



(21)申請案號：103130727

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 09 月 05 日

(51)Int. Cl. : C07D239/94 (2006.01)

A61K31/517 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(71)申請人：國立交通大學(中華民國) NATIONAL CHIAO TUNG UNIVERSITY (TW)

新竹市大學路 1001 號

(72)發明人：趙瑞益 CHAO, JUI I (TW)；王舒霽 WANG, SU PEI (TW)；陳清漂 CHEN, CHINPIAO (TW)；殷凱浩 YIN, KAI HAO (TW)；楊進木 YANG, JINN MOON (TW)；吳雅惠 WU, YA HUI (TW)

(74)代理人：陳昭誠

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：13 共 92 頁

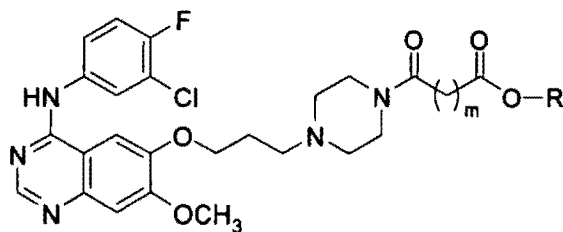
(54)名稱

用於促進癌細胞凋亡的化合物、其醫藥組成物及其用途

A COMPOUND FOR PROMOTING APOPTOSIS OF CANCER CELLS, A PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING THE SAME AND USES THEREOF

(57)摘要

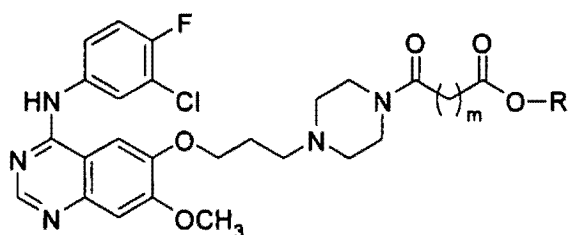
本發明係提供一種式(I)化合物或其鹽，



(I)

其中， m 為 2 至 7 之整數，以及 R 係獨立選自由氫及 C_1 - C_{20} 烷基所組成群組之至少一者。該化合物係用以促進癌細胞的細胞凋亡，以抑制癌細胞的生長。本發明進一步提供一種醫藥組成物，該醫藥組成物係包含式(I)之化合物或其鹽以及醫藥上可接受之載劑。本發明再進一步提供一種包含式(I)之化合物或其鹽的用途，係用於製造治療癌症之藥物。

This invention provides a compound of Formula (I) and salt thereof,

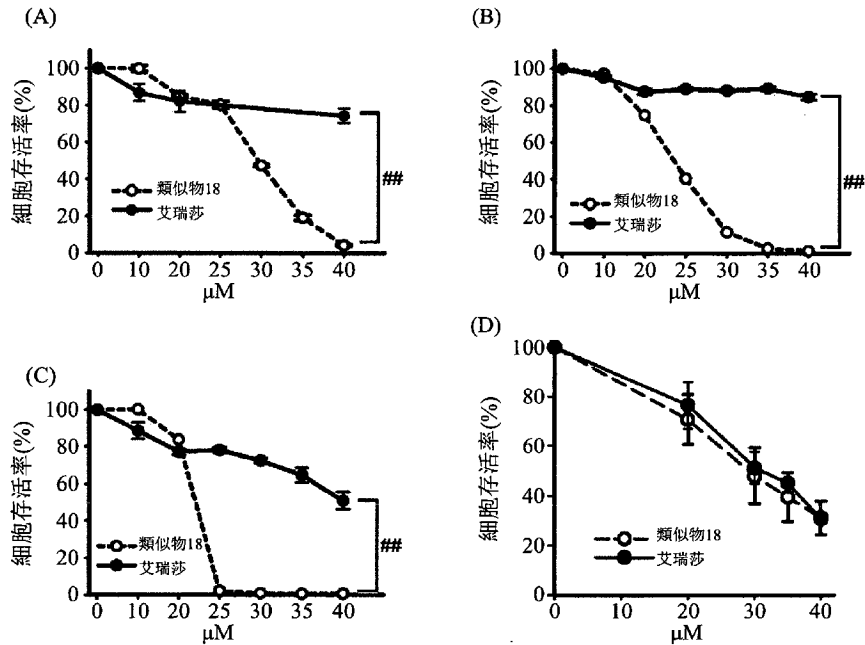


(I)

wherein, m is an integer of 2 to 7, and R is independently at least one selected from the group consisting of hydrogen and C_1 - C_{20} alkyl groups. The compound promotes apoptosis in cancer cells and inhibits their

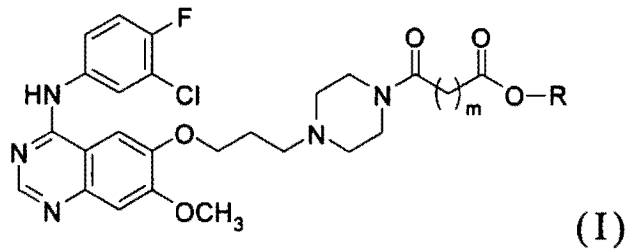
growth. This invention also provides a pharmaceutical composition which comprises the compound of Formula (I), salt thereof and pharmaceutically acceptable carriers. This invention further provides uses for production of the pharmaceutical composition used for treating cancer.

指定代表圖：



第2圖

特徵化學式：



201609672

發明摘要

※申請案號：103130727

※申請日：103. 9. 05

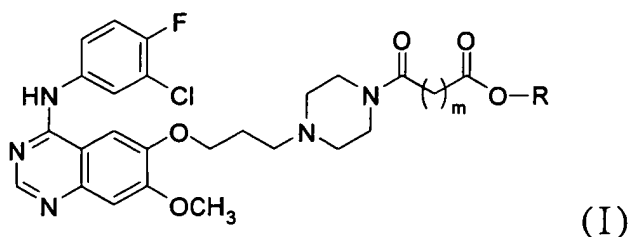
※IPC 分類：C07D239/94 (2006.01)
 A61K31/57 (2006.01)
 A61P35/00 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

用於促進癌細胞凋亡的化合物、其醫藥組成物及其用途
 A COMPOUND FOR PROMOTING APOPTOSIS OF
 CANCER CELLS、A PHARMACEUTICAL COMPOSITION
 CONTAINING THE SAME AND USES THEREOF

【中文】

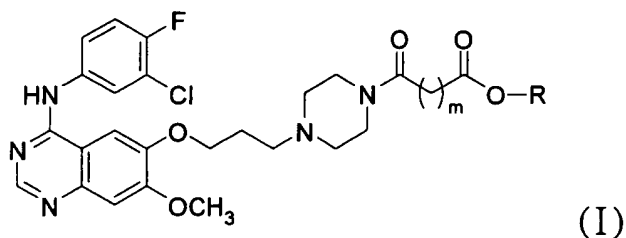
本發明係提供一種式(I)化合物或其鹽，



其中， m 為 2 至 7 之整數，以及 R 係獨立選自由氫及 C_1 - C_{20} 烷基所組成群組之至少一者。該化合物係用以促進癌細胞的細胞凋亡，以抑制癌細胞的生長。本發明進一步提供一種醫藥組成物，該醫藥組成物係包含式(I)之化合物或其鹽以及醫藥上可接受之載劑。本發明再進一步提供一種包含式(I)之化合物或其鹽的用途，係用於製造治療癌症之藥物。

【英文】

This invention provides a compound of Formula (I) and salt thereof,



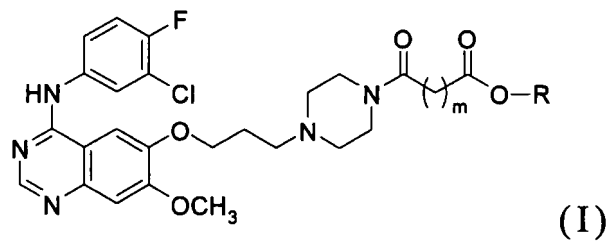
wherein, m is an integer of 2 to 7, and R is independently at least one selected from the group consisting of hydrogen and C_1 - C_{20} alkyl groups. The compound promotes apoptosis in cancer cells and inhibits their growth. This invention also provides a pharmaceutical composition which comprises the compound of Formula (I), salt thereof and pharmaceutically acceptable carriers. This invention further provides uses for production of the pharmaceutical composition used for treating cancer.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 2 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

用於促進癌細胞凋亡的化合物、其醫藥組成物及其用途

A COMPOUND FOR PROMOTING APOPTOSIS OF
CANCER CELLS、A PHARMACEUTICAL COMPOSITION
CONTAINING THE SAME AND USES THEREOF

【技術領域】

本發明係關於一種新穎化合物，尤其是，該化合物係用於抑制癌細胞生長並可促進癌細胞凋亡。

【先前技術】

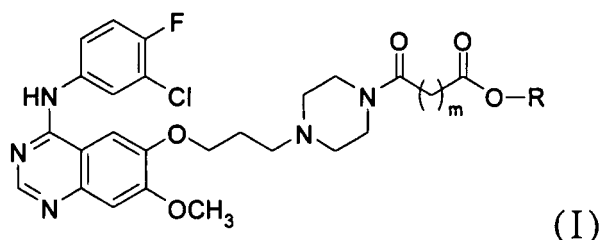
肺癌是現今高發病率與高致死率的癌症之一，而根據統計，肺癌是台灣最常見的癌症死因。肺癌主要可區分成小細胞肺癌(small cell lung carcinoma，簡稱 SCLC)及非小細胞肺癌(non-small cell lung carcinoma，簡稱 NSCLC)，其中 NSCLC 約占肺癌病例的 80%，SCLC 則占 20%。絕大多數的 NSCLC 的病患觀察到有上皮生長因子受體(epidermal growth factor receptor，簡稱 EGFR)的大量表現，突變且異常增升的 EGFR 為新興藥物標靶蛋白之一。

艾瑞莎(亦稱為 Gefitinib 或 ZD1839)，現已應用於在治療非小細胞癌病人的臨床用藥，其會與 ATP 競爭 EGFR 的細胞內酪胺酸激酶(tyrosine kinase)區的受質結合位置，進而抑制酪胺酸激酶的自身磷酸化反應，進而抑制下游的訊息傳導途徑，是一種小分子的酪胺酸激酶抑制劑。

艾瑞莎的療效與 EGFR 本身的突變有關，如在表現子 19 基因缺失(exon19)和第 858 胺基酸位點由原本的白胺酸突變成精氨酸(L858R)時，會增加腫瘤對艾瑞莎的敏感性，治療效果較原始未突變的 EGFR 更佳。目前的研究發現，艾瑞莎的抗藥性與 EGFR 的第二個位點突變有關，臨床上的數據指出 50%對艾瑞莎產生抗性的非小細胞肺癌病人在 EGFR 的第 790 胺基酸產生突變，由原本的蘇胺酸變異成蛋胺酸(T790M)，T790M 突變點位於 EGFR 與 ATP 結合位置上，其阻擋 EGFR 與其抑制子結合，甚至提高 EGFR 與 ATP 的結合能力而增強 EGFR 的活性。

【發明內容】

本發明提供一種式(I)化合物或其鹽，



其中，m 為 2 至 7 之整數，以及 R 係獨立選自由氫及 C₁-C₂₀ 烷基所組成群組之至少一者。

於本發明之一具體實施例中，m 為 2，R 係 C₁-C₁₃ 烷基。

於本發明之一具體實施例中，m 為 2，R 係 C₁₂ 烷基。

於本發明之一具體實施例中，本發明之化合物係用於促進癌細胞的細胞凋亡，用以抑制癌細胞的生長。較佳者，該癌細胞係選自由肺癌細胞、直腸癌細胞及膀胱癌細胞所組成群組之至少一者。

於本發明之一具體實施例中，本發明之式(I)化合物係用以抑制表皮生長因子(epidermal growth factor receptor，以下簡稱 EGFR)蛋白激酶之活性，以促進癌細胞凋亡。

本發明進一步提供一種醫藥組成物，其係包含如上述式(I)之化合物或其鹽以及醫藥上可接受之載劑。

本發明再進一步提供一種包含本發明之醫藥組成物的用途，其係用於製造治療癌症之藥物，其中，該癌症係選自肺癌、直腸癌及膀胱癌所組成群組之至少一者。

【圖式簡單說明】

第 1 圖係顯示不同濃度之艾瑞莎類似物(簡稱類似物)1、類似物 2 及艾瑞莎分別處理以不同癌症細胞株 24 小時後之細胞存活率結果，(A)為 RKO 人類直腸癌細胞株，(B)為 BFTC905 人類膀胱癌細胞株；

第 2 圖係顯示類似物 18 相較於艾瑞莎對於促進不同人類肺癌細胞之細胞死亡更有效率；將不同人類肺癌細胞株以 0 至 40 μ M 的艾瑞莎或類似物 18 處理 24 小時，之後以 MTT 試驗進行細胞存活率分析。(A)為 A549 人類肺腺癌細胞株(以下簡稱 A549)，(B)為 H1299 人類非小細胞肺癌細胞株(以下簡稱 H1299)，(C)CL3 人類肺癌細胞株((以下簡稱 CL3)，其中(A)、(B)及(C)結果係得自 3 個實驗且該橫槓表示平均值 \pm S.E.，## $p < 0.01$ 表示以艾瑞莎處理樣品與以類似物 18 處理樣品間的顯著性差異；(D)為 HFL1 人類肺纖維母細胞株(以下簡稱 HFL1)，該結果係得自 6 個實驗且該橫槓表示平均值 \pm S.E.；

第 3 圖係顯示 EGFR 及磷酸化 EGFR 在不同人類肺癌細胞中之蛋白質表現；萃取自 A549 細胞株、H1299 細胞株、CL3 細胞株及 A431 人類表皮樣癌(係過分表現 EGFR 者，其做為正控制組)之總體蛋白質，利用抗 EGFR、抗磷酸化 EGFR 及抗肌動蛋白之抗體進行西方墨點法分析，並以肌動蛋白作為蛋白質充填控制組，該結果係取自 3 個類似實驗結果其中之 1；

第 4 圖係顯示類似物 18 及艾瑞莎均抑制 EGFR 蛋白激酶之活性，(A) ATP 轉換至 ADP 的標準曲線，其與 ADP 的量具有正相關；(B)利用 IVIS 系統定量螢光強度的結果；(C)利用(A)之標準曲線計算蛋白激酶特定活性之結果；(D)以最大酵素活性之%表現 EGFR 蛋白激酶活性，其中，以類似物 18 或艾瑞莎不存在時之蛋白激酶特定活性作為 100%；上述結果係得自 3 個實驗且該橫槓表示平均值 \pm S.E.，* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 表示控制組(不含任何化合物者)與經類似物 18 或艾瑞莎處理樣品間的顯著性差異；

第 5 圖係顯示類似物 18 較艾瑞莎於人類肺癌細胞中引發細胞凋亡更具效率，A549 細胞株以 0 至 40 μ M 之(A)類似物 18 或(B)艾瑞莎處理 24 小時後，利用膜聯蛋白 V-碘化丙啶(Annexin V-PI (propidium iodide, 簡稱 PI))染色及使用流式細胞儀分析測定被引發之細胞凋亡含量，該細胞群以 Annexin V⁺/PI⁻(右下圖)及 Annexin V⁺/PI⁺表示者(右上圖)，分別表示細胞凋亡之早期及晚期，該結果係取自 3 個類似實驗之其中之一；

第 6 圖係顯示以 CellQuest 軟體定量(A)早期細胞凋亡、(B)晚期細胞凋亡及(C)全部細胞凋亡之百分比，該橫槓表示平均值 \pm S.E.，* $p<0.05$ 、** $p<0.01$ 表示以控制組(不含任何化合物者)與以類似物 18 處理樣品間的顯著性差異，# $p<0.05$ 及## $p<0.01$ 表示以艾瑞莎處理樣品與以類似物 18 處理樣品間的顯著性差異；

第 7 圖係顯示類似物 18 較艾瑞莎對於人類肺癌細胞之生長及細胞週期抑制更有效率，將 A549 細胞株以 1×10^6 細胞/p60 培養皿的密度接種於 60mm 培養皿中培養 18 小時，再以 $30\ \mu\text{M}$ 之類似物 18 或艾瑞莎處理 24 小時，待以藥物處理完後，該細胞繼續培養 2 天至 6 天，最後以血球計(hemocytometer)計算其細胞數，該結果係得自 3 個實驗且該橫槓表示平均值 \pm S.E.，* $p<0.05$ 表示以控制組(不含任何化合物者)與以艾瑞莎處理樣品間的顯著性差異，## $p<0.01$ 表示以控制組(不含任何化合物者)與以類似物 18 處理樣品間的顯著性差異；

第 8 圖係顯示將 A549 細胞株以 0 至 $40\ \mu\text{M}$ 之(B) 類似物 18 或(A)艾瑞莎處理 24 小時後，以流式細胞儀進行分析，該結果係取自 3 個類似實驗其中之一；

第 9 圖係顯示利用 ModFit LT 軟體定量(A) G0/G1 期、(B) S 期、(C) G2/M 期及(D)次-G1 期之百分比，該結果係得自 3 個實驗且該橫槓表示平均值 \pm S.E.，* $p<0.05$ 、** $p<0.01$ 表示以控制組(不含任何化合物者)與以類似物 18 或艾瑞莎處理樣品間的顯著性差異，## $p<0.01$ 表示以類似物 18 處理

樣品與以艾瑞莎處理樣品間的顯著性差異；

第 10 圖係顯示類似物 18 較艾瑞莎於人類肺癌細胞中誘發凋亡蛋白酶 3 (caspase 3) 及多聚 ADP 核糖聚合酶 (poly ADP ribose polymerase, 以下簡稱 PARP) 之蛋白質表現更有效率, (A) 將 A549 細胞株以 0 至 40 μM 之類似物 18 或艾瑞莎處理 24 小時後, 進行蛋白質萃取並使用抗凋亡蛋白酶 3、抗 PARP 及抗肌動蛋白之特定抗體進行西方墨點法分析, 將肌動蛋白用於作為蛋白質充填控制組, 該結果係取自 3 個類似實驗結果之其中之一; (B) 及 (C) 以半量化法 (semi-quantification) 得出活化態凋亡蛋白酶 3 及切割態 PARP 之相對蛋白質強度, 該結果係得自 3 個實驗且該橫槓表示平均值 \pm S.E., * $p < 0.05$ 表示以控制組 (不含任何化合物者) 與以類似物 18 處理樣品間的顯著性差異;

第 11 圖係顯示類似物 18 較艾瑞莎對於抑制人類肺癌細胞中的生存素 (survivin) 之基因及蛋白質表現更有效率, (A) 將 A549 細胞株以 0 至 40 μM 之類似物 18 或艾瑞莎處理 24 小時後, 根據使用者手冊萃取出細胞之總 RNA, 以半定量反轉錄聚合酶連鎖反應 (reverse transcription polymerase chain reaction, 以下簡稱 RT-PCR) 分析 mRNA 之表現, 以 GAPDH 作為內部控制組, 該結果係取自 3 個相似實驗結果之其中之一; (B) 該橫槓表示平均值 \pm S.E., # $p < 0.05$ 表示以類似物 18 處理樣品與以艾瑞莎處理樣品間的顯著性差異; (C) 將 A549 細胞株以 0 至 40 μM 之類似物 18 或艾瑞莎處理 24 小時後, 使用抗生存素及抗肌動蛋白

之特定抗體進行西方墨點法以分析總蛋白萃取物，該結果係取自 3 個相似實驗結果之其中之一；(D)以半定量化法自西方墨點法得出生存素之相對蛋白質強度，該結果係得自 3 個實驗且該橫槓表示平均值 \pm S.E.，* $p<0.05$ 表示以控制組(不含任何化合物者)與以類似物 18 或艾瑞莎處理樣品間的顯著性差異，# $p<0.05$ 表示以類似物 18 處理樣品與以艾瑞莎處理樣品間的顯著性差異；

第 12 圖係顯示在肺癌細胞中以 GFP-生存素表現載體轉染之生存素過度表現，可抑制類似物 18 所引發的細胞死亡，(A)將總蛋白萃取物進行西方墨點法分析；(B)在轉染及以類似物 18 處理後，以 MTT 試驗進行細胞存活率分析，該結果係得自 3 個實驗且該橫槓表示平均值 \pm S.E.，** $p<0.01$ 表示控制組之轉染與生存素組之轉染或以類似物 18 處理之生存素組轉染樣品間的顯著性差異，## $p<0.01$ 表示以類似物 18 處理之樣品及控制組間的顯著性差異；

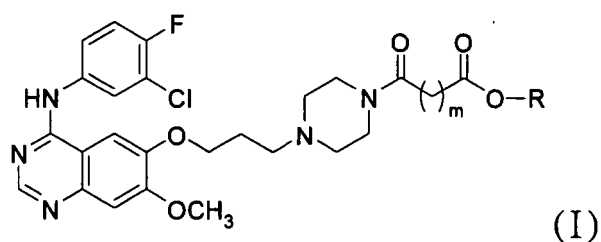
第 13 圖係顯示類似物 18 可在異體移植人類肺癌細胞的裸鼠中抑制腫瘤大小及生存素蛋白質的表現，(A)每 4 天測量一次腫瘤之體積，該結果係得自 8 隻裸鼠且該橫槓表示平均值 \pm S.E.，*** $p<0.001$ 表示控制組(不含任何化合物者)與以類似物 18 處理樣品間的顯著性差異；(B)在以藥物處理後之第 16 天犧牲裸鼠並取出腫瘤；(C)將得自各組的異體腫瘤組織均質化並使用抗生存素及抗肌動蛋白之特定抗體進行西方墨點法以分析總裂解物，該結果係得自 3 個相似實驗結果之其中之一，以半定量化法自西方墨點法得出

生存素之相對蛋白質強度，該結果係得自 3 個實驗。

【實施方式】

以下係藉由特定的具體實施例說明本發明之實施方式，熟習此專業之人士可由本說明書所揭示之內容輕易地瞭解本發明之優點及功效。本發明亦可藉由其它不同之實施方式加以施行或應用，本說明書中的各項細節亦可基於不同觀點與應用，在不悖離本發明所揭示之精神下賦予不同之修飾與變更。

本發明提供一種式(I)化合物或其鹽，



其中， m 為 2 至 7 之整數，以及 R 係獨立選自由氫及 C_1 - C_{20} 烷基所組成群組之至少一者。

於本發明之一具體實施例中，較佳者， m 為 2， R 係 C_1 - C_{20} 烷基。最佳者， m 為 2， R 係 C_{12} 烷基。

於本發明之一具體實施例中，本發明之化合物係 4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯胺基)-7-甲氧喹啉-6-氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十二酯(類似物 18)。

於本發明之一具體實施例中，本發明之化合物係用於促進癌細胞的細胞凋亡，用以抑制癌細胞的生長。較佳者，該癌細胞係選自由肺癌細胞、直腸癌細胞及膀胱癌細胞所組成群組之至少一者。

於本發明之一具體實施例中，本發明之式(I)化合物係用以抑制 EGFR(epidermal growth factor receptor)蛋白激酶之活性，以促進癌細胞凋亡。

於本發明之一具體實施例中，本發明之化合物係用以促進癌細胞中凋亡蛋白酶 3(caspase 3)之活化及多聚 ADP 核糖聚合酶(poly ADP ribose polymerase)之切割，並抑制生存素(survivin)的蛋白質及基因表現，以促進癌細胞凋亡。

本發明進一步提供一種醫藥組成物，其包含本發明之式(I)之化合物或其鹽以及醫藥上可接受之載劑。

本發明化合物具有低毒性及可藉由與藥理上可接受的載劑等混合而呈醫藥組合物用於哺乳動物(例如：人類、小鼠、大鼠、兔、狗、貓、牛、馬、豬、猴)。

作為藥藥上可接受的載劑，可使用傳統上用作為配方材料的各種有機或無機載劑物質。該等被合併作為用於固體配方的賦形劑、潤滑劑、結合劑及崩解劑，用於液體配方的溶劑、溶解劑、懸浮劑、等滲劑、緩衝液、舒緩劑，及其類似者，以及如需要時可添加的配方添加劑(例如：防腐劑、抗氧化劑、著色劑、甜味劑、及其類似物)。

該醫藥組合物的劑型之實例包括口服製劑(例如：錠劑(包括糖衣錠、膜衣錠、舌下含錠、口服崩解錠)、膠囊(包括軟膠囊、微膠囊)、顆粒、粉末、片劑、糖漿、乳液、懸浮液、薄膜(例如：口服可崩解薄膜)及其類似物；以及腸外試劑(例如：注射液(例如：皮下注射液、靜脈注射液、肌肉注射液、腹腔注射液、點滴注射液)、丸劑、鼻製劑、

肺製劑(吸入劑)及其類似物。

本發明再進一步提供一種包含如上述式(I)之化合物或其鹽的用途，係用於製造治療癌症之藥物，其中，該癌症係選自由肺癌、直腸癌及膀胱癌所組成群組至少之一者。

用於本發明之說明書中，術語「艾瑞莎(Iresa)」係指治療肺癌藥物之商品名，其學名為吉非替尼(Gefitinib)，其係為表皮細胞生長因子受體之抑制劑。

用於本發明之說明書中，術語「艾瑞莎類似物(analogues)」係指一系列吉非替尼之哌嗪類似物，其中，在吉非替尼之嗎啉基經多種的哌嗪基所取代。

實施例

細胞株與細胞培養

RKO 係人類直腸癌細胞株；BFTC905 係人類膀胱癌細胞株；A549 細胞株(ATCC 編號:CCL-185)係衍生自 58 歲的男性白種人(Caucasian)之肺腺癌細胞(含有野生型 p53 者)；H1299 細胞株係人類非小細胞肺癌(non-small cell lung carcinoma)細胞株(無法表現 p53 蛋白質者)；CL3 係由國立台灣大學楊泮池博士所提供；HFL-1(ACTT 編號 CCL-153)係衍生自白種胎兒之正常肺纖維母細胞；A431 細胞株係衍生自 85 歲女性之表皮樣癌(epidermoid carcinoma)(過分表現 EGFR 者)細胞株。BFTC905、A549、H1299 及 CL3 細胞株均以 RPMI-1640 培養基培養(Gibco, Life Technologies, Grand Island, NY, USA)；RKI、HFL1 及 A431 細胞株均以

DMEM 培養基培養(Gibco, Life Technologies, Grand Island, NY, USA)。完全培養基含有 10%胎牛血清(fetal bovine serum, 以下簡稱 FBS)、100 單位/毫升(U/mL)青黴素、100 微克/毫升($\mu\text{g/mL}$)鏈黴素以及碳酸氫鈉。所有細胞株均培養於 37°C 之 5% CO_2 之潮濕培養箱(310/Thermo, Forma Scientific, Inc., Marietta, OH)。

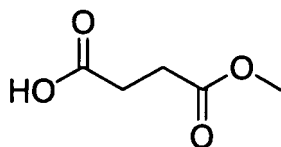
統計分析

各實驗至少重複 3 次，數據係以學生 t 檢定(Student's t test)分析；與多組比較上，以變異數分析(analysis of variance)測試分析數據。以 p 值 <0.05 認定為統計上顯著差異。

實施例 1 艾瑞莎類似物之合成

1. 艾瑞莎類似物(簡稱類似物)1 及類似物 2 之合成：

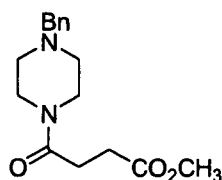
(1). 化合物 1：4-甲氧基-4-氧代丁酸(步驟 1)



將丁二酸酐(1 公克(g)，10 毫莫耳(mmol))與乾甲醇(20 毫升(mL)，500 mmol)混合後，以迴流方式(reflux)加熱並劇烈地攪拌 2.5 小時。在減壓下移除多餘的甲醇後，以水將剩餘物溶解。接著將該溶液以二氯甲烷萃取後，再以 MgSO_4 進行乾燥，蒸發後獲得產率為 68%之化合物 1 (0.9 g，6.81 mmol)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 10.89 (b, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.71–2.61 (m, 4H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 178.1, 172.6, 51.9, 28.8, 28.6; IR (KBr): 3028, 2957, 1736, 1690, 1175, 1003 cm^{-1} ; MS m/z : 132.0 (M^+ , 0.1), 114.1 (11.2), 101.0 (100.0), 73.1 (20.9), 59.1 (17.2), 55.0 (41.8); HRMS-EI (m/z): [M] $^+$ calcd for $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4$, 132.0423; found, 132.0424.

(2). 化合物 2: 4-(4-苄基哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸甲酯 (步驟 2)

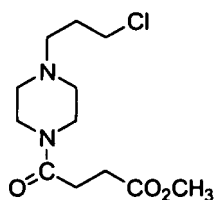


將丁二酸單甲酯 (0.35 g, 2.65 mmol) 及亞硫醯氯 (0.22 mL, 2.9 mmol) 的 5 mL 苯溶液迴流 1.5 小時，再以蒸餾法 (distillation) 將大部分的亞硫醯氯及苯去除。將該混合物冷卻至室溫並於真空下乾燥得到粗 3-氯羰基-丙酸甲酯。藉由套管將 3-氯羰基-丙酸甲酯 (0.5 g, 2 mmol) 的二氯甲烷 (5 mL) 溶液加入含有 1-苄基哌嗪 (0.5 g, 2.84 mmol) 之二氯甲烷圓形燒瓶中，隨後添加吡啶 (0.65 mL, 8 mmol)。將所得溶液在室溫下攪拌過夜，最後加水使其淬滅 (quench)。加入 2M 的 NaOH 溶液使該 pH 成鹼性 (pH 9)，接著以二氯甲烷萃取且以 MgSO_4 乾燥及蒸發，獲得粗的殘留物。再將該殘留物以管柱層析法純化，並以乙酸乙酯/己烷 (1:2.3, 1:1, 3:1) 沖提 (elute) 後獲得產率為 34% 之化合物 2 (0.26 g, 0.90

mmol)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 7.32–7.29 (m, 4H), 7.28–7.27 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.63–3.60 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 3.51 (s, 2H), 3.49–3.47 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 2.68–2.59 (m, 4H), 2.45–2.39 (m, 4H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.7, 169.5, 137.6, 129.1, 128.3, 127.3, 62.9, 52.9, 52.7, 51.8, 45.3, 41.8, 29.1, 27.9; IR (KBr): 2949, 1736, 1646, 1438, 1226, 1165, 998, 744 cm^{-1} ; MS m/z : 290.1 (M^+ , 14.0), 259.1 (16.4), 146.1 (48.7), 134.1 (21.5), 91.1 (100.0); HRMS-EI (m/z): [M] $^+$ 針對 $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ 之計算值, 290.1630; 實測值, 290.1634.

(3). 化合物 3 : 4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸甲酯(步驟 3)



將化合物 2 (0.21g, 0.72 mmol) 及含有 10% 鈀碳催化劑 (palladium on carbon) (22 mg, 10 重量% (wt%)) 的 20mL 甲醇之混合物置入巴氏容器 (Parr glass vessel) 中, 並小心地以氫氣換氣三次。最後將該巴氏容器以 60 psi 氫氣充填後, 機械式搖動 12 小時。反應完成後, 將該反應混合物以矽藻土墊過濾並以過量的甲醇沖洗。減壓下濃縮該過濾物後, 得到產率為 66% 之 4-側氧基-4-哌嗪-1-基-丁酸甲酯 (0.095g, 0.48mmol)。將 4-側氧基-4-哌嗪-1-基-丁酸甲酯溶於 10 mL 之四氫呋喃中, 再加入三乙胺 (0.08 mL, 0.57 mmol) 及 1-

溴-3-氯丙烷(0.057 mL, 0.57 mmol), 接著將該溶液攪拌過夜, 最後加水使其淬滅。將所得溶液以乙酸乙酯萃取, 再以 MgSO_4 乾燥, 蒸發以獲得粗殘留物。接著將此殘留物以管柱層析法(Al_2O_3)純化, 並以乙酸乙酯沖提(elute)後獲得產率為 18%之化合物 3 (0.024 g, 0.087 mmol)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 3.67 (s, 3H), 3.60–3.57 (t, $J = 6.3$ Hz, 4H), 3.48–3.45 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 2.66–2.58 (m, 4H), 2.49–2.46 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.43–2.41 (t, $J = 5.0$ Hz, 2H), 2.39–2.36 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 1.95–1.88 (m, 2H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.6, 169.5, 55.1, 53.3, 52.8, 51.8, 45.2, 43.0, 41.7, 29.7, 29.0, 27.9; IR (KBr): 2950, 2814, 1736, 1647, 1438, 1369, 1227, 1168 cm^{-1} ; MS m/z : 276.1 (M^+ , 8.6), 245.1 (28.2), 213.1 (100.0), 132.1 (15.4); HRMS-EI (m/z): $[\text{M}]^+\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算值, 276.1241;實測值 276.1242.

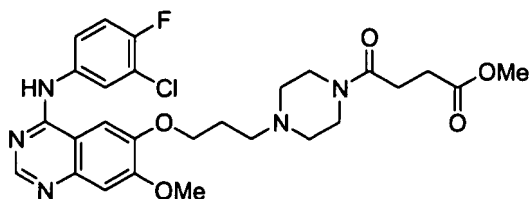
(4). 化合物 4: 4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-醇(步驟 4)



將 6-(苄氧基)-*N*-(3-氯-4-氟苯基)-7-甲氧基喹啉-4-胺 (0.15 g, 0.37 mmol) 及含有 10% 鈀碳催化劑 (palladium on carbon)(25 mg, 10 wt%) 的 20 mL 甲醇混合物置入巴氏容器中, 並小心地以氫氣沖洗三次。最後將該巴氏容器以 60 psi 氫氣充填後, 機械式搖動 24 小時。反應完

成後，將該反應混合物以矽藻土墊過濾並以過量的甲醇沖洗。減壓下濃縮該過濾物以得到產率為 82% 之化合物 4 (0.096 g, 0.3 mmol)。

(5). 類似物 1 : 4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯胺基)-7-甲氧喹啉-6-基氧基)基丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸甲酯(步驟 5)

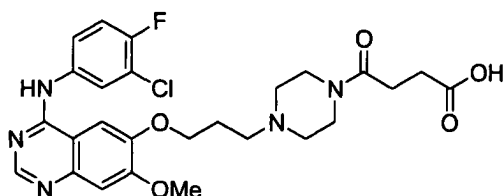


先將化合物 4 (20 mg, 0.063 mmol) 溶解於 0.4 mL 的 *N,N*-二甲基甲醯胺(以下簡稱 DMF) 中，再加入碳酸鉀(17 mg, 0.125 mmol) 及化合物 3 (17 mg, 0.063 mmol)，並在 90 °C 下加熱過夜。再將該反應混合混合物冷卻至室溫並加水使其淬滅。將所得溶液以乙酸乙酯萃取，再以 $MgSO_4$ 乾燥，接著濃縮後獲得粗殘留物。最後將該殘留物以管柱層析法純化且以乙酸乙酯沖提後獲得產率為 57% 之類似物 1 (0.023 g, 0.041 mmol)。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 8.65 (s, 1H), 7.89–7.86 (dd, $J = 6.4, 2.5$ Hz, 1H), 7.74 (b, 1H), 7.56–7.53 (m, 1H), 7.24–7.23 (m, 2H), 7.20–7.06 (m, 1H), 4.18–4.15 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.63 (b, 2H), 3.51 (b, 2H), 3.66–2.59 (m, 6H), 2.51 (b, 2H), 2.46 (b, 2H), 2.12–2.07 (m, 4H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, $CDCl_3$, δ): 173.8, 169.6, 160.8, 158.4, 156.7, 155.1, 153.6, 148.9, 147.3, 134.6, 127.3, 124.2, 115.8, 115.6, 109.0, 107.7, 101.2, 67.4, 56.2, 54.7, 53.2, 52.7,

51.9, 45.1, 41.6, 29.7, 29.0, 27.9, 26.3; IR (KBr): 3322, 2949, 2893, 2838, 1747, 1644, 1633, 1579, 1502, 1472, 1433, 1220, 1172, 1005, 839 cm^{-1} ; MS m/z : 559.2 (M^+ , 2.9), 525.2 (20.1), 494.2 (23.1), 381.1 (21.0), 297.1 (28.2), 285.1 (32.3), 241.1 (28.5), 213.1 (100.0), 99.1 (33.2), 70.1 (29.7); HRMS-EI (m/z): $[M]^+C_{27}H_{31}ClFN_5O_5$ 計算值 559.1998;實測值 559.2007.

(6).類似物 2 : 4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸甲酯酸(步驟 6)



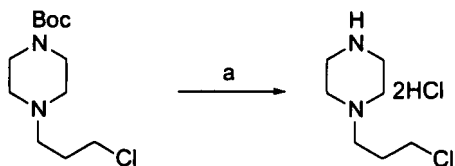
將含有類似物 1 (0.08 g, 0.143 mmol)及氫氧化鋰(9 mg, 0.214 mmol)的 8 mL 甲醇溶液於 60°C 下加熱過夜。接著，將該反應混合物冷卻至室溫，再進行蒸發後，得到粗產物。該粗產物再以水溶解後，利用乙酸乙酯進行萃取，以 $MgSO_4$ 進行乾燥，最後蒸發，得到產率為 68%之類似物 2 (53 mg, 0.097 mmol)。

1H NMR (400 MHz, MeOD, δ): 8.46 (s, 1H), 8.02–7.99 (dd, $J = 6.7, 2.4$ Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.71–7.66 (m, 1H), 7.30–7.25 (t, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.19–7.15 (m, 1H), 4.30–4.27 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 3.66–3.63 (t, $J = 4.9$ Hz, 4H), 3.33–3.31 (m, 2H), 2.75–2.72 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.69–2.66 (m, 4H), 2.61–2.58 (m, 4H), 2.19–2.14 (m, 2H); ^{13}C NMR

(100.6 MHz, CDCl₃, δ): 174.4, 169.9, 156.5, 155.0, 154.8, 153.1, 152.4, 148.8, 147.5, 137.3, 124.0, 122.9, 122.8, 119.3, 119.1, 117.1, 116.9, 109.2, 107.8, 102.3, 67.6, 56.4, 54.9, 53.5, 53.1, 45.1, 41.6, 40.6, 29.5, 27.9, 26.6; IR (KBr): 3387, 2963, 2812, 1723, 1646, 1625, 1584, 1533, 1499, 1476, 1427, 1238, 854 cm⁻¹; MS *m/z*: 546.0 (M⁺, 50.9), 512.0 (16.1), 389.0 (13.7), 320.0 (26.8), 307.0 (30.1), 227.0 (36.1), 199.0 (28.3), 154.0 (99.9), 136.0 (100.0), 90.0 (80.5), 78.0 (76.5); HRMS-FAB (*m/z*): [M+1]⁺ C₂₆H₃₀ClFN₅O₅ 計算值, 546.1920; 實測值 546.1930.

2. 類似物 3 至 7 之合成：

(1). 化合物 5：1-(3-氯丙基)-哌嗪·鹽酸鹽(步驟 7)



將 1-(3-氯丙基)-4-(第三丁氧羰基)-哌嗪(4.0 g, 15.2 mmol)以溶於乙酸乙酯的鹽酸處理後得到 1-(3-氯丙基)-哌嗪·鹽酸鹽(3.17 g, 13.5 mmol)，產率 89 %。

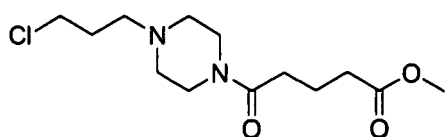
¹H NMR (400 MHz, D₂O, δ): 3.63–3.54 (m, 9H), 3.39 (s, 1H), 3.40–3.35 (m, 2H), 2.21–2.14 (m, 2H). ¹³C NMR (100.6 MHz, D₂O, δ): 54.8, 48.6, 41.1, 40.7, 26.2. IR (KBr): 3356, 3001, 1443, 1301, 1160, 1084 cm⁻¹. MS *m/z*: 162.1 (M⁺, 13.6), 120.1 (100.0), 99.1 (79.5), 70.1 (29.2), 56.1 (49.6). HRMS-EI

(m/z): $[M]^+$ 計算值, $C_7H_{15}ClN_2$, 162.0924; 實測值, 162.0930.

(2). 化合物 6 至 10: (步驟 8)

將含有單烷基酸(碳數分別為 3 至 7) (1.2 eq)及亞硫醯氯(1.4 eq)於 5 mL 苯的溶液迴流(reflux) 3 小時。接著, 將大部分的亞硫醯氯及苯以蒸餾方式去除, 將該混合物冷卻至室溫後, 真空下乾燥以獲得粗氯羰基-烷酸甲酯(烷酸的碳數分別為 3 至 7)。將化合物 5 置入圓形燒瓶, 再以套管(cannula)將含有該氯羰基-烷酸甲酯(烷酸的碳數分別為 3 至 7)的 5mL 二氯甲烷溶液加入其中, 接著加入吡啶(3.5eq)。將所得的溶液在室溫下攪拌過夜, 再加入水使其淬滅。將該溶液以乙酸乙酯萃取, 再以 $MgSO_4$ 乾燥, 接著蒸發以獲得粗殘留物, 將該殘留物以管柱層析法(Al_2O_3)純化, 並以乙酸乙酯/己烷(1:15)沖提後分別獲得化合物 6 至 10。

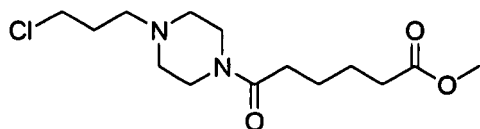
化合物 6: 5-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊酸甲酯



產率: 35%, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 3.65 (s, 3H), 3.60–3.57 (t, $J = 6.5$ Hz, 4H), 3.46–3.43 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.49–2.46 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.46–2.33 (m, 8H), 1.96–1.92 (m, 4H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, $CDCl_3$, δ): 173.8, 170.6, 55.1, 53.4, 52.8, 51.5, 45.4, 43.0, 41.5, 33.2, 32.1, 30.0, 20.4; IR (KBr): 2923, 2853, 1735, 1647, 1457, 1373, 1105 cm^{-1} ; MS m/z : 290.2 (M^+ , 6.8), 259.2 (27.3), 227.2 (100.0), 132.1 (75.2),

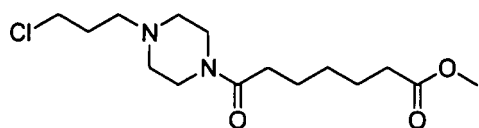
99.1 (79.6), 70.1 (39.8), 55.1 (50.5); HRMS-EI (m/z): $[M]^+$
 $C_{13}H_{23}ClN_2O_3$ 計算值, 290.1397; 實測值 290.1391.

化合物 7: 6-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-6-氧代己酸甲酯



產率: 56%, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 3.64 (s, 3H),
 3.60–3.58 (t, $J = 6.4$ Hz, 4H), 3.45–3.42 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H),
 2.50–2.46 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.46–2.36 (m, 4H), 2.34–2.29
 (m, 4H), 1.96–1.89 (m, 2H), 1.67–1.63 (m, 4H); ^{13}C NMR
 (100.6 MHz, $CDCl_3$, δ): 173.9, 171.0, 55.1, 53.5, 52.8, 51.5,
 45.5, 42.9, 41.5, 33.8, 32.8, 29.7, 24.7. IR (KBr): 2949, 1735,
 1645, 1436, 1249, 1004 cm^{-1} ; MS m/z : 304.2 (M^+ , 6.2), 273.1
 (25.1), 241.1 (100.0), 132.1 (96.0), 99.1 (41.7), 70.1 (27.8),
 55.1 (55.6); HRMS-EI (m/z): $[M]^+$ $C_{14}H_{25}ClN_2O_3$ 計算值,
 304.1554; 實測值 304.1558.

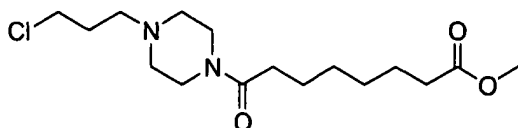
化合物 8: 7-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚酸甲酯



產率: 60%, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 3.64 (s, 3H),
 3.60–3.57 (t, $J = 6.3$ Hz, 4H), 3.44–3.42 (t, $J = 4.6$ Hz, 2H),
 2.50–2.46 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.38–2.36 (m, 4H), 2.31–2.27
 (m, 4H), 1.95–1.89 (m, 2H), 1.67–1.61 (m, 4H), 1.38–1.30 (m,
 2H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, $CDCl_3$, δ): 174.1, 171.3, 55.1, 53.5,
 52.8, 51.5, 45.5, 43.0, 41.5, 33.9, 33.0, 29.7, 28.9, 24.9, 24.7;

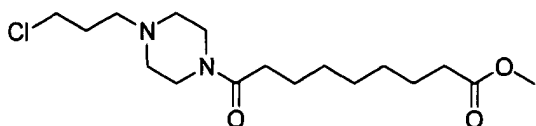
IR (KBr): 2947, 1736, 1644, 1435, 1174, 1004 cm^{-1} . MS m/z : 318.2 (M^+ , 4.5), 287.2 (22.4), 255.2 (100.0), 132.1 (90.2), 99.1 (70.5), 70.1 (23.7), 55.1 (27.9); HRMS-EI (m/z): [M] $^+$ $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算值, 318.1710;實測值 318.1718.

化合物 9 : 8-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酸甲酯



產率 : 67%, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 3.61 (s, 3H), 3.61–3.57 (m, 4H), 3.42–3.40 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.47–2.43 (m, 2H), 2.39–2.33 (m, 4H), 2.27–2.23 (t, $J = 7.5$ Hz, 4H), 1.93–1.87 (m, 4H), 1.59–1.54 (m, 4H), 1.30–1.29 (b, 4H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 174.1, 171.4, 55.1, 53.5, 52.8, 51.4, 45.5, 43.0, 41.4, 33.9, 33.0, 29.7, 29.0, 28.9, 25.0, 24.7; IR (KBr): 2934, 2858, 1737, 1645, 1462, 1435, 1370, 1173, 1004 cm^{-1} ; MS m/z : 332.2 (M^+ , 7.5), 301.2 (20.4), 269.2 (100.0), 132.1 (99.5), 120.1 (34.8), 99.1 (32.2), 70.1 (11.4), 55.1 (14.1); HRMS-EI (m/z): [M] $^+$ $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算值, 332.1867;實測值 332.1880.

化合物 10 : 9-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-9-氧代壬酸甲酯



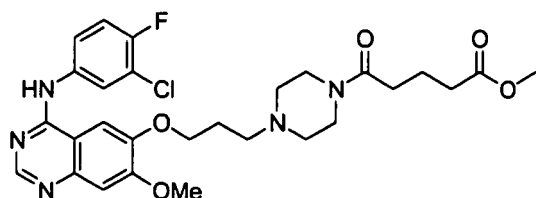
產率 : 63%, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 3.64 (s, 3H), 3.60–3.57 (m, 4H), 3.45–3.42 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 2.50–2.46 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.42–2.36 (m, 4H), 2.29–2.26 (m, 4H),

1.96–89 (m, 2H), 1.61–1.57 (m, 4H), 1.30 (b, 6H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 174.2, 171.5, 55.2, 53.5, 52.9, 51.4, 45.6, 42.9, 41.5, 34.0, 33.2, 29.7, 29.2, 29.0, 28.9, 25.2, 24.9; IR (KBr): 2932, 2856, 1737, 1645, 1435, 1004 cm^{-1} ; MS m/z : 346.2 (M^+ , 0.5), 313.2 (53.4), 284.1 (54.3), 269.1 (26.9), 191.2 (100.0), 132.1 (99.5), 120.1 (10.2), 99.1 (12.3), 55.1 (90.6); HRMS-EI (m/z): [M] $^+$ $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算值, 346.2023; 實測值 346.2031.

(3).類似物 3 至 7 : (步驟 9)

先以 1 mL 的 N,N -二甲基甲醯胺溶解化合物 4 (1eq) 後，再加入碳酸鉀(2 eq)及自化合物 6 至 10 選一者加入，並在 80 $^\circ\text{C}$ 下加熱過夜。再將該反應混合物冷卻至室溫並加水使其淬滅。將所得的溶液以乙酸乙酯萃取，接著將所合併之萃取物以水及鹽水(brine)清洗，再以 MgSO_4 乾燥，接著蒸發後以獲得殘留物。最後將該殘留物以管柱層析法純化後獲得類似物 3 至 7。

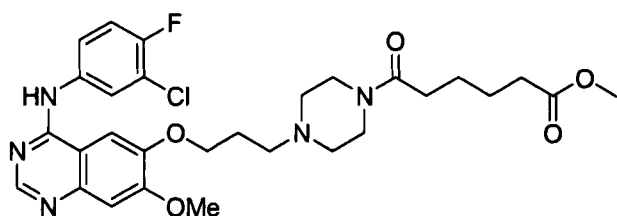
類似物 3 : 5-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-5-氧代戊酸甲酯



產率: 40 %; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 9.50 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.79–7.75 (m, 2H), 7.25–7.20 (t, J = 8.3 Hz, 2H), 4.20–4.17 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.59

(s, 3H), 3.45–3.42 (m, 4H), 2.41 (b, 2H), 2.36–2.30 (m, 6H), 2.02–1.99 (m, 2H), 1.76–1.69 (m, 2H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.6, 170.4, 160.0, 157.6, 156.9, 154.8, 153.3, 148.7, 147.3, 136.2, 124.9, 124.8, 115.6, 115.4, 109.2, 107.8, 103.2, 67.6, 56.3, 54.9, 53.6, 53.1, 51.7, 45.2, 41.4, 33.1, 31.8, 26.5, 20.7; IR (KBr): 3374, 2949, 1729, 1624, 1508, 1428, 1214, 854 cm^{-1} ; MS m/z : 573.2 (M^+ , 6.3), 539.2 (19.6), 508.2 (23.2), 381.2 (35.6), 297.1 (55.8), 285.1 (87.3), 227.1 (100.0), 213.1 (57.0), 99.1 (95.7), 70.1 (85.8), 55.0 (47.0); HRMS-EI (m/z): [M] $^+$ $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算值, 573.2154; 實測值, 573.2940.

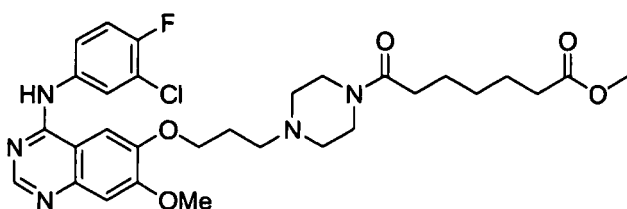
類似物 4 : 6-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-6-氧代己酸甲酯



產率: 30 %; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.62 (s, 1H), 7.62–7.58 (m, 2H), 7.37 (b, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.12–7.07 (m, 2H), 4.18–4.15 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.62–3.60 (t, $J = 4.7$ Hz, 2H), 3.46–3.44 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.59–2.56 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.47–2.40 (m, 4H), 2.35–2.29 (m, 4H), 2.13–2.06 (m, 2H), 1.66 (b, 4H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.9, 171.0, 160.8, 158.4, 156.5, 155.1, 153.7, 148.9, 147.5, 134.5, 124.2, 124.1, 115.9, 115.7, 108.9,

108.0, 100.8, 67.5, 56.2, 54.8, 53.5, 52.9, 51.5, 45.5, 41.5, 33.8, 32.8, 26.4, 24.7, 24.6; IR (KBr): 3379, 2949, 1733, 1623, 1508, 1430, 1214 cm^{-1} ; MS m/z : 587.2 (M^+ , 0.9), 551.2 (14.3), 522.2 (23.4), 381.1 (33.5), 355.1 (19.5), 297.1 (53.2), 285.0 (100.0), 269.1 (56.4), 241.1 (80.4), 99.0 (73.4), 70.0 (56.2), 55.0 (44.9); HRMS-EI (m/z): [M] $^+$ $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算值, 587.2311; 實測值, 587.2314.

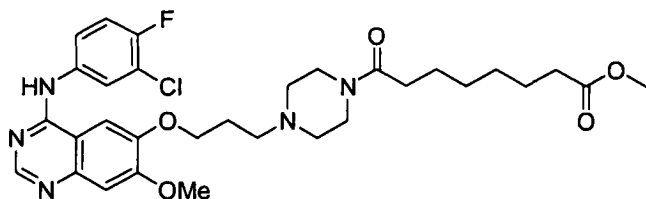
類似物 5 : 7-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-7-氧代庚酸甲酯



產率: 33 %; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.63 (s, 1H), 7.63–7.59 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.12–7.08 (m, 3H), 4.19–4.16 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.62 (b, 3H), 3.46 (b, 3H), 2.61–2.57 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.46–2.44 (m, 4H), 2.33–2.28 (m, 4H), 2.14–2.09 (m, 2H), 1.68–1.60 (m, 4H), 1.40–1.32 (m, 2H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 174.1, 171.3, 160.9, 158.4, 156.5, 155.2, 153.7, 148.9, 147.6, 134.5, 124.2, 124.1, 115.9, 115.7, 108.8, 108.1, 100.7, 67.6, 56.2, 54.8, 53.5, 52.9, 51.5, 45.5, 41.5, 33.9, 32.9, 28.9, 26.4, 24.9, 24.7; IR (KBr): 2927, 1735, 1624, 1582, 1508, 1429, 1214, 732 cm^{-1} .

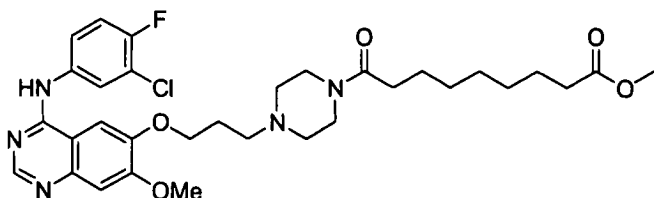
類似物 6 : 8-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉

-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-8-氧代辛酸甲酯



產率：35 %；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.63 (s, 1H), 7.63–7.59 (m, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.13–7.08 (m, 3H), 4.21–4.18 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 4.00 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.64–3.61 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H), 3.48–3.45 (t, *J* = 4.7 Hz, 2H), 2.61–2.58 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.48–2.43 (m, 4H), 2.31–2.28 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H), 2.15–2.08 (m, 2H), 1.66–1.60 (m, 4H), 1.36–1.32 (m, 4H); ¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃, δ): 174.2, 171.5, 160.9, 158.4, 156.5, 155.2, 153.7, 148.9, 147.6, 134.5, 124.2, 124.1, 115.9, 115.7, 108.8, 108.1, 100.7, 67.6, 56.2, 54.8, 53.5, 52.9, 51.5, 45.6, 41.5, 33.9, 33.1, 29.1, 28.9, 26.4, 25.1, 24.8; IR (KBr): 2931, 1734, 1623, 1583, 1508, 1429, 1244, 1214, 1141, 1005, 833 cm⁻¹.

類似物 7：9-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-9-氧代壬酸甲酯



產率：31 %；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 8.62 (s, 1H), 7.63–7.59 (m, 2H), 7.29 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.11–7.07 (m, 2H), 4.19–4.16 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.66 (s, 3H),

3.63–3.61 (t, $J = 4.7$ Hz, 2H), 3.47–3.45 (t, $J = 4.7$ Hz, 2H), 2.60–2.57 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.48–2.42 (m, 4H), 2.31–2.27 (t, $J = 7.4$ Hz, 4H), 2.13–2.06 (m, 2H), 1.62–1.59 (m, 4H), 1.31 (b, 6H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 174.2, 171.6, 160.8, 158.4, 156.5, 155.2, 153.7, 148.9, 147.6, 134.5, 124.2, 124.1, 115.9, 115.7, 108.9, 108.1, 100.9, 67.6, 56.2, 54.8, 53.5, 52.9, 51.4, 45.6, 41.5, 34.0, 33.2, 29.2, 29.0, 28.9, 26.5, 25.2, 24.9; IR (KBr): 2927, 1732, 1628, 1508, 1265, 739, 704 cm^{-1} ; MS m/z : 629.4 (M^+ , 0.9), 593.4 (20.8), 564.4 (27.7), 381.2 (54.3), 355.2 (32.6), 312.2 (40.8), 297.2 (80.6), 285.1 (100.0), 269.1 (25.8), 125.1 (31.2), 99.1 (99.6), 70.1 (77.6), 55.1 (64.7); HRMS-EI (m/z): $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算值, 629.2780; 實測值, 629.2789.

3.類似物 8 至 26 之合成：

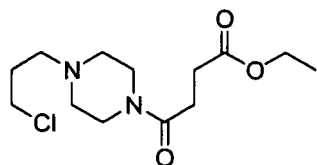
(1).化合物 11 至 29：(步驟 10)

將含有丁二酸酐(1 eq)及乾燥醇類(碳數分別為 2 至 20)(1 eq)的 4 mL 甲苯溶液迴流下加熱 2.5 小時。減壓下移除甲苯後，以水將殘留物溶解。接著將此溶液以二氯甲烷萃取，再以 MgSO_4 進行乾燥，蒸發後得到單烷基丁二酸(烷基的碳數分別為 2 至 20)。

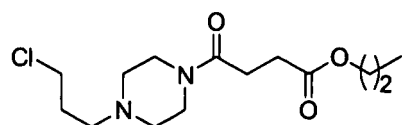
將含有單烷基丁二酸(烷基的碳數分別為 2 至 20) (1.2 eq)及亞硫醯氯(1.4 eq)的 5mL 苯溶液迴流 3 小時，再以蒸餾方式除去大部分的亞硫醯氯及苯。將該混合物冷卻至室溫，真空乾燥以獲得粗氯羧基-烷基酯(烷基的碳數為 2 至

20)。將化合物 5 (1 eq)置於圓形燒瓶中，再以套管(cannula)將該氯羰基-烷基酯(烷基的碳數為 2 至 20)的 5 mL 二氯甲烷溶液加入其中，接著加入吡啶(1.4 eq)。將該所得溶液在室溫下攪拌過夜，再加入水使其淬滅。以乙酸乙酯萃取，再以 $MgSO_4$ 乾燥，蒸發以獲得殘留物。將該殘留物以管柱層析法(Al_2O_3)純化，以乙酸乙酯/己烷(1:15)沖提後得到化合物 11 至 29 (其物化數據詳見於表 1)。

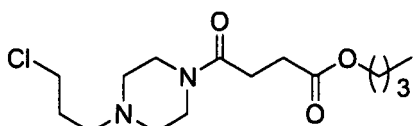
化合物 11：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸乙酯



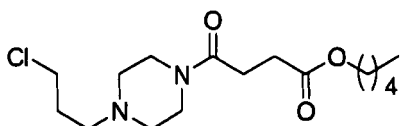
化合物 12：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸丙酯



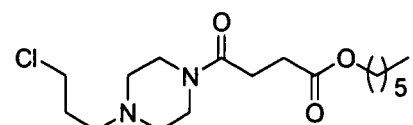
化合物 13：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸丁酯



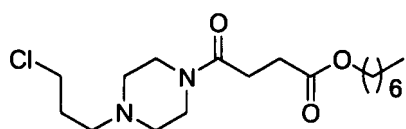
化合物 14：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸戊酯



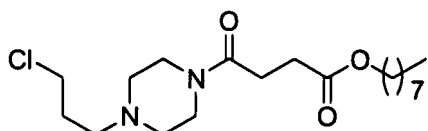
化合物 15：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸己酯



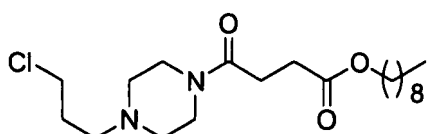
化合物 16：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸庚酯



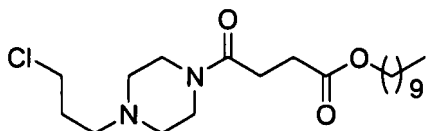
化合物 17：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸辛酯



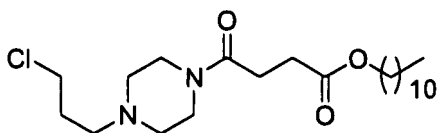
化合物 18：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸壬酯



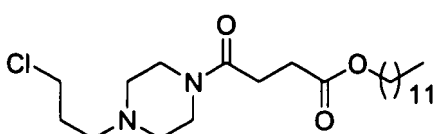
化合物 19：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸癸酯



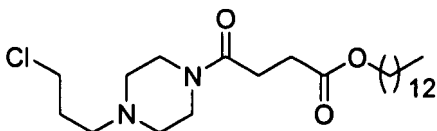
化合物 20：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十一酯



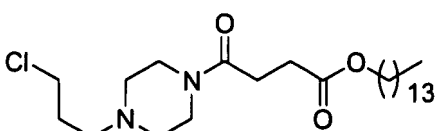
化合物 21：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十二酯



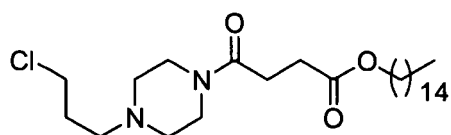
化合物 22：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十三酯



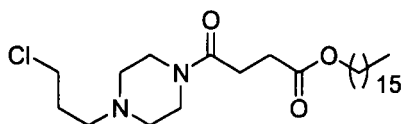
化合物 23：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十四酯



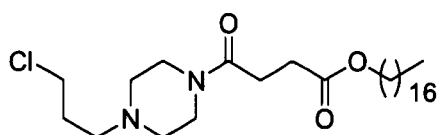
化合物 24：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十五酯



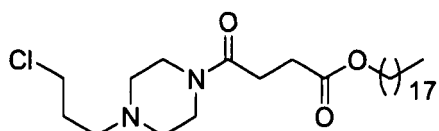
化合物 25：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十六酯



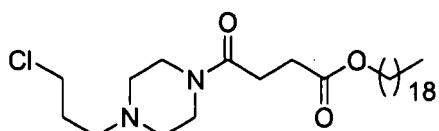
化合物 26：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十七酯



化合物 27：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十八酯



化合物 28：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十九酯



化合物 29：4-(4-(3-氯丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸二十酯

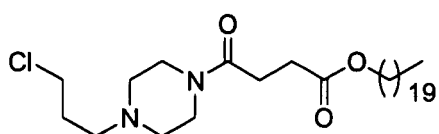


表 1、化合物 11 至 29 之物化數據

編號	物化數據
化合物 11 (產率： 61%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.18–4.10 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.60–3.58 (t, $J = 4.1$ Hz, 4H), 3.50–3.47 (t, $J = 5.0$ Hz, 2H), 2.64–2.52 (m, 4H), 2.51–2.47 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.37 (m, 4H), 1.96–1.91 (dd, $J = 13.5, 6.7$ Hz, 2H), 1.28–1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); IR (KBr): 2918, 2846, 1733, 1641, 1444, 1375, 1229, 1174 cm^{-1} . MS m/z : 255.3 (5.8), 207.1 (16.7), 147.1 (39.1), 73.0 (100.0).
化合物 12 (產率： 66%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.05–4.02 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.61–3.58 (m, 4H), 3.49–3.47 (t, $J = 5.0$ Hz, 2H), 2.67–2.59 (m, 4H), 2.51–2.47 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.37 (m, 4H), 1.96–1.91 (dd, $J = 13.5, 6.7$ Hz, 2H), 1.28–1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.1, 169.5, 66.1, 55.0, 53.2, 52.7, 45.2, 42.9, 41.6, 29.6, 29.2, 27.8, 21.9, 10.3; IR (KBr): 2963, 2920, 1730, 1646, 1444, 1351, 1266, 1173 cm^{-1} ; HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算值, 304.1554; 實測值, 304.1548.
化合物 13 (產率： 55%)	^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , δ): 4.10–4.06 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.62–3.58 (m, 4H), 3.49–3.47 (t, $J = 5.0$ Hz, 2H), 2.65–2.62 (m, 4H), 2.52–2.47 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.39 (m, 4H), 1.96–1.91 (dd, $J = 13.5, 6.7$ Hz, 2H), 1.28–1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz,

	CDCl ₃ , δ): 173.1, 169.5, 64.4, 55.0, 53.2, 52.7, 45.1, 42.9, 41.6, 30.5, 29.6, 29.2, 27.7, 19.0, 13.6.
化合物 14 (產率 : 63%)	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 4.09–4.06 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 3.62–3.59 (m, 4H), 3.50–3.47 (t, <i>J</i> = 5.0 Hz, 2H), 2.66–2.59 (m, 4H), 2.51–2.48 (t, <i>J</i> = 6.9 Hz, 2H), 2.45–2.38 (m, 4H), 1.95–1.90 (m, 2H), 1.64–1.61 (m, 2H), 1.34–1.25 (m, 4H), 0.91–0.88 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 3H); ¹³ C NMR (100.6 MHz, CDCl ₃ , δ): 173.1, 169.5, 64.7, 55.1, 53.3, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 29.7, 29.3, 28.2, 28.0, 27.8, 22.3, 13.9; IR (KBr): 2959, 2934, 1731, 1647, 1449, 1366, 1238, 1173cm ⁻¹ .
化合物 15 (產率 : 52%)	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 4.09–4.05 (t, <i>J</i> = 6.7 Hz, 2H), 3.62–3.58 (m, 4H), 3.50–3.47 (t, <i>J</i> = 4.9 Hz, 2H), 2.66–2.60 (m, 4H), 2.51–2.48 (t, <i>J</i> = 6.9 Hz, 2H), 2.45–2.38 (m, 4H), 1.97–1.90 (m, 2H), 1.65–1.58 (m, 2H), 1.35–1.25 (m, 6H), 0.89–0.86 (t, <i>J</i> = 6.6 Hz, 3H); IR (KBr): 2927, 2856, 1728, 1646, 1456, 1351, 1265, 1175cm ⁻¹ ; HRFAB (<i>m/z</i>): [M] ⁺ C ₁₇ H ₃₁ ClN ₂ O ₃ 計算值, 346.2023; 實測值, 346.2028.
化合物 16 (產率 : 57%)	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 4.08–4.05 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 3.61–3.58 (m, 4H), 3.50–3.47 (t, <i>J</i> = 4.9 Hz, 2H), 2.67–2.60 (m, 4H), 2.51–2.48 (t, <i>J</i> = 7.0 Hz, 2H), 2.45–2.38 (m, 4H), 1.97–1.90 (m, 2H), 1.63–1.58 (m, 2H),

	1.34–1.27 (m, 8H), 0.89–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); IR (KBr): 2937, 2859, 1734, 1649, 14418, 13539, 1265, 1033 cm^{-1} .
化合物 17 (產率 : 51%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.08–4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.61–3.58 (m, 4H), 3.50–3.47 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.66–2.60 (m, 4H), 2.51–2.47 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.38 (m, 4H), 1.97–1.90 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.34–1.23 (m, 10H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.2, 169.6, 64.8, 55.1, 53.2, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 31.7, 29.7, 29.3, 29.1, 29.1, 28.5, 27.8, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 2927, 2855, 1731, 1647, 1444, 1352, 1265, 1171 cm^{-1} ; MS m/z : 375.3 (M^+ , 21.4), 339.3 (77.1), 228.0 (87.5), 95.0 (85.3); HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算值, 374.2336; 實測值, 374.2338.
化合物 18 (產率 : 51%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.09–4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.62–3.59 (m, 4H), 3.50–3.47 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.67–2.59 (m, 4H), 2.51–2.48 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.38 (m, 4H), 1.97–1.90 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.34–1.23 (m, 12H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.2, 169.6, 64.8, 55.1, 53.3, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 31.8, 29.7, 29.4, 29.3, 29.2, 29.2, 28.6, 27.8, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 2925, 2855,

	1731, 1650, 1445, 1366, 1232, 1169 cm^{-1} .
化合物 19 (產率 : 51%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.08–4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.60–3.57 (m, 4H), 3.51–3.48 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.66–2.58 (m, 4H), 2.50–2.47 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.46–2.39 (m, 4H), 1.96–1.90 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.34–1.23 (m, 14H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.2, 169.6, 64.8, 55.1, 53.3, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 31.8, 29.7, 29.4, 29.3, 29.3, 29.2, 29.2, 28.6, 27.8, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 2925, 2855, 1733, 1650, 1444, 1365, 1232, 1169 cm^{-1} . HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算值, 402.2649; 實測值, 402.2641.
化合物 20 (產率 : 50%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.06–4.02 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.59–3.56 (m, 4H), 3.47–3.45 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.64–2.56 (m, 4H), 2.48–2.45 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.42–2.35 (m, 4H), 1.94–1.91 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.34–1.23 (m, 16H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.1, 169.5, 64.7, 55.1, 53.2, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 31.8, 29.7, 29.5, 29.5, 29.4, 29.2, 29.2, 28.5, 27.8, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 2925, 2854, 1735, 1650, 1440, 1363, 1222, 1169 cm^{-1} . MS m/z: 416.2 (M^+ , 1.32), 281.1 (14.2), 221.1 (11.3), 207.1 (13.9), 139.4 (35.6), 60.3 (100.0). HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+$

	$C_{22}H_{41}ClN_2O_3$ 計算値, 416.2806; 實測値, 416.2799.
化合物 21 (產率 : 54%)	1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 4.07–4.03 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.60–3.57 (m, 4H), 3.48–3.46 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.65–2.57 (m, 4H), 2.50–2.46 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.44–2.37 (m, 4H), 1.95–1.92 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.34–1.23 (b, 18H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, $CDCl_3$, δ): 173.2, 169.5, 64.8, 55.1, 53.2, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.3, 29.2, 29.2, 28.5, 27.8, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 2925, 2854, 1734, 1651, 1444, 1365, 1223, 1169 cm^{-1} . MS m/z : 430.3 (M^+ , 62.5), 281.1 (11.7), 228.0 (11.7), 221.1 (11.1), 207.1 (18.7), 139.4 (41.3), 60.3 (100.0). HRFAB (m/z): $[M]^+$ $C_{23}H_{43}ClN_2O_3$ 計算値, 430.2963; 實測値, 430.2954.
化合物 22 (產率 : 55%)	1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 4.09–4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.62–3.59 (m, 4H), 3.50–3.47 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.68–2.59 (m, 4H), 2.51–2.48 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.38 (m, 4H), 1.97–1.90 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.34–1.23 (b, 20H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100.6 MHz, ^{13}C NMR (100.6 MHz, $CDCl_3$, δ): 173.2, 169.6, 64.8, 55.1, 53.2, 52.7, 45.1, 42.9, 41.6, 31.9, 29.6, 29.5, 29.5, 29.3, 29.2, 28.6, 27.8, 25.9, 22.6, 14.1; IR (KBr): 2924, 2853, 1734, 1651, 1464, 1363,

	1222, 1169 cm^{-1} . MS m/z : 444.2 (M^+ , 2.0), 325.0 (5.0), 281.1 (11.8), 221.1 (12.3), 207.1 (17.5), 139.4 (29.6), 60.3 (100.0). HRFAB (m/z): [M] $^+$ $\text{C}_{24}\text{H}_{45}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算値, 444.3119; 實測值, 444.3157.
化合物 23 (產率 : 49%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.09–4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.62–3.59 (m, 4H), 3.50–3.47 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.68–2.59 (m, 4H), 2.51–2.48 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.38 (m, 4H), 1.97–1.90 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.34–1.23 (b, 22H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.1, 169.5, 64.7, 55.1, 53.2, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 31.8, 29.7, 29.5, 29.4, 29.2, 29.2, 28.5, 27.8, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 2924, 2853, 1735, 1652, 1444, 1364, 1222, 1169 cm^{-1} . MS m/z : 458.1 (M^+ , 60.3), 422.3 (17.1), 281.1 (17.1), 221.1 (16.1), 207.1 (17.7), 139.4 (40.33), 60.3 (100.0); HRFAB (m/z): [M] $^+$ $\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算値, 458.3275; 實測值, 458.3261.
化合物 24 (產率 : 52%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.04–4.01 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.57–3.54 (m, 4H), 3.46–3.43 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 2.63–2.55 (m, 4H), 2.47–2.44 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.41–2.34 (m, 4H), 1.93–1.86 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.30–1.19 (b, 24H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.1, 169.5, 64.7, 55.0, 53.2, 52.7, 45.2, 42.8, 41.7, 31.8, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5,

	29.4, 29.3, 29.2, 29.2, 28.5, 27.8, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 2924, 2853, 1735, 1652, 1444, 1365, 1223, 1169 cm^{-1} . MS m/z : 473.3 (M^+ , 19.1), 409.3 (10.3), 281.1 (11.4), 245.1 (19.8), 221.1 (10.2), 207.1 (18.8), 140.1 (37.2), 60.3 (100.0). HRFAB (m/z): [M] $^+$ $C_{26}H_{49}ClN_2O_3$ 計算值, 472.3432; 實測值, 472.3436.
化合物 25 (產率 : 45%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.02–3.99 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.55–3.52 (m, 4H), 3.44–3.42 (t, $J = 4.7$ Hz, 2H), 2.60–2.54 (m, 4H), 2.45–2.42 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.39–2.32 (m, 4H), 1.91–1.86 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.30–1.19 (b, 26H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.1, 169.5, 64.7, 55.0, 53.2, 52.7, 45.2, 42.8, 41.6, 31.8, 29.6, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.2, 28.5, 27.8, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 2924, 2852, 1735, 1652, 1444, 1364, 1222, 1170 cm^{-1} . MS m/z : 487.3 (M^+ , 3.6), 423.3 (2.4), 281.1 (2.3), 221.1 (2.1), 207.1 (3.2), 140.1 (5.6), 53.6 (100.0). HRFAB (m/z): [M] $^+$ $C_{27}H_{51}ClN_2O_3$ 計算值, 486.3588; 實測值, 486.3562.
化合物 26 (產率 : 56%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 4.07–4.04 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.60–3.57 (m, 4H), 3.48–3.46 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.66–2.57 (m, 4H), 2.50–2.46 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.44–2.37 (m, 4H), 1.96–1.92 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H),

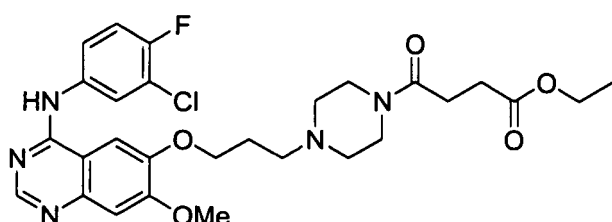
	<p>1.34–1.23 (b, 28H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.2, 169.6, 64.8, 55.1, 53.3, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 31.9, 29.6, 29.6, 29.5, 29.5, 29.3, 29.3, 29.2, 28.6, 27.8, 25.9, 22.6, 14.1; IR (KBr): 2919, 2850, 1732, 1642, 1465, 1306, 1188, 1170 cm^{-1}. MS m/z: 501.3 (M^+, 1.94), 429.0 (2.11), 400.9 (3.59), 355.0 (5.0), 281.1 (19.1), 221.1 (10.3), 207.1 (18.6), 140.1 (45.7), 60.3 (100.0). HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{28}\text{H}_{53}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算值, 500.3745; 實測值, 500.3749.</p>
<p>化合物 27 (產率 : 48%)</p>	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3, δ): 4.09–4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.62–3.59 (m, 4H), 3.50–3.47 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.68–2.59 (m, 4H), 2.51–2.48 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.38 (m, 4H), 1.97–1.91 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.30–1.25 (b, 30H), 0.89–0.86 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.1, 169.5, 64.7, 55.0, 53.2, 52.7, 45.2, 42.8, 41.6, 31.8, 29.6, 29.6, 29.5, 29.5, 29.3, 29.2, 29.2, 28.5, 27.8, 25.9, 22.6, 14.1. MS m/z: 515.3 (M^+, 9.2), 451.3 (5.0), 400.9 (5.7), 281.1 (18.1), 207.1 (16.8), 140.1 (36.8), 60.3 (100.0). HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{29}\text{H}_{55}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算值, 514.3901; 實測值, 514.3895.</p>
<p>化合物 28 (產率 : 44%)</p>	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3, δ): 4.08–4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.61–3.58 (m, 4H), 3.49–3.47 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.66–2.59 (m, 4H), 2.51–2.47 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H),</p>

	<p>2.45–2.38 (m, 4H), 1.97–1.90 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.34–1.23 (m, 32H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.2, 169.6, 64.8, 55.1, 53.3, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 31.9, 29.6, 29.5, 29.5, 29.3, 29.3, 29.2, 28.6, 27.8, 25.9, 22.6, 14.0; IR (KBr): 2918, 2850, 1732, 1633, 1464, 1364, 1306, 1169 cm^{-1}. MS m/z: 529.3 (M^+, 5.5), 465.3 (2.9), 400.9 (2.7), 355.0 (2.9), 281.1 (10.2), 207.1 (11.6), 140.1 (33.4), 60.3 (100.0). HRFAB (m/z): [M]$^+$ $\text{C}_{30}\text{H}_{57}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算値, 528.4058; 實測値, 528.4052.</p>
<p>化合物 29 (產率 : 46%)</p>	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3, δ): 4.09–4.05 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.62–3.58 (m, 4H), 3.50–3.47 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.67–2.59 (m, 4H), 2.51–2.48 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.38 (m, 4H), 1.97–1.91 (m, 2H), 1.63–1.57 (m, 2H), 1.30–1.25 (b, 34H), 0.89–0.86 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.2, 169.6, 64.8, 55.1, 53.3, 52.7, 45.2, 42.9, 41.7, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.3, 29.2, 29.2, 28.6, 27.8, 25.9, 22.6, 14.1; IR (KBr): 2919, 2850, 1732, 1642, 1465, 1367, 1226, 1171 cm^{-1}. MS m/z: 543.4 (M^+, 10.8), 507.4 (6.2), 355.0 (3.5), 281.1 (14.7), 221.1 (16.3) 207.1 (17.9), 140.1 (40.3), 60.4 (100.0). HRFAB (m/z): [M]$^+$ $\text{C}_{31}\text{H}_{59}\text{ClN}_2\text{O}_3$ 計算値, 542.4214; 實測値, 542.4220.</p>

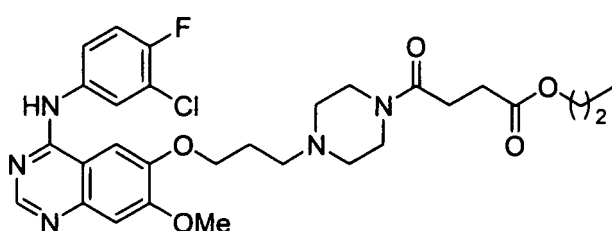
(2).類似物 8 至 26 之合成：(步驟 11)

將化合物 4 (1 eq)溶於 1 mL 二甲基甲醯胺中，分別加入化合物 11 至 29 (1 eq)及碳酸鉀(2 eq)，並在 80 °C 下加熱過夜，將該反應混合物冷卻至室溫後再加水使其淬滅，以乙烯乙酯萃取該所得溶液。將所合併之萃取物以水及鹽水(brine)清洗後，以 MgSO₄ 乾燥，蒸發以獲得粗殘留物，將該殘留物以管柱層析法純化後得到類似物 8 至 26 (其物化數據詳見於表 2)。

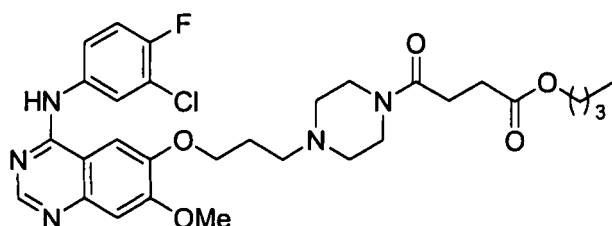
類似物 8：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸乙酯



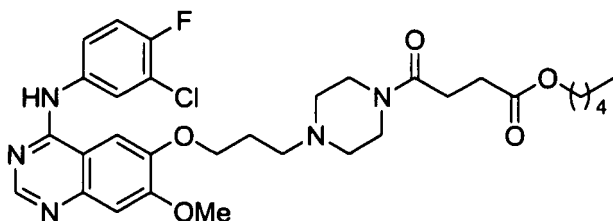
類似物 9：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸丙酯



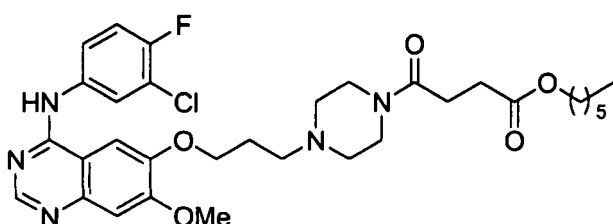
類似物 10：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸丁酯



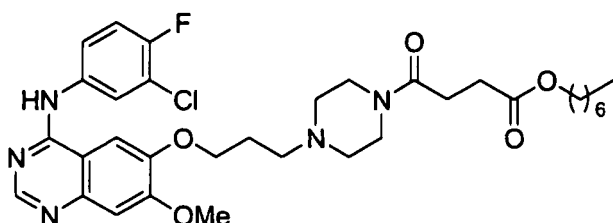
類似物 11：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸戊酯



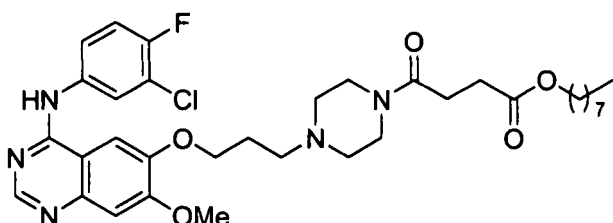
類似物 12：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸己酯



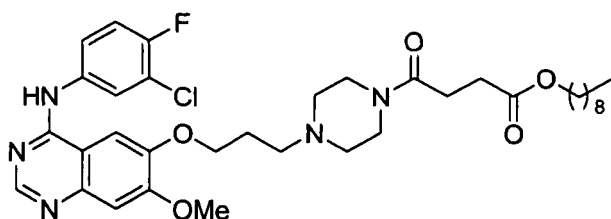
類似物 13：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸庚酯



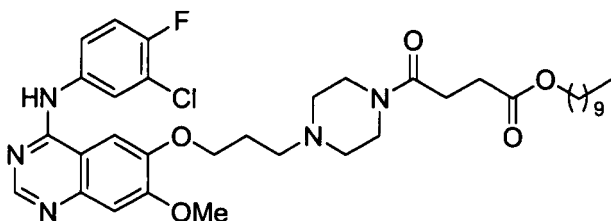
類似物 14：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸辛酯



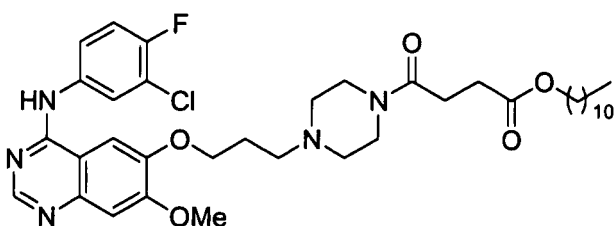
類似物 15：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸壬酯



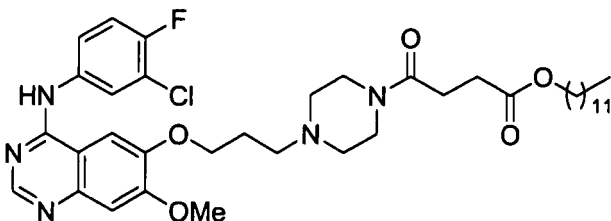
類似物 16：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸癸酯



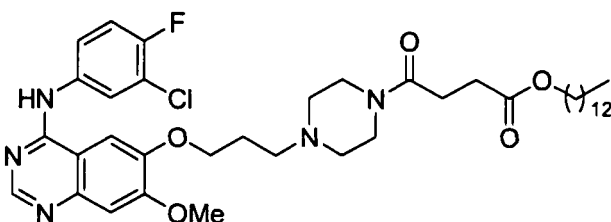
類似物 17：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十一酯



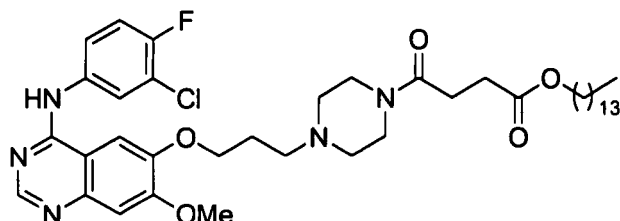
類似物 18：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十二酯



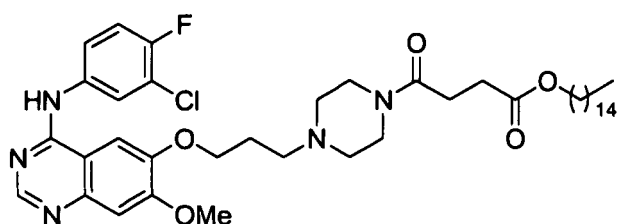
類似物 19：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十三酯



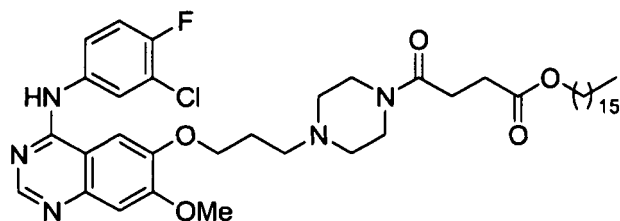
類似物 20：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十四酯



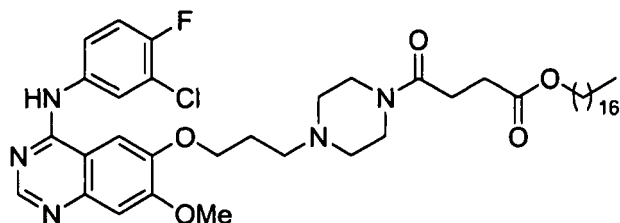
類似物 21：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十五酯



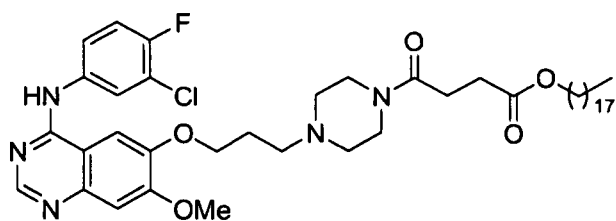
類似物 22：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十六酯



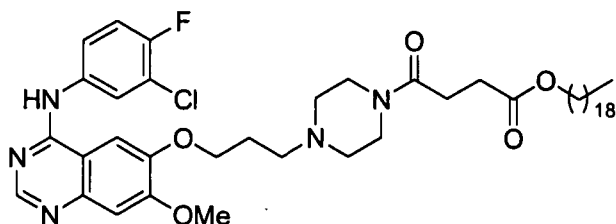
類似物 23：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十七酯



類似物 24：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十八酯



類似物 25：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十九酯



類似物 26：4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基)-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸二十酯

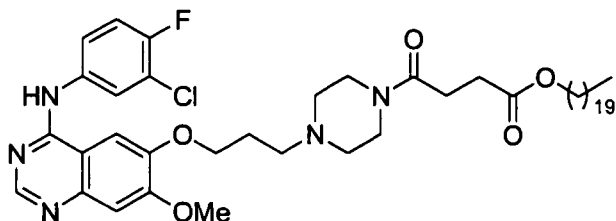


表 2、類似物 8 至 26 之物化數據

編號	物化數據
類似物 8 (產率： 40%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.65 (s, 1H), 7.86–7.84 (m, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.18–7.14 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 4.19–4.10 (m, 4H), 3.99 (s, 3H), 3.61 (b, 2H), 3.49–3.47 (m, 2H), 2.66–2.57 (m, 6H), 2.49–2.47 (m, 2H), 2.44–2.42 (m, 2H), 2.12–2.08 (m, 2H), 1.26–1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.3, 169.7, 156.4, 155.9, 155.1, 153.4, 148.9, 147.3, 135.5, 124.2, 121.8, 121.8, 116.6, 116.4, 109.0, 107.6, 101.2, 67.4, 60.6, 56.1, 54.6, 53.1, 52.7, 45.1, 41.6, 29.2, 27.8, 26.2, 14.1; IR (KBr): 3346, 2933, 2824, 1731, 1625, 1579, 1501, 1472, 1429, 1218, 1176, 1005, 859 cm^{-1} ; MS m/z : 574.2 (M^+ , 14.8), 154.1 (61.3), 136.1 (63.7), 55.1 (100); HRFAB (m/z): [M] $^+$ $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算值, 573.2154; 實測值 573.2166.
類似物 9 (產率： 37%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.62 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.79–7.7 (m, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.11–7.07 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.07–4.04 (t, $J = 6.4$ Hz 2H), 4.00–3.96 (t, $J = 6.7$ Hz 2H), 3.90 (s, 3H), 3.53 (b, 2H), 3.42–3.39 (m, 2H), 2.62–2.58 (m, 4H), 2.50–2.47 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.41–2.39 (m, 2H), 2.34–2.31 (m, 2H), 2.02–1.99 ($J = 6.7$ Hz, 2H), 1.61–1.56

	<p>(m, 2H), 0.89–0.86 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.3, 169.7, 156.5, 155.8, 155.1, 153.3, 148.9, 147.2, 135.6, 124.2, 121.9, 121.8, 120.8, 120.7, 116.5, 116.3, 109.1, 107.5, 101.3, 67.3, 66.3, 56.1, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.6, 29.1, 27.8, 26.3, 21.9, 14.1; IR (KBr): 3326, 2964, 2820, 1731, 1625, 1579, 1501, 1471, 1428, 1217, 1174, 1004, 859 cm^{-1}; MS m/z: 588.3 (M^+, 13.94), 413.3 (24.7), 143.2 (48.6), 55.1 (100); HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算值, 587.2311; 實測值 587.2300.</p>
<p>類似物 10 (產率 : 42%)</p>	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3, δ): 8.63 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.79–7.7 (m, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.14–7.10 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.13–4.09 (t, $J = 6.4$ Hz 2H), 4.06–4.03 (t, $J = 6.7$ Hz 2H), 3.94 (s, 3H), 3.57 (b, 2H), 3.46–3.43 (m, 2H), 2.63–2.59 (m, 4H), 2.55–2.52 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.46–2.43 (m, 2H), 2.39–2.37 (m, 2H), 2.07–2.03 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.59–1.55 (m, 2H), 1.36–1.30 (m, 2H), 0.91–0.87 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.3, 169.7, 156.3, 155.9, 155.2, 153.5, 153.3, 149.0, 147.3, 135.4, 124.2, 121.8, 121.7, 121.0, 120.8, 116.6, 116.4, 109.0, 107.6, 101.0, 67.4, 64.6, 56.1, 54.7, 53.1, 52.7, 45.1, 41.6, 30.5, 29.2, 27.8, 26.3, 19.1, 13.7; IR (KBr):</p>

	3327, 2956, 2820, 1731, 1624, 1579, 1501, 1471, 14289, 1218, 1173, 1005, 859 cm^{-1} ; MS m/z : 602.3 (M^+ , 22.2), 154.1 (21.3), 136.1 (29.7), 55.0 (100); HRFAB (m/z): $[M]^+C_{30}H_{37}ClFN_5O_5$ 計算值, 601.2467; 實測值 601.2456.
類似物 11 (產率 : 47%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.62 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.79–7.7 (m, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.11–7.07 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.07–4.04 (t, $J = 6.4$ Hz 2H), 4.02–3.99 (t, $J = 6.7$ Hz 2H), 3.90 (s, 3H), 3.53 (b, 2H), 3.41–3.39 (m, 2H), 2.61–2.57 (m, 4H), 2.49–2.46 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.40–2.38 (m, 2H), 2.33–2.31 (m, 2H), 2.02–2.00 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.57–1.54 (m, 2H), 1.27–1.23 (m, 4H), 0.87–0.83 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.3, 169.7, 156.5, 155.8, 155.1, 153.3, 148.9, 147.2, 135.6, 124.2, 121.9, 121.8, 120.8, 120.7, 116.5, 116.3, 109.1, 107.5, 101.3, 67.3, 66.3, 56.1, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.6, 29.1, 27.8, 26.3, 21.9, 14.1; IR (KBr): 3326, 2959, 2820, 1731, 1625, 1579, 1500, 1471, 1428, 1217, 1174, 1005, 858 cm^{-1} ; MS m/z : 616.3 (M^+ , 58.9), 413.3 (31.2), 269.3 (30.7), 154.1 (54.9), 143.2 (64.3), 136.1 (48.7), 57.0 (100); HRFAB (m/z): $[M]^+C_{31}H_{39}ClFN_5O_5$ 計算值, 615.2624; 實測值 615.2613.
類似物 12	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.63 (s, 1H), 8.04 (s, 1H),

(產率 : 42%)	<p>7.83 (s, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.14–7.09 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.12–4.09 (t, $J = 6.4$ Hz 2H), 4.04–4.01 (t, $J = 6.7$ Hz 2H), 3.93 (s, 3H), 3.57 (b, 2H), 3.46–3.43 (m, 2H), 2.63–2.59 (m, 4H), 2.55–2.51 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.45–2.43 (m, 2H), 2.39–2.36 (m, 2H), 2.06–2.03 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.59–1.55 (m, 2H), 1.28–1.24 (m, 8H), 0.87–0.84 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.3, 169.7, 156.3, 155.9, 155.1, 153.4, 153.4, 149.0, 147.4, 135.5, 124.2, 121.8, 121.7, 121.0, 120.8, 116.6, 116.4, 109.0, 107.7, 101.1, 67.4, 64.9, 56.1, 54.7, 53.1, 52.7, 45.1, 41.6, 31.4, 29.2, 28.5, 27.8, 26.2, 25.5, 22.5, 13.7; IR (KBr): 3333, 2930, 2858, 1731, 1625, 1579, 1500, 1476, 1428, 1217, 1173, 1005, 859 cm^{-1}; MS m/z: 630.3 (M^+, 100), 413.3 (36.0), 154.1 (91.2), 136.1 (96.8), 55.1 (91.8); HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算値, 629.2780; 實測値 629.2783.</p>
類似物 13 (產率 : 47%)	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3, δ): 8.62 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.79–7.7 (m, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.11–7.07 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.07–4.04 (t, $J = 6.4$ Hz 2H), 4.02–3.99 (t, $J = 6.7$ Hz 2H), 3.90 (s, 3H), 3.53 (b, 2H), 3.41–3.39 (m, 2H), 2.61–2.57 (m, 4H), 2.49–2.46 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.40–2.38 (m, 2H), 2.33–2.31 (m, 2H), 2.02–2.00 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H),</p>

	<p>1.57–1.54 (m, 2H), 1.27–1.23 (m, 8H), 0.87–0.83 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.3, 169.7, 156.5, 155.8, 155.1, 153.3, 148.9, 147.2, 135.6, 124.2, 121.9, 121.8, 120.8, 120.7, 116.5, 116.3, 109.1, 107.5, 101.3, 67.3, 66.3, 56.1, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.6, 29.1, 27.8, 26.3, 21.9, 14.1; IR (KBr): 3330, 2929, 2857, 1731, 1624, 1578, 1500, 1471, 1428, 1217, 1172, 1005, 859 cm^{-1}; MS m/z: 644.3 (M^+, 4.9), 154.1 (4.6), 136.1 (5.3), 55.1 (100); HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算値, 643.2937; 實測値 643.2957.</p>
<p>類似物 14 (產率 : 41%)</p>	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3, δ): 8.61 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.11–7.07 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.08–4.05 (t, $J = 6.4$ Hz 2H), 4.03–3.99 (t, $J = 6.7$ Hz 2H), 3.91 (s, 3H), 3.54 (b, 2H), 3.43–3.41 (m, 2H), 2.62–2.58 (m, 4H), 2.51–2.48 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.41–2.40 (m, 2H), 2.35–2.33 (m, 2H), 2.03–2.00 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.56–1.54 (m, 2H), 1.26–1.23 (m, 10H), 0.87–0.83 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.3, 169.7, 156.4, 155.8, 155.1, 153.4, 153.3, 148.9, 147.2, 135.5, 124.2, 121.9, 121.8, 120.9, 120.7, 116.5, 116.3, 109.1, 107.4, 101.3, 67.3, 64.9, 56.1, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.6, 31.7, 29.1, 29.1, 28.5, 27.8, 26.2, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 3328,</p>

	2928, 2856, 1731, 1625, 1578, 1500, 1471, 1428, 1217, 1172, 1005, 859 cm^{-1} ; MS m/z : 658.3 (M^+ , 5.50), 154.1 (4.7), 136.1 (8.4), 55.1 (100); HRFAB (m/z): $[M]^+C_{34}H_{45}ClFN_5O_5$ 計算值, 657.3093;實測值 657.3099.
類似物 15 (產率 : 36%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.63 (s, 1H) , 8.09 (s, 1H), 7.82–7.79 (m, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.13–7.09 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.10–4.07 (t, $J = 6.4$ Hz 2H), 4.04–4.00 (t, $J = 6.8$ Hz 2H), 3.93 (s, 3H), 3.55 (b, 2H), 3.43–3.42 (m, 2H), 2.62–2.58 (m, 4H), 2.53–2.49 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.42 (b, 2H), 2.36–2.35 (m, 2H), 2.05–2.01 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.58–1.55 (m, 2H), 1.23 (b, 12H), 0.87–0.84 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.4, 169.7, 156.3, 155.9, 155.1, 153.4, 149.0, 147.4, 135.5, 124.2, 121.8, 121.8, 120.9, 120.7, 116.6, 116.4, 109.0, 107.6, 101.1, 67.3, 64.9, 56.1, 54.6, 53.1, 52.7, 45.1, 41.6, 31.8, 29.4, 29.2, 29.2, 28.5, 27.8, 26.3, 25.8, 22.6, 14.1; IR (KBr): 3330, 2926, 2855, 1731, 1624, 1578, 1500, 1471, 1428, 1217, 1176, 1005, 858 cm^{-1} ; MS m/z : 672.3 (M^+ , 100), 371.3 (37.8), 325.3 (48.7), 154.1 (23.3), 136.1 (25.0), 55.1 (60.1); HRFAB (m/z): $[M]^+C_{35}H_{47}ClFN_5O_5$ 計算值 , 671.32504;實測值 671.3248.
類似物 16	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.63 (s, 1H) , 8.14 (s, 1H),

(產率 : 37%)	7.82–7.80 (m, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.12–7.08 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.10–4.07 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.03–4.00 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.55 (b, 2H), 3.43–3.41 (m, 2H), 2.62–2.58 (m, 4H), 2.52–2.49 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.42 (b, 2H), 2.36–2.34 (m, 2H), 2.04–2.01 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.58–1.55 (m, 2H), 1.29–1.23 (b, 14H), 0.87–0.84 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.3, 169.7, 156.4, 155.8, 155.1, 153.4, 149.0, 147.4, 135.5, 135.5, 124.2, 121.8, 121.8, 120.9, 120.7, 116.6, 116.3, 109.1, 107.6, 101.2, 67.3, 64.9, 56.1, 54.6, 53.1, 52.7, 45.1, 41.6, 31.8, 29.5, 29.2, 29.2, 28.5, 27.8, 26.3, 25.8, 22.6, 14.1; IR (KBr): 3330, 2926, 2854, 1732, 1624, 1578, 1500, 1471, 1428, 1217, 1171, 1005, 858 cm^{-1} ; MS m/z : 686.3 (M^+ , 6.41), 154.1 (12.3), 136.1 (22.7), 55.0 (100); HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+\text{C}_{36}\text{H}_{49}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算値, 685.3406; 實測値 685.3406.
類似物 17 (產率 : 44%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.65 (s, 1H), 7.86–7.84 (m, 1H), 7.54–7.52 (m, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.17–7.13 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 4.16–4.13 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.07–4.04 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.60 (b, 2H), 3.48 (b, 2H), 2.65–2.60 (m, 4H), 2.58–2.55 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.47 (b, 2H), 2.43–2.42 (m, 2H), 2.10–2.07 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.62–1.58 (m, 2H), 1.25 (b,

	<p>16H), 0.89–0.85 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.3, 169.7, 156.4, 155.8, 155.1, 153.3, 149.0, 147.3, 135.5, 124.1, 121.8, 121.7, 120.9, 120.7, 116.6, 116.3, 109.1, 107.6, 101.2, 67.3, 64.9, 56.1, 54.6, 53.1, 52.7, 45.1, 41.6, 31.8, 29.5, 29.5, 29.3, 29.2, 28.5, 27.8, 26.3, 25.8, 22.6, 14.1; IR (KBr): 3331, 2925, 2854, 1732, 1624, 1578, 1500, 1470, 1428, 1217, 1171, 1005, 858 cm^{-1}. MS m/z: 700.3 (M^+, 11.0), 87.2 (20.9), 52.8 (100). HRFAB (m/z): $[\text{M}-\text{H}]^+$ $\text{C}_{37}\text{H}_{51}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算値, 699.3563; 實測値 699.3559.</p>
<p>類似物 18 (產率 : 39%)</p>	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3, δ): 8.65 (s, 1H) , 7.86–7.84 (m, 1H), 7.54–7.51 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.17–7.13 (m, 2H), 4.18–4.15 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.07–4.03 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.61 (b, 2H), 3.48 (b, 2H), 2.65–2.56 (m, 6H), 2.48 (b, 2H), 2.44–2.42 (m, 2H), 2.11–2.08 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.61–1.58 (m, 2H), 1.32–1.25 (b, 18H), 0.89–0.85 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.3, 169.8, 156.3, 155.2, 153.5, 153.4, 149.0, 147.4, 135.5, 124.2, 121.8, 121.7, 121.0, 120.8, 116.6, 116.4, 109.0, 107.8, 101.2, 67.5, 64.9, 56.1, 54.7, 53.2, 52.7, 45.1, 41.6, 31.9, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 28.6, 27.8, 26.2, 25.9, 22.7, 14.1. IR (KBr): 3672, 2925, 2854, 1732, 1625, 1578, 1500, 1470, 1429,</p>

	1217 cm^{-1} . MS m/z : 714.3 (M^+ , 3.4), 551.4 (1.5), 71.7 (49.1), 52.8 (100). HRFAB (m/z): $[M]^+$ $\text{C}_{38}\text{H}_{53}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算值, 713.3719; 實測值 713.3717.
類似物 19 (產率 : 40%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.63 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.81–7.80 (m, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.14–7.09 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.11–4.08 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.04–4.01 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.56 (b, 2H), 3.43 (b, 2H), 2.63–2.58 (m, 4H), 2.53–2.50 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.42 (b, 2H), 2.36 (m, 2H), 2.05–2.02 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.59–1.55 (m, 2H), 1.23 (b, 20H), 0.88–0.84 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ): 173.3, 169.7, 156.5, 155.7, 155.1, 153.3, 148.9, 147.3, 135.7, 124.2, 121.9, 121.8, 120.8, 120.6, 116.5, 116.2, 109.2, 107.4, 101.5, 67.3, 64.9, 56.0, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.6, 31.8, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 28.5, 27.8, 26.3, 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 3334, 2925, 2854, 1733, 1624, 1578, 1500, 1470, 1428, 1217, 1172, 1005, 858 cm^{-1} . MS m/z : 728.3 (M^+ , 15.2), 528.1 (1.2), 87.1 (19.2), 53.7 (100). HRFAB (m/z): $[M]^+$ $\text{C}_{39}\text{H}_{55}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算值, 727.3876; 實測值 727.3873.
類似物 20 (產率 : 41%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.64 (s, 1H), 7.83–7.81 (m, 2H), 7.51 (m, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.15–7.10 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.13–4.10 (t, $J = 6.4$ Hz,

	<p>2H), 4.05–4.02 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.57 (b, 2H), 3.44 (b, 2H), 2.63–2.58 (m, 4H), 2.55–2.52 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.44 (b, 2H), 2.38 (m, 2H), 2.07–2.04 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.60–1.56 (m, 2H), 1.28–1.24 (b, 22H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.4, 169.8, 156.5, 155.8, 155.2, 153.4, 149.0, 147.3, 135.7, 124.2, 121.9, 121.8, 120.9, 120.7, 116.6, 116.3, 109.2, 107.5, 101.5, 76.7, 67.4, 65.0, 56.1, 54.7, 53.2, 52.7, 45.1, 41.6, 32.0, 29.6, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 29.2, 28.6, 27.8, 25.9, 22.7, 14.1; IR (KBr): 3332, 2925, 2854, 1732, 1626, 1579, 1501, 1471, 1429, 1218 cm^{-1}; MS m/z: 742.3 (M^+, 57.8), 423.4 (31.2), 395.3 (29.4), 320.1 (28.6), 209.2 (11.7), 140.1 (12.9), 109.0 (13.4), 58.7 (59.8), 52.8 (100); HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{40}\text{H}_{57}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算値, 741.4032; 實測値 741.4046.</p>
<p>類似物 21 (產率 : 46%)</p>	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3, δ): 8.65 (s, 1H) , 7.85–7.83 (m, 1H), 7.53–7.51 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.17–7.13 (m, 2H), 4.18–4.14 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.07–4.03 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.60 (b, 2H), 3.47–3.46 (b, 2H), 2.64–2.55 (m, 6H), 2.47 (b, 2H), 2.43–2.40 (m, 2H), 2.10–2.07 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.61–1.58 (m, 2H), 1.24 (b, 24H), 0.89–0.85 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.3, 169.7, 156.5, 155.7, 155.1, 153.3,</p>

	<p>148.9, 147.2, 135.7, 124.1, 121.9, 121.8, 120.8, 120.6, 116.5, 116.2, 109.1, 107.4, 101.6, 76.7, 67.3, 64.9, 64.8, 56.0, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.6, 31.8, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.2, 28.5, 27.8, 26.2, 25.8, 22.6, 14.1; IR (KBr): 3337, 2924, 2853, 1733, 1625, 1578, 1500, 1469, 1429, 1217, 1172, 1005, 859 cm^{-1}. MS m/z: 756.3 (M^+, 38.3), 437.3 (23.7), 409.3 (20.6), 320.1 (21.7), 109.0 (13.6), 58.7 (48.8), 53.7 (100). HRFAB (m/z): [M]⁺ $C_{41}H_{59}ClFN_5O_5$ 計算値, 755.4189; 實測値 755.4190.</p>
<p>類似物 22 (產率 : 39%)</p>	<p>¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ): 8.65 (s, 1H) , 7.85–7.83 (m, 1H), 7.54–7.52 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.17–7.13 (m, 2H), 4.17–4.14 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.06–4.03 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.60 (b, 2H), 3.47 (b, 2H), 2.64–2.55 (m, 6H), 2.47 (b, 2H), 2.41 (b, 2H), 2.10–2.07 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.61–1.58 (m, 2H), 1.24 (b, 26H), 0.89–0.85 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ¹³C NMR (100.6 MHz, $CDCl_3$, δ): 173.3, 169.8, 156.5, 155.7, 155.1, 153.3, 153.2, 148.9, 147.2, 135.7, 124.1, 121.8, 121.8, 120.8, 120.6, 116.4, 116.2, 109.1, 107.4, 101.7, 67.3, 64.9, 56.0, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.6, 31.8, 29.6, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 28.5, 27.8, 26.2, 25.8, 22.6, 14.0 IR (KBr): 3334, 2924, 2853, 1732, 1625, 1579, 1501, 1470, 1428, 1218, 1172, 1005, 859 cm^{-1}. MS m/z: 770.3 (M^+,</p>

	22.7), 71.7 (29.7), 53.7 (100). HRFAB (m/z): [M] ⁺ C ₄₂ H ₆₁ ClFN ₅ O ₅ 計算値,769.4345; 實測値 769.4327.
類似物 23 (產率 : 37%)	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 8.63 (s, 1H) , 8.13 (s, 1H), 7.81–7.79 (m, 1H), 7.53–7.51 (m, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.12–7.08 (t, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H), 4.08 (b, 2H), 4.03–4.00 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.55 (b, 2H), 3.42 (b, 2H), 2.62–2.58 (m, 4H), 2.52–2.49(t, <i>J</i> = 6.9 Hz, 2H), 2.42 (b, 2H), 2.35 (m, 2H), 2.04–2.01 (t, <i>J</i> = 6.7 Hz, 2H), 1.58–1.55 (m, 2H), 1.28–1.23 (b, 28H), 0.88–0.84 (t, <i>J</i> = 6.7 Hz, 3H); ¹³ C NMR (100.6 MHz, CDCl ₃ , δ): 173.3, 173.1, 169.7, 156.4, 155.8, 155.2, 153.3, 149.0, 147.3, 135.6, 124.1, 121.8, 121.7, 120.9, 120.7, 116.5, 116.3, 109.1, 107.6, 101.4, 67.4, 64.9, 56.0, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.7, 31.8, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 28.5, 27.8, 26.3 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 3334, 2924, 2853, 1732, 1625, 1578 1501, 1470, 1429 1218, 1172, 1005, 859 cm ⁻¹ . MS m/z: 784.3 (M ⁺ , 83.0), 465.3 (50.3), 437.4 (40.2), 320.1 (18.7), 58.7 (70.2), 53.7 (100). HRFAB (m/z): [M] ⁺ C ₄₃ H ₆₃ ClFN ₅ O ₅ 計算値,783.4502; 實測値 783.4487.
類似物 24 (產率 : 34%)	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 8.62 (s, 1H) , 8.14 (b, 1H), 7.82–7.81 (m, 1H), 7.54–7.52 (m, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.13–7.08 (t, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H), 4.09–4.08 (b, 2H),

	<p>4.04–4.01 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.57 (b, 2H), 3.44 (b, 2H), 2.62–2.58 (m, 4H), 2.54–2.51 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.44 (b, 2H), 2.37 (b, 2H), 2.05–2.02 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.57–1.55 (m, 2H), 1.23 (b, 30H), 0.87–0.84 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ): 173.3, 169.8, 156.4, 155.8, 155.1, 153.3, 153.2, 148.9, 147.1, 135.7, 124.1, 121.8, 121.7, 120.8, 120.6, 116.5, 116.3, 109.1, 107.4, 101.6, 76.7, 67.4, 64.9, 56.0, 54.6, 53.1, 52.6, 45.0, 41.5, 31.8, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 28.5, 27.7, 26.2 25.8, 22.6, 14.0. IR (KBr): 3319, 2924, 2853, 1733, 1626, 1579, 1501, 1471, 1429 1218 cm^{-1}. MS m/z: 798.3 (M^+, 58.2), 479.4 (22.9), 451.4 (22.4), 320.1 (20.4), 124.4 (15.8), 53.7 (100). HRFAB (m/z): $[\text{M}]^+$ $\text{C}_{44}\text{H}_{65}\text{ClFN}_5\text{O}_5$ 計算値,797.4658; 實測値 797.4664.</p>
<p>類似物 25 (產率 : 37%)</p>	<p>^1H NMR (400 MHz, CDCl_3, δ): 8.64 (s, 1H) , 7.83–7.80 (m, 2H), 7.53–7.50 (m, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.14–7.10 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.11–4.10 (b, 2H), 4.05–4.01 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.57 (b, 2H), 3.44 (b, 2H), 2.63–2.59 (m, 4H), 2.54–2.51(t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.43 (b, 2H), 2.37 (b, 2H), 2.06–2.03 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.59–1.56 (m, 2H), 1.26–1.24 (b, 32H), 0.88–0.85 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3, δ):173.3, 169.8, 156.5, 155.7, 155.1, 153.3, 148.9, 147.2, 135.7, 124.1, 121.8, 121.8,</p>

	120.7, 120.5, 116.4, 116.2, 109.2, 107.4, 101.7, 67.3, 64.9, 56.0, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.6, 31.8, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 28.5, 27.7, 26.3 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 3335 2924, 2853, 1733 1625, 1578 1501, 1470, 1429, 1217, 1172, 1005, 858 cm^{-1} . MS m/z : 812.3 (M^+ , 52.1), 493.4 (38.3), 465.3 (28.6), 320.1 (30.6), 60.3 (50.2), 53.7 (100). HRFAB (m/z): [M] $^+$ $C_{45}H_{67}ClFN_5O_5$ 計算值,811.4815; 實測值 811.4828.
類似物 26 (產率 : 38%)	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8.63 (s, 1H) , 7.93 (s, 1H), 7.83–7.82 (m, 1H), 7.55–7.52 (m, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.14–7.10 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.13–4.10 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.05–4.02 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.57 (b, 2H), 3.45 (b, 2H), 2.63–2.59 (m, 4H), 2.55–2.51 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.44 (b, 2H), 2.37 (m, 2H), 2.06–2.03 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.59–1.54 (m, 2H), 1.28–1.23 (b, 34H), 0.88–0.84 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , δ):173.2, 169.7, 156.5, 155.7, 155.1, 153.2, 148.9, 147.2, 135.8, 124.1, 121.8, 121.8, 120.7, 120.5, 116.4, 116.2, 109.2, 107.3, 101.8, 67.3, 64.9, 56.0, 54.6, 53.1, 52.6, 45.1, 41.6, 31.8, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 28.5, 27.7, 26.3 25.8, 22.6, 14.0; IR (KBr): 3329, 2918, 2850, 1732, 1625, 1579, 1501, 1470, 1429, 1217, 1174, 1005, 858 cm^{-1} ; MS m/z : 826.3 (M^+ , 37.6), 507.4 (28.2),

479.4 (20.6), 150.1 (13.8), 109.0 (14.1), 58.7 (69.8), 52.8 (100); HRFAB (m/z): [M] ⁺ C ₄₆ H ₆₉ ClFN ₅ O ₅ 計算值,825.4971; 實測值 825.4968.

實施例 2 艾瑞莎類似物對於癌細胞之毒殺效果

首先，以本發明實施例 1 所合成之艾瑞莎類似物(簡稱類似物)處理 RKO 人類腸癌細胞株(以下簡稱 RKO 細胞株)、BFTC905 人類膀胱癌細胞株(以下簡稱 BFTC905 細胞株)及之 A549 人類肺腺癌細胞株(以下簡稱 A549 細胞株)，以評估本發明所合成之艾瑞莎類似物的癌細胞毒殺作用。

將上述細胞株以 1×10^4 細胞/孔的密度接種於 96-孔盤中培養 16 至 20 小時。接著，於 RPMI-1640 培養基中，以分別含有或不含有艾瑞莎或艾瑞莎類似物(包括本發明之類似物 1 至 26)處理該細胞 24 小時。於藥物處理後，以磷酸鹽緩衝液(phosphate-buffered saline，以下簡稱 PBS)洗滌細胞，並以新鮮之完全培養基 RPMI-1640 培養 2 天。之後，更換培養基且將該細胞與 0.5 mg/mL 的 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑鎧溴鹽(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide，以下簡稱 MTT) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) 於完全培養基中培養 4 小時。存活的細胞將 MTT 轉化為甲簪(formazan)，其溶解於二甲基亞砷(以下簡稱 DMSO)時產生藍紫色。使用讀盤儀(plate reader) (VERSAmax, Molecular Dynamics Sunnyvale, CA)於 565 nm 下測定甲簪強度。細胞

存活率之相對百分比係藉由將各實驗中該經處理細胞之吸收值除以控制組之吸收值而得出。

如第 1 圖(A)及(B)所示，在細胞存活率的結果中顯示類似物 1 較艾瑞莎對於 RKO 細胞株及 BFTC905 細胞株具有顯著的毒殺效果；然而，相較於艾瑞莎及類似物 1，類似物 2 對於 RKO 細胞株則無毒殺效果，而對於 BFTC905 細胞株則僅有小量毒殺作用。因此，由上述之結果確認類似物之哌嗪基之末端應該連接酯基，以下以類似物 1 之結構為基礎進一步設計合成類似物 3 至 7 及 26 至 44。

如表 3 所示，類似物 3 至 7 的細胞存活率分析結果顯示，增加類似物 1 中二個羧酸基間的碳鏈後(類似物 3 至 7 分別為增加 1 至 5 個碳鏈)，相較於艾瑞莎，對於 A549 細胞株並不具有顯著的毒殺效果。

如表 3 所示，類似物 8 至 26 的細胞存活率分析結果顯示，增加類似物 1 之哌嗪基之末端碳鏈後(類似物 8 至 26 分別為增加 1 至 19 個碳鏈)，相較於艾瑞莎，對於 A549 細胞株具有相似或顯著的毒殺效果；其中又以類似物 18 之毒殺效果最佳，當以濃度為 $40 \mu\text{M}$ 之類似物 18 處理 A549 細胞株時，其毒殺效果增加 15 至 20 倍。因此確認艾瑞莎類似物 18，4-(4-(3-(4-(3-氯-4-氟苯基胺基))-7-甲氧基喹啉-6-基氧基)丙基)哌嗪-1-基)-4-氧代丁酸十二酯，為一種新穎的抗肺癌化合物，以下稱為類似物 18，下述實施例並針對類似物 18 的抑制癌細胞機制做進一步之測試。

表 3、在不同濃度下艾瑞莎及其類似物之細胞存活率結果

類似物 編號	0 (μM)	10 (μM)	20 (μM)	40 (μM)	60 (μM)	80 (μM)
艾瑞莎	100%	86.7%±4.6	82.1%±5.6	74.3%±4.0	64.6%±3.0	60.8%±8.5
1	100%	89.1%±4.5	85.6%±2.9	75.9%±5.4	74.4%±3.4	75.9%±5.3
3	100%	99.9%±4.8	94.8%±2.8	91.9%±7.6	91.3%±7.9	89.8%±7.5
4	100%	94.6%±3.5	90.4%±7.2	84.3%±3.7	83.3%±7.0	79.4%±5.9
5	100%	95.2%±3.8	91.7%±1.5	90.1%±3.4	83.4%±5.6	82.4%±3.5
6	100%	92.0%±5.1	94.3%±1.8	90.7%±5.5	88.5%±6.3	88.9%±4.4
7	100%	90.3%±5.5	89.7%±4.2	85.8%±8.7	84.8%±8.7	80.9%±8.5
8	100%	77.6%±2.0	70.0%±1.6	67.4%±2.0	61.6%±4.4	35.6%±10.4
9	100%	95.1%±2.5	87.0%±1.5	80.9%±1.5	70.4%±4.4	23.4%±4.3
10	100%	94.4%±1.6	86.0%±0.6	79.1%±3.0	64.1%±1.0	36.9%±2.4
11	100%	87.1%±3.5	81.2%±3.7	63.6%±2.7	30.0%±3.7	18.2%±1.7
12	100%	89.3%±0.5	85.1%±2.2	74.2%±3.2	63.6%±2.6	42.9%±3.4
13	100%	89.1%±0.7	79.9%±0.4	59.1%±5.1	35.7%±1.1	27.2%±1.1
14	100%	87.3%±1.3	80.0%±1.1	48.7%±7.9	26.0%±2.7	21.7%±2.1
15	100%	90.0%±5.4	79.7%±1.1	17.9%±1.1	10.3%±1.8	7.8%±2.1
16	100%	95.7%±2.1	88.2%±1.8	15.5%±5.9	3.9%±0.8	2.0%±0.3
17	100%	93.4%±5.5	85.2%±4.0	12.0%±4.6	3.9%±2.0	2.8%±0.5
18	100%	95.5%±2.3	86.8%±1.5	5.7%±2.0	2.0%±0.6	2.3%±0.7
19	100%	93.7%±3.1	93.8%±5.6	71.1%±3.8	20.6%±5.5	6.8%±2.9
20	100%	100.0%±1.5	92.3%±1.6	88.6%±0.9	84.9%±5.1	77.2%±1.1

21	100%	92.0%±1.4	91.2%±1.5	85.5%±0.8	81.6%±1.4	81.1%±2.4
22	100%	97.7%±1.1	91.7%±2.6	82.6%±3.7	80.0%±2.2	74.3%±4.4
23	100%	95.7%±2.8	97.2%±2.0	85.2%±3.1	84.1%±5.3	83.2%±4.3
24	100%	94.8%±2.6	90.5%±2.9	91.0%±0.7	87.2%±0.9	86.7%±1.1
25	100%	94.5%±2.0	94.8%±3.7	92.3%±0.6	89.3%±1.2	88.4%±0.7
26	100%	94.0%±2.0	90.8%±0.8	87.1%±1.6	86.9%±0.4	85.2%±0.6

實施例 3 類似物 18 對於不同肺癌細胞株均具有毒殺效果

將 A549 人類肺腺癌細胞株(以下稱為 A549 細胞株)、H1299 人類非小細胞肺癌細胞株(以下稱為 H1299 細胞株)、CL3 人類肺癌細胞株(以下稱為 CL3 細胞株)及 HFL1 人類肺纖維母細胞株 HFL1(做為控制組)以 1×10^4 細胞/孔的密度接種於 96-孔盤維持 16 至 20 小時。接著分別以 0 至 $40 \mu\text{M}$ 之類似物 18 或艾瑞莎在 37°C 下於 RPMI-1640 培養基處理細胞 24 小時。於藥物處理後，以 PBS 洗滌細胞，並以完全培養基 RPMI-1640 培養 2 天。之後，更換培養基且將細胞與 0.5 mg/mL 的 MTT (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) 於完全培養基中培養 4 小時。使用讀盤儀 (VERSAmax, Molecular Dynamics Sunnyvale, CA) 於 565 nm 下測定甲簪強度。細胞存活率之相對百分比係藉由將各實驗中該經處理者之吸收值除以控制組之吸收值而得出。

如第 2 圖(A)、(B)及(C)所示，其結果顯示類似物 18 較艾瑞莎對於降低 A549、H1299 及 CL3 細胞株的存活率上效果更佳。然而，根據第 2 圖(D)所示，類似物 18 對於 HFL1

人類正常肺纖維母細胞株的存活率效果與艾瑞莎相似。在類似物 18 之濃度為 $40 \mu\text{M}$ 時，其對於三種肺癌細胞株(包括 A549、H1299 及 CL3)的毒殺效果大於 99%，而對於正常肺組織細胞的存活率，類似物 18 及艾瑞莎均維持大於 30% 的細胞存活率。此結果表示，類似物 18 對肺癌細胞之毒殺效果較佳，對於正常肺組織細胞不會造成嚴重的毒殺效果。

實施例 4 類似物 18 可抑制肺癌細胞中 EGFR 蛋白激酶的活性

本發明測試類似物 18 是否係藉由抑制肺癌細胞的上皮生長因子受體(epidermal growth factor receptor, 以下簡稱 EGFR)蛋白激酶(protein kinase)活性而造成其細胞存活率降低。

1. 步驟 1：檢驗不同人類肺癌細胞中 EGFR 的表現情形：

分別將 A549 細胞株、H1299 細胞株、CL3 細胞株及 A431 人類表皮樣癌(以下稱為 A431 細胞株，其過分表現 EGFR 者，做為正控制組)以 pH 7.6 的冰冷卻細胞萃取緩衝液(含有 0.5 mM DTT、0.2 mM EDTA、20 mM HEPES、2.5 mM MgCl_2 、75 mM NaCl、0.1 mM Na_3VO_4 、50 mM NaF 及 0.1 % Triton X-100)將細胞裂解，將蛋白酶抑制劑(含有 $1 \mu\text{g/ml}$ 抑肽酶(aprotinin)、 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 亮肽素(leupeptin)及 $100 \mu\text{g/ml}$ 4-(2-氨基乙基)苯磺醯氟(4-(2-aminoethyl)benzenesulfonyl fluoride))添加於該細胞懸浮液中，於 4°C 下震盪 30 分鐘後，再以 10,000 rpm 離心 10 分鐘。藉由 BCA



蛋白質試驗套組(Pierce, Rockford, IL)測定蛋白質濃度。製備該總細胞蛋白質萃取物，於 8 至 12 %十二烷基硫酸鈉-聚丙稀醯胺(sodium dodecyl sulfatepolyacrylamide，以下簡稱 SDS)膠體上分離，且將蛋白質電泳轉移至聚偏氟乙烯(polyvinylidene difluoride)膜上，於 4°C 下，使用封閉緩衝液(其係將 5%脫脂奶粉溶於含有 50 mM Tris/HCl (pH 8.0), 2 mM CaCl₂, 80 mM 氯化鈉, 0.05% Tween 20 及 0.02%疊氮化鈉的溶液中)封閉該聚偏氟乙烯膜過夜，然後，以初級抗體(primary antibody)及隨後之辣根過氧化物酶共軛(horseradish peroxidase-conjugated)之二級抗體依序雜交該膜，使用增強化學發光檢測系統(enhanced chemiluminescence detection system, PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Boston, MA)於 X 光膠片上觀察到該蛋白質條帶，使用特定抗體進行 EGFR 及磷酸化(tyr 1068)EGFR 之西方墨點法分析，為了確認蛋白質的均等充填及轉移，將肌動蛋白(actin)作為蛋白質充填控制組。最後利用膠體數位化軟體 Un-Scan-It gel(V5.1, Silk Scientific, Inc., Orem, UT)分析 X 光膠片上的蛋白質條帶強度。

如第 3 圖所示，A549 細胞株、H1299 細胞株及 CL3 細胞株均會表現 EGFR 及磷酸化(Tyr 1068)EGFR，其表示各肺癌細胞株中均具有活化態之 EGFR 蛋白激酶。

2.步驟 2：測試類似物 18 抑制 EGFR 蛋白激酶之活性：

利用 ADP-Glo™ 蛋白激酶試驗(ADP-Glo™ Kinase Assay)及 EGFR 蛋白激酶酵素系統(EGFR Kinase Enzyme System;

Promega, Madison, WI), 依照使用者手冊進行操作。該蛋白激酶反應係在 pH 7.5 之反應緩衝液 A、2 mM $MnCl_2$ 及 2mM DTT 中進行。步驟簡述如下：

(1). 在 50 μ M 之 ATP/ADP 範圍中，製備 ATP 轉換至 ADP 的標準曲線，如第 4 圖(A)所示，其與 ADP 的含量呈正相關；

(2). 將下述反應組成物加入 96-孔盤中：

5 納克(ng)活化態 EGFR、0.25 μ g/ μ l 的(Glu₄, Tyr₁)多肽物基質、反應緩衝液 A(含有 40 mM 的 Tris-HCl (pH7.5), 20 mM 的 $MgCl_2$ 及 0.1 mg/mL 的 BSA)以及濃度為 20 至 100 納莫耳(nM)的類似物 18 或艾瑞莎；

(3). 在 30°C 下加入 50 μ M 的 ATP 反應 15 分鐘，以啟動 EGFR 蛋白激酶反應；

(4). 在室溫下加入 ADP-Glo™ 試劑反應 40 分鐘，以中止 EGFR 蛋白激酶反應並移除剩餘的 ATP；

(5). 在室溫下加入蛋白激酶偵測試劑 (Kinase Detection Reagent)作用 30 分鐘，以進行 ADP 至 ATP 的轉換作用；

(6). 以 IVIS 系統(Xenogen IVIS Spectrum, Caliper Life Sciences)及光度計(Modulus Single Tube, Turner Biosystems, Inc., Sunnyvale, CA)觀察及分析 ADP 轉換至 ATP 時所發出之螢光；使用上述標準曲線測定在該多肽物基質有無中所產生之 ADP 含量，蛋白激酶特定活性之計算係依照下列公式：

(ADP-空白組之 ADP) (nmol)/反應時間(分鐘)×蛋白激酶之重量(mg)。

如第 4 圖(B)、(C)及(D)所示，其結果顯示以 20 至 100 nM 之類似物 18 或艾瑞莎處理後，其螢光強度均下降，且經計算後的 EGFR 蛋白激酶特定活性(以 nmol/分鐘/mg 表示者)及 EGFR 蛋白激酶活性(以 % 表示者，以 0 nM 之類似物 18 或艾瑞莎處理時之蛋白激酶特定活性作為 100%)均呈現依藥物處理濃度之上升而呈下降的趨勢。另外，以 IVIS 系統量測類似物 18 或艾瑞莎的 IC50 分別為 130.1 nM 及 56.3 nM；以光度計量測類似物 18 或艾瑞莎的 IC50 分別為 125.9 nM 及 55.4 nM。

(3).測試類似物 18 抑制 EGFR 蛋白激酶之專一性

以 KinaseProfiler™ 服務試驗 (Merck Millipore, Billerica, MA)進行類似物 18 對蛋白激酶專一性之測試，蛋白激酶活性剩餘值(kinase activity remaining values，簡稱 KAR 值)之數值係與該蛋白激酶之活性呈負相關，KAR 值為 50 時表示抑制 50%蛋白激酶活性時之濃度為 10 μ M。

如表 4 所示，表 4 類似物 18 及艾瑞莎均為 EGFR 蛋白激酶之潛在抑制劑。

表 4、以 KinaseProfiler™ 服務試驗測試類似物 18 及艾瑞莎對不同蛋白激酶的專一性

蛋白激酶	全名	艾瑞莎 的 KAR 值	類似物 18 的 KAR 值
EGFR	表皮生長因子受體 (epidermal growth factor receptor)	-10	-2
CHEK1	查核點激酶-1 (checkpoint kinase-1)	63	69
MARK2	MAP/微管親和性調控蛋白激酶 2 (PAR-1Ba)	86	84
MKNK2	MAPK 互動蛋白激酶 2 (MAPK-interacting kinase-2)	9	85
CSNK2A1	酪蛋白激酶 2 (casein kinase-2)	92	76
MAPK14	促分裂原活化蛋白激酶 14 (stress-activated protein kinase-2a)	20	87
STK10	絲胺酸/息寧胺酸蛋白激酶 10 (lymphocyte-oriented kinase)	19	43
FGFR1	纖維母細胞生長因子受體 1 (fibroblast growth factor receptor-1)	27	82
RET	RET 原癌基因之產物 (product of ret proto-oncogene)	30	98

LCK	淋巴球蛋白激酶 (lymphocyte kinase)	9	89
SYK	脾酪氨酸激酶 (splenic tyrosine kinase)	84	87
LIMK1	LIM 部位激酶 1 (LIM motif-containing protein kinase-1)	76	82

實施例 5 類似物 18 引發肺癌細胞進行細胞凋亡的效果較艾瑞莎更佳

本實施例測試類似物 18 是否係藉由引發肺癌細胞的細胞凋亡而造成細胞存活率降低，且類似物 18 較艾瑞莎對於引起肺癌細胞凋亡是否具有較佳的效果。

藉由膜聯蛋白 V-碘化丙啶 (Annexin-propidium iodide(以下簡稱 PI))分析來測定經類似物 18 或艾瑞莎所引發之細胞凋亡含量，根據製造商之手冊，Annexin V-PI 染色套組 (BioVision, Mountain View, CA) 係用於檢測藉由與螢光素異氰酸酯 (fluorescein isocyanate, 簡稱 FITC) 共軛之 Annexin V 及 PI 培養之細胞。該細胞顯示 Annexin V⁺/PI⁻ 及 Annexin V⁺/PI⁺ 者，係分別表示在細胞凋亡之早期及晚期。將 A549 細胞株以 7×10^5 細胞密度培養於 60 mm 培養皿中 16 至 20 小時。分別以 0 至 40 μ M 之類似物 18 或艾瑞莎處理 4 小時後，以 PBS 洗滌該細胞。該細胞係經胰蛋白酶消化且於 1500 rpm 離心 5 分鐘收集。此後，於室溫及避光下，

以 500 μ l 之 Annexin V-PI 標記溶液(含有 5 μ l 之 Annexin V-FITC 及 5 μ l 之 PI 於 PBS 中)培養該細胞 5 分鐘。為了避免細胞凝集，將該細胞溶液經尼龍篩網膜(Becton-Dickinson, San Jose, CA)過濾。最後，藉由流式細胞儀(FACS Calibur, BD Biosciences, Heidelberg, Germany)立即分析該樣品，藉由 CellQuest 軟體(BD Biosciences)自最小 10,000 個細胞定量 Annexin V-PI 染色細胞之百分比。

如第 5 圖(A)所示，在以 10 至 40 μ M 之類似物 18 或艾瑞莎處理後，A549 細胞株之 Annexin V⁺/PI⁻及 V⁺/PI⁺細胞數量均增加，表示正在進行細胞凋亡的細胞數增加；且如第 6 圖(A)、(B)及(C)所示，類似物 18 引發 67.9%的細胞凋亡，而艾瑞莎僅引發 19.6%的細胞凋亡。此結果表示，類似物 18 是藉由更有效率地引發肺癌細胞的細胞凋亡而造成其細胞存活率降低。

實施例 6 類似物 18 抑制癌症細胞生長並增加肺癌細胞的次-G1 期

本發明測試類似物 18 是否係藉由引發肺癌細胞進行細胞凋亡而抑制該細胞之生長，並進一步探討類似物 18 對於肺癌細胞之細胞周期的影響。

(1). 步驟 1：測試類似物 18 對肺癌細胞生長的抑制：

將 A549 細胞株以 1×10^6 細胞密度接種於含有完全培養基之 60 mm 培養皿中維持 18 小時，再以 30 μ M 之類似物 18 或艾瑞莎處理 24 小時。藥物處理完後，以 PBS 洗滌該

細胞，並置換新鮮的 RPMI-1640 完全培養基且培養 2 天至 6 天，最後以血球計(hemocytometer)計算細胞數。

如第 7 圖所示，類似物 18 及艾瑞莎均有抑制 A549 細胞株生長的功效，且類似物 18 之效果較艾瑞莎更為顯著。

(2). 步驟 2：測試類似物 18 對肺癌細胞之細胞週期之影響：

將 A549 細胞株以 7×10^5 細胞密度接種於含有完全培養基之 60 mm 培養皿中培養 16 至 20 小時，再分別以 0 至 40 μM 之類似物 18 或艾瑞莎在 37°C 下處理 24 小時。藥物處理完後，將收集細胞並以 70% 冰冷卻乙醇在 -20 °C 下固定過夜。接著，以 1500 rpm 離心 5 分鐘後，將沉澱物在 37 °C 下以 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之 PI 溶液(含有 1% Triton X-100 及 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之 RNase)避光處理 30 分鐘。為了避免細胞凝集，將該細胞溶液經尼龍篩網膜(Becton-Dickinson, San Jose, CA)過濾。最後，藉由流式細胞儀分析該樣品，並藉由 ModFit LT 軟體(Ver. 2.0, Becton-Dickinson)自 10,000 個細胞分析其位於不同細胞週期之百分比。

如第 8 圖(A)及(B)以及第 9 圖(A)至(D)所示，類似物 18 並未顯著改變 A549 細胞株的 G1、S 及 G2/M 期的部分，但卻顯著地增加 A549 細胞株的次-G1 期部分(sub-G1)，且在以 40 μM 之類似物 18 處理後，A549 細胞株之次-G1 部分被提升至 66.7%；然而以 40 μM 之艾瑞莎處理者，僅造成 A549 細胞株之 G1 部分從 60.5% 提升至 76.1%。此結果表示，類似物 18 並未改變 A549 肺腺癌細胞株的細胞週

期，次-G1 期部分增加係表示正在進行細胞凋亡的細胞數增加，亦即類似物 18 會促使 A549 細胞株進行細胞凋亡而抑制其生長，且效果較艾瑞莎顯著。

實施例 7 類似物 18 促進肺癌細胞中凋亡蛋白酶 3 之活化及 PARP 的切割

本發明進一步測試類似物 18 可藉由活化肺癌細胞中之凋亡蛋白酶 3(caspase 3)及促進多聚 ADP 核糖聚合酶(poly ADP ribose polymerase, 簡稱 PARP)之切割，而造成其細胞凋亡。

將 A549 細胞株以 1×10^6 細胞密度接種於 60 mm 含有完全培養基之培養皿培養 16 至 20 小時。接著分別以 0 至 40 μM 之類似物 18 或艾瑞莎在 37°C 下處理細胞 24 小時。於藥物處理後，以實施例 4 所提供之方法進行蛋白質萃取並使用特定抗體進行西方墨點法分析，為了確認蛋白質的均等充填及轉移，將肌動蛋白用於作為蛋白質充填控制組。

如第 10 圖(A)所示，以 10 至 40 μM 之類似物 18 處理可顯著地引發 A549 細胞株之凋亡蛋白酶 3 轉化成活化態，此外，類似物 18 並引發 PARP 蛋白之切割態；然而，艾瑞莎並未造成凋亡蛋白酶 3 及 PARP 的顯著改變。如第 10 圖(B)及(C)所示，類似物 18 可顯著地增加活化態凋亡蛋白酶 3 並促使 PARP 蛋白質之切割，而造成 A549 細胞株凋亡，相較於在 A549 細胞株中以艾瑞莎處理者，並無顯著改變活化態凋亡蛋白酶 3 及 PARP 蛋白質之切割。

實施例 8 類似物 18 抑制肺癌細胞中生存素的蛋白質及基因表現

本發明測試類似物 18 藉由抑制肺癌細胞中之生存素的基因及蛋白質表現而引發細胞凋亡。

將 A549 細胞株以 1×10^6 細胞密度接種於 60 mm 含有完全培養基之培養皿培養 16 至 20 小時。接著分別以 0 至 40 μM 之類似物 18 或艾瑞莎在 37 °C 下處理細胞 24 小時。於藥物處理後，以實施例 4 所提供之方法進行蛋白質萃取並使用特定抗體進行西方墨點法分析，為了確認蛋白質的均等充填及轉移，將肌動蛋白作為蛋白質充填控制組。

另外，將 A549 細胞株以 2×10^6 細胞密度接種於 60 mm 含有完全培養基之培養皿培養 16 至 20 小時。接著分別以 0 至 40 μM 之類似物 18 或艾瑞莎處理細胞 24 小時。於藥物處理後，利用 ZR RNA MiniPrep™ (Zymo Research, Irvine, CA)，依照使用者手冊，將細胞之 RNA 純化，並以分光光度計 (spectrophotometry) 測量 RNA 之濃度。接著，藉由含 oligo (dT)₁₂₋₁₈ 引子 (Invitrogen) 之 SuperScript™ III 反轉錄酶合成 cDNA，以 GAPDH 作為內控制品而擴增各反轉錄樣品，DNA 熱循環機 (Mastercycler gradient, Hamburg, Germany) 進行反轉錄聚合酶連鎖反應 RT-PCR 係使用 DNA 熱循環機 (Mastercycler gradient, Hamburg, Germany) 進行，該反應試劑如表 5 所示，其所使用之引子對如表 6 所示，其反應條件如下：以 94°C 反應 2 分鐘進行初期變性，隨後在 94°C 反

應 30 秒、56°C 反應 30 秒、72°C 反應 40 秒，進行共 30 個循環，最後以 72°C 反應 5 分鐘以進行擴增。之後，將 RT-PCR 產物以 1.2% 瓊脂糖凝膠 (agarose gel) 電泳分離，並進行溴化乙錠染色後，以 UV 透照法 (transillumination) 觀察，最後以 DH27-S3 相機 (Medclub, Taoyuan, Taiwan) 拍照保存。

為了更進一步確認類似物 18 抑制生存素而造成細胞凋亡的影響，依照使用者手冊，使用 Lipofectamine™ 2000 (Invitrogen) 將 pCT-GFP2 及 pCT-GFP-sur8 用於轉染，該 pCT-GFP-sur8 構築載體 (會過度表現生存素)，並以 pCT-GFP2 做為控制組 (僅過度表現綠色螢光蛋白 (green fluorescent protein, 簡稱 GFP))。將 A549 細胞株以 2×10^6 細胞密度接種於 60 mm 培養皿培養 16 至 20 小時。接著，以 20 μ g 的 pCT-GFP-sur8 或 pCT-GFP2 做為控制組或生存素表現載體在無血清的培養基中，並置於 37 °C 的 CO₂ 培養基中進行細胞轉染 (transfection) 8 小時。之後，再加入等量含有 20% FBS 之培養基作用 24 小時。於轉染後，分別依照實施例 2 及實施例 4 之方法進行細胞存活率測試及西方墨點法分析。

表 5、RT-PCR 之反應試劑

試劑名稱	用途	廠商
反轉錄酵素 (SuperScript® III Reverse Transcriptase)	將模板 RNA 反轉錄合成 cDNA	Invitrogen
2 倍反應緩衝溶液	反轉錄酵素反應所需緩 衝溶液	Invitrogen
oligo (dT) 12-18 引子	與 mRNA 的 poly(A) 尾雜交 5' 末端磷酸化	Invitrogen
DNA 聚合酶酵素 (DNA polymerase)	催化去氧核糖核苷酸的 聚合	Promega
dNTP	提供 DNA 複製原料	Promega
10X 反應緩衝溶液	DNA 聚合酶酵素反應緩 衝溶液	Promega

表 6、PCR 所使用之引子

引子名稱	引子序列
生存素正向引子	5'-GGCATGGGTGCCCCGACGTTG-3'
生存素反向引子	5'-CAGAGGCCTCAATCCATGGCA-3'
GAPDH 正向引子	5'-CGGAGTCAACGGATTTGGTCGTAT-3'
GAPDH 反向引子	5'-AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC-3'

如第 11 圖(A)至(D)所示，以類似物 18 處理 A549 細胞株，其生存素之基因表現明顯地被抑制，且係依類似物 18 處理濃度之增加而呈下降之趨勢，而艾瑞莎並未顯著地改變生存素之基因表現；此外，類似物 18 及艾瑞莎均顯著抑制生存素之蛋白質表現。此結果表示，類似物 18 可顯著地抑制生存素之基因表現，並造成 A549 細胞凋亡，且效果較艾瑞莎更佳。

如第 12 圖(A)所示，經 pCT-GFP-sur8 載體轉染的 A549 細胞確實可利用針對 GFP 及生存素之特定抗體偵測到生存素-GFP 融合蛋白質(43.5 kDa)，而控制組(pCT-GFP2 載體)則僅表現 GFP(27 kDa)，另外，A549 細胞本身含有的生存素係 16.5 kDa。如第 12 圖(B)所示，利用 pCT-GFP-sur8 載體在 A549 細胞中過度表現生存素會增加該細胞之存活率，且轉染 pCT-GFP-sur8 載體可抑制類似物 18 所引發的細胞凋亡，且其效率較轉染 pCT-GFP2 者更佳。此結果表示，類似物 18 確實係藉由抑制生存素而引發肺癌細胞進行細胞凋亡。

實施例 9 類似物 18 抑制肺癌腫瘤的形成

本發明測試類似物 18 在體內實驗可抑制小鼠中異體移植人類肺癌細胞的腫瘤的擴大。自 BioLASCO (BioLASCO., Ltd., Taipei, Taiwan) 獲得 BALB/cAnN.Cg-*Foxn1nu*/CrlNarl 小鼠(三週齡大之公鼠)，先進行 2 週的環境適應後，將 2×10^6 之 A549 細胞以皮下注射注入各小鼠之腹腔中。堅實之 A549 側腹腫瘤於 10 天後形成，然後藉由每間隔 4 天以皮下注射 100 μ l 玉米油(控制組小鼠)或 30 mg/kg 之類似物 18(實驗組小鼠)三次。利用數字卡尺(digital caliper)，每 4 天測量該腫瘤大小，並以下列公式計算之： $(\text{長度}) \times (\text{寬度})^2 \times 0.5$ 。將小鼠犧牲後取出腫瘤，將該腫瘤均質化後且將總裂解物依照實施例 4 之方法進行西方墨點法分析。

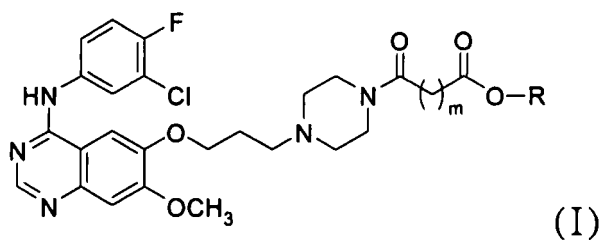
如第 13 圖(A)及(B)所示，經注射類似物 18 之裸鼠之腫瘤大小顯著地較控制組為小，詳言之，開始每 4 天注射玉米油至第 16 天的裸鼠之腫瘤平均大小為 406.52 mm^3 ，而注射類似物 18 的裸鼠之腫瘤平均大小為 118.19 mm^3 。此外，依第 13 圖(C)所示，經注射類似物 18 之小鼠，其腫瘤中之生存素的蛋白表現量較控制組減少約一半。此結果表示，類似物 18 可藉由抑制生存素之表現而在異體移植人類肺癌細胞的小鼠中抑制腫瘤的擴大。

【符號說明】

無。

申請專利範圍

1. 一種式(I)化合物或其鹽，

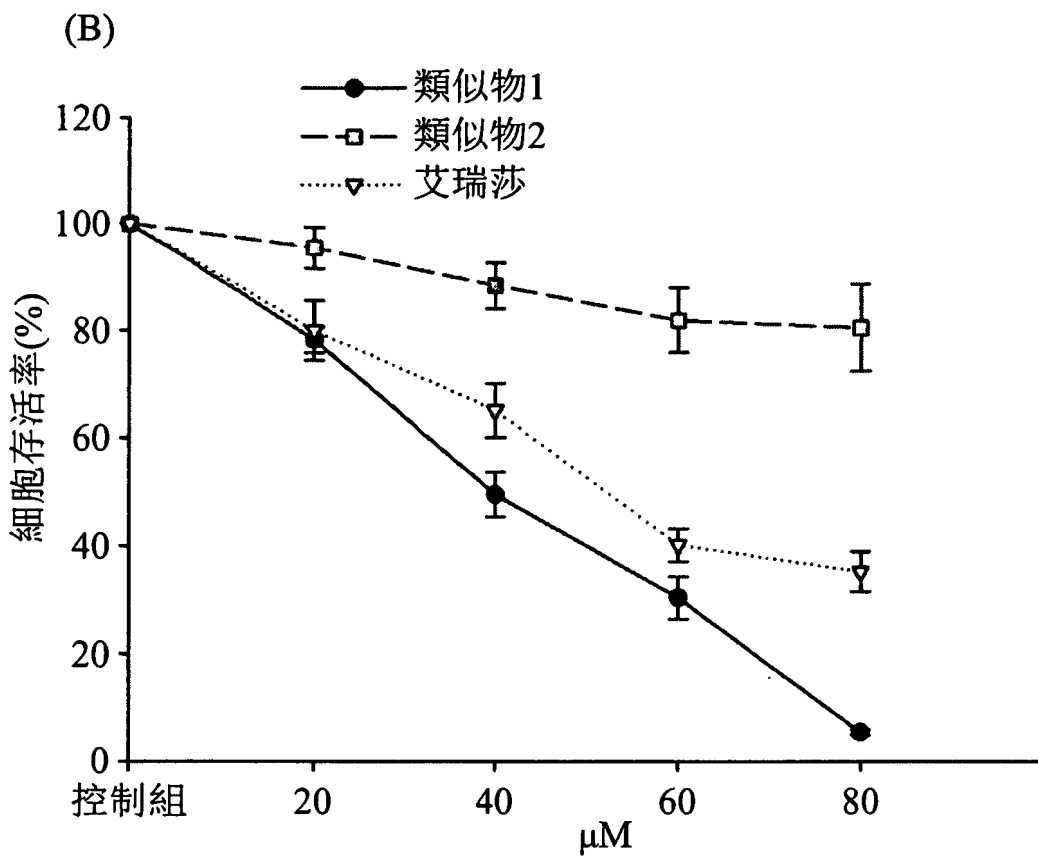
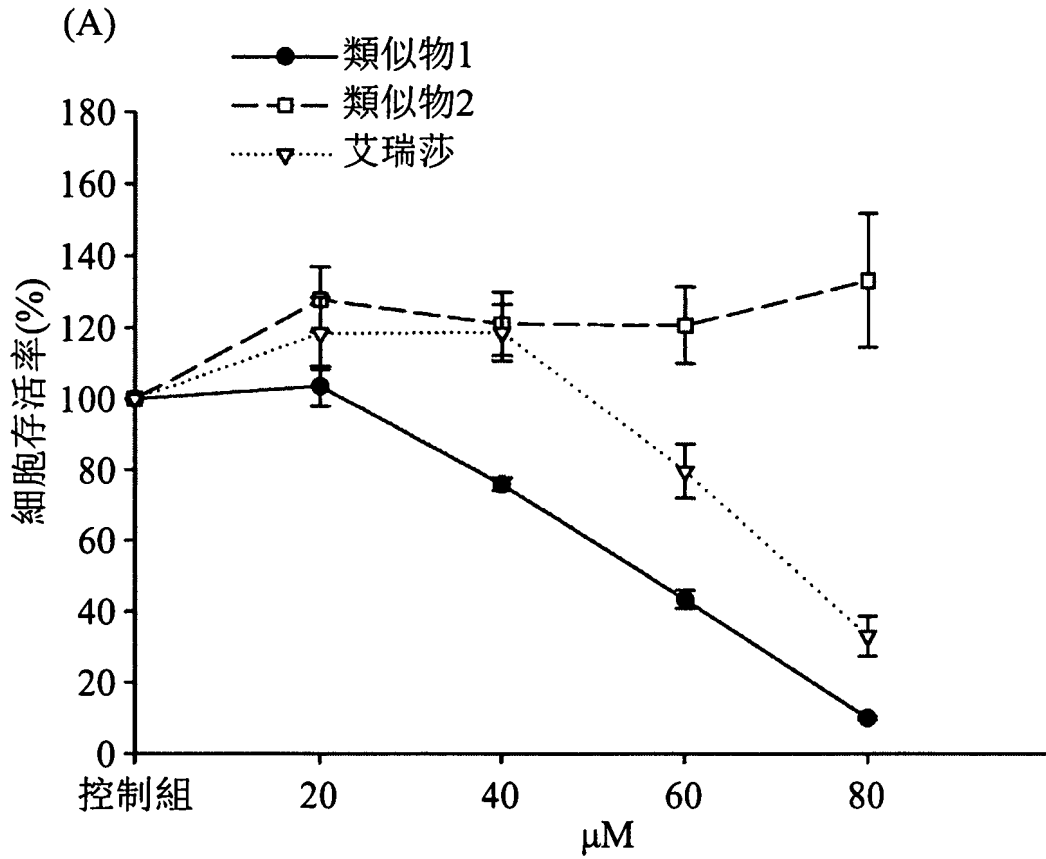


其中， m 為 2 至 7 之整數，以及 R 係獨立選自由氫及 C_1 - C_{20} 烷基所組成群組之至少一者。

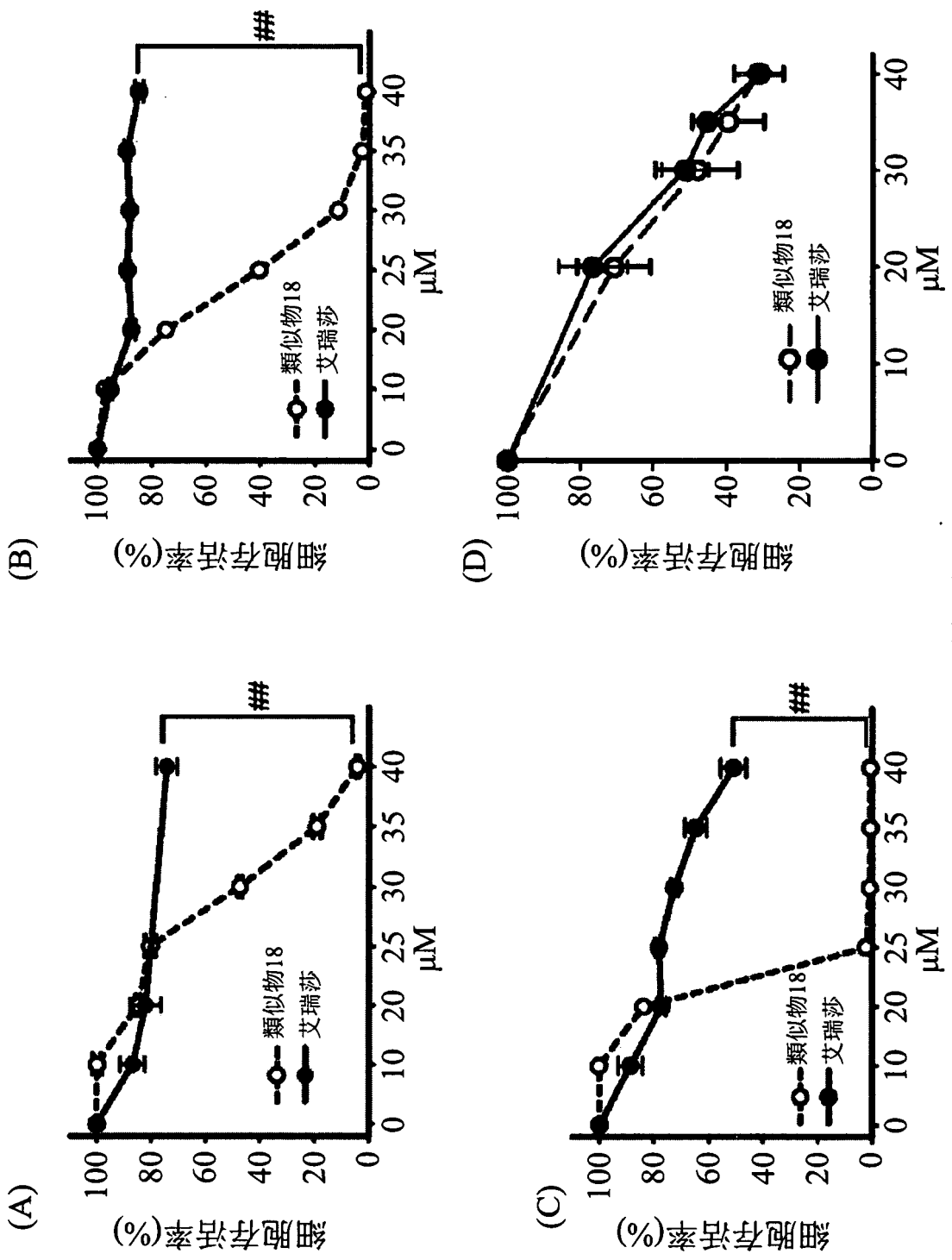
2. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其鹽，其中， m 為 2 以及 R 係 C_1 - C_{13} 烷基。
3. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其鹽，係用以促進癌細胞的細胞凋亡，以抑制癌細胞的生長。
4. 如申請專利範圍第 3 項所述之化合物或其鹽，該癌細胞係選自由肺癌細胞、直腸癌細胞及膀胱癌細胞所組成群組之至少一者。
5. 如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其鹽，係用以抑制表皮生長因子蛋白激酶之活性。
6. 一種醫藥組成物，其包含如申請專利範圍第 1 項所述之化合物或其鹽及醫藥上可接受之載劑。
7. 如申請專利範圍第 6 項所述之醫藥組成物，係用以促進癌細胞的細胞凋亡，以抑制癌細胞的生長。
8. 如申請專利範圍第 6 項所述之醫藥組成物，其中，該癌細胞係選自由肺癌細胞、直腸癌細胞及膀胱癌細胞所組成群組之至少一者。

9. 一種包含如申請專利範圍第 6 項所述之醫藥組成物的用途，其係用於製造治療癌症之藥物。
10. 如申請專利範圍第 9 項所述之用途，其中，該癌症係選自由肺癌、直腸癌及膀胱癌所組成群組之至少一者。

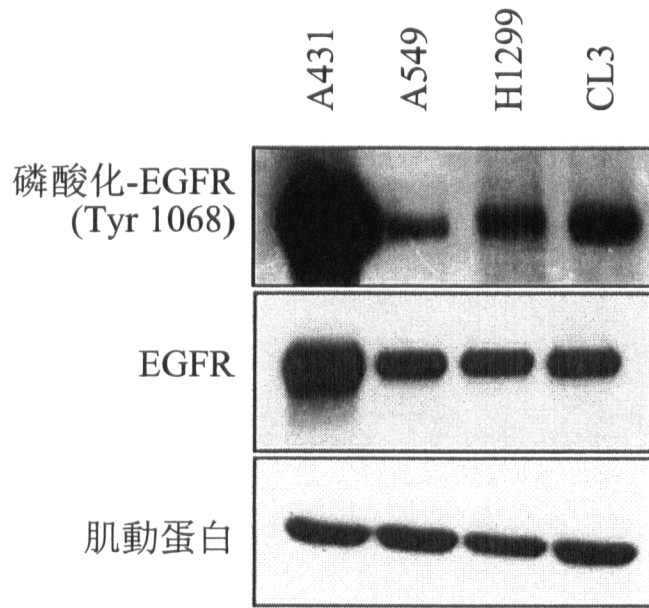
圖式



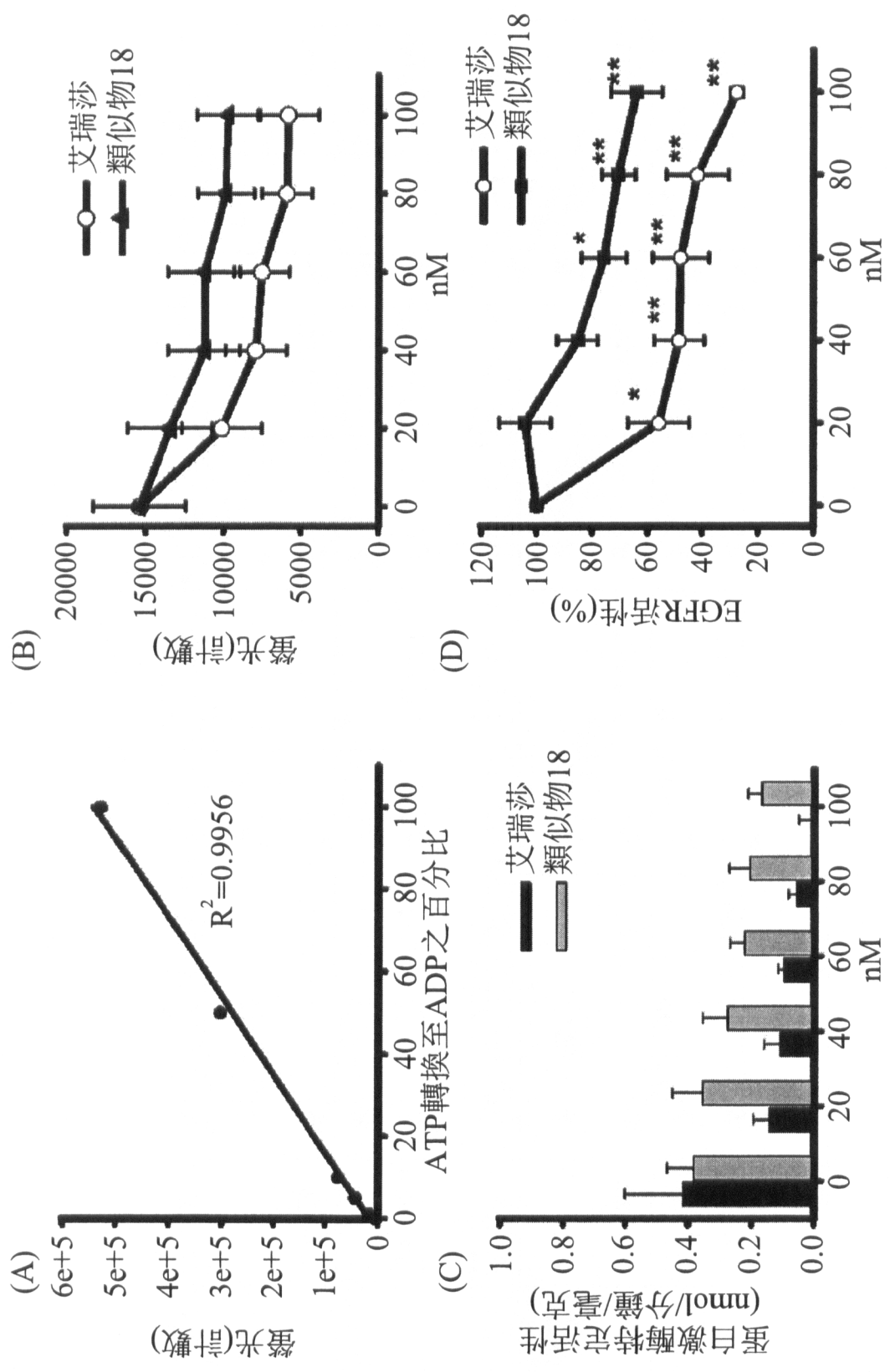
第1圖



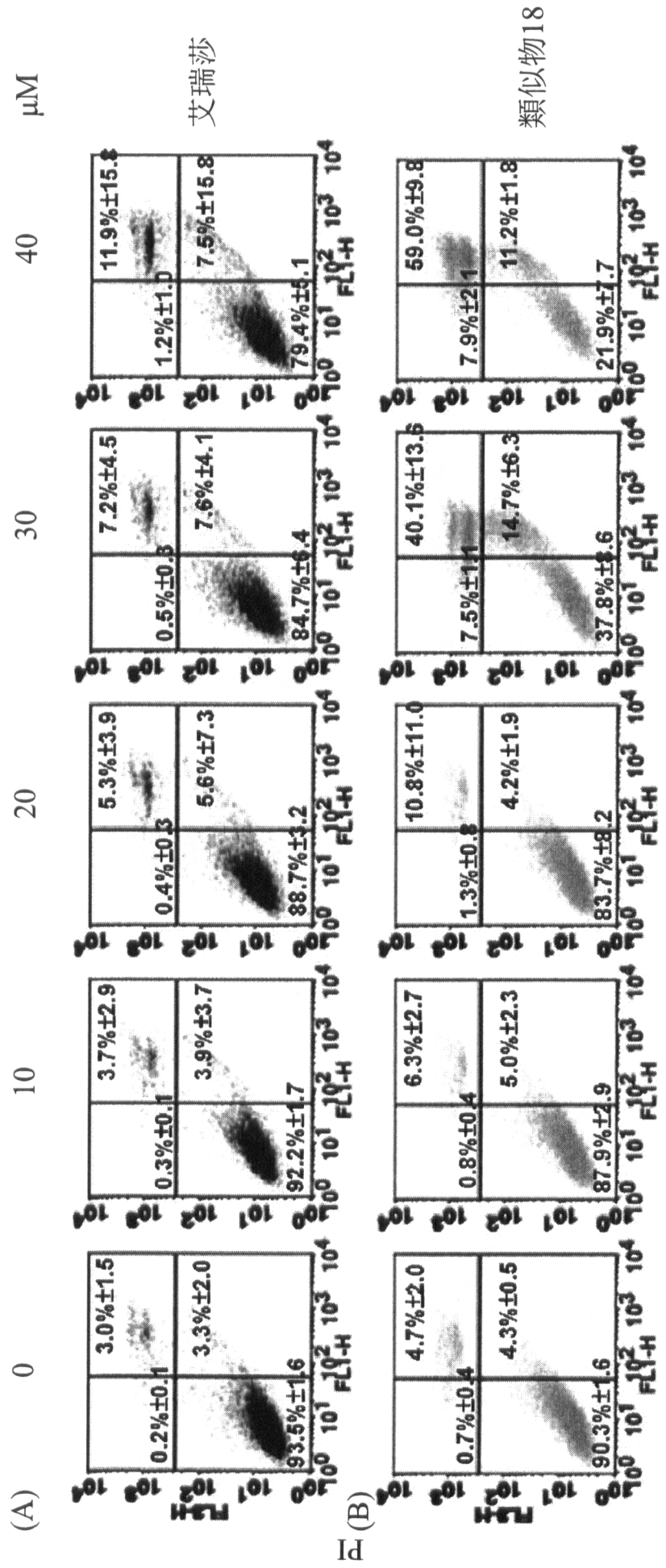
第2圖



第3圖



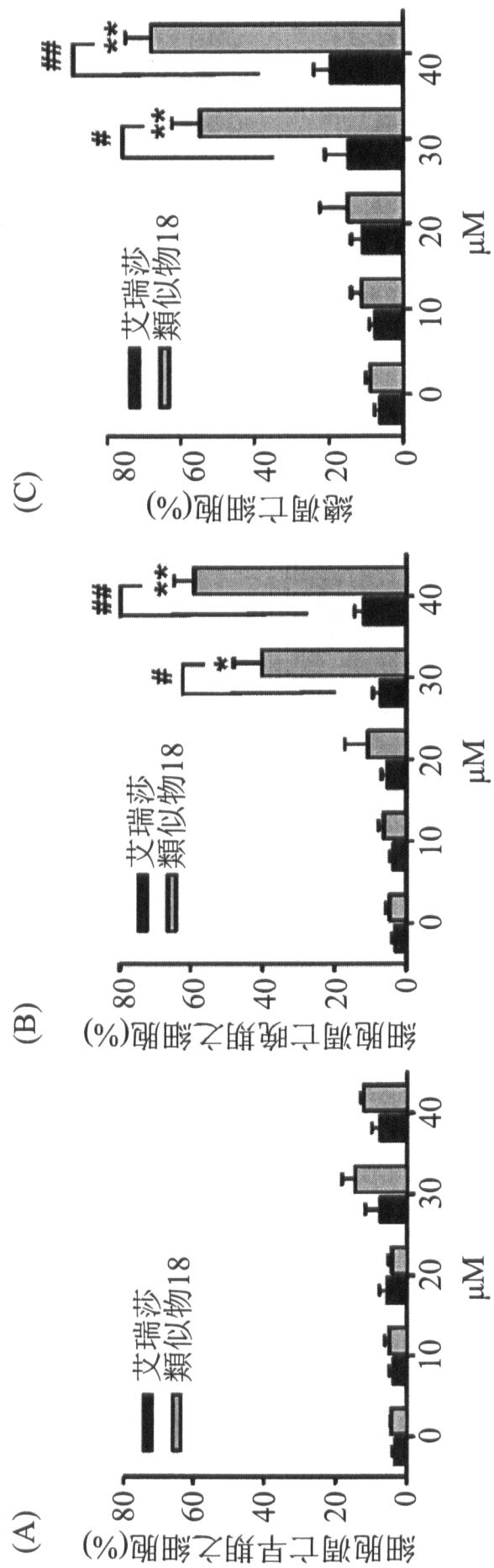
第4圖



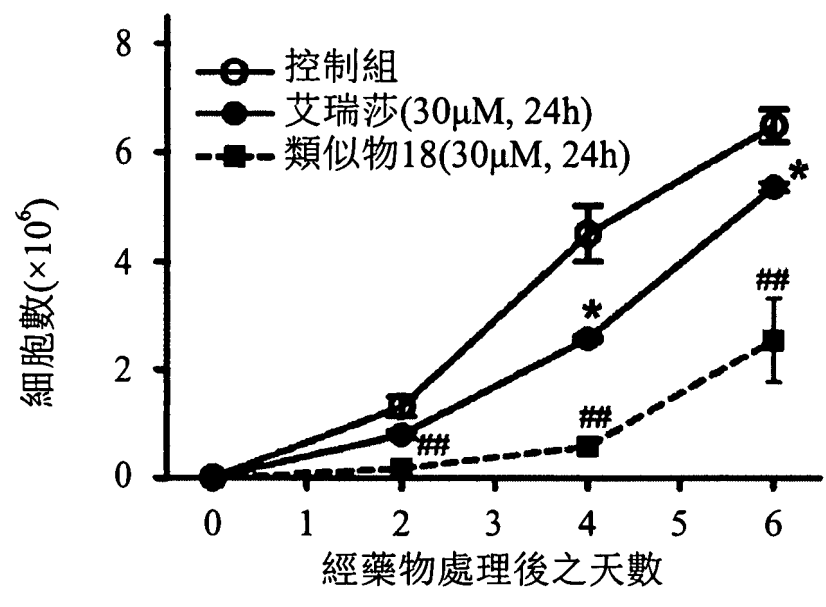
膜聯蛋白V-FITC

第5圖



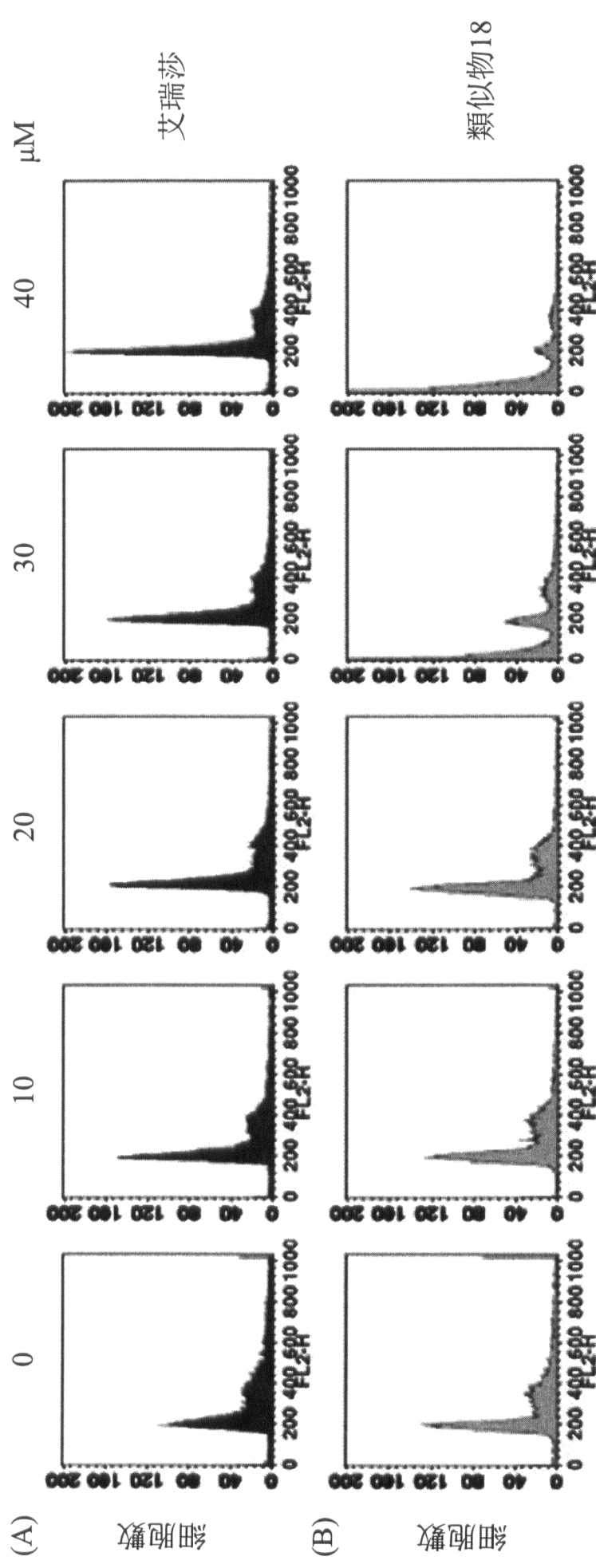


第6圖



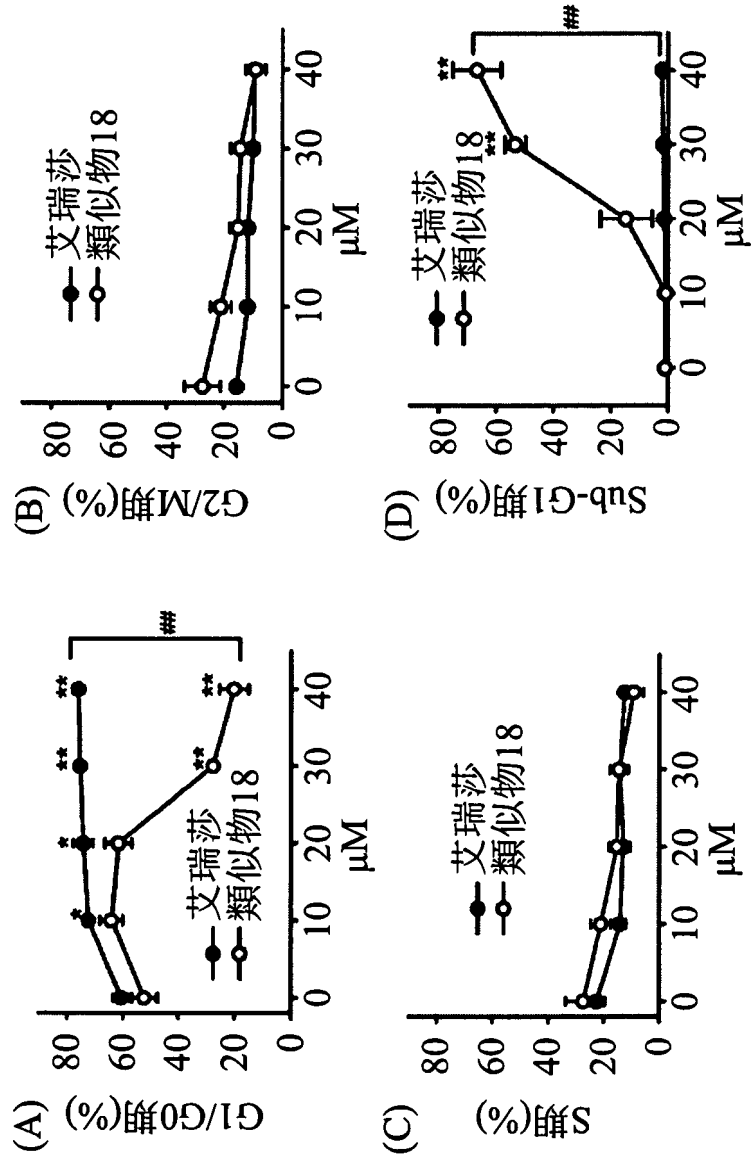
第7圖





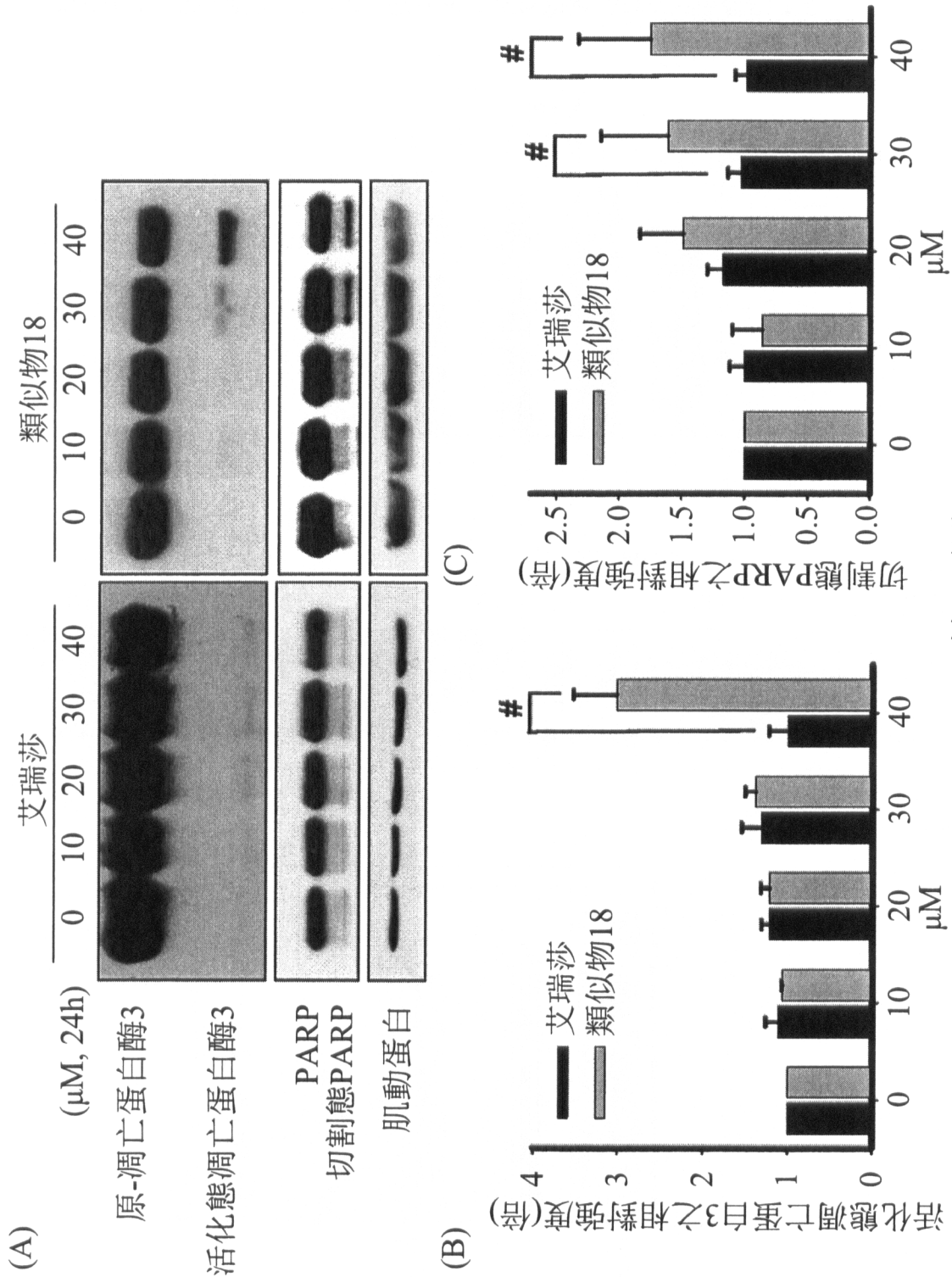
DNA含量

第8圖

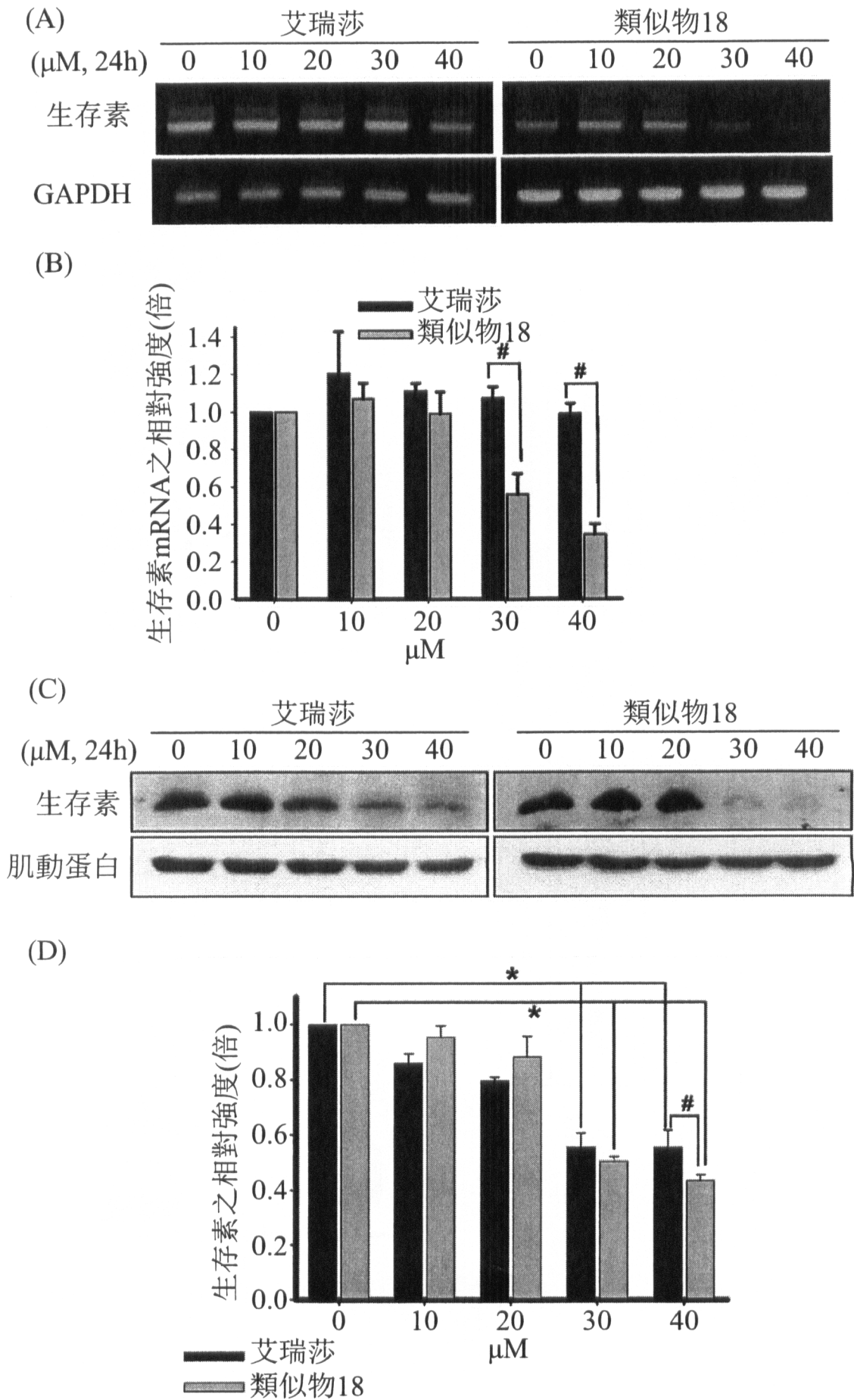


第9圖

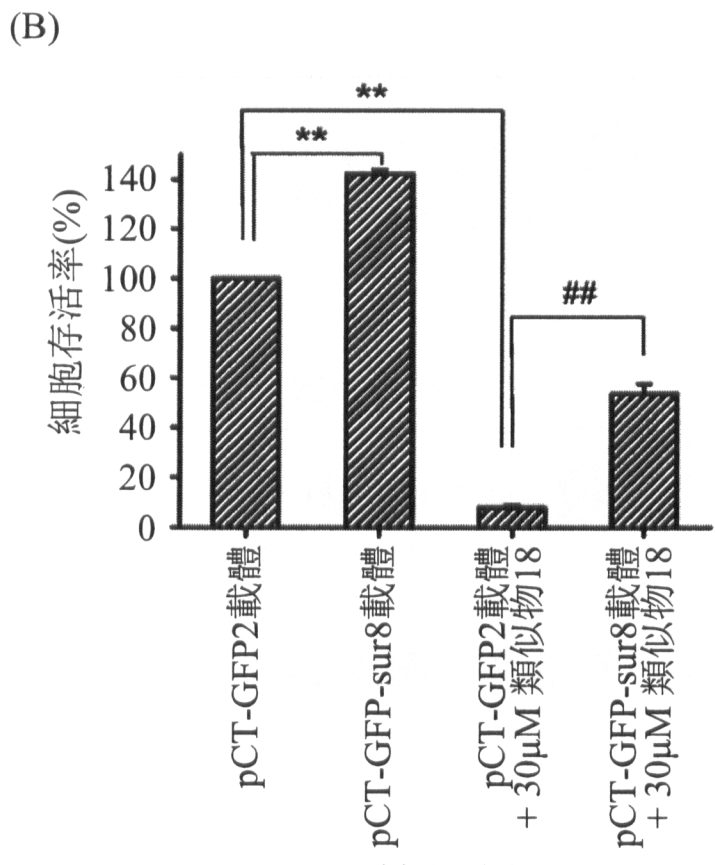
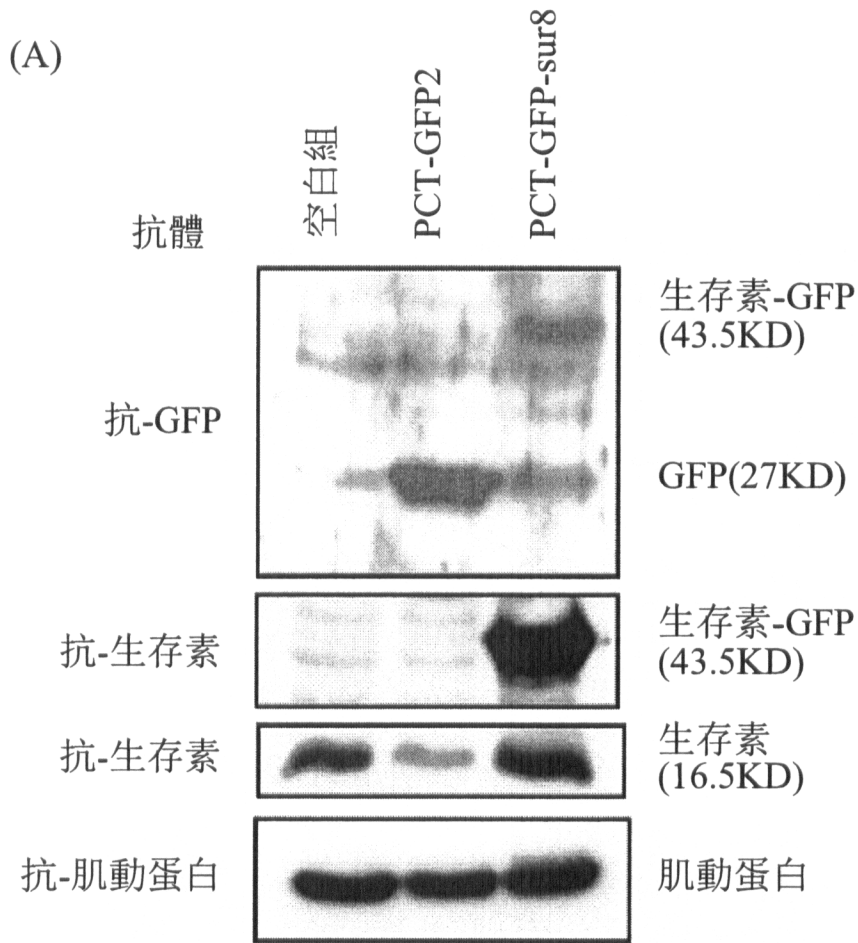




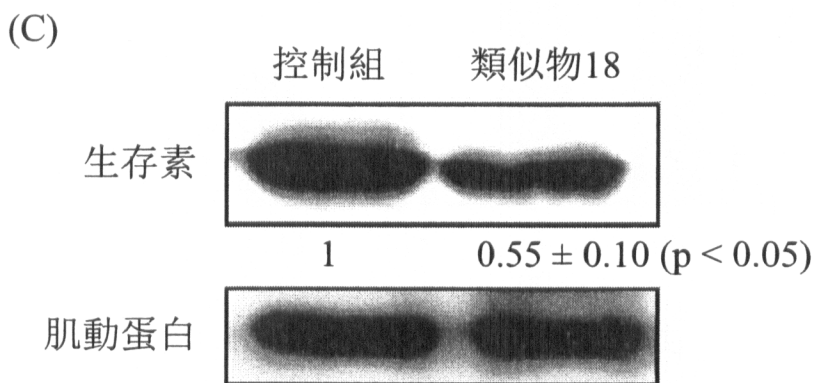
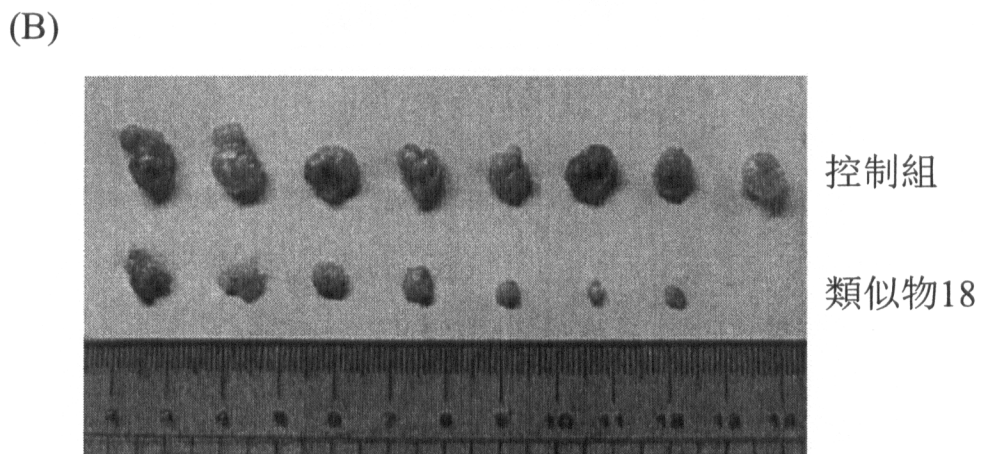
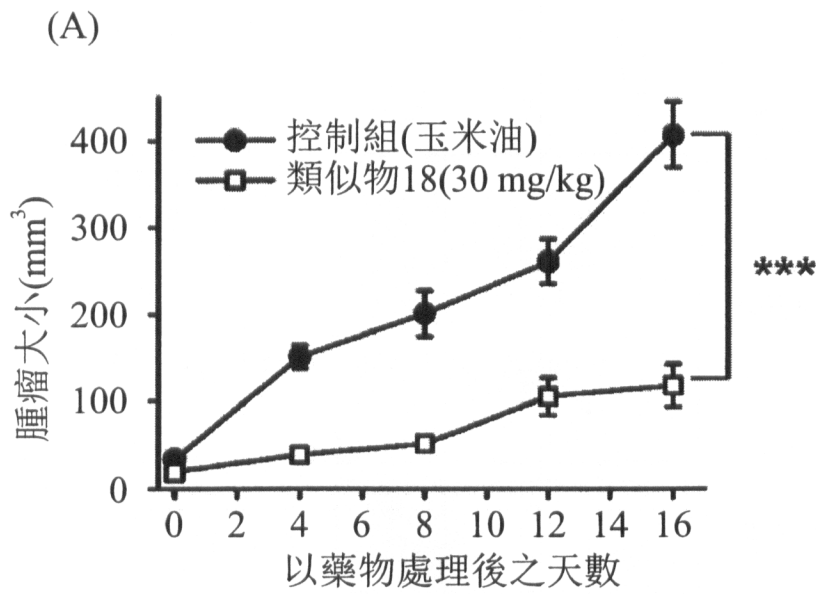
第10圖



第11圖



第12圖



第13圖