

2016 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 030016

參展科別 化學

作品名稱 Chlorambucil 類似物的設計合成

比較新的合成物與傳統化療藥物對 DNA 鏈
內交聯的能力

得獎獎項 大會獎：四等獎

就讀學校 臺北市立第一女子高級中學

指導教師 陳昭岑、吳淑芳

作者姓名 陳沛欣

關鍵字 DNA 鏈內交聯、Chlorambucil

作者簡介



大家好，我是陳沛欣，目前就讀北一女中二年級。因為父母的鼓勵以及自己對科學探索的喜好而加入了數理資優班，也很高興在高中就有機會選擇自己喜歡的專題、進入大學的實驗室做實驗，體驗不一樣的高中生活。在這段期間，我學到了很多實驗方法，實驗室的各種儀器也使我大開眼界。最後，我由衷感謝過程中所有幫助我的人，讓我有機會參加這次國際科展。

摘要

癌症的化療藥物常藉由 DNA 鏈間交聯造成癌細胞的凋亡，如瘤克寧錠，一種苯胺氮芥的抗腫瘤藥物，雖在臨床上已廣泛使用，但仍有以下缺點：進行交聯時，會造成 DNA 的彎曲；易被水解；成功的交聯機率很低。造成這樣的主因是其兩個氮間的距離為 7.2 Å，比 DNA 的鏈間距離 8.9 Å 短。為提升鏈間交聯的反應速率，本研究參照了瘤克寧錠的結構而進行改良，使氮間的距離增大為 8.9 Å，並成功合成設計的分--COOH-SW。接著透過導入鳥嘌呤四股去氧核糖核酸 (G-4 DNA) 導引基團 (BMVC)，以 **BMVC-C3M** (傳統架橋距離) 與 **BMVC-SW** (增加作用端的距離) 比較架橋距離對交聯能力的影響。

透過與不同 G-4 DNA 結合後 DNA 熔點的測量、圓二色光譜、吸收光譜及螢光光譜的變化，得知 **BMVC-C3M** 與 **BMVC-SW** 對於 G-4 的非共價結合能力相當；進一步利用變性膠體電泳及化學足跡法分析，可以知道其與 G-4 的烷基化能力也相當，且作用在附近的鹼基上。最後利用質譜比較鏈內交聯的能力，由結果得知，增加作用端的距離確實能有效改善鏈內交聯的能力。未來期望探討實際上對於癌細胞的抑制活性，希望能改善瘤克寧錠在傳統應用上使用的困境。

Abstract

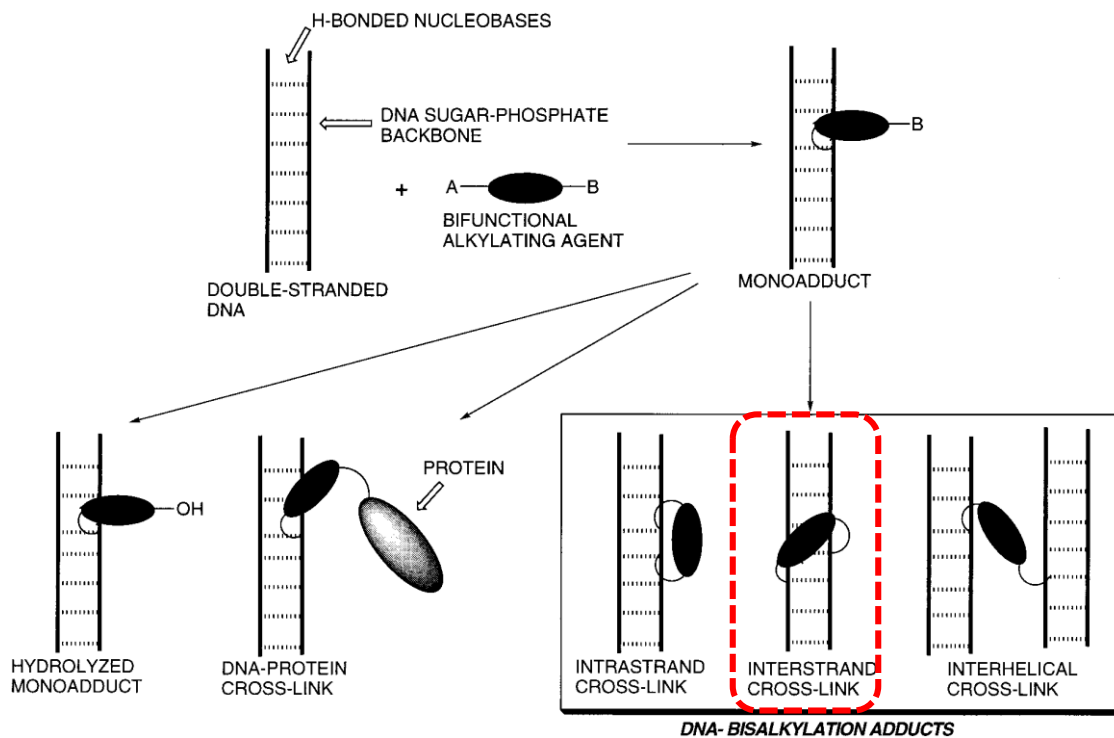
DNA interstrand crosslinks (ICLs) are extremely cytotoxic lesions that block essential cellular processes, such as replication and transcription. Crosslinking agents are widely used in chemotherapy, such as chlorambucil. However, there are some challenges of this kind of aniline mustard: (1) Induce a distortion of DNA during the crosslinking. (2) Rapid quenching via hydrolysis. (3) On average, only one crosslink occurred per 20 monoalkylation events. The main reason for this result is that the distance between the two warheads is 7.2 Å, shorter than the distance between the strands of DNA--8.9 Å. To enhance the reaction rate of crosslinking, this study refers to the structure of chlorambucil and makes improvements, so that the distance between warheads increases to 8.9 Å, and successfully synthesizes the designed molecule --COOH-SW. To compare the crosslink efficiency with G-4 DNA, BMVC is introduced to compounds with different distances between the warheads, which are **BMVC-C3M** (7.2 Å) and **BMVC-SW** (8.9 Å).

Through measurements of photophysical properties (CD, Melting temperature estimation, UV and FL), we can know that **BMVC-C3M** and **BMVC-SW** have the same capacity of non-covalent binding with G-4. Then through denaturing PAGE and DNA footprinting, we can know that their alkylating capacity with G-4 is quite the same, and their alkylation sites are nearby. Based on these results, finally, the results of ESI-MS show that increasing the distance between two reactive warheads can effectively improve the intrastrand crosslink efficiency.

壹、前言

一、DNA 鏈間交聯 (DNA interstrand crosslinks, 簡稱 ICLs)

當一物質與雙股 DNA 的兩條互補鏈發生反應並鍵結，稱此現象為 DNA 鏈間交聯 (圖一)。DNA 鏈間交聯共價地連接 DNA 的兩條互補鏈，使其雙股無法利用 DNA 解螺旋酶 (DNA helicase) 解旋，進而阻斷了後續 DNA 複製、轉錄等重要的細胞程序。因此，DNA 鏈間交聯具有極度細胞毒性的損害，尤其針對於細胞繁殖週期較為頻繁的癌症組織。臨床上，許多化療藥物便是運用此方式造成癌細胞的凋亡，例如 Cisplatin (順鉑)、Carboplatin (卡鉑)、Chlorambucil (瘤克寧錠) 等都是化學治療的主流化合物。

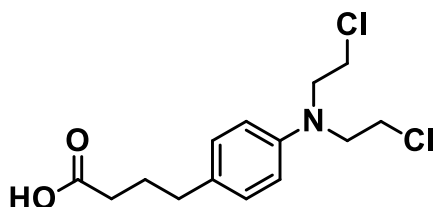


圖一、DNA 交聯劑造成 DNA 鏈間交聯的作用機制以及其他可能的反應產物。A 和 B 表示交聯劑中親電子部分(electrophilic moieties)。¹

二、瘤克寧錠

其中，瘤克寧錠 (圖二) 屬於苯胺氮芥 (aniline mustard) 的抗腫瘤藥物，主要治療血癌、淋巴瘤，是常見的化療藥物。其作用機制如圖三所示，首先親核性較高的氮原子上的孤對電子 (lone pair electron) 會先進行分子內的取代合環反應，進而離去親電子性較高的氯原子，得到活性高的親電子性中間體 (aziridine, 2)。因為中間體 2 同時具有缺電

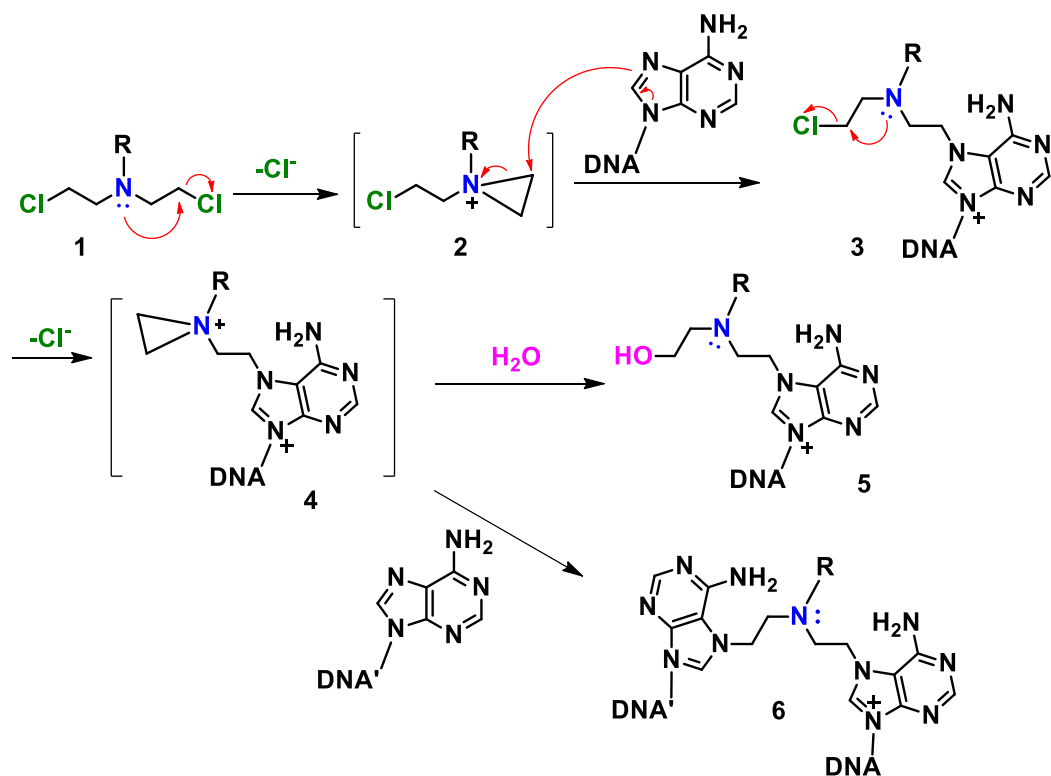
子性以及三圓環的環張力影響，容易與 DNA 序列中親核性較高的鳥嘌呤 (guanine, G) 上七號位置進行第二次的取代反應，生成單一烷基化 (mono-alkylation) 的 DNA 共價化合物 3。



圖二、瘤克寧錠的分子結構

此時，苯胺氮芥上另一個氮原子便進行第二次取代合環反應，再次生成具有高活性的 aziridine 中間體 4。由於在生理環境下，水佔了最主要的組成，高活性的 aziridine 中間體非常容易被環境中大部分的水分子取代，使得其喪失與 DNA 烷基化的能力，而只能停留在單一烷基化的 DNA 共價產物 5。單一烷基化的 DNA 損傷在日常生活中發生的頻率相當頻繁，在細胞中已經有許多修復機制 (如 direct reversal, base excision repair 與 nucleotide excision repair) 可以避免單一烷基化造成的細胞傷害，所以此類的 DNA 損傷對於細胞並沒有明顯的毒性。² 關於外在刺激造成的 DNA 損傷，細胞對於此類傷害的修復機制也已經被完整地研究探討，在今年 2015 的諾貝爾化學獎中，也特別頒發給 Tomas Lindahl (林達爾)、Paul Modrich (莫瑞克)、與 Aziz Sancar (桑賈爾) 三位教授，感謝他們對繪製並解釋了細胞如何修補它的 DNA 而保護了基因的訊息重大的貢獻。

若中間體 4 的活性沒有被水水解，保留直至 DNA 互補序列中另一個親核性較高的鳥嘌呤進行第二次 DNA 烷基化反應，便能生成細胞毒性高的 DNA 鏈間交聯產物 6。由於 DNA 鏈間交聯在一般的生理環境下並不會發生，細胞本身無法修復此類 DNA 損害，所以在此篇研究主要的目的就是為了增加 DNA 鏈間交聯產物 6 的生成，進而增進對於腫瘤組織的抑制能力。



圖三、苯胺氮芥與 DNA 反應的作用機制

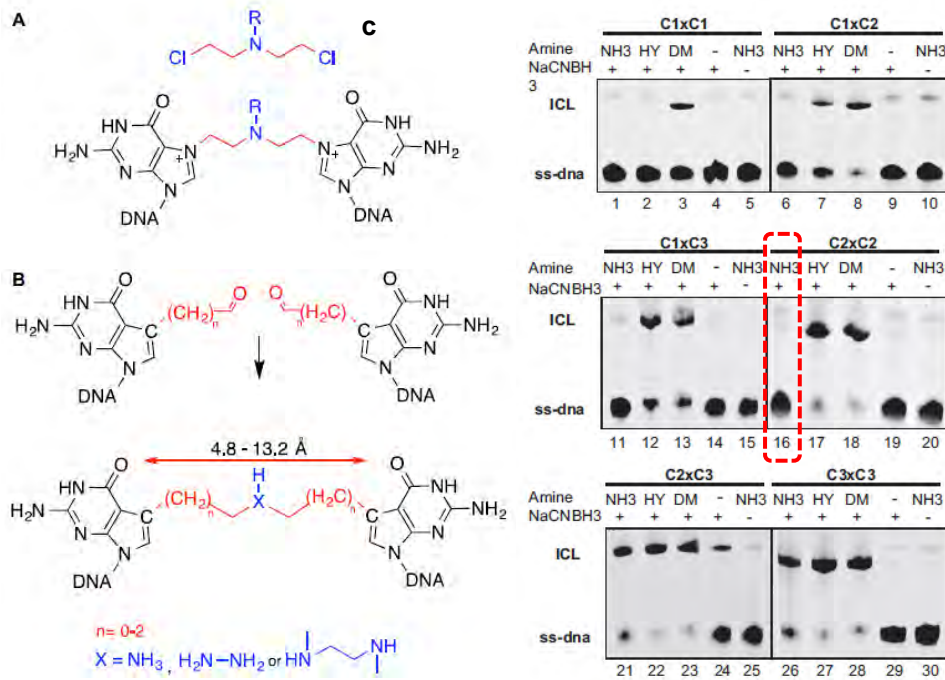
雖然瘤克寧錠在臨床上已經廣泛的使用，但此化合物仍然具有以下缺點：

- 1、當它進行 DNA 鏈間交聯時，會造成 DNA 的彎曲。
- 2、在與 DNA 結合前，容易被水解，或是單邊被水解 (圖三、化合物 5)。
- 3、平均每 20 次單一烷基化中，只有 1 次是成功的 DNA 鏈間交聯。

之所以會造成 DNA 彎曲，及 DNA 鏈間交聯發生機率會如此低，主要是因為瘤克寧錠的兩個氯間的距離為 7.2 \AA ，比 DNA 的鏈間交聯距離 8.9 \AA 短所致。參考文獻中也指出，交聯劑兩端的作用距離確實會影響到鏈間交聯的反應效率。作者利用 reductive amination 的方法，合成一系列不同長度的 DNA 的鏈間交聯產物。如同圖四(A) 所示，當利用兩個醛基中間各隔了一個碳，在氨水的存在下利用還原劑還原，便能合成出類似於苯胺氮芥與 DNA 鏈間交聯的產物。隨著使用連接端 (linker) 碳數目的不同或所使用氮試劑的不同 (如：氨水、聯氨或二甲基乙二胺)，便能得到一系列不同長度 ($4.8 \text{ \AA} - 13.2 \text{ \AA}$) 的鏈間交聯產物，圖四 (B)。

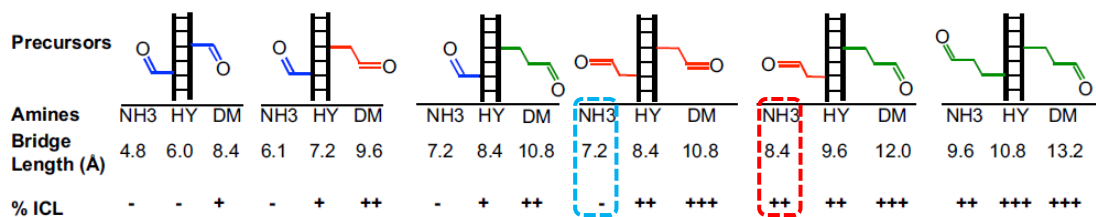
接著利用變性膠體電泳 (Denature Gel Electrophoresis) 中，分子的泳動速度與其分子

量成反比，當分子量越小其移動速度越快，來分析不同連接端長度造成鏈間交聯產物的效率，如圖四 (C)。從電泳可以看到主要有兩個亮帶 (band) 的生成，分別是移動速度較快且分子量較小的 ss-dna 與成功進行鏈間交聯產物 ICL，而且也可以明顯的發現，ICL 的效率隨著連接長度的增加而增加。尤其在 lane 16 (紅色虛線框內)，我們可以看到，以傳統苯胺氮芥的連結長度無法有效地進行 DNA 的鏈間交聯。



圖四、設計不同連接長度的苯胺氮芥並透過苯胺氮芥分析其對雙股 DNA 進行鏈間交聯的效率³

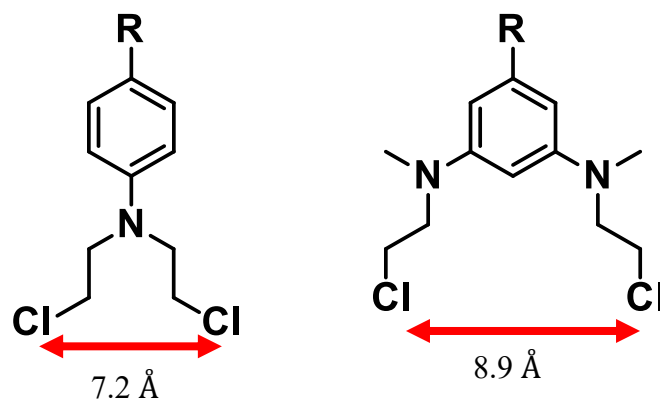
將變性電泳的結果統整於圖五，可以清楚的看到若要有效率地進行 DNA 鏈間交聯，苯胺氮芥的連結長度至少需要 8.4 Å (紅色虛線框所示)；相反地，若是傳統苯胺氮芥的連結長度並無法順利進行反應 (藍色虛線框所示)。



圖五、統整變性膠體電泳結果，並分析不同長度對於 ICL 反應的效率

三、研究目的

由以上結果的啟示，表示傳統的化療藥物瘤克寧錠仍有改善的空間。因此我們希望能夠設計改良並合成的類似物 (圖六)，使其兩個氯之間的距離能大於 DNA 鏈間距離 8.9 \AA ，希望能提升其 DNA 鏈間交聯的能力，進而增加對於腫瘤組織的抑制效果。

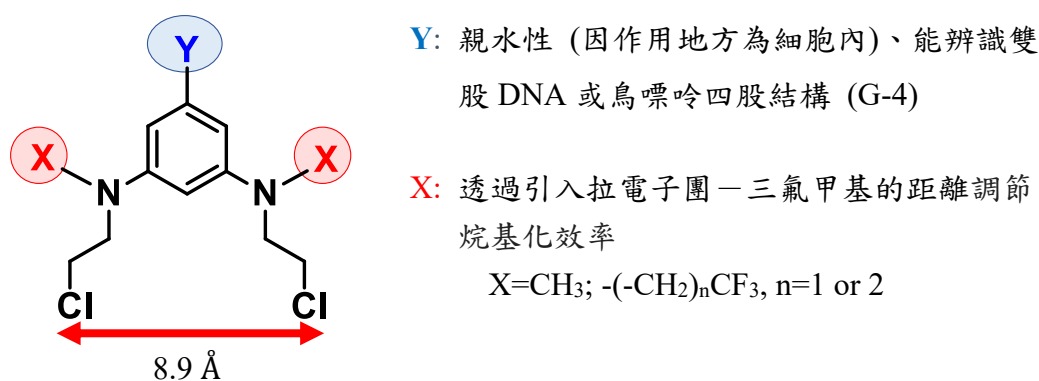


圖六、傳統苯胺氮芥 (左) 與增加反應間距的苯胺氮芥 (右) 其作用長度

貳、研究方法與策略

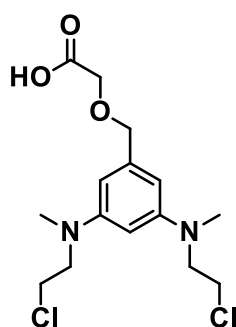
一、瘤克寧錠類似物的設計

此研究參照了瘤克寧錠的結構而進行改良設計。為了使兩個氯之間的距離加大而大於 8.2 \AA ，希望在苯環上改接兩個氮，使氯之間的距離能增大為 8.9 \AA (圖七)。



圖七、改良苯胺氮芥分子設計概念

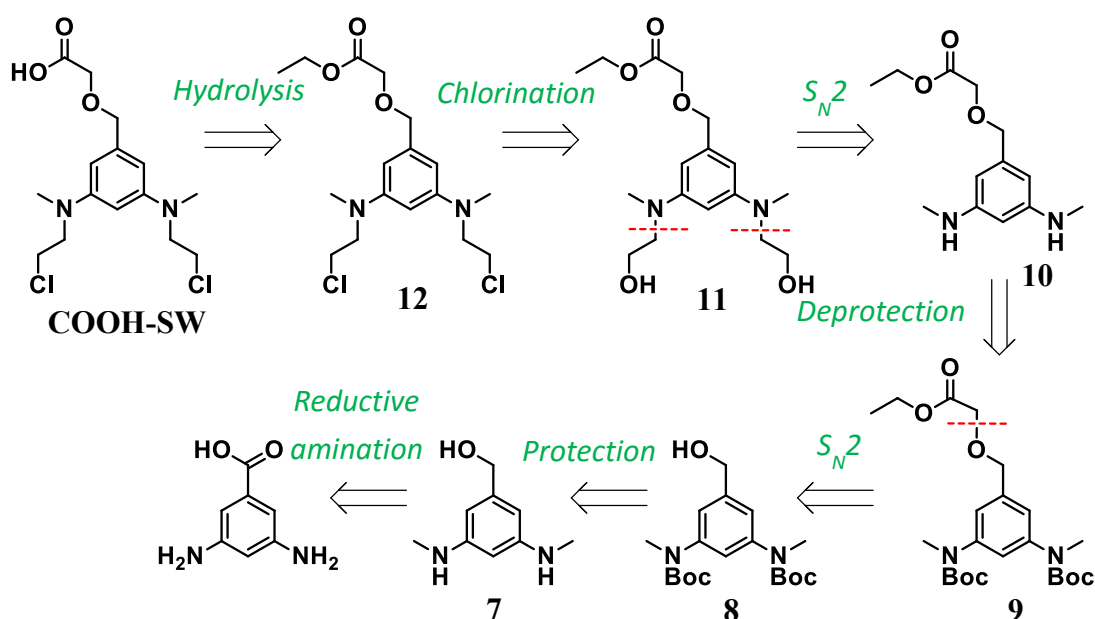
根據圖七，設計出的分子—**COOH-SW**，如圖八所示。其頂端與瘤克寧錠相同，考慮到作用地點為細胞內，為增加化合物對水的溶解度，因而保留親水性、對水溶解度高的羧基。而中間的部分與瘤克寧錠稍微有異，由於合成的需要將中間的一個碳改為氧，形成醚基，除了在合成上較為容易，也可以增加其對水的溶解度。



圖八、本研究設計並合成的化合物結構—COOH-SW

二、COOH-SW 的合成方法

COOH-SW 的逆合成分析如圖九所示。由於羧基在合成中會干擾許多反應步驟並增加純化難度，所以將其以乙酯基進行保護，並在最後才將其水解。此外，化合物 12 中苯氨基芥的活性較高，會在晚期的步驟利用 Appel 氯化條件，將化合物 11 的羥基進行官能基轉換。化合物 11 中的乙醇胺官能基團，則是透過化合物 10 利用與 2-氯乙醇進行取代反應而得。為了避免親核性高的氮原子影響到與 2-溴乙基乙酸酯競爭取代反應，化合物 7 上的氮原子以叔丁氧羰基 (Boc) 進行保護；並在化合物 8 上的羥基與 2-溴乙基乙酸酯進行取代反應後，便可移除叔丁氧羰保護基團，得到化合物 10。化合物 7，則是以 3,5-二氨基苯甲酸 (3,5-diaminobenzoic acid, DABA) 為起始物，利用 reductive amination 的合成策略，同時進行苯氨的烷基化與羧基的還原。

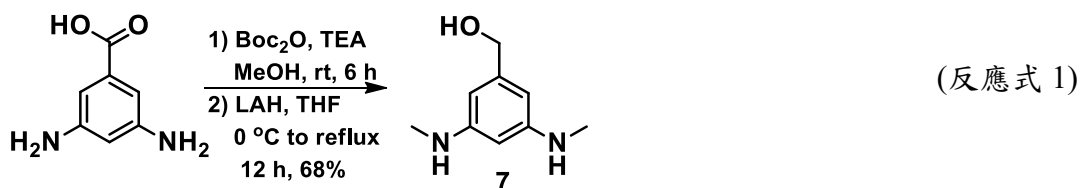


圖九、COOH-SW 的逆合成分析示意圖

COOH-SW 的合成步驟

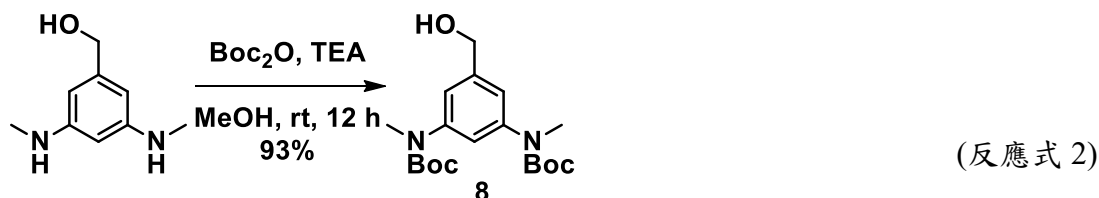
化合物 7

首先，以 reductive amination 的合成策略，利用二碳酸二叔丁酯 (di-*t*-butyl dicarbonate, Boc₂O) 先將 3,5-二氨基苯甲酸上的苯基進行保護，再透過氫化鋁鋰 (lithium aluminum hydride, LAH)，在高溫的條件下同時進行苯基的烷基化與羧基的還原，經由過濾、萃取以及管柱層析純化，順利得到化合物 7，產率 68%，如反應式 1。



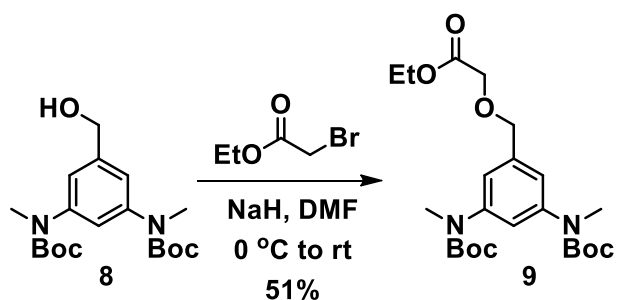
化合物 8

利用二碳酸二叔丁酯 (di-*t*-butyl dicarbonate, Boc₂O) 將溶於甲醇 (methanol, MeOH) 化合物 7 上的苯基進行保護並以管柱層析純化，順利得到化合物 8，產率 68%，如反應式 2。



化合物 9

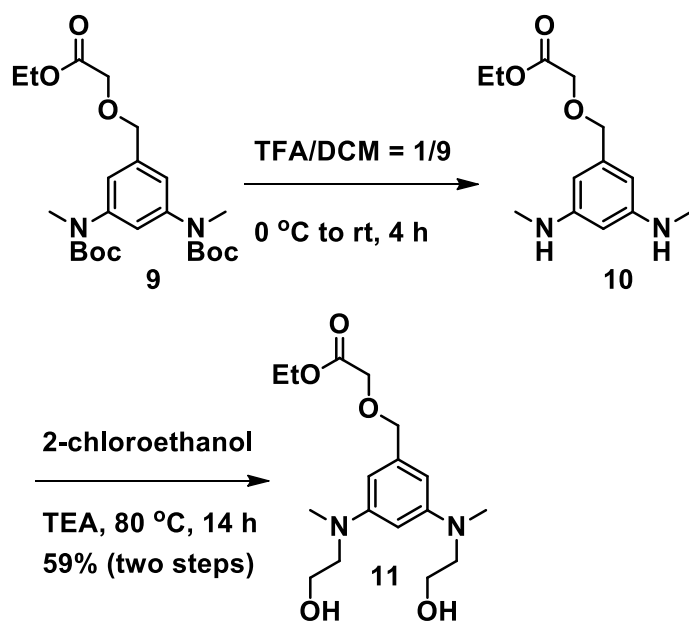
在低溫條件下，利用氫化鈉 (sodium hydride, NaH) 在無水的二甲基甲醯胺 (N,N-dimethylformamide, DMF) 溶液下，將化合物 8 的羥基進行去質子化 (deprotonation)。在低溫下反應半小時後，加入 2-溴乙基乙酸酯，並使其在室溫中反應 16 小時，經由過濾、萃取以及管柱層析純化，順利得到化合物 9，產率 51%，如反應式 3。



(反應式 3)

化合物 11

在低溫條件下，利用將化合物 9 溶於三氟乙酸 (trifluoroacetic acid, TFA)/二氯甲烷 (dichloromethane, DCM) 體積比為 1/9 的混和溶液中，移除化合物 9 叔丁氧羰保護基團，以薄層色層分析 (thin layer chromatography, TLC) 確認反應結束後，直接萃取並抽乾溶劑，得到化合物 10。由於該中間體並不穩定，故不再做額外的純化，而直接將其溶在 2-氯乙醇溶液中，以三乙胺 (trimethylamine, TEA) 當作鹼，於 80 °C 進行取代反應 14 小時。接著移除溶劑再以及管柱層析純化，得到化合物 11，產率 59% (兩步反應的產率)，如反應式 4。

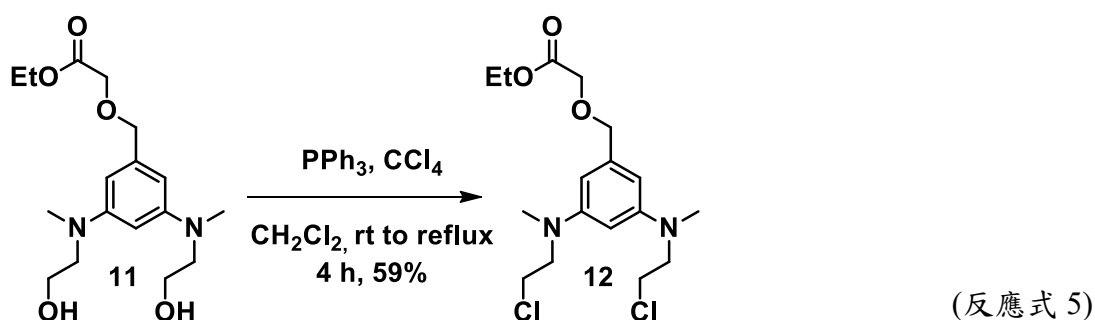


(反應式 4)

化合物 12

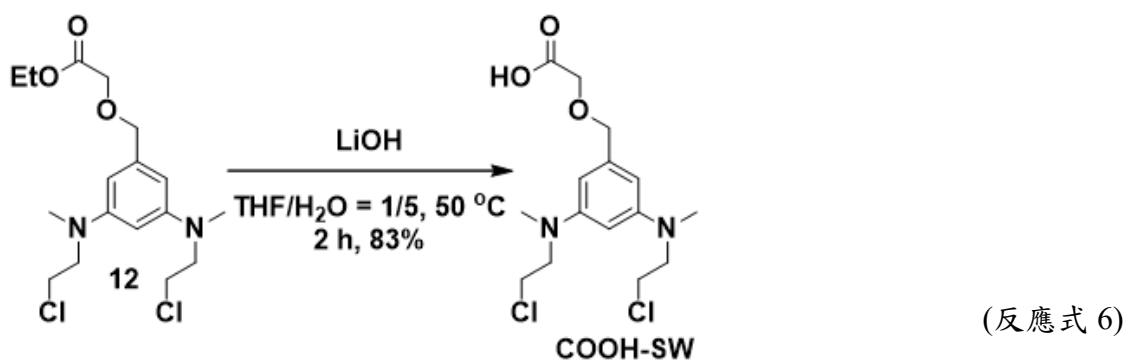
根據 Appel 氯化條件，先將化合物 11 溶於無水的二氯甲烷溶液，先加入三苯基膦 (triphenyl phosphine, PPh₃)，再加入四氯化碳，於室溫反應一小時後，升溫至回流額外反應兩

小時。接著移除溶劑再以及管柱層析純化，得到化合物 **12**，產率 59% (兩步反應的產率)，如反應式 5。



COOH-SW

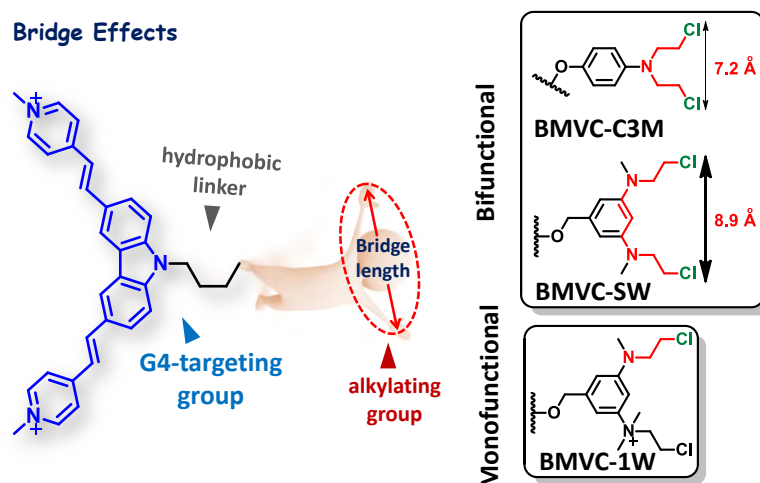
原先參考瘤克寧錠的合成文獻，為了避免苯胺氮芥在鹼性條件下容易同時進行水解，選擇在濃鹽酸的水溶液下進行乙基脂的水解。不幸的是，我們設計的化合物在該條件下並不穩定，而造成化合物的分解 (decompose)。之後嘗試了多種條件，最終以氫氧化鋰當作鹼，在四氫呋喃 (Tetrahydrofuran, THF)/水 體積比為 1/5 的混合溶液中，反應兩小時進行水解。最後得到 **COOH-SW**，產率 83%。



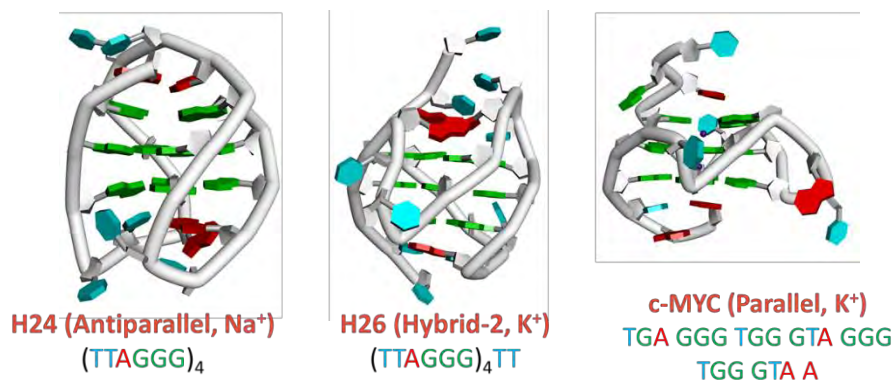
三、研究方法

為了做比較，在傳統的苯胺氮芥與增加反應間距的苯胺氮芥後面修飾了鳥嘌呤四股去氧核糖核酸 (G-4 DNA) 導引基團 (**BMVC**) (圖十)，以導引化合物至三種不同的鳥嘌呤四股結構進行後續比較(圖十一)。**BMVC** 為一平面的共軛結構，同時包含電子供體及受體，因分子內電荷轉移現象而能產生獨特的螢光特性，可作為生物探針。在分子上修

飾此基團，可有效地引導分子至鳥嘌呤四股去氧核糖核酸。接上此基團的分子，分別為傳統反應間距的苯胺氮芥(BMVC-C3M)、增加反應間距的苯胺氮芥 (BMVC-SW)，及僅單邊具有活性的 BMVC-1W。接下來利用這些化合物與三種不同的 G-4 結構進行進一步的分析。



圖十、導入鳥嘌呤四股去氧核糖核酸 (G-4 DNA) 導引基團 (BMVC) 比較架橋距離對交聯能力的影響



圖十一、三種不同的 G-4 結構—H24、H26、c-MYC

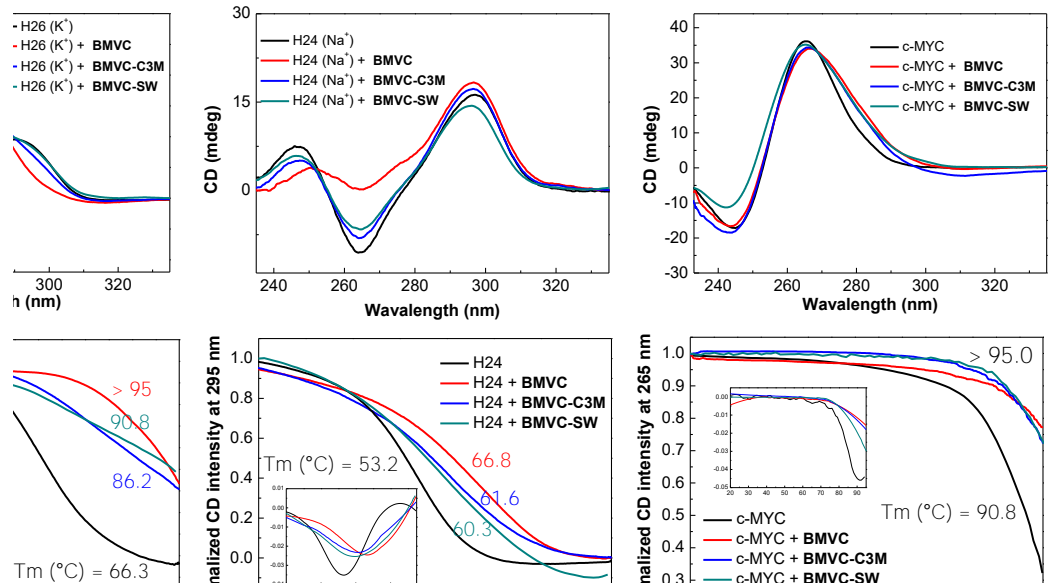
首先，為了要了解不同反應間距的苯胺氮芥對於 DNA 鏈內交聯的影響，先以圓二色光譜的變化、DNA 熔點的測定、吸收光譜與螢光光譜的變化進行與 G-4 非共價結合能力的探討。接著再利用變性膠體電泳(denaturing PAGE)、化學足跡法(chemical footprinting)進行與 G-4 共價結合能力的分析。最後以此為基礎，利用電噴灑質譜分析儀(electrospray ionization mass spectroscopy, ESI-MS)進一步作鏈內交聯的分析。

參、研究結果與討論

一、G-4 非共價結合能力探討

(一) BMVC-SW 和 -C3M 與不同 G-4 DNA 結合後，圓二色光譜的變化以及 DNA

熔點的測量



圖十二、BMVC-SW 和 -C3M 與不同 G-4 DNA 結合後，圓二色光譜的變化(上)以及 DNA 熔點的測量(下)

波長 (nm)	240	265	295	
	-	+		Parallel
	+	-	+	Antiparallel
	-	+	+	Hybrid

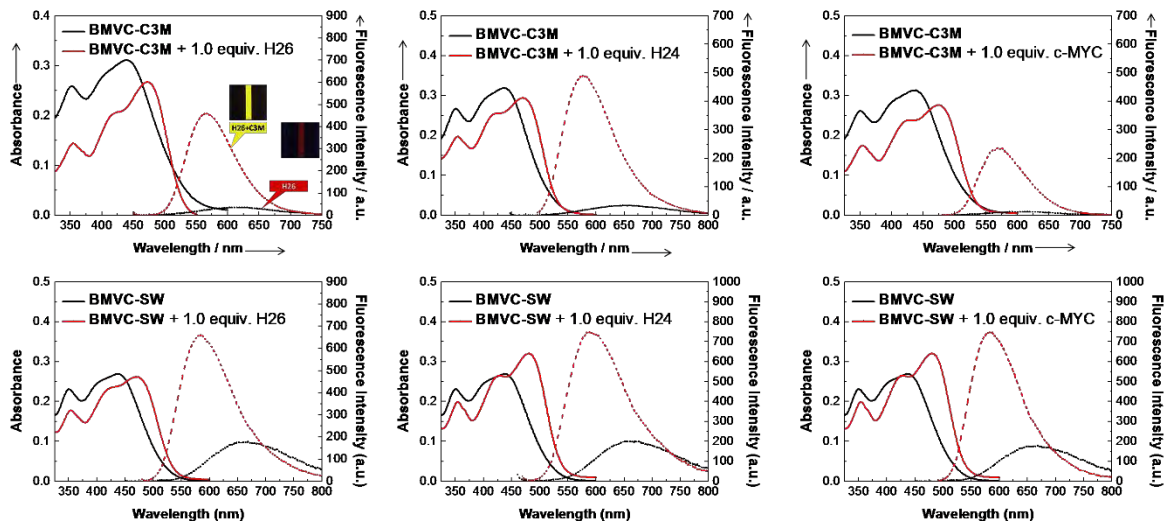
圖十三、不同波長對於圓二色光譜的吸收值差之正負與 G-4 DNA 結構的關係

根據圖十二與圖十三，可以發現加入化合物後，對不同的 DNA 會有結構上的變化。加入 BMVC-SW 與 BMVC-C3M 雖然有對 DNA 產生結構上的變化，但相較起來，只有加入 BMVC 對 DNA 的結構會產生較大的變化。由以上可知，在 BMVC 上修飾化合物或多或少會影響到與 G-4 DNA 的結合能力。而反應端之間作用距離不同

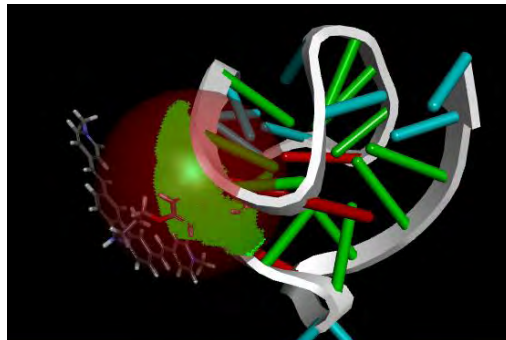
的 **BMVC-SW** 與 **BMVC-C3M** 對 DNA 結構的影響是相當的，由此可知這兩個化合物對對。

再來觀察熔點。首先 H26、H24、c-MYC 在加完化合物後，分別在波長 265 nm、295 nm、265 nm 有最大吸收值。觀察最大吸收值的波長在隨溫度上升後吸收值的變化，可以發現三者的吸收值都漸漸下降，代表其二級結構被破壞。接著將曲線作微分，可以發現微分後都會有轉折點最大處，即定為其熔點。由熔點便可發現，加入 **BMVC-SW** 與 **BMVC-C3M** 的 DNA 的熔點相近，可見其對 G-4 DNA 的結合能力相當。

(二) **BMVC-SW** 和 **-C3M** 與不同 G-4 DNA 結合後，吸收光譜以及螢光光譜的變化



圖十四、**BMVC-SW** 和 **-C3M** 與不同 G-4 DNA 結合後，吸收光譜(上)以及螢光光譜(下)的變化

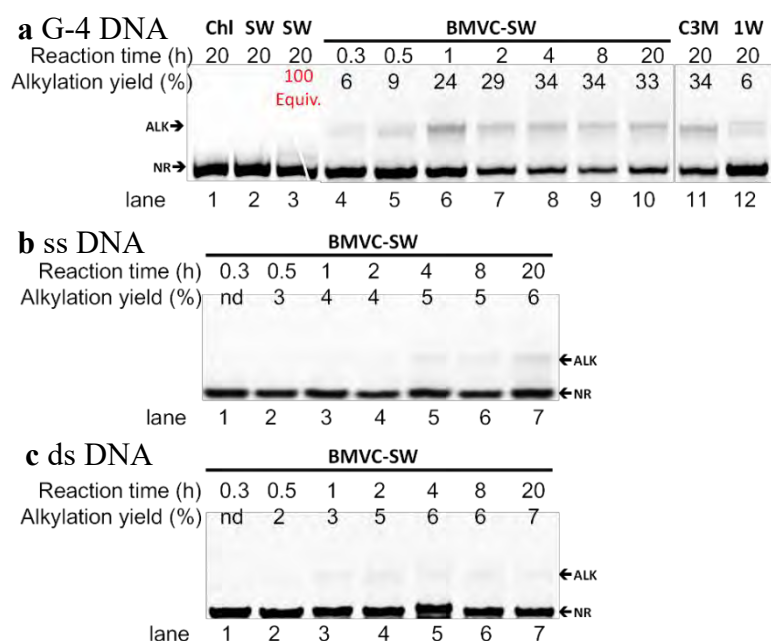


圖十五、利用 Discovery Studio 分子計算程式，計算 **BMVC-C3M** 與 H26 可能的結合區間

BMVC 的特殊性質就是在與 DNA 結合之後螢光會變強。由圖 可知不論是哪張圖，螢光強度都明顯上升。可見不論是 BMVC-SW 或 BMVC-C3M 都確實能與 DNA 結合。同時，利用 Discovery Studio 分子計算程式，計算 BMVC-C3M 與 H26 可能的結合區間(圖)，可見其較可能結合在 5' 端的部分。

二、G-4 共價能力分析

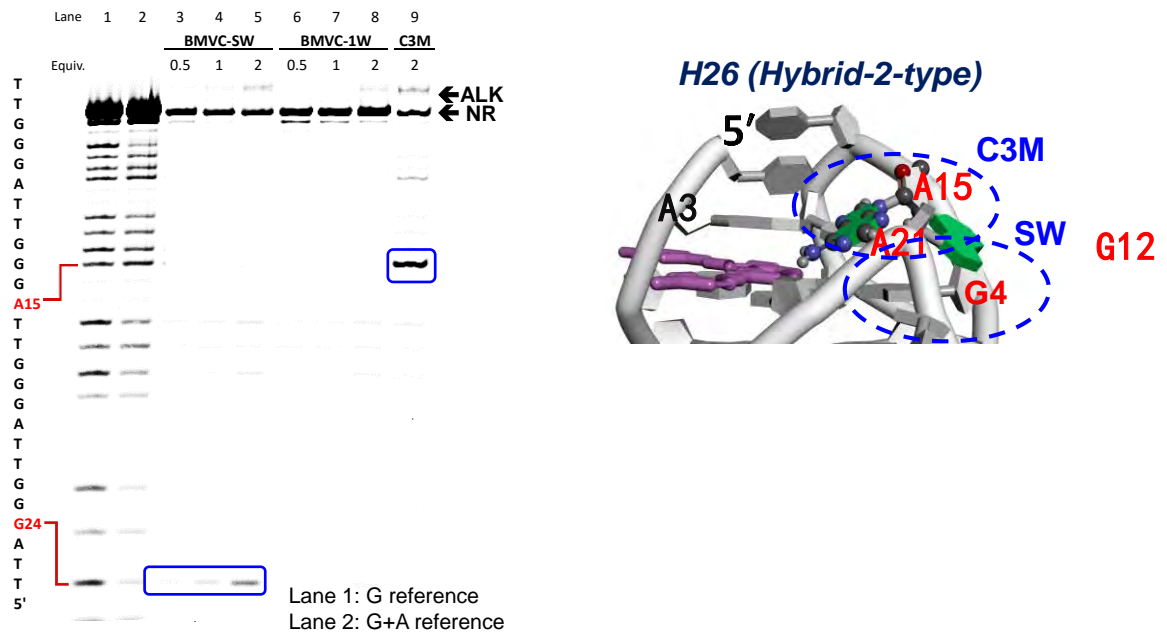
(一) BMVC-SW 對不同 DNA 結構的反應能力



圖十六、BMVC-SW 與其他化合物對不同 DNA 結構的反應能力

由以上的電泳圖可以知道，在反應 20 小時之後，BMVC-SW 與 BMVC-C3M 對 G-4 DNA 的共價能力差不多(~33%)。而他們對單股及雙股 DNA 幾乎沒有共價結合，可見其選擇性非常好，因為 BMVC 只會導引至 G-4 DNA 而不會導引至單股或雙股 DNA。同時也以 COOH-SW 作為對照，發現其幾乎沒有與 G-4 進行共價結合，進一步證實需有 BMVC 基團才得以將化合物導引至 G-4 結構中進行結合。

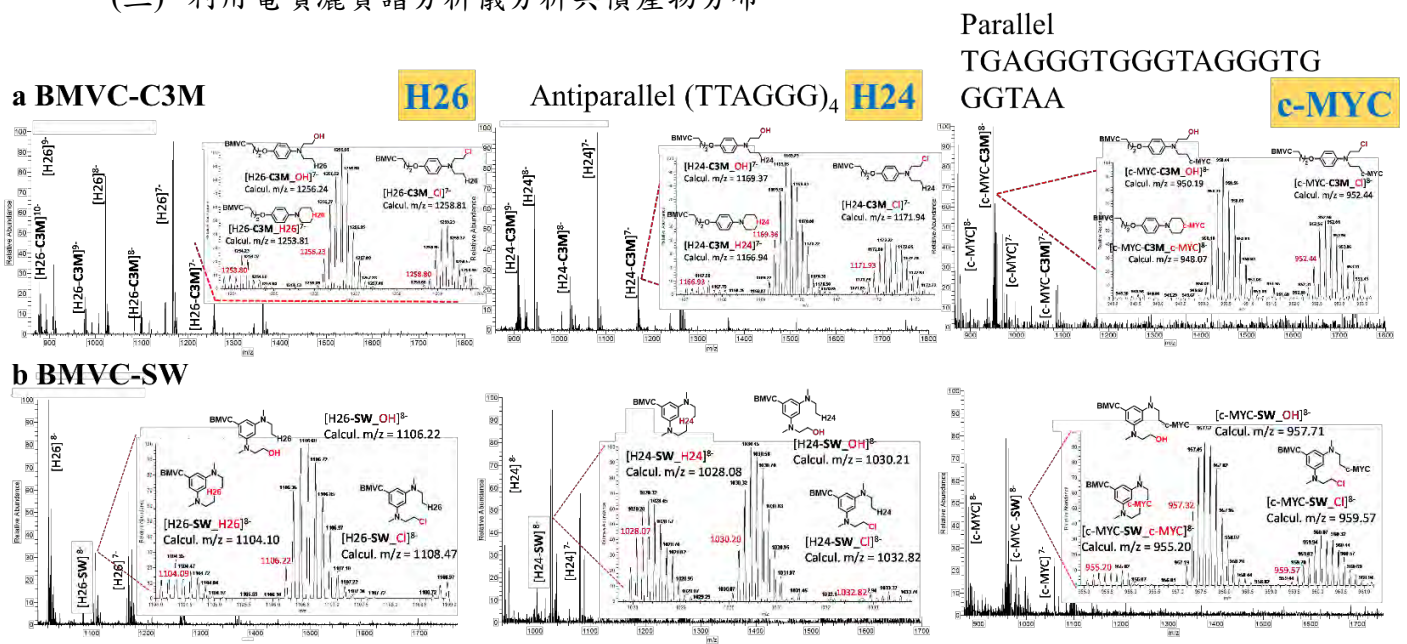
(二) BMVC-SW 對 H26 共價的位置



圖十七、利用 chemical footprinting 的分析探討 BMVC-SW 和 BMVC-C3M 與 H26 作用的位置

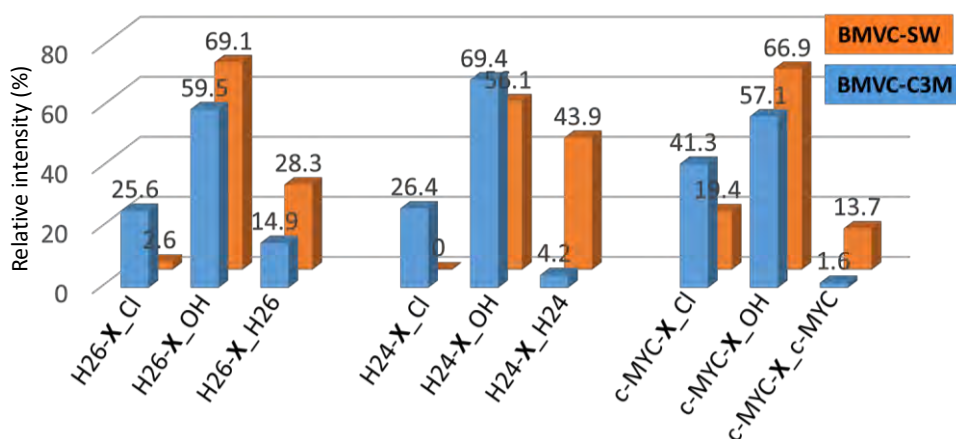
利用 footprinting 的分析，可以知道 BMVC-SW 與 H26 作用的位置為 G24 的位置、BMVC-C3M 為 A15 的位置(圖十七)。根據二級結構標示出共價結合的位置，可以知道他們作用在附近的鹼基上且靠近 5' 端的位置，與理論符合。

(三) 利用電噴灑質譜分析儀分析共價產物分布



圖十八、利用電噴灑質譜分析儀分析共價產物分布

由電噴灑質譜分析儀之結果，可以看到不同價數之起始物 DNA 與反應後的 DNA 與化合物之分布。將反應後的 DNA 與化合物之訊號展開可以發現其由三組訊號組成，且皆呈鐘狀分布，原因為每個原子皆可能有同位素。分子量最大一叢訊號為 DNA 與化合物僅進行一邊之共價結合，而化合物另一端之氯還在。第二大的為 DNA 與化合物僅進行一邊之共價結合，而化合物另一端之氯被水解。最小的則是兩個氯皆與 DNA 進行共價結合。



圖十九、BMVC-SW 和 BMVC-C3M 分別與 H26、H24、c-MYC 反應之共價產物量

將質譜分析之結果量化轉成如上之圖表，可以發現 BMVC-SW 與 BMVC-C3M 單邊被水解的量占了絕大部分且差不多，不過 BMVC-SW 鏈內交聯的量明顯比 BMVC-C3M 多了許多。針對不同結構的 G-4 結構，能有 2 到 10 倍的效率增加。BMVC-SW 幾乎所有的氯基都被消耗在與鳥嘌呤四股結構(G-4)的共價反應中。

肆、結論與應用

一、前端工作

根據理論計算與實際的 DNA 結構，設計並成功合成瘤克寧錠的類似物——COOH-SW 與一系列以 G-4 DNA 為標的的烷基化化合物，並以其為平台用以探討

氮芥子氣對於鏈內交聯的能力

二、中端工作

首先了解 **BMVC-C3M** 與 **BMVC-SW** 對於 G-4 的非共價結合能力相當，並以此為基礎，進行共價能力分析。由變性膠體電泳分析可以知道 **BMVC-C3M** 與 **BMVC-SW** 與 G-4 的烷基化能力也相當 (~33%)；同時將 **COOH-SW** 作為對照，證實需導入 **BMVC** 基團才能有效地與 G-4 進行共價反應。再來由 chemical footprinting 分析得知 **BMVC-C3M** 與 **BMVC-SW** 作用在附近的鹼基上 (A15 和 G24)，作用位置與理論計算相同。

接下來藉由電噴灑質譜分析儀分析鏈內交聯的能力，由結果得知，增加作用端的距離確實能有效改善鏈內交聯的能力。針對不同結構的 G-4 結構，能有 2 到 10 倍的效率增加。

三、後期應用

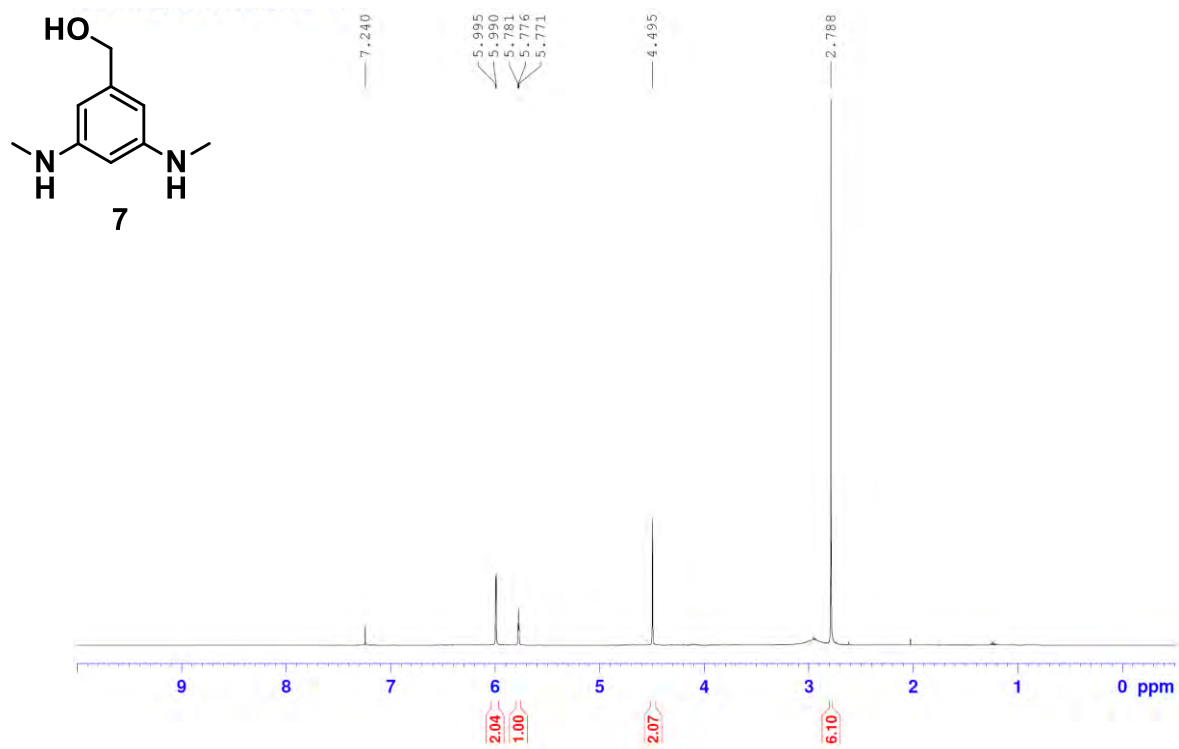
- (一) 針對不同癌症細胞，實際探討一系列化合物對於癌細胞的抑制活性。
- (二) 嘗試導入雙股 DNA 導引基團，改善瘤克寧錠在傳統應用上使用的困境。
- (三) 最終希望能有效率地應用在癌症上的治療以及使用，希望能達到有效抑制腫瘤組織增生的能力，而成為具有競爭力的化療藥物。

伍、參考文獻

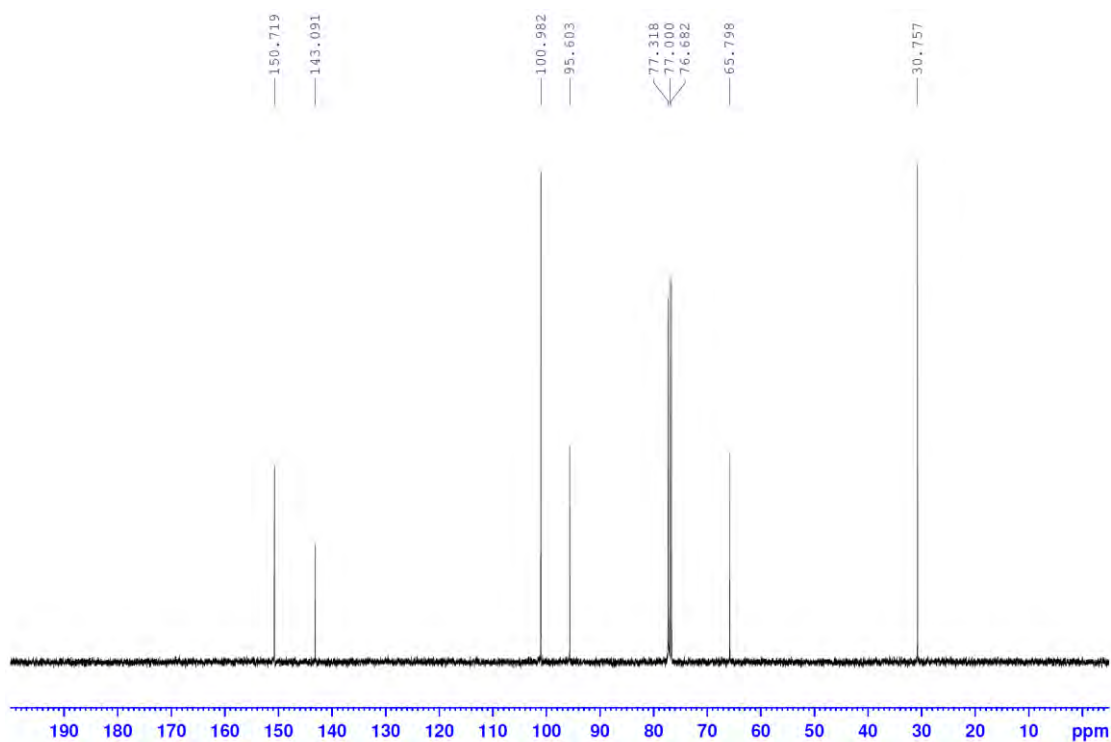
- 一、 Rajski, S. R.; Williams, R. M. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2723.
- 二、 Noll, D. M.; Mason, T. M.; Miller, P. S. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 277.
- 三、 Mukherjee, S.; Guainazzi, A.; Schärer, O. D. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, 7429.
- 四、 Chen, C.-H.; Hu, T.-H.; Huang, T.-C.; Chen, Y.-L.; Chen, Y.-R.; Cheng, C.-C.; Chen, C.-T. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 17379.

附錄 (化合物的結構鑑定 ^1H NMR, ^{13}C NMR)

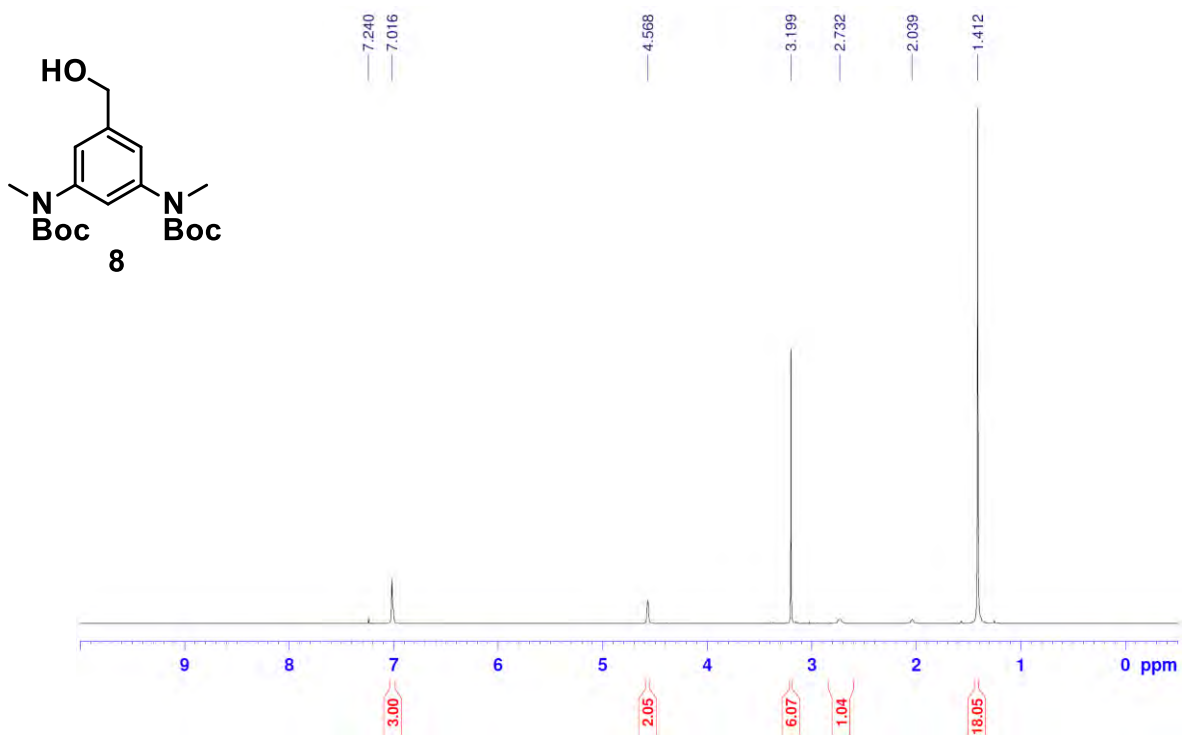
^1H spectra of compound 7



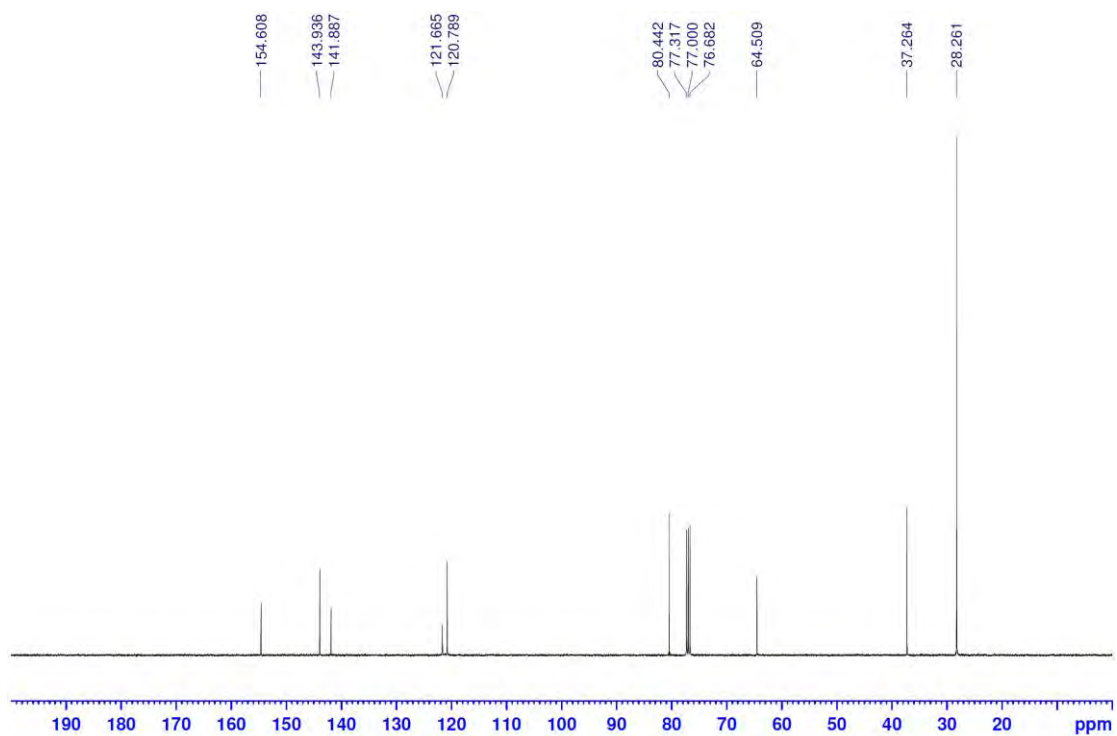
^{13}C spectra of compound 7



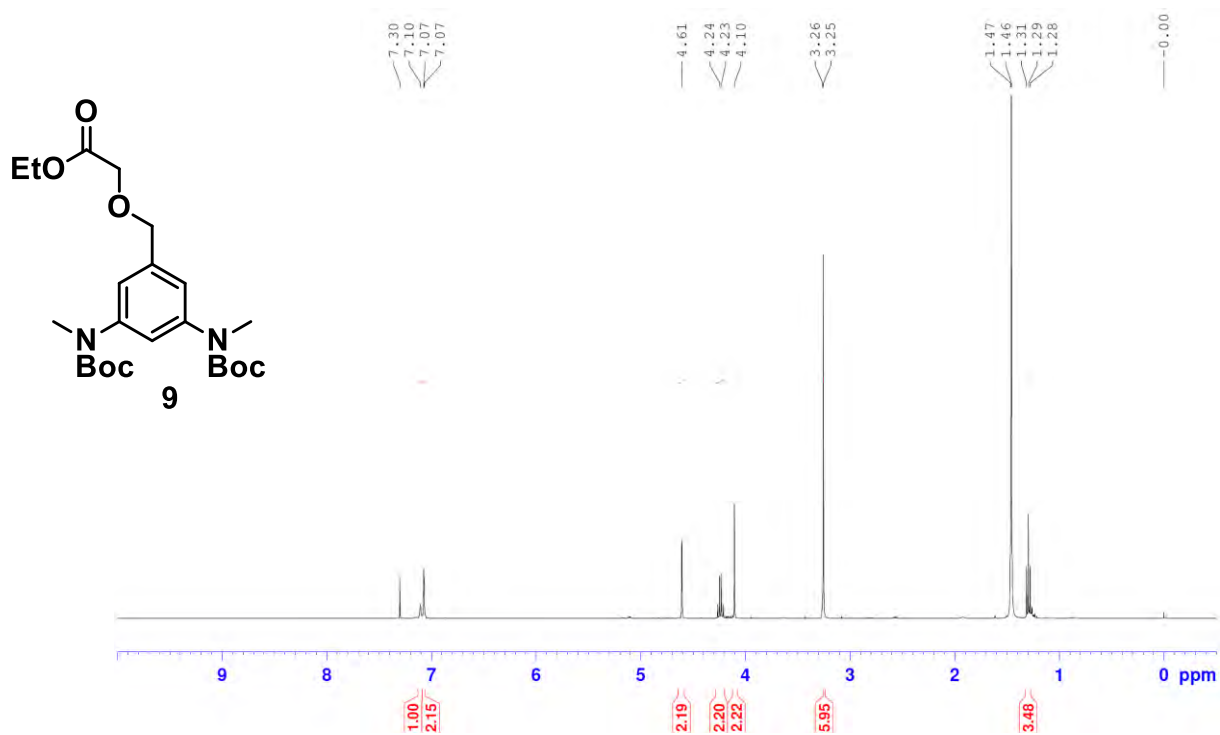
¹H spectra of compound 8



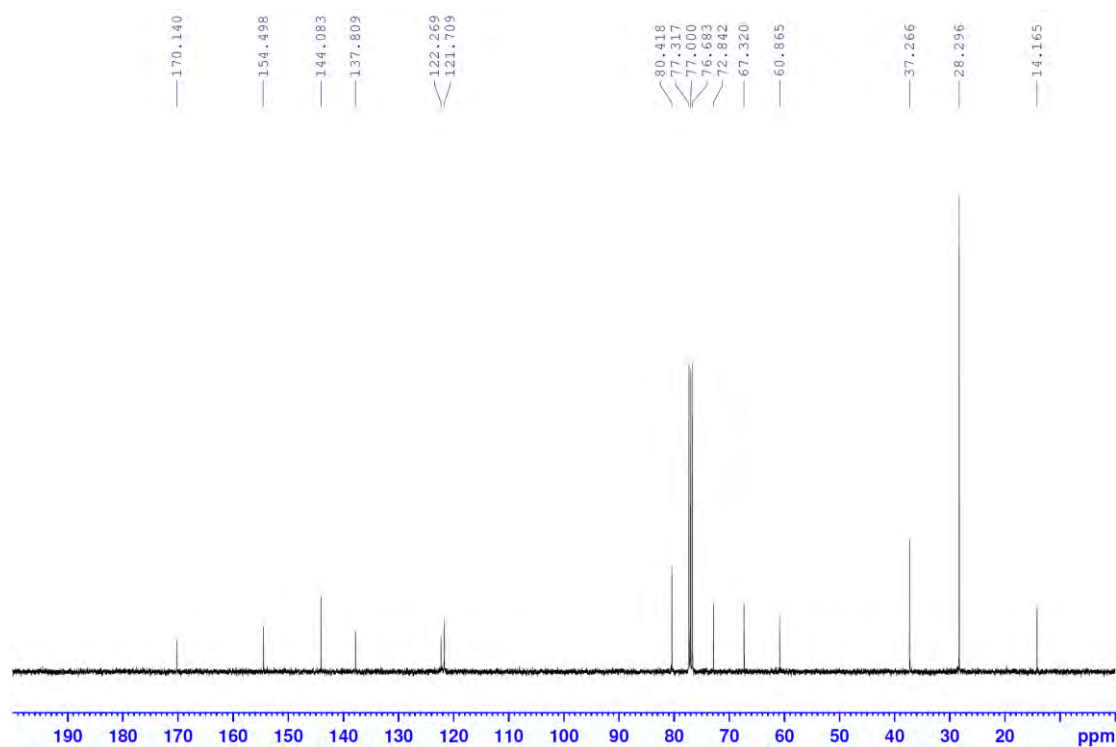
¹³C spectra of compound 8



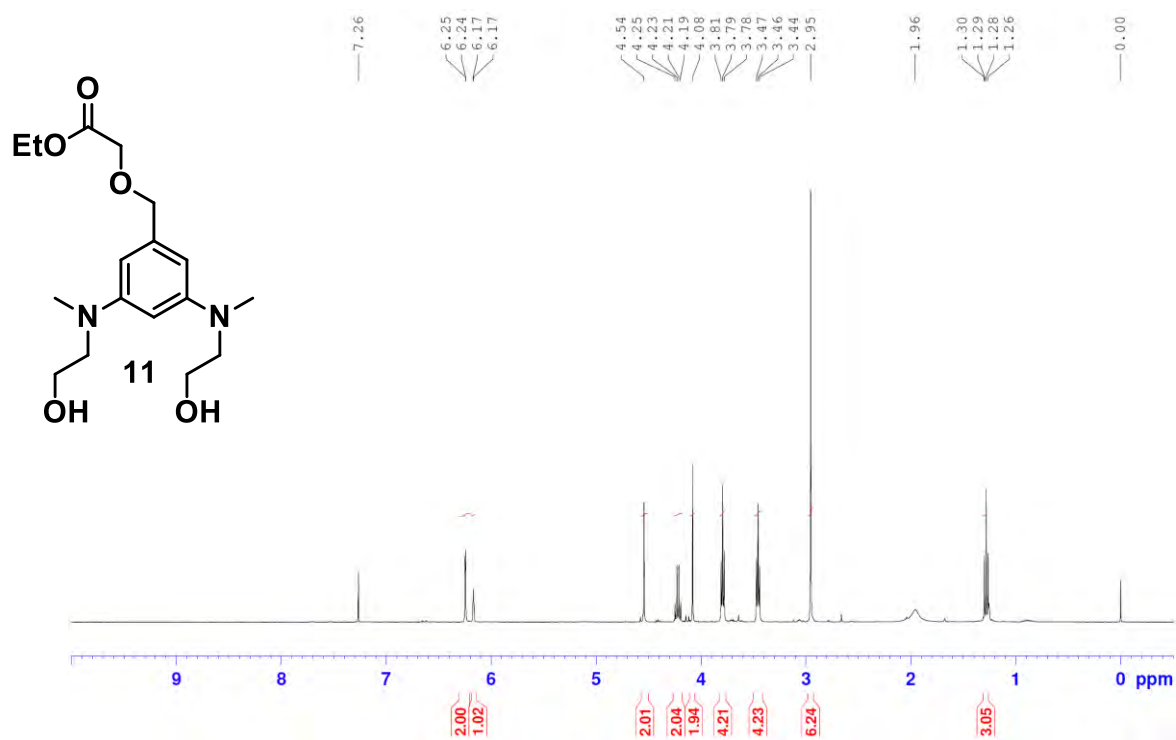
¹H spectra of compound 9



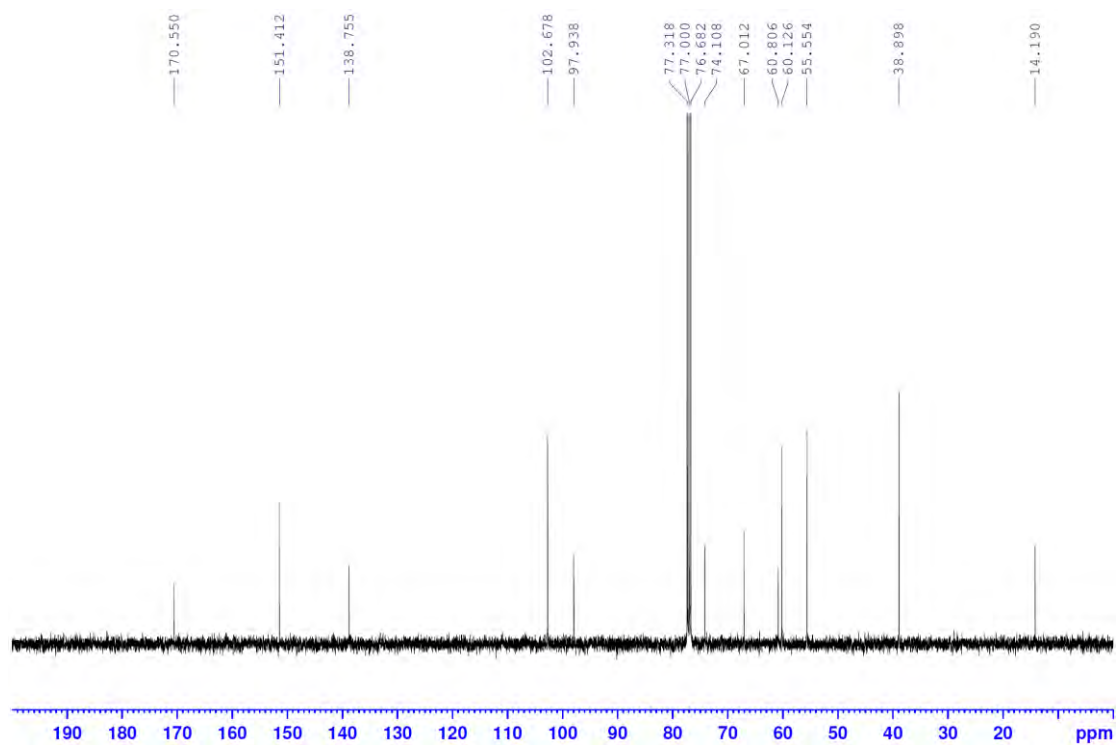
¹³C spectra of compound 9



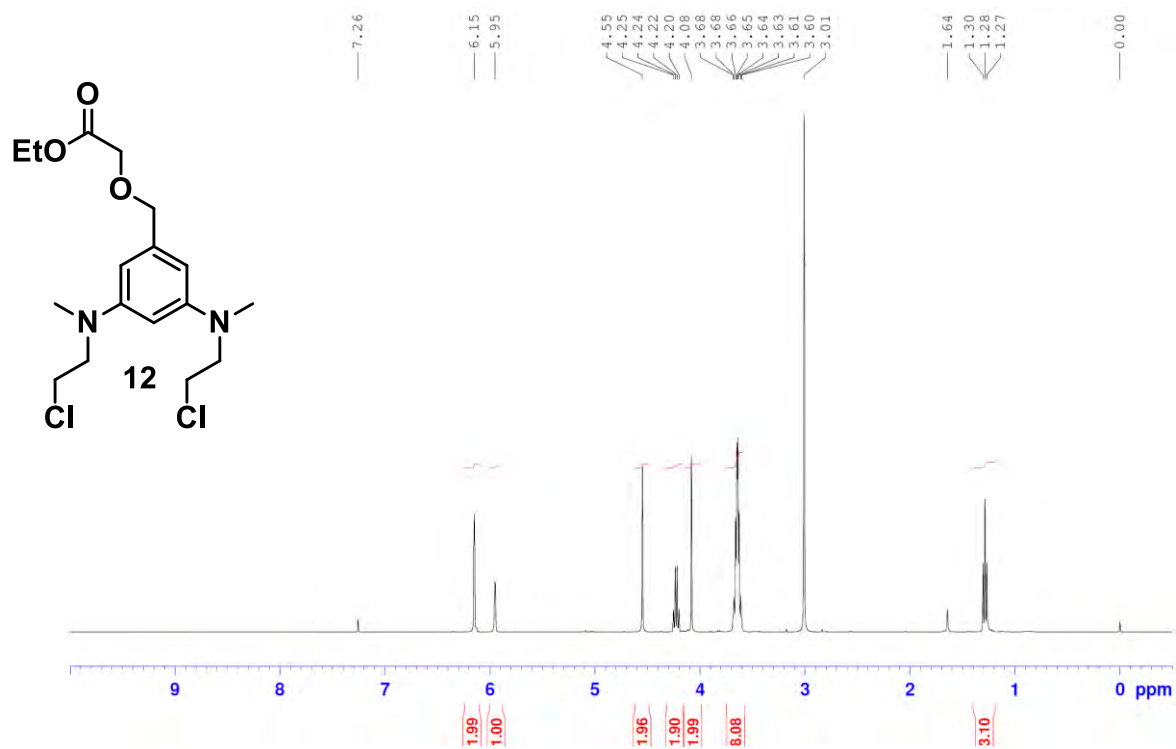
¹H spectra of compound 11



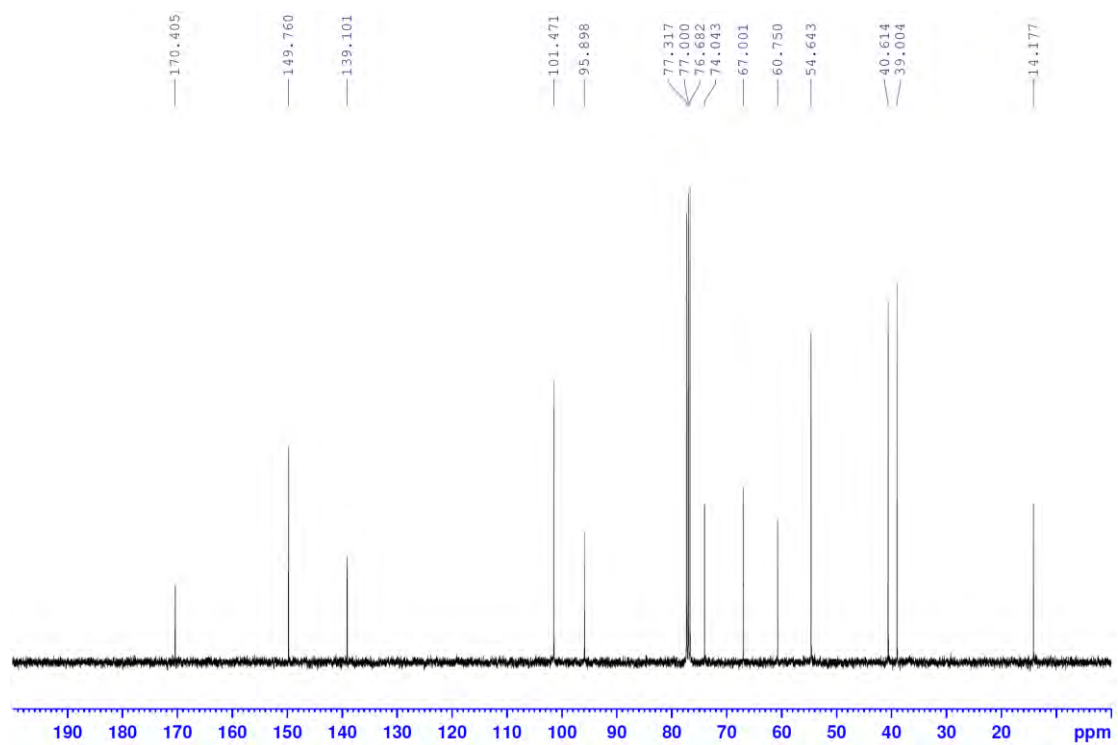
¹³C spectra of compound 11



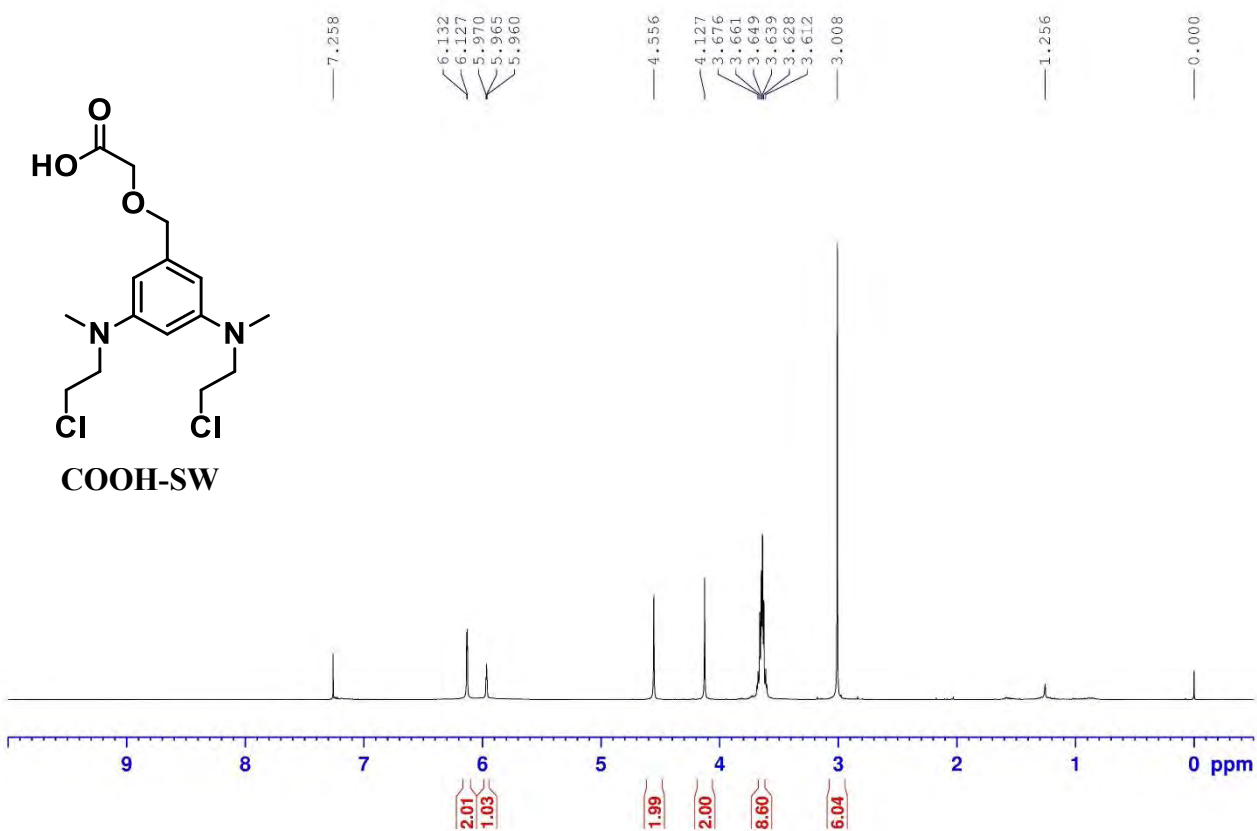
¹H spectra of compound 12



¹³C spectra of compound 12



^1H spectra of COOH-SW



【評語】 030016

本參展工作研究 chlorambucil 類化合物 DNA 鏈內交聯機制，並利用化學足跡(Chemical footprint)去確認反應中心，工作詳實，對未來 DNA 藥物研發有一定之貢獻。