

東海大學 應用化學研究所

碩士論文

第一部分 設計與嘗試合成吡啶酮衍生物作為潛在

ABC 轉運蛋白抑制劑

**Part 1: Design and Attempted Synthesis of Acridone  
Derivatives as Potential ABC Transporters Inhibitors**

第二部分 設計與合成吡唑雜環衍生物作為 system  $x_c^-$

蛋白抑制劑

**Part 2: Design and Synthesis of Pyrazole Derivatives  
as System  $x_c^-$  Inhibitors**

指導教授: 吳雨珊 博士

研究生: 張家瑋 撰

中華民國 107 年 7 月

## 第一部分 中文摘要

ABC 轉運蛋白(ATP-binding cassette transporters)是一種轉運蛋白，在生物體內負責將細胞內的代謝物以及毒性物質排出細胞外，以達到保護細胞的目的。當抗癌藥物不斷的刺激癌細胞時，癌細胞會過度表達 ABC 轉運蛋白，將抗癌藥物排出細胞外，以導致化療藥物無法有效毒殺癌細胞，使癌細胞產生多重抗藥性(multidrug resistance, MDR)。因此，多重抗藥性的發生是癌 S 症病患化療成功的主要障礙。

Acridones 為黃酮類化合物是天然的生物鹼，其衍生物 elacridar 具有抑制 ABCB1 以及 ABCG2 的能力。我們以 acridones 作為主體架構，並進行官能基修飾設計與合成 acridones 的衍生物。以 amine 化合物與 4-acridinecarboxylic acid 進行偶合反應形成 acridones 的衍生物，但在偶合時 4-acridinecarboxylic acid 只有被醯氯化試劑或是偶合試劑所活化，卻無法與 amine 化合物偶合。推測可能因為 4-acridinecarboxylic acid 的 acridones 結構與 amine 化合物上的苯環之間立體阻礙過大，才導致無法順利偶合而無法合成出最終產物。

## Part 1 abstract

ABC(ATP-binding cassette) transporter proteins are responsible for the cellular efflux of metabolites or toxic substances to protect cells. Overexpression of ABC transporter protein occur when tumor cells are stimulated continuously by chemotherapeutic drugs,that to causing lack of drug accumulation drugs which lead to development of multidrug resistance (MDR). The development of MDR is a major obstacle to successful chemotherapeutic treatment of cancer patients.

Acridones are naturally occurring alkaloids and one of its derivatives, Elacridar was shown to inhibit both ABC transporter proteins ABCB1 and ABCG2. In this study,acridone was used as lead compound to design and synthesize acridone derivatives. These derivatives were planned to be synthesized by coupling 4-acridinecarboxylic acid with respective amines. We have,however,only managed to prepare the acid chlorides and the activated acids. Nucleophilic attack by amine did not occur presumably due to the steric hindrance between the phenyl ring on the amine and acridone moiety.

## 第二部分 中文摘要

在中樞神經系統中 system  $x_c^-$  主要負責細胞膜上將細胞外 L-Cys<sub>2</sub> 以及細胞外的 L-Glu 以 1:1 的方式進行交換。交換後的 L-Cys<sub>2</sub> 至細胞內後迅速的降解成 L-CysH，在藉由細胞內的酵素促進合成 Glutathione(GSH)以達到氧化保護細胞或腫瘤的目的。當大量排出 L-Glu 會導致原本應為興奮性傳遞物質轉變成興奮性毒性影響。由於腦中的神經細胞因興奮性中毒甚至死亡所騰出的空間恰巧提供了神經膠質瘤細胞生長所需的空間。

本研究參考 Patel 研究團隊所設計出 isoxazoles 類型抑制劑的藥效基團模型，設計出一系列以 pyrazole 為中心雜環為主體的 16 個衍生物。2、3 號位取代衍生物透過 witting 反應將 hydrazine 與 dialkyl ethylenedicarboxylates 進行合成。1、3 號位取代衍生物透過銅催化反應將 hydrazones 與 dialkyl ethylenedicarboxylates 進行合成。在藥物濃度為 50  $\mu\text{M}$  的 MTT、L-Glu 外排測試以及 <sup>14</sup>C-cysteine 吸收測試中，間位雙苯環取代前端區域為 pyridazinedione 的 BBXc23 具有最好的抑制效果，可有效抑制具有 system  $x_c^-$  過度表達的膠質瘤母細胞 (glioblastomas, GBM)，阻止 L-Glu 與 L-Cys<sub>2</sub> 的交換並且具有較低的細胞毒性。

## Part 2 abstract

System  $X_c^-$  mediates the exchange of extracellular L-cystine and intracellular L-glutamate across the cellular plasma membrane in a 1:1 manner. After the exchange, the intracellular L-cystine is rapidly reduced to L-CysH which is enzymatically incorporated into Glutathione(GSH) that can protect cell or tumors. When the efflux of L-Glu through system  $x_c^-$  becomes excessive, its function within the CNS turns from an excitatory transmitter to excitotoxin. Excitotoxicity causes cell poisoning/death which also vacates room for tumor expansion.

In this study, we take pharmacophore model of isoxazole analogues by Patel *et al* as reference to design and synthesize sixteen pyrazole derivatives as system  $x_c^-$  inhibitors. 2,3-disubstituted derivatives were synthesized by Wittig reaction of hydrazine and dialkyl ethylenedicarboxylates. 1,3-disubstituted derivatives were synthesized by copper-catalyzed reaction of hydrazones and dialkyl ethylenedicarboxylates. At drug concentration of 50  $\mu$ M, BBXc23 showed low cytotoxicity for glioblastoma cell, and BBXc23 also exhibited good inhibition for both L-glu efflux and cysteine uptake, which indicated that this compound may be a good system  $x_c^-$  inhibitor.

# 第一部分 目錄

第一部分中文摘要 .....	1
Part 1 abstract.....	2
第一部分 目錄.....	5
第一部分 圖表目錄 .....	7
第一部分 表格目錄 .....	8
第一部分 附錄.....	9
第一章 緒論 .....	20
ABC 轉運蛋白(ATP-binding cassette transporters) .....	22
P-glycoprotein (Pgp) .....	24
Multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1,ABCC1) .....	24
ABCG2 .....	25
多重抗藥性 ( multidrug resistance , MDR ) .....	25
ABC 轉運蛋白抑制劑 .....	27
文獻探討與實驗設計 .....	30
第二章 實驗與材料方法 .....	37
化學試藥、溶劑與儀器介紹 .....	37
有機合成 .....	39
第三章 結果與討論 .....	43

第四章 結論.....	46
第一部分 參考文獻.....	47
第一部分 附錄.....	50
圖譜.....	50



## 第一部分 圖表目錄

圖 1、與多重抗藥性有關的 ABC 轉運蛋白結構圖.....	23
圖 2、ABC 轉運蛋白將細胞內的受質運輸到細胞外示意圖 .....	24
圖 3、多重抗藥性機制 .....	26
圖 4、ABC 蛋白抑制劑.....	28
圖 5、Pick 研究團隊探討了有關黃酮類化合物結構與 ABCG2 抑制 效果的結構構效關係(QSAR).....	31
圖 6、Wiese 研究團隊合成五種不同架構的 ABC 轉運蛋白抑制劑 .....	32
圖 7、Wiese 研究團隊所合成最具有活性的化合物.....	32
圖 8、(a) tetrahydroisoquiniline (b) anthranilic acid (c)對於不同 ABC 轉運蛋白的結構修飾 .....	34
圖 9、選擇性抑制 ABCG2 蛋白抑制劑結構 .....	35
圖 10、ABC 系列化合物設計結構.....	36
圖 11、反應條件與試劑.....	43
圖 12、步驟 a 的推測反應機制 .....	44
圖 13、步驟 g 反應條件與試劑.....	45

## 第一部分 表格目錄

表 1、抑制 ABC 轉運蛋白的酪胺酸抑制劑.....29

表 2、Wiese 團隊合成一系列的 tariquidar 類似物之活性表 .....33



# 第一部分 附錄

## 圖譜

圖表 1、BBABC01 氫核磁共振光譜圖。	50
圖表 2、BBABC02 氫核磁共振光譜圖。	51
圖表 3、BBABCD2 氫核磁共振光譜圖。	52
圖表 4、BBABCD3 氫核磁共振光譜圖。	53
圖表 5、BBABCE2 氫核磁共振光譜圖。	54



## 第二部分 目錄

第二部分中文摘要 .....	3
Part 2 abstract.....	4
第二部分 目錄.....	10
第二部分 圖表目錄 .....	12
第二部分 表格目錄 .....	14
第二部分 附錄.....	15
第一章 緒論.....	56
星狀膠質細胞(Astrocyte) .....	57
寡突細胞(oligodendrocyte) .....	57
微膠細胞(microglia).....	58
Glutamate 可作為神經傳遞訊息以及神經毒素 .....	59
System $x_c^-$ .....	61
在中樞神經中透過 System $x_c^-$ 生產 Glutathione(GSH)以及氧化保護 .....	62
System $x_c^-$ 過表達之影響 .....	64
System $x_c^-$ 抑制劑 .....	65
胺基酸類型抑制劑 .....	65
Isoxazoles 類型抑制劑 .....	67
芳香環類型抑制劑 .....	68

文獻探討與實驗設計 .....	69
第二章 實驗與材料方法 .....	72
化學試藥、溶劑與儀器介紹 .....	72
有機合成 .....	74
第三章 結果與討論 .....	96
A 系列 .....	96
B 系列 .....	100
生物活性檢測 .....	107
生物活性與構效關係探討 .....	108
第四章 結論 .....	114
第二部分 參考文獻 .....	116
附錄 .....	120
圖譜 .....	120

## 第二部分 圖表目錄

圖 1、星狀膠質細胞所以引發的興奮性傳遞過程 .....	61
圖 2、a. 異聚體胺基酸轉運蛋白 system $x_c^-$ 由 4F2hc 以及 xCT 以雙硫鍵鍵結組成。b. 詹氏甲烷球菌中與 xCT 的同源的 hxCT 的晶體結構 .....	62
圖 3、通過 system $x_c^-$ 所引導的 cystine/cysteine cycle .....	63
圖 4、system $x_c^-$ 在 CNS 中所扮演的角色 .....	65
圖 5、a. 具有抑制活性的 system $x_c^-$ 抑制劑。b. 抑制活性較低或是無的 system $x_c^-$ 抑制劑 .....	66
圖 6、Isoxazoles 類型的 system $x_c^-$ 抑制劑 .....	67
圖 7、芳香環類型的 system $x_c^-$ 抑制劑 .....	68
圖 8、system $x_c^-$ 抑制劑 3D 結構重疊圖。圖 A-C. L-Glu 為綠色，L-Cys <sub>2</sub> 為黃色，S-4-CPG 為紫色，QA 為水藍色，sulfasalazine 為青銅色，NEIH 為藍色。圖 D system $x_c^-$ 抑制劑的藥效基團模型 .....	69
圖 9、a. 以 5-methylenedihydrofuran 為前端區域的藥效基團模型。b. 以 pyridazinedione 為前端區域的藥效基團模型 .....	71
圖 10、scheme 1 反應條件與試劑 .....	97
圖 11、步驟 d 反應機構 .....	97
圖 12、d. DCE, refluxed .....	98

圖 13、Scheme 2 A 系列反應條件與試劑.....	99
圖 14、步驟 h 以及步驟 i 反應機構.....	99
圖 15、Scheme 3 B 系列反應條件與試劑.....	100
圖 16、反應條件與試劑 .....	101
圖 17、反應條件與試劑.....	102
圖 18、步驟 b 反應循環圖.....	103
圖 19、化合物 20P 未能環化形成 pyrazole.....	104
圖 20、步驟 e 的預測反應機制.....	105
圖 21、BBXc108 X-ray 圖.....	106
圖 22、步驟 e 的推測反應機制.....	106
圖 23、形成化合物 36 以及 37 的合成方法.....	106

## 第二部分 表格目錄

表 1、化合物 20 分類代號 .....	101
表 2、鄰位取代 pyrazole 衍生物待測濃度為 50 $\mu\text{M}$ 的胞存活率以及 抑制 glutamate 外排關係表.....	108
表 3、間位取代 pyrazole 衍生物待測濃度為 50 $\mu\text{M}$ 的胞存活率以及 抑制 glutamate 外排關係表.....	109
表 4、未環化形成 pyrazole 的化合物待測濃度為 50 $\mu\text{M}$ 的胞存活率 以及抑制 glutamate 外排關係表.....	110
表 5、BBXc 與 BBXc115 化合物待測濃度為 50 $\mu\text{M}$ 的 $^{14}\text{C}$ -cysteine 吸 收檢測實驗表.....	113

## 第二部分 附錄

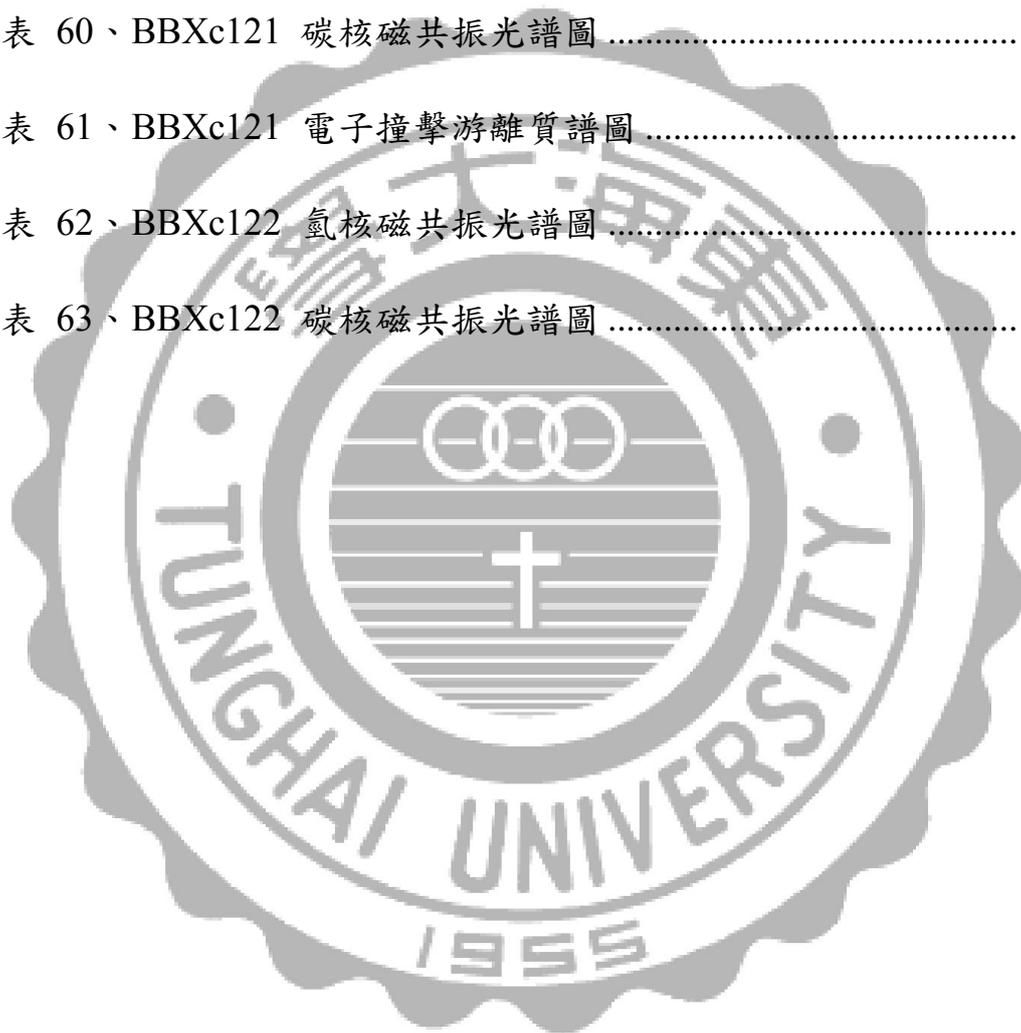
### 圖譜

圖表 1、BBXc71 氫核磁共振光譜圖 .....	120
圖表 2、BBXc50 氫核磁共振光譜圖 .....	121
圖表 3、BBXc51 氫核磁共振光譜圖 .....	122
圖表 4、BBXc74 氫核磁共振光譜圖 .....	123
圖表 5、BBXc74 碳核磁共振光譜圖 .....	124
圖表 6、BBXc74 電子撞擊游離質譜圖 .....	125
圖表 7、BBXc52 氫核磁共振光譜圖 .....	126
圖表 8、BBXc52 碳核磁共振光譜圖 .....	127
圖表 9、BBXc52 電子撞擊游離質譜圖 .....	128
圖表 10、BBXc03 氫核磁共振光譜圖 .....	129
圖表 11、BBXcN1 氫核磁共振光譜圖 .....	130
圖表 12、BBXcN3 氫核磁共振光譜圖 .....	131
圖表 13、BBXcN4 氫核磁共振光譜圖 .....	132
圖表 14、BBXcN5 氫核磁共振光譜圖 .....	133
圖表 15、BBXc20 氫核磁共振光譜圖 .....	134
圖表 16、BBXc20 碳核磁共振光譜圖 .....	135
圖表 17、BBXc20 電子撞擊游離質譜圖 .....	136

圖表 18、BBXc100	氫核磁共振光譜圖 .....	137
圖表 19、BBXc100	碳核磁共振光譜圖 .....	138
圖表 20、BBXc100	電子撞擊游離質譜圖 .....	139
圖表 21、BBXc102	氫核磁共振光譜圖 .....	140
圖表 22、BBXc102	碳核磁共振光譜圖 .....	141
圖表 23、BBXc102	電子撞擊游離質譜圖 .....	142
圖表 24、BBXc110	氫核磁共振光譜圖 .....	143
圖表 25、BBXc110	碳核磁共振光譜圖 .....	144
圖表 26、BBXc110	電子撞擊游離質譜圖 .....	145
圖表 27、BBXc114	氫核磁共振光譜圖 .....	146
圖表 28、BBXc114	碳核磁共振光譜圖 .....	147
圖表 29、BBXc114	電子撞擊游離質譜圖 .....	148
圖表 30、BBXc21	氫核磁共振光譜圖 .....	149
圖表 31、BBXc105	氫核磁共振光譜圖 .....	150
圖表 32、BBXc106	氫核磁共振光譜圖 .....	151
圖表 33、BBXc120	氫核磁共振光譜圖 .....	152
圖表 34、BBXc23	氫核磁共振光譜圖 .....	153
圖表 35、BBXc23	碳核磁共振光譜圖 .....	154
圖表 36、BBXc23	電子撞擊游離質譜圖 .....	155

圖表 37、BBXc103	氫核磁共振光譜圖 .....	156
圖表 38、BBXc103	碳核磁共振光譜圖 .....	157
圖表 39、BBXc103	電子撞擊游離質譜圖 .....	158
圖表 40、BBXc104	氫核磁共振光譜圖 .....	159
圖表 41、BBXc104	碳核磁共振光譜圖 .....	160
圖表 42、BBXc104	電子撞擊游離質譜圖 .....	161
圖表 43、BBXc111	氫核磁共振光譜圖 .....	162
圖表 44、BBXc111	碳核磁共振光譜圖 .....	163
圖表 45、BBXc111	電子撞擊游離質譜圖 .....	164
圖表 46、BBXc109	氫核磁共振光譜圖 .....	165
圖表 47、BBXc109	碳核磁共振光譜圖 .....	166
圖表 48、BBXc109	電子撞擊游離質譜圖 .....	167
圖表 49、BBXc22	氫核磁共振光譜圖 .....	168
圖表 50、BBXc22	碳核磁共振光譜圖 .....	169
圖表 51、BBXc22	電子撞擊游離質譜圖 .....	170
圖表 52、BBXc108	氫核磁共振光譜圖 .....	171
圖表 53、BBXc108	碳核磁共振光譜圖 .....	172
圖表 54、BBXc108	電子撞擊游離質譜圖 .....	173
圖表 55、BBXc108	X-ray 繞射圖譜 .....	174

圖表 56、BBXc115 氫核磁共振光譜圖 .....	175
圖表 57、BBXc115 碳核磁共振光譜圖 .....	176
圖表 58、BBXc115 電子撞擊游離質譜圖 .....	177
圖表 59、BBXc121 氫核磁共振光譜圖 .....	178
圖表 60、BBXc121 碳核磁共振光譜圖 .....	179
圖表 61、BBXc121 電子撞擊游離質譜圖 .....	180
圖表 62、BBXc122 氫核磁共振光譜圖 .....	181
圖表 63、BBXc122 碳核磁共振光譜圖 .....	182



第一部分 設計與嘗試合成吡啶酮  
衍生物作為潛在 ABC 轉運蛋白抑  
制劑

**Part 1: Design and Attempted  
Synthesis of Acridone Derivatives  
as Potential ABC Transporters  
Inhibitors**

# 第一章 緒論

根據衛生福利部公布的 104 年國人死因統計，惡性腫瘤(癌症)已連續 34 年高居國人死因首位，104 年癌症死亡人數為 46829 人，佔總死亡人數的 28.6%。在癌症之中十大死亡率依序為(1)氣管、支氣管和肺癌(2)肝和肝內膽管癌(3)結腸、直腸和肛門癌(4)女性乳房癌(5)口腔癌(6)前列腺(攝護腺)癌(7)胃癌(8)胰臟癌(9)食道癌(10)卵巢癌。<sup>1</sup>

目前癌症主要治療方式有 5 種:1.手術治療，手術的目標在於切除或治療癌瘤，使它不會重新出現在器官裡。為了達到這個目的，我們可以在腫瘤切除手術中取出儘可能多的癌細胞，但無論接受的是器官切除術或是腫瘤切除術加上放射線治療，日後都可能會有局部復發的情況，並非做了切除術便永遠不會再出現腫瘤細胞，我們永遠無法確定是否已取出所有的腫瘤組織，癌細胞可能重新出現在其它部位或器官上。2.化學治療，俗稱化療是透過給予化學藥物，讓藥物停止癌細胞的生長或直接破壞癌細胞等手段來達成制癌的目地。但是化學治療沒有專一性，除了會消滅生長快速的癌細胞，也會影響正常細胞，進而引發一連串的副作用，最常見的副作用為嘔吐、禿髮、倦態、出血、感染以及貧血。3.標靶治療，原理透過針對癌細胞進展過程中所涉及的突變、增殖或擴散的機轉，阻斷癌細胞生長或修復的必經路徑；或是藉由抑制腫瘤血管新生，剝奪其養分來源來達到抑制癌細胞生長、

促進癌細胞死亡以及防止癌細胞擴散的目的。4.放射線治療，可分為體外放射治療或體內近距離放射治療，使用輻射線殺死癌細胞或縮小腫瘤。由於癌細胞的生長和分裂都較正常細胞快，藉由輻射線破壞細胞的遺傳物質，可阻止細胞生長或分裂，進而控制癌細胞的生長。不過放射治療的效果僅能侷限在接受照射的區域內，因此主要目標在於儘可能的破壞所有癌細胞，同時盡量減少對鄰近健康組織影響。5.免疫療法，是利用人體內的免疫機制來對抗腫瘤細胞。免疫療法可分為4大類：(1)單克隆抗體（monoclonal antibodies），原理是使用高專一性的單株抗體直接結合到腫瘤細胞特有的蛋白質或是細胞激素，影響腫瘤細胞的生長、引起免疫系統反應或是其他功能。(2)免疫檢查點抑制劑（immune checkpoint inhibitors），在免疫系統中，T細胞以細胞膜上的「免疫檢查點」蛋白質小分子辨識異常細胞並將消滅腫瘤細胞，但癌細胞卻狡猾的利用此免疫檢查點功能來抑制T細胞的活化，讓癌細胞躲過T細胞的辨識及攻擊，得以快速增殖。透過免疫檢查點抑制劑，阻斷免疫檢查點功能，使得T細胞的活化攻擊癌細胞。(3)嵌合抗原受體T細胞(Chimeric Antigen Receptor T Cells, CAR-T)，從病人身上分離免疫T細胞，透過基因工程技術並利用病毒傳遞遺傳物質來重設T細胞，讓T細胞的細胞膜有抗體的表達，能識別腫瘤特异性分子的蛋白。再將改良的T細胞打回體內，以對抗體內地癌細

胞。(4)癌症疫苗，因有些癌症經由致癌病毒感染所誘發，藉由疫苗活化體內免疫細胞的所具有的專一性免疫能力，能提高免疫細胞辨識特定癌細胞的能力，強化並誘導出細胞毒殺性 T 淋巴球 (CTL) 攻擊特定癌細胞。已知的防癌疫苗，有 HPV 疫苗和乙肝疫苗。HPV 疫苗可預防子宮頸癌、肛門癌、咽喉癌等癌症，乙肝疫苗可以降低肝癌發病率。

在歷年蓬勃抗癌藥物發展之下，已經發展出許多針對不同的癌症的抗癌藥物。然而，在腫瘤細胞不斷地受到抗癌藥物的刺激之下，細胞的生存本能會促使細胞存活最終對於藥物會產生對抗機制，也就是產生抗藥性。而當抗藥性不受限於藥物的結構以及功能影響，我們稱之為多重抗藥性，因此當腫瘤細胞具有多重抗藥性時，會大大的增加治療的難度以及以病患的死亡機率。目前已知多重抗藥性產生與 ABC 轉運蛋白 (ATP-binding cassette transporters) 過度表達有關。<sup>2</sup>

### **ABC 轉運蛋白 (ATP-binding cassette transporters)**

ABC 轉運蛋白為一種細胞穿膜蛋白，在至今研究中在原核生物、真菌、酵母、植物以哺乳動物體內中皆有被發現其蛋白的存在。<sup>3</sup> ABC 轉運蛋白在人類的基因之中發現有 48 種，並可區分為 7 種亞家族 (A-G)。其主要結構可分為兩個大部分，第一部分為兩個穿膜區

(transmembrane domains ,TMDs) , 另一部分為兩個核苷酸鍵結區域 (distinctive nucleotide-binding domains ,NBDs) 組合而成, 僅有 ABCC 亞家族具有第 3 個穿膜區域<sup>4</sup>(圖 1)。ABC 轉運蛋白的運作, 首先受質及 ATP 鍵結至 ABC 轉運蛋白, 此鍵結使得 ABC 轉運蛋白產生構型變化, 由向內構型(inward-facing conformation)變成向外構型(outward-facing conformation), 使得受質得以離開 ABC 轉運蛋白, 最後 ABC 轉運蛋白因 ATP 的水解得到能量回復至向內構型(圖 2)<sup>5</sup>。ABC 轉運蛋白受質包括藥物、激素、入侵之化學物質以及代謝物。<sup>6</sup> 在 ABC 蛋白家族對於人類癌症多重抗藥性中已知 P-glycoprotein (ABCB1)、ABCG2 和 MRP1 (ABCC1)具有重大的影響。

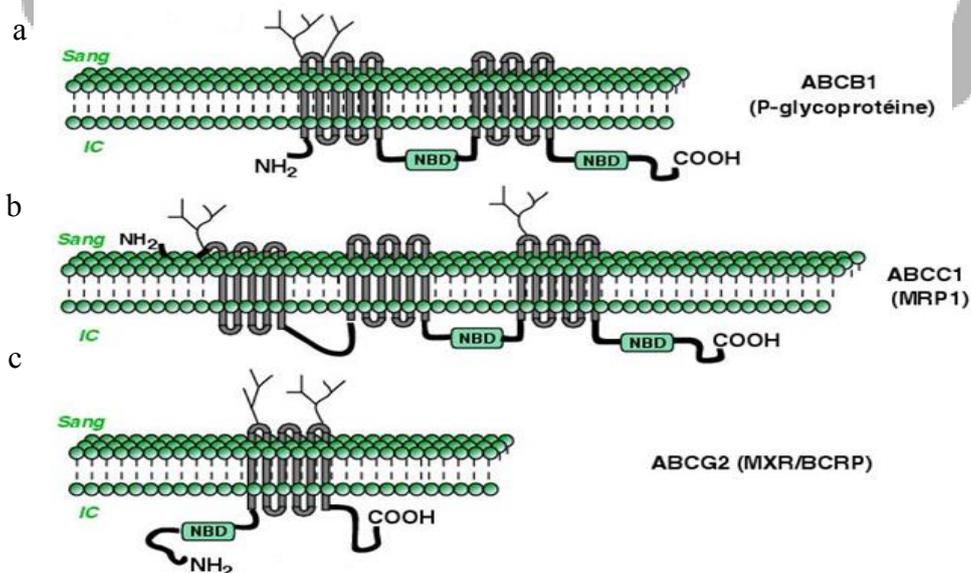


圖 1、與多重抗藥性有關的 ABC 轉運蛋白結構圖。<sup>7</sup>a、ABCB1 類型, 由兩個穿膜區域及兩個核苷酸鍵結區域組成。b、ABCC1 類型, 由兩個穿膜區域及兩個核苷酸鍵結區域組成以及一個 N 端穿膜區域組成。c、ABCG2 類型, 由一個穿膜區

域及一個核苷酸鍵結區域組成。

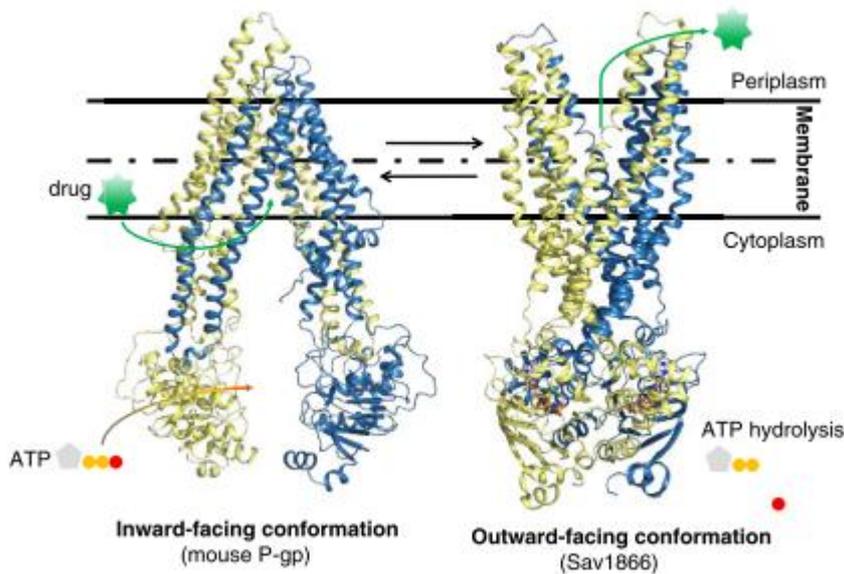


圖 2、ABC 轉運蛋白將細胞內的受質運輸到細胞外示意圖。<sup>5</sup>

### **P-glycoprotein (Pgp)**

P-glycoprotein (Pgp)於 1976 年由 Juliano 和 Ling 的研究團隊在中國倉鼠卵巢細胞細胞膜上的糖蛋白所發現，故稱作 P-glycoprotein 又可稱做 ABCB1，其大小約是 170 kDa。<sup>8</sup>ABCB1 表達於體內不同組織器官，例如：肝臟、胰腺、腎臟、結腸以及腦部。<sup>4</sup>ABCB1 結構是由兩個穿膜區 (transmembrane domains, TMDs) 以及兩個核苷酸鍵結區域 (distinctive nucleotide-binding domains, NBDs) 組成(圖 1)。

### **Multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1,ABCC1)**

ABCC1 是接在 ABCB1 之後所被發現第二個與多重抗藥性有相關的 ABC 轉運蛋白，於 1992 年，Cole 團隊在具有多重抗藥性的人類

肺細胞癌細胞株中所發現並取名為 Multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1, ABCC1)。<sup>9</sup>ABCC1 和 ABCB1 的結構上很相似都具有兩個兩個穿膜區 (transmembrane domains, TMDs) 以及兩個核苷酸鍵結區域 (distinctive nucleotide-binding domains, NBDs) 組成。唯一不同是 ABCC1 還多了一個 N 端的穿膜區域(圖 1)，其大小約為 180-190 kDa。

## ABCG2

ABCG2 又稱 breast cancer resistance protein (BCRP)、placentaspecific ABC transporter (ABCP) 及 mitoxantrone resistance protein (MXR)。ABCG2 是約 75 kDa 的穿膜蛋白<sup>10</sup>，最早在於 1998 年由 Michael Dean 以及 Douglas D. Ross 兩個團隊同時發現。<sup>11</sup>ABCG2 表達於體內的不同組織器官，例如：胎盤、小腸結腸的上皮細胞、肝臟、腎臟以及腦內皮之中。<sup>10</sup>ABCG2 為半運轉蛋白(half-transporter)的結構只有一個穿膜區 (transmembrane domains, TMDs) 以及一個核苷酸鍵結區域 (distinctive nucleotide-binding domains, NBDs) 所組成，故需要個單元組成二聚體才能運作<sup>12</sup>(圖 1)。

## 多重抗藥性 (multidrug resistance, MDR)

病患在化療初期，使用藥物進行治療達到大部分癌細胞死亡之效

用，但能然有些許的腫瘤細胞存活。這些存活的腫瘤細胞在長期藥物的刺激之下，讓腫瘤細胞對於此藥物產生耐受性，即為產生抗藥性，當對複數以上的藥物產上抗藥性及即為多重抗藥性。造成多重抗藥性的機制可概括為以下 5 種類型：(1)調控細胞內的藥物濃度，經由降低藥物進入細胞內以及增加藥物排出細胞，最常見為於細胞膜上表達的 ABC 轉運蛋白 P-glycoprotein (ABCB1)、ABCG2 和 MRP1 (ABCC1) (2)改變藥物代謝途徑或產物(3)改變細胞內的作用目標，如細胞突變 (mutation) (4)增強細胞修復機制(5)改變細胞的存活方式。當腫瘤細胞不斷的被抗藥物刺激之下，腫瘤細胞膜上的 ABC 蛋白過度表達，將細胞內的抗癌藥物排出癌細胞外，導致抗癌藥物在細胞內的抗癌藥物濃度不足，而無法達到毒殺細胞的效果，進而導致治療的失敗。

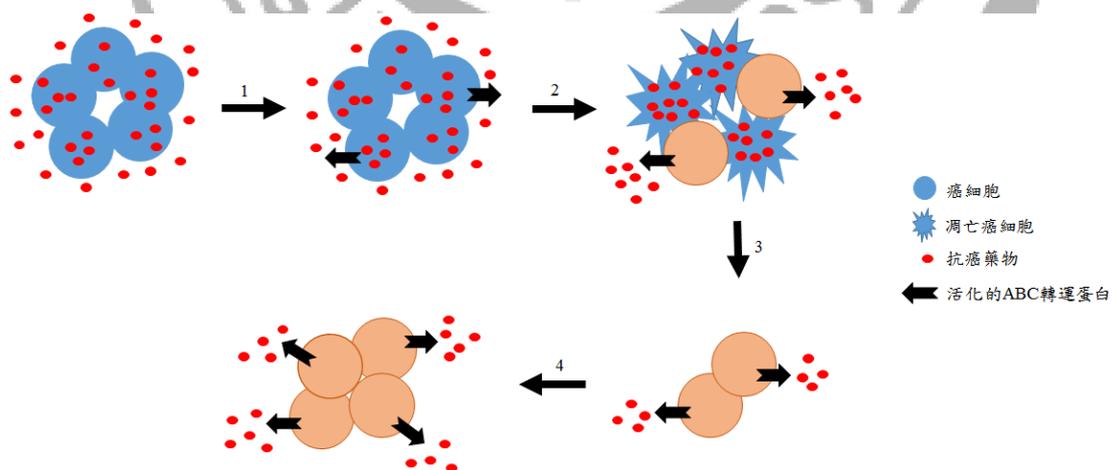


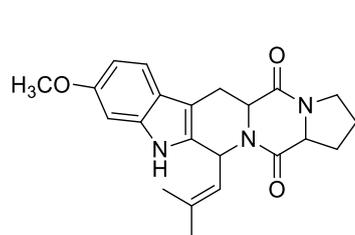
圖 3、多重抗藥性機制。(1)部分癌細胞受到藥物刺激而活化 ABC 轉運蛋白。(2)部分癌細胞被抗癌藥物毒殺。(3)殘存具有活化 ABC 轉運蛋白的癌細胞。(4) 具有活化 ABC 轉運蛋白的癌細胞增生使得治療失敗。<sup>12</sup>

## ABC 轉運蛋白抑制劑

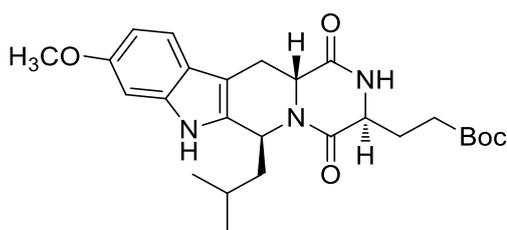
最早被發現的 ABC 轉運蛋白 ABCB1 在抑制劑的發展歷程也是最久的。ABCB1 最早被發現的抑制是在 1981 年由 Tsuruo 研究團隊發現的鈣離子通道抑制劑 verapamil，它能使長春新鹼(vincristine)恢復對於具有長春新鹼(vincristine)抗藥性的 P388 白血病細胞的藥效活性。<sup>13</sup> 免疫抑制劑 ciclosporin A (CsA)可恢復對於阿黴素(Adriamycin)和長春新具抗藥活性的人類小細胞肺癌細胞的藥效活性<sup>14</sup>，CsA 對於 ABCB1、ABCC1 以及 ABCG2 具有有效的抑制且有著相對較低的毒性。<sup>13</sup> 隨後在 1991 年研發出 CsA 的衍生物 valspodar，雖然 valspodar 抑制效果好於 CsA，但它與抗癌藥物合併使用下會有嚴重的併發症。<sup>15</sup> 之後為了改善 valspodar 所產生的副作用進而合成了 elacridar 和 tariquidar，elacridar 以 acridones 為主體的化合物以及它的 anthranilamide 衍生物 tariquidar，具有效抑制 ABCB1 以及 ABCG2 的能力。<sup>16</sup> 在結構上 elacridar 與 tariquidar 都具有 tetraisoquinoline-ethylphenyl，而 Pick, A.於 2010 發現 tetraisoquinoline-ethylphenyl 衍生物是選擇性抑制 ABCB1。<sup>17</sup> 在 1998 年發現一種真菌毒素 Fumitremorgin C (FTC)在體外(in vitro)實驗測試中具有高度選擇性抑制 ABCG2 的過度表達，但在體內(in vivo)實驗測試卻不幸的發現具有神經毒性。<sup>18</sup> 而在之後為了改善 FTC 的副作用所設計的類似物藥

物 Ko143，Ko143 不只有著比 FTC 更好的抑制效果，且在體內體外的測試中皆沒有毒性，並且 Ko143 也對於 ABCG2 有著高度的選擇性。<sup>19</sup> 至今由文獻中發現許多 ABC 轉運蛋白抑制劑是天然物，例如由薑黃根莖萃取出來的薑黃素及其衍生物被發現對於 ABCB1、ABCG2 及 ABCC1 都有抑制的效果。<sup>20</sup> 在水果與蔬菜之中所存在的黃酮類化合物(flavonoids)<sup>21</sup> 以及黃酮類化合物的其中一種 aurone 都被發現可以抑制 ABCB1 與 ABCG2。<sup>22</sup> Acridones 為天然的生物鹼是黃酮類化合物中的一種，而 acridones 的衍生物 elacridar 對於 ABCB1 以及 ABCG2 具有抑制效果。<sup>16</sup>

目前由文獻所知許多酪胺酸抑制劑(tyrosine kinase)對於 ABC 轉運蛋白也具有抑制效果像是 vandetanib 對於 ABCB1、ABCG2 以及 ABCC1 都具有抑制效果；imatinib、nilotinib、ponatinib、lapatinib、erlotinib、gefitinib、canertinib、motesanib、sunitinib 以及 vemurafenib 被發現對於 ABCB1 以及 ABCG2 皆有抑制能力；icotinib、AST1306、WHI-P154、telatinib、motesanib、masitinib 以及 linsitinib 可抑制 ABCG2；Crizotinib 可抑制 ABCB1。<sup>23</sup>



(a) Fumitremorgin C



(b) Ko143

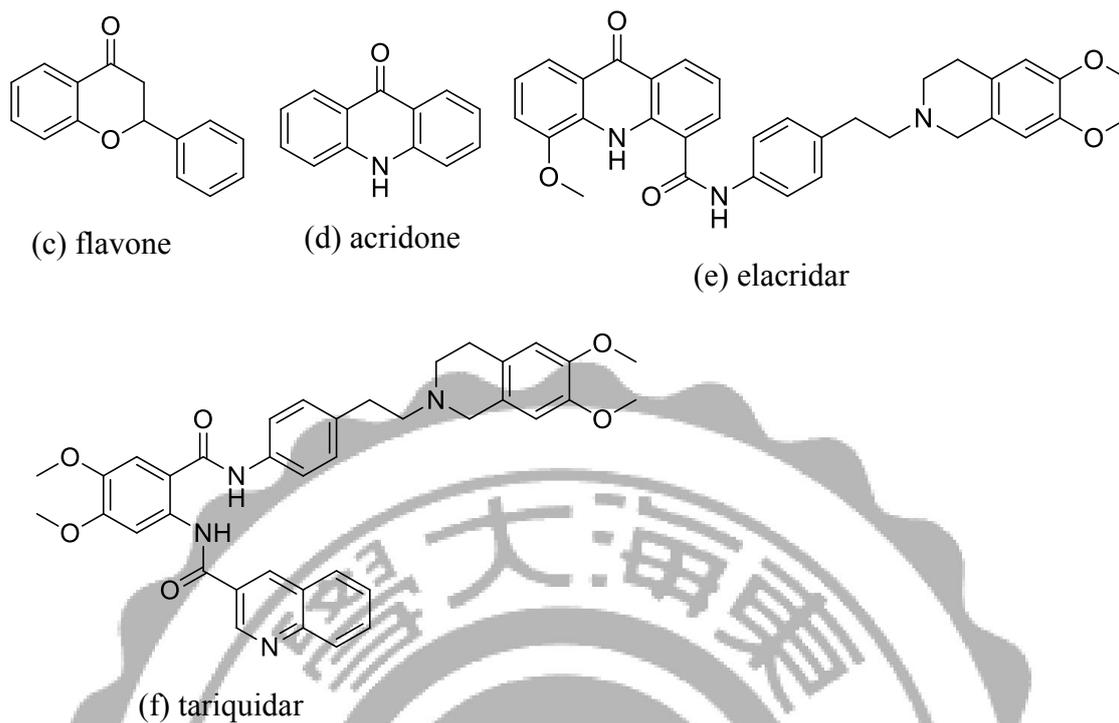


圖 4、ABC 蛋白抑制劑。(a) Fumitremorgin C (FTC) (b) Ko143 (c) flavone (d) acridone (e) elacridar (f) tariquida

表 1、抑制 ABC 轉運蛋白的酪胺酸抑制劑。<sup>23</sup>

酪胺酸抑制劑	ABC transporter inhibited
Imatinib	ABCB1,ABCG2
Nilotinib	ABCB1,ABCG2
Ponatinib	ABCB1,ABCG2
Icotinib	ABCG2
Lapatinib	ABCB1,ABCG2
Erlotinib	ABCB1,ABCG2
AST1306	ABCG2
WHI-P154	ABCG2

Gefitinib	ABCB1,ABCG2
Canertinib	ABCB1,ABCG2
Telatinib	ABCG2
Motesanib	ABCG2
Vandetanib	ABCB1,ABCG2,ABCC1
Sunitinib	ABCB1,ABCG2
Masitinib	ABCG2
Linsitinib	ABCG2
Crizotinib	ABCB1
Vemurafenib	ABCB1,ABCG2

### 文獻探討與實驗設計

ABCG2 會使癌細胞對許多的藥物產生抗藥性，例如柔紅黴素、SN-38、mitoxantrone、methotrexate、topotecan、flavopiridol、zidovudine 與 lamivudine。<sup>23</sup> 而 ABCG2 與 ABCB1 在蛋白的穿膜區域上具有相似性，氨基酸包含許多芳香環及氫鍵提供的側鏈，使得 ABCG2 與 ABCB1 具有相同的受質，但仍然有些 ABCG2 無法被 ABCB1 的抑制劑所抑制。目前已有許多文獻報導，修改結構及合成衍生物可專一性的抑制 ABC 轉運蛋白。

在含有黃酮類化合物(flavonoids)的天然物被研究指出具有抑制 ABCG2 的效用。Pick 研究團隊探討了有關黃酮類化合物結構與 ABCG2 抑制效果的結構構效關係(QSAR)。透過研究的結構構效關

係(QSAR)指出，讓我們可以知道在黃酮類化合物結構上增加的官能基團是否對於抑制 ABCG2 具有幫助 (圖 5)。<sup>24</sup>Elacridar 為 acridones 的衍生物，並且具有抑制 ABCB1 以及 ABCG2 的能力。

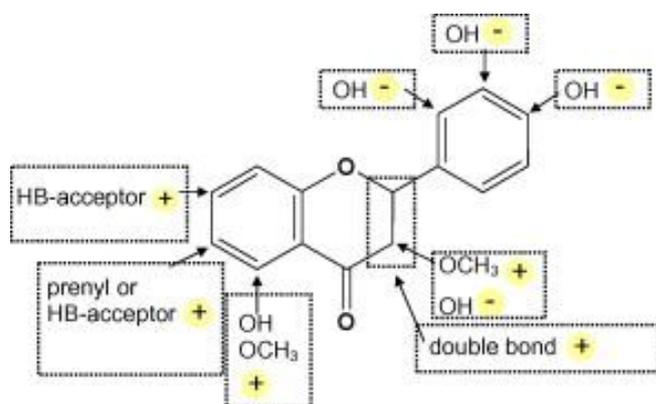


圖 5、Pick 研究團隊探討了有關黃酮類化合物結構與 ABCG2 抑制效果的結構效關係(QSAR)。<sup>24</sup>

在 2009 年 Wiese 研究團隊合成五種不同架構的 ABC 轉運蛋白抑制劑(圖 6)，這些抑制劑是與 ABCB1 抑制劑 tariquidar 的結構相關。抑制劑是以醯胺與尿素鍵結連接 tetrahydroisoquiniline-ethylphenyl 結構與疏水基團。在這 5 種架構的衍生物中發現當取代基 R<sub>2</sub> 含有對位硝基之部分時都具有最好的抑制效果，並在這 5 種架構的衍生物中的第五架構之衍生物化合物 5 具有最好的抑制活性。化合物 5 在 Hoechst 33342 以及 PhA 測試之中兩者的 IC<sub>50</sub> 值約 500 nM(圖)。<sup>25</sup>

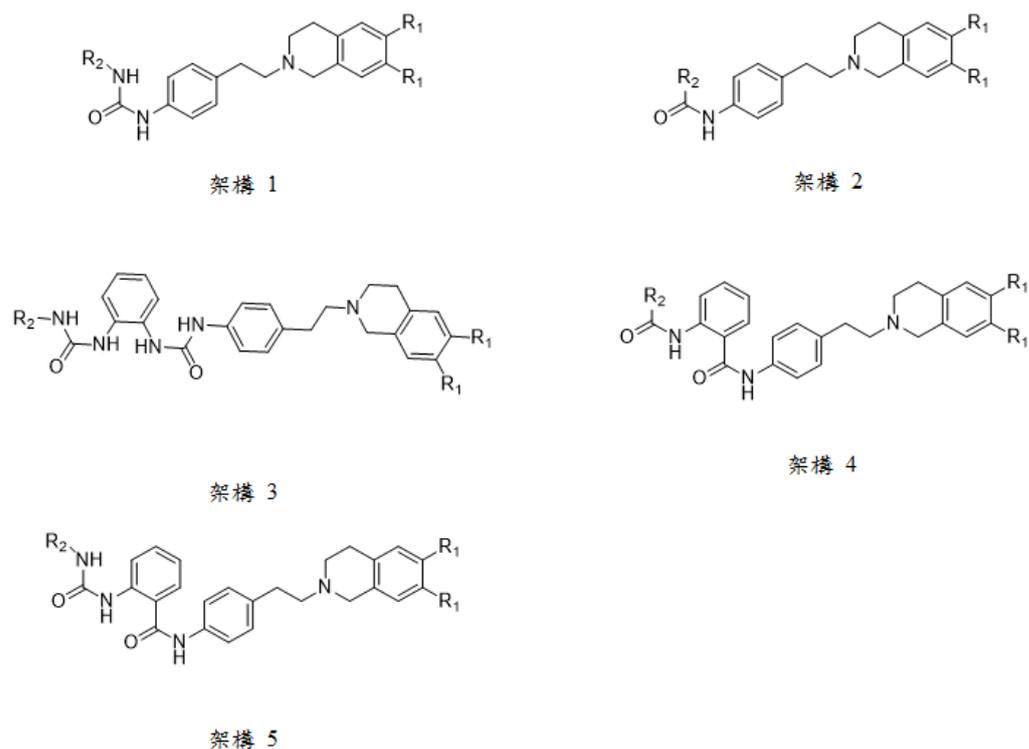


圖 6、Wiese 研究團隊合成五種不同架構的 ABC 轉運蛋白抑制劑。

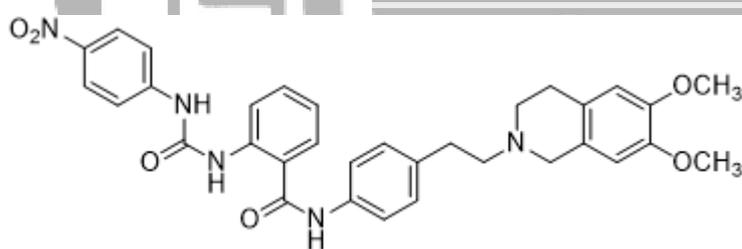


圖 7、Wiese 研究團隊所合成最具有活性的化合物 5。

其中，架構 1 的衍生物有間位硝基取代的化合物 1a 與 1b 的活性是比相對應的胺基類似物 1d 與 1e 來得好；而當硝基的位置移到對位 (1c)，則活性增加，但相對的胺基移到對位 (1f) 活性下降了 20 倍之多。架構 2 的結構活性關係可與架構 1 相對應，具間位硝基的 2a 與 2b 活性與對位硝基的 2c 比較，活性下降約十倍；而對位胺基的 2f，

其活性與對位硝基 2c 相差二十倍。而多了一芳香環的衍生物 3，與胺基類似物 1e 相比其活性大幅增加。而將衍生物 3 的尿素鍵結置換成醯胺鍵( 4a )，IC 50 即增加約九倍；將 3,4-二甲氧基與對位硝基置換( 4b )其活性不變。(表 2)

表 2、Wiese 團隊合成一系列的 tariquidar 類似物之活性表。<sup>25</sup>

compounds	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	IC <sub>50</sub> μM MCF-7 MX Hoechst assay	IC <sub>50</sub> μM MDCK BCRP pheoA assay
1a	H	2-Nitrophenyl	6.76	8.71
1b	OCH <sub>3</sub>	2-Nitrophenyl	10.2	9.08
1c	OCH <sub>3</sub>	4-Nitrophenyl	3.89	2.61
1d	H	2-Aminophenyl	102	74.1
1e	OCH <sub>3</sub>	2-Aminophenyl	66.1	58.4
1f	OCH <sub>3</sub>	4-Aminophenyl	74.1	46.4
2a	H	2-Nitrophenyl	51.3	45.7
2b	OCH <sub>3</sub>	2-Nitrophenyl	77.6	40.0
2c	OCH <sub>3</sub>	4-Nitrophenyl	6.92	4.38
2d	H	2-Aminophenyl	17.8	20.9
2e	OCH <sub>3</sub>	2-Aminophenyl	32.4	20.7
2f	OCH <sub>3</sub>	4-Aminophenyl	219	98.2
3	OCH <sub>3</sub>	3,4-Dimethoxyphenyl	10.2	6.98
4a	OCH <sub>3</sub>	3,4-Dimethoxyphenyl	0.93	0.86
4b	H	4-Nitrophenyl	0.69	0.63
5	OCH <sub>3</sub>	4-Nitrophenyl	0.54	0.50

在 2010 年以及 2013 年 Pick, A 與 Marighetti 的研究團隊分別以此結構效關係作為依據合成衍生物，發現衍生物中若具有

tetrahydroisoquiniline-ethylphenyl 取代會專一性抑制 ABCB1；衍生物中若具有 anthranilic acid 的結構會專一性抑制 ABCG2(圖 8)。然而衍生物若和 tariquidar 結構上相似，會具有抑制 ABCB1 以及 ABCG2 的雙重抑制活性。結構上的兩個醯胺取代基的相對位置是很重要的，若它們的相對位置是在鄰位，有助於抑制 ABCG2 活性，但在間位與對位則沒有抑制活性。結構活性關係分析顯示在 R3 的芳香族與 ABCG2 鍵結位置的芳香族側鏈的  $\pi$ - $\pi$  交互作用力是重要的。

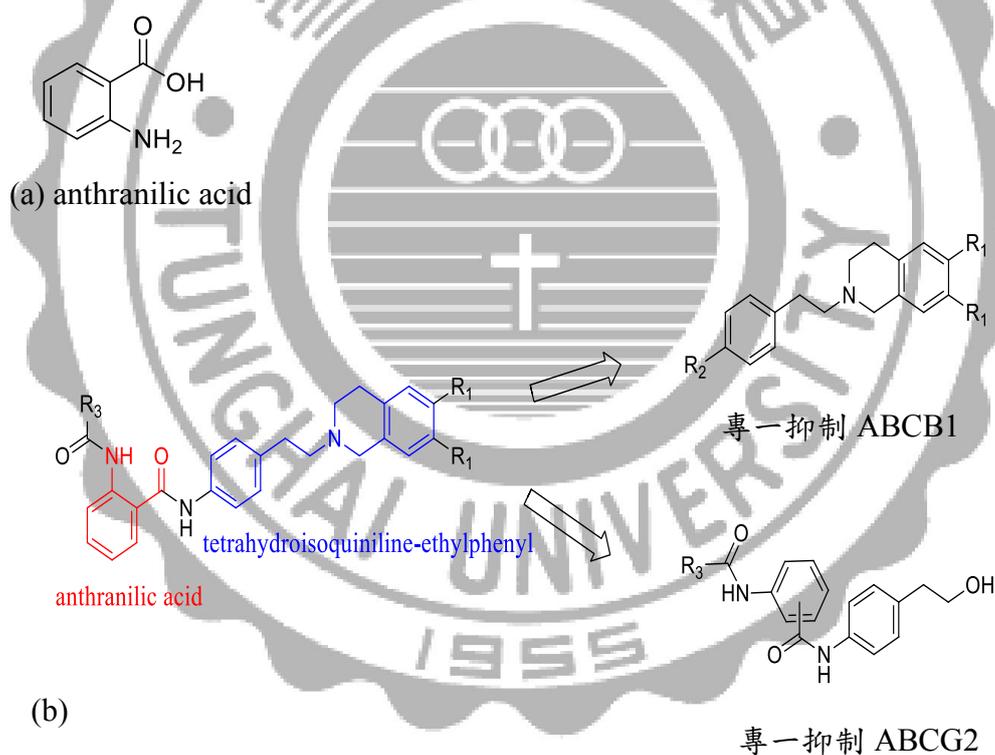


圖 8、(a) anthranilic acid (b)對於不同 ABC 轉運蛋白的結構修飾。

依據結構構效關係，可以推論以 2-benzamido-phenylbenzamide 為 ABCG2 抑制劑的主架構，R<sub>1</sub> 在對位或是間位上的取代基上需要為拉

電子基團； $R_2$  則為中心環，取代基上需要避免過大基團的取代； $R_3$  則避免以 tetrahydroisoquiniline 的結構做取代。(圖 9)

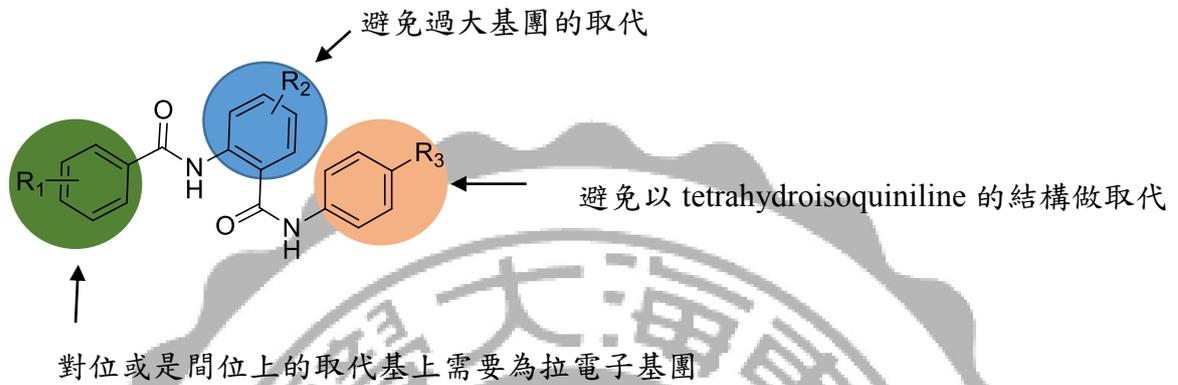


圖 9、選擇性抑制 ABCG2 蛋白抑制劑結構。

Acridone 是天然生物鹼的黃酮類化合物，而 acridone 的衍生物 elacridar 為在先前的研究文獻指出具有抑制 ABCB1 以及 ABCG2 的效果。透過參考上述的結構構效關係，以 acridone 的羰基以及胺基代替 2-benzamido-phenylbenzamide 中  $R_1$  與  $R_2$  相連的醯胺鍵提供氫鍵的鍵結，作為 ABCG2 抑制劑的主體結構，再藉由修飾  $R_1$  與  $R_3$  的取代基形成一系列的 acridone 的衍生物，希望達到具有無毒性且能具有專一性抑制 ABCG2 的效果的抑制劑。(圖 10)

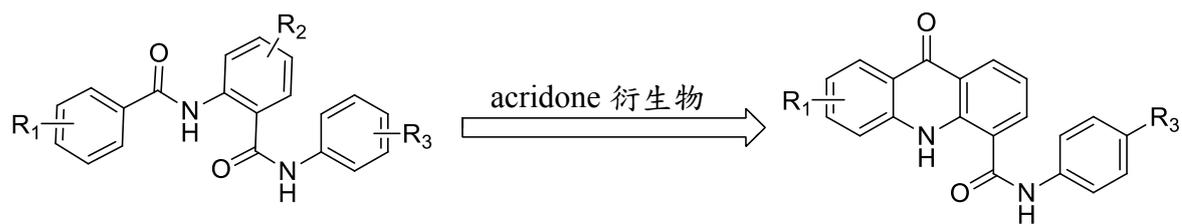


圖 10、ABC 系列化合物設計結構。



## 第二章 實驗材料與方法

### 化學試藥、溶劑與儀器介紹

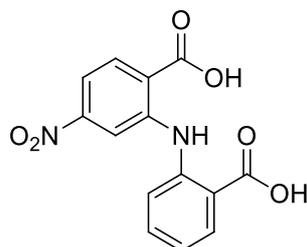
1. 有機合成所使用的一般是要購自Aldrich、Alfa Aesar、Acros、日本東京化成工業株式會社TCI及Merck藥廠。反應、萃取沖提用之溶劑如正己烷、乙酸乙酯與二氯甲烷均為是要及溶劑，購自友和貿易股份有限公司。
2. 薄層色層分析( thin layer chromatography )使用友和貿易股份有限公司SIL G/UV254型薄層色層分離片。利用紫外光燈(UV light)觀察。
3. 管柱層析分離( column chromatography )使用加拿大SILICYCLE silica gel 60-200  $\mu\text{m}$  ( 70-230 mesh )型矽膠。
4. 減壓濃縮使用Büchi R114迴流蒸發儀和EYELA A-1000S循環水流抽氣機，室溫真空度約25 mmHg。
5. 氫核磁共振光譜(  $^1\text{H}$  NMR ) 及碳核磁共振光譜(  $^{13}\text{C}$  NMR )使用Bruker 400 ( 400 MHz solars system )。測試樣品之溶劑用氘代氯仿( d-chloroform )、氘代二甲基亞砜( d-dimethyl sulfoxide )、氘代丙酮( d-acetone )。化學位移以ppm為單位， $J$ 代表偶和常數( coupling constant )，單位為Hz。分裂形式( splitting pattern )定義如下：s表

示單峰(singlet)、d表示雙峰(doublet)、t表示三重峰(triplet)、q表示四重峰(quadruplet)、quint表示五重峰、m表示多重峰(multipet)。

6. 高解析質譜儀(HRMS)使用Finnigan/Thermo Quest MAT 95XL質譜儀。

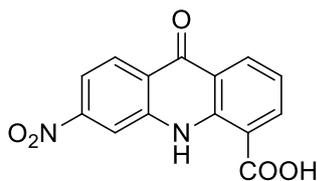


## 有機合成



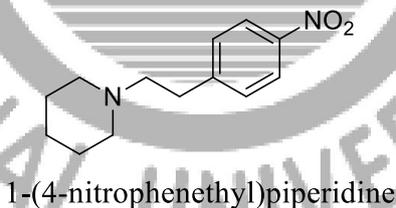
2-((2-carboxyphenyl)amino)-4-nitrobenzoic acid

取 2-chloro-4-nitrobenzoic acid (50.00 mg, 0.25 mmol)、anthranilic acid (68 mg, 0.50 mmol)和 potassium carbonate (34 mg, 0.25 mmol)於圓底燒瓶中，以二甲基甲醯胺溶解，並加入氧化銅(0.14 mg, 0.00176 mmol)催化，迴流反應 8 小時。當反應完成，將溫度降至室溫並加入 2 倍體積量的 6M HCl 攪拌，此時會有橘色沉澱析出。攪拌 12 個小時之後，以離心機將液體和橘色固體分離並再以水為沖提液多次的離心將 DMF 除去，最後再利用乙醇和水再結晶，即可取得 2-((2-carboxyphenyl) amino)-4-nitrobenzoic acid。產率= 80.22%， $R_f$ 值= 0.6 (乙酸乙酯/甲醇=4:1)。 $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz),  $\delta$ =11.0 (s, 1 H), 8.15-8.11 (m, 2 H), 7.97 (dd,  $J$ =8.2 Hz, 1.4 Hz 1 H), 7.67-7.62 (m, 2 H), 7.56 (t,  $J$ =7.6 Hz, 1 H), 7.12 (t,  $J$ =7.6 Hz, 1 H)。



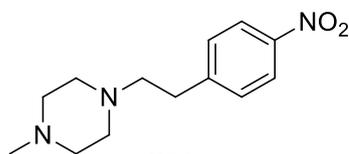
6-nitro-9-oxo-9,10-dihydroacridine-4-carboxylic acid

以濃硫酸將 2-((2-carboxyphenyl) amino)-4-nitrobenzoic acid 溶解，在 100°C 之下反應。反應完全之後，加入冰水冷卻，此時會有黃綠色的固體析出，攪拌 2 個小時之後，以離心收集固體。此黃綠色固體為 6-nitro-9-oxo-9,10-dihydroacridine-4-carboxylic acid。產率 = 90.33%， $R_f$  值 = 0.67 (乙酸乙酯/甲醇=4/1)。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz),  $\delta$ =12.3 (s, 1 H), 8.52 (d,  $J$ =8.0 Hz, 1 H), 8.15 (d,  $J$ =8.0 Hz, 1 H), 7.88-7.81 (m, 2 H), 7.54 (d,  $J$ =8.1 Hz, 1 H), 7.40 (t,  $J$ =7.0 Hz, 1 H)。



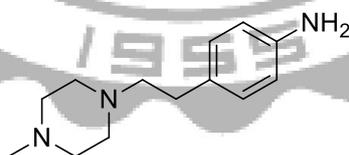
取 1-(2-Bromoethyl)-4-nitrobenzene (50 mg, 0.22 mmol)、piperidine (25.9 mg, 0.33 mmol)和 sodium bicarbonate (36.52 mg, 0.44 mmol)置於圓底燒瓶之中，以二甲基甲醯胺溶解，在 70°C 下反應 4 小時。反應完成後以乙酸乙酯與水進行萃取，收集基層，濃縮完後以管住層析法進行分離純化後得到產物。產率 = 53.33%， $R_f$  值 = 0.25 (乙酸乙酯/甲醇=8:1)。 $^1\text{H NMR}$ (acetone- $d_6$ , 400 MHz),  $\delta$ =8.14 (d,  $J$ =8.7 Hz, 2 H), 7.54

(d,  $J=8.7$  Hz, 2 H), 2.92 (t,  $J=7.4$  Hz, 2 H), 2.58 (t,  $J=7.4$  Hz, 2 H), 2.43 (m, 4 H), 1.53 (quint,  $J=5.5$  Hz, 4 H), 1.41 (quint,  $J=5.5$  Hz, 2 H)。



1-methyl-4-(4-nitrophenethyl)piperazine

取 1-(2-Bromoethyl)-4-nitrobenzene (50.00 mg, 0.22mmol)、1-methylpiperazine (21.70 mg, 0.22 mmol)和 sodium bicarbonate (36.5 mg, 0.43mmol)置於圓底燒瓶之中，以二甲基甲醯胺溶解，在 70°C 下反應 4 小時。反應完成後以乙酸乙酯與水進行萃取，收集基層，濃縮完後以管柱層析法進行分離純化後得到產物。產率= 51.32%， $R_f$  值= 0.25 (乙酸乙酯/甲醇=8:1)。 $^1\text{H NMR}$ (acetone- $d_6$ , 400 MHz),  $\delta$ =8.15 (d,  $J=8.8$  Hz, 2 H), 7.54 (d,  $J=8.7$  Hz, 2 H), 2.92 (t,  $J=7.4$  Hz, 2 H), 2.61 (t,  $J=7.4$  Hz, 2 H), 2.56-2.41 (m, 4 H), 2.39-2.23 (m, 4 H), 2.16 (s, 3 H)。



4-(2-(4-methylpiperazin-1-yl)ethyl)aniline

取 1-methyl-4-(4-nitrophenethyl)piperazine (50 mg, 0.20 mmol)置於反應鋼瓶之中，以鈀在 10atm 的氫氣下反應 12 小時。反應結束之後，過濾收集液體，濃縮抽乾即可得到產物。產率= 100%， $R_f$  值= 0.038

(乙酸乙酯/甲醇=4/1)。<sup>1</sup>H NMR(acetone-6d, 400 MHz),  $\delta$ =6.90 (d,  $J$ =8.3 Hz, 2 H), 6.57 (d,  $J$ =8.3 Hz, 2 H), 2.58 (q,  $J$ =5.2 Hz, 2 H), 2.24-2.49 (m, 10 H), 2.17 (s, 3 H)。



### 第三章 結果與討論

本篇研究以 **acridones** 作為先導化合物並如圖 11 所示的實驗流程

進行結構上的修飾，預期達到專一性抑制 ABCG2 之效果。

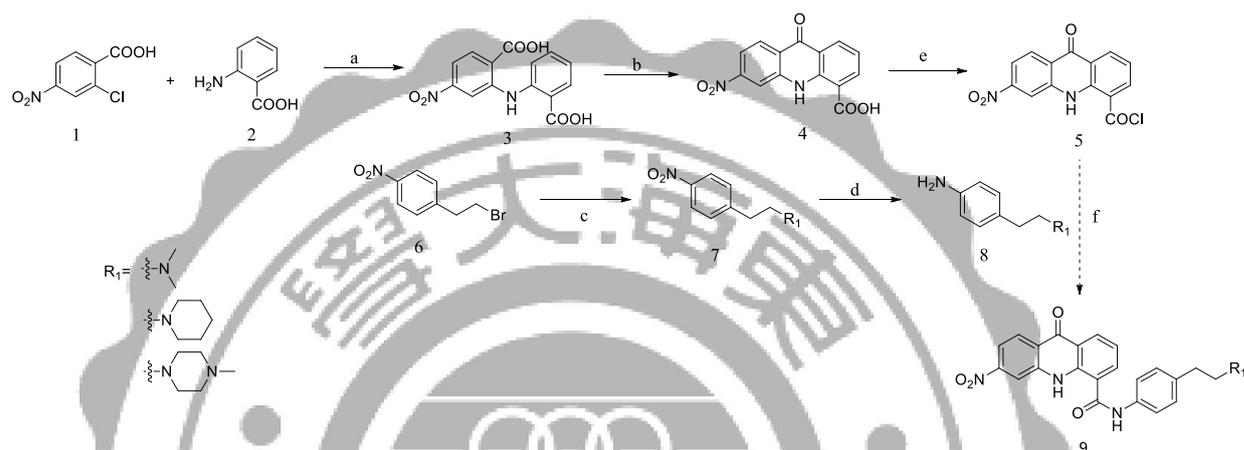


圖 11、反應條件與試劑：a.  $K_2CO_3/CuO$ , DMF, refluxed ; b.  $H_2SO_4$ , 100 °C ; c. amines/ $NaHCO_3$ , DMF, 70°C ; d.  $H_2$  10atm /Pd, methanol ; e. oxalyl chloride, DCE ; f.  $Et_3N$ , DCE 。

首先以步驟 a 將化合物 1 與化合物 2 進行烏爾曼反應(Ullmann reaction)，一級胺的苯胺與芳香基鹵化物在氧化銅的催化下，親核性化合物以  $S_N1$  親核性取代方法與氧化銅鑲嵌形成中間體，接著芳香基鹵化物再參與反應，進行行  $\sigma$ -鍵的置換形成 2 級胺的化合物 3，而氧化銅在脫去鹵素後繼續參與反應，推測的反應機制如圖 12。

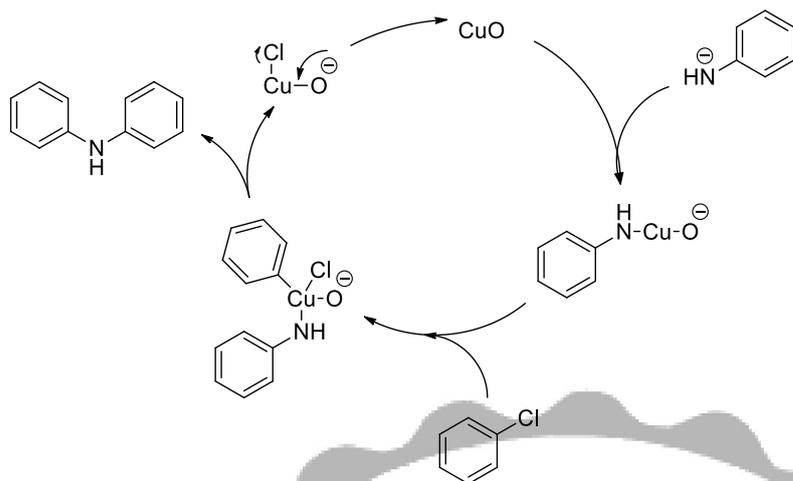


圖 12、步驟 a 的推測反應機制。

步驟 b 利用濃硫酸將化合物 **3** 進行分子內縮合反應形成了具有 acridones 主體架構的化合物 **4**。取代 tetrahydroisoquiniline 的結構由化合物 **6** 的 2-bromoethyl 部分與  $R_1$  取代基 amine 進行  $S_N2$  親核取代反應。起初使用 *N,N*-二異丙基乙基胺 (*N,N*-diisopropylethylamine, DIPEA) 在二甲基甲醯胺中加熱至  $60^\circ\text{C}$  進行反應，然而化合物 **6** 只進行消去反應，反而是得到消去產物化合物 **10**。當反應試劑改為碳酸氫鈉後，雖然仍可在 TLC 上觀察有消去的副產物產生，但已有另外新的產物產生，再利用管柱層析法將消去的副產物去除純化，新產物的點經氫核磁共振光譜儀確認為化合物 **7**。

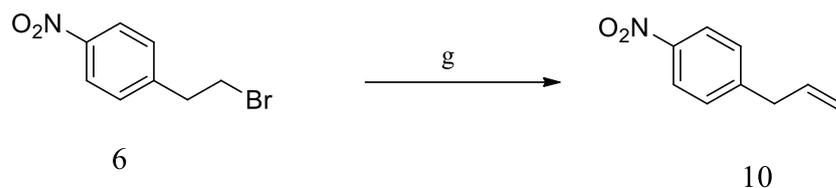


圖 13、步驟 g 反應條件與試劑：DIPEA /DMF, 60 °C, 4 hr。

步驟 d，化合物 7 在鈀金屬的催化下與 10 大氣壓的氫氣進行還原反應，化合物 7 的硝基還原成胺基。步驟 f 嘗試將化合物 4 進行醯氯化成化合物 5 再與化合物 8 進行  $S_N2$  親核性反應形成最終產物化合物 9，但在進行  $S_N2$  的反應偶合時卻難以反應。在醯氯化方法失敗之下，而改用偶合試劑像是 HOBt、HBTU，但結果卻跟醯氯化方法的情況相同，都有將化合物 4 先行活化成中間產物，但卻無法與化合物 8 進行反應，而在使用偶合試劑 DCC 的情況下無法與化合物 4 進行反應形成中間產物。推測可能因為 4-acridinecarboxylic acid 的 acridones 結構與 amine 化合物上的苯環之間立體阻礙過大，才導致無法順利偶合而無法合成出最終產物。

## 第四章 結論

由於 4-acridinecarboxylic acid 在進行偶合反應時都只能被偶合試劑活化以及醯氯化，卻無法與 amine 化合物進行偶合。推測可能因為 4-acridinecarboxylic acid 的 acridones 結構與 amine 化合物上的苯環之間立體阻礙過大，才導致無法順利偶合而無法合成出最終產物。



## 第一部分 參考文獻

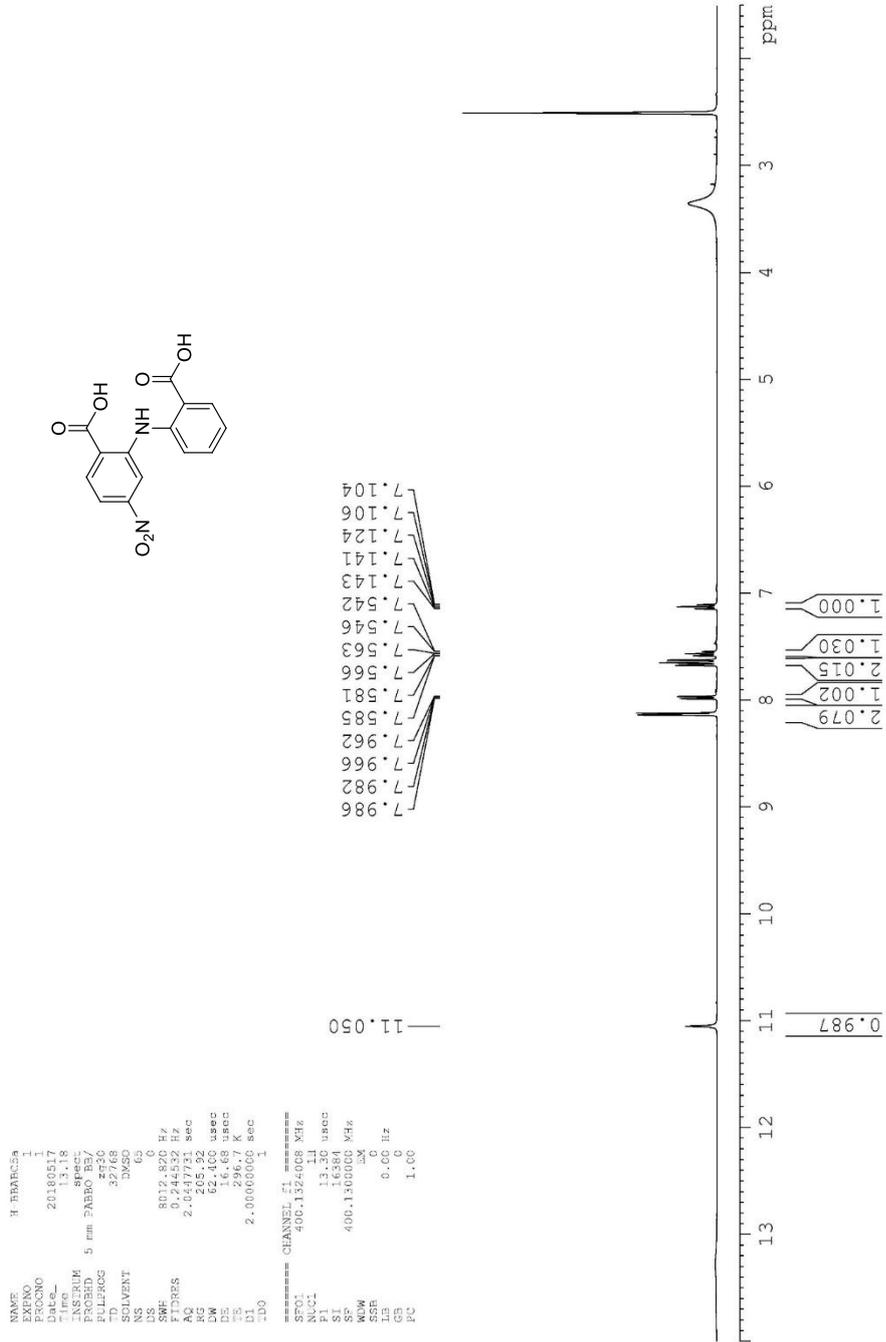
1. 衛生福利部 104 年國人死因統計結果。 <https://www.mohw.gov.tw/cp-16-33598-1.html>.
2. Szakacs, G.; Paterson, J. K.; Ludwig, J. A.; Booth-Genthe, C.; Gottesman, M. M., Targeting multidrug resistance in cancer. *Nature reviews. Drug discovery* **2006**, *5* (3), 219-34.
3. Vasiliou, V.; Vasiliou, K.; Nebert, D. W., Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. *Human genomics* **2009**, *3* (3), 281-90.
4. Falasca, M.; Linton, K. J., Investigational ABC transporter inhibitors. *Expert opinion on investigational drugs* **2012**, *21* (5), 657-66.
5. Martinez, L.; Falson, P., Multidrug resistance ATP-binding cassette membrane transporters as targets for improving oropharyngeal candidiasis treatment. *Advances in Cellular and Molecular Otolaryngology* **2014**, *2* (1), 23955.
6. Karvar, S., The role of ABC transporters in anticancer drug transport. *Turkish Journal of Biology* **2014**, *38* (6), 800-805.
7. Vautier, S.; Fernandez, C.; Milane, A.; Lacomblez, L.; Davrinche, C.; Farinotti, R., ABCB1 (P-glycoprotéine) et barrière hémato-encéphalique: implication dans les maladies neurologiques et leurs traitements. *Journal de Pharmacie Clinique* **2006**, *25* (4), 225-235.
8. Juliano, R. L.; Ling, V., A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* **1976**, *455* (1), 152-162.
9. Cole, S.; Bhardwaj, G.; Gerlach, J.; Mackie, J.; Grant, C.; Almquist, K.; Stewart, A.; Kurz, E.; Duncan, A.; Deeley, R., Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science-New York Then Washington-*

1992, 258, 1650-1650.

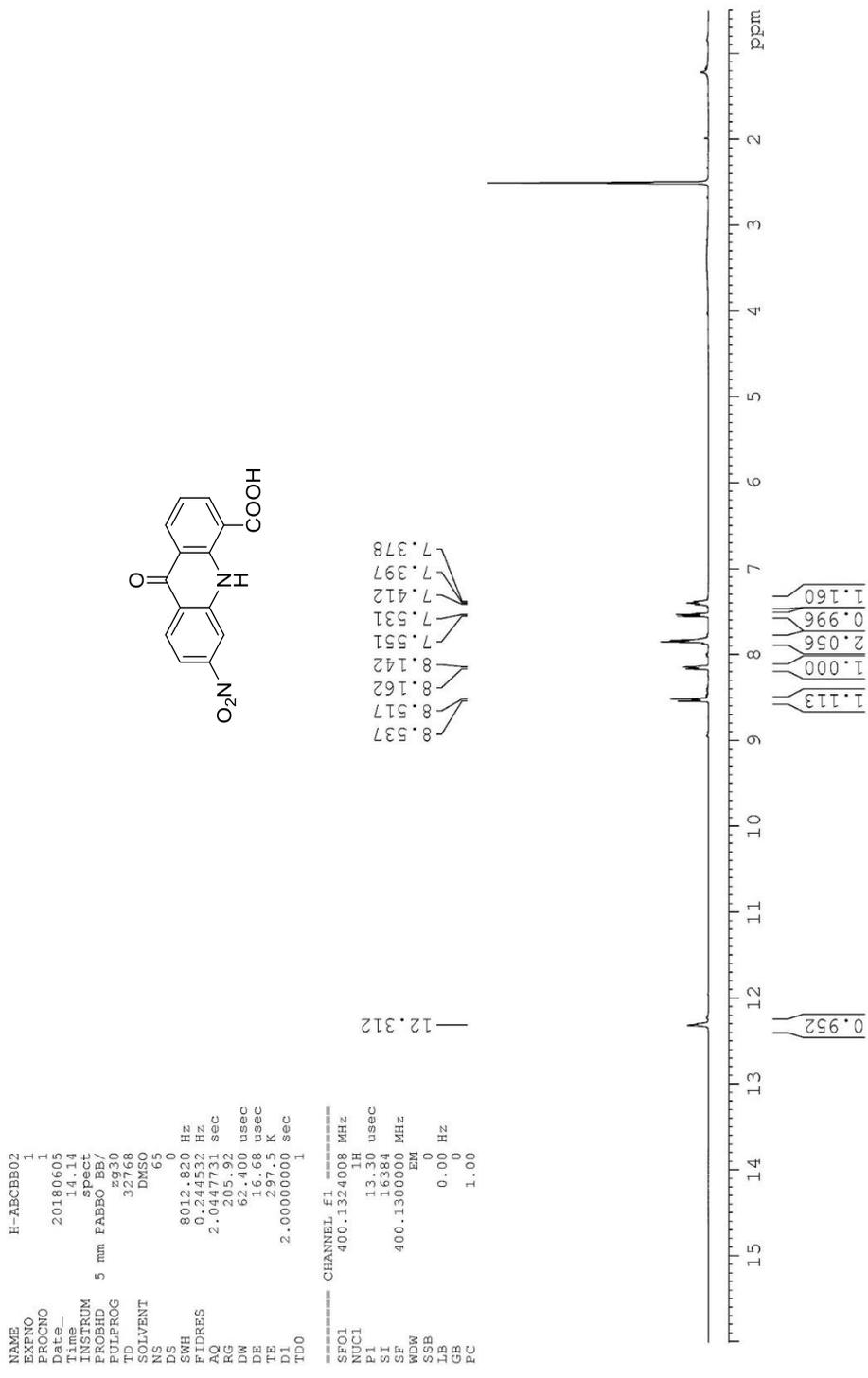
10. Ni, Z.; Bikadi, Z.; Rosenberg, M. F.; Mao, Q., Structure and function of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Current drug metabolism* **2010**, *11* (7), 603-17.
11. Allikmets, R.; Schriml, L. M.; Hutchinson, A.; Romano-Spica, V.; Dean, M., A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance. *Cancer research* **1998**, *58* (23), 5337-9.
12. Wu, C. P.; Hsieh, C. H.; Wu, Y. S., The emergence of drug transporter-mediated multidrug resistance to cancer chemotherapy. *Molecular pharmaceutics* **2011**, *8* (6), 1996-2011.
13. Tsuruo, T.; Iida, H.; Tsukagoshi, S.; Sakurai, Y., Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer research* **1981**, *41* (5), 1967-1972.
14. Twentymen, P.; Fox, N.; White, D., Cyclosporin A and its analogues as modifiers of adriamycin and vincristine resistance in a multi-drug resistant human lung cancer cell line. *British journal of cancer* **1987**, *56* (1), 55.
15. Boesch, D.; Gavériaux, C.; Jachez, B.; Pourtier-Manzanedo, A.; Bollinger, P.; Loor, F., In vivo circumvention of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance of tumor cells with SDZ PSC 833. *Cancer research* **1991**, *51* (16), 4226-4233.
16. Wu, C.-P.; Calcagno, A. M.; Ambudkar, S. V., Reversal of ABC drug transporter-mediated multidrug resistance in cancer cells: evaluation of current strategies. *Current molecular pharmacology* **2008**, *1* (2), 93-105.
17. Pick, A.; Klinkhammer, W.; Wiese, M., Specific inhibitors of the breast cancer resistance protein (BCRP). *ChemMedChem* **2010**, *5* (9), 1498-1505.
18. Rabindran, S. K.; Ross, D. D.; Doyle, L. A.; Yang, W.; Greenberger, L. M., Fumitremorgin C reverses multidrug resistance in cells transfected with the breast

- cancer resistance protein. *Cancer research* **2000**, *60* (1), 47-50.
19. Allen, J. D.; Schinkel, A. H., Multidrug resistance and pharmacological protection mediated by the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) 1 supported in part by Dutch Cancer Society Grants NKI 97-1433 and NKI 97-1434 (to AHS). 1. *Molecular Cancer Therapeutics* **2002**, *1* (6), 427-434.
20. Chearwae, W.; Anuchapreeda, S.; Nandigama, K.; Ambudkar, S.; Limtrakul, P., Biochemical mechanism of modulation of human P-glycoprotein (ABCB1) by curcumin I, II, and III purified from Turmeric powder. *Biochemical pharmacology* **2004**, *68* (10), 2043-2052.
21. Alvarez, A. I.; Real, R.; Pérez, M.; Mendoza, G.; Prieto, J. G.; Merino, G., Modulation of the activity of ABC transporters (P-glycoprotein, MRP2, BCRP) by flavonoids and drug response. *Journal of pharmaceutical sciences* **2010**, *99* (2), 598-617.
22. Sim, H.-M.; Lee, C.-Y.; Ee, P. L. R.; Go, M.-L., Dimethoxyaurones: Potent inhibitors of ABCG2 (breast cancer resistance protein). *European journal of pharmaceutical sciences* **2008**, *35* (4), 293-306.
23. Kathawala, R. J.; Gupta, P.; Ashby, C. R.; Chen, Z.-S., The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer: a review of the past decade. *Drug Resistance Updates* **2015**, *18*, 1-17.
24. Pick, A.; Müller, H.; Mayer, R.; Haenisch, B.; Pajeva, I. K.; Weigt, M.; Bönisch, H.; Müller, C. E.; Wiese, M., Structure–activity relationships of flavonoids as inhibitors of breast cancer resistance protein (BCRP). *Bioorganic & medicinal chemistry* **2011**, *19* (6), 2090-2102.
25. Pick, A.; Müller, H.; Wiese, M., Novel lead for potent inhibitors of breast cancer resistance protein (BCRP). *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2010**, *20* (1), 180-183.

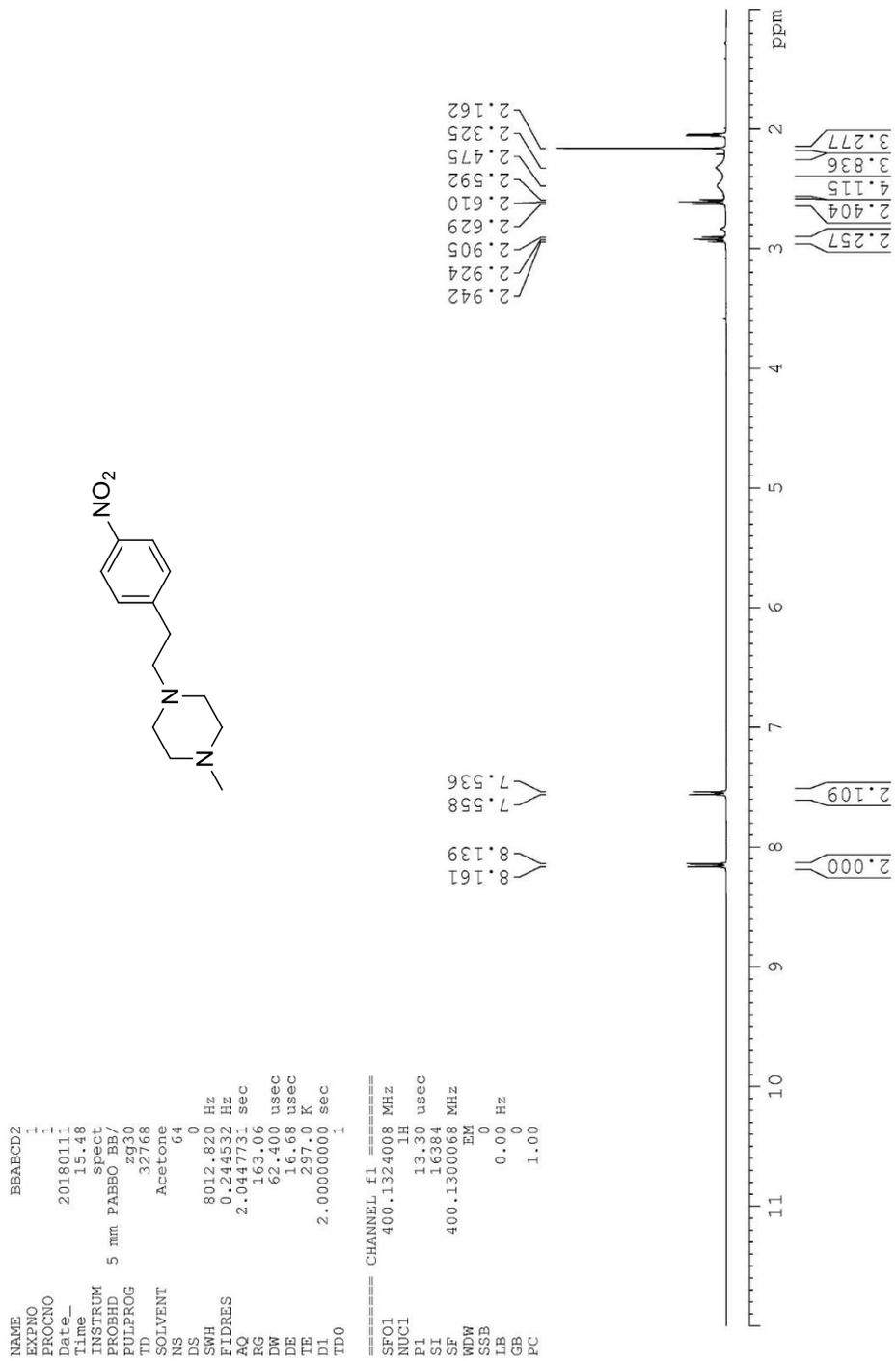
# 附錄



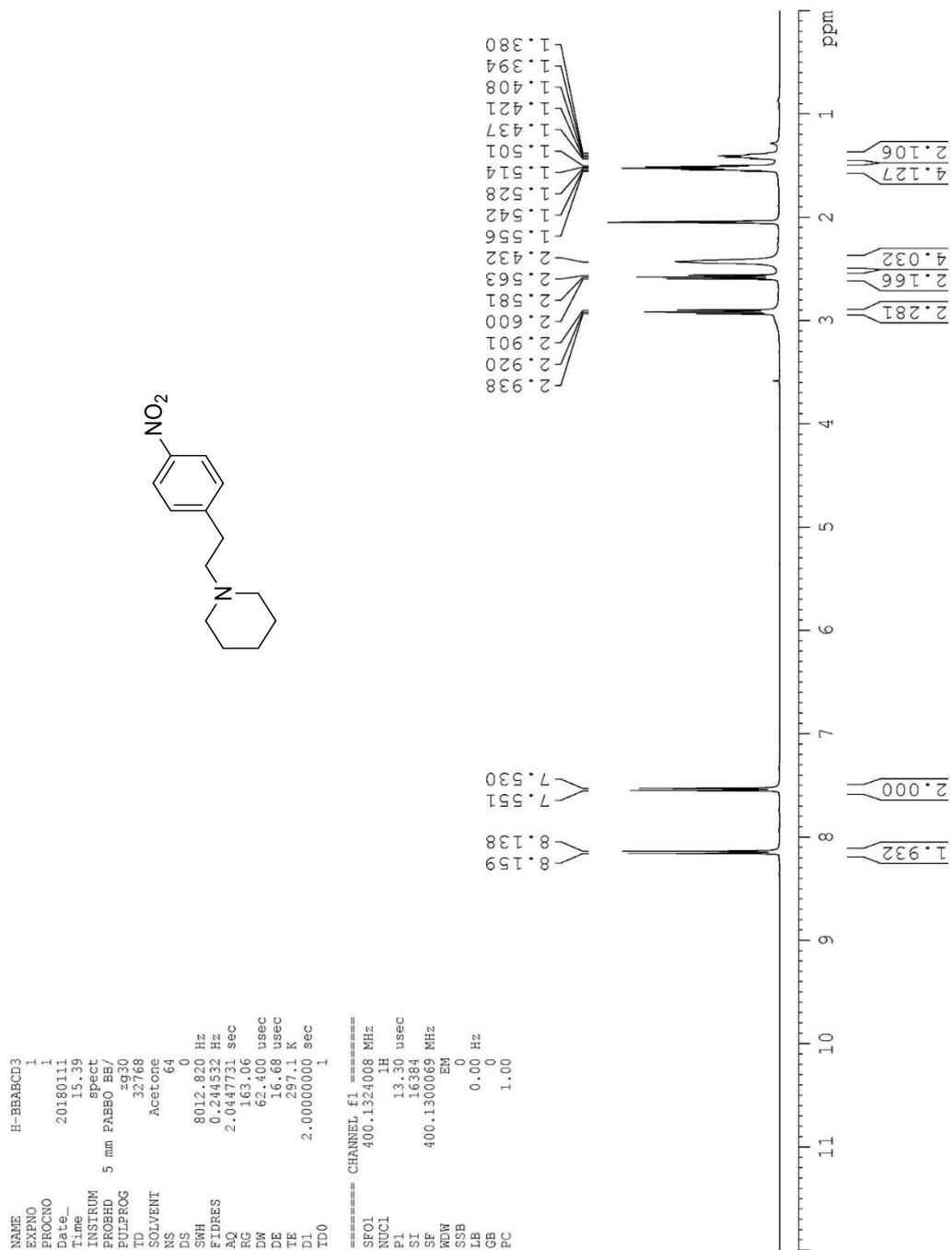
圖表 1、BBABC01 氫核磁共振光譜圖。



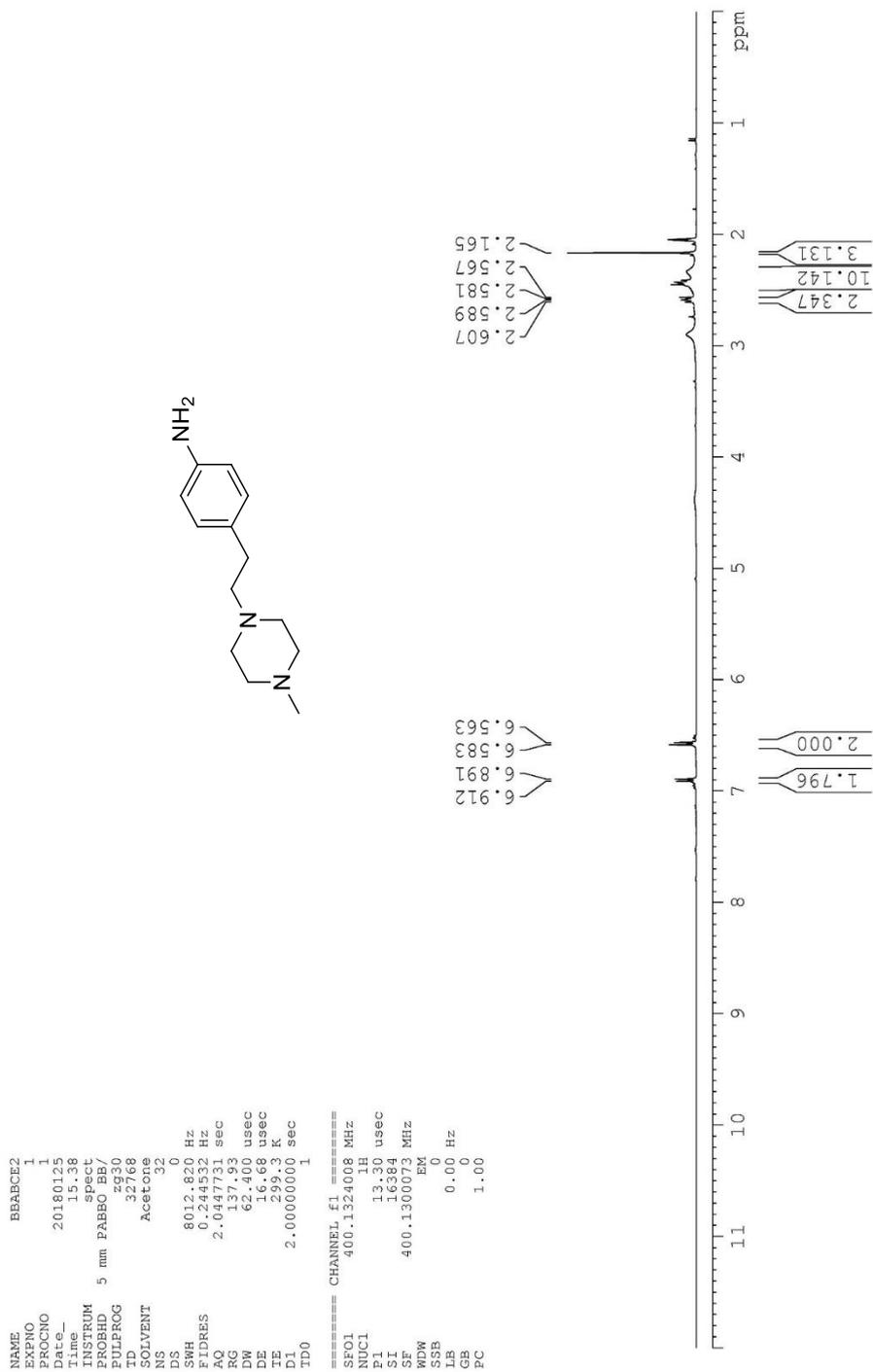
圖表 2、BBABC02 氫核磁共振光譜圖。



圖表 3、BBABCD2 氫核磁共振光譜圖。



圖表 4、BBABCD3 氫核磁共振光譜圖。



圖表 5、BBABCE2 氫核磁共振光譜圖。