

第一章 緒論

本研究之標的化合物 2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-one (**2-PN**)類衍生物之細胞致毒活性與抑制微管蛋白聚合作用活性優越,惟其合成條件嚴苛,產率不佳,於是著手重新尋找合成條件,並試圖解決溶解度不佳等問題,以利動物實驗。遂先將 2-PN 之相關研究敘述如下,做為本研究的背景資料。

第一節 2-Phenyl-1,8-naphthyridin-4-one 之研究概況

在 1986 年,Cheng¹等學者提出三環化學結構模式(tricyclic chemical structural pattern)具有 antineoplastic activity。如 Fig. 1 所示,其結構上特徵為 naphthalene 母核之第 2 位置上接上 phenyl ring (A)或是由各式各樣的異環單元(heterocyclic units)組合而成。此外,如 tricin (B)及 kaempferol (C)等自天然植物取得的黃酮類(flavonoids)具有 antimutagenic²、anti-leukemic³等活性,並於 1995 年得知這些活性與微管蛋白(microtubules)的相關性:天然物 3',5-dihydroxy-4',3,6,7,8-pentamethoxy flavonone (D)具有很強之抑制 colchicine 與微管蛋白的結合作用(inhibition of colchicines binding; ICB)活性。因此我們將 flavonoid 環上的氧原子替換成氮原子,即 azaflavone (E)以此為基本骨架設計並合成了一系列 2-phenyl-4-quinolones (2-PQ)類緣化合物,並與美國北卡羅萊納大學藥學院李國雄教授及 E.Hamel 等學者合作,進行 cytotoxicity, inhibition of tubulin polymerization (ITP)及 inhibition of colchicine binding (ICB)活性測試,發

現與 colchicine 相似，但其 ITP 及 ICB 並未呈現相對應之關係。另外，亦委託美國 NCI 以 patterns of differential cytotoxicity toward human tumor cell lines 方式確認這類衍生物之作用模式，推測是一類化學結構模式新穎的抗有絲分裂劑(antimitotic agent)⁴。遂後更陸續合成更多類緣化合物，如 2-phenylnaphthyridin-4-ones、multiple substituted 2-phenylquinolin-4-ones、2-phenylquinazolin-4-ones、tetrahydro-2-phenylquinolin-4-ones，以供建立更完整的結構與活性關係(structure activity relationships; SAR)⁵⁻¹¹。

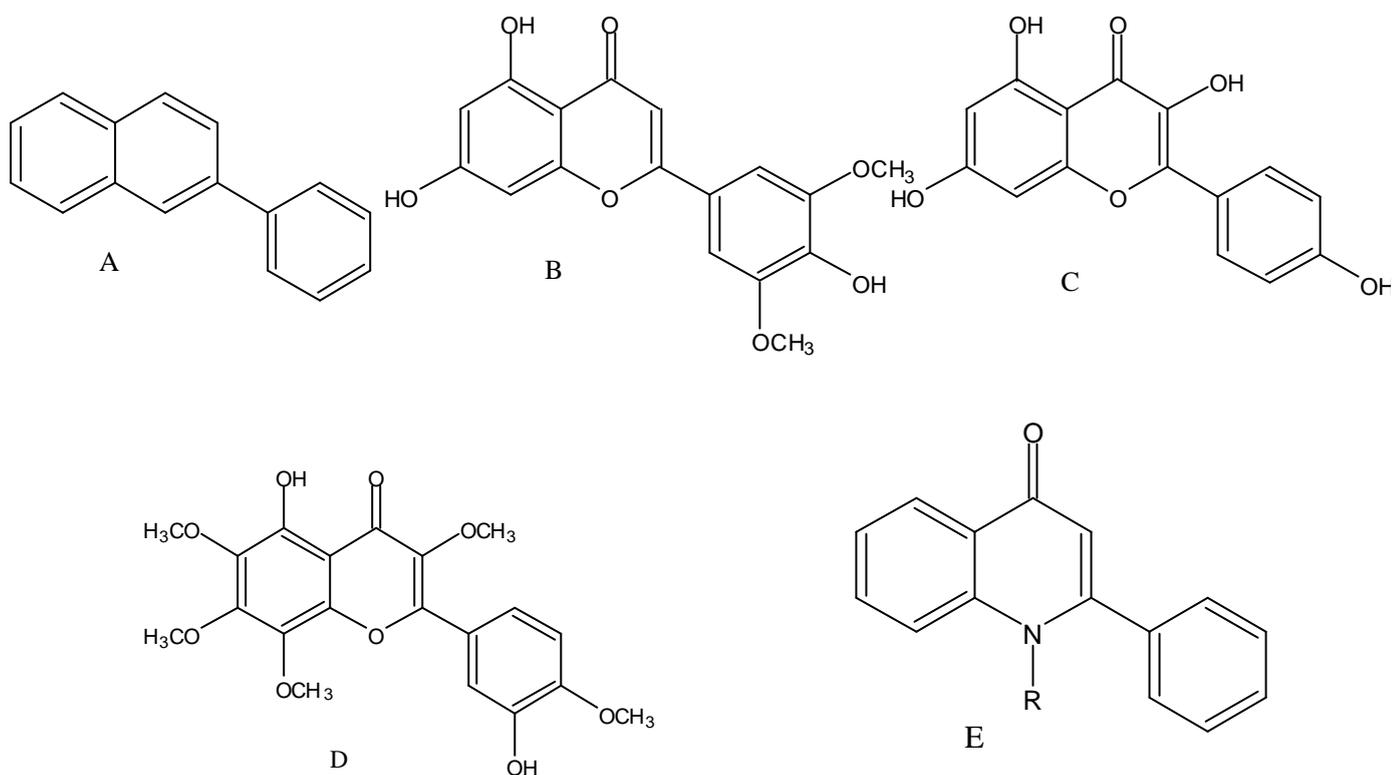


Fig. 1 Tricyclic chemical structural pattern

另外，本實驗室研究之 PQ 類緣化合物，[PQ (2-phenyl-4-quinolones)、DHPQ (2,3-dihydro-2-phenyl-4-quinolones)、PN (2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-one)、PQZ (2-phenylquinazolin-4-one)、DHPQZ (2,3-dihydro-2-phenylquinazolin-4-one)]¹²⁻¹⁵ (Fig. 2) 在微管聚合抑制之構效關係如下所述：

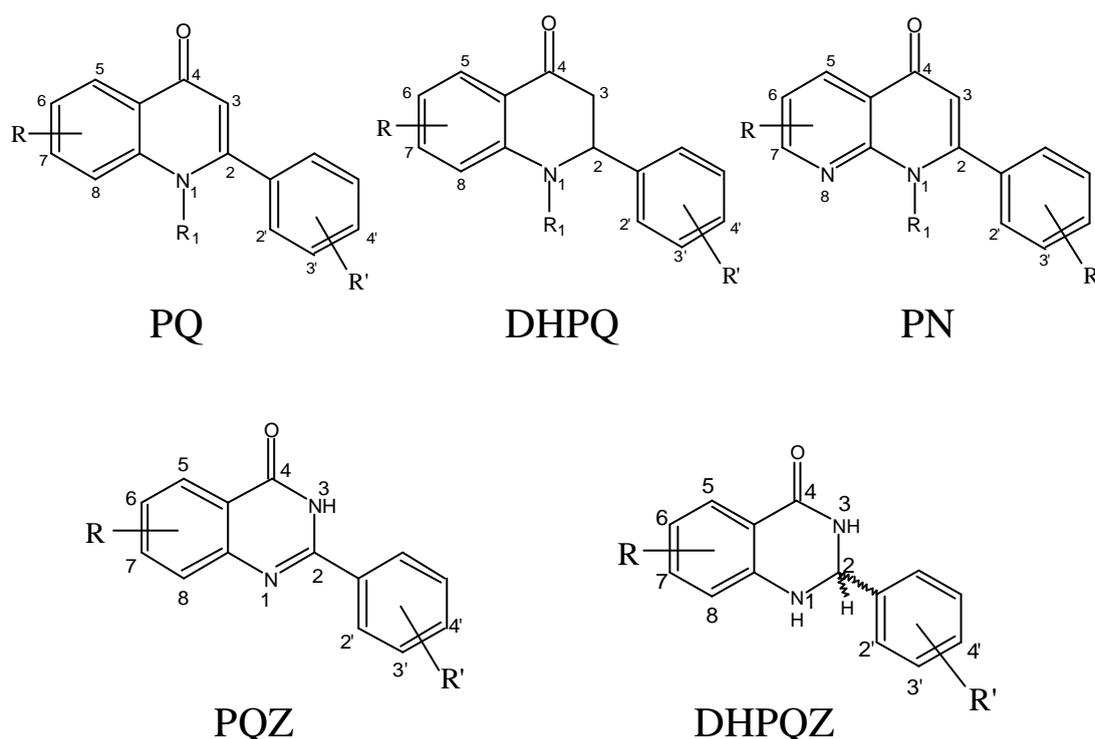


Fig. 2 2-Phenyl-4-quinolone analogus

(A) 2-Phenyl-4-quinolone (PQ)類衍生物之結構與抑制微管蛋白聚合活性的關係：

近年來本研究室設計並合成一系列 2-phenyl-4-quinolones (PQ)類緣化合物，以作為新穎之抗有絲分裂劑，這系列化合物之細胞致毒活性與抑制微管蛋白聚合活性有相對應的關係。此類 PQ 類緣化合物在結構上

皆具有一個由 A 環和 C 環所組合而成的 biaryl 系統，而 A 環和 C 環之間的銜接是插入一個 B 環或有時是由一碳氫鍵橋連接在一起。當 A 環的第 6 位置及 C 環的第 3' 位置取代為含有未共用電子對的官能基取代時，具有優越之細胞致毒活性。而且這兩個官能基間的距離約為 10 ~ 11 Å，這樣的結構特性可能是化合物藉由這些官能基與微管作用部位產生氫鍵鍵結，故這些官能基在 PQ 類化合物之活性上具有顯著之貢獻。

(B) 2,3-Dihydro-2-phenyl-4-quinolone 類衍生物(DHPQ)之結構與抑制微管蛋白聚合活性的關係：

在 2,3-dihydro-2-phenyl-4-quinolones (DHPQ)¹⁶⁻¹⁷ 系列中，也有不少衍生物具有微管蛋白聚合抑制活性，且對腫瘤細胞 [例如迴盲腸細胞(HCT-8)、乳癌(MCF-7)、肺癌(A-549)、鼻咽表皮樣癌(KB)、前列腺癌(PC-3)、人類卵巢癌(1A9)、骨癌(HOS)、神經膠母細胞癌(U87-MG)、P-gp-表現之鼻咽表皮樣癌(KB-VIN)、黑色素瘤(SK-MEL-2)等細胞] 也具有 cytotoxicity。一旦改變第 6 位置及第 3' 位置的取代，則會和 PQ 系列一樣對其活性也有明顯的影響。此類結構在第二位置上有一個 chiral center，所以有兩個 enantiomers，從藥理數據看來，optically pure (-) isomers 比 racemate 或 (+) isomers 具有較強的 antitubulin 活性及 cytotoxicity。

(C) 2-Phenyl-1,8-naphthyridin-4-one (PN)¹⁸⁻¹⁹ 衍生物之結構與抑制微管蛋白聚合活性關係：

PN 類化合物具有很強之 cytotoxicity，同時擁有相當強度的微管蛋白聚合抑制活性。然而一旦此類化合物第 3'位置的取代被固定後，(如 -OCH₃、-Cl 等)，由藥理數據來看，則第 6 位置上的取代基對活性之重要性似乎就不那麼明顯，此發現是 PN 類衍生物特有的，這和 PQ 及 DHPQ 系列大不相同。

(D) 2-Phenyl-quinazoline-4-one (PQZ)²⁰⁻²³ 衍生物之結構與抑制微管蛋白聚合活性關係

此類結構最主要差異在於 B 環多了一個氮原子，其對 tubulin 的抑制活性與細胞致毒性結果具有一致性，且發現 3'位置上-OCH₃ 取代時，活性遠比 2'或 4'位有-OCH₃ 取代強許多，而具有兩個-OCH₃ 取代時，則活性明顯降低。並且發現其中另一項產物 DHPQZ 之(-)-isomers 的活性比(+)-isomers 強。

第二節 微管簡介

微管在胞質中形成網狀結構，微管是由 13 條原纖維(protofilaments)組成的中空管狀結構(Fig. 3)。每一條原纖維由微管蛋白(tubulin)二聚體組合而成，微管蛋白二聚體由結構相似的 α 及 β 微管蛋白所組成。微管外徑為 25 nm，內徑為 15 nm，壁厚為 10 nm。微管長度從 1 μm 至數 μm 不等。 α 及 β 單位的分子量約為 55000 道爾頓，而微管蛋白二聚體的分子量約為 110000 道爾頓。微管蛋白二聚體具有兩個 GTP (guanosine triphosphate)結合點，一為 N 位點(N-site)，位於 α 微管蛋白，另一個為 E 位點(E-site)，位於 β 微管蛋白。N 位點結合一分子 GTP，在微管聚合過程中，不被水解，也不被游離的 GTP 進行交換(Non-exchangeable)。E 位點可結合一分子 GTP，可以與溶液中 GTP 進行交換²⁴。當微管蛋白二聚體結合到微管時，這 GTP 可被水解為 GDP。而微管結合蛋白(microtubule-associated proteins) (Fig. 5)分為 MAP1、MAP2 及 Tau 蛋白，常伴隨著微管蛋白存在，能促進微管聚合，增加微管穩定性及強度，促進微管組裝。

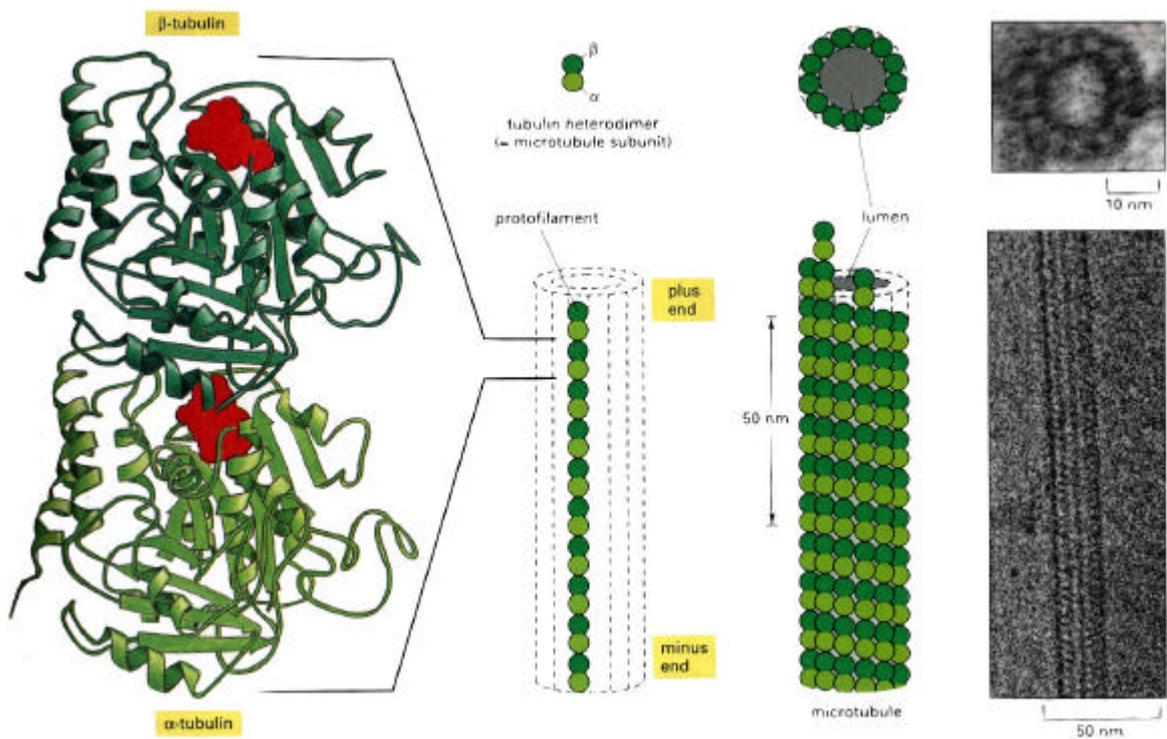


Fig. 4 微管原纖維(protofilaments)及由 α 及 β 微管蛋白所組成之微管蛋白二聚體²⁵

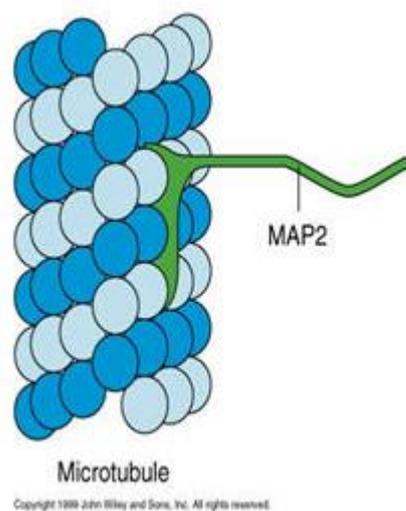


Fig. 5 微管結合蛋白(microtubule-associated proteins)²⁶

微管主要功能

1. 支架作用 - 構成細胞網架，維持細胞構型，固定與支持胞器位置。
2. 胞內運輸 - 參與細胞內物質運輸，破壞微管會抑制細胞內的物質運輸。與微管結合而起運輸作用之蛋白，驅動蛋白 kinesin，動力蛋白 dynein，兩者均需 ATP 提供能量。
3. 形成紡錘體 - 紡錘體是一種微管構成的動態結構，其作用是在分裂細胞中牽引染色體到達分裂極 (spindle pole)。
4. 細胞收縮與偽足運動 - 微管是纖毛與鞭毛等細胞運動器官的基本結構成分。
5. 微管與其他細胞器的關係密切：微管在核周圍特別密集，並由此向細胞質的外圍伸展，同時與核膜有接觸聯繫。核孔的生理功能與微管有關。微管在粒線體的周圍常可見，並與粒線體的長軸平行排列，有橋與粒線體相連。有人也發現微管與高爾基體的小泡相連，並認為與物質運輸有關。

第三節 2-PQ 類緣化合物之合成方法

(一) 6-Pyrrolinyl-DHPQ與6-pyrrolinyl-PQ之合成²⁷⁻²⁸

(1) 2-Amino-5-pyrrolinylacetophenone 之合成

如Scheme 1所示，首先硝化3-chloroacetophenone，接著以pyrrolidine處理，進行親核性取代，繼而將硝基還原成胺基，則可獲得起始原料2-amino-5-pyrrolinylacetophenone。

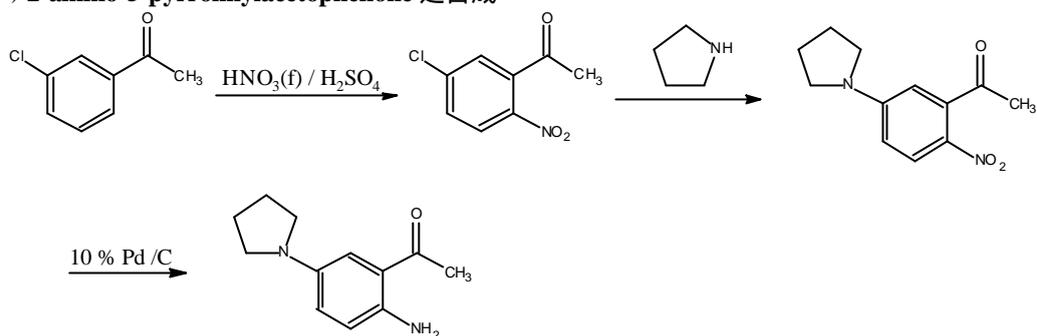
(2) 6-Pyrrolinyl-DHPQ derivatives 之合成

如 Scheme 1 所示，取 2-amino-5-pyrrolinylacetophenone 與 substituted benzaldehyde 以酸鹼處理環化成為 6-pyrrolinyl-DHPQ derivatives。

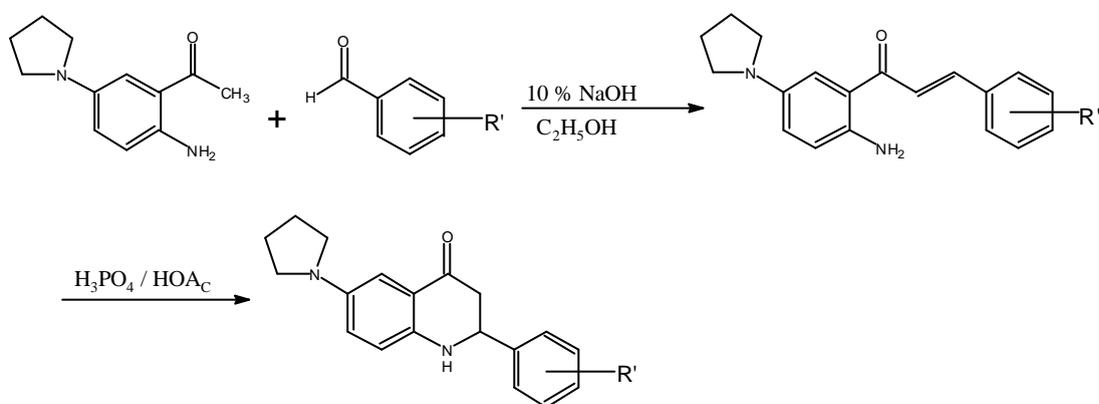
(3) 6-Pyrrolinyl-PQ derivatives 之合成

如Scheme 1所示，取化合物與substituted benzaldehyde作用生成amide linkage，繼而在強鹼下進行環化，則可獲得6-pyrrolinyl-PQ derivatives。

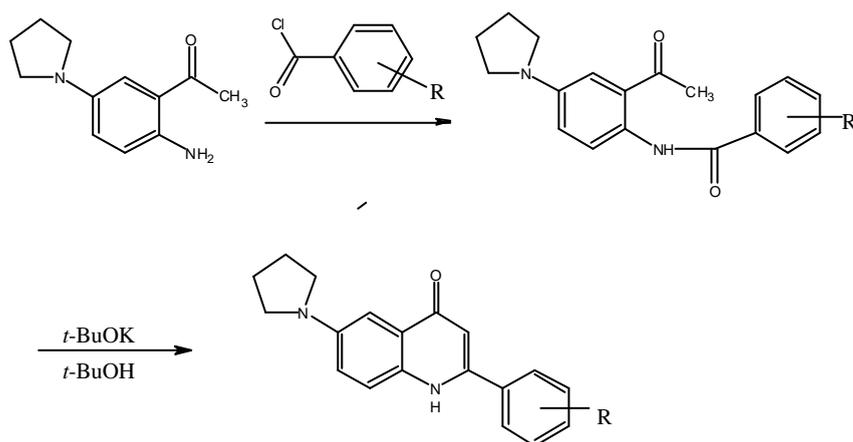
(1) 2-amino-5-pyrrolinylacetophenone 之合成



(2) 6-pyrrolinyl-DHPQ derivatives 之合成



(3) 6-pyrrolinyl-PQ derivatives 之合成



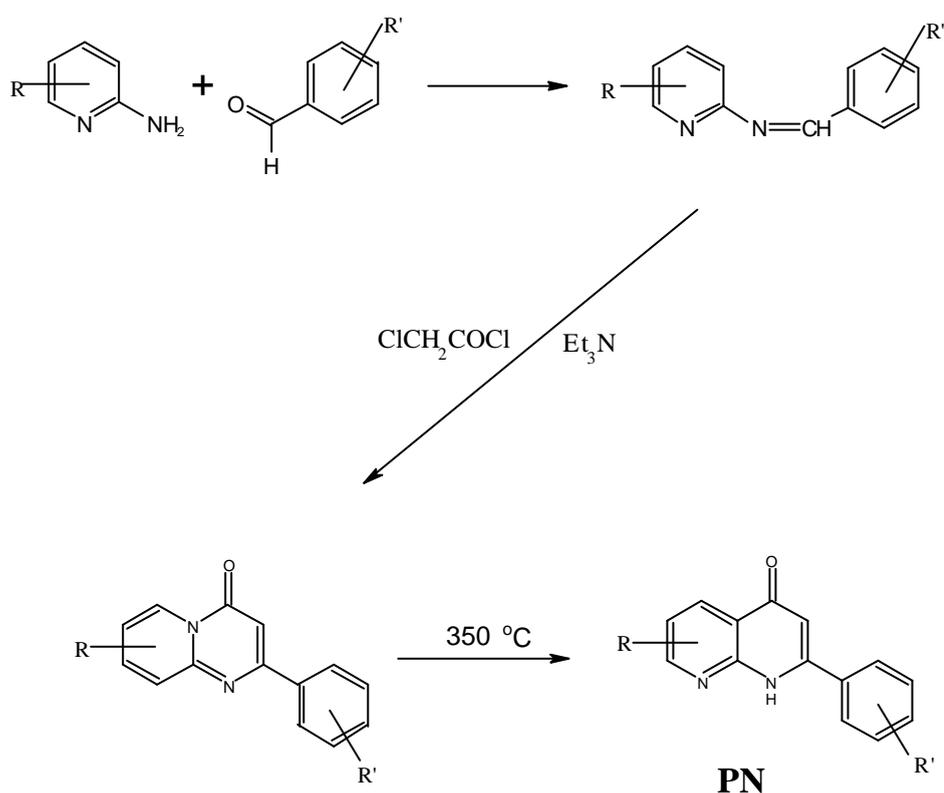
Scheme 1

(二) PN 之合成

方法 A¹⁸

如Scheme 2所示，取substituted 2-aminopyridine與substituted benzaldehyde 縮合為2-(arylideneamino)pyridine，接著與chloroacetyl chloride作用則可環化為2-phenylpyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one，在高溫350 之下，產生重排成為PQ類緣衍生物PN。

方法 A

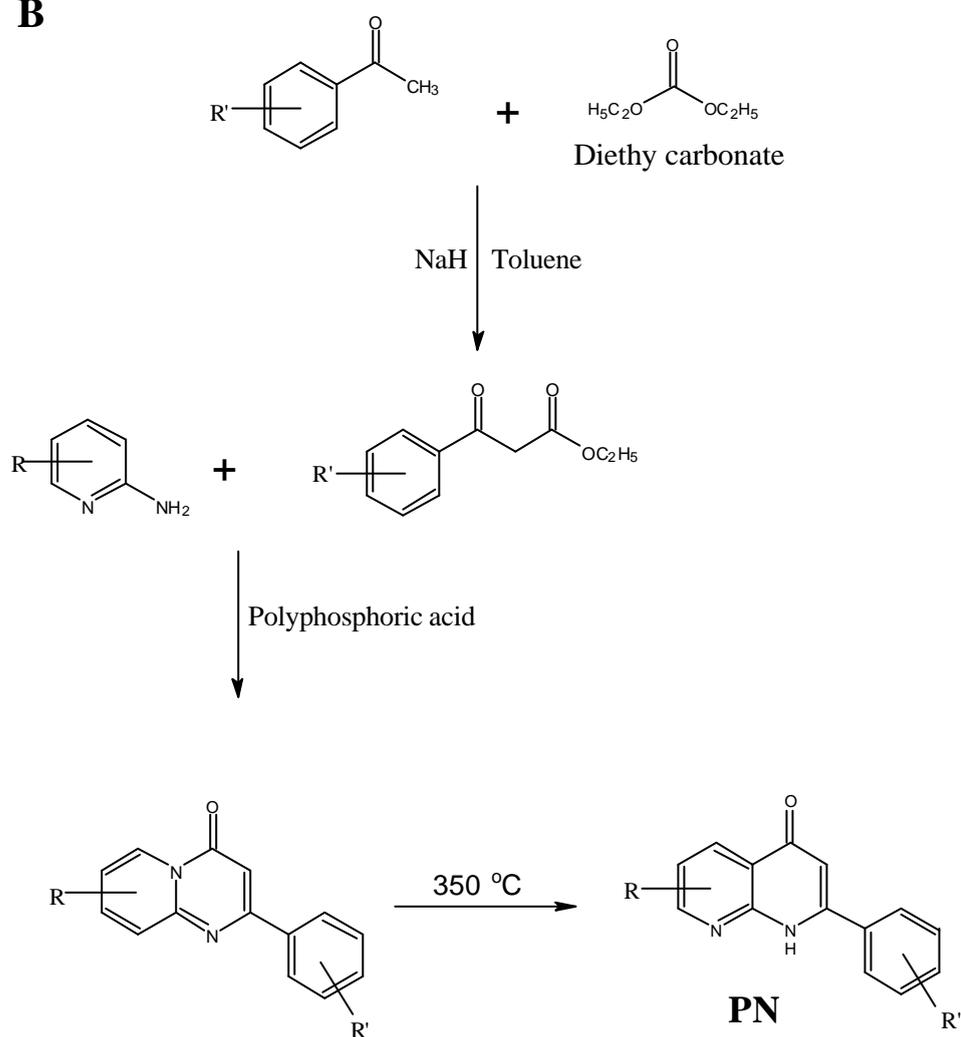


Scheme 2

方法 B¹⁸⁻¹⁹

如 **Scheme 3** 所示, 取 substituted 2-aminopyridine 與 substituted ethyl benzoyacetate 在 polyphosphoric acid (PPA) 之下環化為 2-phenylpyrido-[1,2-*a*]pyrimidin-4-one, 再以 350 °C 高溫產生分子重排, 得到 PQ 類緣衍生物 **PN**。

方法 B

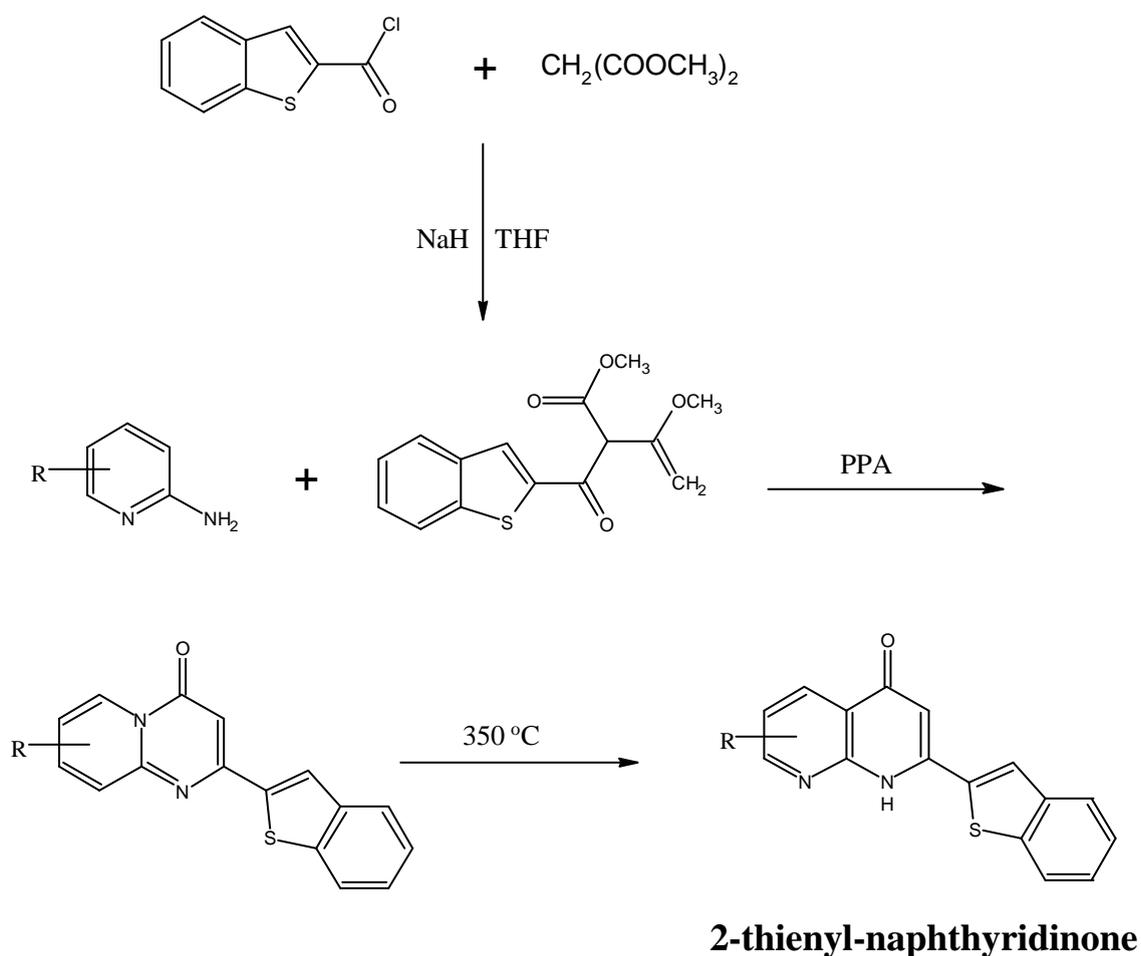


Scheme 3

(三) 2-PN 類緣衍生物 2-thienyl-naphthyridinone 之合

成²⁹

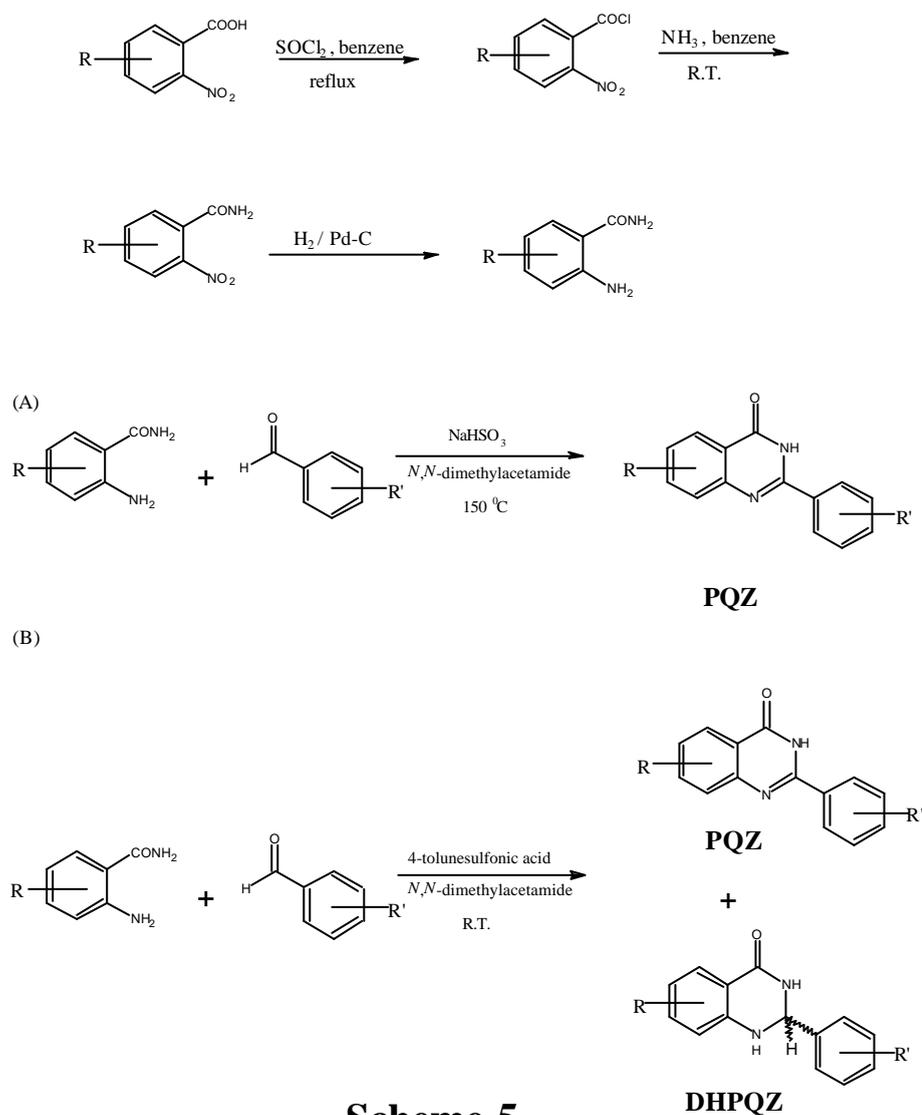
如 **Scheme 4** 所示，取 benzo[*b*]thiophene-2-carbonyl chloride 與 dimethyl malonate 縮合為 benzo[*b*]thiophene-2-carbonylmalonate，稍後之處理與一般合成 PN 方法相同，即在 PPA 中與 substituted 2-amino-pyridine 環化，並在高溫 350 °C 下產生分子重排成為 **2-thienyl-naphthyridinone**。



Scheme 4

(四) PQZ 與 DHPQZ 之合成²¹

如 Scheme 5 所示,取 substituted-2-nitroenzoic acids,先以 thionyl chloride 氯化,再以濃氨氣體產生 amide,隨後將硝基還原成胺基,合成 PQZ 及 DHPQZ 所需要的起始原料 substituted 2-amino-benzamides。接著以 DMAC (*N,N*-dimethylacetamide)為溶媒,以不同的反應條件(A) 150 °C、NaHSO₃ (B)室溫、*p*-toluenesulfonic acid,與 substituted benzaldehyde 產生環化反應,可得 PQ 類緣衍生物 PQZ 與 DHPQZ。



Scheme 5

第四節 研究目的與動機

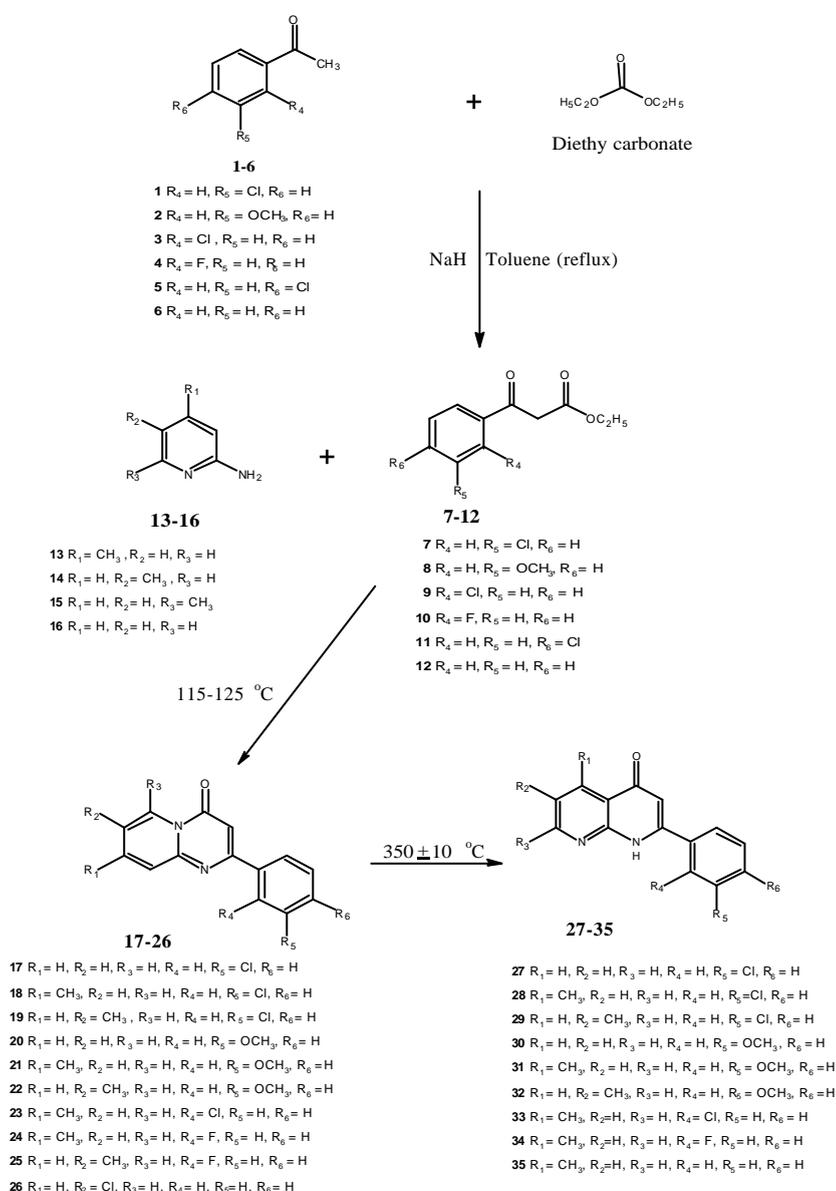
如第三節所述，PN 的合成方法最後一個步驟皆需要加熱至 350℃，熱解然後重新環化，這步驟的反應條件不易控制，溫度過高容易焦化，溫度稍低則反應不能進行。所以要製備多量的檢品提供動物試驗始終都未能如願。

本研究主要目的在於重新檢討這熱解及重新環化的穩定反應條件，以便大量製備標的化合物，一則可以提供多種生物活性測試，再則可以作為衍生物合成的主要中間體。另一方面，過去我們所合成的 PN 類化合物雖具有強力的細胞致毒活性，但因水溶性不佳，對動物試驗以及將來的臨床應用均有不便之處，於是著者在本研究中就將所合成的主要中間體 PN 進一步衍生成可形成 sodium salt 之前藥(prodrugs)以供動物試驗之用。

第二章 結果與討論

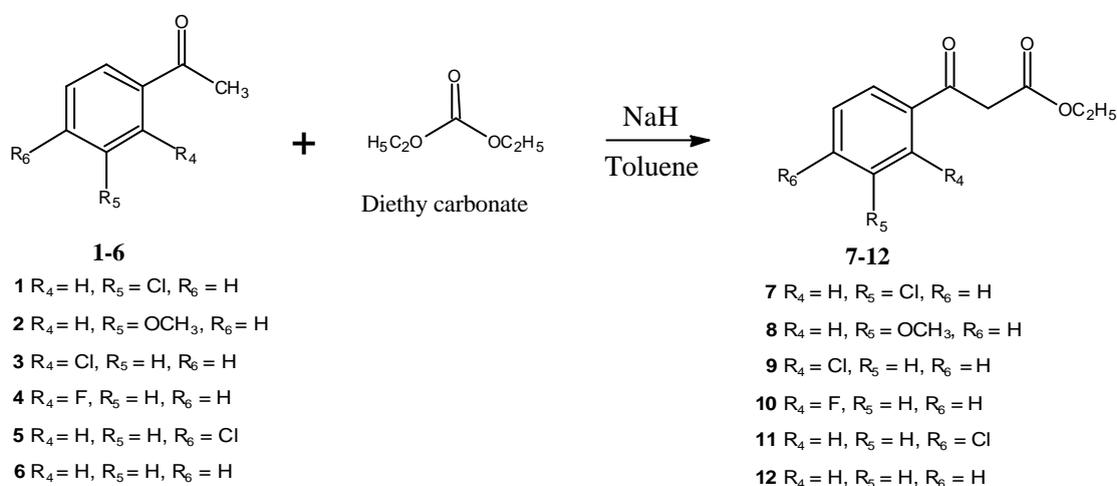
第一節 化學合成

本研究之合成途徑係參考本研究室所提出之方法¹⁸⁻¹⁹，於 2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-one 母核 5、6 位置上作甲基取代，2'、3'位置作多樣性的-F、-Cl、-OCH₃取代，如 Scheme 6 所示：



Scheme 6

(一) 2,3,4-Substituted ethyl benzoylacetate (7-12)之合成

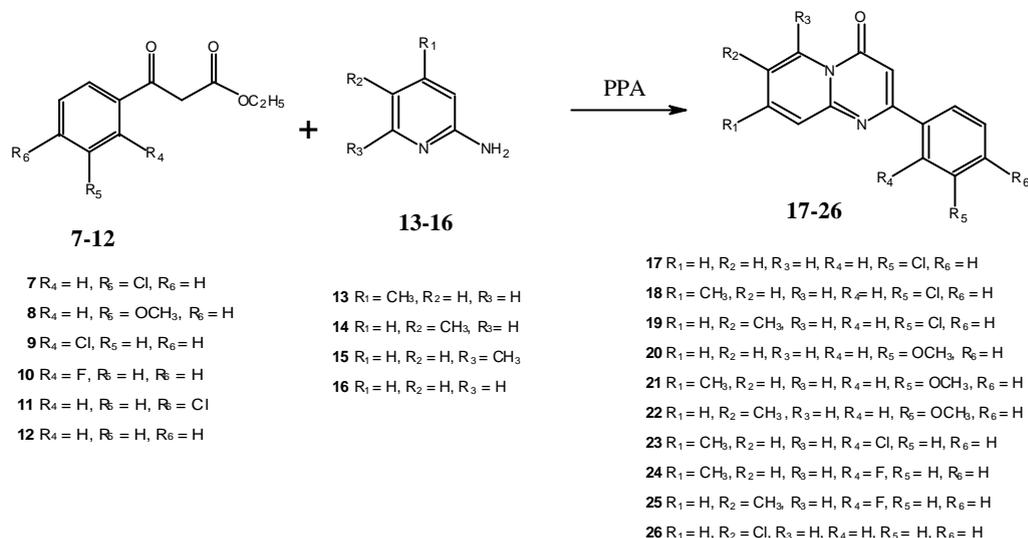


Scheme 7

此類化合物之合成說明如下：

如Scheme 7所示，首先以substituted acetophenone (1-6)為起始原料，甲苯為溶媒，以鹼性極強之氫化鈉(sodium hydride)，提取substituted acetophenone 之 位上之氫，接著與 diethyl carbonate進行反應，以甲苯萃取，以管柱層析法($CHCl_3$ 為沖提溶媒)分離，可得化合物substituted ethyl benzoylacetate (7-12)之黃色稠狀液體。

(二) 6,7,8,2',3',4'-Substituted phenylpyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (17-26)之合成



Scheme 8

此類化合物之合成說明如下：

如Scheme 8所示，秤取substituted ethyl benzoylacetate (7-12)，加入適量Polyphosphoric acid (PPA)，在高溫350 下與substituted-2-aminopyridine (13-16)進行熱環化反應，以 CH_2Cl_2 萃取出，以管柱層析法分離，以丙酮再結晶，可得化合物substituted phenylpyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-ones (17-26)。

其結構鑑定以化合物22為例敘述如下：

化合物22之結構鑑定：

化合物22為黃色晶體，熔點163-164 。

(1)元素分析: 由元素分析結果及配合質譜(EIMS)(圖22-1)分子離子峰 (m/z 266)得知此化合物分子式為 $C_{16}H_{14}N_2O_2$ ，與預期相符。

(2) IR圖譜(圖22-2) (KBr)：於 1708 cm^{-1} 處有carbonyl group (C=O)伸展振動吸收峰，且於 3079 cm^{-1} 處有aromatic (C-H)伸展振動吸收峰。

(3) λ_{max} (CHCl_3) nm (log ϵ)：於331.2 (4.24)處有最大吸收

(4) NMR圖譜: NMR溶媒為chloroform- d_1 (CDCl_3)

(a) ^1H -NMR圖譜(圖22-3)

其積分值顯示，可知此化合物有14個氫。由其化學位移、偶合情形，可將其質子訊號(proton signals)依序歸屬如下：在高磁場出現之 2.40 (3H, d , $J = 0.8\text{ Hz}$)，應歸屬為 CH_3 之質子訊號，而因O陰電性原子去遮蔽效應之影響，出現於 3.86 (3H, s)，則歸屬於 OCH_3 之訊號。而 [1,2- a]pyrimidin-4-ones雜環上之質子訊號，出現在較高磁場之 6.84 (1H, s)，則歸屬於H-3之質子訊號。就苯環上之質子而言， 7.00-7.02 (1H, m)及 7.36 (1H, dd , $J = 8.1, 8.2\text{ Hz}$)由裂解模式及化學位移分別歸屬於H-4'及H-5'，而因羰基去遮蔽效應之影響，出現於低磁場 8.84 (1H, s)，歸屬為H-6，而剩餘之 7.58-7.63 (4H, m)，則歸屬於H-2'、H-6'、H-8、H-9。

(b) ^{13}C -NMR圖譜(圖22-4): $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ 一共有16個碳原子，由圖譜顯示有16個碳原子訊號，與分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ 結果相符。

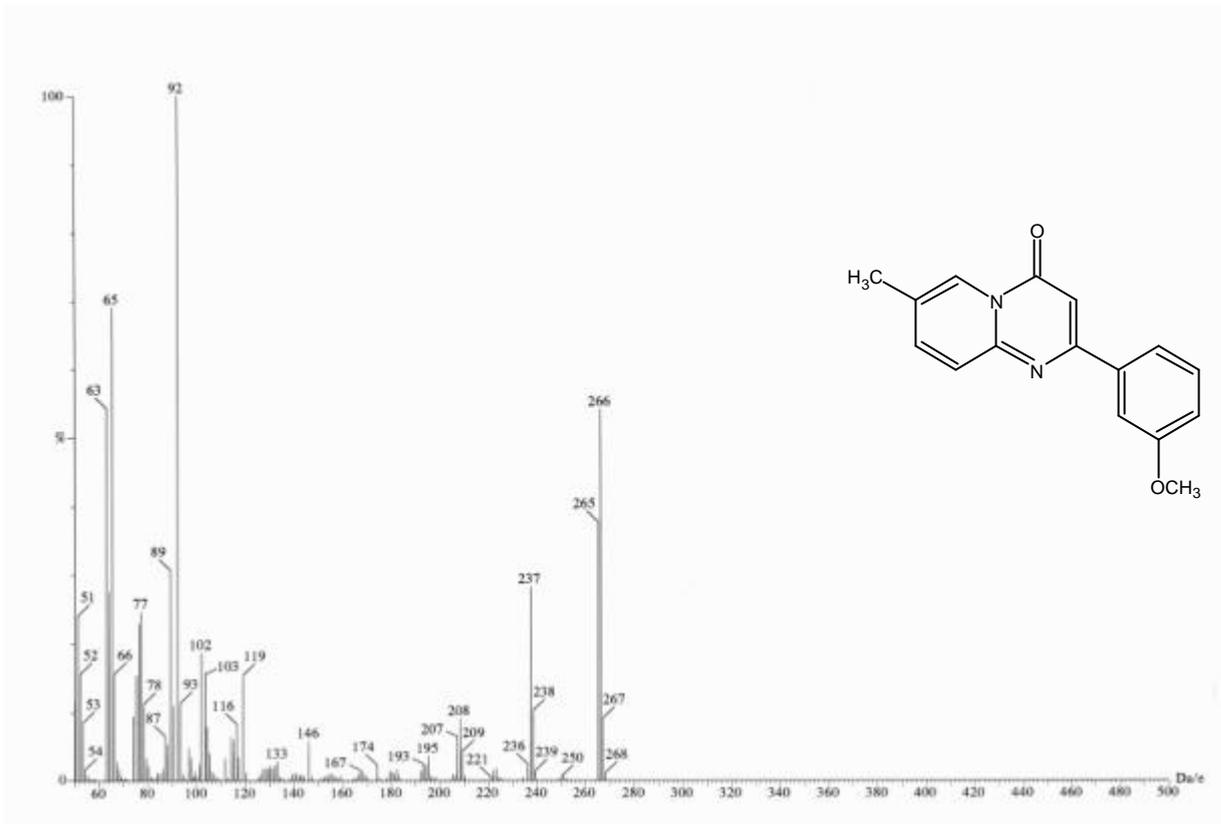


圖 22-1 化合物 22 之質譜圖譜(EIMS)

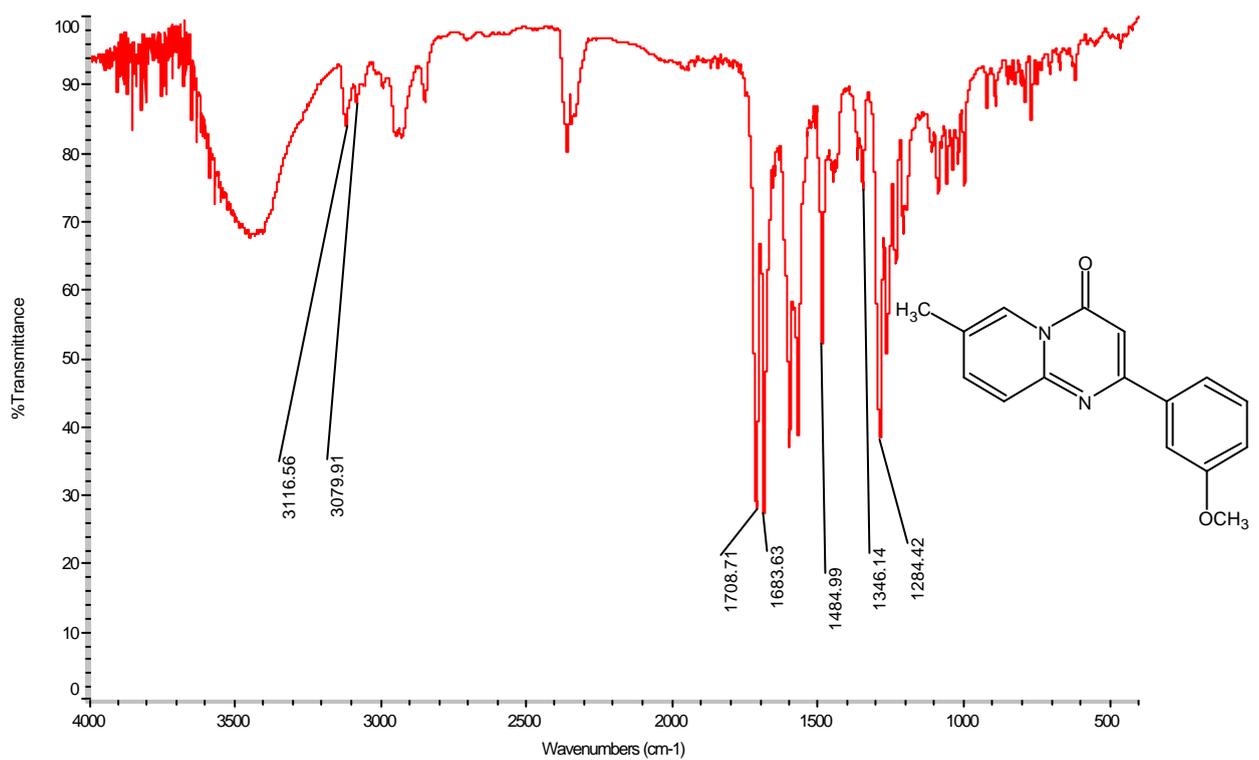


圖 22-2 化合物 22 之 IR 圖譜

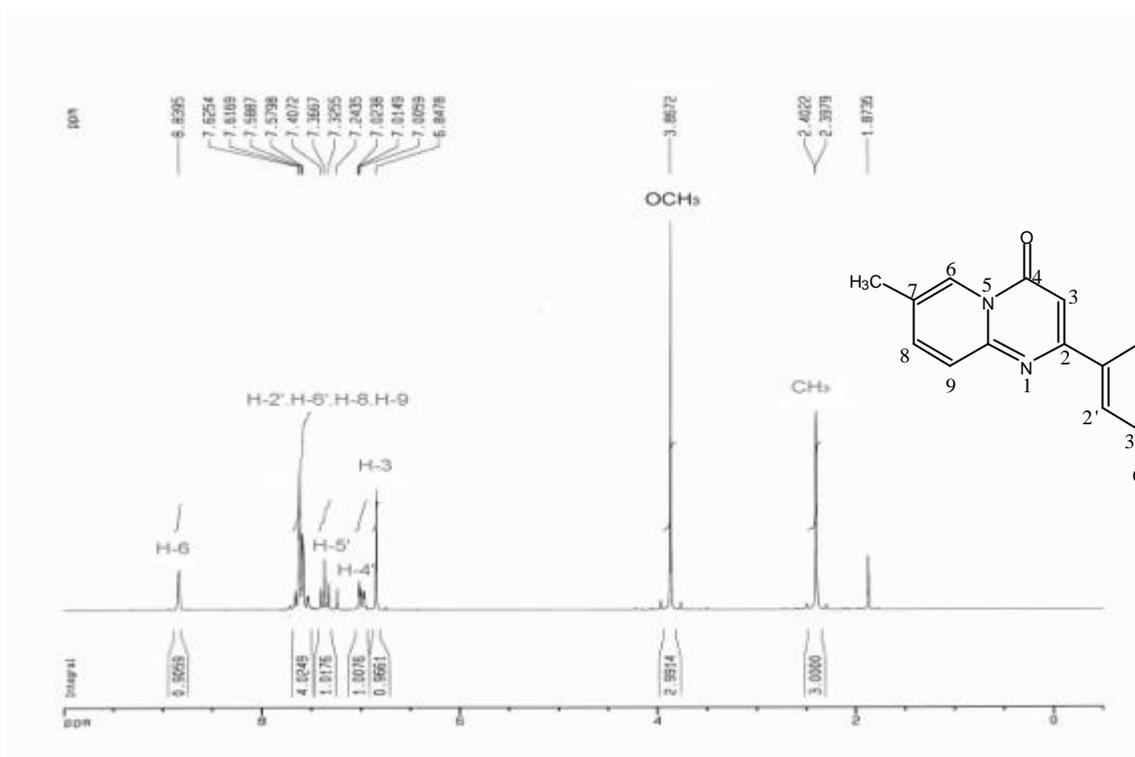


圖 22-3 化合物 **22** 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 200 MHz)

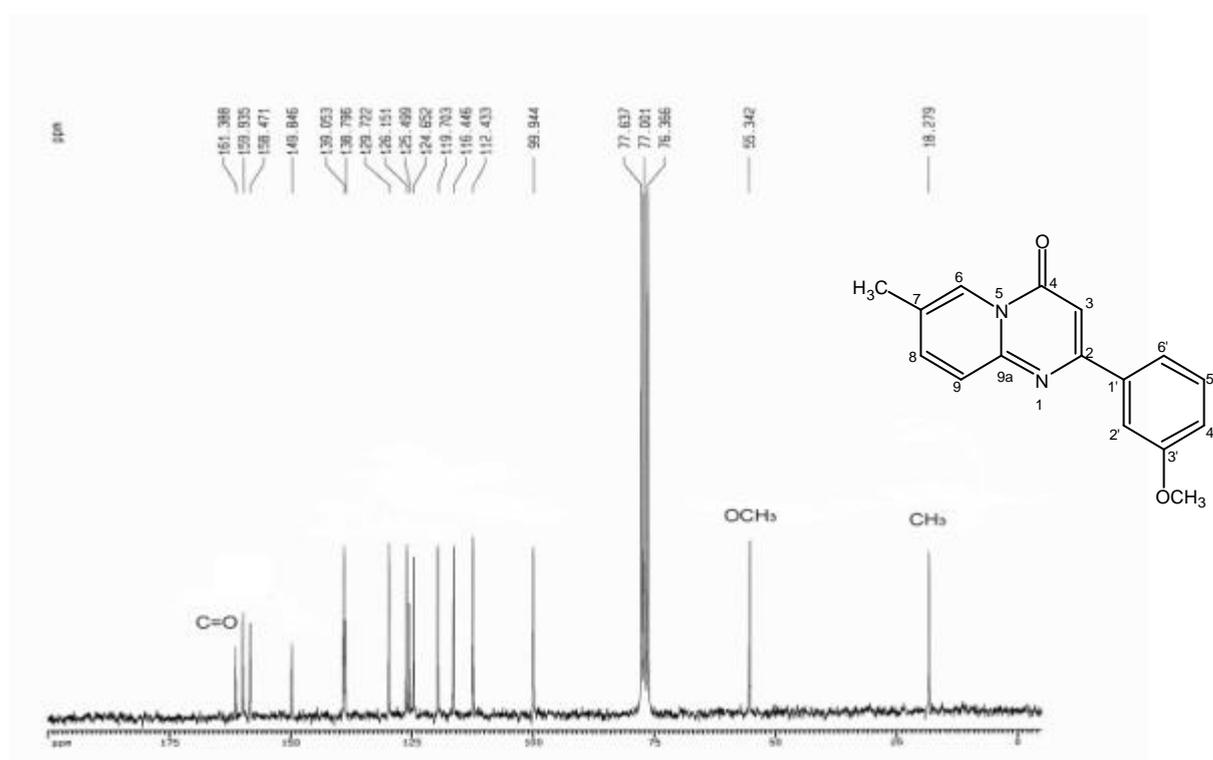
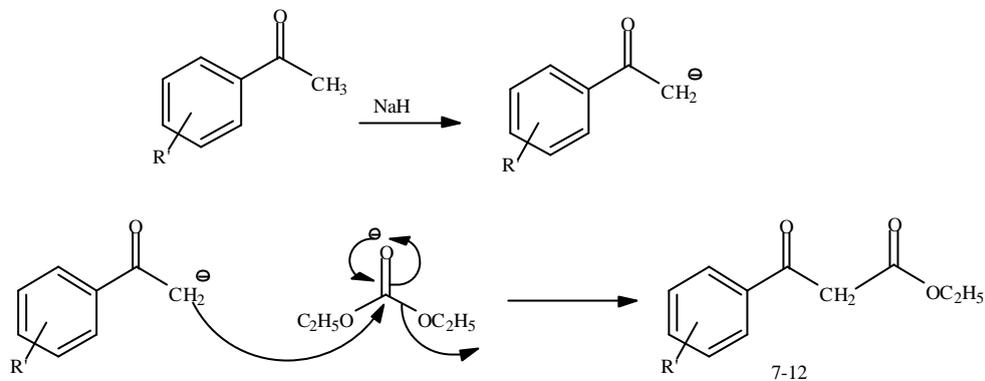


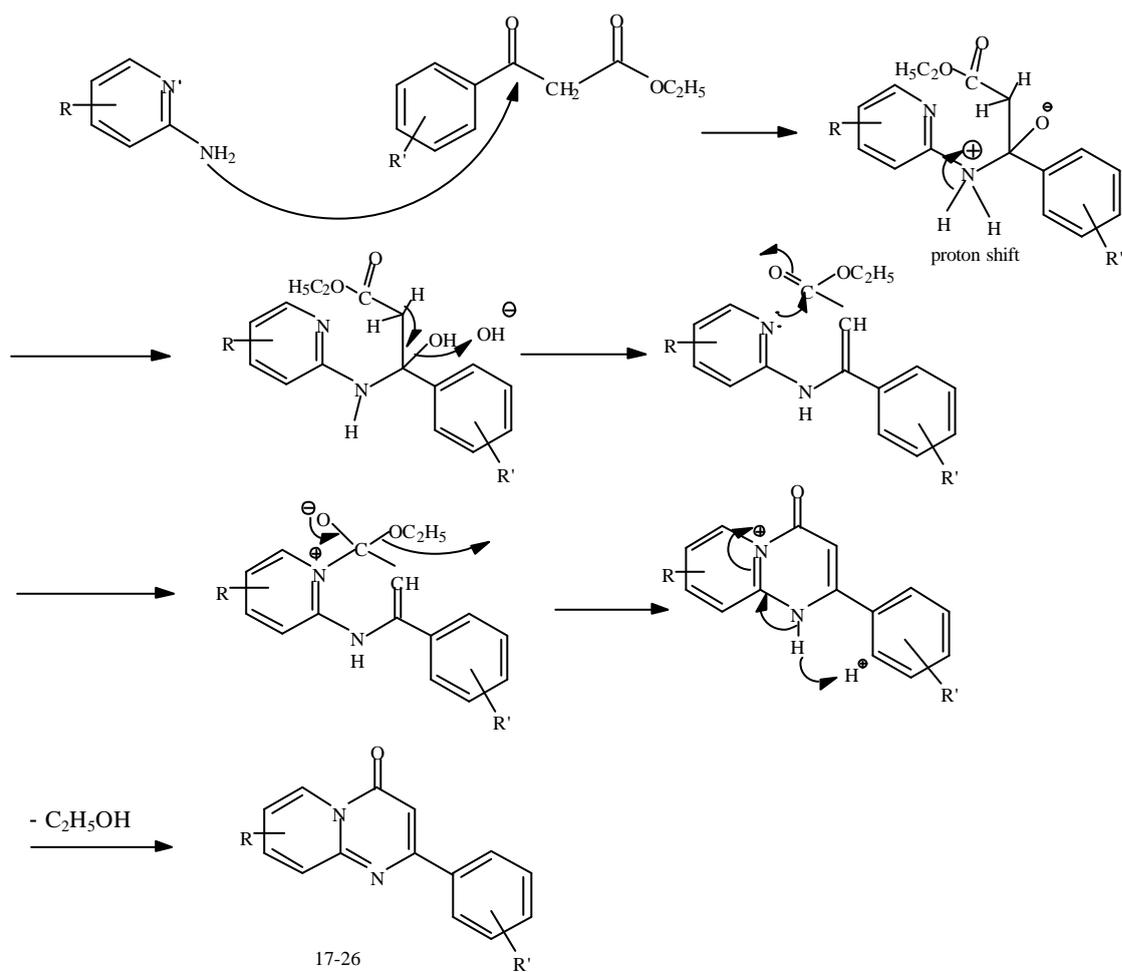
圖22-4 化合物**22**之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

Ethyl benzoylacetate (7-12)與phenylpyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (17-26)

之合成機轉，分別如Scheme 9-1及Scheme 9-2所示。

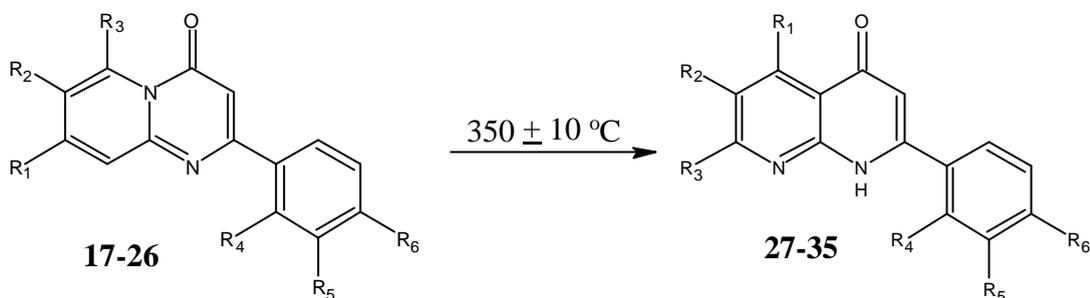


Scheme 9-1



Scheme 9-2

(三) 5, 6, 7, 2', 3',4'-Substituted-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4(1H)-ones (27-35)之合成



17 R₁ = H, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = Cl, R₆ = H

18 R₁ = CH₃, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = Cl, R₆ = H

19 R₁ = H, R₂ = CH₃, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = Cl, R₆ = H

20 R₁ = H, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = OCH₃, R₆ = H

21 R₁ = CH₃, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = OCH₃, R₆ = H

22 R₁ = H, R₂ = CH₃, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = OCH₃, R₆ = H

23 R₁ = CH₃, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = Cl, R₅ = H, R₆ = H

24 R₁ = CH₃, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = F, R₅ = H, R₆ = H

25 R₁ = H, R₂ = CH₃, R₃ = H, R₄ = F, R₅ = H, R₆ = H

26 R₁ = H, R₂ = Cl, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = H, R₆ = H

27 R₁ = H, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = Cl, R₆ = H

28 R₁ = CH₃, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = Cl, R₆ = H

29 R₁ = H, R₂ = CH₃, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = Cl, R₆ = H

30 R₁ = H, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = OCH₃, R₆ = H

31 R₁ = CH₃, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = OCH₃, R₆ = H

32 R₁ = H, R₂ = CH₃, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = OCH₃, R₆ = H

33 R₁ = CH₃, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = Cl, R₅ = H, R₆ = H

34 R₁ = CH₃, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = F, R₅ = H, R₆ = H

35 R₁ = CH₃, R₂ = H, R₃ = H, R₄ = H, R₅ = H, R₆ = H

Scheme 10

此類化合物之合成說明如下：

如Scheme 10所示，秤取substituted phenylpyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (17-26) 1克，置於100毫升三頸瓶中，加入約15-20毫升liquid paraffin，將三頸瓶置入電熱包，倒入白色海砂 250 cm³ (Merck Seasand)，直至三頸瓶完全掩沒，裝置上迴流管，一頸口裝置溫度計 (> 350)，另一頸口裝上可導出氣體之塑膠水管，並將水管置於盛滿冰塊的燒杯中。打開熱源，攪拌並將加熱開關開至最大功率，當溫度上升至210-230 左右，開始冒出大量白色氣體，當溫度繼續上升至310，關掉加熱開關，溫度繼續上升至350 左右，當溫度計開始從350

下降時，再打開加熱開關，溫度下降至345 左右繼續上升，此時關上熱源，溫度繼續回升至355 左右，當溫度下降重複以上步驟，反應約一小時，停止反應，當溫度降至120 倒入1000毫升正己烷中，並且冰浴三十分鐘，沉澱物及液體分別以管柱層析法(以三氯甲烷:乙酸乙酯=3:1沖提)分離後，以三氯甲烷與乙醇再結晶，得化合物substituted 2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-one (27-35)

。

其結構鑑定以化合物32為例敘述如下

化合物32之結構鑑定：

化合物32為黃色粉末，熔點216-218 。

(1)元素分析: 由元素分析結果及配合質譜(EIMS)(圖32-1)分子離子峰(m/z 266)得知此化合物分子式為 $C_{16}H_{14}N_2O_2$ ，與預期相符。

(2) IR圖譜(圖32-2) (KBr)：於 1558 cm^{-1} 處有imino group (C=N)伸展振動吸收峰，於 1618 cm^{-1} 處有carbonyl group (C=O)伸展振動吸收峰，於 3178 cm^{-1} 處有amino group (N-H)伸展振動吸收峰，且於 3033 cm^{-1} 處有aromatic (C-H)伸展振動吸收峰。

(3) λ_{max} (CHCl_3) nm (log ϵ)：於348.0 (4.10)處有最大吸收

(4) NMR圖譜: NMR溶媒為chloroform- d_1 (CDCl_3)

(a) $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(圖32-3及圖32-3-1)

其積分值顯示，可知此化合物有14個氫。由其化學位移、偶合情形

及配合 ^1H - ^1H COSY圖譜(圖32-4及圖32-4-1), 可將其質子訊號(proton signals)依序歸屬如下: 在高磁場出現之 2.31 (3H, *s*), 應歸屬為 CH_3 之質子訊號, 而因O陰電性原子去遮蔽效應之影響, 出現於 3.80 (3H, *s*), 則歸屬於 OCH_3 之訊號。而naphthyridin-4-one雜環上之質子訊號, 出現在較高磁場之 6.52 (1H, *s*), 則歸屬於H-3之質子訊號。另外, 再由文獻¹⁸, 得知H-7應比H-5出現於較高磁場之位置, 因此可將 7.76 (1H, *d*, $J = 1.8$ Hz)與 8.45 (1H, *d*, $J = 1.3$ Hz)分別歸屬為H-7與H-5之質子訊號, 而出現於低磁場 11.72 (1H, *br*)之質子訊號歸屬為NH, 至此naphthyridin-4-one雜環上之質子歸屬完成。就苯環上之質子而言, 由於3'位上接著 OCH_3 , 此為一推電子基團, 對於*ortho*-及*para*-位上之質子, 造成遮蔽效應, 以致於高磁場出現之 7.07 (1H, *dd*, $J = 8.0, 2.1$ Hz), 7.20 (1H, *d*, $J = 2.1$ Hz)與 7.25-7.27 (1H, *m*), 應分別歸屬為H-4'、H-2'與H-6'之質子訊號。此外, 於低磁場出現之 7.40 (1H, *t*, $J = 8.0$ Hz), 應歸屬於H-5'之質子訊號。

(b) ^{13}C -NMR圖譜(圖32-5): 由圖譜顯示有15個碳原子訊號, 但由分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ 得知一共有16個碳原子, 故推測有一組碳原子訊號重疊。

(c) HMQC圖譜(圖32-6): 依與氫譜之相關, 推測 18.00與 55.47之碳原子歸屬為 CH_3 與 OCH_3 。再者, 可以將7個三級碳依序歸屬如下:

109.62, 113.02, 116.34, 119.78, 130.41, 135.51與
153.56依序歸屬為C-3, C-2', C-4', C-6', C-5', C-5與C-7之碳原子訊號。

(d)至於其他芳香環上四級碳之歸屬，則參照HMBC圖譜(圖32-7)判斷如下：

首先C-2' (113.02)與H-6' (7.25-7.27)有³J遠程偶合關係 (correlation) , C-4' (116.34)與H-2' (7.20)及H-6' (7.25-7.27)有³J correlation , 而C-6' (119.78)分別與H-4' (7.07)、H-2'(7.20)及H-3 (6.52)有³J correlation , 次之, 129.57因與CH₃(2.31)及H-7 (7.76)有²J correlation , 應歸屬於C-6之碳原子訊號。C-5 (135.51)與CH₃ (2.31)及H-7 (7.76)有³J correlation。再者, 149.36因與H-5 (8.45)有³J correlation , 因歸屬於C-8a之碳原子訊號, 而 151.29因分別與H-2' (7.20)、H-6' (7.25-7.27)及H-3 (6.52)有³J及²J correlation , 則應歸屬為C-2之碳原子訊號。C-7 (153.56)與CH₃ (2.31)有³J correlation。而 160.13因分別與OCH₃ (3.80)、H-5' (7.40)、H-4' (7.25-7.27)及H-2' (7.20)有³J及²J correlation , 故歸屬於C-3'之碳原子訊號。至於出現在最低磁場之 178.87因與H-5 (8.45)有³J correlation , 故歸屬為C-4 (C=O)之碳原子訊號。最後, 由¹³C-NMR圖譜得知有一組碳原子訊號重疊, 且配合文獻¹⁸得知, 136.00因分別與H-3 (6.52)及H-6' (7.25-7.27)有³J及²J correlation , 則應歸屬於C-4a及C-1'之碳原子訊號。

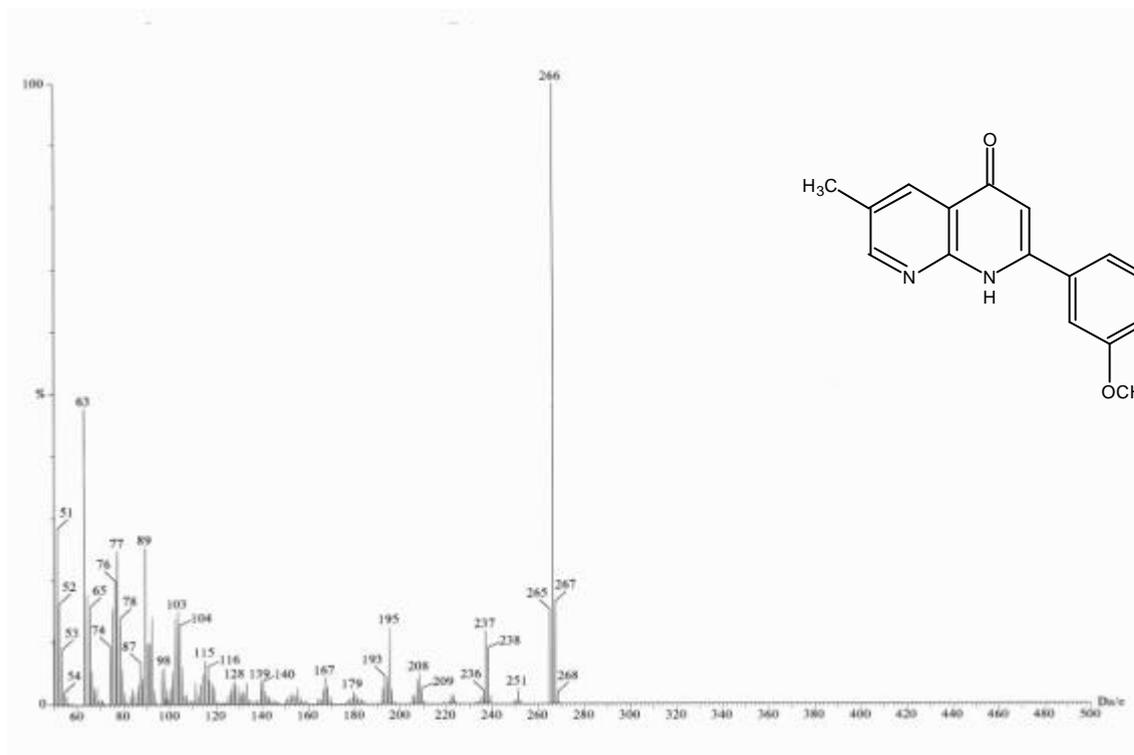


圖 32-1 化合物 32 之質譜圖譜(EIMS)

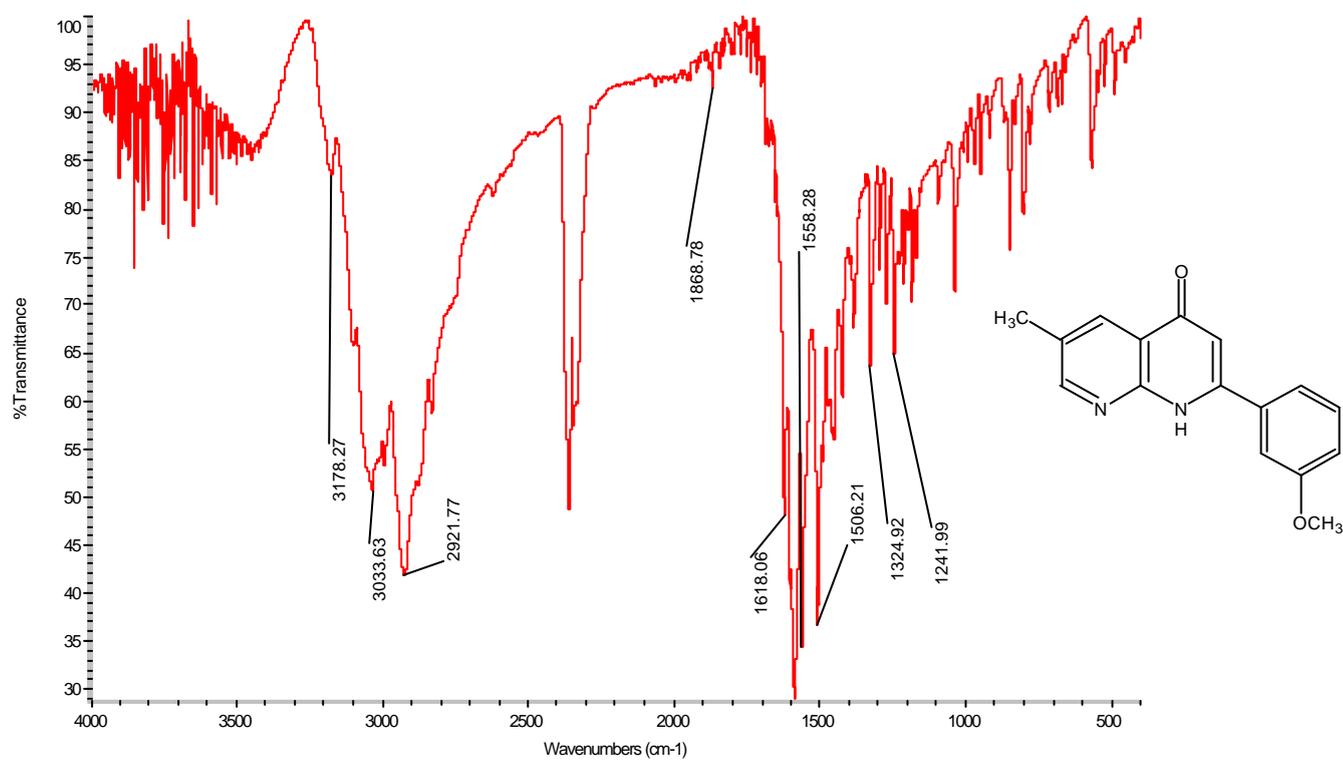


圖 32-2 化合物 32 之 IR 圖譜

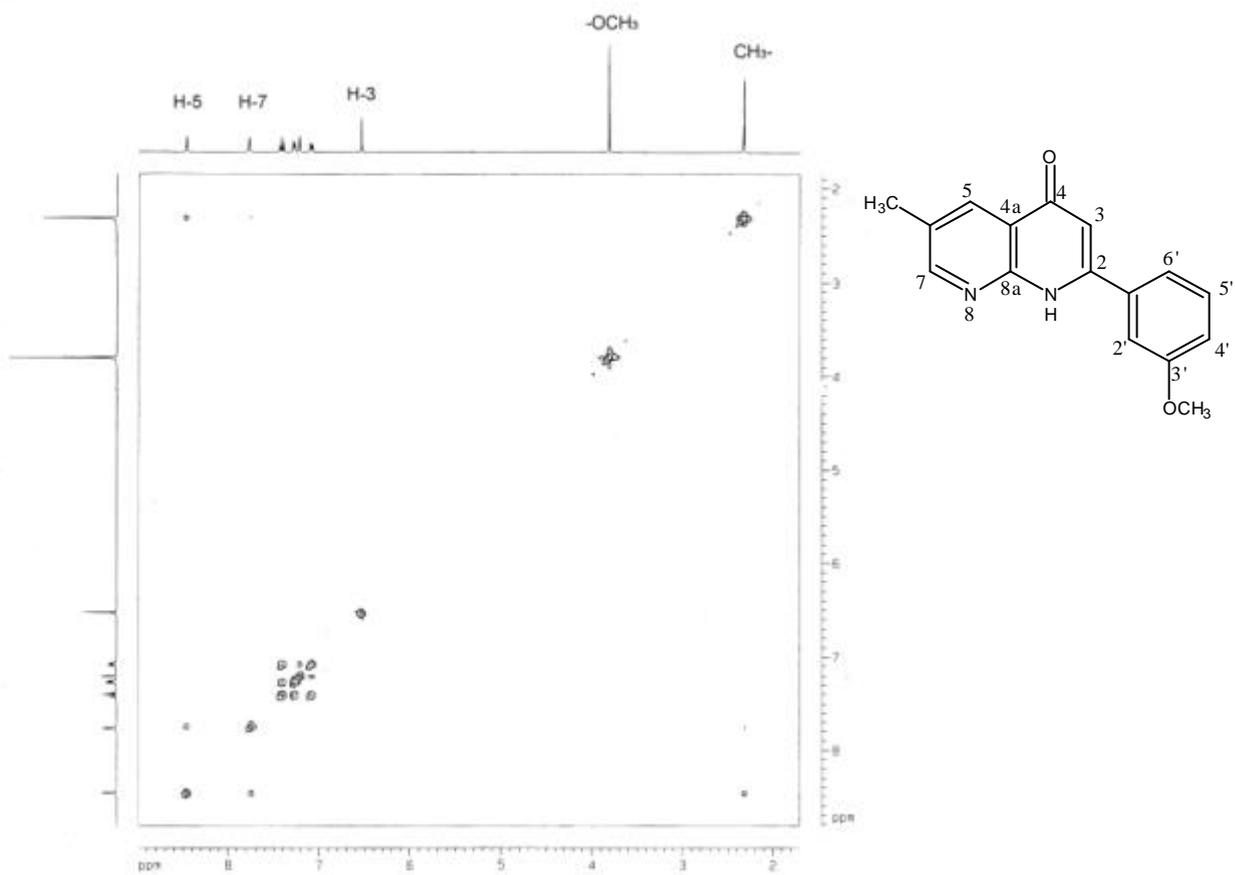


圖 32-4 化合物 32 之 ^1H - ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz)

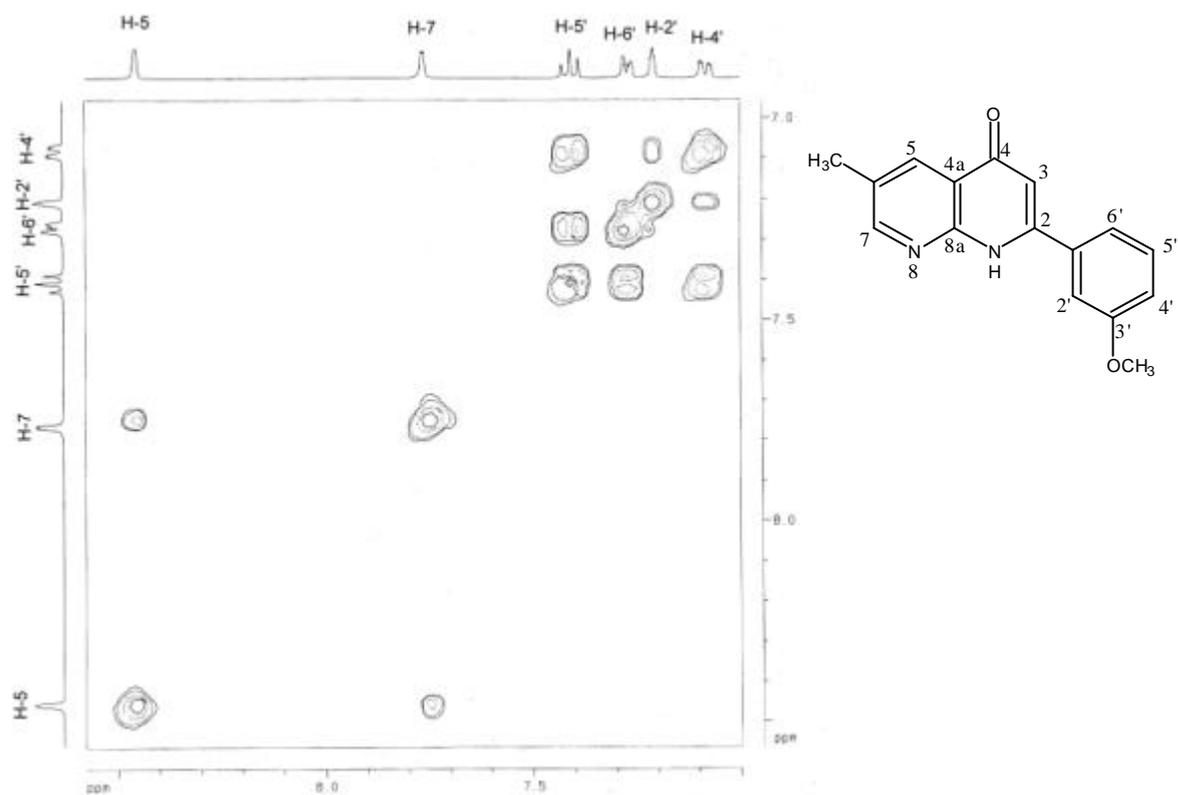


圖 32-4-1 化合物 32 之 ^1H - ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz)

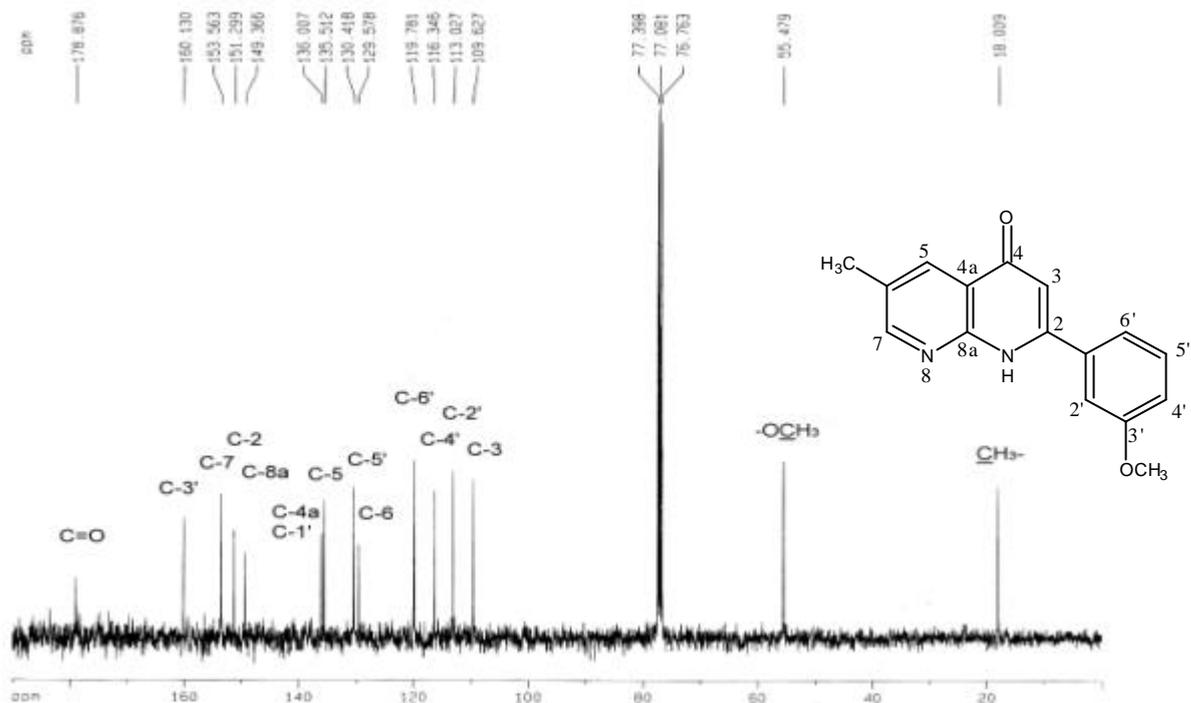


圖 32-5 化合物 32 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 100 MHz)

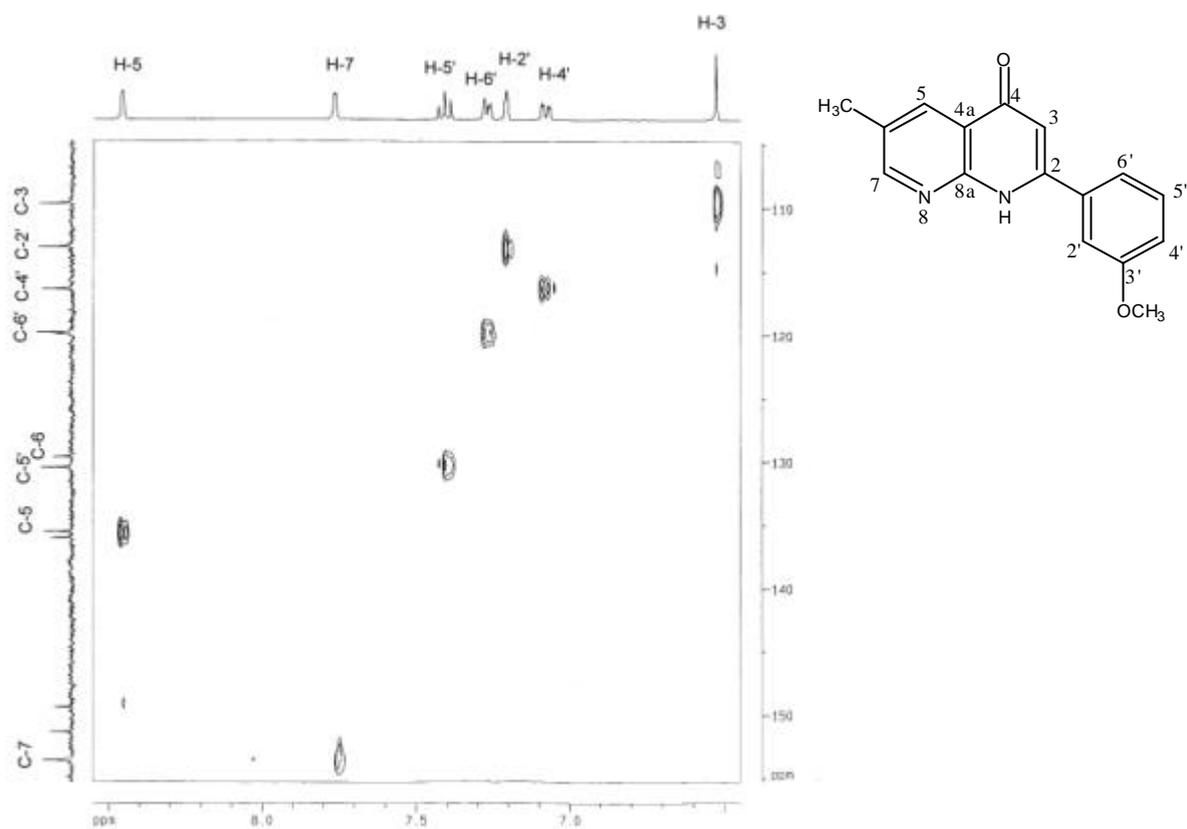


圖 32-6 化合物 32 之 HMQC (CDCl_3 , 400 MHz)

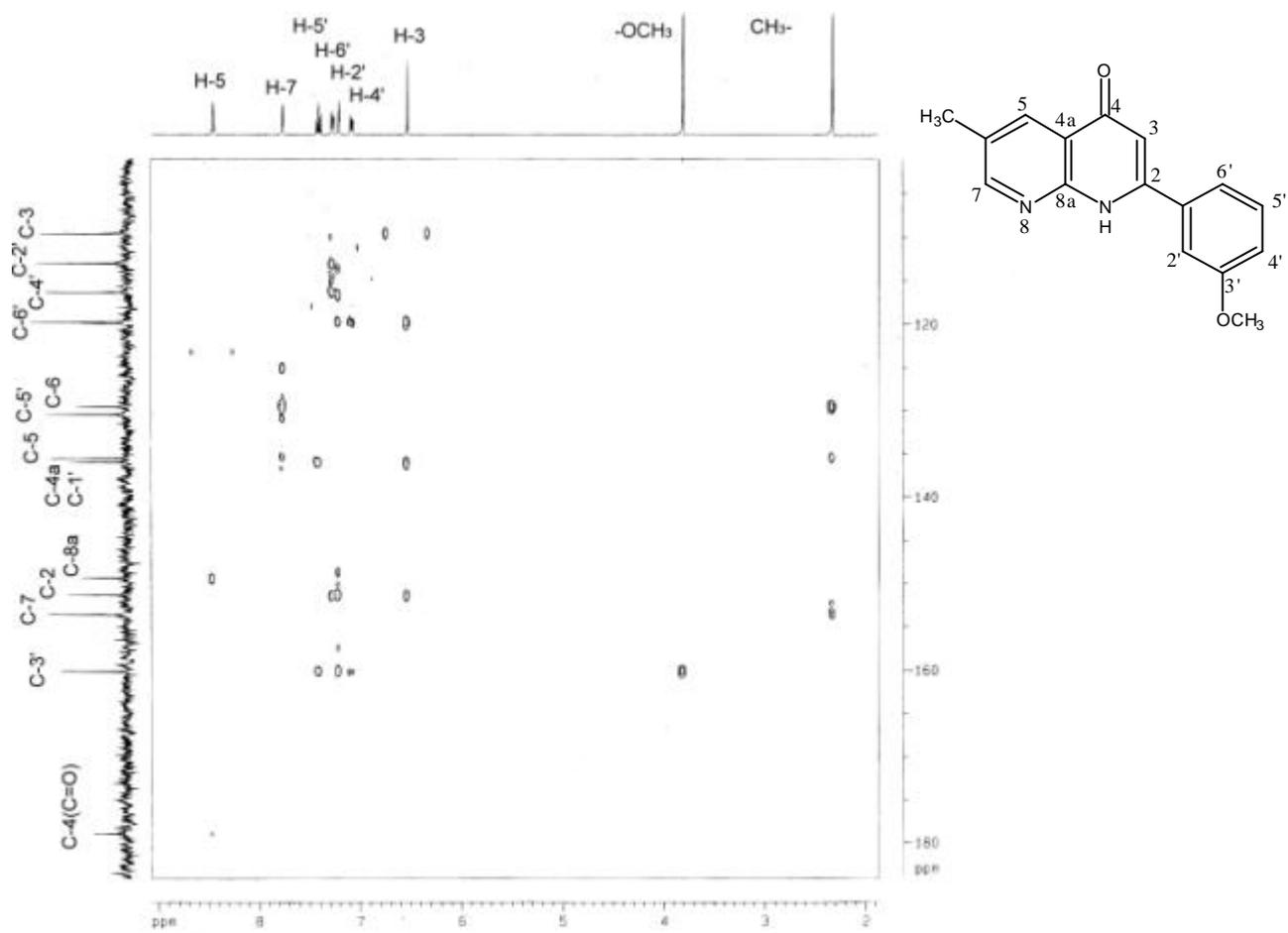
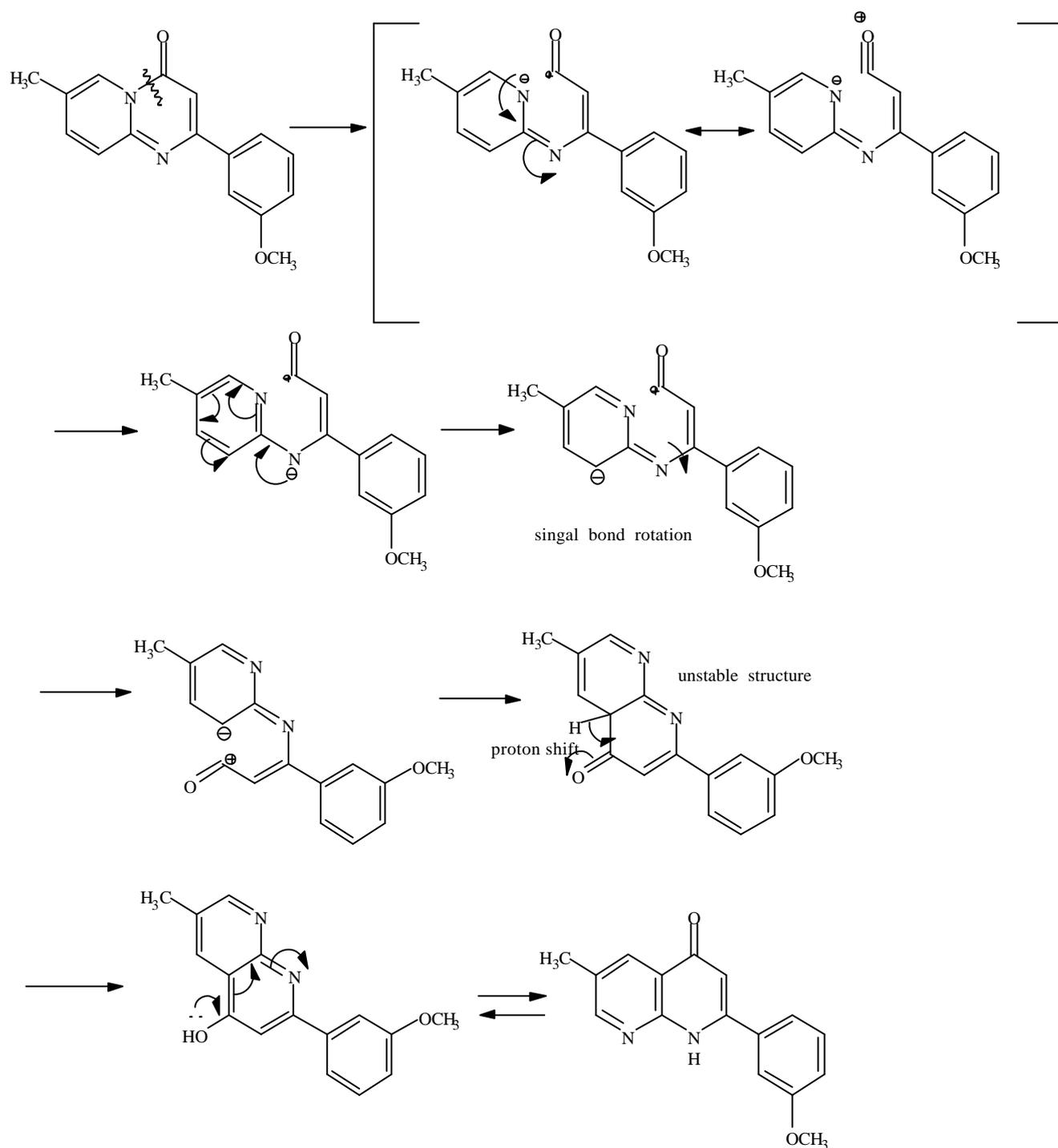


圖 32-7 化合物 32 之 HMBC (CDCl₃, 400 MHz)

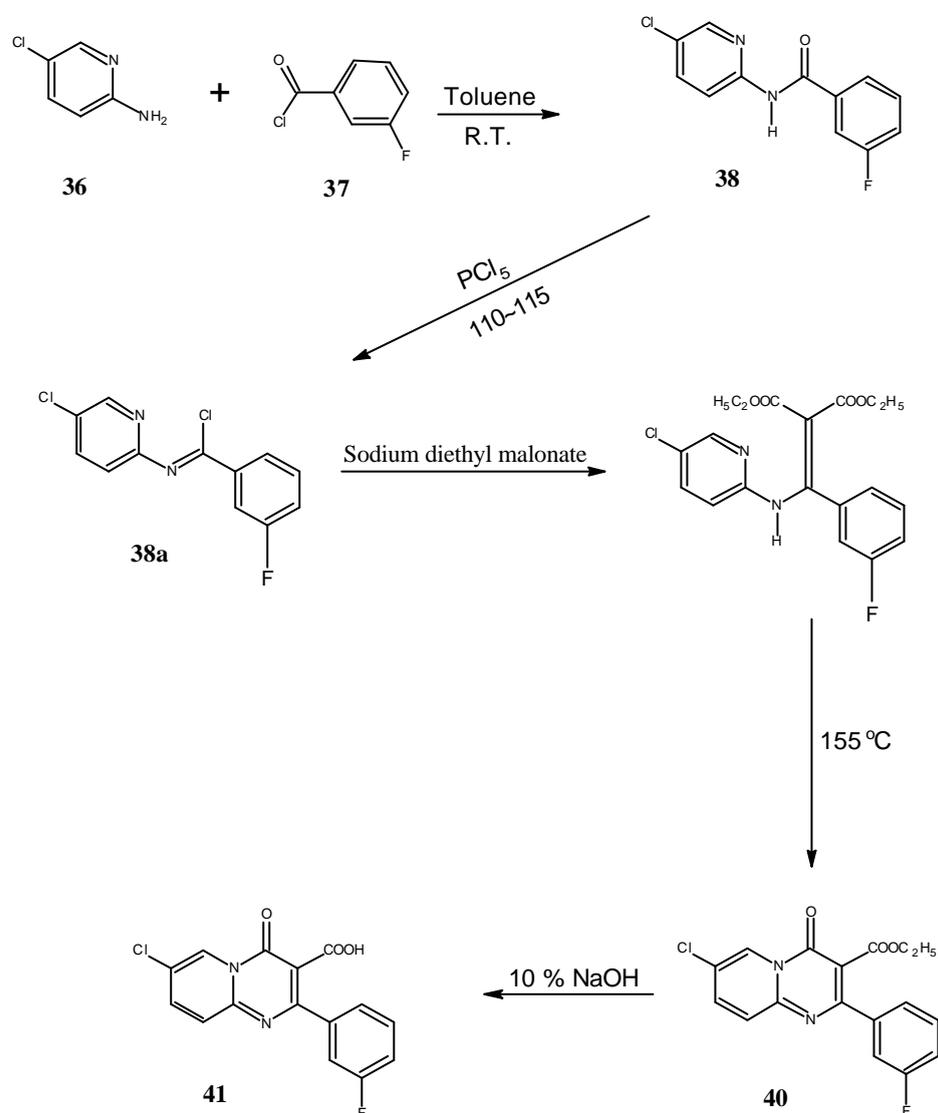
此類化合物350 反應機轉並不明確，著者嘗試以合理機轉解釋之，如 Scheme 11所示，其正確性有待更進一步實驗確認



Scheme 11

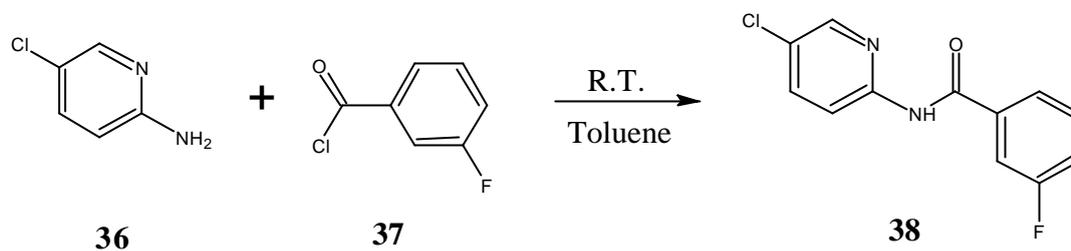
為提高中間體水溶性，並以有別一般方法合成PN類化合物

如Scheme 12所示，著者也參照1946年R. C. Elderfield等學者所提之方法³⁰，於中間產物7-chloro-2-(3'-fluorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one之3位上接上-COOH，除增加中間產物水溶性外，也企圖以有別於Scheme 6之方法以合成2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-one



Scheme 12

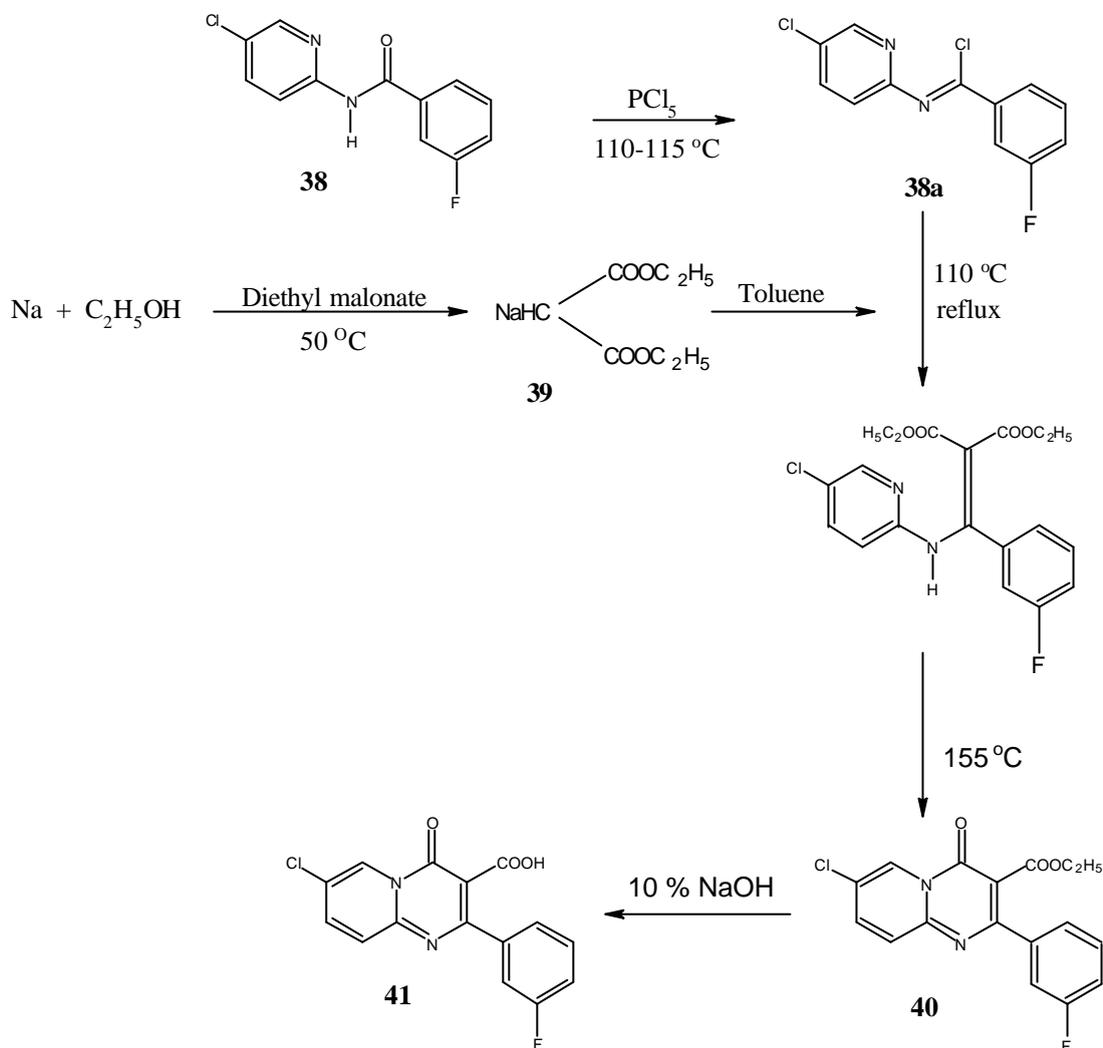
(四) *N*-(5-Chloropyridin-2-yl)-3-fluorobenzamide (38)之合成



Scheme 13

合成方法如 **Scheme 13** 所示，秤取 5-chloro-2-aminopyridine (**36**)與 3-fluoro-benzoyl chloride (**37**)，以甲苯為溶媒，在室溫下反應兩小時，以乙醇做再結晶，可得化合物 *N*-(5-chloropyridin-2-yl)-3-fluoro-benzamide (**38**)之白色片狀晶體。

(五) 7-Chloro-2-(3'-fluorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one-3-carboxylate (40)之合成



Scheme 14

如Scheme 14所示，秤取*N*-(5-chloropyridin-2-yl)-3-fluorobenzamide (38)與 PCl_5 加熱迴流進行氯化反應，得到橙黃色液體 carboximidoyl chloride (38a)，並秤取金屬鈉溶於無水乙醇製備乙醇鈉，再與diethyl malonate形成白色膠狀sodium diethyl malonate (39)。

將化合物38a與39混合於無水甲苯中，加熱迴流，得到diethyl [[(5-chloropyridin-2-yl)amino](3-fluorophenyl)methylene]malonate，將未

純化之粗產物以加熱環化方式得到黑色固體，經由管柱層析法純化，以乙醇做再結晶，得到化合物40之黃綠色結晶。

化合物40之結構鑑定：

化合物40為黃綠色晶體，熔點143-145 。

(1)元素分析: 由元素分析結果及配合(圖40-1)質譜(EIMS)分子離子峰 (m/z 346)得知此化合物分子式為 $C_{17}H_{12}ClFN_2O_3$ ，與預期相符。

(2) IR圖譜(圖40-2) (KBr)：於 1679 cm^{-1} 處有carbonyl group (C=O)伸展振動吸收峰，於 1735 cm^{-1} 處有酯類carbonyl group (C=O)伸展振動吸收峰，於 2979 cm^{-1} 處有non-aromatic (C-H)伸展振動吸收峰，且於 3120 cm^{-1} 處有aromatic (C-H)伸展振動吸收峰。

(3) λ_{max} (CHCl_3) nm (log ϵ)：於365.8 (4.12)處有最大吸收

(4) NMR圖譜: NMR溶媒為dimethylsulfoxide- d_6 (DMSO- d_6)

(a) ^1H -NMR圖譜(圖40-3)

其積分值顯示，可知此化合物有12個氫。由其化學位移、偶合情形，可將其質子訊號(proton signals)依序歸屬如下：在高磁場出現之 1.04 (3H, t , $J = 7.1\text{ Hz}$)，應歸屬為 $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 之質子訊號，而因O陰電性原子去遮蔽效應之影響，出現於 4.13 (2H, q , $J = 7.1\text{ Hz}$)，則歸屬於 $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 之質子訊號。而pyridopy[1,2- a]pyrimidin-4-one雜環上之質子訊號，由裂解模式及化學位移可將出現在較高磁場之 7.84 (1H, d , $J = 9.4\text{ Hz}$)及 8.15 (1H, dd , $J = 7.1, 2.4\text{ Hz}$)分別歸屬為H-9及H-8，而H-6

則由於羰基去遮蔽效應之影響，出現於低磁場，因此將 9.00 (1H, *d*, *J* = 2.0 Hz) 歸屬於H-6之質子訊號，至此pyridopy[1,2-*a*]pyrimidin-4-one雜環上之質子歸屬完成。就苯環上之質子而言 7.38-7.40(3H,*m*)及 7.42-7.44 (1H, *m*)則歸屬於H-2'、H-4'、H-5'、H-6'之質子訊號。

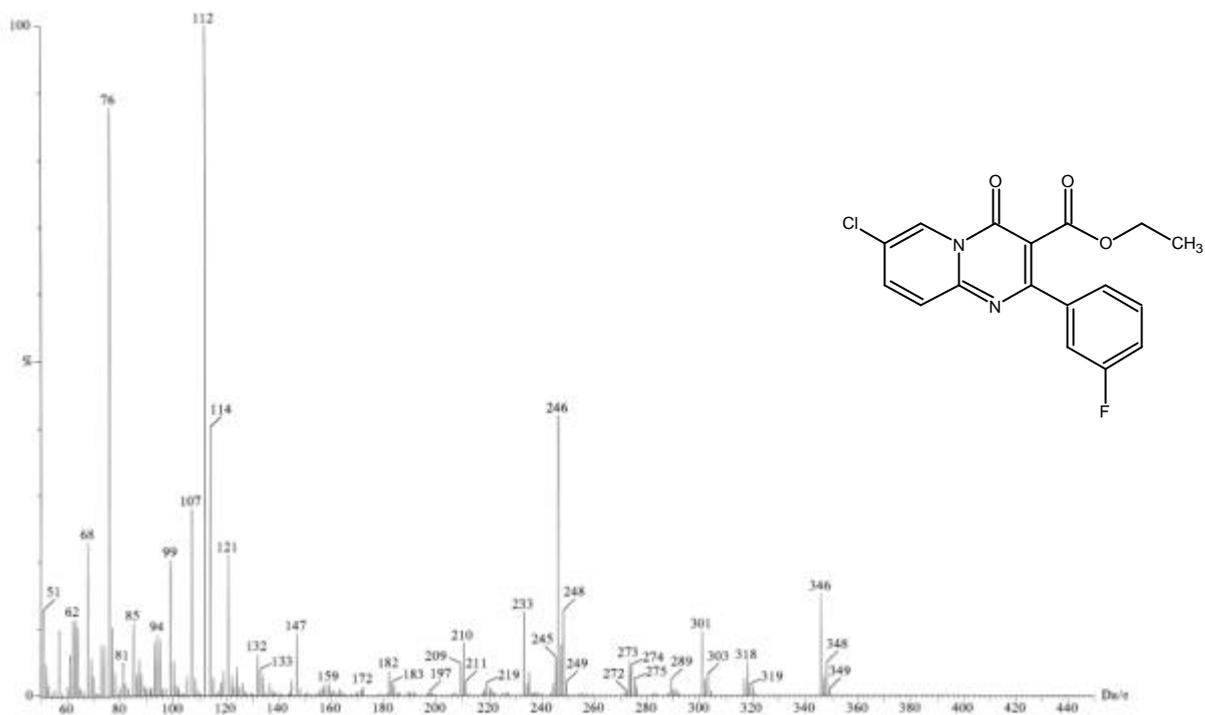


圖 40-1 化合物 40 之質譜圖譜(EIMS)

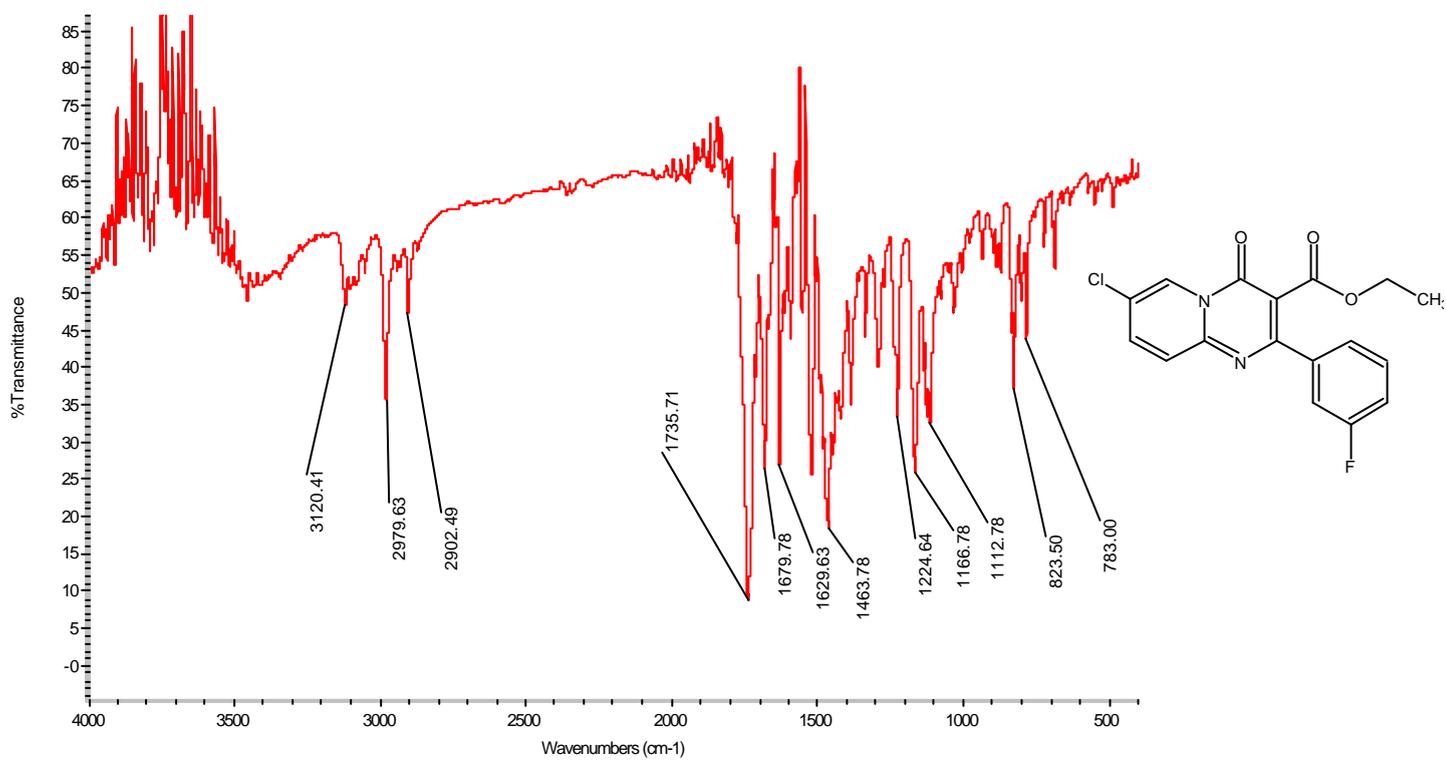


圖 40-2 化合物 40 之 IR 圖譜

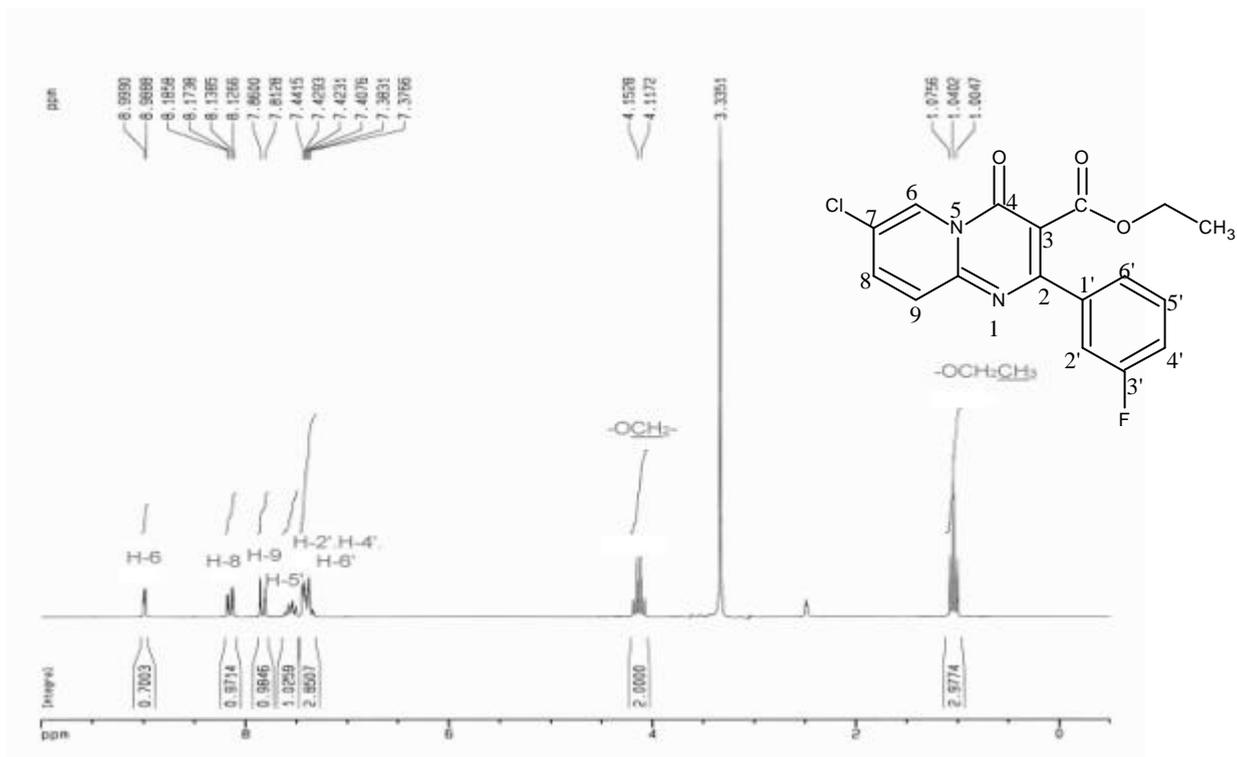


圖 40-3 化合物 40 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(DMSO- d_6 , 200 MHz)

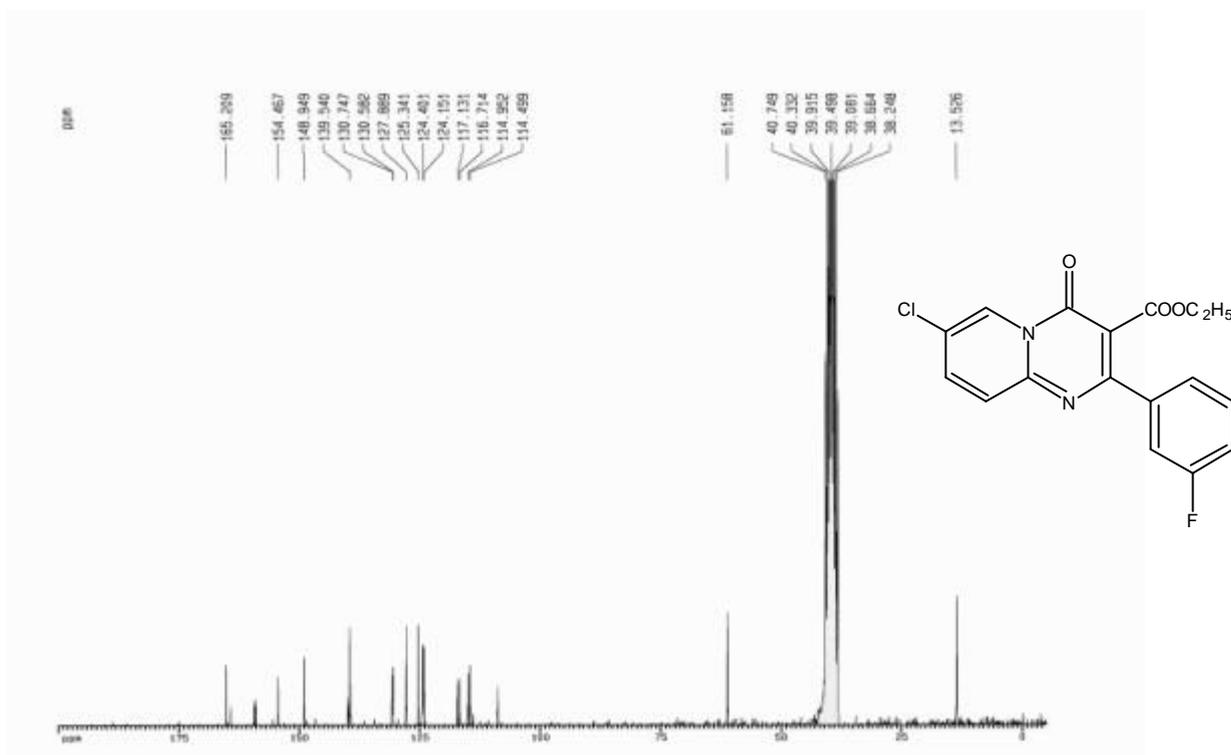


圖 40-4 化合物 40 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(DMSO- d_6 , 50 MHz)

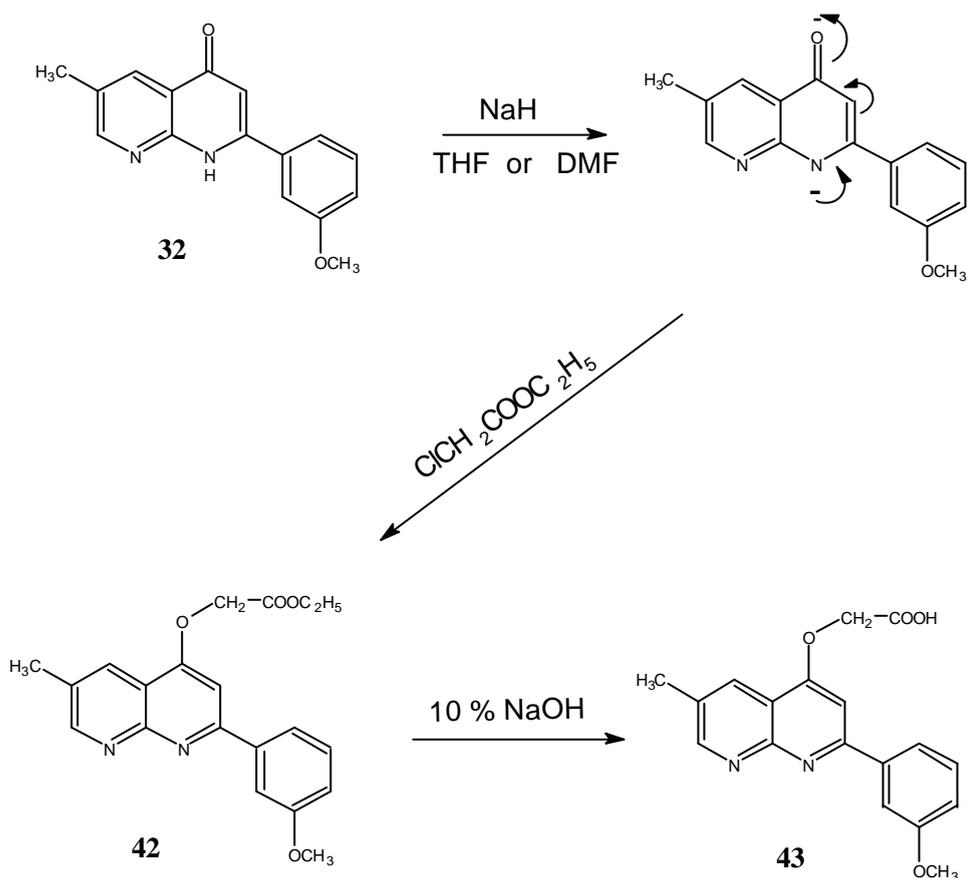
(六) 7-Chloro-2-(3'-fluorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one-3-carboxylic acid (41)之合成

化合物 40，在 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液下，可水解成酸基得到化合物 41。

化合物 41 當加熱至 150 以上時，預測可能可以脫去 3 位上之 -COOH 基團，著者正準備著手進行此項實驗。

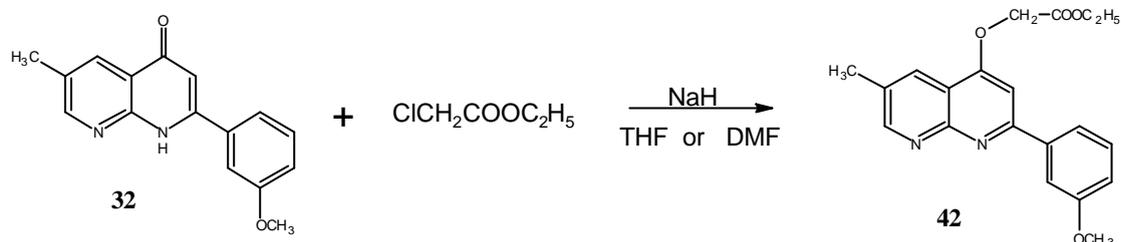
第二節 水溶性前藥類衍生物之合成

對於改善水溶性方面，利用此類化合物本身有 **keto enol form** 特性，將其與 ethyl chloroacetate ($\text{ClCH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$) 反應，合成 ethyl 4-oxo-6-methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-yl acetate (**42**) 類衍生物及 4-oxo-6-methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-yl acetic acid (**43**) (Scheme 15) 供 PK 試驗，以確認此類前驅化合物在體內代謝是否如預期般，會代謝成化合物 **32**：



Scheme 15

(一) Ethyl 4-oxo-6-methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-yl acetate (42)之合成



Scheme 16

如 Scheme 16 所示，秤取化合物 6-methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin (32) 以四氫呋喃(tetrahydrofuran)為溶媒，與氫化鈉(sodium hydride)反應，隨後再滴加 ethyl chloroacetate，以管柱層析法分離，再以乙醇做再結晶，可得化合物 ethyl 4-oxo-6-methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-yl acetate (42) 之白色針狀結晶。

其結構鑑定以化合物42為例敘述如下

化合物42之結構鑑定：

化合物42為白色針狀結晶，熔點140-142 。

(1)元素分析: 由元素分析結果及配合(圖42-1)質譜(EIMS)分子離子峰 (m/z 352)得知此化合物分子式為 $C_{20}H_{20}N_2O_4$ ，與預期相符。

(2) IR圖譜(圖42-2) (KBr)：於 1043 cm^{-1} 處可能有醚類 (C-O-C)對稱伸展振動吸收峰，於 1255 cm^{-1} 處可能有醚類 (C-O-C)不對稱伸展振動吸收

峰，於 1600 cm^{-1} 處有carbonyl group (C=O)伸展振動吸收峰，且於 2969 cm^{-1} 處有non-aromatic (C-H)伸展振動吸收峰。

(3) λ_{max} (CHCl_3) nm (log ϵ): 於326.0 (3.90)處有最大吸收

(4) NMR圖譜: NMR溶媒為chloroform- d_1 (CDCl_3)

(a) ^1H -NMR圖譜(圖42-3)

由其化學位移、偶合情形可將其質子訊號(proton signals)依序歸屬如下：在高磁場出現之 1.61-1.67歸屬為 $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ， 2.58 (3H, s)，則應歸屬為6位上 CH_3 之質子訊號，而因O陰電性原子去遮蔽效應之影響，出現於 3.96 (3H, s)，則歸屬於苯環3'位 OCH_3 之訊號，而由裂解模式及化學位移，因此將 4.39 (2H, q, $J = 7.0\text{ Hz}$)歸屬為 $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 。而naphthyridin-4-one雜環上之質子訊號，由於化合物42與化合物32結構在4位上有明顯差異，導致H-3位置位移改變，由化學位移及裂解模式，因此將 8.36 (1H, s)歸屬於H-3之質子訊號，而 7.91 (1H, s)及 8.95 (1H, d, $J = 2.4$)則分別歸屬於H-7及H-5，至此naphthyridin-4-one雜環上之質子歸屬完成。就苯環上之質子而言，由於3'位上接著 OCH_3 ，此為一推電子基團，對於ortho-及para-位上之質子，造成遮蔽效應，以致於高磁場出現之 7.04-7.08 (1H, m)歸屬於H-4'，而4位上 $\text{OCH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 由於受naphthyridin-4-one環去遮蔽效應之影響，出現在低磁場，因此將 7.26-7.28 (3H, m)歸屬於H-2'、 $\text{OCH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ 。而 7.44 (1H, t, $J = 8.0\text{ Hz}$)及 7.75 (1H, d, $J = 7.8\text{ Hz}$)則分別歸屬於H-5'及H-6'。

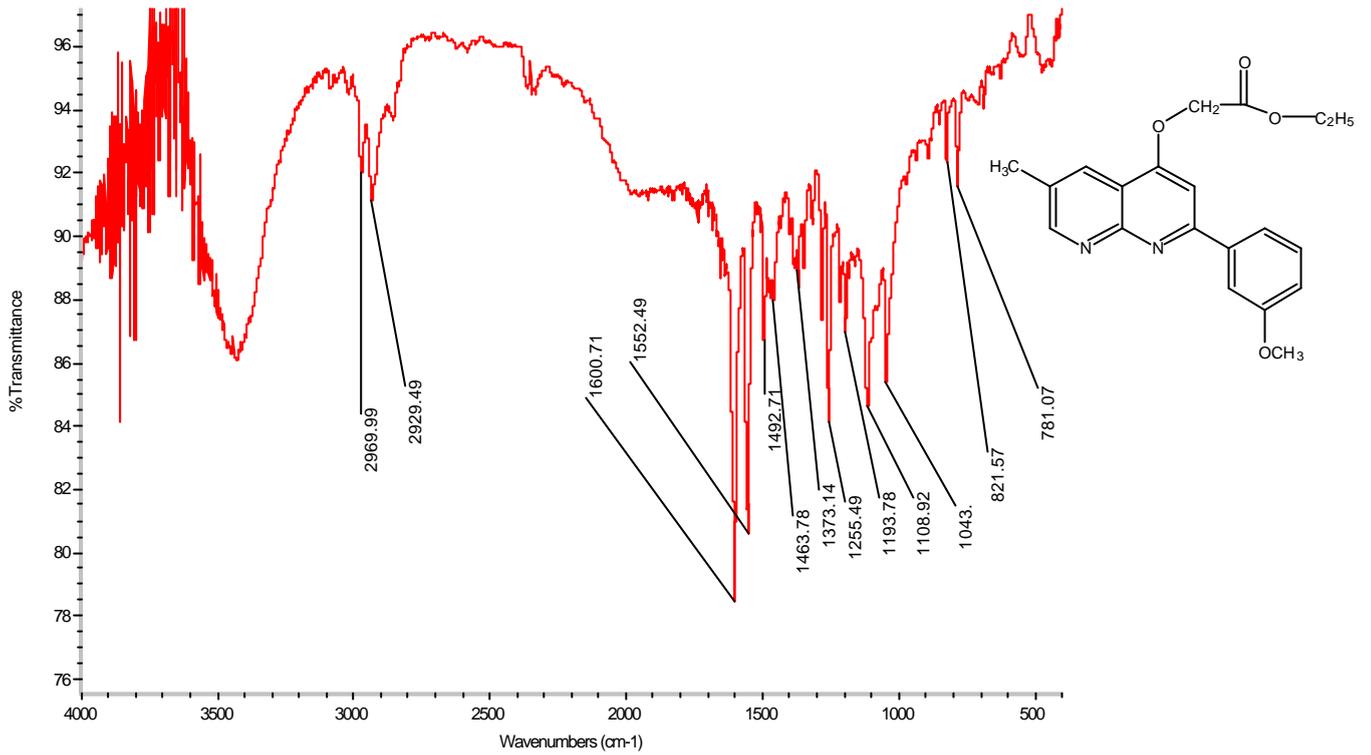


圖 42-2 化合物 42 之 IR 圖譜

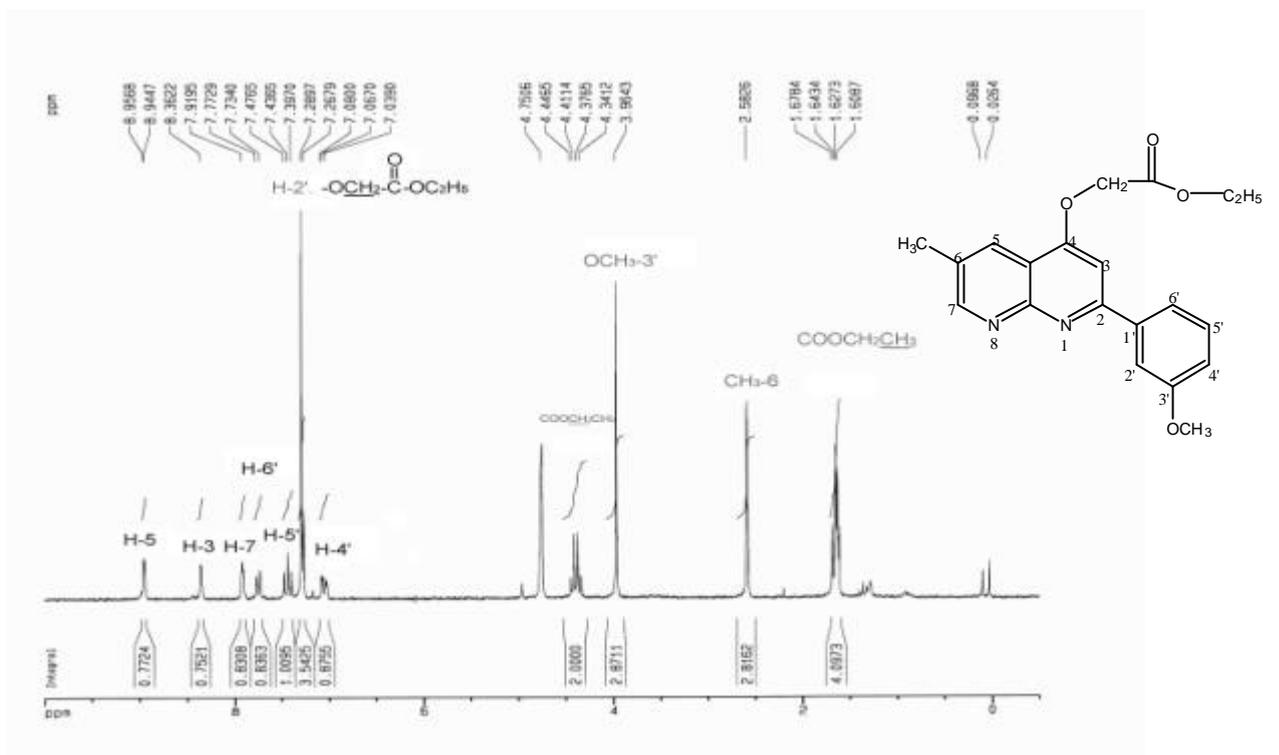


圖42-3 化合物42之¹H-NMR圖譜(CDCl₃+D₂O, 200 MHz)

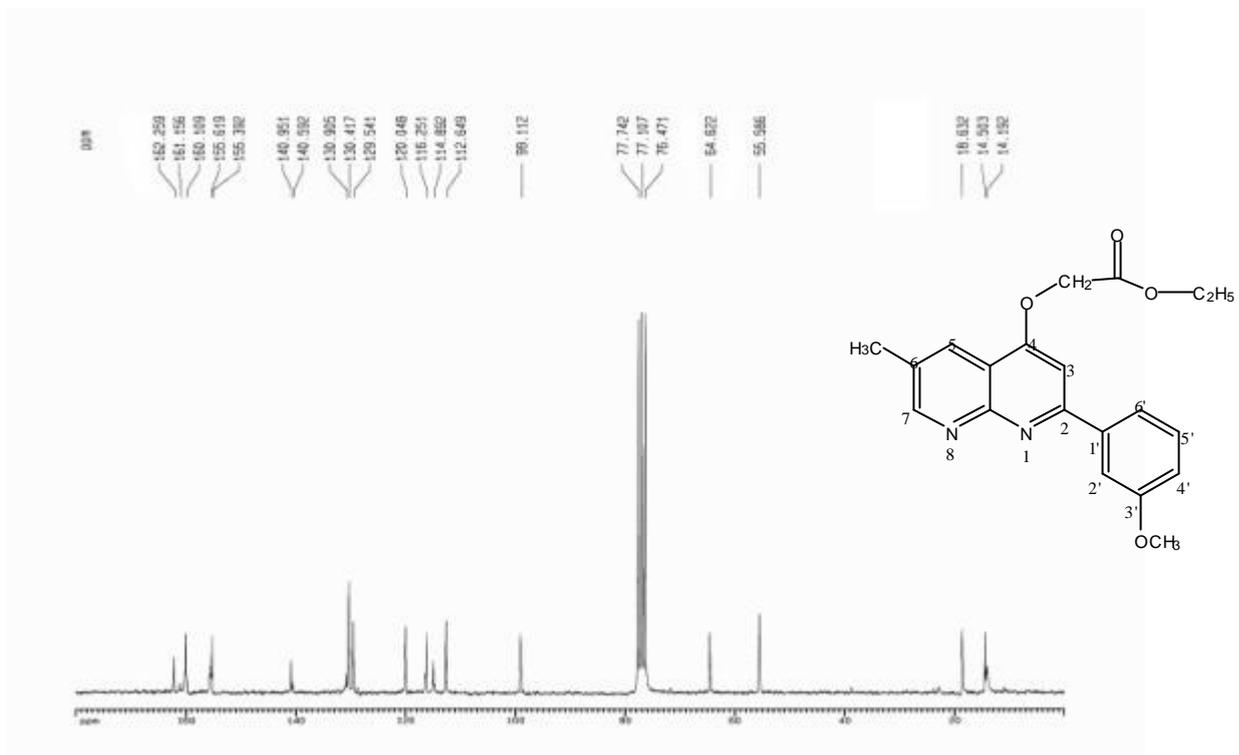
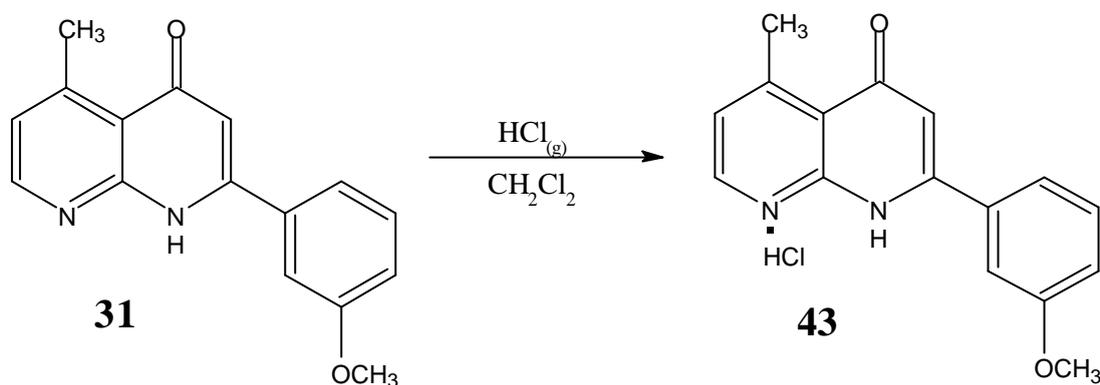


圖42-4 化合物42之¹³C-NMR圖譜(CDCl₃, 50 MHz)

如Scheme 17所示，著者利用naphthyridine環氮上所具有的未共用電子對，企圖與強酸(HCl、H₂SO₄)形成穩定鹽類產物，取化合物5-methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-one (31)，甲苯或二氯甲烷當溶媒，導入濃鹽酸氣體，產生化合物43之黃綠色沉澱。但在常態下安定性不佳，容易再解離成為化合物31。

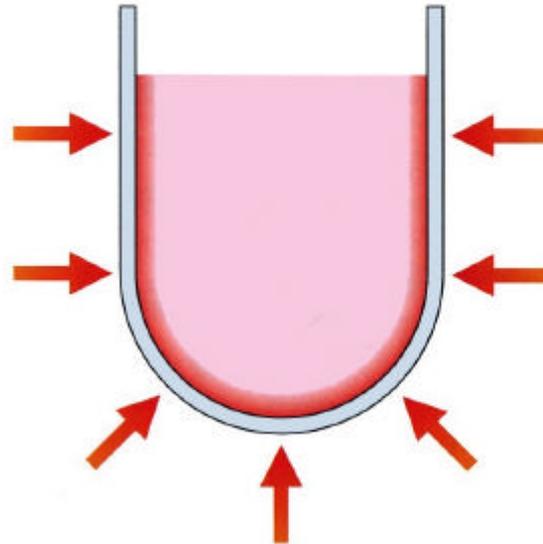


Scheme 17

第三節、利用微波照射方法改良反應

傳統加熱之方式，能量需藉由介質(容器、solvent)傳導，常導致反應時容器外溫高於內溫(Fig. 6)³¹，是一種能量傳導慢且吸收較不均勻的方式，控溫上較為不易。微波(Microwave)有別於一般傳統能量給予方式，不需藉由介質傳導，主要由波長1 mm-1 m，頻率300-300000 MHz (Fig. 7)³¹之電磁波直接穿透容器給予能量(Fig. 8)³¹，可快速到達反應所需活化能(E_a)，縮短反應時間，並提高產率。在電磁波照射之下，極性分子間以dipole rotation方式轉移能量(Fig. 9)³¹，離子則因電場產生ionic conduction轉移能量，溫度高則ionic conduction較快³¹。微波在應用於rearrangement、oxidation、reduction、alkylation、N-acylation、aromatic and nucleophilic substitution 等反應皆有明顯改善產率³²⁻³³。並且可以減少溶媒消耗，維護環境，以達到綠色化學目的。近年來微波文獻刊載驟增，著者也從Tamás, P.等學者於2004年發表的文獻中發現³⁴，先前介紹過去本研究室所合成之DHPQ此類化合物，使用HTIB ([hydroxy(tosyloxy)-iodo]benzene)當介質，經由微波照射，產生一連串未知的Prototropic shifts，使DHPQ此類化合物轉變成為PQ類化合物，如Scheme 18所示。

Schematic of sample heating by conduction



Temperature on the outside surface is greater than the internal temperature.

Fig. 6

The electromagnetic spectrum

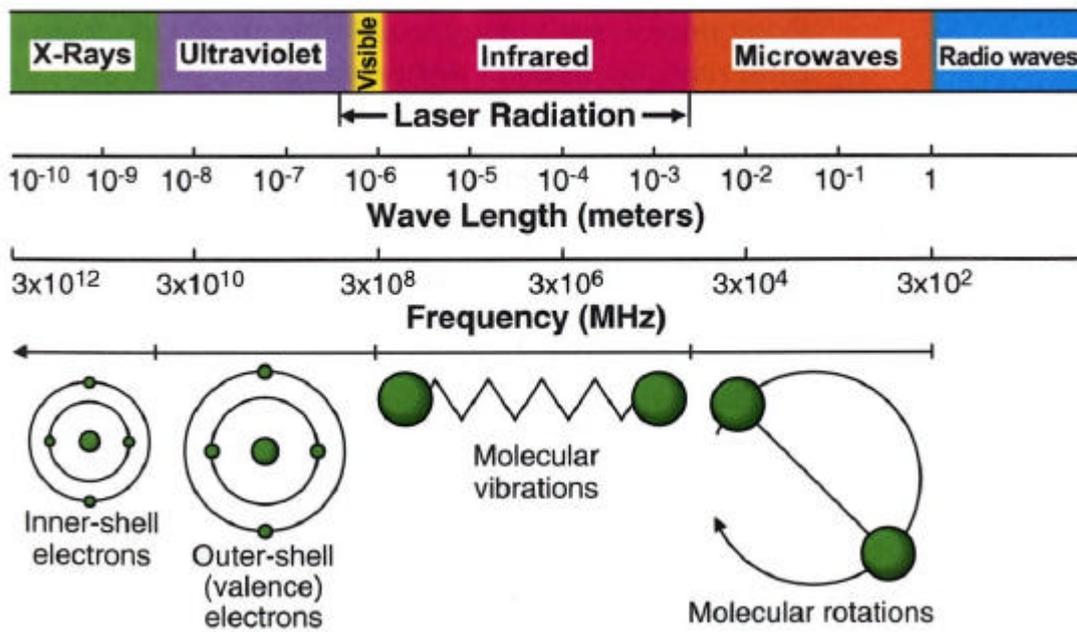


Fig. 7

Schematic of sample heating by microwaves

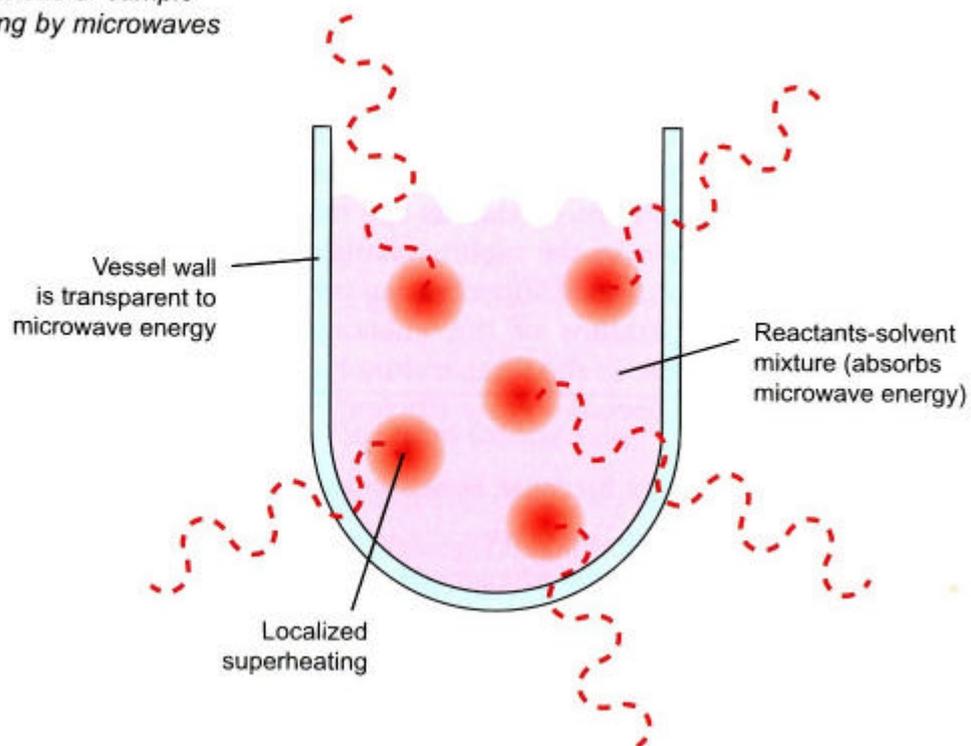


Fig. 8

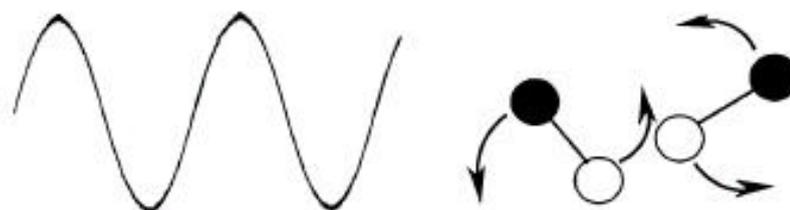
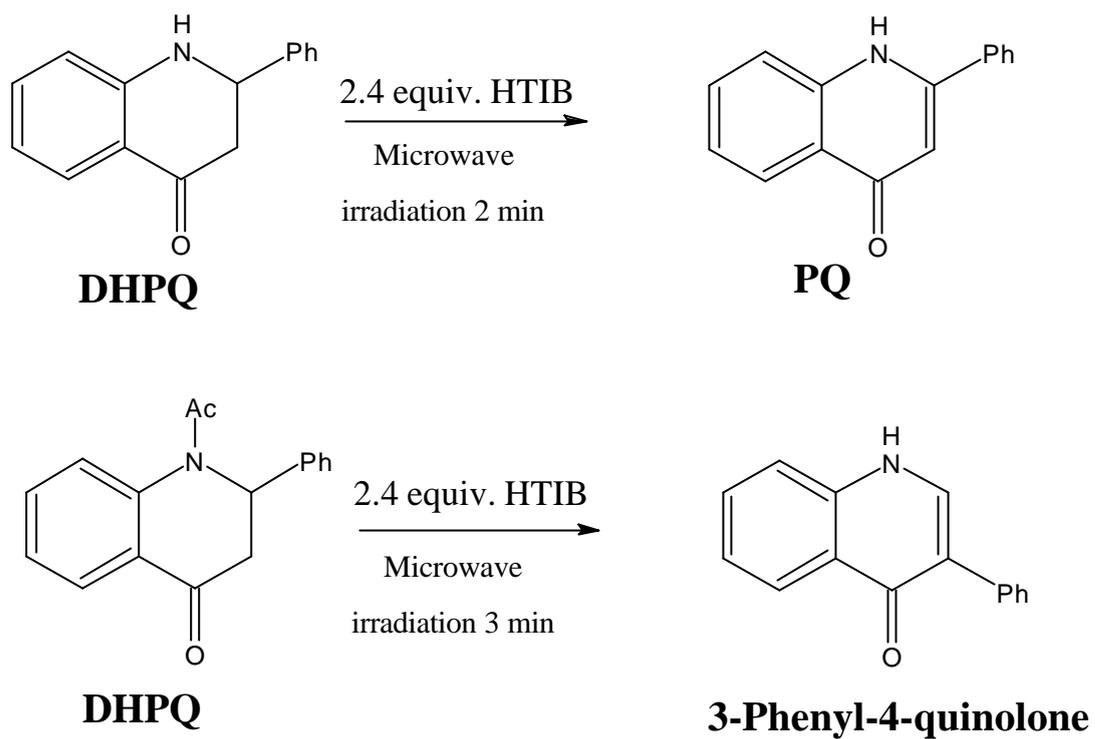
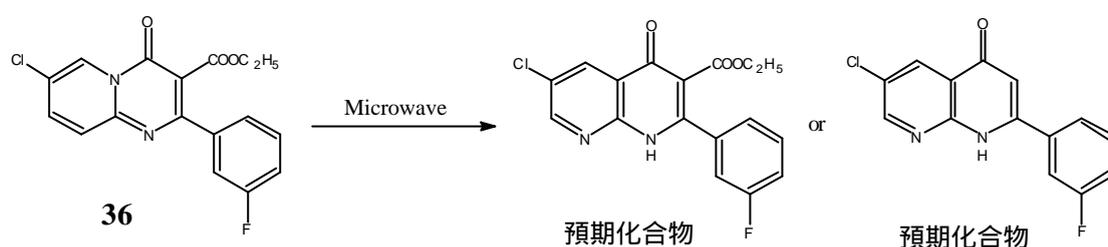


Fig. 9



Scheme 18

著者與東華大學孫仲銘教授研究團隊，共同合作並嘗試開發新的反應條件，著重於 350 反應條件之改良。於是將化合物 7-chloro-2-(3'-fluorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one-3-carboxylate (36) 進行一連串微波照射反應條件試驗，如 Scheme 19 所示，發現反應並不如預期，但也發現以 ionic liquid 為溶媒，有反應發生，此為未來 PN 類化合物微波照射發展可考慮之方向。



orthodichlorobenzene
MW 300 W , 10 min → **No reaction**

orthodichlorobenzene
Sealed tube,
sand bath heating 12h → **No reaction**

orthodichlorobenzene
sealed tube
200 psi
MW 300 W , 20 min → **No reaction**

N-methyl pyrrolidone
MW 300 W , 20 min → **No reaction**

N-methyl pyrrolidone
ionic liquid
MW 300 W , 20 min → **Compound decompose**

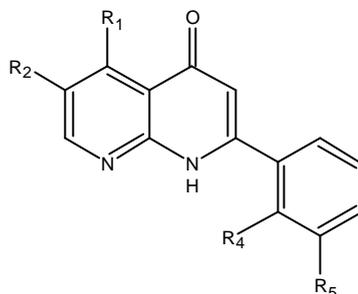
Scheme 19

第四節、藥理活性試驗結果

細胞致毒活性

著者將標的化合物(27-34)與其環化中間體(17-26),在體外以人類腫瘤細胞株(human tumor cell lines; HTCL)測試其對 cancer cell line HL-60 (leukemia cancer cell)、NCI-H226 (lung cancer cell)、A549 (lung cancer cell)及 HA22T (liver cancer cell)的細胞致毒活性篩選,結果如 Table 1 所示,所有的環化中間體(17-26)皆不具活性,並且因對 DMSO 溶解度極差,以致於藥理試驗有其困難之處。而標的化合物(27-34)則皆具有極佳抑制活性,從數據中發現,當 2-phenyl group 之 *m*-位固定為-Cl 或-OCH₃ 時, naphthyridin-4-one 環上的取代位置對活性的影響,似乎就不是那樣的大。此結果與過去用其他細胞株測試的結果相同。

Table 1. Cytotoxicity for compounds 27-34 against HL-60、 A549、 HA22T、 NCI-H226



compound	R ₁	R ₂	R ₄	R ₅	^a HL-60	^b HA22T	^c A549	^d NCI-H226
27	-H	-H	-H	-Cl	0.0400	> 2.5	1.72	> 2.5
28	-CH ₃	-H	-H	-Cl	0.0305	0.53	0.6	> 5.0
29	-H	-CH ₃	-H	-Cl	0.0379	4.67	2.8	5
30	-H	-H	-H	-OCH ₃	0.0557	0.65	5.1	> 10
31	-CH ₃	-H	-H	-OCH ₃	0.0441	0.522	2.52	> 5.0
32	-H	-CH ₃	-H	-OCH ₃	0.0323	0.152	5.85	7.2
33	-CH ₃	-H	-Cl	-H	0.1296	0.901	0.992	10.7
34	-CH ₃	-H	-F	-H	0.0333	0.554	0.444	> 10

^aLeukemia cancer cells (1.0 x10³) were incubated with different concentration in 48 hrs.

^bHuman hepatoma cells, ^cHuman lung carcinoma cells, ^dNon-small lung cancer cells (5.0 x10³) were incubated with different concentration in 48 hrs.

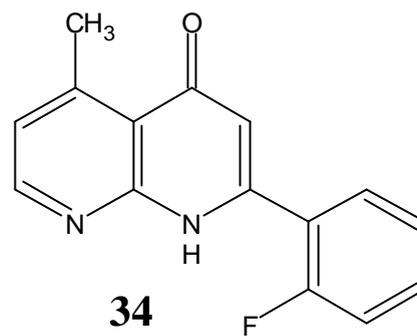
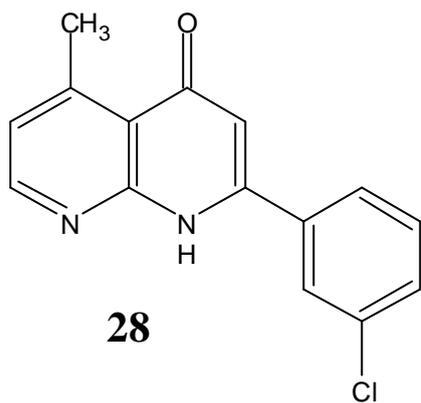
Data was presented as IC₅₀ (μM)

以下就現有數據，大致歸納出以下幾點：

- (1) 對 HL-60、A549、HA22T、NCI-H226 此四種細胞株而言，若 1,8-naphthyridin-4-one 環上取代固定時，化合物 28 之活性大於化合物 33，即 2-phenyl group 上 *meta*-位 Cl 取代之活性大於 *ortho*-位 Cl 取代。
- (2) 對 A549 此株細胞株而言，當 1,8-naphthyridin-4-one 環上取代固定時，整體而言，*meta*-位上 -Cl 取代普遍大於 -OCH₃ 取代。化合物 27 之活性大於化合物 30，化合物 28 之活性大於化合物 31，化合物 29 之活性大於化合物 32。
- (3) 對 HL-60 此株細胞株，發現當 1,8-naphthyridin-4-one 環上取代固定時，改變 2-phenyl group *meta*-位上之取代，除了 29 及 32 以外，*meta*-位上 -Cl 取代普遍大於 -OCH₃ 取代，化合物 27 之活性大於化合物 30，化合物 28 之活性大於化合物 31。且發現所有化合物對此細胞株均有絕佳抑制活性(0.0305-0.1296 μm)。
- (4) 對 HA22T 而言，當 1,8-naphthyridin-4-one 環上取代固定時，改變 2-phenyl group *meta*-位上之取代，整體而言，*meta*-位上 -OCH₃ 取代普遍大於 -Cl 取代。化合物 30 之活性大於化合物 27，化合物 31 之活性大於化合物 28，化合物 32 之活性大於化合物 29。
- (5) 從生物活性數據中也可發現，標的化合物 27 對於 HL-60 此株細胞株具有選擇性的抑制活性，值得深入探討。
- (6) 文獻所未載 2-phenyl group 之 *ortho*-位取代化合物，-F 取代化合物 34 對 HL-60、A549、HA22T 此三株細胞株感受性，明顯

優於-Cl取代化合物 33。

(7) 由 HL-60、A549、HA22T 此三株細胞株藥理數據得知，化合物 28 及 34 對此三株細胞株均有明顯抑制活性。

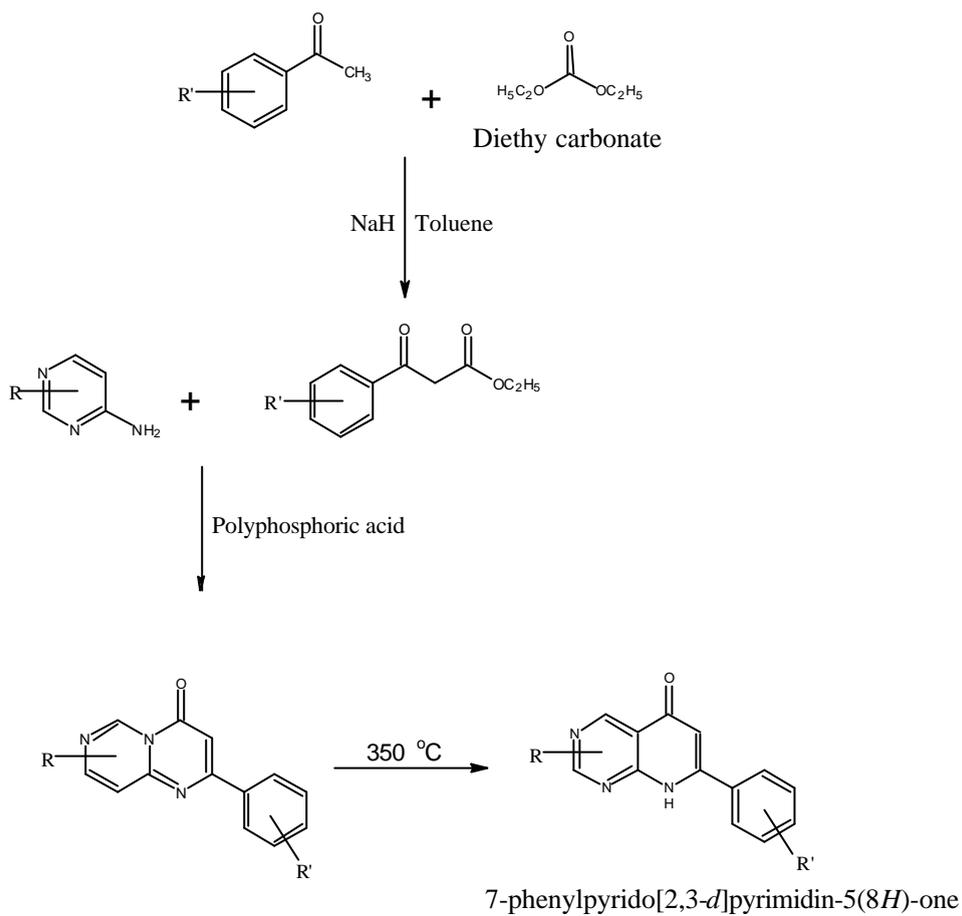


第三章、結論

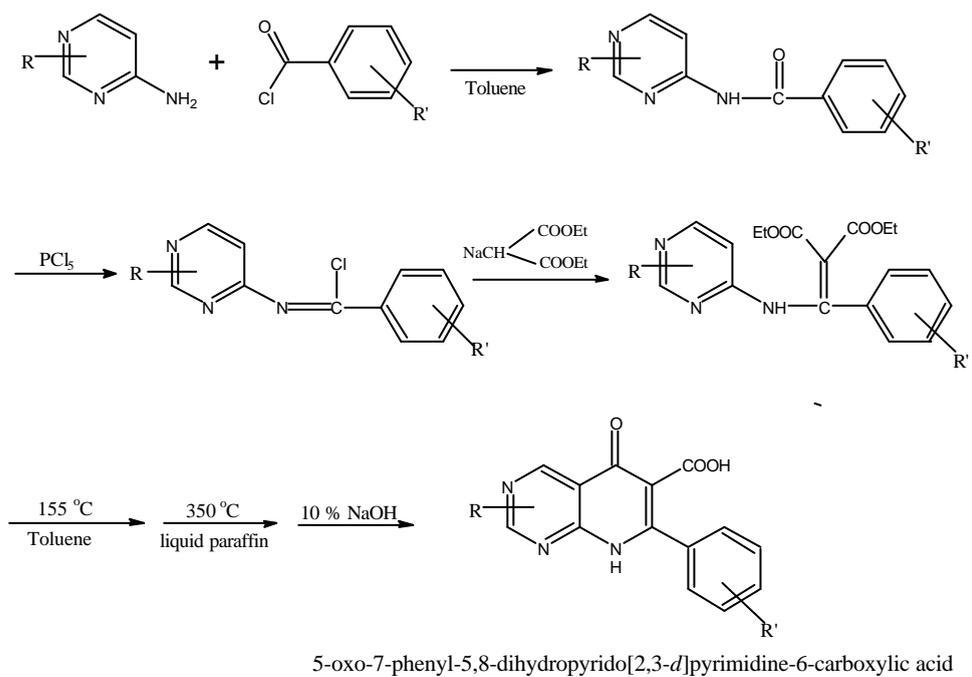
著者為改善反應之嚴苛環境，著手尋找明確條件及方法，發現利用微波照射，減緩嚴苛的反應條件，並不如預期順利。於是利用傳統給熱，於沙浴中反覆檢討加熱方式而獲得穩定合成條件，利用這種穩定的合成方法，著者合成了一系列 2-PN 衍生物，有一些是過去本研究室所合成出來的化合物，有一些是新的化合物，著者也提供了這些化合物對 HL-60、A549、HA22T 及 NCI-H226 等癌細胞株抑制活性的探討，結果發現化合物 28 及 34 具有進一步研究的價值。

未來發展方向

至此，對於高溫下嚴苛反應條件，著者已順利克服，並使用類似方法，發展另一類具有開發潛力的化合物 7-phenylpyrido[2,3-*d*]-pyrimidin-5(8*H*)-ones，此類化合物合成方法可能如 **Scheme 19** 所示，有鑑於 2-PQ 及 2-PN 類緣衍生物，水溶性極差，更可以於此結構上套上 -COOH 基團，發展 5-oxo-7-phenylpyrido[2,3-*d*]-pyrimidine-6-carboxylic acid，以增加其水溶性，此類化合物合成方法可能如 **Scheme 20** 所示。



Scheme 19



Scheme 20

第四章 實驗部分

第一節 試藥與溶媒

(一) 試藥:

1. 購自德國默克公司者

Diethylmalonate

Ethyl benzoylacetate

Liquid paraffin

Polyphosphoric acid

Sodium hydride

Sea sand

2. 購自英國 Lancaster 公司者

2-Aminopyridine

2-Chloroacetophenone

3-Chloroacetophenone

2-Fluoroacetophenone

3-Fluorobenzoyl chloride

3-Methoxyacetophenone

4-Methyl-2-aminopyridine

5-Methyl-2-aminopyridine

6-Methyl-2-aminopyridine

3. 購自日本東京化成株式會社者

Ethyl chloroacetate

4. 購自瑞士 Fluka 公司者

Natrium, 99.5 %

5. 購自美國 Tedia 公司者

Absolute ethanol, 99.5 %

6. 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. 購自德國默克公司者

Choroform- d_1 (for NMR spectroscopy, 99.8 %)

Dimehylsulfoxide- d_6 (for NMR spectroscopy, 99.8 %)

Ethyl acetate (guaranted 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 (guaranted reagent; G. R)

Toluene (ACS grade)

3. 購自台灣省菸酒公賣局者

Ethanol, 95%

(三) 材料

1. 薄層色層分析(Thin-Layer Chromatography)

購自德國 E.Merck 公司出品之 PI-e-coated-aluminium TLC sheets

(silica gel 60 F₂₅₄ , 20×20 cm , 0.2 mm layer thickness , Art.554)。

2. 管柱色層分析(Column Chromatography)

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

3. 購自 Biowest

DMEM medium

F12 K medium

Fetal bovine serum (FBS)

RPMI 1640 culture medium

4. 購自 Gibco laboratories (Grand Island, NY)
Antibiotics (Penicillin, Streptomycin)
L-Glutamine
5. 購自美國 American Type Culture Collection (Manassas, VA USA)
A549
HL-60
NCI-H226
6. 購自台灣食品工業發展研究所菌種中心/國家衛生研究院細胞
庫
HA22T

第二節 重要儀器

(一) 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 ，溫度未經校正。

(二) 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-Visible Recording Spectrophotometer 測定，使用氯仿為溶劑，最大吸收波長(λ_{\max})單位為 nm，以 log 表示 Molar absorptivity。

(三) 紅外線光譜儀(Infrared Spectrophotometer)

紅外線光譜分析係採用 Spectrum One FT-IR Spectrometer 測定，以溴化鉀粉末為打錠稀釋劑，光譜單位為波數(cm^{-1})。

(四) 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 。(中國醫藥大學精密儀器中心)

(五) 元素分析

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 $\pm 4\%$ 以內。

(六) 紫外光燈(UV Equipment)

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

(七) 核磁共振光譜儀(Nuclear Magnetic Resonance Spectromete)

採用 Bruker Advance DPX-200 FT-NMR Spectrometer (中國醫藥大學精密儀器中心), 以 (ppm)值表示化學位移值, 而以 TMS (tetramethylsilane) ($= 0$)為內部標準。偶合常數以 J 表示; 並以 s 表單峰(singlet), d 表二重峰(doublet), t 表三重峰(triplet), 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)。

(八) 免疫酵素分析儀 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay reader, ELISA reader)

(九) 微波合成反應系統(CEM 300 Walt Microwave)

(十) 350 電熱包(Montle heat) (New Lab instrument Co. 型號: MNS 500, 300 walt, 110V)

第三節、藥理試驗方法

1. 細胞致毒活性試驗：

人類癌細胞 HL-60、NCI-H226、A549、HA22T 的培養

人類血癌細胞(HL-60)、肺癌細胞(NCI-H226、A549)及肝癌細胞(HA22T)培養在溫度 37 °C、溼度 95 %、5 % CO₂的培養箱中。並分別以含有 10 % 胎牛血清(Fetal bovine serum, FBS)、1 % L-glutamine、100 unit / ml Penicillin 和 100 μl / ml Streptomycin 的培養基(HL-60、NCI-H226 以 RPMI-1640 medium , A549 以 F12K medium , HA22T 以 DMEM medium)培養之。

藥物對血癌細胞(HL-60)、肺癌細胞(NCI-H226、A549)與肝癌細胞(HA22T) 增殖作用之影響

取 HL-60 適量細胞(1.0×10^5 / ml)培養在 24-well 培養皿，再加入不同濃度藥物經 48 h 培養後，收集離心並去除培養液，以 MTT assay 方法測定其增殖率。

分別取 NCI-H226、A549、HA22T 適量細胞(5.0×10^3 / ml)培養在 96-well 培養皿經 24 h 培養後，加入含有不同濃度藥物之培養液培養 48 h 後去除培養液，以 MTT assay 方法測定其增殖率³⁵⁻³⁶。

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

以上細胞株致毒活性篩選係委託藥化所徐美華學姊測試。

Sulforhodamine (SRB)腫瘤細胞生長測定法

將腫瘤細胞(PC-3 cell)以 5000 cells/well 方式種於 96 well 之細胞培養皿中。在細胞緊貼於培養皿 24 小時後加入實驗藥物，於 37 及 5 % CO₂/ 95 % 空氣以及 100 % 相對溼度中作用 48 小時。作用完成後將細胞以冰冷的 trichloroacetic acid (TCA, 最終濃度為 10 %) 置於 4 中作用 60 分鐘加以固定，隨後將上清液丟棄並以清水緩緩沖洗四次隨後風乾。加入 100 μl 已溶於 1 % acetic acid 中含有 0.4 % (w/v) 之 SRB 溶液於每個 well 中，並且於室溫中靜置 10 分鐘。待染色後，將未結合至細胞的染料利用 1 % acetic acid 沖洗四次之後隨即風乾。已結合染料之細胞則以 10 mM trizma base 溶解出，再以自動讀盤儀於 515 nm 波長測得吸光值。吸光值之計量方式[零時間點(time zero) (T_Z), 控制組之生長(control growth) (C), 篩選藥物存在下的生長(T_i)]。最終以生長百分比計算出不同濃度之藥物抑制生長情形，其抑制生長百分比計算公式如下：

$$[(T_i - T_z)/(C - T_z)] \times 100 \text{ for concentrations for which } T_i \geq T_z$$

$$[(T_i - T_z)/T_z] \times 100 \text{ for concentrations for which } T_i < T_z.$$

每次實驗重複三次求得劑量相關性。50 % 的生長抑制(GI₅₀)計算如下：
 $[(T_i - T_z)/(C - T_z)] \times 100 = 50$ ，其為藥物作用期間計算藥物濃度在控制組細胞含量之淨值所增加的蛋白質，其結果造成 50 % 減少的濃度。

以上藥理實驗，著者委託國衛院及台大藥理中心進行中。

化合物之製備

合成 2-, 3- or 4- substituted-ethyl benzoylacetates (7-12)

3-Chloro-ethyl benzoylacetate (7)之合成

取 diethylcarbonate (5.9 g, 0.05 mol) 置於 300 毫升三頸瓶中，加入 150 毫升以鈉脫水過之無水甲苯，秤取 Sodium hydride (1.8 g, 0.075 mol) 加入三頸瓶中，攪拌並加熱至甲苯迴流，接著緩慢滴加 3-chloroacetophenone (3.85 g, 0.025 mol)，反應兩小時後，離開熱源冷卻至室溫，加入 200 毫升蒸餾水，以冰醋酸中和氫氧化鈉，以甲苯萃取出黃色液體，減壓濃縮至稠狀液體，以管柱層析法分離，得化合物 7 之稠狀液體(產率 83 %)。

3-Methoxy-ethyl benzoylacetate (8)之合成

取 diethylcarbonate (5.9 g, 0.05 mol) 3-methoxy-acetophenone(3.75 g, 0.025 mol)，依照化合物 7 相同合成方法之反應條件及處理，得化合物 8 之稠狀液體(產率 71 %)。

2-Chloro-ethyl benzoylacetate (9)之合成

取 diethylcarbonate (5.9 g, 0.05 mol)、2-chloroacetophenone (3.85 g, 0.025 mol)，依照化合物 7 相同合成方法之反應條件及處理，得化合物 9 之之稠狀液體(產率 79 %)。

2-Fluoro-ethyl benzoylacetate (10)之合成

取 diethylcarbonate (5.9 g, 0.05 mol)、2-fluoroacetophenone (3.45 g, 0.025 mol), 依照化合物 7 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 10 之稠狀液體(產率 82%)。

4-Chloro-ethyl benzoylacetate (11)之合成

取 diethylcarbonate (5.9 g, 0.05 mol)、4-chloroacetophenone (3.85 g, 0.025 mol), 依照化合物 7 相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物 11 之稠狀液體(產率 73%)。

合成2-Arylpyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-ones (17-26)

2-(3'-Chlorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (17)之合成

取2-aminopyridine (3.76 g, 0.04 mol)置於三頸瓶中，加入適量 Polyphosphoric acid，加熱至155 時，緩慢滴加3-chloro-ethyl benzoylacetate (約4.53 g, 0.02 mol)，顏色逐漸轉變為黑色，反應四小時，停止加熱，待溫度降至100 時，緩慢滴加20 ml蒸餾水，以二氯甲烷萃取，減壓濃縮至乾燥為黑色稠狀液體，以矽膠分離(沖提液二氯乙烷: 乙酸乙酯= 6:1)，以丙酮做再結晶，得化合物17之黃色晶體(產率70%)。

化合物17之結構鑑定：

化合物17為黃色晶體，熔點159-160 。

質譜(EIMS) (圖17-1):由分子離子峰(m/z 256)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{14}H_9ClN_2O$ ，與預期相符。

IR圖譜(圖17-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 於1635 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰，於3068 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收： λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log ϵ): 348.8 (4.04)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖17-3): 6.83 (1H, *s*, H-3), 7.07 (1H, *m*, H-7), 7.39 (2H, *m*, H-4', H-5'), 7.79 (2H, *m*, H-8, H-9), 7.97 (1H, *m*, H-6'), 8.01 (1H, *m*, H-2'), 9.01 (1H, *d*, $J = 7.1$, H-6)

8-Methyl-2-(3'-chlorophenyl)pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-one (18)之合成

取4-methyl-2-Aminopyridine (4.33 g , 0.04 mol)與3-chloro-ethyl benzoylacetate (4.53 g , 0.02 mol) , 依照化合物17相同合成方法之反應條件及處理 , 得化合物18之白色片狀結晶(產率78 %)。

化合物18之結構鑑定 :

化合物18為白色片狀結晶 , 熔點142-144 。

質譜(EIMS) (圖18-1) :由分子離子峰(m/z 270)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{15}H_{11}ClN_2O$, 與預期相符。

IR圖譜(圖18-2) λ_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 1689 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰 , 於 3081 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收 : λ_{max} (MeOH) nm (log e) : 352.8 (4.21)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖18-3) : 2.46 (3H, s, CH_3) , 6.76 (1H, s, H-3) , 6.92-6.96 (1H, *m*, H-7) , 7.37-7.47 (3H, *m*, H-4'. H-5'. H-9) , 7.84-7.89 (1H, *m*, H-6') , 8.07 (1H, *d*, $J = 1.8\text{ Hz}$, H-2') , 8.91 (1H, *d*, $J = 7.2\text{ Hz}$, H-6)

7-Methyl-2-(3'-chlorophenyl)pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-one (19)之合成

取5-methyl-2-aminopyridine (4.33 g , 0.04 mol)與3-chloro-ethyl benzoylacetate (4.53 g , 0.02 mol) , 依照化合物17相同合成方法之反應條件及處理 , 得化合物19之白色片狀結晶(產率70 %)。

化合物19之結構鑑定 :

化合物19為白色片狀結晶 , 熔點170-172 。

質譜(EIMS) (圖19-1) :由分子離子峰(m/z 270)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{15}H_{11}ClN_2O$, 與預期相符。

IR圖譜(圖19-2) λ_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 1675 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰 , 於 3081 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收 : λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log e) : 368.6 (4.20)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖19-3) :

2.38-2.39 (3H, *s*, CH_3) , 6.79 (1H, *s*, H-3) , 7.35-7.39 (2H, *m*, H-4' . H-5') , 7.58-7.59 (2H, *m*, H-8 . H-9) , 7.83-7.88 (1H, *m*, H-6') , 8.05-8.07 (1H, *m*, H-2') , 8.82 (1H, *d*, $J = 0.7\text{ Hz}$, H-6)

2-(3'-Methoxyphenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (20)之合成

取2-aminopyridine (4.23g , 0.045 mol)與3-methoxy-ethyl benzoyl-acetate (5g , 0.0225 mol)依照化合物17相同合成方法及處理，但反應溫度控制在115-120 °C，得化合物20之黃色片狀結晶(產率68%)。

化合物20之結構鑑定：

化合物20為黃色片狀結晶，熔點150-152 °C。

質譜(EIMS) (圖20-1) :由分子離子峰(m/z 252)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{15}H_{12}N_2O_2$ ，與預期相符。

IR圖譜(圖20-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 $1673cm^{-1}$ 處有(C=O)伸展振動吸收峰，於 $3079 cm^{-1}$ 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收： λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log ϵ) : 348.8 (4.15)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖20-3) :

3.88 (3H, *s*, OCH_3) , 6.88 (1H, *s*, H-3) , 6.98-7.13 (2H, *m*, H-4'.H-7) ,

7.34-7.42 (1H, *t*, $J = 8.2$ Hz, H-5') , 7.59-7.74 (4H, *m*, H-9. H-8. H-2'.

H-6') , 9.02-9.06 (1H, *m*, H-6)

8-Methyl-2-(3'-methoxyphenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (21)之合成

取 4-methyl-2-aminopyridine (4.86 g , 0.045 mol)與3-methoxy-ethyl benzoylacetate (5g , 0.0225 mol) , 依照化合物20相同合成方法之反應條件及處理 , 得化合物21之透明無色片狀結晶(產率78 %)。

化合物21之結構鑑定 :

化合物21為透明無色片狀結晶 , 熔點150-152 。

質譜(EIMS) (圖21-1) :由分子離子峰(m/z 266)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{16}H_{14}N_2O_2$, 與預期相符。

IR圖譜(圖21-2) λ_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 $1677cm^{-1}$ 處有(C=O)伸展振動吸收峰 , 於 $3079 cm^{-1}$ 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收 : λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log e) : 355.4 (4.08)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖21-3) :

2.46 (3H, *s*, CH_3) , 3.86 (3H, *s*, OCH_3) , 6.80 (1H, *s*, H-3) , 6.91-7.02 (2H, *m*, H-4'. H-7) , 7.32-7.40 (1H, *t*, $J = 8.2$ Hz, H-5') , 7.49 (1H, *s*, H-9) , 7.58-7.62 (2H, *m*, H-2. H-6') , 8.93 (1H, *d*, $J = 7.2$ Hz, H-6)

7-Methyl-2-(3'-Methoxyphenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (22)之合成

取5-methyl-2-Aminopyridine (4.86 g, 0.045 mol)與3-methoxy-ethyl benzoylacetate (5g, 0.0225 mol), 依照化合物20相同合成方法之反應條件及處理, 得化合物22之透明白色針狀結晶(產率69%)。

化合物22之結構鑑定：

化合物22為透明白色針狀結晶, 熔點163-164。

質譜(EIMS) (圖22-1):由分子離子峰(m/z 266)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{16}H_{14}N_2O_2$, 與預期相符。

IR圖譜(圖22-2) λ_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 1708 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰, 於 3079 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收: λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log e): 331.2 (4.24)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖22-3):

2.40 (3H, *d*, $J = 0.8\text{ Hz}$, CH_3), 3.86 (3H, *s*, OCH_3), 6.84 (1H, *s*, H-3), 7.01 (1H, *t*, $J = 1.8\text{ Hz}$, H-4'), 7.36 (1H, *t*, $J = 8.2\text{ Hz}$, H-5'), 7.57- 7.62 (4H, *m*, H-2'. H-6'. H-8. H-9), 8.83 (1H, *s*, H-6)

8-Methyl-2-(2'-chlorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (23)之合成

取4-methyl-2-aminopyridine (4.33 g, 0.04 mol)與2-chloro-ethyl benzoylacetate (4.53 g, 0.02 mol)依照化合物17相同合成方法及處理，反應溫度控制在145-155 °C，得化合物23之白色毛狀結晶(產率72%)。

化合物23之結構鑑定：

化合物23為白色毛狀晶體，熔點160-162 °C。

質譜(EIMS) (圖23-1):由分子離子峰(m/z 270)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{15}H_{11}ClN_2O$ ，與預期相符。

IR圖譜(圖23-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} ：於 $1691cm^{-1}$ 處有(C=O)伸展振動吸收峰，於 $3087 cm^{-1}$ 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收： λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log ϵ): 345.6 (4.21)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖23-3)：

2.48 (3H, *s*, CH_3) , 6.66 (1H, *s*, H-3) , 7.01 (1H, *dd*, $J = 1.8, 9.4$ Hz, H-7) , 7.32- 7.61 (5H, *m*, H-3'. H-4'. H-5'. H-6'. H-9) , 8.99 (1H, *d*, $J = 6.0$ Hz, H-6)

8-Methyl-2-(2'-fluorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (24)之合成

取4-methyl-2-aminopyridine (4.33 g , 0.04 mol)與2-fluoro-ethyl benzoylacetate (4.20 g , 0.04 mol)依照化合物23相同合成方法之反應條件及處理，得化合物24之白色透明柱狀結晶。

化合物24之結構鑑定：

化合物24為白色透明柱狀結晶，熔點153-155 。

質譜(EIMS) (圖24-1) :由分子離子峰(m/z 254)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{15}H_{11}FN_2O$ ，與預期相符。

IR圖譜(圖24-2) λ_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 $1681cm^{-1}$ 處有(C=O)伸展振動吸收峰，於 $3049 cm^{-1}$ 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收： λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log e) : 348.8 (4.01)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖24-3) :

2.49 (3H, *s*, CH_3) , 6.93- 7.18 (2H, *m*, H-3. H-7) , 7.21- 7.50 (4H, *m*, H-3'. H-4'. H-5'. H-9) , 8.07 (1H, *td*, $J = 1.8, 5.8$ Hz, H-4') , 8.94 (1H, *d*, $J = 7.3$ Hz, H-6)

7-Methyl-2-(2'-fluorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (25)之合成

取 4-methyl-2-aminopyridine (4.33 g , 0.04 mol)及2-fluoro-ethyl benzoyl-acetate (4.20 g , 0.04 mol)依照化合物17相同合成方法及處理，反應溫度控制在145-155 °C，得化合物25之白色透明柱狀結晶(產率70%)。

化合物25之結構鑑定：

化合物25為白色透明柱狀晶體，熔點150-152 °C。

質譜(EIMS) (圖25-1):由分子離子峰(m/z 254)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{15}H_{11}FN_2O$ ，與預期相符。

IR圖譜(圖25-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 $1672cm^{-1}$ 處有(C=O)伸展振動吸收峰，於 $3076 cm^{-1}$ 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收： λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log ϵ) : 366.2 (4.08)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖25-3) :

2.44 (3H, *d*, $J = 1.1$ Hz, CH_3) , 6.98 (1H, *s*, H-3) , 7.11-7.31(2H, *m*, H-3', H-8) , 7.37-7.45 (1H, *m*, H-5') , 7.62-7.68 (2H, *m*, H-6', H-9) , 8.04- 8.12 (1H, *td*, $J = 1.9, 5.8$ Hz, H-4') , 8.88 (1H, *s*, H-6)

7-Chloro-2-phenylpyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one (26)之合成

取5-chloro-2-aminopyridine (5.14g , 0.04 mol)與ethyl benzoylacetate (3.82 g , 0.02 mol)依照化合物17相同合成方法及處理，得化合物26之褐色針狀結晶(產率76%)。

化合物26之結構鑑定：

化合物26為褐色針狀結晶晶體，熔點169.5-171 。

質譜(EIMS) (圖26-1) :由分子離子峰(m/z 256)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{14}H_9ClN_2O$ ，與預期相符。

IR圖譜(圖26-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 1689 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰，於 3087 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收： λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log ϵ) : 356.6 (3.78)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖26-3) :

6.89 (1H, *s*, H-3) , 7.43-7.50 (3H, *m*, H-3'. H-4'. H-5') , 7.64 (2H, *d*, $J = 1.4$ Hz, H-8 . H-9) , 8.01- 8.06 (2H, *m*, H-2'. H-6') , 9.04 (1H, *t*, $J = 1.5$ Hz, H-6)

合成 2-Aryl-1,8-naphthyridin-4(1*H*)-ones (27-35)

2-(3'-Chlorophenyl)-1,8-naphthyridin-4-one (27)之合成

取化合物17 (1000 mg)置於100毫升三頸瓶中，加入約15- 20毫升 liquid paraffin，將三頸瓶置入電熱包(New Lab instrument Co. 型號: MNS 500，300 walt，110V)，倒入白色海砂 250 cm³ (Merck Seasand)，直至三頸瓶完全掩沒，裝置上迴流管，一頸口裝置高於三百五十度之溫度計，另一頸口裝上可導出氣體之塑膠水管，並將水管置於盛滿冰塊的燒杯中。打開熱源，攪拌並將加熱開關開至最大功率，當溫度上升至210-230 左右，開始冒出大量白色氣體，當溫度繼續上升至310，關掉加熱開關，溫度繼續上升至350 左右，當溫度計開始從350 下降時，再打開加熱開關，溫度下降至345 左右繼續上升，此時關上熱源，溫度繼續回升至355 左右，當溫度下降時，重複以上步驟，反應約一小時，停止反應，當溫度降至120 倒入1000毫升正己烷中，並且冰浴三十分鐘，沉澱物及液體分別以矽膠(以三氯甲烷：乙酸乙酯= 3:1沖提)分離，以三氯甲烷與乙醇做再結晶，得化合物27之白色毛狀結晶(產率23%)。

化合物27之結構鑑定：

化合物27為白色毛狀結晶，熔點274-275 。

質譜(EIMS)(圖27-1):由分子離子峰(m/z 256)及元素分析結果得知此化合物分子式為C₁₄H₉ClN₂O，與預期相符。

IR圖譜(圖27-2) ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 於1652 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰,於3076 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰,於3446 cm^{-1} 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收 : λ_{\max} (MeOH) nm (log e) : 339.4 (4.22)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) (ppm) (文獻值)¹⁸ :

6.58 (1H, *s*, H-3) , 7.36 (1H, *dd*, H-6) , 7.48 (2 H, *m*, H-4'. H-5') , 7.61 (1H, *td*, H-6') , 7.72 (1 H, *t*, H-2') , 8.63 (1H, *dd*, H-7) , 8.66 (1 H, *dd*, H-5)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 200 MHz) (ppm) (圖27-3) :

由於溶解度極差, NMR鑑定不易, 於是著者以混合 $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ 當溶媒, 但發現圖譜上訊號位移改變, 以致於 ^1H 譜無法歸屬, 但由TLC、熔點 質譜及IR圖譜鑑定發現, 實應為2-(3'-chlorophenyl)-1,8-Naphthyridin-4-one無誤。

5-Methyl-2-(3'-chlorophenyl)-1,8-naphthyridin-4-one (28)之合成

取化合物18 (300 mg), 依照化合物27之相同合成方法及處理, 得化合物28之白色針狀結晶(產率31%)。

化合物28之結構鑑定：

化合物28為白色針狀晶體，熔點260-262 。

質譜(EIMS) (圖28-1): 由分子離子峰(m/z 270)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{14}H_9ClN_2O$ ，與預期相符。

IR圖譜(圖28-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} ：於 $1633cm^{-1}$ 處有(C=O)伸展振動吸收峰, 於 $3076 cm^{-1}$ 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰, 於 $3234 cm^{-1}$ 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收： λ_{max} (MeOH) nm (log e) : 337.6 (4.32)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖28-3)：

2.95 (3H, *s*, CH_3), 6.47 (1H, *s*, H-3), 7.02 (1H, *d*, $J = 4.8$ Hz, H-6),

7.45-7.55 (3H, *m*, H-4' . H-5' . H-6'), 7.67 (1H, *d*, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 8.29 (1H, *d*, $J = 4.9$ Hz, H-7)

6-Methyl-2-(3'-chlorophenyl)-1,8-naphthyridin-4-one (29)之合成

取化合物19 (300 mg), 依照化合物27之相同合成方法及處理, 得化合物29之黃色粉末(產率38%)。

化合物29之結構鑑定：

化合物29為黃色粉末, 熔點290-292 。

質譜(EIMS)(圖29-1):由分子離子峰(m/z 270)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{14}H_9ClN_2O$, 與預期相符。

IR圖譜(圖29-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 1645 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰, 於 3077 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰, 於 3440 cm^{-1} 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收: λ_{max} (MeOH) nm (log e): 344.8 (4.18)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 300 MHz) (ppm) (文獻值)¹⁸:

2.46 (3H, *s*, CH_3), 6.57 (1H, *s*, H-3), 7.48 (2H, *m*, H-4', H-5'), 7.61 (1H, *td*, H-6'), 7.72 (1H, *t*, H-2'), 8.42 (1H, *d*, H-7), 8.49 (1H, *d*, H-5)

由於溶解度極差, NMR鑑定不易, 於是著者混合 $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ 當溶媒, 但發現圖譜上訊號位移改變, 以致於 ^1H 譜無法歸屬, 但由TLC、熔點測定、Mass及IR圖譜鑑定發現, 實應為6-methyl-2-(3'-chlorophenyl)-1,8-naphthyridin-4-one無誤

2-(3'-Methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-one (30)之合成

取化合物20 (300 mg), 依照化合物27之相同合成方法及處理, 得化合物30之黃色毛狀結晶(產率28%)。

化合物30之結構鑑定：

化合物30為黃色毛狀晶體, 熔點166-167 。

質譜(EIMS) (圖30-1): 由分子離子峰(m/z 252)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{15}H_{12}N_2O_2$, 與預期相符。

IR圖譜(圖30-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 $1618cm^{-1}$ 處有(C=O)伸展振動吸收峰, 於 $3068 cm^{-1}$ 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰, 於 $3430 cm^{-1}$ 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收: λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log e): 340.0 (4.18)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖30-3):

3.85 (3H, *s*, OCH_3), 6.59 (1H, *s*, H-3), 7.07-7.13 (1H, *m*, H-4'), 7.22-7.32 (3H, *m*, H-2', H-6', H-6), 7.45 (1H, *t*, $J = 7.9$ Hz, H-5'), 8.17 (1H, *s*, H-7), 8.69 (1H, *dd*, $J = 1.8, 6.1$ Hz, H-5)

5-Methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-one (31)之合成

取化合物21 (300 mg), 依照化合物27之相同合成方法及處理, 得化合物31之黃色菱狀結晶(產率30.5%)。

化合物31之結構鑑定：

化合物31為黃色菱狀晶體, 熔點178-180 。

質譜(EIMS) (圖31-1): 由分子離子峰(m/z 266)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{16}H_{14}N_2O_2$, 與預期相符。

IR圖譜(圖31-2) λ_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 1619 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰, 於 3162 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰, 於 3232 cm^{-1} 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收: λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log e): 338.6 (4.22)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖31-3):

2.99 (3H, *d*, $J = 0.4$ Hz, CH_3), 3.88 (3H, *s*, OCH_3), 6.54 (1H, *s*, H-3), 6.95 (1H, *d*, $J = 0.4$ Hz, H-6), 6.97-7.14 (1H, *m*, H-4'), 7.23-7.34 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.42-7.50 (1H, *t*, $J = 7.8$ Hz, H-5'), 7.89 (1H, *d*, $J = 5.0$ Hz, H-7), 10.72 (1H, *b*, -NH)

6-Methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-one (32)之合成

取化合物22 (300 mg), 依照化合物27之相同合成方法及處理, 得化合物32之黃色粉末(產率38%)。

化合物32之結構鑑定：

化合物32為黃色粉末, 熔點216-218 。

質譜(EIMS) (圖32-1): 由分子離子峰(m/z 266)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{16}H_{14}N_2O_2$, 與預期相符。

IR圖譜(圖32-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 1618 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰, 於 3033 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰, 於 3442 cm^{-1} 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收: λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log e): 348.0 (4.10)

1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) (ppm) (圖32-3):

2.31 (3H, *s*, CH_3), 3.80 (3H, *s*, OCH_3), 6.52 (1H, *s*, H-3), 7.07 (1H, *dd*, $J = 8.0, 2.1\text{ Hz}$, H-4'), 7.20 (1H, *d*, $J = 2.1\text{ Hz}$, H-2'), 7.25- 7.27 (1H, *m*, H-6'), 7.40 (1H, *t*, $J = 8.0\text{ Hz}$, H-5'), 7.76 (1H, *d*, $J = 1.8\text{ Hz}$, H-7), 8.45 (1H, *d*, $J = 1.3\text{ Hz}$, H-5), 11.72 (1H, *b*, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) (ppm) (圖 32-4) :

18.00 (CH_3), 55.47 (OCH_3), 109.62 (C-3), 113.02 (C-2'), 116.34 (C-4'),
119.78 (C-6'), 129.57 (C-6), 130.41 (C-5'), 135.51 (C-5), 136.00 (C-4a,
C-1'), 149.36 (C-8a), 151.29 (C-2), 153.56 (C-7), 160.13 (C-3'), 178.87
(C = O)

化合物22與化合物32由 ^1H 圖譜得知，兩化合物有非常明顯差別。化合物32之 ^1H 圖譜明顯多了NH訊號之寬峰訊號，化合物22有8個aromatic proton，而化合物32只有7個aromatic proton，UV最大吸收波長不相同，但就質譜而言，分子離子峰皆為(m/z 266)，兩者為結構異構物。

5-Methyl-2-(2'-chlorophenyl)-1,8-naphthyridin-4-one (33)之合成

取化合物23 (300 mg), 依照化合物27之相同合成方法及處理, 得化合物33之黃色菱狀結晶(產率31%)。

化合物33之結構鑑定：

化合物33為黃色菱狀晶體, 熔點230-232 。

質譜(EIMS) (圖33-1): 由分子離子峰(m/z 270)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{15}H_{11}ClN_2O$, 與預期相符。

IR圖譜(圖33-2) λ_{max} (KBr) cm^{-1} : 於 1635 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰, 於 3058 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰, 於 3268 cm^{-1} 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收 : λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log e) : 336.4 (3.97)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖33-3) :

2.95 (3H, *s*, CH_3), 6.31 (1H, *s*, H-3), 6.83 (1H, *d*, $J = 5\text{ Hz}$, H-6), 7.26-7.55 (5H, *m*, H-7, H-3', H-4', H-5', H-6'), 11.65 (1H, *b*, NH)

5-Methyl-2-(2'-fluorophenyl)-1,8-naphthyridin-4-one (34)之合成

取化合物24 (300 mg), 依照化合物27之相同合成方法及處理, 得化合物34之黃色針狀結晶(產率21%)。

化合物34之結構鑑定：

化合物34為黃色針狀晶體，熔點230-232。

質譜(EIMS) (圖34-1): 由分子離子峰(m/z 254)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{15}H_{11}FN_2O$ ，與預期相符。

IR圖譜(圖34-2) ν_{max} (KBr) cm^{-1} ：於 1643 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰，於 3060 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰，於 3253 cm^{-1} 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收： λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log ϵ): 338.2 (4.25)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖34-3)：

2.95 (3H, *s*, CH_3), 6.47 (1H, *s*, H-3), 6.91 (1H, *d*, $J = 4.8\text{ Hz}$, H-6), 7.21-7.34 (2H, *m*, H-3', H-5'), 7.48-7.66 (2H, *m*, H-4', H-6'), 7.78 (1H, *d*, $J = 4.8\text{ Hz}$, H-7), 10.87 (1H, *b*, NH)

合成 2-Phenylpyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one-3-carboxylate (40)

N-(5-Chloropyridin-2-yl)-3-fluorobenzamide (38)之合成

秤取 5-chloro-2-aminopyridine (36) (6.43 g, 0.05 mol), 加入三百毫升甲苯中, 再加入五十毫升吡啶, 在室溫下攪拌, 隨後緩慢滴加 3-fluoro-benzoyl chloride(37) (15.85 g, 0.1 mol), 反應兩小時, 減壓濃縮至乾燥, 以乙醇做再結晶, 得化合物 38之白色片狀結晶(產率91%)。

7-Chloro-2-(3'-fluorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one-3-carboxylate (40)之合成

秤取 *N*-(5-chloropyridin-2-yl)-3-fluoro-benzamide (38) (5.1 g, 0.0203 mol) 與 PCl₅ (4.2g, 0.0203 mol) 加熱迴流進行氯化反應, 反應兩小時, 得到橙黃色液體 carboximidoyl chloride (38a), 並同時秤取金屬鈉 (0.45 g, 0.0203 mol) 溶於兩百毫升無水乙醇製備乙醇鈉, 再與 diethyl malonate 形成白色膠狀 sodium diethyl malonate (39)。

將化合物 38a 與 39 混合於無水甲苯中, 加熱迴流, 得到 diethyl [[(5-chloropyridin-2-yl)amino](3-fluorophenyl)methylene]malonate, 減壓濃縮至乾燥, 以乙醚萃取之, 再經由濃縮, 將未純化之粗產物以加熱環化方式得到黑色固體, 經由管柱層析法純化, 以乙醇做再結晶, 得到化合物 40 之黃綠色柱狀結晶(產率 57%)。

化合物40之結構鑑定：

化合物40為黃綠色柱狀晶體，熔點150-151 。

質譜(EIMS) (圖40-1):由分子離子峰(m/z 346)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{17}H_{12}ClFN_2O_3$ ，與預期相符。

IR圖譜(圖40-2) λ_{max} (KBr) cm^{-1} ：於 1643 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰，於 3060 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰，於 3253 cm^{-1} 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收： λ_{max} ($CHCl_3$) nm (log e) : 365.8 (4.12)

1H -NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) (ppm) (圖40-3) : 1.04 (3H, *t*, $J = 7.1$ Hz, $COOCH_2CH_3$), 4.13 (2H, *q*, $J = 7.1$ Hz, OCH_2CH_3), 7.38-7.40 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6') , 7.42- 7.44 (1H, *m*, H-5') , 7.84 (1H, *d*, $J = 9.4$ Hz, H-9) , 8.15 (1H, *dd*, $J = 7.1, 2.4$ Hz, H-8) , 9.00 (1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-6)

7-Chloro-2-(3'-fluorophenyl)pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-one-3-carboxylic acid (41)之合成

化合物 40，在 10 % sodium hydroxide 鹼性溶液催化下，將酯類基團水解成酸基後得到化合物 41 之乳白色沉澱。

Ethyl 4-oxo-6-methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-yl-acetate (42)之合成

秤取化合物 32 (200 mg, 0.00075 mol), 以四氫呋喃(Tetrahydrofuran) 為溶媒, 加入氫化鈉(sodium hydride) (0.1g, 0.004 mol)反應, 隨後再滴加 ethyl chloroacetate (0.36g, 0.003 mol), 以管柱層析法分離, 以乙醇做再結晶, 可得化合物 ethyl 4-oxo-6-methyl-2-(3'-methoxyphenyl)-1,8-naphthyridin-4-yl acetate (42)之白色針狀結晶(產率 62%)。

化合物42之結構鑑定：

化合物42為白色針狀結晶, 熔點140-142 。

質譜(EIMS) (圖42-1):由分子離子峰(m/z 352)及元素分析結果得知此化合物分子式為 $C_{20}H_{20}N_2O_4$, 與預期相符。

IR圖譜(圖42-2) ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 波數1643 cm^{-1} 處有(C=O)伸展振動吸收峰, 波數3060 cm^{-1} 處有芳香性(C-H)伸展振動吸收峰, 波數3253 cm^{-1} 處有(N-H)伸展振動吸收峰。

UV最大吸收: λ_{\max} (CHCl₃) nm (log e): 326.0 (3.90)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz) (ppm) (圖42-3):

1.61-1.67 (3H, *m*, OCH₂CH₃), 2.58 (3H, *s*, CH₃), 3.96 (3H, *s*, OCH₃), 4.39 (2H, *q*, $J = 7.0$ Hz, OCH₂CH₃), 7.04-7.08 (3H, *m*, H-4'), 7.26-7.28 (3H, *m*, H-2'). -OCH₂COOC₂H₅), 7.44 (1H, *t*, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.75 (1H, *d*, $J = 7.8$

Hz, H-6'), 7.91 (1H, *s*, H-7), 8.36 (1H, *s*, H-3), 8.95 (1H, *d*, $J = 2.4$ Hz, H-5)

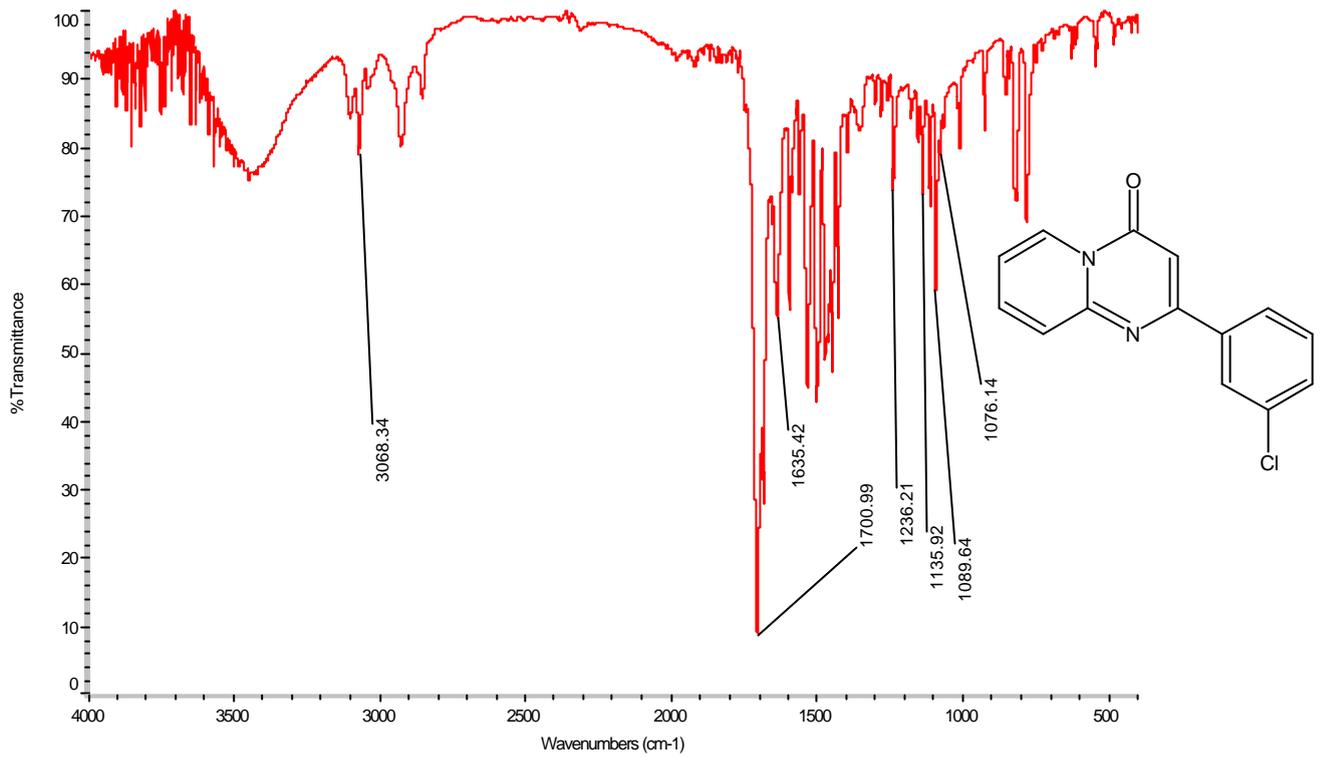


圖 17-2 化合物 17 之 IR 圖譜

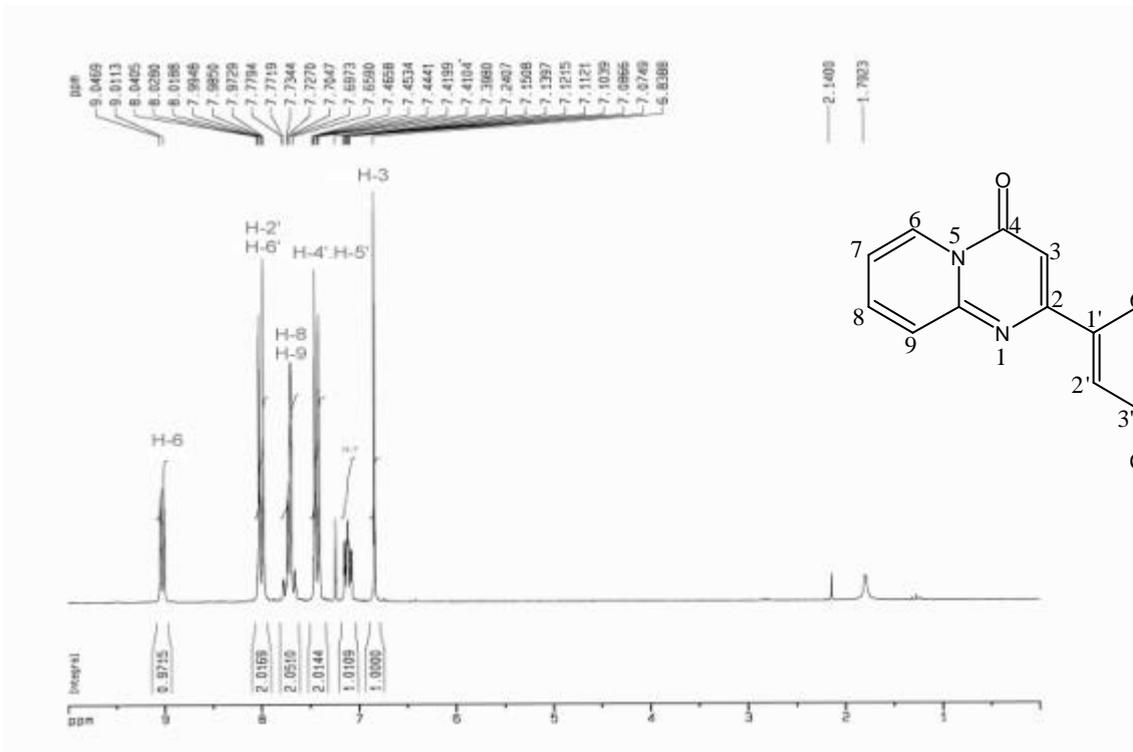


圖 17-3 化合物 17 之 ¹H-NMR 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

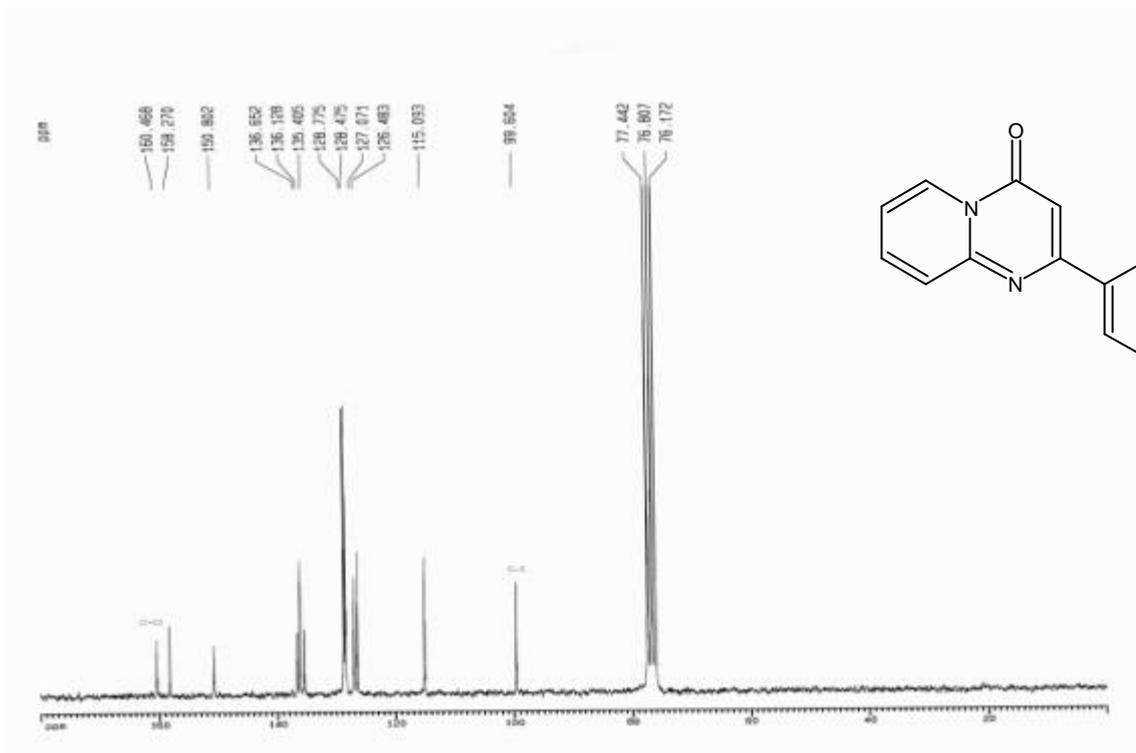


圖 17-4 化合物 17 之 ^{13}C -NMR 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

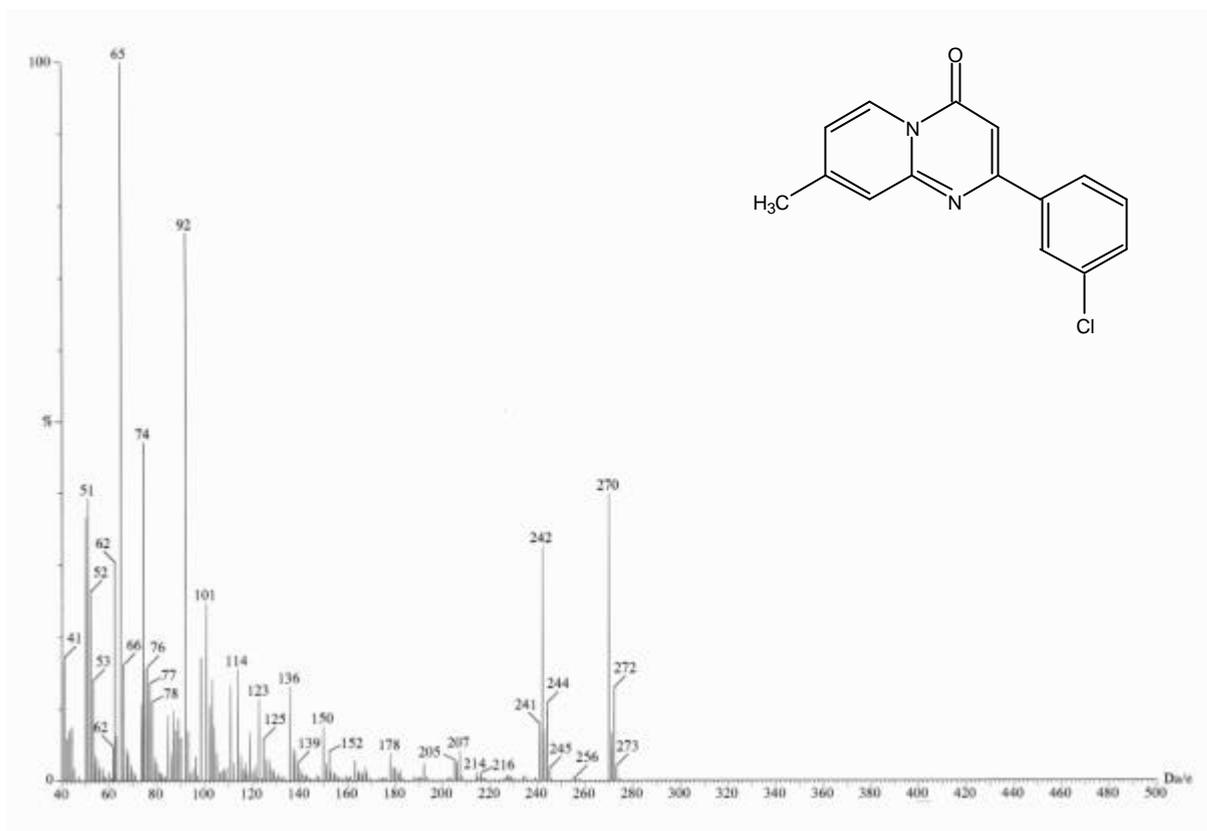


圖 18-1 化合物 18 之質譜圖譜(EIMS)

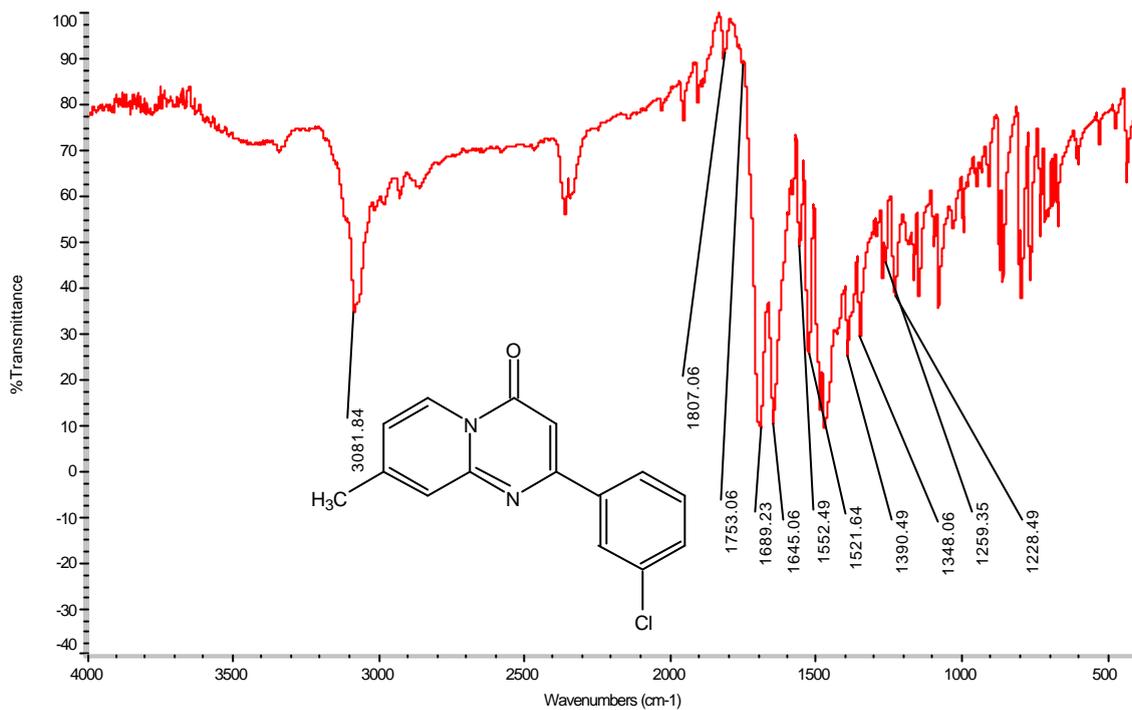


圖 18-2 化合物 18 之 IR 圖譜

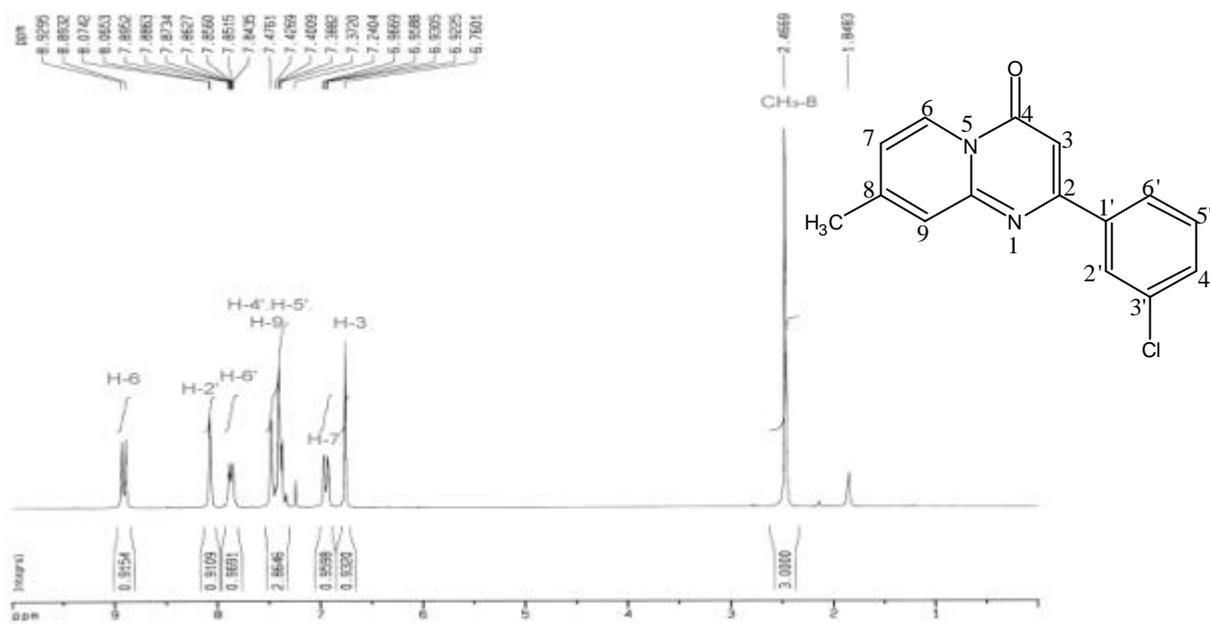


圖 18-3 化合物 18 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 200 MHz)

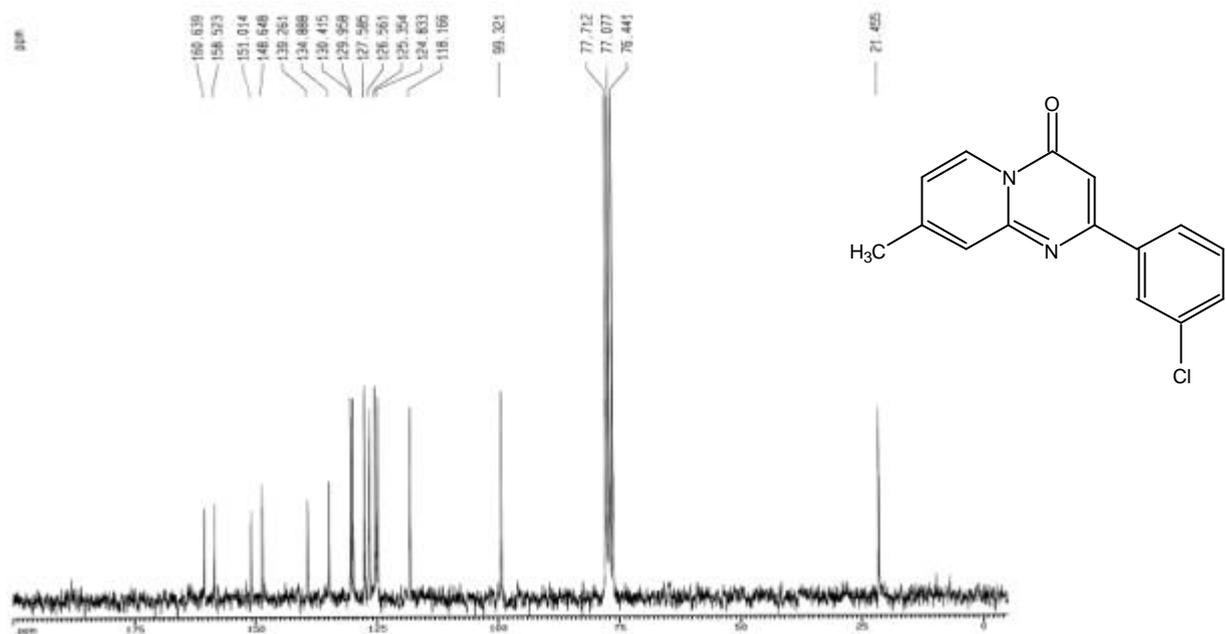


圖 18-4 化合物 18 之 ^{13}C -NMR 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

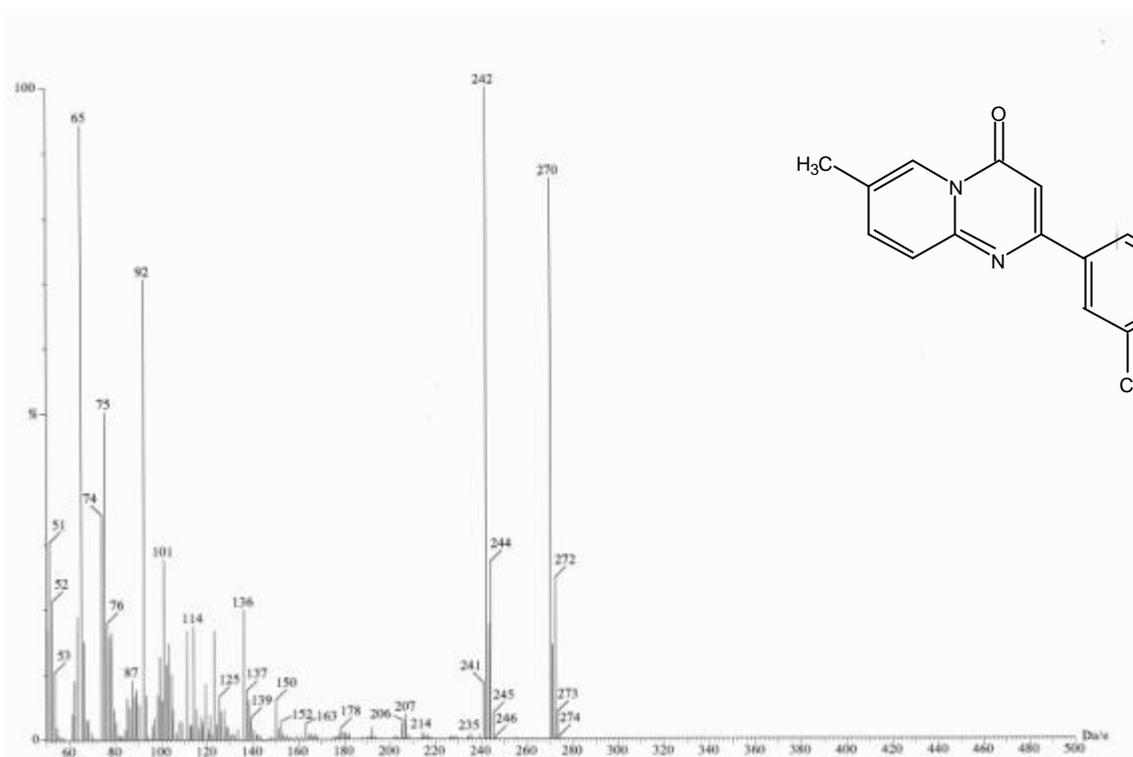


圖 19-1 化合物 19 之質譜圖譜(EIMS)

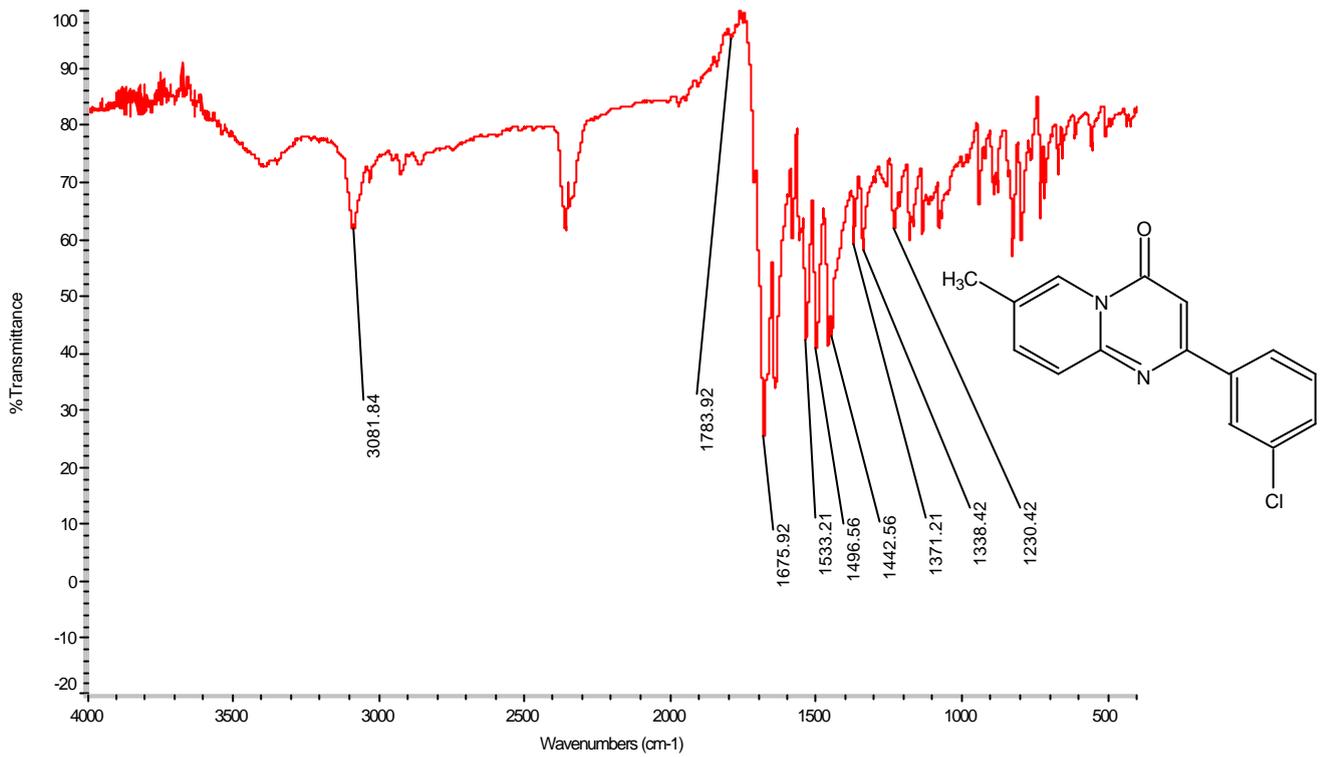


圖 19-2 化合物 19 之 IR 圖譜

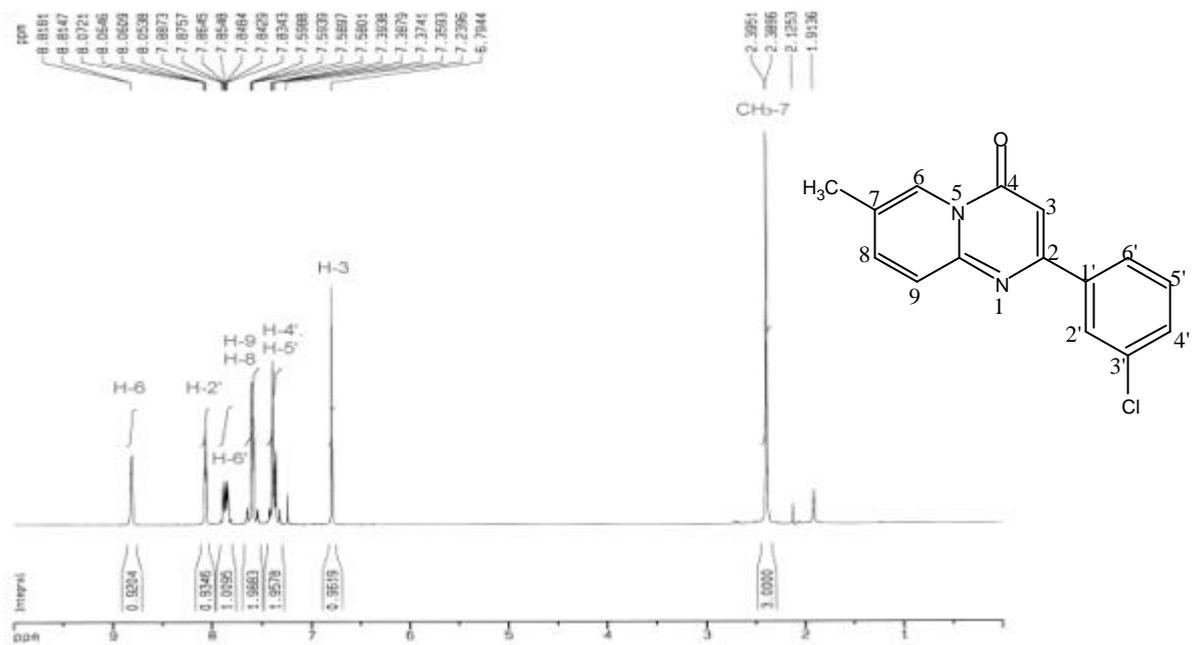


圖 19-3 化合物 19 之 ¹H-NMR 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

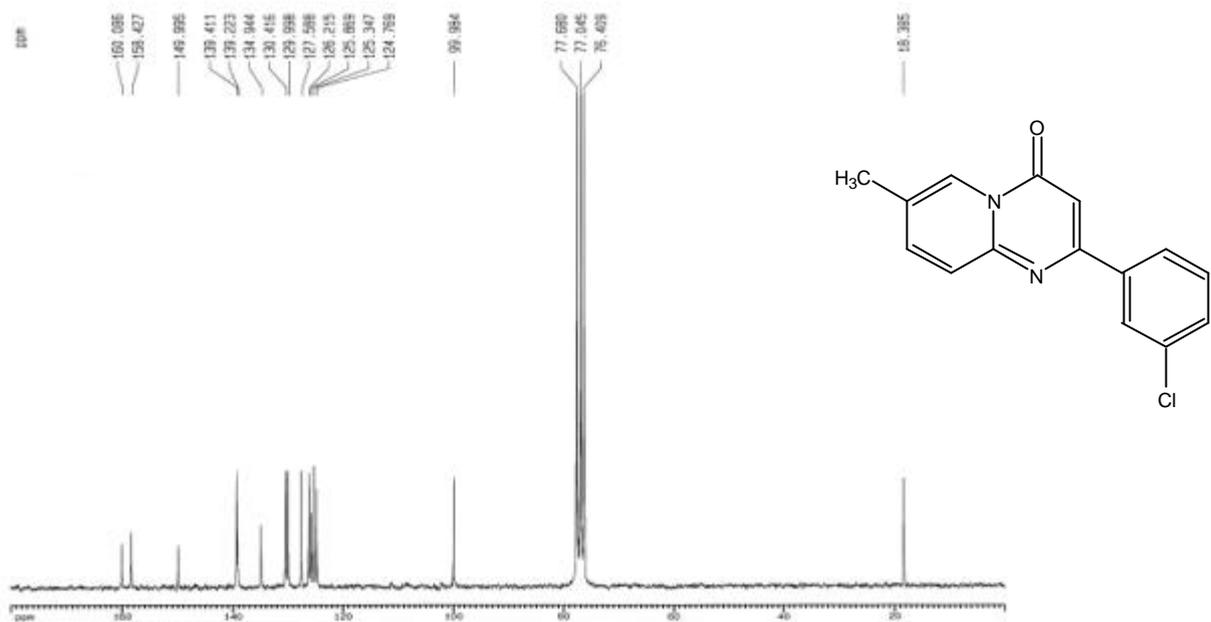


圖 19-4 化合物 19 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

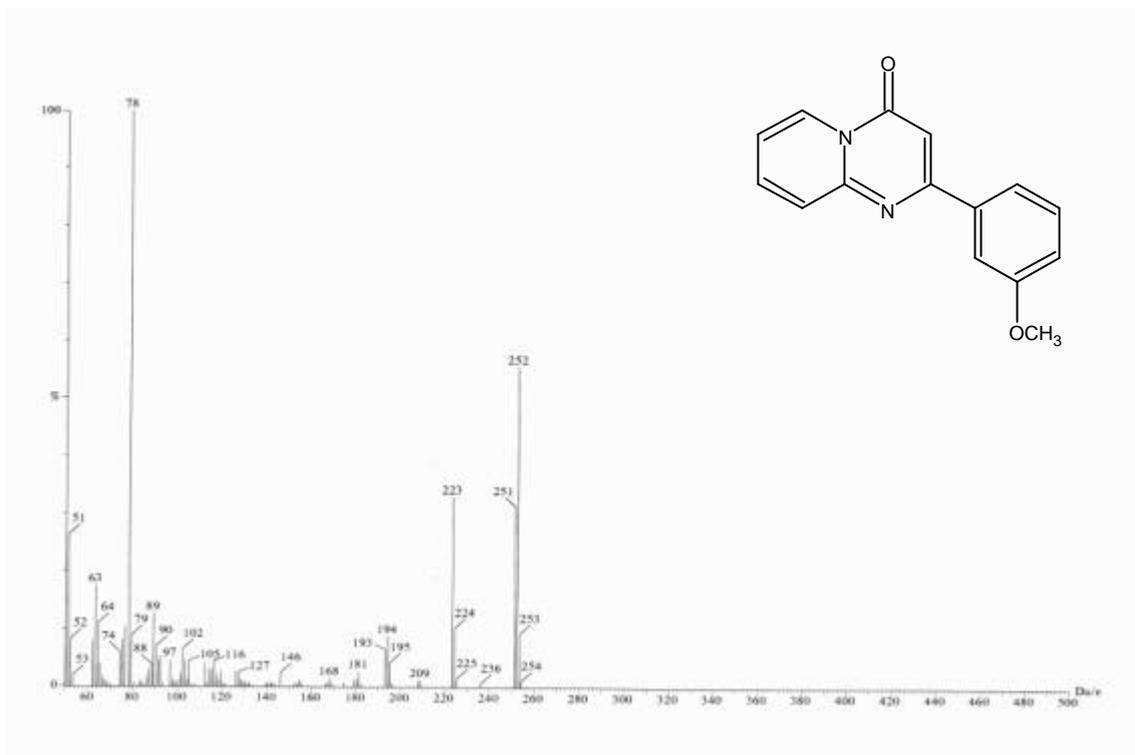


圖 20-1 化合物 20 之質譜圖譜(EIMS)

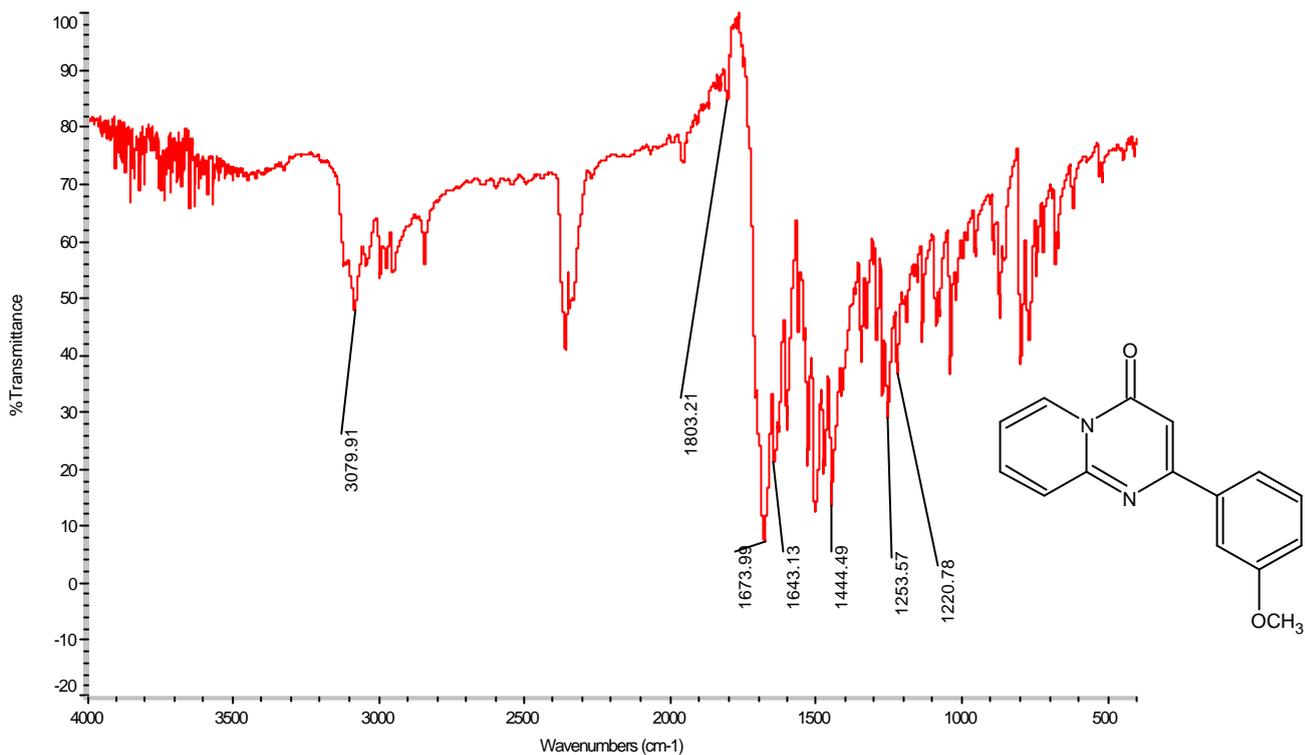


圖 20-2 化合物 20 之 IR 圖譜

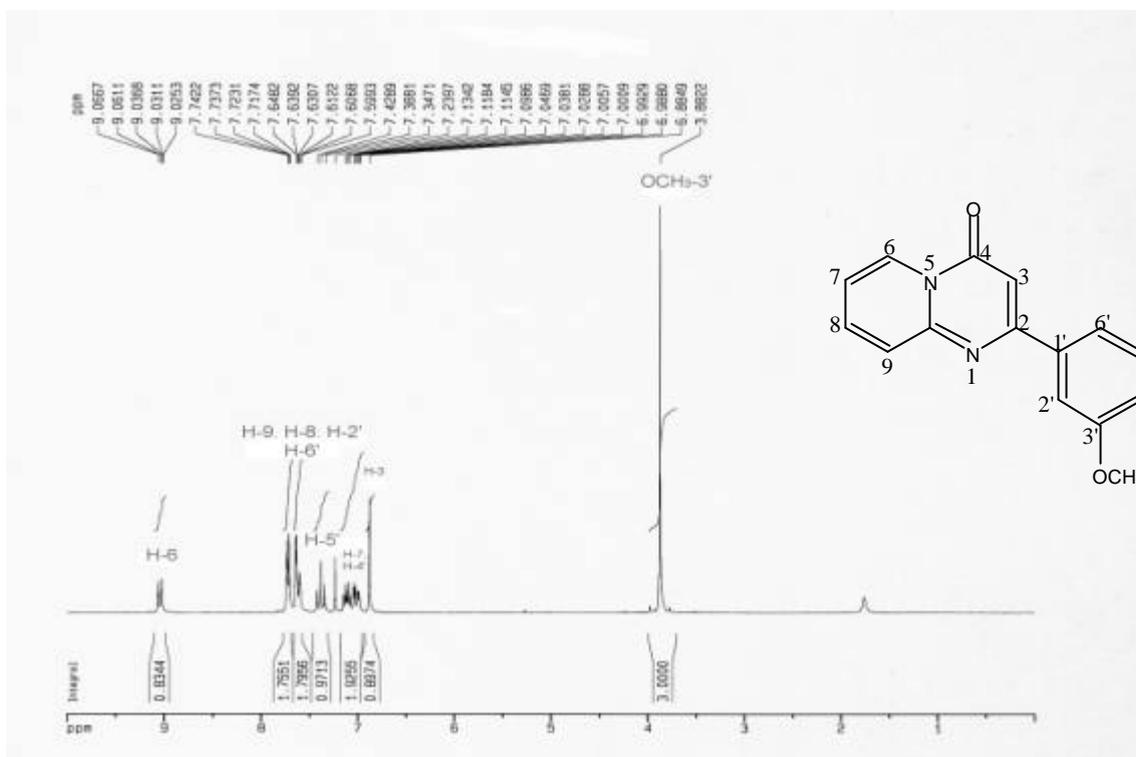


圖 20-3 化合物 20 之 ¹H-NMR 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

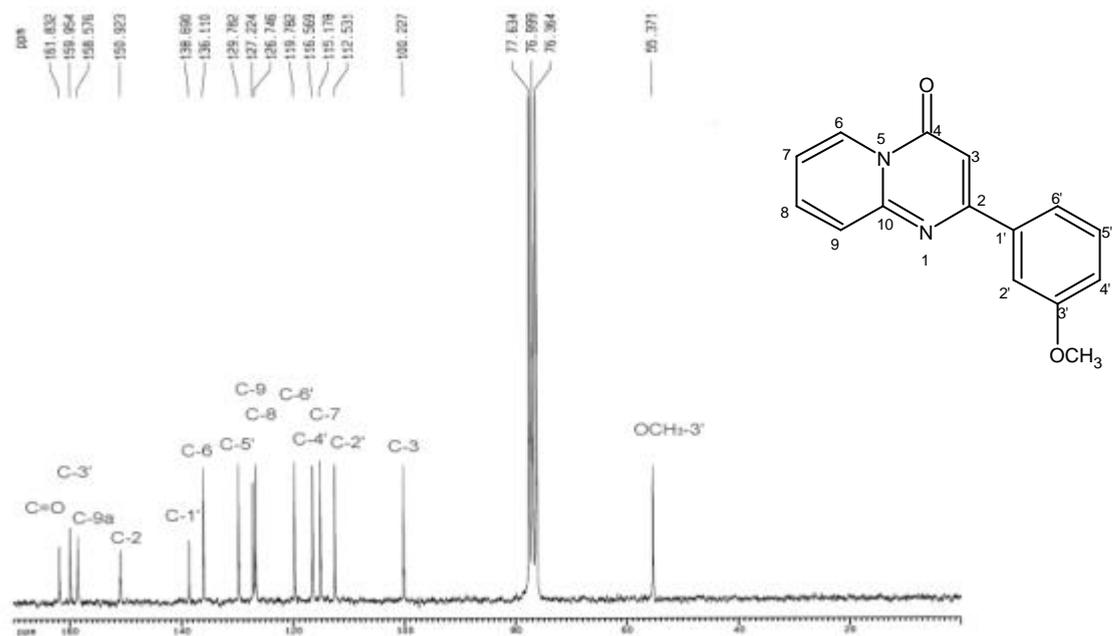


圖 20-4 化合物 20 之 ^{13}C -NMR 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

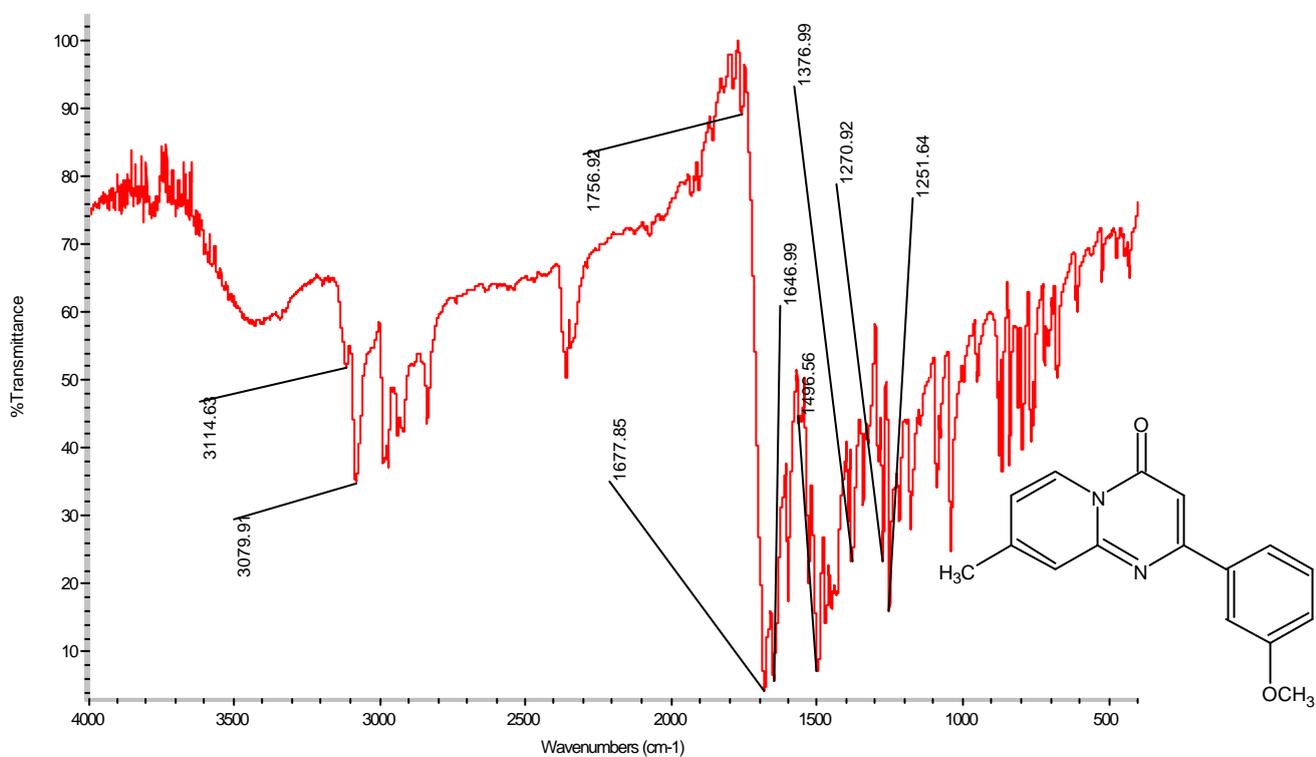


圖 21-2 化合物 21 之 IR 圖譜

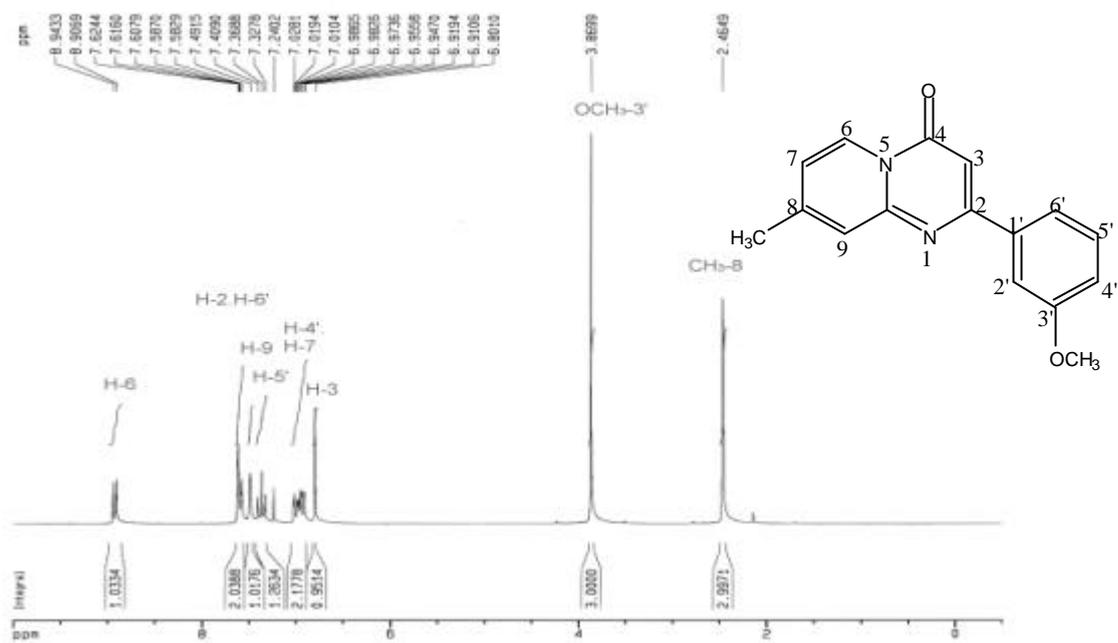


圖 21-3 化合物 21 之 ¹H-NMR 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

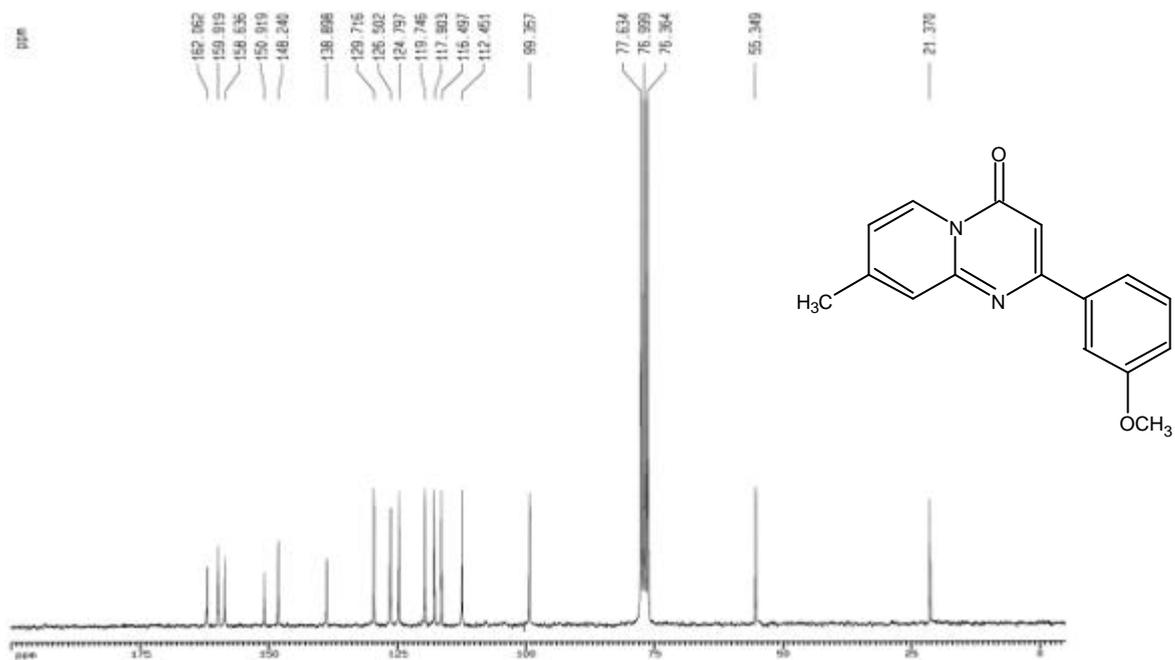


圖 21-4 化合物 21 之 ¹³C-NMR 圖譜(CDCl₃, 50 MHz)

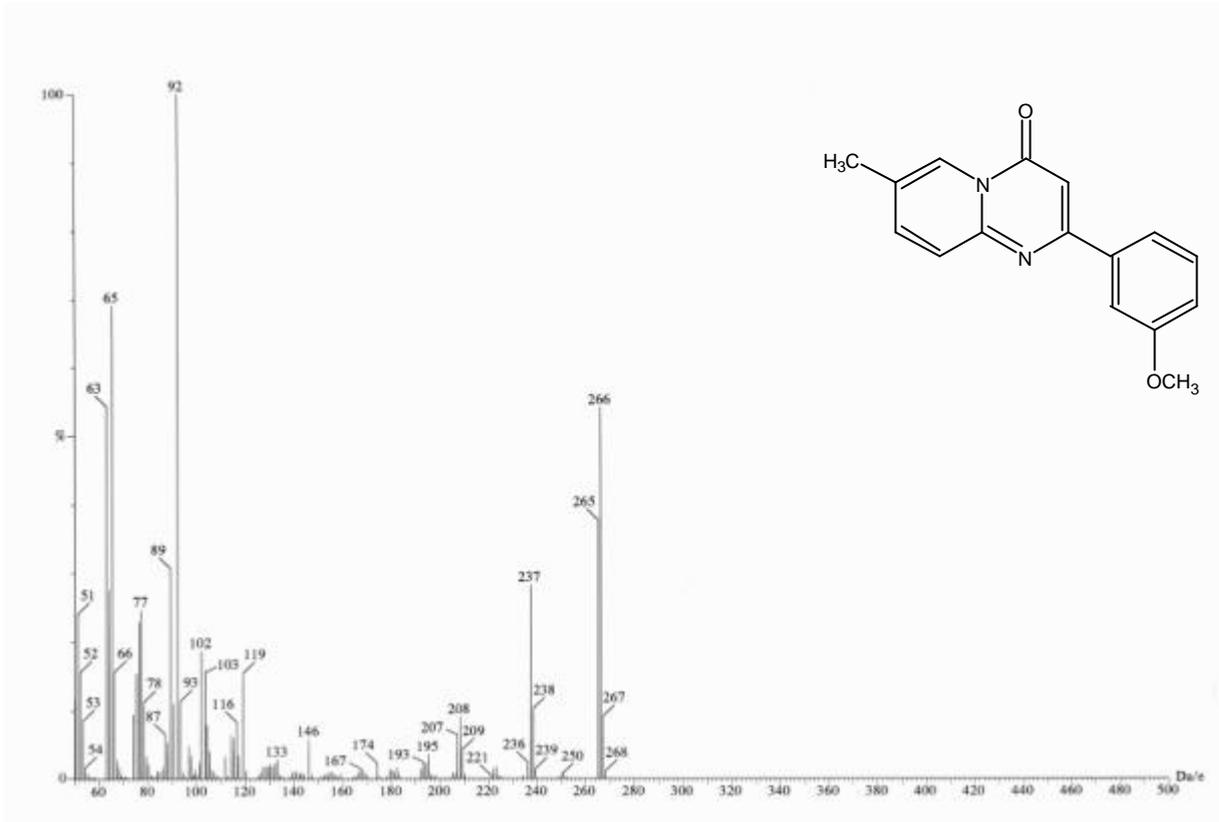


圖 22-1 化合物 22 之質譜圖譜(EIMS)

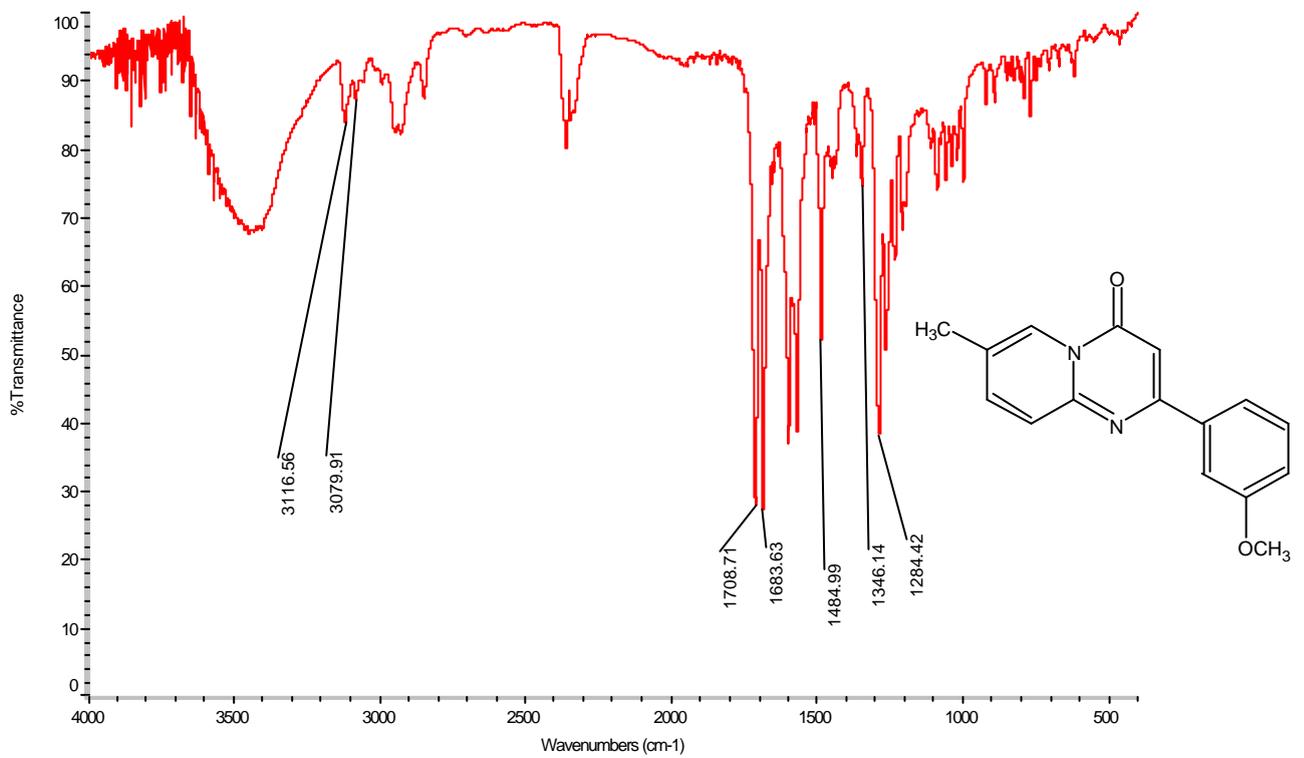


圖 22-2 化合物 22 之 IR 圖譜

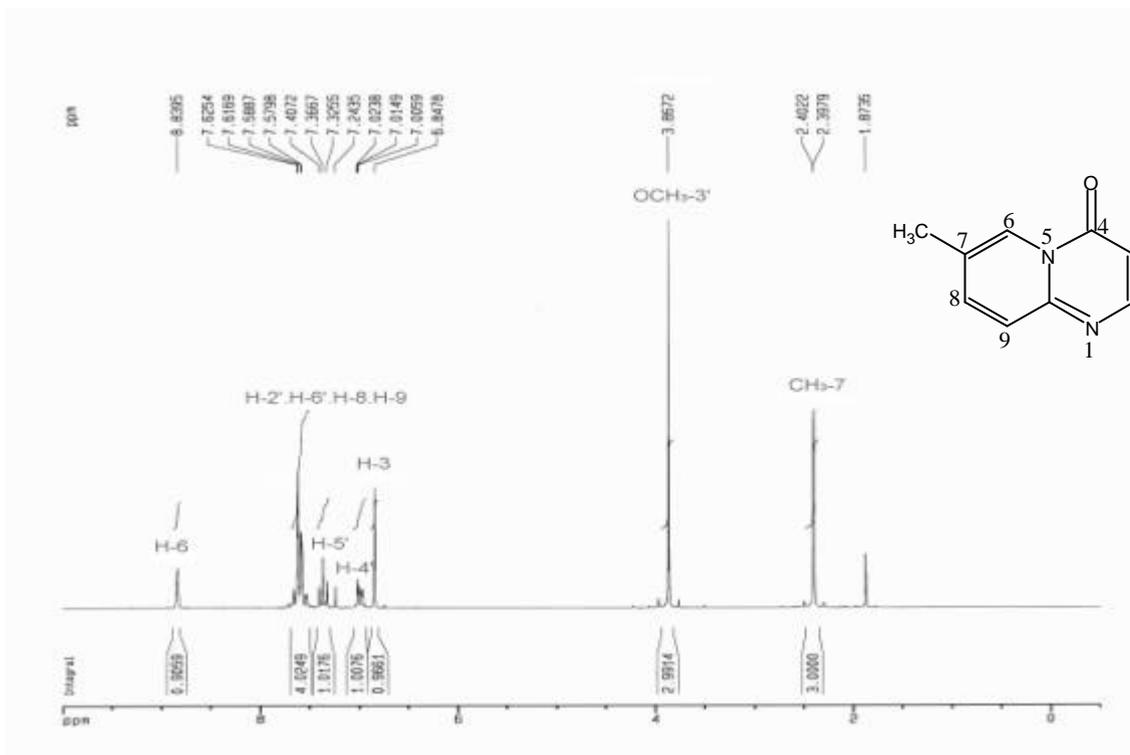


圖 22-3 化合物 22 之 ¹H-NMR 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

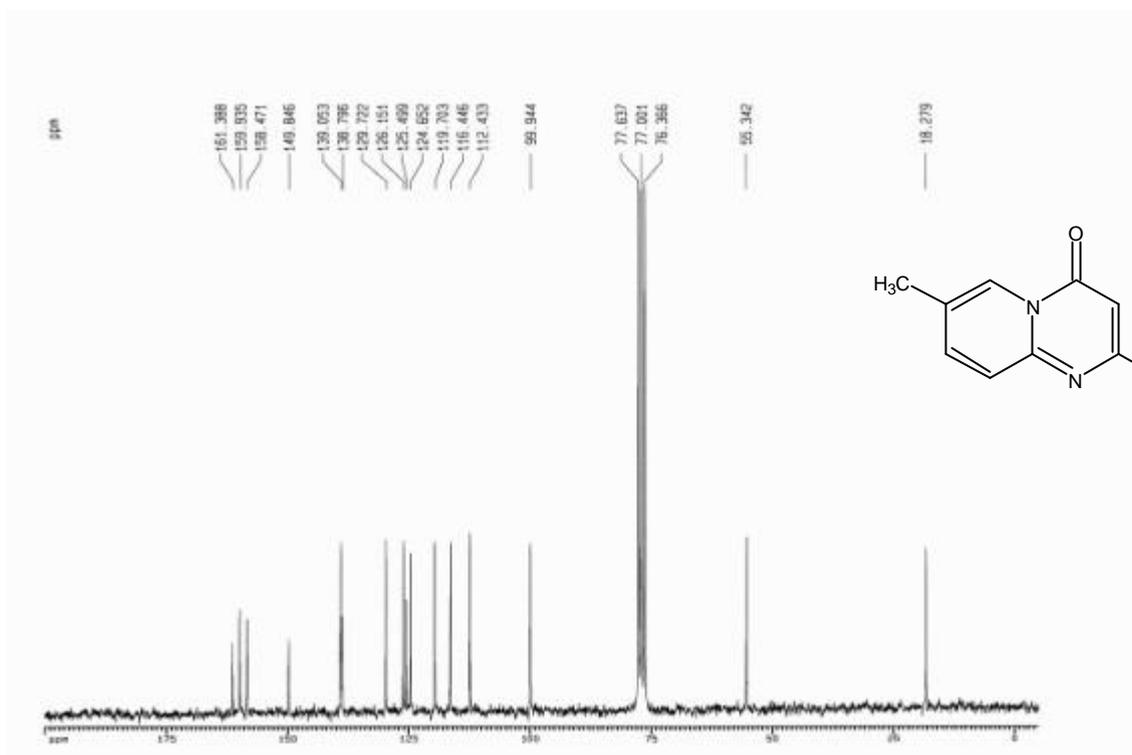


圖 22-4 化合物 22 之 ¹³C-NMR 圖譜(CDCl₃, 50 MHz)

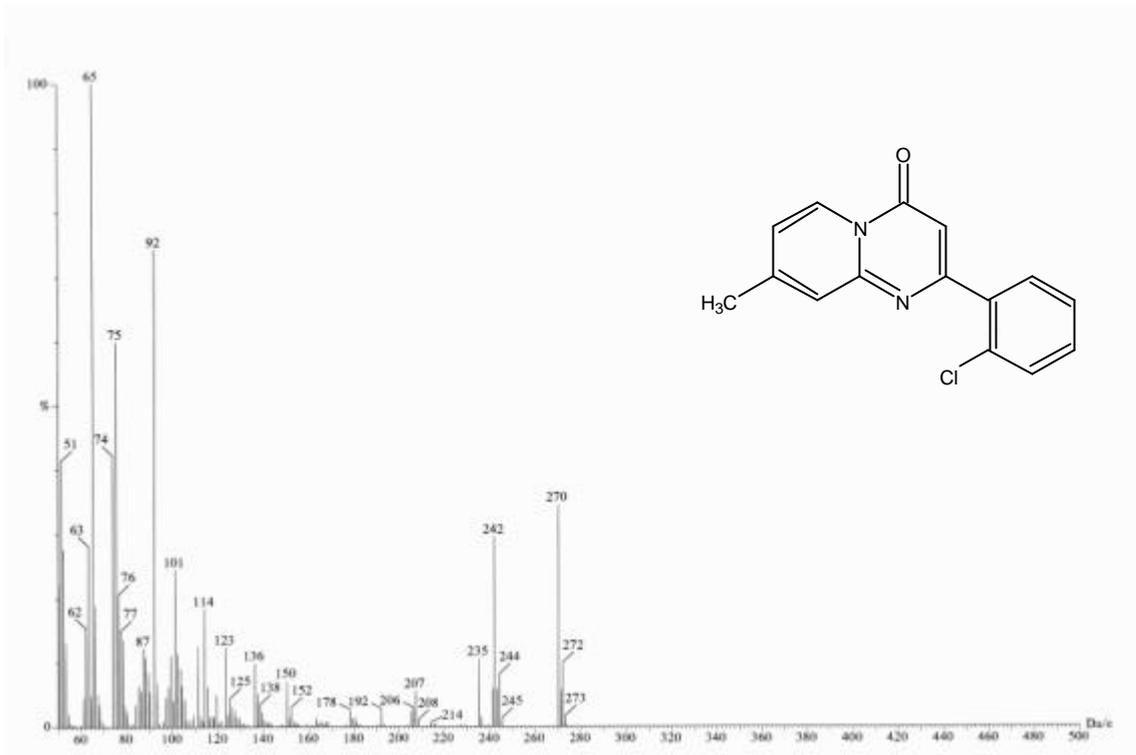


圖 23-1 化合物 23 之質譜圖譜(EIMS)

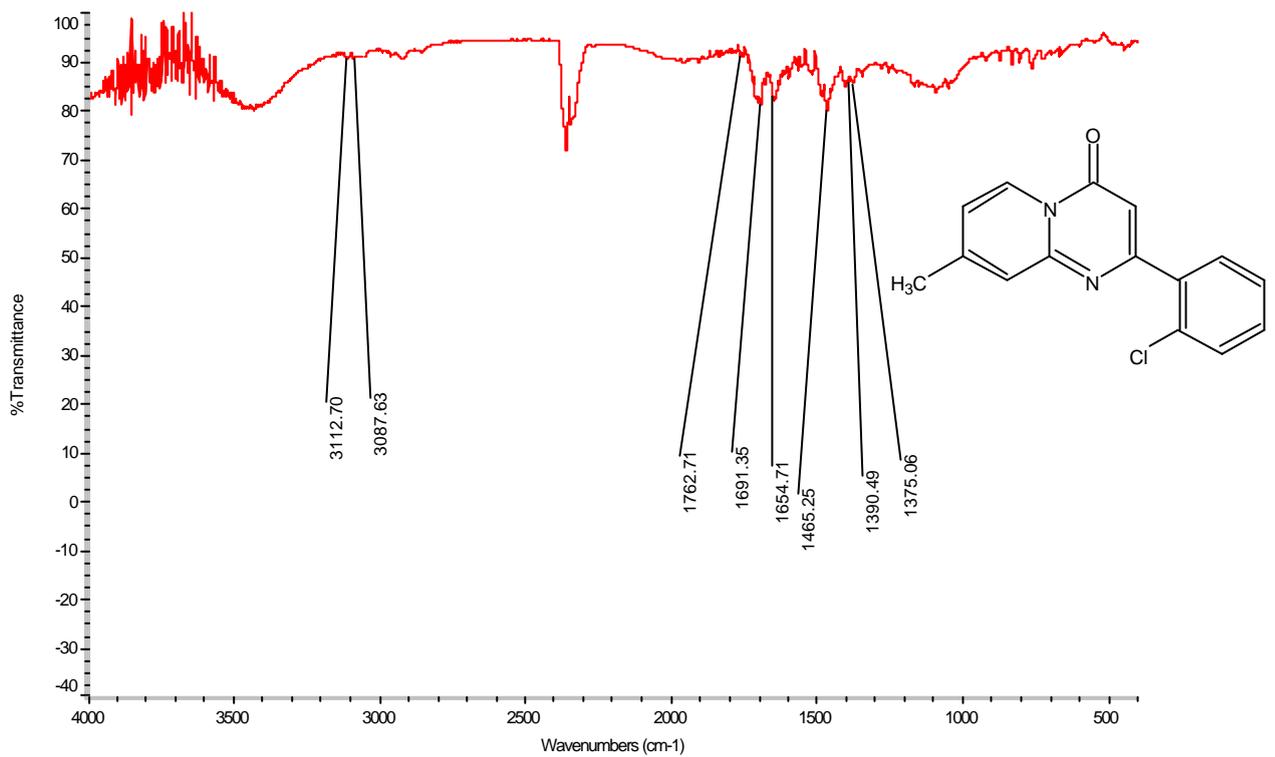


圖 23-2 化合物 23 之 IR 圖譜

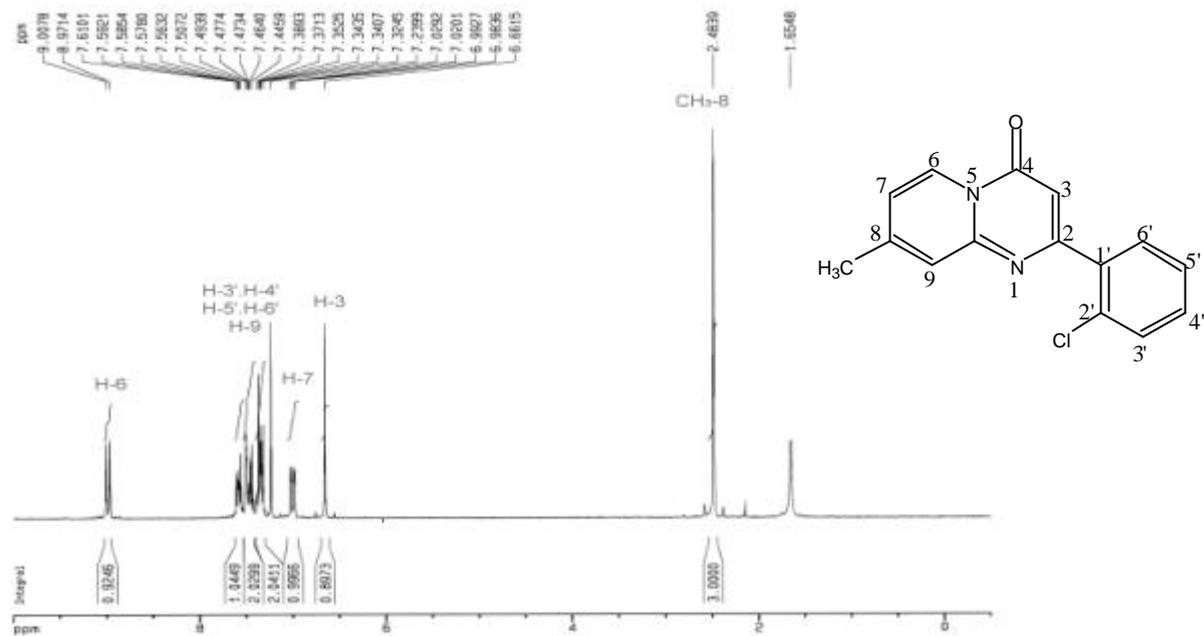


圖 23-3 化合物 23 之 ¹H-NMR 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

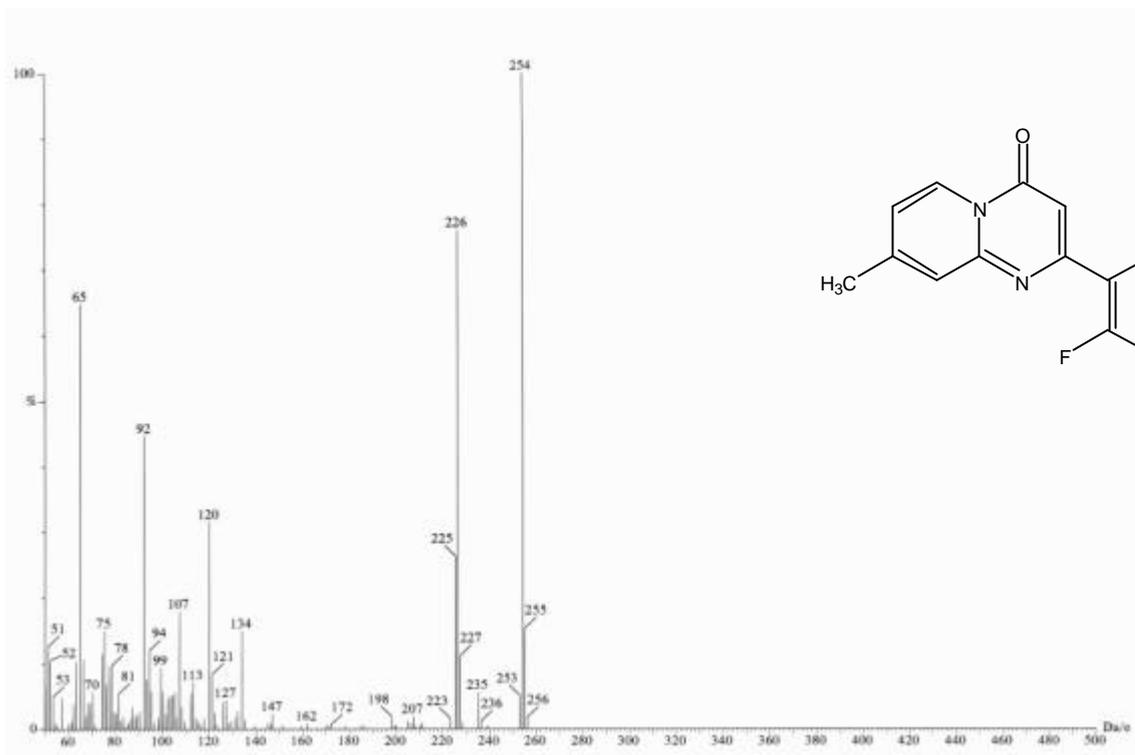


圖 24-1 化合物 24 之質譜圖譜(EIMS)

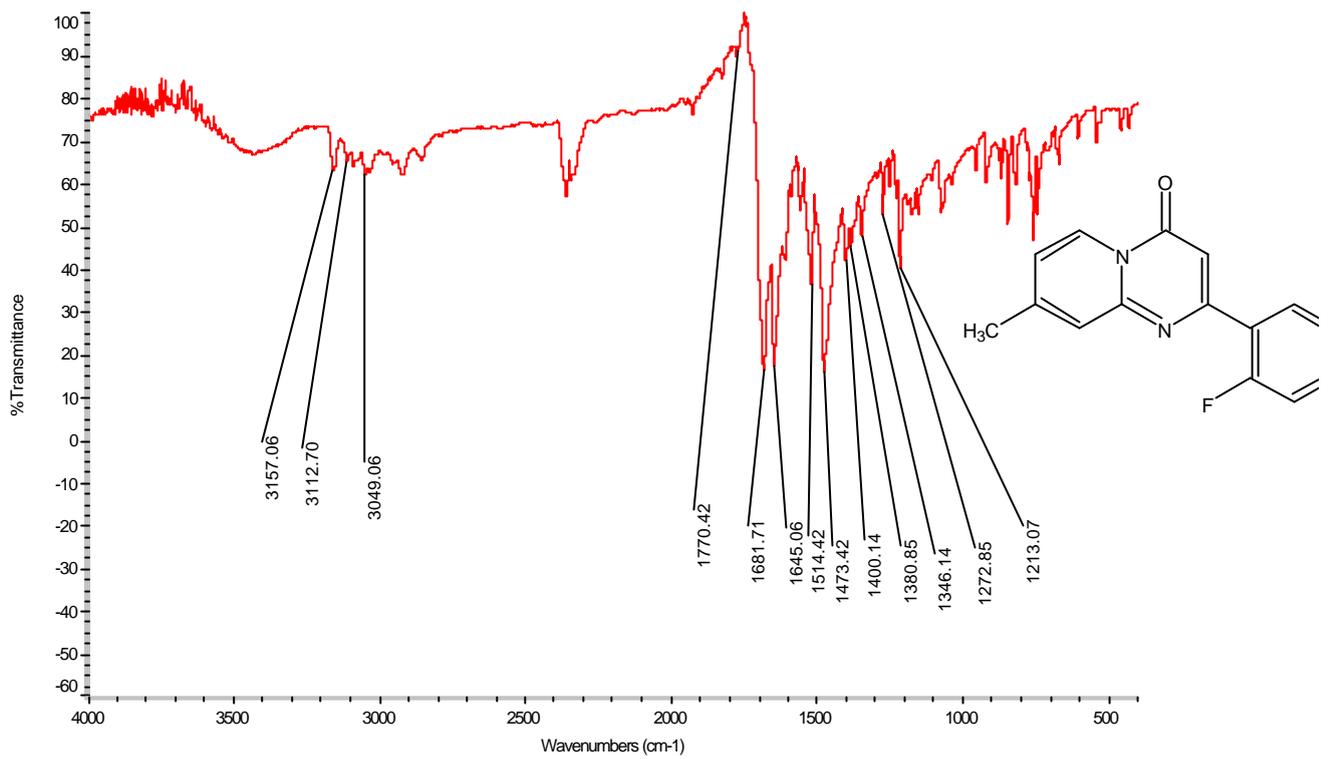


圖 24-2 化合物 24 之 IR 圖譜

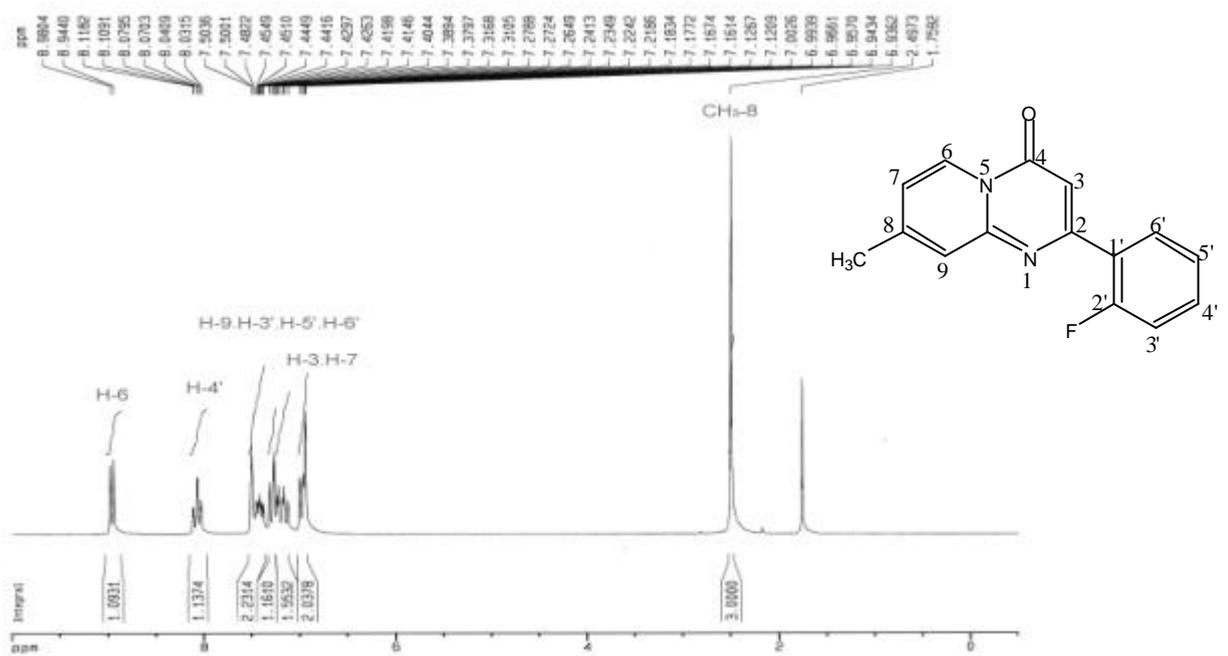


圖 24-3 化合物 24 之 ¹H-NMR 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

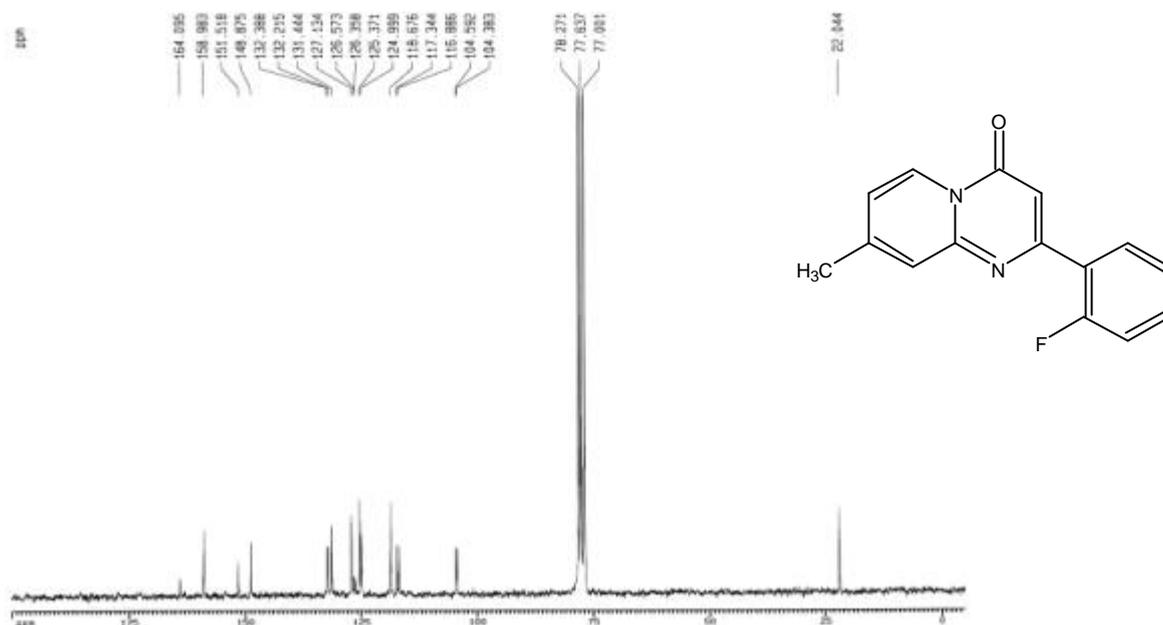


圖 24-4 化合物 24 之 ^{13}C -NMR 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

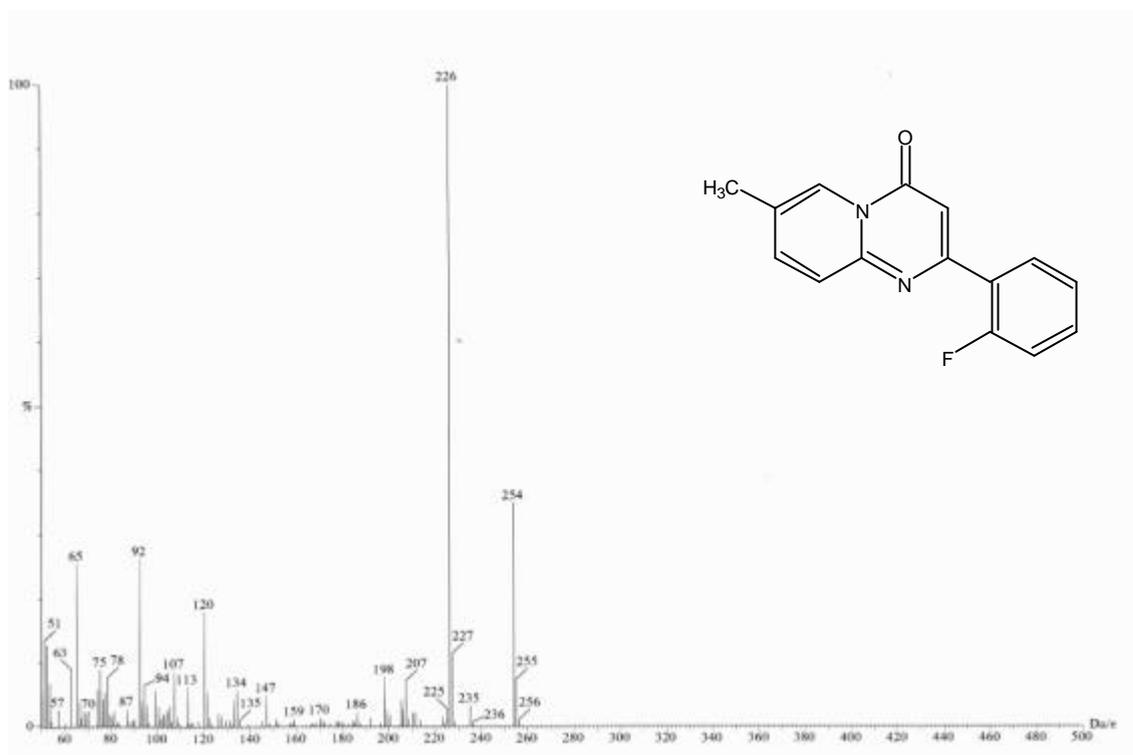


圖 25-1 化合物 25 之質譜圖譜(EIMS)

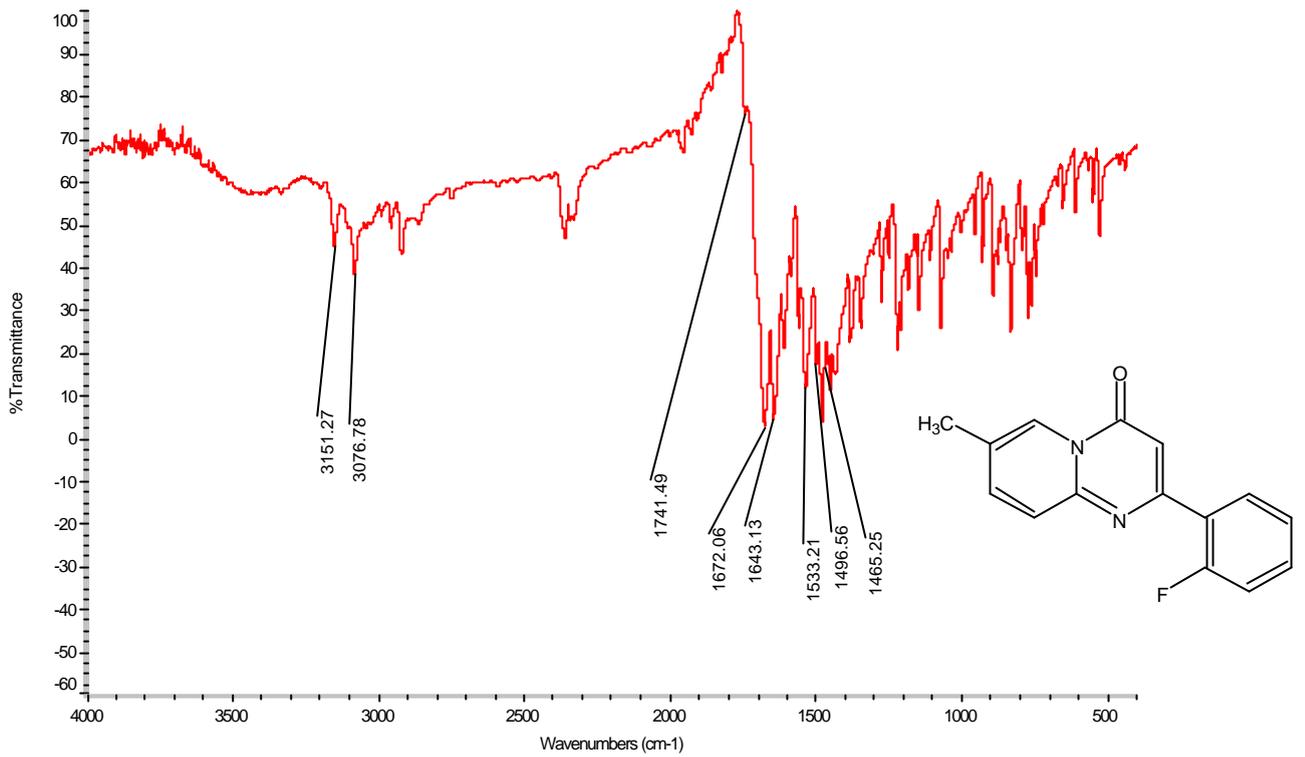


圖 25-2 化合物 25 之 IR 圖譜

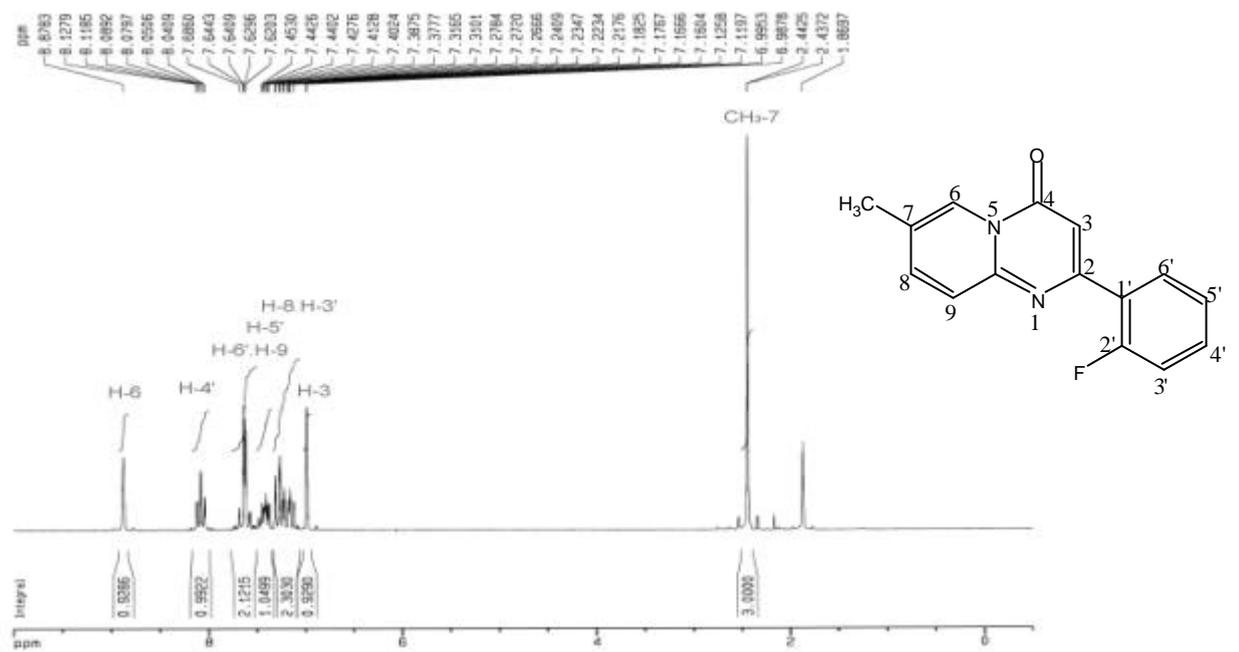


圖 25-3 化合物 25 之 ¹H-NMR 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

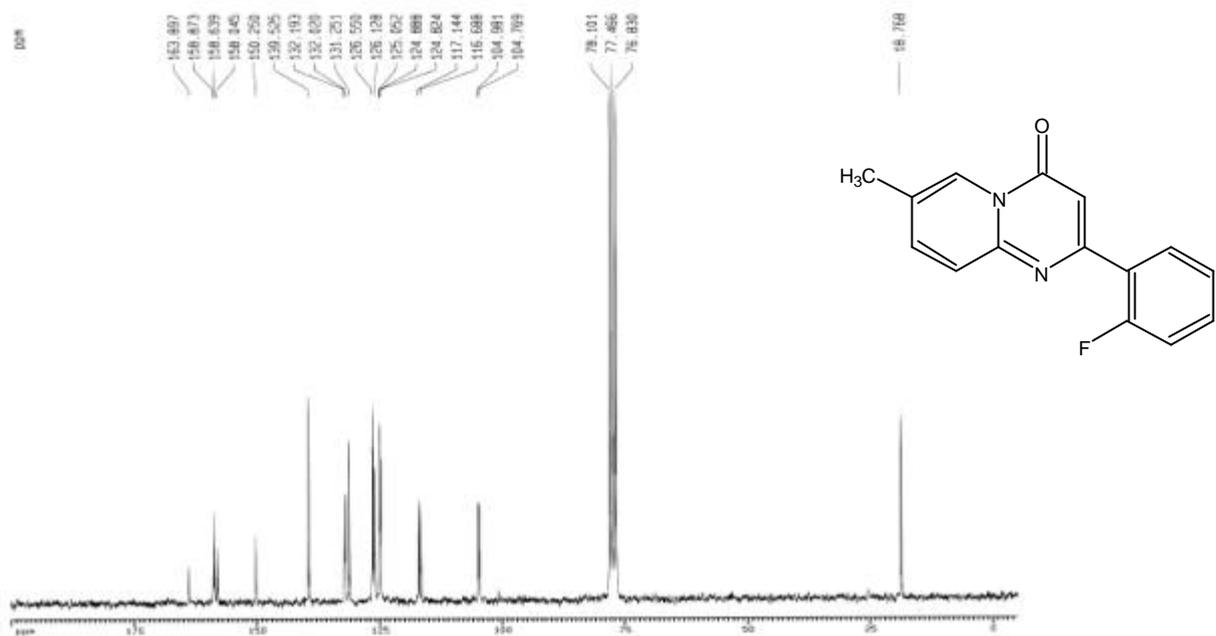


圖 25-4 化合物 25 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

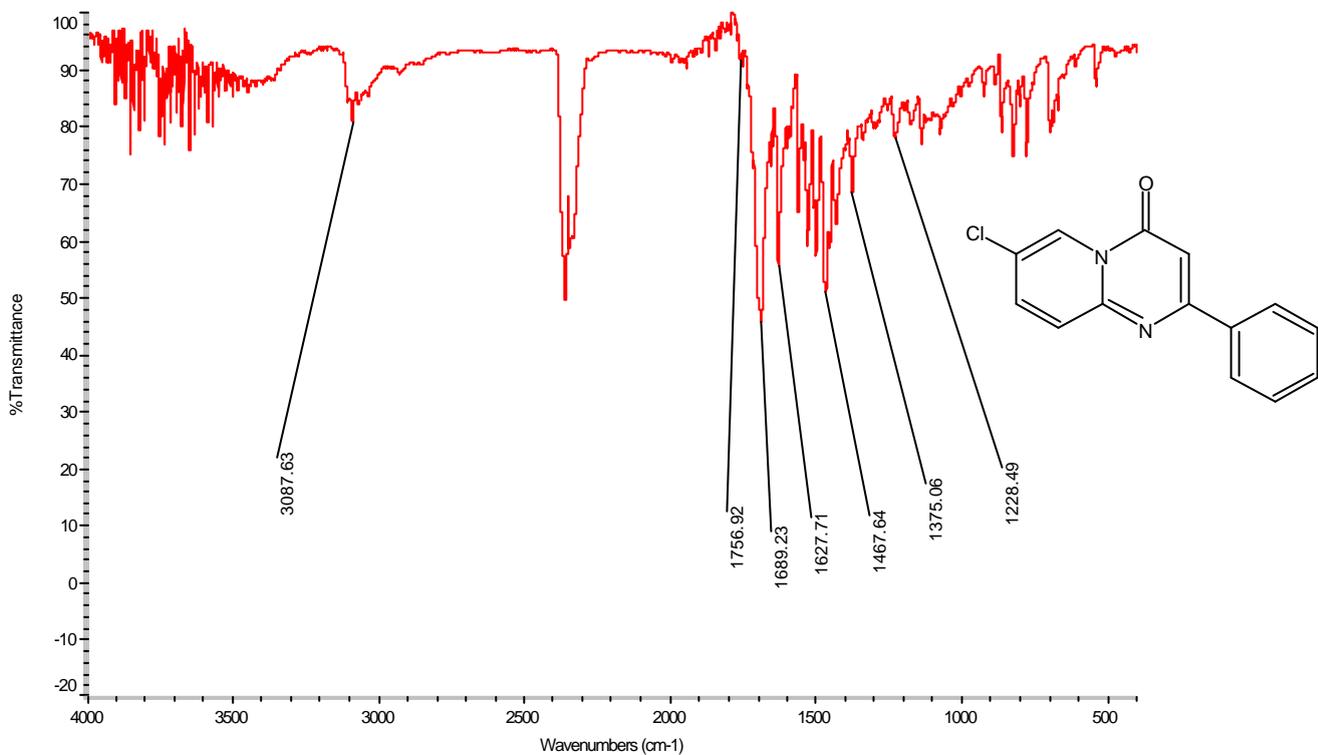


圖 26-2 化合物 26 之 IR 圖譜

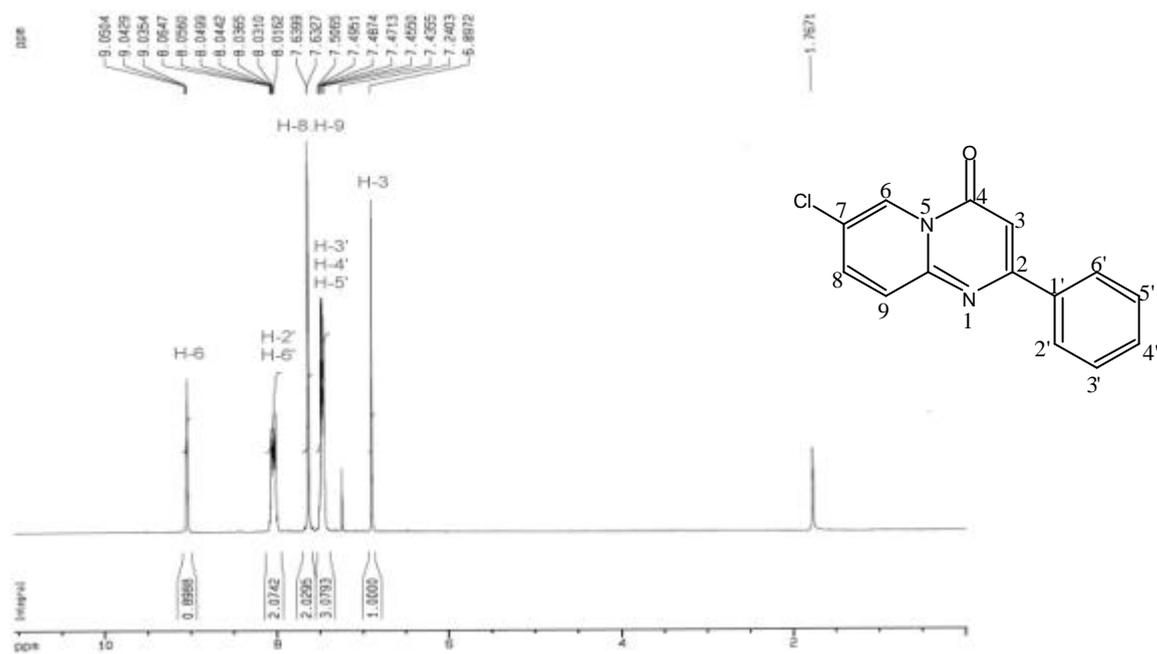


圖 26-3 化合物 26 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

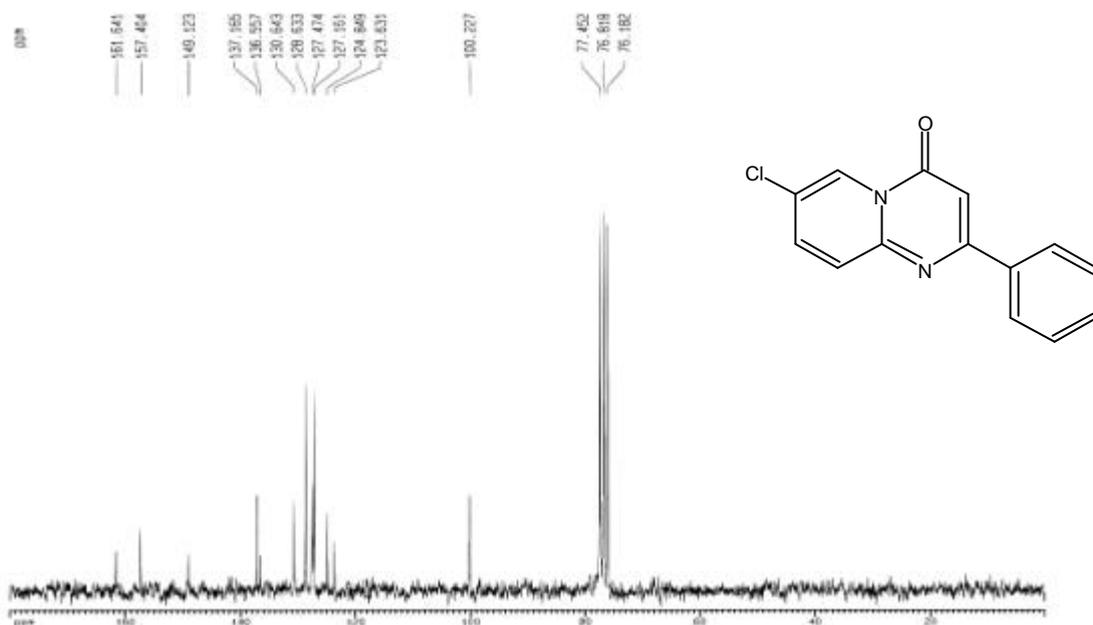


圖 26-4 化合物 26 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl₃, 50 MHz)

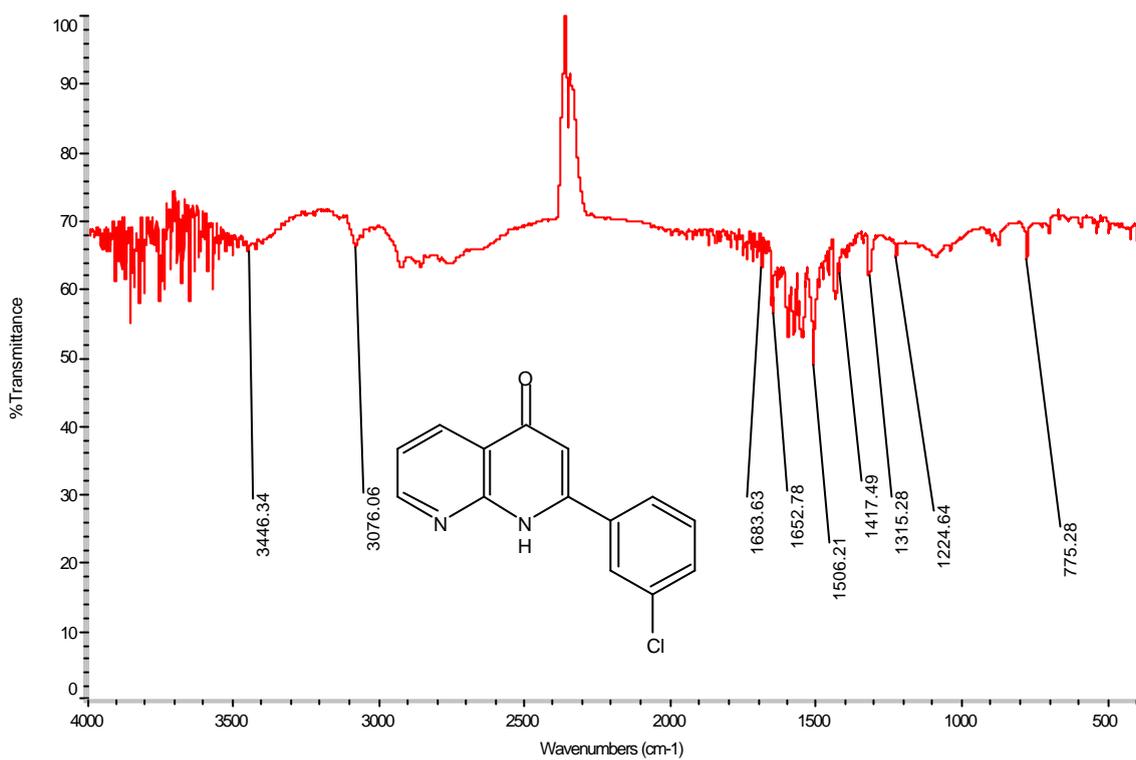


圖 27-2 化合物 27 之 IR 圖譜

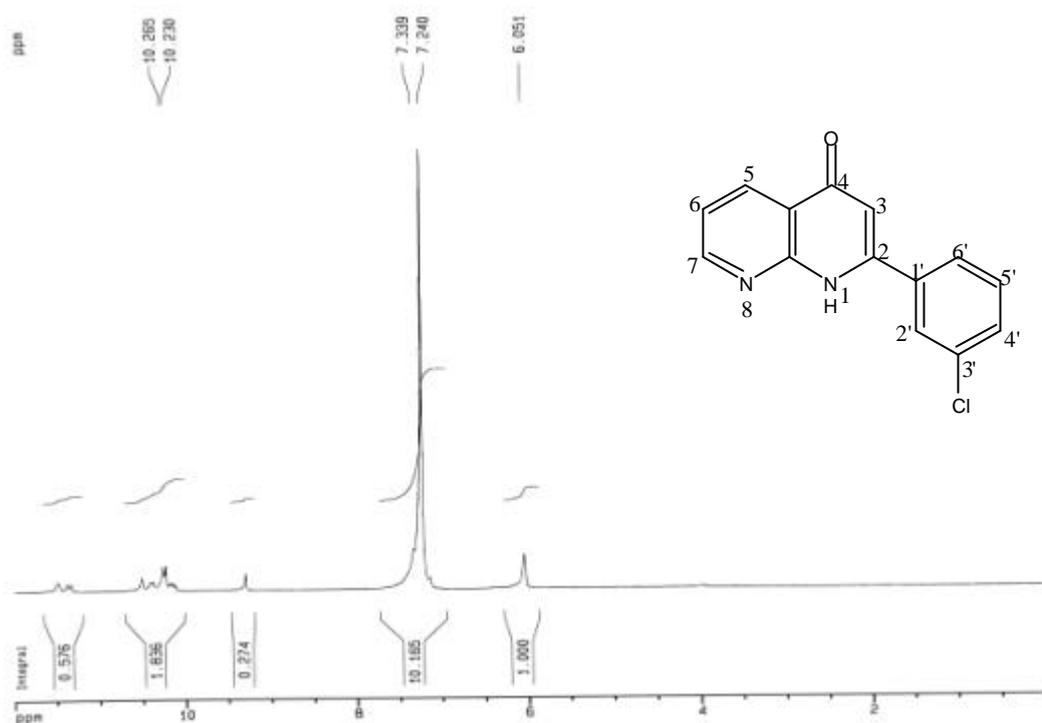


圖 27-3 化合物 27 之 ¹H-NMR 圖譜 (CDCl₃ + CD₃OD, 200 MHz)

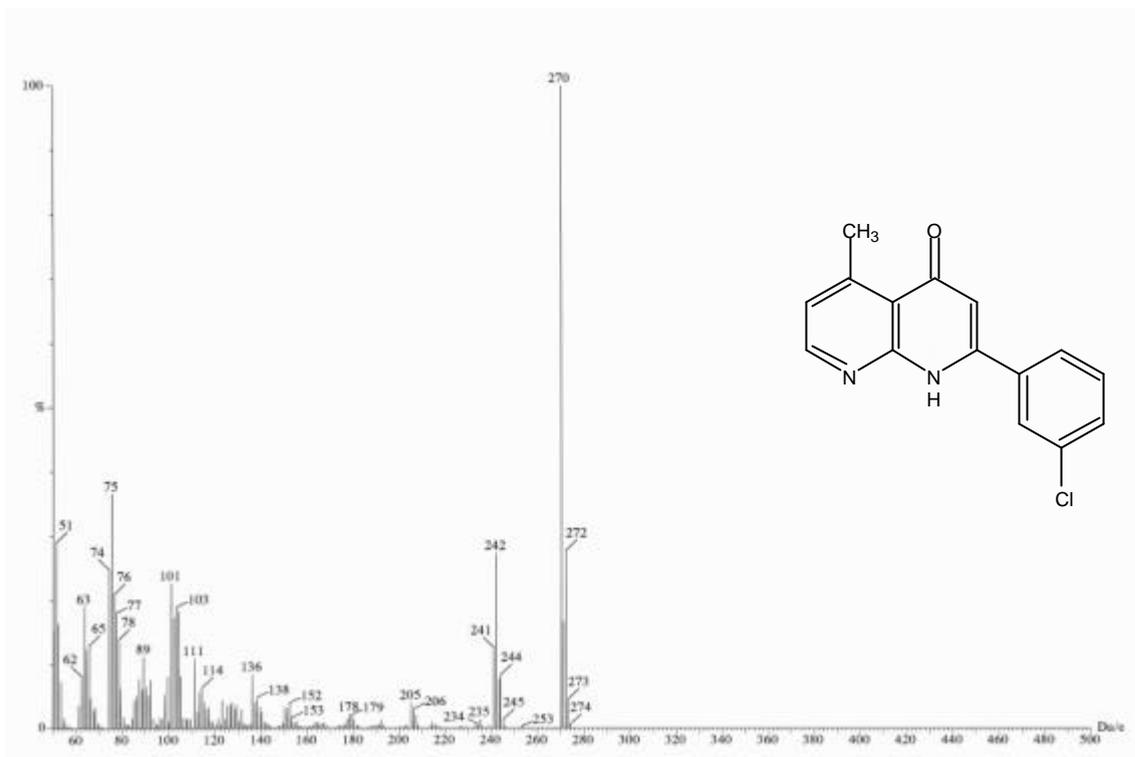


圖 28-1 化合物 28 之質譜圖譜(EIMS)

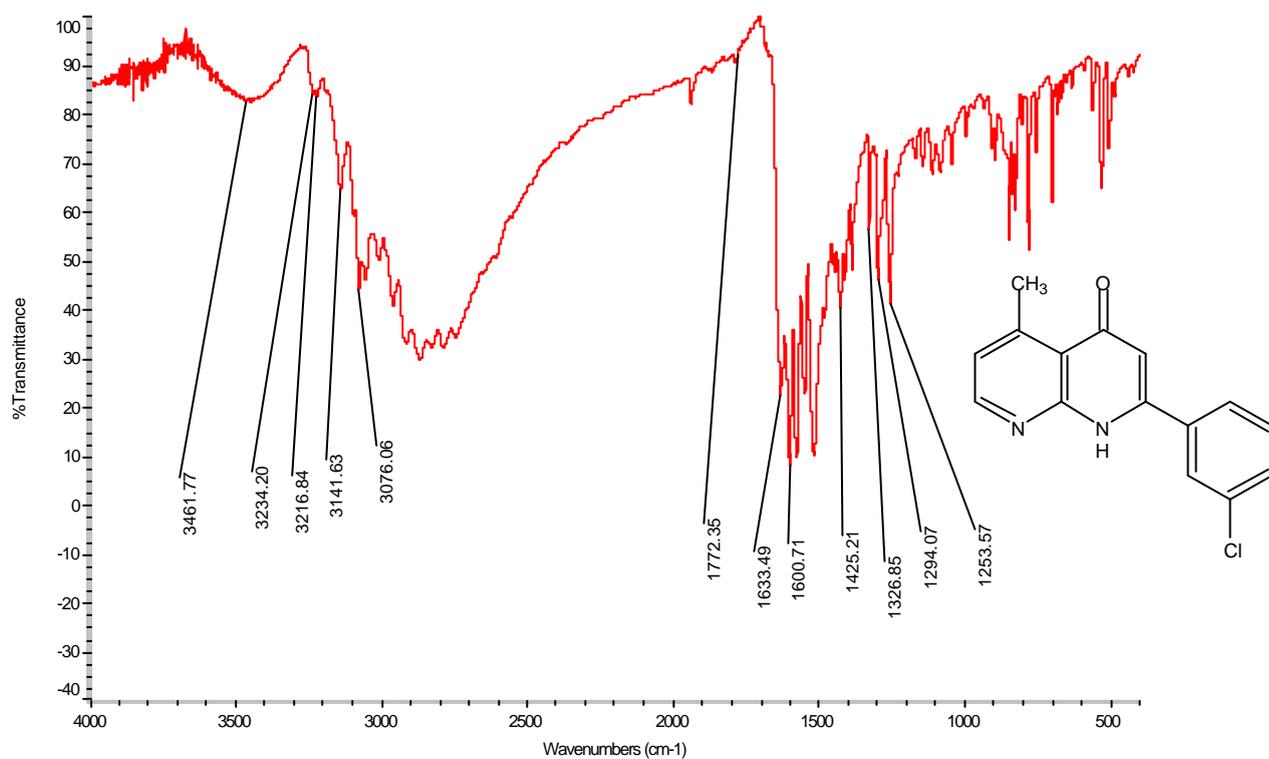


圖 28-2 化合物 28 之 IR 圖譜

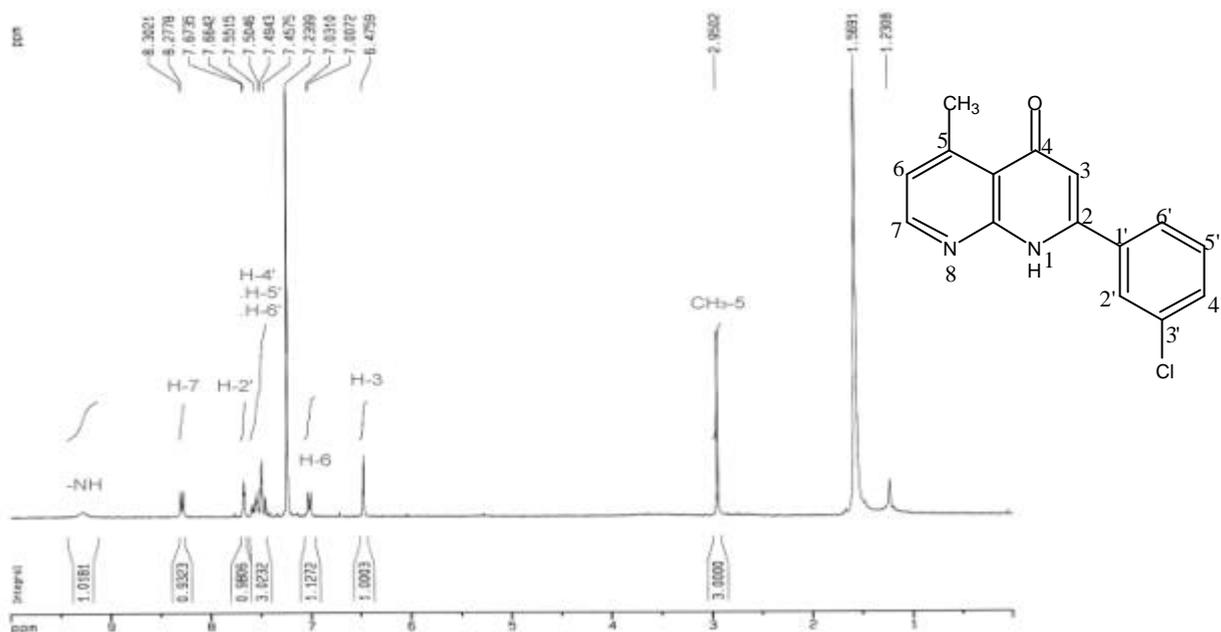


圖 28-3 化合物 28 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 200 MHz)

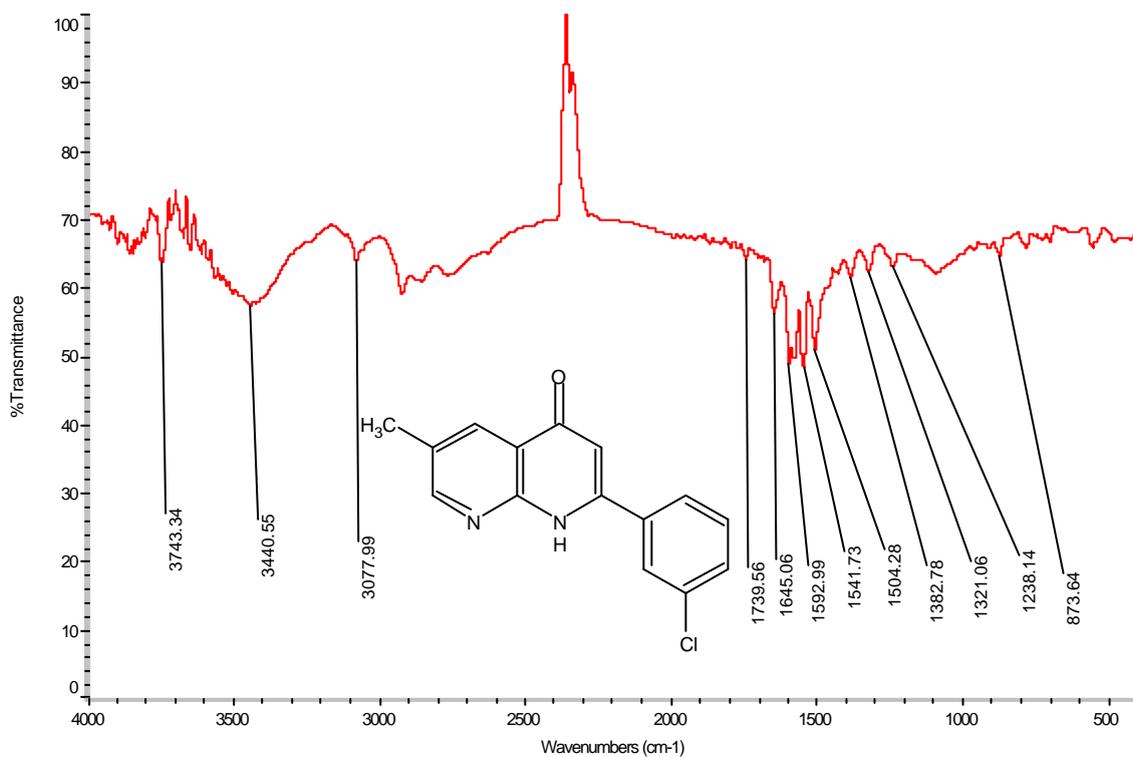


圖 29-2 化合物 29 之 IR 圖譜

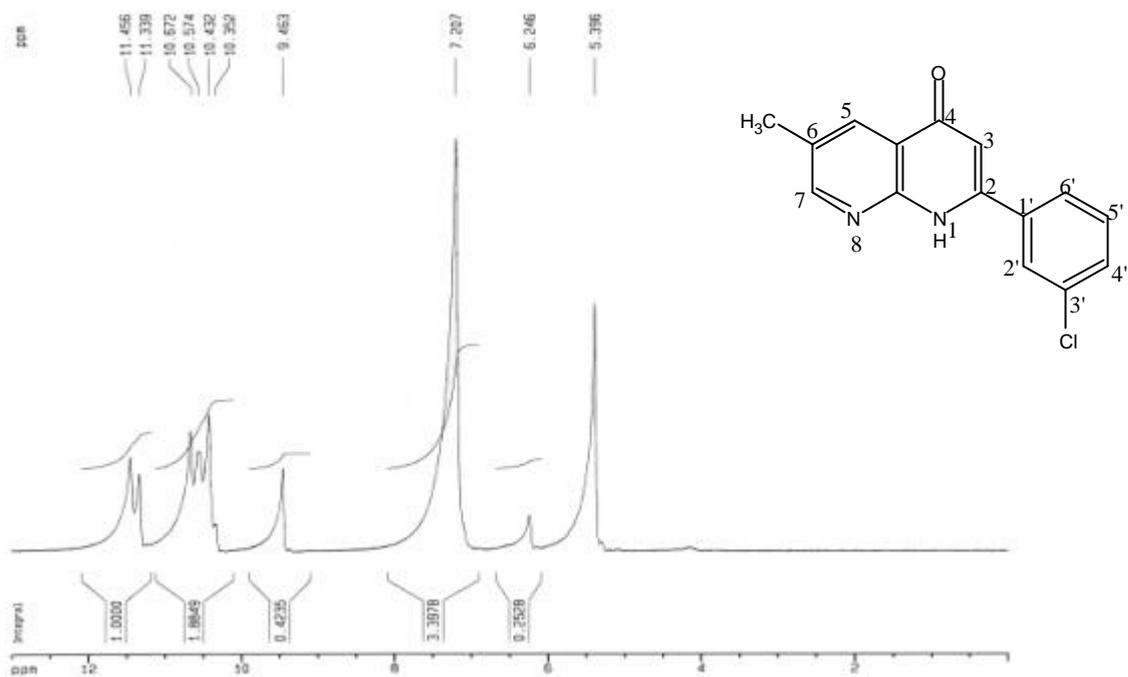


圖 29-3 化合物 29 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 200 MHz)

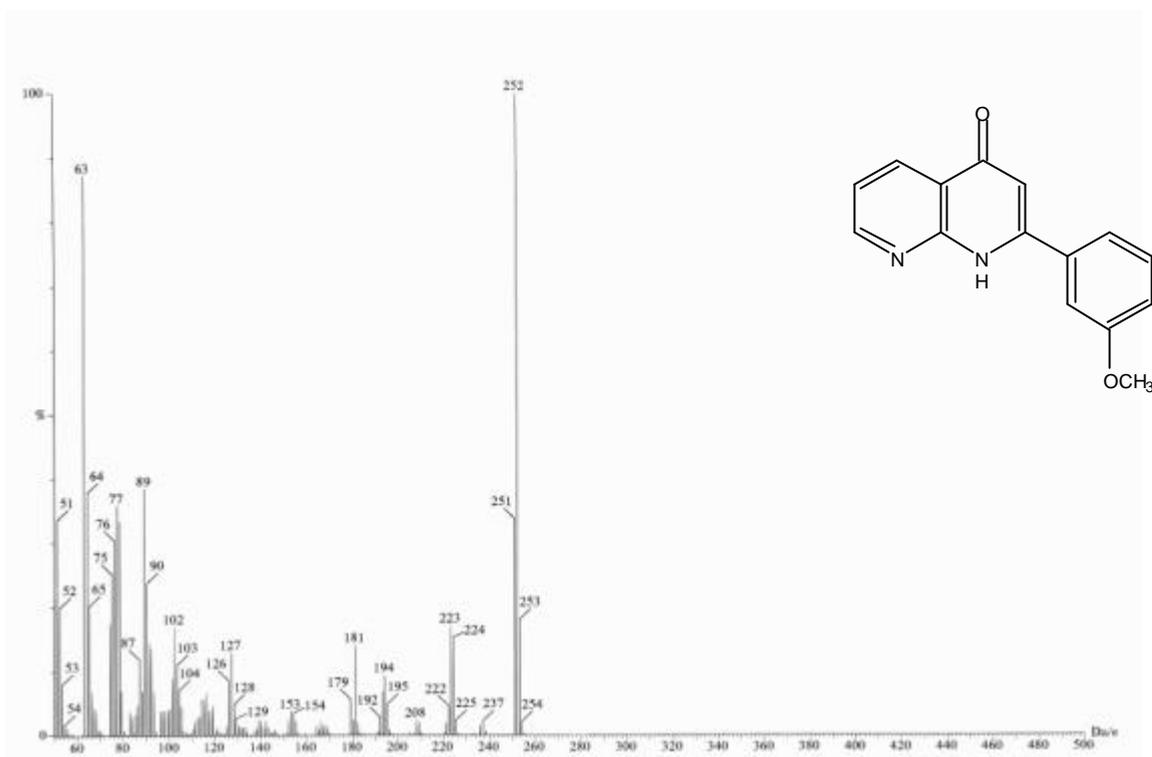


圖 30-1 化合物 30 之質譜圖譜(EIMS)

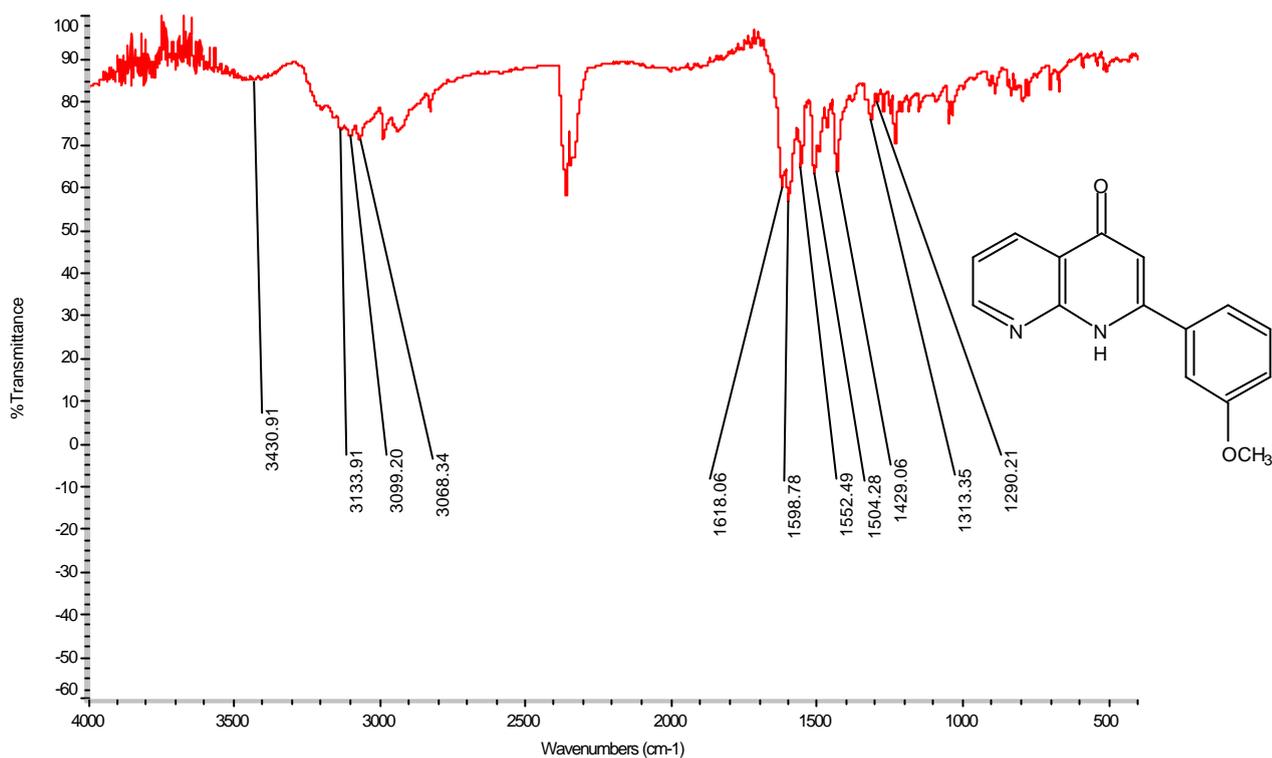


圖 30-2 化合物 30 之 IR 圖譜

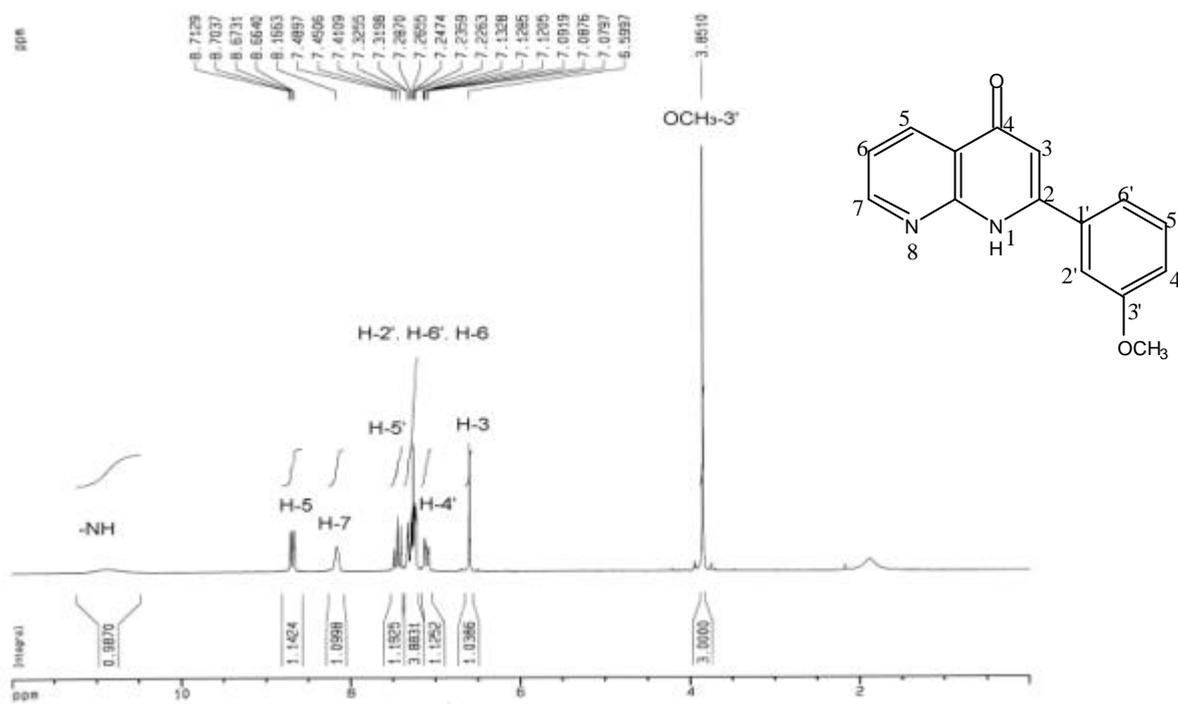


圖 30-3 化合物 30 之 ¹H-NMR 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

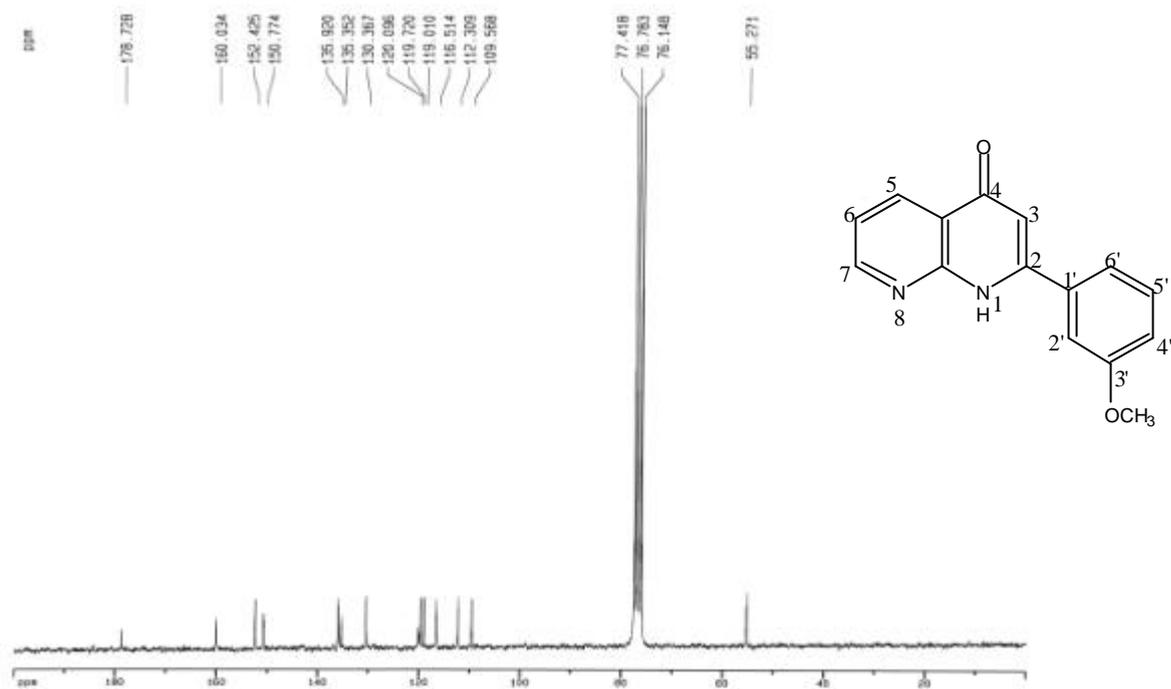


圖 30-4 化合物 30 之 ^{13}C -NMR 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

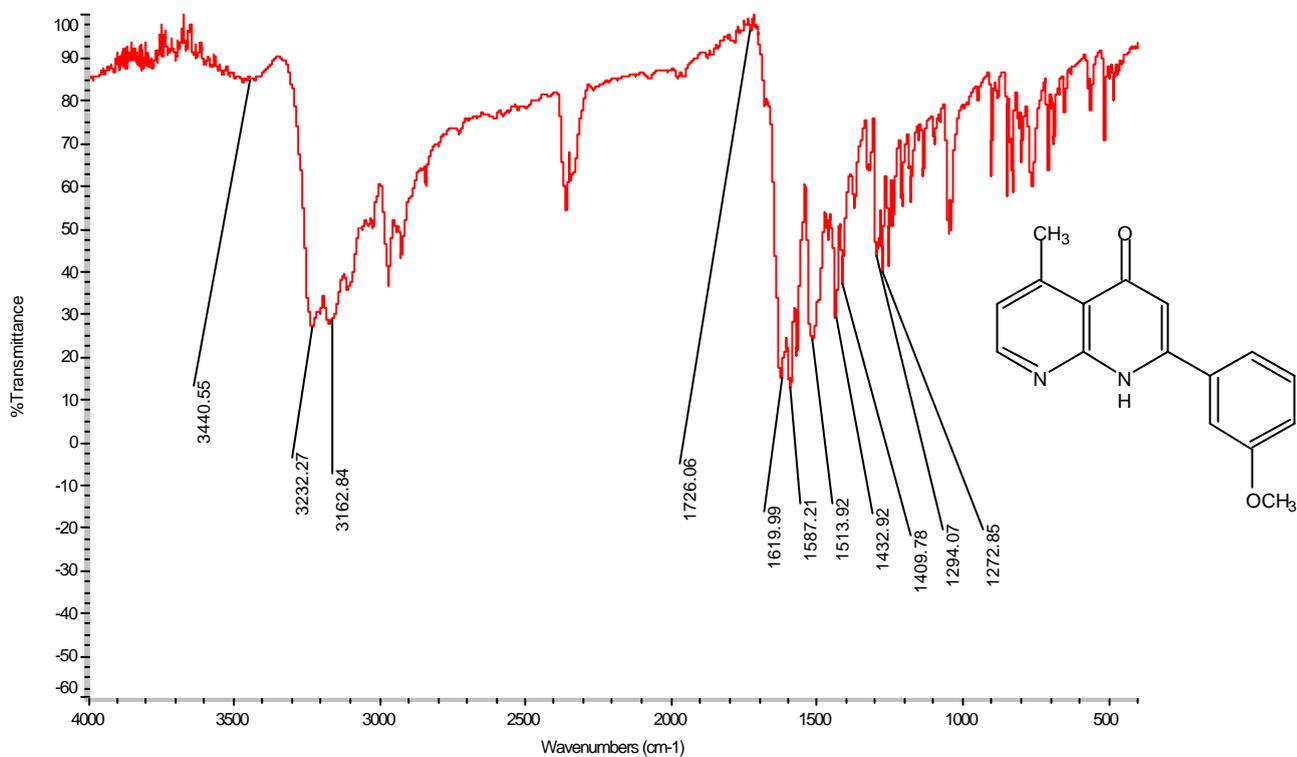


圖 31-2 化合物 31 之 IR 圖譜

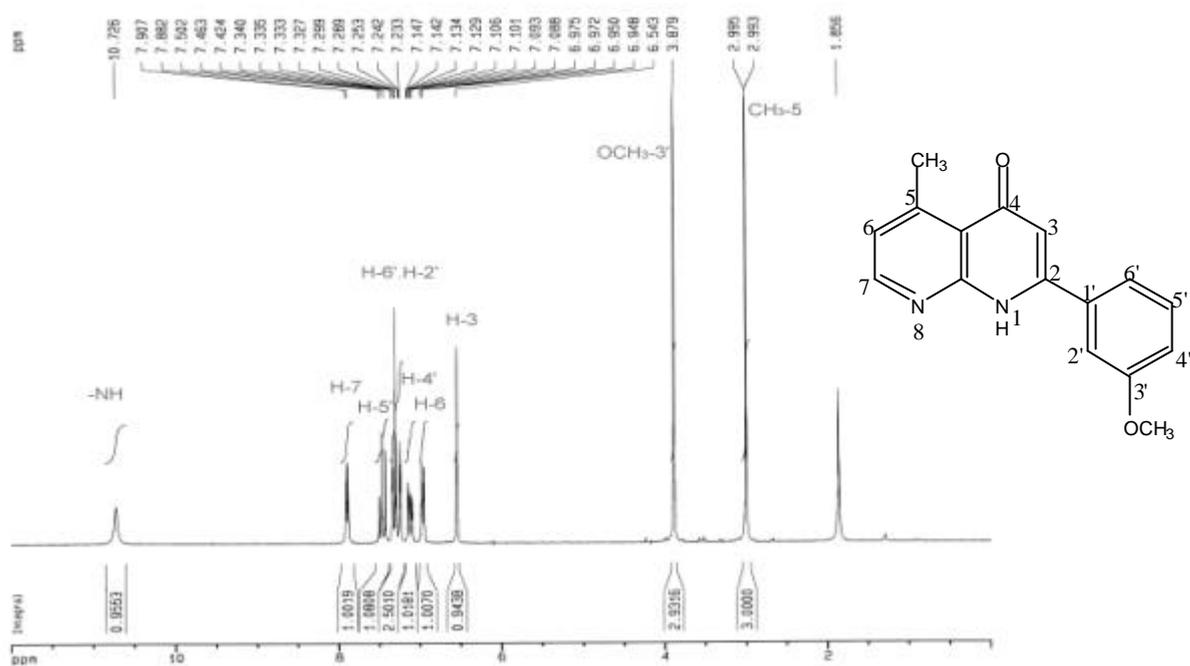


圖 31-3 化合物 31 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl₃, 200 MHz)

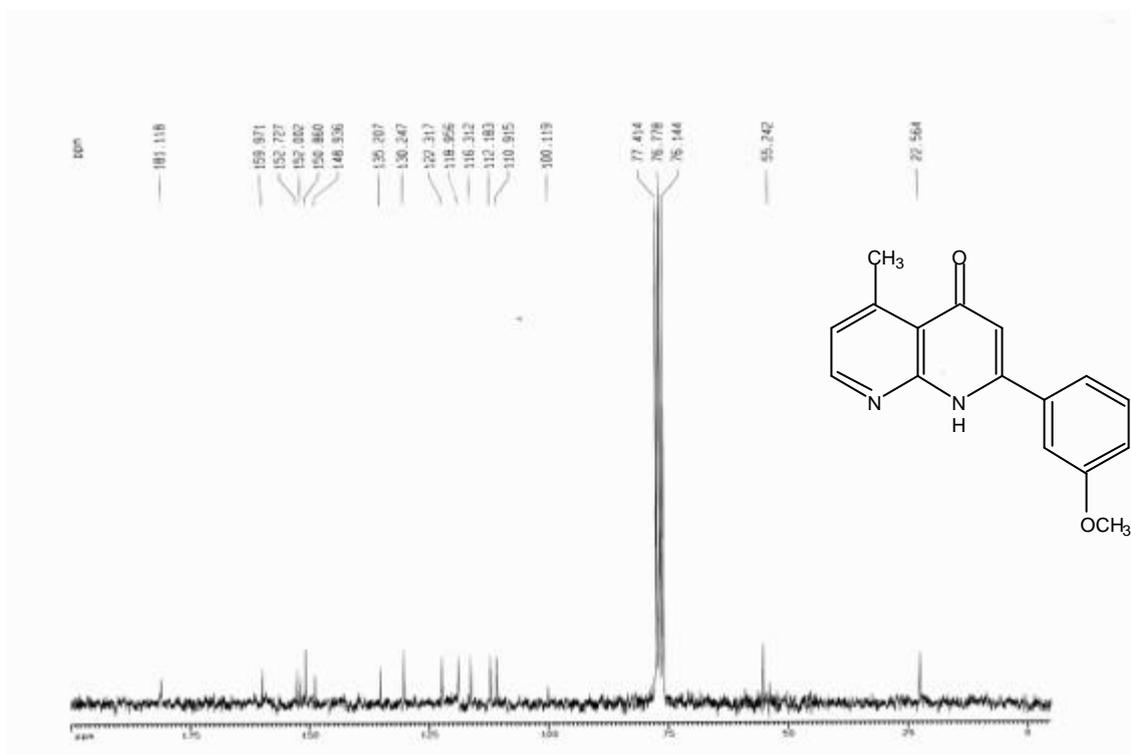


圖 31-4 化合物 31 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl₃, 50 MHz)

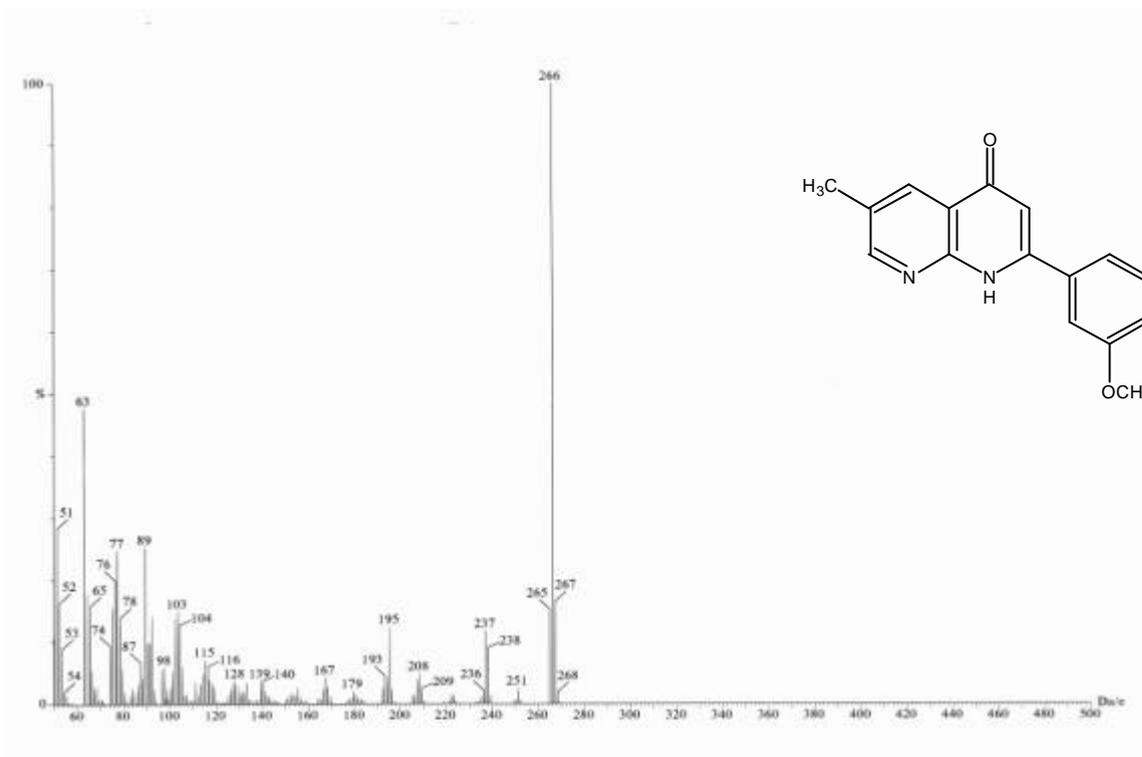


圖 32-1 化合物 32 之質譜圖譜(EIMS)

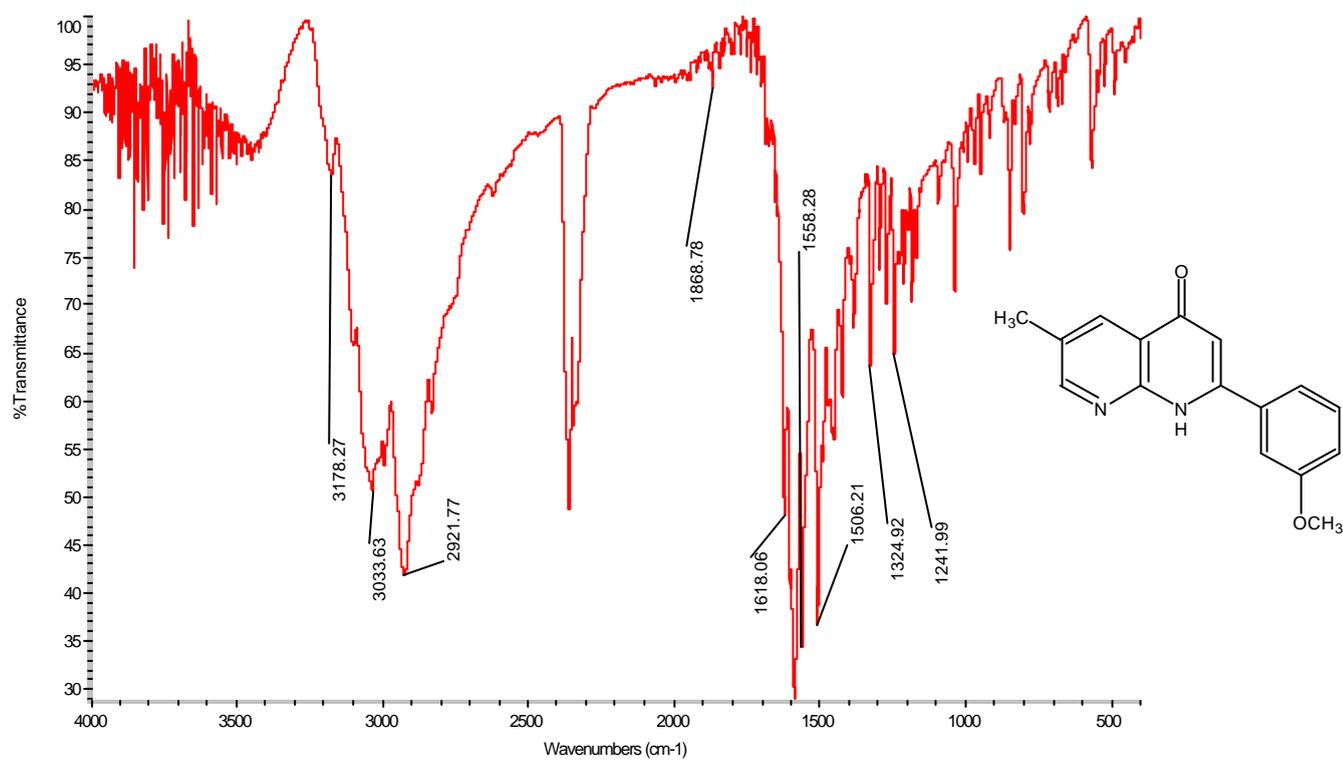


圖 32-2 化合物 32 之 IR 圖譜

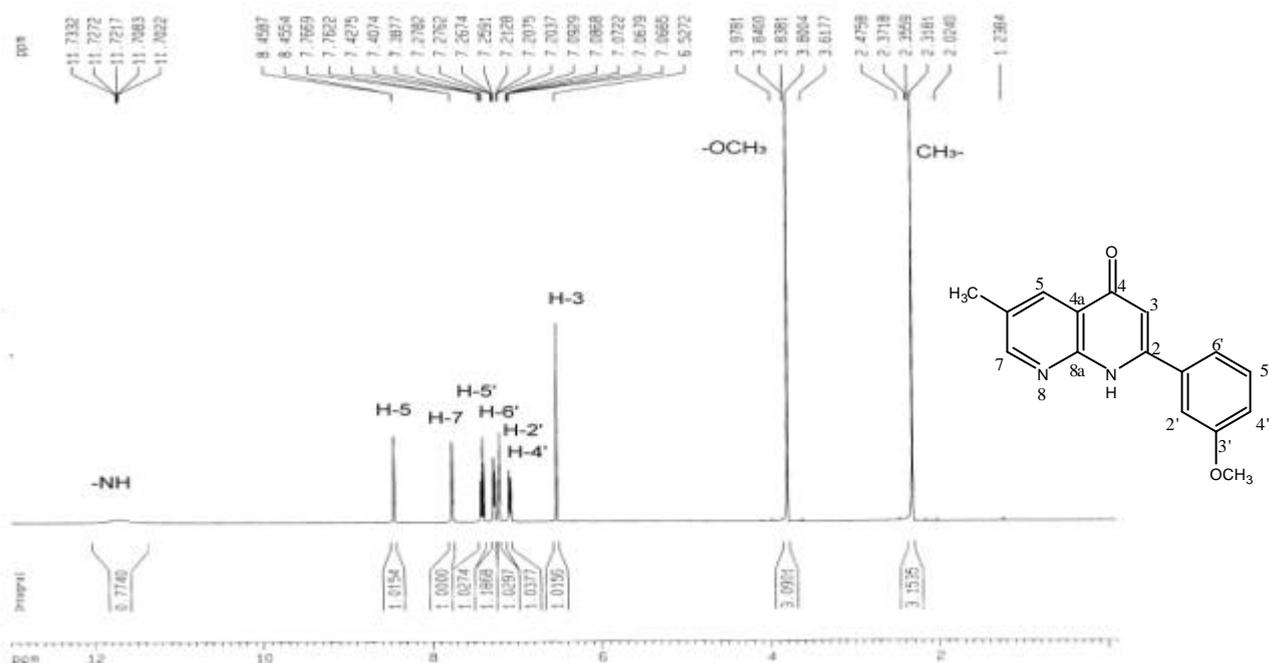


圖 32-3 化合物 32 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 400 MHz)

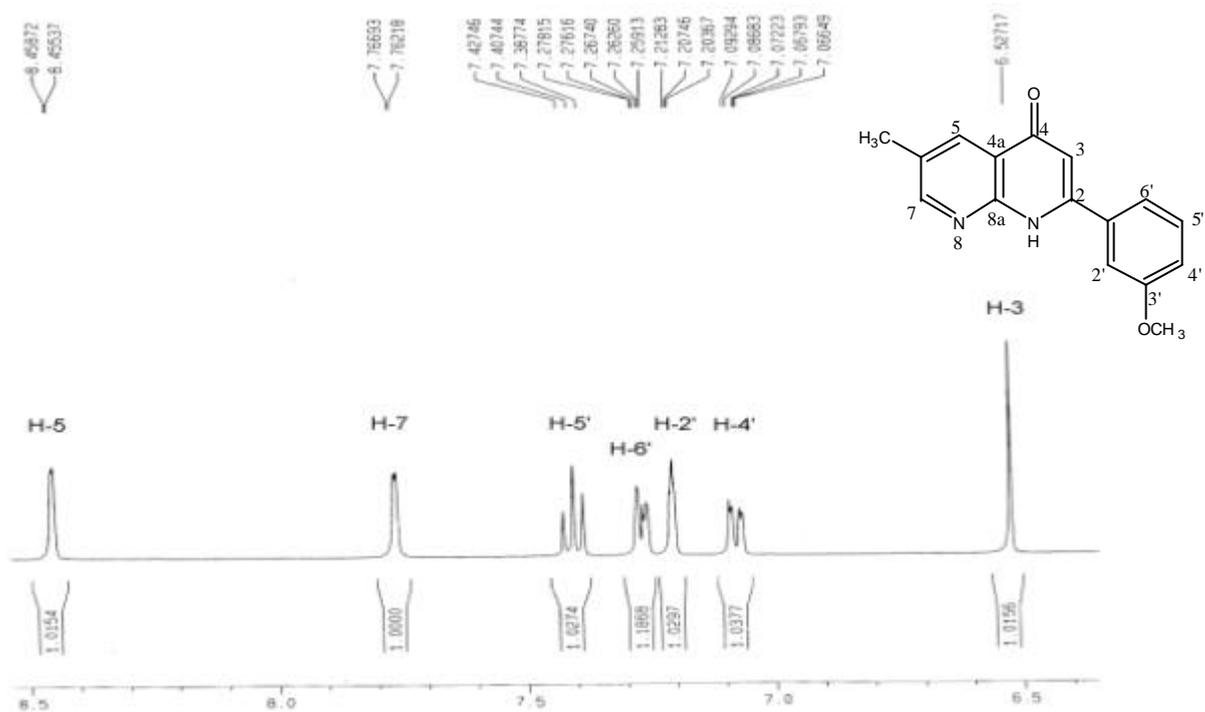


圖 32-3-1 化合物 32 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 400 MHz)

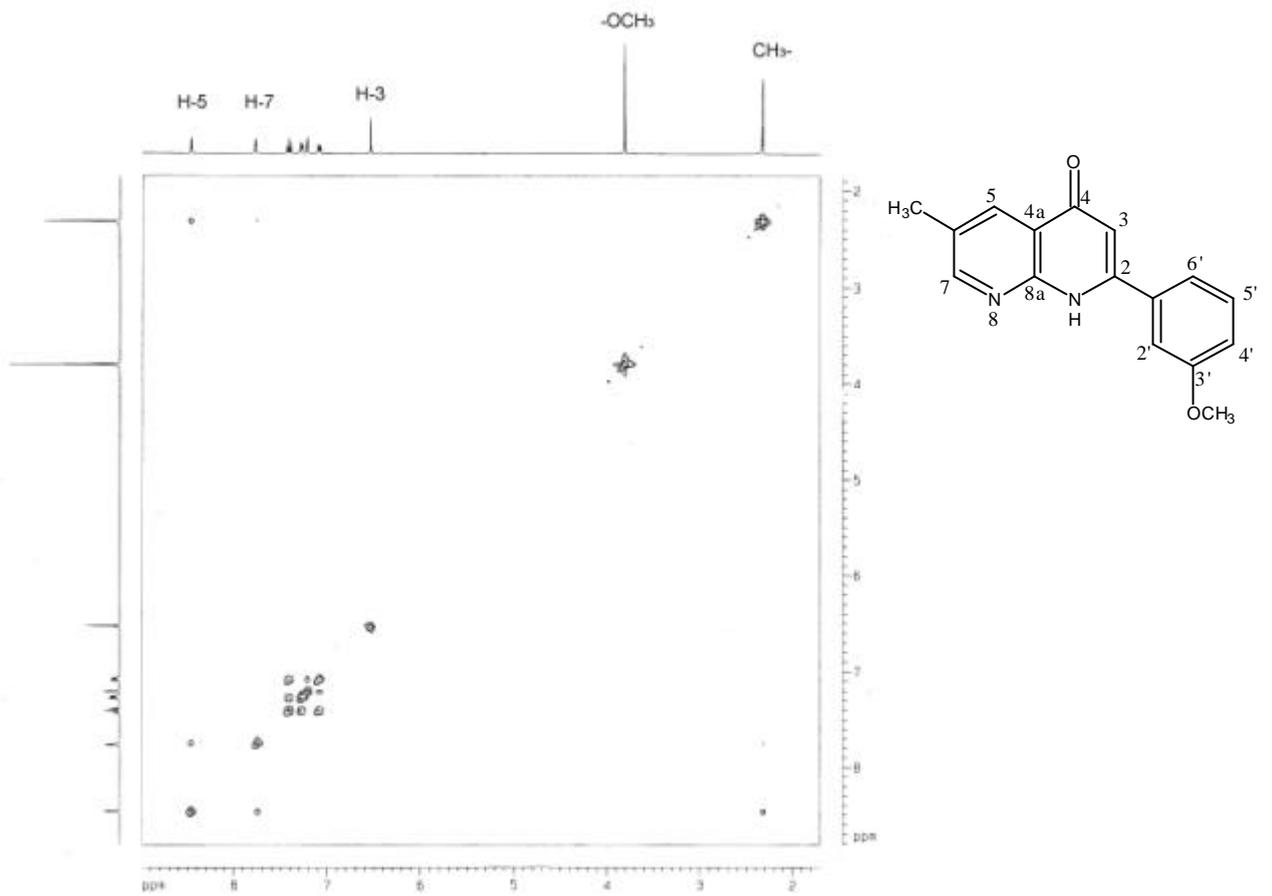


圖 32-4 化合物 32 之 ^1H - ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz)

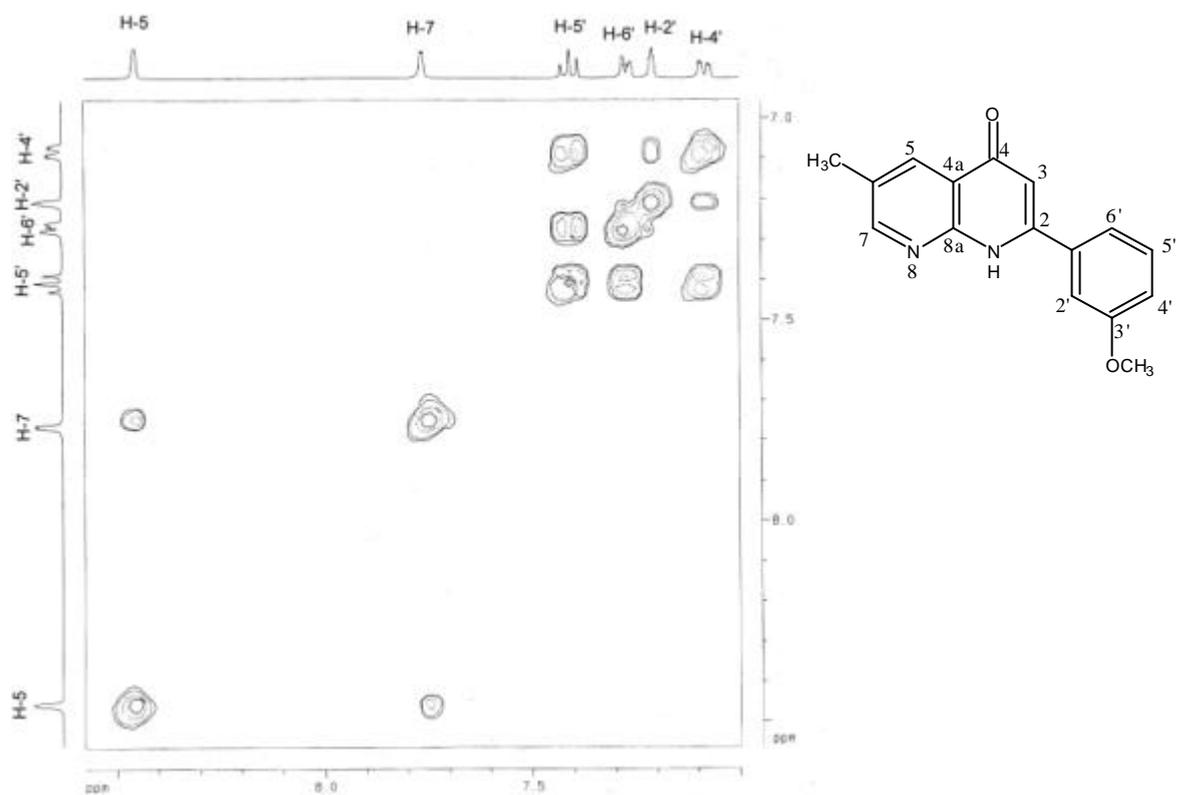


圖 32-4-1 化合物 32 之 ^1H - ^1H COSY (CDCl_3 , 400 MHz)

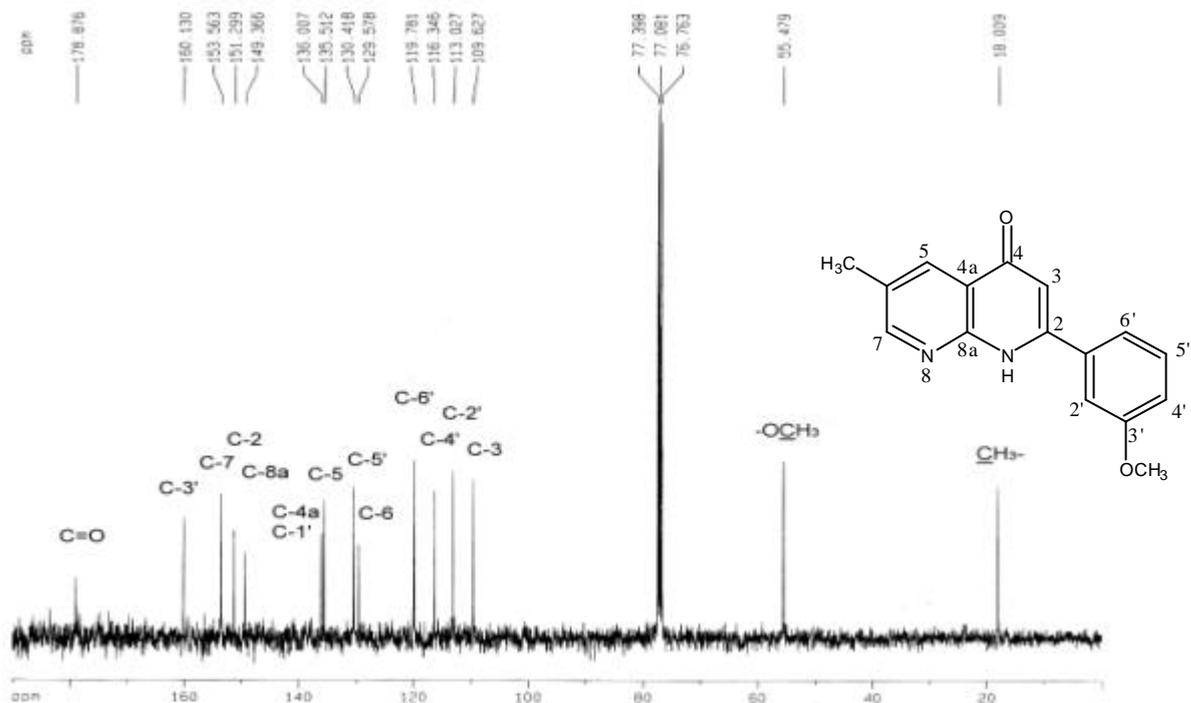


圖 32-5 化合物 32 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 100 MHz)

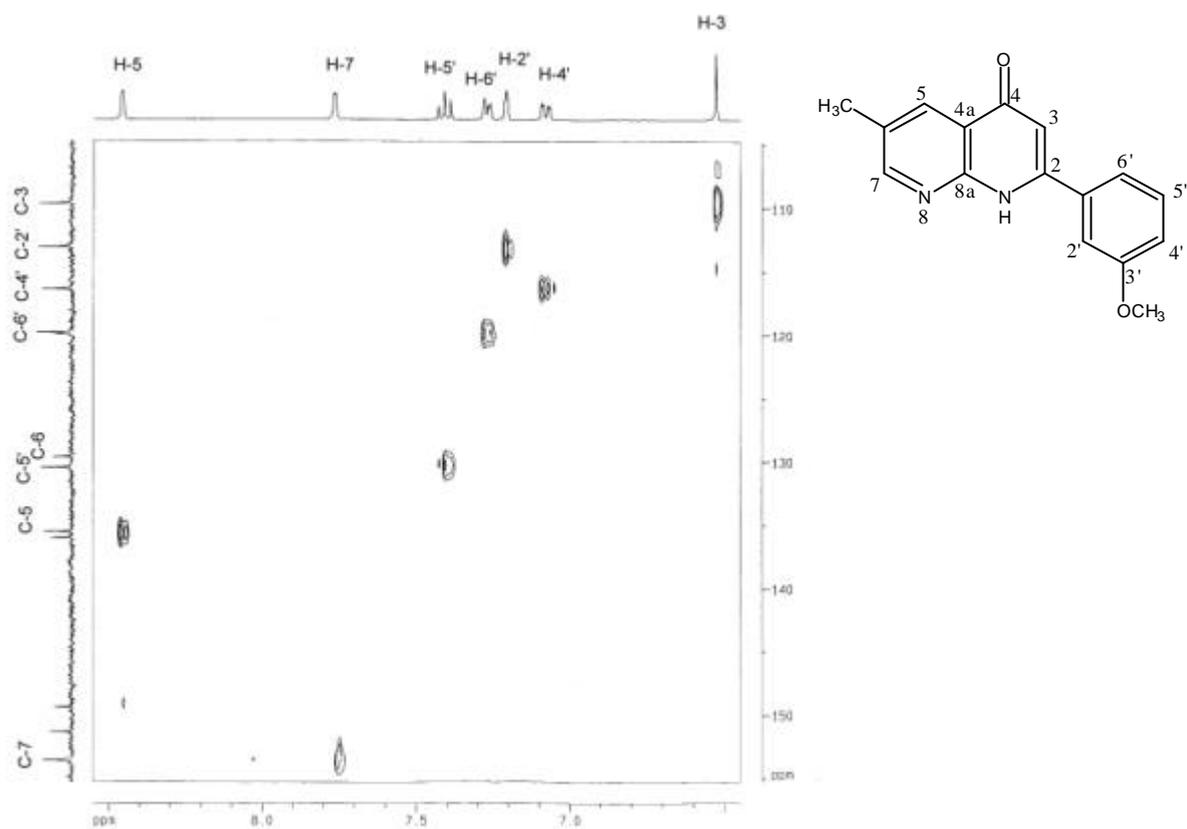


圖 32-6 化合物 32 之 HMQC (CDCl_3 , 400 MHz)

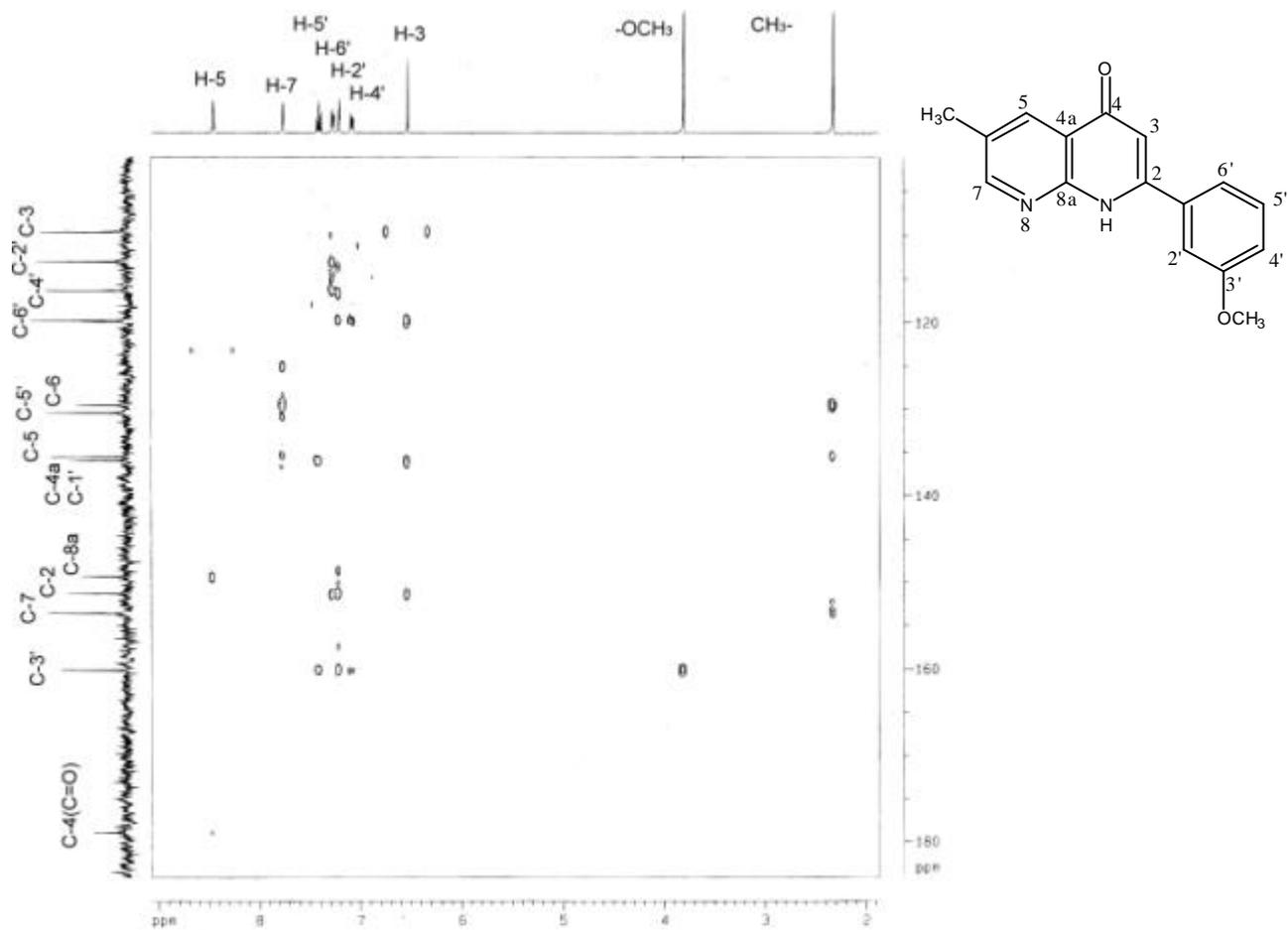


圖 32-7 化合物 32 之 HMBC (CDCl₃, 400 MHz)

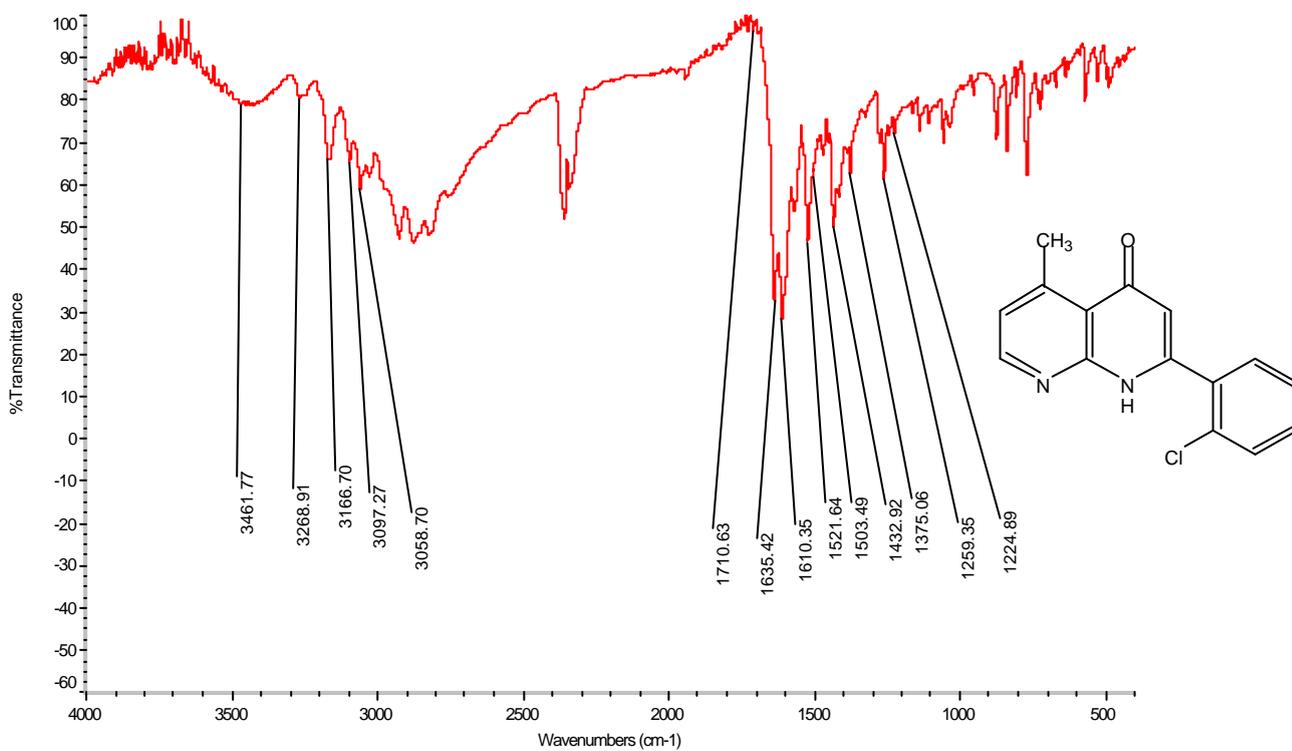


圖 33-2 化合物 33 之 IR 圖譜

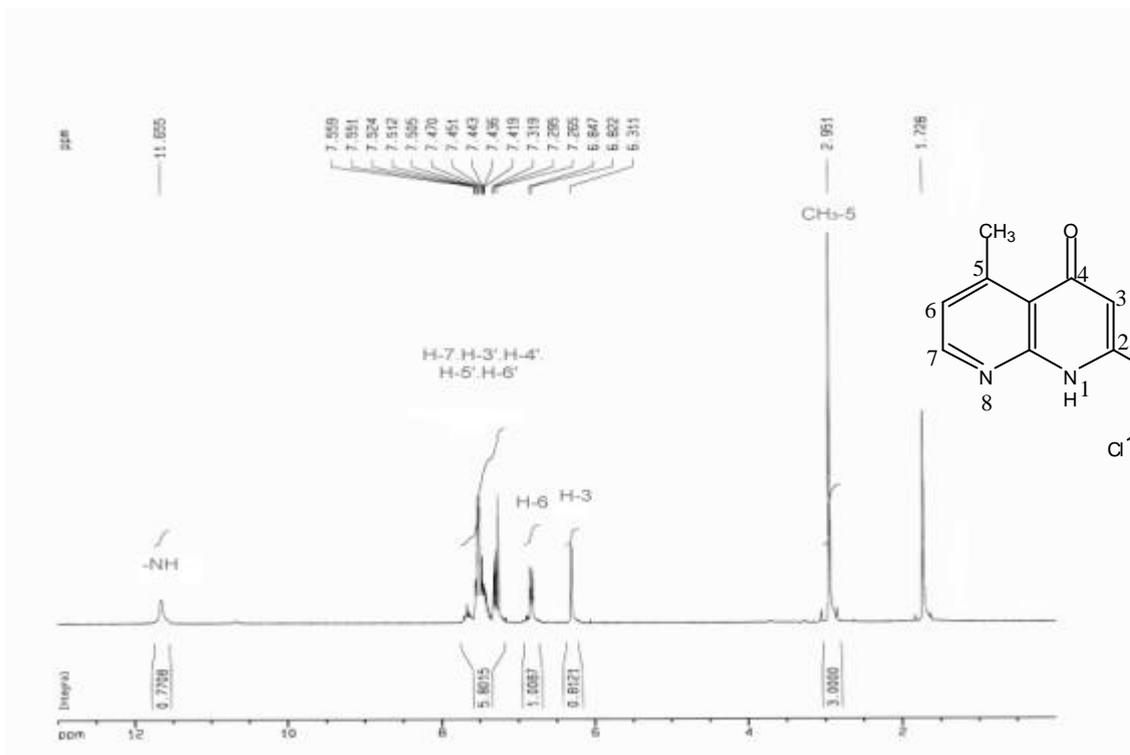


圖 33-3 化合物 33 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 200 MHz)

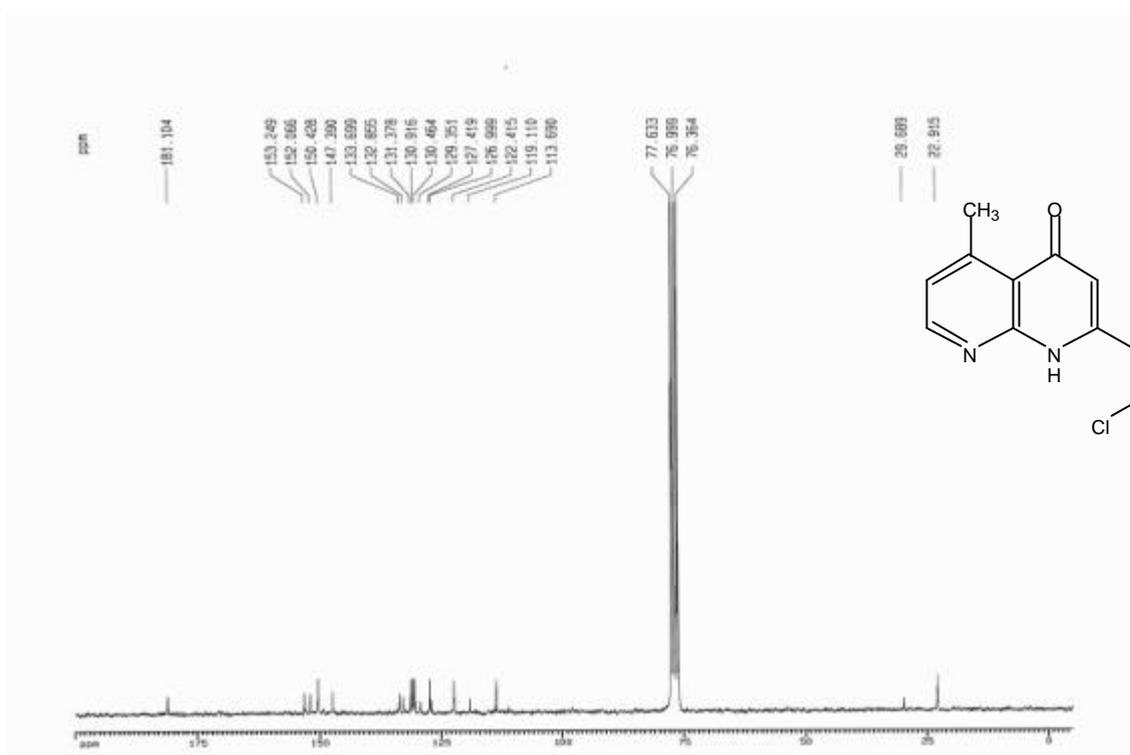


圖 33-4 化合物 33 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

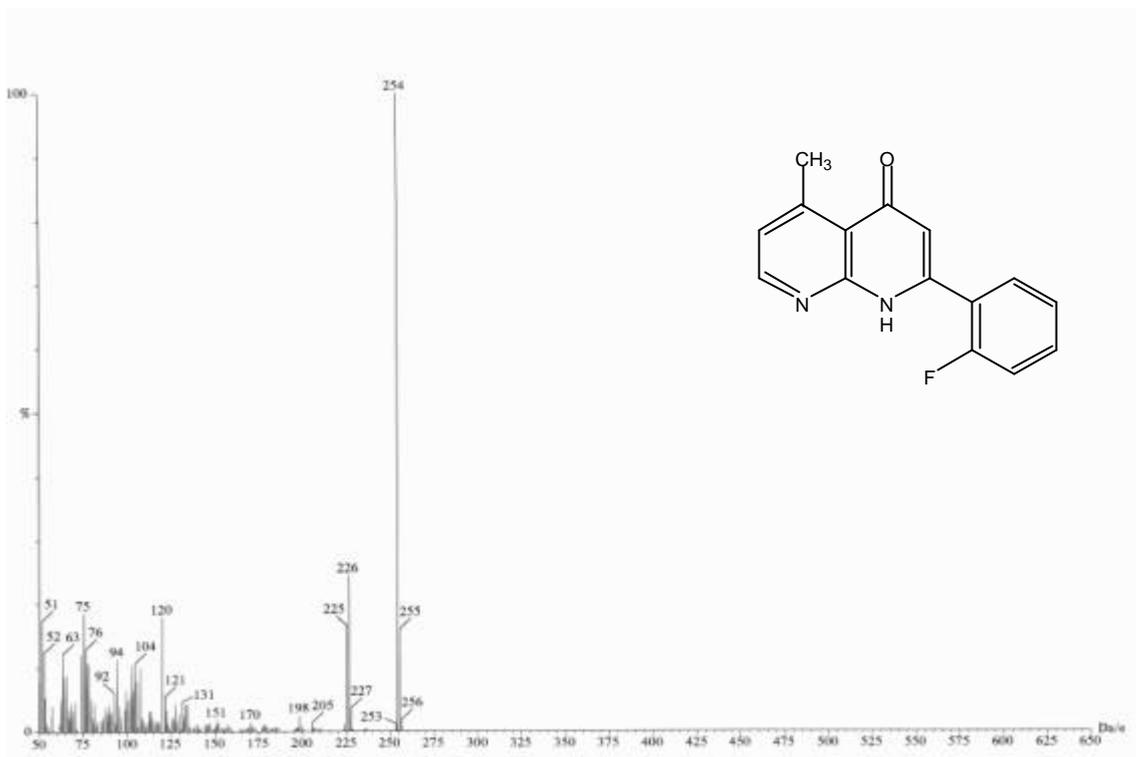


圖 34-1 化合物 34 之質譜圖譜(EIMS)

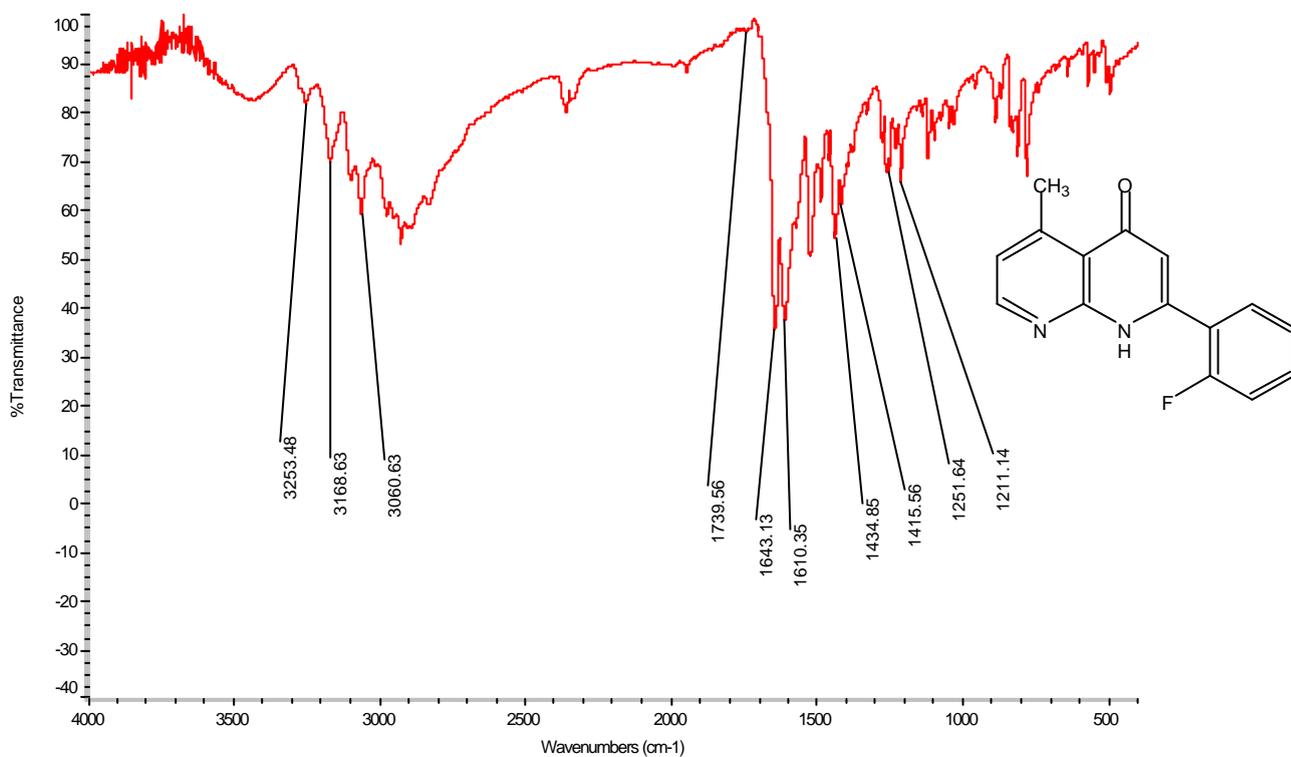


圖 34-2 化合物 34 之 IR 圖譜

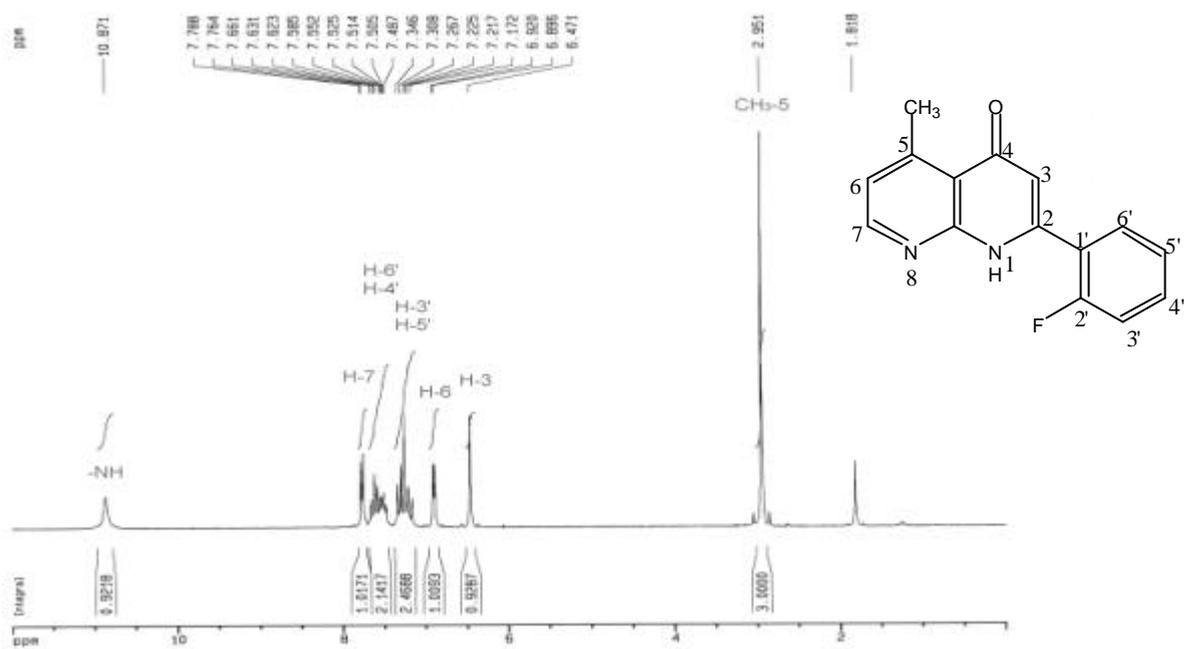


圖 34-3 化合物 34 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 200 MHz)

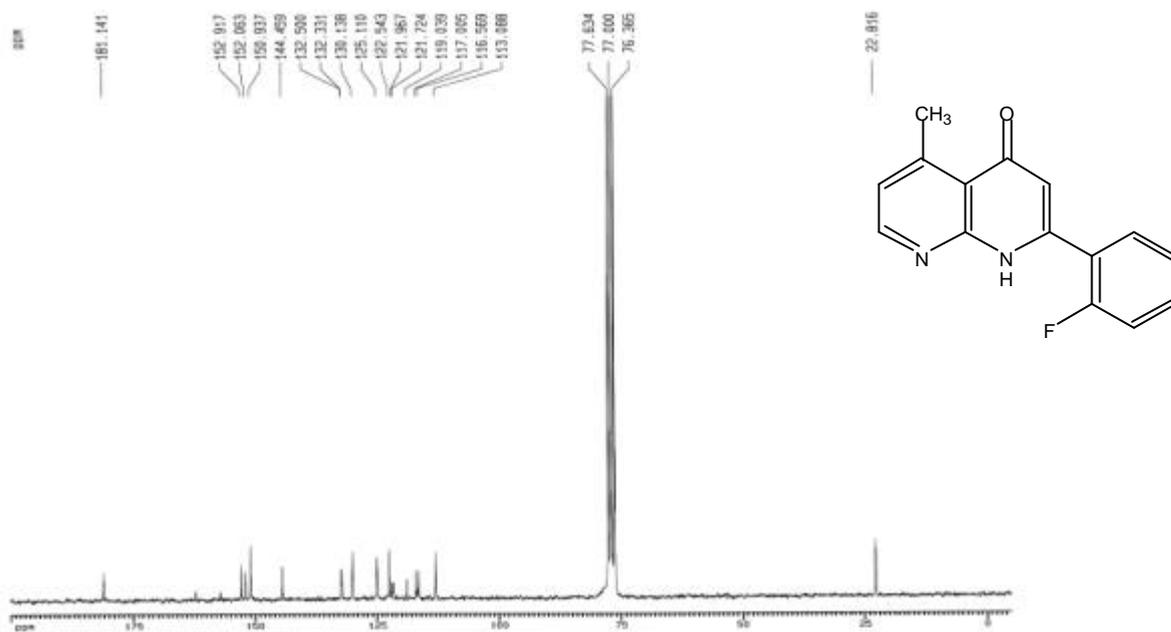


圖 34-4 化合物 34 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)

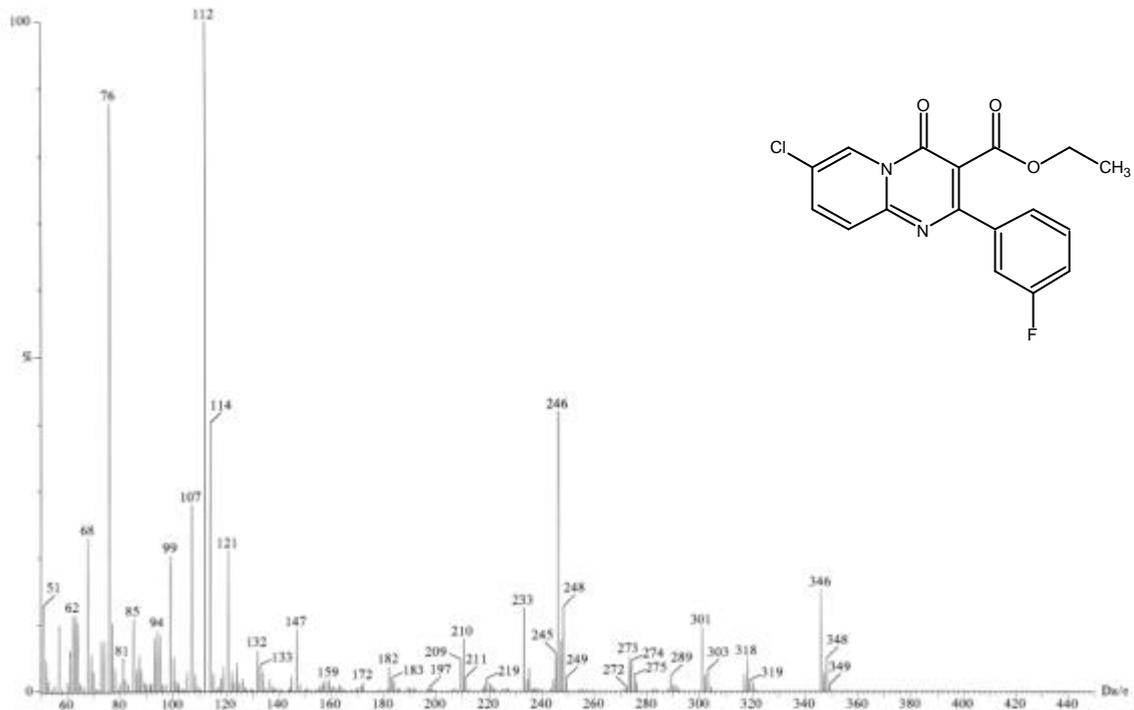


圖 40-1 化合物 40 之質譜圖譜(EIMS)

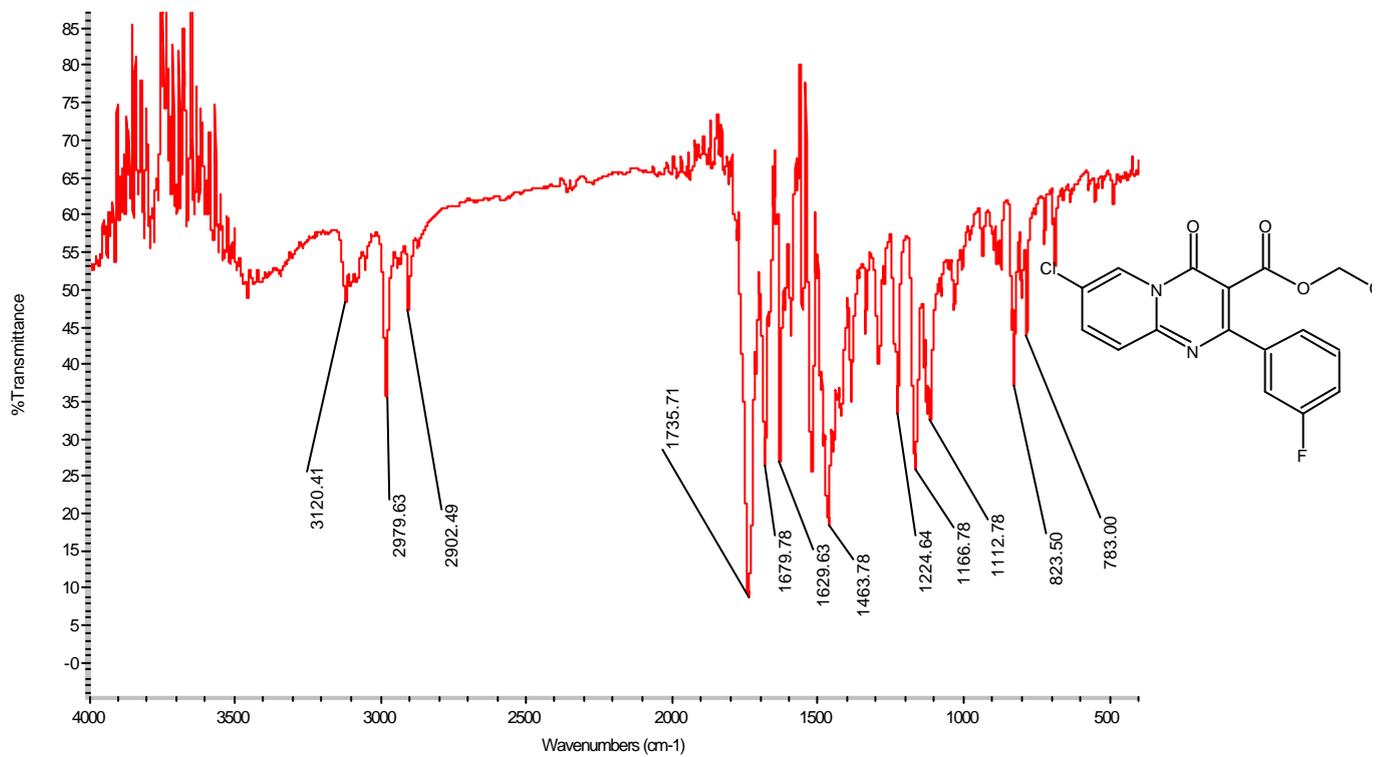


圖 40-2 化合物 40 之 IR 圖譜

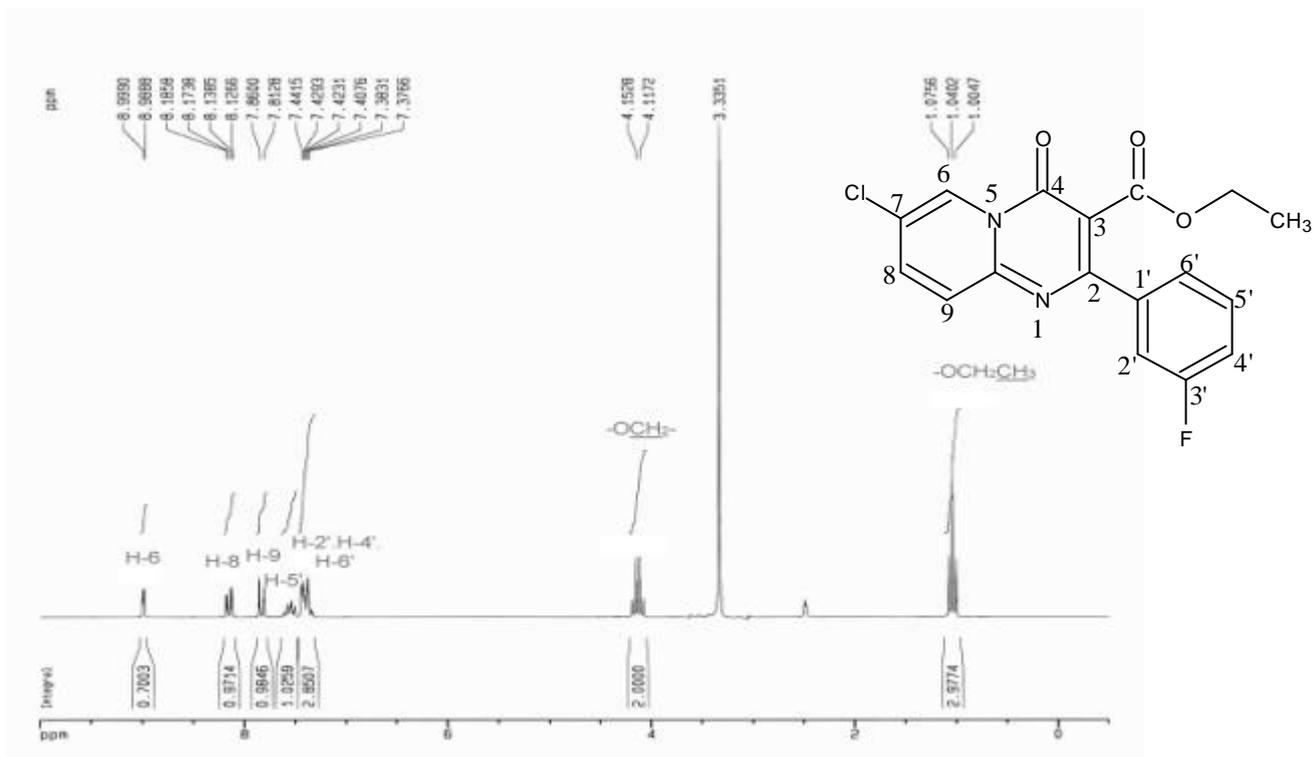


圖 40-3 化合物 40 之 ¹H-NMR 圖譜(DMSO-*d*₆, 200 MHz)

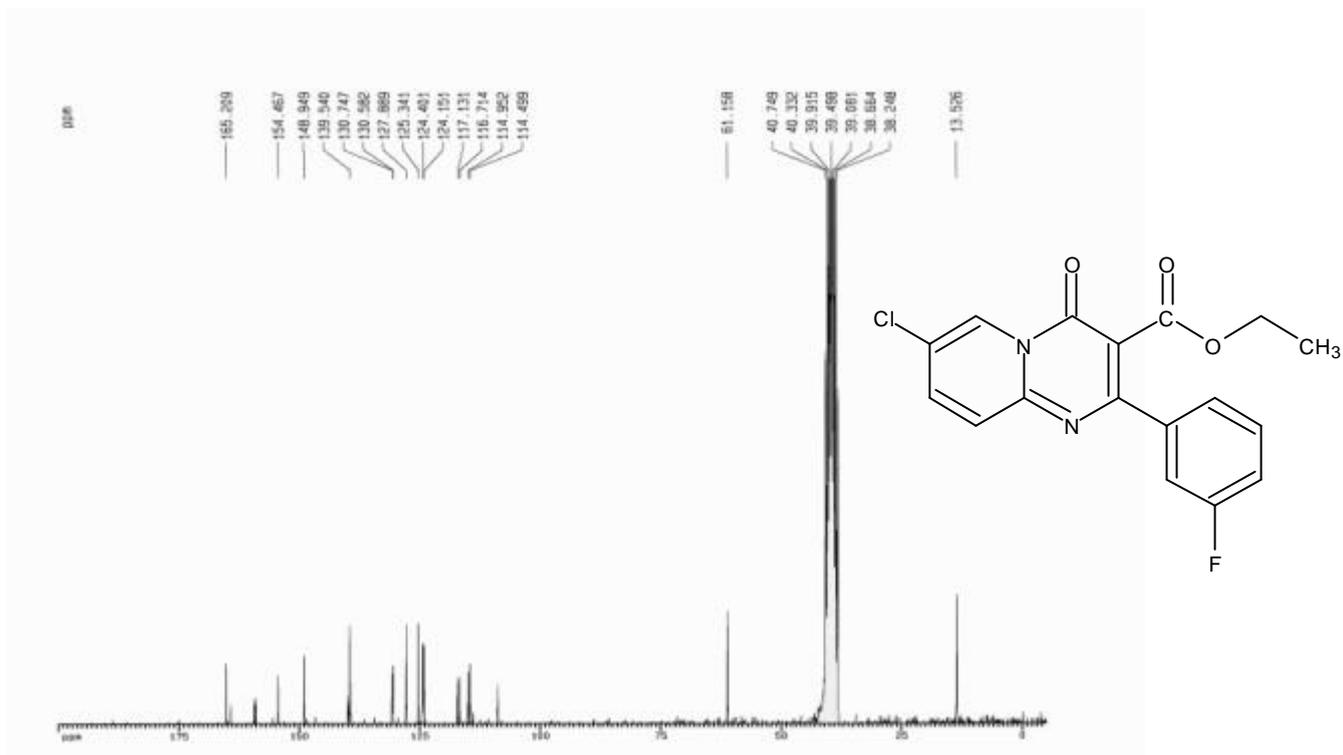


圖 40-4 化合物 40 之 ¹³C-NMR 圖譜(DMSO-*d*₆, 50 MHz)

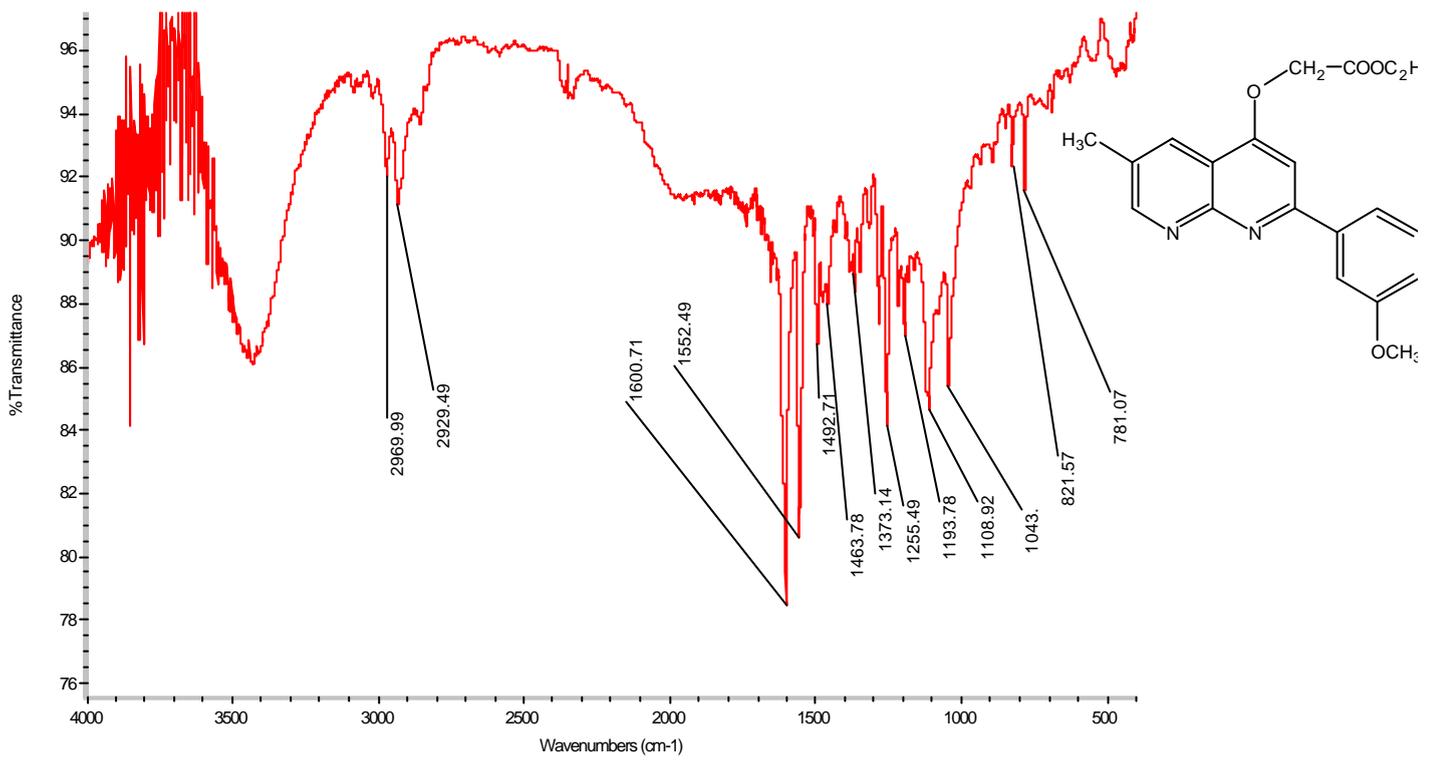


圖 42-2 化合物 42 之 IR 圖譜

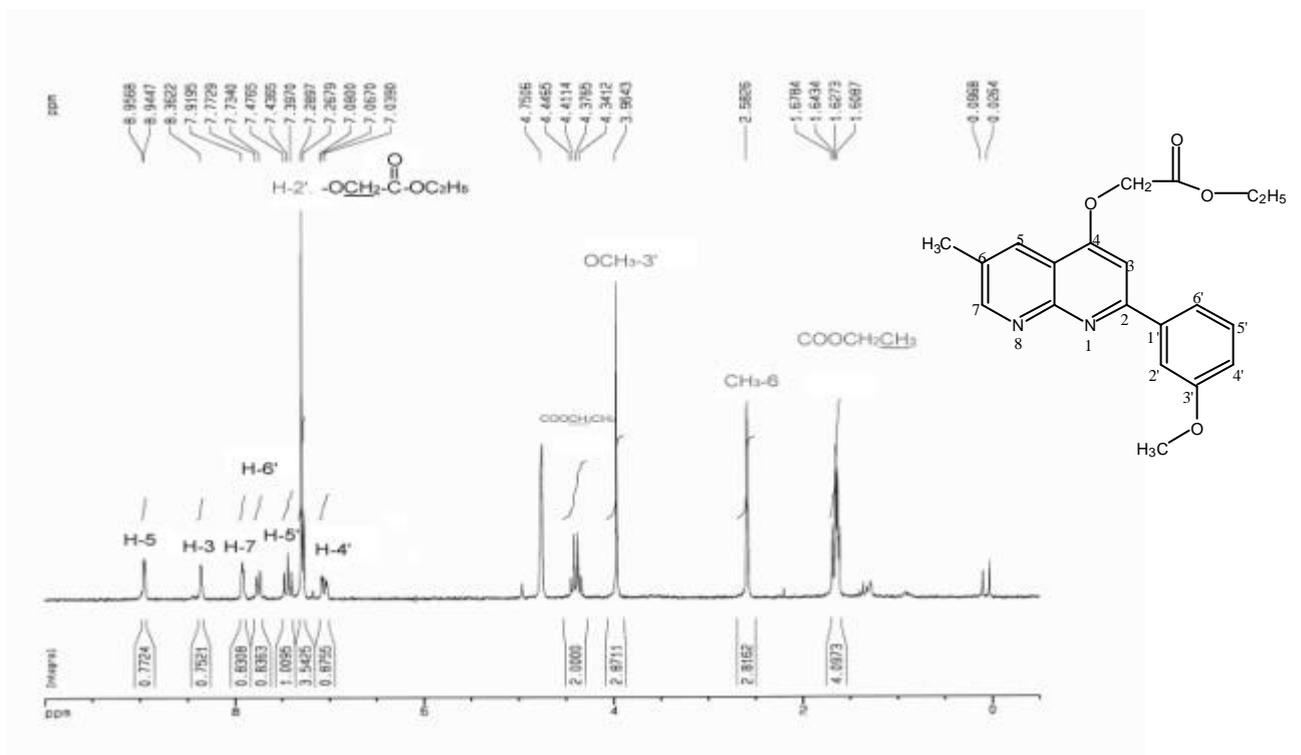


圖 42-3 化合物 42 之 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 200 MHz)

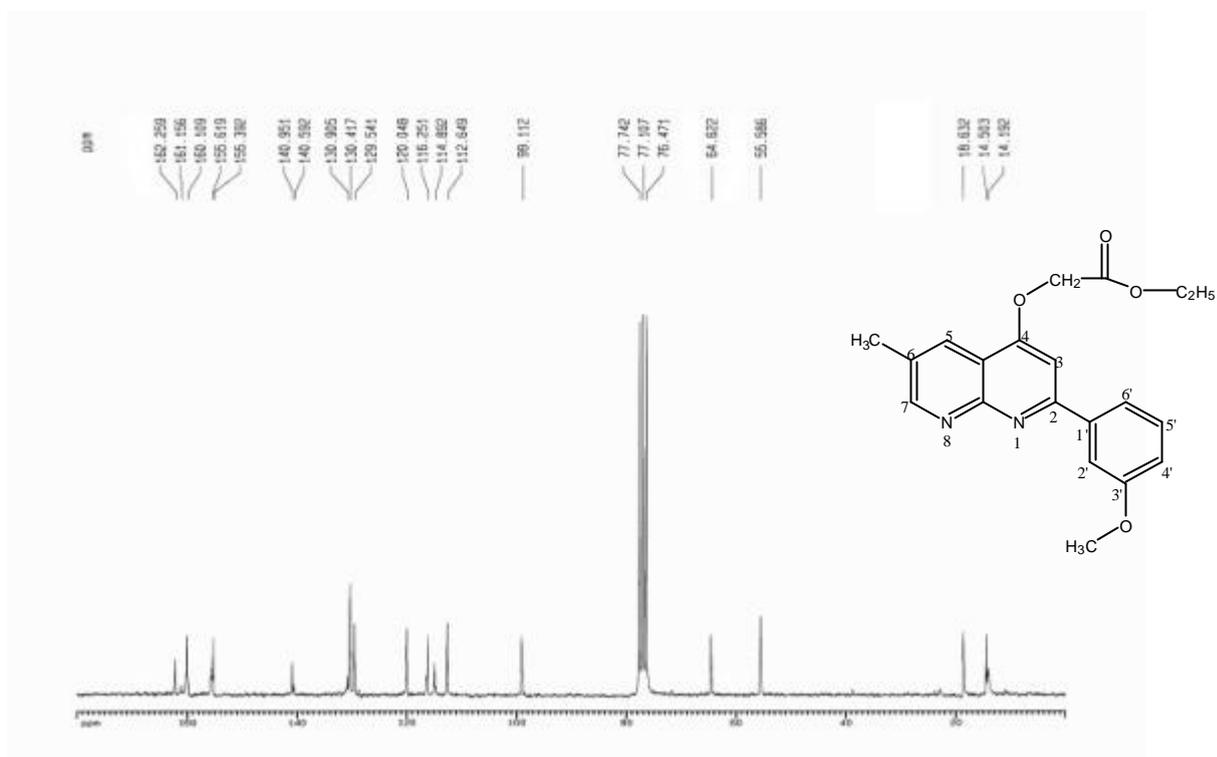


圖 42-4 化合物 42 之 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(CDCl_3 , 50 MHz)