

國立交通大學

應用化學系

碩士論文

吳茱萸鹼衍生物合成及其細胞毒性之研究

Study on the Synthesis and Cytotoxic Activity
of the Derivatives of Evodiamine

研究生：詹建邦

指導教授：莊祚敏 教授

中華民國九十四年七月

吳茱萸鹼衍生物合成及其細胞毒性之研究

Study on the Synthesis and Cytotoxic Activity
of the Derivatives of Evodiamine

研究生：詹建邦

Student : Chien-Pang Chan

指導教授：莊祚敏

Advisor : Dr. Tzuoh-Miin Juang

國立交通大學

應用化學系

碩士論文

A Thesis

1896

Submitted to Department of Applied Chemistry

College of Science

National Chiao Tung University

in partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Science

In

Applied Chemistry

July 2005

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十四年七月

吳茱萸鹼衍生物合成及其細胞毒性 之研究

研究生：詹建邦

指導教授：莊祚敏博士

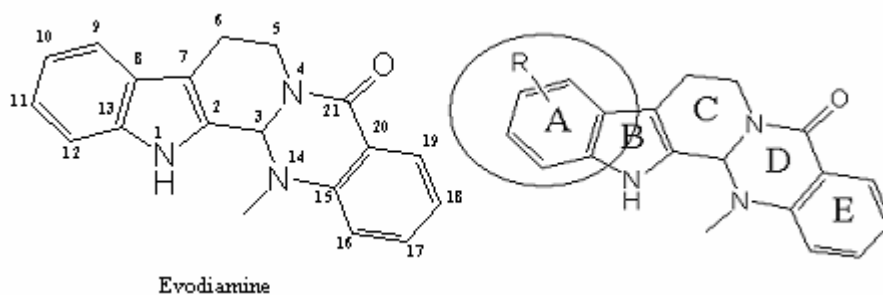
國立交通大學應用化學所碩士班



吳茱萸 (*Evodia rutaecarpa*) 為芸香科植物其成熟乾燥果實為我國民間傳統常用藥物之一¹。吳茱萸中主要具藥理活性之生物鹼 (quinazoline alkaloids) 包括rutaecarpine、evodiamine 及 dehydroevodiamine 等。研究顯示，吳茱萸鹼具有多種藥效。最近也發現到吳茱萸鹼對於多種癌細胞具有抑制生長的作用⁶。因此，我們針對吳茱萸鹼結構之改變合成各種衍生物，藉著結構和活性的相關性，期待能開發出新的抗癌藥物。

本論文的實驗部分分為三個部分,第一部分為吳茱萸鹼的全合成

反應，我們採用Kamikado教授的合成方法⁹，由tryptamine為起始物經過幾步的合成，得到天物物吳茱萸鹼(evodiamine)。第二部分則是合成吳茱萸鹼之衍生物，我們先作初步的活性篩選，推論說在左邊A環上去做改變有比較好活性，在經由不同位置的烷基化和醯化反應，來合成各種的衍生物。第三部分則是衍生物之生物活性測試，經過結構和活性的相關性。我們得到幾點結論，第一點在 1 號位置保持free indole group是比較好的。第二點在 10 號位置接有C=O的衍生物有不錯的抑制效果。第三點在 10 號位置做烷基化的衍生物對HT-29 癌細胞較有活性，但是碳鏈不能超過三個碳。第四點於 14 號位置上使用硫原子取代原有的N-methyl group可以提升活性。



圖一、吳茱萸鹼結構與活性探討位子

Study on the Synthesis and Cytotoxic Activity of the Derivatives of Evodiamine

Student : Chien-Pang Chan

Advisor : Dr. T. M. Juang

Institute of Applied Chemistry

National Chiao Tung University



Abstract

Evodiamine is the main quinazoline alkaloids isolated from *Evodia rutaecarpa*. Previous studies have shown that evodiamine have many pharmacological activities. Recently, it has been reported that evodiamine exerts an antiproliferative effect on several cancers.

We have synthesized a series of 1,10-substituted and D ring modified evodiamine derivatives, which were tested for *in vitro* anticancer activity on three cancer cell lines. The SAR studies of this series of compounds. We found some conclusions of SAR observations. First, at N-1 position without any substituent showed better activity than the ones that have substituent. Second, the ester linkages derivatives at C-10 position was

found to be potent. Third, the alkylation compounds have more cytotoxic activity of HT-29 cell lines, the substituted group couldn't have more than three carbon. Fourth, we used sulfur substituted for N-methyl group was show more potent than evodiamine.



謝誌

本論文承蒙指導教授莊教授的指導以及工業技術研究院生醫中心和台北醫學院王靜瓊副教授合作，得以完成。首要感謝我的指導教授莊教授以及生醫中心的李連滋組、長黃崇雄經理，他們提供了完善的實驗設備還有細心的指導。接著要謝謝所有在生醫中心的同仁包括：岩芳學姊、美華學姊、陳志宏大哥、葉俊邦大哥、孟昀大姐、秘書舒蓉等人幫助我在實驗跟課業上的協助。當然還要多謝實驗室的兩位同學小潔跟阿廖的幫忙也讓這兩年的生活增加許多歡笑與樂趣。同時對於台北醫學院的王教授和簡廷易學長幫忙做的生物活性測試真的很感謝他們，尤其在最後學長很拼命的幫我完成，真的萬分感謝阿。最後要謝謝我的家人支持以及陪伴我的朋友學校的同學和學弟們的鼓勵，使得學業得以順利完成，願將一切成果和喜悅與之分享。

英文縮寫對照表

NMR Nuclear magnetic resonance 核磁共振

FAB-MS Fast-atom bombardment mass spectroscopy 高速原子撞擊
質譜

EI-MS Electron impact mass spectroscopy 電子衝擊質譜

HPLC High-performance liquid chromatography 高效能液相層析儀

LC-MASS 液相層析質譜儀

FT-IR Fourier transform infrared 傅力葉紅外光譜

HeLa Human cervical epithelioid carcinoma 人類子宮頸(上皮)癌

HT-29 human colon cancer cells 結腸癌

Colon26-L5 cells 老鼠結腸腺癌細胞

Colon SW620 結腸腺癌細胞

RAW 264.7 cells 老鼠巨噬細胞

AGS 胃癌細胞株

THP-1 人類白血病細胞株

A375-S2 人類惡性黑色素癌細胞株

MCF-7 human breast cancer cells 乳癌

iNOS inducible isoform of nitric oxide synthase

Evo evodiamine 吳茱萸鹼

EA ethyl acetate 乙酸乙酯

THF tetrahydrofuran 四氫呋喃

MeOH methanol 甲醇

Ac acetyl 乙醯基

Me methyl 甲基

Ph phenyl 苯基

R alkyl 烷基

TEA triethylamine 三乙基胺

TFA trifluoroacetic acid 三氟醋酸

BnBr benzyl bromide 溴化甲基苯

DIBOC di-tert-butyl dicarbonate 二碳酸二特丁酯

DMAP dmethylaminopyridine 二甲基氨基吡啶

LDA lithium diisopropylamide 二異丙胺化鋰

MTT 3- [4, 5-dimethylthiazol-2-yl] -2,5-diphenyltetrazolium bromide

IC₅₀ The concentration of 50% inhibition 抑制50%所需的濃度

SAR structure and activity relationship

GI₅₀ 為評估癌細胞cell-line抑制指標

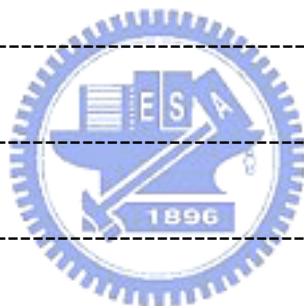
Bcl2 B-cell CLL/lymphoma 2



目 錄

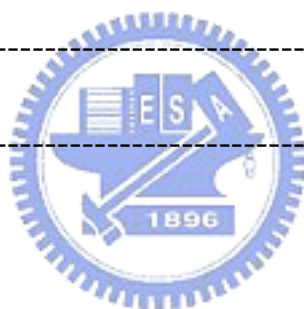
	頁數
中文摘要-----	I
英文摘要-----	III
謝誌-----	V
縮寫及中英文對照-----	VI
目錄-----	VIII
表目錄-----	X
圖目錄-----	XI
第一章、緒論-----	1
1-1 前言-----	1
1-2 吳茱萸-----	2
1-3 吳茱萸之文獻回顧-----	4
1-3-1 吳茱萸之合成-----	4
1-3-2 chemistry of evodiamine -----	9
1-3-1 吳茱萸之藥理活性-----	10
第二章、研究構想與合成策略-----	13
第三章、合成經過與討論-----	19
第四章、實驗方法與藥品材料-----	24
4-1 藥品材料-----	24

4-1-1 實驗用藥品與試劑-----	24
4-1-2 實驗儀器-----	25
4-2 實驗步驟-----	26
4-2-1 吳茛菪鹼合成-----	26
4-2-2 吳茛菪鹼衍生物合成-----	29
第五章、抗癌活性測試結果與討論-----	58
5-1 細胞毒性試驗-MTT assay -----	58
5-2 細胞毒性測試結果-----	58
第六章、結論-----	70
參考文獻-----	73
附錄-----	



表目錄

表一	20
表二	59
表三	60
表四	62
表五	64
表六	65
表七	66
表八	68
表九	70



圖目錄

圖一	-----	II
圖二	-----	2
圖三	-----	3
圖四	-----	4
圖五	-----	5
圖六	-----	5
圖七	-----	6
圖八	-----	7
圖九	-----	8
圖十	-----	9
圖十一	-----	14
圖十二	-----	14
圖十三	-----	15
圖十四	-----	15
圖十五	-----	16
圖十六	-----	16
圖十七	-----	17
圖十八	-----	17



圖十九	-----	18
圖二十	-----	19
圖二十一	-----	20
圖二十二	-----	21
圖二十三	-----	22
圖二十四	-----	22
圖二十五	-----	23
圖二十六	-----	58
圖二十七	-----	59
圖二十八	-----	60
圖二十九	-----	61
圖三十	-----	62
圖三十一	-----	62
圖三十二	-----	63
圖三十三	-----	63
圖三十四	-----	64
圖三十五	-----	64
圖三十六	-----	66
圖三十七	-----	66



圖三十八	-----	67
圖三十九	-----	68
圖四十	-----	72
圖 1	-----	77
圖 2	-----	78
圖 3	-----	79
圖 4	-----	80
圖 5	-----	81
圖 6	-----	82
圖 7	-----	83
圖 8	-----	84
圖 9	-----	85
圖 10	-----	86
圖 11	-----	87
圖 12	-----	88
圖 13	-----	89
圖 14	-----	90
圖 15	-----	91
圖 16	-----	92



圖 17	-----	93
圖 18	-----	94
圖 19	-----	95
圖 20	-----	96
圖 21	-----	97
圖 22	-----	98
圖 23	-----	99
圖 24	-----	100
圖 25	-----	101
圖 26	-----	102
圖 27	-----	103
圖 28	-----	104
圖 29	-----	105
圖 30	-----	106
圖 31	-----	107
圖 32	-----	108
圖 33	-----	109
圖 34	-----	110
圖 35	-----	111

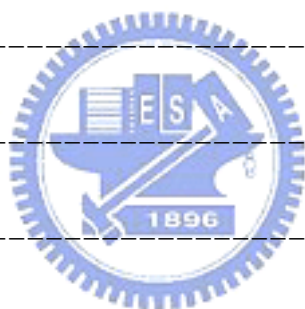


圖 36	-----	112
圖 37	-----	113
圖 38	-----	114
圖 39	-----	115
圖 40	-----	116
圖 41	-----	117
圖 42	-----	118
圖 43	-----	119



第一章、緒論

1-1 前言

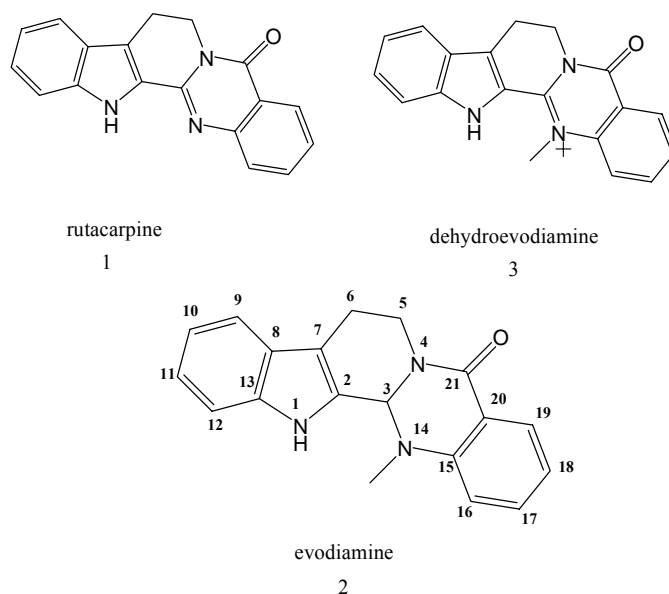
中國醫學擁有千年以上的歷史，傳統民間中草藥亦有數千年使用經驗及療記錄，許多中藥古老典籍當中記載了各類藥物，而這些藥物有些至今仍在使用，這些中藥所具有的療效是肯定的，但多數中草藥之藥物作用機轉並不清楚，因而大大限制了中藥的臨床應用與藥用價值。

中藥應用的特點是多藥併用。目前全世界對中藥的開發，最主要的是希望能找出具有藥效之成份，再將之開發為新藥；其次為萃取具有藥效之部份，開發成健康食品；第三為將確具藥效之方劑，開發成處方藥；第四則為改進古典中藥劑型。實際上，很多新藥開發者已經從某些植物中提煉出一些具藥效的化合物並已上市，如紫杉醇類抗癌藥、喜樹鹼類抗癌藥、抗老化及增強記憶的銀杏(gingo)，和治療關節炎的葡萄胺。所以許多中藥便陸續地被發現了新的功效，使得越來越學著往這方面研究。像有多種藥效的吳茱萸近來就被發現有了抗癌的功效阿。

1-2 吳茱萸(Wu-Chu-Yu)

中藥吳茱萸(Wu-Chu-Yu)為芸香科 (Rutaceae) 植物吳茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 之未成熟乾燥果實，為我國中醫傳統常用藥物之一。神農本草經將吳茱萸列為草部中品，具有溫中下氣、止痛、欬逆寒熱、除濕、血痺、逐風邪、開腠理等功能，為驅風止痛藥，可治胃痛、頭痛、腹痛、痢疾、產後出血及停經等疾病。其中具有藥理活性的生物鹼有 rutaecarpine、evodiamine、dehydroevodiamine

等¹。Evodiamine 分子式: C₁₉H₁₇N₃O 英文命名: 8, 13, 13b, 14-Tetrahydro-14-methylindolo[2', 3':3, 4]pyrido[2, 1-b]quinazolin-5(7H)-one 分子量為303, mp 278°C [α]_D+352° (acetone) 中文命名為吳茱萸鹼屬於生物鹼化合物(alkaloids)。1915年由 Asahina 教授首先從吳茱萸中單離出來，並且和 Ohta 教授合成它⁷。



圖二

吳茱萸為傳統中藥材其中主要成分吳茱萸鹼具有多種藥效，自從被單離出來後，許多學者便多加探討其藥理活性。2001 日本Ogasawara 教授發現吳茱萸鹼具有抑制大鼠結腸癌細胞的轉移和入侵⁶。近幾年許多學者也都投入研究吳茱萸鹼對各種癌症細胞的研究，以及對癌細胞的抑制機制討論。天然物吳茱萸鹼已有不少學者合成過，但是天然物或合成的吳茱萸鹼衍生物並不多見，而且鮮少有結構與活性關係之研究。因此我們以合成的方式對其結構上做了一些化學修飾去探討它對癌細胞的抑制活性與結構上的相關性。



吳茱萸



吳茱萸果實

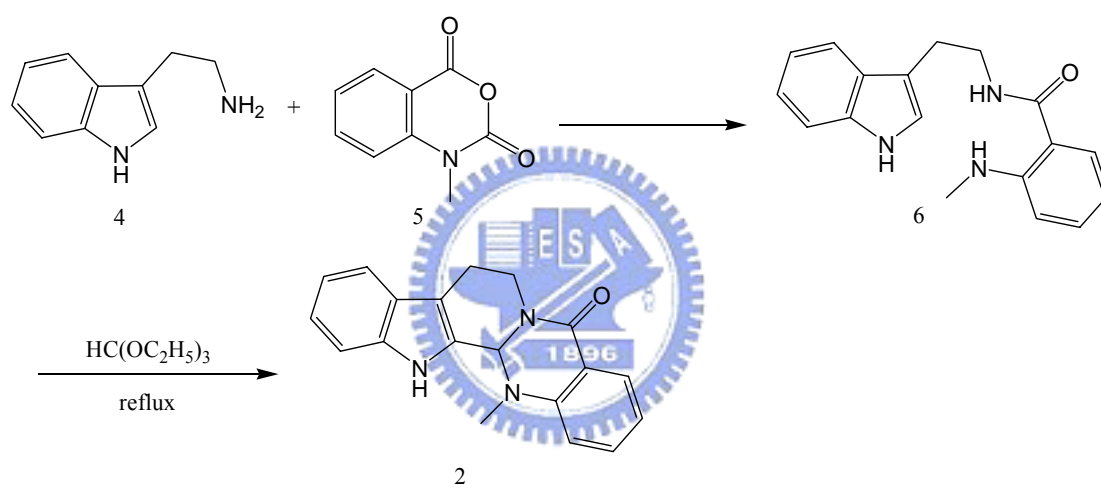
圖三

1-3 吳茱萸之文獻回顧

1-3-1 吳茱萸鹼合成

Synthesis of evodiamine

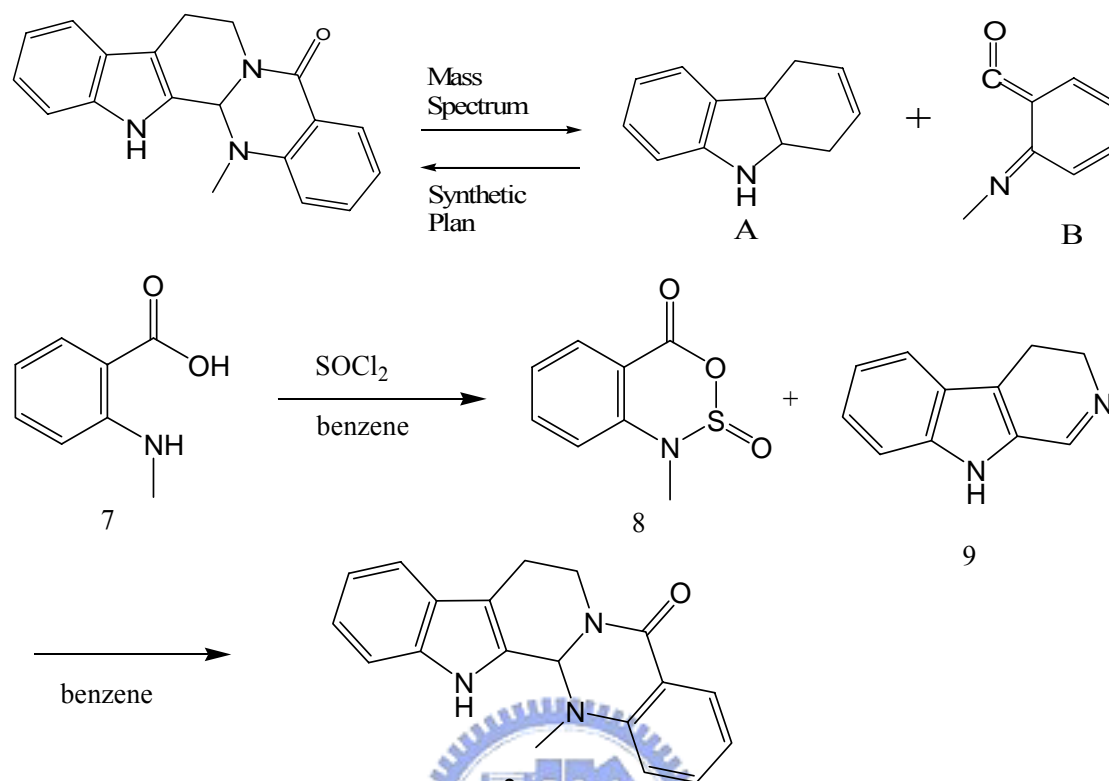
1928 年 Asahina 教授利用化合物 4 跟化合物 5 合成一個中間體化合物 6，使用原甲酸乙酯(ethyl orthoformate)在高溫下合成出 evodiamine⁷。



圖四

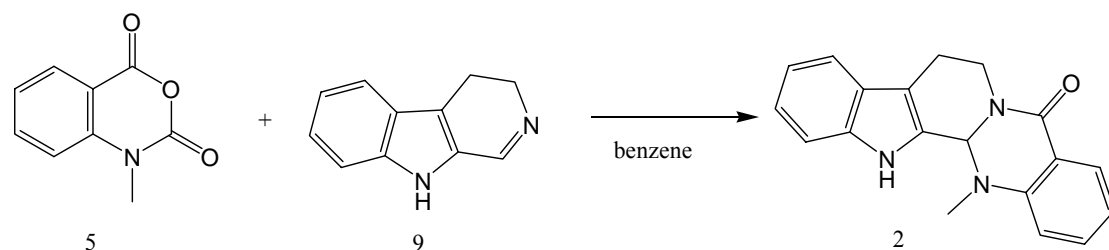
1976 年 Kametani 教授利用 retro Mass-Spectral synthesis 的方式來合成 evodiamine。首先藉由 Mass Spectrum 得到兩個片段 A 跟 B。之後利用化合物 7 跟亞硫醯氯(thionyl chloride)得到一個不穩定的化合物 8 (sulfinamide anhydride)，接著與化合物 9 (3,4-dihydro- β -carboline)進行一個 iminoketene cycloaddition

得到 evodiamine⁸。



圖五

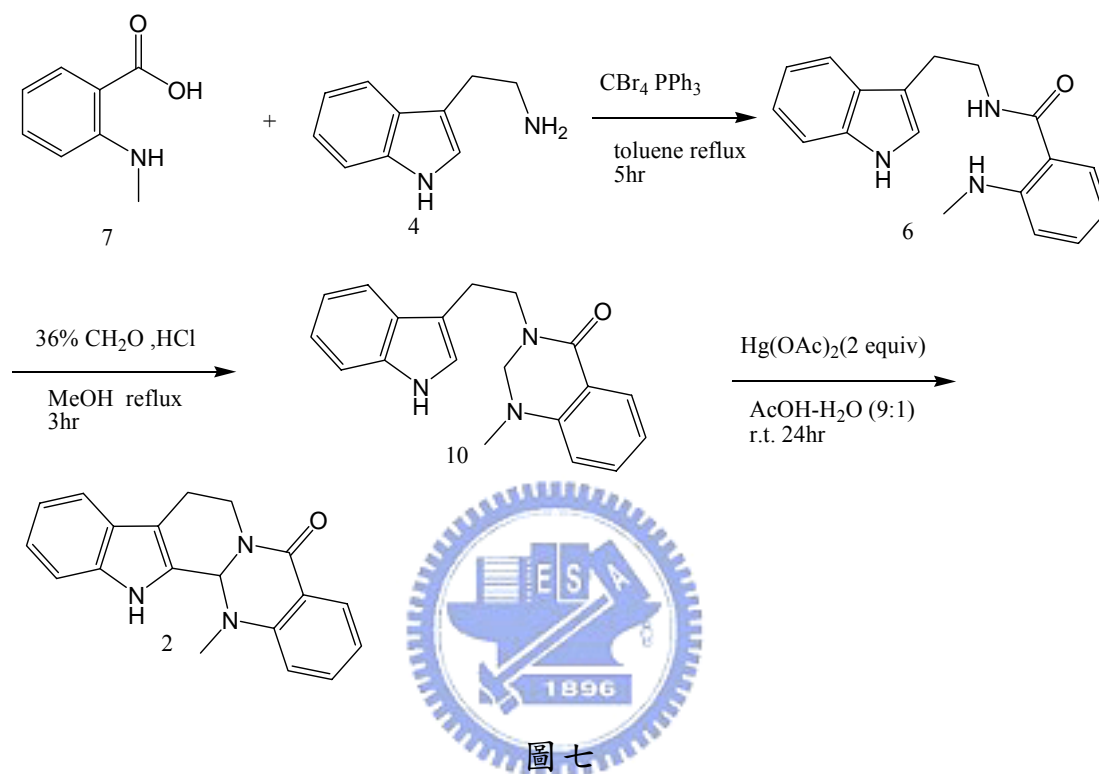
1978 年 Kamikado 教授也利用了 retro Diels-Alder Type Fragment Ions 的方式，使用化合物 9 (3,4-dihydro- β -carboline) 和化合物 5 (N-methylisatoic anhydride) 進行 cycloaddition 得到 evodiamine⁹。



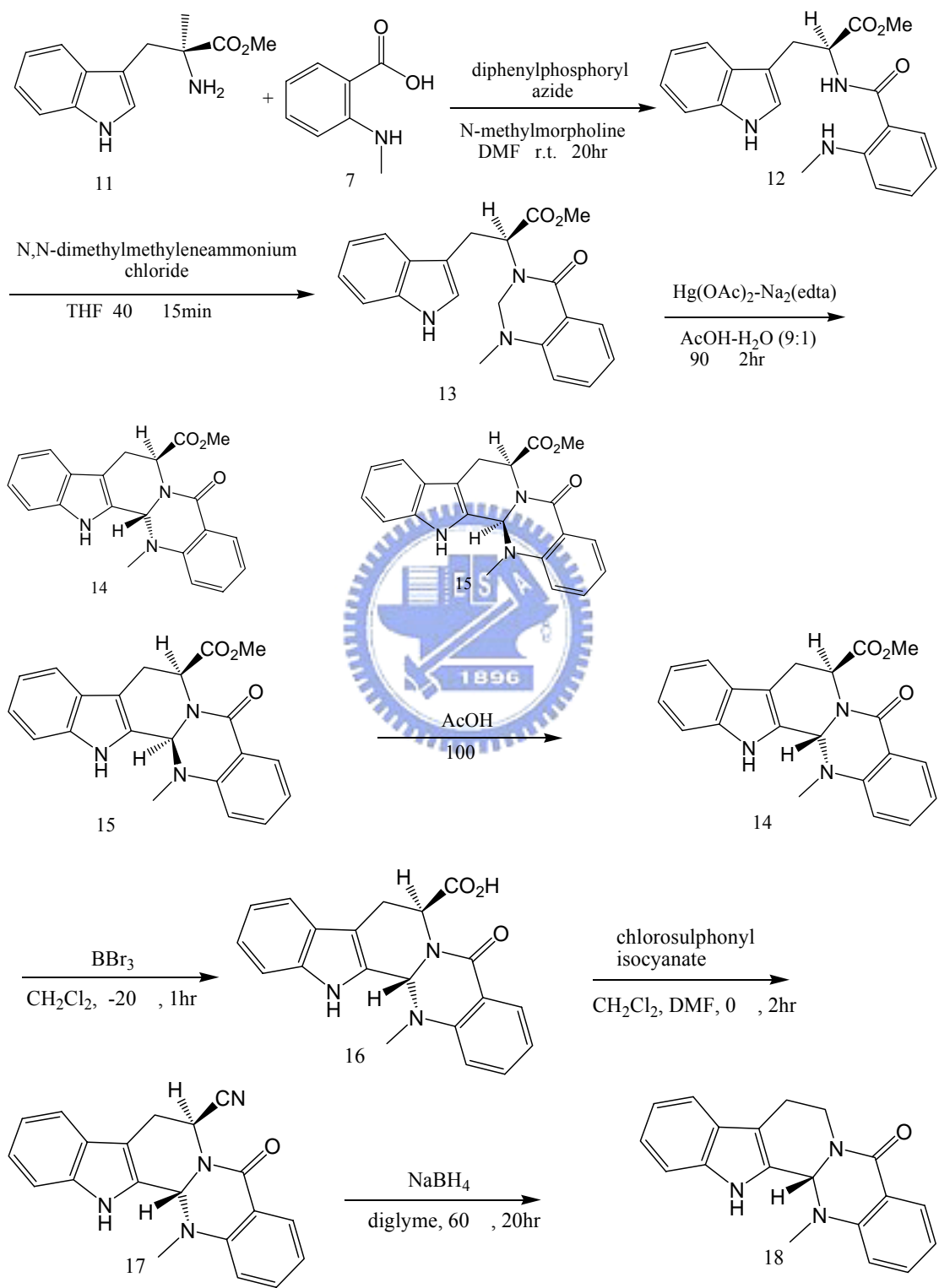
圖六

1978 年 Danieli 教授利用化合物 7 跟化合物 4 進行 codensation

之後再做intramolecular amidomethylation得到化合物 6，在作氧化得到最終產物evodiamine¹⁰。

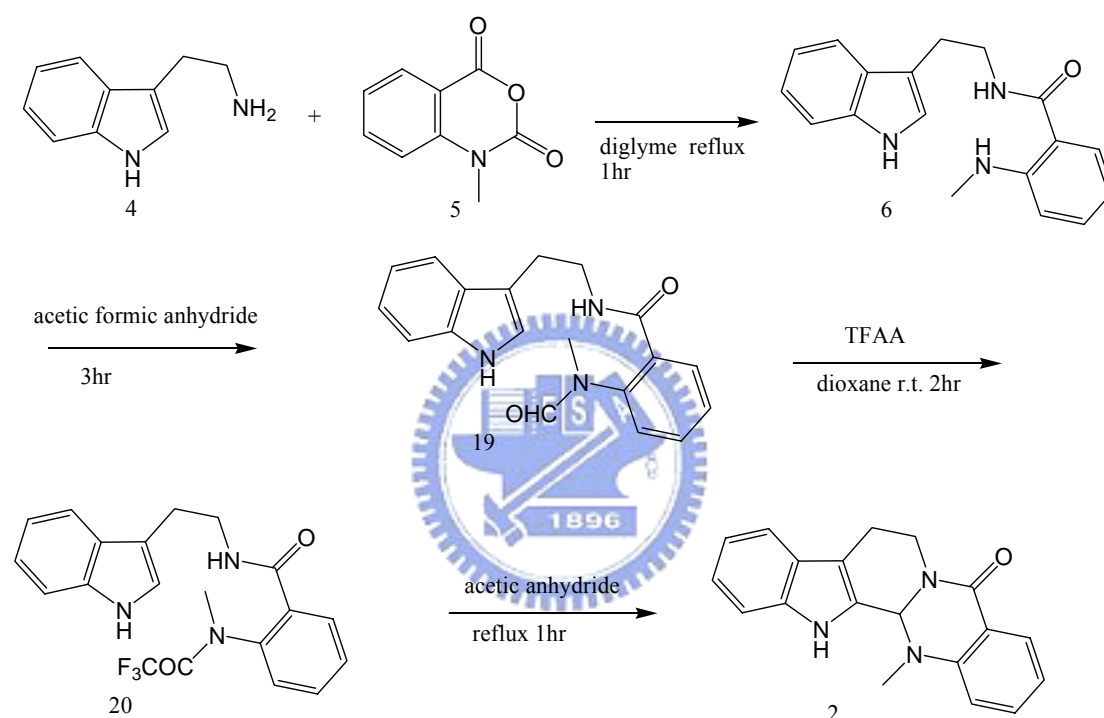


經過數年研究 Danieli 教授於 1982 年發表了第一個具有光學活性的(+)-evodiamine，藉由(S)-tryptophan methyl ester為起始物 11 經過幾步的環化得到化合物 14 跟化合物 15，再加醋酸(acetic acid)加熱情況下，得到一個熱力學產物化合物 14，最後進行一個 decarboxylation 的步驟，成功的合成出(+)-evodiamine (18)，總產率 28%¹¹。



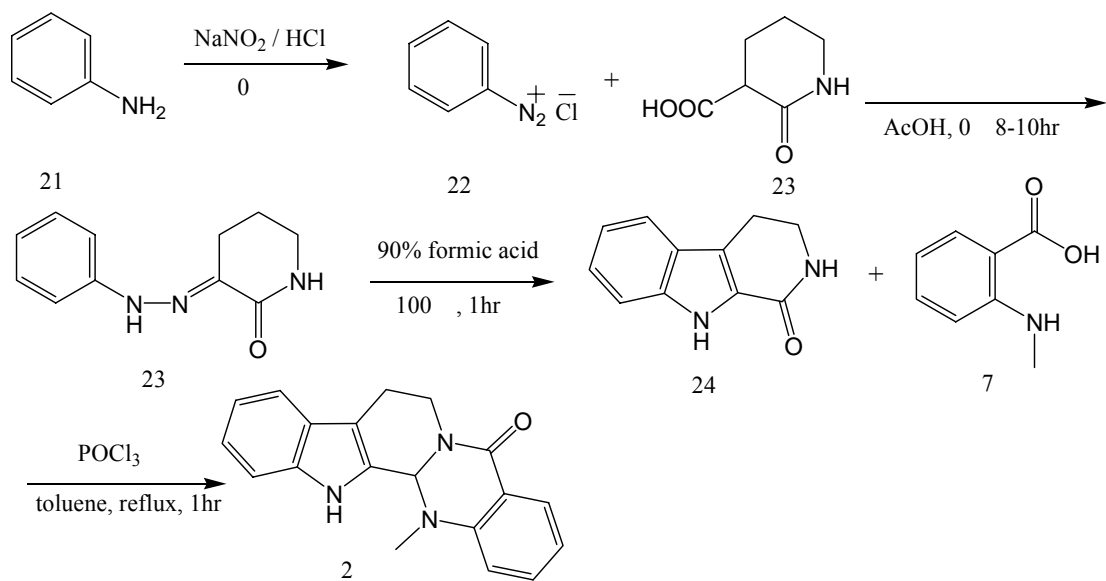
圖八

1985 年 Bergman 教授使用化合物 4 跟化合物 5 經過幾步的官能基轉換合成出 evodiamine¹²。



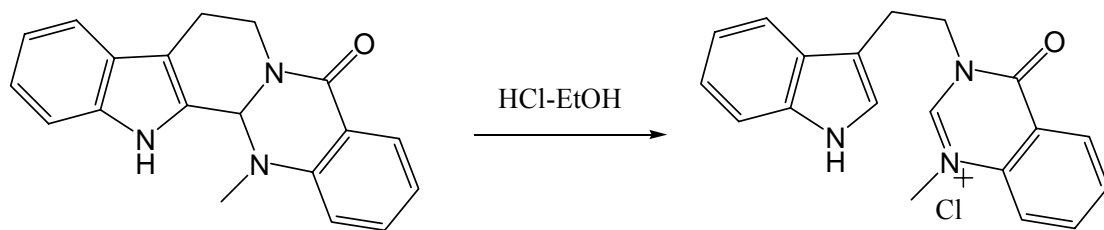
圖九

2004 年 Yeleswarapu 教授使用 aniline 為起始物 21 接著進行 Fischer-Indole synthesis 合成出化合物 (β -carbolinone) 然後再環化，成功的合成出 evodiamine¹³。

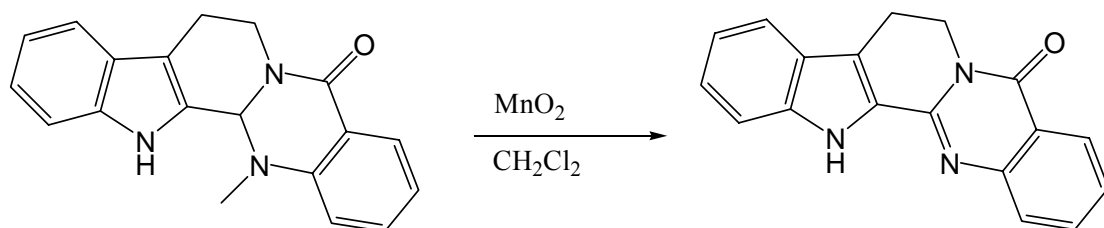


1-3-2 Chemistry of evodiamine

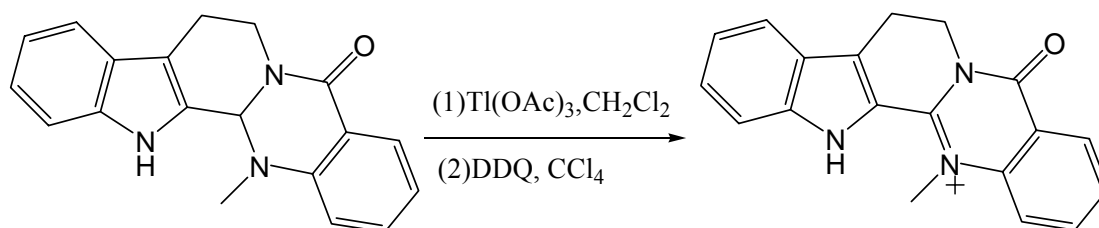
(1) acid-promoted rearrangement¹⁴



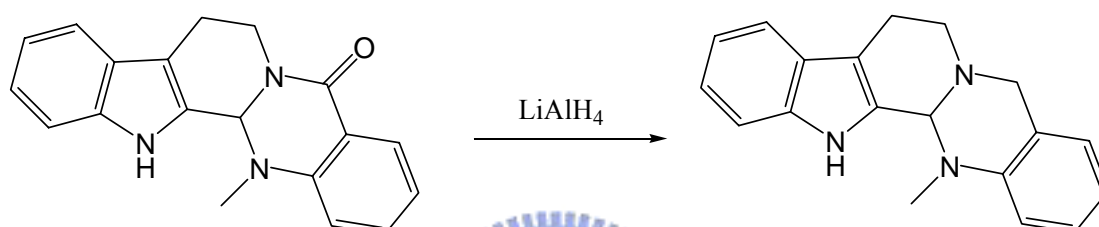
(2) excess oxidized¹⁰



(3) oxidized¹⁰



(4) reduction²¹



1-3-3 吳茱萸鹼之藥理活性

吳茱萸鹼能夠促進子宮的收縮¹⁵、抑制鼠傷寒TA98、TA100 突變活性，具有抗菌的作用，對體溫、心血管系統具調節的作用，並有抗過敏及抗發炎作用^{2 3 4 5}。利用KCN注射入老鼠體內使老鼠腦部缺氧而死亡的動物模式，發現吳茱萸鹼可經由cholinergic機制改善KCN所引起的缺氧，提升老鼠的存活率¹⁶。吳茱萸鹼會藉由抑制巨噬細胞所產生的一氧化氮以及iNOS 的活性來達到抗發炎的效果⁵。在活體及離體之實驗已證實吳茱萸鹼會抑制血小板凝集活性以及抗凝血酵素之活性¹⁷ 18。

抗癌活性

科學家利用大腸癌細胞來篩檢多種天然藥物的藥效時發現，吳茱萸鹼具有抑制大腸癌細胞的肺轉移IC₅₀ 達到 1.25 mM⁶。之後發現對人類白血病細胞株THP-1、人類子宮頸癌細胞株HeLa和人類惡性黑色素細胞癌細胞株A375-S2 等不同的癌細胞的細胞毒性值自 0.5 到 320 μ M¹⁹。Yeleswarapu 教授針對了包括乳癌MCF-7、結腸癌Colon SW620 等 6 種癌細胞作細胞毒性GI₅₀從 1 到 10 μ M¹³。

在過去的研究中，可將細胞的死亡的方式分成兩種：一為細胞壞死(necrosis)，二為細胞凋亡(apoptosis)³⁷。細胞壞死是當細胞受到快速且急性的非生理性損傷時(如毒藥作用、缺氧、發炎反應等)，會導致細胞壞死的現象。細胞壞死的特徵有：細胞膨漲、被分解、細胞核以及細胞質的內含物被釋放至細胞外等現象。然而在正常的生理狀況之下細胞死亡是不走此途徑的。然而在正常的生理狀況之下，身體會對細胞進行篩選，當細胞受傷或是衰老時，會誘發此種細胞自殺，這種細胞自殺的方式稱為細胞凋亡(apoptosis)，或是程式性細胞死亡(programmed cell death)。這是一種保護個體的方式之一，除了讓細胞

生長的速度等於死亡的速度之外，更可以將品質不好的細胞加以淘汰，以維持組織正常的功能以及細胞數以維持恆定。雖然細胞凋亡是身體內在所誘發的細胞死亡，但是有許多因子(如藥物、氧化壓力增加、生長因子消失、細胞介白素的作用等) 也會導致細胞的死亡是透過細胞凋亡。細胞凋亡的細胞內機制主要透過兩個途徑，一為活化細胞內caspases蛋白酵素之活性；二為影響粒線體的功能及蛋白表現。Fei等學者發現吳茱萸鹼會誘導HeLa細胞凋亡(Apoptosis)，所透過的機制可能是藉著增加Bax、抑制Bcl2 蛋白質的表現¹⁹。

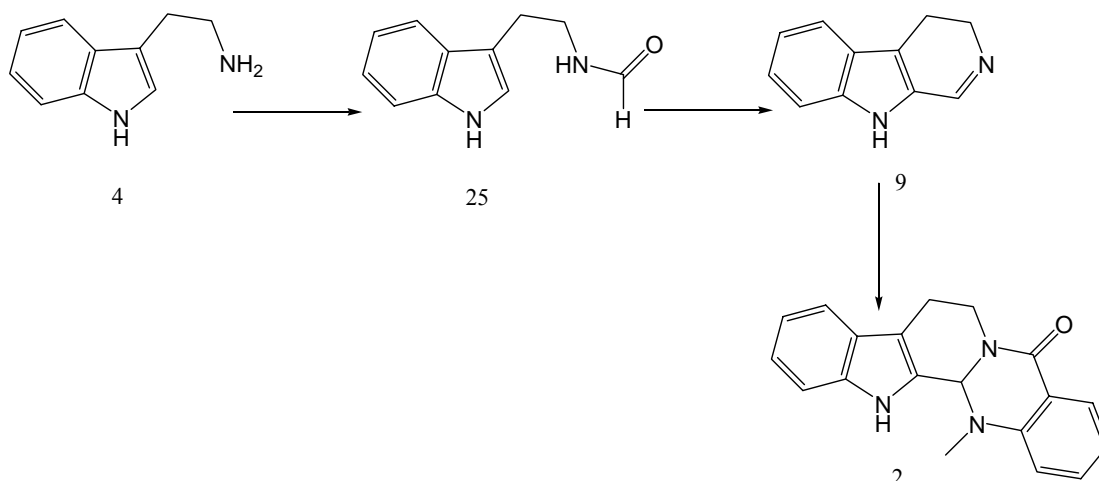


第二章、研究構想與合成策略

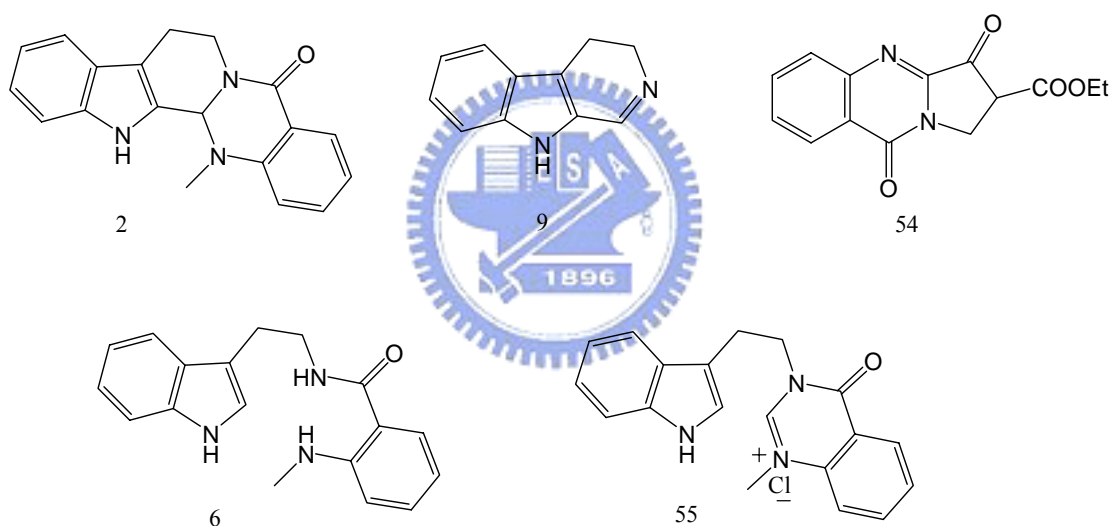
吳茱萸鹼具有良好的抗癌活性，但是在對正常細胞毒性方面也不低，而且它利用了細胞凋亡的方式去抗癌比上以前的使用細胞壞死來抗癌來的好。細胞壞死會經過發炎的階段，細胞凋亡就會避免發炎產生而減少發炎的影響與不好的作用。因此利用合成去改變其官能基以達成提高其活性降低其正常細胞毒性和溶解度的改善。接著進一步去探討出其結構與活性之間的關係 (SAR= structure and activity relationship)。



我們採用Kamikado教授的合成方法⁹。在依據Ogasawara教授有做過的活性篩選²⁰，我們利用中間物跟幾個類似吳茱萸鹼的部份片段(圖十二)，作一次抗癌活性篩選。發現到化合物 9 是具有活性的部份，更加讓我們決定選擇在A環上作化學修飾，藉由環上的取代基的改變，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前驅藥物。



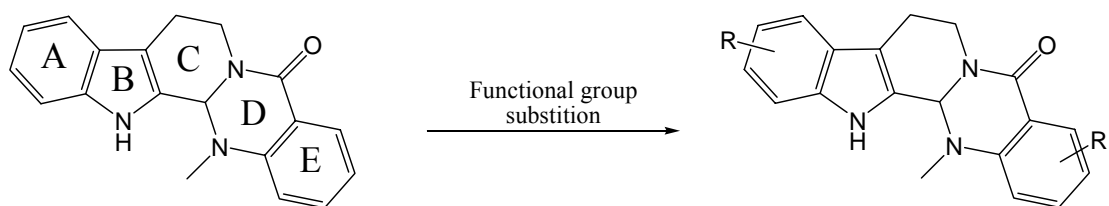
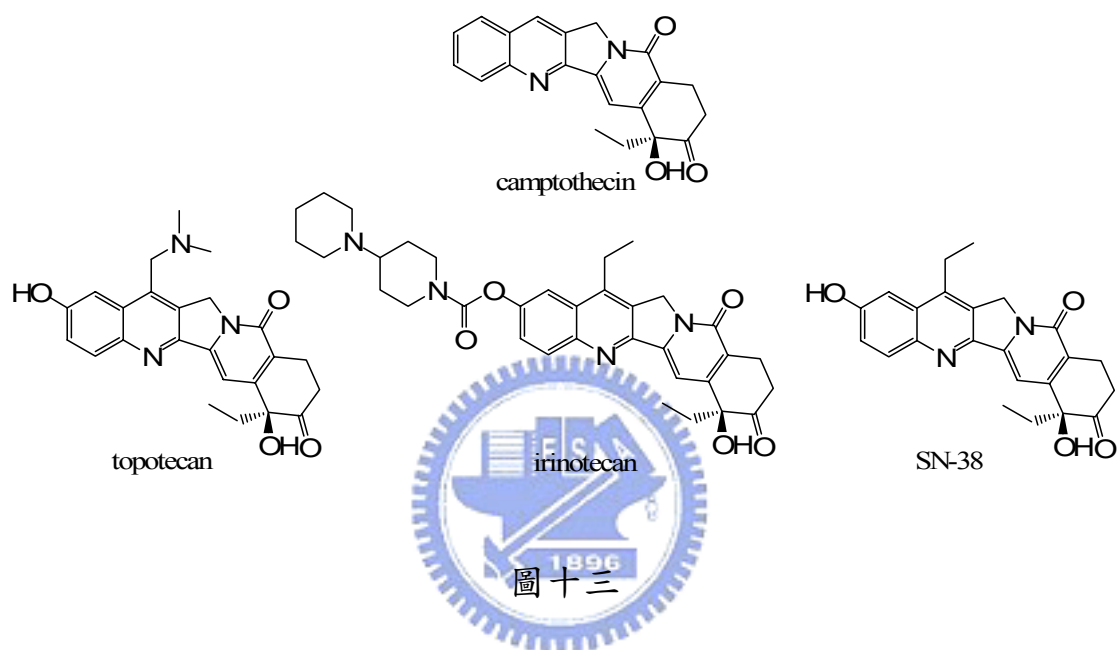
圖十一

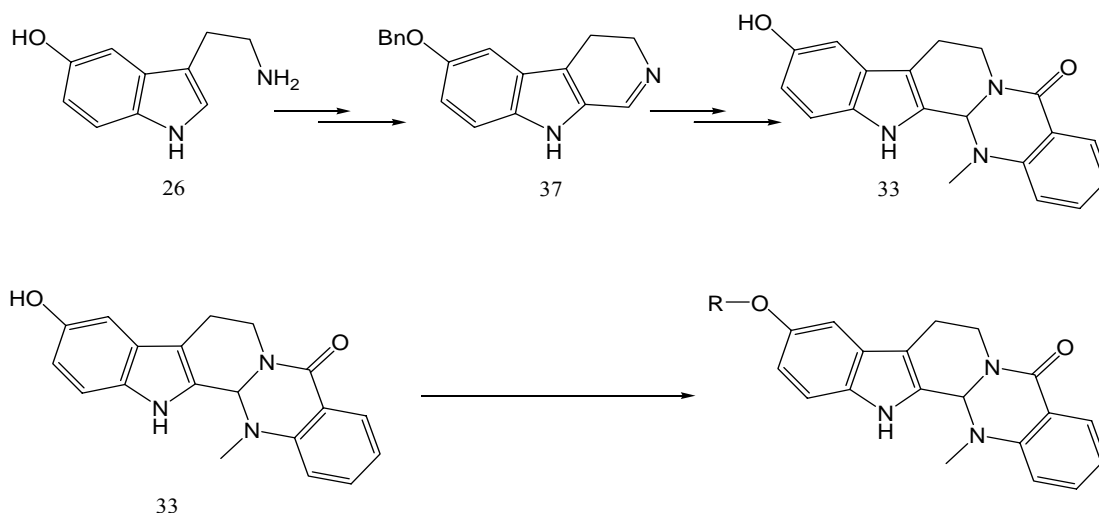


圖十二

天然物吳茛菪鹼上的A環和E環在作官能基的取代沒有選擇性(圖十四)，而且根據初步的活性測試的結果推論，我們發現A、B、C環是吳茛菪鹼抗癌的必要部分，所以我們就構想往A環上做變化。從一些文獻得知有些天然抗癌藥物如喜樹鹼(camptothecin)³²，其結構也是

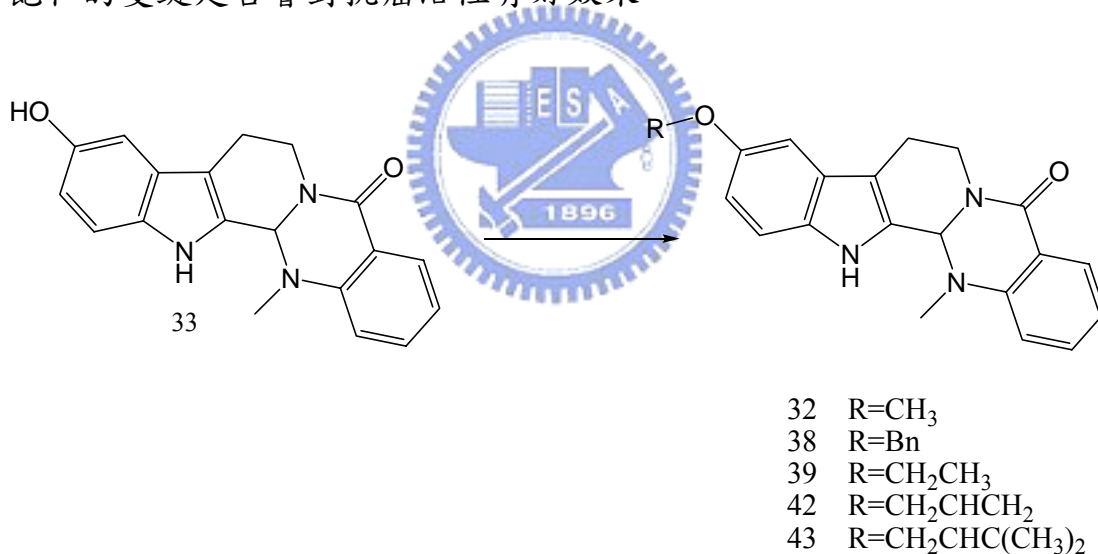
五個環毒性頗高(圖十三),許多學著便在其環上引入OH官能基再加以變化^{22 31},成功的合成出更好的抗癌藥物。因此我們以化合物 26²⁴為起始物做幾步的合成得到一個A環上有OH官能基的化合物 33,利用這各OH官能基來得到有選擇性的在A環上作取代基的改變。





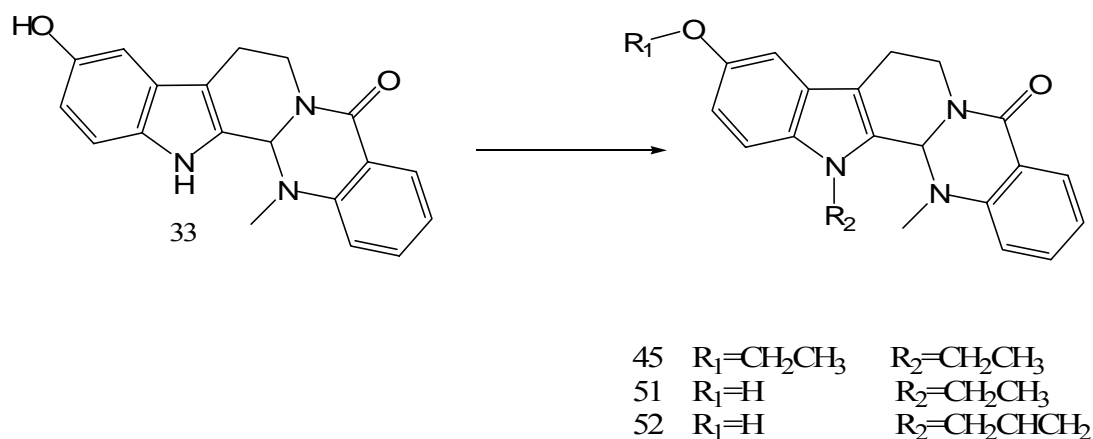
圖十五

O-alkylation: 進行一個烷基化反應，探討碳鏈的長短以及擁有一個不飽和的雙鍵是否會對抗癌活性有好效果。



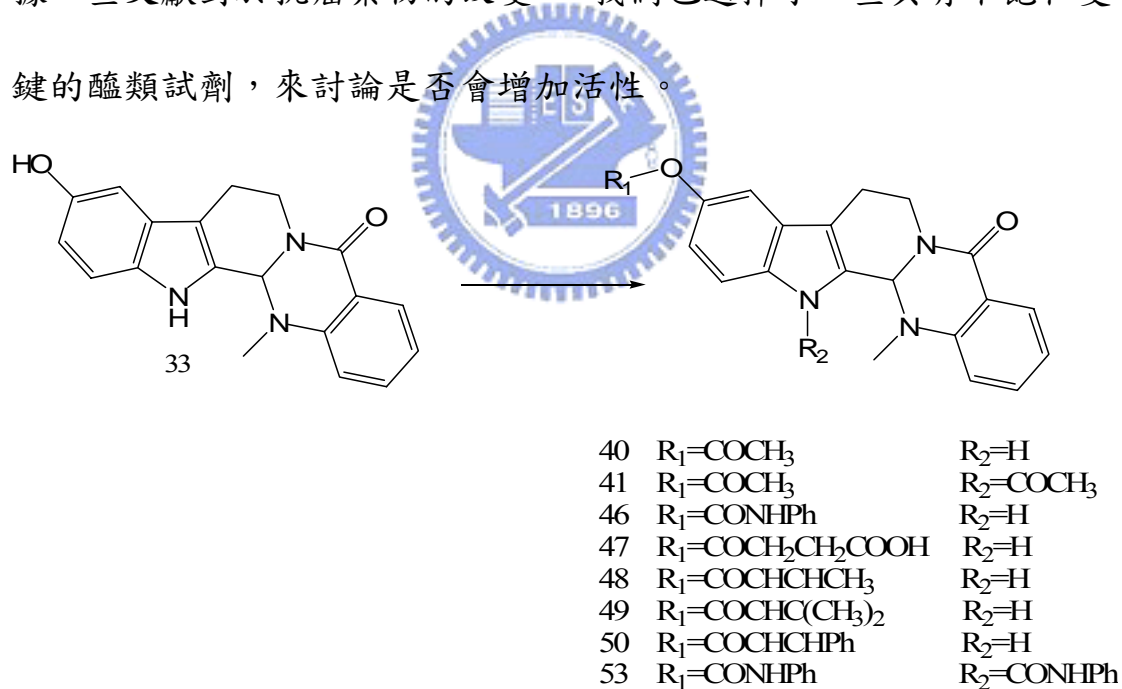
圖十六

N-alkylation: 根據一些文獻報導^{23 27 30}，有些學著研究類似的化合物，他們針對了indole的胺基去探討。啟發我們也可以進行一些烷基化反應，針對氧跟氮上分別接有官能基來探討再多有一個取代基會否有加乘的效果，或是只有氮上有官能基會不會比在氧上有取代來得更好。



圖十七

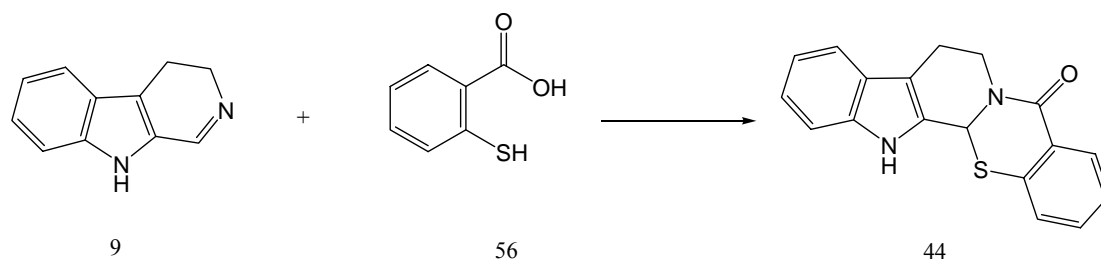
O-acylation: 進行一個醯化反應，形成一個酯類的鍵結，藉由C=O具有拉電子的效應來探討和醚類鍵結的推電子的效應做活性上的比較。根據一些文獻對於抗癌藥物的改變²⁵，我們也選擇了一些具有不飽和雙鍵的醯類試劑，來討論是否會增加活性。



圖十八

根據我們做的第一次活性篩選發現到說A、B、C三環是有活性的部份，因此我們也就想嘗試去換掉D、E環，接上一些不同的片段，期

望能增加一些效果。我們先選擇了類似 D、E 環的化合物 56 行合成反應，同時間實驗室同仁也合成數個以三環為主架構的五環的化合物。



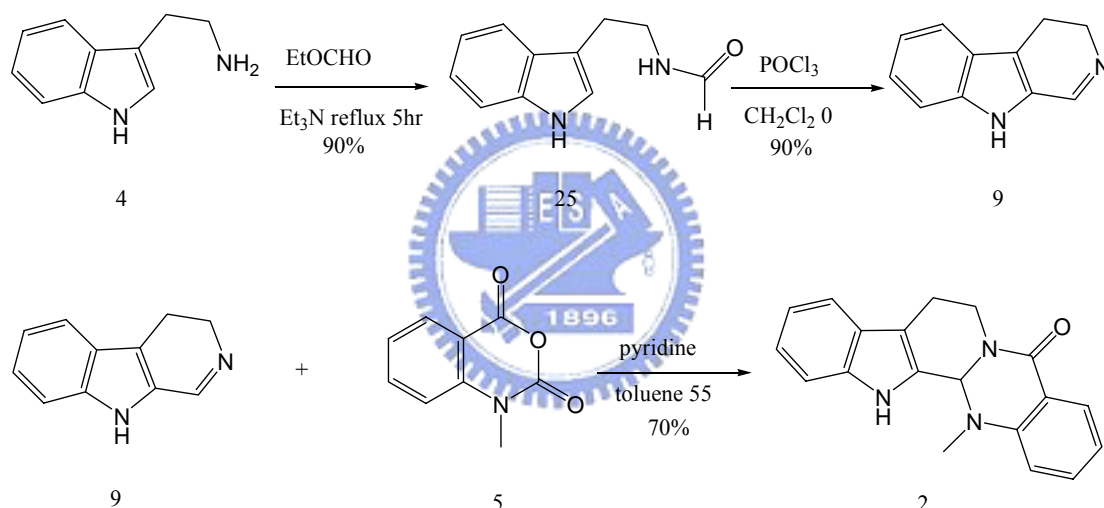
圖十九



第三章、合成經過與討論

合成 evo

我們採用Kamikado 教授的方法⁹，使用化合物 4(tryptamine)在甲酸乙酯中加入三乙基胺加熱迴流 5 小時得到化合物 25，產率為 90%。接著進行Bischler-Napieralski環化反應²⁶，得到化合物 9，產率為 90%。最後將化合物 9 和化合物 5 一起加入甲苯中再加入吡啶加熱反應，可以得到化合物 2，產率為 70%。



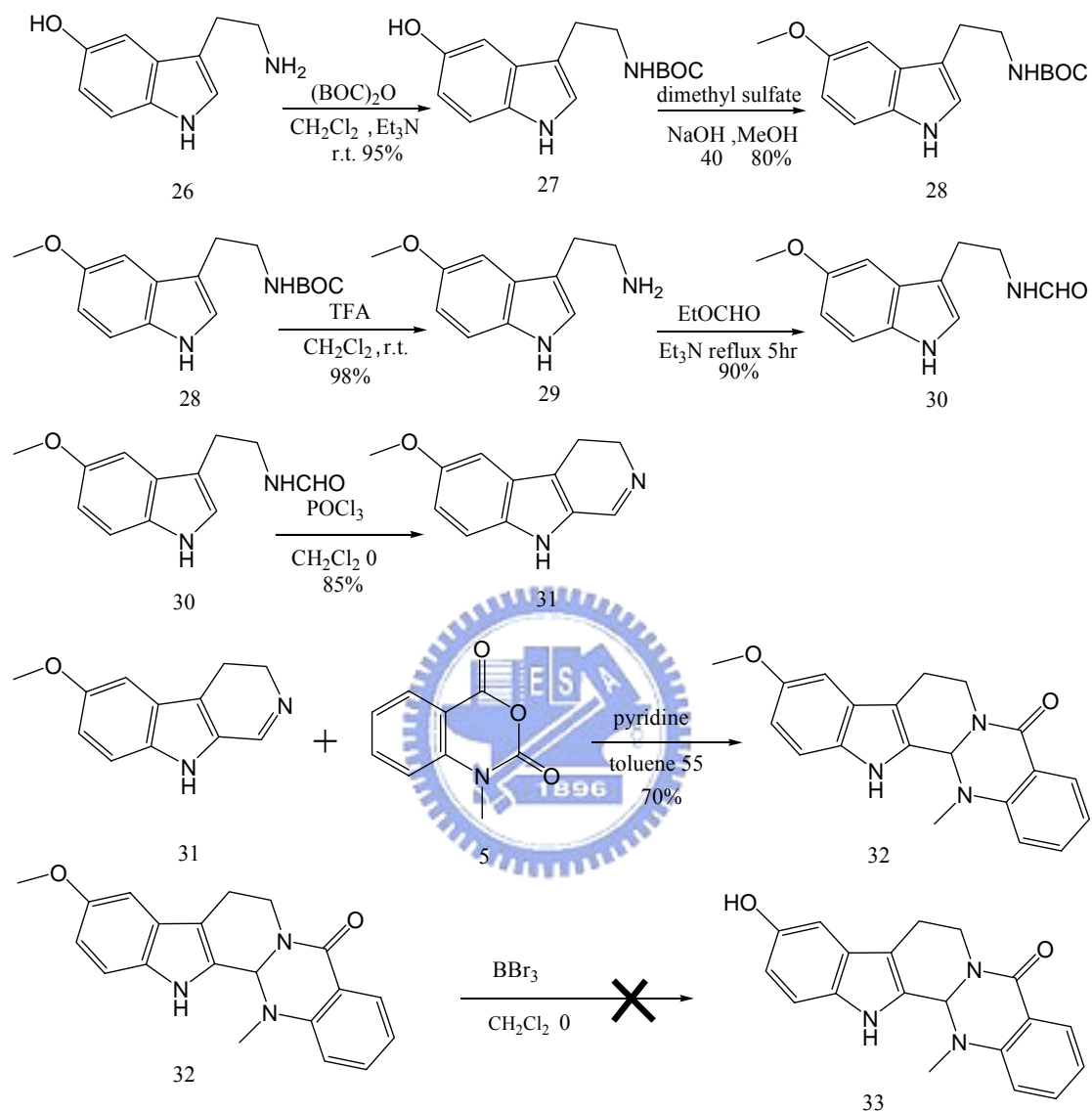
圖二十

合成 10-hydroxyevodiamine

當我們成功的合成出化合物 2 後，我們選擇了化合物 26(serotonin) 為起始物。先在氮上作一個BOC的保護基，接著在氧上作一個甲基為保護基，去掉氮上的保護基得到化合物 29(5-methoxytryptamine)。延續先前的步驟去合成化合物 32。最後使用三溴化硼做去甲基化的反

應³³，但是沒有得到化合物 33 可能是產生酸造成開環的結果，因此我

們試著不同的去甲基化的反應^{28 34}惜都不能成功。



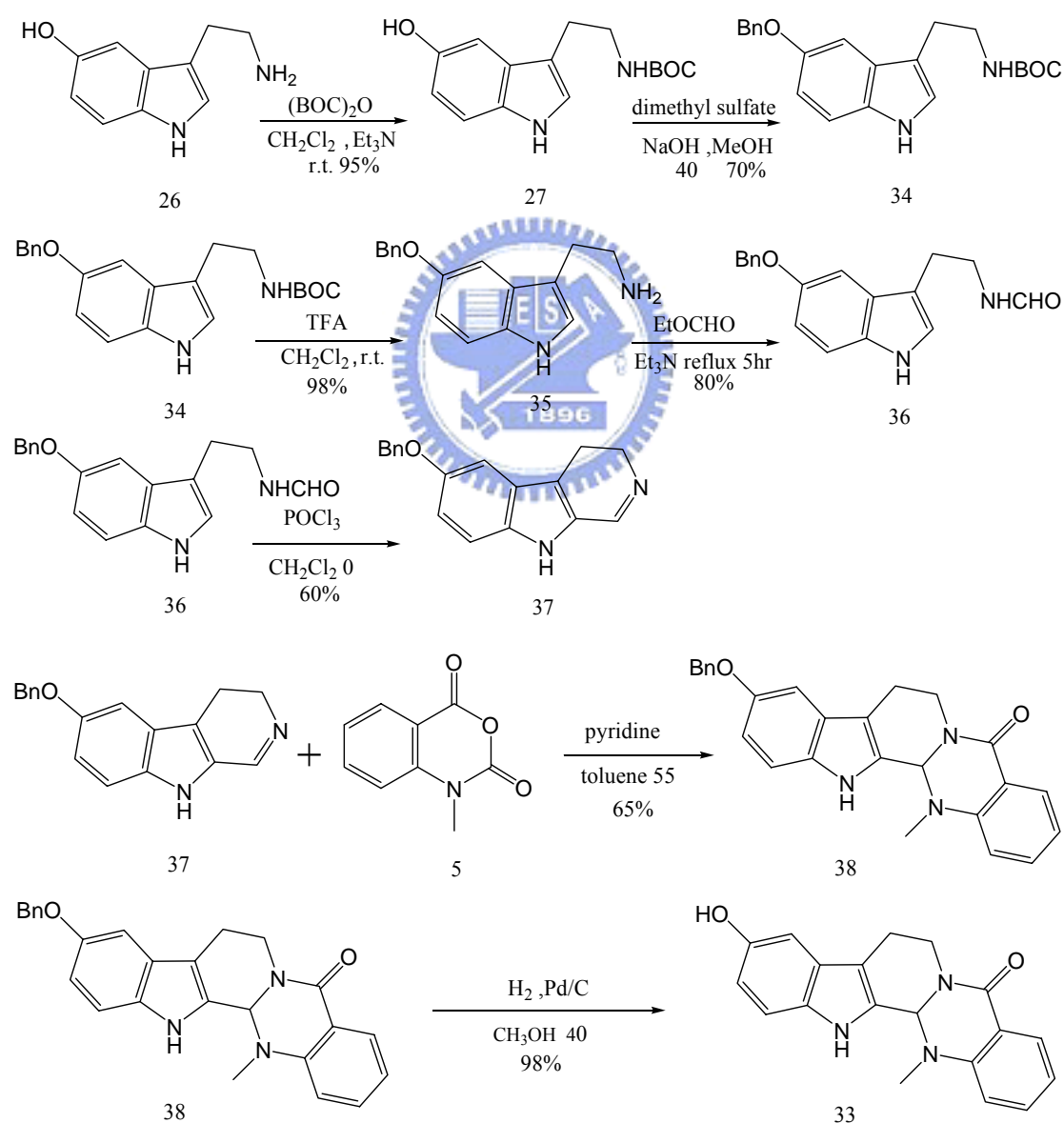
圖二十一

表一

Entry	Reagent	Solvent	Condition	Time	result
1	BBr ₃	CH ₂ Cl ₂	0°C	6hr	X
2	TMSI	CDCl ₃	0°C	5hr	X

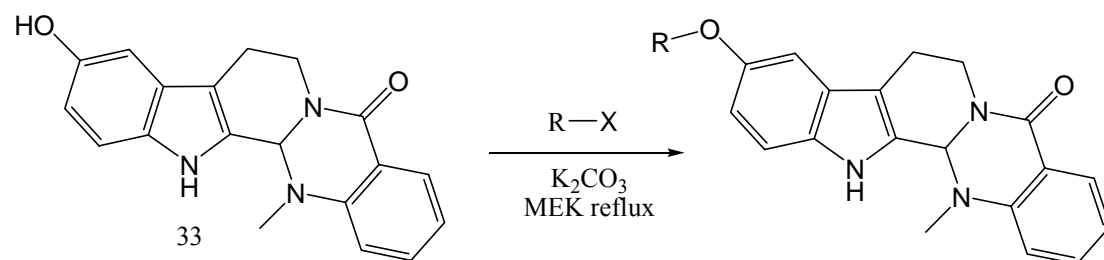
3	KOH	diethyl glycol	210°C	reflux 12hr	X
4	HBr	CH ₃ COOH	110°C	2hr	X

因此我們去改變保護基，選擇一個不怕酸和鹼的苯甲基(Bn)，使用 Pd/C 催化，進行氫化反應去除掉這各保護基，順利的得到了化合物 33。

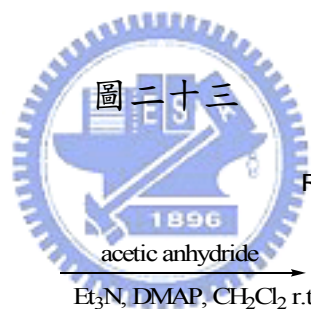


圖二十二

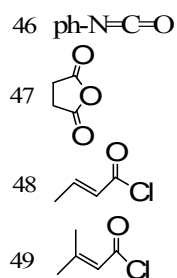
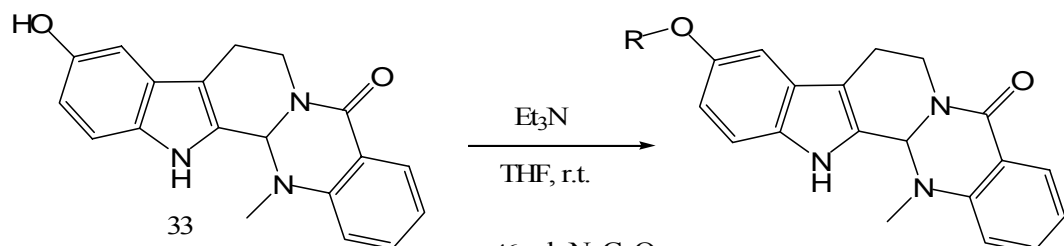
得到化合物 **33** 之後，我們便進行取代反應來合成衍生物。在烷基化方面，使用碳酸鉀溶在丁酮中進行取代加成反應，加熱迴流，成功得到在醚類鍵結的化合物。在醯化方面，加入三乙基胺，常溫下反應，即可得到有酯類鍵結的化合物。



- 39 R=CH₂CH₃
 42 R=CH₂CHCH₂
 43 R=CH₂CHC(CH₃)₂



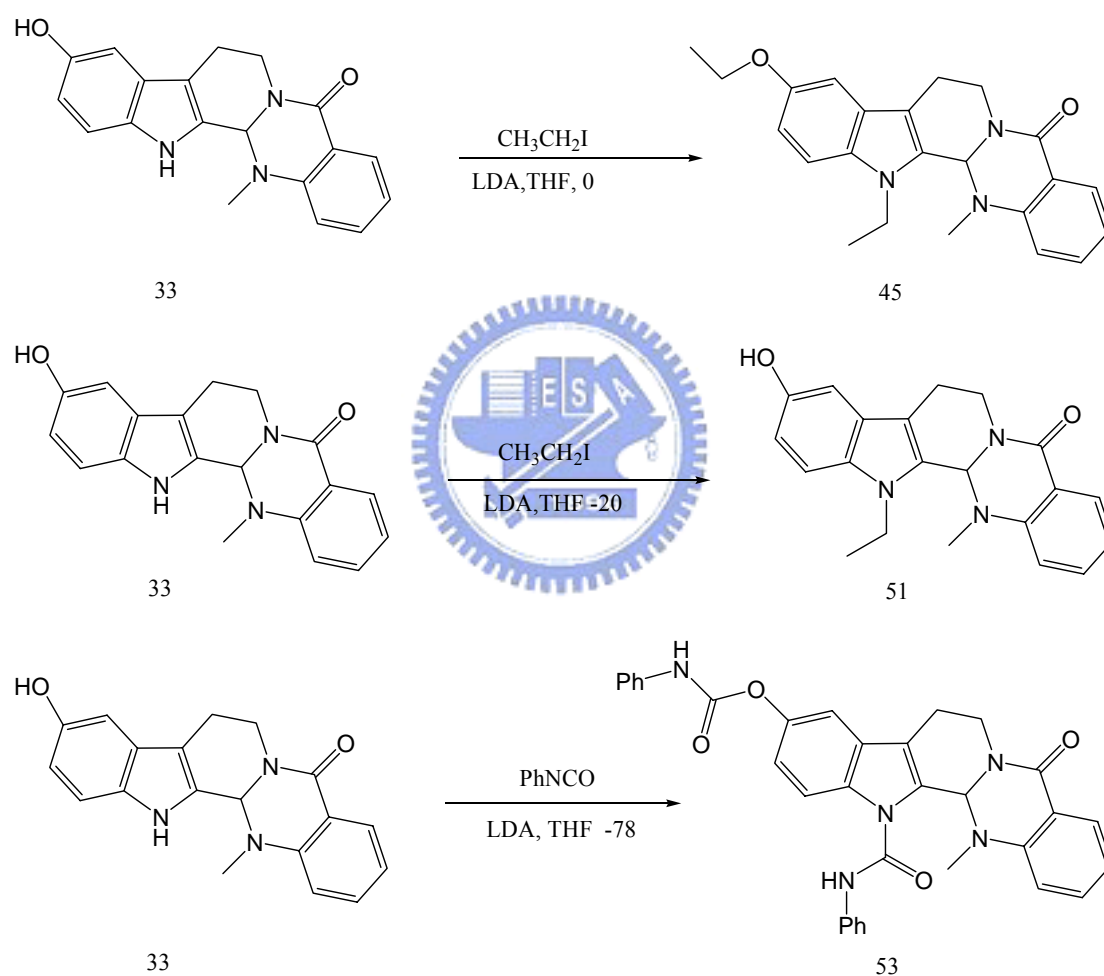
- 40 R₁=COCH₃ R₂=H
 41 R₁=COCH₃ R₂=COCH₃



- 46 R=CONHPh
 47 R=COCH₂CH₂COOH
 48 R=COCHCHCH₃
 49 R=COCHC(CH₃)₂

圖二十四

因此我們進一步去試著在氮上得到有取代基的化合物。首先我們使用二異丙胺化鋰在零度之間反應，得到兩各取代基都有的化合物 45。接著我們便將溫度降到負 20 度左右進行反應，居然得到只有氮上有取代的化合物 51。接著嘗試合成醯胺鍵結的化合物，可惜醯類試劑反應性太強，就算在負 78 度還是會同時接在氧和氮上。



圖二十五

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 、BnBr、Dimethyl sulfate、Phenyl isocyanate

(2)Acros : Ethyl formate、LDA、Cinnamoyl chloride

Crotonoyl chloride、3,3-Dimethylacryloyl chloride、Palladium on activated carbon, unreduced, 10% Pd

(3)TCI : Serotonin hydrochloride

(4)Lacaster : TFA、Allyl bromide

(5)Aldrich: POCl_3 、Ethyl iodine

(6)TEDIA : EA、hexane、acetone、DCM、ether、toluene、TEA、acetic anhydride

(7)SHOWA : Potassium carbonate、Potassium iodide

(8)Fluka : DIBOC

4-1-2 儀器

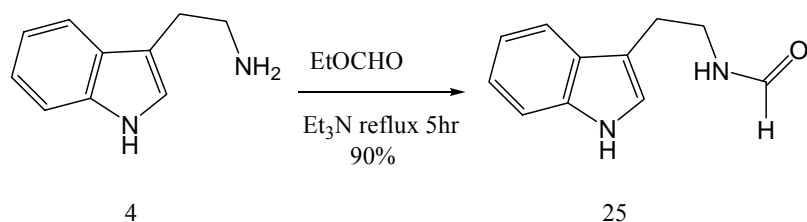
- (1) FT-IR 紅外線光譜儀 (FT-730)
- (2) HPLC 高效能液相層析儀 (Waters 600 controller)
- (3) $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ NMR 碳及氫合磁共振光譜儀 (Varian Unity Inova-500)
- (4) 管柱層析法 (silica gel 60 / 0.063mm-0.200mm/Merk)
- (5) 薄層層析法 (silica gel 60 F₂₅₄)
- (6) HR-Mass 高解析質譜儀 (清大貴儀中心)



4-2 實驗步驟與光譜資料

4-2-1 合成吳茱萸鹼 (evodiamine)

N-formyl-tryptamine (25)之合成

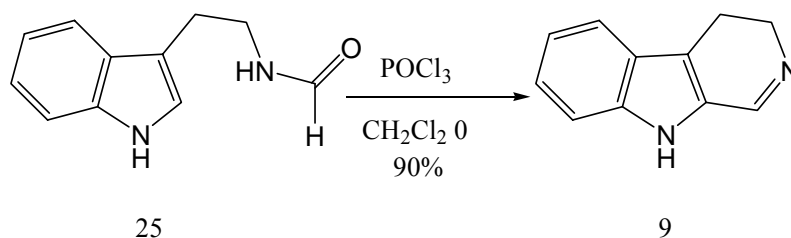


將tryptamine 4(2.5g, 15.6mmole)溶入甲酸乙酯(12.6ml, 156 mmole)，再加入三乙基胺(1.57g, 15.6mmole)加熱迴流攪拌5小時，先將甲酸乙酯濃縮抽乾後，加入水以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=2:1)，可得到白色固體產物25(2.64g)，產率90%。

化合物25的光譜資料如下：

¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ3.01 (t, *J* = 3.5Hz, 2H), 3.65 (q, *J* = 6.5Hz, 2H), 5.61 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.13 (t, *J* = 7.5Hz, 1H), 7.21 (t, *J* = 7.5Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.5Hz, 1H), 8.18(s, 1H), 8.51 (s, 1H)

3,4-dihydro- β -carboline(9)之合成²⁶

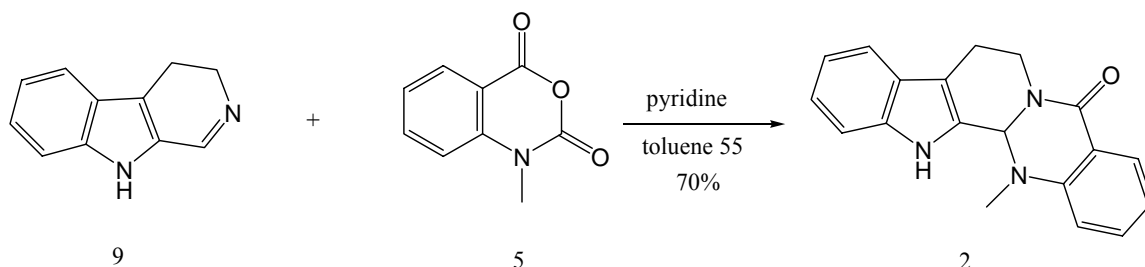


於氮氣下，將氧氯化磷(6.45ml, 69mmole)的無水二氯甲烷的溶液(6ml)慢慢加入 0°C 下之化合物25(2.6g, 13.8mmole)的無水二氯甲烷溶液(3.5ml)，攪拌1小時，回到室溫，再攪拌1小時。在冰浴下，加入水終止反應。以氨水中中和PH值到7，再以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物，用乙酸乙酯作在結晶，得到橘色固體產物9(2.1g)，產率90%。

化合物9的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.91 (t, $J = 9.0\text{Hz}$, 2H), 3.94 (m, 2H), 7.15 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.29 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.38 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.60 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 8.38 (s, 1H),

Evodiamine(2)之合成



將化合物5(2.29g, 12.9mmole)加入化合物9(2g, 11.7mmole)的甲苯溶液(8ml)，在加入吡啶(0.92g, 11.7mmole)加熱攪拌2小時。將甲苯濃縮抽乾後，以二氯甲烷萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物用甲醇作在結晶，得到淡黃色固體產物2(2.48g)，產率70%。

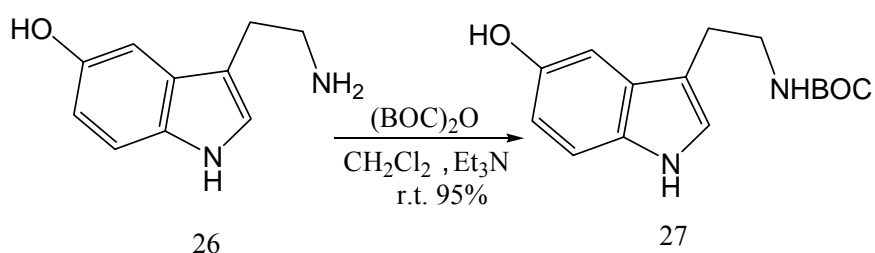


化合物2的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, DMSO) δ 2.50 (s, 3H), 2.91 (t, $J = 3.5\text{Hz}$, 2H), 3.20 (m, 1H), 4.63 (m, 1H), 6.12 (s, 1H), 6.96 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.01 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.05 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.10 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.36 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.80 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 11.04 (s, 1H),

4-2-2 合成吳茱萸鹼衍生物 (evodiamine derivatives)

tert-butyl 2-(5-hydroxy-1H-indol-3-yl)ethylcarbamate(27)之合成²⁴

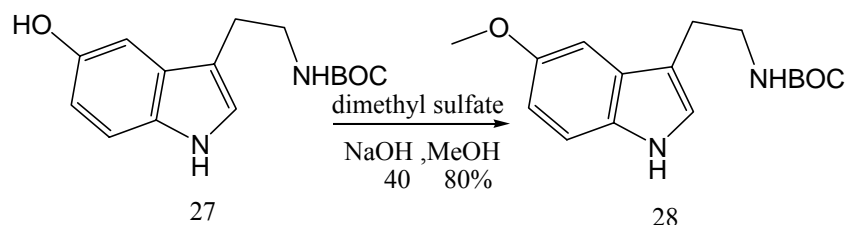


將二碳酸二特丁酯(11.31g, 51.8mmole)和三乙基胺(4.75g, 47.1mmole)加入化合物26(10g, 47.1mmole)的無水二氯甲烷的溶液(20ml)，在氮氣下攪拌2小時。加入水以二氯甲烷萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:2)，可得到黃色固體產物27(12.36g)，產率95%。

化合物27的光譜資料如下：

¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 1.48 (s, 9H), 2.92 (t, *J* = 6.5Hz, 2H), 3.46 (t, *J* = 7.5Hz, 1H), 4.65 (bs, 1H), 6.81 (d, *J* = 2Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.5Hz, 1H), 7.91 (s, 1H),

tert-butyl 2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethylcarbamate(28)之 合成

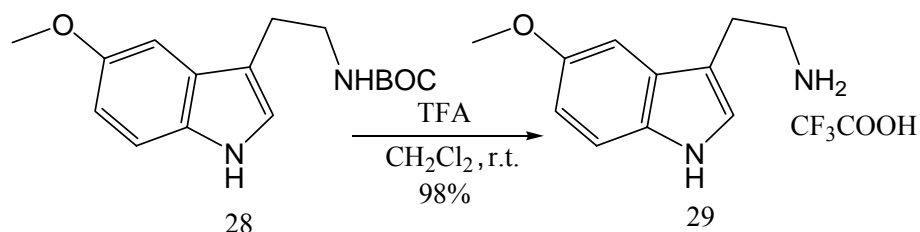


將30%氫氧化鈉水溶液(13.3ml)先加入化合物27(12.36g, 44.7 mmole)的甲醇溶液(20ml)，攪拌1小時後，慢慢加入硫酸二甲酯(9.31ml, 98.33mmole)，加熱攪拌過夜。反應完，先將甲醇濃縮抽乾，加入水中中和PH值到7，以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:2)，可得到黃色固體產物28(10.37g)，產率80%。

化合物28的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 1.50 (s, 9H), 2.95 (t, $J = 6.5\text{Hz}$, 2H), 3.49 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 4.81 (bs, 1H), 6.91 (m, 1H), 6.98 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.08 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 7.26 (m, 1H), 8.48 (s, 1H),

5-methoxytryptamine(29)之合成



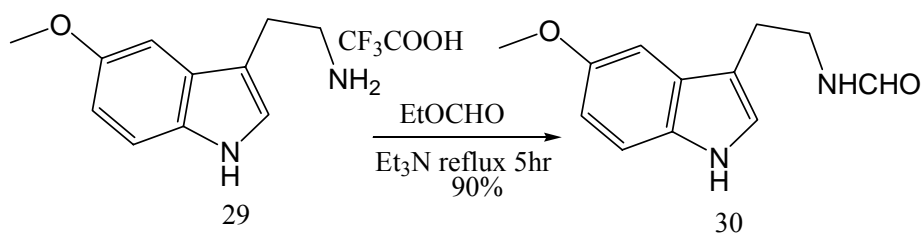
將三氟醋酸(7.95ml, 107.1mmole)慢慢加入化合物**28**(10.37g, 35.7mmole)的無水二氯甲烷溶液(15ml)，攪拌30分鐘至1小時。再將二氯甲烷和多餘的三氟醋酸濃縮抽乾，得到黃色油狀產物**29**(10.63g)，產率98%。



化合物**29**的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 2.94 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 3.08 (d, $J = 6.5\text{Hz}$, 2H), 3.67 (s, 3H), 6.66 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 7.07 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.14 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.75 (s, 1H), 10.12 (s, 1H),

5-methoxy-N-formyl-tryptamine (30)之合成

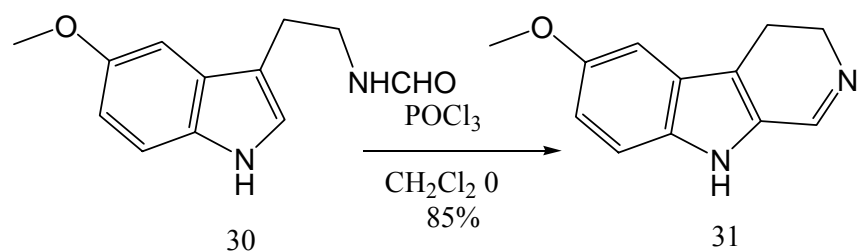


將三乙基胺(3.48g, 34.5mmole)加入化合物29(10.5g, 34.5mmole)的甲酸乙酯溶液(27.8ml, 345mmole)，加熱迴流攪拌5小時，先將甲酸乙酯濃縮抽乾後，加入水以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=2:1)，可得到淡黃色固體產物30(6.7g)，產率90%。

化合物30的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.99 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 3.66 (q, $J = 6.5\text{Hz}$, 2H), 3.89 (s, 3H), 5.78 (bs, 1H), 6.90 (dd, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.28 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.28 (s, 1H)

3,4-dihydro-6-methoxy- β -carboline(31)之合成



在氮氣下，將氧氯化磷(9.71ml, 104.1mmole)的無水二氯甲烷的溶液(10ml)慢慢加入0°C下之化合物30(4.5g, 20.8mole)的無水二氯甲

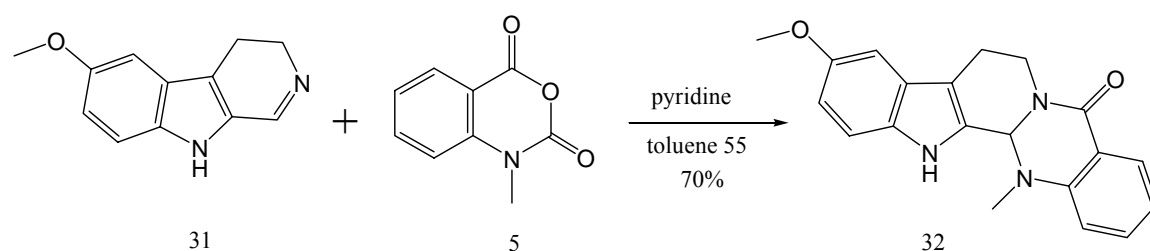
烷溶液(5ml)，攪拌1小時，回到室溫，再攪拌1小時。在冰浴下，加入水終止反應。以氨水中和PH值到7，再以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物，用乙酸乙酯作在結晶，得到黃色固體產物**31**(3.53g)，85%。

化合物**31**的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.96 (t, $J = 9.0\text{Hz}$, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.97 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 2H), 7.01 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.72 (s, 1H),



10-methoxyevodiamine(**32**)之合成



將化合物**5**(2.92g, 16.5mmole)加入化合物**31**(3g, 15mmole)的甲苯溶液(10ml)，在加入吡啶(1.69ml, 15mmole)加熱攪拌2小時。將甲苯

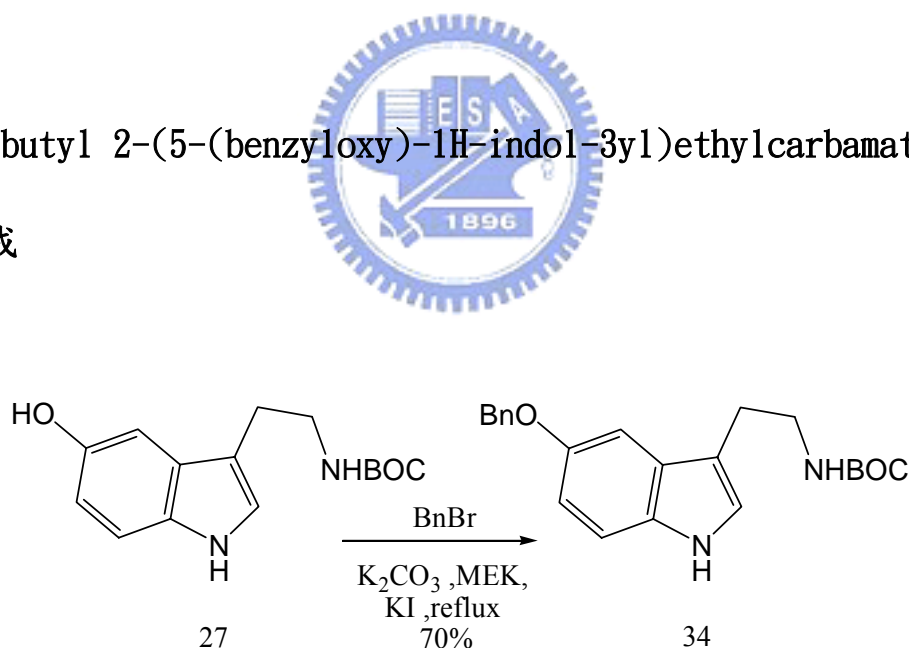
濃縮抽乾後，以二氯甲烷萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物用EA作在結晶，得到淡黃色固體產物**32**(3.49g)，70%。

化合物**32**的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.50 (s, 3H), 2.92 (t, $J = 9.0\text{Hz}$, 2H), 3.26 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 4.85 (d, $J = 13.5\text{Hz}$, 1H), 5.89 (s, 1H), 6.90 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.14 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.19 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.28 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 7.47 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 8.10 (d, $J = 2.5\text{Hz}$, 1H),

tert-butyl 2-(5-(benzyloxy)-1H-indol-3-yl)ethylcarbamate(**34**)

之合成



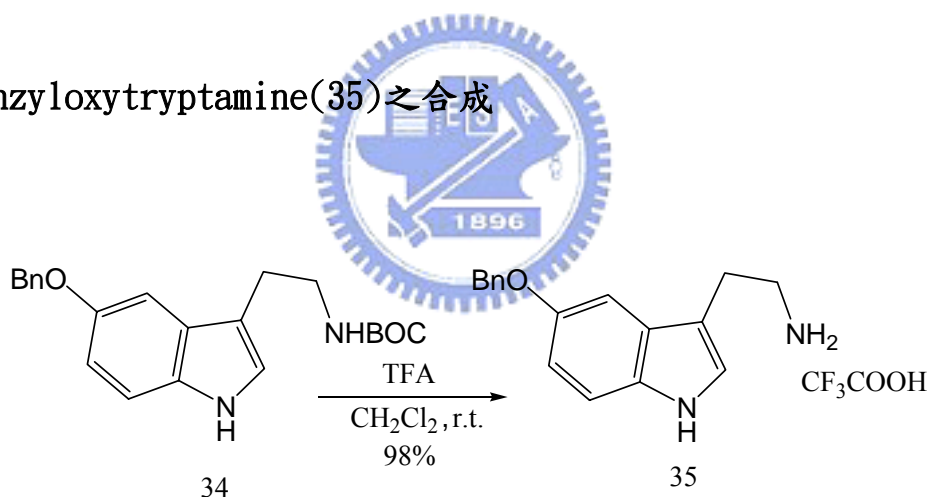
將碳酸鉀(10.99g, 79.64mmole)先加入化合物**27**(10g, 36.2mmole)的丁酮溶液(20ml)，在加入碘化鉀(cat.)和溴化苯(9.52ml, 79.64mmole)，加熱迴流攪拌過夜。反應完先將碳酸鉀過濾除去，再將丁酮濃縮抽乾後，加入水以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾

燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:2)，可得到黃色固體產物34(9.27g)，產率70%。

化合物34的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 1.48 (s, 9H), 2.95 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 3.49 (s, 2H), 4.66 (bs, 1H), 5.15 (s, 2H), 6.99 (dd, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.18 (d, $J = 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.31 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 1H), 7.36 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.44 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.53 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.01 (bs, 1H),

5-benzyloxytryptamine(35)之合成

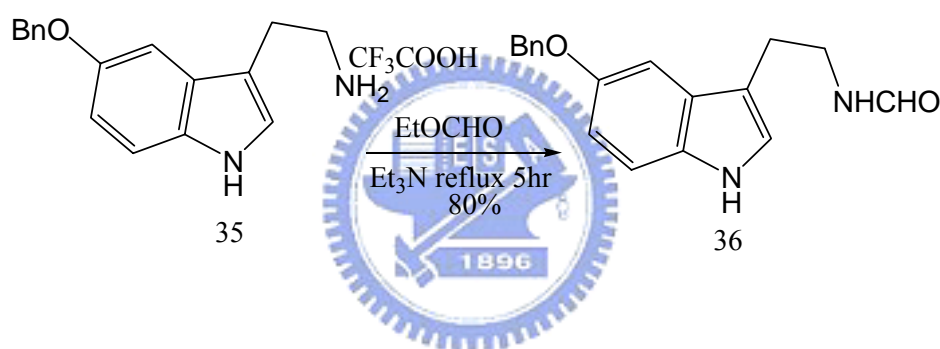


將三氟醋酸(5.47ml, 73.77mmole)慢慢加入化合物34(9g, 24.6 mmole)的無水二氯甲烷溶液(20ml)，攪拌30分鐘至1小時。再將二氯甲烷和多餘的三氟醋酸濃縮抽乾，得到黃色油狀產物35(9.16g)，產率98%。

化合物35的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 2.97 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 3.02 (s, 2H), 4.61 (bs, 1H), 5.13 (s, 2H), 7.01 (dd, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.18 (d, $J = 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.31 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 1H), 7.32 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.40 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.56 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 8.01 (s, 1H),

5-benzyloxyoxy-N-formyl-tryptamine (36)之合成

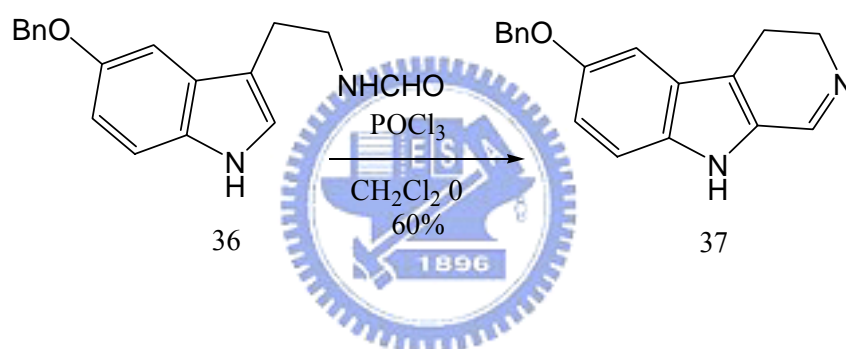


將三乙基胺(2.39g, 23.68mmole)加入化合物35(9g, 23.68mmole)的甲酸乙酯溶液(19.11ml, 236.8mmole)，加熱迴流攪拌5小時，先將甲酸乙酯濃縮抽乾後，加入水以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=2:1)，可得到黃色固體產物36(5.57g)，產率80%。

化合物36的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 2.99 (t, $J = 6.5\text{Hz}$, 2H), 3.66 (q, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 5.16 (s, 2H), 5.60 (bs, 1H), 7.00 (m, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.15 (d, $J = 1.5\text{Hz}$, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.35 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.42 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.52 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.11 (s, 1H),

3,4-dihydro-6-benzyloxy- β -carboline(37)之合成²⁹

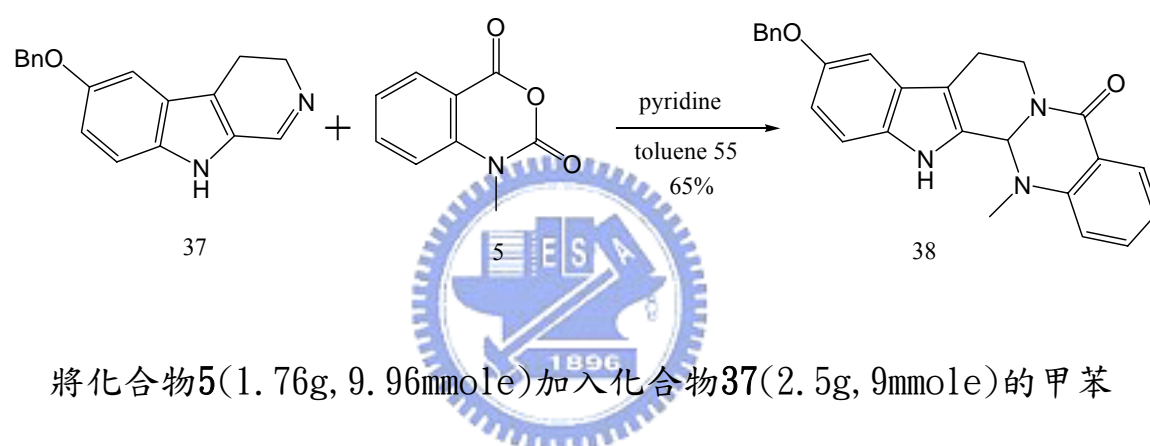


在氮氣下，將氧氯化磷(7.93ml, 85.0mmole)的無水二氯甲烷的溶液(8ml)慢慢加入 0°C 下之化合物36(5g, 17.0mmole)的無水二氯甲烷溶液(5ml)，攪拌1小時，回到室溫，再攪拌1小時。在冰浴下，加入水終止反應。以氨水中和PH值到7，再以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物，用乙酸乙酯作在結晶，得到黃色固體產物37(2.8g)，產率60%。

化合物37的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.99 (t, $J = 8.5\text{Hz}$, 2H), 3.91 (t, $J = 9.0\text{Hz}$, 2H), 5.08 (s, 2H), 6.99 (s, 1H), 7.10 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.32 (d, $J = 10\text{Hz}$, 1H), 7.37 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.44 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.79 (s, 1H),

10-benzyloxyevodiamine(38)之合成



將化合物5(1.76g, 9.96mmole)加入化合物37(2.5g, 9mmole)的甲苯溶液(5ml)，在加入吡啶(0.73ml, 9mmole)加熱攪拌2小時。將甲苯濃縮抽乾後，以二氯甲烷萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物用EA作在結晶，得到淡黃色固體產物38(2.39g)，產率65%。

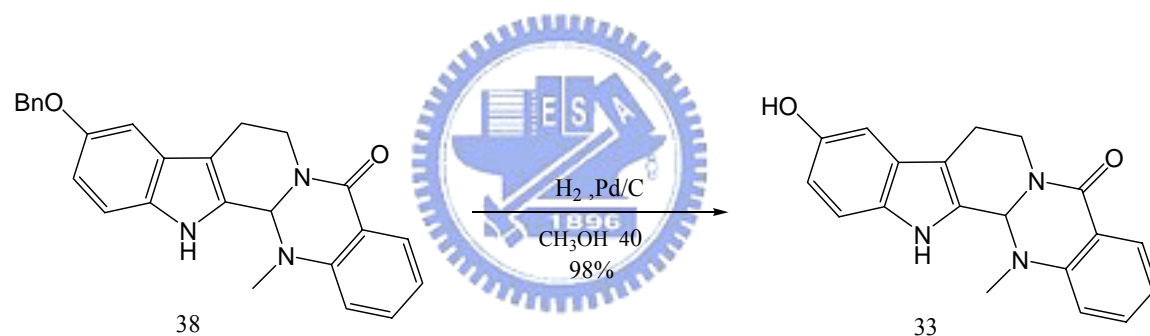
化合物38的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.49 (s, 3H), 2.92 (m, 2H), 3.25 (m, 1H), 4.84 (m, 1H), 5.11(s, 1H), 5.87 (s, 1H), 6.97 (dd, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.10 (m,

1H), 7.17 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.30 (m, 1H), 7.37 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.46 (m, 1H), 8.10 (m, 1H), 8.13 (s, 1H),

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 20.20, 37.26, 39.61, 68.97, 71.03, 102.46, 112.09, 113.50, 113.95, 122.27, 123.70, 124.01, 126.73, 127.56, 127.87, 128.58, 129.02, 129.19, 132.01, 133.07, 137.56, 150.66, 153.69, 164.77,

10-hydroxyevodiamine(33)之合成



將Pd/C(200mg, 10%w/w)觸媒加入化合物**38**(2g, 4.88mmole)的甲醇溶液(10ml)，灌入氫氣加熱至40°C攪拌一天。使用celite過濾，將甲醇濃縮抽乾，得到淡黃色固體產物**33**(1.52g)，產率98%。

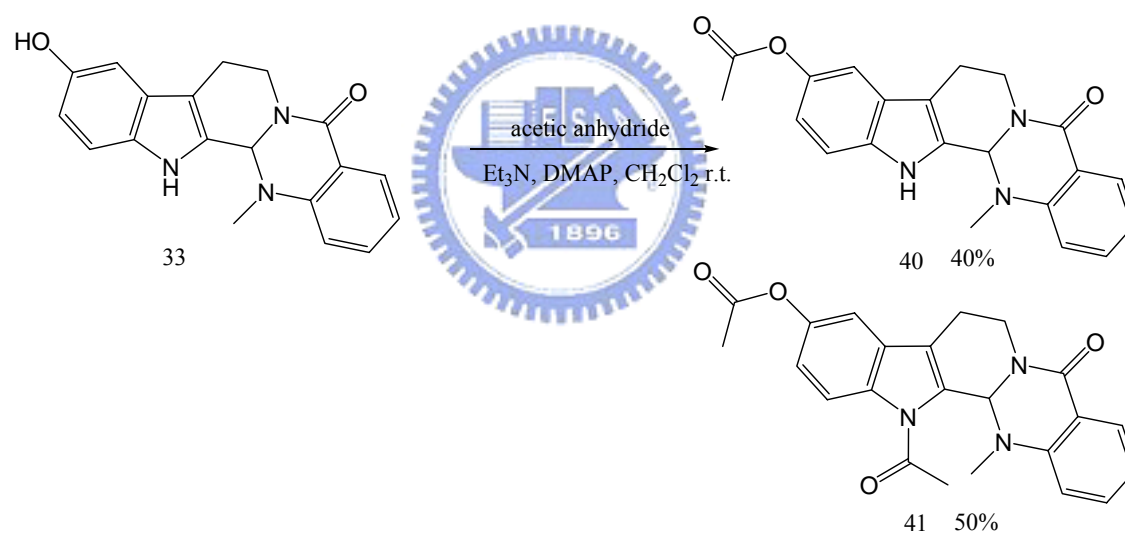
化合物**33**的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 2.65 (s, 3H), 2.88 (q, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 3.25 (m, 1H), 4.75 (m, 1H), 5.94 (s, 1H), 6.73 (dd, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 6.89

(d, $J = 2\text{Hz}$, 1H), 7.10 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.16 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.21 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.50 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.94 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H),

^{13}C NMR (125MHz, CD_3OD) δ 19.83, 35.42, 40.17, 69.45, 102.33, 111.50, 111.69, 112.22, 120.14, 121.53, 122.09, 128.13, 129.23, 132.19, 133.39, 150.47, 150.7, 165.76,

10-acetylevodiamine(40) and 1,10-diacetylevodiamine(41)之合成



將三乙基胺(6.3mg, 0.062mmole)和 DMAP(cat.)和醋酸酐(0.01ml, 0.111mmole)加入化合物33(20mg, 0.062mmole)的無水二氯甲烷溶液(2ml)，室溫下攪拌二小時。加入水終止反應，使用飽和的碳酸氫鈉水溶液中中和PH值。以二氯甲烷萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷

=1:2)，可得到黃色固體產物40(8.9mg)，產率40%，和黃色固體產物41(12.5mg)，產率50%。

化合物40的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 2.31 (s, 3H), 2.49 (s, 1H), 2.88 (m, 2H), 3.25 (m, 1H), 4.82 (m, 1H), 5.87 (s, 1H), 6.94 (dd, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.11 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.20 (m, 1H), 7.26 (d, $J = 2.0\text{Hz}$, 1H), 7.46 (m, 1H), 8.09 (m, 1H), 8.29 (s, 1H)

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 20.12, 21.20, 37.32, 39.58, 68.87, 111.24, 111.85, 113.90, 117.16, 122.32, 123.65, 124.14, 126.64, 129.01, 129.81, 133.17, 134.59, 144.55, 150.57, 164.76, 170.51

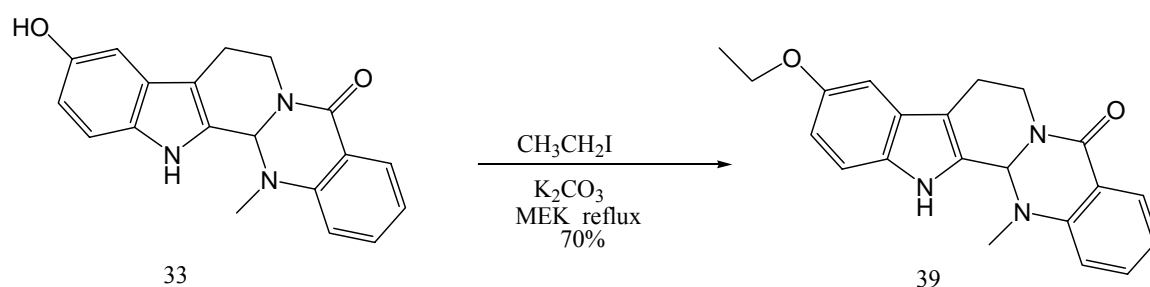
化合物41的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 2.33 (s, 3H), 2.35 (s, 1H), 2.77 (s, 3H), 2.82 (m, 1H), 2.93 (t, $J = 9.5\text{Hz}$, 1H), 3.18 (dt, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 4.93 (dd, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 6.17 (s, 1H), 7.11 (m, 1H), 7.20 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.27 (d, $J = 2.5\text{Hz}$, 1H), 7.47 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.10 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 8.29 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H)

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 20.72, 21.17, 26.14, 36.24, 37.80, 68.79,

111.25, 111.56, 115.03, 117.37, 120.06, 122.16, 123.56, 124.26, 128.33,
129.06, 133.40, 135.02,

10-ethoxyevodiamine(39)之合成



將碳酸鉀(9.52mg, 0.068mmole)加入化合物33(10mg, 0.031mmole)的丁酮溶液(2ml)，在加入乙基碘(0.0044ml, 0.056mmole)，加熱迴流24小時。反應完將碳酸鉀過濾除去，再將丁酮濃縮抽乾，加入水以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:2)，可得到黃色固體產物39(7.5mg)，產率70%。

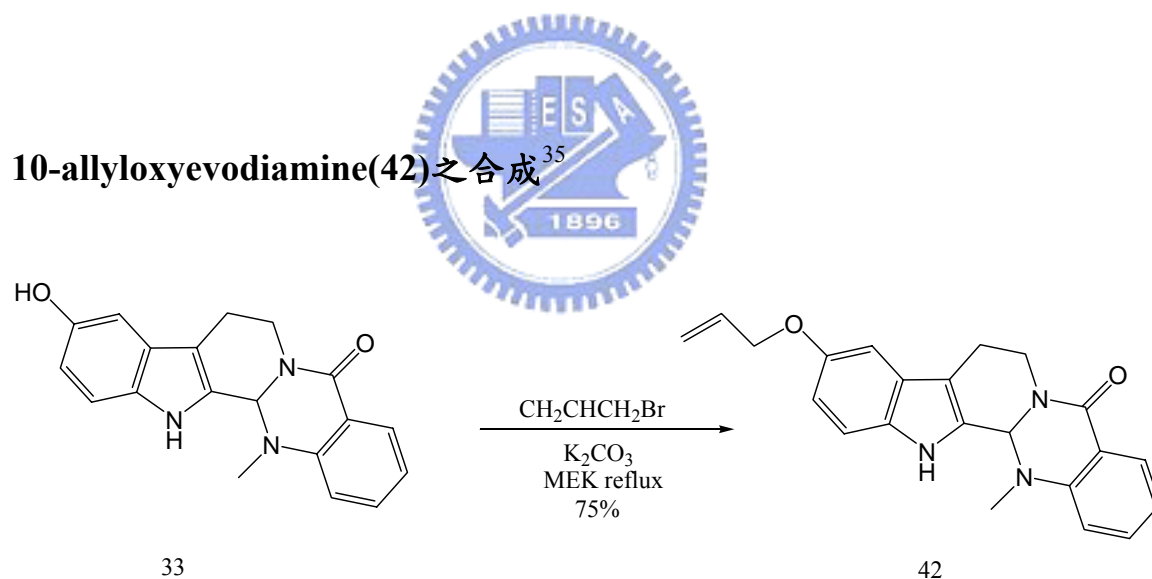
化合物39的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 1.43 (m, 3H), 2.49 (s, 3H), 2.89 (t, J = 4.5Hz, 2H), 3.25 (m, 1H), 4.07 (m, 2H), 4.83 (m, 1H), 5.87 (s, 1H), 6.88

(m, 1H), 6.99 (s, 1H), 7.11 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.17 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H),
7.27 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 7.46 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.09 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H),

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 15.06, 20.19, 37.23, 39.62, 64.30, 68.97,
101.92, 112.03, 113.42, 113.83, 122.25, 124.01, 126.73, 129.00, 131.82,
133.06, 150.65, 153.71, 164.76,

10-allyloxyevodiamine(42)之合成³⁵



將碳酸鉀(9.52mg, 0.068mmole)加入化合物33(10mg, 0.031mmole)
的丁酮溶液(2ml)，在加入丙烯溴(0.0048ml, 0.056mmole)，加熱迴
流24小時。反應完將碳酸鉀過濾除去，再將丁酮濃縮抽乾，加入水以
乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物

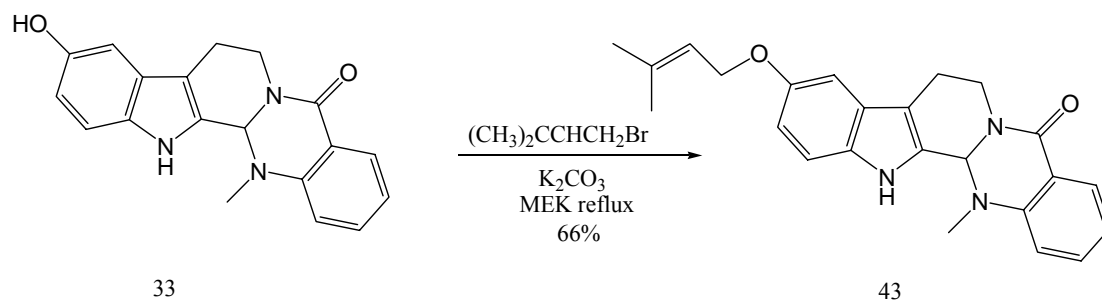
以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:2)，可得到黃色固體產物42(8.34mg)，產率75%。

化合物42的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.49 (s, 3H), 2.90 (m, 2H), 3.26 (m, 1H), 4.58 (d, $J = 5.5\text{Hz}$, 2H), 4.84 (m, 1H), 5.27 (dd, $J = 10\text{Hz}$, 1H), 5.43 (dd, $J = 18\text{Hz}$, 1H), 5.86 (s, 1H), 6.10 (m, 1H), 6.92 (dd, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.10 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.17 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.26 (d, $J = 6.5\text{Hz}$, 1H), 7.44 (m, 1H), 8.08 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.13 (s, 1H),

$^{13}\text{C NMR}$ (125MHz, CDCl_3) δ 20.19, 37.25, 39.62, 68.97, 69.85, 102.33, 112.05, 113.45, 113.90, 117.42, 122.25, 123.68, 124.01, 126.69, 129.01, 129.14, 131.95, 133.07, 133.86, 150.64, 153.42, 164.76,

10-isopentenyloxyevodiamine(43)之合成



將碳酸鉀(9.52mg, 0.068mmole)加入化合物33(10mg, 0.031mmole)

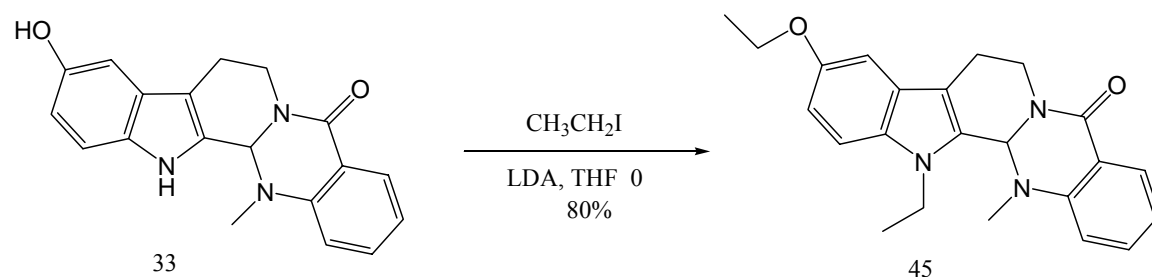
的丁酮溶液(2ml)，在加入4溴2甲基2丁烯(0.0066ml, 0.056mmole)，加熱迴流24小時。反應完將碳酸鉀過濾除去，再將丁酮濃縮抽乾，加入水以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:3)，可得到黃色固體產物43(7.9mg)，產率66%。

化合物43的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 1.74 (s, 3H), 1.84 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 3.11 (d, $J = 5.0\text{Hz}$, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.71 (d, $J = 5.5\text{Hz}$, 2H), 4.79 (t, $J = 10\text{Hz}$, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 6.79 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.11 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 7.18 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.46 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.09 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H),

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 18.22, 20.19, 25.86, 37.24, 39.71, 65.62, 69.07, 101.86, 112.06, 112.78, 113.38, 114.77, 117.81, 120.17, 122.07, 123.85, 124.66, 128.98, 129.97, 133.08, 134.96, 152.40, 153.74, 165.72,

1-ethyl-10-ethoxyevodiamine(45)之合成



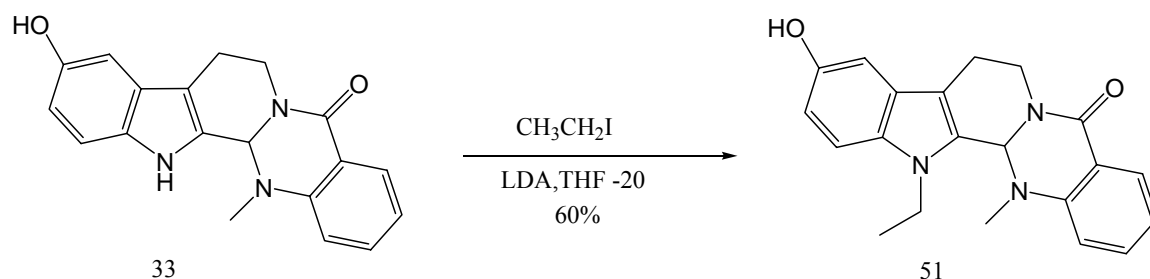
在0°C 氮氣下，將二異丙胺化鋰(0.0186ml, 2M in THF)慢慢加入化合物**33**(10mg, 0.031mmole)的無水四氫呋喃溶液(2ml)，攪拌半小時，在加入乙基碘(0.0044ml, 0.056mmole)，反應半小時。加入水終止反應，中和PH值到7，以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:2)，可得到黃色固體產物**45**(9.3mg)，產率80%。

化合物**45**的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 1.45 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 3H), 1.49 (t, $J = 6.5\text{Hz}$, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.85 (dt, $J = 5.5\text{Hz}$, 1H), 3.00 (d, $J = 12.5\text{Hz}$, 1H), 3.22 (dt, $J = 13.5\text{Hz}$, 1H), 4.15 (q, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 4.22 (m, 1H), 4.40 (m, 1H), 4.93 (m, 1H), 5.98 (s, 1H), 6.99 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.23 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.25 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.32 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.53 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 8.18 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H),

$^{13}\text{C NMR}$ (125MHz, CDCl_3) δ 15.09, 15.44, 19.45, 36.46, 37.90, 38.66, 67.05, 68.73, 101.95, 111.31, 112.21, 113.50, 117.22, 124.14, 125.68, 128.99, 129.89, 132.82, 133.21, 133.79, 150.97, 152.82, 164.66,

1-ethyl-10-hydroxyevodiamine(51)之合成



在 -20°C 氮氣下，將二異丙胺化鋰(0.0186ml, 2M in THF)慢慢加入化合物33(10mg, 0.031mmole)的無水四氫呋喃溶液(2ml)，攪拌半小時，在加入乙基碘(0.0044ml, 0.056mmole)，反應半小時。加入水終止反應，中和PH值到7，以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:2)，可得到黃色固體產物51(6.45mg)，產率60%。

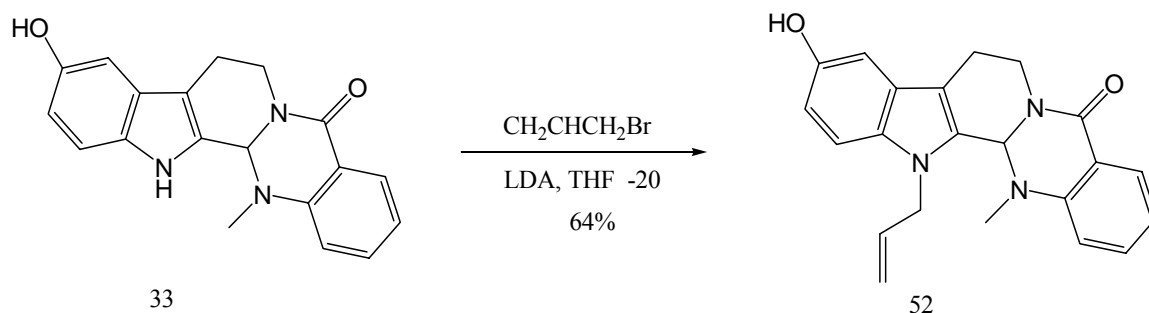
化合物51的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 1.38 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 3H), 2.40 (s, 3H), 2.81 (m, 1H), 2.91 (d, $J = 12.5\text{Hz}$, 1H), 3.16 (dt, $J = 11.5\text{Hz}$, 1H), 4.16 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 4.72 (bs, 1H), 4.87 (dd, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 5.90 (s, 1H), 6.84 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 6.98 (d, $J = 1.5\text{Hz}$, 1H), 7.16 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.22 (m, 1H), 7.47 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 8.11 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H),

$^{13}\text{C NMR}$ (125MHz, CDCl_3) δ 15.40, 20.42, 36.46, 38.67, 39.37, 68.00, 103.56, 110.31, 112.13, 112.38, 123.07, 124.18, 126.38, 129.01, 132.23,

132.87, 149.66, 150.95, 164.63,

1-allyl-10-hydroxyevodiamine(52)之合成



在 -20°C 氮氣下，將二異丙胺化鋰(0.0186ml, 2M in THF)慢慢加入化合物33(10mg, 0.031mmole)的無水四氫呋喃溶液(2ml)，攪拌半小時，在加入丙烯溴(0.0048ml, 0.056mmole)，反應半小時。加入水終止反應，中和PH值到7，以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯：正己烷=1:2)，可得到黃色固體產物52(7.12mg)，產率64%。

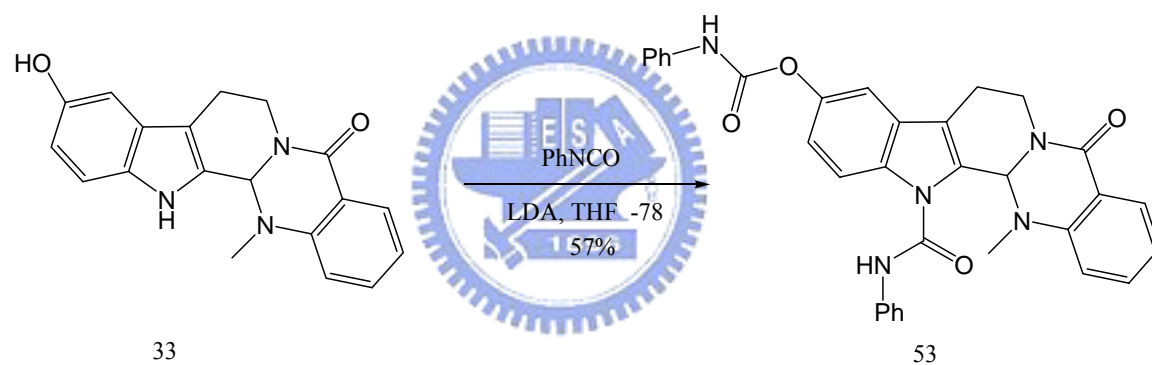
化合物52的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.40 (s, 3H), 2.83 (d, $J = 11.5\text{Hz}$, 1H), 2.91 (d, $J = 14.5\text{Hz}$, 1H), 3.14 (m, 1H), 4.76 (d, $J = 17.0\text{Hz}$, 2H), 4.87 (m, 1H), 4.93 (d, $J = 16.5\text{Hz}$, 2H), 5.09 (d, $J = 10.0\text{Hz}$, 1H), 5.87 (s, 1H), 5.92 (m,

1H), 6.83 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 6.99 (s, 1H), 7.15 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.19 (t, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.46 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 8.11 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H),

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 20.39, 36.58, 39.41, 46.27, 68.59, 103.53, 110.68, 111.48, 112.53, 116.64, 118.81, 123.06, 124.20, 126.36, 127.32, 128.98, 131.46, 132.91, 133.56, 150.89, 153.62, 164.66,

1-phenylcarbamoyl-10-phenylcarbamoyloxyevodiamine(53)之合成



在 -78°C 氮氣下，將二異丙胺化鋰(0.0186ml, 2M in THF)慢慢加入化合物33(10mg, 0.031mmole)的無水四氫呋喃溶液(2ml)，攪拌半小時，在加入苯基異氰酸酯(0.0041ml, 0.037mmole)，反應半小時。加入水終止反應，中和PH值到7，以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:1)，可得到黃色固體產物53(9.84mg)，產率57%。

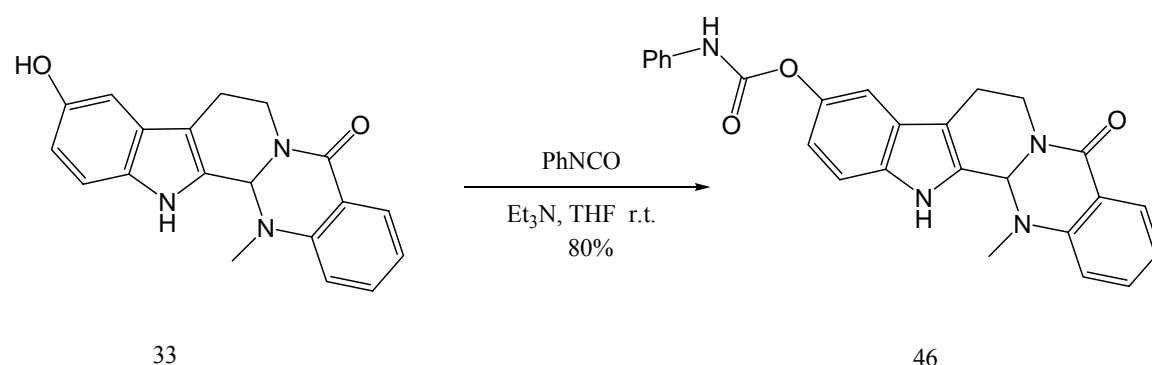
化合物53的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.57 (s, 3H), 2.82 (m, 1H), 2.95 (d, $J = 13.0\text{Hz}$, 1H), 3.16 (m, 1H), 4.95 (dd, $J = 13.0\text{Hz}$, 1H), 5.36 (s, 1H), 6.09 (s, 1H), 6.91 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 1H), 6.95 (s, 1H), 7.09 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.35 (m, 2H), 7.47 (m, 8H), 7.58 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.17 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 8.23 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 2H), 11.13 (s, 1H),

$^{13}\text{C NMR}$ (125MHz, CDCl_3) δ 20.51, 36.66, 38.86, 68.82, 103.44, 114.89, 117.96, 120.44, 120.82, 123.20, 124.43, 126.18, 126.33, 128.11, 128.44, 129.11, 129.39, 129.68, 133.59, 133.63, 137.66, 148.32, 148.74, 149.94, 151.95, 163.59,



10-phenylcarbamoyloxyevodiamine(46)之合成



將三乙基胺(3.13mg, 0.031mmole)和苯基異氰酸酯(0.0041ml,

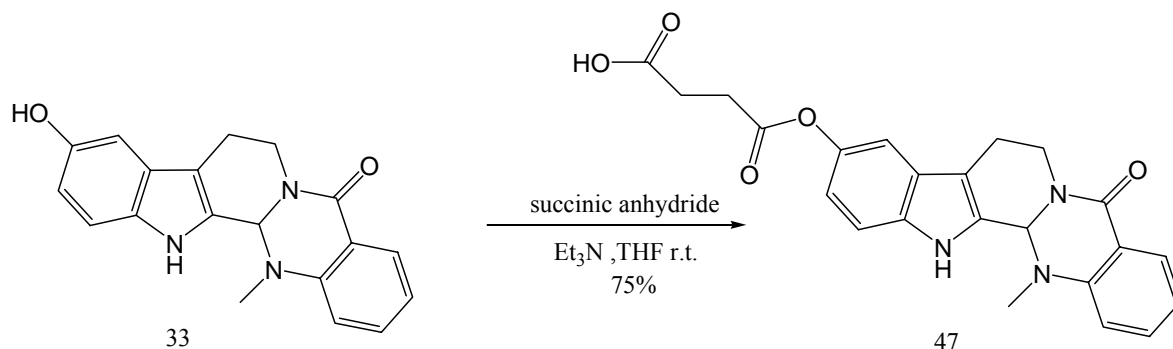
0.037mmole)加入化合物**33**(10mg, 0.031mmole)的無水四氫夫喃溶液(2ml)，室溫下攪拌三小時。加入水終止反應，使用飽和的碳酸氫鈉水溶液中中和PH值。以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:3)，可得到白色個體產物**46**(10.86mg)，產率80%。

化合物**46**的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 2.54 (s, 3H), 2.96 (d, $J = 4.5\text{Hz}$, 2H), 3.31 (m, 1H), 4.90 (d, $J = 9.5\text{Hz}$, 1H), 5.95 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 7.13 (m, 2H), 7.40 (m, 6H), 7.52 (m, 1H), 8.16 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 8.35 (s, 1H),

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 20.19, 34.66, 37.33, 69.56, 103.89, 110.70, 111.51, 116.71, 118.64, 123.69, 124.92, 129.19, 130.27, 133.17, 134.24, 139.11, 144.51, 145.34, 153.84, 166.16,

10-succinylevodiamine(47)之合成



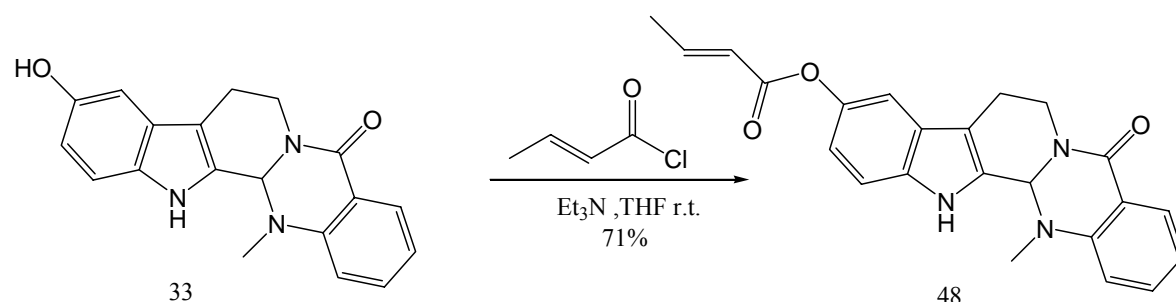
將三乙基胺(3.13mg, 0.031mmole)和丁二酸酐(3.7mg, 0.037mmole)加入化合物**33**(10mg, 0.031mmole)的無水四氫呋喃溶液(2ml)，室溫下攪拌二小時。加入水終止反應，使用飽和的碳酸氫鈉水溶液中中和PH值。以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:1)，可得到黃色固體產物**47**(9.74mg)，產率75%。

化合物**47**的光譜資料如下：

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.52 (s, 3H), 2.70 (d, $J = 12\text{Hz}$, 2H), 2.96 (m, 6H), 3.31 (m, 1H), 4.82 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 5.88 (s, 1H), 6.87 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.14 (d, $J = 5\text{Hz}$, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 9.00 (s, 1H),

$^{13}\text{C NMR}$ (125MHz, CDCl_3) δ

10-crotonylevodiamine(48)之合成³⁶



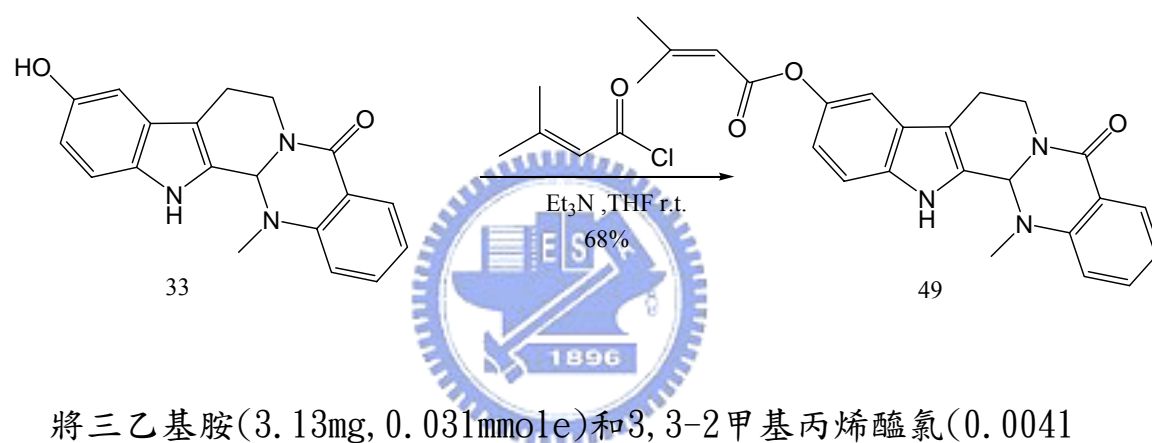
將三乙基胺(3.13mg, 0.031mmole)和丁烯醯氯(0.0035ml, 0.037 mmole)加入化合物**33**(10mg, 0.031mmole)的無水四氫呋喃溶液(2ml)，室溫下攪拌一小時。加入水終止反應，使用飽和的碳酸氫鈉水溶液中和PH值。以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:2)，可得到黃色固體產物**48**(8.5mg)，產率71%。

化合物**48**的光譜資料如下：

¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 1.96 (d, J = 6.5Hz, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.88 (s, 2H), 3.24 (m, 1H), 4.82 (d, J = 12.5Hz, 1H), 5.25 (d, J = 11.5Hz, 1H), 5.85 (s, 1H), 6.05 (d, J = 15Hz, 1H), 6.91 (t, J = 11.0Hz, 1H), 7.10 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.17 (t, J = 7.0Hz, 1H), 7.26 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.33 (d, J = 8.5Hz, 1H), 7.45 (t, J = 7.0Hz, 1H), 8.08 (d, J = 7.5Hz, 1H), 8.46 (d, J = 10.5Hz, 1H),

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 18.24, 21.07, 37.32, 39.66, 68.86, 111.20, 111.85, 113.93, 117.10, 117.32, 119.14, 122.30, 123.68, 124.17, 126.63, 129.03, 129.90, 133.17, 134.61, 144.53, 146.68, 164.75, 165.86,

10-(3-methylcrotonoyl)-evodiamine(49)之合成³⁶



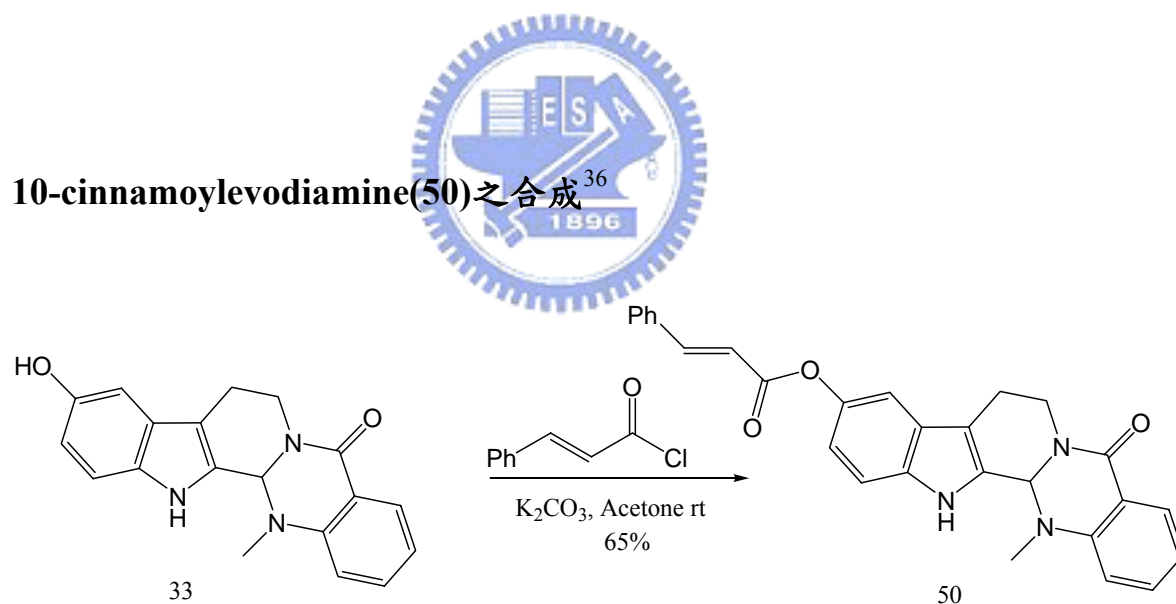
將三乙基胺(3.13mg, 0.031mmole)和3, 3-2甲基丙烯醯氯(0.0041 ml, 0.037mmole)加入化合物33(10mg, 0.031mmole)的無水四氫呋溶液(2ml)，室溫下攪拌一小時。加入水終止反應，使用飽和的碳酸氫鈉水溶液中中和PH值。以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:1)，可得到黃色固體產物49(8.45mg)，產率68%。

化合物49的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 1.84 (s, 3H), 1.92 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.89 (d, $J = 4.0\text{Hz}$, 2H), 3.24 (m, 1H), 4.83 (d, $J = 9.5\text{Hz}$, 1H), 5.00 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 1H), 5.87 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 7.11 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.18 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.26 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.34 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.46 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 8.09 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.36 (s, 1H),

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 20.15, 22.61, 27.68, 37.30, 39.58, 68.88, 111.14, 111.41, 111.83, 113.89, 115.16, 115.43, 117.06, 117.51, 122.27, 124.08, 126.62, 129.01, 129.59, 133.13, 134.58, 150.61, 164.75, 170.75,

10-cinnamoylevodiamine(50)之合成³⁶



將碳酸鉀(9.52mg, 0.068mmole)加入化合物33(10mg, 0.031mmole)的丁酮溶液(2ml)，在加入肉桂醯氯(6.1mg, 0.037mmole)，室溫下攪拌二小時。反應完將碳酸鉀過濾除去，再將丙酮濃縮抽乾，加入水以乙酸乙酯萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾燥，過濾、濃縮後粗產物

以矽膠管柱色層分析法純化(乙酸乙酯:正己烷=1:2),可得到黃色固體產物**50**(9.04mg),產率65%。

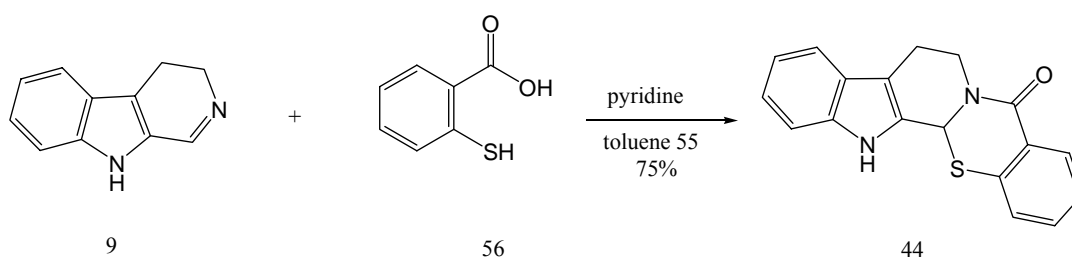
化合物**50**的光譜資料如下:

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 2.49 (s, 3H), 2.90 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 3.26 (m, 1H), 4.84 (d, $J = 13.0\text{Hz}$, 1H), 5.89 (s, 1H), 6.66 (d, $J = 16\text{Hz}$, 1H), 7.03 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.12 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.19 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 7.36 (d, $J = 11.5\text{Hz}$, 1H), 7.40 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 2H), 7.47 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 7.58 (s, 2H), 7.88 (d, $J = 16.5\text{Hz}$, 1H), 8.09 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 1H), 8.30 (s, 1H),

$^{13}\text{C NMR}$ (125MHz, CDCl_3) δ 20.14, 36.82, 40.65, 69.06, 111.26, 111.84, 114.58, 115.29, 117.19, 117.63, 120.03, 122.10, 123.49, 126.69, 128.30, 129.01, 130.38, 131.80, 133.16, 135.55, 139.12, 139.60, 146.33, 159.92, 164.70

6,6a-dihydrothiochromeno[2,3-a]carbazol-7(5H,12aH,13H)-one(**44**)之

合成



將化合物**9**(50mg, 0.294mmole)加入化合物**56**(54mg, 0.353mmole)的

甲苯溶液(5ml)，在加入吡啶(23.2 μ l, 0.294mmole)加熱攪拌2小時。

將甲苯濃縮抽乾後，以二氯甲烷萃取三次，有機層經無水硫酸鎂乾

燥，過濾、濃縮後粗產物用甲醇作在結晶，得到白色固體產物44

(67.4mg)，75%。

化合物44的光譜資料如下：

^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 2.93 (s, 3H), 3.37 (q, $J = 5.5\text{Hz}$, 1H), 4.74 (d, $J = 12.5\text{Hz}$, 1H), 6.23 (s, 1H), 7.08 (t, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 7.16 (t, $J = 7.5\text{Hz}$, 2H), 7.23 (d, $J = 6.0\text{Hz}$, 1H), 7.30 (d, $J = 7.0\text{Hz}$, 2H), 7.49 (d, $J = 7.5\text{Hz}$, 1H), 8.12 (s, 1H),

^{13}C NMR (125MHz, CDCl_3) δ 20.48, 40.13, 57.08, 111.41, 112.31, 118.96, 120.27, 123.32, 126.20, 126.60, 126.97, 127.10, 129.50, 131.35, 131.90, 135.99, 136.84, 165.43,

第五章、抗癌活性測試結果與討論

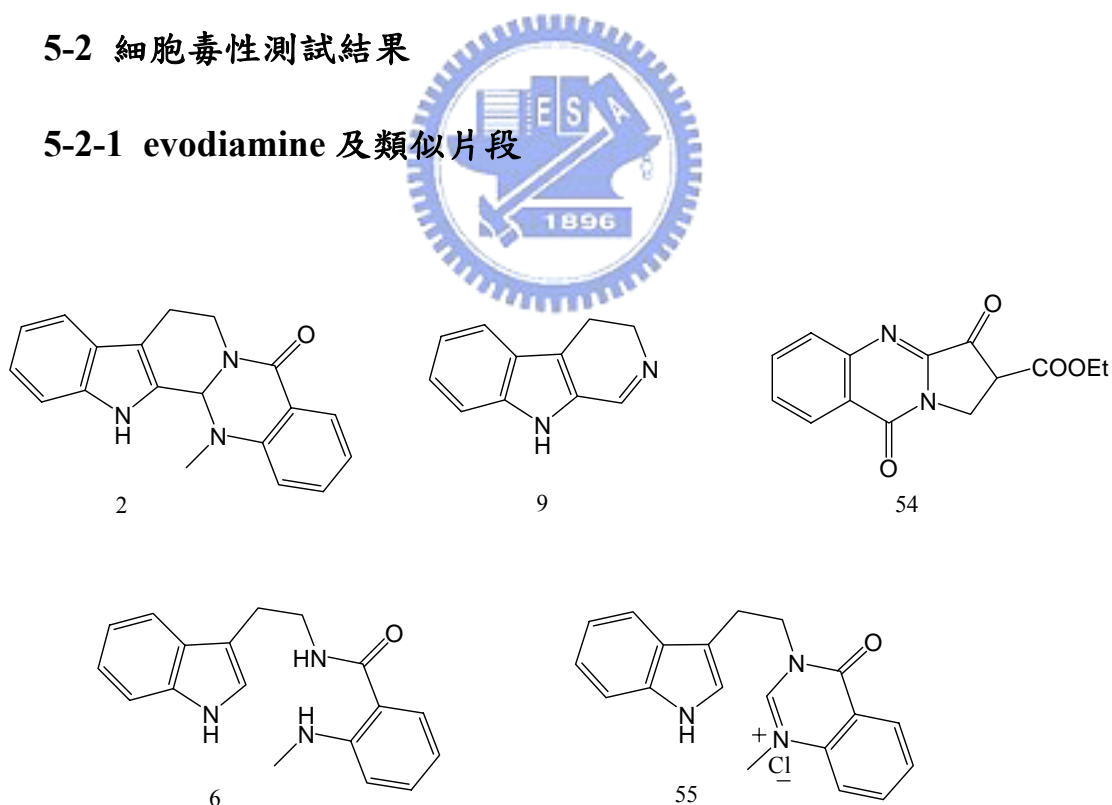
5-1 細胞毒性試驗-MTT assay

MTT 分析之原理

利用 MTT 被活細胞粒線體內的去氫酶間接還原成 formazon 呈藍紫色結晶，使用既定的溶液溶解結晶，在特定波長下測吸光度，比較出細胞活性。MTT 轉變僅在存活細胞中進行，由於細胞還原 MTT 的能力代表細胞粒線體活性，因此可以作為細胞存活的指標。

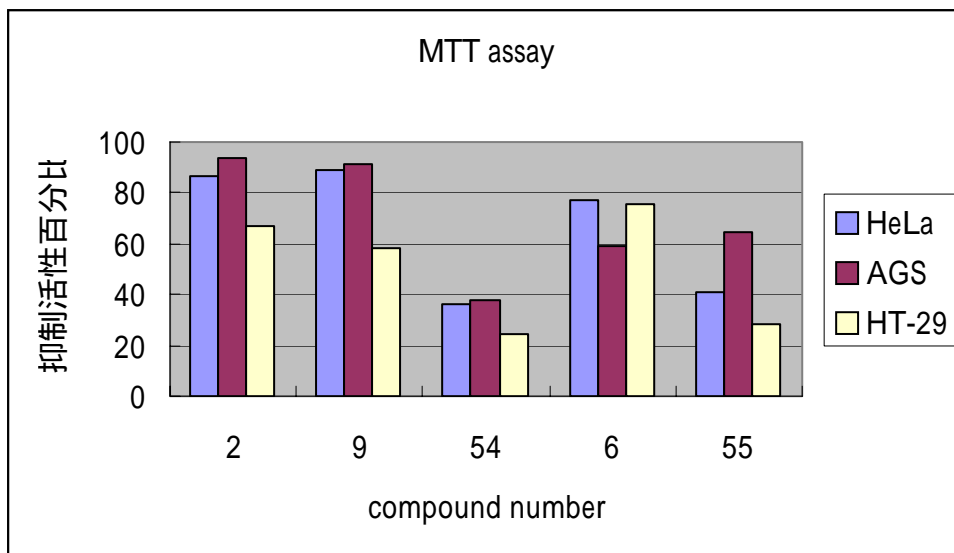
5-2 細胞毒性測試結果

5-2-1 evodiamine 及類似片段



圖二十六

測試結果



圖二十七

表二

	HeLa	AGS	HT-29
2	86.36	93.78	67.08
9	88.59	90.98	57.98
54	36.49	37.46	24.25
6	77.16	59.27	75.78
55	41.01	64.75	27.99

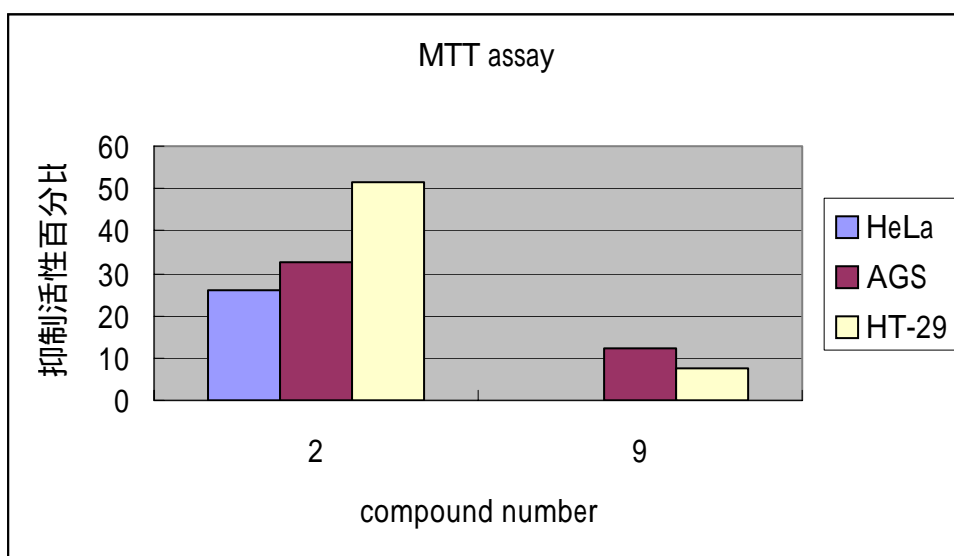
100 μ M/48hr

以吳茱萸鹼(2)為標準，可以發現化合物 9 的細胞毒性在 HeLa、AGS 癌細胞中是非常接近，在 HT-29 癌細胞中就以吳茱萸鹼為之有效。而化合物 54 明顯的表現出活性不好。接著化合物 6 的抑制癌細胞的活性就比化合物 54 來的好很多，化合物 55 的活性就略差於化合物 6，

可能因為是鹽類的關係。

從以上的結果，我們發現吳茱萸鹼(2)和化合物 9 的毒殺效果都接近一百，因此我們便將濃度減半在做一次活性測試。

測試結果



圖二十八

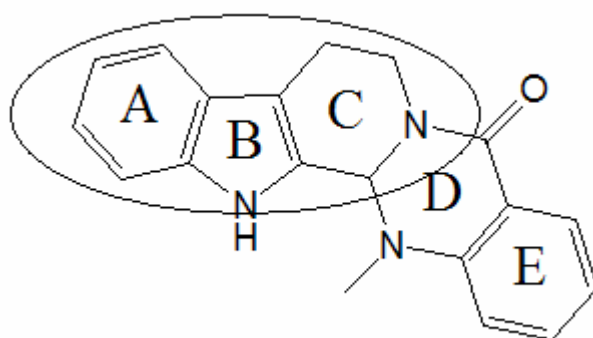
表三

	HeLa	AGS	HT-29
2	26.07	32.64	51.51
9	0.00	12.34	7.75

50 μ M/48hr

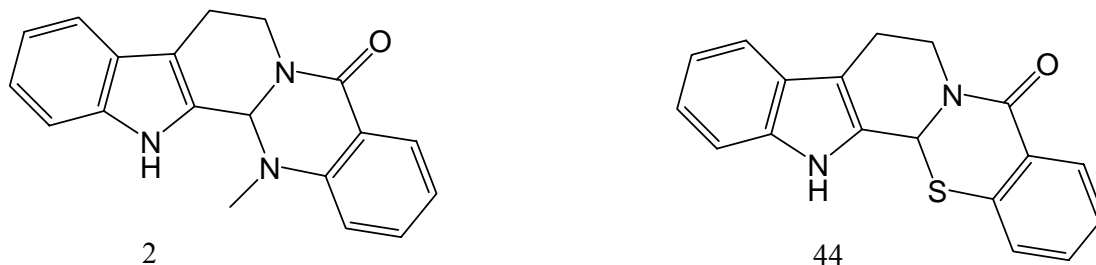
經由再做一次的活性比較，我們可以很明顯看出吳茱萸鹼(2)與化合物 9 之差異性。首先在 $100\mu\text{M}$ 的濃度下兩各化合物都非常有活性，但是將濃度減少至一半時，就發現到化合物 9 的活性降的很多，幾乎到沒活性的地步，不過吳茱萸鹼(2)還是具有一些活性效果。所以我們可以推論吳茱萸鹼還是比化合物 9 來的好。

化合物 9 雖然在 $50\mu\text{M}$ 是接近沒有毒殺癌細胞的效果，不過在濃度增加後效果有顯著提升。而且在三個癌細胞的結果都比化合物 54 好，所以說在吳茱萸鹼整個五環的結構中，化合物 9 就像在左邊的 A、B、C 三個環而化合物 54 就類似是 C、D、E 環。因此我們推論 A、B、C 三環是為吳茱萸鹼五環中具有活性的部分，而右邊的 D、E 兩個環對抑制癌細胞就沒有活性，在根據化合物 6、55 的結果我們又可以得到說將 D、E 環接上對於活性是有提升的效果。



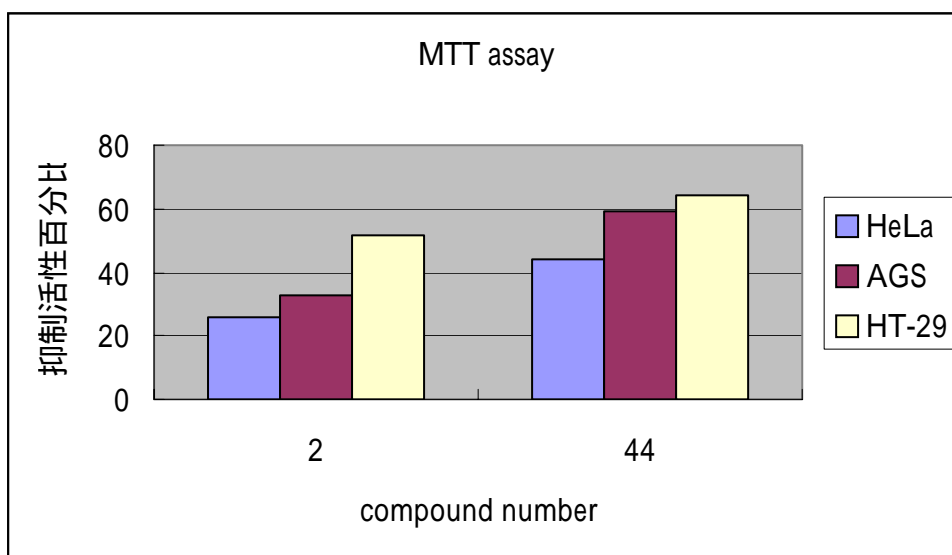
圖二十九

5-2-2 evodimaine and
6,6a-dihydrothiochromeno[2,3-a]carbazol-7(5H,12aH,13H)-one



圖三十

測試結果



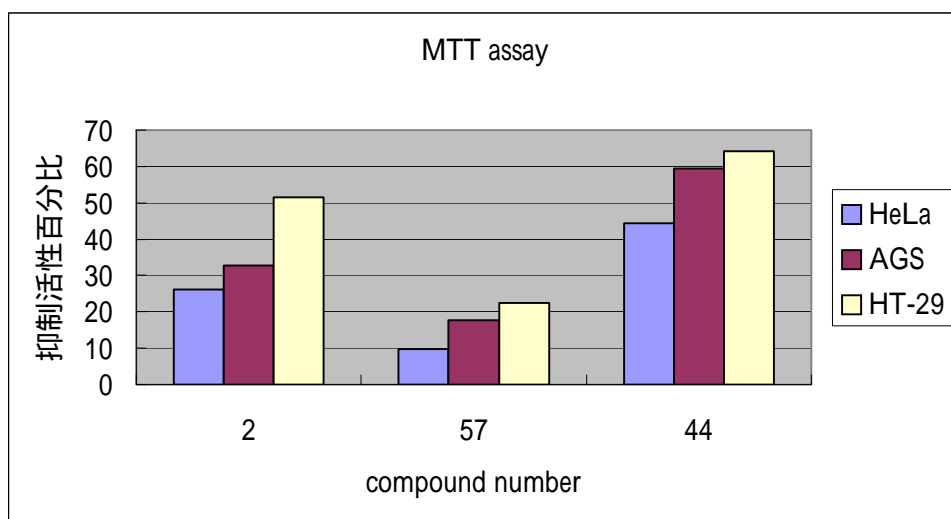
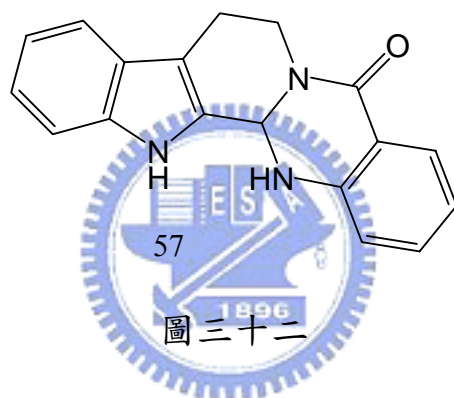
圖三十一

表四

	HeLa	AGS	HT-29
2	26.07	32.64	51.51
44	44.40	59.36	64.09

50 μ M/48hr

經由第一次的活性篩選結果和推論後，我們合成了一個類似的化合物 44。因為在 100 μ M 得到的結果都很好，因此將濃度減半為 50 μ M 來區分出何者才是比較有效的。我們將 14 位置的 N-methyl group 換成硫原子，得到的結果略好於吳茱萸鹼(2)。根據日本 Ogasawara 教授推論在 N 有一個甲基比沒有來的有效，因此他認為需要那個甲基。而我們實驗室同仁做了沒有甲基的化合物 57(圖三十四)，一併送測得到了這樣的結果。



圖三十三

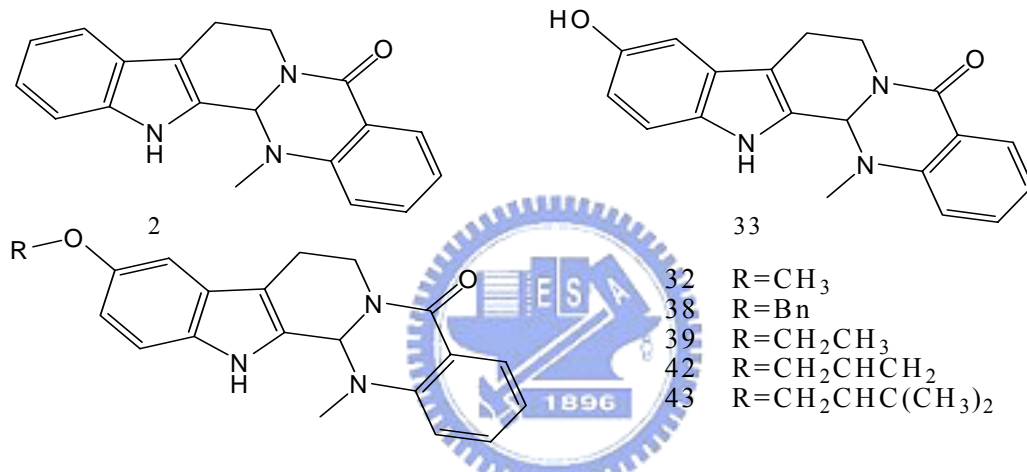
表五

	HeLa	AGS	HT-29
2	26.07	32.64	51.51
57	9.72	17.77	22.47
44	44.40	59.36	64.09

50 μ M/48hr

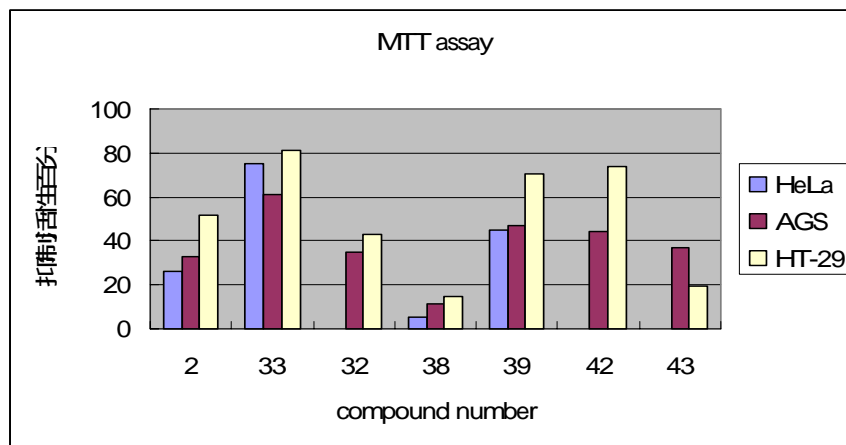
由上圖表可以很明確的比較出結果，我們使用硫來代替氮是可以增加活性的。

5-2-3 evodiamine, 10-hydroxyevodiamine, 10-alkoxyevodiamine



圖三十四

測試結果



圖三十五

表六

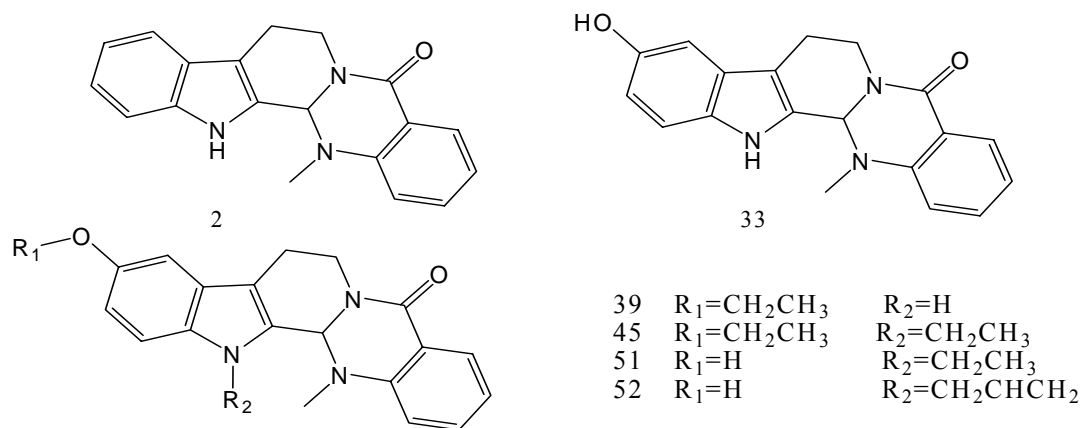
	HeLa	AGS	HT-29
2	26.07	32.64	51.51
33	74.91	61.04	81.50
32	0.00	34.60	43.26
38	5.20	11.62	14.48
39	45.20	46.97	70.67
42	0.00	44.46	74.08
43	0.00	36.77	19.66

50 μ M/48hr

我們合成了上述幾個不同的碳鏈的衍生物，經過活性測試後，得到如上圖表的結果。首先看到第一個子宮頸癌細胞(HeLa)結果的差異性很大，根據測試學長的推論是說這種癌細胞對特定濃度和化合物很敏感，不然大部分都沒有效果。因此只有幾個化合物有抑制的效果，其中以化合物 33 最好，雖然化合物 39, 38 皆有毒殺的效果，不過都低於 50%以下，所以子宮頸癌對於增加的不同的烷基並沒有提升活性的效果。

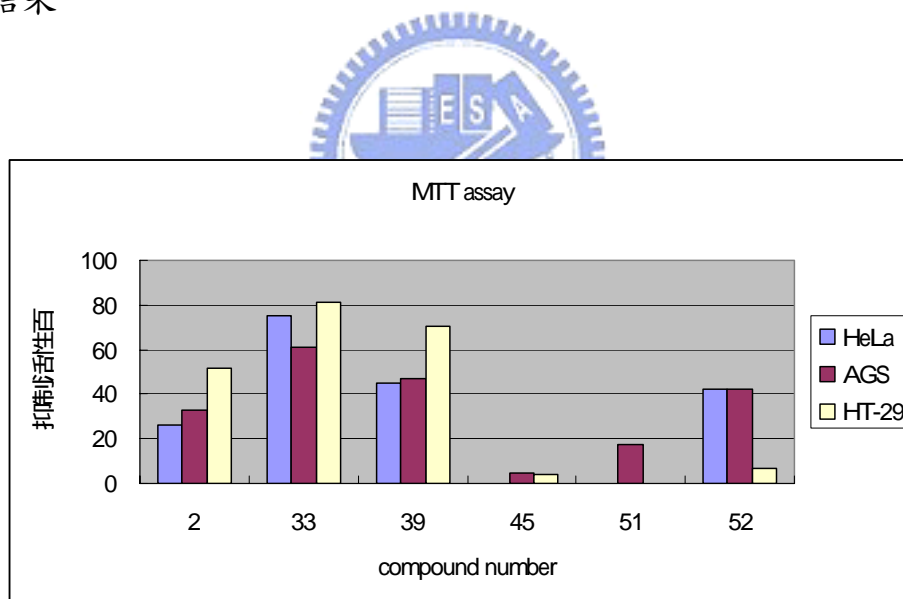
接著我們看到胃癌細胞(AGS)和直腸癌細胞(HT-29)的活性部分，當碳數由 1 個增加到 3 個如化合物 32, 39, 42 都有比吳茱萸鹼(2)來的好毒殺活性。尤其對直腸癌效果突顯。可是當 R group 變成 isopentenyl group 活性就變的非常的差，當然變成 Bn group 活性很差就能夠理解了。所以當主碳鏈長度超過 3 個或著一個大平面的苯環對於抑制癌細胞的活性是不好的。

5-2-4 evodiamine, 10-hydroxyevodiamine,
1-alkyl-10-alkoxyevodiamine, 1-alkyl-10-hydroxyevodiamine,



圖三十六

測試結果



圖三十七

表七

	HeLa	AGS	HT-29
2	26.07	32.64	51.51
33	74.91	61.04	81.50
39	45.20	46.97	70.67

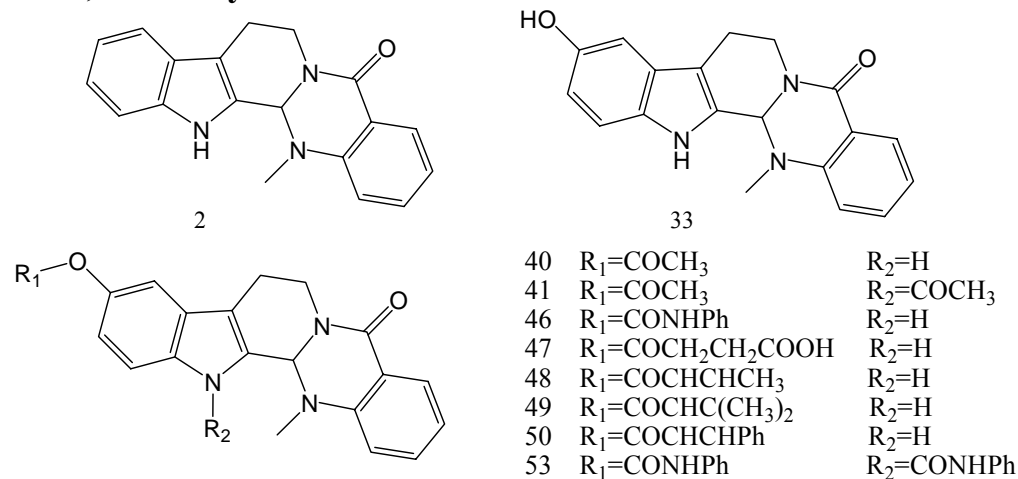
45	0.00	4.82	4.07
51	0.00	17.61	0.00
52	42.00	42.57	6.53

50 μ M/48hr

我們針對了 indole group 做了幾個衍生物，去探討接上烷基後是否會有影響。經過測試後，雖然沒有很好的效果，但是卻也說明了 indole 是不能變動的。由化合物 39 和化合物 45 可以很明確地比較出差異性，化合物 45 可以說是沒有活性了。而保留 OH group 只在 indole group 上接烷基，一樣是沒有活性可言。而化合物 52 是有 40% 左右對於其中兩個癌細胞株，不過相較於沒有接官能基於 indole group 上的衍生物還是算比較差的效果。所以我們可以推論 indole group 是不可以更動的地方。

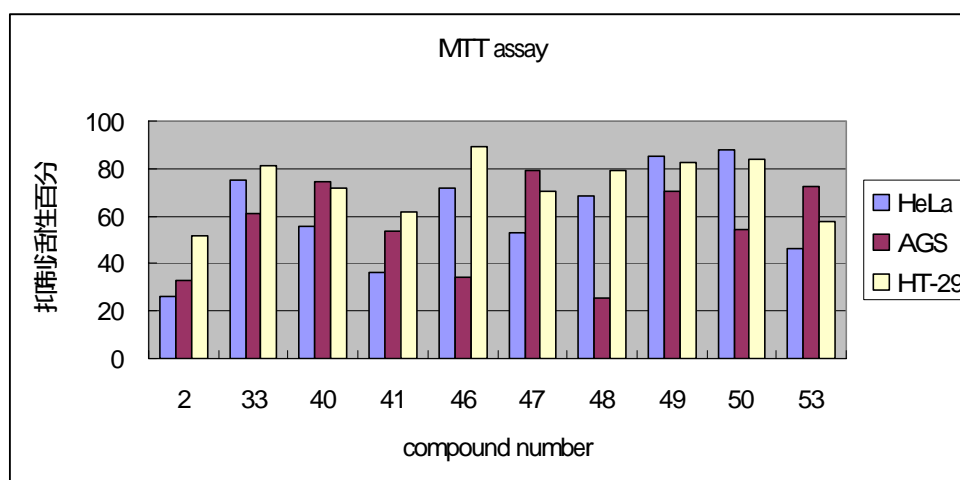


5-2-5 evodiamine, 10-hydroxyevodiamine, 10-acrylevodiamine, 1,10-diacrylevodiamine



圖三十八

測試結果



圖三十九

表八

	HeLa	AGS	HT-29
2	26.07	32.64	51.51
33	74.91	61.04	81.50
40	55.97	74.35	71.54
41	36.50	53.82	61.78
46	71.60	34.31	89.00
47	53.10	79.04	70.28
48	68.70	25.34	79.52
49	85.36	70.20	82.48
50	87.96	54.55	83.96
53	46.30	72.38	57.41

50 μ M/48hr

我們做了一系列的接有 C=O 官能基的衍生物，經由測試的結果，可以發現到活性有明顯的提升，比接上烷基那系列來的好。從化合物 40, 41 和 46, 53 這兩組化合物，我們可以發現先前推論 indole group

不能更動對化合物 40, 41 是可行的。對化合物 46, 53 中兩個癌細胞株也是可以的。只有對胃癌細胞有出乎意外的結果，反而是化合物 53 有好的效果，對於這樣的結果到也挺令人難以推測阿。至於化合物 47, 48, 49, 50 這幾個衍生物在子宮頸癌(HeLa)和直腸癌(HT-29)的結果都是越來越好，抑制效果相較於吳茱萸鹼(2)也有滿大的提升，顯示出接上包含有 C=O 和 C=C group 這兩各官能基的衍生物對毒殺癌細胞有提升的功效。這系列對於胃癌細胞的結果有著不小的差異，像化合物 46, 48 就算是沒什麼抑制效果，可是化合物 49 比 48 多一個甲基活性可就有接近 3 倍之差。而化合物 50 一邊接著 Ph group 效果比接一個甲基好，不過還是接兩個甲基才是比較好的。化合物 47 接著酸基得到對胃癌最好的效果，或許末端是酸基的衍生物會對胃癌細胞有比較好的抑制效果，這還需要更多結果才能證明。

第六章、結論

我們合成了數十個吳茱萸鹼衍生物，經過抗癌活性測試後，得到了幾個在毒性試驗結果比吳茱萸鹼好的化合物 (表九)。其中又以化合物 33 和 49 最有抑制效果。其餘的化合物有些是在兩個癌細胞株有效，有的只針對一個癌細胞株有效。

表九

	HeLa	AGS	HT-29
2	26.07	32.64	51.51
33	74.91	61.04	81.50
39	45.20	46.97	70.67
40	55.97	74.35	71.54
41	36.50	53.82	61.78
42	0.00	44.46	74.08
44	44.40	59.36	64.09
46	71.60	34.31	89.00
47	53.10	79.04	70.28
48	68.70	25.34	79.52
49	85.36	70.20	82.48
50	87.96	54.55	83.96
53	46.30	72.38	57.41

50 μ M/48hr

接著我們從結構上去研究，分為幾點來說明

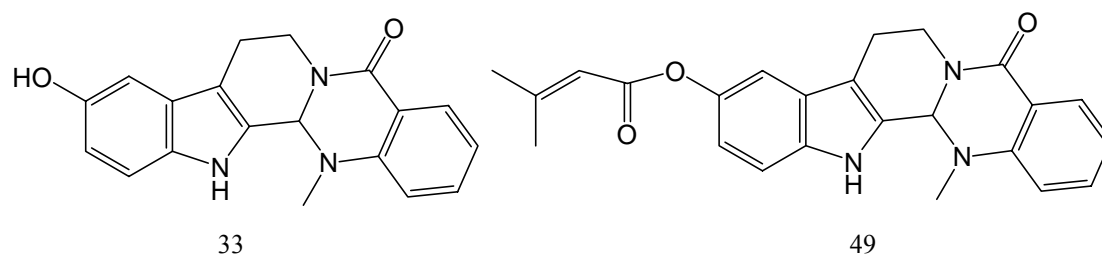
1. 在 10 號位置以 OH 基做烷基化的改變，讓我們發現到化合物 39、42、對於 HT-29 癌細胞是比較有抑制效果，而對其他兩個癌細胞就沒這麼好。在這系列中，化合物 33 的效果已經比吳茱萸鹼(2)

來的有效，我們也可以知道說主碳鏈的長度不能超過三個碳，不然抑制效果就會降很多。

2. 在 1 號位置上的 NH 基做烷基化的改變，幾乎都無法達到毒殺癌細胞的效果，因此可以推論這個位置是不能做改變的。
3. 在 10 位置上的 OH 基做醯化的變化，這類的化合物除了 41、53 之後討論以外。我們可以發現對其中某兩個癌細胞都具有不錯的抑制結果。代表說接上了 C=O 形成酯類的鍵結，對於抗癌活性有提升的功效。又以化合物 48、49、50 再接有不飽和的 C=C 增加效果達至 80% 左右。
4. 化合物 41、53 是在 1、10 位置上都接有 acetyl 或是 phenyl isocyanate group。因為有接上 C=O 的官能基，所以活性有提升一些，如化合物 41 就對直腸癌細胞有點效果，相較於化合物 40 還是有差距。而接有 phenyl isocyanate 的化合物 46、53 在胃癌細胞有特別之處。接有兩個官能基的化合物 53 居然比化合物 46 來得好，可見化合物 53 對胃癌有獨特性。
5. 根據化合物 44 讓我們得知，將 14 位置的 N-methyl group 換成硫原子，活性會提升一些。若再加以改變 10 位置的官能基，或許可以得到更好的效果。

整合來說以細胞毒性結果，可以得到說化合物 33、49 是具有前景

去開發成為新的抗研藥物。



圖四十 化合物 33、49 的結構



參考文獻

1. H.C. Ko, K.T. Chen, C.-J. Chou and C.F. Chen, *J. Chin. Med.* **13**, 151-158, (2002).
2. W. F. Chiou, C. J. Chou, Y. C. Shum, and C. F. Chen, *Eur. J. Pharmacol.* **215**, 277-283, (1992).
3. C. F. Chen, S. M. Chen, M. T. Lin, and S. Y. Chow, *Am. J. Chinese Med.* **9**, 39-47, (1981).
4. W. F. Chiou, J. F. Liao, and C. F. Chen, *J. Nat. Prod.* **59**, 374-378, (1996).
5. W. F. Chiou, Y. J. Sung, J. F. Liao, Y. C. Shum, and C. F. Chen, *J. Nat. Prod.* **60**, 708-711, (1997).
6. M. Ogasawara, T. Matsubara, and H. Suzuki, *Biol. Pharm. Bull.* **24**, 720-723, (2001).
7. Y. Asahina, and T. Ohta, *Chem. Ber.* **61**, 321-324, (1928).
8. T. Kametani, T. Higa, C.V. Loc, M. Ihara, M. Koizumi, and K. Fukumoto, *J. Am. Chem. Soc.* **98**, 6186-6188, (1976).
9. T. Kamikado, S. Murakoshi, and S. Tamura, *Agric. Biol. Chem.* **42**, 1515-1519, (1978).
10. B. Danieli, and G. Palmisano, *Heterocycles*; **9**, 803-806, (1978).
11. B. Danieli, G. Lesma, and G. Palmisano, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **19**, 1092-1093, (1982).
12. J. Bergman, and S. Bergman. *J. Org. Chem.* **50**, 1246-1255, (1985).
13. B. Baruah, K. Dasu, B. Vaitilingam, P. Mamnoor, P. P. Venkata, S. Rajagopal, and K. R. Yeleswarapu, *Bioorg. Med. Chem.* **12**, 1991-1994, (2004).

14. B. Danieli, and G. Palmisano, *Gazz. Chim. Ital.* **105**, 99-107, (1975).
15. C. L. King, Y. C. Kong, N. S. Wong, H. W. Yeung, H. H. Fong, and U. Sankawa, *J. Nat. Prod.* **43**, 577-582, (1980).
16. J. Yamahara, T. Yamada, T. Kitani, Y. Naitoh, and H. Fujimura, *J. Ethnopharmacol* **27**, 185-192, (1989).
17. J. R. Sheu, W. C. Hung, Y. M. Lee, and M. H. Yen, *Eur. J. Pharmacol.* **318**, 469-475, (1996).
18. J. R. Sheu, W.C. Hung, C.H. Wu, Y. M. Lee, and M. H. Yen, *Br. J. Haematol.* **110**, 110-115, (2000).
19. X. F. Fei, B. X. Wang, T. J. Li, S. I. Tashiro, M. Minami, D. J. Xing and T. Ikejima, *Cancer Sci.* **94**, 92-98, (2003).
20. M. Ogasawara, T. Matsunaga, S. Takahashi, I. Saiki, and H. Suzuki, *Biol. Pharm. Bull.* **25**, 1491-1493, (2002).
21. N. Shoji, A. Umeyama, A. Iuchi, N. Saito, T. Takemoto, *J. Nat. Prod.* **51**, 791-792 (1988).
22. W. Cabri, I. Candiani, F. Zarini, S. Penco, and A. Bedeschi, *Tetrahedron Letters* **36**, 9197-9200, (1995).
23. S. Routier, P. Peixoto, J. Y. Merour, G. Coudert, N. Dias, C. Bailly, A. Pierre, S. Leonce, and D. H. Caignard, *J. Med. Chem.* **48**, 1401-1413, (2005).
24. M. Perez, P. Pauwels, C. Palmier, G. W. John, J. P. Valentin, and S. Halazy, *Bioorg. Med. Chem. Letters* **5**, 663-666, (1995).
25. I. Ojima, C. P. Borella, X. Y. Wu, P. Y. Bounaud, C. F. Oderda, M. Sturm, M. L. Miller, S. Chakravarty, J. Chen, Q. Huang, P. Pera, T. A. Brooks, M. R. Baer, and R. J. Bernacki, *J. Med. Chem.* **48**, 2218-2228, (2005).

26. S. F. Martin, B. Benage, and J. E. Hunter, *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 5925-5927, (1988).
27. M. Jayaraman, B. M. Fox, M. Hollingshead, G. Kohlhaben, Y. Pommier, and M. Cushman, *J. Med. Chem.* **45**, 242-249, (2002).
28. M. E. Jung and M. A. Lyster, *J. Org. Chem.* **42**, 3761 (1977).
29. M. Bertrand, G. Poissonnet, M. H. T. Bettiol, C. Gaspard, G. H. Werner, B. Pfeiffer, P. Renard, S. Leonce, and R. H. Dodd, *Bioorg. Med. Chem.* **9**, 2155-2164, (2001).
30. X. Xiao, S. Antony, Y. Pommier, and M. Cushman, *J. Med. Chem.* **48**, 3231-3238, (2005).
31. X. D. Pan, R. Han, and P. Y. Sun, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **13**, 3739-3741, (2003).
32. W. Du, *Tetrahedron* **59**, 8649-8687, (2003).
33. S. Kumar, *J. Org. Chem.* **67**, 8842-8846, (2002).
34. R. Katoch-Rouse, O. A. Pavlova, T. Caulder, A. F. Hoffman, A. G. Mukhin, and A. G. Horti, *J. Med. Chem.* **46**, 642-645, (2003).
35. H. Gao, X. Zhang, Y. Chen, H. Shen, J. Sun, M. Huang, J. Ding, C. Li, and W. Li, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**, 2003-2006, (2005).
36. J. W. Mickelson, E. J. Jacobsen, D. B. Carter, H. K. Im, W. B. Im, P. J. K. D. Schreur, V. H. Sethy, A. H. Tang, J. E. McGee, and J. D. Petke, *J. Med. Chem.* **39**, 4654-4666, (1999).
37. S. W. Hetts, *JAMA* **279**, 300-307, (1998).

附錄