

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

既存添加物の品質向上に資する研究

(20KA1008)

令和2年度研究分担報告書

試験法及び分析法の開発

～PDA 検出器の校正化合物創出のための基礎検討～

研究分担者 出水庸介 国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部 部長

**研究要旨** 研究分担者らは、既存添加物の有効成分または指標成分の定量用標品の供給問題を解消するため、分析対象物質の標準物質を必要としない定量分析法の開発を行っている。現在、HPLCにおける検出器として、フォトダイオードアレイ(PDA)が広く利用されている。PDAは広範囲の波長域における吸収を検出できることが利点であるが、検出されるシグナルを用いた定量は装置間、また、異なる波長域における誤差が大きいことが問題点となる。この問題点に対しては、広範囲に吸収をもつ基準物質となる化合物を利用して校正を行うことが望ましい。本研究では、PDA校正用として利用可能な性質、すなわち広範囲に吸収を有し、かつ溶解性などが担保された分子の探索を目的とした。すなわち、異なる波長域に吸収を有する化合物を複数個連結させることで広波長範囲において吸収を有する分子を創出するコンセプトで研究を遂行した。本年度は、複数の化合物を連結するためのビルディングブロックの構築と、連結するための色素化合物の合成について検討した。その結果、色素化合物としてビスアリアル化合物を用いることで、置換基の変更によって吸収波長を調節できることを明らかとした。

研究協力者

辻巖一郎 国立医薬品食品衛生研究所

有機化学部 主任研究官

## A. 研究目的

本研究では、HPLCをはじめとした分析機器の検出器として汎用的に利用されているフォトダイオードアレイ(PDA)の校正用化合物として利用可能な分子創出を目的とし、広範囲の波長域において吸収を示す化合物の合成について検討した。食品添加物の試験では、HPLCを用いた分析法が設定されているものが多く、異なる装置間での分析における正確さを担保することは重要である。PDAは、広範囲の波長域の化合物を検出できることからHPLC検出器に広く利用されているが、正確な分析を実施するために、装置間における校正を行う際には基準となる化合物が必要となる。特定波長の吸収における装置

間校正は、対象とする波長に対して適切なシングルリファレンスを設定することで対応が可能であるが、PDAのカバーする広範囲の波長域において一種の化合物を使用して校正を実施できることが望ましい。そこで本研究では、広い波長域にUV吸収を示す化合物を合成するために、異なる波長領域に吸収を持つ複数分子を連結することを提案した(Figure 1)。具体的には、①複数分子を連結可能なビルディングブロック部の合成、②UV吸収を示す化合物として、ビスアリアル化合物を合成した。

## B. 研究方法

### B-1) 分子設計・合成経路

化合物の合成は、入手容易な出発原料を利用したルートを計画した。異なる種類の色素化合物を連結可能なビルディングブロックとして、第3級アミンを含む構造を選択し、そ

の合成経路に関して検討した。同時に広範囲の波長域吸収を有する色素化合物の合成を目標として、官能基の変更による吸収波長の変化を期待して、ビスアリールマレイミド誘導体を得るための合成経路の確立を検討した。ビルディングブロック、および、それに連結するための色素化合物はそれぞれ Scheme 1 と 2 に示すルートで合成する計画を立てた。以下、本研究において使用した市販試薬等の情報を示す。

## B-2) 試料及び試薬

・ *N*-Boc-ethylenediamine : Combi-Blocks, Cat. AM-1613. 重クロロホルム (CDCl<sub>3</sub>), 重ジメチルスルホキシド (DMSO-*d*<sub>6</sub>) : 関東化学. 分光分析用ジメチルスルホキシド : FUJIFILM 和光純薬, Cat. 045-28335. その他, ジクロロメタン, アセトン, 酢酸, 1,4-ジオキサン, テトラヒドロフラン, トルエン, 酢酸エチル, ヘキサン, アセトン, 水酸化カリウム(KOH) はすべて市販特級品を用いた。

## B-3) 化合物の合成

特に断りがない限り、全ての試薬は試薬会社から購入したものをそのまま使用した。反応の追跡は薄層クロマトグラフィー (TLC)(60 F254, Merck 社)を使用し、スポットの可視化はハンディ UV ランプ (254/365 nm)(UVP 社)による紫外線照射、およびヨウ素蒸気またはニンヒドリン試液によって行った。カラムクロマトグラフィー用のシリカゲルには、関東化学 60N (球状、中性)、もしくは中圧カラムクロマトグラフィー装置 (Smart Flash)(山善)、および中圧カラムクロマトグラフィー用充填カラム (Hi-Flash column / Inject column (山善)を使用した。<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C-NMR スペクトルは NMR 測定用の重水素化溶媒を使用して、ECZ 600 spectrometer (JEOL)にて測定した。化学シフト値 (ppm)はテトラメチルシラン (TMS) (CDCl<sub>3</sub>: 0 for <sup>1</sup>H-NMR), もしくは残留溶媒のシグナルを内部標準として補正した (77.0 for <sup>13</sup>C-NMR; DMSO-*d*<sub>6</sub>: 2.50 for <sup>1</sup>H-NMR, 39.5 for <sup>13</sup>C-NMR)。

シグナルの分裂様式は以下に示す通りである (singlet (s), doublet (d), triplet (t), double of doublets (dd), multiplet (m), broad (br))。高分解能質量分析 (HRMS)は Shimadzu IT-TOF MS (島津)にて、エレクトロスプレーイオン化法にて測定した。

## B-3) 化合物の紫外可視吸光スペクトル

得られた化合物については UV スペクトルを取得して、吸収波長を確認した。それぞれの化合物を精密に量りとり、ジメチルスルホキシド (分光分析用)に溶解させて 10 mM の溶液としたものをストック溶液とした。これを段階的に希釈することで 50 μM のジメチルスルホキシド溶液とした。スペクトルの測定には、V-730 (日本分光)を使用し、石英セル (1 x 1 cm) を用いて室温にて測定を行った。

## C. 結果及び考察

### C-1) 化合物の合成

本研究では、幅広い波長領域に吸収をもつ化合物の合成法として、ビルディングブロックに複数の色素化合物を連結させることをコンセプトとした。ビルディングブロック構造としては、合成が比較的容易で、複数の異なる色素化合物との連結部位を構築可能、かつ溶解性を担保するために化合物 **5** のような構造を選択した。ビルディングブロック部は Scheme 1 に示すルートで合成した。一方で、色素化合物は紫外可視吸光(UV-Vis)スペクトルにおける吸光度の波長域を、官能基の変化で行えるような構造をモデルとして選択することとした。具体的には、マレイミド骨格に2つの芳香環を導入した、ビスアリールマレイミド骨格を有する化合物を用いた (Scheme 2)。ビルディングブロックの合成は、文献記載の方法<sup>1)</sup>を参考に、部分的に経路を変更して行った。すなわち、2-ブロモエタノールに対してアジ化ナトリウムを作用させることでアジド化合物とし、これを続けてメシル化の反応に供することで化合物 **2** を得た。化合物 **2** を Boc 基で片方のアミノ基

を保護したエチレンジアミン **3** に付加させることでジアジド化合物 **4** を合成した。化合物 **4** のアジド基をシュタウディンガー反応によって還元し、化合物 **5** へと変換した。一方で、色素化合物に関しては、化合物 **6** から Pinnick 酸化によってジカルボン酸を合成し、続いて酸触媒存在下にて塩化アセチルを作用させることで酸無水物とした。この化合物は水分に対して不安定であるため、ベンジルアミンと反応させてイミドとすることで後のカップリング反応条件に耐えうる構造 **8** へと変換した。マレイミド中間体化合物 **8** から、Suzuki-Miyaura クロスカップリング反応によって、種々の芳香環を導入することでビスアリアルマレイミド骨格を構築した。このマレイミド誘導体をアルカリ加水分解、続く酸処理によって対応する酸無水物へと導くことでビルディングブロックのアミン部位との反応点とした。

#### C-1-1) ビルディングブロック部の合成

##### 化合物 **2** の合成

2-ブロモエタノール (**1**) (5.0 g, 40.0 mmol) の水溶液 (20 mL) にアジ化ナトリウム (3.9 g, 60.0 mol) を加え、110°Cにて12時間攪拌した。室温に冷却後、反応液に飽和食塩水を加えてジクロロメタンで抽出した (40 mL x 3)。合わせた有機層を水、次いで飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、濾液を減圧濃縮した。得られた化合物 (1.72 g, 淡黄色液体) はこれ以上精製せずに次の反応に用いた。得られた粗生成物 (1.7 g, as 19 mmol) とトリエチルアミン (5.44 mL, 39.0 mmol) のジクロロメタン溶液 (14 mL) に、メタンスルホニルクロリド (1.66 mL, 21.5 mmol) のジクロロメタン溶液 (5 mL) を 0°Cにて滴下した。そのままの温度にて1時間攪拌後、反応液をジクロロメタン (10 mL) にて希釈し、1M 塩酸次いで飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過し、濾液を減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製 (ヘキサン : 酢酸エチル = 9 : 1 to 1 : 3) することで、化合物 **2** を 59% (2.56 g) の収率で得た。

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.36 (t,  $J = 4.8$  Hz, 2H), 3.60 (d,  $J = 4.8$  Hz, 2H), 3.09 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  67.4, 49.8, 37.8.

##### 化合物 **4** の合成

*N*-Boc-ethylenediamine (**3**) (0.9 g, 5.0 mmol) と *N,N*-ジイソプロピルエチルアミン (2.14 mL, 12.0 mmol) のアセトニトリル溶液 (20 mL) に化合物 **2** (1.98 g, 12.0 mmol) を加えて 80°Cにて48時間攪拌した。室温に冷却後、反応液を減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製 (ヘキサン : 酢酸エチル = 9 : 1 to 3 : 1) することで、化合物 **4** を 92% (1.38 g) の収率で得た。 $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.06 (br, 1H), 3.34 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 3.22-3.19 (m, 2H), 2.74 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.65 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 1.45 (s, 9H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  156.1, 79.2, 54.1, 53.8, 49.6, 38.5, 28.4.

##### 化合物 **5** の合成

化合物 **4** (68 mg, 0.23 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (1.0 mL) にトリフェニルホスフィン (63 mg, 0.24 mmol) を加えた後、水 (0.1 mL) を加えた。室温にて48時間攪拌した後、反応液を減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製 (ジクロロメタン : メタノール = 19 : 1 to 3 : 1) することで、化合物 **5** を 43% (27 mg) の収率で得た。 $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.39 (br, 1H), 3.19 (br, 2H), 2.76 (t,  $J = 6.0$  Hz, 4H), 2.56 (t,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.53 (t,  $J = 6.0$  Hz, 4H), 1.44 (s, 9H).

#### C-1-2) 色素化合物の合成

##### 化合物 **8** の合成

ムコブROM酸 (**6**) (4.64 g, 18.0 mmol) と 2-メチル-2-ブテン (9.5 mL, 90.0 mmol) のアセトン溶液 (73 mL) に亜塩素酸ナトリウム (80%) (3.9 g, 60.0 mol) のりん酸二水素ナトリウム (13.5 g, 72.0 mol) 水溶液 (73 mL) を 0°Cにて滴下した。反応液を室温にて3時間攪拌した後、0°Cにて10%塩酸 (73 mL) を加えてジ

エチルエーテルで抽出した (150 mL x 4). 合わせた有機層を水, 次いで飽和食塩水で洗浄後, 無水硫酸ナトリウムで乾燥, 濾過し, 濾液を減圧濃縮した. 得られた粗生成物 **7** (6.2 g) はこれ以上精製せずに次の反応に用いた.

化合物 **7** (3.5 g, as 9 mmol) に塩化アセチル (6.8 mL, 90 mmol), 次いで硫酸をパスツールピペットで一滴加えた. 室温で 1.5 時間攪拌した後, 反応液を減圧濃縮した後, 残渣に対してトルエンで共沸を行った (10 mL x 2). 得られた粗生成物はこれ以上精製せずに次の反応に用いた. 上記の粗生成物を酢酸 (18 mL) に溶解させ, ベンジルアミン (1.18 mL, 10.8 mmol) を加えた後, 110°C にて 3 時間攪拌した. 反応液を室温に冷却後, 減圧濃縮し, 得られた残渣を酢酸エチルに溶解させ, 水で洗浄した. 有機層を 2M 塩酸, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 飽和食塩水で順次洗浄後, 無水硫酸ナトリウムで乾燥, 濾過し, 濾液を減圧濃縮した. 得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製 (ヘキサン : 酢酸エチル = 9 : 1 to 1 : 3) することで, 化合物 **8** を 46% (1.44 g) の収率で得た.  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.38-7.36 (m, 2H), 7.35-7.30 (m, 3H), 4.75 (s, 2H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  163.7, 135.3, 129.6, 129.0, 128.9, 128.5, 43.4.

#### 化合物 **9** の合成<sup>2)</sup>

化合物 **8** (137 mg, 0.40 mmol), 4-メトキシフェニルボロン酸 (182 mg, 1.2 mmol), ビス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (II) ジクロリド (58 mg, 0.10 mmol), フッ化セシウム (365 mg, 2.4 mmol) の 1,4-ジオキサン (4 mL) /水 (1 mL) 溶液を 110°C にて 12 時間攪拌した. 室温に冷却後, 反応液を酢酸エチルで希釈し, 水, 飽和食塩水で順次洗浄後, 溶液硫酸ナトリウムで乾燥, 濾過し, 濾液を減圧濃縮した. 得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製 (ヘキサン : 酢酸エチル = 9 : 1 to 3 : 1) することで, 化合物 **9** を 79% (126 mg) の収率で得た.

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.47 (d,  $J=9.0$  Hz,

4H), 7.45 (d,  $J=7.2$  Hz, 2H), 7.33 (t,  $J=7.2$  Hz, 2H), 7.29-7.26 (m, 1H), 6.86 (d,  $J=9.0$  Hz, 4H), 7.35-7.30 (m, 3H), 4.78 (s, 2H), 3.82 (s, 6H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.1, 160.8, 136.8, 134.2, 131.6, 128.9, 128.8, 127.9, 121.4, 114.2, 55.4, 42.0.

#### 化合物 **11** の合成

化合物 **9** (63 mg, 0.16 mmol) のエタノール溶液 (1.5 mL) に 4M 水酸化カリウム水溶液 (1 mL) を加え, 60°C にて 2 時間攪拌した. 0°C に冷却後, 反応液に 10% 塩酸を加えて酸性とした (pH ~2). 生じた沈殿をろ取して, 水で洗浄, 真空乾燥することで黄色固体 (45 mg) を得た.

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.30-7.28 (m, 4H), 6.95 (d,  $J=9.0$  Hz, 4H), 3.68 (s, 6H).

#### 化合物 **10** の合成<sup>3)</sup>

化合物 **8** (345 mg, 1.0 mmol), 2-ナフタレンボロン酸 (413 mg, 2.4 mmol), ビス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (II) ジクロリド (35 mg, 0.05 mmol), フッ化セシウム (810 mg, 4.8 mmol), テトラブチルアンモニウムクロリド (28 mg, 0.1 mmol) のトルエン (6.7 mL) /水 (3.3 mL) 溶液を 80°C にて 12 時間攪拌した. 室温に冷却後, 反応液を酢酸エチルで希釈し, 水で洗浄した. 有機層を 2M 塩酸, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 飽和食塩水で順次洗浄後, 無水硫酸ナトリウムで乾燥, 濾過し, 濾液を減圧濃縮した. 得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製 (ヘキサン : 酢酸エチル = 10 : 0 to 8 : 2) することで, 化合物 **10** を 97% (0.43 g) の収率で得た.

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.23 (s, 2H), 7.83 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.79 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.68 (d,  $J=8.4$  Hz, 2H), 7.54-7.48 (m, 6H), 7.38-7.35 (m, 4H), 7.31 (t,  $J=7.2$  Hz, 1H), 4.88 (s, 2H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.7, 136.6, 136.0, 133.8, 133.2, 130.9, 129.1, 129.0, 128.9, 128.2, 128.1, 127.8, 127.6, 126.7, 126.5, 126.2, 42.3.

## 化合物 12 の合成

化合物 10 (320 mg, 0.7 mmol) のエタノール溶液 (7.5 mL) に 4M 水酸化カリウム水溶液 (5 mL) を加え, 60°C にて 5 時間攪拌した. 0°C に冷却後, 反応液に 10% 塩酸を加えて酸性とした (pH ~2). 生じた沈殿をろ取して, 水で洗浄, 真空乾燥することで淡黄色固体 (250 mg) を得た.

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.74-7.72 (m, 3H), 7.67-7.66 (m, 3H), 7.60-7.55 (m, 2H), 7.43-7.36 (m, 6H).

### C-2) 化合物の紫外可視吸光スペクトル測定

合成したビスアリアル酸無水物のジメチルスルホキシド中の紫外可視吸光スペクトルを取得したところ, 化合物に導入した芳香環, および芳香環上の置換基によってスペクトルが異なることが分かった (Figure 2). 当初, フェニル基の共役系を拡大したものとしてナフチル基を導入した化合物 12 は, より長波長域に吸収を示すことを期待していた (Figure 2, B). しかしながら, 化合物 12 は特定の波長における吸光度は増加したものの, 共役系の拡大による紫外可視吸光スペクトルにおける吸収の長波長化は確認されなかった. この結果から, ビスアリアル化合物は, 芳香環の共役系を単純に拡大することによって吸収スペクトルの長波長化が可能と示唆された. 一方で, 化合物 11 はフェニル基の 4 位にメトキシ基を導入することによって, 強度は弱いものの, スペクトルにおける吸収の長波長化が確認された (Figure 2, C). このことから, 今回合成したビスアリアル化合物は芳香環上への適切な置換基の導入によって吸収波長域を調節できることが予想される. 化合物 11 においてフェニル基に導入したメトキシ基は電子供与性基であり, この官能基の導入により, フェニル基のみが導入された化合物と比較して長波長域に吸収を示したことから, 水酸基など他の電子供与基を利用することでスペクトルの長波長化や水溶性の改善などが期待される.

## D. 結論

HPLC を用いた定量分析法において, PDA 検出器の装置間での校正に利用可能な化合物の開発を目的として検討を行った. 本研究では, 幅広い領域に UV 吸収を有する化合物の合成法として, ビルディングブロックとなる構造に, 異なる複数の化合物を連結する分子設計を用いた. 化合物を連結するビルディングブロック部としては, 合成の簡便さ, 溶解性などの物性を考慮して, 第 3 級アミン構造を含むものを設計・合成した. ビルディングブロックに連結する化合物としては, 結晶性などの物性や置換基効果による吸収スペクトル変化などを期待してビスアリアルマレイミド誘導体を選択した. ビスアリアル化合物は導入する官能基によって紫外可視吸光スペクトルにおける吸収波長が変化することが分かった. 今後, この性質を利用して幅広い波長域に吸収を示す色素分子を探索し, さらにそれらを複数個, ビルディングブロックに導入することで, より幅広い波長域をカバーできるような分子の創出について引き続き検討を行う. RMS を用いた定量法に利用する内標準物質の条件として, 安価, 高純度, 純度既知, 安定, 入手しやすいものであること, 測定対象の化合物と物理的な特性 (極性, 極大吸収波長等) が類似し, HPLC で試料中の夾雑物及び測定対象の化合物と分離すること, 等が挙げられる. 今回実施した化合物の設計・合成についてさらに検討することで, これらの条件を満たすことも検討する必要がある. 低分子化合物の UV 吸収は, 波長や強度においてある程度の加算性が成り立つこと, また官能基の変更によって溶解性などの物性を調整可能であることから, 本研究における設計コンセプトは, 任意の波長域に吸収を有する化合物の分子設計に適用可能と考えられる.

## E. 参考文献

- 1) Defaye J, Balbuena P, Benito M J, Diaz A M, Di C G, Garcia J F, Geze A, Gomez M G,

- Ortiz C M, Vierling P, Wouessidjewe D: Preparation of nanosphere amphiphilic cyclodextrin derivatives as biological transporters, PCT Int. Appl., 2008009831, 24 Jan 2008.
- 2) Shorunova S V, Krayushkina M M, Stoyanovicha F M, Irie M: A Convenient synthesis of 3,4-diaryl(hetaryl)-substituted maleimides and maleic anhydrides. Russ. J. Org. Chem., **2006**; *42*:1490-1497.
- 3) Doi I, Tsuji G, Kawakami K, Nakagawa O, Taniguchi Y, Sasaki S: The spermine-bisaryl conjugate as a potent inducer of B- to Z-DNA transition. Chem. Eur. J., **2010**; *16*:11993-11999.
- F. 研究業績**
1. 学会発表等  
なし
2. 論文発表等  
2-1. 論文  
なし
- G. 知的財産権の出願. 登録状況**  
なし

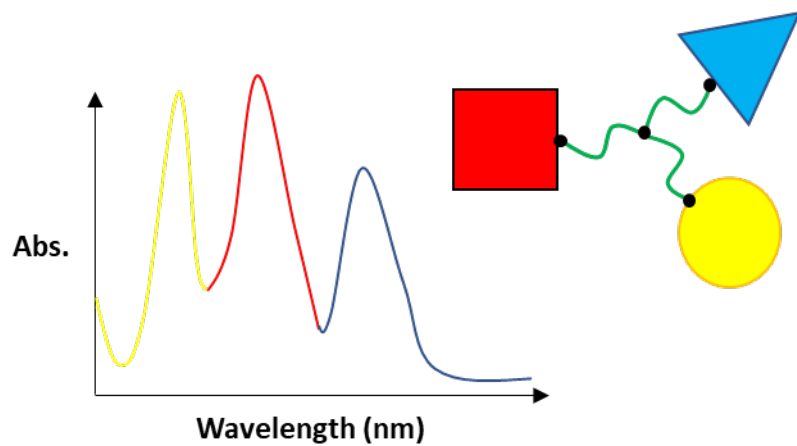


Figure 1. Conceptual structure as PDA standards in this study.

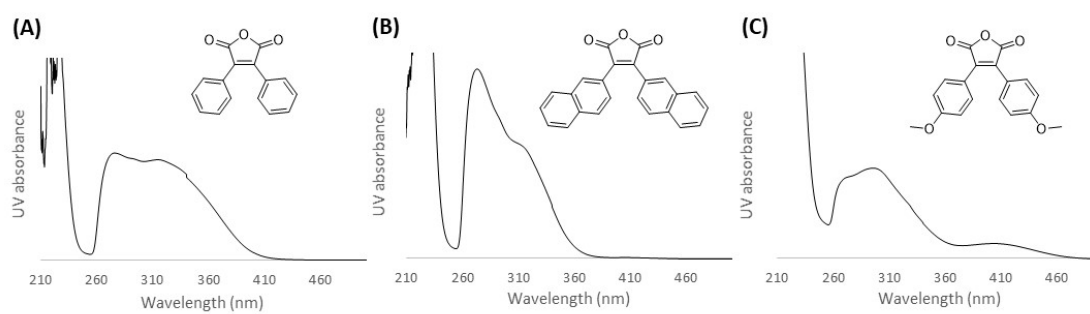
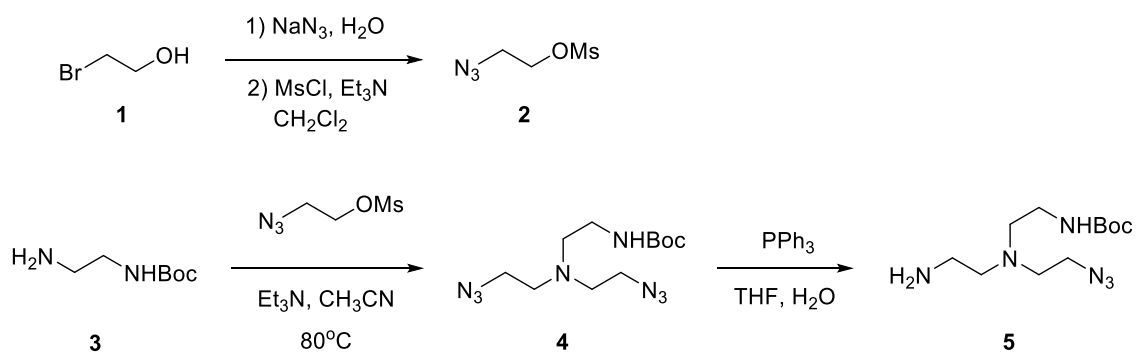
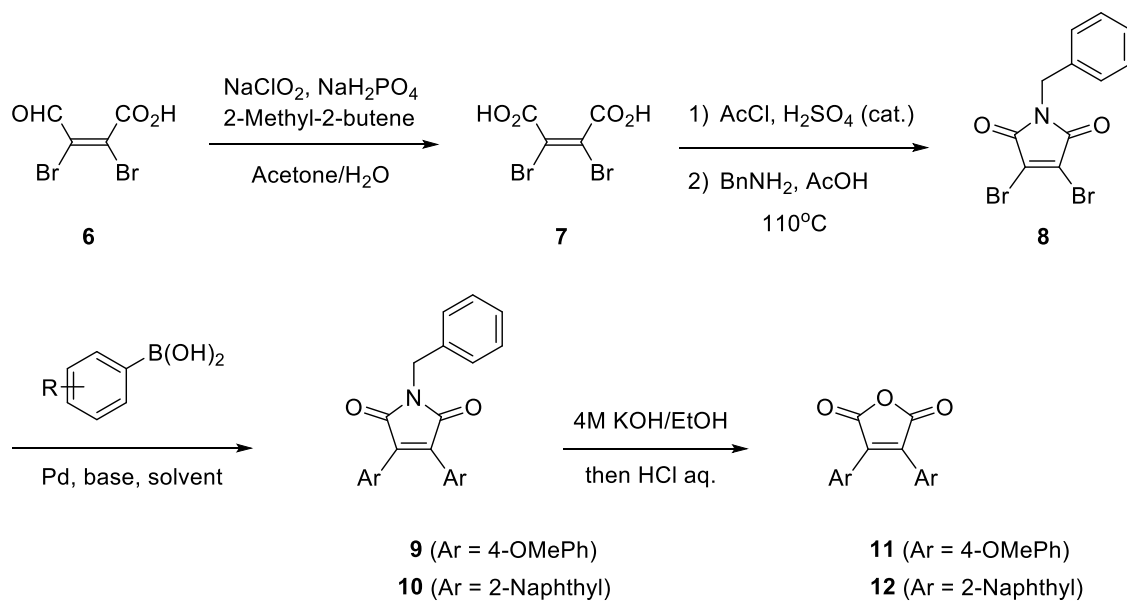


Figure. 2 UV-Vis spectra of bis-aryl maleic anhydride derivatives (50  $\mu\text{M}$  in DMSO); (A) Bisphenyl, (B) Bis(2-naphthyl), and (C) Bis(4-Methoxyphenyl).



Scheme 1. Synthetic route of a building block **5**.



Scheme 2. Synthetic route of bis-aryl compounds.



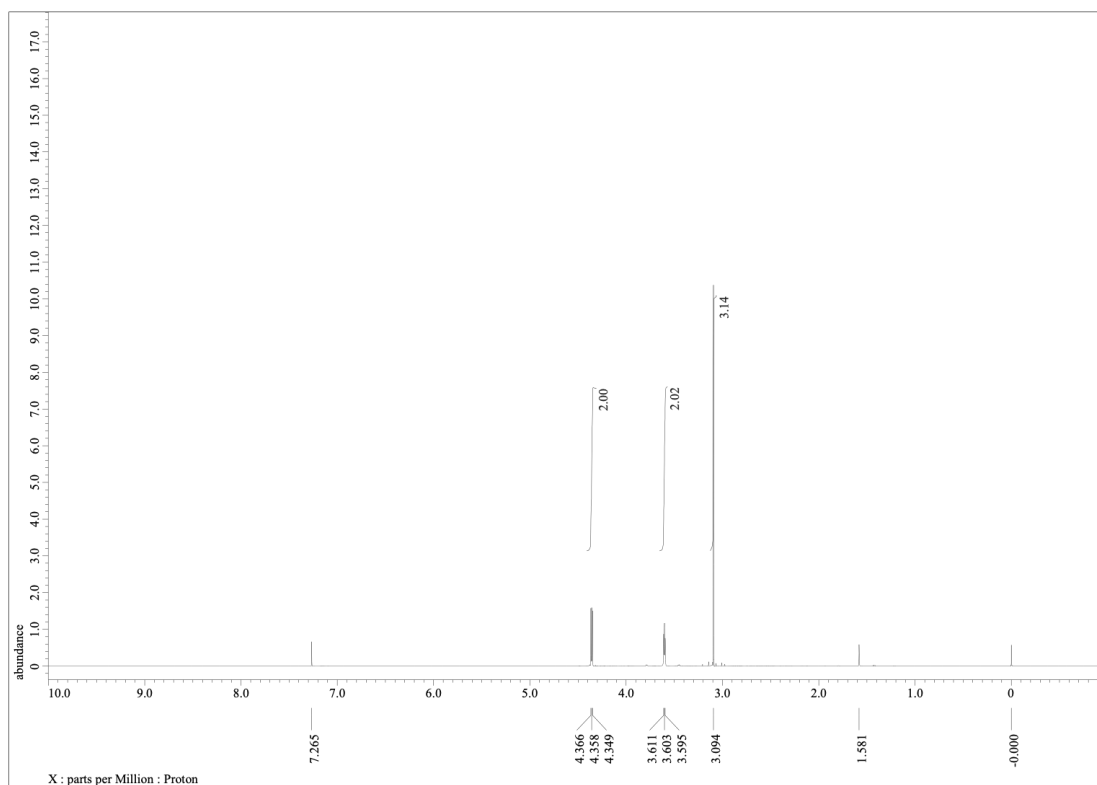


Fig. 3 <sup>1</sup>H NMR spectrum of compound 2 in CDCl<sub>3</sub>.

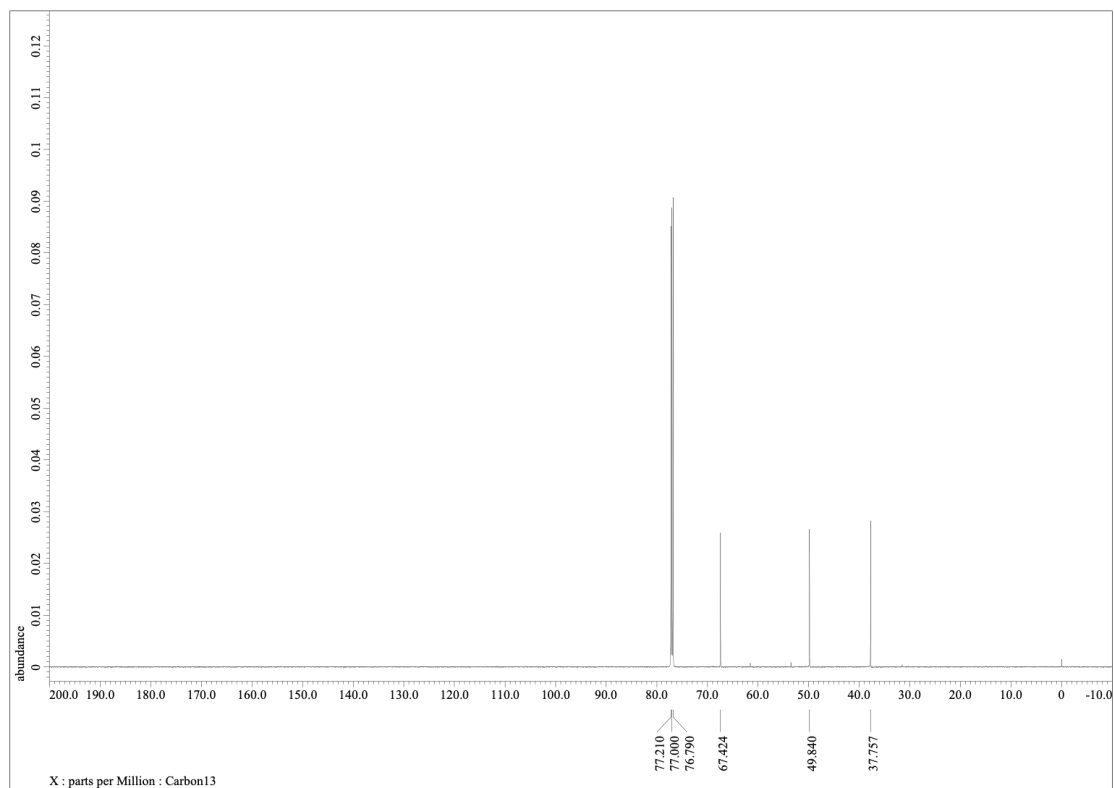


Fig. 4 <sup>13</sup>C NMR spectrum of compound 2 in CDCl<sub>3</sub>.

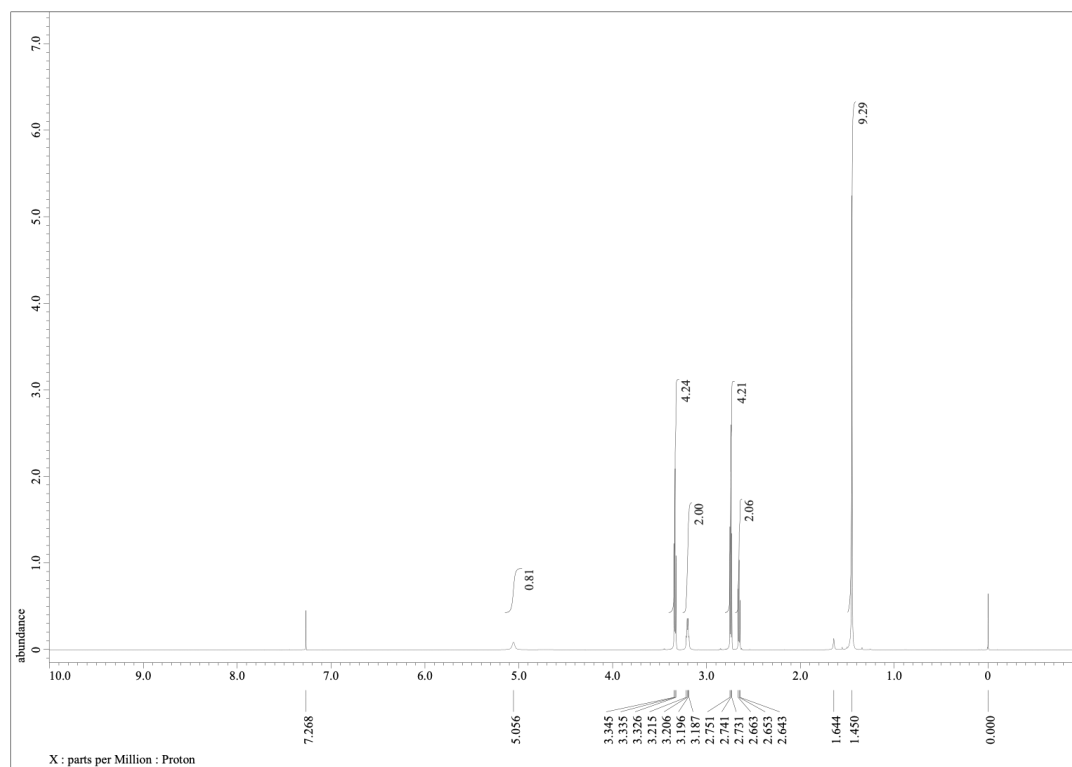


Fig. 5  $^1\text{H}$  NMR spectrum of compound 4 in  $\text{CDCl}_3$ .

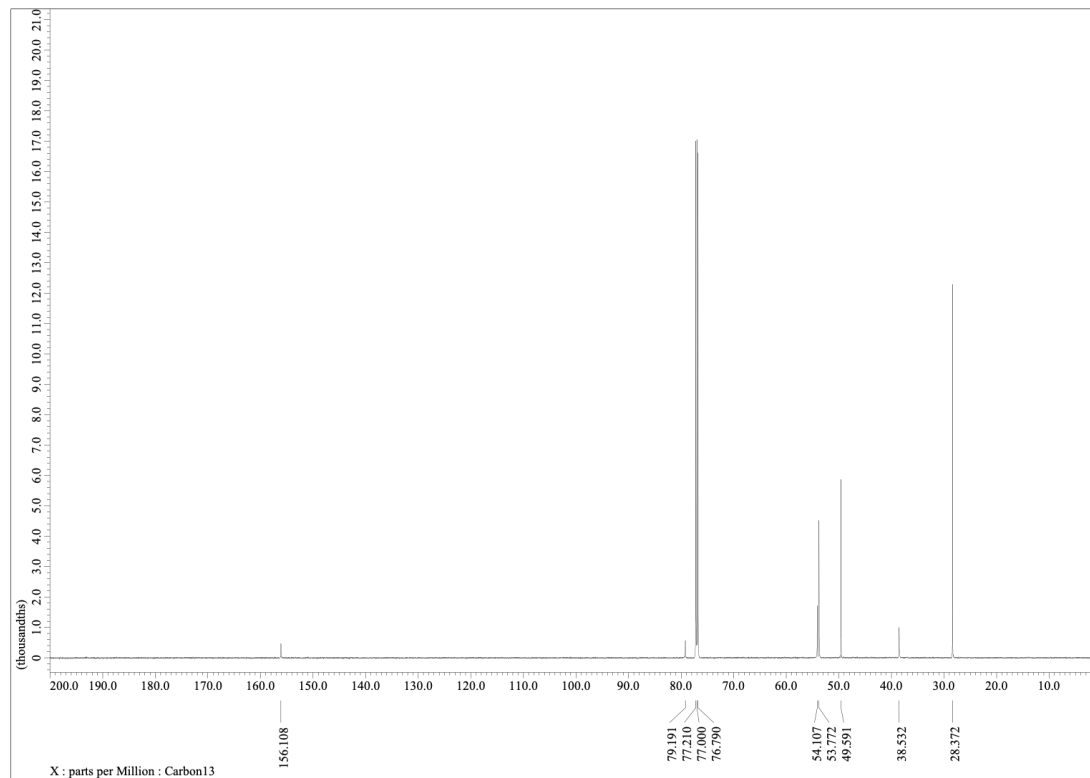


Fig. 6  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of compound 4 in  $\text{CDCl}_3$ .

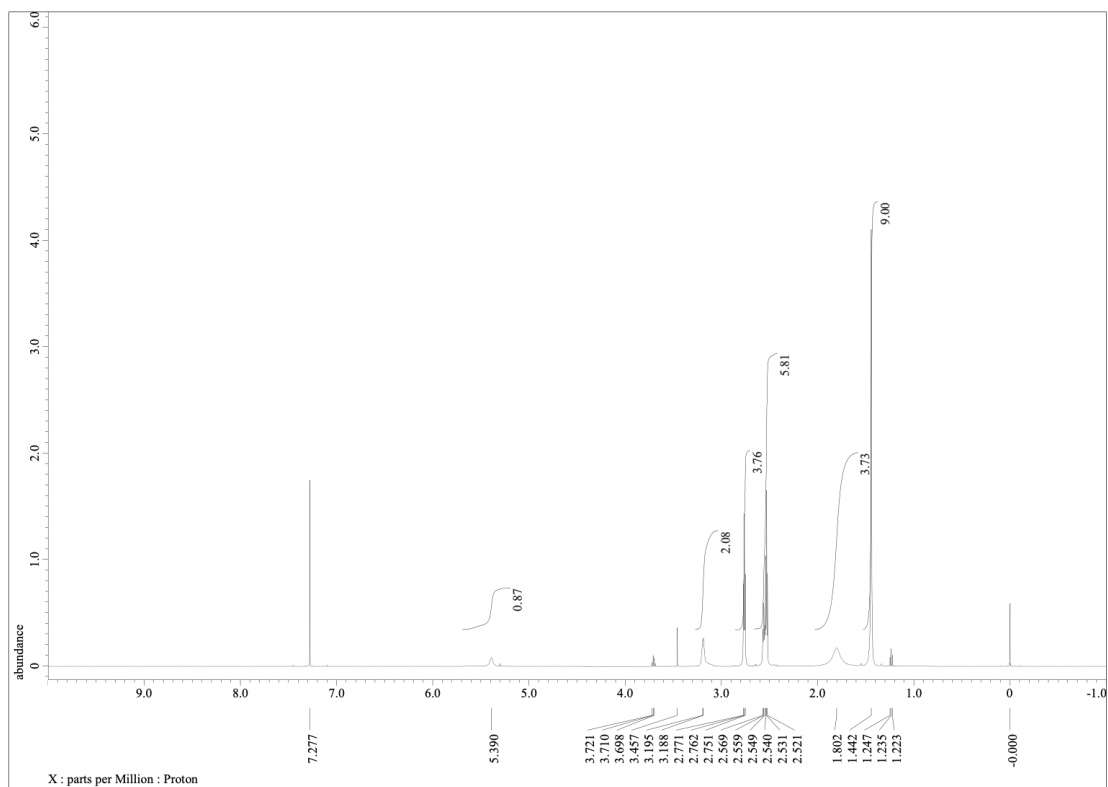


Fig. 7  $^1\text{H}$  NMR spectrum of compound **5** in  $\text{CDCl}_3$ .

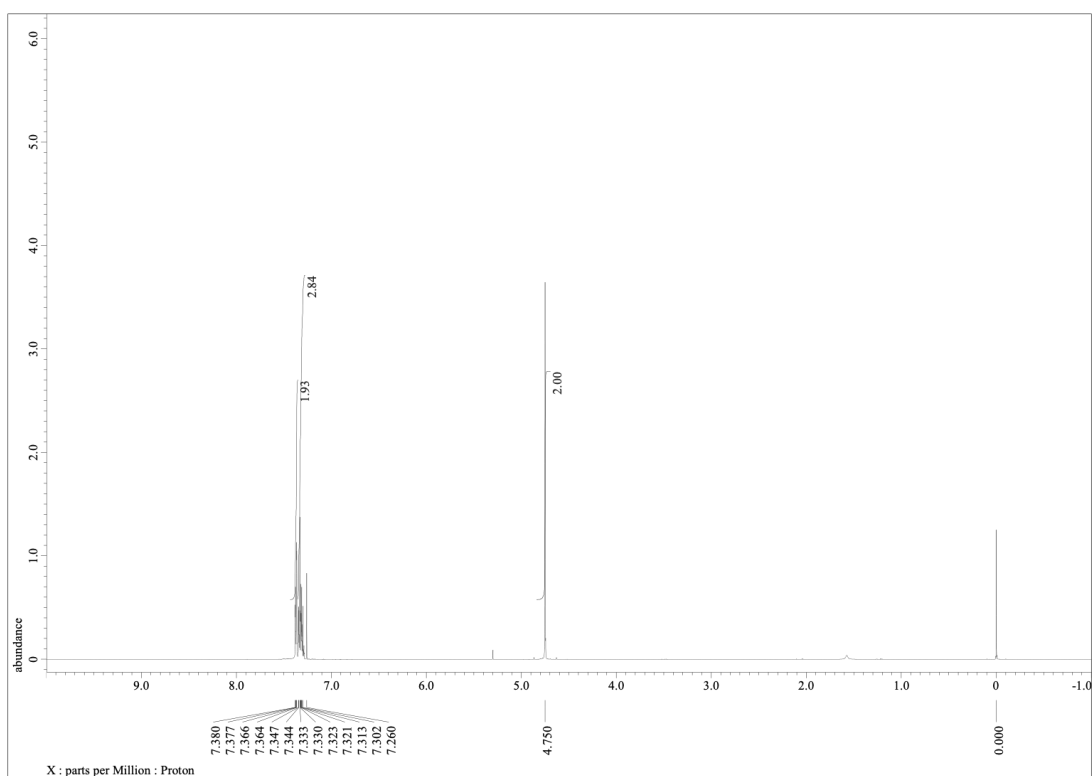


Fig. 8  $^1\text{H}$  NMR spectrum of compound **8** in  $\text{CDCl}_3$ .

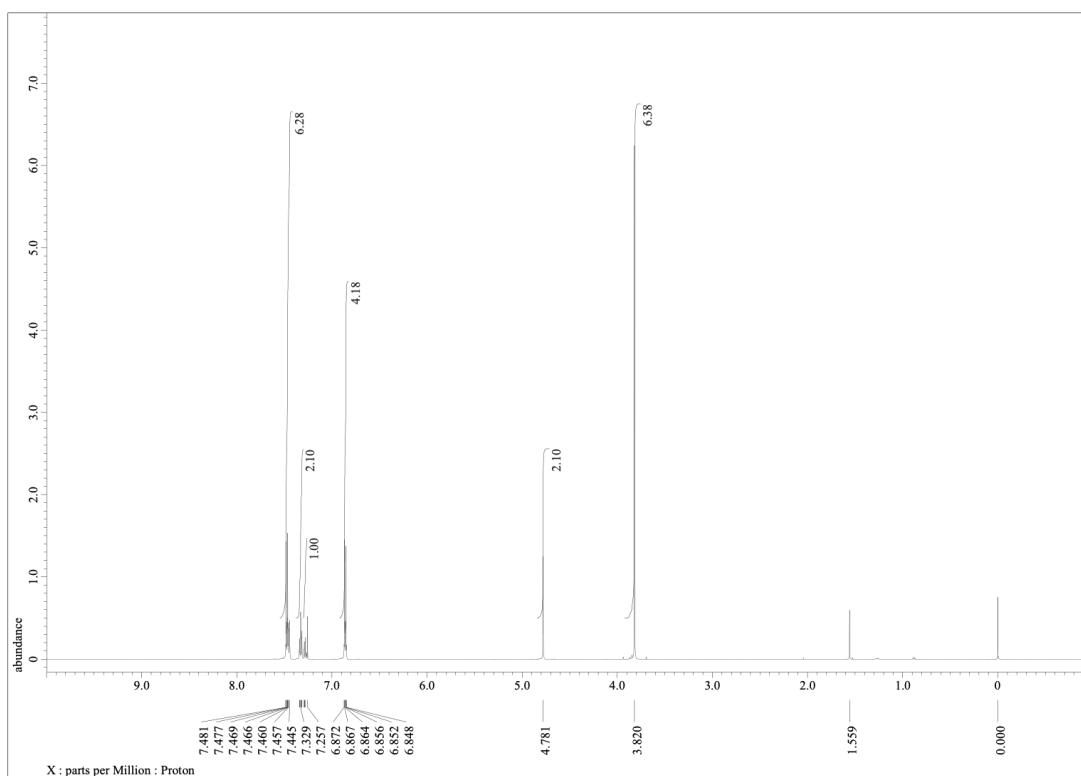


Fig. 9 <sup>1</sup>H NMR spectrum of compound 9 in CDCl<sub>3</sub>.

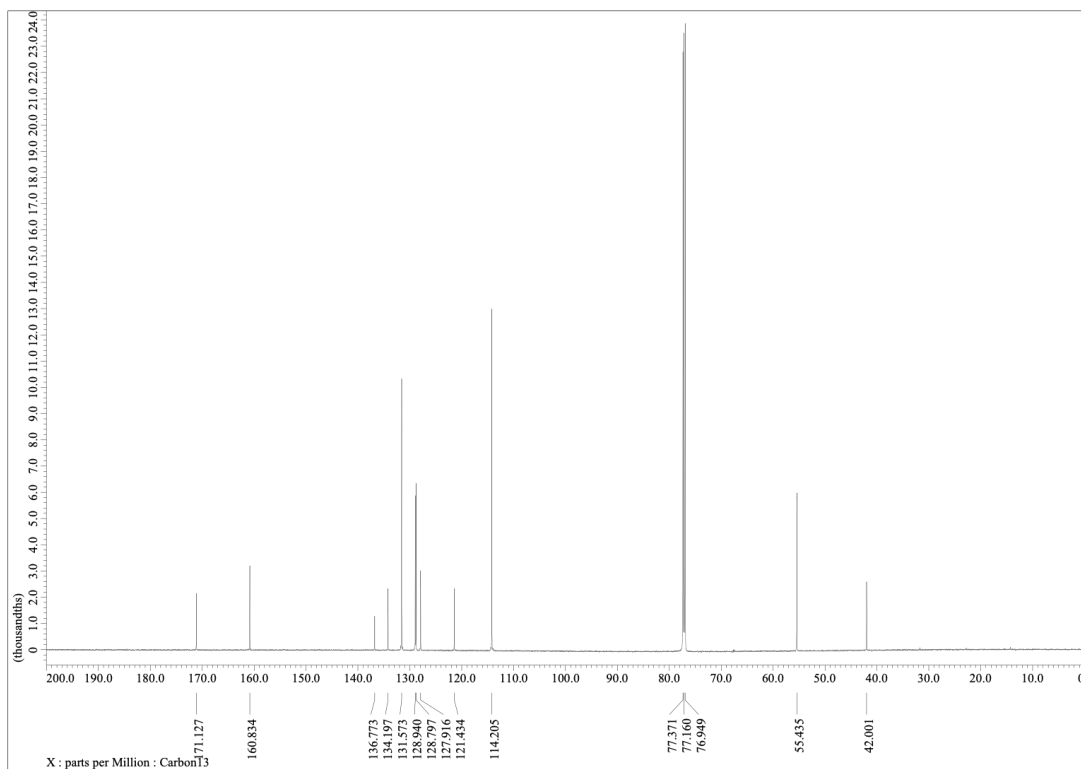


Fig. 10 <sup>13</sup>C NMR spectrum of compound 9 in CDCl<sub>3</sub>

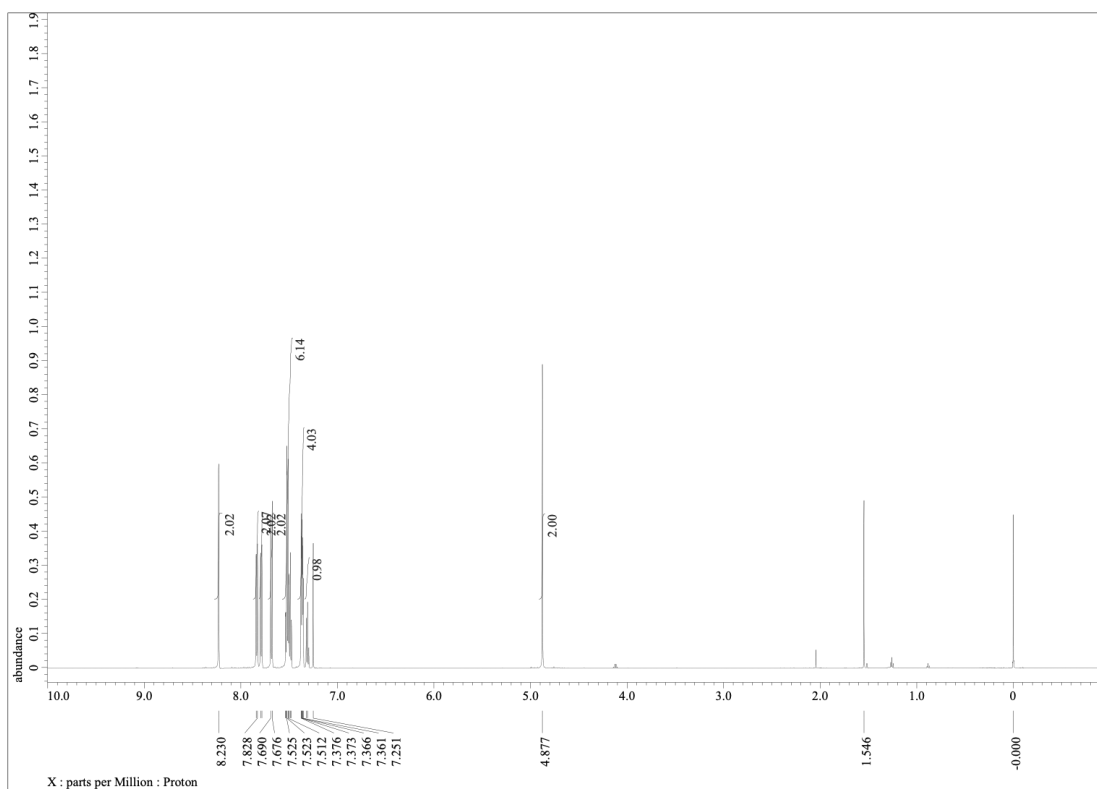


Fig. 11 <sup>1</sup>H NMR spectrum of compound **10** in CDCl<sub>3</sub>.

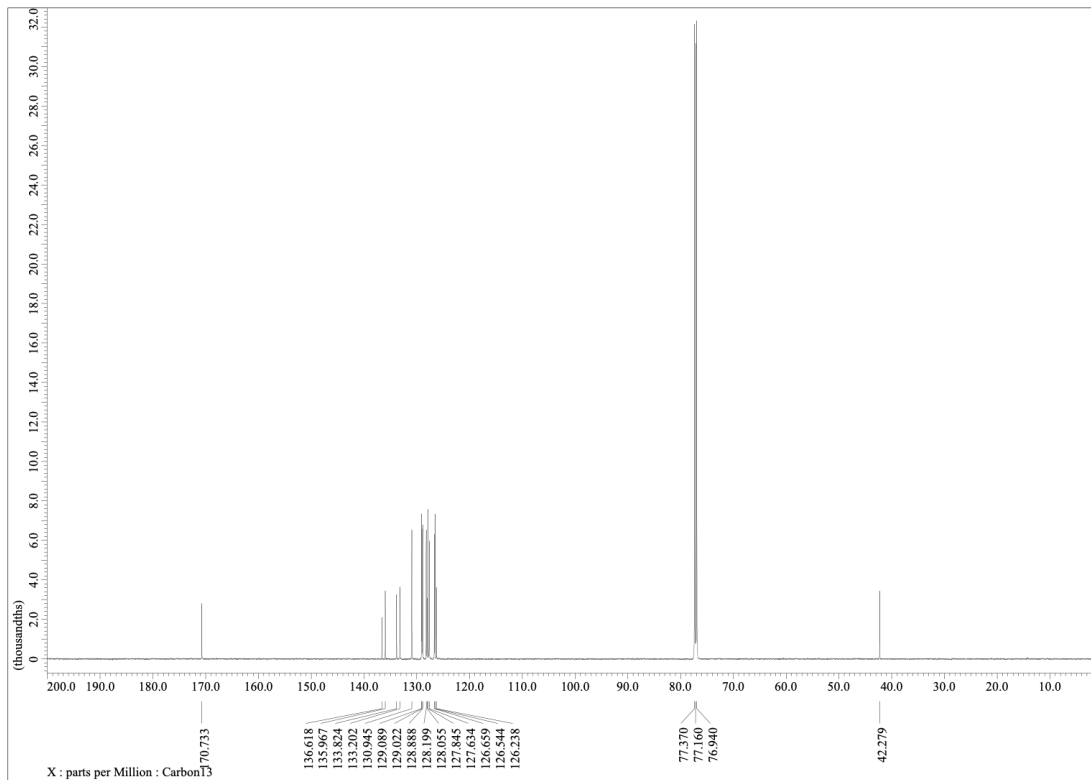


Fig. 12 <sup>13</sup>C NMR spectrum of compound **10** in CDCl<sub>3</sub>.

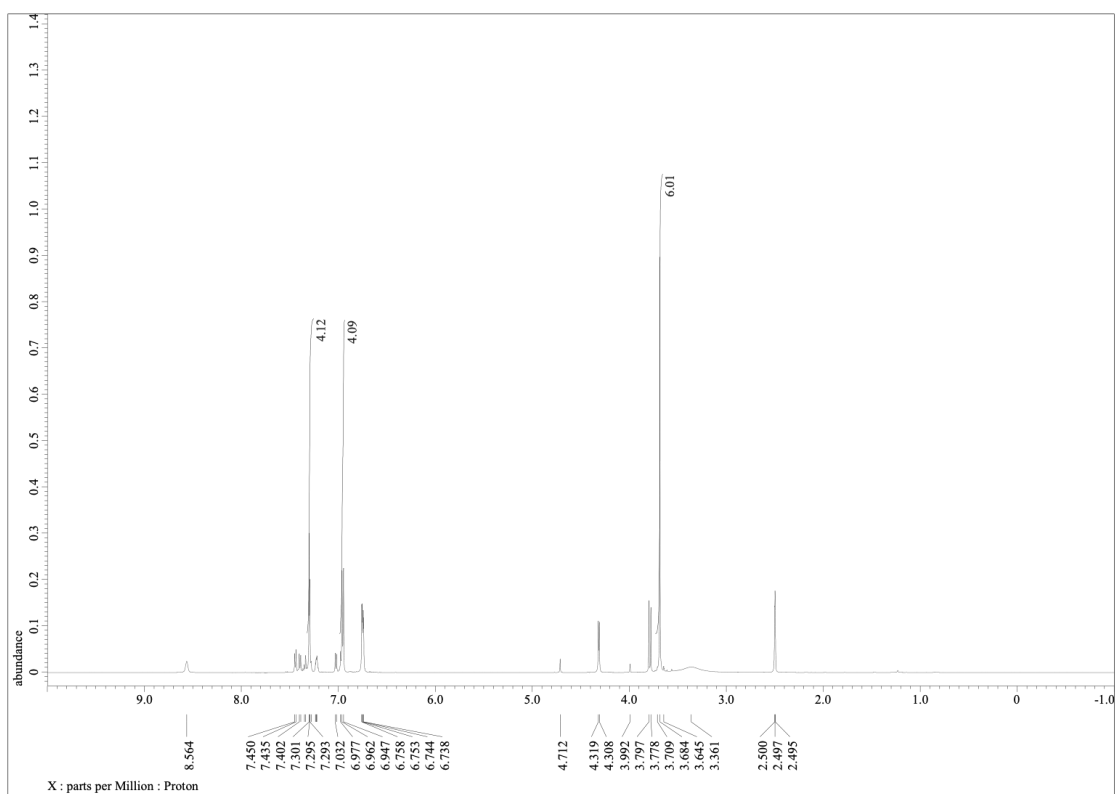


Fig. 13  $^1\text{H}$  NMR spectrum of compound **11** in  $\text{DMSO-}d_6$ .

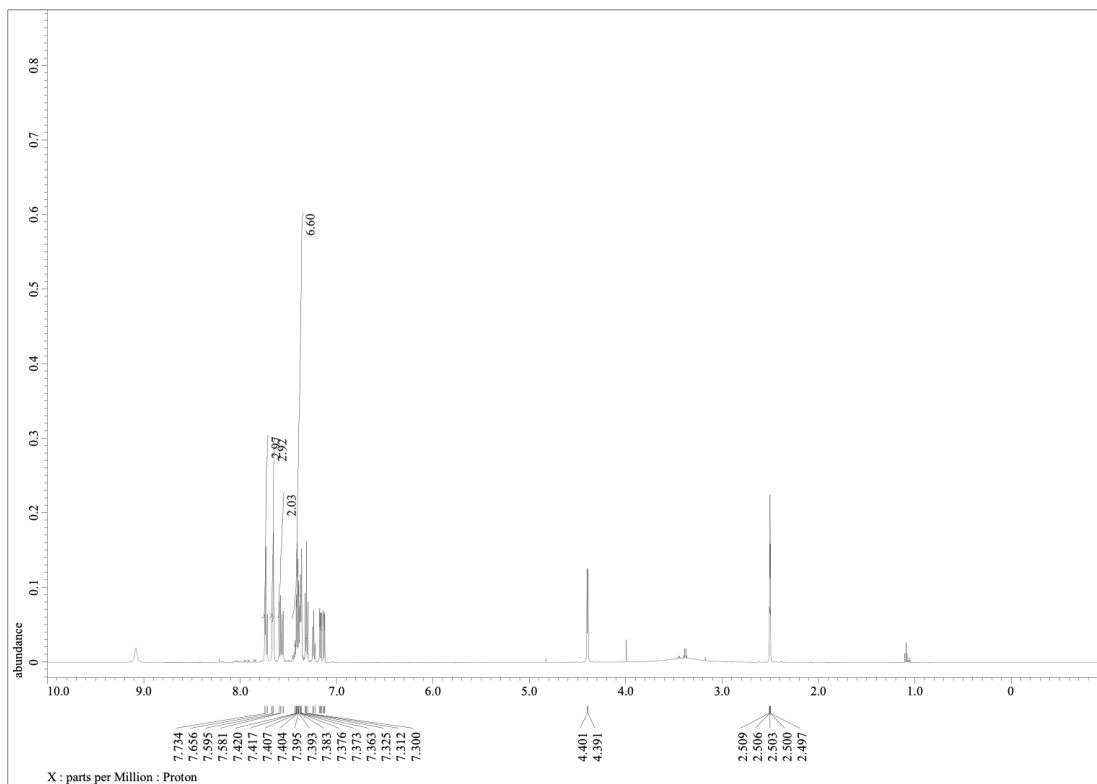


Fig. 14  $^1\text{H}$  NMR spectrum of compound **12** in  $\text{DMSO-}d_6$ .