

# 目 錄

中文摘要

英文摘要

## 第一章 緒論

第一節 Carbazole 類化合物之研究概況	1
壹、Carbazole 類化合物之合成方法	1
貳、Carbazole 類化合物之活性	9
第二節 血小板之生理之功能	10
第三節 嗜中性白血球與肥胖細胞之生理功能	14
第四節 巨噬細胞與小神經膠質細胞之生理功能	17
第五節 細胞週期之生命機制	19
第六節 研究動機與目的	21

## 第二章 結果與討論

第一節 化合物合成	22
第二節 血小板凝集之抑制活性	27
第三節 嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性	34
第四節 嗜中性白血球過氧化物形成反應之抑制活性	40
第五節 肥胖細胞之脫顆粒反應之抑制活性	44
第六節 對小神經膠質細胞產生 NO 及 TNF- $\alpha$ 之抑制活性	48
第七節 Carbazole 衍生物對 HL60、U937 及 K562 等癌細胞增殖率的影響	50

第三章 結論	59
--------	----

## 第四章 實驗部份

第一節 試藥、溶媒與材料	60
第二節 重要儀器	62
第三節 化合物之合成	65
第四節 藥理活性測定方法	86

參考文獻	95
------	----

發表投稿之論文	103
---------	-----

## 圖表

表一 化合物 2a-d、3a-d、4a-d 及 5-9 對血小板凝集之抑制活性	29
表二 化合物 11-17 對血小板凝集之抑制活性	32
表三 化合物 2a-d、3a-d、4a-d 及 5-9 對嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性	35
表四 化合物 11-19 對嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性	37
表五 化合物 20-24 對嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性	38
表六 化合物 2a-d、3a-d、4a-d 及 5-24 對嗜中性白血球過氧化物形成反應之抑制活性	40
表七 化合物 2a-d、3a-d、4a-d 及 5-24 對肥胖細胞之脫顆粒反應之抑制活性	44
表八 化合物 2a-d、3a-d、4a-對 N9 細胞產生 NO 及 TNF- 之抑制活	49
表九 化合物之不同濃度對血癌細胞株(HL 60、U 937 及 K 562)	

細胞增殖率的影響-----	52
表十 化合物對血癌細胞株(HL-60、U-937 及 K562)細胞增殖率之 IC <sub>50</sub> -----	57
圖一 血小板凝血機轉-----	11
圖二 血小板活化機轉-----	12
圖三 嗜中性白血球與肥胖細胞之活化與作用-----	16
圖四 細胞週期-----	19
圖五 化合物之不同濃度對血癌細胞株(HL60、U937 及 K562)細胞 增殖率的影響-----	57

## 標的化合物之圖譜

# 中文摘要

為了尋找新型生物活性物質，著者以 9-benzylcarbazole-3-carbinol 為先導化合物，合成了一系列衍生物，並評估其抗血小板活性、抗炎活性及小神經膠質細胞之抑制活性，建立了初步化學結構與各生理活性的關係。從本研究中發現化合物 9-(*o*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbaldehyde (**3b**)、9-(*o*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (**4b**)、9-(*p*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (**4d**)及 9-benzylcarbazole-3-aldoxime (**7**)呈現顯著的抗血小板活性，而且其抑制形態類似 YC-1。

化合物 **3b** 同時對嗜中性白血球脫顆粒反應及嗜中性白血球形成過氧自由基呈現明顯的抑制活性，而化合物 **4b** 及 **4d** 只對嗜中性白血球脫顆粒反應呈現強力的抑制活性而已，其  $IC_{50}$  均為  $2.0 \mu M$ ，相當於 TFP 6~7 倍的強度。

化合物 **3b** 及 **4b** 被確認為新型的小神經膠質細胞活化之抑制劑，經作用機轉的探討結果，得知其作用機轉特異，為頗具潛力的前導化合物。

9-(*m*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbaldehyde (**3c**)，9-benzylcarbazole-3-carbinol (**4a**)及 9-(*m*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (**4c**)，對 HL 60、U 937 及 K 562 等人類血癌細胞株之增殖呈現顯著的抑制活性。

# Abstract

In order to search for biological active compound, 9-benzyl carbazole-3-carbinol was used as a lead compound, and a series of its derivatives has been prepared.

The antiplatelet, anti-inflammatory, inhibitory effect on microglia cells and human leukemia cells lines of these carbazole derivatives were evaluated. The structure-activity relationships in each system were also examined.

9-benzyl carbazole-3-carbaldehyde (**3a**),

9-(*o*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbaldehyde (**3b**),

9-(*o*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (**4b**), 9-(*p*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (**4d**) and 9-benzylcarbazole-3-aldoxime (**7**) demonstrated

significant antiplatelet activity. Their inhibitory profile is comparable to that of YC-1.

Compound **3b** showed simultaneously potent inhibition against neutrophil degranulation and neutrophil superoxide formation. Compound **4b** and **4d** demonstrated selective inhibition toward neutrophil degranulation with inhibitory potency ( $IC_{50}$  2.0  $\mu$ M) equal about 6~7 times that of positive control TFP.

Compounds **3b** and **4b** were identified as new class of inhibitors for

microglia cell activation. Study of their action mechanism suggested that they act through unique mechanism and should be considered as novel lead compounds for further exploration. 9-(*m*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbaldehyde (**3c**), 9-benzylcarbazole-3-carbinol (**4a**) and 9-(*m*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (**4c**) demonstrated significant antiproliferation against HL 60, U 937 and K 562 leukemia cell lines.

# 第一章緒論

本論文主要的內容(carbazole)類衍生物之化學合成以及其抗血小板、抗炎、抗過敏和抗癌活性的探討，因此，首先將 carbazole 類化合物之研究概況、血小板生理功能以及與炎症、過敏相關的嗜中性白血球肥胖細胞生理功能，乃至巨噬細胞與小神經膠質細胞的生理功能分述如下，作為本研究的背景資料。

## 第一節 Carbazole 類化合物之研究概況

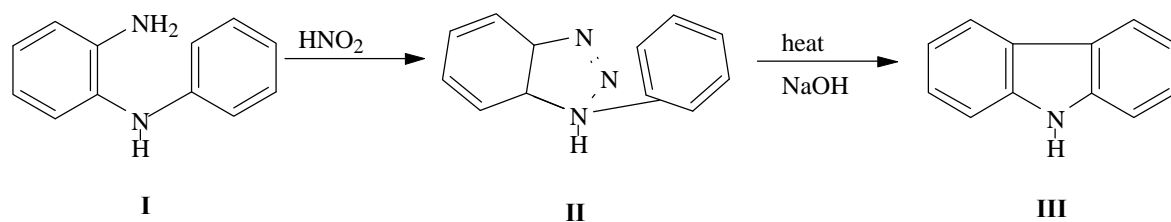
### 壹、Carbazole 類化合物之合成方法

Carbazole 類化合物早在 1872 年就從煤油、焦油中被分離出來，運用於染料工業、高分子聚合物等化學工業上，當時即有 carbazole 類化合物之合成報告<sup>1-2</sup>，1964 年 Chakraborty 等從芸香科植物 *Murraya koeniggi* 分離出 girinimbine 後，迄今已有數以百計的 carbazole alkaloid 被發現<sup>3-4</sup>，也因此 carbazole 類化合物之合成方法陸續出現於文獻中。在此僅將主要的合成方法列述如下。

#### 一、Graebe-Ullmann 合成方法<sup>5</sup>

如 Scheme 1 所示，以 *o*-aminodiphenylamine (I) 為起始物，經 diazotization 後形成 benzotriazole 中間體 (II)，進而加熱進行

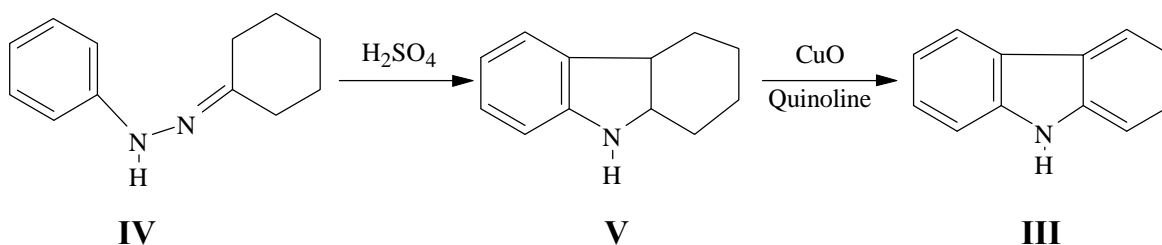
rearrangement, 即形成 carbazole (III)。



**Scheme 1**

## 二、 Borsche 合成法<sup>6</sup>

Scheme 2 所示, cyclohexanone phenylhydrazone (IV) 經  $\text{H}_2\text{SO}_4$  處理形成 tetrahydrocarbazole (V) 後, 再於 quinoline 中以 CuO 做為催化劑, 加熱即可 dehydrogenation 形成 carbazole (III)。



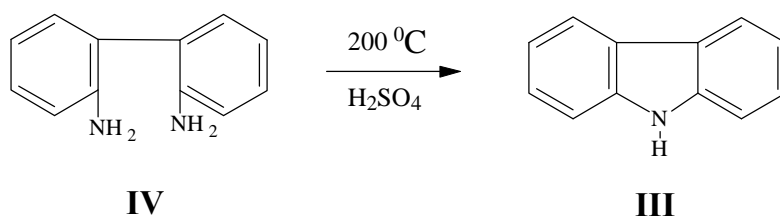
**Scheme 2**

## 三、 Tauber 合成法<sup>7</sup>

如 Scheme 3 所示, 2,2'-diaminodiphenyl 在  $\text{H}_2\text{SO}_4$  存在下, 於 200



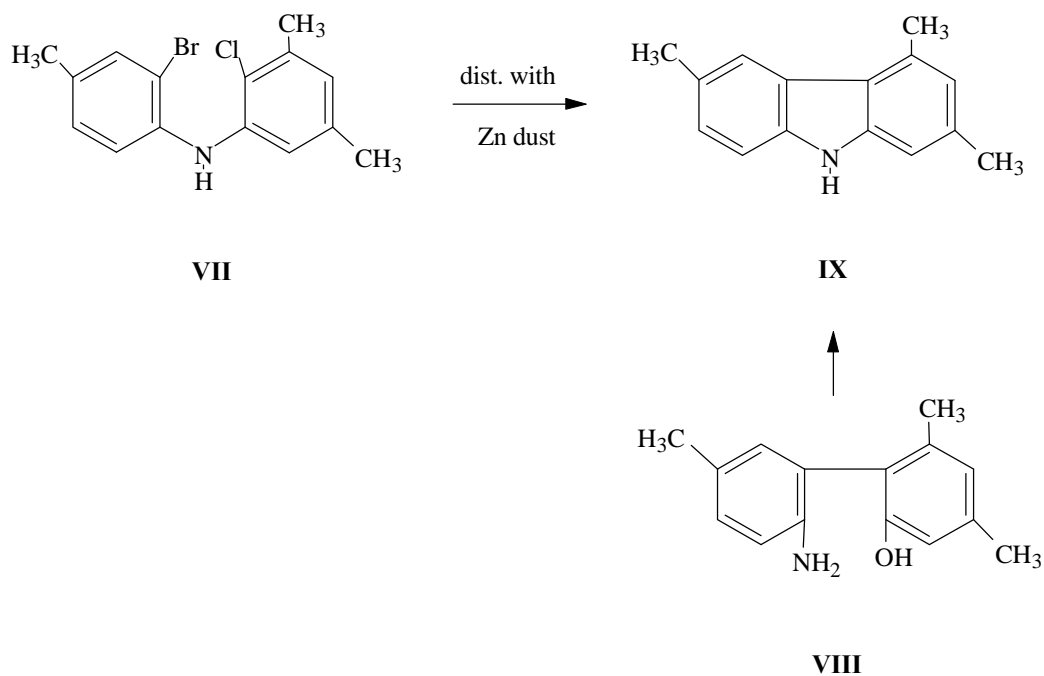
進行加壓反應，即可得到 carbazole (III)。



Scheme 3

#### 四、 Fries 合成法<sup>8</sup>

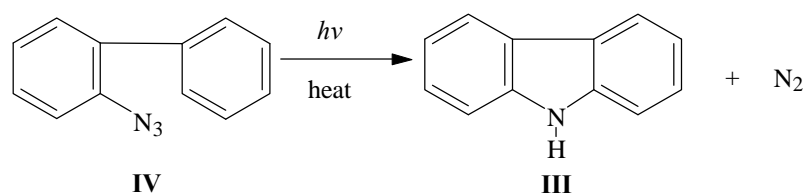
如 Scheme 4 所示，diphenylamine 之 2,2'-dihalogen derivatives (VII)或 2-amino-2'-hydroxydiphenyl (VIII)在 Zn dust 中加熱蒸餾，即可得到相對應之 carbazole (IX)。



Scheme 4

## 五、 Smith-Brown 合成法<sup>9</sup>

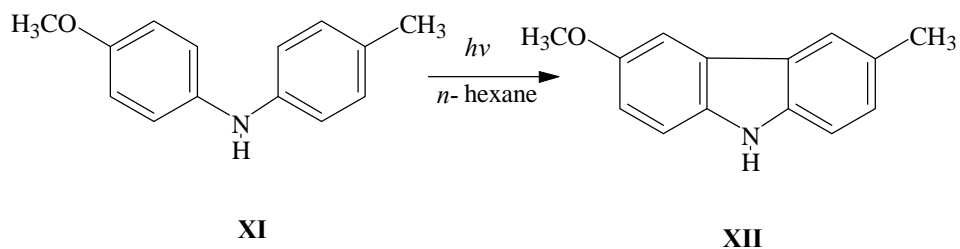
如 Scheme 5 所示，將化合物 IV 在 UV 光照射下加熱，即可得到 carbazole (III)。



**Scheme 5**

## 六、 Carruthers 合成法<sup>10</sup>

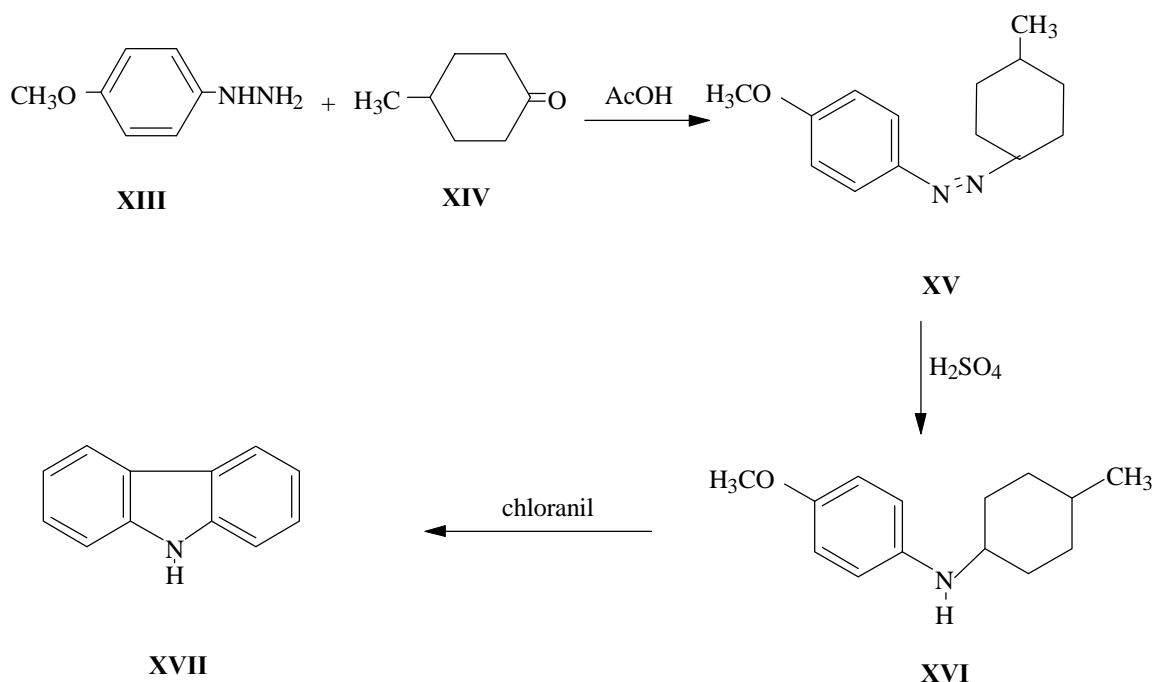
如 Scheme 6 所示，將 4-methoxy-4'-methyl-diphenylamine (XI) 利用光化學合成法，可得到 carbazole 類化合物。



**Scheme 6**

## 七、 Chakraborty 合成法<sup>11</sup>

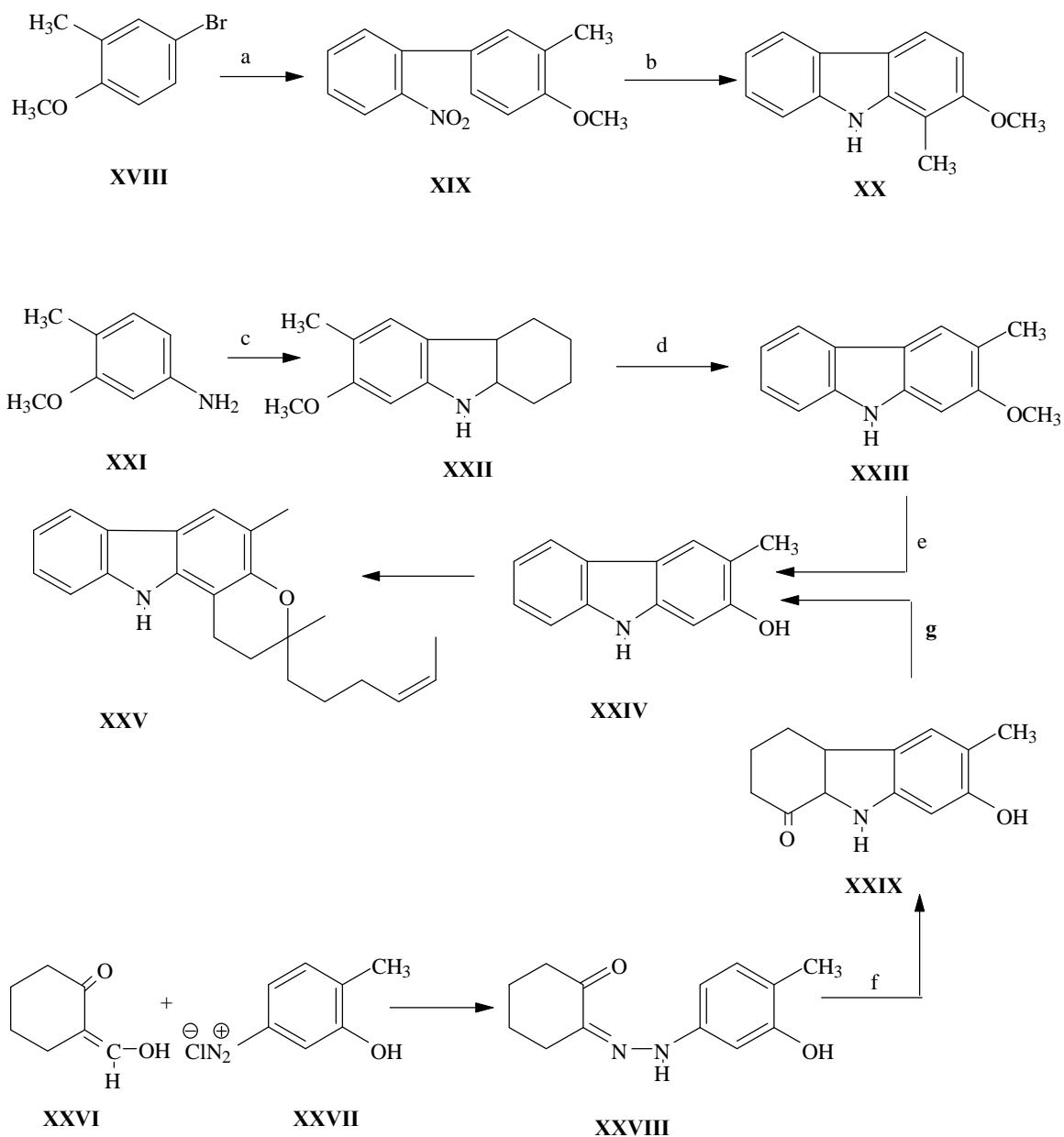
如 Scheme 7 所示，此合成與 Borsche 方法類似，先形成 tetrahydrocarbazole 衍生物，只是所用原料與試藥不同，此法之產率比 Borsche 方法較高。



Scheme 7

## 八、 Kureel 及 Chakraborty 等之合成法<sup>12-13</sup>

如 Scheme 8 所示，Kureel、Chakraborty 及 Narasimhan 分別以不同合成途徑合成 2-hydroxy-3-methylcarbazole 之生物鹼。

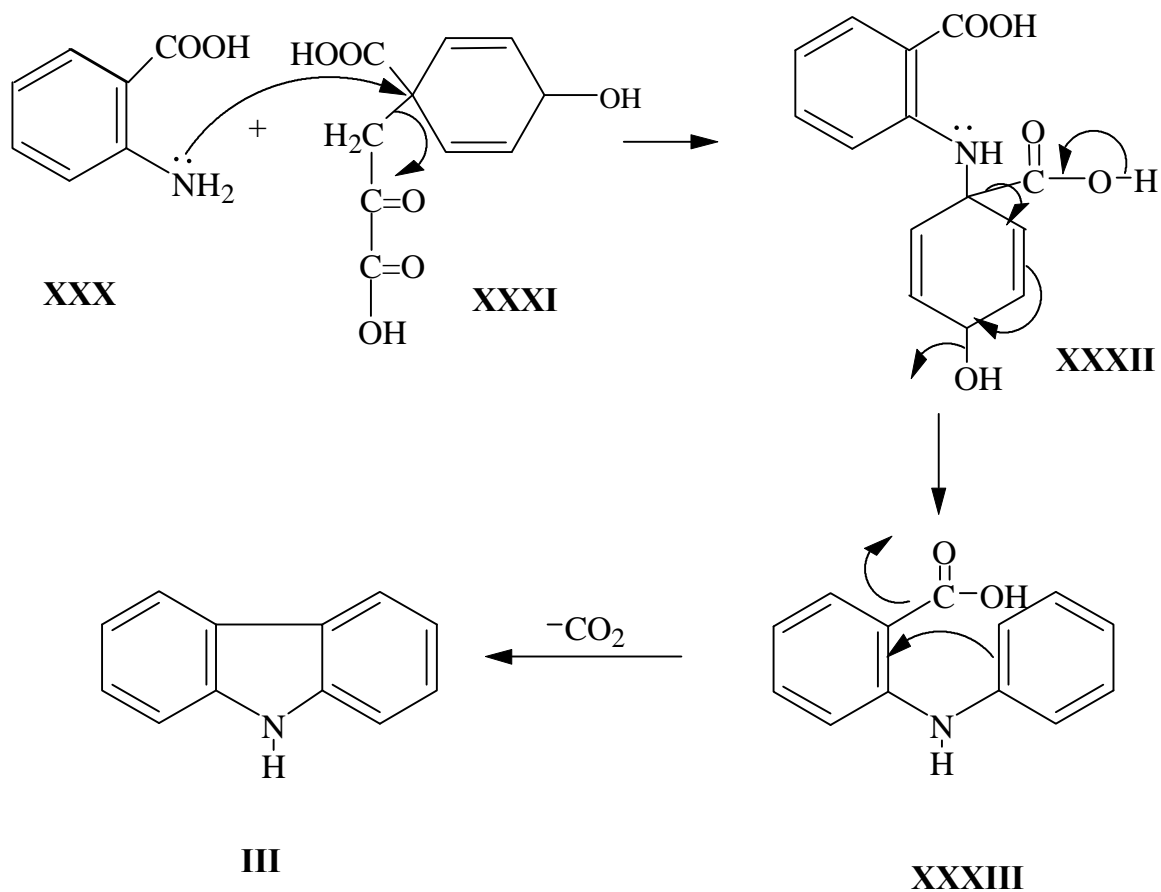


a : 2-nitrobromobenzene    b : Triethyl phosphite    c : 2-Hydroxycyclohexanone    d : Pd / C  
 e : HBr / AcOH    f : HCl / AcOH    g: Hung-Minlon Dehydrogenation

## Scheme 8

## 九、 Chakraborty 合成法<sup>14</sup>

如 Scheme 9 所示，Chakraborty 等仿照生物合成途径，提出 carbazole 合成法。

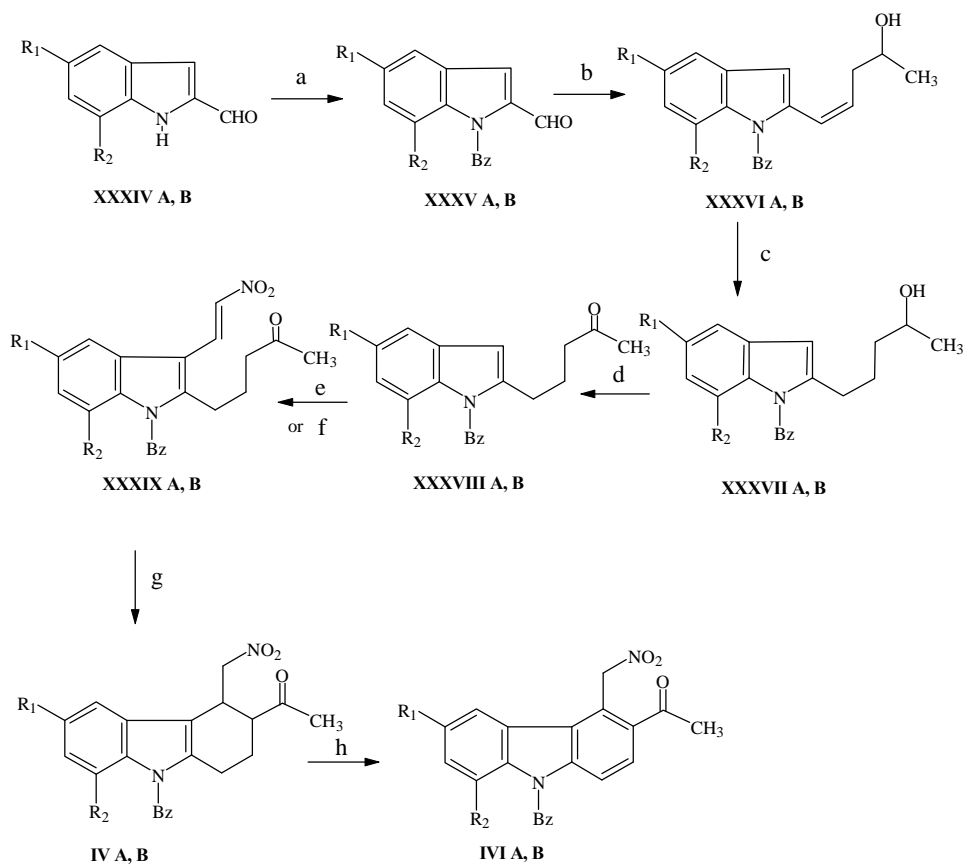


Scheme 9

## 十、 Mahboobi 合成法<sup>15</sup>

最近 Mahboobi 等提出利用 intramolecular Michael addition 合成各種不

同取代基之 carbazole 衍生物。



A:  $R_1 = \text{OCH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$

B:  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{OCH}_3$

**Scheme 10**

a:  $\text{BzBr} / \text{Bu}_4\text{N}^+\text{Br}^- / \text{NaOH}$

b:  $\text{ClP}^+\text{Ph}_3 / \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3 / 2 \text{ eq. LiHDMS} / 0^\circ\text{C} / \text{THF}$

c:  $\text{Pd} / \text{C} / \text{H}_2 / \text{EtOH}$

d:  $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}=\text{CHNO}_2 / \text{TFA} / 0^\circ\text{C}$

e:  $(\text{COCl})_2 / \text{DMSO} / \text{NEt}_3 / -63^\circ\text{C}$

f:  $\text{Pd} / \text{C} / \text{DMF} / 0^\circ\text{C}$

g:  $\text{Triton B} / \text{THF}$

h:  $\text{DDQ} / \text{dioxane}$  or  $p\text{-chloroanil} / \text{mesitylene}$

**Scheme 10**

上述文獻記載的 carbazole 之合成方法，主要的重點是在於 carbazole 環的合成及生物鹼的合成，本研究標的化合物之合成，所利用的起始原料

已有市售品，所以未直接利用文獻所記載的方法。將來若要延續本研究成果，合成 carbazole 環有各種不同取代基的衍生物時，就可以應用上述文獻方法，合成 carbazole 環上有各種取代基的化合物作為起始原料。

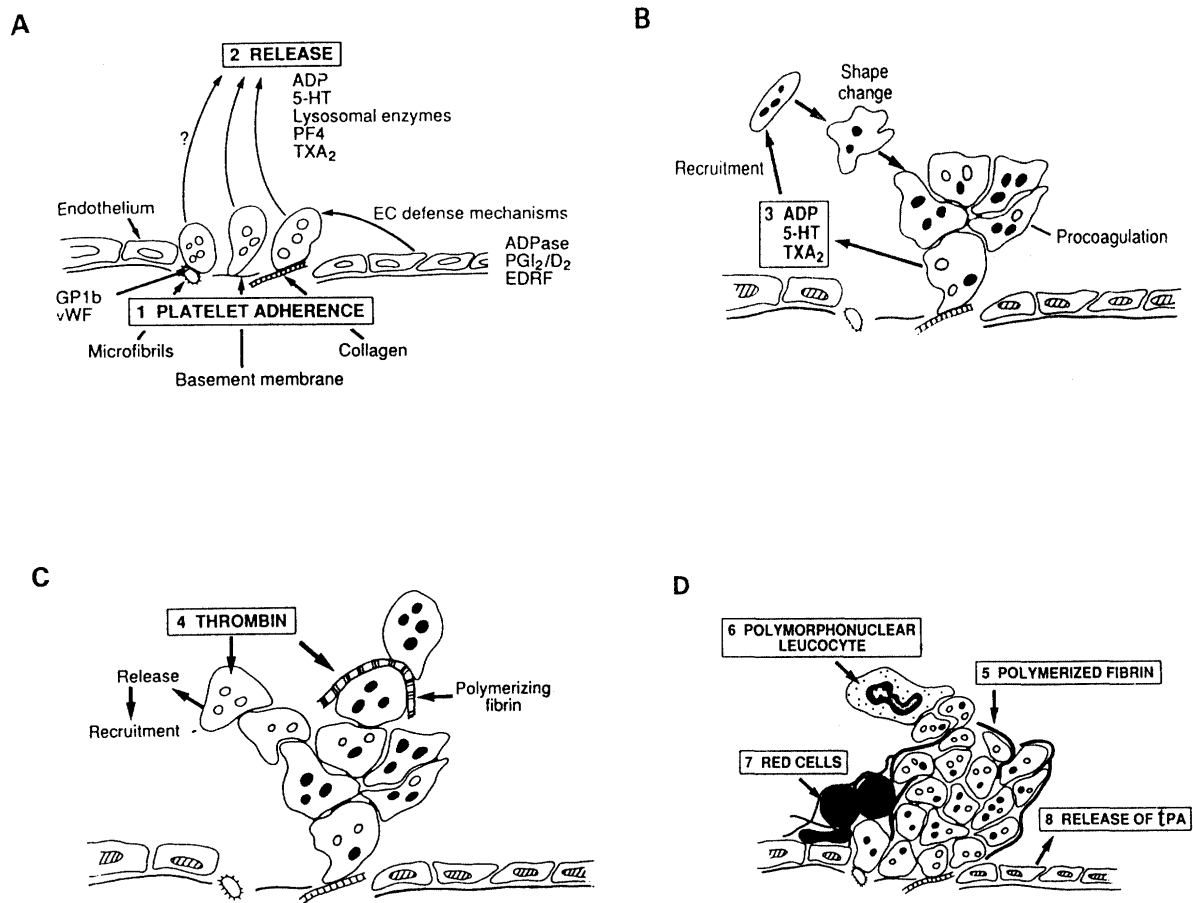
## 貳. Carbazole 類化合物之生理活性

如第一節所述，已知的 carbazole 生物鹼以及被合成的 carbazole 衍生物相當多，其生物活性的探討主要是集中於抗癌活性方面<sup>16-23</sup>，其中有些化合物活性甚佳，所以也有一些作用機轉探討之報告<sup>19-21</sup>。其它也有關於 carbazole 類化合物具有 anti HIV<sup>24</sup>、antioxidant<sup>25</sup>、antifungus<sup>26</sup>、antibacteria<sup>27</sup> 以及 antiplatelet<sup>28</sup> 等活性之相關報導，但是關於抗發炎及抗過敏活性之探討尚未見諸文獻。

## 第二節 血小板之生理功能

血小板是血球細胞中最小的細胞，由巨核細胞的細胞質分裂而成，不具有細胞核及大部份蛋白質的生成能力，通常生命週期約十天左右。在止血生理機能方面，血小板扮演著非常重要的角色，當內皮細胞受損或血管破裂受傷時，血管先收縮，血管內皮細胞下的基質(如 collagen、von Willebrand factor、fibronectin、laminin 與 vitronectin)與 adenosine 5-diphosphate (ADP)會先釋出，促使血小板改變形狀，以便附著於受損部位，引發血小板的活化與釋出反應<sup>29</sup>。另外組織血栓形成素 (tissue thromboplastin)由受傷的組織形成釋出，再經由凝血活化機轉外在途徑，轉變成血栓素(thrombin)，血栓素會使纖維蛋白原(fibrinogen)轉變成纖維蛋白(fibrin)，纖維蛋白再受到 ADP 的活化，與受傷組織的血小板結合，形成凝血塊(fibrin clot)，再聚集形成堅固的血小板止血栓 (thrombus)，達到止血效果 (圖一)<sup>30</sup>。

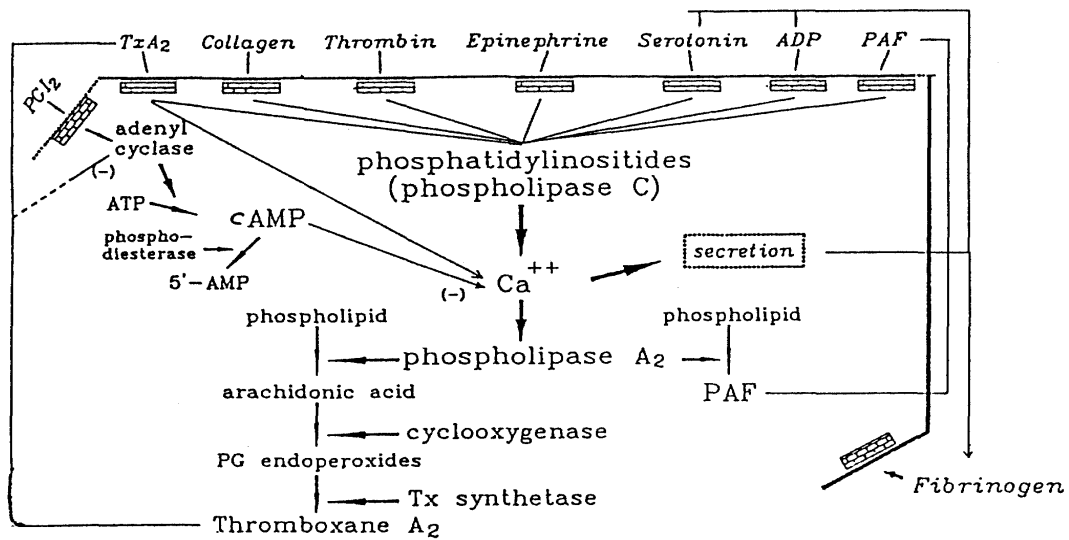




圖一、血小板凝血機轉

血小板的活化劑如 collagen、ADP、thrombin、thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>)、platelet-activating factor (PAF)、epinephrine 及 serotonin 與血小板細胞膜上的接受體結合後，經由細胞內訊息傳遞者如 G protein (GTP binding protein)，引發 phospholipase C (PLC)、phospholipid A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) 及 cyclooxygenase 等活化與釋出。例如 phospholipid 先受到 PLA<sub>2</sub> 作用轉變成 arachidonic acid (AA)，而 AA 再被 cyclooxygenase 轉變成 prostaglandin

endoperoxides (PGG<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>)，其中 PGH<sub>2</sub> 於血小板中經過 thromboxane A<sub>2</sub> synthetase 的作用，產生 TXA<sub>2</sub>，引發血小板凝集作用。PGH<sub>2</sub> 於血小板中若經由 prostacyclin I<sub>2</sub> synthetase 的作用，產生 prostacyclin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>)，而 PGI<sub>2</sub> 則具有抑制血小板凝集作用<sup>31</sup>（圖二）。



圖二、血小板活化機轉

血小板止血栓 (thrombus)能在受損組織產生止血作用，但也很容易體內造成栓塞 (embolism)，因此在血液凝集末期時，纖維蛋白溶解系統 (fibrinolytic system)會運轉，溶解由血栓脫落下來之小血凝塊，避免阻塞體內的小血管，同時抑制血小板凝集之物質也會開始增加，阻止血小板繼續凝集。其中如 plasminogen 受到 tissue plasminogen activator (t-PA)的活化與 fibrin 結合成 fibrin-t-PA-plasminogen 之錯合物再轉變成 fibrin-plasmin，

進而將 fibrin 分解使血栓溶解(lysis of thrombus )<sup>32</sup>。

在正常生理狀態下為了維持血小板不被活化，血管內皮細胞 (endothelium cell)可釋出 PGI<sub>2</sub>、 endothelium-derived relaxing factor (EDRF) 及 nitric oxide (NO)等物質，能活化血小板的 adenylyl cyclase 與 soluble guanylate cyclase (sGC)。EDRF 是一種 cAMP 的促進劑；NO 則能直接刺激 sGC 活化，sGC 能催化 GTP 轉變成 cGMP 以及抑制 cGMP；phosphodiesterase 將 cGMP 裂解成 5'-GMP 之作用，此兩種作用機轉都能使 cGMP 增加。另外 NO 也會間接活化內皮細胞的 cyclooxygenase 促使 PGI<sub>2</sub> 產生，PGI<sub>2</sub> 能使 cAMP 含量增加。當血小板之 cAMP 及 cGMP 含量上升時，血小板的凝集作用會被抑制，血小板的止血功能正常就不會引起血栓或栓塞，而造成多種血管性疾病<sup>33</sup>。

本論文之實驗應用上述之原理，分別以 thrombin、 collagen 及 PAF 引發血小板之凝集，測試化合物抑制其凝集的活性。

### 第三節 嗜中性白血球與肥胖細胞之生理功能

嗜中性白血球 (neutrophils)為一種有高度運動性具吞噬作用之顆粒性白血球(granulocytes) , 血液中之正常濃度為  $3-5 \times 10^6 / \text{ml}$ 。當身體組織受傷 (tissue damage )或遭感染 (infection)時會急速增加, 並由血液移到受損組織中, 經活化作用後, 釋出 neutral proteases、acid hydrolases、phospholipase、myeloperoxidase 及 cationic protein 等物質以分解吞食細菌<sup>34</sup>。

嗜中性白血球的活化途徑需由多重訊息傳遞, 其中可經由化學誘引劑(chemoattractants ) 如 ECF-A 及 NCF 這些化學媒介物而活化的嗜中性白血球, 會產生高反應性之過氧自由基 (superoxide anion;  $\text{O}_2^-$ )、羥基自由基 (hydroxy radical;  $\text{OH}^\cdot$ )及過氧化氫 (hydrogen peroxide;  $\text{H}_2\text{O}_2$ )等具有細胞毒性的 oxygen species , 引起如老化 (aging) , 缺血性再灌注時引起損傷 (ischemia reperfusion injury) , 類風濕性關節炎 (rheumatoid arthritis) , 感染性腸炎 (inflammatory bowel disease)等細胞損傷; 同時活化的過程中會釋出 lysozymal enzyme 造成肺氣腫 (pulmonary emphysem) , 類風濕性關節炎, 動脈粥硬化 (arteriosclerosis) , 腎小球腎炎 (glomerulonephritis)等, 因組織蛋白分解 (tissue proteolytic disruption)而引起之疾病 (圖三)<sup>35</sup>。

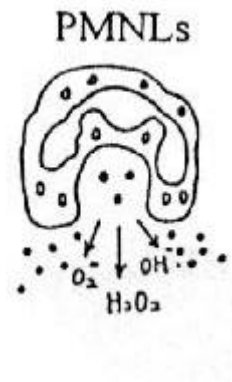
另外活化途徑由 fMLP、 $\text{LTB}_4$  等化學誘引劑誘導嗜中性白血球細胞膜上的接受體與 G protein 結合會活化抑制性的  $\text{G}_i$  protein , 降低細胞內 adenylyl

cyclase 量<sup>36</sup>。

肥胖細胞 (mast cell) 在即時型過敏 (anaphylaxis) 反應中扮演著重要角色，當肥胖細胞受到物理或化學性刺激時，被活化而引發釋放反應，多種媒介物 (mediator) 即被釋放出來，如 vasoactive mediators (histamine、kininogenase、PAF) spasmogens (PGD<sub>2</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>) 及化學誘引劑 (ECF-A, NCF) 等，這些物質會導致血管擴張、通透性增加或引發支氣管平滑肌、粘膜水腫及分泌增加，造成過敏及氣喘發生<sup>37-38</sup>。因此藥物若能抑制肥胖細胞的活化，對過敏及氣喘症狀的預防與治療將會有改善作用。

本論文抗發炎實驗是以 fMLP (*N*-formylmethionyl-leucyl-phenylalanine)引起嗜中性白血球釋放  $\beta$ -glucuronidase 及 lysozyme 後，篩選出具有抑制作用之化合物，另外也測試化合物對因 fMLP 及 PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) 引起嗜中性白血球釋放過氧自由基形成之抑制作用。篩選抗過敏化合物之實驗，以 compound 48/80( a polymer of *N*-(*p*-methoxyphenylethyl) methylamine with formaldehyde) 誘發肥胖細胞釋放  $\beta$ -glucuronidase 及 histamine 反應之抑制活性。





圖三、嗜中性白血球與肥胖細胞之活化與作用

## 第四節 巨噬細胞與小神經膠質細胞之生理功能

巨噬細胞 (Macrophages) 是免疫細胞之一種，參與身體之免疫作用。當免疫系統被病原菌 (microbial pathogen) 引發後，巨噬細胞會受到細菌性內毒素 (lipopolysaccharides; LPS) 活化，產生一氧化氮 (nitric oxide, NO)，腫瘤壞死因子 (tumor necrosis factors, TNF) 及前列腺素 (prostaglandins, PGs) 等發炎物質<sup>39</sup>。

NO 能引發身體內巨噬細胞誘導毒性 (macrophage-induced cytotoxicity)，過量時會引起敗血性休克 (septic shock)，而 TNF 與致死性休克 (lethal shock)、組織損傷，急性慢性發炎及惡病質 (cachexia) 等病症有關。PGE<sub>2</sub> 和血管擴張、紅腫等發炎現象有關<sup>40-41</sup>。

小神經膠質細胞 (microglia cell) 則是腦中的巨噬細胞，具有保護腦細胞之功能，和大多數的發炎、感染及中樞神經系統之退化性疾病皆有關係<sup>42-43</sup>。當腦中神經元產生局部缺血及退化性疾病時，小神經膠質細胞快速活化，進行吞噬作用及促使 NO、細胞激素 (cytokines)、前列腺素自由基 (free radical) 等發炎媒介物釋出<sup>44-46</sup>。這些物質若過量產生則對細胞有害，如引起多發性硬化 (multiple sclerosis) 病變<sup>47</sup>，愛滋病感染 (HIV infection)<sup>48</sup> 和中樞神經系統退化性疾病<sup>49-51</sup>，如阿茲海默症 (Alzheimer's disease) 等病變。若能有效的抑制小神經膠質細胞活性，則對上述各種中

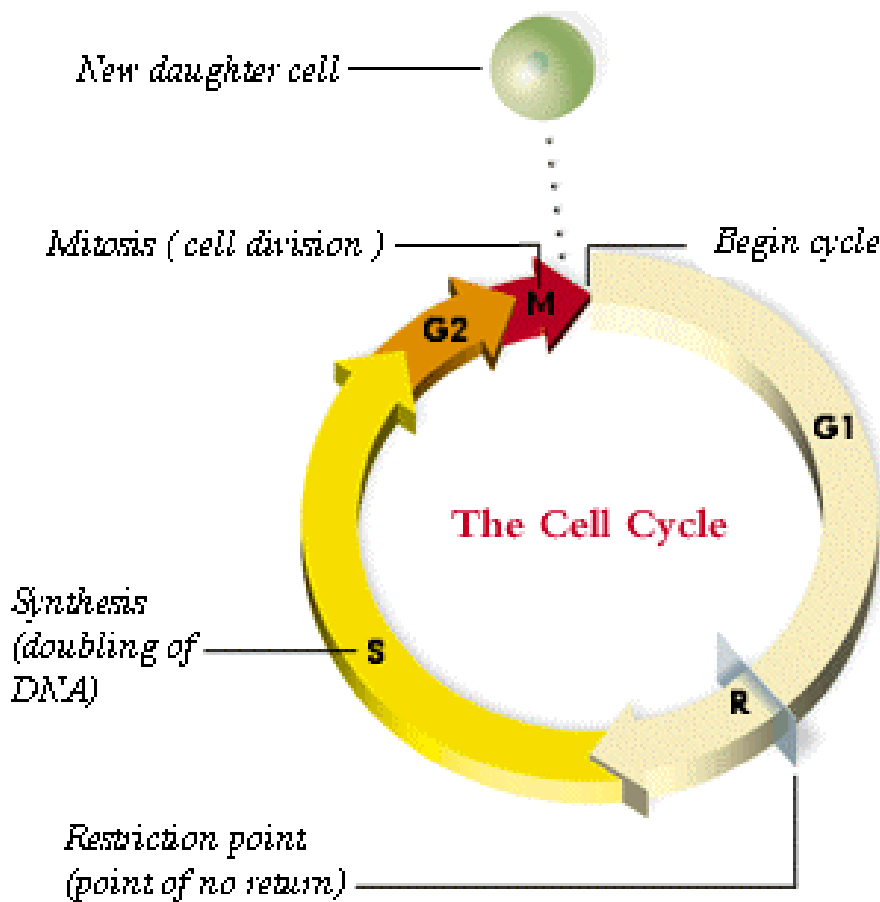


樞神經系統疾病將會有效的改善。

本論文對由 LPS 誘發 RAW 264.7 (mouse macrophage-like)及 N9 (murine microphage)細胞株之 TNF- $\alpha$  形成及 NO 蓄積作用，以合成的化合物進行抑制活性的篩選。

## 第五節 細胞週期之生命機制

細胞要維持正常大小與數目，保持保持增值與凋亡間的動態平衡，需要精確的細胞週期(cell cycle)的調控，細胞週期可分為  $G_0 / G_1$ 、S、 $G_2 / M$  等時期，當細胞週期失去調控時則有可能發展成為腫瘤細胞。

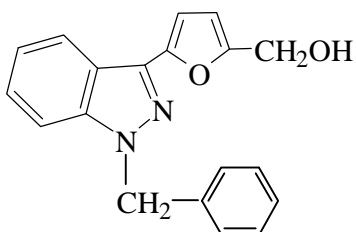


圖四、細胞週期<sup>52</sup>

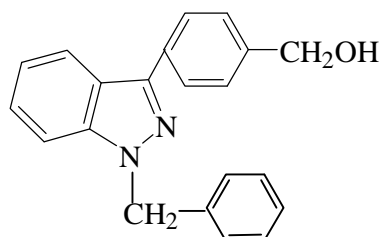
對於抑制腫瘤細胞的生長，可經由細胞週期的停頓、誘導細胞進行凋亡 (apoptosis) 或細胞分化 (differentiation) 而達到抑制其增殖 (proliferation) 作用，這也是目前用來篩選有效抗癌藥物的重要指標。本論文即針對三種血癌細胞株 HL60 (acute promyelocytic leukemia)、U937 (human histiocytic lymphoma) 及 K562 (chronic myeloid leukemia) 以所合成之 carbazole 衍生物處理後，觀察其細胞形狀、細胞週期的變化及增殖之影響等情形。

## 第七節 研究動機與目的

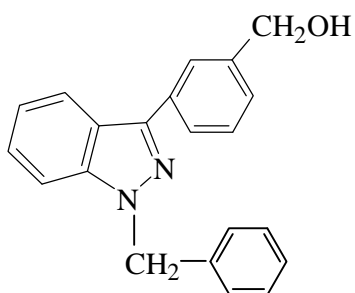
本研究室於 1995 年合成了 1-benzyl-3-(5-hydroxymethyl-2-furfuryl) indazole (YC-1)<sup>53</sup>，並發現其抗血小板之作用機轉特異<sup>54-55</sup>，係 soluble guanyl cyclase (sGC) 新型的活化劑，同時具有抗炎及抗癌活性，其類緣化合物 A、B 也具有類似的生理活性。



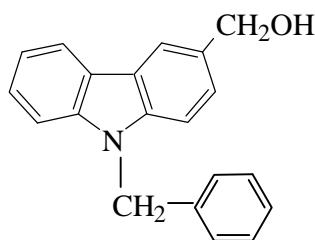
YC-1



A



B



C

本研究是選擇結構與 YC-1 A B 相近的 9-benzylcarbazole-3-carbinol (C)，作為先導化合物 (lead compound)，從事結構修飾合成一系列 carbazole 衍生物，並探討其抗血小板、抗炎、抗過敏及抗癌活性等各種生物活性，期望能獲得新型生物活性物質。

## 第二章 結果與討論

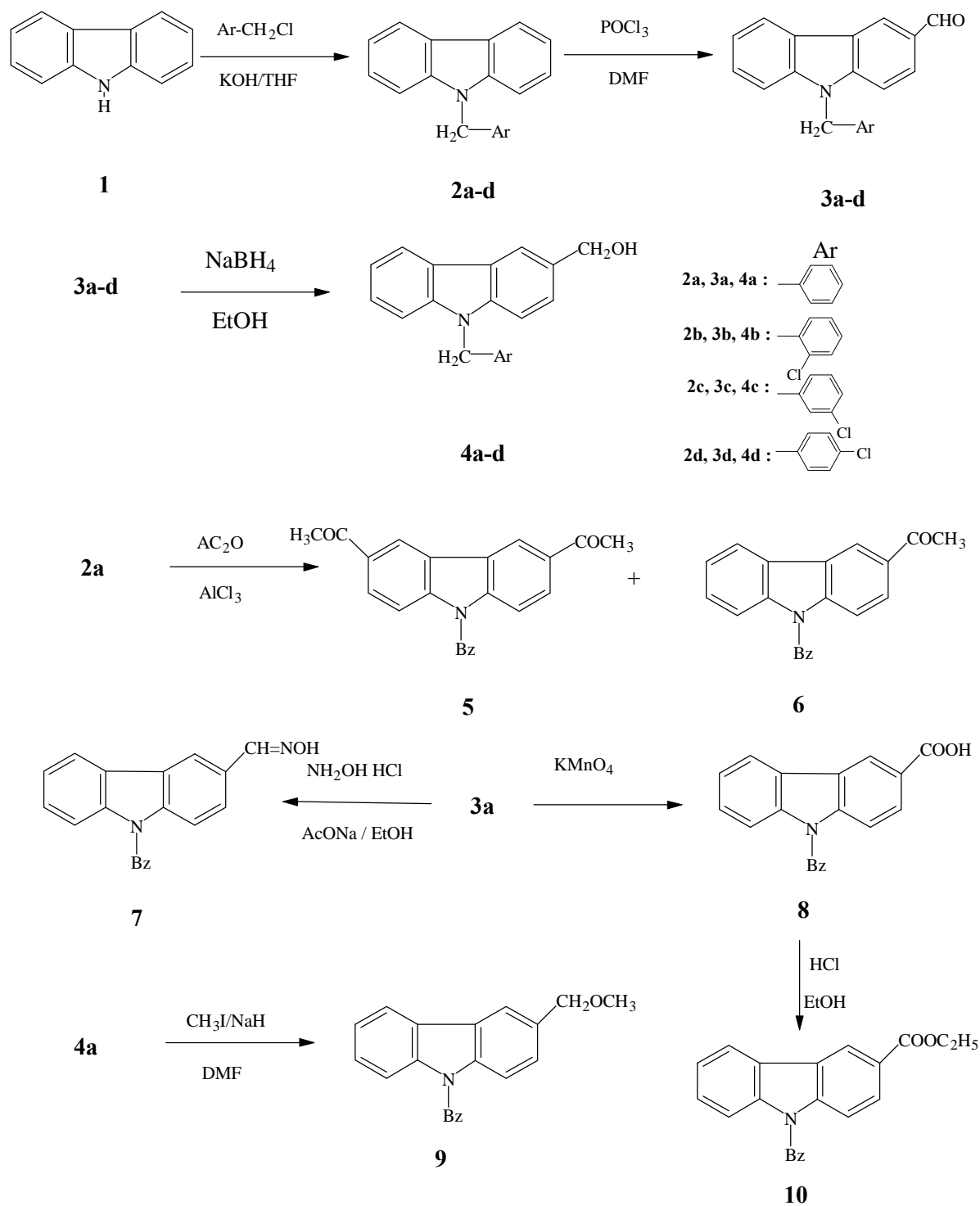
### 第一節 化合物之合成

標的化合物 **2a-d**, **3a-d**, **4a-d** 及 **5-10** 之合成如 Scheme 11 所示, 首先將起始原料 **1**, 與各種有不同取代基之 benzyl chloride 進行 benzylation, 即可得到相對應之 substituted benzylcarbazole **2a-d**。化合物 **2a-d** 繼續以 POCl<sub>3</sub> / DMF 進行 Vilsmeier-Haack reaction, 即可得到相對應之 aldehydes **3a-d**, 這些 aldehydes 以 NaBH<sub>4</sub> 進行 reduction, 即可得到相對應之 carbinols 化合物 **4a-d**。

另一方面 **2a** 在 Ac<sub>2</sub>O (acetic anhydride) 中, 以 AlCl<sub>3</sub> 催化, 即可得到化合物 **5** (m.p : 341-342 ) 及 **6** (m.p : 132-134 ) 兩個產物, 從兩者之 MS 及元素分析的結果, 得知產物 **5** 之分子式為 C<sub>23</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub> 可能是 diacetyl compound, 而產物 **6** 之分子式為 C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>NO 可能是 monoacetyl compound, 進而由 NMR spectra 證明前者為 3,6-diacetyl-9-benzylcarbazole, 而後者為 6-acetyl-9-benzylcarbazole, 其產率分別為 45 % 及 38 %。

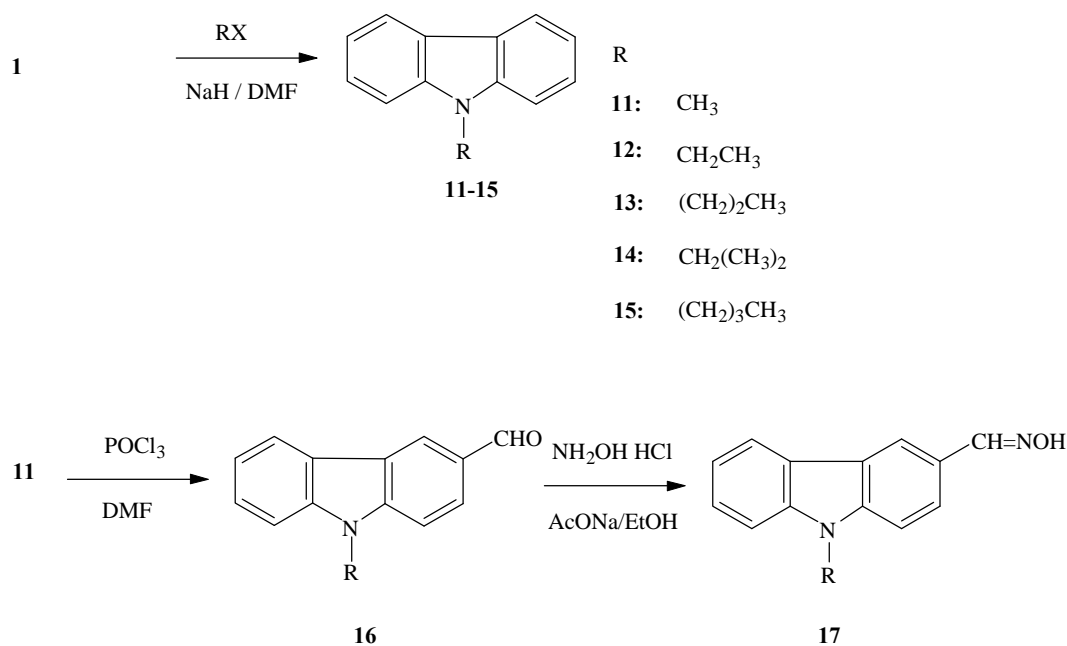
化合物 **3a** 與 hydroxylamine 進行 Schiff-base condensation 即可形成 oxime **7**, 另外 **3a** 若進行 oxidation 即可變成 carboxylic acid **8**, 繼續進行

esterification 即可形成 ester **10** 另外, **4a** 在 DMF (*N,N'*-dimethylformamide) 中先以 NaH 處理後, 再用 iodomethane 進行 methylation 即可得到 methoxymethyl derivative **9**。



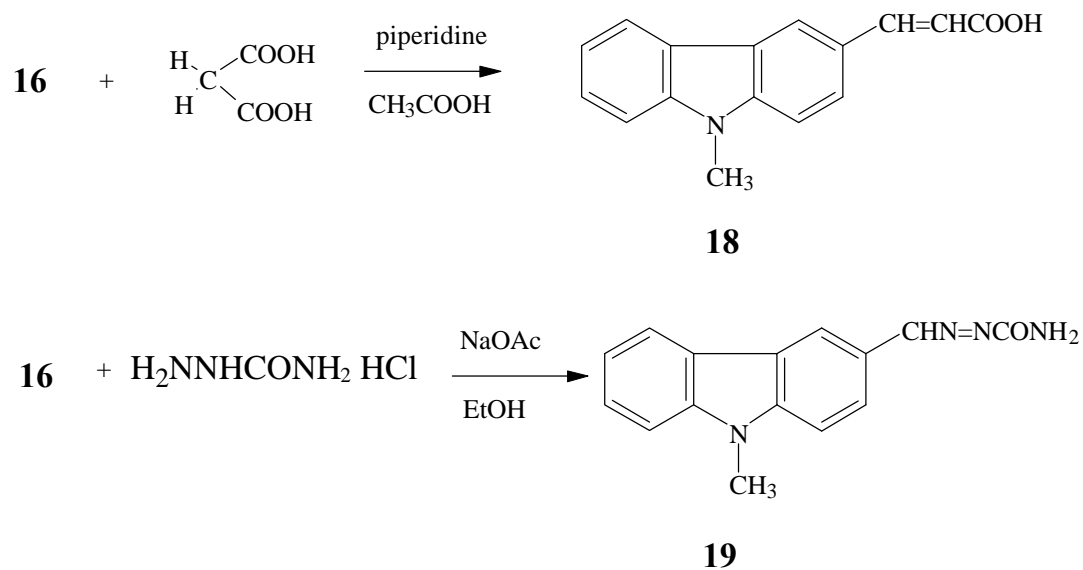
**Scheme 11**

9-Alkylcarbazole 之合成如 Scheme 12 所示，以 **1** 為起始物，進行烷  
 化反應即可得到相對應之 alkylcarbazoles **11-15**。化合物 **11** 繼續以  $\text{POCl}_3$  /  
 DMF 進行 Vilsmeier-Haack reaction，即可得到相對應之 aldehyde **16**，化  
 合物 **16** 與 hydroxylamine 進行 Schiff-base condensation 即可形成 oxime **17**。



### Scheme 12

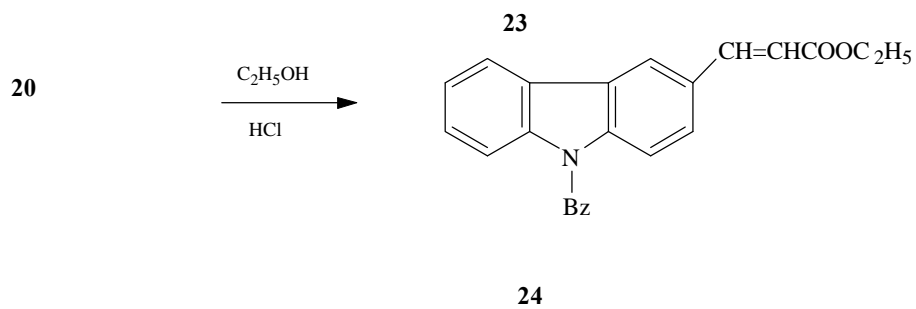
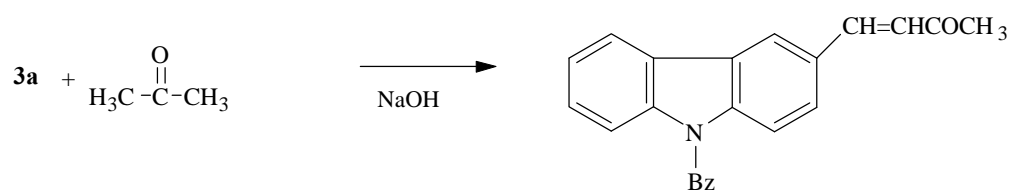
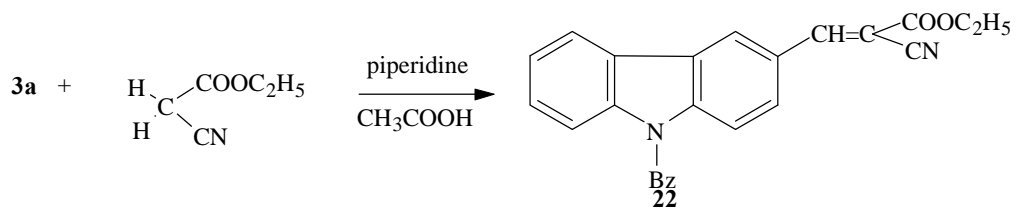
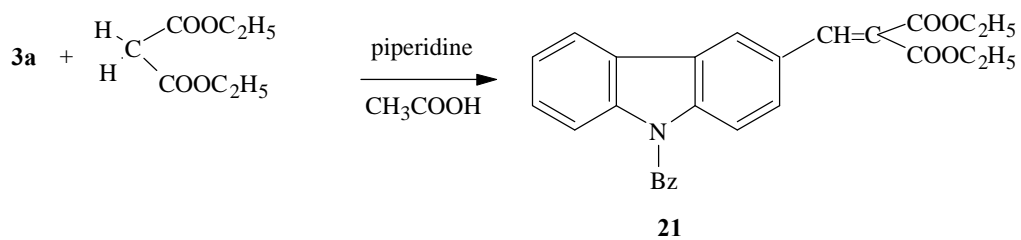
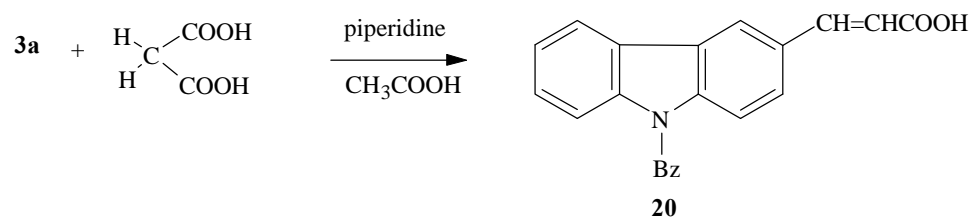
如 Scheme 13 所示，化合物 **16** 與 malonic acid，在 piperidine 存在下，  
 進行縮合反應，即可得到化合物 **18**。將 **16** 與 semicarbazide 作用則得到化  
 合物 **19**。



**Scheme 13**

如 Scheme 14 所示，化合物 3a 與 malonic acid，在 piperidine 存在下，進行縮合反應，即可得到化合物 20，同樣條件下與 diethyl malonate 或 ethyl cyanoacetate 反應，則得到相對應化合物 21 和 22。在 NaOH 存在下，將 3a 與 acetone 反應，則得到化合物 23；最後，將化合物 20 之酸基繼續酯化則得到化合物 24。





## 第二節 Scheme 14

## 第二節 抑制血小板凝集之活性

上述所合成的 carbazole 衍生物 (2a-d、3a-d、4a-d 及 5-9 )之抗血小板活性如表一，化合物 11-17 之抗血小板活性如表二所示，其中先導化合物 4a 對 AA、collagen 及 PAF 引發之血小板凝集，具有明顯的抑制活性，對 AA 引發之血小板凝集之抑制活性與 YC-1 相當。若將 4a 之 benzyl group 以 *o*-chlorobenzyl group 取代形成 4b 時其活性增強，特別是對 AA 及 collagen 引發之血小板凝集之抑制活性，有大幅增強的現象，IC<sub>50</sub> 分別為 12.5 及 59.9 μ，前者相當於 YC-1 之 4.5 倍，而後者與 YC-1 相當。進而將 4a 之 9-benzyl group 以 *m*-chlorobenzyl group 取代形成 4c 時，其對 AA 引發之血小板凝集略遜於 4a，不過對 collagen 及 PAF 引發之血小板凝集者則比 4a 強。另外將 4a 之 benzyl group 用 *p*-chlorobenzyl group 取代形成 4d 時，則 collagen 引發血小板凝集之抑制活性增強。

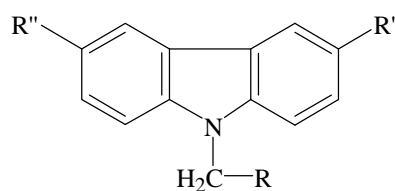
另一方面將 4a 之-CH<sub>2</sub>OH 以-CHO 取代形成 3a 時，對 AA-及 collagen-引發之血小板凝集維持顯著之抑制活性，而對 thrombin 及 PAF 引發之血小板凝集則呈現 IC<sub>50</sub> 大於 300 μ 之低活性現象。繼續將 3a 之 benzyl group 以 *o*-chlorobenzyl group 取代形成 3b 時，則對 AA 引發之血小板凝集增強。當 3a 之 benzyl group 以 *m*-chlorobenzyl group 形成 3c 時及 *p*-chlorobenzyl group 取代形成 4d 時，結果都呈現活性下降的現象。

當 4a 之-CH<sub>2</sub>OH 分別以 COCH<sub>3</sub> (6)、COOH (8)或 CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> (9)取代時,則活性都明顯的下降,然而 3a 之第 3 位有 CH=NOH (7)時,則對 AA、collagen 及 PAF 引發之血小板凝集之血小板凝集均有增強抑制的現象。

有一比較特殊的現象就是當 9-benzylcarbazole 之 3、6 位都有 acetyl group 取代時 (5)在 50 μg/ml 濃度下,就會引起血小板的凝集。最後著者檢視 3、6 位均無取代基之化合物 2a-d,則發現這些化合物都沒有明顯的抗血小板活性。總而言之,這一類 9-benzylcarbazole 化合物之 3 位 CHO 及 CH<sub>2</sub>OH 是展現活性的重要因素。

第 9 位用烷基取代時,化合物 11-15 對 AA、collagen 及 PAF 引發之血小板凝集幾乎不具有明顯的抑制活性,甚至會引起血小板凝集。但若在 3 位上有取代時,如 9-methylcarbazole 第 3 位以-CHO 取代形成化合物 16 時,對 AA、collagen 及 PAF 引發血小板凝集有增強抑制效果。繼續將 16 之-CHO group 以 CH=NOH 取代形成化合物 17 時,則對 AA 引發之血小板凝集抑制作用有增強的作用,對 collagen 引起之血小板凝集也有抑制作用,其它化合物之抗血小板活性尚在評估中。

表一. 化合物 2a-d、3a-d、4a-d 及 5-9 對血小板凝集之抑制活性



Compd		concentration			activity			
$\mu$ g/ml	R	R'	R''	Thrombin	AA	Collagen	PAF	
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)	
YC-1				173.0 $\mu$ M	54.3 $\mu$ M	53.8 $\mu$ M	87.3 $\mu$ M	
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)	
<b>2a</b>	$C_6H_5$	H	H	71.6±2.4(3) <sup>c</sup>	57.2±2.4(3) <sup>c</sup>	6.1±5.0(3) <sup>c</sup>	67.7±1.0(3) <sup>c</sup>	
	50				80.1±1.1(3) <sup>c</sup>	7.7±3.5(3) <sup>c</sup>		
	20				87.2±1.0(3) <sup>c</sup>	81.5±4.3(3) <sup>c</sup>		
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)	
<b>2b</b>	<i>o</i> -Cl- $C_6H_4$	H	H	72.2±1.9(3) <sup>c</sup>	61.3±2.5(3) <sup>c</sup>	59.7±4.3(3) <sup>c</sup>	79.3±0.8(3) <sup>c</sup>	
	50				84.9±1.7(3) <sup>c</sup>	74.6±1.5(3) <sup>c</sup>		
	20				85.1±1.8(3) <sup>c</sup>	85.6±1.0(3) <sup>c</sup>		
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)	
<b>2c</b>	<i>m</i> -Cl- $C_6H_4$	H	H	70.6±1.7(3)	53.1±2.9(3) <sup>c</sup>	59.4±2.0(3) <sup>c</sup>	69.9±2.1(3) <sup>c</sup>	
	50				79.4±1.0(3) <sup>c</sup>	80.6±3.1(3) <sup>c</sup>		
	20				83.3±2.2(3) <sup>c</sup>	87.9±0.8(3) <sup>c</sup>		
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)	
<b>2d</b>	<i>p</i> -Cl- $C_6H_4$	H	H	80.4±1.1(3) <sup>c</sup>	63.1±3.4(3) <sup>c</sup>	51.4±0.6(3) <sup>c</sup>	74.6±3.3(3) <sup>c</sup>	
	50				81.1±0.4(3) <sup>c</sup>	75.0±1.4(3)		
	20				84.0±2.4(3) <sup>c</sup>	84.8±1.4(3) <sup>c</sup>		
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)	
<b>3a</b>	$C_6H_5$	CHO	H	53.8±5.4(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	43.5±5.6(3) <sup>c</sup>	
	50				0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>		
	20				1.4±1.1(3) <sup>c</sup>	52.0±10.8(3) <sup>c</sup>		
	10				35.0±16.8(3) <sup>c</sup>	86.5±0.8(3) <sup>c</sup>		
	5				80.4±1.3(3) <sup>c</sup>			
	2				83.9±1.0(3)			
IC <sub>50</sub>					48.4 $\mu$ M	82.1 $\mu$ M		

續表一

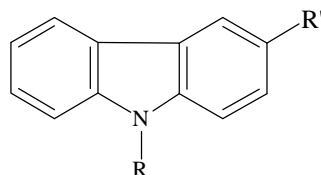
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>3b</b> 100	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	H	60.4±2.8(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(4) <sup>c</sup>	0.0±0.0(4) <sup>c</sup>	60.4±6.7(4) <sup>c</sup>
50					0.0±0.0(4) <sup>c</sup>	3.8±3.3(4) <sup>c</sup>	
20					0.0±0.0(4) <sup>c</sup>	32.8±17.3(4) <sup>c</sup>	
10					24.7±13.5(4) <sup>c</sup>	82.7±1.3(4) <sup>c</sup>	
5					54.0±15.7(4) <sup>a</sup>		
2					80.5±1.3(4) <sup>c</sup>		
1					81.9±0.7(4) <sup>c</sup>		
IC <sub>50</sub>				> 300 μM	23.1 μM	91.8 μM	> 300 μM
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>3c</b> 100	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	H	70.1±1.4(3) <sup>c</sup>	64.6±3.2(3) <sup>c</sup>	63.8±1.1(3) <sup>c</sup> *	69.0±1.0(3) <sup>c</sup>
50					77.0±1.9(3) <sup>c</sup>	81.6±1.0(3) <sup>c</sup>	
20					83.5±0.8(3) <sup>c</sup>	86.5±1.4(3) <sup>c</sup>	
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>3d</b> 100	<i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	H	73.5±2.0(3) <sup>c</sup>	62.1±4.1(3) <sup>c</sup>	61.1±3.6(3) <sup>c</sup>	80.1±4.7(3) <sup>a</sup>
50					75.3±2.2(3) <sup>c</sup>	79.9±2.9(3) <sup>c</sup>	
20					81.9±1.8(3) <sup>c</sup>	83.2±3.0(3) <sup>c</sup>	
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>4a</b> 100	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	74.6±1.5(3) <sup>c</sup>		0.0±0.0(4) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>
50					0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	2.9±2.5(4) <sup>c</sup>	69.5±6.8(3)
20					14.0±6.3(3) <sup>c</sup>	67.0±13.2(4)	88.0±1.5(3)
10					36.0±14.8(3) <sup>c</sup>	87.8±0.7(4) <sup>b</sup>	
5					82.3±2.4(3) <sup>c</sup>		
IC <sub>50</sub>				> 300 μM	50.9 μM	123.4 μM	189.5 μM
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>4b</b> 100	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	57.4±5.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(4) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>
50						0.0±0.0(4) <sup>c</sup>	8.9±7.2(3) <sup>c</sup>
20						22.0±11.1(4) <sup>c</sup>	86.7±1.2(3)
10					0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	71.8±6.7(4) <sup>a</sup>	
5					18.8±8.9(3) <sup>c</sup>	85.3±0.9(4) <sup>a</sup>	
2					81.3±3.5(3)		
IC <sub>50</sub>				> 300 μM	12.5 μM	57.9 μM	123.7 μM
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>4c</b> 100	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	65.9±4.8(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>
50					0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>
20					87.2±0.3(3)	86.1±0.8(3) <sup>c</sup>	84.9±2.7(3)
IC <sub>50</sub>				> 300 μM	85.1 μM	84.2 μM	84.8 μM

續表一

Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>4d</b> 100	<i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	60.9±7.5(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>
50					0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	66.7±11.1(3) <sup>c</sup>
20					84.4±0.6(3)	87.0±2.5(3)	88.2±0.9(3)
IC <sub>50</sub>				> 300 μM	84.1 μM	84.7 μM	167.6 μM
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>5</b> 50	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COCH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	本身促進血小板凝集			
20				88.3±0.6(3) <sup>c</sup>	84.2±0.7(3) <sup>c</sup>	85.2±0.3(3) <sup>c</sup>	86.0±1.8(3) <sup>a</sup>
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>6</b> 100	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COCH <sub>3</sub>	H	71.7±1.3(3) <sup>c</sup>	53.1±7.5(4) <sup>c</sup>	39.1±6.3(3) <sup>c</sup>	66.3±0.5(3) <sup>c</sup>
50					71.9±3.0(4) <sup>c</sup>	64.3±2.4(3) <sup>c</sup>	81.0±0.7(3) <sup>c</sup>
20					81.9±1.2(4) <sup>c</sup>	85.6±0.9(3) <sup>c</sup>	
IC <sub>50</sub>					365.2 μM	263.9 μM	563.5 μM
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>7</b> 100	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=NON	H	26.4±4.5(4) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(4) <sup>c</sup>	13.6±0.7(3) <sup>c</sup>
50				79.9±0.9(4) <sup>c</sup>	0.0±0.0(3) <sup>c</sup>	0.0±0.0(4) <sup>c</sup>	66.6±1.7(3) <sup>c</sup>
20					67.7±2.6(3) <sup>c</sup>	45.0±11.4(4) <sup>b</sup>	84.8±1.6(3) <sup>c</sup>
10					81.4±1.6(3) <sup>c</sup>	77.7±3.4(3) <sup>b</sup>	
IC <sub>50</sub>					83.4 μM	71.7 μM	198.0 μM
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>8</b> 50	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COOH	H	89.6±0.6	51.4±0.6(3) <sup>c</sup>	30.9±11.6(4) <sup>c</sup>	89.2±0.5(3) <sup>*</sup>
20					83.5±1.1(3) <sup>b</sup>	84.6±2.0(4)	
IC <sub>50</sub>				> 300 μM	175.4 μM	121.3 μM	> 300 μM
Control				90.4±0.5(4)	89.3±0.9(4)	88.3±0.3(4)	90.7±0.4(4)
<b>9</b> 100	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	61.6±0.3(3) <sup>c</sup>	53.5±4.9(3) <sup>c</sup>	8.7±1.0(4) <sup>c</sup>	58.6±0.6(3) <sup>c</sup>
50				82.5±1.2(3) <sup>c</sup>	65.0±1.4(3) <sup>c</sup>	19.6±1.2(4) <sup>c</sup>	81.4±1.2(3) <sup>c</sup>
20					70.4±0.9(3) <sup>c</sup>	77.0±4.7(4) <sup>a</sup>	
10					79.9±2.9(3) <sup>c</sup>		
IC <sub>50</sub>				> 300 μM	317.9 μM	135.9 μM	> 300 μM

Platelets were incubated with test sample at 37 °C for 1 min before thrombin (0.1 unit/ml), AA (100 μM), collagen (10 μg/mL) or PAF (2 ng/ml) was added to trigger aggregation. Values are presented as mean ± S.E. and the concentration (μM) causing 50% inhibition of platelet aggregation (IC<sub>50</sub>). <sup>a</sup>: P < 0.05, <sup>b</sup>: P < 0.01, <sup>c</sup>: P < 0.001

表二. 化合物 11-17 對血小板凝集之抑制活性



Compd conc							
	$\mu$ g/ml	R	R'	Thrombin	AA	Collagen	PAF
Control				92.5 $\pm$ 0.4(3)	87.8 $\pm$ 0.6(6)	87.8 $\pm$ 1.3(4)	90.2 $\pm$ 0.5(4)
<b>11</b>	100	CH <sub>3</sub>	H	81.6 $\pm$ 3.9(3) <sup>a</sup>	39.4 $\pm$ 4.4(4) <sup>c</sup>	37.2 $\pm$ 1.43) <sup>c</sup>	42.1 $\pm$ 4.5(4) <sup>c</sup>
Control				92.5 $\pm$ 0.4(3)	87.8 $\pm$ 0.6(6)	87.8 $\pm$ 1.3(4)	90.2 $\pm$ 0.5(4)
<b>12</b>	100	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	33.3 $\pm$ 3.6(3) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(4) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(4) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(4) <sup>c</sup>
	50			本身促進血小板凝集		56.6 $\pm$ 8.3(6)	
	20				31.4 $\pm$ 17.2(5) <sup>b</sup>	85.6 $\pm$ 8.3(3) <sup>c</sup>	
	10				83.3 $\pm$ 4.5(4)		
Control				92.5 $\pm$ 0.4(3)	87.8 $\pm$ 0.6(6)	87.8 $\pm$ 1.3(4)	90.2 $\pm$ 0.5(4)
<b>13</b>	100	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	41.2 $\pm$ 7.0(3) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(4) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>	1.1 $\pm$ 0.9(4) <sup>c</sup>
	50			本身促進血小板凝集		37.9 $\pm$ 11.8(3)	
	20			29.5 $\pm$ 16.2(4) <sup>a</sup>		87.9 $\pm$ 0.8(3) <sup>c</sup>	
	10			70.5 $\pm$ 8.6(4) <sup>a</sup>			
Control				90.4 $\pm$ 0.5(4)	89.3 $\pm$ 0.9(4)	88.3 $\pm$ 0.3(4)	90.7 $\pm$ 0.4(4)
<b>14</b>	100	<i>iso</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	71.1 $\pm$ 6.8(3) <sup>a</sup>	48.9 $\pm$ 9.0(4) <sup>c</sup>	26.8 $\pm$ 1.0(3) <sup>c</sup>	38.4 $\pm$ 5.9(3) <sup>c</sup>
Control				90.4 $\pm$ 0.5(4)	89.3 $\pm$ 0.9(4)	88.3 $\pm$ 0.3(4)	90.7 $\pm$ 0.4(4) <sup>c</sup>
<b>15</b>	100	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H		0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>	43.5 $\pm$ 5.6(3) <sup>c</sup>
	20				0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>	
	10				1.4 $\pm$ 1.1(3) <sup>c</sup>	52.0 $\pm$ 10.8(3) <sup>c</sup>	
	10				2.9 $\pm$ 1.2(3) <sup>c</sup>	86.5 $\pm$ 0.8(3) <sup>c</sup>	
	5				63.7 $\pm$ 2.4(3) <sup>c</sup>		
	2				83.6 $\pm$ 1.9(3)		
Control				89.3 $\pm$ 0.9(4)	88.4 $\pm$ 0.3(4)	90.4 $\pm$ 0.5(4)	90.7 $\pm$ 0.4(4) <sup>c</sup>
<b>16</b>	100	CH <sub>3</sub>	CHO	0.0 $\pm$ 0.0(4) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>
	50			34.2 $\pm$ 5.9(4) <sup>c</sup>	10.3 $\pm$ 0.6(3) <sup>c</sup>	14.1 $\pm$ 0.9(3) <sup>c</sup>	8.3 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>
	20			85.8 $\pm$ 1.3(4) <sup>b</sup>	13.0 $\pm$ 0.9(3) <sup>c</sup>	18.4 $\pm$ 1.4(3) <sup>c</sup>	78.0 $\pm$ 3.1(3) <sup>c</sup>
	10				56.8 $\pm$ 1.8(3) <sup>c</sup>	48.3 $\pm$ 2.0(3) <sup>c</sup>	

續表二

				215 $\mu$ M	112 $\mu$ M	112 $\mu$ M	180 $\mu$ M
	5				70.7 $\pm$ 1.1(3)		79.1 $\pm$ 1.3(3) <sup>c</sup>
	2				81.5 $\pm$ 0.7(3) <sup>c</sup>		
	IC <sub>50</sub>						
Control				89.3 $\pm$ 0.9(4)	88.4 $\pm$ 0.3(4)	90.4 $\pm$ 0.5(4)	90.7 $\pm$ 0.4(4) <sup>c</sup>
<b>17</b>	100	CH <sub>3</sub>	CH=NOH	0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(4) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(3) <sup>c</sup>
	50			82.0 $\pm$ 1.0(3) <sup>c</sup>	0.0 $\pm$ 0.0(4) <sup>c</sup>	17.1 $\pm$ 2.9(3) <sup>c</sup>	55.6 $\pm$ 1.1(3) <sup>c</sup>
	20				0.0 $\pm$ 0.0(4) <sup>c</sup>	18.9 $\pm$ 0.4(3) <sup>c</sup>	83.5 $\pm$ 0.8(3) <sup>c</sup>
	10				24.4 $\pm$ 2.9(4) <sup>c</sup>	19.4 $\pm$ 0.7(3) <sup>c</sup>	
	5				30.7 $\pm$ 3.1(4) <sup>c</sup>	44.5 $\pm$ 1.9(3) <sup>a</sup>	
	2				76.4 $\pm$ 1.4(4) <sup>c</sup>	83.5 $\pm$ 0.2(3) <sup>c</sup>	
	1				86.3 $\pm$ 0.6(4) <sup>a</sup>		
	IC <sub>50</sub>				29.5 $\mu$ M	81.7 $\mu$ M	224.5 $\mu$ M

Platelets were incubated with test sample at 37 for 1 min before thrombin (0.1 unit/ml), AA (100  $\mu$  M), collagen (10  $\mu$  g/mL) or PAF (2 ng/ml) was added to trigger aggregation. Values are presented as mean  $\pm$  S.E. and the concentration (  $\mu$  M) causing 50% inhibition of platelet aggregation (IC<sub>50</sub>). <sup>a</sup>: P < 0.05, <sup>b</sup>: P < 0.01, <sup>c</sup>: P < 0.001.



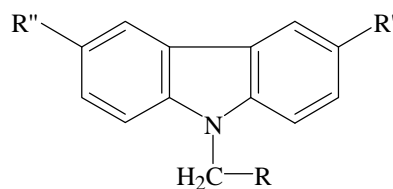
### 第三節 抑制嗜中性白血球脫顆粒反應之活性

化合物 2a-d、3a-d、4a-d 及 5-9、化合物 11-19、化合物 20-24 對嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性如表三、表四及表五所示。很明顯的可以看出来，當 carbazole 環上 3, 6 位沒有取代基團時，所有的化合物 2a-d 都沒有活性。然而當 2a 之 3 位導入-CHO 時 3a 則呈現明顯的抑制活性，其 IC<sub>50</sub> 為 11.2 μ，相當於 positive control TFP，進而將 3a 之 9-benzyl group 以 *o*-chlorobenzyl group 取代形成 3b 時，則活性增強一倍。相反的，3a 之 benzyl group 被 *m*-chlorobenzyl (3c) 及被 *p*-chlorobenzyl (3d) 取代時，則活性都大幅的減弱。

另一方面把 3a、3b 及 3c 之-CHO 還原成-CH<sub>2</sub>OH 分別形成 4a、4b 及 4c 時，其活性並沒有顯著的變化。然而當 9-(*p*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbaldehyde (3d) 還原成 9-(*p*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (4d)，則大幅增強其活性。

在此值得一提的是化合物 4b 及 4d 具有相當強之活性，IC<sub>50</sub> 為 2.0 μ，相當於 positive control TFP 之 6-7 倍。當 3a 之-CHO 被氧化成-COOH (8) 時，其活性減弱一半，不過仍具顯著的活性。同樣的當 3a 之-CHO 改變成-COCH<sub>3</sub> (5 及 6) 或-CH=NOH (7) 時則活性都大幅下降。

表三. 化合物 2a-d、3a-d、4a-d 及 5-9 對嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制  
 活性



Compd	conc $\mu$ M	R	R'	R''	Percent		Release	
					% inhibition	Lysozyme	% inhibition	-Glucuronidase
					14.0 $\pm$ 0.9		34.9 $\pm$ 3.7	
<b>第二章 Co</b>								
<b>ntrol</b>								
<b>TFP</b>	3				14.9 $\pm$ 2.0	7.4 $\pm$ 9.1	31.5 $\pm$ 5.9	17.8 $\pm$ 8.2
	10				7.2 $\pm$ 1.5*	51.3 $\pm$ 8.	16.1 $\pm$ 2.1**	57.8 $\pm$ 4.7
	30				1.2 $\pm$ 1.1**	85.9 $\pm$ 2.5	3.1 $\pm$ 1.9**	90.8 $\pm$ 5.9
	IC <sub>50</sub>				13.8 $\pm$ 3.4		12.3 $\pm$ 3.3	
<b>2a</b>	30	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	H	14.8 $\pm$ 2.0	11.1 $\pm$ 8.9	47.4 $\pm$ 3.2*	-22.2 $\pm$ 6.6
	100				17.7 $\pm$ 0.8	-12.8 $\pm$ 7.9	49.4 $\pm$ 2.3*	-29.5 $\pm$ 11.3
<b>2b</b>	30	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	H	11.9 $\pm$ 0.0	12.7 $\pm$ 7.5	46.1 $\pm$ 1.9	-12.5 $\pm$ 8.0
	100				13.2 $\pm$ 1.3	-0.2 $\pm$ 7.9	48.1 $\pm$ 4.5*	-17.6 $\pm$ 6.3
<b>2c</b>	30	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	H	16.5 $\pm$ 1.0	-23.9 $\pm$ 9.1	48.0 $\pm$ 2.1*	-24.5 $\pm$ 6.8
	100				12.2 $\pm$ 2.1	6.3 $\pm$ 10.2	52.0 $\pm$ 0.1**	-36.3 $\pm$ 9.0
<b>2d</b>	30	<i>P</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	H	10.3 $\pm$ 2.8	14.5 $\pm$ 2.8	48.8 $\pm$ 2.0*	-26.7 $\pm$ 7.0
	100				12.7 $\pm$ 1.2	6.1 $\pm$ 4.3	51.9 $\pm$ 0.7**	-36.2 $\pm$ 9.8
<b>3a</b>	1	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CHO	H	20.6 $\pm$ 0.3**	24.4 $\pm$ 3.6	53.8 $\pm$ 2.5	11.3 $\pm$ 2.4
	3				13.9 $\pm$ 0.8**	48.9 $\pm$ 4.3	43.8 $\pm$ 5.7**	28.4 $\pm$ 5.2
	10				10.0 $\pm$ 1.6**	62.9 $\pm$ 7.1	36.4 $\pm$ 5.9**	40.7 $\pm$ 6.4
	30				9.8 $\pm$ 0.3**	63.8 $\pm$ 2.4	34.5 $\pm$ 3.9**	43.3 $\pm$ 4.8
	IC <sub>50</sub>				11.2 $\pm$ 1.2			

<b>3b</b>	1	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	H	19.5 ± 2.2**	29.1 ± 5.6	45.2 ± 5.5*	25.9 ± 7.2
	3				13.7 ± 2.4**	50.5 ± 7.3	34.5 ± 5.6	43.7 ± 6.1
	10				10.1 ± 0.2**	63.0 ± 2.0	39.1 ± 11.4	37.2 ± 14.6
	IC <sub>50</sub>				5.3 ± 0.3			
<b>3c</b>	10	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	H	14.6 ± 1.6**	46.5 ± 4.4	52.3 ± 2.1	14.1 ± 0.7
	30				13.8 ± 1.3**	49.5 ± 4.7	50.3 ± 5.4	17.7 ± 6.0
	100				13.5 ± 0.5**	49.8 ± 4.6	51.9 ± 4.7	15.2 ± 1.5
續表三								
<b>3d</b>	1	<i>P</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	H	18.8 ± 0.8**	30.9 ± 4.2	48.2 ± 1.4	20.4 ± 1.9
	3				14.7 ± 0.8**	46.0 ± 3.8	48.6 ± 3.6	20.1 ± 1.8
	10				19.1 ± 1.1**	30.1 ± 3.2	47.6 ± 0.4	21.1 ± 3.8
<b>4a</b>	1	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	20.5 ± 0.8**	23.6 ± 8.3		7.5 ± 4.9
	3				17.4 ± 1.6**	36.1 ± 1.5	53.2 ± 3.5	13.0 ± 2.6
	10				10.9 ± 2.1**	60.9 ± 4.5	51.6 ± 7.4	15.8 ± 8.5
	IC <sub>50</sub>				7.3 ± 0.8			
<b>4b</b>	0.3	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	24.6 ± 0.1**	29.1 ± 5.6	57.0 ± 3.5	6.1 ± 1.2
	1				18.5 ± 2.8**	50.5 ± 7.3	51.9 ± 7.2	14.8 ± 3.7
	3				8.8 ± 1.6**	63.0 ± 2.0	55.5 ± 4.1	8.6 ± 2.2
	IC <sub>50</sub>				2.0 ± 0.1			
<b>4c</b>	0.3	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	15.0 ± 1.0**	27.9 ± 13.4	57.6 ± 1.6	5.5 ± 1.4
	1				15.9 ± 1.7**	41.3 ± 7.5	53.2 ± 4.3	12.6 ± 7.0
	3				19.4 ± 2.6**	43.2 ± 10.5	57.1 ± 0.5	6.5 ± 1.9
<b>4d</b>	0.3	<i>P</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	8.1 ± 2.2	18.6 ± 7.0	52.5 ± 1.6	14.7 ± 2.7
	1				16.3 ± 1.5**	39.9 ± 5.1	53.4 ± 2.9	12.3 ± 4.4
	3				21.9 ± 1.2**	68.4 ± 13.7	52.0 ± 2.7	14.1 ± 1.1
	IC <sub>50</sub>				2.0 ± 0.4			
				32.5 ± 0.4		48.2 ± 3.0		

### 第三章 Co

#### ntrol

<b>5</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COCH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	29.9 ± 0.2	7.9 ± 1.7	45.9 ± 5.7	5.3 ± 5.7
	30				30.2 ± 0.6	7.2 ± 1.5	47.3 ± 5.4	2.4 ± 5.0
<b>6</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COCH <sub>3</sub>	H	25.3 ± 0.9*	22.1 ± 2.5	38.4 ± 3.1	20.4 ± 1.8
	30				27.6 ± 1.4	15.4 ± 3.1	39.9 ± 3.4	17.5 ± 1.7
<b>7</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=NOH	H	25.9 ± 1.7	20.3 ± 4.2	45.9 ± 3.1	5.3 ± 2.7



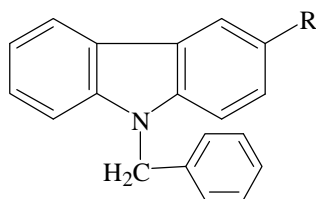
	100			17.5 ± 0.9*	-33.8 ± 8.0	52.4 ± 2.9*	-30.2 ± 8.0
<b>14</b>	10	<i>iso</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	12.6 ± 0.9	11.8 ± 1.5	--	--
	30			11.9 ± 2.8	18.7 ± 6.7	49.3 ± 4.5*	-21.6 ± 6.4
	100			18.2 ± 1.7*	-25.1 ± 2.1	56.3 ± 2.0*	-28.7 ± 9.0
<b>15</b>	30	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H	9.2 ± 0.0	27.9 ± 1.5	55.6 ± 1.7*	-35.0 ± 5.5
	100			12.9 ± 2.9	21.1 ± 10.6	52.4 ± 3.6*	-25.8 ± 8.0
<b>16</b>	3	CH <sub>3</sub>	CHO	30.6 ± 2.1	5.7 ± 6.8	47.3 ± 2.6	1.5 ± 4.7
	10			22.4 ± 0.7**	31.1 ± 1.8	39.9 ± 1.8	16.8 ± 2.2
	30			13.0 ± 0.5**	59.9 ± 2.0	29.5 ± 2.3**	38.8 ± 1.0
	IC <sub>50</sub>			22.9 ± 0.3			
<b>17</b>	10	CH <sub>3</sub>	CHNOH	23.7 ± 0.6**	27.3 ± 2.7	44.6 ± 4.0	7.7 ± 2.2
	30			24.6 ± 0.6*	24.5 ± 2.4	46.1 ± 3.1	4.4 ± 1.6

續表四

<b>control</b>				14.0 ± 0.9		34.9 ± 3.7	
<b>TFP 3</b>				38.7 ± 1.9	-3.4 ± 2.1	69.9 ± 3.0	-27.0 ± 4.1
	10			17.9 ± 0.3	38.3 ± 2.7**	39.1 ± 0.3**	27.5 ± 5.8*
	30			5.0 ± 0.6	87.1 ± 2.7**	2.6 ± 0.6**	94.3 ± 2.1**
	IC <sub>50</sub>			12.2 ± 0.3		13.2 ± 0.7	
<b>18</b>	10	CH <sub>3</sub>	CH=CHCOOH	31.0 ± 0.7	16.2 ± 6.2	52.3 ± 1.6	4.1 ± 6.4
	30			23.9 ± 2.3	35.2 ± 8.4	42.8 ± 4.2	21.2 ± 10.4*
				10.4 ± 2.4	71.3 ± 8.2	28.7 ± 4.1	47.0 ± 9.2**
	IC <sub>50</sub>			15.8 ± 5.4			
<b>19</b>	10	CH <sub>3</sub>	C=NNHCONH <sub>2</sub>	35.7 ± 3.0	4.6 ± 1.5	58.1 ± 2.5	-5.8 ± 1.1
	30			32.4 ± 1.2	13.0 ± 4.5	52.9 ± 0.6	3.2 ± 2.9

a: Data are presented as mean ± S.E. ; b: Inducer: 1 μ M fMLP + 5 μ g/ml cytochalasin B. c: \*P < 0.005, \*\*P < 0.001, N=3. d: TFP: trifluoperazine (positive control).

表五. 化合物 20-24 對嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性



Compd conc $\mu$ M	R	Percent		Release	
		-Glucuronidase % inhibition	Lysozyme % inhibition	% inhibition	
			37.8 $\pm$ 1.8	54.9 $\pm$ 2.3	
<b>第四章C</b>					
<b>ont</b>					
<b>rol</b>					
<b>TFP 3</b>		38.7 $\pm$ 1.9	-3.4 $\pm$ 2.1	69.9 $\pm$ 3.0	-27.0 $\pm$ 4.1
10		17.9 $\pm$ 0.3	38.3 $\pm$ 2.7**	39.1 $\pm$ 0.3**	27.5 $\pm$ 5.8*
30		5.0 $\pm$ 0.6	87.1 $\pm$ 2.7**	2.6 $\pm$ 0.6**	94.3 $\pm$ 2.1**
IC <sub>50</sub>		12.2 $\pm$ 0.3		13.2 $\pm$ 0.7	

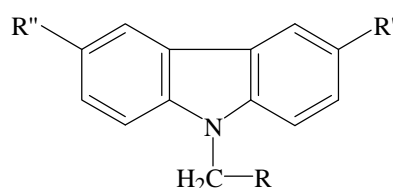
10	10	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	37.4 ± 1.5	-0.3 ± 1.3	55.2 ± 0.6	-0.8 ± 1.5
	30		33.1 ± 1.2	11.0 ± 2.3	48.6 ± 1.2	11.3 ± 2.0
20	3	CH=CHCOOH	23.2 ± 1.0**	28.6 ± 3.3	35.9 ± 2.9*	25.6 ± 2.5
	10		17.2 ± 0.2**	49.6 ± 1.6	28.3 ± 2.5**	41.4 ± 1.6
	30		7.4 ± 0.6**	77.2 ± 1.7	21.2 ± 3.3**	56.5 ± 4.1
	IC <sub>50</sub>		13.7 ± 0.7		22.6 ± 2.6	
21	10	CH=C(COOEt) <sub>2</sub>	38.2 ± 2.0	-2.3 ± 1.3	57.8 ± 1.6	-5.3 ± 2.0
	30		37.8 ± 1.1	-1.4 ± 2.5	56.5 ± 0.1	-3.2 ± 4.1
22	10	CH=CH(CN) (COOEt)	39.7 ± 0.8	-6.8 ± 3.1	63.2 ± 1.6	-15.3 ± 4.1
	30		39.1 ± 0.8	-5.2 ± 3.2	60.4 ± 1.4	-10.1 ± 2.5
23	10	CH=CHCOCH <sub>3</sub>	31.5 ± 1.0	15.2 ± 1.6	51.9 ± 1.7	5.4 ± 0.8
	30		29.8 ± 1.4	20.1 ± 0.2*	48.9 ± 1.3	10.6 ± 5.4
24	30	CH=CHCOOEt	37.6 ± 1.2	-1.0 ± 1.6	58.8 ± 0.8	-7.2 ± 6.4
	100		36.4 ± 216	2.7 ± 2.2	58.0 ± 3.4	-5.7 ± 10.4

a: Data are presented as mean ± S.E. ; b: Inducer: 1 μ M fMLP + 5 μ g/ml cytochalasin B. c: \*P < 0.005, \*\*P < 0.001, N=3. d: TFP: trifluoperazine (postive control).

#### 第四節 嗜中性白血球過氧化物形成反應之抑制活性

如表六所示，各化合物化合物對過氧化物形成反應之抑制活性，活性不顯著，大部份 IC<sub>50</sub> 大於 30 μ M。

表六. 化合物 2a-d、3a-d、4a-d 及 5-24 對嗜中性白血球過氧化物形成反應之抑制活性



Compd	Conc.( $\mu$ M)	R	R'	R''	Superoxide	anion	formation
					nmol/10 <sup>6</sup> cells	% inhibition	
<b>control</b>					4.1 $\pm$ 0.4		
<b>TFP</b>	3				2.9 $\pm$ 0.9	22.5 $\pm$ 4.3	
	5				0.8 $\pm$ 0.3*	52.5 $\pm$ 2.0	
	10				0.2 $\pm$ 0.1**	59.7 $\pm$ 0.1	
	IC <sub>50</sub>					7.4 $\pm$ 0.4 $\mu$ M	
<b>control</b>					4.1 $\pm$ 0.4		
<b>2a</b>	30	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	H	4.4 $\pm$ 0.5	-4.4 $\pm$ 3.1	
	100				0.4 $\pm$ 0.4	-6.7 $\pm$ 1.2	
	IC <sub>50</sub>					> 100 $\mu$ M	
<b>control</b>					4.1 $\pm$ 0.4		
<b>2b</b>	30	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	H	4.5 $\pm$ 0.4	-7.1 $\pm$ 1.5	
	100				4.4 $\pm$ 0.4	-5.5 $\pm$ 0.7	
	IC <sub>50</sub>					> 100 $\mu$ M	
<b>control</b>					4.1 $\pm$ 0.4		
<b>2c</b>	30	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	H	4.4 $\pm$ 0.4	-4.7 $\pm$ 4.3	
	100				4.4 $\pm$ 0.3	-4.0 $\pm$ 4.0	
	IC <sub>50</sub>					> 100 $\mu$ M	
<b>control</b>					4.1 $\pm$ 0.4		
<b>2d</b>	30	<i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	H	4.5 $\pm$ 0.3	-7.0 $\pm$ 4.0	
	100				4.1 $\pm$ 0.5	2.8 $\pm$ 2.3	
	IC <sub>50</sub>					> 100 $\mu$ M	
<b>Control</b>					3.31 $\pm$ 0.32		
<b>TFP</b>	1				3.12 $\pm$ 0.59	2.3 $\pm$ 9.0	
	3				1.89 $\pm$ 0.59**	44.2 $\pm$ 12.4	
續表六							
	10				0.53 $\pm$ 0.06**	82.9 $\pm$ 3.3	
						5.6 $\pm$ 0.30	
<b>control</b>					3.31 $\pm$ 0.32		
<b>3a</b>	30	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CHO	H	3.54 $\pm$ 0.45	4.6 $\pm$ 11.3	
	100				3.89 $\pm$ 0.90	-1.6 $\pm$ 18.4	
	IC <sub>50</sub>					> 100 $\mu$ M	
<b>control</b>					3.31 $\pm$ 0.32		
<b>3b</b>	30	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	H	3.43 $\pm$ 0.39	7.5 $\pm$ 9.8	
	100				4.15 $\pm$ 0.43	-10.7 $\pm$ 1.9	
	IC <sub>50</sub>					> 100 $\mu$ M	
<b>control</b>					3.31 $\pm$ 0.32		
<b>3c</b>	30	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	H	3.98 $\pm$ 0.28	-6.8 $\pm$ 2.3	
	100				3.93 $\pm$ 0.23	-6.1 $\pm$ 5.7	
	IC <sub>50</sub>					> 100 $\mu$ M	
<b>control</b>					3.31 $\pm$ 0.32		
<b>3d</b>	30	<i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	H	3.66 $\pm$ 0.47	-5.2 $\pm$ 2.7	
	100				4.06 $\pm$ 1.03	-15.1 $\pm$ 17.6	
	IC <sub>50</sub>					> 100 $\mu$ M	
<b>control</b>					3.31 $\pm$ 0.32		
<b>4a</b>	30	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	3.74 $\pm$	2.3 $\pm$ 13.9	



	100				3.44 ±	8.6 ± 4.7
	IC <sub>50</sub>					> 100 μ M
<b>control</b>					3.31 ± 0.32	
<b>4b</b>	10	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	4.15 ± 0.02	-48.5 ± 9.0
	30				4.24 ± 0.05**	-51.8 ± 9.2
	100				4.36 ± 0.12**	-56.2 ± 11.0
	IC <sub>50</sub>					> 100 μ M
<b>control</b>					3.31 ± 0.32	
<b>4c</b>	30	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	3.93 ± 0.84*	-33.7 ± 14.2
	100				4.25 ± 0.50*	-29.0 ± 8.9
	IC <sub>50</sub>					> 100 μ M
<b>control</b>					3.31 ± 0.32	
<b>4d</b>	10	<i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	3.07 ± 0.16	-9.3 ± 3.8
	30				2.97 ± 0.08	-6.0 ± 5.3
	IC <sub>50</sub>					> 100 μ M
<b>control</b>					2.81 ± 0.17	
<b>TFP</b>	3				2.13 ± 0.04	23.7 ± 3.5
	10				0.56 ± 0.08**	79.2 ± 4.3
	30				0.22 ± 0.09**	91.9 ± 4.3
	IC <sub>50</sub>					9.7 ± 1.1 μ M
<b>control</b>					2.81 ± 0.17	
<b>5</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COCH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	2.44 ± 0.13	12.0 ± 9.4
	30				3.01 ± 0.12	8.0 ± 9.4
	IC <sub>50</sub>					> 30 μ M
<b>control</b>					2.81 ± 0.17	
<b>6</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COCH <sub>3</sub>	H	2.47 ± 0.29	10.7 ± 14.4
	30				1.52 ± 0.20**	45.7 ± 7.6
	IC <sub>50</sub>					> 30 μ M
<b>續表六</b>						
<b>control</b>					2.81 ± 0.17	
<b>7</b>	3	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=NOH	H	3.35 ± 0.10	-20.0 ± 5.4
	10				3.78 ± 0.18*	-36.7 ± 11.8
	30				5.35 ± 0.11**	-93.1 ± 12.4
	IC <sub>50</sub>					> 30 μ M
<b>control</b>					2.81 ± 0.17	
<b>8</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COOH	H	2.80 ± 0.25	0.3 ± 5.6
	30				3.07 ± 0.18	9.9 ± 8.4
	IC <sub>50</sub>					> 30 μ M
<b>control</b>					2.81 ± 0.17	
<b>9</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	3.26 ± 0.52	-11.4 ± 8.5 μ M
	30				2.13 ± 0.31	23.3 ± 13.5
	IC <sub>50</sub>					> 30 μ M
<b>control</b>					6.95 ± 0.33	
<b>10</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	7.36 ± 0.46	-6.5 ± 9.4
	30				6.34 ± 0.09	8.3 ± 5.7
	IC <sub>50</sub>					> 30 μ M
<b>control</b>					5.85 ± 0.50	
<b>TFP</b>	3				6.04 ± 0.19	-4.5 ± 10.0
	5				4.60 ± 0.21	20.7 ± 6.5*
	10				2.32 ± 0.18	60.0 ± 4.8**

							8.3 ± 0.8 μ M
<b>control</b>							
<b>11</b>	30	H	H	H	4.1 ± 0.4		
	100				4.5 ± 0.5		-7.9 ± 1.9
	IC <sub>50</sub>				4.3 ± 0.4		-1.2 ± 2.4
							> 100 μ M
<b>control</b>							
<b>12</b>	30	CH <sub>3</sub>	H	H	4.1 ± 0.4		
	100				4.3 ± 0.3		-3.1 ± 2.1
	IC <sub>50</sub>				4.4 ± 0.4		-5.7 ± 1.0
							> 100 μ M
<b>control</b>							
<b>13</b>	30	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	H	4.1 ± 0.4		
	100				4.4 ± 0.3		-6.6 ± 2.1
	IC <sub>50</sub>				4.3 ± 0.4		-2.3 ± 1.2
							> 100 μ M
<b>control</b>							
<b>14</b>	30	<i>iso</i> -C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	H	4.1 ± 0.4		
	100				4.1 ± 0.4		-0.6 ± 1.4
	IC <sub>50</sub>				4.3 ± 0.4		-3.6 ± 1.7
							> 100 μ M
<b>control</b>							
<b>15</b>	30	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	H	4.1 ± 0.4		
	100				4.5 ± 0.1		-7.8 ± 8.4
	IC <sub>50</sub>				4.4 ± 0.1		-7.0 ± 6.9
							> 100 μ M
<b>control</b>							
<b>16</b>	10	H	CHO	H	2.81 ± 0.17		
	30				2.12 ± 0.22		22.9 ± 12.1
	IC <sub>50</sub>				1.72 ± 0.24**		38.3 ± 10.1
							> 30 μ M
<b>control</b>							
<b>17</b>	30	H	CH=NOH	H	2.81 ± 0.17		
	100				2.08 ± 0.32**		27.2 ± 8.3
	IC <sub>50</sub>				2.51 ± 0.07		10.2 ± 3.9
							> 30 μ M
<b>續表六</b>							
<b>control</b>							
<b>18</b>	10	H	CH=CHCOOH	H	6.95 ± 0.3		
	30				5.61 ± 0.44		22.8 ± 7.1
	IC <sub>50</sub>				5.20 ± 0.21		24.6 ± 6.6
							> 30 μ M
<b>Control</b>							
<b>19</b>	10	H	CH=NNHCONH <sub>2</sub>	H	6.95 ± 0.3		
	30				4.99 ± 0.46		28.0 ± 5.9*
	IC <sub>50</sub>				3.66 ± 0.41		47.1 ± 6.3**
							> 30 μ M
<b>control</b>							
<b>TFP</b>	1				6.95 ± 0.3		
	3				5.74 ± 0.12		17.1 ± 2.5
	10				3.61 ± 0.29		47.6 ± 5.9**
	IC <sub>50</sub>				1.54 ± 0.10		77.9 ± 1.1**
							3.4 ± 0.3 μ M
<b>control</b>							
<b>20</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=CHCOOH	H	2.81 ± 0.17		
	30				3.22 ± 0.18		-16.2 ± 12.6
	IC <sub>50</sub>				2.64 ± 0.16		5.2 ± 7.7
							> 30 μ M
<b>control</b>							
<b>21</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CHC(COOEt) <sub>2</sub>	H	6.95 ± 0.33		
	30				6.16 ± 0.48		11.5 ± 3.0
	IC <sub>50</sub>				6.25 ± 0.16		9.4 ± 6.8
							> 30 μ M

<b>control</b>					6.95 ± 0.33	
<b>22</b>	10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=NNHCONH <sub>2</sub>	H	6.85 ± 0.26	1.1 ± 4.8
	30				3.02 ± 0.31	12.9 ± 6.7
	IC <sub>50</sub>					> 30 μ M
<b>control</b>					6.95 ± 0.33	
<b>23</b>	10		CHC(COOEt)(CN)	H	6.52 ± 0.32	6.2 ± 1.5
	30				6.44 ± 0.23	6.7 ± 7.8
	IC <sub>50</sub>					> 30 μ M
<b>control</b>		C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=CHCOOEt	H	6.95 ± 0.33	
<b>24</b>	10				7.35 ± 0.21	-6.5 ± 8.6
	30				6.80 ± 0.25	1.7 ± 5.3
	IC <sub>50</sub>					> 30 μ M
<b>control</b>					6.95 ± 0.33	
<b>TFP</b>	1				5.74 ± 0.12	17.1 ± 2.5
	3				3.61 ± 0.29	47.6 ± 5.9**
	10				1.54 ± 0.10	77.6 ± 1.1**
	IC <sub>50</sub>					3.4 ± 0.3 μ M

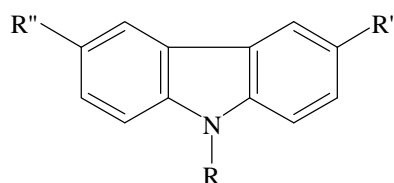
a. Data are presented as mean ± S.E. b. Inducer : PMA 3 nM. c. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$ , N= 3~6. c.

TFP: trifluoperazine (as positive control).

## 第五節 肥胖細胞脫顆粒反應之抑制活性

如表七所示，各化合物化合物對肥胖細胞之脫顆粒反應之抑制活性，活性皆不顯著。

表七. 化合物 2a-d、3a-d、4a-d 及 5-24 對肥胖細胞之脫顆粒反應之抑制活性



compsdconc				Percent release				
$\mu$ M	R	R'	R''	-Glucuronidase % inhibition	Histamine	% inhibition		
<b>Control</b>				18.0 $\pm$ 0.9	--	25.0 $\pm$ 1.0	18.0 $\pm$ 0.9	
<b>Mepacrine 10</b>				13.4 $\pm$ 0.5**	25.2 $\pm$ 0.9	16.6 $\pm$ 1.7**	73.8 $\pm$ 4.2	
20				9.0 $\pm$ 1.0**	49.6 $\pm$ 4.2	12.2 $\pm$ 2.1**	38.1 $\pm$ 8.3(4)*	
30				6.8 $\pm$ 0.5	62.1 $\pm$ 1.1	4.8 $\pm$ 2.4**	93.4 $\pm$ 8.8	
IC <sub>50</sub>				22.3 $\pm$ 1.0		14.7 $\pm$ 1.7		
<b>Control</b>				19.0 $\pm$ 0.2	--	23.7 $\pm$ 1.7	--	
<b>2a</b>	3	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	H	21.1 $\pm$ 0.5	- 4.3 $\pm$ 5.7	22.2 $\pm$ 2.7	2.7 $\pm$ 4.4
10				19.5 $\pm$ 0.1	- 3.8 $\pm$ 8.5	26.4 $\pm$ 1.1	- 6.4 $\pm$ 7.9	
<b>Control</b>				19.0 $\pm$ 0.2	--	23.7 $\pm$ 1.7	--	
<b>2b</b>	30	CH <sub>2</sub> -( <i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	H	H	22.8 $\pm$ 0.9	2.2 $\pm$ 7.9	25.4 $\pm$ 3.9	- 4.9 $\pm$ 10.2
100				26.8 $\pm$ 2.0	9.1 $\pm$ 7.2	22.7 $\pm$ 3.7	5.9 $\pm$ 11.8	
<b>Control</b>				19.0 $\pm$ 0.2	--	23.7 $\pm$ 1.7	--	
<b>2c</b>	30	CH <sub>2</sub> -( <i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	H	H	21.2 $\pm$ 0.9	- 2.2 $\pm$ 8.3	25.3 $\pm$ 3.6	4.8 $\pm$ 9.6
100				23.7 $\pm$ 0.6	- 0.5 $\pm$ 2.3	25.6 $\pm$ 3.1	7.2 $\pm$ 6.8	
<b>Control</b>				19.0 $\pm$ 0.2	--	23.7 $\pm$ 1.7	--	
<b>2d</b>	30	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	H	H	20.9 $\pm$ 1.6	0.4 $\pm$ 10.2	22.1 $\pm$ 2.4	7.6 $\pm$ 4.6
100				22.9 $\pm$ 0.8	1.3 $\pm$ 5.6	26.8 $\pm$ 2.9	- 12.8 $\pm$ 8.4	

續表七

<b>Control</b>				29.6 $\pm$ 1.6	57.5 $\pm$ 3.8.			
<b>3a</b>	30	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CHO	H	18.5 $\pm$ 2.6*	38.9 $\pm$ 5.2	38.3 $\pm$ 0.5	22.0 $\pm$ 1.8
100				16.4 $\pm$ 3.7**	47.2 $\pm$ 9.2	37.4 $\pm$ 2.8	23.8 $\pm$ 5.5	
<b>Control</b>				29.6 $\pm$ 1.6	57.5 $\pm$ 3.8.			
<b>3b</b>	30	CH <sub>2</sub> -( <i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CHO	H	20.0 $\pm$ 3.2*	30.3 $\pm$ 9.7	42.3 $\pm$ 2.7	14.0 $\pm$ 4.0
100				17.5 $\pm$ 3.7**	43.3 $\pm$ 9.0	38.6 $\pm$ 0.6	21.3 $\pm$ 2.0	
<b>Control</b>				29.6 $\pm$ 1.6	57.5 $\pm$ 3.8.			
<b>3c</b>	10	CH <sub>2</sub> -( <i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CHO	H	20.9 $\pm$ 4.3*	34.0 $\pm$ 7.7	56.6 $\pm$ 5.1	15.5 $\pm$ 8.1
30				18.0 $\pm$ 2.8**	40.1 $\pm$ 7.2	42.5 $\pm$ 5.6**	27.7 $\pm$ 5.6	
100				13.8 $\pm$ 2.2**	54.6 $\pm$ 4.6	38.7 $\pm$ 5.8**	34.6 $\pm$ 5.9	
IC <sub>50</sub>				77.2 $\pm$ 10.7				
<b>Control</b>				29.6 $\pm$ 1.6	57.5 $\pm$ 3.8.			

<b>3d</b>	10	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CHO	H	21.6±5.7	32.7±12.4	59.7±1.8	9.4±1.2
	30				16.6±2.8	45.4±6.9	44.5±6.5**	24.6±6.6
	100				11.8± 2.4**	59.3 ± 6.9	38.1±5.8**	35.4±6.2
	IC <sub>50</sub>				69.6±17.9			
<b>Control</b>					29.6± 1.6		57.5 ± 3.8.	
<b>4a</b>	3	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	22.9±1.6	22.9±4.4	41.5±1.2	15.5±1.7
	10				21.6±2.1	27.5±6.5	41.3±1.9	15.8±3.9
<b>Control</b>					29.6 ± 1.6		57.5±3.8.	
<b>4b</b>	3	CH <sub>2</sub> -( <i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CH <sub>2</sub> OH	H	22.5±1.3	24.6±8.1	42.1±1.1	14.2±2.2
	10				24.5±0.2	17.6±3.3	45.5±1.6	7.4±1.8
<b>Control</b>					29.6 ± 1.6		57.5 ± 3.8.	
<b>4c</b>	3	CH <sub>2</sub> -( <i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CH <sub>2</sub> OH	H	18.4 ± 3.9	39.0±0.1	33.1±2.3 <sup>b</sup>	32.6±3.7
	10				21.9±1.4	26.6±12.8	36.9±1.2 <sup>b</sup>	24.6±3.6
<b>Control</b>					29.6 ± 1.6		57.5±3.8.	
<b>4d</b>	1	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CH <sub>2</sub> OH	H	20.2±0.8	32.1±4.5	38.6±1.4*	21.4±2.3
	3				21.2±4.1	28.8±2.0	41.3±5.0	16.2±8.8
<b>Control</b>					43.2±1.6		56.7±2.0	
<b>5</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COCH <sub>3</sub>	COCH	41.6±3.1	3.9±2.8	45.1±5.8*	21.0±7.5
	30				36.8±2.6	14.8±14.8	45.9±4.9	19.1±7.0
<b>Control</b>					43.2±1.6		56.7±2.0	
<b>6</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>			42.3±0.7	1.9±4.5	53.4±2.0	5.8±1.6
	30				34.0±2.4*	20.9±6.5	44.8±2.9*	21.0±3.0
<b>control</b>					43.2±1.6		56.7±2.0	
<b>7</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=NOH	H	39.5±0.4	8.5±2.5	50.1±3.6	11.7±3.2
	30				36.6±3.5	15.7±5.0	48.6±1.1	13.9±4.7
<b>control</b>					43.2±1.6		56.7±2.0	
<b>8</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>		H	38.8±1.3	10.1±1.5	51.6±2.4	8.9±1.1
	30				34.0±1.6**	21.4±1.5	45.9±3.8	19.1±4.2
<b>control</b>					43.2±1.6		56.7±2.0	
<b>9</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	51.8±2.5	-19.6±1.8	59.5±4.3	-4.7±4.4
	30				51.2±1.8	-18.6±5.1	58.7±2.4	-3.6±2.0
<b>control</b>					31.5±1.4		54.0±0.5	
<b>10</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	38.2±3.4	-20.7±6.6	64.0±2.0	-18.4±4.6
	30				49.7±3.7	-57.3±7.2*	63.4±2.4	-17.4±4.7

續表七

<b>control</b>					18.0 ± 0.9	--	25.0 ± 1.0	--
<b>11</b>	3	CH <sub>3</sub>	H	H	19.8 ± 1.1	- 4.3 ± 5.7	23.1 ± 2.0	2.7 ± 4.4
	10				19.7 ± 1.5	- 3.8 ± 8.5	25.6 ± 3.4	- 6.4 ± 7.9
<b>control</b>					18.0 ± 0.9	--	25.0 ± 1.0	--
<b>12</b>	3	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	H	18.6 ± 1.6	2.2 ± 7.9	25.4 ± 3.9	- 4.9 ± 10.2
	10				17.3 ± 1.5	9.1 ± 7.2	22.7 ± 3.7	5.9 ± 11.8
<b>control</b>					18.0 ± 0.9	--	25.0 ± 1.0	--
<b>13</b>	30	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	H	19.4 ± 1.7	- 2.2 ± 8.3	25.3 ± 3.6	- 4.8 ± 9.6
	100				19.1 ± 0.3	- 0.5 ± 2.3	25.6 ± 3.1	- 7.2 ± 6.8
<b>control</b>					19.0 ± 0.2	--	23.7 ± 1.7	--
<b>14</b>	3	<i>iso</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H		18.9 ± 1.9	0.4 ± 10.2	22.1 ± 2.4	7.6 ± 4.6
	10				18.7 ± 1.1	1.3 ± 5.6	26.8 ± 2.9	- 12.8 ± 8.4
<b>control</b>					18.0 ± 0.9	--	25.0 ± 1.0	--
<b>15</b>	3	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H	H	17.9 ± 0.8	5.7 ± 3.8	25.1 ± 1.6	- 6.7 ± 6.6
	10				20.2 ± 0.5	- 6.4 ± 1.9	26.4 ± 1.5	- 11.9 ± 3.3
<b>control</b>					43.2 ± 1.6		56.7 ± 2.0	43.2 ± 1.6
<b>Mepacrine</b>	10				29.9 ± 0.699	31.9 ± 2.1	42.6 ± 2.7**	24.6 ± 4.1
	20				18.2 ± 1.1**	57.8 ± 2.9	31.6 ± 3.4**	43.5 ± 4.2
	30				5.9 ± 0.8**	86.0 ± 2.1	12.1 ± 1.2**	78.2 ± 1.4
	IC <sub>50</sub>					32.2 ± 3.6		
<b>Control</b>					43.2 ± 1.6		56.7 ± 2.0	
<b>16</b>	10	CH <sub>3</sub>	CHO	H	35.7 ± 3.3	17.8 ± 4.7	48.3 ± 6.0	15.3 ± 7.9
	30				30.7 ± 2.4**	29.1 ± 3.7	40.4 ± 1.9**	28.7 ± 2.4

續表七

<b>control</b>					43.2 ± 1.6		56.7 ± 2.0	
<b>17</b>	10	CH <sub>3</sub>	CH=NOH	H	38.8 ± 1.7	10.4 ± 1.5	50.5 ± 3.6	10.9 ± 3.2
	30				33.3 ± 0.7*	22.8 ± 1.3	44.7 ± 2.7*	21.3 ± 2.0
<b>control</b>					31.5 ± 1.4		54.0 ± 0.5	
<b>18</b>	10	CH <sub>3</sub>	CH=CHCOOH	H	28.4 ± 1.3	9.8 ± 1.4	52.4 ± 0.8	2.9 ± 2.3
	30				40.7 ± 2.3	-30.0 ± 10.5	51.7 ± 2.2	4.3 ± 5.0
<b>control</b>					31.5 ± 1.4		54.0 ± 0.5	
<b>19</b>	10	CH <sub>3</sub>	CH=NNHCONH <sub>2</sub>	H	32.5 ± 1.0	-3.3 ± 1.6	53.9 ± 0.2	0.2 ± 1.4
	30				26.9 ± 1.2	14.70.1	47.9 ± 0.7	11.2 ± 2.3
<b>control</b>					43.2 ± 1.6		56.7 ± 2.0	
<b>20</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=CHCOOH	H	39.6 ± 2.5	8.2 ± 5.7	52.1 ± 4.4	8.4 ± 4.5
	30				39.7 ± 0.03	7.8 ± 3.4	47.2 ± 2.2	16.7 ± 0.9

<b>control</b>					31.5±1.4		54.0±0.5	
<b>21</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=C(COOEt)	H	27.2±0.9	12.8±2.2	57.3±2.3	-6.0±5.4
	30				27.4±1.0	12.9±0.8	57.0±3.5	-5.5±7.6
<b>control</b>					31.5±1.4		54.0±0.5	
<b>22</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=NNHCONH <sub>2</sub>	H	31.7±1.8	-0.5±1.4	65.5±4.1	-22.4±8.2
	30				31.9±1.1	-1.5±4.7	66.6±2.7	-23.3±6.1
<b>control</b>					31.5±1.4		54.0±0.5	
<b>23</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=CHCOCH <sub>3</sub>		37.6±3.0	-19.3±7.8	66.0±4.4	-22.2±9.3
	30				31.9±1.4	-1.2±1.8	60.7±3.4	-12.4±7.5
<b>control</b>					31.5±1.4		54.0±0.5	
<b>24</b>	10	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=CHCOOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	33.5±1.9	-6.0±1.5	61.9±3.1	-14.7±6.6
	30				32.9±1.8	-4.3±1.3	61.4±3.3	-13.6±7.0
<b>control</b>					31.5±1.4		54.0±0.5	
<b>Mepacrine 10</b>					23.6±0.4	24.6±0.7*	41.8±2.5	22.5±1.8*
	30				14.4±0.2	54.0±0.5**	29.4±1.8	45.4±1.2**
	100				4.5±0.3	85.4±1.7**	10.9±0.6	79.7±0.5**
					25.57±0.6		31.6±1.0	

Mast cell were preincubation at 37 °C with 0.5 % DMSO or test compounds for 3 min. of cytochalasin Fifteen minutes after the addition of compound 48/80 (10 µg/ml), β-glucuronidase and histamine activities in the supernatant were determined. Values are presented as mean ± S.E., N=3-4, \*P <0.05 \*\*: P<0.01 .

## 第四節 對 Microglia cells 產生 NO 及 TNF- $\alpha$ 之抑制活性

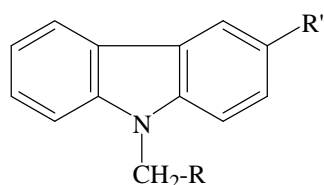
化合物 2a-d, 3a-d, 4a-d 及 5-9 對 LPS / TNF- $\alpha$  所引起的 N9 microglia cell 產生 NO 及 TNF- $\alpha$  之抑制活性如表八所示。

在 Nitrite assay 中化合物 3b 比 positive control 1400 W 更佳的抑制 NO 產生之活性，其 IC<sub>50</sub> 為 3.0 µg/ml，而化合物 3b 之 *o*-Cl 移到 *m* 位 (3c)

時其活性降低約 1/5。若移到 *p* 位 (3d) 時，其活性又大幅下降，若將 Cl 去除 (3a) 其活性亦相當弱。上述化合物 3b, 3c 之 CHO 去除時 (2b 及 2c), 其活性明顯降低。而低活性的化合物 3a 及 3d 除去 CHO 時 (2a, 2d) 活性依然很低。進而將化合物 2a 之 phenyl group 除去時 (11) 活性又減弱。另外化合物 3b 之 -CHO 改變成 -CH<sub>2</sub>OH (4b) 時活性略增。而當化合物 4b 之 *o*-Cl 改變成 *m*-Cl (4c) 及 4'-Cl (4d) 及除去 Cl (4a) 其效價變化傾向與由化合物 3b 變成 3c, 3d 及 3a 時之變化類似。

在 TNF- assay, 化合物 3b 及 4b 具有強效的抑制 LPS / TNF- -induced TNF- 產生之活性, IC<sub>50</sub> 分別為 0.6 及 0.5 μ。

表八. 化合物 2a-d、3a-d、4a-d 對 N9 細胞產生 NO 及 TNF- 之抑制活性





Compd	R	R'	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>a</sup>	
			Nitrite	TNF-α
<b>2</b>	H	H	> 30 ( 6.8 ± 1.0%) <sup>b</sup>	> 30 (21.7 ± 2.9%)
<b>2a</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	> 30 (32.7 ± 0.4%)	> 30 (46.3 ± 1.8%)
<b>2b</b>	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	> 10 (45.9 ± 0.9%)	2.93 ± 0.06
<b>2c</b>	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	> 30 (37.2 ± 1.5%)	> 30 (44.7 ± 1.9%)
<b>2d</b>	<i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	> 10 ( 6.7 ± 2.5%)	> 10 (40.9 ± 7.9%)
<b>3a</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CHO	> 10 (20.0 ± 5.6%)	> 10 (43.9 ± 1.8%)
<b>3b</b>	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	3.0 ± 0.1	0.64 ± 0.23
<b>3c</b>	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	16.4 ± 0.3	6.50 ± 0.13
<b>3d</b>	<i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CHO	> 10 ( 6.2 ± 0.6%)	> 10 (38.4 ± 1.8%)
<b>4a</b>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OH	> 10 (45.0 ± 2.0%)	4.90 ± 0.14
<b>4b</b>	<i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	2.3 ± 0.1	0.52 ± 0.16
<b>4c</b>	<i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	9.9 ± 0.3	4.60 ± 0.12
<b>4d</b>	<i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	CH <sub>2</sub> OH	> 10 (12.9 ± 1.6%)	> 10 (11.1 ± 3.1%)
1400W <sup>c</sup>			6.0 ± 0.1	ND <sup>d</sup>
Dexamethasone <sup>c</sup>			ND	0.10 ± 0.01

<sup>a</sup> TNF-α was measured by using TNF-α ELISA kit and see ref 65 for NO determination. Values are expressed as the means ± S.E. (n = 3). <sup>b</sup> When 50% inhibition could not be reached at the highest concentration, the percent inhibition is given in the parentheses. Compounds that were unable to evaluation at the concentrations > 10 μM because of the cytotoxicity. <sup>c</sup> 1400W (*N*-(3-aminomethyl)benzylacetamide) and dexamethasone are the reference inhibitors for nitrite and TNF-α formation, respectively. <sup>d</sup> ND, not determined.

## 第八節 Carbazole 衍生物(2-15)對 HL60、U937 及 K562 等癌細胞增殖率的影響

將 HL60、U937 及 K562 三種細胞株分別用化合物 2-15 處理 24 小時後，再用 PI 螢光染色，經流式細胞儀偵測並分析存活細胞之數量的百分比值，列記於表九及圖五，從表九及圖五得知這些 carbazole 衍生物，對 HL60、U937 及 K562 等細胞增殖率都有明顯的劑量依存性 (dose-dependent) 抑制作用。

為了探討其結構與活性的相關性，著者將表九數據分別推算其  $IC_{50}$ ，列於表十，這些 carbazole 衍生物的結構與活性之關係敘述如下：

當基本骨架 carbazole 第 9 位接上 benzyl group (2a) 及 *m*-chlorobenzyl group (2c) 時，對 HL60 及 U937 細胞株都呈明顯的抑制活性，但是對 K562 則活性甚弱。當接上 *o*-chlorobenzyl group (2b) 時，則只對 U937 細胞株有活性而已。若接上 *p*-chlorobenzyl group (2d) 時，對三種細胞株都沒有明顯活性。

進而將化合物 2a 之第 3 位導入 -CHO (3a)，其活性與化合物 2d 一樣，都沒有明顯活性。當化合物 3a 之 benzyl group 的 *ortho* 位與 *para* 位，導入 Cl 而形成 3b 及 3c 時，對 HL60 及 U937 細胞株之活性甚強，而且對 K562 也呈明顯的活性。當 3b 或 3c 之 Cl 原子移至 *para* 位 (3d) 時，則只對 U937 細胞株抑制活性很強而已，對其他兩種細胞株活性較弱。

另一方面，當 carbazole 之第 3 位固定為 -CH<sub>2</sub>OH，而第 9 位為 benzyl group (4a) 時，對 U937 呈現相當強的活性，而對其他兩種細胞株之活性只

是中等而已。若將化合物 4a 之 benzyl group 改變成 *o*-chlorobenzyl group (4b)和 *m*-chlorobenzyl group (4c)時，則對 HL60 及 U937 細胞株之抑制活性都很強，對 K562 則比較弱。再將 4b 或 4c 之 Cl 原子移至 *para* 位 (4d) 時，則只對 U937 細胞株之抑制活性很強而已。

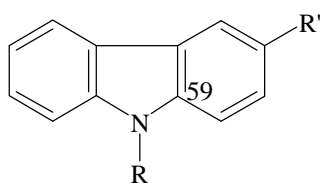
若將 2a 之第 3 位分別導入-COCH<sub>3</sub> (6)及-CH=NOH (7)，則只對 U937 細胞株呈現中等活性而已。

進而將 carbazole 第 9 位接上各種 alkaly group 時 (11-15)，都只有對 U937 細胞株呈現活性而已。

綜合以上結構與活性關係之檢討，可以觀察到這些 carbazole 衍生物對 U937 之抑制活性最為明顯，其次為 HL60，最不明顯的是 K562 細胞株。

另外也可以觀察到 carbazole 第 3 位之-CHO 或-CH<sub>2</sub>OH 以及第 9 位之 chlorobenzyl group 對活性之影響比較大。

表九. Carbazole 衍生物對 HL 60、U937 及 K562 癌細胞之抑制活性



Compds	R	R'	Conc. ( $\mu$ M)	HL-60	cell U937	cell K562	cell
				proliferation	proliferation	proliferation	
				(% of control)	(% of control)	(% of control)	
Control				100.00	100.00	100.00	
<b>2a</b>	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	100	35.1 $\pm$ 0.7 ***	39.3 $\pm$ 3.5 ***	50.4 $\pm$ 4.2 ***	
			50	37.0 $\pm$ 1.6 ***	41.6 $\pm$ 1.1 ***	55.2 $\pm$ 4.9 ***	
			30	45.8 $\pm$ 4.9 ***	52.6 $\pm$ 2.4 ***	62.3 $\pm$ 0.8 ***	
			10	99.9 $\pm$ 0.3	76.6 $\pm$ 5.9 **	83.7 $\pm$ 1.4 **	
<b>2b</b>	CH <sub>2</sub> -( <i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	H	100	47.4 $\pm$ 1.9 ***	15.0 $\pm$ 0.5 ***	50.5 $\pm$ 5.0 ***	
			50	62.6 $\pm$ 3.4 ***	33.0 $\pm$ 2.4 ***	67.5 $\pm$ 0.7 ***	
			30	77.7 $\pm$ 7.0 **	38.9 $\pm$ 1.3 ***	79.0 $\pm$ 2.7 **	
			10	95.8 $\pm$ 0.2 *	82.3 $\pm$ 1.4 ***	96.7 $\pm$ 0.8	
<b>2c</b>	CH <sub>2</sub> -( <i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	H	100	28.9 $\pm$ 2.9 ***	26.4 $\pm$ 2.2 ***	50.3 $\pm$ 3.1 ***	
			50	29.8 $\pm$ 1.2 ***	31.1 $\pm$ 7.5 ***	55.7 $\pm$ 2.4 ***	
			30	37.1 $\pm$ 5.3 ***	31.9 $\pm$ 3.2 ***	58.5 $\pm$ 0.5 ***	
			10	94.0 $\pm$ 5.5	53.4 $\pm$ 2.9 ***	82.7 $\pm$ 2.6 *	
			5	ND	85.1 $\pm$ 3.3 **	ND	
			1	ND	98.6 $\pm$ 1.0	ND	
<b>2d</b>	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	H	100	75.3 $\pm$ 5.2 **	81.9 $\pm$ 1.6 ***	92.6 $\pm$ 0.2	
			50	84.9 $\pm$ 10.1	80.3 $\pm$ 1.0 ***	94.2 $\pm$ 0.7	
			30	90.2 $\pm$ 1.7 **	92.0 $\pm$ 1.5 **	100.1 $\pm$ 1.4	
			10	ND	99.2 $\pm$ 1.2	99.9 $\pm$ 0.6	
<b>3a</b>	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CHO	100	89.8 $\pm$ 4.7 *	80.0 $\pm$ 0.6 ***	93.4 $\pm$ 1.5	
			50	96.3 $\pm$ 4.6	81.9 $\pm$ 1.7 ***	100.3 $\pm$ 4.5	
			30	97.1 $\pm$ 3.5	84.2 $\pm$ 1.0 ***	98.4 $\pm$ 1.2	
			10	ND	95.6 $\pm$ 1.7 *	94.2 $\pm$ 2.6	

續表九

Comps	R	R'	Conc. ( $\mu$ M)	HL-60 cell proliferation (% of control)	U937 cell proliferation (% of control)	K562 cell proliferation (% of control)
Control				100.00	100.00	100.00
<b>3b</b>	CH <sub>2</sub> -( <i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CHO	100	25.0 ± 2.2 ***	ND	40.5 ± 0.6 ***
			50	28.0 ± 1.8 ***	ND	41.2 ± 1.6 ***
			30	26.8 ± 2.8 ***	ND	43.7 ± 1.7 ***
			10	32.6 ± 5.4 ***	ND	90.6 ± 4.5
			5	56.9 ± 2.2 ***	24.0 ± 3.5 ***	90.2 ± 4.8
			1	88.7 ± 2.4 **	49.2 ± 3.2 ***	99.7 ± 3.2
			0.05	97.9 ± 9.1	74.7 ± 0.4 ***	ND
			0.01	ND	90.7 ± 0.6 ***	ND
<b>3c</b>	CH <sub>2</sub> -( <i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CHO	100	23.9 ± 4.1 ***	ND	41.0 ± 2.3 ***
			50	22.4 ± 3.8 ***	ND	42.5 ± 1.5 ***
			30	23.0 ± 5.8 ***	ND	45.2 ± 0.1 ***
			10	23.5 ± 5.1 ***	ND	53.6 ± 2.7 ***
			5	34.5 ± 4.0 ***	ND	58.1 ± 1.5 ***
			1	61.7 ± 9.4 ***	29.0 ± 2.5 ***	97.9 ± 1.3
			0.50	81.9 ± 8.5 ***	73.7 ± 4.9 ***	99.3 ± 1.3
			0.01	102.8 ± 3.1	76.5 ± 3.2 ***	ND
0.05	ND	92.0 ± 2.0 **	ND			
<b>3d</b>	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CHO	100	26.3 ± 3.2 ***	ND	38.3 ± 1.6 ***
			50	25.0 ± 1.8 ***	ND	38.5 ± 0.9 ***
			30	43.3 ± 3.0 ***	ND	45.9 ± 4.6 ***
			10	53.0 ± 2.1 ***	29.6 ± 2.9 ***	80.3 ± 5.5 *
			5	58.9 ± 3.2 ***	32.3 ± 2.8 ***	93.8 ± 3.4
			1	97.0 ± 2.2	49.8 ± 1.5 ***	97.7 ± 3.0
			0.50	ND	60.9 ± 0.2 ***	ND
			0.10	ND	83.6 ± 8.3 *	ND

續表九

Compds	R	R'	Conc. ( $\mu$ M)	HL-60 cell proliferation (% of control)	U937 cell proliferation (% of control)	K562 cell proliferation (% of control)
Control				100.00	100.00	100.00
<b>4a</b>	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OH	100	4.8 ± 0.6 <sup>***</sup>	ND	45.7 ± 1.2 <sup>***</sup>
			50	13.5 ± 1.0 <sup>***</sup>	ND	50.8 ± 1.2 <sup>***</sup>
			30	46.3 ± 5.8 <sup>***</sup>	ND	55.2 ± 1.6 <sup>***</sup>
			10	93.4 ± 1.9 <sup>*</sup>	ND	82.5 ± 4.5 <sup>*</sup>
			5	93.0 ± 2.8 <sup>*</sup>	ND	86.3 ± 1.1 <sup>*</sup>
			1	ND	37.1 ± 1.8 <sup>***</sup>	91.3 ± 1.1
			0.50	ND	57.8 ± 0.7 <sup>***</sup>	ND
			0.01	ND	87.1 ± 0.7 <sup>***</sup>	ND
			0.05	ND	92.4 ± 0.9 <sup>**</sup>	ND
<b>4b</b>	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CH <sub>2</sub> OH	100	5.0 ± 3.6 <sup>***</sup>	ND	40.6 ± 2.1 <sup>***</sup>
			50	14.4 ± 4.0 <sup>***</sup>	ND	42.3 ± 1.5 <sup>***</sup>
			30	19.2 ± 2.3 <sup>***</sup>	ND	47.9 ± 1.8 <sup>***</sup>
			10	36.9 ± 1.4 <sup>***</sup>	ND	63.6 ± 0.1 <sup>***</sup>
			5	59.5 ± 4.3 <sup>***</sup>	14.6 ± 3.0 <sup>***</sup>	92.7 ± 7.1
			1	77.8 ± 6.7 <sup>**</sup>	55.2 ± 2.3 <sup>***</sup>	100.6 ± 5.2
			0.50	85.0 ± 1.2 <sup>**</sup>	63.8 ± 2.1 <sup>***</sup>	ND
			0.1	ND	93.9 ± 1.6 <sup>**</sup>	ND
			<b>4c</b>	CH <sub>2</sub> -( <i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CH <sub>2</sub> OH	100
50	17.4 ± 4.2 <sup>***</sup>	ND				45.6 ± 1.1 <sup>***</sup>
30	18.0 ± 3.6 <sup>***</sup>	ND				46.8 ± 1.2 <sup>***</sup>
10	21.6 ± 4.6 <sup>***</sup>	ND				54.1 ± 1.8 <sup>***</sup>
5	52.8 ± 3.0 <sup>***</sup>	ND				62.4 ± 1.6 <sup>***</sup>
1	75.7 ± 6.2 <sup>**</sup>	38.7 ± 1.3 <sup>***</sup>				98.6 ± 0.8
0.50	86.0 ± 4.0 <sup>**</sup>	42.5 ± 6.0 <sup>***</sup>				ND
0.1	ND	84.5 ± 6.6 <sup>*</sup>				ND
0.05	ND	93.4 ± 2.5 <sup>*</sup>				ND

續表九

Compds	R	R'	Conc. ( $\mu$ M)	HL-60 cell proliferation (% of control)	U937 cell proliferation (% of control)	K562 cell proliferation (% of control)
Control				100.00	100.00	100.00
<b>4d</b>	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CH <sub>2</sub> OH	100	13.0 ± 5.4 <sup>***</sup>	ND	32.6 ± 1.2 <sup>***</sup>
			50	56.7 ± 1.6 <sup>***</sup>	ND	55.7 ± 0.7 <sup>***</sup>
			30	77.4 ± 0.8 <sup>***</sup>	ND	62.9 ± 1.8 <sup>***</sup>
			10	101.3 ± 2.6	ND	82.8 ± 0.6 <sup>**</sup>
			5	ND	21.0 ± 0.3 <sup>***</sup>	95.2 ± 1.0
			1	ND	62.7 ± 0.3 <sup>***</sup>	ND
			0.5	ND	71.0 ± 0.5 <sup>***</sup>	ND
			0.1	ND	89.1 ± 1.3 <sup>***</sup>	ND
<b>6</b>	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COCH <sub>3</sub>	100	59.1 ± 5.7 <sup>***</sup>	36.9 ± 1.5 <sup>***</sup>	70.0 ± 0.5 <sup>***</sup>
			50	88.5 ± 2.9 <sup>**</sup>	36.3 ± 1.1 <sup>***</sup>	83.8 ± 3.3 <sup>*</sup>
			30	95.7 ± 2.4	53.0 ± 1.8 <sup>***</sup>	82.8 ± 1.7 <sup>**</sup>
			10	104.5 ± 1.6	67.8 ± 2.9 <sup>***</sup>	89.3 ± 4
			5	ND	75.9 ± 1.8 <sup>***</sup>	ND
			1	ND	91.0 ± 2.9 <sup>**</sup>	ND
<b>7</b>	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=NOH	100	51.6 ± 1.5 <sup>***</sup>	14.0 ± 1.9 <sup>***</sup>	48.5 ± 0.9 <sup>***</sup>
			50	62.3 ± 13.5 <sup>**</sup>	43.2 ± 0.6 <sup>***</sup>	57.3 ± 0.5 <sup>***</sup>
			30	83.6 ± 10.0 <sup>*</sup>	55.5 ± 0.8 <sup>***</sup>	78.7 ± 0.7 <sup>**</sup>
			10	90.6 ± 7.0	81.2 ± 0.5 <sup>***</sup>	93.3 ± 1.0
<b>11</b>	CH <sub>3</sub>	H	100	58.6 ± 5.4 <sup>***</sup>	50.6 ± 1.4 <sup>***</sup>	70.9 ± 0.6 <sup>***</sup>
			50	67.3 ± 1.4 <sup>***</sup>	60.6 ± 1.0 <sup>***</sup>	76.2 ± 0.3 <sup>**</sup>
			30	90.9 ± 6.6	79.7 ± 0.8 <sup>***</sup>	90.4 ± 1.0 <sup>*</sup>
			10	ND	99.6 ± 1.3	94.3 ± 0.9
<b>12</b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	100	68.4 ± 5.0 <sup>***</sup>	22.7 ± 1.0 <sup>***</sup>	61.5 ± 1.0 <sup>***</sup>
			50	84.5 ± 6.1 <sup>*</sup>	35.9 ± 1.3 <sup>***</sup>	64.6 ± 0.5 <sup>***</sup>
			30	96.0 ± 5.5	86.0 ± 2.9 <sup>**</sup>	90.3 ± 1.3 <sup>*</sup>
			10	ND	94.7 ± 1.0 <sup>**</sup>	96.8 ± 0.3
<b>13</b>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	100	30.6 ± 0.6 <sup>***</sup>	8.2 ± 0.1 <sup>***</sup>	45.0 ± 0.3 <sup>***</sup>
			50	83.6 ± 0.4 <sup>***</sup>	6.5 ± 0.2 <sup>***</sup>	50.8 ± 1.2 <sup>***</sup>
			30	96.9 ± 10.0	68.1 ± 4.3 <sup>***</sup>	76.6 ± 1.2 <sup>**</sup>
			10	ND	99.1 ± 4.7	95.6 ± 0.7

續表九

Compds	R	R'	Conc. ( $\mu$ M)	HL-60 cell proliferation (% of control)	U937 cell proliferation (% of control)	K562 cell proliferation (% of control)
Control				100.00	100.00	100.00
14	<i>iso</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	100	89.1 $\pm$ 3.2 **	30.2 $\pm$ 1.6 ***	68.3 $\pm$ 1.0 ***
			50	87.0 $\pm$ 3.1 **	34.7 $\pm$ 1.3 ***	78.3 $\pm$ 1.0 **
			30	97.8 $\pm$ 7.7	79.5 $\pm$ 1.0 ***	87.5 $\pm$ 1.1 *
			10	ND	96.4 $\pm$ 0.8 *	90.1 $\pm$ 0.5
15	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H	100	37.7 $\pm$ 3.89 ***	16.4 $\pm$ 2.0 ***	54.5 $\pm$ 0.7 ***
			50	83.2 $\pm$ 1.0 ***	24.7 $\pm$ 3.0 ***	55.5 $\pm$ 5.0 ***
			30	90.1 $\pm$ 3.7 *	87.0 $\pm$ 6.1 *	83.2 $\pm$ 5.3 *
			10	ND	99.7 $\pm$ 0.9	100.1 $\pm$ 2.8
16	CHO	CHO	100	62.7 $\pm$ 1.4 ***	13.8 $\pm$ 1.3 ***	66.7 $\pm$ 1.3 ***
			50	80.2 $\pm$ 4.0 **	30.7 $\pm$ 2.8 ***	72.5 $\pm$ 1.7 **
			30	87.3 $\pm$ 4.3 *	36.1 $\pm$ 0.9 ***	82.6 $\pm$ 0.9 **
			10	105.3 $\pm$ 5.5	47.2 $\pm$ 4.5 ***	91.3 $\pm$ 0.6
			5	ND	54.1 $\pm$ 1.2 ***	ND
			1	ND	89.3 $\pm$ 0.3 ***	ND
17	CHO	CH=NOH	100	21.8 $\pm$ 2.0 ***	60.1 $\pm$ 1.5 ***	81.5 $\pm$ 0.5 **
			50	22.7 $\pm$ 1.4 ***	72.2 $\pm$ 1.5 ***	89.0 $\pm$ 2.0 *
			30	30.2 $\pm$ 6.0 ***	84.7 $\pm$ 1.5 ***	93.7 $\pm$ 1.3
			10	66.2 $\pm$ 8.3 **	90.1 $\pm$ 0.6 ***	96.6 $\pm$ 2.5
			5	100.7 $\pm$ 4.8	ND	ND

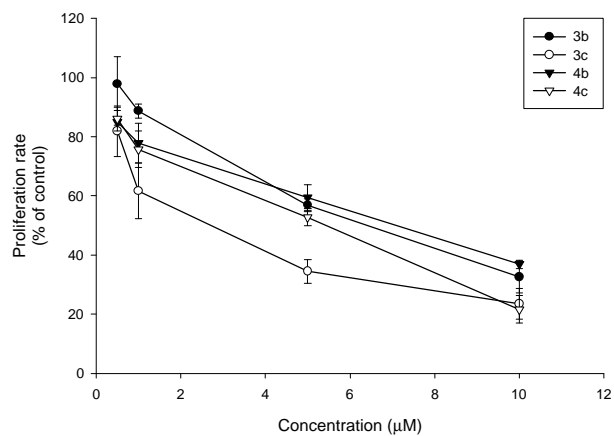
每個數值以平均值  $\pm$  標準偏差值來表示，取樣數目為 3。(\* : < 0.05, \*\* : < 0.01, \*\*\* : < 0.01); ND : Not Determined.

圖五. 化合物之不同濃度對血癌細胞株 (A) HL 60 (B) U 937 (C) K 562

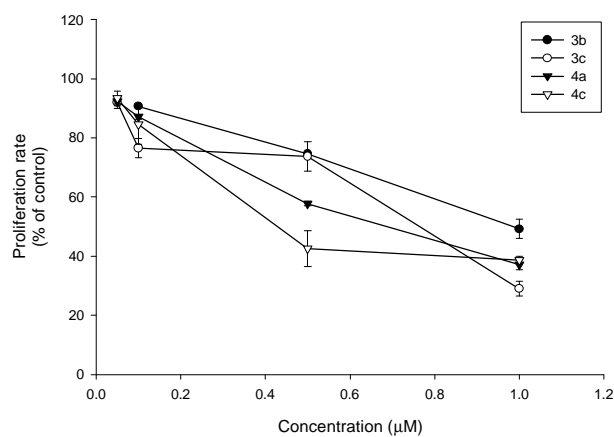


## 細胞增值率的影響

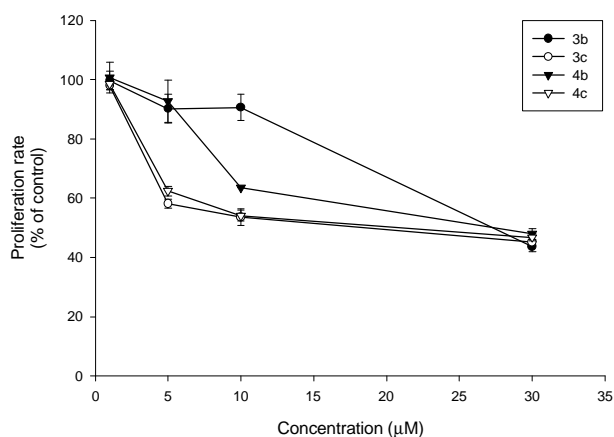
(A)



(B)

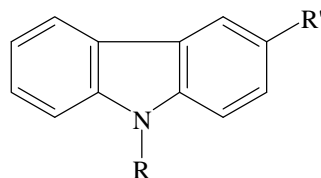


(C)



第五章 表十 化合物對血癌細胞株(HL60、

# U937 及 K562)細胞增殖率之 IC<sub>50</sub>



Comds	R	R'	HL 60 Cell IC <sub>50</sub> (μ M)	U 937 cell IC <sub>50</sub> (μ M)	K562 cell IC <sub>50</sub> (μ M)
2a	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	28.57±1.76	34.42±3.94	> 100
2b	CH <sub>2</sub> -( <i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	H	90.68±4.48	24.90±0.29	> 100
2c	CH <sub>2</sub> -( <i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	H	25.59±1.27	19.48±1.05	> 100
2d	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	H	> 100	> 100	> 100
3a	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CHO	> 100	> 100	> 100
3b	CH <sub>2</sub> -( <i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CHO	6.88±0.56	2.10±0.11	27.33±0.43
3c	CH <sub>2</sub> -( <i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CHO	2.58±0.86	0.77±0.04	19.49±2.33
3d	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CHO	16.29±30.54	1.76±0.15	27.67±1.80
4a	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> OH	30.54±1.14	0.73±0.02	64.25±4.04
4b	CH <sub>2</sub> -( <i>o</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CH <sub>2</sub> OH	7.07±0.34	1.65±0.06	27.53±1.94
4c	CH <sub>2</sub> -( <i>m</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CH <sub>2</sub> OH	5.28±0.12	0.43±0.06	22.99±2.52
4d	CH <sub>2</sub> -( <i>p</i> -Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	CH <sub>2</sub> OH	60.04±2.38	2.22±0.03	60.91±1.79
6	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	COCH <sub>3</sub>	> 100	32.95±1.09	> 100
7	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH=NOH	> 100	45.36±0.31	91.62±4.12
11	CH <sub>3</sub>	H	> 100	> 100	> 100
12	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	> 100	44.37±0.34	> 100
13	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	80.90±1.38	35.82±1.01	> 100
14	<i>iso</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	H	> 100	43.18±0.52	> 100
15	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	H	86.30±3.49	41.84±1.41	> 100

<sup>a</sup>IC<sub>50</sub> : 經化合物處理 24 小時後活細胞數目為對照組活細胞數目之 50 % 時的藥物濃度

<sup>b</sup>每個數目以平均值 ± 標準偏差值來表示, 取樣數目為 3。

### 第三章 結論

以 9-benzycarbazole-3-carbinol (**4a**)為先導化合物，合成一系列的衍生物，分別測試其抗血小板活性、抗炎活性以及小神經膠質細胞活化之抑制活性，初步建立了化學結構與各種生物活性的關係。從本研究中發現了化合物 **3a**、**3b**、**4b**、**4c**、**4d** 及 **7** 具有明顯的抗血小板活性。又發現化合物 **3b**、**4b** 及 **4d** 具有相當強的抗炎活性，其中 **3b** 對嗜中性白血球脫顆粒反應，及嗜中性白血球超過氧化物之形成具有強效的抑制活性，而 **4b** 及 **4d** 呈現對嗜中性白血球脫顆粒反應具有強效的抑制活性  $IC_{50}$  均為  $2.0 \mu$

，相當於 positive control TFP 之 6-7 倍。另外著者又確認化合物 **3b** 及 **4b** 具有對小神經膠質細胞活化產生 NO 及 TNF- $\alpha$  之強有效的抑制活性，是新型的小神經膠質細胞活化抑制劑。

以上 **3b**、**4b** 及 **4d** 等三種 9-benzycarbazole 衍生物之生物活性優異，值得做進一步藥理學臨床可用性之研究。

## 第四章 實驗部份

### 第一節 試藥溶媒與材料

壹. 購自德國 E. Merck 公司者

#### 1. Acetic anhydride

#### 2. Acetic acid

#### 3. Aluminum chloride

4. Benzyl chloride ( 99 % )
5. Chloroform ( ACS grade )
6. Chloroform-*d* for NMR spectroscopy (99.8 %)
7. Dichloromethane
8. Diethyl malonate
9. *N, N*-Dimethylformamide ( 99.5 %)
10. Dimethyl sulfoxide-*d*<sub>6</sub> for NMR spectroscopy (99.8 %)
11. Ethyl cyanoacetate
12. *n*-Hexane
13. Iodomethane
14. Iodoethane
15. 1-Iodopropane
16. 2-Iodopropane
17. Iodobutane

18. Magnesium sulfate
19. Malonic acid
20. Methanol for spectroscopy
21. Molecular sieve 0.4 nm
22. Piperidine
23. Phosphoryl chloride
24. Potassium hydroxide
25. Silica gel 60 ( 70-230 mesh, ASTM )
26. Sodium acetate
27. Sodium bicarbonate
28. Sodium borohydride
29. Sodium hydride suspension ( 80 % )
30. Sodium hydroxide
31. Tetrahydrofuran
32. TLC plates si 60 F<sub>254</sub>, 0.2 mm, 20 × 20 cm

貳. 購自瑞士 Fluka 公司者

1. Carbazole
2. Hydroxylamine hydrochloride

參. 購自比利時 Acros 公司者

1. Ethyl cyanoacetate
2. Semicarbazide hydrochloride

肆. 購自日本東京化成工業株式會社者

1. Anhydrous potassium carbonate
2. Aluminum chloride
3. *o*-Chlorobenzyl chloride
4. *m*-Chlorobenzyl chloride
5. *p*-Chlorobenzyl chloroide

伍. 購自皓峰企業股份有限公司者

1. Acetone
2. Ethyl acetate
3. *n*-Hexane

陸. 購自台灣菸酒公賣局

1. 95 % alcohol

## 第二節 重要儀器

### 1. 融點測定:

係採用 Yanaco MP-500D 融點測定器(Melting Point Apparatus)測定之, 溫度未經校正.

### 2. 紫外線-可見光光譜分析:

係採用 Shimadzu UV-160A UV-vis recording spectrophotometer 測定之, 使用甲醇當溶媒.

### 3. 紅外線光譜分析 :

係採用 Nicolet Impact 400 FT-IR spectrophotometers 測定之,以溴化鉀 (KBr)粉末為打錠稀釋劑,光譜單位為波數( $\text{cm}^{-1}$ )

### 4. 質譜分析:

EIMS 以 VG Platform II GC-MS instrument 測定之, 離子化電壓為 75 eV, 單位為 m/z。

### 5. 核磁共振光譜分析 :

係採用 Bruker Avance DPX-200 FT-NMR spectrometer 測定之，化學位移以  $\delta$  表示，單位為 ppm；偶合常數以  $J$  表示，單位為 Hz；以  $s$  表單峰(singlet)， $d$  表二重峰(doublet)， $dd$  表雙二重峰(double doublet)， $t$  表三重峰(triplet)， $m$  表多重峰(multiplet)， $br$  表寬峰(broad)。

#### 6. 元素分析:

係採用 Perkin-Elmer 2400 Series II CHNS / O analyzer 測定之，分析值與理論值相差  $\pm 0.4\%$  以內。

#### 7. 紫外光燈:

係採用 CAMAG UV-CABINET II 紫外燈觀察箱,備有 254 nm 及 366 nm 之光源.



### 第三節 化合物之合成

關於目標化合物 3, 6, 9-substituted carbazole 之合成其方法如 Scheme 11-14 所示，以 carbazole 為起始原料，於第 3、6、9 位上導入不同的取代基，合成一系列衍生物，各化合物之合成方法敘述如下：

#### I、9-Benzylcarbazole (2a)<sup>56</sup> 之合成

稱取 carbazole (1) (3.34 克，20 毫莫耳)溶於 50 毫升 tetrahydrofuran (THF) 中，於室溫下加入 KOH (2.24g, 40 毫莫耳) 和滴加溶於 10 毫升 THF 中的 benzyl chloride (2.24g, 20 毫莫耳) 後，加熱迴流 16 小時，將混合物倒入冰水中，以二氯甲烷 (dichloromethane) 萃取，萃取液經 sodium bicarbonate 洗滌，硫酸鎂 (magnesium sulfate) 乾燥後，再以管柱層析 (*n*-hexane / ethyl acetate) 分離純化，*n*-hexane/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 再結晶，即可得 9-benzylcarbazole (2a) 3.1 克，產率 60 %，熔點 121-123 。

EIMS  $m/z$  : 257 (M<sup>+</sup>)

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) (log  $\epsilon$ ) : 251 (3.95)

元素分析：以 C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N 計算

計算值: C: 88.68 ; H: 5.88 ; N: 5.44

實驗值: C: 88.62 ; H: 5.86; N: 5.45

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5.54 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 7.16-7.52 (11 H, *m*, H-1, H-2, H-3, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 8.19 (2 H, *d*,  $J = 7.7$  Hz, H-4, H-5)

## II、9-(*o*-Chlorobenzyl)carbazole ( 2b ) , 9-(*m*-chlorobenzyl)carbazole ( 2c ) 和 9-(*p*-chlorobenzyl)carbazole ( 2d )

合成方法如同 I , 分別加入溶於 THF 中的 2-chlorobenzyl chloride , 3-chlorobenzyl chloride 4-chlorobenzyl chloride , 可得白色針狀結晶的 9-(*o*-chlorobenzyl)carbazole ( 2b ) 2.62 克 , 產率 45 % , 熔點 120-121 。 9-(*m*-chlorobenzyl)carbazole ( 2c ) 3.37 克 , 產率 58 % , 熔點 67-68 , 和 9-(*p*-chlorobenzyl)carbazole( 2d )3.21 克 , 產率 55 % , 熔點 169-170 。

化合物 2b :

EIMS  $m/z$  : 291 ( $\text{M}^+$ )

UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ) : 250 ( 4.23)

元素分析 : 以  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{NCl}$  計算

計算值: C: 78.21 ; H: 4.84 ; N: 4.80

實驗值: C: 78.16 ; H: 4.81; N: 4.75

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5.61 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 6.52 (1 H, *dd*,  $J = 0.7, 7.6$  Hz, H-6'), 6.98 (1 H, *dd*,  $J = 7.5, 7.5$  Hz, H-4'), 7.17-7.34 (8 H, *m*, H-1, H-2, H-3, H-6, H-7, H-8, H-3', H-5'), 8.19 (2 H, *d*,  $J = 7.2$  Hz, H-4, H-5)

化合物 2c :

EIMS  $m/z$  : 291 ( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ): 263 (4.45)

元素分析 : 以  $C_{19}H_{14}NCl$  計算

計算值: C: 78.21 ; H: 4.84 ; N: 4.80

實驗值: C: 78.16 ; H: 4.81; N: 4.75

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 5.47 (2 H, *s*,  $NCH_2$ ), 6.99 (1 H, *d*,  $J = 7.1$  Hz, H-6'),  
7.14-7.52 (9 H, *m*, H-1, H-2, H-3, H-6, H-7, H-8, H-2', H-4', H-5'), 8.18 (2  
H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-4, H-5)

化合物 2d :

EIMS  $m/z$  : 291 ( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ): 250 (4.29)

元素分析 : 以  $C_{19}H_{14}NCl$  計算

計算值: C: 78.21 ; H: 4.84 ; N: 4.80

實驗值: C: 78.16 ; H: 4.83; N: 4.81

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 5.48 (2 H, *s*,  $NCH_2$ ), 7.07 (2 H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-2', H-6'),  
7.21-7.50 (8 H, *m*, H-1, H-2, H-3, H-6, H-7, H-8, H-3', H-5'), 8.16 (2  
H, *d*,  $J = 7.7$  Hz, H-4, H-5)

### III、9-Benzylcarbazole-3-carbaldehyde (3a)

稱取 9-benzylcarbazole (2a) (2.57 克, 10 毫莫耳) 溶於 20 毫升的 *N,N*-dimethyl formamide (DMF) 中, 降溫至 5 後, 滴加  $POCl_3$  (1.4 毫升, 15 毫莫耳) 室溫下攪拌過夜, 再加熱至 60 反應 2 小時, 將混合物

倒入冰水中，以乙酸乙酯( ethyl acetate )萃取後，再以管柱層析( *n*-hexane / ethyl acetate )分離純化，可得 9-benzylcarbazole-3-carbaldehyde ( **3a** ) 2.34 克，產率 82 %，熔點 133-134 。

EIMS  $m/z$  : 285( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) (log  $\epsilon$ ): 274 (4.56)

IR:  $\nu_{C=O}$  (KBr)  $cm^{-1}$  : 1690

元素分析：以  $C_{20}H_{15}NO$  計算

計算值: C: 84.19 ; H: 5.30 ; N: 4.91

實驗值: C: 84.17 ; H: 5.29; N: 4.90

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 5.53 (2 H, *s*,  $NCH_2$ ), 7.13-7.49 (9 H, *m*, H-1, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.96 (1 H, *d*,  $J = 6.8$  Hz, H-2), 8.17 (1 H, *d*,  $J = 5.0$  Hz, H-5), 8.63 (1 H, *dd*,  $J = 1.0, 1.6$  Hz, H-4), 10.08 (1 H, *s*, -CHO)

IV、9-(*o*-Chlorobenzyl)carbazole-3-carbaldehyde ( **3b** ) ,

9-(*m*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbaldehyde ( **3c** ) 和

9-(*p*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbaldehyde ( **3d** )

以化合物 **2b** , **2c** 和 **2d** 為原料，參照化合物 **3a** 的合成方法，可得白色針狀結晶的 **3b** ( 1.69 克，產率 53 %，熔點 129-131 )，**3c** ( 2.17 克，產率 68 %，熔點 113-144 )和 **3d**( 2.23 克，產率 70 %，熔點 166-168 )。

化合物 **3b** :

EIMS  $m/z$  : 319 ( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) (log  $\epsilon$ ): 273 (4.23)

IR,  $\nu_{\text{C=O}}$  (KBr): 1686

元素分析 : 以  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{NOCl}$  計算

計算值: C: 75.12 ; H: 4.41 ; N: 4.38

實驗值: C: 75.16 ; H: 4.42; N: 4.39

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5.54 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 7.11-7.55 (8 H, *m*, H-1, H-6, H-7, H-8, H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.98 (1 H, *dd*,  $J = 1.6, 8.6$  Hz, H-2), 8.20 (1 H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-5), 8.65 (1 H, *d*,  $J = 1.6$  Hz, H-4), 10.10 (1 H, *s*, -CHO)

化合物 3c :

EIMS  $m/z$  : 319 ( $\text{M}^+$ )

UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ): 260 (4.34)

IR,  $\nu_{\text{C=O}}$  (KBr): 1686

元素分析 : 以  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{NOCl}$  計算

計算值: C: 75.12 ; H: 4.41 ; N: 4.38

實驗值: C: 75.22 ; H: 4.42; N: 4.37

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5.53 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 6.96-7.57 (8 H, *m*, H-1, H-6, H-7, H-8, H-2', H-4', H-5' H-6'), 8.00 (H, *dd*,  $J = 1.4, 8.4$  Hz, H-2), 8.20(1 H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-5), 8.66 (1 H, *d*,  $J = 1.4$  Hz, H-4), 10.11 (H, *s*, -CHO)

化合物 3d :

EIMS  $m/z$  : 319 ( $\text{M}^+$ )

UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ): 273 (4.41)

IR,  $\nu_{\text{C=O}}$  (KBr): 1689

元素分析 : 以  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{NOCl}$  計算

計算值: C: 75.12 ; H: 4.41 ; N: 4.38

實驗值: C: 75.26 ; H: 4.40; N: 4.39

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5.52 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 7.04-7.56 (8 H, *m*, H-1, H-6 H-7, H-8, H-2', H-3', H-5', H-6'), 7.99 (1 H, *dd*,  $J = 1.6, 8.5$  Hz, H-2), 8.19 (1 H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-5), 8.65 (1 H, *s*, H-4), 10.10 (1 H, *s*, -CHO)

### V、9-Benzylcarbazole-3-carbinol (4a)

將化合物 3a (1.0 克, 3.5 毫莫耳) 溶於甲醇 20 毫升中, 加入  $\text{NaBH}_4$  (150.0 毫克, 4.0 毫莫耳) 室溫下攪拌至成為澄明溶液, 加入二氯甲烷 100 毫升, 並依序以鹽水 ( $2 \times 50$  毫升) 和水 ( $2 \times 50$  毫升) 洗滌, 有機溶媒層經無水硫酸鎂乾燥及減壓濃縮後, 以管柱層析( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )分離純化, 即可得到化合物 4a (0.92 克, 產率 92 % , 熔點 115-117 )

EIMS  $m/z$  : 287 ( $\text{M}^+$ )

UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ): 253 (4.12)

IR :  $\lambda_{\text{max}}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  : 3325, 1331, 737

元素分析 : 以  $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}$  計算

計算值: C: 83.60 ; H: 5.96 ; N: 4.87

實驗值: C: 83.46 ; H: 5.98; N: 4.86

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 1.84 (1 H, *br s*, -OH), 4.85 (2 H, *s*,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 5.50 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 7.11-7.46 (10 H, *m*, H-1, H-2, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 8.12-8.15 (2 H, *m*, H-4, H-5)

VI、9-(*o*-Chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (4b),  
9-(*m*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (4c) 和  
9-(*p*-chlorobenzyl)carbazole-3-carbinol (4d)

以化合物 3b、3c 和 3d 為原料，參照化合物 4a 的合成方法，即可得到白色粉末的化合物 4b (0.98 克，產率 88 %，熔點 113-115 )。化合物 4c (1.0 克，產率 90 %，熔點 108-109 ) 和化合物 4d (0.99 克，產率 89 %，熔點 118-119 )。

化合物 4b :

EIMS  $m/z$  : 321 ( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ): 252 (4.11)

IR:  $\lambda_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3452, 1431, 755

元素分析：以  $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{NOCl}$  計算

計算值: C: 74.65 ; H: 5.01 ; N: 4.35

實驗值: C: 74.56 ; H: 5.00; N: 4.34

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 1.97 (1 H, *s*, -OH), 4.81 (2 H, *s*,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 5.52 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 6.42(H, *d*,  $J = 7.5$  Hz, H-6'), 6.87-7.46 (8 H, *m*, H-1, H-2, H-6, H-7, H-8, H-3', H-4', H-5'), 8.14 (2 H, *s*, H-4, H-5)

化合物 4c :

EIMS  $m/z$  : 321 ( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ): 252 (4.23)

IR:  $\lambda_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3221, 1331, 741

元素分析：以  $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{NOCl}$  計算

計算值: C: 74.65 ; H: 5.01 ; N: 4.35

實驗值: C: 74.58 ; H: 5.02; N: 4.36

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 1.63 (1 H, *s*, -OH), 4.87 (2 H, *s*,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 5.48 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 6.50-7.50 (9 H, *m*, H-1, H-2, H-6, H-7, H-8, H-2', H-4', H-5', H-6'), 8.12-8.15 (2 H, *m*, H-4, H-5)

化合物 4d :

EIMS  $m/z$  : 321 ( $\text{M}^+$ )

UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ): 252 (4.34)

元素分析 : 以  $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{NOCl}$  計算

計算值: C: 74.65 ; H: 5.01 ; N: 4.35

實驗值: C: 74.76 ; H: 5.00; N: 4.36

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 1.82 (1 H, *br s*, -OH), 4.85 (2 H, *s*,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 5.45 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 7.04 (2 H, *d*,  $J = 8.4$  Hz, H-2', H-6'), 7.20-7.49 (7 H, *m*, H-1, H-2, H-6, H-7, H-8, H-3', H-5'), 8.11-8.14 (2 H, *m*, H-4, H-5)

## VII、3,6-Diacetyl-9-benzylcarbazole (5) 和 3-acetyl-9-benzylcarbazole (6)

將化合物 2a (5.14 克, 20 毫莫耳) 溶於二氯甲烷 100 毫升中, 加入 acetic anhydride (20.4 克, 20 毫莫耳) 及過量之  $\text{AlCl}_3$ , 室溫下攪拌 48 小時後, 將反應液倒入冰水 100 毫升中, 以乙酸乙酯萃取, 有機溶媒層經無水硫酸鎂乾燥及減壓濃縮後, 以管柱層析 (hexane / ethyl acetate = 9:1) 分離純化, 即可得到白色粉末的化合物 5 (3.07, 產率 45 %, 熔點 341-342



) 和化合物 6 (2.27 克, 產率 38 %, 熔點 132-134 )。

#### 化合物 5 :

EIMS  $m/z$  : 341 ( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) (log  $\epsilon$ ): 252 (4.58)

IR:  $\nu_{C=O}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  : 1667

元素分析 : 以  $C_{23}H_{19}NO_2$  計算

計算值: C: 80.92 ; H: 5.61 ; N: 4.10

實驗值: C: 80.87 ; H: 5.60; N: 4.11

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2.75 (6 H, *s*, 2  $\times$ -COCH<sub>3</sub>), 5.59 (2 H, *s*, NCH<sub>2</sub>), 7.10-7.31 (5 H, *m*, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.44 (2 H, *d*,  $J = 8.7$  Hz, H-1, H-8), 8.15 (2 H, *dd*,  $J = 1.4, 8.7$  Hz, H-2, H-7), 8.84 (2 H, *d*,  $J = 1.4$  Hz, H-4, H-5)

#### 化合物 6 :

EIMS  $m/z$  : 299 ( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) (log  $\epsilon$ ): 263 (4.42)

IR:  $\nu_{C=O}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  : 1667

元素分析 : 以  $C_{21}H_{17}NO$  計算

計算值: C: 84.25 ; H: 5.72 ; N: 4.68

實驗值: C: 84.10 ; H: 5.73; N: 4.68

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2.72 (3 H, *s*, -COCH<sub>3</sub>), 5.50 (2 H, *s*, NCH<sub>2</sub>), 7.10-7.49 (9 H, *m*, H-1, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 8.09 (1 H, *dd*,  $J = 1.6, 8.7$  Hz, H-2), 8.19 (1 H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-5), 8.78 (H, *d*,  $J = 1.6$  Hz, H-4)

### VIII、9-Benzy-3-hydroxymethylcarbazole-3-aldoxime (7)

將化合物 **3a** ( 1.0 克 , 3.5 毫莫耳 ) 溶於乙醇 20 毫升中 , 室溫下一面攪拌一面加入 sodium acetate ( 0.3 克 , 3.7 毫莫耳 ) 再加入 hydroxylamine hydrochloride ( 257.0 毫克 , 3.7 毫莫耳 ) 加熱迴流 3 小時。反應液冷卻後以乙醚 ( ether ) 萃取 , 有機溶媒層經無水硫酸鎂乾燥及減壓濃縮後 , 以管柱層析 ( hexane / ethyl acetate = 7:3 ) 分離純化 , 即可得到白色粉末的化合物 **7** ( 0.95 克 , 產率 90 % , 熔點 185-187 )。

EIMS  $m/z$  : 300 ( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) (log  $\epsilon$ ): 274 (4.49)

元素分析 : 以  $C_{20}H_{16}N_2O$  計算

計算值: C: 79.98 ; H: 5.37 ; N: 9.33

實驗值: C: 79.88 ; H: 5.36; N: 9.31

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 5.53 (2 H, *s*,  $NCH_2$ ), 7.12-7.50 (10 H, *m*, H-1, H-, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', -CH=), 7.70 (1 H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-2), 8.14 (1 H, *d*,  $J = 7.7$  Hz, H-5), 8.31 (1 H, *s*, H-4)

### IX、9-Benzylcarbazole-3-carboxylic acid (8)<sup>57</sup>

將化合物 **2a** ( 1.0 克 , 3.5 毫莫耳 ) 懸浮於水和乙醇 ( 3 : 1 ) 的混合液 40 毫升中 , 加熱至 70-80 時 , 於 1 小時內分次慢慢

加入  $\text{KMnO}_4$  (0.9 克, 5.6 毫莫耳) 水溶液 20 毫升, 繼續加熱攪拌 1 小時後, 反應液以 10 %  $\text{KOH}$  水溶液鹼化, 趁熱過濾, 殘渣並以 20 毫升的熱水洗滌 3 次, 合併濾液和洗液, 冷卻後以 2 N  $\text{HCl}$  酸化之, 直至沒有沈澱繼續產生。將沈澱物過濾、水洗、乾燥後, 即可得到白色粉末的化合物 **8** (260.0 毫克, 產率 25 % , 熔點 264-267 )。

EIMS  $m/z$  : 301 ( $\text{M}^+$ )

UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm (MeOH) ( $\log \epsilon$ ): 265 (4.53)

IR,  $\nu_{\text{C=O}}$  (KBr): 1668

元素分析 : 以  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NO}_2$  計算

計算值: C: 79.72 ; H: 5.02 ; N: 4.65

實驗值: C: 79.68 ; H: 5.03; N: 4.65

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ) : 5.67 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 7.14-7.65 (9 H, *m*, H-1, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 8.10 (1 H, *d*,  $J = 8.6$  Hz, H-2), 8.19 (1 H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-5), 8.81 (1 H, *s*, H-4)

## X、9-Benzyl-3-methoxymethylcarbazole (9)

將化合物 **4a** (0.5 克, 1.7 毫莫耳) 溶於 DMF 20 毫升中, 室溫下 30 分鐘內一面攪拌一面加入 sodium hydride ( $\text{NaH}$ , 80 % , 0.05 克, 2.0 毫莫耳) 再加入溶在 10 毫升 DMF 中的 iodomethane (0.24 克, 1.7 毫莫耳) 攪拌反應 60 分鐘, 以二氯甲烷萃取, 萃取液經硫酸鎂乾燥減壓濃縮後, 再以管柱層析 (*n*-hexane / ethyl acetate) 分離純化, 即可得到白色粉末的化合物 **9** (0.39 克, 產

率 78 % , 熔點 232-234 )

EIMS  $m/z$  : 301 ( $M^+$ )

UV  $\lambda_{\max}$  nm (MeOH) (log  $\epsilon$ ): 253 (4.63)

元素分析 : 以  $C_{21}H_{19}NO$  計算

計算值: C: 83.69 ; H: 6.35 ; N: 4.65

實驗值: C: 83.66 ; H: 6.32; N: 4.66

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 3.50 (3 H, *s*,  $-OCH_3$ ), 4.70 (2 H, *s*,  $-CH_2O$ ), 5.52 (2 H, *s*,  $NCH_2$ ), 7.15-7.49 (10 H, *m*, H-1, H-2, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 8.19-8.22 (2 H, *m*, H-4, H-5)

## XI、9-Benzylcarbazole-3-ethycarboxylester (10)

在 30 毫升無水乙醇中通入 HCl 氣體 , 當液體呈淡黃色後 , 加入化合物 8 ( 200 毫克 , 0.67 毫莫耳 ) 加熱迴流至液體呈澄清狀 , 冷卻後 ; 以二氯甲烷萃取 , 萃取液經硫酸鎂乾燥後 , 再以管柱層析 ( *n*-hexane/ethyl acetate ) 分離純化 , 即可得白色化合物 10 ( 65 毫克 , 產率 35 % , 熔點 252-254 )

EIMS  $m/z$  : 329 ( $M^+$ )

IR :  $\nu_{C=O}$  (KBr)  $cm^{-1}$  : 1698

元素分析 : 以  $C_{22}H_{19}NO_2$  計算

計算值: C: 80.22 ; H: 5.81 ; N: 4.25

實驗值: C: 80.42 ; H: 5.82; N: 4.24

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 1.49 (3 H, *t*,  $J = 7.1$  Hz,  $-CH_3$ ), 4.48 (2 H, *q*,  $J = 7.1$  Hz,  $-CH_2CH_3$ ), 5.48 (2 H, *s*,  $NCH_2$ ), 7.10-7.52 (9 H, *m*, H-1, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 8.16-8.23 (2 H, *m*, H-2, H-5),

8.90 (1 H, *d*,  $J = 1.6$  Hz, H-4)

## XII、9-Methylcarbazole (11) <sup>58</sup>

稱取 carbazole (1) (1.67 克, 10 毫莫耳) 溶於 30 毫升 DMF 中, 室溫下於 30 分鐘內一面攪拌一面分次加入 NaH (80 % 0.3 克, 12.5 毫莫耳) 再滴加溶在 10 毫升 DMF 中的 iodomethane (1.42 克, 0.1 莫耳) 攪拌反應 60 分鐘, 以二氯甲烷萃取, 萃取液經硫酸鎂乾燥減壓濃縮後, 再以管柱層析 (*n*-hexane / ethyl acetate) 分離純化, 即可得到白色針狀結晶的化合物 11 (1.26 克, 產率 72 %, 熔點 91.5-92.5 °C)

EIMS  $m/z$  : 181 ( $M^+$ )

元素分析 : 以  $C_{13}H_{11}N$  計算

計算值: C: 86.15 ; H: 6.12 ; N: 7.73

實驗值: C: 86.32 ; H: 6.15; N: 7.75

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 3.87 (3 H, *s*,  $NCH_3$ ), 7.26 (2 H, *dd*,  $J = 7.6, 7.6$  Hz, H-3, H-6), 7.35-7.60 (4 H, *m*, H-1, H-2, H-7, H-8), 8.13 (2 H, *d*,  $J = 7.7$  Hz, H-4, H-5)

## XIII、9-Ethylcarbazole (12) , 9-propylcarbazole (13) , 9-isopropylcarbazole (14) , 9-butylcarbazole (15)

合成方法如同化合物 11 分別加入 iodoethane、1-iodopropane、2-iodopropane 及 iodobutane，可得到白色針狀結晶的化合物 12( 克, 產率 70 %, 熔點 70-72 ), 化合物 13( 克, 產率 67 %, 熔點 51-52 ), 化合物 14 ( 克, 產率 85 %, 熔點 123-124 ), 化合物 15 ( 克, 產率 85 %, 熔點 57-58 )。

#### 化合物 12 :

EIMS  $m/z$  : 195 ( $M^+$ )

元素分析 : 以  $C_{14}H_{13}N$  計算

計算值: C: 86.12 ; H: 6.71 ; N: 7.17

實驗值: C: 86.30 ; H: 6.74; N: 7.19

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 1.51 (3 H, *t*,  $J = 7.2$  Hz,  $-CH_3$ ), 4.42 (2 H, *q*,  $J = 7.2$  Hz,  $-CH_2CH_3$ ), 5.51 (2 H, *s*,  $NCH_2$ ), 7.38 (2 H, *dd*,  $J = 7.4, 7.4$  Hz, H-3, H-6), 7.48-7.64 (4 H, *m*, H-1, H-2, H-7, H-8), 8.25 (2 H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-4, H-5)

#### 化合物 13 :

EIMS  $m/z$  : 209 ( $M^+$ )

元素分析 : 以  $C_{15}H_{15}N$  計算

計算值: C: 86.08 ; H: 7.22 ; N: 6.69

實驗值: C: 86.16 ; H: 7.26; N: 6.68

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 1.22 (3 H, *t*,  $J = 7.2$  Hz,  $-CH_3$ ), 2.12 (2 H, *m*,  $-CH_2CH_2$ ), 4.43 (2 H, *t*,  $J = 6.8$  Hz,  $NCH_2$ ), 7.57-7.85 (6 H, *m*, H-1, H-2, H-3, H-6, H-7, H-8), 8.47 (2H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-4, H-5)

#### 化合物 14 :

EIMS  $m/z$  : 209 ( $M^+$ )

元素分析 : 以  $C_{15}H_{15}N$  計算

計算值: C: 86.08 ; H: 7.22 ; N: 6.69

實驗值: C: 86.22 ; H: 7.24; N: 6.67

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 1.77 (6 H, *d*,  $J = 7.0$  Hz,  $-(CH_3)_2$ ), 5.02-5.09 (1 H, *m*,  $-CH-$ ), 7.29 (2 H, *ddd*,  $J = 7.9, 7.9, 1.3$  Hz H-3, H-6), 7.47-7.61 (4 H, *m*, H-1, H-2, H-7, H-8), 8.19 (2H, *dd*,  $J = 7.9, 0.7$  Hz, H-4, H-5)

化合物 15 :

EIMS  $m/z$  : 223 ( $M^+$ )

元素分析 : 以  $C_{16}H_{17}N$  計算

計算值: C: 86.06 ; H: 7.67 ; N: 6.27

實驗值: C: 86.24 ; H: 7.66; N: 6.28

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 1.07 (3 H, *t*,  $J = 7.3$  Hz,  $-CH_3$ ), 1.45-1.61(2 H, *m*,  $-NCH_2CH_2CH_2-$ ), 1.89-2.04 (2 H, *m*,  $-NCH_2CH_2CH_2-$ ), 4.38 (2 H, *t*,  $J = 7.0$  Hz,  $-NCH_2$ ), 7.38 (2 H, *dd*,  $J = 7.6, 7.6$  Hz, H-3, H-6), 7.50-7.65 (4 H, *m*, H-1, H-2, H-7, H-8), 8.26 (2 H, *d*,  $J = 7.7$  Hz, H-4, H-5)

#### XIV、9-Methylcarbazole-3-carbaldehyde (16)

稱取化合物 11(5.4 克, 0.03 莫耳)溶於 DMF 25 毫升中, 降溫至 5 後, 滴加  $POCl_3$  (28 毫升, 0.03 莫耳) 室溫下攪拌過夜, 再加熱至 70 反應 6 小時, 將混合物倒入冰水中, 以乙酸乙酯萃取後, 再以管柱層析 (*n*-hexane/ethyl acetate) 分離純化, 可得白色粉末化合物 16 (4.7 克, 產率 75 % , 熔點 76-78 )。

EIMS  $m/z$  : 209 ( $M^+$ )

IR :  $\nu_{C=O}$  (KBr)  $cm^{-1}$  :1686

元素分析 : 以  $C_{14}H_{11}NO$  計算

計算值: C: 80.36 ; H: 5.30 ; N: 6.69

實驗值:: C: 80.42 ; H: 5.31; N: 6.69

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 3.60 (3 H, *s*,  $NCH_2$ ), 7.15-7.49 (4 H, *m*, H-1, H-6, H-7, H-8), 7.85 (1 H, *d*,  $J = 8.6$  Hz, H-2), 7.96 (1 H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-5), 8.33 (1 H, *s*, H-4), 9.95 (1 H, *s*, -CHO)

## XV、9-Methyl-3-hydroxymethylcarbazole-3-aldoxime (17)

將化合物 16 ( 1.0 克 , 4.8 毫莫耳 ) 溶於乙醇 20 毫升中 , 室溫下一面攪拌一面加入 sodium acetate ( 334 毫克 , 4.8 毫莫耳 ) 再加入 hydroxylamine hydrochloride ( 0.394 克 , 4.8 毫莫耳 ) 加熱迴流 3 小時。反應液冷卻後以乙醚萃取 , 有機溶媒層經無水硫酸鎂乾燥及減壓濃縮後 , 以管柱層析 ( hexane/ethyl acetate = 4:1 ) 分離純化 , 即可得到白色粉末的化合物 17( 0.97 克 , 產率 90 % , 熔點 201-203 )。

EIMS  $m/z$  : 224 ( $M^+$ )

IR :  $\nu_{max}$  (KBr)  $cm^{-1}$  :3291

元素分析 : 以  $C_{14}H_{12}N_2O$  計算

計算值: C: 74.98 ; H: 5.39 ; N: 12.49

實驗值:: C: 74.76 ; H: 5.38 ; N: 12.46

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 3.91 (3H, *s*,  $NCH_3$ ), 7.31-7.57 (5 H, *m*, H-1, H-6, H-7, H-8, -CH-), 8.03 (1 H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-2), 8.16 (1 H, *d*,  $J = 7.7$  Hz,



H-5), 8.61 (1 H, *s*, H-4)

#### XVI、9-Methylcarbazoly-3-acrylic acid (18)

將化合物 16 (1.0 克, 4.8 毫莫耳) 溶於無水苯 50 毫升中, 室溫下攪拌加入 malonic acid (0.5 克, 4.8 毫莫耳) 再加入 acetic acid 0.3 毫升, 及溶在 10 毫升無水苯中的 piperidine 0.09 毫升, 加熱迴流 20 小時。反應時除去所產生的水, 反應液冷卻後, 以 40 毫升的飽和 sodium bicarbonate 及鹽水洗滌, 有機層用硫酸鎂乾燥後, 用乙醇再結晶, 即可得白色粉末狀化合物 18 (0.57 克, 產率 90 %, 熔點 > 300 )。

EIMS  $m/z$  : 251 ( $M^+$ )

IR :  $\text{C}=\text{O}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  :1682

元素分析 : 以  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NO}_2$  計算

計算值: C: 76.48 ; H: 5.21 ; N: 5.57

實驗值:: C: 76.33 ; H: 5.22; N: 5.56

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) :3.81 (3 H, *s*,  $\text{NCH}_3$ ), 6.42 (1 H, *d*,  $J = 15.8$  Hz,  $=\text{CH}-$ ),  
7.19-7.50 (3 H, *m*, H-1, H-8,  $-\text{CH}=\text{}$ ), 7.93-8.06 (3 H, *m*, H-2, H-6, H-7), 8.49-8.59(2 H, *m*, H-4, H-5)

#### XVII、9-Methyl-carbazol-3-carbaldehyde semicarbazide(19)

將化合物 16 (627 毫克, 3 毫莫耳) 溶於乙醇 50 毫升中,

室溫下一面攪拌一面加入 sodium acetate ( 250 毫克 , 3 毫莫耳 ) 再加入 semicarbazide hydrochloride (334.5 毫克 , 3 毫莫耳 ) 加熱迴流 2 小時。反應液減壓濃縮後 , 以管柱層析 ( dichloromethane/acetone = 9:1 ) 分離純化 , 即可得到白色粉末的化合物 **20** ( 0.64 克 , 產率 80 % , 熔點 205-206 )。

EIMS  $m/z$  : 266 ( $M^+$ )

IR :  $\nu_{C=O}$  (KBr)  $cm^{-1}$  : 1690

元素分析 : 以  $C_{15}H_{14}N_4O$  計算

IR :  $\nu_{max}$  (KBr)  $cm^{-1}$  : 3450

計算值: C: 67.65 ; H: 5.30 ; N: 21.04

實驗值:: C: 67.54 ; H: 5.31 ; N: 21.08

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) : 3.82 (3 H, *s*,  $NCH_3$ ), 6.46 (2 H, *br, s*,  $-CONH_2$ ), 7.12-7.55 (4 H, *m*, H-1, H-6, H-7', H-8), 7.81 (1 H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-2), 7.84 (1 H, *s*,  $-CH=$ ), 8.13 (1 H, *d*,  $J = 7.6$  Hz, H-5), 8.43 (1 H, *s*, H-4)

### XVIII、9-Benylcarbazolyl-3-acrylic acid (**20**)

取化合物 **3a** ( 1.425 克 , 5 毫莫耳 ) 合成方法如同化合物 **18** , 可得淡黃色粉末化合物 **21** ( 1.86 克 , 產率 87 % , 熔點 126-128 )。

EIMS  $m/z$  (rel. int %): 327 ( $M^+$ )

IR :  $\nu_{C=O}$  (KBr)  $cm^{-1}$  : 1640

元素分析 : 以  $C_{22}H_{17}NO_2$  計算

計算值: C: 80.71; H: 5.23; N: 4.28

實驗值: C:80.68; H: 5.25; N: 4.27

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5.64 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 6.44 (1 H, *d*,  $J = 15.8$ ,  $=\text{CH}-$ ),  
7.13-7.46 (8 H, *m*, H-1, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6',  $-\text{CH}=\text{}$ ),  
7.59-7.63 (3 H, *m*, H-2, H-6, H-7'), 8.21 (1 H, *d*,  $J = 7.5$  Hz, H-5),  
8.29 (1 H, *s*, H-4)

### XIX、Diethyl 9-benzylcarbazole-3-methylidene malonate (21)

合成方法如同化合物 20，取化合物 3a (1.425 克, 5 毫莫耳) diethyl malonate (1.2 克, 7.5 毫莫耳) 即可得黃色結晶化合物 22 (1.9 克, 產率 90 % , 熔點 128-129 )

EIMS  $m/z$  (rel. int %) :427 ( $\text{M}^+$ )

元素分析 : 以  $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{NO}_4$  計算

計算值: C:75.86 ; H: 5.89 ; N: 3.28

實驗值: C:75.69 ; H: 5.86; N: 3.31

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 1.32-1.40 (6 H, *m*,  $2 \times \text{CH}_3$ ), 4.28-4.48 (4H, *m*,  $2 \times \text{OCH}_2$ ), 5.51 (2 H, *s*,  $\text{NCH}_2$ ), 7.10-7.59 (10 H, *m*, H-1, H-2, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.94 (1 H, *s*,  $-\text{CH}=\text{}$ ), 8.10 (1 H, *d*,  $J = 7.7$  Hz, H-5), 8.27 (1 H, *s*, H-4)

### XX、Ethyl 9-benzylcarbazol-3-ylmethylidene cyanoacetate (22)

合成方法如同化合物 20，加入 ethyl cyanoacetate (0.765 克, 7.5 毫莫

耳) 反應後以管柱層析 (dichloromethane) 分離純化, 即可得黃色結晶化合物 **23** (1.7 克, 產率 90 %, 熔點 159-161 )。

EIMS  $m/z$  (rel. int %): 280 ( $M^+$ )

IR:  $\nu_{C=O}$  (KBr)  $cm^{-1}$ : 1721, 1582

元素分析: 以  $C_{25}H_{20}N_2O_2$  計算

計算值: C: 78.93; H: 5.30; N: 7.36

實驗值: C: 78.79; H: 5.28; N: 7.34

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ): 1.44 (3 H, *t*,  $J = 7.1$  Hz,  $-CH_2CH_3$ ), 4.41 (2 H, *q*,  $J = 7.1$  Hz,  $-CH_2CH_3$ ), 5.47 (2 H, *s*,  $NCH_2$ ), 7.11-7.53 (9 H, *m*, H-1, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 8.09-8.18 (2 H, *m*, H-2, H-5), 8.36 (1 H, *s*, H-4), 8.71 (1 H, *s*,  $-CH=$ )

#### **XXI、4-(9-Benzyl-9H-carbazol-3-yl)-3-buten-2-one (23)**

取 sodium hydroxide (0.7 克, 17.5 毫莫耳) 溶在 50 毫升水中, 室溫下加入溶在 30 毫升 acetone 中的 **3a** (1 克, 3.5 毫莫耳) 滴加完後繼續攪拌 10 分鐘, 產物沉澱出來, 過濾後用少量水洗滌, 乾燥後得到黃色粉末

(**23**) 1.1 克, 產率 96 %, 熔點 152-154 。

EIMS  $m/z$  (rel. int %): 325 ( $M^+$ )

IR:  $\nu_{C=O}$  (KBr)  $cm^{-1}$ : 1667, 1590

元素分析: 以  $C_{23}H_{19}NO$  計算

計算值: C: 84.90; H: 5.89; N: 4.30

實驗值: C: 84.81; H: 5.86; N: 4.31

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ): 2.41 (3 H, *s*,  $-COCH_3$ ), 5.44 (2 H, *s*,  $NCH_2$ ), 6.77 (1 H, *d*,

$J = 16.2$  Hz,  $-\text{CH}=\underline{\text{CH}}-$ ), 7.09-7.50 (9 H,  $m$ , H-1, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.61 (1 H,  $dd$ ,  $J = 1.4, 8.6$  Hz, H-2), 7.72 (1 H,  $d$ ,  $J = 16.2$  Hz,  $-\underline{\text{CH}}=\text{CH}-$ ), 8.13 (1 H,  $d$ ,  $J = 7.5$  Hz, H-5), 8.27 (1 H,  $s$ , H-4)

## XXII、 Ethyl-9-benylcarbazole-3-acrylate (24)

在無水乙醇 30 毫升中通入 HCl 氣體，當液體呈淡黃色後，加入化合物 20 (1 克, 3 毫莫耳) 加熱迴流 5 小時，以二氯甲烷萃取，萃取液經硫酸鎂乾燥後，再以管柱層析 ( $n$ -hexane/ethyl acetate) 分離純化，即可得化合物 24 (450 毫克, 產率 42 % , 熔點 152-154 )。

EIMS  $m/z$  (rel. int %) : 355 ( $M^+$ )

IR :  $\text{C}=\text{O}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  : 1698

元素分析 : 以  $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{NO}_2$  計算

計算值: C: 81.02 ; H: 5.95 ; N: 3.94

實驗值: C: 81.11 ; H: 5.97 ; N: 3.92

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 1.38 (3 H,  $t$ ,  $J = 7.1$  Hz,  $-\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 4.30 (2 H,  $q$ ,  $J = 7.1$  Hz,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$ ), 5.50 (2 H,  $s$ ,  $\text{NCH}_2$ ), 6.49 (1 H,  $d$ ,  $J = 15.9$  Hz,  $-\text{CH}=\underline{\text{C}}\text{H}-$ ), 7.11-7.51 (9 H,  $m$ , H-1, H-6, H-7, H-8, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.63 (1 H,  $dd$ ,  $J = 1.5, 8.6$  Hz, H-2), 7.91 (1 H,  $d$ ,  $J = 15.9$  Hz,  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ), 8.14 (1 H,  $d$ ,  $J = 7.6$  Hz, H-5), 8.29 (1 H,  $d$ ,  $J = 1.2$  Hz, H-4)

## 第四節 藥理活性測定方法:

### A、抗血小板凝集活性測定

血小板凝集引發劑之製備：

1           Thrombin (bovine) :

購自 Park Davis Co.USA, 溶解於 50% ( v/v ) glycerol 製備成 100 NIH units / mL 之 stock solution。

2           Arachidonic acid ( AA ):

購自 Sigma Chemical Co. USA , 以去離子水溶解之。

3           Collagen ( type 1, bovine Achilles tendon ):

購自 Sigma Chemical Co.USA , 溶解在 25 ml acetic acid 中 , 於 4 研磨使均質化 , 以 1 mg / mL 的濃度儲存於 -70 。

- 4 Platelet-activating factor( PAF ):購自 Sigma chemical Co.USA ,  
溶於 chloroform 中 , 儲存於-20 使用前以 0.9 % NaCl 稀釋之。
- 5 Adenosine diphosphate (ADP) : 購自 Sigma chemical Co.USA , 以  
去離子水溶解備用.

血小板懸浮液 ( platelet suspension ) 之製備 :

從兔耳靜脈抽出血液 , 與 100 mM EDTA 以 1 : 14 ( v/v ) 的比例混合 , 混合後 , 室溫下立即以  $90 \times g$  離心 10 分鐘 , 取出上層富含血小板之血漿 , 再以  $500 \times g$  離心 10 分鐘 , 除去血漿後 , 將下層血小板以含有 EDTA ( 2 mM ) 及 bovine serum albumin ( BSA, 3.5 mg / mL ) 的 Tyrode 溶液懸浮之 , 並於相同轉速下離心 10 分鐘。所得血小板在不含 EDTA 的 Tyrode 溶液懸浮後 , 再於相同條件下離心後 , 取血小板層 , 將其懸浮於 Tyrode 溶液中 , 並以 Coulter counter ( Model ZM ) 計數 , 調整血小板數目約為  $4.5 \times 10^8$  platelets / ml , 最後加入 1 mM 鈣離子 , 靜置 30 分鐘後 , 再進行實驗。Tyrode 溶液除了含 BSA 外 , 其他組成如下( mM ) : NaCl ( 136.9 ) , KCl ( 2.7 ) ,  $MgCl_2$  ( 2.1 ) ,  $NaH_2PO_4$  ( 0.4 ) ,  $NaHCO_3$  ( 11.9 ) 及 glucose ( 11.1 )

## 血小板凝集試驗:

採用 Lumi-aggregometer ( Model 1020, PayLon , Canada ) 及混濁度法 ( turbidimetric method ) 之原理來測定凝集程度<sup>59</sup>。將血小板懸浮液 0.4 毫升加入經 silicone 包衣的小玻璃管中,再加入適量的 Tyrode 溶液, 在 37 °C 下以小磁棒做每分鐘 1200 轉的攪拌, 加入凝集引發劑後, 觀察 6 分鐘, 若未特別說明, 均在加入凝集引發劑前三分鐘加入測試化合物。凝集程度的計算是以 PBS 的吸光度作為 0 % 的血小板凝集, 以 Tyrode 溶液的吸光度作為 100 % 的血小板凝集, 利用下列公式計算之<sup>60</sup>:

$$\text{凝集 \%} = \left[ \frac{A_1 - A_2}{A_1 - A_b} \right] \times 100 \%$$

A<sub>1</sub>: 加入凝集引發劑前的吸光度

A<sub>2</sub>: 加入凝集引發劑後的吸光度

A<sub>b</sub>: Tyrode's solution 的吸光度

## B、抗炎活性試驗測定方法

中性白血球 ( neutrophils ) 之製備:

大鼠 ( Sprague Dawley, 300-350 g ) 經 pentobarbital ( 60 mg / kg, i.p. ) 麻醉後, 由腹腔動脈抽血, 與 dextran 混合靜置, 經 Ficoll-hypaque density gradient 離心沉降後, 將 neutrophils 和其它血液細胞分離.並在低張溶液



( 0.05 % saline ) 下除去紅血球 , 將細胞於包含 0.25 % bovine serum albumin 之 1.75 % saline 清洗後 , 並懸浮於 Hanks ' balanced salt solution ( HBSS ), 組成為 4 mM NaHCO<sub>3</sub> 及 10 mm N-(2-hydroxyethyl) piperazine-N'-(2-ethane sulfonic acid) ( HEPES ) (pH7.4)成每毫升 2 × 10<sup>6</sup>個細胞 , 其中包含 90-95 % 之 neutrophils。

測定方法 :

Neutrophil degranulation method

( 1 ) -Glucuronidase 釋放之測定<sup>61</sup> :

將中性白血球懸浮液分別與 DMSO 或檢品溶液於 37 培養三分鐘後 , 各別加入 fMLP ( 10 mM ) 與之作用 , 經四十五分鐘後 , 加入冰浴過之 Tyrode ' s solution 來中止反應 , 混合液經離心 ( 1000 xg ) 十分鐘後 , 將上清液取出 , 利用上清液中之 -Glucuronidase 與 phenolphthalein-D-glucuronide 反應後 , 在分光光度計 550 nm 波長下來測量所含 -Glucuronidase 之量。

( 2 ) Lysozyme 釋放之測定<sup>62</sup> :

同 ( 1 ) 中處理後 , 將所得含 Lysozyme 之上清液 , 利用 *Micrococcus lysodeikticus* 作為受質 , 經由分光光度計在 450 nm 處測量之。

-Glucuronidase 及 lysozyme 的釋放表示如下 :

% release =  $\left[ \frac{\text{release elicited by secretagogue} - \text{spontaneous release}}{\text{total}} \right]$

content】 × 100

Total content 是將細胞懸浮於 Triton X-100 後所測量之值。

### C、Superoxide formation method

Superoxide anion 釋放之測定：

於檢品及參考溶液 ( 0.4 ml ) 中含有 0.2 ml 細胞懸浮液 (  $5 \times 10^6$  cells mL ) 及 0.9 mg / ml 的 ferricytochrome C , 而參考溶液中再加入 12.5 mg / ml 的 superoxide dimutase ( SOD ) . 將其於 37 培養三分鐘後 , 分別加入 fMLP ( 0.3  $\mu$  M ) 與之作用 , 經 30 分鐘後 , 離心取上清液 , 利用分光光度計在 550 nm 測定 superoxide dismutase , 從可抑制之吸光部分, 即可知中性白血球釋放過氧化物游離根之程度<sup>63</sup>。

$O_2^-$  ( superoxide anion ) 之量是以下式計算之：

$$O_2^- \text{ ( nmol ) } = 19.08 \times \text{absorbance}$$

### D. 抗過敏活性試驗方法

肥大細胞 ( mast cells ) 之製備：

大鼠經頸部放血後 ( exsanguinated rats; Sprague-Dawley, 250-300 g ),

取 10 ml 含肝素之 Tyrode's solution (  $O_2^-$  Tyrode's solution A ) 注入鼠之腹腔內，按摩 1-2 分鐘並取出腹腔溶液，經 38 % 牛血清蛋白之 glucose-free Tyrode solution 處理離心後，沉澱細胞經清洗後。並懸浮於 Tyrode's solution B，其組成如下 ( mM ): NaCl ( 137 ), KCl ( 2.7 ),  $NaHCO_3$  ( 12 ),  $MgCl_2$  ( 1.0 ),  $NaH_2PO_4$  ( 0.3 ),  $CaCl_2$  ( 1.0 ), glucose ( 5.6 ) and bovine serum albumin 0.1 % . 巨大細胞數目調整成每毫升  $1-1.5 \times 10^6$  個細胞，並測定細胞存活率。

#### Mast cell degranulation method

( 1 ) 組織胺 ( histamine ) 釋放之測定<sup>64</sup> :

將肥大細胞懸浮液分別與 DMSO 或檢品溶液於 37 °C 培養三分鐘後，個別加入 compound 48 / 80 ( 10mg / ml ) 與之作用，經十五分鐘後，加入冰浴過之 Tyrode's solution 來中止反應，混和液經離心 ( 1000 xg ) 後將上清液取出，利用上清液中之 histamine 與 *o*-phthaldehyde 反應後，以螢光分光光度計在 350 / 450 nm 處來測量所含組織胺之量。

( 2 )  $\beta$ -glucuronidase 釋放之測定<sup>62</sup> :

同 ( 1 ) 中處理後，將所得含  $\beta$ -glucuronidase 之上清液，利用 phenolphthalein- $\beta$ -D-glucuronide 作為受質，經由分光光度計在 550 nm 處測量。

Histamine 及  $\beta$ -glucuronidase 的釋放表示如下：

$$\% \text{ release} = \left[ \frac{\text{release elicited by secretagogue} - \text{spontaneous release}}{\text{total content}} \right] \times 100$$

Total content 是將細胞懸浮於 Triton X-100 後所測量之值。

E. NO (nitric oxide)及 TNF- $\alpha$  活性測定

### 1. 材料

- (1) Iscover's Modified Dulbecos Medium 與牛胚胎血清(fetal bovine serum , FBS)：購自 Gibco BRL (Gaithersburg)
- (2) TNF- $\alpha$  酵素免疫分析(enzyme immunoassay, EIA) kit：購自 Genzyme Co. (MA)
- (3) 老鼠干擾素- $\alpha$  (mouse interferon- $\alpha$  , INF- $\alpha$ )：購自 R & D System (MN)
- (4) RAW 264.7 mouse macrophage-like cell line：購自 American Type Culture Collection, MD.
- (5) Dubecco's Modifed Eagle Medium (DMEM)與犢胚胎血清(fetal calf serum)：購自 Gibco BRL (Gaithersburg)
- (6) 其餘試藥皆購自 Sigma (St. Louis, MO)

### 細胞培養與前處理<sup>51</sup>

Murine microglia cell lines N9 係以含有 2 % FBS 與抗生素之 Iscover's Modified Dulbeco's Medium 培養，在前處理部份，先將待測藥物與細胞於 37 °C 混合一小時，再以 100 ng / ml 的 LPS (*Escherichia coli*, serotype

0111 : B4) 加 100 U/ ml INF- 刺激 24 小時，最後保存-70 需要時才取出。

RAW 264.7 mouse macrophage-like cell 則以含有 5 % fetal calf serum, 100 units / ml penicillin 與 100 ì g streptomycin 之 DMEM 培養，在前處理部份，先將待測藥物與細胞於 37 混合一小時，再以 100 / ml 的 LPS (*Escherichia coli*, serotype 0111 : B4) 加 100 U / ml INF- , 刺激 24 小時，最後保存-70 需要時才取出。

#### NO 之測定 <sup>65</sup>

於 150 µl 之培養基中，依序加入 sulfanilamide ( 5 mM, 40 µl)、 HCl (2 M, 10 µl) 及 naphthylethylenediamine (40 mM, 20 µl) ，室溫下混合 10 分鐘後，以 microplate 計數器在 550 nm 下測其吸光度。一氧化氮標準曲線，則以 NaNO<sub>2</sub> 於相同條件下所求得。

#### TNF- 之測定

培養基中的 TNF -之測定使用 TNF- enzyme immunoassay (EIA) kit , 依照廠商所提供之操作步驟進行測定。

#### F. 抑制癌細胞之活性

## HL 60 人類血癌細胞之培養<sup>66-67</sup>

將 HL 60 人類血癌細胞置於 RPMI-1640 medium (含 10 % FBS , 100 U/ml penicillin , 100  $\mu$ g / ml streptomycin , 1 % L-glutamine) , 在 37 , 5 % CO<sub>2</sub> , 溼度 95 % 之 incubator 中培養 ; 細胞密度控制在  $2-5 \times 10^5$  cells /ml , 每次加入新鮮 medium 的同時 , 以 trypan blue exclusion 方式確定細胞的存活。活細胞不會讓 trypan blue 進入細胞中 , 而死亡細胞則會因 trypan blue 的進入呈現淡藍色 , 經由血球計數盤 (hemocytometer) 計算得知細胞數。

## Carbazole 類化合物對培養中 HL60 人類血癌生長速率影響之測試

把 HL-60 人類血癌細胞培養於 24well plate 中(細胞密度為  $2.5 \times 10^5$  cells/ml) , 分別加入不同濃度之 Carbazole 類衍生物 , 置於 37 , 5 % CO<sub>2</sub> , 溼度 95 % 之 incubator 中培養 24 小時 , 取出 plate , 經由離心除去上清液 , 以適量 PBS (phosphate-buffered saline) 清洗細胞 , 離心再除去上清液 , 加入 4  $\mu$ g /mL propidium iodine (PI) , 利用流式細胞儀 (flow cytometry) 分析之。

## 參考文獻

- 1 Sumpter, W. C.; Miller, F. M. Heterocyclic compounds with indole and carbazole systems, in : The chemistry of heterocyclic compounds, vol. 8 Sumpter, W. C.; Miller, F. M. (eds), Interscience Publishers, New York, **1954**, pp70-109.
- 2 Joule, J. A. Recent advances in the chemistry of 9H-carbazole, in: Heterocyclic chemistry, **1984**, 35, pp 84-208.
- 3 Kapil, R. S. The carbazole alkaloids. in : The Alkaloids, Academic press, New York, **1971**, 13, pp 273-302.
- 4 Husson, H. P. Simple indole alkaloids including -carbolines and carbazoles, in: The Alkaloids, Academic press, New York, **1985**, 26, pp 1-51.
- 5 Graebe and Ulmann *Ann.* **1896**, 291, 16.
- 6 <sup>a</sup>Baeyer, *Ann.* **1894**, 278, 105. <sup>b</sup>Baeyer and Tutein *Ber.* **1889**, 22, 2178. <sup>c</sup>Borsche, Witte and Bothe *Ann.* **1908**, 359, 52. <sup>d</sup>Drechsel, *J. Prakt. Chem* **1882**, 38, 69. <sup>e</sup>Godchot, *Compt. Rend.* **1923**, 176, 448. <sup>f</sup>Rogers and Corson *Organic synthesis* **1950**, 30, 90. <sup>g</sup>Rogers and Corson *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, 69, 2910. <sup>h</sup>Oakeshott and Plant *J. Chem. Soc.* **1926**, 1210. <sup>i</sup>Briscoe and Plant, *J. Chem. Soc.* **1928**, 1990. <sup>j</sup>Moggridge and Plant, *J. Chem. Soc.* **1937**, 1125.
- 7 Auber, *Ber.* **1891**, 24, 197.
- 8 Fries, Baker and Wallbaum, *Ann.* **1934**, 73, 509.
- 9 <sup>a</sup>Smith, P. A. S.; Brown, B. B. The synthesis of heterocyclic compounds from aryl azides. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 2435-2438. <sup>b</sup>Smith, P. A. S.;

- Bayer, J. H. The synthesis of heterocyclic compounds from aryl azides. II. Carbolines and thienoindole. *ibid*, **1951**, 73, 2626-2629.
- 10 Carruthers, W. *Chem. Commun.* **1966**, 272.
  - 11 Cakraborty, D. P.; Das, K. C.; Chowdhury, B. K. *Phytochem.* **1969**, 8, 769-773.
  - 12 Kureel, S. P.; Kapil, R. S.; Popli, S. P. New alkaloids from *Murraya koenigii* Spreng. *Experientia.* **1969**, 25, 890-891.
  - 13 Chakraborty, D. P. *Tetrahedron Lett.* **1966**, 661.
  - 14 Chakraborty, D. P. *J. Indian Chem. Soc.* **1969**, 46, 77.
  - 15 Mahboobi, S.; Kuhr, S.; Koller, M. Synthesis of carbazole derivatives. III Synthesis of new pyrrolidino[3,4-c]carbazol by intramolecular Michael addition. *Tetrahedron* **1996**, 52, 18, 6373-6382.
  - 16 Moinet-Hedin, V.; Tabka, T.; Poulain, L.; Godard, T.; Lechevrel, M.; Saturnino, C.; Lancelot, J. C.; LeTalaer, J. Y.; Gauduchon, P. Biological properties of 5,11-dimethyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazoles: a new class of potent antitumor drugs. *Anti-Cancer Drug Des.* **2000**, 15, 2, 109-118.
  - 17 Ito, C.; Katsuno, S.; Itoigawa, M.; Ruangrunsi, N.; Mukainaka, T.; Okuda, M.; Kitgawa, Y.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Furukawa, H. New carbazole alkaloids from *Clausena anisata* with antitumor promoting activity. *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 1, 125-128.
  - 18 Itoigawa, M.; Kashiwada, Y.; Ito, C.; Furukawa, H.; Tachibana, Y.; Bastow, K. F.; Lee, K. H. Antitumor agents. 203. Carbazole alkaloid murraya-quinone A and related synthetic carbazolequinones as cytotoxic agents. *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 7, 893-897.
  - 19 Roder, H.; Lowinger, T. B.; Brittelli, D. R.; Vanzandt, M. C. Preparation of indolocarbazole derivatives useful for the treatment of



- neurodegenerative diseases characterized by tau hyperphosphorylation and cancer. U.S. US 6013646, **2000**, A 11, 23 pp.
- 20 Chin, L. S.; Murray, S. F.; Doherty, P. F.; Singh, S. K. K252a induces cell cycle arrest and apoptosis by inhibiting Cdc2 and Cdc25c. *Cancer Invest.* **1999**, *17*, 6, 391-395.
- 21 Shmeiss, N. A. M. M.; Ismail, M. M. F.; Soliman, A. M.; El-Diwani, H. I. Antimitotic agents: synthesis of new heterocyclic and other derivatives of 1,2,3,4-tetrahydro-9H-carbazole. *Al-Azhar J. Pharm. Sci.* **1998**, *22*, 82-99.
- 22 Ito, C.; Katsuno, S.; Itoigwa, M.; Ruangrunsi, N.; Mukainaka, T.; Okuda, M.; Kitgawa, Y.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Furukawa, H. New carbazole alkaloids from *Clausena anisata* with antitumor promoting activity. *J. Nat. Prod.*, **2000**, *63*, 1, 125-128.
- 23 Yenjai, C.; Sripontan, S.; Sriprajun, P.; Kittakooop, P.; Jintasirikul, A.; Tanticharoen, M.; Thebtaranonth, Y. Coumarins and carbazoles with antiplasmodial activity from *Clausena harmandiana*. *Planta Med.*, **2000**, *66*, 3, 277-279.
- 24 Meragelman, K. M.; McKee, T. C.; Boyd, M. R. Siamenol, a new carbazole alkaloid from *Murraya siamensis*. *J. Nat. Prod.*, **2000**, *63*, 3, 427-438
- 25 Naoki, A. Mechanism of radical scavenging by microbial antioxidants. *Kagaku to Seibutsu*, **2000**, *38*, 1, 5-7.
- 26 Chakraborty, A.; Saha, C.; Podder, G.; Chowdhurg, B. K.; Bhattacharyya, P. Carbazole alkaloid with antimicrobial activity from *Clausena heptaphylla*. *Phytochem.* **1995**, *38*, 787-789.
- 27 Chakraborty, A.; Chowdhurg, B.K.; Bhattacharyya, P. Clausenol and

- clausenine-two carbazole alkaloids from *Clausena anisata*. *Phytochem.* **1995**, *40*, 1, 295-298
- 28 Wu, C. C.; Ko, F. N.; Wu, T. S.; Teng, C. M. Antiplatelet effects of clausine-D isolated from *Clausena excavata*. *Biochimica et Biophysica Acta.* **1994**, *1201*, 1, 1-6.
- 29 Stemerman, M. B.; Baumgartner H. R.; Spaet, T. H. The subendothelial microfibril and platelet adhesion. *Lab. Invest.* **1972**, *24*, 176-186.
- 30 Marcus, A. J.; Safier, L. B.; Thromboregulation: multicellular modulation of platelet reactivity in hemostasis and thrombosis. *FASEB. J.* **1993**, *7*, 512-6.
- 31 Malmsten, C.; Hamberg, M.; Svensson, J.; Samuelsson, B. Physiological role of an endoperoxide in human platelets : hemostatic defect due to cyclooxygenase deficiency. *Pro. Natl. Acad. Sci.*, **1975**, *72*, 1446-1448.
- 32 Colman, R. W.; Marder, V. J.; Salzman, E. W.; Hirsh, J. Overview of hemostasis in : Haemostasis and thrombosis: Basic principles and clinical practice, 3 ed., by Colman, R. W. et al., Lippincott Co., Philadelphia, p3-18.
- 33 Fuster, V.; Badimon, L; Badimon, J. J.; Chesebro, J. H. Pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *New Engl. J. Med.* , **1992**, *326*, 342-350.
- 34 Austen, K. F. Biologic implications of structural and functional characteristics of the chemical mediators of immediate type hypersensitivity. *Harvey Lect.* **1979** *73*, 93-161.
- 35 Weissmann, G. Smolen, J. E.; Korchak, H. M. Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils. *N. Engl. J. Med.* **1980**, *303*, 27-34.
- 36 Armstrong, R. A. Investigation of the inhibitory effects of PGE2 and

- selective EP agonists on chemotaxis of human neutrophils. *Br. J. Pharmacol* **1995**, *116*, 2903-2908.
- 37 Adams G. K.; Lichtenstein, L. M. In vitro studies of antigen-induced bronchospasm : effect of antihistamine and SRS-A antagonist on response to sensitized guinea pig and human airways to antigen. *J. Immunol.* **1979**, *122*, 555-562.
- 38 Chwartz L. B.; Austen, K. F. Structural and function of the chemical mediators of mast cells. *Prog. Allergy* **1984**, *34*, 271-321.
- 39 Solbach, W.; Moll, H.; Rollinghoff, M.; Lymphocytes play the music but the macrophages cells the tune. *Immunol. Today* **1996**, *12*, 4-6.
- 40 Ding, A. H., Nathan, C. F.; Stuehr, D. J. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages : comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J. Immunol* **1988**, *141*, 2407-2412.
- 41 Tracey, K. J.; Fong, Y.; Hesse, D. G.; Manogue, K. R.; Lee, A. T.; Kuo, G. C.; Lowary, S. F.; Cerami A. Anticachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia, *Nature* **1987**, *330*, 662-664.
- 42 Gehrman J.; Mastsumoto, Y.; Kreutzberg, G. W. Microglia: intrinsic immunoeffector cell of the brain. *Brain Res. Rev.* **1995**, *20*, 269-287.
- 43 Giulian, D.; Baker, T. J. Characterization of ameboid microglia isolated from developing mammalian brain. *J Neurosci* **1986**, *6*, 2163-2178,
- 44 Lee, S. C.; Liu W.; Dickson, D. W.; Brosman, C. F.; Berman, J. W. Cytokine production by human fetal microglia and astrocytes differential induction by lipopolysaccharide and IL-1 $\beta$ . *J. Immunol.* **1993**, *150*, 2659-2667.
- 45 Minghetti, L.; Levi, G. Induction of prostanoid biosynthesis by bacterial

- lipopolysaccharide and isoproterenol in rat microglial cultures. *J. Neurochem.* **1995**, *65*, 2690-2698.
- 46 Woodroffe, M. N.; Cuzner, M. L. Cytokine mRNA expression in inflammatory multiple sclerosis lesions: detection by non-radioactive in situ hybridization. *Cytokine* **1993**, *5*, 583-8.
- 47 Yeung, M. C.; Pulliam, L.; Lau, A. S. The HIV envelope protein gp120 is toxic to human brain-cell cultures through the induction of interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *AIDS* **1995**, *9*, 137-143.
- 48 McGeer, P. L.; McGeer, E. G. The inflammatory response system of brain- implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Brain Res. Rev.* **1995**, *21*, 195-218.
- 49 Meda, L.; Cassatella, M. A.; Szendrrei, G. I.; Otvos, L. J.; Baron, P.; Villalba, M.; Ferrari, D.; Rossi, F. Activation of microglial cells by  $\beta$ -amyloid protein and interferon- $\gamma$  *Nature*, **1995**, *374*, 647-50.
- 50 Tyor, W. R.; Wesselingh, S. L.; Griffin, J. W.; McArthur, J. C.; Griffin, D. E. Unifying hypothesis for the pathogenesis of HIV-associated dementia complex vacuolar myelopathy, and sensory neuropathology. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* **1995**, *9*, 379-88.
- 51 Corradin, S. B.; Manuel, J.; Donini, S. D.; Quattrocchi, E.; Ricciardi-Castagnoli, P. Inducible nitric oxide synthase activity of cloned murine microglial cells. *Glia.* **1993**, *7*, 255-62.
- 52 [Http://www.geocities.com/collegePark/Lab/1580/cycle.html](http://www.geocities.com/collegePark/Lab/1580/cycle.html).
- 53 Kuo, S. C.; Lee, F. Y.; Teng, C. M. 1-(Substituted benzyl)-3-(substituted aryl) Condensed Pyrazole Derivatives and Processes of Making the Same. *U.S. Patent 5,574,168*, 1996.
- 54 Wu, C. C.; Ko, F. N.; Kuo, S. C.; Lee, F. Y.; Teng, C. M. YC-1 Inhibited human platelet aggregation through NO-independent activation of soluble guanylate cyclase. *Br. J. Pharmacol.* **1995**, *116*, 1973-8.

- 55 Friebe, A.; Koesling, D. Mechanism of YC-1-induced activation of soluble guanylyl cyclase. *Mol. Pharmacol.* **1998**, *53*, 123-7.
- 56 Buu-Hoi, N. P.; Royer, R. Potential nitrogen-heterocycle carcinogens XI. Substitution reactions of *N*-alkylcarbazoles *J. Org. Chem.* **1951**, *16*, 1198-1202.
- 57 Gravel, D.; Gauthier, S.; Brisse, F.; Raymond, S.; D'Amboise, M.; Messier, P.; Zelent, B.; Durocher, G. Synthesis, electronic spectroscopy, and evaluation of photoconducting oligomers with pendant bichromophores. Part 1. Influence of donor-acceptor orbital overlap on aggregate emission and photoactivity *Can. J. Chem.* **1990**, *68*, 908-25.
- 58 Ito, C.; Okahana, N.; Wu, T. S.; Wang, M. L.; Lai, J. S.; Kuoh, C. S.; Furukawa, H. New carbazole alkaloids from *Murraya euchrestifolia* *chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 1, 230-2.
- 59 Gioanola, M.; Leardini, R.; Nanni, D.; Pareschi, P.; Zanardi, G. Intramolecular addition of aryl radicals to carbon-nitrogen double bonds. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 2039-54.
- 60 Takami, H.; Nonaka, H.; Kishibayashi, N.; Ishii, A.; Kase, H.; Kumazawa, T. Synthesis of tricyclic compounds as steroid 5 alpha-reductase Inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 552-555.
- 61 O'Brien, J. R.; Platelet Aggregation .Some results from a new method of study. *J. Chem. Path.* **1962**, *15*, 452-455.
- 62 Teng ,C. M.; Chen, W. Y.; Ko, W. C.; Ouyang, C. Antiplatelet effect of butylidenephthalide. *Biochem. Biophys. Acta.* **1987**, *924*, 375-82.
- 63 Barrett, A. J. "A Laboratory Handbook" Dingle, J. T. ed. Elsevier North-Holland, Amsterdam, **1972**, p118-120.

- 64 Absolom, D. R.; Basic methods for the study of phagocytosis, *Methods Enzymol.* **1986**, *132*, 95-179.
- 65 Wang, J. P.; Raung, S. L.; Hsu, M. F.; Lin, C. N Inhibition by gmisin C (a lignan from *Schizandra chinensis*) of the respiratory burst of rat neutrophils *Br. J. Pharmacol.* **1994**, *113*, 945-953.
- 66 Hakanson, R.; Ronnberg, A. L. Improved fluorometric assay of histamine, *Antlyt. Biochem.* **1974**, *60*, 560-7.
- 67 Minghetti, L.; Nicolini, A.; Polazzi, E.; Creminon, C.; Maclouf, J.; Levi, G. Inducible nitric oxide synthase expression in activated rat microglial culcures is down-regulated by exogenous prostaglandin E2 and by cyclooxygenase inhibitors. *Glia.* **1997**, *19*, 152-60.
- 68 Weber, S. M.; Levitz, S. M. Chloroquine interferes with lipopolysaccharide-induced TNF- $\alpha$  gene expression by a nonlysosomotropic mechanism. *J. Immunol.* **2000**, *165*, 1534-1540.
- 69 Jeong, J. Y.; Jue, D. M. Chloroquine inhibits processing of tumor necrosis factor in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *J. Immunol.* **1997**, *158*, 4901-1907.
- 70 Chen, G. Q.; Zhu, J.; Shi, X. G.; Ni, J. H.; Zhong, H. J.; Si, G. Y.; Jin, X. L.; Tang, W.; Li, X. S.; Xong, S. M.; Shen, Z. X.; Sun, G. L.; Ma, J.; Zhang, P. D.; Zhang, T.; Gazin, C.; Naoe, T.; Chen, S. J.; Wang, Z. Y.; Chen, Z. In vitro studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) in apoptosis with downregulation of Bcl-2 expression and modulation of PML-RAR / PML proteins. *Blood.* **1996**, *88*, 1052-1061.
- 71 Jun, C. D.; Pae, H. O.; Yoo, J. C.; Kwak, H. J.; Park, R. K.; Chung, H. T.

Cyclin adenosine monophosphate inhibits nitric oxide-induced apoptosis in human leukemia HL-60 cells. *Cellular Immunology*. **1998**, *183*; 13-21.

## 發表投稿之論文

- 1 Chao, Y. H.; Kuo, S. C.; Wu, C. H.; Lee, C. Y.; Mauger, A.; Sun, I. C.; Morris-Natschke, S. L.; Lee, K. H. Synthesis and cytotoxicity of 2-acetyl-4,8-dihydrobenzodithiophene-4, 8-dione derivatives. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 23, 4658-4661.
- 2 Guo, R. T.; Chou, L. J.; Chen, Y. C.; Chen, C. Y.; Pari, K.; Jen, C. J.; Lo, S. J.; Huang, S. L.; Lee, C. Y.; Chang, T. W.; Chaung, W. J. Expression in *Pichia pastoris* and characterization by circular dichroism and NMR of rhodostomin. *Proteins*. **2001**, *43*, 4, 499-508.
- 3 Lee, C. Y.; Kuo, S. C.; Teng, C. M.; Huang, L. J. Synthesis and antiplatelet activity of 9-benzyl-3-hydroxymethylcarbazoles *J. Chin. Pharm.* **2002** (accepted).
- 4 Lee, C. Y.; Huang, L. J.; Wang, J. P.; Kuo, S. C. Anti-inflammatory activity of 9-substituted benzyl-3-substituted carbazole derivatives *J. Chin. Pharm.*, **2002** (accepted).
- 5 Taso, L. T.; Lee, M. R.; Lee, C. Y.; Kuo, S. C.; Wang, J. P. Inhibition of lipopolysaccharide-stimulated nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages by LCY-2-CHO *Br. J. pharm.*(submitted)

- 6 Lee, C. Y.; Taso, L. T.; Huang, L. J; Wang, J. P., Kuo, S. C. Synthesis of 3,9-disubstituted benzylcarbazole derivatives as inhibitors of microglia cell activation. *J. Med. Chem.Lett.* (submitted).