



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102070510 A

(43) 申请公布日 2011.05.25

(21) 申请号 201110032360.6

(22) 申请日 2011.01.30

(71) 申请人 华东师范大学

地址 200062 上海市普陀区中山北路 3663
号

(72) 发明人 胡文浩 张霞 季竟竟 周静
赵政 贾涛

(74) 专利代理机构 上海麦其知识产权代理事务
所(普通合伙) 31257

代理人 董红曼

(51) Int. Cl.

C07D 209/38 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图 12 页

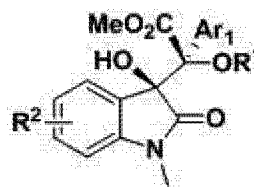
(54) 发明名称

一种 3- 羟基吡啶衍生物及其合成方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及一种 3- 羟基吡啶衍生物及其合成方法和应用。本发明 3- 羟基吡啶衍生物的合成方法是将醇、靛红衍生物, 三溴化铟, 4Å 分子筛溶于有机溶剂中, 于 40℃ 回流, 然后滴入重氮化合物的有机溶剂溶液, 搅拌, 除去溶剂得到粗产物, 并用乙酸乙酯: 石油醚体积比为 1:20-1:5 的溶液柱层析得到所述 3- 羟基吡啶衍生物。本发明方法中, 重氮化合物: 醇: 靛红衍生物: 三溴化铟摩尔比为 2:2:1:0.2, 4Å 分子筛投料量为 4g/mmol。本发明一步形成一系列具有非对映选择性的 3- 羟基吡啶衍生物的合成方法具有高原子经济, 高选择性, 高收率的优势, 催化剂成本低, 操作简单安全。本发明 3- 羟基吡啶衍生物具有很好的抗癌活性, 在医药化工领域广泛应用。

1. 一种 3-羟基吲哚衍生物,其特征在于,所述 3-羟基吲哚衍生物由如下结构式 (I) 表示:



(I)

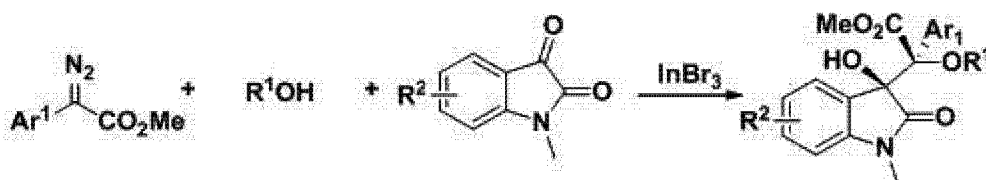
其中,

Ar₁ 是苯基,对甲氧基苯基,对溴苯基,对氯苯基,邻氯苯基,间氯苯基等;

R¹ 是苄基,氯苄基,对甲基苄基等;

R² 是氯。

2. 如权利要求 1 所述 3-羟基吲哚衍生物的合成方法,其特征在于,所述方法由如下反应式 (II) 表示:



(II)

其中,

Ar₁ 是苯基,对甲氧基苯基,对溴苯基,对氯苯基,邻氯苯基,间氯苯基等;

R¹ 是苄基,氯苄基,对甲基苄基等;

R² 是氯;

所述方法依次包括以下步骤:

1) 将醇、靛红衍生物,三溴化铟,4Å 分子筛溶于有机溶剂中,于 40℃回流;

2) 在 1 小时内滴入重氮化合物的有机溶剂溶液,搅拌,除去溶剂,得到所述 3-羟基吲哚衍生物的粗产物;

3) 用乙酸乙酯:石油醚体积比为 1:20-1:5 的溶液对所述 3-羟基吲哚衍生物的粗产物进行柱层析,得到所述 3-羟基吲哚衍生物;

其中,所述重氮化合物:醇:靛红衍生物:三溴化铟的摩尔比为 2: 2: 1: 0.2,所述 4Å 分子筛投料量为 4g/mmol。

3. 如权利要求 2 所述 3-羟基吲哚衍生物的合成方法,其特征在于,所述重氮化合物是芳基重氮乙酸酯及一系列衍生物;所述醇是苄醇及其衍生物;所述有机溶剂是氯代烷烃,甲苯,或二甲苯。

4. 如权利要求 2 所述 3-羟基吲哚衍生物的合成方法,其特征在于,所述靛红衍生物可用醛替代,所述醛是芳香醛或脂肪醛。

5. 如权利要求 1 所述 3-羟基吲哚衍生物在制备抗癌药物中的应用。

6. 如权利要求 5 所述 3-羟基吲哚衍生物在制备抗癌药物中的应用,其特征在于,所述 3-羟基吲哚衍生物应用于制备抗 MCF-7 乳腺癌药物。

一种 3-羟基吲哚衍生物及其合成方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及合成医药化工领域,具体地涉及一种 3-羟基吲哚衍生物及其合成方法和应用。

背景技术

[0002] 具有非对映选择性的羟基吲哚衍生物具有较好的抗癌活性,是一类构建天然产物和药物的重要骨架结构,特别是 3-取代 3-羟基-2-氧化的吲哚衍生物在大量的有生物活性的生物碱中存在,如 TMC-95A, welwitindolinone C, celogentin K, convolutamydines 和 SM-130686, 药物, 抗生素, 抗真菌药物。也可用于合成众多抗肿瘤药物, 抗生素, 抗真菌药物。传统的具有非对映异构体选择性的 3-取代 3-羟基-2-氧化的吲哚衍生物化学合成方法是多步骤合成法, 以上方法均有成本高, 产率低, 操作繁琐的缺点。

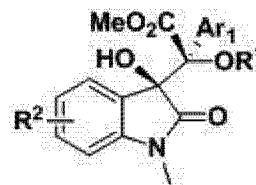
[0003] 最新的合成这类化合物的方法是以重氮化合物, 醇, 靛红为原料的三组分反应 (Organic Letters, 2007, 23, 4721-4723), 其反应机理为在金属催化下重氮分解形成金属卡宾, 金属卡宾与醇形成的氧鎓叶里德, 靛红捕捉氧鎓叶里德一步发生的不对称反应。

[0004] 与上述最新的合成方法相比较, 本发明 3-羟基吲哚衍生物的制备方法中, 首次使用三溴化铟催化多组分反应, 而相对于传统的金属路易斯酸金属铑类, 三溴化铟廉价易得。本发明 3-羟基吲哚衍生物相对于最新的合成方法中的产物, 构型发生了改变, 本发明中的主产物是反式构型, 这也是首次合成该类型的反式产物。本发明中的反式构型产物能应用于制备抗 MCF-7 乳腺癌药物。

[0005] 本发明克服了现有技术制备方法中的成本高, 产率低, 操作繁琐的缺点, 提供了一种 3-羟基吲哚衍生物的合成方法, 具有成本低, 产率高, 选择性好, 操作简单的有益效果。本发明的 3-羟基吲哚衍生物首次被用于可在制备抗 MCF-7 乳腺癌药物中应用。

发明内容

[0006] 本发明提出了一种 3-羟基吲哚衍生物, 由如下结构式 (I) 表示:



(I)

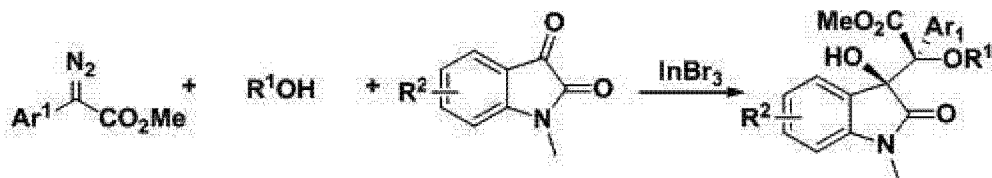
其中,

Ar₁ 是苯基, 对甲氧基苯基, 对溴苯基, 对氯苯基, 邻氯苯基, 间氯苯基等;

R¹ 是苄基, 氯苄基, 对甲基苄基等;

R² 是氯。

[0007] 本发明还提供了一种所述 3-羟基吲哚衍生物的合成方法, 由如下反应式 (II) 表示:



(II)

其中,

Ar₁ 是苯基,对甲氧基苯基,对溴苯基,对氯苯基,邻氯苯基,间氯苯基等;

R¹ 是苄基,氯苄基,对甲基苄基等;

R² 是氯;

本发明 3-羟基吲哚衍生物的合成方法依次包括以下步骤:

1) 将醇、靛红衍生物,三溴化铟,4Å 分子筛溶于有机溶剂中,于 40℃ 回流;

2) 在一定时间内滴入重氮化合物的有机溶剂溶液,搅拌,除去溶剂,得到所述 3-羟基吲哚衍生物的粗产物;

3) 用乙酸乙酯:石油醚体积比为 1:20-1:5 的溶液对所述 3-羟基吲哚衍生物的粗产物进行柱层析,得到所述 3-羟基吲哚衍生物;

其中,所述重氮化合物:醇:靛红衍生物:三溴化铟的摩尔比为 2: 2: 1: 0.2,所述 4Å 分子筛投料量为 4g/mmol。

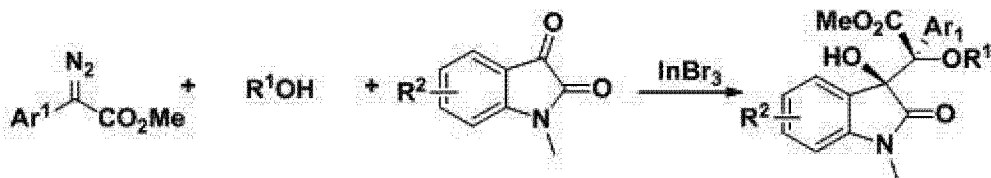
[0008] 本发明 3-羟基吲哚衍生物的合成方法中,所述重氮化合物是芳基重氮乙酸酯;所述醇是苄醇及其衍生物;所述有机溶剂是氯代烷烃,甲苯,或二甲苯。

[0009] 本发明 3-羟基吲哚衍生物的合成方法中,所述靛红衍生物可用醛替代,所述醛可以是芳香醛或脂肪醛。

[0010] 本发明 3-羟基吲哚衍生物可在制备抗癌药物中应用。具体地,本发明 3-羟基吲哚衍生物可在制备抗 MCF-7 乳腺癌药物中应用。

[0011] 本发明的目的是寻求一种成本低,产率高,操作简单的一步法制备出如下面的通式表示的一系列的高非对映选择性的 3-羟基吲哚衍生物的新型化合物。本发明 3-羟基吲哚衍生物用重氮化合物、醇、靛红衍生物为原料,以三溴化铟共同催化的三组分反应,一步法制备出一系列的高非对映选择性的 3-羟基吲哚衍生物的新型化合物。本发明 3-羟基吲哚衍生物对 MCF-7 乳癌细胞有较好的抑制效果,是有效的抗癌试剂。

[0012] 本发明具有非对映选择性的 3-羟基吲哚衍生物的制备方法如下反应方程式 (II) 所示:



(II)

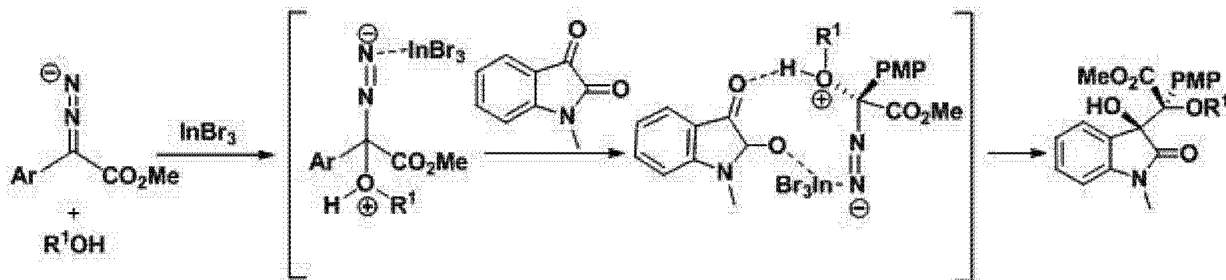
其中,

Ar₁ 是苯基,对甲氧基苯基,对溴苯基,对氯苯基,邻氯苯基,间氯苯基等;

R₁ 是苄基,氯苄基,对甲基苄基等;

R2 是氯。

[0013] 本发明所涉及的化学机理是利用铟的空轨道和氮原子,氧原子形成配位键进行空间选择性,如以下反应式 (III) 所示:



(III)

为达上述目的,本发明采用一步三组分反应得到产物。由于多组分反应具有高灵活性,高选择性,高原子经济性,高探索能量和易操作性等特点,近年来随着原子经济性概念的日益发展,多组分反应越来越成为研究的热点。将多组分反应应用于药物合成领域具有很广阔的前景。为此,本发明设计合成了具有非对映选择性的羟基吲哚衍生物,该系列化合物对 MCF-7 乳腺癌细胞有较好的抑制效果,是有效的抗癌试剂。本发明用重氮化合物、醇、靛红在三溴化铟催化下进行三组分反应,以有机溶剂为溶剂,以 4Å 分子筛为吸水剂,一步制备出一系列的非对映选择性的羟基吲哚衍生物。

[0014] 现有技术中,具有非对映异构体选择性的 3- 取代 3- 羟基 -2- 氧化的吲哚衍生物化学合成方法是多步骤合成法,存在成本高,产率低,操作繁琐的缺点。本发明中采用的三溴化铟是首次被应用于催化多组分反应,相对于传统金属路易斯酸金属铈类,其价廉且易得。

[0015] 本发明有益的效果是可通过一步反应构建具有非对映选择性的羟基吲哚衍生物,具有高原子经济性,高选择性,高收率等优势,并且操作简单安全。

附图说明

- [0016] 图 1 显示本发明 3- 羟基吲哚衍生物 (8a) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0017] 图 2 显示本发明 3- 羟基吲哚衍生物 (8b) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0018] 图 3 显示本发明 3- 羟基吲哚衍生物 (8c) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0019] 图 4 显示本发明 3- 羟基吲哚衍生物 (8d) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0020] 图 5 显示本发明双羟基衍生物 (6c) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0021] 图 6 显示本发明双羟基衍生物 (6d) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0022] 图 7 显示本发明双羟基衍生物 (6e) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0023] 图 8 显示本发明双羟基衍生物 (6f) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0024] 图 9 显示本发明双羟基衍生物 (6g) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0025] 图 10 显示本发明双羟基衍生物 (7c) 的核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。
- [0026] 图 11 显示本发明 3- 羟基吲哚衍生物 (8a) 对 MCF-7 乳腺癌细胞增殖活性的测试效果。
- [0027] 图 12 显示本发明 3- 羟基吲哚衍生物 (8b) 对 MCF-7 乳腺癌细胞增殖活性的测试效果。

[0028] 图 13 显示本发明 3-羟基吲哚衍生物(8c)对 MCF-7 乳腺癌细胞增殖活性的测试效果。

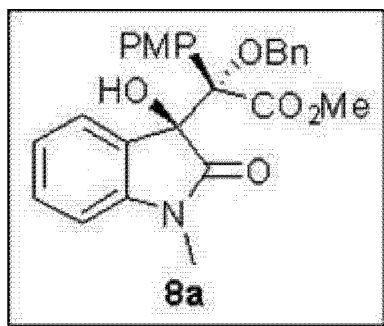
[0029] 图 14 显示本发明 3-羟基吲哚衍生物(8d)对 MCF-7 乳腺癌细胞增殖活性的测试效果。

具体实施方式

[0030] 为了更好地理解本发明,下面结合实施例进一步阐明本发明的内容,但本发明的内容不仅仅局限于下面的实施例。在不背离发明构思的精神和范围下,本领域技术人员能够想到的变化和优点都被包括在本发明中,并且以所附的权利要求书为保护范围。

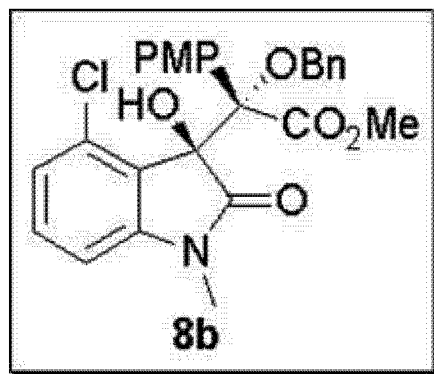
[0031] 实施例 1:

将苯醇(0.4mmol),氮甲基靛红(0.2 mmol),三溴化铟(14mg)和 4Å 分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的对甲氧基苯基重氮乙酸甲酯(0.4mmol,2.0eq)在 1 小时内滴加到反应体系中,反应体系在 40°C 下回流,滴加完毕后,搅拌 0.5 小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为 90%, dr 值等于 90:10。所得产物 3-羟基吲哚衍生物(8a),其结构式如下式所示,其核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱见图 1。



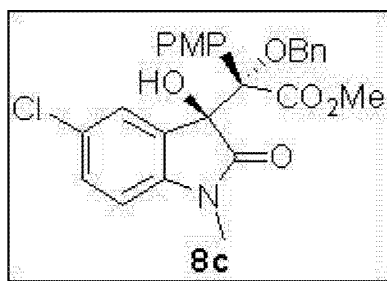
[0032] 实施例 2:

将苯醇(0.4mmol),4-氯氮甲基靛红(0.2 mmol),三溴化铟(14mg)和 4Å 分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的对甲氧基苯基重氮乙酸甲酯(0.4mmol,2.0eq)在 1 小时内滴加到反应体系中,反应体系在 40°C 下回流,滴加完毕后,搅拌 0.5 小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为 84%, dr 值等于 68:32。所得产物 3-羟基吲哚衍生物(8b),其结构式如下式所示,其核磁共振 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱见图 2。



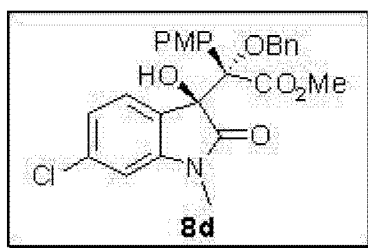
[0033] 实施例 3:

将苯醇(0.4mmol),5-氯氮甲基靛红(0.2 mmol),三溴化铟(14mg)和4Å分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的对甲氧基苯基重氮乙酸甲酯(0.4mmol,2.0eq)在1小时内滴加到反应体系中,反应体系在40°C下回流,滴加完毕后,搅拌0.5小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为56%,dr值等于62:38。所得产物3-羟基吲哚衍生物(8c),其结构式如下式所示,其核磁共振¹H NMR、¹³C NMR图谱见图3。



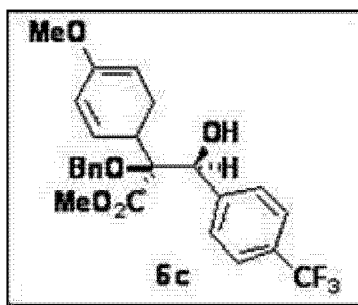
[0034] 实施例4:

将苯醇(0.4mmol),6-氯氮甲基靛红(0.2 mmol),三溴化铟(14mg)和4Å分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的对甲氧基苯基重氮乙酸甲酯(0.4mmol,2.0eq)在1小时内滴加到反应体系中,反应体系在40°C下回流,滴加完毕后,搅拌0.5小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为67%,dr值等于69:31。所得产物3-羟基吲哚衍生物(8d),其结构式如下式所示,其核磁共振¹H NMR、¹³C NMR图谱见图4。



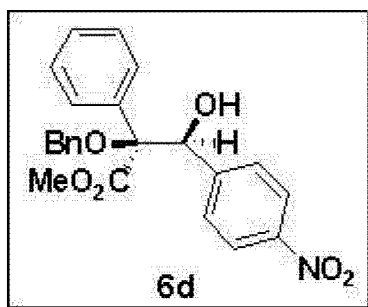
[0035] 实施例5:

将苯醇(0.24mmol),对三氟苯甲醛(0.24 mmol),三溴化铟(14mg)和4Å分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的对甲氧基苯基重氮乙酸甲酯(0.2mmol,2.0eq)在1小时内滴加到反应体系中,反应体系在40°C下回流,滴加完毕后,搅拌0.5小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为60%,dr值等于96:4。所得产物(6c),其结构式如下式所示,其核磁共振¹H NMR、¹³C NMR图谱见图5。



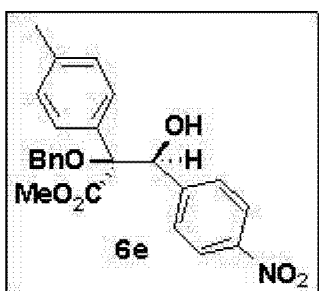
[0036] 实施例6:

将苄醇(0.24mmol),对硝基苯甲醛(0.24 mmol),三溴化铟(14mg)和4Å分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的苯基重氮乙酸甲酯(0.2mmol,2.0eq)在1小时内滴加到反应体系中,反应体系在40°C下回流,滴加完毕后,搅拌0.5小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为72%,dr值等于95:5。所得产物(6d),其结构式如下式所示,其核磁共振¹H NMR、¹³C NMR图谱见图6。



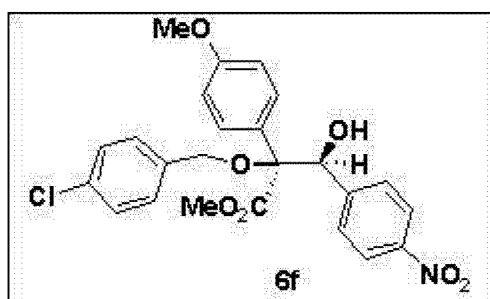
[0037] 实施例7:

将苄醇(0.24mmol),对硝基苯甲醛(0.24 mmol),三溴化铟(14mg)和4Å分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的对甲基苯基重氮乙酸甲酯(0.2mmol,2.0eq)在1小时内滴加到反应体系中,反应体系在40°C下回流,滴加完毕后,搅拌0.5小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为75%,dr值等于95:5。所得产物(6e),其结构式如下式所示,其核磁共振¹H NMR、¹³C NMR图谱见图7。



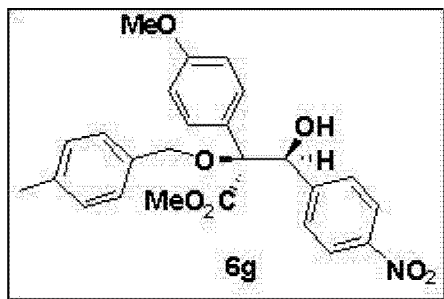
[0038] 实施例8:

将对氯苄醇(0.24mmol),对硝基苯甲醛(0.24 mmol),三溴化铟(14mg)和4Å分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的对甲氧基苯基重氮乙酸甲酯(0.2mmol,2.0eq)在1小时内滴加到反应体系中,反应体系在40°C下回流,滴加完毕后,搅拌0.5小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为75%,dr值等于96:4。所得产物(6f),其结构式如下式所示,其核磁共振¹H NMR、¹³C NMR图谱见图8。



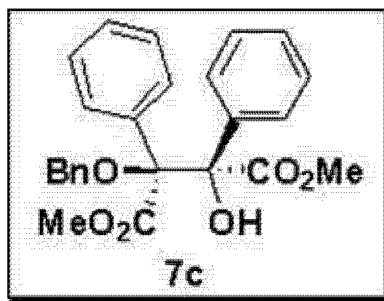
[0039] 实施例 9 :

将对甲基苄醇(0.24mmol),对硝基苯甲醛(0.24 mmol),三溴化铟(14mg)和4Å分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的对甲氧基苯基重氮乙酸甲酯(0.2mmol,2.0eq)在1小时内滴加到反应体系中,反应体系在40°C下回流,滴加完毕后,搅拌0.5小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为69%,dr值等于95:5。所得产物(6g),其结构式如下式所示,其核磁共振¹H NMR、¹³C NMR图谱见图9。



[0040] 实施例 10 :

将苄醇(0.24mmol),苯丙酮酸甲酯(0.24 mmol),三溴化铟(14mg)和4Å分子筛(0.1 g)溶于二氯甲烷(4 ml),然后将溶解在二氯甲烷(1.0 ml)中的苯基重氮乙酸甲酯(0.2mmol,2.0eq)在1小时内滴加到反应体系中,反应体系在40°C下回流,滴加完毕后,搅拌0.5小时,减压旋蒸除去溶剂,得到粗产物。将粗产物进行柱层析(乙酸乙酯:石油醚=1:20~1:5)得到纯产品。产率为58%,dr值等于90:10。所得产物(7c),其结构式如下式所示,其核磁共振¹H NMR、¹³C NMR图谱见图10。



[0041] 实施例 11 :

本实施例是对本发明3-羟基吡啶衍生物对乳腺癌(MCF-7)细胞系抗肿瘤细胞增殖活性的测定。

[0042] 实施方法与步骤

细胞接种:用含10%胎牛血清的DMEM培养液配成单个细胞悬液,以每孔5000个细胞接种到96孔细胞培养板,每孔体积100u1。

[0043] 细胞培养:同一般培养条件,采用含有实施例1-4制备的3-羟基吡啶衍生物(8a),(8b),(8c),(8d)的培养基培养48小时。

[0044] 呈色:培养48小时后,吸弃培养基后每孔加25 μl MTT溶液继续37°C孵育4小时。终止培养,96孔细胞培养板1500转离心5分钟,小心吸弃孔内上清液。每孔加200u1 DMSO,使结晶物充分融解。

[0045] 比色:选择570nm波长,在酶标仪上测定各孔光密度(OD)值,记录结果。

[0046] 实验结果：

实施例 1-4 所得产物 3-羟基吡啶衍生物(8a), (8b), (8c), (8d) 对 MCF-7 乳腺癌细胞增殖活性的测试效果, 如图 11- 14 所示。

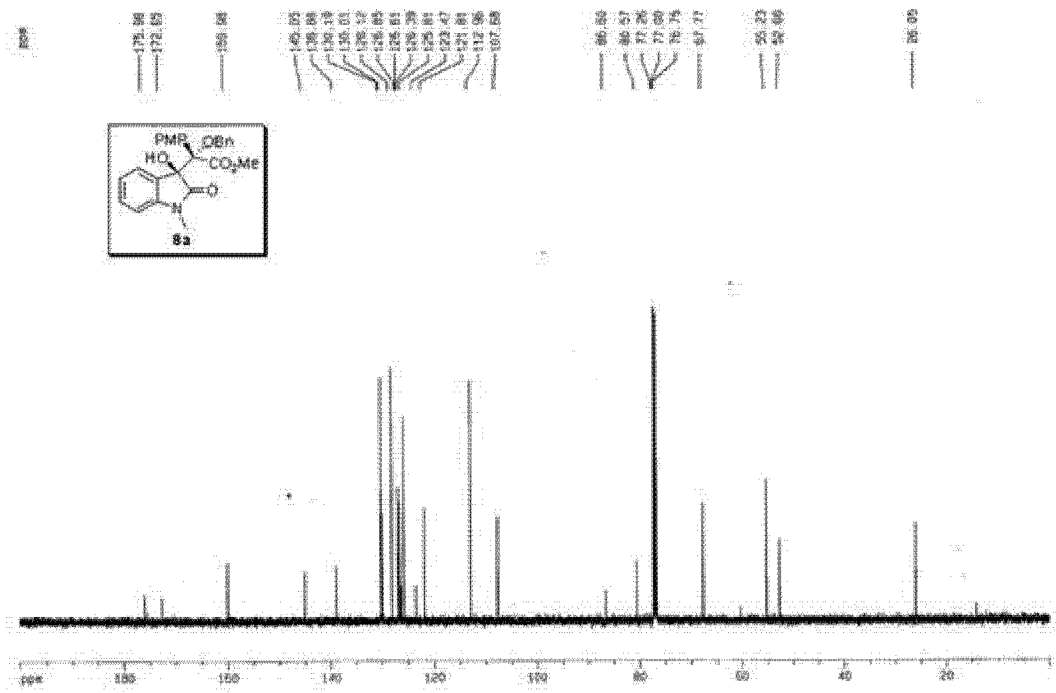
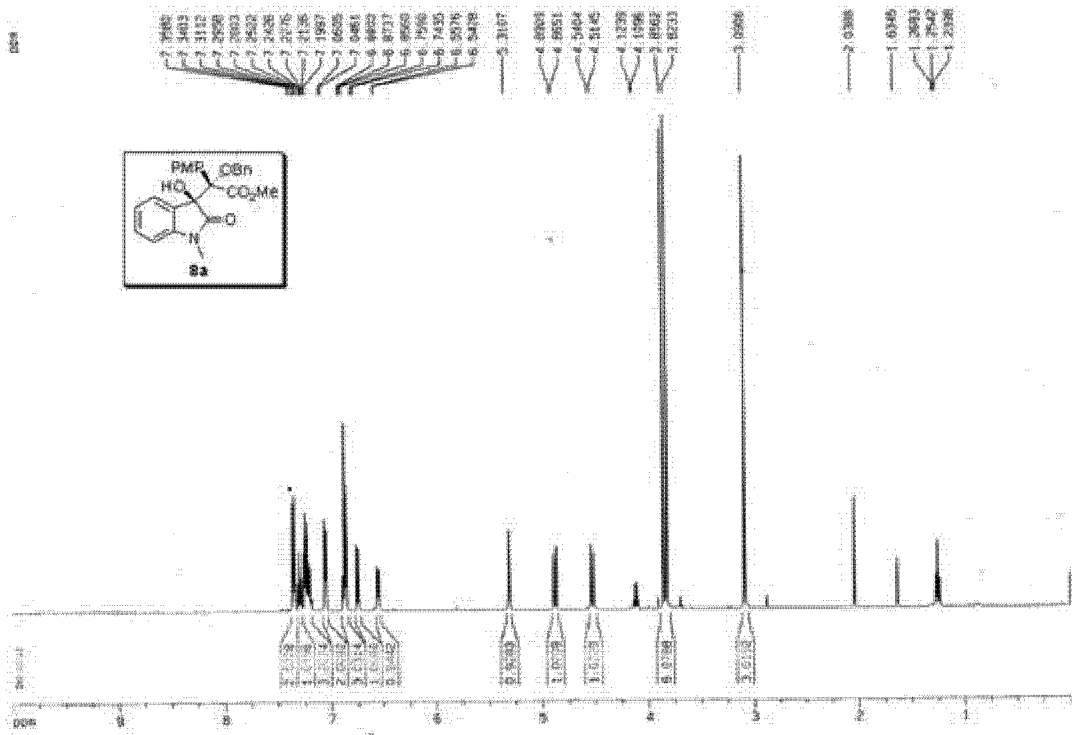
[0047] 图 11 是 3-羟基吡啶衍生物(8a)对乳腺癌(MCF-7)细胞系抗肿瘤细胞增殖活性的测定结果, 如图 11 所示随着(8a)的浓度的递增, 乳腺癌(MCF-7)细胞系的活细胞存活率呈明显的下降趋势, 当(8a)的浓度增加到 113.6115 μmol 时, 百分之五十的细胞全部致死即半致死量为 113.6115 μmol 。

[0048] 图 12 是 3-羟基吡啶衍生物(8b)对乳腺癌(MCF-7)细胞系抗肿瘤细胞增殖活性的测定结果, 如图 12 所示随着(8b)的浓度的递增, 乳腺癌(MCF-7)细胞系的活细胞存活率呈明显的下降趋势, 当(8b)的浓度增加到 61.4198 μmol 时, 百分之五十的细胞全部致死即半致死量为 61.4198 μmol 。

[0049] 图 13 是 3-羟基吡啶衍生物(8c)对乳腺癌(MCF-7)细胞系抗肿瘤细胞增殖活性的测定结果, 如图 13 所示随着(8c)的浓度的递增, 乳腺癌(MCF-7)细胞系的活细胞存活率呈明显的下降趋势, 当(8c)的浓度增加到 72.6954 μmol 时, 百分之五十的细胞全部致死即半致死量为 72.6954 μmol 。

[0050] 图 14 是 3-羟基吡啶衍生物(8d)对乳腺癌(MCF-7)细胞系抗肿瘤细胞增殖活性的测定结果, 如图 14 所示随着(8d)的浓度的递增, 乳腺癌(MCF-7)细胞系的活细胞存活率呈明显的下降趋势, 当(8d)的浓度增加到 65.6731 μmol 时, 百分之五十的细胞全部致死即半致死量为 65.6731 μmol 。

[0051] 实验结果表明: 本发明 3-羟基吡啶衍生物(8a), (8b), (8c), (8d) 对 MCF-7 乳腺癌细胞有较好的抑制效果, 可应用于治疗或减慢癌症的进展和形成, 是有效的抗癌。



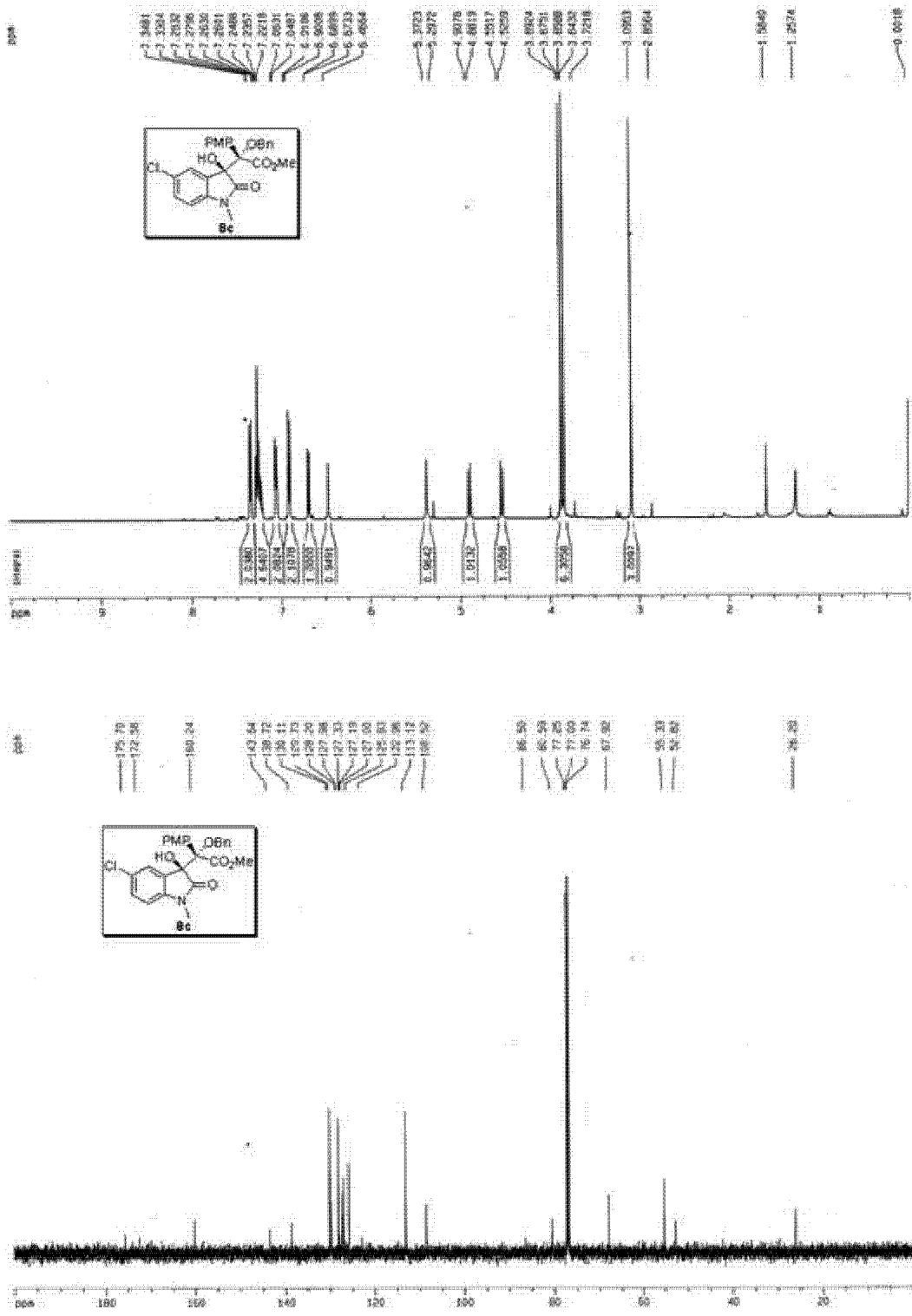


图 3

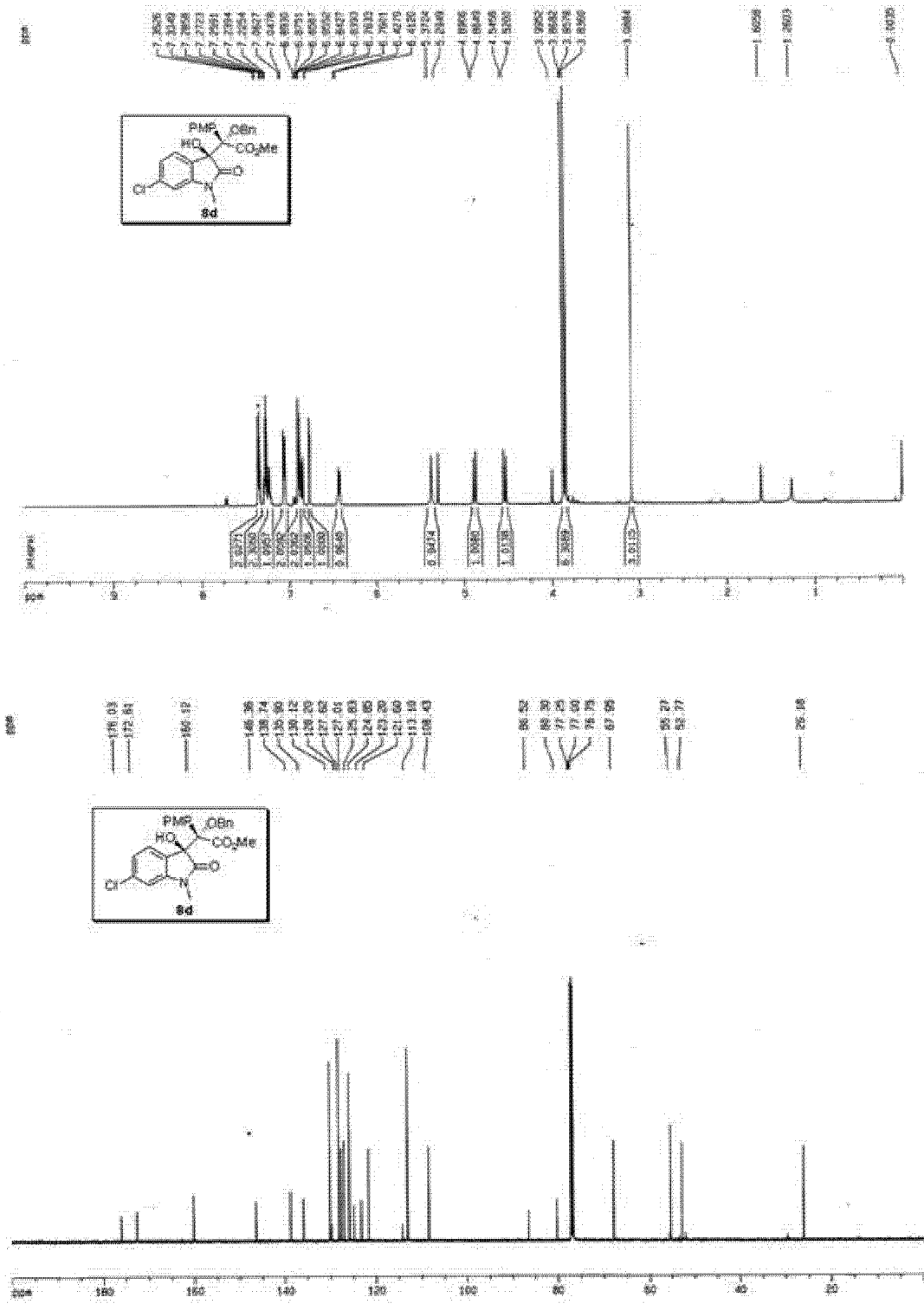
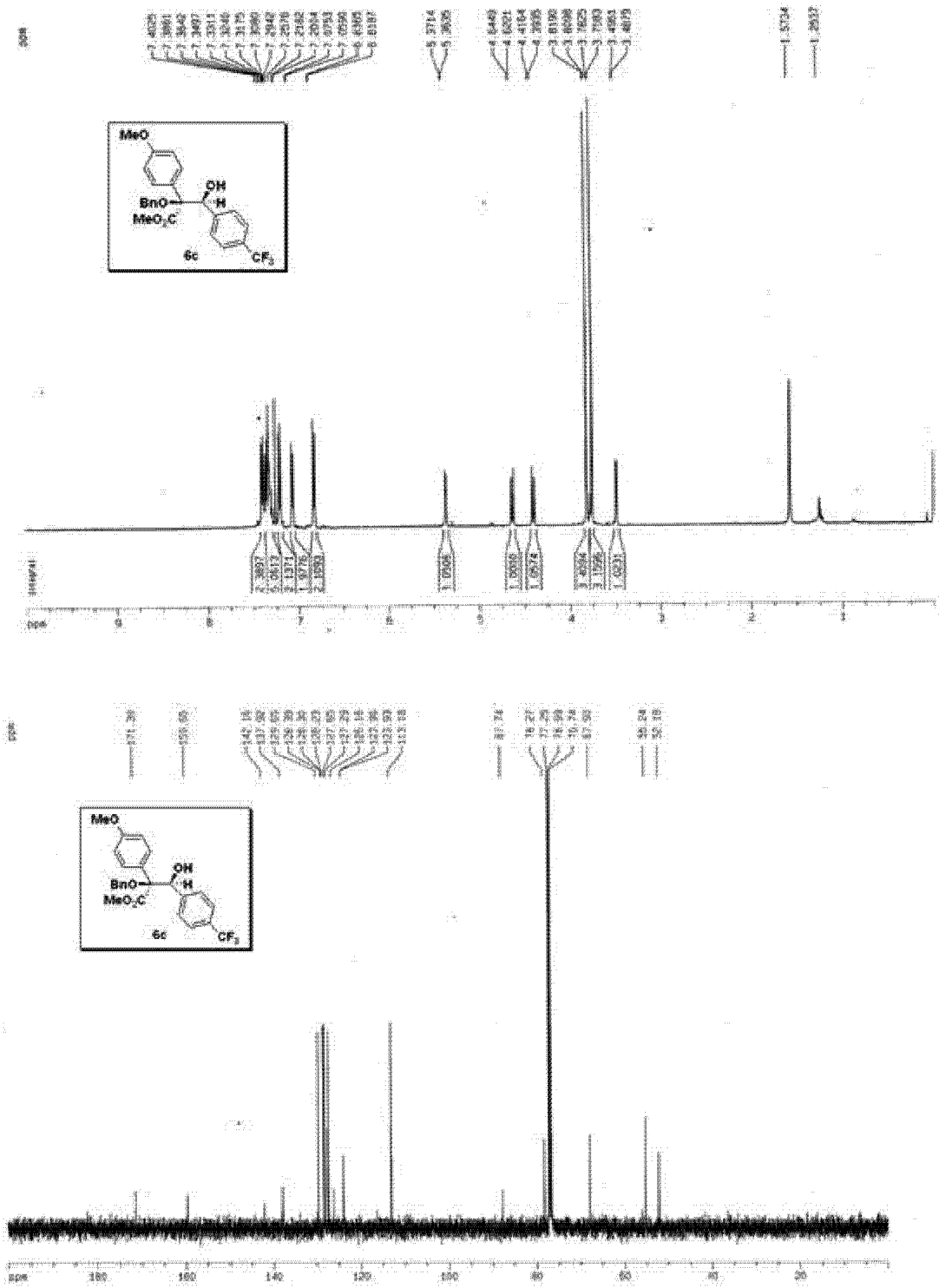


图 4



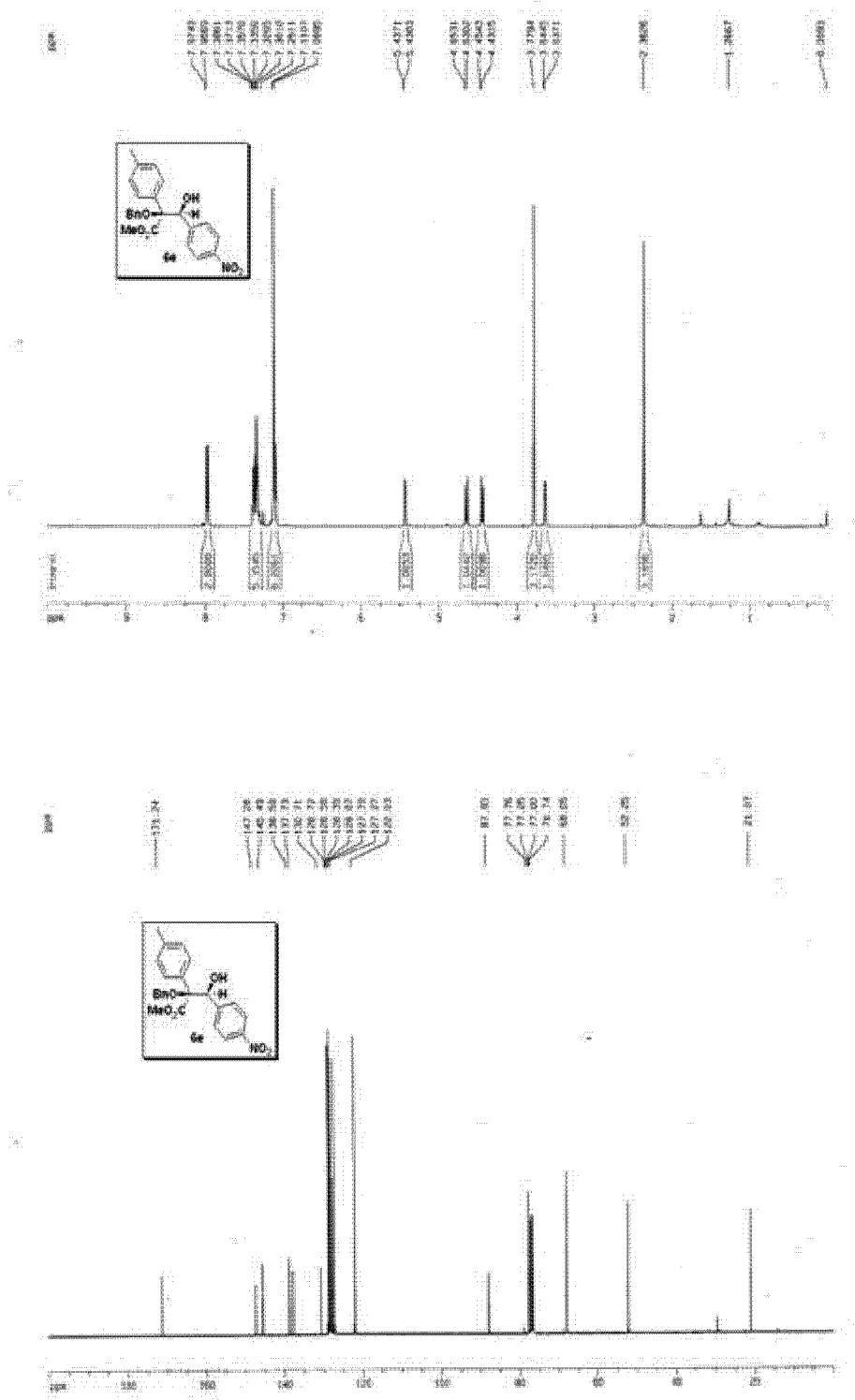
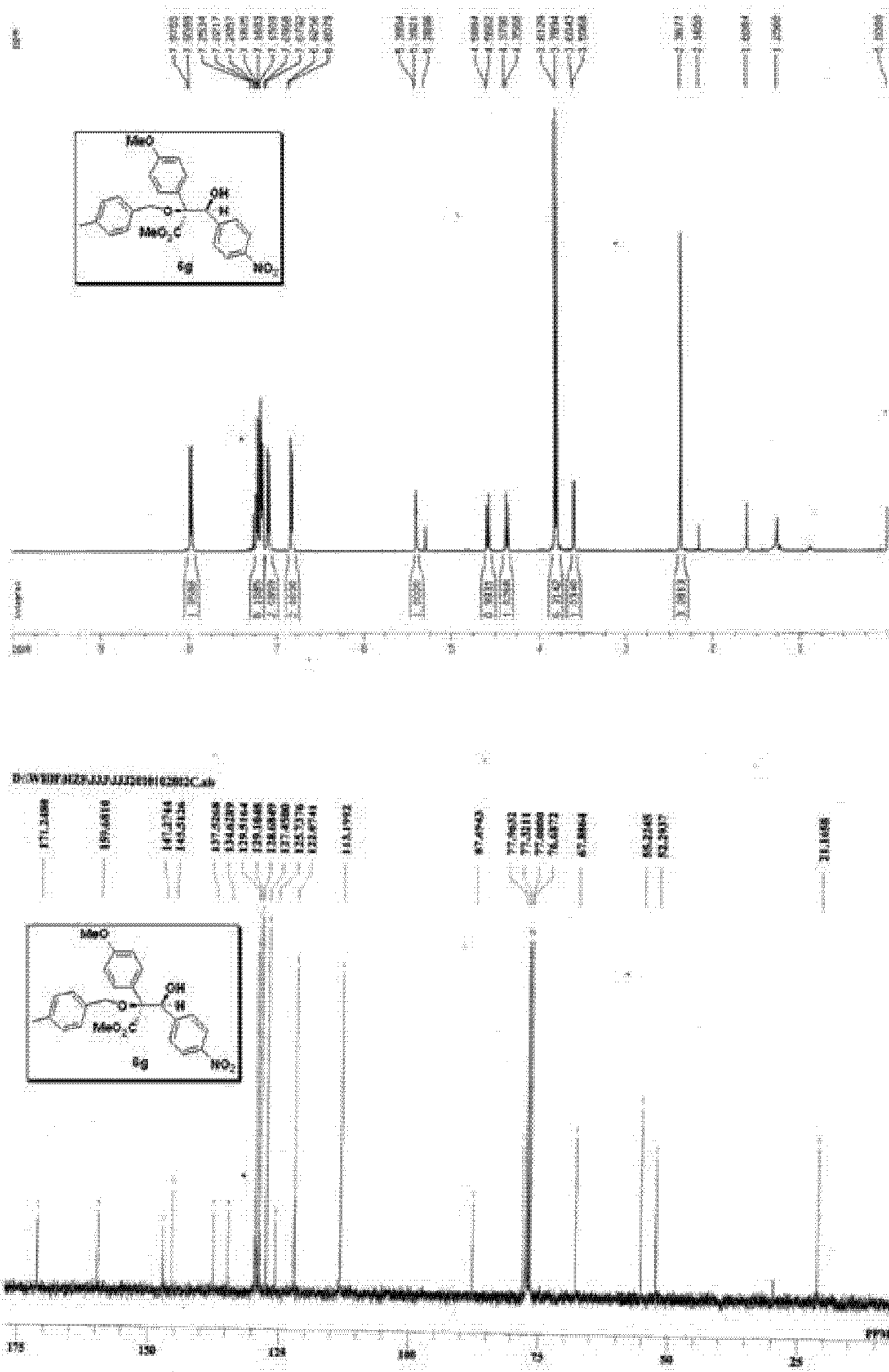


图 7



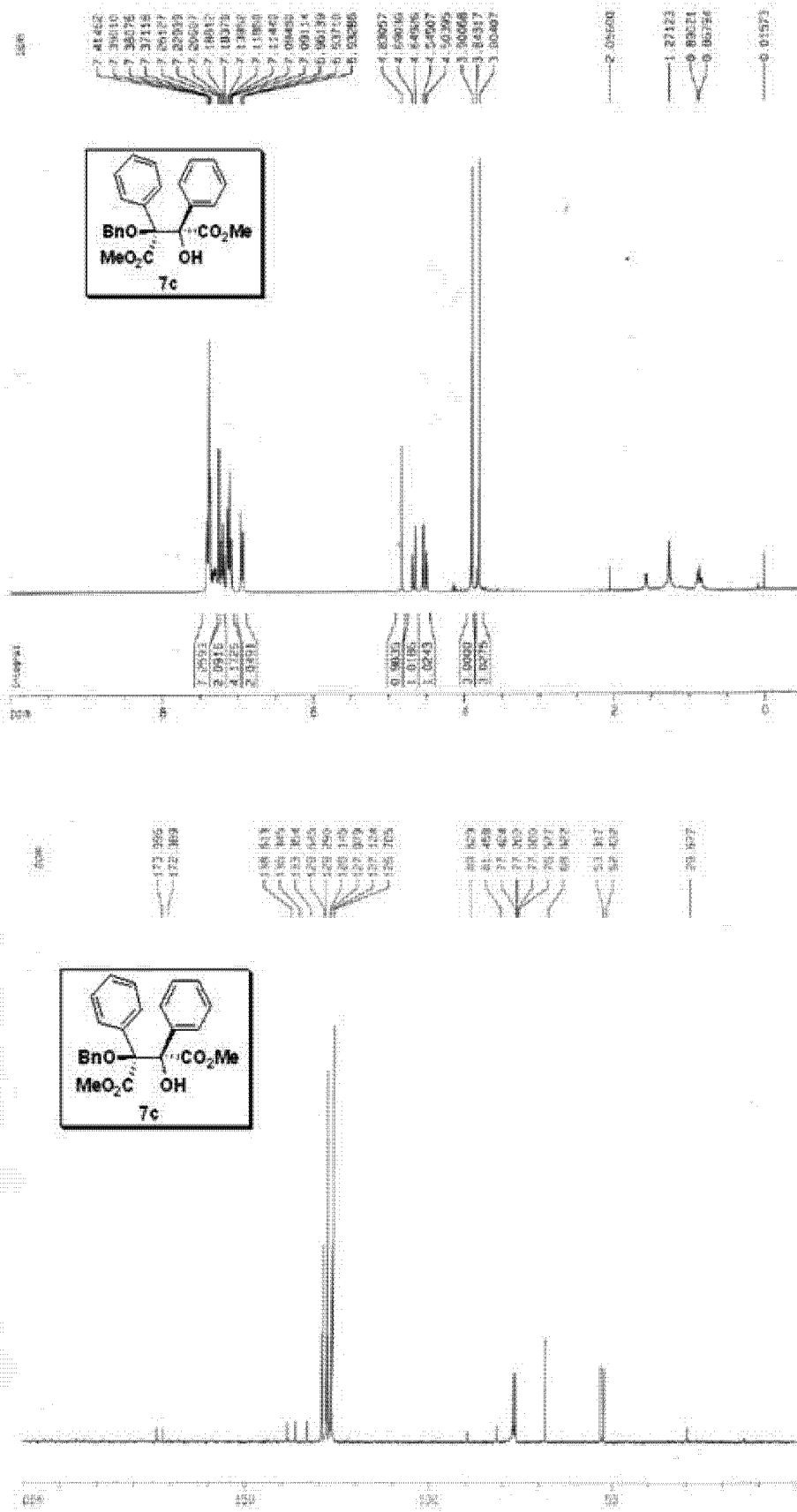


图 10

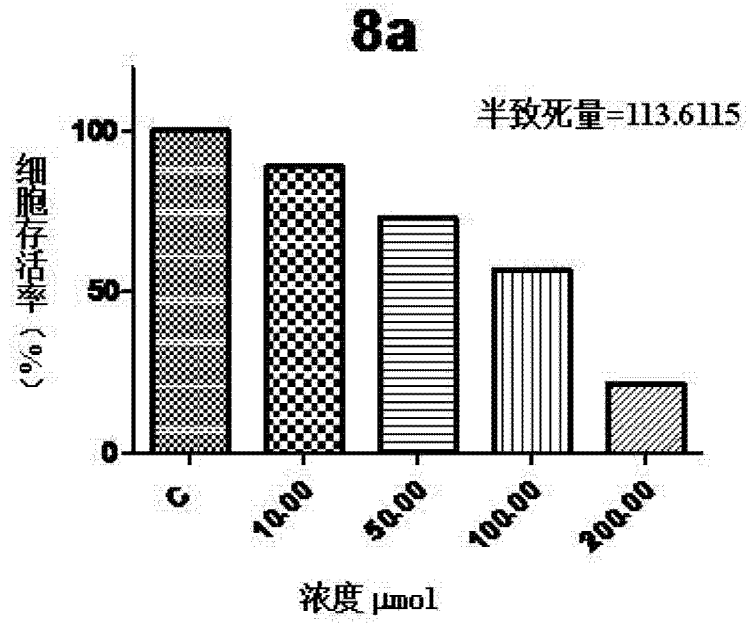


图 11

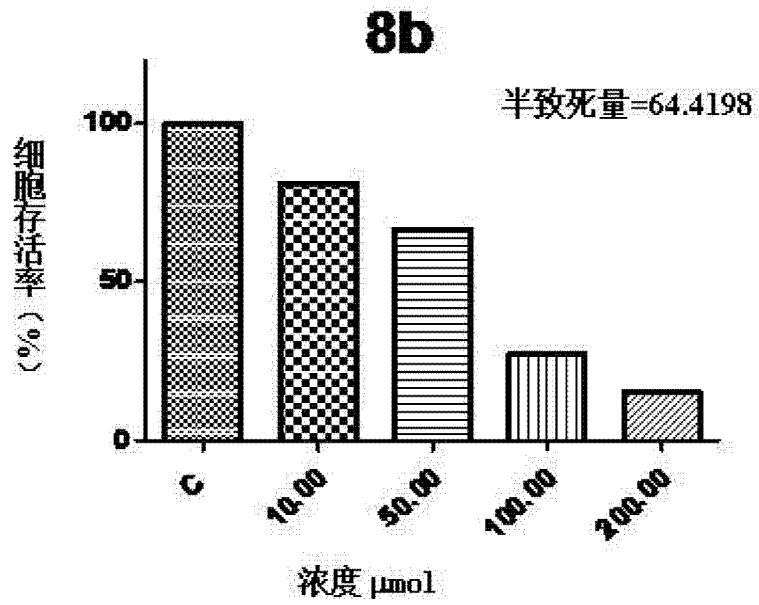


图 12

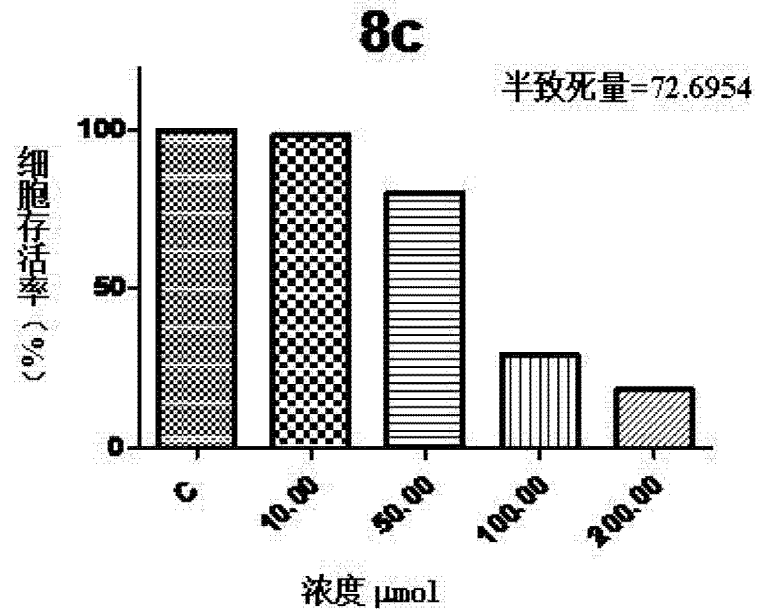


图 13

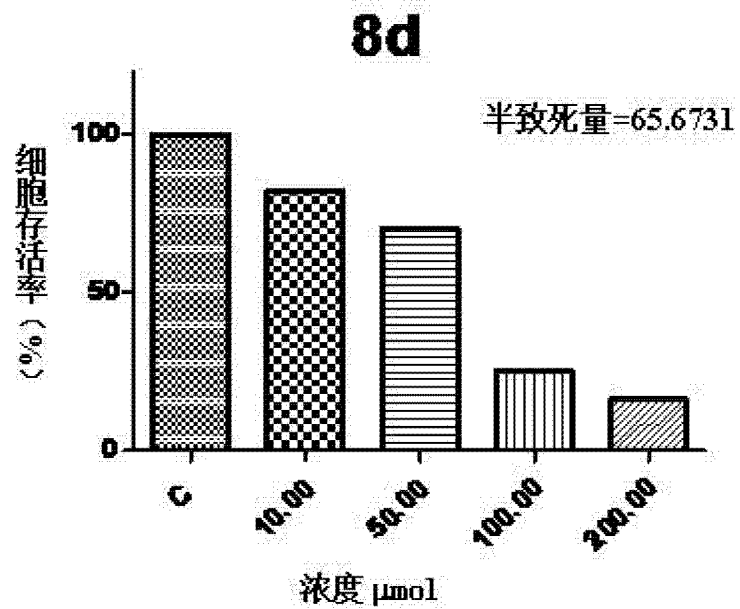


图 14