及探討其對於轉錄因子 NF-κB 的抑制效果, 碩士論文, 東海大學, 台中. **2011**.
28. 黃志遠, 苯甲醯苯胺及吡啶化合物的合成與抑制 NF-κB 之結構活性關係探討, 碩士論文, 東海大學, 台中. **2010**.
29. Graziano, G., Hydrophobicity of benzene. *Biophysical chemistry* **1999**, *82* (1), 69-79.



N13-1
 exps 5011h
 SAMPLE
 date Aug 30 2012 dfrq 300.085
 solvent CDCl3 dm 31
 f1 ACQUISITION exp dof 0
 sfrq 300.066 dm nnn
 tn H1 dmf 200
 at 3.413 dmf
 np 32768 dseq
 SW 4800.8 dres 1.0
 fb 2600 homo
 bs 4
 epwr 57 wfile
 pw 1.008 proc ft
 tof 7285 mth 6553f
 nt 128
 ct 28 warr
 atlock n wexp
 gain not used wbs
 flags n
 l1 n
 in n
 dp y
 hs nm
 DISPLAY
 sp -600.0
 wd 4800.0
 vs 10.0
 sc 0
 WC 250
 hzmm 19.20
 is 500.00
 rfp 600.0
 th 0
 tns 1
 nm cdc ph 100.000

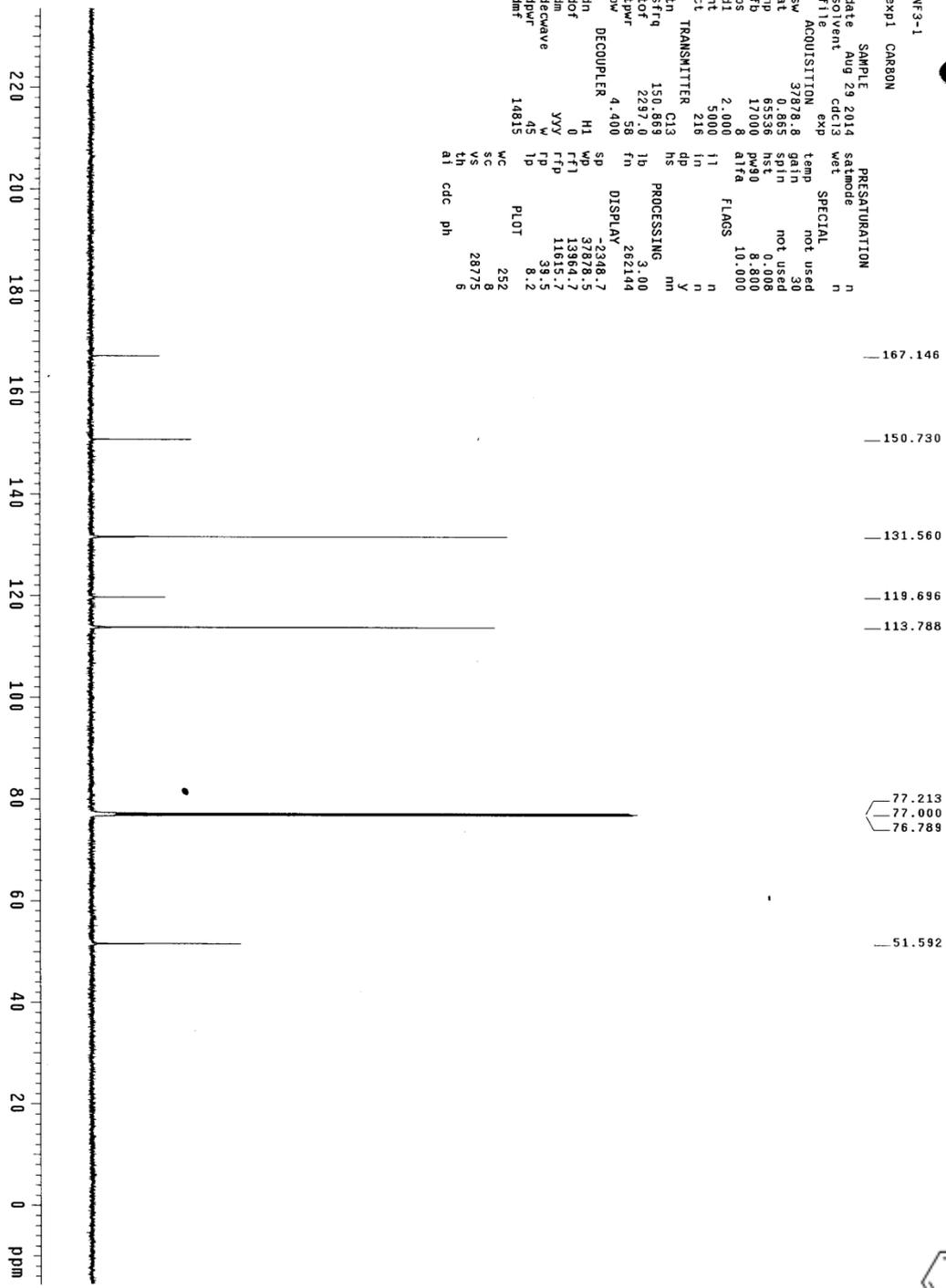
Methyl 4-aminobenzoate (5) 氫譜圖

U

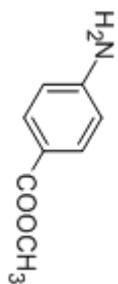


```

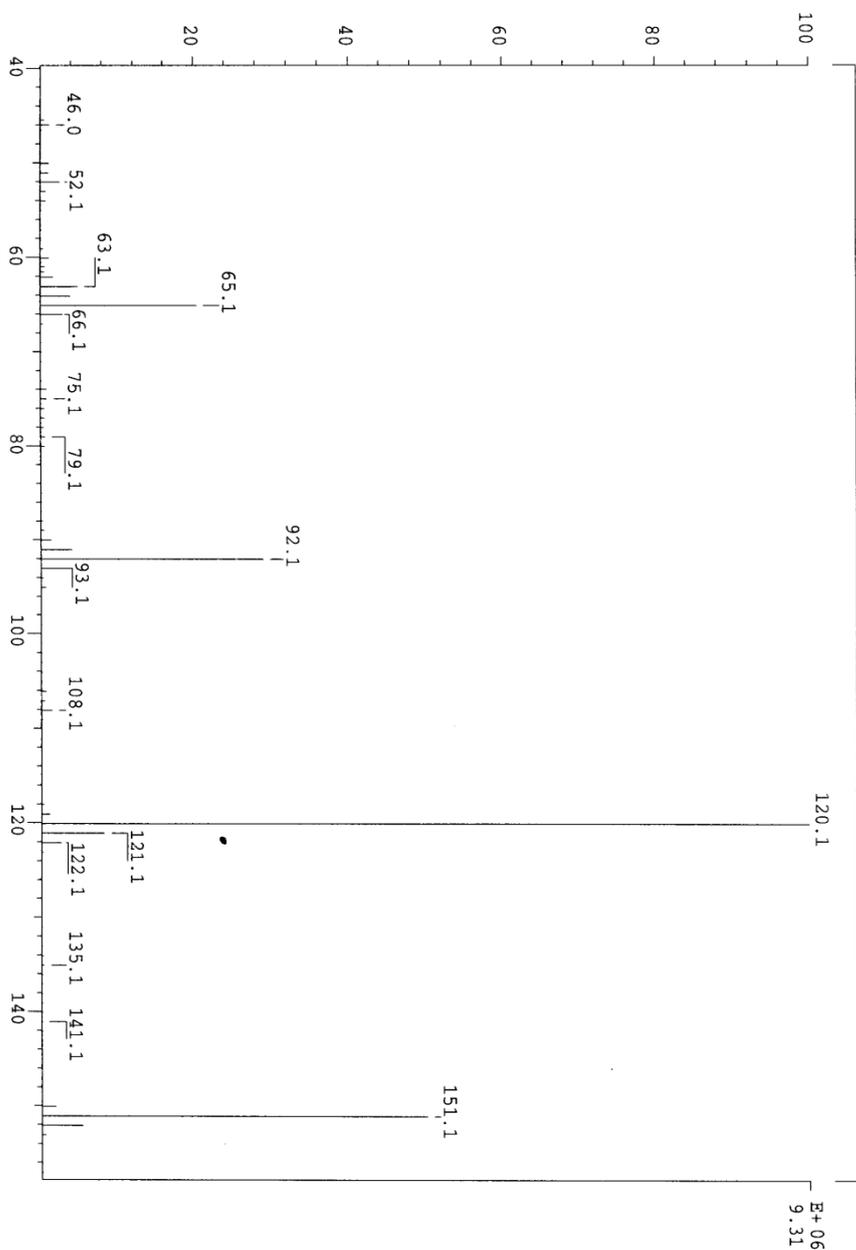
NF3-1
expl CARBON
SAMPLE date Aug 29 2014 PRESATURATION
solvent cdc13 wet SPECIAL n
TI ACQUISITION exp temp not used
SW 37878.8 gain 30
at 0.865 spin not used
pp 65536 hst 8.808
fb 17000 pwa8 10.000
bs 8 a1fa
d1 2.000
nt 5000 11
cl 216
TRANSMITTER hs
tn C13
sfrq 150.889 1b PROCESSING
tof 2297.0 fn 3.00
tpwr 58 DISPLAY 282144
pw 4.400
DECOUPLER sp -23948.7
dn H1 wp 37878.5
dof 0 ffl 13964.7
sm YYT ffd 11615.7
decrave W TP 39.5
dpmf 45 1p 8.2
dmf 14615 PLOT 252
          MC 28775
          VS 28775
          th 28775
          ai cdc ph 8
  
```



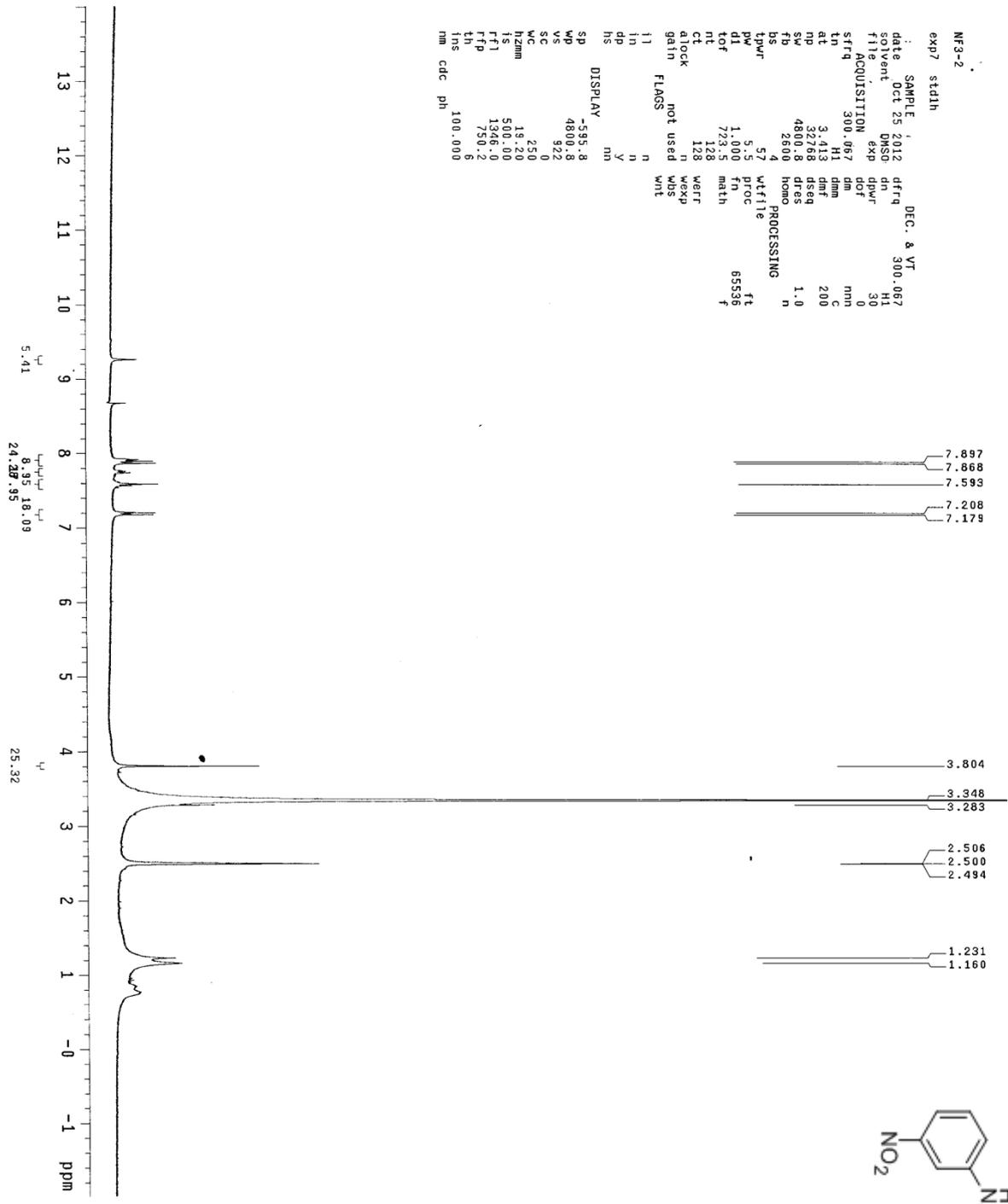
Methyl 4-aminobenzoate (5) 碳谱图



SPEC: lei806_nf31
 29-Aug-14
 REG : 00:53.9 #9
 Start : 13:19:25 313
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Inlet :
 Base: 120.1 Inten : 9305560
 Norm: 120.1 RIC : 24440786
 Peak: 1000.00 mmu #peaks: 163
 Data: +/-19>35



Methyl 4-aminobenzoate (5) 質譜圖



```

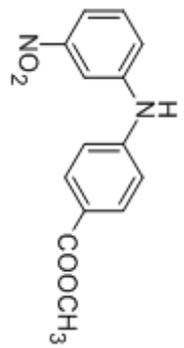
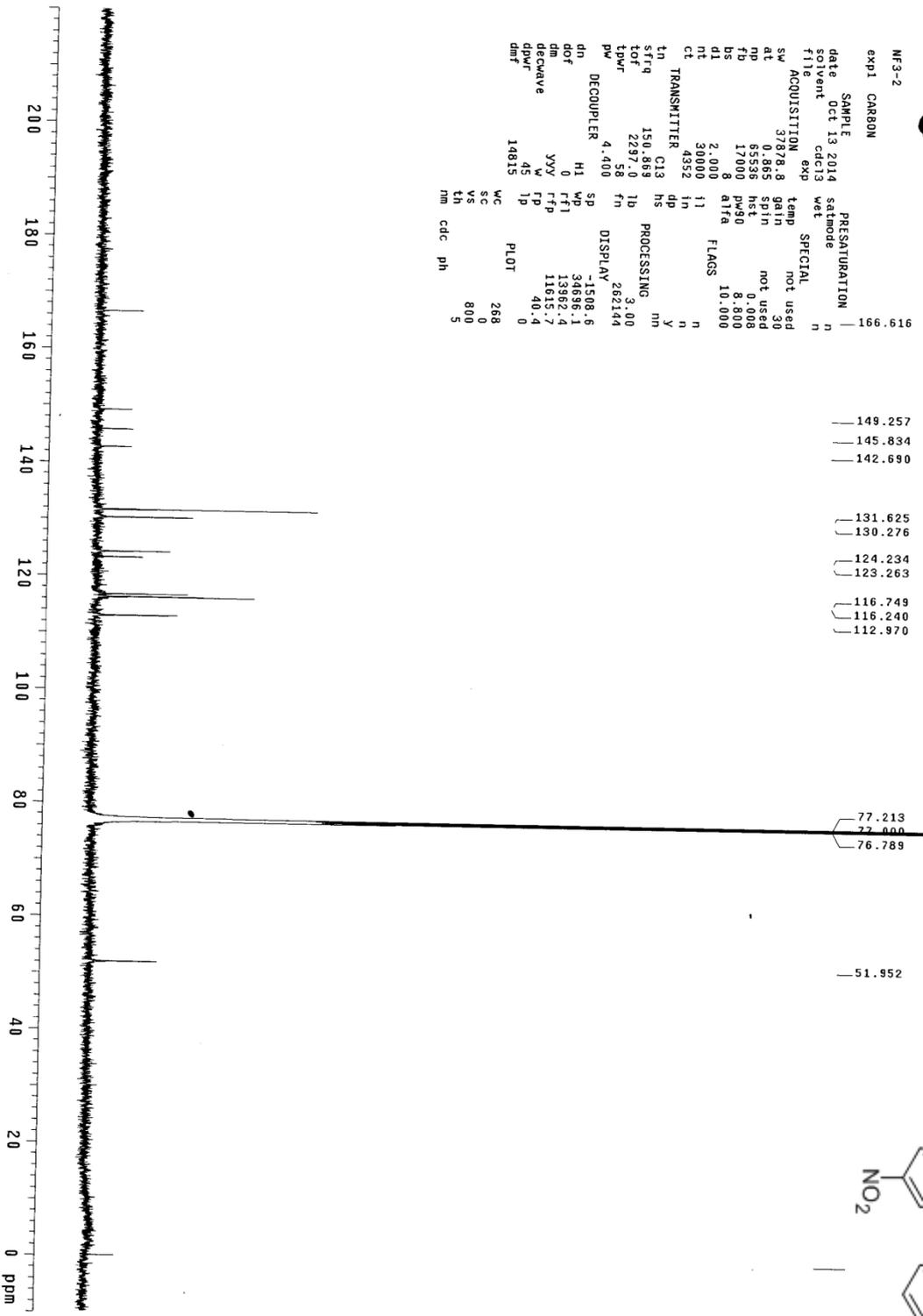
MF3-2
exp7 stdlh
SAMPLE DEC. & VT
date Oct 25 2012 dfrq 300.067
solvent DMSO dn H1
file exp dpwr 30
ACQUISITION dof 0
sfrq 300.067 dm
tn H1 dnm
at 3.743 dmf
nd 3.743 dsq
sp 4800.8 dsq
fb 2600 homo
bs 4
pw 5.7 wfile
dl 1.000 fn
tof 723.5 math
nt 128 weff
ct gain not used
gain not used
flags WDS
i1 n
i2 n
i3 n
i4 n
i5 n
i6 n
i7 n
i8 n
i9 n
i10 n
i11 n
i12 n
i13 n
i14 n
i15 n
i16 n
i17 n
i18 n
i19 n
i20 n
i21 n
i22 n
i23 n
i24 n
i25 n
i26 n
i27 n
i28 n
i29 n
i30 n
i31 n
i32 n
i33 n
i34 n
i35 n
i36 n
i37 n
i38 n
i39 n
i40 n
i41 n
i42 n
i43 n
i44 n
i45 n
i46 n
i47 n
i48 n
i49 n
i50 n
i51 n
i52 n
i53 n
i54 n
i55 n
i56 n
i57 n
i58 n
i59 n
i60 n
i61 n
i62 n
i63 n
i64 n
i65 n
i66 n
i67 n
i68 n
i69 n
i70 n
i71 n
i72 n
i73 n
i74 n
i75 n
i76 n
i77 n
i78 n
i79 n
i80 n
i81 n
i82 n
i83 n
i84 n
i85 n
i86 n
i87 n
i88 n
i89 n
i90 n
i91 n
i92 n
i93 n
i94 n
i95 n
i96 n
i97 n
i98 n
i99 n
i100 n

```

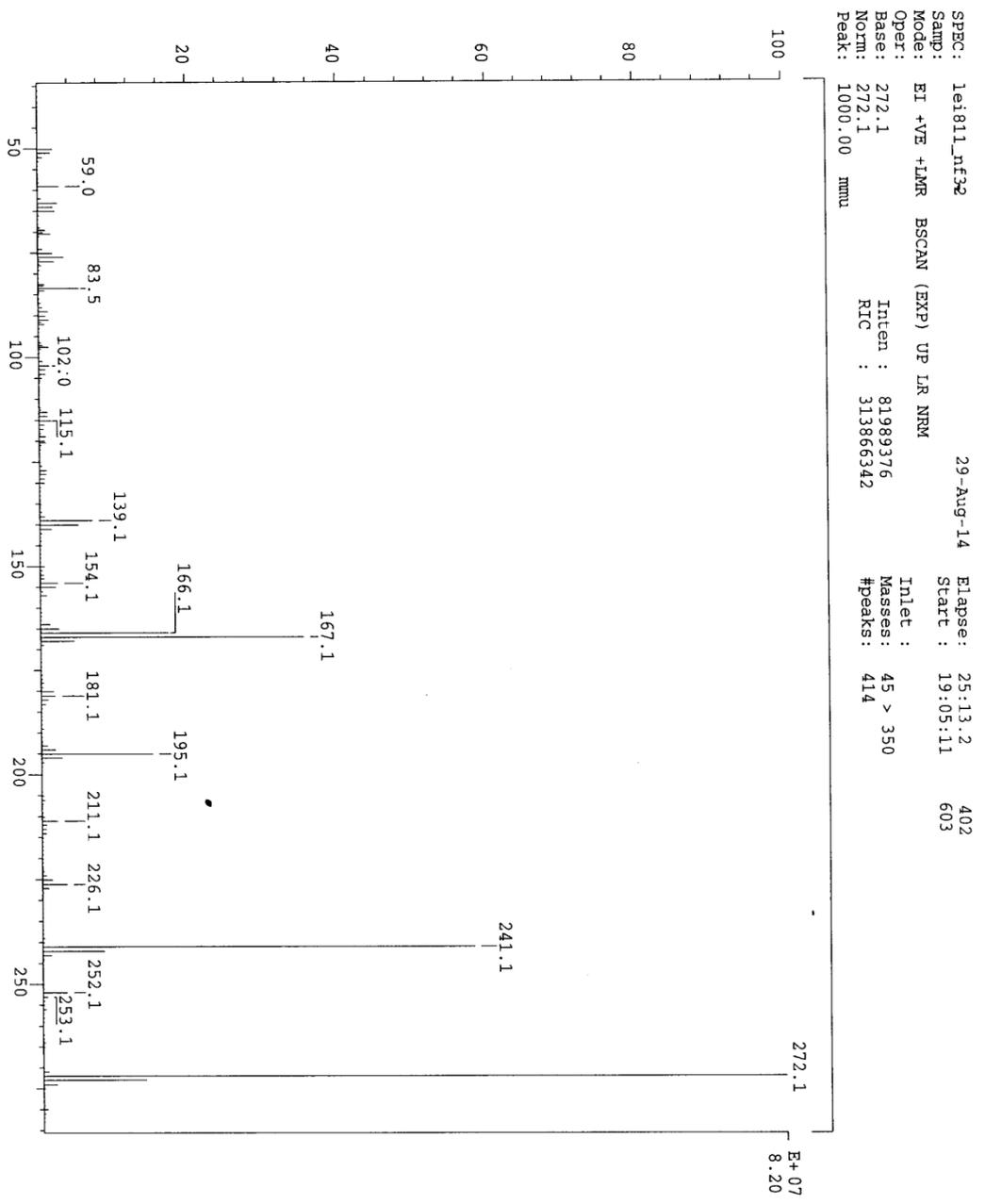
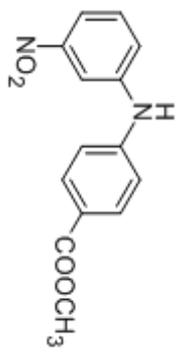
Methyl 4-((3-nitrophenyl)amino)benzoate (6) 氫譜圖

41y

NF3-2
expt CARBON
SAMPLE
date Oct 13 2014
solvent cdc13
file ACQUISITION exp 37878.8
sw 0.865 spin not used
at 65598 het not used
fb 17000 pm90 8.800
bs 8 atfa 10.000
d1 2.000
nt 30000 11
ct 4352 in
tn TRANSMITTER 4352 in
in hs
strq 150.869 1b PROCESSING 3.00
tof 2297.0
cpwr 58 fm
pw 4.400 DISPLAY 262144
DECOUPLER 4.400
dp HI SP -1508.6
dof 0 WPI 34696.1
dm 0 FFI 13962.4
deconvave YYY TFP 11615.7
dprf 4t 1p 40.4
dmf 14615 PLOT 0
wc 268
sc 0
vs 800
th 5
nm cdc ph

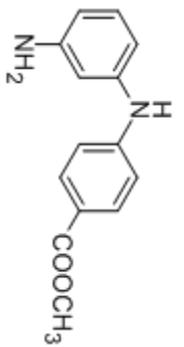


Methyl 4-((3-nitrophenyl)amino)benzoate (6) 碳谱图

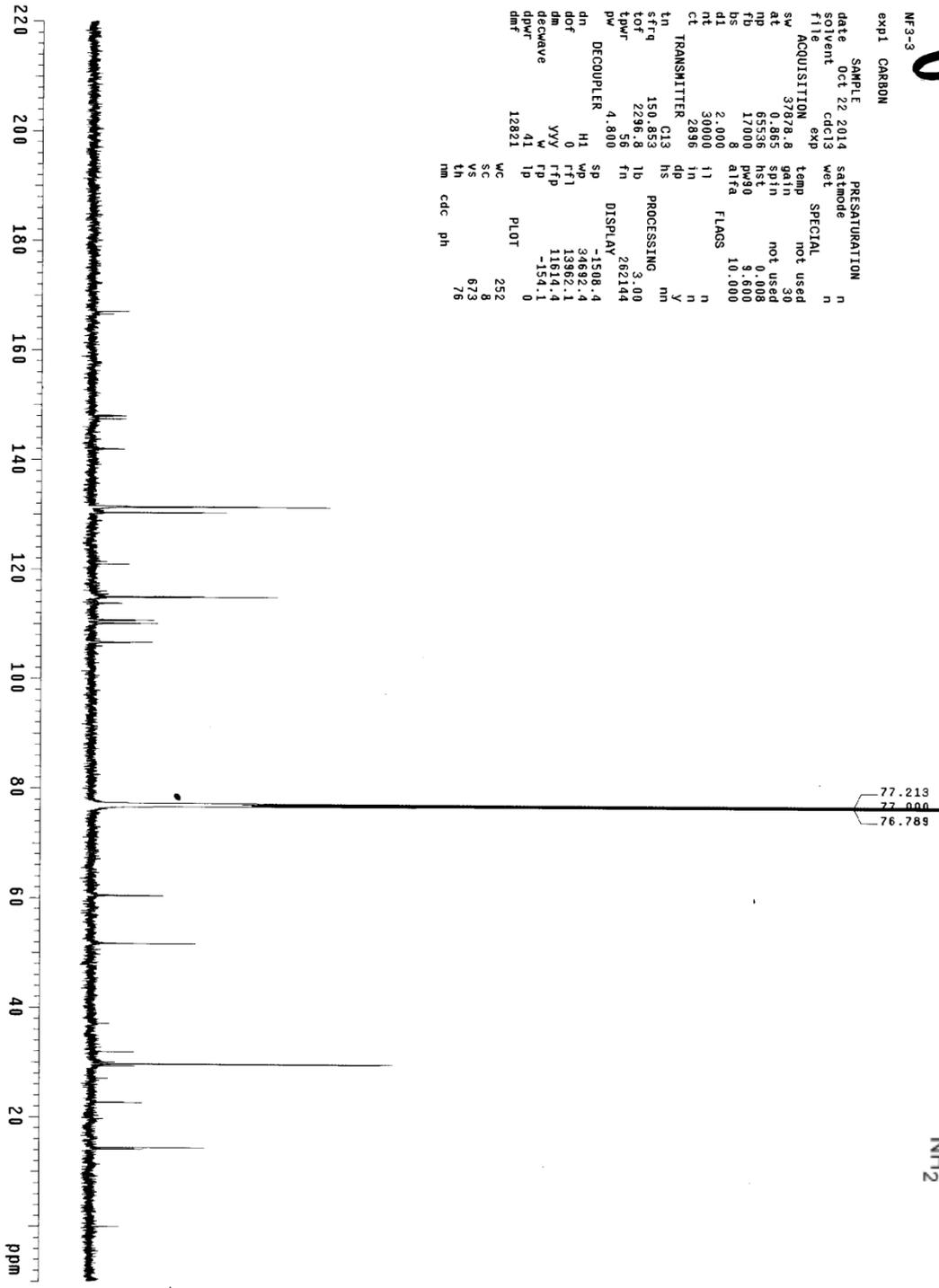


Methyl 4-((3-nitrophenyl)amino)benzoate (6) 質譜圖

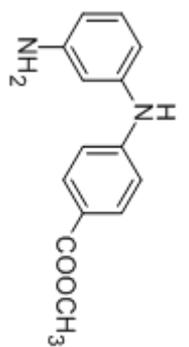
N



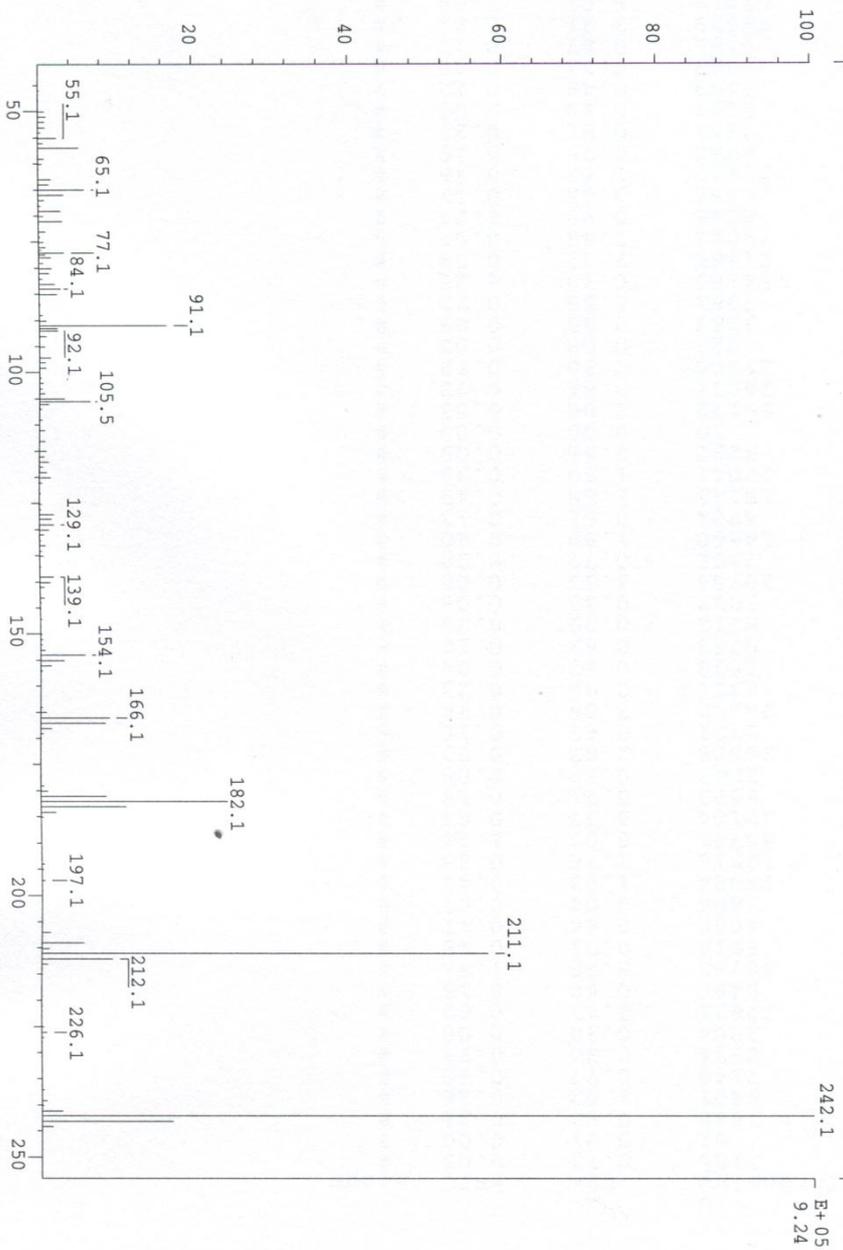
MF3-3
expt CARBON
SAMPLE PRESATURATION
date Oct 22 2014 satmode n
solvent cdc13 wet n
file cdc13 SPECIAL n
ACQUISITION exp
sw 37878.8 gain 30 not used
at 0.865 spin not used
np 65536 hst 0.008
fb 17000 pw90 9.600
bs 8 alfa 10.000
d1 2.000 FLAGS n
nt 30000 11 n
ct TRANSMITTER 2896 1n y
th 150.853 hs PROCESSING nm
strq 2286.5 1b 3.00
solr 4.800 th DISPLAY 202144
pw DECOUPLER H1 SP -1508.4
dn 0 wpt 34682.4
dof 0 rfd 13982.1
dm YYY rfd 11614.4
decmave Y rfd -154.1
dpcvr 41 1p PLOT 0
dmf 12821 WC 252
VS 8
th 673
nm cdc ph 76



Methyl 4-((3-aminophenyl)amino)benzoate (7) 碳谱图



SPEC: 1e11661_mf33
 Samp: 05-Nov-14 REG : 05:36.6 #9
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP IR NRM Start : 17:00:09 286
 Oper: Inlet :
 Base: 242.1 Inten : 923593
 Norm: 242.1 RIC : 3624655
 Peak: 1000.00 mmu #Peaks: 45 > 250
 Data: +/137>174 #Peaks: 146

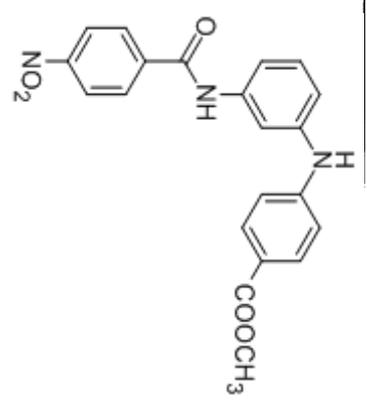
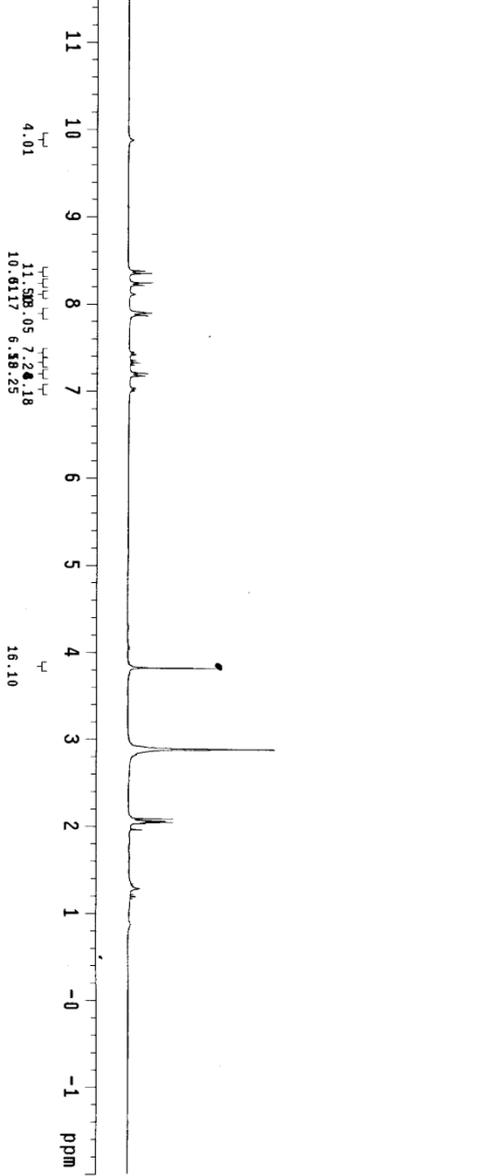


Methyl 4-((3-aminophenyl)amino)benzoate (7) 質譜圖

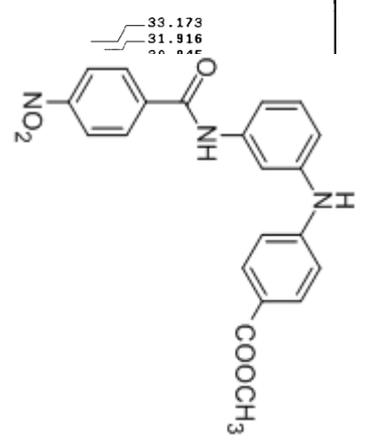
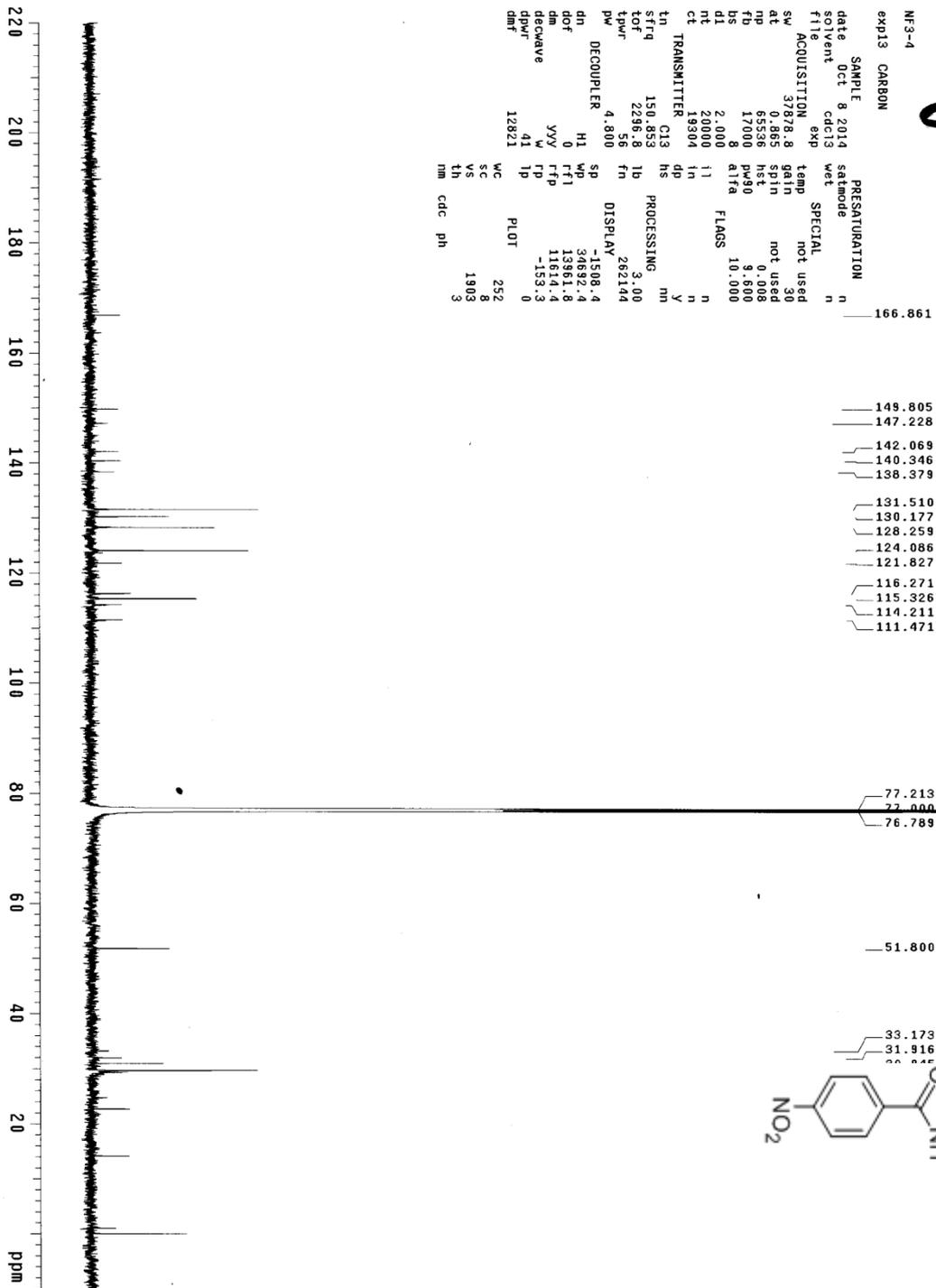
```

NF3-4
exp5 std1h
SAMPLE 5 2013 DEC. 8 VT
date Mar 2013 dfrq 300.067
solvent Acetone d1
11
solventexpor~ dm
nmr1/vmprovs/data~ d0
vmpf/vmprovs/data~ d0
/vms/NF3-4.fid dm
ACQUISITION
sfrq 300.067 dmf
tn H1 dseq
at 3.413 dres
np 32768 homo
sw 4800.8 waltz16
fd 2600 wflile
ds 57 proc
dpmr 57 ft
d1 1.000 math
tof 723.5 warr
nt 128 wexp
ct 88 vds
atlock not used
gain n
flags not used
11 n
1n n
dp y
hs mm
DISPLAY
SP -600.5
WD 4800.8
VS 24
SC 0
WC 250
hzmm 19.20
IS 500.00
rf1 1215.6
rfp 615.1
th 13
ins 100.000
nm cdc ph

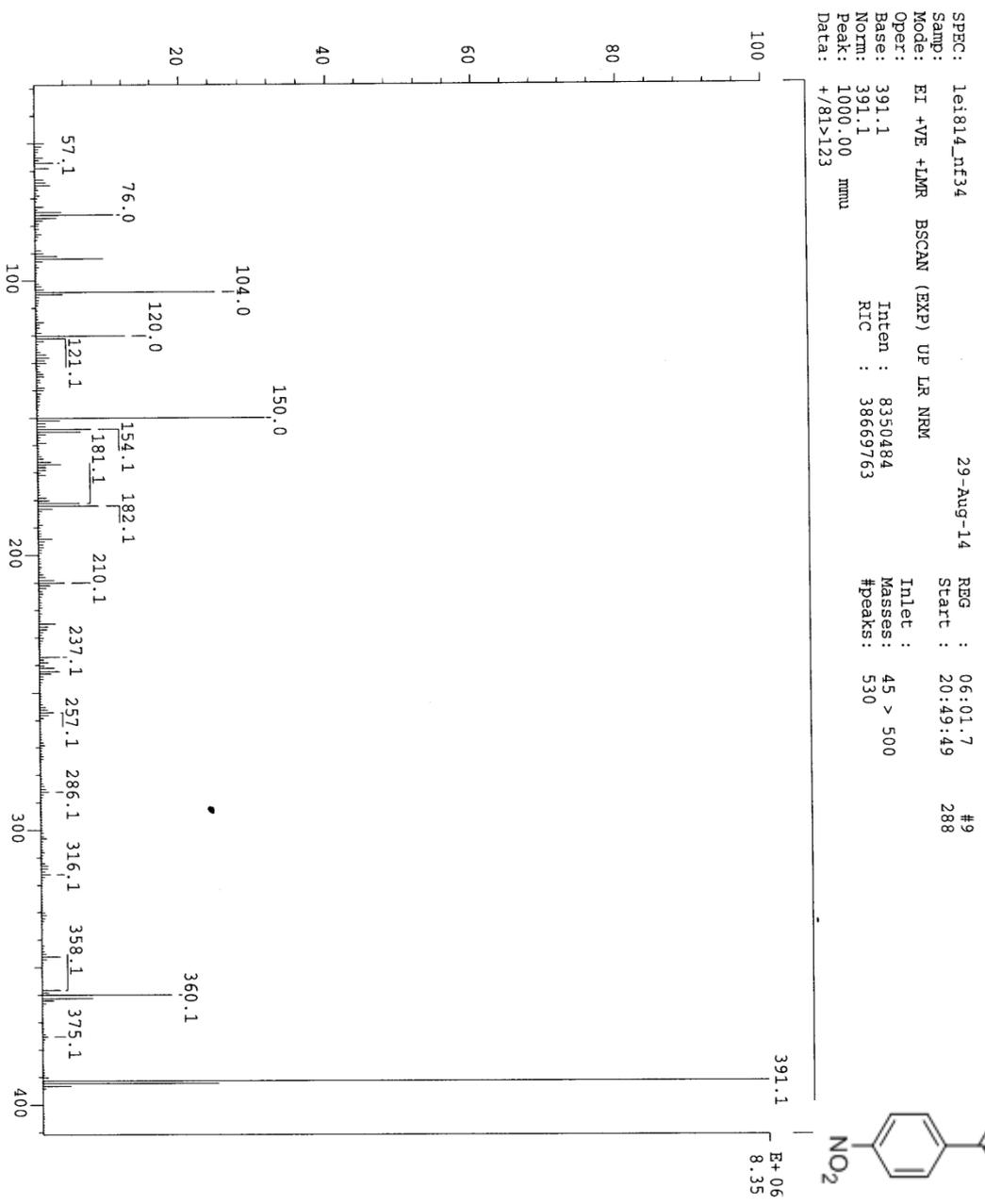
```



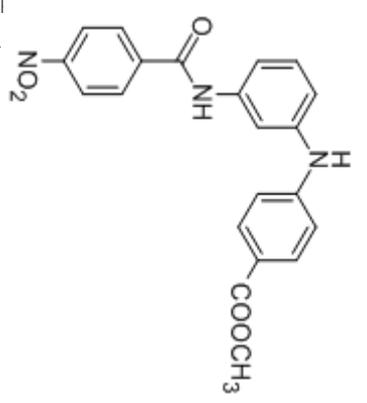
Methyl 4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoate (8) 氣譜圖



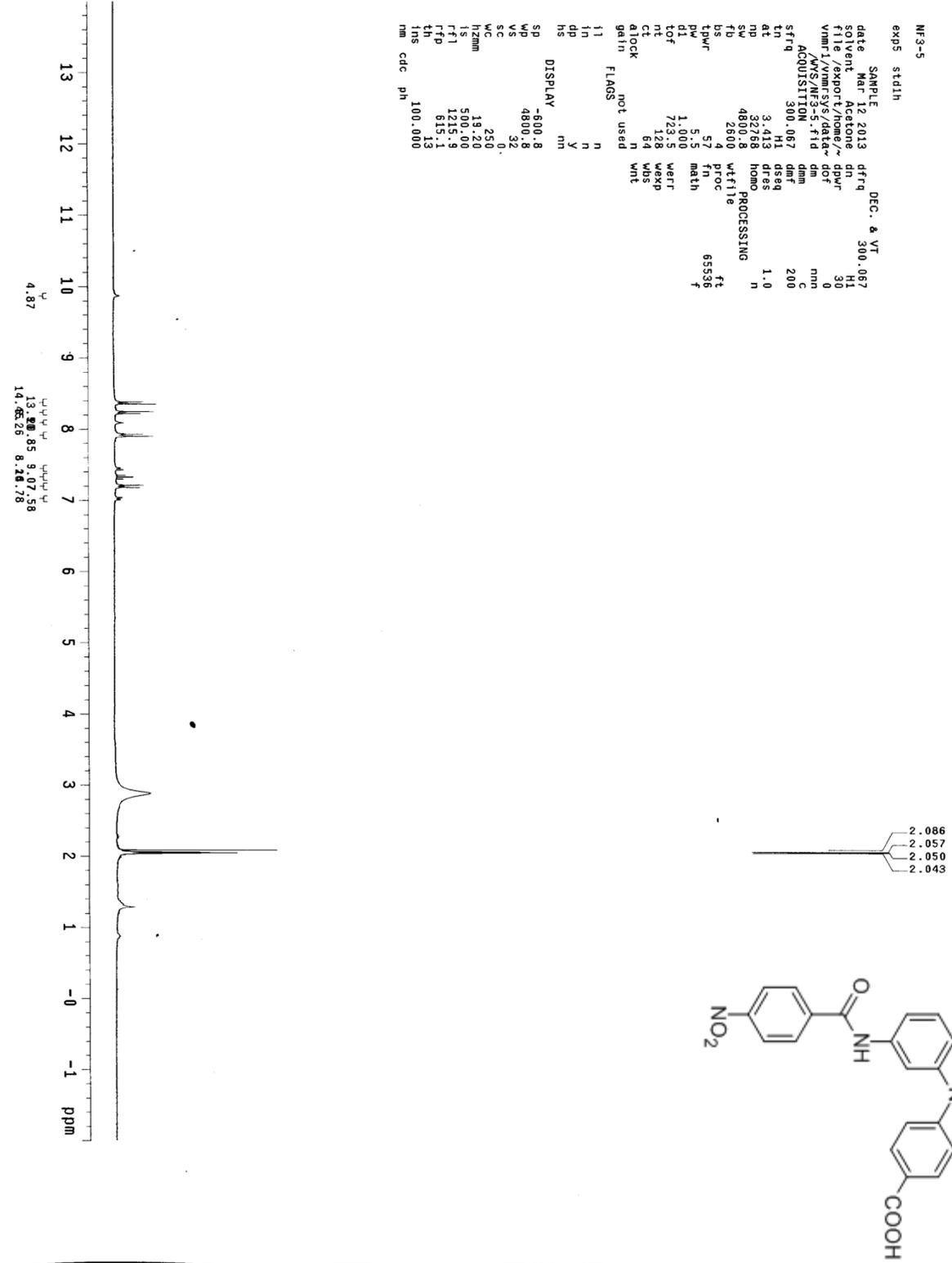
Methyl 4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoate (8) 碳谱图



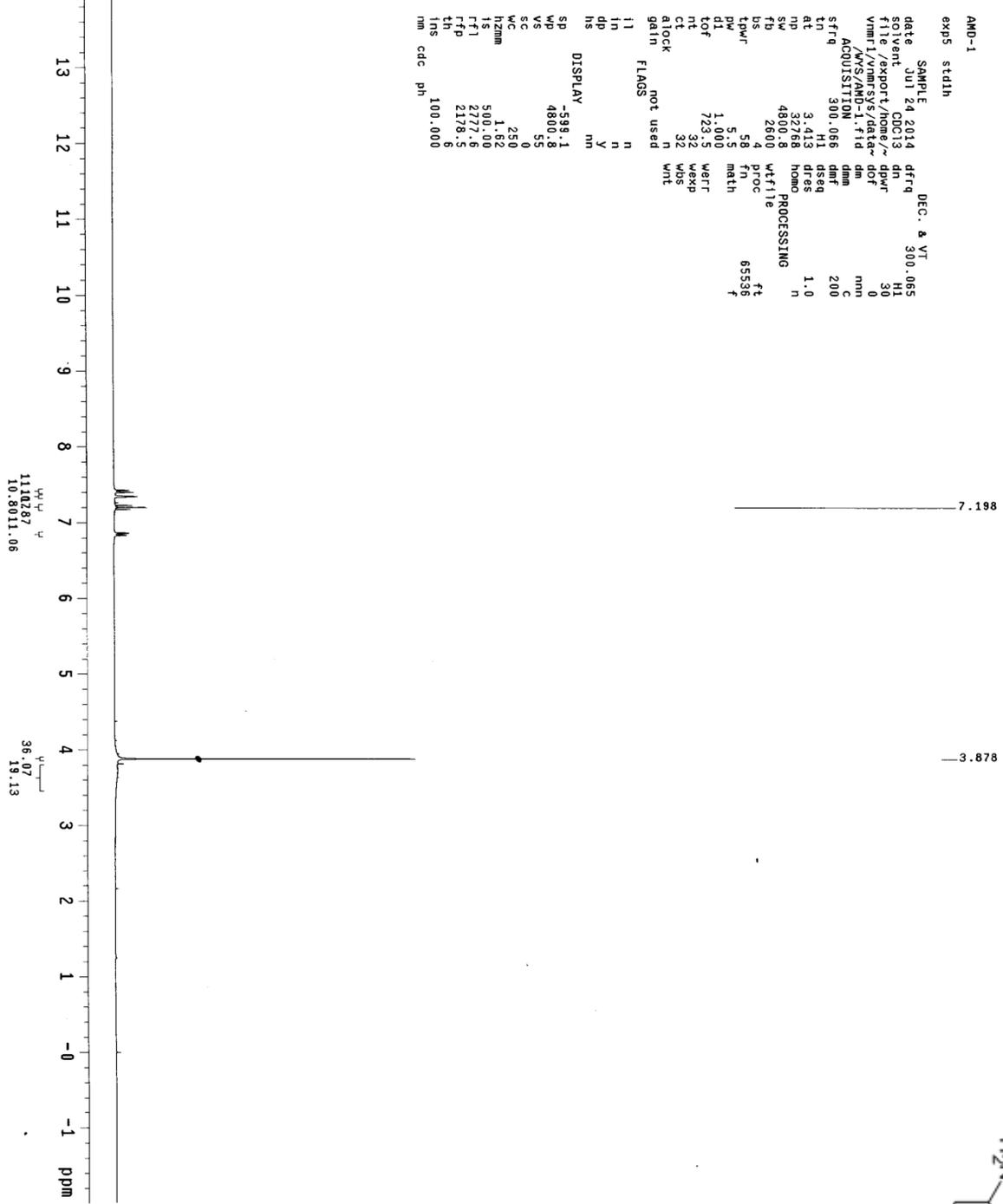
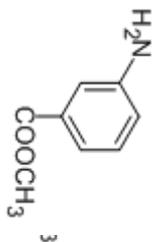
SPEC: lei814_nf34
 Samp: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Mode: 29-Aug-14 REG : 06:01.7 #9
 Start : 20:49:49 288
 Oper: 391.1 Inlet : 45 > 500
 Base: 391.1 Masses: 530
 Norm: 1000.00 mmu #peaks:
 Peak: +/81>123
 Data:



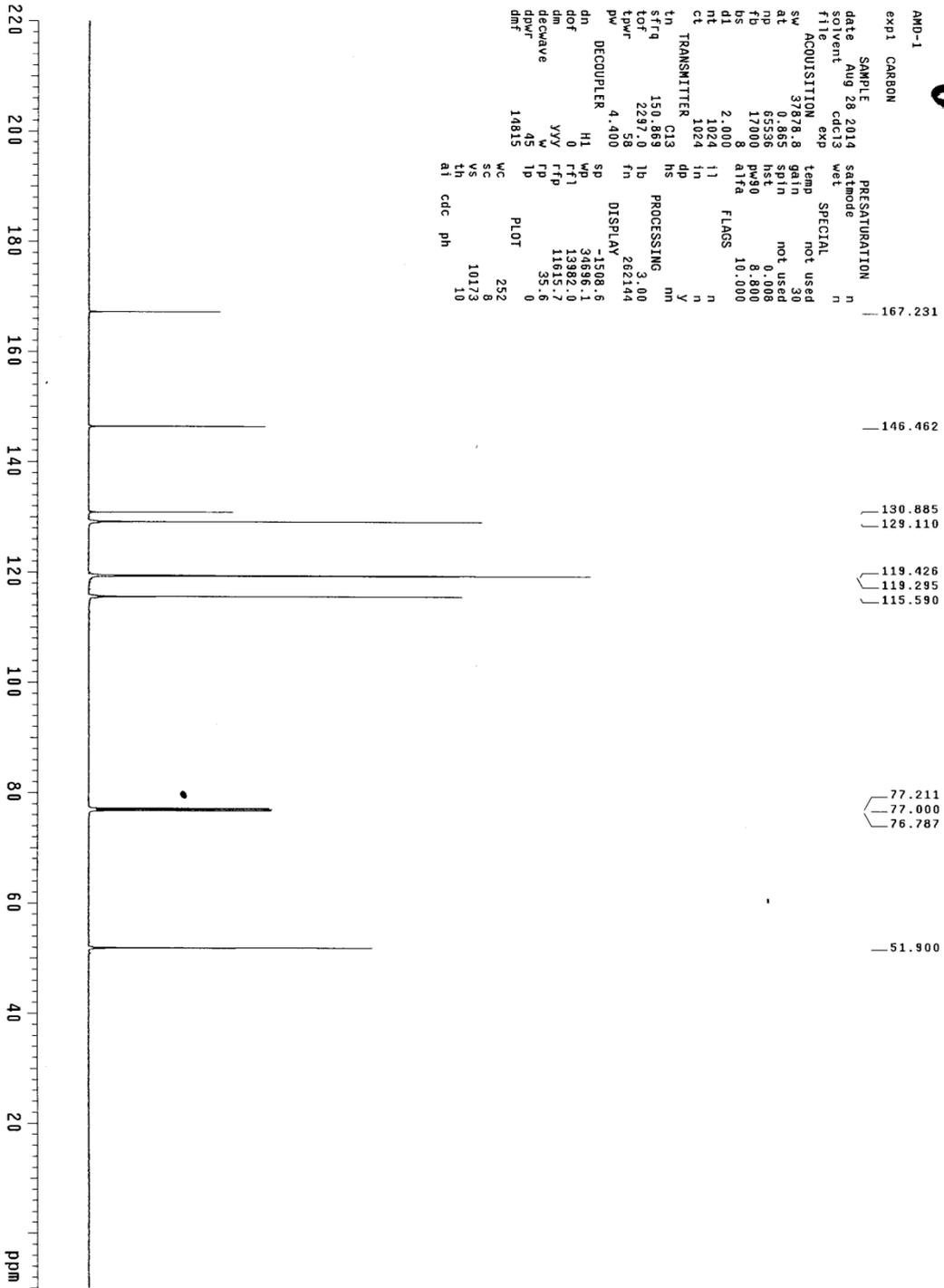
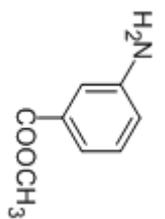
Methyl 4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoate (8) 質譜圖



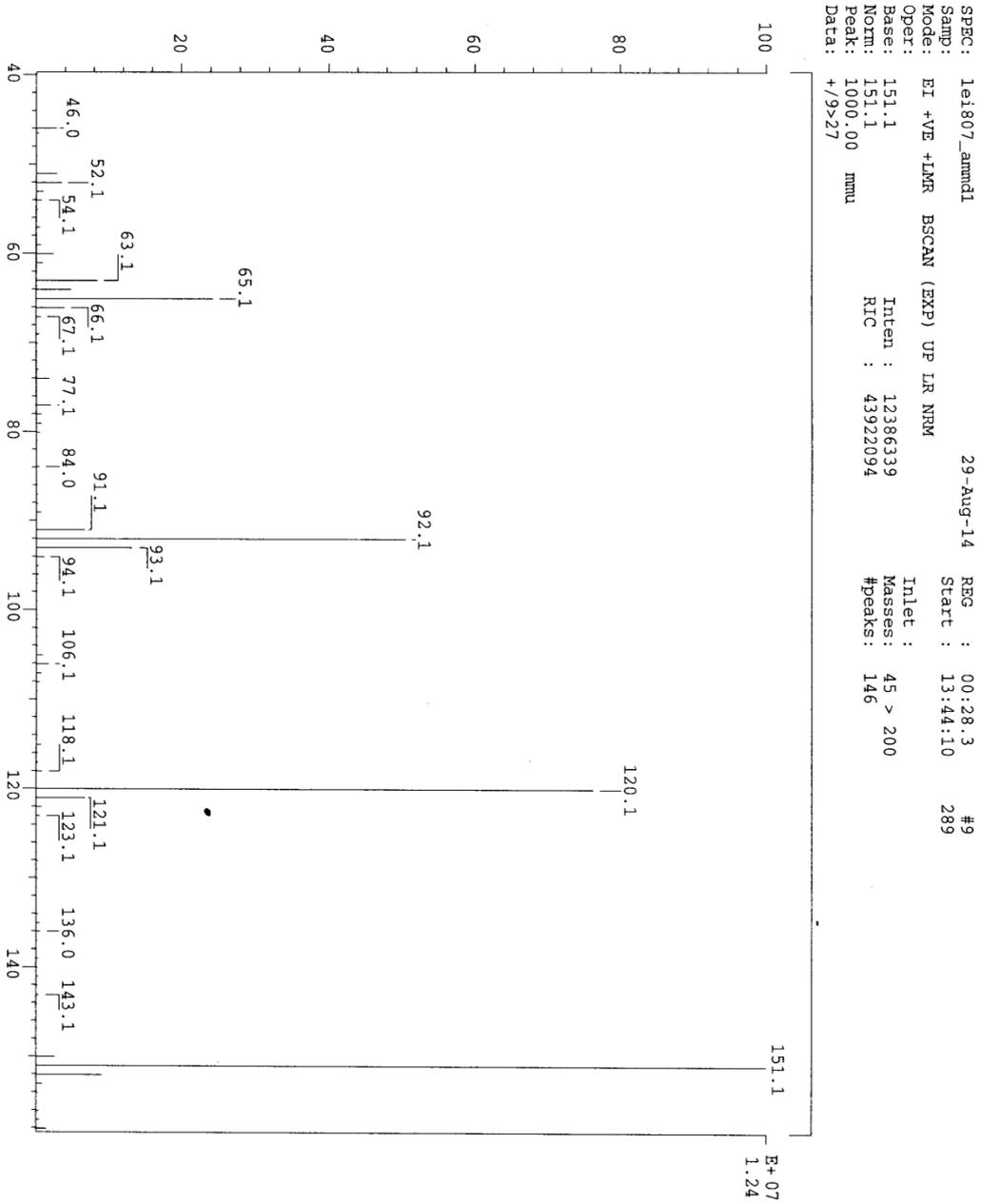
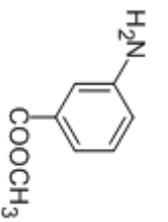
4-((3-(4-nitrobenzamido)phenyl)amino)benzoic acid (9) 氫譜圖



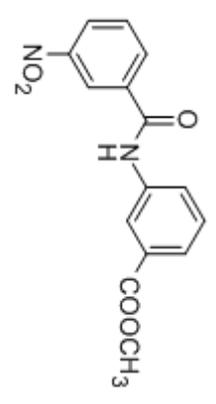
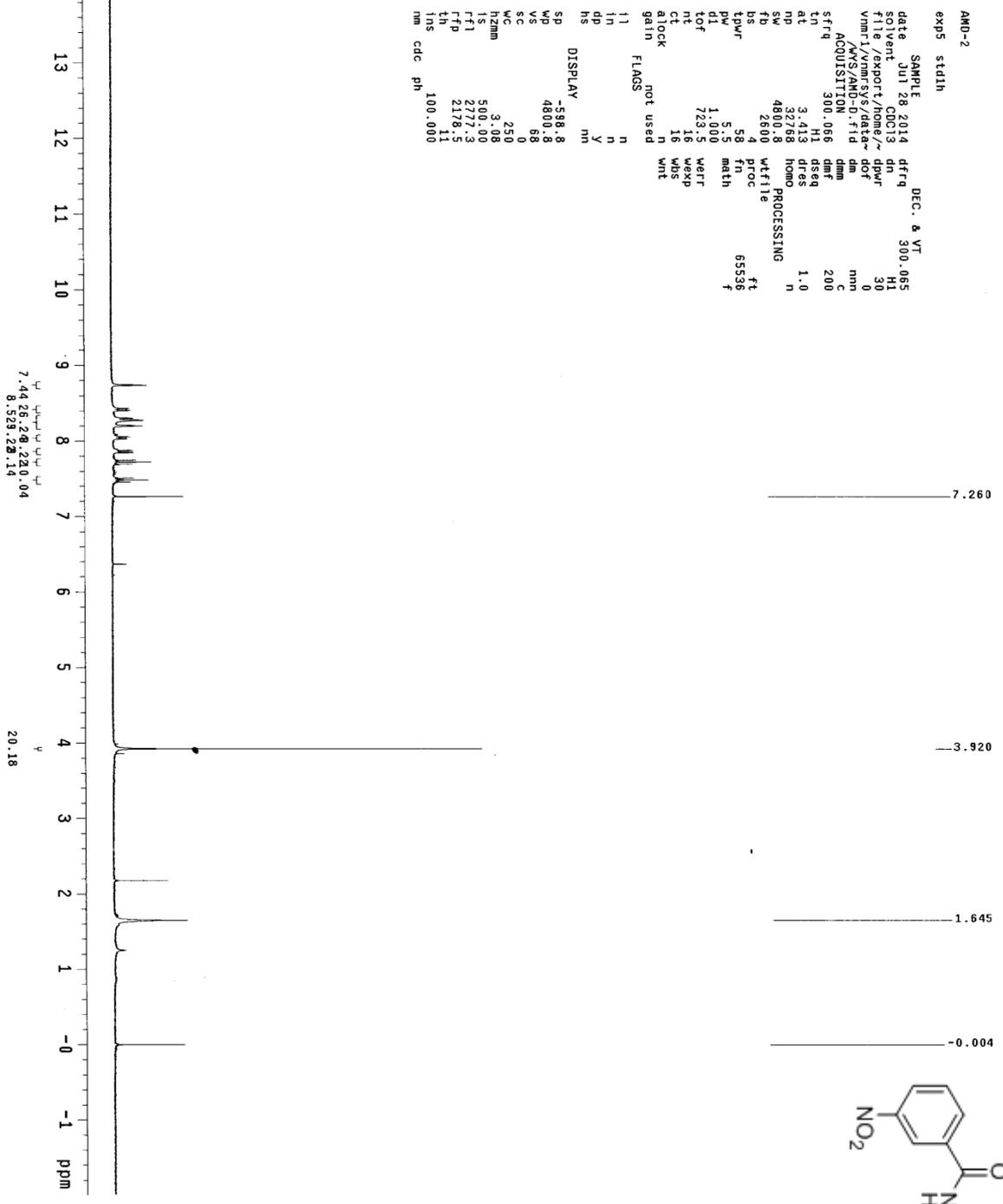
Methyl 3-aminobenzoate (11) 氫譜圖



Methyl 3-aminobenzoate (11) 碳譜圖



Methyl 3-aminobenzoate (11) 質譜圖

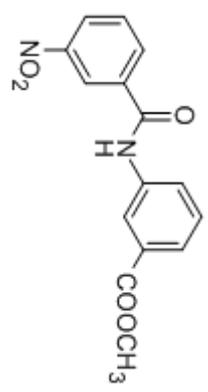
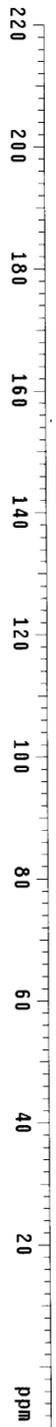


Methyl 3-(3-nitrobenzamido)benzoate (12) 氫譜圖

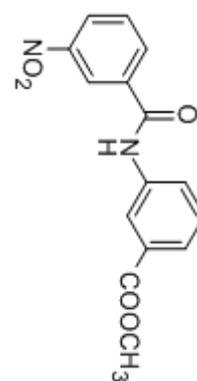
V

AMD-2
 exp1 CARBON

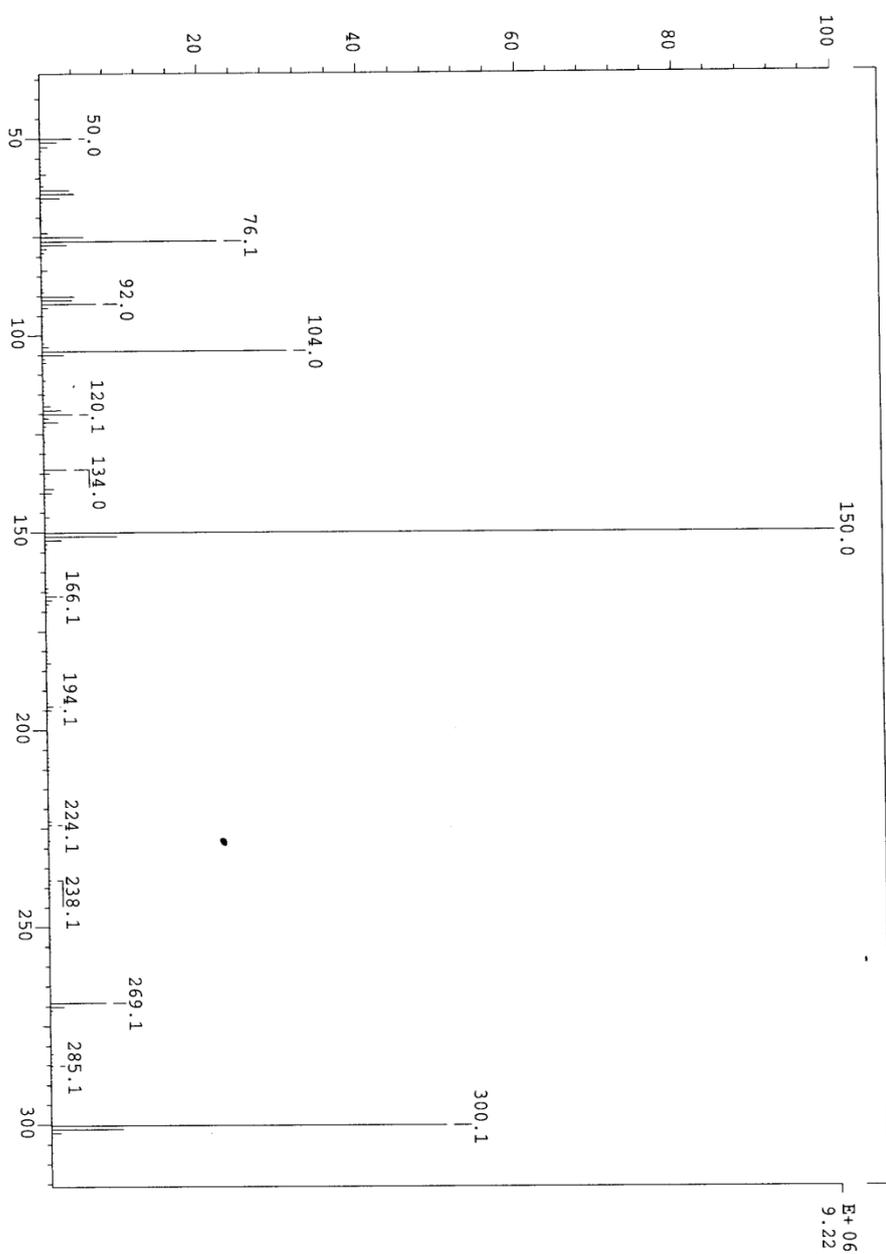
SAMPLE PRESATURATION
 date Oct 22 2014 satmode n
 solvent cdc13 wet n
 file exp SPECIAL n
 ACQUISITION temp not used
 sw 37378.8 gain 30
 at 0.865 spin not used
 np 65536 hst 0.008
 fb 17000 pw90 9.600
 bs 8 alpha 10.000
 d1 2.000 FLAGS
 nt 30000 i1 n
 ct 1528 in y
 TRANSMITTER hs
 in C13 PROCESSING mm
 sfrq 150.853 lb 3.00
 tof 2296.8 fn 262144
 epwr 56
 pw 4.800 DISPLAY 1508.4
 DECOUPLER H1 SP 34892.4
 dn H1 WP 13982.4
 dof 0 FFI 11614.4
 dm yyf LP -159.4
 dechavc 41 lp PLOT 252
 dpr 12821 WC 8
 dmf VS 336
 th 94
 nm cdc ph



Methyl 3-(3-nitrobenzamido)benzoate (12) 碳谱图



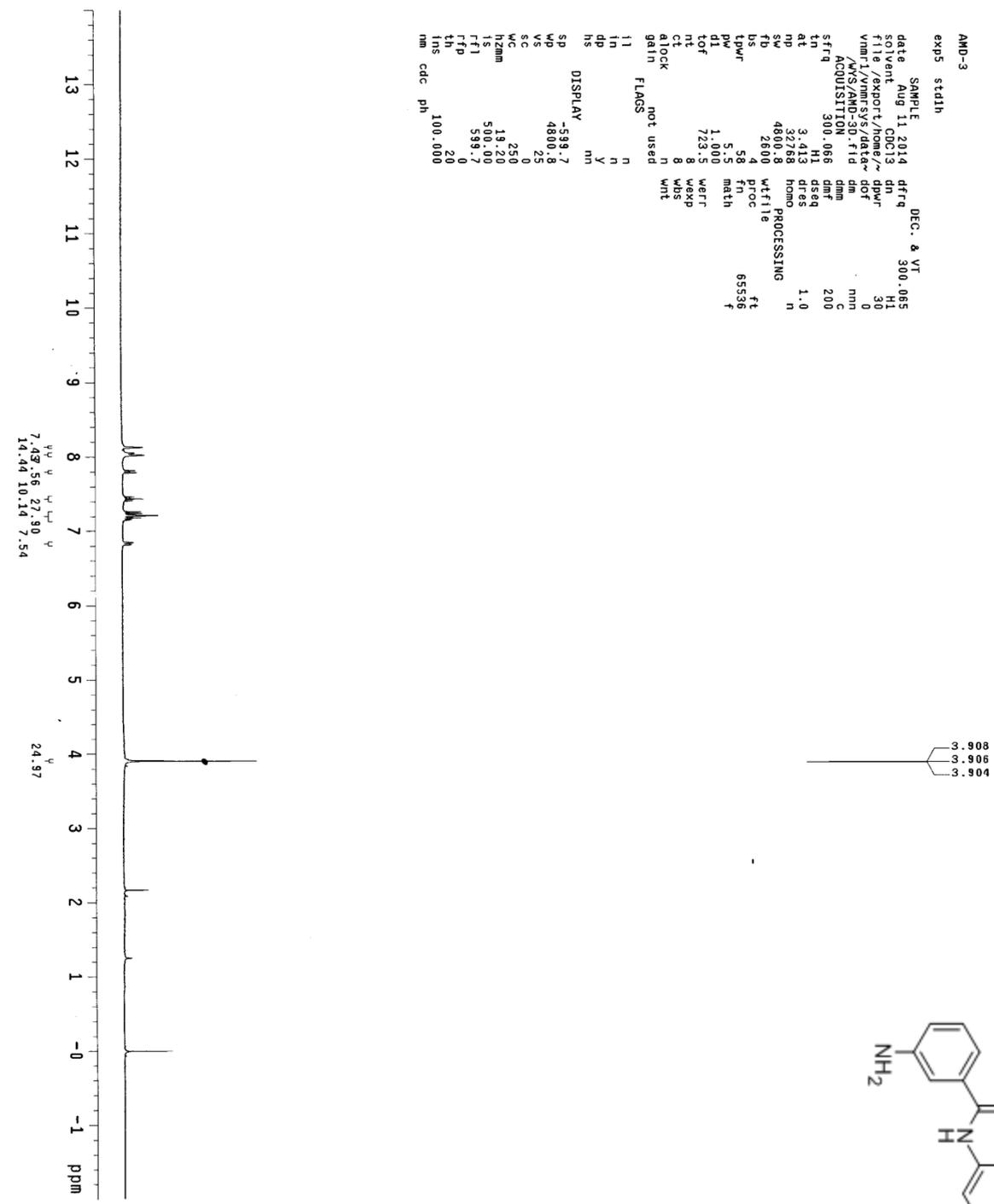
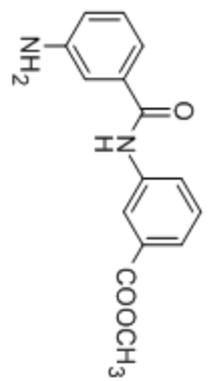
SPMC: lei808_and2
 Samp: 29-Aug-14
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Oper: 150.0
 Base: 150.0
 Norm: 1000.00 mmu
 Inlet: 93
 Start: 05:50.7
 Masses: 45 > 350
 #peaks: 271
 Inten: 9217280
 RIC: 29383595
 577



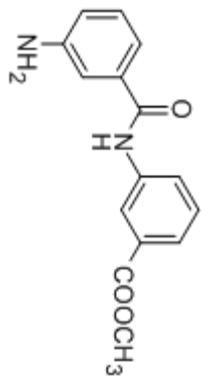
Methyl 3-(3-nitrobenzamido)benzoate (12) 質譜圖

AMD-3
exp5 std1h

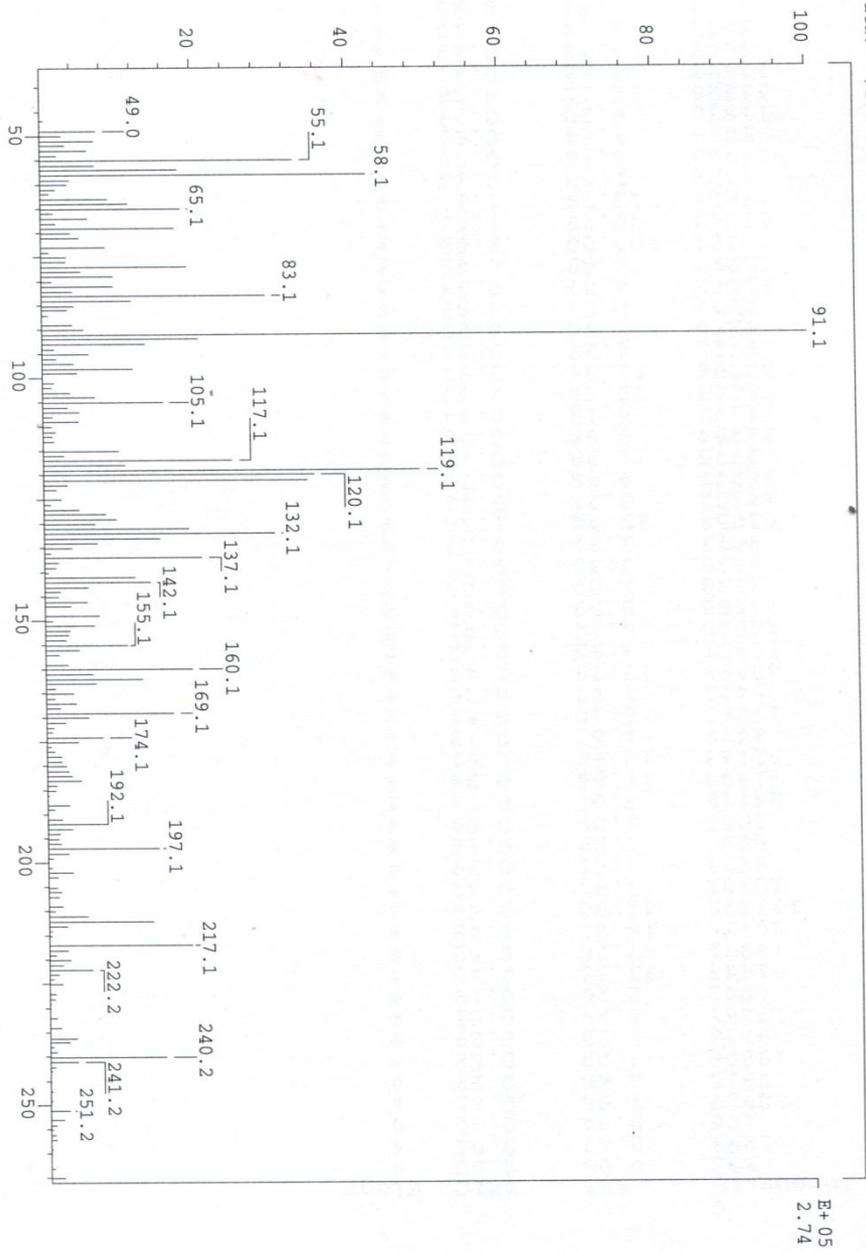
SAMPLE DEC. & VI
date Aug 11 2014 dfreq 300.065
solvent CDCl3 dn H1
file /export/home/~
vnmr1/vnmrSYS/data/~
/VMS/AMD-3D.fid dm nmm
ACQUISITION C
sfrq 300.066 dmf 200
in H1 dseq 1.0
at 3.413 dres
sp 3.213 hmo
sv 4800.8 hmo PROCESSING
fb 2800 wfile
bs 4 proc
tpwr 58 fn
pw 1.000 math ft
d1 1.000 werr f
tof 723.5 wexp
nt 8 wds
ct 8 wds
alock not used
gain n
flags n
l1 n
l2 n
l3 n
dp y
hs nm
DISPLAY
sp -599.7
wp 4800.8
vs 25
sc 0
wc 250
h2nm 19.20
ts 500.00
f1l 599.7
f1d 0
f1h 20
tms 100.000
nm cdc ph



Methyl 3-(3-aminobenzamido)benzoate (13) 氫譜圖



SPC: 1e1639_amd3
 Samp: 01-Nov-14
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Oper: REG : 07:40.4 #9
 Base: 91.1 Inlet : 274364
 Norm: 1000.00 mmu Masses: 45 > 280
 Peak: 1000.00 mmu
 Data: +/177>217
 Start : 16:28:26 257
 #peaks: 207

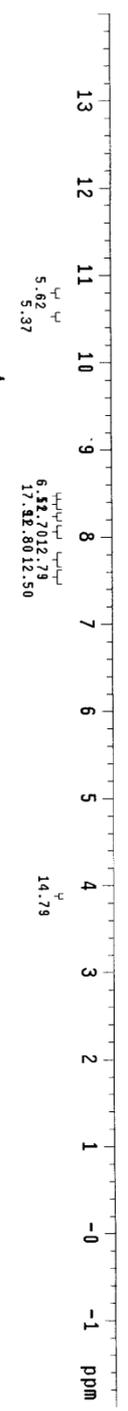


Methyl 3-(3-aminobenzamido)benzoate (13) 質譜圖

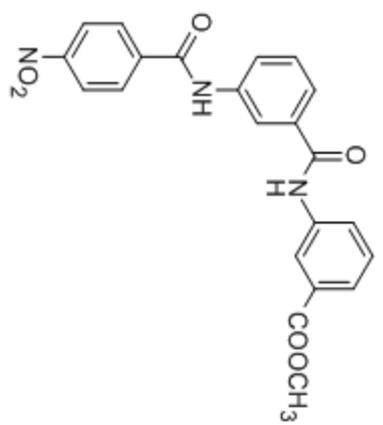
```

AMD-4
exp5 std1h
SAMPLE
date Aug 21 2014 DEC. & VT 300.067
solvent DMSO d1
file /export/home/~ dwr 30
nmr1/vnmrSYS/data/~ dof 0
/MS/AMD-4.fid dm mnm
ACQUISITION dnm 200
sfrq 300.067 dmf
IN H1 dseq 1.0
at 3.413 dres
np 4870.8 hmo PROCESSING n
fb 4870.8 hmo
bs 2800 vffile
tpwr 4 proc
pw 58 fn 65536
d1 1.000 math f
tof 723.5 werr
nt 128 wexp
ct 56 wds
alock not used
gain n
wnt
1) n
1n n
dn y
hs nm
DISPLAY -598.4
sp -598.4
wp 4800.8
vs 76
sc 0
wc 250
hzm 2.22
ts 590.00
f1 1398.6
rfp 750.2
th 100.000
nm cdc ph

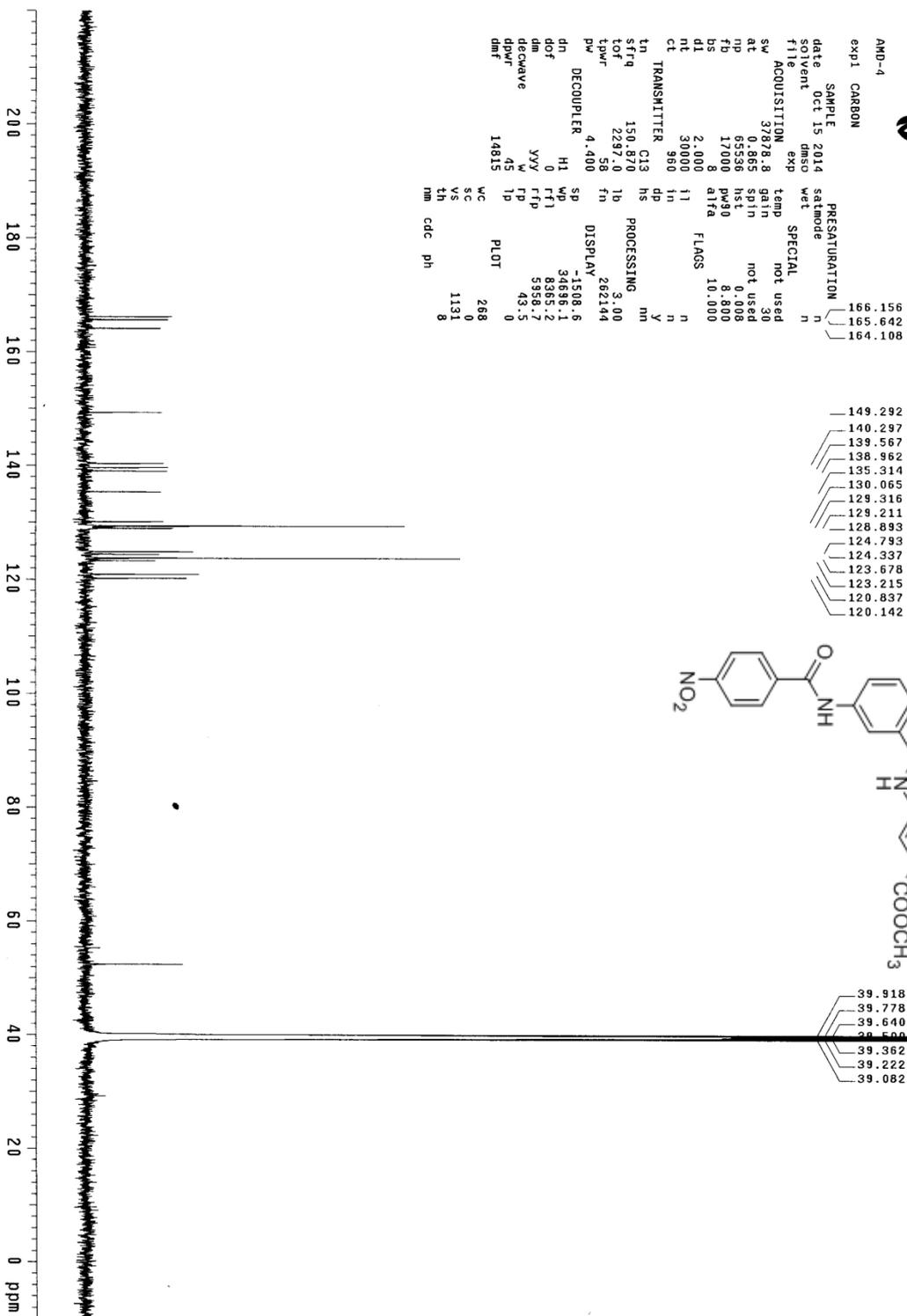
```



3.881
3.876
3.332
3.327
2.505
2.500

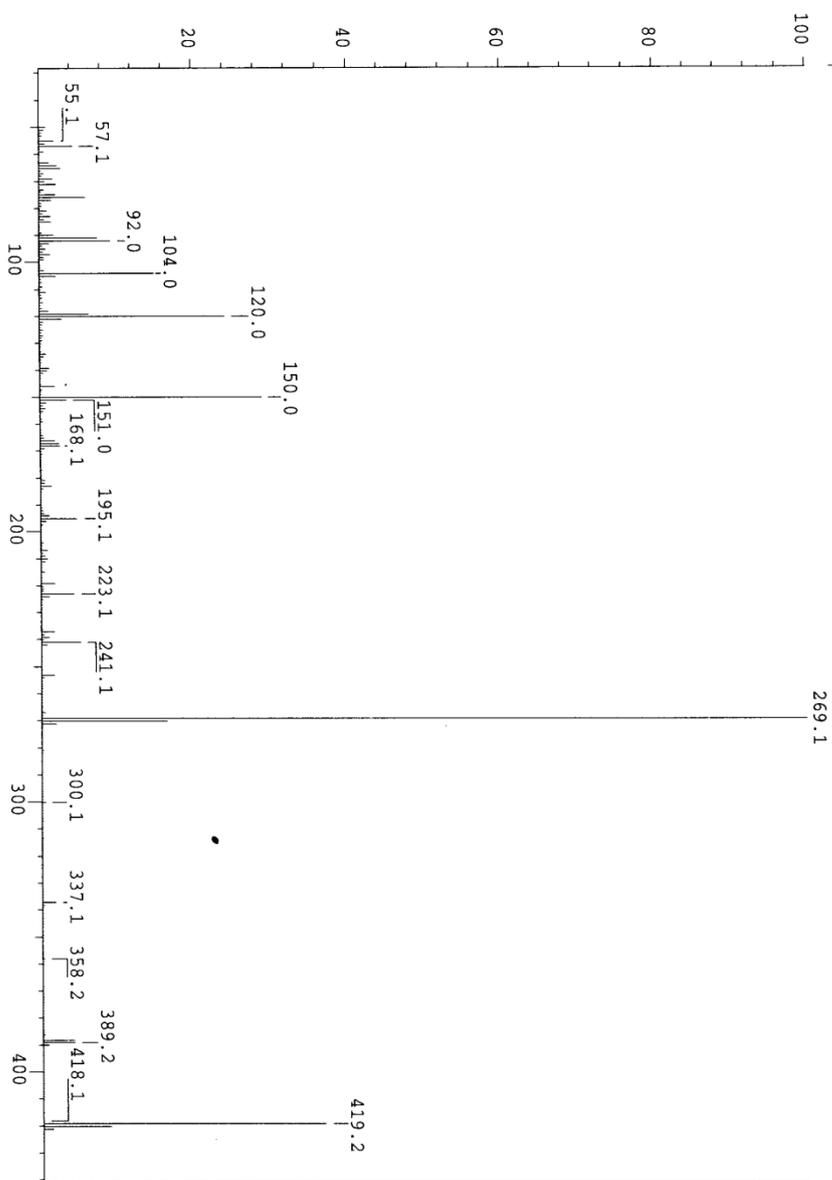


Methyl 3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoate (14) 氬譜圖

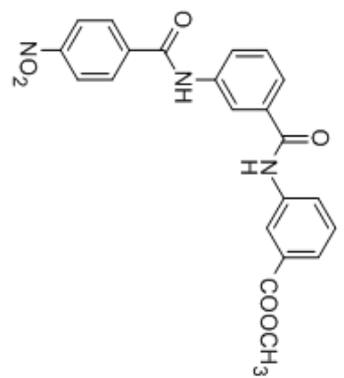


Methyl 3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoate (14) 碳谱图

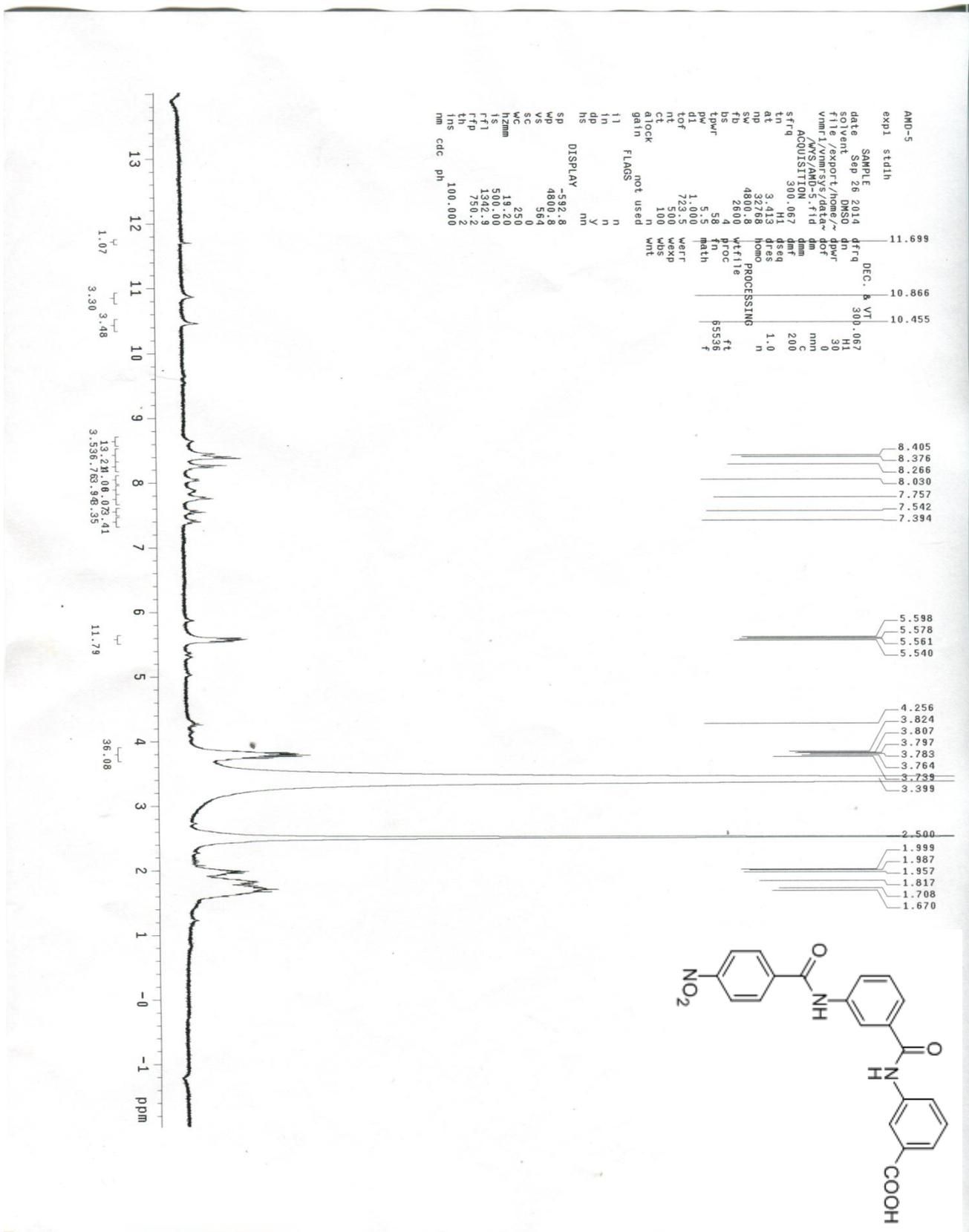
SPC: 1e1809_and4
 Samp: 29-Aug-14
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Oper: 269.1
 Base: 269.1
 Norm: 1000.00 mmu
 Peak: +/109>172
 REG : 08:04.1
 Start : 16:10:00
 #9
 Inlet :
 Masses : 45 > 500
 #peaks: 435



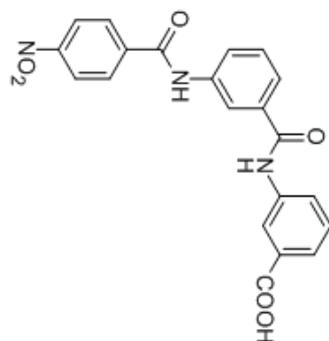
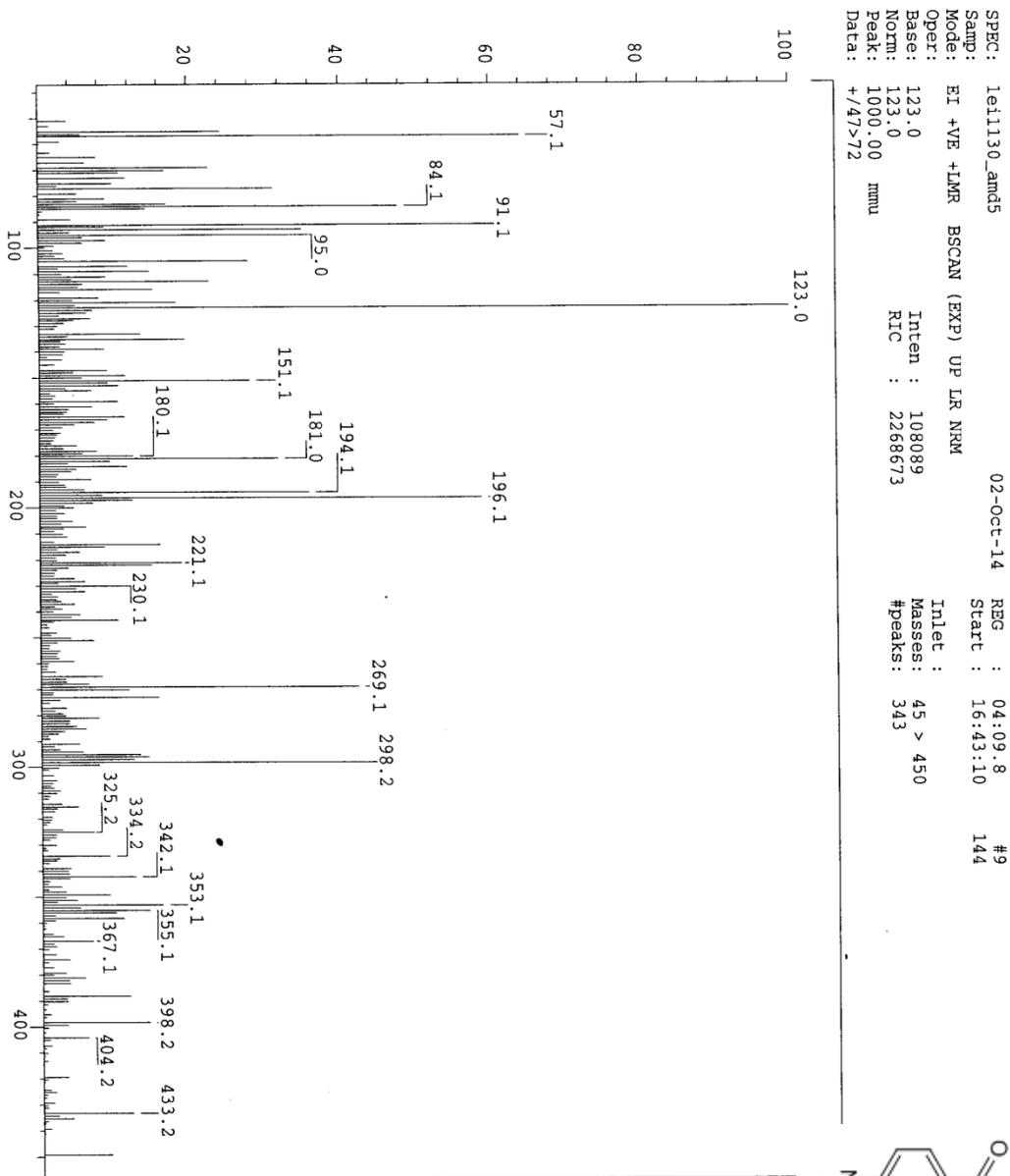
E+ 06
 2.46



Methyl 3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoate (14) 質譜圖



3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoic acid (15) 氫譜圖



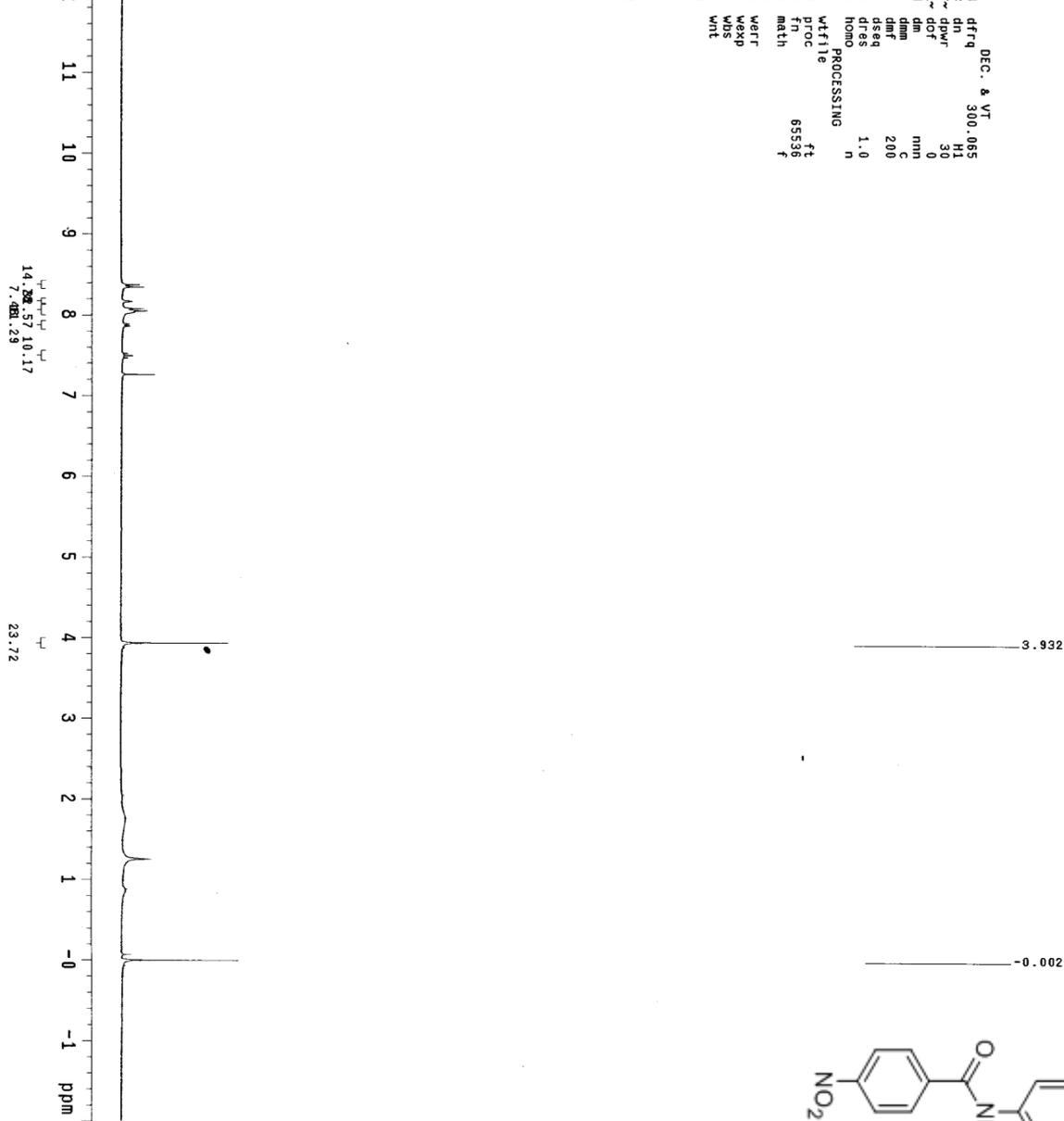
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)benzoic acid (15) 質譜圖

```

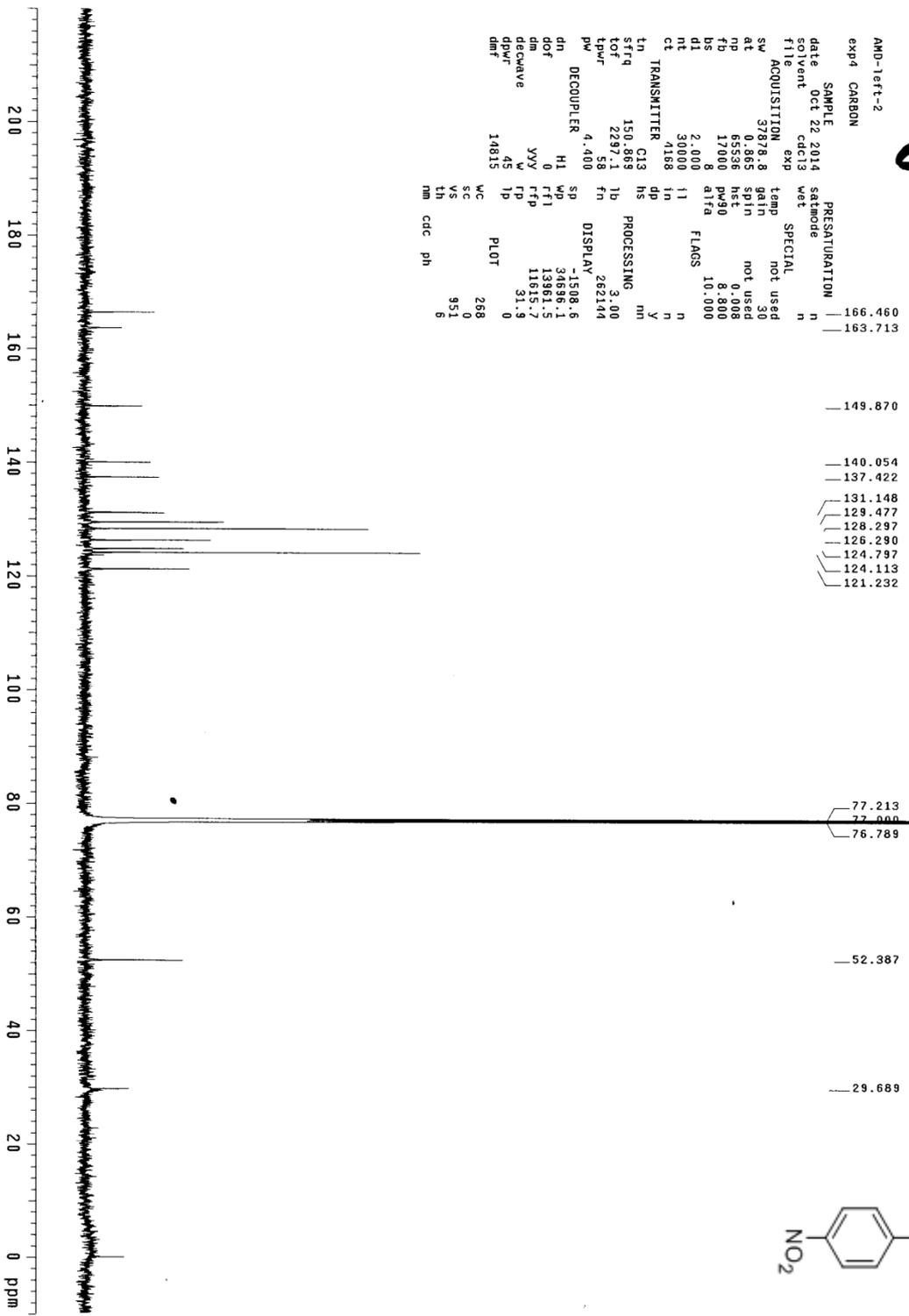
AMDeft-2
exp5 std1h

SAMPLE 7 2014 DEC. 8 VT 300.065
date Oct 7 2014 dfreq 300.065
solvent CDCl3 dm H1
file /export/home/~ dpwr H1
vnmr1/vnmr/sy/data~ dof 0
/WYS/AMDeft-2.fid dm nnn
ACQUISITION cdm C
sfrq 300.066 dmf 200
tn H1 useq 1.0
at 3.413 dres
sp 4860.8 homo PROCESSING n
fb 482800 wfile
bs 58 4 proc
tpwr 5.5 fn 65536
pw 1.000 math f
d1 1.000
tof 723.5 Weff
nt 28 wexp
ct 28 WDS
aLock not used
galn n
flags not used
11 n
1n n
1p Y
1s n
1t n
1u n
1v n
1w n
1x n
1y n
1z n
hs DISPLAY mn
sp -600.1
wp 4800.8
vs 20
sc 0
wc 250
h2mm 19.20
1s 500.00
rf1 600.1
rfp 0
1n 13
1ns 100.000
mm cdc ph

```

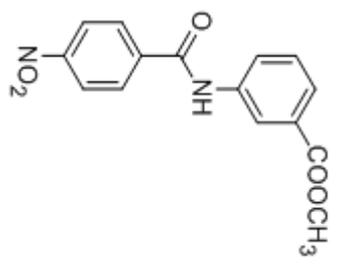


Methyl 3-(4-nitrobenzamido)benzoate (18) 氮譜圖

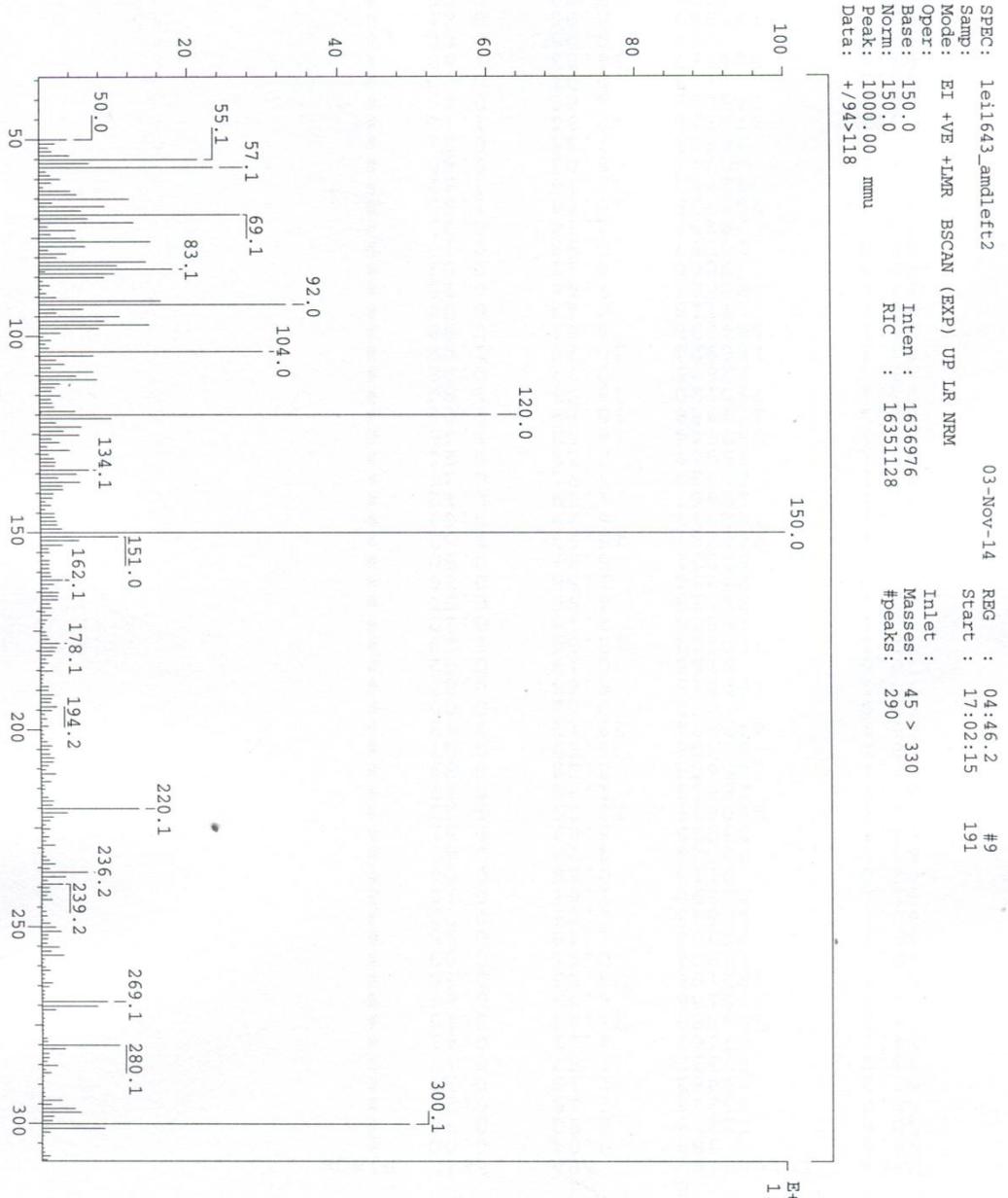


```

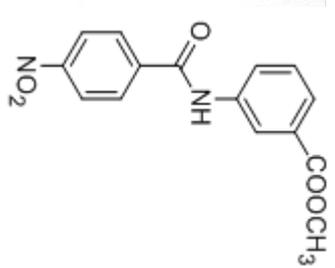
AND-left-2
exp4 CARBON
SAMPLE PRESATURATION
date Oct 22 2014 satmode n
solvent cdc13 wet n
file ACQUISITION exp SPECIAL
sw 37878.8 temp not used
at 6532.8 gain 50
fp 17000 pps0 not used
bs 8 atfa 8.800
dl 2.000 FLAGS 10.000
nt 30000 i1 n
ct 4188 in n
tn TRANSMITTER C13 hs y
sfrq 150.869 PROCESSING mn
tof 2297.1 tp 3.00
tpwr 58 fn 262144
pw 4.400 DISPLAY
DECOUPLER sp -1508.6
dn H1 wp 34696.1
dot 0 ffl 13961.5
dm yy ffp 11615.7
decwave w tp 31.9
dpr 45 tp 0
dmr 14815 WC PLOT 268
VS SC 0
TM cdc ph 951
n 8
  
```



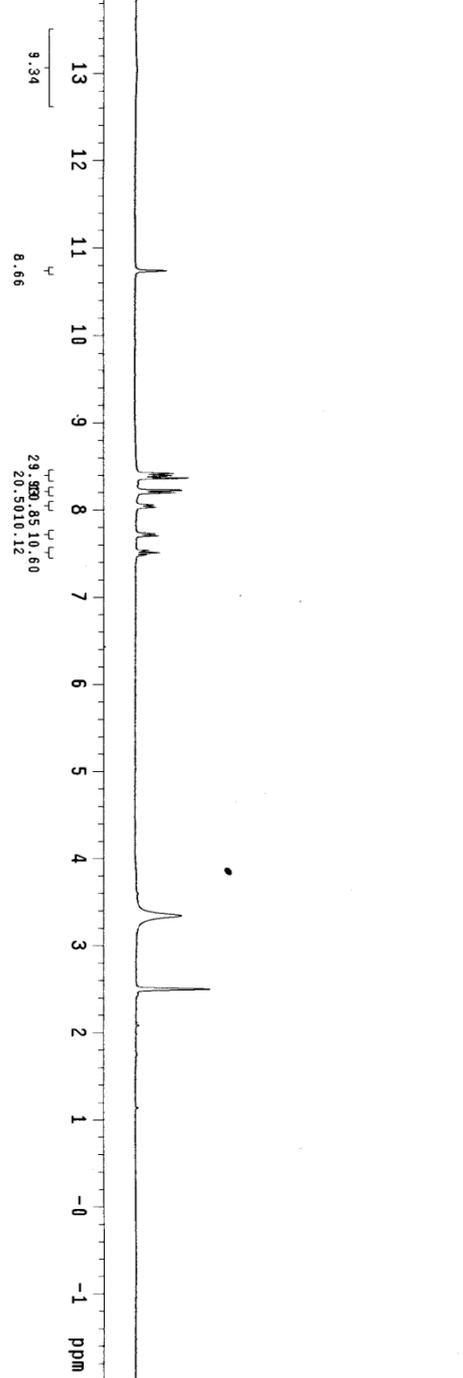
Methyl 3-(4-nitrobenzamido)benzoate (18) 碳谱图



SPC: 1e11643_amdletf2
 Samp: 03-Nov-14
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Oper: REG : 04:46.2
 Base: 150.0 Inlet : 17:02:15 #9
 Norm: 150.0 Masses: 45 > 330
 Peak: 1000.00 mmu #peaks: 290
 Data: +/94>118



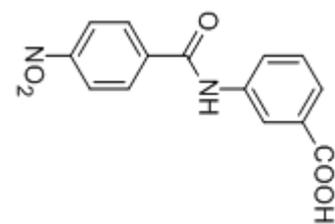
Methyl 3-(4-nitrobenzamido)benzoate (18) 質譜圖



```

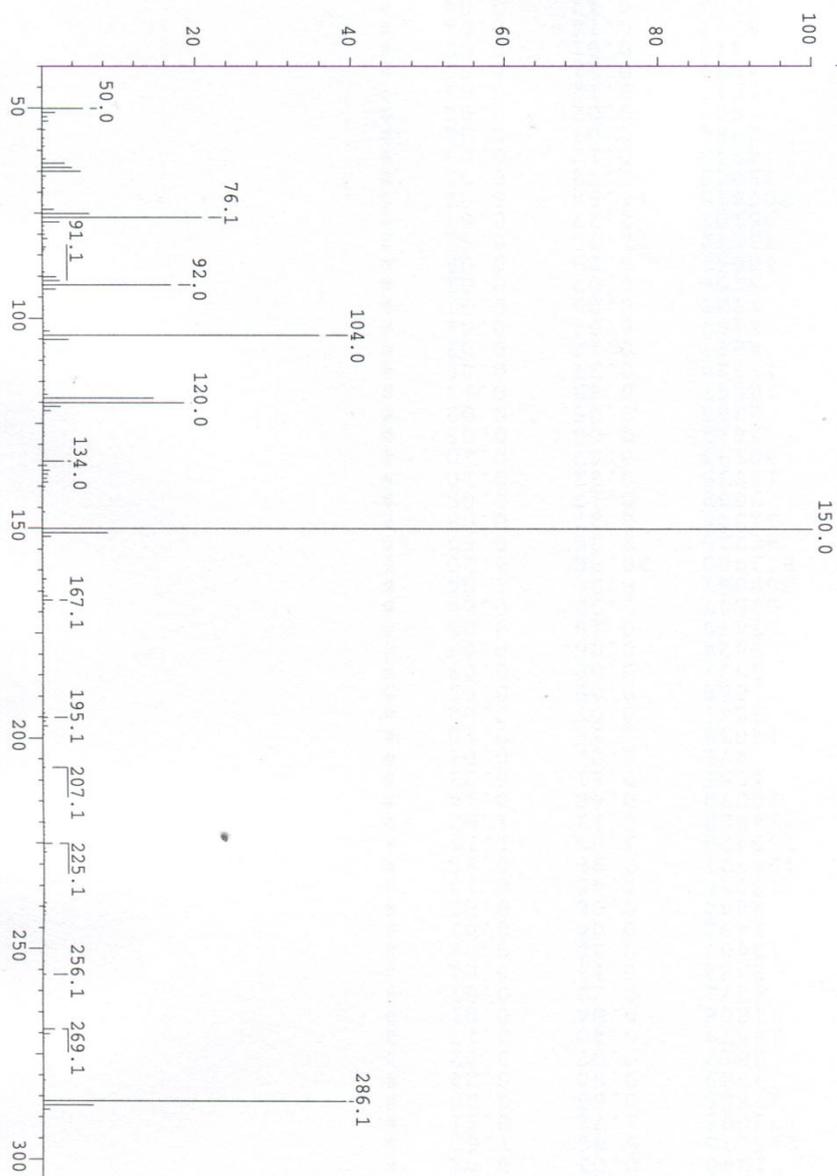
AMDleft-3
exp5 std1h
SAMPLE Sep 26 2014 DEC. 8 VT
date Sep 26 2014 dfreq 300.067
solvent DMSO d1 H1
file /export/home/~ qpw/r 30
vnmr1/vnmrSYS/data/~ dof 0
/VMS/AMDleft.fid dm mmn
ACQUISITION dmf C
          200
          C
sfrq 300.067 dmf 200
tn H1 dseaq 1.0
at 3.413 dres n
np 32788 homo n
sv 4800.8 wtf file PROCESSING
td 2600 f10c ft
h2w/r 5.5 math 65536 f
pw 1.000 fn
dl 723.5 weff
tof 16 wexp
ct 16 wbs
atlock n wnt
gain not used
flags
11 n
1n n
dp n
ns y
DISPLAY -592.8
sp 4800.8
vp 12
vs 0
sc 12
wc 250
h2mm 4.55
f1 500.00
rf1 1342.9
rfp 750.2
th 8
ins cdc ph 100.000
mm

```

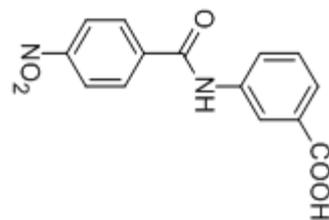


3-(4-nitrobenzamido)benzoic acid (19) 氬譜圖

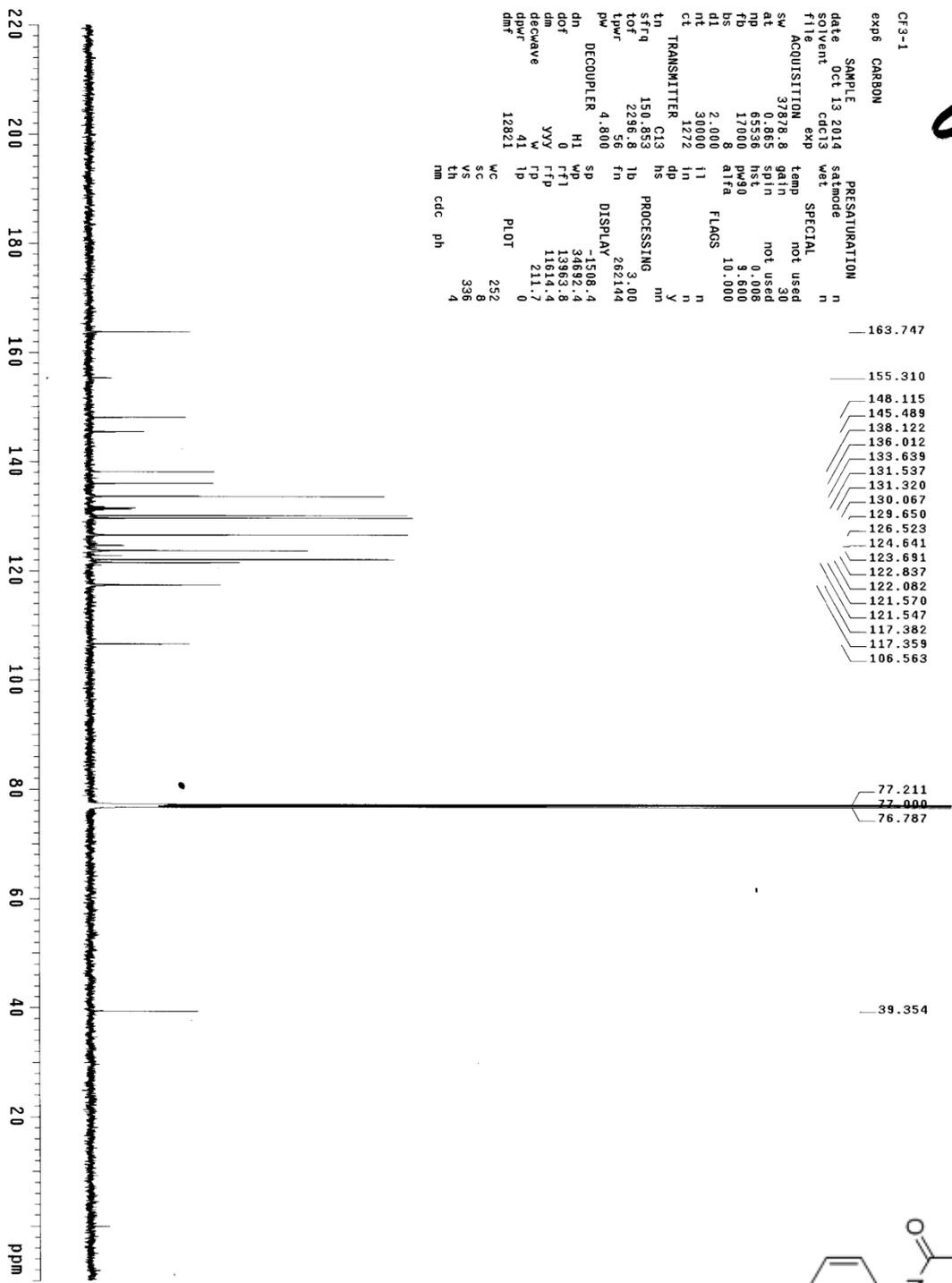
SPEC: lei1657_and1e1c3
 Samp: 05-Nov-14
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Oper: Inlet : 06:41.4 #9
 Base: 150.0 Inten : 4184969
 Norm: 150.0 RIC : 14099180
 Peak: 1000.00 mmu
 Data: +/150>180
 Start : 15:35:35 337
 Masses: 45 > 300
 #peaks: 226



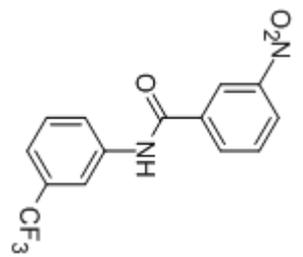
E+ 06
4.18



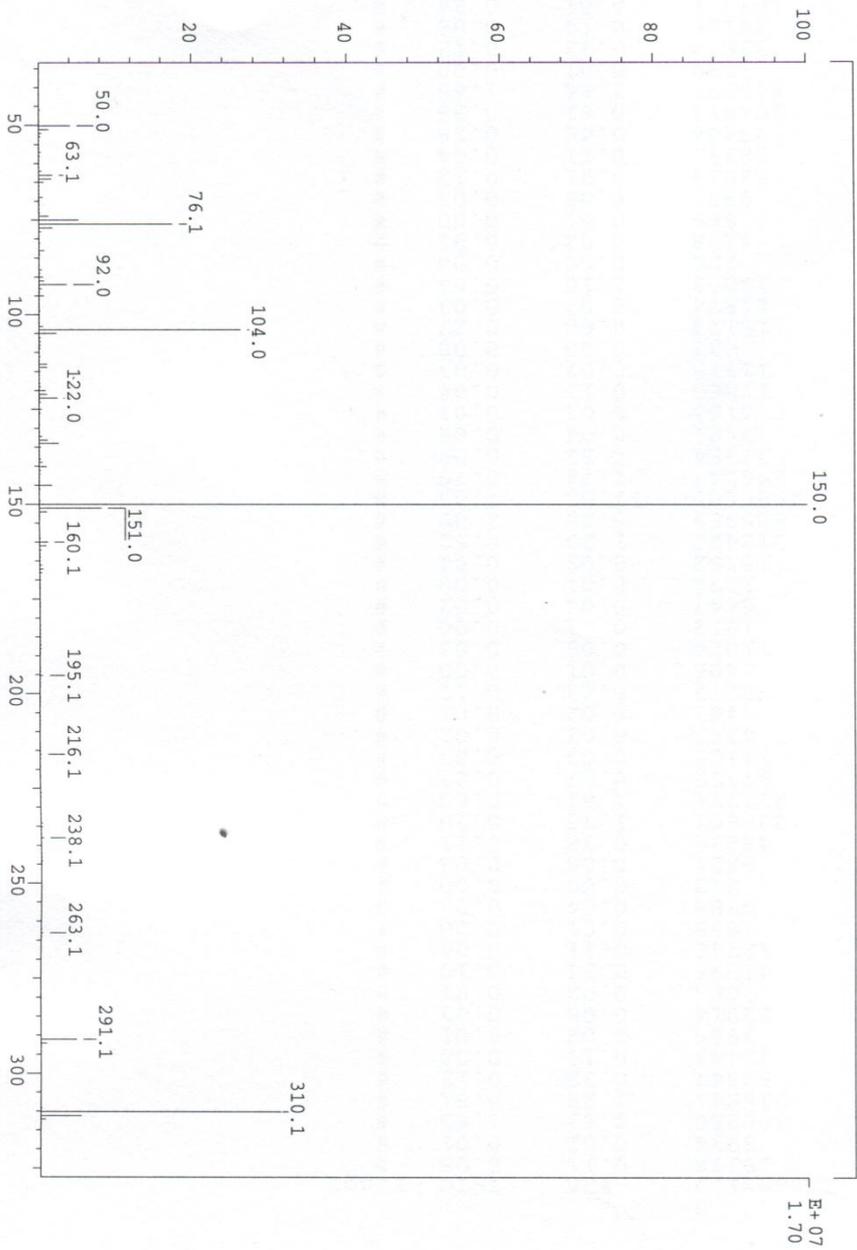
3-(4-nitrobenzamido)benzoic acid (19) 質譜圖



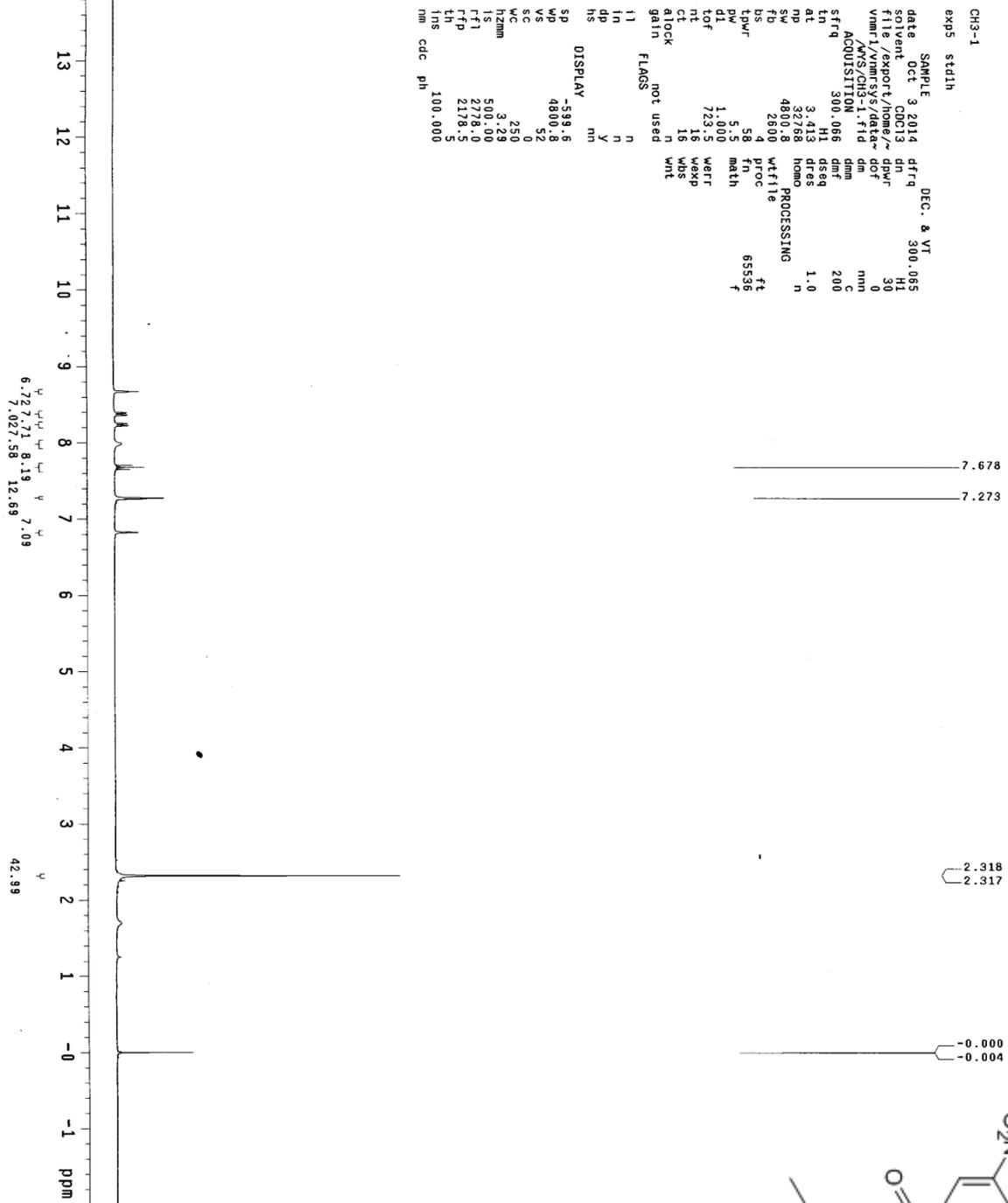
3-nitro-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (20a) 碳谱图



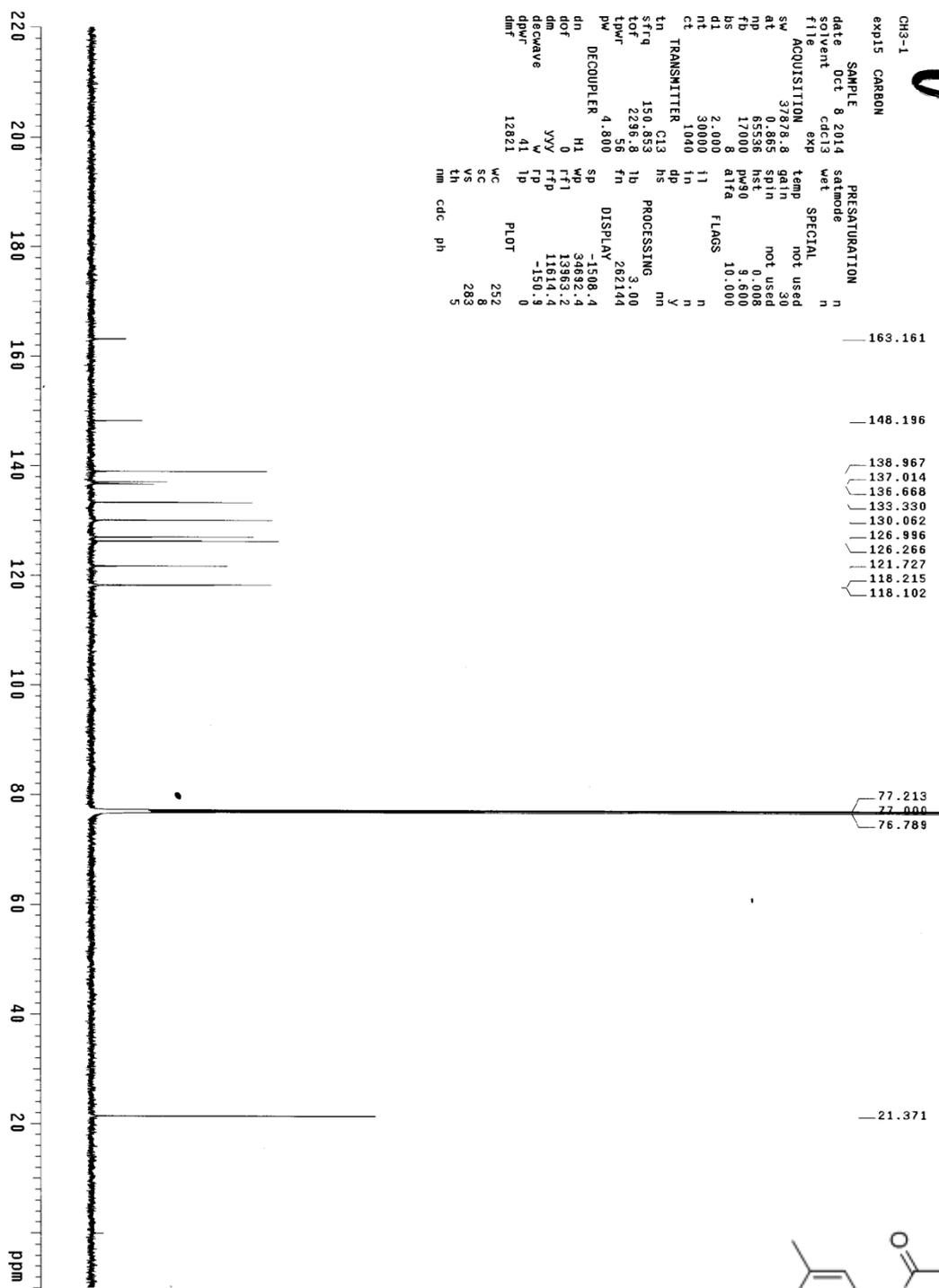
SPEC: lei169_cf31
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Operator: 150.0
 Base: 150.0
 Norm: 1000.00 mmu
 Data: +/45>87
 05-Nov-14 REG : 02:10.1 #9
 Start : 10:06:01 217
 Inlet :
 Masses: 45 > 350
 #peaks: 221



3-nitro-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (20a) 質譜圖



N-(3,5-dimethylphenyl)-3-nitrobenzamide (20b) 氫譜圖

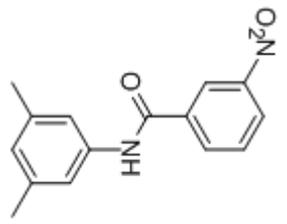


CH3-1
 exp15 CARBON

SAMPLE PRESATURATION
 date Oct 8 2014 satmode n
 solvent cdc13 wet SPECIAL n
 f1 ACQUISITION exp temp not used
 sv 37878.8 gain 30
 at 0.865 sdrn not used
 pp 65536 hst 9.608
 rb 17000 pwr90 10.000
 bs 8 atfa
 d1 2.000 11 10.000
 nt 30000 11
 ct 1040 1040

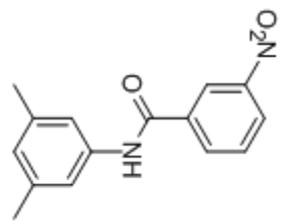
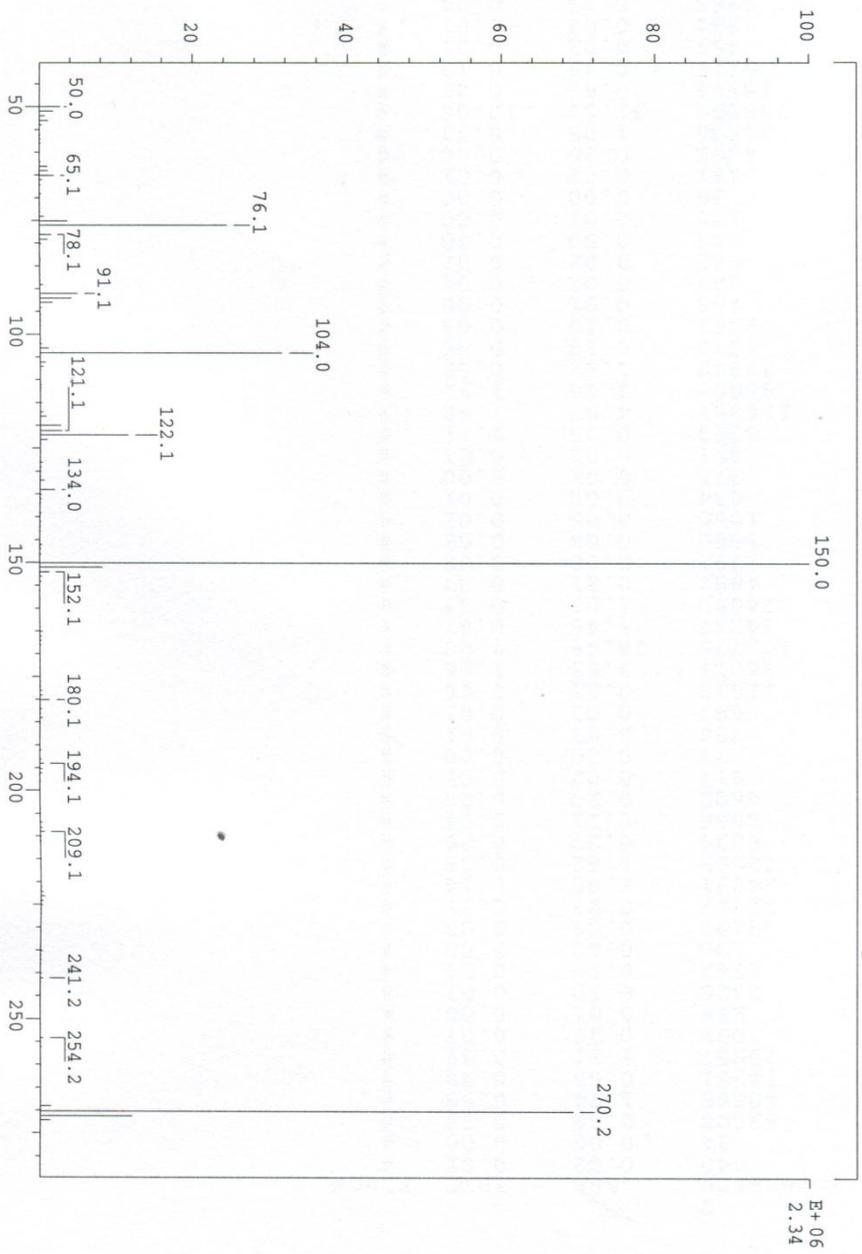
TRANSMITTER hs
 tn C13
 sfreq 150.853 1b PROCESSING 3.00
 tof 2296.8 1b
 tpwr 56 fn DISPLAY 282144

DECOUPLER sp
 dn H1
 dof 0
 dm YYY
 deccave W
 dpmf 41 1p PLOT 252
 12821 WC 8
 VS 283
 th 5
 nm cdc ph

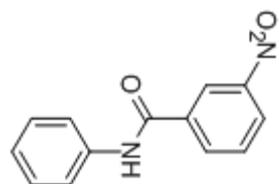


N-(3,5-dimethylphenyl)-3-nitrobenzamide (20b) 碳譜圖

SPMC: le11658_ch31
 Samp: 05-Nov-14 REG : 00:29.3 #9
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM Start : 15:58:54 408
 Oper: Inlet :
 Base: 150.0 Inten : 2339215
 Norm: 150.0 RIC : 7347735 Masses: 45 > 280
 Peak: 1000.00 nmua #peaks: 157
 Data: +/11>46



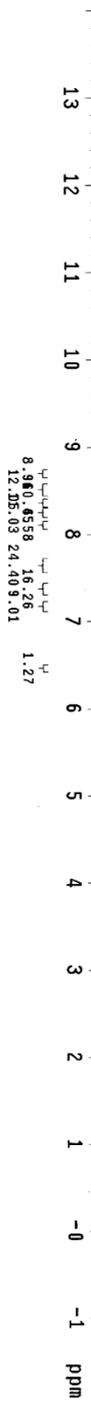
N-(3,5-dimethylphenyl)-3-nitrobenzamide (20b) 質譜圖



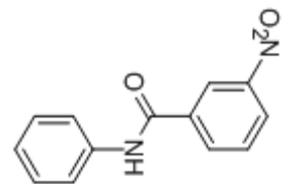
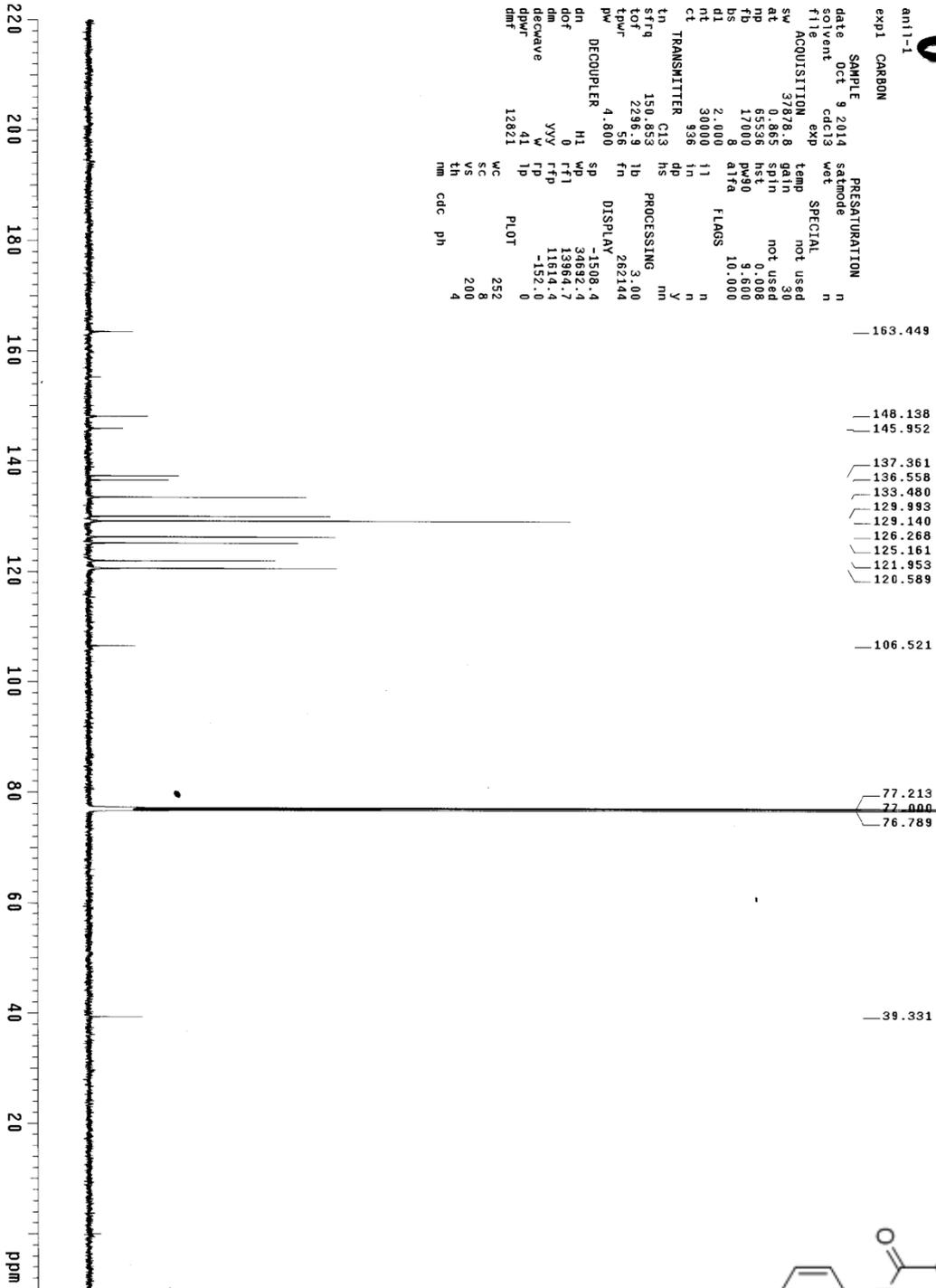
```

an11-1
exp5 std1h
SAMPLE 3 2014 DEC. 8 VT
date Oct 3 2014 dfreq 300.065
solvent CDCl3 dn HI
file /export/home/~ dpwr 30
nmr1/vnmrSYS/data/ dof 0
/vms/an11-1.fid dm nm
ACQUISITION dnm C
sfrq 300.066 dmf 200
tn HI dseq 1.0
at 3.413 dres 1.0
np 32.68 homo PROCESSING
pw 4920.8 vrfil 0
bs 2900 4 proc 65536
tpwr 5.5 fn math
dl 1.000 werr
tof 723.5 wexp
nt 16 wds
ct 16 wnt
alock not used
gain n
flags n
IN n
IN n
dp y
hs nm
DISPLAY -599.6
SP 4800.8
WS 14
VS 0
WC 250
h2mm 4.24
IS 500.00
rfl 2778.0
rflp 2178.5
th 12
INS 100.000
nm cdc ph

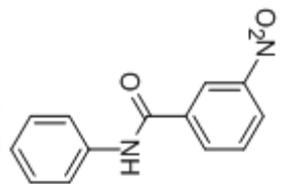
```



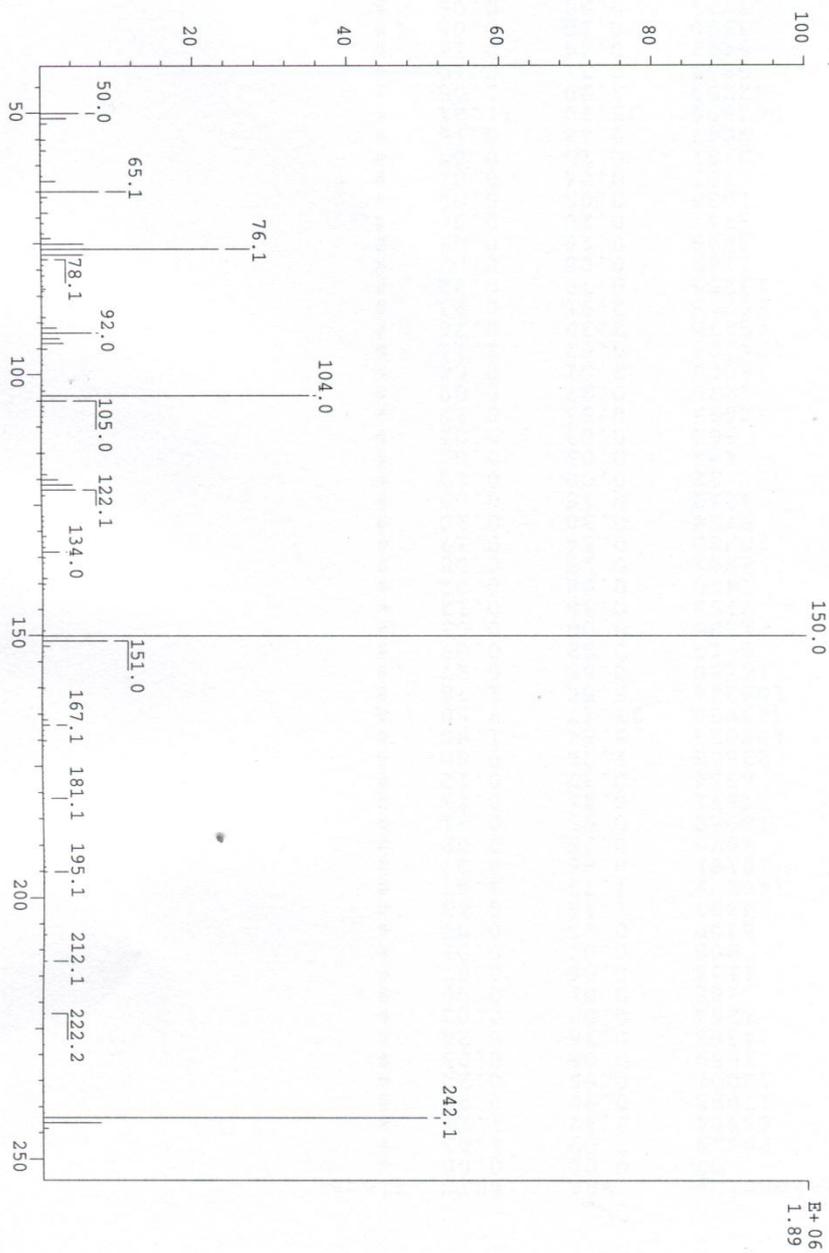
3-nitro-N-phenylbenzamide (20c) 氫譜圖



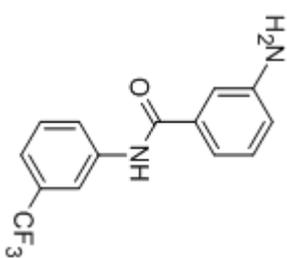
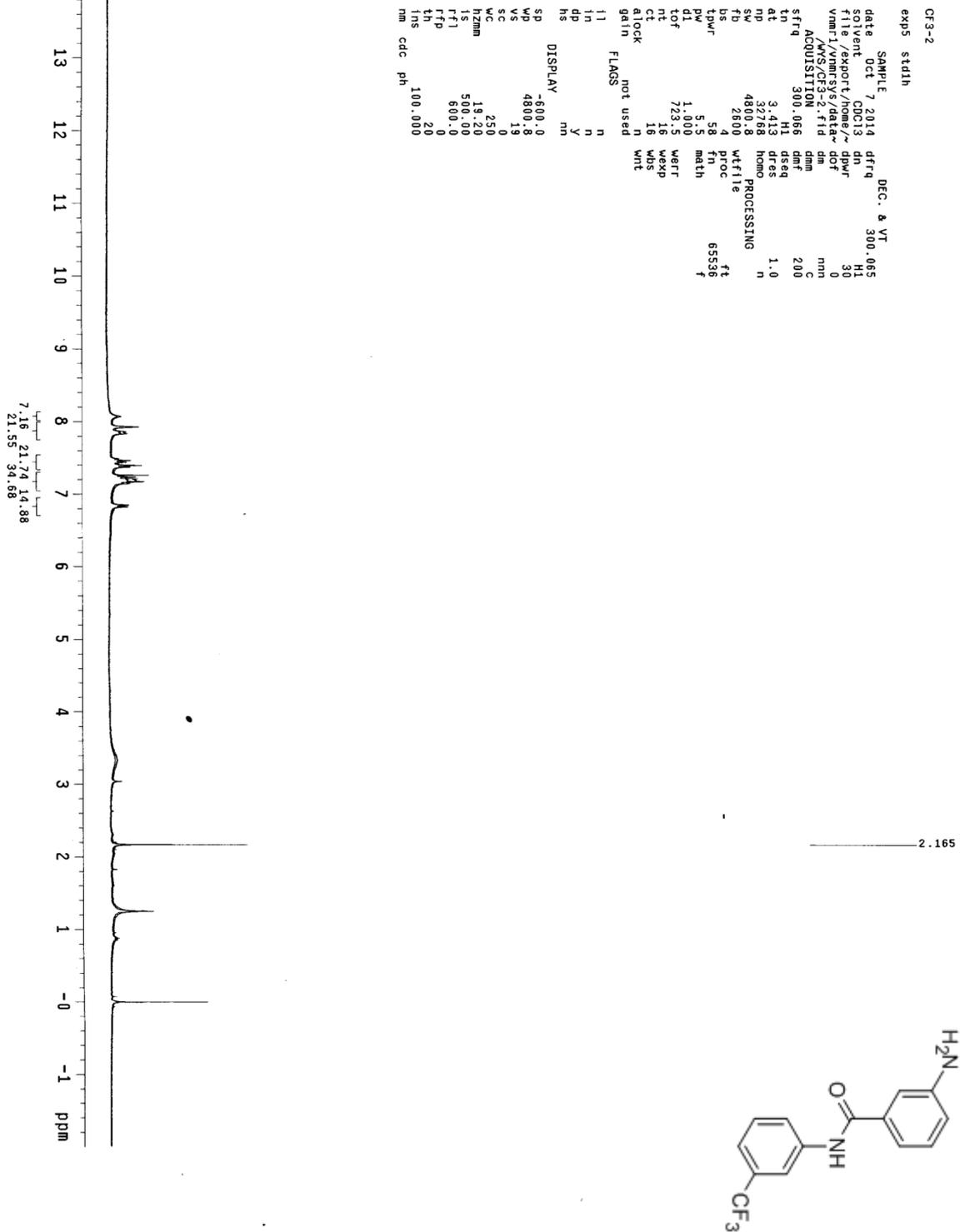
3-nitro-N-phenylbenzamide (20c) 碳譜圖



SPECT: le11655_an111
 Samp: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Mode: 05-Nov-14 REG : 00:26.9 #9
 Oper: Start : 14:52:29 90
 Base: 150.0 Inlet : 1891222
 Norm: 150.0 RTG : 5920456 Masses: 45 > 250
 Peak: 1000.00 mmu #peaks: 175
 Data: +/9>23

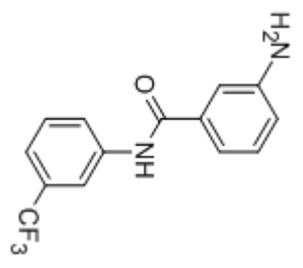
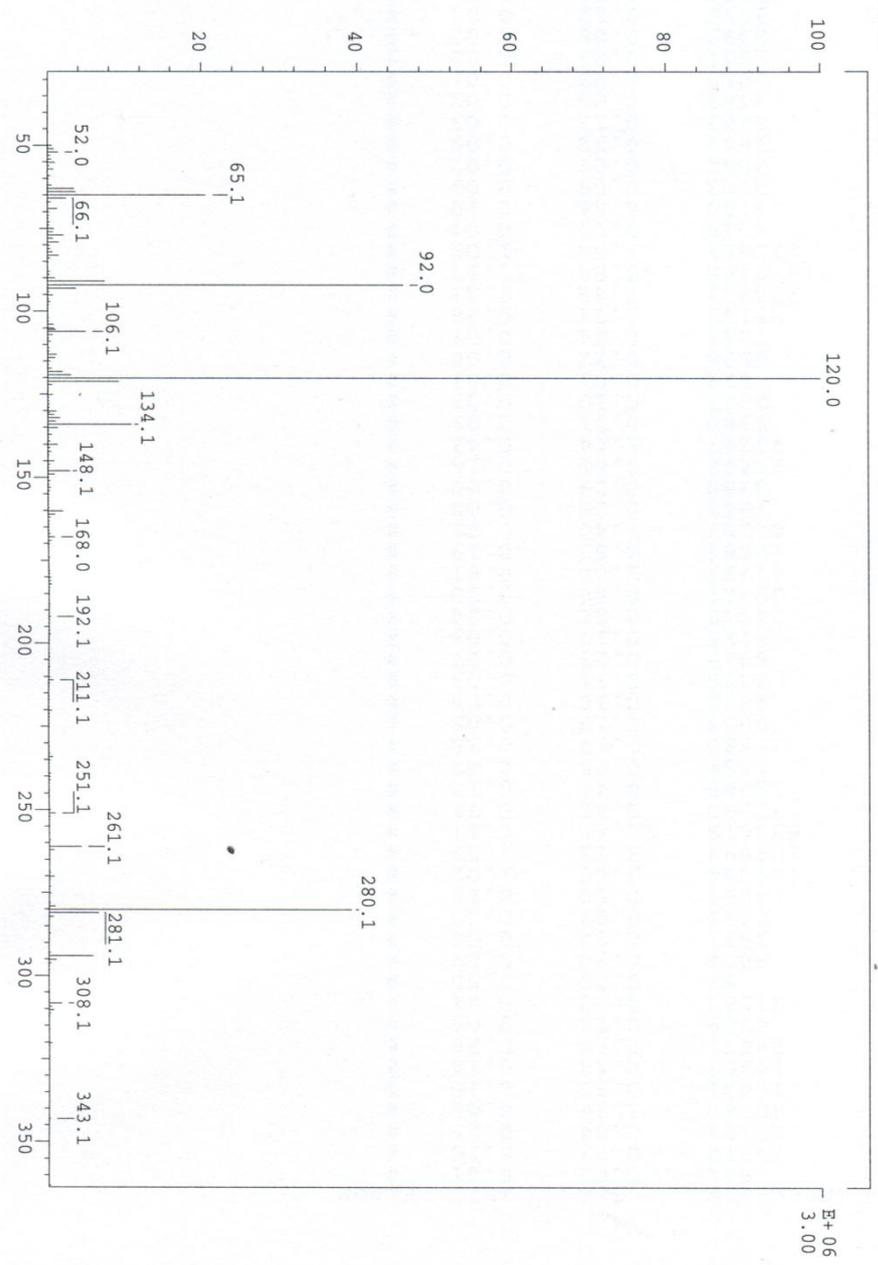


3-nitro-N-phenylbenzamide (20c) 質譜圖

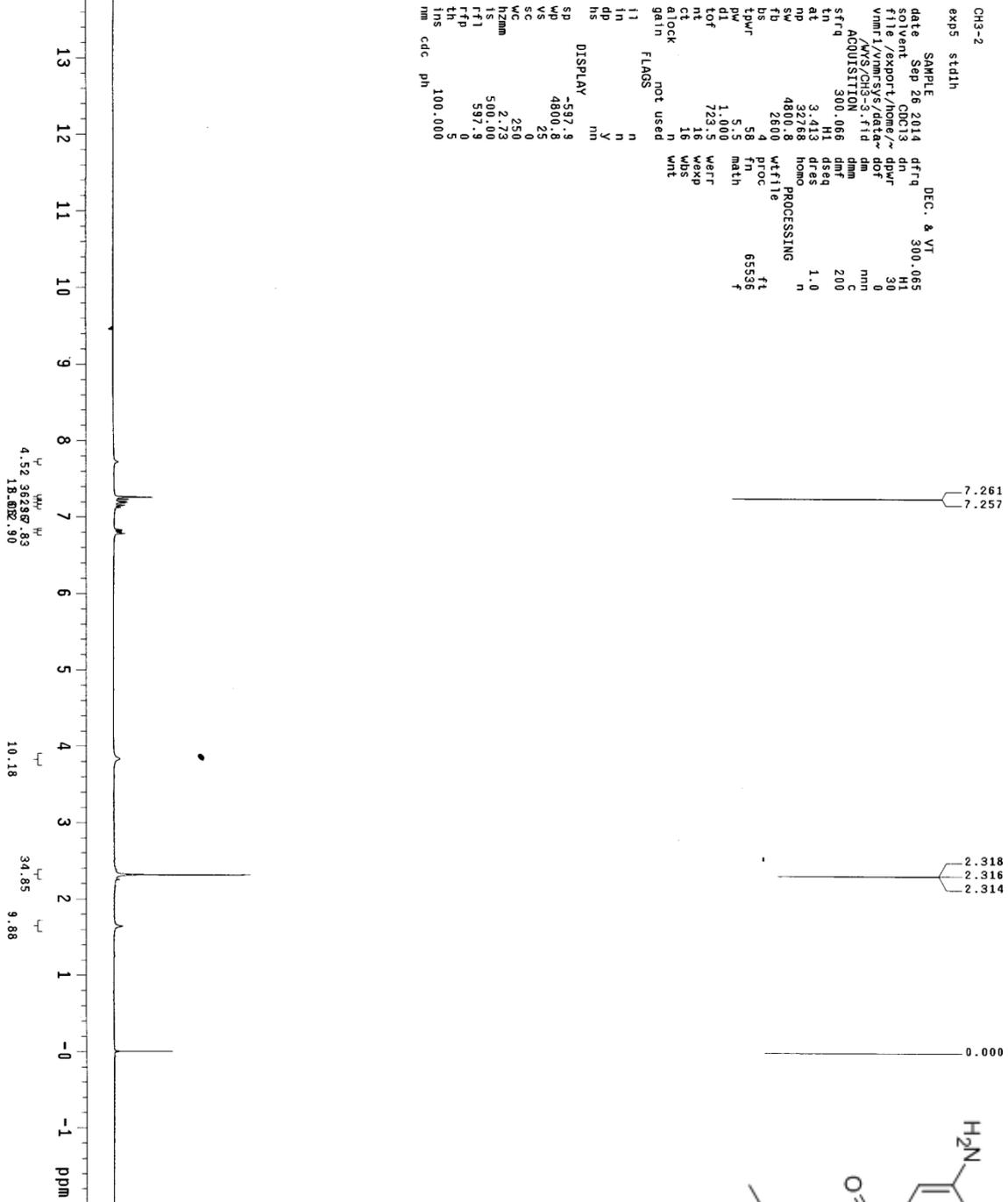


3-amino-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (21a) 氫譜圖

SPEC: Ie11641_cf32
 Stamp: 01-Nov-14
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Oper: REG : 02:37.9 #9
 Base: 120.0 Inten : 3004905 Start : 17:03:33 235
 Norm: 120.0 RIC : 10160570
 Peak: 1000.00 mmu
 Data: +/43>71
 Inlet :
 Masses: 45 > 600
 #peaks: 264



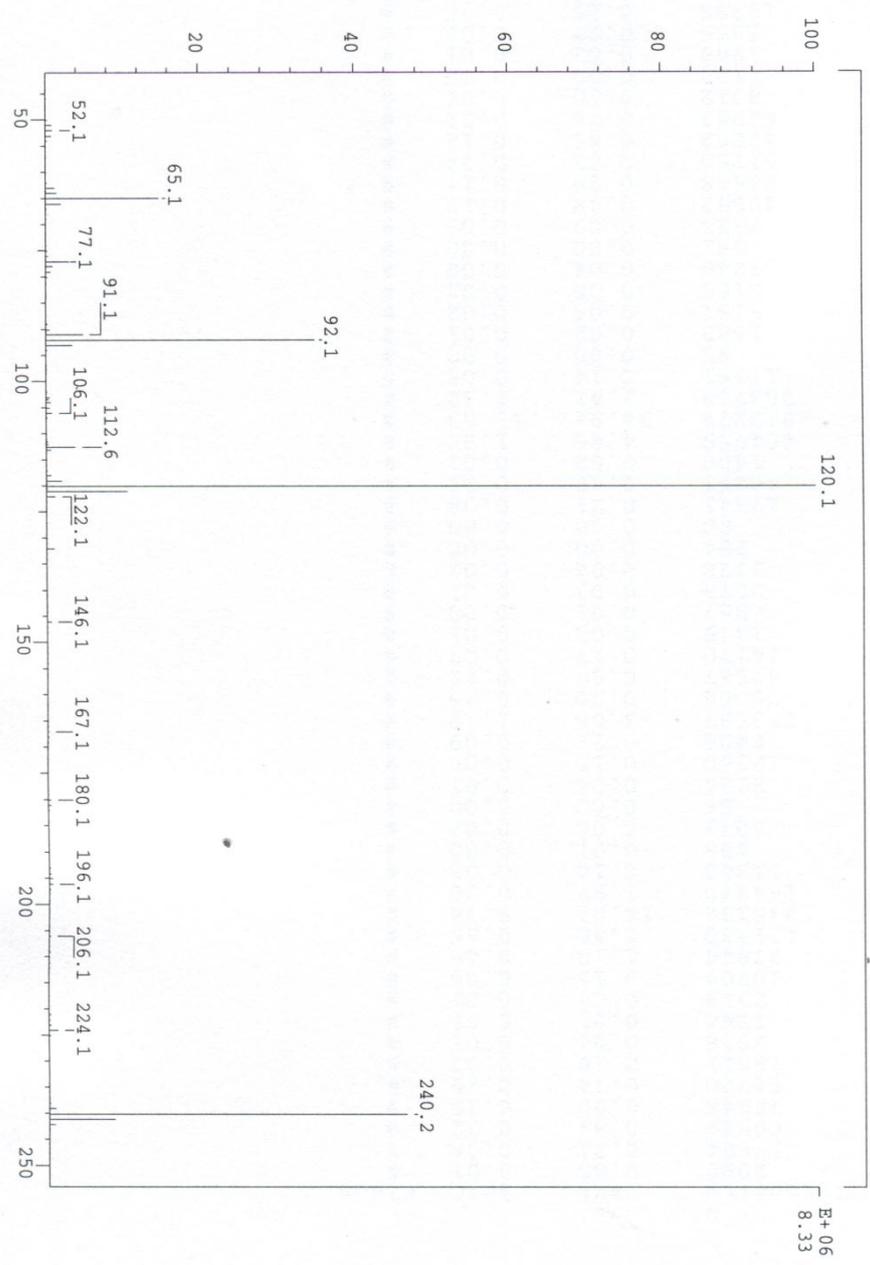
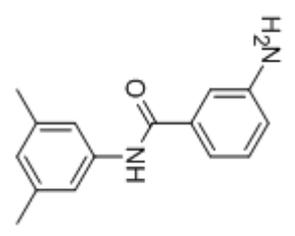
3-amino-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)benzamide (21a) 質譜圖



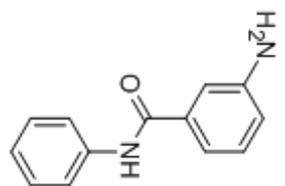
3-amino-N-(3,5-dimethylphenyl)benzamide (21b) 氫譜圖

SPC: 1e11662_ch32
 Samp: 05-Nov-14
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Oper:
 Base: 120.1 Inlet : 8376245
 Norm: 120.1 RIC : 21524309
 Peak: 1000.00 mmu #Peaks: 140
 Data: +/134>162

REG : 05:29.3 #9
 Start : 17:29:05 240



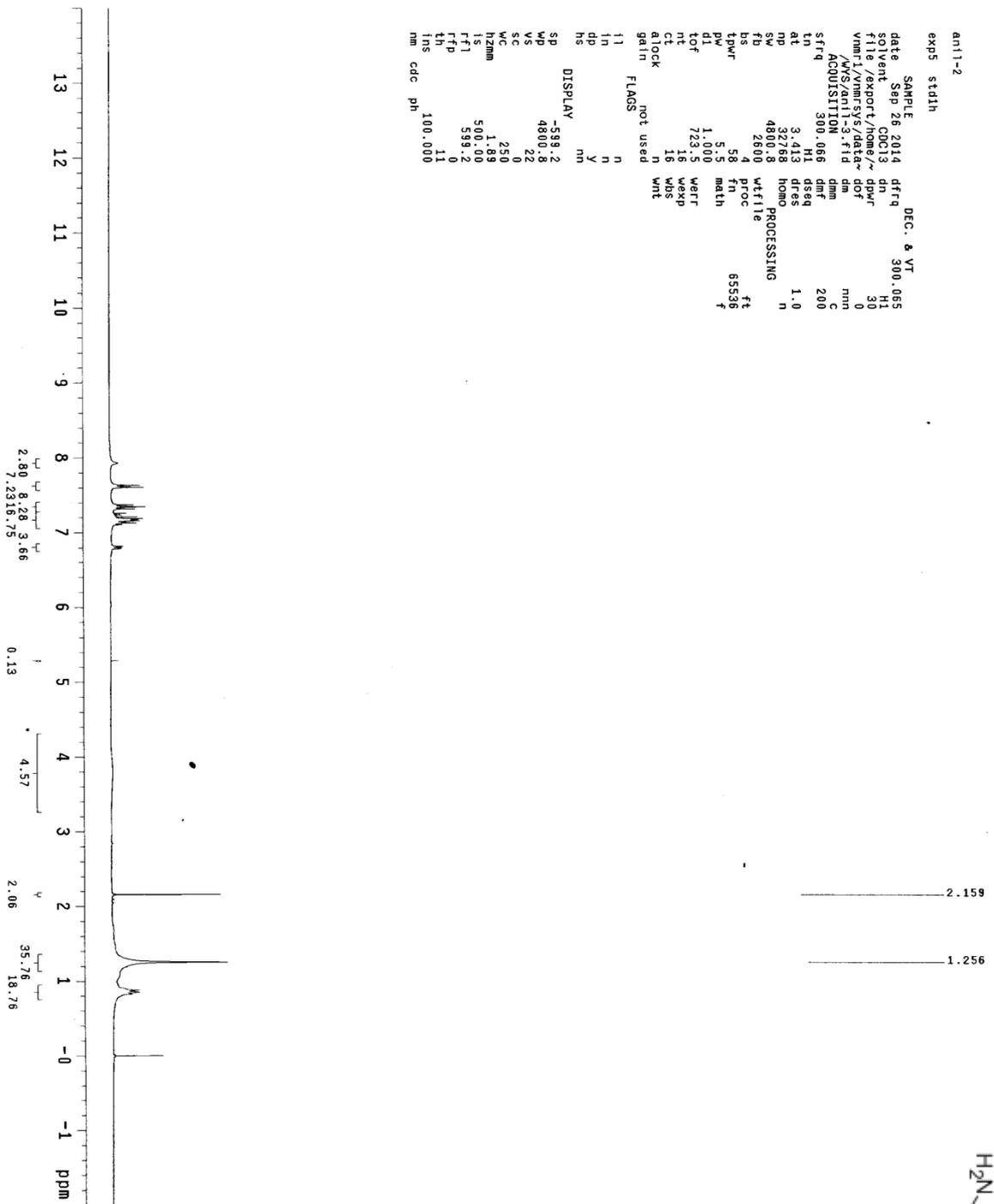
3-amino-N-(3,5-dimethylphenyl)benzamide (21b) 質譜圖



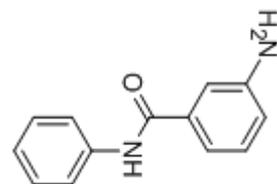
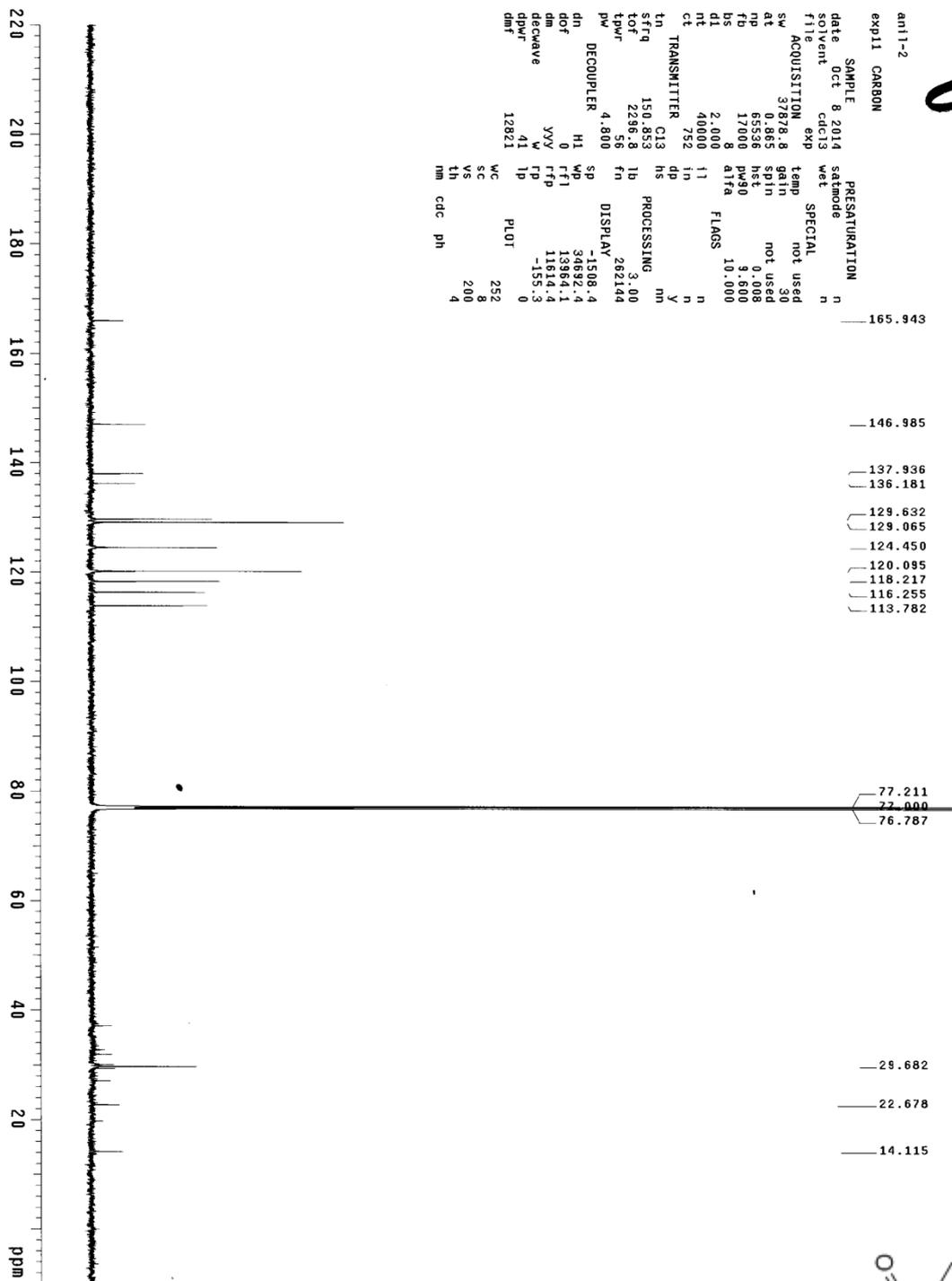
```

an11-2
exp5 std1h
SAMPLE
date Sep 26 2014 DEC. 30 300.065
solvent CDCl3 dn dpr 30
file /export/home/~ /vms/an11-3.fid dm dof 0
/vms/an11-3.fid dmm c 200
ACQUISITION
sfrq 300.066 dmf
fn H1 ds8q
at 3.413 dres 1.0
np 32.68 homo PROCESSING n
fn 487.0 vffile
hs 2600 4 proc ft
tpwr 58 fn math 65536 f
pw 5.5
d1 1.000 werr
tof 723.5 wexp
nt 16 wds
ct 16 wnt
a1ock not used
gain n
flags not used
11 n
1n n
dn y
hs nn
DISPLAY
sp -599.2
wp 4800.8
vs 22
sc 0
wc 250
h2mm 1.89
is 500.00
f1 599.2
f2 0
f3 1.1
f4 100.000
nm cdc ph

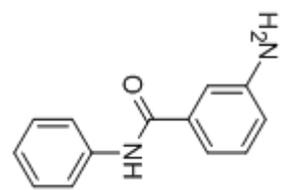
```



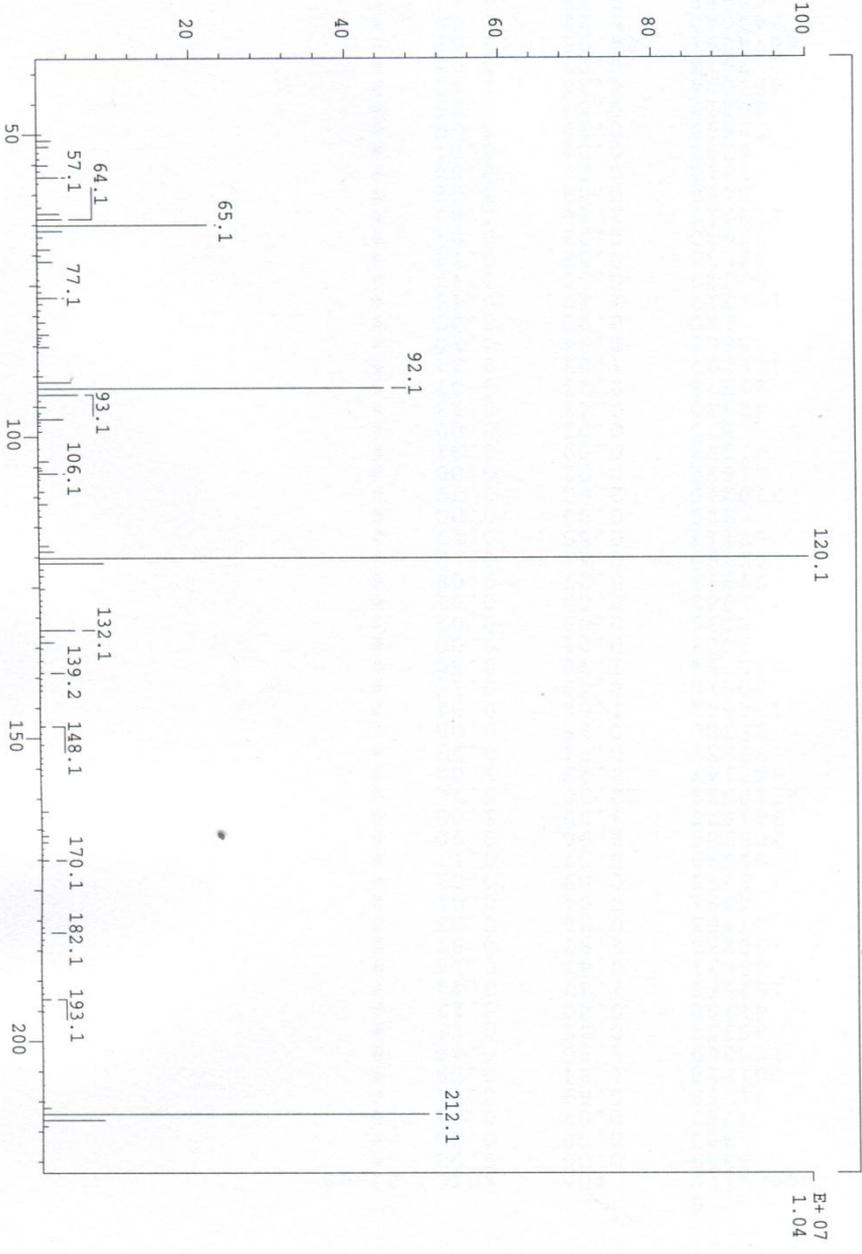
3-amino-N-phenylbenzamide (21c) 氫譜圖



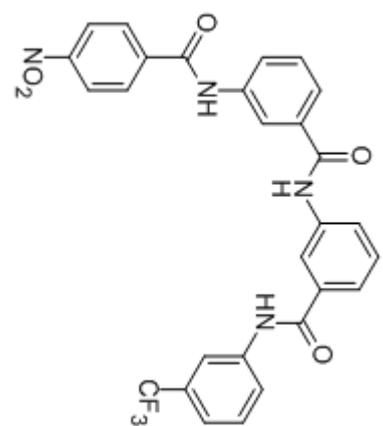
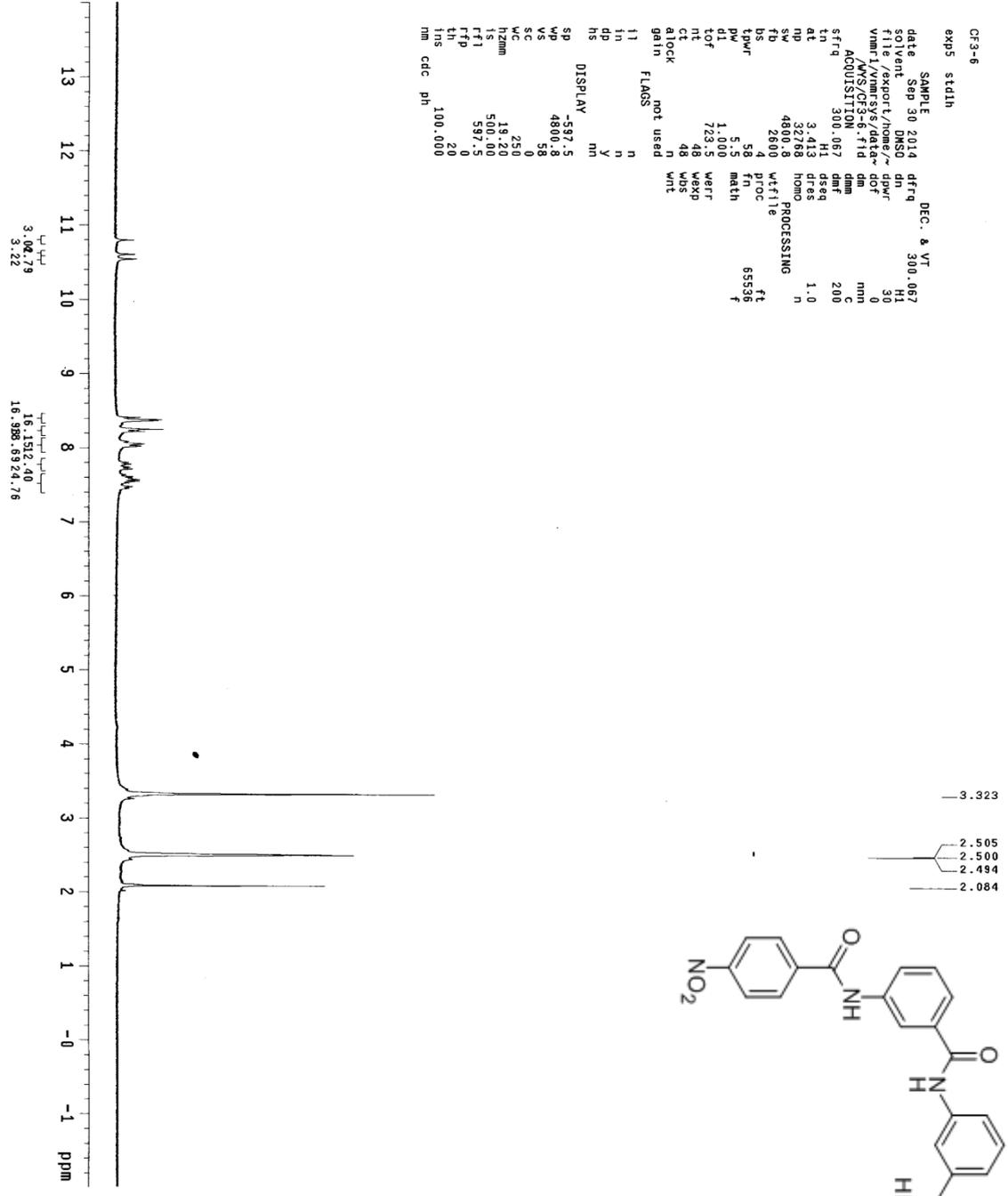
3-amino-N-phenylbenzamide (21c) 碳譜圖



SPEC: 1e11654_ani12
 Samp: 05-Nov-14 REG : 04:01.6 #9
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM Start : 14:30:31 521
 Oper: Inlet :
 Base: 120.1 Inten : 10397808
 Norm: 120.1 RIC : 34299390 Masses: 45 > 250
 Peak: 1000.00 mmu #peaks: 206
 Data: +/98>193



3-amino-N-phenylbenzamide (21c) 質譜圖



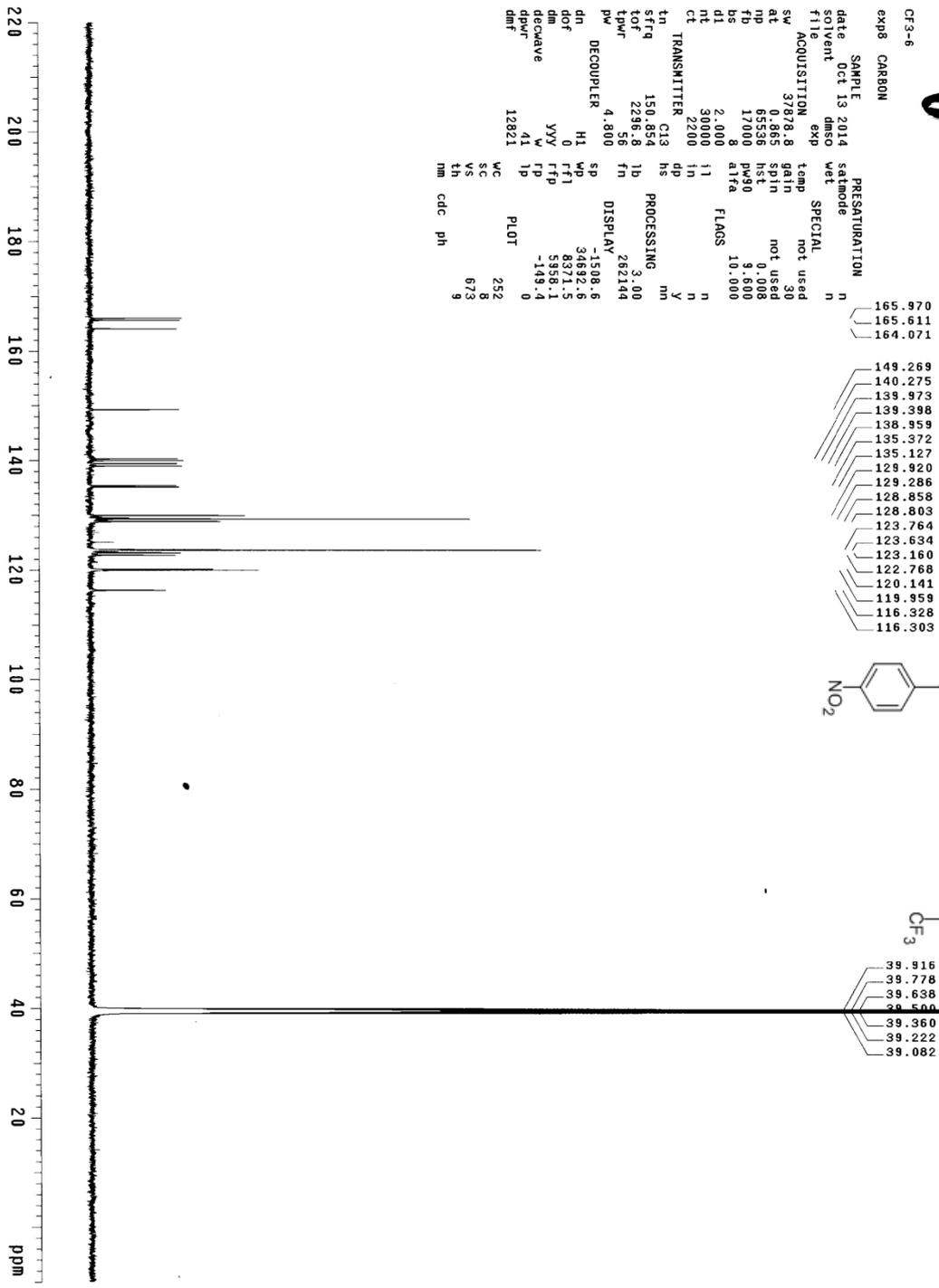
CF3-6
 exp5 std1h

SAMPLE DEC. & VT
 date Sep 30 2014 dfrq 300.067
 solvent DMSO dn
 file /export/home/~ dpwr
 vnmr1/vnmr-sys/data/~ dof
 /VMS/CF3-6.fid dm
 ACQUISITION
 sfrq 300.067 dnm
 nu 1 dnt
 at 3.413 dsq
 md 32768 dfe
 sw 4800.8 homo
 fd 2600 wifile
 bs 58 fn
 tpwr 4 proc
 pv 1.000 math
 d1 5.5 math
 tof 729.5 warr
 ct 48 wexp
 lock 48 wkp
 gain not used wnt
 flags not used

DISPLAY
 sp 587.5
 wd 4800.8
 vs 0
 sc 0
 wc 250
 hzmm 19.20
 fs 500.00
 rf1 597.5
 rfp 0
 th 20
 ins 100.000
 nm cdc ph

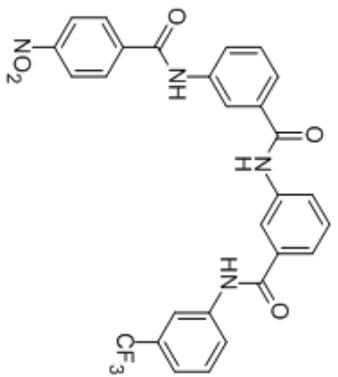
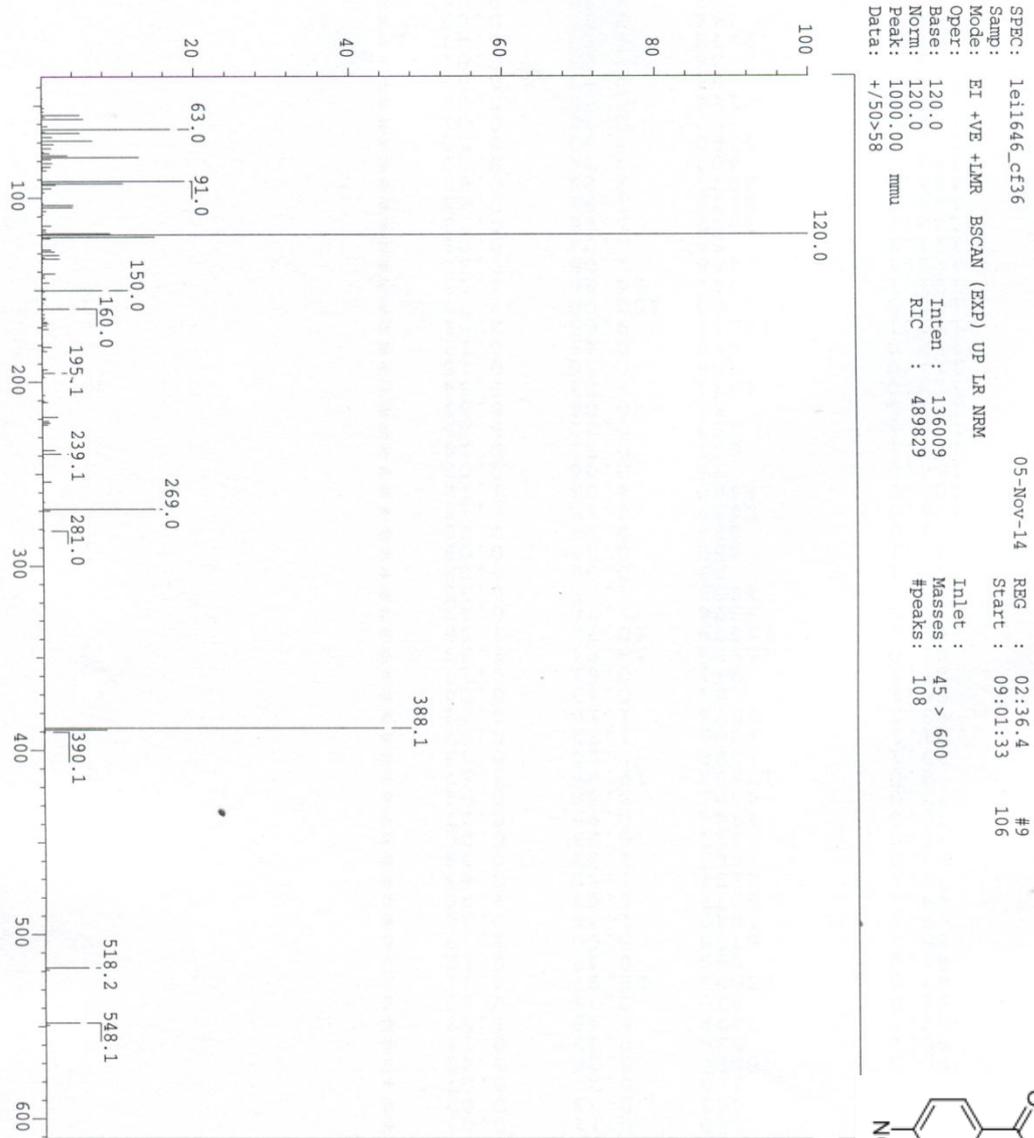
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-benzamide (16a)

氫譜圖



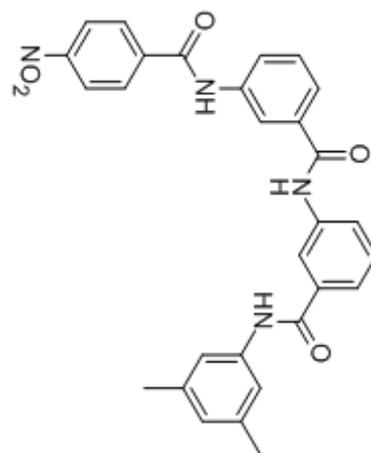
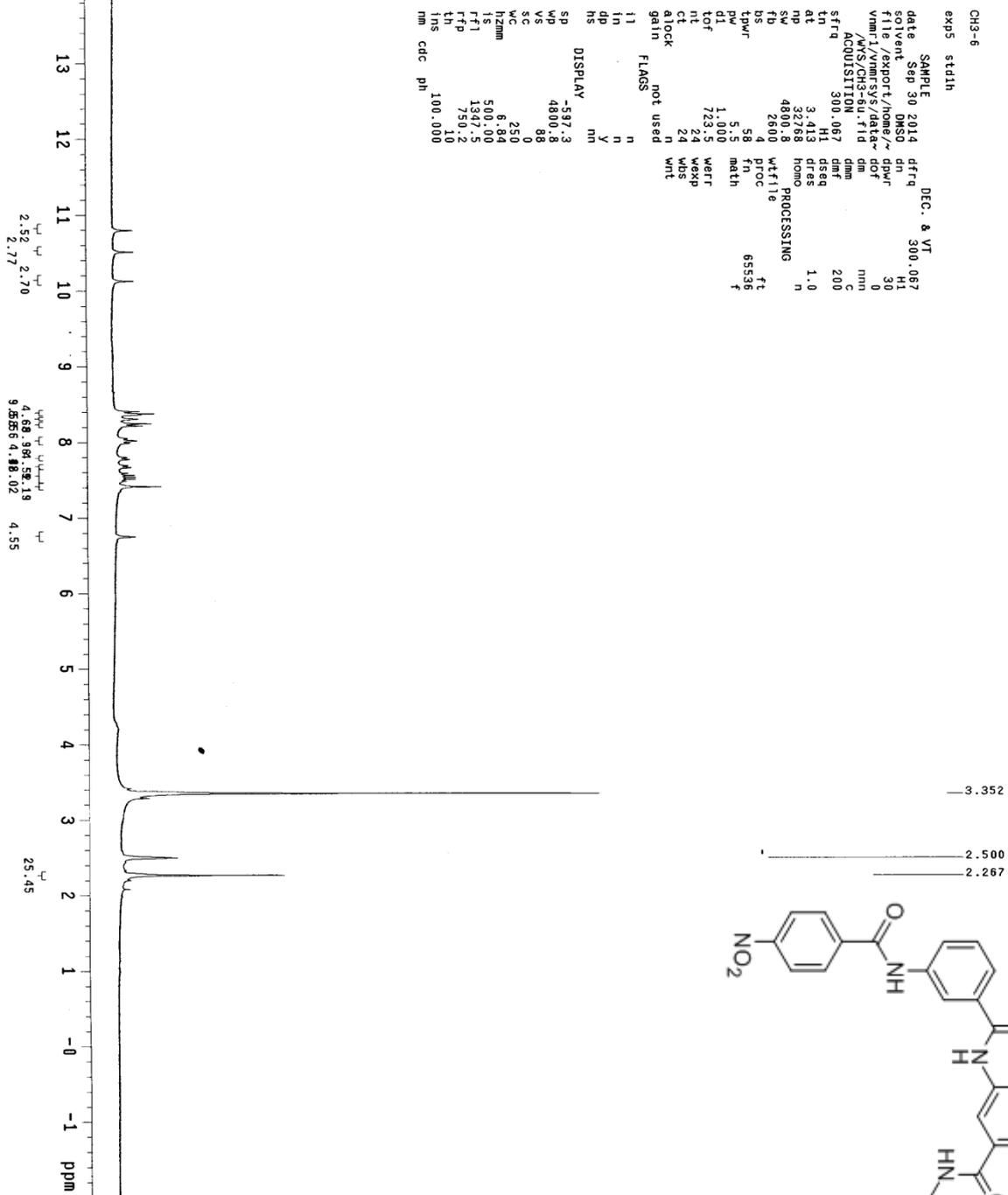
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-benzamide (16a)

碳譜圖

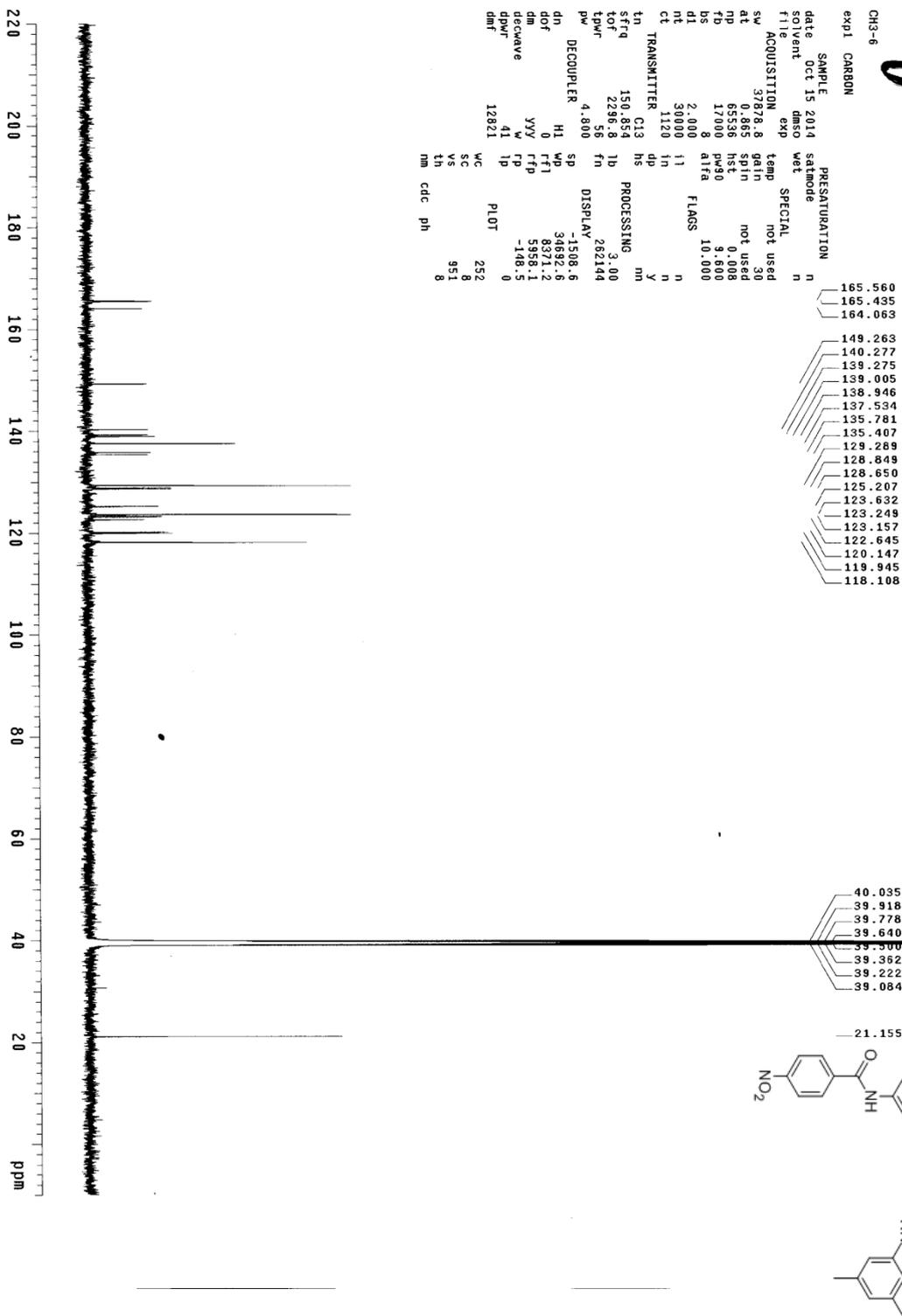


3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-benzamide (16a)

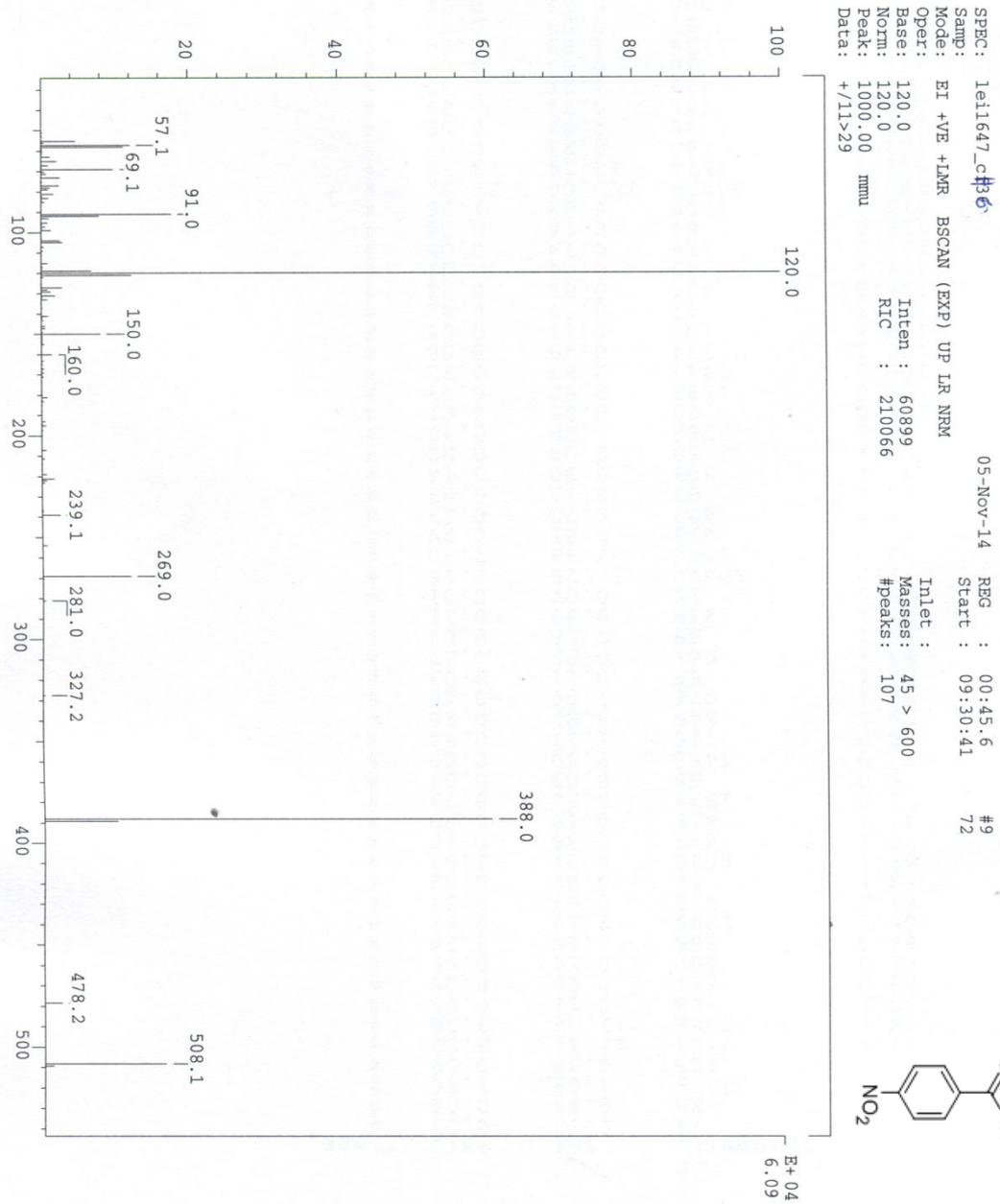
質譜圖



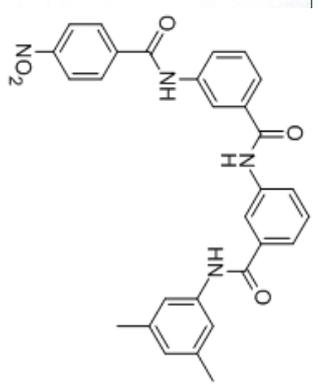
N-(3,5-dimethylphenyl)-3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-benzamide (16b) 氫譜



N-(3,5-dimethylphenyl)-3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-benzamide (16b) 碳谱

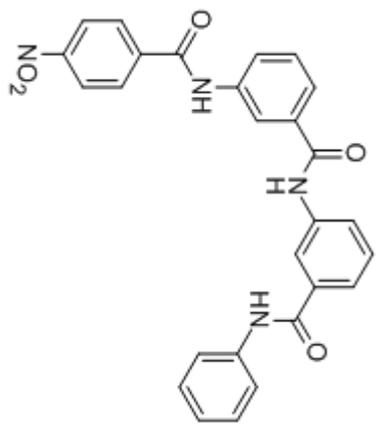
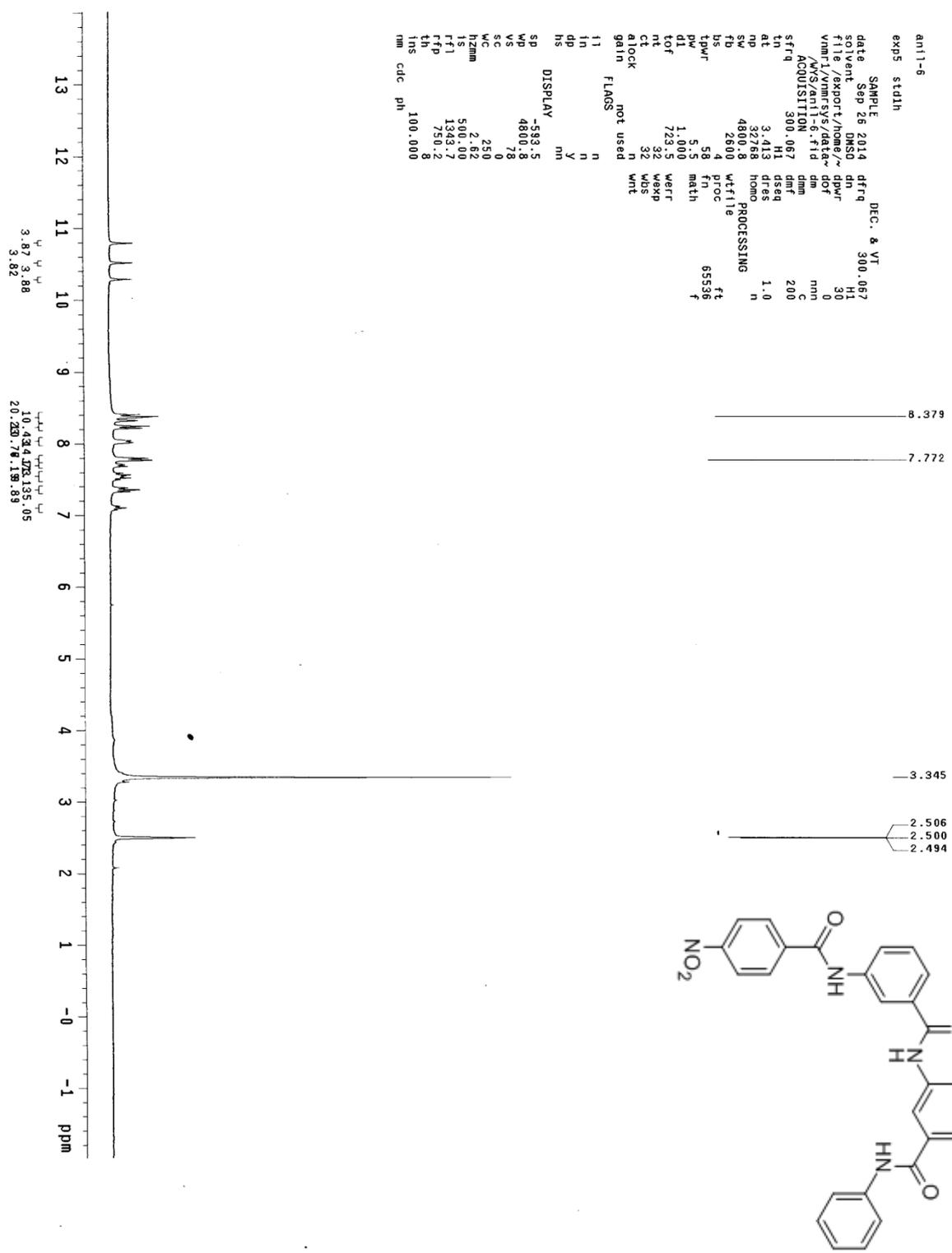


SPECT: 1e11647_c#3
 Samp: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Mode: 05-Nov-14 REG : 00:45.6 #9
 Oper: Start : 09:30:41 72
 Base: 120.0 Inlet : 45 > 600
 Norm: 120.0 RIC : 210066 Masses: 107
 Peak: 1000.00 #peaks: 107
 Data: +/11>29

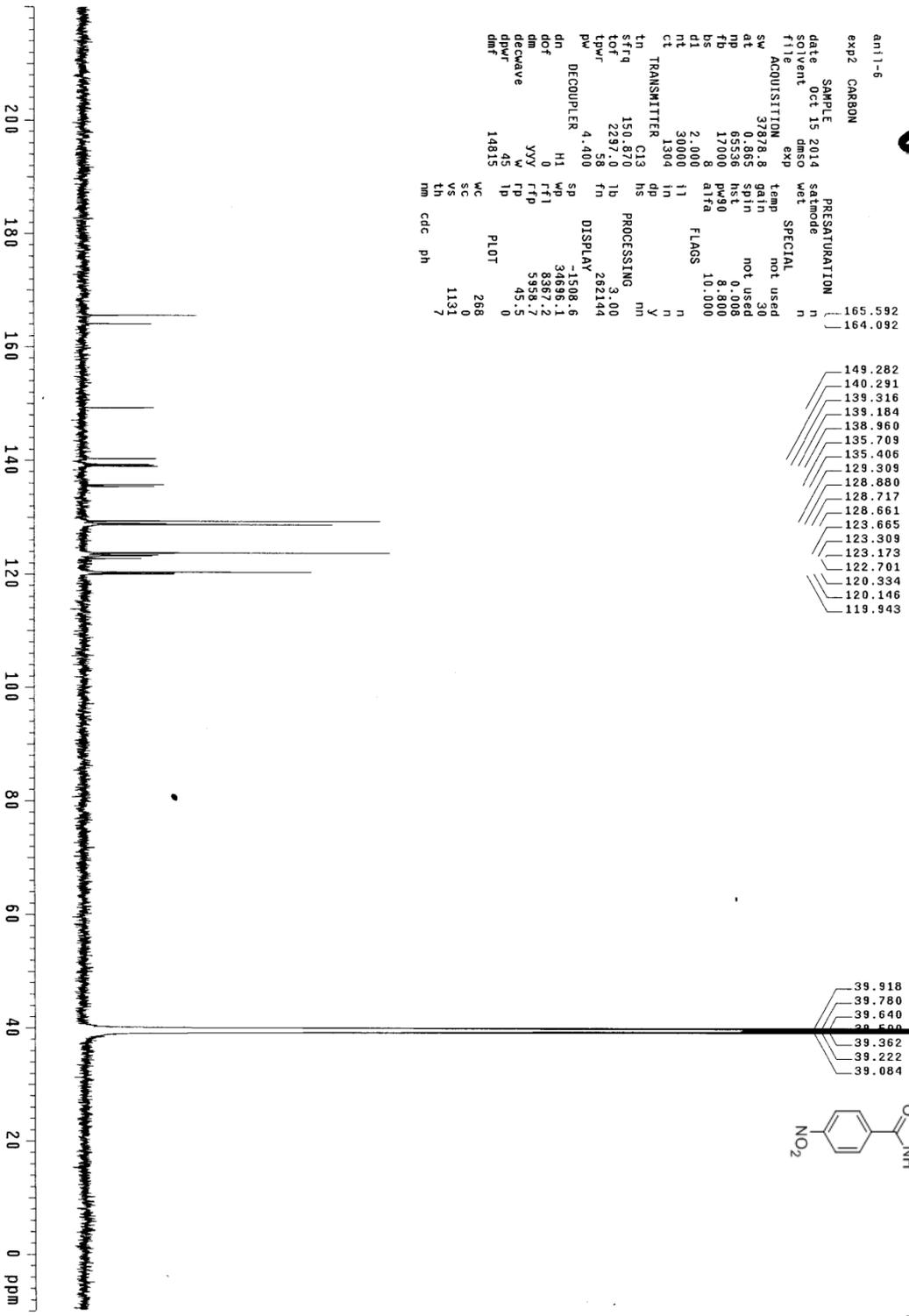


N-(3,5-dimethylphenyl)-3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-benzamide (16b) 質譜

圖



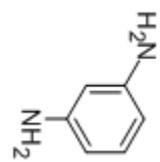
3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-phenylbenzamide (16c) 氫譜圖



```

ani1-6
exp2 CARBON
SAMPLE Oct 15 2014
solvent dmsd
file ACQUISITION exp
sw 37878.8
at 0.455
fp 17200
be 8
d1 2.000
nt 30000
ct 1304
tn C13
sfrq 150.870
tof 2297.0
tpwr 58
pw 4.400
DECOUPLER H1
dn 0
dof 0
dm yyy
decouple w
dpr 45
dmf 14815
PRESATURATION satmode n
wet SPECIAL not used
temp gain not used
sp in 30
sfln not used
hs 8.800
atfa 10.000
FLAGS n
n Y
hs Y
PROCESSING mh
lb 3.00
fn 262144
DISPLAY -1508.6
sp 34696.1
wp 8367.2
rf1 5958.7
rfp 45.5
tp 0
WC 288
SC 0
VS 1131
th 7
mm cdc ph
  
```

3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)-N-phenylbenzamide (16c) 碳谱图



```

NH2NH2-1
exp5 std1h
SAMPLE DEC. & VI
date Oct 3 2014 dfrq 300.065
solvent CDCl3 dn H1
file /export/home/~ dpwr 30
vnmr1/vnmrSYS/data~ dof 0
/VYS/NH2NH2-1.fid dm nm
ACQUISITION dnm 200
sfrq 300.066 dnt c
IN 11 dteq 1.0
RE 3.413 de84
NU 32768 homo n
SW 4800.8 PROCESSING
FB 2800 wifile n
BS 4 proc ft
TPWR 58 fn 65536 f
PW 1.000 math
D1 1.000 warr
TOF 723.5 wexp
RT 16 wds
CT 18 WDS
atlock not used
gain n wnt
IN 11 n
IN 11 n
DP 11 Y
HS DISPLAY nm
SP -599.7
WP 4800.8
VS 8
SC 0
WC 250
H2NM 1.56
IS1 500.00
FF1 2728.2
TFP 2178.8
INS 100.000
nm cdc ph
  
```

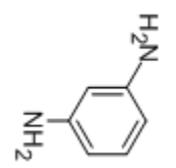
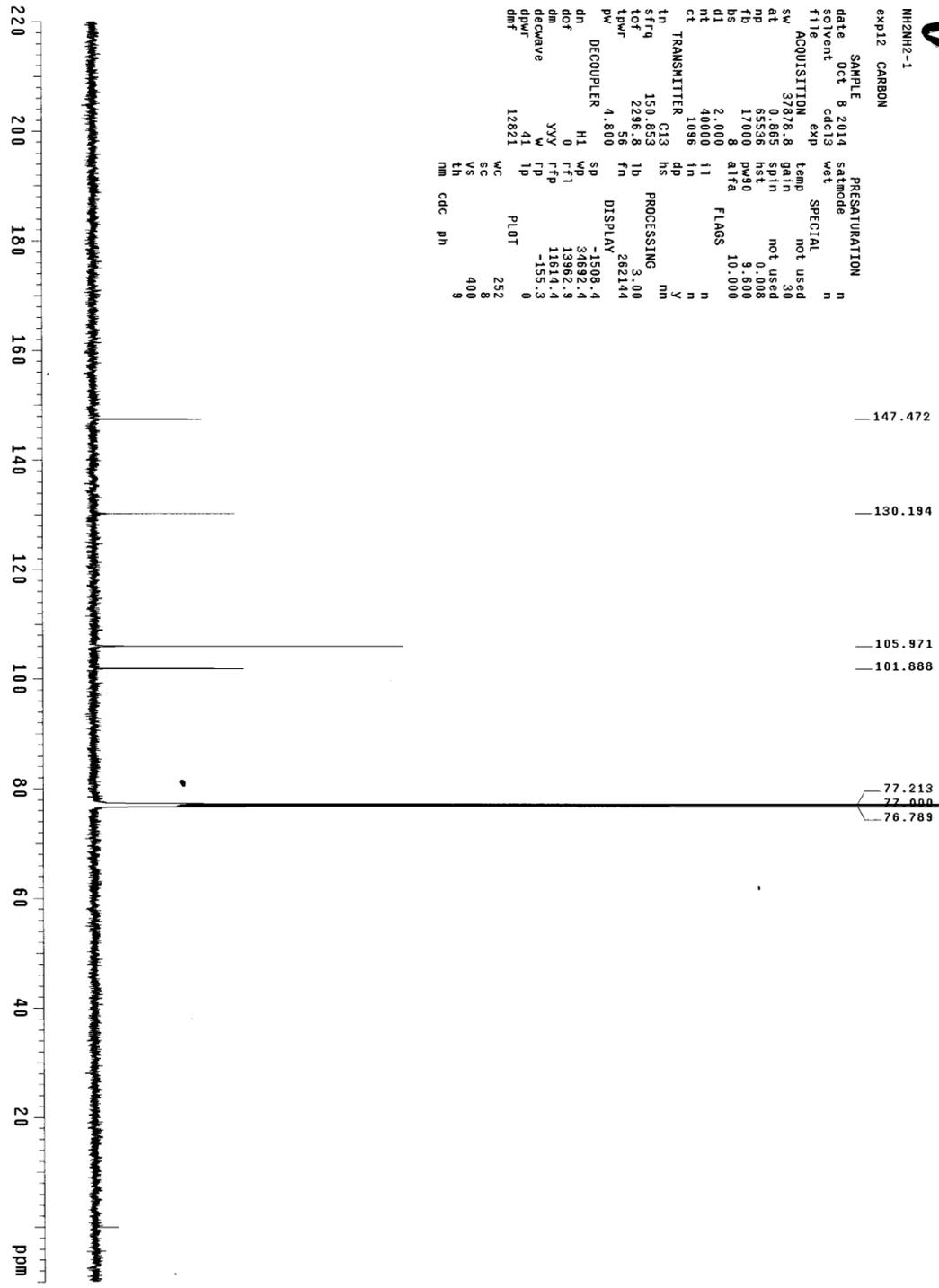


Benzene-1,3-diamine (23) 氫譜圖

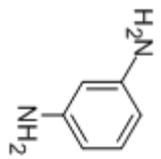
V

HN2NH2-1
exp12 CARBON

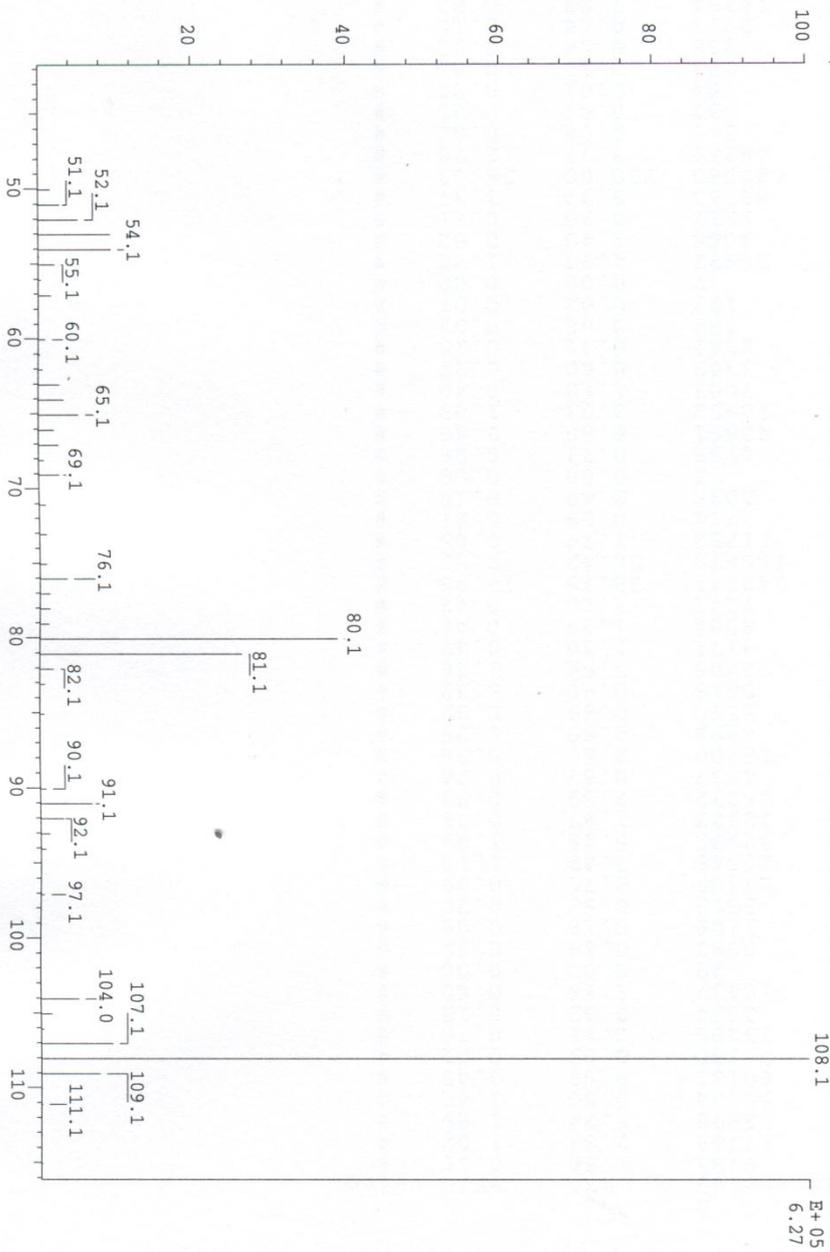
SAMPLE PRESATURATION
date Oct 8 2014 satmede n
solvent cdc13 wet n
file exp SPECIAL n
ACQUISITION temp not used
sw 37878.8 gain 30
at 0.865 spin not used
mp 65536 hst 0.008
fb 17000 pw90 9.600
bs 8 a1fa 10.000
d1 2.000 FLAGS n
nt 40000 in n
ct 1096 in n
TRANSMITTER hs y
in C13 PROCESSING mh
sfrq 150.853 lb 3.00
tof 2298.8 fn 262144
tpwr 56
pw 4.800 DISPLAY 1508.4
DECOUPLER H1 W1 34892.4
dn H1 W1 13982.4
dof H1 W1 11814.4
decouave YY TFD -155.3
dpuvt 41 1p PLOT
dmf 12821 WC 252
VS 8
th 400
nm cdc ph 9



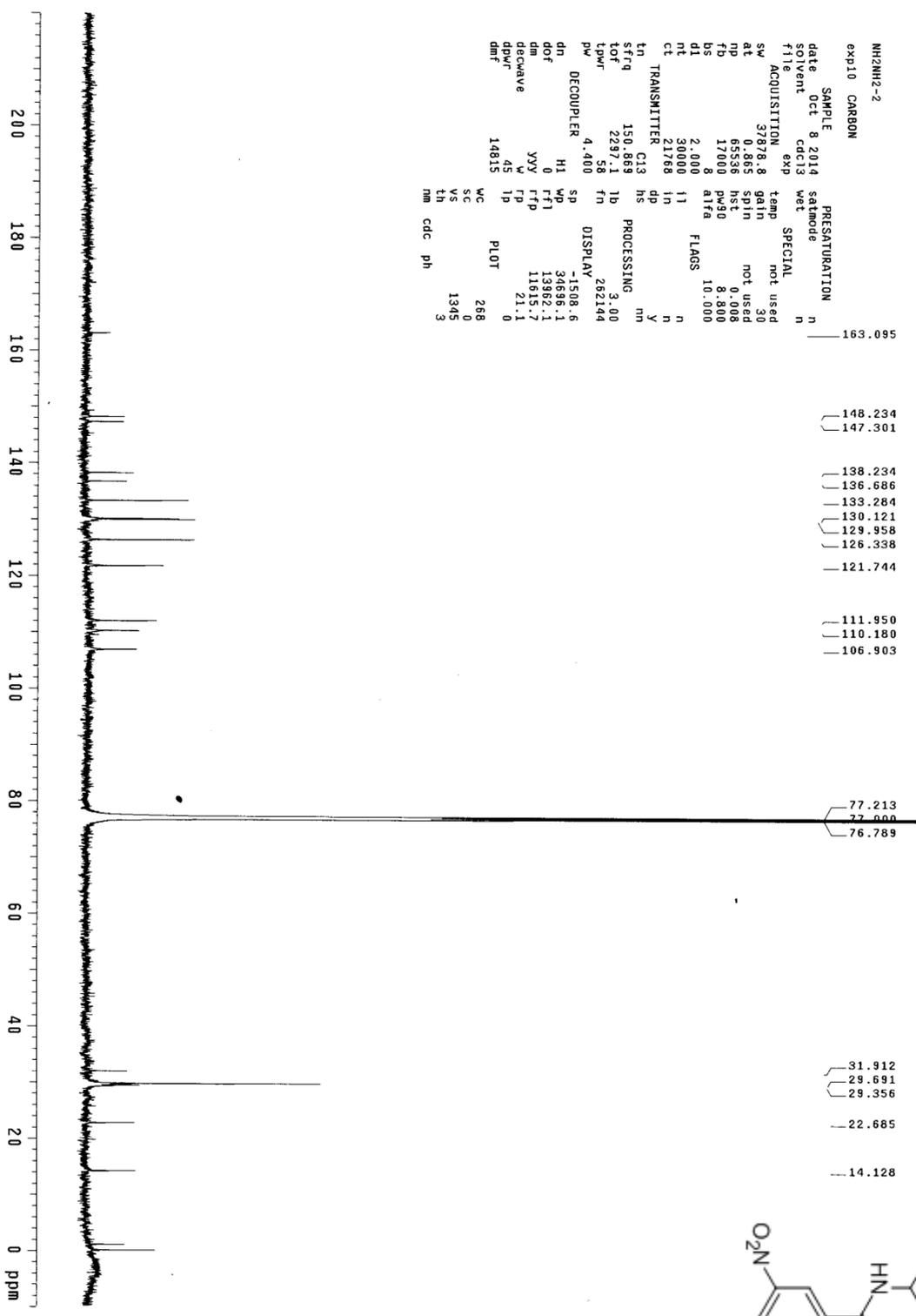
Benzene-1,3-diamine (23) 碳譜圖



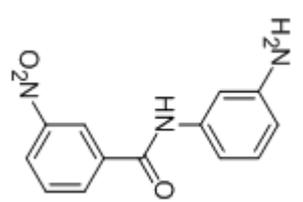
SPMC: le1656_nh2nh21
 Samp: 05-Nov-14
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Oper: REG : 04:32.7 #9
 Base: 108.1 Inten : 627080
 Norm: 108.1 RIC : 1740669
 Peak: 1000.00 mmu
 Data: +/162>232
 Start : 15:11:02 461
 Inlet :
 Masses : 45 > 140
 #peaks: 68



Benzene-1,3-diamine (23) 質譜圖

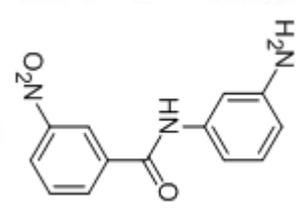
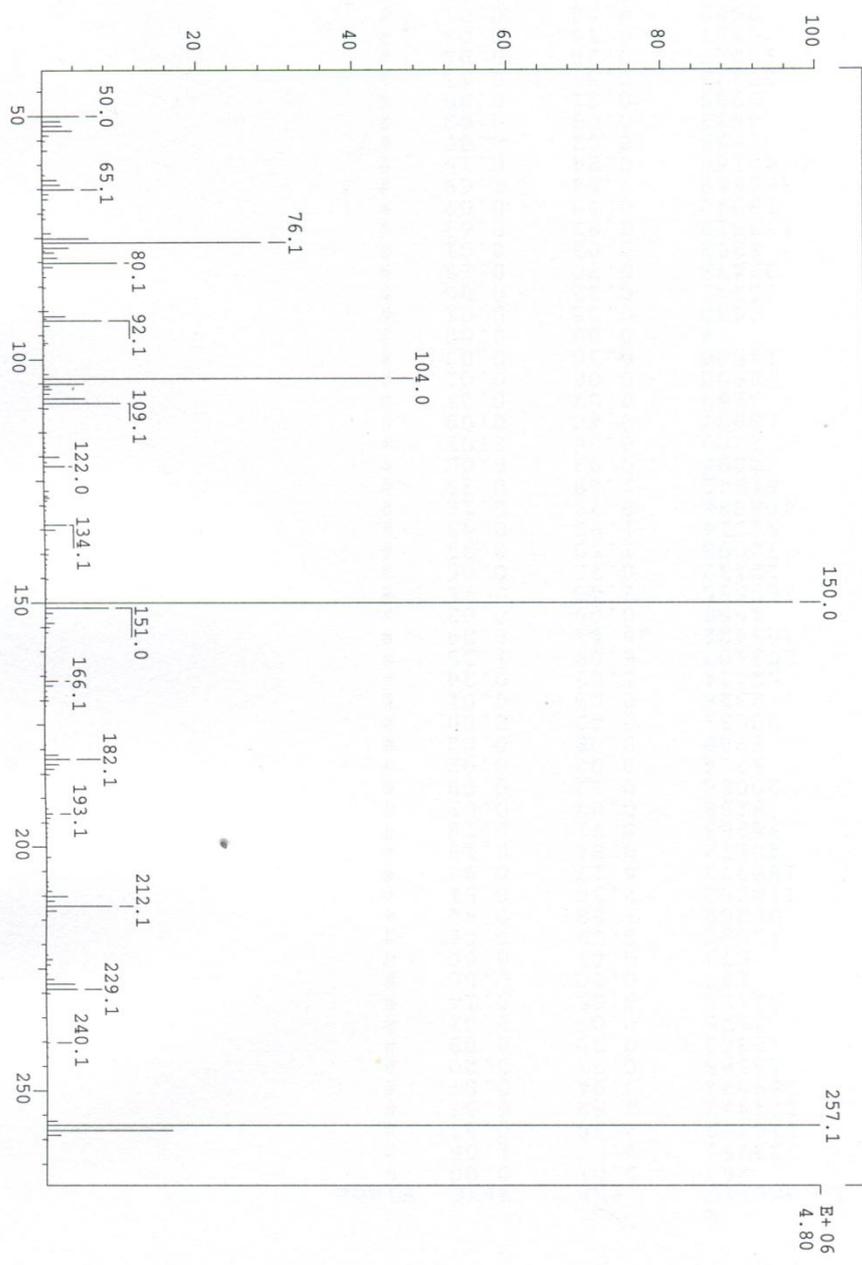


NH2NH2-2
 exp10 CARBON
 SAMPLE Oct 8 2014 PRESATURATION n
 date Oct 8 2014 satmode n
 solvent cdc13
 file cdc13
 ACQUISITION exp SPECIAL n
 sw 37878.8 gain not used
 at 0.865 spin not used
 np 65536 hst 0.008
 fb 17000 pw90 8.800
 bs 8 alfa 10.000
 d1 2.000
 nt 30000 11
 ct 21768 1n
 tn C13 hs
 sfreq 150.869 PROCESSING nm
 lorf 2297.1 lb 3.00
 lpwr 58 fn 262144
 pw 4.400
 DECOUPLER H1 SP -1508.6
 dn H1 WD 34696.1
 dot 0 FTI 13982.1
 dm YYT TTP 11635.7
 deconvolve AS TP 21.1
 dpr 4E 1P 0
 dm1 14815 PLOT 268
 mc SC 0
 vs SC 1345
 th 3
 mm cdc ph 3

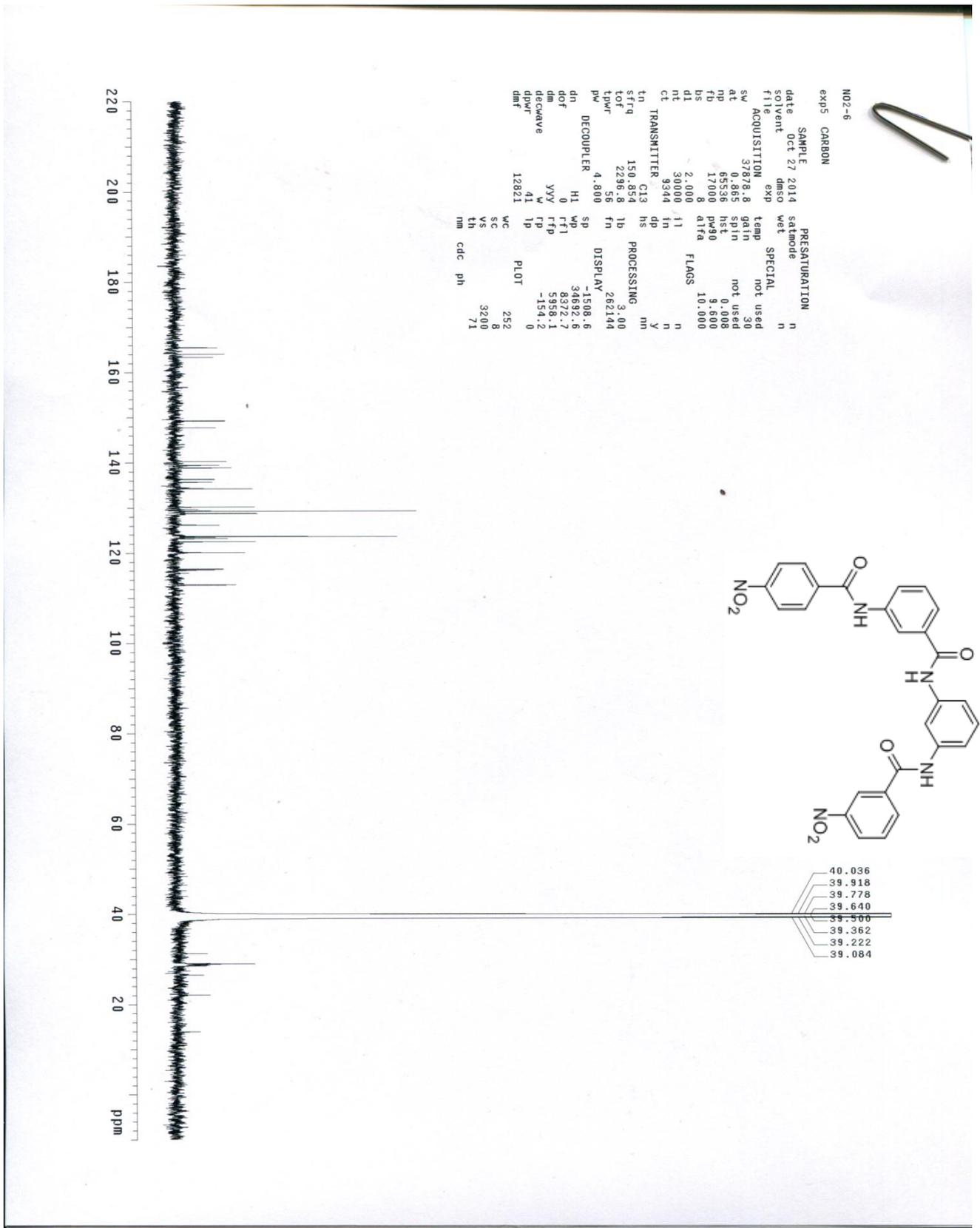


N-(3-aminophenyl)-3-nitrobenzamide (24) 碳谱图

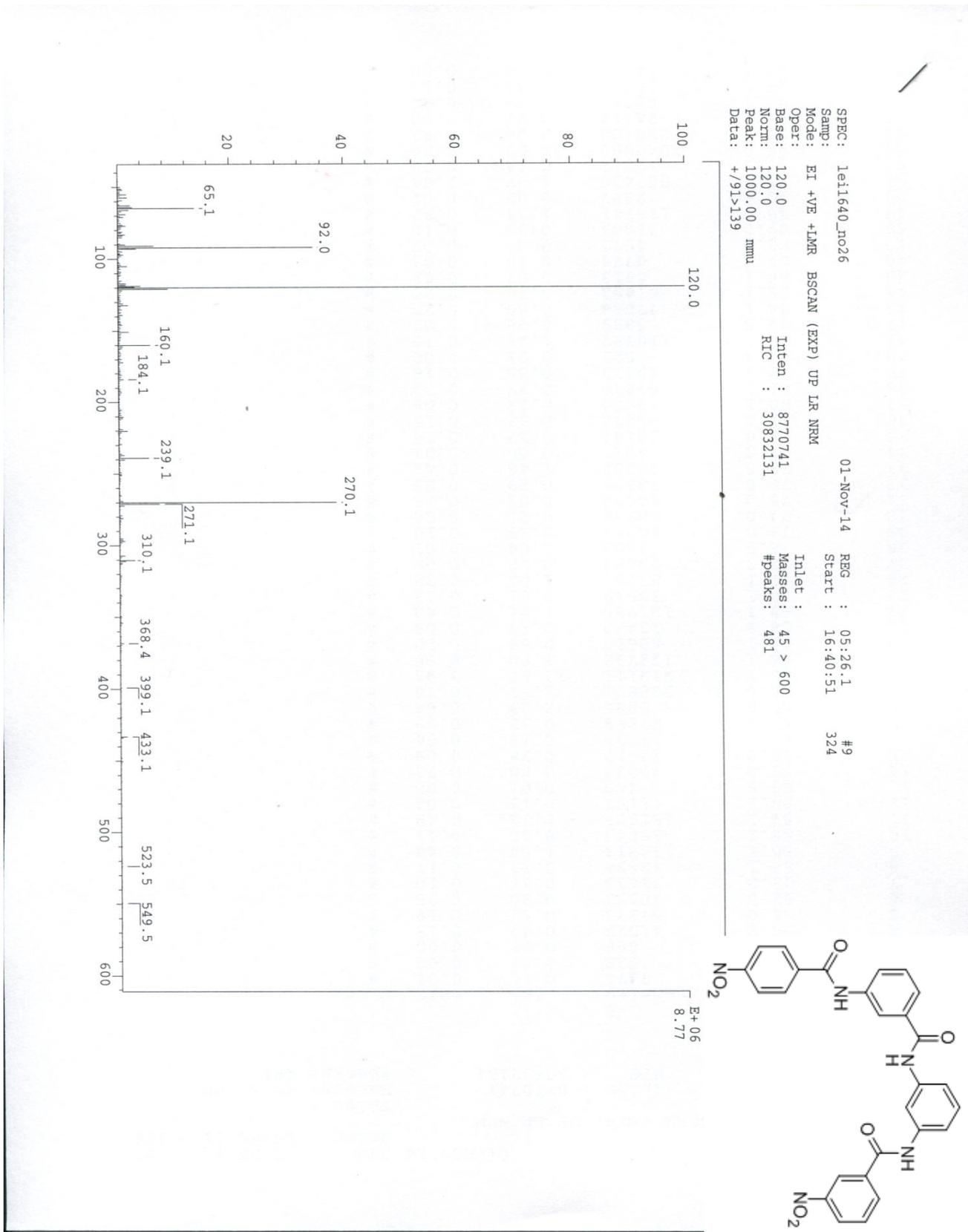
SPMC: lei1659_rh2hh22
 05-Nov-14
 RBG : 07:05.9
 #9
 Samp: EI +VE +IMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Mode: Inlet : 16:17:51
 Start : 392
 Oper: 257.1
 Base: 4799513
 Norm: 257.1
 RIC : 21680536
 Peak: 1000.00 mmu
 #masses: 45 > 265
 #peaks: 183
 Data: +/169>223



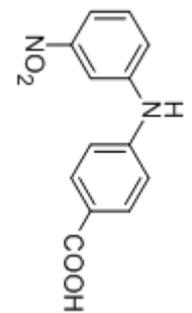
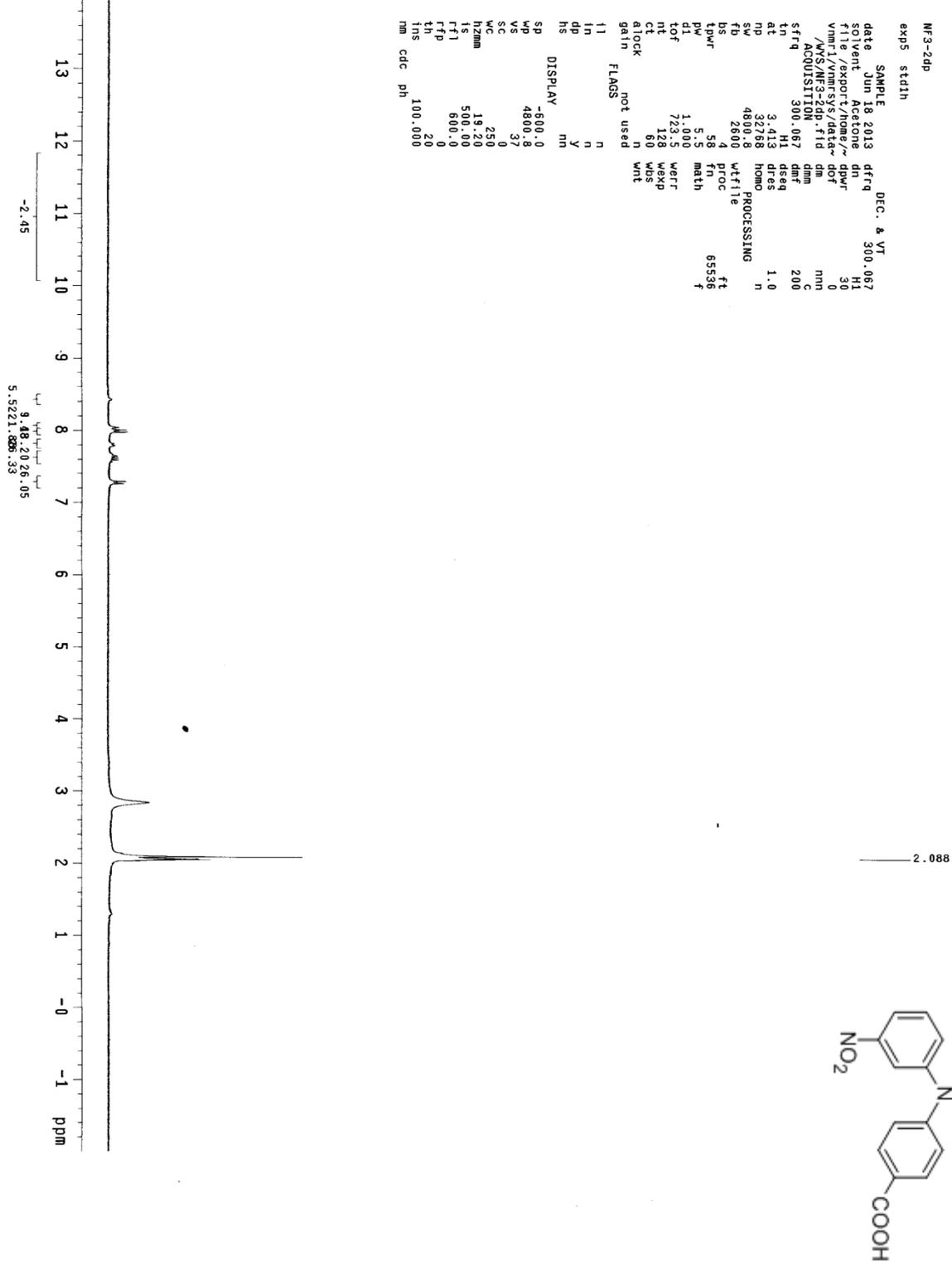
N-(3-aminophenyl)-3-nitrobenzamide (24) 質譜圖



3-nitro-N-(3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)phenyl)benzamide (16d) 碳譜圖



3-nitro-N-(3-(3-(4-nitrobenzamido)benzamido)phenyl)benzamide (16d) 質譜圖



4-((3-nitrophenyl)amino)benzoic acid (26) 氫譜圖

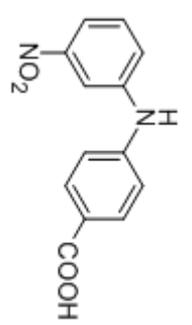
V

MF3-2dp
 exp16 CARBON

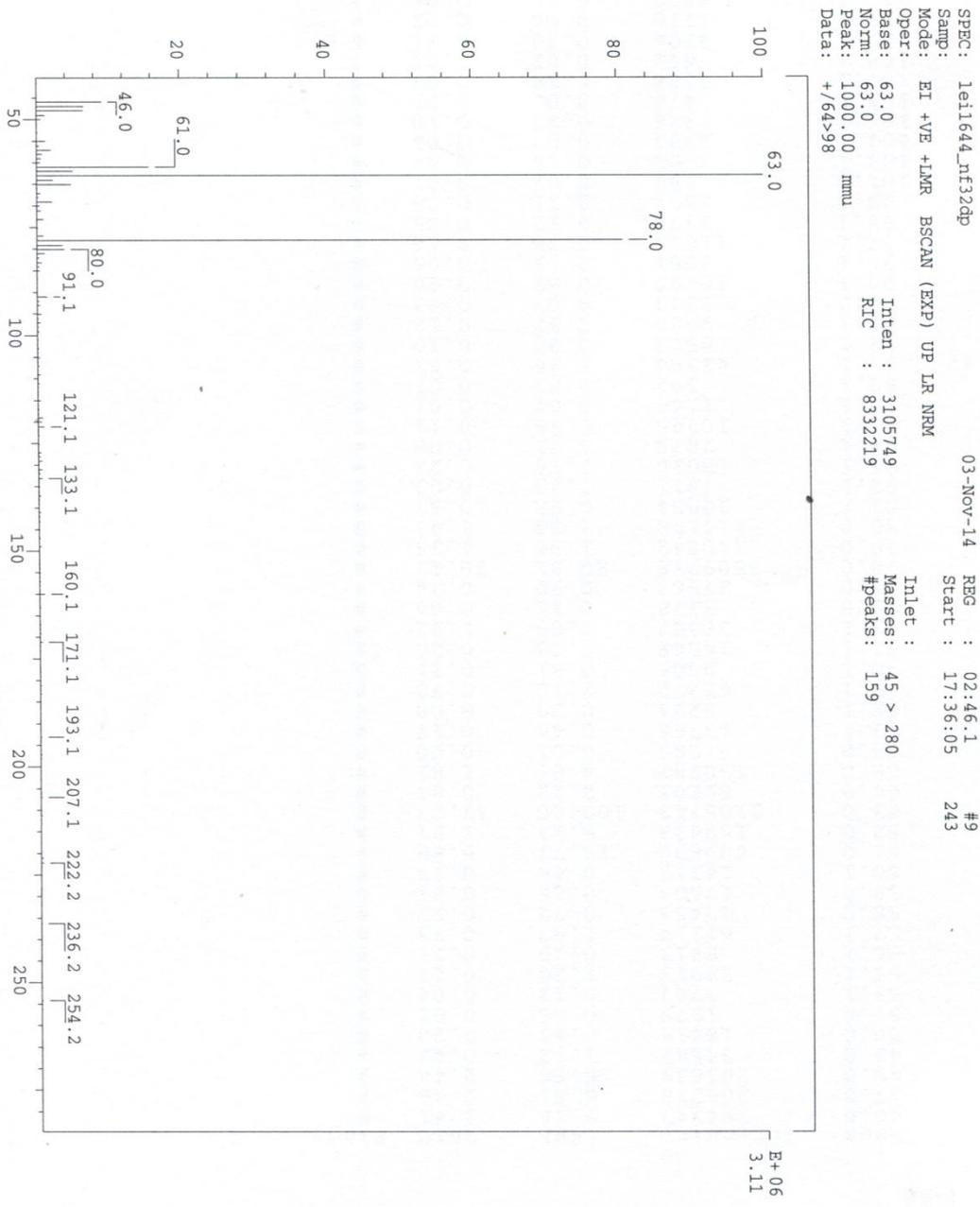
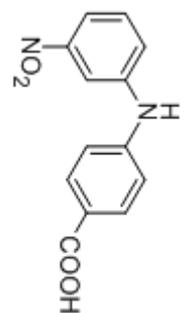
SAMPLE	date	Oct 21 2014	PRESATURATION	n
solvent	amso		satmode	n
11	exp		wet	SPECIAL
ACQUISITION	exp		temp	not used
SV	37878.8	gain	not used	30
at	0.865	spin	not used	0.008
MD	65536	hst		9.600
FB	17000	pw40		10.000
BS	8	atfa	FLAGS	
DI	2.000			
NI	30000			
CT	3520			
TRANSMITTER				
tn	C13	hs	PROCESSING	nm
sfrq	150.854	lb		3.00
tof	2296.8	fn	DISPLAY	282144
tpwr	56			
PW	4.800			
DECOUPLER	H1	SP		-1508.6
dn	0	wp		34692.6
dof	0	ft1		8373.3
dm	YYY	ftp		3958.1
decwave	W	tp		-160.3
dmf	41	lp	PLOT	0
	12821			252
		WC		15222
		VC		82
		th		
		nm	cdc	ph



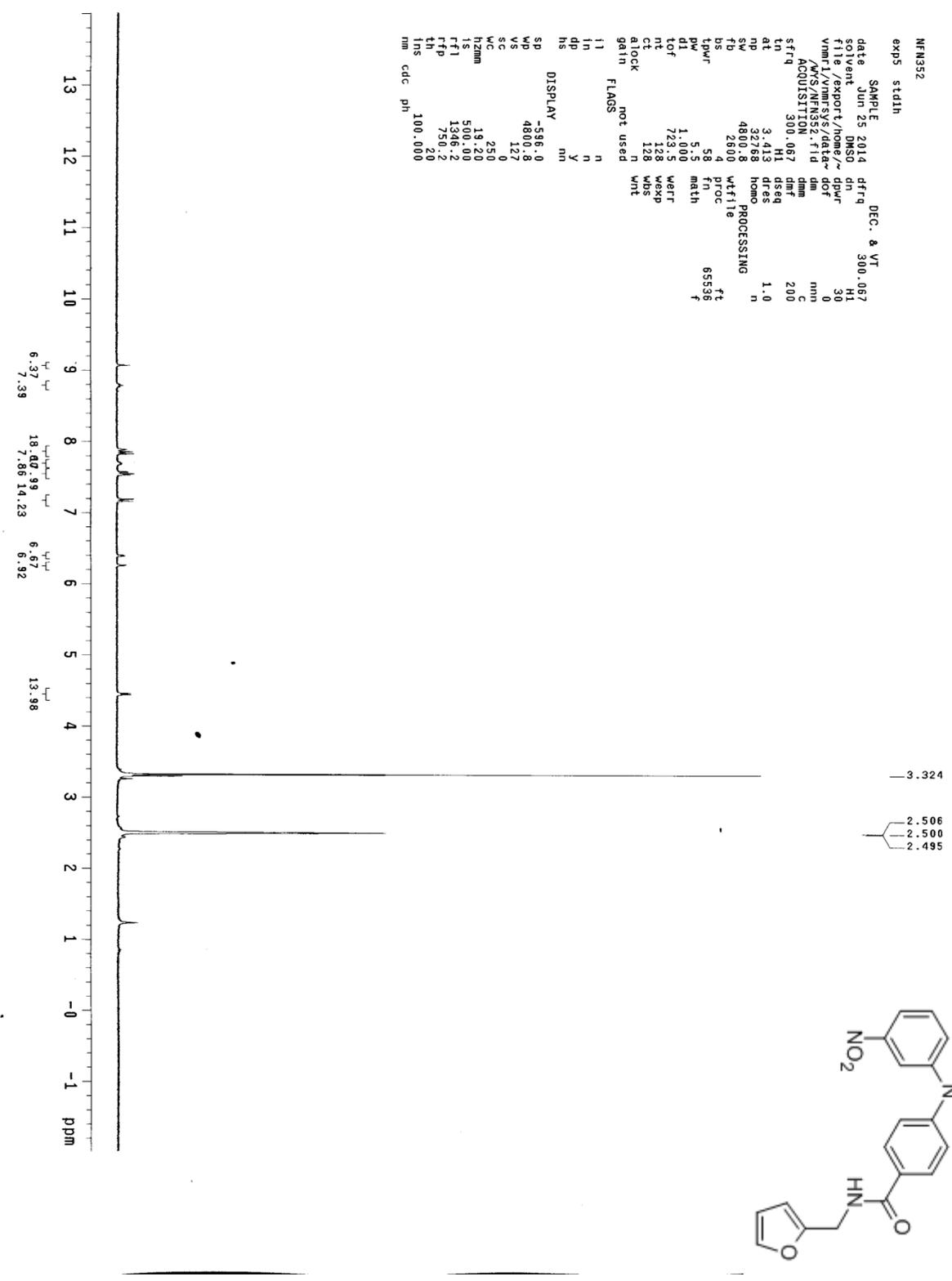
40.412
 39.918
 39.780
 39.640
 39.500
 39.362
 39.222
 39.084



4-((3-nitrophenyl)amino)benzoic acid (26) 碳譜圖



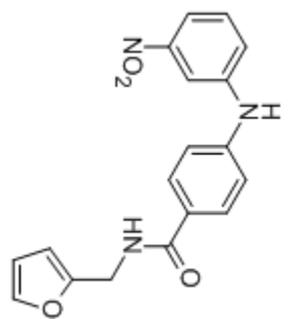
4-((3-nitrophenyl)amino)benzoic acid (26) 質譜圖



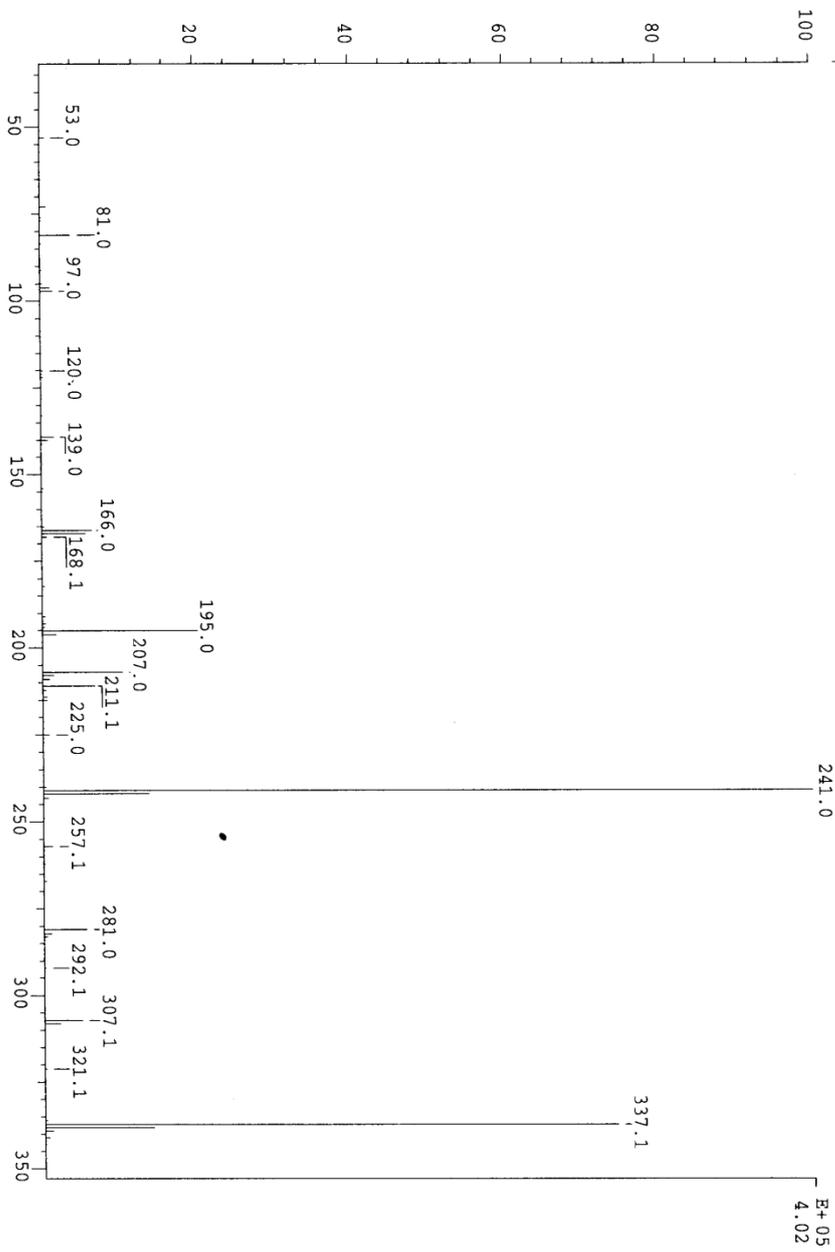
```

NFN352
exp5 stdih
SAMPLE
date Jun 25 2014 dfrq DEC. & VT 300.067
solvent DMSO dn H1
file /export/home/~ dpwr 30
vnmr1/vnmrSYS/data/~ dof 0
/MS/NFN352.fid dm nm
ACQUISITION dmm c
300.067 dmf 200
IN H1 dseq 1.0
at 3.413 dres n
np 327.68 homo PROCESSING
2w 4800.8 wffile ft
4800.8 proc 65536
bs 2800
tpwr 58 fn math f
pw 1.000 weff
d1 723.5 weff
nt 128 wexp
ct 128 wbs
gain not used wnt
flags n
11 n
1n n
dn y
hs ni
DISPLAY -596.0
sp wp 4800.8
vs 127
sc 0
wc 250
hzmm 19.20
1s 500.00
ft1 1346.2
ftp 730.2
tn 20
tns 100.000
nm cdc ph
  
```

N-(furan-2-ylmethyl)-4-((3-nitrophenyl)amino)benzamide (27a) 氬譜圖



SPMC: 1e1140_nfn352
 07-Oct-14
 REG : 06:26.4 #9
 Samp: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Mode: Inlet : 20:45:34 168
 Oper: Inten : 402448
 Base: 241.0
 Norm: 241.0
 Peak: 1000.00 mmu
 Data: +/78>103
 Masses: 45 > 400
 #peaks: 106



N-(furan-2-ylmethyl)-4-((3-nitrophenyl)amino)benzamide (27a) 質譜圖



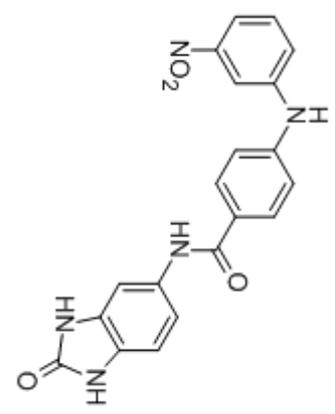
```

NFN-346
expl stidn
SAMPLE 8 2011
date Jun 11 11:00
solvent DMF
file 001
ACQUISITION 00.00
sfrq 300.135
ln 1
at 3.493
np 32.78
sw 2600
fb 4
bs 4
DPMW 52
DI 1.000
tof 723.5
nt 48
ct 48
atlock n
gain not used
FLAGS n
l1 n
l2 n
l3 n
l4 n
l5 n
l6 n
l7 n
l8 n
l9 n
l10 n
l11 n
l12 n
l13 n
l14 n
l15 n
l16 n
l17 n
l18 n
l19 n
l20 n
l21 n
l22 n
l23 n
l24 n
l25 n
l26 n
l27 n
l28 n
l29 n
l30 n
l31 n
l32 n
l33 n
l34 n
l35 n
l36 n
l37 n
l38 n
l39 n
l40 n
l41 n
l42 n
l43 n
l44 n
l45 n
l46 n
l47 n
l48 n
l49 n
l50 n
l51 n
l52 n
l53 n
l54 n
l55 n
l56 n
l57 n
l58 n
l59 n
l60 n
l61 n
l62 n
l63 n
l64 n
l65 n
l66 n
l67 n
l68 n
l69 n
l70 n
l71 n
l72 n
l73 n
l74 n
l75 n
l76 n
l77 n
l78 n
l79 n
l80 n
l81 n
l82 n
l83 n
l84 n
l85 n
l86 n
l87 n
l88 n
l89 n
l90 n
l91 n
l92 n
l93 n
l94 n
l95 n
l96 n
l97 n
l98 n
l99 n
l100 n
nm cdc ph
  
```

4-((3-nitrophenyl)amino)-N-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)benzamide (27b) 氫譜圖

4hr

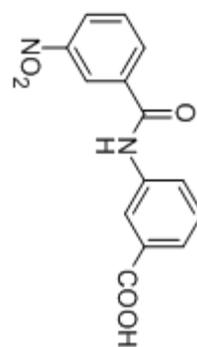
MFN-346
exp6 CARBON
SAMPLE Oct 16 2014
solvent dmsc
file exp
sw 37878.8
at 0.863
fp 15533
bp 17000
d1 2.000
nt 30000
ct 4388
tn TRANSMITTER C13
sfrq 150.870
lof 2297.0
lpwr 58
pw 4.400
DECOUPLER
dn H1
dof 0
dm YYY
decWAVE W
dpwr 45
dmf 14815
PRESATURATION satmode
wet SPECIAL
temp not used
gain not used
spin 0.863
nsf 8.800
p450 10.000
PLOT
wc 268
sc 0
vs 3250
tn 109
nm cdc ph



39.918
39.780
39.640
39.500
39.362
39.222
39.084



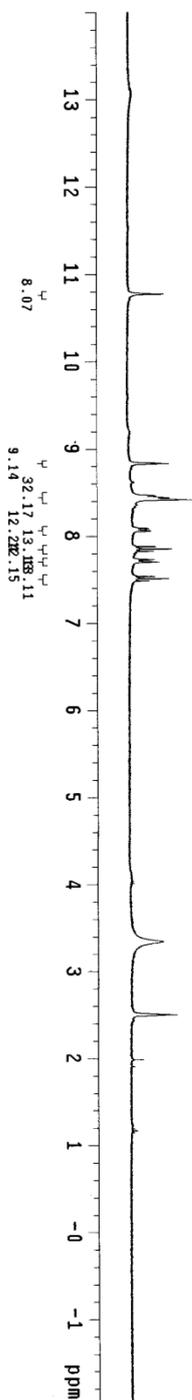
4-((3-nitrophenyl)amino)-N-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)benzamide
(27b) 碳譜圖



```

AND-2dp
expts stdih
SAMPLE 4 2014 DEC. 8 VT
date Aug 4 2014 dfrq 300.067
solvent DMSO d1
file /export/home/~
vnmr1/vnmr/sy/s/data/~
/MS/RND-2dp-fid dm 30
ACQUISITION dmm nnn
sfrq 300.067 dmf 200
tn H1 dseq 1.0
at 3.413 dres n
np 32/68 homo
sw 4800.8 PROCESsing
f2 2800 wfile ft
tdwr 58 fn 65536
pw 5.5 math f
dl 1.000 werr
tof 723.5 wep
ct 32 wbs
alock n wnt
gain not used
flags
11 n
1n n
1p y
1s n
1t n
1u n
1v n
1w n
1x n
1y n
1z n
DISPLAY -598.3
wp 4800.8
vs 10
sc 0
wc 250
hzmm 19.20
is 500.00
f1 598.3
f2 0
f3 0
f4 0
f5 0
f6 0
f7 0
f8 0
f9 0
f10 0
f11 0
f12 0
f13 0
f14 0
f15 0
f16 0
f17 0
f18 0
f19 0
f20 0
nm cdc ph 100.000

```

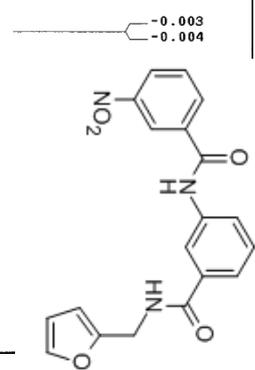
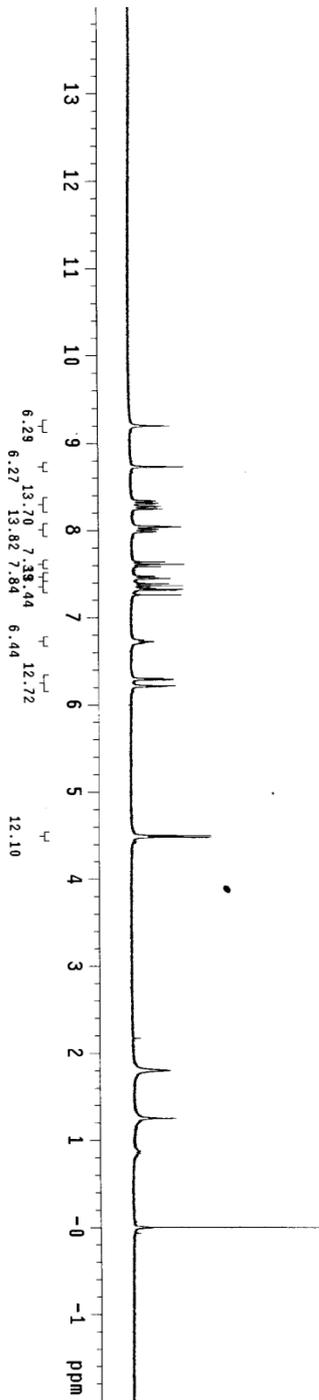


3-(3-nitrobenzamido)benzoic acid (28) 氫譜圖

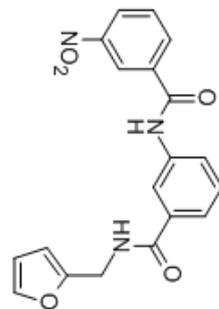
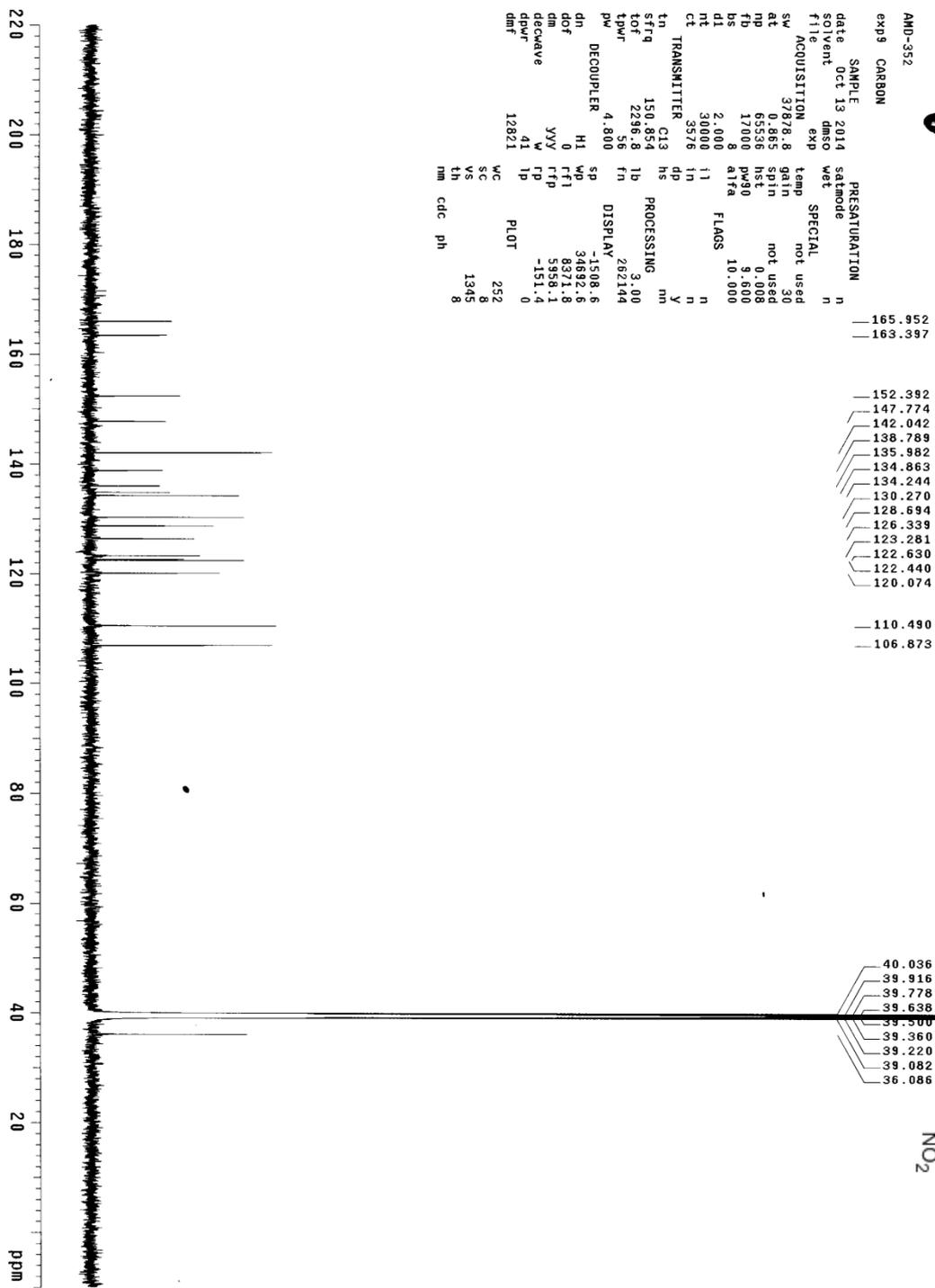
```

AMD352
exp5 std1h
SAMPLE DEC. & VT
date Aug 4 2014 dfrq 300.065
solvent CDCl3 dn H1
file /export/home/~ dpvr 30
vnmr1/vnmr-sys/data~ dof 0
/VMS/AMD352.fid dm nnn
ACQUISITION c
sfrq 300.066 dmf 200
tn H1 dseq 1.0
at 3.413 dres n
np 32728 homp PROCESSING
sp 48268 wprc n
fn 2600 wfile
bs 4 proc
tdwr 58 fn 65536
pw 5.5 math
d1 1.000 werr
tof 723.5 wexp
nt 8 wds
ct 8 wnt
alock n
gain not used
flags n
l1 n
l2 n
l3 n
l4 n
l5 n
l6 n
l7 n
l8 n
l9 n
l10 n
l11 n
l12 n
l13 n
l14 n
l15 n
l16 n
l17 n
l18 n
l19 n
l20 n
nm cdc ph 100.000

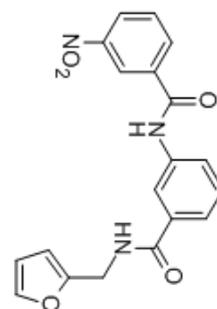
```



N-(furan-2-ylmethyl)-3-(3-nitrobenzamido)benzamide (29a) 氫譜圖



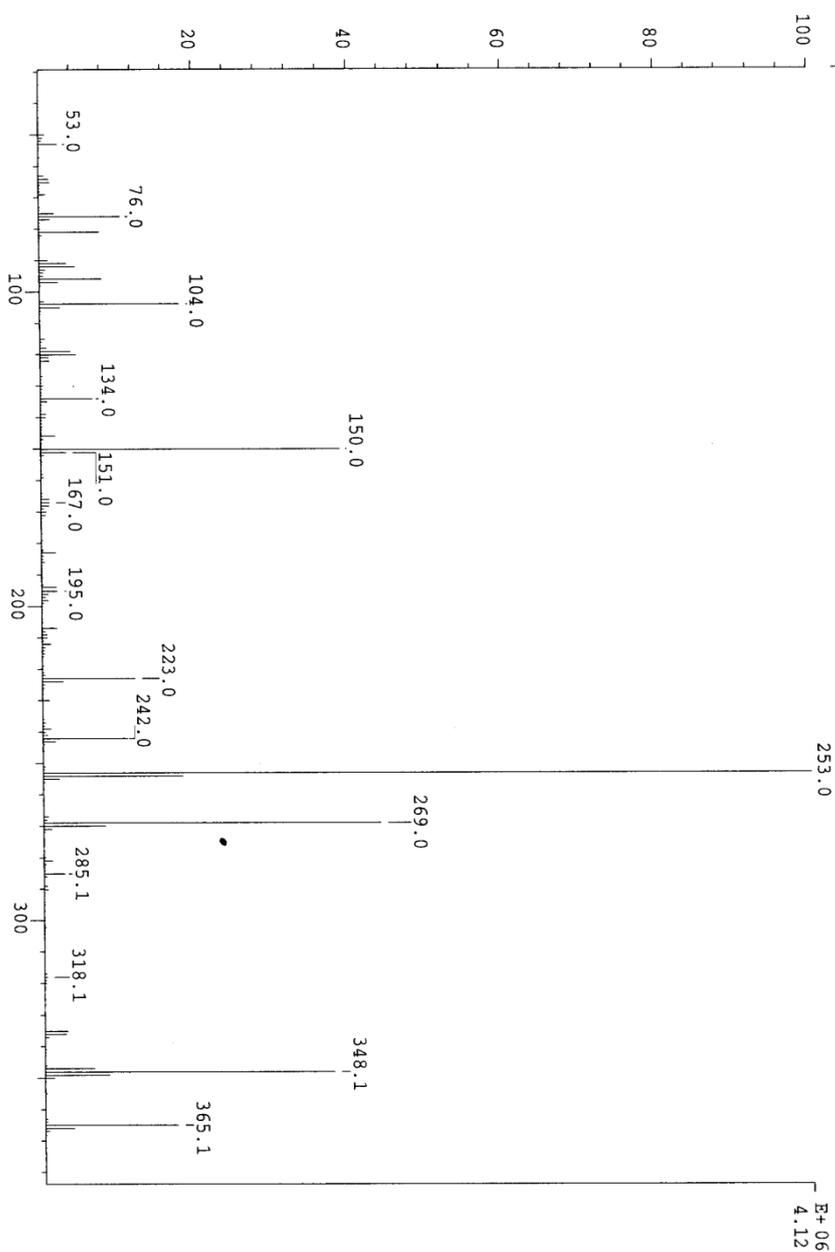
N-(furan-2-ylmethyl)-3-(3-nitrobenzamido)benzamide (29a) 碳譜圖



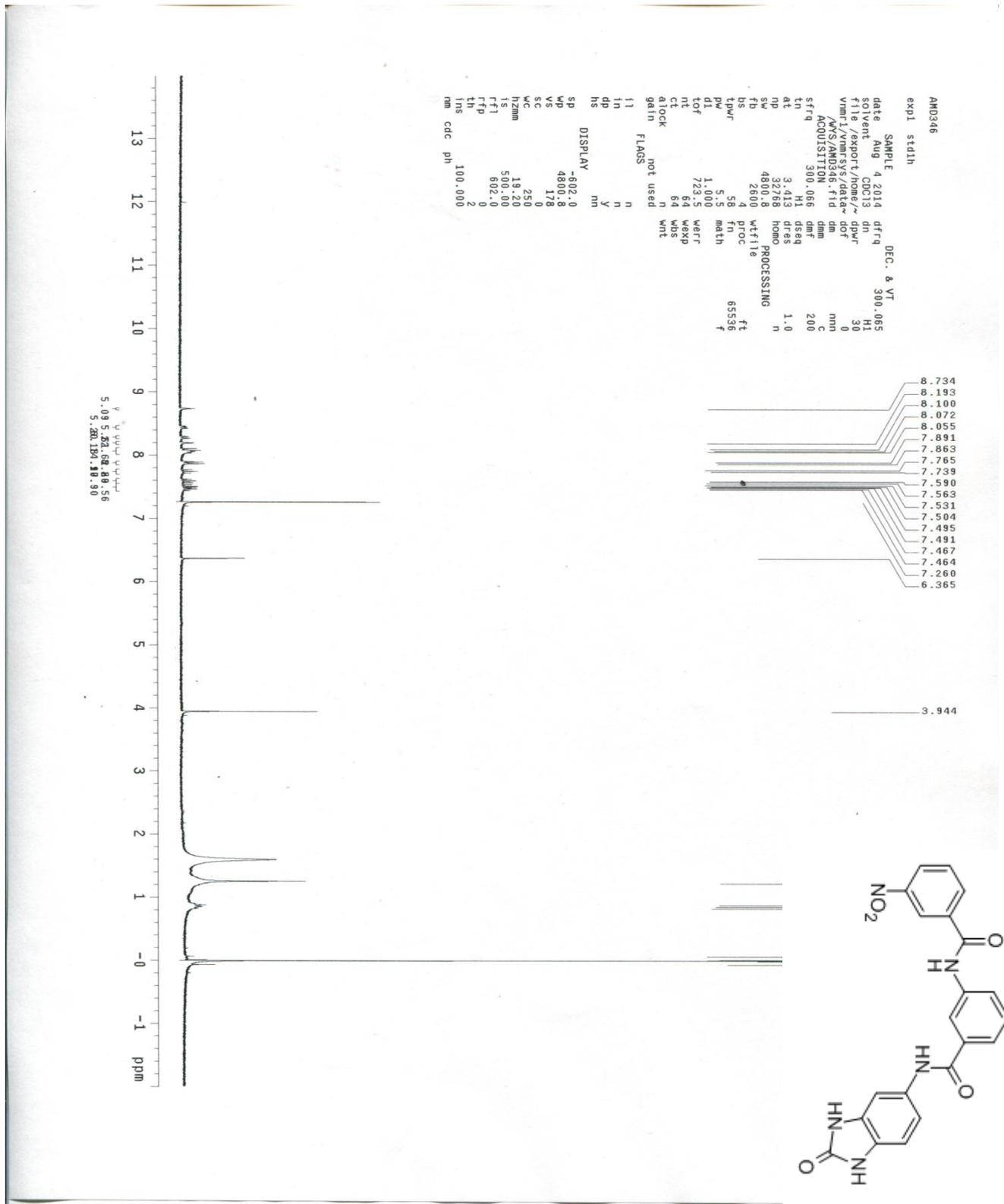
SPEC: Ie11139_and352
 Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NRM
 Operator: 253.0
 Base: 253.0
 Norm: 1000.00
 Peak: +/56>72
 Data:

07-Oct-14
 REG : 05:13.5
 Start : 20:20:35
 #9
 164

Inlet : 45 > 500
 Masses: #peaks: 284



N-(furan-2-ylmethyl)-3-(3-nitrobenzamido)benzamide (29a) 質譜圖

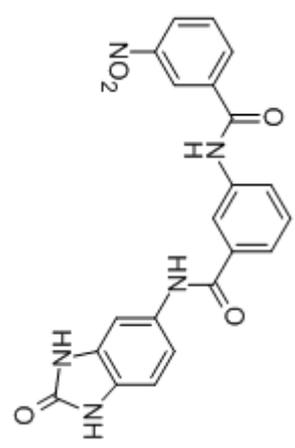


3-nitro-N-(3-((2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)carbamoyl)phenyl)benzamide (29b) 氮譜圖

26 KX

```

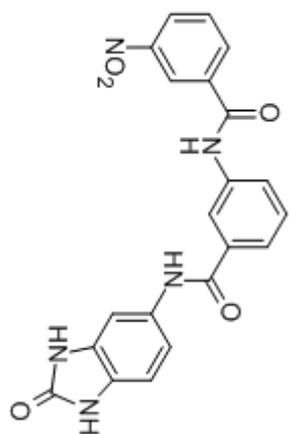
AMD-346
exp2 CARBON
SAMPLE PRESATURATION
date Oct 15 2014 satmode n
solvent dmsc wet n
file exp SPECIAL
SW ACQUISITION 37878.8 gain not used
at 0.865 spin not used
np 65536 hst 0.008
fb 17000 pw90 8.800
bs 8 a1fa 10.000
d1 2.000
nt 30000
ct 26408
TRANSMITTER C13 hs n
ln C13 dp y
sfrq 150.870 lb PROCESSING 3.00
tof 2297.0 fn DISPLAY 262144
pw 4.400 sp 1508.6
DECOUPLER H1 wp 3430.1
dof 0 ffn 8946.1
am yy ffb 5858.7
decave 4e lp 28.5
dpm 14815
dmf 14815
wc 258
sc 0
vs 30444
th 70
nm cdc ph
  
```



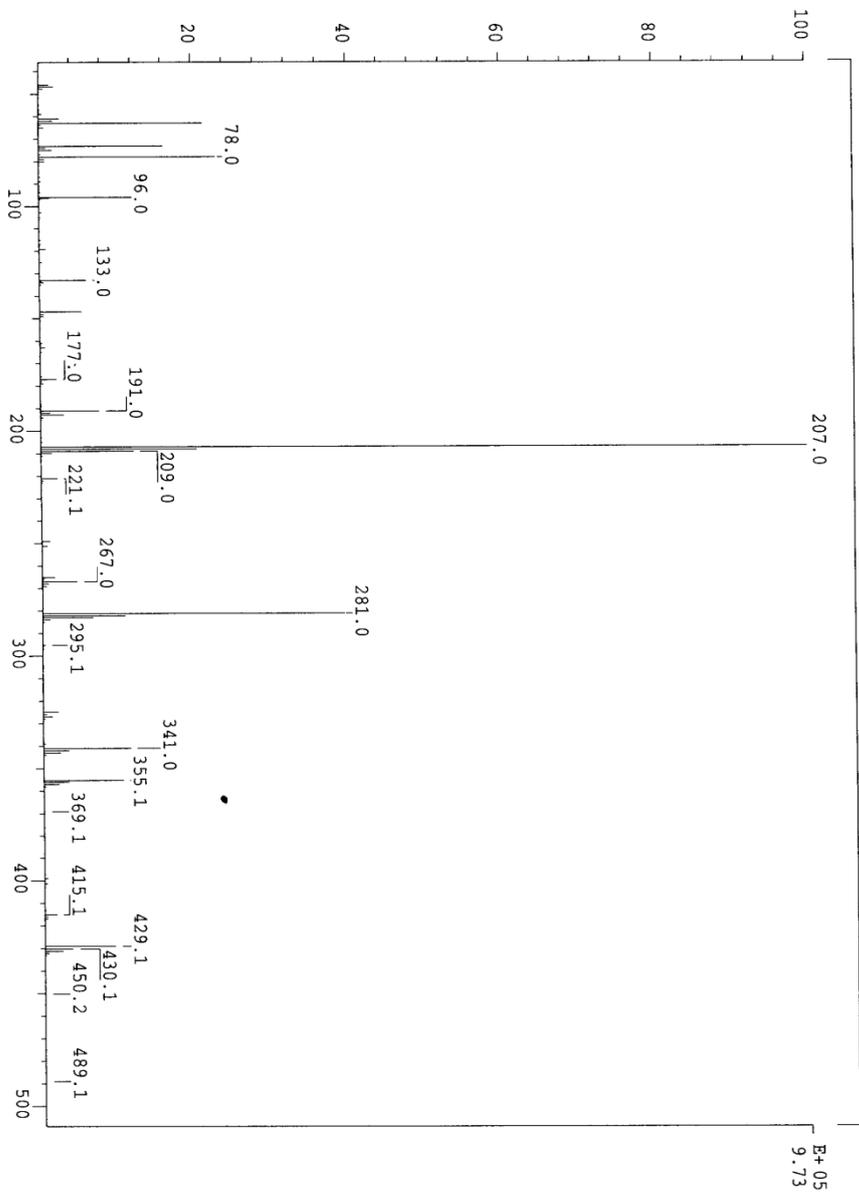
- 40.874
- 40.793
- 40.410
- 40.042
- 39.920
- 39.778
- 39.640
- 39.500
- 39.360
- 39.222
- 39.082



3-nitro-N-(3-((2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)carbamoyl)phenyl)benzamide (29b) 碳譜圖



SPC: le1137_amd346 07-Oct-14 REG : 06:12.9 #9
 Samp: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR NFM Start : 19:57:34 238
 Mode: Inlet : 972785
 Oper: Masses: 45 > 500
 Base: 207.0 RIC : 3733816 #peaks: 186
 Norm: 1000.00 mmu
 Peak: +/-69>107
 Data:



3-nitro-N-(3-((2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)carbamoyl)phenyl)benzamide (29b) 質譜圖