

第三章 結論

為了建構更完整的 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid 衍生物結構與活性之關係，並尋找更佳的活性物質，著者從 2',6,7-substituted 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acids 等標的化合物之合成，檢討各合成步驟的條件、分離並確定未環化中間體(26-30)之結構，且將合成之化合物以 HL-60、U937 篩選其細胞致毒活性，初步建立了標的化合物 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid 衍生物之構效關係，歸納以下四點：

- (1) 若 2-phenyl 環未取代，改變第 6、7 位取代基團，則抑制 HL-60 細胞增殖之活性大小為 6,7-methylenedioxy (**56**) > 6-OCH₃ > 6-F > 6-Cl。
- (2) R₆, R₂' 雙取代之化合物抑制 HL-60 及 U937 細胞增殖活性非常弱。
- (3) R₆, R₃' 雙取代之化合物抑制 HL-60 及 U937 細胞增殖之活性則明顯提升，且第 3' 位取代基團較 bulky (如：OCH₃) 時抑制活性都不錯，一般來說比小基團取代 (如：F、Cl) 來的強，唯化合物 **53*** 例外 (R₆ = OCH₃, R₃' = F)，目前 **53*** 為這系列化合物活性最優越者。
- (4) 由化合物 **53***、**53**、**55** 得知 2-phenyl 環上 F 原子小基團取代仍是以第 3' 位置單取代活性最強。

副產物 **43**、**44** 抑制 HL-60 及 U937 細胞增殖活性優越，所以未來可考慮將酸基接在其他位置，如第 8 位或是 2-phenyl 環上的 *para* 位。而未環化中間體以單酯副產物抑制 HL-60 及 U937 細胞增殖活性較佳，未來可考慮將雙酯產物及單酯副產物水解成酸基，期望獲得活性更佳的化合物。

在抗發炎及抗過敏活性等篩選試驗結果得知化合物 **32**、**36** 及 **40** 對 neutrophil superoxide formation 具有顯著的抑制活性，化合物 **43**、**44** 對 TNF- α formation 具有明顯的抑制活性，以上化合物的作用機轉乃至動物試驗都值得進一步的探討。

第四章 實驗部分

第一節 試藥與溶媒

(一) 試藥

1. 購自德國 Merck 公司者
Diethylmalonate (for synthesis)
2. 購自美國 Acros 公司者
Aniline, 99.8%
4-Chloroaniline, 98%
4-Fluoroaniline, 98%
3. 購自英國 Lancaster 公司者
Benzoyl chloride, 99+%
2-Chlorobenzoyl chloride, 96%
2-Fluorobenzoyl chloride, 98%
4-Fluorobenzoyl chloride, 98%
2-Methoxybenzoyl chloride, 97%
3,4-(Methylenedioxy)aniline, 98+%
4. 購自瑞士 Fluka 公司者
Natrium, 99.5%
5. 購自日本東京化成株式會社者
4-Methoxyaniline, 99%
6. 購自美國 Tedia 公司者

Absolute ethanol, 99.5%

7. 購自日本昭和化學株式會社者

Glacial acetic acid (synthesis grade)

Magnesium sulfate anhydrous

Sodium hydroxide (synthesis grade)

(二) 溶媒

1. 購自德國 Merck 公司者

Chloroform- d_1 (for NMR spectroscopy, 99.8%)

Dimethylsulfoxide- d_6 (for NMR spectroscopy, 99.8%)

Ethyl acetate (guaranteed reagent; G.R)

n-Hexane (ACS grade)

Methanol (ACS grade; spectrophotometric grade)

2. 購自美國 Tedia 公司者

Chloroform (ACS grade)

Ethyl ether anhydrous (guaranteed reagent; G.R)

Toluene (ACS grade)

3. 購自台灣省菸酒公賣局者

Ethanol, 95%

第二節 重要儀器與實驗材料

(一) 重要儀器

1. 熔點測定器(Melting Point Apparatus)

本實驗產物之熔點係採用 Yanaco MP-500D 熔點測定器測定，測定範圍在 40-500 ，且溫度未經校正。

2. 質譜儀(Mass Spectrophotometer)

EIMS 以 VG platform II GC-MS instrument 測定，離子化電壓為 70 eV，單位為 m/z 。(中國醫藥學院精密儀器中心)。

3. 紅外線光譜儀(Infrared Spectrophotometer)

紅外線光譜分析係採用 Nicolet Impact 400 FT-IR Spectrometer 測定，以溴化鉀(KBr)粉末作為打錠稀釋劑，光譜單位為 cm^{-1} 。

4. 紫外光-可見光光譜儀(UV-Visible Spectrophotometer)

紫外光-可見光光譜分析係採用 Shimadzu UV-160A UV-visible Recording Spectrophotometer 測定，使用甲醇為溶劑，最大吸收波長 (λ_{max})，單位為 nm，以 $\log e$ 表示 Molar absorptivity。

5. 元素分析儀(Element Analyser)

元素分析係採用 Heraeus CHN-OS RAPID 元素分析儀(國科會中部貴重儀器使用中心)測定，元素分析值皆在理論值 $\pm 1\%$ 以內。

6. 核磁共振光譜儀(Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer)

採用 Bruker Advance DPX-200 FT-NMR Spectrometer(中國醫藥學院精密儀器中心)及 Bruker Advance DPX-300 FT-NMR Spectrometer、Bruker Advance DPX-400 FT-NMR Spectrometer(國立成功大學精密

儀器中心)測定：

以 δ (ppm 值)表示其化學位移值(chemical shift)，而以 TMS (tetramethylsilane) ($\delta = 0$)為內部標準。偶合常數(coupling constant)以 J 表示，單位為 Hz，並以 s 表單峰(singlet)， d 表二重峰(doublet)， t 表三重峰(triplet)， q 表四重峰(quartet)， m 表多峰(multiplet)， br 表寬峰(broad)， dd 表雙二重峰(double doublet)， ddd 表參二重峰(double double doublet)。

7. 紫外光燈(UV Equipment)

使用 CAMAG UV-Cabinet II 紫外燈觀察箱，備有短波長 254 nm 與長波長 366 nm 之光源。

8. ELISA reader

(二) 實驗材料

1. 薄層色層分析(Thin-Layer Chromatography)

使用德國 Merck 公司出品之 TLC Aluminium Sheets Silica gel 60 F₂₅₄ plate pre-coated 25 sheets 20 x 20 cm，0.2 mm layer thickness 測定。

2. 管柱色層分析(Column Chromatography)

以德國 Merck 公司出品之 Silica gel 60 (70-230 mesh)當充填劑。

第三節 各化合物之製備

(一) 2,4-Substituted-*N*-(3,4-substituted phenyl)benzamides (11-24)之合成

1. *N*-(4-Chlorophenyl)-2-fluorobenzamide (11)之合成

秤取 4-chloroaniline (6.38 克, 0.05 莫耳), 置於 500 毫升茄形瓶中, 以甲苯為溶媒, 待混合均勻再滴加 2-fluorobenzoyl chloride (3.97 克, 0.025 莫耳), 於室溫攪拌 2 小時。接著抽氣過濾, 濾除沉澱物, 濾液經減壓濃縮之粗產物以乙醇再結晶純化, 得化合物 11 之白色針狀結晶(4.86 克, 產率 78%)。

化合物 11 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 94.5-96.2

MS (m/z) (圖 11-1) : 249 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 11-2) : 波數 3348 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰；波數 1661 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 263.5 (4.22)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{ClFNO}$ 計算

計算值(Calcd.) : C (62.54 %), H (3.63 %), N (5.61 %)

實際值(Found) : C (62.59 %), H (3.61 %), N (5.60 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 11-3) :

7.28-7.36 (2H, *m*, H-3, H-5)

7.40 (2H, *d*, $J = 8.8$ Hz, H-3', H-5')

7.52-7.68 (2H, *m*, H-4, H-6)

7.77 (2H, *d*, $J = 8.8$ Hz, H-2', H-6')

10.55 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 11-4) :

116.18 (*d*, $J = 21.7$ Hz, C-3), 121.33 (C-2', C-6'), 124.53 (C-5),

124.76 (*d*, $J = 17.5$ Hz, C-1), 127.55 (C-4'), 128.68 (C-3', C-5'),
129.95 (C-6), 132.62 (*d*, $J = 8.3$ Hz, C-4), 137.85 (C-1'),
158.94 (*d*, $J = 247.5$ Hz, C-2), 162.90 (C=O)

2. 2-Chloro-*N*-(4-chlorophenyl)benzamide (12)之合成

秤取 4-chloroaniline (6.38 克, 0.05 莫耳), 2-chlorobenzoyl chloride (4.38 克, 0.025 莫耳), 依照化合物 11 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 12 之白色針狀結晶(5.10 克, 產率 77 %).

化合物 12 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：93.7-95.1

MS (*m/z*) (圖 12-1)：265 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 12-2)：波數 3300 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰；波數 1659 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ)：256.0 (4.21)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{NO}$ 計算

計算值(Calcd.)：C (58.67 %), H (3.41 %), N (5.26 %)

實際值(Found)：C (58.70 %), H (3.39 %), N (5.27 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 12-3)：

7.41 (2H, *d*, $J = 8.9$ Hz, H-3', H-5')

7.45-7.62 (4H, *m*, H-3, H-4, H-5, H-6)

7.76 (2H, *d*, $J = 8.9$ Hz, H-2', H-6')

10.66 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 12-4)：

121.09 (C-2', C-6'), 127.28 (C-5), 127.44 (C-4'), 128.72 (C-3', C-5'),

128.94 (C-6), 129.68 (C-3), 129.92 (C-2), 131.22 (C-4), 136.71

(C-1), 137.87 (C-1'), 165.01 (C=O)

3. *N*-(4-Chlorophenyl)-2-methoxybenzamide (13)之合成

秤取 4-chloroaniline (6.38 克, 0.05 莫耳) 2-methoxybenzoyl chloride (4.27 克, 0.025 莫耳), 依照化合物 11 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 13 之白色針狀結晶(5.09 克, 產率 78 %).

化合物 13 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 56.1-58.7

MS (m/z) (圖 13-1) : 261 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 13-2) : 波數 3344 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1651 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log e) : 270.0 (4.31)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClNO}_2$ 計算

計算值(Calcd.) : C (64.25 %), H (4.62 %), N (5.35 %)

實際值(Found) : C (64.26 %), H (4.60 %), N (5.34 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 13-3) :

3.89 (3H, *s*, OCH₃)

7.06 (1H, *dd*, $J = 7.5, 7.5 \text{ Hz}$, H-5)

7.14 (1H, *d*, $J = 8.4 \text{ Hz}$, H-3)

7.39 (2H, *d*, $J = 8.7 \text{ Hz}$, H-3', H-5')

7.49 (1H, *dd*, $J = 8.4, 7.5 \text{ Hz}$, H-4)

7.67 (1H, *d*, $J = 7.5 \text{ Hz}$, H-6)

7.83 (2H, *d*, $J = 8.7 \text{ Hz}$, H-2', H-6')

10.27 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 13-5) :

55.84 (OCH₃), 111.92 (C-3), 120.49 (C-5), 121.26 (C-2', C-6'),

124.73 (C-1), 127.14 (C-4'), 128.59 (C-3', C-5'), 129.73 (C-6),

132.15 (C-4), 138.06 (C-1'), 156.50 (C-2), 164.66 (C=O)

4. *N*-(4-Chlorophenyl)benzamide (14)之合成

秤取 4-chloroaniline (6.38 克, 0.05 莫耳), 置於 500 毫升茄形瓶中, 以甲苯為溶媒, 待混合均勻後再滴加 benzoyl chloride (3.51 克, 0.025 莫耳), 於室溫攪拌 2 小時。接著抽氣過濾取沉澱物, 再以蒸餾水洗去鹽類部份, 最後以乙醇再結晶純化, 得化合物 14 之白色針狀結晶(4.68 克, 產率 81 %)

化合物 14 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 140.9-141.2 (dec.)

MS (m/z) (圖 14-1) : 231 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 14-2) : 波數 3350 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1655 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 268.5 (4.20)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNO}$ 計算

計算值(Calcd.) : C (67.40 %), H (4.35 %), N (6.05 %)

實際值(Found) : C (67.39 %), H (4.36 %), N (6.06 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 14-3) :

7.40 (2H, d , $J = 8.8 \text{ Hz}$, H-3', H-5')

7.48-7.59 (3H, m , H-3, H-4, H-5)

7.84 (2H, d , $J = 8.8 \text{ Hz}$, H-2', H-6')

7.95 (2H, d , $J = 7.8 \text{ Hz}$, H-2, H-6)

10.38 (1H, s , NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 14-4) :

121.85 (C-2', C-6'), 127.29 (C-4'), 127.68 (C-2, C-6), 128.39、

128.49 (C-3, C-5, C-3', C-5'), 131.66 (C-4), 134.73(C-1),

138.17 (C-1'), 165.66 (C=O)

5. 2-Fluoro-*N*-(4-fluorophenyl)benzamide (15)之合成

秤取 4-fluoroaniline (5.56 克, 0.05 莫耳)、 2-fluorobenzoyl chloride (3.97

克，0.025 莫耳)，依照化合物 11 相同合成方法之反應條件及處理，得化合物 15 之白色針狀結晶(4.66 克，產率 80 %)。

化合物 15 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：102.0-104.5

MS (m/z) (圖 15-1)：233 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 15-2)：波數 3346 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰；波數 1653 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ)：258.5 (4.12)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{F}_2\text{NO}$ 計算

計算值(Calcd.)：C (66.95 %), H (3.89 %), N (6.01 %)

實際值(Found)：C (66.91 %), H (3.88 %), N (6.03 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 15-3)：

7.19 (2H, *dd*, $J = 9.0, 9.0 \text{ Hz}$, H-3', H-5')

7.28-7.38 (2H, *m*, H-3, H-5)

7.52-7.70 (2H, *m*, H-4, H-6)

7.75 (2H, *dd*, $J = 9.0, 5.1 \text{ Hz}$, H-2', H-6')

10.46 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 15-4)：

115.34 (*d*, $J = 22.1 \text{ Hz}$, C-3', C-5'), 116.17 (*d*, $J = 21.7 \text{ Hz}$, C-3),

121.63 (*d*, $J = 7.6 \text{ Hz}$, C-2', C-6'), 124.58 (C-5), 124.89 (*d*, $J =$

15.0 Hz, C-1), 129.90 (C-6), 132.53 (*d*, $J = 8.3 \text{ Hz}$, C-4), 135.27

(C-1'), 158.41 (*d*, $J = 239.3 \text{ Hz}$, C-4'), 158.94 (*d*, $J = 247.3 \text{ Hz}$,

C-2), 162.73 (C=O)

6. 2-Chloro-*N*-(4-fluorophenyl)benzamide (16)之合成

秤取 4-fluoroaniline (5.56 克，0.05 莫耳)、2-chlorobenzoyl chloride (4.38 克，0.025 莫耳)，依照化合物 11 相同合成方法之反應條件及處理，得化合

物 16 之白色針狀結晶(4.73 克, 產率 76 %)。

化合物 16 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：93.3-96.2

MS (m/z) (圖 16-1)：249 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 16-2)：波數 3288 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰；波數 1657 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ)：247.5 (4.10)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{ClFNO}$ 計算

計算值(Calcd.)：C (62.54 %), H (3.63 %), N (5.61 %)

實際值(Found)：C (62.58 %), H (3.64 %), N (5.59 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 16-3)：

7.19 (2H, *dd*, $J = 8.8, 8.8 \text{ Hz}$, H-3', H-5')

7.40-7.61 (4H, *m*, H-3, H-4, H-5, H-6)

7.76 (2H, *dd*, $J = 8.8, 5.1 \text{ Hz}$, H-2', H-6')

10.58 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 16-4)：

115.35 (*d*, $J = 22.1 \text{ Hz}$, C-3', C-5'), 121.36 (*d*, $J = 7.8 \text{ Hz}$, C-2', C-6'),

127.22 (C-5), 128.90 (C-6), 129.65 (C-3), 129.96 (C-2), 131.08 (C-4),

135.30 (C-1'), 136.85(C-1), 158.34 (*d*, $J = 238.9 \text{ Hz}$, C-4'), 164.82

(C=O)

7. *N*-(4-Fluorophenyl)-2-methoxybenzamide (17)之合成

秤取 4-fluoroaniline (5.56 克, 0.05 莫耳) 2-methoxybenzoyl chloride (4.27 克, 0.025 莫耳), 依照化合物 11 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 17 之白色針狀結晶(4.84 克, 產率 79 %)。

化合物 17 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 79.6-80.2

MS (m/z) (圖 17-1) : 245 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 17-2) : 波數 3329 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1647 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, ν_{\max} (MeOH) nm (log e) : 268.5 (4.08), 243.0 (4.04)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{FNO}_2$ 計算

計算值(Calcd.) : C (68.56 %), H (4.93 %), N (5.71 %)

實際值(Found) : C (68.55 %), H (4.94 %), N (5.72 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 17-3) :

3.89 (3H, s, OCH_3)

7.05 (1H, *dd*, $J = 7.5, 7.5 \text{ Hz}$, H-5)

7.13-7.21 (3H, *m*, H-3, H-3', H-5')

7.49 (1H, *dd*, $J = 8.3, 7.5 \text{ Hz}$, H-4)

7.63 (1H, *d*, $J = 7.5 \text{ Hz}$, H-6)

7.77 (2H, *dd*, $J = 8.9, 5.1 \text{ Hz}$, H-2', H-6')

10.16 (1H, s, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 17-4) :

55.84 (OCH_3), 111.95 (C-3), 115.19 (*d*, $J = 22.0 \text{ Hz}$, C-3', C-5'),

120.46 (C-5), 121.47 (*d*, $J = 7.7 \text{ Hz}$, C-2', C-6'), 124.81 (C-1),

129.64 (C-6), 132.01 (C-4), 135.47 (C-1'), 156.47 (C-2), 158.15

(*d*, $J = 238.5 \text{ Hz}$, C-4'), 164.41 (C=O)

8. *N*-(4-Fluorophenyl)benzamide (18)之合成

秤取 4-fluoroaniline (5.56 克, 0.05 莫耳) benzoyl chloride (3.51 克, 0.025 莫耳), 依照化合物 14 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 18 之白色針狀結晶(4.46 克, 產率 83 %)。

化合物 18 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 162.1-163.5

MS (m/z) (圖 18-1) : 215 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 18-2) : 波數 3346 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1653 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 264.5 (4.12)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{FNO}$ 計算

計算值(Calcd.) : C (72.55 %), H (4.68 %), N (6.51 %)

實際值(Found) : C (72.50 %), H (4.65 %), N (6.50 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 18-3) :

7.19 (2H, *dd*, $J = 8.9, 8.9 \text{ Hz}$, H-3', H-5')

7.47-7.62 (3H, *m*, H-3, H-4, H-5)

7.83 (2H, *dd*, $J = 8.9, 5.1 \text{ Hz}$, H-2', H-6')

7.97 (2H, *dd*, $J = 8.0, 1.8 \text{ Hz}$, H-2, H-6)

10.33 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 18-4) :

115.15 (*d*, $J = 22.0 \text{ Hz}$, C-3', C-5'), 122.22 (*d*, $J = 7.7 \text{ Hz}$, C-2', C-6'),

127.65 (C-2, C-6), 128.36 (C-3, C-5), 131.55 (C-4), 134.87 (C-1),

135.59 (C-1'), 158.34 (*d*, $J = 238.8 \text{ Hz}$, C-4'), 165.52 (C=O)

9. 2-Fluoro-*N*-(4-methoxyphenyl)benzamide (19)之合成

秤取 4-methoxyaniline (6.16 克 , 0.05 莫耳) , 置於 500 毫升茄形瓶中 , 以甲苯為溶媒 , 待混合均勻後再滴加 2-fluorobenzoyl chloride (3.97 克 , 0.025 莫耳) , 於室溫攪拌 2 小時。接著抽氣過濾 , 個別處理沉澱物與濾液。沉澱物以蒸餾水洗去鹽類部份 , 再以乙醇再結晶純化 ; 濾液經減壓濃縮之粗產物以乙醇再結晶純化。得化合物 **19** 之白色針狀結晶(4.72 克 , 產率 77 %)。

化合物 19 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 83.1-84.3

MS (m/z) (圖 19-1) : 245 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 19-2) : 波數 3364 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1647 cm^{-1} 處有 $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 272.0 (4.12)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{FNO}_2$ 計算

計算值(Calcd.) : C (68.56 %), H (4.93 %), N (5.71 %)

實際值(Found) : C (68.55 %), H (4.91 %), N (5.70 %)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) δ (ppm) (圖 19-3) :

3.74 (3H, *s*, OCH_3)

6.93 (2H, *d*, $J = 9.0 \text{ Hz}$, H-3', H-5')

7.28-7.37 (2H, *m*, H-3, H-5)

7.53-7.62 (1H, *m*, H-4)

7.62-7.70 (3H, *m*, H-6, H-2', H-6')

10.26 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 50 MHz) δ (ppm) (圖 19-4) :

55.17 (OCH_3), 113.86 (C-3', C-5'), 116.10 (*d*, $J = 21.8 \text{ Hz}$, C-3),

121.31 (C-2', C-6'), 124.49 (*d*, $J = 2.9 \text{ Hz}$, C-5), 125.14 (*d*, $J =$

15.1 Hz, C-1), 129.89 (C-6), 132.05 (C-1'), 132.28 (*d*, $J = 8.3 \text{ Hz}$,

C-4), 155.65 (C-4'), 158.89 (*d*, $J = 246.9 \text{ Hz}$, C-2), 162.30 (C=O)

10. 2-Chloro-*N*-(4-methoxyphenyl)benzamide (20)之合成

秤取 4-methoxyaniline (6.16克, 0.05 莫耳), 2-chlorobenzoyl chloride (4.38克, 0.025 莫耳), 依照化合物 19 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 20 之白色針狀結晶(4.89 克, 產率 75 %)。

化合物 20 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 113.2-114.7

MS (m/z) (圖 20-1) : 261 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 20-2) : 波數 3290 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1655 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, ν_{\max} (MeOH) nm (log e) : 259.5 (4.13)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClNO}_2$ 計算

計算值(Calcd.) : C (64.25 %), H (4.62 %), N (5.35 %)

實際值(Found) : C (64.22 %), H (4.63 %), N (5.33 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 20-3) :

3.74 (3H, *s*, OCH_3)

6.94 (2H, *d*, $J = 9.0 \text{ Hz}$, H-3', H-5')

7.44-7.60 (4H, *m*, H-3, H-4, H-5, H-6)

7.67 (2H, *d*, $J = 9.0 \text{ Hz}$, H-2', H-6')

10.38 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 20-4) :

55.20 (OCH_3), 113.89 (C-3', C-5'), 121.12 (C-2', C-6'), 127.21 (C-5), 128.93 (C-6), 129.63 (C-3), 130.00 (C-2), 130.93 (C-4), 132.15 (C-1'), 137.17 (C-1), 155.63 (C-4'), 164.50 (C=O)

11. 2-Methoxy-*N*-(4-methoxyphenyl)benzamide (21)之合成

秤取 4-methoxyaniline (6.16 克 , 0.05 莫耳)、 2-methoxybenzoyl chloride (4.27 克 , 0.025 莫耳) , 依照化合物 19 相同合成方法之反應條件及處理 , 得化合物 21 之白色針狀結晶(5.01 克 , 產率 78 %)。

化合物 21 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 49.5-51.2

MS (m/z) (圖 21-1) : 257 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 21-2) : 波數 3344 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1661 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, ν_{\max} (MeOH) nm (log e) : 288.0 (4.07), 228.0 (4.02)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $C_{15}H_{15}NO_3$ 計算

計算值(Calcd.)：C (70.02 %), H (5.88 %), N (5.44 %)

實際值(Found)：C (70.00 %), H (5.87 %), N (5.43 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 21-3)：

3.72 (3H, *s*, 4'-OCH₃)

3.88 (3H, *s*, 2-OCH₃)

6.90 (2H, *d*, $J = 9.0$ Hz, H-3', H-5')

7.04 (1H, *dd*, $J = 7.4, 7.4$ Hz, H-5)

7.14 (1H, *d*, $J = 8.3$ Hz, H-3)

7.47 (1H, *dd*, $J = 8.3, 7.4$ Hz, H-4)

7.61-7.67 (3H, *m*, H-6, H-2', H-6')

9.96 (1H, *s*, NH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 21-4)：

55.38 (4'-OCH₃), 56.07 (2-OCH₃), 112.15 (C-3), 114.02 (C-3', C-5'),

120.72 (C-5), 121.59 (C-2', C-6'), 124.77 (C-1), 129.99 (C-6),

132.28 (C-4, C-1'), 155.68 (C-4'), 156.70 (C-2), 164.20 (C=O)

12. 4-Fluoro-*N*-(4-methoxyphenyl)benzamide (22)之合成

秤取 4-methoxyaniline (6.16 克, 0.05 莫耳), 4-fluorobenzoyl chloride (3.97 克, 0.025 莫耳), 依照化合物 14 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 22 之白色針狀結晶(5.02 克, 產率 82 %)。

化合物 22 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：170.6-172.1

MS (m/z) (圖 22-1)：245 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 22-2)：波數 3329 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰；波數 1651 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ)：278.5 (4.09), 225.0 (4.14)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $C_{14}H_{12}FNO_2$ 計算

計算值(Calcd.)：C (68.56 %), H (4.93 %), N (5.71 %)

實際值(Found)：C (68.52 %), H (4.92 %), N (5.70 %)

1H -NMR (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 22-3)：

3.73 (3H, *s*, OCH₃)

6.92 (2H, *d*, $J = 9.0$ Hz, H-3', H-5')

7.33 (2H, *dd*, $J = 8.8, 8.8$ Hz, H-3, H-5)

7.66 (2H, *d*, $J = 9.0$ Hz, H-2', H-6')

8.03 (2H, *dd*, $J = 8.8, 5.5$ Hz, H-2, H-6)

10.15 (1H, *s*, NH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 22-4)：

55.15 (OCH₃), 113.73 (C-3', C-5'), 115.25 (*d*, $J = 21.7$ Hz, C-3, C-5),

122.06 (C-2', C-6'), 130.25 (*d*, $J = 9.0$ Hz, C-2, C-6), 131.48 (C-1),

132.12 (C-1'), 155.61 (C-4'), 163.97 (*d*, $J = 247.3$ Hz, C-4), 164.00

(C=O)

13. 2-Chloro-*N*-phenylbenzamide (23)之合成

秤取 aniline (4.66 克, 0.05 莫耳), 2-chlorobenzoyl chloride (4.38 克, 0.025 莫耳), 依照化合物 11 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 23 之白色針狀結晶(4.85 克, 產率 84 %)。

化合物 23 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：96.4-98.3

MS (m/z) (圖 23-1)：231 (M^+)

IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (圖 23-2)：波數 $3265\ cm^{-1}$ 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰；波數 $1649\ cm^{-1}$ 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, ν_{max} (MeOH) nm (log ϵ)：250.5 (4.32)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $C_{13}H_{10}ClNO$ 計算

計算值(Calcd.) : C (67.40 %), H (4.35 %), N (6.05 %)

實際值(Found) : C (67.38 %), H (4.33 %), N (6.06 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 23-3) :

7.11 (1H, *dd*, $J = 7.4, 7.4$ Hz, H-4')

7.36 (2H, *dd*, $J = 8.1, 7.4$ Hz, H-3', H-5')

7.44-7.61 (4H, *m*, H-3, H-4, H-5, H-6)

7.75 (2H, *d*, $J = 8.1$ Hz, H-2', H-6')

10.53 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 23-4) :

119.58 (C-2', C-6'), 123.81 (C-4'), 127.22 (C-5), 128.77 (C-3', C-5'),

128.90 (C-6), 129.63 (C-3), 129.94 (C-2), 131.03 (C-4), 137.03 (C-1),

138.96 (C-1'), 164.93 (C=O)

14. *N*-[(3, 4-Methylenedioxy)phenyl]benzamide (24)之合成

秤取 3, 4-(methylenedioxy)aniline (6.86 克, 0.05 莫耳), benzoyl chloride (3.51 克, 0.025 莫耳), 依照化合物 11 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 24 之白色針狀結晶(4.76 克, 產率 79 %)。

化合物 24 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 109.6-111.8

MS (m/z) (圖 24-1) : 241(M^+)

IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (圖 24-2) : 波數 3312 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1645 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, ν_{max} (MeOH) nm (log e) : 301.5 (3.99), 221.5 (4.23)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ 計算

計算值(Calcd.) : C (69.70 %), H (4.60 %), N (5.81 %)

實際值(Found) : C (69.68 %), H (4.59 %), N (5.80 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 24-3) :

6.00 (2H, *s*, OCH₂O)
6.89 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-5')
7.21 (1H, *dd*, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6')
7.47 (1H, *d*, *J* = 2.0 Hz, H-2')
7.50-7.57 (3H, *m*, H-3, H-4, H-5)
7.93 (2H, *dd*, *J* = 8.0, 1.9 Hz, H-2, H-6)
10.17 (1H, *s*, NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ (ppm) (圖 24-4) :

101.01 (OCH₂O), 102.54 (C-2'), 107.92 (C-5'), 113.37 (C-6'),
127.58 (C-2, C-6), 128.36 (C-3, C-5), 131.46 (C-4), 133.51 (C-1'),
134.99 (C-1), 143.27 (C-4'), 146.99 (C-3'), 165.28 (C=O)

(二) Diethyl [3-(2-substituted phenyl)-3-[(4-substituted phenyl)amino]]-methylene malonates (26-27)與 Ethyl (2*Z*)-3-(2-substituted phenyl)-3-[(4-substituted phenyl)amino]acrylates (28-30)之合成

1. Diethyl [3-[(4-chlorophenyl)amino]-3-(2-fluorophenyl)]methylene malonate (26)之合成

秤取化合物 11 (2.49 克, 0.01 莫耳)及 PCl₅ (2.08 克, 0.01 莫耳), 置於反應瓶中, 加熱至約 70-80 °C 時混合固體共熔, 繼續加熱至 115 °C 持續反應 1.5 小時, 隨後經油浴 115 °C 減壓濃縮去除 POCl₃, 得金黃色液體 carboximidoyl chloride。

另外秤取金屬鈉(0.69 克, 0.03 莫耳), 加入無水乙醇約 70 毫升中, 待金屬鈉完全溶解再滴加 diethylmalonate (4.80 克, 0.03 莫耳), 微溫攪拌 1 小時, 得無色透明液體, 隨後減壓濃縮去除乙醇, 即 sodium diethylmalonate 之白色固體(25)。

以無水甲苯為溶媒與化合物 25 充分混合, 再將 carboximidoyl chloride 倒入其中, 隨後加熱至迴流溫度反應 4 小時, 接著減壓濃縮去除甲苯後,

加入乙醚與水進行萃取，去除未反應之 sodium diethylmalonate，之後取乙醚層，以無水硫酸鎂脫水、過濾後，減壓濃縮去除乙醚，得橙黃色液體，再經管柱層析(矽膠)純化，正己烷：乙酸乙酯 = 5：1 作為沖提液，最後以乙醇再結晶，得化合物 **26** 之白色晶體(2.42 克，產率 62%)。

化合物 26 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：48.1-49.3

MS (m/z) (圖 26-1)：391 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 26-2)：波數 3223 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰；波數 1726 cm^{-1} 、 1657 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ)：312.5 (4.31)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClFNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.)：C (61.31 %), H (4.89 %), N (3.57 %)

實際值(Found)：C (61.33 %), H (4.90 %), N (3.57 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 26-3)：

0.75 (3H, t , $J = 7.0 \text{ Hz}$, $\text{C}_2\text{-COOCH}_2\text{CH}_3$)

1.19 (3H, t , $J = 7.0 \text{ Hz}$, $\text{C}_1\text{OOCH}_2\text{CH}_3$)

3.71 (2H, q , $J = 7.0 \text{ Hz}$, $\text{C}_2\text{-COOCH}_2\text{CH}_3$)

4.15 (2H, q , $J = 7.0 \text{ Hz}$, $\text{C}_1\text{OOCH}_2\text{CH}_3$)

6.87 (2H, d , $J = 8.7 \text{ Hz}$, H-2", H-6")

7.05-7.22 (4H, m , H-3', H-5', H-3", H-5")

7.32-7.44 (2H, m , H-4', H-6')

10.70 (1H, s , NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 26-6)：

13.38 ($\text{C}_2\text{-COOCH}_2\text{CH}_3$), 14.20 ($\text{C}_1\text{OOCH}_2\text{CH}_3$), 59.88 (2 CH_2),

98.34 (C-2), 115.49 (d , $J = 20.8 \text{ Hz}$, C-3'), 121.35 (d , $J = 15.4 \text{ Hz}$,

C-1'), 124.48 (C-5'), 125.44 (C-2", C-6"), 128.57 (C-3", C5"),

129.22 (C-4"), 130.84 (C-6'), 132.32 (d , $J = 8.2 \text{ Hz}$, C-4'), 137.60

(C-1"), 154.89 (C-3), 158.39 (*d*, $J = 246.4$ Hz, C-2'), 165.69
(C₂-COO), 166.80 (C-1)

2. Diethyl [3-(2-fluorophenyl)-3-[(4-fluorophenyl)amino]]methylene malonate (27)之合成

秤取化合物 15 (2.33 克, 0.01 莫耳), PCl₅ (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 26 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 27 之白色晶體(2.18 克, 產率 58 %)。

化合物 27 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 43.2-45.6

MS (*m/z*) (圖 27-1) : 375 (M⁺)

IR, ν_{\max} (KBr) cm⁻¹ (圖 27-2) : 波數 3219 cm⁻¹ 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰；波數 1720 cm⁻¹、1662 cm⁻¹ 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log *e*) : 305.5 (4.28)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 C₂₀H₁₉F₂NO₄ 計算

計算值(Calcd.) : C (63.99 %), H (5.10 %), N (3.73 %)

實際值(Found) : C (63.97 %), H (5.10 %), N (3.72 %)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 200 MHz) δ (ppm) (圖 27-3) :

0.74 (3H, *t*, $J = 7.0$ Hz, C₂-COOCH₂CH₃)

1.20 (3H, *t*, $J = 7.0$ Hz, C₁OOCH₂CH₃)

3.69 (2H, *q*, $J = 7.0$ Hz, C₂-COOCH₂CH₃)

4.15 (2H, *q*, $J = 7.0$ Hz, C₁OOCH₂CH₃)

6.91-7.19 (6H, *m*, H-3', H-5', H-2'', H-3'', H-5'', H-6'')

7.30-7.41 (2H, *m*, H-4', H-6')

10.69 (1H, *s*, NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ (ppm) (圖 27-4) :

13.37 (C₂-COOCH₂CH₃), 14.22 (C₁OOCH₂CH₃), 59.79 (2CH₂),

97.31 (C-2), 115.35 (*d*, $J = 22.1$ Hz, C-3', C-3'', C-5''), 121.44 (*d*, $J = 15.5$ Hz, C-1'), 124.32 (C-5'), 126.51 (*d*, $J = 8.4$ Hz, C-2'', C-6''), 130.80 (C-6'), 132.11 (*d*, $J = 8.1$ Hz, C-4'), 134.81 (C-1''), 155.96 (C-3), 158.36 (*d*, $J = 234.0$ Hz, C-2'), 159.55 (*d*, $J = 241.6$ Hz, C-4''), 165.78 (C₂C₂COO), 167.03 (C-1)

3. Ethyl (2Z)-3-(2-chlorophenyl)-3-[(4-fluorophenyl)amino]acrylate (28) 之合成

秤取化合物 **16** (2.49 克, 0.01 莫耳), PCl₅ (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 **26** 相同合成方法之反應條件及處理。萃取後濃縮去除乙醚, 固體析出, 以乙醇再結晶, 得脫除單酯的不預期產物, 化合物 **28** 之白色晶體(1.75 克, 產率 55 %)。

化合物 28 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 79.2-80.5

MS (m/z) (圖 28-1) : 319 (M⁺)

IR, ν_{\max} (KBr) cm⁻¹ (圖 28-2) : 波數 3234 cm⁻¹ 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1659 cm⁻¹ 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log e) : 311.5 (4.26), 252.5 (3.92)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 C₁₇H₁₅ClFNO₂ 計算

計算值(Calcd.) : C (63.86 %), H (4.73 %), N (4.38 %)

實際值(Found) : C (63.85 %), H (4.75 %), N (4.37 %)

¹H-NMR (Chloroform-*d*₁, 200 MHz) δ (ppm) (圖 28-3) :

1.24 (3H, *t*, $J = 7.2$ Hz, CH₃)

4.14 (2H, *q*, $J = 7.2$ Hz, CH₂)

4.72 (1H, *s*, H-2)

6.54-6.73 (4H, *m*, H-2'', H-3'', H-5'', H-6'')

7.14-7.30 (4H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6')

10.32 (1H, *s*, NH)

¹³C-NMR (Chloroform-*d*₁, 50 MHz) δ (ppm) (圖 28-4) :

14.47 (CH₃), 59.35 (CH₂), 89.89 (C-2), 115.33 (*d*, *J* = 22.5 Hz, C-3", C-5"), 123.79 (*d*, *J* = 8.0 Hz, C-2", C-6"), 126.83 (C-5'), 129.93, 130.37, 130.73, 132.39, 134.81, 135.70 (C-1"), 156.92 (C-3), 159.30 (*d*, *J* = 238.1 Hz, C-4"), 170.13 (C-1)

4. Ethyl (2Z)-3-(2-fluorophenyl)-3-[(4-methoxyphenyl)amino]acrylate (29)之合成

秤取化合物 **19** (2.45 克, 0.01 莫耳)、PCl₅ (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 **26** 相同合成方法之反應條件及處理。橙黃色液體經管柱層析(矽膠純化, 正己烷:乙酸乙酯 = 5:1 作為沖提液, 最後以乙醇再結晶, 得脫除單酯的不預期產物, 化合物 **29** 之淡黃色晶體(1.48 克, 產率 47 %)。

化合物 29 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 96.2-98.6

MS (*m/z*) (圖 29-1) : 315 (M⁺)

IR, ν_{max} (KBr) cm⁻¹ (圖 29-2) : 波數 3236 cm⁻¹ 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1653 cm⁻¹ 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, ν_{max} (MeOH) nm (log *e*) : 317.0 (4.21), 251.5 (4.05)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 C₁₈H₁₈FNO₃ 計算

計算值(Calcd.) : C (68.56 %), H (5.75 %), N (4.44 %)

實際值(Found) : C (68.53 %), H (5.72 %), N (4.44 %)

¹H-NMR (Chloroform-*d*₁, 200 MHz) δ (ppm) (圖 29-3) :

1.30 (3H, *t*, *J* = 7.0 Hz, CH₃)

3.65 (3H, *s*, OCH₃)

4.20 (2H, *q*, CH₂)

4.85 (1H, *s*, H-2)

6.58-6.71 (4H, *m*, H-2", H-3", H-5", H-6")

6.88-6.94 (1H, *m*, H-3')

7.08 (1H, *ddd*, $J = 7.5, 7.5, 1.1$, Hz, H-5')

7.29-7.34 (2H, *m*, H-4', H-6')

10.31 (1H, *s*, NH)

^{13}C -NMR (Chloroform- d_1 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 29-4) :

14.50 (CH₃), 55.24 (OCH₃), 59.18 (CH₂), 89.24 (C-2), 113.76 (C-3", C-5"), 115.84 (*d*, $J = 21.5$ Hz, C-3'), 124.12 (C-1', C-5', C-2", C-6"), 130.50 (C-6'), 131.01 (*d*, $J = 8.1$ Hz, C-4'), 132.92 (C-1"), 155.02 (C-3), 156.20 (C-4"), 158.87 (*d*, $J = 249.2$ Hz, C-2'), 170.13 (C-1)

5. Ethyl (2Z)-3-(2-chlorophenyl)-3-phenylaminoacrylate (30)之合成

秤取化合物 23 (2.31 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 26 相同合成方法之反應條件及處理。萃取後濃縮去除乙醚, 固體析出, 以乙醇再結晶。化, 得脫除單酯的不預期產物, 化合物 30 之白色晶體(1.57 克, 產率 52 %)。

化合物 30 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 78.7-80.3

MS (m/z) (圖 30-1) : 301 (M^+)

IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (圖 30-2) : 波數 3260 cm^{-1} 處有二級醯胺基伸縮振動吸收峰 ; 波數 1655 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ) : 317.0 (4.31), 253.5 (3.92)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$ 計算

計算值(Calcd.) : C (67.66 %), H (5.34 %), N (4.64 %)

實際值(Found) : C (67.63 %), H (5.34 %), N (4.66 %)

^1H -NMR (Chloroform- d_1 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 30-3) :

1.33 (3H, *t*, $J = 7.2$ Hz, CH₃)
4.23 (2H, *q*, $J = 7.2$ Hz, CH₂)
4.81 (1H, *s*, H-2)
6.66 (2H, *d*, $J = 7.9$ Hz, H-2'', H-6'')
6.88-7.11 (3H, *m*, H-3'', H-4'', H-5'')
7.24-7.40 (4H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6')
10.51 (1H, *s*, NH)

¹³C-NMR (Chloroform-*d*₁, 50 MHz) δ (ppm) (圖 30-4) :

14.46 (CH₃), 59.30 (CH₂), 90.10 (C-2), 121.49 (C-2'', C-6''), 123.39 (C-4''), 126.81 (C-5'), 128.60 (C-3'', C-5''), 129.88, 130.27, 130.63, 132.40, 135.07, 139.60 (C-1''), 156.52 (C-3), 170.04 (C-1)

(三) Ethyl 2',4',6,7-substituted-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylates (31-42) 與 2',6- Substituted-2-phenyl-4-quinolones (43-44)之合成

1. Ethyl 6-chloro-2'-fluoro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (31) 之合成

秤取化合物 **11** (2.49 克, 0.01 莫耳)及 PCl₅ (2.08 克, 0.01 莫耳), 置於反應瓶中, 加熱至約 70-80 時混合固體共熔, 繼續加熱至 115 持續反應 1.5 小時, 隨後經油浴 115 減壓濃縮去除 POCl₃, 得金黃色液體 carboximidoyl chloride。

另外秤取金屬鈉(0.69 克, 0.03 莫耳), 加入無水乙醇約 70 毫升中, 待金屬鈉完全溶解再滴加 diethylmalonate (4.80 克, 0.03 莫耳), 微溫攪拌 1 小時, 得無色透明液體, 隨後減壓濃縮去除乙醇, 即 sodium diethylmalonate 之白色固體(**25**)。

以無水甲苯為溶媒與化合物 **25** 充分混合, 再將化合物 carboximidoyl chloride 倒入其中, 隨後加熱至迴流溫度反應 4 小時, 接著減壓濃縮去除甲苯後, 加入乙醚與水進行萃取, 去除未反應之 sodium diethylmalonate, 之後

取乙醚層，以無水硫酸鎂脫水、過濾後，減壓濃縮去除乙醚，得橙黃色液體。

將此未純化之液體直接加熱至 150-170 進行環化反應，持續反應 4 小時(期間發現黃褐色溶液會逐漸固化)，降溫後加入乙醇，過濾即得乳白色固體。經管柱層析(矽膠)純化，氯仿：乙醇 = 40：1 作為沖提液，最後以乙醇與氯仿適當比例再結晶，得化合物 **31** 之白色晶體(0.97 克，產率 28 %)。

化合物 31 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：239.7-241.2

MS (m/z) (圖 31-1)：345 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 31-2)：波數 1717 cm^{-1} 、1628 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ)：339.0 (3.92), 326.0 (3.95), 253.5 (4.39)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClFNO}_3$ 計算

計算值(Calcd.)：C (62.53 %), H (3.79 %), N (4.05 %)

實際值(Found)：C (62.50 %), H (3.77 %), N (4.07 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 31-3)：

0.84 (3H, *t*, $J = 7.0$ Hz, CH_3)

3.92 (2H, *q*, $J = 7.0$ Hz, CH_2)

7.33-7.67 (5H, *m*, H-8, H-3', H-4', H-5', H-6')

7.78 (1H, *dd*, $J = 8.9, 2.2$ Hz, H-7)

8.07 (1H, *d*, $J = 2.2$ Hz, H-5)

12.48 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 31-4)：

13.52 (CH_3), 60.15 (CH_2), 115.85 (*d*, $J = 21.0$ Hz, C-3'), 116.20 (C-3), 121.16 (C-8), 121.35 (*d*, $J = 18.9$ Hz, C-1'), 124.06 (C-5), 124.67 (C-5'), 125.98 (C-10), 129.03 (C-6), 130.69 (C-6'), 132.63 (*d*, $J = 8.3$ Hz, C-4'), 132.87 (C-7), 138.03 (C-9), 145.17 (C-2),

158.85 (*d*, $J = 246.2$ Hz, C-2'), 165.04 (COO), 172.33 (C-4)

2. Ethyl 2',6-dichloro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (32)

之合成

秤取化合物 12 (2.65 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 31 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 32 之白色晶體(1.08 克, 產率 30%)。

化合物 32 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 232.3-234.2 (dec.)

MS (m/z) (圖 32-1) : 361 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 32-2) : 波數 1726 cm^{-1} 、 1628 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 339.0 (4.03), 325.5 (4.07), 251.0 (4.48)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{NO}_3$ 計算

計算值(Calcd.) : C (59.69 %), H (3.62 %), N (3.87 %)

實際值(Found) : C (59.70 %), H (3.61 %), N (3.89 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 32-3) :

0.79 (3H, *t*, $J = 7.0$ Hz, CH_3)

3.87 (2H, *q*, $J = 7.0$ Hz, CH_2)

7.47-7.67 (5H, *m*, H-8, H-3', H-4', H-5', H-6')

7.76 (1H, *dd*, $J = 8.8, 2.4$ Hz, H-7)

8.08 (1H, *d*, $J = 2.4$ Hz, H-5)

12.49 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 32-4) :

13.46 (CH_3), 55.99 (CH_2), 115.76 (C-3), 121.16 (C-8), 124.10

(C-5), 126.10 (C-10), 127.19 (C-5'), 129.04 (C-6), 129.44 (C-3'),

130.73 (C-6'), 131.73 (C-4'), 132.06 (C-2'), 132.63 (C-1'), 132.88

(C-7), 137.93 (C-9), 148.10 (C-2), 164.76 (COO), 172.46 (C-4)

3. Ethyl 6-chloro-2'-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (33) 之合成

秤取化合物 13 (2.61 克, 0.01 莫耳)、 PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 31 相同合成方法之反應條件及處理。經管柱層析(矽膠)純化, 氯仿: 乙醇 = 32 : 1 作為沖提液, 最後以乙醇與氯仿適當比例再結晶, 得化合物 33 之白色晶體(1.18 克, 產率 33 %)。

化合物 33 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 221.7-224.0

MS (m/z) (圖 33-1) : 357 (M^+)

IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (圖 33-2) : 波數 1722 cm^{-1} 、 1626 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, ν_{max} (MeOH) nm (log e) : 339.0 (4.09), 325.5 (4.14), 299.0 (4.11),
249.5 (4.49)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.) : C (63.78 %), H (4.51 %), N (3.91 %)

實際值(Found) : C (63.75 %), H (4.49 %), N (3.90 %)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) δ (ppm) (圖 33-3) :

0.84 (3H, *t*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, CH_3)

3.76 (3H, *s*, OCH_3)

3.90 (2H, *q*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, CH_2)

7.07 (1H, *dd*, $J = 7.4, 7.4 \text{ Hz}$, H-5')

7.16 (1H, *d*, $J = 8.4 \text{ Hz}$, H-3')

7.36 (1H, *dd*, $J = 7.4, 1.1 \text{ Hz}$, H-6')

7.51 (1H, *ddd*, $J = 8.4, 7.4, 1.1 \text{ Hz}$, H-4')

7.66 (1H, *d*, $J = 8.9 \text{ Hz}$, H-8)

7.74 (1H, *dd*, $J = 8.9, 2.2 \text{ Hz}$, H-7)

8.07 (1H, *d*, $J = 2.2 \text{ Hz}$, H-5)

12.26 (1H, *s*, NH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 33-6) :

13.57 (CH₃), 55.66 (OCH₃), 59.88 (CH₂), 111.54 (C-3'), 116.13 (C-3), 120.25 (C-5'), 121.05 (C-8), 122.49 (C-1'), 124.03 (C-5), 125.91 (C-10), 128.68 (C-6), 129.91 (C-6'), 131.71 (C-4'), 132.54 (C-7), 138.09 (C-9), 148.14 (C-2), 156.48 (C-2'), 165.42 (COO), 172.51 (C-4)

4. Ethyl 6-chloro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (34)

之合成

秤取化合物 **14** (2.31 克, 0.01 莫耳), PCl₅ (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 **31** 相同合成方法之反應條件及處理。環化反應後之固體, 降溫加入乙醇, 過濾即得白色固體, 以乙醇與氯仿適當比例再結晶, 得化合物 **34** 之白色針狀結晶 (0.85 克, 產率 26 %)。

化合物 34 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 235.5-237.3 (dec.)

MS (m/z) (圖 34-1) : 327 (M⁺)

IR, ν_{max} (KBr) cm⁻¹ (圖 34-2) : 波數 1717 cm⁻¹、1628 cm⁻¹ 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ) : 339.0 (3.95), 326.5 (3.96), 259.5 (4.47)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 C₁₈H₁₄ClNO₃ 計算

計算值(Calcd.) : C (65.96 %), H (4.31 %), N (4.27 %)

實際值(Found) : C (66.01 %), H (4.29 %), N (4.24 %)

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 34-3) :

0.89 (3H, *t*, $J = 7.0$ Hz, CH₃)

3.96 (2H, *q*, $J = 7.0$ Hz, CH₂)

7.57 (5H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6')

7.69-7.80 (2H, *m*, H-7, H-8)

8.05 (1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-5)

12.26 (1H, *s*, NH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 34-4) :

13.60 (CH₃), 60.32 (CH₂), 115.71 (C-3), 121.29 (C-8), 123.88

(C-5), 125.67 (C-10), 128.19、128.67 (C-6, C-2', C-3', C-5', C-6'),

130.42 (C-4'), 132.64 (C-7), 133.47 (C-1'), 138.18 (C-9), 149.82

(C-2), 165.89 (COO), 172.48 (C-4)

5. Ethyl 2',6-difluoro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (35)

之合成

秤取化合物 15 (2.33 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 31 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 35 之白色針狀結晶(0.82 克, 產率 25 %)。

化合物 35 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 207.9-209.1 (dec.)

MS (m/z) (圖 35-1) : 329 (M^+)

IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (圖 35-2) : 波數 1715 cm^{-1} 、1618 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ) : 336.5 (4.08), 323.5 (4.10), 249.5 (4.46)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{F}_2\text{NO}_3$ 計算

計算值(Calcd.) : C (65.65 %), H (3.98 %), N (4.25 %)

實際值(Found) : C (65.62 %), H (3.99 %), N (4.24 %)

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 35-3) :

0.85 (3H, *t*, $J = 7.0$ Hz, CH₃)

3.93 (2H, *q*, $J = 7.0$ Hz, CH₂)

7.33-7.46 (2H, *m*, H-3', H-5')

7.50-7.75 (4H, *m*, H-7, H-8, H-4', H-6')

7.79 (1H, *dd*, $J = 9.1, 2.6$ Hz, H-5)

12.45 (1H, *s*, NH)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 35-4) :

13.50 (CH₃), 60.06 (CH₂), 109.30 (*d*, $J = 22.4$ Hz, C-5), 115.25 (C-3), 115.80 (*d*, $J = 20.9$ Hz, C-3'), 121.48 (*d*, $J = 16.6$ Hz, C-1'), 121.55 (*d*, $J = 24.4$ Hz, C-7), 121.56 (*d*, $J = 8.0$ Hz, C-8), 124.59 (*d*, $J = 2.8$ Hz, C-5'), 126.22 (*d*, $J = 6.8$ Hz, C-10), 130.68 (C-6'), 132.52 (*d*, $J = 8.2$ Hz, C-4'), 136.11 (C-9), 144.90 (C-2), 158.86 (*d*, $J = 246.2$ Hz, C-2'), 158.90 (*d*, $J = 242.2$ Hz, C-6), 165.17 (COO), 172.69 (C-4)

6. Ethyl 2'-chloro-6-fluoro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (36) 之合成

秤取化合物 **16** (2.49 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 **31** 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 **36** 之白色晶體 (1.17 克, 產率 34 %)。

化合物 36 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 215.3-216.8

MS (m/z) (圖 36-1) : 345 (M^+)

IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (圖 36-2) : 波數 3219 cm^{-1} 處有 NH 伸縮振動吸收峰 ;
波數 1722 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, ν_{max} (MeOH) nm (log e) : 336.5 (3.90), 323.0 (3.92), 248.0 (4.26)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClFNO}_3$ 計算

計算值(Calcd.) : C (62.53 %), H (3.79 %), N (4.05 %)

實際值(Found) : C (62.54 %), H (3.78 %), N (4.07 %)

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 36-3) :

0.80 (3H, *t*, $J = 7.0$ Hz, CH₃)
3.87 (2H, *q*, $J = 7.0$ Hz, CH₂)
7.48-7.69 (6H, *m*, H-7, H-8, H-3', H-4', H-5', H-6')
7.80 (1H, *dd*, $J = 8.9, 2.5$ Hz, H-5)
12.46 (1H, *s*, NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ (ppm) (圖 36-4) :

13.46 (CH₃), 59.91 (CH₂), 109.36 (*d*, $J = 22.4$ Hz. C-5), 114.78 (C-3), 121.57 (*d*, $J = 25.5$ Hz. C-7), 121.57 (*d*, $J = 8.3$ Hz. C-8), 126.35 (*d*, $J = 6.8$ Hz. C-10), 127.16 (C-5'), 129.41 (C-3'), 130.73 (C-6'), 131.66 (C-4'), 132.09 (C-2'), 132.76 (C-1'), 136.02 (C-9), 147.85 (C-2), 158.92 (*d*, $J = 241.8$ Hz. C-6), 164.90 (COO), 172.81 (C-4)

7. Ethyl 6-fluoro-2'-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (37) 之合成

秤取化合物 17 (2.45 克, 0.01 莫耳)、PCl₅ (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 31 相同合成方法之反應條件及處理。經管柱層析(矽膠)純化, 氯仿: 乙醇 = 32 : 1 作為沖提液, 最後以乙醇與氯仿適當比例再結晶, 得化合物 37 之白色棉絮狀結晶(0.92 克, 產率 27 %)。

化合物 37 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 200.8-202.1

MS (*m/z*) (圖 37-1) : 341 (M⁺)

IR, ν_{\max} (KBr) cm⁻¹ (圖 37-2) : 波數 1720 cm⁻¹ 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log *e*) : 336.5 (4.01), 323.0 (4.06), 296.5 (3.96),
238.0 (4.34)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 C₁₉H₁₆FNO₄ 計算

計算值(Calcd.) : C (66.86 %), H (4.72 %), N (4.10 %)

實際值(Found) : C (66.87 %), H (4.73 %), N (4.08 %)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 200 MHz) δ (ppm) (圖 37-3) :

0.84 (3H, *t*, *J* = 7.0 Hz, CH₃)
3.76 (3H, *s*, OCH₃)
3.88 (2H, *q*, *J* = 7.0 Hz, CH₂)
7.07 (1H, *dd*, *J* = 7.4, 7.4 Hz, H-5')
7.18 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-3')
7.33 (1H, *d*, *J* = 7.4 Hz, H-6')
7.52 (1H, *dd*, *J* = 8.4, 7.4 Hz, H-4')
7.60-7.70 (2H, *m*, H-7, H-8)
7.77 (1H, *dd*, *J* = 9.3, 2.6 Hz, H-5)
12.20 (1H, *s*, NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ (ppm) (圖 37-4) :

13.55 (CH₃), 55.66 (OCH₃), 59.78 (CH₂), 109.18 (*d*, *J* = 22.3 Hz, C-5), 111.57 (C-3'), 115.18 (C-3), 120.21 (C-5'), 121.21 (*d*, *J* = 25.8 Hz, C-7), 121.39 (*d*, *J* = 7.7 Hz, C-8), 122.57 (C-1'), 126.08 (*d*, *J* = 6.7 Hz, C-10), 129.88 (C-6'), 131.63 (C-4'), 136.16 (C-9), 147.84 (C-2), 156.48 (C-2'), 158.80 (*d*, *J* = 232.5 Hz, C-6), 165.52 (COO), 172.76 (C-4)

8. Ethyl 6-fluoro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (38)

之合成

秤取化合物 **18** (2.15 克, 0.01 莫耳), PCl₅ (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 **31** 相同合成方法之反應條件及處理。環化反應後之固體, 降溫加入乙醇, 過濾即得化合物 **38** 之白色固體(0.84 克, 產率 27%)。

化合物 38 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 205.8-207.3 (dec.)

MS (m/z) (圖 38-1) : 311 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 38-2) : 波數 3225 cm^{-1} 處有 NH 伸縮振動吸收峰 ;
波數 1722 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 336.5 (4.27), 324.0 (4.28), 255.5 (4.68)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{FNO}_3$ 計算

計算值(Calcd.) : C (69.45 %), H (4.53 %), N (4.50 %)

實際值(Found) : C (69.48 %), H (4.50 %), N (4.49 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 38-3) :

0.90 (3H, *t*, $J = 7.2 \text{ Hz}$, CH_3)

3.96 (2H, *q*, $J = 7.2 \text{ Hz}$, CH_2)

7.56 (5H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6')

7.60-7.79 (3H, *m*, H-5, H-7, H-8)

12.24 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 38-4) :

13.61 (CH_3), 60.27 (CH_2), 109.12 (*d*, $J = 22.2 \text{ Hz}$, C-5), 114.81

(C-3), 121.36 (*d*, $J = 25.8 \text{ Hz}$, C-7), 121.70 (*d*, $J = 8.6 \text{ Hz}$, C-8),

125.90 (*d*, $J = 6.8 \text{ Hz}$, C-10), 128.21, 128.67 (C-2', C-3', C-5', C-6'),

130.37 (C-4'), 133.59 (C-1'), 136.29 (C-9), 149.59 (C-2), 158.90 (*d*,

$J = 241.7 \text{ Hz}$, C-6), 166.05 (COO), 172.86 (C-4)

9. Ethyl 2'-fluoro-6-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (39) 之合成

秤取化合物 **19** (2.45 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 **31** 相同合成方法之反應條件及處理。經管柱層析(矽膠)純化, 氯仿 : 乙醇 = 32 : 1 作為沖提液, 最後以乙醇與氯仿適當比例再結晶, 得化合物 **39** 之白色針狀結晶(1.30 克, 產率 38 %)。

化合物 39 的物理性質及光譜數據如下 :

熔點(M.P.) : 227.7-229.4

MS (m/z) (圖 39-1) : 341 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 39-2) : 波數 1719 cm^{-1} 、 1622 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 345.5 (3.92), 333.0 (3.93), 256.0 (4.46)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{FNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.) : C (66.86 %), H (4.72 %), N (4.10 %)

實際值(Found) : C (66.85 %), H (4.73 %), N (4.12 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 39-3) :

0.85 (3H, *t*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, CH_3)

3.85 (3H, *s*, OCH_3)

3.91 (2H, *q*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, CH_2)

7.32-7.67 (7H, *m*, H-5, H-7, H-8, H-3', H-4', H-5', H-6')

12.28 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 39-4) :

13.55 (CH_3), 55.52 (OCH_3), 59.96 (CH_2), 104.53 (C-5), 114.92

(C-3), 115.80 (*d*, $J = 20.9 \text{ Hz}$, C-3'), 120.51 (C-8), 121.79 (*d*, $J =$

15.6 Hz, C-1'), 123.00 (C-7), 124.61 (C-5'), 126.14 (C-10), 130.75

(C-6'), 132.36 (*d*, $J = 8.2 \text{ Hz}$, C-4'), 133.98 (C-9), 143.72 (C-2),

156.36 (C-6), 158.88 (*d*, $J = 252.2 \text{ Hz}$, C-2'), 165.59 (COO),

172.86 (C-4)

10. Ethyl 2'-chloro-6-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (40) 之合成

秤取化合物 **20** (2.61 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 **31** 相同合成方法之反應條件及處理。環化反應後得黃褐色黏稠液體(熔點較低之緣故, 並未固化), 再經管柱層析(矽膠)純化, 氯仿:乙醇 = 40:1 作為沖提液, 最後以乙醇與氯仿適當比例再結晶, 得化合物 **40** 之白色針狀

結晶(1.54 克, 產率 43 %)。

化合物 40 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 167.2-168.8

MS (m/z) (圖 40-1) : 357 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 40-2) : 波數 1724 cm^{-1} 、 1618 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 345.5 (3.92), 332.5 (3.95), 253.5 (4.46)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.) : C (63.78 %), H (4.51 %), N (3.91 %)

實際值(Found) : C (63.80 %), H (4.50 %), N (3.90 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 40-3) :

0.80 (3H, *t*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, CH_3)

3.86 (3H, *s*, OCH_3)

3.87 (2H, *q*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, CH_2)

7.36 (1H, *dd*, $J = 9.0, 2.9 \text{ Hz}$, H-7)

7.46-7.66 (6H, *m*, H-5, H-8, H-3', H-4', H-5', H-6')

12.25 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 40-4) :

13.46 (CH_3), 55.51 (OCH_3), 59.75 (CH_2), 104.59 (C-5), 114.42 (C-3), 120.46 (C-8), 122.91 (C-7), 126.25 (C-10), 127.07 (C-5'), 129.35 (C-3'), 130.76 (C-6'), 131.46 (C-4'), 132.19 (C-2'), 133.05 (C-1'), 133.84 (C-9), 146.68 (C-2), 156.34 (C-6), 165.28 (COO), 172.95 (C-4)

11. Ethyl 4'-fluoro-6-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (41) 之合成

秤取化合物 22 (2.45 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化

合物 31 相同合成方法之反應條件及處理。環化反應後之固體，降溫加入乙醇，過濾即得白色固體，以乙醇與氯仿適當比例再結晶，得化合物 41 之白色棉絮狀結晶(1.53 克，產率 45 %)。

化合物 41 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：202.3-204.5

MS (m/z) (圖 41-1)：341 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 41-2)：波數 1713 cm^{-1} 、1608 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log e)：345.5 (4.15), 333.0 (4.15), 262.0 (4.72)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{FNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.)：C (66.86 %), H (4.72 %), N (4.10 %)

實際值(Found)：C (66.88 %), H (4.71 %), N (4.11 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 41-3)：

0.93 (3H, t , $J = 7.0$ Hz, CH_3)

3.84 (3H, s , OCH_3)

3.98 (2H, q , $J = 7.0$ Hz, CH_2)

7.32-7.44 (3H, m , H-7, H-3', H-5')

7.52 (1H, d , $J = 2.8$ Hz, H-5)

7.59-7.67 (3H, m , H-8, H-2', H-6')

12.08 (1H, s , NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 41-4)：

13.68 (CH_3), 55.43 (OCH_3), 60.19 (CH_2), 104.32 (C-5), 114.58

(C-3), 115.63 (d , $J = 21.8$ Hz, C-3', C-5'), 120.60 (C-8), 122.80

(C-7), 125.82 (C-10), 130.35 (C-1'), 130.73 (d , $J = 8.7$ Hz, C-2',

C-6'), 134.08 (C-9), 147.46 (C-2), 156.18 (C-6), 163.11 (d , $J =$

246.2 Hz, C-4'), 166.39 (COO), 172.98 (C-4)

12. Ethyl 6,7-methylenedioxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate (42) 之合成

秤取化合物 **24** (2.41 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 **31** 相同合成方法之反應條件及處理。環化反應後之固體, 降溫加入乙醇, 過濾即得化合物 **42** 之白色固體(1.38 克, 產率 41 %)。

化合物 42 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 237.2-238.8 (dec.)

MS (m/z) (圖 42-1) : 337 (M^+)

IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (圖 42-2) : 波數 1715 cm^{-1} 、 1634 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{max} (MeOH) nm (log ϵ) : 338.0 (4.25), 324.0 (4.22), 263.5 (4.68),
230.0 (4.55)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_5$ 計算

計算值(Calcd.) : C (67.65 %), H (4.48 %), N (4.15 %)

實際值(Found) : C (67.62 %), H (4.50 %), N (4.12 %)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) δ (ppm) (圖 42-3) :

0.90 (3H, *t*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, CH_3)

3.94 (2H, *q*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, CH_2)

6.17 (2H, *s*, OCH_2O)

7.09 (1H, *s*, H-8)

7.40 (1H, *s*, H-5)

7.54 (5H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6')

11.93 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 50 MHz) δ (ppm) (圖 42-4) :

13.63 (CH_3), 60.12 (CH_2), 97.17 (C-8), 101.37 (C-5), 102.24

(OCH_2O), 114.85 (C-3), 120.18 (C-10), 128.14、128.64 (C-2',

C-3', C-5', C-6'), 130.14 (C-4'), 133.72 (C-1'), 136.57 (C-9),
145.74, 147.80, 151.62, 166.36 (COO), 172.32 (C-4)

13. 2',6-Difluoro-2-phenyl-4-quinolone (43)之合成

秤取化合物 15 (2.33 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 31 相同合成方法之反應條件及處理。環化反應後之固體, 降溫加入乙醇, 過濾得脫除酯類的不預期產物, 化合物 43 之白色固體(0.46 克, 產率 18%)。

化合物 43 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 267.2-268.7

MS (m/z) (圖 43-1) : 257 (M^+)

IR, ν_{max} (KBr) cm^{-1} (圖 43-2) : 波數 3242 cm^{-1} 處有 NH 伸縮振動吸收峰 ;
波數 1603 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, ν_{max} (MeOH) nm (log ϵ) : 339.0 (4.23), 327.0 (4.22), 246.5 (4.61)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{F}_2\text{NO}$ 計算

計算值(Calcd.) : C (70.04 %), H (3.53 %), N (5.45 %)

實際值(Found) : C (70.01 %), H (3.50 %), N (5.41 %)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) δ (ppm) (圖 43-3) :

6.19 (1H, *s*, H-3)

7.36-7.49 (2H, *m*, H-3', H-5')

7.55-7.78 (5H, *m*, H-5, H-7, H-8, H-4', H-6')

12.08 (1H, *s*, NH)

14. 2'-Chloro-6-methoxy-2-phenyl-4-quinolone (44)之合成

秤取化合物 20 (2.61 克, 0.01 莫耳), PCl_5 (2.08 克, 0.01 莫耳), 依照化合物 31 相同合成方法之反應條件及處理。環化反應後之固體, 降溫加入乙醇, 過濾後以乙醇與氯仿適當比例再結晶, 得脫除酯類的不預期產物, 化合物 44 之淡黃色晶體(0.43 克, 產率 15%)。

化合物 44 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：270.9-272.2

MS (m/z) (圖 44-1)：285 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 44-2)：波數 3246 cm^{-1} 處有 NH 伸縮振動吸收峰；
波數 1605 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log e)：347.0 (4.01), 333.5 (4.00), 245.5 (4.57)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{ClNO}_2$ 計算

計算值(Calcd.)：C (67.26 %), H (4.23 %), N (4.90 %)

實際值(Found)：C (67.27 %), H (4.21 %), N (4.88 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 44-3)：

3.85 (3H, *s*, OCH_3)

5.99 (1H, *s*, H-3)

7.32 (1H, *dd*, $J = 9.0, 2.9$ Hz, H-7)

7.50-7.68 (6H, *m*, H-5, H-8, H-3', H-4', H-5', H-6')

11.96 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 44-4)：

55.39 (OCH_3), 104.10 (C-5), 108.68 (C-3), 120.23 (C-8), 122.43 (C-7), 125.91 (C-10), 127.51 (C-5'), 129.84, 131.16, 131.41 (C-4'), 131.70 (C-2'), 134.02 (C-1'), 134.79 (C-9), 147.11 (C-2), 155.75 (C-6), 176.03 (C-4)

(四) 2',4',6,7-Substituted-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acids (45-56) 之合成

1. 6-Chloro-2'-fluoro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (45) 之合成

秤取化合物 31 (0.63 克, 0.002 莫耳), 置於約 80 毫升 10 % sodium hydroxide 溶液, 加熱至迴流溫度, 進行鹼催化酯類水解反應。當反應液澄

清時，以 TLC 檢測是否反應完全，之後以冰醋酸酸化反應液至中性時沉澱析出，過濾取沉澱物，並以大量蒸餾水沖洗，乾燥後即得化合物 45 之白色固體(0.58 克，產率 92 %)。

化合物 45 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：227.6-229.1

MS (m/z) (圖 45-1)：317 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 45-2)：波數 3452 cm^{-1} 處有 NH 或 OH 伸縮振動吸收峰；波數 1682 cm^{-1} 、 1634 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log e)：309.5 (3.94), 258.5 (4.47)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{ClFNO}_3$ 計算

計算值(Calcd.)：C (60.49 %), H (2.86 %), N (4.41 %)

實際值(Found)：C (60.51 %), H (2.85 %), N (4.39 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 45-3)：

7.26-7.37 (2H, m , H-3', H-5')

7.50-7.61 (2H, m , H-4', H-6')

7.80 (1H, d , $J = 8.9 \text{ Hz}$, H-8)

7.89 (1H, dd , $J = 8.9, 2.3 \text{ Hz}$, H-7)

8.23 (1H, d , $J = 2.3 \text{ Hz}$, H-5)

15.96 (1H, s , OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 45-4)：

108.20 (C-3), 115.00 (d , $J = 21.0 \text{ Hz}$, C-3'), 123.20 (C-8), 123.83 (C-5), 124.02 (C-5'), 124.42 (d , $J = 15.9 \text{ Hz}$, C-1'), 124.86 (C-10), 129.92 (C-6'), 130.42 (C-6), 131.40 (d , $J = 8.1 \text{ Hz}$, C-4'), 133.67 (C-7), 138.96 (C-9), 152.57 (C-2), 158.84 (d , $J = 244.5 \text{ Hz}$, C-2'), 165.19 (COOH), 176.89 (C-4)

2. 2',6-Dichloro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (46)之合成

秤取化合物 32 (0.67 克, 0.002 莫耳), 在約 80 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 45 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 46 之白色固體(0.59 克, 產率 89 %)。

化合物 46 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 242.8-244.9

MS (m/z) (圖 46-1) : 333 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 46-2) : 波數 3466 cm^{-1} 處有 NH 或 OH 伸縮振動吸收峰 ; 波數 1690 cm^{-1} 、 1632 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 309.0 (3.92), 258.5 (4.41), 250.5 (4.42)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{NO}_3$ 計算

計算值(Calcd.) : C (57.51 %), H (2.71 %), N (4.19 %)

實際值(Found) : C (57.48 %), H (2.72 %), N (4.20 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 46-3) :

7.43-7.63 (4H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6')

7.81 (1H, *d*, $J = 8.9 \text{ Hz}$, H-8)

7.93 (1H, *dd*, $J = 8.9, 2.4 \text{ Hz}$, H-7)

8.25 (1H, *d*, $J = 2.4 \text{ Hz}$, H-5)

13.57 (1H, *s*, NH)

15.74 (1H, *s*, OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 46-4) :

108.20 (C-3), 122.63 (C-8), 124.24 (C-5), 125.11 (C-10), 127.20

(C-5'), 129.11, 129.81, 131.06 (C-6, C-4'), 131.32 (C-2'), 134.44

(C-7), 135.13 (C-1'), 138.19 (C-9), 155.17 (C-2), 164.86 (COOH),

177.75 (C-4)

3. 6-Chloro-2'-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (47) 之合成

秤取化合物 33 (0.66 克, 0.002 莫耳), 在約 80 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 45 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 47 之白色固體(0.59 克, 產率 90 %)。

化合物 47 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 221.1-223.6

MS (m/z) (圖 47-1) : 329 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 47-2) : 波數 1680 cm^{-1} 、1634 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 309.0 (4.07), 258.5 (4.44), 250.0 (4.46)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.) : C (61.92 %), H (3.67 %), N (4.25 %)

實際值(Found) : C (61.95 %), H (3.66 %), N (4.23 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 47-3) :

3.72 (3H, s, OCH_3)

7.07 (1H, *dd*, $J = 7.4, 7.4$ Hz, H-5')

7.15 (1H, *d*, $J = 8.3$ Hz, H-3')

7.34 (1H, *dd*, $J = 7.4, 1.4$ Hz, H-6')

7.51 (1H, *ddd*, $J = 8.3, 7.4, 1.4$ Hz, H-4')

7.80 (1H, *d*, $J = 8.9$ Hz, H-8)

7.92 (1H, *dd*, $J = 8.9, 2.3$ Hz, H-7)

8.23 (1H, *d*, $J = 2.3$ Hz, H-5)

13.26 (1H, *s*, NH)

15.57 (1H, *s*, OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 47-5) :

55.72 (OCH_3), 108.54 (C-3), 111.23 (C-3'), 120.10 (C-5'),

121.77 (C-8), 124.02 (C-5), 124.31 (C-1'), 124.71 (C-10),
128.94 (C-6'), 130.60 (C-6), 131.11 (C-4'), 134.08 (C-7),
137.42 (C-9), 155.10 (C-2), 156.24 (C-2'), 164.56 (COOH),
177.45 (C-4)

4. 6-Chloro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (48)之合成

秤取化合物 34 (0.30 克, 0.001 莫耳), 在約 50 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 45 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 48 之白色固體(0.28 克, 產率 93 %)。

化合物 48 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 254.2-255.6 (dec.)

MS (m/z) (圖 48-1) : 299 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 48-2) : 波數 1684 cm^{-1} 、1634 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log e) : 321.0 (4.10), 259.5 (4.58)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{ClNO}_3$ 計算

計算值(Calcd.) : C (64.12 %), H (3.36 %), N (4.67 %)

實際值(Found) : C (64.15 %), H (3.36 %), N (4.66 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 48-3) :

7.53 (5H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6')

7.81 (1H, *d*, $J = 8.9$ Hz, H-8)

7.90 (1H, *dd*, $J = 8.9, 2.0$ Hz, H-7)

8.19 (1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-5)

13.05 (1H, *s*, NH)

15.28 (1H, *s*, OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 48-4) :

108.90 (C-3), 122.08 (C-8), 124.16 (C-5), 125.01 (C-10),

128.16、 128.50 (C-2', C-3', C-5', C-6'), 129.90 (C-4'), 130.55 (C-6), 134.12 (C-7), 135.14 (C-1'), 137.67 (C-9), 156.87 (C-2), 165.39 (COOH), 177.34 (C-4)

5. 2',6-Difluoro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (49)之合成

秤取化合物 35 (0.30 克, 0.001 莫耳), 在約 50 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 45 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 49 之白色固體(0.26 克, 產率 87 %)。

化合物 49 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：233.4-234.7 (dec.)

MS (m/z) (圖 49-1)：301 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 49-2)：波數 1672 cm^{-1} 、 1616 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ)：318.0 (4.08), 248.5 (4.54)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{F}_2\text{NO}_3$ 計算

計算值(Calcd.)：C (63.79 %), H (3.01 %), N (4.65 %)

實際值(Found)：C (63.80 %), H (3.00 %), N (4.66 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 49-3)：

7.31-7.41 (2H, *m*, H-3', H-5')

7.55-7.66 (2H, *m*, H-4', H-6')

7.77-7.87 (2H, *m*, H-7, H-8)

7.95 (1H, *dd*, $J = 9.0, 2.5 \text{ Hz}$, H-5)

13.50 (1H, *s*, NH)

15.76 (1H, *s*, OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 49-4)：

107.43 (C-3), 109.44 (*d*, $J = 23.0 \text{ Hz}$, C-5), 115.20 (*d*, $J = 20.8 \text{ Hz}$, C-3'), 122.63 (*d*, $J = 8.5 \text{ Hz}$, C-8), 123.08 (*d*, $J = 15.5 \text{ Hz}$, C-1'),

123.28 (*d*, $J = 25.4$ Hz, C-7), 124.23 (C-5'), 125.13 (*d*, $J = 7.9$ Hz, C-10), 129.99 (C-6'), 131.99 (*d*, $J = 8.2$ Hz, C-4'), 135.68 (C-9), 151.43 (C-2), 158.81 (*d*, $J = 244.9$ Hz, C-2'), 159.73 (*d*, $J = 244.7$ Hz, C-6), 164.78 (COOH), 177.91 (C-4)

6. 2'-Chloro-6-fluoro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (50) 之合成

秤取化合物 **36** (0.63 克, 0.002 莫耳), 在約 80 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 **45** 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 **50** 之白色固體(0.56 克, 產率 88 %)。

化合物 **50** 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 269.1-271.0

MS (m/z) (圖 50-1) : 317 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 50-2) : 波數 1684 cm^{-1} 、 1612 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log e) : 331.5 (3.80), 318.0 (3.93)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{ClFNO}_3$ 計算

計算值(Calcd.) : C (60.49 %), H (2.86 %), N (4.41 %)

實際值(Found) : C (60.52 %), H (2.83 %), N (4.38 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 50-3) :

7.45-7.63 (4H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6')

7.78-7.92 (2H, *m*, H-7, H-8)

8.00 (1H, *dd*, $J = 8.7, 2.3$ Hz, H-5)

13.53 (1H, *s*, NH)

15.75 (1H, *s*, OH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 50-4) :

107.19 (C-3), 109.52 (*d*, $J = 23.1$ Hz, C-5), 122.67 (*d*, $J = 8.4$ Hz,

C-8), 123.41 (*d*, *J* = 15.5 Hz, C-7), 125.17 (*d*, *J* = 7.9 Hz, C-10), 127.03 (C-5'), 128.93, 129.64, 131.01, 131.14, 134.51 (C-1'), 135.66 (C-9), 154.31 (C-2), 159.79 (*d*, *J* = 244.7 Hz, C-6), 164.59 (COOH), 178.15 (C-4)

7. 6-Fluoro-2'-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (51) 之合成

稱取化合物 **37** (0.31 克, 0.001 莫耳), 在約 50 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 **45** 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 **51** 之白色固體(0.28 克, 產率 90 %)。

化合物 **51** 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 254.2-255.8

MS (*m/z*) (圖 51-1) : 313 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 51-2) : 波數 3470 cm^{-1} 處有 NH 或 OH 伸縮振動吸收峰 ; 波數 1676 cm^{-1} 、 1611 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log *e*) : 317.5 (3.95), 305.5 (3.97), 247.0 (4.36)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{FNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.) : C (65.18 %), H (3.86 %), N (4.47 %)

實際值(Found) : C (65.20 %), H (3.88 %), N (4.46 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 51-3) :

3.70 (3H, *s*, OCH_3)

7.03-7.15 (2H, *m*, H-3', H-5')

7.32 (1H, *dd*, *J* = 7.4, 1.4 Hz, H-6')

7.49 (1H, *ddd*, *J* = 8.4, 7.4, 1.4 Hz, H-4')

7.79-7.86 (2H, *m*, H-7, H-8)

7.96 (1H, *dd*, *J* = 9.0, 2.6 Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 51-4) :

55.70 (OCH₃), 107.64 (C-3), 109.36 (*d*, *J* = 23.1 Hz, C-5), 111.20 (C-3'), 120.08 (C-5'), 122.58 (*d*, *J* = 11.8 Hz, C-8), 122.96 (*d*, *J* = 25.7 Hz, C-7), 124.56 (C-1'), 124.98 (*d*, *J* = 7.9 Hz, C-10), 128.93 (C-6'), 130.99 (C-4'), 135.77 (C-9), 154.88 (C-2), 156.27 (C-2'), 159.58 (*d*, *J* = 244.4 Hz, C-6), 164.74 (COOH), 177.80 (C-4)

8. 6-Fluoro-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (52)之合成

稱取化合物 38 (0.57 克, 0.002 莫耳), 在約 80 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 45 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 52 之白色固體(0.49 克, 產率 87 %)。

化合物 52 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 244.5-246.0 (dec.)

MS (*m/z*) (圖 52-1) : 283 (M⁺)

IR, ν_{\max} (KBr) cm⁻¹ (圖 52-2) : 波數 1672 cm⁻¹ 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log *e*) : 332.0 (4.05), 318.0 (4.13), 255.0 (4.56)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 C₁₆H₁₀FNO₃ 計算

計算值(Calcd.) : C (67.84 %), H (3.56 %), N (4.94 %)

實際值(Found) : C (67.80 %), H (3.55 %), N (4.98 %)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 200 MHz) δ (ppm) (圖 52-3) :

7.52 (5H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6')

7.72-7.94 (3H, *m*, H-5, H-7, H-8)

13.09 (1H, *s*, NH)

15.50 (1H, *s*, OH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 50 MHz) δ (ppm) (圖 52-4) :

107.38 (C-3), 109.27 (*d*, *J* = 22.9 Hz, C-5), 122.44 (*d*, *J* = 8.9 Hz,

C-8), 122.81 (*d*, *J* = 28.1 Hz, C-7), 124.98 (*d*, *J* = 7.8 Hz, C-10),

127.87, 128.28 (C-2', C-3', C-5', C-6'), 129.58 (C-4'), 135.02 (C-1'),

135.50 (C-9), 156.67 (C-2), 159.48 (*d*, $J = 243.9$ Hz, C-6), 165.14 (COOH), 177.73 (C-4)

9. 2'-Fluoro-6-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (53) 之合成

秤取化合物 39 (0.63 克, 0.002 莫耳), 在約 80 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 45 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 53 之白色固體(0.56 克, 產率 89 %)。

化合物 53 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 249.1-251.3 (dec.)

MS (*m/z*) (圖 53-1) : 313 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 53-2) : 波數 1674 cm^{-1} 、 1616 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log *e*) : 328.5 (4.00), 261.0 (4.62), 254.5 (4.61)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{FNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.) : C (65.18 %), H (3.86 %), N (4.47 %)

實際值(Found) : C (65.21 %), H (3.83 %), N (4.46 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 53-3) :

3.92 (3H, *s*, OCH₃)

7.29-7.39 (2H, *m*, H-3', H-5')

7.51-7.60 (3H, *m*, H-7, H-4', H-6')

7.67 (1H, *d*, $J = 2.8$ Hz, H-5)

7.78 (1H, *d*, $J = 9.1$ Hz, H-8)

13.39 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 53-4) :

55.73 (OCH₃), 104.01 (C-5), 106.83 (C-3), 115.11 (*d*, $J = 20.8$ Hz, C-3'), 121.35 (C-8), 123.34 (*d*, $J = 15.7$ Hz, C-1'), 124.20 (C-5'),

124.92 (C-7, C-10), 130.05 (C-6'), 131.76 (*d*, $J = 8.0$ Hz, C-4'),
133.51 (C-9), 149.89 (C-2), 157.59 (C-6), 158.87 (*d*, $J = 244.8$ Hz,
C-2'), 165.15 (COOH), 177.87 (C-4)

10. 2'-Chloro-6-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (54) 之合成

秤取化合物 40 (0.99 克, 0.003 莫耳), 在約 100 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 45 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 54 之白色固體(0.91 克, 產率 92 %)。

化合物 54 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.)：264.2-267.1

MS (m/z) (圖 54-1)：329 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 54-2)：波數 3462 cm^{-1} 處有 NH 或 OH 伸縮振動吸收峰；波數 1678 cm^{-1} 、 1616 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log e)：329.0 (4.03), 317.0 (4.03), 253.0 (4.67)

元素分析(Elemental Analysis)：以 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.)：C (61.92 %), H (3.67 %), N (4.25 %)

實際值(Found)：C (61.93 %), H (3.65 %), N (4.27 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 54-3)：

3.91 (3H, *s*, OCH_3)

7.44-7.62 (5H, *m*, H-7, H-3', H-4', H-5', H-6')

7.66 (1H, *d*, $J = 2.6$ Hz, H-5)

7.76 (1H, *d*, $J = 9.0$ Hz, H-8)

13.42 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 54-4)：

55.76 (OCH_3), 104.06 (C-5), 106.65 (C-3), 121.34 (C-8), 124.97

(C-7, C-10), 126.95 (C-5'), 128.87, 129.71, 130.82 (C-4'), 131.27

(C-2'), 133.46 (C-9), 134.75 (C-1'), 152.71 (C-2), 157.62 (C-6),
165.00 (COOH), 178.00 (C-4)

11. 4'-Fluoro-6-methoxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (55) 之合成

秤取化合物 41 (1.25 克, 0.004 莫耳), 在約 130 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 45 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 55 之白色固體(1.14 克, 產率 91 %)。

化合物 55 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 273.6-275.3

MS (m/z) (圖 55-1) : 313 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 55-2) : 波數 3466 cm^{-1} 處有 NH 或 OH 伸縮振動吸收峰；波數 1680 cm^{-1} 、 1622 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 329.5 (3.97), 262.0 (4.54)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{FNO}_4$ 計算

計算值(Calcd.) : C (65.18 %), H (3.86 %), N (4.47 %)

實際值(Found) : C (65.20 %), H (3.85 %), N (4.47 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 55-3) :

3.88 (3H, *s*, OCH₃)

7.34 (2H, *dd*, $J = 8.6, 8.6 \text{ Hz}$, H-3', H-5')

7.47 (1H, *dd*, $J = 9.0, 2.6 \text{ Hz}$, H-7)

7.54-7.61 (3H, *m*, H-5, H-2', H-6')

7.73 (1H, *d*, $J = 9.0 \text{ Hz}$, H-8)

13.04 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 55-4) :

55.66 (OCH₃), 103.94 (C-5), 106.21 (C-3), 114.73 (*d*, $J = 21.8 \text{ Hz}$, C-3', C-5'), 121.25 (C-8), 124.63、124.71 (C-7 or C-10),

130.89 (*d*, $J = 8.5$ Hz, C-2', C-6'), 131.72 (C-1'), 133.28 (C-9),
154.87 (C-2), 157.33 (C-6), 162.82 (*d*, $J = 244.6$ Hz, C-4'),
165.50 (COOH), 177.99 (C-4)

12. 6,7-Methylenedioxy-2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid (56) 之合成

秤取化合物 42 (0.93 克, 0.003 莫耳), 在約 100 毫升 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下, 依照化合物 45 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 56 之白色固體(0.86 克, 產率 93 %)。

化合物 56 的物理性質及光譜數據如下：

熔點(M.P.) : 267.5-269.2 (dec.)

MS (m/z) (圖 56-1) : 309 (M^+)

IR, ν_{\max} (KBr) cm^{-1} (圖 56-2) : 波數 3454 cm^{-1} 處有 NH 或 OH 伸縮振動吸收峰；波數 1684 cm^{-1} 、 1645 cm^{-1} 處有 C=O 伸縮振動吸收峰。

UV, λ_{\max} (MeOH) nm (log ϵ) : 335.0 (4.10), 321.5 (4.11), 266.0 (4.68)

元素分析(Elemental Analysis) : 以 $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{NO}_5$ 計算

計算值(Calcd.) : C (66.02 %), H (3.58 %), N (4.53 %)

實際值(Found) : C (66.05 %), H (3.57 %), N (4.52 %)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 200 MHz) δ (ppm) (圖 56-3) :

6.25 (2H, *s*, OCH₂O)

7.20 (1H, *s*, H-8)

7.49 (5H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6')

7.56 (1H, *s*, H-5)

12.90 (1H, *s*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 50 MHz) δ (ppm) (圖 56-4) :

97.50 (C-8), 101.05 (C-5), 102.96 (OCH₂O), 106.25 (C-3), 119.16 (C-10), 127.76、128.38 (C-2', C-3', C-5', C-6'), 129.34 (C-4'),

135.28 (C-1'), 136.25 (C-9), 147.20, 153.03, 155.48 (C-2), 165.37
(COOH), 177.18 (C-4)

第四節 藥理實驗簡介

(一) 抗人類前骨髓性血癌細胞(HL-60 及 U937)增殖作用(proliferation)試驗

1. 細胞培養與前處理：

2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid 類緣化合物用 DMSO 溶解，並將一系列不同濃度之化合物儲放於-20 冰箱，待加藥時再解凍。DMSO 之最後濃度需控制在 0.1 % 以下，以避免 DMSO 本身對 HL-60 cells 之影響。而 HL-60 cells (1×10^5 /ml)培養於 24-well 之培養皿中使總體積為 1 ml/ well；並加入各種不同濃度之化合物於溫度 37 、溼度 95 %、5 % CO₂之培養箱中培養 24 小時之後，分別取出作 MTT-proliferation assay 實驗^{41,42}。

2. MTT-proliferation assay：

首先自每個 well 中取出 800 μ l 細胞液離心(1200 r.p.m., 5 min)後，去除上清液，再用 200 μ l HBSS 洗之，接著再次離心(1200 r.p.m., 5 min)後去除上清液，再加入 200 μ l HBSS。自每個 well 取出已去培養基之 50 μ l 細胞培養液置入 96-well plate 中，加入 10 μ l MTT solution 於 37 培養箱培養 4 小時，取出後再使用 DMSO (150 μ l/well)溶解細胞之紫黑色顆粒，最後以 ELISA reader 於波長 570 nm 之條件測得 OD₅₇₀ 值。

$$\text{Proliferation (\%)} = \text{Sample OD}_{570} / \text{Cont. OD}_{570} \times 100 \%$$

(二) 抗發炎活性試驗方法

1. 嗜中性白血球懸浮液之製備

大白鼠(Sprague Dawley, 300-350 g)以 pentobarbital (60 mg/kg)腹腔注射麻醉後，從腹腔中動脈抽取血液(以 100 mM EDTA 當抗凝劑)，與 dextran 混合後在試管中靜置使紅血球沈澱。取上清液離心(400 \times g) 10 分鐘，丟棄

大部份上清液，將沈澱細胞懸浮液輕輕加至含有 Ficoll-Hypage 的試管中，離心(500 × g) 30 分鐘⁴³。將沈澱細胞懸浮 HBSS 離心(700 × g) 10 分鐘，並以低張 NaCl solution (0.05 %)使沈澱細胞中剩餘的紅血球破裂，以去除紅血球^{44, 45}；再用含有 0.25 % bovine serum albumin (BSA)之高張 NaCl solution (1.75 %)清洗並調整至等張，使細胞懸浮於 HBSS 中(1×10^7 cells/ml)，即可製備純度及存活力均大於 95 %的嗜中性白血球懸浮液。

2. 實驗方法

Neutrophil degranulation method

(1) β -Glucuronidase 釋放反應之測定⁴⁶

將嗜中性白血球細胞懸浮液分別與 DMSO 或檢品溶液於 37 培養三分鐘後，個別加入 fMLP (1 μ M)與之作用，混合液經離心(1000 × g)十分鐘後取出上清液，利用上清液中之 β -glucuronidase 與 phenolphthalein- β -D-glucuronide 反應後，經由分光光度計在 550 nm 測量吸光值變化。

(2) Lysozyme 釋放反應之測定⁴⁷

同 β -glucuronidase 釋放反應之處理後，將所得含 lysozyme 之上清液，利用 *Micrococcus lysodeikticus* 細胞作為受質，在分光光度計 450 nm 下測量

β -glucuronidase 及 lysozyme 的釋放表示如下：

$$\text{release \%} = [(\text{release elicited by secretagogue-spontaneous release}) / \text{total content}] \times 100\%$$

(total content 是將細胞懸浮於 Triton X-100 後所測量之值)

Superoxide formation method

(1) Superoxide anion 釋放反應之測定

在 eppendorf tube 中加入嗜中性白血球 0.2 ml (5×10^6 cells/ml)、3 μ M

cytochrome *c* (75 mg/ml)及 test drugs, 在 37 °C 下作用 10 分鐘後, 加入 fMLP (0.3 μM)/cytochalasin B (5 μg/ml)或 PMA (3nM)刺激 20 分鐘後加入 2 μl SOD (1 mg/ml)停止反應; 混合均勻後, 再 10,000rpm 離心一分鐘, 取上清液至於 96 well plate, 再利用 microplate reader 在 550 nm 下測吸光值變化⁴⁸。

(三) 抗過敏活性試驗方法

1. 肥胖細胞懸浮液之製備

大鼠經頸部放血後(exsanguinated rats; Sprague-Dawley, 250-300 g), 將 10 ml 含肝素之 Tyrode's solution A 注入鼠腹腔內, 按摩 1-2 分鐘並取出腹腔溶液, 經 38 %牛血清蛋白溶液離心, 沉澱細胞經清洗後, 以 Tyrode's solution B 懸浮成每毫升 $1-1.5 \times 10^6$ 個細胞^{49, 50}, 並測定細胞存活率⁵¹。

2. 實驗方法

Mast cell degranulation method

(1) 組織胺(Histamine)釋放反應之測定⁵²

將此肥胖細胞懸浮液分別與 DMSO 或檢品溶液於 37 °C 培養 3 分鐘, 個別加入 compound 48/80 (10 μg/ml)與之作用, 經 15 分鐘後, 加入冰浴過之 Tyrode's solution 終止反應, 混合液經離心(1000 ×g)十分鐘後取出上清液, 利用上清液中所含之組織胺與 *o*-phthaldehyde 聚合後以螢光分光光度計在 350/450 nm 處測量吸光值的變化。

*Compound 48/80: a polymer of *N*-(*p*-methoxyphenylethyl)methylamine with formaldehyde

(2) β-Glucuronidase 釋放反應之測定⁴⁶

同 histamine 釋放反應, 將所得含 β-glucuronidase 之上清液, 利用 phenolphthalein-β-D-glucuronidase 作為受質, 以分光光度計在 550 nm 下測量吸光值的變化。

Histamine 及 β -glucuronidase 的釋放表示如下：

release % = (release elicited by secretagogue-spontaneous release) / total content x 100

(total content 是將細胞懸浮於 Triton X-100 後所測量之值)

(四) NO (nitric oxide)及 TNF-a 試驗方法

1. 材料

- (1) Iscove's Modified Dulbecco's Medium 與牛胚胎血清(fetal bovine serum, FBS)：購自 Gibco BRL (Gaithersburg)
- (2) TNF-a ELISA kit：購自 Genzyme Co. (MA)
- (3)干擾素- γ (interferon- γ , IFN- γ)：購自 R & D Systems (MN)
- (4) RAW 264.7 mouse macrophage-like cell line：購自 American Type Culture Collection, MD.
- (5) Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)與犢胚胎血清(fetal calf serum)：購自 Gibco BRL (Gaithersburg)
- (6) 其餘試藥皆購自 Sigma (St. Louis, MO.)

2. 細胞培養與前處理⁵³

Murine microglial cell lines N9 係以含有 5 % FBS 與抗生素之 Iscove's Modified Dulbecco's Medium 培養；在前處理的部分，首先將細胞與代測藥物於 37 °C 混合一小時，之後再以 10 ng/ml 的 LPS (*Escherichia coli*, serotype 0111: B4)加 10 U/ml IFN- γ 刺激 24 小時，取出一部分 medium 測 NO，其餘可保存於 -70 °C 下，待需要測 TNF-a 時才取出。

RAW 246.7 mouse macrophage-like cell line 則以含 10 % fetal calf serum、100 units/ml penicillin 與 100 μ g/ml streptomycin 之 DMEM 培養在前

處理的部分，首先將細胞與待測藥物於 37 混合一小時，之後再以 1 µg/ml 的 LPS (*Escherichia coli*, serotype 0111: B4)刺激 24 小時，取出一部分 medium 測 NO，其餘可保存在 -70，待需要測 TNF-a 時才取出。

3. NO 之測定⁵⁴

依序將 40 µl 5 mM 的 sulfanilamide、10 µl 2 M HCl 及 20 µl 40 mM naphthylenediamine 加入 150 µl 培養基中，於室溫下混合 10 分鐘後，以 microplate reader 550 nm 下測其吸光值變化。一氧化氮標準曲線則以 NaNO₂ 於相同條件下所求得。

4. TNF-a 之測定

培養基中的 TNF-a 測定係使用 ELISA，依照廠商提供之操作步驟進行測定。