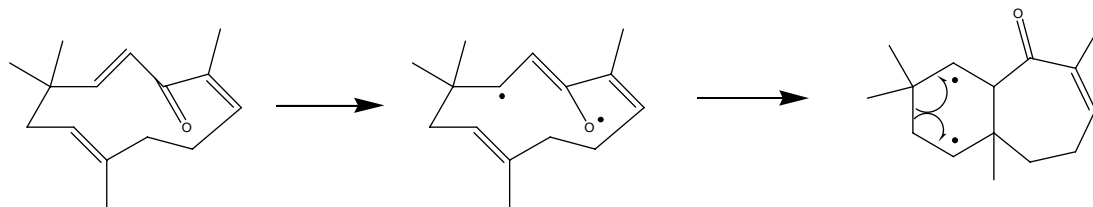


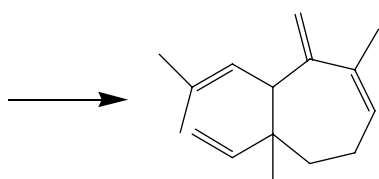
2 chemistry of zerumbone

(1) photochemistry³

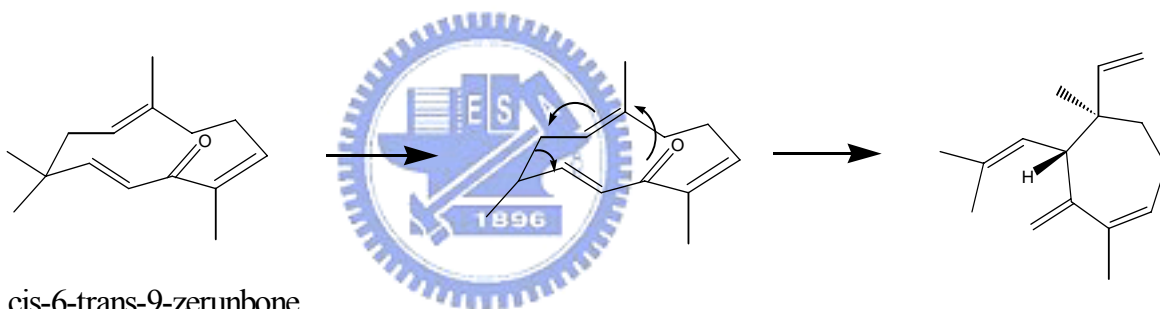
Rearrangement of Ψ -photozerumbone



Ψ -photozerumbone

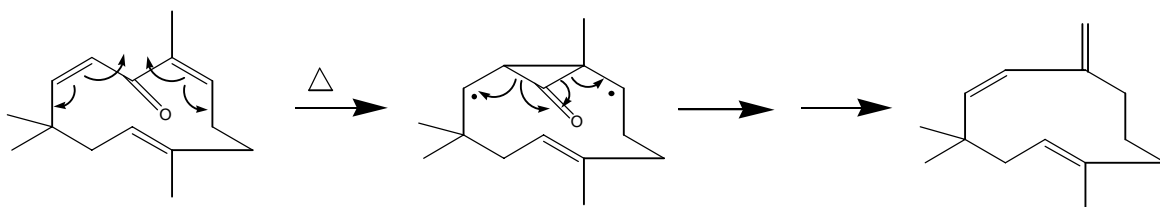


Rearrangement of cis-6-trans-9-zerumbone



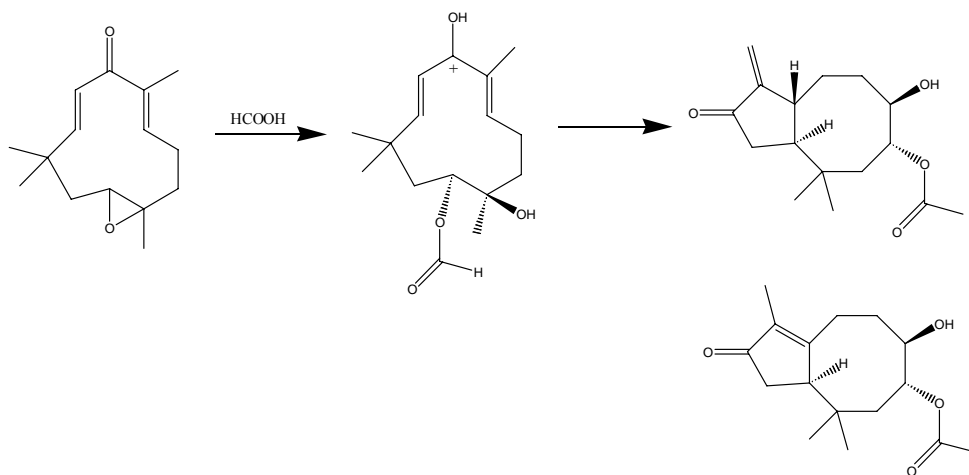
cis-6-trans-9-zerumbone

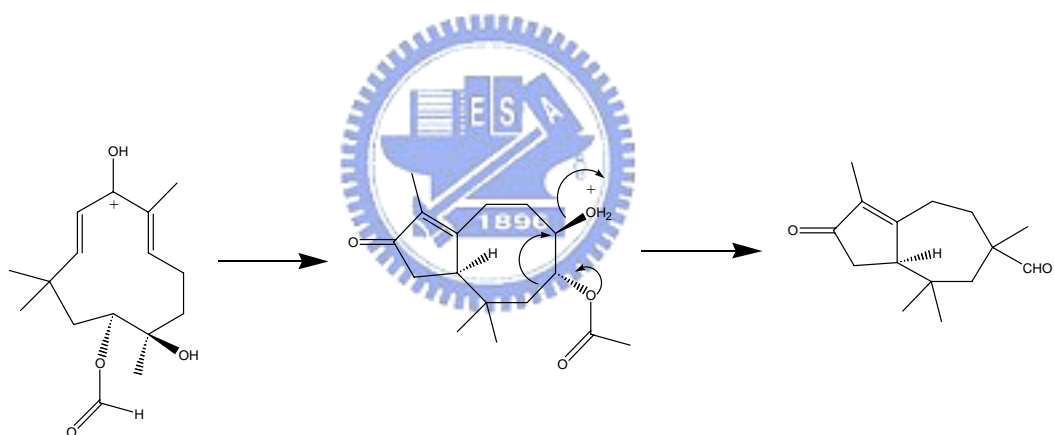
Rearrangement of cis-6-cis-9-zerumbone



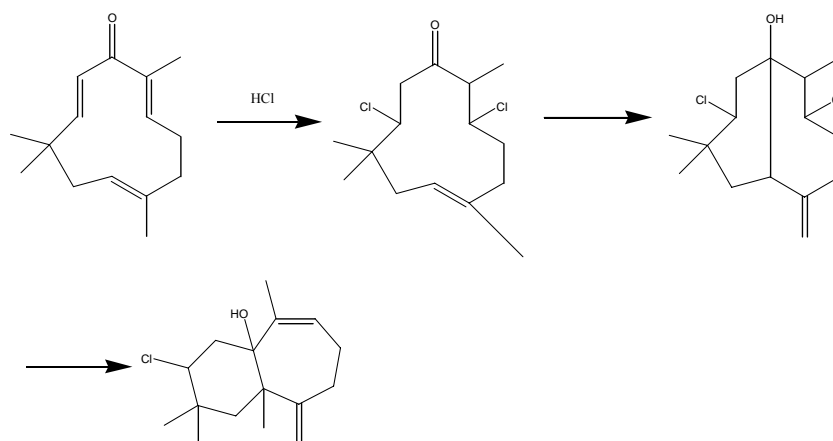
cis-6-cis-9-zerumbone

(2) Transannular cyclizations of zerumbone epoxide⁸
 <a>.

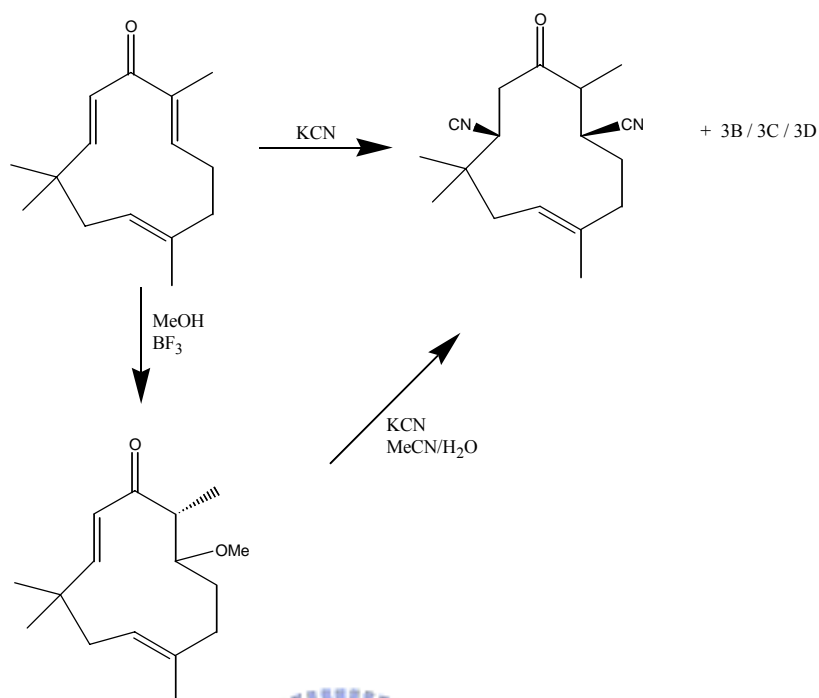




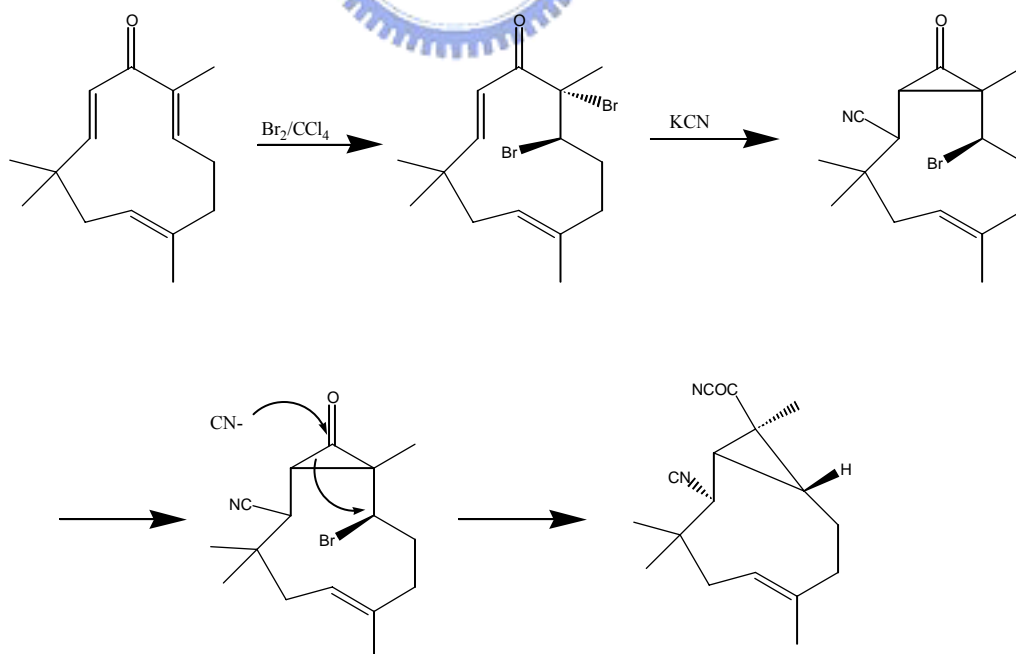
(3) Acide-catalysed cyclization of zerumbone¹⁰



(4) Conjugation addition reactions ¹⁵

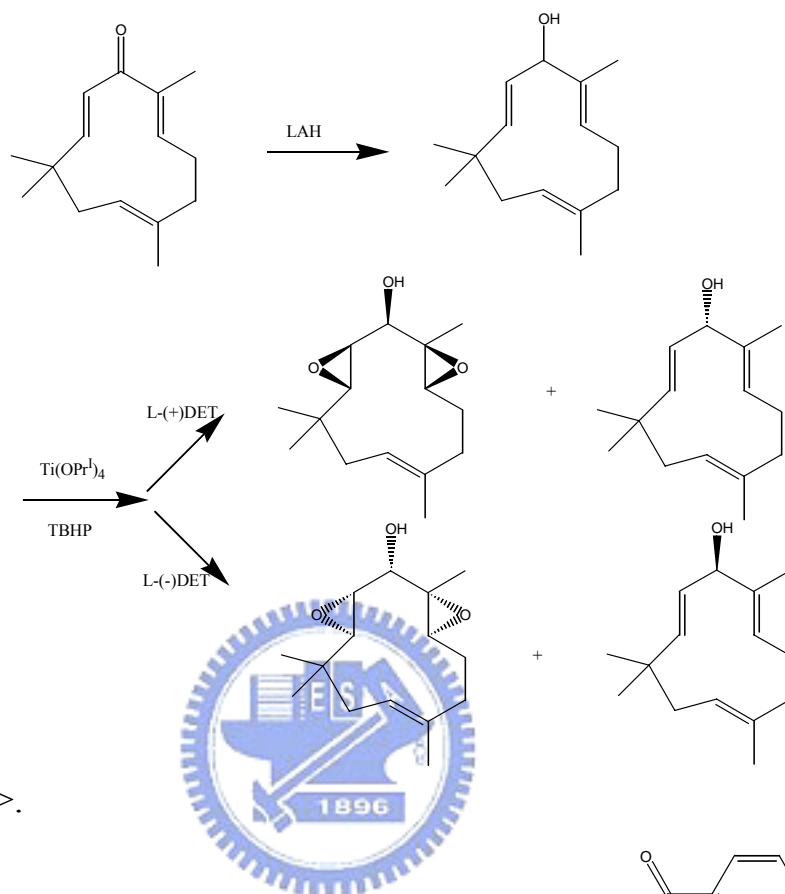


(5) favorskii rearrangment ¹⁵

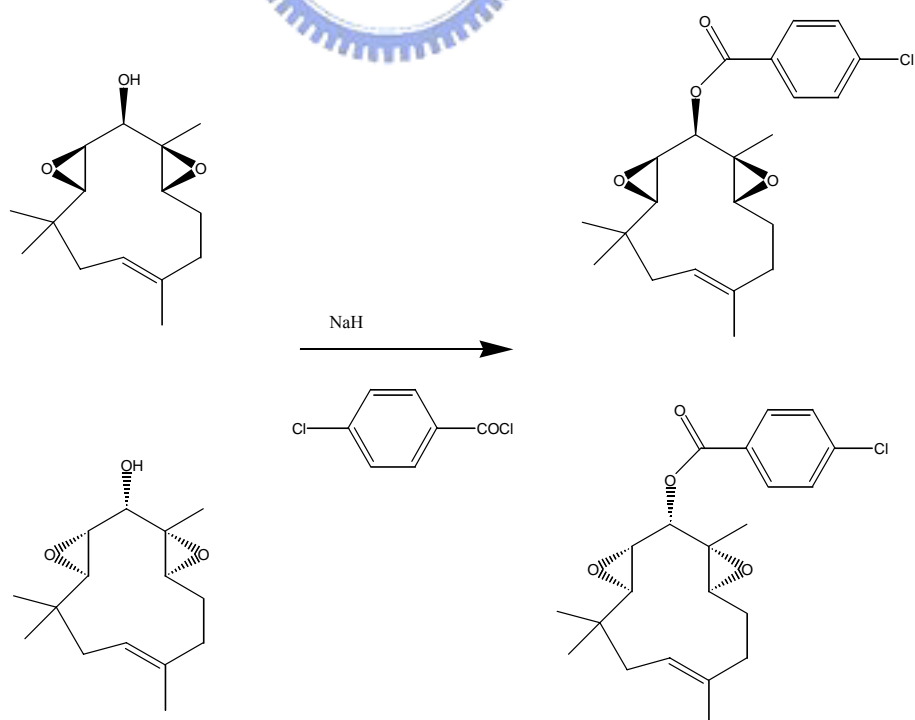


(6) stereospecific creation of five stereogenic centers by double Sharpless oxidation ¹⁹

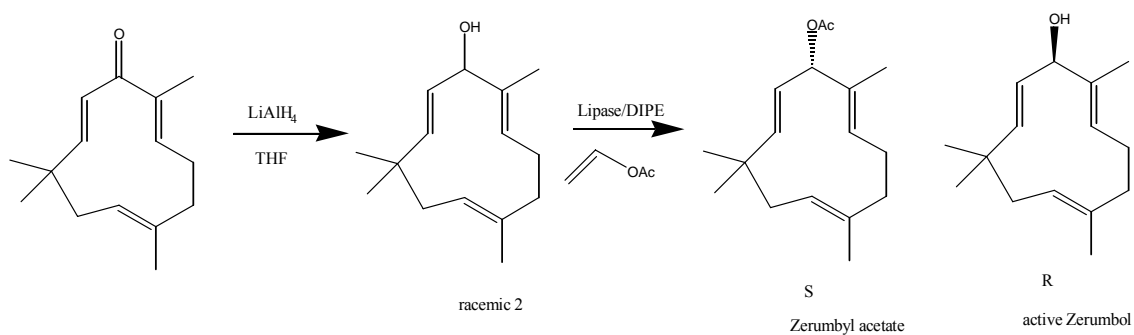
<a>.



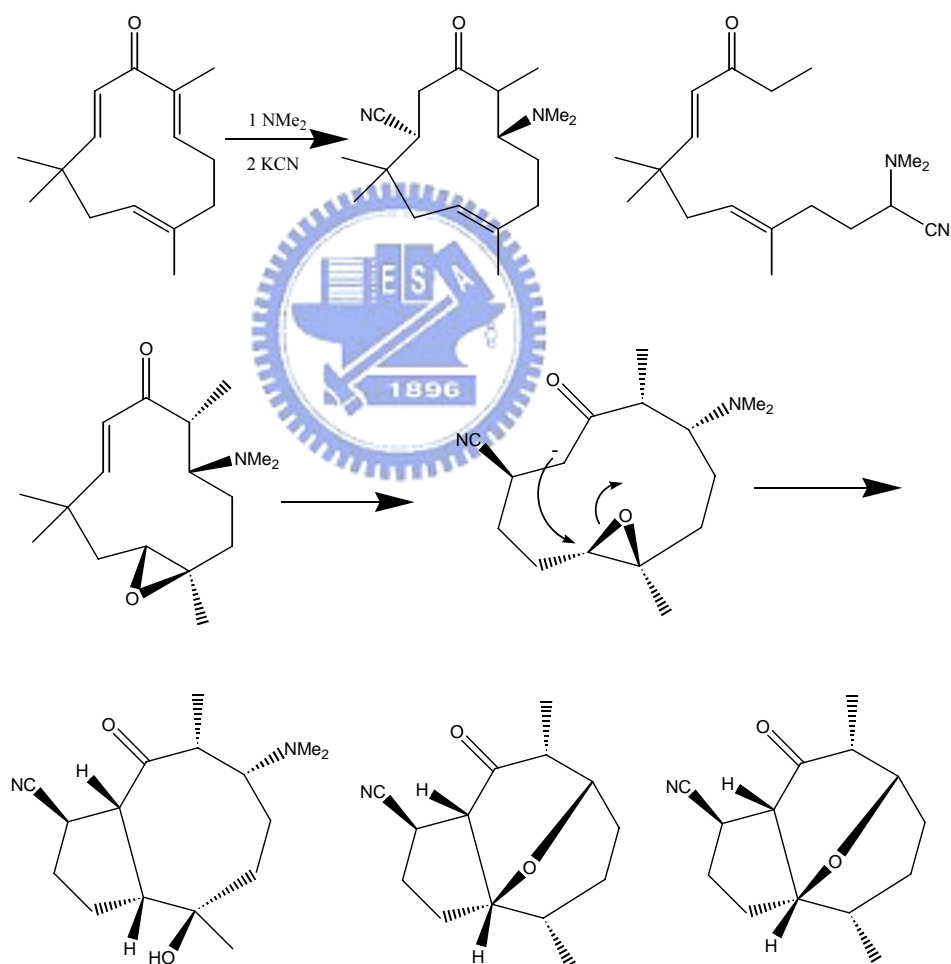
.



(7) transesterification ²³



(8) Structural transformation of the dimethylamine ²⁷



第二章 研究動機

1997 年開始在許多文獻報導中顯示出球薑酮對於許多癌症(例如：大腸癌、肺癌、乳癌、子宮頸癌和皮膚癌等)皆具有很好的抗癌效果，亦可以抑制發炎等功效。但其實球薑酮跟許多抗癌藥物一樣具有一個相當嚴重的問題即是它對於正常細胞的毒性，他對於正常細胞的毒性相當大所以雖然它具相當好的抗癌效果依然不可使用於人體。而這些文獻中大多僅止於探討他對於抗癌以及抗發炎之效果，但是卻鮮少有人去探討它的結構與活性之間的關係，原因很簡單就是因為它的結構非常難以更動，他本身屬於環狀倍半萜類化合物所具有的官能基不多又因為是個環狀分子故具有一些特性造成研究上的困難，例如：

- (1) 光敏感：照光會產生雙鍵重排或是合環的反應。
- (2) 熱敏感：加熱後易造成自身環化。
- (3) 酸敏感：同樣會造成環化與雙鍵的重排。
- (4) 純化不易：因為分子趨近於一個平面所以在合成過程中常會出現異構物。

這些特質都會造成合成上的困難，故較少人願意去探討，在此論文中與台北醫學大學王靜瓊教授合作希望設法突破其合成上的困難進而可以去探討結構與活性之間的關係與開發出新的藥物希望可以降低

其毒性等前提為研究之動機。



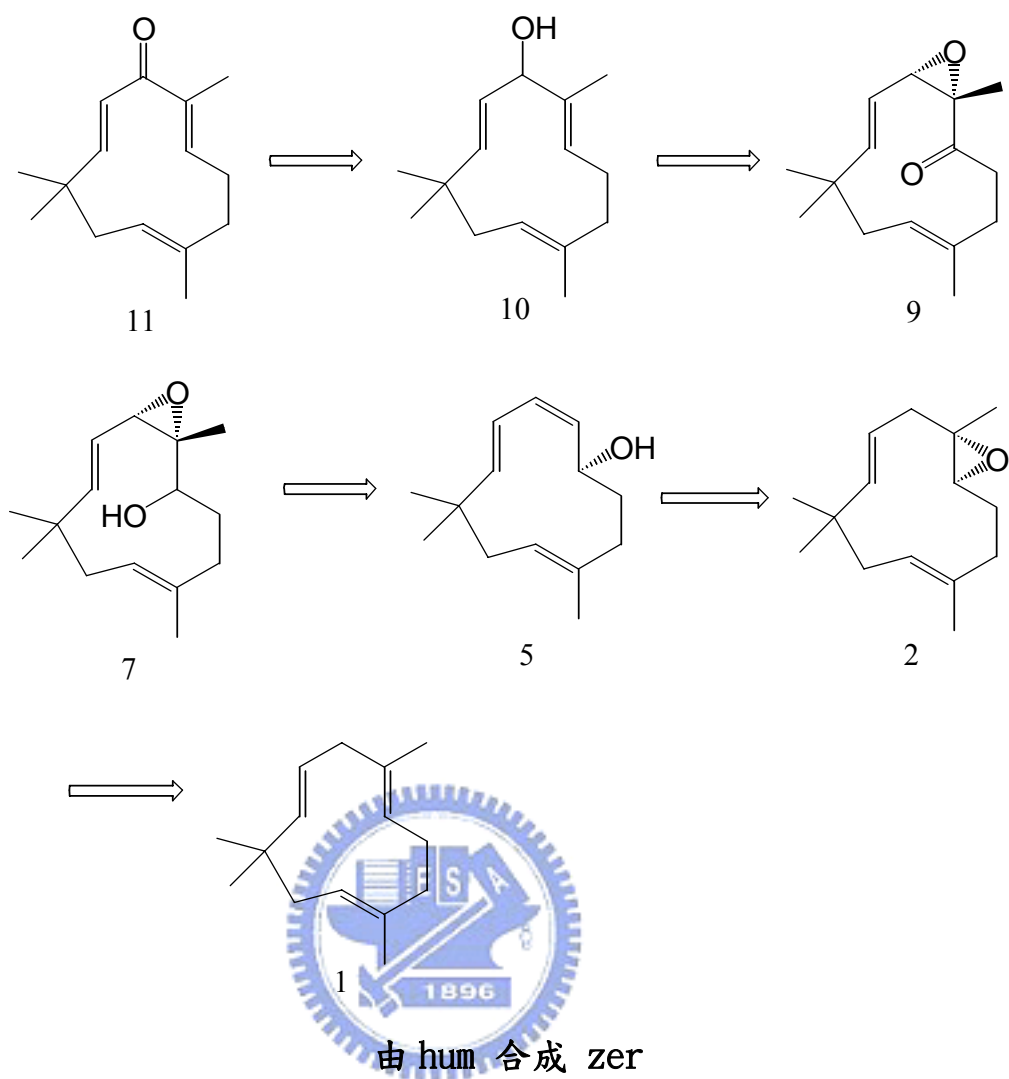
第三章 合成策略

由於 zerumbone 對於抗癌的活性有很好的效果⁵⁴，但在於正常細胞毒性方面卻過高，所以我們利用合成更改他的官能基想藉此希望能提高其活性降低其正常細胞毒性並進一步的探討出其結構與活性之間的關係 (SAR= structure and activity relationship)，因為 zerumbone 的萃取不易所以所得的量有限，除了台北醫學大學王較瓊教授實驗室萃取提供外，而由於在 1981 年 Haruhisa Shirahama 等人利用 α -hum 這個化合物進而合成 zerumbone (zer)。

合成策略一



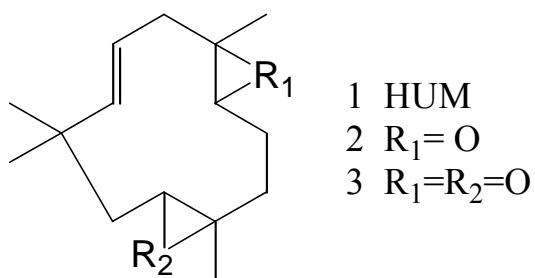
我們將此合成過程的中間產物以及副產物作為我們的合成策略的第一步，希望藉此可以篩選出不錯的球薑酮衍生物，亦可以節省 zer 的用量，下圖即為由 hum 合成 zer 之合成步驟，其中間產物有 CPD2、CPD5、CPD7、CPD9、CPD10 與 hum (CPD1)、zer (CPD11)。進行第一步的抗癌活性篩選，其中篩選出 CPD2、CPD5 與 CDP10 具有不錯的活性，故將這三個中間產物加上原本的 hum (CPD1) 與 zer (CPD11) 開始進行化學修飾，目的在於保留原本所具有之官能基並且在可以修飾之部位加入 R group，期望可以得到更好的抗癌活性結果並可以成為之後新抗癌藥物之 lead compound。



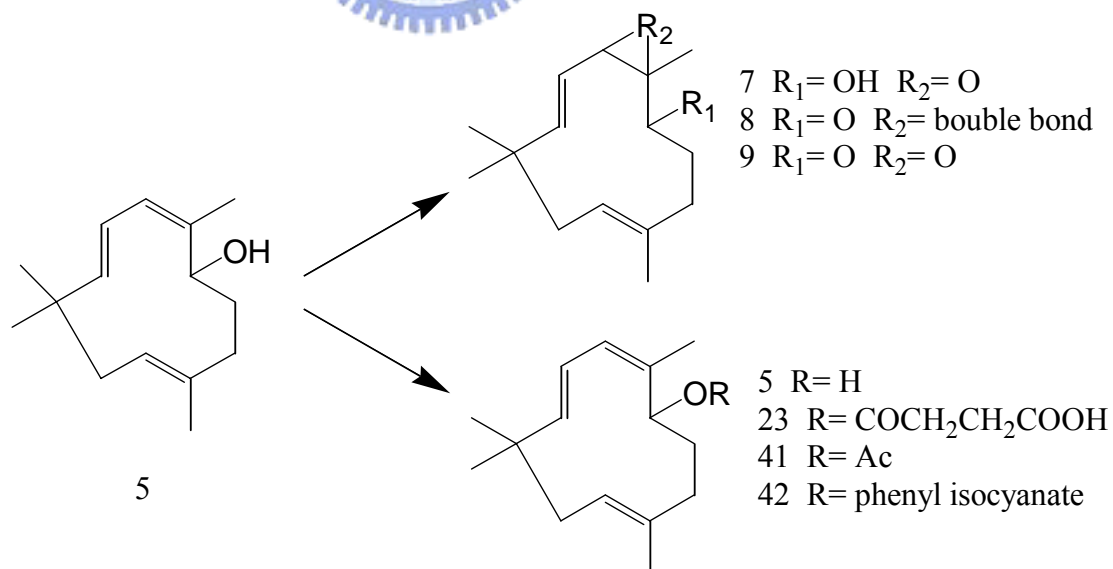
合成策略二

我們將其化合物分為下列七個種類，分別加以修飾

I humulene epoxide：因為由抗癌活性測試中得知，CPD1 的抗癌活性稍弱但是 CPD2 的抗癌活性卻相當不錯，所以試著將第二的雙鍵也進行環氧化，測試是否能有更好的效果。

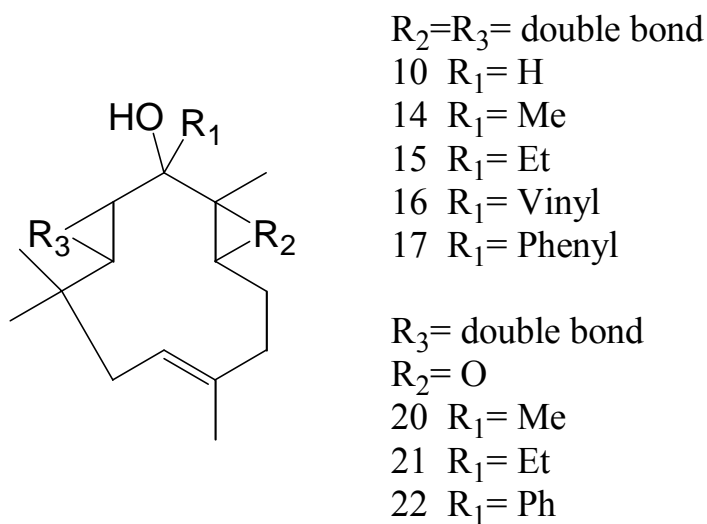


II humulenol : CPD5 的抗癌活性與 zer 本身相當接近，他本身的結構已經與 zer 有相當程度的差別但是化學性質卻較 zer 穩定而且所帶有的 -OH 基亦可繼續進行合成，故我們想了解幾個問題(1)在 6 的位置是否必須為 -OH 可否為 =O 呢？(2)allylic alcohol 的雙鍵是否為必須？(3)-OH 在接上 R group 後是否會有活性上的幫助？基於這三個問題故我們將 CPD5 作一系列的化學修飾得到下列化合物。



III epoxide alcohol：由於 CPD2、CPD10 的抗癌效果接不錯故

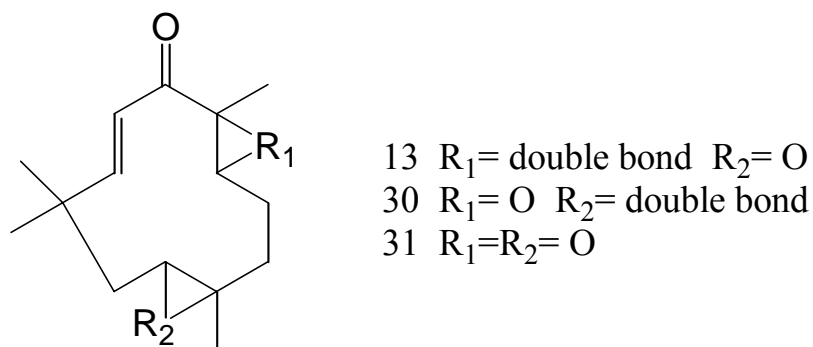
我們將兩者合併希望各取其優點希望可以提升其活性效果。



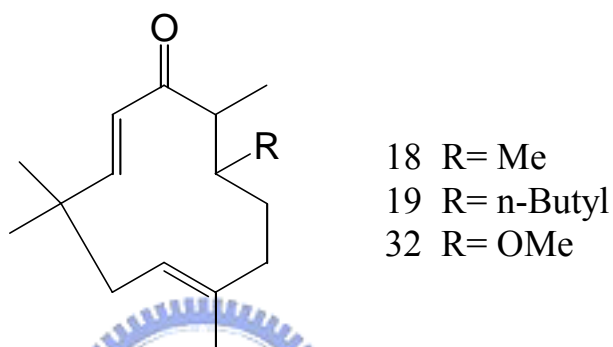
$R_2=R_3=$ O
 33 $R_1=$ Me
 34 $R_1=$ Ph

IV ketone epoxide：CPD13 的抗癌效果有相當的程度我們想了

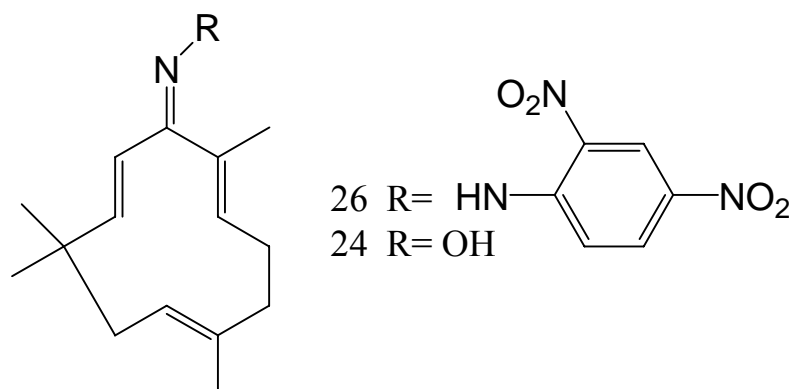
解是否其中可藉由雙鍵的環氧化可增加或減低活性？



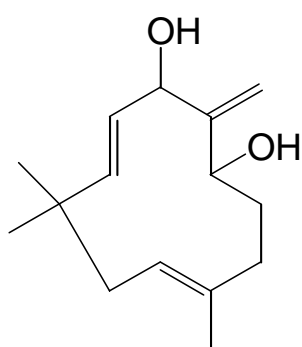
V α,β -unsaturated ketone：由文獻中發現在 2002 年由Akira Murakami 等人發現其zer 抗發炎($\text{TNF-}\alpha$)²² 之機制宣稱必須保留其 α,β -unsaturated ketone，故我們藉由保留這個部分想知道是否這個部分對於抗癌活性仍有幫助？



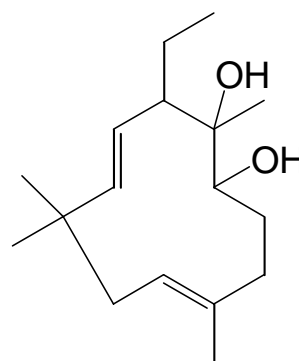
VI oxime：一般我們所看的相關天然物在 8 的位置皆是接氧原子或是單純的 CH_2 ，故我們常是利用不同的原子(氮原子) 想得知這對於抗癌活性上的影響。



VII 合成過程中之副產物



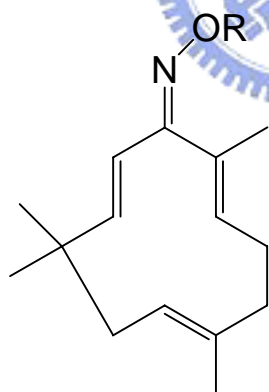
36



35

合成策略三

由於 oxime 的乎哦性相當不錯所以我們在 oxime 的-OH 基街上不同的 R group 希望藉此了解其活性變化!



25 R= Me

37 R= Bn

38 R= Ac

39 R= phenyl isocyanate

40 R= CH₂COOH

第四章 實驗方法與藥品器材

4-1 藥品與材料儀器

4-1-1 實驗用藥品與試劑

本論文所使用之藥品與試劑分別購於下列廠商

- (1) Merk : CDCl_3
- (2) Acros
- (3) TCI : Humulene
- (4) Lacaster
- (5) Adrich
- (6) TEDIA : EA、hexane、acetone、DCM、ether
- (7) 台北醫學大學王靜瓊老師實驗室 : zerumbone⁵⁴



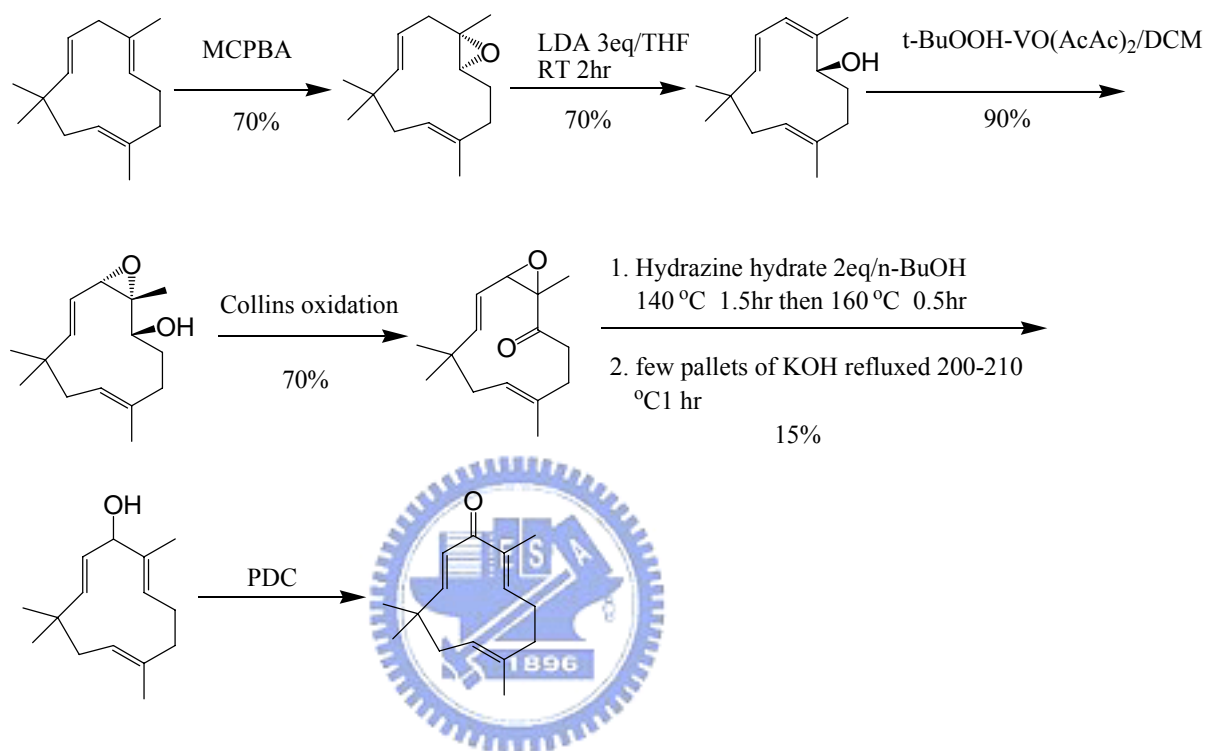
4-1-2 儀器

- (1) FT-IR 紅外線光譜儀 (FT-730)
- (2) GC 氣相層析儀 (HP 4890A)
- (3) GC-MASS 氣相層析質譜儀 (PERKIN ELMER/Turbo Mass)
- (4) $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ NMR 碳及氫合磁共振光譜儀 (Varian Unity Inova-500)
- (5) 管柱層析法 (silica gel 60 / 0.063mm-0.200mm/Merk)
- (6) 薄層層析法 (silica gel 60 F₂₅₄)

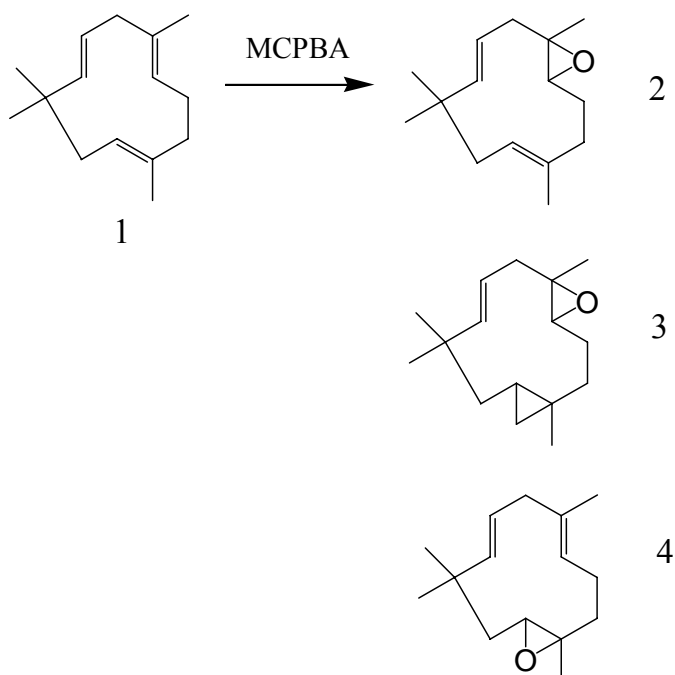
(7) HR-Mass 高解析質譜儀 (清大貴儀中心)

4-2 實驗方法

4-2-1 合成zer⁷

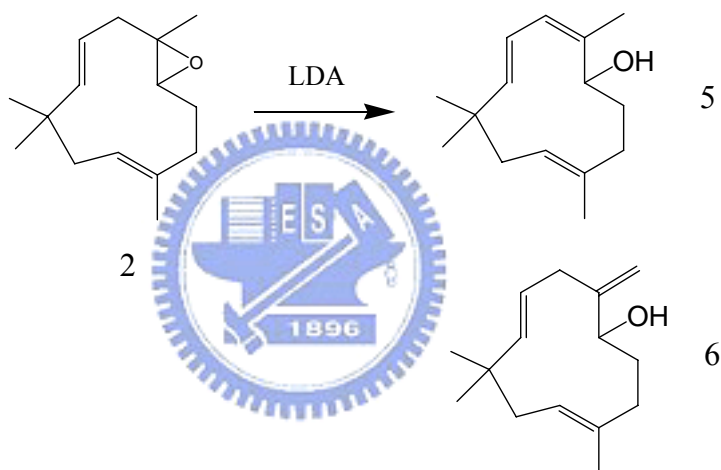


STEP 1



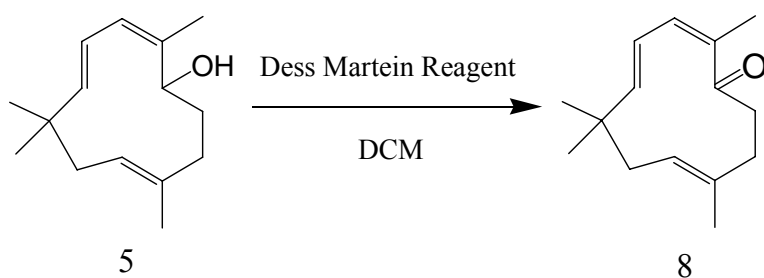
取 humulene (CPD1) 200 mg (0.98 mmole) 溶於 15 ml DCM 中，於 -20°C 下加入 MCPBA 389 mg (1.07 mmole) 反應 6 小時後，升溫到 $-6^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ 反應 24 小時。反應結束後用 5 % NaHCO_3 水溶液萃取三次，利用 silica gel 純化⁴³。得產物 humulene epoxide II (CPD2) 1 195 mg，產率 85 %。另外還可得到 humulene diepoxide (CPD3)。

STEP 2



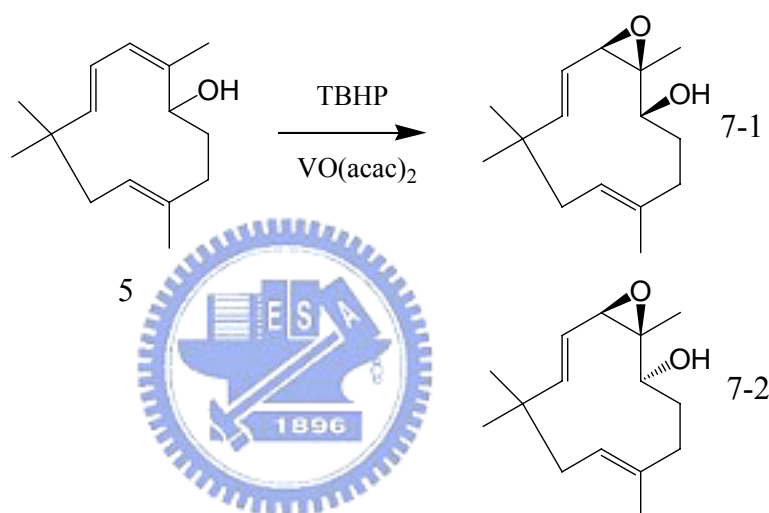
取 humulene epoxide II (CPD2) 10 mg (0.045 mmole) 溶於 2 ml 的 THF 中，氮氣下加入 LDA 0.0067 ml (2M in THF)，室溫下反應 2 hr。反應完後用 HCl 水溶液 (pH=2) 萃取三次，之後利用 silica gel – AgNO_3 純化分離^{43, 36}得產物 humulenol (CPD5)，產率 70 %。

STEP 2-1⁴⁴



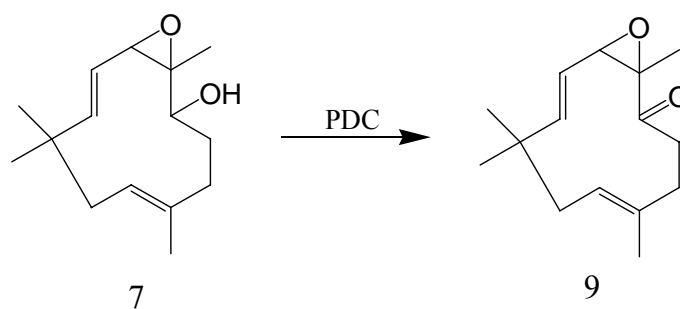
取 humulenol (CPD5) 10 mg (0.045 mmole) 溶於 15 ml DCM 中，於 0 °C 下加入 Dess-Martin Reagent (15% in DCM) 50 mg (0.127 mmole) 反應 24 小時後，升溫到室溫反應 24 小時。反應結束後用 silica gel 過濾後，利用 silica gel 純化。得產物 CPD8 8.3 mg , 產率 85 %。

STEP 3⁴²



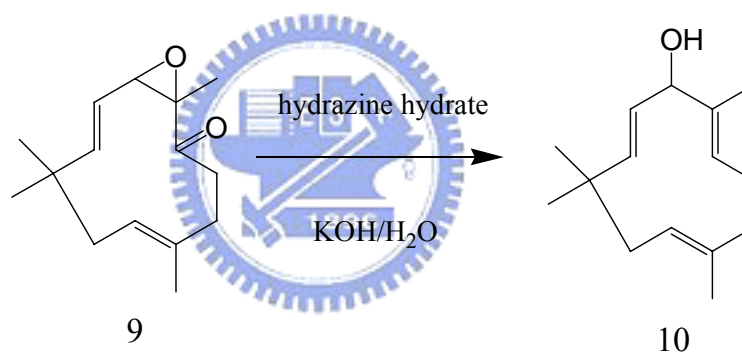
取 10 mg Humulenol (CPD5) 和 1.15 mg VO(acac)₂ 溶於 2 ml DCM 中，0 °C 下攪拌五分鐘後加入 TBHP，加入後恢復室溫反應三小時。反應結束後先將 DCM 抽乾加入水，再用 ether 萃取，利用 silica gel 純化分離得到 epoxyalcohol 7-1 8.5 mg 與 epoxyalcohol 7-2 1.7 mg。^{47, 44}

STEP 4



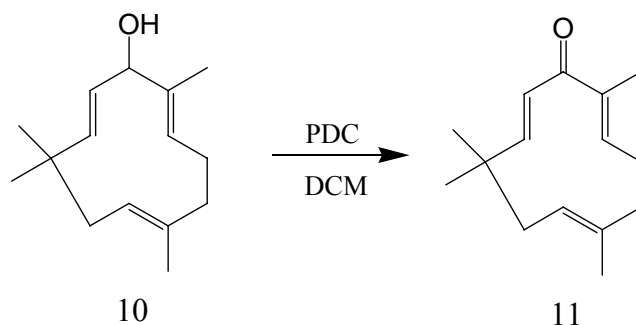
氮氣下在 2 ml DCM 中加入 50 mg PDC 攪拌 30 分鐘後，加入 10 mg epoxyalcohol (CPD7) 室溫下反應 48 小時。利用 silica gel 純化分離得一 epoxyketone 6.8 mg，產率約 68 %

STEP 5



取 20 mg epoxyketone (CPD9) 溶於 n-BuOH 中，氮氣下加入 20 μ l hydrazine hydrate 於 140 °C 反應 1.5 小時後，加入少量 KOH 於 160 °C 反應 0.5 小時，最後 200 ~ 210 °C 回流 1 小時。反應結束後加入水與 2N HCl 水溶液後用 ether 萃取，利用 silica gel 純化分離得 zerumbol 1.5 mg，產率 10 %。

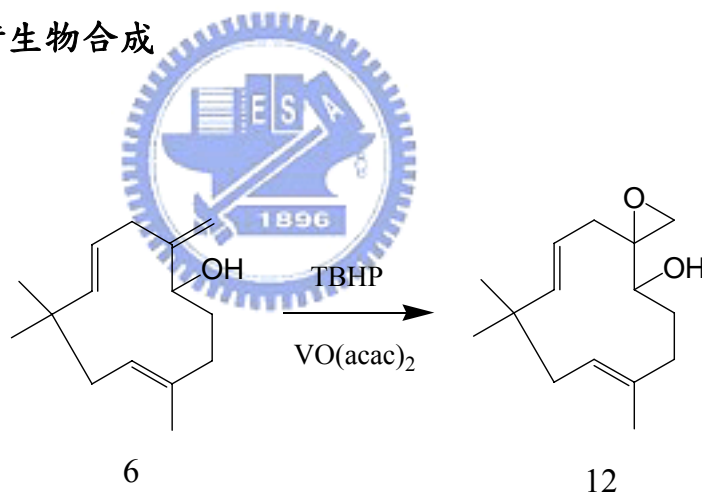
STEP 6



取 zerumbol 10 mg (0.045 mmole) 溶於 15 ml DCM 中，於 0 °C 下加入 PDC 50 mg (0.127 mmole) 反應 24 小時後，升溫到室溫反應 24 小時。反應結束後用 silica gel 過濾後，利用 silica gel 純化。得產物 zerumbone (CPD11) 9 mg，產率 95 %。

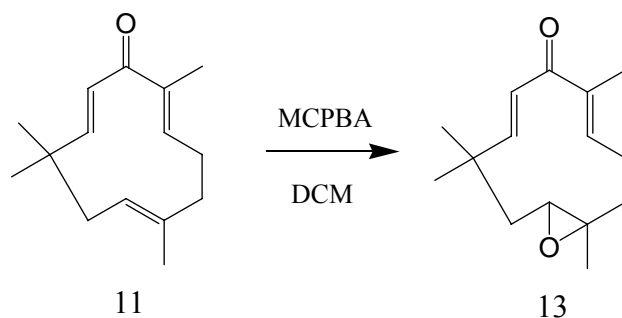
4-2-2 zer 之衍生物合成

STEP 7



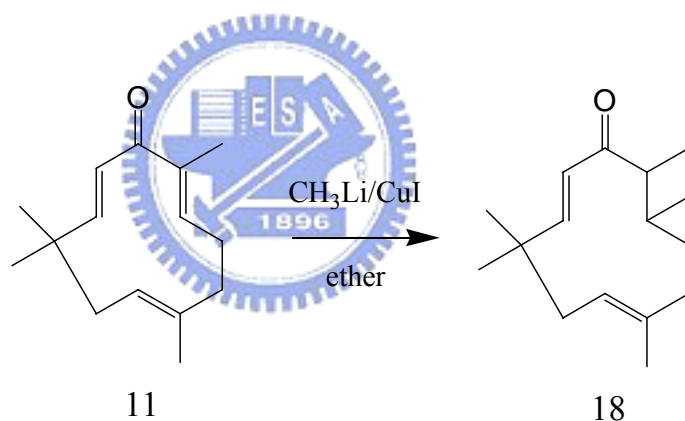
取 10 mg CPD6 (0.0455 mmole) 和 1.15 mg VO(acac)₂ 溶於 2 ml DCM 中，0 °C 下攪拌五分鐘後加入 1.5 eq 的 TBHP，加入後恢復室溫反應三小時。反應結束後先將 DCM 抽乾加入水，再用 ether 萃取，利用 silica gel 純化分離得到 CPD12 產率 90%。

STEP 8



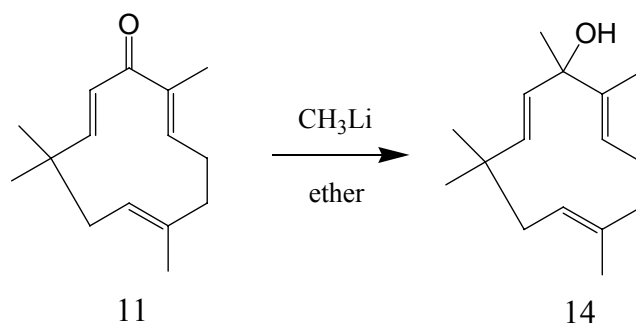
取 zerumbone 10 mg (0.046 mmole) 溶於 1 ml DCM 中，於 -20°C 下加入 MCPBA mg (0.069 mmole) 反應 6 小時後，升溫到 $-6^{\circ}\text{C} \sim -10^{\circ}\text{C}$ 反應 24 小時。反應結束後用 5 % NaHCO_3 水溶液萃取三次，利用 silica gel 純化。得產物，產率 99 %。

STEP 9⁴⁸



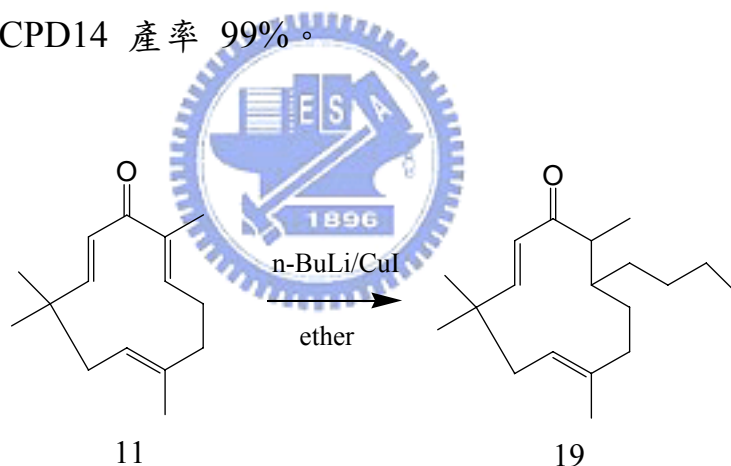
取 21.9 mg 的 CuI (0.115 mmole) 溶於 1 ml 的 ether 中，室溫下攪拌 15 分鐘，於 -78°C 加入 CH_3Li (1M in ether) 1.05 ml 攪拌 10 分鐘後，緩慢滴加入 zerumbone (5 mg in 0.5 ml ether) 攪拌 20 分鐘恢復室溫，利用利用飽和 NH_4Cl 水溶液終止反應，加入水後利用 ether 萃取，再用飽和食鹽水洗有幾層。濃縮抽乾後得一黃色黏稠液體，最後用 silica gel 純化分離得產物 CPD13 產率 88%。

STEP 10



取 zerumbone 5mg (0.023 mmole) 溶於 0.5 ml 的 ether 中，於 -78°C 下加入 MeLi (1M in THF) 後，攪拌兩個小時，利用飽和 NH_4Cl 水溶液終止反應，加入水後利用 ether 萃取，再用飽和食鹽水洗有幾層。濃縮抽乾後得一黃色黏稠液體，最後用 silica gel 純化分離得產物 CPD14 產率 99%。

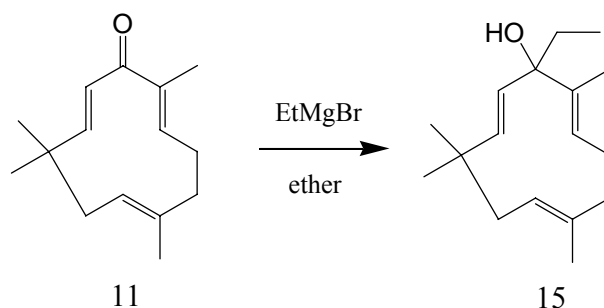
STEP 11³⁰



取 21.9 mg 的 CuI (0.115 mmole) 溶於 1 ml 的 ether 中，室溫下攪拌 15 分鐘，於 -78°C 加入 n-BuLi 1.05 ml (1.6M in hexane) 攪拌 10 分鐘後，緩慢滴加入 zerumbone (5 mg in 0.5 ml ether) 攪拌 20 分鐘恢復室溫，持續反應 12 小時，利用飽和 NH_4Cl 水溶液終止反應，加入水後利用 ether 萃取，再用飽和食鹽水洗有幾層。濃縮抽乾後得一黃色黏稠液體，最後用 silica gel 純化分離得產物 CPD19，

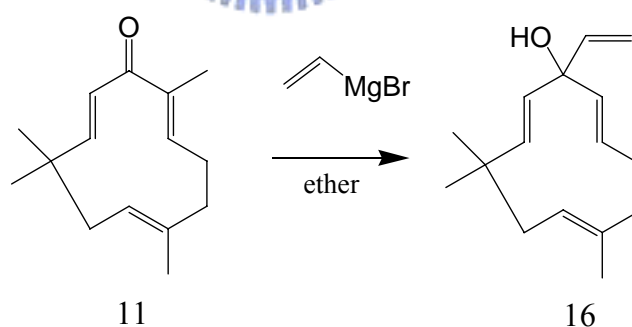
產率 75%。

STEP 12



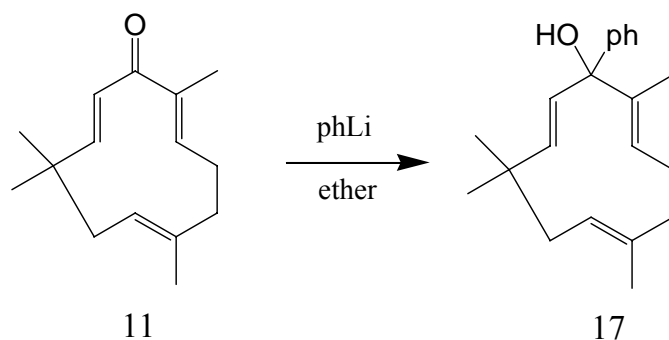
取 5mg 的zerumbone (0.023 mmole) 溶於 0.5 ml 的 ether 中，於 -78°C 下加入 EtMgBr (1M in THF) 後，攪拌兩個小時，利用飽和 NH_4Cl 水溶液終止反應，加入水後利用 ether 萃取，再用飽和食鹽水洗有幾層。得一黃色黏稠液體，最後用 silica gel 純化分離得產物 CPD15，產率 90%。

STEP 13



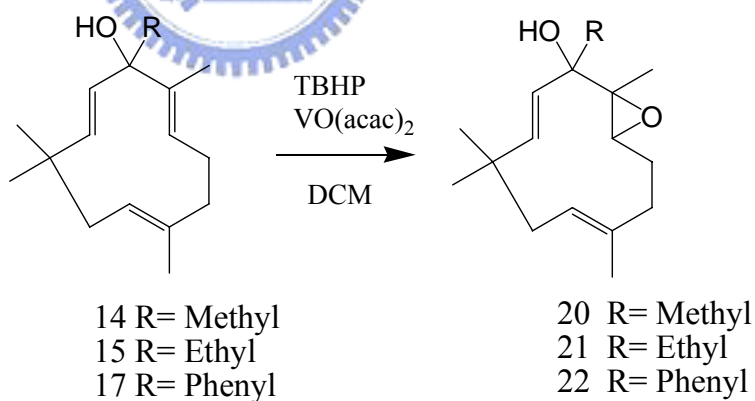
取 5mg 的zerumbone (0.023 mmole) 溶於 0.5 ml 的 ether 中，於 -78°C 下加入 EtMgBr (1.6M in ether) 後，攪拌兩個小時，利用飽和 NH_4Cl 水溶液終止反應，加入水後利用 ether 萃取，再用飽和食鹽水洗有幾層。濃縮抽乾後得一黃色黏稠液體，最後用 silica gel 純化分離得產物 CPD16，產率 78%。

STEP 14



取 5mg 的zerumbone (0.023 mmole) 溶於 0.5 ml 的 ether 中，於 -78°C 下加入 PhLi (2M in cuclohexane/ether) 後，攪拌兩個小時，利用飽和 NH_4Cl 水溶液終止反應，加入水後利用 ether 萃取，再用飽和食鹽水洗有幾層。濃縮抽乾後得一黃色黏稠液體，最後用 silica gel 純化分離得產物 CPD 17 產率 80%。

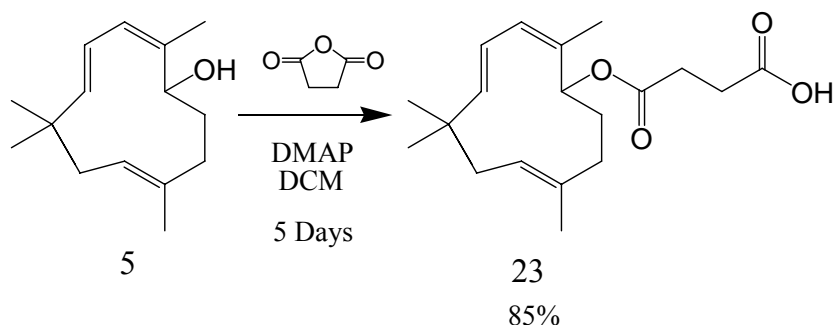
STEP 15



取 5 mg allylic alcohol (CPD14、CPD15、CPD17) 和 1 mg $\text{VO}(\text{acac})_2$ 溶於 1 ml DCM 中，溶液呈現深綠色， 0°C 下攪拌五分鐘後加入 1.2eq 的TBHP，溶液顏色轉為磚紅色，加入後恢復室溫反應三小時，溶液之磚紅色轉變成黃色。反應結束後先將 DCM 抽乾加

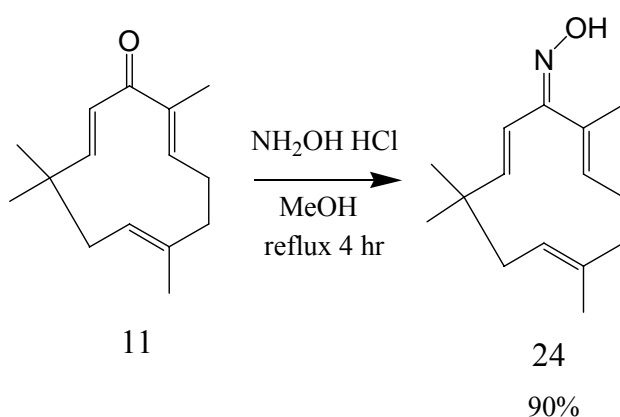
入水，再用 ether 萃取，利用 silica gel 純化分離得到 epoxyalcohol (CPD20、CPD21、CPD22) 產率 (50%、40%、35%)。^{41、52}

STEP 16



取 humulenol 5 mg (0.023 mmole) 溶於 1 ml 的 DCM 中，加入 DMAP 0.5 mg 為 solvent A。之後將 3 eq 的 succinic anhydride 溶於 2 ml 的 DCM 為 solvent B。最後將 solvent B 加入 solvent A 加熱回流五天。利用 silical gel 純化分離得 CPD23 產率 85%。

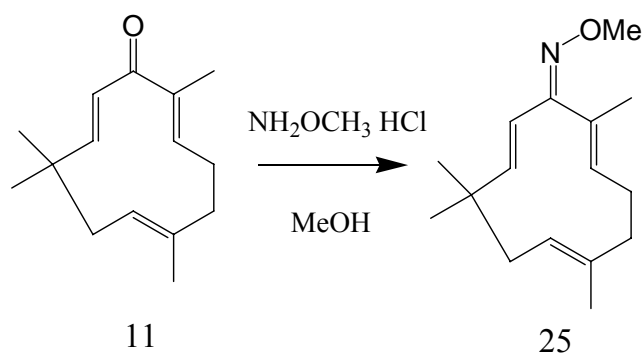
STEP 17



將 hydroxylamine 溶於飽和碳酸氫鈉水溶液中使成中性，後與 zerumbone 一同加入 MeOH 中，加熱回流四小時，反應結束後加入冰

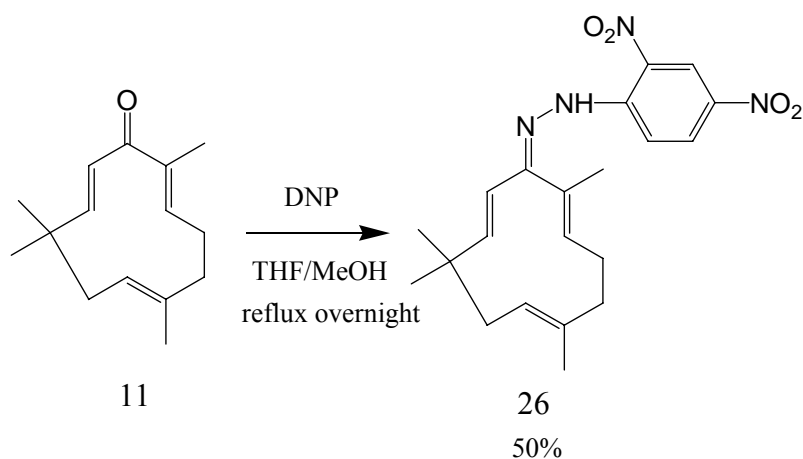
水用 DCM 萃取後取有機層，再用飽和食鹽水萃取，抽乾後利用 silical gel 純化得產物 CPD24，產率 90%。

STEP 18⁴⁵



先將 $\text{NH}_2\text{OCH}_3\cdot\text{HCl}$ 溶於飽和碳酸氫鈉水溶液中使之成中性後加入 1 ml 甲醇，在加入 zerumbone 迴流 3 小時後加入水用 ether 萃取，抽乾後用 silica gel 純化分離得 CPD25 (包括 Z from 與 E from) 產率 90%。

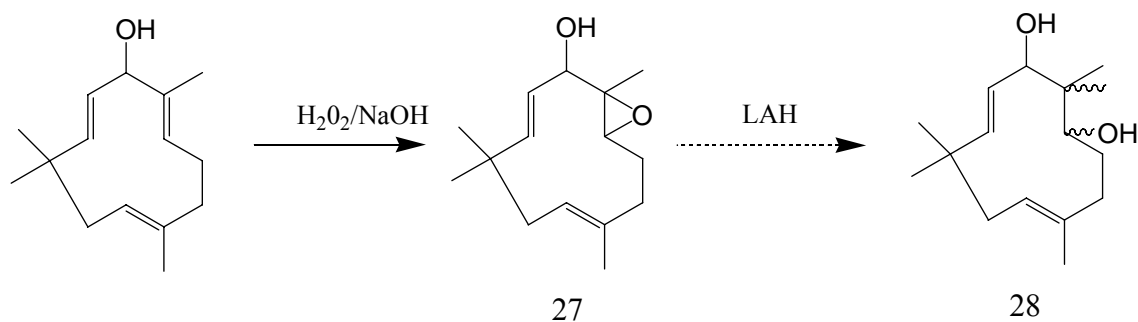
STEP 19



取 zerumbone 5mg (0.023 mmole) 與 dinitrophenylhydrazine 13.67 mg (0.07 mmole) 溶於 THF/MeOH (1/1) 中，加熱回流 24 hr，反應結束

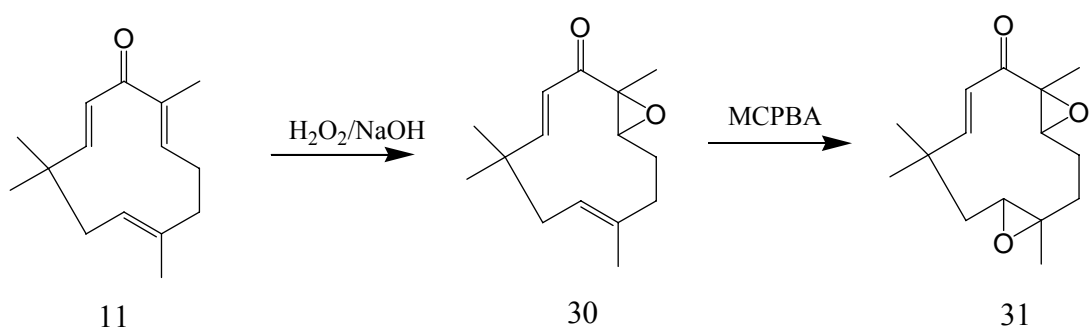
後利用 silica gel 純化分離得產物 CPD26，產率 45%。

STEP 20^{51, 46}



取 5 mg allylic alcohol 和 1 mg VO(acac)₂ 溶於 1 ml DCM 中，溶液呈現深綠色，0 °C 下攪拌五分鐘後加入 1.2eq 的 TBHP，溶液顏色轉為磚紅色，加入後恢復室溫反應三小時，溶液之磚紅色轉變成黃色。反應結束後先將 DCM 抽乾加入水，再用 ether 萃取，利用 silica gel 純化分離得到 epoxyalcohol (CPD27)產率 90%。

STEP 21⁵⁰



CPD 30

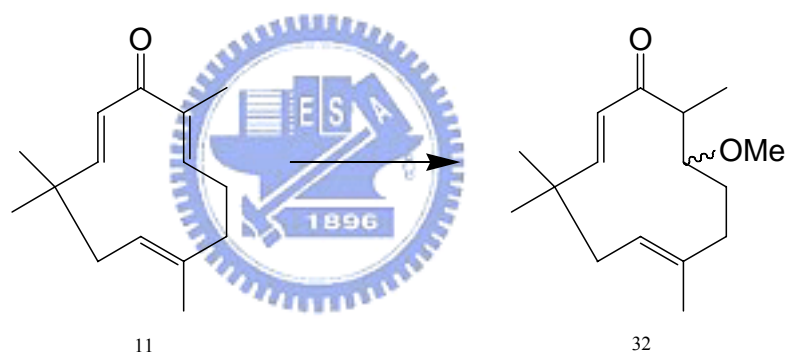
取 15 mg 的 zerumbone (0.07 mmole) 溶於 2 ml 的 DCM 中，先加入 H_2O_2 (30%) 8.6 μl (0.084 mmole) 後，緩慢加入 6M NaOH

水溶液，反應 12 小時。反應結束後加入水用 DCM 萃取三次，利用 silica gel 純化分離，得產物 CPD 30，產率 70%。

CPD31

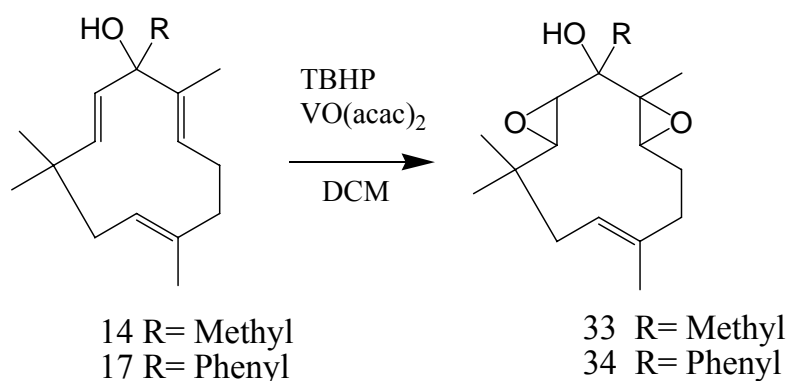
取 8 mg 的 CPD30 (0.03 mmole) 溶於 1 ml 的 DCM 中，於 0°C 下加入 1.5 eq 的 MCPBA 反應 4 小時。反應結束後利用 5% 的 NaHCO₃ 水溶液萃取 3 次，利用 silica gel 純化分離得產物 CPD31，產率 99%。

STEP 22



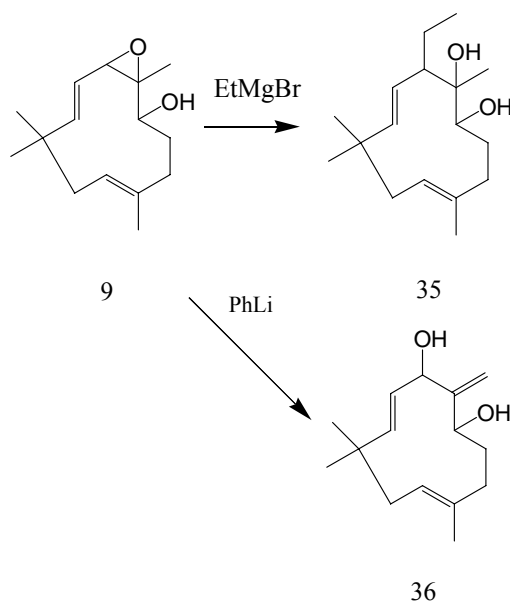
取 5mg 的 zerumbone (0.023 mmole) 溶於 3 ml 的 MeOH 中，加入 t-BuOK 當催化劑，於室溫下反應 18 小時。反應結束後加入水並用 EA 萃取三次，利用 silica gel 純化分離得產物 CPD32，產率 75%。

STEP 23



取 10 mg cpd 14 (or cpd 17) 和 1.15 mg VO(acac)₂ 溶於 2 ml DCM 中，0 °C 下攪拌五分鐘後加入過量 TBHP 取 5mg 的 zerumbone (0.023 mmole) 溶於 0.5 ml 的 ether 中，0 °C 下加入後恢復室溫反應三小時。反應結束後先將 DCM 抽乾加入水，再用 ether 萃取，利用 silica gel 純化分離得到 CPD33、CPD34，產率 (80%、75%)。

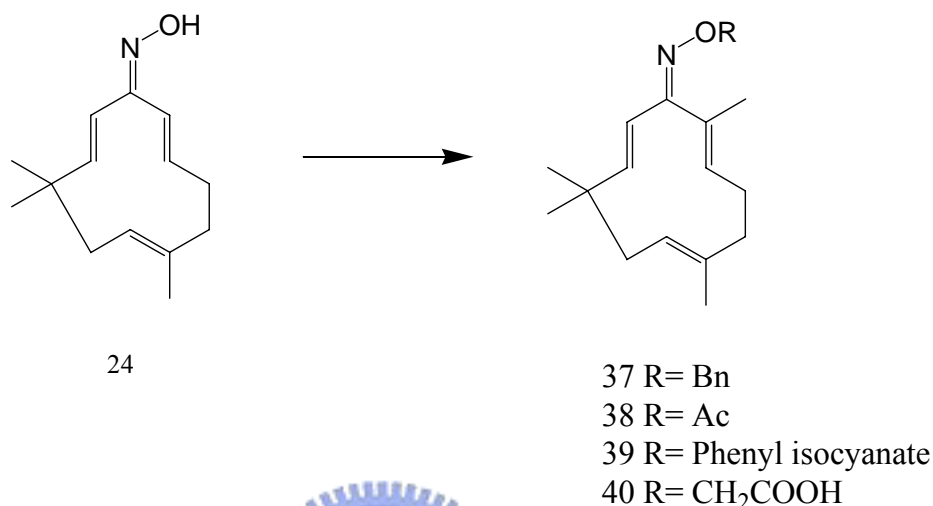
STEP 24



取 5 mg epoxide alcohol (CPD9) 溶於 0.5 ml THF 中，-78°C 下滴加

入EtMgBr反應 1 小時，反應結束後加入飽和NH₄Cl水溶液再用 ether 萃取，利用 silica gel 純化分離得到產物CPD35 產率 45%。

STEP 25



CPD37

取 CPD24 (包括 Z from 與 E from) 5 mg 溶於 0.5 ml 丙酮中，並加入少量 KOH 與 benzylbromide 20 mg，回流兩個小時，反應結束後加入水用 ether 萃取，抽乾後利用 silica gel 純化後得到 CPD37 (包括 Z from 與 E from)。產率 85%。

CPD38

取CPD24 (包括Z from與E from) 5 mg 溶於 0.5 ml DCM中並，加入 3 eq Et₃N與醋酸酐 20 mg，回流兩個小時，反應結束後加入水用ether 萃取，抽乾後利用 silica gel 純化後得到 CPD38 (包括Z from與E from)。產率 85%。

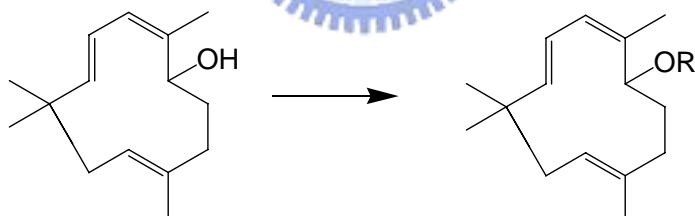
CPD39

取 CPD24 (包括 Z from 與 E from) 5 mg 溶於 0.5 ml DCM 中，並加入少量 DMAP 與 phenyl isocyanate 20 mg，回流兩個小時，反應結束後加入水用 ether 萃取，抽乾後利用 silica gel 純化後得到 CPD39 (包括 Z from 與 E from)。產率 85%。

CPD40

取 zerumbone 5 mg 溶於 0.5 ml (1/5 的 Ac/Py) 中，並加入 $\text{Cl}^-\text{H}_3\text{NOCH}_2\text{COOH}$ 20 mg，回流兩個小時，反應結束後加入 0.5M HCL 水溶液後，用 EA 萃取抽乾後利用 silica gel 純化後得到 CPD40 (包括 Z from 與 E from)。產率 85%。

STEP 26



41 R=Ac
42 R= Phenyl isocyanate

CPD41

取 humulenol (CPD5) 5mg 溶於 0.5 ml DCM 中並，加入少量 DMAP 與醋酸酐 20 mg，回流兩個小時，反應結束後加入水用 ether 萃取，抽乾後利用 silica gel 純化後得到 CPD41。產率 95%。

CPD42

取 CPD5 5 mg 溶於 0.5 ml DCM 中，並加入少量 DMAP 與 phenyl isocyanate 20 mg，回流兩個小時，反應結束後加入水用 ether 萃取，抽乾後利用 silica gel 純化後得到 CPD42 率 90%。

