

2020 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 030012

參展科別 化學

作品名稱 藥物骨架 Chromeno [4, 3-*b*] pyrrolidine 的
合成方法之探討

得獎獎項 大會獎：二等獎
出國正選代表

就讀學校 國立臺灣師範大學附屬高級中學

指導教師 陳昭錦、林文偉

作者姓名 林立元、陳明生

關鍵詞 chromene、pyrrolidine、合成

作者簡介



我們是目前就讀師大附中高三科學班的陳明生(左)和林立元(右)。當初我們因為對科學充滿熱忱而加入了科學班，也透過科學班提供的機會，有幸到師大化學系的實驗室學習並做研究。在研究過程中，我們雖遇到了各種困難，但在突破的過程中卻成長了很多。真摯的感謝在這一路上支持我們的教授、師長及同學。

摘要

Chromene(色烯或苯並吡喃)或 chromane(色原烷或 2,3-二氫苯并吡喃)及 pyrrolidine(吡咯烷)的衍生物是許多藥物和具有生理活性天然物的重要結構單元。含有 chromene 或 chromane 的化合物在消炎、抗真菌的研究中表現出良好的活性，而 pyrrolidine 出現於尼古丁等化合物中。本研究利用亞胺葉立德前驅物與米氏酸衍生物在鹼性催化劑的作用下，篩選出溶劑、催化劑、當量數，找出合成 Chromeno [4,3-*b*] pyrrolidine 產率最高的條件。利用此優化條件，改變不同的受質，在苯環上改變不同取代基，探討其反應性，增加其未來應用的多樣性，嘗試利用掌性催化劑，合成出具有光學活性的產物，並建立資料庫。

Abstract

Derivatives of chromene, or chromane, and pyrrolidine are important structural units that appear in a number of different medicines. Compounds with chromene or chromane have shown desirable effects of anti-inflammatory and anti-fungal during research, and pyrrolidine has appeared in compounds like nicotine.

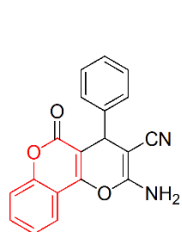
We utilized basic catalysts to catalyze azomethine ylide and Meldrum's acid benzylidene, screening solvents, catalysts, and ratios, then determined the conditions in which the product, chromeno [4,3-*b*] pyrrolidine, had the highest yield. Using the optimized conditions, we then changed the reactant to add different substituents onto the benzene ring, looked into its reactivity, and tried utilizing chiral catalysts and synthesize compounds with chirality in order to construct a database.

壹、前言

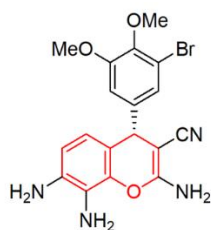
一、研究動機

Chromene(色烯或苯並吡喃)或 chromane(色原烷或 2,3-二氫苯并吡喃)及 pyrrolidine(吡咯烷)的衍生物是許多藥物和具有生理活性天然物的重要結構單元，含有 chromene 或 chromane 的化合物在消炎、抗真菌的研究中表現出良好的活性，而 pyrrolidine 更出現於尼古丁等化合物中。Chromeno [4,3-*b*] pyrrolidine 的多種衍生物更是在藥物學中扮演了獨特的角色，其具有類似抗生素的作用，在某些天然藥物及生物鹼(alkaloids)中可以找到類似的結構。此外也可以應用於其他藥物中，用來治療情緒失控、帕金森氏症、精神病、記憶錯亂和焦慮。

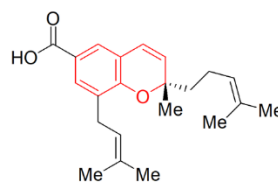
因此，我們想探討合成 Chromeno [4,3-*b*] pyrrolidine 骨架的優化條件，並在苯環上加上不同取代基，增加其多樣性，篩選光學活性，對藥物學盡一份心力。



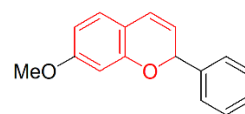
(圖一) 抗凝血劑



(圖二) 腫瘤抑制劑



(圖三) 抗真菌



(圖四) 抗發炎

二、研究目的及研究問題

- (一) 優化合成 Chromeno [4,3-*b*] pyrrolidine 的反應條件(溶劑、催化劑、當量等)
- (二) 探討苯環上取代基種類與產率的關係，並推測可能影響合成的因素
- (三) 推測合成可能的反應機構
- (四) 篩選光學活性

貳、研究方法及過程

一、研究設備及藥品

(一) 實驗設備及儀器

1. 核磁共振儀 NMR (400 MHz)

2. 迴旋濃縮儀

3. 電子天平
4. 電磁加熱攪拌器
5. NMR 試管
6. 萃取瓶
7. 圓底燒瓶

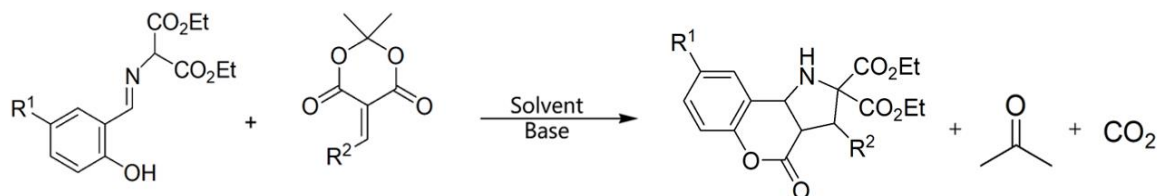
8. 滴管和橡膠乳帽
9. 磁攪拌子
10. 樣品瓶(7 mL)
11. 藥勺

(二) 實驗藥品

- | | |
|---|---|
| 1. 1,1,3,3-tetramethylguanidine (TMG) CAS: 80-70-6 | 12. acetonitrile CAS: 75-05-8 |
| 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO) CAS: 280-57-9 | 13. benzaldehyde CAS: 100-52-7 |
| 2. 2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-dione CAS: 2033-24-1 | 14. dichloromethane (DCM) CAS: 75-09-2 |
| 3. 2-bromobenzaldehyde CAS: 6630-33-7 | 15. diethyl amino malonate hydrochloride CAS: 13433-00-6 |
| 4. 2-Thiophenecarboxaldehyde CAS: 98- 03-3 | 16. diethyl ether CAS: 60-29-7 |
| 5. 3-bromobenzaldehyde CAS: 3132-99-8 | 17. ethyl acetate (EA) CAS: 141-78-6 |
| 6. 4-bromobenzaldehyde CAS: 1122-91-4 | 18. magnesium sulfate MgSO ₄ CAS: 7487- 88-9 |
| 7. 4-chlorobenzaldehyde CAS: 104-88-1 | 19. pyridine CAS: 110-86-1 |
| 8. 4-methoxybenzaldehyde CAS: 123-11-5 | 20. sodium hydrogen carbonate CAS: 144- 55-8 |
| 9. 4-nitrobenzaldehyde CAS: 555-16-8 | 21. tetrahydrofuran CAS: 109-99-9 |
| 10. 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde CAS: 2973-80-0 | 22. titanium (IV) chloride TiCl ₄ CAS: 7550- 45-0 |
| 11. 5-chloro-2-hydroxybenzaldehyde CAS: 635-93-8 | 23. toluene CAS: 108-88-3 |
| | 24. triethylamine CAS: 121-44-8 |

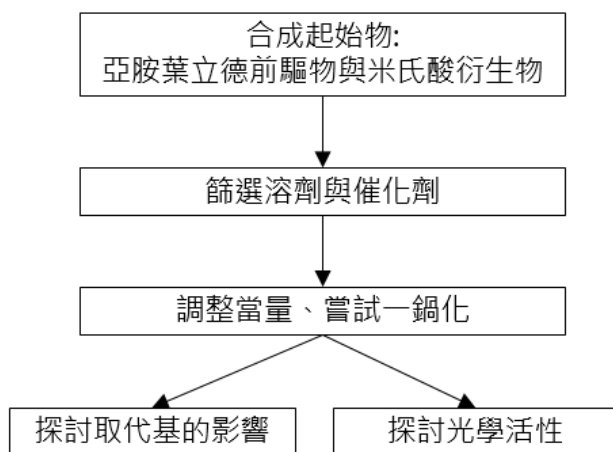
二、研究架構

(一) 目標反應總反應式:



(式一)

(二) 研究流程圖

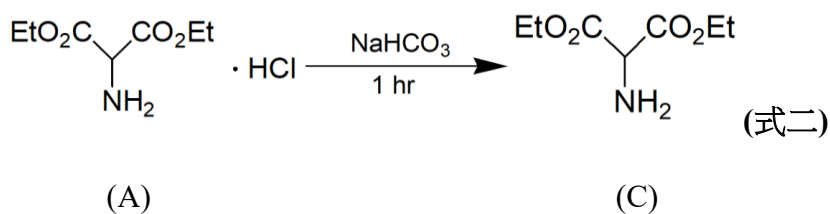


(圖五) 研究流程圖

三、研究內容

(一) 起始物製備

1. 合成亞胺葉立德前驅物

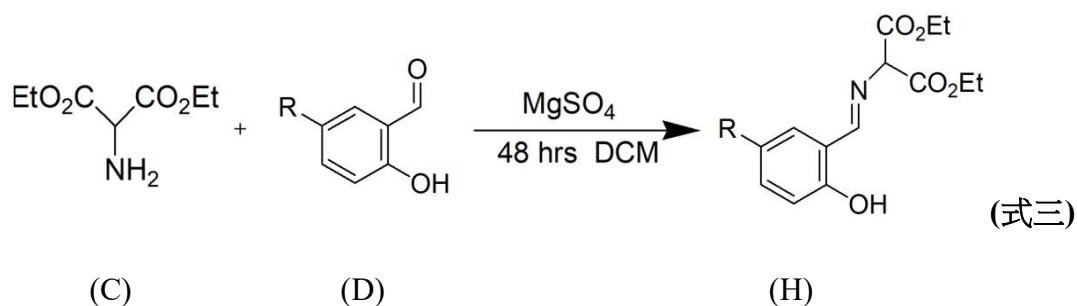


(表一) 合成亞胺葉立德前驅物所加的反應物量(第一步)

| | (A) | NaHCO ₃ | (C) |
|--------|--------|--------------------|------------------|
| 當量 | 1 | 1.1 | |
| mmole | 14.2 | 15.6 | |
| MW | 211.58 | 84 | 175.18 |
| amount | 3 g | 1.31 g | 產量 1.936 g (78%) |

步驟:

- (1) 加入反應物 diethyl amino malonate hydrochloride、30 mL H₂O 和 1.31 g NaHCO₃。
- (3) 以乙酸乙酯和水萃取，以錐形瓶收集有機層，再以硫酸鎂除水。
- (4) 過濾至另一已秤重之圓底燒瓶，迴旋濃縮並上真空。最後秤重，計算重量。



(表二) 合成亞胺葉立德前驅物所加的反應物量(第二步)

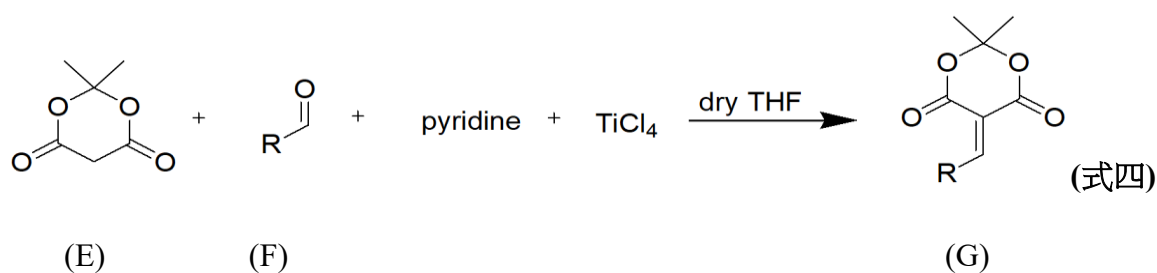
| | (C) | (D) | MgSO ₄ | DCM |
|--------|----------|----------|-------------------|-------|
| 當量 | 1.1 | 1 | 5.5 | |
| mmole | 11.05149 | 10.04681 | 55.25745 | |
| MW | 175.18 | | 120.4 | |
| amount | 1.936 g | | 6.653 g | 25 mL |

步驟:

- (1) 計算前一步所得之莫耳數，並計算其他試劑所需的質量。

- (2) 加入所對應的 salicylaldehyde、硫酸鎂以及溶劑。
- (3) 攪拌兩天，利用濾紙過濾至錐形瓶。
- (4) 加入一些正己烷並靜置，利用再結晶收集固體。
- (5) 移除母液，剩餘固體上真空抽乾殘餘溶劑。

2. 米氏酸衍生物的製備



(表三) 米氏酸衍生物製備所加的反應物量

| | (E) | (F) | Pyridine | TiCl ₄ |
|--------|--------|-----|----------|------------------------------|
| 當量 | 1 | 1 | | |
| mmole | 7.5 | 7.5 | | |
| MW | 144.04 | | | |
| amount | 1.08 g | | 2.4 mL | 1.3 mL (in 3.5 mL Hexane) |

步驟:

- (1) 50 mL 雙頸圓底瓶加入米氏酸以及對應的醛和 THF，並冰浴。
- (2) 加入 TiCl₄的正己烷溶液，並快速攪拌。
- (3) 慢慢加入 pyridine，回室溫並攪拌一天。
- (4) 加入碳酸氫鈉水溶液終止反應。
- (5) 用乙酸乙酯以及水萃取。

(6) 收集有機層，用硫酸鎂除水，過濾並回乾。

(7) 固體用乙酸乙酯和正己烷做再結晶，並收集固體。

(二) 篩選、尋找優化條件

步驟:

(1) 將兩反應物與催化劑加入 7 mL 樣品瓶中，放入攪拌子。

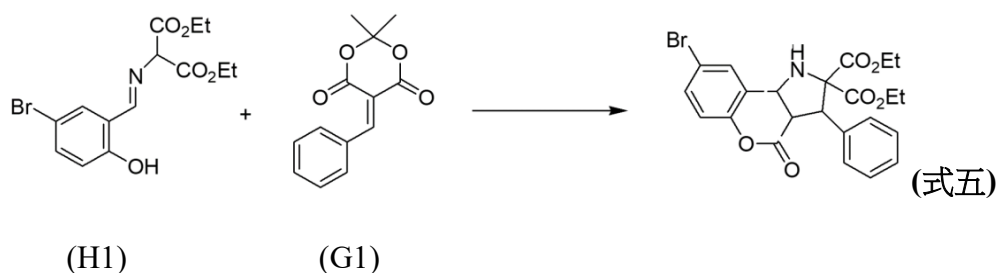
(2) 加入溶劑，放置至電磁加熱攪拌器上攪拌30分鐘(不加熱只需攪拌)。

(3) 取少許樣品至 NMR 試管，加入0.35 mL CDCl₃，測 NMR 光譜圖。

1. 篩選溶劑

我們嘗試了 Dichloromethane (DCM)、Ethyl acetate、Diethyl ether、Toluene、

Chloroform、Acetonitrile 等溶劑進行反應，反應量如下:

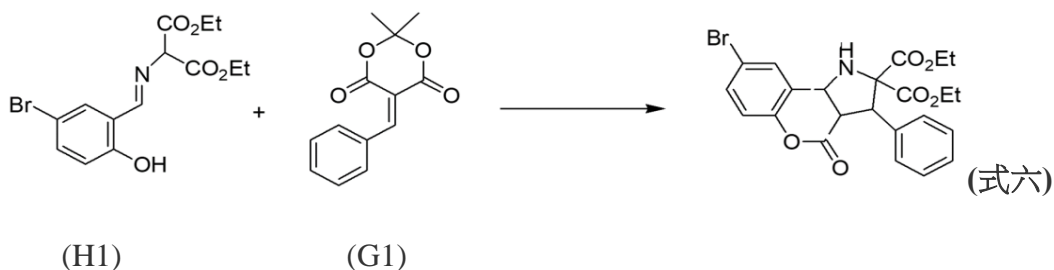


(表四) 篩選溶劑所加的反應物量

| | (H1) | (G1) | DMAP | solvent | 內標 CHPh ₃ |
|--------|---------|---------|--------|---------|----------------------|
| 當量 | 1.1 | 1 | 0.2 | | |
| mmole | 0.11 | 0.1 | 0.02 | | 0.1 |
| MW | 358.18 | 232.23 | 122.17 | | 244.34 |
| amount | 39.4 mg | 23.3 mg | 2.5 mg | 0.5 mL | 24.6 mg |

2. 篩選催化劑

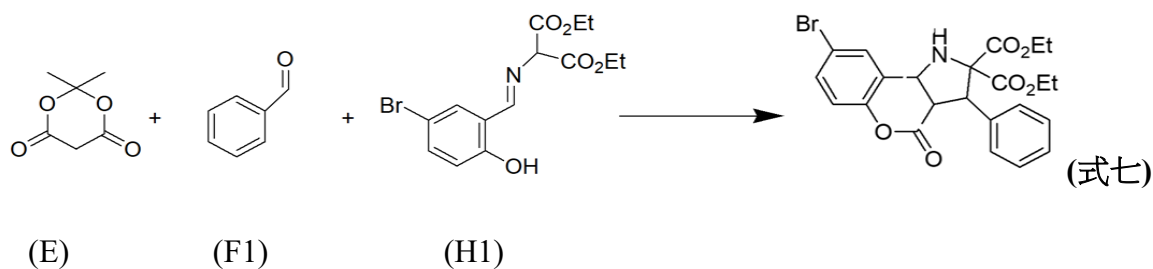
我們嘗試了 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane(DABCO)、Triethylamine、Pyridine、1,1,3,3-Tetramethylguanidine (TMG)等催化劑進行反應，反應量如下：



(表五) 篩選催化劑所加的反應物量

| | (H1) | (G1) | base | DCM | 內標 CHPh ₃ |
|--------|---------|---------|------|--------|----------------------|
| 當量 | 1.1 | 1 | 0.2 | | |
| mmole | 0.11 | 0.1 | 0.02 | | 0.1 |
| MW | 358.18 | 232.23 | | | 244.34 |
| amount | 39.4 mg | 23.3 mg | | 0.5 mL | 24.6 mg |

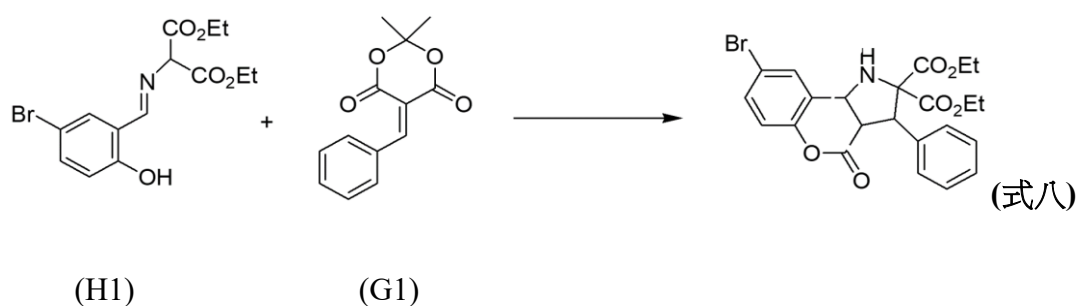
3. 嘗試一鍋合成法(one-pot synthesis)



(表六) 嘗試一鍋合成法(one-pot synthesis)所加的反應物量

| | (E) | (F1) | (H1) | DABCO | DCM | 內標 CHPh ₃ |
|--------|-----------|-------------------|---------|---------|--------|----------------------|
| 當量 | 1 | 1 | 1.1 | | | |
| mmole | 0.2 | 0.2 | 0.22 | 0.04 | | 0.2 |
| MW | 144.04 | 106.12 | 358.18 | 112.17 | | 244.34 |
| amount | 28.808 mg | D=1.0415 20.38 uL | 78.8 mg | 4.49 mg | 0.5 mL | 49.2 mg |

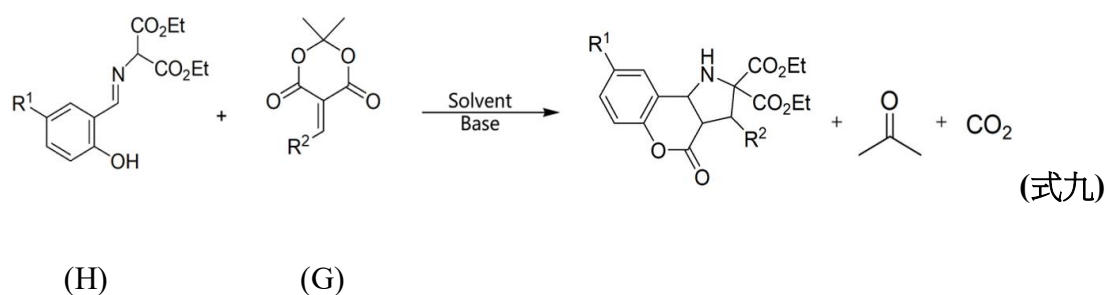
4. 調整當量



(1) (H)之當量:(G1)之當量=1.3:1.0

(2) (H)之當量:(G1)之當量=1.0:1.1

(三) 建立資料庫



(表七) 接取代基和使用掌性催化劑所加的反應物量

| | (H) | (G) | DABCO | DCM | 內標 CHPh ₃ |
|--------|------|-----|--------|--------|----------------------|
| 當量 | 1.1 | 1 | 0.2 | | |
| mmole | 0.11 | 0.1 | 0.02 | | 0.1 |
| MW | | | 112.17 | | 244.34 |
| amount | | | 2.3 mg | 0.5 mL | 24.6 mg |

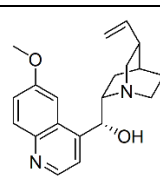
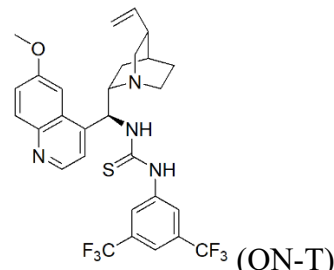
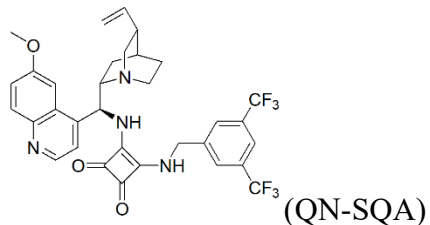
1. 接取代基

(表八) 取代基列表

| Entry | R ₁ | R ₂ |
|-------|----------------|---|
| 1 | Br | 4-MeOC ₆ H ₄ |
| 2 | Br | 4-NO ₂ C ₆ H ₄ |
| 3 | Br | 4-ClC ₆ H ₄ |
| 4 | Br | 2-BrC ₆ H ₄ |
| 5 | Br | 3-BrC ₆ H ₄ |
| 6 | Br | 4-BrC ₆ H ₄ |
| 7 | Br | 2-thiophenyl |
| 8 | Cl | Ph |

2. 使用掌性催化劑

(表九) 掌性催化劑列表

| Entry | catalyst |
|-------|---|
| 1 |  (QN) |
| 2 |  (QN-T) |
| 3 |  (QN-SQA) |

參、研究結果及討論

一、篩選溶劑

我們嘗試了以下六種溶劑，反應時間皆固定為 30 分鐘，並以 NMR (400MHz)測量反應產率，記錄如下:

(表九) 篩選溶劑之結果

| Entry | solvent | 反應時間 | 產率 | 外觀 |
|-------|-----------------|-------|-----|----------------|
| 1 | Dichloromethane | 0.5hr | 80% | 澄清淡黃色溶液 |
| 2 | Ethyl acetate | 0.5hr | 78% | 壁上有白色粉狀沉澱 |
| 3 | Diethyl ether | 0.5hr | 80% | 淡黃色溶液，壁有白色粉狀沉澱 |
| 4 | Toluene | 0.5hr | 79% | 澄清淡黃色溶液 |
| 5 | Chloroform | 0.5hr | 78% | 澄清淡黃色溶液 |
| 6 | Acetonitrile | 0.5hr | 80% | 澄清淡黃色溶液 |

二、篩選催化劑

我們嘗試了以下三種催化劑，反應時間皆固定為 30 分鐘，並以 NMR (400MHz)測量反應產率，記錄如下:

(表十) 篩選催化劑之結果

| Entry | base | 反應時間 | 產率 |
|-------|--------------------------------------|-------|-------|
| 1 | 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane(DABCO) | 0.5hr | 83% |
| 2 | Triethylamine | 0.5hr | 75% |
| 3 | Pyridine | 0.5hr | trace |
| 4 | 1,1,3,3-Tetramethylguanidine (TMG) | 0.5hr | 78% |

三、嘗試一鍋合成法(one-pot synthesis)

化學中，一鍋合成法(one-pot synthesis)是指在一個反應器中使反應物連續進行多步反應，以提高反應效率的一種方法。所以我們嘗試了直接將目標反應的反應物之起始物加入，反應時間皆固定為30分鐘，並以 NMR (400 MHz)測量反應產率，產率極少(trace)。

四、調整當量

我們嘗試了以下兩種當量，反應時間皆固定為 30 分鐘，並以 NMR (400MHz)測量反應產率，記錄如下:

(表十一) 調整當量之結果

| 調整 | 當量 | 反應時間 | 產率 |
|----|---------|--------|-----|
| 1. | 1.3:1.0 | 0.5 hr | 78% |
| 2. | 1.0:1.1 | 0.5 hr | 64% |

五、建立資料庫

(一) 接取代基

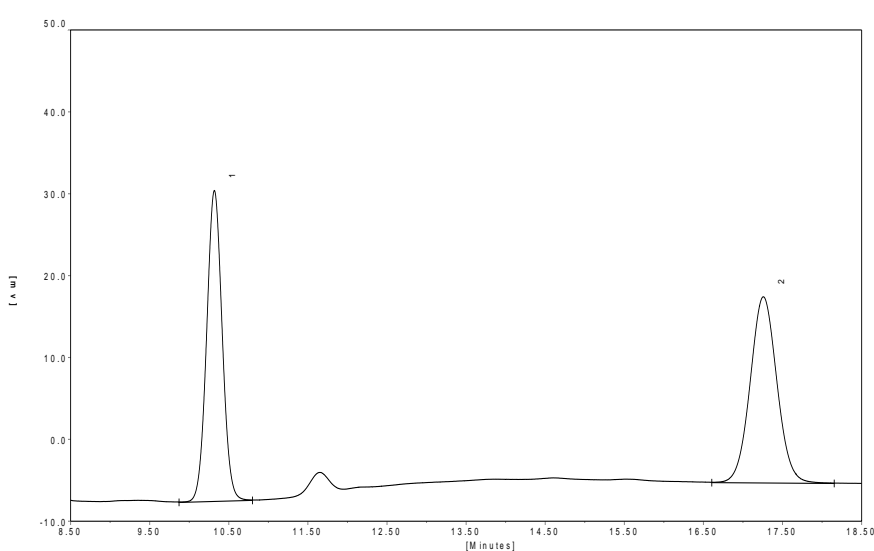
我們嘗試了以下三種取代基，反應時間皆固定為 30 分鐘，並以 NMR (400MHz)測量反應產率，記錄如下:

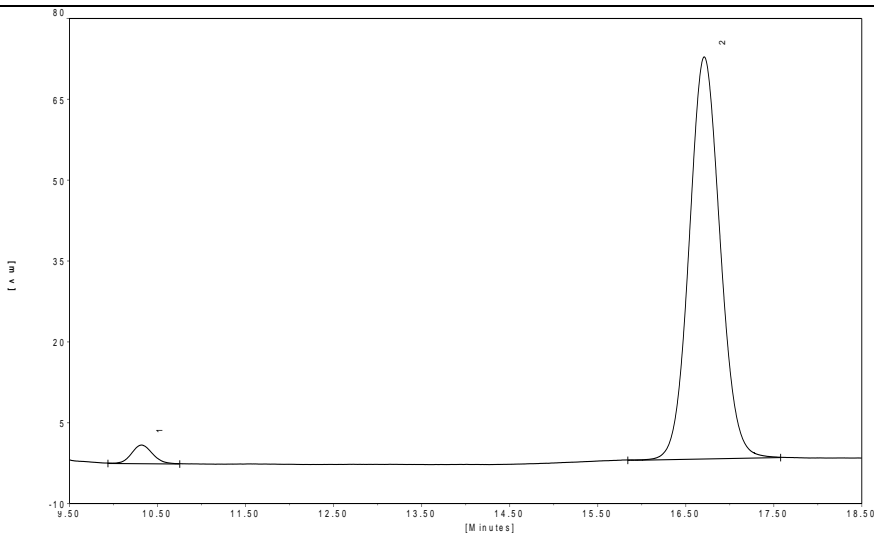
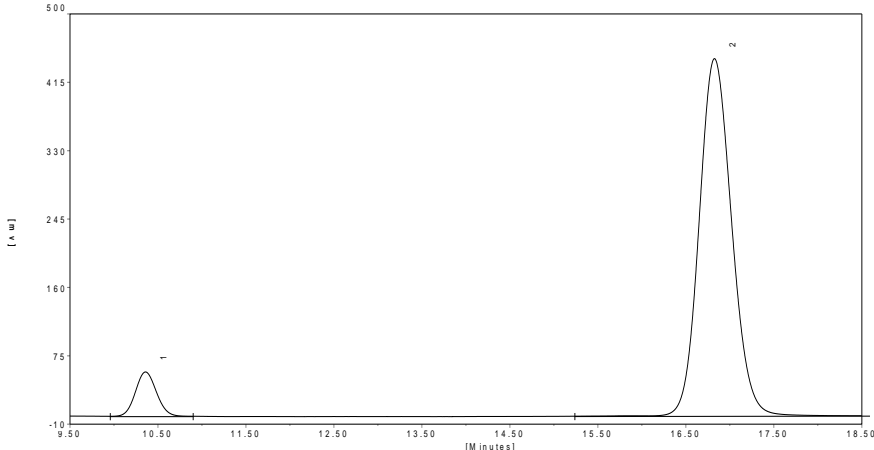
(表十二) 接取代基之結果

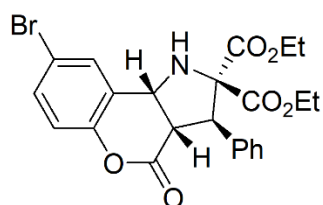
| Entry | R ₁ | R ₂ | 反應時間 | 產率 |
|-------|----------------|---|-------|------|
| 1 | Br | 4-MeOC ₆ H ₄ | 0.5hr | 83 % |
| 2 | Br | 4-NO ₂ C ₆ H ₄ | 0.5hr | 60 % |
| 3 | Br | 4-ClC ₆ H ₄ | 0.5hr | 80% |
| 4 | Br | 2-BrC ₆ H ₄ | 0.5hr | 68 % |
| 5 | Br | 3-BrC ₆ H ₄ | 0.5hr | 71 % |
| 6 | Br | 4-BrC ₆ H ₄ | 0.5hr | 80 % |
| 7 | Br | 2-thiophenyl | 0.5hr | 84 % |
| 8 | Cl | Ph | 0.5hr | 81 % |

(二) 使用掌性催化劑

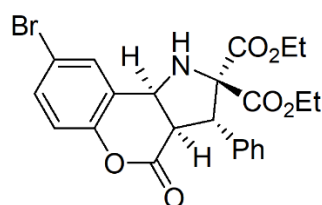
(表十三) 使用掌性催化劑之結果

| Entry | catalyst | HPLC graph | e.e. |
|-------|----------|--|------|
| 1 | QN |  | 2% |

| Entry | catalyst | HPLC graph | e.e. |
|-------|----------|---|------|
| 2 | QN-T |  | 94% |
| 3 | QN-SQA |  | 85% |



左峰



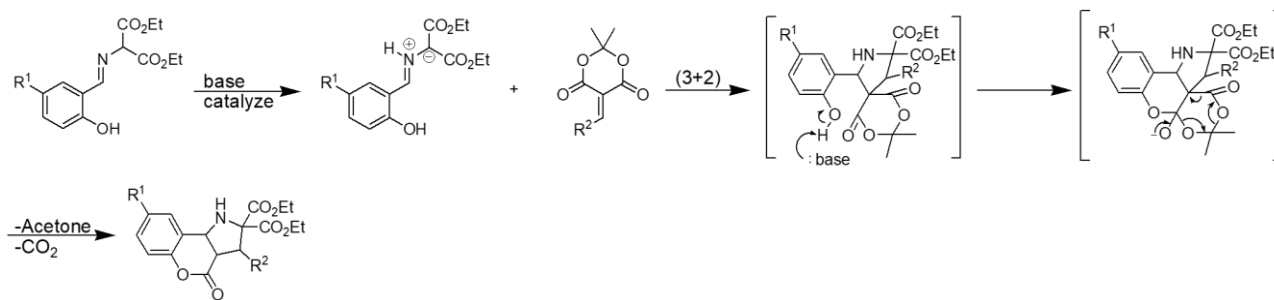
右峰

六、反應機構

首先，亞胺葉立德前驅物——亞胺(imine)經過鹼的活化後形成亞胺葉立德(azomethine ylide)。接著，亞胺葉立德與米氏酸衍伸物進行 3+2 環化，形成五環結構的 pyrroline。

此後，氧上的質子拔除被鹼拔除，對米氏酸的羰基進行加成，並離去丙酮與二氧化碳，得到產物。

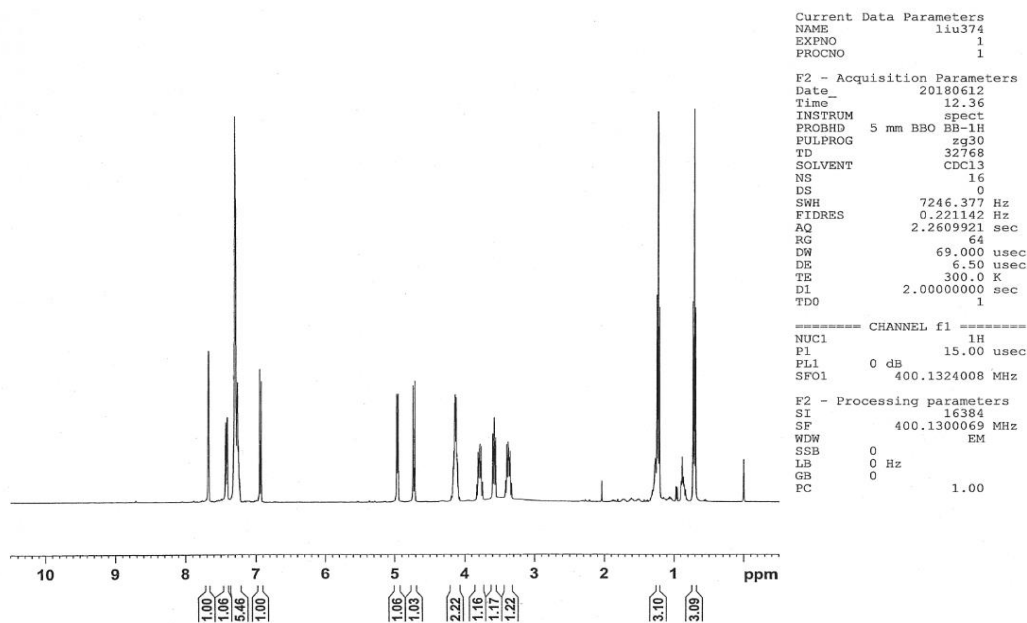
推論之反應機構如圖六所示:



(圖六) 反應機構

七、NMR 光譜

G1 的 NMR 光譜圖如圖三所示:



(圖七) G1 的 NMR 光譜

肆、研究結論及應用

一、 溶劑的挑選

此實驗的主要目的是從實驗測試的六種溶劑中篩選出較適合後續實驗進行的溶劑。由於 ethyl acetate 和 diethyl ether 反應後會有白色粉狀沉澱，不利於後續觀察，而其餘四種溶劑，產率皆無明顯差別，考慮毒性強弱，最後選擇 DCM 作為後續實驗所使用的溶劑。

二、 鹼的挑選

在所測試的催化劑中篩選出較適於後續使用的催化劑。考慮 pyridine 的產率幾乎為零，且 Triethylamine 和 TMG 的產率皆低於 80%，故選取產率為 83% 的 DABCO 為後續實驗的催化劑。

三、 當量的選擇

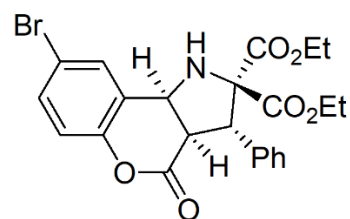
原本實驗中亞胺葉立德前驅物:米氏酸衍生物的當量為 1.1:1.0 的原因為，實驗所使用的亞胺葉立德前驅物，在遇到水分後會水解成它的原本兩個起始物，故當量上有所微增加。所以測試當任一反應物增加，有無增加產率，而實驗結果顯示，當亞胺葉立德前驅物:米氏酸衍生物的當量由 1.1:1.0 改為 1.3:1.0 或 1.0:1.1 後產率皆有所降低，故維持原當量 1.1:1.0。

四、 取代基的實驗

由實驗結果可推論，4-MeOC₆H₄ 和 4-NO₂C₆H₄ 產率的差異源自於兩者推拉電子的程度差異。另外比較取代基 4-BrC₆H₄、3-BrC₆H₄、2-BrC₆H₄ 我們覺得產率的差異源自於立體障礙，當苯環上取代基越接近反應中心，立體障礙就越大，阻礙反應的進行，降低產率。其餘取代基，都有不錯的產率，其官能基忍受度皆不錯。

五、 使用掌性催化劑的實驗

我們除了使用 racemic 催化劑外，尚使用了掌性催化劑，例如: QN(quinine)、QN-T、QN-SQA，得出之結構如圖八，鏡像超越值高達 94%(QN-T)。而 QN-T 與 QN-SQA 皆含有氫鍵片段，推測氫鍵片段是影響 e.e. 值的關鍵因素之一。



(圖八)

六、本研究遇到的問題及解決方式

(一) 問題: 起始物價格高昂、不符合經濟效益且實驗室並無購入。

解決方式: 查詢資料，嘗試各種方法自行合成藥品。

七、後續研究之方向

(一) 嘗試另類起始物。若從產物逆推，可發現其中一個起始物並非必為米氏酸衍生物，而是只需要該反應要使用的 C=C 鍵和 C=O 片段來拉電子，故可嘗試合成出另一端是其他拉電子基的起始物，嘗試能否完成該反應並觀察其影響。

(二) 在一般基本化學、物理性質上，各光學異構物並無差異，但是在藥物學上，掌性問題卻是好幾條命的差別，例如當年的沙利竇邁(thalidomide)事件，其功能是治療孕吐，但是它的一個鏡像異構物卻會造成胎兒畸形。鑑於此，掌性的篩選的研究，達到分離單一掌性骨架的目的是極為重要的一環。

經過我們的初步了解製備出單一掌性的化合物主要有兩種方法。第一種方法為掌性分離，此方法先製備出混合物，再透過二種鏡像異構物由溶液中結晶析出時，具有不同的對稱性的特性將各異構物分離。但是因為我們的產物不易產生結晶，所以我們不採納此方法。第二種方法是不對稱合成：利用各種不同的方式製備所要的化合物，以得到高純度的鏡像異構物。可以使用的方式包含使用掌性的起始物、使用掌性輔助劑、掌性催化劑、以及運用不對稱誘導。由於我們可以取得多種符合需求的掌性催化劑，未來我們將採取此方法，繼續我們的研究。

伍、參考資料

- 一、黃芳、郭立文、歐陽明安、宋立彥、童榮標(2017)。新的串聯反應合成 2H-色烯(2H-Chromene)
https://www.x-mol.com/news/9164?fbclid=IwAR2DGjPxGesKrLQ2VY68ob-CL18_6s0qcaTHS1grBp1TKjpOIrqH1Zi6dyU 。
- 二、陳偉民、葉名倉(2009)。消旋混合物 (Racemic Mixture) 。
<http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=3421> 。
- 三、陳偉民、葉名倉(2009)。鏡像異構物。<http://highscope.ch.ntu.edu.tw/wordpress/?p=3435> 。
- 四、Natarajan Arumugam, Raghavachary Raghunathan, Abdulrahman I.Almansour, Usama Karama(2011)。Show moreAn efficient synthesis of highly functionalized novel chromeno[4,3-*b*]pyrroles and indolizino[6,7-*b*]indoles as potent antimicrobial and antioxidantagents.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X11017422#b0115> 。

【評語】 030012

在藥物的合成之中，如何有效率地合成重要的有機骨架結構，是很重要的一環，在本計畫之中，利用有效的有機催化來合成 Chromeno [4, 3-*b*] pyrrolidine，尤其能合成出不對稱的具有光學活性的異構物，值得鼓勵，期許同學們能保持對化學的熱情，繼續了解此樣的結構如何能夠建置化合物資料庫，以進行藥物篩檢。