

第二節 藥理活性試驗結果

著者合成之化合物委託台中榮總教研部藥理實驗室王繼平教授篩選其抑制嗜中性白血球過氧化物形成、抑制嗜中性白血球去顆粒化、抑制肥胖細胞去顆粒化、抑制 TNF- α 形成、抑制一氧化氮形成等活性，並初步篩選其細胞致毒活性，委託本研究室徐美華學姊以 HL-60 及 U937 等 leukemia cell lines 測試抑制癌細胞增殖活性。以下分述試驗結果：

(一) 細胞致毒活性

未環化中間體(26-30)

如 Table 5 所示，初步篩選此類化合物之細胞致毒活性，測試抑制 HL-60 及 U937 癌細胞之增殖，發現雙酯產物 **26**、**27** 活性不及單酯副產物 **29**、**30**。化合物 **29**、**30** 抑制 HL-60 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 18.5 μ M、19.4 μ M；抑制 U937 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 10.0 μ M、16.8 μ M。由此得知，未來可考慮繼續合成不同取代基團、位置的化合物，以建立構效關係；甚至可將雙酯產物或單酯副產物水解變成酸的結構，希望能獲得活性更佳之化合物。

2-Phenyl-4-quinolone derivatives

著者合成之化合物初步篩選細胞致毒活性，測試抑制 HL-60 及 U937 癌細胞之增殖，並將過去本研究室合成的 3', 6-substituted 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid 系列化合物(以*記號表之)合併列表，如 Table 6-8 所示。

1. 如 Table 6 所示，第 3 位置為乙酯基團時，只有化合物 **37*** ($R_6 = F$, $R_3' = OCH_3$) 抑制活性較強，其抑制 HL-60 及 U937 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 11.8 μ M、13.9 μ M；其餘化合物對 HL-60 及 U937 細胞增

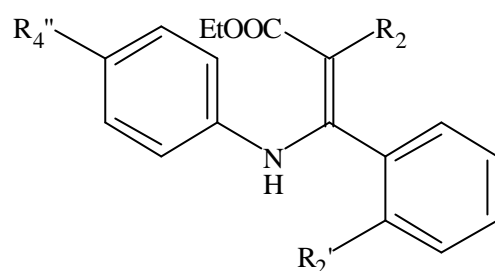
殖抑制活性都相當弱。

2. 如 Table 7 所示，若第 3 位置乙酯基團脫除，活性則大幅提升，如化合物 **43**、**44** 抑制 HL-60 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 $0.19\mu\text{M}$ 、 $0.23\mu\text{M}$ ；抑制 U937 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 $0.32\mu\text{M}$ 、 $0.31\mu\text{M}$ 。
3. 如 Table 8 所示，第 3 位置為酸基(即本研究之標的化合物)之結果分述如下：
 - (A) 倘若 2-phenyl 上沒有任何取代，改變第 6 或 7 位取代基團時，抑制 HL-60 細胞增殖之活性大小為：化合物 **56** (6, 7-methylenedioxy, $IC_{50} = 12.8\mu\text{M}$) > 化合物 **60*** (6-OCH₃, $IC_{50} = 32.3\mu\text{M}$) > 化合物 **52** (6-F, $IC_{50} = 95.3\mu\text{M}$) > 化合物 **48** (6-Cl, $IC_{50} > 100\mu\text{M}$)。
 - (B) 整體而言， R_6, R_2 雙取代之化合物(**45-47, 49-51, 53, 54**)對於 HL-60 及 U937 細胞增殖抑制活性都相當弱。
 - (C) R_6, R_3 雙取代之化合物(**45*-47*, 49*-51*, 53*, 54*, 59*, 60***)對於 HL-60 及 U937 細胞增殖之抑制活性則明顯提升。

其中以化合物 **53*** ($R_6 = \text{OCH}_3, R_3' = \text{F}$) 抑制活性最強，其抑制 HL-60 及 U937 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 $2.0\mu\text{M}$ 、 $3.7\mu\text{M}$ 。化合物 **47*** ($R_6 = \text{Cl}, R_3' = \text{OCH}_3$)、**59*** ($R_6 = \text{OCH}_3, R_3' = \text{OCH}_3$) 也有明顯的抑制活性，其抑制 HL-60 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 $5.0\mu\text{M}$ 、 $3.4\mu\text{M}$ ；抑制 U937 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 $8.1\mu\text{M}$ 、 $4.5\mu\text{M}$ 。化合物 **50*** ($R_6 = \text{F}, R_3' = \text{Cl}$)、**51*** ($R_6 = \text{F}, R_3' = \text{OCH}_3$) 抑制活性下降，其抑制 HL-60 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 $17.5\mu\text{M}$ 、 $8.7\mu\text{M}$ ；抑制 U937 細胞增殖活性之 IC_{50} 數值分別為 $19.6\mu\text{M}$ 、 $16.6\mu\text{M}$ 。其餘化合物抑制活性並不顯著。由此得知，第 3' 位取代基團較 bulky 時(如化

合物 47*、51*、59*之第 3'位為 OCH₃)抑制活性都不錯，大致上比小基團取代(如：F、Cl)之抑制活性好，唯化合物 53*除外，化合物 53*目前是這系列化合物中活性最強者。鑒於化合物 53*抑制活性最強，所以著者合成化合物 55 來比較活性，結果發現對於抑制 HL-60 細胞增殖之活性大小為：化合物 53* (R₆ = OCH₃, R₃' = F, IC₅₀ = 2.0 μM) > 化合物 53 (R₆ = OCH₃, R₂' = F, IC₅₀ = 65.6 μM) > 化合物 55 (R₆ = OCH₃, R₄' = F, IC₅₀ > 100 μM)。由此得知，2-phenyl 環上單取代仍舊是第 3'位取代活性最為優越。

綜觀上述藥理試驗結果得知：雖然 R₆, R₂'雙取代之化合物活性表現不佳，但副產物 43、44 具優越活性，所以未來可考慮將酸基接在其他位置，如第 8 位或是 2-phenyl 環上的 *para* 位。此外，由化合物 56 之活性表現，未來可考慮繼續合成第 6、7 位為 methylenedioxy、第 3'位不同取代的化合物。

Table 5. Antiproliferation effect of compounds (26-30) (*in vitro*)

No.	R ₂	R ₂ '	R ₄ ''	IC ₅₀ ^a (μM)	
				HL-60 ^b	U937 ^b
26	COOEt	F	Cl	33.4	50.0
27	COOEt	F	F	40.8	50.0
28	H	Cl	F	37.0	61.2
29	H	F	OCH ₃	18.5	10.0
30	H	Cl	H	19.4	16.8

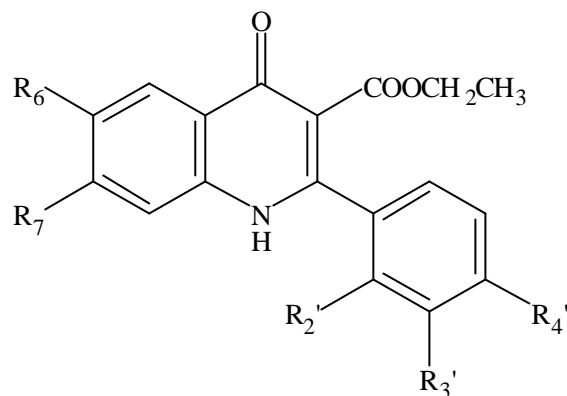
Leukemia cells (1.0×10^5) were incubated with different concentration in 24 hrs.

Data was presented as IC₅₀ (μM)

a: IC₅₀ (50% proliferation-inhibitory concentration) after 24 hrs incubation

b: Human promyelocytic leukemia cells (HL-60); human monocytic cells (U937)

Table 6. Antiproliferation effect of ethyl 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylate derivatives (in vitro)



No.	R ₆	R ₇	R ₂ '	R ₃ '	R ₄ '	IC ₅₀ ^a (μM)	
						HL-60 ^b	U937 ^b
31	Cl	H	F	H	H	> 100	> 100
31*	Cl	H	H	F	H	> 50 ^c	> 50 ^c
32	Cl	H	Cl	H	H	72.7	68.9
32*	Cl	H	H	Cl	H	33.3	40.1
33	Cl	H	OCH ₃	H	H	> 100	> 100
33*	Cl	H	H	OCH ₃	H	49.6	50.1
34	Cl	H	H	H	H	> 100	--
35	F	H	F	H	H	> 100	> 100
35*	F	H	H	F	H	> 50 ^c	> 50 ^c
36	F	H	Cl	H	H	> 100	> 100
36*	F	H	H	Cl	H	> 50 ^c	> 50 ^c
37	F	H	OCH ₃	H	H	> 100	> 100
37*	F	H	H	OCH ₃	H	11.8	13.9
38	F	H	H	H	H	> 100	--
39	OCH ₃	H	F	H	H	> 100	> 100
39*	OCH ₃	H	H	F	H	> 50 ^c	> 50 ^c
41	OCH ₃	H	H	H	F	> 100	--
40	OCH ₃	H	Cl	H	H	> 100	> 100
40*	OCH ₃	H	H	Cl	H	> 50 ^c	> 50 ^c
57*	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	> 50 ^c	> 50 ^c
58*	OCH ₃	H	H	H	H	> 50 ^c	> 50 ^c
42	OCH ₂ O		H	H	H	> 100	--

*: these compounds were synthesized by Dr. Lai Ya-Yun.

Leukemia cells (1.0×10^5) were incubated with different concentration in 24 hrs.

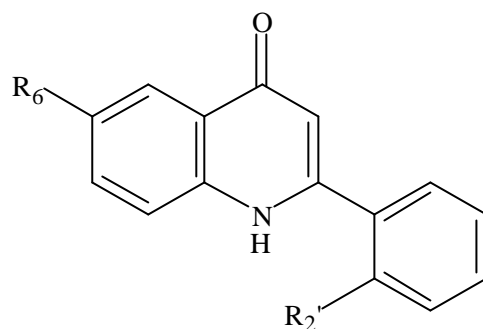
Data was presented as IC₅₀ (μM); --: not determined

a: IC₅₀ (50% proliferation-inhibitory concentration) after 24 hrs incubation

b: Human promyelocytic leukemia cells (HL-60); human monocytic cells (U937)

c: the highest tested concentration

Table 7. Antiproliferation effect of compounds (43-44) (*in vitro*)



No.	R ₆	R ₂ '	IC ₅₀ ^a (μM)	
			HL-60 ^b	U937 ^b
43	F	F	0.19	0.32
44	OCH ₃	Cl	0.23	0.31

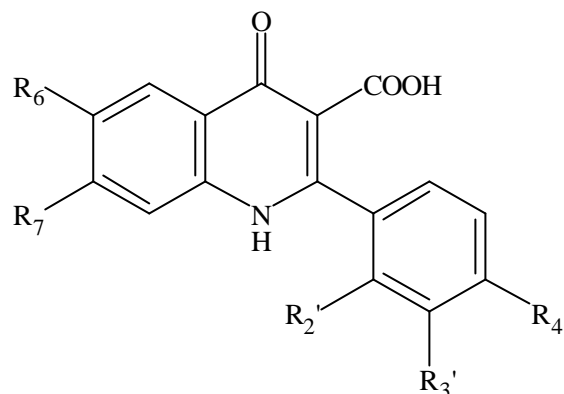
Leukemia cells (1.0×10^5) were incubated with different concentration in 24 hrs.

Data was presented as IC₅₀ (μM)

a: IC₅₀ (50% proliferation-inhibitory concentration) after 24 hrs incubation

b: Human promyelocytic leukemia cells (HL-60); human monocytic cells (U937)

**Table 8. Antiproliferation effect of 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid derivatives
(in vitro)**



No.	R ₆	R ₇	R ₂ '	R ₃ '	R ₄ '	IC ₅₀ ^a (μM)	
						HL-60 ^b	U937 ^b
45	Cl	H	F	H	H	> 50 ^c	> 50 ^c
45*	Cl	H	H	F	H	35.0	37.9
46	Cl	H	Cl	H	H	95.4	96.8
46*	Cl	H	H	Cl	H	> 50 ^c	> 50 ^c
47	Cl	H	OCH ₃	H	H	> 100	> 100
47*	Cl	H	H	OCH ₃	H	5.0	8.1
48	Cl	H	H	H	H	> 100	--
49	F	H	F	H	H	> 100	> 100
49*	F	H	H	F	H	24.0	32.3
50	F	H	Cl	H	H	> 100	> 100
50*	F	H	H	Cl	H	17.5	19.6
51	F	H	OCH ₃	H	H	> 100	> 100
51*	F	H	H	OCH ₃	H	8.7	16.6
52	F	H	H	H	H	95.3	--
53	OCH ₃	H	F	H	H	65.6	56.0
53*	OCH ₃	H	H	F	H	2.0	3.7
55	OCH ₃	H	H	H	F	> 100	--
54	OCH ₃	H	Cl	H	H	100	73.9
54*	OCH ₃	H	H	Cl	H	> 50 ^c	> 50 ^c
59*	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	3.4	4.5
60*	OCH ₃	H	H	H	H	32.3	30.4
56	OCH ₂ O		H	H	H	12.8	--

*: these compounds were synthesized by Dr. Lai Ya-Yun.

Leukemia cells (1.0×10^5) were incubated with different concentration in 24 hrs.

Data was presented as IC₅₀ (μM); --: not determined

a: IC₅₀ (50% proliferation-inhibitory concentration) after 24 hrs incubation

b: Human promyelocytic leukemia cells (HL-60); human monocytic cells (U937)

c: the highest tested concentration

(二) 嗜中性白血球過氧化物形成之抑制活性

未環化中間體(26-30)

如 Table 9 所示，此類化合物對於 fMLP 誘導老鼠嗜中性白血球超氧自由基形成的抑制活性相當弱。而對於 PMA 誘導老鼠嗜中性白血球超氧自由基形成的抑制，只有化合物 26 在濃度為 30 μ M 時約有 34% 的抑制活性；其餘化合物抑制活性並不明顯。

Ethyl 2',4',6-substituted 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylates (31-37, 39-41)

如 Table 10 所示，此類化合物在對於 fMLP 誘導老鼠嗜中性白血球超氧自由基形成的抑制試驗中，以化合物 32 ($IC_{50}=6.8\mu$ M) 的抑制活性最為優越，其 IC_{50} 數值與 triperazine ($IC_{50}=6.6\mu$ M) 相當；化合物 36 ($IC_{50}=13.8\mu$ M)、40 ($IC_{50}=16.7\mu$ M) 也具有明顯抑制活性；其餘化合物抑制活性並不顯著。而對於 PMA 誘導老鼠嗜中性白血球超氧自由基形成的抑制活性，這類化合物之 IC_{50} 數值皆大於 30 μ M。活性較佳的三個化合物 32、36 及 40，其結構在第 6 位置分別為 Cl、F、OCH₃，而在第 2' 位置皆為 Cl 原子。初步建構 SAR 為第 2' 位置取代基團是 Cl 原子時，抑制活性比其他取代基團(如：F 及 OCH₃)來的強。

2',6-Substituted 2-phenyl-4-quinolones (43, 44)

如 Table 11 所示，此類化合物在 fMLP 誘導老鼠嗜中性白血球超氧自由基形成的抑制試驗中，化合物 44 在濃度為 30 μ M 時約有 34% 的抑制活性。而對於 PMA 誘導老鼠嗜中性白血球超氧自由基形成的抑制活性相當弱。

2',4',6-Substituted 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acids (45-51, 53-55)

如 Table 12 所示，此類化合物在 fMLP 誘導老鼠嗜中性白血球超氧自由基形成的抑制試驗中，以化合物 46 ($IC_{50}=24.9\mu$ M) 的抑制活性較佳；其餘化合物抑制活性並不顯著。整體而言，此類化合物與相對應的化合物 ethyl

2',4',6-substituted 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylates (31-37, 39-41)抑制活性相似。而對於 PMA 誘導老鼠嗜中性白血球超氧自由基形成的抑制活性，這類化合物之 IC_{50} 數值皆大於 30 μ M。

(三) 嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性

未環化中間體(26-30)

如 Table 13 所示，此類化合物對於由 fMLP 所誘發老鼠嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性都相當弱。

Ethyl 2',4',6-substituted 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylates (31-37, 39-41)

如 Table 14 所示，此類化合物在由 fMLP 所誘發老鼠嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性試驗中，對於抑制 β -glucuronidase 之生成方面，只有化合物 32、36 在濃度為 30 μ M 時分別約有 49.6% 及 43% 的抑制活性；其餘化合物抑制活性並不明顯。而對於抑制 lysozyme 之生成方面，只有化合物 32 在濃度為 30 μ M 時約有 38 % 的抑制活性；其餘化合物之抑制活性不明顯

2',6-Substituted 2-phenyl-4-quinolones (43, 44)

如 Table 15 所示，此類化合物對於由 fMLP 所誘發老鼠嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性皆不明顯。

2',4',6-Substituted 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acids (45-51, 53-55)

如 Table 16 所示，此類化合物對於由 fMLP 所誘發老鼠嗜中性白血球脫顆粒反應之抑制活性並不顯著。