

中國醫藥大學 藥物化學研究所
博士論文

指導教授：林宗平 副教授

共同指導教授：郭盛助 講座教授

鍾景光 教授

2-[氮-多樣取代苄基]取代苯胺基-4-酮基-4,5-二氫
呋喃-3-羧酸乙酯類衍生物之合成及其生理活性

**Synthesis and Biological Activity of Certain Ethyl
2-[N-various benzyl]Substituted
anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran- 3-carboxylate**

研究生：黃 安 正

AN-CHENG HUANG

中 華 民 國 九 十 六 年 一 月

謝辭

時光飛逝，轉眼間在藥化所已經七年。種種的一切，點點滴滴在心頭，歷歷在目，有太多的感慨和懷念。

感謝恩師林宗平副教授於課業和實驗上之殷切指導與鼓勵，并在日常生活與待人處事上給予我關心和勉勵，讓我能順利得以完成學業，在此獻上由衷的敬意和謝意。同時也要感謝前校長郭盛助講座教授、鍾景光教授在研究與實驗上建議與協助，讓學生在面對問題時有更深入進一層的思考。此外，特別感謝黃所長麗嬌教授、連金城副教授、除了多年來之教授外并於百忙之中不辭辛勞提供寶貴意見給予指正，另在論文之編輯方面，提供寶貴意見和不吝指正。在論文口試期間，另外感謝台北醫學大學郭憲壽教授及靜宜大學周淑姿教授在論文內容之指導與建議，使得論文得以更臻完善，在此敬致由衷之謝忱。

授業期間也承蒙蔡院長輝彥、前院長簡伯武、張永勳所長、劉正雄主任、陳勝智老師、吳俊雄老師、陳忠川老師、邱泰惠老師、溫國慶主任、李鳳琴主任、吳金濱老師、李佩端老師、吳錦生老師、黃順爵老師、賴建銘老師、王繼平老師、蔡尙元老師、李昭瑩老師、侯曼貞老師、林慧怡老師、蔡勝忠老師、張誌祥老師、翁豐富老師、廖志中老師、林輝章老師、李正常老師、吳玢玢老師、賴妙英老師、徐素蘭老師、陳鴻儀老師、余建智老師、楊家欣老師、林振文主任，及校院裡多位老師等之關懷指導，讓我受益匪淺，獲益良多。

同時，承蒙長庚大學廖長輝副教授代測抗活性氧化物試驗；本校黃太鴻老師代測各種圖譜，龔語慧、賴萱薇、劉夙真、陳玟君、楊玲珠小姐在這期間各種事務之協助，在此一併致上無限之謝意。

感謝藥化所的學長、學姐、學弟、學妹：建平、盈潔、榮彬、正傑、士鳴、子修、川虎、怡芳、世良、俊仁、美華、華鑫、元照、昱勛、立琛、怡倩、睿盈、昭和、惠雅、雅玲、昌亮、紋瑩、健源、志文、盈璋、晉育、建廷、雍怡、柏龍、克勤、柏舟、俊昇、仕弘、敬哲、如芳、家偉、啓民、肇元、弘偉、俊達、懷慶、巧敏、鈺琪、鈞達及鍾老師實驗室之魏秀娟等在實驗工作上的幫忙相助。

研究期間，承蒙李鵬舉居士、蔡光振居士、吳杰鴻居士、楊漢銘院長、廖美芬副院長、朱淑媛主任、陳麗鳳督導在精神上之鼓勵與支持。

最後，要感謝我的家人：父親、母親、麗雪。感謝他們無限的付出、愛與支持，讓我順利完成學業。

目錄

謝辭	頁數
內 容	
中文摘要	I
英文摘要	III
第一章 緒 論	1
第一節 Furoquinolone 衍生物及其中間合成衍生物之研究概況	1
第二節 癌症及癌症治療藥介紹	3
壹 癌症介紹	3
貳 抗腫瘤藥物	6
參 抗腫瘤藥物與細胞凋亡	8
肆 細胞週期(Cell cycle)	8
伍 細胞凋亡 (Cell apoptosis)1	16
一 程序化細胞死亡與細胞壞死	16
二 細胞凋亡路徑	17
三 細胞凋亡之調節者	21
四 粒腺體膜電位與細胞凋亡	24
五 活性氧化物 (Reactive oxygen soecies; ROS) 與細胞凋亡	24
陸 活性氧化物 (Reactive oxygen soecies; ROS) 與疾病	28
第三節 研究動機與目的	29
第二章 研究經過	34
第一節 化學合成部份	34
(一) Ethyl 2-(substituted anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (1~10) 之 合成	35

(二) Ethyl 2-[<i>N</i> -substituted benzyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (11~26) 之合成	40
(三) Ethyl 2-[<i>N</i> -substituted benzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3- carboxylate (27~42) 之合成	45
(四) Ethyl 2-[<i>N</i> -substituted benzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (43~58)及 Ethyl 2-[<i>N</i> -methyl-3'-chloroanilino]-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (59)之合成	50
(五) Substituted Ethyl 2-[<i>N</i> -substituted benzyl (3'-substituted benzyloxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (60~73) 之合成	55
(六) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (74~87) 之合成	60
(七) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro- furan-3-carboxylate (88~103) 之合成	64
(八) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro- furan-3-carboxylate (104~119) 之合成	69
(九) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(3',5'-dimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro- furan- 3-carboxylate (120~135) 之合成	74
(十) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(3',4', 5'-trimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran- 3-carboxylate (136~151) 之合成	79
(十一) Substituted-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3- <i>b</i>]quinolin-3,4-dione (152~153)之合成	84
(十二) <i>N</i> -various benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3- <i>b</i>]quinolin-3,4-diones (155~167)之合成	88
(十三) <i>N</i> -benzyl-3-hydroxy-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3- <i>b</i>]-quinolin-4-one (168)之合成	93
(十四) <i>N</i> -various benzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3- <i>b</i>]quinolin- 3,4-diones (169~180)之合成	96
(十五) Ethyl 2-(2-carboxymethyl) anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (181)之合成	101
(十六) 4-chloro-7-methoxyfuro[2,3- <i>b</i>]quinolin-3(2H)-one (182)及 Ethyl 2-(4-chloro-3-oxo-2,3-dihydrofuro[2,3- <i>b</i>]quinolin-8-yl)acetate (183)之合成	105
第二節 藥理活性試驗結果	109
壹、小鼠血癌細胞 WEHI-3 致毒活性：	109

貳、化合物 80 誘導人類子宮頸鱗狀上皮癌細胞(Ca Ski cells)細胞凋亡之研究	118
2.1 檢測化合物 80 對 Ca Ski cells,其細胞型態上變化和細胞存活率之影響	118
2.2 化合物 80 對 Ca Ski cells 細胞週期之影響---以流式細胞儀來偵測	119
2.3 經由 DAPI 染色法檢測化合物 80 對 Ca Ski cells 之細胞凋亡	120
2.4 使用 DNA 凝膠電泳檢測化合物 80 對 Ca Ski cells 之 DNA 裂解影響	121
2.5 檢測化合物 80 對 Ca Ski cells 之活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)之影響	122
2.6 檢測化合物 80 對 Ca Ski cells 細胞質內之 Ca ²⁺ 之影響---以流式細胞儀來偵測	123
2.7 檢測化合物 80 對 Ca Ski cells 細胞之粒腺體膜電位(MMP)之影響--以流式細胞儀來偵測	124
2.8 檢測化合物 80 對 Ca Ski cells 細胞 p53, Bax, Bcl-2, cytochrome-c, AIF, caspase-3 and -8, Fas, GRP78, GADD153 和 caspase-12 之影響--以 Western blotting 偵測	125
參、化合物 79 誘導人類子宮頸部腫瘤細胞 (HeLa Cells)細胞凋亡之研究：	127
3.1 檢測化合物 79 對 HeLa 細胞,其細胞型態上變化和細胞存活率之影響	127
3.2 化合物 79 對 Hela cells 細胞週期與 sub-G1 分析---以流式細胞儀來偵測	128
3.3 化合物 79 對 Hela cells 細胞凋亡之影響--經由 DAPI 染色法檢測	129
3.4 化合物 79 對 Hela cells 細胞 DNA 裂解影響分析---使用 DNA 凝膠電泳	129
3.5 檢測化合物 79 對 Hela cells 在活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)之影響	130
3.6 檢測化合物 79 對 Hela cells 細胞質內之 Ca ²⁺ 之影響---以流式細胞儀來偵測	130
3.7 檢測化合物 79 對 Hela cells 細胞之粒腺體膜電位(MMP)之影響--以流式細胞儀來偵測	131
3.8 檢測化合物 79 對 Hela cells 細胞轉移能力之影響	131
3.9 檢測化合物 79 對 Hela cells 細胞 p53、PARP、Bax、Bcl-2、caspase-3、-7、-9、-12、AIF、Bcl-xL、Fas、Akt、MMP-2、-9、Grp78、和 Gadd153 之影響--以 Western blotting 偵測	132

肆、人類嗜中性白血球抗活性氧化物釋放試驗	134
第三章 結論	145
壹、小鼠血癌細胞 WEHI-3 致毒活性與化學結構分析：	146
貳、化合物 80 誘導人類子宮頸鱗狀上皮癌細胞(Ca Ski cells)細胞凋亡	148
參、化合物 79 誘導人類子宮頸部腫瘤細胞 (HeLa Cells)細胞凋亡之研究：	150
肆、人類嗜中性白血球抗發炎試驗	152
第四章 實驗部份	154
第一節 化學合成之試藥、溶媒與材料	154
一、試藥	154
二、溶媒	156
三、材料	156
四、化學合成使用之儀器	157
第二節 藥理實驗之化學試劑、抗體及設備	158
一、化學試劑	158
二、一級抗體	158
三、二級抗體	159
四、設備及器材	159
第三節 化學合成實驗方法	160
(一) Ethyl 2-(substituted anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (1~10) 之合成	160
(二) Ethyl 2-[N-various benzyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (11~26) 之合成	167
(三) Ethyl 2-[N-various benzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran- 3-carboxylate (27~42) 之合成	178
(四) Ethyl 2-[N-various benzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (43~59) 之合成	189
(五) Ethyl 2-[N-various benzyl (3'-Substituted benzloxy)]anilino-4- oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (60~73) 之合成	201

(六) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (74~87) 之合成	211
(七) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (88~103) 之合成	221
(八) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(3'5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (104~119) 之合成	232
(九) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (120~135) 之合成	243
(十) Ethyl 2-[<i>N</i> -various benzyl-(3',4',5'-trimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (136~151) 之合成	254
(十一) 7-Methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3- <i>b</i>]quinolin-3,4-dione (152) 之合成	265
(十二) <i>N</i> -various benzyl -7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3- <i>b</i>]quinolin-3,4-diones (155~167)之合成	267
(十三) <i>N</i> -various benzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3- <i>b</i>]quinolin-3,4-diones (168~179)之合成	276
(十四) 2-{(2-[3-(ethoxycarbonyl)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-2-yl amino] phenyl) acetic acid (181) 之合成	283
(十五) Ethyl 2-(4-chloro-3-oxo-2,3-dihydrofuro[2,3- <i>b</i>]quinolin-8-yl) acetate (182) 之合成	283
(十六) 4-chloro-7-methoxyfuro[2,3- <i>b</i>]quinolin-3(2 <i>H</i>)-one (183) 之合成	284
第四節 藥理實驗步驟部份	285
壹、小鼠血癌細胞 WEHI-3 致毒活性：	285
參、化合物 80 誘導人類子宮頸鱗狀上皮癌細胞 Ca Ski cells)細胞凋亡之實驗：	286
參、化合物 79 誘導人類子宮頸部腫瘤細胞(簡稱 HeLa Cells)細胞凋亡之研究：	290
肆、人類嗜中性白血球抗活性氧化物釋放試驗	291
參考文獻	292
已發表之論文	301
已發表之研討會論文	302

2-[氮-多樣取代苄基]取代苯胺基-4-酮基-4,5-二氫呋喃-

3-羧酸乙酯類衍生物之合成及其生理活性

中國醫藥大學藥物化學研究所

黃安正

中文摘要

著者合成了一系列 2-取代苯胺-4-酮基-4,5-二氫呋喃-3-乙酸乙酯化合物(1-10)、多系列 2-[氮-多樣取代苄基]取代苯胺基-4-酮基-4,5-二氫呋喃-3-羧酸乙酯類衍生物(11~151)、一系列氮-多樣取代苄基-7-甲氧基-2,3,4,9-四氫呋喃并[2,3-*b*]喹啉-3,4-二酮化合物(155~167)、一系列氮-多樣取代苄基-7-甲氧基-4,9-二氫呋喃并[2,3-*b*]喹啉-4-酮化合物(169~180)及相關衍生物，並經各種圖譜資料予以確認結構正確，將所有合成經圖譜確認結構之化合物分別測試其生理活性。

在抗癌活性方面，以小鼠血癌細胞 WEHI-3 cells 之存活率試驗來評估。從目前測試結果發現 Ethyl 2-[*N*-benzyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**11**)、Ethyl 2-[*N*-*p*-fluoro-benzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**83**)、*N*-*m*-chloro-benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (**160**)、*N*-*o*-methoxybenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (**177**) 及 *N*-*o*-chlorobenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-4-dione (**172**)對於 WEHI-3 cells 之存活率有較大的抑制影響，其 1 μ M 時，WEHI-3 cells 之存活率皆低於 3%。

對於癌細胞凋亡之研究，選活性差異明顯者進行研究，首先以 Ethyl 2-[*N*-*p*-chlorobenzyl-(2'-methyl)] anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**80**)研究其對人類子宮頸鱗狀上皮癌細胞-Ca Ski cells 引起細胞凋亡之機轉，實驗結果顯示化合物 **80** 會增加 Bax/Bcl-2 比值、降低粒腺體膜電位，誘導增加細胞質內 Ca²⁺離子濃度、增加 caspases 酵素的活化、DNA 裂解和細胞凋亡。流式細胞儀也證實化合物 **80** 會引起降低粒腺體膜電位。西方墨點法(Western Blotting)顯示化合物 **80** 會增加 p53、p21、cytochrome c、caspase-3 及 Bax 的蛋白質表現，會降低 Bcl-2 的蛋白質表現。另由實驗加 BAPTA(Ca²⁺離子螯合劑)，抑制了化合物 **80** 所導致細胞質內 Ca²⁺離子濃度的增加、阻止腺體膜電位下降及阻止 Ca Ski cells 細胞凋亡，證實化合物 **80** 誘導 Ca Ski cells 細胞凋亡是經由與 Ca²⁺離子濃度有關之粒腺體凋亡路徑。

另也研究化合物 **79** 誘導人類子宮頸部腫瘤細胞 HeLa Cells (簡稱 HeLa Cells) 細胞凋亡之機轉。實驗結果顯示化合物 **79** 會誘導細胞型態改變和細胞毒性，其作用效果是與劑量呈正向關係。由流式細胞儀偵測法、DAPI 染色法及 DNA 裂解電泳凝膠法顯示化合物 **79** 會誘導 HeLa Cells 細胞凋亡。由 Grp78 和 Gadd153 表現增加，確認化合物 **79** 會誘導 ROS 過量產生，然後造成內質網壓力(ER stress)。西方墨點法證實化合物 **79** 會促進 p53、Bak、PARP、caspase-3 的表現量，另一方面會抑制 Bcl-2、Bcl-xL 的表現量。化合物 **79** 會促進 caspase-12 的作用，然後導致細胞凋亡。化合物 **79** 會抑制 MMP-2 和 MMP-9 的表現量，導致抑制 HeLa 細胞的轉移。

人類嗜中性白血球抗活性氧化物釋放試驗，以 fMLP 當發炎反應誘導劑，以 Cytochalasin B 當細胞軟化劑，提高細胞膜通透性，以 Cytochrome c 被 H₂O₂ 還原成環原態 Cytochrome c 時，其在波長 550 之吸光度(OD550)為實驗測量值，以 DMSO 之(OD550) 為對照組測量值，測量不同濃度藥品對人類嗜中性白血球抗發炎產生 ROS 之影響。從目前測試結果發現 2-(4-chloro-3-oxo-2,3-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-8-yl)acetate(**183**) 及 *N-p*-methoxybenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-4-dione (**180**) 對於人類嗜中性白血球之釋放 ROS 有最大的抑制作用，其 IC₅₀ 值分別為 0.022 μ M 及 0.39 μ M。

其他藥理活性試驗仍在測試中，容待獲得測試結果後，即予以補上，並探討其結構與活性之關係。

Summary

Synthesis and Biological Activity of Certain Ethyl 2-[*N*-various benzyl]substituted anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate

AN-CHENG HUANG

Graduate Institute of Pharmaceutical Chemistry
China Medical University

One series of ethyl 2-(substituted anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**1~10**), multi-series of ethyl 2-[*N*-various benzyl] substituted anilino-4-oxo-4,5-dihydro-furan-3-carboxylate (**11~151**), One series of *N*-various benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro-[2,3-*b*]-quinolin-3,4-diones (**155~167**) and another series of *N*-various benzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-4-diones (**169~180**) have been synthesized and assessed their chemical structures by their spectra data. All of these synthetic compound were evaluated for biological activities.

In anticancer activity, assess with the survival rate of mouse's blood cancer cell WEHI-3 cells. The test result shows that ethyl 2-[*N*-benzyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**11**)、ethyl 2-[*N*-*p*-fluoro-benzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**83**)、*N*-*m*-chloro-benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (**160**)、*N*-*o*-methoxybenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (**177**) and *N*-*o*-chlorobenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-4-dione (**172**) have the greater influence against the survival rate of WEHI-3 cells. In 1 μ M concentration of above compounds, the survival rate of WEHI-3 cells is all lower than 3%.

Investigation of cancer apoptosis, we conducted Ethyl 2-[*N*-*p*-chlorobenzyl-(2'-methyl)]-anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**80**) on a human cervical cancer cell line (Ca Ski). In this study, compound **80** acts on a human cervical cancer cell line (Ca Ski) to bring about an increase in the ratio of Bax/Bcl-2, the reduction of the mitochondrial membrane potential (MMP), an increase in the levels of cytoplasmic Ca²⁺, activation of caspases and fragmentation of DNA, and apoptosis are explored. Flow cytometric analysis demonstrated that compound **80** induced the decline of MMP in Ca Ski cells. Western blotting demonstrated that compound **80** induced an increase in the levels of p53, p21, cytochrome-c, caspase-3 and Bax

but a decrease in the level of Bcl-2. compound **80** induced an increase in the level of cytoplasmic Ca^{2+} , which was inhibited by BAPTA (calcium chelator), and BAPTA accelerated the MMP reduction, and significantly blocked compound **80**-induced apoptosis. Our data demonstrated that compound **80**-induced apoptosis occurs via a mitochondria-dependent pathway closely related to the level of cytoplasmic Ca^{2+} in Ca Ski cells.

We also examined the *in vitro* effect of compound **79** on human cervical epithelioid carcinoma cell line (HeLa). The results demonstrated that compound **79** induced morphological changes and cytotoxicity in dose-dependent. Compound **79** induced apoptosis which is analyzed by flow cytometric methods and also confirmed by DAPI staining and DNA fragmentation by DNA gel electrophoresis. Compound **79** also induced reactive oxygen species (ROS) overproduction then caused ER stress which also confirmed by the increased levels of Grp78 and Gadd153. Western blotting was selected to demonstrate that compound **79** promoted p53, Bak, PARP, caspase-3 levels and decreased the levels of Bcl-2 and Bcl-xL. Compound **79** also promoted caspase-12 then led to apoptosis. Compound **79** inhibits cell migration of HeLa which is may through inhibition of MMP-2 and 9.

In screen test on reactive oxygen species (ROS) release induced by fMLP in human neutrophil. The test result shows that 2-(4-chloro-3-oxo-2,3-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-8-yl) acetate (**183**) and *N-p*-methoxy-benzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-4-dione (**180**) have the greatest influence against the reactive oxygen species release induced by fMLP in human neutrophil, its IC_{50} value is 0.022 μM and 0.39 μM respectively.

Meanwhile, some of these synthetic compounds were still evaluated for their biological activity. Those results of biological activity will be reported later and discussed the relation of its structure and activat

第一章 緒論

本論文是繼續本實驗室有關 Furoquinolone 衍生物及其合成中間物衍生物的合成及其生物活性之研究，所合成之標的化合物主要為 Ethyl 2-[N-various benzyl]substituted anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran- 3-carboxylate 及部份 N-various benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-diones 及衍生物，所評估之生理活性包括誘導癌細胞凋亡之活性評估、誘導癌細胞凋亡之藥理機轉研究、嗜中性球抗發炎活性評估及抗血小板凝集評估。

著者先將 Furoquinolone 衍生物及其中間合成衍生物之研究概況、癌症及其治療、細胞週期、細胞凋亡之生理功能及活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)之生理功能，加以敘述作為本論文之背景資料。

第一節 Furoquinolone 衍生物及其中間合成衍生物之研究概況

壹、Furoquinolones 類生物鹼介紹

呋喃喹啉(furoquinoline) 類生物鹼是自然界芸香科(*Rutaceae*)植物中常見生物鹼喹啉(Quinoline)類生物鹼，此類生物鹼有廣泛之不同生理活性，線性呋喃喹啉 (linear furoquinoline) 類生物鹼例如 dictamnine、confusameline、skimmianine 和 kokusaginine 幾乎只存在於芸香科 (*Rutaceae*) 植物中，此類生物鹼被發現有廣泛有趣的生理活性，例如 dictamnine (白蘚鹼)具有抑制黴菌作用^{1,2}、抑制血小板凝集^{3,4}、血管鬆弛⁵、誘發突變物⁶，其合成衍生物具有明顯抗癌活性⁷。Confusameline有抑制人類phosphodiesterase 5 (hPDE5A)之活性⁸及細胞毒性(對 P-388 細胞株之細胞毒性 ED₅₀ 值為 0.03 ug/ml)⁹，Skimmianine (茵芋鹼) 和 kokusaginine 有選擇性抑制5-HT₂活性¹⁰。Skimmianine， kokusaginine，*o*-methylconfusamelin,皆有抑制血小板凝集活性¹¹。Haplopine、Skimmianine、Kokusaginine、Acronycidine、Acronydine等抗瘧疾活性之IC₅₀(ug/ml)介於2.18~23.1之間¹²。

結構與呋喃喹啉 (furoquinoline) 生物鹼類似的呋喃喹啉酮 (furoquinolone) 生物鹼(圖 1.1)，在自然界較為罕見。例如 acrophylline 及 acrophyllidine 為呋喃喹啉酮 (furoquinolone) 生物鹼，由 *Acronychia haplophylla* 植物抽取得到¹³。到目前為止，此類生物鹼大多只存在於 *Acronychia* 屬、*Dictamnus* 屬、*Ptelea* 屬、*Glycosmis* 屬和 *Ruta* 屬植物中¹³⁻¹⁶。其他研究也指出此類呋喃喹啉酮生物鹼具有抗微生物及抗癌活性¹⁷⁻¹⁹。

近年來,本實驗室以化學合成方法,合成呋喃喹啉酮(類(furoquinolone)衍生物,發現 acrophyllidine 其具有抗過敏活性²⁰, **HA-7** (*N*-benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*] quinolin-3,4-dione) 顯示能抑制分離大鼠心臟冠狀動脈的缺血/再灌注-誘導之心室心律不整^{21,22}。另於化學合成呋喃喹啉酮類 (furoquinolone)的中間產物發現也有生理活性,例如 **HAI11** (ethyl 2-(3-hydroxyanilino)-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3- carboxylate)有抗發炎效果²³。

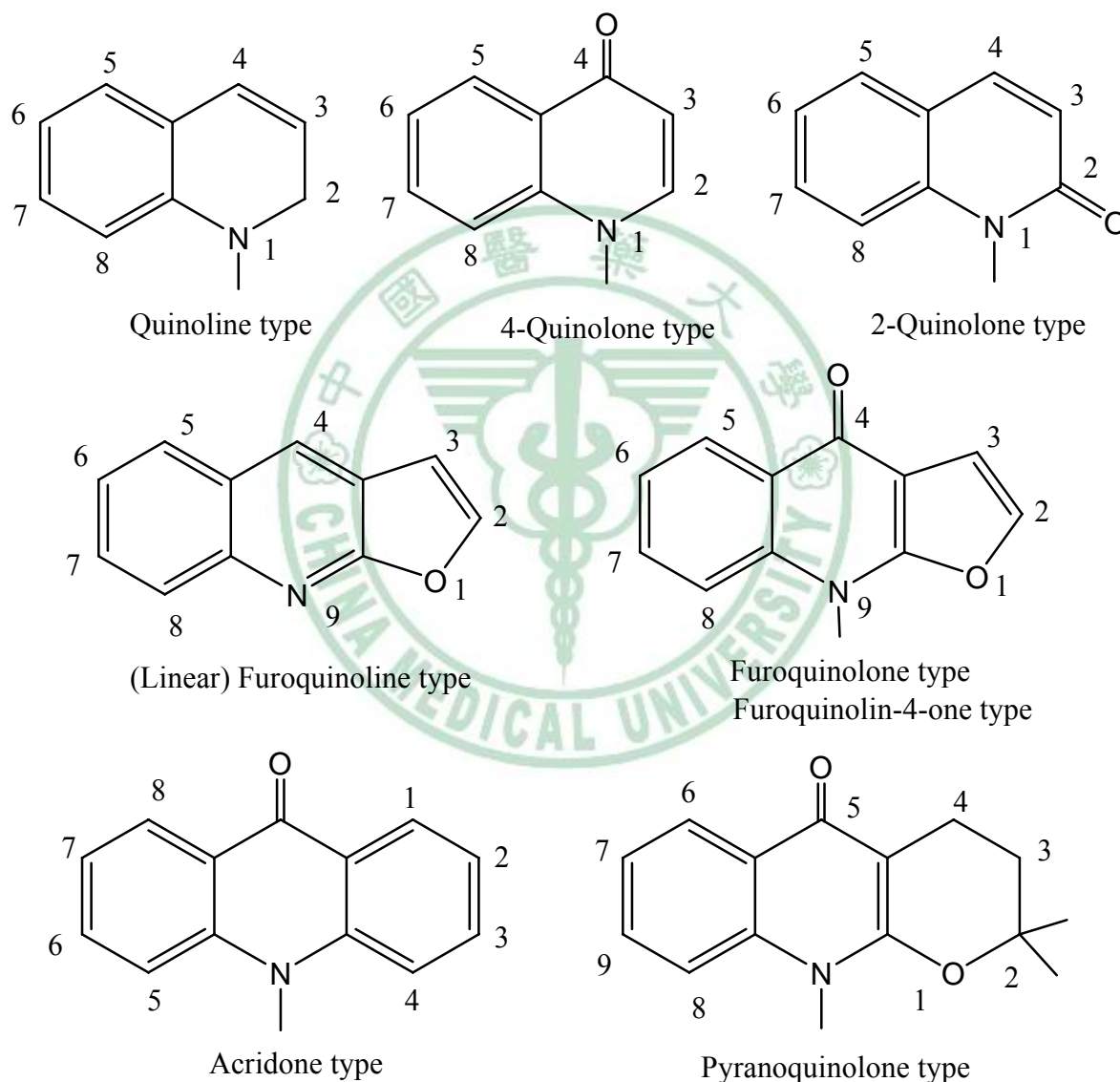


圖 1.1 芸香科植物喹啉類(quinoline type)及相關同類基本結構生物鹼之基本骨架

第二節 癌症及癌症治療藥介紹

壹、癌症介紹²⁴⁻²⁶

腫瘤(tumor)，分成 malignant (惡性) 和 benign (良性)。而癌症(cancer)為惡性腫瘤(malignant tumor)。癌症只是腫瘤裡面惡性的那一部份，所以兩個名詞所示的意義並不完全相同。癌症是新生贅瘤 (Neoplasm)的一種，或稱為惡性腫瘤 (常簡稱腫瘤)，它是不受成長和分佈控制的一群細胞。癌症對調節細胞成長、細胞分化的過程沒有反應，也不具有正常已分化或成熟細胞的功能。所以癌細胞也被稱為分化不足或未成熟的細胞。癌細胞會因不斷的增生而侵損鄰近正常的細胞，也會透過血液或淋巴液轉移到其它的地方，建立新的腫瘤，這過程稱為轉移 (metastasis)，也會刺激血管的新生成，如此不斷的重覆循環，造成其不斷的生長及擴散。

癌細胞是從單一正常細胞的轉變而來，起因是由於 DNA 的傷害或突變，其造成的原因可能是生活型態、環境、職業因素或藥物治療引起(如細胞毒性治療、免疫抑制治療或者放射線療法)等。

現在知識的進展，讓我們認識癌症是一種基因的疾病，在細胞內有兩類基因在癌症的生成中扮演重要角色，一為腫瘤基因(oncogenes)，另一為抑癌基因(tumor suppressor genes)。

細胞的 DNA 傷害能導致突變，如此可能導致癌症基因的啟動或抑癌基因的損傷或不活化。腫瘤基因在正常細胞內為原腫瘤基因(proto-oncogenes)，其透過基因的改變(例如染色體的移位，刪除，插入和點的突變)而啟動。

能影響正常細胞的生長的分化的蛋白質叫做生長因子。當生長因子，鍵結到細胞表面的接受器(receptor)時，會在細胞內活化一系列酵素，然後酵素去刺激細胞的訊號路徑(signaling pathways)和在細胞核內刺激基因轉錄蛋白質(gene transcription proteins)，此基因轉錄蛋白質然後再轉錄合成能調節細胞的生長與分化的蛋白質。這種細胞內訊號協調與整合的過程就叫做訊號傳導(signal transduction)。

原致癌基因(proto-oncogenes)能轉錄合成多個對訊號傳導有影響的成分，包括生長因子、生長因子接受器，訊號酵素，DNA 轉錄因子等。這些刺激蛋白的不正常形成或數量過多，會擾亂正常細胞的生長訊號路徑(growth-signaling pathway)導致過度生長和增殖，最後可能會導至腫瘤的形成。例如上皮生長因子接受器 epidermal growth factor receptor(EGFR)是 type I receptor tyrosine kinase，其會起動訊號路徑(signaling pathways)

而影響細胞的生長，增殖、存活和組織侵入和轉移。

Receptor protein tyrosine kinase 的活化，導致 tyrosine 和其它細胞內受質的自動磷酸化，然後啟動後細胞內訊號傳導。這其中一個重要的訊號徑是 Ras-Raf MAP Kinase 途徑，其能調節一些轉錄分子，而這些轉錄分子和細胞的增殖、存活和惡性腫瘤形成有關。其它重要訊號途徑包括有 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-protein-serine/threonine kinase Akt 和 stress- activated protein kinase pathway。EGFR 在人類腫瘤中是最常被過表現的(over expressed)，包括肺部、頸部、頸、膀胱、乳癌、子宮、前列腺，直腸和神經膠樣芽瘤(glioblastoma)。在侵入性乳癌約有 10-34%有 HER2/neu 基因訊號放大或蛋白質過度表現現象。故在臨床上，很多癌症只要看 EGFR 或 HER2/neu 表現增加，即意謂著病患的癌細胞是屬於積極成長期型且其癒後結果很差。

腫瘤抑制基因是為正常的基因，其能編譯轉錄製造出一些蛋白質，此蛋白質能抑制不適當的細胞分裂或生長。當腫瘤抑制基因有損失或突變時，就會造成其所編譯轉錄出之蛋白質會變成沒有活性，亦即解除細胞分裂的正常抑製作用。

DNA 修復基因也與癌症有關聯，DNA 修復基因能轉錄製造出蛋白質，其能修正 DNA 複製時所產生的錯誤。當上述這些基因發生突變時，會促成基因變化的累積，如此會促進癌症的發展。一個細胞要轉變成惡性腫瘤，於細胞內發生的多種基因的突變是必須的，其包括腫瘤基因的活化或抑癌基因的遺失或不活化。表 1.1 列出和人類癌症有關的基因。

表 1.1 人類癌症有關的基因---摘錄自 Applied therapeutics, The clinical use of drugs, 10th Edition

Oncogenes

Genes for Growth Factors or Their Receptors

- PDGF Codes for platelet-derived growth factor; involved in glioma (a brain cancer)
- erb-B Codes for the receptor for epidermal growth factor; involved in glioblastoma (a brain cancer and breast cancer)
- erb-B2 Also called Her-2 or neu; codes for a growth factor receptor; involved in breast, salivary gland, and ovarian cancers
- RET Codes for a growth factor receptor; involved in thyroid cancer

Genes for Cytoplasmic Relays in Stimulatory Signaling Pathways

- Ki-ras Involved in lung, ovarian, colon, and pancreatic cancers
- N-ras Involved in leukemias

Genes for Transcription Factors That Activate Growth Promoting Genes

- c-myc Involved in leukemias and breast, stomach, and lung cancers
- N-myc Involved in neuroblastoma (a nerve cell cancer) and glioblastoma
- L-myc Involved in lung cancer

Genes for Other Kinds of Molecules

- Bcl-2 Codes for a protein that normally blocks cell suicide; involved in follicular B-cell lymphoma
- Bcl-1 Also called PRAD1; codes for cyclin D1, a stimulatory component of the cell-cycle clock; involved in breast, head, and neck cancers
- MDM2 Codes for an antagonist of the p53 tumor-suppressor protein; involved in sarcomas (connective tissue cancers) and others cancers

Tumor-Suppressor Genes

Genes for Proteins in the Cytoplasm

- Arc Involved in colon and stomach cancers
- DPC-4 Codes for a relay molecule in a signaling pathway that inhibits cell division; involved in pancreatic cancer
- NF-1 Codes for a protein that inhibits a stimulatory (Ras) protein; involved in neurofibroma and pheochromocytoma (cancers of the peripheral nervous system) and myeloid leukemia
- NF-2 Involved in meningioma and ependymoma (brain cancers) and schwannoma (affecting the wrapping around peripheral nerves)

Genes for Proteins in the Nucleus

- MTSI Codes for the p16 protein, a braking component of the cell cycle clock; involved in a wide range of cancers
- RB Codes for the pRB protein, a master brake of the cell cycle; involved in retinoblastoma and bone, bladder, and small cell lung and breast cancer
- p53 Codes for the p53 protein, which can halt cell division and induce abnormal cells to kill themselves; involved in a wide range of cancers
- WT1 Involved in Wilms' tumor of the kidney

Genes for Proteins Whose Cellular Location Is Not Yet Clear

- BRCA1 Involved in breast and ovarian cancers
- BRCA2 Involved in breast cancer
- VHL Involved in renal cell cancer

貳、抗腫瘤藥物²⁷

大部分的實質腫瘤(例如肺、胃、子宮等等，相對於白血病—白血球的腫瘤)其生長速度在贅瘤變大之後降下來。這一部分是因為腫瘤有生長得超過血液供應的傾向，導致腫塊中部分壞死或死亡，一部分是因為不是全部的細胞都持續增殖。實質腫瘤的細胞可視為分屬三個區間:A 區間由分裂的細胞組成，可能持續在細胞週期內。B 區間由休止的細胞組成(在 G₀ 期)—細胞雖然沒有分裂，卻有分裂的潛力;C 區間由不再能夠分裂的細胞組成，對腫瘤容積有貢獻。基本上只有 A 區間的細胞(它可能只構成某些實質腫瘤的 5%)對時下主要的藥物具有感受性，解釋如下文。C 區間的細胞不構成問題—造成癌症化學療法的困難的是 B 區間的細胞，因為這些細胞對細胞毒性藥物不太敏感，可以在一次化學治療療程之後再進入 A 區間。

大部份現在使用的抗癌藥，特別是"細胞毒性"的那些，只影響前述癌細胞的第一種特性—細胞分裂的過程，即它們是抗增殖的；它們對侵襲性、失去分化或轉移的傾向並無專一性的作用。(它們的抗增殖作用現在相信不只是來自對細胞循環的 G₁ 和 S 期的直接作用，也來自導致 apoptosis 的事件。)甚且因為它們的主要作用是在細胞分裂，它們會影響所有快速分裂的正常組織，因而可能產生如下範圍大小不一的一般性毒性作用：骨髓毒性作用、白血球產量降低，因而減少感染的抵抗力、傷口癒合不良、壓抑兒童的生長、不育、致畸胎性、掉髮(禿頭)、傷害胃腸上皮，在某些情況下，它們也是致癌性的(即它們本身導致癌症)。此外，如果細胞快速破壞併有廣泛的嘌呤異化作用，尿酸可能沈積在腎小管內，導致腎臟傷害。最後，事實上所有的細胞毒性藥物都導致嚴重的嘔心和嘔吐。

※ 細胞毒性藥物

- 烷化劑 alkylating agents 和相關化合物，和 DNA 生成共價鍵而阻礙 DNA 複製
- 抗代謝產物 antimetabolites，阻斷或顛覆一或多種涉及 DNA 合成的代謝途徑
- 細胞毒性抗生素，即來自微生物的物質，阻止哺乳類細胞分裂
- 日日春植物鹼和相關化合物—來自植物的物質專一性的影響微小管功能，從而阻止有絲分裂紡錘體生成

※ 激素—其中最重要的是類固醇，即糖質固醇類，雌激素和雄性素—以及抑制激素分泌或拮抗激素作用的藥物。

表 1.2 目前常用抗腫瘤治療用藥²⁸：

- I. 烷化劑 (Alkylating agents)
 1. DTIC 類 : Dacarbazine
 2. Mechlorethamine : Cyclophosphamide
 3. Nitrosoureas 類 : Carmustine、Lomustine、Streptozocin
 4. Platinum(鉑) 類族 : Cisplatin、Carboplatin、Oxaliplatin、Procarbazine
- II. 抗代謝劑 (Antimetabolites)
 1. Fluoropyrimidine (氟嘧啶) 類 : Fluorouracil (5-FU)、Floxuridine
 2. Gemcitabine (Gemzar®)
 3. Hydroxyurea
 4. 抗葉酸劑 : Methotrexate (MTX)、Pemetrexed (Alimta®)
- III. 抗腫瘤抗生素 (Antitumor antibiotics)
 1. Anthracycline 類 : Doxorubicin、Epirubicin
 2. Bleomycin
 3. Dactinomycin
 4. Mitomycin
- IV. 有絲分裂微小管抑制劑 (Antimicrotubule agents)
 1. Taxanes (紫杉醇) 類 : Paclitaxel (Taxol®)、Docetaxel (Taxotere®)
 2. Vinca alkaloids (長春花生物鹼) 類 : Vinblastine、Vincristine、
- V. 定位異構轉化酶抑制劑 (Topoisomerase inhibitors)
 1. 第一型抑制劑: Irinotecan
 2. 第一型抑制劑: Topotecan (Hycamtin®)
 3. 第二型抑制劑: Etoposide
- VI. 荷爾蒙藥物(Hormone agents)
 1. 腎上腺皮質類固醇 (Adrenocorticosteroid) : Dexamethasone (Dexan)
 2. 腎上腺抑制劑 (Adrenal inhibitors) : Aminoglutethimide、Mitotane
 3. 抗雄性素 (Antiandrogens) : Bicalutamide、Flutamide
 4. 抗雌性素 (Antiestrogens) : Tamoxifen
 5. 雌性素 (Estrogens) : Diethylstilbestrol、Estramustine Phosphate
 6. 黃體激素 (Progestins) : Megestrol Acetate (Megace®)
 7. 黃體釋放素衍生物 (Luteinizing hormone-releasing hormone agonist, LHRH-A)
- VII. 分子標的治療 (Molecular targeted therapy)
 1. 酪胺酸激酶抑制劑 (tyrosine kinase inhibitors)
非選擇性 : Imatinib mesylate (Glivec®)
選擇性 : Gefitinib (Iressa®) 、Erlotinib (Tarceva™)
 2. 單株抗體 (monoclonal antibodies)
anti-HER2 : Trastuzumab (Herceptin®)
anti-EGFR : Cetuximab (Erbix™)
anti-VEGF : Bevacizumab (Avastin™)
- VIII. 血管新生抑制劑(Angiogenesis inhibitors) : Thalidomide

參、抗腫瘤藥物與細胞凋亡²⁹⁻³²

目前使用中的抗癌藥，包括化學治療藥物和放射線治療，它們都是強效的細胞凋亡和細胞週期停滯的誘導者。目前相信這些藥物所誘導的分子路徑是這些藥物藥效的中心點²⁴。基因和外遺傳基因的變化，造成細胞內細胞凋亡及生長停滯路徑失效，腫瘤也因此而產生，甚至也影響到癌細胞對治療的反應，這些變化在不同癌細胞中常會不同，甚至有時相關組織之腫瘤其變化點也許會不同。

一般正常組織細胞利用增生或死亡以達到組織體內平衡，其調節是藉由細胞週期的停滯路徑和細胞凋亡路徑來達成。當這些調節路徑有缺損時，明顯會偏向細胞生長佔優勢。很多癌症顯示具有不活化的突變，在調節細胞週期的基因上，同樣地，不活化的突變也能影響細胞凋亡的路徑，故有很多癌細胞證實對細胞凋亡的刺激有抵抗性。最近的研究也支持這樣的觀念：癌細胞發生的主要原因，是細胞凋亡路徑的基因，發生不活化的基因改變。

在腫瘤細胞接受根除治療時，延長細胞週期停滯期(prolonged cell-cycle arrest)和細胞凋亡(apoptosis)兩者對根除腫瘤的相對貢獻仍然不清楚²⁹。由抗癌藥引發正常增殖細胞死亡，一般認定是因延長細胞週期而造成的事件，而不認定為立即引發凋亡程序而導致細胞死亡。

很多的直接證據支持這樣的論點：用藥物治療要根除癌細胞，其成功的關鍵點，在於誘導癌細胞凋亡。如果此假設是正確的，將可聯想到幾個問題：1 如何在一群有細胞凋亡功能缺陷的細胞中誘導其細胞凋亡。2. 臨床上很多治療不成功的原因是否與此有關。3. 臨床上常見癌症治療抗藥性的問題是也否與此有關。目前在細胞死亡路徑的關鍵分子鑑定有很大的進展，讓我們了解細胞凋亡如何發生。目前已了解細胞凋亡之路徑有很多相關但不同的路徑，更重要的是，尚未有任何一個細胞被描述其所有的細胞凋亡路徑皆有缺陷。故很多臨床治療抗藥性問題的解決，皆可由細胞凋亡的多重路徑上著手解決。

肆、細胞週期(Cell cycle)³³⁻³⁷

細胞週期(如圖 1.2 所示是指一個細胞剛產生後到分裂成子細胞中間的過程，描述細胞生長、DNA 複製和細胞分裂的一系列階段，分成 Interphase (分裂間期) 和 Mitotic Phase (有絲分裂期)。其中 Interphase 分為 G1 期、S 期、G2 期。Mitotic Phase 分成 Mitosis (有絲分裂)和 Cytokinesis (細胞質分裂)。而 Mitosis 又細分成 Prophase (分裂前期)、Metaphase (分裂中期)、Anaphase (分裂後期)、Telophase (分裂末期)。

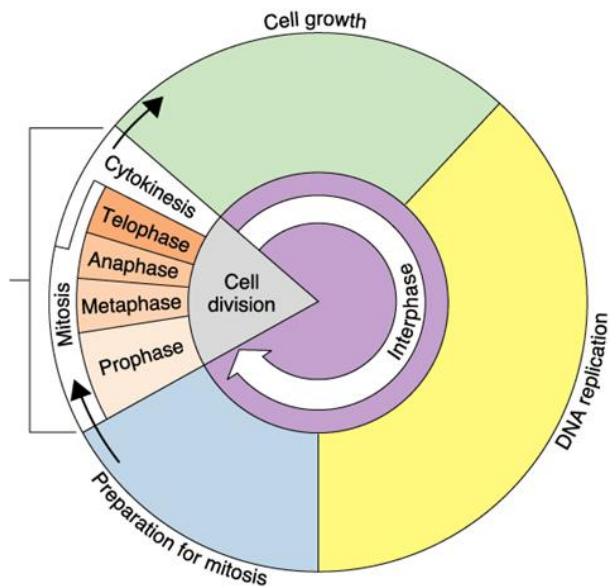


圖 1.2 細胞週期之階段過程

此圖出處的原始網頁：

facweb.msjnet.edu/pabrahms/cell_cycle.htm

※ 細胞週期各間期說明³⁷⁻³⁸

分裂間期：

G1 期：為複製前期，調控細胞的生長，並且生產 DNA 合成時所需之蛋白質，為 S 期做準備。

S 期：複製期，細胞核內的去氧核糖核酸 (DNA)、染色體會合成複製出完全一樣的另一套，DNA 變成兩套(2n)。

G2 期：複製後期，細胞會檢查其複製是否完備，細胞繼續合成細胞分裂所須蛋白質。

有絲分裂期：染色體分離開來，原本的細胞一分為二，兩個細胞擁有完全相同的染色體。

有絲分裂(Mitosis)：

分裂前期 (Prophase)：染色質 (chromatin) 濃縮成染色體 (chromosome)，中心粒 (centriole) 移到細胞兩極，其間並有早期的紡垂絲(spindle)形成。核膜、核仁(nucleolus) 開始消失。

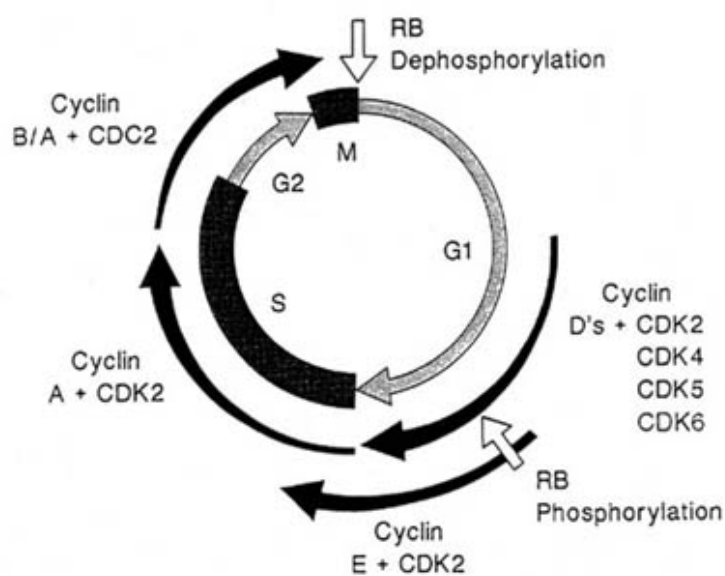
分裂中期 (Metaphase)：染色體以著絲點接到紡垂絲，染色體排列在赤道板上。

分裂後期 (Anaphase)：染色體從著絲點分開，並被拉向兩極。

分裂末期 (Telophase)：核膜重新形成，核仁出現，染色體拉長變回染色質。

細胞質分裂 (Cytokinesis)：細胞質均等分到兩個子細胞。

※ 當細胞外生長因子(growth factor)的濃度增加，細胞表面的受體會接受刺激，將訊號傳入細胞而啟動 cell cycle。Protein kinase 是由兩種不同的蛋白結合在一起，分成兩個子單位，cyclins 和 CDKs (cyclindependent kinases)。Cyclins 負責調節 CDKs 的活性，使其具有 phosphorylation 的能力。CDKs 與 cyclins 二者可使細胞由 G1 期進入 S 期或由 G2 期進入 M 期。細胞週期各階段所參與之週期素 (cyclin)及受其調控的蛋白激酶 CDK (cyclin-dependent kinase)，以圖 1.3 表示。



此圖出處的原始網頁：
<http://www.unc.edu/depts/marzluff/research.html>

※ 圖 1.3 細胞週期各階段參與之週期素及受其調控的蛋白激酶

※ 細胞週期的調節³³：

1. 經由蛋白質的磷酸化調節細胞週期 Cell-cycle regulation by protein

phosphorylation: MPF (mitosis (or maturation) promoting factor) 是由兩個單位構成：a. 催化分解單位--- cyclin dependent kinase (CDK₁, cdc2, P34^{cdc2}) (在早期研究裂殖酵母菌之 CDK 稱為 cdc2 有絲分裂促進因子或成熟促進因子)，b. 調節單位---Cyclin B。

在 G2 期，Cyclin B 結合 CDK₁ 形成 pre-activated Kinase complex，complex 立即被 protein kinase Myt1 和 w1 分別在 CDK₁ 次單位上 threonin-14 和 tyrosine-15 磷酸化變成不活化(inactivated)，此 inactivated phosphorylated CDK₁-Cyclin B complex 稱

為 pre-MPF，pre-MPF 然後在進入有絲分裂期前，被 Cdc25C 去除抑制性的磷酸基團而變活化，activated CDK₁-Cyclin B complex 去磷酸化其它一系列 protein，然後影響有絲分裂前期之巨觀變化：a. 染色體濃縮，b. 細胞核胞膜分解，c. 微管聚集及染色體分離。至少 10 種不同 CDKs 在細胞週期前進扮演重要的角色。參考圖 1.4。

2. 經由 ubiquitin 調節蛋白質降解來調節細胞週期 **Cell-cycle regulation by ubiquitin-mediated protein degradation**：Cyclin B 的濃度調節：不同時期濃度不同，由 cycle B gene 調節，例如在 G1 phase 表現 down regulated，S 和 G2 phase 表現活性，Cyclin B 在 G2 晚期及 mitosis 早期，與 CDK₁ 結合並活化之，一旦進入分裂中期至分裂後期時，Cyclin B 迅速消失，造成 CDK₁ 失去活性。Cyclin B 迅速消失是由 ubiquitin 調節降解(ubiquitin-mediated protein degradation)。
3. **G1/S 過度期、DNA 複製、DNA 轉錄控制(G1/S transition, DNA replication and Transcriptional control)**：G1 期進入 S 期之機轉：進入 DNA 複製係在 S 期進行。參與 DNA 複製的基因係由一組叫做 E2F 的轉錄因子調控。E2F 不但能夠促成參與複製基因的表現，亦能引起週期素 CycE、CycA、以及 E2F 本身基因的轉錄。在 G1 期，E2F 與 pRB(retinoblastoma protein)結合，使它的功能受到抑制。pRB 是視網膜母細胞瘤(retinoblastoma)基因的蛋白質產物，能被 CycD/Cdk4 及 CycE/Cdk2 等複合體磷酸化。在 G1 末期，CycD/Cdk4 將 pRB 磷酸化後會改變它的構形，因而釋放出 E2F，開始製造出 DNA 複製所需的蛋白質。同時，E2F 亦促進 CycE 及本身基因的表現，使細胞加速進入 S 期。然後，週期素 CycA 逐漸被表現，它的功能是與 Cdk2 結合，將 E2F 磷酸化，使 E2F 無法發揮轉錄因子的作用，這樣可以避免 E2F 無限制地促進基因表現。
4. 經由 CDK 抑制者控制 G1 期 (G1 control by CDK inhibitors)：Cyclin-CDK complex 活性控制者：CDK inhibitors (CKIs)，分成兩個不同 group：(1) INK4 protein (抑制 CDK4)，包括 p16^{INK4a}，p15^{INK4b}，p18^{INK4c}，p19^{INK4d}。(2) Kip/Cip 家族：p27^{Kip1}，p21^{Cip1}，p57^{Kip2}。

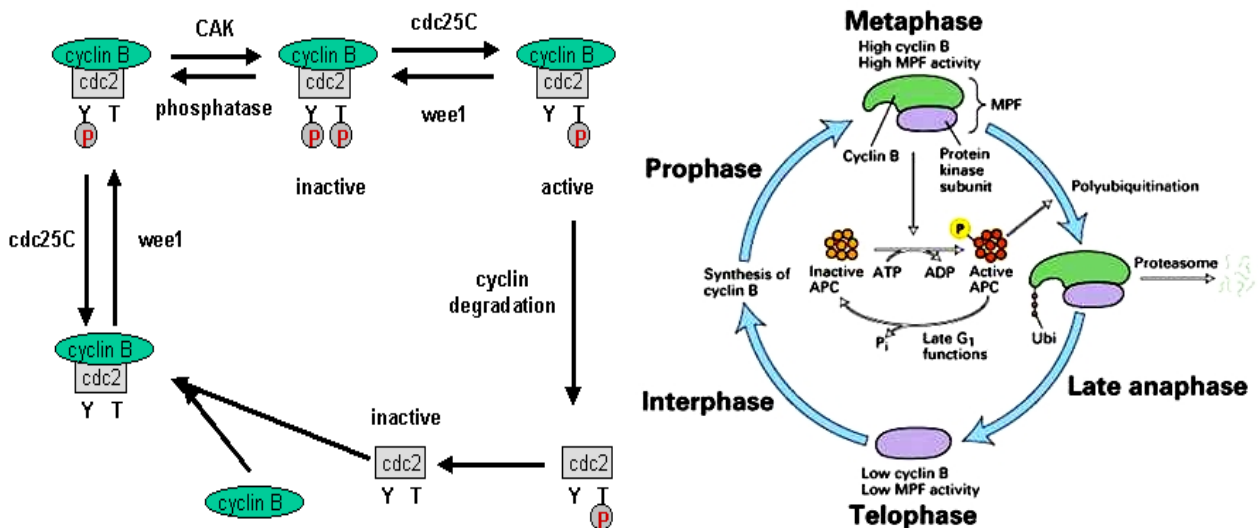


圖 1.4 MPF 經由可逆性磷酸化反應的調節(Regulation of MPF by reversible phosphorylation.)

圖出處原始網頁：http://www.med-rz.uni-sb.de/med_fak/biochemie/forsch.html (左圖)
<http://www.cella.cn/book/13/04.htm>(右圖)

※ 細胞週期的檢查點³³：針對 DNA 複製不完全、DNA 受到損害或者有絲分裂的紡錘絲損害(mitotic spindle damage)。有四個重要的點。G1 期進入 S 期、S 期、以及整個 cell cycle 在進入 Mitotic Phase 和結束 Mitotic Phase 的時候。

1. G1 期進入 S 期：細胞停留在 G1 的目的之一是檢查 DNA 是否完整。變異的 DNA 若傳至子細胞將會造成嚴重後果。在 G1 檢查站扮演主要角色的是 p53。當細胞處於正常狀態時，p53 蛋白質的含量很低。受損的 DNA 會增加 p53 蛋白質的含量，可能是由於受損 DNA 活化某些特定激酶 (如 ATM)，使 p53 不容易與 Mdm2 結合。

- a. 透過 p53 系統：p53 蛋白質的含量增加後，主導的防衛機轉至少有下列三種。
- (一) 刺激 p21 基因的表現，阻止細胞進入 S 期。p21 蛋白質不但能抑制推動細胞週期前進的 CDK，亦能抑制參與 DNA 複製的蛋白質 PCNA。
 - (二) 刺激 DNA 修復基因的表現。p53 發現 DNA 受損，一方面阻止細胞進入 S 期，一方面嘗試修復受損 DNA。已知 p53 能促進修復基因 GADD45 及 ERCC3 的表現。其修復機轉尚未清楚，但有證據顯示，GADD45 需與 PCNA 結合。
 - (三) 刺激 Bax 基因的表現，導致細胞凋亡。若 DNA 無法修復，則採取「犧牲小我」的方式，讓異細胞死亡，以避免日後變成大害。p53 尚有其他未知的機轉可以引起細胞凋亡。

b 透過非 p53 系統：活化的 ATM 及 Chk kinase → 直接對 phosphatase Cdc₂₅A 磷酸化使其不活化 → 磷酸化的 Cdc₂₅A phosphatase 被蛋白質降解破壞 → Cdc₂₅A phosphatase 無法對 CDK₂ 脫磷酸化 → CDK₂ 無法活化 → 細胞週期停滯在 G₁/S 期-----屬於不依賴 p53 的細胞週期停滯。

2. S 期檢驗點：DNA 複製是否完成？

3. cell cycle 在進入 Mitotic Phase：G₂ 檢查站的目的是要確定 DNA 在 S 期是否複製完成。實驗上發現，未複製的 DNA 能抑制 MPF (即 CycB/Cdk1) 的活性，使細胞無法進入 M 期。其機轉：活化的 ATM 及 Chk kinase → 直接對 phosphatase Cdc₂₅C 磷酸化使其不活化 → 磷酸化的 Cdc₂₅C phosphatase 與 14-3-3 蛋白質結合，然後進入細胞質中 → Cdc₂₅C phosphatase 無法對 CDK₁ 脫磷酸化 → CDK₁ 無法活化 → 細胞週期停滯在 G₂/M 期-----屬於不依賴 p53 的細胞週期停滯。

4. 結束 Mitotic Phase 的時候。檢查點：檢查相關蛋白質的功能 (位於 kinetochores：例如 Mad1, Mad2, Bub1, BubR1, BubR2, BubR3, Cenp-E)。一旦檢查異常，檢查點功能活化，經由某種路徑使抑制 APC/C 的活性，導致 anaphase inhibitor 和 cyclin B 穩定化，因此細胞週期停滯在 Anaphase(分裂後期)前。

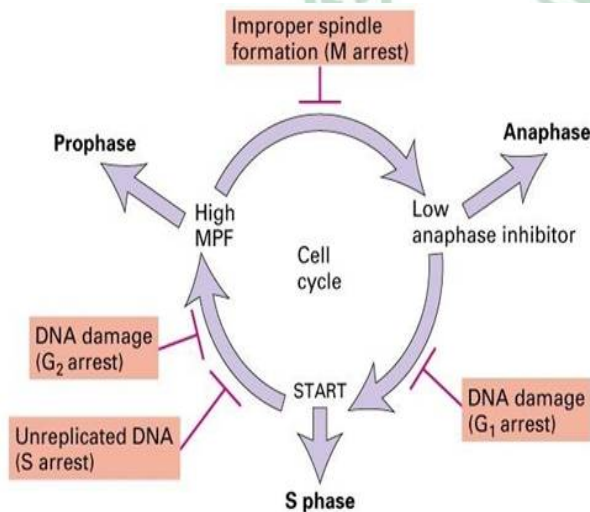


圖 1.5 細胞週期的檢查點

圖文出處原始網頁：

<http://www.cella.cn/book/13/04.htm>

G₁/S 檢驗點：在酵母中稱 start 點，在哺乳動物中稱 R 點 (restriction point)，控制細胞由靜止狀態的 G₁ 進入 DNA 合成期，相關的事件包括：DNA 是否損傷？細胞外環境是否適宜？細胞體積是否足夠大？

S 期檢驗點：DNA 複製是否完成？

G₂/M 檢驗點：是決定細胞一分為二的控制點，相關的事件包括：DNA 是否損傷？細胞體積是否足夠大？

中-後期檢驗點 (紡錘體組裝檢驗點)：任何一個著絲點沒有正確連接到紡錘體上，都會抑制 APC 的活性，引起細胞週期中斷。

※例如以 DNA 受到損害啟動檢查點為例說明：如圖 1.6 所示

DNA 傷害劑 (damaging agents) → DNA 傷害 → 細胞啟動壓力訊號路徑 (stress signaling pathway) → ATM kinase 活化 → 檢查點 kinases：Chk1 和 Chk2 被磷酸化及活化。然後 Chk 和 ATM kinases 磷酸化 p53 轉錄因子 (transcription factor p53) → p53 活化且量增加 → p53 活化很多目標基因：包括 p21^{Cip1} (其藉由分別不活化 CDK₂ 及

CDK₁ kinase，使細胞週期分別停滯在 G1/S 與 G2/M 期能)、修復基因、誘導細胞發生凋亡之基因。

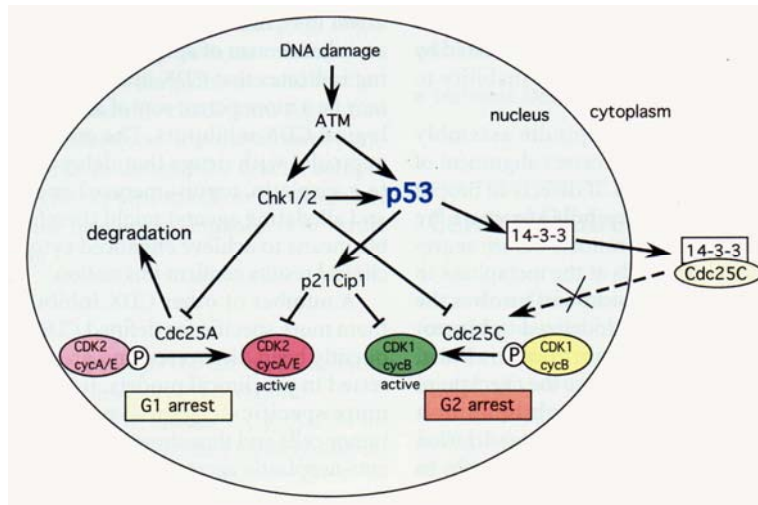


圖 1.6 細胞週期對 DNA 傷害的檢查控制點³³ (Checkpoint control of the cell cycle upon DNA damage)

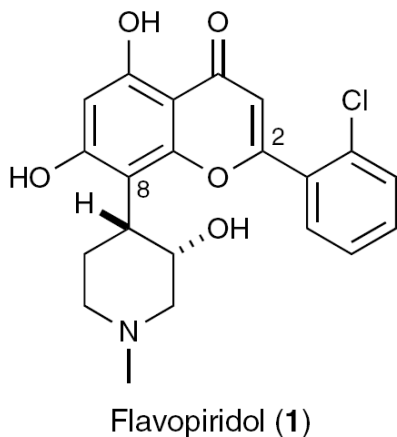
After detection of DNA damage a kinase cascade including the ATM and Chk1 and Chk2 kinases are activated leading to the phosphorylation of p53 at multiple sites. These phosphorylations induce the labile protein to accumulate and activate its function as a transcription factor (e.g. by the recruitment of transcriptional co-activators). A large number of proteins including p21Cip1 and 14-3-3 are induced resulting in cell-cycle arrest at G1 or G2 phases.

※ 藥物設計--藥理學介入細胞週期³⁸

癌細胞很明顯的標誌為其 CDK 活性不受限制導至細胞週期控制消失，由此可推演出一個理想的策略：用小分子藥物讓 CDK 活性變成不活化，讓癌細胞延長其細胞週期停滯期，以引發細胞凋亡和腫瘤細胞的消除。

另外一個藥物治療的策略：設計抗癌藥，其作用點在細胞週期的檢查點上：由基因毒性藥劑(genotoxic agents)或紡錘絲毒害物(spindle poisons)所引起細胞傷害會活化 1 個或多個檢查點，使細胞週期停滯，直到傷害被修復。當這些檢查點在細胞基因毒性傷害修復完成前就妥協放行通過，讓損傷細胞進入有絲分裂期或 S 期，會導致細胞死亡。因此當藥物能消除細胞週期檢查點，可能因此能讓細胞對化療或放射線治療敏感。

※ 藥物設計--藥理學的 CDK 抑制劑^{39, 40}



目前臨床試驗階段上使用的 CDK 抑制劑前驅藥(prototype CDK inhibitor)是 flavopiridol，其能專一性的抑制所有已知的 CDKs 且能停止細胞週期在 G1/S、S、G2/M 期，然後誘導細胞凋亡。大多數病患對 Flavopiridol 能適應之，但其抗癌效果在只使用單一抗癌藥療法時，並不明顯。在某些癌細胞株發現，Flavopiridol 不會導至 G1 期停滯，但會引起延長 S 期並隨後引發更有效的細胞凋亡。推論 CDK 抑制劑藥物應在 S 期抑制 CDK，才是更有效的 CDK 抑制劑。

※ 藥物設計--藥理學的检查點消除劑

目前抗癌藥物發展上，在細胞週期的轉移間誘導基因或紡錘絲毒害，是最有希望的新方法之一，因細胞要克服細胞週期停滯和不適當的誘導進入有絲分裂期或 S 期，都會導致細胞死亡。因此當藥物能消除細胞週期檢查點，可能因此能讓細胞對化療或放射線治療敏感。其中最好目標為 ATM kinase，因 ATM kinase 的活化是由 DNA 傷害所引起，且 ATM kinase 也是 DNA 傷害起動 p53 依賴型和非依賴型反應的必要參與者。目前使 ATM kinase 不活化藥物有：methylxanthine-derived drug (例 Caffeine 和 pentoxifylline)，其確實能誘導 DNA 傷害的細胞不適當的進入有 S 期和有絲分裂期，但其藥理學副作用限制這些藥只能使用在一些病患。其它藥物如 UCN-01，其是透過不活化 Chk1 kinase。⁴¹⁻⁴³

紡錘體檢查點是另一個有潛力及有趣的目標，化療治療藥例如 Taxol，其藉由傷害紡錘絲而活化檢查點，此與所要設計的藥理系統剛好相反，不過仍可以它來設計小分子使紡錘體檢查點不活化，到目前為止此紡錘體檢查點調節機轉仍有部份不瞭解，故仍在研究階段。⁴²

伍、細胞凋亡 (Cell apoptosis)

一、程序化細胞死亡與細胞壞死⁴⁴⁻⁵³

細胞凋亡是生物體的一個保護機轉，其可讓不想要的細胞或有缺損的細胞進行自殺，而不會引起發炎反應。在多細胞生物中，細胞的死亡有兩種不同的形式。一種是壞死性或意外性死亡(necrosis 或 accidental cell death)，它是由於某些外界的因素，比如局部貧血、高熱以及物理、化學損傷和生物的侵襲等，造成細胞急速死亡而結束其生命；另一種稱為細胞凋亡(apoptosis)，細胞在一定的生理或病理條件下，遵循自身的程序，自己結束其生命的過程，最後細胞脫落離體或裂解為若干凋亡小體(apoptosis bodies)而被其他細胞吞噬。

細胞凋亡的形態特徵與壞死性細胞死亡的形態特點不同(圖 1.6)。壞死性細胞死亡的形態特徵首先是膜通透性增加，細胞外形發生不規則變化，內質網擴張，核染色質不規則地位移，進而線粒體及核腫脹，溶酶體破壞，細胞膜破裂，胞質外溢。這種細胞死亡過程常常引起炎症反應。而細胞凋亡，是細胞內在約有規律的機制引起的，它可由某些因素誘導但不是壞死性的改變。這種細胞死亡的特徵是細胞首先變圓，隨即與鄰周細胞脫離，失去微絨毛，胞質濃縮，內質網擴張呈泡狀並與細胞膜融合，粒線體無大變化，核染色質密度增高呈半月形，並凝聚在核膜周邊，核仁裂解，核固縮，進而細胞膜內陷將細胞自行分割為多個外有膜包裹、內含物不外泄的細胞凋亡小體。由於這種死亡過程不導致溶酶體及細胞膜破裂，沒有細胞內含物外泄，故不引起炎症反應和次級損傷，它的結局是被吞噬細胞或鄰周細胞所識別、吞噬或自然脫落而離開生物體。

細胞發生凋亡初期，細胞膜內膜的 phosphatidylserine (PS)會外翻至細胞膜外表層，為細胞凋亡初期特徵。當進入凋亡末期，細胞核內的 DNA 被核酸內切酶(endonuclease)裂解，在核小體單位之間分解，產生若干大小不一的寡核苷酸片段，在 DNA 凝膠電泳上呈現階梯狀 DNA 圖譜(DNA ladder pattern)，這些區帶由不同倍數的 180~200 bp 的寡核苷酸片段組成，這個長度即是核小體間重複單位的大小。

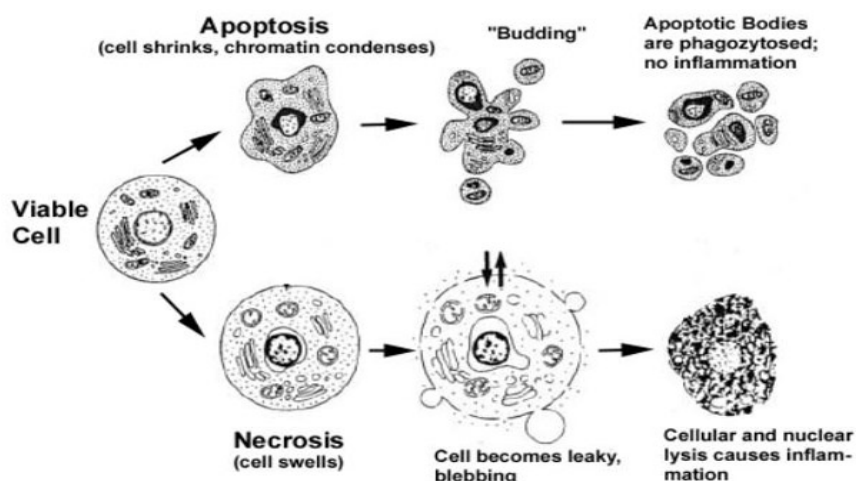


圖 1.7 細胞凋亡與細胞壞死之細胞變化圖⁵³

表 1.3 細胞凋亡與細胞壞死病理特徵比較表

細胞死亡型態及特徵	細胞凋亡	細胞壞死
誘導原因	生理因素刺激	非生理因素
死亡模式	影響單一細胞 組織會不缺血	影響一群相鄰的細胞 組織會缺血
細胞形態	縮小、破碎	腫脹
細胞膜	1. 保持完整性 2. phosphatidyl serine 外翻	1. 平滑 2. 早期分解：內容物外流至細胞外
粒線體	1. 膜通透性增加 2. 內容物(Cytochrome c、Apaf-1)外流至細胞質中 3. 結構相對保持完整	1. 腫脹 2. 結構紊亂
胞氣外型	收縮形成細胞凋亡小體	腫脹胞器瓦解
核仁	染色質凝集且破碎	核膜瓦解
DNA	1. 末期受核酸內切酶內側切割成 180 bp DNA 碎片 2. DNA 出現細胞質中	DNA 隨機分散
最終結果	胞吞作用 無發炎反應產生	巨嗜細胞侵入 有發炎反應產生
細胞外觀	不同原因，外觀差異不大	不同原因，外觀差異很大

二、細胞凋亡路徑⁵⁴⁻⁶¹：

細胞凋亡過程可分為兩大階段：活化階段、執行階段

壹、活化階段：細胞對"死亡訊息"(death signal)產生反應，可以由內部刺激(如 DNA 不正常)或由外部刺激(如由培養基中移除生長因子)所引發。細胞凋亡的調控是藉由細胞內基因的表現來控制整個過程，這些基因所表現的蛋白依功能可大約分為三大類：第一類是主導細胞走向細胞凋亡的促凋亡(pro-apoptosis)蛋白，第二類是扮演抑制細胞凋亡產生角色的抗凋亡(anti-apoptosis)蛋白，第三類則是屬於執行階段的蛋白質：造成細胞凋亡特徵的調控性蛋白。在正常生理狀況下，藉由第一類與第二類蛋白的互相調節，使細胞維持平衡狀態，當細胞老化或是受到外來傷害時，便啟動促凋亡 (pro- apoptosis)蛋白路徑，並抑制抗凋亡(anti-apoptosis)蛋白路徑的發生，使細胞走向凋亡。凋亡訊息傳導路徑在目前的研究進展，包含以下的路徑：

(1) 受體凋亡路徑(Death receptor pathway)：啓因為外因性如果死亡因子如

TNF- α ，Fas Ligand (Fas L)、TRALL 等分子與細胞膜上的死亡受體(Death Receptor) 如 TNF-R1、TNF-R2、TNF-R3、Fas、TRAIL-R1 等受體結合，會將死亡訊息發送到細胞內，誘發一連串凋亡事件產生。此條路徑的傳導以 Fas-FasL 來說明過程：當 FasL 與 Fas 結合，活化 adaptor protein 繼而與下游的 procaspase-8 結合，活化的 caspase-8，繼續活化其下游的 procaspase-3 使其形成 Caspase-3，caspase-3 會誘導促細胞走向凋亡。而 caspase-8 亦會裂解 Bid (Bcl-2 family member proapoptotic)變成 t-Bid (truncated Bid)，而從細胞質轉移至粒線體膜上啟動粒線體凋亡路徑。(圖 1.7)

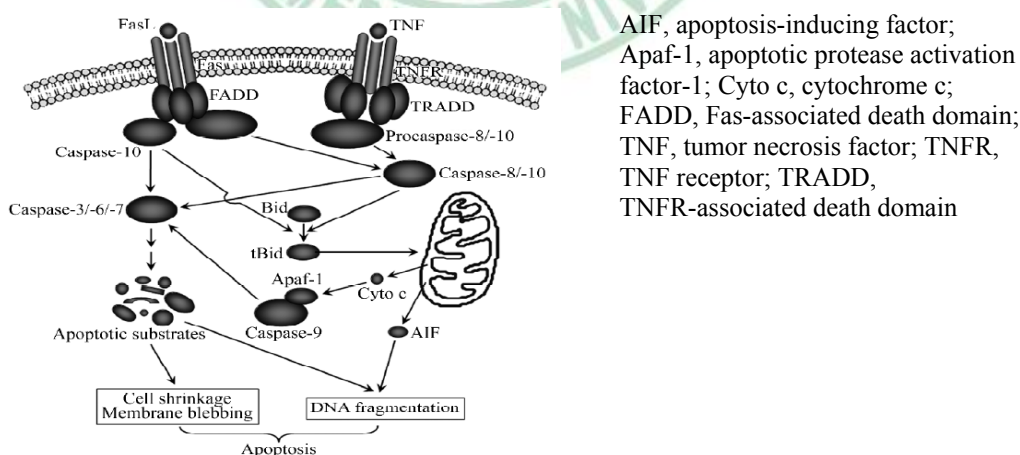
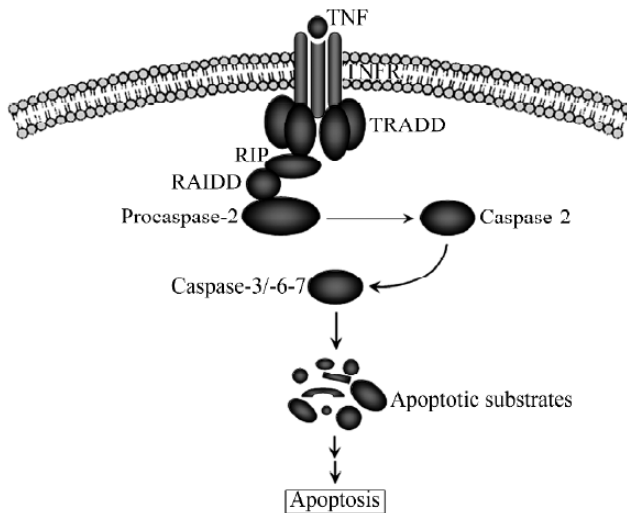


圖 1.8 受體凋亡路徑--依賴Caspase-8/-10活化路徑 (Caspase-8/-10-dependent procaspase-activation pathway)⁶¹



RIP, receptor-interacting protein;
 TNF, tumour necrosis factor;
 TNFR, TNF receptor; TRADD,
 TNFR-associated death domain.

圖 1.9 受體凋亡路徑--依賴Caspase-2 活化路徑 (Caspase-2-dependent procaspase-activation pathway)⁶¹

(2)粒線體依賴之凋亡路徑(Mitochondria dependent pathway)⁶¹⁻⁶⁸

內部刺激，例如無法修復的遺傳性傷害、細胞內 Ca^{2+} 離子濃度遽增或嚴重的氧化壓力、X-ray 傷害等等，所示。導致死亡的刺激會活化凋亡前身成員 (proapoptotic members): Bcl-2 家族，例如 Bad。Bad 可以由細胞質轉移到粒腺體包器膜的內側表面並嵌入其內。當 Bad 或其他"前"凋亡蛋白質結合於粒腺體包器膜外表時，會改變該膜的通透性，促使 cytochrome c 由粒腺體包器膜內部的空間與其他一些必要的膜內蛋白質之釋放如：Cytochrome c、SMAC (second mitochondria-derived activator of caspases)/DIABLO (direct inhibitor of apoptosis (IAP)-binding protein with low pI), AIF (apoptosis-inducing factor), EndoG (endonuclease G)和 OMI/HTRA2 (high-temperature- requirement protein A2)等粒線體蛋白質的釋出。其中最重要的是 Cytochrome c，其與 Apaf-1 (apoptotic protease- activating factor-1)鍵結並活化之，Apaf-1 構型改變，然後與 ATP/dATP 結合行成 apoptosome，進而與 pro-caspase-9 形成四聚體的 complex，此時，procaspase-9 會裂解成具有活性的 caspase-9，繼而活化其下游的 Caspase-3，促使凋亡繼續進行。對細胞而言，cytochrome c 由粒腺體釋出是引發細胞凋亡的決定性事件。

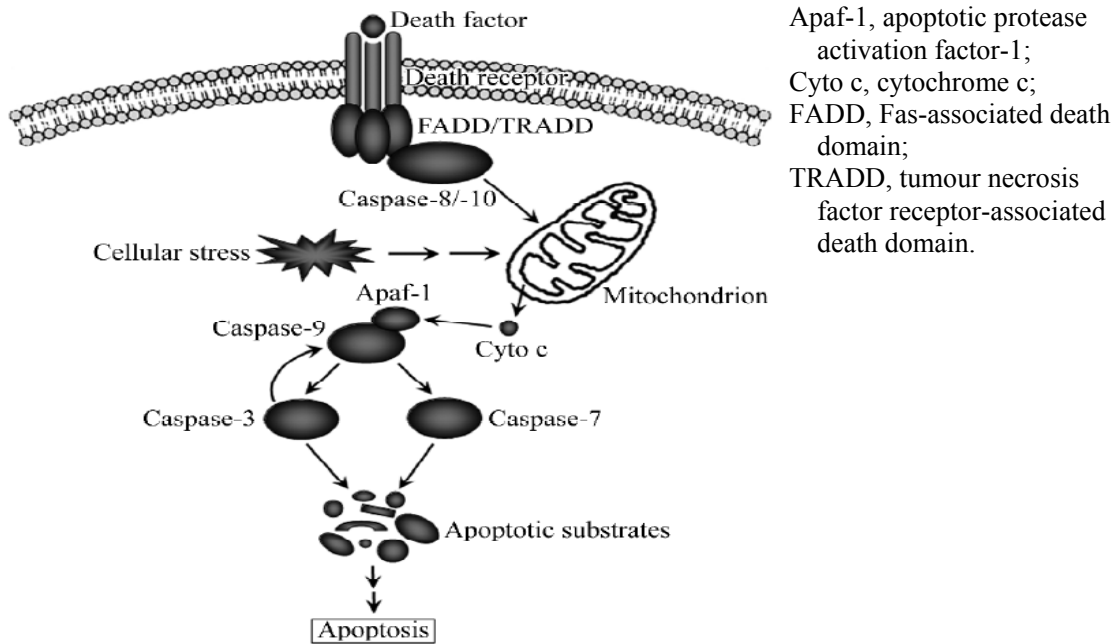


圖 1.10 典型粒線體調節之凋亡路徑圖之1 (Mitochondria dependent pathway)⁶¹

A. Mitochondrial pathway of caspase activation



B. Apoptosome formation and activation

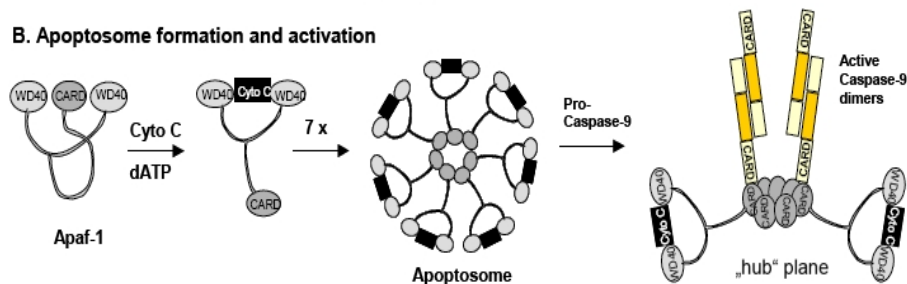


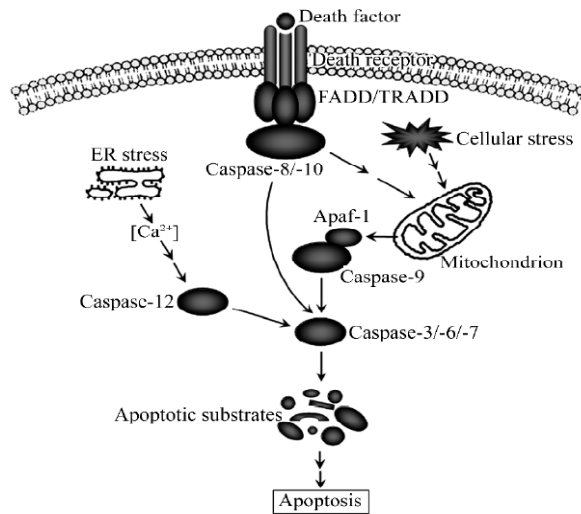
圖 1.11 粒線體依賴之凋亡路徑圖之2 (Mitochondria dependent pathway)⁵³

Mitochondria-mediated caspase activation at the apoptosome. A. Apoptotic stimuli trigger the release of apoptogenic factors from the mitochondrial intermembrane space to the cytosol, such as cytochrome c which induces the formation of the apoptosome and the activation of procaspase-9. B. By the action of cytochrome c (Cyto C) and dATP the Apaf-1 protein adopts a conformation that allows the formation of a heptameric, wheel-like structure, the apoptosome. Procaspase-9 molecules can bind to the inner “hub” region of the apoptosome and are activated by dimer formation. Active caspase-9 dimers further mediate activation of effector caspases.

(3) 透過內質網傳導之凋亡路徑 (Endoplasmic reticulum stress pathway)^{69~71}

當細胞受傷太嚴重，內質網會透過促使 Ca^{2+} 釋放，活化 caspase-12，然後進一步活化 Caspase-3 或是 caspase-7，誘發細胞凋亡。ER stress 會促使粒線體膜通透性增加，因而活化典型的凋亡路徑，如粒線體依賴之凋亡路徑。此外內質網釋放 Ca^{2+} ，會誘導細胞質中某蛋白酵素 (Proteases)：calpains (Calcium-activated neutral

proteases)的活化，造成下游 caspase 活化。



Apaf-1, apoptotic protease activation factor-1;
ER, endoplasmic reticulum;
FADD, Fas-associated death domain;
TRADD, tumour necrosis factor receptor-associated death domain.

圖 1.12 由粒腺體引發與Caspase-12有關的細胞凋亡(Caspase-12 involved in apoptosis triggered by ER stress)⁶¹

貳、執行階段：也就是執行凋亡。由活化階段所活化的 caspase 會再往下作用在一群高度篩選過的蛋白質，其目標蛋白質如下：⁶⁴

- ※ 超過 12 個以上的蛋白激酶，包括 FAK、PKB、PKC 及 Raf1 等。例如，FAK 不活化後被認為會中斷細胞的附著，導致凋亡的細胞脫離鄰近的細胞。
- ※ 組成細胞核膜內襯的核絛層蛋白(Lamin)，當 Lamin 被切斷時會導致細胞核層支解，並使細胞核縮小。
- ※ 組成細胞結構需要的蛋白質，例如，中間絲(intermediate filament)、actin 與 gelsome。切斷這些物質、造成這些蛋白質不活化後會導致細胞變形。
- ※ 核酸內切酶 (endonuclease) 稱為 caspase activated DNase (CAD)，在 caspase 切斷某一個抑制蛋白質後而被活化。CAD 一旦被活化，就會由細胞質內轉移到細胞核內，攻擊細胞核內的 DNA，將之切成片段。
- ※ 與 DNA 修復相關的酵素，這些酵素會因為 caspase 切斷它們後而不活化。

三、細胞凋亡之調節者 (Apoptosis regulator)^{65,72}

※ Caspase 與細胞凋亡：與哺乳類動物有關的 Caspase，至少有 14 種，與細胞凋亡有關的 Caspase 約 7 種：可分成兩類：

1. Initiator caspase (Apoptosis activator) (包括 caspase-2, -8, -9, -10)
2. Effector caspase (Apoptosis executioner) (包括 caspase-3, -6, -7)

表 1.4 caspase 家族之次家族成員 (Subfamily members of caspase family)

Subfamily	Role	Members
I	Apoptosis activator	Caspase-2 Caspase-8 Caspase-9 Caspase-10
II	Apoptosis executioner	Caspase-3 Caspase-6 Caspase-7
III	Inflammatory mediator	Caspase-1 Caspase-4 Caspase-5 Caspase-11 Caspase-12 Caspase-13 Caspase-14

※ Bcl-2 家族蛋白質與細胞凋亡：調節細胞凋亡的分子主要以 Bcl-2 家族蛋白 (Bcl-2 protein family) 為主，Bcl-2 家族成員表現的多寡會深大影響整體細胞能否進行細胞凋亡。此類蛋白質位於粒線體外膜、內質網膜和核膜上，其成員可分為二大類，分別調控不同的功能^{61,64-66}：

1、抗凋亡蛋白(anti-apoptotic)：此類有 Bcl-2、Bcl-XL、Bcl-w、Mcl-1、Al、Bfl-1、Brag-1、ElB1gK、LMW5-HL 和 EBV BHRF-1 等，此類蛋白質受到活化大量表現，可阻斷因細胞存活因子短缺或輻射、抗癌藥物等不同刺激誘發的細胞凋亡。抑制凋亡的機制是與促凋亡蛋白(Proapoptotic)直接鍵結，改變其構型，阻止促凋亡蛋白(Proapoptotic)穿越粒線體，間接阻止 Cytochrome c 從 mitochondria 釋出，從而阻斷 Apaf-1 對 caspase-9 的活化，抑制細胞凋亡。

2. 促凋亡蛋白(Proapoptotic): 此類有 Bcl-xs、Bax、Bak、Bad、Bid、Bik、Hrk、Bim、Bok 和 Bmf... 等，這類蛋白質主要功能為促進細胞凋亡的發生。如促進凋亡的 Bik，可持 Apaf-1 從 Bcl-XL 中解脫出來，Apaf-1 與 pro-caspase-9 和 Cytochrome c 形成一複合體，促使 pro-caspase-9 進一步活化，caspase-9 會啟動 Caspase-3 進一步活化，導致細胞凋亡。

Ps. Bcl-2 蛋白質家族之所以會造成細胞死亡是因為它們會在粒線體膜形成孔洞(pore)，造成粒線體膜上通透性的改變(mitochondrial permeability transitions; MPT)，進而導致 cytochrome c 或 apoptosis induced factors (AIF)

外流至細胞質中。MPT 同時也會造成粒線體膜電位(mitochondrial transmembrane potential; MMP)下降及 mitochondrial uncoupling 之現象，最終導致大量反應氧化物(reactive oxygen species : ROS)之聚積，進而造成細胞之傷害導致細胞凋亡。

※Ca²⁺離子與細胞凋亡：細胞內液 Ca²⁺過量時，會誘發細胞膜孔道的打開，產生粒線體膜電位改變。當細胞由粒線體路徑誘發細胞凋亡，由粒線體會釋出 Cytochrome c，活化 Apaf-1，進而活化 caspase-9，導致細胞核的裂解(fragmentation)以及促進 apoptosis。故偵測鈣離子(Ca²⁺)可以作為細胞凋亡的監測指標之一⁷³。

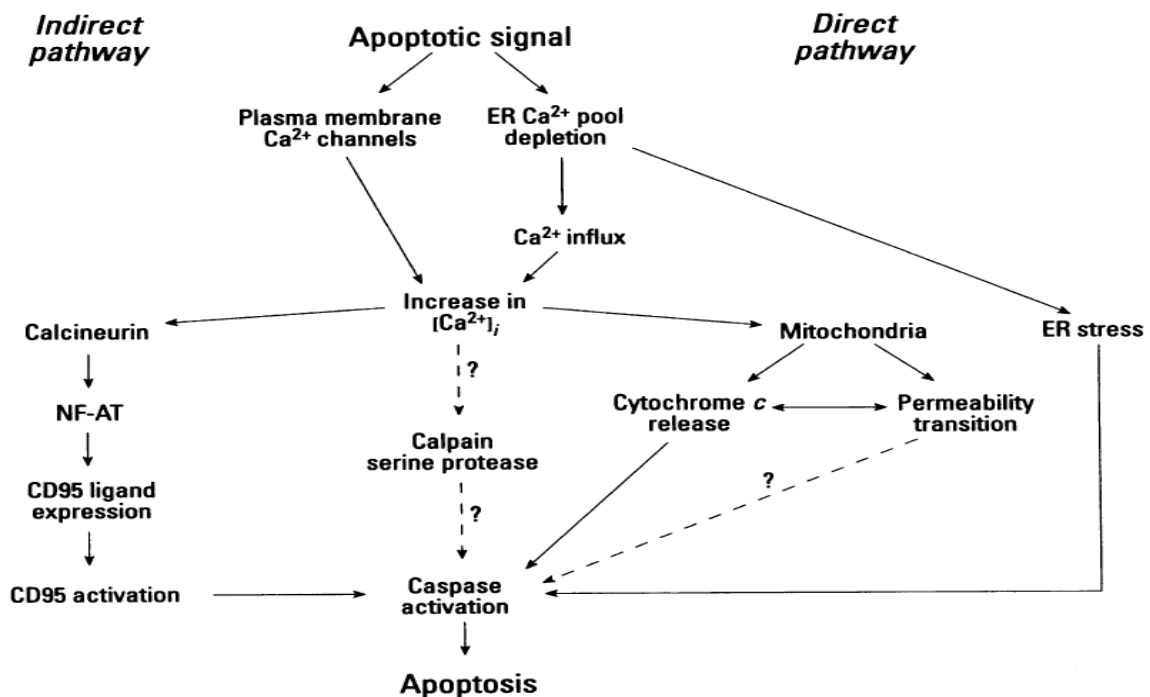


圖 1.13 由 Ca²⁺ 訊號誘導細胞凋亡之可能機轉⁷³

Proposed mechanisms of apoptosis induced by Ca²⁺ signals. Abbreviations: ER, endoplasmic reticulum; NF-AT, nuclear factor of activated T cells. Two pathways are recognized, one that is indirect and requires the activation of death receptors such as CD95 (Fas, APO-1) and a second pathway where Ca²⁺ is the direct effector of apoptosis. In the latter case, the two major targets are the mitochondria and the ER. Further details are given in the text.

四、粒腺體膜電位與細胞凋亡⁷⁴⁻⁸¹

細胞凋亡時，粒腺體內膜發生動態改變及由多個蛋白質組成的通透性轉變為孔道 (PT 孔道)，粒腺體內膜兩側氫離子梯度消失、粒腺體膜電位下降、使粒腺體的外膜漲破，而 Capase-inducing factors(Cytochrome c 和 AIF)釋放到細胞質液中，造成細胞死亡。粒腺體膜電位的改變為細胞凋亡啟動的指標，細胞凋亡啟動的機制之一為粒腺體膜的通透性的增加。

粒腺體膜電位(-150 mV)的存在，使一些親脂性陽離子螢光染料如碘化 3,3-二己基氧碳氫(3,3-dihexyloxacocyanine iodide, DiOC6)，可進入粒腺體基質，其螢光的強弱可反映粒腺體膜電位的高低，可以利用此原理以流式細胞儀加以偵測細胞凋亡。如用 DiOC6 欲測量細胞在受刺激後之膜電位的變化時，先將細胞放入含 DiOC6 之溶液中，達到濃度平衡時，細胞內會含較高濃度之染劑而發螢光，然後以 PMA 或 fMLP 刺激細胞，並在適當時間內上機分析，如細胞失去原有之負電荷，則細胞內之染劑濃度會降低，螢光強度會降低，表示該受體之信號傳遞功能正常。

五、活性氧化物(Reactive oxygen species; ROS)與細胞凋亡⁸²⁻⁸⁵

5.1 傳統的觀念認為：細胞代謝會產生一種活性大的副產物，稱為活性氧化物 (reactive oxygen species : ROS)，它會傷害細胞造成 DNA 傷害。ROS 會調節多種細胞的死亡，高濃度的活性氧化物會導致脂質過氧化、細胞膜損傷、或直接損傷細胞並促使細胞壞死。而低濃度的活性氧化物會活化蛋白質激酶和磷酸酶、鈣離子儲存、活化或未活化轉錄因子和導致細胞凋亡的現象。在粒腺體產能過程中，氧分子會接受其他分子的電子而形成氧化自由基，很多細胞內的反應包括呼吸反應，需要還原氧變成 superoxide 或是過氧化氫，這些分子會調節生物體內分子間的反應。當形成 ROS 時，細胞內會直接或是間接利用抗氧化防禦系統去對抗活性氧化物，當活性氧化物產生過多或抗氧化防禦系統變弱時，會造成氧化性傷害，結果產生所謂的氧化壓力(oxidative stress)。在人體中因為氧化壓力會造成的器官慢性傷害，最終導致疾病發生。

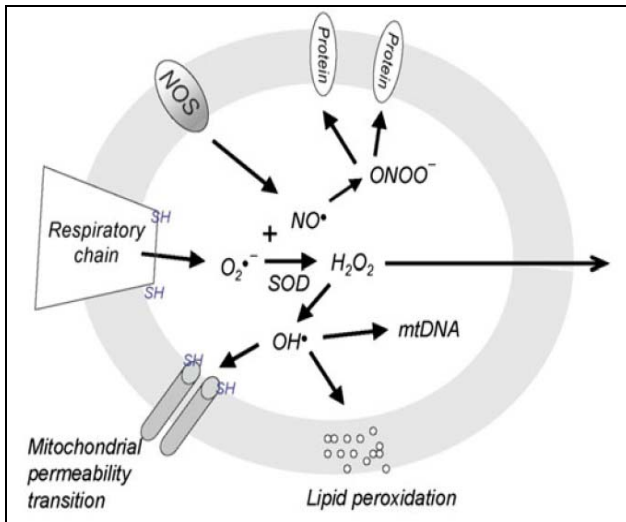


圖 1.14 ROS引起粒腺體傷害之圖解⁸²

Mitochondrial damage caused by reactive oxygen and nitrogen species. NOS indicates nitric oxide synthase; SH, thiol groups; SOD, superoxide dismutase; mtDNA, mitochondrial DNA.

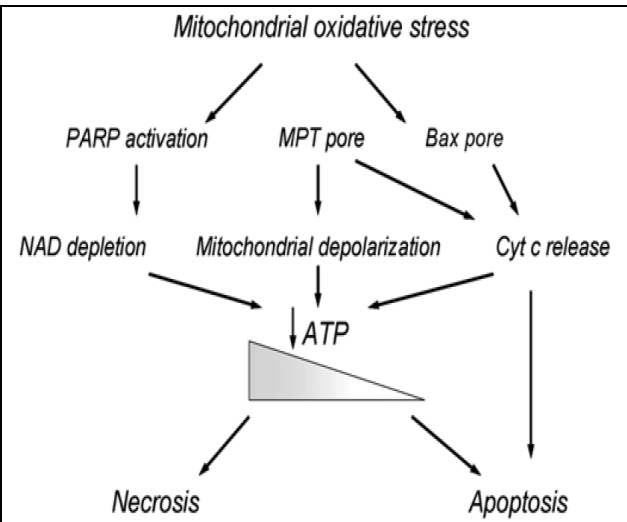


圖 1.15 粒腺體受氧化傷害之發展圖示⁸²

Mitochondrial oxidative damage leading to apoptosis or necrosis is dependent on availability of ATP. PARP indicates poly-ADP-ribose-polymerase; ADP, adenosine diphosphate; MPT, mitochondrial permeability transition; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; Cyt, cytochrome; ATP, adenosine triphosphate.

5.2 目前發展中的觀念⁸⁶：細胞內產生 ROS (reactive oxygen species : ROS)和 RNS (reactive nitrogen species : RNS)，是有計畫調節其生成目的，因其在細胞內的氧化還原過程中扮演重要角色。其角色如同細胞內訊息傳遞路徑，是對特殊蛋白質的胺基酸某基團(尤其是-SH)進行磷酸化，以控制蛋白質的功能。目前把氧化傳遞訊號分子分成兩大類：

1. 脂質氧化產物：具有親電子性之反應中心者，能修飾蛋白質之硫氫基(thiol group, -SH)。
2. 分解產物：例如 lysoPC (lysophosphatidyl choline)，扮演 ROS/RNS 的第 2 代訊號傳導分子(例如 lysoPC 在細胞內，依賴鈣離子，能引起 H₂O₂ 的次級誘導產生(secondary induction)。

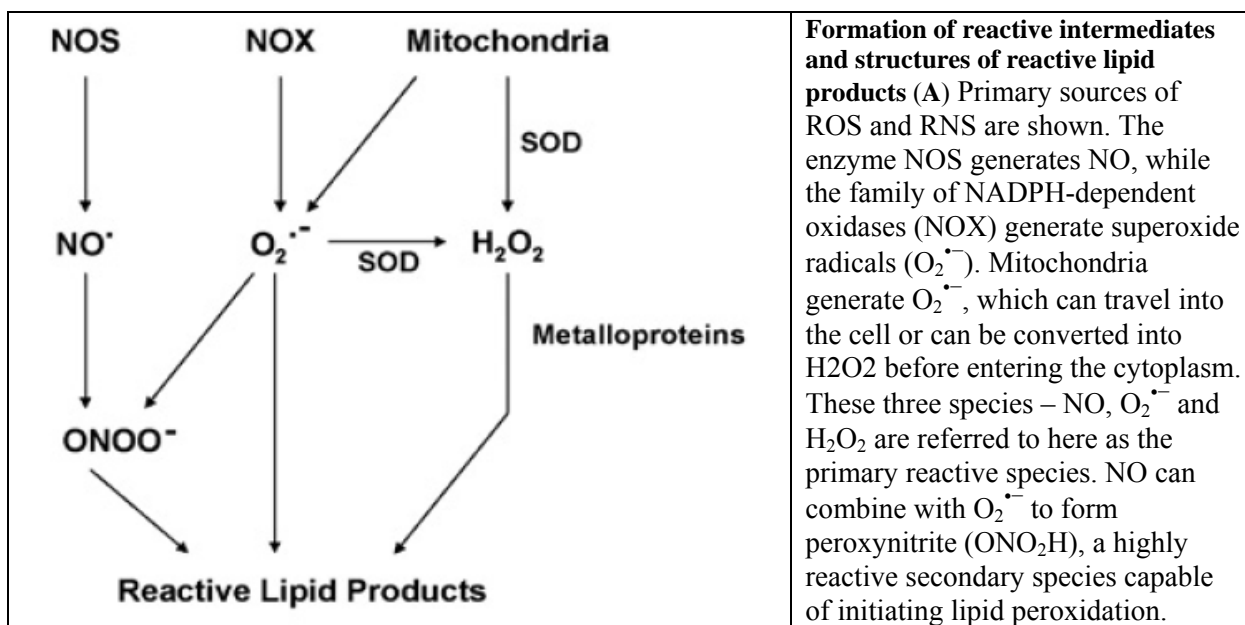


圖 1.16 活性中間物和活性脂質產物形成圖⁸⁶

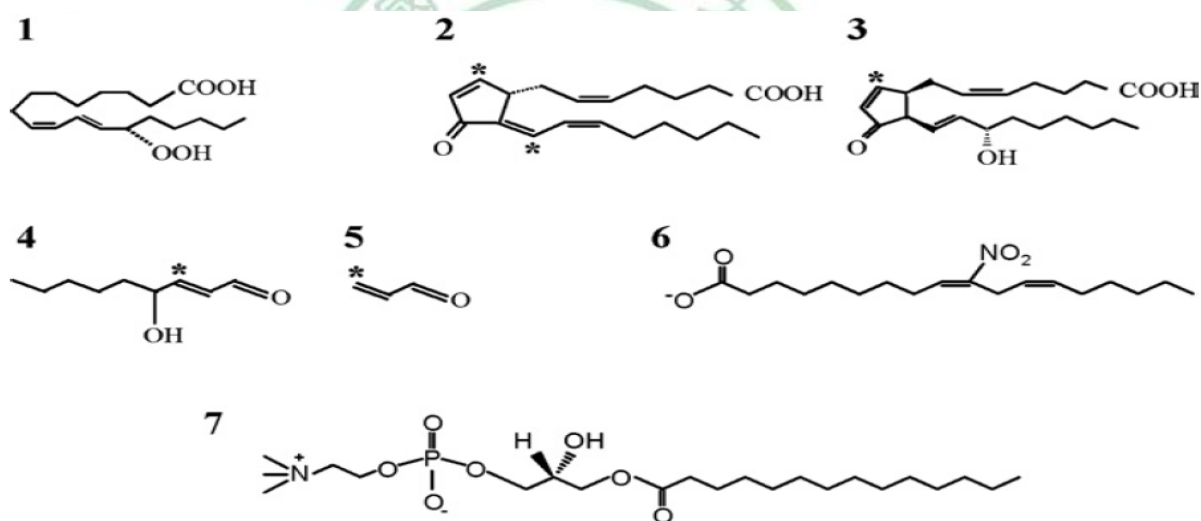


圖 1.17 活性脂質產物形成圖⁸⁶

Reactive lipid products are grouped here into three major classes. First, lipid peroxides are exemplified here by 13SHpODE (13-hydroperxyoctadecadienoic acid) (1), a product derived from the enzymatic action of 15-lipoxygenase on linoleic acid. Secondly, reactive lipids with electrophilic properties are exemplified by 15d-PGJ2 (15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J2) (2), iso-J2 (isoprostane J2) (3), 4-HNE (4) and acrolein (5). Carbons capable of adducting to nucleophiles present in cellular proteins are indicated by an asterisk. Finally, receptor agonists are the third class. These include LNO₂ (nitrooleic acid), which can also act as an electrophile and NO donor (6), and lysoPC (7).

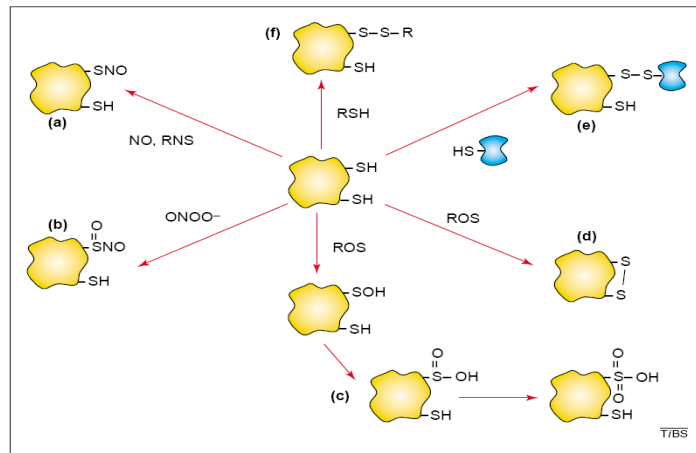


圖 1.18 Cysteine 之-SH 基團與活性物作用之各種方式⁸⁷

The many faces of cysteine. (a) Reactive nitrogen species (RNS) including nitric oxide (NO) can mediate S-nitrosylation to yield an S-nitrosothiol (SNO). (b) RNS, including peroxynitrite, can also mediate S-nitration to yield S-nitrothiols. (c) Sequential oxidation of cysteine thiols yields sulfenic (-SOH), sulfinic (-SO₂H) or sulfonic (-SO₃H) acid derivatives. Alternatively, (d) oxidation by reactive oxygen species (ROS) and RNS (peroxynitrite, S-nitrosothiols) can result in a disulfide bridge (cystine) between two adjacent thiols in a protein. (e) Similar disulfide bridges can also be formed between different proteins. (f) Reaction between protein thiols and low-molecular weight thiols [e.g. glutathione (GSH)] can yield mixed-disulfides. Each of these thiol modifications has the possibility of eliciting different biological responses. At the present time, reagents are limiting for the detailed investigation of the function of these modifications *in vivo*. It is hoped that with new proteomics approaches some of these technical limitations can be overcome.

※由前面之敘述可以導出如下觀念：^{87~93}

1. 由與 ROS/RNS 之形成導致之病理變化，可能是由於細胞訊號控制之損失造成而不是氧化性傷害。
2. 經由 ROS/RNS 作用修飾後的蛋白質，可能意謂這些蛋白質是接受器？
氧化二級訊息(second messenger)
3. 細胞內的抗氧化劑，如 glutathione 是否設計為氧化還原的節律點(redox tone)?
控制氧化活性蛋白質參加細胞訊號傳導之能力。
4. 氧化訊息可能牽涉到蛋白質的不可逆共價鍵修飾。

※ ROS/RNS 能與細胞內的脂質直接或間接產生有官能基可修飾作用之蛋白質。

※ 粒腺體內的 ROS 也可在很多不同生理作用上，扮演訊號傳導分子。而其調節可能是透過 MAPK(mitogen-activated protein kinase)路徑。

※ 粒腺體內產生ROS的地方：皆是調節依需要而產生。

※ 粒腺體內產生 ROS 的調節者：粒腺體內膜的膜電位、Ca²⁺、NO 等。

※ ROS 觸發細胞凋亡的途徑 - Fas receptor-mediated apoptosis

陸、活性氧化物(Reactive oxygen species; ROS)與疾病

在人體中大部分的新陳代謝會用到能量，當細胞呼吸作用產生能量過程，會有計畫調節其產生ROS(reactive oxygen species)，因其在細胞內的氧化還原過程中扮演重要角色。另外體內受到外來微生物感染時，體內免疫系統最初會由派遣多形核白血球(polymorphonuclear neutrophils, PMN's)到受感染部位，去吞噬外來物，而其噬殺效果與多形核白血球製造活性氧化物(ROS)之多少成正比⁹⁴⁻⁹⁷，反之白血球缺少症易會引起不可控制的感染。

目前在基因學的研究已證實基因上的突變與神經退化性疾病有關，例如巴金森氏疾病(Parkinson's disease, PD)，阿茲海默氏症(Alzheimer's disease, AD)，肌萎縮側索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis)，杭汀頓氏症(Huntington's disease)(一種體染色體顯性遺傳所造成的腦部退化疾病)，弗利德來式運動失調(Friedreich's Ataxia)(疾病是因為第九對染色體上的基因缺陷，使得相對應產生的frataxin蛋白質質量銳減，進而影響粒線體供給細胞能量的胞器的功能，增加氧化的傷害)，這些疾病雖然可以遺傳，可是很少是家族性籍疾病，反而都是偶爾發生的。越來越多證據顯示氧化性壓力和粒腺體功能障礙是神經退化性疾病最主要的病因^{82, 98}。

台灣 2005 年十大死因，除第一名癌症外(26.8%)(以死亡人數占率超過二成六，連續二十四年蟬聯榜首)，第二(9.5%)、三(9.3%)、四名(6.7%)分別是腦血管疾病、心臟疾病、糖尿病⁹⁹，後三者皆與血管病變有關連，而血管病變之其中一個重要病因為活性氧化物之傷害⁹⁹⁻¹⁰⁶，體內活性氧化物大部份都在細胞內粒腺體內製造產生，正常情況體內有有一套可以消除自由基的抗氧化系統，會消除多餘的自由基，讓體內的自由基維持在一種動態的平衡當中，通常稱為抗氧化能力。體內主要有可以消除自由基，防止細胞受到傷害者：1.超氧化物歧化酶(superoxide dismutase，簡稱 SOD，體內最重要的抗氧化酶)、2.觸酶(catalase)(只存在於心臟細胞的粒腺體內)、3.穀胱甘肽過氧化酶(glutathione peroxidase，簡稱 GPX)(快速轉變 H₂O₂ 為水和氧)¹⁰⁷。就算細胞內粒腺體產生活性氧化物有抗氧化系統保護，仍會有部份漏接的活性氧化物會功擊細胞核膜、DNA 等，會一部份漏接的活性氧化物會逸出細胞膜外，造成細胞外的傷害，且隨著年紀越來越大，還有疾病、病菌對人體的侵害，環境污染、輻射、飲食習慣、精神壓力等因素，更會擾亂體內抗氧化能力的平衡，對身體造成傷害。

第三節、研究動機與目的

如第一章第一節所述呋喃喹啉(furoquinoline)類生物鹼與呋喃喹啉酮(furoquinolone)生物鹼(圖 1.18)是只存在於自然界芸香科(*Rutaceae*)植物中，此類生物鹼有廣泛不同性質的生理活性，其具有抗癌作用之生理活性，顯得比較特殊且有意義。

茲於此將呋喃喹啉(酮)與目前抗癌藥分子結構比較如下：

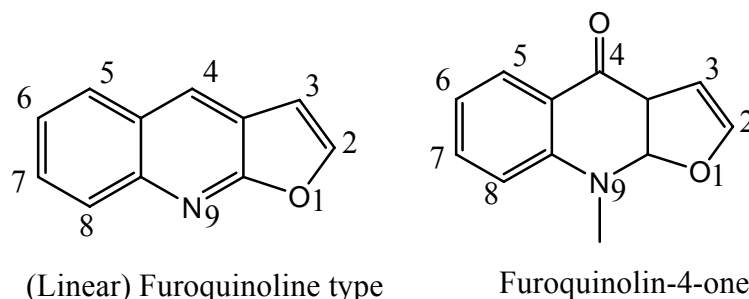


圖 1.19 Furoquinoline 與 Furoquinolone 之化學結構

1、呋喃喹啉(酮)其結構上與目前抗癌症用藥烷化劑(alkylating agents) (圖 1.19)明顯不同，呋喃喹啉(酮)其結構上沒有取代基可以和 DNA 生成共價鍵而阻礙 DNA 複製。

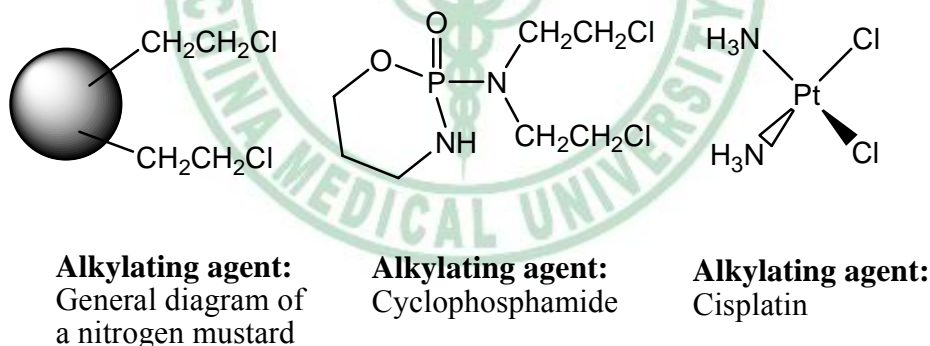


圖 1.20 烷化劑一般結構與 Cyclophosphamide、Cisplatin 之化學結構

2、不像抗代謝產物 antimetabolites，類似嘧啶或葉酸結構，例如 Methotrexate (圖 1.20)，可以阻斷或顛覆一或多種涉及 DNA 合成的代謝途徑。

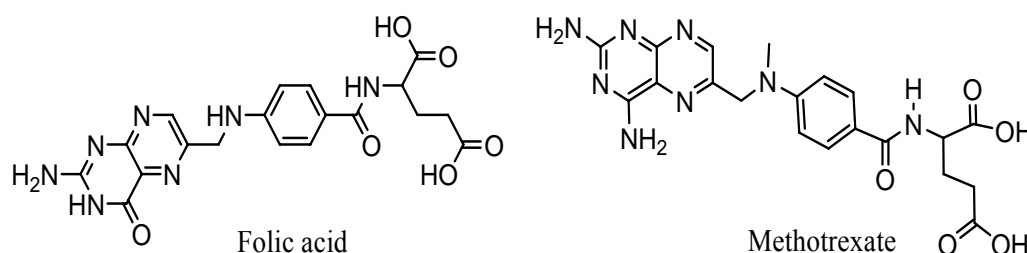


圖 1.21 Folic Acid 與 Methotrexate 之化學結構圖

3、呋喃喹啉酮(furoquinolone)結構與 Anti-topoisomerases I 抗癌藥，例如與 Topotecan 部份結構相似，但分子大小有差異，一為五環，另一為三環(圖 1.21)。

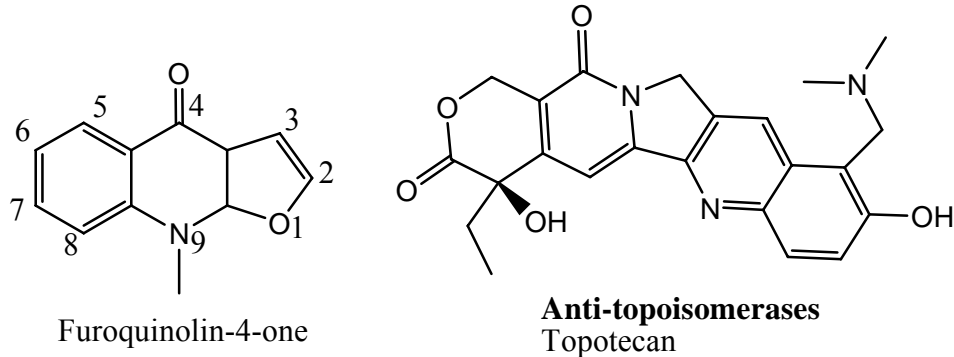


圖 1.22 Furoquinolone 與 Topotecan 之化學結構

4、呋喃喹啉酮(furoquinolone)結構與 Anti-topoisomerases II 抗癌藥(例如 Etoposide 與 Teniposide)結構一部分相似，但分子大小有差異，一為四環加雙戊環及一取代苯環，而呋喃喹啉酮為三環(圖 1.22)。

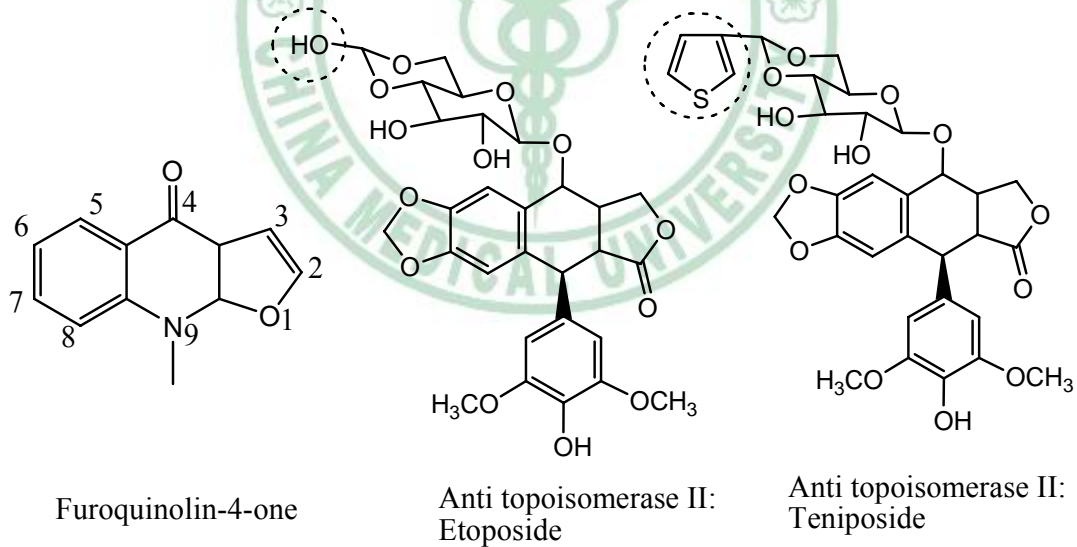


圖 1.23 Furoquinolone 與 Topotecan 之化學結構

5、呋喃喹啉酮(furoquinolone)結構與抗腫瘤抗生素(作用為 Intercalating agents)之 anthracyclines 類(例如 Doxorubicin 有些類似，但在環數及環基本架構不同。(圖 1.23)

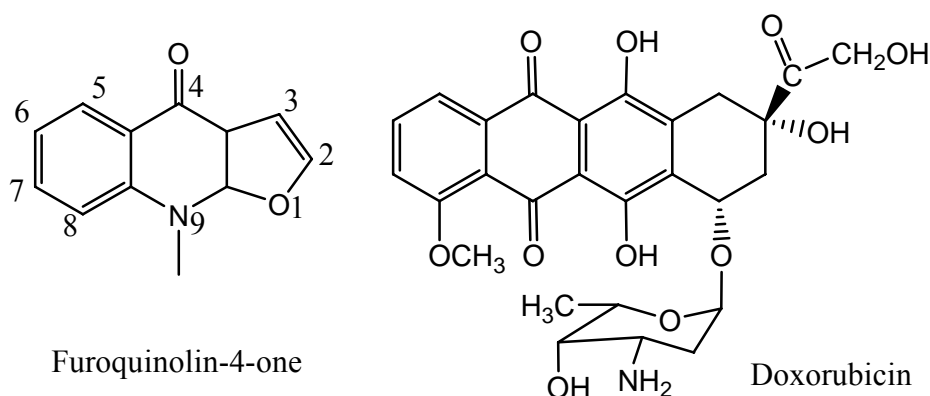


圖 1.24 Furoquinolone 與 Doxorubicin 之化學結構

6、呋喃喹啉酮(furoquinolone)結構與有絲分裂微小管抑制劑(Antimicrotubule agents)

Taxanes(紫杉醇)：Paclitaxel(Taxol®)結構及分子大小差很多。(圖 1.24)

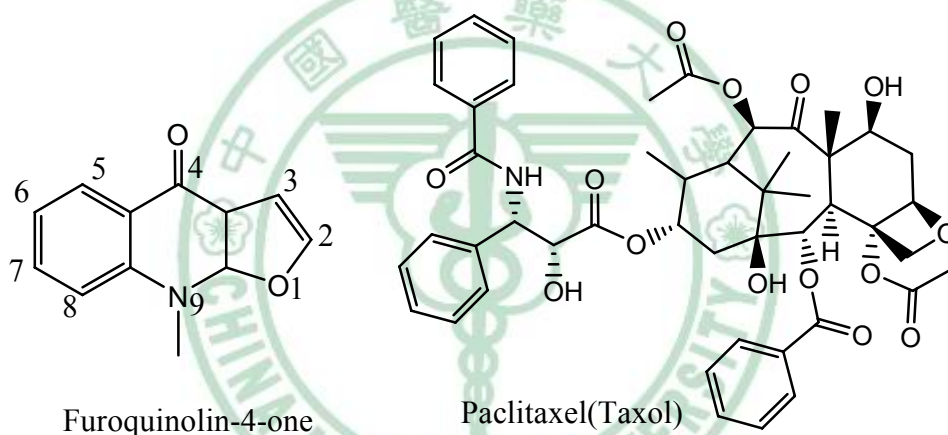


圖 1.25 Furoquinolone 與 Taxol®之化學結構

由上敘述得知，呋喃喹啉酮類化合物與目前臨床使用之抗癌藥在結構上有差異不同，其抗癌活性推測應有其他機轉。故擬合成一系列呋喃喹啉酮化合物 *N*-various benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-diones (**A**)及 *N*-various benzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-4-diones (**B**)，研究其抗癌活性，然後探討其結構與活性之關係，以期尋找及開發更具潛力的化合物。

另外本實驗室多年來一直在從事呋喃喹啉酮(furoquinolone)衍生物的合成^{20-22,108-110}，呋喃喹啉酮類化合物，其溶解性不佳，但在實驗過程中發現合成中間體-**HAJ11**具有很好抗氧化活性，其是透過 tyrosine phosphorylation 作用²³，此類合成中間體之溶解度較呋喃喹啉酮類化合物佳，經搜尋此類合成中間物及類似結構衍生物之相關研究，發

現此類化合物相關文獻付之闕如，故引起著者擬系統性合成一系列此類化合物 Ethyl 2-(substituted anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (C)及 Ethyl 2-[N-various benzyl (substituted)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro-furan-3-carboxylate (D)，以作為抗氧化、抗血小板凝集活性之研究，並將進行抗癌活性之研究。

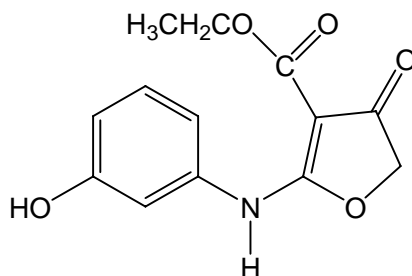


圖 1.26 化合物 HAJ11 之化學結構圖

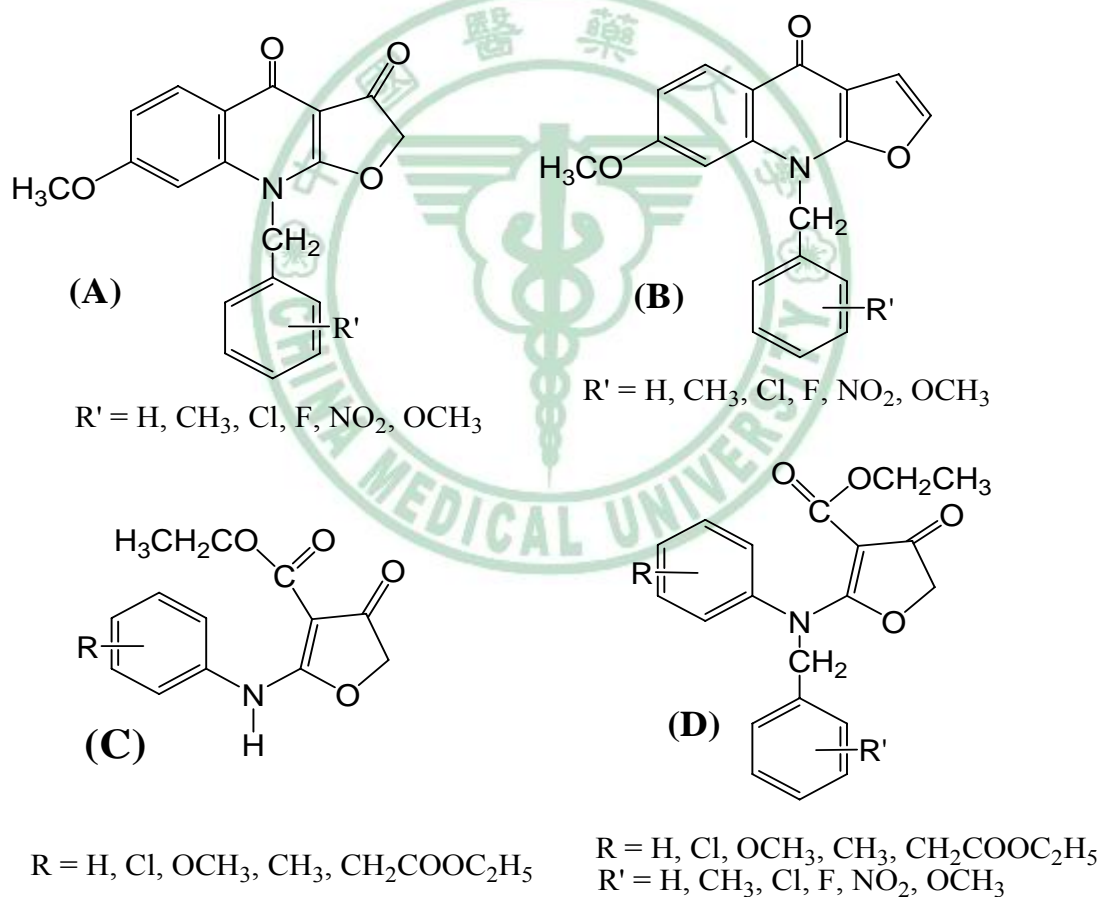


圖 1.27 目標化合物之化學結構

目標化合物選合成 *N*-benzylation 之原因¹¹¹⁻¹¹⁴：

藥物要發揮作用須有官能基與標的接受器或蛋白質發生交互作用，所以藥物官能基在與標的物作用時，整個分子過渡狀態之穩定性高低，就會影響到藥效，因過渡狀態之

穩定性高，則保持過渡狀態之時間會比較久，造成整個分子與標的接受器或蛋白質發生反應的機會會比較大，藥效會較明顯。

Benzyl group 在失去一個電子變成 benzylium ion ($C_6H_5CH_2^+$) 時，methylene 上之 H 原子可透過 1,3-H shift (H 位置轉移)¹¹¹，藉由共振效應，造成 benzylium ion 有相對穩定性，而 benzylium ion 帶電荷造成其反應性相對增強。見圖 1.28 示。

另外Benzyl group在失去一個電子變成benzylium ion ($C_6H_5CH_2^+$) 時，也可以經分子內重新排列變成七員環之tropylium 離子(seven-membered-ring tropylium ion)¹¹¹，見圖1.29 示。

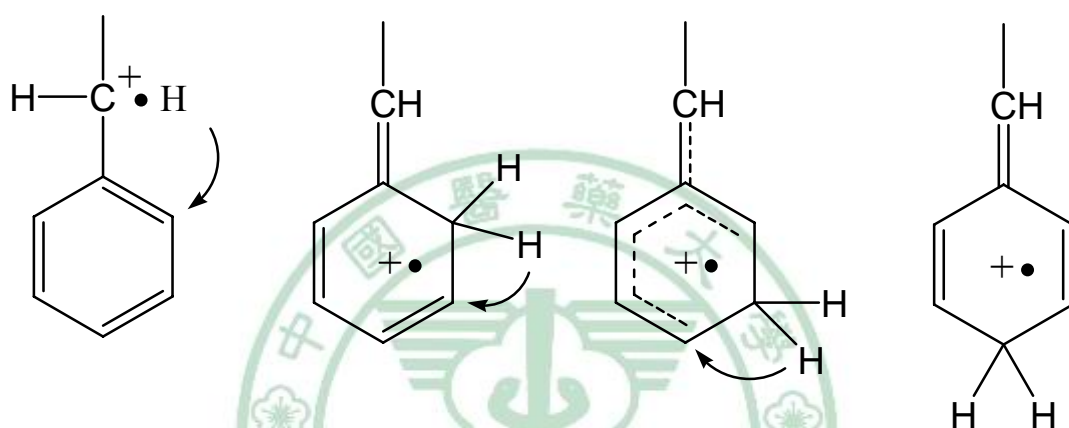


圖 1.28 Benzyl group 形成 benzylium cation 透過共振分佈電荷圖¹¹¹

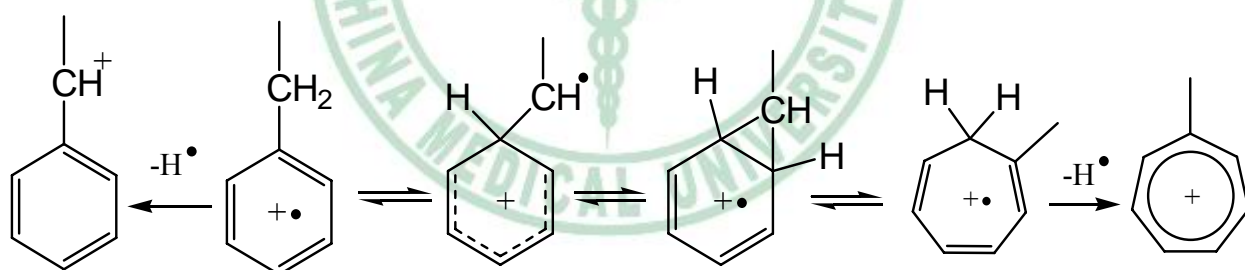


圖1.29 Benzylium cation 透過原子重新排列形成 tropylium ion 分佈電荷圖¹¹¹

透過分佈電荷，可促進化合物與標的接受器或蛋白質發生作用，因只要標的接受器或蛋白質有官能基能與benzylium ion反應，Benzyl group能在反應過渡狀態中，透過分佈電荷，使反應所須反應能，不須要太高，即在較低溫和環境下，即可達到反應過程中的過渡狀態，然後進一步完成反應。

故本論文之合成化合物選合成N-benylation 之原因，期望能透過Benzyl group在反應過渡狀態中，透過分佈電荷，降低反應所須反應能，在體溫內即可與標的接受器或蛋白質發生化學反應，即發生藥理作用。

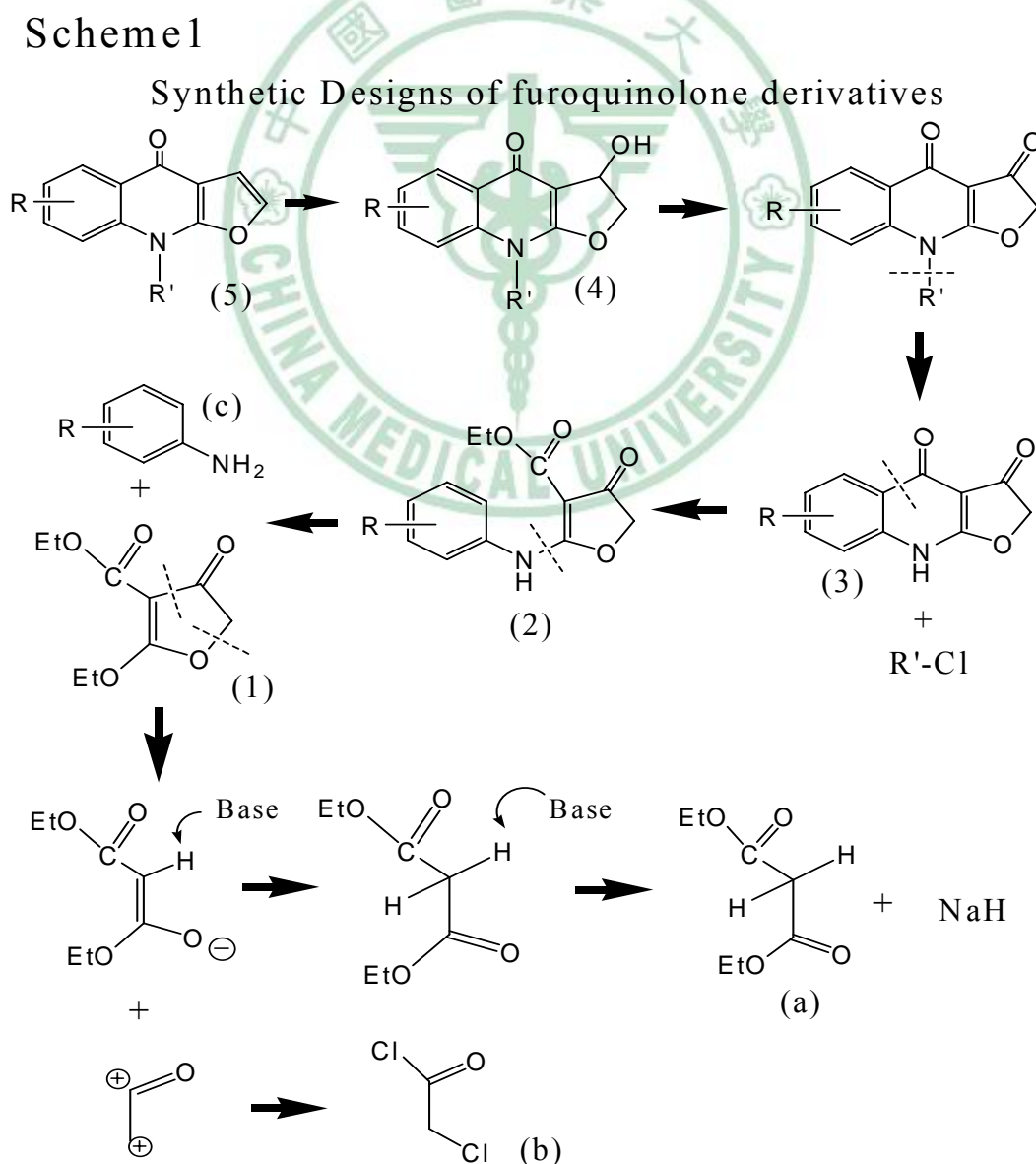
第二章 研究經過

第一節 化學合成部份

關於 Furoquinolones 化合物之合成設計是參照 Tüppy-Böhn 方法以逆合成分析而來 (Retrosynthetic analysis) (Scheme 1) 而來。首先將整個分子分爲兩大部分：一部分是氮上取代基部分，另一部分爲母環部分。

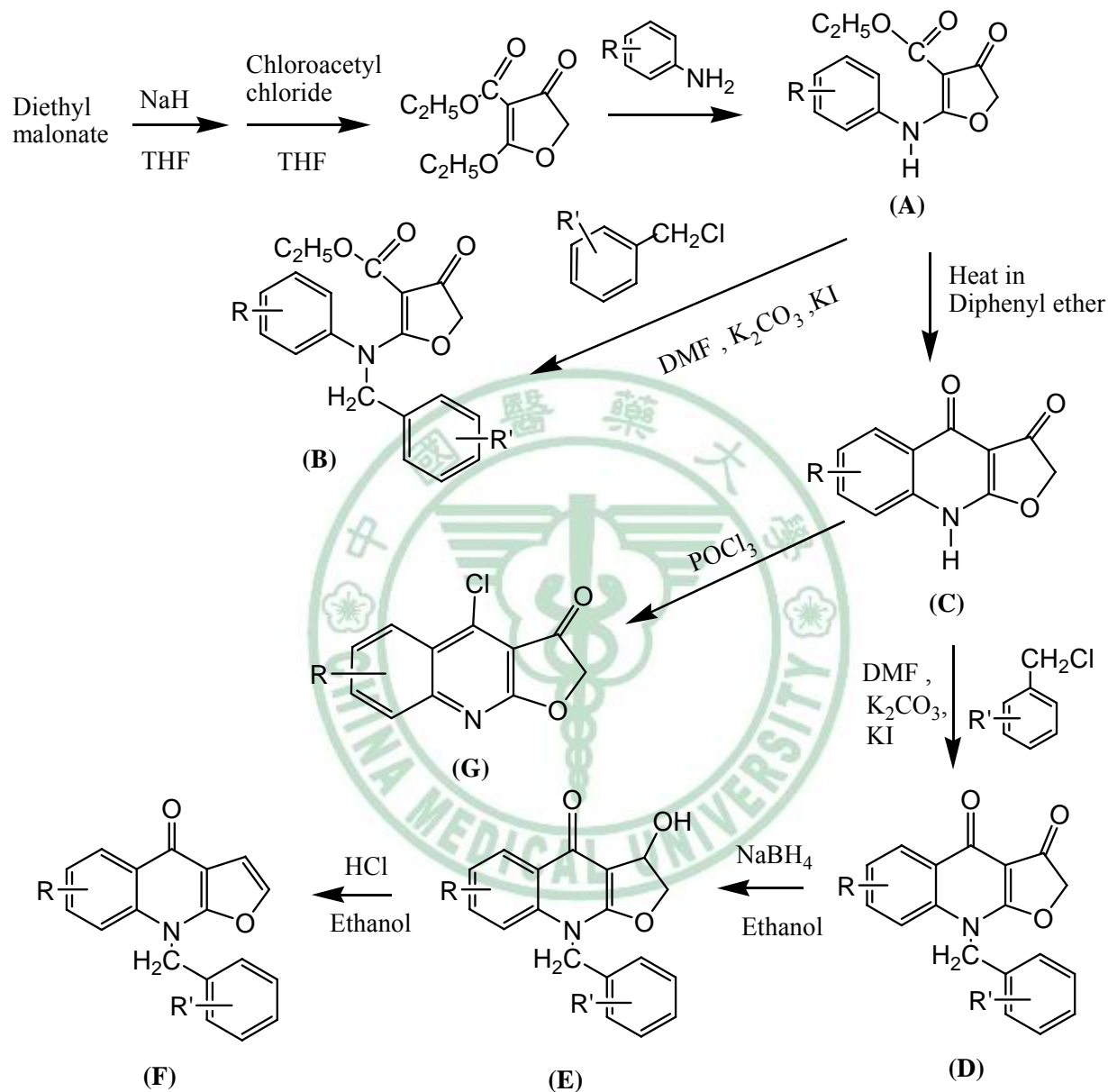
(一) 氮上烷基之取代部份：以鹵化烷或鹵化芳香苯環爲反應物，與母環進行 *N*-alkylation。

(二) 母環部分：以 diethyl malonate (a) 爲起始原料，加入強鹼 sodium hydride 後，與 chloroacetyl chloride (b) 反應可得中間物 (1)，然後再與芳香環胺類(c)進行 Michael addition 即可得化合物 (2)，繼而將化合物(2) 在 diphenyl ether 中進行 thermal cyclization 得化合物(3)，化合物(4)經 sodium borohydride 還原得化合物 (4)，接著用稀鹽酸處理，進行脫水反應，得到 furoquinolones 母環部份(5)。



本論文之化合物化學合成步驟以 scheme 2 概括表達，其細節部分在後續幾個單元分別說明。

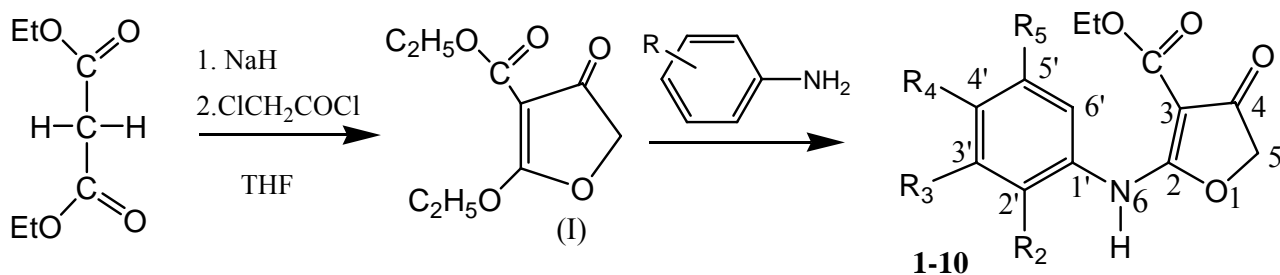
Scheme 2 標的化合物之化學合成示意圖



(一) **Ethyl 2-(various anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (1~10) 之合成**

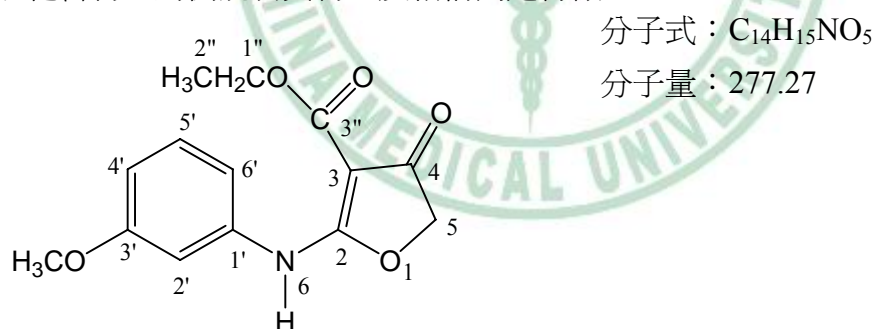
取 NaH 懸浮於無水之四氫呋喃中 (tetrahydrofuran 以下簡稱 THF)，滴入 diethyl malonate，然後再加入 chloroacetyl chloride，產生 ethyl 2-ethoxy-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (I)。繼續將有取代基的苯胺(II)(substituted aniline) 加入，進行縮合反應，產生 ethyl 2-(substituted anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate。化合物 **1-10**。其合成如 Scheme 3 所示。

Scheme 3



編號	化合物代號	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
1	H AJ01	H	OCH ₃	H	H
2	H AJ02	H	H	H	H
3	H AJ03	H	Cl	H	H
4	H AJ11	H	OH	H	H
5	JOT01	CH ₃	H	Cl	H
6	JOT34	H	CH ₃	CH ₃	H
7	JOT35	H	CH ₃	H	CH ₃
8	DMO35	H	OCH ₃	H	OCH ₃
9	TMO53	Cl	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
10	JNC01	H	H	H	CH ₂ OOC ₂ H ₅

在此僅以化合物 **1** 為例說明其物理及結構判定特徵：



- 1、化合物 **1** 的熔點為 140.7°C。
- 2、其質譜 (MS) 之分子離子峰 (M⁺) 為 277 (圖 2-1)。符合結構分子式之分子量。
- 3、其 IR 光譜分別於 3284.84 cm⁻¹ 為 NH 的吸收；1697.36 cm⁻¹ 及 1654.92 cm⁻¹ 顯示 2 個 carbonyl，分別為 ester carbonyl 及 furan ring 上的 carbonyl 吸收。(圖 2-2)
- 4、UV 光譜最大吸收在 295 nm。
- 5、NMR 圖譜：

A、¹H-NMR 圖譜：(圖 2-3)

由其積分值顯示此化合物有 15 個氫。δ1.32 (3H, *t*) δ4.30 (2H, *q*) 為乙酯上之乙基之訊號基，δ3.75 (3H, *s*) 為 3' 碳上之甲氧基，δ4.30 為 furan ring 上編號為 2 號碳上之 methylene 氫訊號，δ6.7~7.25 共 4 個 H，為苯環上編號 2'、4'、5'、6' 碳上

之氫，從分子結構推測其圖譜上之訊號應為：H-2'(單一尖峰)，H-4'(兩分裂)，H-5'(三分裂)，H-6'(兩分裂)式，符合實際氫譜圖之訊號形形，而 $\delta 10.2$ 為 NH 之 H 訊號。

B、 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜：(圖 2-4) 由碳譜顯示有，化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 14 個碳原子訊號
- (2) 乙酯上之乙基 δ : 14.22 (C-2''), 60.28 (C-1'')
- (3) 3' 碳上之甲氧基 δ 55.15 (3'-OCH₃)
- (4) 2 個 carbonyl 碳，分別為 ester carbonyl δ 177.34 (C-3'') 及 furan ring 上酮基 δ 188.12 (C-4)。
- (5) furan ring 上 methylene 碳訊號：75.21 (C-5)。
- (6) furan ring 第 3 號碳應為 4 級碳，受 2 個 carbonyl group 影響，會出現在相對高磁場, 87.39 (C-3),
- (7) 其他 4 級碳訊號：135.62 (C-1')、160.05 (C-3')、165.26 (C-2)。
- (8) 苯環上 4 個 -CH- 之碳訊號 107.15 (C-2'), 111.08 (C-4'), 113.24 (C-6'), 129.96 (C-5')。
- (9) DEPT 90 及 DEPT 135 (圖 2-5) 圖顯示有 4 個 -CH-、2 個 -CH₂-、2 個 -CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 Ethyl 2-(3-methoxyanilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**1**) 為預期之結構。

圖 2-1、化合物 1 之質譜圖

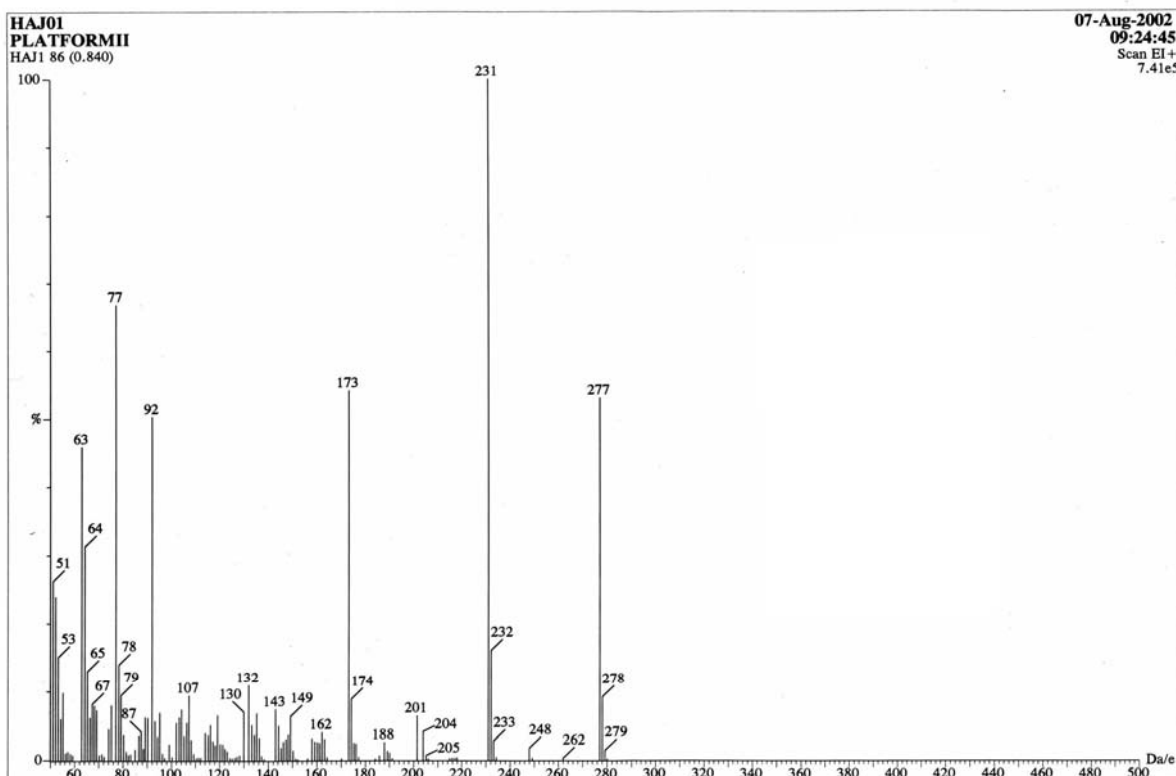


圖 2-2、化合物 1 之紅外光譜圖

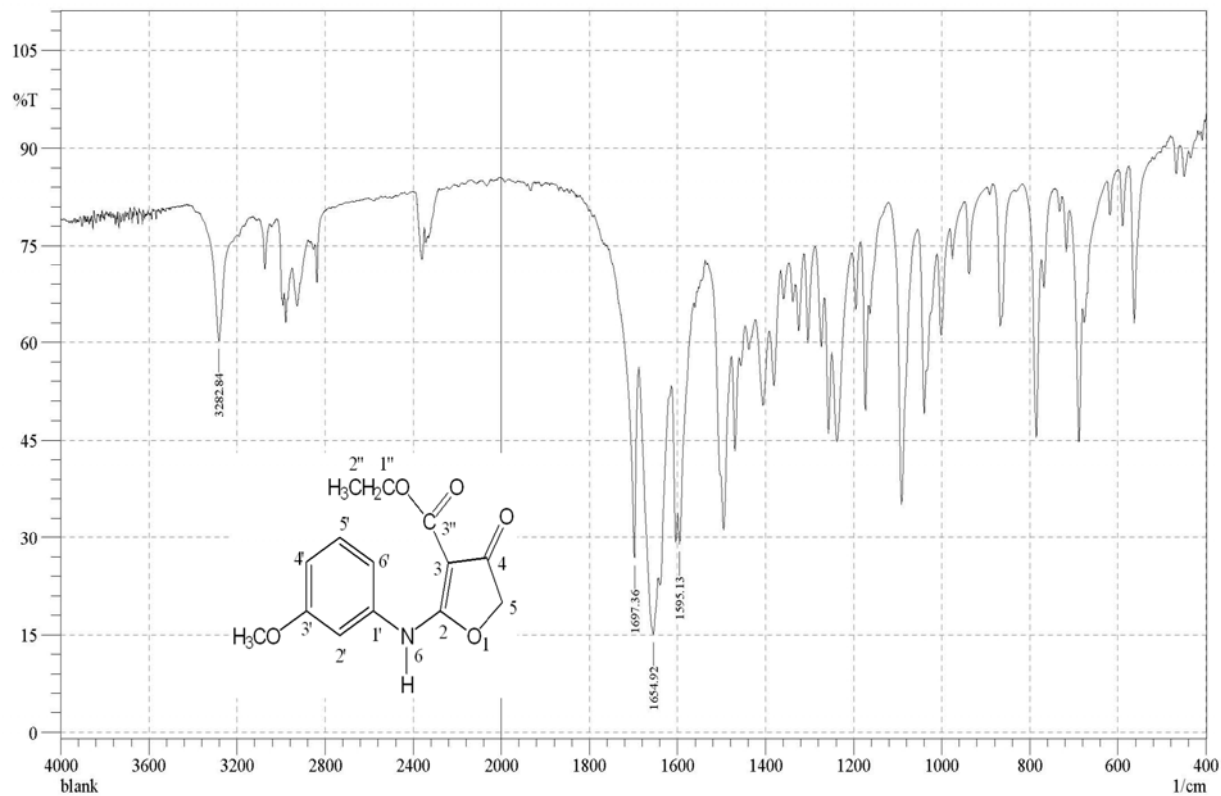


圖 2-3、化合物 1 之氫譜圖

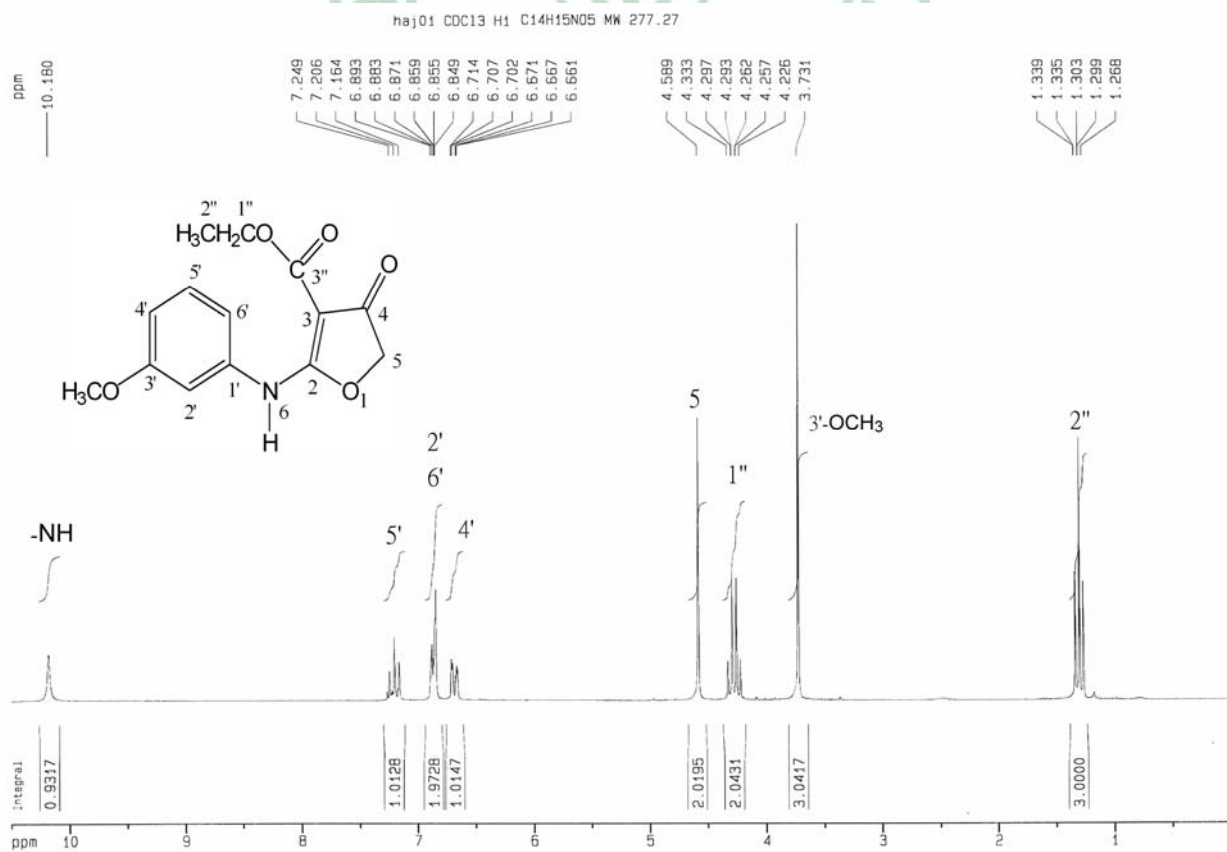


圖 2-4、化合物 1 之碳譜圖

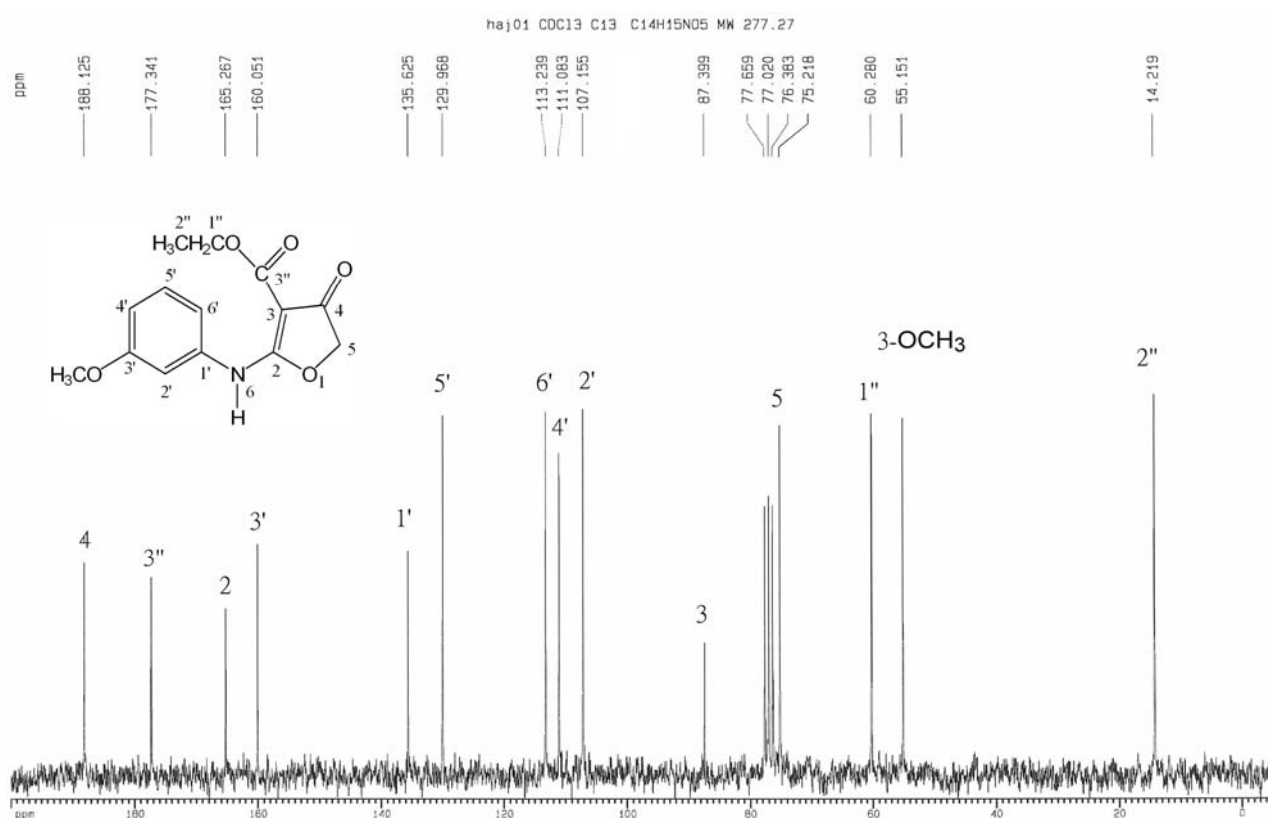
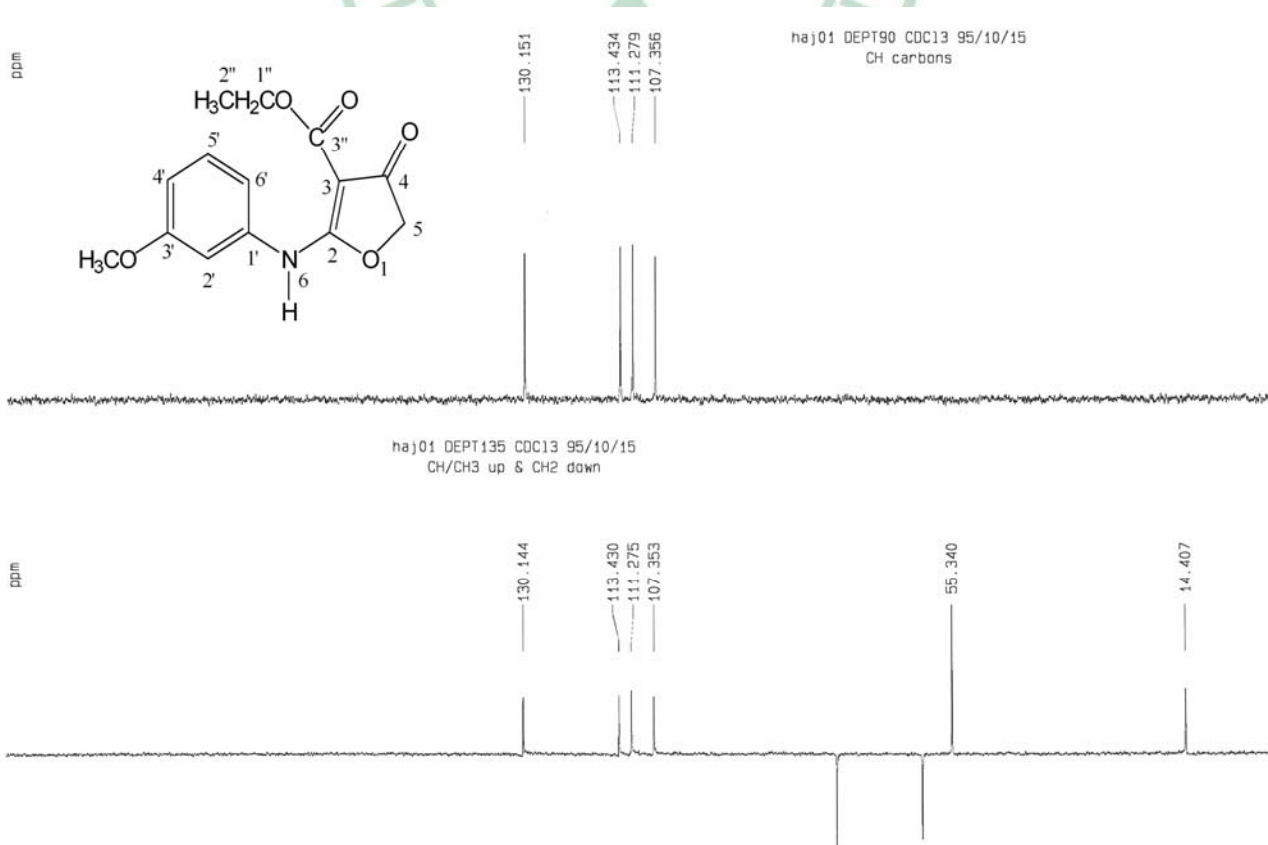


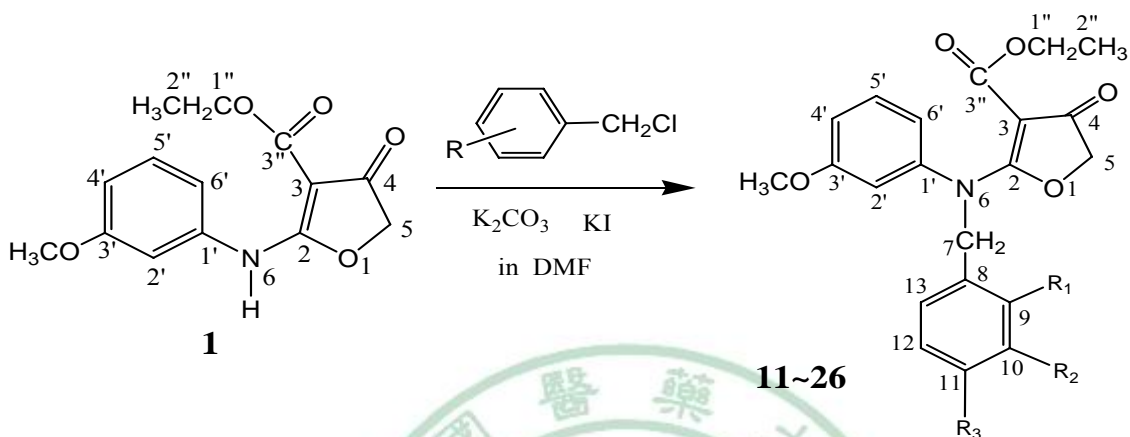
圖 2-5 化合物 1 之 DEPT 90 及 DEPT 135 圖譜



(二) Ethyl 2-[*N*-various benzyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (11~26) 之合成

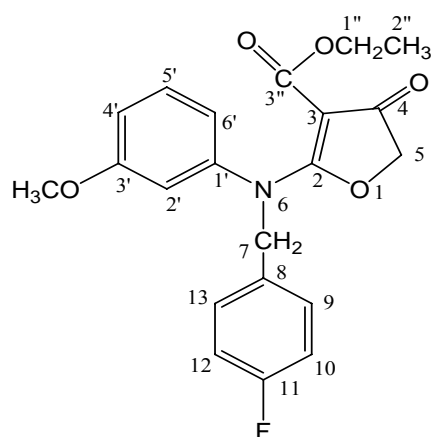
取化合物 **1** 懸著於 DMF 中，加入無水 K₂CO₃ 及 KI 攪拌之，接著加入 Substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **11-26**。其合成過程如 Scheme 4 所示。

Scheme 4



編號	化合物代號	R ₁	R ₂	R ₃
11	HAJ01001	H	H	H
12	HAJ01002	CH ₃	H	H
13	HAJ01003	H	CH ₃	H
14	HAJ01004	H	H	CH ₃
15	HAJ01005	Cl	H	H
16	HAJ01006	H	Cl	H
17	HAJ01007	H	H	Cl
18	HAJ01008	F	H	H
19	HAJ01009	H	F	H
20	HAJ01010	H	H	F
21	HAJ01011	NO ₂	H	H
22	HAJ01012	H	NO ₂	H
23	HAJ01013	H	H	NO ₂
24	HAJ01014	OCH ₃	H	H
25	HAJ01015	H	OCH ₃	H
26	HAJ01016	H	H	OCH ₃

※ 在此僅以化合物 **20** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式： $C_{21}H_{20}FNO_5$

分子量：385.39

- 1、化合物 **20** 的熔點為 $110^{\circ}C$ 。
- 2、質譜 (MS) 之分子離子峰 (M^+) 為 384.7 (M^+) (圖 2-6)。符合結構分子式之分子量。
- 3、IR 光譜； 1732.08 cm^{-1} 及 1664.57 cm^{-1} 顯示 2 個 carbonyl，分別為 ester carbonyl 及 furan ring 上的 carbonyl 吸收。(圖 2-7)
- 4、UV 光譜最大吸收在 294.5 nm。
- 5、NMR 圖譜：

A、 1H -NMR 圖譜：(圖 2-8)

- a. 由其積分值顯示此化合物有 20 個氫。
- b. 乙酯上之乙基之訊號基： $\delta 0.982$ (3H, t, 2'')、 $\delta 3.699$ (2H, q, H-1'')，其中 H-1'' 之化學位移，在化合物 **1** 為 $\delta 4.27$ ，而在化合物 **20** 變為 $\delta 3.699$ ，應為受 N 上接上 benzyl group 後之影響。
- c. C-3' 上之甲氧基 $\delta 3.706$ (3H, s, 3'-OCH₃)
- d. furan ring C-5 號碳上之 methylene 氫訊號： $\delta 4.62$ (2H, s, H-5)
- e. benzyl 之 methylene 氫訊號： $\delta 5.043$ (2H, s, H-7)，比對其反應原料化合物 **1** 之氫譜，此訊號為新增，化合物 **1** 之氮上氫訊號消失，且產物化合物 **20** 之 IR 羰基皆未消失，故確認 benzyl group 為接在氮上。此訊號為本論文所有合成化合物，有此類氮上接上 benzyl group 之共有訊號。
- f. 芳香環上之氫應有 8 個：實際氫譜圖剩下之氫數也為 8 個。其中 H-2'，H-4'，H-5'，H-6' 之化學位移，在化合物 **1** 轉變為化合物 **20** 後，其化學位移也都有往高磁場移動，應為受 N 上接上 benzyl group 後之影響。

B、 ^{13}C -NMR 圖譜：(圖 2-9) 由碳譜顯示有，化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 21 個碳原子應有 19 支訊號(C-9、C13 對稱，C-10、C12 對稱)：實際碳譜有 22 支訊號，因 C-F 會發生偶合，造成 F 附近之 C peak 會分裂成 2 支，依結構推算 C-11 之偶合常數最大，C-10、C12 次之，C-9、C13 再次之，C-8 最小。依此觀察 C-11 之 peak： $\delta 159.728$ 及 $\delta 164.643$ ，C-10、C12 之 peak： $\delta 115.257$ 及 $\delta 115.686$ ，C-9、C13 之 peak： $\delta 129.41$ 及 $\delta 129.573$ ，C-8 之 peak 分裂微小

可見，但圖譜位辨別出： δ 130.916。故 22 支訊號扣除 3 支偶合分裂之 peak，剩 19 支 peak，符合結構預測。

- (2) 乙酯上之乙基 δ : 13.776 (C-2''), 60.153 (C-1'')
- (3) 3' 碳上之甲氧基 δ 55.183 (3'-OCH₃)
- (4) furan ring 之 methylene 碳訊號： δ 74.081 (C-5)
- (5) 2 個 carbonyl 碳，分別為 ester carbonyl δ 176.407(C-3'')及 furan ring 上酮基 δ 191.65 (C-4)。
- (6) benzyl 之 methylene 碳訊號： δ 54.972 (C-7)。
- (7) furan ring 第 3 號碳應為 4 級碳，受 2 個 carbonyl group 影響，會出現在相對高磁場 δ 91.536 (C-3)。
- (8) 其他 4 級碳訊號推測： δ 130.916 (C-8)、 δ 142.602 (C-1')、 δ 160.172 (C-3')、 δ 161.808 (C-2)。
- (9) DEPT 90 及 DEPT 135 (圖 2-10) 圖顯示有 8 個-CH-、3 個-CH₂-、2 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 Ethyl 2-[*N*-*p*-fluorobenzyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**20**)為預期之結構。

圖 2-6、化合物 **20** 之質譜圖

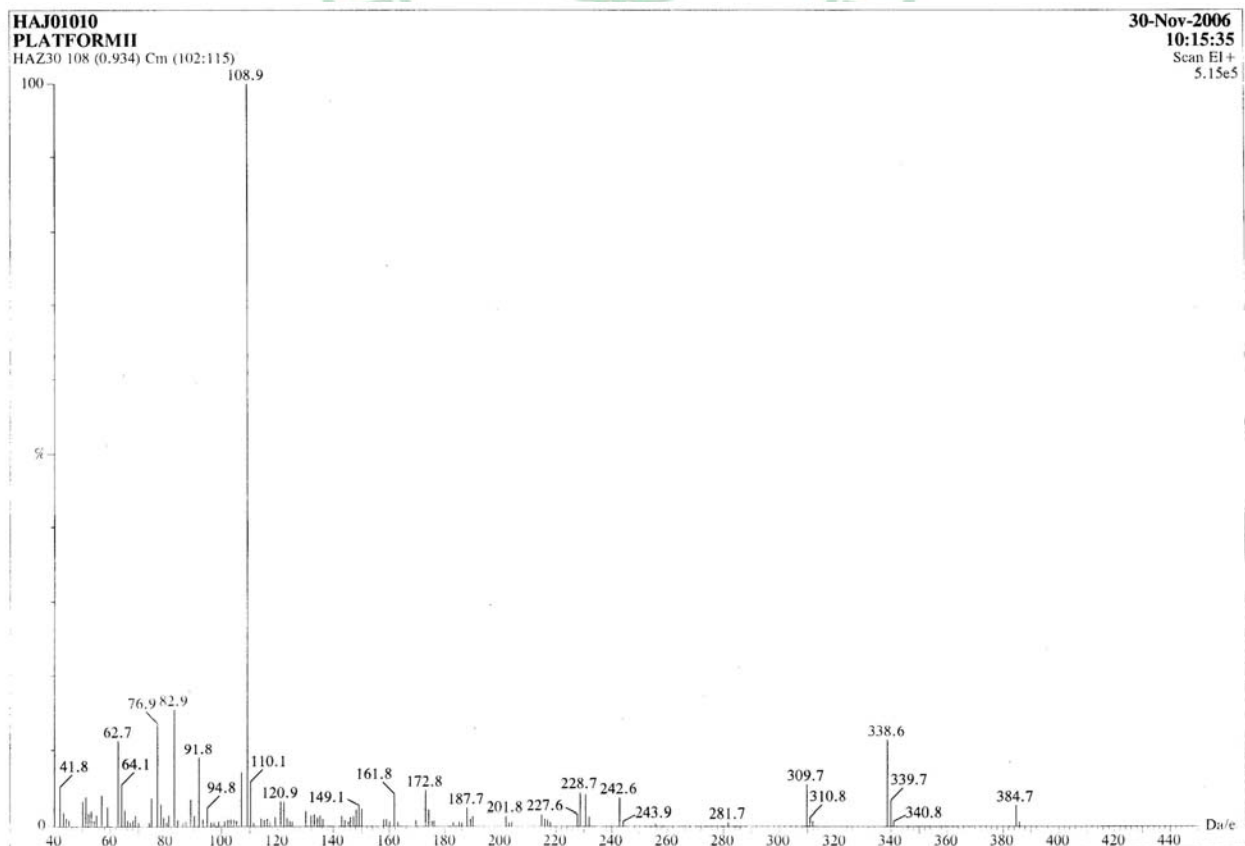


圖 2-7、化合物 20 之紅外光譜圖

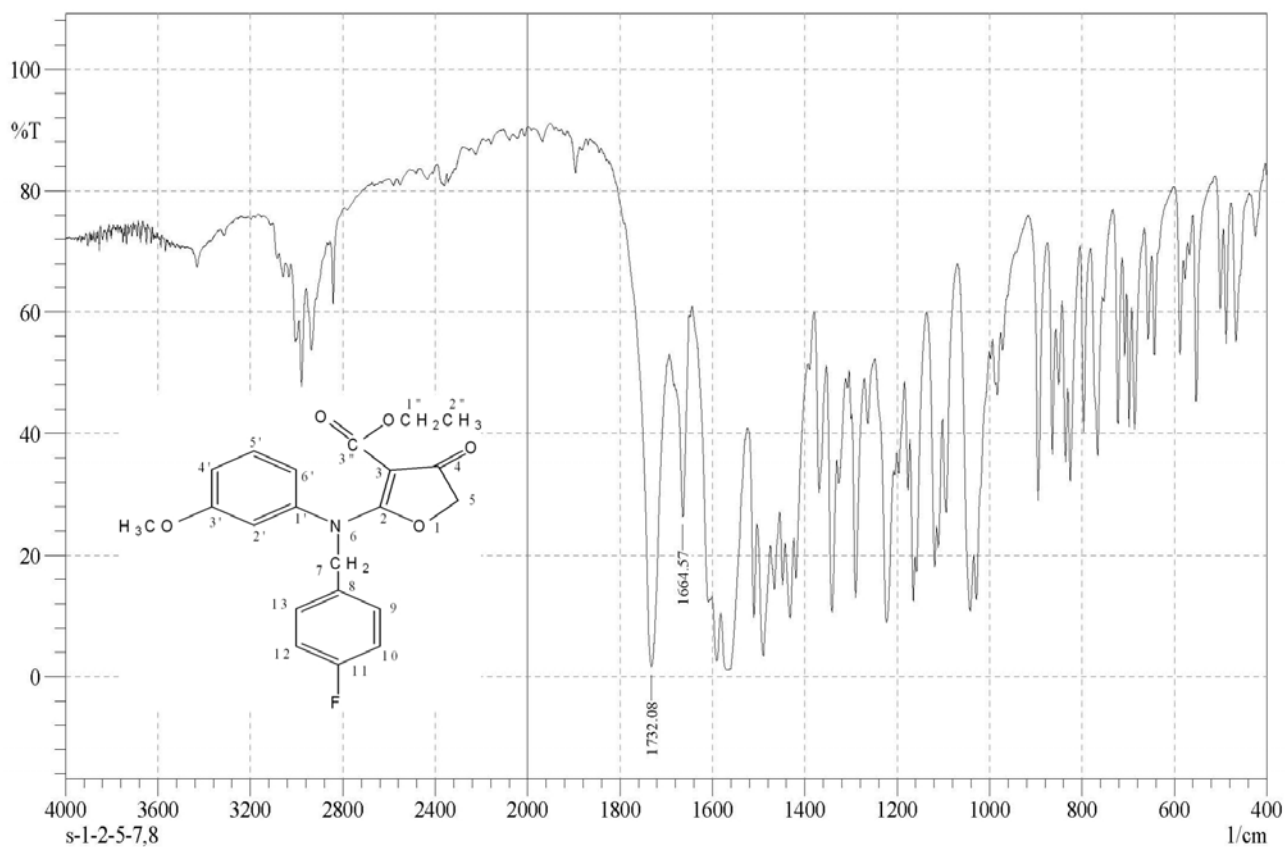


圖 2-8、化合物 20 之氫譜圖

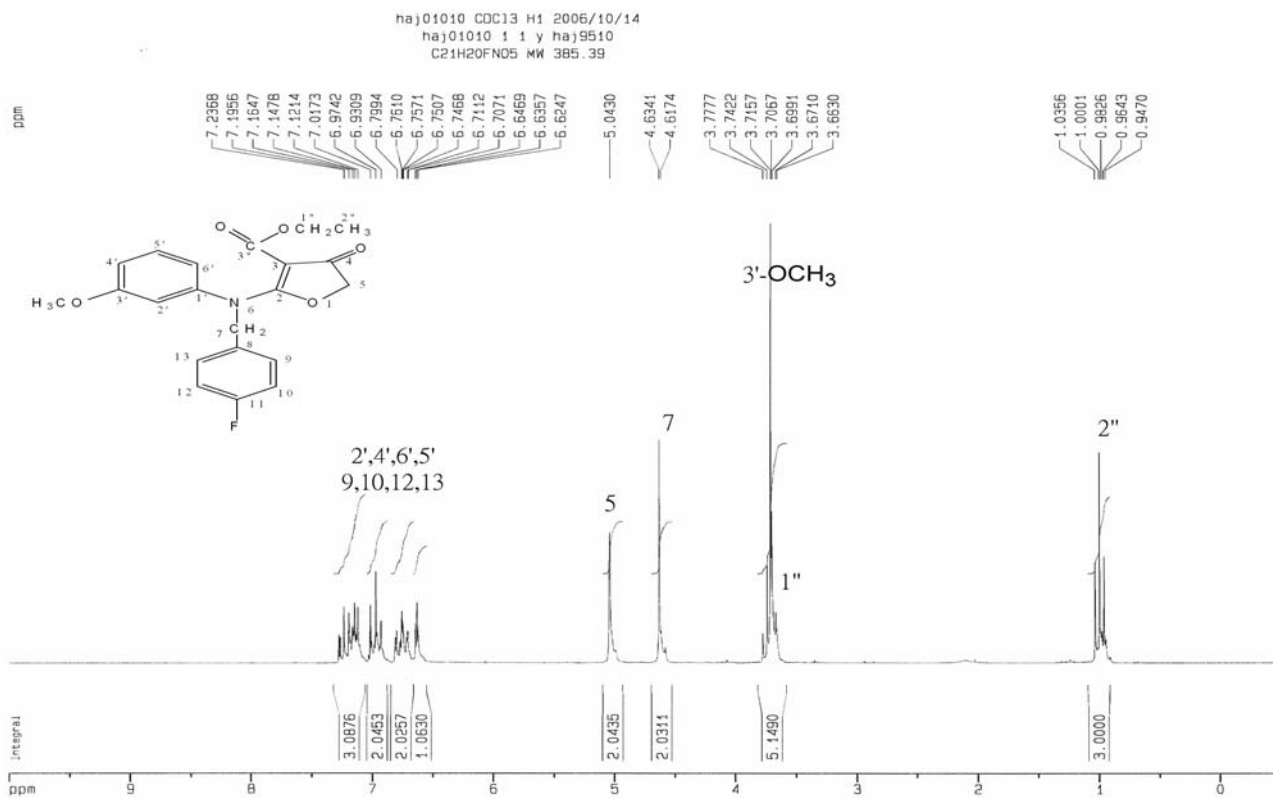


圖 2-9、化合物 20 之碳譜圖

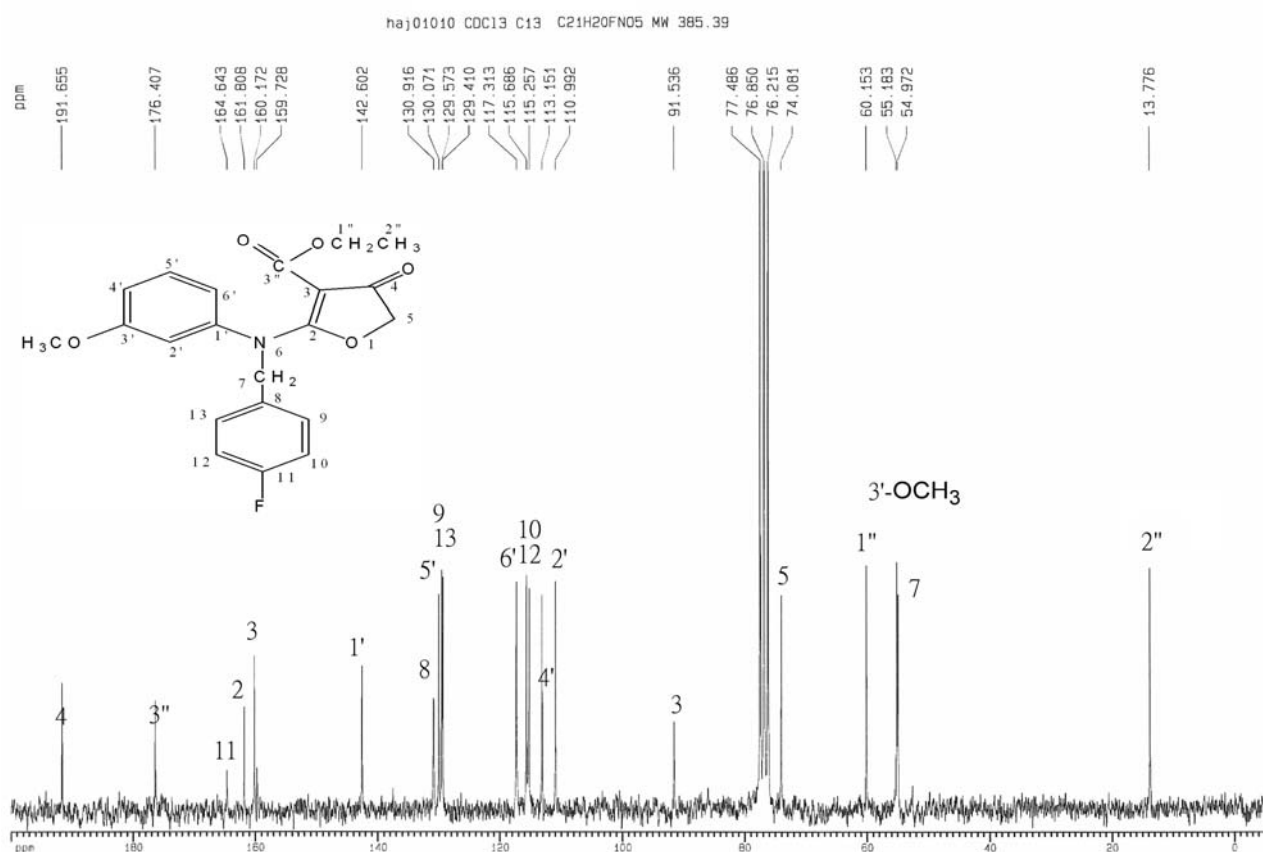
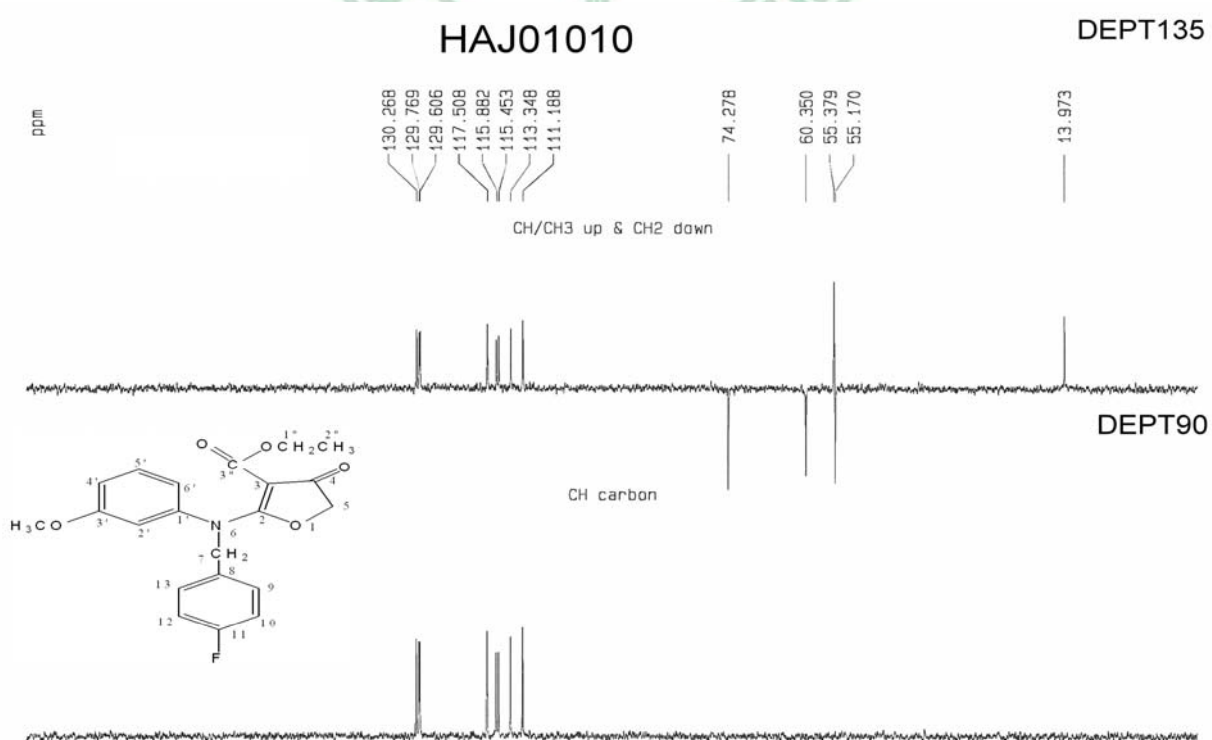


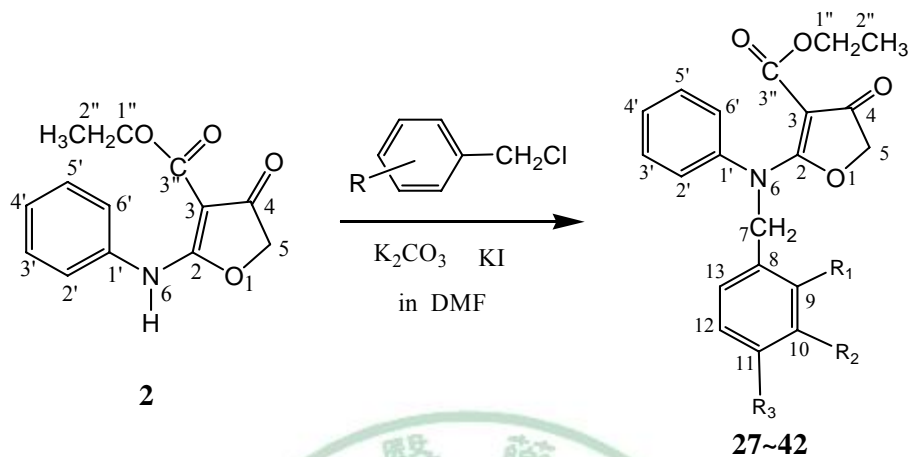
圖 2-10 化合物 20 之 DEPT 90 及 DEPT 135 圖譜



(三) Ethyl 2-[N- various benzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate
(27~42) 之合成

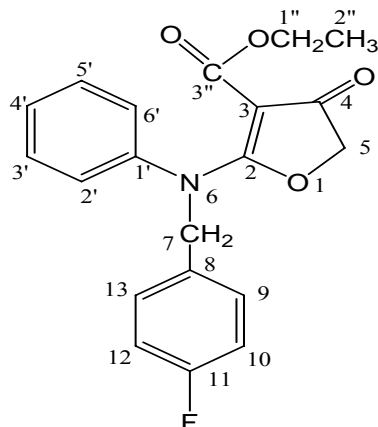
取化合物 **2** 懸著於 DMF 中，加入無水 K₂CO₃ 及 KI 攪拌之，接著加入及 Substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **27-42**。其合成過程如 Scheme 5 所示。

Scheme 5



編號	化合物代號	R ₁	R ₂	R ₃
27	HAJ02001	H	H	H
28	HAJ02002	CH ₃	H	H
29	HAJ02003	H	CH ₃	H
30	HAJ02004	H	H	CH ₃
31	HAJ02005	Cl	H	H
32	HAJ02006	H	Cl	H
33	HAJ02007	H	H	Cl
34	HAJ02008	F	H	H
35	HAJ02009	H	F	H
36	HAJ02010	H	H	F
37	HAJ02011	NO ₂	H	H
38	HAJ02012	H	NO ₂	H
39	HAJ02013	H	H	NO ₂
40	HAJ02014	OCH ₃	H	H
41	HAJ02015	H	OCH ₃	H
42	HAJ02016	H	H	OCH ₃

※ 在此僅以化合物 **36** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式：C₂₀H₁₈FNO₄

分子量：355.36

- 1、化合物 **36** 的熔點為 107°C。UV 光譜最大吸收在 293 nm。
- 2、質譜 (MS) 之分子離子峰 (M^+) 為 355.9 (M^+) (圖 2-11)。
- 3、IR 光譜 1720.5 cm^{-1} 及 1651.07 cm^{-1} 顯示 2 個 carbonyl, 分別為 ester carbonyl 及 furan ring 上的 carbonyl 吸收。(圖 2-12)
- 4、NMR 圖譜：

A、 ^1H -NMR 圖譜：(圖 2-13)

- a. 由其積分值顯示此化合物有 20 個氫。
- b. 乙酯上之乙基之訊號基： $\delta 0.955$ (3H, *t*, 2'')、 $\delta 3.65$ (2H, *q*, H-1'')。
- c. furan ring C-5 號碳上之 methylene 氫訊號： $\delta 4.606$ (2H, *s*, H-5)
- d. benzyl 之 methylene 氫訊號： $\delta 5.043$ (2H, *s*, H-7)，比對其反應原料化合物 1 之氫譜，此訊號為新增，化合物 2 之氮上氫訊號消失，且產物化合物 **36** 之 IR 羰基皆未消失，故確認 benzyl group 為接在氮上。
- e. 芳香環上之氫應有 10 個；實際氫譜圖剩下之氫數也為 10 個。

B、 ^{13}C -NMR 圖譜：(圖 2-14) 由碳譜顯示有，化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 20 個碳原子應有 16 支訊號(因 C-2'、C-6' 對稱，C-3'、C-5' 對稱，C-9、C-13 對稱，C-10、C-12 對稱)；實際碳譜有 19 支訊號，因 C-F 會發生偶合，造成 F 附近之 C peak 會分裂成 2 支，依結構推算 C-11 之偶合常數最大，C-10、C-12 次之，C-9、C-13 再次之，C-8 最小。依此觀察 C-11 之 peak： $\delta 160$ 及 $\delta 165$ ，C-10、C-12 之 peak： $\delta 115.236$ 及 $\delta 115.666$ ，C-9、C-13 之 peak： $\delta 129.435$ 及 $\delta 129.60$ ，C-8 之 peak 分裂微小圖譜位辨別不出： $\delta 130.807$ 。故 19 支訊號扣除 3 支偶合分裂之 peak，剩 16 支 peak，符合結構預測。
- (2) 乙酯上之乙基 δ : 13.812 (C-2''), 60.042 (C-1'')
- (3) 2 個 carbonyl 碳，分別為 ester carbonyl $\delta 176.585$ (C-3'')及 furan ring 上酮基 $\delta 191.620$ (C-4)。
- (4) Furan ring 上 methylene 碳訊號： $\delta 74.081$ (C-5)。
- (5) benzyl 之 methylene 碳訊號： $\delta 54.972$ (C-7)。
- (6) furan ring 3 號碳： $\delta 91.536$ (C-3)。
- (7) 其他 4 級碳訊號推測： $\delta 130.807$ (C-8)、 $\delta 142.512$ (C-1')、 $\delta 161.685$ (C-2)。
- (8) DEPT 135 (圖 2-15) 圖顯示有 9 個-CH-、3 個-CH₂-、1 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 Ethyl 2-[*N*-*p*-fluorobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**36**) 為預期之結構。

圖 2-11、化合物 36 之質譜圖

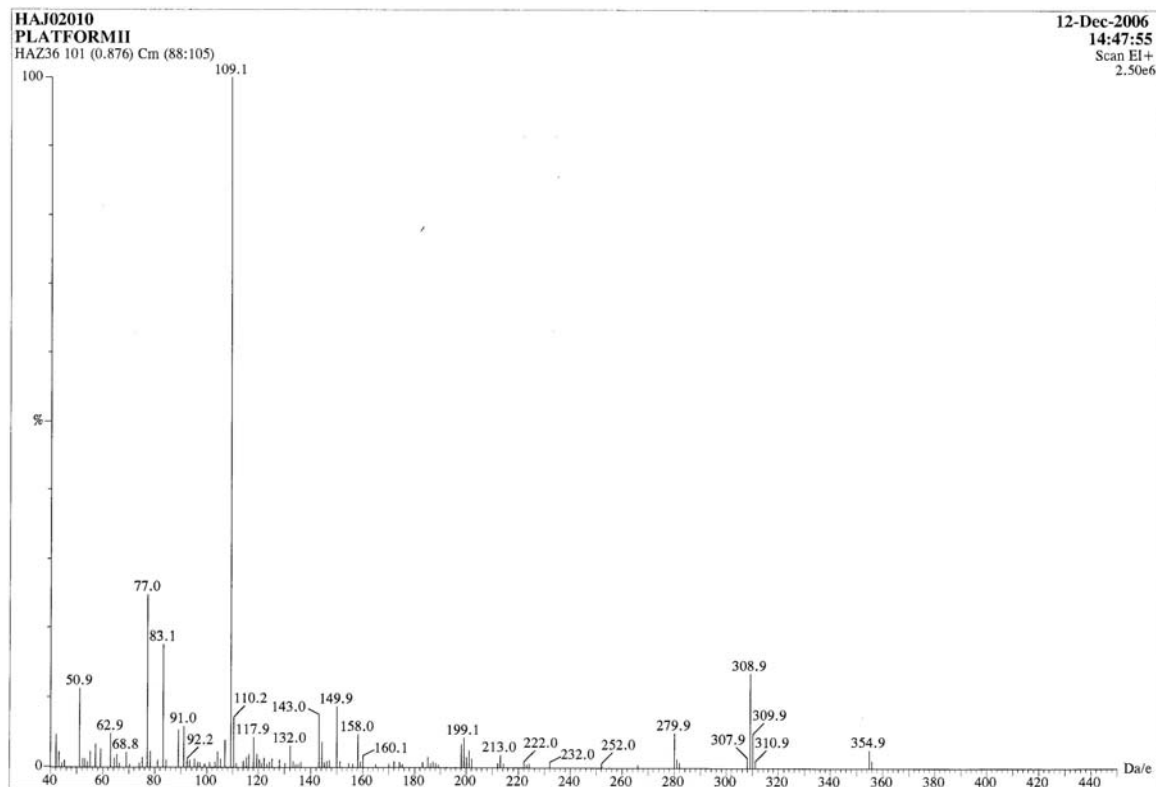


圖 2-12、化合物 36 之紅外光譜圖

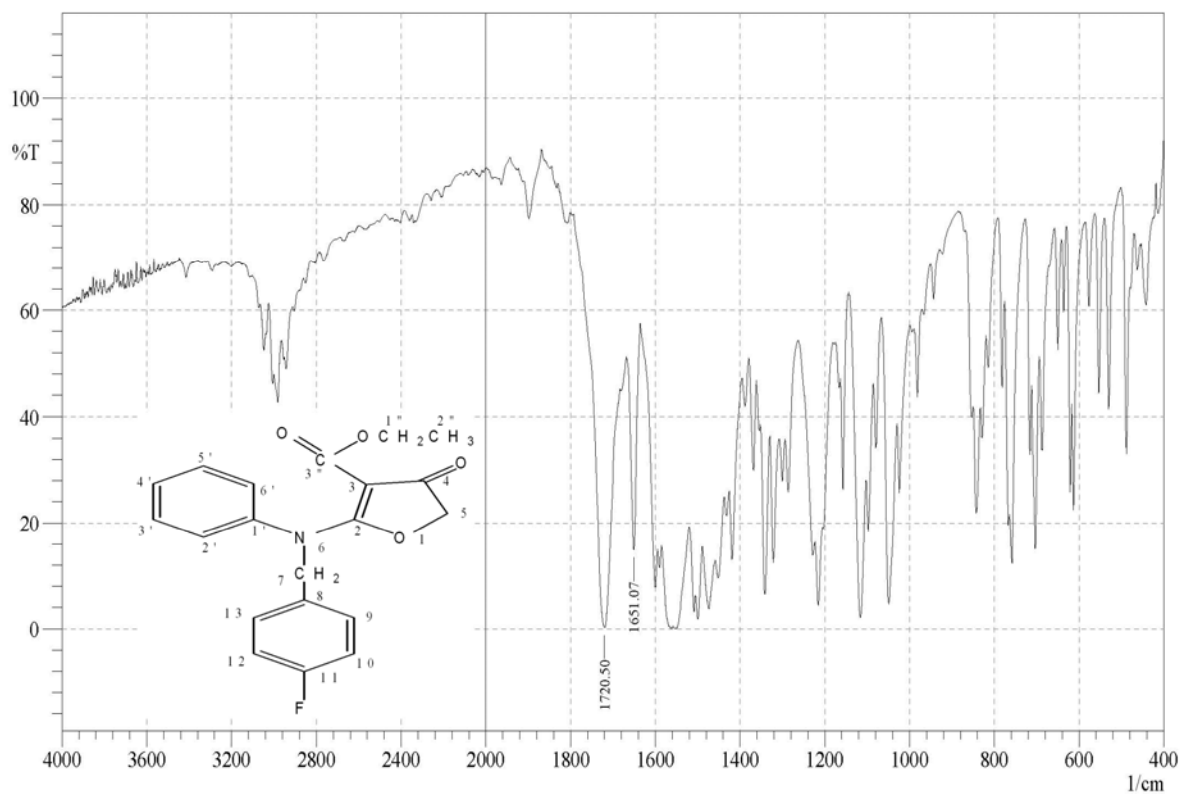


圖 2-13、化合物 36 之氫譜圖

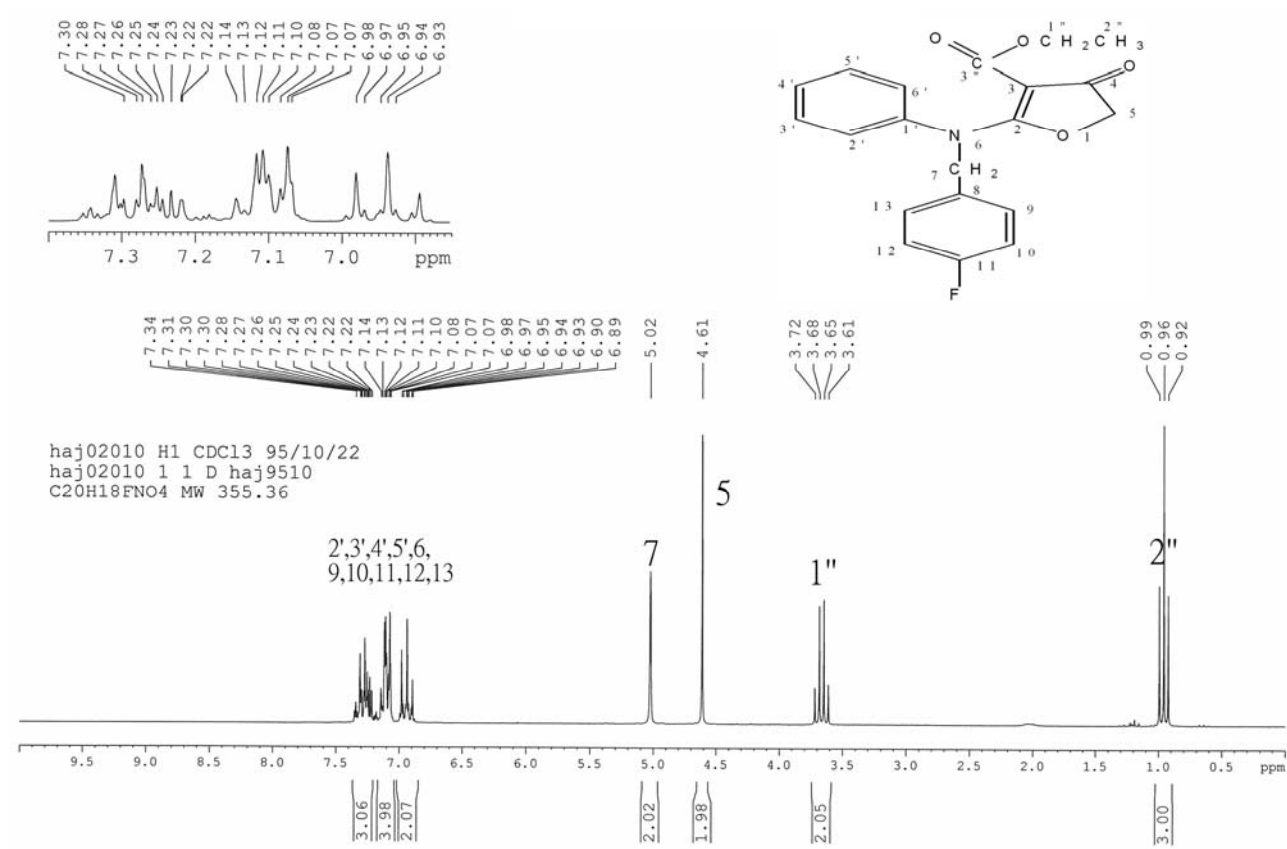


圖 2-14、化合物 36 之碳譜圖

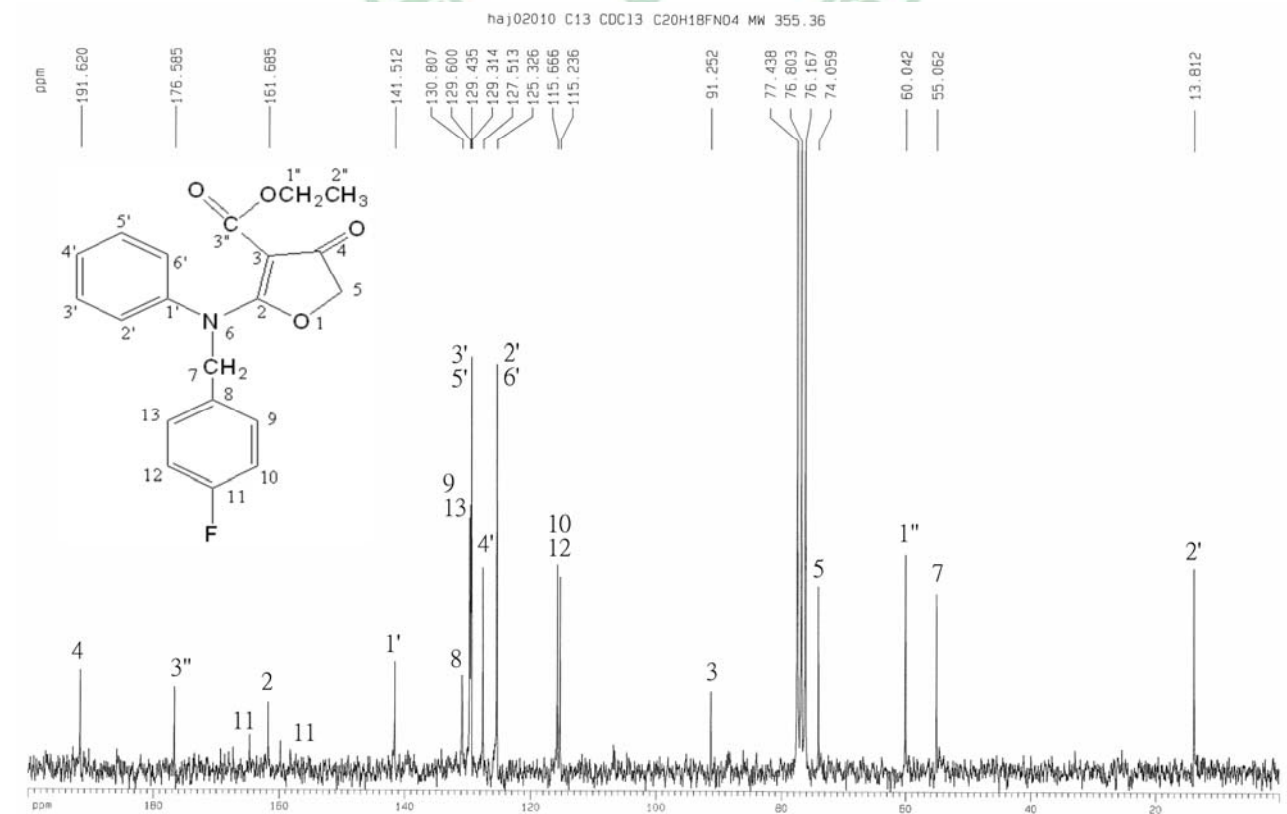
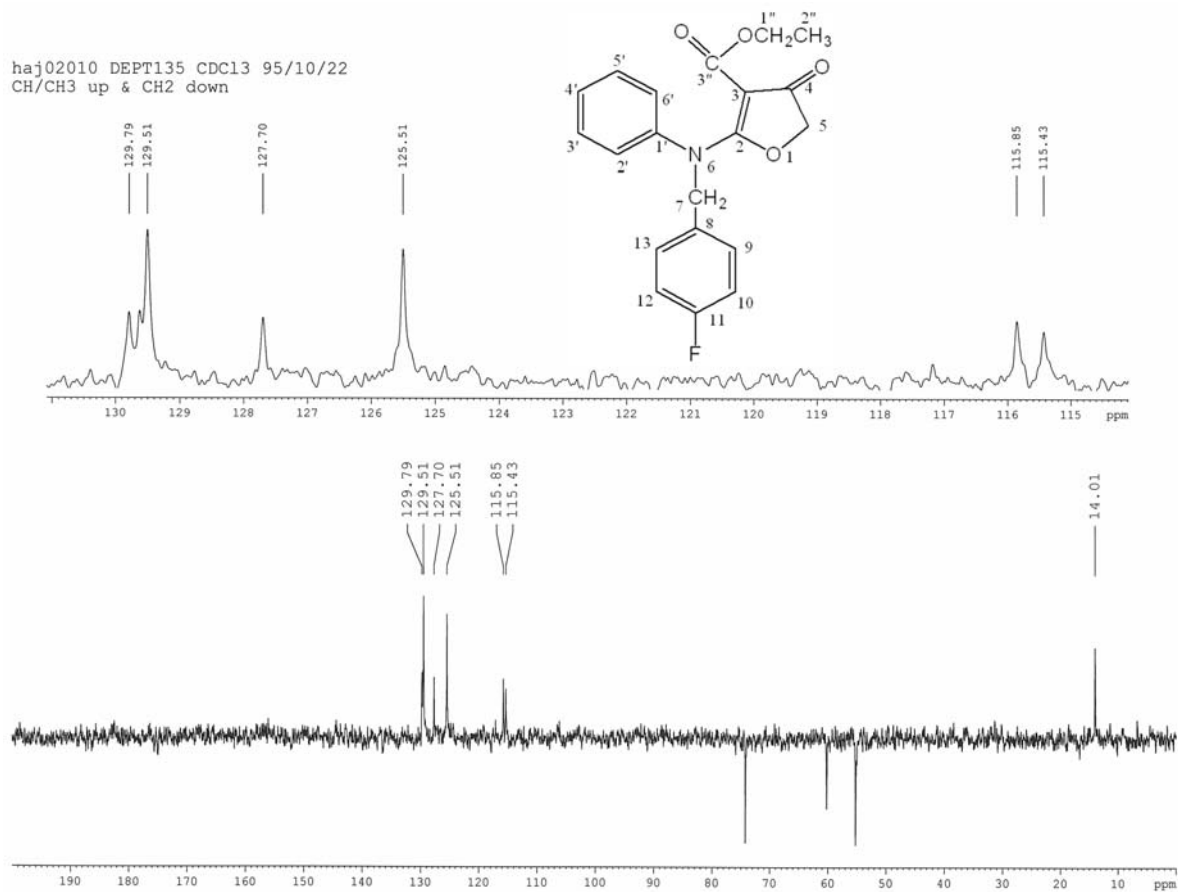


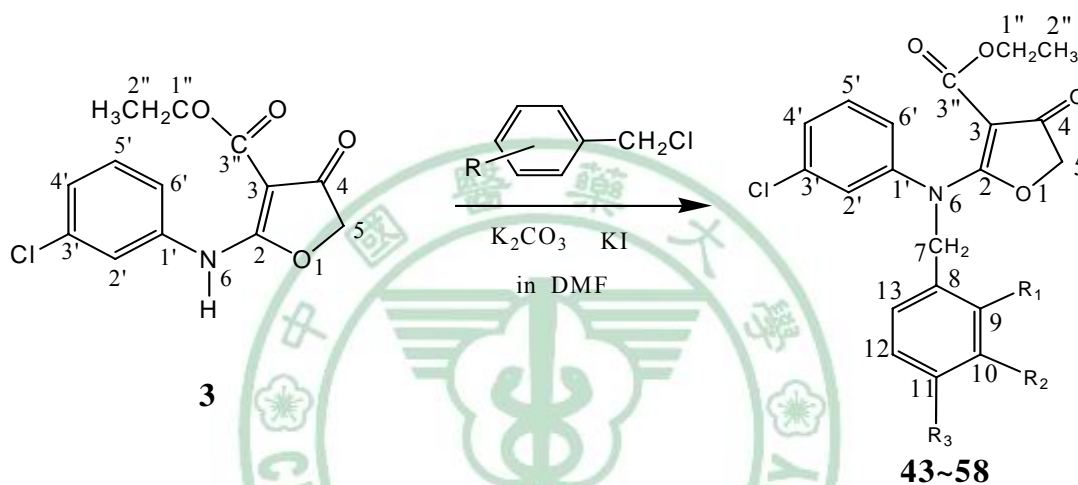
圖 2-15 化合物 36 之 DEPT 135 圖譜



(四) Ethyl 2-[N-various benzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (43~58) 及 Ethyl 2-[N-methyl-3'-chloroanilino]-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (59)之合成

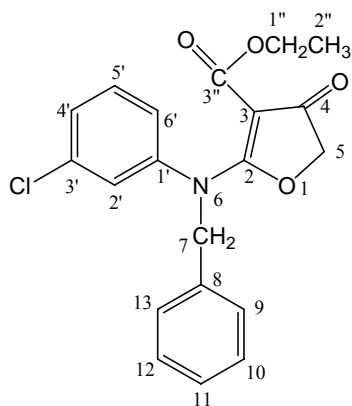
取化合物 **3** 懸著於 DMF 中，加入無水 K_2CO_3 及 KI 攪拌之，接著加入及 Substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **43-58**。化合物 **59** 合成法比照之，但以 Methyl iodide 取代化合物 43-58 合成法中之 Substituted benzyl chloride，即可得化合物 **59**。其合成過程如 Scheme 6 所示。

Scheme 6



編號	化合物代號	R ₁	R ₂	R ₃
43	HAJ03001	H	H	H
44	HAJ03002	CH ₃	H	H
45	HAJ03003	H	CH ₃	H
46	HAJ03004	H	H	CH ₃
47	HAJ03005	Cl	H	H
48	HAJ03006	H	Cl	H
49	HAJ03007	H	H	Cl
50	HAJ03008	F	H	H
51	HAJ03009	H	F	H
52	HAJ03010	H	H	F
53	HAJ03011	NO ₂	H	H
54	HAJ03012	H	NO ₂	H
55	HAJ03013	H	H	NO ₂
56	HAJ03014	OCH ₃	H	H
57	HAJ03015	H	OCH ₃	H
58	HAJ03016	H	H	OCH ₃
59	HAJ03021	6 號 N 上只接上 CH ₃ 基團		

※ 在此僅以化合物 **43** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式： $C_{20}H_{18}ClNO_4$

分子量：371.81

- 1、化合物 **43** 的熔點為 $134.4^{\circ}C$ 。UV 光譜最大吸收在 293.5 nm 。
- 2、質譜 (MS) 之分子離子峰 (M^+) 為 $371 (M^+)$ (圖 2-16)。
- 3、IR 光譜： 1710.86 cm^{-1} 及 1680.00 cm^{-1} 顯示 2 個 carbonyl。(圖 2-17)
- 4、NMR 圖譜：

A、 1H -NMR 圖譜：(圖 2-18)

- a. 乙酯上之乙基之訊號基： $\delta 1.02 (3H, t, 2'')$ 、 $\delta 3.76 (2H, q, H-1'')$ 。
- c. furan ring 5 號碳上之 methylene 氫訊號： $\delta 4.61 (2H, s, H-5)$
- d. benzyl 之 methylene 氫訊號： $\delta 5.05 (2H, s, H-7)$ 。
- e. 芳香環上之氫應有 10 個：實際氫譜圖剩下之氫數也為 10 個。

B、 ^{13}C -NMR 圖譜：(圖 2-19) 由碳譜顯示有，化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 20 個碳原子應有 18 支訊號(因 C-9、C-13 對稱，C-10、C-12 對稱)：實際碳譜有 17 支訊號，其中比對反應原料化合物 **3** 之碳譜， $\delta 134.75(C-3')$ 訊號強度增強，再比對化合物 **43** 之 DEPT90 圖譜，知其非由接有 H 之碳原子所貢獻，訊號位於苯環碳吸收區且屬 4 級碳，故判斷為 C-8 所造成。
- (2) 乙酯上之乙基 δ : $13.812 (C-2'')$, $60.22 (C-1'')$
- (3) 2 個 carbonyl 碳： $\delta 176.85(C-3'')$ 及 $191.702 (C-4)$ 。
- (4) furan ring 上 methylene 碳訊號： $\delta 74.159 (C-5)$ 。
- (5) benzyl 之 methylene 碳訊號： $\delta 55.732 (C-7)$ 。
- (6) furan ring 3 號碳： $\delta 91.545 (C-3)$ 。
- (7) 其他 4 級碳訊號推測： $\delta 134.75 (C-8)$ 、 $\delta 142.072 (C-1')$ 、 $\delta 161.519 (C-2)$ 。
- (8) DEPT 135 (圖 2-20) 圖顯示有 9 個 -CH。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 Ethyl 2-[N-benzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro-furan-3-carboxylate (**43**) 為預期之結構。

圖 2-16、化合物 43 之質譜圖

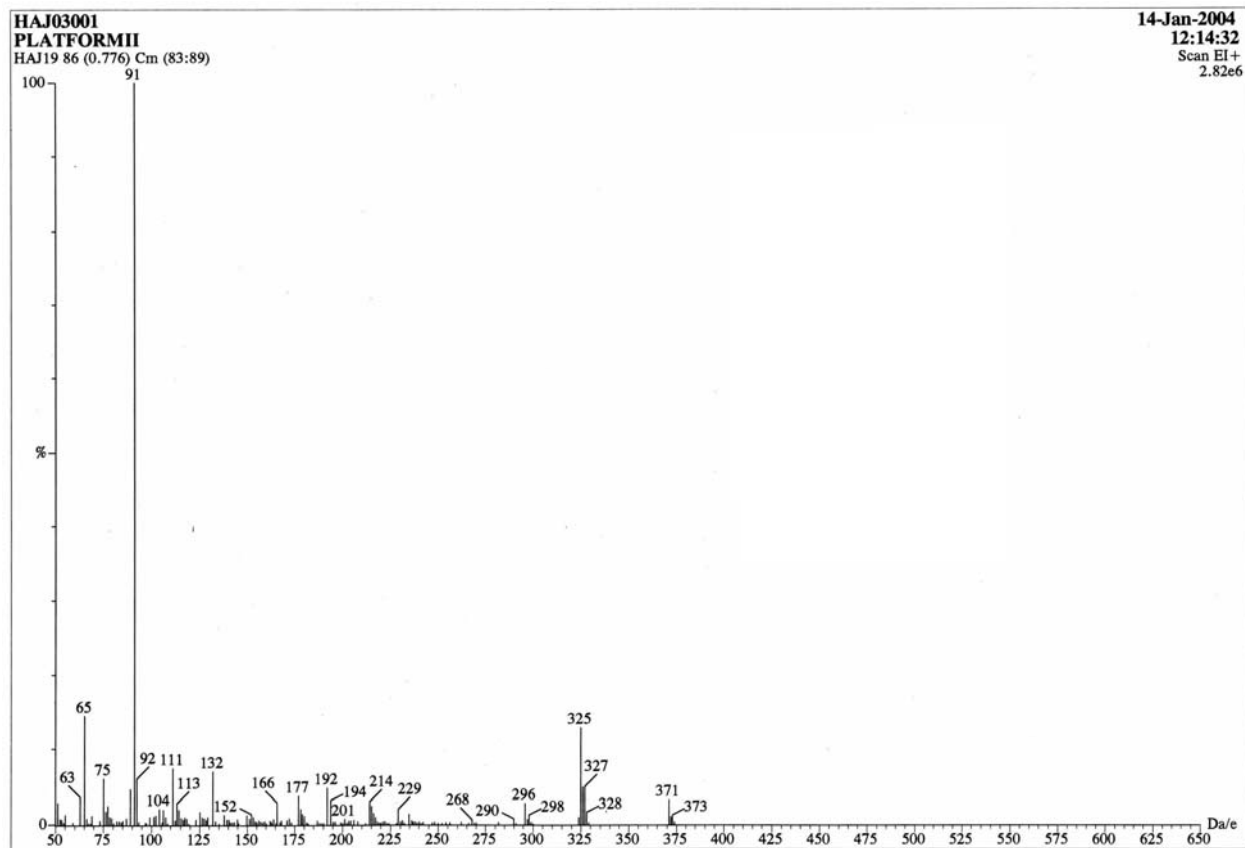


圖 2-17、化合物 43 之紅外光譜圖

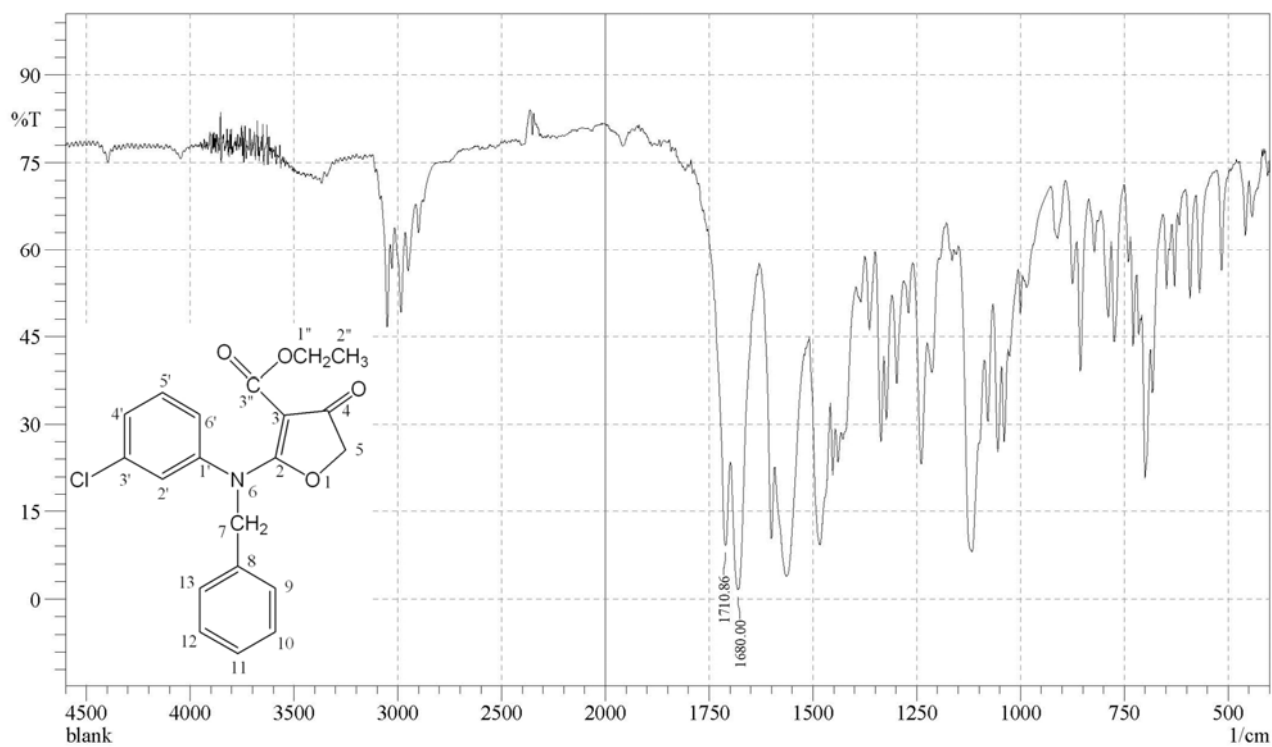


圖 2-18、化合物 43 之氫譜圖

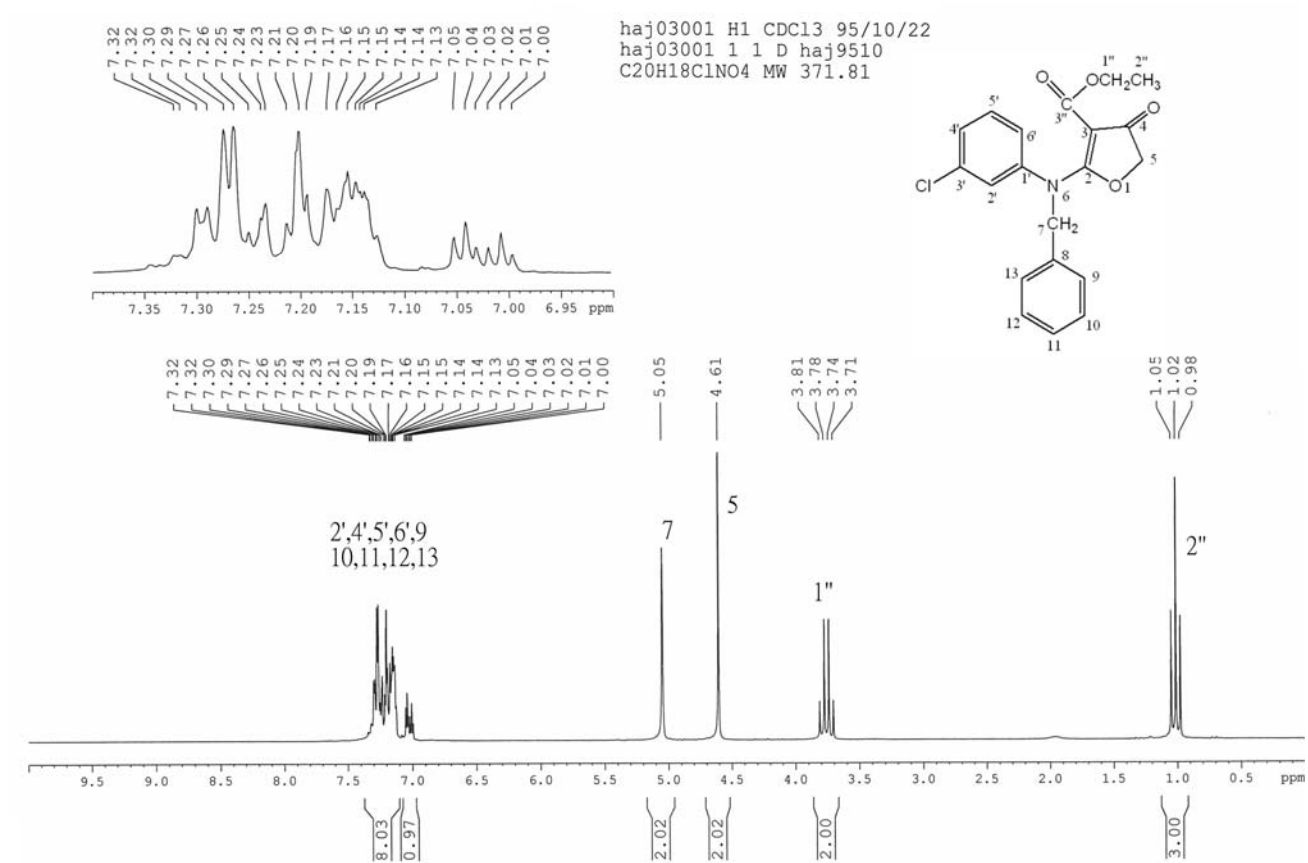


圖 2-19、化合物 43 之碳譜圖

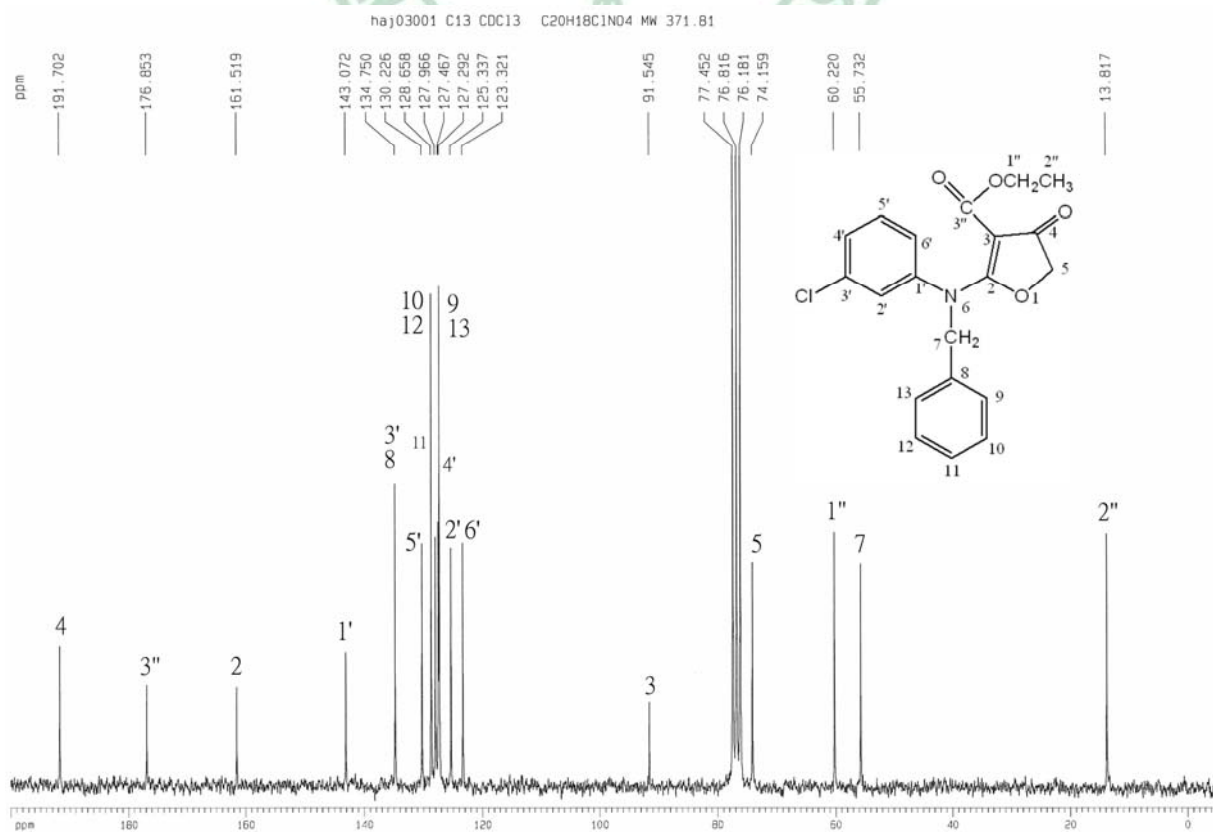
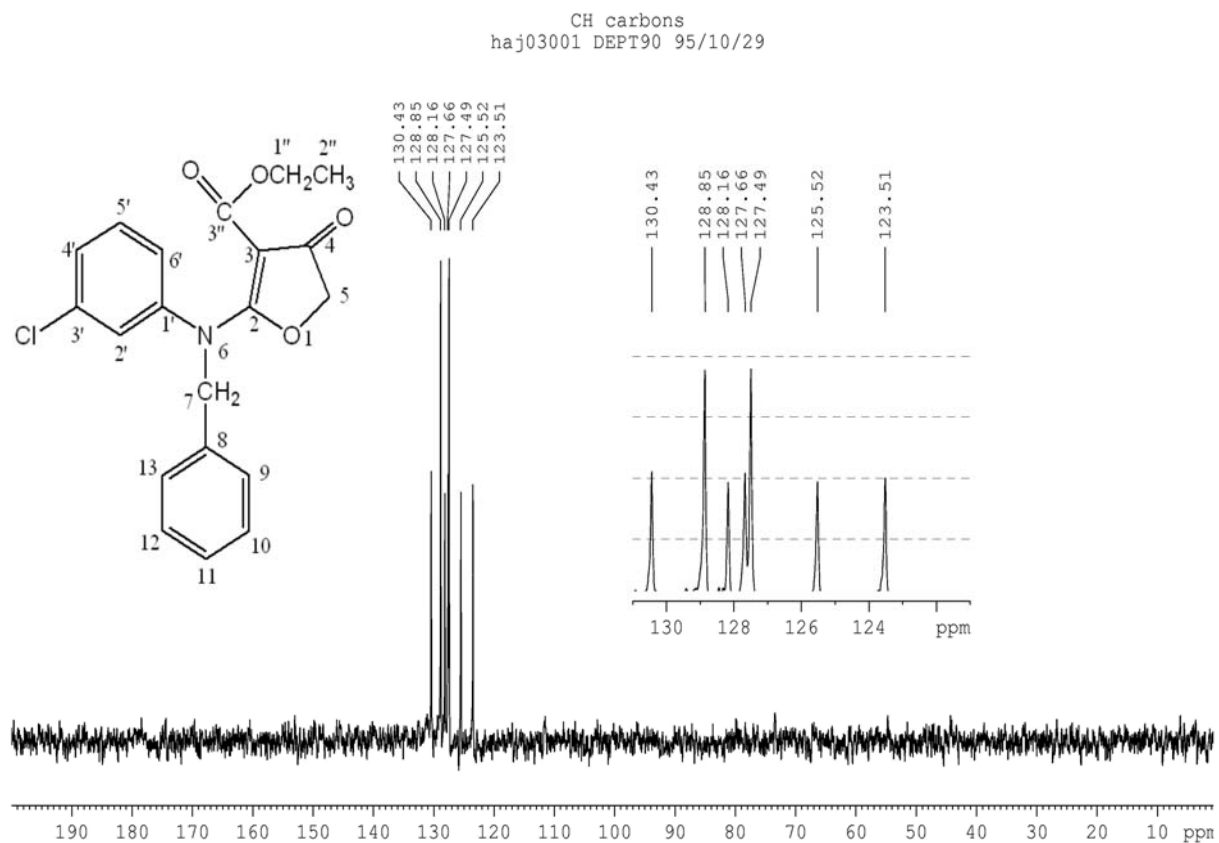


圖 2-20 化合物 43 之 DEPT90 圖譜

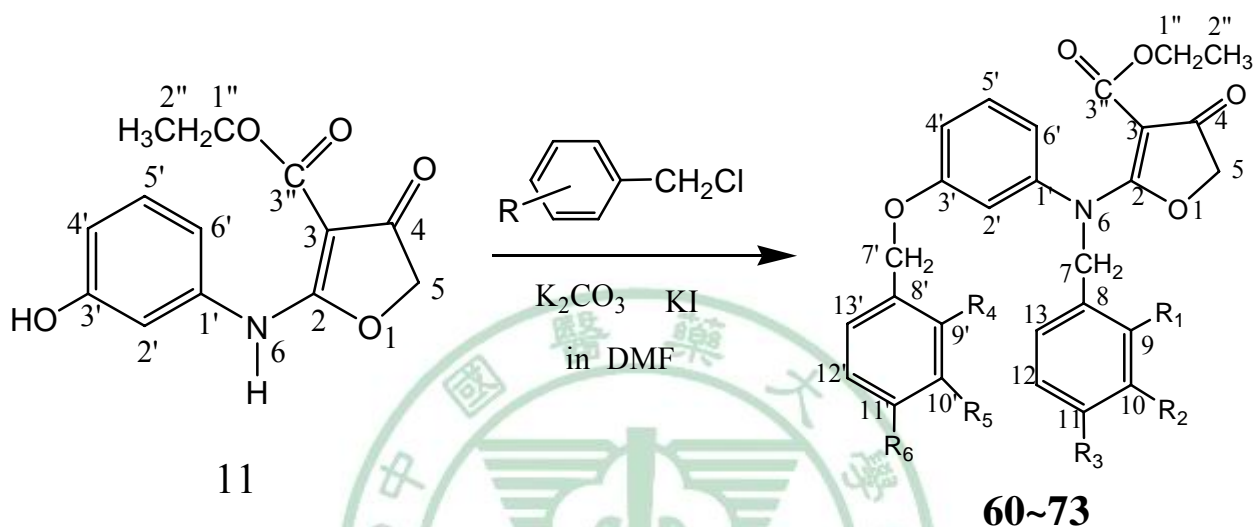


(五) Ethyl 2-[N-various benzyl (3'-substituted benzyloxy)]anilino-4-oxo-

4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (60~73) 之合成

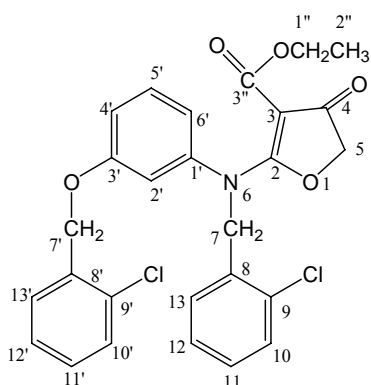
取化合物 **4** 懸著於 DMF 中，加入無水 K_2CO_3 及 KI 攪拌之，接著加入及 2 倍莫耳數之 substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **60-73**。其合成如 Scheme7 所示。

Scheme 7



編號	化合物代號	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
60	HAJ11001	H	H	H	H	H	H
61	HAJ11002	CH ₃	H	H	CH ₃	H	H
62	HAJ11003	H	CH ₃	H	H	CH ₃	H
63	HAJ11004	H	H	CH ₃	H	H	CH ₃
64	HAJ11005	Cl	H	H	Cl	H	H
65	HAJ11006	H	Cl	H	H	Cl	H
66	HAJ11007	H	H	Cl	H	H	Cl
67	HAJ11008	F	H	H	F	H	H
68	HAJ11009	H	F	H	H	F	H
69	HAJ11010	H	H	F	H	H	F
70	HAJ11012	H	NO ₂	H	H	NO ₂	H
71	HAJ11013	H	H	NO ₂	H	H	NO ₂
72	HAJ11014	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	H
73	HAJ11015	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H

※ 在此僅以化合物 **64** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式：C₂₇H₂₃Cl₂NO₅

分子量：512.38

- 1、化合物 **36** 的熔點為 144.5°C。UV 光譜最大吸收在 294.5 nm。
- 2、質譜 (MS) 之分子離子峰 (M⁺) 為 513 (M⁺+1) (圖 2-21)。
- 3、IR 光譜 1717.72 cm⁻¹ 及 1598.99 cm⁻¹ 顯示 2 個 carbonyl, 分別為 ester carbonyl 及 furan ring 上的 carbonyl 吸收。原反應物 4 紅外光圖譜之 OH 吸收 3282.84, 在此已消失, 表 benzyl group 有接到-OH 之氧上。(圖 2-22)
- 4、NMR 圖譜：

A、¹H-NMR 圖譜：(圖 2-23)

- a. 由其積分值顯示此化合物有 23 個氫。
- b. 乙酯上之乙基之訊號基：δ0.99 (3H, t, 2'')、δ3.73 (2H, q, H-1'')。
- c. furan ring C-5 號碳上之 methylene 氫訊號：δ4.57(2H, s, H-5)
- d. N-benzyl 之 methylene 氫訊號：δ5.04 (2H, s, H-7), 另在 δ5.04 (2H, s) 也出現一支 benzyl 之 methylene 吸收, 其應為 O-benzyl 之 methylene 氫訊號, 故確認 benzyl group 為也有接在氧上。
- e. 芳香環上之氫應有 12 個：實際氫譜圖剩下之氫數也為 12 個。

B、¹³C-NMR 圖譜：(圖 2-24) 由碳譜顯示有, 化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 27 個碳原子應有 27 支訊號：實際碳譜有 27 支訊號。
- (2) 乙酯上之乙基 δ: 13.835 (C-2''), 60.142 (C-1'')
- (3) 2 個 carbonyl 碳, 分別為 ester carbonyl δ176.92 (C-3'')及 furan ring 上酮基 δ191.89 (C-4)。
- (4) furan ring 上 methylene 碳訊號：δ74.193 (C-5)。
- (5) N-benzyl 之 methylene 碳訊號：δ53.351 (C-7)。
- (6) O-benzyl 之 methylene 碳訊號：δ67.022 (C-7)。
- (7) furan ring 3 號碳：δ91.94 (C-3)。
- (8) DEPT 135 (圖 2-25) 圖顯示有 12 個-CH-、4 個-CH₂-、1 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析, 化合物 Ethyl 2-[N-(3-chlorobenzyl) (3'-chlorobenzyloxy)]-anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**64**) 為預期之結構。

圖 2-21、化合物 64 之質譜圖

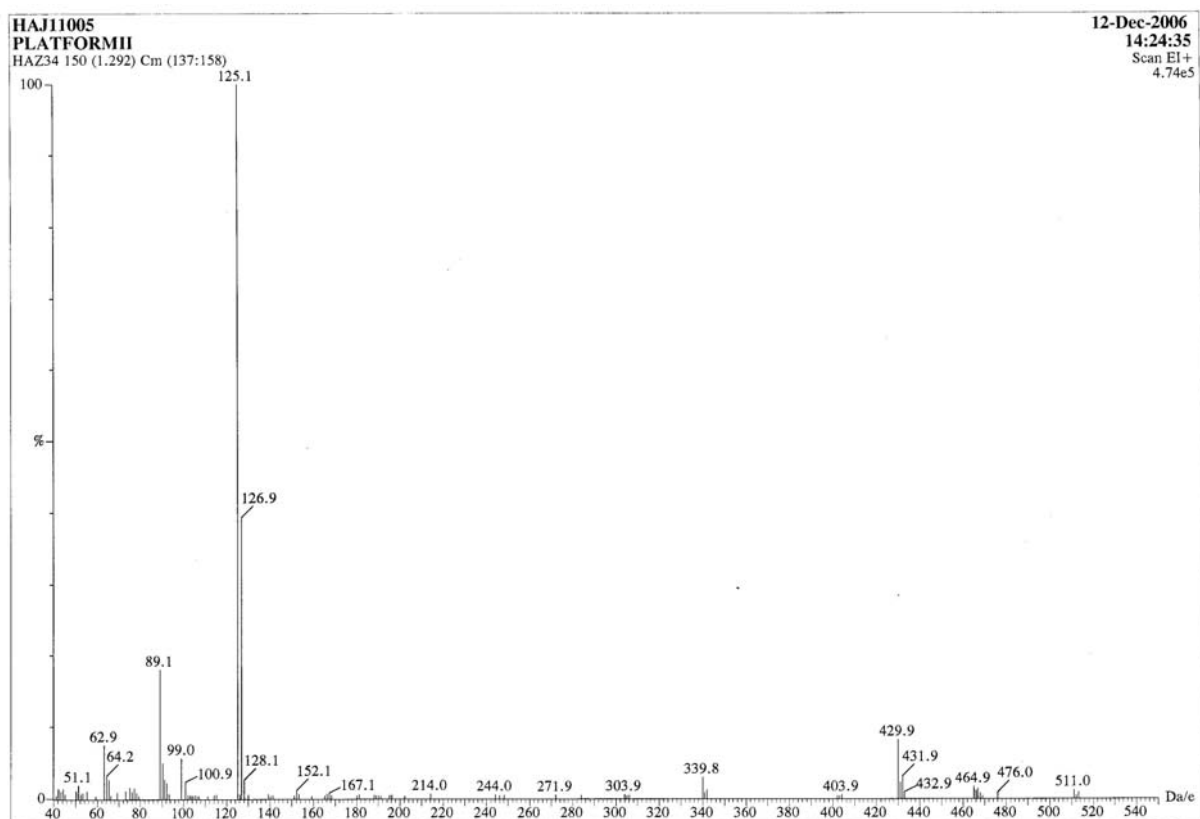


圖 2-22、化合物 64 之紅外光譜圖

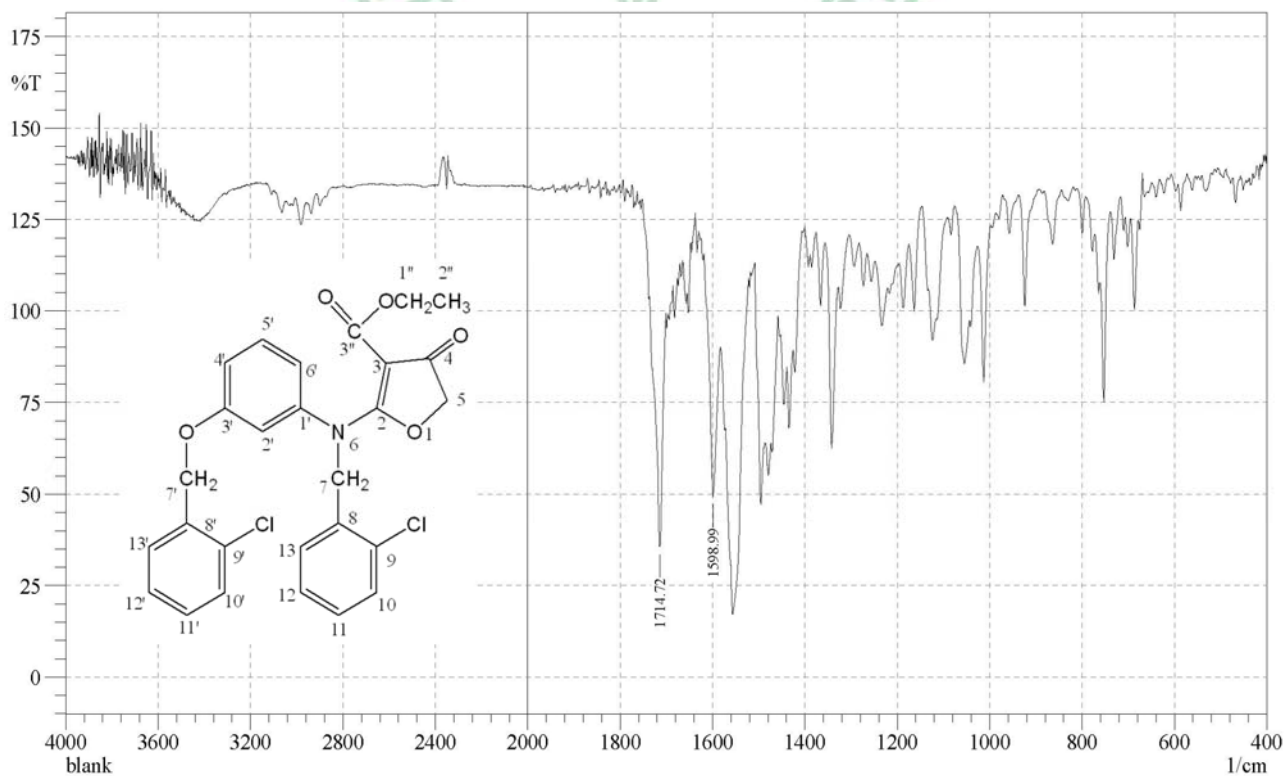


圖 2-23、化合物 64 之氫譜圖

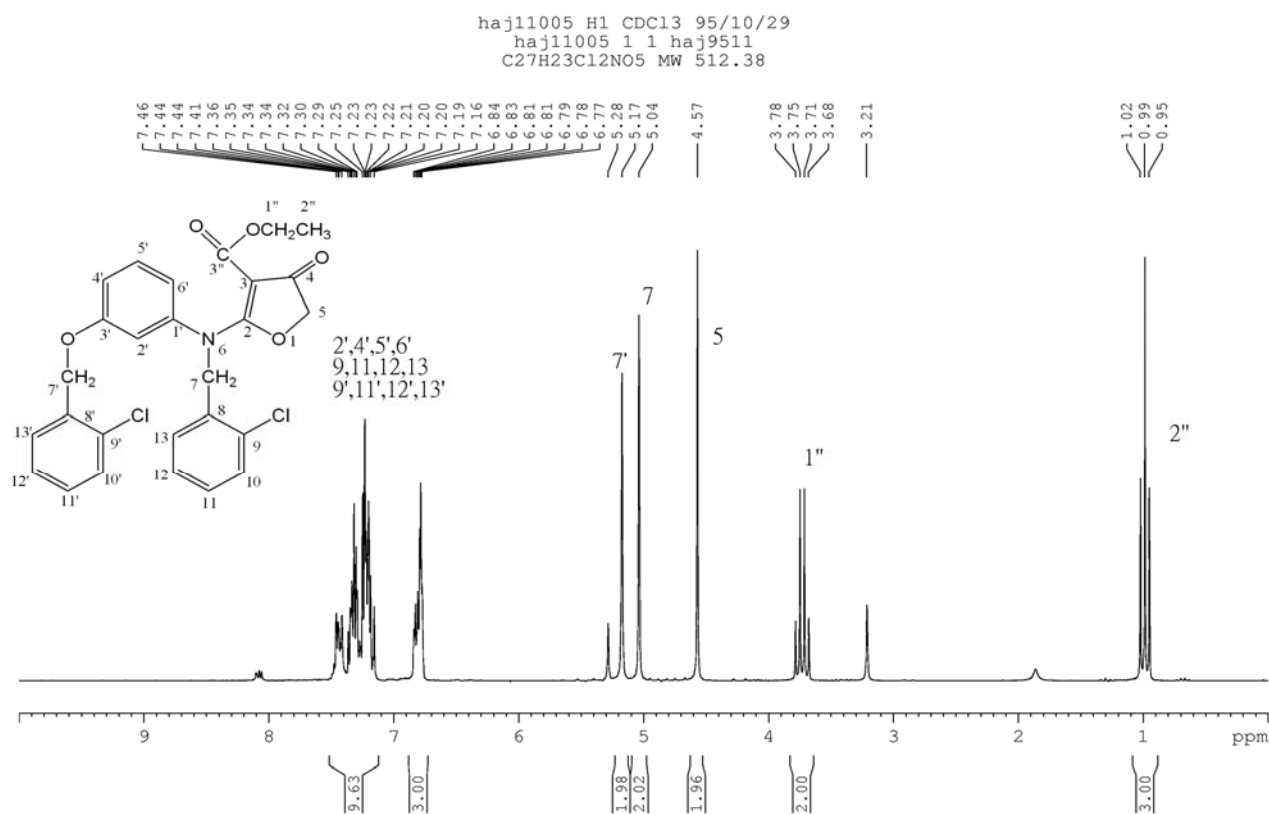


圖 2-24、化合物 64 之碳譜圖

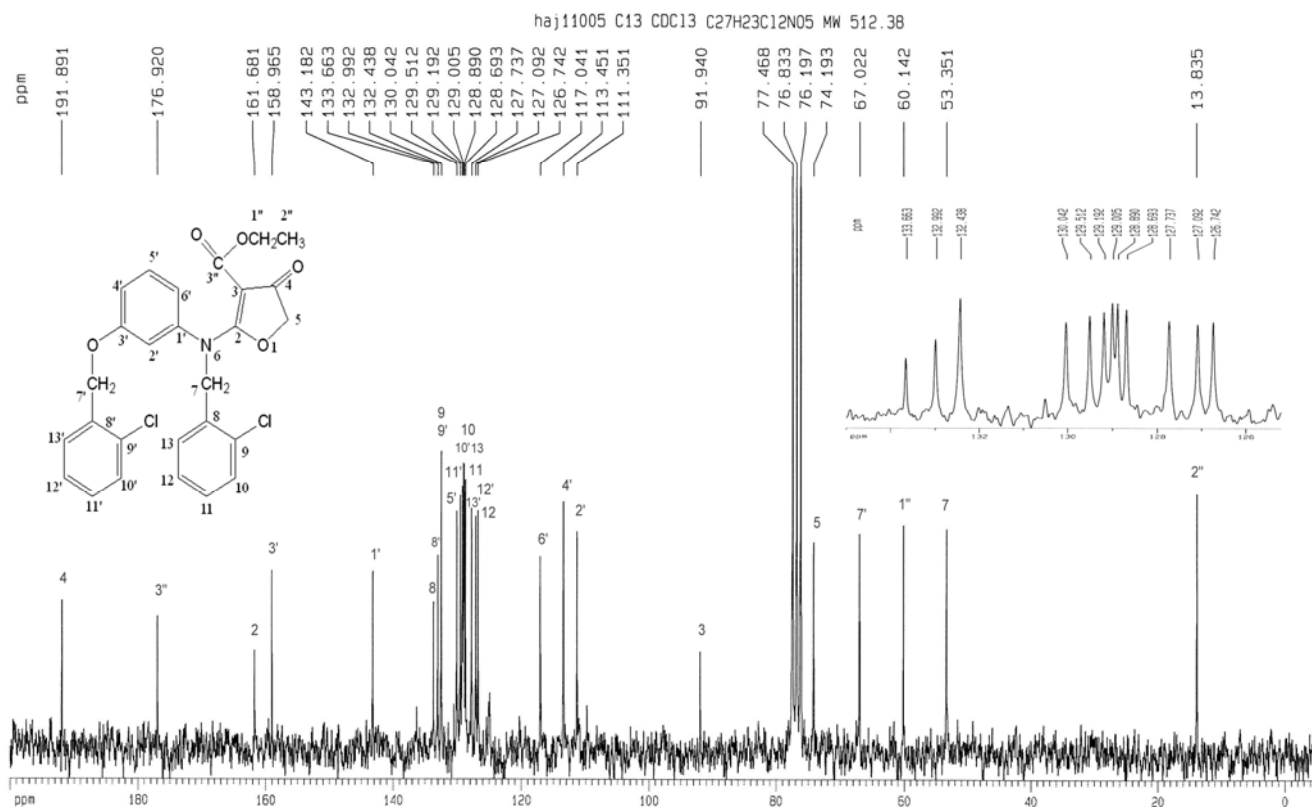
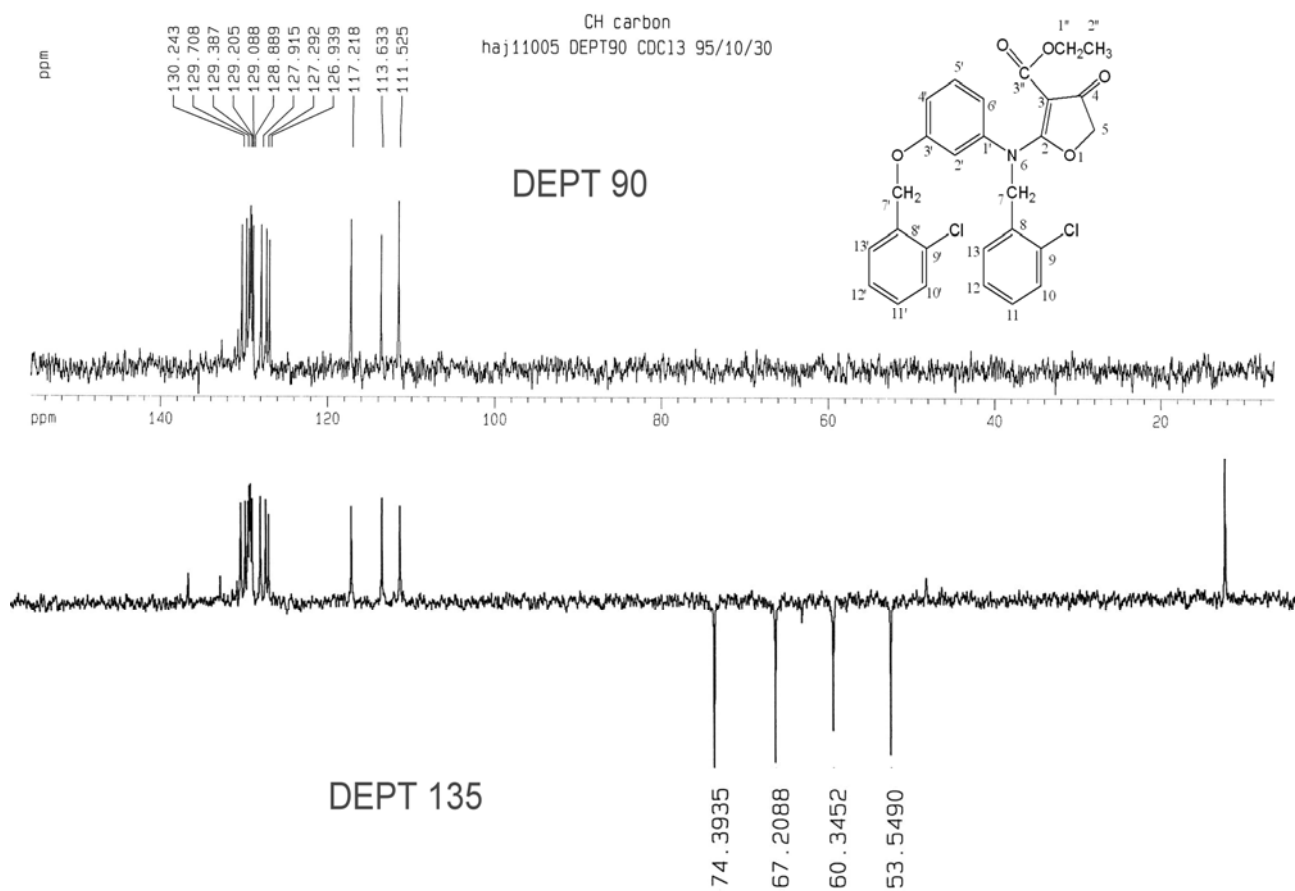


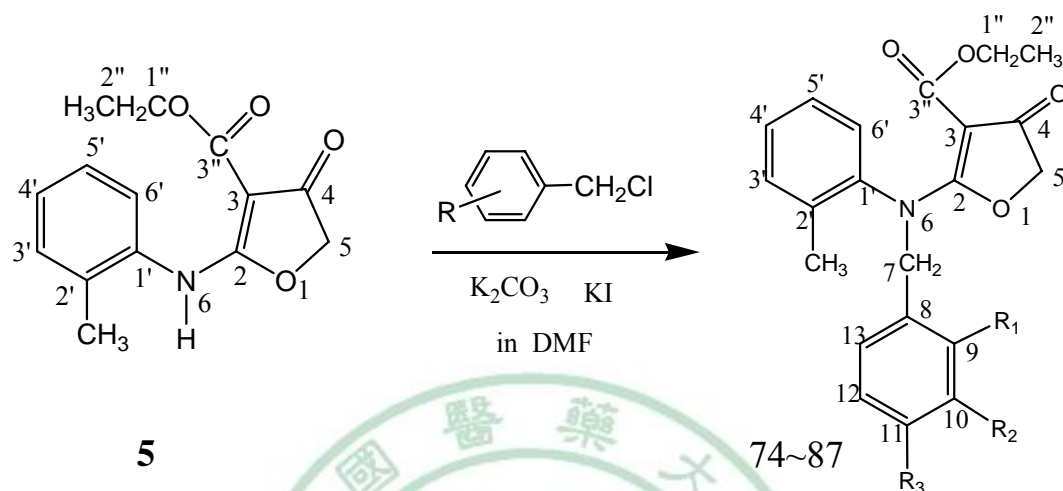
圖 2-25 化合物 64 之 DEPT 90 及 DEPT135 圖譜



(六) Ethyl 2-[N- various benzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (74~87) 之合成

取化合物 **5** 懸著於 DMF 中，加入無水 K₂CO₃ 及 KI 攪拌之，接著加入 substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **74~87**。其合成如 Scheme 8 所示。

Scheme 8



編號	化合物代號	R ₁	R ₂	R ₃
74	JOT01001	H	H	H
75	JOT01002	CH ₃	H	H
76	JOT01003	H	CH ₃	H
77	JOT01004	H	H	CH ₃
78	JOT01005	Cl	H	H
79	JOT01006	H	Cl	H
80	JOT01007	H	H	Cl
81	JOT01008	F	H	H
82	JOT01009	H	F	H
83	JOT01010	H	H	F
84	JOT01011	NO ₂	H	H
85	JOT01013	H	H	NO ₂
86	JOT01014	OCH ₃	H	H
87	JOT01016	H	H	OCH ₃

在此僅以化合物 **78** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：

- 1、化合物 **78** 的熔點為 142.7°C。UV 光譜最大吸收在 290.5 nm。
- 2、質譜 (MS) 之分子離子峰 (M⁺) 為 387.8 (M⁺+2) (圖 2-26)。
- 3、IR 光譜 1726.29 cm⁻¹ 及 1672.28 cm⁻¹ 顯示 2 個 carbonyl。(圖 2-27)
- 4、NMR 圖譜：

A、¹H-NMR 圖譜：(圖 2-28)

- 由其積分值顯示此化合物有 20 個氫。
- 乙酯上之乙基之訊號基： δ 1.03 (3H, *br*, 2'')、 δ 3.73 (2H, *br*, H-1'')。
- furan ring C-5 號碳上之 methylene 氫訊號： δ 4.609(2H, *s*, H-5)
- N-benzyl 之 methylene 氫訊號：在圖譜顯示分列成獨立兩根，且是寬廣的，表示 methylene 之氫受 *o*-touldine 之甲基影響，其懸轉度受阻，造成 methylene 之兩個氫會處在不相同之環境中，顯顯示兩個不同位置之氫。此種現象在本系列所有化合物皆有。此現象在其原料化合物 5 及其環化化合物中，不會有此現象。
- 芳香環上之氫應有 8 個：實際氫譜圖剩下之氫數也為 8 個。

B、 ^{13}C -NMR 圖譜：(圖 2-29) 由碳譜顯示有，化合物分子結構應有特徵訊號：

- 21 個碳原子應有 21 支訊號：實際碳譜有 21 支訊號。
- 乙酯上之乙基 δ : 14.05 (C-2''), 60.35 (C-1'')
- 2 個 carbonyl 碳，分別為 ester δ 176.22 (C-3'')及 furan 酮基 δ 191.89 (C-4)。
- furan ring 上 methylene 碳訊號： δ 74.24 (C-5)。
- N-benzyl 之 methylene 碳訊號： δ 52.39 (C-7)。此 peak 為底部寬廣之矮尖型，表 methylene 碳旋轉有阻礙造成相對多種碳環境，故其訊號會比較寬廣，故間接可以確認氫譜 N-benzyl 之-CH₂-氫訊號，圖譜會顯示為兩種環境氫。
- furan ring 3 號碳： δ 91.80(C-3)。
- DEPT 135 (圖 2-30) 圖顯示有 8 個-CH-、3 個-CH₂-、2 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 Ethyl 2-[*N*-*o*-chlorobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (78) 為預期之結構。

圖 2-26、化合物 78 之質譜圖

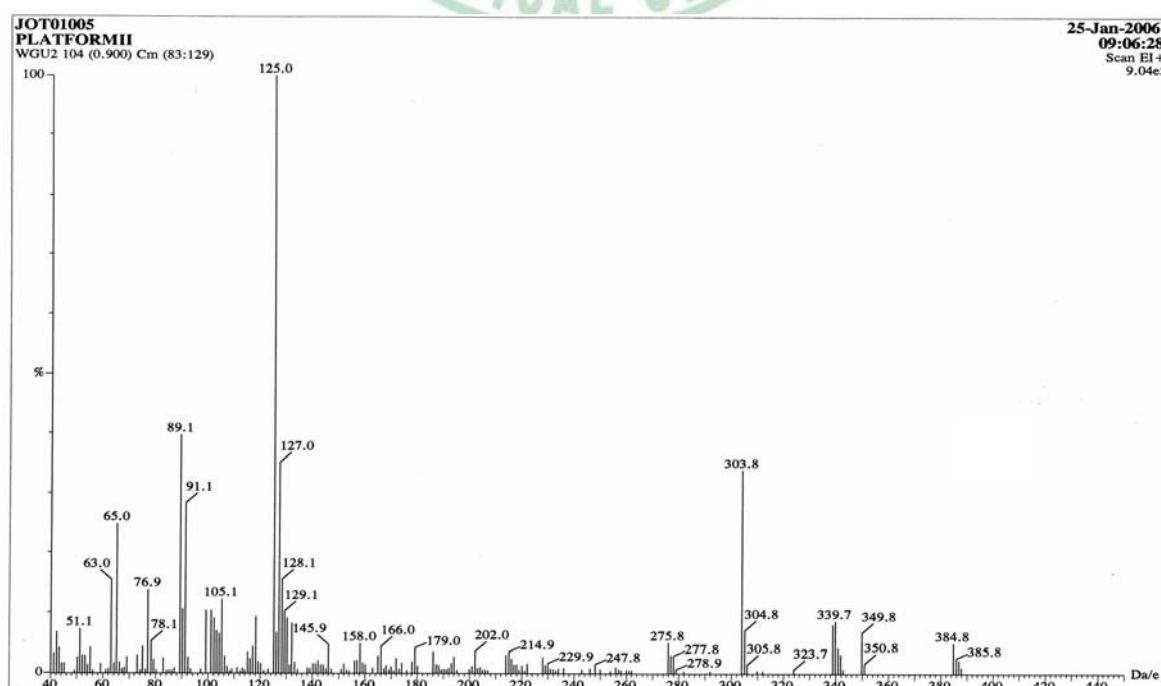


圖 2-27、化合物 78 之紅外光譜圖

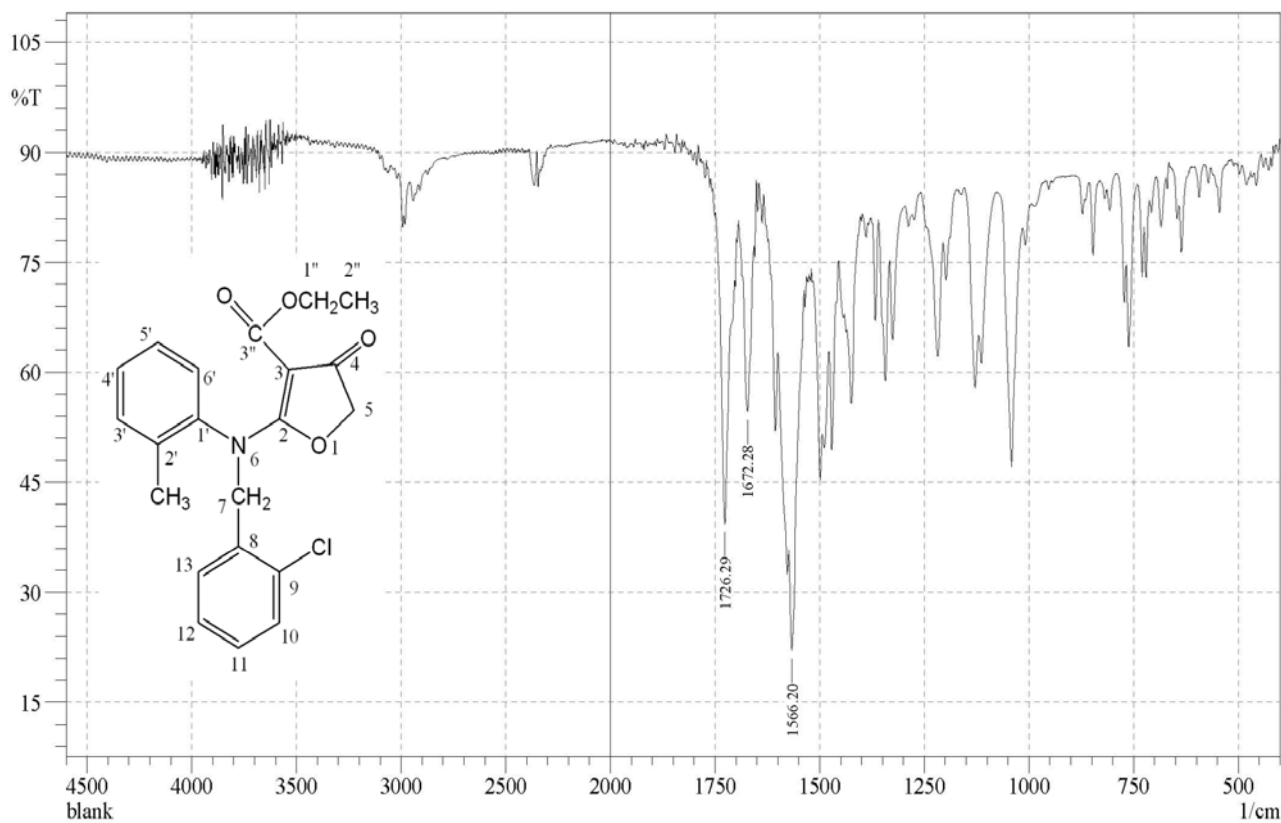
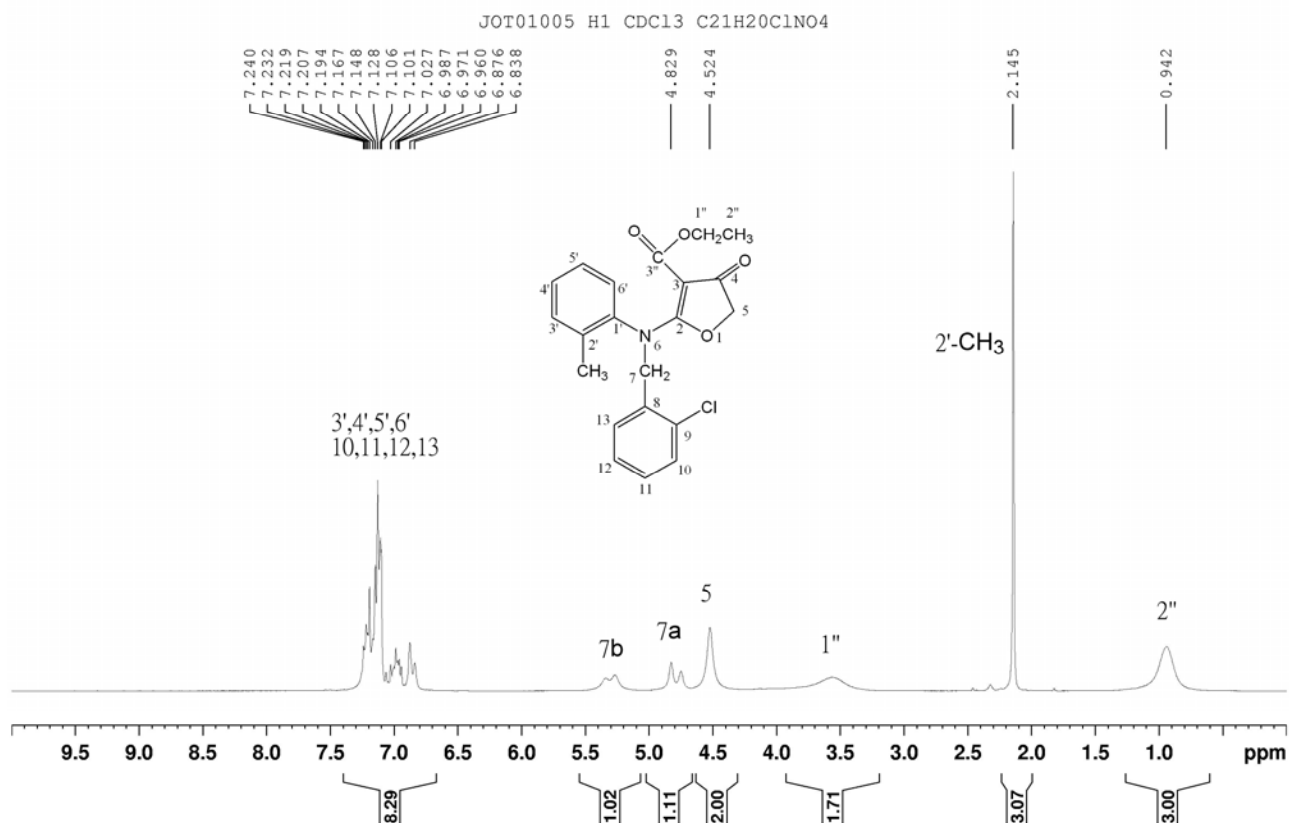


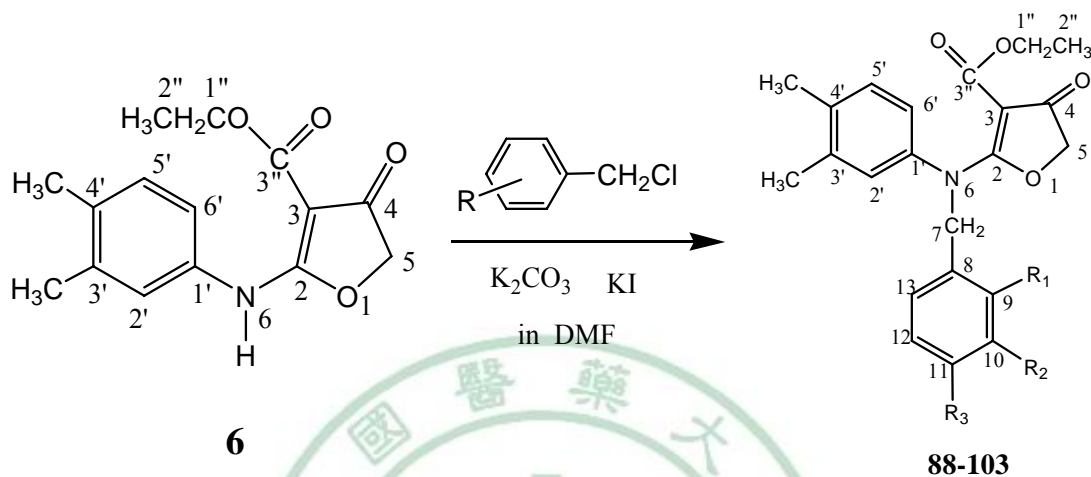
圖 2-28、化合物 78 之氫譜圖



(七) Ethyl 2-[*N*-various benzyl-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (88~103) 之合成

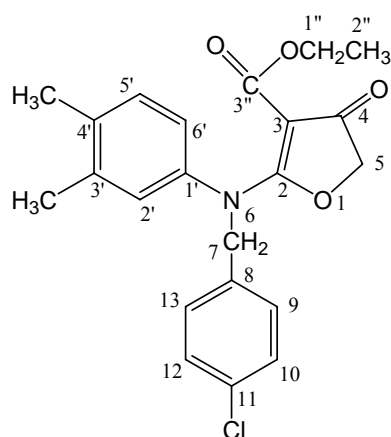
取化合物 **6** 懸著於 DMF 中，加入無水 K₂CO₃ 及 KI 攪拌之，接著加入 substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **88-103**。其合成如 Scheme 9 所示。

Scheme 9



編號	化合物代號	R ₁	R ₂	R ₃
88	JOT34001	H	H	H
89	JOT34002	CH ₃	H	H
90	JOT34003	H	CH ₃	H
91	JOT34004	H	H	CH ₃
92	JOT34005	Cl	H	H
93	JOT34006	H	Cl	H
94	JOT34007	H	H	Cl
95	JOT34008	F	H	H
96	JOT34009	H	F	H
97	JOT34010	H	H	F
98	JOT34011	NO ₂	H	H
99	JOT34012	H	NO ₂	H
100	JOT34013	H	H	NO ₂
101	JOT34014	OCH ₃	H	H
102	JOT34015	H	OCH ₃	H
103	JOT34016	H	H	OCH ₃

在此僅以化合物 **94** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式： $C_{22}H_{22}ClNO_4$

分子量：399.87

- 1、化合物 **94** 的熔點為 $139.9^{\circ}C$ 。UV 光譜最大吸收在 293 nm。
- 2、質譜 (MS) 之分子離子峰 401.9 為 (M^++2) (圖 2-31)。
- 3、IR 光譜 1710.86 cm^{-1} 及 1680.0 cm^{-1} 顯示 2 個 carbonyl。(圖 2-32)
- 4、NMR 圖譜：

A、 1H -NMR 圖譜：(圖 2-33)

- a. 由其積分值顯示此化合物有 22 個氫。
- b. 乙酯上之乙基之訊號基： $\delta 0.988$ (3H, br, 2'')、 $\delta 3.69$ (2H, br, H-1'')。
- c. 3,4 dimethyl： 2.186 (3H, s, 4'-CH₃)、 2.204 (3H, s, 3'-CH₃)
- d. furan ring C-5 號碳上之 methylene 氫訊號： $\delta 4.597$ (2H, s, H-5)
- e. N-benzyl 之 methylene 氫訊號： 5.205 (2H, s, H-5)。
- f. 芳香環上之氫應有 8 個：實際氫譜圖剩下之氫數也為 8 個。

B、 ^{13}C -NMR 圖譜：(圖 2-34) 由碳譜顯示有，化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 22 個碳原子應有 20 支訊號(C9,C13 對稱，C10,C12 對稱)：實際碳譜有 20 支訊號。
- (2) 乙酯上之乙基 δ : 13.73 (C-2''), $\delta 60.048$ (C-1'')。
- (3) 2 個 methyl 碳： $\delta 19.069$ (4'-CH₃)、 $\delta 19.527$ (3'-CH₃)
- (4) 2 個 carbonyl 碳，分別為 ester $\delta 176.45$ (C-3'')及 furan 酮基 $\delta 191.57$ (C-4)。
- (5) furan ring 上 methylene 碳訊號： $\delta 74.04$ (C-5)。
- (6) N-benzyl 之 methylene 碳訊號： $\delta 55.137$ (C-7)。
- (7) furan ring 3 號碳： $\delta 91.301$ (C-3)。
- (8) C9,C13 對稱： $\delta 128.654$ 訊號 2 倍高，C10,C12 對稱： $\delta 129.006$ 訊號 2 倍高。
- (9) DEPT 90 及 DEPT 135 (圖 2-35) 圖顯示有 7 個-CH-、3 個-CH₂-、3 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 Ethyl 2-[N-(p-chlorobenzyl)-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**94**)為預期之結構。

圖 2-31、化合物 94 之質譜圖

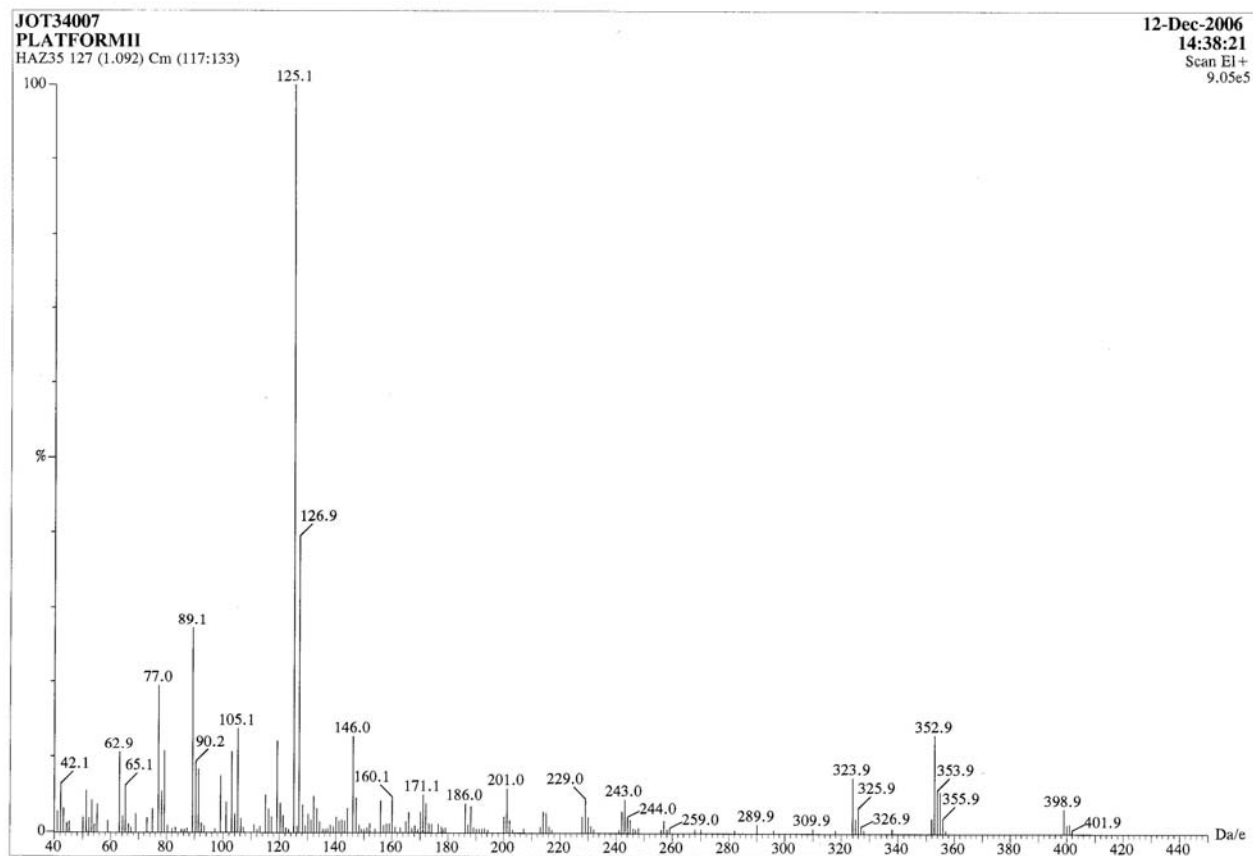


圖 2-32、化合物 94 之紅外光譜圖

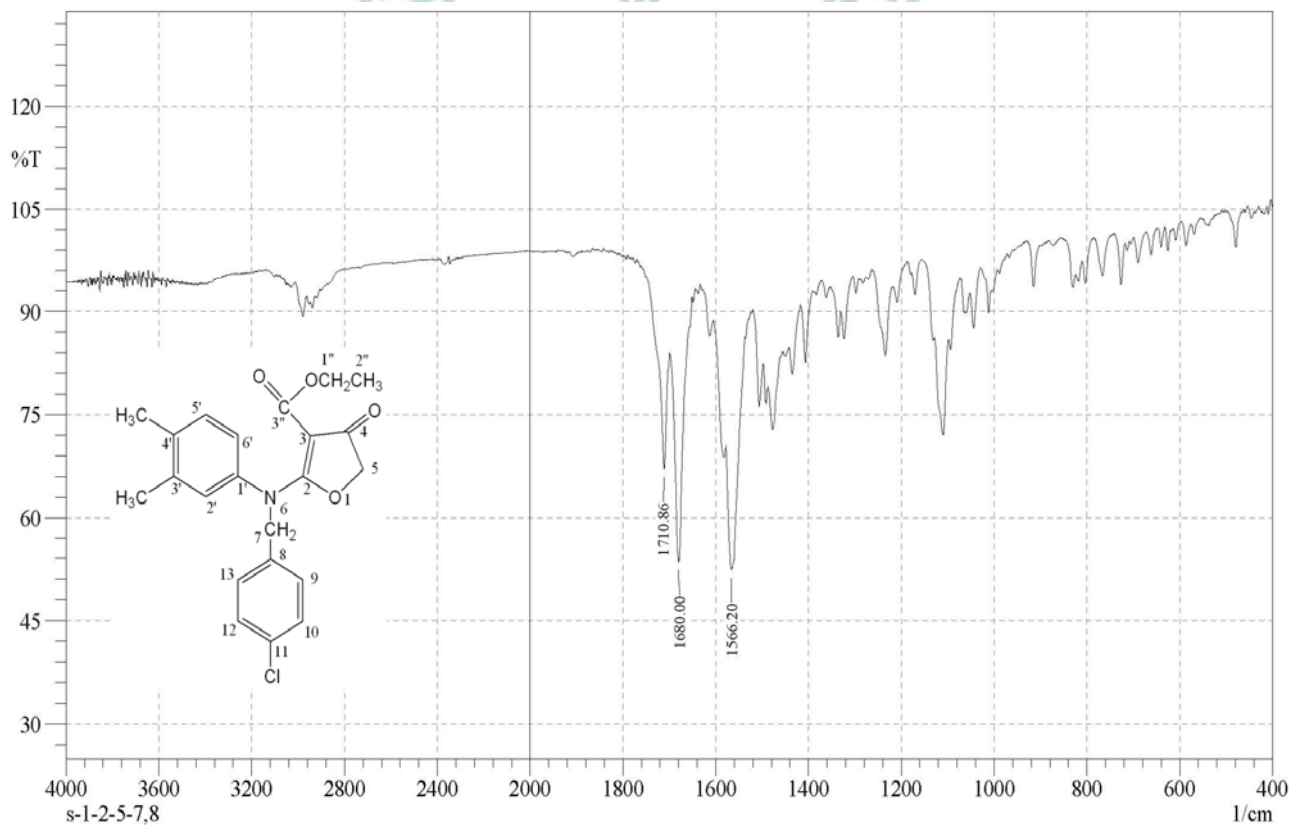


圖 2-33、化合物 94 之氫譜圖

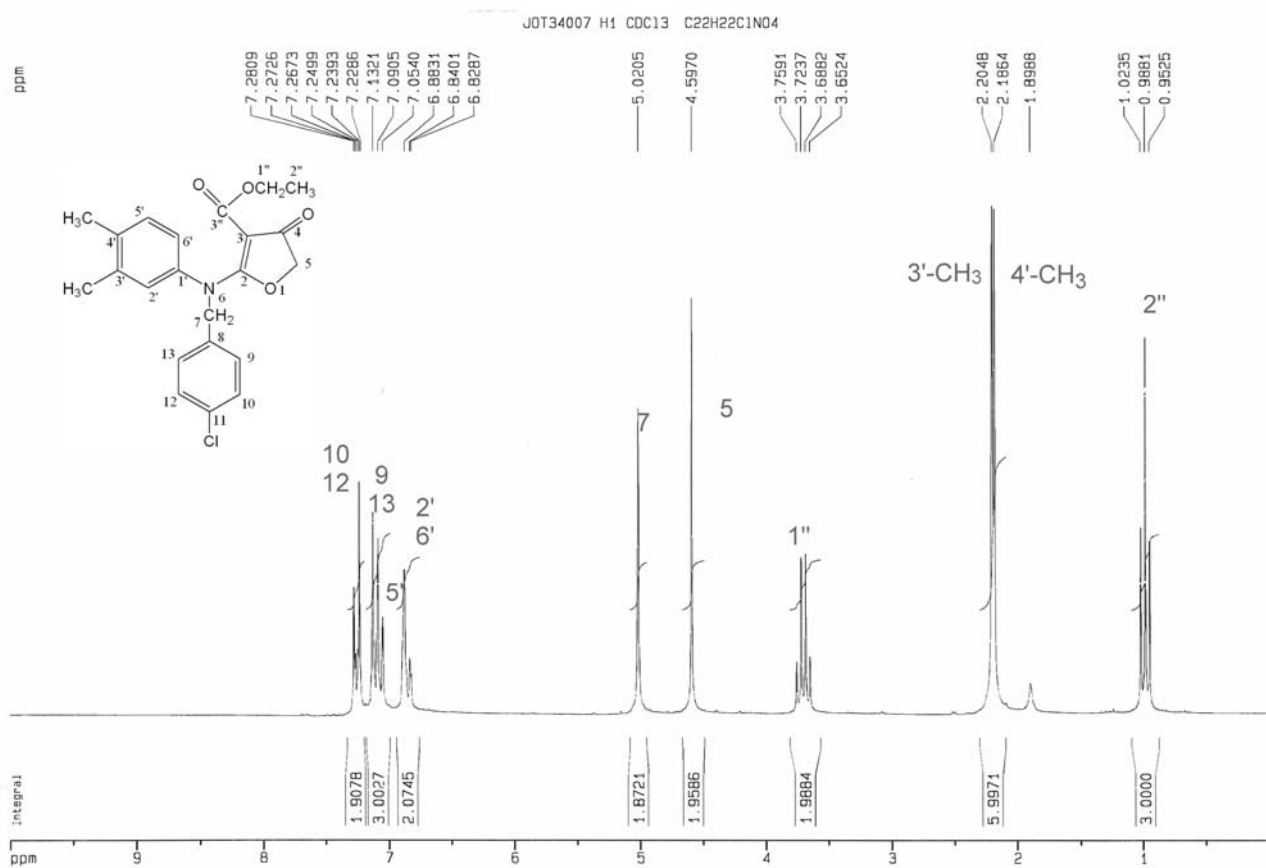


圖 2-34、化合物 94 之碳譜圖

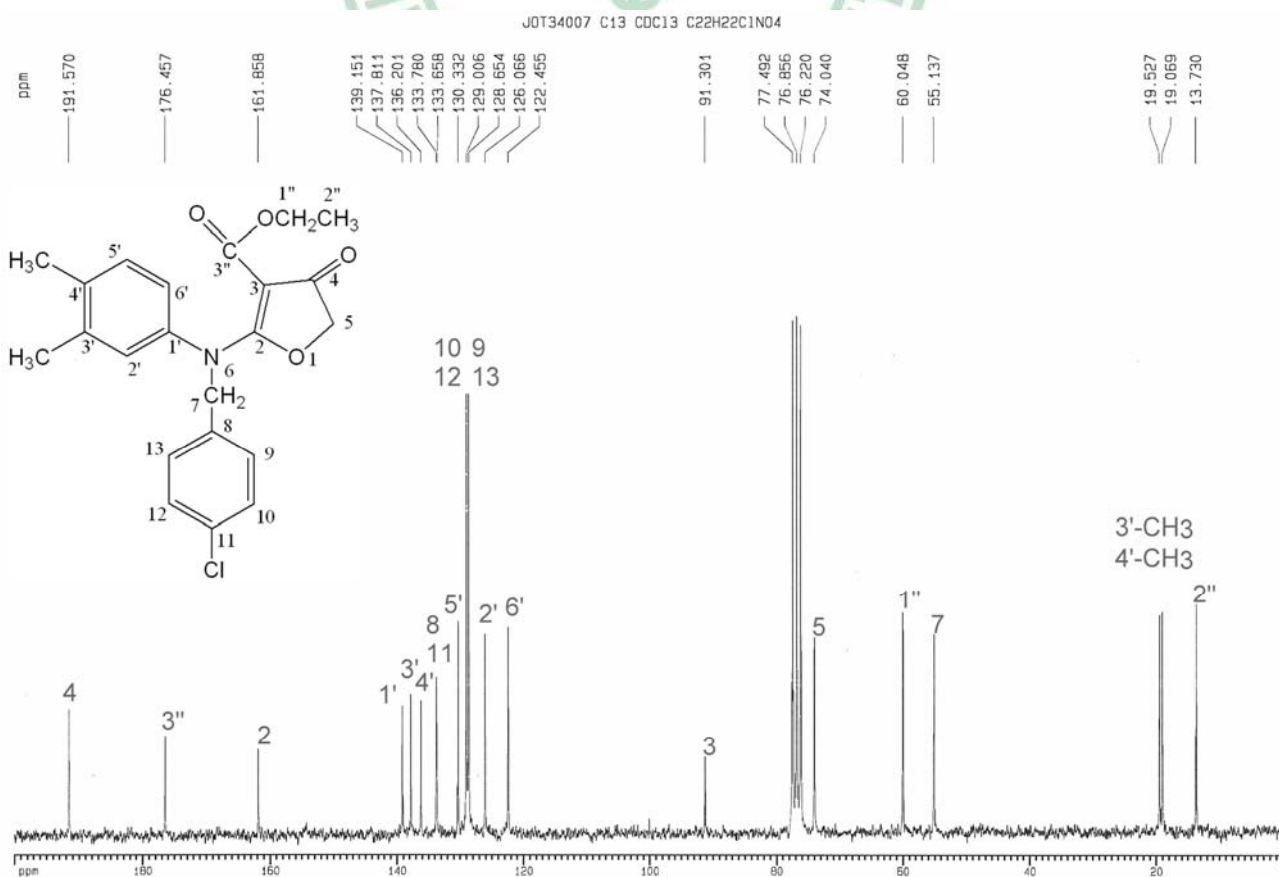
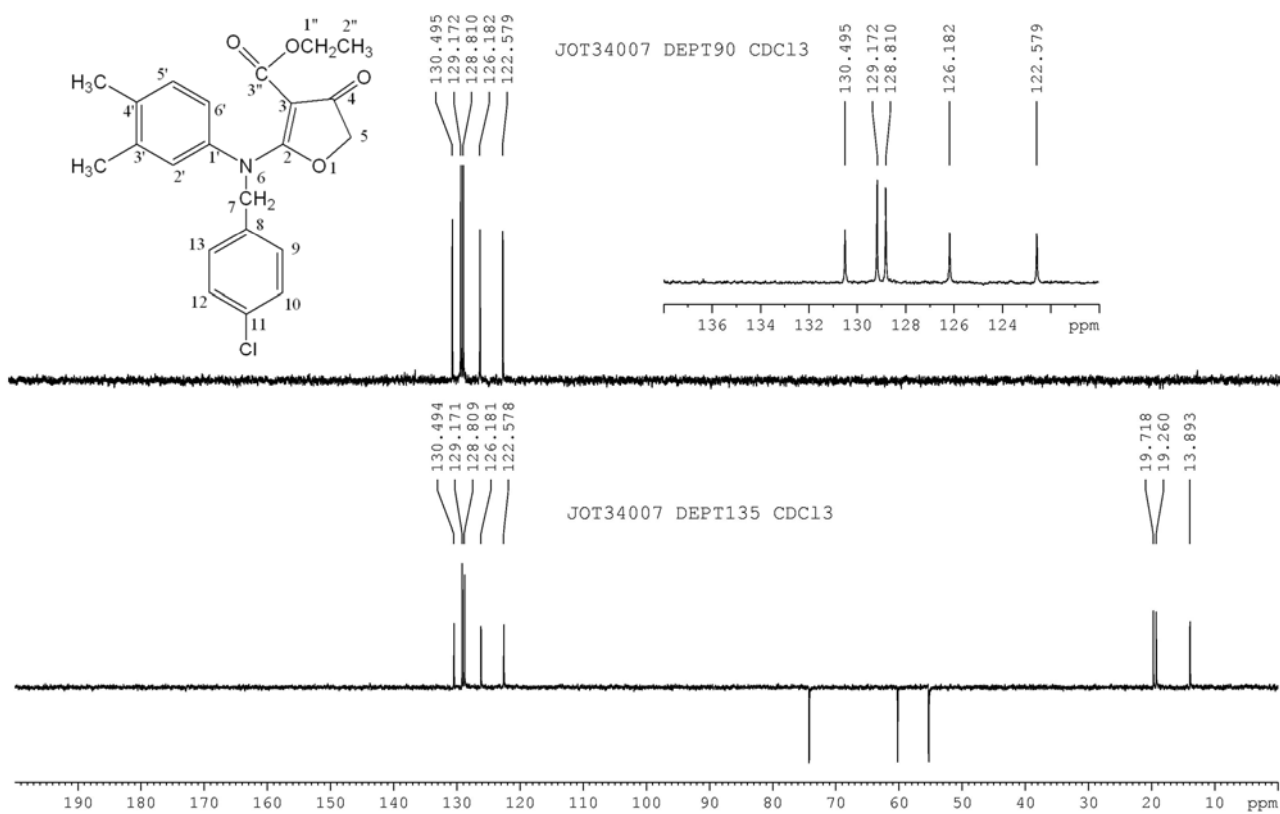


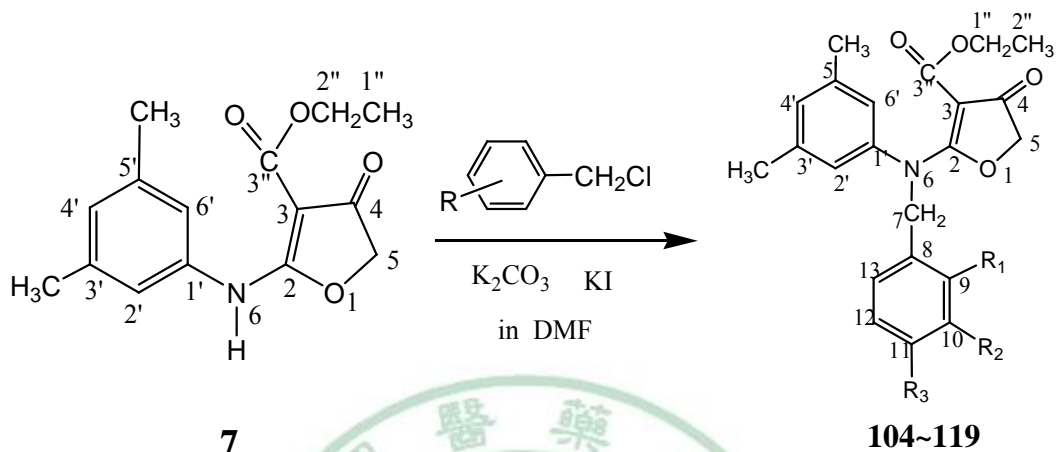
圖 2-35、化合物 94 之 DEPT135 圖譜



(八) Ethyl 2-[*N*-various benzyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro-furan-3-carboxylate (104~119) 之合成

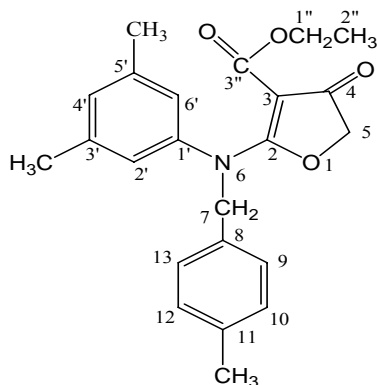
取化合物 **7** 懸著於 DMF 中，加入無水 K₂CO₃ 及 KI 攪拌之，接著加入 Substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **88-103**。其合成如 Scheme 10 所示。

Scheme 10



編號	化合物代號	R ₁	R ₂	R ₃
104	JOT35001	H	H	H
105	JOT35002	CH ₃	H	H
106	JOT35003	H	CH ₃	H
107	JOT35004	H	H	CH ₃
108	JOT35005	Cl	H	H
109	JOT35006	H	Cl	H
110	JOT35007	H	H	Cl
111	JOT35008	F	H	H
112	JOT35009	H	F	H
113	JOT35010	H	H	F
114	JOT35011	NO ₂	H	H
115	JOT35012	H	NO ₂	H
116	JOT35013	H	H	NO ₂
117	JOT35014	OCH ₃	H	H
118	JOT35015	H	OCH ₃	H
119	JOT35016	H	H	OCH ₃

在此僅以化合物 **107** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式：C₂₃H₂₅NO₄

分子量：379.45

1、化合物 **107** 的熔點為 130.5°C。UV 光譜最大吸收在 293 nm。

2、質譜 (MS) 之分子離子峰 378.9 為 (M^+) (圖 2-36)。

3、IR 光譜 1714.72 cm^{-1} 及 1674.21 cm^{-1} 顯示 2 個 carbonyl。(圖 2-37)

4、NMR 圖譜：

A、 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜：(圖 2-38)

a. 由其積分值顯示此化合物有 25 個氫。

b. 乙酯上之乙基之訊號基： $\delta 0.995$ (3H, *br*, 2'')、 $\delta 3.68$ (2H, *br*, H-1'')。

c. 甲基訊號： $\delta 2.251$ (6H, *s*, 3'- CH_3 , 5'- CH_3)、 $\delta 2.321$ (3H, *s*, 11- CH_3)

d. furan ring C-5 號碳上之 methylene 氫訊號： $\delta 4.605$ (2H, *s*, H-5)

e. N-benzyl 之 methylene 氫訊號： $\delta 5.025$ (2H, *s*, H-5)。

f. 芳香環上之氫應有 7 個：實際氫譜圖剩下之氫數也為 7 個，且 H-9, H-10, H-12, H-13 四個氫吸收位置一樣。H-2', H-6' 二個氫吸收位置一樣。

B、 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜：(圖 2-39) 化合物分子結構應有特徵訊號：

(1) 23 個碳原子應有 18 支訊號(C2',C6'對稱,C3',C5'對稱,3'- CH_3 ,5'- CH_3 對稱,C9,C13對稱,C10,C12對稱)：實際 17 支訊號，其中 $\delta 20.966$ ，為 11- CH_3 、3'- CH_3 與 5'- CH_3 三個碳吸收位置相同。原因：[因三個碳皆為 4 級碳，訊號應只有 1 級碳之 0.6~0.7 倍高，但其訊號與 1 級碳兩倍等高，更證實其為 3 個 4 級碳之訊號。

(2) 乙酯上之乙基 δ : 13.745 (C-2''), $\delta 60.035$ (C-1'')。

(3) 2 個 methyl 碳： $\delta 19.069$ (4'- CH_3)、 $\delta 19.527$ (3'- CH_3)

(4) 2 個 carbonyl 碳，分別為 ester $\delta 176.17$ (C-3'')及 furan 酮基 $\delta 191.73$ (C-4)。

(5) furan ring 上 methylene 碳訊號： $\delta 74.05$ (C-5)。3 號碳： $\delta 91.418$ (C-3)。

(6) N-benzyl 之 methylene 碳訊號： $\delta 55.57$ (C-7)。

(7) C2',C6'對稱,C3',C5'對稱,3'- CH_3 ,5'- CH_3 對稱,C9,C13對稱,C10,C12對稱：至少應有 5 支訊號為 2 倍高，事實也是如此。

(8) DEPT 90 及 DEPT 135 (圖 2-40) 圖顯示有 7 個-CH-、3 個- CH_2 -、4 個- CH_3 。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 Ethyl 2-[N-*p*-methylbenzyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**107**)為預期之結構。

圖 2-36、化合物 107 之質譜圖

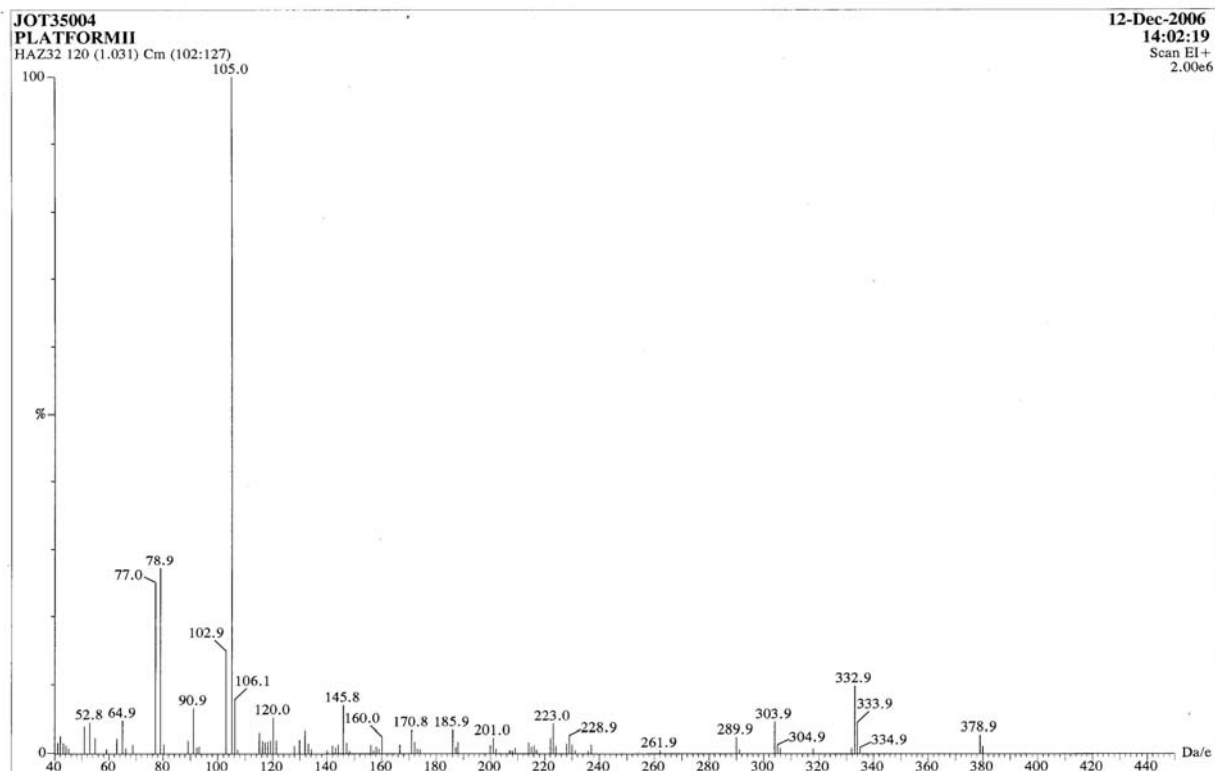


圖 2-37、化合物 107 之紅外光譜圖

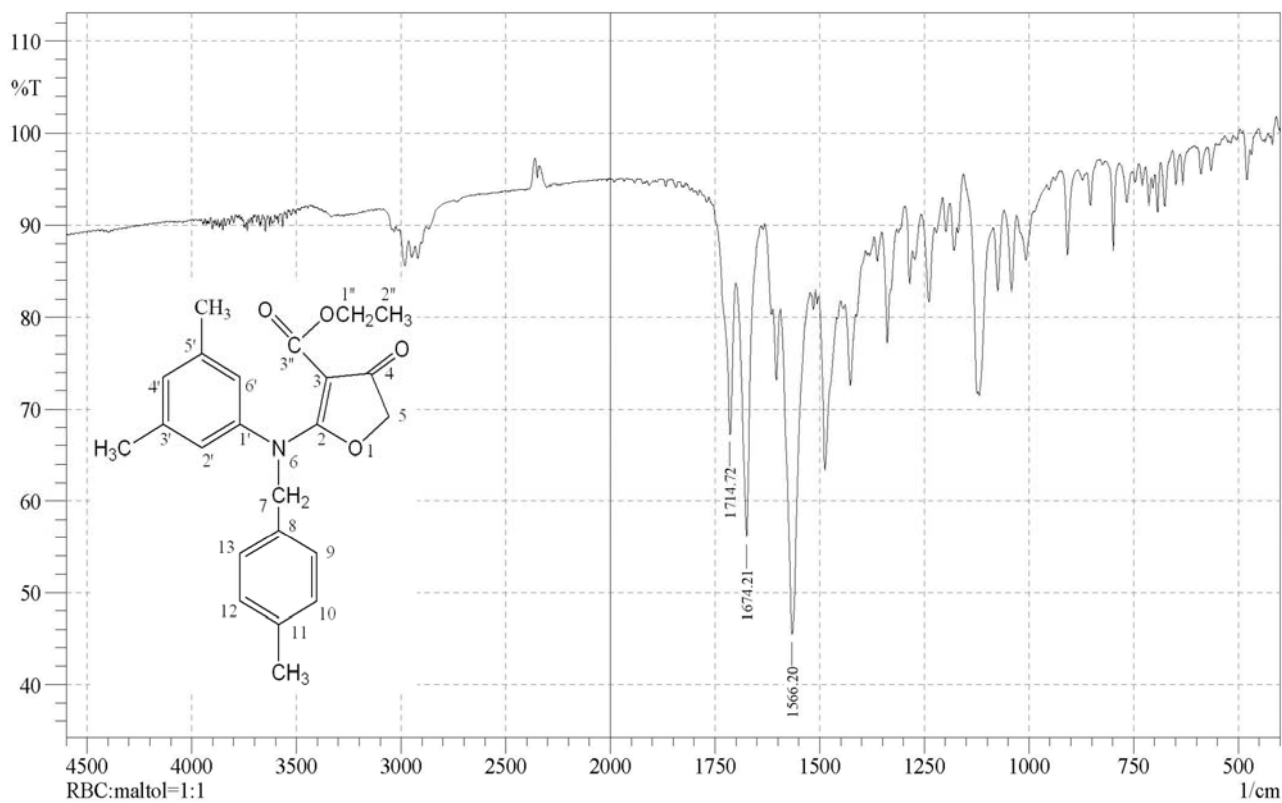


圖 2-38、化合物 107 之氫譜圖

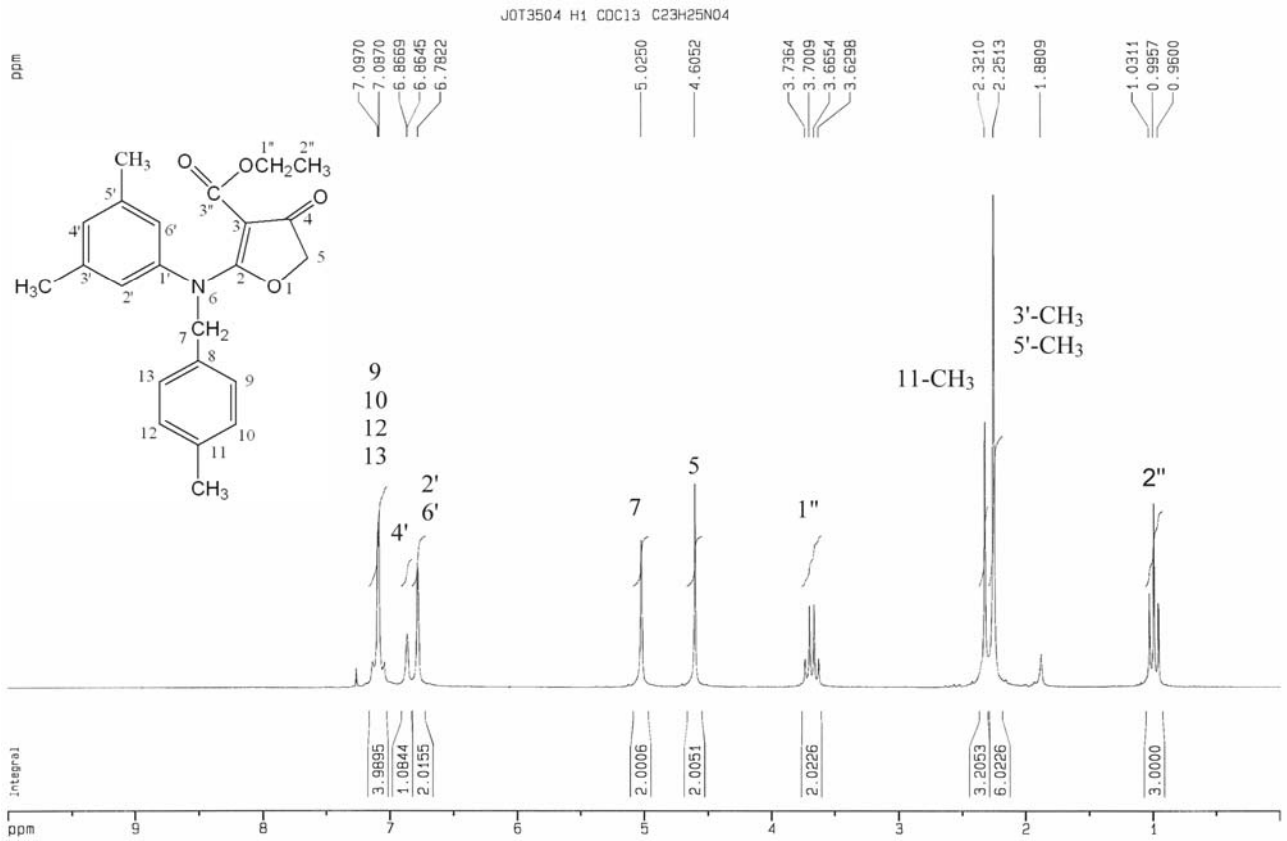


圖 2-39、化合物 107 之碳譜圖

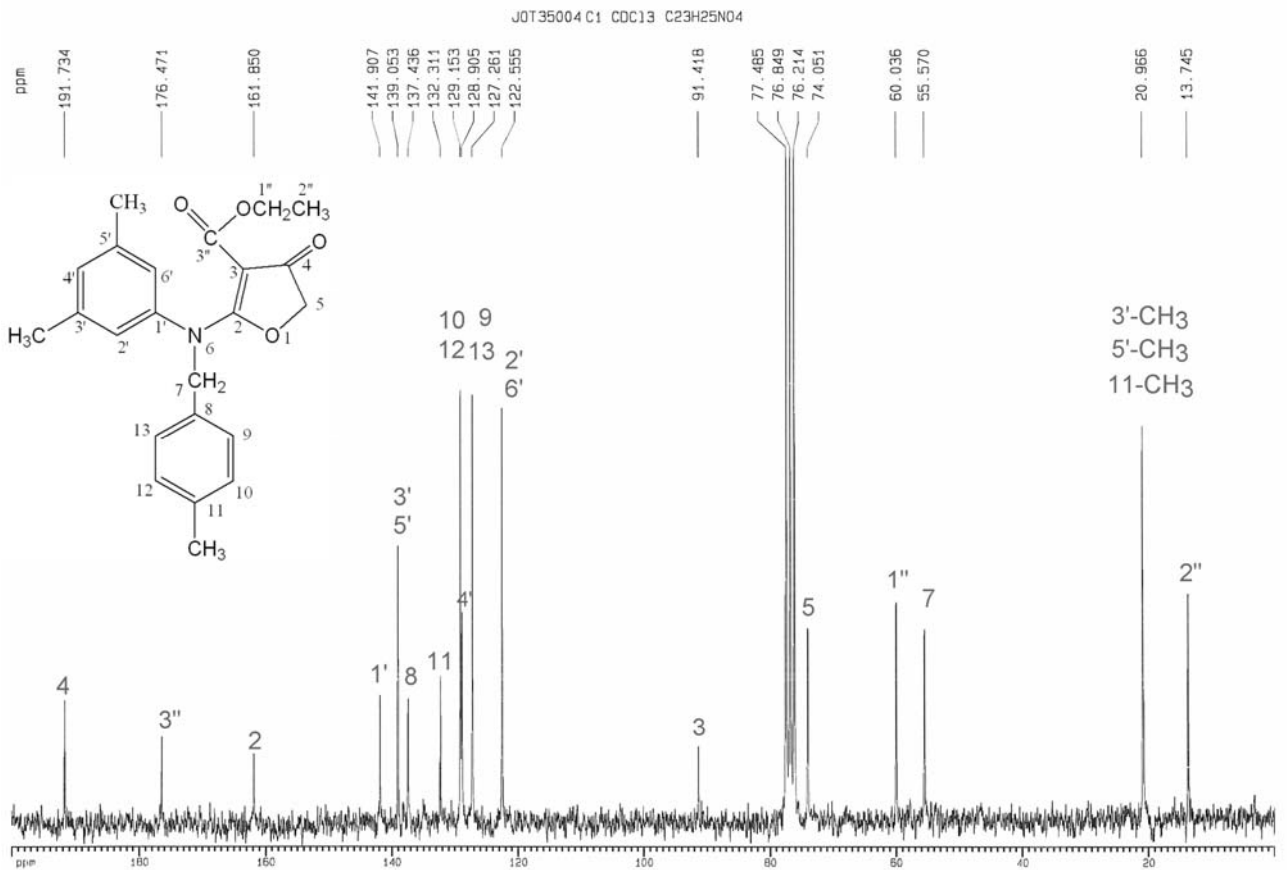
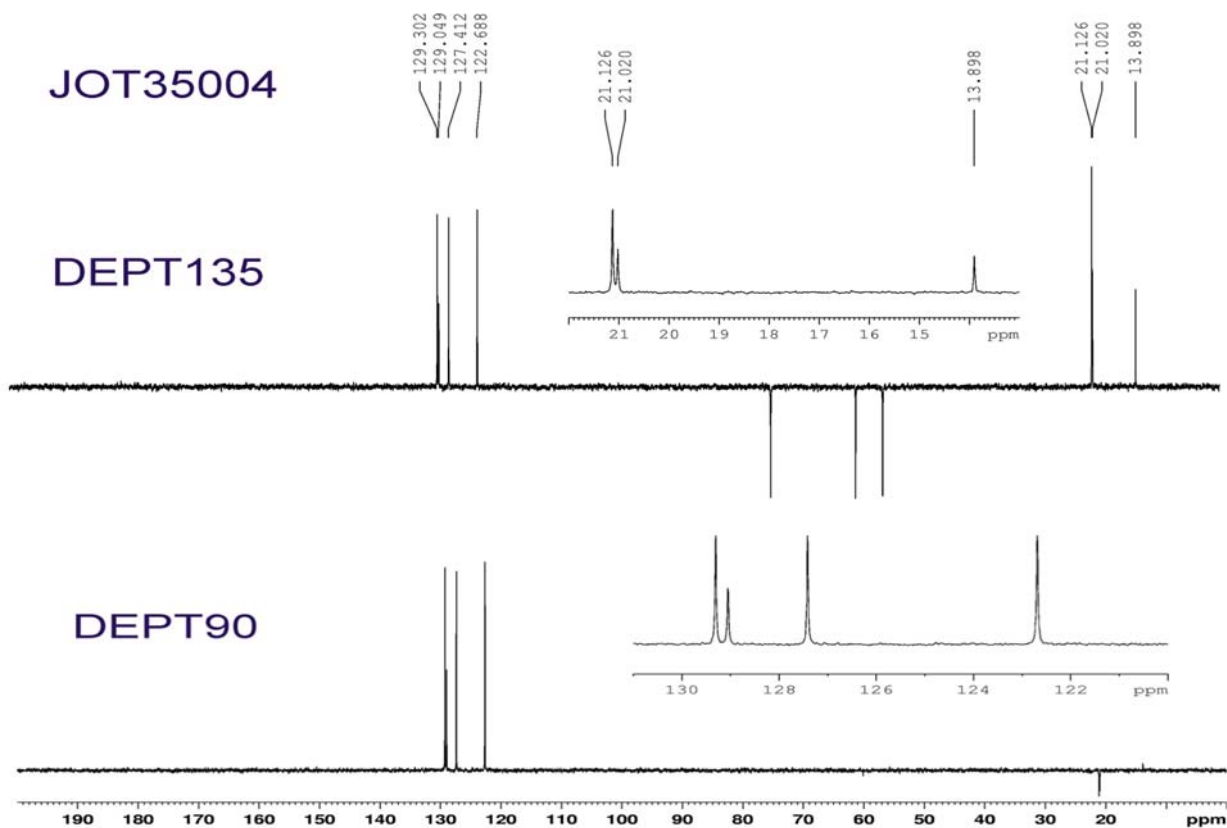


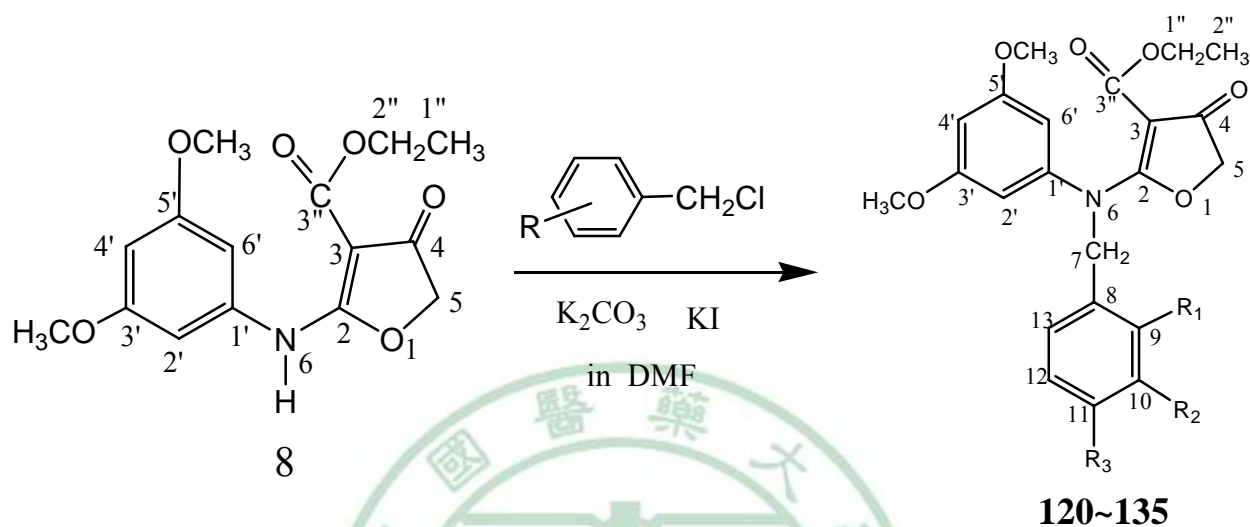
圖 2-40 化合物 107 之 DEPT135 圖譜



(九) Ethyl 2-[*N*-various benzyl-(3',5'-dimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro-furan-3-carboxylate (120~135) 之合成

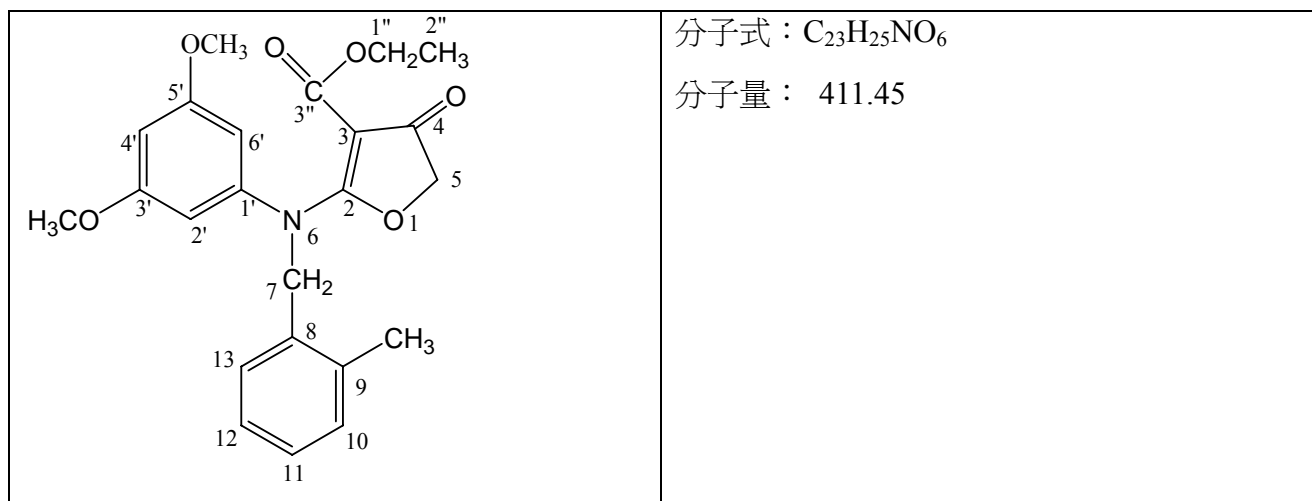
取化合物 **8** 懸著於 DMF 中，加入無水 K_2CO_3 及 KI 攪拌之，接著加入 Substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **120-135**。其合成如 Scheme 10 所示。

Scheme 11



編號	化合物代號	R ₁	R ₂	R ₃
120	DMO35001	H	H	H
121	DMO35002	CH ₃	H	H
122	DMO35003	H	CH ₃	H
123	DMO35004	H	H	CH ₃
124	DMO35005	Cl	H	H
125	DMO35006	H	Cl	H
126	DMO35007	H	H	Cl
127	DMO35008	F	H	H
128	DMO35009	H	F	H
129	DMO35010	H	H	F
130	DMO35011	NO ₂	H	H
131	DMO35012	H	NO ₂	H
132	DMO35013	H	H	NO ₂
133	DMO35014	OCH ₃	H	H
134	DMO35015	H	OCH ₃	H
135	DMO35016	H	H	OCH ₃

在此僅以化合物 **121** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



- 1、化合物 **121** 的熔點為 130.7°C。UV 光譜最大吸收在 294.5 nm。
- 2、質譜 (MS) 之分子離子峰 412.9 為 (M⁺+1) (圖 2-41)。
- 3、IR 光譜 1674.21 cm⁻¹ 及 1697.36 cm⁻¹ 顯示 2 個 carbonyl。(圖 2-42)
- 4、NMR 圖譜：

A、¹H-NMR 圖譜：(圖 2-43)

- a. 乙酯上之乙基之訊號基：δ1.02 (3H, br, 2'')、δ3.75 (2H, br, H-1'')。
- b. 甲基：δ2.232 (3H, s, 9-CH₃)。甲氧基：δ3.681 (6H, s, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃)
- c. furan ring C-5 號碳上之 methylene 氫訊號：δ4.590 (2H, s, H-5)
- e. N-benzyl 之 methylene 氫訊號：δ5.075 (2H, s, H-5)。
- f. 芳香環上之氫應有 7 個：實際氫譜氫數為 7 個。

B、¹³C-NMR 圖譜：(圖 2-44) 化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 23 個碳原子應有 20 支訊號(C2',C6'對稱, C3',C5'對稱, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃對稱)：實際碳譜有 20 支訊號。
- (2) 乙酯上之乙基 δ: 13.71 (C-2''), δ60.228 (C-1'')。
- (3) 2 個 methoxy 碳：δ55.258 (3'-OCH₃, 4'-OCH₃)
- (4) 2 個 carbonyl 碳, 分別為 ester δ176.536 (C-3'')及 furan 酮基 δ191.862 (C-4)。
- (5) furan ring 上 methylene 碳訊號：δ74.12 (C-5)。
- (6) N-benzyl 之 methylene 碳訊號：δ55.258 (C-7)。
- (7) furan ring 3 號碳：δ92.078 (C-3)。
- (8) C2',C6'對稱, C3',C5'對稱, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃對稱：有 3 支訊號為 2 倍高。
- (9) DEPT 90 及 DEPT 135 (圖 2-45) 圖顯示有 7 個-CH-、3 個-CH₂-、4 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 Ethyl 2-[N-*o*-methylbenzyl-(3',5'-dimethoxy)]-anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**121**)為預期之結構。

圖 2-41、化合物 121 之質譜圖

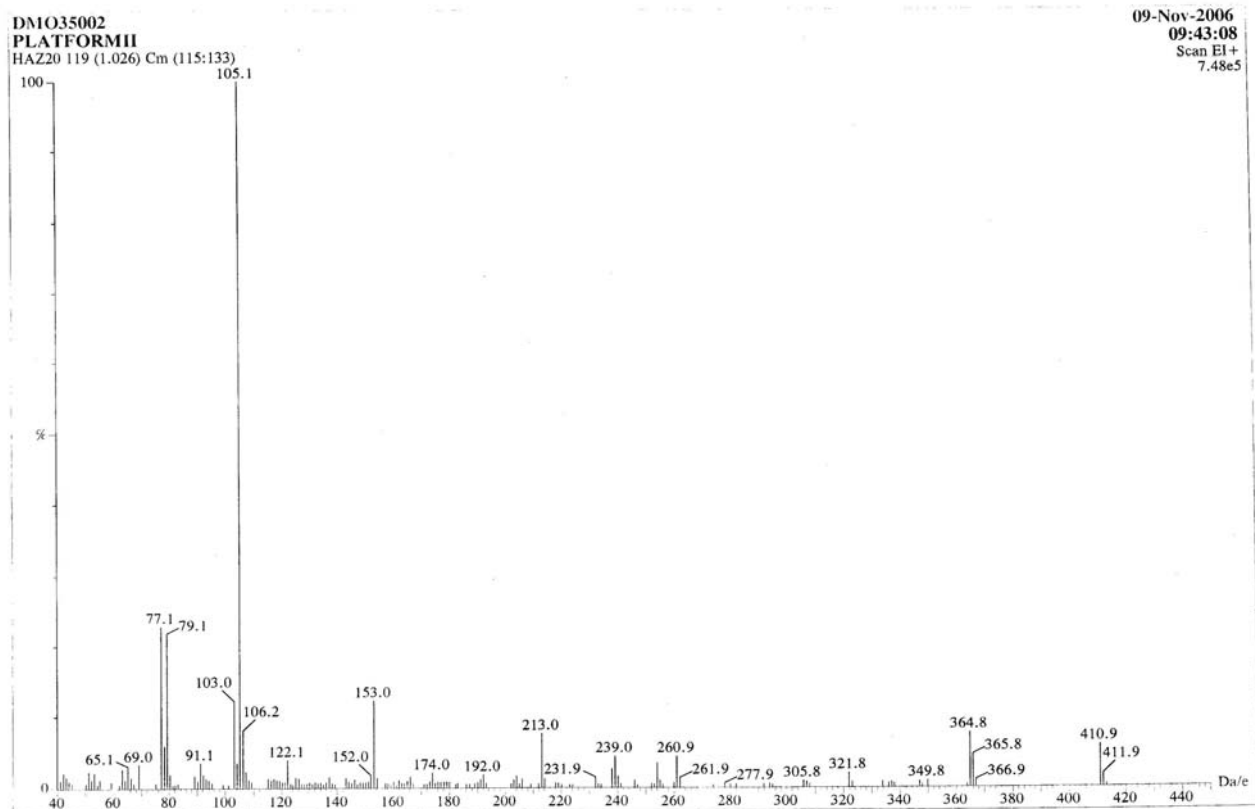


圖 2-42、化合物 121 之紅外光譜圖

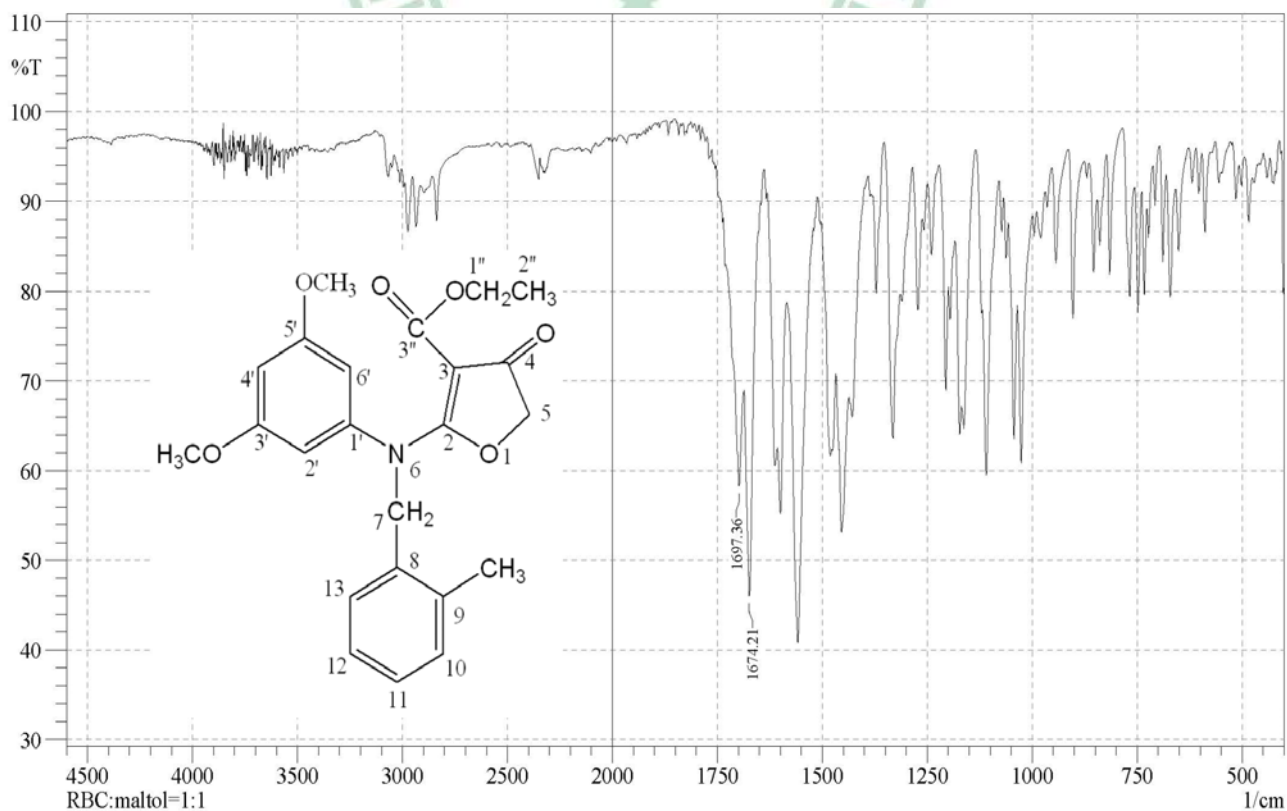


圖 2-43、化合物 121 之氫譜圖

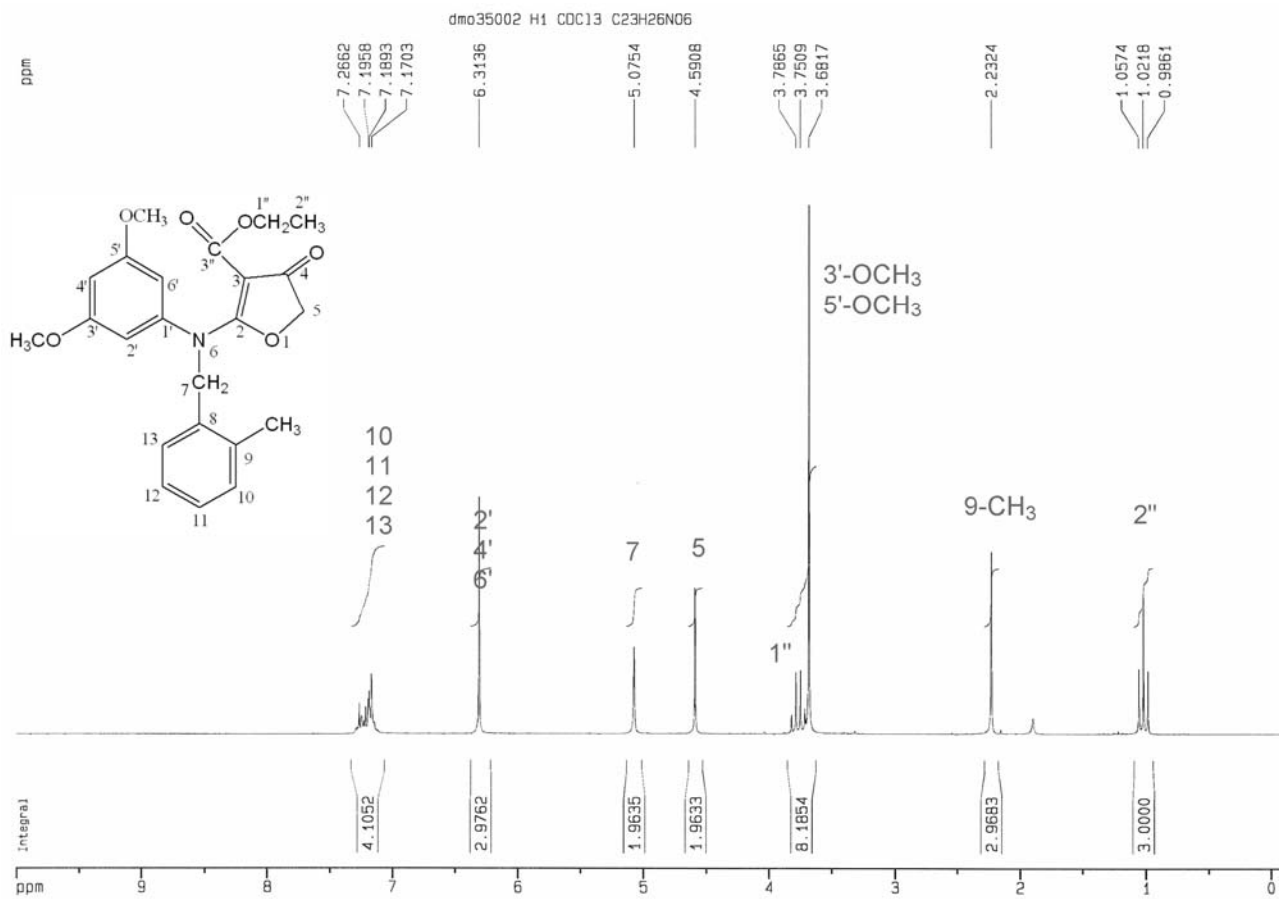


圖 2-44、化合物 121 之碳譜圖

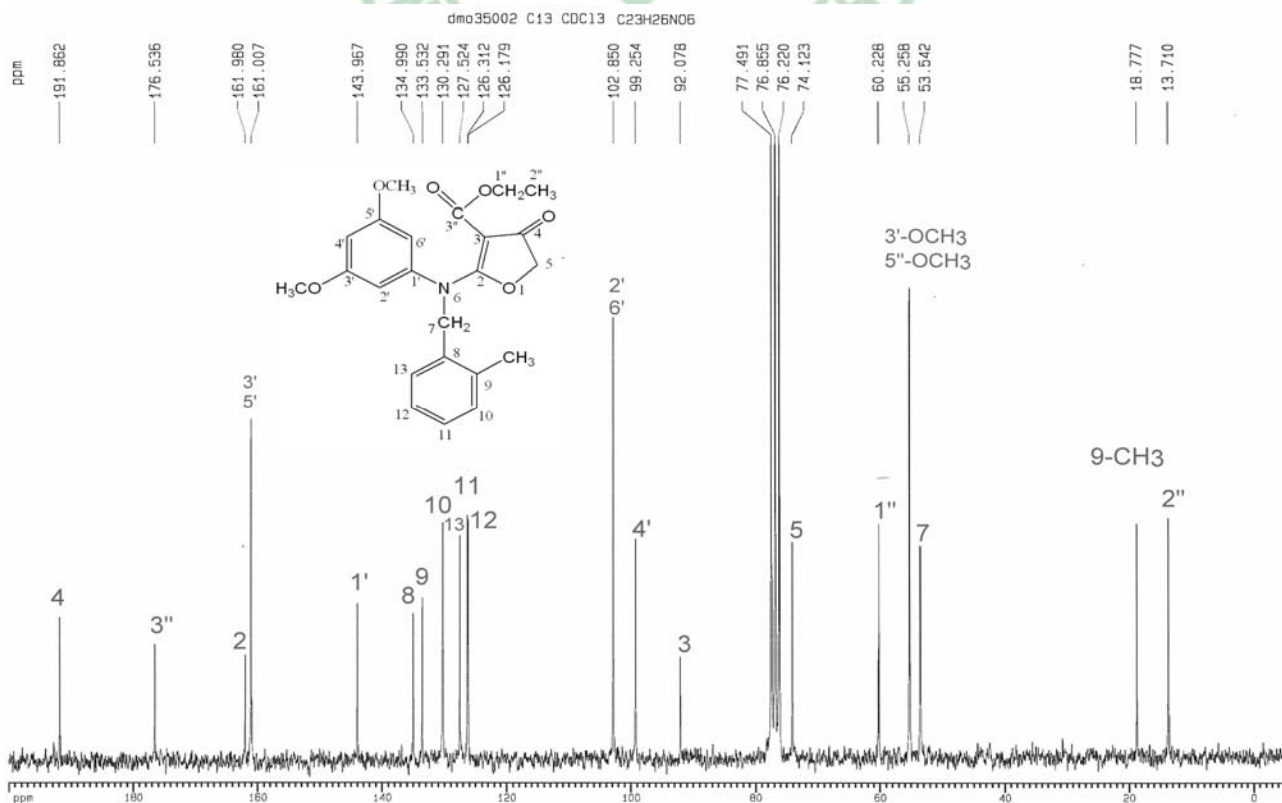
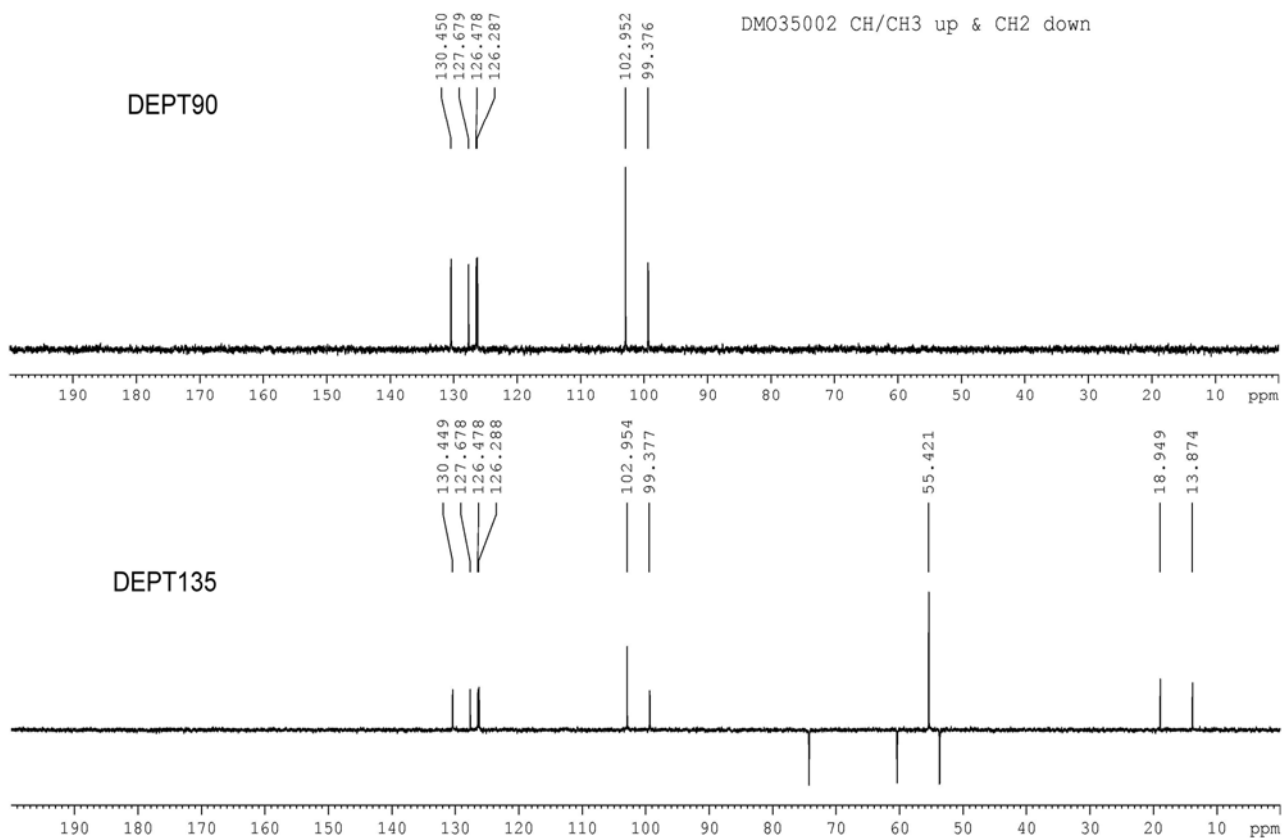


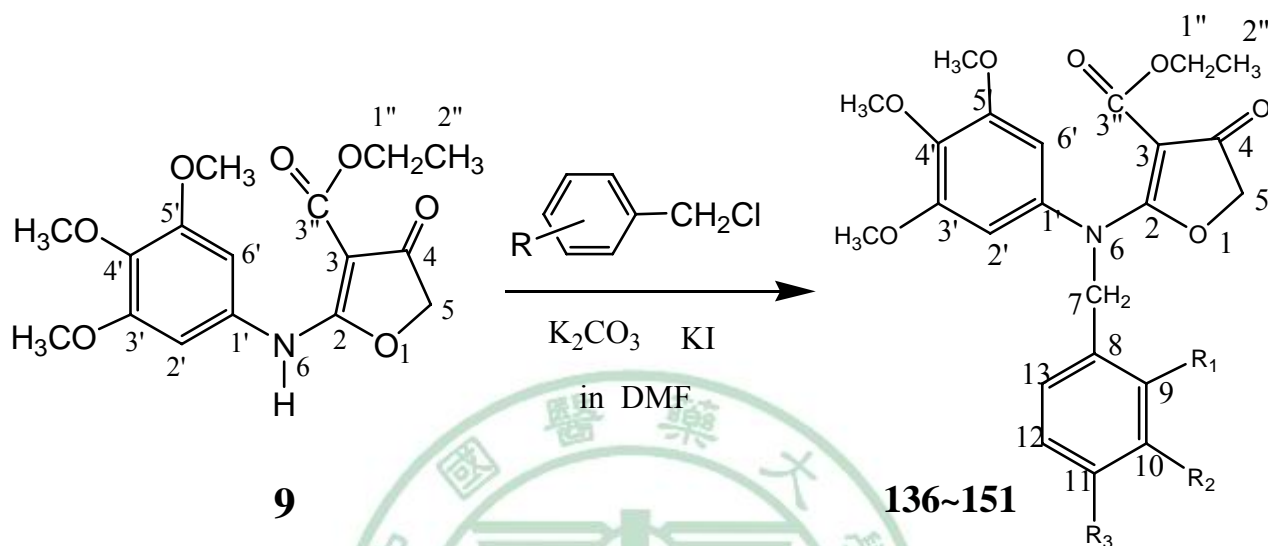
圖 2-45 化合物 121 之 DEPT135 圖譜



(十) Ethyl 2-[*N*-various benzyl-(3',4', 5'-dimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro-furan-3-carboxylate (136~151) 之合成

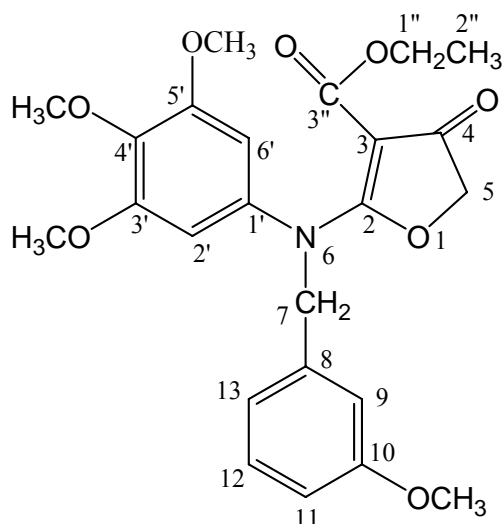
取化合物 **9** 懸著於 DMF 中，加入無水 K₂CO₃ 及 KI 攪拌之，接著加入 Substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **136-151**。其合成如 Scheme 10 所示。

Scheme 12



編號	化合物代號	R ₁	R ₂	R ₃
136	TMO53001	H	H	H
137	TMO53002	CH ₃	H	H
138	TMO53003	H	CH ₃	H
139	TMO53004	H	H	CH ₃
140	TMO53005	Cl	H	H
141	TMO53006	H	Cl	H
142	TMO53007	H	H	Cl
143	TMO53008	F	H	H
144	TMO53009	H	F	H
145	TMO53010	H	H	F
146	TMO53011	NO ₂	H	H
147	TMO53012	H	NO ₂	H
148	TMO53013	H	H	NO ₂
149	TMO53014	OCH ₃	H	H
150	TMO53015	H	OCH ₃	H
151	TMO53016	H	H	OCH ₃

在此僅以化合物 **150** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式：C₂₄H₂₇NO₈

分子量：457.47

- 1、化合物 **150** 的熔點為 153.5°C。UV 光譜最大吸收在 294.5 nm。
- 2、質譜 (MS) 之分子離子峰 459 為 (M⁺+2) (圖 2-46)。
- 3、IR 光譜 1724.36 cm⁻¹ 及 1662.64 cm⁻¹ 顯示 2 個 carbonyl。(圖 2-47)
- 4、NMR 圖譜：

A、¹H-NMR 圖譜：(圖 2-48)

- a. 乙酯上之乙基之訊號基：δ1.005 (3H, *br*, 2'')、δ3.74 (2H, *br*, H-1'')。
- b. 甲氧基：δ3.7006 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), δ3.726 (3H, *s*, 10'-OCH₃), δ3.793 (3H, *s*, 4'-OCH₃, 5'-OCH₃)
- c. furan ring C-5 號碳上之 methylene 氫訊號：δ4.632 (2H, *s*, H-5)
- e. N-benzyl 之 methylene 氫訊號：δ5.015 (2H, *s*, H-5)。
- f. 芳香環上之氫應有 6 個：實際氫譜氫數為 6 個。

B、¹³C-NMR 圖譜：(圖 2-49) 化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 24 個碳原子應有 21 支訊號(C2',C6'對稱, C3',C5'對稱, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃對稱)：實際碳譜有 21 支訊號。
- (2) 乙酯上之乙基 δ: 14.03 (C-2''), δ60.52 (C-1'')。
- (3) 4 個 methoxy 碳：δ55.88 (10-OCH₃), 56.19 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.77 (4'-OCH₃)。
- (4) 2 個 carbonyl 碳, 分別為 ester δ176.34 (C-3'')及 furan 酮基 δ191.85 (C-4)。
- (5) furan ring 上 methylene 碳訊號：δ74.35 (C-5)。3 號碳：δ91.90 (C-3)。
- (6) N-benzyl 之 methylene 碳訊號：δ55.21 (C-7)。
- (7) C2',C6'對稱, C3',C5'對稱, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃H₃對稱：有 3 支訊號為 2 倍高。
- (8) DEPT 90 及 DEPT 135 (圖 2-50) 圖顯示有 3 個-CH-、3 個-CH₂-、5 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析, 化合物 Ethyl 2-[N-(3,4,5'-trimethoxy)]-anilino-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (**150**)為預期之結構。

圖 2-46、化合物 150 之質譜圖

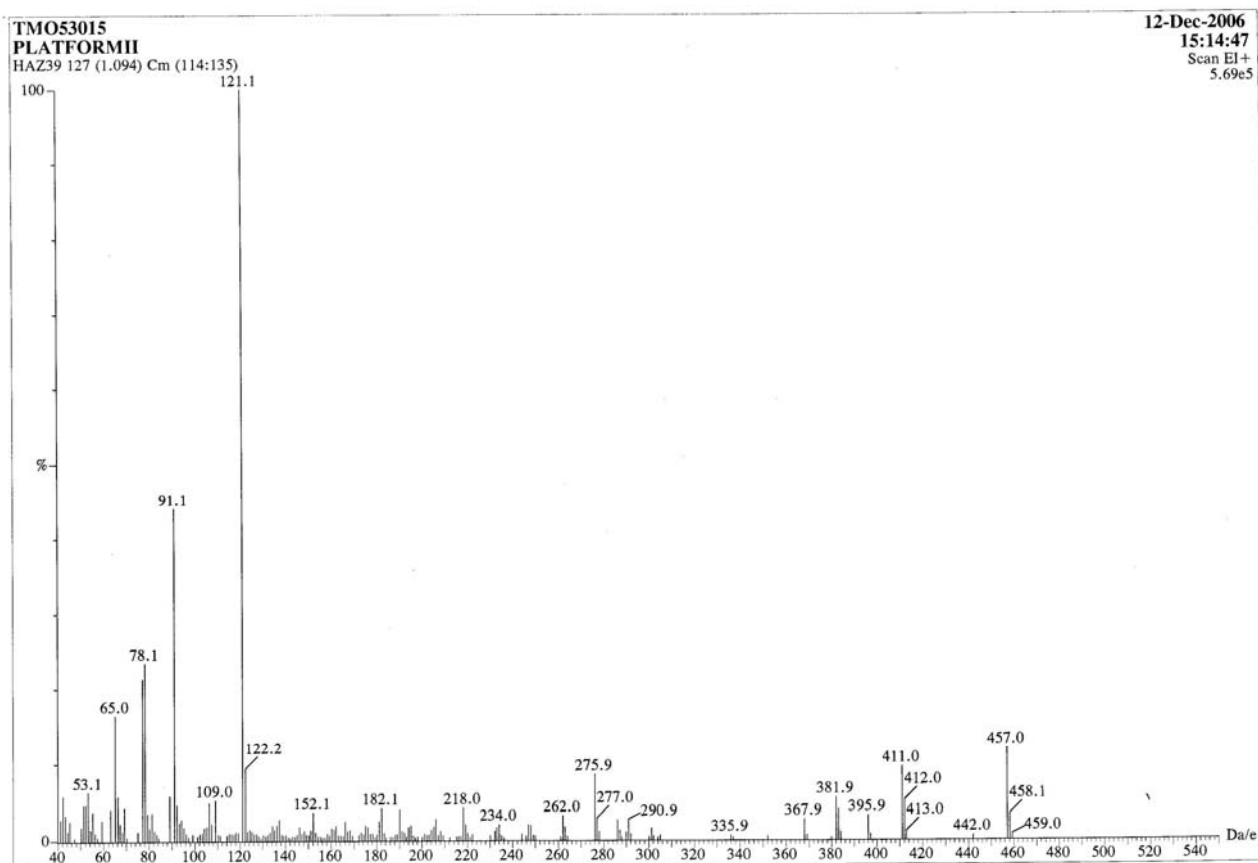


圖 2-47、化合物 150 之紅外光譜圖

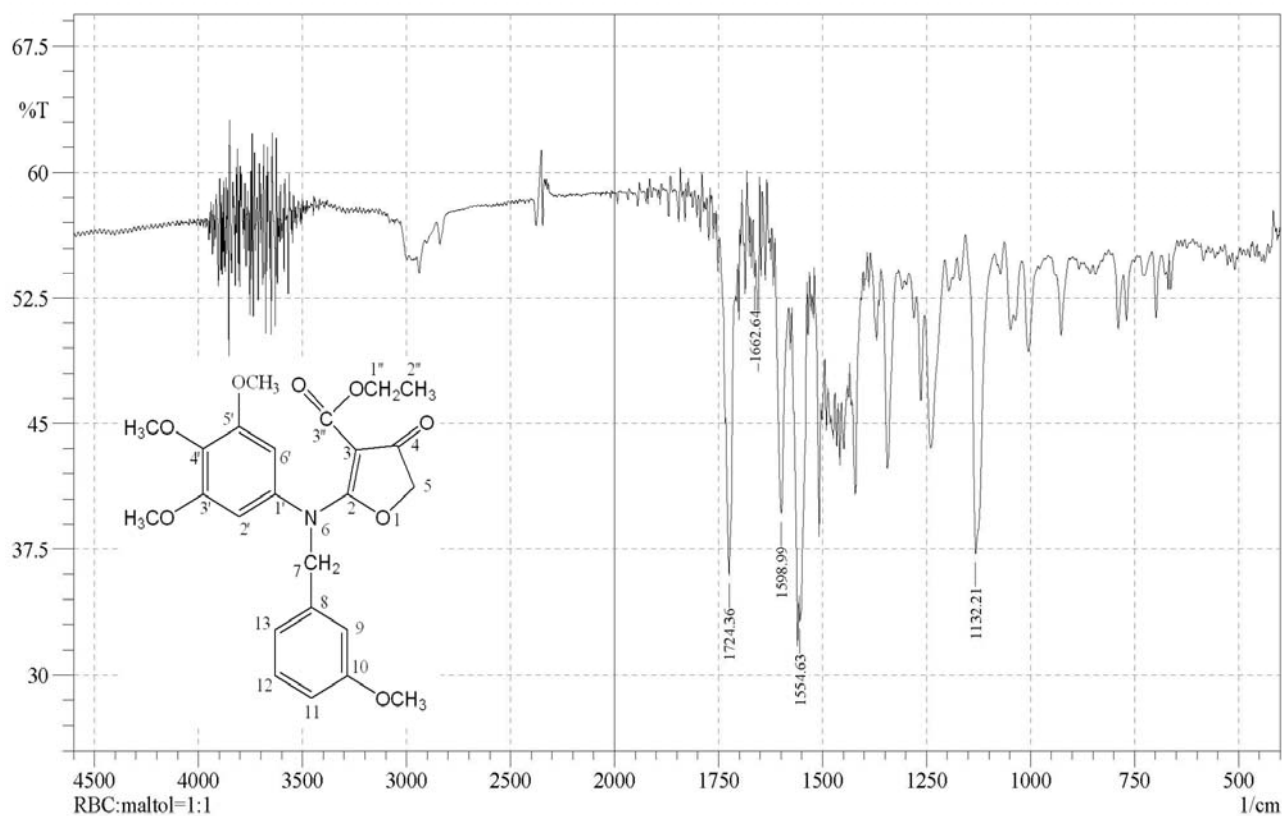


圖 2-48、化合物 150 之氫譜圖

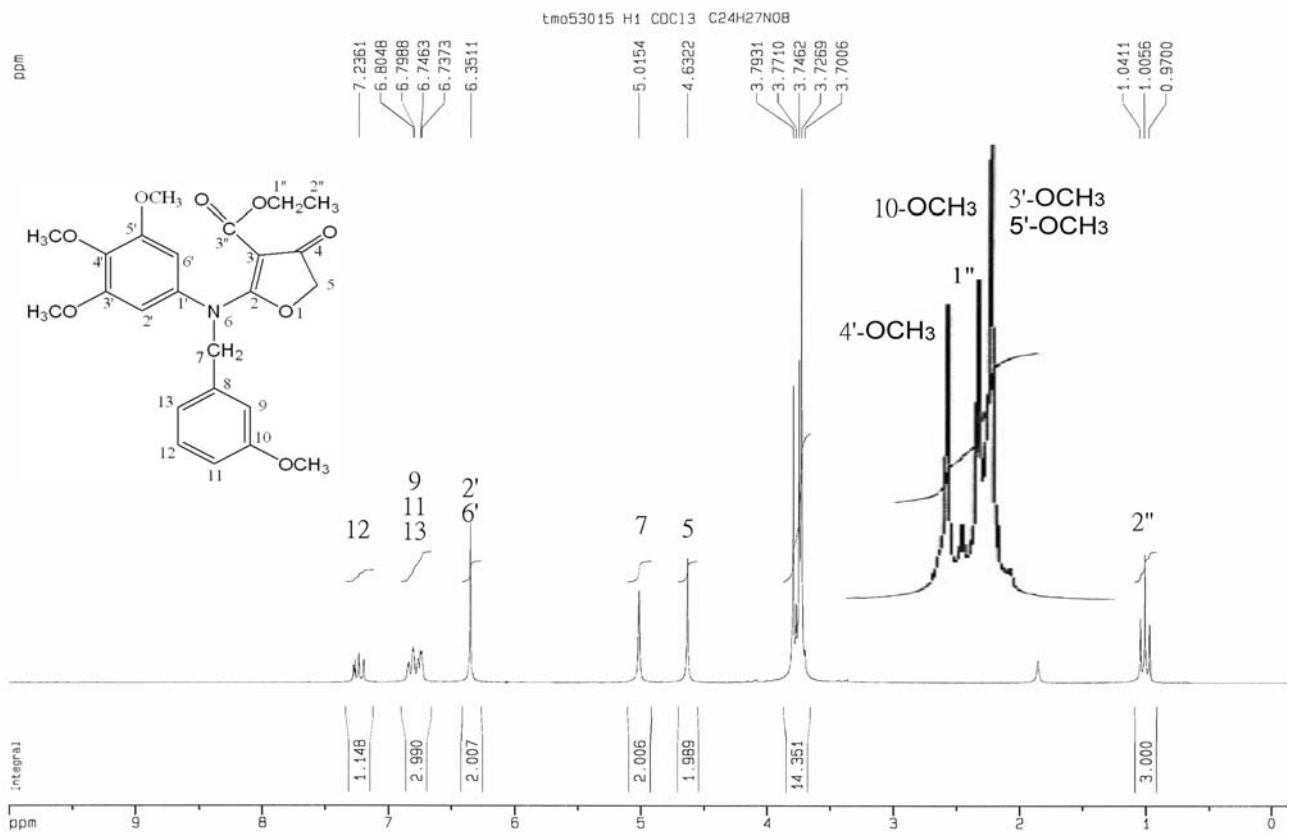


圖 2-49、化合物 150 之碳譜圖

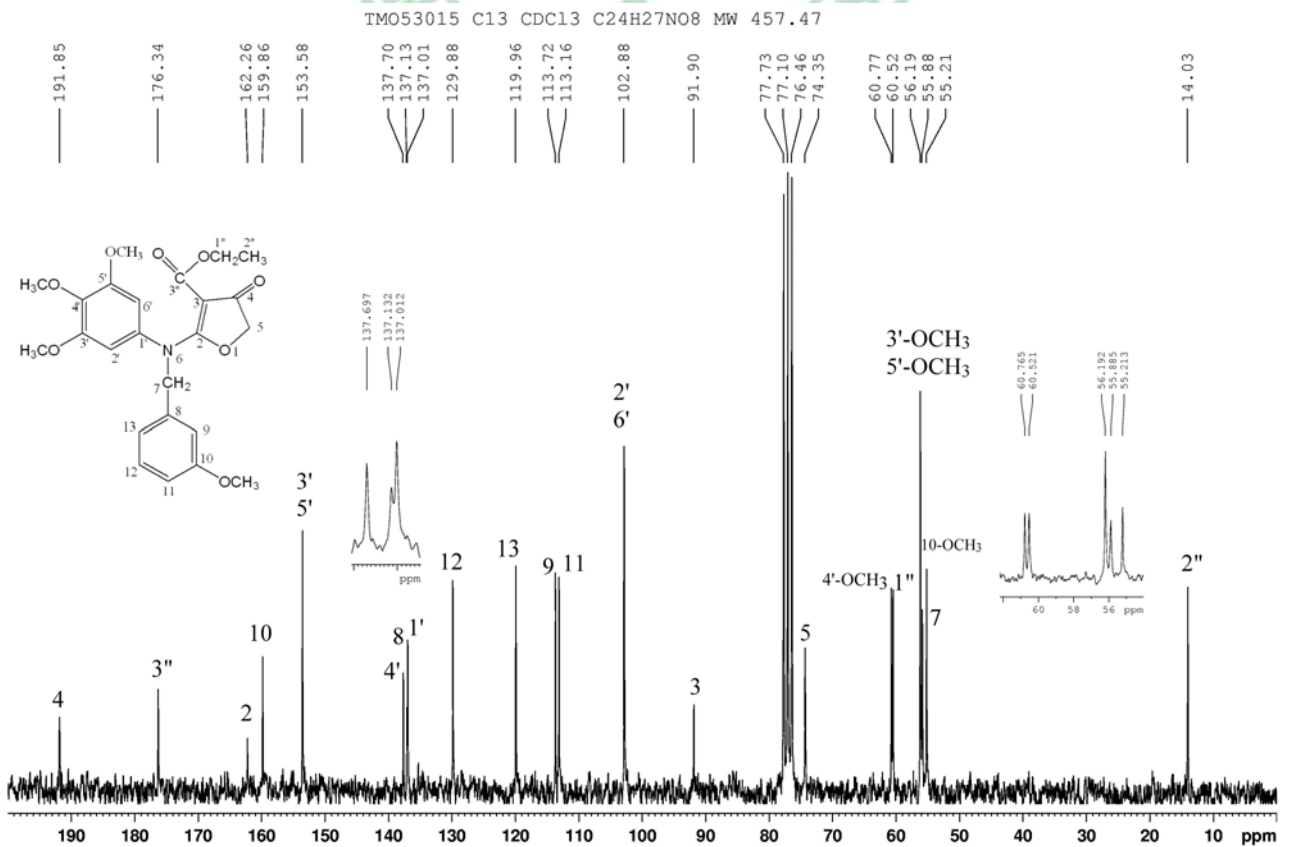
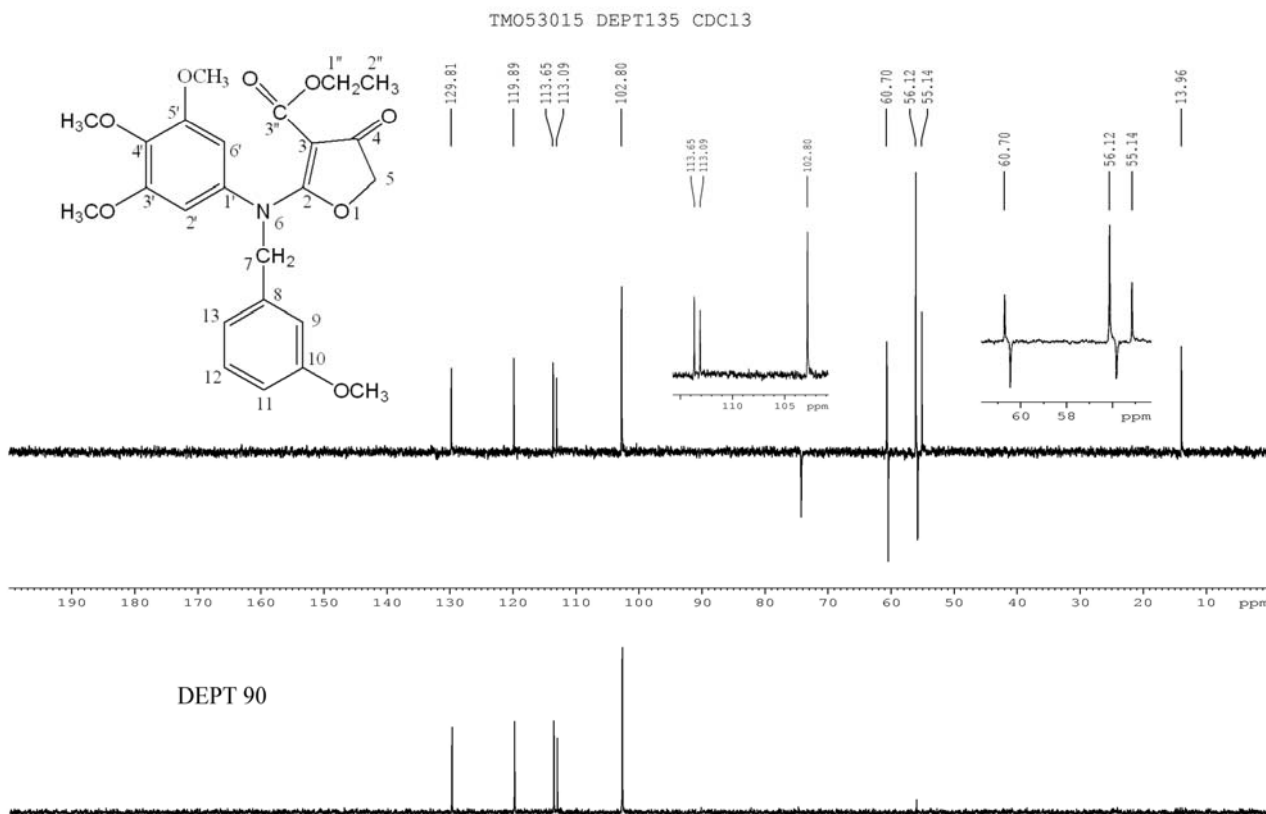


圖 2-50 化合物 150 之 DEPT 90 & DEPT135 圖譜

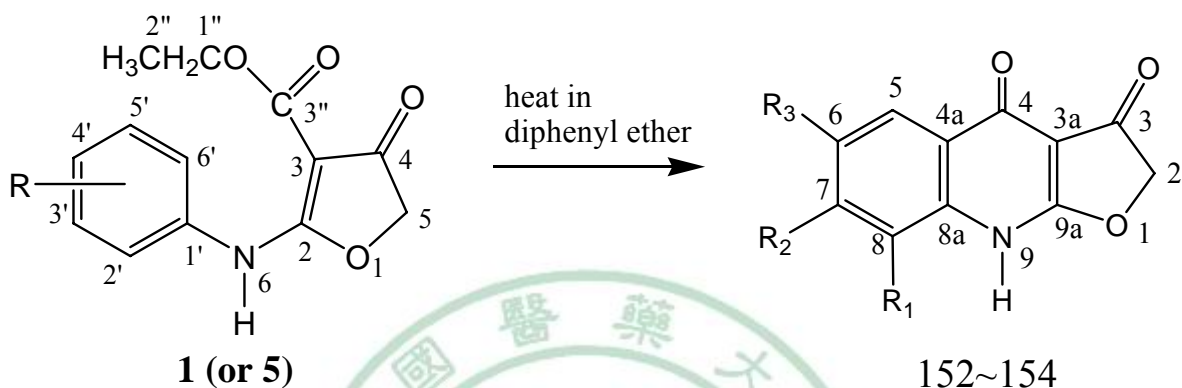


(十一) Substituted-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-b]quinolin-3,4-dione (152~153)之

合成

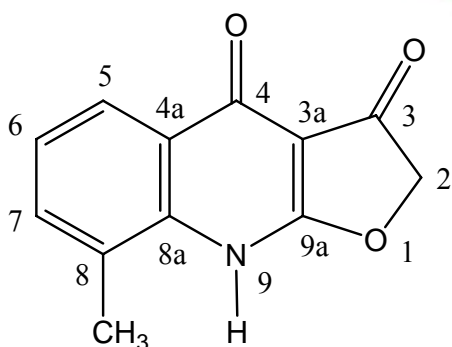
取化合物 **1** (或化合物 **5**) [或化合物 **10**] 研磨成粉末後，加入到熱 diphenylether 中，將溫度升高到約 256°C，維持 3~5 分鐘後遠離火源，使之急速冷卻，可見有黃棕色沉澱，得化合物 **152** (或化合物 **153**) [或化合物 **154**]，其合成如 Scheme 12 所示。

Scheme 13



編號	R ₁	R ₂	R ₃
152	H	OCH ₃	H
153	CH ₃	H	H
154	COOC ₂ H ₅	H	H

在此僅以化合物 **153** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式：C₁₂H₉NO₃

分子量：215.2

- 1、化合物 **153** 的熔點為 287.7°C。UV 光譜最大吸收在 296.5 nm。
- 2、質譜 (MS) 之分子離子峰 217.1 為 (M⁺+2) (圖 2-51)。
- 3、IR 光譜：3402.94 (-NH), 1716.65 (C₃=O), 1633.71 (C₄=O) (圖 2-52)
- 4、NMR 圖譜：

A、¹H-NMR 圖譜：(圖 2-53)

a. 乙酯之訊號：無乙酯訊號，表反應物化合物 **5** 之乙酯於環化過程中脫除。

b. 甲基： δ 2.450 (3H, *s*, 8-CH₃)

c. furan ring C-2 號碳上之 methylene 氫訊號： δ 4.812 (2H, *s*, H-2)

d. 芳香環上之氫應有 3 個：實際氫譜氫數為 3 個。7.232 (1H, *t*, H-6), 7.49 (1H, *d*, H-7), 7.939 (1H, *d*, H-5)

e. -NH： δ 12.25 (1H, *br*, -NH)

B、¹³C-NMR 圖譜：(圖 2-54) 化合物分子結構應有特徵訊號：

(1) 12 個碳原子應有 12 支訊號：實際碳譜有 11 支訊號，其中 1 支訊號特別高，由 DEPT 90 可知其為 C-6 與 C-7 兩訊號重疊。

(2) 1 個 methyl 碳： δ 17.93 (C-8₃)。

(3) 2 個 carbonyl 碳，分別為 δ 175.8 (C-4)及 δ 191.17 (C-4)。

(4) furan ring 上 methylene 碳訊號： δ 75.45 (C-2)。

(5) furan ring 3a 號碳： δ 99.58 (C-3)。

(6) DEPT 90 及 DEPT 135 (圖 2-55) 圖顯示有 3 個-CH-、1 個-CH₂-、1 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 8-Methyl-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4- dione (**152**)為預期之結構。

圖 2-51、化合物 153 之質譜圖

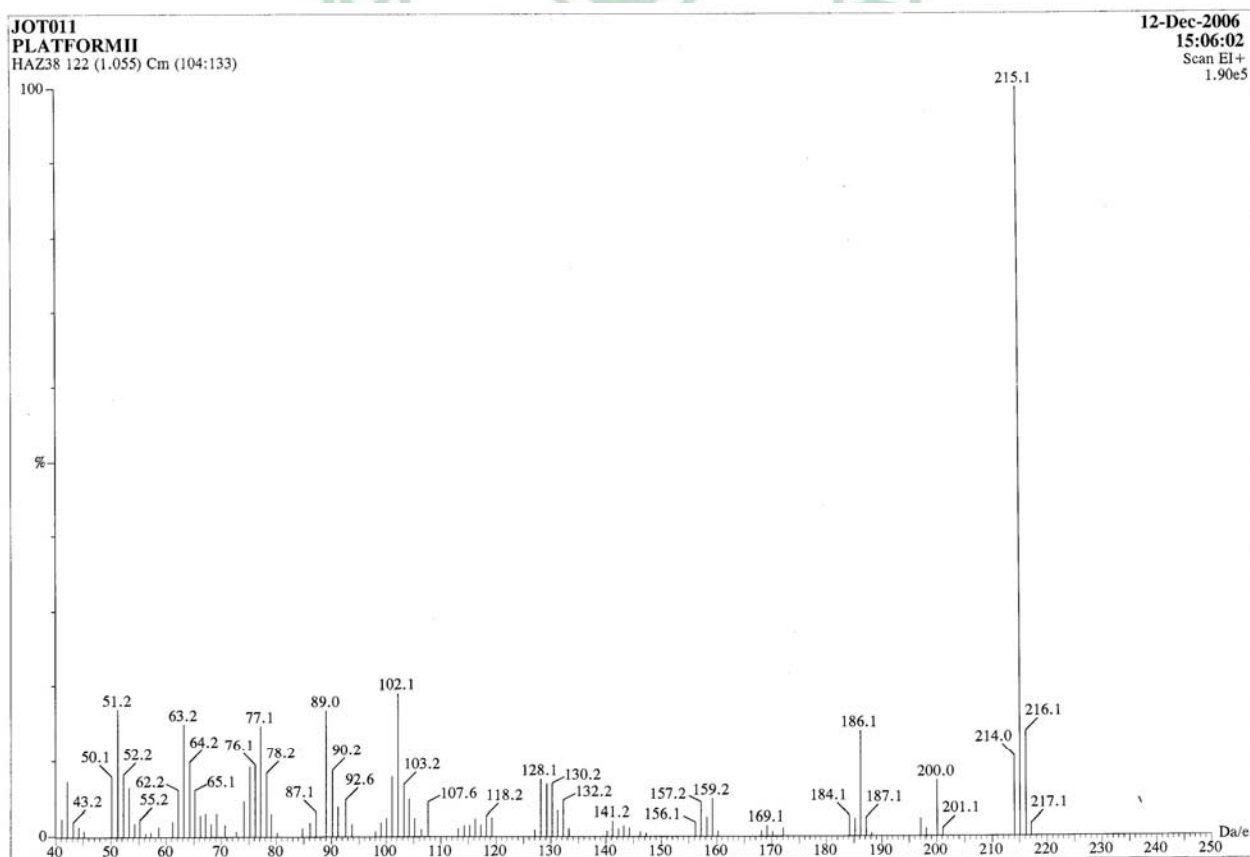


圖 2-52、化合物 153 之紅外光譜圖

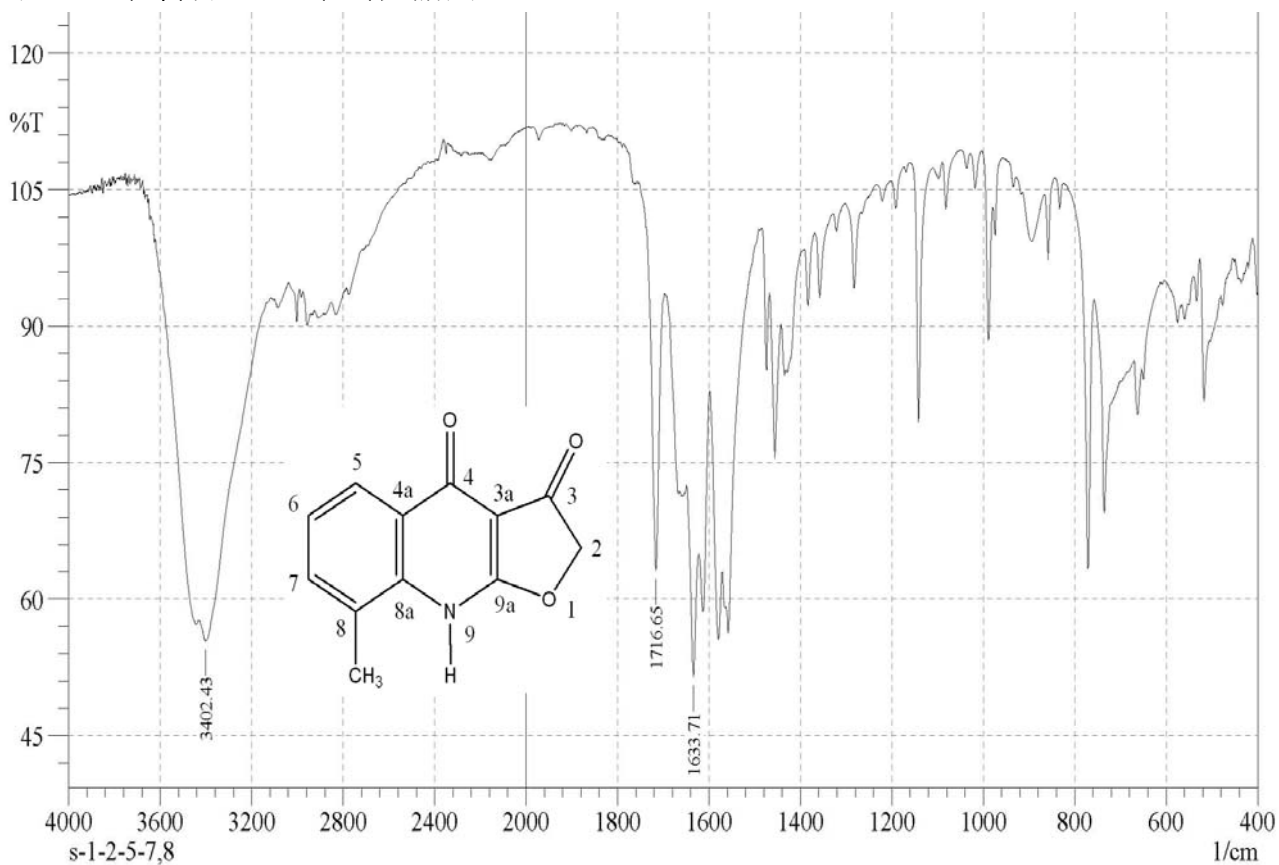


圖 2-53、化合物 153 之氫譜圖

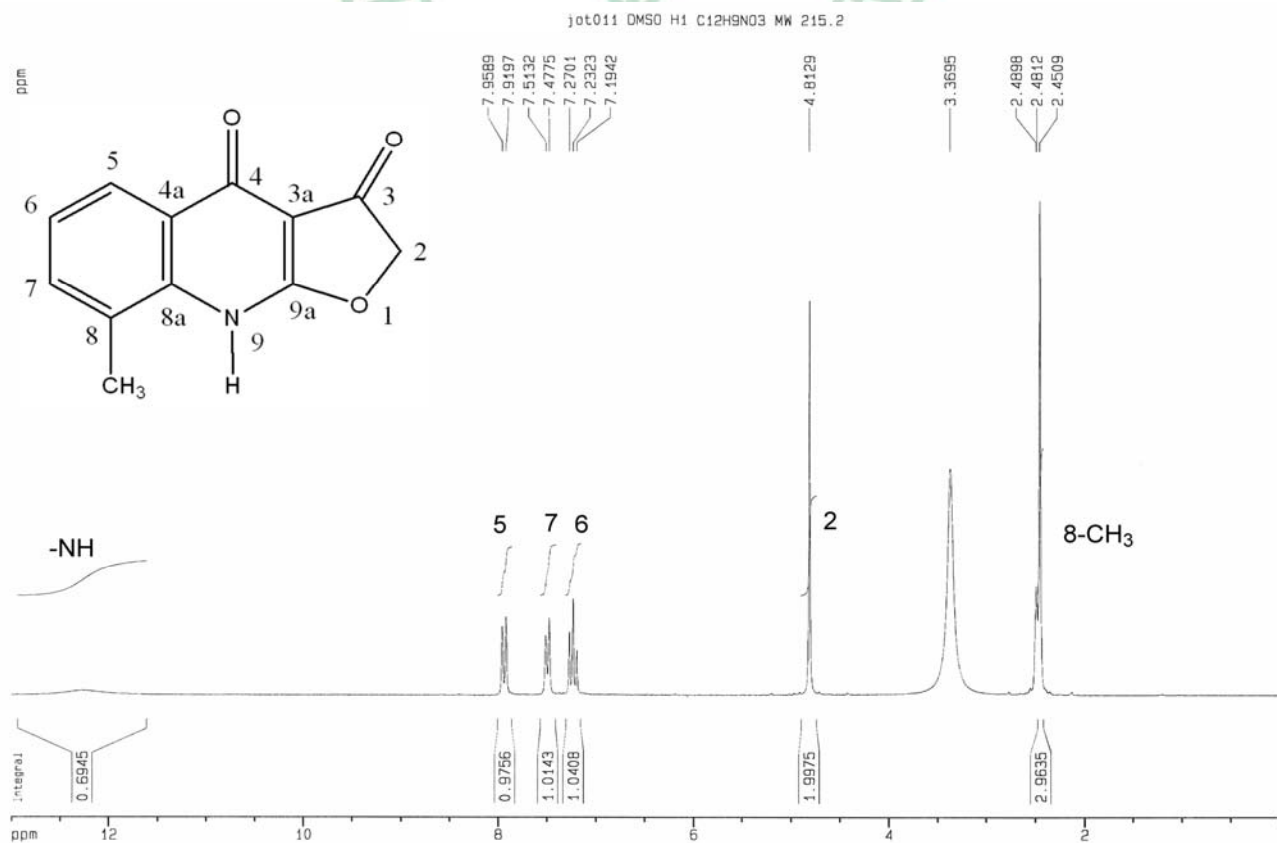


圖 2-54、化合物 153 之碳譜圖

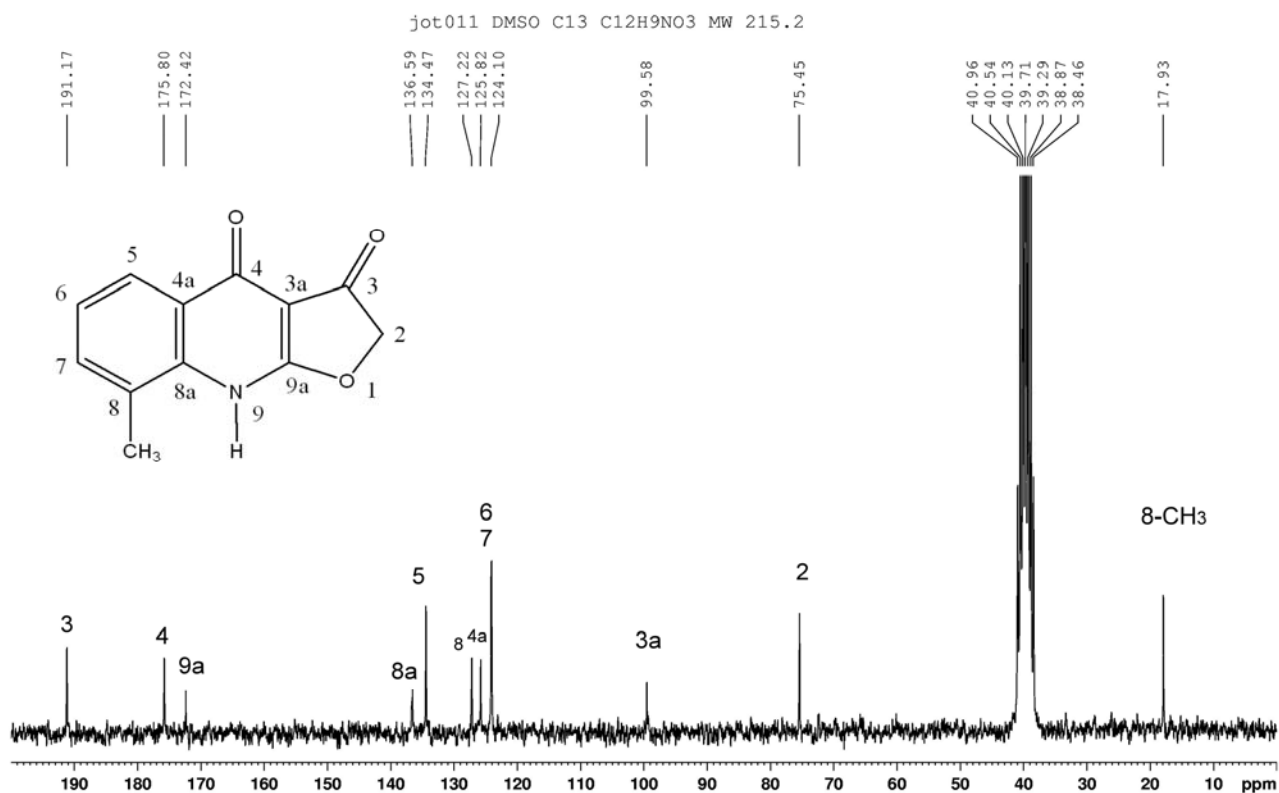
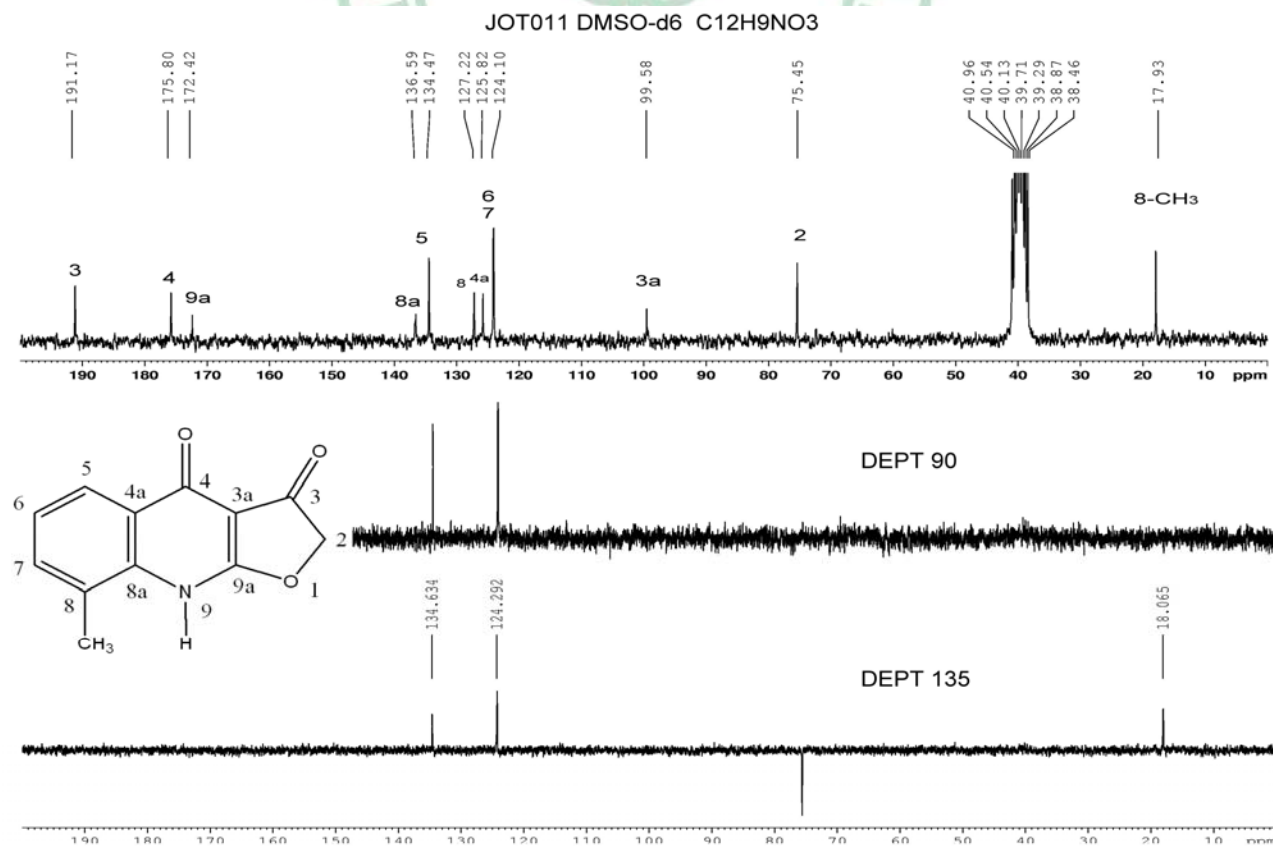


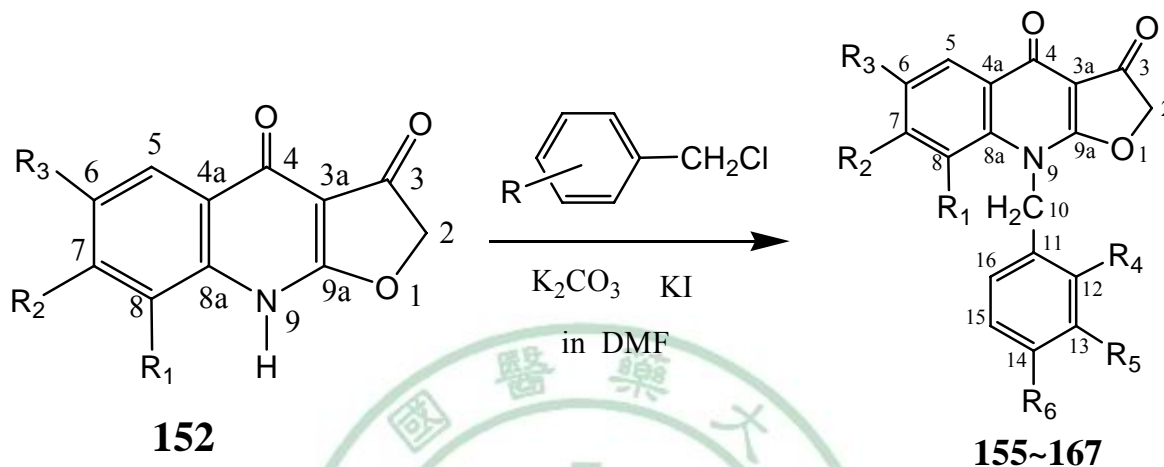
圖 2-55 化合物 153 C13、DEPT135 & DEPT90 圖譜



(十二) *N*-Substituted benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-diones (155~167)之合成

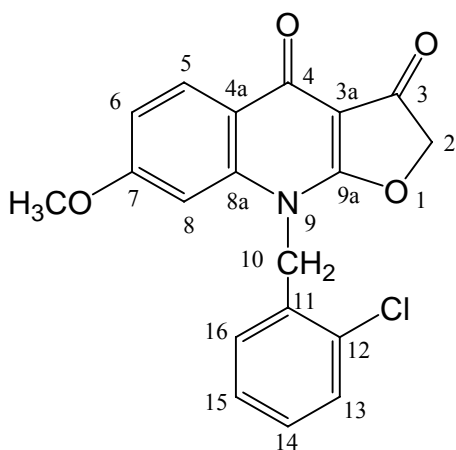
取化合物 **152** 懸著於 DMF 中，加入無水 K_2CO_3 及 KI 攪拌之，接著加入 substituted benzyl chloride，進行取代反應，即可得化合物 **155-167**。其合成如 Scheme 14 所示。

Scheme 14



編號	化合物代號	R1	R2	R3	R4	R5	R6
155	HAJ01101	H	OCH ₃	H	H	H	H
156	HAJ01102	H	OCH ₃	H	CH ₃	H	H
157	HAJ01103	H	OCH ₃	H	H	CH ₃	H
158	HAJ01104	H	OCH ₃	H	H	H	CH ₃
159	HAJ01105	H	OCH ₃	H	Cl	H	H
160	HAJ01106	H	OCH ₃	H	H	Cl	H
161	HAJ01107	H	OCH ₃	H	H	H	Cl
162	HAJ01108	H	OCH ₃	H	F	H	H
163	HAJ01109	H	OCH ₃	H	H	F	H
164	HAJ01110	H	OCH ₃	H	H	H	F
165	HAJ01114	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H
166	HAJ01115	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H
167	HAJ01116	H	OCH ₃	H	H	H	OCH ₃

在此僅以化合物 **159** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式：C₁₉H₁₄ClNO₄

分子量：355.77

- 1、化合物 **159** 的熔點為 226.9°C。UV 光譜最大吸收在 295 nm。
- 2、質譜儀 (m/z, %)：354.8 (M⁺, 25.62), 356.8 (M⁺+2, 9.74)。(M⁺%) / (M⁺+2%)，比值約 3 比 1，符合結構含單氯之自然界氮同位素之比值 (圖 2-56)。
- 3、IR 光譜 1720.5 cm⁻¹ 及 1616.35 cm⁻¹ 顯示 2 個 carbonyl。(圖 2-57)
- 4、NMR 圖譜：

A、¹H-NMR 圖譜：(圖 2-58)

- a. 甲氧基：δ3.77 (3H, s, 7-OCH₃)
- b. furan ring C-2 號碳上之 methylene 氫訊號：δ4.754 (2H, s, H-2)
- e. N-benzyl 之 methylene 氫訊號：δ5.504 (2H, s, H-10)。
- f. 芳香環上之氫應有 7 個：實際氫譜氫數為 7 個。

B、¹³C-NMR 圖譜：(圖 2-59) 化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 19 個碳原子應有 19 支訊號：實際碳譜有 19 支訊號。
- (2) 1 個 methoxy 碳：δ55.514 (7-OCH₃)。
- (3) 2 個 carbonyl 碳，分別為 δ175.05 (C-4)及 δ190.14 (C-4)。
- (4) furan ring 上 3a 碳訊號：δ100.117 (C-3a)。4a 碳訊號：δ120.33。8a 碳訊號：δ139.55 (C-8a)。9a 碳訊號：δ171.69 (C-9a)。
- (5) N-benzyl 之 methylene 碳訊號：δ44.54 (C-10)。
- (6) DEPT 90 及 DEPT 135 (圖 2-60) 圖顯示有 7 個-CH-、2 個-CH₂-、1 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 *N*-*o*-chlorobenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione (**159**) 為預期之結構。

圖 2-56、化合物 159 之質譜圖

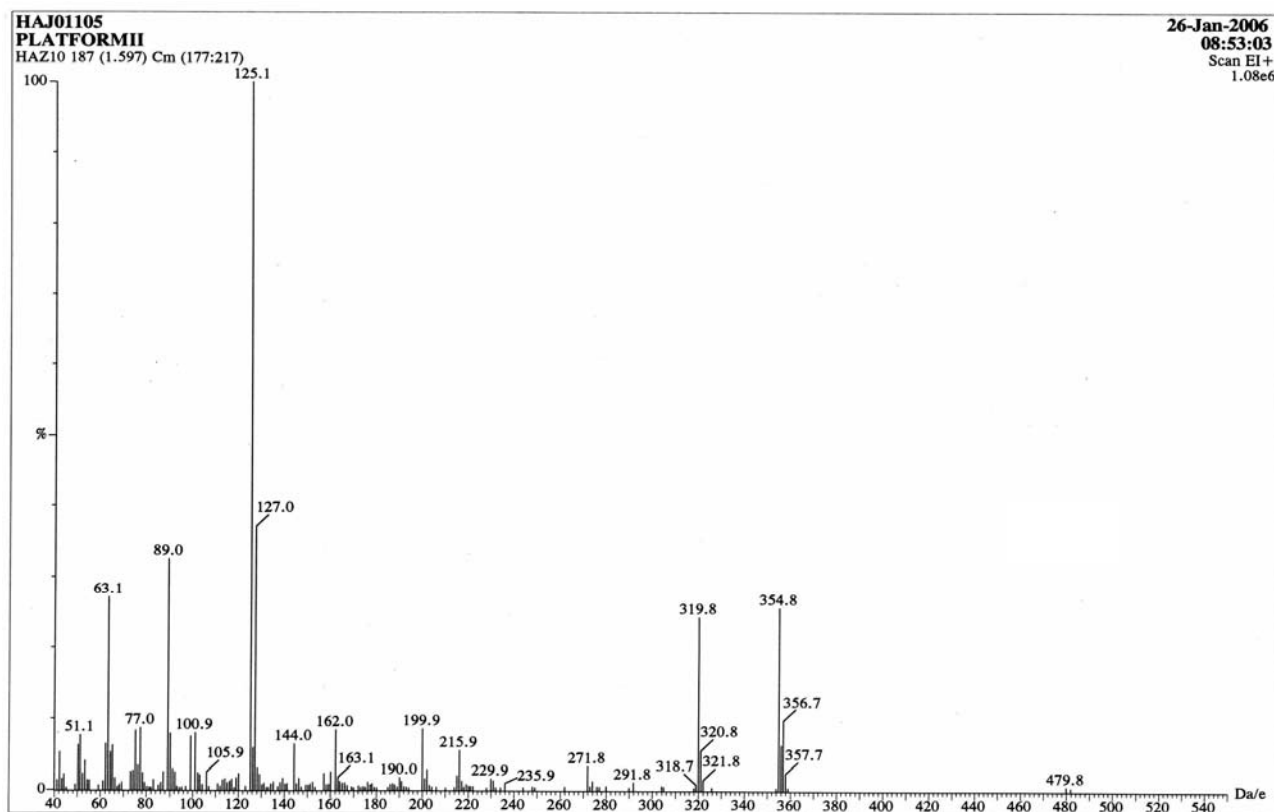


圖 2-57、化合物 159 之紅外光譜圖

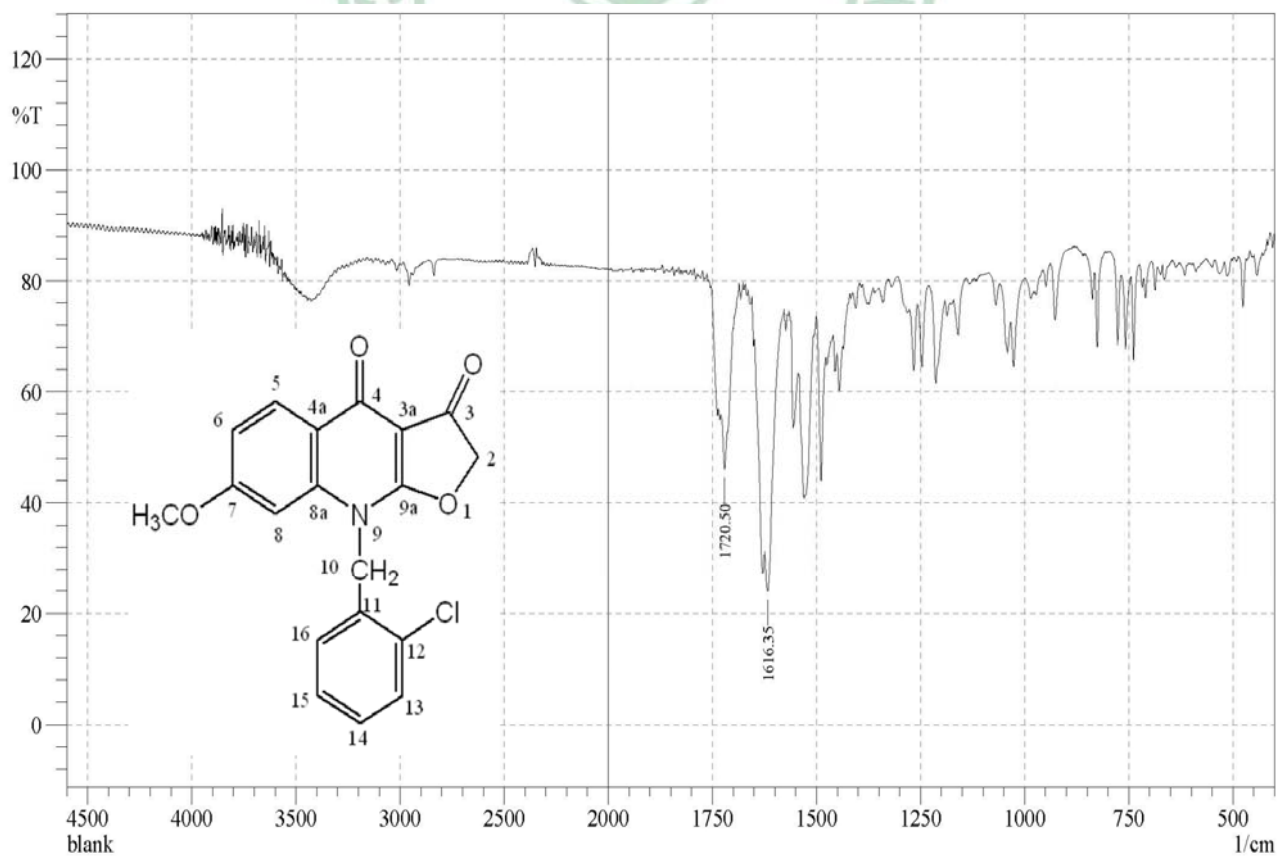


圖 2-58、化合物 159 之氫譜圖

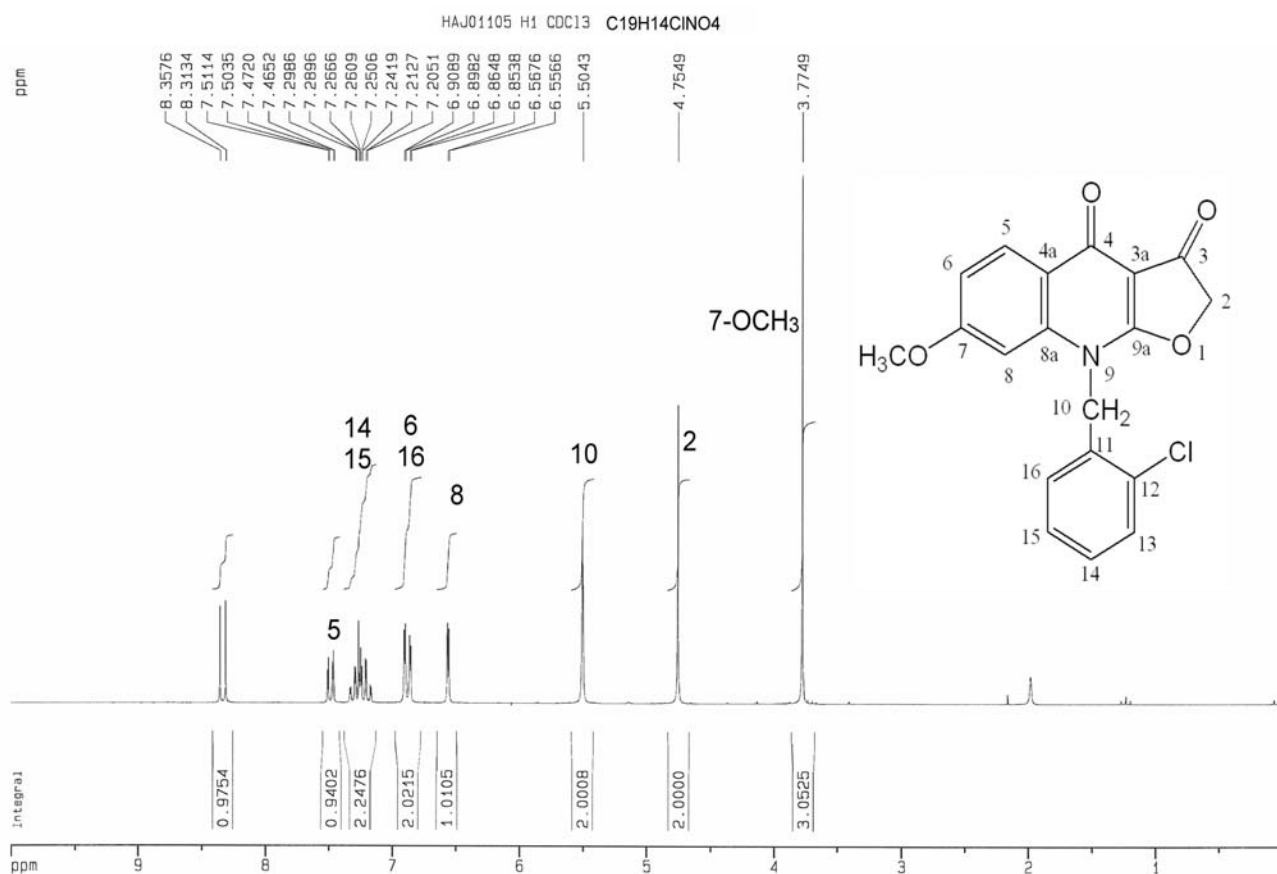


圖 2-59、化合物 159 之碳譜圖

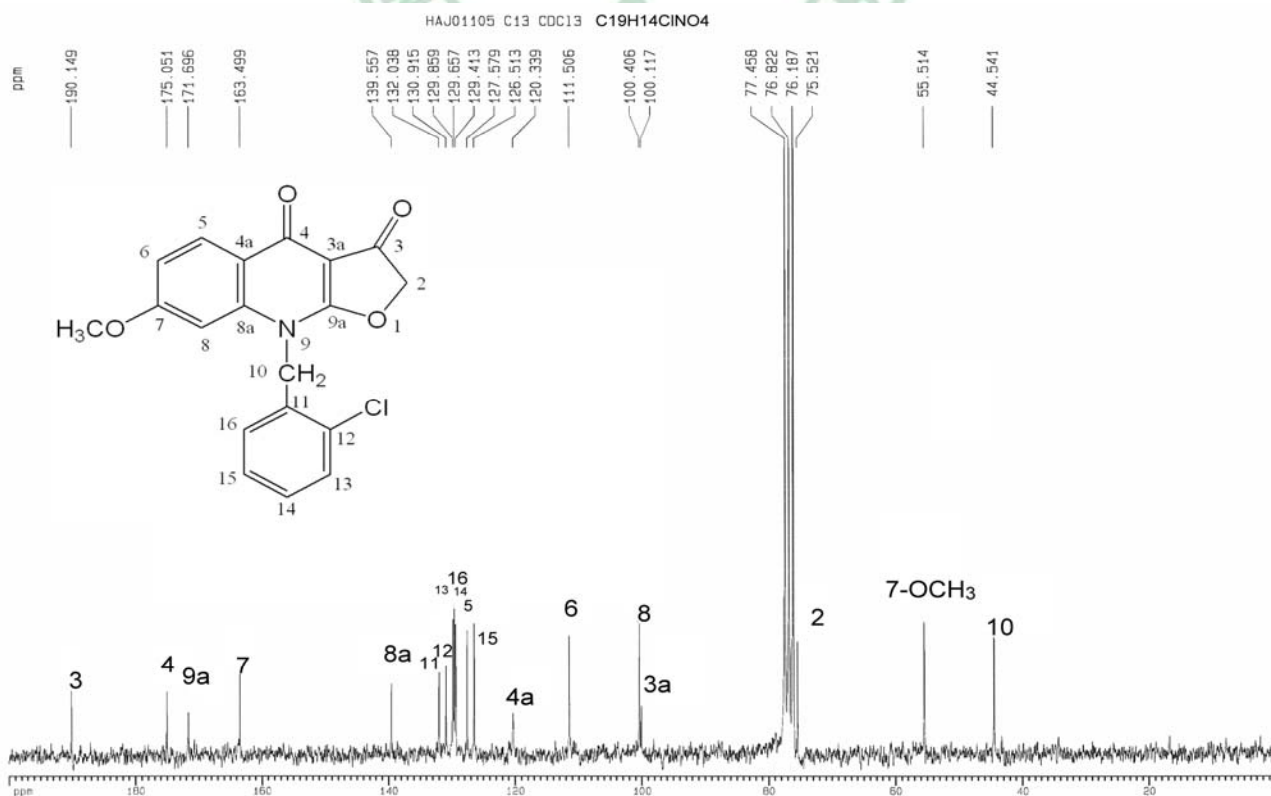
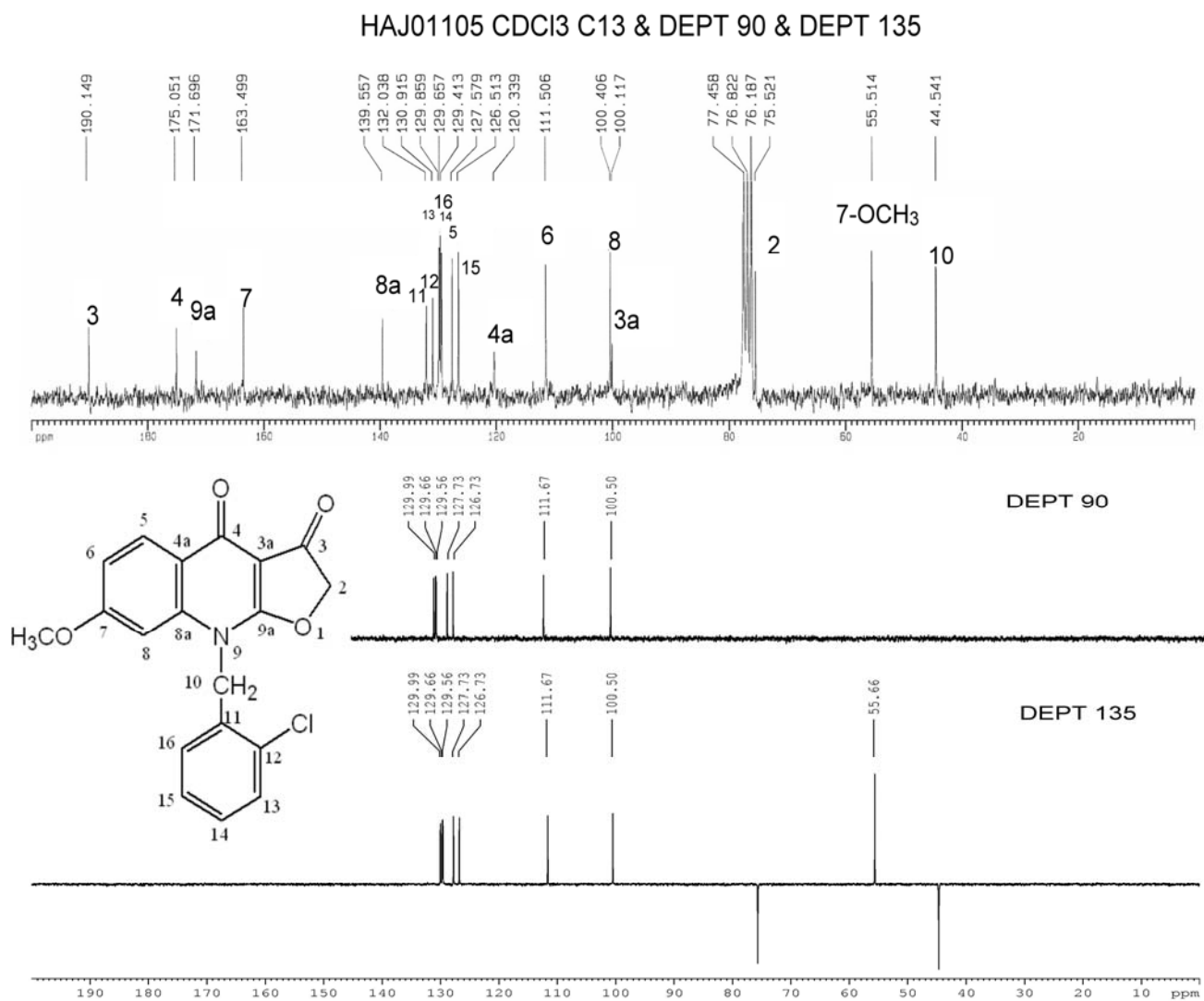


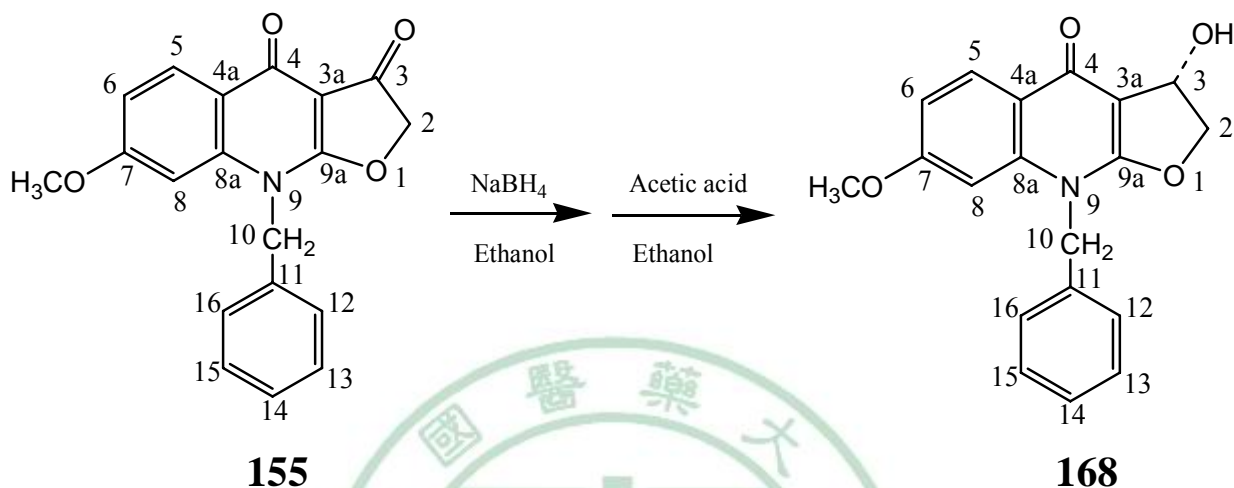
圖 2-60 化合物 159 之 C13 & DEPT 90 & DEPT135 圖譜



(十三) *N*-benzyl-3-hydroxy-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-one(168)之合成

取化合物 **155** 溶於乙醇溶液中,加入 NaBH₄, 於室溫下進行還原反應, 反應完後用稀醋酸破壞殘餘未反應的 NaBH₄, 得化合物 **178**。其合成如 Scheme 15 所示。

Scheme 15



化合物 **168** 之分子式：C₁₉H₁₇NO₄, 分子量 322.34, 分子結構式如 Scheme 15 所示產物。

物理及結構鑑定特徵如下：

- 1、化合物 **168** 的熔點為 170.6°C。UV 光譜最大吸收在 305.5 nm。
- 2、質譜儀 (m/z, %) : 322.8 (M⁺), 304 (M⁺-18, -OH)。(圖 2-61)
- 3、IR 光譜：原化合物 **155** 有 2 個 carbonyl, 現只剩下 1 個(1622.13 cm⁻¹), 另增加-OH 吸收(3184.48 cm⁻¹), 有 1 個 carbonyl 被還原成-OH。(圖 2-62)
- 4、NMR 圖譜：

A、¹H-NMR 圖譜：(圖 2-63)

- a. 甲氧基：δ3.77 (3H, *s*, 7-OCH₃)
- b. furan ring C-2 號碳上之 methylene 氫訊號：furan ring 3 號碳 carbonyl 被還原成 -OH, 且-OH 是被固定在環上下的一個方向, 使 C-2 號碳上之 2 個氫相對於 -OH, 是處於不同環境中, 故 C-2 號碳上之 methylene 氫訊號, 變成兩種化學位移, δ4.47 (1H, *d*, H-2a), 4.695~4.776 (1H, *m*, H-2b)。
- c. 新增 furan ring C-3 號碳上之氫訊號：δ5.312 (1H, *t*, H-3a), 5.520 (1H, *d*, 3-OH)
- e. *N*-benzyl 之 methylene 氫訊號：δ5.44 (2H, *s*, H-10)。
- f. 芳香環上之氫應有 8 個：實際氫譜氫數為 8 個。

B、¹³C-NMR、DEPT 90 及 DEPT 135 圖譜：(圖 2-64) 化合物分子結構應有特徵訊號：

- (1) 19 個碳原子應有 17 支訊號(C-11,C15 對稱·C-12, C14 對稱): 實際 17 支訊號。
- (2) 1 個 methoxy 碳: $\delta 55.726$ (7-OCH₃)。1 個 carbonyl 碳, 分別為 $\delta 172.694$ (C-4)。
- (3) N-benzyl 之 methylene 碳訊號: $\delta 47.06$ (C-10)。
- (4) DEPT 90 及 DEPT 135 圖顯示有 9 個-CH-、2 個-CH₂-、1 個-CH₃。

※ 綜合以上光譜數據分析, 化合物 *N*-*o*-chlorobenzyl-3-hydroxy-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro- [2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (168) 為預期之結構。

圖 2-61、化合物 168 之質譜圖

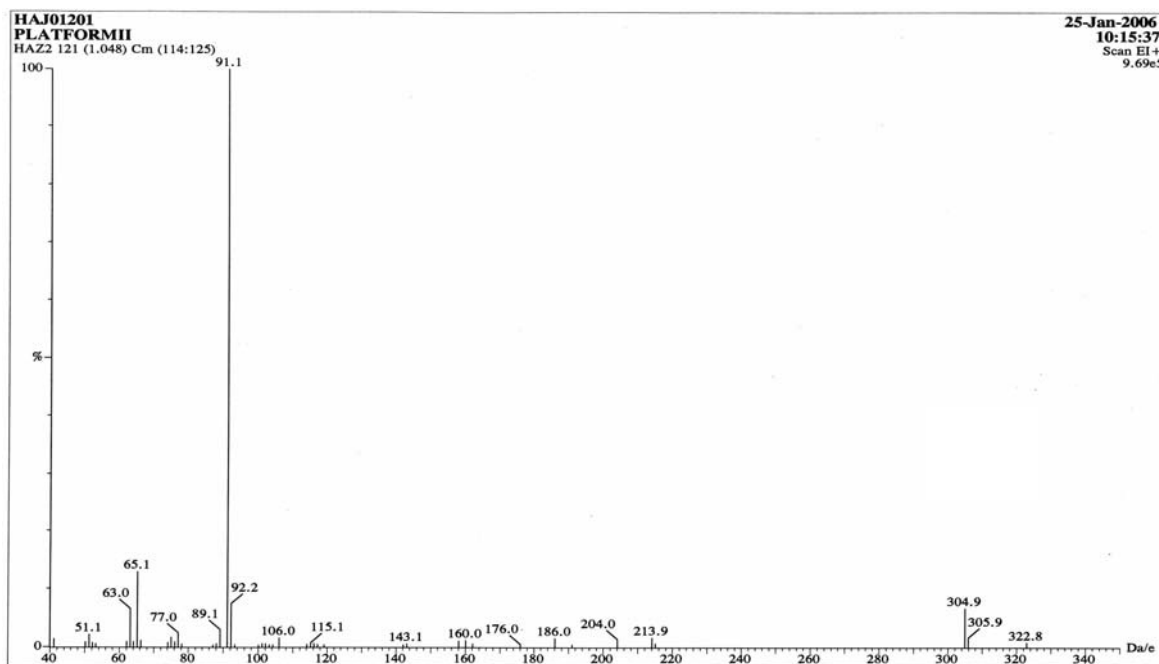


圖 2-62、化合物 168 之紅外光譜圖

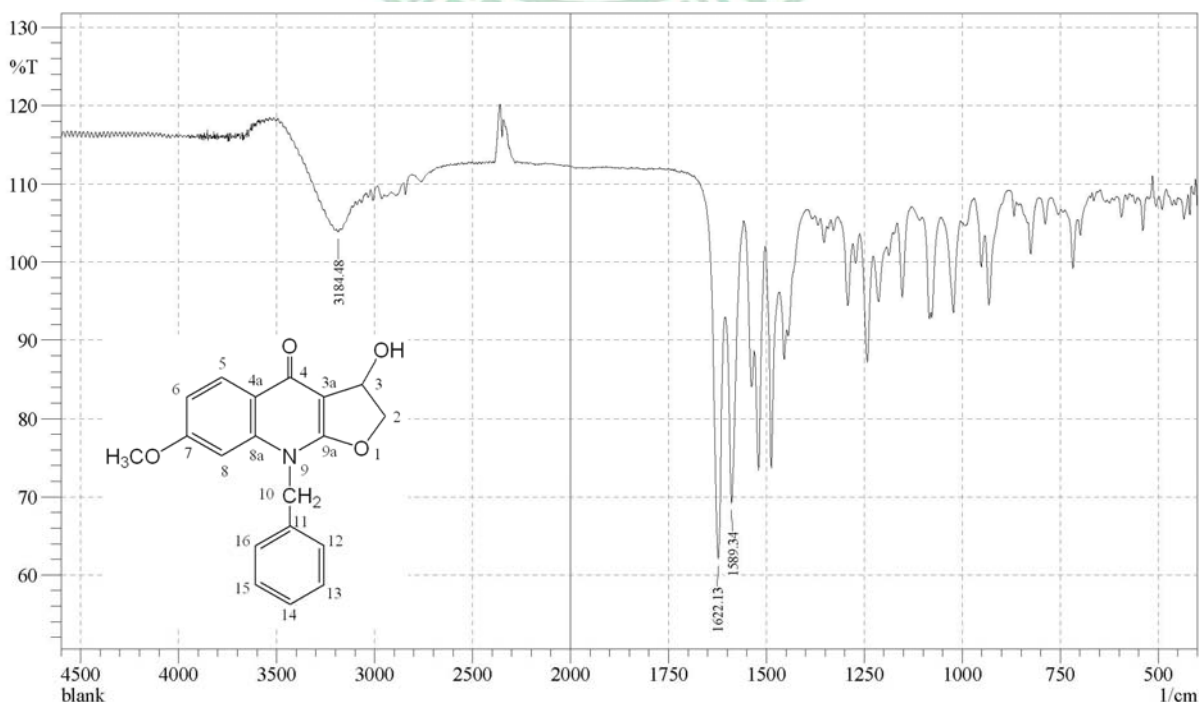


圖 2-63、化合物 168 之氫譜圖

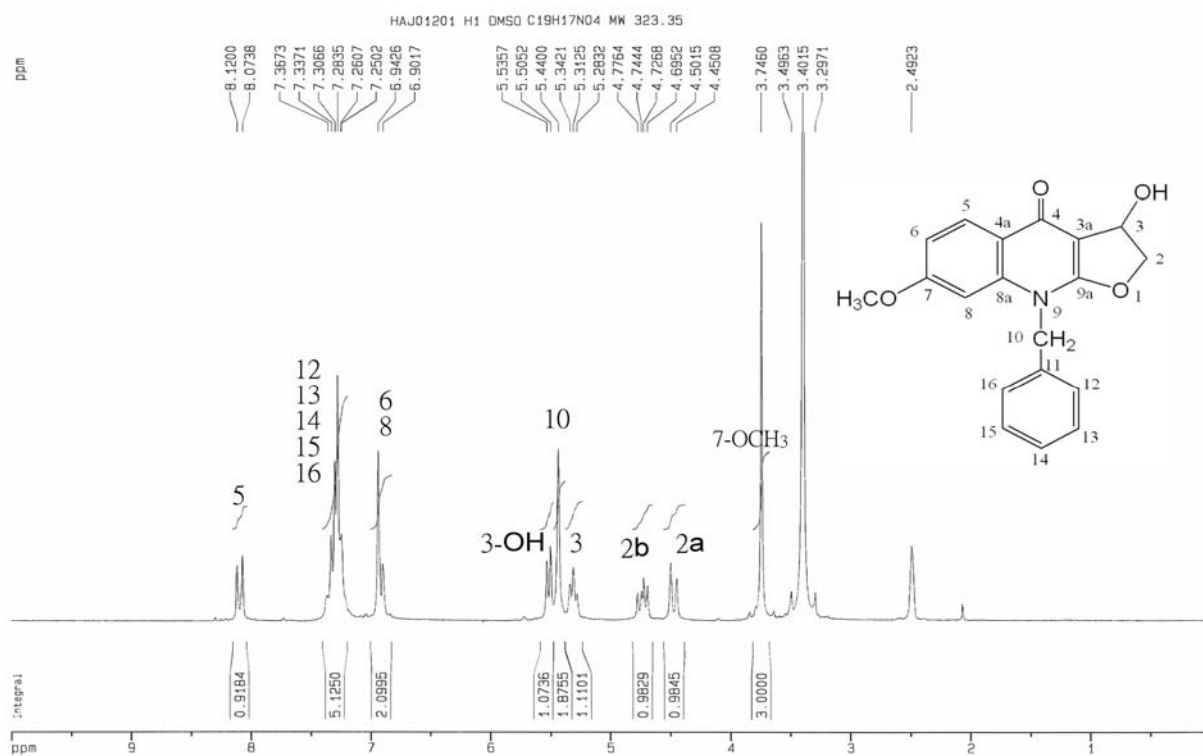
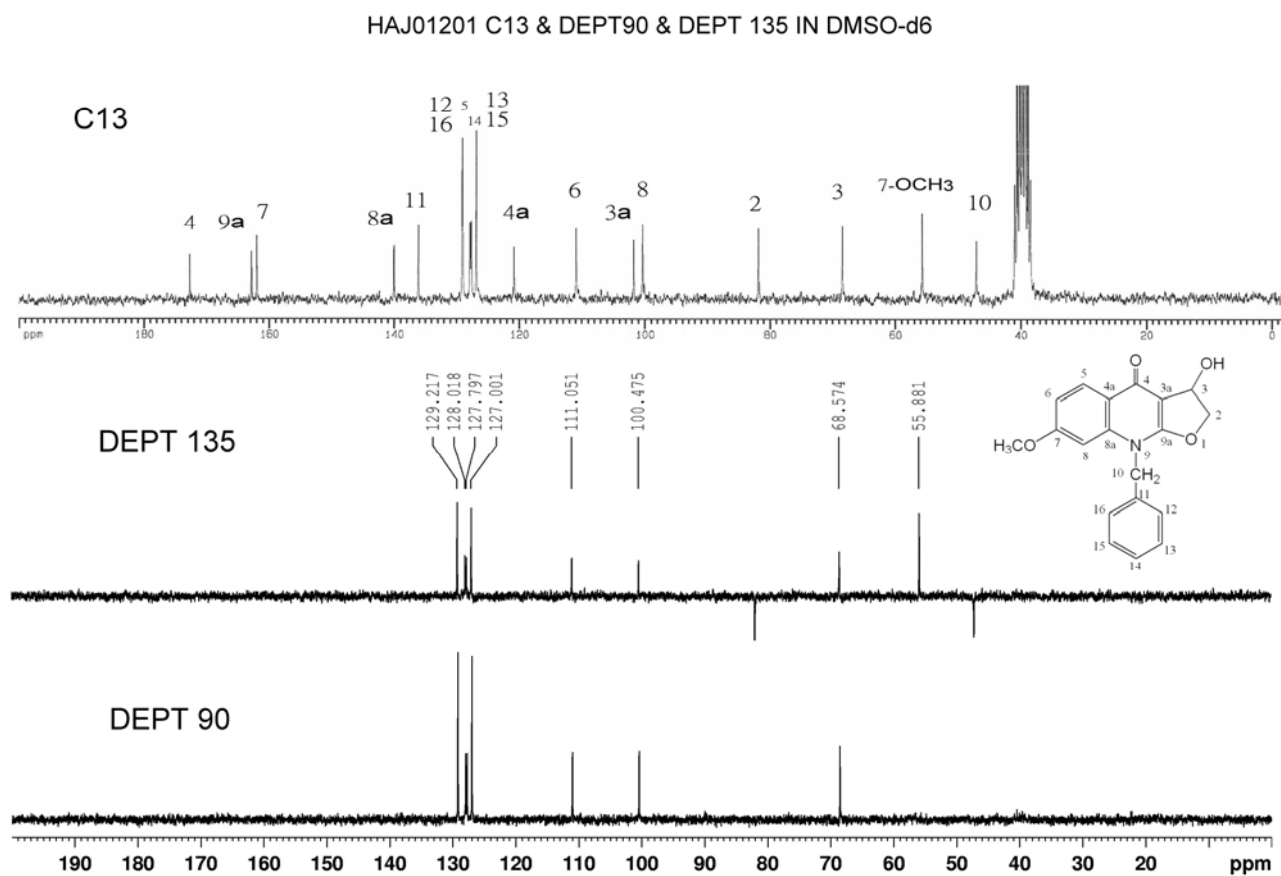


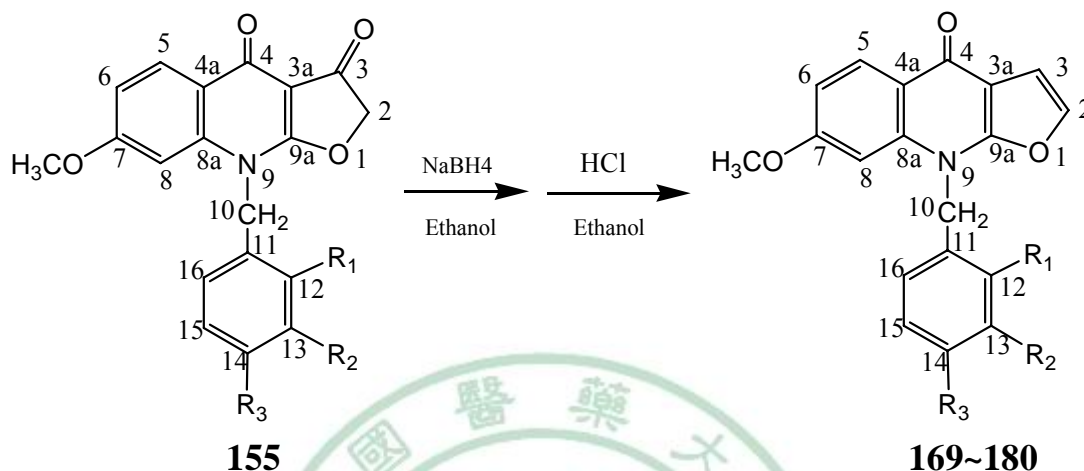
圖 2-64、化合物 168 之 C13 & DEPT 90 & DEPT135 圖譜



(十四) *N*-substituted benzyl 7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-diones (169~180)之合成

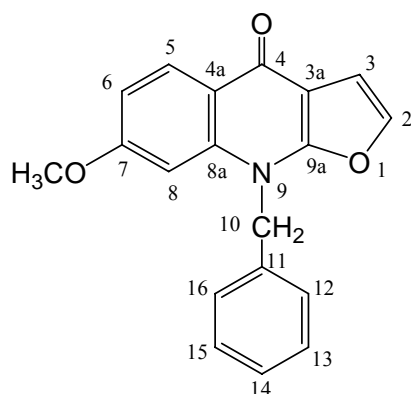
取化合物 **155** 溶於乙醇溶液中,加入 NaBH₄, 於室溫下進行還原反應, 反應完後用稀鹽酸破壞殘餘未反應的 NaBH₄, 得化合物 **169~180**。其合成如 Scheme 16 所示。

Scheme 16



編號	化合物代號	R1	R2	R3
169	HAJ01501	H	H	H
170	HAJ01502	CH ₃	H	H
171	HAJ01503	H	CH ₃	H
172	HAJ01504	H	H	CH ₃
173	HAJ01505	Cl	H	H
174	HAJ01506	H	Cl	H
175	HAJ01507	H	H	Cl
176	HAJ01508	F	H	H
177	HAJ01510	H	H	F
178	HAJ01514	OCH ₃	H	H
179	HAJ01515	H	OCH ₃	H
180	HAJ01516	H	H	OCH ₃

在此僅以化合物 **169** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式：C₁₉H₁₅NO₃

分子量：305.33

1、化合物 **169** 的熔點為 177°C。UV 光譜最大吸收在 321.5 nm。

2、質譜 (MS) 之分子離子峰 305 為 (M^+) (圖 2-65)。

3、IR 光譜：1635.64 cm^{-1} 顯示 1 個 carbonyl。(圖 2-66)

4、NMR 圖譜：

A、 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜：(圖 2-67)

a. 甲氧基： δ 3.787 (3H, s, 7- OCH_3)

b. 原 carbonyl group 還原並脫水後，C2 與 C3 雙鍵形成，此為特徵點： δ 7.099 (1H, *d*, $J = 2.24\text{Hz}$, H-3), δ 7.7213 (1H, *d*, $J = 2.24\text{Hz}$, H-2)。---證明還原反應是發生在 C3 之 carbonyl，非 C4 之 carbonyl。

c. benzyl 之 methylene group： δ 5.713 (2H, s, H-10)

B、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、DEPT 90 及 DEPT 135 圖譜：(圖 2-68) 化合物分子結構應有特徵訊號：

(1) 19 個碳應有 17 支訊號(C12',C16'對稱，C13',C15'對稱)：實際有 17 支訊號。

(2) 1 個 methoxy 碳： δ 55.85 (7- OCH_3)，1 個 carbonyl 碳： δ 171.86 (C-4)。

(3) N-benzyl 之 methylene 碳訊號： δ 47.556 (C-10)。

(4) furan ring 2、3 號碳： δ 107.57 (C-3)、 δ 139.36 (C-2)。

(5) C13,C15 對稱，C12,C16 對稱：有 2 支訊號為 2 倍高。

(6) DEPT 90 及 DEPT 135 圖顯示有 10 個-CH、1 個- CH_2 -、1 個- CH_3 。

(7) COSY 圖(圖 2-69) 顯示 H-2、H-3 關聯及 H-5、H-6、H-8 關聯之輔助證明。

(8) HMQC 圖(圖 2-70) 輔助證明 C-H 圖譜之準確性。

綜合以上光譜數據分析，化合物 *N*-benzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro [2,3-*b*]quinolin-4-one (**169**)為預期之結構。

圖 2-65、化合物 **169** 之質譜圖

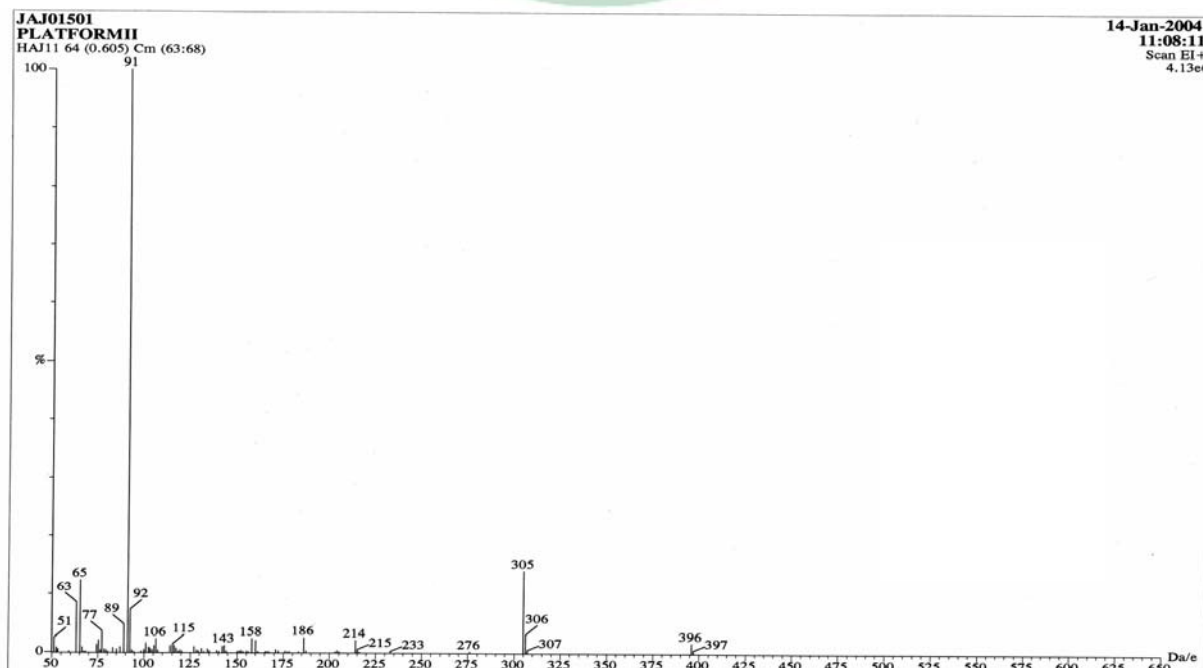


圖 2-66、化合物 169 之紅外光譜圖

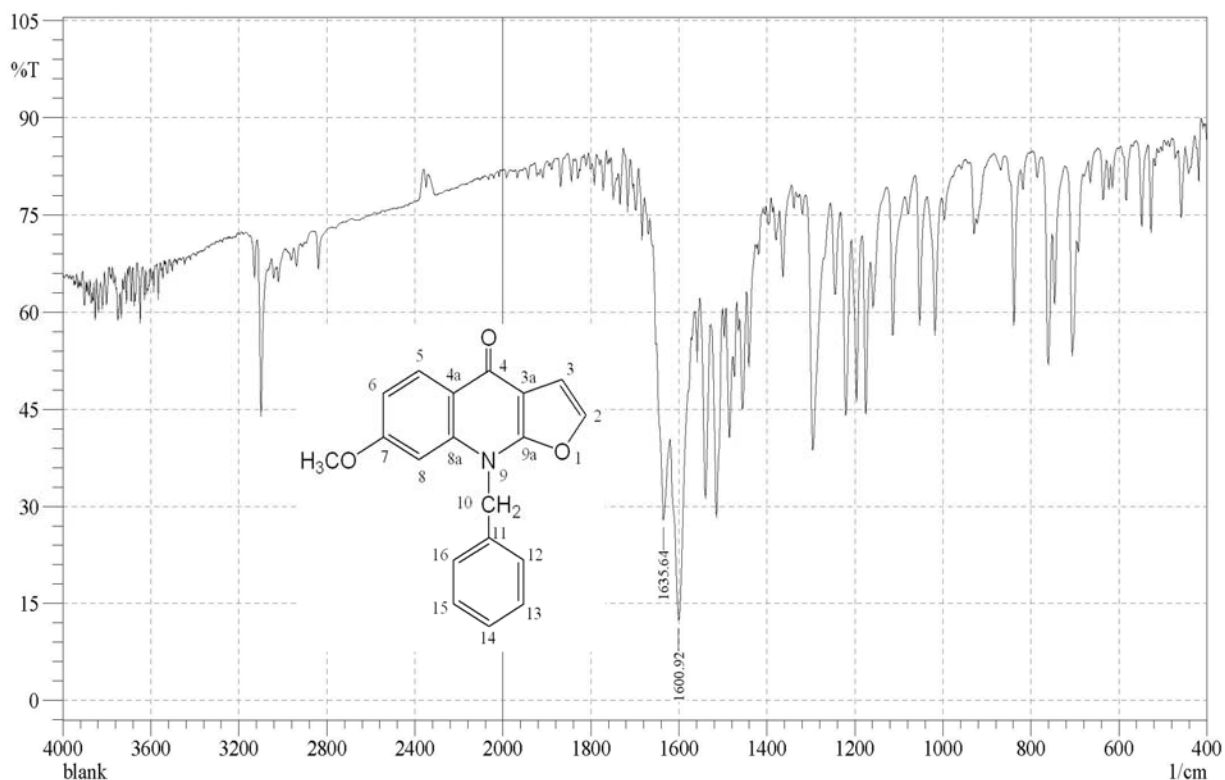


圖 2-67、化合物 169 之氫譜圖

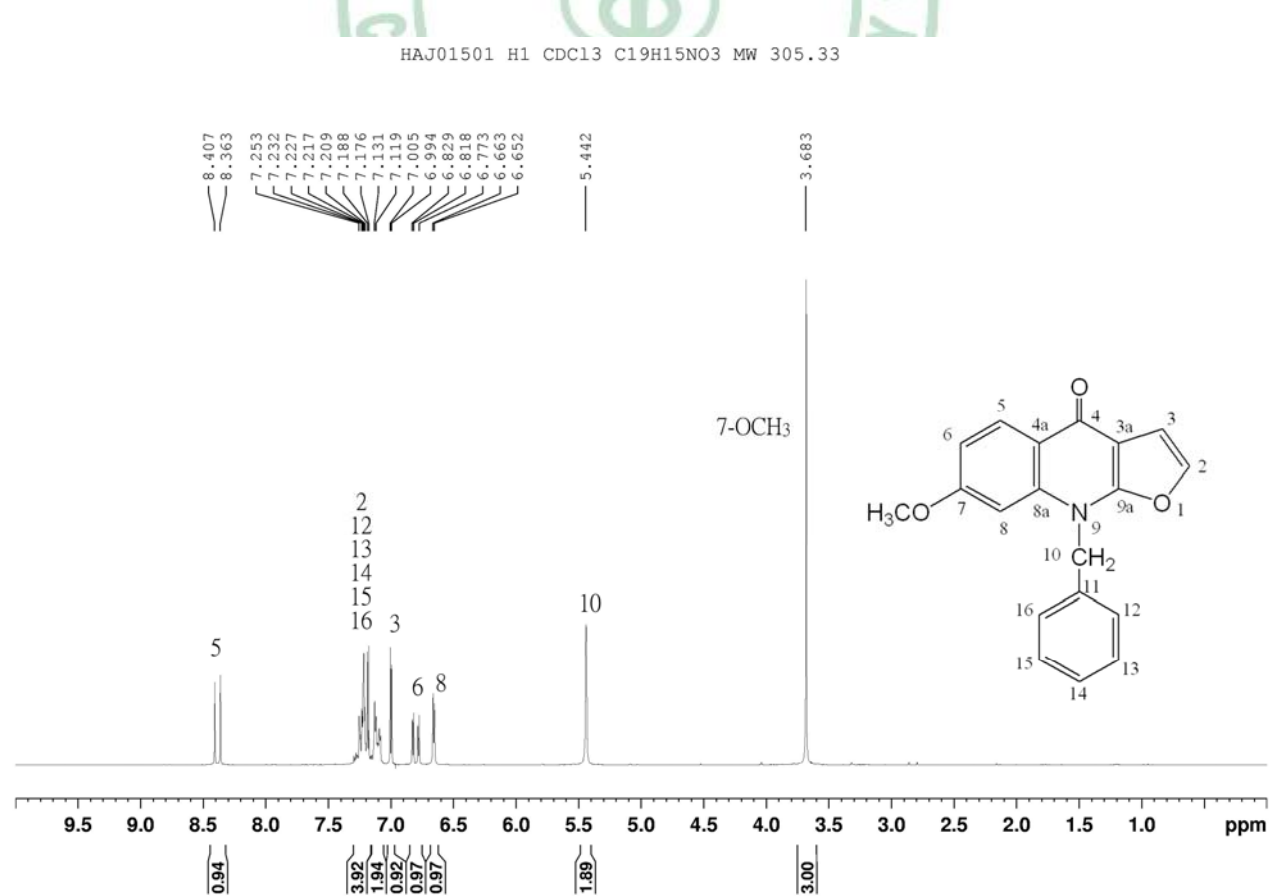


圖 2-68 化合物 169 之 C13 & DEPT 135 & DEPT 90 綜合圖譜

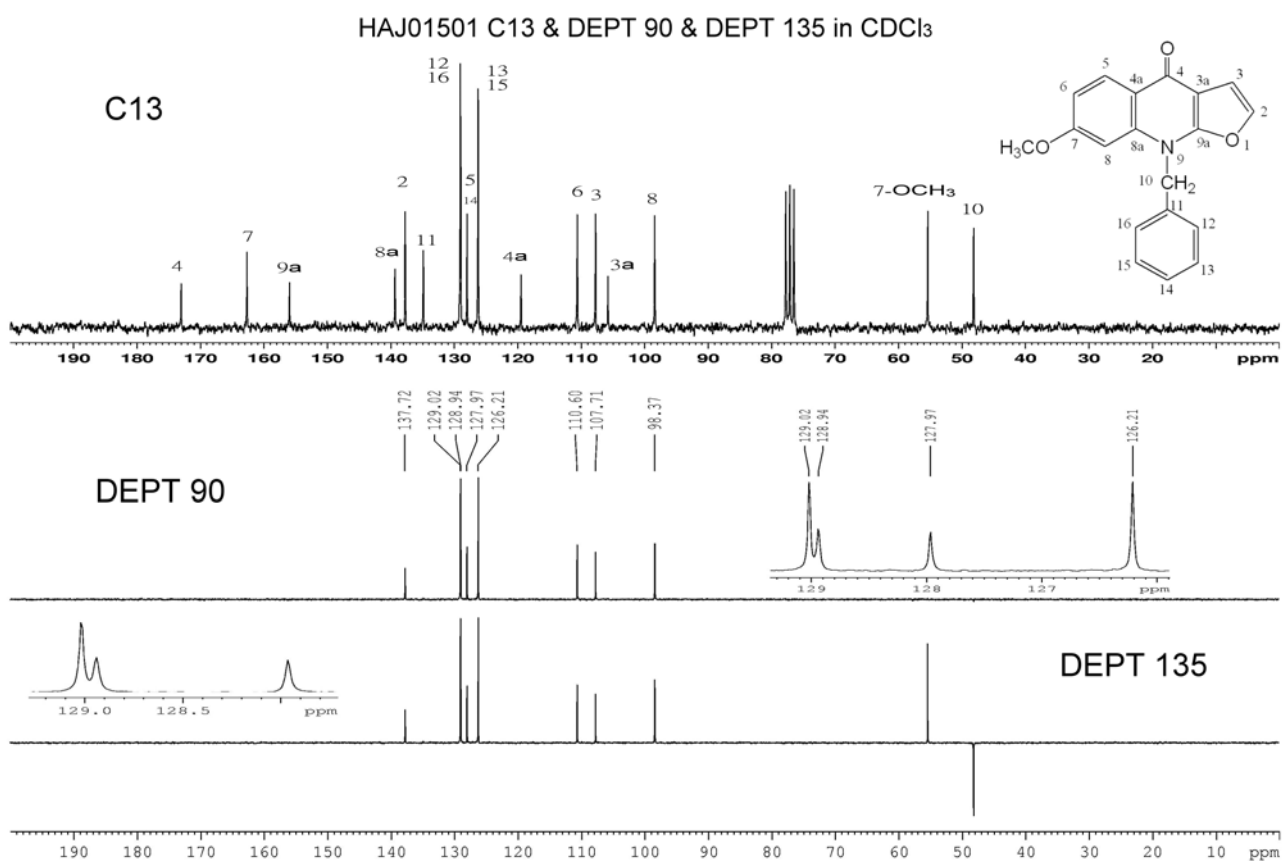


圖 2-69、化合物 169 之 COSY 譜圖

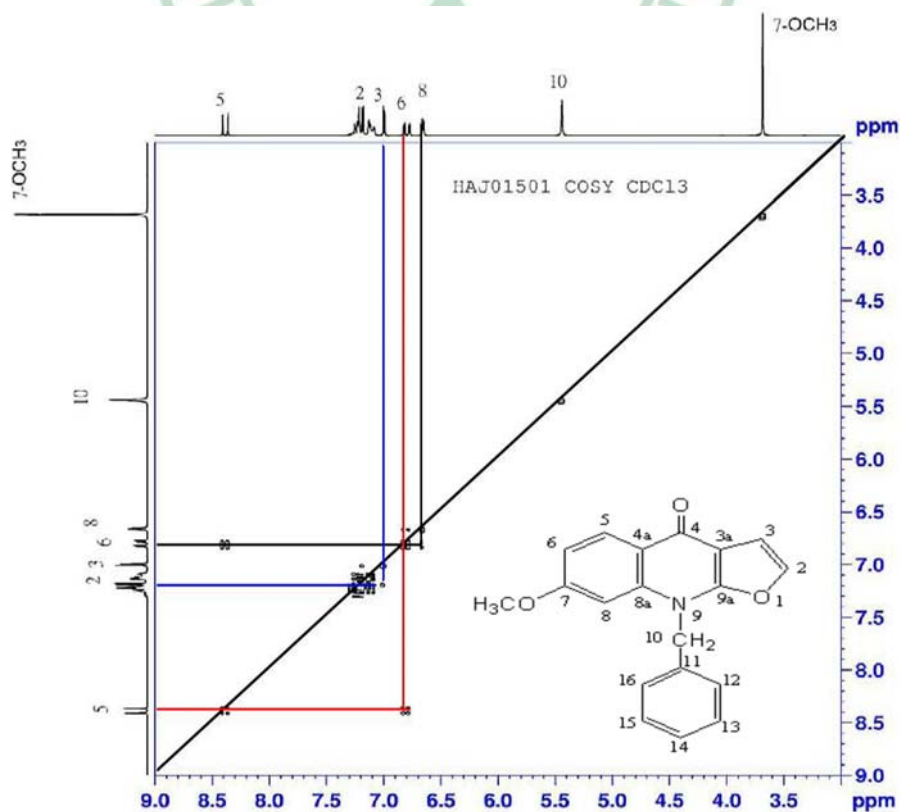
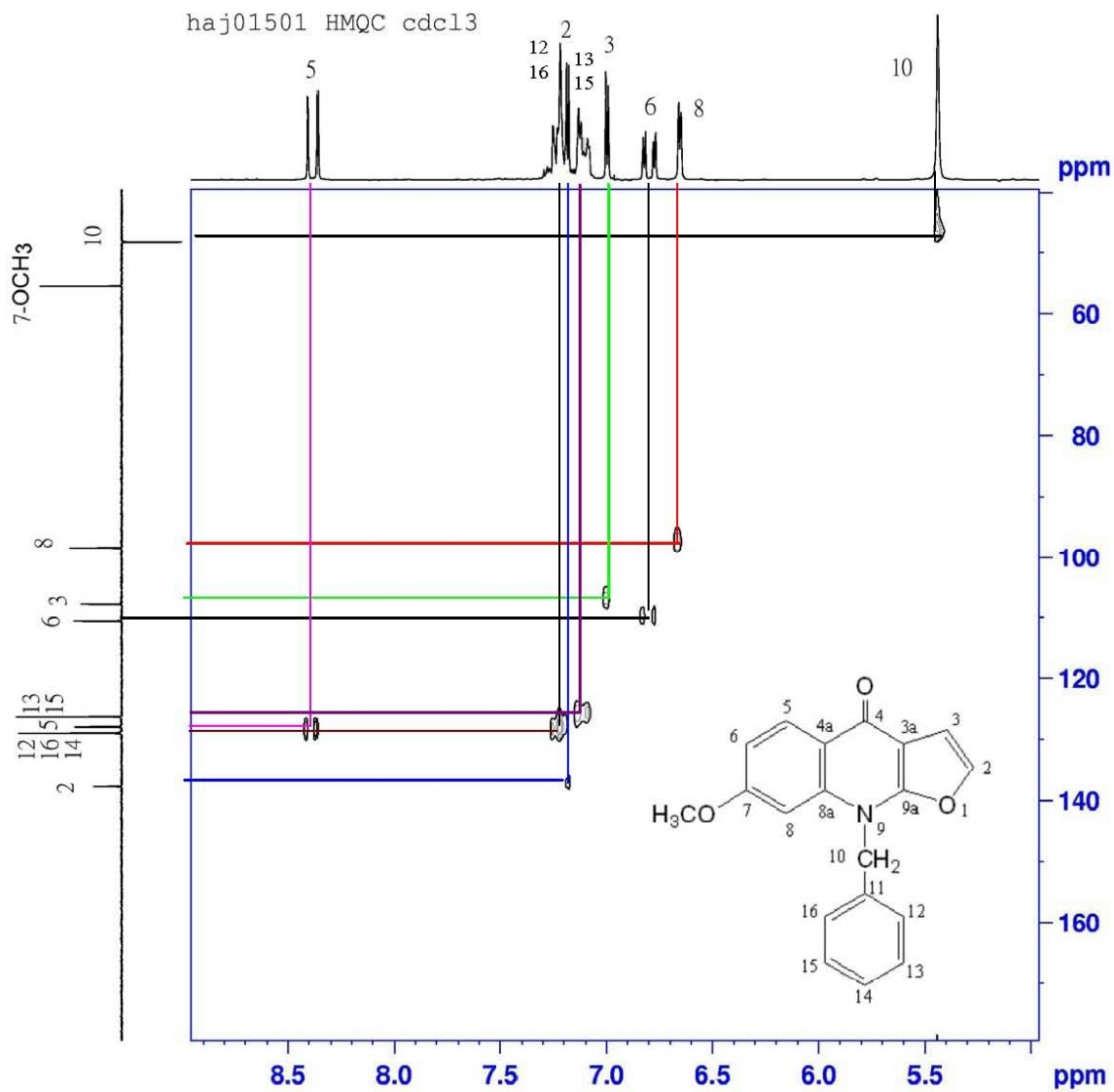


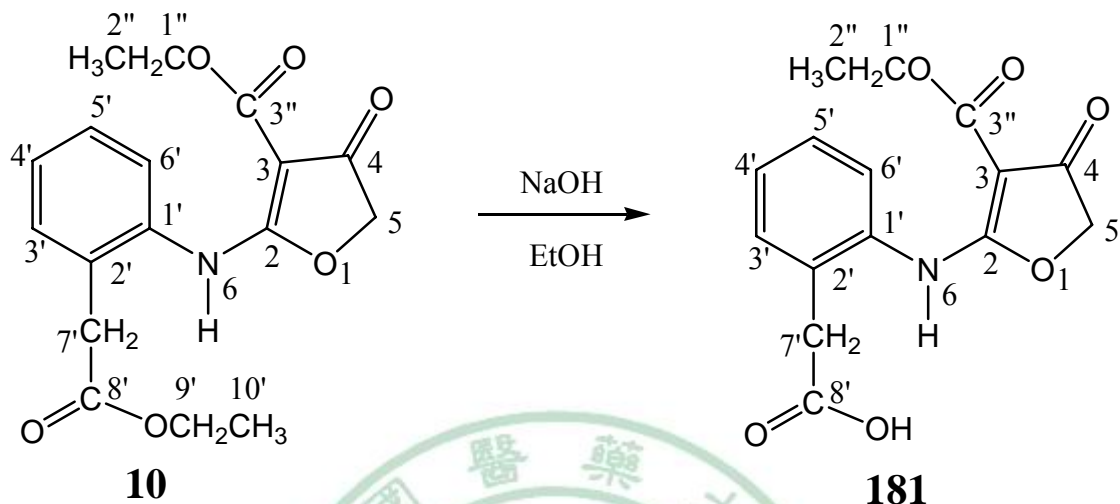
圖 2-70、化合物 169 之 HMQC 譜圖



(十五) Ethyl 2-(2-carboxymethyl) anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate(181)之合成

取化合物 **10** 溶於乙醇中，於室溫下加 2N NaOH 溶液，攪拌 30 分，然後於冰浴中緩慢滴加 2N HCl 溶液至酸性，即可合成得到化合物 **181**，其合成如 Scheme 17 所示。

Scheme 17



化合物 **181** 之分子式： $C_{15}H_{15}NO_6$ ，分子量 305.28，分子結構式如 Scheme 17 所示產物。

物理及結構鑑定特徵如下：

- 1、化合物 **181** 的熔點為 $221.8^{\circ}C$ 。質譜儀 ($m/z, \%$)： $305.8 (M^+)$ 。(圖 2-71)
- 2、IR 光譜：化合物 **181** 仍有 3 個 carbonyl 吸收，個(1712.79 cm^{-1} 、 1685.79 cm^{-1} 、 1658.78 cm^{-1})，但另增加-OH 吸收(3462.22 cm^{-1})。(圖 2-72)
- 3、NMR 圖譜：
 - A、 1H -NMR 圖譜 (圖 2-73)：與原料化合物 **10** 比較，與化合物 **181** 少 1 組乙酯，只剩下 furan ring 上之乙酯吸收，在圖譜 $\delta 11.3$ 左右有寬廣不明顯之吸收訊號，其積分約只有 0.4 個 H，此應為-COOH 之訊號，其它訊號類似化合物 **10**。
 - B、 ^{13}C -NMR 圖譜 (圖 2-74)：化合物 **181** 之碳譜少 2 個乙酯碳訊號，其他訊號同化合物 **10**。(圖 2-75)

※ 綜合以上光譜數據分析，化合物 **181** 應為化合物 **10** 水解 1 個乙酯之產物，其結構為如 Scheme 17 產物之結構。

圖 2-73、化合物 181 之氫譜圖

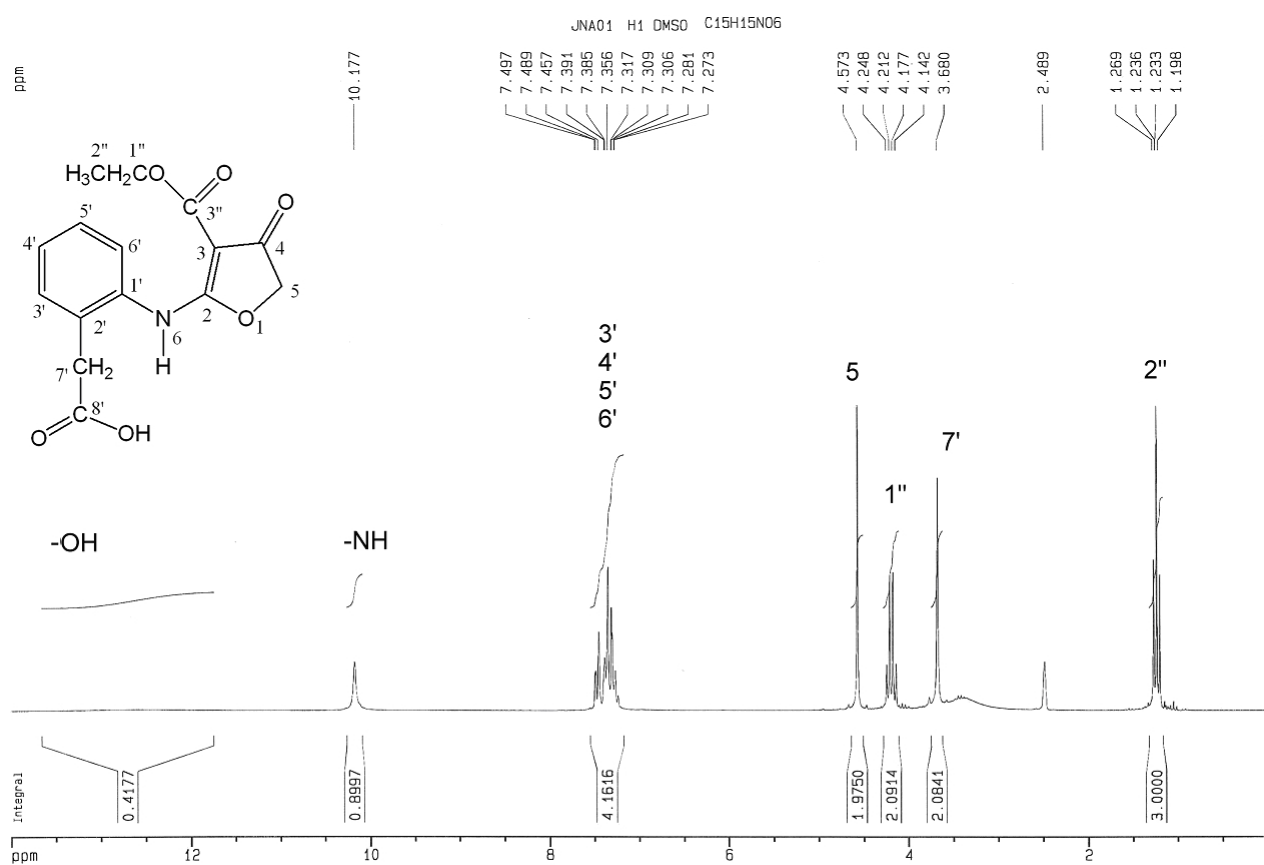


圖 2-74、化合物 181 之碳譜圖

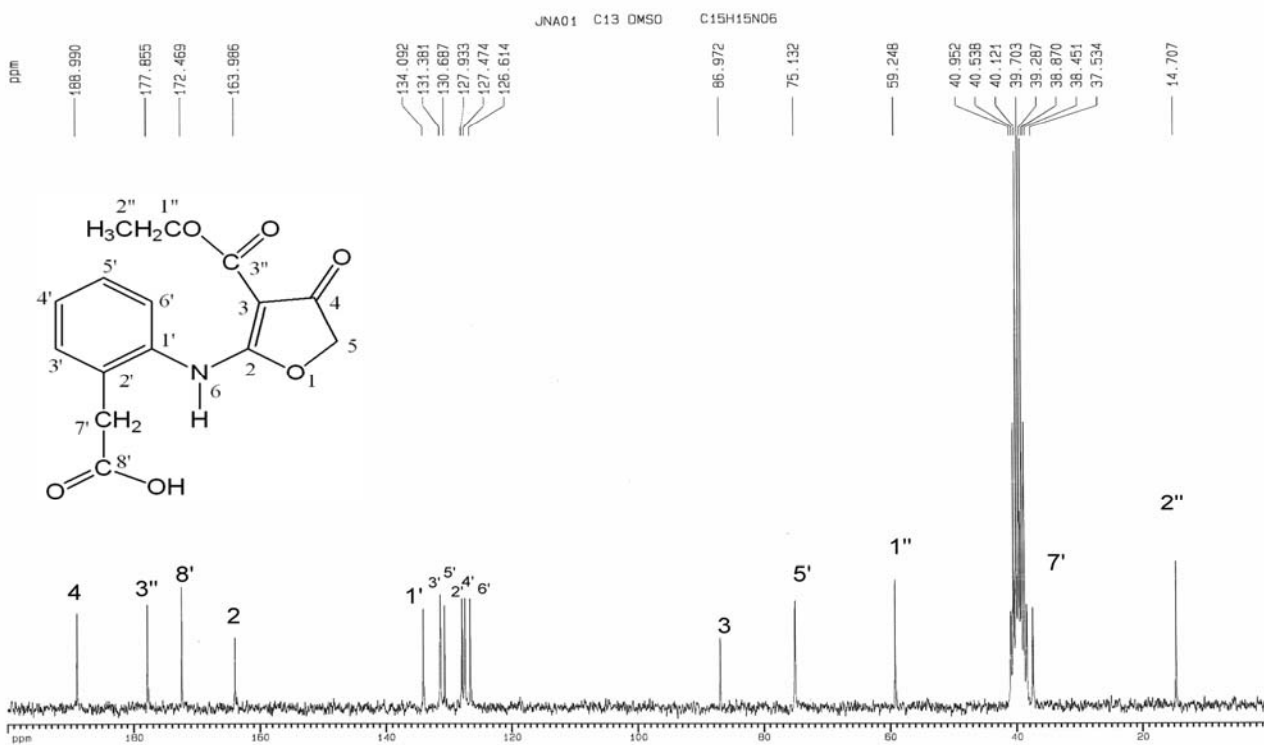
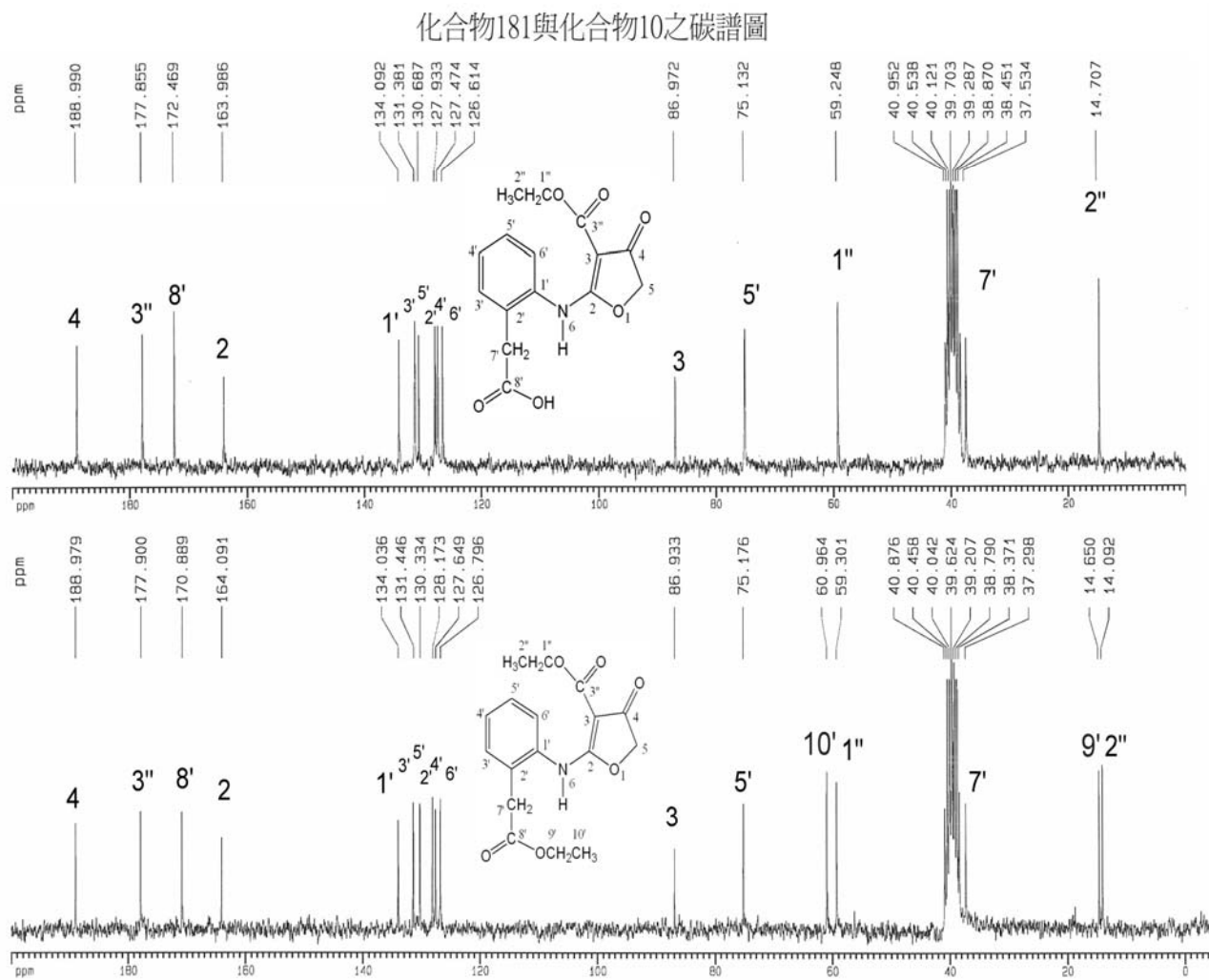


圖 2-75 化合物 181 與化合物 10 之碳譜圖對照圖

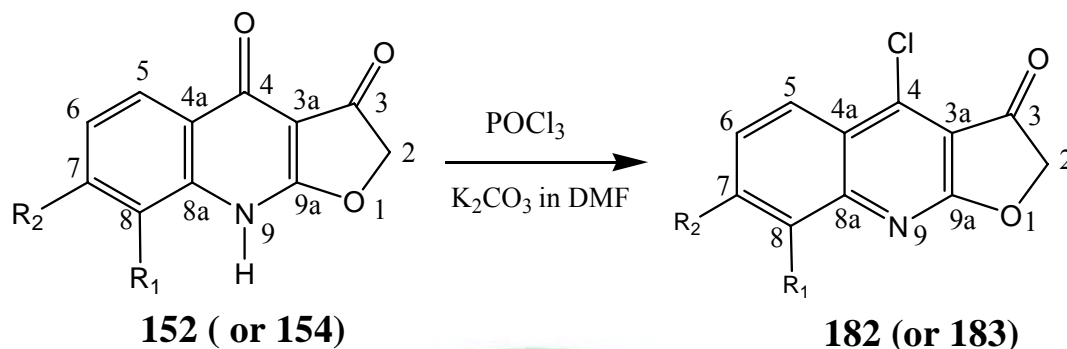


(十六) 4-chloro-7-methoxyfuro[2,3-*b*]quinolin-3(2*H*)-one (182)及 Ethyl

2-(4-chloro-3-oxo-2,3-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-8-yl)acetate (183)之合成

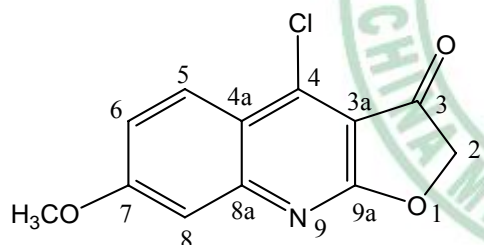
取化合物 **152** (或化合物 **154**) DMF 中, 加入無水 K_2CO_3 攪拌之, 接著加入 phosphorus oxide chloride, 進行反應, 即可得化合物 **182** (或 化合物 **183**)。其合成如 Scheme 18 所示。

Scheme 18



編號	R1	R2
182	H	OCH ₃
183	CH ₂ COOC ₂ H ₅	H

在此僅以化合物 **182** 為例說明其物理及結構鑑定特徵：



分子式：C₁₂H₈ClNO₃

分子量：249.65

- 1、化合物 **182** 的熔點為 208°C。UV 光譜最大吸收在 355 nm。
- 2、質譜 (m/z, %) : 249 (M⁺, 76.78%), 251 (M⁺+2, 26.13%) 比值約 3 比 1, 符合結構含單氯之自然界氯同位素之比值。(圖 2-76)
- 3、IR 光譜：1724.36 (C₃=O) (圖 2-77)
- 4、NMR 圖譜：

A、¹H-NMR 圖譜：甲氧基：δ3.953 (3H, s, 7-OCH₃), C-2 上之 methylene 氫訊號：δ4.4.767 (2H, s, H-2), 剩下 3 個氫, 其波形及數目符合化合物結構。(圖 2-78)

B、¹³C-NMR 圖譜：(圖 2-79)：12 個碳原子有 12 支訊號, 甲氧基：δ55.97 (7-OCH₃), furan ring 上 methylene 碳訊號：δ74.43, 苯環上接 H 之探有 3 個 (C5, C6, C8), 其它為四級碳。圖 2-80 綜合碳譜及 DEPT 90 及 DEPT135, 可輔助證明結構分析。

由光譜分析：符合 4-chloro-7-methoxyfuro[2,3-*b*]quinolin-3(2*H*)-one (**182**)之結構。

圖 2-76、化合物 182 之質譜圖

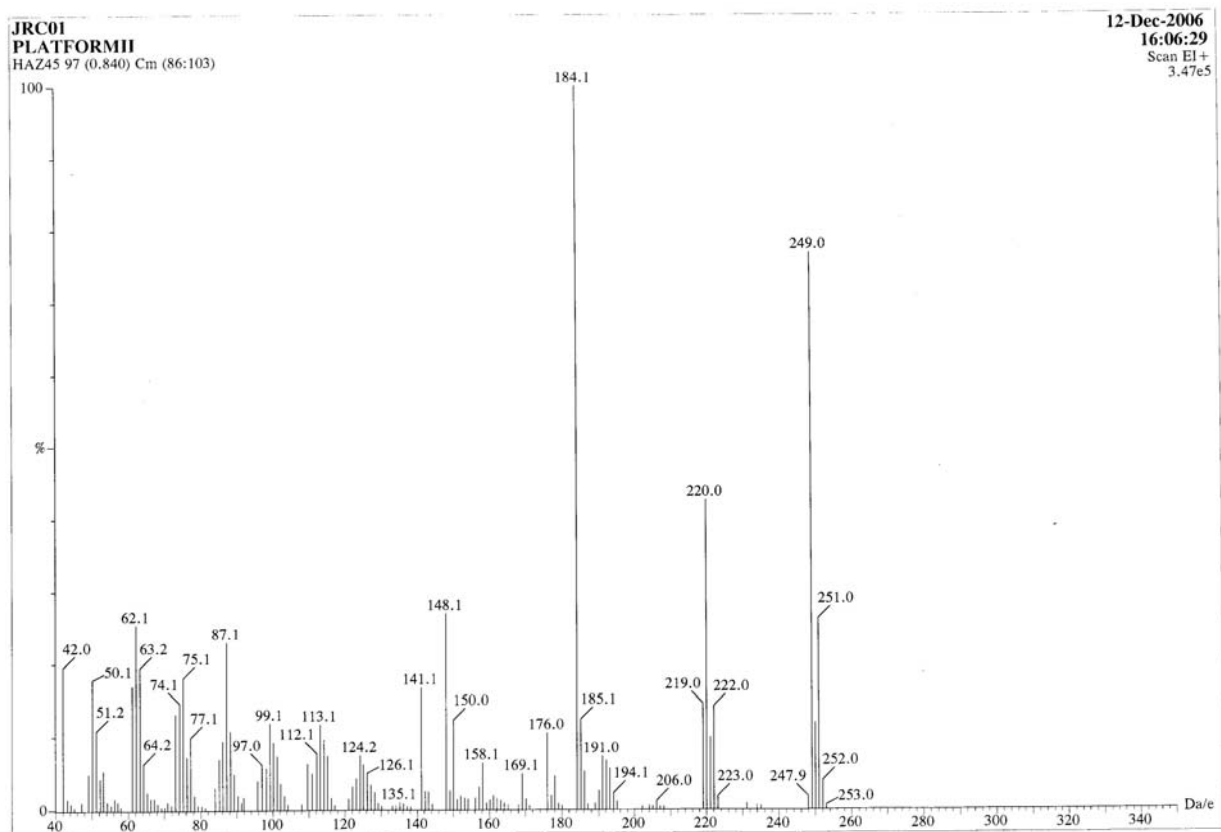


圖 2-77、化合物 182 之紅外光譜圖

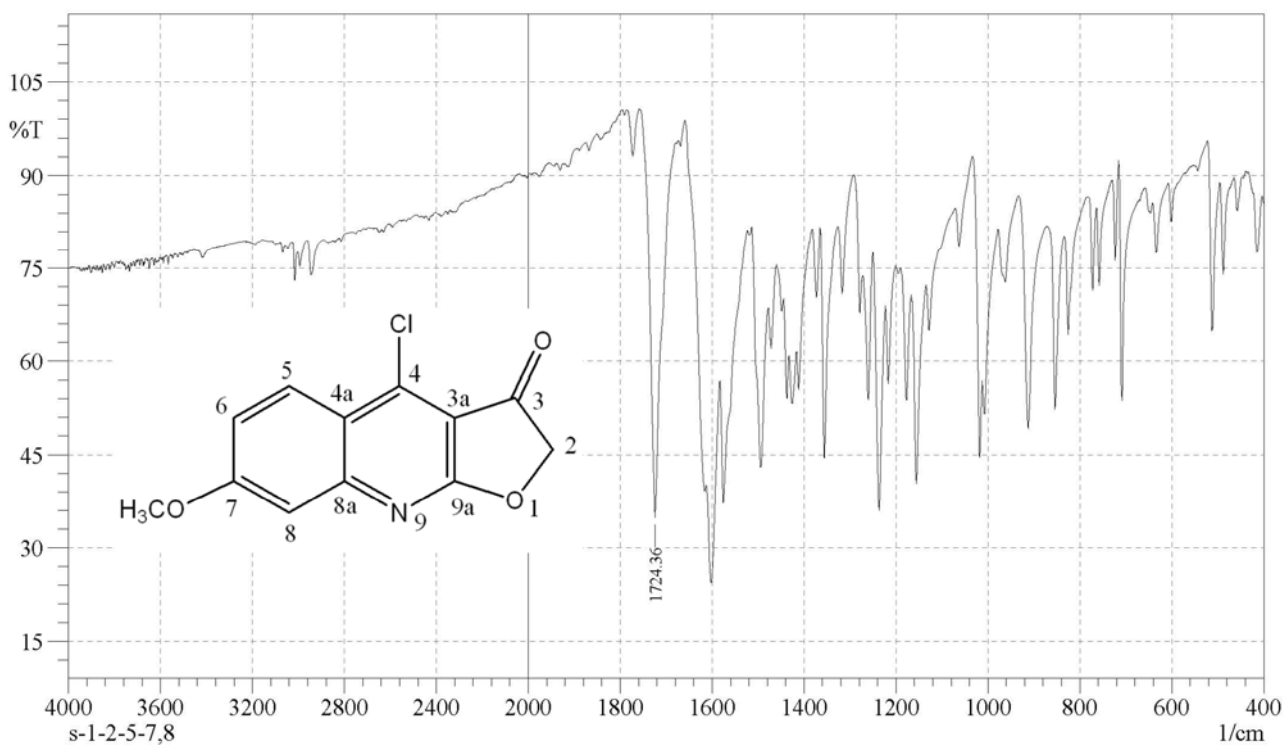


圖 2-78、化合物 182 之氮譜圖

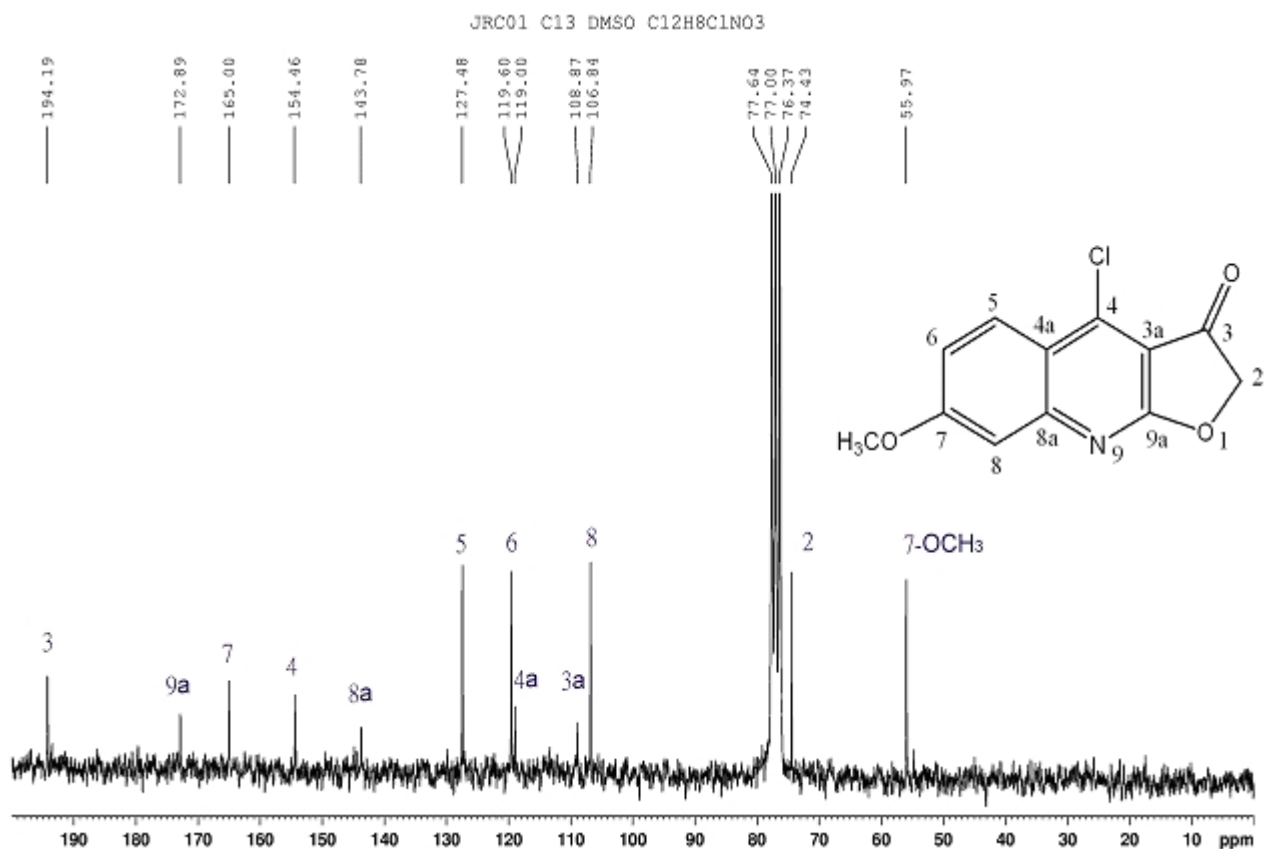


圖 2-79、化合物 182 之碳譜圖

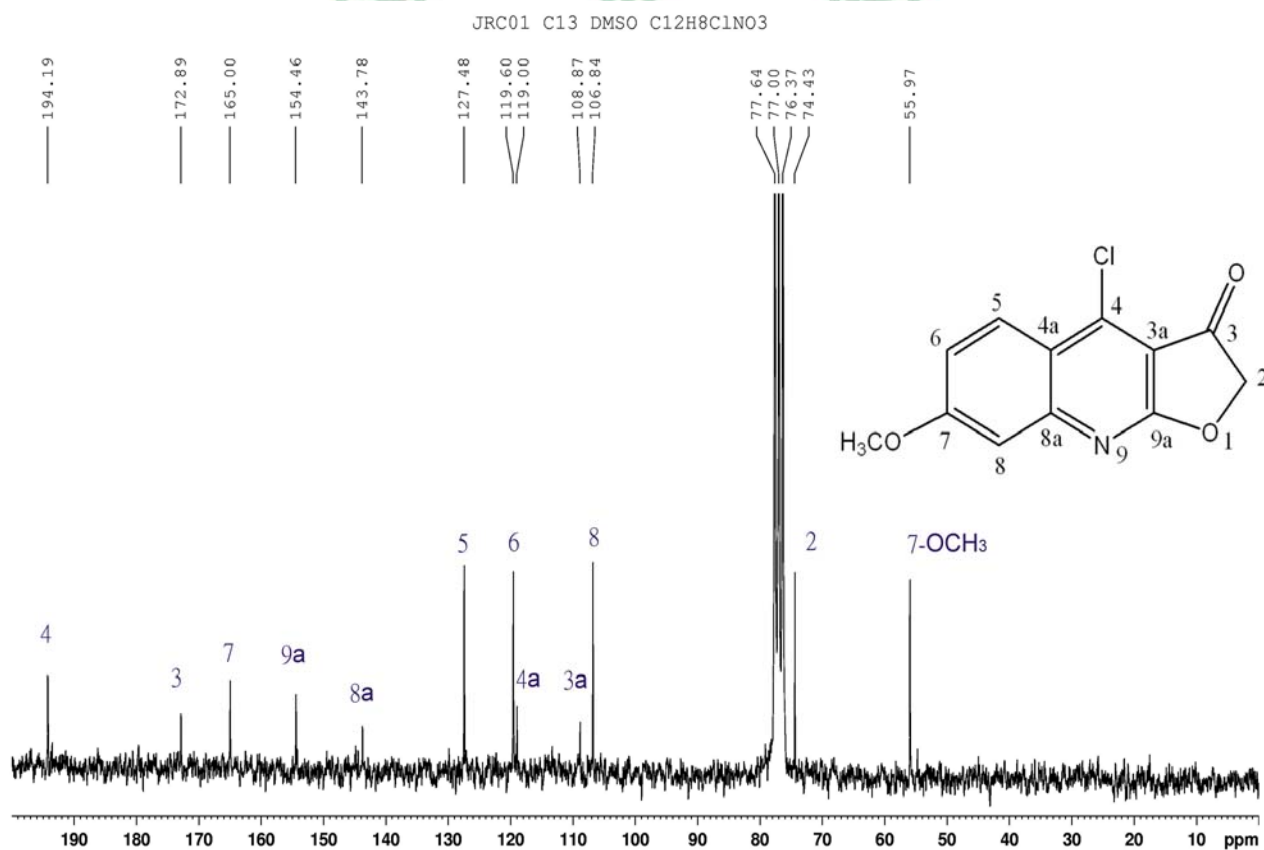
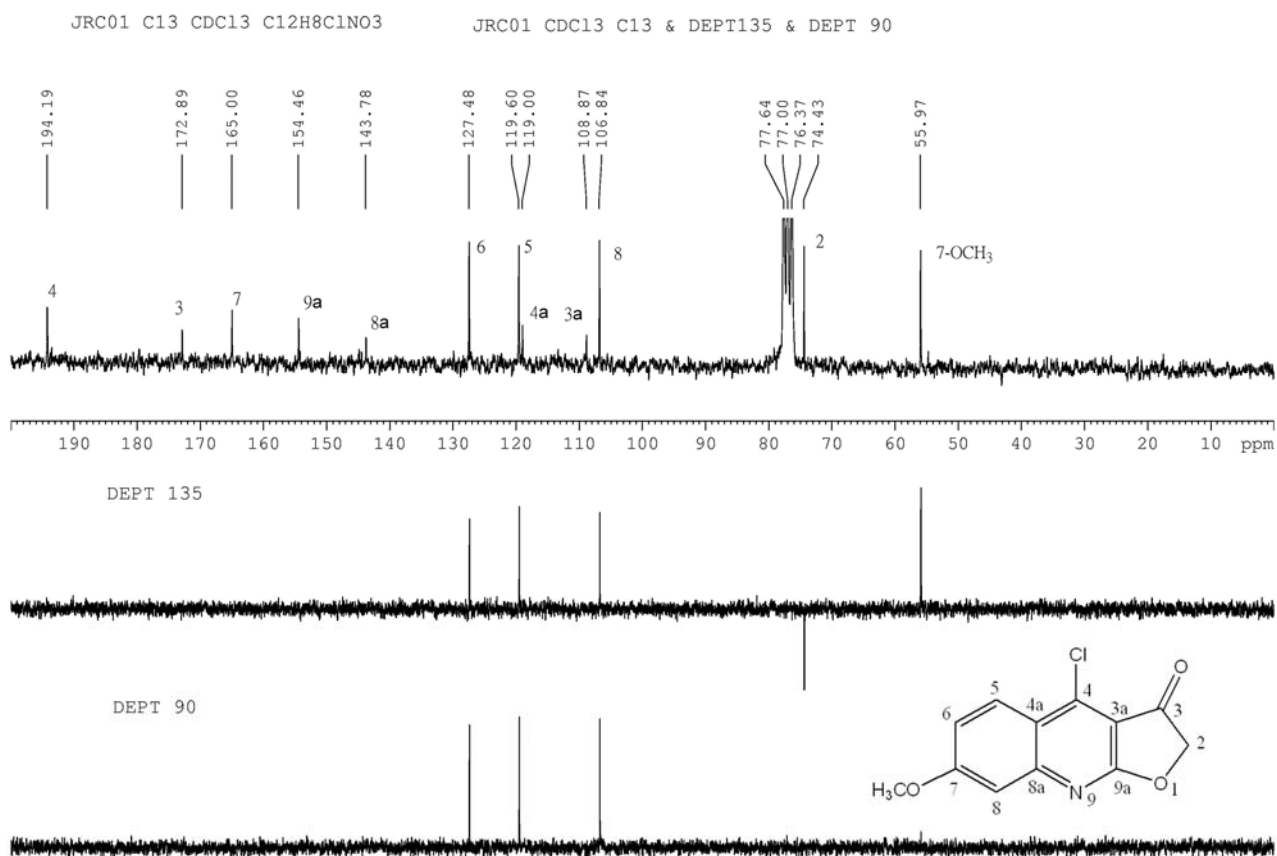


圖 2-80 化合物 182 之 DEPT135 & DEPT90 & C13 圖譜



第二節藥理活性試驗結果

壹、小鼠血癌細胞 WEHI-3 致毒活性：

1. 細胞來源：小鼠血癌細胞株 WEHI-3，購自新竹食品工業發展研究所。
2. 細胞培養：血癌細胞 WEHI-3 放置於 75cc 組織培養瓶中，內含 RPMI-1640 培養液中，含 10%胎牛血清，及 1% penicillin- streptomycin (10,000 U/ml penicillin and 10 mg/ml streptomycin)、1% glutamine，以每 ml 約 50000 個細胞密度，在室溫 37 °C，5% CO₂ and 95%空氣下生長，每 2~3 天更換一次培養液。
3. 細胞存活率試驗(cell viability assay)：將培養生長良好的 WEHI-3 細胞，用培養液稀釋成密度為 50000 cell/ml，放入有 12 孔之培養盤中，內含 RPMI-1640 培養液中，及 10%胎牛血清，及 1% penicillin- streptomycin (10,000 U/ml penicillin and 10 mg/ml streptomycin)、1% glutamine。每孔分別放入欲測之藥品，藥品濃度最終濃度分別為 0 M、0.1 μ M、1 μ M、10 μ M 和 100 μ M，以 DMSO 為溶媒，每個藥品濃度皆有 3 孔分別同時進行試驗，以藥品濃度為 0 M 當對照組，在室溫 37 °C，5% CO₂ and 95%空氣下生長 24 小時，然後以流式細胞儀分析不同濃度的藥品造成細胞凋亡的細胞百分比之表現量。
4. 測量方法：PI 染色法，利用利用碘化丙啶(Propidium iodide, PI)對完整細胞膜無法穿透，而能穿透細胞凋亡中或死亡之細胞膜，使細胞核之 DNA 染色，由流式細胞儀檢測每個細胞之螢光有無而判斷細胞有無發生細胞凋亡。
5. 實驗結果：

表 2.1 化合物 1、2、3、4、5、10 對 WEHI-3 cells 的細胞毒性影響

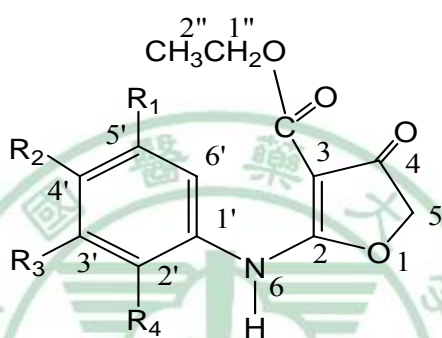
化合物編號	化合物代號	濃度	存活細胞百分比	推算 IC ₅₀
1	HAJ01	0.1 μ M	16.2 \pm 6.6	< 0.1 μ M
		1.0 μ M	18.0 \pm 6.5	
		10.0 μ M	12.5 \pm 0.7	
		100.0 μ M	5.5 \pm 0.1	
2	HAJ02	0.1 μ M	54.9 \pm 19.8	0.164 μ M
		1.0 μ M	23.1 \pm 7.3	
		10.0 μ M	12.6 \pm 0.4	
		100.0 μ M	2.6 \pm 0.0	
3	HAJ03	0.1 μ M	254.3 \pm 47.5	>10 μ M
		1.0 μ M	111.8 \pm 19.8	
		10.0 μ M	52.9 \pm 2.5	
		100.0 μ M	2.8 \pm 0.0	
4	HAJ11	0.1 μ M	40.4 \pm 15.8	< 0.1 μ M
		1.0 μ M	20.6 \pm 6.1	
		10.0 μ M	22.4 \pm 3.2	
		100.0 μ M	11.3 \pm 0.2	
5	JOT01	0.1 μ M	69.9 \pm 12.7	0.338 μ M
		1.0 μ M	29.3 \pm 5.9	
		10.0 μ M	26.1 \pm 0.8	
		100.0 μ M	4.0 \pm 0.1	
10	JNC01	1.0 μ M	3.6 \pm 0.4	< 1 μ M
		10.0 μ M	3.8 \pm 0.4	
		100.0 μ M	7.5 \pm 0.1	

Ps. 存活細胞百分比計算方法：以對照組之實驗數值為 100%存活，以實驗組實驗所得之數據換算相對於對照組為 100%細胞存活率，計算後所得之數據即為實驗組之細胞存活百分比。

Ps. IC₅₀ 計算方法：把各濃度(0.1、1、10、100 μ M)及其存活細胞百分比各取對數值(log 10)後，以 Excel 作圖並作線性迴歸直線圖，並由 Excel 作圖所得公式，換算 $y = \log_{10} 50 = 0.169897$ 時之 X 軸數值，然後再把 X 軸數值反對數，即可得 IC₅₀ 之濃度。[取對數原因是因濃度差皆以 10 倍方式遞增(0.1、1、10、100 μ M)，在取對數後其數值變為(-1、0、1、2)呈現等差，在 Excel 作圖才能得到近似直線圖，如此線性迴歸才能得線性方程式。或把各濃度(0.1、1、10、100 μ M)及其存活細胞百分比，用 Excel 作圖並作線性迴歸直線圖(趨勢線格式以對數作圖，並點取圖上顯示公式及顯示 R-squared 值。兩種方式換算所得 IC₅₀，選取 R-squared 值較接近 1 者。

表 2.2 化合物 1、2、3、4、5、10 的結構及 WEHI-3 cells 細胞毒性 IC₅₀ 分析表

化合物編號	R1	R2	R3	R4	IC ₅₀
1	H	H	OCH ₃	H	<0.1 μM
2	H	H	H	H	0.164 μM
3	H	H	Cl	H	4.31 μM
4	H	H	OH	H	<0.1 μM
5	H	H	H	CH ₃	0.338 μM
10	H	H	H	CH ₂ COOC ₂ H ₅	<1 μM



討論：分析Aniline group 上取代基之影響，以全無取代基之化合物2為基準

1. 活性與化合物濃度成正向關係
2. 3'號位置甲氧基及氫氧基取代活性增加
3. 2'號位置乙酸乙脂取代基活性增6~7倍 (以0.1 μM比較)
4. 3'號位置氯取代，細胞毒性降低26倍。
5. 2'號位置甲基取代基，細胞毒性降低1倍。

表 2.3 化合物 11、19、43、44、49、58、78、79、80、81、83 對 WEHI-3 cells 的細胞毒性影響

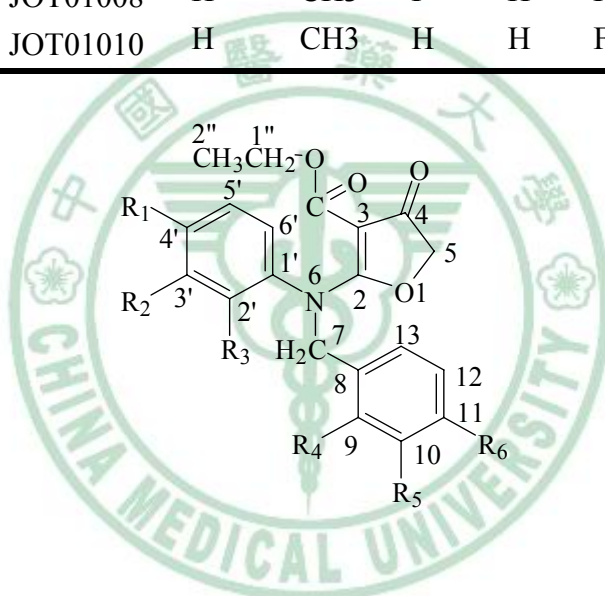
化合物編號	化合物代號	濃度	存活細胞百分比		推算 IC ₅₀
11	HAJ01001	1.0μM	2.4 ±	0.2	<1μM
		10.0μM	2.3 ±	0.3	
		100.0μM	0.7 ±	0.0	
19	HAJ01009	0.1μM	88.3 ±	32.6	0.553μM
		1.0μM	39.9 ±	6.7	
		10.0μM	24.8 ±	0.9	
		100.0μM	1.8 ±	0.0	
43	HAJ03001	0.1μM	48.0 ±	5.6	0.1μM
		1.0μM	32.2 ±	6.8	
		10.0μM	26.0 ±	0.9	
		100.0μM	0.6 ±	0.0	
44	HAJ03002	0.1μM	65.5 ±	16.2	0.571μM
		1.0μM	71.0 ±	27.6	
		10.0μM	23.1 ±	0.6	
		100.0μM	1.0 ±	0.0	
49	HAJ03007	0.1μM	44.5 ±	10.9	0.251μM
		1.0μM	33.5 ±	12.4	
		10.0μM	18.1 ±	0.6	
		100.0μM	0.6 ±	0.0	
58	HAJ03016	1.0μM	8.2 ±	1.0	<1μM
		10.0μM	12.7 ±	2.2	
		100.0μM	1.6 ±	0.0	
78	JOT01005	0.1μM	44.5 ±	12.9	0.259μM
		1.0μM	29.2 ±	4.6	
		10.0μM	20.2 ±	0.6	
		100.0μM	0.3 ±	0.0	
79	JOT01006	0.1μM	85.7 ±	5.6	0.617μM
		1.0μM	41.8 ±	2.4	
		10.0μM	21.3 ±	0.7	
		100.0μM	0.2 ±	0.0	
80	JOT01007	0.1μM	79.5 ±	30.9	0.461μM
		1.0μM	36.3 ±	6.8	
		10.0μM	23.1 ±	0.7	
		100.0μM	1.2 ±	0.0	
81	JOT01008	0.1μM	88.2 ±	4.4	1.169μM
		1.0μM	63.9 ±	11.5	
		10.0μM	47.6 ±	1.4	
		100.0μM	5.0 ±	0.1	
83	JOT01010	1.0μM	1.7 ±	0.3	<1μM
		10.0μM	0.3 ±	0.1	
		100.0μM	0.2 ±	0.0	

Ps. 存活細胞百分比計算方法：以對照組之實驗數值為 100% 存活，以實驗組實驗所得之數據換算相對於對照組為 100% 細胞存活率，計算後所得之數據即為實驗組之細胞存活百分比。

Ps. IC₅₀ 計算方法：比照 表 2.1 之計算法。

表 2.4 化合物 11、19、43、44、49、58、78、79、80、81、83 的結構及 WEHI-3 cells 細胞毒性 IC₅₀ 分析表

化合物編號	化合物代號	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	IC ₅₀
11	HAJ01001	OCH ₃	H	H	H	H	<0.01 μM
19	HAJ01009	OCH ₃	H	H	F	H	0.791 μM
43	HAJ03001	Cl	H	H	H	H	0.08 μM
44	HAJ03002	Cl	H	CH ₃	H	H	5.60 μM
49	HAJ03007	Cl	H	H	H	Cl	0.07 μM
58	HAJ03016	Cl	H	H	H	OCH ₃	<1 μM
78	JOT01005	H	CH ₃	Cl	H	H	0.065 μM
79	JOT01006	H	CH ₃	H	Cl	H	0.78 μM
80	JOT01007	H	CH ₃	H	H	Cl	0.71 μM
81	JOT01008	H	CH ₃	F	H	H	9.86 μM
83	JOT01010	H	CH ₃	H	H	F	<1 μM



討論：

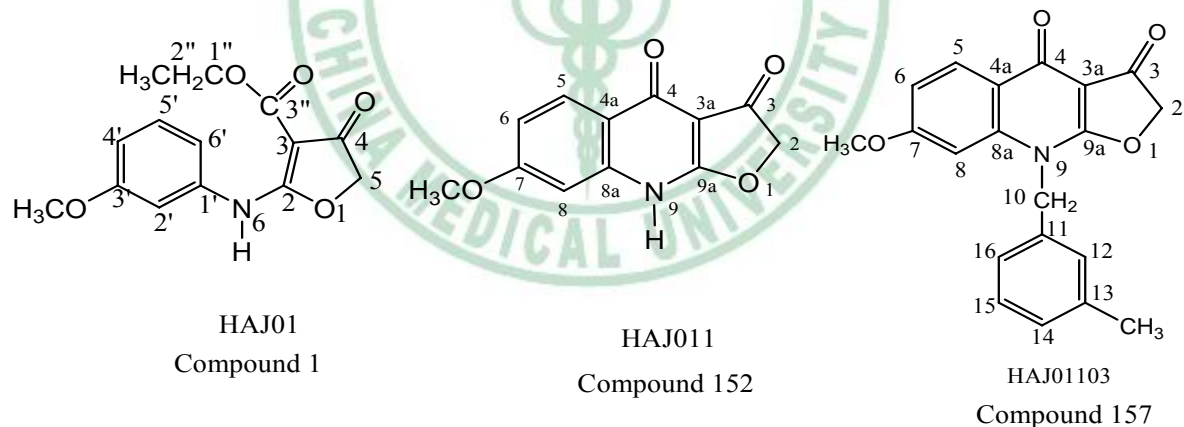
1. 化合物11為化合物1接上無取代基之Benzyl group，化合物11活性增加(比較1 μM 活性 18 : 2.4)，但接上有 *m*-fluoro 取代基之Benzyl group，活性降低。
2. 化合物3 (其IC₅₀為大於10 μM)，接上 *para*-OCH₃ 之 Benzyl group，活性增加很多(比較 1 μM之存活率 111.8 : 8.2)。但接上 *p*-Cl 活性較化合物3增強(111.8 : 33.5)。
3. 化合物78、79、80三者皆為同分異構，只差別 Cl 取代位置不同，*ortho*-位置取代較具有低濃度活性。
4. 同 *ortho*- 取代：活性 Cl 比 F 強甚多(150倍)。
5. 同 *para*- 取代：活性 F 比 Cl 強21倍。
6. 同 F取代：活性：*para*- 位置 > *ortho*- 位置

表 2.5 化合物 1、152 和 157 的結構及 WEHI-3 cells 細胞毒性 IC₅₀ 分析表

化合物編號	化合物代號	濃度	存活細胞百分比		推算 IC ₅₀
1	HAJ01	0.1 μ M	16.2 \pm	6.6	< 0.1 μ M
		1.0 μ M	18.0 \pm	6.5	
		10.0 μ M	12.5 \pm	0.7	
		100.0 μ M	5.5 \pm	0.1	
152	HAJ011	0.1 μ M	45.8 \pm	13.0	0.213 μ M
		1.0 μ M	19.3 \pm	10.0	
		10.0 μ M	20.9 \pm	1.0	
		100.0 μ M	0.3 \pm	0.0	
157	HAJ01103	0.1 μ M	54.2 \pm	11.0	0.135 μ M
		1.0 μ M	39.7 \pm	10.0	
		10.0 μ M	0.6 \pm	0.3	
		100.0 μ M	1.8 \pm	0.0	

Ps. 存活細胞百分比計算方法：以對照組之實驗數值為 100% 存活，以實驗組實驗所得之數據換算相對於對照組為 100% 細胞存活率，計算後所得之數據即為實驗組之細胞存活百分比。

Ps. IC₅₀ 計算方法：比照 表 2.1 之計算法。



討論：1. 化合物1和化合物152差異在後者有環化，由實驗數據顯示環化後細胞毒性降低。

2. 化合物152和化合物157差異在後者有3methyl benzylation，由實驗數據顯示benzylation後，細胞毒性增強不多。

表 2.6 化合物152、160、162、163、164、167對WEHI-3 cells 的細胞毒性影響

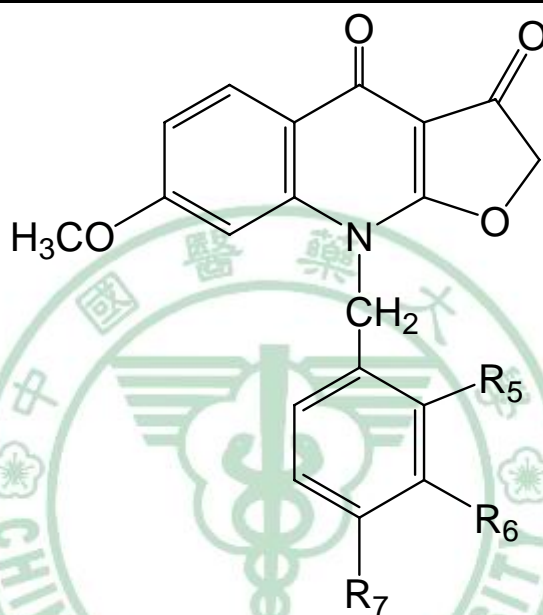
化合物編號	化合物代號	濃度	存活細胞百分比	推算 IC ₅₀
157	HAJ01103	0.1 μ M	54.2 \pm 11.0	0.151 μ M
		1.0 μ M	39.7 \pm 10.0	
		10.0 μ M	0.6 \pm 0.3	
		100.0 μ M	1.8 \pm 0.0	
160	HAJ01106	1.0 μ M	2.5 \pm 0.1	< 1 μ M
		10.0 μ M	0.75 \pm 0.1	
162	HAJ01108	0.1 μ M	271.1 \pm 35.0	4.892 μ M
		1.0 μ M	94.9 \pm 7.4	
		10.0 μ M	10.8 \pm 5.3	
		100.0 μ M	0.2 \pm 0.0	
163	HAJ01109	0.1 μ M	118.3 \pm 49.0	10.239 μ M
		1.0 μ M	97.7 \pm 32.0	
		10.0 μ M	55.8 \pm 1.9	
		100.0 μ M	5.7 \pm 0.1	
164	HAJ01110	0.1 μ M	341.1 \pm 83.0	> 100 μ M
		1.0 μ M	230.2 \pm 12.0	
		10.0 μ M	188 \pm 11.0	
		100.0 μ M	67.8 \pm 0.9	
167	HAJ01116	0.1 μ M	232.3 \pm 76.0	13.375 μ M
		1.0 μ M	103 \pm 48.0	
		10.0 μ M	62.7 \pm 2.9	
		100.0 μ M	3.2 \pm 0.1	

Ps. 存活細胞百分比計算方法：以對照組之實驗數值為 100%存活，以實驗組實驗所得之數據換算相對於對照組為 100%細胞存活率，計算後所得之數據即為實驗組之細胞存活百分比。

Ps. IC₅₀ 計算方法：比照 表 2. 1 之計算法。

表 2.7 化合物 157、160、162、163、164、167 的結構及對 WEHI-3 cells 細胞毒性 IC₅₀ 分析表

編號	代號	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	IC ₅₀
157	HAJ01103	OCH ₃	H	H	CH ₃	H	0.151 μM
160	HAJ01106	OCH ₃	H	H	Cl	H	<1 μM
162	HAJ01108	OCH ₃	H	F	H	H	4.892 μM
163	HAJ01109	OCH ₃	H	H	F	H	10.239 μM
164	HAJ01110	OCH ₃	H	H	H	F	>100 μM
167	HAJ01116	OCH ₃	H	H	H	OCH ₃	13.375 μM



討論：1. 環化之化合物，benzyl group上取代基時，*ortho*-位置F較有活性，*para*-位置活性降低很多。

2. 環化之化合物，benzyl group上*meta*-取代基時，以0.1 μM比較，活性比較：Cl > CH₃ > F 取代。

3. 環化之化合物，benzyl group上*para*-取代基時，活性比較：OCH₃ > F 取代。

表 2.8 化合物 172、176、177、180 對 WEHI-3 cells 的細胞毒性影響

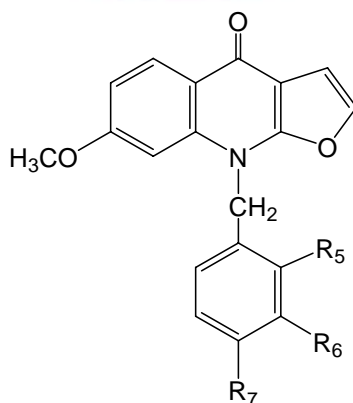
化合物編號	化合物代號	濃度	存活細胞百分比	IC ₅₀
172	HAJ01504	1.0 μ M	2.3 \pm 0.2	<1 μ M
		10.0 μ M	0.8 \pm 0.1	
		100.0 μ M	0.1 \pm 0.0	
176	HAJ01508	0.1 μ M	61.1 \pm 11.9	<0.1 μ M
		1.0 μ M	88.2 \pm 7.2	
		10.0 μ M	30.5 \pm 1.1	
		100.0 μ M	1.2 \pm 0.0	
177	HAJ01510	1.0 μ M	2.5 \pm 0.5	<1 μ M
		10.0 μ M	3.8 \pm 0.5	
		100.0 μ M	0.3 \pm 0.0	
180	HAJ01516	0.1 μ M	35.8 \pm 3.2	<0.1 μ M
		1.0 μ M	17.9 \pm 0.9	
		10.0 μ M	9.3 \pm 0.7	
		100.0 μ M	0.1 \pm 0.0	

Ps. 存活細胞百分比計算方法：以對照組之實驗數值為 100% 存活，以實驗組實驗所得之數據換算相對於對照組為 100% 細胞存活率，計算後所得之數據即為實驗組之細胞存活百分比。

Ps. IC₅₀ 計算方法：比照 表 2.1 之計算法。

表 2.9 化合物 172、176、177、180 的結構及對 WEHI-3 cells 細胞毒性 IC₅₀ 分析表

化合物編號	化合物代號	R5	R6	R7	IC ₅₀
172	HAJ01504	H	H	CH ₃	<1 μ M
176	HAJ01508	F	H	H	<0.1 μ M
177	HAJ01510	H	H	F	<1 μ M
180	HAJ01516	H	H	OCH ₃	<0.1 μ M



討論：1. 化合物162之3號位置羰基還原產物化合物176後，顯示細胞毒性增強（以0.1 μ M之細胞毒性比較）。

2. *para*-位置F 取代其細胞毒性比*ortho*- F位置取代強30倍以上。

3. *para*-位置取代基細胞毒性大小：methyl = fluoro > methoxy 。

貳、化合物 80 誘導人類子宮頸鱗狀上皮癌細胞(Human cervical epidermoid carcinoma cell,簡稱 Ca Ski cells)細胞凋亡之研究：

- ※ 細胞來源：人類子宮頸鱗狀上皮癌細胞株 Ca Ski cells，購自新竹食品工業發展研究所。
- ※ 細胞培養：Ca Ski cells 放置於 75ml 組織培養瓶中，內含 RPMI-1640 培養液中，含 10%胎牛血清，及 1% penicillin- streptomycin (10,000 U/ml penicillin and 10 mg/ml streptomycin)、1% glutamine，以每 ml 約 50000 個細胞密度，在室溫 37 °C，5% CO₂ and 95%空氣下生長，每 2~3 天更換一次培養液，培養經過幾個繼代繁殖，每個子代皆檢測其存活率。
- ※ 實驗結果：

2.1 檢測化合物 80 對 Ca Ski cells，其細胞型態上變化(圖 2-81)和細胞存活率之影響(圖 2-82)

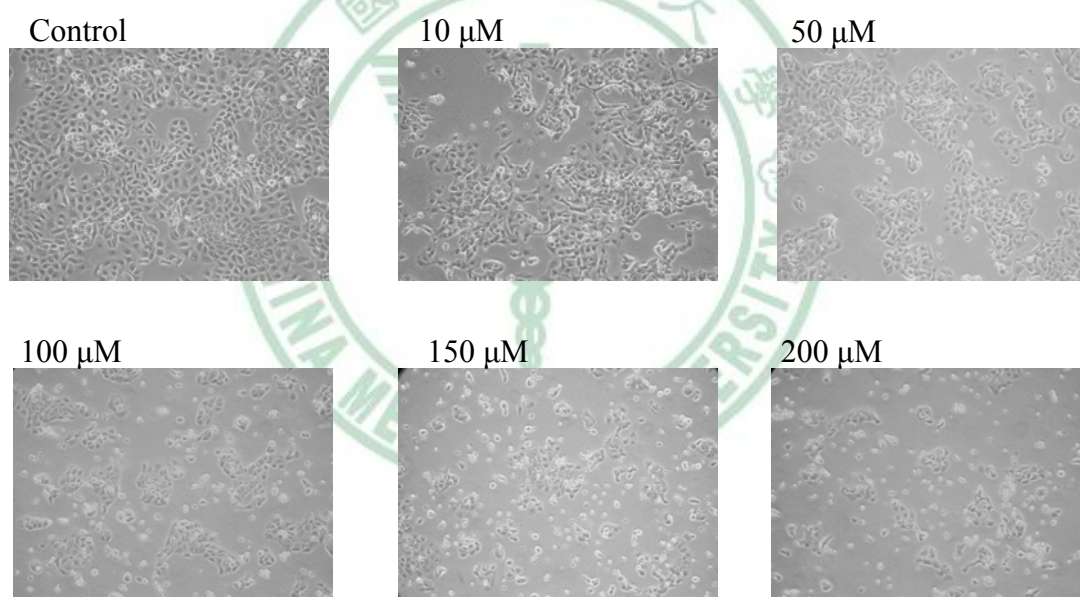


圖 2-81 Ca Ski cell 與不同濃度化合物 80 經細胞培養 48 小時的型態變化。

Ca Ski cell 與不同濃度化合物 80 (0、10、50、100、150、200 μ M)經培養 48 小時後，例用倒立式相位差顯微鏡觀察及照相圖。

討論：Ca Ski cells 與不同濃度化合物80 (0、10、50、100、150、200 μ M)經培養48 小時後，例用倒立式相位差顯微鏡 (200X) 觀察，Ca Ski cell原為貼壁細胞，多角形細胞，隨著化合物80 濃度增加，可見到 Ca Ski cells 變型、皺縮成碎片、有發泡現象越明顯。

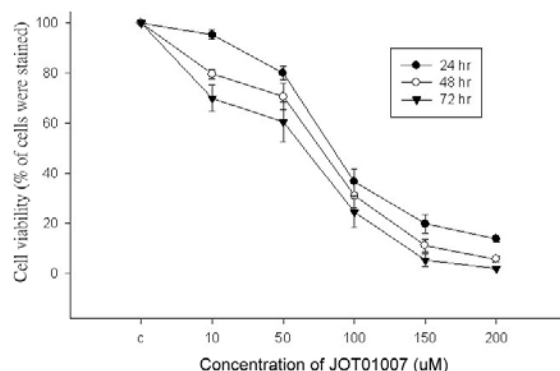


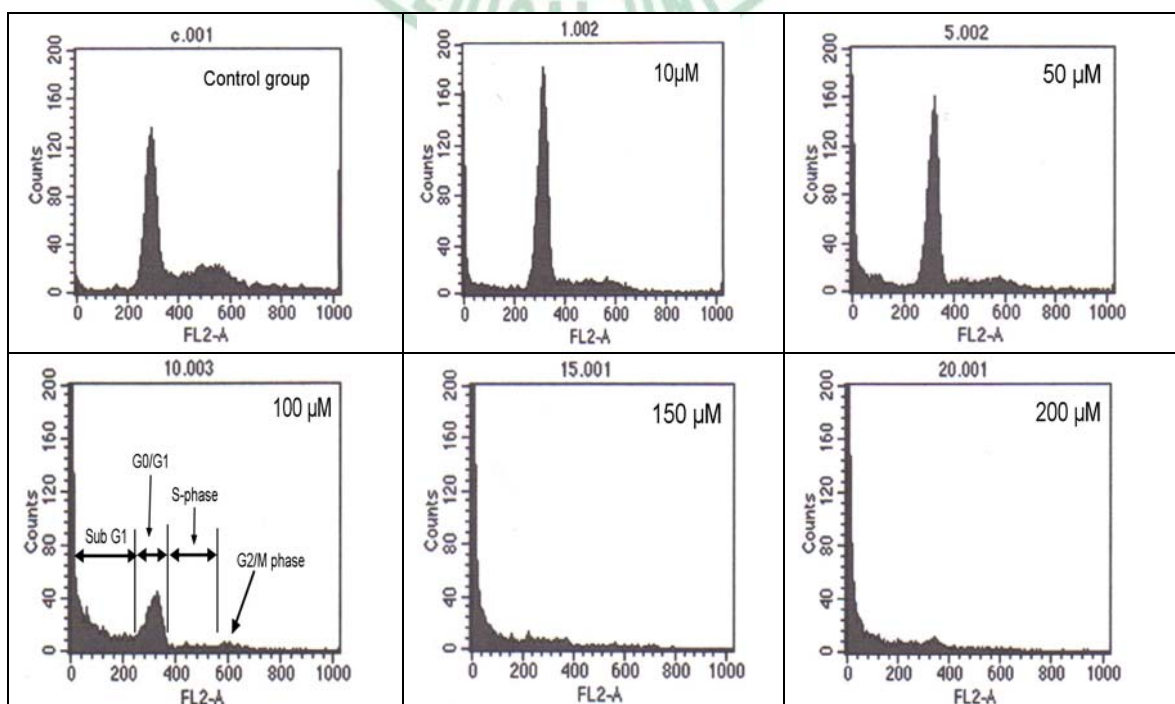
圖 2-82 Ca Ski cells 與不同濃度化合物 80 經細胞培養 24、48、72 小時後細胞的存活率。

Ca Ski cell 與不同濃度化合物 80 (0、10、50、100、150、200 μ M) 經培養 24、48、72 小時後，以 PI 染色後，經由流式細胞儀偵測細胞存活的百分比。

討論：化合物 80 會誘導 Ca Ski cells 凋亡，隨著藥品作用時間的增加及藥品濃度的增加，細胞存活率漸減。故化合物 80 誘導 Ca Ski cells 凋亡是屬時間依賴型及劑量依賴型作用模式(dose- and time-dependent manners)。

2.2 化合物80對Ca Ski cells細胞週期之影響---以流式細胞儀來偵測 (圖2-83)

討論：Ca Ski cells細胞經化合物80不同濃度處理後，呈現典型的DNA分佈圖形，細胞分佈在G0/G1、S、G2/M以及sub-G1期(DNA降解)。可看到sub-G1細胞凋亡峰出現，化合物80濃度越大，細胞凋亡越明顯。經由流式細胞儀偵測細胞DNA倍數情況，是往sub-G1期。當以各種濃度經培養48小時後，濃度化合物80濃度為100 μ M以上時，發生細胞凋亡比例大幅增加。



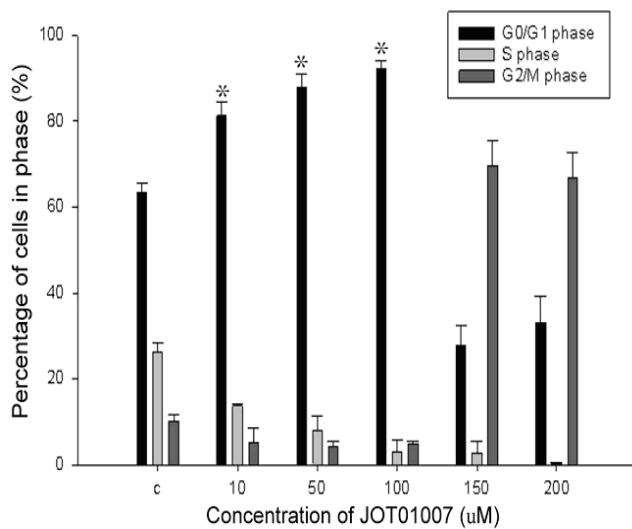
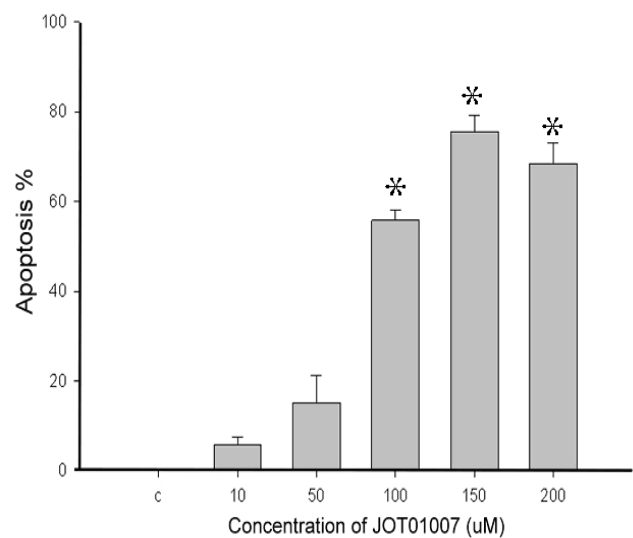
(B)**(C)**

圖 2-83 化合物80誘導Ca Ski cells的DNA亞倍體的形成。(A)化合物80誘導Ca Ski cells細胞凋亡之細胞週期分佈統計圖。(B) Ca Ski cells細胞與不同濃度化合物80 (0、10、50、100、150、200 μM)經培養48小時後，各種濃度下細胞週期分佈統計圖。(C) Ca Ski cells細胞與不同濃度化合物80 (0、10、50、100、150、200 μM)經培養48小時後，各種濃度下發生細胞凋亡統計圖。

2.3 經由 DAPI 染色法檢測化合物80對Ca Ski cells之細胞凋亡 (圖2-84)

說明1：DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)是一種螢光染劑，由於DAPI會滲透鑲嵌在細胞中雙股DNA的AU或AT鹼基的位置因此能被用於DNA的染色，激發光譜約為359 nm；與DNA 接合後釋放光譜約為 461 nm。因為DAPI可以透過完整的細胞膜，它可以用於活細胞和固定細胞的染色。

說明2：細胞凋亡過程中，染色質會出現濃縮狀態，當 DAPI 染色與濃縮染色質之DNA 結合後，會產生亮點，當細胞螢光亮點比例越多，表示細胞凋亡之比例越多。

討論：Ca Ski cells 與不同濃度化合物80 (0、10、50、100、150、200 μM)經培養48小時後，顯示隨著化合物80濃度增加，細胞螢光亮點比例越來越高，表細胞凋亡之比例越多，化合物80對Ca Ski cells之細胞凋亡呈現劑量依賴關切。(圖2-79)

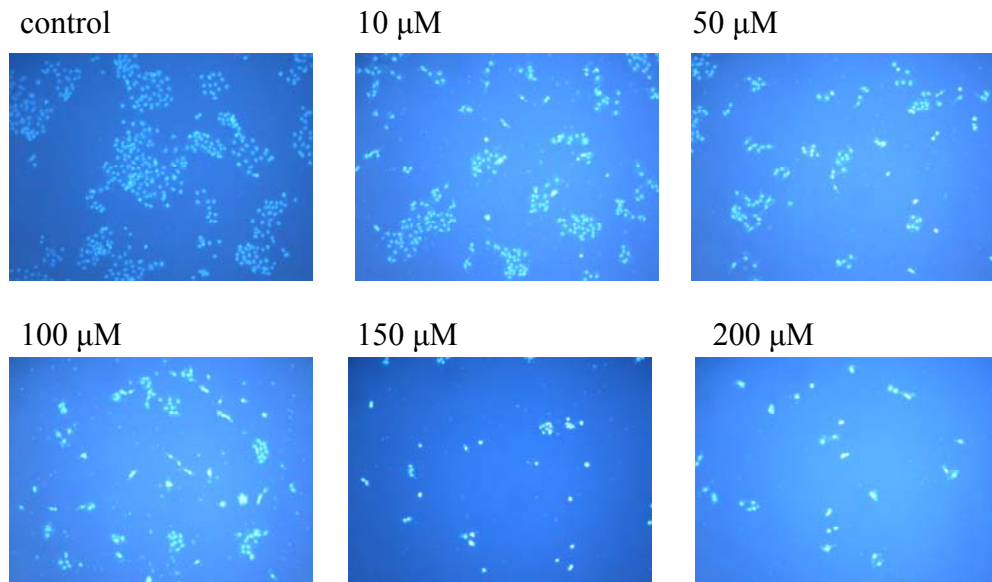


圖 2-84 DAPI 染色觀察不同濃度(0、10、50、100、150、200 μ M) 化合物80誘導Ca Ski cells 之細胞凋亡拍照圖。Ca Ski cells細胞與不同濃度化合物80 (0、10、50、100、150、200 μ M)經培養48小時後，經收集、清洗、固定、然後再以DAPI 染色，用螢光顯微鏡觀察及照相。

2.4 使用DNA凝膠電泳檢測化合物80對Ca Ski cells之DNA裂解影響 (圖2-84)

說明：一般細胞凋亡過程，細胞核內DNA會被核酸內切酶，切成180 bp DNA，當使用DNA凝膠電泳時，會形成DNA梯形，故DNA梯形成也是壞死的重要特徵。

討論：顯示化合物80誘導凋亡是以濃度依賴型方式(concentration-dependent manner)

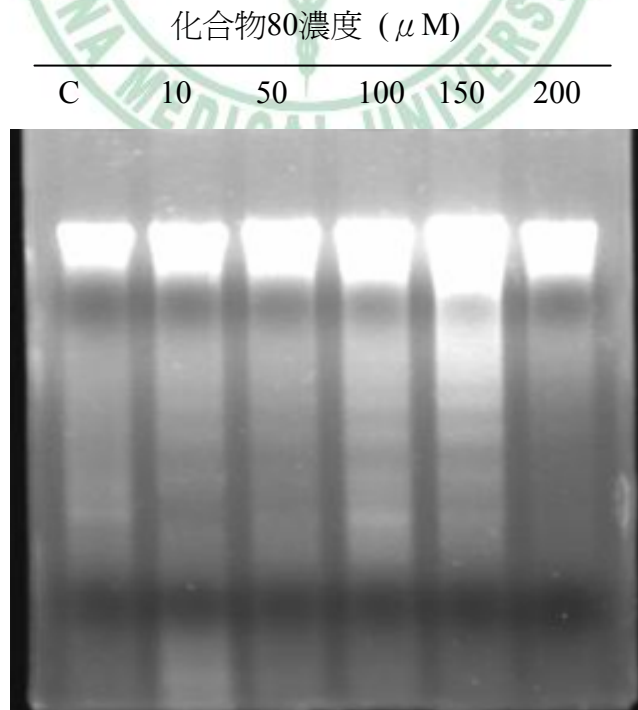


圖 2-85 化合物80濃度各種濃度培養48小時誘導 Ca Ski cells DNA裂解之DNA凝膠電泳照相圖。

2.5 檢測化合物80對Ca Ski cells之活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)之影響 (圖2-86)

說明：使用流式細胞儀來偵測 Ca Ski cells 之活性氧化物產量變化，測量原理：螢光指示劑，H₂DCFH-DA (Dichlorodihydrofluorescein diacetate)。DCFH-DA是一穩定的化學物質，呈非極性，所以能通透細胞膜。進入細胞後，被細胞的酯解酵素deacetylation 去掉兩個乙基，形成具有極性的 dichlorodihydrofluorescein(DCFH)，因此留在細胞內無法通透細胞膜跑出來。當細胞產生(H₂O₂) hydrogen peroxide會與DCFH產生氧化還原反應，使DCFH丟掉一個氫原子，形成了能夠發出螢光的2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCF)。由雷射光波長 488nm 激發，在波長 520nm 處產生螢光，再使用流式細胞儀來偵測螢光。

討論：由數據統計化合物80不會誘導Ca Ski cells產生活性氧化物。

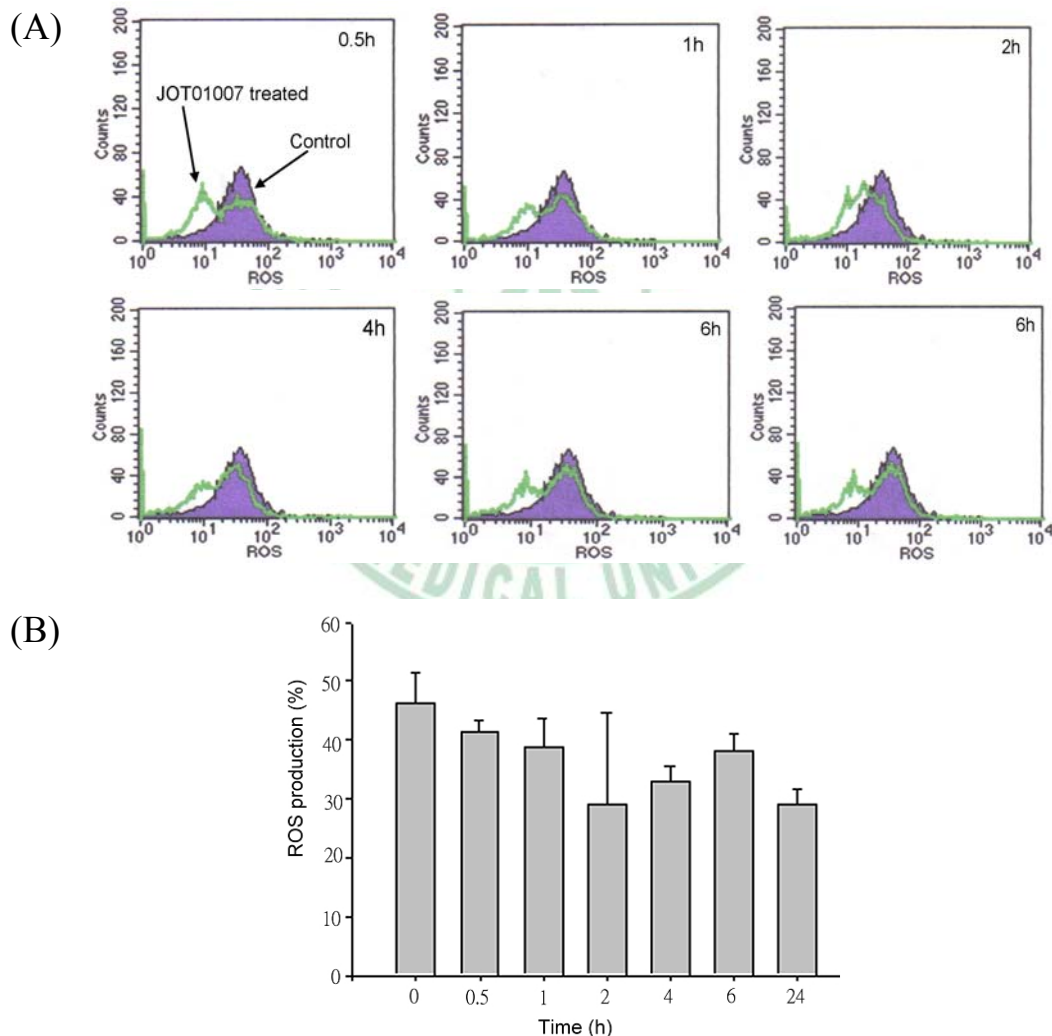


圖 2-86 化合物80影響Ca Ski cells誘導產生ROS之測量圖表。(A) Ca Ski cells細胞以 100 μ M之化合物80處理，細胞培養經0.5、1、2、4、6、12和24小時，以流式細胞儀來偵測螢光多少，與對照組作比較。(B)以實驗組產生ROS之細胞比例對時間變化作趨勢圖。

2.6 檢測化合物80對Ca Ski cells細胞質內之Ca²⁺之影響---以流式細胞儀來偵測 (圖2-87)

說明：使用流式細胞儀來偵測 Ca Ski cells 之細胞質Ca²⁺變化，測量原理：螢光指示劑，Indo1-AM (1-[2-amino-5-(6-carboxy-2-indolyl)phenoxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy)ethane- N,N,N',N'-tetraacetic acid, pentaacetoxymethyl ester)。

Indo1-AM是一穩定的化學物質，呈非極性，所以能通透細胞膜。進入細胞後，被細胞的酯解酵素deacetylation去掉乙基，形成具有極性的indo-1，因此留在細胞內無法通透細胞膜跑出來。由UV激發，螢光有2種：1.與鍵結：螢光波長 420nm，2. free type：螢光波長，在波長 510nm，兩者之比直值，可指出細胞質Ca²⁺濃度變化情形。

討論：化合物80，在24~48小時間，會誘導Ca Ski cells細胞質內Ca²⁺增加27~48%。

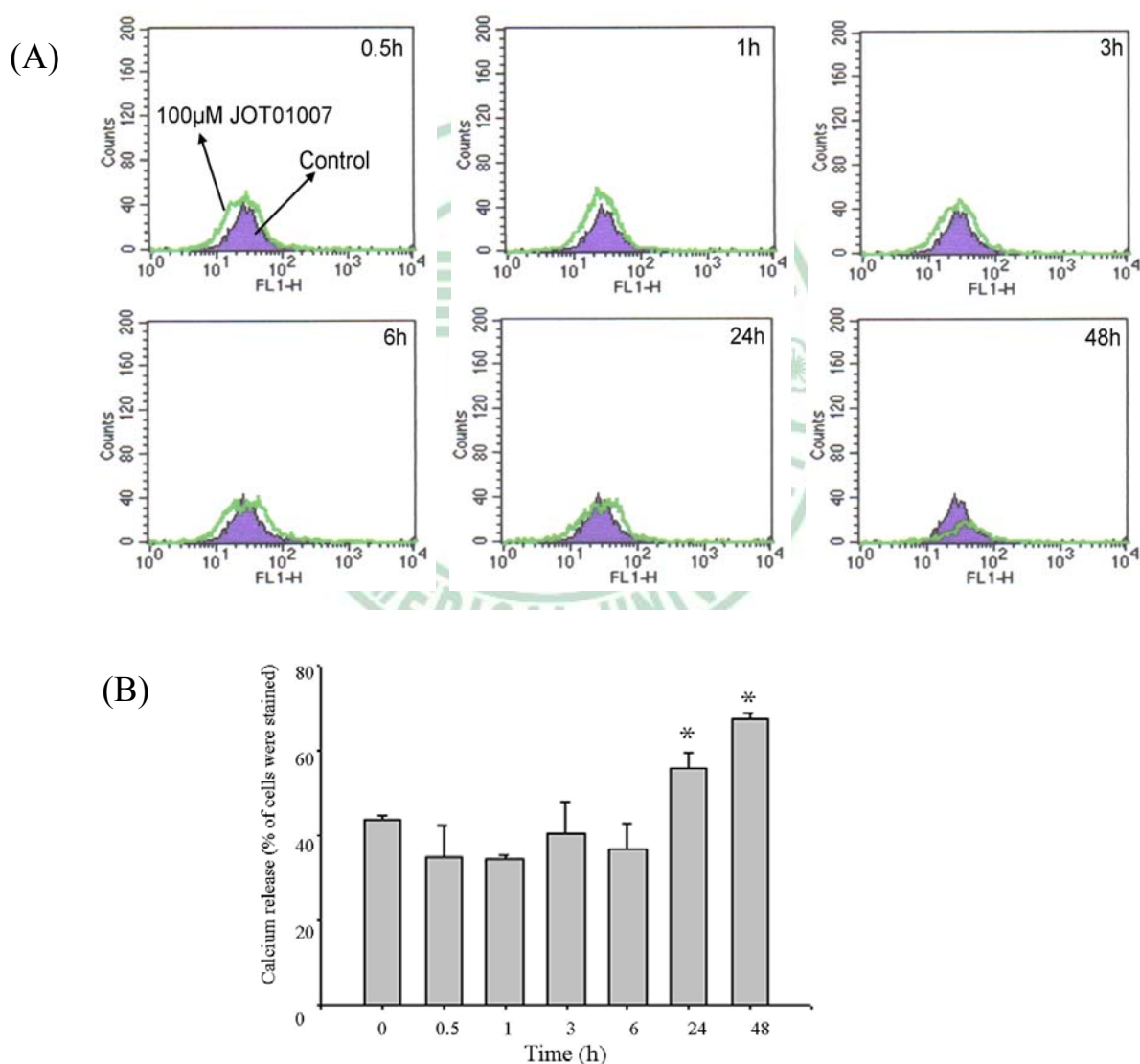


圖 2-87 化合物80影響對Ca Ski cells細胞質內之Ca²⁺之測量圖。(A) Ca Ski cells細胞以100μM之化合物80處理，細胞培養經0、0.5、1、3、6、24和48小時，以流式細胞儀來偵測螢光多少，與對照組作比較。(B)以實驗組產生Ca²⁺之細胞比例對時間變化作趨勢圖。在24~48小時間，細胞質內Ca²⁺增加27~48%。

2.7 檢測化合物80對Ca Ski cells細胞之粒腺體膜電位(MMP)之影響--以流式細胞儀來偵測 (圖2-88)

說明：使用流式細胞儀來偵測 Ca Ski cells 之粒腺體膜電位變化，測量原理：螢光指示劑，DiOC₆ (3,3'-dihexyloxacarbocyanine iodide)。DiOC₆是 lipophilic carbocyanine dye，能對活的有電位差的粒腺體膜有專一性的染色，當粒腺體膜電位下降時，DiOC₆通無法穿透細胞膜，故可用來偵測有無粒腺體膜電位。

討論：100 μM,化合物80，在1~24小時間，Ca Ski cells細胞有粒腺體膜電位(MMP)之細胞數，以時間依賴方式(time-dependent manner)逐漸降低。

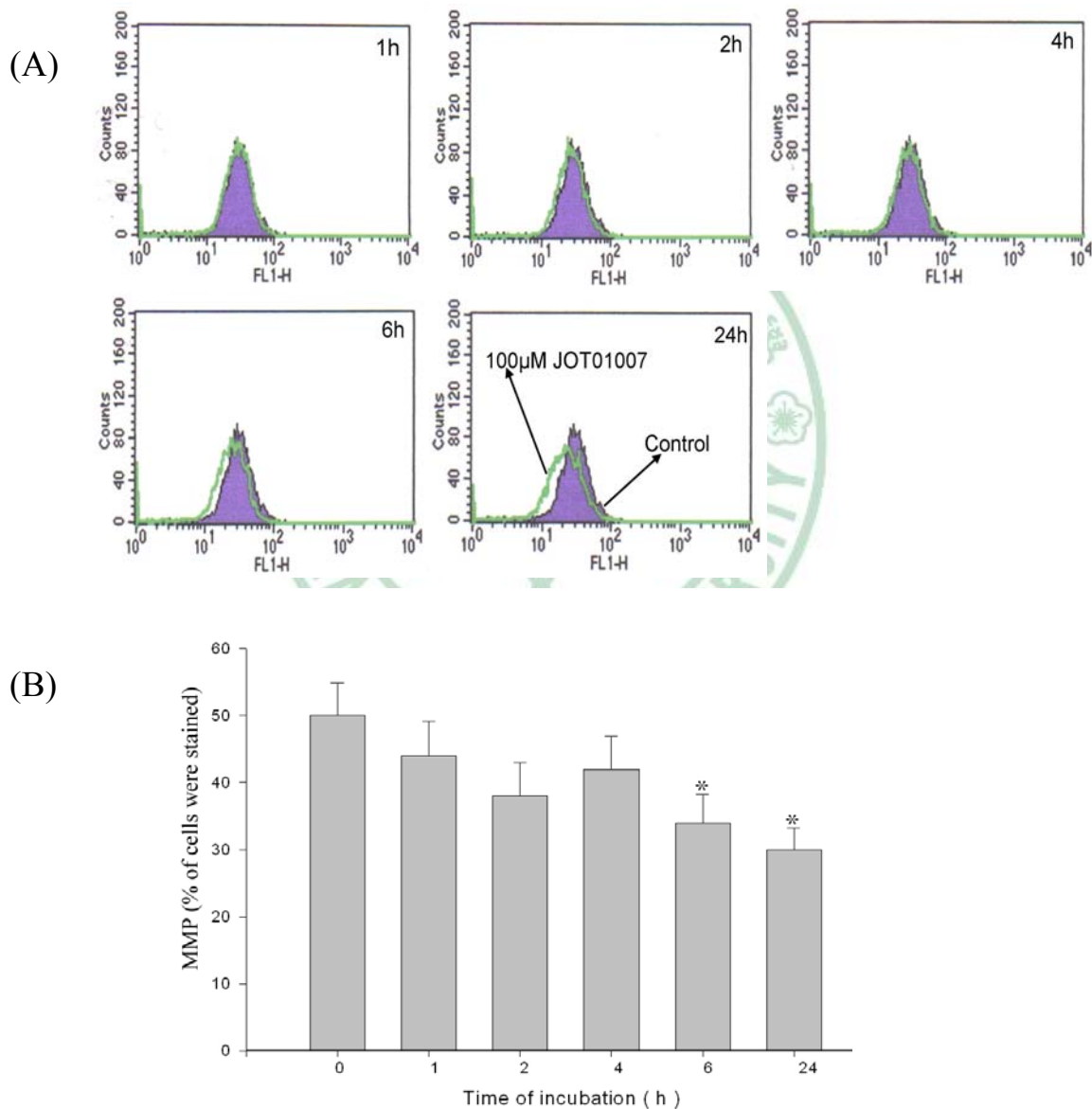


圖 2-88 化合物80影響對Ca Ski cells細胞粒腺體膜電位(MMP)之影響測量圖。(A) Ca Ski cells細胞以100μM之化合物80處理，細胞培養經0、1、2、4、6、24小時，以流式細胞儀來偵測螢光多少，與對照組作比較。(B)以實驗組測得不同時間有粒腺體膜電位之細胞比例對時間變化作趨勢圖。在6~24小時間，粒腺體膜電位明顯有統計學上的下降。

2.8 檢測化合物80對Ca Ski cells細胞 *p53, Bax, Bcl-2, cytochrome-c, AIF, caspase-3 and -8, Fas, GRP78, GADD153* 和 *caspase-12*之影響--以Western blotting偵測 (圖2-89)

說明：實驗所收集的蛋白質是以 Ca Ski cells 細胞，加不同濃度(0, 10, 50, 100, 150 和 200 μM) 的化合物 80，培養 48 小時後，萃取蛋白質得到。收集的蛋白質先經 SDS-PAGE 膠體電泳作蛋白質分離，然後再用西方墨點法，將 SDS-PAGE 的 gel 轉漬到 membrane 上，再利用一次和二次抗體標定，使其呈色，觀察蛋白質的表現，分析不同濃度化合物 80 對 *p53, Bax, Bcl-2, cytochrome-c, AIF, caspase-3 and -8, Fas, GRP78, GADD153* 和 *caspase-12* 的影響。

討論：由 Western blotting 分析實驗之結果(圖 2-85)，化合物 80 會增加蛋白質表現有 *p53, Bax, cytochrome-c, AIF, active caspase-3, Fas, caspase-8 and -12, GRP78 and GADD153*。化合物 80 會降低蛋白質表現有 *Bcl-2*，由於 *Bcl-2* 表現減少，可能是造成 Ca Ski cells 細胞凋亡的原因。



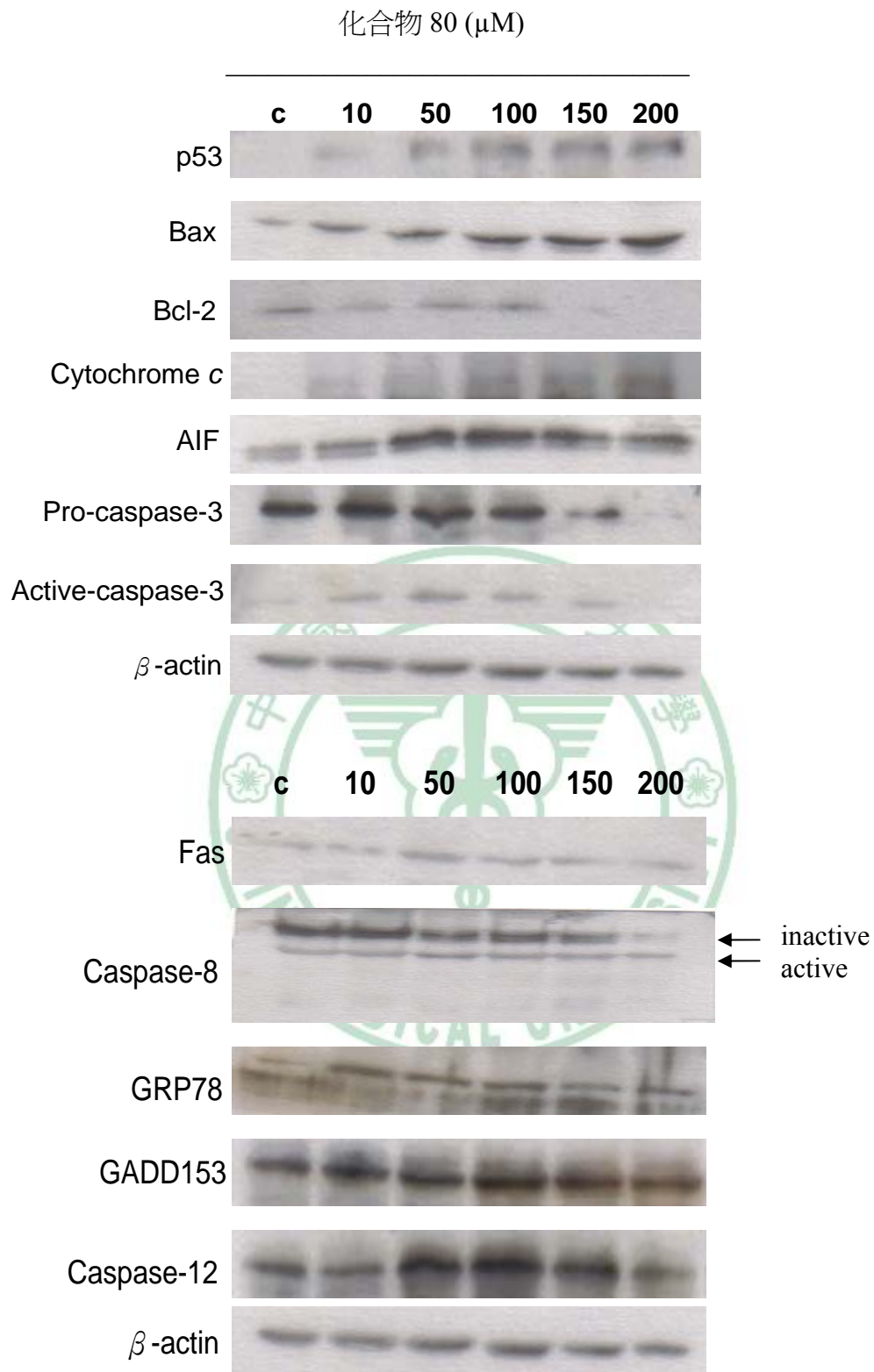


圖 2-89 不同濃度化合物 80 對 Ca Ski cells 細胞 p53, Bax, Bcl-2, cytochrome-c, AIF, caspase-3 and -8, Fas, GRP78, GADD153 和 caspase-12 之影響。p53, Bax, cytochrome-c, AIF, active caspase-3, Fas, caspase-8 and -12, GRP78 and GADD153 等蛋白質受化合物 80 影響，表現是增加，而 Bcl-2 表現減少。

參、化合物 79 誘導人類子宮頸部腫瘤細胞 Human Cervical Cancer (簡稱 HeLa Cells)細胞凋亡之研究：

3.1 檢測化合物 79 對 HeLa 細胞，其細胞型態上變化和細胞存活率之影響 (圖 2-90)

討論：Hela cells 與不同濃度化合物 79 (0、50、100、150、200 μ M)經培養 24 小時後，用倒立式相位差顯微鏡觀察，可見用化合物 79 處理，導致 Hela cells 細胞外形改變與對照組有很明顯變化。化合物 79 會明顯降低細胞存活率，且呈現劑量正向相關 (dose-dependent manners)。

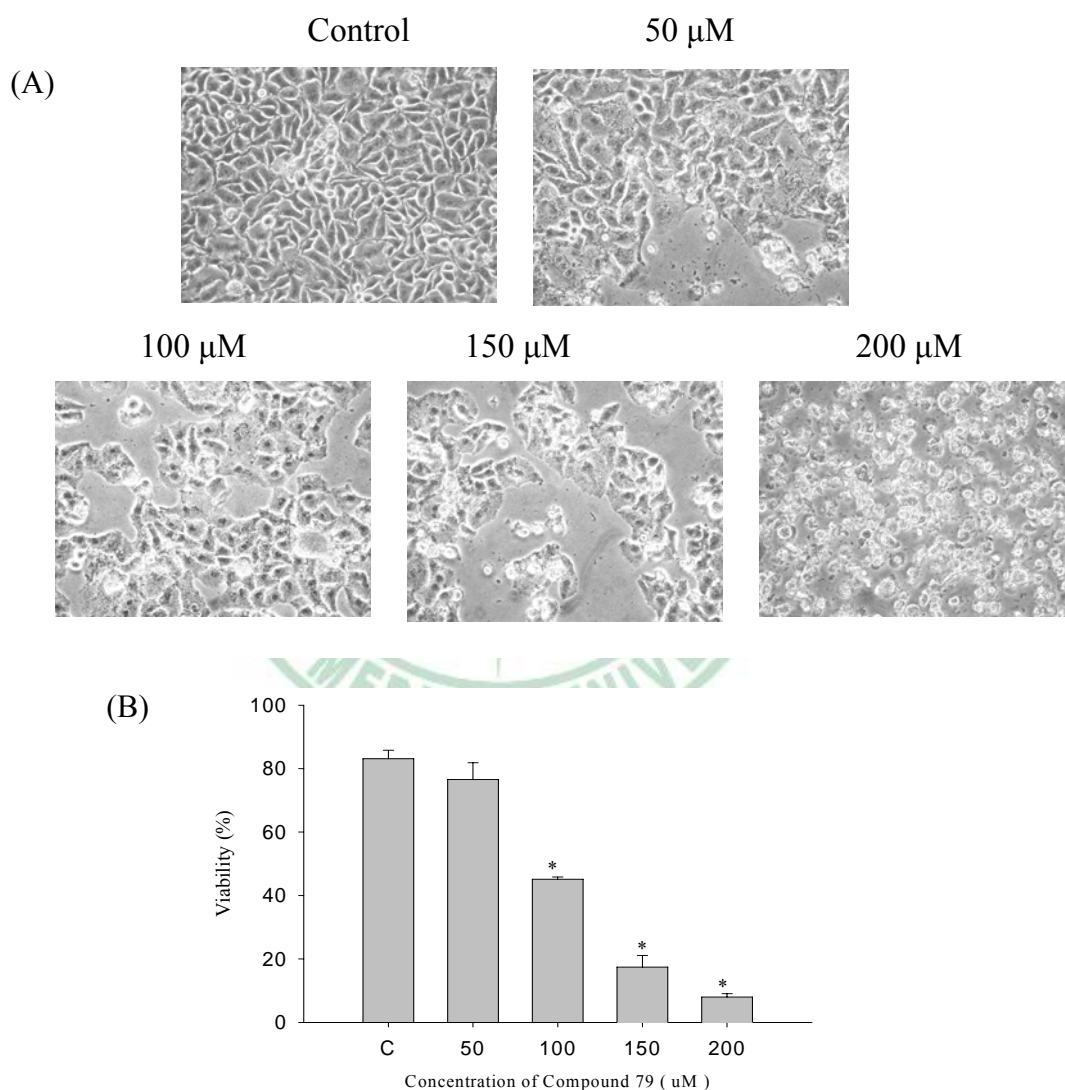


圖 2-90 HeLa cells 與不同濃度化合物 79 經細胞培養 48 小時的型態變化。(A) HeLa cells 與不同濃度化合物 79 (0、50、100、150、200 μ M) 經培養 24 小時後，用倒立相位差顯微鏡觀察之照相圖。(B)化合物 79 會濃度大於 100 μ M 後，明顯降低 HeLa cells 細胞存活率，且呈現劑量正向相關性。

3.2 化合物79 對HeLa cells細胞週期與sub-G1分析---以流式細胞儀來偵測 (圖2-91)

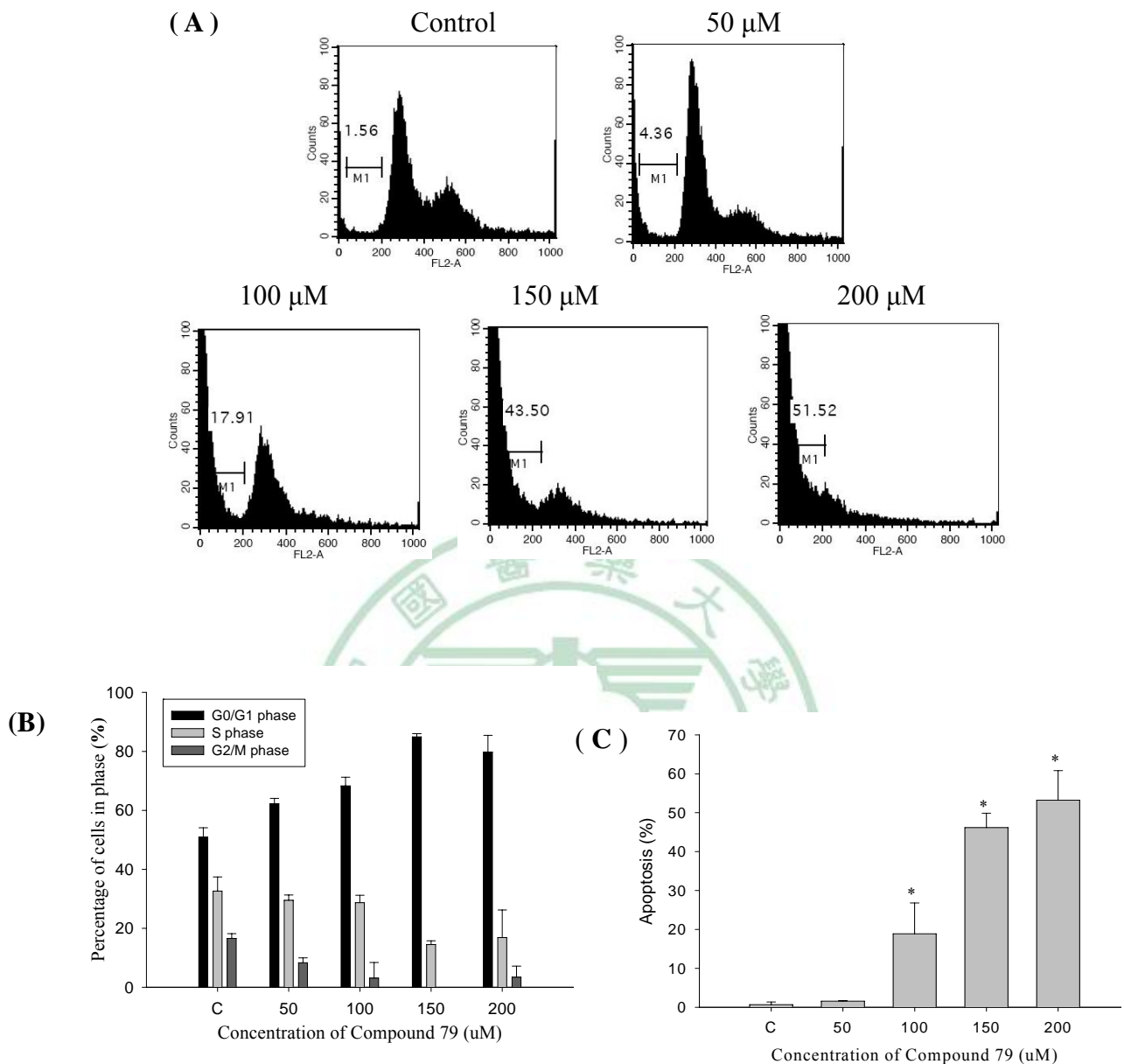


圖 2-91 (A)不同濃度化合物 79 影響 HeLa cells 的細胞週期之統計圖，主要影響 HeLa cells 停滯在(G0/G1)滯留。(B)不同濃度化合物 79 誘導 HeLa cells 細胞週期分佈變化統計圖。(C) 後，各種濃度下發生細胞凋亡統計圖。

3.3 化合物79 對 Hela cells 細胞凋亡之影響--經由 DAPI 染色法檢測 (圖2-92)

討論：經由 DAPI 染色法檢測，化合物79會誘導 Hela cells 細胞凋亡，且呈現劑量正向相關性(dose-dependent manners)。

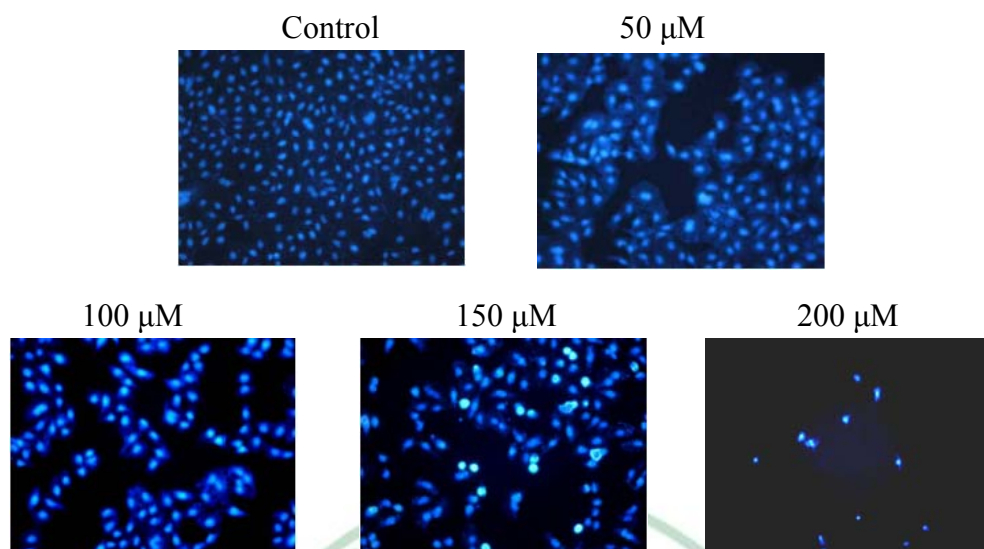


圖 2-92 DAPI 染色觀察不同濃度(0、50、100、150、200 μM) 化合物 79 誘導 Hela cells 之細胞凋亡拍照圖。

3.4 化合物79 對 Hela cells 細胞DNA裂解影響分析---使用DNA凝膠電泳 (圖2-93)

結果：150 μM 化合物 79 會導致 DNA ladder 現象，可確認化合物 79 會導致 Hela cells 細胞凋亡，且此影響是以時間依賴型方式。

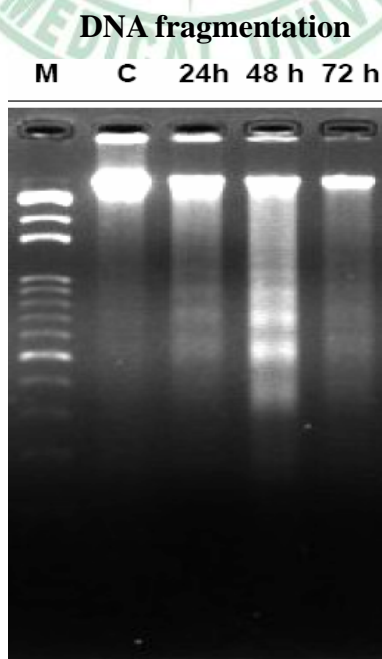


圖 2-93 化合物 80 濃度 150 μM 經不同時間培養後，誘導 Ca Ski cells DNA 裂解之 DNA 凝膠電泳照相圖

3.5 檢測化合物79對Hela cells在活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)之影響 (圖2-94)

結果：150 μM 化合物 79 導致 Hela cells 釋放活性氧化物，Hela cells 細胞釋放活性氧化物在曝露化合物第 6 小時產量最大。

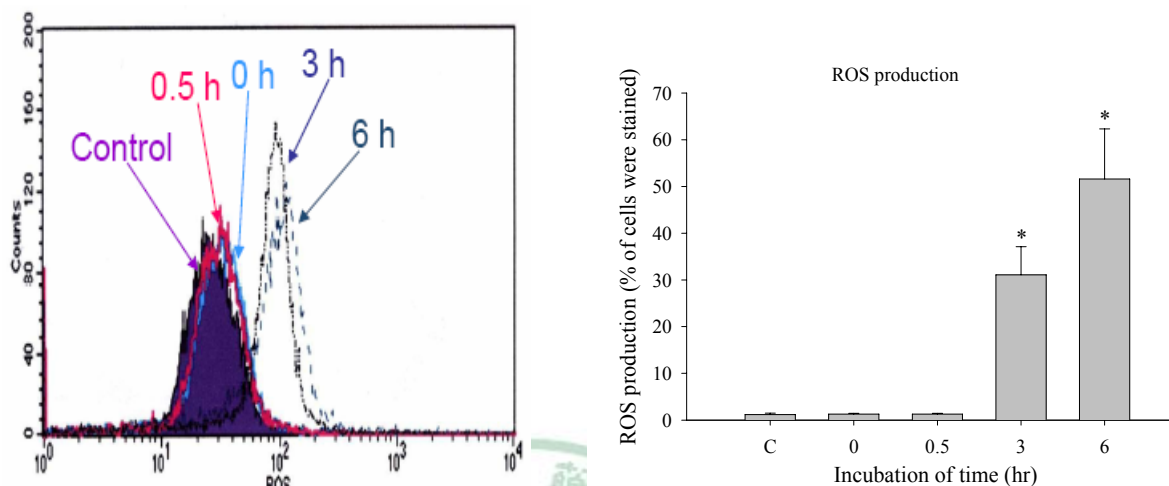


圖 2-94 用 150 μM 化合物 79 不同時間，導致 Hela cells 產生活性氧化物之流式細胞儀分析圖。Hela cells 與 150 μM 化合物 79 培養 0.5、3、6 小時後偵測 ROS 變化，以 0 濃度當作對照組，細胞以 DCFH-DA 當染料，用流式細胞儀偵測被染色之細胞。

3.6 檢測化合物79對Hela cells細胞質內之 Ca^{2+} 之影響---以流式細胞儀來偵測 (圖2-95)

結果：Hela cells曝露150 μM 化合物79從0至8小時，細胞產生 Ca^{2+} 離子之細胞數，呈現增加趨勢，在第6小時後釋放 Ca^{2+} 離子之細胞數大幅增加。

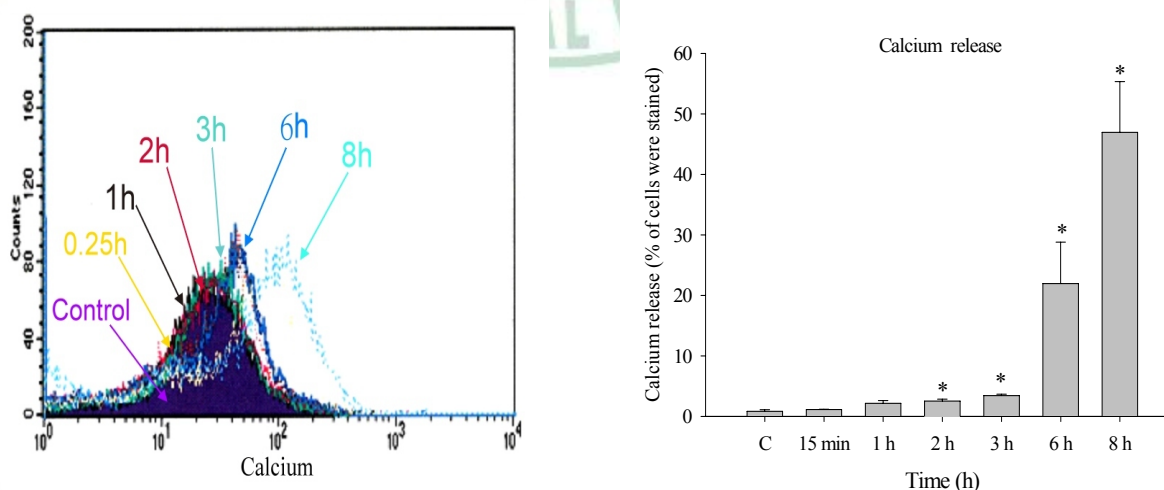


圖 2-95 Hela cells 與 150 μM 化合物 79 培養不同時間，細胞釋放 Ca^{2+} 離子濃度之流式細胞儀分析圖。Hela cells 與 150 μM 化合物 79 培養 0.25、1、2、3、6、8 小時後偵測 Ca^{2+} 離子濃度變化，以 0 時間時， Ca^{2+} 離子濃度當作對照組，細胞以 Indo1-AM 當染料，用流式細胞儀偵測被染色之細胞。

3.7 檢測化合物79對Hela cells細胞之粒腺體膜電位(MMP)之影響--以流式細胞儀來偵測

(圖2-96)

結果：與對照組比較，Hela cells 曝露 150 μ M 化合物從 0 至 6 小時間，有粒腺體膜電位之細胞呈現下降趨勢，此作用是呈現時間依賴型方式。

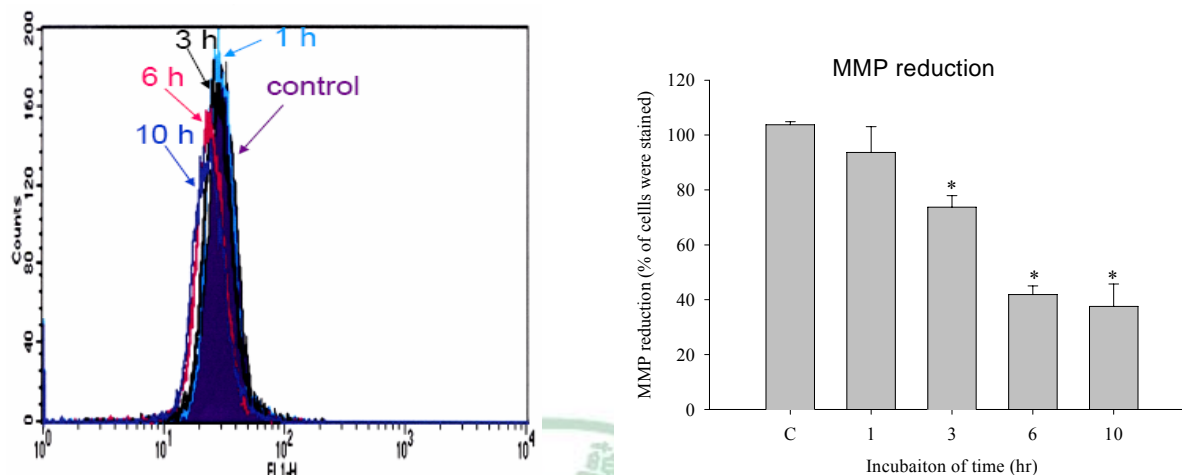


圖 2-96 HeLa cells 與 150 μ M 化合物 79 培養不同時間，細胞粒腺體膜電位變化之流式細胞儀分析圖。HeLa cells 與 150 μ M 化合物 79 培養 1、3、6、10 小時後偵測仍有粒腺體膜電位之細胞數，以 0 時間時，HeLa cells 有粒腺體膜電位之細胞數當作對照組，細胞以 DiOL6 當染料，用流式細胞儀偵測被染色之細胞。

3.8 檢測化合物79對Hela cells細胞轉移能力之影響 (圖2-97)

說明：以大約 2×10^4 cell/well 的 HeLa cells 細胞放在 10cm 平板上，與 50 μ M、75 μ M 化合物 79 培養 18、24、36 小時，然後用相位差顯微鏡觀察平板上細胞之轉移情形。

結果：與對照組比較，HeLa cells 細胞轉移能力在其曝露在 75 μ M 化合物 79 第 24 至 36 小時間明顯下降。

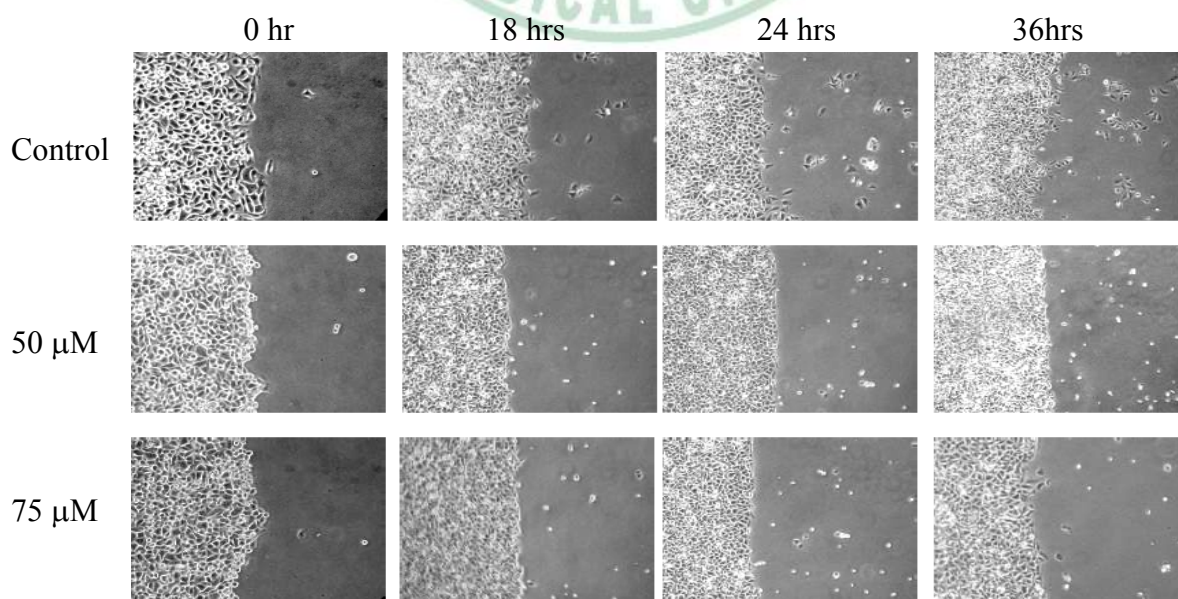


圖 2-97 細胞轉移(cell migration)實驗照相圖。HeLa cells 細胞轉移能力在其曝露在 75 μ M 化合物 79 第 24 至 36 小時間明顯下降。

3.9 檢測化合物 79 對 HeLa cells 細胞 p53、PARP、Bax、Bcl-2、caspase-3、-7、-9、-12、AIF、Bcl-xL、Fas、Akt、MMP-2、-9、Grp78、和 Gadd153 之影響--以 Western blotting 偵測 (圖 2-98)

說明：把從 HeLa cells 細胞實驗組(有加化合物 79)和對照組(未加化合物 79)所得的蛋白質分散放在 SDS-PAGE 膠體，經電泳作蛋白質分離後，作 *Western blotting* 轉漬到 membrane 上，再利用一次和二次抗體標定,使其呈色,觀察蛋白質的表現，分析不同濃度化合物 79 對 p53、PARP、Bax、Bcl-2、caspase-3、-7、-9、-12、AIF、Bcl-xL、Fas、Akt、MMP-2、-9、Grp78、Gadd153 的影響。

結果：由 Western blotting 分析實驗之結果(圖 2-92)，化合物 79 會增加蛋白質表現有 p53、PARP、cytochrome *c*、Bax、caspases-9、-3、-7、-12、Grp78 and Gadd153。化合物 79 會降低蛋白質表現有 Bcl-2、Bcl-xl、Akt、MMP-2 and -9，由於這些蛋白質表現減少，可能是造成 HeLa cells 細胞凋亡的原因。

圖 2-98(A)

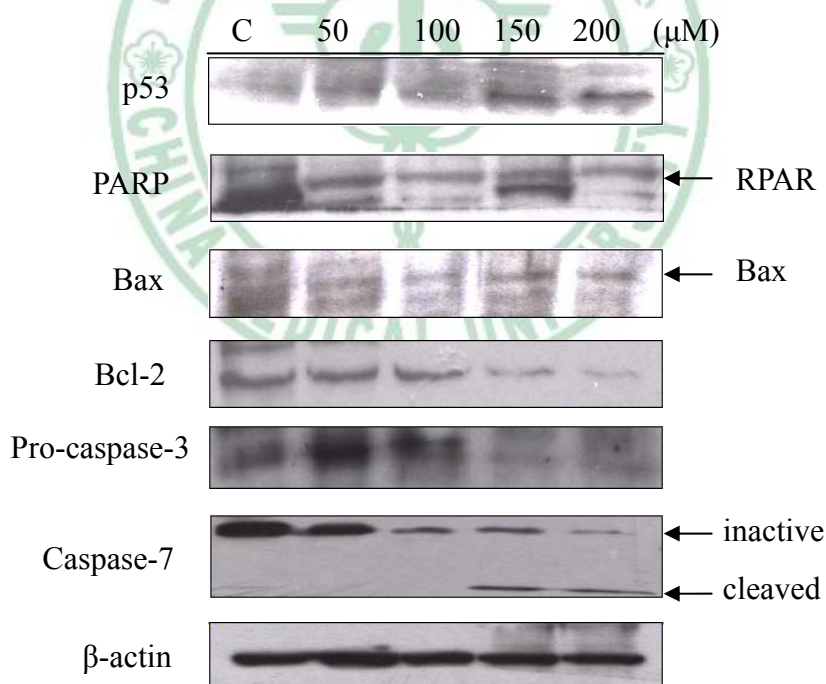


圖 2-98 (B)

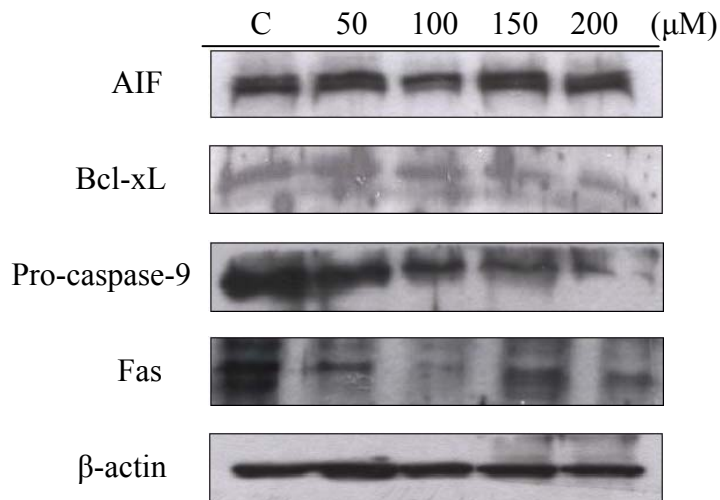


圖 2-98 (C)

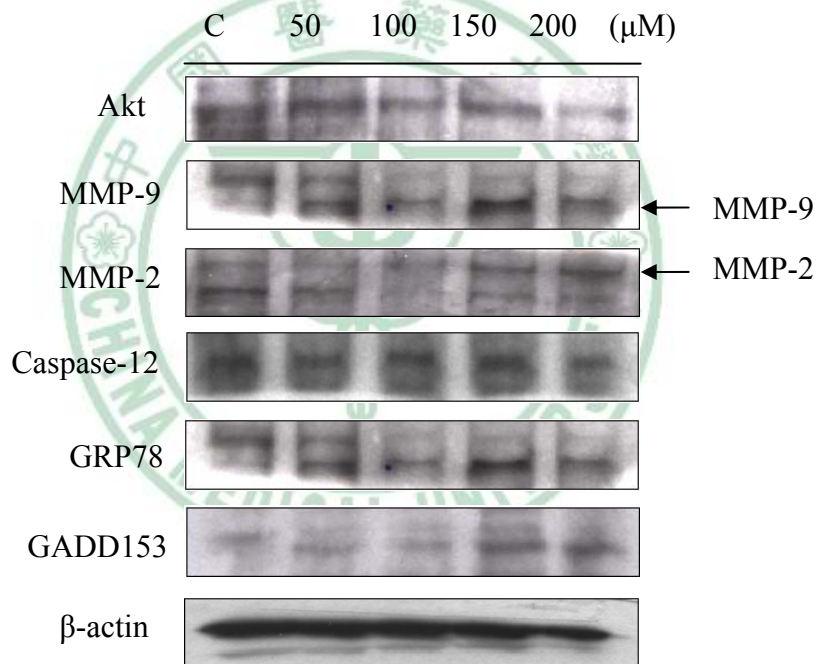


圖 2-98 西方墨點法之表現：顯示 HeLa cells 細胞與不同濃度化合物 79 處理經 24 小時培養後細胞內 p53、PARP、Bax、Bcl-2、caspase-3、-7、AIF、Bcl-xL、caspase-9、Fas、Akt、MMP-2、-9、caspase-12、Grp78、和 Gadd153 的含量變化。(A 圖顯示：p53、PARP、Bax、Bcl-2、caspase-3、-7)、(B 圖顯示：AIF、Bcl-xL、caspase-9、Fas)、(C 圖顯示：Akt、MMP-2、-9、caspase-12、Grp78、和 Gadd153)

肆、人類嗜中性白血球抗活性氧化物釋放試驗

※ 試驗目的：抑制嗜中性球產生活性氧化物試驗

※ 偵測原理：以 fMLP 當發炎反應誘導劑，以 Cytochalasin B 當細胞軟化劑，提高細胞膜通透性，以 Cytochrome C 被 H₂O₂ 還原成還原態 Cytochrome C 時，其在波長 550 之吸光度(OD550)為實驗測量值，以 DMSO 之(OD550) 為對照組測量值，測量不同濃度藥品對人類嗜中性白血球抗發炎產生 ROS 之影響。

※ 實驗結果：藥理實驗數據參考表 2.6 及表 2.7。(僅列出目前有的數據，大多數化合物僅測 1 次之實驗，故無標準偏差數據。另有些數據有 3 次之實驗數據，故有標準偏差數據。*** 代表 $p < 0.05$ 。以對照組當作抑制 0%)

表 2.10 化合物抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之影響% (以對照組當作 0%)---(1)

化合物編號	化合代編號	化合物濃度 50 μ M	化合物濃度 5 μ M	化合物濃度 0.5 μ M	化合物濃度 50nM
1	HAJ01	37.93 \pm 3.45	3.45 \pm 3.45 **		
2	HAJ02	27.99	1.52		
3	HAJ03	56.26	23.50	0.17	
4	HAJ11	100.00	65.43		
5	JOT01	24.21	12.89		
6	JOT34	-2.66			
7	JOT35	33.33	5.68		
8	DMO35	0.47 \pm 8.24			
9	TMO53	-4.55			
10	JNC01	0.90			
11	HAJ01001	5.17 \pm 1.72			
12	HAJ01002	46.55 \pm 0.00	-1.72 \pm 5.17 ***		
13	HAJ01003	55.49	3.13		
14	HAJ01004	73.82	11.76		
15	HAJ01005	70.69	22.73	12.70	
16	HAJ01006	76.49	34.64	9.56	
17	HAJ01007	100.00	26.49	19.44	
18	HAJ01008	59.72	3.92		

表 2.10 化合物抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之影響% (以對照組當作 0%)---(2)

19	HAJ01009	36.36	4.86	
20	HAJ01010	81.97	29.15	1.10
21	HAJ01011	19.46	-3.83	
22	HAJ01012	13.24		
23	HAJ01013	94.58	52.79	-5.74
24	HAJ01014	52.15	-10.37	
25	HAJ01015	15.15		
26	HAJ01016	-6.38		
27	HAJ02001	29.01	2.19	
28	HAJ02002	24.01	-0.51	
29	HAJ02003	41.85	3.60	
30	HAJ02004	40.14	3.26	
31	HAJ02005	69.47	-0.34	
32	HAJ02006	61.41	0.00	
33	HAJ02007	88.85	13.72	
34	HAJ02008	48.71	-12.18	
35	HAJ02009	45.11	-12.69	
36	HAJ02010	14.54		
37	HAJ02011	30.70	-5.32	
38	HAJ02012	28.09	35.17	-1.18
39	HAJ02013	84.56	44.43	1.89
40	HAJ02014	37.56	-4.46	
41	HAJ02015	56.19	-3.34	
42	HAJ02016	55.40	4.80	
43	HAJ03001	31.22	18.87	-2.40
44	HAJ03002	80.27	51.46	3.77
45	HAJ03003	62.18	19.59	1.87

表 2.10 化合物抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之影響% (以對照組當作 0%)---(3)

46	HAJ03004	40.55	21.81	6.47
47	HAJ03005	74.79	15.50	-31.18
48	HAJ03006	58.42	21.45	8.09
49	HAJ03007	74.96	53.66	11.24
50	HAJ03008	66.27	17.89	10.73
51	HAJ03009	52.31	11.88	
52	HAJ03010	39.60	17.33	
53	HAJ03011	31.85	9.08	
54	HAJ03012	70.30	20.79	1.32
55	HAJ03013	96.86	91.75	18.81 7.92
56	HAJ03014	30.03	1.32	
57	HAJ03015	59.41	15.68	
58	HAJ03016	100.00	9.27	-15.23
59	HAJ03021	11.26	-7.95	
60	HAJ11001	100.00	-12.45	
61	HAJ11002	71.64	36.57	8.36
62	HAJ11003	84.78	33.88	10.15
63	HAJ11004	82.99	43.13	5.37
64	HAJ11005	73.43	55.37	7.31
65	HAJ11006	81.19	58.51	8.21
66	HAJ11007	100.00	100.00	11.19
67	HAJ11008	94.48	80.45	3.88
68	HAJ11009	77.46	33.28	8.51
69	HAJ11010	100.00	33.60	-9.43
70	HAJ11012	70.92	74.46	-2.55
72	HAJ11014	64.78	16.42	
73	HAJ11015	88.51	29.40	4.03

表 2.10 化合物抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之影響% (以對照組當作 0%)---(4)

74	JOT01001	41.82	5.50		
75	JOT01002	54.09	8.18		
76	JOT01003	46.38	8.18		
77	JOT01004	41.98	8.18		
78	JOT01005	88.84	24.37	6.13	
79	JOT01006	65.72	47.64	7.86	
80	JOT01007	55.03	53.93	5.35	
81	JOT01008	76.10	11.79		
82	JOT01009	3.77			
83	JOT01010	-1.09			
84	JOT01011	43.59	-5.78		
85	JOT01013	70.16	-2.50		
86	JOT01014	59.06	4.69		
87	JOT01016	31.88	0.31		
88	JOT34001	49.71	18.32	2.73	
89	JOT34002	55.95	0.58		
90	JOT34003	50.88	7.60		
91	JOT34004	77.19	24.37	-6.04	
92	JOT34005	42.11	24.95	-1.36	
93	JOT34006	71.91	-16.50		
94	JOT34007	98.82	59.53	44.40	-3.93
95	JOT34008	100.00	25.34	-3.31	
96	JOT34009	72.32	17.15	-10.92	
97	JOT34010	34.31	4.29		
98	JOT34011	67.84	-0.78		
99	JOT34012	85.85	6.48		
101	JOT34014	56.19	-10.61		

表 2.10 化合物抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之影響% (以對照組當作 0%)---(5)

102	J0T34015	53.22	64.72	-1.95
103	J0T34016	60.04	26.90	-16.76
104	J0T35001	67.65	7.90	
105	J0T35002	91.11	1.23	
106	J0T35003	100.00	16.79	
107	J0T35004	88.40	74.81	0.74
108	J0T35005	83.46	25.93	2.47
109	J0T35006	59.47	18.37	
110	J0T35007	28.79	-5.30	
111	J0T35008	100.00	-27.84	
112	J0T35009	22.35	3.98	
113	J0T35010	36.36	-20.08	
114	J0T35011	82.71	-12.97	
115	J0T35012	72.54	20.64	
116	J0T35013	15.72		
117	J0T35014	-5.49		
118	J0T35015	46.78	-2.46	
119	J0T35016	41.67	-17.23	
120	DMO35001	35.87 ± 31.35	-25.56 ± 13.10	
121	DMO35002	43.96 ± 9.80	4.71 ± 19.23	-25.89
122	DMO35003	49.19 ± 27.66	-6.97 ± 5.93	
123	DMO35004	50.27 ± 21.08	4.30 ± 19.17	-15.18
124	DMO35005	45.74 ± 6.02	0.21 ± 1.60	
125	DMO35006	64.78 ± 7.64	-5.02 ± 8.36	
126	DMO35007	17.15 ± 22.36	0.74	
127	DMO35008	24.66 ± 8.69	28.63 ± 7.49	-28.47 ± 20.35
128	DMO35009	38.68 ± 21.70	-13.83 ± 2.54	

表 2.10 化合物抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之影響% (以對照組當作 0%)---(6)

129	DMO35010	22.41 ± 10.34	3.45 ± 3.45	P=0.07	
130	DMO35011	27.59 ± 8.62	-1.72 ± 3.45	*	
131	DMO35012	24.14 ± 3.45	-3.45 ± 1.72	**	
132	DMO35013	24.14 ± 6.90	0.00 ± 3.45	**	
133	DMO35014	75.86 ± 5.17	10.34 ± 8.62	***	1.72
134	DMO35015	68.97 ± 6.90	3.45 ± 1.72	***	
135	DMO35016	41.38 ± 10.34	10.34 ± 6.90	**	-1.72
136	TMO53001	29.92	-11.36		
137	TMO53002	-15.72			
138	TMO53003	100.00	-12.97		
139	TMO53004	-56.44			
140	TMO53005	-17.42			
141	TMO53006	-0.39			
142	TMO53007	-17.05			
143	TMO53008	-3.98			
144	TMO53009	-11.84			
145	TMO53010	-19.04			
146	TMO53011	39.20	-10.61		
147	TMO53012	45.38	4.32		
148	TMO53013	32.22	6.48		
149	TMO53014	-13.60			
150	TMO53015	36.96	-5.60		
151	TMO53016	27.70	30.84		-13.36
152	HAI011	-4.94			
153	HAI031	-2.32			
154	JOT011	-7.66			
155	HAI01101	-8.45			

表 2.10 化合物抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之影響% (以對照組當作 0%)---(7)

156	HAJ01102	32.38	-10.05		
157	HAJ01103	22.17	-9.57		
158	HAJ01104	57.74	7.34	-8.77	
159	HAJ01105	-3.67			
160	HAJ01106	76.24	-8.93		
161	HAJ01107	6.70			
162	HAJ01108	0.48			
163	HAJ01109	-5.10			
164	HAJ01110	-3.51			
165	HAJ01114	53.11	-8.13		
166	HAJ01115	-6.38			
168	HAJ01201	9.24			
169	HAJ01501	12.17			
170	HAJ01502	65.49	16.02		
171	HAJ01503	79.97	2.00		
172	HAJ01504	61.79	38.52	1.85	
173	HAJ01505	63.79	42.84	20.34	
174	HAJ01506	78.58	-4.47		
175	HAJ01507	65.18	4.78		
176	HAJ01508	8.47			
177	HAJ01510	65.77	55.14	6.91	
178	HAJ01514	78.08	74.20	5.73	
179	HAJ01515	86.68	32.55	2.87	
180	HAJ01516	100.00	96.80	69.14	7.93
181	JNA01	-0.60			
182	JNC016	100.00	100.00	61.34	15.37
183	JRC01	100.00	68.96	35.04	0.48

表 2.11 化合物抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物 50%之濃度(IC₅₀)

化合物 編號	化合物 代號	IC ₅₀ [μM]	化合物 編號	化合物 代號	IC ₅₀ [μM]
1	HAJ01	0.58±0	79	JOT01006	10.73
3	HAJ03	33.99	80	JOT01007	14.12
4	HAJ11	3.49	81	JOT01008	30.08
13	HAJ01003	45.28	86	JOT01014	42.5
14	HAJ01004	32.73	89	JOT34002	45.21
15	HAJ01005	15.98	90	JOT34003	49.09
16	HAJ01006	9.79	91	JOT34004	13.1
17	HAJ01007	5.4	93	JOT34006	36.29
18	HAJ01008	42.16	94	JOT34007	1.5
19	HAJ01009	42.16	95	JOT34008	7.3
20	HAJ01010	10.24	96	JOT34009	18.07
23	HAJ01013	5.22	98	JOT34011	38.17
24	HAJ01014	48.14	99	JOT34012	29.67
31	HAJ02005	37.39	101	JOT34014	45.04
32	HAJ02006	41.64	102	JOT34015	12.61
33	HAJ02007	26.73	103	JOT34016	25.12
34	HAJ02008	26.73	104	JOT35001	36.71
39	HAJ02013	5.43	105	JOT35002	29.42
41	HAJ02015	45.04	106	JOT35003	22.96
42	HAJ02016	45.2	107	JOT35004	3.92
44	HAJ03002	6.69	108	JOT35005	10.3
45	HAJ03003	27.07	111	JOT35008	27.5
47	HAJ03005	17.04	114	JOT35011	32.2
48	HAJ03006	33.17	115	JOT35012	30.46
49	HAJ03007	6.38	125	DMO35006	42.89
50	HAJ03008	22.94	133	DMO35014	20.01±4.25
51	HAJ03009	47.43	134	DMO35015	37.96±4.10
54	HAJ03012	18.21	135	DMO35016	78.81±28.08
55	HAJ03013	1.08	138	TMO53003	27.5
57	HAJ03015	40.32	158	HAJ01104	47.82
58	HAJ03016	9.34	160	HAJ01106	34.51
60	HAJ11001	27.5	165	HAJ01114	49.02
61	HAJ11002	11.25	170	HAJ01502	35.91
62	HAJ11003	7.73	171	HAJ01503	32.7
63	HAJ11004	7.21	172	HAJ01504	17.03
64	HAJ11005	6.9	173	HAJ01505	11.28
65	HAJ11006	5.22	174	HAJ01506	33.63
66	HAJ11007	1.74	175	HAJ01507	38.69
67	HAJ11008	3.07	176	HAJ01508	38.69
68	HAJ11009	9.9	177	HAJ01510	8.92
69	HAJ11010	6.43	178	HAJ01514	4.219
70	HAJ11012	5.52	179	HAJ01515	8.33
72	HAJ11014	36.25	180	HAJ01516	0.39
73	HAJ11015	8.33	182	JNC016	0.022
75	JOT01002	45.99	183	JRC01	1.46
78	JOT01005	8.83			

表 2. 12 化合物 5 μ M 抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之百分比--以結構相關性排列 (A)

結構	代號	編號	%	代號	編號	%	代號	編號	%	代號	編號	%
2 環-NH	1	HAJ01	3.45	8	DMO35		2	HAJ02	1.52	9	TMO53	
benzyl	11	HAJ01001		120	DMO35001		27	HAJ02001	2.19	136	TMO53001	-11.36
2-CH3	12	HAJ01002	-1.72	121	DMO35002	4.71	28	HAJ02002	-0.51	137	TMO53002	
3-CH3	13	HAJ01003	3.13	122	DMO35003	-6.97	29	HAJ02003	3.6	138	TMO53003	-12.97
4-CH3	14	HAJ01004	11.76	123	DMO35004	4.3	30	HAJ02004	3.26	139	TMO53004	
2-Cl	15	HAJ01005	22.73	124	DMO35005	0.21	31	HAJ02005	-0.34	140	TMO53005	
3-Cl	16	HAJ01006	34.64	125	DMO35006	-5.02	32	HAJ02006	0	141	TMO53006	
4-Cl	17	HAJ01007	26.49	126	DMO35007	0.74	33	HAJ02007	13.7	142	TMO53007	
2-F	18	HAJ01008	3.92	127	DMO35008	28.63	34	HAJ02008	-12.2	143	TMO53008	
3-F	19	HAJ01009	4.86	128	DMO35009	-13.8	35	HAJ02009	-12.7	144	TMO53009	
4-F	20	HAJ01010	29.15	129	DMO35010	3.45	36	HAJ02010		145	TMO53010	
2-NO2	21	HAJ01011	-3.83	130	DMO35011	-1.72	37	HAJ02011	-5.32	146	TMO53011	-10.61
3-NO2	22	HAJ01012		131	DMO35012	-3.45	38	HAJ02012	35.2	147	TMO53012	4.32
4-NO2	23	HAJ01013	52.79	132	DMO35013	0	39	HAJ02013	44.4	148	TMO53013	6.48
2-OCH3	24	HAJ01014	-10.4	133	DMO35014	10.34	40	HAJ02014	-4.46	149	TMO53014	
3-OCH3	25	HAJ01015		134	DMO35015	3.45	41	HAJ02015	-3.34	150	TMO53015	-5.6
4-OCH3	26	HAJ01016		135	DMO35016	10.34	42	HAJ02016	4.8	151	TMO53016	30.84

(B)

結構	代號	編號	%	代號	編號	%	代號	編號	%	代號	編號	%
2 環-NH	3	HAJ03	23.5	152	HAJ011					4	HAJ11	65.43
benzyl	43	HAJ03001	18.87	155	HAJ01101		169	HAJ01501		60	HAJ11001	-12.45
2-CH3	44	HAJ03002	51.46	156	HAJ01102	-10.05	170	HAJ01502	16.02	61	HAJ11002	36.57
3-CH3	45	HAJ03003	19.59	157	HAJ01103	-9.57	171	HAJ01503	2	62	HAJ11003	33.88
4-CH3	46	HAJ03004	21.81	158	HAJ01104	7.34	172	HAJ01504	38.52	63	HAJ11004	43.13
2-Cl	47	HAJ03005	15.5	159	HAJ01105		173	HAJ01505	42.84	64	HAJ11005	55.37
3-Cl	48	HAJ03006	21.45	160	HAJ01106	-8.93	174	HAJ01506	-4.47	65	HAJ11006	58.51
4-Cl	49	HAJ03007	53.66	161	HAJ01107		175	HAJ01507	4.78	66	HAJ11007	100
2-F	50	HAJ03008	17.89	162	HAJ01108		176	HAJ01508		67	HAJ11008	80.45
3-F	51	HAJ03009	11.88	163	HAJ01109					68	HAJ11009	33.28
4-F	52	HAJ03010	17.33	164	HAJ01110		177	HAJ01510	55.14	69	HAJ11010	33.6
2-NO2	53	HAJ03011	9.08									
3-NO2	54	HAJ03012	20.79							70	HAJ11012	74.46
4-NO2	55	HAJ03013	91.75									
2-OCH3	56	HAJ03014	1.32	165	HAJ01114	-8.13	178	HAJ01514	74.2	72	HAJ11014	16.42
3-OCH3	57	HAJ03015	15.68	166	HAJ01115		179	HAJ01515	32.55	73	HAJ11015	29.4
4-OCH3	58	HAJ03016	9.27				180	HAJ01516	96.8			

※ 討論：以各系列化合物 5 μ M 之活性作分析 1

(無數據者表其 50 μ M 活性不明顯，故沒有繼續測試 5 μ M 之活性)

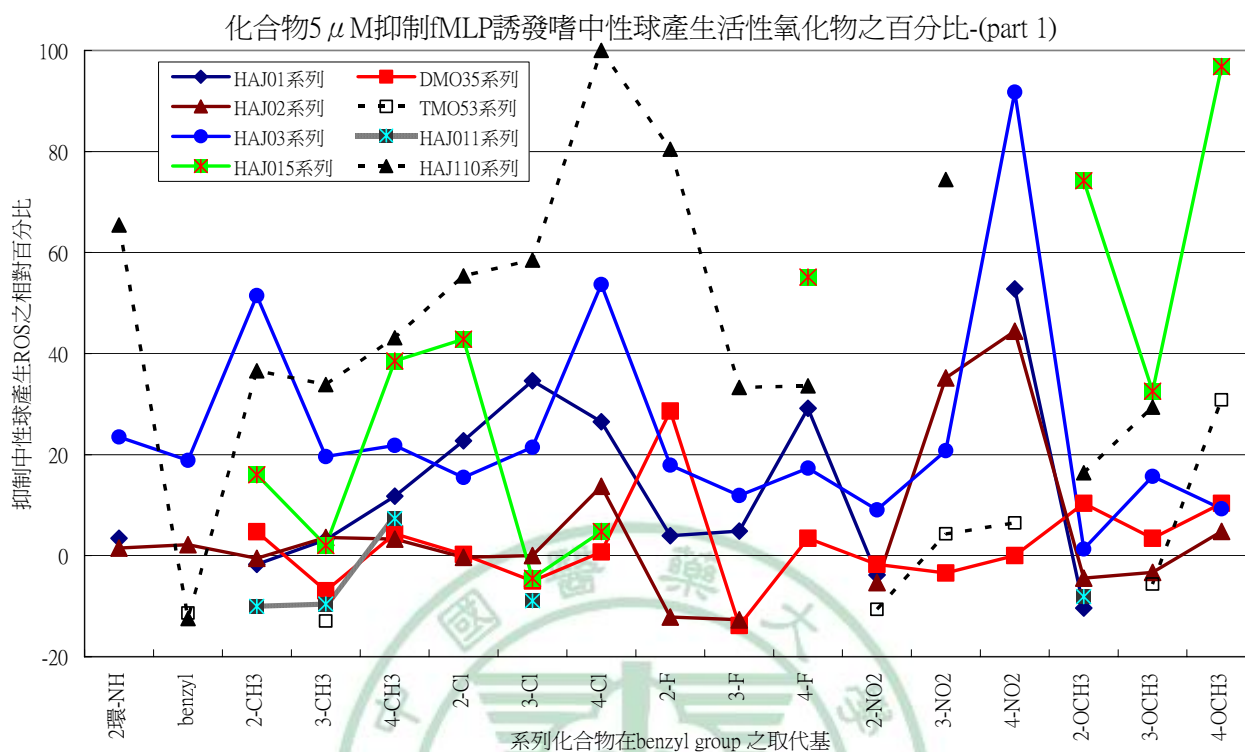


圖 2-95 各系列化合物 5 μ M 抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之百分比圖-(part 1)

1. 化合物 3 (HAJ03)與化合物 2(HAJ02)兩系列活性相差 10%以上，意味 aniline 上取代基會影響活性。
2. 化合物 1 (HAJ01)與化合物 152(HAJ011)兩系列結構差異在 HAJ011 系列有環化，而 HAJ01 系列無環化，兩系列活性相差 10%~40%，意味環化後會造成抗 ROS 活性降低。
3. Benzyl group 有取代基活性增加，以 -Cl、-NO₂、OCH₃ 在對位取代，活性增加明顯。
4. 化合物 1 (HAJ01)與化合物 8(HAJ035)兩系列結構差異在化合物 8 系列在 Anilno group 上多一個 -OCH₃，活性大都降低，表 Anilno group 多一個 -OCH₃，活性降低。
5. 化合物 4 (HAJ11) 與有取代基之 Benzyl group 接合後，活性略降，但仍有活性，意味 Anilno group 3 號位置為 -OH group 或 -OCH₂-C₆H₅ group 有較大活性。
6. 以同樣 Benzyl group 之 para- 位置取代為 -Cl、-NO₂ 或 -OCH₃ 看不同取代基之 Anilno group，其活性差距很大，推論 Anilno group 之取代基影響力大於 Benzyl group 之取代基影響力。
7. 化合物 1 (HAJ01)與化合物 4 (HAJ11)兩系列結構差異在 Anilno group 之 3 號位置，化合物 1 為 -OCH₃，而化合物 4 為 -OCH₂-C₆H₅，兩系列活性相差 5~70%，表 benzyl group 在生物活性上有特殊之作用機轉，造成活性增加。

討論：以各系列化合物 5 μ M 之活性作分析 2

(無數據者表其 50 μ M 活性不明顯，故沒有繼續測試 5 μ M 之活性)

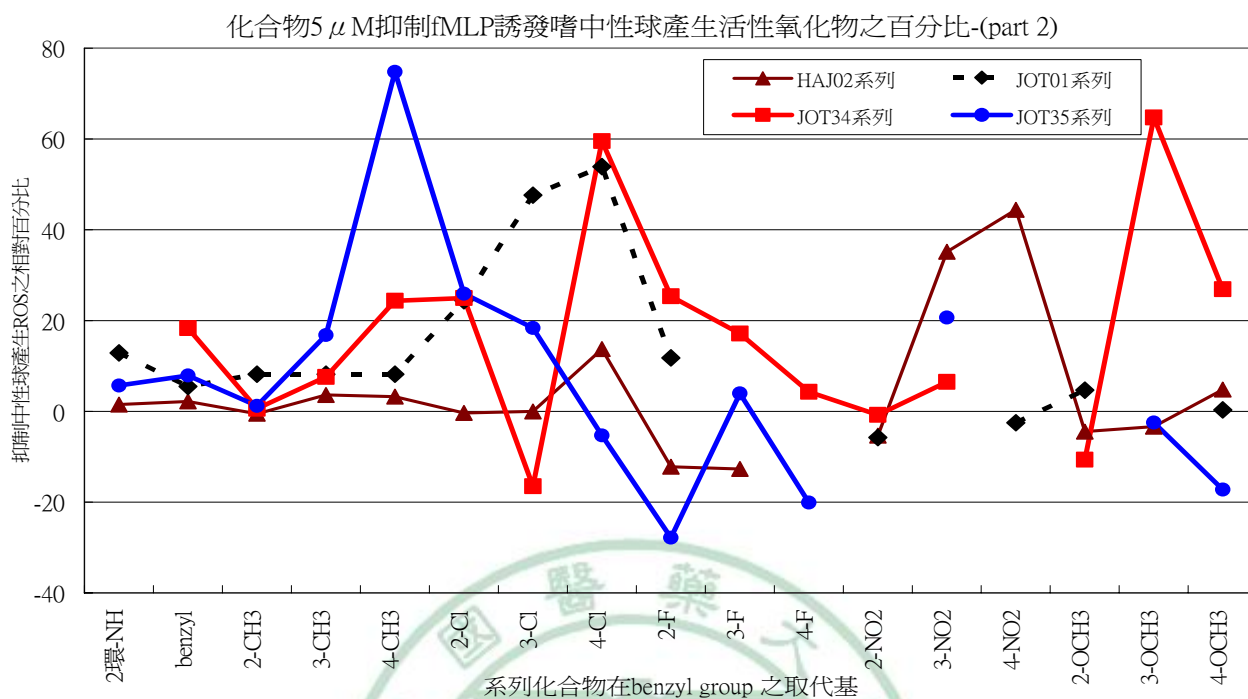


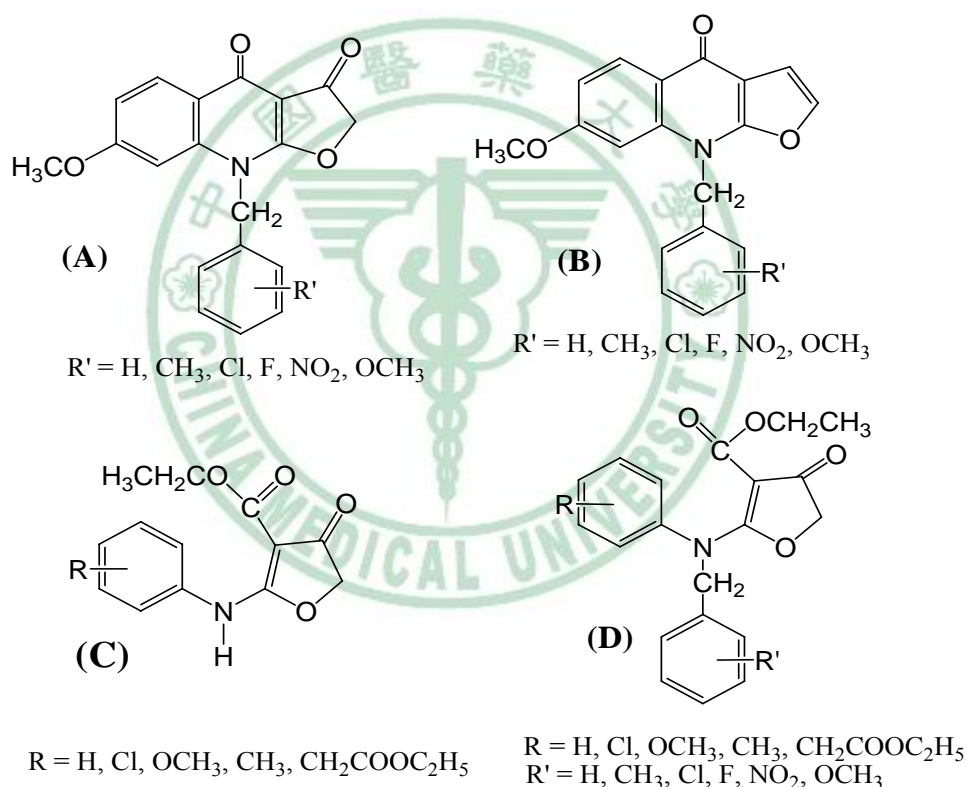
圖 2-96 各系列化合物 5 μ M 抑制 fMLP 誘發嗜中性球產生活性氧化物之百分比圖-(part 2)

特徵	代號	編號	代號	編號	代號	編號	代號	編號
2-ring-NH	2	HAJ02	5	JOT01	6	JOT34	7	JOT35
benzyl	27	HAJ02001	74	JOT01001	88	JOT34001	104	JOT35001
2-CH3	28	HAJ02002	75	JOT01002	89	JOT34002	105	JOT35002
3-CH3	29	HAJ02003	76	JOT01003	90	JOT34003	106	JOT35003
4-CH3	30	HAJ02004	77	JOT01004	91	JOT34004	107	JOT35004
2-Cl	31	HAJ02005	78	JOT01005	92	JOT34005	108	JOT35005
3-Cl	32	HAJ02006	79	JOT01006	93	JOT34006	109	JOT35006
4-Cl	33	HAJ02007	80	JOT01007	94	JOT34007	110	JOT35007
2-F	34	HAJ02008	81	JOT01008	95	JOT34008	111	JOT35008
3-F	35	HAJ02009	82	JOT01009	96	JOT34009	112	JOT35009
4-F	36	HAJ02010	83	JOT01010	97	JOT34010	113	JOT35010
2-NO2	37	HAJ02011	84	JOT01011	98	JOT34011		
3-NO2	38	HAJ02012			99	JOT34012	115	JOT35012
4-NO2	39	HAJ02013	85	JOT01013			116	JOT35013
2-OCH3	40	HAJ02014	86	JOT01014	101	JOT34014	117	JOT35014
3-OCH3	41	HAJ02015			102	JOT34015	118	JOT35015
4-OCH3	42	HAJ02016	87	JOT01016	103	JOT34016	119	JOT35016

1. Anilno group 取代基為甲基時，Benzyl group 在對位以-CH₃、-Cl、-NO₂ 取代，活性增加明顯。
2. Anilno group 取代基為 3,5-二甲基時，Benzyl group 取代基為 F 時，活性消失，有些反而會促進生長。

第三章 結論

因爲呋喃喹啉酮類化合物與目前臨床使用之抗癌藥在結構上有差異不同，有文獻報告線性呋喃喹啉，有其抗癌活性，推測其抗癌活性推測應有其他機轉，故合成一系列呋喃喹啉酮類化合物 *N*-various benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-diones (A) 及 *N*-various benzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-4-diones (B)，因呋喃喹啉酮類化合物，其溶解性不佳，此類合成中間體之溶解度較呋喃喹啉酮類化合物佳，另外很少有此類合成中間物及類似結構衍生物之相關研究，故合成一系列此類化合物之中間衍生物 Ethyl 2-(substituted anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (C) 及 Ethyl 2-[*N*-various benzyl (substituted)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro-furan-3-carboxylate (D)，以作爲抗氧化活性之研究，並將進行抗癌活性之研究。



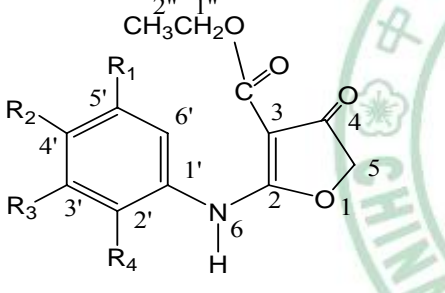
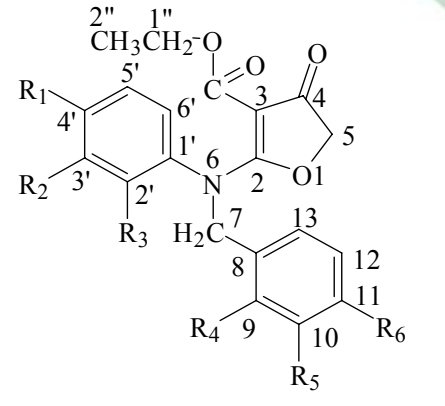
爲了提高生物活性，藥物須有官能基與標的接受器或蛋白質發生交互作用，所以藥物官能基在與標的物作用時，整個分子過渡狀態之穩定性高低，就會影響到藥效，因過渡狀態之穩定性高，則保持過渡狀態之時間會比較久，造成整個分子與標的接受器或蛋白質發生反應的機會會比較大，藥效會較明顯。利用 Benzyl group 在失去一個電子變成 benzylium ion ($\text{C}_6\text{H}_6\text{CH}^+\cdot$) 時，methylene 上之 H 原子可透過 1,3-H shift (H 位置轉移)，藉由共振效應，造成 benzylium ion 有相對穩定性，另外 Benzyl group 在失去一個電子變成 benzylium ion ($\text{C}_6\text{H}_6\text{CH}^+\cdot$) 時，也可以經分子內重新排列變成七員環之 tropylium 離子(seven-membered-ring

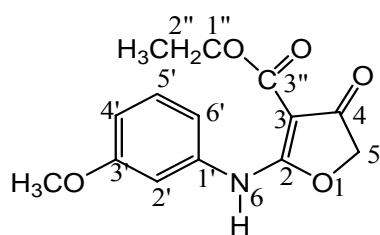
tropylium ion), 故著者所合成之化合物很多選合成 *N*-various benzylation, 期望能透過 Benzyl group 在反應過渡狀態中變成 benzylium ion, 透過分佈電荷, 降低反應所須反應能, 在體溫內即可與標的接受器或蛋白質發生化學反應, 即發生藥理作用。

著者合成出多系列化合物, 除了經由光譜鑑定化合物結構外, 並將這些化合物提供作細胞凋亡試驗及細胞凋亡之藥理探討, 另本實驗室以化學合成方法, 合成呋喃喹啉酮(類(furoquinolone) 化合物, 發現 acrophyllidine 其具有抗過敏活性, 於化學合成呋喃喹啉酮類(furoquinolone)的中間產物發現也有有生理活性, 例如 **HAJ11** (ethyl 2-(3-hydroxy-anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate) 有很好抗發炎效果, 故也將這些化合物提供作抗嗜中性球性氧化物實驗及抗血小板凝集試驗(數據資料為尚未完成)。茲將目前之試驗結果, 敘述如下:

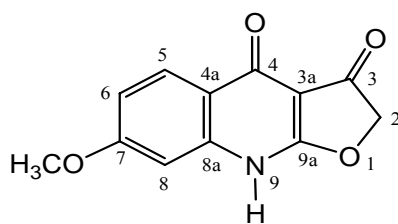
壹、小鼠血癌細胞 WEHI-3 致毒活性實驗

壹-1 化學結構與生理活性分析:

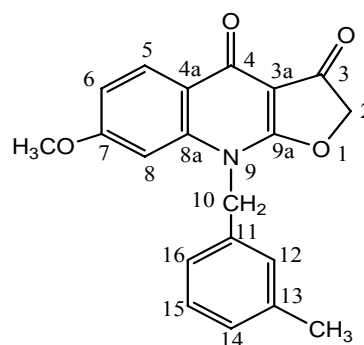
	<p>分析Aniline group 上取代基之影響, 以化合物2為基準</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 3'號位置甲氧基及氫氧基取代藥效增加 2. 2'號位置乙酸乙脂取代基活性增6~7倍 (以0.1 μ M比較) 3. 3'號位置氯取代, 細胞毒性降低 26 倍。 4. 2'號位置甲基取代基, 細胞毒性降低 1 倍。
	<ol style="list-style-type: none"> 1. 3'-methoxy anilino, 再接上無取代基之Benzyl group, 活性增加, 但接上有取代基之Benzyl group, 活性增加略降。但接上有<i>m</i>-fluoro取代基之Benzyl group, 活性降低。 2. 3'-chloroanilino(化合物3), 接上 <i>para</i>-OCH₃ 之 Benzyl group, 活性增加很多(比較1 μ M之存活率 111.8 : 8.2)。但接上 <i>p</i>-Cl 活性較化合物3增強(111.8 : 33.5)。再接上 <i>para</i>-OCH₃ 之 Benzyl group, 活性增加很多。 3. 同分異構, 如只差別 Cl 取代位置不同, <i>ortho</i>-位置取代較具有低濃度活性。 4. 同 <i>ortho</i>- 取代: 活性 Cl 比 F 強甚多(150 倍)。 5. 同 <i>para</i>- 取代: 活性 F 比 Cl 強 21 倍。 6. 同 F 取代: 活性: <i>para</i>- 位置 > <i>ortho</i>- 位置



HAJ01
Compound 1

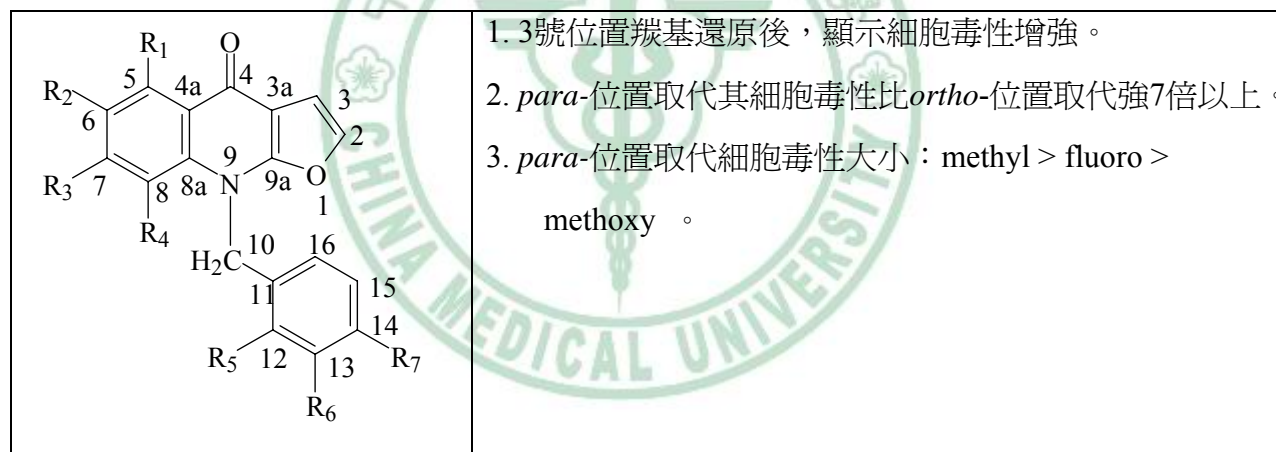


HAJ011
Compound 152



HAJ01103
Compound 157

1. 由實驗數據顯示環化後細胞毒性降低。
2. 環化後化合物，再benzylation，細胞毒性增強不多。
3. 環化之化合物，benzyl group上取代基時，*ortho*-位置F較有活性，*para*-位置活性降低很多。
4. 環化之化合物，benzyl group上*meta*-取代基時，以0.1 μ M比較，活性比較：Cl > CH₃ > F 取代。
3. 環化之化合物，benzyl group上*para*-取代基時，活性比較：OCH₃ > F 取代。



壹-2 值得進一步研究之化合物

Ethyl 2-[*N*-benzyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**11**)、

Ethyl 2-[*N*-*p*-fluoro-benzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**83**)、

N-*m*-chloro-benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione (**160**)、

N-*o*-methoxybenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-4-dione (**177**)

N-*o*-chlorobenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]quinolin-4-dione (**172**)

對於 WEHI-3 cells 之存活率有較大的抑制影響，其 1 μ M 時，WEHI-3 cells 之存活率皆低於 3%。

貳、化合物 80 誘導人類子宮頸鱗狀上皮癌細胞(Ca Ski cells)細胞凋亡

- 一、用倒立式相位差顯微鏡觀察，化合物 80 會造成子宮頸鱗狀上皮癌細胞型態及數目改變，細胞體積變小、變形、外觀變成碎片，另以 PI 染色，經由流式細胞儀偵測細胞存活的百分比，得知化合物 7 會造成子宮頸鱗狀上皮癌細胞的增殖有抑制作用，且會促使子宮頸鱗狀上皮癌細胞凋亡，是屬時間依賴型及劑量依賴型作用模式。
- 二、化合物 80 誘導細胞凋亡其他證據：(1) Ca Ski cells 細胞經化合物 80 不同濃度處理後，出現 sub-G1 期(DNA 降解)。(2) 經由 DAPI 染色法檢測化合物細胞螢光亮點比例越來越高，表細胞凋亡之比例越多。(3) 當使用 DNA 凝膠電泳時，會形成 DNA 梯形，是細胞凋亡壞死的重要特徵。(4)Western blotting 檢測得 p53, Bax, caspase-3 表現增加，Bcl-2 表現減少。
- 三、在此實驗中，推化合物 80 誘導細胞凋亡是透過 Ca^{2+} 離子的產生和誘導粒腺體失去膜電位，引起粒腺體失去功能、粒腺體通透性增加，繼而再導致 cytochrome-c 和 caspase-3 的釋放和活化。
- 四、結論：化合物 80 誘導 Ca Ski cells 快速失去粒腺體膜電位，和 cytochrome-c 的釋放。而 Western blotting 顯示降低 Bcl-2 表現和增加 Bax 表現導致腺體膜電位降低及粒腺體 cytochrome-c 的釋放，然後 caspase-3 的活化。故由實驗結果推論化合物 80 誘導細胞凋亡是透過須粒腺體而非須 ROS 的路徑(mitochondria-dependent, ROS-independent pathway)，茲將其誘導細胞凋亡機轉以圖 3.1 概略說明。

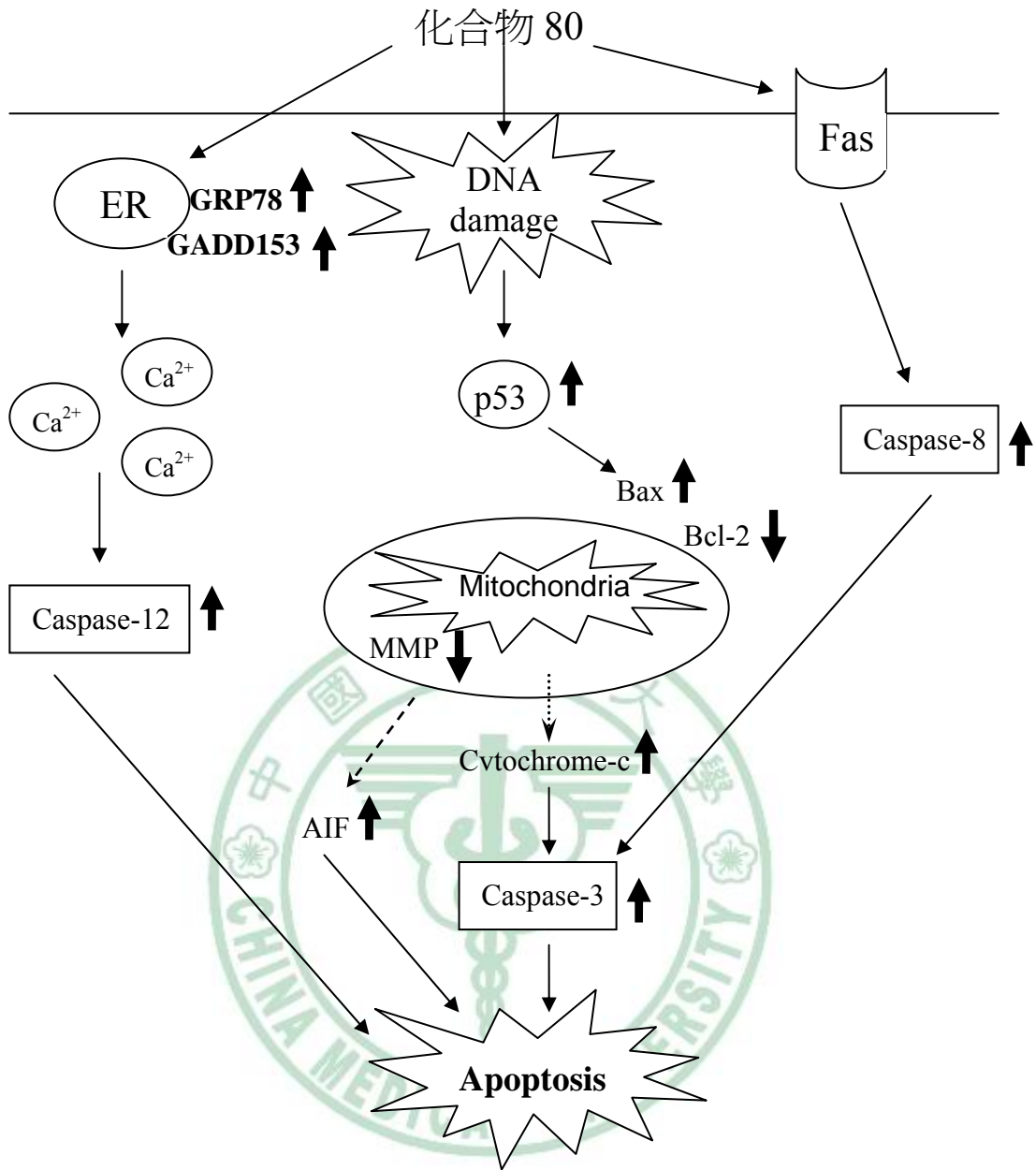


圖 3.1 化合物 80 誘導 Ca Ski cells 細胞凋亡的訊號傳導路徑圖

參、化合物 79 誘導人類子宮頸部腫瘤細胞 (HeLa Cells)細胞凋亡之研究：

- 一、在化合物 79 對 Hela cells 細胞週期與細胞凋亡研究顯示：化合物 79 誘導 HeLAG0/G1 期的停滯(圖 2-87)，和細胞凋亡(圖 2-87、2-88、2-89)，這些結果也顯示為快速 dose- and time-dependent 細胞凋亡的活化。
- 二、化合物 79 誘導細胞凋亡的特徵：細胞內 DNA 的降解，由三個不同方法證實。(1)用流式細胞儀分析出現 sub-G1 期 group(圖 2-87)。(2) DNA 裂解分析，使用 DNA 凝膠電泳分析 DNA 裂解的內容(圖 2-89)。(3) DAPI 染色法檢測，確認裂解 DNA 寡核糖體的存在。
- 三、化合物 79 顯示具有細胞凋亡前的影響，主要是增加 ROS 的含量，因現在已知 ROS 能引起 ER(內質網)壓力，造成 Ca²⁺離子從 ER 釋放，故實驗中用 Western blotting 證實化合物 79 會誘導 Grp 78 和 Gadd153 的表現，因兩者的蛋白質量及兩者在 ER 壓力上扮演重要的角色。Gadd153 現已被證實為內質網壓力的調節者，其會在細胞被誘導凋亡後，增加 Gadd153 的表現。
- 四、由實驗顯然化合物 79 能引起粒腺體膜電位的失去和增加 PARP、caspase-3 的表現，進而引起細胞凋亡，明顯地，化合物 79 誘導細胞凋亡是透過 mitochondria-dependant pathway。化合物 79 引起 Bax 的表現，抑制 Bcl-2 和 Bcl-xL 的表現，導致粒腺體膜電位的失去，粒腺體釋放 cytochrome-c，然後 caspase-3 的活化。
- 五、Western blotting 實驗顯示化合物 79 能促進 caspase-12 的表現，進而引起細胞凋亡，因此是屬於藥物誘導凋亡得另一路徑。化合物 79 誘導 Hela cells 凋亡可能機轉顯示在圖 3.2。
- 六、實驗顯示化合物 79 能抑制 Hela cells 細胞之轉移，而且進一步在 Western blotting 實驗顯示化合物 79 能抑制 MMP-2 及 MMP-9，而 MMP-2 及 MMP-9 目前已知和癌細胞轉移有關。癌細胞的轉移侵犯能力和很多細胞性質有關，包括蛋白質水解、actin dynamics、黏著力、移動性等。實(也發現化合物 79 抑制 EGFR 和 FAK(資料未秀出)，有趣的是 FAK 高水平表現常出現在侵入性和具侵入性的癌細胞中，因有其他研究者已證實 FAK 的表現與提升細胞的移動性有關，故這方面仍須進一步的研究。

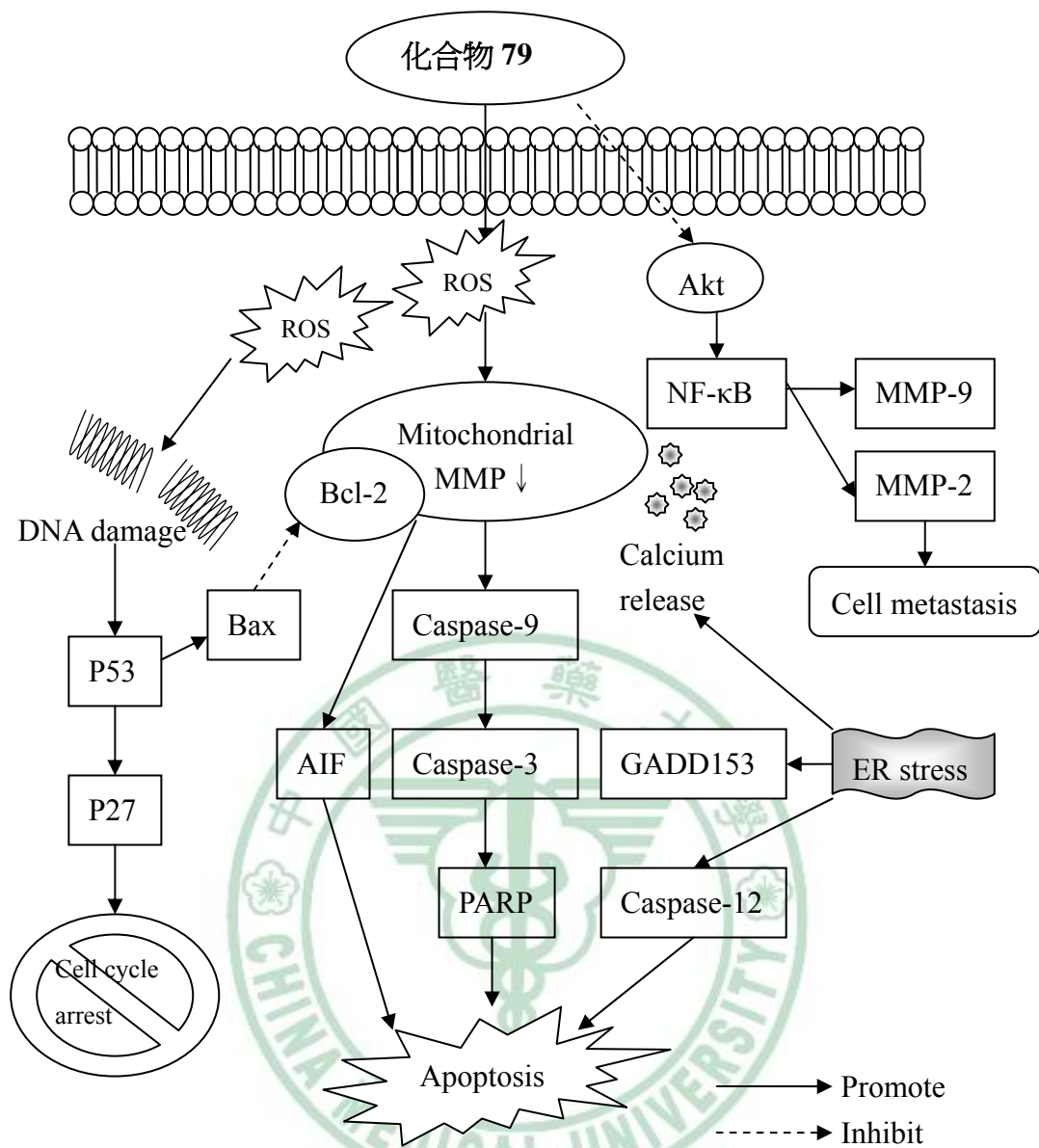
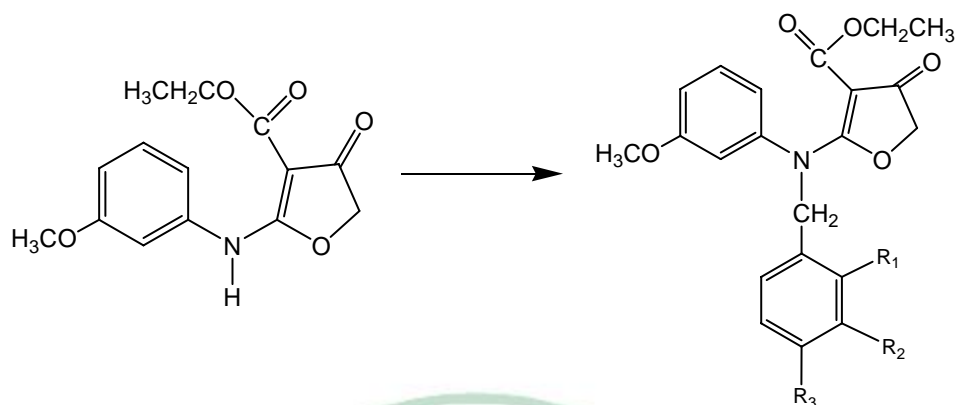


圖 3.2 化合物 79 誘導 HeLa cells 細胞凋亡的訊號傳導路徑圖

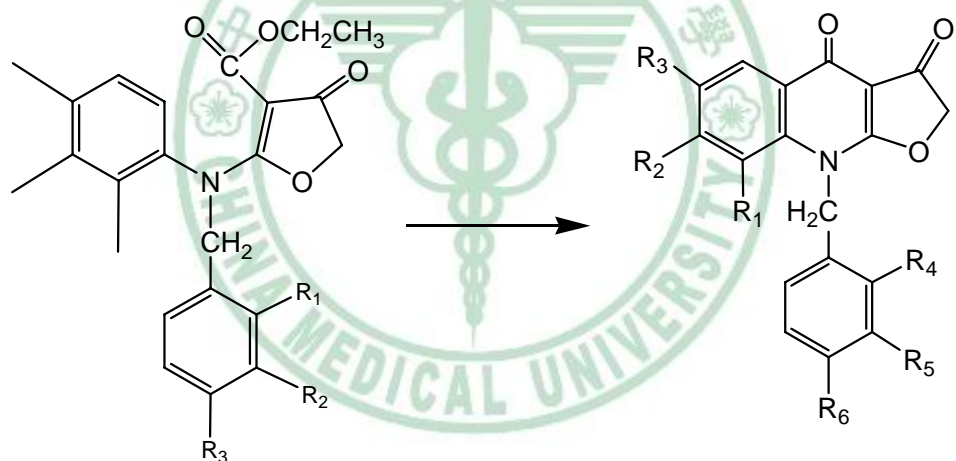
肆、人類嗜中性白血球抗發炎試驗

※ 結構與藥效分析：

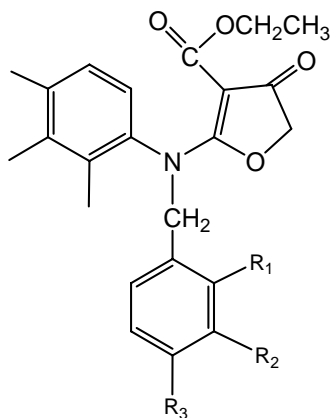
1. Ethyl 2-[N-various benzyl]Substituted anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate 上 aniline 上取代基會影響活性，其影響有正向及負向影響。



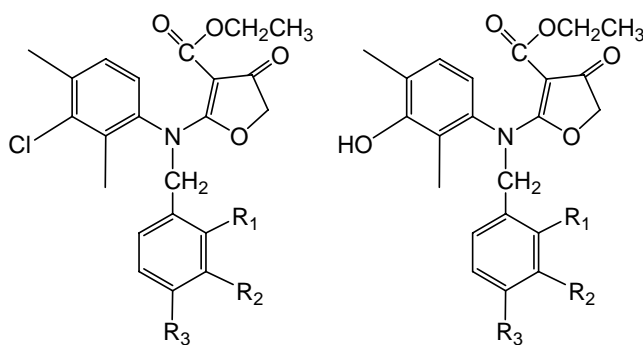
2. Ethyl 2-[N-various benzyl]Substituted anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate 環化後會造成抗 ROS 活性降低。



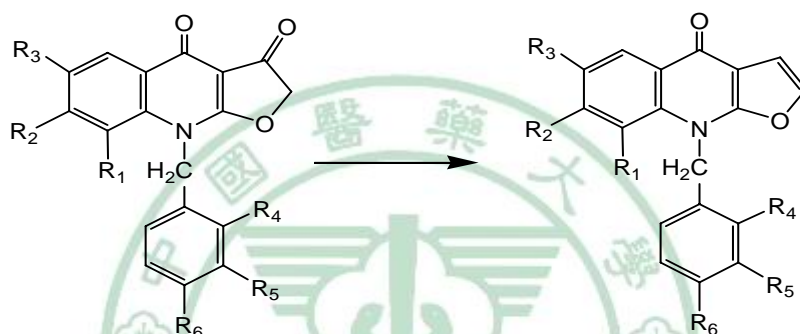
3. Ethyl 2-[N-various benzyl]Substituted anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate 之 benzyl 有取代基活性會增加，尤其以氯取代，活性增加明顯。



4. Ethyl 2-[*N*-various benzyl]Substituted anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran- 3-carboxylate
 ---3-hydroxyanilino 及 3-chloroanilino 時整個系列皆有明顯活性。



5. *N*-various benzyl-7-methoxy- 2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin- 3,4-diones 3 號位置 keton group 還原脫水後，會增加活性。



※ 值得進一步研究之化合物

- 抗嗜中性球產生活性氧化物(IC₅₀) <8 μM] 之化合物---尤其以
- 化合物 **182** 之 IC₅₀ = 0.022 μM ,

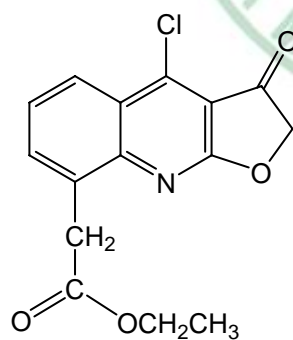


圖 3-3 化合物 182 之化學結構圖

- 化合物 **180** 之 IC₅₀ = 0.39 μM ,

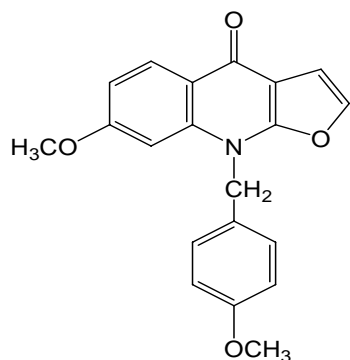


圖 3-4 化合物 180 之化學結構圖

第四章 實驗部份

第一節 化學合成之試藥、溶媒與材料

一、試藥

(1) 購自德國 E.Merck 公司者

Sodium hydride suspension (60% in paraffin oil)

Diethyl malonate (>98%)

Chloroacetyl chloride (>98%)

Benzyl chloride (>99%)

Aliline (>98%)

m-anisidine

3-hydroxyaniline

3-chloroaniline

o-Toluidine

Platinum-charcoal active hydrogenation catalyst 10%

Palladium-charcoal active hydrogenation catalyst 10%

3-Methyl benzylchloride (>98%)

Anhydrous potassium carbonate

Potassium bromide for IR spectroscopy

Diphenyl ether (>98%)

(2) 購自美國 Acros 公司者

2-Fluorobenzyl chloride (98%)

3-Fluorobenzyl chloride (98%)

4-Fluorobenzyl chloride (>98%)

2-Methoxybenzyl chloride (98%)

3-Methoxybenzyl chloride (98%)

4-Methoxybenzyl chloride (98%)

3,4,5-Trimethoxybenzyl chloride (97%)

3,5-Dimethoxybenzyl chloride (98%)

(3) 購自日本東京化成工業株式會社者(Tokyo Chemical Industry Co.,Ltd)

2-Chlorobenzyl chloride

3-Chlorobenzyl chloride

4-Chlorobenzyl chloride

(4) 購自英國 Lancarster 公司者

2-Fluorolaniline (99%)

2-Methoxyaniline (99%)

3-Chlorobenzyl chloride (97%)

2-Methoxybenzyl chloride (98%)

3-Methoxybenzyl chloride (97%)

4-Methoxybenzyl chloride (97%)

2-Nitrobenzyl chloride (98+%)

3-Nitrobenzyl chloride (98%)

2-methylbenzyl chloride (98+%)

3-methylbenzyl chloride (98%)

4-methylbenzyl chloride (98%)

2-Nitrophenylacetic acid (97%)

Sodium borohydride powder (98%)

Magnesium sulfate, dried

(5) 購自日本昭和化學株式會社(SHOWAKAKOU Co.,Ltd) (Japan)

Magnesium sulfate anhydrous

Potassium Iodide

Calcium chloride, granular

Sodium Hydroxide

(6) 購自美國 Tedia 公司者

Potassium Iodide

(7) 購自美國 Riedel-de Haën 公司者

Phosphorus oxide chloride

二、溶媒

(1) 購自德國 E.Merck 公司者

Chloroform-*d* for NMR spectroscopy (99.8%)

Dimethyl sulfoxide-*d*₆ for NMR spectroscopy (99.8%)

Trifluoroacetic acid-*d*₆ for NMR spectroscopy (99.5%)

Chloroform

Ethanol absolute

Ethyl acetate

n-Hexane

Methanol

(2) 購自景明化工公司者(Echo Chemical Co., Ltd) (Taiwan)

Acetone

N,N-Dimethylformamide(>99.5%) (簡稱 DMF)

Tetrahydrofuran (簡稱 THF)

(3) 購自台灣煙酒公賣局者

95% Ethanol

三、材料

(1) 購自德國 E.Merck 公司者

Molecular sieve 0.4 nm

Silica gel 60 for column chromatography (0.063 - 0.200 mm)

Pre-coated aluminium TLC sheets (Silica gel 60F²⁵⁴, 20×20cm, 0.2 mm layer)

四、化學合成使用之儀器

一、熔點測定器 (Melting Point Apparatus) :

Yanaco MP-500D Micro Melting Point Apparatus, 測定範圍在 40- 500°C 之間,其測定溫度數據為未經校正者。

二、紫外-可見光譜儀 (UV - Visible Spectrophotometer) :

Shimadzu UV-160A UV-Visible Recording Spectrometer 紫外可見光譜儀測定,使用甲醇為溶劑,最大吸收波長 (λ_{\max}) 單位為 nm,而以 $\log \epsilon$ 表示 Molar absorptivity。

三、紅外線光譜儀 (Infrared Spectrophotometer, 簡稱 IR) :

使用 Shimadzu Scientific Instruments 生產製造的 IRPrestige-21 Spectrophotometer,以 KBr 打錠法測定,光譜單位為波數 (cm^{-1}),其波數測定數據為經過校正。

四、質譜儀 (Mass Spectrophotometer) :

EIMS 以 VG Platform II GC-MS Instruments 測定,離子化電壓 (ionization vantage) 為 75eV,單位為 m/z 。

五、核磁共振光譜儀 (Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer) :

氫及碳的核磁共振光譜分析係採用 Bruker Advance DRX-200 FT-NMR Spectrometer 測定。

Internal standard : Tetramethyl Silane (TMS)

化學位移 (Chemical Shift) : 以 δ 表示,單位 ppm,以 J 表示偶合常數(coupling constant),單位 Hz; 峰線訊號以 s 表示單峰 (singlet), d 表示雙重峰 (doublet), t 表示三重峰(triplet), q 表示四重峰 (quartet), m 表示多重峰(multiplet), b 表示寬廣之峰(multiplet)。

第二節 藥理實驗之化學試劑、抗體及設備--本文資料由鍾教授實驗室提供

一、化學試劑

1. 購自 Sigma chemical 公司：Trypan blue, Tris-HCl, Titon X-100, Propidium iodide (PI), Leupeptin, Ribonuclease-A, Sodium Deoxycholate, Sodium Orthovanadate, Aprotinin.
2. 購自 Merck 公司：TE buffer, BAPTA, Potassium phosphates, DMSO, Potassium disodium phosphate (KH_2PO_4), Sodium chloride (NaCl), Formaldehyde, Hydrochloric acid, Potassium Chloride (KCl), Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4), Bovine serum albumin (BSA), DioC6, H_2DCFDA .
3. 購自 Gibco BRL 公司(Grand Island, NY, USA)：RPMI-1640 Medium, Penicillin-Streptomycin, Trypsin-EDTA, Fetal bovine serum (FBS), L-glutamine.
4. 購自 Boehringer Mannheim 公司 (Mannheim Germany)：Caspase-3 activity assay kit.
5. 購自 Amresco 公司 (St. Louis, MO, USA)：10X SDS-PAGE running buffer (TG-SDS buffer), Tris (Tris(hydroxyl methyl)-amino methane), Acrylamide/Bis 40% solution (ACRYL/BISTM 29:1), APS (Ammonium persulfate), Tween 20, Glycine, SDS (Sodium dodecyl sulfate), 5X TBE buffer, TEMED (N,N,N,N-tetramethyl ethylenediamine), Agarose I, 4X Protein loading dye.
6. 購自 TEDIA 公司(Fairfield, OH, USA)：Ethanol, Methanol.
7. 購自 Invitrogen 公司：10X Blue Juice (Gel loading buffer).
8. 購自 Scharlau Chemie 公司(Barcelona, Spain)：Glycerol
9. 購自 Kodak 公司：BioMax Film, 顯影劑, 定影劑
10. 購自 iNtRON Biotechnology 公司：PRO-PREP protein extraction solution.
11. 購自 Famantas 公司：Protein maker

二、一級抗體

1. Anti-NF- κ B (p50) (Ztmed. Laboratories.Inc.) 比例 1 : 250
2. Anti-NF- κ B (p65) (Ztmed. Laboratories.Inc.) 比例 1 : 500
3. Anti-CyclinB (#05-373 ; Upstate) 比例 1 : 500
4. Anti- β -actin (MAB1501 ; Chemicon) 比例 1 : 500
5. Anti- chk1 (#05-596 ; Upstate) 比例 1 : 500
6. Anti-chk1/cdc2 (#06-923 ; Upstate) 比例 1 : 500
7. Anti-cdc25c (Upstate) 比例 1 : 500
8. Anti-weel (Upstate) 比例 1 : 500
9. Anti-caspase 3 (RB-1197-PO ; NeoMarkers) 比例 1 : 500

10. Anti-caspase 9 (RB-1205-PO ; NeoMarkers) 比例 1 : 500
11. Anti-p21 (MS-891-PO ; NeoMarkers) 比例 1 : 500
12. Anti-p27 (MS-256-PO ; NeoMarkers) 比例 1 : 500
13. Anti-p53 (MS-256-PO ; NeoMarkers) 比例 1 : 500
14. Anti-Cytochrome c (cat#pc323 ; Calbiochem) 比例 1 : 500
15. Anti-Bcl-2 (N-19-sc-492 ; Santa Cruz Biotechnology, Inc) 比例 1 : 1000
12. Anti-Bax (N-19-sc-492 ; Santa Cruz Biotechnology, Inc) 比例 1 : 1000
13. Anti-BaL-XL (N-19-sc-492 ; Santa Cruz Biotechnology, Inc) 比例 1 : 1000

二、二級抗體

購自 Chemicon 公司:goat anti-mouse IgG(HRP) horseradish peroxidase conjugated antibody (AP124P),
goat anti-mouse (FITC) fluorescein 5-isothiocyanate conjugated antibody, goat
anti-rabbit IgG (HRP) horseradish peroxidase conjugated antibody 。

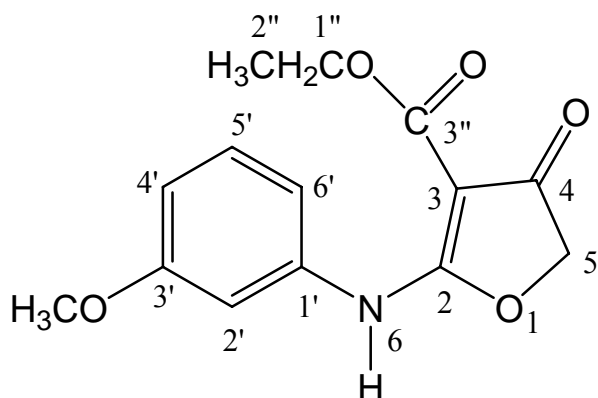
三、設備及器材

1. 無菌操作台 (Lian Shen, Taiwan)
2. 細胞培養箱 (Nuair, ClassII typeA/B3,USA)
3. 細胞培養盤 (FALCON, USA)
4. 高速離心機 (model 3200 Eppendorf/Brinkman)
5. 細胞計數器 (Haemocytometer; Boeco, USA)
6. 倒立式相位差顯微鏡 (Nikon Ellipse TE330,Japan)
7. 流氏細胞儀 (Flow cytometry; FACScan, Becton Dickinson, USA)
8. DNA 電泳槽 (Mupid-2)
9. SDS-PAGE 電泳槽套組 (Bio-Rad)
10. PVDF membrane (Milipore)
11. 去離子水製造機 (Minipore, Bedford, MA, USA)
12. 酸鹼值測定計 (C831; Consort)
13. Transfer Cel Blot 套件 (Bio-Rad)
14. Mini-3D Shaker (Boeco)
15. 微量天平 (GR-200; A7D, USA)
16. 高效液相層析儀 (HPLC, High performance liquid chromatography, Beckman, USA)

第三節 化學合成實驗方法

Ethyl 2-(substituted anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (1~10) 之合成

Ethyl 2-(3-methoxyanilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (1) 之合成



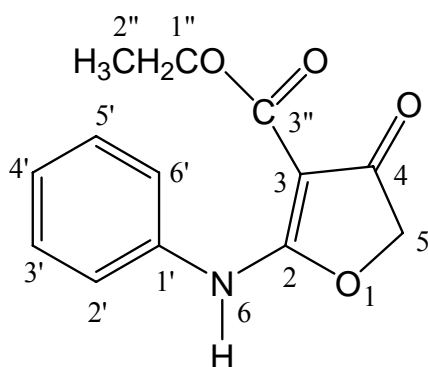
Formula: C₁₄H₁₅NO₅

Mol. Wt.: 277.27

HAI01

取 NaH (60%, 8.0g, 0.2 mole) 懸著於無水之 THF 40ml 中後，緩慢滴入 diethyl malonate (32.0g, 0.2 mole) 與 THF 50ml 之混合溶液，當滴加完後冷卻至 10-12°C，再慢慢滴加 chloroacetyl chloride (11.3g, 0.1 mole) 之 THF 100ml 溶液，滴加完後保持低溫 (10-12°C) 一小時，隨後改用溫水 (40-45°C) 溫之，約一小時，再冷卻至 10-12°C。將 3-methoxyaniline (10.71g, 0.1 mole) 之 THF 50ml 溶液滴入上述反應液中，於室溫攪拌一小時後，在水浴上加熱幾小時，用 TLC 檢驗反應是否完成，然後減壓濃縮去除大部份 THF，殘餘物為黃色黏稠狀物。把冰水 600ml 及 *n*-Hexane 300ml 倒入裝黃色黏稠狀物之減壓濃縮瓶中，然後用力搖晃減壓濃縮瓶，於瓶中可見沉澱物析出，用布氏漏斗過濾沉澱物，沉澱物用 *n*-Hexane 100ml 及乙醇少量浸泡各洗 1 次去除一些雜質及色素，剩餘沉澱物用乙醇 125ml 加熱溶解，趁熱過濾除去不溶性雜質，濾液靜置讓其長結晶，收集結晶再用乙醇再結晶，得得到白色針狀結晶 21.6 克，產率 78%；融點(mp):142~143°C；光譜數據如下 MS (m/z, %): 278 (M⁺+1, 9.12), 277 (M⁺, 53.04), 231 (M⁺-46, 100); IR(KBr disc) cm⁻¹:3282 (-NH-), 1703.14 (C₄=O), 1662.47 (C₃-CO-OEt); UVλ_{max} nm (MeOH)(log ε): 283.0 (4.218); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃)δ: 1.32 (3H, *t*, *J*=6.9Hz, H-2''), 3.75 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 4.30 (2H, *q*, *J*=6.9 Hz, H-1''), 4.61 (2H, *s*, H-5), 6.7~7.25 (4H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6'), 10.2 (1H, *s*, -NH-); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃)δ: 14.22 (C-2''), 55.15 (3'-OCH₃), 60.28 (C-1''), 75.21 (C-5), 87.39 (C-3), 107.15 (C-2'), 111.08 (C-4'), 113.24 (C-6'), 129.96 (C-5'), 135.62 (C-1'), 160.05 (C-3'), 165.26 (C-2), 177.34 (C-3''), 188.12 (C-4)。

Ethyl 2-anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (2) 之合成



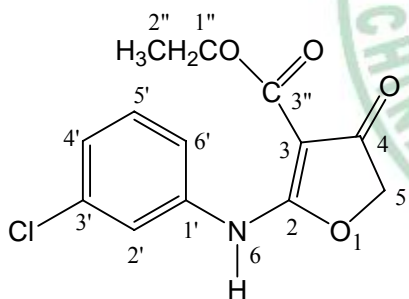
Formula: $C_{13}H_{13}NO_4$

Mol. Wt.: 247.25

HAJ02

比照化合物 **1** 之製造方法過程，而以 aniline (9.313g, 0.1mole) 替代 3-methoxyaniline 進行之，得到白色結晶 18.29g，產率 74%；融點 (mp)：115~116°C；光譜數據如下 MS(m/z)：247(M^+)；IR(KBr disc) cm^{-1} ：3267.87 (-NH-), 1695.26 ($C_4=O$), 1672.59 ($C_3-CO-OEt$)； $UV\lambda_{max}$ nm(MeOH)(log ϵ)：297 (4.523)； ^1H-NMR (200MHz, $CDCl_3$) δ ：1.24(3H, *t*, $J=7Hz$, H-2''), 4.20(2H, *q*, $J=7 Hz$, H-1''), 4.67(2H, *s*, H-5), 7.25~7.475 (5H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 10.264(1H, *s*, -NH-)； $^{13}C-NMR$ (200MHz, $DMSO-d_6$) δ ：14.67 (C-2''), 59.37 (C-1''), 75.30 (C-5), 86.99 (C-3), 123.48 (C-2', C-6'), 126.35 (C-4'), 129.27 (C-3', C-5'), 135.24 (C-1'), 164.18 (C-2), 177.34 (C-3''), 188.84 (C-4)。

Ethyl 2-(3-chloroanilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**3**) 之合成



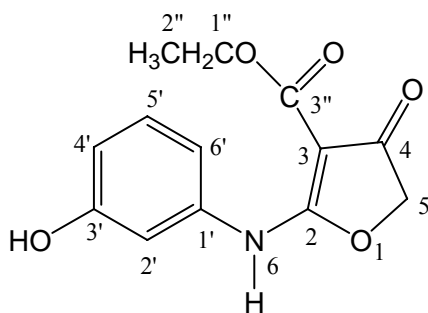
Formula: $C_{13}H_{12}ClNO_4$

Mol. Wt.: 281.69

HAJ03

比照化合物 **1** 之製造方法過程，而以 3-chloroaniline (12.57g, 0.1 mole) 替代 3-methoxy-aniline 進行之，得到白色針狀結晶 22.81 克，產率 81%；融點(mp)：159.5°C；光譜數據如下 MS(m/z)：283 (M^++1)；IR(KBr disc) cm^{-1} ：3170.96 (-NH-), 1695.44 ($C_4=O$), 1628.06 ($C_3-CO-OEt$)； $UV\lambda_{max}$ nm (MeOH)(log ϵ)：297 (4.523)； ^1H-NMR (200MHz, $CDCl_3$) δ ：1.354 (3H, *t*, $J=7.1Hz$, H-2''), 4.336 (2H, *q*, $J=7.1 Hz$, H-1''), 4.677 (2H, *s*, H-5), 7.156~7.34 (3H, *m*, H-4', H-5', H-6'), 7.437 (1H, *d*, H-2'), 10.302 (1H, *s*, -NH-)； $^{13}C-NMR$ (200MHz, $CDCl_3$) δ ：14.21 (C-2''), 60.48 (C-1''), 75.37 (C-5), 87.75 (C-3), 119.08 (C-6'), 121.12 (C-2'), 125.85 (C-4'), 130.24 (C-5'), 134.93 (C-3'), 135.77 (C-1'), 165.29 (C-2), 177.58 (C-3''), 188.04 (C-4)。

Ethyl 2-(3-hydroxyanilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**4**) 之合成



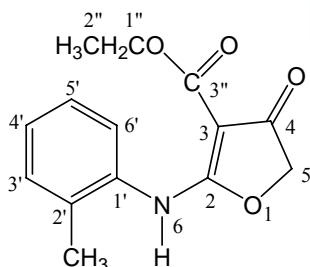
Formula: C₁₃H₁₃NO₅

Mol. Wt.: 263.25

HAJ11

比照化合物 **1** 之製造方法過程，而以 3-hydroxyaniline(10.9g, 0.1 mole) 替代 3-methoxyaniline 進行之，得到白色針狀結晶 20.79 克，產率 79%；融點(mp): 210~211°C；光譜數據如下 MS(m/z, %): 263.9 (M⁺+1, 14.94), 262.9 (M⁺, 52.87); IR(KBr disc) cm⁻¹: 3283 (-NH-), 1661.43 (C₄=O), 1628.9 (C₃-CO-OEt); UVλ_{max} nm(MeOH)(log ε): 296 (4.284); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃)δ: 1.19 (3H, t, J=7.2Hz, H-2''), 4.15 (2H, q, J=7.2 Hz, H-1''), 4.65 (2H, s, H-5), 6.6 (1H, d, J=7.8Hz, H-6'), 6.85 (1H, d, J=7.8Hz, H-4'), 6.8 (1H, s, H-2'), 7.14 (1H, t, J=7.8Hz, H-5'), 9.69 (1H, s, -NH-), 10.1(1H, s, 3'-OH-); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 14.81 (C-2''), 59.67 (C-1''), 75.62 (C-5), 87.18 (C-3), 110.10 (C-6'), 113.55 (C-2'), 113.69 (C-4'), 130.28 (C-5'), 136.37 (C-1'), 158.34 (C-3'), 164.56 (C-2), 177.47 (C-3''), 188.96(C-4)。

Ethyl 2-(2-methylanilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**5**) 之合成



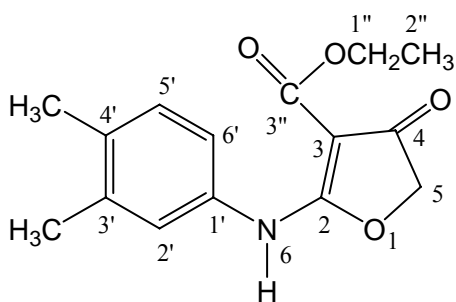
Formula: C₁₄H₁₅NO₄

Mol. Wt.: 261.27

JOT01

比照化合物 **1** 之製造方法過程，而以 2-methylaniline (10.71g, 0.1 mole) 替代 3-methoxyaniline 進行之，得到白色結晶 18.55g，融點(mp)：118.~119 °C；光譜數據如下 MS(m/z)：262 (M⁺+1, 8.81), 261 (M⁺, 40.95); IR(KBr disc) cm⁻¹ 3169.35 (-NH-), 1703.62 (C₄=O), 1651.96 (C₃-CO-OEt); UVλ_{max} nm (MeOH)(log ε): 294.5(4.1717); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 1.245 (3H, t, J=7Hz, H-2''), 2.29 (3H, s, 2'-CH₃), 4.035 (2H, q, J=7 Hz, H-1''), 4.62 (2H, s, H-2), 7.208~7.447 (4H, m, H-3', H-4', H-5', H-6'), 10.15(1H, s, -NH-); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO-d₆)δ: 14.69 (C-2''), 17.65 (2'-CH₃), 59.32 (C-1''), 75.24 (C-5), 86.67 (C-3), 125.46 (C-6'), 126.77 (C-4'), 127.27 (C-5'), 130.68 (C-3'), 132.68 (C-2'), 133.92 (C-1'), 164.28 (C-2), 177.60 (C-3''), 188.81 (C-4)。

Ethyl 2-(3',4'-dimethylanilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**6**) 之合成



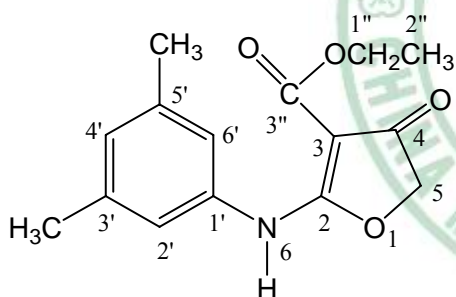
Formula: C₁₅H₁₇NO₄

Mol. Wt.: 275.3

JOT34

比照化合物 **1** 之製造方法過程，而以 3',4'-dimethylaniline (12.11g, 0.1 mole) 替代 3-methoxyaniline 進行之，得到淡黃色塊結晶 22.02 克，產率 80%；融點 (mp)：114~116°C；光譜數據如下 MS(m/z)：275(M⁺), IR(KBr disc) cm⁻¹：3257.6 (-NH-), 1706.9 (C₄=O), 1649.0 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm(CHCl₃)(log ε)：283 (4.68)¹; ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ：1.368 (3H, t, J=7Hz, H-2''), 2.230 (3H, s, 4'-CH₃), 2.247 (3H, s, 3'-CH₃), 4.346 (2H, q, J=7.0Hz, H-1''), 4.633 (2H, s, H-5), 7.104 (3H, s, H-2', H-5', H-6'), 10.15(1H, s, NH); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ：14.28 (C-2''), 19.0 (3'-CH₃), 19.62 (4'-CH₃), 60.26 (C-1''), 75.15 (C-5), 87.13 (C-3), 118.74 (C-6'), 122.54 (C-2'), 130.17 (C-5'), 132.53 (C-4'), 134.67 (C-3'), 137.71 (C-1'), 165.35 (C-2), 177.25 (C-3''), 188.15 (C-4)。

Ethyl 2-(3',5'-dimethylanilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (7) 之合成



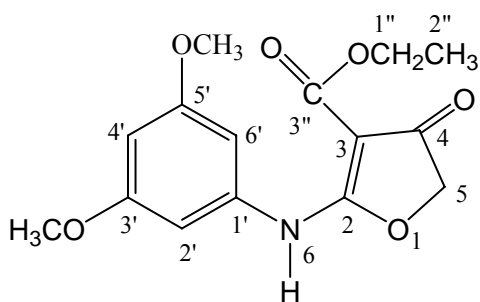
Formula: C₁₅H₁₇NO₄

Mol. Wt.: 275.3

JOT35

比照化合物 **1** 之製造方法過程，而以 3',5'-dimethylaniline (12.11g, 0.1 mole) 替代 3-methoxyaniline 進行之，得到透明塊結晶 21.74g，產率 79%；融點(mp)：144~147°C；光譜數據如下 MS (m/z)：275 (M⁺), IR(KBr disc) cm⁻¹：3251.5 (-NH-), 1708.6 (C₄=O), 1662.8 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm(CHCl₃) (log ε)：283 (4.45); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ：1.240 (3H, t, J=7.0Hz, H-2''), 2.256 (6H, s, C₃-CH₃, C₅-CH₃), 4.202 (2H, q, J=7.0Hz, H-1''), 4.67 (2H, s, H-5), 6.88 (1H, s, H-4'), 7.05 (2H, s, H-2', H-6'), 10.127 (1H, s, NH); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ：14.62 (C-2''), 21.04 (3'-CH₃, 5'-CH₃), 59.41 (C-1''), 75.41 (C-5), 86.85 (C-3), 120.58 (C-2', C-6'), 127.73 (C-4'), 135.03 (C-1'), 135.03 (C-3', C-5'), 164.32 (C-2), 177.25 (C-3''), 188.65 (C-4)。

Ethyl 2-(3',5'-dimethoxyanilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (8) 之合成



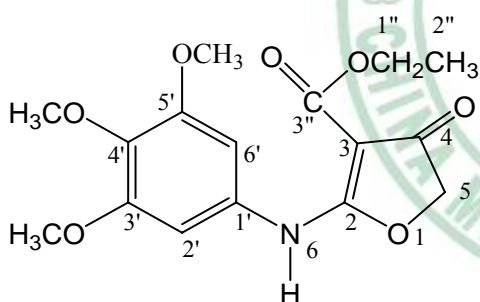
Formula: C₁₅H₁₇NO₆

Mol. Wt.: 307.3

DMO35

比照化合物 **1** 之製造方法過程，而以 3',5'-dimethoxy aniline (15.31g, 0.1 mole) 替代 3-methoxyaniline 進行之，得到白色結晶 22.74，產率 74%；融點(mp)：145.6 °C；光譜數據如下：MS(m/z)：307 (M⁺, 25.15), 308 (M⁺+1, 4.03)；IR(KBr disc) cm⁻¹：3436.3 (-NH-), 1701.3 (C₄=O), 1657.3 (C₃-CO-OEt)；UV λ_{max} nm(CHCl₃)(log ε)：293 (4.153)；¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ：1.378 (3H, t, J=7.2Hz, H-2''), 3.776 (6H, s, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 4.358(2H, q, H-1''), 4.667 (2H, s, H-5), 6.341 (1H, d, J=2Hz, H-4'), 6.519 (2H, d, J=2Hz, H-2',H-6'), 10.231(1H, s, -NH)；¹³C-NMR(200MHz, CDCl₃) δ：14.26 (C-2''), 55.29 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.41 (C-1''), 75.30 (C-5), 87.51 (C-3), 97.63 (C-4'), 99.61 (C-2', C-6'), 136.1 (C-1'), 161.11 (C-3',C-5'), 165.41 (C-2), 177.45 (C-3''), 188.16 (C-4)。

Ethyl 2-(3',4',5'-trimethoxyanilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**9**) 之合成



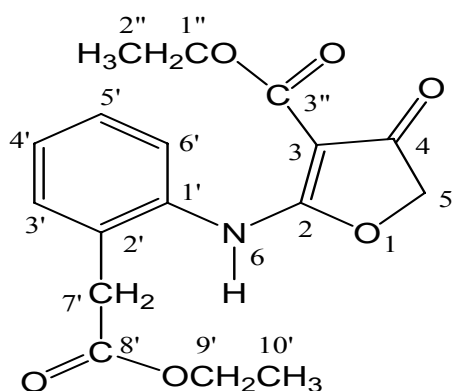
Formula: C₁₆H₁₉NO₇

Mol. Wt.: 337.32

TMO53

比照化合物 **1** 之製造方法過程，而以 3',4',5'-trimethoxyaniline (18.3g, 0.1 mole) 替代 3-methoxyaniline 進行之，得到得到白色綿絮狀產物 25.23 克，產率 75%；融點(mp)：163.3°C；光譜數據如下 MS(m/z)：337 (M⁺, 18.30), 338 (M⁺+1, 3.27)；IR(KBr disc) cm⁻¹：3223.7(-NH-), 1698.7 (C₄=O), 1654.4 (C₃-CO-OEt)；UV λ_{max} nm(CHCl₃) (log ε)：282 (4.238)；¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ：1.379 (3H, t, J=7.2Hz, H-2''), 3.82 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.844 (6H, s, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 4.36 (2H, q, J=7Hz, H-1''), 4.67 (2H, s, H-5), 6.586 (2H, H-2', H-6'), 10.21(1H, s, NH)；¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ：14.26 (C-2''), 56.05 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.43 (C-1''), 60.75 (4'-OCH₃), 75.32 (C-5), 87.31 (C-3), 99.17 (C-2',C-6'), 130.30 (C-4'), 136.07 (C-1'), 153.41 (C-3',C-5'), 165.49 (C-2), 177.25 (C-3''), 188.0 (C-4)。

Ethyl 2-[2'-ethoxycarbonylmethylanilino]-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate(**10**) 之合成



Formula: C₁₇H₁₉NO₆

Mol. Wt.: 333.34

JNC01

(a) 製作 Ethyl 2-(2-nitrophenyl)acetate

取 2-(2-nitrophenyl)acetic acid (18.1g, 0.1mole), 溶於 95%乙醇溶液 200ml 中, 保持於低溫 8°C, 緩慢滴加 98%濃硫酸 20ml, 攪拌 1 小時, 水浴加熱迴流 4 小時, 然後室溫下攪拌 1~2 天, 以 TLC 檢查反應情形, 減壓加熱除去乙醇溶液, 殘渣緩慢加入冰水, 用氯仿 CHCl₃ 萃取多次, 萃取液加無水硫酸鎂 MgSO₄ 乾燥, 減壓濃縮去除 CHCl₃, 得淡黃色塊狀凝固物 Ethyl 2-(2-nitrophenyl)acetate (16.9 g, 81%).

(b) 製作 Ethyl 2-(2-aminophenyl)acetate

取 Ethyl 2-(2-nitrophenyl)acetate (10.5g, 0.1mole), 置於強化玻璃瓶中, 加乙醇溶液 50ml 及 10%鈀 Pd.(Palladium)/碳混合物 1.0g 當作催化劑, 裝置於氫化機後, 通氫氣進行氫化反應, 以 TLC 檢查反應情形, 反應完成後, 過濾除去鈀 Pd.(Palladium)/碳混合物, 減壓減壓濃縮去除乙醇, 得棕黃色粘稠液體。

(c) 與 ethyl 2-ethoxy-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (I)縮合反應

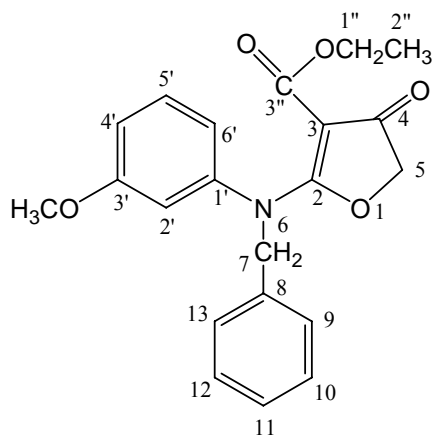
取 NaH (60%, 8.0g, 0.2 mole) 懸著於無水之 THF 40ml 中後, 緩慢滴入 diethyl malonate (32.0g, 0.2 mole) 與 THF 50ml 之混合溶液, 當滴加完後冷卻至 10-12°C, 再慢慢滴加 chloroacetyl chloride (11.3g, 0.1 mole) 之 THF 100ml 溶液, 滴加完後保持低溫 (10-12°C) 一小時, 隨後改用溫水 (40-45°C) 溫之, 約一小時, 再冷卻至 10-12°C。將剛新鮮製成粗產物 Ethyl 2-(2-aminophenyl)acetate 0.1mole 之 THF 50ml 溶液滴入上述反應液中, 於室溫攪拌一小時後, 在水浴上加熱幾小時, 用 TLC 檢驗反應是否完成, 然後減壓濃縮去除大部份 THF。把冰水 600ml 倒入減壓濃縮瓶中, 再以 CHCl₃ 萃取多次, 其萃取液經水洗之後, 以無水 MgSO₄ 乾燥, 減壓濃縮去除 CHCl₃, 取濃縮液置於室溫下令其結晶, 收集結晶用乙醇再結晶, 得得到白色針狀結晶 13.66 克, 產率 41%; 融點(mp): 91.2 °C; 光譜數據如下 MS(m/z, %): 332.8 (M⁺, 35.85), 333.8 (M⁺+1, 7.73); IR(KBr disc) cm⁻¹: 3121.86 (-NH-), 1737.28 (C₈'=O), 1698.3 (C₄=O), 1664.19 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 291.0 (3.825); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 1.176 (3H, t, J=7Hz, H-10'), 1.23 (3H, t,

$J=7\text{Hz}$, H-2''), 3.763(2H, *s*, H-7'), 4.049 (2H, *q*, $J=7\text{Hz}$, H-9'), 4.192(2H, *q*, $J=7\text{Hz}$, H-2''), 4.573 (2H, *s*, H-5), 7.321~7.453(4H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6'), 10.115 (1H, *s*, NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ : 14.09 (C-10'), 14.65 (C-2''), 37.29 (C-7'), 56.30 (C-1''), 60.96 (C-9'), 75.17 (C-5'), 86.93 (C-3), 126.79 (C-6'), 127.64 (C-4'), 128.17 (C-2'), 130.33 (C-3'), 131.44 (C-5'), 134.03 (C-1'), 164.09 (C-2), 170.88 (C-8'), 177.90 (C-3''), 188.98 (C-4)。



(二) Ethyl 2-[N-various benzyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (11~26) 之合成

Ethyl 2-[N-benzyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (11)之合成



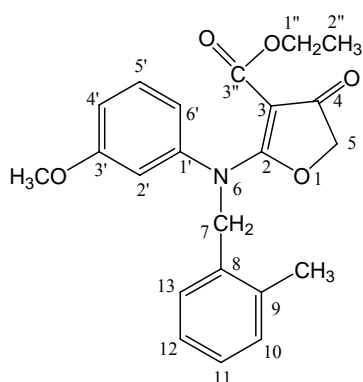
Formula: C₂₁H₂₁NO₂

Mol. Wt.: 367.4

HAJ01001

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中，加入無水 K₂CO₃ (0.69g, 0.005mole) 及 KI(0.83g, 0.005mole) 攪拌之，接著加入及 benzyl chloride(0.886g, 0.007 mole)，反應 1~2 小時，以 TLC 檢查反應之進度。然後加冰水 100ml，靜置讓其沉澱析出，用布氏漏斗減壓抽氣過濾沉澱物，以清水洗 1~2 遍，以冰冷乙醇稍微浸泡沉澱物幾秒鐘溶解掉沉澱物表面之可溶性雜質，減壓抽氣移除乙醇，剩餘沉澱物再用乙醇做再結晶，得白色結晶產物，為化合物 **11** (0.62gm, 33.8%)，mp : 116.1°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1732.08 (C₄=O), 1662.64 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.036); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.861 (3H, *t*, 2''), 3.414 (2H, *q*, H-1''), 3.676 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 4.710 (2H, *s*, H-5), 5.150 (2H, *s*, H-7), 6.794~6.873 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.180~7.302 (6H, *m*, H-5', H-9, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO *d*₆) δ: 13.95 (C-2''), 54.51 (C-7), 55.48 (3'-OCH₃), 59.48 (C-1''), 74.64 (C-5), 91.08 (C-3), 111.26 (C-2'), 112.83 (C-4'), 117.46 (C-6'), 127.73 (C-10 C-11, C-12), 128.75 (C-9, C-13), 130.22(C-5'), 136.17 (C-8), 143.07 (C-1'), 160.02 (C-3'), 161.72 (C-2), 176.49 (C-3''), 191.72 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-methyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (12)之合成



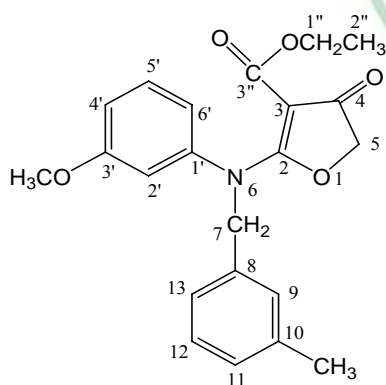
Formula: C₂₂H₂₃NO₅

Mol. Wt.: 381.42

HAJ01002

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *o*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **12** (0.65g, 34.1%)，mp : 147.2°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 381 (M⁺); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1735.98 (C₄=O), 1654.92 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.013); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.865 (3H, *t*, 2''), 2.205 (3H, *s*, 9-CH₃), 3.414 (2H, *q*, H-1''), 3.676 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 4.710 (2H, *s*, H-5), 5.150 (2H, *s*, H-7), 6.794~6.873 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.180~7.302 (5H, *m*, H-5', H-9, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO *d*₆) δ: 13.94 (C-2''), 18.82 (9-CH₃), 52.68 (C-7), 55.51 (3'-OCH₃), 59.55 (C-1''), 74.64 (C-5), 91.26 (C-3), 111.07 (C-2'), 112.84 (C-4'), 117.24 (C-6'), 126.30 (C-12), 126.69 (C-11), 127.47 (C-13), 130.20 (C-5'), 130.38 (C-10), 134.26 (C-9), 135.53 (C-8), 143.34 (C-1'), 159.96 (C-3''), 161.78 (C-2), 176.55 (C-3''), 191.70 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-methyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**13**)之合成



Formula: C₂₂H₂₃NO₅

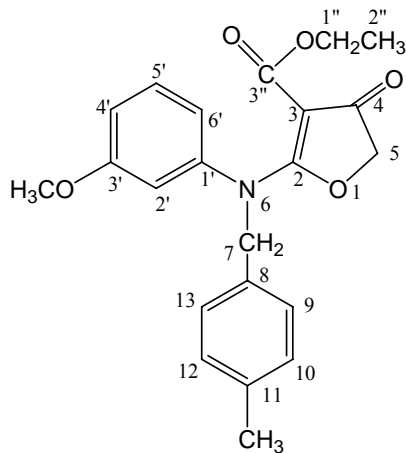
Mol. Wt.: 381.42

HAJ01003

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **13** (0.85g, 44.6%)，mp : 104.7°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 380.9 (M⁺); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1681.93 (C₄=O), 1602.85 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε) : 294.5 (4.013) ; ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.01 (3H, *t*, 2''), 2.318 (3H, *s*, 10-CH₃), 3.714 (2H, *q*, H-1''), 3.727 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 4.642 (2H, *s*, H-5), 5.063 (2H, *s*, H-7), 6.685~6.815 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.009~7.284 (5H, *m*, H-5', H-9, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.78 (C-2''), 21.19 (10-CH₃), 55.17 (C-7), 55.71

(3'-OCH₃), 60.13 (C-1''), 74.10 (C-5), 91.60 (C-3), 110.69 (C-2'), 113.10 (C-4'), 117.12 (C-6'), 124.30 (C-13), 127.94 (C-12), 128.45 (C-9, C-11), 129.96 (C-5'), 135.20 (C-8), 138.28 (C-10), 143.14 (C-1'), 160.10 (C-3'), 161.85 (C-2), 176.53 (C-3''), 191.80 (C-4)。

Ethyl 2-[N-p-methyl-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (14)之合成



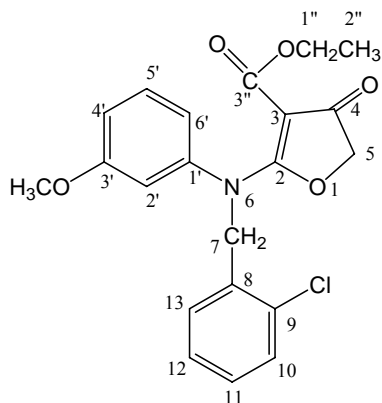
Formula: C₂₂H₂₃NO₅

Mol. Wt.: 381.42

HAJ01004

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *p*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **14** (0.67g, 35.1%)，mp: 110°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 381.8 (M⁺)；IR (KBr disc) cm⁻¹: 1718.58 (C₄=O), 1589.34 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293.5 (3.956); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 0.987 (3H, t, 2''), 2.301 (3H, s, 11-CH₃), 3.70 (2H, q, H-1''), 3.704 (3H, s, 3'-OCH₃), 4.616 (2H, s, H-5), 5.031 (2H, s, H-7), 6.650~6.795 (3H, m, H-2', H-4', H-6'), 7.077~7.260 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 7.19~7.26 (1H, t, H-5'); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.77 (C-2''), 20.86 (11-CH₃), 55.16 (C-7), 55.54 (3'-OCH₃), 60.07 (C-1''), 74.06 (C-5), 91.48 (C-3), 110.83 (C-2'), 113.10 (C-4'), 117.26 (C-6'), 127.45 (C-9, C-13), 129.18 (C-10, C-12), 129.96 (C-5'), 132.11 (C-11), 137.57 (C-8), 142.99 (C-1'), 160.10 (C-3'), 161.86 (C-2), 176.43 (C-3''), 191.77 (C-4)。

Ethyl 2-[N-o-chlorol-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (15)之合成



Formula: C₂₁H₂₀ClNO₅

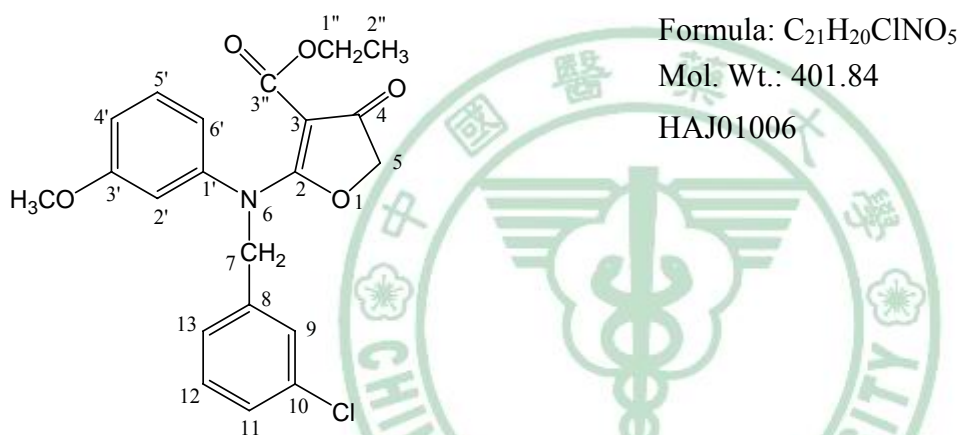
Mol. Wt.: 401.84

HAJ01005

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *o*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007 mole) 為原料，比照

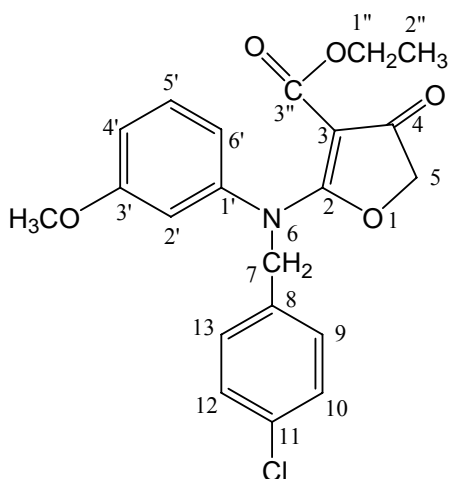
化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **15** (0.83g, 41.3%)，mp : 149.5°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 400.6 (M⁺, 19.35), 402.7 (M⁺+2, 7.15); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1714.72 (C₄=O), 1681.98 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.002); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ: 0.872 (3H, t, 2''), 3.445 (2H, q, H-1''), 3.683 (3H, s, 3'-OCH₃), 4.683 (2H, s, H-5), 5.221 (2H, s, H-7), 6.775~6.955 (3H, m, H-2', H-4', H-6'), 7.198~7.460 (5H, m, H-5', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 13.95 (C-2''), 52.48 (C-7), 55.53 (3'-OCH₃), 59.60(C-1''), 74.70 (C-5), 91.35 (C-3), 111.28 (C-2'), 113.12 (C-4'), 117.43 (C-6'), 127.73 (C-12), 129.27 (C-11), 129.55 (C-13), 129.65 (C-10), 130.25 (C-5'), 132.05 (C-9), 133.41 (C-8), 142.80 (C-1'), 159.99 (C-3'), 161.76 (C-2), 176.51 (C-3''), 191.78 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-chlorol-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**16**)之合成



取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole)和 *m*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **16** (0.81g, 40.3%)，mp : 126.3°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 400.6 (M⁺, 7.99), 402.7 (M⁺+2, 2.72); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1703.14 (C₄=O), 1678.09 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.017); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.01 (3H, t, 2''), 3.728 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.733 (2H, q, H-1''), 4.629 (2H, s, H-5), 5.060 (2H, s, H-7), 6.669~6.812 (3H, m, H-2', H-4', H-6'), 7.201~7.265 (5H, m, H-5', H-9, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.76 (C-2''), 55.08 (C-7), 55.20 (3'-OCH₃), 60.18 (C-1''), 74.13 (C-5), 91.75 (C-3), 110.75 (C-2'), 113.21 (C-4'), 117.05 (C-6'), 125.49 (C-13), 127.55 (C-11), 128.05 (C-9), 129.86 (C-12), 130.12 (C-5'), 134.45 (C-10), 137.28 (C-8), 142.79 (C-1'), 160.22 (C-3'), 161.74 (C-2), 176.53 (C-3''), 191.72 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*p*-chloro-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**17**)之合成



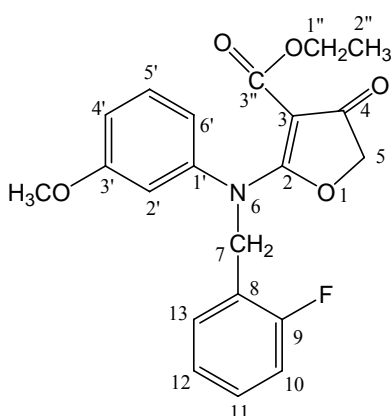
Formula: C₂₁H₂₀ClNO₅

Mol. Wt.: 401.84

HAJ01007

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *p*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **17** (0.89g, 44.3%)，mp: 129.5°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 400.7 (M⁺, 4.21), 402.7 (M⁺+2, 1.39); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1664.57 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293.5 (4.066); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 1.01 (3H, *t*, 2''), 3.732 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 3.745 (2H, *q*, H-1''), 4.635 (2H, *s*, H-5), 5.056 (2H, *s*, H-7), 6.644~6.809 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.111~7.304 (5H, *m*, H-5', H-9, H-10, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.79 (C-2''), 55.03 (C-7), 55.20 (3'-OCH₃), 60.19 (C-1''), 74.11 (C-5), 91.62 (C-3), 110.88 (C-2'), 113.12 (C-4'), 117.17 (C-6'), 128.75 (C-10, C-12), 128.95 (C-12, C-13), 130.12 (C-5), 133.65 (C-11), 133.79 (C-8), 142.69 (C-1'), 160.20 (C-3'), 161.78 (C-2), 176.50 (C-3''), 191.66 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-fluoro-(3'-methoxy)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**18**)]之合成



Formula: C₂₁H₂₀FNO₅

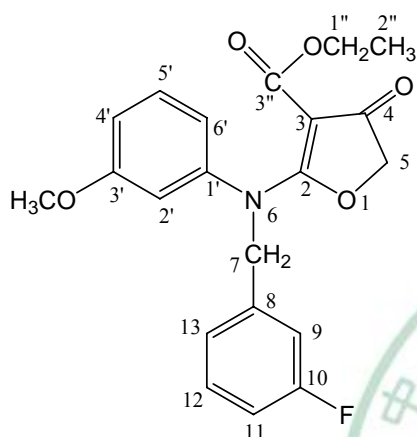
Mol. Wt.: 385.39

HAJ01008

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *o*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **18** (0.48g, 24.9%)，mp: 141.7°C。其光學數據如下：MS (m/z): 385.9 (M⁺); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1712.79 (C₄=O), 1680.00 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293.5 (3.951); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.012

(3H, *t*, 2''), 3.721 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 3.735 (2H, *q*, H-1''), 4.634 (2H, *s*, H-5), 5.170 (2H, *s*, H-7), 6.683~6.806 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.009~7.288 (5H, *m*, H-5', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.77 (C-2''), 49.42 (C-7), 55.17 (3'-OCH₃), 60.18 (C-1''), 74.15 (C-5), 91.76 (C-3), 110.61 (C-2'), 113.24 (C-4'), 115.15 & 115.57 (C-10), 117.05 (C-6'), 122.28 & 122.57 (C-11), 124.21 (C-8), 129.04 & 129.57 (C-13), 129.73 (C-12), 129.98 (C-5'), 142.72 (C-1'), 158.00 (C-9), 160.11 (C-3'), 161.82 (C-2), 176.65 (C-3''), 191.80 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-fluoro-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (19)之合成



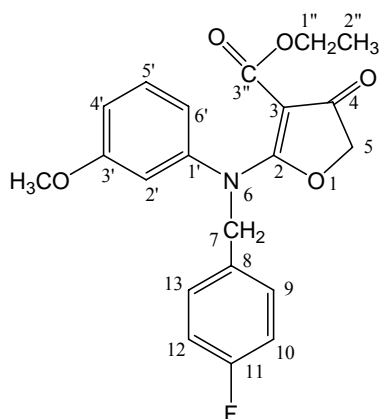
Formula: C₂₁H₂₀FNO₅

Mol. Wt.: 385.39

HAJ01009

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **19** (0.73g, 37.9%)，mp: 135.14。其光學數據如下：MS (*m/z*): 385.8 (M⁺); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1703.14 (C₄=O), 1674.21 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.110); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.86 (3H, *t*, 2''), 3.42 (2H, *q*, H-1''), 3.457 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 4.706 (2H, *s*, H-5), 5.170 (2H, *s*, H-7), 6.806~6.896 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.097~7.228 (5H, *m*, H-5', H-9, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO *d*₆) δ: 13.96 (C-2''), 53.82 (C-7), 55.52 (3'-OCH₃), 59.49 (C-1''), 74.70 (C-5), 91.23 (C-3), 111.14 (C-2'), 112.84 (C-4'), 114.30 & 114.38 (C-11), 114.74 (C-9), 117.32 (C-6'), 123.77 (C-13), 130.26 (C-5'), 130.65 & 130.81 (C-12), 139.11 & 139.25 (C-8), 142.95 (C-1'), 160.05 (C-3', C-10), 161.66 (C-2), 176.62 (C-3''), 191.83 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-fluoro-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (20)之合成



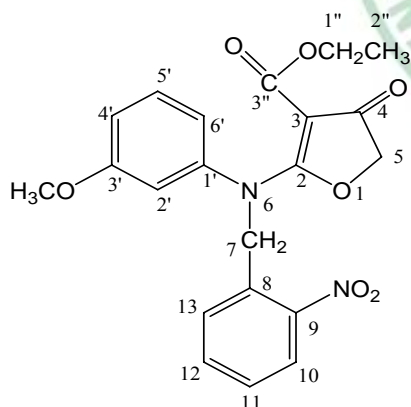
Formula: C₂₁H₂₀FNO₅

Mol. Wt.: 385.39

HAJ01010

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **20** (0.96g, 49.8%)，mp: 110°C。其光學數據如下：MS (m/z): 385.8 (M⁺); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1732.08 (C₄=O), 1664.57 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.064); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.982 (3H, t, 2''), 3.699 (2H, q, H-1''), 3.706 (3H, s, 3'-OCH₃), 4.62 (2H, s, H-5), 5.043 (2H, s, H-7), 6.624~6.799 (3H, m, H-2', H-4', H-6'), 6.930~7.236 (5H, m, H-5', H-9, H-10, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.77 (C-2''), 54.97 (C-7), 55.18 (3'-OCH₃), 60.15 (C-1''), 74.08 (C-5), 91.53 (C-3), 110.99 (C-2'), 113.15 (C-4'), 115.25 & 115.68 (C-10, C-12), 117.31 (C-6'), 129.41 & 129.57 (C-9, C-13), 130.07 (C-5'), 130.91 (C-8), 142.60 (C-1'), 159.72 & 160.17 (C-3), 161.80 (C-2), 164.64 (C-11), 176.40 (C-3''), 191.65 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-nitro-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**21**)之合成



Formula: C₂₁H₂₀N₂O₇

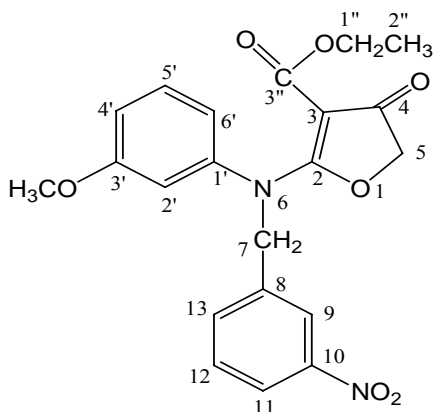
Mol. Wt.: 412.39

HAJ01011

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **21** (0.84.g, 40.7%)，mp: 189°C。其光學數據如下：MS (m/z):411.8 (M⁺); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1714.72 (C₄=O), 1683.86 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 295 (4.050); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.022 (3H, t, 2''), 3.753 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.765 (2H, q, H-1''), 4.574 (2H, s, H-5), 5.550 (2H, s, H-7), 6.732~6.824 (3H, m, H-2', H-4', H-6'), 7.213~7.294 (1H, t, H-5'), 7.50~7.698 (3H, m, H-11, H-12, H-13), 8.117~8.160(1H, d, H-10,); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.78 (C-2''), 53.44 (C-7), 55.24

(3'-OCH₃), 60.27 (C-1''), 74.28 (C-5), 92.33 (C-3), 109.77 (C-2'), 112.81 (C-4'), 115.86 (C-6'), 125.36 (C-10), 127.87 (C-11), 128.57 (C-13), 130.25 (C-5'), 131.95 (C-8), 134.07 (C-12), 113.55 (C-1'), 147.35 (C-9), 160.31 (C-3'), 161.56 (C-2), 177.08 (C-3''), 191.82 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-nitro-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**22**)之合成



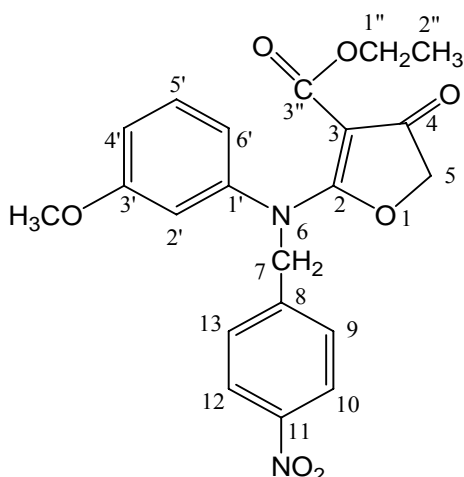
Formula: C₂₁H₂₀N₂O₇

Mol. Wt.: 412.39

HAJ01012

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **22** (0.61g, 29.6%)，mp: 135°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 411.9 (M⁺, 10.33), 413.0 (M⁺+1, 2.48), IR (KBr disc) cm⁻¹: 1718.58 (C₄=O), 1662.64 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.153); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.022 (3H, *t*, 2''), 3.739 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 3.755 (2H, *q*, H-1''), 4.624 (2H, *s*, H-5), 5.206 (2H, *s*, H-7), 6.684~6.830 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.224~7.306 (1H, *t*, H-5'), 7.507~7.564 (2H, *m*, H-12, H-13), 8.091~8.130 (2H, *m*, H-9, H-11); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.77 (C-2''), 54.82 (C-7), 55.25 (3'-OCH₃), 60.27 (C-1''), 74.20 (C-5), 91.85 (C-3), 110.89 (C-2'), 113.24 (C-4'), 117.01 (C-6'), 122.55 (C-11), 122.92 (C-9), 129.67 (C-12), 130.33 (C-5'), 133.42 (C-13), 137.37 (C-8), 142.43 (C-1'), 148.21 (C-10), 160.36 (C-3'), 161.69 (C-2), 176.65 (C-3''), 191.65 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-nitro-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**23**)之合成



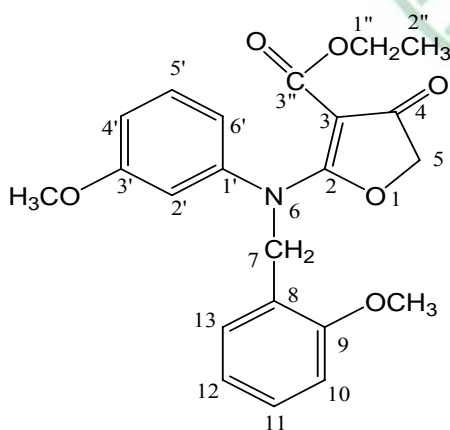
Formula: C₂₁H₂₀N₂O₇

Mol. Wt.: 412.39

HAJ01013

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **23** (1.15g, 55.8%)，mp : 155°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 411.9 (M⁺, 13.07), 412.9 (M⁺+1, 3.24), IR (KBr disc) cm⁻¹: 1701.22 (C₄=O), 1683.86 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): .294.5 (4.169); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.009 (3H, *t*, 2''), 3.730 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 3.764 (2H, *q*, H-1''), 4.623 (2H, *s*, H-5), 5.201 (2H, *s*, H-7), 6.674~6.818 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.210~7.291 (1H, *t*, H-5'), 7.38~7.43 (2H, *d*, H-9, H-13), 8.146~8.189 (2H, *dd*, H-10, H-12); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.78 (C-2''), 54.92 (C-7), 55.23 (3'-OCH₃), 60.26 (C-1''), 74.20 (C-5), 91.86 (C-3), 110.79 (C-2'), 113.04 (C-4'), 116.82 (C-6'), 123.81 (C-10, C-12), 128.21 (C-9, C-13), 130.30 (C-5'), 142.59 (C-1', C-11), 147.42 (C-8), 160.33 (C-3'), 161.67 (C-2), 176.67 (C-3''), 191.65 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methoxy-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**24**)之合成



Formula: C₂₂H₂₃NO₆

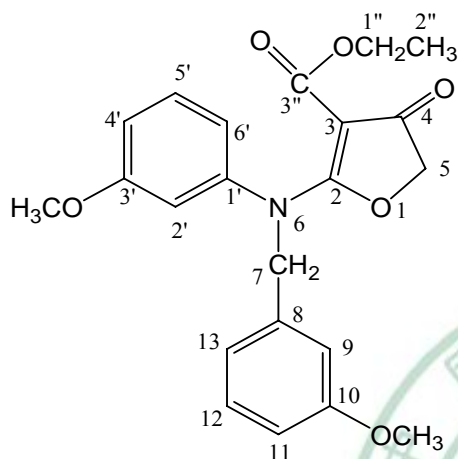
Mol. Wt.: 397.42

HAJ01014

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **24** (1.2g, 60.4%)，mp : 159.2°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 396.9 (M⁺, 4.06), 398 (M⁺+1, 0.99), IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1666.50 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (3.924); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.996 (3H, *t*, 2''), 3.697 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 3.705 (2H, *q*, H-1''), 3.727 (3H, *s*, 9-OCH₃), 4.583 (2H, *s*, H-5), 5.104 (2H, *s*, H-7), 6.693~6.942 (5H, *m*, H-2', H-4', H-6', H-10, H-12),

7.144~7.266 (3H, *m*, H-5', H-11, H-13); ^{13}C -NMR (200MHz, CDCl_3) δ : 13.77 (C-2''), 51.19 (C-7), 55.00 (9-OCH₃), 55.14 (3'-OCH₃), 60.07 (C-1''), 74.09 (C-5), 91.65 (C-3), 110.05 (C-10), 110.37 (C-2'), 112.86 (C-4'), 116.87 (C-6'), 120.43 (C-12), 123.57 (C-8), 127.75 (C-11), 128.85 (C-13), 129.71 (C-5'), 143.37 (C-1'), 156.58 (C-9), 159.93 (C-3'), 161.97 (C-2), 176.79 (C-3''), 191.92 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-methoxy-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (25)之合成



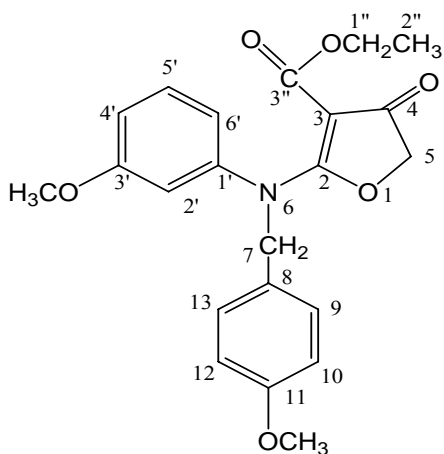
Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NO}_6$

Mol. Wt.: 397.42

HAJ01015

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **25** (0.38g, 19.1%)，mp : 100.3°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1701.22 (C₄=O), 1674.21 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.076); ^1H -NMR(200MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.99 (3H, *t*, 2''), 3.66 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 3.68 (2H, *q*, H-1''), 3.70 (3H, *s*, 10-OCH₃), 4.58 (2H, *s*, H-5), 5.02 (2H, *s*, H-7), 6.65~6.79 (6H, *m*, H-2', H-4', H-6', H-9, H-11, H-13), 7.15~7.23 (2H, *td*, H-5', H-12); ^{13}C -NMR (200MHz, CDCl_3) δ : 13.74 (C-2''), 54.93 (10-OCH₃), 55.15 (3'-OCH₃), 55.75 (C-7), 60.78 (C-1''), 74.08 (C-5), 91.60 (C-3), 110.58 (C-2'), 112.91 (C-11), 113.03 (C-4', C-9), 116.97 (C-6'), 119.42 (C-13), 129.60 (C-12), 129.97 (C-5'), 136.80 (C-8), 143.12 (C-1'), 159.60 (C-10), 160.10 (C-3'), 161.76 (C-2), 176.52 (C-3''), 191.76 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-methoxy-(3'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (26)之合成



Formula: C₂₂H₂₃NO₆

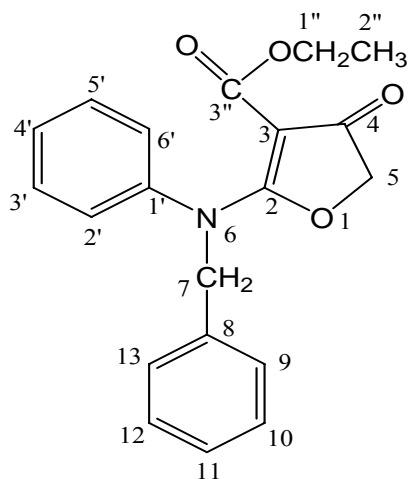
Mol. Wt.: 397.42

HAJ01016

取化合物 **1** (1.386g, 0.005 mole) 和 *p*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **11** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **26** (0.78g, 39.3%)，mp : 98°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 397 (M⁺, 2.05), 398 (M⁺+1, 0.63), IR (KBr disc) cm⁻¹: 1724.36 (C₄=O), 1680.63 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.111); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.996 (3H, *t*, 2''), 3.71 (2H, *q*, H-1''), 3.71 (3H, *s*, 3'-OCH₃), 3.76 (3H, *s*, 11-OCH₃), 4.636 (2H, *s*, H-5), 5.003 (2H, *s*, H-7), 6.628~6.827 (5H, *m*, H-2', H-4', H-6', H-10, H-12), 7.065~7.109 (2H, *d*, H-9, H-13), 7.229~7.269 (1H, *t*, H-5'); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.77 (C-2''), 55.01 (3'-OCH₃), 55.18 (11-OCH₃), 55.27 (C-7), 60.11 (C-1''), 74.04 (C-5), 91.40 (C-3), 111.05 (C-2'), 113.17 (C-4'), 113.84 (C-10, C-12), 117.49 (C-6'), 127.04 (C-8), 129.11 (C-9, C-13), 129.96 (C-5'), 142.73 (C-1'), 159.13 (C-11), 160.10 (C-3'), 161.89 (C-2), 176.33 (C-3''), 191.75 (C-4)。

(三) Ethyl 2-[N-various benzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (27~42) 之合成

Ethyl 2-[N-benzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (27)之合成



Formula: C₂₀H₁₉NO₄

Mol. Wt.: 337.37

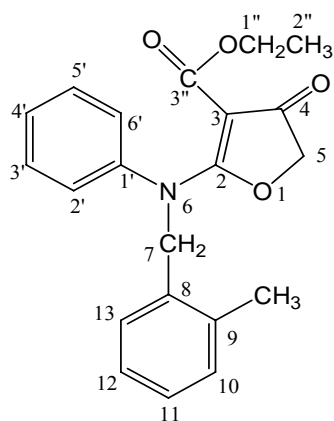
HAJ02001

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中，加入無水 K₂CO₃ (0.69g, 0.005mole)及 KI(0.83g, 0.005mole)攪拌之，接著加入及 benzyl chloride(0.89 g, 0.007 mole)，反應 1~2 小時，以 TLC 檢查反應之進度。然後方法 1：然後加冰水 100ml，靜置讓其沉澱析出，用布氏漏斗減壓抽氣過濾沉澱物，以清水洗 1~2 遍，以冰冷乙醇稍微浸泡沉澱物幾秒鐘溶解掉沉澱物表面之可溶性雜質，減壓抽氣移除乙醇，剩餘沉澱物再用乙醇做再結晶，得淡黃色結晶產物，為化合物 **27** (0.61gm, 36.2%)，mp：117°C。註：反應完成後，加冰水 100ml 靜置，如沒有沉澱物出現或沉澱物很少，則再以 CHCl₃ 萃取多次，取 CHCl₃ 層，以無水 MgSO₄ 乾燥脫水，減壓濃縮除去 CHCl₃，濃縮液靜置讓其長結晶，收集結晶物後，再以 EtOH 做再結晶。如靜置一段時間仍無結長出，以矽膠管柱層析(CHCl₃/EtOH)沖提之分離所須之化合物。其光學數據如下：

IR (KBr disc) cm⁻¹: 1732.08 (C₄=O), 1658.78 (C₃-CO-OEt).

UV λ_{max} nm(MeOH)(log ε):293.5(4.160). ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃)δ: 0.955 (3H, t, J=7.1Hz, H-2''), 3.657 (2H, q, H-1''), 4.606 (2H, s, H-5), 5.065 (2H, s, H-7), 7.102~7.303 (10H, m, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 14.10 (C-2''), 56.13 (C-7), 60.29 (C-1''), 74.35 (C-5), 91.58 (C-3), 125.47 (C-2',C-6'), 127.64 (C-4'), 127.72 (C-9, C-13), 128.08 (C-11), 128.81 (C-10, C-12), 129.52 (C-3', C-5'), 135.40 (C-8), 142.22 (C-1'), 162.01 (C-2), 176.96 (C-3''), 192.00 (C-4)。

Ethyl 2-[N-o-methylbenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (28)之合成



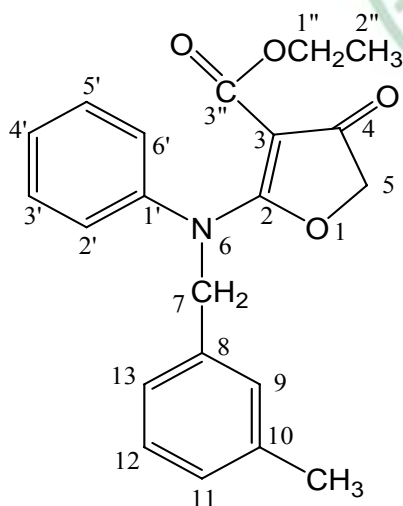
Formula: C₂₁H₂₁NO₄

Mol. Wt.: 351.4

HAJ02002

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole) 和 *o*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **28** (0.83g, 47.2%)，mp : 155°C。其光學數據如下： IR (KBr disc) cm⁻¹: 1728.22 (C₄=O), 1654.92 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.100); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.991 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 2.210 (3H, *s*, 9-CH₃), 3.695 (2H, *q*, H-1''), 4.601 (2H, *s*, H-5), 5.104 (2H, *s*, H-7), 7.159~7.350 (9H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.84 (C-2''), 18.75 (9-CH₃), 53.71 (C-7), 60.05 (C-1''), 74.15 (C-5), 91.55 (C-3), 124.68 (C-2', C-6'), 126.33 (C-12'), 127.29 (C-11), 127.57 (C-4'), 129.21 (C-13), 130.31 (C-3', C-5'), 130.78 (C-10), 133.43 (C-9), 135.09 (C-8), 142.38 (C-1'), 161.77 (C-2), 176.85 (C3''), 191.87 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-methylbenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**29**)之合成



Formula: C₂₁H₂₁NO₄

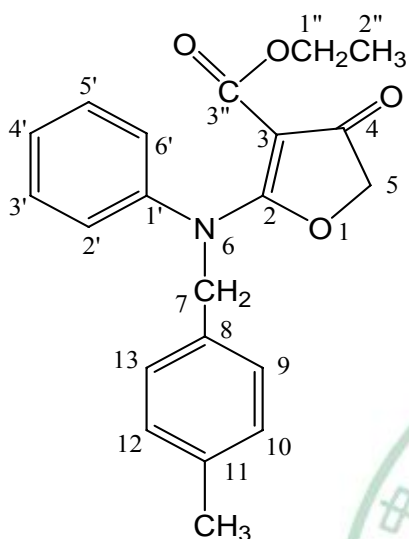
Mol. Wt.: 351.4

HAJ02003

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole) 和 *m*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得淡黃透明產物，為化合物 **29** (0.56g, 31.9%)，mp : 107°C。其光學數據如下： IR (KBr disc) cm⁻¹: 1708.93 (C₄=O), 1678.07 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (3.931); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.96 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 2.28 (3H, *s*, 10-CH₃), 3.66 (2H, *q*, H-1''), 4.61 (2H, *s*, H-5), 5.04 (2H, *s*, H-7), 6.93~7.34 (9H, *m*, H-2', H-3',

H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13); ^{13}C -NMR (200MHz, CDCl_3) δ : 13.81 (C-2''), 21.15 (10- CH_3), 55.77 (C-7), 59.99 (C-1''), 74.09 (C-5), 91.31 (C-3), 124.32 (C-13), 125.07 (C-2', C-6'), 127.30 (C-4'), 127.95 (C-11), 128.41 (C-9), 128.50 (C-12), 129.21 (C-3', C-5'), 135.09 (C-10), 138.26 (C-8), 142.05 (C-1'), 161.72 (C-2), 176.68 (C3''), 191.80 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-methylbenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (30)之合成



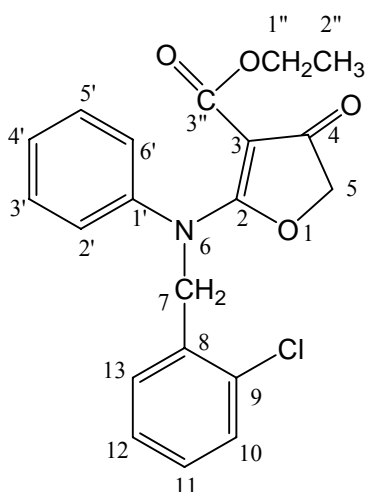
Formula: $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_4$

Mol. Wt.: 351.4

HAJ02004

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole) 和 *p*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **30** (0.67g, 38.1%)，mp: 127°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1735.93 (C=O), 1658.78 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ϵ): 292 (3.908); ^1H -NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 0.987 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 2.317 (3H, *s*, 11- CH_3), 3.686 (2H, *q*, H-1''), 4.655 (2H, *s*, H-5), 5.054 (2H, *s*, H-7), 7.047~7.354 (9H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13)。 ^{13}C -NMR (200MHz, CDCl_3) δ : 14.12 (C-2''), 21.17 (11- CH_3), 55.92 (C-7), 60.33 (C-1''), 74.38 (C-5), 91.50 (C-3), 125.48 (C-2', C-6'), 127.65 (C-4'), 127.76 (C-9, C-13), 129.47 (C-10, C-12), 129.54 (C-3', C-5'), 132.23 (C-11), 137.90 (C-8), 142.15 (C-1'), 162.007 (C-2), 176.88 (C3''), 192.080 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-chlorobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (31)之合成



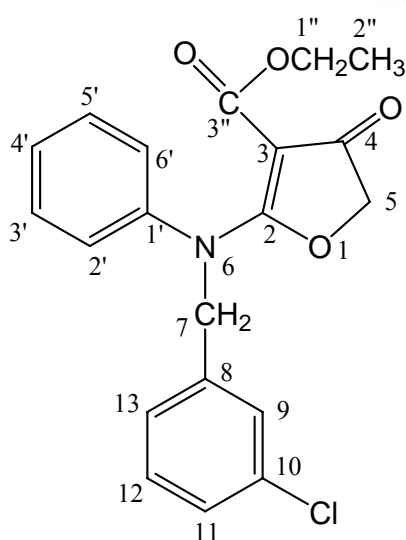
Formula: C₂₀H₁₈ClNO₄

Mol. Wt.: 371.81

HAJ02005

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *o*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **31** (0.67g, 36%)，mp : 142°C。其光學數據如下： IR (KBr disc) cm⁻¹: 1730.15 (C₄=O), 1658.78 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 292 (3.847); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.976 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.693 (2H, *q*, H-1''), 4.584 (2H, *s*, H-5), 5.198 (2H, *s*, H-7), 7.148~7.364 (9H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.80 (C-2''), 53.42 (C-7), 60.10 (C-1''), 74.21 (C-5), 91.69 (C-3), 124.45 (C-2', C6'), 127.07 (C-4'), 127.31 (C-12), 127.81 (C-11), 128.89 (C-13), 129.25 (C-3', C5'), 129.52 (C-10), 132.48 (C-9), 133.07 (C-8), 142.04 (C-1'), 161.65 (C-2), 177.03 (C-3''), 191.88(C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-chlorobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**32**)之合成



Formula: C₂₀H₁₈ClNO₄

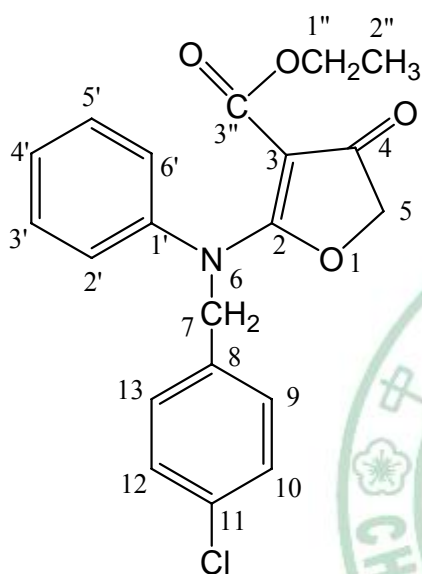
Mol. Wt.: 371.81

HAJ02006

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *m*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **32** (0.58g, 31.2%)，mp : 110°C。其光學數據如下： IR (KBr disc) cm⁻¹: 1701.22 (C₄=O), 1676.14 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH)

(log ϵ): 293 (3.830); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.993 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.695 (2H, *q*, H-1''), 4.636 (2H, *s*, H-5), 5.0713 (2H, *s*, H-7), 7.131~7.351 (9H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.84 (C-2''), 55.18 (C-7), 60.10 (C-1''), 74.16 (C-5), 91.48 (C-3), 125.04 (C-2', C6'), 125.53 (C-13), 127.58 (C-4', C-11), 128.07 (C-9), 129.41 (C-3', C-5'), 129.87 (C-12), 134.45 (C-10), 137.20 (C-8), 141.74 (C-1'), 161.64 (C-2), 176.72 (C-3''), 191.75 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-chlorobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**33**)之合成



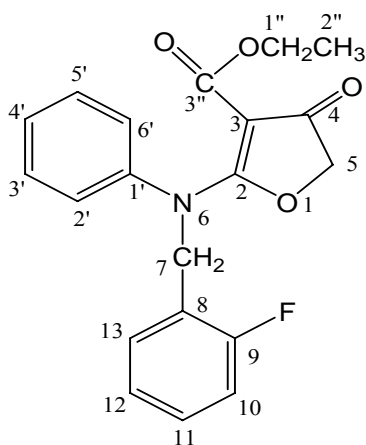
Formula: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClNO}_4$

Mol. Wt.: 371.81

HAJ02007

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *p*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得淡黃鱗片狀產物，為化合物 **33** (0.51g, 27.4%)，mp: 120°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1732.08 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1658.78 ($\text{C}_3-\text{CO}-\text{OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ϵ): 292.5 (4.422); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.997 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.706 (2H, *q*, H-1''), 4.636 (2H, *s*, H-5), 5.062 (2H, *s*, H-7), 7.093~7.348 (9H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.85 (C-2''), 55.15 (C-7), 60.11 (C-1''), 74.12 (C-5), 91.35 (C-3), 125.21 (C-2', C-6'), 127.55 (C-4'), 128.74 (C-9, C-13), 129.01 (C-10, C-12), 129.38 (C-3', C-5'), 133.57 (C-11), 133.80 (C-8), 141.62 (C-1'), 161.69 (C-2), 176.67 (C-3''), 191.67 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-o*-fluorobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**34**)之合成



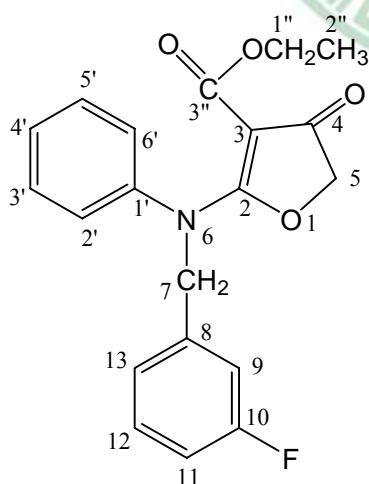
Formula: C₂₀H₁₈FNO₄

Mol. Wt.: 355.36

HAJ02008

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *o*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **34** (0.58g, 32.6%)，mp : 128°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1730.15 (C₄=O), 1654.92 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 292 (3.889); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.959 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.66 (2H, *q*, H-1''), 4.598 (2H, *s*, H-5), 5.139 (2H, *s*, H-7), 6.958~7.293 (9H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.80 (C-2''), 49.38 (C-7), 60.05 (C-1''), 74.12 (C-5), 91.45 (C-3), 115.11 & 115.53 (C-10), 122.18 & 112.46 (C-12), 124.17 & 12.24 (C-11), 125.03 (C-2', C-6'), 127.45 (C-4'), 129.21 (C-3', C-5', C-13), 129.57 & 129.73 (C-8), 141.61 (C-1'), 157.68 & 162.5 (C-9) 161.61 (C-2), 176.79 (C-3), 191.77 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-fluorobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**35**)之合成



Formula: C₂₀H₁₈FNO₄

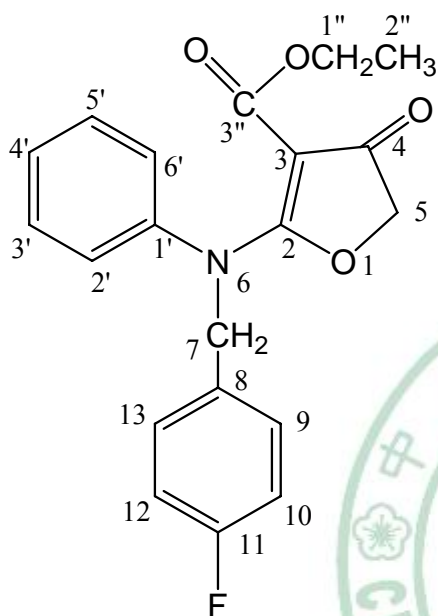
Mol. Wt.: 355.36

HAJ02009

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *m*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **35** (0.31g, 17.4%)，mp : 133°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1708.14 (C₄=O), 1676.14 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.001); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 0.97 (3H, *t*, H-2''), 3.68 (2H, *q*, H-1''), 4.61 (2H,

s, H-5), 5.06 (2H, *s*, H-7), 6.86~7.36 (9H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.80 (C-2''), 55.23 (C-7), 60.08 (C-1''), 74.11 (C-5), 91.43 (C-3), 114.23 & 114.66 (C-10), 115.03 (C-9), 123.02 (C-13), 125.00 (C-2', C-6'), 127.48 (C-4'), 129.36 (C-3', C-5'), 130.06 & 130.23 (C-12), 137.58 & 137.72 (C-8), 141.77 (C-1'), 160.17 (C-10), 161.61 (C-2), 176.72 (C-3''), 191.68 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-fluorobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (36)之合成



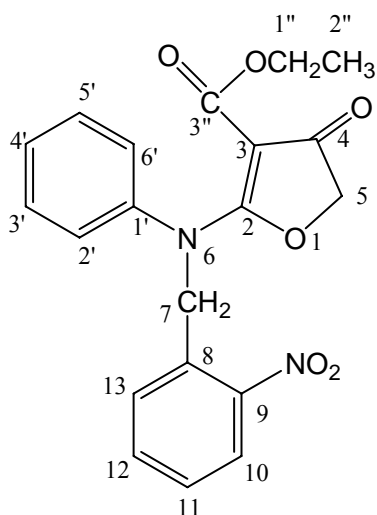
Formula: C₂₀H₁₈FNO₄

Mol. Wt.: 355.36

HAJ02010

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole) 和 *p*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **36** (0.47g, 26.5%)，mp: 107°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 354.9 (M⁺, 2.5), 355.9 (M⁺+1, 0.93); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1720.50 (C₄=O), 1651.07 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.009); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 0.96 (3H, *t*, H-2''), 3.665 (2H, *q*, H-1''), 4.61 (2H, *s*, H-5), 5.02 (2H, *s*, H-7), 6.89~7.34 (9H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.81 (C-2''), 55.06 (C-7), 60.04 (C-1''), 74.05 (C-5), 91.25 (C-3), 115.23 & 115.66 (C-10, C-12), 125.32 (C-2', C-6'), 127.51 (C-4'), 129.31 (C-3', C-5'), 129.43 & 129.60 (C-9, C-13), 130.80 (C-8), 141.51 (C-1'), 161.68 (C-2), 164.80 (C-11), 176.58 (C-3''), 191.62 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-o*-nitrobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (37)之合成



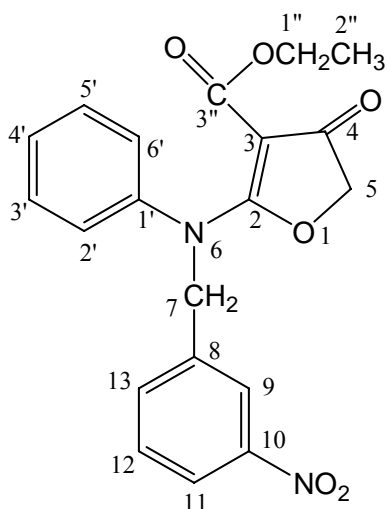
Formula: C₂₀H₁₈N₂O₆

Mol. Wt.: 382.37

HAJ02011

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *o*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **37** (0.61g, 31.9%)，mp : 145°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (3.929); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.963 (3H, *t*, H-2''), 3.682 (2H, *q*, H-1''), 4.54 (2H, *s*, H-5), 5.52 (2H, *s*, H-7), 7.167~7.368 (5H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.43~7.514 (1H, *m*, H-12), 7.606~7.664 (2H, *m*, H-11, H-13), 8.07~8.11 (1H, *d*, H-10); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.80 (C-2''), 53.49 (C-7), 60.15 (C-1''), 74.26 (C-5), 92.01 (C-3), 123.84 (C-2', C-6'), 125.33 (C-10), 127.32 (C-4'), 127.86 (C-11), 128.57 (C-13), 129.48 (C-3', C-5'), 131.87 (C-12), 134.04 (C-8), 142.49 (C-1), 147.32 (C-9), 161.42 (C-2), 177.23 (C-3''), 191.80 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-nitrobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**38**)之合成



Formula: C₂₀H₁₈N₂O₆

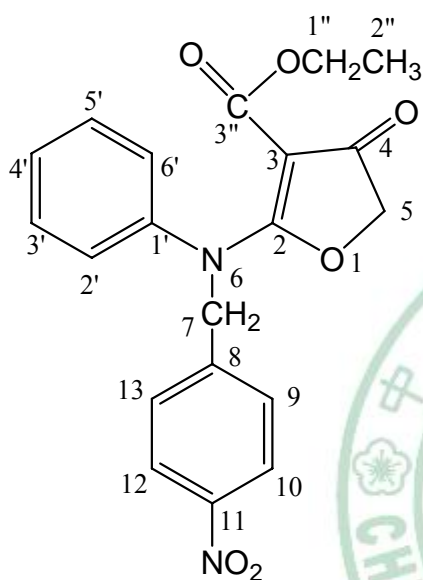
Mol. Wt.: 382.37

HAJ02012

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *m*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得黃色產物，為化合物 **38** (0.45g, 23.5%)，mp : 130°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1708.14 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log

ϵ): 293 (4.085); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.96 (3H, *t*, H-2''), 3.66 (2H, *q*, H-1''), 4.61 (2H, *s*, H-5), 5.18 (2H, *s*, H-7), 7.12~7.55 (7H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-10, H-12, H-13), 8.03 (1H, *s*, H-9), 8.08~8.13 (1H, *dd*, H-11)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.80 (C-2''), 54.91 (C-7), 60.15 (C-1''), 74.19 (C-5), 91.56 (C-3), 122.57 (C-11), 122.90 (C-9), 125.06 (C-2', C-6'), 127.73 (C-4'), 129.56 (C-3', C-5'), 129.65 (C-12), 133.48 (C-13), 137.2 (C-8), 141.34 (C-1'), 148.14 (C-10), 161.56 (C-2), 176.80 (C-3''), 191.64 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-nitrobenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (39)之合成



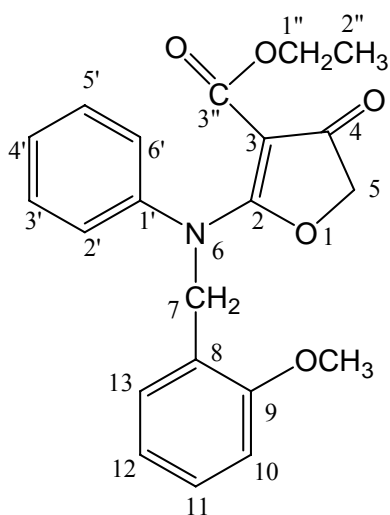
Formula: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$

Mol. Wt.: 382.37

HAJ02013

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *p*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **39** (0.62g, 32.4%)，mp: 172°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1678.07 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1606.70 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293.5 (4.084); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.98 (3H, *t*, H-2''), 3.715 (2H, *q*, H-1''), 4.612 (2H, *s*, H-5), 5.19 (2H, *s*, H-7), 7.113 ~ 7.394 (7H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-13), 8.116~8.172 (2H, *dd*, H-10, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.83 (C-2''), 55.05 (C-7), 60.20 (C-1''), 74.18 (C-5), 91.59 (C-3), 123.80 (C-2', C-6'), 124.89 (C-10, C-12), 127.71 (C-4'), 128.23 (C-9, C-13), 129.54 (C-3', C-5'), 141.59 (C-1'), 142.43 (C-11), 147.43 (C-8), 161.56 (C-2), 176.84 (C-3''), 191.58 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-o*-methoxybenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (40)之合成



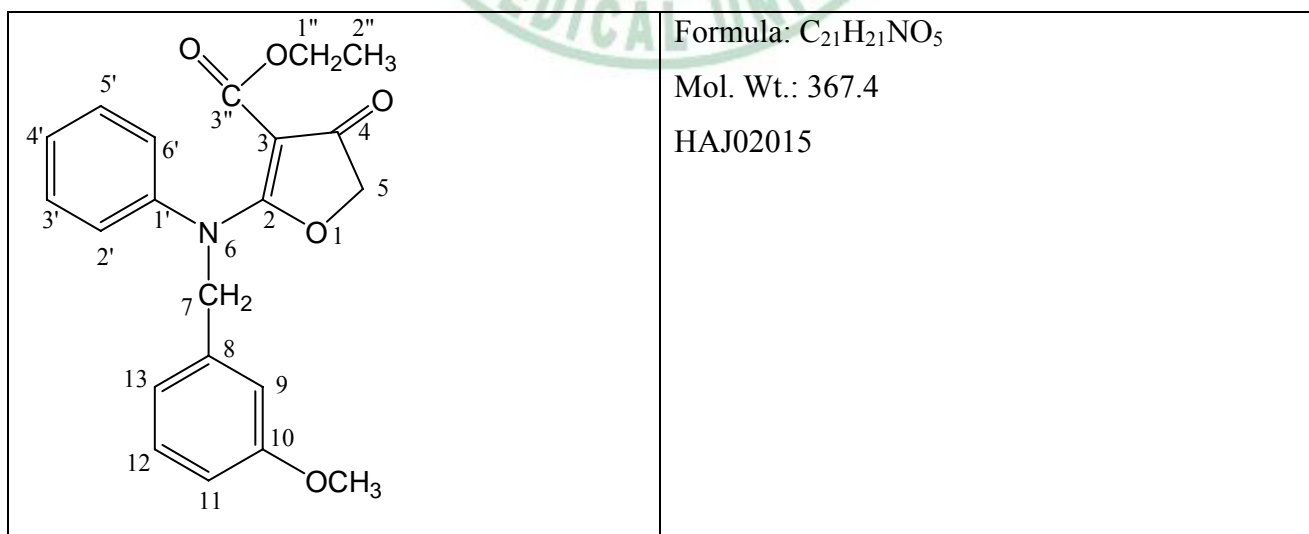
Formula: C₂₁H₂₁NO₅

Mol. Wt.: 367.4

HAJ02014

取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *o*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **40** (0.77g, 41.9%)，mp : 149°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1660.71 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 292 (4.020); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 0.96 (3H, *t*, H-2''), 3.66 (2H, *q*, H-1''), 3.68 (3H, *s*, 9-OCH₃), 4.56 (2H, *s*, H-5), 5.09 (2H, *s*, H-7), 6.77 ~ 6.92 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.12 ~ 7.30 (7H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.81 (C-2''), 51.20 (9-OCH₃), 54.93 (C-7), 59.96 (C-1''), 74.06 (C-5), 91.35 (C-3), 110.00 (C-10), 120.39 (C-12), 123.48 (C-11), 124.79 (C-2', C-6'), 127.05 (C-4'), 127.87 (C-13), 128.94 (C-3', C-5', C-8), 142.27 (C-1'), 156.57 (C-9), 161.82 (C-2), 176.90 (C-3''), 191.85 (C-4)。

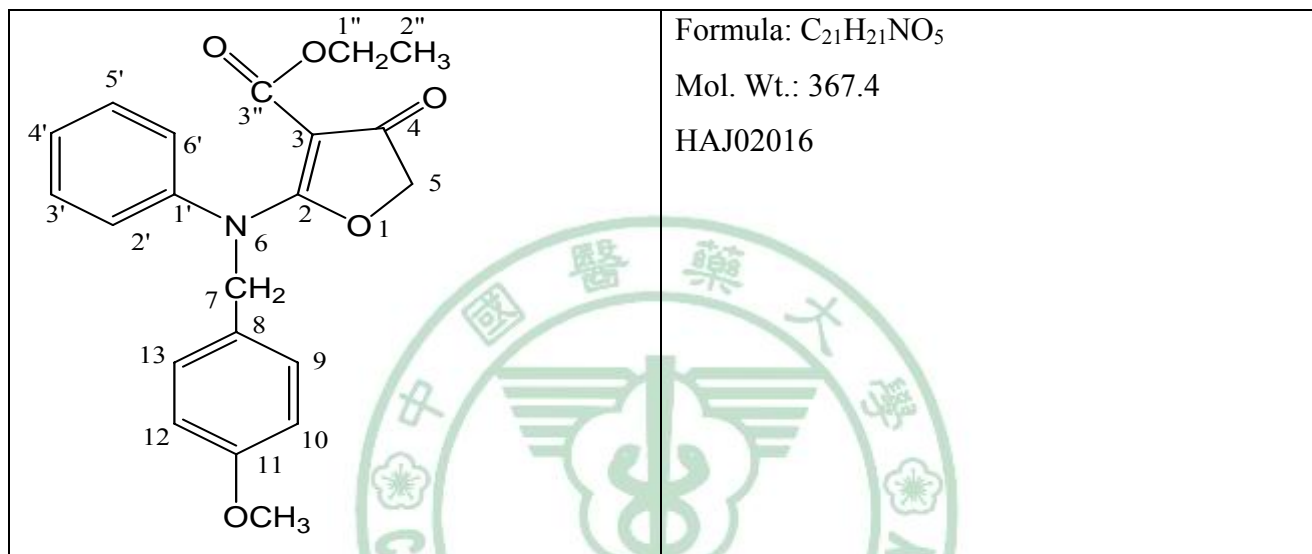
Ethyl 2-[*N*-*m*-methoxybenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**41**)之合成



取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *m*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得淡黃透明產物，為化合物 **41** (0.72g, 39.2%)，mp : 106.5°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1662.64 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm

(MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (3.904); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 0.85 (3H, *t*, H-2''), 3.36 (3H, *s*, 10-OCH₃), 3.37 (2H, *q*, H-1''), 4.71 (2H, *s*, H-5), 5.12 (2H, *s*, H-7), 6.79 ~ 6.85 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.17 ~ 7.34 (6H, *m*, H-3', H-5', H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ : 19.03 (C-2''), 59.56 (10-OCH₃), 60.15 (C-7), 64.34 (C-1''), 79.64 (C-5), 95.88 (C-3), 118.07 (C-11), 118.20 (C-9), 124.70 (C-13), 130.24 (C-2', C-6'), 132.16 (C-4'), 134.46 (C-3', C-5'), 134.87 (C-12), 142.76 (C-8), 147.14 (C-1'), 164.53 (C-10), 166.54 (C-2), 181.66 (C-3''), 196.74 (C-4)。

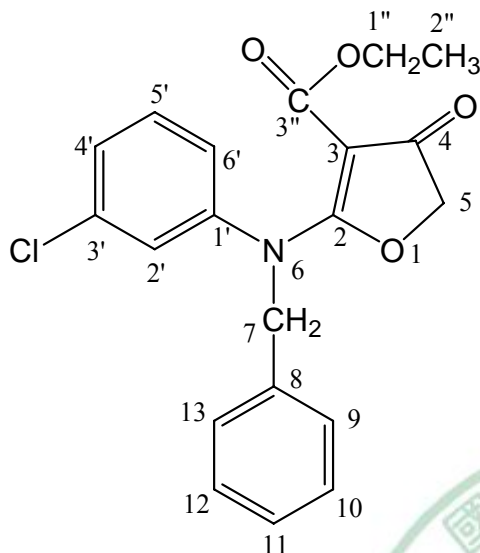
Ethyl 2-[*N*-*p*-methoxybenzyl]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**42**)之合成



取化合物 **2** (1.23g, 0.005 mole)和 *p*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **27** 的合成法及處理步驟，得白透明產物，為化合物 **42** (0.74g, 40.3%)，mp : 127°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1728.22 (C₄=O), 1654.92 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 292.5 (3.945); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl₃) δ : 0.986 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.655 (2H, *q*, H-1''), 3.74 (3H, *s*, 11-OCH₃), 4.62 (2H, *s*, H-5), 4.99 (2H, *s*, H-7), 6.75~6.79 (2H, *d*, H-2', H-6'), 7.02~7.06 (2H, *d*, H-10, H-12), 7.08~7.11 (2H, *d*, H-9, H-13), 7.21~7.3 (3H, *m*, H-3', H-4', H-5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl₃) δ : 13.83 (C-2''), 54.98 (C-7), 55.36 (11-OCH₃), 59.99 (C-1''), 79.04 (C-5), 91.13 (C-3), 113.80 (C-10, C-12), 125.47 (C-2', C-6'), 126.94 (C-8), 127.39 (C-4'), 129.14 (C-9, C-13), 129.21 (C-3', C-5'), 141.64 (C-1'), 159.10 (C-11), 161.75 (C-2), 176.49 (C-3''), 191.65 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-various benzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (43~59) 之合成

Ethyl 2-[*N*-benzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (43)之合成



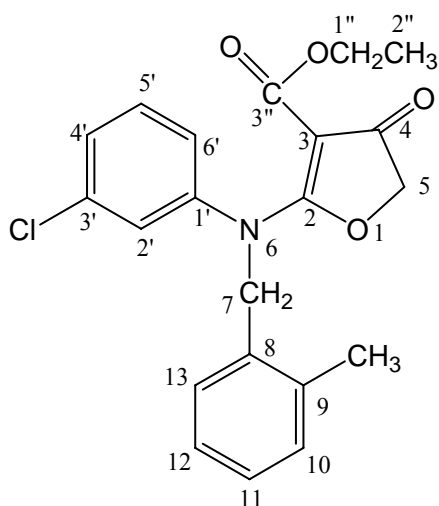
Formula: C₂₀H₁₈ClNO₄

Mol. Wt.: 371.81

HAJ03001

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中，加入無水 K₂CO₃(0.69g, 0.005 mole) 加熱(約 50~60°C)使之溶解，接著加入 KI (0.83g, 0.005 mole) 及 benzyl chloride (0.89g, 0.007 mole)，反應 0.5~3 小時，以 TLC 檢查反應之進度，然後加冰水，以 CHCl₃ 萃取，取 CHCl₃ 層，以無水 MgSO₄ 乾燥脫水，減壓濃縮，濃縮液靜置生成結晶，結晶物以 EtOH 做再結晶，或無結晶或沉澱物出現時，以矽膠管柱層析(CHCl₃/EtOH)沖提，得白色針狀產物，為化合物 **43** (0.65g, 35%)，mp: 134.4°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 371(M⁺, 3.24), 373 (M⁺+1, 1.16); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1711.12 (C₄=O), 1679.5 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε) : 293.5 (4.160); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ : 0.896 (3H, t, H-2''), 3.506 (2H, q, H-1''), 4.728 (2H, s, H-5), 5.171 (2H, s, H-7), 7.22 ~7.46 (9H, m, H-9, H-10, H-11, H12, H-13, H-2', H-4', H-5', H-6'); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.81.(C-2''), 55.73 (C-7), .60.22 (C-1''), 74.15 (C-5), 91.54 (C-3), 123.32 (C6'), 125.33 (C-2'), 127.29 (C-9, C-13), 127.46 (C-4'), 127.96 (C-11'), 128.65 (C-10, C-12), 130.22 (C-5'), 134.75 (C-3', C-8), 143.07 (C-1'), 161.51 (C-2), 176.85 (C-3''), 191.70 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methylbenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (44)之合成



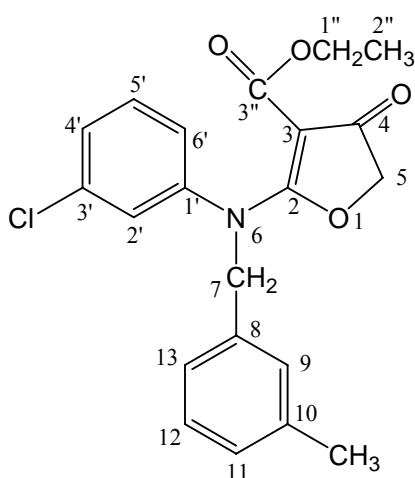
Formula: C₂₁H₂₀ClNO₄

Mol. Wt.: 385.84

HAJ03002

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole) 和以 *o*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 替代 benzyl chloride 為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **44** (0.89g, 46.1%)，mp: 163.3°C。其光學數據如下：MS(m/z, %): 385(M⁺, 2.62), 387 (M⁺+2, 0.89); IR(KBr disc) cm⁻¹: 1724.24 (C₄=O), 1664.57 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH)(log ε): 293.5 (4.018); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 0.902 (3H, t, J=7.1Hz, H-2''), 2.213 (3H, s, 9-CH₃), 3.508 (2H, q, J=7.1Hz, H-1''), 4.690 (2H, s, H-5), 5.156 (2H, s, H-7), 7.159~7.350 (8H, m, H-2', H-4', H-5', H-6', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 14.02 (C-2''), 18.81(9-CH₃), 52.61 (C-7), 59.59 (C-1''), 74.82 (C-5), 91.33 (C-3), 123.99 (C6'), 125.24 (C-12), 126.35 (C-2'), 126.70 (C-11), 127.10 (C-13), 127.58 (C-4'), 130.43 (C-10), 130.95 (C-5'), 133.60 (C-9), 133.98 (C-8), 135.60 (C-3'), 143.67 (C-1'), 161.52 (C-2), 177.03 (C-3''), 191.85 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-methylbenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**45**) 之合成



Formula: C₂₁H₂₀ClNO₄

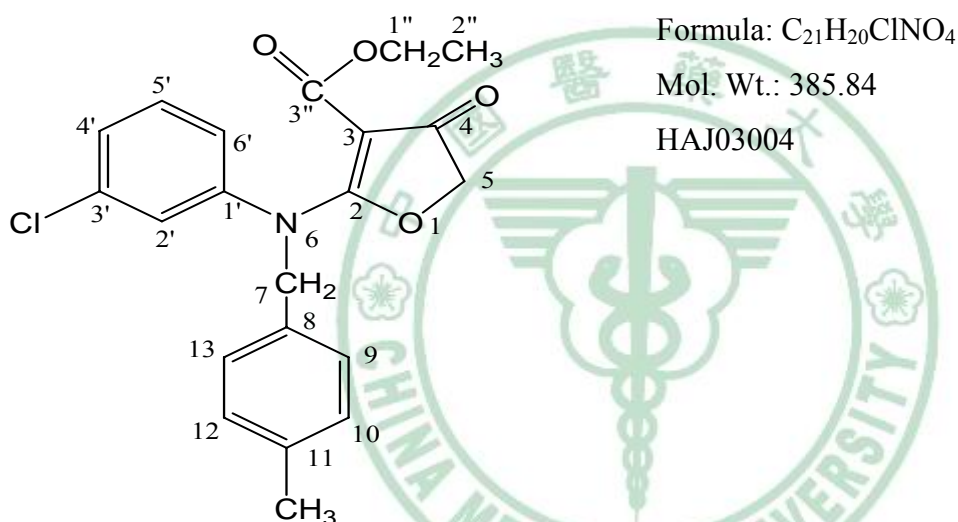
Mol. Wt.: 385.84

HAJ03003

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole) 和 *m*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得黃褐色產物，為化合物 **45** (0.41g, 21.3%)，mp: 140.3°C。

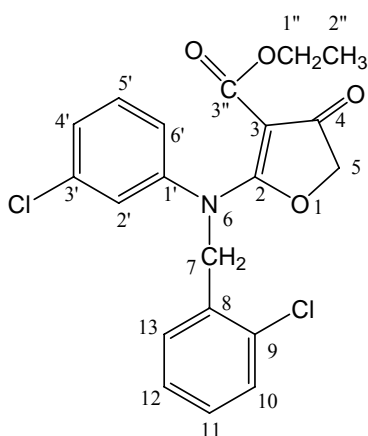
其光學數據如下：MS (m/z , %): 385 (M^+ , 2.74), 387(M^++2 , 0.92) ; IR (KBr disc) cm^{-1} : 1708.93 ($C_4=O$), 1681.93 ($C_3-CO-OEt$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.074); 1H -NMR(200MHz, $CDCl_3$) δ : 1.03 (3H, t , H-2''), 2.29(3H, s , $C_{10}-CH_3$), 3.77 (2H, q , H-1''), 4.62 (2H, s , H-5), 5.03 (2H, s , H-7), 6.93~7.25 (8H, m , H-9, H-11, H-12, H-13, H-2', H-4', H-5', H-6'); ^{13}C -NMR (200MHz, $CDCl_3$) δ : 13.81 (C-2''), 21.16 ($10-CH_3$), 55.70 (C-7), 60.24 (C-1''), 74.17 (C-5), 91.59 (C-3), 123.25 (C6'), 124.19 (C-13), 125.27 (C-2'), 127.43 (C-4'), 127.84 (C-11), 128.55 (C-9), 128.70 (C-12), 130.19 (C-5'), 134.71 (C-3', C-10), 138.43 (C-8), 143.17 (C-1'), 161.52 (C-2), 176.87 (C-3''), 191.79 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-methylbenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (46)之合成



取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole) 和 *p*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **46** (1.25g, 64.8%)，mp: 146.1°C。IR (KBr disc) cm^{-1} : 1708.93 ($C_4=O$), 1681.93 ($C_3-CO-OEt$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293.5 (4.049); 1H -NMR(200MHz, DMSO- d_6) δ : 0.893 (3H, t , $J=7.1Hz$, H-2''), 2.226 (3H, s , 11- CH_3), 3.485 (2H, q , H-1''), 4.729 (2H, s , H-5), 5.116 (2H, s , H-7), 7.068~7.446 (8H, m , H-2', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13); ^{13}C -NMR (200MHz, DMSO d_6) δ : 14.04 (C-2''), 20.86 (11- CH_3), 54.11 (C-7), 59.49 (C-1''), 74.80 (C-5), 91.05 (C-3), 124.17 (C6'), 125.43 (C-2'), 127.07 (C-4'), 127.85 (C-9, C-13), 129.37 (C-10, C-12), 130.97 (C-5'), 132.75 (C-11), 133.64 (C-3'), 137.06 (C-8), 143.35 (C-1'), 161.43 (C-2), 176.94 (C-3''), 191.85 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-o*-chlorobenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (47)之合成



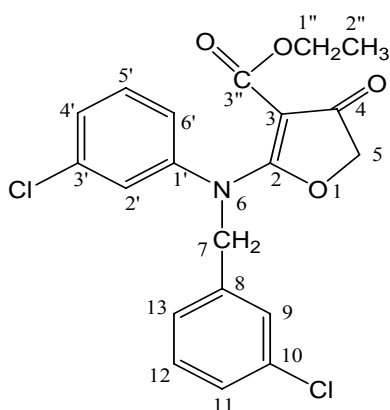
Formula: C₂₀H₁₇Cl₂NO₄

Mol. Wt.: 406.26

HAJ03005

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *o*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得 黃色產物，為化合物 **47** (0.85g, 41.8%)，mp : 177°C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 405 (M⁺, 3.7), 407 (M⁺+2, 2.36); IR(KBr disc) cm⁻¹ : 1709.11(C₄=O), 1679.13(C₃-CO-OEt),UV λ_{max} nm(MeOH)(log ε) : 293.5(4.00); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ : 0.904 (3H, *t*, H-2''), 3.518 (2H, *q*, H-1''), 4.699 (2H, *s*, H-5), 5.235 (2H, *s*, H-7), 7.274~7.516 (8H, *m*, H-10, H-11, H-12, H-13, H-2', H-4', H-5', H-6'); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 14.03 (C-2''), 52.42 (C-7), 59.64 (C-1''), 74.88 (C-5), 91.41 (C-3), 124.19 (C-6'), 125.59 (C-2'), 127.39 (C-4'), 127.79 (C-12), 129.35 (C-11), 129.69 (C-10, C-13) 121.02 (C-5'), 132.11 (C-9), 133.15 (C-3'), 133.64 (C-8), 143.11 (C-1'), 161.51 (C-2), 176.92 (C-3''), 191.90 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-chlorobenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**48**)之合成



Formula: C₂₀H₁₇Cl₂NO₄

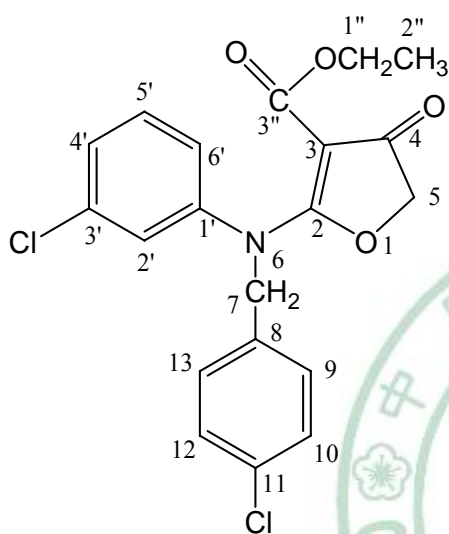
Mol. Wt.: 406.26

HAJ03006

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *m*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **48** (0.83g, 40.9%)，mp : 133.4°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1708.93 (C₄=O), 1676.14 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.076); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.0413 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.786

(2H, *q*, H-1''), 4.63 (2H, *s*, H-5), 5.031 (2H, *s*, H-7), 7.0334~7.317 (8H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.82 (C-2''), 55.07 (C-7), 60.28 (C-1''), 74.23 (C-5), 91.77 (C-3), 123.21 (C6'), 125.22 (C-13), 125.38 (C-2'), 127.46 (C-4'), 127.63 (C-11), 128.22 (C-9), 129.99 (C-12) 130.37 (C-5'), 134.59 (C-10), 134.92 (C-3'), 136.88 (C-8), 142.91 (C-1'), 161.44 (C-2), 176.87 (C-3''), 191.70 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-chlorobenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (49)之合成



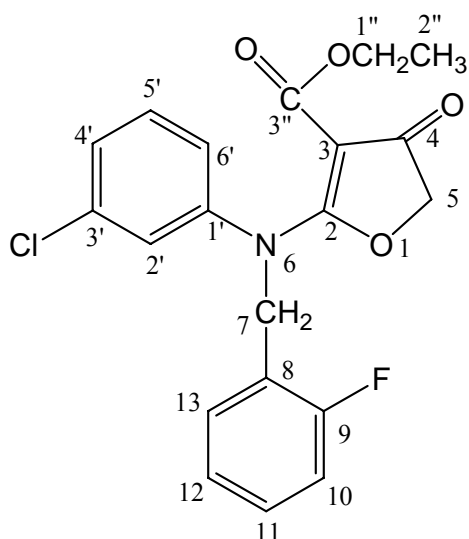
Formula: C₂₀H₁₇Cl₂NO₄

Mol. Wt.: 406.26

HAJ03007

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *p*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **49** (0.93g, 45.8%)，mp: 147.2°C。其光學數據如下： mp: 179.8°C。MS(*m/z*, %) : 404.7(M⁺, 4.96), 406.7 (M⁺+2, 3.59)。IR(KBr disc) cm⁻¹: 1708.84(C₄=O), 1661.25(C₃-CO-OEt), UV λ_{max} nm(MeOH)(log ε) : 294.5(4.169)。¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ : 0.895 (3H, *t*, H-2''), 3.5005 (2H, *q*, H-1''), 4.72 (2H, *s*, H-5), 5.162 (2H, *s*, H-7), 7.274~7.476 (8H, *m*, H-9, H-10, H12, H-13, H-2', H-4', H-5', H-6')。 ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 14.03 (C-2''), 53.66 (C-7), 59.5 (C-1''), 74.83 (C-5), 91.20 (C-3), 124.19 (C6'), 125.49 (C-2'), 127.20 (C-4'), 128.76 (C-9, C-13), 129.82 (C-10, C-12) 131.03 (C-5'), 132.50 (C-11), 133.72 (C-3'), 134.87 (C-8), 143.15 (C-1'), 161.42 (C-2), 177.01 (C-3''), 191.91 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-o*-fluorobenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (50)之合成



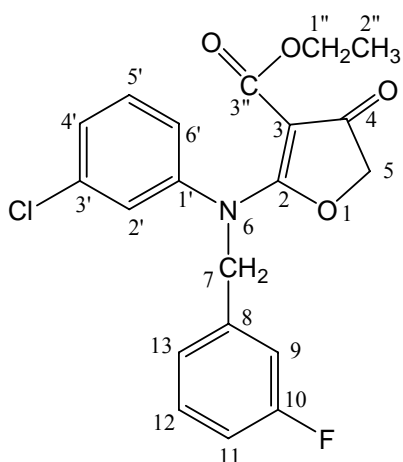
Formula: C₂₀H₁₇ClFNO₄

Mol. Wt.: 389.8

HAJ03008

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *o*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **50** (1.15g, 59%)，mp : 158.8°C。IR (KBr disc) cm⁻¹: 1708.93 (C₄=O), 1680.00 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.136); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ: 0.902 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.495 (2H, *q*, H-1''), 4.720 (2H, *s*, H-5), 5.213 (2H, *s*, H-7), 7.128~7.506 (8H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 14.03 (C-2''), 48.52 (C-7), 59.58 (C-1''), 74.84 (C-5), 91.25 (C-3), 115.37 & 115.79(C-10), 122.54 & 122.82 (C-8), 124.37 (C-6'), 124.95 (C-11), 125.73 (C-2'), 127.40 (C-4'), 130.11 (C-13), 131.01 (C-12), 133.65 (C-3'), 143.08 (C-1'), 157.69 (C-9), 161.47 (C-2), 176.90 (C-3''), 191.84 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-fluorobenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**51**)之合成



Formula: C₂₀H₁₇ClFNO₄

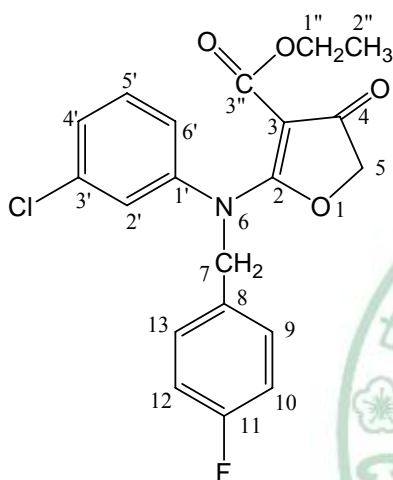
Mol. Wt.: 389.8

HAJ03009

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *m*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **51** (0.65g, 33.4%)，mp : 158.1°C。其光學數據如下： IR (KBr disc) cm⁻¹: 1708.93 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm

(MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.009); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.06 (3H, *t*, H-2''), 3.81 (2H, *q*, H-1''), 4.66 (2H, *s*, H-5), 5.09 (2H, *s*, H-7), 6.92~7.33 (8H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 14.13 (C-2''), 55.45 (C-7), 60.65 (C-1''), 74.57 (C-5), 92.02 (C-3), 114.51 & 114.73 (C-11), 115.24 & 115.45 (C-9), 123.16 & 123.41 (C-13), 123.41 (C-6'), 125.42 (C-2'), 127.91 (C-4'), 130.61 (C-5'), 130.61&130.68 (C-12), 135.21 (C-3'), 137.52 & 137.59 (C-8), 143.22 (C-1'), 161.73 (C-2), 164.20 (C-10), 177.20 (C-3''), 192.05 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-fluorobenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (52)之合成



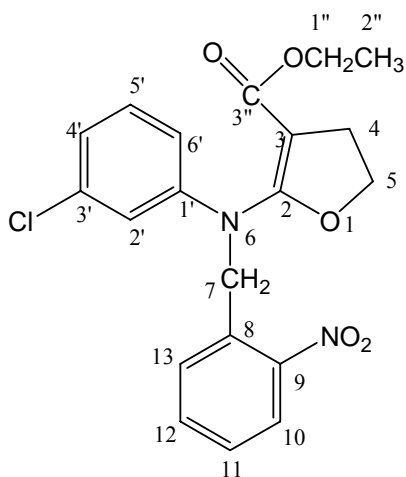
Formula: $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{ClFNO}_4$

Mol. Wt.: 389.8

HAJ03010

取化合物 3 (1.408g, 0.005 mole)和 *p*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 43 的合成法及處理步驟，得黃色產物，為化合物 52 (0.71g, 36.4%)，mp: 158.8°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1708.93 (C=O), 1678.07 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.067); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.897 (3H, *t*, H-2''), 3.501 (2H, *q*, H-1''), 4.729 (2H, *s*, H-5), 5.154 (2H, *s*, H-7), 7.07~7.47 (8H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, DMSO *d*₆) δ : 14.05 (C-2''), 53.57 (C-7), 59.51 (C-1''), 74.82 (C-5), 91.12 (C-3), 115.39 & 115.81 (C-10, C-12), 124.27 (C-6'), 125.56 (C-2'), 127.18 (C-4'), 130.03 (C-9, C-13), 130.20 (C-5'), 131.01& 132.02 (C-8), 133.08 (C-3'), 143.12 (C-1'), 159.64 (C-11), 161.43 (C-2), 176.96 (C-3''), 191.88 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-o*-nitrobenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (53)之合成



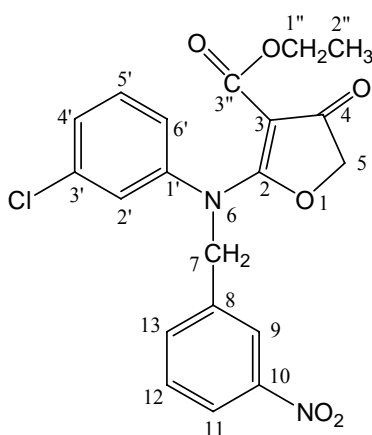
Formula: C₂₀H₁₇ClN₂O₆

Mol. Wt.: 416.81

HAJ03011

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *o*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **53** (0.74.g, 35.5%)，mp : 226.7°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1710.86 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.269); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.04 (3H, *t*, H-2''), 3.81 (2H, *q*, H-1''), 4.55 (2H, *s*, H-5), 5.51 (2H, *s*, H-7), 7.06~7.27 (4H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6'), 7.49~7.69 (3H, *m*, H-11, H-12, H-13), 8.11~8.16 (1H, *dd*, H-10); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 14.09 (C-2''), 53.8 (C-7), 60.68 (C-1''), 74.64 (C-5), 92.64 (C-3), 122.13 (C-10), 124.23 (C-6'), 125.78 (C-2'), 127.65 (C-4'), 127.84 (C-11), 129.01 (C-13), 130.73 (C-5'), 131.88 (C-8), 134.53 (C-12), 135.32 (C-3'), 143.97 (C-1'), 147.46 (C-9), 164.54 (C-2), 177.67 (C-3''), 191.02 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-nitrobenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**54**)之合成



Formula: C₂₀H₁₇ClN₂O₆

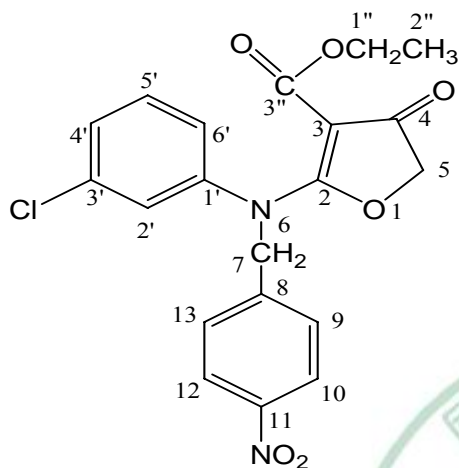
Mol. Wt.: 416.81

HAJ03012

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *m*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **54** (0.51g, 24.5%)，mp : 169°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1720.50 (C₄=O), 1660.71 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.126); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.03 (3H, *t*, H-2''), 3.785 (2H, *q*, H-1''), 4.62

(2H, *s*, H-5), 5.18 (2H, *s*, H-7), 7.02~7.28 (4H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6'), 7.49~7.53 (2H, *m*, H-12, H-13), 8.05~8.16 (2H, *m*, H-9, H-11)。¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 14.07 (C-2''), 55.07 (C-7), 60.65 (C-1''), 74.55 (C-5), 92.14 (C-3), 122.70 (C-11), 123.33 (C-9), 123.42 (C-6'), 125.46 (C-2'), 128.11 (C-4'), 130.09 (C-12), 130.80 (C-5'), 133.52 (C-13), 135.38 (C-8), 137.21 (C-3'), 142.81 (C-1'), 148.49 (C-10), 161.65 (C-2), 177.23 (C-3''), 191.90 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-nitrobenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (55)之合成



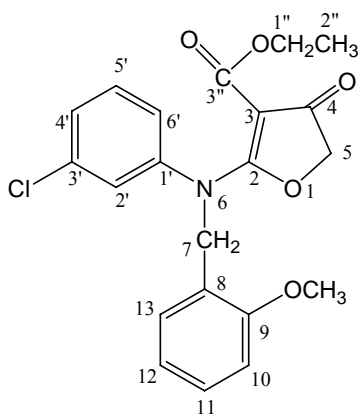
Formula: C₂₀H₁₇ClN₂O₆

Mol. Wt.: 416.81

HAJ03013

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *p*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得棕色產物，為化合物 **55** (0.92g, 44.1%)，mp: 214.9°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1728.22 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (3.710); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 1.07 (3H, *t*, H-2''), 3.835 (2H, *q*, H-1''), 4.66 (2H, *s*, H-5), 5.21 (2H, *s*, H-7), 7.07~7.09 (1H, *d*, H-6'), 7.20 (1H, *s*, H-2'), 7.27~7.31 (2H, *m*, H-4', H-5'), 7.41~7.43 (2H, *d*, H-9, H-13), 8.2~8.22 (2H, *d*, H-10, H-12); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 14.14 (C-2''), 55.22 (C-7), 60.76 (C-1''), 74.62 (C-5), 92.19 (C-3), 123.21 (C-6'), 124.27 (C-10, C-12), 125.25 (C-2'), 128.12 (C-4'), 128.36 (C-9, C-13), 130.85 (C-5'), 135.42 (C-3'), 142.37 (C-1), 142.99 (C-11), 147.77 (C-8), 161.68 (C-2), 177.31 (C-3''), 191.96 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-o*-methoxybenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate(56)之合成



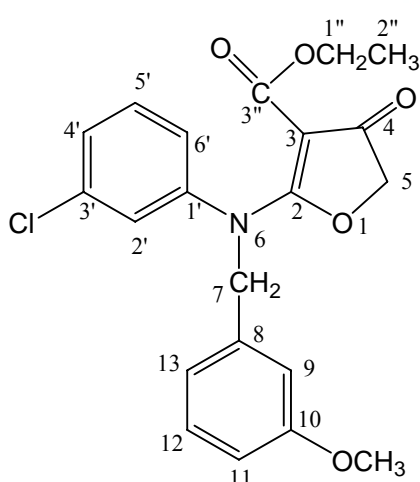
Formula: C₂₁H₂₀ClNO₅

Mol. Wt.: 401.84

HAJ03014

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *o*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **56** (0.95g, 47.3%)，mp : 207.4°C。其光學數據如下： MS (m/z, %): 400.8(M⁺, 4.62), 401.8 (M⁺+1, 1.88); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1725.02 (C₄=O), 1662.71 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH)(log ε): 309 (4.035), 320(4.015); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ : 0.913 (3H, *t*, H-2''), 3.487 (2H, *q*, H-1''), 3.685 (3H, *s*, 9-OCH₃), 4.62 (2H, *s*, H-5), 5.054 (2H, *s*, H-7), 6.889 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.198~7.265 (6H, *m*, H-10, H-11, H12, H-13, H-4', H-5'); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 13.94 (C-2''), 50.57 (9-OCH₃), 55.31 (C-7), 59.54 (C-1''), 74.49 (C-5), 91.25 (C-3), 110.63 (C-10), 120.53 (C-12), 123.25 (C-11), 123.64 (C-6'), 125.25 (C-2'), 127.00 (C-4'), 128.38 (C-13), 129.28 (C-8), 130.44 (C-5'), 133.72 (C-3'), 143.56 (C-1'), 156.76 (C-9), 161.44 (C-2), 176.92 (C-3''), 191.72 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-methoxybenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**57**)之合成



Formula: C₂₁H₂₀ClNO₅

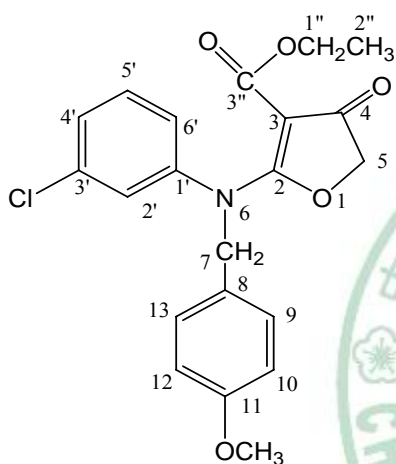
Mol. Wt.: 401.84

HAJ03015

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *m*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **57** (1.12g, 55.7 %)，mp : 137.1°C。其光學數據如下： IR (KBr disc) cm⁻¹: 1718.58 (C₄=O), 1598.99 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm

(MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.035); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 0.895 (3H, *t*, H-2''), 3.495 (2H, *q*, H-1''), 3.686 (3H, *s*, 10-OCH₃), 4.727 (2H, *s*, H-5), 5.143 (2H, *s*, H-7), 6.788 ~ 6.867 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.175 ~ 7.473 (5H, *m*, H-5', H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, DMSO d_6) δ : 14.04 (C-2''), 54.16 (10-OCH₃), 55.21 (C-7), 59.52 (C-1''), 74.85 (C-5), 91.22 (C-3), 113.23 (C-9, C-11), 119.76 (C-13), 123.93 (C-6'), 125.22 (C-2'), 127.01 (C-4'), 129.95 (C-12), 131.01 (C-5'), 133.65 (C-3'), 137.51 (C-8), 143.50 (C-1'), 159.58 (C-10), 161.41 (C-2), 177.08 (C-3''), 191.94 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-methoxybenzyl-(3'-chloro)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (58)之合成



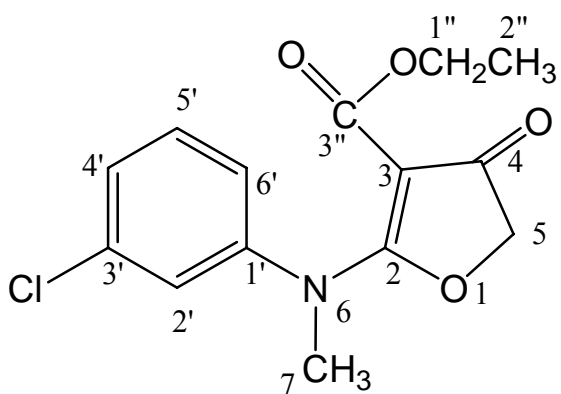
Formula: C₂₁H₂₀ClNO₅

Mol. Wt.: 401.84

HAJ03016

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole)和 *p*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **58** (0.693g, 34.3%)，mp: 120.7°C。其光學數據如下：MS(*m/z*, %): 366.8(M⁺, 3.59); IR(KBr disc) cm⁻¹: 1730.94 (C₄=O), 1662.27 (C₃-CO-OEt); UV λ_{\max} nm(MeOH)($\log \epsilon$): 294.5(4.273); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ : 0.893 (3H, *t*, H-2''), 3.45 (2H, *q*, H-1''), 3.684 (3H, *s*, 11-OCH₃), 4.734 (2H, *s*, H-5), 5.085 (2H, *s*, H-7), 6.812~6.855 (2H, *d*, H-2', H-6'), 7.157~7.438 (6H, *m*, H-9, H-10, H12, H-13, H-4', H-5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, DMSO d_6) δ : 14.04 (C-2''), 53.84 (C-7), 55.22 (11-OCH₃), 59.49 (C-1''), 74.77 (C-5), 90.99 (C-3), 114.13 (C-10, C-12), 124.30 (C-6') 125.56 (C-2'), 127.11 (C-8), 127.54 (C-4'), 129.43 (C-9, C-13), 130.96 (C-5'), 133.64 (C-3'), 143.22 (C-1'), 158.91 (C-11), 161.46 (C-2), 176.85 (C-3''), 191.83 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-methyl-3'-chloroanilino]-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (59)之合成

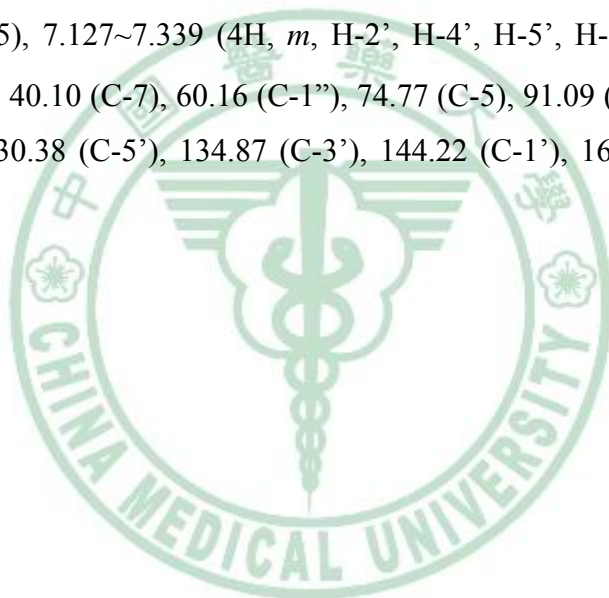


Formula: C₁₄H₁₄ClNO₄

Mol. Wt.: 295.72

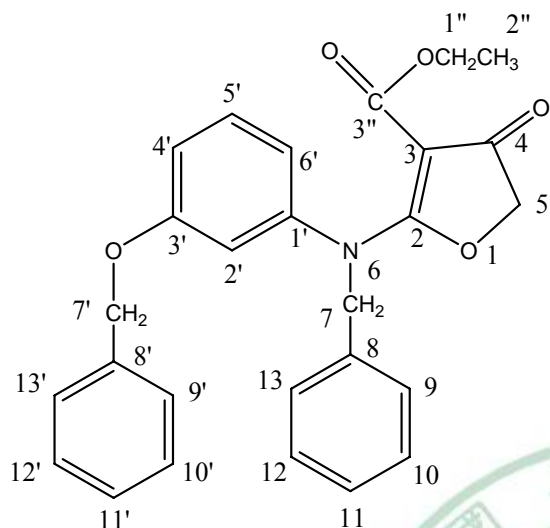
HAJ03021

取化合物 **3** (1.408g, 0.005 mole) 和 Iodomethane (2.129g, 0.015mole) 為原料，比照化合物 **43** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **59** (0.58 g, 39.2%)，mp: 156.4°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1716.65 (C₄=O), 1654.92 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.017); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.10 (3H, *t*, H-2''), 3.512 (3H, *s*, H-7), 3.85 (2H, *q*, H-1''), 4.605 (2H, *s*, H-5), 7.127~7.339 (4H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6'); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.89 (C-2''), 40.10 (C-7), 60.16 (C-1''), 74.77 (C-5), 91.09 (C-3), 122.89 (C-6') 125.04 (C-2'), 127.53 (C-4'), 130.38 (C-5'), 134.87 (C-3'), 144.22 (C-1'), 161.67 (C-2), 177.02 (C-3''), 191.62 (C-4)。



(五) Ethyl 2-[*N*-various benzyl (3'-Substituted benzyloxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (60~73) 之合成

Ethyl 2-[*N*-benzyl-(3'-benzyloxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (60)之合成



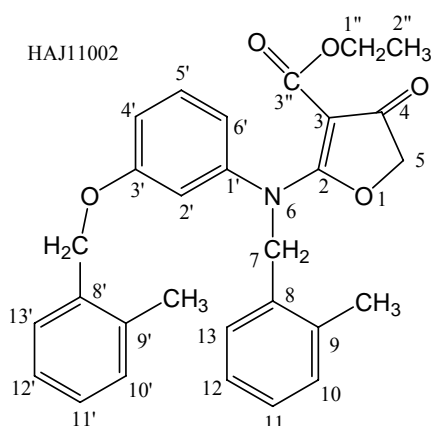
Formula: C₂₇H₂₅NO₅

Mol. Wt.: 443.49

HAJ11001

取化合物 4 (1.316g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中, 加入無水 K₂CO₃ (0.69g, 0.005 mole) 加熱(約 40~50°C)使之溶解, 接著加入 KI (0.83g, 0.005 mole) 及 benzyl chloride (1.89g, 0.015 mole), 反應 0.5~3 小時, 以 TLC 檢查反應之進度, 然後加冰水, 以 CHCl₃ 萃取, 取 CHCl₃ 層, 以無水 MgSO₄ 乾燥脫水, 減壓濃縮, 濃縮液靜置生成結晶, 結晶物以 EtOH 做再結晶, 或無結晶或沉澱物出現時, 以矽膠管柱層析(CHCl₃/EtOH)沖提, 得白色針狀產物, 為化合物 **60** (1.31g, 59.1%), mp: 131.2°C。其光學數據如下: MS (m/z): 443.1 (M⁺); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1737.86 (C₄=O), 1656.85 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293.5 (4.102); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 0.853 (3H, t, J=7.1Hz, H-2''), 3.353 (2H, q, J=7.1 Hz, H-1''), 4.71 (2H, s, H-5), 5.030 (2H, s, H-7), 5.143 (2H, s, H-7'), 6.792~6.881(2H, t, J=7.8Hz, H-4', H-6'), 7.002 (1H, s, H-2'), 7.1763~7.4004 (11H, m, H-5', H-9, H-10, H-11, H-12, H-13, H-9', H-10', H-11', H-12', H-13'); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 13.98 (C-2''), 54.47 (C-7), 59.52 (C-1'), 69.62 (C-7'), 74.65 (C-5), 91.08 (C-3), 112.18 (C-2'), 113.51 (C-4'), 117.68 (C-6'), 127.69 (C-10', C-11, C-12'), 127.92 (C-9, C-13), 128.18 (C-11'), 128.69 (C-10, C-12, C-9', C-13'), 130.25 (C-5'), 136.06 (C-8), 136.79 (C-8'), 143.03 (C-1'), 159.08 (C-3'), 161.69 (C-2), 176.56 (C-3), 191.85 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methylbenzyl-(3'-*o*-methylbenzyloxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (61)之合成



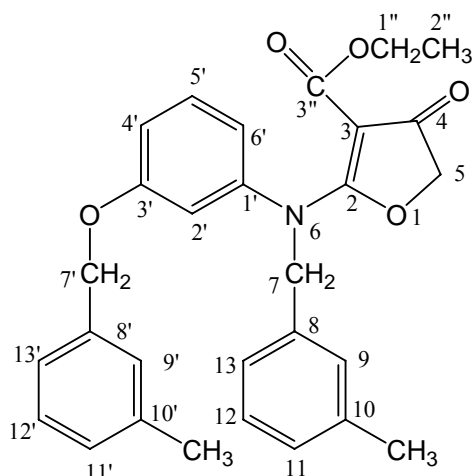
Formula: C₂₉H₂₉NO₅

Mol. Wt.: 471.54

HAJ11002

取化合物 4 (1.316g, 0.005 mole) 和以 *o*-methylbenzyl chloride (2.109g, 0.015 mole) 替代 benzyl chloride 為原料，比照化合物 60 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 61 (1.09g, 46.2%)，mp : 149.0°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1730.15 (C₄=O), 1598.99 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.206); ¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ: 0.991 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 2.189 (3H, *s*, 9-CH₃), 2.293 (3H, *s*, 9'-CH₃), 3.733 (2H, *q*, H-1''), 4.573 (2H, *s*, H-5), 4.894 (2H, *s*, H-7), 5.06 (2H, *s*, H-7'), 6.735~6.862 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.134~7.295 (9H, *m*, H-5', H-10, H-11, H-12, H-13, H-10', H-11', H-12', H-13'); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 14.07 (C-2''), 18.85 & 18.99 (9-CH₃, 9'-CH₃), 53.91 (C-7), 60.34 (C-1''), 68.72 (C-7'), 74.37 (C-5), 92.05 (C-3), 111.36 (C-2'), 113.95 (C-4'), 117.13 (C-6'), 126.02 (C-13'), 126.43 (C-12), 126.56 (C-11), 127.79 (C-13), 128.45 (C-12'), 128.63 (C-11'), 130.17 (C-10'), 130.48 (C-5', C-10), 133.73 (C-9'), 134.07 (C-9), 135.27 (C-8), 136.71 (C-8'), 143.72 (C-1'), 159.54 (C-3'), 162.09 (C-2), 176.94 (C-3''), 192.14 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-methylbenzyl-(3'-(*m*-methylbenzyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (62)之合成



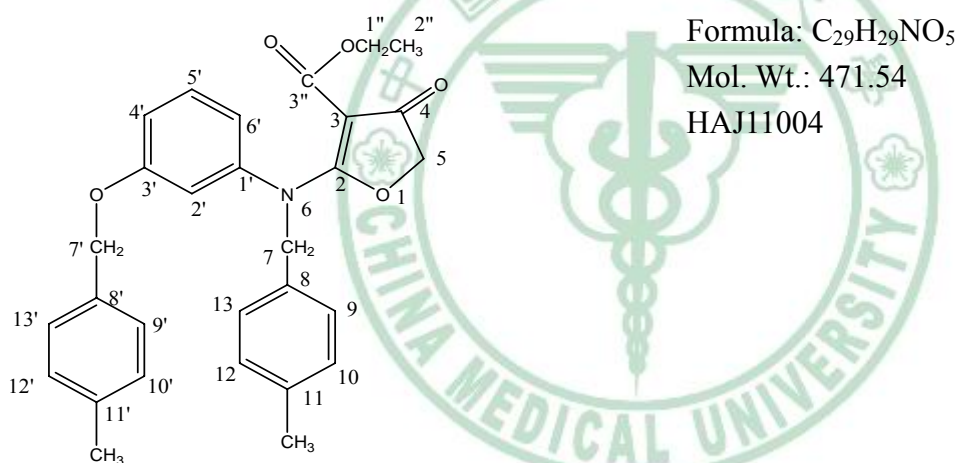
Formula: C₂₉H₂₉NO₅

Mol. Wt.: 471.54

HAJ11003

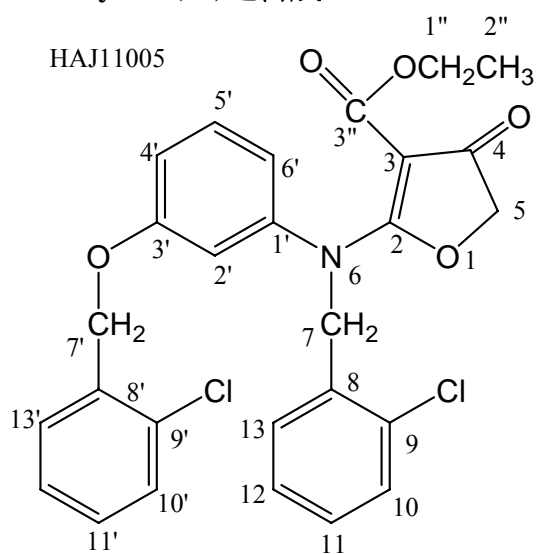
取化合物 4 (1.316g, 0.005 mole) 和 *m*-methylbenzyl chloride (2.109g, 0.015 mole) 為原料，比照化合物 60 的合成法及處理步驟，得白色結晶，為化合物 62 (1.2g, 50.9%)，mp : 118.3°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1716.65 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1660.71 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (3.989); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.09 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 2.317 (3H, *s*, 10-CH₃), 2.366 (3H, *s*, 10'-CH₃), 3.731 (2H, *q*, H-1''), 4.635 (2H, *s*, H-5), 4.935 (2H, *s*, H-7), 5.051 (2H, *s*, H-7'), 6.770~7.304 (12H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H13, H-9', H-11', H-12', '); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.85 (C-2''), 21.19 (10-CH₃, 10'-CH₃), 55.68 (C-7), 60.10 (C-1''), 70.00 (C-7'), 74.11 (C-5), 91.62 (C-3), 111.67 (C-2'), 113.81 (C-4'), 117.33 (C-6'), 124.26 (C-13'), 124.36 (C-13), 127.90 (C-9'), 128.00 (C-11), 128.29 (C-9), 128.51 (C-12', C-12), 128.68 (C-11'), 129.96 (C-5'), 135.19 (C-10), 135.95 (C-10'), 138.12 (C-8'), 138.27 (C-8), 143.17 (C-1'), 159.34 (C-3'), 161.82 (C-2), 176.58 (C-3''), 191.83 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-methylbenzyl-(3'-(*p*-methylbenzyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (63)之合成



取化合物 4 (1.316g, 0.005 mole) 和 *p*-methylbenzyl chloride (2.109g, 0.015 mole) 為原料，比照化合物 60 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 63 (0.87g, 36.9%)，mp : 134.1°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1724.36 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1659.92 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293.5 (4.102); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.01 (3H, *t*, $J=8\text{ Hz}$, H-2''), 2.32 (3H, *s*, 11-CH₃), 2.35 (3H, *s*, 11'-CH₃), 3.71 (2H, *q*, $J=8\text{ Hz}$, H-1''), 4.64 (2H, *s*, H-5), 4.93 (2H, *s*, H-7), 5.03 (2H, *s*, H-7'), 6.76 (1H, *d*, $J=8\text{ Hz}$, H-6'), 6.78 (1H, *s*, H-2'), 6.85 (1H, *s*, H-4'), 7.04~7.11 (4H, *q*, $J=8\text{ Hz}$, H-9, H-10, H-12, H-13), 7.17~7.26 (5H, *m*, H-5', H-9', H-10', H-12', '); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 14.14 (C-2''), 21.20 (11-CH₃), 21.28 (11'-CH₃), 55.77 (C-7), 60.40 (C-1''), 70.09 (C-7'), 74.39 (C-5), 91.76 (C-3), 111.93 (C-2'), 114.14 (C-4'), 117.65 (C-6'), 127.68 (C-9', C-13'), 127.72 (C-9, C-13), 129.35 (C-10, C-12), 129.49 (C-10', C-12'), 130.26 (C-5'), 132.34 (C-11), 133.23 (C-8'), 137.83 (C-11'), 138.00 (C-8), 143.25 (C-1'), 159.56 (C-3'), 162.12 (C-2), 176.76 (C-3''), 192.14 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-chlorobenzyl-(3'-(*o*-chlorobenzoyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (64)之合成



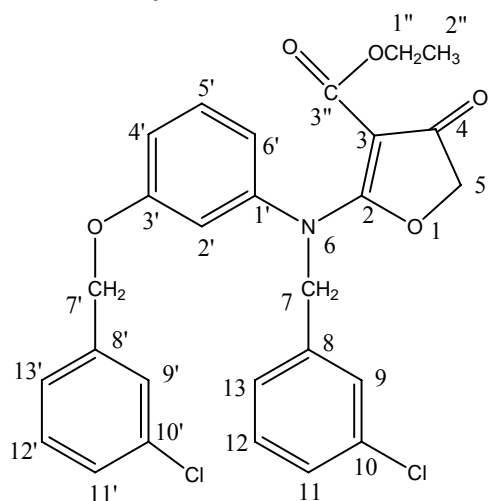
Formula: C₂₇H₂₃Cl₂NO₅

Mol. Wt.: 512.38

HAJ11005

取化合物 **4** (1.316g, 0.005 mole)和 *o*-chlorobenzyl chloride (2.415g, 0.015mole)為原料，比照化合物 **60** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **64** (1.8g, 70.3%)，mp : 144.5°C。其光學數據如下：MS (m/z): 512.0 (M⁺), IR (KBr disc) cm⁻¹: 1714.72 (C₄=O), 1598.99 (C₃-CO-OEt); CDCl₃) δ: 0.979 (3H, *t*, *J*=8 Hz, H-2''), , 3.724 (2H, *q*, *J*=8 Hz, H-1''), 4.602 (2H, *s*, H-5), 4.92 (2H, *s*, H-7), 5.017 (2H, *s*, H-7'), 6.701~6.977 (3H, *d*, *J*=8 Hz, H-2', H-4', H-6'), 7.005~7.343 (9H, *m*, H-5', H-11', H-12', , H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.83 (C-2''), 53.35 (C-7), 60.44 (C-1''), 67.02 (C-7'), 74.19 (C-5), 91.94 (C-3), 111.35 (C-2'), 113.45 (C-4'), 117.04 (C-6'), 126.74 (C-12), 127.09 (C-12'), 127.73 (C-13'), 128.69 (C-11), 128.89 (C-13), 129.00 (C-10'), 129.19 (C-10), 129.51 (C-11), 130.04 (C-5'), 132.43 (C-9', C-9), 132.99 (C-8'), 133.66 (C-8), 143.18 (C-1'), 158.96 (C-3'), 161.68 (C-2), 176.92 (C-3''), 191.89 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-chlorobenzyl-(3'-(*m*-chlorobenzoyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (65)之合成



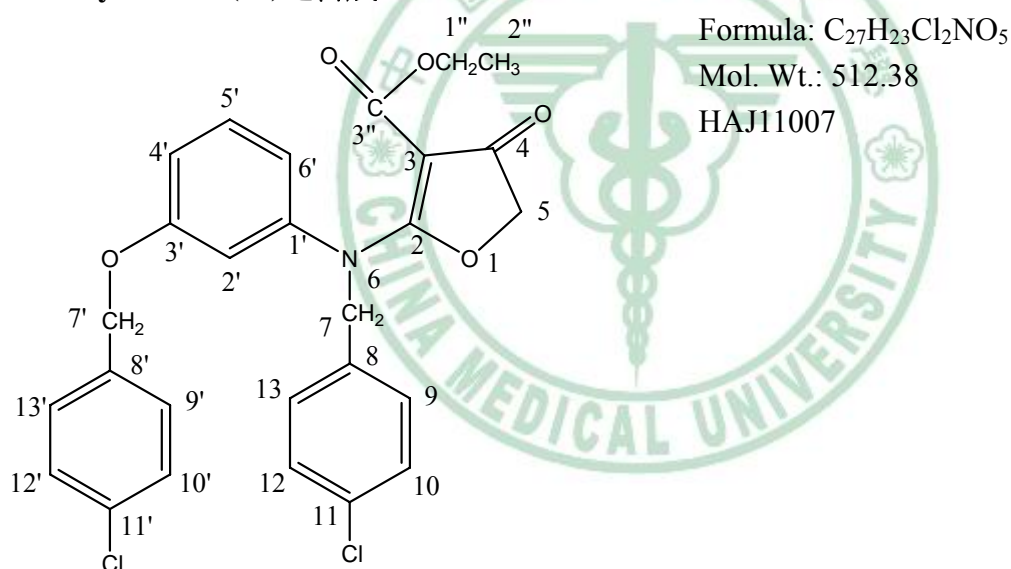
Formula: C₂₇H₂₃Cl₂NO₅

Mol. Wt.: 512.38

HAJ11006

取化合物 **4** (1.316g, 0.005 mole) 和 *m*-chlorobenzyl chloride (2.415g, 0.015mole) 為原料，比照化合物 **60** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **65** (0.48g, 18.7%)，mp : 138°C。其光學數據如下： IR (KBr disc) cm^{-1} : 1716.65 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1598.99 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 295 (4.015); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.0185 (3H, *t*, $J=7.1$ Hz, H-2''), 3.730(2H, *q*, $J=7.1$ Hz, H-1''), 4.6428 (2H, *s*, H-5), 4.9583 (2H, *s*, H-7), 5.0553 (2H, *s*, H-7'), 6.7467~7.3834 (12H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13, H-9', H-11', H-12', '); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.86 (C-2''), 55.03 (C-7), 60.21 (C-1'), 69.07 (C-7'), 74.18 (C-5), 91.77 (C-3), 111.60 (C-2'), 113.94 (C-4'), 117.52 (C-6'), 125.11 (C-13'), 125.41 (C-13), 127.13 (C-9'), 127.50 (C-11), 128.08 (C-9, C-11'), 129.71 (C-12'), 129.90 (C-12), 130.24 (C-5'), 134.33 (C-10'), 134.48 (C-10), 137.19 (C-8'), 138.04 (C-8), 142.90 (C-1'), 159.02 (C-3'), 161.71 (C-2), 176.61 (C-3''), 191.75 (C-4)。

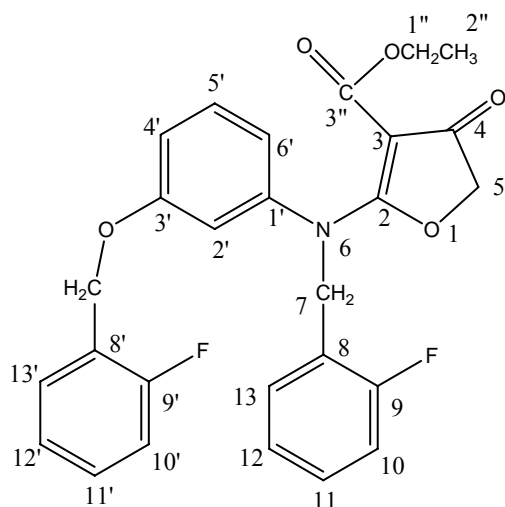
Ethyl 2-[*N*-*p*-chlorobenzyl-(3'-(*p*-chlorobenzyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (66)之合成



取化合物 **4** (1.316g, 0.005 mole) 和 *p*-chlorobenzyl chloride (2.415g, 0.015mole) 為原料，比照化合物 **60** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **66** (0.84g, 32.8%)，mp : 137°C。其光學數據如下： IR (KBr disc) cm^{-1} : 1724.36 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1591.27 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.019); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.0079 (3H, *t*, $J=7.1$ Hz, H-2''), 3.734 (2H, *q*, $J=7.1$ Hz, H-1''), 4.6318 (2H, *s*, H-5), 4.9409 (2H, *s*, H-7), 5.0376 (2H, *s*, H-7'), 6.7138~6.7908 (3H, *m*, H-2', H-4', H-5'), 7.0782~7.328 (9H, *m*, H-6', H-9, H-10, H-12, H-13, H-9', H-10', H-12', '); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.86 (C-2''), 54.96 (C-7), 60.17 (C-1'), 69.13 (C-7'), 74.14 (C-5), 91.63 (C-3), 111.74 (C-2'), 113.94 (C-4'), 117.58 (C-6'), 128.57 (C-9, C-13, C-9', C-13'), 128.76 (C-10, C-12), 128.86 (C-10', C-12') 130.18 (C-5'), 133.59 (C-11), 133.75 (C-8,

C-11'), 134.48 (C-8'), 142.78 (C-1'), 159.05 (C-3'), 161.74 (C-2), 176.57 (C-3''), 191.66 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-fluorobenzyl-(3'-(*o*-fluorobenzyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (67)之合成



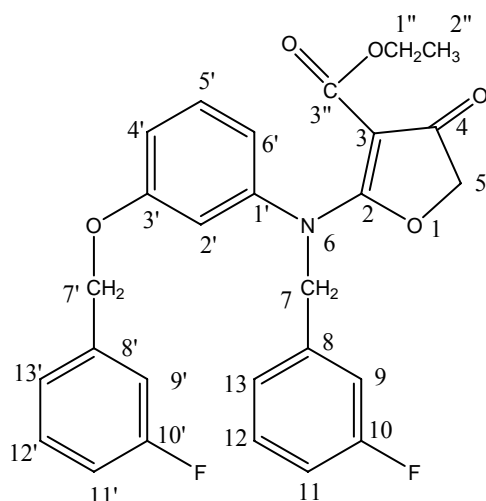
Formula: C₂₇H₂₃F₂NO₅

Mol. Wt.: 479.47

HAJ11008

取化合物 4 (1.316g, 0.005 mole)和 *o*-fluorobenzyl chloride (2.168g, 0.015mole)為原料，比照化合物 60 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 67 (1.3g, 54.2%)，mp : 143.6°C。其光學數據如下： IR (KBr disc) cm⁻¹: 1714.72 (C₄=O), 1610.56 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293.5 (3.953); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.98 (3H, *t*, *J*=7.1 Hz, H-2''), 3.71 (2H, *q*, *J*=7.1 Hz, H-1''), 4.60 (2H, *s*, H-5), 5.00 (2H, *s*, H-7), 5.13 (2H, *s*, H-7'), 6.76~6.86 (3H, *m*, H-2', H-4', H-5'), 6.98~7.41 (9H, *m*, H-6', H-10, H-11, H-12, H-13, H-10', H-11', H-12', '); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.77 (C-2''), 49.34 (C-7), 60.13 (C-1''), 63.56 (C-7'), 74.13 (C-5), 91.73 (C-3), 111.68 (C-2'), 113.69 (C-4'), 114.93 & 115.12 (C-10), 115.35 & 115.54 (C-10'), 117.53 (C-6'), 122.24 & 122.52 (C-8'), 122.99 & 123.28 (C-8), 124.07 (C-12'), 124.20 (C-12), 128.95 (C-13), 129.53 (C-11', C-11), 129.81 (C-13), 130.02 (C-5), 142.81 (C-1'), 157.73 (C-9), 159.01 (C-3') 161.75 (C-2), 162.58 (C-9'), 176.73 (C-3''), 191.79 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-fluorobenzyl-(3'-(*m*-fluorobenzyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (68)之合成



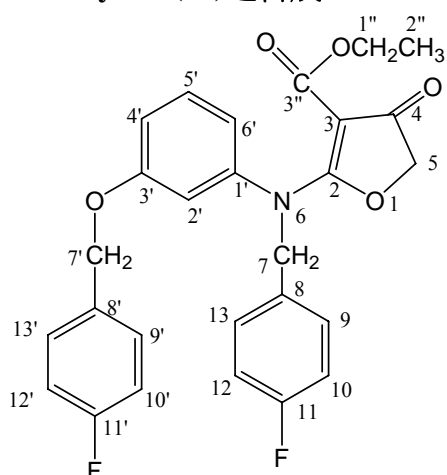
Formula: C₂₇H₂₃F₂NO₅

Mol. Wt.: 479.47

HAJ11009

取化合物 **4** (1.316g, 0.005 mole) 和 *m*-fluorobenzyl chloride (2.168g, 0.015mole) 為原料，比照化合物 **60** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **68** (0.94g, 39.2%)，mp : 160°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1716.65 (C₄=O), 1660.71 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.033); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.014 (3H, *t*, *J*=7.1 Hz, H-2''), 3.746 (2H, *q*, *J*=7.1 Hz, H-1''), 4.638 (2H, *s*, H-5), 4.98 (2H, *s*, H-7), 5.07 (2H, *s*, H-7'), 6.751~7.297 (12H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13, H-9', H-11', H-12', 10'); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.83 (C-2''), 55.10 (C-7), 60.18 (C-1''), 69.06 (C-7'), 74.16 (C-5), 91.73 (C-3), 111.58 (C-2'), 113.71 & 113.90 (C-11), 113.90 & 114.15 (C-11'), 114.58 (C-4', C-9'), 114.99 (C-9), 117.48 (C-6'), 122.49 (C-13), 122.93 (C-13'), 129.90 (C-12), 130.20 (C-5, C-12'), 137.61 & 137.75 (C-8), 138.51 & 138.65 (C-8'), 142.96 (C-1'), 159.02 (C-3'), 160.21 (C-10), 161.71 (C-2), 165.14 (C-10'), 176.64 (C-3''), 191.74 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-(*o*-fluorobenzyl)-(3'-(*o*-fluorobenzoyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**69**)之合成



Formula: C₂₇H₂₃F₂NO₅

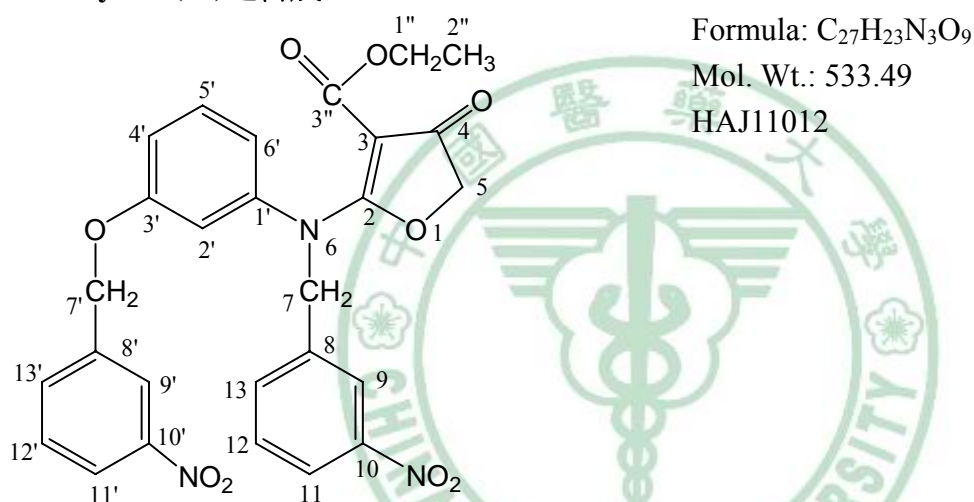
Mol. Wt.: 479.47

HAJ11010

取化合物 **4** (1.316g, 0.005 mole) 和 *p*-fluorobenzyl chloride (2.168g, 0.015mole) 為原料，比照化合物 **60** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **69** (0.37g, 15.4%)，mp : 128.4°C。

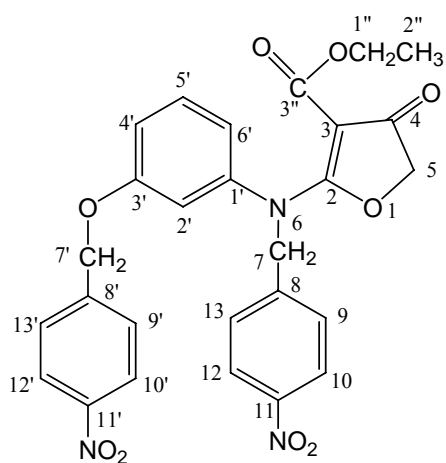
其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1716.65 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1602.85 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (3.993); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.98 (3H, *t*, $J=7.1$ Hz, H-2''), 3.715 (2H, *q*, $J=7.1$ Hz, H-1''), 4.61 (2H, *s*, H-5), 4.90 (2H, *s*, H-7), 5.01 (2H, *s*, H-7'), 6.67~7.35 (12H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13, H-9', H-10', H-12', '); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.82 (C-2''), 54.92 (C-7), 60.13 (C-1''), 69.21 (C-1'), 74.09 (C-5), 91.52 (C-3), 111.83 (C-2'), 113.93 (C-4'), 115.07 & 115.25 (C-10, C-12), 115.50 & 115.68 (C-10', C-12'), 117.65 (C-6'), 129.00 & 129.16 (C-9', C-13'), 129.30 & 129.46 (C-9, C-13), 130.10 (C-5'), 130.76 (C-8'), 131.75 (C-8), 142.66 (C-1'), 159.09 (C-3'), 161.77 (C-2), 164.00 (C-11, C-11'), 176.47 (C-3'), 191.67(C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methylbenzyl-(3'-(*o*-methylbenzyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (70)之合成



取化合物 4 (1.316g, 0.005 mole)和 *m*-nitrobenzyl chloride (2.573g, 0.015mole)為原料，比照化合物 60 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 70 (1.18g, 44.2%)，mp: 115°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1695.43 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1666.50 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293.5 (4.066); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.98 (3H, *t*, $J=7.1$ Hz, H-2''), 3.72 (2H, *q*, $J=7.1$ Hz, H-1''), 4.62 (2H, *s*, H-5), 5.05 (2H, *s*, H-7), 5.18 (2H, *s*, H-7'), 6.78~6.88 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.23~7.27 (1H, *d*, $J=8$ Hz, H-5'), 7.47~7.71 (3H, *m*, H-12, H-13, H-12'), 7.67~7.71 (1H, *d*, H-13'), 8.04~8.22 (4H, *m*, H-9, H-11, H-9', H-11'); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.81 (C-2''), 54.74 (C-7), 60.24 (C-1''), 68.56 (C-7'), 74.24 (C-5), 91.86 (C-3), 111.73 (C-2'), 113.94 (C-4'), 117.79 (C-6'), 121.80 (C-11), 122.44 (C-11'), 122.84 (C-9), 122.92 (C-9'), 129.44 (C-12), 129.71 (C-12'), 130.53 (C-5'), 132.87 (C-13), 133.38 (C-13'), 137.23 (C-8), 138.06 (C-8'), 142.63 (C-1'), 148.15 (C-10, C-10'), 158.84 (C-3'), 161.63(C-2), 176.73 (C-3'), 191.66 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methylbenzyl-(3'-(*o*-methylbenzyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (71)之合成



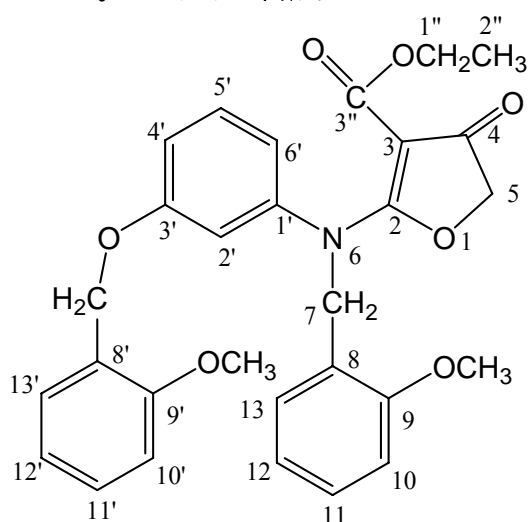
Formula: C₂₇H₂₃N₃O₉

Mol. Wt.: 533.49

HAJ11013

取化合物 **4** (1.316g, 0.005 mole)和 *p*-nitrobenzyl chloride (2.573g, 0.015mole)為原料，比照化合物 **60** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **71** (0.5g, 18.7%)，mp: 189°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1681.93 (C₄=O), 1602.85 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 0.98 (3H, *t*, *J*=7.1 Hz, H-2''), 3.73 (2H, *q*, *J*=7.1 Hz, H-1''), 4.61 (2H, *s*, H-5), 5.06 (2H, *s*, H-7), 5.18 (2H, *s*, H-7'), 6.77~6.86 (3H, *m*, H-2', H-4', H-6'), 7.23~7.27 (1H, *m*, H-5'), 7.36~7.40 (2H, *d*, H-9, H-13), 7.51~7.55 (2H, *d*, H-9', H-13'), 8.12~8.16 (2H, *d*, H-10, H-12), 8.18~8.22 (2H, *d*, H-10', H-12'); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.83 (C-2''), 54.85 (C-7), 60.25 (C-1''), 68.58 (C-7'), 74.25 (C-5), 91.92 (C-3), 111.61 (C-2'), 113.66 (C-4'), 117.56 (C-6'), 123.58 (C-10, C-12), 123.84 (C-10', C-12'), 127.40 (C-9', C-13'), 128.07 (C-9, C-13), 130.50 (C-5'), 142.42 (C-8'), 142.89 (C-8), 143.19 (C-1'), 147.43 (C-11', C-11), 158.81 (C-3'), 161.61 (C-2), 176.82 (C-3''), 191.60 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methylbenzyl-(3'-(*o*-methoxybenzyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**72**)-之合成



Formula: C₂₉H₂₉NO₇

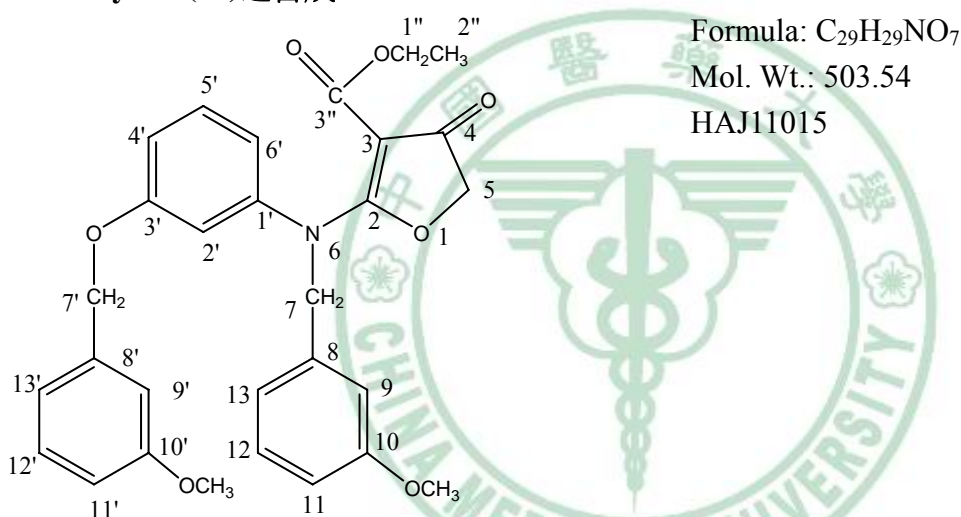
Mol. Wt.: 503.54

HAJ11014

取化合物 **4** (1.316g, 0.005 mole)和 *o*-methoxybenzyl chloride (2.349g, 0.015mole)為原料，比照化合物 **60** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **72** (1.61g, 63.9%)，mp: 148.9°C。

其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1724.36 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1678.07 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.086); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.023 (3H, *t*, $J=7.1$ Hz, H-2''), 3.76 (2H, *q*, $J=7.1$ Hz, H-1''), 3.725 (3H, *s*, 9-OCH₃), 3.837 (3H, *s*, 9'-OCH₃), 4.594 (2H, *s*, H-5), 5.017 (2H, *s*, H-7), 5.114 (2H, *s*, H-7'), 6.811~7.358 (12H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-10, H-11, H-12, H-13, H-10', H-11', H-12', '); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.82 (C-2'), 51.27 (C-7'), 54.98 & 55.12 (9'-OCH₃, 9-OCH₃), 60.08 (C-1''), 64.92 (C-7'), 74.08 (C-5), 91.66 (C-3), 110.07 (C-10', C-10), 111.57 (C-2'), 113.46 (C-4'), 117.02 (C-6'), 120.33 (C-12), 120.44 (C-12'), 123.60 (C-13'), 124.41 (C-6), 127.77 (C-13), 128.52 (C-11'), 128.81 (C-8'), 128.96 (C-3'), 129.64 (C-5'), 143.35 (C-1'), 156.59 (C-9', C-9), 159.35 (C-3'), 161.94 (C-2), 176.81 (C-3''), 191.96 (C-4)。

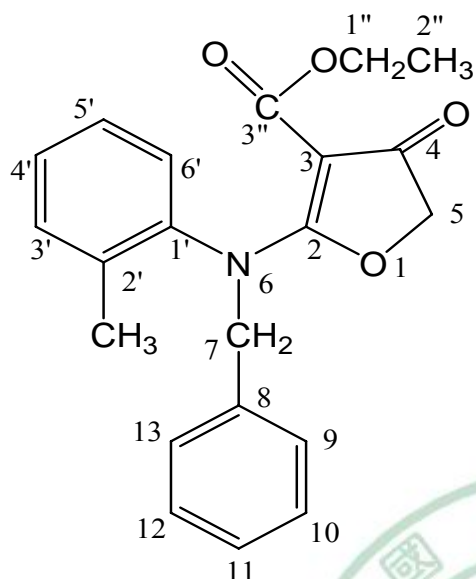
Ethyl 2-[*N*-*o*-methylbenzyl-(3'-(*o*-methylbenzyloxy))]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (73)之合成



取化合物 4 (1.316g, 0.005 mole)和 *m*-methoxybenzyl chloride (2.349g, 0.015mole)為原料，比照化合物 60 的合成法及處理步驟，得微黃色產物，為化合物 73 (0.45g, 17.9 %), mp: 113~114°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1716.65 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1600.92 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 295 (3.967); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.002 (3H, *t*, $J=7.1$ Hz, H-2''), 3.703(2H, *q*, $J=7.1$ Hz, H-1'') 3.739 (3H, *s*, 10-OCH₃), 3.801 (3H, *s*, 10'-OCH₃), 4.6423 (2H, *s*, H-5), 4.949 (2H, *s*, H-7), 5.047 (2H, *s*, H-7'), 6.7379~7.2776 (12H, *m*, H-2', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13, H-9', H-11', H-12', '); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.85 (C-2'), 55.01 (10-OCH₃, 10'-OCH₃), 55.58(C-7), 60.11 (C-1''), 69.78 (C-7'), 74.13 (C-5), 91.65 (C-3), 111.56 (C-2'), 112.63 (C-9), 113.04 (C-9', C-11), 113.42 (C-11'), 113.80 (C-4'), 117.28 (C-6'), 119.38 (C-13', C-13), 129.45 (C-12), 129.64 (C-12'), 130.01 (C-5'), 136.81 (C-8'), 137.62 (C-8), 143.20 (C-1'), 159.24 (C-10), 159.63 (C-3, C-10'), 161.77 (C-2), 176.62 (C-3''), 191.83 (C-4)。

(六) Ethyl 2-[N-Substituted benzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (74~87) 之合成

Ethyl 2-[N-benzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (74)之合成



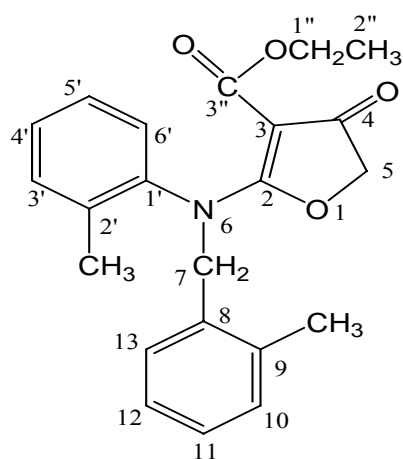
Formula: C₂₁H₂₁NO₄

Mol. Wt.: 351.4

JOT01001

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中，加入無水 K₂CO₃ (0.69g, 0.005mole) 及 KI (0.83g, 0.005mole) 攪拌之，接著加入及 benzyl chloride (0.89g, 0.007 mole)，反應 1~2 小時，以 TLC 檢查反應之進度。然後加冰水 100cc，靜置讓其沉澱析出，用布氏漏斗減壓抽氣過濾沉澱物，以清水洗 1~2 遍，以冰冷乙醇稍微浸泡沉澱物幾秒鐘溶解掉沉澱物表面之可溶性雜質，減壓抽氣移除乙醇，剩餘沉澱物再用乙醇做再結晶，得白色結晶產物，為化合物 **74** (0.64gm, 36.4%)，mp : 104.2°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1718.58 (C₄=O), 1676.14 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 290.5 (3.646); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.959 (3H, *br*, 2''), 2.070 (3H, *s*, 2'-CH₃), 3.6 (2H, *br*, H-1''), 4.629 (3H, *br*, H-7, H-5a), 5.15 (1H, *br*, H-5b), 6.88~6.92 (1H, *d*, H-6'), 7.05~7.26 (8H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-9, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.78 (C-2''), 17.31 (2'-CH₃), 55.42 (C-7), 60.08 (C-1''), 73.93 (C-5), 91.37 (C-3), 126.58 (C-6'), 127.78 (C-4'), 128.04 (C-5'), 128.36 (C-9, C-11, C-13), 128.73 (C-10, C-12), 131.14 (C-3'), 134.38 (C-8'), 135.11 (C-2'), 139.12 (C-1'), 161.94 (C-2), 175.67 (C-3''), 191.51 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-methylbenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (75) 之合成



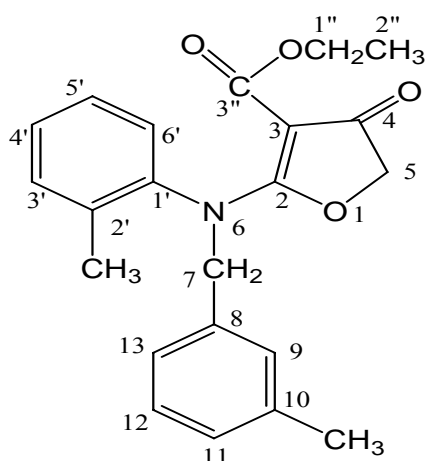
Formula: C₂₂H₂₃NO₄

Mol. Wt.: 365.42

JOT01002

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole) 和 *o*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **75** (0.93g, 50.9%)，mp: 148.1°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1701.22 (C₄=O), 1676.14 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 290.5 (3.680); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 1.028 (3H, *br*, 2''), 2.055 (3H, *s*, 2'-CH₃), 2.169 (3H, *s*, 9-CH₃), 3.6 (2H, *br*, H-1''), 4.625 (2H, *s*, H-7), 4.76 (1H, *d*, H-5a), 5.25 (1H, *br*, H-5b), 6.92 (1H, *d*, H-6'), 7.05~7.266 (7H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-10, H-11, H-12, H-13)。¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 14.07 (C-2''), 17.55 (2'-CH₃), 18.86 (9-CH₃), 57.00 (C-7), 60.44 (C-1''), 74.23 (C-5), 126.32 (C-6'), 126.81 (C-4'), 128.09 (C-5'), 128.22 (C-12), 128.79 (C-11), 128.97 (C-13), 130.57 (C-10), 131.32 (C-3'), 132.99 (C-9), 135.53 (C-2'), 136.46 (C-8), 139.36 (C-1'), 161.04 (C-2), 175.63 (C-3''), 193.00 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-methylbenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (76) 之合成



Formula: C₂₂H₂₃NO₄

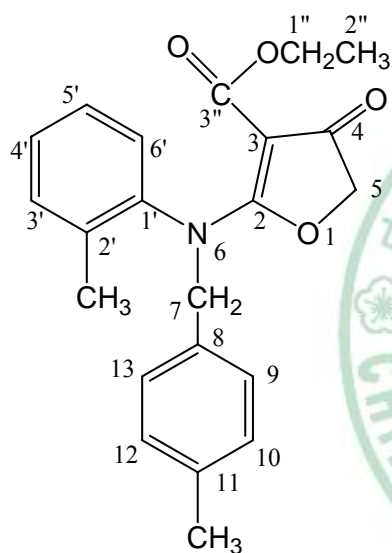
Mol. Wt.: 365.42

JOT01003

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole) 和 *m*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得透明白色產物，為化合物 **76** (0.766g, 41.9%)，mp: 82.2°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 364.9 (M⁺, 2.94), 365.9 (M⁺+2, 0.89); IR (KBr disc) cm⁻¹:

1705.07 (C₄=O), 1678.07 (C₃-CO-OEt); UV λ_{\max} nm (MeOH) (log ϵ): 290.5 (3.646); ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 1.1 (3H, *br*, 2''), 2.13 (3H, *s*, 2'-CH₃), 2.29 (3H, *s*, 10-CH₃), 3.6 (2H, *br*, H-1''), 4.66 (3H, *br*, H-7, H-5a), 5.15 (1H, *br*, H-5b), 6.90~7.27 (1H, *m*, H-6'), 7.05~7.266 (7H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ : 13.78 (C-2''), 17.33 (2'-CH₃), 21.09(10-CH₃), 55.36 (C-7), 60.09 (C-1''), 73.93 (C-5), 91.35 (C-3), 125.69 (C-13), 126.52 (C-6'), 127.81 (C-4'), 128.22 (C-5'), 128.40 (C-11), 128.70 (C-9), 129.32 (C-12), 131.11 (C-3'), 134.32 (C-10), 135.09 (C-2'), 138.04 (C-8), 139.19 (C-1'), 162.00 (C-2), 175.63 (C-3''), 191.53 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*p*-methylbenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (77) 之合成



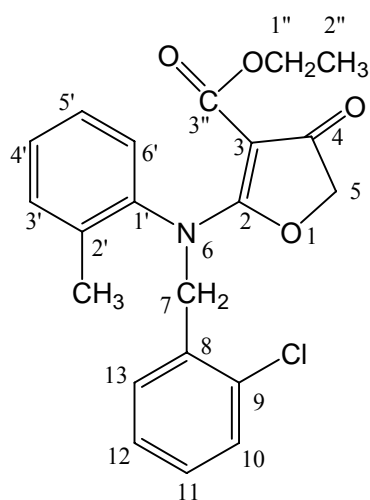
Formula: C₂₂H₂₃NO₄

Mol. Wt.: 365.42

JOT01004

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole) 和 *p*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色針狀產物，為化合物 **77** (09.6g, 52.5%)，mp: 113.3°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1739.79 (C₄=O), 1658.78 (C₃-CO-OEt); UV λ_{\max} nm (MeOH) (log ϵ): 293.5 (3.939); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ : 0.977 (3H, *br*, 2''), 2.093 (3H, *s*, 2'-CH₃), 2.299 (3H, *s*, 11-CH₃), 3.6 (2H, *br*, H-1''), 4.64 (3H, *br*, H-7, H-5a), 5.1 (1H, *br*, H-5b), 6.905~7.266 (8H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ : 13.80 (C-2''), 17.36 (2'-CH₃), 20.90 (11-CH₃), 55.19 (C-7), 60.06 (C-1''), 73.93 (C-5), 91.30 (C-3), 126.57 (C-4'), 127.86 (C-6'), 128.39 (C-5'), 128.75 (C-9, C-13), 129.02 (C-10, C-12), 131.14 (C-3'), 131.35 (C-11), 135.14 (C-2'), 137.85 (C-8), 139.17 (C-1'), 162.01 (C-2), 175.62 (C-3''), 191.56 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-chlorobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (78)之合成



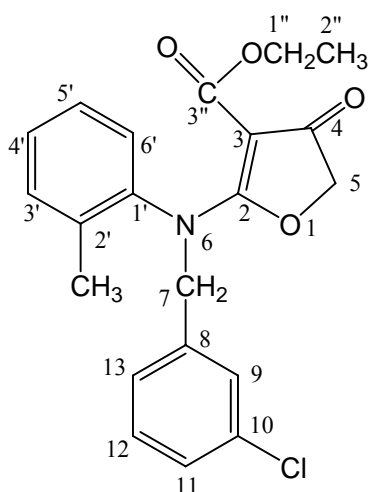
Formula: C₂₁H₂₀ClNO₄

Mol. Wt.: 385.84

JOT01005

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole)和 *o*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **78** (1.21g, 62.7%)，mp: 142.7°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 385.8 (M⁺, 2.42), 387.8 (M⁺+2, 0.88); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1672.28 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 290.5 (3.550); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 1.10 (3H, *br*, 2''), 2.22 (3H, *s*, 2'-CH₃), 3.64 (2H, *br*, H-1''), 4.6 (2H, *br*, H-7), 4.86 (1H, *d*, H-5a), 5.38 (1H, *br*, H-5b), 6.94 (1H, *s*, H-4'), 7.07 (1H, *s*, H-6'), 7.20~7.39 (6H, *m*, H-3', H-5', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 13.99 (C-2''), 17.42 (2'-CH₃), 59.67(C-1''), 74.56 (C-5), 91.15 (C-3), 126.81 (C-6'), 127.63 (C-4'), 128.13 (C-5'), 128.77 (C-12), 129.62 (C-11), 130.03 (C-13), 131.10 (C-10), 131.37 (C-3'), 132.73 (C-9), 133.18 (C-8), 135.62 (C-2'), 138.85 (C-1'), 162.50 (C-2), 175.56 (C-3''), 191.54 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-chlorobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (79)之合成



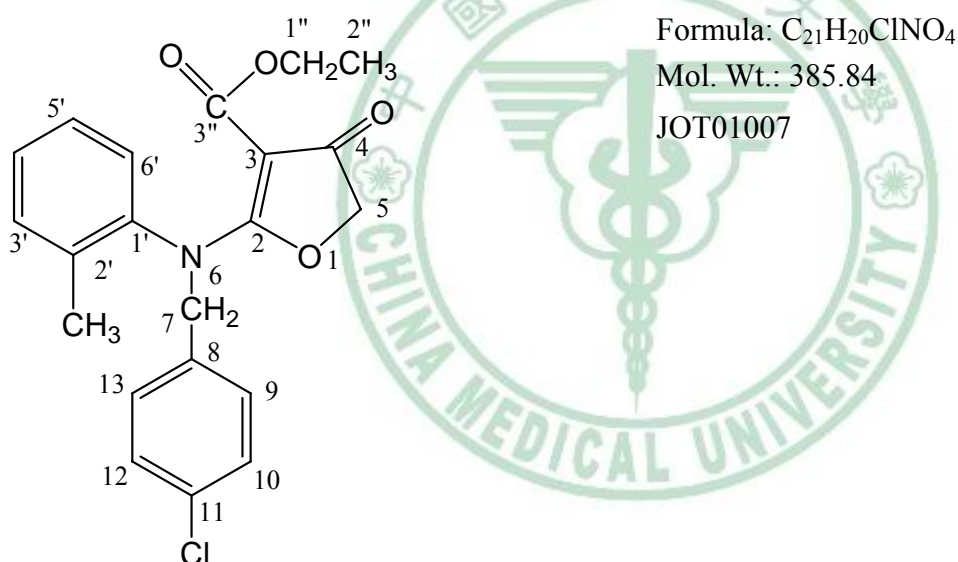
Formula: C₂₁H₂₀ClNO₄

Mol. Wt.: 385.84

JOT01006

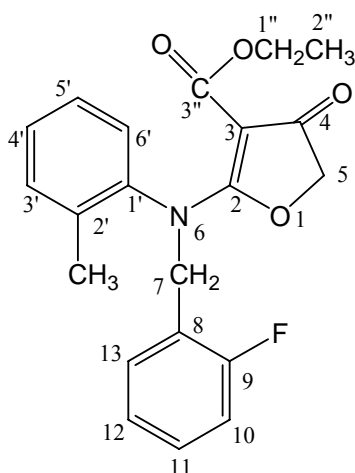
取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole) 和 *m*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **79** (0.93 g, 48.2%)，mp: 80.1°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 385.8 (M⁺, 2.60), 387.8 (M⁺+2, 0.95); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1716.65 (C₄=O), 1680.00 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 290.5 (3.714); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 0.998 (3H, *br*, 2''), 2.132 (3H, *s*, 2'-CH₃), 3.627 (2H, *br*, H-1''), 4.64 (3H, *br*, H-7, H-5a), 5.153 (1H, *br*, H-5b), 6.92~7.26 (8H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 14.01 (C-2''), 17.51 (2'-CH₃), 53.95 (C-7), 59.60 (C-1''), 74.58 (C-5), 91.01 (C-3), 126.95 (C-6'), 127.51 (C-4'), 128.07 (C-5', C-13), 128.66 (C-9, C-11), 130.57 (C-12), 131.49 (C-3'), 133.18 (C-10), 135.35 (C-2'), 138.00 (C-8), 139.25 (C-1'), 161.70 (C-2), 175.59 (C-3''), 191.50 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-chlorobenzyl-(2'-methyl)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**80**)]之合成



取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole) 和 *p*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **80** (0.96 g, 49.8%)，mp: 171.9°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 385.8 (M⁺, 1.59), 387.8 (M⁺+2, 0.58); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1737.86 (C₄=O), 1654.92 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 290.5 (3.733); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 0.990 (3H, *br*, 2''), 2.093 (3H, *s*, 2'-CH₃), 3.6 (2H, *br*, H-1''), 4.620 (3H, *br*, H-7, H-5a), 5.1 (1H, *br*, H-5b), 6.885~7.245 (8H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 14.01 (C-2''), 17.52 (2'-CH₃), 53.91 (C-7), 59.56 (C-1''), 74.53 (C-5), 90.90 (C-3), 126.95 (C-6'), 128.08 (C-4'), 128.63 (C-5', C-10, C-12), 130.81 (C-9, C-13), 131.47 (C-3'), 132.74 (C-11), 134.52 (C-2'), 135.36 (C-8), 139.26 (C-1'), 162.10 (C-2), 175.52 (C-3''), 191.42 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-fluorobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (81)之合成



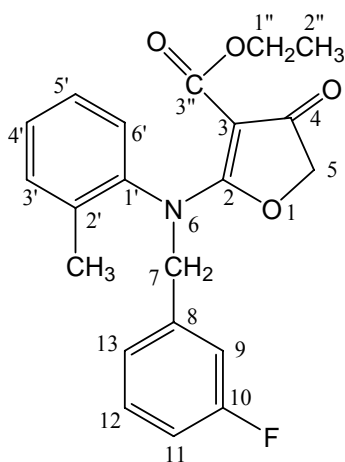
Formula: C₂₁H₂₀FNO₄

Mol. Wt.: 369.39

JOT01008

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole)和 *o*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **81**(1.09g, 59%)，mp: 142.9°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 368.8 (M⁺, 7.1), 370.8 (M⁺+2, 4.15) IR (KBr disc) cm⁻¹: 1710.86 (C₄=O), 1674.21 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 290.5 (3.400); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 1.026 (3H, *br*, 2''), 2.181 (3H, *s*, 2'-CH₃), 3.68 (2H, *br*, H-1''), 4.643 (2H, *br*, H-7), 4.85 (1H, *br*, H-5a), 5.27 (1H, *br*, H-5b), 6.936~7.299 (8H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 13.99 (C-2''), 17.30 (2'-CH₃), 48.00(C-7), 59.62 (C-1''), 74.52 (C-5), 91.05 (C-3), 115.30 & 115.72 (C-10), 122.07&122.36 (C-12), 124.72 (C-11), 126.87 (C-6'), 128.15 (C-4'), 128.70 (C-5'), 130.50 & 130.66 (C-13), 131.32 (C-8), 131.50 (C-3'), 135.48 (C-2'), 138.92 (C-1'), 158.15 (C-9), 163.04 (C-2), 175.44 (C-3''), 191.43 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-fluorobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (82)之合成



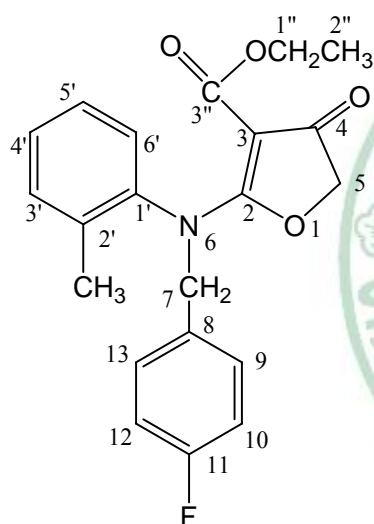
Formula: C₂₁H₂₀FNO₄

Mol. Wt.: 369.39

JOT01009

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole) 和 *m*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色針狀產物，為化合物 **82** (0.56 g, 30.3%)，mp: 152.1°C。其光學數據如下：MS (m/z): 369.39 (M⁺); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1712.19 (C₄=O), 1680.00 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 290.5 (3.605) ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.97 (3H, *br*, 2''), 2.07 (3H, *s*, 2'-CH₃), 3.6 (2H, *br*, H-1''), 4.61 (3H, *br*, H-7, H-5a), 5.12 (1H, *br*, H-5b), 6.86~7.23 (8H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 14.01 (C-2''), 17.53 (2'-CH₃), 53.50 (C-7), 59.57 (C-1''), 74.54 (C-5), 91.05 (C-3), 126.95 (C-6'), 128.08 (C-4'), 128.64 (C-5', C-9, C-11), 130.81 (C-13), 131.47 (C-3'), 132.72 (C-12), 134.53 (C-2'), 135.35 (C-8), 139.25 (C-1'), (C-10), 163.04 (C-2), 175.44 (C-3''), 191.43 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-fluorobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**83**)之合成



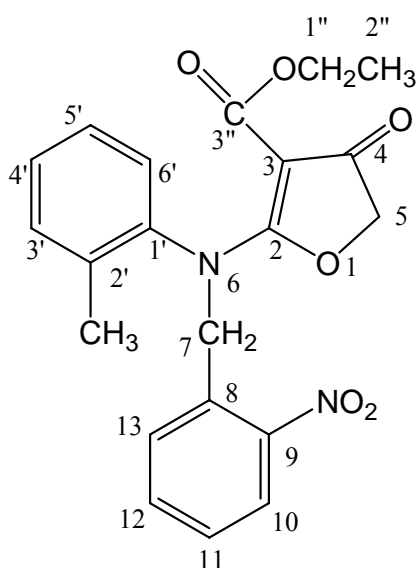
Formula: C₂₁H₂₀FNO₄

Mol. Wt.: 369.39

JOT01010

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole) 和 *p*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色針狀產物，為化合物 **83** (1.28g, 69.3%)，mp: 131.8°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 368.8 (M⁺, 4.11), 369.8 (M⁺+1, 1.38); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1737.86 (C₄=O), 1658.78 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 290.5 (3.647); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.992 (3H, *br*, 2''), 2.08 (3H, *s*, 2'-CH₃), 3.65 (2H, *br*, H-1''), 4.64 (3H, *br*, H-7, H-5a), 5.2 (1H, *br*, H-5b), 6.88~7.26 (8H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.82 (C-2''), 17.32 (2'-CH₃), 54.59 (C-7), 60.14 (C-1''), 73.95 (C-5), 91.40 (C-3), 115.11 & 115.53 (C-10, C-12), 126.67 (C-6'), 127.80 (C-4'), 128.54 (C-5'), 130.24 (C-3'), 130.67 & 130.84 (C-9, C-13), 131.24 (C-8), 135.15 (C-2'), 138.84 (C-1'), 159.90 & 161.87 (C-11), 164.82 (C-2), 175.67 (C-3''), 191.49 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-nitrobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (84)之合成



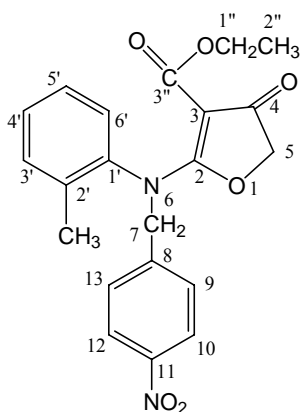
Formula: C₂₁H₂₀N₂O₆

Mol. Wt.: 396.39

JOT01011

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole)和 *o*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **84**(1.31.g, 66.1%)，mp: 154.6°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1678.07 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 291.5 (3.688); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.95 (3H, *br*, 2''), 2.19 (3H, *s*, 2'-CH₃), 3.61 (2H, *br*, H-1''), 4.51 (2H, *br*, H-7), 5.02 (1H, *d*, H-5a), 5.6 (1H, *br*, H-5b), 6.93~7.23 (4H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.39~7.65 (3H, *m*, H-11, H-12, H-13), 7.91~7.96 (1H, *dd*, H-10); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.75 (C-2''), 17.52 (2'-CH₃), 52.12 (C-7), 60.16 (C-1''), 74.08 (C-5), 91.86 (C-3), 124.97 (C-10), 126.82 (C-6', C-11), 128.69 (C-4'), 128.78 (C-13), 129.49 (C-5'), 130.44 (C-12), 131.53 (C-3'), 133.36 (C-8), 134.85 (C-2'), 139.64 (C-1'), 148.13 (C-9), 161.74 (C-2), 176.34 (C-3''), 191.59 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*p*-nitrobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (85)之合成



Formula: C₂₁H₂₀N₂O₆

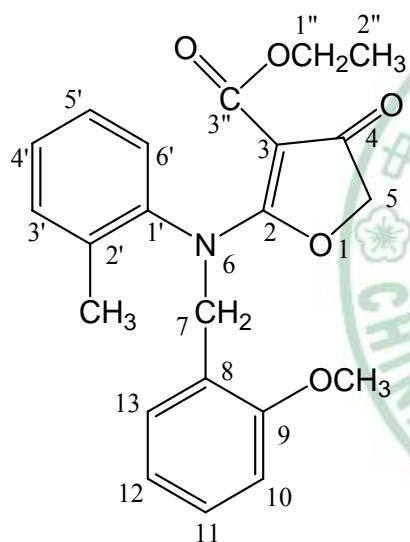
Mol. Wt.: 396.39

JOT01013

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole)和 *p*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化

化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **85** (1.21g, 61.1%)，mp : 153.3°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1708.93 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1683.86 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 291.5 (3.937); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.96 (3H, *br*, 2''), 2.10 (3H, *s*, 2'- CH_3), 3.63 (2H, *br*, H-1''), 4.58 (2H, *br*, H-7), 4.75 (1H, *d*, H-5a), 5.3 (1H, *br*, H-5b), 6.87~6.91 (1H, *d*, H-6'), 7.05~7.23 (3H, *m*, H-3', H-4', H-5'), 7.28~7.33 (2H, *d*, H-9, H-13), 8.05~8.11 (2H, *d*, H-10, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 14.04 (C-2''), 17.67 (2'- CH_3), 54.80 (C-7), 60.45 (C-1''), 74.30 (C-5), 91.80 (C-3), 123.81 (C-10, C-12), 127.12 (C-6'), 127.59 (C-4'), 129.01 (C-5'), 129.74 (C-9, C-13), 131.73 (C-3'), 135.14 (C-2'), 139.20 (C-1'), 142.01 (C-11), 147.71 (C-8), 161.99 (C-2), 176.22 (C-3''), 191.76 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methoxybenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**86**)之合成



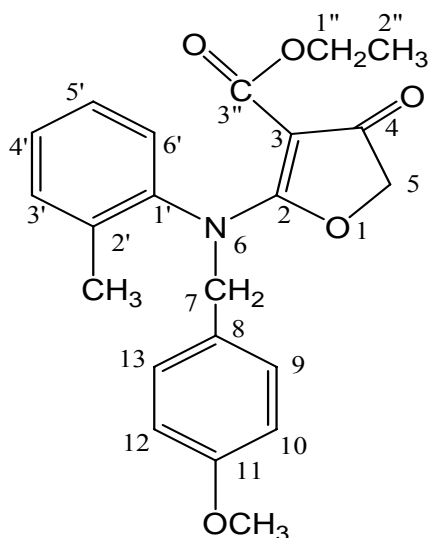
Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NO}_5$

Mol. Wt.: 381.42

JOT01014

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole)和 *o*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **86** (0.71g, 37.2%)，mp : 152.5°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1724.36 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1664.57 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 289 (3.603); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.92 (3H, *br*, 2''), 2.11 (3H, *s*, 2'- CH_3), 3.51 (5H, *br*, 9-O CH_3 , H-1''), 4.57 (2H, *br*, H-7), 4.75 (1H, *d*, H-5a), 5.15 (1H, *br*, H-5b), 6.70 (1H, *d*, H-6'), 6.77~7.23 (7H, *m*, H-3', H-4', H-5', H-10, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 14.04 (C-2''), 17.51 (2'- CH_3), 49.71 (9-O CH_3), 55.07 (C-7), 60.26 (C-1''), 74.14 (C-5), 91.62 (C-3), 110.31 (C-10), 120.42 (C-12), 122.94 (C-11), 126.38 (C-6'), 127.93 (C-4'), 128.41 (C-5'), 129.61 (C-13), 130.11 (C-8), 130.97 (C-3'), 135.46 (C-2'), 139.49 (C-1'), 157.47 (C-9), 162.22 (C-2), 176.14 (C-3''), 191.85 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-*p*-methoxybenzyl -(2'-methyl)]anilino-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (87)
之合成



Formula: C₂₂H₂₃NO₅

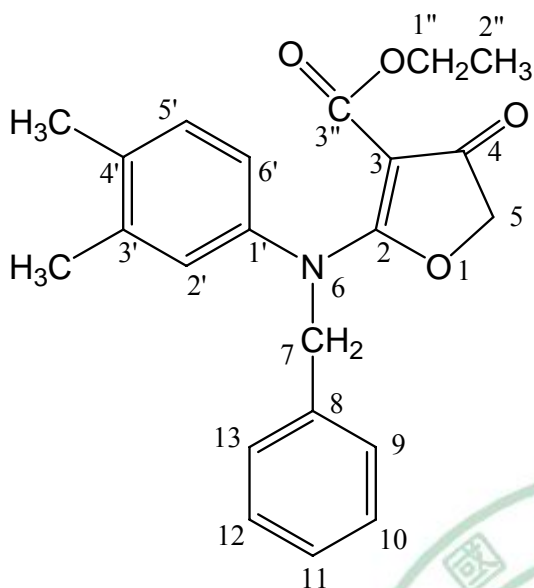
Mol. Wt.: 381.42

JOT01016

取化合物 **5** (1.306g, 0.005 mole)和 *p*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **74** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **87** (0.61g, 32.0%)，mp: 118.8°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1720.50 (C₄=O), 1654.92 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 290 (3.568); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.92 (3H, *br*, 2''), 2.02 (3H, *s*, 2'-CH₃), 3.55 (2H, *br*, H-1''), 3.70 (3H, *s*, 11-OCH₃), 4.6 (3H, *br*, H-7, H-5a), 5.06 (1H, *br*, H-5b), 6.695 (2H, *d*, H-10, H-12), 6.725 (1H, *d*, H-6'), 6.74 (2H, *d*, H-9, H-13), 7.05~7.17 (3H, *m*, H-3', H-4', H-5'); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 14.03 (C-2''), 17.55 (2'-CH₃), 55.20 (C-7, 11-OCH₃), 60.26 (C-1''), 74.14 (C-5), 91.45 (C-3), 113.86 (C-10, C-12), 126.58 (C-8), 126.79 (C-6'), 128.16 (C-4'), 128.62 (C-5'), 130.55 (C-9, C-13), 131.35 (C-3'), 135.42 (C-2'), 139.17 (C-1'), 159.51 (C-11), 162.30 (C-2), 175.72 (C-3''), 191.73 (C-4)。

(七) Ethyl 2-[*N*-various benzyl-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (88~103) 之合成

Ethyl 2-[*N*-benzyl-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (88)之合成



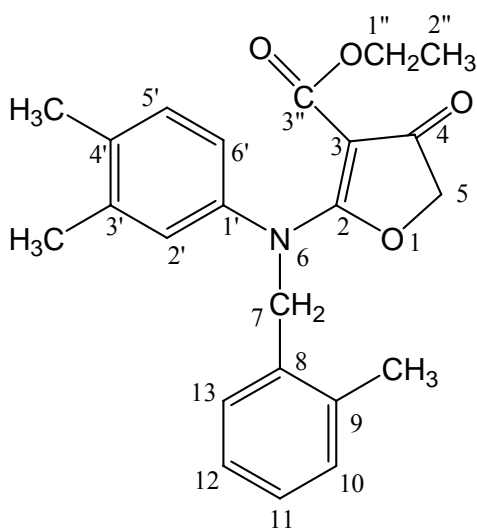
Formula: C₂₂H₂₃NO₄

Mol. Wt.: 365.42

JOT34001

取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中, 加入無水 K₂CO₃ (0.69g, 0.005mole) 及 KI (0.83g, 0.005mole) 攪拌之, 接著加入及 benzyl chloride (0.886g, 0.007 mole), 反應 1~2 小時, 以 TLC 檢查反應之進度。然後加冰水 100cc, 靜置讓其沉澱析出, 用布氏漏斗減壓抽氣過濾沉澱物, 以清水洗 1~2 遍, 以冰冷乙醇稍微浸泡沉澱物幾秒鐘溶解掉沉澱物表面之可溶性雜質, 減壓抽氣移除乙醇, 剩餘沉澱物再用乙醇做再結晶, 得淡黃色結晶產物, 為化合物 **88** (0.8gm, 43.8%), mp: 127.4°C。其光學數據如下: IR (KBr disc) cm⁻¹: 1710.86 (C₄=O), 1678.07 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.001); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 0.983 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.187 (3H, *s*, 4'-CH₃), 2.207 (3H, *s*, 3'-CH₃), 3.69 (2H, *q*, H-1''), 4.614 (2H, *s*, H-5), 5.062 (2H, *s*, H-7), 6.863~6.917 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.056~7.095 (1H, *d*, H-5'), 7.168~7.336 (5H, *m*, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃-*d*₆) δ: 13.74 (C-2''), 19.11 & 19.55 (3'-CH₃, 4'-CH₃), 55.86 (C-7), 60.04 (C-1''), 74.06 (C-5), 91.26 (C-3), 122.42 (C-6'), 126.03 (C-2''), 127.44 (C-9, C-13), 127.72 (C-11), 128.49 (C-10, C-12), 130.26 (C-5'), 135.29 (C-8), 136.04 (C-4'), 137.70 (C-3'), 139.48 (C-1'), 161.92 (C-2), 176.47 (C-3''), 191.69 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methyl-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (89)之合成



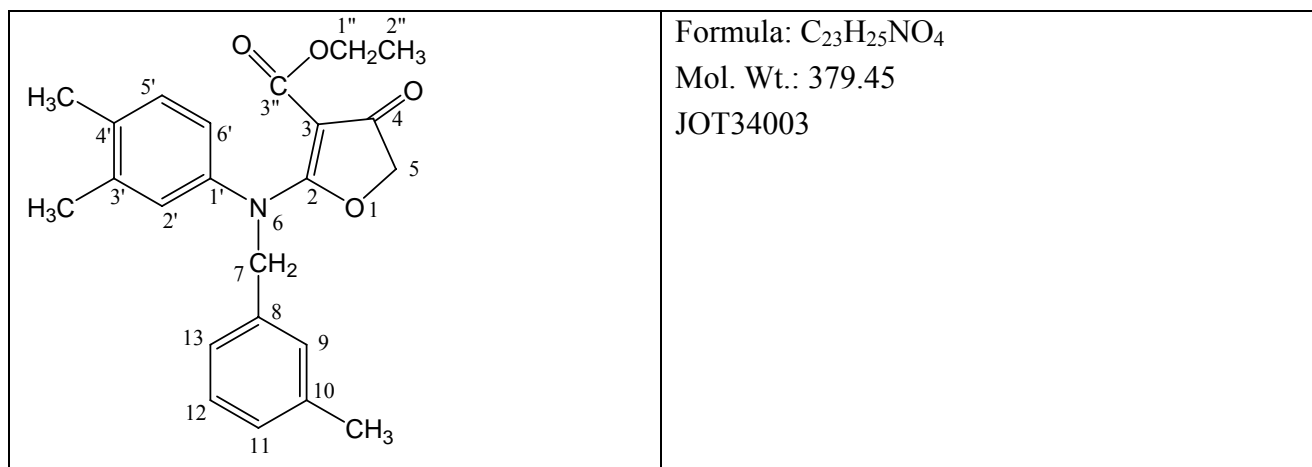
Formula: C₂₃H₂₅NO₄

Mol. Wt.: 379.45

JOT34002

取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole) 和 *o*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **89** (1.41g, 74.3%)，mp: 131.8°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1662.64 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.114); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 0.993 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.184 (3H, *s*, 4'-CH₃), 2.205 (3H, *s*, 3'-CH₃), 2.212 (3H, *s*, 9-CH₃), 3.715 (2H, *q*, H-1''), 4.58 (2H, *s*, H-5), 5.069 (2H, *s*, H-7), 6.874~6.943 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.038~7.078 (1H, *d*, H-5'), 7.143~7.294 (4H, *m*, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃-d₆) δ: 13.71 (C-2''), 18.74 (9-CH₃), 19.05 & 19.49 (3'-CH₃, 4'-CH₃), 53.77 (C-7), 60.02 (C-1''), 74.09 (C-5), 91.49 (C-3), 122.02 (C-6'), 125.64 (C-2'), 126.23 (C-12), 126.34 (C-11), 127.45 (C-13), 130.23 (C-5', C-10), 133.57 (C-9), 135.06 (C-8), 135.93 (C-4'), 137.60 (C-3'), 139.92 (C-1'), 161.94 (C-2), 176.67 (C-3''), 191.73 (C-4)。

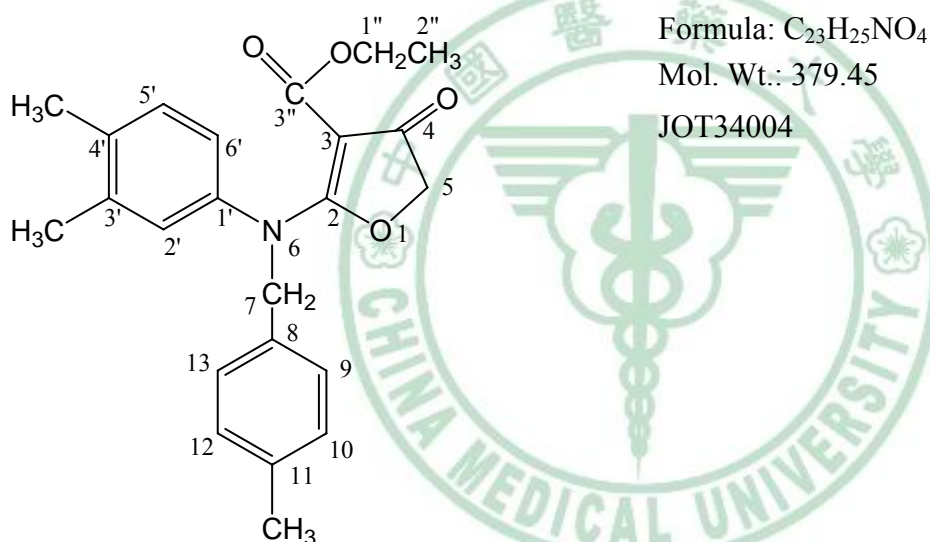
Ethyl 2-[*N*-*m*-methyl-(3',4'-dimethyl)anilino]-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**90**)之合成



取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **90** (0.31g, 16.3%)，mp: 153.4°C。

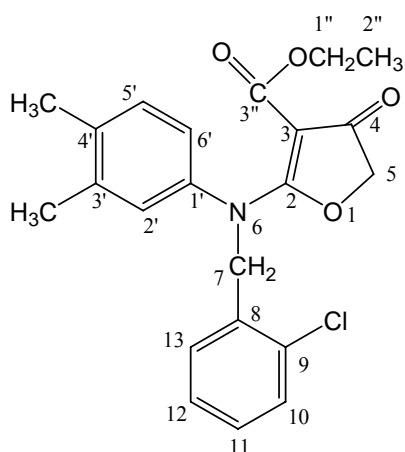
其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1712.79 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1676.14 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 291.8 (4.138); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.993 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.196 (3H, *s*, 4'- CH_3), 2.214 (3H, *s*, 3'- CH_3), 2.315 (3H, *s*, 10- CH_3), 3.695 (2H, *q*, H-1''), 4.617 (2H, *s*, H-5), 5.035 (2H, *s*, H-7), 6.874 ~ 6.928 (3H, *m*, H-2', H-5', H-6'), 7.0025 (1H, *s*, H-9), 7.062~7.1026 (2H, *d*, H-11, H-13), 7.160~7.266 (1H, *t*, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.73 (C-2''), 19.09 & 19.54 (3'- CH_3 , 4'- CH_3), 21.20 (10- CH_3), 55.28 (C-7), 60.03 (C-1''), 74.07 (C-5), 91.31 (C-3), 122.35 (C-6'), 124.32 (C-13), 125.97 (C-2'), 127.96 (C-11), 128.40 (C-9, C-12), 130.23 (C-5'), 135.31 (C-10), 135.96 (C-4'), 137.65 (C-3'), 138.21 (C-8), 139.64 (C-1'), 161.93 (C-2), 176.49 (C-3''), 191.72 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-methyl-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (91)之合成



取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole)為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **91** (0.56g, 29.5%)，mp: 139°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1710.86 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1676.14 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.174); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.991 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.195 (3H, *s*, 4'- CH_3), 2.214 (3H, *s*, 3'- CH_3), 2.322 (3H, *s*, 11- CH_3), 3.695 (2H, *q*, H-1''), 4.618 (2H, *s*, H-5), 5.021 (2H, *s*, H-7), 6.859 ~ 6.921 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.038~7.135 (5H, *m*, H-5', H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.73 (C-2''), 19.10 & 19.54 (3'- CH_3 , 4'- CH_3), 20.88 (11- CH_3), 55.66 (C-7), 60.02 (C-1''), 74.04 (C-5), 91.21 (C-3), 122.49 (C-6'), 126.09 (C-2'), 127.46 (C-9, C-13), 129.14 (C-10, C-12), 130.23 (C-5'), 132.22 (C-11), 135.97 (C-4'), 137.47 (C-8), 137.65 (C-3'), 139.50 (C-1'), 161.93 (C-2), 176.44 (C-3''), 191.67 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-chlorol-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (92)之合成



Formula: C₂₂H₂₂ClNO₄

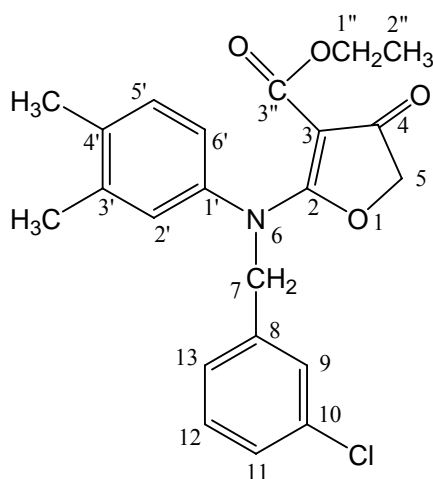
Mol. Wt.:399.87

JOT34005

取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **92** (0.92g, 46%)，mp：163.6°C。

其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1714.72 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.119); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.011 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.192 (3H, *s*, 4'-CH₃), 2.201 (3H, *s*, 3'-CH₃), 3.735 (2H, *q*, H-1''), 4.590 (2H, *s*, H-5), 5.191 (2H, *s*, H-7), 6.911~6.977 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.049~7.089 (1H, *d*, H-5'), 7.221~7.384 (4H, *m*, H-10, H-11, H-12, H-13), ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.74 (C-2''), 19.08 & 19.55 (3'-CH₃, 4'-CH₃), 53.54 (C-7), 60.11 (C-1''), 74.19 (C-5), 91.64 (C-3), 121.74 (C-6'), 125.38 (C-2'), 127.03 (C-12), 127.73 (C-11), 128.78 (C-13), 129.49 (C-10), 130.25 (C-5'), 132.44 (C-9), 133.19 (C-8), 136.02 (C-4'), 137.73 (C-3'), 139.64 (C-1'), 161.84 (C-2), 176.87 (C-3''), 191.84(C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-chlorol-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (93)之合成



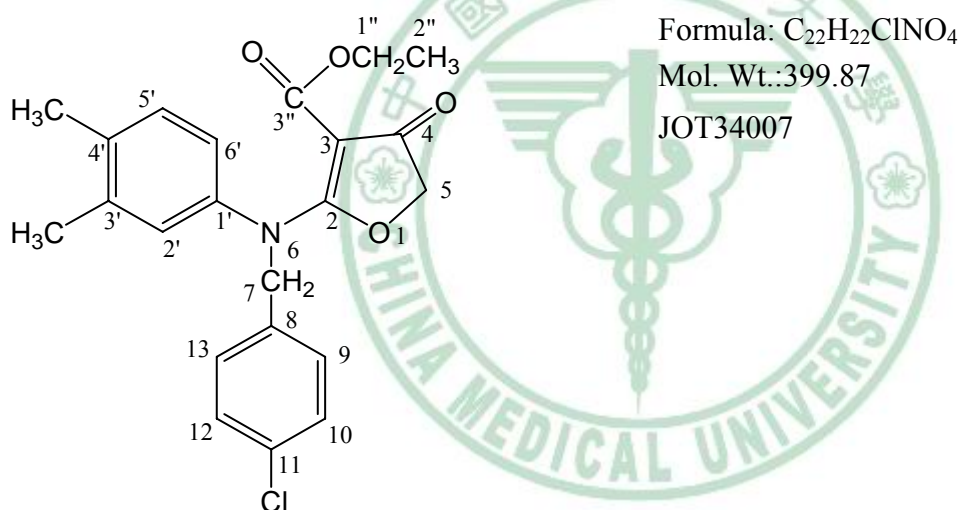
Formula: C₂₂H₂₂ClNO₄

Mol. Wt.:399.87

JOT34006

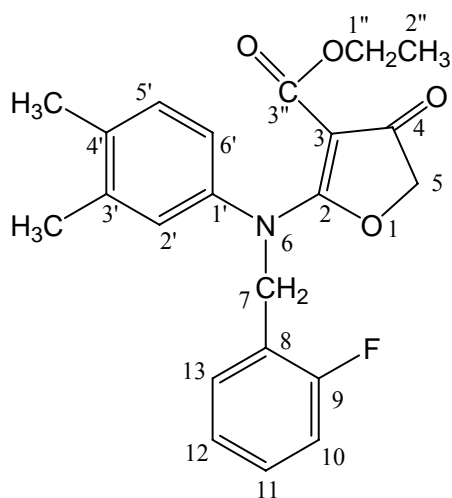
取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **93** (1.41g, 70.5%)，mp: 158.5°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1710.86 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1678.07 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.052); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.005 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.204 (3H, *s*, 4'- CH_3), 2.220 (3H, *s*, 3'- CH_3), 3.72 (2H, *q*, H-1''), 4.614 (2H, *s*, H-5), 5.042 (2H, *s*, H-7), 6.863~6.915 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.060 (1H, *s*, H-5'), 7.076~7.11 (1H, *m*, H-13), 7.196~7.265 (3H, *m*, H-9, H-11, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.72(C-2''), 19.08 & 19.53 (3'- CH_3 , 4'- CH_3), 55.22 (C-7), 60.09 (C-1''), 74.09 (C-5), 91.43 (C-3), 122.34 (C-6'), 125.53 (C-13), 125.97 (C-2'), 127.61 (C-11), 127.96 (C-9), 129.79 (C-12), 130.36 (C-5'), 134.39 (C-10), 136.23 (C-4'), 137.40 (C-3'), 137.86 (C-8), 139.27 (C-1'), 161.84 (C-2), 176.52 (C-3''), 191.63 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-chlorol-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**94**)之合成



取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole) 和 *p*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **94** (1.38g, 69.0%)，mp: 139.9°C。其光學數據如下：MS (m/z , %): 398.9 (M^+ , 3.14), 400.9 (M^++2 , 1.17); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1710.86 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1680.00 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.158); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.988 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.186 (3H, *s*, 4'- CH_3), 2.204 (3H, *s*, 3'- CH_3), 3.70 (2H, *q*, H-1''), 4.597 (2H, *s*, H-5), 5.0205 (2H, *s*, H-7), 6.828~6.84 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.054 (1H, *s*, H-5'), 7.090~7.132 (2H, *d*, H-9, H-13), 7.228~7.280 (2H, *d*, H-10, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.73 (C-2''), 19.06 & 19.52 (3'- CH_3 , 4'- CH_3), 55.13 (C-7), 60.04 (C-1''), 74.04 (C-5), 91.30 (C-3), 122.45 (C-6'), 126.06 (C-2'), 128.65 (C-9, C-13), 129.00 (C-10, C-12), 130.33 (C-5'), 133.65 (C-11), 133.78 (C-8), 136.20 (C-4'), 137.81 (C-3'), 139.15 (C-1'), 161.85 (C-2), 176.45 (C-3''), 191.57 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-fluorol-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (95)之合成



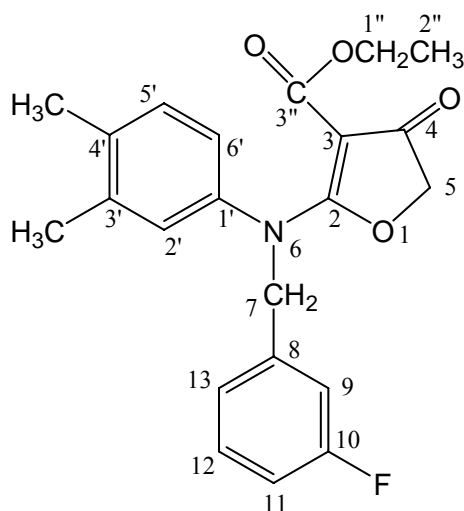
Formula: C₂₂H₂₂FNO₄

Mol. Wt.: 383.41

JOT34008

取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **95** (0.73g, 38.1%)，mp : 151.4°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1712.79 (C₄=O), 1685.79 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 292.5 (3.990); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.994 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.183 (3H, *s*, 4'-CH₃), 2.199 (3H, *s*, 3'-CH₃), 3.705 (2H, *q*, H-1''), 4.606 (2H, *s*, H-5), 5.141 (2H, *s*, H-7), 6.886~7.314 (7H, *m*, H-2', H-5', H-6', H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.73 (C-2''), 19.09 & 19.51 (3'-CH₃, 4'-CH₃), 49.53 (C-7), 60.08 (C-1''), 74.11 (C-5), 91.46 (C-3), 115.09 & 11.52 (C-10), 122.31 (C-6'), 122.72 (C-12), 124.20 (C-11), 125.92 (C-2'), 129.05 (C-13), 129.43 & 129.60 (C-8), 130.23 (C-5'), 136.13 (C-4'), 137.68 (C-3'), 139.23 (C-1'), 157.71 & 162.63 (C-9), 161.90 (C-2), 176.66 (C-3''), 191.71 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-fluorol-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (96)之合成



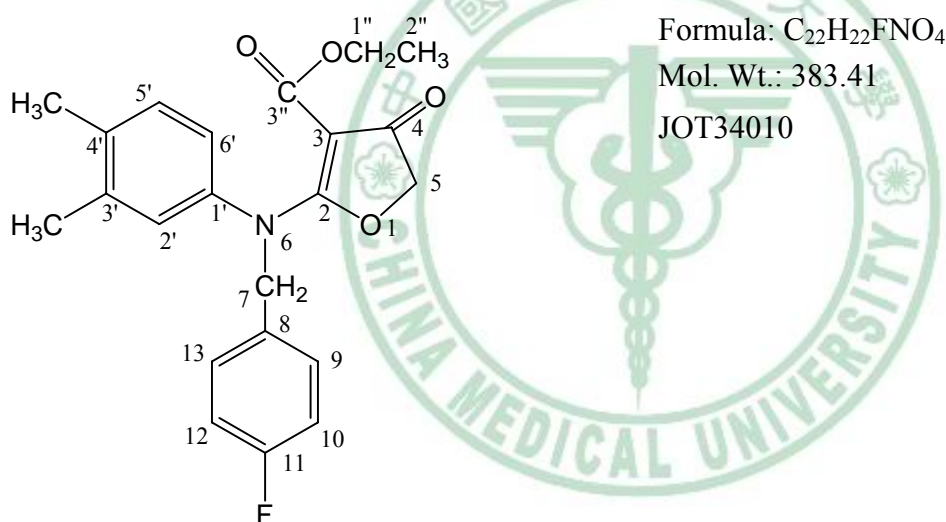
Formula: C₂₂H₂₂FNO₄

Mol. Wt.: 383.41

JOT34009

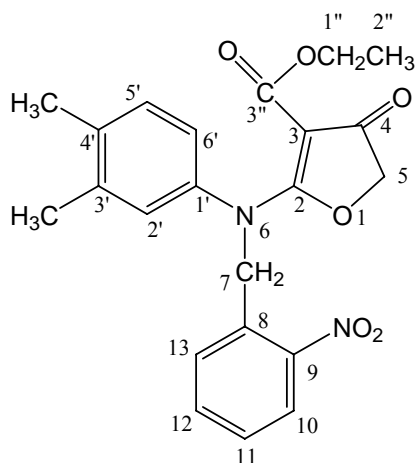
取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **96** (1.3g, 67.8%)，mp: 163.6°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1710.86 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1678.07 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (3.742); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.997 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.197 (3H, *s*, 4'- CH_3), 2.214 (3H, *s*, 3'- CH_3), 3.71 (2H, *q*, H-1''), 4.61 (2H, *s*, H-5), 5.056 (2H, *s*, H-7), 6.875~7.004 (5H, *m*, H-2', H-5', H-6', H-9, H-11), 7.069~7.107 (1H, *d*, H-13), 7.221~7.290 (1H, *m*, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.72 (C-2''), 19.07 & 19.53 (3'- CH_3 , 4'- CH_3), 55.28 (C-7), 60.07 (C-1''), 74.08 (C-5), 91.40 (C-3), 114.26 & 114.51 (C-11), 114.70 & 114.93 (C-9), 122.31 (C-6'), 123.07 (C-13), 125.93 (C-2''), 120.01 & 130.17 (C-12), 130.35 (C-5'), 136.19 (C-4'), 137.82 (C-3'), 137.95 (C-1'), 161.83 (C-2), 165.20 (C-10), 176.53 (C-3''), 191.63 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-fluorol-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**97**)之合成



取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole) 和 *p*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **97** (0.81g, 42.3%)，mp: 107.4°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1712.79 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1678.07 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 292.5 (3.962); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.988 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.160 (3H, *s*, 4'- CH_3), 2.208 (3H, *s*, 3'- CH_3), 3.704 (2H, *q*, H-1''), 4.615 (2H, *s*, H-5), 5.018 (2H, *s*, H-7), 6.826~7.178 (7H, *m*, H-2', H-5', H-6', H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.74 (C-2''), 19.11 (3'- CH_3), 19.55 (4'- CH_3), 55.09 (C-7), 60.07 (C-1''), 74.05 (C-5), 91.23 (C-3), 115.19 & 115.61 (C-10, C-12), 122.58 (C-6'), 126.18 (C-2''), 129.46 & 129.62 (C-9, C-13), 130.31 (C-5'), 131.00 (C-8), 136.21 (C-4'), 137.79 (C-3'), 139.05 (C-1'), 159.70 & 164.61 (C-11), 161.91 (C-2), 176.39 (C-3''), 191.60 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-nitro-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (98)之合成



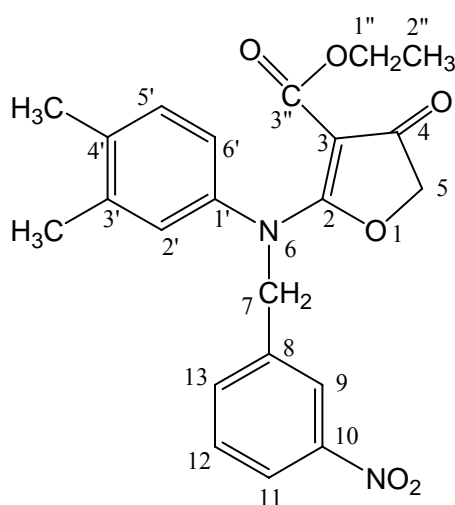
Formula: C₂₂H₂₂N₂O₆

Mol. Wt.: 410.42

JOT34011

取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **98** (1.37.g, 66.8%)，mp : 200.2°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1710.86 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.025); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.994 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.210 (6H, *s*, 3'-CH₃, 4'-CH₃), 3.727 (2H, *q*, H-1''), 4.557 (2H, *s*, H-5), 5.517 (2H, *s*, H-7), 6.931~6.996 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.075 ~ 7.115 (1H, *d*, H-5'), 7.496~7.538 (1H, *m*, H-12), 7.656~7.694 (2H, *m*, H-11, H-13), 8.097 ~ 8.142 (1H, *d*, H-10); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.73 (C-2''), 19.07 (3'-CH₃), 19.59 (4'-CH₃), 53.59 (C-7), 60.17 (C-1''), 74.24 (C-5), 91.92 (C-3), 121.25 (C-6'), 124.91 (C-2'), 125.29 (C-10), 127.93 (C-11), 128.47 (C-13), 130.44 (C-5'), 132.04 (C-12), 133.99 (C-8), 136.14 (C-4'), 138.03 (C-3'), 139.99 (C-1'), 147.38 (C-9), 161.64 (C-2), 177.03 (C-3''), 191.76 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-nitro-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (99)之合成



Formula: C₂₂H₂₂N₂O₆

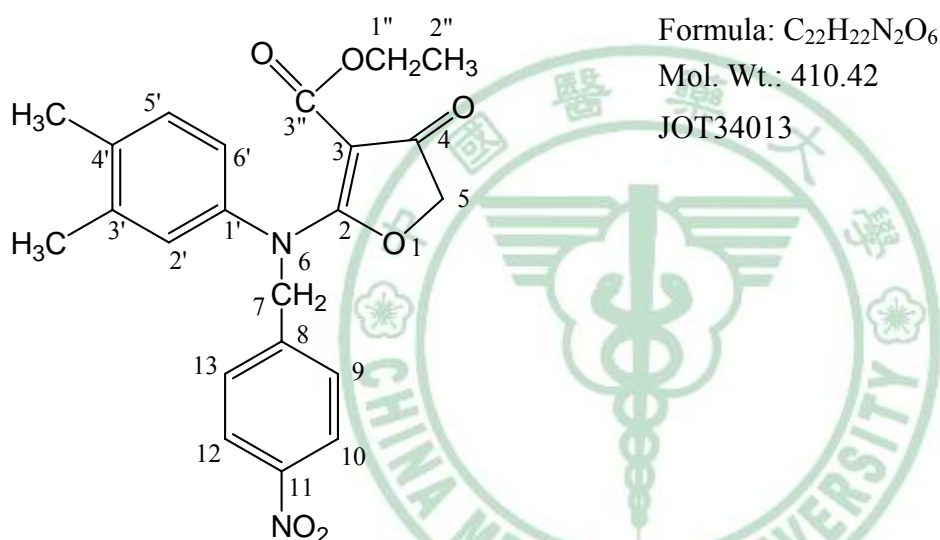
Mol. Wt.: 410.42

JOT34012

取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole)和 *m*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **99** (1.28g, 62.4%)，mp : 153.6°C。其

光學數據如下：¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 1.002 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.195 (3H, *s*, 4'-CH₃), 2.209 (3H, *s*, 3'-CH₃), 3.734 (2H, *q*, H-1''), 4.617 (2H, *s*, H-5), 5.178 (2H, *s*, H-7), 6.866~6.921 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.077~7.116 (1H, *s*, H-5'), 7.457~7.585 (2H, *m*, H-12, H-13), 8.065 (1H, *s*, H-9), 8.065~8.106 (1H, *d*, H-11); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.73 (C-2''), 19.09 (3'-CH₃), 19.56 (4'-CH₃), 54.97 (C-7), 60.16 (C-1''), 74.14 (C-5), 91.49 (C-3), 122.36 (C-6'), 122.64 (C-11), 122.83 (C-9), 125.99 (C-2'), 129.59 (C-12), 130.52 (C-5'), 133.54 (C-13), 136.53 (C-4'), 137.47 (C-3'), 138.11 (C-8), 138.85 (C-1'), 148.15 (C-10), 161.80 (C-2), 176.64 (C-3''), 191.61 (C-4)。

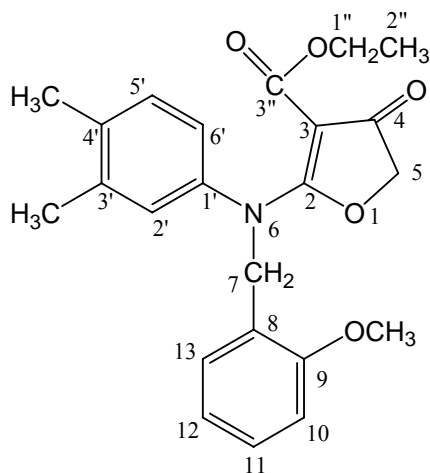
Ethyl 2-[*N*-*p*-nitro-(3',4'-dimethyl)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (100)之合成



取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **100** (0.94g, 45.8%)，mp : 170.1°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1680.00 (C₄=O), 1612.49 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.201); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.992 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.189 (3H, *s*, 4'-CH₃), 2.204 (3H, *s*, 3'-CH₃), 3.723 (2H, *q*, H-1''), 4.605 (2H, *s*, H-5), 5.178 (2H, *s*, H-7), 6.857~6.915 (2H, *m*, H-2', H-6'), 7.069~7.109 (1H, *d*, H-5'), 7.371~7.415 (2H, *d*, H-9, H-13), 8.126~8.193 (2H, *dd*, H-10, H-12); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.75 (C-2''), 19.10 (3'-CH₃), 19.59 (4'-CH₃), 55.07 (C-7), 60.18 (C-1''), 74.16 (C-5), 91.51 (C-3), 122.17 (C-6'), 123.75 (C-10, C-12), 125.78 (C-2'), 128.30 (C-9, C-13), 130.50 (C-5'), 136.49 (C-4'), 138.09 (C-3'), 139.01 (C-1'), 142.69 (C-11), 147.37 (C-8), 161.77 (C-2), 176.66 (C-3''), 191.62 (C-4)。

Ethyl 2-[*N* -*o*-methoxy-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (101)

之合成



Formula: C₂₃H₂₅NO₅

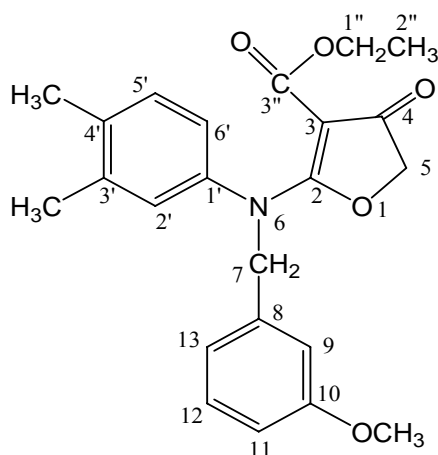
Mol. Wt.: 395.45

JOT34014

取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **101** (1.3g, 65.7%)，mp : 175.6°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1676.14 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 292 (4.002); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 1.003 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.183 (3H, *s*, 4'-CH₃), 2.195 (3H, *s*, 3'-CH₃), 3.703 (2H, *q*, H-1''), 3.746 (3H, *s*, 9-OCH₃), 4.577 (2H, *s*, H-5), 5.093 (2H, *s*, H-7), 6.818 ~ 6.962 (4H, *m*, H-2', H-6', H-10, H-12), 7.026 ~ 7.066 (1H, *d*, H-5'), 7.209 ~ 7.304 (2H, *m*, H-11, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.73 (C-2''), 19.02(3'-CH₃), 19.48 (4'-CH₃), 51.31 (9-OCH₃), 54.97 (C-7), 59.95 (C-1''), 74.04 (C-5), 91.37 (C-3), 110.01 (C-10), 120.40 (C-6'), 122.14 (C-12), 123.76 (C-2'), 125.75 (C-11), 127.75 (C-5'), 128.70 (C-13), 129.99 (C-8), 135.66 (C-4'), 137.34 (C-3'), 139.89 (C-1'), 156.60 (C-9), 162.03 (C-2), 176.78 (C-3''), 191.75 (C-4)。

Ethyl 2-[*N* -*m*-methoxy-(3',4'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (102)

之合成



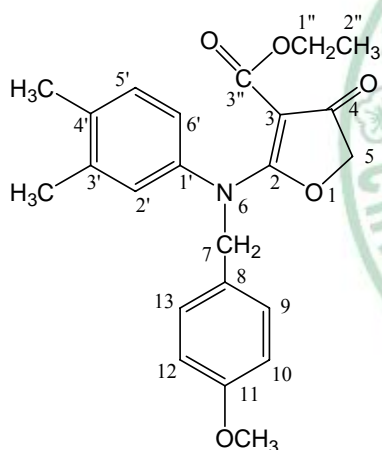
Formula: C₂₃H₂₅NO₅

Mol. Wt.: 395.45

JOT34015

取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **102** (0.73g, 36.9%)，mp: 131.3°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1718.58 ($\text{C}_4=\text{O}$), 165.00 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (3.997); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.988 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.194 (3H, *s*, 4'- CH_3), 2.21 (3H, *s*, 3'- CH_3), 3.707 (2H, *q*, H-1''), 3.748 (3H, *s*, 10- OCH_3), 4.606 (2H, *s*, H-5), 5.038 (2H, *s*, H-7), 6.728~6.835 (3H, *m*, H-2', H-6', H-11), 6.894 ~ 6.935 (1H, *m*, H-13), 6.935 (1H, *s*, H-9), 7.061 ~ 7.10 (1H, *d*, H-5'), 7.186~7.266 (1H, *t*, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.73 (C-2''), 19.08 (3'- CH_3), 19.54 (4'- CH_3), 54.96 (10- OCH_3), 55.72 (C-7), 60.03 (C-1''), 74.07 (C-5), 91.34 (C-3), 112.87 (C-11), 113.10 (C-9), 119.51 (C-13), 122.26 (C-6'), 125.88 (C-2'), 129.56 (C-12), 130.26 (C-5'), 135.97 (C-4'), 136.96 (C-8), 137.68 (C-3'), 139.65 (C-1'), 159.60 (C-10), 161.87 (C-2), 176.54 (C-3''), 191.70 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-methoxy-(3',4'-dimethyl)anilino]-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**103**)之合成

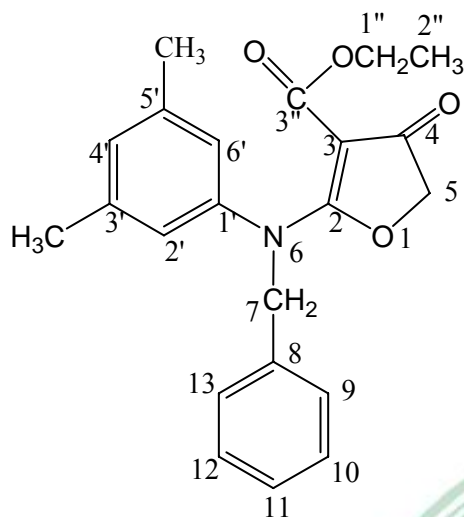


Formula: $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{NO}_5$
Mol. Wt.: 395.45
JOT34016

取化合物 **6** (1.386g, 0.005 mole) 和 *p*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **88** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **103** (0.81g, 41%)，mp: 116°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1712.79 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1676.14 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 292.5 (3.876); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.989 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.189 (3H, *s*, 4'- CH_3), 2.211 (3H, *s*, 3'- CH_3), 3.697 (2H, *q*, H-1''), 3.776 (3H, *s*, 11- OCH_3), 4.618 (2H, *s*, H-5), 4.983 (2H, *s*, H-7), 6.786~6.884 (4H, *m*, H-2', H-6', H-10, H-12), 7.059~7.103 (3H, *m*, H-5', H-9, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.74 (C-2''), 19.09 (3'- CH_3), 19.53 (4'- CH_3), 55.01 (11- OCH_3), 55.36 (C-7), 60.00 (C-1''), 74.00 (C-5), 91.13 (C-3), 113.78 (C-10, C-12), 122.70 (C-6'), 126.30 (C-2'), 127.20 (C-8), 129.13 (C-9, C-13), 130.22 (C-5'), 136.02 (C-4'), 137.63 (C-3'), 139.24 (C-1'), 159.06 (C-11), 161.96 (C-2), 176.32 (C-3''), 191.60 (C-4)。

(八) Ethyl 2-[*N*-Substituted benzyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydro-furan-3-carboxylate (104~119) 之合成

Ethyl 2-[*N*-benzyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (104)之合成



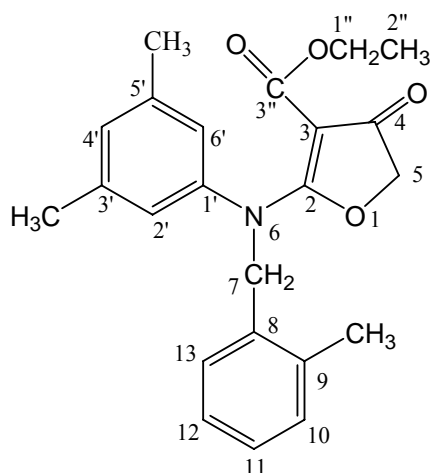
Formula: C₂₂H₂₃NO₄

Mol. Wt.: 365.42

JOT35001

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中, 加入無水 K₂CO₃ (0.69g, 0.005mole) 及 KI (0.83g, 0.005mole) 攪拌之, 接著加入及 benzyl chloride (0.886g, 0.007 mole), 反應 1~2 小時, 以 TLC 檢查反應之進度。然後加冰水 100cc, 靜置讓其沉澱析出, 用布氏漏斗減壓抽氣過濾沉澱物, 以清水洗 1~2 遍, 以冰冷乙醇稍微浸泡沉澱物幾秒鐘溶解掉沉澱物表面之可溶性雜質, 減壓抽氣移除乙醇, 剩餘沉澱物再用乙醇做再結晶, 得白色產物, 為化合物 **104** (0.93gm, 50.9%), mp: 136.7°C。其光學數據如下: 365.0 (M⁺, 2.24), 366 (M⁺+1, 0.51); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1705.07 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.064); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 1.001 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.555 (6H, *s*, 3'-CH₃, 5'-CH₃), 3.694 (2H, *q*, H-1''), 4.613 (2H, *s*, H-5), 5.075 (2H, *s*, H-7), 6.788 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.873 (1H, *s*, H-4'), 7.183~7.327 (5H, *m*, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.74 (C-2''), 20.96 (3'-CH₃, 5'-CH₃), 55.78 (C-7), 60.06 (C-1''), 74.07 (C-5), 91.46 (C-3), 122.51 (C-2', C-6'), 127.24 (C-9, C-13), 127.68 (C-11), 128.50 (C-10, C-12), 128.94 (C-4'), 135.38 (C-8), 139.09 (C-3', C-5'), 141.88 (C-1'), 161.83 (C-2), 176.50 (C-3''), 191.75 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-methyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (105)之合成



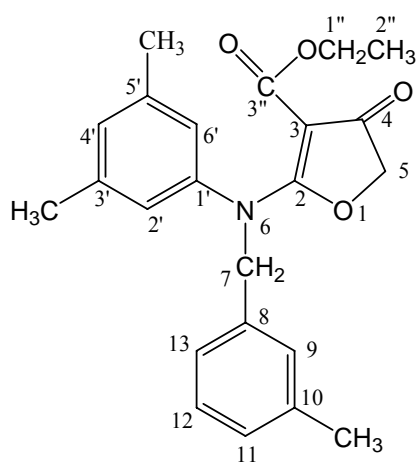
Formula: C₂₃H₂₅NO₄

Mol. Wt.: 379.45

JOT35002

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **105** (1.41g, 74.3%)，mp: 162.3°C。其光學數據如下：379.0 (M⁺, 2.44), 380.0 (M⁺+1, 0.99); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1724.36 (C₄=O), 1666.50 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.026); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.862 (3H, t, J=7.1Hz, 2''), 2.178 (6H, s, 3'-CH₃, 5'-CH₃), 2.201 (3H, s, 9-CH₃), 3.420 (2H, q, H-1''), 4.645 (2H, s, H-5), 5.095 (2H, s, H-7), 6.85 (1H, s, H-4'), 6.913 (2H, s, H-2', H-6'), 7.138~7.26 (4H, m, H-10, H-11, H-12, H-13); 13 (2H, s, H-2', H-6'), 7.138~7.26 (4H, m, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.90 (C-2''), 18.79 (9-CH₃), 20.95 (3'-CH₃, 5'-CH₃), 52.78 (C-7), 59.58 (C-1''), 74.61 (C-5), 91.20 (C-3), 122.52 (C-2', C-6'), 126.33 (C-11, C-12), 127.41 (C-13), 128.54 (C-4), 130.70 (C-10), 134.39 (C-9), 135.40 (C-8), 138.71 (C-3', C-5'), 142.26 (C-1'), 161.77 (C-2), 176.50 (C-3''), 191.59 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-methyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (106)之合成



Formula: C₂₃H₂₅NO₄

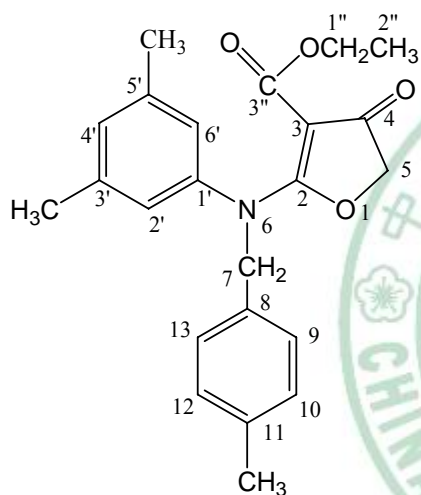
Mol. Wt.: 379.45

JOT35003

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *m*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **106** (0.98g, 51.7%)，mp: 145.7°C。

其光學數據如下：379.0 (M^+ , 3.25), 380.0 ($M^+ + 1$, 0.91); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1718.58 ($C_4=O$), 1676.14 ($C_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.083); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.003 (3H, t , $J=7.1\text{Hz}$, $2''$), 2.256 (6H, s , $3'\text{-CH}_3$, $5'\text{-CH}_3$), 2.319 (3H, s , 10-CH_3), 3.685 (2H, q , H- $1''$), 4.6115 (2H, s , H-5), 5.040 (2H, s , H-7), 6.795 (2H, s , H- $2'$, H- $6'$), 6.869 (1H, s , H- $4'$), 7.008~7.267 (4H, m , H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.74 (C- $2''$), 20.97 ($3'\text{-CH}_3$, $5'\text{-CH}_3$), 21.20 (10-CH_3), 55.73 (C-7), 60.05 (C- $1''$), 74.08 (C-5), 91.50 (C-3), 122.43 (C- $2'$, C- $6'$), 124.12 (C-13), 127.78 (C-11), 128.40 (C-9, C-12), 128.89 (C- $4'$), 135.38 (C-10), 138.22 (C-8), 139.06 (C- $3'$, C- $5'$), 142.03 (C- $1'$), 161.84 (C-2), 176.52 (C- $3''$), 191.80 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-methyl-(3',5'-dimethyl)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (107)之合成



Formula: $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{NO}_4$

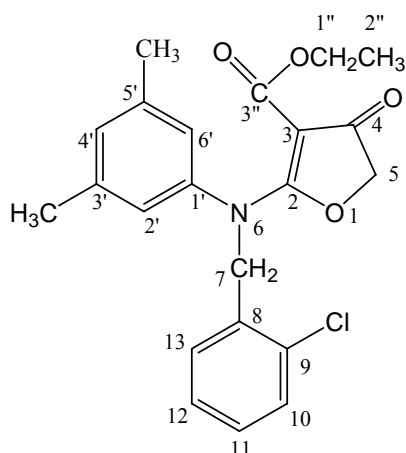
Mol. Wt.: 379.45

JOT35004

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole) 和 *p*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **107** (0.48g, 25.3%)，mp: 130.5°C。其光學數據如下：MS (m/z): 379.9 (M^+); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1714.72 ($C_4=O$), 1674.21 ($C_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.050); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.995 (3H, t , $J=7.1\text{Hz}$, $2''$), 2.251 (6H, s , $3'\text{-CH}_3$, $5'\text{-CH}_3$), 2.321 (3H, s , 11-CH_3), 3.68 (2H, q , H- $1''$), 4.605 (2H, s , H-5), 5.025 (2H, s , H-7), 6.782 (2H, s , H- $2'$, H- $6'$), 6.86 (1H, s , H- $4'$), 7.087 (4H, s , H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.74 (C- $2''$), 20.96 ($3'\text{-CH}_3$, $5'\text{-CH}_3$, 11-CH_3), 55.57 (C-7), 60.03 (C- $1''$), 74.05 (C-5), 91.41 (C-3), 122.55 (C- $2'$, C- $6'$), 127.26 (C-9, C-13), 128.90 (C- $4'$), 129.15 (C-10, C-12), 132.31 (C-11), 137.43 (C-8), 139.05 (C- $3'$, C- $5'$), 141.90 (C- $1'$), 161.85 (C-2), 176.47 (C- $3''$), 191.73 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-chlorol-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate

(108)之合成



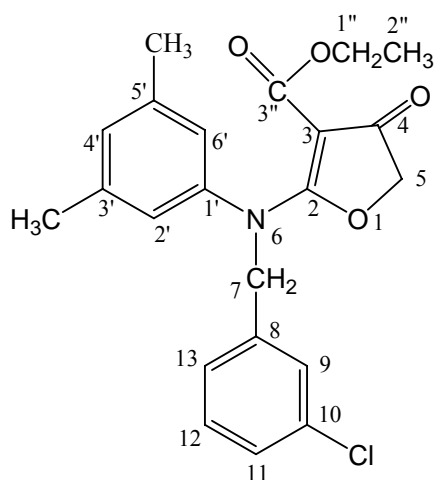
Formula: C₂₂H₂₂ClNO₄

Mol. Wt.:399.87

JOT35005

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **108** (1.43g, 71.5%)，mp: 179°C。其光學數據如下：MS(m/z, %): 399.9 (M⁺, 2.54), 401.9 (M⁺+2, 0.94); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1720.50 (C₄=O), 1676.14 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (4.063); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.011 (3H, t, J=7.1Hz, 2''), 2.249 (6H, s, 3'-CH₃, 5'-CH₃), 3.726 (2H, q, H-1''), 4.585 (2H, s, H-5), 5.187 (2H, s, H-7), 6.813 (2H, s, H-2', H-6'), 6.859 (1H, s, H-4'), 7.241~7.394 (4H, m, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.73 (C-2''), 20.96 (3'-CH₃, 5'-CH₃), 53.74 (C-7), 60.12 (C-1''), 74.19 (C-5), 91.85 (C-3), 121.81 (C-2', C-6'), 127.07 (C-12), 127.50 (C-11), 128.75 (C-13), 128.90 (C-4'), 129.48 (C-10), 132.32 (C-9), 133.30 (C-8), 139.13(C-3', C-5'), 142.05 (C-1') 161.74 (C-2), 176.86 (C-3''), 191.86 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-chlorol-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (109)之合成



Formula: C₂₂H₂₂ClNO₄

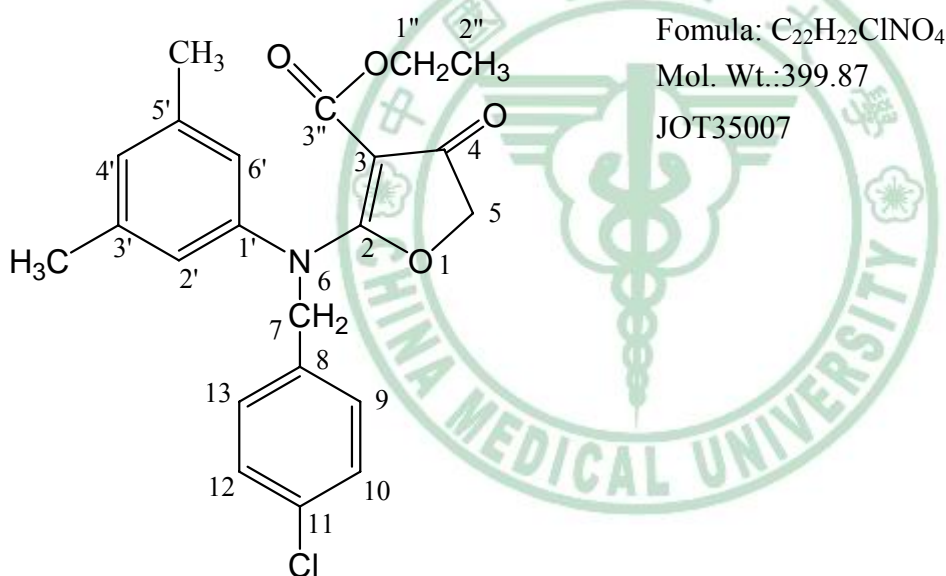
Mol. Wt.:399.87

JOT35006

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *m*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照

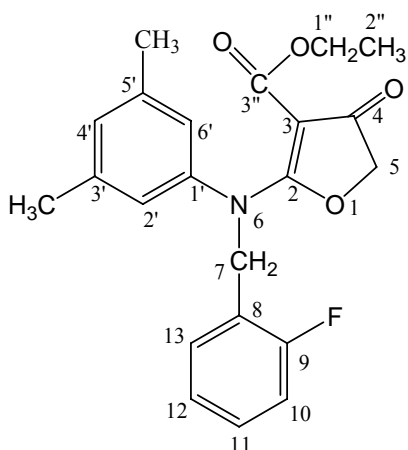
化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **109** (0.75g, 37.5%)，mp : 163°C 。其光學數據如下：399.9 (M^+ , 1.59)，401.9 (M^++2 , 0.58); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1712.79 ($C_4=O$), 1678.07 ($C_3-CO-OEt$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.057); 1H -NMR(200MHz, $CDCl_3$) δ : 1.014 (3H, *t*, $J=7.1Hz$, 2''), 2.267 (6H, *s*, 3'- \underline{CH}_3 , 5'- \underline{CH}_3), 3.661 (2H, *q*, H-1''), 4.616 (2H, *s*, H-5), 5.048 (2H, *s*, H-7), 6.781 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.888 (1H, *s*, H-4'), 7.201 (1H, *m*, H-12), 7.248 (1H, *d*, $J=0.86Hz$, H-9), 7.260~7.277 (2H, *m*, H-11, H-13); ^{13}C -NMR (200MHz, $CDCl_3$) δ : 13.74 (C-2''), 20.97 (3'- \underline{CH}_3 , 5'- \underline{CH}_3), 55.12 (C-7), 60.14 (C-1''), 74.12 (C-5), 91.64 (C-3), 122.42 (C-2', C-6'), 125.33 (C-13), 127.45 (C-11), 127.94 (C-9), 129.11 (C-4'), 129.82 (C-12), 134.42 (C-10) 137.46 (C-8), 139.27 (C-3', C-5'), 141.68 (C-1'), 161.74 (C-2), 176.53 (C-3''), 191.70 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*p*-chlorol-(3',5'-dimethyl)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**110**)]之合成



取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **110** (0.47g, 23.5%)，mp : 146.9°C 。其光學數據如下：399.9 (M^+ , 2.59)，401.9 (M^++2 , 0.96); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1681.93 ($C_4=O$), 1602.85 ($C_3-CO-OEt$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.100); 1H -NMR(200MHz, $CDCl_3$) δ : 1.005 (3H, *t*, $J=7.1Hz$, 2''), 2.557 (6H, *s*, 3'- \underline{CH}_3 , 5'- \underline{CH}_3), 3.70 (2H, *q*, H-1''), 4.609 (2H, *s*, H-5), 5.035 (2H, *s*, H-7), 6.76 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.87 (1H, *s*, H-4'), 7.106~7.149 (2H, *d*, H-9, H-13), 7.262~7.304 (2H, *d*, H-10, H-12); ^{13}C -NMR (200MHz, $CDCl_3$) δ : 13.76 (C-2''), 20.98 (3'- \underline{CH}_3 , 5'- \underline{CH}_3), 55.04 (C-7), 60.12 (C-1''), 74.08 (C-5), 91.50 (C-3), 122.49 (C-2', C-6'), 128.69 (C-9, C-13), 128.79 (C-10, C-12), 129.10 (C-4'), 133.63 (C-11), 133.84 (C-8), 139.23 (C-3', C-5'), 141.57 (C-1'), 161.77 (C-2), 176.49 (C-3''), 191.64 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-fluorol-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (111)之合成



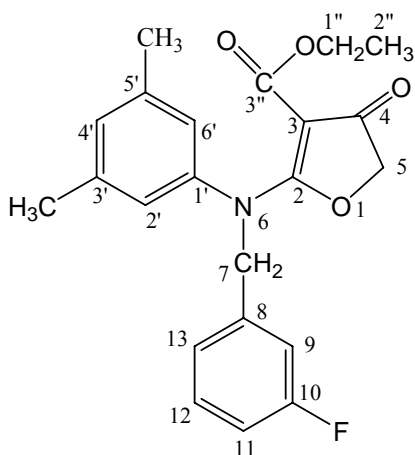
Formula: C₂₂H₂₂FNO₄

Mol. Wt.: 383.41

JOT35008

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **111** (1.29g, 67.3%)，mp: 146.5°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C=O), 1666.50 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293 (3.999); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.009 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.251 (6H, *s*, 3'-CH₃, 5'-CH₃), 3.71 (2H, *q*, H-1''), 4.608 (2H, *s*, H-5), 5.148 (2H, *s*, H-7), 6.798 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.86 (1H, *s*, H-4'), 7.016~7.326 (4H, *m*, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.74 (C-2''), 20.95 (3'-CH₃, 5'-CH₃), 49.49 (C-7), 60.11 (C-1''), 74.13 (C-5), 91.64 (C-3), 115.08 & 115.04 (C-10), 122.35 (C-2', C-6'), 122.82 (C-12), 124.18 (C-11), 128.84 (C-13), 129.02 (C-4'), 129.39 & 129.55 (C-8), 139.09 (C-3', C-5'), 141.64 (C-1'), 157.63 & 162.54 (C-9), 161.82 (C-2), 176.66 (C-3''), 191.79 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-fluorol-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (112)之合成



Formula: C₂₂H₂₂FNO₄

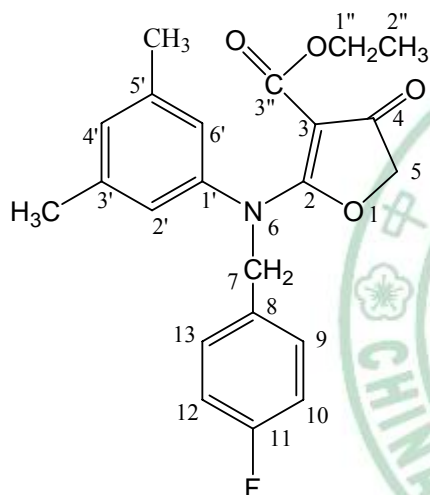
Mol. Wt.: 383.41

JOT35009

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *m*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **112** (0.58g, 30.3%)，mp: 164°C。

其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1708.93 ($\text{C}_4=\text{O}$), 161.93 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293.5 (3.926); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.007 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.263 (6H, *s*, 3'- CH_3 , 5'- CH_3), 3.70 (2H, *q*, H-1''), 4.617 (2H, *s*, H-5), 5.063 (2H, *s*, H-7), 6.784 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.886 (1H, *s*, H-4'), 6.947~7.008 (3H, *m*, H-9, H-11, H-13), 7.267~7.276 (1H, *m*, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.74 (C-2''), 20.97 (3'- CH_3 , 5'- CH_3), 55.18 (C-7), 60.14 (C-1''), 74.11 (C-5), 91.60 (C-3), 114.08 & 114.51 (C-10), 114.51 & 114.93 (C-9), 122.36 (C-2', C-6'), 122.82 (C-13), 129.08 (C-4'), 130.04 & 130.21 (C-12), 138.02 (C-8), 139.25 (C-3', C-5'), 141.73 (C-1'), 161.74 (C-2), 165.13 (C-10), 176.55 (C-3''), 191.73 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-fluorol-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (113)之合成



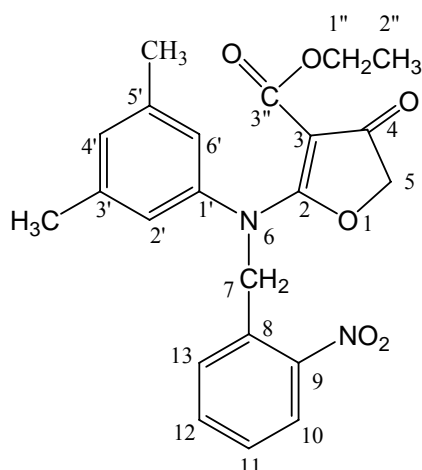
Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{FNO}_4$

Mol. Wt.: 383.41

JOT35010

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **113** (0.61g, 31.8%)， mp : 156.3°C 。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1701.22 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1681.93 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 292.5 (3.949); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.00 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.249 (6H, *s*, 3'- CH_3 , 5'- CH_3), 3.70 (2H, *q*, H-1''), 4.607 (2H, *s*, H-5), 5.024 (2H, *s*, H-7), 6.743 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.874 (1H, *s*, H-4'), 6.935~7.0223 (2H, *t*, H-10, H-12), 7.142~7.186 (2H, *m*, H-9, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.74 (C-2''), 20.94 (3'- CH_3 , 5'- CH_3), 55.0 (C-7), 60.07 (C-1''), 74.03 (C-5), 91.43 (C-3), 115.86 & 115.61 (C-10, C-12), 122.68 (C-2', C-6'), 129.08 & 129.42 (C-9, C-13), 129.26 (C-4'), 131.08 (C-8), 139.17 (C-3', C-5'), 141.46 (C-1'), 161.81 (C-2), 160.00 & 164.11 (C-11), 176.40 (C-3''), 191.62 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-nitro-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (114)之合成



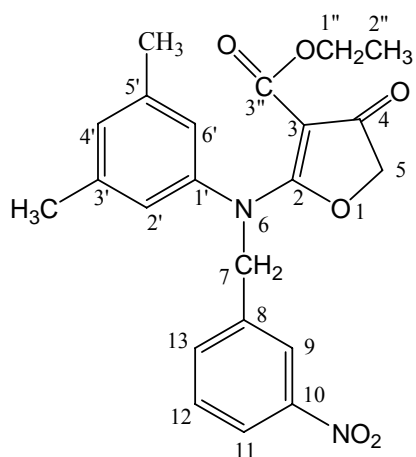
Formula: C₂₂H₂₂N₂O₆

Mol. Wt.: 410.42

JOT35011

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **114** (1.37.g, 66.8%)，mp : 224.4°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1714.72 (C₄=O), 1680.00 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.093); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.004 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.262 (6H, *s*, 3'-CH₃, 5'-CH₃), 3.72 (2H, *q*, H-1''), 4.553 (2H, *s*, H-5), 5.518 (2H, *s*, H-7), 6.829 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.879 (1H, *s*, H-4'), 7.464~7.548 (1H, *m*, H-11), 7.632~7.706 (2H, *m*, H-12, H-13), 8.811~8.163 (1H, *d*, H-10); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.74 (C-2''), 21.00 (3'-CH₃, 5'-CH₃), 53.55 (C-7), 60.21 (C-1''), 74.26 (C-5), 92.16 (C-3), 121.34 (C-2', C-6'), 125.34 (C-10), 127.78 (C-11), 128.47 (C-13), 128.97 (C-4'), 132.89 (C-12), 134.09 (C-8), 139.42 (C-3', C-5'), 142.37 (C-1'), 147.31 (C-9) 161.56 (C-2), 177.03 (C-3''), 191.80 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-nitro-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (115)之合成



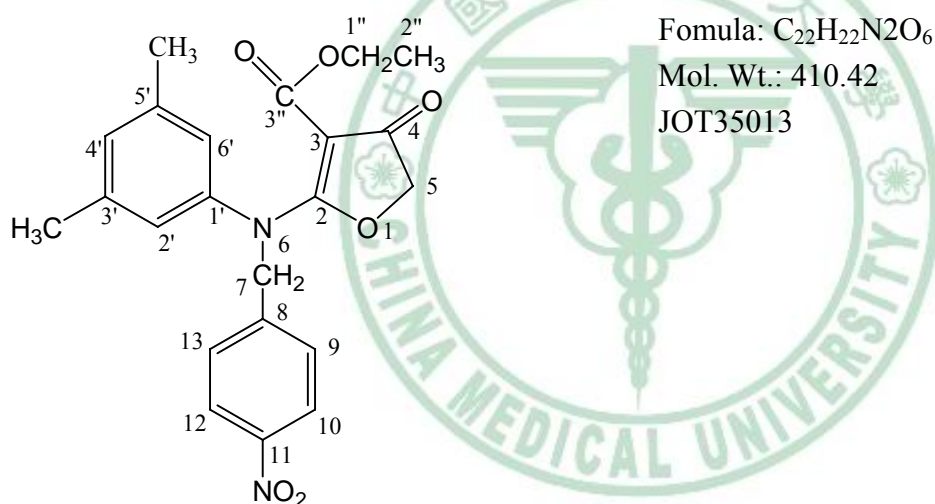
Formula: C₂₂H₂₂N₂O₆

Mol. Wt.: 410.42

JOT35012

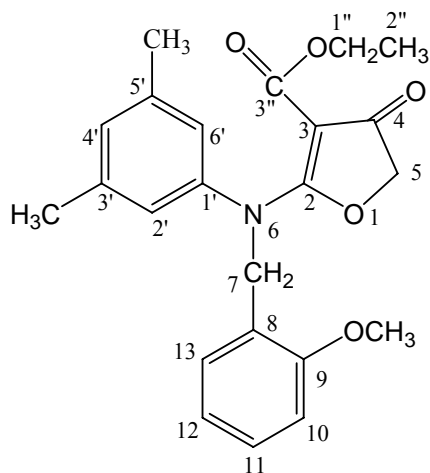
取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *m*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **115** (0.63g, 30.7%)，mp : 138.4°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1718.58 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1685.79 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.107); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.021 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.267 (6H, *s*, 3'- CH_3 , 5'- CH_3), 3.73 (2H, *q*, H-1''), 4.626 (2H, *s*, H-5), 5.186 (2H, *s*, H-7), 6.749 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.901 (1H, *s*, H-4'), 7.515~7.555 (2H, *m*, H-12, H-13), 8.086~8.136 (2H, *m*, H-9, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.75 (C-2''), 20.98 (3'- CH_3 , 5'- CH_3), 54.87 (C-7), 60.24 (C-1''), 74.18 (C-5), 91.73 (C-3), 122.46 (C-2', C-6', C-11), 122.85 (C-9), 129.37 (C-4'), 129.62 (C-12), 133.33 (C-13), 137.53 (C-8), 139.51 (C-3', C-5'), 141.27 (C-1'), 148.18 (C-10) 161.69 (C-2), 176.64 (C-3''), 191.65 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-nitro-(3',5'-dimethyl)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**116**)]之合成



取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **116** (0.73g, 35.6%)，mp : 190.6°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1712.79 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1681.93 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.179); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.01 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.26 (6H, *s*, 3'- CH_3 , 5'- CH_3), 3.725 (2H, *q*, H-1''), 4.611 (2H, *s*, H-5), 5.188 (2H, *s*, H-7), 6.783 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.895 (1H, *s*, H-4'), 7.385~7.429 (2H, *d*, $J=8.8\text{Hz}$, H-9, H-13), 8.163~8.207 (2H, *d*, $J=8.8\text{Hz}$, H-10, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.76 (C-2''), 20.99 (3'- CH_3 , 5'- CH_3), 54.98 (C-7), 60.24 (C-1''), 74.18 (C-5), 91.75 (C-3), 122.22 (C-2', C-6'), 123.79 (C-10, C-12), 128.07 (C-9, C-13), 129.31 (C-4'), 139.48 (C-3', C-5'), 141.46 (C-1'), 142.77 (C-11), 147.38 (C-8), 161.67 (C-2), 176.67 (C-3''), 191.63 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methoxyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (117)之合成



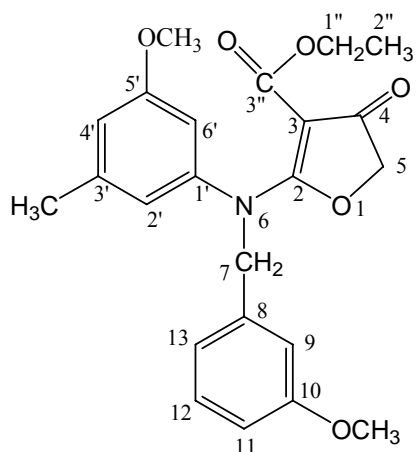
Formula: C₂₃H₂₅NO₅

Mol. Wt.: 395.45

JOT35014

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **117** (0.85g, 43%)，mp : 209.8°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1722.43 (C₄=O), 1662.64 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293.5 (4.007); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 1.001 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, 2''), 2.237 (6H, *s*, 3'-CH₃, 5'-CH₃), 3.69 (2H, *q*, H-1''), 3.754 (3H, *s*, 9-OCH₃), 4.575 (2H, *s*, H-5), 5.088 (2H, *s*, H-7), 6.809 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.828 (1H, *s*, H-4'), 6.866~6.935 (2H, *m*, H-10, H-12), 7.223~7.265 (2H, *m*, H-11, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.74 (C-2''), 20.95 (3'-CH₃, 5'-CH₃), 51.28 (9-OCH₃), 54.98 (C-7), 60.02 (C-1''), 74.08 (C-5), 91.56 (C-3), 109.96 (C-10), 120.43 (C-12), 122.43 (C-2', C-6'), 123.84 (C-11), 127.42 (C-4'), 128.65 (C-8, C-13), 138.81 (C-3', C-5'), 142.29 (C-1'), 156.48 (C-9), 161.93 (C-2), 176.78 (C-3''), 191.86 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-methoxyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (118)之合成



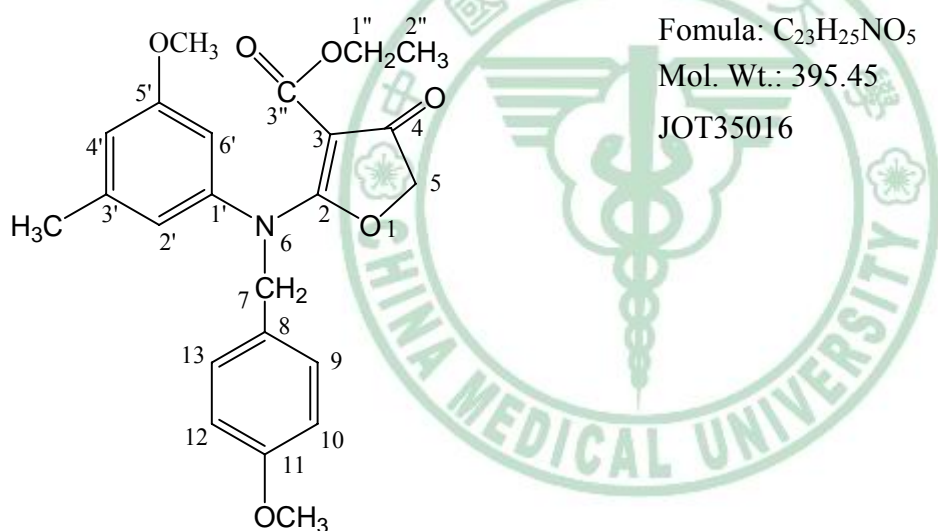
Formula: C₂₃H₂₅NO₅

Mol. Wt.: 395.45

JOT35015

取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得黃色產物，為化合物 **118** (0.81g, 41.0%)，mp: 148.5 °C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1718.58 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1656.85 ($\text{C}_3-\text{CO}-\text{OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.007); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.002 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.262 (6H, *s*, 3'- CH_3 , 5'- CH_3), 3.695 (2H, *q*, H-1''), 3.76 (3H, *s*, 10- OCH_3), 4.611 (2H, *s*, H-5), 5.05 (2H, *s*, H-7), 6.748~6.875 (6H, *m*, H-2', H-4', H-6', H-9, H-11, H-13), 7.204~7.282 (1H, *m*, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.74 (C-2''), 20.97 (3'- CH_3 , 5'- CH_3), 54.96 (10- OCH_3), 55.63 (C-7), 60.06 (C-1''), 74.09 (C-5), 91.55 (C-3), 112.88 (C-9, C-11), 119.30 (C-13), 122.33 (C-2', C-6'), 128.89 (C-4'), 129.58 (C-12), 137.05 (C-8), 139.10 (C-3', C-5'), 142.06 (C-1'), 159.62 (C-10), 161.78 (C-2), 176.58 (C-3''), 191.76 (C-4)。

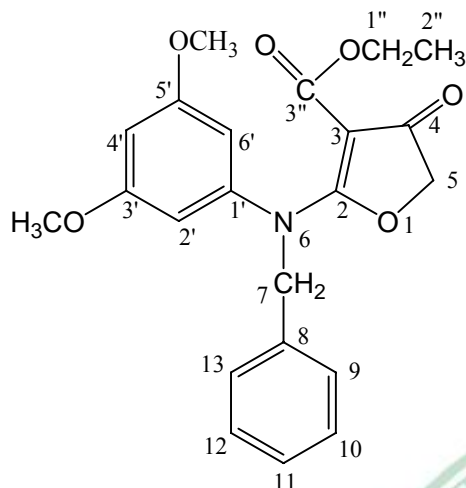
Ethyl 2-[*N*-*p*-methoxyl-(3',5'-dimethyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**119**)之合成



取化合物 **7** (1.386g, 0.005 mole) 和 *p*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **104** 的合成法及處理步驟，得黃色產物，為化合物 **119** (0.93g, 47.0%)，mp: 148.5 °C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1714.72 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1674.21 ($\text{C}_3-\text{CO}-\text{OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.022); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 0.986 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, 2''), 2.243 (6H, *s*, 3'- CH_3 , 5'- CH_3), 3.654 (2H, *q*, H-1''), 3.769 (3H, *s*, 11- OCH_3), 4.608 (2H, *s*, H-5), 4.983 (2H, *s*, H-7), 6.749 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.787 (1H, *s*, H-4'), 6.83~6.861 (2H, *d*, H-10, H-12), 7.060~7.104 (2H, *d*, H-9, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.75 (C-2''), 20.97 (3'- CH_3 , 5'- CH_3), 55.02 (C-7), 55.26 (11- OCH_3), 60.03 (C-1''), 74.02 (C-5), 91.31 (C-3), 113.79 (C-10, C-12), 122.75 (C-2', C-6'), 127.25 (C-8), 128.95 (C-4', C-9, C-13), 139.04 (C-3', C-5'), 141.63 (C-1'), 159.04 (C-11), 161.87 (C-2), 176.33 (C-3''), 191.69 (C-4)。

(九) Ethyl 2-[N-various benzyl-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (120~135) 之合成

Ethyl 2-[N-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (120)之合成



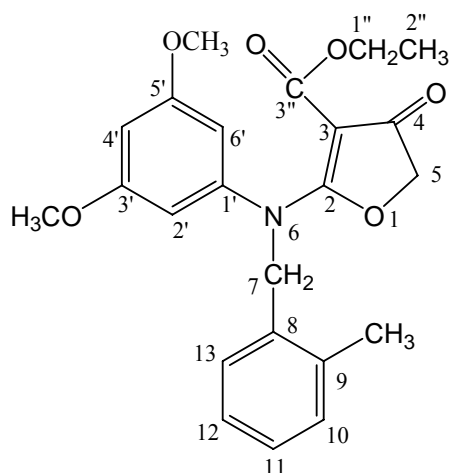
Formula: C₂₂H₂₃NO₆

Mol. Wt.: 397.42

DMO35001

取化合物 8 (1.536g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中, 加入無水 K₂CO₃ (0.69g, 0.005mole) 及 KI (0.83g, 0.005mole) 攪拌之, 接著加入及 benzyl chloride (0.91g, 0.007 mole), 反應 1~2 小時, 以 TLC 檢查反應之進度。然後加冰水 100cc, 靜置讓其沉澱析出, 用布氏漏斗減壓抽氣過濾沉澱物, 以清水洗 1~2 遍, 以冰冷乙醇稍微浸泡沉澱物幾秒鐘溶解掉沉澱物表面之可溶性雜質, 減壓抽氣移除乙醇, 剩餘沉澱物再用乙醇做再結晶, 得透明微粉紅色結晶產物, 為化合物 120 (0.66gm, 33.2%), mp: 151.7°C。其光學數據如下: IR (KBr disc) cm⁻¹: 1732.08 (C₄=O), 1658.78 (C₃-CO-OEt). UVλ_{max} nm(MeOH)(log ε): 293.5(4.160). ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.008 (3H, t, J=7.1Hz, H-2''), 3.681 (6H, s, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.727 (2H, q, H-1''), 4.616 (2H, s, H-5), 5.063 (2H, s, H-7), 6.292~6.315 (3H, s, H-2', H-4', H-6'), 7.207~7.316 (5H, m, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.71 (C-2''), 55.27 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 55.62 (C-7), 60.23 (C-1''), 74.08 (C-5), 91.82 (C-3), 99.40 (C-4'), 103.29 (C-2', C-6'), 127.39 (C-9, C-13), 127.80 (C-11), 128.55 (C-10, C-12), 135.27 (C-8), 143.54 (C-1'), 161.05 (C-3', C-5'), 161.96 (C-2), 176.30 (C-3''), 191.76 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-methyl-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (121)之合成



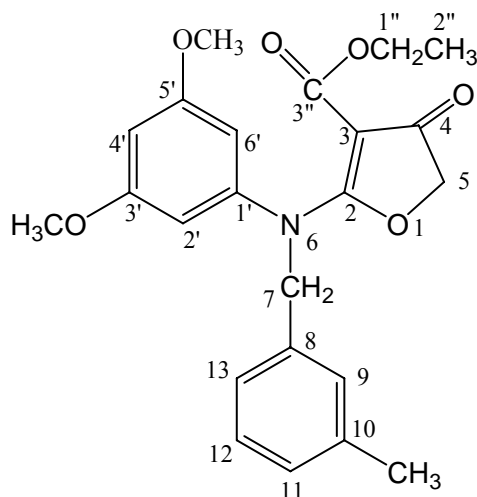
Formula: C₂₃H₂₅NO₆

Mol. Wt.: 411.45

DMO35002

取化合物 8 (1.536g, 0.005 mole)和 *o*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole)為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **121** (0.67g, 32.6%)，mp : 130.7°C。其光學數據如下：410.9 (M⁺, 5.83)，411.9 (M⁺+1, 1.66); IR (KBr disc) cm⁻¹: 1697.36 (C₄=O), 1674.21 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (3.949); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.021 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 2.232 (3H, *s*, 9-CH₃), 3.681 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.751 (2H, *q*, H-1''), 4.590 (2H, *s*, H-5), 5.075 (2H, *s*, H-7), 6.313 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.170~7.266 (4H, *m*, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.71 (C-2''), 18.77 (9-CH₃), 53.54 (C-7), 55.25 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.22 (C-1'') 74.12 (C-5), 92.07 (C-3), 99.25 (C-4'), 102.85 (C-2', C-6'), 126.17 (C-12), 126.31 (C-11), 127.52 (C-13), 130.29 (C-10), 133.53 (C-9), 134.99 (C-8) 143.96 (C-1'), 161.00 (C-3', C-5'), 161.98 (C-2), 176.53 (C-3''), 191.86 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-methyl-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (122)之合成



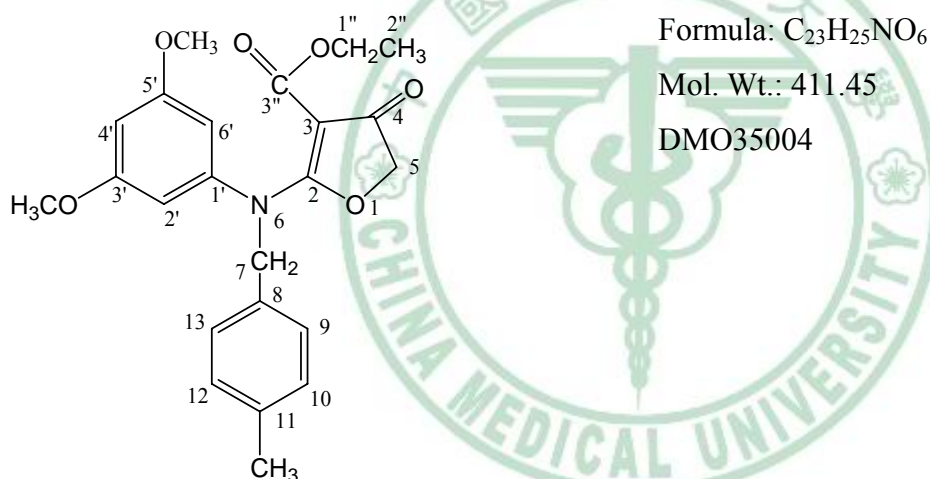
Formula: C₂₃H₂₅NO₆

Mol. Wt.: 411.45

DMO35003

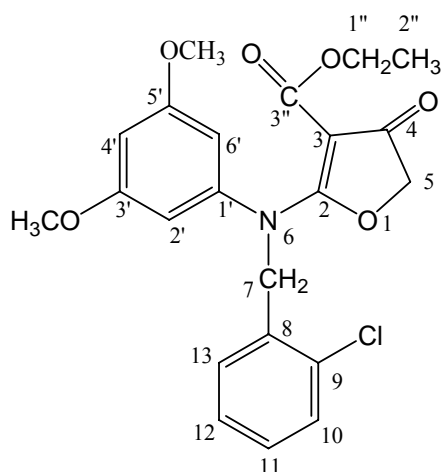
取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *m*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **122** (0.35g, 17%)，mp: 123°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1705.07 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1678.07 ($\text{C}_3-\text{CO}-\text{OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294 (3.941); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.026 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 2.317 (3H, *s*, 10- CH_3), 3.702 (6H, *s*, 3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 3.744 (2H, *q*, H-1''), 4.631 (2H, *s*, H-5), 5.042 (2H, *s*, H-7), 6.32 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.020~7.266 (4H, *m*, H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.71 (C-2''), 21.19 (10- CH_3), 55.27 (3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 55.60 (C-7), 60.22 (C-1''), 74.08 (C-5), 91.89 (C-3), 99.38 (C-4'), 103.24 (C-2', C-6'), 124.27 (C-13), 127.91 (C-11), 128.50 (C-9, C-12), 135.26 (C-10), 138.26 (C-8), 143.68 (C-1'), 161.04 (C-3', C-5'), 161.97 (C-2), 176.33 (C-3''), 191.79 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-methyl-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**123**)之合成



取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *p*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **123** (1.1g, 53.5%)，mp: 137°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1724.36 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1664.57 ($\text{C}_3-\text{CO}-\text{OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.029); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.009 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 2.309 (3H, *s*, 11- CH_3), 3.690 (6H, *s*, 3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 3.761 (2H, *q*, H-1''), 4.623 (2H, *s*, H-5), 5.021 (2H, *s*, H-7), 6.303 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.091 (4H, *s*, H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.71 (C-2''), 20.87 (11- CH_3), 55.26 (3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 55.43 (C-7), 60.21 (C-1''), 74.06 (C-5), 91.78 (C-3), 99.36 (C-4'), 103.32 (C-2', C-6'), 127.41 (C-9, C-13), 129.19 (C-10, C-12), 132.16 (C-11), 137.57 (C-8), 143.54 (C-1'), 161.03 (C-3', C-5'), 161.96 (C-2), 176.25 (C-3''), 191.73 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-chlorol-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (124)之合成



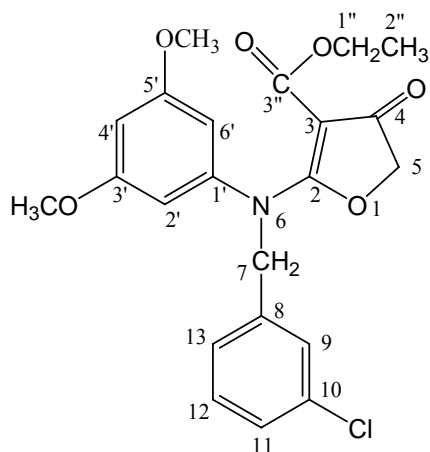
Formula: C₂₂H₂₂ClNO₆

Mol. Wt.: 431.87

DMO35005

取化合物 8 (1.536g, 0.005 mole)和 *o*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **124** (0.8g, 37%)，mp : 159.7°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1712.79 (C₄=O), 1678.07 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (3.970); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.035 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.702 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.774 (2H, *q*, H-1''), 4.607 (2H, *s*, H-5), 5.203 (2H, *s*, H-7), 6.307~6.342 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.25~7.365 (4H, *m*, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.73 (C-2''), 53.25 (C-7), 55.28 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.31 (C-1''), 74.21 (C-5), 92.29 (C-3), 99.18 (C-4'), 102.58 (C-2', C-6'), 127.12 (C-12), 127.64 (C-11), 128.88 (C-13), 129.53 (C-10), 132.39 (C-9), 133.11 (C-8), 143.68 (C-1'), 161.05 (C-3', C-5'), 161.87 (C-2), 176.69 (C-3''), 191.91 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-chlorol-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (125)之合成



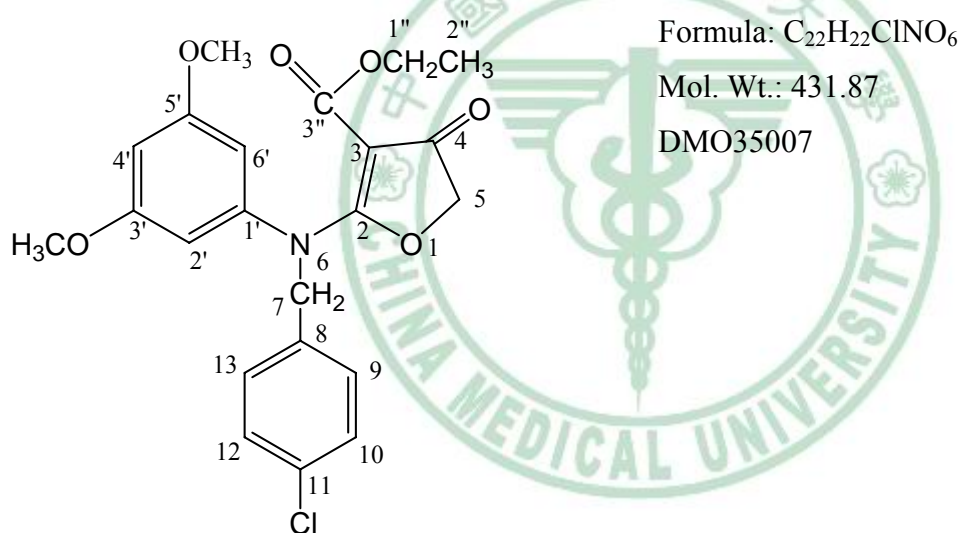
Formula: C₂₂H₂₂ClNO₆

Mol. Wt.: 431.87

DMO35006

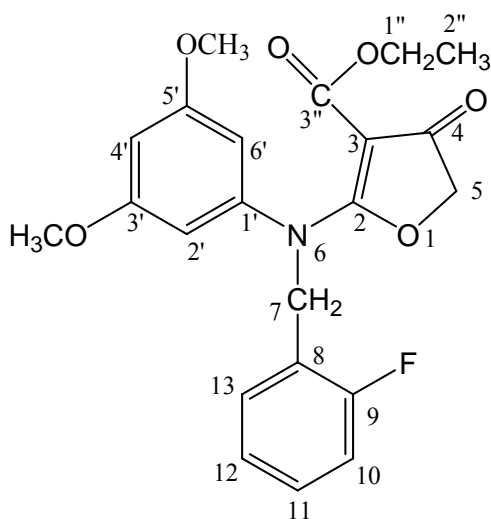
取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *m*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **125** (0.81g, 37.5%)，mp : 154.5°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1708.14 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1676.14 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (3.932); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.021 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.703 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.743 (2H, *q*, H-1''), 4.626 (2H, *s*, H-5), 5.042 (2H, *s*, H-7), 6.286~6.329 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.214~7.267 (4H, *m*, H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.71 (C-2''), 54.94 (C-7), 55.30 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.30 (C-1''), 74.13 (C-5), 92.01 (C-3), 99.40 (C-4'), 103.17 (C-2', C-6'), 125.45 (C-13), 127.51 (C-11), 128.04 (C-9), 129.87 (C-12), 134.44 (C-10), 137.33 (C-8), 143.34 (C-1'), 161.16 (C-3', C-5'), 161.85 (C-2), 176.32 (C-3''), 191.73 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-chlorol-(3',5'-dimethoxy)aniline-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**126**)]之合成



取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *p*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **126** (0.68g, 31.5%)，mp : 144.3°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1678.07 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1600.92 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.104); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.023 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.685 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.75 (2H, *q*, H-1''), 4.632 (2H, *s*, H-5), 5.036 (2H, *s*, H-7), 6.275~6.330 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.122~7.164 (2H, *d*, H-9, H-13), 7.262~7.304 (2H, *d*, H-10, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.73 (C-2''), 54.89 (C-7), 55.30 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.31 (C-1''), 74.11 (C-5), 91.91 (C-3), 99.33 (C-4), 103.27 (C-2', C-6'), 128.74 (C-9, C-13), 128.91 (C-10, C-12), 133.70 (C-8, C-11), 143.23 (C-1'), 161.14 (C-3', C-5'), 161.87 (C-2), 176.29 (C-3''), 191.67 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-fluorol-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (127)之合成



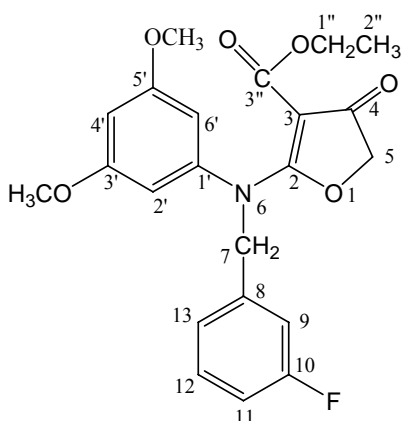
Formula: C₂₂H₂₂FNO₆

Mol. Wt.: 415.41

DMO35008

取化合物 8 (1.536g, 0.005 mole)和 *o*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **127** (0.58g, 27.9%)，mp : 139.7°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1708.93 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 292 (4.008); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.025 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.668 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.75 (2H, *q*, H-1''), 4.625 (2H, *s*, H-5), 5.154 (2H, *s*, H-7), 6.319 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.017~7.287 (4H, *m*, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.71 (C-2''), 49.31 (C-7), 55.27 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.29 (C-1''), 74.15 (C-5), 92.04 (C-3), 99.47 (C-4'), 103.08 (C-2', C-6'), 115.15 & 115.57 (C-10), 122.34 (C-12), 124.23 (C-11), 129.02 (C-13), 129.54 & 129.70 (C-8) 143.29 (C-1'), 157.80 (C-9), 161.03 (C-3', C-5'), 161.94 (C-2), 176.47 (C-3''), 191.83 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-fluorol-(3',5'-dimethoxy)]aniline-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (128)之合成



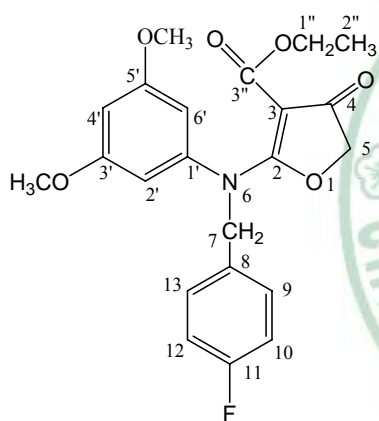
Formula: C₂₂H₂₂FNO₆

Mol. Wt.: 415.41

DMO35009

取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *m*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **128** (0.71g, 34.2%)，mp : 152.1°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1678.07 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1612.49 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.047); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.020 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.703 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.745 (2H, *q*, H-1''), 4.631 (2H, *s*, H-5), 5.063 (2H, *s*, H-7), 6.295~6.328 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 6.973~7.228 (3H, *m*, H-9, H-11, H-13), 7.266~7.272 (1H, *m*, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.71 (C-2''), 55.02 (C-7), 55.30 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.30 (C-1''), 74.14 (C-5), 92.01 (C-3), 99.34 (C-4'), 103.13 (C-2', C-6'), 114.16 & 114.61 (C-9), 114.61 & 115.03 (C-11), 122.97 (C-13), 130.11 & 130.27 (C-12), 137.88 (C-8) 143.40 (C-1'), 160.50 (C-10), 161.15 (C-3', C-5'), 161.85 (C-2), 176.34 (C-3''), 191.74 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-fluorol-(3',5'-dimethoxy)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**129**)]之合成



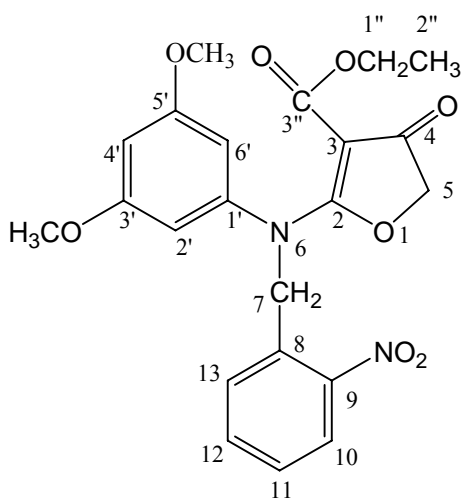
Formula: $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{FNO}_6$

Mol. Wt.: 415.41

DMO35010

取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *p*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **129** (0.73g, 35.1%)，mp : 140.9°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1680.00 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1602.85 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.141); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.01 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.689 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.74 (2H, *q*, H-1''), 4.625 (2H, *s*, H-5), 5.024 (2H, *s*, H-7), 6.259~6.27 (2H, *d*, $J=2.12\text{ Hz}$, H-2', H-6'), 6.311~6.322 (1H, *d*, $J=2.12\text{ Hz}$, H-4'), 6.97~7.177 (4H, *m*, H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.72 (C-2''), 54.84 (C-7), 55.28 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.27 (C-1''), 74.07 (C-5), 91.81 (C-3), 99.37 (C-4'), 103.40 (C-2', C-6'), 115.26 & 115.69 (C-10, C-12), 129.37 & 129.53 (C-9, C-13), 130.98 (C-8), 143.15 (C-1'), 161.11 (C-3', C-5'), 161.91 (C-2), 164.80 (C-11), 176.20 (C-3''), 191.66 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-nitro-(3',5'-dimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (130)之合成



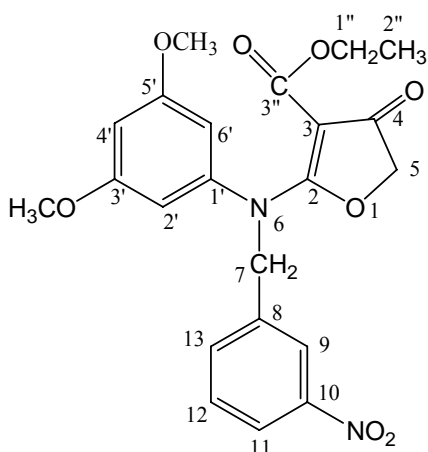
Formula: C₂₂H₂₂N₂O₈

Mol. Wt.: 442.42

DMO35011

取化合物 8 (1.536g, 0.005 mole)和 *o*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **130** (0.73.g, 35.1%)，mp : 189.6°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1712.79 (C₄=O), 1681.93 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (3.972); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.037 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.72 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.818 (2H, *q*, H-1''), 4.569 (2H, *s*, H-5), 5.533 (2H, *s*, H-7), 6.39 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.507~7.686 (1H, *m*, H-11), 7.648~7.656 (2H, *m*, H-11, H-13), 8.2 (1H, *d*, H-10); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.74 (C-2''), 53.36 (C-7), 55.32 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.37 (C-1''), 74.28 (C-5), 92.63 (C-3), 98.96 (C-4'), 102.12 (C-2', C-6'), 125.37 (C-10), 127.82 (C-11), 128.57 (C-13), 131.98 (C-12), , 134.11 (C-8), 144.08 (C-1'), 147.31 (C-9), 161.25 (C-3', C-5'), 161.66 (C-2), 176.87 (C-3''), 191.82 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-nitro-(3',5'-dimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5- dihydrofuran-3-carboxylate (131)之合成



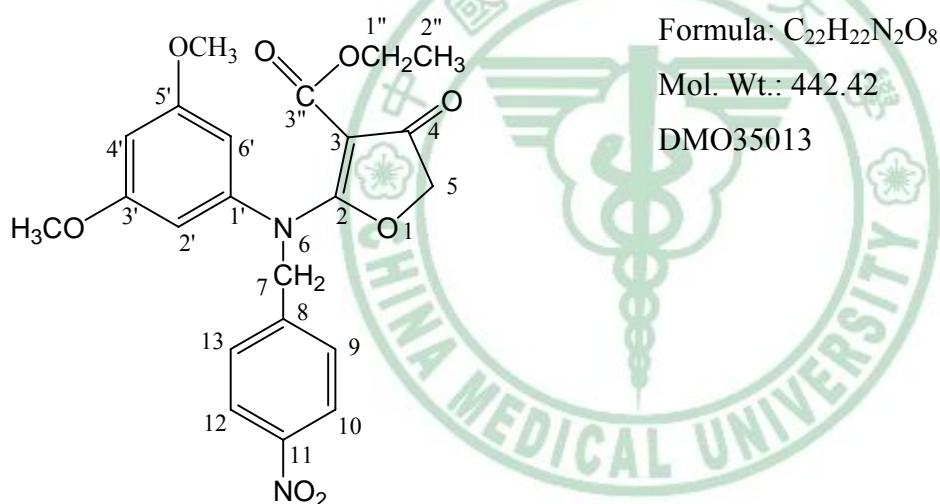
Formula: C₂₂H₂₂N₂O₈

Mol. Wt.: 442.42

DMO35012

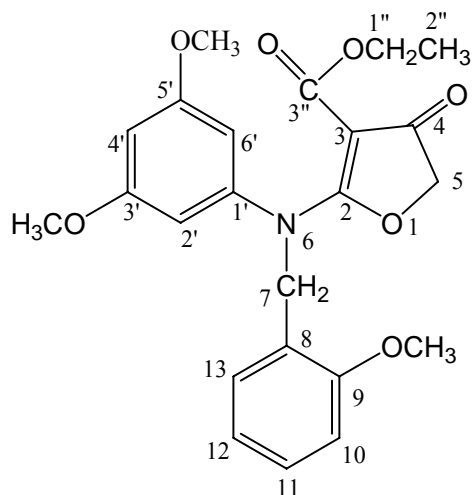
取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *m*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **131** (0.45g, 20.3%)，mp: 139.3°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1716.65 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1676.14 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (3.839); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.04 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.719 (6H, *s*, 3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 3.78 (2H, *q*, H-1''), 4.641 (2H, *s*, H-5), 5.191 (2H, *s*, H-7), 6.316~6.341 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.516~7.566 (2H, *m*, H-12, H-13), 8.116~8.127 (2H, *m*, H-9, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.72 (C-2''), 54.67 (C-7), 55.34 (3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 60.40 (C-1''), 74.20 (C-5), 92.13 (C-3), 99.40 (C-4'), 103.21 (C-2', C-6'), 122.48 (C-11), 122.91 (C-9), 129.68 (C-12), 133.36 (C-13), , 137.43 (C-8), 142.99 (C-1'), 148.20 (C-10), 161.32 (C-3', C-5'), 161.79 (C-2), 176.45 (C-3''), 191.66 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-nitro(3',5'-dimethoxy)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**132**)]之合成



取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *p*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **132** (0.35g, 15.8%)，mp: 151.8°C。其光學數據如下：441.9 (M^+ , 30.29), 422.9 (M^+1 , 7.63); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1716.65 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1680.00 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.224); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.023 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.704 (6H, *s*, 3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 3.760 (2H, *q*, H-1''), 4.620 (2H, *s*, H-5), 5.184 (2H, *s*, H-7), 6.293~6.324 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 7.397~7.441 (2H, *d*, $J=8.6\text{Hz}$, H-9, H-13), 8.1524~8.159 (2H, *d*, $J=8.6\text{Hz}$, H-10, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.73 (C-2''), 54.76 (C-7), 55.32 (3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 60.37 (C-1''), 74.20 (C-5), 92.14 (C-3), 99.19 (C-4'), 103.03 (C-2', C-6'), 123.82 (C-10, C-12), 128.15 (C-9, C-13), 142.62 (C-11), 143.16 (C-1'), 147.40 (C-8), 161.28 (C-3', C-5'), 161.76 (C-2), 176.47 (C-3''), 191.67 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-methoxyl-(3',5'-dimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (133)
之合成



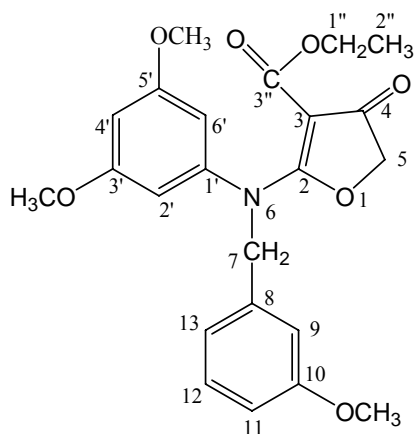
Formula: C₂₃H₂₅NO₇

Mol. Wt.: 427.16

DMO35014

取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *o*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **133** (0.86g, 40.2%)，mp: 151.5°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1726.29 (C₄=O), 1664.57 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 292.5 (4.56); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 1.027 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.689 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.752 (2H, *q*, H-1''), 3.762 (3H, *s*, C₉'-OCH₃), 4.592 (2H, *s*, H-5), 5.102 (2H, *s*, H-7), 6.293~6.304 (1H, *d*, H-4'), 6.33~6.340 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.824~6.958 (2H, *m*, H-10, H-12), 7.212~7.267 (2H, *m*, H-11, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.73 (C-2''), 51.14 (C-7), 55.02 (9-OCH₃), 55.24 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.19 (C-1''), 74.08 (C-5), 91.96 (C-3), 99.15 (C-4'), 102.89 (C-2', C-6'), 110.03 (C-10), 120.46 (C-12), 123.65 (C-11), 127.60 (C-13), 128.80 (C-8), 143.96 (C-1'), 156.54 (C-9), 160.87 (C-3', C-5'), 162.08 (C-2), 176.66 (C-3''), 191.92 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-methoxyl-(3',5'-dimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (134)
之合成



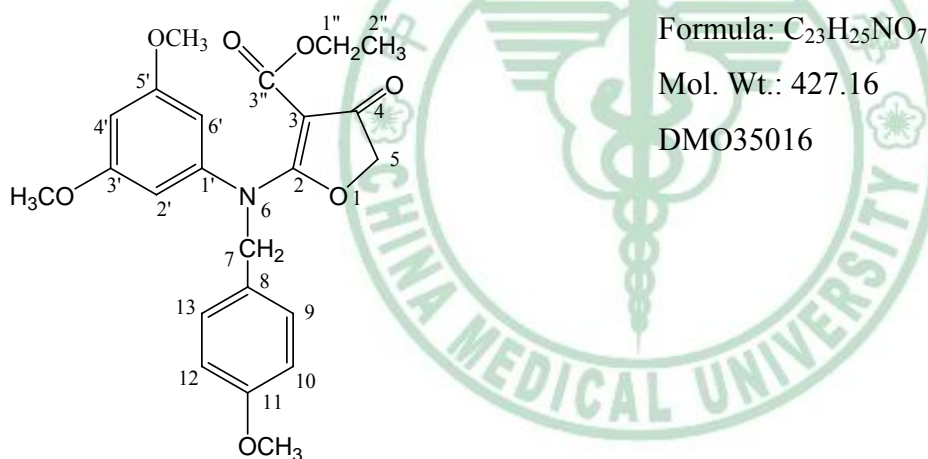
Formula: C₂₃H₂₅NO₇

Mol. Wt.: 427.16

DMO35015

取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *m*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **134** (0.45g, 21.1%)，mp: 123.1°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1703.14 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1678.07 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.072); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.025 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.709 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.76 (3H, *s*, 10-OCH₃), 3.78 (2H, *q*, H-1''), 4.634 (2H, *s*, H-5), 5.05 (2H, *s*, H-7), 6.331 (3H, *s*, H-2', H-4', H-6'), 6.761~6.834 (3H, *m*, H-9, H-11, H-13), 7.202~7.266 (1H, *m*, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.73 (C-2''), 54.98 (10-OCH₃), 55.28 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 55.50 (C-7), 60.25 (C-1''), 74.11 (C-5), 91.95 (C-3), 99.32 (C-4'), 103.11 (C-2', C-6'), 112.93 (C-11), 113.03 (C-9), 119.40 (C-13), 129.64 (C-12), 136.90 (C-8), 143.72 (C-1'), 159.65 (C-10), 161.07 (C-3', C-5'), 161.91 (C-2), 176.39 (C-3''), 191.77 (C-4)。

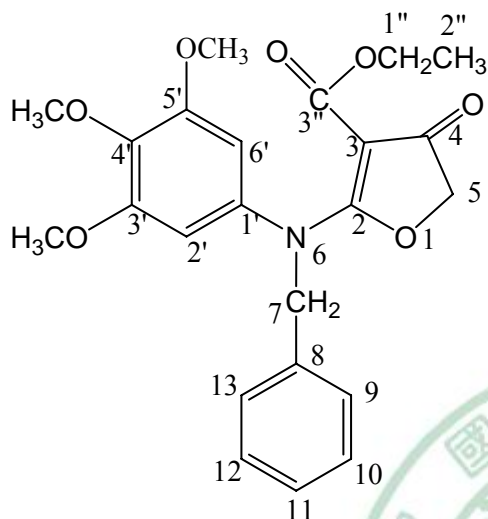
Ethyl 2-[*N*-*p*-methoxyl-(3',5'-dimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**135**) 之合成



取化合物 **8** (1.536g, 0.005 mole) 和 *p*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **120** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **135** (0.7 g, 32.8%)，mp: 155°C。其光學數據如下：427.0 (M^+ , 2.5), 428.0 (M^++1 , 0.55); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1724.36 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1680.00 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293 (4.109); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.014 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.695 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.719 (2H, *q*, H-1''), 3.768 (3H, *s*, 11-OCH₃), 4.634 (2H, *s*, H-5), 4.992 (2H, *s*, H-7), 6.276~6.287 (2H, *d*, $J=2.1\text{Hz}$, H-2', H-6'), 6.3158~6.326 (1H, *d*, $J=2.1\text{Hz}$, H-4'), 6.81 (2H, *d*, $J=8.6\text{Hz}$, H-10, H-12), 7.109 (2H, *d*, $J=8.6\text{Hz}$, H-9, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.73 (C-2''), 55.03 (C-7), 55.14 (11-OCH₃), 55.28 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.23 (C-1''), 74.05 (C-5), 92.13 (C-3), 99.42 (C-4'), 103.51 (C-2', C-6'), 113.84 (C-10, C-12), 127.32 (C-8), 129.08 (C-9, C-13), 143.32 (C-1'), 159.12 (C-11), 161.03 (C-3', C-5'), 162.00 (C-2), 176.15 (C-3''), 191.71 (C-4)。

(十) Ethyl 2-[*N*-various benzyl-(3',4',5'-trimethoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3- carboxylate (136~151) 之合成

Ethyl 2-[*N*-benzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (136)之合成



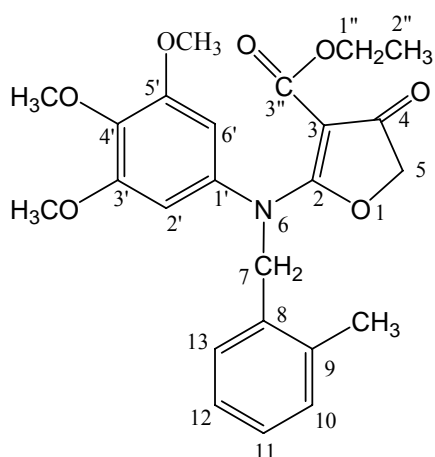
Formula: C₂₃H₂₅NO₇

Mol. Wt.: 427.45

TMO53001

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中，加入無水 K₂CO₃ (0.69g, 0.005mole) 及 KI (0.83g, 0.005mole) 攪拌之，接著加入及 benzyl chloride (0.886g, 0.007 mole)，反應 1~2 小時，以 TLC 檢查反應之進度。然後加冰水 100cc，靜置讓其沉澱析出，用布氏漏斗減壓抽氣過濾沉澱物，以清水洗 1~2 遍，以冰冷乙醇稍微浸泡沉澱物幾秒鐘溶解掉沉澱物表面之可溶性雜質，減壓抽氣移除乙醇，剩餘沉澱物再用乙醇做再結晶，得淡黃色結晶產物，為化合物 **136** (0.43 gm, 20.1%)，mp : 196.2°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1724.36 (C₄=O), 1658.78 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 295 (4.459); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 1.016 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.725 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.76 (2H, *q*, H-1''), 3.80 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.651 (2H, *s*, H-5), 5.047 (2H, *s*, H-7), 6.324 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.222~7.326 (5H, *m*, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz; CDCl₃) δ: 13.80 (C-2''), 55.82 (C-7), 55.96 (C-3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.30 (C-1''), 60.54 (4'-OCH₃), 74.09 (C-5), 91.62 (C-3), 102.95 (C-2', C-6'), 127.75 (C-9, C-13), 127.96 (C-11) 128.57 (C-10, C-12), 135.21 (C-8), 137.06 (C-4'), 137.26 (C-1'), 153.37 (C-3', C-5'), 162.09 (C-2), 176.08 (C-3''), 191.56 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-methylbenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (137)之合成



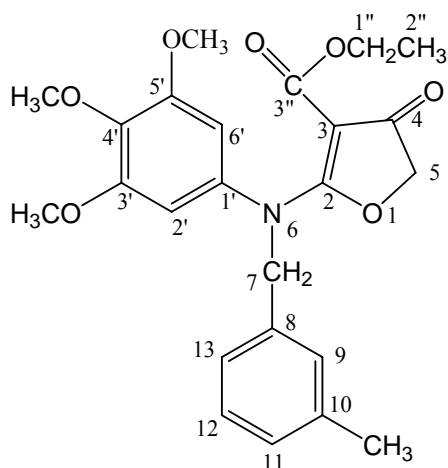
Formula: C₂₄H₂₇NO₇

Mol. Wt.: 441.47

TMO53002

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole) 和 *o*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **137** (0.38g, 17.2%)，mp: 149.6°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1724.36 (C₄=O), 1662.64 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 293.5 (4.045); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.993 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 2.197 (3H, *s*, 9-CH₃), 3.669 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.725 (2H, *q*, H-1''), 3.96 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.594 (2H, *s*, H-5), 5.407 (2H, *s*, H-7), 6.299 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.149~7.199 (4H, *m*, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.78 (C-2''), 18.79 (9-CH₃), 53.47 (C-7), 55.92 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.26 (C-1''), 60.51 (4'-OCH₃), 74.12 (C-5), 91.75 (C-3), 102.63 (C-2', C-6'), 126.26 (C-12), 127.01 (C-11), 127.74 (C-13), 130.37 (C-10), 133.42 (C-9), 135.42 (C-8), 136.99 (C-4'), 137.44 (C-1'), 153.24 (C-3', C-5'), 162.10 (C-2), 176.29 (C-3''), 191.67 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-methylbenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (138)之合成



Formula: C₂₄H₂₇NO₇

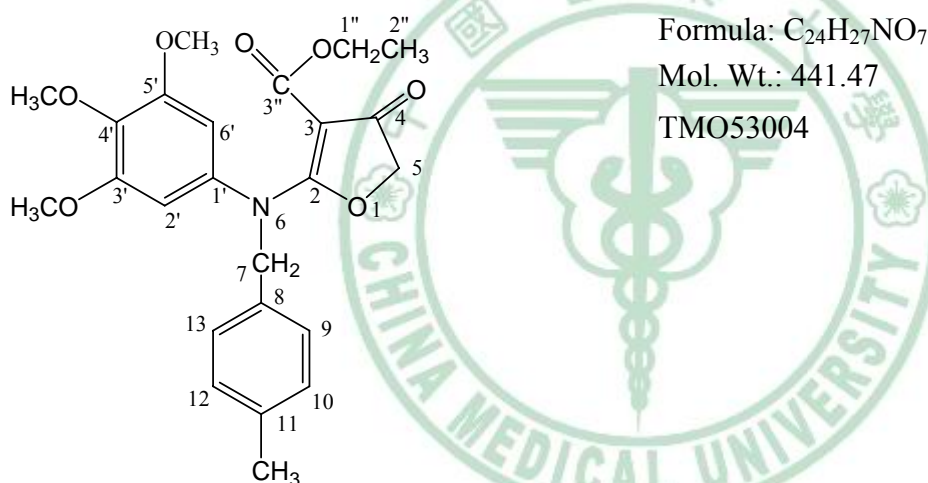
Mol. Wt.: 441.47

TMO53003

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole) 為原料，比

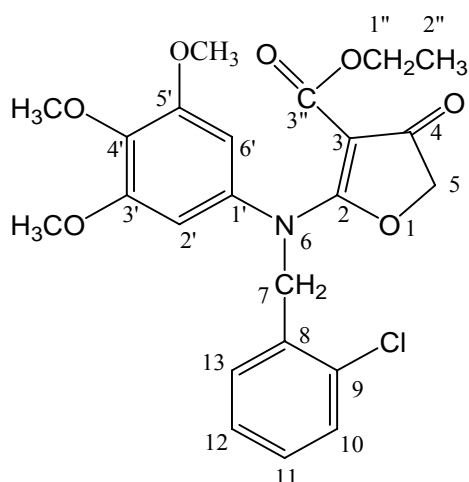
照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **138** (0.87g, 39.4%)，mp: 186.9°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1726.29 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1656.85 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.021); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.012 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 2.309 (3H, *s*, 10- CH_3), 3.722 (6H, *s*, 3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 3.775 (2H, *q*, H-1''), 3.798 (3H, *s*, 4'- OCH_3), 4.641 (2H, *s*, H-5), 5.007 (2H, *s*, H-7), 6.333 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.149~7.199 (4H, *m*, H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.80 (C-2''), 21.15 (10- CH_3), 55.77 (C-7), 55.95 (3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 60.28 (C-1''), 60.54 (4'- OCH_3), 74.09 (C-5), 91.62 (C-3), 102.89 (C-2', C-6'), 124.68 (C-13), 128.35 (C-11), 128.47 (C-9), 128.65 (C-12), 135.16 (C-10), 137.00 (C-4'), 137.38 (C-8), 138.28 (C-1'), 153.33 (C-3', C-5'), 162.11 (C-2), 176.07 (C-3''), 191.62 (C-4)。

Ethyl 2-[*N-p*-methylbenzyl-(3',4',5'-methoxy)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**139**)]之合成



取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-methylbenzyl chloride (0.984g, 0.007 mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **139** (1.1g, 49.8%)，mp: 170.1°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1726.29 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1656.78 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.048); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.007 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 2.319 (3H, *s*, 11- CH_3), 3.699 (6H, *s*, 3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 3.745 (2H, *q*, H-1''), 3.798 (3H, *s*, 4'- OCH_3), 4.637 (2H, *s*, H-5), 4.998 (2H, *s*, H-7), 6.327 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.088~7.099 (4H, *m*, H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.80 (C-2''), 20.86 (11- CH_3), 55.61 (C-7), 55.95 (3'- OCH_3 , 5'- OCH_3), 60.28 (C-1''), 60.54 (4'- OCH_3), 74.07 (C-5), 91.56 (C-3), 102.91 (C-2', C-6'), 127.74 (C-9, C-13), 129.20 (C-10, C-12), 132.10 (C-11), 136.96 (C-4'), 137.32 (C-8), 137.76 (C-1'), 153.34 (C-3', C-5'), 162.10 (C-2), 176.04 (C-3''), 191.58 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-chlorobenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (140)之合成



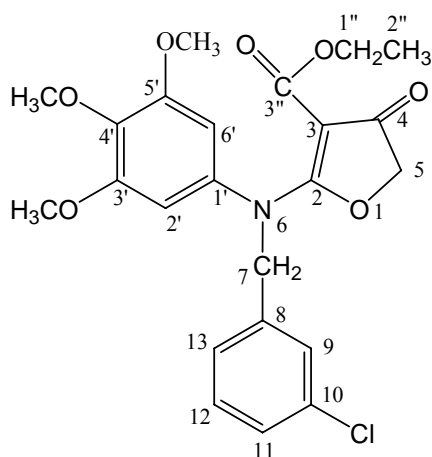
Formula: C₂₃H₂₄ClNO₇

Mol. Wt.: 461.89

TMO53005

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **140** (0.49g, 20.4%)，mp: 166.6°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1728.22 (C₄=O), 1660.71 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.005); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.032 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.692 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.77 (2H, *q*, H-1''), 3.848 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.621 (2H, *s*, H-5), 5.198 (2H, *s*, H-7), 6.364 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.226~7.361 (4H, *m*, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.81 (C-2''), 53.13 (C-7), 55.98 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.36 (C-1''), 60.54 (4'-OCH₃), 74.21 (C-5), 91.96 (C-3), 100.14 & 102.40 (C-2', C-6'), 127.07 (C-12), 128.41 (C-11), 129.09 (C-13), 129.62 (C-10), 132.94 (C-8, C-9), 137.10 (C-4'), 137.15 (C-1'), 153.34 (C-3', C-5'), 162.06 (C-2), 176.49 (C-3''), 191.74 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-chlorobenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (141)之合成



Formula: C₂₃H₂₄ClNO₇

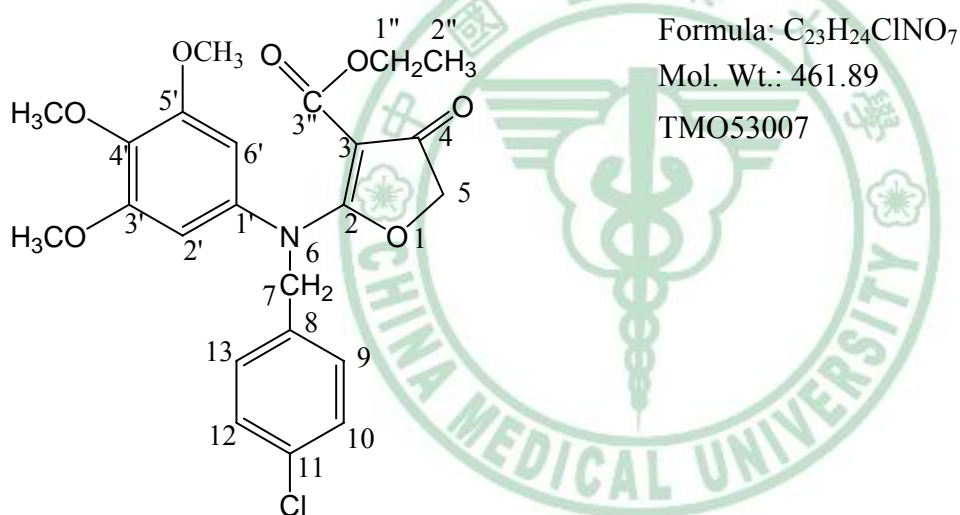
Mol. Wt.: 461.89

TMO53006

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *m*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照

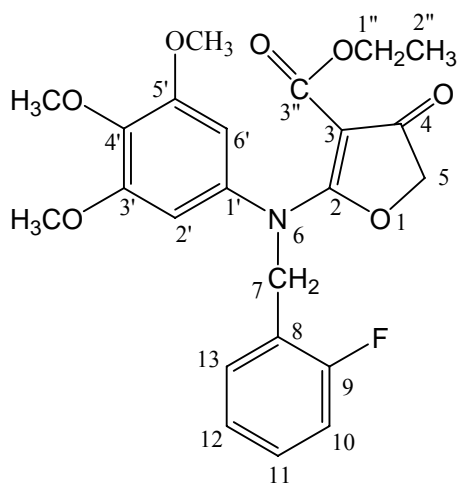
化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **141** (0.77g, 33.3%)，mp : 186°C 。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1728.22 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1660.71 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 295 (3.974); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.030 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.751 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.766 (2H, *q*, H-1''), 3.813 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.653 (2H, *s*, H-5), 5.027 (2H, *s*, H-7), 6.338 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.217~7.292 (4H, *m*, H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.79 (C-2''), 55.16 (C-7), 56.02 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.36 (C-1''), 60.55 (4'-OCH₃), 74.14 (C-5), 91.77 (C-3), 102.94 (C-2', C-6'), 125.82 (C-13), 127.91 (C-9), 128.17 (C-12), 129.87 (C-10), 134.47 (C-8, C-8), 137.03 (C-4'), 137.24 (C-1'), 153.49 (C-3', C-5'), 162.00 (C-2), 176.10 (C-3''), 191.52 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*p*-chlorobenzyl-(3',4',5'-methoxy)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**142**)]之合成



取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-chlorobenzyl chloride (1.127g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **142** (0.53g, 22.9%)，mp : 154.5°C 。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1726.29 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1660.71 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.088); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.034 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.731 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.774 (2H, *q*, H-1''), 3.811 (3H, *s*, C₄'-OCH₃), 4.64 (2H, *s*, H-5), 5.019 (2H, *s*, H-7), 6.318 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.217~7.292 (4H, *m*, H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.80 (C-2''), 55.11 (C-7), 56.02 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.35 (C-1''), 60.56 (4'-OCH₃), 74.11 (C-5), 91.69 (C-3), 102.92 (C-2', C-6'), 128.76 (C-9, C-13), 129.19 (C-10, C-12), 133.66 (C-11), 133.98 (C-8), 137.01 (C-4'), 137.23 (C-1'), 153.48 (C-3', C-5'), 162.01 (C-2), 176.12 (C-3''), 191.47 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-fluorobenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (143)之合成



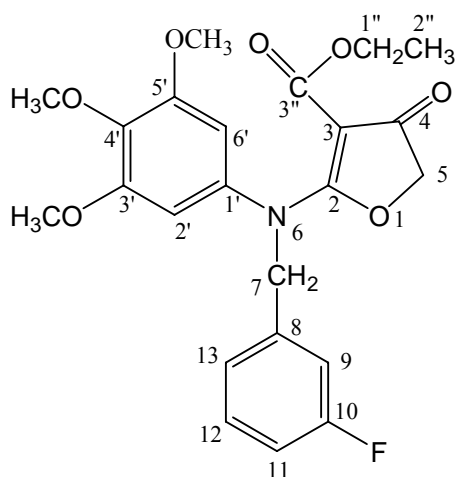
Formula: C₂₃H₂₄FNO₇

Mol. Wt.: 445.44

TMO53008

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **143** (0.91g, 40.9%)，mp : 184.1°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1724.36 (C₄=O), 1656.85 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.055); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.02 (3H, t, J=7.1Hz, H-2''), 3.72 (6H, s, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.75 (2H, q, H-1''), 3.80 (3H, s, 4'-OCH₃), 4.64 (2H, s, H-5), 5.13 (2H, s, H-7), 6.35 (2H, s, H-2', H-6'), 7.017~7.27 (4H, m, H-10, H-11, H-12, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.80 (C-2''), 49.25 (C-7), 55.95 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.35 (C-1''), 60.54 (4'-OCH₃), 74.16 (C-5), 91.79 (C-3), 102.74 (C-2', C-6'), 115.23 & 115.66 (C-10), 122.18 & 122.47 (C-12), 124.28 (C-11), 129.61 (C-13), 129.79 & 129.95 (C-8), 136.92 (C-4'), 137.05 (C-1'), 153.33 (C-3', C-5'), 157.87 & 162.09 & 162.79 (C-2, C-9), 176.27 (C-3''), 191.68 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-fluorobenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (144)之合成



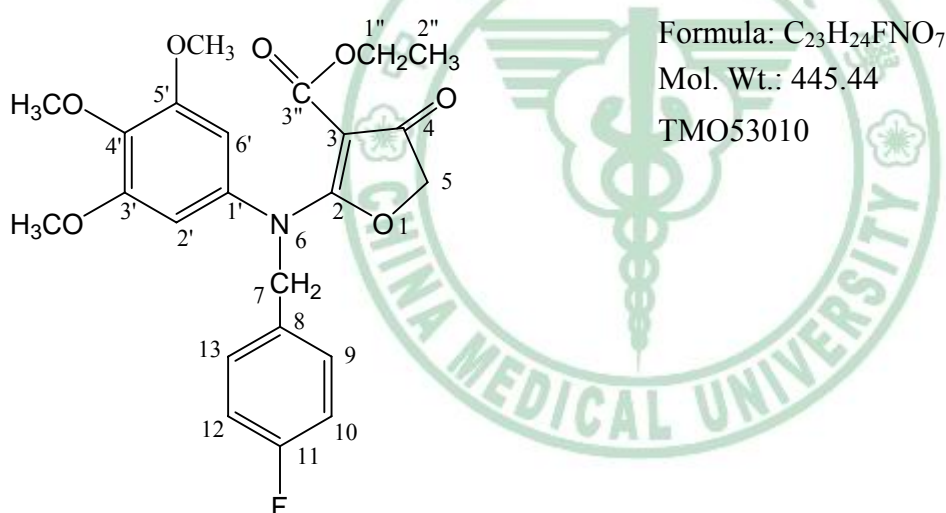
Formula: C₂₃H₂₄FNO₇

Mol. Wt.: 445.44

TMO53009

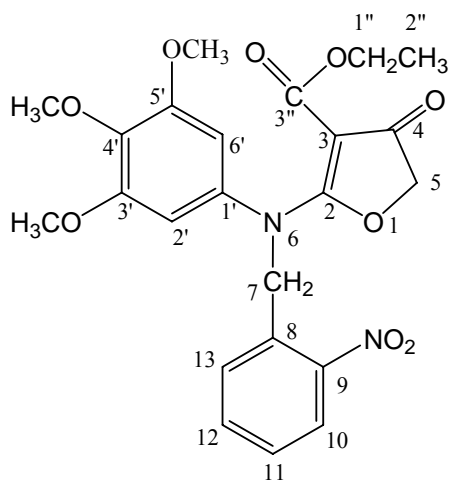
取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole) 和 *m*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **144** (0.51g, 22.9%)，mp : 210°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1726.29 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1658.78 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (3.963); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.024 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.743 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.77 (2H, *q*, H-1''), 3.808 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.649 (2H, *s*, H-5), 5.046 (2H, *s*, H-7), 6.342 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.972~7.266 (4H, *m*, H-9, H-11, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.80 (C-2''), 55.22 (C-7), 56.00 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.38 (C-1''), 60.57 (4'-OCH₃), 74.15 (C-5), 91.76 (C-3), 102.73 (C-2', C-6'), 114.47 & 114.77 (C-11), 114.90 & 115.19 (C-9), 123.30 (C-13), 130.12 & 130.29 (C-12), 137.16 (C-1', C-4'), 137.66 (C-8), 153.47 (C-3', C-5'), 160.50 (C-10), 162.00 (C-2), 176.13 (C-3''), 191.57 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-fluorobenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**145**)之合成



取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole) 和 *p*-fluorobenzyl chloride (1.012g, 0.007mole) 為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **145** (0.76g, 34.1%)，mp : 170.4°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1724.36 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1658.78 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.135); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.00 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.72 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.74 (2H, *q*, H-1''), 3.79 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.65 (2H, *s*, H-5), 5.00 (2H, *s*, H-7), 6.3 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.97~7.27 (4H, *m*, H-9, H-10, H-12, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.79 (C-2''), 55.02 (C-7), 55.98 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.33 (C-1''), 60.54 (4'-OCH₃), 74.09 (C-5), 91.59 (C-3), 102.97 (C-2', C-6'), 115.27 & 115.70 (C-10, C-12), 129.68 & 129.84 (C-9, C-13), 130.94 (C-8), 136.93 (C-4'), 137.12 (C-1'), 153.43 (C-3', C-5'), 159.80 & 164.72 (C-11), 162.05 (C-2), 175.99 (C-3''), 191.51 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*o*-nitrobenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (146)之合成



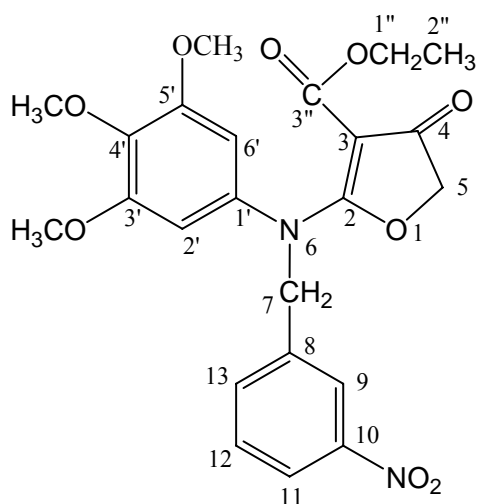
Formula: C₂₃H₂₄N₂O₉

Mol. Wt.: 472.44

TMO53011

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **146** (1.31.g, 55.5%)，mp : 218°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1712.79 (C₄=O), 1683.86 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.175); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 1.024 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.75 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.752 (2H, *q*, H-1''), 3.793 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.582 (2H, *s*, H-5), 5.514 (2H, *s*, H-7), 6.39 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.507~7.686 (3H, *m*, H-11, H-12, H-13), 8.091 (1H, *d*, *J*=8Hz, H-10); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.80 (C-2''), 53.04 (C-7), 56.05 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.46 (C-1''), 60.58 (4'-OCH₃), 74.29 (C-5), 92.27 (C-3), 101.84 (C-2', C-6'), 125.30 (C-10), 128.27 (C-11), 128.75 (C-13), 131.51 (C-12), 133.86 (C-8), 137.08 (C-4'), 137.60 (C-1'), 147.72 (C-9), 153.57 (C-3', C-5'), 161.82 (C-2), 176.62 (C-3''), 191.69 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*m*-nitrobenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (147)之合成



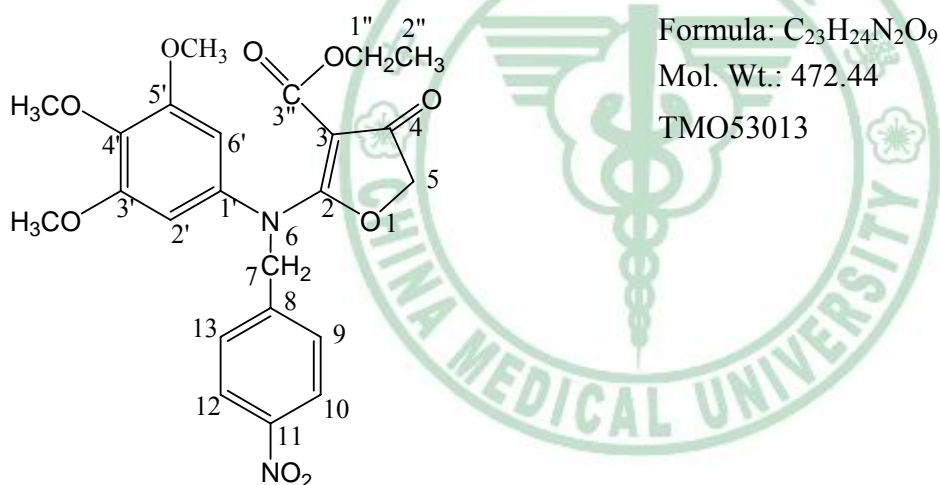
Formula: C₂₃H₂₄N₂O₉

Mol. Wt.: 472.44

TMO53012

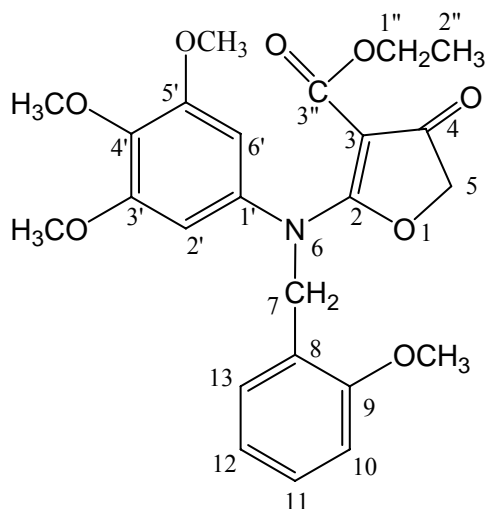
取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *m*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得黃色產物，為化合物 **147** (0.9g, 38.1%)，mp : 200.4°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1728.22 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1660.71 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.067); $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.028 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.762 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.80 (2H, *q*, H-1''), 3.816 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.66 (2H, *s*, H-5), 6.38(2H, *s*, H-7), 6.39 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.532~7.551 (2H, *m*, H-12, H-13), 8.127~8.18 (2H, *m*, H-9, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 14.09 (C-2''), 55.13 (C-7), 56.32 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.78 (C-1''), 60.89 (4'-OCH₃), 74.54 (C-5), 92.15 (C-3), 102.83 (C-2', C-6'), 122.95 (C-11), 123.30 (C-9), 129.99 (C-12), 133.91 (C-13), 137.09 (C-8), 137.40 (C-4'), 137.54 (C-1'), 148.43 (C-10), 153.90 (C-3', C-5'), 162.17 (C-2), 176.51 (C-3''), 191.84 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-nitrobenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**148**)之合成



取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-nitrobenzyl chloride (1.20g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **148** (0.49g, 20.7%)，mp : 186.3°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm^{-1} : 1734.01 ($\text{C}_4=\text{O}$), 1664.57 ($\text{C}_3\text{-CO-OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 294.5 (4.231); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 1.021 (3H, *t*, $J=7.1\text{Hz}$, H-2''), 3.728 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.762 (2H, *q*, H-1''), 3.796 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.631 (2H, *s*, H-5), 5.168 (2H, *s*, H-7), 6.354 (2H, *s*, H-2', H-6'), 7.398~7.441 (2H, *d*, $J=8.6\text{Hz}$, H-9, H-13), 8.1681~8.2114 (2H, *d*, $J=8.6\text{Hz}$, H-10, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 13.81 (C-2''), 55.01 (C-7), 56.06 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.46 (C-1''), 60.58 (4'-OCH₃), 74.22 (C-5), 91.93 (C-3), 102.50 (C-2', C-6'), 123.83 (C-10, C-12), 128.37 (C-9, C-13), 137.02 (C-4'), 137.26 (C-1'), 142.50 (C-11), 147.49 (C-8), 153.62 (C-3', C-5'), 161.87 (C-2), 176.28 (C-3''), 191.50 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*o*-methoxybenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (149)之合成



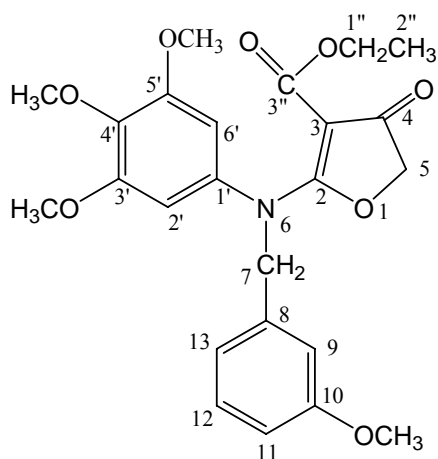
Formula: C₂₄H₂₇NO₈

Mol. Wt.: 457.47

TMO53014

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *o*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **149** (0.89g, 38.9%)，mp : 178.6 °C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1724.36 (C₄=O), 1662.64 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): (); ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 1.02 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.72 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.74 (3H, *s*, 9-OCH₃), 3.75 (2H, *q*, H-1''), 3.78 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.62 (2H, *s*, H-5), 5.09 (2H, *s*, H-7), 6.36 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.84 (1H, *d*, H-10), 6.93 (1H, *t*, H-12), 7.21 (1H, *d*, H-13), 7.25 (1H, *t*, H-11); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.81 (C-2''), 51.02 (C-7), 55.05(9-OCH₃), 55.92 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.23 (C-1''), 60.50 (4'-OCH₃), 74.08 (C-5), 91.67 (C-3), 102.69 (C-2', C-6'), 110.16 (C-10), 120.44 (C-12), 123.47 (C-11), 128.40 (C-13), 129.02 (C-8), 136.79 (C-4'), 137.55 (C-1'), 153.12 (C-3', C-5'), 156.79 (C-9), 162.23 (C-2), 176.44 (C-3''), 191.73 (C-4)。

Ethyl 2-[N-*m*-methoxybenzyl-(3',4',5'-methoxy)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (150)之合成



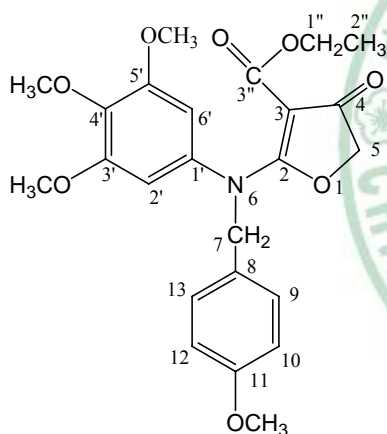
Formula: C₂₄H₂₇NO₈

Mol. Wt.: 457.47

TMO53015

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *m*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得白色產物，為化合物 **150** (1.03g, 45%)，mp : 153.5°C。其光學數據如下：MS (m/z, %): 457.0 (M⁺, 11.95), 458.1 (M⁺+1, 3.24), IR (KBr disc) cm⁻¹: 1724.36 (C₄=O), 1654.92 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.085); ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ: 1.005 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.70 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.726 (3H, *s*, 10-OCH₃), 3.74 (2H, *q*, H-1''), 3.79 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.632 (2H, *s*, H-5), 5.015 (2H, *s*, H-7), 6.351 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.737~6.804 (3H, *m*, H-9, H-11, H-13), 7.236 (1H, *t*, H-12); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 14.03(C-2''), 55.21(10-OCH₃), 55.88 (C-7), 56.192 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.52 (C-1''), 60.77 (4'-OCH₃), 74.35 (C-5), 91.90 (C-3), 102.88 (C-2', C-6'), 113.16 (C-8), 113.72 (C-9), 119.96 (C-13), 129.88 (C-12), 137.01 (C-4'), 137.13 (C-1'), 137.70 (C-10), 153.58 (C-3', C-5'), 159.89 (C-11), 162.26 (C-2), 176.34 (C-3''), 191.85 (C-4)。

Ethyl 2-[*N*-*p*-methoxybenzyl-(3',4',5'-methoxy)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**151**)]之合成



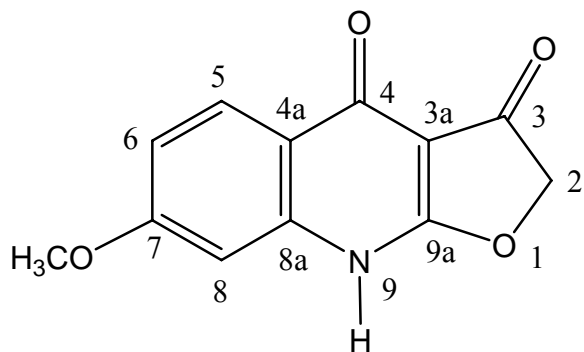
Formula: C₂₄H₂₇NO₈

Mol. Wt.: 457.47

TMO53016

取化合物 **9** (1.386g, 0.005 mole)和 *p*-methoxybenzyl chloride (1.096g, 0.007mole)為原料，比照化合物 **136** 的合成法及處理步驟，得淡黃色產物，為化合物 **151** (1.21g, 52.9%)，mp : 183.2°C。其光學數據如下：IR (KBr disc) cm⁻¹: 1724.36 (C₄=O), 1656.85 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (4.080); ¹H-NMR(200MHz, CDCl₃) δ: 0.95 (3H, *t*, *J*=7.1Hz, H-2''), 3.67 (6H, *s*, 3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 3.72 (3H, *s*, 11-OCH₃), 3.72 (2H, *q*, H-1''), 3.75 (3H, *s*, 4'-OCH₃), 4.60 (2H, *s*, H-5), 4.92 (2H, *s*, H-7), 6.26 (2H, *s*, H-2', H-6'), 6.77 (2H, *d*, *J*=8Hz H-10, H-12), 7.25 (2H, *d*, *J*=8Hz H-9, H-13); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 13.76 (C-2''), 55.00 (11-OCH₃), 55.26 (C-7), 55.92 (3'-OCH₃, 5'-OCH₃), 60.23 (C-1''), 60.50 (4'-OCH₃), 74.02 (C-5), 91.42 (C-3), 103.00 (C-2', C-6'), 113.79 (C-10, C-12), 127.00 (C-8), 129.35 (C-9, C-13), 136.92 (C-4'), 137.06 (C-1'), 153.29 (C-3', C-5'), 159.19 (C-11), 162.08 (C-2), 175.87 (C-3''), 191.51 (C-4)。

7-Methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione (152) 之合成



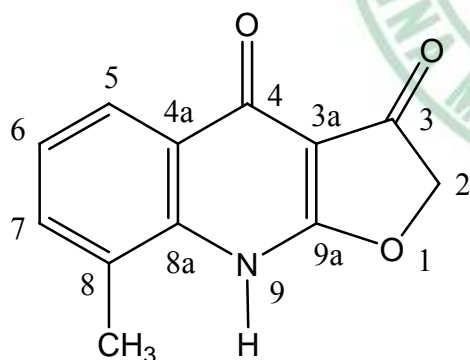
Formula: C₁₂H₉NO₄

Mol. Wt.: 231.2

HAJ011

取化合物 1(3g, 0.0108 mole) 研磨成粉末後，加入約 30ml 之熱 diphenylether(250°C) 中，將溫度升高到約 256°C，維持 3~5 分鐘後遠離火源，加入大量 n-hexane 到熱的 diphenyl ether 溶液中，使之急速冷卻，可見有黃棕色沉澱，收集沉澱物以 CHCl₃, EtOH 及 Acetone 清洗數次可得化合物 152 (2.12g, 83%)，mp:280°C。MS(m/z): 231 (M⁺), IR(KBr disc) cm⁻¹: 3057.17 (-NH), 1703.09 (C₃=O), 1634.44 (C₄=O), UV λ_{max} nm (MeOH)(log ε): 257 (4.576), ¹H-NMR (200 MHz, CF₃COOD) δ :4.1 (3H, s, 7-OCH₃), 5.3 (2H, s, H-2), 7.38(1H, d, J₍₆₋₈₎=2.31Hz, H-8), 7.45 (1H, dd, J₍₅₋₆₎=9.3Hz, J₍₆₋₈₎=2.3 Hz, H-6), 8.38(1H, d, J₍₅₋₆₎=9.3Hz, H-5), 11.49 (1H, s, -NH-)。 ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 55.86 (7-OCH₃), 75.60 (C-2), 99.31 (C-3a), 101.28 (C-8), 112.63 (C-6) 119.17 (C-4a), 128.11 (C-5), 139.711 (C-8a), 163.01 (C-7), 171.8 (C-9a), 175.50 (C-4), 190.78 (C-3)。

8-methyl-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione (153) 之合成



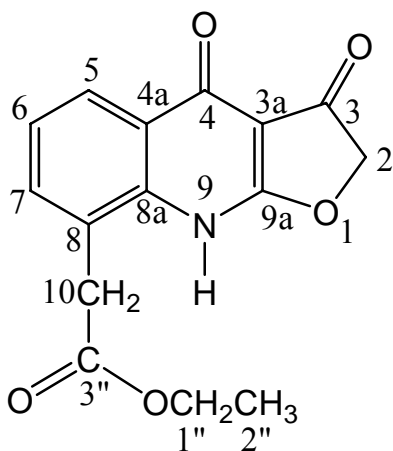
Formula: C₁₂H₉NO₃

Mol. Wt.: 215.2

JOT011

取化合物 5 (2.92 g, 0.01mole) 為原料, 比照化合物 152 的合成法及處理步驟, 得棕色化合物 153 (1.76 g, 82%), 融點(mp): 287.7, MS(m/z, %): 215.1 (M⁺, 100), 216.1 (M⁺+1, 13.81), IR(KBr disc) cm⁻¹: 3442.94 (-NH), 1716.65 (C₃=O), 1633.71 (C₄=O), UV λ_{max} nm (MeOH)(log ε): 296 (3.540), H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) δ :2.481 (3H, s, 8-OCH₃), 4.812 (2H, s, H-2), 7.213 (1H, t, H-6) 7.495 (1H, d, H-7), 7.939 (1H, d, H-5), 12.3 (1H, br, -NH)。¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 17.93 (7-OCH₃), 75.44 (C-2), 99.31 (C-3a), 124.14 (C-6, C-7), 125.82 (C-4a), 127.24 (C-8), 134.47 (C-5), 136.50 (C-8a), 172.50 (C-9a), 175.81 (C-4), 191.17 (C-3)。

Ethyl 2-(3,4-dioxo-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-b]quinolin-8-yl)acetate (154) 之合成



Formula: C₁₅H₁₃NO₅

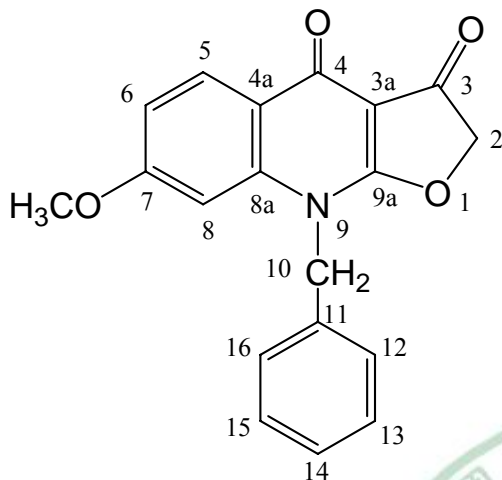
Mol. Wt.: 287.27

JNC011

取化合物 10 (3.333g, 0.01 mole) 比照化合物 152 的合成法及處理步驟, 得化合物 152 (2.32 g, 81%), 融點(mp): 268.5, MS(m/z, %): 286.8 (M⁺, 43.56), 287.9 (M⁺+1, 12.14), IR(KBr disc) cm⁻¹: 3126.61 (-NH), 1734.01 (C₃=O), 1714.72 (C₄=O), 1629.85 (C₃'=O), UV λ_{max} nm (MeOH)(log ε): 311.5 (4.002); H-NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.196 (3H, *t*, H-2''), 4.02 (2H, *s*, H-10), 4.104 (2H, *q*, H-1''), 7.306 (1H, *t*, H-6), 7.571 (1H, *dd*, H-7), 8.058 (1H, *dd*, H-5), 12.9 (1H, *br*, -NH)。
¹³C-NMR (200MHz, DMSO *d*₆) δ: 14.29 (C-2''), 36.29 (C-10), 60.78 (C-1''), 75.51 (C-2), 99.458 (C-3a), 124.09 (C-6), 124.51 (C-8), 125.64 (C-5), 126.08 (C-4a), 135.60 (C-7), 137.20 (C-8a), 170.51 (C-4), 172.07 (C-9a), 175.74 (C-3''), 191.11 (C-3)。

(十二) *N*-various benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-diones
(155~167)之合成

N-benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (155) 之合成



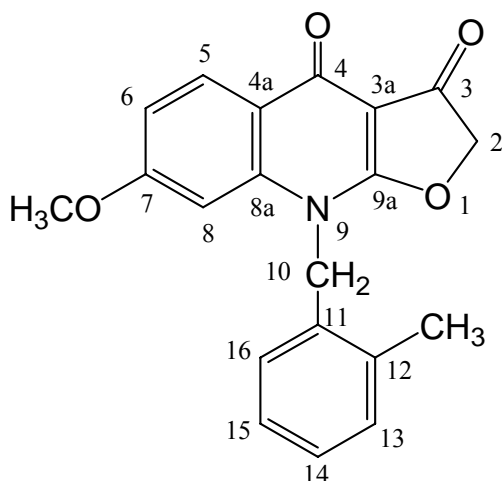
Formula: C₁₉H₁₅NO₄

Mol. Wt.:321.33

HAJ01101

取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中，加入無水 K₂CO₃ (2.1g, 0.015 mole) 加熱 (約 70~80°C) 使之溶解，接著加入 KI (2.406 g, 0.015 mole) 及 benzyl chloride (1.89g, 0.015 mole)，反應 0.5~2 小時，以 TLC 檢查反應之進度，然後加冰水，以 CHCl₃ 萃取，取 CHCl₃ 層，以無水 MgSO₄ 乾燥脫水，減壓濃縮後，CHCl₃ 濃縮到剩下 3~5cc 沉澱物未析出前，停止減壓濃縮，靜止置於桌上，從玻璃壁緣緩慢加入適量的 EtOH，使沉澱物慢慢從 CHCl₃ 析出，收集沉澱物以短程矽膠管柱層析 (CHCl₃/EtOH) 沖提，再以 EtOH 及 CHCl₃ 做再結晶，得白色棉絮狀產物，為化合物 **155** (1.2g, 74.7%)，mp: 260.5°C。其光學數據如下：IR(KBr disc) cm⁻¹: 1705.0 (C₃=O), 1647.1 (C₄=O), UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 295 (4.11)。¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 3.781 (3H, s, 7-OCH₃), 4.750 (2H, s, H-2), 5.543 (2H, s, H-10), 6.753 (1H, d, J₍₆₋₈₎=2.2Hz, H-8), 6.90 (1H, dd, J₍₅₋₆₎=8.86Hz, J₍₆₋₈₎=2.2 Hz, H-6), 7.200~7.4194 (5H, m, H-12, H-13, H-14, H-15, H16), 8.366 (1H, d, J₍₅₋₆₎=8.86Hz, H-5); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 46.45(C-10), 55.99 (7-OCH₃), 76.20 (C-2), 100.04(C-3a), 101.78 (C-8), 111.92 (C-6) 120.30 (C-4a), 127.05 (C-12, C16), 128.08 (C-14), 128.77 (C-5), 129.16 (C-13, C-15), 135.18 (C-11), 140.00 (C-8a), 163.20 (C-7), 171.13 (C-9a), 175.19 (C-4), 191.18 (C-3)。

N-*o*-methylbenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione (156) 之合成



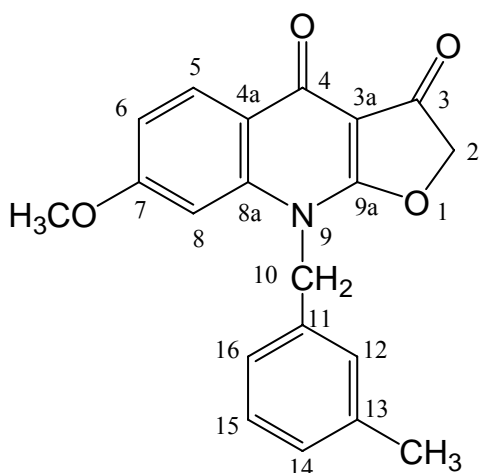
Formula: C₂₀H₁₇NO₄

Mol. Wt.: 335.36

HAJ01102

取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *o*-methylbenzyl chloride (2.109g, 0.015 mole) 為原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **156** (0.82g, 48.9%)，mp: 240.6 °C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 354.8 (M⁺, 28.63), 356.8 (M⁺+1, 8.39) ; IR(KBr disc) cm⁻¹ : 1715.94 (C₃=O), 1613.62 (C₄=O) ; UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε) : 295 (4.169) ; ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ : 2.446 (3H, s, 12-OCH₃), 3.731 (3H, s, 7-OCH₃), 4.855 (2H, s, H-2), 5.479 (2H, s, H-10), 6.696~7.768(2H, m, H-6, H-8), 7.011~7.255 (4H, m, H-13, H-14, H-15, H-16), 8.147 (1H, d, H-5) ; ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 18.92(12-CH₃), 44.89 (C-10), 55.91 (7-OCH₃), 76.18 (C-2), 100.79 (C-3a), 101.96 (C-8), 111.59 (C-6), 120.30 (C-4a), 124.47 (C-15), 126.60 (C-14), 127.66 (C-16), 128.89 (C-5), 130.73 (C-13), 132.75 (C-12), 135.34 (C-11), 140.15 (C-8a), 163.25 (C-7), 171.17 (C-9a), 175.38 (C-4), 191.06 (C-3)。

N-*m*-methylbenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione (157) 之合成



Formula: C₂₀H₁₇NO₄

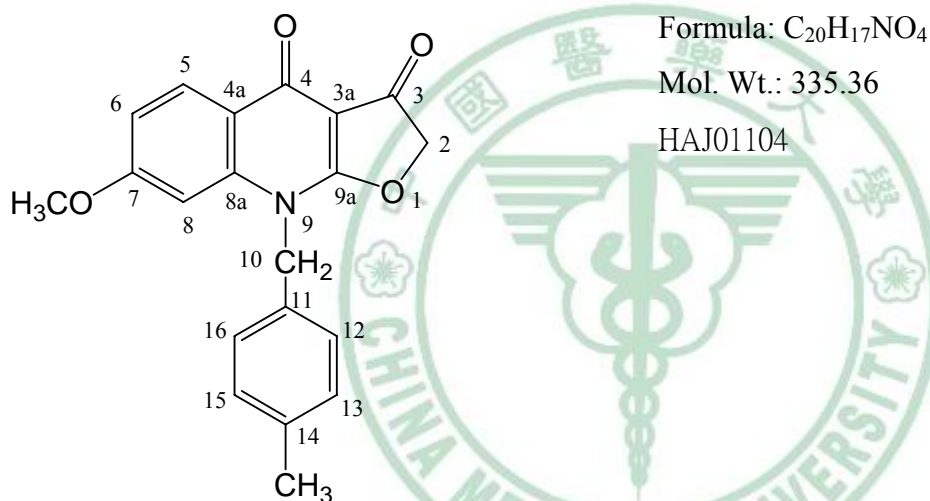
Mol. Wt.: 335.36

HAJ01103

取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *m*-methylbenzyl chloride (2.109g, 0.015 mole) 為原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **157** (0.51g, 30.4%)，mp: 220 °C。

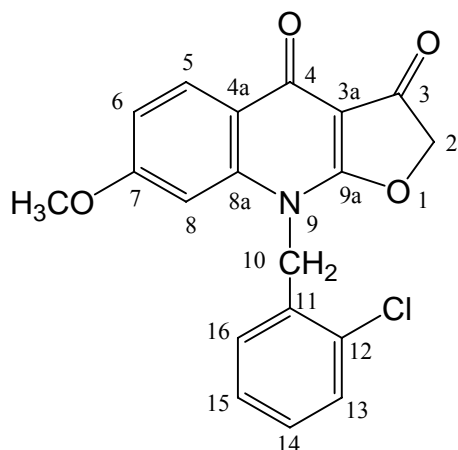
其光學數據如下：MS(m/z: %): 334.8(M⁺, 12.79), 335.9 (M⁺+1, 3.03); IR(KBr disc) cm⁻¹: 1708.38 (C₃=O), 1621.74 (C₄=O); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 294.5 (3.118); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 2.457 (3H, s, H-13), 3.771 (3H, s, 7-OCH₃), 4.907 (2H, s, H-2), 5.492 (2H, s, H-10), 6.954~7.235 (6H, m, H-6, H-8, H-12, H-14, H-15, H-16), 8.090 (1H, d, J₍₅₋₆₎=9.46Hz, H-5); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 21.16 (13-CH₃), 46.47 (C-10), 55.97 (7-OCH₃), 76.19 (C-2), 100.06 (C-3a), 101.76 (C-8), 111.87 (C-6), 120.29 (C-4a), 124.12 (C-16), 127.47 (C-14), 128.76 (C-5, C-12), 129.05 (C-15), 135.11 (C-13), 138.50 (C-11), 140.03 (C-8a), 163.16 (C-7), 171.13 (C-9a), 175.16 (C-4), 191.22 (C-3)。

N-*p*-methylbenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione (158) 之合成



取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *p*-methylbenzyl chloride (2.109g, 0.015 mole) 為原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **158**(0.68g, 40.6%)，mp: 261.1°C。其光學數據如下：MS(m/z: %): 334.8(M⁺, 14.89), 335.9 (M⁺+1, 4.12) ; IR(KBr disc) cm⁻¹: 1705.06 (C₃=O), 1619.04 (C₄=O); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 295.5 (4.394); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 2.243 (3H, s, 14-CH₃), 3.783 (3H, s, 7-OCH₃), 4.913 (2H, s, H-2), 5.503 (2H, s, H-10), 6.9696~7.0342 (2H, m, H-6, H-8), 7.130~7.303 (4H, q, H-12, H-13, H-15, H-16), 8.105 (1H, d, H-5); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 20.87 (14-CH₃), 46.23 (C-10), 56.01 (7-OCH₃), 76.19 (C-2), 100.03 (C-3a), 101.84 (C-8), 111.89 (C-6), 120.32 (C-4a), 127.09 (C-12, C-16), 128.76 (C-5), 129.69 (C-13, C-15), 132.14 (C-14), 137.38 (C-11), 139.99 (C-8a), 163.17 (C-7), 171.10 (C-9a), 175.15 (C-4), 191.17 (C-3)。

N-*o*-chlorobenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione (159) 之合成



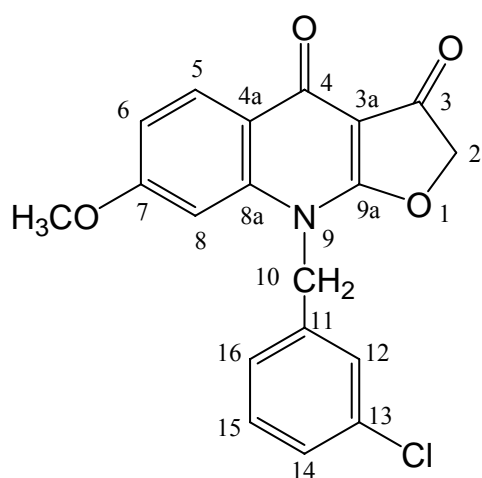
Formula: C₁₉H₁₄ClNO₄

Mol. Wt.: 355.77

HAJ01105

取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *o*-chlorobenzyl chloride (2.415g, 0.015mole) 爲原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **159** (1.2g, 67.5%)，mp: 226.9°C。其光學數據如下: MS(m/z, %): 354.8 (M⁺, 25.62), 356.8 (M⁺+1, 9.74); IR(KBr disc) cm⁻¹: 1721.3 (C₃=O), 1617.13 (C₄=O); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 295 (4.169); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 3.774 (3H, s, 7-OCH₃), 4.754 (2H, s, H-2), 5.504 (2H, s, H-10), 6.562(1H, d, J₍₆₋₈₎=2.2Hz, H-8), 6.859(2H, dd, J₍₅₋₆₎(15-16) = 8.8Hz, J₍₆₋₈₎(15-14) = 2.2Hz, H-6, H-16), 7.205~7.298 (2H, m, H-14, H-15), 7.511~7.465 (1H, dd, H-13), 8.335 (1H, d, J₍₅₋₆₎=8.8Hz, H-5); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 44.54 (C-10), 55.51 (7-OCH₃), 75.52 (C-2), 100.11 (C-3a), 100.40 (C-8), 111.50 (C-6), 120.33 (C-4a), 126.51 (C-15), 127.57 (C-5), 129.41 (C-14), 129.65 (C-16), 129.85 (C-13), 130.91 (C-12), 132.03 (C-11), 139.55 (C-8a), 163.49 (C-7), 171.69 (C-9a), 175.05 (C-4), 190.14 (C-3)。

N-*m*-chlorobenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione (160) 之合成



Formula: C₁₉H₁₄ClNO₄

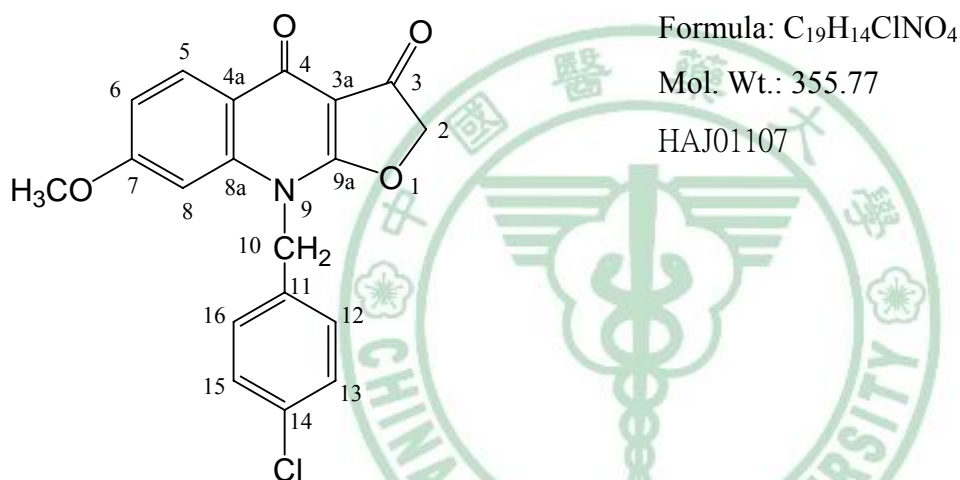
Mol. Wt.: 355.77

HAJ01106

取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *m*-chlorobenzyl chloride (2.415g, 0.015mole) 爲原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **160** (1.1g, 61.8%)，mp: 227.8°C。

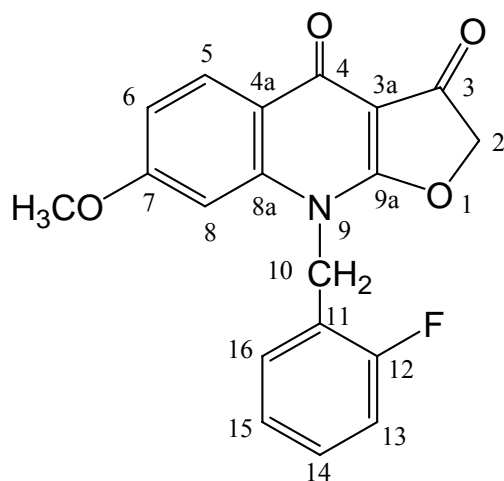
其光學數據如下：MS(m/z ,%) : 354.8 (M^+ , 28.63), 356.8 ($M^+ + 1$, 8.39) ; IR(KBr disc) cm^{-1} : 1715.94 ($\text{C}_3=\text{O}$) , 1613.62 ($\text{C}_4=\text{O}$) ; UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$) : 294.5 (4.084) ; $^1\text{H-NMR}$ (200MHz , CDCl_3) δ : 3.776 (3H, *s*, 7-OCH₃) , 4.894 (2H, *s*, H-2) , 5.56 (2H, *s*, H-10) , 6.969 (2H, *m*, H-6, H-8) , 7.335~7.53 (4H, *m*, H-12, H-14 , H-15, H-16) , 8.071 (1H, *d*, H-5) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz , DMSO *d*₆) δ : 45.87 (C-10), 56.00 (7-OCH₃), 76.26 (C-2), 100.21 (C-3a), 101.66 (C-8), 111.85 (C-6), 120.28 (C-4a), 125.65 (C-16), 127.01 (C-14), 128.13 (C-5), 128.83 (C-12), 131.03 (C-15), 133.80 (C-13), 137.78 (C-11), 139.89 (C-8a), 163.24 (C-7), 171.14 (C-9a), 175.23 (C-4), 191.23 (C-3) 。

N-p-chlorobenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (161) 之合成



取化合物 **152** (1.6g , 0.005 mole) 和 *p*-chlorobenzyl chloride (2.415g , 0.015mole) 爲原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **161** (1.13g , 63.5%) , mp : 262°C 。其光學數據如下：MS(m/z ,%) : 354.8 (M^+ , 5.94), 356.8 ($M^+ + 1$, 2.0) ; IR(KBr disc) cm^{-1} : 1708.72($\text{C}_3=\text{O}$) , 1613.77 ($\text{C}_4=\text{O}$) ; UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$) : 294.5 (3.913) ; $^1\text{H-NMR}$ (200MHz , CDCl_3) δ : 3.784 (3H, *s*, 7-OCH₃) , 4.897 (2H, *s*, H-2) , 5.552 (2H, *s*, H-10) , 6.977~7.012 (2H, *m*, H-6, H-8) , 7.162 (4H, *s*, H-12, H-13 , H-15, H-16) , 8.093 (1H, *d*, H-5) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz , DMSO *d*₆) δ : 45.79 (C-10), 56.04 (7-OCH₃), 76.22 (C-2), 100.13 (C-3a), 101.66 (C-8), 111.93 (C-6), 120.30 (C-4a), 128.83 (C-5), 129.08 (C-12, C-13, C-15, C-16), 132.72 (C-14), 134.28 (C-11), 139.90 (C-8a), 163.27 (C-7), 171.10 (C-9a), 175.20 (C-4), 191.14 (C-3) 。

N-*o*-fluorobenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (162) 之合成



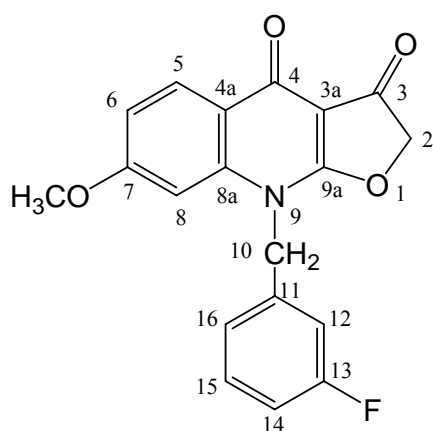
Formula: C₁₉H₁₄FNO₄

Mol. Wt.: 339.32

HAJ01108

取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *o*-fluorobenzyl chloride (2.168g, 0.015mole) 爲原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **162** (0.73g, 43%)，mp: 240.4°C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 338.8 (M⁺, 20.83), 339.8 (M⁺+1, 5.27); IR(KBr disc) cm⁻¹ : 1709.7 (C₃=O), 1613.44 (C₄=O); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε) : 295 (4.273); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ : 3.785 (3H, s, 7-OCH₃), 4.901 (2H, s, H-2), 5.576 (2H, s, H-10), 6.744~6.755 (1H, d, J_{(6-8)}}=2.2Hz, H-8), 6.8429~6.8985 (1H, dd, J_{(5-6)}}= 8.8Hz, J_{(6-8)}}= 2.2Hz, H-6), 7.0726~7.2667 (4H, m, H-13, H-14, H-15, H-16), 8.2899~8.3341 (1H, d, J=8.8Hz, H-5); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 40.86 (C-10), 55.98 (7-OCH₃), 76.25 (C-2), 100.17 (C-3a), 101.11 (C-8), 112.08 (C-6), 115.77 & 116.18 (C-13), 120.22 (C-4a), 121.84 & 122.11 (C-15), 125.27 (C-14), 128.85 (C-5), 129.00 (C-16), 130.35 & 130.51 (C-11), 139.92 (C-8a), 157.41 (C-12), 163.31 (C-7), 171.08 (C-9a), 175.32 (C-4), 191.07 (C-3)。

N-*m*-fluorobenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (163) 之合成



Formula: C₁₉H₁₄FNO₄

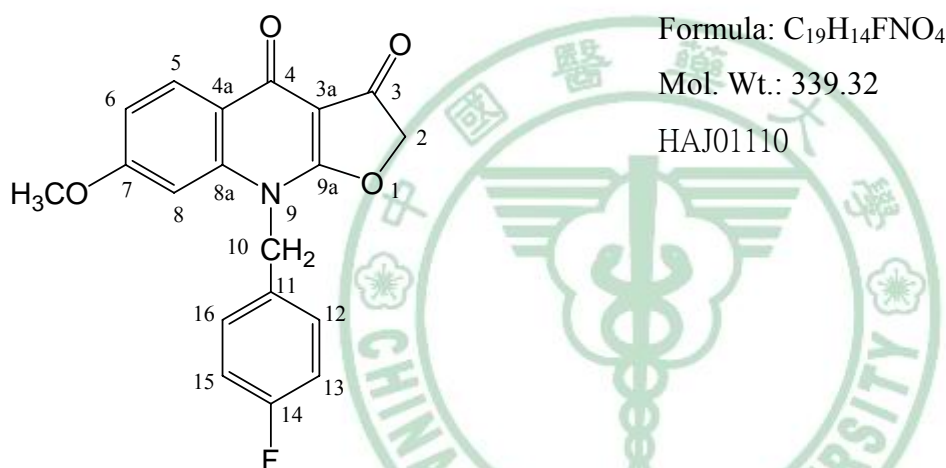
Mol. Wt.: 339.32

HAJ01109

取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *m*-chlorobenzyl chloride (2.168g, 0.015mole) 爲原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **163** (0.36g, 21.2%)，mp: 244.1°C。

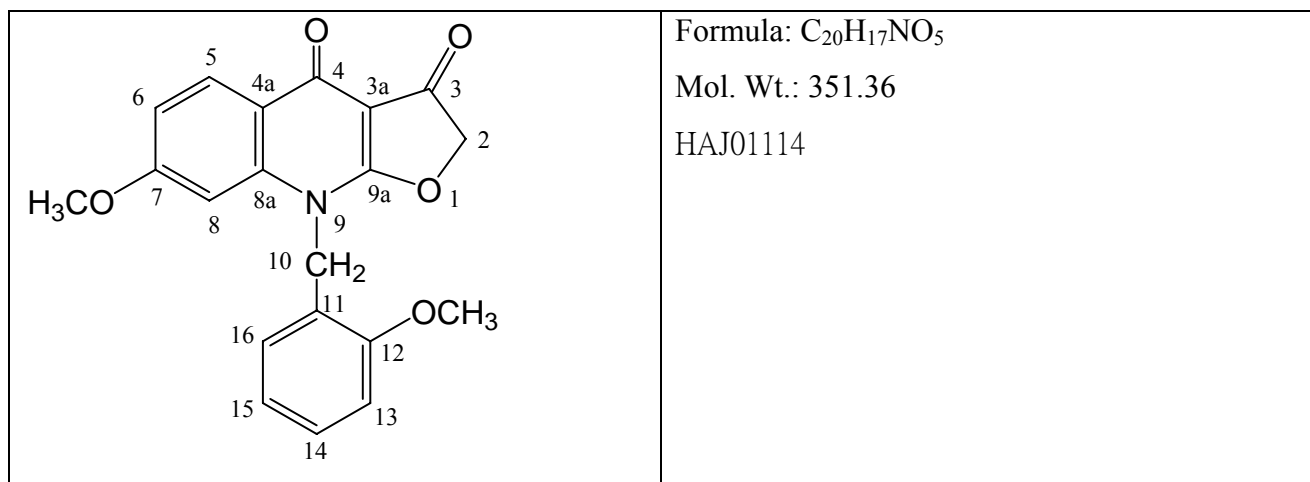
其光學數據如下：MS(m/z, %) : 338.8 (M^+ , 21.85), 339.8 (M^++1 , 5.53) ; IR(KBr disc) cm^{-1} : 1707.51 ($C_3=O$), 1617.21 ($C_4=O$) ; UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$) : 294.5 (3.740) ; $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 3.795 (3H, s, 7-OCH₃), 4.734 (2H, s, H-2), 5.419 (2H, s, H-10), 6.6886~6.6996 (1H, d, $J_{(6-8)}=2.2\text{Hz}$, H-8), 6.869~7.037 (4H, m, H-6, H-12, H-14, H-16), 7.2663~7.378 (1H, m, H-15), 8.321~8.366 (1H, d, $J=8.8\text{Hz}$, H-5) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 46.49 (C-10), 55.50 (7-OCH₃), 75.45 (C-2), 99.98 (C-3a), 100.89 (C-8), 111.14 (C-6), 112.90 & 113.35 (C-14), 115.09 & 115.51 (C-12), 120.32 (C-4a), 121.55 (C-16), 129.69 (C-5), 130.81 & 130.97 (C-15), 136.04 & 136.18 (C-11), 139.63 (C-8a), 163.43 (C-7), 165.48 (C-13), 171.66 (C-9a), 174.86 (C-4), 190.05 (C-3)。

N-p-fluorobenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (164) 之合成



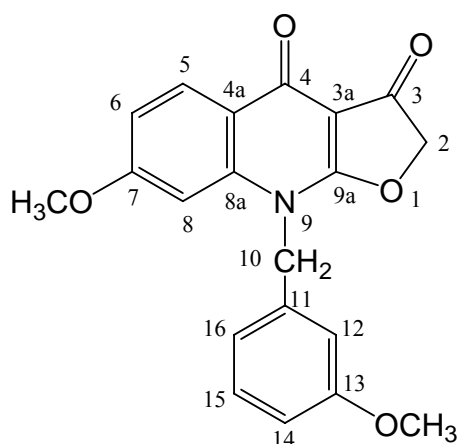
取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *p*-fluorobenzyl chloride (2.168g, 0.015mole) 為原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **164** (0.89g, 52.5%)，mp : 257°C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 338.8 (M^+ , 9.43), 339.8 (M^++1 , 1.97) ; IR(KBr disc) cm^{-1} : 1708.72($C_3=O$), 1613.77 ($C_4=O$) ; UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$) : 294.5 (3.993) ; $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 3.786 (3H, s, 7-OCH₃), 4.904 (2H, s, H-2), 5.543 (2H, s, H-10), 6.966~7.017 (2H, m, H-6, H-8), 7.134~7.229 (2H, t, H-13, H-15), 7.430~7.50 (2H, m, H-12, H-16), 8.091 (1H, d, $J=8.98\text{Hz}$, H-5) ; $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, DMSO d_6) δ : 45.74 (C-10), 56.02 (7-OCH₃), 76.21 (C-2), 100.12 (C-3a), 101.67 (C-8), 111.95 (C-6), 115.76 & 116.19 (C-13, C-15), 120.32 (C-4a), 128.80 (C-5), 129.26 & 129.42 (C-12, C-16), 131.42 (C-11), 139.91 (C-8a), 159.43 (C-14), 163.25 (C-7), 171.11 (C-9a), 175.18 (C-4), 191.17 (C-3)。

N-*m*-methoxybenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (165)之合成



取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *o*-methoxybenzyl chloride (2.349g, 0.015mole) 爲原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得淡黃色化合物 **165** (0.94g, 53.5%)，mp : 245.6 °C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 350.8 (M⁺, 17.1), 351.9 (M⁺+1, 3.79) ; IR(KBr disc) cm⁻¹ : 1712.02 (C₃=O), 1619.5 (C₄=O) ; UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε) : 294.5 (3.971) ; ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ : 3.763 (3H, s, 12-OCH₃), 3.865 (3H, s, 7-OCH₃), 4.909 (2H, s, H-2), 5.433 (2H, s, H-10), 6.836~7.131 (5H, m, H-6, H-8, H-13, H-14, H-16), 7.249~7.292 (1H, m, H-15), 8.066~8.110 (1H, d, J=9.48Hz, H-5) ; ¹³C-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ : 42.04 (C-10), 55.94 (7-OCH₃, 12-OCH₃), 76.15 (C-2), 100.05 (C-3a), 101.18 (C-8), 111.46 (C-6), 111.12 (C-13), 120.25 (C-4a), 121.00 (C-15), 122.32 (C-14), 127.90 (C-16), 128.71 (C-5), 129.64 (C-11), 140.11 (C-8a), 156.70 (C-12), 163.21 (C-7), 171.11 (C-9a), 175.35 (C-4), 191.14 (C-3)。

N-*m*-methoxybenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (166) 之合成

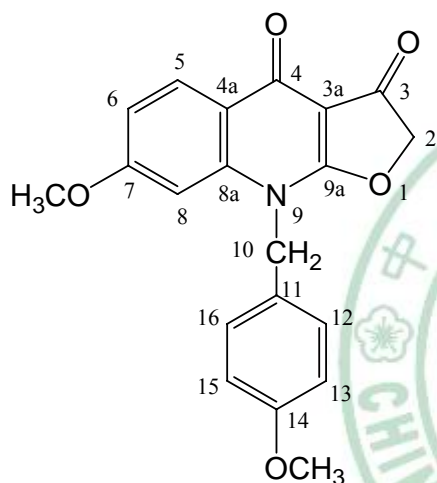


Formula: C₂₀H₁₇NO₅
 Mol. Wt.: 351.3
 HAJ01115

取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *m*-methoxybenzyl chloride (2.349g, 0.015mole) 爲原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得淡黃色化合物 **166** (0.45g, 25.6%)，mp : 211.3 °C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 350.8 (M⁺, 17.1), 351.9 (M⁺+1, 3.79) ; IR(KBr disc) cm⁻¹ :

1712.02 (C₃=O), 1619.5 (C₄=O); UV λ_{\max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 295 (3.813); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ : 3.710 (3H, *s*, 13-OCH₃), 3.780 (3H, *s*, 7-OCH₃), 4.911 (2H, *s*, H-2), 5.515 (2H, *s*, H-10), 6.675~7.022 (5H, *m*, H-6, H-8, H-12, H-14, H-16), 7.261~7.3007 (1H, *t*, H-15), 8.0774~8.1248 (1H, *d*, J=9.48 Hz, H-5); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ : 46.38 (C-10), 55.31 (13-OCH₃), 56.00 (7-OCH₃), 76.21 (C-2), 100.04 (C-3a), 101.79 (C-8), 111.90 (C-6), 113.10 (C-12, C-14), 118.92 (C-16), 120.29 (C-4a), 128.77 (C-5), 130.38 (C-15), 136.76 (C-11), 140.06 (C-8a), 159.84 (C-13), 163.20 (C-7), 171.12 (C-9a), 175.19 (C-4), 191.18 (C-3)。

N-*m*-methoxybenzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-3,4-dione (167) 之合成



Formula: C₂₀H₁₇NO₅

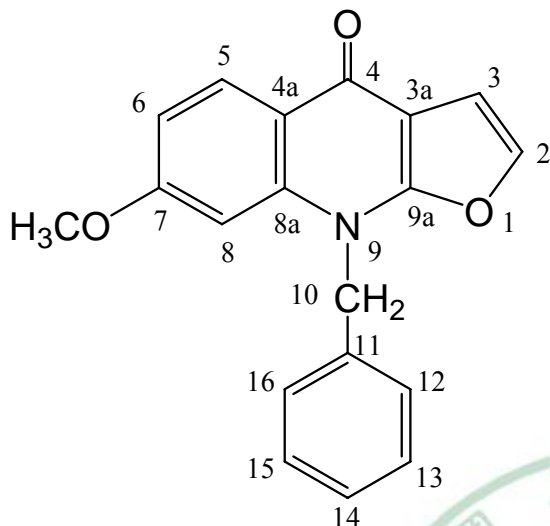
Mol. Wt.: 351.3

HAJ01116

取化合物 **152** (1.6g, 0.005 mole) 和 *p*-methoxybenzyl chloride (2.349g, 0.015mole) 爲原料，比照化合物 **155** 的合成法及處理步驟，得白色化合物 **167** (0.97g, 55.2%)，mp: 246°C。MS(m/z, %) : 350.8 (M⁺, 17.1), 351.9 (M⁺+1, 3.79); IR(KBr disc) cm⁻¹: 1712.02 (C₃=O), 1619.5 (C₄=O); UV λ_{\max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 293.5 (3.924); ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ : 3.763 (3H, *s*, 14-OCH₃), 3.865 (3H, *s*, 7-OCH₃), 4.909 (2H, *s*, H-2), 5.433 (2H, *s*, H-10), 6.875~7.047 (5H, *m*, H-6, H-8, H-12, H-13, H-16), 7.323~7.366 (1H, *m*, H-15), 8.061~8.105 (1H, *d*, J=9.48Hz, H-5); ¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ : 45.93 (C-10), 55.29 (14-OCH₃), 56.01 (7-OCH₃), 76.16 (C-2), 100.03 (C-3a), 101.81 (C-8), 111.90 (C-6), 114.50 (C-13, C-15), 120.32 (C-4a), 126.92 (C-11), 128.64 (C-5, C-12, C-16), 139.94 (C-8a), 159.06 (C-14), 163.17 (C-7), 171.09 (C-9a), 175.08 (C-4), 191.17 (C-3)。

(十三) *N*-Substituted benzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-diones (168~179)之合成

N-benzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro [2,3-*b*]quinolin-4-one (168) 之合成



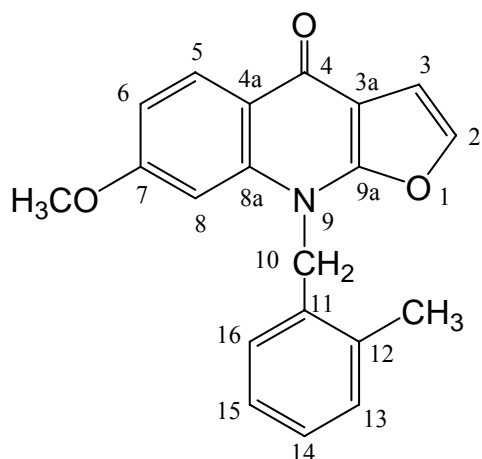
Formula: C₁₉H₁₅NO₃

Mol. Wt.: 305.33

HAJ01501

取化合物 **154** (1.61 g, 0.005 mole) 溶於乙醇溶液中，加入 NaBH₄ (0.378 g, 0.01 mole)，於室溫下進行還原反應，用 TLC 檢驗反應是否完成，反應完後加 5% 稀鹽酸 (dil. HCl) 破壞殘餘未反應的 NaBH₄ 及保持溶液呈酸性，水浴加熱至 45°C，攪拌 1 小時，減壓蒸餾除去乙醇，殘餘液加水，用氯仿 CHCl₃ 萃取多次，萃取液加碳酸鈉水溶液中和，再以水洗滌，無水硫酸鎂 MgSO₄ 乾燥，減壓濃縮去除 CHCl₃，經矽膠管柱層析 (CHCl₃ : MeOH = 100 : 1) 沖提，沖提減壓濃縮，得黃色粉末狀產物 **168** (0.8 g, 52.4%)，mp: 177.4°C；其光學數據如下：MS (m/z, %) 305 (M⁺, 14.09), 306 (M⁺ + 1, 3.08) (； IR (KBr disc) cm⁻¹ : 1632.5 (C4=O)； UVλ_{max} (MeOH) nm : 321.5 (4.313)； ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) δ : 3.787 (3H, s, 7-OCH₃), 5.713 (2H, s, H-10), 6.969 (1H, dd, J_{(5-6)}} = 8.9 Hz, J_{(6-8)}} = 2.24 Hz, H-6), 7.05 (1H, d, J_{(2-3)}} = 2.24 Hz, H-3), 7.079 (1H, d, J_{(6-8)}} = 2.22 Hz, H-8), 7.0232 ~ 7.4194 (5H, m, H-12, H-13, H-14, H-15, H16), 7.721 (1H, d, J_{(2-3)}} = 2.24 Hz, H-2), 8.232 (1H, d, J_{(5-6)}} = 8.9 Hz, H-5)； ¹³C-NMR (200 MHz, DMSO d₆) δ : 47.55 (C-10), 55.86 (7-OCH₃), 99.26 (C-8), 105.35 (C-3a), 107.52 (C-3), 111.18 (C-6), 119.17 (C-4a), 126.73 (C-13, C-15), 127.93 (C-14), 128.41 (C-5), 129.14 (C-12, C-16), 135.97 (C-11), 139.38 (C-2), 139.47 (C-8a), 156.07 (C-9a), 162.61 (C-7), 171.86 (C-4)。

N-*o*-methylbenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (169)之合成



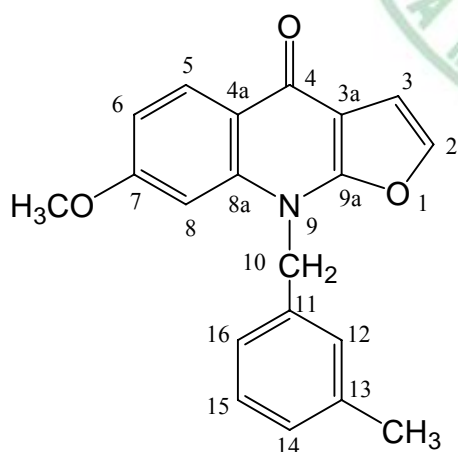
Formula: C₂₀H₁₇NO₃

Mol. Wt.: 319.35

HAJ01502

取化合物 **155** (1.67 g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 合成法之比例，進行反應，得淡黃色粉末狀產物 **169** (0.78 g, 48.8%)，mp : 188°C；其光學數據如下：MS(m/z : %) : 319(M⁺, 11.69), 320 (M⁺+1, 2.97)；IR(KBr disc) cm⁻¹: 1637.56(C₄=O)；UVλ_{max} nm(MeOH)(log ε) : 322(4.116)；¹H-NMR(200MHz, CDCl₃)δ: 2.492(3H, *s*, 12-CH₃), 3.762 (3H, *s*, 7-OCH₃), 5.508 (2H, *s*, H-10), 6.585 (1H, *d*, H-3), 6.618 (1H, *d*, H-13), 6.916~6.972 (1H, *dd*, H-6), 6.996~7.077(1H, *td*, H-14), 7.710 (1H, *d*, H-8), 7.16~7.283 (2H, *m*, H-15, H-16), 7.240 (1H, *d*, H-2), 8.523(1H, *d*, H-5)；¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 18.95(12-CH₃), 46.08 (C-10), 55.25 (7-OCH₃), 98.46 (C-8), 105.77(C-3a), 107.72 (C-3), 110.21 (C-6), 119.43 (C-4a), 124.54 (C-15), 126.47 (C-14), 127.57 (C-5), 129.13 (C-16), 130.52 (C-13), 132.21 (C-12), 134.42 (C-11), 137.64 (C-2), 139.35 (C-8a), 156.01 (C-9a), 162.64 (C-7), 172.99 (C-4)。

N-*m*-methylbenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (170)之合成



Formula: C₂₀H₁₇NO₃

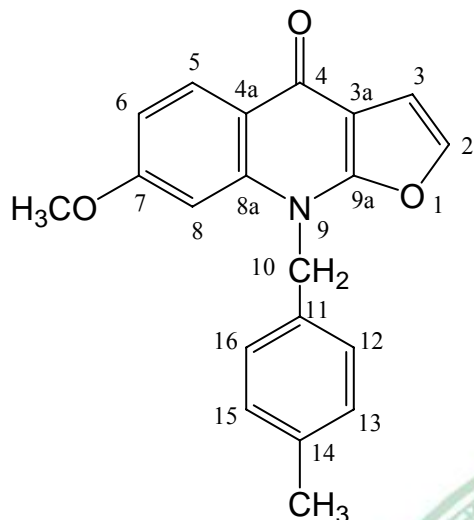
Mol. Wt.: 319.35

HAJ01503

取化合物 **156** (1.67 g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 的合成法及處理步驟，得黃色粉末狀產物 **170** (0.86 g, 53.9%)，mp : 169°C；其光學數據如下：MS(m/z : %) : 319(M⁺, 15.85), 320 (M⁺+1, 4.07)；IR(KBr disc) cm⁻¹: 1622.34(C₄=O)；UVλ_{max} nm(MeOH)(log ε) : 321.5 (3.960)；¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆)δ: 2.202 (3H, *s*, 13-CH₃), 3.790(3H, *s*, 7-OCH₃), 5.656(2H, *s*, H-10), 6.937~7.068 (6H, *m*, H-3, H-6, H-8, H-12, H-14, H-15), 7.17(1H, *d*, J_{(6-8)}}=7.72 Hz, H16), 7.718 (1H, *d*, J_{(2-3)}}=2.24 Hz, H-2), 8.228(1H, *d*, J_{(5-6)}}= 8.88Hz, H-5)。¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 21.17(13-CH₃), 47.59 (C-10), 55.84 (7-OCH₃), 99.26 (C-8), 105.34 (C-3a), 107.56 (C-3), 111.17

(C-6), 119.16 (C-4a), 123.75 (C-16), 127.26 (C-14), 128.39 (C-5), 128.63 (C-15), 129.05 (C-12), 135.91 (C-13), 138.39 (C-11), 139.36 (C-2), 139.50 (C-8a), 156.08 (C-9a), 162.58 (C-7), 171.87 (C-4)。

N-p-methylbenzyl-7-methoxy-4,9-dihydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (171) 之合成



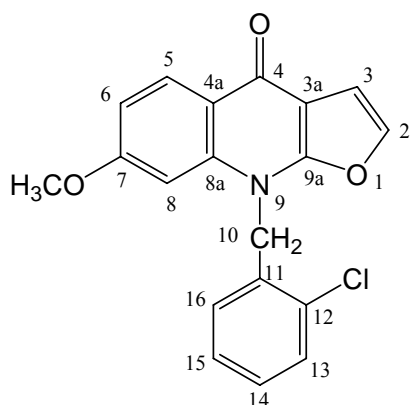
Formula: C₂₀H₁₇NO₃

Mol. Wt.: 319.35

HAJ01504

取化合物 **157** (1.67 g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 的合成法及處理步驟，得黃色粉末狀產物 **171** (0.64 g, 40.1%)，mp: 165°C。其光學數據如下：MS(m/z : %) : 319(M⁺, 4.56), 320 (M⁺+1, 0.95); IR(KBr disc) cm⁻¹: 1622.13 (C₄=O); UVλ_{max} nm(MeOH)(log ε): 322.5 (3.911); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 2.198(3H, s, 14-CH₃), 3.793(3H, s, 7-OCH₃), 5.648(2H, s, H-10), 6.960(1H, dd, J₍₅₋₆₎=8.9Hz, J₍₆₋₈₎=2.14 Hz, H-6), 7.043 (1H, d, J₍₂₋₃₎=2.22 Hz, H-3), 7.073 (1H, d, J₍₆₋₈₎=2.14Hz, H-8), 7.108 (4H, s, H-12, H-13, H-15, H-16), 7.717 (1H, d, J₍₂₋₃₎=2.22Hz, H-2), 8.222 (1H, d, J₍₅₋₆₎=8.9 Hz, H-5)。¹³C-NMR (200MHz, DMSO d₆) δ: 20.80 (14-CH₃), 47.35 (C-10), 55.85 (7-OCH₃), 99.27 (C-8), 105.34 (C-3a), 107.55 (C-3), 111.17 (C-6), 119.15 (C-4a), 126.76 (C-12, C-16), 128.38 (C-5), 129.66 (C-13, C-15), 132.87 (C-14), 137.23 (C-11), 139.36 (C-2, C-8a), 156.06 (C-9a), 162.57 (C-7), 171.84 (C-4)。

N-o-chlorobenzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (172) 之合成



Formula: C₁₉H₁₄ClNO₃

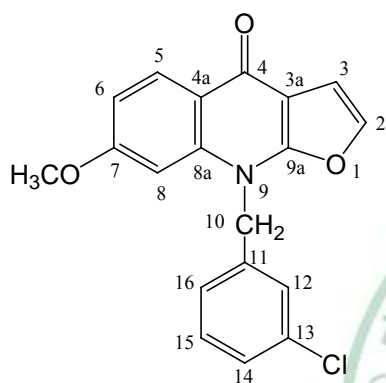
Mol. Wt.: 339.77

HAJ01505

取化合物 **158** (1.78 g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 的合成法及處理步驟，得黃色粉末狀產物 **172** (0.93 g, 54.7%)，mp: 161.2°C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 339 (M⁺, 21.44),

341 ($M^+ + 2$, 7.95); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1624.06 ($\text{C}_4=\text{O}$); $\text{UV}\lambda_{\text{max}}$ nm (MeOH)(log ϵ): 322 (4.027); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 3.763(3H, *s*, 7-OCH₃), 5.705 (2H, *s*, H-10), 6.742 (1H, *dd*, $J_{(15-16)}=7.64$ Hz, $J_{(14-16)}=1.52$ Hz, H-16), 6.87 (1H, *d*, $J_{(6-8)}=2.2$ Hz, H-8), 6.985 (1H, *dd*, $J_{(5-6)}=8.96$ Hz, $J_{(6-8)}=2.22$ Hz, H-6), 7.032 (1H, *d*, $J_{(2-3)}=2.24$ Hz, H-3), 7.181 (1H, *td*, $J_{(14-16)}=1.68$ Hz, H-14), 7.303 (1H, *td*, $J_{(13-15)}=1.38$ Hz, H-15), 7.548 (1H, *dd*, $J_{(13-15)}=7.94$ Hz, $J_{(6-8)}=1.32$ Hz, H-13), 7.684 (1H, *d*, $J_{(2-3)}=2.24$ Hz, H-2), 8.249 (1H, *d*, $J_{(5-6)}=8.9$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, DMSO-d_6) δ : 45.68 (C-10), 55.89 (7-OCH₃), 98.77 (C-8), 105.52 (C-3a), 107.54 (C-3), 111.25 (C-6), 119.16 (C-4a), 127.14 (C-15), 128.10 (C-14), 128.55 (C-5), 129.68 (C-16), 130.05 (C-13), 131.89 (C-12), 133.05 (C-11), 139.51 (C-2, C-8a), 155.93 (C-9a), 162.77 (C-7), 171.91 (C-4)。

N-m-chlorobenzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (173)之合成



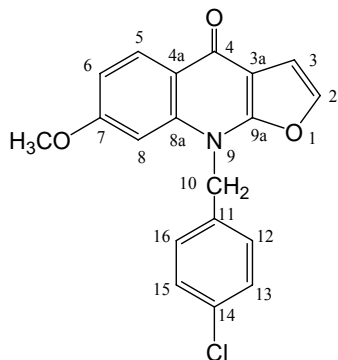
Formula: $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{ClNO}_3$

Mol. Wt.: 339.77

HAJ01506

取化合物 **159** (1.78g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 的合成法及處理步驟，得橙黃色粉末狀產物 **173** (0.97g, 57.1%)，mp: 178.8°C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 339 (M^+ , 21.44), 341 ($M^+ + 2$, 7.95); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1622.13 ($\text{C}_4=\text{O}$); $\text{UV}\lambda_{\text{max}}$ nm (MeOH) (log ϵ): 321 (3.951); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO-d_6) δ : 3.811(3H, *s*, 7-OCH₃), 5.745 (2H, *s*, H-10), 7.024~7.090 (4H, *m*, H-3, H-6, H-8, H-16), 7.330~7.371(3H, *m*, H-12, H-14, H-15), 7.735 (1H, *d*, H-2), 8.234 (1H, *d*, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, DMSO-d_6) δ : 46.95 (C-10), 55.94 (7-OCH₃), 99.21 (C-8), 105.41 (C-3a), 107.60 (C-3), 111.26 (C-6), 119.19 (C-4a), 125.21 (C-16), 126.80 (C-14), 127.97 (C-12), 128.52 (C-5), 131.13 (C-15), 133.69 (C-13), 138.64 (C-11), 139.49 (C-2, C-8a), 155.98 (C-9a), 162.75 (C-7), 171.87 (C-4)。

N-p-chlorobenzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (174)之合成



Formula: $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{ClNO}_3$

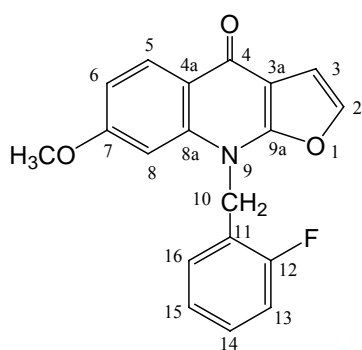
Mol. Wt.: 339.77

HAJ01507

取化合物 **160** (1.78g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 的合成法及處理步驟，得黃色粉末狀產物 **174** (0.91g, 53.6%)，mp: 187.2°C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 339 (M^+ , 9.39),

341 ($M^+ + 2$, 2.78); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1633.71 ($\text{C}_4=\text{O}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 321 (3.951); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO-d_6) δ : 3.807 (3H, s, 7- OCH_3), 5.726 (2H, s, H-10), 6.985 (1H, dd, $J_{(5-6)}=8.9\text{Hz}$, $J_{(6-8)}=2.2\text{Hz}$, H-6), 7.045 (1H, d, $J_{(2-3)}=2.22\text{Hz}$, H-3), 7.075 (1H, d, $J_{(6-8)}=2.14\text{Hz}$, H-8), 7.247 (2H, d, H-12, H-16), 7.383 (2H, d, H-13, H-15), 7.735 (1H, d, $J_{(2-3)}=2.22\text{Hz}$, H-2), 8.222 (1H, d, $J_{(5-6)}=8.9\text{Hz}$, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, DMSO d_6) δ : 46.89 (C-10), 55.93 (7- OCH_3), 99.18 (C-8), 105.40 (C-3a), 107.59 (C-3), 111.25 (C-6), 119.19 (C-4a), 128.47 (C-5), 128.70 (C-12, C-16), 129.14 (C-13, C-15), 132.53 (C-14), 135.09 (C-11), 139.45 (C-2, C-8a), 155.97 (C-9a), 162.70 (C-7), 171.83 (C-4)。

N-*o*-fluorobenzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (175) 之合成



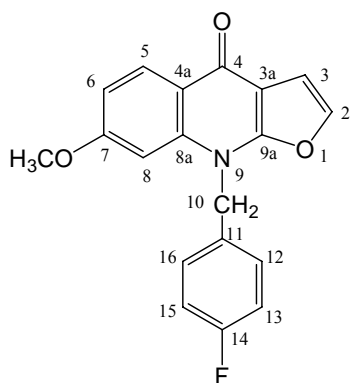
Formula: $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{FNO}_3$

Mol. Wt.: 323.32

HAJ01508

取化合物 **161** (1.69g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 的合成法及處理步驟，得磚紅色粉末狀產物 **175** (0.45g, 27.8%)，mp: 166 °C。其光學數據如下：MS(m/z , %) : 323 (M^+ , 9.02), 324 ($M^+ + 1$, 2.45); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1637.95 ($\text{C}_4=\text{O}$); UV λ_{max} nm (MeOH) ($\log \epsilon$): 320 (4.481); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 3.828 (3H, s, 7- OCH_3), 5.621 (2H, s, H-10), 6.80 (1H, d, H-8), 6.901~7.310 (7H, m, H-2, H-3, H-6, H-13, H-14, H-15, H-16), 8.482 (1H, d, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 41.61 & 41.71 (C-10), 55.28 (7- OCH_3), 97.60 (C-8), 105.85 (C-3a), 107.85 (C-3), 110.89 (C-6), 115.27 & 115.69 (C-15), 119.33 (C-4a), 121.54 & 121.82 (C-13), 124.65 (C-14), 127.78 (C-16), 129.13 (C-5), 129.68 & 129.84 (C-11), 137.66 (C-2), 139.05 (C-8a), 155.83 (C-9a), 157.51 (C-12), 162.79 (C-7), 172.93 (C-4)。

N-*p*-fluorobenzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (176) 之合成



Formula: $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{FNO}_3$

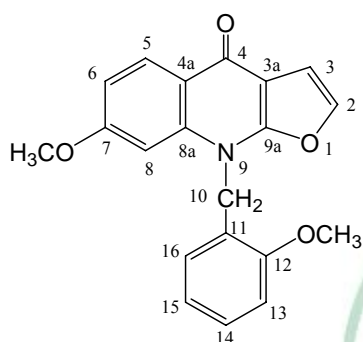
Mol. Wt.: 323.32

HAJ01510

取化合物 **163** (1.69g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 的合成法及處理步驟，得黃色粉末狀產物 **176** (0.41g, 25.4%)，mp: 277..3 °C。其光學數據如下：MS(m/z , %) : 322.9 (M^+ ,

5.43), 324 ($M^+ + 1$, 1.12); IR(KBr disc) cm^{-1} : 1631.748 ($\text{C}_4=\text{O}$); UV λ_{max} nm(MeOH)(log ϵ): 320.5(4.050); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 3.814 (3H, s, 7-OCH₃), 5.720 (2H, s, H-10), 6.985 (1H, dd, $J_{(5-6)}=8.9$ Hz, $J_{(6-8)}=2.24$ Hz, H-6), 7.048 (1H, d, $J_{(2-3)}=2.22$ Hz, H-3), 7.108 (1H, d, $J=2.34$ Hz, H-8), 7.185 (2H, d, $J_{(12-13)(15-16)}=8.9$ Hz, H-13, H-15), 7.295 (2H, m, H-12, H-16), 7.747 (1H, d, $J_{(2-3)}=2.24$ Hz, H-2), 8.24 (1H, d, $J=8.92$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 46.87 (C-10), 55.91 (7-OCH₃), 99.16 (C-8), 105.40 (C-3a), 107.56 (C-3), 111.33 (C-6), 115.79 & 116.22(C-13, C-15), 119.28 (C-4a), 128.47 (C-5), 128.86 & 129.02 (C-12, C-16), 132.15 (C-11), 139.46 (C-2, C-8a.), 156.00 (C-9a), 159.43(C-14), 162.70 (C-7), 171.92 (C-4)。

N-*o*-methoxybenzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (177) 之合成



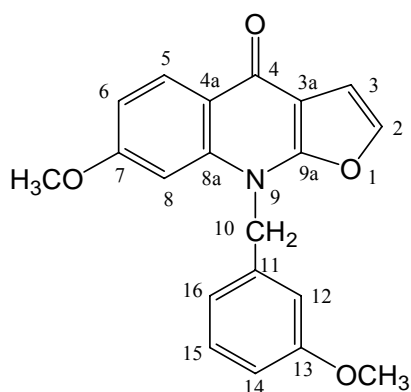
Formula: $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{FNO}_3$

Mol. Wt.: 335.35

HAJ01514

取化合物 **164** (1.756g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 的合成法及處理步驟，得磚紅色粉末狀產物 **177** (0.55g, 32.8%)，mp: 197.8°C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 322.9(M^+ , 5.43), 324 ($M^+ + 1$, 1.12); IR (KBr disc) cm^{-1} : 1629.85 ($\text{C}_4=\text{O}$), ($\text{C}_3-\text{CO}-\text{OEt}$); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ϵ): 321 (3.974); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 3.778 (3H, s, 7-OCH₃), 3.928 (3H, s, 12-OCH₃), 5.5546 (2H, s, H-10), 6.762~6.798 (3H, m, H-3, H-6, H-8), 6.881~6.954 (2H, m, H-13, H-15), 7.107 (1H, d, $J_{(2-3)}=2.22$ Hz, H-2), 7.2129~7.2709.108 (2H, m, H-14, H-16), 8.24 (1H, d, $J=8.92$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ : 43.05 (C-10), 55.21 (7-OCH₃, 12-OCH₃), 98.25 (C-8), 105.74 (C-3a), 107.67 (C-3), 110.20 (C-6), 110.50 (C-13), 119.40 (C-4a), 120.74 (C-15), 122.53 (C-14), 126.70 (C-16), 128.90 (C-5, C-11), 137.49 (C-2), 139.32 (C-8a.), 156.17 (C-9a), 156.32 (C-12), 162.58 (C-7), 173.02 (C-4)。

N-*m*-methoxybenzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (178) 之合成



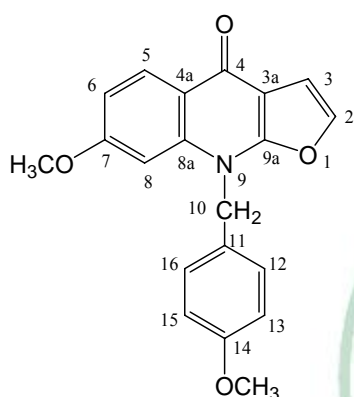
Formula: $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_4$

Mol. Wt.: 335.35

HAJ01515

取化合物 **165** (1.756g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **168** 的合成法及處理步驟，得橙色粉末狀產物 **178** (0.3g, 17.9%)，mp: 174.1 °C。其光學數據如下：MS (m/z, %) : 335 (M⁺, 17), 336 (M⁺+1, 4) ; IR (KBr disc) cm⁻¹: 1631.78 (C₄=O); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): 321 (3.979); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.621 (3H, *s*, 7-OCH₃), 3.805 (3H, *s*, 13-OCH₃), 5.688 (2H, *s*, H-10), 6.667~6.7155 (1H, *d*, H-14), 6.8247~6.854 (2H, *m*, H-12, H-16), 6.983 (1H, *dd*, H-6), 7.0464 (1H, *d*, H-3), 7.0939 (1H, *d*, H-8), 7.1831~7.2279 (1H, *t*, H-15), 7.764 (1H, *d*, J₍₂₋₃₎ = 2.22 Hz, H-2), 8.228 (1H, *d*, J = 8.92 Hz, H-5); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 47.45 (C-10), 55.25 (13-OCH₃), 55.90 (7-OCH₃), 99.31 (C-8), 103.33 (C-3a), 107.58 (C-3), 111.19 (C-6), 112.94 (C-12, C-14), 118.57 (C-4a), 119.17 (C-16), 128.42 (C-5), 130.38 (C-15), 137.59 (C-11), 139.40 (C-2), 139.53 (C-8a), 156.07 (C-9a), 159.77 (C-13), 162.63 (C-7), 171.82 (C-4)。

N-*p*-methoxybenzyl-7-methoxy-4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]-quinolin-4-dione (**179**)之合成



Formula: C₂₀H₁₇NO₄

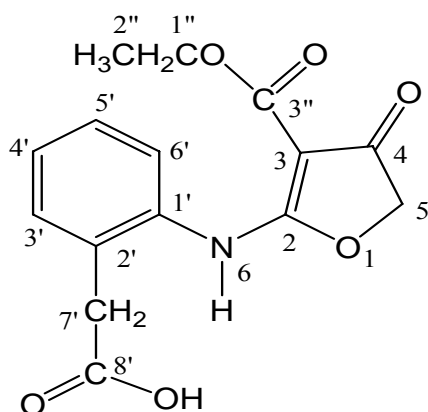
Mol. Wt.: 335.35

HAJ01516

取化合物 **166** (1.756g, 0.005 mole) 為原料，比照化合物 **N56** 的合成法及處理步驟，得棕色粉末狀產物 **179** (0.36g, 21.5%)，mp: 157 °C。其光學數據如下：MS(m/z, %) : 334.9(M⁺, 7.32), 336 (M⁺+1, 2.11) ; IR(KBr disc) cm⁻¹ : 1633.71 (C₄=O) ; UVλ_{max} nm (MeOH)(log ε) : 322 (3.935) ; ¹H-NMR(400MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.680 (3H, *s*, 7-OCH₃), 3.824 (3H, *s*, 14-OCH₃), 5.641 (2H, *s*, H-10), 6.883 (2H, *d*, J = 8 Hz, H-13, H-15), 6.973 (1H, *d*, J=9.2Hz, H-6), 7.035 (1H, *s*, H-3), 7.128 (1H, *d*, H-8), 7.190 (2H, *d*, J=8Hz, H-12, H-16), 7.732 (1H, *s*, H-2), 8.217 (1H, *d*, J = 8.8 Hz, H-5); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 47.62 (C-10), 55.05 (14-OCH₃), 55.29 (7-OCH₃), 98.40 (C-8), 105.69 (C-3a), 107.76 (C-3), 110.38 (C-6), 114.28 (C-13, C-15), 119.41 (C-4a), 126.53 (C-5), 127.48 (C-12, C-16), 129.04 (C-5), 137.57 (C-2), 139.22 (C-8a), 155.92 (C-9a), 159.14 (C-14), 162.56 (C-7), 172.92 (C-4)。

(十四) 2-[(2-[3-(ethoxycarbonyl)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-2-yl amino] phenyl) acetic acid (181)

之合成



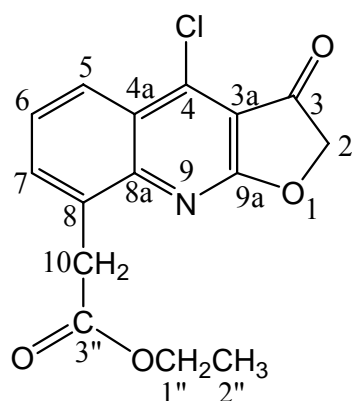
Formula: C₁₅H₁₅NO₆

Mol. Wt.: 305.28

JNA01

取化合物 10 (3.33g, 0.01, mole) 溶於 30ml 乙醇中，於室溫下加 2N NaOH 溶液 20ml，攪拌 30 分，然後於冰浴中緩慢滴加 2N HCl 溶液至酸性(使用石蕊試紙監測，白色沉澱物析出，過濾取沉澱物，用清水洗滌數次，用乙醇做再結晶，得得到白色棉絮狀結晶 2.59 克，產率 85%；融點(mp)：221.8 °C；光譜數據如下 MS(m/z, %): 304.9 (M⁺, 5.46), 305.9 (M⁺+1, 1.22); IR(KBr disc) cm⁻¹: 3462.22 (-COOH), 3170.97(-NH-), 1712.79 (C₈'=O), 1685.79 (C₄=O), 1616.35 (C₃-CO-OEt); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ε): (); ¹H-NMR (200MHz, DMSO-d₆) δ: 1.233 (3H, t, J=7Hz, H-2''), 1.23 (3H, t, J=7Hz, H-2''), 3.68(2H, s, H-7'), 4.194 (2H, q, J=7Hz, H-1''), 4.573 (2H, s, H-5), 7.273~7.497(4H, m, H-3', H-4', H-5', H-6'), 10.177(1H, s, -NH), 11.3 (1H, br, 8'-COOH); ¹³C-NMR (200MHz, CDCl₃) δ: 14.70 (C-2''), 37.53 (C-7'), 59.24 (C-1''), 75.13 (C-5'), 86.97 (C-3), 126.61 (C-6'), 127.47 (C-4'), 127.93 (C-2'), 130.68 (C-5'), 131.38 (C-3'), 134.09 (C-1'), 163.98 (C-2), 172.46 (C-8'), 177.85 (C-3''), 188.99 (C-4)。

(十五) Ethyl 2-(4-chloro-3-oxo-2,3-dihydrofuro[2,3-b]quinolin-8-yl) acetate (182) 之合成



Formula: C₁₅H₁₂ClNO₄

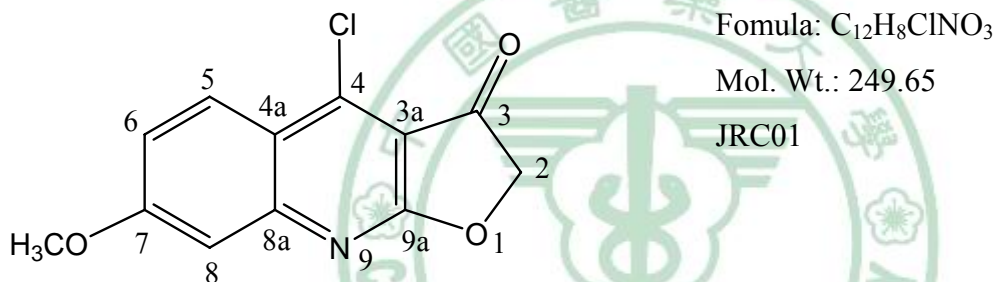
Mol. Wt.: 305.71

JNC016

取化合物 181 (1.436g, 0.05 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中，加入無水 K₂CO₃(0.69g, 0.005mole)及 KI(0.83g, 0.005mole)攪拌之，接著加入 phosphoryl trichloride (0.458 cc, 0.005 mole)，室溫下反應

馬上進行，以 TLC 檢查反應。反應完成後，加冰水 100cc 靜置，如沒有沉澱物出現或沉澱物很少，則再以 CHCl_3 萃取多次，取 CHCl_3 層，以無水 MgSO_4 乾燥脫水，減壓濃縮除去 CHCl_3 ，濃縮液靜置讓其長結晶，收集結晶物後，再以 EtOH 做再結晶。如靜置一段時間仍無結長出，以矽膠管柱層析($\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$)沖提之分離所須之化合物。得得到黃色綿絮狀結晶 0.34 克，產率 22.2%；融點(mp): 225 °C；光譜數據如下: IR (KBr disc) cm^{-1} : 1724.06 ($\text{C}_3=\text{O}$), 1602.85 ($\text{C}_3''=\text{O}$); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ϵ): 317 (4.058); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 1.250 (3H, *t*, H-2''), 4.148 (2H, *s*, H-10), 4.16 (2H, *q*, H-1''), 4.776 (2H, *s*, H-2), 7.509 (1H, *td*, H-6), 7.755 (1H, *dd*, H-7), 8.252 (1H, *dd*, H-8)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, $\text{DMSO } d_6$) δ : 14.19 (C-2''), 37.16 (C-10), 60.94 (C-1''), 74.3 (C-2), 111.0 (C-3a), 124.09 (C-4a), 125.58 (C-6), 125.90 (C-7), 144.71 (C-8a), 150.35 (C-4), 171.03 (C-9a), 171.62 (C-3''), 194.57 (C-3)。

(十六) 4-chloro-7-methoxyfuro[2,3-b]quinolin-3(2H)-one (183) 之合成



取化合物 152 (1.156g, 0.005 mole) 懸著於 DMF 20 ml 中，加入無水 K_2CO_3 (0.69g, 0.005mole) 及 KI (0.83g, 0.005mole) 攪拌之，接著加入 phosphoryl trichloride (0.458 cc, 0.005 mole)，反應馬上進行，以 TLC 檢查反應。反應完成後，加冰水 100cc 靜置，如沒有沉澱物出現或沉澱物很少，則再以 CHCl_3 萃取多次，取 CHCl_3 層，以無水 MgSO_4 乾燥脫水，減壓濃縮除去 CHCl_3 ，濃縮液靜置讓其長結晶，收集結晶物後，再以 EtOH 做再結晶。如靜置一段時間仍無結長出，以矽膠管柱層析($\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$)沖提之分離所須之化合物。得得到淡黃色針狀結晶 0.38 克，產率 30.4%；融點(mp)：208 °C；光譜數據如下 MS(m/z, %): 249 (M^+ , 76.78), 250 (M^++1 , 11.77), 251 (M^++2 , 26.13); IR(KBr disc) cm^{-1} : 1724.36 ($\text{C}_3=\text{O}$); UV λ_{max} nm (MeOH) (log ϵ): (); $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 3.9532 (3H, *s*, 7-OCH₃), 4.767 (2H, *s*, H-5), 7.150 (1H, *dd*, $J_{(5-6)}=9.2\text{Hz}$, $J_{(6-8)}=2.52\text{Hz}$, H-6), 7.221 (1H, *d*, $J_{(6-8)}=2.28\text{Hz}$, H-8), 7.1489 (1H, *d*, $J_{(5-6)}=9.2\text{Hz}$, H-8)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (200MHz, $\text{DMSO } d_6$) δ : 55.865 (7-OCH₃), 75.608 (C-2), 99.314 (C-3a), 1001.285 (C-8), 112.633 (C-6), 119.176 (C-4a), 128.119 (C-5), 139.711 (C-8a), 163.018 (C-7), 171.860 (C-9a), 175.504 (C-4), 190.786 (C-3)。

第四節 藥理實驗步驟部份

-----本節內容第壹、貳、參段內容，參考鍾景光教授實驗室之實驗步驟¹¹⁵

壹、小鼠血癌細胞 WEHI-3 致毒活性：

- 1、細胞來源：小鼠血癌細胞株 WEHI-3，購自新竹食品工業發展研究所。
- 2、細胞培養：血癌細胞 WEHI-3 放置於 75cc 組織培養瓶中，內含 RPMI-1640 培養液中，含 10%胎牛血清，及 1% penicillin- streptomycin、1% glutamine，以每 cc 約 50000 個細胞密度，在室溫 37 °C，5% CO₂ and 95%空氣下生長，每 2~3 天更換一次培養液。
- 3、細胞存活率試驗(cell viability assay)步驟：繼代培養 WEHI-3 血癌細胞株，用培養液稀釋成密度為 50000 cell/ml，經由 12 microplate 中，內含 RPMI-1640 培養液中，及 10%胎牛血清，及 1% penicillin- streptomycin、1% glutamine，在室溫 37 °C，5% CO₂ and 95%空氣下培養 24 小時後，每一 well 之培養基先加不同濃度的化合物，藥品濃度最終濃度分別為 0 M、0.1 μ M、1 μ M、10 μ M 和 100 μ M，不加藥品的細胞以加等藥物體積的 DMSO 為對照組，培養 48 小時後，用 1 X PBS 沖洗一次，在避光環境中加入 400 μ l 的 PI solution(400 μ g/ml)，30 分鐘後，將細胞移流式細胞計數儀檢測，每秒細胞數不超過 350 顆細胞，每個數據收集 10000 顆細胞。為增加實驗的準確度，每個濃度點的樣品皆重複三次，以便求得平均和標準偏差。以每秒細胞數不超過 350 顆細胞，每個數據收集 10000 顆細胞。
- 4、染色材料：PI 染色法，利用利用碘化丙啶(Propidium iodide, PI)對完整細胞膜無法穿透，而能穿透細胞凋亡中或死亡之細胞膜，使細胞核之 DNA 染色，由流式細胞儀檢測每個細胞之螢光有無而判斷細胞有無發生細胞凋亡。
- 5、細胞的存活率計算，細胞的死亡，無論經由細胞上的壞死或是細胞上的凋亡途徑，只要是死亡，細胞膜就會失去了完整性。碘化丙啶(Propidium iodide, PI)是一種核酸染料，它不能透過完整的細胞膜，但能夠穿透過發生凋亡中、晚期的細胞和死細胞的細胞膜，而使細胞核核酸染色。進行核酸染色時，若細胞死亡，細胞膜破裂，PI 會進入細胞內和核酸結合；若細胞存活，細胞膜完整，PI 則無法與細胞內的核酸結合。

貳、化合物 80 誘導人類子宮頸鱗狀上皮癌細胞 (Ca Ski cells) 細胞凋亡之實驗：

細胞來源：人類子宮頸鱗狀上皮癌細胞(Human cervical epidermoid carcinoma cell, 簡稱 Ca Ski cells)，購自新竹食品工業發展研究所。

細胞培養：Ca Ski 細胞放置於 75cc 組織培養瓶中，內含 RPMI-1640 培養液中，含 1% penicillin-streptomycin (10,000 U/ml penicillin and 10 mg/ml streptomycin)、1% glutamine 及 10%胎牛血清，以每 cc 約 50000 個細胞密度，在室溫 37 °C，5% CO₂ and 95%空氣下生長，每 2~3 天更換一次培養液。

2.1 檢測化合物 80 對 Ca Ski cells，其細胞型態上變化和細胞存活率之實驗

A 細胞型態變化實驗：Ca Ski 細胞細胞接種於 12well 培養盤中，每 well 以 5×10^3 cells/ml 的密度培養，放入 37°C、5%CO₂ 的培養箱中培養，24 小時之後分別加入不同濃度化合物 80 (0、10、50、100、150、200 μ M)。每 well 含培養液總體積為 2ml，不加藥品的細胞株以加 DMSO 為對照組，也分別培養 48 小時後，再利用倒立式相位差顯微鏡(Phase-contrast microscope; Olympus) 200 倍觀察不同濃度的化合物 80 對 Ca Ski 細胞株毒殺作用所造成型態學改變的影響，並加以照相比較。

B 細胞存活率實驗：繼代培養 Ca Ski 細胞株，用培養液稀釋成密度為 50000 cell/ml，經由 12 microplate 中，內含 RPMI-1640 培養液中，及 10%胎牛血清，及 1% penicillin-streptomycin (10,000 U/ml penicillin and 10 mg/ml streptomycin)、1% glutamine，在室溫 37 °C，5% CO₂ and 95%空氣下培養 24 小時後，每一 well 之培養基先加不同濃度的化合物，藥品濃度最終濃度分別為 0 M、10 μ M、50 μ M、100 μ M、150 μ M 和 200 μ M，不加藥品的細胞以加等藥物體積的 DMSO 為對照組，共培養 72 小時。於培養 24 小時、48 小時、72 小時時，用 1 X PBS 沖洗一次，在避光環境中加入 400 μ l 的 PI solution(400 μ g/ml)，30 分鐘後，將細胞移流式細胞計數儀檢測，每秒細胞數不超過 350 顆細胞，每個數據收集 10000 顆細胞。為增加實驗的準確度，每個濃度點的樣品皆重複三次，以便求得平均和標準偏差。以每秒細胞數不超過 350 顆細胞，每個數據收集 10000 顆細胞。

2.2 檢測化合物 80 對 Ca Ski cells 細胞週期之影響---以流式細胞儀來偵測

實驗步驟：繼代 Ca Ski 細胞株經由 12 microplate 中培養 24 小時後，每一 well 之培養基先加不同濃度的化合物 80 (0、10、50、100、150、200 μ M)，不加化合物 80 的細胞以加等藥物體積的 DMSO 為對照組，培養 48 小時後，加 Trypsin-EDTA 靜置三分鐘，拍打培養皿，如 PBS 清洗，收取細胞至離心管中離心(1500 rpm、5 分鐘)。倒掉上清液，將細胞打散後，加入 1 X PBS 緩衝液 2ml/weHs 離心(1500 rpm、

5 分鐘)，倒掉上清液，刮一刮，將細胞打散。一面振盪，一面一滴一滴以 4°C，70%的冰酒精共 2ml，進行細胞固定，放在-20°C 冰箱隔夜存放。待細胞固定後，將細胞從冰箱取出離心(1500rpm、5 分鐘)，去除酒精，將細胞打散，再用 1 X PBS 沖洗一次，在避光環境中試管中加 PI 染劑(依細胞數量加不同量)30 分鐘後，以 1ml pipette 在 15ml 離心管中抽吸數次後，將細胞加入 FACS 專用管，再以流式細胞儀分別分析不同濃度的化合物 **80** (0、10、50、100、150、200 μ M) 培養作用於 **Ca Ski** 細胞所造成細胞週期的細胞百分比之表現量，以每秒細胞數不超過 350 顆細胞，每個數據收集 10000 顆細胞。

2.3 由 DAPI 染色法檢測化合物 **80** 對 **Ca Ski cells** 之細胞凋亡影響

實驗步驟：**Ca Ski** 細胞(5×10^4 cells/ml)在 6well 的 plate，加入不同濃度(0、10、50、100、150、200 μ M)的化合物 **80** 培養，每個濃度做三重複實驗，放入 37°C、5% CO₂ 的培養箱中培養 48 小時後，將細胞分別收集於 15ml 離心管，以 1500 rpm 離心 5 分鐘，吸去上層液(medium)，加入 1xPBS 離心，吸去上層液，將細胞打散，如 3.7 %福馬林 (Fomaldehyde) 1ml、15 分鐘以固定，加入 1 × PBS 洗二次，加入 0.1 % Triton X-100/inPBS (1ml)，反應 15 分鐘，加入 1 × PBS 洗兩次，在避光環境中加入 1 μ g/ml 的 DAPI 染劑，在室溫下避光 5 分鐘之後，加入 PBS 洗二次，將經各不同濃度(0、10、50、100、150、200 μ M)的化合物 **80** 培養後的 **Ca Ski** 細胞，在螢光顯微鏡下觀察及照相比較細胞核、細胞質染色不同。

2.4 使用 DNA 凝膠電泳檢測化合物 **80** 對 **Ca Ski cells** 之 DNA 裂解影響

實驗步驟：1. **Ca Ski** 細胞(5×10^4 cells/ml)在 6well 的 plate，加入不同濃度(0、10、50、100、150、200 μ M)的化合物 **80** 培養，每個濃度做三重複實驗，放入 37°C、5% CO₂ 的培養箱中培養 48 小時後。經 DNA 抽提，0.8% agarose 電泳跑膠，在螢光顯微鏡下觀察與拍照。

2.5 檢測化合物**80**對**Ca Ski cells**之活性氧化物(*reactive oxygen species, ROS*)之影響

實驗步驟：**Ca Ski** 培養之細胞數約 2×10^5 cells/well，加入 100 μ M 之化合物 **80** 處理，細胞培養經 0.5、1、2、4、6、12 和 24 小時，放入 37°C 5% CO₂ 的培養箱中培養目標時間(0.5、1、2、4、6、12 和 24 小時)後，避光下將細胞分別收集。細胞加 Trypsin-EDTA，靜置 3 分鐘，拍打培養皿，如 PBS 清洗，分別收集於 15mL 離

心管，以 1500rpm 離心 5 分鐘，吸去上層液(medium)，加入 1xPBS 離心，吸去上層液(medium)，將細胞打散，加入 H₂DCFDA 染劑 (1xPBS 500 μ l 配有 1 μ L H₂DCFDA)，避光置入培養室，30 分鐘後，以流式細胞儀分析 ROS。

2.6 檢測化合物80對Ca Ski cells細胞質內之Ca²⁺之影響---以流式細胞儀來偵測

實驗步驟：調配好的 INDO1/AM 濃度是 3 μ g/mL，貯存在 -20°C 備用(INDO-1/AM 配製：1mg (1 Set=10x100 μ g)、M.W.=1009.9、store in -20°C。所要的濃度是 3 μ g/1ml 全部有 1000 μ g，所以 1000 μ g \div 3 μ g = 333.3ml，約 333ml 以兩支 15ml 為一組(每支配 9ml)2 支共為 18ml 則有 37 支(18.5 組)每次拿取時，只拿 2 支(因實驗共有 6 個，每個 3 重複，則有 18 個，在配製時絕對要避光)。**Ca Ski** 培養之細胞數約 2x10⁵ cells/well，培養在 6well 中 24 小時後，加入 100 μ M 之化合物 **80**，放入 37°C、5% CO₂ 的培養箱中培養經 0、0.5、1、3、6、24 和 48 小時後，在避光環境下收取細胞。加適量 Trypsin-EDTA，靜置 3 分鐘後，拍打培養瓶，使貼壁細胞游離，然後加入 PBS 清洗，用 15ml 離心管將細胞懸浮液收集，然後用離心機離心 1500rpm、5 分鐘，倒掉上清液，然後再加入 PBS 清洗，再用離心機離心 1500rpm、5 分鐘，倒掉上清液。將細胞徹底打散，在避光環境中每支加 Indo-1-AM 1ml，而 Blank 加 1ml PBS 蓋上蓋子，移到 incubator 37°C、5% CO₂、40 分鐘，每 10 分鐘拿出來上下搖動，再放回 incubator，離心 1500rpm、5 分鐘，倒掉上清液，再加入 2ml PBS 離心 1500rpm、5 分鐘，倒掉上清液，加 500 μ l PBS，以流式細胞儀分析。

2.7 檢測化合物80對Ca Ski cells細胞之粒腺體膜電位(MMP)之影響--以流式細胞儀來偵測

實驗步驟：**Ca Ski** 細胞以 2x10⁵ ceUs/well 密度，加 100 μ M 之化合物 80 處理，每個濃度做三重複實驗，要有 1-2well 當 blank(即不加藥及 solvent)，放入 37°C、5% CO₂ 的培養箱中培養經 0、1、2、4、6、24 小時後，避光環境下收取細胞。加適量 Trypsin-EDTA，靜置 3 分鐘後，拍打培養瓶，使貼壁細胞游離，用 PBS 清洗，將細胞分別收集於 15mL 離心管，以 1500rpm 離心 5 分鐘，吸去上層液，加入 1X PBS 離心，吸去上層液(medium)，將細胞打散，避光下加入 DiOC6 染劑 (1xPBS 500 μ l 配有 10 μ l DiOC6)，置入 37°C incubator,30 分鐘後，以流式細胞儀分析 ROS。

2.8 檢測化合物80對Ca Ski cells細胞 *p53, Bax, Bcl-2, cytochrome-c, AIF, caspase-3 and -8, Fas, GRP78, GADD153* 和 *caspase-12*之影響--以Western blotting偵測

實驗步驟：實驗所收集的蛋白質是以Ca Ski cells細胞，加不同濃度(0, 10, 50, 100, 150 和 200 μM) 的化合物80，培養48小時後，萃取蛋白質得到。收集的蛋白質先經 SDS-PAGE膠體電泳作蛋白質分離，然後再用西方墨點法，將SDS-PAGE的gel轉漬到membrane上，再利用一次和二次抗體標定，使其呈色，觀察蛋白質的表現，分析不同濃度化合物80對*p53, Bax, Bcl-2, cytochrome-c, AIF, caspase-3 and -8, Fas, GRP78, GADD153* 和 *caspase-12*的影響。

西方墨點法(Western blotting) 步驟：轉漬(Transfer)：轉漬膜先用 100% methanol 浸潤 10 秒，再放於 transfer buffer 中浸泡 2 分鐘以上，將轉漬夾打開後，取出已浸泡轉漬緩衝液的海綿墊片放於其上面，並依序在海綿片上放上 3M 濾紙、SDS-PAGE gel 以及 PVDF 轉漬膜(夾層中間夾切勿有氣泡，可加少許 transfer buffer)、3M 濾紙，最後再放上一片海棉墊片後夾上轉漬夾，形成三明治夾層的構造。接著將轉漬夾放入電泳槽中，然後放入冰盒中並加滿 transfer buffer，並且將旋轉磁石一併放入。為使整個系統保持低溫狀態，要在電泳槽的外圍放入足夠的冰塊。以固定安培(400mA)、最高伏特、90 分鐘為條件，進行蛋白質轉漬。等待蛋白質轉漬完成後，取出轉漬膜，並且裁去多餘部分，以 0.05% Tween 20 in 1xPBS 清洗 3 次，每次 5 分鐘，然後以 5mL 胎牛血清(溶於 0.05% Tween 20 in 1xPBS 中)將轉漬膜進行 blocking 的動作，以室溫 shaking 30 分鐘。然後再將轉漬膜取出，放在小盒中用 0.05% Tween 20 in 1xPBS 清洗 3 次，每次 5 分鐘，然後放入 5mL 的一級抗體(anti-CDK1、cyclin B1、14-3-3 σ 、Cdc 25c 和 β -actin)(溶於 5%胎牛血清 in 0.05% Tween 20 in 1xPBS 中)，放在 4°C 環境中隔夜。隔天將轉漬膜取出後，置於小盒中以 0.05% Tween 20 in 1xPBS 清洗 3 次，每次 5 分鐘。然後加入 5-10mL 的二級抗體，溶於 5%胎牛血清 in 0.05% Tween 20 in 1xPBS 中，於室溫下搖盪進行 70 分鐘，最後將轉漬膜取出，再用 0.05% Tween 20 in 1xPBS 清洗 3 次，每次 5 分鐘。然在暗房中進行壓片步驟，將轉漬膜浸泡於 ECL 試劑之混合液中反應 2 分鐘。壓片卡匣內光以投影片剪成兩半，然後用膠帶黏合成卡片形式，再將轉漬膜放入壓片卡匣內。然後用 Kodak 軟片進行壓片，感光時間依膜上放出螢光亮度，決定時間長短，約需 5 秒至 15 分鐘不等。感光完成後，再放入顯影劑進行顯影，然後再以清水沖洗 20 秒，然後再入定影劑中，過 90 秒後再以清水沖洗 30 秒，然後將底片晾乾，分析相關蛋白質的量。

參、化合物 79 誘導人類子宮頸部腫瘤細胞(簡稱 HeLa Cells)細胞凋亡之研究：

細胞來源：人類子宮頸部腫瘤細胞(簡稱 HeLa Cells)，購自新竹食品工業發展研究所。

細胞培養：HeLa 細胞放置於 75cc 組織培養瓶中，內含 RPMI-1640 培養液中，含 1% penicillin-streptomycin (10,000 U/ml penicillin and 10 mg/ml streptomycin)、1% glutamine 及 10%胎牛血清，以每 cc 約 50000 個細胞密度，在室溫 37 °C，5% CO₂ and 95%空氣下生長，每 2~3 天更換一次培養液。

3.1 檢測化合物 79 對 Ca Ski cells，其細胞型態上變化和細胞存活率之影響

實驗步驟：Hela cells 與不同濃度化合物 79 (0、50、100、150、200 μM)經培養 24 小時後，用倒立式相位差顯微鏡觀察，其實驗步驟同 2.1 之實驗。

3.2 化合物79 對Hela cells細胞週期與sub-G1分析---以流式細胞儀來偵測

實驗步驟：HeLa cells 細胞與不同濃度化合物 80 (0、50、100、150、200 μM)經培養 24 小時，其實驗步驟同 2.2 之實驗。

3.3 化合物79 對 Hela cells 細胞凋亡之影響--經由 DAPI 染色法檢測

實驗步驟：其實驗步驟同 2.3 之實驗，但以化合物 79 代替化合物 80。

3.4 化合物 79 對 Hela cells 細胞 DNA 裂解影響分析---使用 DNA 凝膠電泳

實驗步驟：其實驗步驟同 2.4 之實驗，但以化合物 79 代替化合物 80。

3.9 檢測化合物 79 對 Hela cells 在活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)之影響

實驗步驟：其實驗步驟同 2.5 之實驗，但以化合物 79 代替化合物 80。

3.10 檢測化合物79對Hela cells細胞質內之Ca²⁺之影響---以流式細胞儀來偵測

實驗步驟：其實驗步驟同 2.6 之實驗，但以化合物 79 代替化合物 80。

3.11 檢測化合物79對Hela cells細胞之粒腺體膜電位(MMP)之影響--以流式細胞儀來偵測

實驗步驟：其實驗步驟同 2.7 之實驗，但以化合物 79 代替化合物 80。

3.12 檢測化合物79對Hela cells細胞轉移能力之影響

實驗步驟：說明：以大約 2×10^4 cell/well 的 Hela cells 細胞放在 10cm 平板上，與 50 μ M、75 μ M 化合物 79 培養 18、24、36 小時，然後用相位差顯微鏡觀察平板上細胞之轉移情形。

3.9 檢測化合物 79 對 Hela cells 細胞 p53、PARP、Bax、Bcl-2、caspase-3、-7、-9、-12、AIF、Bcl-xL、Fas、Akt、MMP-2、-9、Grp78、和 Gadd153 之影響--以 Western blotting

實驗步驟：把從 Hela cells 細胞實驗組(有加化合物 79)和對照組(未加化合物 79)所得的蛋白質分散放在 SDS-PAGE 膠體，經電泳作蛋白質分離後，作 *Western blotting* 轉漬到 membrane 上，再利用一次和二次抗體標定，使其呈色，觀察蛋白質的表現，分析不同濃度化合物 79 對 p53、PARP、Bax、Bcl-2、caspase-3、-7、-9、-12、AIF、Bcl-xL、Fas、Akt、MMP-2、-9、Grp78、Gadd153 的影響。其實驗步驟同 2.8 之實驗，但以化合物 79 代替化合物 80。

肆、人類嗜中性白血球抗活性氧化物釋放試驗

※本段實驗步驟由長庚大學廖長輝副教授提供

※細胞來源：人類嗜中性白血球

※偵測原理：以 fMLP 當發炎反應誘導劑，以 Cytochalasin B 當細胞軟化劑，提高細胞膜通透性，以 Cytochrome C 被 H_2O_2 還原成環原態 Cytochrome C 時，其在波長 550 之吸光度(OD550)為實驗測量值，以 DMSO 之(OD550) 為對照組測量值，測量不同濃度藥品對人類嗜中性白血球抗發炎產生 ROS 之影響。

※ 實驗步驟：

1. 準備人類嗜中性白血球 (濃度： 4×10^6 cells/ ml) 且置於冰浴上
2. 取 500 μ l 嗜中性白血球加 94 μ l of HBSS (內含 Ca^{2+} 離子和 Mg^{2+} 離子)和 200 μ l 的 Cytochrome C (2mg/ml)，混合均勻形成混合物，然後放在室溫下黑暗的地方 3 分鐘。
3. 加 2 μ l 的 Cytochalasin B (1.2mg/ml) 和 2 μ l Drug 或 DMSO (當控制組)到混合物中。
4. 設置試樣組到 U-3010 Spectrophotomete 儀器中(保持 37 $^{\circ}$ C)。
5. 經過 3 分鐘加 2 μ l 的 fMLP (0.4mM) 並用 pipettman 混合均勻。
6. 監測 17 分鐘，測量對照組和控制組之吸光度。

參考文獻

1. Pfyffer G.E., Towers G.H., Photochemical interaction of dictamnine, a furoquinoline alkaloid, with fungal DNA. *Can J Microbiol.* **1982**, May; 28(5):468-73.
2. Fujita H., Kakishima H., Further evidence for photoinduced genotoxicity of dictamnine as shown by prophage induction. *Chem Biol Interact.* **1989**,72(1-2):105-11.
3. Chen K.S., Chang Y.L., Teng C.M., Chen C.F., and Wu Y.C., Furoquinolines with antiplatelet aggregation activity from leaves of *Melicope confusa*. *Planta Med*, **2000**, 66:80-81,
4. Chen I.S., Lin Y.C., Tsai I.L., Teng C.M., Ko F.N., Ishikawa T. and Ishii H., Coumarins and anti-platelet aggregation constituents from *Zanthoxylum schinifolium*. *Phytochemistry* , **1995**, 39:1091-1097.
5. Yu S.M., Ko F.N., Su M.J., Wu T.S., Wang M.L., Huang T.F., and Teng C.M., Vasorelaxing effect in rat thoracic aorta caused by fraxinellone and dictamine isolated from the Chinese herb *Dictamnus dasycarpus* Turcz: comparison with cromakalim and Ca²⁺ channel blockers. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **1992**, 345: 349-355.
6. Schimmer O., Kuhne I., Mutagenic compounds in an extract from *Rutae Herba* (*Ruta graveolens* L.). II. UV-A mediated mutagenicity in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* by furoquinoline alkaloids and furocoumarins present in a commercial tincture from *Rutae Herba*. *Mutat Res.*, **1990**, Jan;243(1):57-62.
7. <http://www.kmu.edu.tw/~devel/science/60.htm>
8. Nam K.W., Je K.H., Shin Y.J., Kang S.S. and Mar W., Inhibitory effects of furoquinoline alkaloids from *Melicope confusa* and *Dictamnus albus* against human phosphodiesterase 5 (hPDE5A) in vitro. *Arch Pharm Res*, **2005**, 28:675-679.
9. Chen J.J., Duh C.Y., Huang H.Y. and Chen I.S., Furoquinoline alkaloids and cytotoxic constituents from the leaves of *Melicope semecarpifolia*. *Planta Med*, **2003**, 69:542-546.
10. Cheng J.T., Chang T.K., and Chen I.S., Skimmianine and related furoquinolines function as antagonists of 5-hydroxytryptamine receptors in animals. *J Auton Pharmacol*, **1994**, 14:365-374.
11. Chen K.S., Chang Y.L., Teng C.M., Chen C.F., Wu Y.C., Furoquinolines with antiplatelet aggregation activity from leaves of *Melicope confusa*. *Planta Med*, **2000**, 66:80-81.
12. Leonardo K., Basco, Sofia Mitaku, Alexios-Leandros Skaltsounis, etc. In Vitro Activities of Furoquinoline and Acridone Alkaloids against *Plasmodium falciparum*. *Antimicrobial agent and chemotherapy*. **1994**, May , p.1169-1171.
13. Lahey F.N., McCamish M., Acrophylline and acrophyllidine. Two new alkaloids from *Acronychia haplophylla*. *Tetrahedron Lett.* **1968**, 12:1525-1527.

14. Sakar M., Kundu S., Chakraborty D.P., Glycarpine, a new alkaloid from *Glycosmis cyanocarpa*. *Phytochemistry*, **1978**, 17, 2145-2146 .
15. Storer R., Young D.W., Constituents of the root of *Dictamnus albus* L. *Tetrahedron*, **1973**, 29, 1217-1222 .
16. Mohr N., Budzikiewicz H., Tawil B.A.H., Beih F.K.A., Further furoquinolone alkaloids from *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry*, **1982**, 21 (7), 1838-1839.
17. Zhao Y.L., Chen Y.L., Sheu J.Y., Chen I.L., Wang T.C., Tzeng C.C., “Synthesis and Antimycobacterial Evaluation of Certain Fluoroquinolone Derivatives” *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13:
18. Sheu J.Y., Chen Y.L., Tzeng C.C., Hsu S.L., Fang K.C. and Wang T.C. Synthesis, antimycobacterial, and cytotoxic evaluation of certain fluoroquinolone derivatives *Helv Chim Acta* **2003**, 86: 2481-2489,
19. Ambrozin A.R., Leite A.C., Silva M., Vieira P.C., Fernandes J.B., Thiemann O.H., Silva M.F., Oliva G., Screening of Leishmania APRT enzyme inhibitors. *Pharmazie*. **2005**, Oct;60(10):781-4.
20. Huang A.C., Lin T.P., Kuo S.C., Wang J.P., The antiallergic activities of synthetic acrophylline and acrophyllidine. *J Nat Prod* **1995**, 58:117-120.
21. Chang G.J., Su M.J., Kuo S.C., Lin T.P., Lee Y.S., Multiple cellular electrophysiological effects of a novel antiarrhythmic furoquinoline derivative HA-7 [N-benzyl-7-methoxy-2,3,4,9-tetrahydro furo[2,3-b]quinoline-3,4-dione] in guinea pig cardiac preparations. *J Pharmacol Exp Ther*, **2006**, 316:380-391.
22. Su M.J., Chang G.J., Wu M.H., Kuo S.C., Electrophysiological basis for the antiarrhythmic action and positive inotropy of HA-7, a furoquinoline alkaloid derivative, in rat heart. *Br J Pharmacol* **1997**, 122:1285-1298.
23. Wang J.P., Tsao L.T., Raung S.L., Hsu M.F., and Kuo S.C., Inhibition by HAJ11 of respiratory burst in neutrophils and the involvement of protein tyrosine phosphorylation and phospholipase D activation. *Br J Pharmacol*, 1997, 120:79-87.
24. Bunz F., Cell death and cancer therapy. *Curr Opin Pharmacol*, **2001**, Aug;1(4):337-41.
25. Mary Anne Koda-Kimble, Loyd Yee Young, Wayne A. Kradsjan, B. Joseph Guglielmo etc, Applied therapeutics, *The clinical use of drugs*, 10th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, **2005**, 88-1~88-8.
26. Stefan Offermanns, Walter Rosenthal, eds., *Encyclopedic reference of molecular pharmacology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2004**, 213~214.
27. Rang H.P., Ritter J.M., Dale M.M., 原著，蘇純閏 編譯，*Pharmacology (藥理學)* 合記圖書出版發行，**2001**, 1st edition，629~649.

28. <http://cancer.idv.tw/chapter/chapter-02.htm>
29. Zhou B.B., Elledge S.J., The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* **2000**, 408:433-439.
30. Lowe S.W., Lin A.W., Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, **2000**, 21:485-495.
31. O'Connell M.J., Cimprich K.A., G2 damage checkpoints: what is the turn-on? *J Cell Sci.*, **2005** Jan 1;118(Pt 1):1-6.
30. Ionov Y., Yamamoto H., Krajewski S., Reed J.C., Peruchó M: Mutational inactivation of the proapoptotic gene BAX confers selective advantage during tumor. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2000**, Sep 26;97(20):10872-7.
31. Brown J.M., Wouters B.G., Apoptosis, p53, and tumor cell sensitivity to anticancer agents. *Cancer Res.*, **1999**, 59:1391-1399.
32. Tannock I.F., Lee C., Evidence against apoptosis as a major mechanism for reproductive cell death following treatment of cell lines with anti-cancer drugs. *Br J Cancer*, **2001**, 84:100-105.
33. Stefan Offermanns, Walter Rosenthal, eds.: Encyclopedic reference of molecular pharmacology. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, **2004**, 229~235.
34. 李權益 分子生物學 合記圖書出版 第1版 **1998** ; 379~392.
35. Moon-Taek Park and Su-Jae Lee, Cell Cycle and Cancer, *J Biochem Mol Biol.*, **2003**, Jan 31;36(1):60-5.
36. Giacinti C., Giordano A., RB and cell cycle progression. *Oncogene*, **2006**, Aug 28;25(38):5220-7. Review.
37. Geoffrey I., Shapiro, Wade Harper J., Anticancer drug targets: cell cycle and checkpoint control. *J Clin Invest.*, **1999**, Dec;104(12):1645-53.
38. Pucci B., Kasten M., Giordano A., Cell cycle and apoptosis. *Neoplasia.*, **2000**, Jul-Aug;2(4):291-9. Review.
39. Shapiro G.I., Harper J.W., Anticancer drug targets: cell cycle and checkpoint control. *J Clin Invest.*, **1999**, Dec;104(12):1645-53.
40. Ahn Y.M., Vogeti L., Liu C.J., Santhapuram H.K., White J.M., Vasandani V., Mitscher L.A., Lushington G.H., Hanson P.R., Powell D.R., Himes R.H., Roby K.F., Ye Q., Georg G.I., Design, synthesis, and antiproliferative and CDK2-cyclin a inhibitory activity of novel flavopiridol analogues. *Bioorg Med Chem.*, **2007**, Jan 15;15(2):702-13.
41. O'Connell M.J., Cimprich K.A., G2 damage checkpoints: what is the turn-on? *J Cell Sci.*, **2005**, Jan 1;118(Pt 1):1-6.
42. Senderowicz A.M., The cell cycle as a target for cancer therapy: basic and clinical findings with

- the small molecule inhibitors flavopiridol and UCN-01. *Oncologist.*, **2002**, 7 Suppl 3:12-9.
43. Fuse E., Tanii H., Takai K., Asanome K., Kurata N., Kobayashi H., Kuwabara T., Kobayashi S., Sugiyama Y., Altered pharmacokinetics of a novel anticancer drug, UCN-01, caused by specific high affinity binding to alpha1-acid glycoprotein in humans. *Cancer Res.*, **1999**, Mar 1;59(5):1054-60.
44. 沈翹琪、方福德：真核基因表達調控，九州圖書文物有限公司，**1999**，第1版，138~141
45. Stefan Offermanns, Walter Rosenthal, eds.: *Encyclopedic reference of molecular pharmacology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2004**, 140~141.
46. Saraste A., Pulkki K., Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res.*, **2000**, Feb;45(3):528-37. Review.
47. 李權益：分子生物學 合記圖書出版 第1版 **1998**；326~332
48. 賴慕賢、張乃忠：生化學與分子生物學-原理與實用，合記圖書出版社，**2006**，初版：247~255。
49. Scott H., Kaufmann, *Apoptosis Pharmacological implications and therapeutic opportunities*. Academic Press, Vol. 41, 1~5.
50. Lowe S.W., Lin A.W., Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, **2000**, Mar; 21(3):485-95.
51. Albert B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., Molecular biology of the cell. The cell cycle and programmed cell death. *Garland Science*. Taylor & Francis Group, **2001**, 17: 983~1125.
52. Yigong Shi, A structural view of mitochondria-mediated apoptosis. *Experimental Cell Research*, **2000**, Volume 256, Issue 1, 10 April Pages 12-18.
53. Andreas Gewies, Introduction to apoptosis. *ApoReview*, **2003**, page 1~26.
54. Guoqing Chen, David V. Goeddel., TNF-R1 Signaling: A Beautiful Pathway. *Science*, **2002**, 31 May: Vol. 296. no. 5573, pp. 1634 -1635.
55. Wajant H., The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science*, **2002**, May 31;296(5573):1635-6.
56. Murphy K.M., Ranganathan V., Farnsworth M.L., Kavallaris M., Lock R.B., Bcl-2 inhibits Bax translocation from cytosol to mitochondria during drug-induced apoptosis of human tumor cells. *Cell Death Differ.*, **2000**, Jan;7(1):102-11.
57. Santos A., Susin, Eric Daugasa, Luigi Ravagnan etc., Two Distinct Pathways Leading to Nuclear Apoptosis. *The Journal of Experimental Medicine*, **2000**, Volume 192, Number 4, August 21, 571-580
58. Desagher S., Martinou J.C., Mitochondria as the central control point of apoptosis. *Trends Cell Biol.*, **2000**, Sep;10(9):369-77.
59. Herr I., Debatin K.M., Cellular stress response and apoptosis in cancer therapy. *Blood.*, **2001**,

Nov 1;98(9):2603-14.

60. Broker L.E., Kruyt F.A., Giaccone G., Cell Death Independent of Caspases: A review *Clin Cancer Res.*, **2005**, May 1;11(9):3155-62.
61. Fan T.J., Han L.H., Cong R.S., Liang J., Caspase family proteases and apoptosis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, **2005**, Nov;37(11):719-27.
61. Smaili S.S., Hsu Y.T., Carvalho A.C., Rosenstock T.R., Sharpe J.C., Youle R.J. Mitochondria, calcium and pro-apoptotic proteins as mediators in cell death signaling. *Braz J Med Biol Res.*, **2003**, Feb;36(2):183-90.
- 62 Duchen M.R., Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. *J Physiol.*, **2000**, Nov 15;529 Pt 1:57-68.
63. Wang, X., The expanding role of mitochondria in apoptosis. *Genes Dev.*, **2001**, 15, 2922–2933.
64. Gerald Karp 原著，廖珍琦、呂長益、周中興編譯： *Cell and molecular biology, Concepts and experiments 3e*, (細胞與分子生物學，觀念與實驗)，合記圖書出版社，**2004**，初版：662~666。
65. Stefan J., Riedl and Yigong Shi , Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis, Nature reviews, *molecular cell biology*, **2004**, Vol 5, Nov, 897~907.
66. Smaili S.S., Hsu Y.T., Youle R.J., Russell J.T., Mitochondria in Ca²⁺ signaling and apoptosis. *J Bioenerg Biomembr.*, **2000**, Feb;32(1):35-46.
67. Duchen M.R., Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. *J Physiol.*, **2000**, Nov 15;529 Pt 1:57-68.
68. Brookes P.S., Yoon Y., Robotham J.L., Anders M.W., Sheu S.S., Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. *Am J Physiol Cell Physiol.* **2004**, Oct;287(4):C817-33.
69. Berridge M.J., The endoplasmic reticulum: a multifunctional signaling organelle. *Cell Calcium.* **2002**, Nov-Dec;32(5-6):235-49
70. Thomenius M.J., Distelhorst C.W., Bcl-2 on the endoplasmic reticulum: protecting the mitochondria from a distance. *J Cell Sci.*, **2003**, Nov 15;116(Pt 22):4493-9.
71. Verkhratsky A., Toescu E.C., Endoplasmic reticulum Ca(2+) homeostasis and neuronal death. *J Cell Mol Med.*, **2003**, Oct-Dec;7(4):351-61.
72. Fan T.J., Han L.H., Cong R.S., Liang J., Caspase family proteases and apoptosis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).*, **2005**, Nov;37(11):719-27.
73. Kass G.E., Orrenius S., Calcium signaling and cytotoxicity. *Environ Health Perspect.*, **1999**, Feb;107 Suppl 1:25-35.
74. Kadenbach B., Arnold S., Lee I., Huttemann M., The possible role of cytochrome c oxidase in stress-induced apoptosis and degenerative diseases. *Biochim Biophys Acta.*, **2004**, Apr

12;1655(1-3):400-8.

75. Nicholls D.G., Mitochondrial membrane potential and aging. *Aging Cell*, **2004**, Feb;3(1):35-40.
76. Samraj A.K., Sohn D., Schulze-Osthoff K., Schmitz I., Loss of Caspase-9 Reveals Its Essential Role for Caspase-2 Activation and Mitochondrial Membrane Depolarization. *Mol Biol Cell*, **2006**, Nov 1.
77. Machiavelli L.I., Poliandri A.H., Quinteros F.A., Cabilla J.P., Duvilanski B.H., Reactive oxygen species are key mediators of the nitric oxide apoptotic pathway in anterior pituitary cells, *Nitric Oxide*, **2006**, Aug 18.
78. Smaili S.S., Russell J.T., Permeability transition pore regulates both mitochondrial membrane potential and agonist-evoked Ca²⁺ signals in oligodendrocyte progenitors. *Cell Calcium*, **1999**, Sep-Oct;26(3-4):121-30.
79. Skarka L., Ostadal B., Mitochondrial membrane potential in cardiac myocytes. *Physiol Res*, **2002**, 51(5):425-34.
80. Iijima T., Mitochondrial membrane potential and ischemic neuronal death. *Neurosci Res*, **2006**, Jul;55(3):234-43.
81. Salvioli S., Ardizzoni A., Franceschi C., Cossarizza A., JC-1, but not DiOC6(3) or rhodamine 123, is a reliable fluorescent probe to assess delta psi changes in intact cells: implications for studies on mitochondrial functionality during apoptosis. *FEBS Lett*, **1997**, Jul 7;411(1):77-82.
82. Szeto H.H., Mitochondria-Targeted Peptide Antioxidants: Novel Neuroprotective Agents. *AAPS J*, **2006**, Aug 18;8(3):E521-31.
83. Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J., Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review. *Biochim Biophys Acta*, **2006**, May-Jun;1757(5-6):509-17.
84. Christophe M., Nicolas S., Mitochondria: a target for neuroprotective interventions in cerebral ischemia-reperfusion. *Curr Pharm Des*, **2006**, 12(6):739-57.
85. Roy J., Soberman, The expanding network of redox signaling: new observations, complexities, and perspectives. *J. Clin. Invest*, **2003**, 111:571–574.
86. Zmijewski J.W., Landar A., Watanabe N., Dickinson D.A., Noguchi N., Darley-Usmar V.M., Cell signalling by oxidized lipids and the role of reactive oxygen species in the endothelium. *Biochem Soc Trans*, **2005**, Dec;33(Pt 6):1385-9.
87. Cooper C.E., Patel R.P., Brookes P.S., Darley-Usmar V.M., Nanotransducers in cellular redox signaling: modification of thiols by reactive oxygen and nitrogen species. *Trends Biochem Sci*, **2002**, Oct;27(10):489-92.
88. Patel R.P., Moellering D., Murphy-Ullrich J., Jo H., Beckman J.S., Darley-Usmar V.M., Cell signaling by reactive nitrogen and oxygen species in atherosclerosis. *Free Radical Biol Med*, **2000**, 28:1780–1794.

89. Shiva S., Moellering D., Ramachandran A., Levonen A.L., Landar A., Venkatraman A., Ceaser E., Ulasova E., Crawford J.H., Brookes P.S., Patel R.P., Darley-USmar V.M., Redox signalling: from nitric oxide to oxidized lipids. *Biochem Soc Symp.*, **2004**, (71):107-20.
90. Forman H.J., Fukuto J.M., Torres M., Redox signaling: thiol chemistry defines which reactive oxygen and nitrogen species can act as second messengers. *Am J Physiol Cell Physiol.*, **2004**, Aug;287(2):C246-56.
91. Hebestreit H., Dibbert B., Balatti I., Braun D., Schapowal A., Blaser K., Simon H.U., Disruption of fas receptor signaling by nitric oxide in eosinophils. *J Exp Med.*, **1998**, Feb 2;187(3):415-25.
92. Um, H.D., Orenstein, J.M., Wahl, S.M., Fas mediates apoptosis in human monocytes by a reactive oxygen intermediate dependent pathway. *J.Immunol.*, **1996**, 156 : 3469-3477.
93. Chiba T., Takahashi S., Sato N., Ishii S., Kikuchi K., Fas-mediated apoptosis is modulated by intracellular glutathione in human T cells. *Eur. J. Immunol.*, **1996**, 26 : 1164-1169.
94. Roth J.A., Kaeberle M.L., Effects of in vivo dexamethasone administration on in vitro bovine polymorphonuclear leukocyte function. *Infect Immun.*, **1981**, Aug;33(2):434-41.
95. Cai T.Q., Weston P.G., Lund L.A., Brodie B., McKenna D.J., Wagner W.C., Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am J Vet Res.*, **1994**, Jul;55(7):934-43.
96. Tkalcevic J., Novelli M., Phylactides M., Iredale J.P., Segal A.W., Roes J. Impaired immunity and enhanced resistance to endotoxin in the absence of neutrophil elastase and cathepsin G. *Immunity*, **2000**, Feb;12(2):201-10.
97. Nagahata H., Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD): a review. *J Vet Med Sci.*, **2004**, Dec;66(12):1475-82.
98. Rinaldi M., Moroni P., Paape M.J., Bannerman D.D., Evaluation of assays for the measurement of bovine neutrophil reactive oxygen species. *Vet Immunol Immunopathol.*, **2007**, Jan 15;115(1-2):107-25.
99. http://www.doh.gov.tw/cht2006/index_populace.aspx 衛生署:首頁>衛生署新聞>95年>95年06月份新聞
---標題：國人主要死因統計。
100. Touyz R.M., Reactive oxygen species and angiotensin II signaling in vascular cells -- implications in cardiovascular disease. *Braz J Med Biol Res.*, **2004**, Aug;37(8):1263-73.

101. Taniyama Y., Griendling K.K., Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension*, **2003**, Dec;42(6):1075-81.
102. Upadhyay D., Kamp D.W., Asbestos-induced pulmonary toxicity: role of DNA damage and apoptosis. *Exp Biol Med (Maywood)*, **2003**, Jun;228(6):650-9.
103. Gilgun-Sherki Y., Rosenbaum Z., Melamed E., Offen D., Antioxidant therapy in acute central nervous system injury: current state. *Pharmacol Rev.*, **2002**, Jun;54(2):271-84.
104. Tsutsui H., Mitochondrial oxidative stress and heart failure. *Intern Med.*, **2006**, 45(13):809-13.
105. Wright E., Jr, Scism-Bacon J.L., Glass L.C., Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia. *Int. J. Clin. Pract.*, **2006**, Mar;60(3):308-14.
106. Wold L.E., Ceylan-Isik A.F., Ren J., Oxidative stress and stress signaling: menace of diabetic cardiomyopathy. *Acta. Pharmacol. Sin.*, **2005**, Aug;26(8):908-17.
107. Andreyev A.Y., Kushnareva Y.E., Starkov A.A., Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc)*, **2005**, Feb;70(2):200-14.
108. Kuo S.C., Lin T.P., Lin L.D., Hsu H.Y., Wu C.H., Studies on heterocyclic compounds, V. Synthetic investigation of Glycarpine, *J.Nat.Prod.* **1984**, **47**, 47.
109. Kuo S.C., Lin T.P., Chang S.S., Wu C.H., Shieh B.J., and Chou T.C., Studies on heterocyclic compounds, VI. Synthetic investigation of Taifine, *J.Nat.Prod.* **1986**, **49**, 48.
110. Lin T.P., Shieh B.J., and Kuo S.C., Studies on heterocyclic compounds, VII. Synthesis of Isomaculosidine, *J.Nat.Prod.* **1987**, **50**, 631.
111. Choe J.C., Dissociation of toluene cation: a new potential energy surface. *J Phys Chem A Mol Spectrosc Kinet Environ Gen Theory.* **2006**, Jun 22;110(24):7655-62.
112. Chiavarino B., Crestoni M.E., Fornarini S., Dopfer O., Lemaire J., Maitre P., IR spectroscopic features of gaseous C₇H₇O⁺ ions: benzylium versus tropylium ion structures. *J Phys Chem A Mol Spectrosc Kinet Environ Gen Theory.*, 2006, Aug 3;110(30):9352-60.

113. Schroder D., Schwarz H., Milko P., Roithova J., Dissociation routes of protonated toluene probed by infrared spectroscopy in the gas phase. *J Phys. Chem. A Mol. Spectrosc Kinet Environ Gen Theory*, **2006**, Jul 13;110(27):8346-53.
114. Roithova J., Schroder D., Gruene P., Weiske T., Schwarz H. Structural aspects of long-lived $C_7H_8(2+)$ dications generated by the electron ionization of toluene. *J. Phys. Chem. A Mol Spectrosc Kinet Environ Gen Theory*, **2006**, Mar 9;110(9):2970-8.
- 115 林慶鐘，鹽酸黃連素(Berberine)體外抑制血癌細胞之機轉及影響氮-乙醯轉移酵素(NAT)的活性及 2-AF 乙醯化體內代謝分佈之研究。中國醫藥大學藥物化學研究所博士論文，**2006**，3，p.55~75。



已發表之論文

※ **Authors** : AN-CHENG HUANG^{1,3}, JING-GUNG CHUNG², SHENG-CHU KUO¹,
HSU-FUNG LU⁴ and TSUNG-PING LIN^{1,*}

Title : Synthesis and Cytotoxic Activity of Certain 2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*]quinolin-3,4-dione and ethyl 2-(substituted aniline)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate Derivatives in Murine Leukemia WEHI-3 Cells. *IN VIVO* (**accepted**)

※ **Authors** : TSUNG-PING LIN¹, AN-CHENG HUANG^{1,2}, HSIU-CHUAN WEI³,
JAUNG-GUNG LIN⁴ and JING-GUNG CHUNG^{5,6}

Title : The New Synthesized Ethyl 2-[N-p-chlorobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (JOT01007) Induced Apoptosis in Human Cervical Cancer Ca Ski Cells. *IN VIVO* (**accepted**)

※ **Authors** : AN-CHENG HUANG^{1,6}, TSUNG-PING LIN¹, YUEH-SHAN WENG²,
YUNG-TSUAN HO³, LI-JIAU HUANG¹, SHENG-CHU KUO¹ and JING-GUNG
CHUNG^{4,5}

Title : The New Synthesized Ethyl 2-[N-m-chlorobenzyl-(2'-methyl)]
anilino-4-oxo-4,5-Dihydrofuran -3-carboxylate (JOT01006) Induced
Apoptosis in Human Cervical Cancer HeLA Cells. *Anticancer research*
(submitted)

已發表之研討會論文

1. Tsung-Ping Lin (林宗平), An-Cheng Huang(黃安正) *, Shih-Ming Huang (黃士鳴), I-Fang Su(蘇怡芳), Shi-Liang Li(李世良), Chien-Ping Chang(張建平) , and Jing-Gung Chung (鍾景光) , Synthesis and Cytotoxic Activity of Certain ethyl 2-(substituted anilino) -4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate and 2,3,4,9-tetrahydrofuro[2,3-*b*] quinolin-3,4-dione derivatives in WEHI cells , 台灣藥學會藥物化學組 , 屏東大仁科技大學 , 2006/8/23-2006/8/25
2. Tsung-Ping Lin (林宗平), An-Cheng Huang(黃安正) *, Hsiu-Chuan Wei (魏秀絹), and Jing-Gung Chung(鍾景光) , The New Synthesized Ethyl 2-[*N-p*-chlorobenzyl-(2'-methyl)]-anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (JOT01007) induced Apoptosis in Human Cervical Cancer Ca Ski Cells , 台灣藥學會藥物化學組 , 屏東大仁科技大學 , 2006/8/23-2006/8/25
3. 林宗平、黃安正等 , The new synthesized Ethyl 2-[*N-p*-chlorobenzyl-(2'-methyl)]anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate induced Apoptosis in Human Cervical Cancer Ca Ski Cell , 台灣藥學會 , 2006/12/23
4. 林宗平、黃安正等 , Synthesis and Cytotoxic Activity of ethyl 2-(substituted anilino)-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate derivatives in Murine Leukemia WEHI-3 Cells(IP-4) , 台灣藥學會 , 台中市英才路 91 號中國醫藥大學 , 2006/12/26-2006/12/23
5. 林宗平、黃安正等 , The New Synthesized JOT01007 induced Apoptosis in Human Cervical Cancer Ca Ski Cells (H-06/254) , 中國藥學會藥物化學專業委員會 , 中國南京 , 2006/11/2-2006/11/6
6. 林宗平、黃安正等 , Synthesis and Cytotoxic Activity of Certain 2,3,4,9-tetrahydrofuro [2,3-*b*]quinolin-3,4-dione and its' derivatives in Murine Leukemia WEHI-3 Cells (H-07 /255) , 中國藥學會藥物化學專業委員會 , 中國南京 , 2006/11/2-2006/11/6
7. 林宗平、黃安正等 , Synthesis and Investigation of Biological Activities of Ethyl 2-[*N*-substituted benzyl-(2'-substituted)anilino-4-oxo-4,5-dihydrofuran-3-carboxylate (PO-59/105) , 中國藥學會藥物化學專業委員會 , 中國南京 , 2006/11/2-2006/11/6
8. Tsung-Ping Lin (林宗平) , Shih-Ming Huang (黃士鳴) , Jin-Chern Lien(連金城)1, 黃安正等 , Synthesis, Antiarrhythmic and electrophysiological effects of CIJ-3-2F, a Benzyl furoquinolone alkaloid derivative with vasodilator activity , 中國藥學會 , 臺南市嘉南藥理科技大學 , 2005/12/17-2005/12/18